

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-523238

(P2023-523238A)

(43)公表日 令和5年6月2日(2023.6.2)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード(参考)	
A 6 1 K	47/56 (2017.01)	A 6 1 K	47/56	4 C 0 7 6	
A 6 1 P	25/00 (2006.01)	A 6 1 P	25/00	4 C 0 8 4	
A 6 1 P	31/00 (2006.01)	A 6 1 P	31/00	4 C 0 8 5	
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	4 C 0 8 6	
A 6 1 P	29/00 (2006.01)	A 6 1 P	29/00	4 C 0 8 7	
		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2022-564253(P2022-564253)	(71)出願人	398076227 ザ・ジョンズ・ホプキンス・ユニバーシ ティー
(86)(22)出願日	令和3年4月23日(2021.4.23)		
(85)翻訳文提出日	令和4年12月20日(2022.12.20)		
(86)国際出願番号	PCT/US2021/028971		アメリカ合衆国、メリーランド州 2 1 2 1 8、ボルチモア、ノース・チャー ズ・ストリート 3 4 0 0
(87)国際公開番号	WO2021/217086	(74)代理人	100078282 弁理士 山本 秀策
(87)国際公開日	令和3年10月28日(2021.10.28)		
(31)優先権主張番号	63/015,118	(74)代理人	100113413 弁理士 森下 夏樹
(32)優先日	令和2年4月24日(2020.4.24)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	100181674 弁理士 飯田 貴敏
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA ,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA( AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR ,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC, 最終頁に続く	(74)代理人	100181641 弁理士 石川 大輔
		(74)代理人	230113332 最終頁に続く

(54)【発明の名称】 デンドリマーおよび治療剤を含む組成物および方法

(57)【要約】

エクソソーム分泌を減少させる1つまたは複数の治療剤にコンジュゲートされているデンドリマーの組成物、ならびに1つまたは複数の神経疾患もしくは障害、がん、炎症疾患、細菌およびウイルス感染症、ならびに他の障害に関連する1つまたは複数の症状を処置する、緩和する、および/または防止するためのその使用方法が開発された。好ましくは、治療剤は、中性スフィンゴミエリナーゼ2(nSMase2)の活性および/または量を阻害または低減する1つまたは複数の作用物質、例えばnSMase2の低分子阻害剤である。組成物は、精神障害および神経障害を有する対象におけるA プラーク形成を低減する、タウ伝播を低減する、認知を向上させる、またはそれらの組合せを行うために特に適している。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

神経疾患、がん、感染疾患、またはそれに関連する炎症の処置のための、エクソソーム分泌を減少させる、A プラーク形成を低減する、タウ伝播を低減する、認知を向上させる、またはそれらの組合せを行う1つまたは複数の治療剤または予防剤と複合体を形成している、前記治療剤または前記予防剤に共有結合によりコンジュゲートされている、または前記治療剤または前記予防剤が分子内に分散している、または前記治療剤または前記予防剤が封入されている dendrimer を含む組成物。

## 【請求項 2】

前記作用物質が、中性スフィンゴミエリナーゼ 2 の活性および/または量を阻害または低減する、請求項 1 に記載の組成物。 10

## 【請求項 3】

前記作用物質が、中性スフィンゴミエリナーゼ 2 の低分子阻害剤である、請求項 1 または 2 に記載の組成物。

## 【請求項 4】

中性スフィンゴミエリナーゼ 2 の 1 つまたは複数の前記低分子阻害剤が、2, 6 - ジメトキシ - 4 - ( 5 - フェニル - 4 - ( チオフェン - 2 - イル ) - 1 H - イミダゾール - 2 - イル ) フェノール ( D P T I P )、フェニル ( R ) - ( 1 - ( 3 - ( 3, 4 - ジメトキシフェニル ) - 2, 6 - ジメチルイミダゾ [ 1, 2 - b ] ピリダジン - 8 - イル ) ピロリジン - 3 - イル ) - カルバメート ( P D D C )、N, N' - ビス [ 4 - ( 4, 5 - ジヒドロ - 1 H - イミダゾール - 2 - イル ) フェニル ] - 3, 3' - p - フェニレン - ビス - アクリルアミド二塩酸塩 ( G W 4 8 6 9 )、カンピノール、4 - ( 4, 5 - ジイソプロピル - 1 H - イミダゾール - 2 - イル ) - 2, 6 - ジメトキシフェノール、ならびにその誘導体およびアナログからなる群より選択される、請求項 3 に記載の組成物。 20

## 【請求項 5】

前記中性スフィンゴミエリナーゼ 2 の阻害剤が、D P T I P、またはその誘導体もしくはアナログである、請求項 3 または 4 に記載の組成物。

## 【請求項 6】

前記 dendrimer が、世代 4、世代 5、世代 6、世代 7、または世代 8 の dendrimer である、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の組成物。 30

## 【請求項 7】

前記 dendrimer が、ポリ ( アミドアミン ) ( P A M A M ) dendrimer である、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の組成物。

## 【請求項 8】

前記 dendrimer が、ヒドロキシルで終端した P A M A M dendrimer である、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の組成物。

## 【請求項 9】

前記 dendrimer が、前記 1 つまたは複数の治療剤または予防剤に共有結合によりコンジュゲートされている、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の組成物。

## 【請求項 10】

請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の組成物および 1 つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物。 40

## 【請求項 11】

非経口または経口投与のために製剤化されている、請求項 10 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 12】

ヒドロゲル、ナノ粒子、またはマイクロ粒子、懸濁剤、散剤、錠剤、カプセル剤、および液剤からなる群より選択される形態の、請求項 10 または 11 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 13】

対象において脳および/もしくは血清中エクソソームの量、脳および/もしくは血清中セラミドレベル、血清中抗セラミド I g G、グリア活性化、総 A 4 2 およびプラーク負 50

荷、タウのリン酸化を低減させる、認知を向上させる、またはそれらの組合せを行うための方法であって、有効量の請求項 1 ~ 12 のいずれかに記載の組成物を前記対象に全身投与することを含む、方法。

【請求項 14】

前記方法が、対象においてアルツハイマー病または認知症を処置するためのものであり、アルツハイマー病または認知症に関連する 1 つまたは複数の症状を処置する、緩和する、および / または防止するために、有効量の請求項 1 ~ 12 のいずれかに記載の組成物を前記対象に全身投与することを含む、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

前記組成物が、脳におけるエクソソーム分泌を減少させる、脳における Aβ プラーク形成および / もしくはタウ伝播を低減する、認知を向上させる、またはそれらの組合せを行うために有効な量で投与される、請求項 13 ~ 14 に記載の方法。

10

【請求項 16】

前記組成物が、活性化ミクログリアにおける中性スフィンゴミエリナーゼ 2 の活性および / または量を阻害または低減するために有効な量で投与される、請求項 13 または 14 に記載の方法。

【請求項 17】

前記組成物が、前記対象の脳脊髄液および / または血清中のセラミドの濃度を低減するために有効な量で投与される、請求項 13 ~ 16 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 18】

前記組成物が、前記対象の脳におけるエクソソームの量を低減するために有効な量で存在する、請求項 13 ~ 17 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 19】

前記対象が、健康対照対象と比較して脳脊髄液および / または血清中の増加したセラミドレベルを有する、請求項 13 ~ 18 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 20】

前記方法が、対象の脳の活性化ミクログリアにおける中性スフィンゴミエリナーゼ 2 の活性を阻害するためのものであり、有効量の請求項 1 ~ 12 のいずれか一項に記載の組成物を前記対象に全身投与することを含む、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 21】

前記方法が、対象における新規ニューロンの生成を増加させる、またはニューロン喪失速度を低減もしくは防止するためのものであり、有効量の請求項 1 ~ 12 のいずれか一項に記載の組成物を前記対象に全身投与することを含む、請求項 13 に記載の方法。

30

【請求項 22】

前記方法が、対象の海馬体積を増加させる、または海馬体積の減少速度を低減もしくは防止するためのものであり、有効量の請求項 1 ~ 12 のいずれか一項に記載の組成物を前記対象に全身投与することを含む、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 23】

前記対象が、健康対照対象と比較して脳脊髄液および / または血清中の増加したセラミドレベルを有する、請求項 19 ~ 22 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 24】

前記対象が、アルツハイマー病または認知症を有する、請求項 19 ~ 23 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 25】

前記組成物が、経口または非経口投与される、請求項 13 ~ 24 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 26】

前記組成物が、静脈内投与される、請求項 13 ~ 24 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 27】

がん、感染疾患、または炎症の 1 つまたは複数の症状の処置を必要とする対象において

50

がん、感染疾患、または炎症の1つまたは複数の症状を処置する方法であって、有効量の請求項1～12のいずれか一項に記載の組成物を前記対象に投与することを含む、方法。

【請求項28】

前記がんが、乳がん、子宮頸がん、卵巣がん、子宮がん、膵臓がん、皮膚がん、多発性骨髄腫、前立腺がん、精巣胚細胞腫瘍、脳がん、口腔がん、食道がん、肺がん、肝臓がん、腎細胞がん、結腸直腸がん、十二指腸がん、胃がん、および結腸がんである、請求項27に記載の方法。

【請求項29】

前記有効量が、腫瘍サイズを低減するまたは腫瘍成長を阻害するために有効である、請求項27または請求項28に記載の方法。

10

【請求項30】

PD-1アンタゴニスト、PD-1リガンドアンタゴニスト、およびCTLA4アンタゴニストからなる群より選択される1つまたは複数の免疫チェックポイント調節剤を前記対象に投与することをさらに含む、請求項27～29のいずれか一項に記載の方法。

【請求項31】

養子T細胞療法および/またはがんワクチンを前記対象に投与することをさらに含む、請求項27～30のいずれか一項に記載の方法。

【請求項32】

手術または放射線療法を前記対象に実施することをさらに含む、請求項27～31のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項33】

前記組成物が、経口または非経口投与される、請求項27～32のいずれか一項に記載の方法。

【請求項34】

前記方法が、それを必要とする対象における1つまたは複数の炎症疾患または障害を処置または緩和するためのものであり、前記1つまたは複数の炎症疾患または障害に関連する1つまたは複数の症状を処置または緩和するために、有効量の請求項1～12のいずれかに記載の組成物を前記対象に投与することを含む、請求項27に記載の方法。

【請求項35】

前記1つまたは複数の炎症疾患または障害が、気道炎症、アレルギー性気道炎症、アテローム性動脈硬化症、脳虚血、肝虚血再灌流傷害、心筋梗塞、および敗血症からなる群より選択される、請求項34に記載の方法。

30

【請求項36】

前記組成物が、前記1つまたは複数の炎症疾患または障害に関連する1つまたは複数の炎症促進性細胞を抑制または阻害するために有効な量で投与される、請求項34または35に記載の方法。

【請求項37】

前記炎症促進性細胞が、活性化マクロファージまたはミクログリアである、請求項34～36のいずれか一項に記載の方法。

【請求項38】

前記方法が、それを必要とする対象における1つまたは複数の細菌、寄生生物、真菌、またはウイルス感染症を処置または緩和するためのものであり、前記1つまたは複数の細菌またはウイルス感染症に関連する1つまたは複数の症状を処置または緩和するために、有効量の請求項1～12のいずれかに記載の組成物を前記対象に投与することを含む、請求項27に記載の方法。

40

【請求項39】

前記1つまたは複数の細菌またはウイルス感染症が、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)、ジカウイルス、C型肝炎、E型肝炎、狂犬病、ランガットウイルス(LGTV)、デングウイルス(DENV)、サイトメガロウイルス(HCMV)、およびニューカッスル病ウイルス(NDV)、Clostridium perfringens由来のイブシロ

50

ン毒素、および *Escherichia coli* 由来の志賀毒素からなる群より選択される1つまたは複数の原因因子によって引き起こされる、請求項38に記載の方法。

【請求項40】

前記1つまたは複数の原因因子が、活性化ミクログリアおよびアストロサイトを標的とするまたはそれらに感染する、請求項39に記載の方法。

【請求項41】

前記組成物が、ウイルス複製、ウイルス負荷、および/もしくはウイルス放出、またはそれらの組合せを低減または阻害するために有効な量で投与される、請求項38~40のいずれか一項に記載の方法。

【請求項42】

前記組成物が、経口または非経口投与される、請求項34~41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】

【0001】

関連出願への相互参照

本出願は、その全体がこれにより参照により本明細書に組み込まれる、2020年4月24日に提出された米国特許仮出願第63/015,118号の利益を主張する。

【0002】

発明の分野

本発明は一般的に、薬物送達の分野にあり、特にデンドリマー製剤を介して結合した薬物を、それを必要とする神経炎症部位または領域に選択的に送達するための方法である。

【背景技術】

【0003】

発明の背景

アルツハイマー病 (AD) は、世界中で3500万人を超える人が罹っている進行性の多因子疾患であり、老年期認知症の最も一般的な原因である。ADの平均発生率は、1~3%であり、年齢65歳を超える人では、総有病率は10~30%に関連し、これは世界全体では20年毎にほぼ倍加すると予測される。平均すると、人は10年間ADを抱えて生きる。米国では、65歳およびそれより高齢のおよそ540万人がADを有すると診断されており、この数は、2050年までに1600万人に上ると予想されている。ADを抱えて生きている500万人を超える人をケアするのにかかる総費用は、2000億ドルであると推定され、2050年までに1.1兆ドルに上ると見積もられている。今日まで、ADを防止する、遅らせる、または処置するために実質的な治療有効性を実証した介入はなく、いくつかは、実際には疾患進行を加速している。

【0004】

ADの分野の研究は、複雑な疾患の病理生理学を包含し、疾患の複数の異なる態様を標的化するより多様な治療パイプラインを可能にしている。診療所で現在利用可能な治療剤、すなわちアセチルコリンエステラーゼ阻害剤、およびNMDA受容体アンタゴニストであるメマンチンのみが疾患の改善に役立つが、これは基礎となる疾患を低減も阻害もしない。アミロイドベータ (A $\beta$ ) 産生を阻害するためのBACE-1または $\beta$ -セクレターゼ阻害剤、脳からA $\beta$ を除去するための抗A $\beta$ 免疫療法、およびタウに基づく病態に対処するように設計された化合物を使用する最近の臨床試験は、有望な結果を生じていない。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

著しい努力にもかかわらず、ADの顕著な特徴であるニューロン損傷、または関連する認知低下もしくは認知機能障害を修復するまたはそれに対抗するために承認されている有効な治療剤も処置方法もない。新規疾患修飾処置が非常に必要である。

【0006】

10

20

30

40

50

多くの疾患および障害は、それに対して有効な処置があったとしてもほとんどなく、衰弱性の副作用が必然的に問題となる。例としては、多くのがんおよび感染疾患が挙げられ、そのほとんどが一次構成要素として炎症を有する。

【0007】

したがって、本発明の目的は、炎症全般、ならびにアルツハイマー病に関連するニューロン損傷および関連する認知低下もしくは認知機能障害の処置または防止のための組成物を提供することである。

【0008】

したがって、本発明の目的は、病態の有意な関与因子として炎症を有するがん、感染疾患、および神経疾患、例えばアルツハイマー病の発生および進行に関連する病理プロセスを低減または防止する組成物、ならびにそれを作製および使用方法を提供することである。

10

【0009】

同様に本発明の目的は、アルツハイマー病に関連するニューロン損傷および関連する認知低下もしくは認知機能障害の処置または防止のための組成物、ならびにそれを作製および使用方法を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0010】

発明の概要

病態の有意な関与因子として炎症を有するがん、感染疾患、および神経疾患、例えばアルツハイマー病の発生および進行に関連する病理プロセスの処置のための治療剤にコンジュゲートされている dendrimer の組成物が開発された。

20

【0011】

エクソソーム分泌を減少させる、がんおよび一部の感染疾患に存在する炎症などの炎症を低減する、A $\beta$  プラーク形成を低減する、タウ伝播を低減する、認知を向上させる、またはそれらの組合せを行う1つまたは複数の治療剤にカップリングまたは封入された dendrimer を含む組成物ならびにその作製および使用方法が提供される。一部の実施形態では、dendrimer は、1つまたは複数の治療剤と複合体を形成している、それに共有結合によりコンジュゲートされている、それが分子内に分散している、またはそれが封入されている。

30

【0012】

好ましくは、治療剤は、中性スフィンゴミエリナーゼ2 (nSMase2) の活性および/または量を阻害または低減する1つまたは複数の作用物質、例えば1つまたは複数の nSMase2 の阻害剤である。例示的な nSMase2 阻害剤としては、2,6-ジメトキシ-4-(5-フェニル-4-(チオフェン-2-イル)-1H-イミダゾール-2-イル)フェノール (DPTIP)、フェニル(R)-(1-(3-(3,4-ジメトキシフェニル)-2,6-ジメチルイミダゾ[1,2-b]ピリダジン-8-イル)ピロリジン-3-イル)-カルバメート (PDDC)、N,N'-ビス[4-(4,5-ジヒドロ-1H-イミダゾール-2-イル)フェニル]-3,3'-p-フェニレン-ビス-アクリルアミド二塩酸塩 (GW4869)、およびカンピノールが挙げられる。

40

【0013】

一部の実施形態では、dendrimer は、世代4~8の dendrimer、例えば世代4、世代5、世代6、世代7、または世代8の dendrimer である。例示的な dendrimer としては、ポリ(アミドアミン) (PAMAM) dendrimer、特にヒドロキシルで終端した PAMAM dendrimer が挙げられる。好ましい実施形態では、dendrimer は、1つまたは複数の治療剤に共有結合によりコンジュゲートされている。

【0014】

dendrimer 組成物および1つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物もまた提供される。特に、ハイドロゲル、ナノ粒子、またはマイクロ粒子、懸濁剤、散剤、錠剤、カプセル剤、および液剤を含む、非経口または経口投与にとって適した製剤が

50

記載される。

【0015】

対象における炎症、例えばがんおよび一部の感染疾患および神経障害、例えばアルツハイマー病に存在する炎症に関連する1つまたは複数の病理プロセスおよび/または症状を処置する、緩和する、および/または防止する、例えばA プラク形成を低減する、タウ伝播を低減する、認知を向上させる、またはそれらの組合せを行うための方法もまた提供される。方法は、炎症、がん、感染疾患、または神経疾患、例えばアルツハイマー病に関連する1つまたは複数の病理プロセスおよび/または症状を処置する、緩和する、および/または防止するために有効量のデンドリマー組成物を対象に全身投与することを含む。好ましくは、組成物は、脳におけるエクソソーム分泌を減少させる、脳におけるA プラク形成および/もしくはタウ伝播を低減する、認知を向上させる、またはそれらの組合せを行う；活性化ミクログリアにおける中性スフィンゴミエリナーゼ2の活性および/または量を阻害または低減する；あるいは対象の脳脊髄液および/または血清中のセラミドの濃度を低減する。方法は、ADもしくは認知症、がん、炎症、または感染疾患の発生に関連する1つまたは複数の生物学的マーカーを有する対象を同定することを含み得る。好ましい実施形態では、デンドリマー組成物は、健康対照対象と比較して脳脊髄液および/または血清中の増加したセラミドレベルを有する対象に投与される。一部の実施形態では、方法は、それを必要とする対象において、脳および/もしくは血清中のエクソソームの量を低減する、脳および/もしくは血清中のセラミドレベルを低減する、血清中抗セラミドIgGを低減する、グリア活性化を低減する、総A<sub>β</sub>42およびプラーク負荷を低減する、タウのリン酸化を低減する、認知を向上させる、またはそれらの組合せを行う。他の実施形態では、方法は、対象の脳の活性化ミクログリアにおける中性スフィンゴミエリナーゼ2の活性を阻害する、新規ニューロンの生成を増加させる、または対象におけるニューロン喪失速度を低減もしくは防止する、脳重量を増加させる、および/または対象の脳重量の減少速度を低減もしくは防止する、海馬体積を増加させる、および/または対象の海馬体積の減少速度を低減もしくは防止する。方法は、有効量のデンドリマー組成物を対象、好ましくは健康対照対象と比較して脳脊髄液および/または血清中のセラミドレベルが増加している、ならびに/またはアルツハイマー病、がん、感染疾患および/もしくは炎症を有する対象に経口、または非経口、または静脈内投与することを含む。それを必要とする対象におけるがんを処置するための方法は、がんを処置するため、腫瘍サイズを低減するため、または腫瘍の成長を阻害するために有効量のデンドリマー組成物を対象に全身投与することを含む。例示的ながんとしては、乳がん、子宮頸がん、卵巣がん、子宮がん、膵臓がん、皮膚がん、多発性骨髄腫、前立腺がん、精巣胚細胞腫瘍、脳がん、口腔がん、食道がん、肺がん、肝臓がん、腎細胞がん、結腸直腸がん、十二指腸がん、胃がん、および結腸がんが挙げられる。一部の実施形態では、方法は、PD-1アンタゴニスト、PD-1リガンドアンタゴニスト、およびCTLA4アンタゴニストからなる群より選択される1つまたは複数の免疫チェックポイント調節剤を対象に投与することをさらに含む。一部の実施形態では、方法は、養子T細胞療法および/またはがんワクチンを対象に投与することをさらに含む。一部の実施形態では、方法は、手術または放射線療法も含む。方法は、がんを処置するために有効量のデンドリマー組成物を対象に経口または非経口投与することを含む。

【0016】

それを必要とする対象における1つまたは複数の炎症疾患または障害を処置または緩和するための方法は、1つまたは複数の炎症疾患または障害に関連する1つまたは複数の症状を処置または緩和するために有効量のデンドリマー組成物を対象に投与することを含む。方法は、気道炎症、アレルギー性気道炎症、アテローム性動脈硬化症、脳虚血、肝虚血再灌流傷害、心筋梗塞、および敗血症を処置するために特に適している。一部の実施形態では、1つまたは複数の炎症疾患または障害に関連する1つまたは複数の炎症促進性細胞を抑制または阻害するために有効な量のデンドリマー組成物が投与される。一部の実施形態では、デンドリマー組成物は、炎症促進性細胞、例えば活性化マクロファージまたはミ

クログリアを抑制または阻害するために有効な量で投与される。

【0017】

それを必要とする対象における1つまたは複数の細菌、寄生生物、またはウイルス感染症を処置または緩和するための方法も提供される。方法は、例えば1つまたは複数の原因因子、例えばヒト免疫不全ウイルス(HIV)、ジカウイルス、C型肝炎、E型肝炎、狂犬病、ランガットウイルス(LGTV)、デングウイルス(DENV)、サイトメガロウイルス(HCMV)、およびニューカッスル病ウイルス(NDV)、Clostridium perfringens由来のイプシロン毒素、およびEscherichia coli由来の志賀毒素によって引き起こされる1つまたは複数のウイルス、細菌、または寄生生物感染症に関連する1つまたは複数の症状を処置または緩和するために有効量のデンドリマー組成物を対象に投与することを含む。方法は、1つまたは複数の原因因子が、活性化マクロファージ/ミクログリア、またはアストロサイトを標的とするまたはそれらに感染する場合、1つまたは複数の症状を処置または緩和するために適している。典型的に、組成物は、感染性因子の複製、負荷、および/または放出を低減または阻害するために有効な量で投与される。

10

【図面の簡単な説明】

【0018】

【図1】図1は、ADを有する患者からの脳脊髄液(CSF)中のセラミド含有量を対照個体と対比して示す棒グラフである。

【0019】

【図2】図2Aおよび2Bは、DPTIP(IC50 = 30 nM)(図2A)、およびその不活性な脱ヒドロキシルアナログ(IC50 > 100 μM)(図2B)によるnSmase 2の阻害を示す線グラフである。

20

【0020】

【図3】図3は、DPTIPの異なる濃度(0 μM ~ 100 μM)でマウス初代グリアによって放出されたエクソソームの量(EVs/ml)を示す線グラフである。

【0021】

【図4】図4は、80時間の期間にわたる注射した用量のパーセントとして表現される世代4(G4)およびG6デンドリマーの血漿中薬物動態をDPTIPと対比して示す線グラフである。

