

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号  
特許第7370966号  
(P7370966)

(45)発行日 令和5年10月30日(2023.10.30)

(24)登録日 令和5年10月20日(2023.10.20)

(51)国際特許分類		F I			
A 6 1 K	31/19 (2006.01)	A 6 1 K	31/19		
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 2 1	
請求項の数 15 (全55頁)					
(21)出願番号 特願2020-515978(P2020-515978)		(73)特許権者 508025518			
(86)(22)出願日 平成30年9月4日(2018.9.4)		フェニックス・バイオテクノロジー・イ			
(65)公表番号 特表2020-534299(P2020-534299		ンコーポレイテッド			
A)		アメリカ合衆国テキサス州78217・			
(43)公表日 令和2年11月26日(2020.11.26)		サンアントニオ・テソーロドライブ86			
(86)国際出願番号 PCT/US2018/049358		26・スウィート801			
(87)国際公開番号 WO2019/055245		(74)代理人 100094569			
(87)国際公開日 平成31年3月21日(2019.3.21)		弁理士 田中 伸一郎			
審査請求日 令和3年9月6日(2021.9.6)		(74)代理人 100103610			
(31)優先権主張番号 62/558,631		弁理士 吉 田 和彦			
(32)優先日 平成29年9月14日(2017.9.14)		(74)代理人 100109070			
(33)優先権主張国・地域又は機関		弁理士 須田 洋之			
米国(US)		(74)代理人 100119013			
前置審査		弁理士 山崎 一夫			
		(74)代理人 100123777			
最終頁に続く					

(54)【発明の名称】 神経学的状態を治療するための方法および改善された神経保護組成物

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

主要な薬理学的に活性な構成成分として、  
オレアノール酸、またはその塩(OA)と、  
ウルソール酸、またはその塩(UA)と、  
ベツリン酸、またはその塩(BA)と、を含み、  
OA:UA:BAのモル比が、9~12:0.2~2.5:0.2~2.5である、神  
経保護用組成物。

【請求項2】

OA:UA:BAの前記モル比が、10:1:1、9~11:0.5~1.5:0.5  
~1.5、9.5~10.5:0.75~1.25:0.75~1.25、9.5~10  
.5:0.8~1.2:0.8~1.2、9.75~10.5:0.9~1.1:0.9  
~1.1、9~12:0.2~2.5:0.2~2.5、9~12:0.25~2.5:  
0.25~2.5、9~12:0.35~2.5:0.35~2.5、9~12:0.4  
5~2.5:0.45~2.5、9~12:0.2~2:0.2~2、9~12:0.2  
5~2:0.25~2、9~12:0.45~2:0.45~2、9~12:0.5~2  
:0.5~2、9~12:0.2~1.5:0.2~1.5、9~12:0.25~1.  
5:0.25~1.5、9~12:0.7~1.5:0.35~1.5、9~12:0.  
45~1.5:0.45~1.5、9~12:0.5~1.5:0.5~1.5、9~1  
2:0.2~1:0.2~1、9~12:0.25~1:0.25~1、9~12:0.

10

20

35 ~ 1 : 0 . 35 ~ 1、9 ~ 12 : 0 . 45 ~ 1 : 0 . 45 ~ 1、9 ~ 12 : 0 . 5 ~ 1 : 0 . 5 ~ 1、9 ~ 12 : 0 . 25 ~ 0 . 75 : 0 . 25 ~ 0 . 75、9 . 5 ~ 10 . 5 : 0 . 35 ~ 0 . 7 : 0 . 35 ~ 0 . 7、9 . 5 ~ 10 . 5 : 0 . 4 ~ 0 . 6 : 0 . 4 ~ 0 . 6、または9 . 75 ~ 10 . 5 : 0 . 45 ~ 0 . 6 : 0 . 45 ~ 0 . 6である、請求項1に記載の神経保護用組成物。

【請求項3】

前記神経保護用組成物が、強心配糖体、およびステロイドを除外する、請求項1または2に記載の神経保護用組成物。

【請求項4】

1つ以上の他の治療上有効な薬剤をさらに含む、請求項1～3のいずれか一項に記載の神経保護用組成物。

【請求項5】

前記1つ以上の他の治療上有効な薬剤が、BACE（ベータ-セクレターゼ1；ベータ部位アミロイド前駆体タンパク質切断酵素1、ベータ部位APP切断酵素1、膜関連アスパラギン酸プロテアーゼ2、メマブシン-2、アスパルチルプロテアーゼ2、およびASP2）阻害剤、AZD3293、アセチルコリンエステラーゼ阻害剤、Namenda（商標）（メマンチンHCl）、Ariccept（商標）（ドネペジル）、Razadyne（商標）（ガランタミン）、Exelon（商標）（リバスチグミン）、Cognez（商標）（タクリン）、抗けいれん剤、NMDA（n-メチルD-アスパラギン酸塩）受容体アンタゴニスト、ナトリウムチャンネル遮断薬ビタミンE、バクロフェン（CoQ10の誘導体）、ラモトリギン（抗けいれん剤）、レマセמיד（低親和性NMDAアンタゴニストである麻酔薬）、リルゾール（Naチャンネル遮断薬）、アルテブラーゼ（血栓溶解剤）、レボドパ、カルビドパ、アマンタジン、COMT（カテコールO-メチルトランスフェラーゼ）阻害剤、トルカポン、エンタカポン、オピカポン、ドーパミンアンタゴニスト、プロモクリプチン、ペルゴリド、プラミペキソール、ロピニロール、ピリベジル、カベルゴリン、アポモルフィン、リスリド、MAO-B（モノアミンオキシダーゼ-B）阻害剤（選択的および非選択的MAO-B阻害剤）、抗コリン薬、コリンエステラーゼ阻害剤、イソカルボキサジド、ニアラミド、フェネルジン、ヒドラカルバジン、ラサギリン、セレギリン、リネゾリド、またはそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項4に記載の神経保護用組成物。

【請求項6】

少なくとも1つの薬学的賦形剤および請求項1～5のいずれか一項に記載の神経保護用組成物を含む薬学的剤形。

【請求項7】

対象の神経学的状態を治療する方法で用いるための請求項1～5のいずれか一項に記載の神経保護用組成物、または請求項6に記載の薬学的剤形であって、前記神経学的状態が、脳卒中である、神経保護用組成物、または薬学的剤形。

【請求項8】

前記方法が、

前記神経保護用組成物の投与を指示することと、

処方された初期投与計画に従って一定期間、前記神経保護用組成物の初期用量を前記対象に投与することと、

前記神経保護用組成物による治療に対する対象の臨床応答および/または治療応答の妥当性を定期的に判定することと、

前記対象の臨床応答および/または治療応答が妥当である場合、所望の臨床エンドポイントが達成されるまで、必要に応じて前記神経保護用組成物による治療を継続すること、または

前記対象の臨床応答および/または治療応答が前記初期用量および初期投与計画で妥当でない場合、前記対象の所望の臨床応答および/または治療応答が達成されるまで、前記用量を漸増または漸減させることと、を含む、請求項7に記載の神経保護用組成物または

10

20

30

40

50

薬学的剤形。

【請求項 9】

前記方法が、前記神経学的状態に罹患するリスクのある対象の集団を特定することをさらに含む、請求項 8 に記載の神経保護用組成物または薬学的剤形。

【請求項 10】

前記リスクのある対象の集団が、前記対象の進む年齢、前記神経学的状態の家族歴、神経学的状態の発生に対する遺伝的素因、前記対象における A p o E 4 遺伝子の存在および発現、女性の性別、心血管疾患（例えば、高血圧および高コレステロール値）、糖尿病（特に、この疾患の 2 型または成人発症型）、ダウン症候群、頭部外傷、低い学校教育のレベル、喫煙、過度のアルコール消費、ならびに / または薬物乱用によって特徴付けられる、請求項 9 に記載の神経保護用組成物または薬学的剤形。

10

【請求項 11】

前記神経保護用組成物が、長期間にわたって繰り返し基準で投与され、a) 前記繰り返し基準が、毎日、1 日おき、2 日おき、3 日おき、4 日おき、5 日おき、6 日おき、毎週、1 週おき、2 週おき、3 週おき、毎月、隔月、半月毎、1 ヶ月おき、2 ヶ月おき、四半期毎、四半期おき、三半期毎、季節毎、半年毎、および / もしくは毎年であり、b) 前記長期間が、1 以上の週、1 以上の月、1 以上の四半期、および / もしくは 1 以上の年であり、ならびに / または c) 前記有効用量が、1 日に 1 回以上投与される、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の神経保護用組成物または薬学的剤形。

【請求項 12】

20

対象の脳卒中を治療する時間遅延方法で用いるための請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の神経保護用組成物あって、前記方法が、

対象が前記脳卒中に罹患した後の遅延期間内に、初期投与計画に従って前記神経保護用組成物の初期用量を投与することと、

前記神経保護用組成物による治療に対する対象の臨床応答および / または治療応答の妥当性を判定することと、

前記対象の臨床応答および / または治療応答が妥当である場合、所望の臨床エンドポイントが達成されるまで、必要に応じて神経保護用組成物による治療を継続すること、または

前記対象の臨床応答および / または治療応答が前記初期用量および初期投与計画で妥当でない場合、前記対象の所望の臨床応答および / または治療応答が達成されるまで、前記用量を漸増または漸減させることと、を含む、神経保護用組成物。

30

【請求項 13】

前記遅延期間が、10 時間以下、8 時間以下、6 時間以下、4 時間以下、3 時間以下、2 時間以下、1 時間以下、45 分以下、30 分以下、20 分以下、または 10 分以下である、請求項 12 に記載の神経保護用組成物。

【請求項 14】

対象の臨床応答および / または治療応答の妥当性を判定することが、身体の片側の顔、腕、および / または足の任意の弱さ、身体の片側の顔、腕、および / または足のしびれ、話し言葉を理解することができないこと、話すまたははっきりと話すことができないこと、書くことができないこと、めまいおよび / または歩行不均衡、複視、ならびに異常に重度の頭痛の評価によって行われる、請求項 12 または 13 に記載の神経保護用組成物。

40

【請求項 15】

前記組成物が、1 つ以上の他の治療上有効な薬剤をさらに含む、請求項 1 ~ 14 のいずれか一項に記載の神経保護用組成物または薬学的剤形。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、トリテルペンの組み合わせを含む改善された神経保護組成物で神経学的状態を治療する方法に関する。特に、本発明は、神経学的疾患または障害の治療を必要とする対象にこの組成物を投与することにより、神経学的疾患または障害を治療する方法に関す

50

る。本発明はまた、改善された神経保護組成物を含む薬学的組成物も含む。

【背景技術】

【0002】

神経学的疾患および障害は、脳機能に影響を与える。これらの疾患および障害の治療または改善療法を開発するために多くの努力がなされてきたが、しかしながら、様々な異なる疾患および障害に対して効果的であることが証明されている数多くの薬物療法的アプローチが存在するが、包括的または一般的治療法は開発されていない。

【0003】

ハンチントン病(HD)は、神経系に影響を与える脳の遺伝性疾患である。これは、親から子に渡される欠陥遺伝子によって引き起こされる。HD遺伝子は、適切な脳の発達に不可欠であると思われる「ハンチントン」として知られる特定のタンパク質の生産を妨害する。HDの古典的な兆候には、情緒障害、認知障害、および運動障害が含まれる。ハンチントン病は、ぎくしゃくした不随意運動(舞踏病)によって特徴付けられるが、時には異常な運動を伴わない硬直、手足の使用の変化(無呼吸)、身体機能の制御の喪失、ならびに記憶、思考速度、判断、および問題ならびに計画の認識の欠如を含む認知症を引き起こす。ハンチントン病の治療法は知られていない。感情および運動の問題などのHDに関連する症状を制御するのに役立ついくつかの薬剤は存在するが、疾患の進行を止めるまたは逆転させる治療法は存在しない。ハンチントン病は、一般的な膜異常を伴う疾患として認識されている。ハンチントン病患者の赤血球および大脳基底核の膜で、正常なものと比較してNa、K-ATPaseの著しく高められたレベルおよび活性(10倍増加)が、観察されている(Butterfield DA, Oeswein JQ, Prunty ME, Hisle KC, Markesbery WR)。ハンチントン病の赤血球膜におけるナトリウム、カリウムアデノシントリホスファターゼ活性の増加。Ann Neurol, 4:60-62, 1978)ハンチントン病患者の皮膚から得られた線維芽細胞膜(Schroeder F, Goetz IE, Roberts E, Membrane anomalies in Huntington's disease fibroblasts. J. Neurochem. 43:526-539, 1984)。

【0004】

アルツハイマー病は、認知症の一形態であり、脳の知的機能(記憶、方向、計算など)を損傷する、通常はその運動機能を維持する神経変性疾患である。アルツハイマー病では、精神が徐々に悪化し、記憶喪失、混乱、見当識障害、判断力の低下、および通常の日常活動を行う人の能力に影響を与え得る他の問題を引き起こす。精神的変化の種類、重症度、順序、および進行は、大きく異なる。アルツハイマー病の治療法は知られておらず、その進行を遅らせる方法も知られていない。疾患の初期または中期のいくつかの人々にとって、タクリンなどの薬剤は、いくつかの認知症状を緩和し得る。アリセプト(ドネペジル)およびエクセロン(リバスチグミン)は、アルツハイマー型の軽度から中等度の認知症の治療に適応する可逆的アセチルコリンエステラーゼ阻害剤である。これらの薬物(コリンエステラーゼ阻害剤と称される)は、脳の神経伝達物質であるアセチルコリンのレベルを増加させることにより作用し、脳細胞間のコミュニケーションを回復するのを助ける。いくつかの薬剤は、不眠、動揺、不安、およびうつ病などの行動症状の抑制に役立ち得る。これらの治療は、患者をより快適にすることを目的としている。アルツハイマー病を治療する薬剤は知られていないが、コリンエステラーゼ阻害剤は、日常活動のパフォーマンスを改善するか、または行動上の問題を軽減し得る。現在試験されているアルツハイマー病の治療のための薬剤には、エストロゲン、非ステロイド性抗炎症剤、ビタミンE、セレギリン(カーベックス(Carboxy)),エルデプリル(Eldepryl)),および植物性製品のGinkgo bilobaが含まれる。

【0005】

トリテルペンは、幅広い様々な治療活性を有することが知られている。既知のトリテルペンのいくつかには、オレアノール酸、ウルソール酸、ベツリン酸、バルドキソロン、マスリン酸などが含まれる。トリテルペンの治療活性は、トリテルペンの組み合わせとして

10

20

30

40

50

ではなく、主に個別に評価されている。

【0006】

Rongら(Pharm. Biol. (Jan 2011), 49(1), 78-85)は、オレアノール酸が、虚血性脳卒中の減衰に好適であり得ることを提案している。Sora(Arch. Pharm. Res. (Jun 2009), 32(6), 923-932)は、オレアノール酸が、脳卒中の神経変性の予防および治療に好適であり得ることを提案している。Liら(Brain Res. (Feb. 2013), 1497, 32-39)は、ウルソール酸が、マウスの脳虚血後に神経保護を提供し得ることを提案している。Garcia-Moralesら(Arch. Pharm. Res. (Jul 2015), 38(7), 1369-1379)は、*Bouvardia ternifolia*の抽出物が、アルツハイマー病の治療のためにさらに研究されるべきであることを提案している。Zhangら(Neuroscience Letters (2014), 579, 12-17)は、ウルソール酸が、実験的くも膜下出血後に酸化ストレスを低減させることを報告している。Qianら(Eur. J. Pharmacol. (2011), 670(1), 148-153)は、マスリン酸が、ラットにおいて皮質神経細胞を酸素グルコース欠乏により誘発される損傷から保護することを報告している。Consejo Superior de Investigaciones Científicas(Madrid, ES)のEP2260851A1は、多発性硬化症の治療へのオレアノール酸の使用を提案している。Yooら(Molecules, (May 2012), 17(3), 3524-38)は、抗アルツハイマー病治療薬としてのテルペノイドの使用を提案している。Heoら(Mol. Cells (Feb. 2002), 13(1), 5-11)は、ウルソール酸が、アミロイドベータタンパク質によって誘発される酸化的細胞死を低減することを提案している。Chungら(Mol. Cells (April 2001), 11(2), 137-143)は、ウルソール酸がアルツハイマー病におけるアセチルコリンエステラーゼの強力な阻害剤であるように思われると提案している。ChoiらのUS2007/0249711A1(Pub. Date. Oct. 25, 2007)は、脳機能を改善し、軽度の認知機能障害および認知症を予防および治療するためのオレアノール酸およびウルソール酸の使用を提案している。

【0007】

オレアノール酸は、バルドキソロンなどの化合物に代表されるトリテルペノイドのクラスに属し、それは、転写因子Nrf2の活性化が抗酸化転写応答要素(ARE)を含む下流の抗酸化遺伝子のプログラムの転写増加につながる自然細胞相2解毒経路の強力な活性化因子であることが示されている。バルドキソロン自体は、炎症状態の臨床試験で広く調査されているが、しかしながら、高められた濃度のバルドキソロンを含むある特定のトリテルペノイドの既知の細胞毒性に関連している可能性がある有害事象のため、慢性腎臓疾患の第3相臨床試験は終了した。

【0008】

他の治療成分と組み合わせてトリテルペンを含む組成物は、植物抽出物として見出される。Fumikoら(Biol. Pharm. Bull (2002), 25(11), 1485-1487)は、トリパノソーマ症を治療するための*Rosmarinus officinalis* L.のメタノール抽出物の評価を開示している。Addingtonら(US8481086、US9220778、US9358293、US2016/0243143A1)は、神経学的状態の治療のためのオレアンドリンおよびトリテルペンを含む*Nerium oleander*の超臨界流体抽出物(SCF; PBI-05204)を開示している。Addingtonら(US9011937、US2015/0283191A1)は、神経学的状態の治療のためのオレアンドリンおよびトリテルペンを含む*Nerium oleander*のSCF抽出物のトリテルペン含有画分(PBI-04711)を開示している。Jagerら(Molecules (2009), 14, 2016-2031)は、オレアノール酸、ウルソール酸、ベツリン酸、および他の構成成分の混合物を含む様々な植物抽出物を開示している。Misraら(PLoS O

ne 2016 25;11(7):e0159430. Epub 2016 Jul 25) は、オレアノール酸、ウルソール酸、ベツリン酸、および他の構成成分の混合物を含む *Betula utilis* 樹皮の抽出物を開示している。Wangら (Molecules (2016), 21, 139) は、オレアノール酸、ウルソール酸、ベツリン酸、および他の構成成分の混合物を含む *Alstonia scholaris* の抽出物を開示している。L. e Silvaら (Molecules (2012), 17, 12197) は、オレアノール酸、ウルソール酸、ベツリン酸、および他の構成成分の混合物を含む *Eriope blanchetti* の抽出物を開示している。Ruiら (Int. J. Mol. Sci. (2012), 13, 7648-7662) は、オレアノール酸、ウルソール酸、ベツリン酸、および他の構成成分の混合物を含む *Eucaplyptus globulus* の抽出物を開示している。Ayatollahiら (Iran. J. Pharm. Res. (2011), 10(2), 287-294) は、オレアノール酸、ウルソール酸、ベツリン酸、および他の構成成分の混合物を含む *Euphorbia microsciadia* の抽出物を開示している。Wuら (Molecules (2011), 16, 1-15) は、オレアノール酸、ウルソール酸、ベツリン酸、および他の構成成分の混合物を含む *Ligustrum* 種の抽出物を開示している。Leeら (Biol. Pharm. Bull (2010), 33(2), 330) は、オレアノール酸、ウルソール酸、ベツリン酸、および他の構成成分の混合物を含む *Forsythia viridisissima* の抽出物を開示している。

#### 【0009】

オレアノール酸 (OまたはOA)、ウルソール酸 (UまたはUA)、およびベツリン酸 (BまたはBA) は、PBI-05204 (PBI-23; *Nerium oleander* の超臨界流体抽出物) および PBI-04711 (PBI-05204 のトリテルペン含有画分0~4) に見出される3つの主要なトリテルペン構成成分である。発明者ら (本発明者のうちの2名) は、同様の濃度で脳スライス酸素グルコース欠乏 (OGD) モデルアッセイにおいてそれらの神経保護活性を比較することによる有効性に向けたトリテルペンの寄与について、以前に報告した (Van Kaneganらの *Nature Scientific Reports* (May 2016), 6:25626. doi:10.1038/srep25626)。PBI-05204 (PBI) および PBI-04711 (画分0~4) は、神経保護活性を提供することを見出した (図1)。その後、3つの主要な個々のトリテルペンおよびウバオール (Uva) の神経保護活性を、OGDアッセイにおいて等モル基準で個別に評価した (図5)。OAは、UAよりも高い活性を提供するが、一方で、BAおよびUva (ウバオール) は、試験された濃度でほとんどまたは全く活性を提供しないことを見出した。このアッセイにおけるUAの活性は、濃度依存性様式で様々な活性を示したことを見出した。PBI-04711および個々のトリテルペンの基礎となる神経保護活性の潜在的なメカニズムとして、核因子赤血球2関連因子 (Nrf2) 依存性抗酸化遺伝子の活性化を仮定した。したがって、AREルシフェラーゼプロモーターレポーターアッセイを用いて、脳切片OGDアッセイのように神経細胞およびグリア細胞型からなる皮質線条体一次神経細胞共培養系を使用して、神経細胞におけるNrf2-ARE (抗酸化剤転写応答配列) 遺伝子経路を活性化するそれらの組成物の能力を決定した。PBI-04711は、細胞抗酸化防御経路を媒介する転写因子NRF2の活性化を介して、標準的な標的ARE遺伝子 (グルタミン酸システインリガーゼ、触媒サブユニット (Gclc)、NAD(P)H:キノンオキシドレダクターゼ1 (Nqo1)、スルフィレドキシン抗酸化タンパク質 (Srx)、およびヘムオキシゲナーゼ1 (Hmox1)) の発現を増加させたことを見出した (図2A~2D)。しかしながら、個々のトリテルペンのこの活性をPBI-04711の活性と比較すると (図3)、UAは、BAおよびOAと比較してARE遺伝子発現を誘発することにおいて、単一薬剤としてかなりより強力であるように思われると見出され、SrxおよびHmox1の誘発は、OAまたはBAよりもUAの活性によるものであるが、UAは、神経保護OGDアッセイで依然としてより低い活性を示すことを意味する。UAおよびBAは、遺伝子発現で最も活性が

高いが、一方で、それらは遺伝子発現を誘導するのに必要な濃度よりもわずかに2～3倍高い濃度でも非常に毒性であることを見出した。発明者らの以前の結果は、インビボで完全なARE誘発活性を実現する用量を達成するには、UAおよびBAは毒性が強すぎる可能性が高いことを提案した。発明者らの以前の結果はまた、OAは、比較的不活性であったため、それらのモル比でのトリテルペンの組み合わせ(PBI-05204およびPBI-04711中)が、細胞レベルで毒性でない用量で最適な神経保護活性を達成できた可能性は低いことを提案した。

【0010】

US8481086、US922078、US9358293、およびUS2016/0243143A1は、神経学的状態の治療のためのPBI-05204の使用を開示している。US9011937およびUS2015/0283191A1は、神経学的状態の治療のためのPBI-04711の使用を開示している。

10

【0011】

当該技術分野は、オレアノール酸、ウルソール酸、およびベツリン酸から選択される3つの異なるトリテルペンの組み合わせを含む神経保護組成物も、トリテルペンが本明細書に定義されるようなモル比で存在する神経学的状態の治療のためのそのような組成物の使用も提案していない。当該技術分野は、個々のトリテルペンの投与またはトリテルペンの他の組み合わせの投与と比較して、そのようなトリテルペンの組み合わせの投与により提供される改善を認識していない。

以下の図は、本明細書の一部を形成し、先行技術のうちのいくつかおよび特許請求される発明の例示的な実施形態を説明する。当業者は、これらの図および本明細書の説明に照らして、過度の実験なしで本発明を実施することができるであろう。

20

【図面の簡単な説明】

【0012】

【図1】(先行技術; Van Kanegan: 上記参照) 脳切片酸素グルコース欠乏(OGD)アッセイにおけるPBI-05204(PBI)およびPBI-04711(PBI-05204の画分0～4)の比較評価の結果を示す。冠状脳切片外植片を準備し、5.5分間の一過性OGDに供した。各脳切片の健康な皮質錯体神経細胞の数を、24時間後にスコアリングした。グラフの最初の3つのバーは、OGDに供されていない対照脳切片(「対照」; OGDに供され、DMSO担体のみで処理された陰性対照脳切片(「OGD」; およびOGDに供され、23 µg/mlの完全なPBI-05204抽出物で処理された陽性対照脳切片(「PBI23」)を示す。画分を、µg/mlの単位で示される濃度で試験した。画分0～4は、試験した濃度で有意な神経保護を提供した(10 µg/ml以上の画分0～3の濃度は毒性を示した; データには示さず)。

30

【図2A】(先行技術: Van Kanegan: 上記参照) 画分0～4(PBI-04711): a) Gclc発現(図2A)のARE遺伝子発現アッセイの結果を示す。初代マウス皮質線条体共培養物を、示される濃度で、画分0～4で6時間処理し、次いで、示されるARE標的遺伝子のqPCR分析のために採取および処理した。定量的RNA値を、GAPDH参照対照に対して正規化し、倍数発現の変化を、値1に設定されたDMSO担体のみの条件(「0」)に対して表す。

40

【図2B】(先行技術: Van Kanegan: 上記参照) 画分0～4(PBI-04711): b) Nqo1発現(図2B)のARE遺伝子発現アッセイの結果を示す。初代マウス皮質線条体共培養物を、示される濃度で、画分0～4で6時間処理し、次いで、示されるARE標的遺伝子のqPCR分析のために採取および処理した。定量的RNA値を、GAPDH参照対照に対して正規化し、倍数発現の変化を、値1に設定されたDMSO担体のみの条件(「0」)に対して表す。

【図2C】(先行技術: Van Kanegan: 上記参照) 画分0～4(PBI-04711): c) Srx発現(図2C)のARE遺伝子発現アッセイの結果を示す。初代マウス皮質線条体共培養物を、示される濃度で、画分0～4で6時間処理し、次いで、示されるARE標的遺伝子のqPCR分析のために採取および処理した。定量的RNA値を、

50

GAPDH参照対照に対して正規化し、倍数発現の変化を、値1に設定されたDMSO担体のみの条件(「0」)に対して表す。

【図2D】(先行技術: Van Kanegan: 上記参照)画分0~4(PBI-04711): d) Hmox1発現(図2D)のARE遺伝子発現アッセイの結果を示す。初代マウス皮質線条体共培養物を、示される濃度で、画分0~4で6時間処理し、次いで、示されるARE標的遺伝子のqPCR分析のために採取および処理した。定量的RNA値を、GAPDH参照対照に対して正規化し、倍数発現の変化を、値1に設定されたDMSO担体のみの条件(「0」)に対して表す。

【図3】(先行技術: Van Kanegan: 上記参照)画分0~4および個々のトリテルペンであるオレアノール酸、ウルソール酸、ベツリン酸、およびウバオール(ウバロールとも称される)のARE遺伝子発現アッセイの結果を示す。「X」記号は、毒性を誘発し、かつqPCR分析を支持するには残留mRNAの回収が不十分であった化合物の濃度を示す。ラットの初代皮質線条体共培養物を、示される濃度で、画分0~4( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )またはオレアノール酸、ウルソール酸、ベツリン酸、もしくはウバオール(全て $\mu\text{M}$ の単位)で6時間処理し、次いで、示されるARE標的遺伝子のqPCR分析のために採取および処理した。定量的RNA値を、GAPDH参照対照に対して正規化し、倍数発現の変化を、値1に設定されたDMSO担体のみの条件(「-」)に対して表す。濃い色のバーは、 $p < 0.05$ の学生t検定によるDMSO担体のみの対照に関する統計的に有意な差を示す。

【図4】より狭い間隔の濃度範囲で、画分0~4および個々のトリテルペンであるウルソール酸およびベツリン酸の発現アッセイの結果を示す。ラットの初代皮質線条体共培養物を、示される濃度で、画分0~4( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )またはウルソール酸およびベツリン酸( $\mu\text{M}$ の単位)で6時間処理し、次いで、示されるARE標的遺伝子のqPCR分析のために採取および処理した。定量的RNA値を、GAPDH参照対照に対して正規化し、倍数発現の変化を、値1に設定されたDMSO担体のみの条件(「-」)に対して表す。濃い青色のバーは、 $p < 0.05$ の学生t検定によるDMSO担体のみの対照に関する統計的に有意な差を示す。ベツリン酸はまた、ウルソール酸と同様に、より高い濃度でのその毒性にもかかわらず、SrxおよびHmox1の明確な上方制御を誘発することができる。