30

【0022】

【図5】図5Aおよび5Bは、デンドリマー-DPTIP(D-DPTIP)コンジュゲートの合成を示す概略図であり、切断可能なエステル結合を通して直交型リンカーをアジド末端に付着させるようにDPTIPを修飾するステップ(図5A)、およびデンドリマー表面を、相補的アルキン基を有するリンカーを付着するように修飾し、このように非常に効率的な銅(I)触媒アルキン-アジドクリック(CuAAC)ケミストリーを可能にしてD-DPTIPコンジュゲートを産生するステップを含む(図5B)。

【0023】

【図6】図6は、生理的温度でエステラーゼ(pH 5.5)の存在下でin vitroで600時間の期間にわたるD-DPTIPコンジュゲートからのDPTIPのパーセンテージを示す線グラフである。

40

【0024】

【図7】図7は、経口投与後のビヒクル処置群およびD-DPTIP処置群の脳のグリア細胞におけるSmnase 2活性(RFU/mg/h)を示す棒グラフである。

【0025】

【図8】図8Aおよび8Bは、D-DPTIPの、10 mg/kg、30 mg/kg、および100 mg/kg遊離薬物当量での経口投与の24時間後、72時間後、および120時間後の血漿(図8A)および脳(図8B)におけるD-DPTIPからのDPTIP濃度(pmol/mlまたはpmol/g)を示す棒グラフである。

【0026】

50

【図 9】図 9 A および 9 B は、ビヒクル、10 mg / kg D - D P T I P、または 100 mg / kg D - D P T I P の経口投与後の h T a u 注射 P S 1 9 ( A D ) マウスおよび h T a u を注射していない (注射なし) マウスの脳ミクログリア細胞 (図 9 A ) および非ミクログリア細胞 (図 9 B ) における n S M a s e 2 活性 ( R F U / m g / h ) を示す棒グラフである。

【0027】

【図 10】図 10 は、アイソタイプ対照、抗 P D L 1、D - D P T I P 対照、または抗 P D L 1 と組み合わせた D - D P T I P (抗 P D L 1 + D - D P T I P) の i . p . 注射によって処置した 6 ~ 8 週齢の雄性 C 5 7 B L / 6 マウスにおける M 3 8 注射後 2 8 日間にわたる腫瘍体積 ( m m <sup>3</sup> ) を示す線グラフである。

10

【0028】

【図 11】図 11 は、D - D P T I P の 10 mg / kg 遊離薬物 ( D P T I P ) 当量での投与の 6 時間後、24 時間後、および 48 時間後での血漿 (図 11 A ) および腫瘍 (図 11 B ) における D - D P T I P から D P T I P の濃度 ( p m o l / m l または p m o l / g ) を示す棒グラフである。

【0029】

【図 12】図 12 は、ビヒクル処置または D - D P T I P 処置マウスにおける対側 / 同側歯状回 ( D G ) のニューロンにおける平均蛍光強度 ( M F I ) を示す棒グラフである。

【発明を実施するための形態】

【0030】

20

発明の詳細な説明

I . 定義

「活性剤」または「生物学的作用物質」という用語は、予防的、治療的、または診断的であり得る所望の薬理学的および / または生理学的効果を誘導する化学化合物 (chemical compound) または生物学的化合物を指すために互換的に使用される治療剤、予防剤、または診断剤である。これらは、核酸、核酸アナログ、分子量 2 k D 未満、より典型的には 1 k D 未満を有する低分子、ペプチド模倣体、タンパク質もしくはペプチド、炭水化物もしくは糖、脂質、またはそれらの組合せであり得る。用語はまた、これらに限定されないが、塩、エステル、アミド、プロドラッグ、活性代謝物、およびアナログを含む作用物質の薬学的に許容される、薬理的に活性な誘導体も包含する。

30

【0031】

「アナログ」という用語は、別の (参照化合物) の構造と類似であるが、特定の構成要素、官能基、原子等に関してそれとは異なる構造を有する化学化合物を指す。

【0032】

「誘導体」という用語は、1 つまたは複数の化学反応 (複数可) によって親化合物から形成された化合物を指す。

【0033】

「薬学的に許容される塩」という用語は、当技術分野で認識され、化合物の比較的非毒性の無機および有機酸付加塩を含む。薬学的に許容される塩の例としては、無機酸、例えば塩酸および硫酸に由来する塩、ならびに有機酸、例えばエタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、および p - トルエンスルホン酸に由来する塩が挙げられる。塩の形成に適した無機塩基の例としては、アンモニア、ナトリウム、リチウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、アルミニウム、および亜鉛の塩酸塩、炭酸塩、および重炭酸塩が挙げられる。塩はまた、非毒性でそのような塩を形成するために十分に強い塩基を含む適した有機塩基からも形成され得る。例示目的のために、そのような有機塩基のクラスは、モノ、ジ、およびトリアルキルアミン、例えばメチルアミン、ジメチルアミン、およびトリエチルアミン；モノ、ジ、またはトリヒドロキシアリルアミン、例えばモノ、ジ、およびトリエタノールアミン；アミノ酸、例えばアルギニンおよびリシン；グアニジン；N - メチルグルコサミン；N - メチルグルカミン；L - グルタミン；N - メチルピペラジン；モルホリン；エチレンジアミン；N - ベンジルフェネチルアミンを含み得る。

40

50

## 【 0 0 3 4 】

「治療剤」という用語は、疾患または障害の1つまたは複数の症状を処置するために投与することができる作用物質を指す。

## 【 0 0 3 5 】

「診断剤」という用語は一般的に、病理プロセスの局在を明らかにする、位置を正確に示す、および画定するために投与することができる作用物質を指す。診断剤は、標的細胞を標識することができ、これによってこれらの標識された標的細胞のその後の検出またはイメージングを可能にする。一部の実施形態では、診断剤は、デンドリマーまたは適した送達ビヒクルを介して中枢神経系（CNS）における活性化ミクログリアを標的化する / 結合することができる。

10

## 【 0 0 3 6 】

「予防剤」という用語は一般的に、ワクチンなどの、疾患を防止するまたはある特定の状態を防止するために投与することができる作用物質を指す。

## 【 0 0 3 7 】

「薬学的に許容される」、または「生体適合性」という語句は、健全な医学的判断の範囲内で、過度の毒性、刺激、アレルギー応答、または他の問題もしくは合併症なしに、妥当な利益 / リスク比に見合う、人間および動物の組織と接触して使用するために適した組成物、ポリマー、および他の材料、および / または剤形を指す。「薬学的に許容される担体」という語句は、薬学的に許容される材料、組成物、またはビヒクル、例えば任意の対象組成物を、体の1つの臓器または部分から体の別の臓器または部分へと移動させるまたは輸送することに関係する、液体もしくは固体増量剤、希釈剤、溶媒、または封入材料を指す。各担体は、対象組成物の他の成分と適合性であり、患者に対して有害ではないという意味で「許容可能」でなければならない。

20

## 【 0 0 3 8 】

「治療有効量」という用語は、デンドリマーの中および / または上に組み込まれた場合に、任意の医学的処置に適用可能な妥当な利益 / リスク比で、何らかの所望の効果を生じる治療剤の量を指す。有効量は、処置される疾患または状態、投与される特定の標的化構築物、対象のサイズ、または疾患もしくは状態の重症度などの要因に応じて変化し得る。当業者は経験的に、過度の実験を必要とすることなく特定の化合物の有効量を決定し得る。一部の実施形態では、「有効量」という用語は、1つまたは複数の疾患または障害の症状を低減するまたは減少させる、例えばアルツハイマー病等に罹患している個体における学習および / または記憶の欠如を低減する、防止する、または逆転させる治療剤または予防剤の量を指す。1つまたは複数の神経疾患または神経変性疾患では、薬物の有効量は、新規ニューロンの生成をもたらす神経有糸分裂の刺激または誘導の効果を有し得る、すなわち神経原性効果である、神経喪失速度の減少を含む神経喪失の防止または遅延を示し、すなわち神経保護効果を示す。有効量は、1回または複数回投与で投与することができる。

30

## 【 0 0 3 9 】

阻害の文脈における「阻害する」または「低減する」という用語は、活性および量を低減または減少させることを意味する。これは、活性または量の完全な阻害もしくは低減、または部分的阻害もしくは低減であり得る。阻害または低減は、対照または標準レベルと比較することができる。阻害は、5、10、25、50、75、80、85、90、95、99、または100%であり得る。例えば、1つまたは複数の阻害剤を含むデンドリマー組成物は、nSMAse2関連活性化ミクログリアの活性および / または量を、デンドリマー組成物を投与されなかったまたはデンドリマー組成物によって処置されなかった対象の同等の組織中の同じ細胞の活性および / または量から約10%、20%、30%、40%、50%、75%、85%、90%、95%、または99%阻害または低減し得る。一部の実施形態では、阻害および低減は、mRNA、タンパク質、細胞、組織、および臓器レベルで比較される。例えば、無処置対照対象と比較した、神経喪失速度、脳重量の減少速度、または海馬体積の減少速度の阻害および低減。

40

50

## 【 0 0 4 0 】

疾患、障害、または状態が、疾患、障害、および/または状態に対する素因を有し得るが、まだそれらを有すると診断されていない動物に起こるのを「処置する」または「防止する」という用語は、疾患、障害、または状態を阻害する、例えばその進行を妨害する；および疾患、障害、または状態を緩和する、例えば疾患、障害、および/または状態の後退を引き起こすことを含む。疾患または状態を処置することは、たとえ基礎となる病理生理学が影響を受けていない場合であっても、特定の疾患または状態の少なくとも1つの症状を改善すること、例えばそのような作用物質が疼痛の原因を処置しない場合であっても鎮痛剤の投与によって対象の疼痛を処置することを含む。処置の望ましい効果は、疾患進行速度を減少させること、疾患状態を改善するまたは和らげること、および寛解または向上した予後を含む。例えば、これらに限定されないが、ニューロン喪失速度を低減すること、疾患に起因する症状を減少させること、疾患に罹患している個体の生活の質を増加させること、疾患を処置するために必要な他の薬物治療の用量を減少させること、疾患の進行を遅らせること、および/または個体の生存を延長させることを含む、アルツハイマー病に関連する1つまたは複数の症状が軽減されるまたは排除される場合、個体は首尾よく「処置されている」。

10

## 【 0 0 4 1 】

「生分解性」という用語は一般的に、生理的条件下で、対象によって代謝、排除、または排泄されることが可能なより小さい単位または化学種へと分解または腐食する材料を指す。分解時間は、組成および形態学の関数である。

20

## 【 0 0 4 2 】

「 dendriマー」という用語は、これらに限定されないが、内部コア、この開始コアに規則正しく付着した反復単位の内層（または「世代」）、および最も外側の世代に付着した末端基の外部表面を有する分子構造を含む。

## 【 0 0 4 3 】

「官能化する」という用語は、官能基または部分の付着をもたらすように化合物または分子を修飾することを意味する。例えば、分子は、分子を強い求核試薬または強い求電子試薬にする分子の導入によって官能化され得る。

## 【 0 0 4 4 】

「標的化部分」という用語は、特定の場所に局在するまたは特定の場所から離れて局在する部分を指す。部分は、例えばタンパク質、核酸、核酸アナログ、炭水化物、または低分子であり得る。実体は、例えば低分子などの治療化合物、または検出可能な標識などの診断的実体であり得る。場所は組織、特定の細胞タイプ、または細胞内区画であり得る。一実施形態では、標的化部分は、作用物質の局在を方向付ける。好ましい実施形態では、 dendriマー組成物は、追加の標的化部分の非存在下で活性化ミクログリアを選択的に標的化することができる。

30

## 【 0 0 4 5 】

「延長された滞留時間」という用語は、作用物質が患者の体、またはその患者の臓器もしくは組織から取り除かれるために要する時間の増加を指す。ある特定の実施形態では、「延長された滞留時間」は、 dendriマーなどの送達ビヒクルへのコンジュゲーションのない同等の作用物質などの比較標準よりも10%、20%、50%、または75%長い半減期で取り除かれる作用物質を指す。ある特定の実施形態では、「延長された滞留時間」は、特定の細胞タイプを特異的に標的化する dendriマーを有しない同等の作用物質などの比較標準よりも2、5、10、20、50、100、200、500、1000、2000、5000、または10000倍長い半減期で取り除かれる作用物質を指す。

40

## 【 0 0 4 6 】

「組み込まれた」および「封入された」という用語は、所望の適用におけるそのような作用物質の放出、例えば持続的な放出を可能にする組成物の中におよび/または組成物の上に作用物質を組み込む、製剤化する、またはそうでなければ含めることを指す。作用物質または他の材料は、そのような dendriマーの1つまたは複数の表面官能基に結合する

50

ことによって（共有結合、イオン結合、または他の結合相互作用によって）、物理的混合によって、作用物質を樹枝状構造内に包むことによって、および/または作用物質を樹枝状構造の内部に封入することによって、 dendrimer に組み込むことができる。

【0047】

II. 組成物

1つまたは複数の作用物質、特に1つまたは複数の神経疾患および神経変性疾患、特に認知症、がん、感染疾患、および炎症に関連する他の障害を防止する、処置する、または診断するための1つまたは複数の作用物質を送達するために適した dendrimer 複合体が開発された。

【0048】

dendrimer 複合体の組成物は、 dendrimer に封入された、会合するおよび/またはコンジュゲートされている1つまたは複数の予防剤、治療剤、および/または診断剤を含む。一般的に、1つまたは複数の作用物質は、約0.01重量%～約30重量%、好ましくは約1重量%～約20重量%、より好ましくは約5重量%～約20重量%の濃度で dendrimer 複合体に封入される、会合する、および/またはコンジュゲートされている。好ましくは、作用物質は、必要に応じて1つまたは複数のスペーサーを介して、1つまたは複数の連結、例えばジスルフィド、エステル、エーテル、チオエステル、カルバメート、カーボネート、ヒドラジン、およびアミドを介して dendrimer に共有結合によりコンジュゲートされている。一部の実施形態では、スペーサーは、作用物質、例えばN-アセチルシステインである。例示的な作用物質としては、抗炎症薬、化学療法剤、抗てんかん剤、血管拡張剤、および抗感染剤が挙げられる。

【0049】

追加の作用物質の存在は、粒子のゼータ電位または表面電荷に影響を及ぼし得る。一実施形態では、 dendrimer のゼータ電位は、-100 mV～100 mVの間、-50 mV～50 mVの間、-25 mV～25 mVの間、-20 mV～20 mVの間、-10 mV～10 mVの間、-10 mV～5 mVの間、-5 mV～5 mVの間、または-2 mV～2 mVの間である。好ましい実施形態では、表面電荷は中性またはほぼ中性である。上記の範囲は、-100 mV～100 mVの全ての値を含む。

【0050】

A. dendrimer

dendrimer は、高密度の表面末端基を含む三次元の高分岐、単分散、球状かつ多価の高分子である (Tomalia, D. A., et al., Biochemical Society Transactions, 35, 61(2007); および Sharma, A., et al., ACS Macro Letters, 3, 1079 (2014))。その独自の構造および物理的特色のために、 dendrimer は、標的化薬物/遺伝子送達、イメージングおよび診断を含む様々な生物医学的適用のためのナノ担体として有用である (Sharma, A., et al., RSC Advances, 4, 19242 (2014); Caminade, A.-M., et al., Journal of Materials Chemistry B, 2, 4055 (2014); Esfand, R., et al., Drug Discovery Today, 6, 427 (2001); および Kannan, R. M., et al., Journal of Internal Medicine, 276, 579(2014))。

【0051】

dendrimer 表面基は、その生体分布に顕著な影響を有する (Nance, E., et al., Biomaterials, 101, 96(2016))。いかなる標的化リガンドも有しないヒドロキシルで終端した世代4のPAMAM dendrimer (約4 nmサイズ)は、脳麻痺(CP)のウサギモデルにおける全身投与の際、機能不全のBBBを健康な対照と比較して大幅により多く(>20倍)通過し、活性化ミクログリアおよびアストロサイトを選択的に標的化する (Lesniak, W. G., et al., Mol Pharm, 10(2013))。

【0052】

「 dendrimer 」という用語は、これらに限定されないが、内部コア、およびこの内部コアに付着し、そこから伸びる反復単位の層(または「世代」)を有する分子構造であって、各層が1つまたは複数の分岐点を有し、末端基の外部表面が最も外側の世代に付着し

10

20

30

40

50

ている、分子構造を含む。一部の実施形態では、デンドリマーは、通常のデンドリマー分子構造または「スターバースト」分子構造を有する。

【0053】

一般的に、デンドリマーは、約1nm～約50nmの間、より好ましくは約1nm～約20nmの間、約1nm～約10nmの間、または約1nm～約5nmの間の直径を有する。一部の実施形態では、直径は、約1nm～約2nmの間である。コンジュゲートは、一般的に同じサイズ範囲にあるが、大きいタンパク質、例えば抗体はサイズを5～15nm増加させ得る。一般的に作用物質は、より大きい世代のデンドリマーの場合、1:1～4:1の間の作用物質のデンドリマーに対する比で封入される。好ましい実施形態では、デンドリマーは、脳組織を浸透するために、および標的細胞において長期間保持するために有効な直径を有する。

10

【0054】

一部の実施形態では、デンドリマーは、約500ダルトン～約100,000ダルトンの間、好ましくは約500ダルトン～約50,000ダルトンの間、最も好ましくは約1,000ダルトン～約20,000ダルトンの間の分子量を有する。

【0055】

使用することができる適したデンドリマー足場は、PAMAMまたはSTARBURST（商標）デンドリマーとしても公知のポリ（アミドアミン）デンドリマー；ポリプロピルアミン（POPAM）、ポリエチレンイミン、ポリリシン、ポリエステル、イプチセン、脂肪族ポリ（エーテル）、および/または芳香族ポリエーテルデンドリマーを含む。デンドリマーは、カルボン酸、アミンおよび/またはヒドロキシルの終端を有し得る。デンドリマーは、全てまたはあるパーセンテージのこれらの終端を有し得る。好ましい実施形態では、デンドリマーは、主にヒドロキシルで終端する。デンドリマー複合体の各デンドリマーは、他のデンドリマーと同じまたは類似のまたは異なる化学的性質のデンドリマーであり得る（例えば、第1のデンドリマーは、PAMAMデンドリマーを含み得るが、第2のデンドリマーはPOPAMデンドリマーであり得る）。

20

【0056】

「PAMAMデンドリマー」という用語は、アミドアミン構築ブロックを有する異なるコアを含有し得るポリ（アミドアミン）デンドリマーを意味し、これは、これらに限定されないが、世代1のPAMAMデンドリマー、世代2のPAMAMデンドリマー、世代3のPAMAMデンドリマー、世代4のPAMAMデンドリマー、世代5のPAMAMデンドリマー、世代6のPAMAMデンドリマー、世代7のPAMAMデンドリマー、世代8のPAMAMデンドリマー、世代9のPAMAMデンドリマー、または世代10のPAMAMデンドリマーを含む任意の世代のカルボン酸、アミン、およびヒドロキシルの終端を有し得る。好ましい実施形態では、デンドリマーは製剤に可溶性であり、世代（「G」）4、5、または6のデンドリマーである。デンドリマーは、その機能的表面基に付着したヒドロキシル基を有し得る。

30

【0057】

デンドリマーを作製するための方法は、当業者に公知であり、一般的に中心の開始コア（例えば、エチレンジアミンコア）周囲に樹枝状 - アラニン単位の同心円状のシェル（世代）を生じる2ステップ反復反応シーケンスを伴う。各その後の成長ステップは、より大きい分子直径を有するポリマーの新規「世代」を表し、これは反応性表面部位の数が2倍であり、その後の世代の分子量をおよそ倍加させる。使用に適したデンドリマー足場は、多様な世代で市販されている。好ましくは、デンドリマー組成物は、世代0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10のデンドリマー足場に基づく。そのような足場はそれぞれ、4、8、16、32、64、128、256、512、1024、2048、および4096個の反応部位を有する。このように、これらの足場に基づくデンドリマー化合物は、対応する数までの組み合わせた標的化部分と作用物質（あるとすれば）を有し得る。

40

【0058】

50

一部の実施形態では、デンドリマーは、複数のヒドロキシル基を含む。一部の例示的な高密度ヒドロキシル基含有デンドリマーは、市販のポリエステル樹枝状ポリマー、例えば高分岐2, 2 - ビス(ヒドロキシル - メチル)プロピオン酸ポリエステルポリマー(例えば、高分岐ビス - MPAポリエステル - 64 - ヒドロキシル、世代4)、樹枝状ポリグリセロールを含む。

#### 【0059】

一部の実施形態では、高密度ヒドロキシル基含有デンドリマーは、オリゴエチレングリコール(OEG)様デンドリマーである。例えば、世代2のOEGデンドリマー(D2-OH-60)は、非常に効率的、ロバストで、原子経済的な化学反応、例えばCu(I)触媒アルキン - アジドクリックおよび光触媒チオール - エンクリックケミストリーを使用して合成することができる。最少の反応ステップでの非常に低い世代の高密度ポリオールデンドリマーは、例えば国際特許公開第WO2019094952号に記載される直交型ハイパーモノマーおよびハイパーコア戦略を使用することによって達成することができる。一部の実施形態では、デンドリマー骨格は、*in vivo*でデンドリマーの崩壊を回避するために、およびそのようなデンドリマーの、体からの単一の実体としての排除(非生分解性)を可能にするために、構造全体に切断不能なポリエーテル結合を有する。

10

#### 【0060】

一部の実施形態では、デンドリマーは、特定の組織領域および/または細胞タイプ、好ましくはCNSにおける活性化マクロファージを特異的に標的化する。好ましい実施形態では、デンドリマーは、標的化部分なしに特定の組織領域および/または細胞タイプを特異的に標的化する。

20

#### 【0061】

好ましい実施形態では、デンドリマーは、デンドリマーの辺縁部に複数のヒドロキシル(-OH)基を有する。ヒドロキシル(-OH)基の好ましい表面密度は、少なくとも1 OH基/nm<sup>2</sup>(ヒドロキシル表面基の数/表面積nm<sup>2</sup>)である。例えば、一部の実施形態では、ヒドロキシル基の表面密度は、2、3、4、5、6、7、8、9、10よりも大きく;好ましくは少なくとも10、15、20、25、30、35、40、45、50、または50よりも大きい。さらなる実施形態では、ヒドロキシル(-OH)基の表面密度は、約1~約50の間、好ましくは5~20 OH基/nm<sup>2</sup>(ヒドロキシル表面基の数/表面積nm<sup>2</sup>)であるが、約500 Da~約10 kDaの間の分子量を有する。

30

#### 【0062】

一部の実施形態では、デンドリマーは、外部表面に露出した一部のヒドロキシル基を有し、その他はデンドリマーの内部コアに有し得る。好ましい実施形態では、デンドリマーは、少なくとも1 OH基/nm<sup>3</sup>(ヒドロキシル基の数/体積nm<sup>3</sup>)のヒドロキシル(-OH)基の体積密度を有する。例えば、一部の実施形態では、ヒドロキシル基の体積密度は、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10よりも大きく、15よりも大きく、20よりも大きく、25よりも大きく、30よりも大きく、35よりも大きく、40よりも大きく、45よりも大きく、および50よりも大きい。一部の実施形態では、ヒドロキシル基の体積密度は、約4~約50基/nm<sup>3</sup>の間、好ましくは約5~約30基/nm<sup>3</sup>の間、より好ましくは約10~約20基/nm<sup>3</sup>の間である。

40

#### 【0063】

##### B. カップリング剤およびスペーサー

デンドリマー複合体は、デンドリマー、樹枝状ポリマー、または高分岐ポリマーにコンジュゲートされているまたは付着している治療剤または化合物から形成することができる。必要に応じて、作用物質は、1つまたは複数のスペーサー/リンカーを介して、異なる連結、例えばジスルフィド、エステル、カーボネート、カルバメート、チオエステル、ヒドラジン、ヒドラジド、およびアミド連結を介してデンドリマーにコンジュゲートされている。デンドリマーと作用物質の間の1つまたは複数のスペーサー/リンカーは、*in vivo*でデンドリマー活性複合体の放出可能形態または放出不能形態を提供するように設計することができる。一部の実施形態では、付着は、作用物質とデンドリマーの間にエ

50

ステル結合を提供する適切なスペーサーを介して起こる。一部の実施形態では、付着は、作用物質と dendriマ- の間にアミド結合を提供する適切なスペーサーを介して起こる。好ましい実施形態では、 dendriマ- と作用物質の間の1つまたは複数のスペーサー/リンカーは、 *in vivo* で所望かつ有効な放出動態を達成するために付加される。

【0064】

「スペーサー」という用語は、治療剤を dendriマ- に連結するために使用される組成物を含む。スペーサーは、ポリマ- と治療剤またはイメージング剤を架橋するために共に連結される単一の化学実体または2つもしくはそれより多くの化学実体のいずれかであり得る。スペーサーは、スルフィド、チオピリジン、スクシンイミジル、マレイミド、ビニルスルホン、およびカーボネート終端を有する任意の低分子化学実体、ペプチド、またはポリマ- を含む得る。

10

【0065】

スペーサーは、スルフィド、チオピリジン、スクシンイミジル、マレイミド、ビニルスルホンおよびカーボネート基で終端する化合物のクラスの中から選択することができる。スペーサーは、チオピリジンで終端した化合物、例えばジチオジピリジン、N-スクシンイミジル3-(2-ピリジルジチオ)-プロピオネート(SPD P)、スクシンイミジル6-(3-[2-ピリジルジチオ]-プロピオンアミド)ヘキサノエートLC-SPDPまたはスルホ-LC-SPDPを含む得る。スペーサーはまた、本質的にスルフィド基を有する直線状または環状である、例えばグルタチオン、ホモシステイン、システインおよびその誘導体、 *arg-gly-as p-cys* (RGDC)、シクロ(*Arg-Gly-As p-d-Phe-Cys*) (c(RGDFC))、シクロ(*Arg-Gly-As p-D-Tyr-Cys*)、シクロ(*Arg-Ala-As p-d-Tyr-Cys*) であるペプチドも含む得る。スペーサーは、メルカプト酸誘導体、例えば3メルカプトプロピオン酸、メルカプト酢酸、4メルカプト酪酸、チオラン-2-オン、6メルカプトヘキサノ酸、5メルカプト吉草酸、および他のメルカプト誘導体、例えば2メルカプトエタノールおよび2メルカプトエチルアミンであり得る。スペーサーは、チオサリチル酸およびその誘導体、(4-スクシンイミジルオキシカルボニル-メチル-アルファ-2-ピリジルチオ)トルエン、(3-[2-ピリジチオ]プロピオニルヒドラジド)であり得る。スペーサーは、マレイミド終端を有し得、スペーサーは、ビス-マレイミドジエチレングリコールおよびビス-マレイミドトリエチレングリコール、ビス-マレイミドエタン、ビスマレイミドヘキサンなどのポリマ- または低分子化学実体を含む。スペーサーは、ビニルスルホン、例えば1,6-ヘキサン-ビス-ビニルスルホンを含む得る。スペーサーは、チオグリコシド、例えばチオグルコースを含む得る。スペーサーは、還元型タンパク質、例えばウシ血清アルブミンおよびヒト血清アルブミン、ジスルフィド結合を形成することが可能な任意のチオールで終端した化合物であり得る。スペーサーは、マレイミド、スクシンイミジル、およびチオール終端を有するポリエチレングリコールを含む得る。

20

30

【0066】

作用物質および/または標的化部分は、共有結合により付着させられるか、または分子内に分散されるか、または封入されるかのいずれかであり得る。 dendriマ- は、好ましくはカルボン酸、ヒドロキシル、またはアミン終端を有する世代10までのPAMAM dendriマ- である。好ましい実施形態では、 dendriマ- は、ジスルフィド、エステル、またはアミド結合で終わるスペーサーを介して作用物質に連結される。

40

【0067】

C. 治療剤、予防剤、および診断剤

送達される粒子に含まれる作用物質は、タンパク質もしくはペプチド、糖もしくは炭水化物、核酸もしくはオリゴヌクレオチド、脂質、低分子(例えば、分子量2000ダルトン未満、好ましくは1500ダルトン未満、より好ましくは300~700ダルトン)、またはそれらの組合せであり得る。核酸は、タンパク質をコードするオリゴヌクレオチド、例えばDNA発現カセットまたはmRNAであり得る。代表的なオリゴヌクレオチドとしては、siRNA、マイクロRNA、DNA、およびRNAが挙げられる。一部の実施

50

形態では、作用物質は治療抗体である。

【0068】

デンドリマーは、複数の治療剤、予防剤、および/または診断剤を同じデンドリマーによって送達することができるという利点を有する。1つまたは複数のタイプの作用物質を、デンドリマーに封入する、それと複合体を形成させる、またはそれにコンジュゲートすることができる。一実施形態では、デンドリマーは、2つまたはそれより多くの異なるクラスの作用物質と複合体を形成しているかまたはそれにコンジュゲートされており、標的部位で異なるまたは独立した放出動態での同時送達を提供する。別の実施形態では、デンドリマーは、少なくとも1つの検出可能な部分および少なくとも1つのクラスの作用物質に共有結合により連結される。さらなる実施形態では、各々が異なるクラスの作用物質を有するデンドリマー複合体は、併用処置のために同時に投与される。

10

【0069】

治療剤または予防剤は、1つまたは複数の神経疾患の処置のために活性化ミクログリアにおいて酵素または受容体媒介機構を操作する作用物質を含み得る。例示的な酵素または受容体媒介機構としては、これらに限定されないが、中性スフィンゴミエリナーゼ2 (nSMase2)、骨髄細胞上に発現されるトリガー受容体2 (TREM2)、ロイシンリッチリピートキナーゼ2 (LRK2)、および受容体相互作用セリン/スレオニンタンパク質キナーゼ1 (RIPK1)のものが挙げられる。一部の実施形態では、作用物質は、nSMase2、TREM2、LRK2、およびRIPK1の1つまたは複数に伴う酵素または受容体媒介機構において変更された活性を回復することができる作用物質である。

20

【0070】

1. 中性スフィンゴミエリナーゼ阻害剤

A 凝集およびタウタンパク質伝播はいずれも、アルツハイマー病の2つの主要な顕著な特徴であり、エクソソーム分泌に関係する。エクソソームは、様々な刺激に応答して細胞から脱落したタンパク質、脂質、およびRNAを有する小さい細胞外小胞 (EV) である。いくつかの神経疾患状態下では、EVは、病的なカーゴを運び、疾患進行において能動的な役割を果たし得る。脳の酵素である中性スフィンゴミエリナーゼ2 (nSMase2) は、主要なEV構成要素であるセラミドのその産生を通してEV生物発生の極めて重要な調節因子であり、このように独自のAD治療標的を表す。nSMase2の薬理的阻害および遺伝的欠失は、ADのマウスモデルにおいて脳セラミドを低減させ、EV分泌を減少させ、Aβプラーク形成およびタウ伝播を低減させ、ならびに認知を向上させることが示されている。このように、nSMase阻害は、ADおよび他の神経疾患の処置のための治療アプローチを表す。

30

【0071】

セラミドは、エクソソームの生物発生にとって必須であり、nSMase2の薬理的阻害はエクソソーム分泌を低減させた。nSMase2は、スフィンゴミエリン (SM) のホスホリルコリンおよびセラミドへの加水分解を触媒する。nSMase2活性化を通じたセラミドの産生は、アポトーシスからセラミドに富むエクソソームの製造に対するシナプス可塑性のモジュレーションの範囲に及ぶ多様な機能に関連している。一過性のnSMase2活性化は、正常な脳の機能の一部であるが、酵素の慢性的な活性化は、神経変性を含む負の効果をもたらす。具体的には、増加したnSMase2活性は、変更されたスフィンゴリ脂質代謝、ニューロンのアポトーシス、慢性炎症、および酸化ストレスに関連している。

40

【0072】

nSMase2の慢性的な活性化は、HIV関連認知症 (HAD)、多発性硬化症 (MS)、および筋萎縮性側索硬化症 (ALS)の病因に関連することが報告されている。ヒトおよび動物においてnSMase2活性の慢性的な増加をADと関連付ける証拠がある。今日まで3つの哺乳動物nSMaseが同定されている：nSMase1、nSMase2、およびnSMase3。それらは全て、無細胞生化学アッセイにおいてスフィンゴ

50

ミエリン (SM) のホスホリルコリンおよびセラミドへの加水分解を触媒するが、nSMase 1 および 3 の生理的役割は、nSMase 2 よりも解明することが困難であった。たとえば、nSMase 1 が、SM を *in vitro* で加水分解することができて、nSMase 1 を過剰発現する細胞系は、SM 代謝の変化を示さなかった。nSMase 3 は、他の 2 つの nSMase と低い配列同一性を有し、異なる機能を果たす可能性がある。これに対し、nSMase 2 は、細胞における SM 代謝に対する影響を有することが示されており、その慢性的な活性化は、神経変性障害の病因に特異的に関係している。nSMase 2 は、大部分が CNS において発現されている (Fensome AC et al., *J Biol Chem.* 2000;275(2):1128-36; Hofmann K et al., *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000;97(11):5895-900; Clarke CJ et al., *Biochim Biophys Acta.* 2006;1758(12):1893-901)。nSMase 2 は、主にゴルジ体に位置するが、抗酸化剤であるグルタチオンに反応して核周囲領域に、および酸化的ストレスに反応して細胞膜の内葉にトランスロケーションすることができる。

#### 【0073】

nSMase 2 活性の薬理的阻害は、*in vivo* でタウの伝播を遅らせることにおいて非常に有効であった (Asai H et al., *Nat Neurosci.* 2015;18(11):1584-93)。1 つのモデルにおいて、嗅内皮質から歯状回 (DG) へのタウの伝播後、プロトタイプ nSMase 2 阻害剤 GW4869 は、歯状回における AT8 + 顆粒状ニューロン (すなわち、タウのリン酸化に対して特異的なモノクローナル抗体によって認識されるニューロン) の数を 75% 抑制した。歯状回における AT8 + 細胞数もまた低減され、タウ伝播におけるエクソソーム合成の関与を実証している。第 2 のモデルでは、P301S/P319 タウマウスの nSMase 2 阻害による処置は、DG の顆粒細胞層 (GCL) において AT8 + 細胞数を大幅に 52% 低減させたが、内側嗅内皮質 (MEC) では低減させなかった。これらのデータと一致して、T22 抗体を使用するドットプロット分析は、阻害剤処置群において海馬領域におけるタウオリゴマー蓄積の大幅な低減を明らかにしたが、EC 領域では低減を示さなかった。他の *in vitro* 実験では、活性化グリア細胞の特異的役割を調べた。LPS / ATP 活性化ミクログリアにおける nSMase 2 発現をサイレンシングするかまたは nSMase 2 活性を阻害することは、エクソソームにおける hTau の分泌を大幅に低減させることが示された。その上、nSMase 2 siRNA または GW4869 によって処置したミクログリアからのタウ含有エクソソーム画分による初代培養ニューロンの処置はそれぞれ、対照群と比較してニューロンへの hTau の伝達の 70 および 68% 低減を示した (Asai H et al., *Nat Neurosci.* 2015;18(11):1584-93)。

#### 【0074】

追加の研究は、エクソソームが、AD の 5XFAD マウスモデルにおいて Aβ 凝集を刺激することができることを示した (Dinkins MB et al., *Neurobiol Aging.* 2014;35(8):1792-800)。さらに、プロトタイプ nSMase 2 阻害剤 GW4869 によるエクソソーム分泌の阻害は、脳および血清中エクソソームレベル、脳セラミド、ならびに Aβ プラーク負荷の低減をもたらした。同様に 5XFAD マウスを使用するより最近の研究では、nSMase 2 欠損は、AD の病態を緩和し、認知を向上した。通常の 5XFAD マウスと比較して、nSMase 2 欠損 5XFAD マウスは、低減された脳エクソソーム、セラミドレベル、血清中抗セラミド IgG、グリア活性化、総 Aβ およびプラーク負荷、タウのリン酸化、ならびに恐怖条件付け学習タスクにおいて向上された認知を示した。

#### 【0075】

要約すると、3 つのマウス AD モデルを使用する結果は、nSMase 2 が、Aβ プラーク凝集およびタウ伝播の両方に関係することを示している。その上、nSMase 2 の薬理的阻害または遺伝的欠失は、病理学的尺度および認知転帰の向上をもたらす。

#### 【0076】

したがって、一部の実施形態では、 dendritome 組成物は、エクソソーム分泌を減少さ

せる、A ブラク形成を低減させる、タウ伝播を低減させる、認知を向上させる、またはそれらの組合せを行う1つまたは複数の治療剤を含む。一部の実施形態では、デンドリマー組成物は、n S M a s e 2 の活性および/または量を阻害または低減する1つまたは複数の治療剤を含む。一部の実施形態では、デンドリマー組成物は、1つまたは複数の中性スフィンゴミエリナーゼ阻害剤を含む。一部の実施形態では、デンドリマー組成物は、分子量2000ダルトン未満、好ましくは1500ダルトン未満を有する1つまたは複数の低分子中性スフィンゴミエリナーゼ阻害剤を含む。一部の実施形態では、1つまたは複数の中性スフィンゴミエリナーゼ阻害剤は、デンドリマーとのコンジュゲーションを容易にするために、および/または所望の放出動態のために、例えばエーテル、エステル、またはアミド連結によって、必要に応じて1つまたは複数のスパーサー/リンカーによって官能化される。好ましい実施形態では、デンドリマーは、世代4、世代5、または世代6のヒドロキシルで終端したPAMAMデンドリマーである。

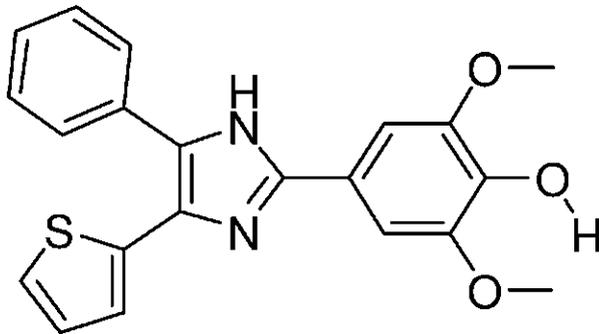
10

## 【0077】

一実施形態では、中性スフィンゴミエリナーゼ阻害剤は、2,6-ジメトキシ-4-(5-フェニル-4-(チオフェン-2-イル)-1H-イミダゾール-2-イル)フェノール(DPTIP)、またはそのアナログである。DPTIPのアナログは、例えばWO 2019 169247 A 1に以前に記載されている。DPTIPの化学構造を構造Iに示す：

構造I：

## 【化1】



20

30

## 【0078】

一部の実施形態では、中性スフィンゴミエリナーゼ阻害剤は、4-(1H-イミダゾール-2-イル)-2,6-ジアルコキシフェノール足場、例えばその全体が参照により具体的に本明細書に組み込まれるStepanek O et al., Eur J Med Chem. 2019 May 15;170:276-289に記載される足場に基づく化合物を含む、4-(1H-イミダゾール-2-イル)-2,6-ジアルコキシフェノール誘導体である。一実施形態では、中性スフィンゴミエリナーゼ阻害剤は、4-(4,5-ジイソプロピル-1H-イミダゾール-2-イル)-2,6-ジメトキシフェノールである。

## 【0079】

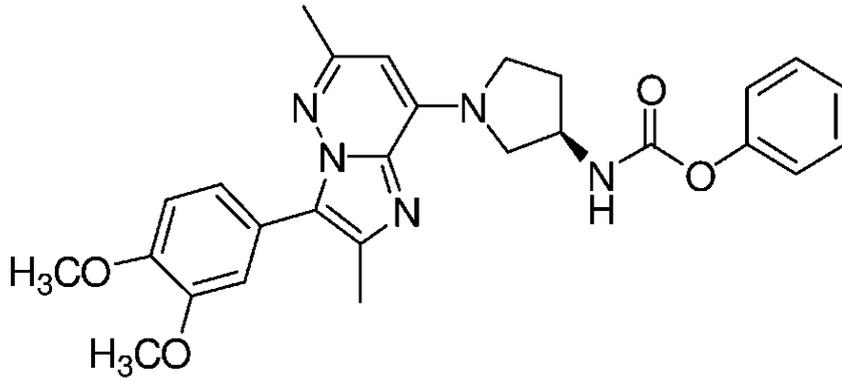
フェニル(R)-(1-(3-(3,4-ジメトキシフェニル)-2,6-ジメチルイミダゾ[1,2-b]ピリダジン-8-イル)ピロリジン-3-イル)-カルバメート(PDDC)は、Rojas C et al., Br J Pharmacol. 2019 Oct;176(19):3857-3870に記載されるようにn S M a s e 2 の強力(pIC50 = 6.57)かつ選択的な非競合的阻害剤である。したがって、一実施形態では、中性スフィンゴミエリナーゼ阻害剤は、フェニル(R)-(1-(3-(3,4-ジメトキシフェニル)-2,6-ジメチルイミダゾ[1,2-b]ピリダジン-8-イル)ピロリジン-3-イル)-カルバメート(PDDC)、またはそのアナログである。PDDCの化学構造を構造IIに示す。

構造II：

40

50

## 【化 2】



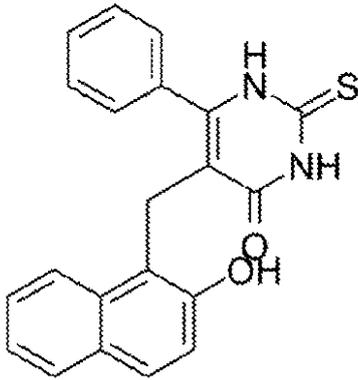
10

## 【0080】

別の実施形態では、中性スフィンゴミエリナーゼ阻害剤は、カンピノールである。カンピノールの化学構造を構造 III に示す。

構造 III :

## 【化 3】



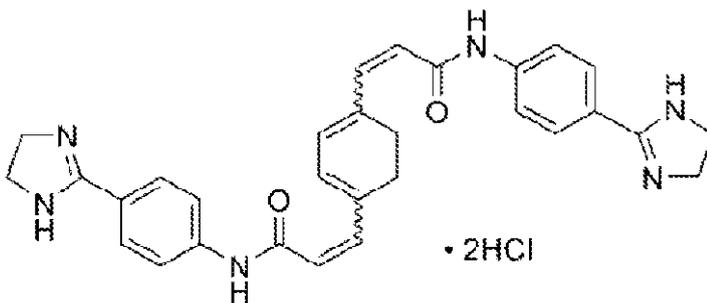
20

## 【0081】

さらなる実施形態では、中性スフィンゴミエリナーゼ阻害剤は、N, N' - ビス [ 4 - ( 4 , 5 - ジヒドロ - 1 H - イミダゾール - 2 - イル ) フェニル ] - 3 , 3 ' - p - フェニレン - ビス - アクリルアミド二塩酸塩 ( GW 4 8 6 9 ) である。GW 4 8 6 9 の化学構造を構造 IV に示す。

構造 IV :

## 【化 4】



40

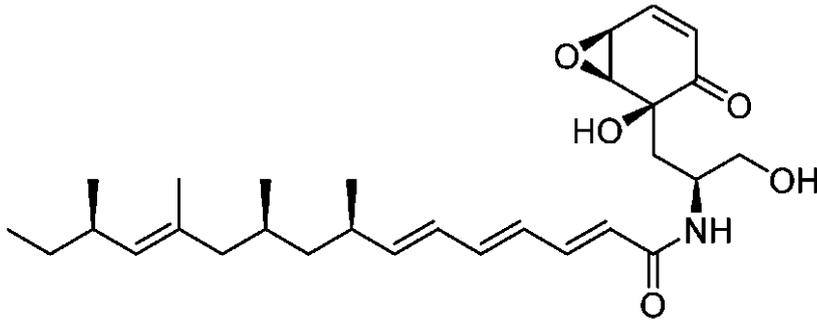
## 【0082】

一部の実施形態では、中性スフィンゴミエリナーゼ阻害剤は、以下に示される構造 V ~ VIII のうちの 1 つまたは複数である :

構造 V ( スキホスタチン ( Scyphostatin ) ) :

50

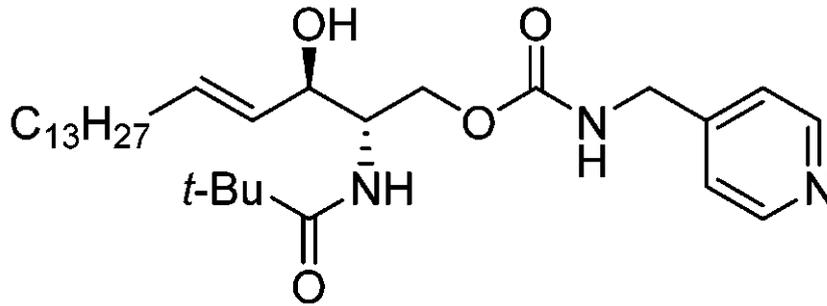
【化 5】



10

構造 V I :

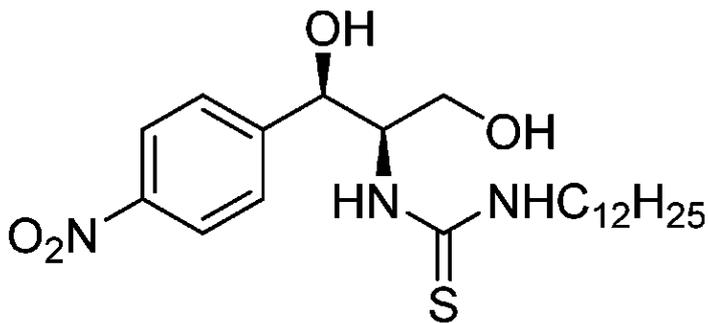
【化 6】



20

構造 V I I :

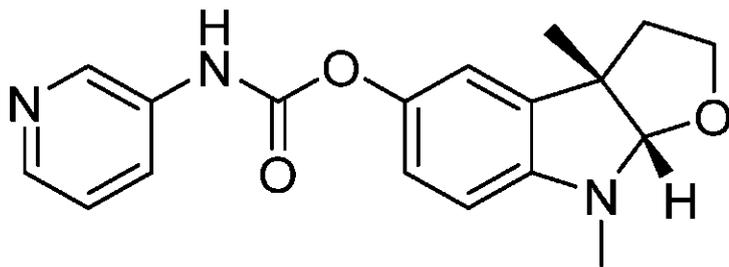
【化 7】



30

構造 V I I I :

【化 8】



40

【 0 0 8 3 】

D . 送達される追加の治療剤および予防剤

デンドリマーを使用して、1つまたは複数の追加の治療剤または予防剤、特に神経または神経変性疾患、がん、感染疾患および/または炎症の1つまたは複数の症状を防止また

50

は処置するための1つまたは複数の作用物質を送達することができる。適した治療剤、診断剤、および/または予防剤は、生体分子、例えばペプチド、タンパク質、炭水化物、ヌクレオチド、もしくはオリゴヌクレオチド、または有機、無機、および有機金属作用物質を含む低分子作用物質（例えば、分子量2000amu未満、好ましくは1500amu未満）であり得る。作用物質は、デンドリマー内に封入され得る、デンドリマー内に分散され得る、および/またはデンドリマーの表面と共有結合もしくは非共有結合のいずれかにより会合し得る。

【0084】

1. 治療剤および予防剤

デンドリマー複合体は、デンドリマーと複合体を形成しているまたはそれにコンジュゲートされている1つまたは複数の治療剤、予防剤、または予後判定剤を含む。代表的な治療剤としては、これらに限定されないが、神経保護剤、抗炎症剤、抗酸化剤、抗感染剤、およびそれらの組合せが挙げられる。

10

【0085】

一実施形態では、追加の作用物質はステロイドである。適したステロイドとしては、ビタミンD3およびD2の生物活性型、例えば米国特許第4,897,388号および第5,939,407号に記載されるステロイドが挙げられる。ステロイドは、神経原性の刺激もしくは誘導、および/または神経喪失の防止、特にアルツハイマー病の処置をさらに助けるために同時投与され得る。エストロゲンおよびエストロゲン関連分子、例えばアロプレグナノロンを、Brinton(2001) Learning and Memory 8(3): 121-133に記載されるように神経保護を増強するために神経増強剤と同時投与することができる。