【図5】(先行技術: Van Kanegan: 上記参照)オレアノール酸(OA)、ウルソール酸(UA)、ベツリン酸(BA)、およびウバオール(Uva)の神経保護OGDアッセイにおける比較評価の結果を示す。脳切片OGDアッセイにおけるUA、BA、およびUva(全て $\mu\text{g}/\text{ml}$ の単位)の濃度-応答関係を示す。2つの独立した実験の平均が各化合物に含まれ、OGD陰性対照条件は100%にスケールし、比較の容易さのために同じ軸にデータをプロットする。陽性対照は、 $4\mu\text{g}/\text{ml}$ オレアノール酸(O)であった。表示の目的のために有効数字1桁に丸めた0.039、0.39、および $3.88\mu\text{g}/\text{ml}$ で試験されたウバオールを除いて、全ての分子量は同一であるため、これらは各化合物の等モル濃度であることに留意されたい。濃い色のバーは、ANOVA、その後の0.05の信頼水準でのダネットの事後比較検定によるOGD陰性対照に関する統計的に有意な差を示す。

【図6A】以下の例: ウルソール酸(図6A)に従って評価されたグリアを含む一次皮質線条体神経細胞共培養に対するトリテルペンの比較的細胞毒性の結果を示す。図6Aでは、ヨウ化プロピジウムを1時間添加し、次いで、PI陽性細胞の数を、Cellomic Array Scan VTIで自動化された高含有量分析で記録した。

【図6B】以下の例: ウルソール酸(図6B)に従って評価されたグリアを含む一次皮質線条体神経細胞共培養に対するトリテルペンの比較的細胞毒性の結果を示す。図6Bでは、MTS基質を2時間添加し、次いで、共培養ウェルを、マルチウェルプレートリーダーを使用して450nmで吸光度について測定した。

【図7A】以下の例: ベツリン酸(図7A)に従って評価されたグリアを含む一次皮質線条体神経細胞共培養に対するトリテルペンの比較的細胞毒性の結果を示す。図7Aでは、

10

20

30

40

50



ヨウ化プロピジウムを1時間添加し、次いで、P I 陽性細胞の数を、Cellomics Array Scan VTIで自動化された高含有量分析で記録した。

【図7B】以下の例：ベツリン酸（図7B）に従って評価されたグリアを含む一次皮質線条体神経細胞共培養に対するトリテルペンの比較的細胞毒性の結果を示す。図7Bでは、MTS基質を2時間添加し、次いで、共培養ウェルを、マルチウェルプレートリーダーを使用して450nmで吸光度について測定した。

【図8A】以下の例：オレアノール酸（図8A）に従って評価されたグリアを含む一次皮質線条体神経細胞共培養に対するトリテルペンの比較的細胞毒性の結果を示す。図8Aでは、ヨウ化プロピジウムを1時間添加し、次いで、P I 陽性細胞の数を、Cellomics Array Scan VTIで自動化された高含有量分析で記録した。

10

【図8B】以下の例：オレアノール酸（図8B）に従って評価されたグリアを含む一次皮質線条体神経細胞共培養に対するトリテルペンの比較的細胞毒性の結果を示す。図8Bでは、MTS基質を2時間添加し、次いで、共培養ウェルを、マルチウェルプレートリーダーを使用して450nmで吸光度について測定した。

【図9A】実施例3による虚血性脳卒中の脳切片アッセイで決定された、トリテルペン混合物（組成物I：PBI-04711のようにO：U：Bのモル比は3：2：2：1である（画分0～4；図9A））の比較的神経保護の結果を示す。脳切片あたりの健康な皮質線条体神経細胞の数を、酸素-グルコース欠乏（OGD）およびビヒクル（DMSO）のみに曝露された脳切片の100%（各グラフの2番目のバー）に設定された陰性対照条件に対して示す。OGDに曝露されていない陽性対照脳切片の値を、各グラフの最初のバーに示す。平均値+SEMは、各トリテルペン混合物の3～5回の独立した試験にわたって平均されていることを示し、水色のバーは、ANOVA、その後の $p < 0.05$ のダネットの事後比較検定によるOGD陰性対照に関する統計的に有意な差を示す。

20

【図9B】実施例3による虚血性脳卒中の脳切片アッセイで決定された、トリテルペン混合物（組成物II：PBI-05204のようにO：U：Bのモル比は7：8：7：4：1である（図9B））の比較的神経保護の結果を示す。脳切片あたりの健康な皮質線条体神経細胞の数を、酸素-グルコース欠乏（OGD）およびビヒクル（DMSO）のみに曝露された脳切片の100%（各グラフの2番目のバー）に設定された陰性対照条件に対して示す。OGDに曝露されていない陽性対照脳切片の値を、各グラフの最初のバーに示す。平均値+SEMは、各トリテルペン混合物の3～5回の独立した試験にわたって平均されていることを示し、水色のバーは、ANOVA、その後の $p < 0.05$ のダネットの事後比較検定によるOGD陰性対照に関する統計的に有意な差を示す。

30

【図9C】実施例3による虚血性脳卒中の脳切片アッセイで決定された、トリテルペン混合物（組成物III：O：U：Bのモル比は、本発明の改善された組成物あたり約10：1：1である（PBI-01011；図9C））の比較的神経保護の結果を示す。脳切片あたりの健康な皮質線条体神経細胞の数を、酸素-グルコース欠乏（OGD）およびビヒクル（DMSO）のみに曝露された脳切片の100%（各グラフの2番目のバー）に設定された陰性対照条件に対して示す。OGDに曝露されていない陽性対照脳切片の値を、各グラフの最初のバーに示す。平均値+SEMは、各トリテルペン混合物の3～5回の独立した試験にわたって平均されていることを示し、水色のバーは、ANOVA、その後の $p < 0.05$ のダネットの事後比較検定によるOGD陰性対照に関する統計的に有意な差を示す。

40

【図10A】PBI-05204、PBI-04711（Fxn 0～4とも称される）、オレアノール酸（O）、ウルソール酸（U）、ベツリン酸（B）、および指定されたモル比で存在するトリテルペンの組み合わせの比較Srx（図10A）発現アッセイの結果を示す。定量的RNA値を、GAPDH参照対照に対して正規化し、倍数発現の変化を、値1に設定されたDMSO担体のみの条件に対して示す。濃い青色のバーは、 $p < 0.05$ の学生t検定によるDMSO担体のみの対照に関する統計的に有意な差を示す。縞模様の赤色のバーは、過剰なレベルのARE遺伝子発現、つまり10倍超でそれを誘発した状態を示す。

50

【図10B】PBI-05204、PBI-04711(Fxn 0~4とも称される)、オレアノール酸(O)、ウルソール酸(U)、ベツリン酸(B)、および指定されたモル比で存在するトリテルペンの組み合わせの比較Hmox1(図10B)発現アッセイの結果を示す。定量的RNA値を、GAPDH参照対照に対して正規化し、倍数発現の変化を、値1に設定されたDMSO担体のみの条件に対して示す。濃い青色のバーは、 $p < 0.05$ の学生t検定によるDMSO担体のみの対照に関する統計的に有意な差を示す。縞模様の赤色のバーは、過剰なレベルのARE遺伝子発現、つまり10倍超でそれを誘発した状態を示す。

#### 【発明の概要】

##### 【0013】

本発明の目的は、複数のトリテルペンをその有効成分として含む改善された神経保護組成物を提供することであり、組成物は、等モル基準で他の密接に関連するトリテルペンベースの組成物と比較して、増加されたARE遺伝子発現、増加された神経保護、および低減された細胞毒性を提供する。本発明の別の目的は、過剰な細胞毒性を生じることなく幅広い投与範囲にわたって神経保護を提供するために、ARE遺伝子の均衡発現を提供するトリテルペンベースの神経保護組成物を提供することである。本発明の別の目的は、等モル基準で他の密接に関連するトリテルペンベースの組成物と比較して、より幅広い用量応答曲線およびより幅広い(より広い)治療域を提供する改善された神経保護組成物を提供することである。改善された神経保護組成物は、等モル基準で他の密接に関連するトリテルペンベースの組成物と比較して、より幅広い治療域を提供し、それは特に投与範囲の上限でより低い毒性とともにより幅広い投与範囲を意味する。

##### 【0014】

本発明は、少なくとも3つのトリテルペンを含む(から本質的になる)改善された神経保護組成物を、それを必要とする対象に投与することを含む、神経学的状態を治療する改善された方法を提供する。トリテルペンのモル比は、神経保護組成物(複数可)の有効性および安全性に影響することが見出されている。本発明の実施形態には、トリテルペンのモル比が本明細書に記載される通りであるものが含まれる。改善された神経保護組成物中のトリテルペンのモル比は、PBI-05204およびPBI-04711で見出されるものとは異なり、かつ改善されている。いくつかの実施形態では、神経保護組成物は、唯一の薬理学的に活性な成分(薬剤)としてトリテルペンを含む。神経保護組成物は、ステロイド、強心配糖体、生物学的/薬理学的に活性な多糖類、および/または非強心配糖体ステロイドを除外し得る。

##### 【0015】

一態様では、本発明は、治療を必要とする対象において、少なくとも2つまたは少なくとも3つのトリテルペンを含む神経保護組成物により神経学的疾患または障害を治療する方法を提供し、対象が、神経学的疾患または障害を有すると判定することと、対象への治療有効量の神経保護組成物の投与を指示することとを含む。

##### 【0016】

一態様では、本発明は、治療を必要とする対象において、神経保護組成物により神経学的疾患または障害を治療する方法を提供し、対象が、神経学的疾患または障害を有すると判定することと、対象への治療有効量の神経保護組成物の投与を指示することとを含む。

##### 【0017】

本発明はまた、本発明は、治療を必要とする対象において、神経保護組成物により神経学的疾患または障害を治療する方法を提供し、治療有効量の神経保護組成物を対象に投与することを含む。

##### 【0018】

本発明のいくつかの実施形態は、1)対象が、治療関連用量の神経保護組成物を処方および投与される; 2)対象が、処方された投与計画に従って神経保護組成物を投与される

10

20

30

40

50

； 3 ) 神経保護組成物が、強心配糖体を除外する； 4 ) 神経保護組成物が、治療有効量の強心配糖体を除外する； 5 ) 神経保護組成物が、オレアンドリンを除外する； 6 ) 神経保護組成物が、ネリイホリン (neriifolin) を除外する； 7 ) 神経保護組成物が、Nerium種またはThevetia種から得られた薬理的に活性な多糖類を除外する、あるいは 8 ) 上記のうちのいずれかの組み合わせであるものを含む。

【 0 0 1 9 】

本発明はまた、治療を必要とする対象において神経学的状態を治療する方法を提供し、対照の神経学的状態が、アルツハイマー病、ハンチントン病、脳卒中、パーキンソン病、または他の神経学的状態であるかどうかを判定することと、  
神経保護組成物の投与を指示することと、  
処方された初期投与計画に従って一定期間、神経保護組成物の初期用量を対象に投与することと、  
神経保護組成物による治療に対する対象の臨床応答および／または治療応答の妥当性を定期的に判定することと、  
対象の臨床応答および／または治療応答が妥当である場合、所望の臨床エンドポイントが達成されるまで、必要に応じて神経保護組成物による治療を継続すること、または  
対象の臨床応答および／または治療応答が初期用量および初期投与計画で妥当でない場合、対象の所望の臨床応答および／または治療応答が達成されるまで、神経保護組成物の用量を漸増または漸減させることと、を含む。

【 0 0 2 0 】

本発明はまた、神経学的状態のリスクのある対象の集団においてその発生率を予防または低減する方法を提供し、  
アルツハイマー病、ハンチントン病、パーキンソン病、脳卒中、または他の神経学的状態などの神経学的状態に罹患するリスクのある集団において 1 名以上の対象に、長期間にわたって繰り返しの頻度で、有効量の神経保護組成物を投与し、それにより集団における神経学的状態の発生を予防または低減することを含む。

【 0 0 2 1 】

本発明はまた、 a ) 方法が、 1 名以上の対象への神経保護組成物の投与を指示することをさらに含む； b ) 方法が、処方された投与計画に従って一定期間、神経保護組成物の有効用量を対象に投与することをさらに含む； c ) 方法が、神経保護組成物による治療に対する 1 つ以上の対象の臨床応答および／または治療応答の妥当性を定期的に判定することを含む； d ) 対象の臨床応答および／または治療応答が妥当である場合、所望の臨床エンドポイントが達成されるまで、方法が、必要に応じて神経保護組成物による治療を継続することをさらに含む； e ) 対象の臨床応答および／または治療応答が初期用量および初期投与計画で妥当でない場合、方法が、対象の所望の臨床応答および／または治療応答が達成されるまで、神経保護組成物の用量を漸増または漸減させることをさらに含む； f ) 神経保護組成物が、集団の複数の対象に投与される； g ) 繰り返しの頻度が、毎日、 1 日おき、 2 日おき、 3 日おき、 4 日おき、 5 日おき、 6 日おき、毎週、 1 週おき、 2 週おき、 3 週おき、毎月、隔月、半月毎、 1 ヶ月おき、 2 ヶ月おき、四半期毎、四半期おき、季節毎、三半期毎、季節毎、半年毎、および／または毎年である； h ) 長期間、 1 週間以上、 1 か月以上、 1 四半期以上、および／または 1 年以上である； i ) 有効用量が、 1 日に 1 回以上投与される； j ) 方法が、アルツハイマー病、ハンチントン病、パーキンソン病、脳卒中、または他の神経学的状態などの神経学的状態に罹患するリスクのある集団を特定することをさらに含む； k ) リスクのある対象の集団が、対象の進む年齢、神経学的状態の家族歴、神経学的状態の発生に対する遺伝的素因、対象における A p o E 4 遺伝子の存在および発現、女性の性別 (男性より 2 倍の数の女性がアルツハイマー病になる)、心血管疾患 (例えば、高血圧および高コレステロール値)、糖尿病 (特に、この疾患の 2 型または成人発症型)、ダウン症候群、頭部外傷、低い学校教育のレベル、喫煙、過度のアルコール消費、ならびに／または薬物乱用によって特徴付けられる；あるいは l ) それらの組み合わせである実施形態を含む。

## 【 0 0 2 2 】

本発明はまた、対照の脳卒中を治療する時間遅延方法を提供し、対象が脳卒中に罹患した後の遅延期間内に、初期投与計画に従って神経保護組成物の初期用量を投与することと、神経保護組成物による治療に対する対象の臨床応答および／または治療応答の妥当性を判定することと、対象の臨床応答および／または治療応答が妥当である場合、所望の臨床エンドポイントが達成されるまで、必要に応じて神経保護組成物による治療を継続すること、または対象の臨床応答および／または治療応答が初期用量および初期投与計画で妥当でない場合、対象の所望の臨床応答および／または治療応答が達成されるまで、神経保護組成物の用量を漸増または漸減させることと、を含む。