20

【0086】

他の神経活性ステロイド、例えば米国特許第6,552,010号に記載されるデヒドロエピアンドロステロン(DHEA)の様々な形態もまた、神経原性の刺激もしくは誘導および/または神経喪失の防止をさらに助けるために同時投与することができる。神経成長および神経ネットワークの伸長を引き起こす他の作用物質、例えば神経成長因子(NGF)および脳由来神経栄養因子(BDNF)を、THPの投与と同時または投与前または投与後のいずれかに投与することができる。加えて、神経アポトーシスの阻害剤、例えばカルpainおよびカスパーゼ、ならびに他の細胞死機構、例えば壊死の阻害剤を、神経増強剤と同時投与して、ある特定の神経疾患および神経欠損に関連する神経喪失をさらに防止することができる。

30

【0087】

代表的な低分子としては、ステロイド、例えばメチルプレドニゾン、デキサメタゾン、COX-2阻害剤を含む非ステロイド性抗炎症剤、コルチコステロイド抗炎症剤、金化合物抗炎症剤、免疫抑制剤、抗炎症剤、および抗血管新生剤、抗興奮毒性剤、例えばバルプロ酸、D-アミノホスホノバレレート、D-アミノホスホノヘプタノエート、グルタメート形成/放出の阻害剤、バクロフェン、NMDA受容体アンタゴニスト、サリチレート抗炎症剤、ラニピズマブ、アフリベルセプトおよびラパマイシンを含む抗VEGF剤が挙げられる。他の抗炎症薬としては、非ステロイド薬、例えばインドメタシン、アスピリン、アセトアミノフェン、ジクロフェナクナトリウム、およびイブプロフェンが挙げられる。コルチコステロイドは、フルオシノロンアセトニドおよびメチルプレドニゾンであり得る。

40

【0088】

代表的なオリゴヌクレオチドは、siRNA、マイクロRNA、DNA、およびRNAを含む。

【0089】

2. 診断剤

一部の例では、作用物質は、単独の、または他の治療剤もしくは予防剤と組み合わせた診断剤である。診断剤の例としては、常磁性分子、蛍光化合物、磁性分子、および放射性核種、X線イメージング剤、および造影剤が挙げられる。他の適した造影剤の例としては

50

、放射線不透過性である気体または気体放出化合物が挙げられる。 dendroliマ-複合体は、投与した組成物の位置を決定するために有用な作用物質をさらに含み得る。この目的にとって有用な作用物質としては、蛍光タグ、放射性核種、および造影剤が挙げられる。

【0090】

例示的な診断剤としては、色素、蛍光色素、近赤外線色素、SPECTイメージング剤、PETイメージング剤および放射性同位体が挙げられる。代表的な色素としては、カルボシアニン、インドカルボシアニン、オキシカルボシアニン(oxacarboxyanine)、チオカルボシアニン(thueicarboxyanine)、およびメロシアニン、ポリメチン、クマリン、ローダミン、キサントゲン、フルオレセイン、ボロンジピロメタン(BODIPY)、Cy5、Cy5.5、Cy7、VivoTag-680、VivoTag-S680、VivoTag-S750、AlexaFluor660、AlexaFluor680、AlexaFluor700、AlexaFluor750、AlexaFluor790、Dy677、Dy676、Dy682、Dy752、Dy780、DyLight547、DyLight647、HiLyteFluor647、HiLyteFluor680、HiLyteFluor750、IRDye800CW、IRDye800RS、IRDye700DX、ADS780WS、ADS830WS、およびADS832WSが挙げられる。

10

【0091】

例示的なSPECTまたはPETイメージング剤としては、キレート剤、例えばジエトレントリアミン五酢酸(DTPA)、1,4,7,10-テトラ-アザシクロドデカン-1,4,7,10-四酢酸(DOTA)、ジアミンジチオール、活性化メルカプトアセチル-グリシル-グリシル-グリシン(MAG3)、およびヒドラジドニコチンアミド(HYNIC)が挙げられる。

20

【0092】

例示的な同位体としては、Tc-94m、Tc-99m、In-111、Ga-67、Ga-68、Gd<sup>3+</sup>、Y-86、Y-90、Lu-177、Re-186、Re-188、Cu-64、Cu-67、Co-55、Co-57、F-18、Sc-47、Ac-225、Bi-213、Bi-212、Pb-212、Sm-153、Ho-166、およびDy-166が挙げられる。

【0093】

好ましい実施形態では、 dendroliマ-複合体は、陽電子射出断層撮影(PET)イメージングにとって適した1つまたは複数の放射性同位体を含む。例示的な陽電子放出放射性同位体としては、炭素-11(<sup>11</sup>C)、銅-64(<sup>64</sup>Cu)、窒素-13(<sup>13</sup>N)、酸素-15(<sup>15</sup>O)、ガリウム-68(<sup>68</sup>Ga)、およびフッ素-18(<sup>18</sup>F)、例えば、2-デオキシ-2-<sup>18</sup>F-フルオロ-D-グルコース(<sup>18</sup>F-FDG)が挙げられる。

30

【0094】

さらなる実施形態では、単一の dendroliマ-複合体組成物は、体における1つまたは複数の位置で疾患または状態を同時に処置および/または診断することができる。

【0095】

III. 医薬製剤

dendroliマ-および1つまたは複数のスフィンゴミエリン、例えばnSMase2の阻害剤を含む医薬組成物は、1つまたは複数の生理的に許容される担体を使用して従来の方式で製剤化され得る。適切な製剤は、選択される投与経路に依存する。好ましい実施形態では、組成物は、非経口送達のために製剤化される。一部の実施形態では、組成物は、静脈内注射のために製剤化される。典型的には、組成物は、処置される組織または細胞への注射のための滅菌食塩水または緩衝溶液中に製剤化される。組成物は、使用直前に再湿潤化(rehydration)するために1回使用バイアル中に凍結乾燥して保存することができる。再湿潤化および投与のための他の手段は、当業者に公知である。

40

【0096】

50

代表的な賦形剤としては、溶媒、希釈剤、pH調整剤、保存剤、抗酸化剤、懸濁化剤、湿潤剤、粘度調整剤、張度剤 (tonicity agent)、安定化剤、およびそれらの組合せが挙げられる。適した薬学的に許容される賦形剤は、好ましくは、一般的に安全であると認識され (GRAS) 望ましくない生物学的副作用または不必要な相互作用を引き起こすことなく個体に投与され得る材料から選択される。

#### 【0097】

一般的に、薬学的に許容される塩は、作用物質の遊離の酸または塩基型の、水中もしくは有機溶媒中、または両者の混合物中で化学量論量の適切な塩基または酸との反応によって調製することができ、一般的に、非水性媒体、例えばエーテル、酢酸エチル、エタノール、イソプロパノール、またはアセトニトリルが好ましい。薬学的に許容される塩としては、無機酸、有機酸に由来する作用物質の塩、アルカリ金属塩、およびアルカリ土類金属塩、ならびに薬物の適した有機リガンドとの反応によって形成される塩 (例えば、第四級アンモニウム塩) が挙げられる。適した塩の一覧は、例えば Remington's Pharmaceutical Sciences, 20th ed., Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 2000, p. 704に見出される。時には薬学的に許容される塩の形態で投与される眼科用薬物の例としては、チモロールマレイン酸塩、プリモニジン酒石酸塩、およびジクロフェナクナトリウムが挙げられる。

10

#### 【0098】

組成物は、好ましくは投与の容易さおよび投薬量の均一性のために投薬単位形態で製剤化される。「投薬単位形態」という語句は、処置される患者にとって適切なコンジュゲートの物理的に別個の単位を指す。しかし、組成物の総1回投与は、健全な医学的判断の範囲内で主治医によって決定されると理解される。治療有効用量は、細胞培養アッセイまたは動物モデル、通常、マウス、ウサギ、イヌ、またはブタのいずれかにおいて最初に推定することができる。動物モデルはまた、望ましい濃度範囲および投与経路を達成するために使用される。そして、そのような情報は、ヒトにおける有用な用量および投与経路を決定するために有用となるはずである。コンジュゲートの治療有効性および毒性は、細胞培養または実験動物における標準的な薬学的手順によって、例えばED50 (用量は、集団の50%において治療的に有効である) およびLD50 (用量は、集団の50%において致死性である) によって決定することができる。毒性効果の治療効果に対する用量比は治療指数であり、比LD50/ED50として表現することができる。大きい治療指数を示す医薬組成物が好ましい。細胞培養アッセイおよび動物研究から得られたデータを、ヒトの使用のための投薬量の範囲を公式化するために使用することができる。

20

30

#### 【0099】

ある特定の実施形態では、組成物は、局所に、例えば処置される部位への直接注射によって投与される。一部の実施形態では、組成物は、注射され、局部に適用され、またはそうでなければ傷害、手術、もしくは埋め込み部位のまたはそれに隣接する血管または粘膜組織の血管系に直接投与される。例えば、実施形態では、組成物は、外科手技の間に露出する血管組織に局部適用される。典型的に、局所投与は、組成物の増加した局所濃度を引き起こし、これは全身投与によって達成され得る濃度よりも大きい。

#### 【0100】

非経口 (筋肉内、腹腔内、静脈内 (IV)、または皮下注射) および経腸投与経路による投与のために製剤化されている医薬組成物を記載する。

40

#### 【0101】

##### A. 非経口投与

「非経口投与」および「非経口投与される」という語句は、当技術分野で認識される用語であり、経腸投与および局部投与以外の投与様式、例えば注射を含み、限定なしに、静脈内 (i.v.)、筋肉内 (i.m.)、胸膜内、血管内、心膜内、動脈内、髄腔内、囊内、眼窩内、心臓内、皮内 (intradennal)、腹腔内 (i.p.)、経気管、皮下 (s.c.)、表皮下、関節内、被膜下、くも膜下、脊髄内、および胸骨内の注射および注入を含む。デンドリマーは、非経口、例えば硬膜下、静脈内、髄腔内、脳室内、動脈内、羊

50

膜内、腹腔内、または皮下経路によって投与することができる。

【0102】

液体製剤の場合、薬学的に許容される担体は、例えば水溶液もしくは非水性溶液、懸濁物、乳剤、または油であり得る。非経口ビヒクル（皮下、静脈内、動脈内、または筋肉内注射用）は、例えば塩化ナトリウム溶液、リンゲルデキストロース、デキストロース、および塩化ナトリウム、乳酸加リンゲル、および固定油を含む。非水性溶媒の例は、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、および注射可能有機エステル、例えばオレイン酸エチルである。水性担体は、例えば、食塩水および緩衝化された媒体を含む、水、アルコール/水溶液、シクロデキストリン、乳剤または懸濁物を含む。デンドリマーはまた、乳剤、例えば油中水型乳剤で投与することもできる。油の例は、石油、動物、植物、または合成起源の油、例えば落花生油、ダイズ油、鉱油、オリーブ油、ヒマワリ油、魚肝油、ゴマ油、綿実油、コーン油、オリーブ、ワセリン、および鉱物である。非経口製剤における使用のための適した脂肪酸としては、例えばオレイン酸、ステアリン酸、およびイソステアリン酸が挙げられる。オレイン酸エチルおよびミリスチン酸イソプロピルは、適した脂肪酸エステルの例である。

10

【0103】

非経口投与にとって適した製剤は、抗酸化剤、緩衝液、静菌剤、および製剤を意図されるレシピエントの血液と等張にする溶質、ならびに懸濁化剤、可溶化剤、増粘剤、安定剤、および保存剤を含み得る水性および非水性滅菌懸濁物を含み得る。静脈内ビヒクルは、流体および栄養補充剤、電解質補充剤、例えばリンゲルデキストロースに基づく補充剤を含み得る。一般的に、水、食塩水、水性デキストロース、および関連する糖溶液、およびグリコール、例えばプロピレングリコールまたはポリエチレングリコールは、特に注射可能溶液に関して好ましい液体担体である。

20

【0104】

注射可能組成物のための注射可能医薬担体は、当業者に周知である（例えば、Pharmaceuticalsand Pharmacy Practice, J.B. Lippincott Company, Philadelphia, P A, Banker andChalmers, eds., pages 238-250(1982)、およびASHP Handbook on Injectable Drugs, Trissel, 15th ed., pages 622-630(2009)を参照されたい）。

【0105】

B. 経腸投与

組成物は、経腸投与することができる。担体または希釈剤は、固体担体、例えばカプセル剤または錠剤または固体製剤のための希釈剤、液体担体、または液体製剤のための希釈剤、またはそれらの混合物であり得る。

30

【0106】

液体製剤の場合、薬学的に許容される担体は、例えば水性もしくは非水性溶液、懸濁物、乳剤、または油であり得る。非水性溶媒の例は、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、および注射可能有機エステル、例えばオレイン酸エチルである。水性担体は、例えば食塩水および緩衝化された媒体を含む、水、アルコール/水溶液、シクロデキストリン、乳剤または懸濁物を含む。

40

【0107】

油の例は、石油、動物、植物、または合成起源の油、例えば落花生油、ダイズ油、鉱油、オリーブ油、ヒマワリ油、魚肝油、ゴマ油、綿実油、コーン油、オリーブ、ワセリン、および鉱物である。非経口製剤における使用のために適した脂肪酸としては、例えば、オレイン酸、ステアリン酸、およびイソステアリン酸が挙げられる。オレイン酸エチルおよびミリスチン酸イソプロピルは、適した脂肪酸エステルの例である。

【0108】

ビヒクルは、例えば、塩化ナトリウム溶液、リンゲルデキストロース、デキストロース、および塩化ナトリウム、乳酸加リンゲル、および固定油を含む。製剤は、例えば、抗酸化剤、緩衝液、静菌剤、および製剤を意図されるレシピエントの血液と等張にする溶質を

50

含有し得る水性および非水性の等張滅菌注射溶液、ならびに懸濁化剤、可溶化剤、増粘剤、安定剤、および保存剤を含み得る水性および非水性の滅菌懸濁物を含む。ビヒクルは、例えば流体および栄養補充剤、電解質補充剤、例えばリングルデキストロースに基づく補充剤を含み得る。一般的に、水、食塩水、水性デキストロース、および関連する糖溶液は、好ましい液体担体である。これらはまた、乳児用調製粉乳のタンパク質、脂肪、サッカリド、および他の構成要素と共に製剤化することができる。

#### 【0109】

一部の好ましい実施形態では、組成物は、経口投与のために製剤化される。経口製剤は、チューインガム、ゲルスリップ、錠剤、カプセル剤、またはトローチ剤の形態であり得る。腸溶コーティング経口製剤の調製のための封入物質は、酢酸フタル酸セルロース、酢酸フタル酸ポリビニル、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレートおよびメタクリル酸エステルコポリマーを含む。固体経口製剤、例えばカプセル剤または錠剤が好ましい。エリキシル剤およびシロップ剤もまた、周知の経口製剤である。

10

#### 【0110】

IV. デンドリマーおよびそのコンジュゲートまたは複合体を作製する方法

A. デンドリマーを作製する方法

デンドリマーは、多様な化学反応ステップを介して調製することができる。デンドリマーは通常、あらゆる構築段階でその構造を制御することを可能にする方法に従って合成される。樹枝状構造は多くの場合、2つの主な異なるアプローチ：発散または収束によって合成される。

20

#### 【0111】

一部の実施形態では、デンドリマーは、デンドリマーが多官能性コアから組み立てられ、一連の反応、一般的にマイケル反応によって外側に伸長する発散法を使用して調製される。戦略は、反応基および保護基を保有する単量体分子の、多官能性コア部分とのカップリングを伴い、これはコア周囲の世代の段階的付加をもたらす、その後保護基が除去される。例えば、PAMAM-NH<sub>2</sub>デンドリマーは、N-(2-アミノエチル)アクリルアミド単量体をアンモニアコアにカップリングすることによって最初に合成される。

#### 【0112】

他の実施形態では、デンドリマーは、デンドリマーが球体の表面で終わる低分子から構築され、反応が内向きに進行して内向きに構築し、最終的にコアに付着する収束法を使用して調製される。

30

#### 【0113】

デンドリマーの調製のために多くの他の合成経路、例えば直交型アプローチ、加速アプローチ、二段階収束法、またはハイパーコアアプローチ (hypercore approach)、ハイパーモノマー法 (hypermonomer method)、または分岐モノマーアプローチ、二重指数関数法、直交型カップリング法、または2ステップアプローチ、2モノマーアプローチ、AB<sub>2</sub>-CD<sub>2</sub>アプローチが存在する。

#### 【0114】

一部の実施形態では、デンドリマーのコア、1つもしくは複数の分岐単位、1つもしくは複数のリンカー/スペーサー、および/または1つもしくは複数の表面基を、1つまたは複数の銅補助アジド-アルキン付加環化 (CuAAC)、ディールス-アルダー反応、チオール-エンおよびチオール-イン反応、ならびにアジド-アルキン反応を用いるクリックケミストリーを介してさらなる官能基 (分岐単位、リンカー/スペーサー、表面基等)、単量体、および/または作用物質へのコンジュゲーションを可能にするように修飾することができる (Arseneault M et al., Molecules, 2015 May 20;20(5):9263-94)。一部の実施形態では、事前に作製されたデンドロンを、高密度ヒドロキシルポリマーにクリックする。「クリックケミストリー」は、例えば2つの異なる部分 (例えば、コア基および分岐単位; または分岐単位および表面基) を、第1の部分の表面上のアルキン部分 (またはその等価物) と、第2の部分上のアジド部分 (例えば、トリアジン組成物に存在する、またはその等価物) または任意の活性な末端基、例えば第一級アミン末端基

40

50

、ヒドロキシル末端基、カルボン酸末端基、チオール末端基等)の間の1,3-双極子付加環化反応を介したカップリングを伴う。

【0115】

一部の実施形態では、 dendrimer 合成は、1つまたは複数の反応、例えばチオール-エンクリック反応、チオール-インクリック反応、CuAAC、ディールス-アルダークリック反応、アジド-アルキンクリック反応、マイケル付加、エポキシ開環、エステル化、シランケミストリー、およびそれらの組合せに依存する。

【0116】

任意の既存の樹枝状プラットフォームを使用して、高ヒドロキシル含有部分、例えば1-チオ-グリセロールまたはペンタエリスリトールをコンジュゲートすることによって、  
10 所望の機能性の、すなわち高密度の表面ヒドロキシル基を有する dendrimer を作製することができる。例示的な樹枝状プラットフォーム、例えばポリアミドアミン(PAMAM)、ポリ(プロピレンイミン)(PEI)、ポリ-L-リシン、メラミン、ポリ(エーテルヒドロキシルアミン)(PEHAM)、ポリ(エステルアミン)(PEA)およびポリグリセロールを合成および調べることができる。

【0117】

dendrimer はまた、2つまたはそれより多くの dendron を組み合わせることによっても調製することができる。dendron は、反応性のフォーカルポイント(focal point)官能基を有する dendrimer のくさび形状の区分である。多くの dendron 足場が市販されている。それらは、第1、2、3、4、5、および6世代に入り、それぞれ2、4  
20 8、16、32、および64個の反応基を有する。ある特定の実施形態では、1つのタイプの作用物質が1つのタイプの dendron に連結され、異なるタイプの作用物質が別のタイプの dendron に連結される。次に、2つの dendron を接続して dendrimer を形成する。2つの dendron を、クリックケミストリー、すなわち一方の dendron 上のアジド部分と他方の dendron 上のアルキン部分との間の1,3-双極子付加環化反応を介して連結して、トリアゾールリンカーを形成することができる。

【0118】

dendrimer を作製する例示的な方法は、国際特許公開第WO2009/046446号、第WO2015168347号、第WO2016025745号、第WO2016025741号、第WO2019094952号、および米国特許第8,889,101号  
30 に詳細に記載されている。

【0119】

B. dendrimer 複合体

dendrimer 複合体は、 dendrimer、樹枝状ポリマー、または高分岐ポリマーにコンジュゲートされているまたはそれと複合体を形成している治療剤、予防剤、または診断剤から形成することができる。1つまたは複数の作用物質の dendrimer へのコンジュゲーションは、当技術分野で公知であり、米国公開第US2011/0034422号、第US2012/0003155号、および第US2013/0136697号に詳細に記載されている。

【0120】

一部の実施形態では、1つまたは複数の作用物質は、 dendrimer に共有結合により付着させられる。一部の実施形態では、作用物質は、in vivo で切断されるように設計される連結部分を介して dendrimer に付着させられる。連結部分は、加水分解により、酵素的に、またはそれらの組合せにより切断され、in vivo で作用物質の持続的な放出を提供するように設計することができる。連結部分の組成および作用物質へのその付着点はいずれも、連結部分の切断によって作用物質またはその適したプロドラッグのいずれかが放出されるように選択される。連結部分の組成はまた、作用物質の所望の放出速度を考慮して選択することができる。

【0121】

一部の実施形態では、付着は、ジスルフィド、エステル、エーテル、チオエステル、カ  
50

ルバメート、カーボネート、ヒドラジン、またはアミド連結のうちの1つまたは複数を介して起こる。好ましい実施形態では、付着は、作用物質の所望の放出動態に応じて、作用物質と dendrimer との間にエステル結合またはアミド結合を提供する適切なスペーサーを介して起こる。一部の 경우에는、エステル結合は、作用物質の放出可能形態のために導入される。他の場合には、アミド結合は、作用物質の放出不能形態のために導入される。

#### 【0122】

連結部分は一般的に、1つまたは複数の有機官能基を含む。適した有機官能基の例としては、第二級アミド(-CONH-)、第三級アミド(-CONR-)、スルホンアミド(-S(O)<sub>2</sub>-NR-)、第二級カルバメート(-OCONH-; -NHCOO-)、第三級カルバメート(-OCONR-; -NRCOO-)、カーボネート(-O-C(O)-O-)、尿素(-NHCONH-; -NRCONH-; -NHCONR-、-NRCOONR-)、カルピノール(-CHOH-、-CROH-)、ジスルフィド基、ヒドラゾン、ヒドラジド、エーテル(-O-)、およびエステル(-COO-、-CH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>C-、-CHRO<sub>2</sub>C-)が挙げられ、式中Rは、アルキル基、アリール基、または複素環基である。一般的に、連結部分内の1つまたは複数の有機官能基の正体は、作用物質の所望の放出速度を考慮して選択される。加えて、1つまたは複数の有機官能基は、作用物質の dendrimer への共有結合による付着を容易にするように選択することができる。好ましい実施形態では、付着は、作用物質と dendrimer との間にジスルフィド架橋を提供する適切なスペーサーを介して起こり得る。dendrimer 複合体は、体内で見出される還元条件下で、チオール交換反応による *in vivo* での作用物質の迅速な放出が可能である。

10

20

#### 【0123】

ある特定の 実施形態では、連結部分は、スペーサー基と組み合わせた上記の有機官能基の1つまたは複数を 含む。スペーサー基は、オリゴマー鎖およびポリマー鎖を含む原子の任意のアセンブリから構成され得る; しかし、スペーサー基中の原子の総数は、好ましくは3~200個の原子の間、より好ましくは3~150個の原子の間、より好ましくは3~100個の原子の間、最も好ましくは3~50個の原子の間である。適したスペーサー基の例としては、アルキル基、ヘテロアルキル基、アルキルアリール基、オリゴおよびポリエチレングリコール鎖、ならびにオリゴおよびポリ(アミノ酸)鎖が挙げられる。スペーサー基の変形形態は、*in vivo* で作用物質の放出に対するさらなる制御を提供する。連結部分がスペーサー基を含む実施形態では、1つまたは複数の有機官能基は、一般的にスペーサー基を、抗炎症剤および dendrimer の両方に接続するために使用される。

30

#### 【0124】

作用物質の dendrimer への共有結合による付着のために有用な反応および戦略は、当技術分野で公知である。例えば、March, "Advanced Organic Chemistry," 5th Edition, 2001, Wiley-Interscience Publication, New York) および Hermanson, "Bioconjugate Techniques," 1996, Elsevier Academic Press, U.S.A. を参照されたい。所与の作用物質の共有結合による付着のための適切な方法は、それが官能基の適合性、保護基戦略、および不安定な結合の存在に関連することから、所望の連結部分、ならびに作用物質および dendrimer の全体としての構造を考慮して選択することができる。