10

## 【 0 0 2 3 】

本発明のいくつかの実施形態は、１）遅延期間が、１０時間以下、８時間以下、６時間以下、４時間以下、３時間以下、２時間以下、１時間以下、４５分以下、３０分以下、２０分以下、または１０分以下であるか、２）対象の臨床応答および／または治療応答の妥当性を判定することが、身体の片側の顔、腕、および／または足の任意の弱さ、身体の片側の顔、腕、および／または足のしびれ、話し言葉を理解することができないこと、話すまたははっきりと話すことができないこと、書くことができないこと、めまいおよび／または歩行不均衡、複視、ならびに異常に重度の頭痛の評価によって行われるか、または３）それらの組み合わせであるものを含む。

20

## 【 0 0 2 4 】

本発明はまた、対象の神経学的状態の治療のための医薬品の製造における神経保護組成物の使用を提供する。いくつかの実施形態では、そのような医薬品の製造は、神経保護組成物を提供することと、薬学的剤形の神経保護組成物の用量を含むことと、薬学的剤形をパッケージすることとを含む。本発明はまた、対象の神経学的状態の治療のための神経保護組成物を含む薬学的組成物を提供する。製造はまた、パッケージされた剤形を売主（小売業者、卸売業者、および／または流通業者）に送ること、神経学的状態を有する対象にパッケージされた剤形を販売またはそうでなければ提供すること、使用、投与計画、投与、内容物、および剤形の毒性プロファイルに関する指示を提供するラベルおよび添付文書を医薬品とともに含むことなどの１つ以上の追加のステップを含む。いくつかの実施形態では、神経学的状態の治療は、対象が神経学的疾患または障害を有することを判定することと、投与計画に従って対象への神経保護組成物の投与を指示することと、神経保護組成物を含む１つ以上の薬学的剤形を対象に投与することとを含み、１つ以上の薬学的剤形は、投与計画に従って投与される。

30

## 【 0 0 2 5 】

いくつかの実施形態では、神経学的状態を有する対象、すなわち、それを必要とする対象は、そのような対象の集団の一部である。本発明は、神経学的状態を有する対象の集団における統計的に有意な数の対象の臨床状態を改善する方法を提供し、方法は、本明細書に記載されるような神経保護組成物を対象の集団に投与することと、対象の臨床状態を判定することとを含む。いくつかの実施形態では、統計的に有意な数は、集団の少なくとも５％である。

40

## 【 0 0 2 6 】

いくつかの実施形態では、神経学的状態は、アルツハイマー病、ハンチントン病、脳卒中、パーキンソン病、タウオパチー、または本明細書に記載されるような他の神経学的状態である。

## 【 0 0 2 7 】

神経保護組成物による対象の治療は、必要に応じて継続される。患者が、疾患に関連する特定の神経学的症状の低減または緩和などの所望の臨床的エンドポイント（複数可）に達するまで、用量または投与計画が必要に応じて調整され得る。臨床応答および／または治療応答の妥当性の判定は、治療中の神経学的状態に精通した臨床医が行われ得る。

50

## 【 0 0 2 8 】

いくつかの実施形態では、神経学的状態は、神経学的疾患、神経学的障害、タウオパチー、および脳卒中からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、神経学的疾患は、神経変性疾患である。いくつかの実施形態では、神経変性疾患は、ハンチントン病、アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、ウシ海綿状脳症、多発性硬化症、糖尿病性ニューロパチー、自閉症、および若年性神経セロイドリポフスチン症からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、脳卒中は、脳卒中媒介虚血性損傷である。いくつかの実施形態では、神経学的状態は、タウオパチーであり、これは、対象における T a u 3 R / T a u 4 R 比の不均衡に関連する病因を有する神経変性疾患である。タウオパチーは、ヒトの脳内のタウタンパク質の病理学的凝集に起因する神経変性疾患のクラスである。いくつかの実施形態では、タウオパチーは、ダウン症候群、ピック病、皮質基底核変性、プリオン病のいくつかのバリエーション、アルツハイマー病、進行性核上性麻痺、または前頭側頭型認知症である。本発明の方法の個々のステップは、別々の施設で、または同じ施設内で行うことができる。

10

## 【 0 0 2 9 】

いくつかの実施形態では、本発明は、対象に投与されたときに本明細書に記載されるような治療活性を示す神経保護組成物を提供する。いくつかの実施形態では、本発明の方法は、本明細書に記載されるような神経保護組成物を用いる。

## 【 0 0 3 0 】

いくつかの実施形態では、本発明の神経保護組成物は、少なくとも2つのトリテルペンを含む（から本質的にからなる）。いくつかの実施形態では、本発明の神経保護組成物は、少なくとも3つのトリテルペンを含む（から本質的にからなる）。

20

## 【 0 0 3 1 】

いくつかの実施形態では、本発明の組成物は、オレアノール酸（その遊離酸、塩、誘導体、またはプロドラッグ）およびウルソール酸（その遊離酸、塩、誘導体、またはプロドラッグ）および任意に少なくとも1つの他のトリテルペンを含み（から本質的になり）、トリテルペンのモル比は、本明細書に記載の通りである。例えば、組成物は、ベツリン酸（その遊離酸、塩、誘導体、またはプロドラッグ）または少なくとも1つの他のトリテルペンをさらに含み得る。

## 【 0 0 3 2 】

いくつかの実施形態では、本発明の組成物は、オレアノール酸（その遊離酸、塩、誘導体、またはプロドラッグ）およびベツリン酸（その遊離酸、塩、誘導体、またはプロドラッグ）および任意に少なくとも1つの他のトリテルペンを含み（から本質的になり）、トリテルペンのモル比は、本明細書に記載の通りである。例えば、組成物は、ウルソール酸（その遊離酸、塩、誘導体、またはプロドラッグ）または少なくとも1つの他のトリテルペンをさらに含み得る。

30

## 【 0 0 3 3 】

本発明のいくつかの実施形態は、少なくともオレアノール酸（その遊離酸、塩、誘導体、またはプロドラッグ）、ベツリン酸（その遊離酸、塩、誘導体、またはプロドラッグ）、およびウルソール酸（その酸、塩、誘導体、またはプロドラッグ）を含む（から本質的になる）神経保護組成物を提供する。

40

## 【 0 0 3 4 】

薬学的剤形は、神経保護組成物および1つ以上の薬学的に許容される賦形剤を含む。

## 【 0 0 3 5 】

いくつかの実施形態では、神経保護組成物は、トリテルペンであるオレアノール酸、ウルソール酸、およびベツリン酸を含み（から本質的になる）、トリテルペンのモル比は、本明細書に記載の通りである。いくつかの実施形態では、神経保護組成物は、少なくとも1つの薬学的に許容される賦形剤をさらに含む薬学的組成物に含まれる。

## 【 0 0 3 6 】

いくつかの実施形態では、神経保護組成物中の薬理学的に活性な成分の大部分は、オレ

50

アノール酸である。オレアノール酸は、ウルソール酸およびベツリン酸を超えるモル過剰で存在する。オレアノール酸およびウルソール酸は、一緒に（合計）、または個別にベツリン酸を超えるモル過剰で存在し得る。オレアノール酸およびベツリン酸は、一緒に（合計）、または個別にウルソール酸を超えるモル過剰で存在し得る。

【0037】

オレアノール酸（またはその塩、誘導体、もしくはプロドラッグ）、ウルソール酸（またはその塩、誘導体、もしくはプロドラッグ）、およびベツリン酸（またはその塩、誘導体、もしくはプロドラッグ）が、主要または唯一のトリテルペンとして存在する場合、オレアノール酸（O）：ウルソール酸（U）：ベツリン酸（B）のモル比は、約10：約1：約1、約9～11：約0.5～1.5：約0.5～1.5、約9.5～10.5：約0.75～1.25：約0.75～1.25、約9.5～10.5：約0.8～1.2：約0.8～1.2、約9.75～10.5：約0.9～1.1：約0.9～1.1、約9～12：約0.15～2.5：約0.15～2.5、約9～12：約0.2～2.5：約0.2～2.5、約9～12：約0.25～2.5：約0.25～2.5、約9～12：約0.35～2.5：約0.35～2.5、約9～12：約0.45～2.5：約0.45～2.5、約9～12：約0.5～5：約0.5～2.5、約9～12：約0.16～2：約0.16～2、約9～12：約0.2～2：約0.2～2、約9～12：約0.25～2：約0.25～2、約9～12：約0.25～2：約0.25～2、約9～12：約0.45～2：約0.45～2、約9～12：約0.5～2：約0.5～2、約9～12：約0.16～1.5：約0.16～1.5、約9～12：約0.2～1.5：約0.2～1.5、約9～12：約0.25～1.5：約0.25～1.5、約9～12：約0.35～1.5：約0.35～1.5、約9～12：約0.45～1.5：約0.45～1.5、約9～12：約0.5～1.5：約0.5～1.5、約9～12：約0.16～1：約0.16～1、約9～12：約0.2～1：約0.2～1、約9～12：約0.25～1：約0.25～1、約9～12：約0.35～1：約0.35～1、約9～12：約0.45～1：約0.45～1、約9～12：約0.5～1：約0.5～1、約10～1：約0.5～2.5：約0.5～2.5、約10～1：約0.1～1.5：約0.1～1.5、約9～12：約0.25～0.75：約0.25～0.75、約9.5～10.5：約0.35～0.7：約0.35～0.7、約9.5～10.5：約0.4～0.6：約0.4～0.6、または約9.75～10.5：約0.45～0.6：約0.45～0.6である。

【0038】

オレアノール酸（その遊離酸、塩、誘導体、またはプロドラッグ）およびウルソール酸（その遊離酸、塩、誘導体、またはプロドラッグ）が、主要または唯一のトリテルペンとして存在する場合、オレアノール酸：ウルソール酸のモル比は、約9～12：約0.33～5、約9～12：約0.4～5、約9～12：約0.5～5、約9～12：約0.7～5、約9～12：約0.9～5、約9～12：約1～5、約9～12：約0.33～4、約9～12：約0.4～4、約9～12：約0.5～4、約9～12：約0.7～4、約9～12：約0.9～4、約9～12：約1～4、約9～12：約0.33～3、約9～12：約0.4～3、約9～12：約0.5～3、約9～12：約0.7～3、約9～12：約0.9～3、約9～12：約1～3、約9～12：約0.33～2、約9～12：約0.4～2、約9～12：約0.5～2、約9～12：約0.7～2、約9～12：約0.9～2、約9～12：約1～2、約10～1：約1～5、約10～1：約1～3、約9～12：約0.5～1.5、約9～11：約0.5～1.5、約9.5～10.5：約0.75～1.25、約9.5～10.5：約0.8～1.2、または約9.75～10.5：約0.9～1.1である。

【0039】

オレアノール酸（その遊離酸、塩、誘導体、またはプロドラッグ）およびベツリン酸（その遊離酸、塩、誘導体、またはプロドラッグ）が、主要または唯一のトリテルペンとして存在する場合、オレアノール酸：ベツリン酸のモル比は、約9～12：約0.33～5

10

20

30

40

50

、約 9 ~ 12 : 約 0 . 4 ~ 5、約 9 ~ 12 : 約 0 . 5 ~ 5、約 9 ~ 12 : 約 0 . 7 ~ 5、約 9 ~ 12 : 約 0 . 9 ~ 5、約 9 ~ 12 : 約 1 ~ 5、約 9 ~ 12 : 約 0 . 33 ~ 4、約 9 ~ 12 : 約 0 . 4 ~ 4、約 9 ~ 12 : 約 0 . 5 ~ 4、約 9 ~ 12 : 約 0 . 7 ~ 4、約 9 ~ 12 : 約 0 . 9 ~ 4、約 9 ~ 12 : 約 1 ~ 4、約 9 ~ 12 : 約 0 . 33 ~ 3、約 9 ~ 12 : 約 0 . 4 ~ 3、約 9 ~ 12 : 約 0 . 5 ~ 3、約 9 ~ 12 : 約 0 . 7 ~ 3、約 9 ~ 12 : 約 0 . 9 ~ 3、約 9 ~ 12 : 約 1 ~ 3、約 9 ~ 12 : 約 0 . 33 ~ 2、約 9 ~ 12 : 約 0 . 4 ~ 2、約 9 ~ 12 : 約 0 . 5 ~ 2、約 9 ~ 12 : 約 0 . 7 ~ 2、約 9 ~ 12 : 約 0 . 9 ~ 2、約 9 ~ 12 : 約 1 ~ 2、約 10 ~ 1 : 約 1 ~ 5、約 10 ~ 1 : 約 1 ~ 3、約 9 ~ 12 : 約 0 . 5 ~ 1 . 5、約 9 ~ 11 : 約 0 . 5 ~ 1 . 5、約 9 . 5 ~ 10 . 5 : 約 0 . 75 ~ 1 . 25、約 9 . 5 ~ 10 . 5 : 約 0 . 8 ~ 1 . 2、または約 9 . 75 ~ 10 . 5 : 約 0 . 9 ~ 1 . 1 である。

10

#### 【0040】

本発明の方法の個々のステップは、別々の施設で、または同じ施設内で行うことができる。本明細書に記載される本発明の方法のいずれも、本明細書に記載される本発明の組成物のうちのいずれかと組み合わせて使用することができる。

#### 【0041】

本発明は、本明細書に開示された本発明の態様、実施形態、および下位実施形態の全ての組み合わせを含む。

#### 【発明を実施するための形態】

#### 【0042】

20

本明細書で使用される場合、個々に命名されたトリテルペンは、それらの天然（非修飾、遊離酸）形態、塩形態、誘導体形態、プロドラッグ形態、またはそれらの組み合わせで、各発生時に選択される。トリテルペンの重水素化形態を含む組成物およびそれを用いる使用方法もまた、本発明の範囲内にある。

#### 【0043】

オレアノール酸の誘導体、プロドラッグ、および塩は、2015年1月8日に公開された G r i b b l e らの US 2015 / 0011627 A 1、2014年11月20日に公開された R o n g らの US 2014 / 0343108 A 1、2014年11月20日に公開された X u らの US 2014 / 0343064 A 1、2014年6月26日に公開された A n d e r s o n らの US 2014 / 0179928 A 1、2014年4月10日に公開された B e n d e r らの US 2014 / 0100227 A 1、2014年3月27日に公開された J i a n g らの US 2014 / 0088188 A 1、2014年3月27日に公開された J i a n g らの US 2014 / 0088163 A 1、2014年3月6日に公開された J i a n g らの US 2014 / 0066408 A 1、2013年11月28日に公開された A n d e r s o n らの US 2013 / 0317007 A 1、2013年11月14日に公開された G r i b b l e らの US 2013 / 0303607 A 1、2012年9月27日に公開された A n d e r s o n らの US 2012 / 0245374、2012年9月20日に公開された J i a n g らの US 2012 / 0238767 A 1、2012年9月20日に公開された S h o d e らの US 2012 / 0237629 A 1、2012年8月23日に公開された A n d e r s o n らの US 2012 / 0214814 A 1、2012年6月28日に公開された L e e らの US 2012 / 0165279 A 1、2011年12月1日に公開された A r n t z e n らの US 2011 / 0294752 A 1、2011年4月21日に公開された M a j e e d らの US 2011 / 0091398 A 1、2010年7月29日に公開された A r n t z e n らの US 2010 / 0189824 A 1、2010年2月25日に公開された J i a n g らの US 2010 / 0048911 A 1、および2006年4月6日に公開された A r n t z e n らの US 2006 / 0073222 A 1 に開示されており、それらの開示全体は、参照により本明細書に組み込まれる。