40

#### 【0125】

最適な薬物負荷は、必然的に薬物の選択、dendrimer 構造およびサイズ、ならびに処置される組織を含む多くの要因に依存する。一部の 実施形態では、1つまたは複数の作用物質は、約0.01重量%~約45重量%、好ましくは約0.1重量%~約30重量%、約0.1重量%~約20重量%、約0.1重量%~約10重量%、約1重量%~約10重量%、約1重量%~約5重量%、約3重量%~約20重量%、および約3重量%~約10重量%の濃度で dendrimer に封入、会合、および/またはコンジュゲートされている。しかし、任意の所与の薬物、dendrimer、および標的部 位に関する最適な薬物負荷は、記載される方法などの通常の方法によって同定され得る。

#### 【0126】

50

一部の実施形態では、作用物質および/またはリンカーのコンジュゲーションは、1つまたは複数の表面基および/または内部基を通して起こる。このように、一部の実施形態では、作用物質/リンカーのコンジュゲーションは、コンジュゲーション前の dendrimer の利用可能な総表面官能基、好ましくはヒドロキシル基の約1%、2%、3%、4%、または5%を介して起こる。他の実施形態では、作用物質/リンカーのコンジュゲーションは、コンジュゲーション前の dendrimer の利用可能な総表面官能基の5%未満、10%未満、15%未満、20%未満、25%未満、30%未満、35%未満、40%未満、45%未満、50%未満、55%未満、60%未満、65%未満、70%未満、75%未満で起こる。好ましい実施形態では、dendrimer 複合体は、特定の細胞タイプを標的化するために有効量の表面官能基を保持するが、疾患または障害を処置する、防止する、および/またはイメージングするために有効量の作用物質にコンジュゲートされている。

10

【0127】

## V. 使用方法

dendrimer 複合体組成物を使用する方法もまた記載される。好ましい実施形態では、dendrimer 複合体は、機能不全のまたは損傷した BBB を通過し、活性化ミクログリアおよびアストロサイトを標的化する。方法は、中性スフィンゴミエリナーゼ2 (nSMase2) の上昇したレベルおよび/または活性に関連する1つまたは複数の状態および/または疾患を処置するために使用することができる。方法はまた、セラミドの上昇したレベルおよび/または活性に関連する1つまたは複数の状態および/または疾患を処置するためにも使用することができる。一部の実施形態では、方法は、エクソソームの生合成を有効に低減するために使用される。方法は、1つまたは複数の nSMase2 の阻害剤と複合体を形成した、それにコンジュゲートされている、またはそれが封入されている dendrimer を含む有効量の組成物を、それを必要とする対象に投与することを含む。好ましい実施形態では、方法は、2,6-ジメトキシ-4-(5-フェニル-4-(チオフェン-2-イル)-1H-イミダゾール-2-イル)フェノール (DPTIP)、またはその誘導体もしくはアナログ、もしくは薬学的に許容される塩と複合体を形成している、またはそれにコンジュゲートされている dendrimer を含む有効量の組成物を対象に投与することを含む。

20

【0128】

## A. 処置方法

dendrimer 組成物およびその製剤は、感染症、炎症、またはがんに関連する障害、特に神経系、特に CNS へと広がる全身炎症を有する障害を処置するために投与することができる。組成物はまた、消化管障害、増殖疾患を含む他の疾患、障害、および傷害の処置、ならびに神経が疾患または障害において役割を果たす他の組織の処置のためにも使用することができる。組成物および方法はまた、予防的使用にとっても適している。

30

【0129】

典型的に、dendrimer の、1つまたは複数の治療、予防、および/または診断活性剤との組合せを含む dendrimer 複合体の有効量が、それを必要とする個体に投与される。dendrimer はまた、標的化剤も含み得るが、実施例によって実証されるように、これらは脊髄および脳の傷害を受けた組織への送達にとって必要ではない。

40

【0130】

一部の実施形態では、dendrimer 複合体は、in vivo で見出される還元条件下で細胞内に薬物を優先的に放出することが可能な dendrimer に付着またはコンジュゲートされている作用物質(複数可)を含む。作用物質は、共有結合により付着させられるか、または分子内に分散されるか、または封入され得る。対象に投与される dendrimer 複合体の量は、対照、例えば dendrimer を含まない活性剤によって処置した対象と比較して、処置される疾患または障害の1つまたは複数の臨床または分子的症状を低減する、防止する、またはそうでなければ緩和するために有効な量を送達するように選択される。

【0131】

## B. 処置される状態

50

組成物は、眼、脳、および神経系における1つまたは複数の疾患、状態、および傷害、特にミクログリアおよびアストロサイトの病的な活性化に関連するもの、がん、感染疾患、ならびに炎症障害を処置するために適している。

#### 【0132】

ミクログリアは、脳および脊髄全体に位置する1つのタイプのニューログリア（グリア細胞）である。ミクログリアは、脳内で見出される全ての細胞の10～15%を占める。常在マクロファージ細胞として、それらは中枢神経系（CNS）における最初の主な形態の活性化免疫防御として作用する。ミクログリアは、CNS傷害後に重要な役割を果たし、傷害の時期およびタイプに基づいて保護効果および有害な効果の両方を有し得る（Kretzberg, G. W. Trends in Neurosciences, 19, 312(1996); Watanabe, H., et al., Neuroscience Letters, 289, 53(2000); Polazzi, E., et al., Glia, 36, 271(2001); Mallard, C., et al., Pediatric Research, 75, 234(2014); Faustino, J. V., et al., The Journal of Neuroscience: The Official Journal Of The Society For Neuroscience, 31, 12992(2011); Tabas, I., et al., Science, 339, 166(2013); および Aguzzi, A., et al., Science, 339, 156(2013)）。ミクログリア機能における変化もまた、正常なニューロンの発達およびシナプス刈り込みに影響を及ぼす（Lawson, L. J., et al., Neuroscience, 39, 151(1990); Giulian, D., et al., The Journal Of Neuroscience: The Official Journal Of The Society For Neuroscience, 13, 29(1993); Cunningham, T. J., et al., The Journal of Neuroscience: The Official Journal Of The Society For Neuroscience, 18, 7047(1998); Zietlow, R., et al., The European Journal Of Neuroscience, 11, 1657(1999); および Paolicelli, R. C., et al., Science, 333, 1456(2011)）。ミクログリアは、傷害後に形態学における、枝状に分かれた構造からアメーバ様構造への顕著な変化を経て、増殖する。結果としての神経炎症が、傷害部位で血液脳関門を破壊し、急性および慢性のニューロンおよび希突起膠細胞の死を引き起こす。したがって、炎症促進性ミクログリアを標的化することは、強力かつ有効な治療戦略となるはずである。神経炎症疾患において機能不全のBBBは、ナノ粒子を運ぶ薬物の脳への輸送のために利用することができる。

#### 【0133】

##### 1. 神経疾患および神経変性疾患

デンドリマー組成物およびその製剤を使用して、1つまたは複数の神経疾患および神経変性疾患を診断および/または処置することができる。組成物および方法は、スフィンゴミエリンを含むスフィンゴ脂質の代謝および機能の欠陥に関連する1つまたは複数の神経疾患または神経変性疾患を処置するために特に適している。一部の実施形態では、疾患または障害は、これらに限定されないが、一部の精神障害（例えば、うつ病、統合失調症（SZ）、アルコール使用障害、およびモルヒネ抗侵害受容耐性）および神経障害（例えば、アルツハイマー病（AD）、パーキンソン病（PD））から選択される。一実施形態では、デンドリマー複合体は、アルツハイマー病（AD）または認知症を処置するために使用される。

#### 【0134】

神経変性疾患は、神経学および行動機能に影響を及ぼし、別個の組織病理学および臨床症状をもたらす生化学変化を伴う神経系の慢性の進行性障害である（Hardy H, et al., Science, 1998; 282:1075-9）。細胞分解機構に抵抗性の異常なタンパク質が、細胞内に蓄積する。ニューロン喪失パターンは、1つの群が影響を受けるが、他は無傷のままであるという意味において選択的である。疾患の明確な誘発事象はないことが多い。神経変性として古典的に記載される疾患は、アルツハイマー病、ハンチントン病、およびパーキンソン病である。

#### 【0135】

活性化ミクログリアおよびアストロサイトによって媒介される神経炎症は、様々な神経障害の主な顕著な特徴であり、それによって可能性がある治療標的となる（Hagberg, H

10

20

30

40

50

et al., *Annals of Neurology* 2012, 71, 444; Vargas, DL et al., *Annals of Neurology* 2005, 57, 67; および Pardo, CA et al., *International Review of Psychiatry* 2005, 17, 485)。これらの細胞を標的化することによって初期に神経炎症を軽減すると、疾患の開始を遅らせることができ、そして処置に関してより長い治療域を提供することができることは、複数の科学的な報告が示唆している (Dommergues, MA et al., *Neuroscience* 2003, 121, 619; Perry, VH et al., *Nat Rev Neurol* 2010, 6, 193; Kannan, S et al., *Sci. Transl. Med.* 2012, 4, 130ra46; および Block, ML et al., *Nat Rev Neurosci* 2007, 8, 57)。血液脳関門を超える治療薬の送達は、難しい問題である。神経炎症は、血液脳関門 (BBB) の破壊を引き起こす。神経炎症障害における機能不全の BBB を利用して、薬物を負荷したナノ粒子を脳にわたり輸送することができる (Stolp, HB et al., *Cardiovascular Psychiatry and Neurology* 2011, 2011, 10; および Ahishali, B et al., *International Journal of Neuroscience* 2005, 115, 151)。

10

## 【0136】

組成物および方法を使用して、神経もしくは神経変性疾患もしくは障害、または中枢神経系の障害の処置のために活性剤を送達することもできる。好ましい実施形態では、組成物および方法は、神経もしくは神経変性疾患もしくは障害、または中枢神経系の障害に関連する神経炎症を処置するおよび/または緩和するために有効である。方法は典型的に、認知を増加させる、または認知の低下を低減する、認知機能を増加させる、または認知機能の低下を低減させる、記憶を増加させる、または記憶の低下を低減する、学習能もしくは学習能力を増加させる、または学習能もしくは学習能力の低下を低減する、またはそれらの組合せを行うために有効量の組成物を対象に投与することを含む。

20

## 【0137】

神経変性は、ニューロンの死滅を含むニューロンの構造または機能の進行性の喪失を指す。例えば、組成物および方法を使用して、疾患または障害、例えばパーキンソン病 (PD) および PD 関連障害、ハンチントン病 (HD)、筋萎縮性側索硬化症 (ALS)、アルツハイマー病 (AD) および他の認知症、プリオン病、例えばクロイツフェルト-ヤコブ病、大脳皮質基底核変性症、前頭側頭型認知症、HIV 関連認知障害、軽度の認知障害、運動ニューロン病 (MND)、脊髄小脳失調症 (SCA)、脊髄性筋萎縮症 (SMA)、フリードライヒ運動失調症、レビー小体病、アルパーズ病、バッテン病、脳-眼-顔-骨格症候群、大脳皮質基底核変性症、ゲルストマン-ストロイスラー-シャインカー病、クーラー、リー病、単肢性筋萎縮症、多系統萎縮症、起立性低血圧を伴う多系統萎縮症 (シャイ-ドレーガー症候群)、多発性硬化症 (MS)、デュシェンヌ型筋ジストロフィー (DMD)、脳内鉄蓄積を伴う神経変性、オプソクローヌスミオクローヌス、後部皮質萎縮症、原発性進行性失語症、進行性核上性麻痺、脳血管性認知症、進行性多巣性白質脳症、レビー小体型認知症 (DLB)、ラクナ症候群、水頭症、ウェルニッケ-コルサコフ症候群、脳炎後認知症、がん、および化学療法関連認知障害および認知症、ならびにうつ病誘発性認知症および仮性認知症を有する対象を処置することができる。

30

## 【0138】

さらなる実施形態では、疾患または障害は、これらに限定されないが、注射部位アミロイドーシス (injection-localized amyloidosis)、脳アミロイド血管障害、ミオパチー、ニューロパチー、脳外傷、前頭側頭型認知症、ピック病、多発性硬化症、プリオン障害、2型真性糖尿病、致死性家族性不眠症、心不整脈、孤立性心房性アミロイドーシス、アテローム性動脈硬化症、関節リウマチ、家族性アミロイドポリニューロパチー、遺伝性非ニューロパチー性全身アミロイドーシス、フィンランド型アミロイドーシス、格子状角膜ジストロフィー、全身性 AL アミロイドーシス、およびダウン症候群から選択される。好ましい実施形態では、疾患または障害は、アルツハイマー病または認知症である。

40

## 【0139】

特定の神経学的要因の向上を評価する基準は、認知スキル、運動スキル、記憶能力等を評価する方法、ならびに中枢神経系の選択された領域の物理的变化を評価するための方法

50

、例えば磁気共鳴画像法（MRI）およびコンピューター断層撮影（CT）、または他のイメージング方法を含む。そのような評価方法は、医学、神経学、心理学等の分野において周知であり、特定の神経機能不全の状態を診断するために適切に選択することができる。アルツハイマー病の変化または関連する神経学的変化を評価するために、選択された評価（assessment）もしくは評価（evaluation）試験または複数の試験を、デンドリマー組成物の投与開始前に行う。この最初の評価後、デンドリマー組成物の投与のための処置方法を開始し、様々な期間継続する。神経欠損障害が最初に評価された後の選択された期間で、同じ評価（assessment）もしくは評価（evaluation）試験（複数可）を再度使用して、選択された神経学的基準の変化または向上を再評価する。

【0140】

a. アルツハイマー病および認知症

アルツハイマー病（AD）患者の脳は、エクソソーム膜の必須の構成要素であるセラミドの上昇を示す。セラミドの1つの主要な供給源は、中性スフィンゴミエリナーゼ2（nSMase2）によって触媒されるスフィンゴミエリンの加水分解を通してである。最近の研究は、慢性的に活性化されたnSMase2が、エクソソーム分泌におけるその役割を通してAb凝集およびタウ伝播の両方に関係することを示している。

【0141】

デンドリマー組成物は、神経疾患、例えばアルツハイマー病および認知症の発生および進行に関連する1つまたは複数の病理プロセスを低減または防止するために適している。このように、アルツハイマー病に関連する病理プロセスの処置、低減、および防止のため 20の方法であって、アルツハイマー病または認知症に罹患している個体における脳および/または血清中のエクソソーム、脳および/または血清中のセラミドレベル、血清中の抗セラミドIgG、グリア活性化、総Aβ42、およびプラーク負荷、タウのリン酸化/伝播を低減させるために、ならびに学習タスク、例えば恐怖条件付け学習タスクにおける認知の向上のために有効な量および投薬レジメンでデンドリマー組成物を投与することを含む方法が提供される。アルツハイマー病または認知症に罹患している個体における学習および/または記憶の欠如を低減する、防止する、または逆転させるための方法が提供される。方法は、スフィンゴミエリナーゼの1つまたは複数の阻害剤と複合体を形成している、それにコンジュゲートされている、またはそれが封入されているデンドリマーを含む有効量の組成物を、それを必要とする対象に投与することを含む。好ましい実施形態では、方法 30は、2,6-ジメトキシ-4-(5-フェニル-4-(チオフェン-2-イル)-1H-イミダゾール-2-イル)フェノール(DPTIP)、またはその誘導体もしくはアナログ、もしくは薬学的に許容される塩と複合体を形成しているまたはそれにコンジュゲートされているデンドリマーを含む有効量の組成物を対象に投与することを含む。

【0142】

一部の実施形態では、デンドリマー組成物は、それを必要とする対象における神経増強を誘導するために有効な量および投薬レジメンで投与される。デンドリマー組成物の投与に起因する神経増強は、新規ニューロンの生成をもたらす神経有糸分裂の刺激または誘導、すなわち神経原性効果を示すこと、神経喪失速度の減少を含む神経喪失の防止または遅延、すなわち神経保護効果を示すこと、またはこれらの作用機序の1つまたは複数を含む 40。「神経保護効果」という用語は、個体のニューロン、神経突起、および神経ネットワークの劣化、機能不全、または死滅の防止、遅延、および/または終止を含むと意図される。組成物の投与は、神経疾患、神経傷害、または加齢関連ニューロン減少もしくは機能不全を有する個体における神経機能の向上、または増強をもたらす。

【0143】

神経の劣化は、神経喪失をもたらす可能性が高い、神経機能を損なう任意の状態の結果であり得る。神経機能は、例えばその神経突起を含むニューロンの変更された生化学、生理学、または解剖学的構造によって損なわれ得る。ニューロンの劣化は、膜、樹状突起、またはシナプスの変化を含み得るが、これらはニューロンが正常に機能するために有害である。ニューロンの劣化、機能不全、および/または死滅の原因は不明であり得る。ある 50

10

20

30

40

50

いは、これは、個体の神経系で起こる加齢、傷害、および/または疾患に関連する神経学的変化の結果であり得る。

【0144】

アルツハイマーの患者では、神経喪失は、海馬、前頭葉、頭頂、および前頭側頭皮質、扁桃核、および嗅覚系において最も顕著である。最も顕著に影響を受ける海馬の区域は、CA1領域、海馬台、および嗅内皮質を含む。海馬は、記憶において決定的な役割を果たすことが周知であることから、記憶喪失は、最も初期の最も代表的な認知変化であると考えられている。

【0145】

疾患、加齢関連減少または物理的傷害を通しての神経喪失は、神経疾患および機能不全をもたらす。組成物は、新規ニューロン、新規神経突起、および/または神経接続の発達を促進して、既存の神経細胞、神経突起、および/もしくは神経接続の神経保護、または1つもしくは複数のこれらのプロセスをもたらすことによって、神経喪失の有害な効果に対抗することができる。このように、組成物の神経増強特性は、変性疾患、加齢、および物理的傷害または外傷に関連する神経喪失を一般的に逆転するための有効な戦略を提供する。

10

【0146】

デンドリマー組成物の、アルツハイマー病の結果として神経喪失を受けているまたは受けた個体への投与は、アルツハイマー病または認知症を含む関連する認知障害の任意の1つまたは複数の症状を低減する。処置、低減、または防止することができるADまたは認知症の臨床症状は、軽度のAD、中等度のAD、および/もしくは重度のAD、または認知症の臨床症状を含む。

20

【0147】

軽度のアルツハイマー病では、当人は健康であるように見えるかもしれないが、自身の周囲の世界の意味を理解することが次第に難しくなる。何かが間違っているという認識がしばしば、当人およびその家族に徐々に起こる。軽度のアルツハイマー病/軽度の認知症の例示的な症状としては、これらに限定されないが、記憶喪失；間違った決定をもたらす判断不良；自発性および率先性（initiative）の感覚の喪失；通常の日常タスクを完了するためにより長い時間がかかる；繰り返し質問する；お金を扱うおよび料金を支払うことが難しい；徘徊し、迷子になる；ものを忘れる、または間違った場所に置く；気分および人格の変化、ならびに不安および/または攻撃性の増加が挙げられる。

30

【0148】

中等度のアルツハイマー病/中等度の認知症の症状としては、これらに限定されないが、物忘れ；記憶喪失および錯乱の増加；新しいことを学習できない；発語困難および読み、書き、および数を扱うことが難しい；思考を整理することおよび論理的に考えることが難しい；集中する期間が短い；新しい状況に対処することが難しい；多段階タスク、例えば服を着ることを行うことが難しい；家族および友人を認識することが難しい；幻覚、妄想、およびパラノイア；不適切な時間もしくは場所で服を脱ぐまたは下品な言葉を使うなどの衝動行動；不適切な怒りの爆発；落ち着きのなさ、激越、不安、涙もろい、徘徊（特に、午後遅くまたは夜）；発言または動作の繰り返し、時に筋肉の単収縮が挙げられる。

40

【0149】

重度のアルツハイマー病/重度の認知症の症状としては、これらに限定されないが、コミュニケーションできない；体重減少；発作；皮膚感染症；嚥下困難；うめき声、愚痴、またはうなり声（grunting）；睡眠の増加；腸および膀胱制御の喪失が挙げられる。

【0150】

アルツハイマー病/認知症の生理的症狀は、脳質量の低減、例えば海馬体積の低減を含む。したがって、一部の実施形態では、本開示の組成物を投与する方法は、無処置対照対象と比較して、対象の脳質量を増加させる、および/または脳質量の減少速度を低減もしくは防止する；対象の海馬体積を増加させる、海馬体積の減少速度を低減もしくは防止する。

50

## 【0151】

組成物は、脳エクソソーム、セラミドレベル、血清中抗セラミド I g G、グリア活性化、総 A<sub>42</sub> およびブランク負荷、タウのリン酸化を低減する、恐怖条件付け学習タスクにおける認知を向上させる、およびその組合せを行うために有効な量で投与される。

## 【0152】

デンドリマー組成物は、個体への投与の際に、1つまたは複数の治療剤（例えば、スフィンゴミエリナーゼの阻害剤）の有効量を提供するように投与される。この文脈で使用される場合、1つまたは複数の治療剤の「有効量」は、神経欠損または認知低下もしくは認知機能障害を含む、アルツハイマー病または認知症に関連する1つまたは複数の症状を向上させるまたは改善するために有効な量である。そのような治療効果は一般的に、1つまたは複数の神経増強剤の有効量を含む組成物の投与を開始して約12～約24週間以内に観察されるが、治療効果は、12週未満または24週より後に観察され得る。

10

## 【0153】

個体は、好ましくは成人であり、より好ましくは、ヒトはアルツハイマー病または認知症の結果としてある程度の量の神経機能を失っている年齢30歳を超えているヒトである。一般的に、神経喪失は、神経突起、神経組織化、または神経ネットワークの喪失を含む、細胞レベルでの任意の神経喪失を意味する。

## 【0154】

他の実施形態では、方法は、デンドリマー組成物による処置から利益が得られる可能性が高い対象を選択することを含む。例えば、患者のCSF中のセラミドレベルを最初に決定し、健康な対照のレベルと比較する。一部の実施形態では、デンドリマー組成物は、健康な対照のもの比べてCSFまたは血清中の上昇したセラミド濃度を有する患者に投与される。他の実施形態では、デンドリマー組成物は、健康な対照のもの比べて脳および/または血清中エクソソームの量が増加した患者に投与される。他の実施形態では、デンドリマー組成物は、健康な対照のもの比べて血清中抗セラミド I g Gレベルが増加した患者に投与される。他の実施形態では、デンドリマー組成物は、n S M a s e 2、T R E M 2、L R R K 2、およびR I P K 1などのミクログリアにおける1つまたは複数の酵素または受容体媒介機構を伴う変更されたまたは異常な代謝活性を有する患者に投与される。

20

## 【0155】

## 2. がん

一部の実施形態では、デンドリマー組成物およびその製剤は、それを必要とする対象におけるがんを処置するための方法において使用される。それを必要とする対象におけるがんを処置するための方法は、治療有効量のデンドリマー組成物を対象に投与することを含む。

30

## 【0156】

好ましい場合では、デンドリマー組成物およびその製剤は、腫瘍の成長を阻害する、腫瘍のサイズを低減する、長期の生存率を増加させる、免疫チェックポイント遮断に対する応答を向上させる、および/または腫瘍再チャレンジに対して保護する免疫学的記憶を誘導するために有効な量で投与される。

40

## 【0157】

患者におけるがんは、がんを引き起こす細胞の典型である特徴、例えば制御されない増殖、特殊化した機能の喪失、不死性、顕著な転移能、抗アポトーシス活性の大幅な増加、急速な成長および増殖速度、ならびにある特定の特徴的な形態学および細胞マーカーを保有する細胞の存在を指す。一部の状況では、がん細胞は、腫瘍の形態である；そのような細胞は、動物内の局所に存在するか、または独立した細胞、例えば白血病細胞として血流中を循環し得る。腫瘍は、悪性であるか良性であるかによらず、全ての新生物細胞の成長および増殖、ならびに全ての前がん性およびがん性細胞および組織を指す。固形腫瘍は、一般的に嚢胞も液体領域も含有しない組織の異常な塊である。固形腫瘍は、非限定的な例として、脳、結腸、乳房、前立腺、肝臓、腎臓、肺、食道、頭頸部、卵巣、子宮頸部、胃