30

40

#### 【0044】

ウルソール酸の誘導体、プロドラッグ、および塩は、2015年1月8日に公開された G r i b b l e らの US 2015 / 0011627 A 1、2013年11月14日に公開

50

されたG r i b b l eらのUS 2 0 1 3 / 0 3 0 3 6 0 7 A 1、2 0 1 5年8月6日に公開されたY o o nらのUS 2 0 1 5 / 0 2 1 8 2 0 6 A 1、2 0 0 4年11月30日に発行されたF r i t s c h eらのUS 6 8 2 4 8 1 1、2 0 1 0年5月8日に発行されたO c h i a iらのUS 7 7 1 8 6 3 5、2 0 1 4年5月20日に発行されたL i nらのUS 8 7 2 9 0 5 5、および2 0 1 5年9月1日に発行されたY o o nらのUS 9 1 2 0 8 3 9に開示されており、それらの開示全体は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0045】

ベツリン酸の誘導体、プロドラッグ、および塩は、2 0 1 5年1月8日に公開されたG r i b b l eらのUS 2 0 1 5 / 0 0 1 1 6 2 7 A 1、2 0 1 3年11月14日に公開されたG r i b b l eらのUS 2 0 1 3 / 0 3 0 3 6 0 7 A 1、2 0 1 2年9月20日に公開されたS h o d eらのUS 2 0 1 2 / 0 2 3 7 6 2 9 A 1、2 0 1 7年7月20日に公開されたR e g u e i r o - R e nらのUS 2 0 1 7 / 0 2 0 4 1 3 3 A 1、2 0 1 7年4月6日に公開されたN i t zらのUS 2 0 1 7 / 0 0 9 6 4 4 6 A 1、2 0 1 5年11月26日に公開されたP a r t h a s a r a d h i R e d d yらのUS 2 0 1 5 / 0 3 3 7 0 0 4 A 1、2 0 1 5年4月30日に公開されたR e d d yらのUS 2 0 1 5 / 0 1 1 9 3 7 3 A 1、2 0 1 4年10月2日に公開されたY a nらのUS 2 0 1 4 / 0 2 9 6 5 4 6 A 1、2 0 1 4年8月28日に公開されたS w i d o r s k iらのUS 2 0 1 4 / 0 2 4 3 2 9 8 A 1、2 0 1 4年8月7日に公開されたR e d d yらのUS 2 0 1 4 / 0 2 2 1 3 2 8 A 1、2 0 1 4年3月6日に公開されたL e u n i sらのUS 2 0 1 4 / 0 0 6 6 4 1 6 A 1、2 0 1 3年3月14日に公開されたD u r s tらのUS 2 0 1 3 / 0 0 6 5 8 6 8 A 1、2 0 1 3年1月31日に公開されたR e g u e i r o - R e nらのUS 2 0 1 3 / 0 0 2 9 9 5 4 A 1、2 0 1 2年11月29日に公開されたZ h a n gらのUS 2 0 1 2 / 0 3 0 2 5 3 0 A 1、2 0 1 2年8月23日に公開されたP o w e rらのUS 2 0 1 2 / 0 2 1 4 7 7 5 A 1、2 0 1 2年4月26日に公開されたH o n d aらのUS 2 0 1 2 / 0 1 0 1 1 4 9 A 1、2 0 1 1年9月15日に公開されたB u l l o c kらのUS 2 0 1 1 / 0 2 2 4 1 8 2、2 0 1 1年12月22日に公開されたH e m pらのUS 2 0 1 1 / 0 3 1 3 1 9 1 A 1、2 0 1 1年9月15日に公開されたP i c h e t t eらのUS 2 0 1 1 / 0 2 2 4 1 5 9 A 1、2 0 1 1年9月8日に公開されたP a r t h a s a r a d h i R e d d yらのUS 2 0 1 1 / 0 2 1 8 2 0 4、2 0 0 9年8月13日に公開されたS a f eらのUS 2 0 0 9 / 0 2 0 3 6 6 1 A 1、2 0 0 9年5月21日に公開されたK r a s u t s k yらのUS 2 0 0 9 / 0 1 3 1 7 1 4 A 1、2 0 0 9年3月19日に公開されたK r a s u t s k yらのUS 2 0 0 9 / 0 0 7 6 2 9 0、2 0 0 9年3月12日に公開されたL e u n i sらのUS 2 0 0 9 / 0 0 6 8 2 5 7 A 1、2 0 0 8年11月27日に公開されたM u k h e r j e eらのUS 2 0 0 8 / 0 2 9 3 6 8 2、2 0 0 7年3月29日に公開されたP e z z u t oらのUS 2 0 0 7 / 0 0 7 2 8 3 5 A 1、2 0 0 6年11月9日に公開されたJ a n s e nらのUS 2 0 0 6 / 0 2 5 2 7 3 3 A 1、および2 0 0 6年11月9日に公開されたO ' N e i l lらのUS 2 0 0 6 / 0 2 5 2 7 4 A 1に開示されており、それらの開示全体は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0046】

本発明は、有効用量（治療有効用量）の神経保護組成物のそれを必要とする対象への投与により、神経学的状態を治療する方法を提供する。神経保護組成物は、対象に最適な投与計画に従って投与され、用量および投与計画の好適性は、治療中の神経学的状態の従来の臨床慣行および臨床治療エンドポイントに従って臨床的に決定される。

【0047】

いくつかの実施形態では、治療中の神経変性障害または神経学的状態は、対象におけるタウタンパク質の過剰発現および/またはT a u 3 R / T a u 4 R比の不均衡に関連する病因を有する。このような状態は、タウオパチーと称される。例示的なタウオパチーには、ダウン症候群、ピック病、プリオン病のいくつかのバリエーション、アルツハイマー病、進行性核上性麻痺または前頭側頭型認知症、皮質基底核変性、グアムパーキンソンニズム認知症複合、嗜銀顆粒を伴う認知症、ニーマン - ピック病C型、および拳闘家認知症が含まれ

10

20

30

40

50



る。

【 0 0 4 8 】

いくつかの実施形態では、治療中の神経変性障害または神経学的状態は、アミロイドベータ前駆体タンパク質の異常または非定型タンパク質分解、神経細胞のシナプスにおけるアミロイドベータタンパク質の蓄積、神経細胞のシナプスにおけるアミロイド線維の形成、または神経細胞のシナプスにおけるアミロイドプラークの形成に関連する病因を有する。そのような障害または状態の例は、アルツハイマー病である。本発明に従って治療される対象は、治療応答を示すであろう。「治療応答」とは、疾患または障害に罹患している対象が、神経保護組成物による治療の結果として、以下の臨床的利益：疾患もしくは障害の改善、疾患もしくは障害に関連する症状の発生の低減、疾患もしくは障害の部分的な寛解、疾患もしくは障害の完全な寛解、または進行までの時間の増加のうちの少なくとも1つを享受することを意味する。言い換えると、治療応答は、完全または部分的な治療応答であり得る。

10

【 0 0 4 9 】

治療応答はまた、神経変性疾患に苦しむ患者の生活の質が改善されるものとして説明され得る。生活の質の改善は、例えば、疾患に関連する症状の発生、頻度、または重症度の低減（例えば、振戦、不随意の筋肉運動、神経 - 筋肉協調の喪失または部分的な喪失、記憶保持など）を通じて起こり得る。

【 0 0 5 0 】

「リスクのある対象の集団における神経学的状態の発生の防止」とは、神経学的状態に罹患するリスクのある対象の人口統計学的に所定の集団の所定の期間中に、神経学的状態が発生しないことを意味する。所定の期間中の予防は、本発明による神経保護組成物を投与されているその集団の対象の結果として発生する。一例として、神経保護組成物が、脳卒中に罹患するリスクのある対象の集団において対象に所定の期間投与される場合、脳卒中は、所定の期間中にそれらの対象に発生しない。特に、神経保護組成物は、アルツハイマー病またはタウオパトロジー関連疾患のうちのいずれかに罹患するリスクのある対象の集団に、1年の期間にわたって慢性的に投与され、その集団の対象は、その1年の期間の間にアルツハイマー病に関連する症状を示さない。

20

【 0 0 5 1 】

「リスクのある対象の集団における神経学的状態の発生率を低減すること」は、「発生率を低減すること」が、対象の人口統計学的に所定の集団における神経学的状態の発生を許容するが、本発明による神経保護組成物が投与されていないリスクのある対象のそれ以外は人口統計学的に類似の所定の集団と比較して、低減された発生率または重症度のレベルで許与することを除いて、「発生を予防する」と意味上関連する。

30

【 0 0 5 2 】

本明細書で使用される場合、「進行までの時間」は、疾患が診断（または治療）されてから疾患が悪化し始めるまでの期間、長さ、または持続時間である。それは、疾患のさらなる進行なしで疾患のレベルが維持される期間であり、疾患が再び進行し始めると、期間は終了する。疾患の進行は、治療の開始前または開始時に神経学的状態に罹患している対象を「病期分類」することにより決定される。例えば、対象の神経学的健康は、治療の開始前または開始時に決定される。次いで、対象は、神経保護組成物により治療され、神経学的健康は、定期的に監視される。後のいくつかの時点で、神経学的状態の症状が悪化し、したがって疾患の進行および「進行までの時間」の終了をマークし得る。疾患が進行しなかった間の期間、または疾患のレベルもしくは重症度が悪化しなかった間の期間が、「進行までの時間」である。

40

【 0 0 5 3 】

投与計画には、投与スケジュールに従って投与される神経保護組成物の治療関連用量（または治療有効用量）が含まれる。したがって、治療関連用量は、神経保護組成物による治療に対する疾患または障害の治療応答が観察され、かつ対象に、過剰量の望ましくないまたは有害な副作用なしで神経保護組成物を投与することができる治療用量である。治療

50

関連用量は、患者にいくつかの副作用を引き起こし得るが、対象にとって致命的ではない。それは、神経保護組成物を投与されている対象に対する臨床的利益のレベルが、神経保護組成物の投与により対象によって経験される有害な副作用のレベルを超える用量である。治療関連用量は、様々な確立された薬理学、薬力学、および薬物動態学の原則に従って、対象により異なるであろう。しかし、治療関連用量は、典型的には、0.1～100マイクログラムの範囲の神経保護組成物であり、固体、液体、または半固体の形態である。対象において標的治療結果を提供するために必要な薬理学的に活性な成分/薬剤の実際の量は、薬局の基本原則に従って対象毎に異なり得ることは、当該技術分野で既知である。

#### 【0054】

治療関連（有効）用量は、神経学的もしくは神経変性疾患または障害の治療に通常使用される任意の投与計画に従って投与することができる。治療関連用量は、1日1回、2回、3回、またはそれ以上の投与スケジュールで投与することができる。それは、1日おき、3日おき、4日おき、5日おき、半週毎、毎週、隔週、3週間おき、4週間おき、毎月、隔月、半月毎、3ヶ月おき、4ヶ月おき、半年毎、毎年、または上記のいずれかの組み合わせに従って投与され、好適な投与スケジュールに到達する。例えば、治療関連用量は、1週間以上にわたって1日1回投与することができる。

#### 【0055】

以下の例は、神経学的疾患、神経障害、および脳卒中などの神経学的状態の治療における神経保護組成物の有効性の証拠を含む。実施例7は、神経保護組成物または神経保護組成物と1つ以上の他の治療薬との組み合わせによりアルツハイマー病を治療する方法を詳述する。実施例8は、神経保護組成物または神経保護組成物と1つ以上の他の治療薬との組み合わせによりハンチントン病を治療する方法を詳述する。実施例9は、神経保護組成物または神経保護組成物と1つ以上の他の治療薬との組み合わせにより脳卒中媒介および非脳卒中媒介虚血性脳損傷を治療する方法を詳述する。実施例10は、神経保護組成物または神経保護組成物と1つ以上の他の治療薬との組み合わせによりパーキンソン病を治療する方法を詳述する。

#### 【0056】

一般に、神経学的状態を有する対象は、以下のように治療される。神経学的状態を有する対象は、神経学的状態が、アルツハイマー病、ハンチントン病、脳卒中、パーキンソン病、または他の神経学的状態であるかどうかを判定するために評価される。対象が陽性の診断を有する場合、神経保護組成物の投与が指示される。組成物の初期用量は、一定期間、処方された投与計画に従って対象に投与される。対象の臨床応答および治療応答のレベルは、定期的に判定される。ある用量で治療応答のレベルが低すぎる場合、対象における治療応答の所望のレベルが達成されるまで、所定の用量漸増スケジュールに従って用量が漸増される。対象が望ましくない副作用または許容されないレベルの副作用を示す場合、対象の治療応答レベル対副作用プロファイルの所望の均衡が達成されるまで、用量を漸減させる。神経保護組成物による対象の治療は、必要に応じて継続される。患者が疾患自体の停止、疾患に関連する症状の低減、および/または疾患の進行の低減などの所望の臨床的エンドポイント（複数可）に達するまで、用量または投与計画が必要に応じて調整される。

#### 【0057】

実施例3は、脳卒中媒介虚血性神経細胞損傷の治療のための神経保護組成物の有効性を評価するために使用されるインビトロアッセイの詳細な説明を提供する。アッセイは、24時間までの健康な皮質神経細胞の50%損失を誘発するために使用される酸素およびグルコース欠乏（OGD）のための脳切片ベースのアッセイである。試料ピヒクルは、陽性対照として使用される。

#### 【0058】

OGD処理した脳切片（脳卒中モデル）およびOGD処理していない（すなわち、対照）脳切片（非脳卒中モデル）で、様々な組成物を試験した。組成物I（PBI-0471に類似のトリテルペンのモル比）、組成物II（PBI-05204に類似のトリテル