50

、結腸、直腸、膀胱、子宮、精巣、および膵臓に存在し得る。一部の実施形態では、固形腫瘍は、固形腫瘍を本開示の方法によって処置した後に退縮するかまたはその成長が遅くなるもしくは停止する。他の実施形態では、固形腫瘍は悪性である。一部の実施形態では、がんはステージⅠのがんを含む。一部の実施形態では、がんはステージⅡのがんを含む。一部の実施形態では、がんはステージⅢのがんを含む。一部の実施形態では、がんはステージⅣのがんを含む。一部の実施形態では、がんは、不応性および/または転移性である、例えば、がんは、放射線療法、化学療法による処置、または免疫療法による単独処置に対して不応性であり得る。がんは、新たに診断されたまたは再発性のがんを含み、これらは、以下に限定せず、急性リンパ芽球性白血病、急性骨髄性白血病、進行性軟部組織肉腫、脳がん、転移性または侵襲性乳がん、乳癌、気管支原性癌、絨毛癌、慢性骨髄性白血病、結腸癌、結腸直腸癌、ユーイング肉腫、消化管癌、神経膠腫、多形膠芽腫、頭頸部扁平上皮癌、肝細胞癌、ホジキン病、頭蓋内上衣芽腫、大腸がん、白血病、肝臓がん、肺癌、ルイス肺癌、リンパ腫、悪性線維性組織球腫、乳腺腫瘍、黒色腫、中皮腫、神経芽腫、骨肉腫、卵巣がん、膵臓がん、脳橋腫瘍、閉経前乳がん、前立腺がん、横紋筋肉腫、細網肉腫、肉腫、小細胞肺がん、固形腫瘍、胃がん、精巣がん、および子宮癌を含む。一部の実施形態では、がんは急性白血病である。一部の実施形態では、がんは急性リンパ芽球性白血病である。一部の実施形態では、がんは急性骨髄性白血病である。一部の実施形態では、がんは進行性軟部組織肉腫である。一部の実施形態では、がんは脳がんである。一部の実施形態では、がんは乳がん（例えば、転移性または侵襲性乳がん）である。一部の実施形態では、がんは乳癌である。一部の実施形態では、がんは気管支原性癌である。一部の実施形態では、がんは絨毛癌である。一部の実施形態では、がんは慢性骨髄性白血病である。一部の実施形態では、がんは結腸癌（例えば、腺癌）である。一部の実施形態では、がんは結腸直腸がん（例えば、結腸直腸癌）である。一部の実施形態では、がんはユーイング肉腫である。一部の実施形態では、がんは消化管癌である。一部の実施形態では、がんは神経膠腫である。一部の実施形態では、がんは多形膠芽腫である。一部の実施形態では、がんは頭頸部扁平上皮癌である。一部の実施形態では、がんは肝細胞癌である。一部の実施形態では、がんはホジキン病である。一部の実施形態では、がんは頭蓋内上衣芽腫である。一部の実施形態では、がんは大腸がんである。一部の実施形態では、がんは白血病である。一部の実施形態では、がんは肝臓がんである。一部の実施形態では、がんは肺がん（例えば、肺癌）である。一部の実施形態では、がんはルイス肺癌である。一部の実施形態では、がんはリンパ腫である。一部の実施形態では、がんは悪性線維性組織球腫である。一部の実施形態では、がんは、乳腺腫瘍を含む。一部の実施形態では、がんは黒色腫である。一部の実施形態では、がんは中皮腫である。一部の実施形態では、がんは神経芽腫である。一部の実施形態では、がんは骨肉腫である。一部の実施形態では、がんは卵巣がんである。一部の実施形態では、がんは膵臓がんである。一部の実施形態では、がんは脳橋腫瘍を含む。一部の実施形態では、がんは閉経前乳がんである。一部の実施形態では、がんは前立腺がんである。一部の実施形態では、がんは横紋筋肉腫である。一部の実施形態では、がんは細網肉腫である。一部の実施形態では、がんは肉腫である。一部の実施形態では、がんは小細胞肺がんである。一部の実施形態では、がんは固形腫瘍を含む。一部の実施形態では、がんは胃がんである。一部の実施形態では、がんは精巣がんである。一部の実施形態では、がんは子宮癌である。一部の実施形態では、がんは多発性骨髄腫である。一部の実施形態では、がんは皮膚がんである。一部の実施形態では、がんは十二指腸がんである。

【 0 1 5 8 】

### 3 . 心疾患

一部の実施形態では、デンドリマー組成物およびその製剤は、それを必要とする対象における心疾患を処置するための方法に使用される。心疾患を処置するための方法は、治療有効量のデンドリマー組成物を対象に投与することを含む。特定の実施形態では、心疾患は、心筋細胞肥大、線維芽細胞由来心肥大、心不全、心肥大、拡張型および/もしくは収縮型心室機能不全を伴う心筋疾患、ならびに/または線維症、大動脈狭窄、心房細動、心

筋症の遺伝性形態、心蓄積病 (cardiac storage disease)、および/もしくはファミリー病を伴う心血管疾患である。

【0159】

4. 感染疾患

製剤は、ウイルス、細菌、寄生生物、および真菌感染症に起因する疾患、またはそれに関連する炎症を処置するために有効である。

【0160】

例示的な感染症を引き起こす因子としては、ヒト免疫不全ウイルス (HIV)、ジカウイルス、C型肝炎、E型肝炎、狂犬病、ランガットウイルス (LGTV)、デングウイルス (DENV)、サイトメガロウイルス (HCMV)、およびニューカッスル病ウイルス (NDV)、Clostridium perfringens由来のイプシロン毒素、およびEscherichia coli由来の志賀毒素が挙げられる。例えば、EVは、ヒト免疫不全ウイルス (HIV) 感染症の伝播に関係している (Caobi, A. et al., Viruses 12(10), 1200(2020)において論評されている)。HIV感染細胞から放出されたEVは、HIVアクセサリタンパク質および標的細胞をHIV感染症に対してより受容性にする共受容体を有する。加えて、ビリオンは、EVと物理的に会合し得、それによって免疫の監視を回避し、感染力を増加させることが可能となり得る。HIV-1感染CD4+T細胞からのEVが、休止CD4+Tリンパ球における休眠期ウイルスリザーバーからのHIV-1再活性化を誘導することができることも示されている (Chiozzini, C. et al. Archives of Virology 162(9), 2565-2577(2017))。細胞培養実験では、感染CD4+T細胞からのEVの放出をnSMase 2阻害剤GW4869およびスピロエポキシドによって遮断すると、健康なCD4+Tリンパ球の樹状細胞媒介性の感染が低減した。

【0161】

HIVに加えて、nSMase 2阻害剤は、ジカウイルスに対しても治療の有望性を示している。ヒト胎児アストロサイトにおけるジカ感染症は、EVおよびウイルス粒子の放出を増加させることが示された；ウイルス粒子の一部は、EV内にパッケージングされた。GW4869を介してEV放出を阻害することは、ジカウイルス伝播の減少をもたらした (Huang, Y. et al., Cell discovery 4, 19-19(2018))。類似の知見は、ジカウイルスがウイルスRNAを含有するEV放出の増強をもたらすマウスニューロン細胞培養において観察された。siRNAを使用してnSMase 2をサイレンシングするかまたはGW4869により酵素を薬理的に阻害することは、EV放出を低減させ、ウイルスRNAレベルを減少させた [101]。nSMase 2阻害剤の有効性はまた、C型肝炎、E型肝炎、狂犬病、ランガットウイルス (LGTV)、デングウイルス (DENV)、サイトメガロウイルス (HCMV)、およびニューカッスル病ウイルス (NDV) においても調べられている。

【0162】

一部の実施形態では、デンドリマー組成物およびその製剤は、特に活性化ミクログリアおよびアストロサイトがウイルスによって標的化される/ウイルスに感染する場合に、ウイルス複製、ウイルス負荷、および/またはウイルス放出を低減または阻害するために使用される。

【0163】

Clostridium perfringensによって産生されるイプシロン毒素は、有蹄類 (undulates) の致死性細菌感染症であり、曝露された腎細胞においてセラミド産生を増強することが示された。曝露された腎細胞のGW4869による処置により、細胞死を低減した (Takagishi, T. et al., Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes 1858(11), 2681-2688 (2016))。GI、腎臓、およびCNSの病態に関連するEscherichia coliのある特定の株によって放出される細菌志賀毒素は、曝露されたマクロファージに由来するEVにパッケージングされることが見出された。これらのEVは、ナイーブなHK-2腎上皮細胞において細胞死を誘導

10

20

30

40

50

した。腎上皮細胞死の割合は、EV放出がnSMase 2阻害によって遮断されると改善した (Lee, K.-S. et al., Cellular Microbiology n/a(n/a), e13249(2020))。

【0164】

したがって、 dendriマー組成物およびその製剤は、1つまたは複数の細菌、寄生生物、真菌、もしくはウイルス感染症、またはそれに関連する炎症を処置するための方法において使用される。

【0165】

5. 炎症疾患

EVは、気道疾患に対する炎症応答に関係することが示されている。アレルギー性気道炎症のマウスモデルでは、nSMase 2阻害剤GW4869による処置は、より少ない肺マクロファージ、ならびに改善された気道過敏応答性および気管支病態をもたらした (Kulshreshtha, A. et al., Journal of Allergy and Clinical Immunology 131(4), 1194-1203.e1114(2013))。

10

【0166】

nSMase 2を阻害することは、虚血-再灌流(IR)傷害の転帰を改善することができる。前臨床での脳虚血モデルでは、脳組織からの炎症促進性EV放出をGW4869によって遮断すると、CD86レベルの減少およびCD206レベルの増加、ならびに炎症マーカーの低減によって測定した場合に、皮質および海馬においてより少ないIba1+細胞、ならびにミクログリアの炎症促進性状態から抗炎症状態へのシフトをもたらされた (Gao, G. et al., Frontiers in immunology 11, 161-161(2020); Gu, L. et al., Journal of Neuroinflammation 10(1), 879(2013))。

20

【0167】

慢性の内皮炎症は、アテローム性動脈硬化症に関係する。高血圧の患者では、エンドセリン-1が上昇し、nSMase 2を活性化し、これが血管細胞接着タンパク質1(VCAM-1)および血管炎症を増加させ、小動脈のリモデリングをもたらす。nSMase 2をGW4869によって阻害すると、ラット腸間膜の小動脈においてVCAM-1発現が低下する (Ohanian, J. et al., Journal of Vascular Research 49(4), 353-362(2012))。

【0168】

したがって、 dendriマー組成物およびその製剤は、1つまたは複数の炎症疾患を処置するための方法において使用される。例示的な炎症疾患としては、気道炎症、アレルギー性気道炎症、アテローム性動脈硬化症、脳虚血、肝虚血再灌流傷害、心筋梗塞、および敗血症が挙げられる。

30

【0169】

C. 投薬量および有効量

投薬量および投薬レジメンは、障害または傷害の重症度および性質、ならびに投与の経路およびタイミングに依存し、当業者によって決定され得る。神経疾患または神経変性疾患の処置に使用される dendriマー組成物の治療有効量は、典型的には、神経疾患もしくは神経変性疾患の1つもしくは複数の症状を低減または緩和するために、または他の状態における疾患の炎症もしくは重症度を低減するために十分である。

40

【0170】

好ましくは、作用物質は、罹患したもしくは標的の組織内にあるわけでも、それに関連するわけでもない健康な細胞の活性または量を、標的化も別の方法でモジュレートもせず、あるいはCNSにおいて活性化ミクログリア細胞を含む標的細胞と比較して低減されたレベルで標的化もしくはモジュレートする。このように、組成物に関連する副産物および他の副作用が低減される。

【0171】

組成物の投与は、神経疾患、神経傷害、または加齢関連ニューロン減少もしくは機能不全を有する個体における神経機能の向上または増強をもたらす。一部のin vivoアプローチでは、 dendriマー複合体は、神経有糸分裂を刺激または誘導して新規ニューロ

50

ンの生成をもたらし、神経原性効果を提供するために治療有効量で対象に投与される。同様に、個体のニューロン、神経突起、および神経ネットワークの劣化、機能不全、または死滅を防止、低減、または停止させて、神経保護効果を提供するための組成物の有効量も提供される。

【0172】

デンドリマー複合体の実際の有効量は、投与される具体的な作用物質、製剤化される特定の組成物、投与様式、および処置される対象の年齢、体重、状態、ならびに投与経路および疾患または障害を含む要因に従って変化し得る。組成物の用量は、約0.01~約100mg/kg体重、約0.1mg/kg~約50mg/kg、約0.5mg~約40mg/kg体重、および約2mg~約10mg/kg体重であり得る。一般的に、静脈内注射または注入の場合、投薬量は、経口投与の場合よりも低くなり得る。

【0173】

一般的に、投与のタイミングおよび頻度は、所与の処置または診断スケジュールの有効性の、所与の送達系の副作用とのバランスをとるように調整される。例示的な投薬頻度は、持続的注入、1回および複数回投与、例えば毎時間、毎日、毎週、または毎月の投薬を含む。

【0174】

組成物は、毎日、週2回(biweekly)、毎週、2週間に1回、またはそれより少ない頻度で、治療剤の血中レベルの治療的に有効な増加を提供する量で投与することができる。投与が経口経路以外による場合、組成物は、24時間以内に治療有効用量を生じるように、1時間より長い期間で、例えば3~10時間をかけて送達され得る。あるいは、組成物は、制御放出のために製剤化することができ、この場合組成物は、1週間に1回またはそれより少ない頻度のレジメンで繰り返される1回用量として投与される。

【0175】

投薬量は変化してもよく、1つまたは複数の用量の毎日投与を1日または数日間投与することができる。所与のクラスの医薬製品の適切な投薬量に関する指針が文献に見出され得る。最適な投薬スケジュールは、対象または患者の体における薬物蓄積の測定値から計算することができる。当業者は、最適な投薬量、投薬方法論および反復数を容易に決定することができる。最適な投薬量は、個々の医薬組成物の相対強度に応じて変化し得、一般的に*in vitro*および*in vivo*動物モデルにおいて有効であることが見出されるEC<sub>50</sub>に基づいて推定することができる。

【0176】

D. 併用療法および手順

一部の実施形態では、中性スフィンゴミエリナーゼ2の、1つもしくは複数の低分子阻害剤および/または追加の治療剤もしくは診断剤にコンジュゲートされているかまたはそれと複合体を形成しているデンドリマーの組成物を、1つまたは複数の従来の治療、例えば従来のがん、抗感染症剤、または抗炎症療法と併用して投与する。一部の実施形態では、従来の治療は、組成物の1つまたは複数の、1つまたは複数の追加の活性剤と併用した投与を含む。併用療法は、同じ混合物中で共にまたは別個の混合物中での活性剤の投与を含み得る。したがって、一部の実施形態では、医薬組成物は、2つ、3つ、またはそれより多くの活性剤を含む。そのような製剤は典型的に、腫瘍の微小環境を標的化する免疫調整剤の有効量を含む。追加の活性剤(複数可)は、同じまたは異なる作用機序を有し得る。一部の実施形態では、併用は、がんの処置に対して相加効果をもたらす。一部の実施形態では、併用は、疾患または障害の処置に対して相加効果よりも大きい効果をもたらす。

【0177】

一部の実施形態では、製剤は、対象への静脈内、皮下、もしくは筋肉内投与のために、または経腸投与のために製剤化される。一部の実施形態では、製剤は、1つまたは複数の追加の治療または手順による処置の前に、処置と共に、処置の後に、または処置と交互に投与される。一部の実施形態では、追加の治療は、薬物サイクルの間にまたは投薬レジメンの一部である休薬期間の間に行われる。例えば、一部の実施形態では、追加の治療また

は手順は、手術、放射線療法、または化学療法である。好ましい追加の治療剤の例としては、所望の疾患、障害、または状態を処置するために当技術分野で公知の他の従来の治療が挙げられる。

【0178】

アルツハイマー病の文脈では、他の治療剤は、アセチルコリンエステラーゼ阻害剤（例えば、タクリン、リバスチグミン、ガランタミン、またはドネペジル）、ベータ-セクレターゼ阻害剤、例えばJNJ-54861911、アデュカヌマブなどの抗体、5-HT<sub>2A</sub>受容体のアゴニスト、例えばピマバンセリン、サルグラモスチム、AADvac1、CAD106、CNP520、ガンテネルマブ、ソラネズマブ、およびメマンチンのうちの1つまたは複数を含み得る。

10

【0179】

レビー小体型認知症の文脈では、他の治療剤は、アセチルコリンエステラーゼ阻害剤、例えばタクリン、リバスチグミン、ガランタミン、またはドネペジル；N-メチルD-アスパラギン酸受容体アンタゴニストであるメマンチン；ドーパミン作動薬療法、例えばレボドパまたはセレギリン；抗精神病薬、例えばオランザピンまたはクロザピン；REM障害療法、例えばクロナゼパム、メラトニン、またはクエチアピン；抗うつおよび抗不安療法、例えば選択的セロトニン再取り込み阻害剤（シタロプラム、エスシタロプラム、セルトラリン、パロキセチン等）またはセロトニンおよびノルアドレナリン再取り込み阻害剤（ベンラファキシン、ミルタザピン、およびブプロピオン）（例えば、Macijauskiene, et al., Medicina(Kaunas), 48(1):1-8(2012)を参照されたい）のうちの1つまたは複数を含み得る。

20

【0180】

例示的な神経保護剤もまた、当技術分野で公知であり、例えば、グルタメートアンタゴニスト、抗酸化剤、およびNMDA受容体刺激剤が挙げられる。他の神経保護剤および処置は、カスパーゼ阻害剤、栄養因子、抗タンパク質凝集剤、低体温療法、およびエリスロポエチンを含む。

【0181】

神経機能障害を処置するための他の一般的な活性剤は、運動症状を処置するためのアマンタジンおよび抗コリン作動薬、精神病を処置するためのクロザピン、認知症を処置するためのコリンエステラーゼ阻害剤、ならびに日中の眠気を処置するためのモダフィニルを含む。

30

【0182】

がんの処置の文脈では、他の治療は、従来の化学療法、チェックポイントタンパク質の阻害、養子T細胞療法、放射線療法、および腫瘍の外科的切除のうちの1つまたは複数を含む。

【0183】

一部の実施形態では、組成物および方法は、免疫療法、例えば1つもしくは複数の免疫チェックポイント調節剤（例えば、PD-1アンタゴニスト、PD-1リガンドアンタゴニスト、およびCTLA4アンタゴニスト）を使用するチェックポイントタンパク質、例えばPD-1/PD-L1軸もしくはCD28-CTLA-4軸の構成要素の阻害、養子T細胞療法、および/またはがんワクチンによる処置の前に、処置と共に、処置の後に、または処置と交互に使用される。免疫療法において使用される例示的な免疫チェックポイント調節剤としては、ペンブロリズマブ（抗PD1 mAb）、デュルバルマブ（抗PD-L1 mAb）、PDR001（抗PD1 mAb）、アテゾリズマブ（抗PD-L1 mAb）、ニボルマブ（抗PD1 mAb）、トレメリムマブ（抗CTLA4 mAb）、アベルマブ（抗PD-L1 mAb）、およびRG7876（CD40アゴニストmAb）が挙げられる。特定の実施形態では、組成物および方法は、PD-L1アンタゴニストを使用する免疫療法による処置と交互に使用される。

40

【0184】

一部の実施形態では、組成物および方法は、養子T細胞療法による処置の前に、処置と

50

共に、処置の後に、または処置と交互に使用される。一部の実施形態では、T細胞は、キメラ抗原受容体（CAR、CAR-T細胞、またはCAR-T）を発現する。人為的なT細胞受容体は、特定の特異性を免疫エフェクター細胞に移植する操作された受容体である。典型的には、これらの受容体を使用して、モノクローナル抗体の特異性をT細胞に移植し、実質的にいかなる腫瘍関連抗原も標的化するように操作することができる。第一世代CARは典型的に、CD3鎖からの細胞内ドメインを有し、これは内因性のTCRからのシグナルの一次伝達物質である。第二世代CARは、様々な共刺激タンパク質受容体（例えば、CD28、41BB、ICOS）からの細胞内シグナル伝達ドメインをCARの細胞質テールに付加してT細胞に追加のシグナルを提供し、第三世代CARは、複数のシグナル伝達ドメイン、例えばCD3z-CD28-41BB、またはCD3z-CD28-OX40を組み合わせて、有効性をさらに増強する。

10

#### 【0185】

一部の実施形態では、組成物および方法は、がんワクチン、例えば樹状細胞がんワクチンによる処置の前に、処置と共に、処置の後に、または処置と交互に使用される。ワクチン接種は典型的に、*in vivo*で治療的T細胞を誘発するために、抗原（例えば、がん抗原）をアジュバントと共に対象に投与することを含む。一部の実施形態では、がんワクチンは、*ex vivo*でプライミングされた樹状細胞によって送達される抗原ががん抗原を提示する樹状細胞がんワクチンである。例としては、前立腺がんの処置のための樹状細胞に基づくワクチンであるPROVENGE（登録商標）（シプリューセル-T）が挙げられる（Ledford, et al., Nature, 519, 17-18(05 March 2015)。そのようなワクチンならびに免疫療法のための他の組成物および方法は、Palucka, et al., Nature Reviews Cancer, 12, 265-277(April 2012)において論評されている。

20

#### 【0186】

一部の実施形態では、組成物および方法は、例えば原発腫瘍転移を防止するために、腫瘍の外科的切除の前に、切除と共に、または切除の後に使用される。一部の実施形態では、組成物および方法は、体自身の抗腫瘍免疫機能を増強するために使用される。

#### 【0187】

##### E. 対照

1つまたは複数の作用物質を含む dendriマ-複合体組成物の治療結果を、対照と比較することができる。適した対照は当技術分野で公知であり、例えば無処置対象または無処置細胞または処置前の同じ個体を含む。

30

#### 【0188】

##### VI. キット

組成物を、キットに包装することができる。キットは、 dendriマ-に封入されている、会合している、またはコンジュゲートされている1つまたは複数の中性スフィンゴミエリナーゼ2の阻害剤を含む組成物の単一用量または複数用量、および組成物を投与することについての指示を含み得る。具体的には、指示は、組成物の有効量が、示されるように、特定の神経疾患、欠損または機能不全を有する個体に投与されることを指示する。組成物は、特定の処置方法を参照して上記のように製剤化することができ、任意の従来の様式で包装され得る。

40

#### 【0189】

本発明は、以下の非限定的な実施例を参照することによってさらに理解されるであろう。

#### 【実施例】

#### 【0190】

##### （実施例1）

中性スフィンゴミエリナーゼ2（nSMase2）阻害剤によるADの処置

AD患者の脳脊髄液（CSF）中のセラミドレベルは、対照として表される他の神経疾患を有する患者のレベルよりも大幅に高いことが示されている（図2）。その上、免疫組織化学研究により、セラミドが、死後AD脳からのグリアにおいて異常に発現されている

50

が、対照脳では発現されていないことが示された。二重標識免疫組織化学は、セラミドおよび A プラークの限局的な共存を示している。より最近の研究は、非常に長い鎖の血漿中セラミド (C 2 2 : 0 および C 2 4 : 0 ) が、予測される記憶喪失および減少した右海馬体積に加えて軽度の認知障害 ( M C I ) 対象において変更されていることを示している。認知症を有しない 7 0 ~ 7 9 歳の 9 9 人の女性を 9 年間にわたってモニターした別個の縦断研究は、より高いベースライン血清中セラミドが A D への進行のリスクの増加に関連することを明らかにした。これらの知見は、血漿中のセラミド定量および活性化グリアが A D 進行のバイオマーカーとして役立つことを示している。