10

20

30

40

50

ペンのモル比)、および組成物 I I I ( P B I - 0 1 0 1 1 に類似のトリテルペンのモル比)についてデータ(図 9 A ~ 9 C)を得た。データは、組成物の各々は神経保護を提供するが、改善された神経保護組成物(組成物 I I I)は、より広い投与範囲(より広い濃度範囲)にわたって神経保護を提供することを示す。例えば、組成物 I は、 $10 \mu\text{M}$  で神経保護を提供するが、 $1 \mu\text{M}$  以下の濃度では神経保護を提供しない。組成物 I I は、 $1 \mu\text{M}$  および  $10 \mu\text{M}$  で神経保護を提供するが、 $0.1 \mu\text{M}$  以下の濃度では神経保護を提供しない。一方で、組成物 I I I は、 $0.1 \mu\text{M}$  ( $100 \text{ Nm}$ )、 $1 \mu\text{M}$ 、および  $10 \mu\text{M}$  で神経保護を提供する。

#### 【0059】

したがって、改善された神経保護組成物は、総等モル基準で他のトリテルペンベースの組成物よりも広い投与範囲またはより広い用量応答を提供する。改善された組成物は、個々のトリテルペンによって引き起こされ得る所望でない有害事象(副作用)を実質的に増加させることなく、トリテルペンの組み合わせのより高い用量の投与を可能にする。実用的基準では、臨床医は、高用量または低用量のトリテルペン混合物を投与することができ、依然としてトリテルペン関連の有害事象の低い発生を予測することができる。

#### 【0060】

本発明は、酸素欠乏および/またはグルコース欠乏神経細胞を、有効量の改善されたトリテルペンベースの神経保護組成物に曝露して、活性の損失を最小限にし、活性の損失の割合を低減し、活性の損失を停止させ、活性の損失の開始を遅くし、ならびに/または酸素欠乏および/もしくはグルコース欠乏状態を暴露することにより引き起こされる神経細胞の機能を保護することによって、酸素欠乏または酸素グルコース欠乏によって引き起こされる活性の損失から神経細胞を保護する方法を提供する。

#### 【0061】

組成物 I および I I の低減された神経保護活性が、個々のトリテルペンのうちの 1 つ以上の細胞毒性に起因し得るかどうかを判定した。細胞死の 2 つの独立した測定: 核崩壊を染色するヨウ化プロピジウム (P I) および細胞代謝活性についての M T S アッセイを使用して、オレアノール酸 (O A)、ウルソール酸 (U A)、およびベツリン酸 (B A) の細胞毒性の直接研究を実施した。P I は、膜が損傷した細胞に入り、D N A を染色し、これにより、Cellomics Arrayscan V T I での画像ベースのハイコンテントアッセイを使用して、死/死にかけている細胞を検出する。M T S アッセイは、ミトコンドリアの酵素によるテトラゾリウムレポーターの切断が比色読み取りを生成し、健康な細胞の相対数を報告する、ウェルに基づくアッセイである。データ (U A については図 6 A および 6 B、B A については図 7 A および 7 B、O A については図 8 A および 8 B) は、U A および B A が、用量依存様式で非常に毒性の高い化合物であり得、各々が  $5 \sim 15 \mu\text{M}$  の範囲で代謝活性の 50% の損失をもたらしたことを確認したが、試験された O A の最高濃度である  $75 \mu\text{M}$  までは、M T S 活性の有意な低減は観察されなかった。

#### 【0062】

トリテルペンの混合物の潜在的な相加的および相乗的性能を、遺伝子発現アッセイの方法によって個々におよび異なる混合物でそれらの性能を分析することにより判定した。様々な異なる濃度 ( $\mu\text{M}$ ) で H m o x 1 および S r x n の A R E 遺伝子発現を誘発するための、様々な組成物の相対的活性を判定した。ウルソール酸およびベツリン酸による A R E 遺伝子の活性化は、より狭い間隔の濃度ステップを使用して調べた。ベツリン酸は、ウルソール酸と同様に、より高い濃度でのその毒性にもかかわらず、S r x および H m o x 1 の明確な上方制御を誘発することができる(図 4)。データ(図 10 A および 10 B)は、単一薬剤としての O A が、試験されたどの濃度でもかなりの A R E 遺伝子発現を誘発できなかったことを示した。低濃度でも、U A および B A は、細胞毒性を引き起こした。O A + U A および O A + U A + B A のいくつかの組み合わせは、著しい程度の A R E 遺伝子発現を誘発したが、その条件で試験された最高濃度の 10 倍を超える程度まで誘発した (S r x n 1 については縞模様の赤色のバー)。そのような過剰な誘発は、治療の 24 時間までの長期の細胞毒性に関連する。これは、 $9 \mu\text{M}$  で単一薬剤として試験された U A を含

10

20

30

40

50

む。試験した混合物のうち、10 : 1 : 1のOA : UA : BAのみが、ARE遺伝子の著しい誘発を誘発したが、試験された全濃度範囲内で<5 ~ 10倍の程度であった。したがって、10 : 1 : 1のOA : UA : BA混合物は、提案された標的プロファイルの両方の基準、すなわち：1) この比率では、毒性のために単一構成成分が用量制限されないこと；および2) ARE標的遺伝子が、著しく誘発されるが、最高で5 ~ 10倍以下であることを満たした。本明細書に記載の範囲内の他の密接に関連するモル比も、過度の細胞毒性なしで実質的な神経保護を提供する。ARE - ルシフェラーゼレポーターの著しい誘発は、OGD、APP、およびタウ脳切片神経保護アッセイにおいて神経保護を提供した同様の濃度範囲で見られる。

#### 【0063】

10

ここでの結果は、驚くべきものであり、予想外であった。したがって、改善された組成物IIIおよび他の密接に関連する組成物（オレアノール酸のより高いモル含有量、ウルソール酸およびベツリン酸の実質的により低いモル含有量を有するもの）が、より高い用量で比較的低減された細胞毒性、および非常に低い濃度で比較的增加された有効性を提供すると判定した。

#### 【0064】

いくつかの実施形態では、本発明の神経保護組成物は、少なくとも2つのトリテルペン（その遊離酸、塩、誘導体、またはプロドラッグ）を含む。例えば、本発明は、少なくともウルソール酸およびオレアノール酸の組み合わせ、または少なくともベツリン酸およびオレアノール酸の組み合わせを含む神経保護組成物を提供し、オレアノール酸は、それぞれウルソール酸およびベツリン酸を超える実質的なモル過剰で存在する。

20

#### 【0065】

いくつかの実施形態では、本発明の神経保護組成物は、少なくとも3つのトリテルペン（その遊離酸、塩、誘導体、またはプロドラッグ）を含む。いくつかの実施形態では、本発明の神経保護組成物は、オレアノール酸、ウルソール酸、および少なくとも1つの他のトリテルペンを含む。例えば、組成物は、ベツリン酸または少なくとも1つの他のトリテルペンをさらに含み得る。

#### 【0066】

神経保護組成物は、強心配糖体、薬理学的に活性な多糖類、およびステロイドを除外する。例えば、神経保護組成物は、Nerium種植物から得られたオレアンドリン、ネリイホリン（neriifolin）、または薬理学的に活性な多糖類を除外する。

30

#### 【0067】

オレアノール酸（O；その遊離酸、塩、誘導体、またはプロドラッグ）およびウルソール酸（U；その遊離酸、塩、誘導体、またはプロドラッグ）が、組成物中の主要または唯一のトリテルペンとして存在する場合、O : Uのモル比は、変化し得、約9 ~ 12 : 約0.33 ~ 5、約9 ~ 12 : 約0.4 ~ 5、約9 ~ 12 : 約0.5 ~ 5、約9 ~ 12 : 約0.7 ~ 5、約9 ~ 12 : 約0.9 ~ 5、約9 ~ 12 : 約1 ~ 5、約9 ~ 12 : 約0.33 ~ 4、約9 ~ 12 : 約0.4 ~ 4、約9 ~ 12 : 約0.5 ~ 4、約9 ~ 12 : 約0.7 ~ 4、約9 ~ 12 : 約0.9 ~ 4、約9 ~ 12 : 約1 ~ 4、約9 ~ 12 : 約0.33 ~ 3、約9 ~ 12 : 約0.4 ~ 3、約9 ~ 12 : 約0.5 ~ 3、約9 ~ 12 : 約0.7 ~ 3、約9 ~ 12 : 約0.9 ~ 3、約9 ~ 12 : 約1 ~ 3、約9 ~ 12 : 約0.33 ~ 2、約9 ~ 12 : 約0.4 ~ 2、約9 ~ 12 : 約0.5 ~ 2、約9 ~ 12 : 約0.7 ~ 2、約9 ~ 12 : 約0.9 ~ 2、約9 ~ 12 : 約1 ~ 2、約10 ~ 1 : 約1 ~ 5、約10 ~ 1 : 約1 ~ 3、約9 ~ 12 : 約0.5 ~ 1.5、約9 ~ 11 : 約0.5 ~ 1.5、約9.5 ~ 10.5 : 約0.75 ~ 1.25、約9.5 ~ 10.5 : 約0.8 ~ 1.2、または約9.75 ~ 10.5 : 約0.9 ~ 1.1の範囲であり得る。

40

#### 【0068】

オレアノール酸（O；その遊離酸、塩、誘導体、またはプロドラッグ）およびベツリン酸（B；その遊離酸、塩、誘導体、またはプロドラッグ）が、組成物中主要または唯一のトリテルペンとして存在する場合、O : Bのモル比は、変化し得、約9 ~ 12 : 約0.3

50

3～5、約9～12：約0.4～5、約9～12：約0.5～5、約9～12：約0.7  
 ～5、約9～12：約0.9～5、約9～12：約1～5、約9～12：約0.33～4  
 、約9～12：約0.4～4、約9～12：約0.5～4、約9～12：約0.7～4、  
 約9～12：約0.9～4、約9～12：約1～4、約9～12：約0.33～3、約9  
 ～12：約0.4～3、約9～12：約0.5～3、約9～12：約0.7～3、約9～  
 12：約0.9～3、約9～12：約1～3、約9～12：約0.33～2、約9～12  
 ：約0.4～2、約9～12：約0.5～2、約9～12：約0.7～2、約9～12：  
 約0.9～2、約9～12：約1～2、約10～1：約1～5、約10～1：約1～3、  
 約9～12：約0.5～1.5、約9～11：約0.5～1.5、約9.5～10.5：  
 約0.75～1.25、約9.5～10.5：約0.8～1.2、または約9.75～1  
 0.5：約0.9～1.1の範囲であり得る。

10

#### 【0069】

オレアノール酸（O；その塩、誘導体、またはプロドラッグ）、ウルソール酸（U；そ  
 の塩、誘導体、またはプロドラッグ）、およびベツリン酸（B；その塩、誘導体、または  
 プロドラッグ）が、組成物中主要または唯一のトリテルペンとして存在する場合、オレア  
 ノール酸：ウルソール酸：ベツリン酸のモル比は、約10：約1：約1、約9～11：約  
 0.5～1.5：約0.5～1.5、約9.5～10.5：約0.75～1.25：約0  
 .75～1.25、約9.5～10.5：約0.8～1.2：約0.8～1.2、約9.  
 75～10.5：約0.9～1.1：約0.9～1.1、約9～12：約0.15～2.  
 5：約0.15～2.5、約9～12：約0.2～2.5：約0.2～2.5、約9～1  
 2：約0.25～2.5：約0.25～2.5、約9～12：約0.35～2.5：約0  
 .35～2.5、約9～12：約0.45～2.5：約0.45～2.5、約9～12：  
 約0.5～5：約0.5～2.5、約9～12：約0.16～2：約0.16～2、約9  
 ～12：約0.2～2：約0.2～2、約9～12：約0.25～2：約0.25～2、  
 約9～12：約0.25～2：約0.25～2、約9～12：約0.45～2：約0.4  
 5～2、約9～12：約0.5～2：約0.5～2、約9～12：約0.16～1.5：  
 約0.16～1.5、約9～12：約0.2～1.5：約0.2～1.5、約9～12：  
 約0.25～1.5：約0.25～1.5、約9～12：約0.7～1.5：約0.35  
 ～1.5、約9～12：約0.45～1.5：約0.45～1.5、約9～12：約0.  
 5～1.5：約0.5～1.5、約9～12：約0.16～1：約0.16～1、約9～  
 12：約0.2～1：約0.2～1、約9～12：約0.25～1：約0.25～1、約  
 9～12：約0.35～1：約0.35～1、約9～12：約0.45～1：約0.45  
 ～1、約9～12：約0.5～1：約0.5～1、約10～1：約0.5～2.5：約0  
 .5～2.5、約10～1：約0.1～1.5：約0.1～1.5、約9～12：約0.  
 25～0.75：約0.25～0.75、約9.5～10.5：約0.35～0.7：約  
 0.35～0.7、約9.5～10.5：約0.4～0.6：約0.4～0.6、または  
 約9.75～10.5：約0.45～0.6：約0.45～0.6である。

20

30

#### 【0070】

実施例11は、アルツハイマー病の治療のための神経保護組成物の有効性を評価するた  
 めに使用されるインビトロアッセイの詳細な説明を提供する。アッセイは、皮質錐体神経  
 細胞のAPP/A誘発（APP：アミロイド前駆体タンパク質）変性の脳切片ベースの  
 アッセイである。セクレターゼ酵素により切断されると、APPは、Aペプチドに還元  
 され、これはベータアミロイドプラーク形成の原因因子であると考えられる。Aタン  
 パク質は、ベータアミロイドプラーク形成に関連しており、アルツハイマー病の病因因子で  
 はないとしても、特徴であると考えられる。パイオリスティックトランスフェクションを  
 使用して、YFP（マーカー黄色蛍光タンパク質）などの重要なマーカーを導入し、脳切  
 片内の同じ神経細胞集団に疾患遺伝子構築物を導入する。YFPを、APPアイソフォー  
 ムと同時トランスフェクトし、脳切片の調製およびトランスフェクション後3～4日の期  
 間にわたって、皮質錐体神経細胞の進行性変性をもたらす。データは、神経保護組成物が  
 、APPでトランスフェクトした脳切片に濃度依存性神経保護を提供することを示す。組

40

50

成物 I I I ( P B I - 0 1 0 1 1 のように 1 0 : 1 : 1 の O : U : B のモル比 ) は、組成物 I I ( P B I - 0 5 2 0 4 のように 7 . 8 : 7 . 4 : 1 の O : U : B のモル比 ) および組成物 I ( P B I - 0 4 7 1 1 のように 3 : 2 . 2 : 1 の O : U : B のモル比 ) を超える神経保護を提供する。データは、アルツハイマー病を代表するこのインビトロアッセイにおいて、文献中のわずかな化合物または治療戦略が、神経細胞の任意の有意な保護を示しているということにおいて重要である。