#### 【 0 1 9 1 】

中性スフィンゴミエリナーゼ 2 ( n S M a s e 2 ) は、A D の病因の重要な関与因子である。しかし、現在利用可能な n S M a s e 2 阻害剤は、可能性のある処置を開発するためには不適切であり、新規 n S M a s e 2 阻害剤が開発され、試験されている。n S M a s e 2 阻害剤 G W 4 8 6 9 は、概念証明研究を行うための試験化合物として用いられている。これは、明白な行動上もしくは生理学的毒性または体重変化を示さない長期的な研究において使用されており、認容可能な治療アプローチとしての n S M a s e 2 阻害の可能性を裏付ける。しかし、G W 4 8 6 9 は  $\mu$  M 濃度では強力ではなく、その高度に親油性の性質により、乏しい溶解度 ( D M S O 中でさえ 0 . 2 m g / m L ) を含む非常に乏しい物理化学特性を示す。1 0 年以上前に同定されたが、向上された効力または溶解度を有するアナログは記載されていない。

#### 【 0 1 9 2 】

##### 方法

n S M a s e 2 阻害剤としてカンピノールを同定した初回の予備的スクリーニング後、 $> 3 5 0 , 0 0 0$  個の化合物のヒト n S M a s e 2 ハイスループットスクリーニング ( H T S ) を、酵素にカップリングした蛍光に基づくヒト n S M a s e 2 アッセイを使用して行った。カウンターアッセイおよび薬らしさパラメータを使用するヒット化合物の篩い分けにより、効力および化学的最適化実現可能性に基づいて、最も有望な化合物として 2 , 6 - ジメトキシ - 4 - ( 5 - フェニル - 4 - ( チオフェン - 2 - イル ) - 1 H - イミダゾール - 2 - イル ) フェノール ( D P T I P ) の発見に至った。D P T I P の I C 5 0 は、3 0 n M ( 図 3 A ) であった。この I C 5 0 は、プロトタイプ阻害剤 G W 4 8 6 9 ( 1  $\mu$  M ) およびカンピノール ( 5  $\mu$  M ) よりもそれぞれ、3 0 倍および 1 6 0 倍強力である。これは、ナノモル濃度の効力で記載された最初の n S M a s e 2 阻害剤である。

#### 【 0 1 9 3 】

D P T I P の脱ヒドロキシルアナログもまた、阻害活性に関するヒドロキシル基の重要性を確立するために合成したが、これはヒト n S M a s e 2 に対して不活性であることが示された ( I C 5 0  $> 1 0 0 \mu$  M ) ( 図 3 B ) 。次に、この化合物を、その後の薬理学的アッセイにおける比較のための構造的に類似の不活性な D P T I P アナログとして使用した。

#### 【 0 1 9 4 】

D P T I P は、選択的であり、アルカリホスファターゼ ( I C 5 0  $> 1 0 0 \mu$  M ) 、ホスホモノエステラーゼ、または酸性スフィンゴミエリナーゼ ( I C 5 0  $> 1 0 0 \mu$  M ) 、 n S M a s e 2 に近縁のホスホジエステラーゼを含む 2 つの関連する酵素ファミリーのメンバーを阻害しない。同様に、D P T I P を、National Center for Advancing Translational Sciences ( N C A T S ) において 7 5 9 個のバイオアッセイにおいてスクリーニングし、ごく弱い活性 (  $\mu$  M ) が、これらのアッセイの  $< 2 . 5$  % に観察された ( <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5446044> ) 。他の p 3 8 阻害剤に対する D P T I P の構造類似性により、p 3 8 キナーゼに対する D P T I P キナーゼのプロファイリングを実施した。

#### 【 0 1 9 5 】

##### 結果

以下の表 1 に示すように、D P T I P は、0 . 0 0 1 ~ 1 0 0  $\mu$  M の濃度で 4 つの p 3

10

20

30

40

50

8キナーゼのいずれの阻害も示さなかった（IC50は定量不能であった）。陽性対照SB202190およびスタウロスポリンは、それぞれのp38MAPキナーゼの強力な阻害を示した。

【表1】

表1: p38MAPキナーゼに対するDPTIPのプロファイリング

キナーゼ	化合物のIC50 (M)	IC50 (M) 対照化合物	対照化合物のID
	DPTIP		
P38α/MAPK14		2.53E-08	SB202190
P38β/MAPK11		2.36E-08	SB202190
P38γ/MAPK13		1.37E-07	スタウロスポリン
P38g		1.19E-07	スタウロスポリン

10

【0196】

（実施例2）

グリア細胞からのエクソソーム放出の*in vitro*阻害方法

DPTIPがグリア細胞からのエクソソームの放出を阻害する能力を*in vitro*で評価した。マウス初代グリアを、FBSによって活性化し、DPTIPまたはその近縁の不活性な脱ヒドロキシルアナログによって0.03~100μMの濃度範囲でDMSO（0.02%）をビヒクル対照として使用して処置した。処置の2時間後、エクソソームを培地から単離し、ナノ粒子トラッキング分析によって定量した。

20

【0197】

結果

DPTIPは、エクソソーム放出を用量依存的に阻害した（図4）。これに対し、近縁の不活性なアナログは効果を有さず、DPTIPのエクソソーム阻害機構がnSMase2を介して起こることを裏付ける。

【0198】

GW4869（公知のnSMase2阻害剤）は、増加したシナプス後タンパク質PSD-95、増加したNMDA受容体サブユニットNR2A、ならびにAMPA受容体サブユニットGluR1を含むシナプスタンパク質の大幅な変化を示した。DPTIP（10mg/kg毎日；腹腔内）による類似の予備的研究は、PSD95またはNR2Aに対して顕著な効果を示さなかった。ニューロンの機能を測定する電圧のトレースを、多重電極アレイ（MEA）プレートにおいて10μM DPTIP処置の前および後に酸素付加工脳脊髄液（ACSF）によって連続的に灌流した300μmの水平方向脳スライスにおいて記録した。トレースに有意差は観察されず、DPTIPによるnSMase2阻害後のニューロン機能に対する効果がないことを示唆した。

30

【0199】

（実施例3）

DPTIPおよびそのアナログの薬物動態および生物学的利用能方法

DPTIPの*in vitro*および*in vivo*薬物動態特性を評価した。

【0200】

結果

マウスおよびヒト肝ミクロソームにおけるフェーズI代謝安定性研究は、DPTIPがCYP依存的酸化に対して完全に安定である（1時間で100%残存している）ことを示した。これは、DPTIPがフェーズI酸化反応を介して反応性代謝物（例えば、チオフェン-S酸化物、チオフェンエポキシド）を形成することができる「チオフェン」環を含

40

50

有することから有望であった。加えて、DPTIPはまた、フェーズIIグルクロン酸化 (glucuronidation) (1時間で>50%残存している) に対しても中等度に安定であった。しかし、マウスでの経口(10mg/kg PO; 図6C)投与後の経口生物学的利用能および脳浸透は、最適ではなかった(F<5%、AUC脳/血漿比<0.2)。さらに、DPTIPのレベルは、急速なクリアランス(C<sub>l</sub>app=92mL/分/kg)および短い血漿中半減期(t<sub>1/2</sub>=約0.5時間)により、投与後2時間で検出不能であった。これらの結果は、DPTIP(10mg/kg i.p.)投与後のADマウス(3×Tg)において確認された。ADマウスは、野生型(WT)マウスと同等の乏しい脳DPTIP浸透(<0.2)を示した。

#### 【0201】

DPTIPの乏しい経口生物学的利用能(F<5%)および限定的な脳浸透(B/P比<0.2)および急速なクリアランス(血漿中半減期t<sub>1/2</sub>=約0.5時間)を考慮して、その薬物動態特性を向上させるために広範囲のSARの試み(>200個のアナログを合成した)を実施した。阻害活性にとって重要であるファーマコフォアの部分を同定すること、および類似の効力を有するアナログを合成することが可能であったが、向上した経口生物学的利用能またはクリアランスを有するアナログを同定することは不可能であった。

#### 【0202】

##### (実施例4)

ヒドロキシルPAMAM dendriマ-の使用は、低分子の送達および保持を向上させる  
 ヒドロキシルPAMAM dendriマ-は、前臨床モデルにおける>500mg/kgの複数回用量であっても非毒性であり、ヒトを含む腎臓を通して無傷で(代謝されずに)取り除かれる。これらの dendriマ-は、いかなる標的化リガンドがなくとも、脳における活性化グリアに選択的に局在し、傷害部位に薬物を送達して正の治療転帰を生じることができる。重要なことに、そのような細胞取り込みは健康な対照動物では観察されない。この選択的取り込み機構は、他のタイプのナノ粒子では認められていない。 dendriマ-は、機能不全のBBBを通過して、脳組織内に急速に拡散することができ、最終的に、増加するエンドサイトーシスにより活性化されたグリアによって取り込まれる。 dendriマ- - N - アセチルシステインは10mg/kg薬物(経口またはIV)で、運動機能、神経炎症の低減、酸化ストレス、および神経傷害において顕著な治療利益を示した。この化合物は、GMP製造および毒性研究の成功の後、臨床試験中であり、健康な成人ボランティア研究を完了した。脳傷害の小動物および大型動物モデルを使用する複数の研究は、ヒドロキシルで終端した dendriマ-が、標的化傷害を受けた複数の種において機能不全のBBBを通過することを実証した。

#### 【0203】

##### 方法

脳取り込みに対する dendriマ-サイズの効果を調べ、Cy5標識を有する世代6(G6、約6.7nm、約56kDa)および世代4(G4、約4.3nm、約14kDa)のPAMAM dendriマ-を使用して脳傷害のイヌおよび齧歯類モデルの両方における薬物動態、ならびに蛍光定量を調べた。

#### 【0204】

G6 dendriマ-は、G4 dendriマ- (t<sub>1/2</sub>は約6時間、72時間で注射した用量の約5%)と比較して血漿中循環時間を延長させた(血漿中半減期、t<sub>1/2</sub>は約24時間、72時間で注射した用量の約30%; 図4)。これは、G6 dendriマ-に関して脳AUCの約10倍増加を伴う(Mishra MK, et al., ACS nano. 2014; Zhang F, et al., Journal of Controlled Release. 249:173-82(2017))。ラットでは、G6 dendriマ-のAUCもまた、G4 dendriマ-の約10倍だった。直接比較ではないが、 dendriマ-のいずれの血漿中AUCも、 dendriマ-によって与えられた循環時間の増強により、全身投与後にDPTIPのAUCよりも大幅に高い。加えて、DPTIPは、G4/G6 dendriマ- (t<sub>1/2</sub>=6~24時間)と対比して短い血漿中半減期(

10

20

30

40

50

$t_{1/2}$  = 約 0.5 時間) を有する。

#### 【0205】

予備的規模の合成を行って、DPTIPを dendrimer と conjugate することができるか否かを確認した。D-DPTIPの合成は、非常に効率的な銅(I)触媒アルキン-アジドクリック(CuAAC)ケミストリー(Franc G and Kakkar A. Chemical Communications, 2008(42):5267-76)を使用して達成された。合成は、切断可能エステル結合を通して直交型リンカーをアジド末端と付着させるDPTIPの修飾によって始まった(図5A)。アジド基の目的は、dendrimerの表面上のアルキン官能基とのCuAAC反応に参与することである。DPTIP(1)におけるヒドロキシル基を、カップリング剤としてのN-(3-ジメチルアミノプロピル)-N'-エチルカルボジイミド塩酸塩(EDC)および4-(ジメチルアミノ)ピリジン(DMAP)の存在下でアジド-PEG4-酸(2)と反応させた。粗産物を、カラムクロマトグラフィーを使用して精製して、DPTIP-アジド(3)を得た。産物(3)を、NMR、質量、およびHPLC技術を介して特徴付けた。一方、dendrimer表面を修飾して、相補的アルキン基を有するリンカーを付着させた(図5B)。受領したままの世代4のヒドロキシルPAMAM dendrimer(D-OH; 4)を、透析、遠心濾過、および二量体/後続世代(trailing generation)を除去するために以前に確立された半分取HPLC分画技術によって精製した。精製されたD-OHを、カップリング剤の存在下でペンチン酸と反応させて、7個のリンカーが付着した部分的にアルキンで終端したdendrimer(5)を得た。最後に、CuAACクリック反応をdendrimer(5)とDPTIP-アジド(3)の間で実施して、7個の薬物分子が付着したD-DPTIP conjugateを得た。最終的なconjugateを透析により精製した。全ての中間体および最終的なconjugateを、<sup>1</sup>H-NMR、<sup>13</sup>C-NMR、HPLC、およびMALDI-TOF MS分析を使用して特徴付けた。切断可能なエステル連結を通しての遊離の薬物の放出を、HPLCによって分析した。

10

20

#### 【0206】

##### 結果

dendrimer-アミドプロトンの統合をエステルメチレンプロトンおよびトリアゾール環プロトンと比較する<sup>1</sup>H NMRを使用して計算すると、平均で7個の薬物分子がdendrimerにconjugateされていた(13重量%)。in vitro薬物放出を、エステラーゼ(pH 5.5)の存在下、生理的温度で分析した。D-DPTIPは、およそ10日間にわたって>80%の薬物放出を示した(図6)。dendrimerの辺縁部での多様な治療分子のconjugationは、当業者に公知の方法を使用して行うことができる。

30

#### 【0207】

##### (実施例5)

ADマウスに経口投与したCy5-dendrimer-DPTIPは、脳グリア細胞に送達され、nSMase2活性の顕著な阻害によりターゲットエンゲージメント(target engagement)を示す

##### 方法

ADマウスの活性化ミクログリアにおける経口投与したCy5-D-DPTIP conjugateのin vivo取り込みおよび保持を、蛍光分光法を使用して評価した。前後して、単離されたCD11b+細胞における機能的nSMase2阻害を用いるターゲットエンゲージメントを実施した。簡単に説明すると、9カ月齢のP301S ADマウスにCy5-D-DPTIPを投与し、24時間(イメージングのため)および96時間(ターゲットエンゲージメントのため)後に、氷冷PBSの経心臓灌流を介して殺した。イメージングのために、脳を、10%ホルマリン中、4で48時間、後固定し、瞬間凍結し、-80で保存し、厚さ30 μmの切片にし、CD11b+細胞(Iba1)およびDAPIに関して染色した。ターゲットエンゲージメントのために、グリア細胞を、新鮮な脳から単離した。

40

#### 【0208】

50

## 結果

A Dマウス脳における活性化ミクログリアは、C y 5 - D - D P T I Pを選択的に取り込んだ。陽性C y 5シグナルが、A Dマウスの脳における海馬体の歯状回領域付近で観察された。陽性C y 5シグナルはI b a - 1染色と重複し、このことは活性化ミクログリア細胞における取り込みを示している。その上、n S M a s e 2活性の顕著な阻害が、D - D P T I Pシグナルによって処置したグリア細胞において観察された(図7)。

## 【0209】

## (実施例6)

P S 1 9マウスに経口投与したC y 5 - デンドリマー - D P T I Pは、脳組織に選択的に蓄積する

10

## 方法

D - D P T I Pの用量依存的薬物動態を、3~4カ月齢のP S 1 9マウス(The J a c k s o n L a b o r a t o r y、S t o c k N o . 0 0 8 1 6 9)において評価した。D - D P T I Pを、P S 1 9マウスに経口胃管栄養によって投与した(10、30、および100mg/kg遊離薬物当量; 10mL/kg)。所定の時点(投与の24、72、120時間後)で、動物を安楽死させ、血液収集後に脳組織を採取した。低速遠心分離(3000g)によって、血液から血漿を生成した。血漿および脳組織を、液体窒素中で直ちに瞬間凍結し、L C - M S / M S生体分析によるD P T I P定量のために-80で保存した。脳試料を、P B S中でホモジナイズし、2mg/mL肝C E S酵素と共に60分間インキュベートし、脳に存在するD - D P T I PからのD P T I Pの放出を確実にした。脳の較正標準物質(1nM~10,000nM)を、脳ホモジネート(P B S中)にD P T I Pを添加することによって調製した。血漿中の定量に関して、D P T I Pを添加したナイーブマウス血漿を使用してD P T I P較正標準物質(1nM~10,000nM)を調製した。D P T I P標準物質および試料を、内部標準物質(ロサルタン約0.5μM)を含有するアセトニトリル(100%v/v)を使用して1ステップタンパク質沈殿により血漿および脳から抽出した。試料を、ボルテックスミキサーにより混合し、遠心分離(14,000rpm、4で10分間)し、上清を、以前に記載したようにL C - M S / M Sを使用してD P T I Pに関して分析した(Rojas C, et al., Sci Rep. 2018 Dec 7;8(1):17715)。

20

## 【0210】

## 結果

D - D P T I Pコンジュゲート(10、30、および100mg/kg D P T I P当量)を、経口胃管栄養を介して投与し、D P T I P放出を、投与の24、72、および120時間後に測定した。血漿中では、D - D P T I Pは、いずれの時点でも用量レベルでもD P T I Pの測定可能なレベルを示さなかった(図8A)。これに対し、100mg/kg用量は、72時間までそのn S M a s e 2 I C 5 0(20~35nM)でD P T I Pの脳内濃度を提供した(図8B)。しかし、D - D P T I Pは、いかなる用量レベルでも120時間において、D P T I Pの測定可能な脳内濃度を示さなかった。

30

## 【0211】

## (実施例7)

P S 1 9マウスに経口投与したC y 5 - デンドリマー - D P T I Pは、活性化ミクログリアにおけるn S M a s e 2活性を選択的に阻害する

40

## 方法

ターゲットエンゲージメント評価に関して、3~4カ月齢のP S 1 9マウスに、D - D P T I Pを経口投与(10および100mg/kg)し、投与の72時間後に殺した。ミクログリア(C D 1 1 b +)細胞を以前に記載された方法に従って軽微な変更を加えて全脳から単離し(Zhu X, et al., Neuropsychopharmacology. 2019 Mar;44(4):683-694)、n S m a s e 2活性を、蛍光アッセイを使用して測定した(Figuera-Lozada M, et al., PLoS One. 2015 May 26;10(5):e0124481)。イメージング研究を、蛍光タグをつけたデンドリマー - C Y 5 - D P T I Pを使用して単離されたグリア

50

細胞においても実施し、D - D P T I P のミクログリア蓄積を確認した。

#### 【0212】

##### 結果

経口D - D P T I P は、100 mg / kg 用量の投与の72時間後にミクログリア n S M a s e 2 活性を大幅に阻害したが、10 mg / kg では阻害は観察されなかった(図9 A)。非ミクログリア細胞では阻害は観察されず(図9 B)、D - D P T I P からのミクログリアへの特異的標的化を示唆している。加えて、ADマウス脳における活性化ミクログリアがCy5 - D - D P T I P を選択的に取り込んだことが観察された。陽性Cy5シグナルがADマウスの脳における海馬体の歯状回領域付近で観察された。陽性Cy5シグナルは、I b a - 1 染色と重複し、ミクログリアの取り込みを示した。

10

#### 【0213】

##### (実施例8)

#### 腫瘍の成長および生存実験

##### 方法

6 ~ 8 週齢の雄性C57BL / 6マウスを、この研究のために使用した。マウスの手順は全てJohns Hopkins University Institutional Animal Care and Use Committeeによって承認された。MC38細胞を、10% FBS、2 mM グルタミン、1% ペニシリン / ストレプトマイシン、および10 mM HEPESを補充したDMEM中で培養した。細胞系を、Myc o A l e r t マイコプラズマ検出キット(Lonza)を使用して定期的に試験して、マイコプラズマフリーであることを確認した。細胞は培養において3週間以内で維持した。MC38(マウスあたり200 μl中に5 × 10<sup>5</sup>個の細胞)細胞を、C57BL / 6 Jマウスの右脇腹に皮下(s.c.)接種した。処置の開始日に、群を腫瘍サイズに基づいて無作為化した。マウスに、アイソタイプ対照(200 μg / マウス)もしくは抗PD L 1(200 μg / マウス)をそれぞれ、12、15、および18日目にi.p.注射によって投与(処置)するか、またはD - D P T I P 対照(300 μl / マウス)、または抗PD L 1(200 μg / マウス)とD - D P T I P(2.3 mg / マウス)を組み合わせ1日おきに投与した。腫瘍の負荷を、腫瘍の長さおよび幅を測定することによって2 ~ 4日毎にモニターした。腫瘍体積は、キャリパーでの測定に関して以下の式を使用して計算した: 腫瘍体積 = (L × W<sup>2</sup>) / 2、(式中、Lは腫瘍の長さであり、2つの測定値の長いほうであり、Wは腫瘍の幅であり、腫瘍面積 = L × Wである)。腫瘍サイズがいずれかの寸法で2 cmを超える場合、またはマウスが体を丸める、波だった被毛(ruffled coat)、神経症状、重度の体重減少、呼吸困難、衰弱、もしくは疼痛を示した場合、マウスを安楽死させた。

20

30

#### 【0214】

EL4リンパ腫を接種したマウスにおけるG6 D - D P T I P 薬物動態に関して、6 ~ 8 週齢のナীবの雄性および雌性C57BL / 6マウス(体重は25 ~ 30 gの間)を使用した。動物を、飼料および水を自由に与えて12時間の明暗サイクルで維持した。コンフルエンスに達したEL4マウスリンパ腫細胞を、s.c.注射し(0.3 × 10<sup>6</sup>個の細胞)、腫瘍の成長をモニターした。腫瘍体積は、式V = (L × W) / 2(式中、Vは腫瘍の体積であり、Wは腫瘍の幅であり、Lは腫瘍の長さである)を使用して計算し、およそ400 mm<sup>3</sup>の平均腫瘍体積を有するマウスを、薬物動態研究のために考慮した(時点あたりn = 3マウス、雄性2例および雌性1例)。動物に、G6 - D P T I P の10 mg / kg D P T I P 当量を投与し、血漿および腫瘍を様々な時点で収集した。血漿および腫瘍試料を、LC / MS - MSを使用してD P T I P に関して分析した。

40

#### 【0215】

##### 結果

MC38腫瘍モデルにおけるD P T I P または抗PD L 1 単独による単剤療法は、アイソタイプ対照と比較した場合に腫瘍の成長に対して有意な阻害効果を示した。D - D P T I P の抗PD L 1 との併用療法は、MC38腫瘍モデルにおいてD P T I P または抗

50

P D L 1 単独によるそれぞれの単剤療法と比較した場合に腫瘍の成長に対して最大の阻害効果を示した ( 図 1 0 ) 。

【 0 2 1 6 】

E L 4 リンパ腫を接種したマウスにおける G 6 - D - D P T I P 薬物動態に関して、G 6 - D P T I P は、投与後 4 8 時間まで血漿および腫瘍において検出可能なレベルで優れた薬物動態を示した。特に、G 6 - D - D P T I P は、投与後 4 8 時間まで > 4 0 0 n M ( I C 5 0 の約 1 3 倍 ) の持続的な腫瘍レベルを与えた ( 図 1 1 ) 。

【 0 2 1 7 】

( 実施例 9 )