#### 【 0 0 7 1 】

本発明の神経保護組成物はまた、CNS神経変性に関与する遺伝子、すなわち、アミロイド前駆体タンパク質 ( A P P ) およびタウの発現構築物のバイオリスティックトランスフェクションにより皮質神経細胞変性が駆動される 2 つの追加の脳切片モデルにおいて強力な神経保護を提供する。これらのモデルでは、A P P およびタウのトランスフェクションは、脳切片モデルで 2 4 時間の期間にわたって発生する O G D によって引き起こされる神経細胞の損傷および死とは対照的に、3 ~ 4 日間の期間にわたって皮質神経細胞の進行性神経変性を誘発する。

10

#### 【 0 0 7 2 】

データは、たとえそれがいかなる強心配糖体も含んでいなくても、神経保護組成物が、このアッセイにおいて神経保護を提供することを示す。神経保護組成物は、A P P およびタウ脳切片神経変性モデルの両方において、有意な濃度依存性神経保護を提供する。

#### 【 0 0 7 3 】

神経保護組成物は、タウ構築物を使用されることを除いて、A P P アッセイと同様の t a u 4 R 脳切片ベースのアルツハイマーアッセイで評価される ( 実施例 1 1 ) 。健康な皮質神経細胞の数を決定する。このアッセイの有効性は、様々な量の神経保護組成物の存在下での、劣化した神経細胞の健康対不健全な数の相対総数および割合としてまたはそれに基づいて定義される。これらの実験の陰性対照は、O G D に曝露されなかった脳切片から構成されたが、一方で、O G D に曝露されたが神経保護組成物で処理されていない脳切片は、内部陽性対照として役立った。神経保護組成物は、このアッセイにおいて神経保護を提供する。

20

#### 【 0 0 7 4 】

したがって、本発明は、アルツハイマー病によって引き起こされる活性の損失から神経細胞を保護する方法を提供し、方法は、アルツハイマー病の特徴を示している神経細胞を、有効量のトリテルペンベースの神経保護組成物に曝露し、アルツハイマー病によって引き起こされる活性の損失を最小化し、活性の損失の割合を低減し、活性の損失を停止させ、活性の損失の開始を遅くすること、および / または神経細胞の重要な機能化を含む。いくつかの実施形態では、方法は、有効量の神経保護組成物を用いる。

30

#### 【 0 0 7 5 】

実施例 6 は、ハンチントン病の治療のための神経保護組成物の有効性を評価するために使用されるアッセイの詳細な説明を提供する。変異体 h t t タンパク質を、電気穿孔法を介して、皮質神経細胞、線条体神経細胞、およびグリアの高密度混合共培養に導入する。線条体および皮質神経細胞を、異なる色の蛍光タンパク質をトランスフェクト、それにより、共培養における異なる種類の神経細胞の別個の識別を容易する。色蛍光タンパク質は、蛍光性であり、適切な波長の光源で活性化されると色を「発する」。データは、神経保護組成物を使用してハンチントン病を治療することができることを示す。

40

#### 【 0 0 7 6 】

したがって、本発明は、ハンチントン病によって引き起こされる活性の損失から神経細胞を保護する方法を提供し、方法は、ハンチントン病の特徴を示している神経細胞を、有効量の神経保護組成物に曝露し、ハンチントン病によって引き起こされる活性の損失を最小化し、活性の損失の割合を低減し、活性の損失を停止させ、活性の損失の開始を遅くすること、および / または神経細胞の正常な機能化を含む。

#### 【 0 0 7 7 】

実施例 3、4、および 1 2 は、脳卒中後の遅延期間の完了後に対象の脳卒中の治療にお

50

ける神経保護組成物の有効性を評価するために使用され得る例示的な脳切片アッセイを詳述する。酸素グルコース欠乏を伴う脳切片アッセイを、本明細書に記載されるように実施するが、しかしながら、脳切片を予防的に組成物で処理するのではなく、0、1、2、4、および6時間の遅延期間後に脳切片を組成物で処理する。データは、神経保護組成物が、脳卒中後、最大1、最大2、最大3、最大4、最大5、最大約6時間の遅延期間に有意な神経保護を提供するのに有効であることを示すべきである。

#### 【0078】

したがって、本発明は、対象が脳卒中に罹患した後、ある用量の神経保護組成物の対象への投与により、対象の脳卒中を治療する時間遅延方法を提供する。対象が脳卒中に罹患した後の許容される遅延期間内に、神経保護組成物の初期用量を、初期用量計画に従って投与する。次いで、組成物による治療に対する対象の臨床応答および/または治療応答の妥当性を判定する。対象の臨床応答および/または治療応答が妥当である場合、所望の臨床エンドポイントが達成されるまで、必要に応じて組成物による治療を継続する。代替的には、対象の臨床応答および/または治療応答が初期用量および初期投与計画で妥当でない場合、対象の所望の臨床応答および/または治療応答が達成されるまで、用量を漸増または漸減させる。用量の漸増または漸減は、投与頻度または投与期間全体の変更など、投与計画の変更と併せて行うことができる。

#### 【0079】

本明細書の脳切片アッセイのうちのいくつかは、脳組織がOGDの前に神経保護組成物により治療される条件下で実施される。これらの条件下で、データは、脳卒中によって引き起こされる損傷に対する神経保護を予防的に提供する際の神経保護組成物の有用性を確立する。

#### 【0080】

本発明者らは、本発明の神経保護組成物が、トリテルペン（複数可）により抗酸化転写応答要素（ARE）を介して媒介された神経保護を提供することを発見した。トリテルペン（複数可）はまた、核因子赤血球2関連因子2（Nrf2）依存性抗酸化遺伝子を誘発して、神経保護を提供する。神経保護組成物が、それを必要とする対象に投与される場合、組成物は、少なくとも2つのメカニズムを介して神経保護を提供する。神経保護組成物が、それを必要とする対象に投与される場合、組成物は、少なくともARE上方制御により神経保護を提供する。

#### 【0081】

臨床医が、トリテルペンベースの神経保護組成物および1つ以上の他の治療薬の組み合わせにより神経学的状態を有する対象を治療する意図があり、対象が有する特定の神経学的状態が、当該1つ以上の他の治療薬による治療に少なくとも部分的に治療的に応答することが知られている場合、本発明の方法は、治療関連用量のトリテルペンベースの神経保護組成物および治療関連用量の当該1つ以上の他の治療薬を、それを必要とする対象に投与することを含み、トリテルペンベースの神経保護組成物は、第1の投与計画に従って投与され、1つ以上の他の治療薬は、第2の投与計画に従って投与される。いくつかの実施形態では、第1および第2の投与計画は同じである。いくつかの実施形態では、第1および第2の投与計画は異なる。

#### 【0082】

治療される神経学的状態がアルツハイマー病である場合、1つ以上の他の治療薬は、BACE阻害剤またはアセチルコリンエステラーゼ阻害剤からなる群から選択され得る。いくつかの実施形態では、1つ以上の他の治療薬は、Namenda（商標）（メマンチンHCl）、Aricept（商標）（ドネペジル）、Razadyne（商標）（ガラントミン）、Exelon（商標）（リバスチグミン）、およびCognex（商標）（タクリン）からなる群から選択され得る。

#### 【0083】

治療中の神経学的状態が、ハンチントン病である場合、1つ以上の他の治療薬は、天然物、抗けいれん薬、NMDA（n-メチルD-アスパラギン酸塩）受容体アンタゴニスト

10

20

30

40

50

、およびナトリウムチャンネル遮断薬からなる群から選択され得る。例示的な薬剤には、ビタミンE、バクロフェン（CoQ10の誘導体）、ラモトリギン（抗けいれん薬）、レマセミド（低親和性NMDAアンタゴニストである麻酔薬）、およびリルゾール（Naチャンネル遮断薬）が含まれる。これらの薬剤の各々の有効性は、それ自体では低いと考えられているが（Mestre T. et al, Chochrane Database Systematic Reviews July 8, 2009; 8(3): CD006455）、しかしながら、これらの他の薬剤のうちの1つ以上を受けている対象への、神経保護組成物を含む剤形の投与は、神経学的障害を有する対象に、神経保護組成物を含まないこれらの薬剤の投与と比較して改善された臨床効果を提供すると予期される。

#### 【0084】

治療中の神経学的状態が、脳卒中媒介虚血性脳損傷（虚血性脳卒中）である場合、文献（Gutierrez M. et al. "Cerebral protection, brain repair, plasticity and cell therapy in ischemic stroke" Cerebrovasc. Dis. 2009; 27 Suppl 1: 177 - 186）に開示される療法治療、例えば、静脈内血栓溶解は、神経保護組成物に加えて用いることができる。いくつかの実施形態では、1つ以上の他の治療薬は、アルテプラゼ（血栓溶解剤）などの薬物からなる群から選択され得る。

#### 【0085】

治療中の神経学的状態が、パーキンソン病である場合、1つ以上の他の治療薬には、カルビドパおよびレボドパの組み合わせ、ラサギリン、プラミベキソール、ロピニロール、アマンタジン、メマンチン、エンタカポン、ロチゴチン、ベンズトロピン、セレギリン、ピペリデン、カルビドパおよびレボドパおよびエンタカポンの組み合わせ、トリヘキシルフェニジル、リバスチグミン、アポモルフィン、レボドパ、カルビドパ、プロモクリプチン、ベラドンナ、トルカポン、またはそれらの組み合わせが含まれる。

#### 【0086】

1つ以上の他の治療薬は、BACE（ベータ-セクレターゼ1；ベータ部位アミロイド前駆体タンパク質切断酵素1、ベータ部位APP切断酵素1、膜関連アスパラギン酸プロテアーゼ2、メマプシン-2、アスパルチルプロテアーゼ2、およびASP2）阻害剤、AZD3293、アセチルコリンエステラーゼ阻害剤、Namenda（商標）（メマンチンHCl）、Aricept（商標）（ドネペジル）、Razadyne（商標）（ガラントミン）、Exelon（商標）（リバスチグミン）、Cognex（商標）（タクリン）、抗けいれん剤、NMDA（n-メチルD-アスパラギン酸塩）受容体アンタゴニスト、ナトリウムチャンネル遮断薬ビタミンE、バクロフェン（CoQ10の誘導体）、ラモトリギン（抗けいれん剤）、レマセミド（低親和性NMDAアンタゴニストである麻酔薬）、リルゾール（Naチャンネル遮断薬）、アルテプラゼ（血栓溶解剤）、レボドパ、カルビドパ、アマンタジン、COMT（カテコールO-メチルトランスフェラーゼ）阻害剤、トルカポン、エンタカポン、オピカポン、ドーパミンアゴニスト、プロモクリプチン、ペルゴリド、プラミベキソール、ロピニロール、ピリベジル、カベルゴリン、アポモルフィン、リスリド、MAO-B（モノアミンオキシダーゼ-B）阻害剤（選択的および非選択的MAO-B阻害剤）、抗コリン薬、コリンエステラーゼ阻害剤、イソカルボキサジド、ニアラミド、フェネルジン、ヒドラカルバジン、ラサギリン、セレギリン、リネゾリド、またはそれらの組み合わせからなる群から選択され得る。

#### 【0087】

1つ以上の他の治療薬は、治療上有効であると臨床医が認識している用量および投与計画に従って、または治療有効以下であると臨床医が認識している用量で投与することができる。神経保護組成物および1つ以上の他の治療薬の組み合わせの投与により提供される臨床的利益および/または治療効果は、相加的または相乗的であり得、そのようなレベルの利益または効果は、組み合わせの投与と個々の神経保護組成物および1つ以上の他の治療薬の投与との比較により決定されている。米国食品医薬品局（U.S.F.D.A.）、世界保健機関（W.H.O.）、欧州医薬品庁（E.M.E.A.）、薬品・医薬品行政

10

20

30

40

50



局 ( T G A、オーストラリア)、全米保健機関 ( P A H O)、医薬品・医療機器安全局 ( M e d s a f e、ニュージーランド)、または世界中の様々な保健省によって提案または説明されているような用量および投与計画に従って、1 つ以上の他の治療薬を投与することができる。

【 0 0 8 8 】

本発明の神経保護組成物を、その個々の構成成分を混合物に混合することによって調製することができる ( 実施例 1 ~ 2 )。例えば、神経保護組成物は、本明細書に記載されるモル比に従って、少なくともオレアノール酸およびウルソール酸、ならびに任意にベツリン酸を混合することによって調製することができる。

【 0 0 8 9 】

トリテルペンが、本明細書に記載される神経保護 O G D アッセイにおいて異なるレベルの活性を示すことを判定した。したがって、それらを含む神経保護組成物の有効性および細胞毒性に対する個々のトリテルペンの寄与のレベル。トリテルペンベースの神経保護組成物中のトリテルペンのモル比は、低減された細胞毒性のレベルを維持しながら、最高レベルの神経保護有効性を提供するために正しく均衡でなければならないことを発見した。

【 0 0 9 0 】

神経保護 O G D アッセイにおける U A のより低い活性は、驚くべきことである。発現アッセイから得られたデータは、画分 0 ~ 4 が、N r f 2、S r x、および H m o x 1 の実質的な発現と、G c l c および N q o 1 のより低い発現とを誘発することを示すが、しかしながら、データは、S r x および H m o x 1 の誘発が、O A または B A よりも U A の活性によるものであることも示す。複数のトリテルペンを含む組成物の有効性 ( 特に、低濃度での幅広い用量応答曲線および高レベルの有効性 ) は、神経保護を提供するために相乗的に作用する様々な異なるメカニズムによるものと思われる。

【 0 0 9 1 】

本発明の組成物によって提供される神経保護のレベルは、O : U または O : U : B または O : B の好適なモル比を有する組成物を用いることによって改善され得ることを発見した。以下のトリテルペンのモル比を含む溶液を調製し ( 実施例 1 ~ 2 )、本明細書に記載されるように神経保護活性および A R E 遺伝子誘発活性について評価した。

【 0 0 9 2 】

いくつかの実施形態では、改善された神経保護組成物は、本明細書に記載されるように、O A 対 U A のモル比で存在する少なくともオレアノール酸 ( その遊離酸、塩、誘導体、またはプロドラッグ ) およびウルソール酸 ( その遊離酸、塩、誘導体、またはプロドラッグ ) を含む。O A は、U A を超える大モル過剰で存在する。

【 0 0 9 3 】

いくつかの実施形態では、改善された神経保護組成物は、本明細書に記載されるように、O A 対 B A のモル比で存在する少なくともオレアノール酸 ( その遊離酸、塩、誘導体、またはプロドラッグ ) およびベツリン酸 ( その遊離酸、塩、誘導体、またはプロドラッグ ) を含む。O A は、B A を超える大モル過剰で存在する。