D - D P T I P 処置は、対側の歯状回のニューロンへのタウ伝播を低減した方法

10

全てのマウスの手順は、J o h n s H o p k i n s U n i v e r s i t y I n s t i t u t i o n a l A n i m a l C a r e a n d U s e C o m m i t t e e によって承認された。10 週齢の雄性 C 5 7 B L 6 / J 野生型マウスに、 $6 \times 10^{12}$  ウイルス粒子の A A V 1 - C B A - P 3 0 1 L / S 3 2 0 F h T a u - W P R E ベクターを左海馬に定位的に注射した ( 座標、ブレグマから : A P : - 2 . 3 5 ; M L : - 2 . 1 0 ; D V : - 1 . 8 5 ) 。マウスを術後 2 日間休ませた後、空のデンドリマービヒクル ( n = 9 ) 、または 7 6 9 m g / k g D - D P T I P ( 1 0 0 m g / k g D P T I P 当量の用量 ) ( n = 8 ) のいずれかの、週に 2 回 6 週間にわたる P O での処置を開始した。6 週間後、マウスを、イソフルランによって深部麻酔した後、 $1 \times$  P B S 、その後 2 % パラホルムアルデヒドを経心臓灌流して、イメージング研究のために組織を固定した。次に脳を 3 0 % スクロース中で凍結保護した後、 $30 \mu m$  の凍結切片にした。切片を、 $1 \times$  P B S + 0 . 1 % T r i t o n X - 1 0 0 中の 5 % 正常ヤギ血清により、室温で 1 時間ブロックして透過性にした。切片を、ニューロンに対する一次抗体 ( N e u N ) と共に 4 で一晩インキュベートして、タウ陽性がニューロンにあり、リン酸化タウ ( p T h r 1 8 1 ) を確認した後、適切なフルオロフォアコンジュゲート二次抗体と共にインキュベートした。画像を、ピクセルが確実に飽和しないように全ての画像獲得に関して同一の設定を用いて、Z e i s s L S M 8 0 0 共焦点顕微鏡を使用して撮影した。p T h r 1 8 1 h T a u 蛍光シグナルがその最大である単一の焦点面をイメージングし、8 ~ 1 0 個の画像を、各マウスから注射部位および対側の両方の同じ海馬位置で得た。画像の獲得および分析は、処置の状態に対して盲検で行った。生の T I F F 画像を、平均蛍光強度 ( M F I ) 定量的のために使用し、ビヒクル ( n = 6 ) および D - D P T I P ( n = 4 ) 処置マウスを比較した。I m a g e J ソフトウェアを使用して、歯状回の同側の錐体細胞層を各画像においてトレースし、p T h r 1 8 1 h T a u シグナルの M F I を決定した。対側の h T a u シグナルの M F I を、軸索および細胞体タウシグナルを説明するために画像全体に対して決定した。A A V 注射体積、取り込み、および発現レベルの変動を説明するために、本発明者らは、対側と同側の M F I の間の比をとった。混合効果二元配置 A N O V A を使用して、P r i s m 統計学ソフトウェアを使用して統計学的有意性を決定した。3 例のビヒクル処置動物および 4 例の D - D P T I P 処置動物は、不適切な注射位置に起因して研究から除外した。

20

30

40

【 0 2 1 8 】

結果

処置開始から 6 週間後、空のデンドリマービヒクル処置マウスは、対側 D G の門領域 ( h i l u s r e g i o n ) においてニューロン T h r 1 8 1 リン酸化タウシグナルを有したが、D - D P T I P 処置動物は、同じ領域においてより低いタウシグナルを有した。D G の門領域における対側 / 同側 M F I の定量は、D - D P T I P 処置動物では 2 . 4 分の 1 への低減を示した ( 図 1 2 ; ビヒクル = 0 . 1 1 4 4 、 n = 5 7 個の画像 / 6 匹のマウス ; D - D P T I P = 0 . 0 4 7 5 、 n = 4 0 個の画像 / 4 匹のマウス ; p = 0 . 0 3 4 4 ) 。

【 0 2 1 9 】

特にそれ以外であることを定義していない限り、本明細書で使用した全ての科学技術用

50

語は、開示される本発明が属する当業者によって一般的に理解される意味と同じ意味を有する。本明細書において引用した刊行物およびそれらが引用される材料は参照により具体的に組み込まれる。

【0220】

当業者は、単なる通常の実験を使用して、本明細書に記載される本発明の特定の実施形態に対する多くの均等物を認識する、または確認することができる。そのような均等物は、以下の特許請求の範囲に含まれると意図される。

【図面】

【図1】

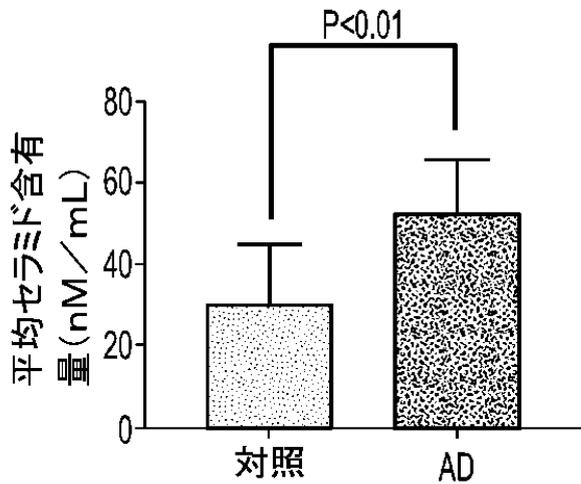


FIG. 1

【図2】

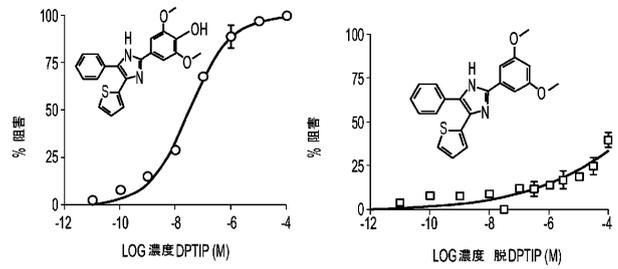


FIG. 2A

FIG. 2B

10

20

【図3】

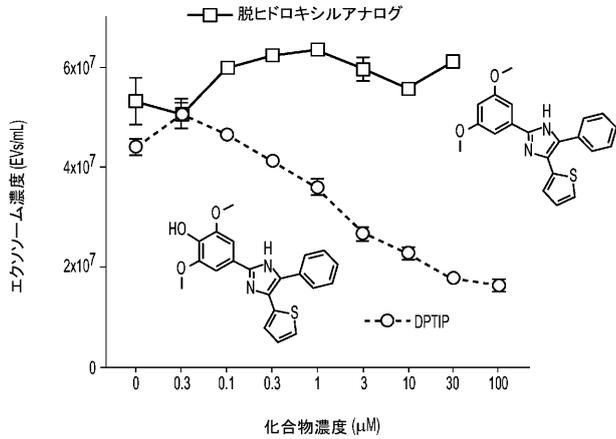


FIG. 3

【図4】

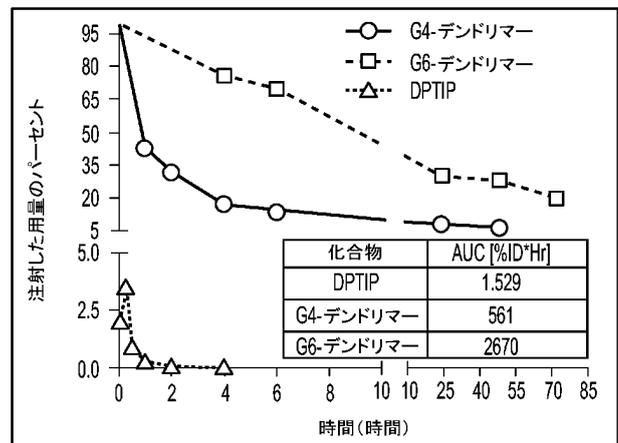


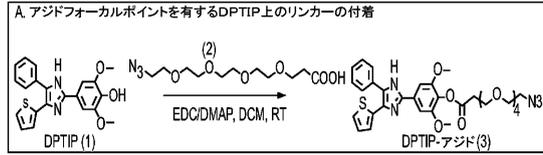
FIG. 4

30

40

50

【 図 5 】



(2) FIG. 5A

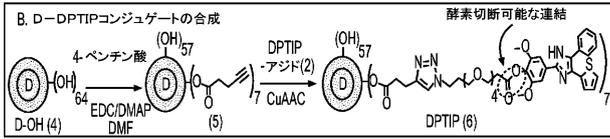


FIG. 5B

【 図 6 】

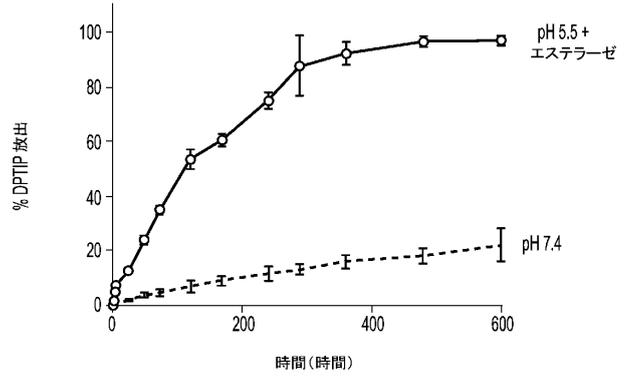


FIG. 6

10

【 図 7 】

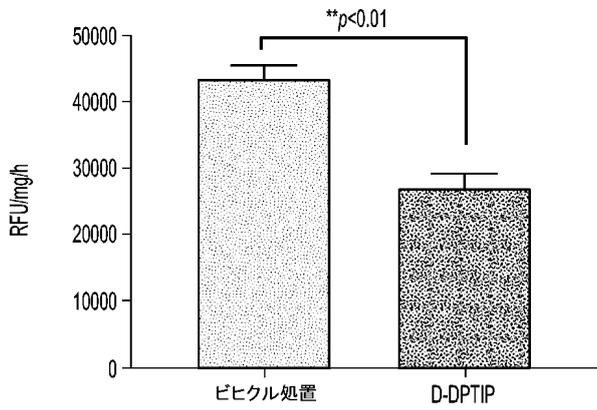


FIG. 7

【 図 8 】

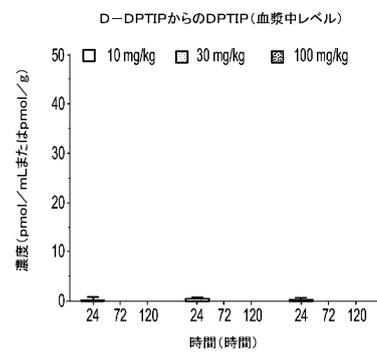


FIG. 8A

20

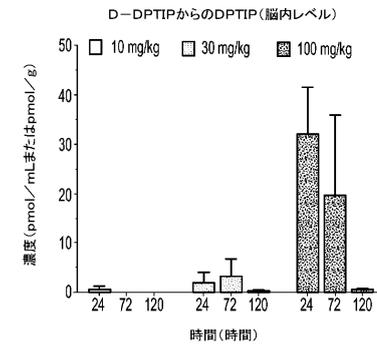


FIG. 8B

30

40

50

【 図 9 】

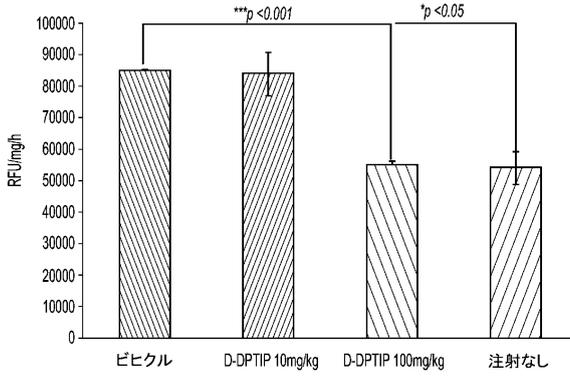


FIG. 9A

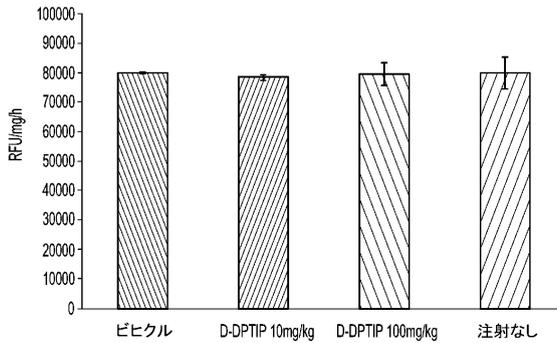


FIG. 9B

【 図 1 1 】

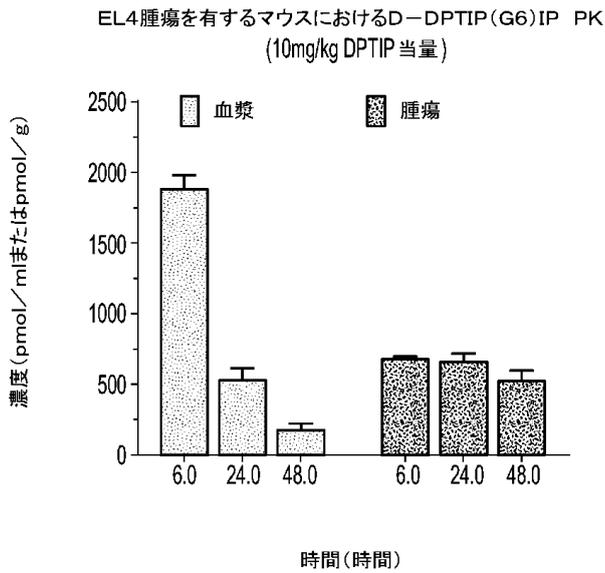


FIG. 11

【 図 1 0 】

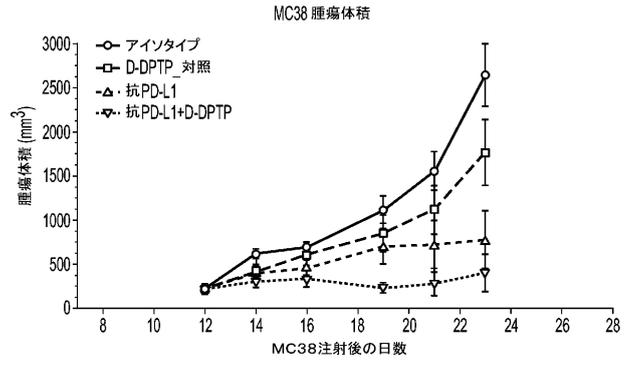


FIG. 10

10

20

【 図 1 2 】

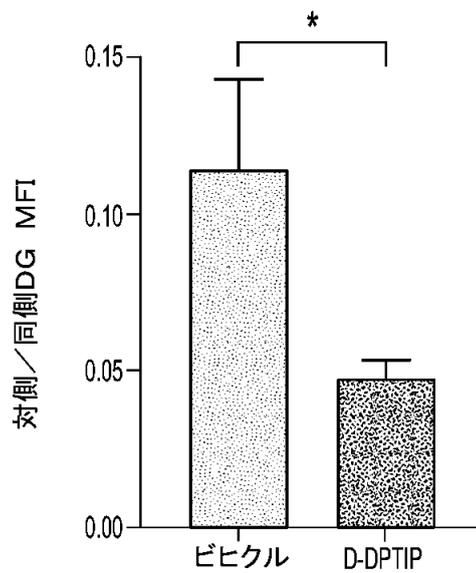


FIG. 12

30

40

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/US2021/028971

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>					
INV.	A61K31/4188	A61K31/513	A61K45/06	A61K47/50	A61P9/10
	A61P25/28	A61P31/04	A61P31/12	A61P35/00	A61K47/59
ADD.					
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC					
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>					
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)					
A61K A61P					
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, BIOSIS, EMBASE, SCISEARCH, WPI Data					
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>					
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages			Relevant to claim No.	
X	WANG B ET AL: "Anti-inflammatory and anti-oxidant activity of anionic dendrimer-N-acetyl cysteine conjugates in activated microglial cells", INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS, ELSEVIER, NL, vol. 377, no. 1-2, 30 July 2009 (2009-07-30), pages 159-168, XP026281935, ISSN: 0378-5173, DOI: 10.1016/J.IJPHARM.2009.04.050 [retrieved on 2009-05-20]			1,6,7,9, 13-15, 27,34,37	
Y	introduction, results, discussion			1,6,7,9, 13-15, 27,34,37	
	-----				
	-/--				
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> 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		*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			
*E* earlier application or patent but published on or after the international filing date		*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			
*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)		*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			
*O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		*8* document member of the same patent family			
*P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed					
Date of the actual completion of the international search			Date of mailing of the international search report		
30 July 2021			12/08/2021		
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  Venturini, Francesca		

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

10

20

30

40

50

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2021/028971

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 2010/147831 A1 (UNIV WAYNE STATE [US]; NAT INST HEALTH [US] ET AL.) 23 December 2010 (2010-12-23) cited in the application	1,6-9, 13-15, 27,34,37
Y	claims; examples	1,6-9, 13-15, 27,34,37
Y	----- MICHAEL BERK ET AL: "The promise of N-acetylcysteine in neuropsychiatry", TRENDS IN PHARMACOLOGICAL SCIENCES., vol. 34, no. 3, 1 March 2013 (2013-03-01), pages 167-177, XP055228721, GB ISSN: 0165-6147, DOI: 10.1016/j.tips.2013.01.001 discussion	1,6-9, 13-15, 27,34,37
Y	----- CAMILO ROJAS ET AL: "DPTIP, a newly identified potent brain penetrant neutral sphingomyelinase 2 inhibitor, regulates astrocyte-peripheral immune communication following brain inflammation", SCIENTIFIC REPORTS, vol. 8, no. 1, 1 December 2018 (2018-12-01), page 17715, XP055728139, DOI: 10.1038/s41598-018-36144-2 results, discussion	1-42
Y	----- SÁLA MICHAL ET AL: "Novel Human Neutral Sphingomyelinase 2 Inhibitors as Potential Therapeutics for Alzheimer's Disease", JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 63, no. 11, 16 April 2020 (2020-04-16), pages 6028-6056, XP55829234, ISSN: 0022-2623, DOI: 10.1021/acs.jmedchem.0c00278 Retrieved from the Internet: URL:https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/a cs.jmedchem.0c00278> results, discussion	1-42
Y	----- TINA BILOUSOVA ET AL: "Suppression of tau propagation using an inhibitor that targets the DK-switch of nSMase2", BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, vol. 499, no. 4, 1 May 2018 (2018-05-01), pages 751-757, XP055583507, Amsterdam NL ISSN: 0006-291X, DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.03.209 results, discussion	1-42
	----- -/--	

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

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/US2021/028971

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	ZHANG F ET AL: "Uniform brain tumor distribution and tumor associated macrophage targeting of systemically administered dendrimers", BIOMATERIALS, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 52, 1 June 2015 (2015-06-01), pages 507-516, XP002750890, ISSN: 0142-9612, DOI: 10.1016/J.BIOMATERIALS.2015.02.053 [retrieved on 2015-03-18] results, discussion	1-42
Y	----- WO 2011/123591 A1 (UNIV WAYNE STATE [US]; NAT INST HEALTH [US] ET AL.) 6 October 2011 (2011-10-06) cited in the application claims; examples -----	1-42

10

20

30

40

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No

PCT/US2021/028971

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2010147831 A1	23-12-2010	AU 2010260349 A1	02-02-2012
		CA 2767163 A1	23-12-2010
		EP 2442797 A1	25-04-2012
		US 2012003155 A1	05-01-2012
		US 2015141350 A1	21-05-2015
		US 2019247407 A1	15-08-2019
		WO 2010147831 A1	23-12-2010
-----			
WO 2011123591 A1	06-10-2011	CA 2830052 A1	06-10-2011
		EP 2552458 A1	06-02-2013
		EP 3473249 A1	24-04-2019
		US 2013136697 A1	30-05-2013
		US 2017028075 A1	02-02-2017
		WO 2011123591 A1	06-10-2011
-----			

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 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	
A 6 1 K 31/4178(2006.01)	A 6 1 K 31/4178	
A 6 1 K 31/5025(2006.01)	A 6 1 K 31/5025	
A 6 1 K 31/4164(2006.01)	A 6 1 K 31/4164	
A 6 1 K 31/513(2006.01)	A 6 1 K 31/513	
A 6 1 K 47/59 (2017.01)	A 6 1 K 47/59	
A 6 1 K 9/16 (2006.01)	A 6 1 K 9/16	
A 6 1 K 9/08 (2006.01)	A 6 1 K 9/08	
A 6 1 K 9/14 (2006.01)	A 6 1 K 9/14	
A 6 1 K 9/20 (2006.01)	A 6 1 K 9/20	
A 6 1 K 9/48 (2006.01)	A 6 1 K 9/48	
A 6 1 P 25/28 (2006.01)	A 6 1 P 25/28	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
A 6 1 K 35/17 (2015.01)	A 6 1 K 35/17	
A 6 1 K 39/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/00	H
A 6 1 P 9/00 (2006.01)	A 6 1 P 9/00	
A 6 1 P 11/00 (2006.01)	A 6 1 P 11/00	
A 6 1 P 31/12 (2006.01)	A 6 1 P 31/12	
A 6 1 P 31/14 (2006.01)	A 6 1 P 31/14	
A 6 1 P 31/20 (2006.01)	A 6 1 P 31/20	
A 6 1 P 31/18 (2006.01)	A 6 1 P 31/18	

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,  
CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,K  
E,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,N  
G,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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

## 1. TRITON

弁護士 山本 健策

- (72)発明者 カナン, スジャータ  
アメリカ合衆国 メリーランド 2 1 2 8 7, ボルチモア, オーリンズ ストリート 1 8 0 0,  
スイート 6 3 1 8 ディー, ザ シャーロット アール. ザ ジョンズ ホプキンス ホスピタル ブ  
ルームバート チルドレンズ センター 気付
- (72)発明者 ライス, ラナ  
アメリカ合衆国 メリーランド 2 1 2 0 5, ボルチモア, エヌ. ウルフ ストリート 8 5 5,  
ランゴス ビルディング, ルーム 2 7 3, ザ ジョンズ ホプキンス スクール オブ メディシン 気付
- (72)発明者 ランガラマヌジャム, カナン  
アメリカ合衆国 メリーランド 2 1 2 3 1, ボルチモア, エヌ. ブロードウェイ 4 0 0, ス  
ミス ビルディング, ルーム 6 0 1 9, ザ ジョンズ ホプキンス ユニバーシティー, ウィル  
マ アイ インスティテュート 気付
- (72)発明者 シャルマ, アンジャリ  
アメリカ合衆国 メリーランド 2 1 2 8 7, ボルチモア, エヌ. ブロードウェイ 4 0 0, ザ  
ジョンズ ホプキンス ユニバーシティー, スクール オブ メディシン, センター フォー ナ  
ノ メディシン 気付
- (72)発明者 スラッシャー, バーバラ  
アメリカ合衆国 メリーランド 2 1 2 0 5, ボルチモア, エヌ. ウルフ ストリート 8 5 5,  
ランゴス ビルディング, ルーム 2 7 8, ザ ジョンズ ホプキンス ユニバーシティー スク  
ール オブ メディシン, ザ ブレイン サイエンス インスティテュート 気付
- (72)発明者 タロン, キャロリン

アメリカ合衆国 メリーランド 2 1 2 0 5 , ボルチモア , エヌ . ウルフ ストリート 8 5 5 ,  
ランゴス ビルディング , ルーム 2 3 3 , ザ ジョンズ ホプキンス ユニバーシティー スクー  
ル オブ メディシン 気付

(72)発明者 トーマス , アジット

アメリカ合衆国 メリーランド 2 1 2 0 5 , ボルチモア , エヌ . ウルフ ストリート 8 5 5 ,  
ランゴス ビルディング , ルーム 2 6 8 , ザ ジョンズ ホプキンス ユニバーシティー スクー  
ル オブ メディシン , ザ ブレイン サイエンス インスティテュート 気付

(72)発明者 パンディ , ランジーヴ クマール

アメリカ合衆国 メリーランド 2 1 1 1 7 , オーウィングス ミルズ , タホ サークル 3 9 ,  
アパートメント - ディー

(72)発明者 パウエル , ジョナサン

アメリカ合衆国 メリーランド 2 1 2 1 8 , ボルチモア , グリーンウェイ 3 6 0 9

F ターム ( 参考 ) 4C076 AA11 AA30 AA31 AA36 AA53 AA95 BB01 BB11 CC01 CC04  
CC11 CC15 CC27 CC31 CC35 CC41 EE59  
4C084 AA17 AA19 AA20 MA16 MA35 MA37 MA41 MA43 MA52 MA55  
MA66 NA05 NA14 ZA011 ZA012 ZA151 ZA152 ZA161 ZA162 ZA361 ZA362  
ZA591 ZA592 ZB111 ZB112 ZB261 ZB262 ZB311 ZB312 ZB331 ZB332 ZC201  
ZC202  
4C085 AA03 BB01 EE01  
4C086 AA01 AA02 BC38 BC42 CB05 GA03 GA07 MA01 MA02 MA04  
MA05 MA16 MA35 MA37 MA41 MA43 MA52 MA55 MA66 NA05 NA13  
ZA01 ZA15 ZA16 ZA36 ZA59 ZB11 ZB26 ZB31 ZB33 ZC20  
4C087 AA01 BB37 MA52 MA55 MA66 NA05 ZA01 ZA15 ZA16 ZA36  
ZA59 ZB11 ZB26 ZB31 ZB33