【 0 0 9 4 】

いくつかの実施形態では、改善された神経保護組成物は、本明細書に記載されるように、O A 対 U A 対 B A のモル比で存在する少なくともオレアノール酸 ( その遊離酸、塩、誘導体、またはプロドラッグ )、ウルソール酸 ( その遊離酸、塩、誘導体、またはプロドラッグ )、およびベツリン酸 ( その遊離酸、塩、誘導体、またはプロドラッグ ) を含む。O A は、U A および B A の両方を超える大モル過剰で存在する。

【 0 0 9 5 】

改善された神経保護組成物は、それぞれの個々のトリテルペンよりも広い用量応答曲線を個別に提供し、総モル基準で比較した場合、特に投与範囲の上限で比較した場合、低減された細胞毒性を提供する。

【 0 0 9 6 】

神経保護組成物は、任意の好適な薬学的に許容される剤形に製剤化することができる。

10

20

30

40

50

非経口、耳、眼、鼻、吸入、頬側、舌下、経腸、局所、口腔、経口、および注射可能な剤形が特に有用である。特定の剤形には、固体または液体の剤形が含まれる。例示的な好適な剤形には、錠剤、カプセル、浸透装置、丸剤、カプレット、トローチ、サシェ、溶液、懸濁液、分散液、バイアル、バッグ、ボトル、注射液、i.v.（静脈内）、i.m.（筋肉内）またはi.p.（腹腔内）投与可能な液体および薬科学の当業者に既知である他のそのような剤形が含まれる。

#### 【0097】

神経保護組成物を含む好適な剤形は、神経保護組成物を本明細書に記載またはP i ら ( Curr. Drug Deliv. (Mar 2016), 13(8), 1358-1366の“Ursolic acid nanocrystals for dissolution rate and bioavailability enhancement: influence of different particle size” i)、Yan g ら (Int. J. Nanomed. (2013), 8(1), 2917-2926の“Self-microemulsifying drug delivery system for improved oral bioavailability of olea nolic acid: design and evaluation”）、Li ら (Bi ol. Pharm. Bull. (2014), 37(6), 926-937のDevel opment and evaluation of optimized sucrose ester stabilized oleanolic acid nanosuspe nsions prepared by wet ball milling with d esign of experiments”）、Zhang ら (J. Pharm. Sci . (June 2014), 103(6), 1711-1719の“Enhancemen t of oral bioavailability of triterpene th rough lipid nanospheres: preparation, chara cterization, and absorption evaluation”）、G odugu ら (PLOS One (Mar 2014), 9(3): e89919の“Ap proaches to improve the oral bioavailabil ity and effects of novel anticancer drugs berberine and betulinic acid”）、Zhao ら (Drug Deliv. (Sep 2014), 21(6), 467-479の“Preparati on and characterization of betulin nanopar ticles for oral hypoglycemic drug by anti solvent precipitation”）、Yang ら (Food Chem. (M ay 2012), 132(1), 319-325の“Physicochemical properties and oral bioavailability of ur solic acid nanoparticles using supercriti cal anti-solvent (SAS) process”）、Cao ら (Mol. P harm. (Aug. 2012), 9(8), 2127-2135の“Ethylene glycol-linked amino acid diester prodrugs of oleanolic acid for PEPT1-mediated tran sport: synthesis, intestinal permeability a nd pharmacokinetics”）、Li ら (Pharm. Res. (Aug 2011), 28(8), 2020-2033の“Formulation, biolog ical and pharmacokinetic studies of sucro se ester-stabilized nanosuspensions of ol eanolic acid”）、Tong ら (Int. J. Pharm. (Feb 201 1), 404(1-2), 148-158の“Spray freeze drying with polyvinylpyrrolidone and sodium capr ate for improved dissolution and oral bioa vailablity of oleanolic acid, a BCS Class I

V compound”）、Xiら（AAPS PharmSciTech（2009），10（1），172-182のFormulation development and bioavailability evaluation of a self-nano emulsified drug delivery system of oleanolic acid”）、Chenら（J. Pharm. Pharmacol.（Feb 2005），57（2），259-264の“Oleanolic acid nanosuspensions: preparation, in-vitro characterization and enhanced hepatoprotective effect”）に記載される薬学的に許容される賦形剤と混合することによって調製することができる、それらの開示全体は、参照により本明細書に組み込まれる。

10

#### 【0098】

好適な剤形はまた、2012年5月29日に発行されたAddingtonのUS8187644B2、2008年7月22日に発行されたAddingtonのUS7402325B2、2013年3月12日に発行されたAddingtonらのUS8394434B2に従って作製することができ、それらの開示全体は、参照により本明細書に組み込まれる。好適な剤形はまた、実施例13～15に記載されるように作製することができる。

#### 【0099】

経口投与に所望の用量は最大5剤形であるが、単回用量としてわずか1および最大10剤形を投与してもよい。例示的な投与形態は、用量あたり合計0.1～500mg（1～10の用量レベル）で、投与形態あたり約0.01～5または0.01～10mgの神経保護組成物を含む。用量は、対象において特定の治療応答または臨床的利益を達成するために、事前に決定および/または調整され得る投与計画に従って投与される。

20

#### 【0100】

剤形のいくつかの実施形態は、腸溶コーティングされておらず、0.5～1時間以下の期間内に神経保護組成物のそれらの電荷を放出する。剤形のいくつかの実施形態は、腸溶コーティングされており、空腸、回腸、小腸、および/または大腸（結腸）からなどの胃の下流に神経保護のそれらの電荷を放出する。腸溶コーティングされた剤形は、経口投与後1～10時間以内に神経保護組成物を全身循環に放出する。

#### 【0101】

神経保護組成物は、急速放出、即時放出、制御放出、持続放出、持効性放出、長期放出、バースト放出、連続放出、遅延放出、もしくはパルス放出剤形、またはそれらの種類の放出のうちの2つ以上を示す剤形に含まれ得る。剤形からのトリテルペンの放出プロファイルは、ゼロ次、疑似ゼロ、一次、疑似一次、またはS字状放出プロファイルであり得る。神経保護組成物が投与される対象におけるトリテルペンの血漿濃度プロファイルは、1つ以上の最大値を示し得る。

30

#### 【0102】

本発明の用量に組み込まれる神経保護組成物の量は、少なくとも1つ以上の剤形であり、薬学の既知の原理に従って選択され得る。治療化合物の有効量または治療関連量が特に企図される。「有効量」という用語により、例えば、医薬品に関して、薬学的有効量が企図されることが理解される。薬学的有効量は、必要なまたは所望の治療応答に十分な活性成分の量または分量、言い換えれば、患者に投与されたときにかんがりの生物学的応答を誘発するのに十分な量である。かんがりの生物学的応答は、活性物質の単回または複数回用量の結果として発生し得る。用量は、1つ以上の剤形を含んでもよい。任意の患者の特定の用量レベルは、治療される適応症、適応症の重症度、患者の健康、年齢、性別、体重、食事、薬理学的応答、用いられる特定の剤形、および他のそのような要因を含む様々な要因に依存することが理解されよう。

40

#### 【0103】

神経保護組成物は、存在するトリテルペンおよびそれらが存在するモル比の改善された組み合わせにより、低用量から高用量で投与することができる。ヒトへの治療有効用量は

50

、体重 1 k g あたり約 1 0 0 ~ 1 0 0 0 m g の神経保護組成物である。そのような用量は、2 4 時間の期間で最大 1 0 回投与することができる。

【 0 1 0 4 】

本明細書の化合物は、本発明の製剤において 1 つ以上の機能を有し得ることに留意すべきである。例えば、化合物は、界面活性剤および水混和性溶媒の両方として、または界面活性剤および水不混和性溶媒の両方として役立ち得る。

【 0 1 0 5 】

液体組成物は、1 つ以上の薬学的に許容される液体担体を含み得る。液体担体は、水性、非水性、極性、非極性、および/または有機担体であり得る。液体担体には、例として、限定されることなく、水混和性溶媒、水不混和性溶媒、水、緩衝液、およびそれらの混合物が含まれる。

10

【 0 1 0 6 】

本明細書で使用される場合、交換可能に使用される「水溶性溶媒」または「水混和性溶媒」という用語は、水との二相混合物を形成しないか、または水中で十分に可溶性であり、液相を分離せずに少なくとも 5 パーセントの溶媒を含む水性溶媒混合物を提供する有機液体を指す。溶媒は、ヒトまたは動物への投与に好適である。例示的な水溶性溶媒には、例としておよび限定することなく、P E G (ポリ(エチレングリコール))、P E G 4 0 0 (約 4 0 0 の近似分子量を有するポリ(エチレングリコール))、エタノール、アセトン、アルカノール、アルコール、エーテル、プロピレングリコール、グリセリン、トリアセチン、ポリ(プロピレングリコール)、P V P (ポリ(ビニルピロリドン))、ジメチルスルホキシド、N , N - ジメチルホルムアミド、ホルムアミド、N , N - ジメチルアセトアミド、ピリジン、プロパノール、N - メチルアセトアミド、ブタノール、ソルフォール ( s o l u p h o r ) ( 2 - ピロリドン)、ファルマソルブ ( p h a r m a s o l v e ) ( N - メチル - 2 - ピロリドン) が含まれる。

20

【 0 1 0 7 】

本明細書で使用される場合、その用語が交換可能に使用される「水不溶性溶媒」または「水不混和性溶媒」という用語は、水との二相混合物を形成するか、または水中の溶媒の濃度が 5 パーセントを超える場合に相分離を提供する有機液体を指す。溶媒は、ヒトまたは動物への投与に好適である。例示的な水不溶性溶媒には、例としておよび限定することなく、中/長鎖トリグリセリド、油、ヒマシ油、トウモロコシ油、ビタミン E、ビタミン E 誘導体、オレイン酸、脂肪酸、オリーブ油、ソフチザン 6 4 5 (ジグリセリルカプリレート/カプレート/ステアレート/ヒドロキシステアレートアジペート)、ミグリオール、キャプテックス ( c a p t e x ) ( C a p t e x 3 5 0 : グリセリルトリカプリレート/カプレート/ラウレートトリグリセリド; C a p t e x 3 5 5 : グリセリルトリカプリレート/カプレートトリグリセリド; C a p t e x 3 5 5 E P / N F : グリセリルトリカプリレート/カプレート中鎖トリグリセリド) が含まれる。

30

【 0 1 0 8 】

好適な溶媒は、“ I n t e r n a t i o n a l C o n f e r e n c e o n H a r m o n i s a t i o n o f T e c h n i c a l R e q u i r e m e n t s f o r R e g i s t r a t i o n o f P h a r m a c e u t i c a l s f o r H u m a n U s e ( I C H ) g u i d a n c e f o r i n d u s t r y Q 3 C I m p u r i t i e s : R e s i d u a l S o l v e n t s ” ( 1 9 9 7 ) に列挙されており、それはどの量の残留溶媒が、医薬品において安全であるとみなされるかを推奨している。例示的な溶媒は、クラス 2 またはクラス 3 の溶媒として列挙されている。クラス 3 の溶媒には、例えば、酢酸、アセトン、アニソール、1 - ブタノール、2 - ブタノール、酢酸ブチル、t e r t - ブチルメチルエーテル、クメン、エタノール、エチルエーテル、酢酸エチル、ギ酸エチル、ギ酸、ヘプタン、酢酸イソブチル、酢酸イソプロピル、酢酸メチル、メチル - 1 - ブタノール、メチルエチルケトン、メチルイソブチルケトン、2 - メチル - 1 - プロパノール、ペンタン、1 - ペンタノール、1 - プロパノール、2 - プロパノール、または酢酸プロピルが含まれる。

40

50

## 【 0 1 0 9 】

本発明において水不混和性溶媒として使用され得る他の材料には、C a p t e x 1 0 0 : プロピレングリコールジカプレート ; C a p t e x 2 0 0 : プロピレングリコールジカプレート / ジカプレート ; C a p t e x 2 0 0 P : プロピレングリコールジカプレート / ジカプレート ; プロピレングリコールジカブリロカプレート ; C a p t e x 3 0 0 : グリセリルトリカブリレート / カプレート ; C a p t e x 3 0 0 E P / N F : グリセリルトリカブリレート / カプレート中鎖トリグリセリド ; C a p t e x 3 5 0 : グリセリルトリカブリレート / カプレート / ラウレート ; C a p t e x 3 5 5 : グリセリルトリカブリレート / カプレート ; C a p t e x 3 5 5 E P / N F : グリセリルトリカブリレート / カプレート中鎖トリグリセリド ; C a p t e x 5 0 0 : トリアセチン ; C a p t e x 5 0 0 P : トリアセチン ( 医薬品グレード ) ; C a p t e x 8 0 0 : プロピレングリコールジ ( 2 - エチテキサノエート ) ; C a p t e x 8 1 0 D : グリセリルトリカブリレート / カプレート / リノレート ; C a p t e x 1 0 0 0 : グリセリルトリカプレート ; C a p t e x C A : 中鎖トリグリセリド ; C a p t e x M C T - 1 7 0 : 中鎖トリグリセリド ; C a p m u l G M O : グリセリルモノオレエート ; C a p m u l G M O - 5 0 E P / N F : グリセリルモノオレエート ; C a p m u l M C M : 中鎖モノおよびジグリセリド ; C a p m u l M C M C 8 : グリセリルモノオレエート ; C a p m u l M C M C 1 0 : グリセリルモノカプレート ; C a p m u l P G - 8 : プロピレングリコールモノカブリレート ; C a p m u l P G - 1 2 : プロピレングリコールモノラウレート ; C a p r o l 1 0 G 1 0 O : デカグリセロールデカオレエート ; C a p r o l 3 G O : トリグリセロールモノオレエート ; C a p r o l E T : 混合脂肪酸のポリグリセロールエステル ; C a p r o l M P G O : ヘキサグリセロールジオレエート ; C a p r o l P G E 8 6 0 : デカグリセロールモノ - 、ジオレートが挙げられる。

## 【 0 1 1 0 】

本明細書で使用される場合、「界面活性剤」とは、極性または荷電親水性部分ならびに非極性疎水性 ( 親油性 ) 部分を含む化合物を指し、すなわち、界面活性剤は、両親媒性である。界面活性剤という用語は、化合物のうちの 1 つまたは混合物を指し得る。界面活性剤は、可溶化剤、乳化剤、または分散剤であり得る。界面活性剤は、親水性であるか、または疎水性であり得る。

## 【 0 1 1 1 】

親水性界面活性剤は、薬学的組成物での使用に好適な任意の親水性界面活性剤であり得る。そのような界面活性剤は、アニオン性、カチオン性、双性イオン性または非イオン性であり得るが、非イオン性親水性界面活性剤が、現在好ましい。上に議論されるように、これらの非イオン性親水性界面活性剤は、一般に約 1 0 を超える H L B 値を有する。親水性界面活性剤の混合物もまた、本発明の範囲内にある。

## 【 0 1 1 2 】

同様に、疎水性界面活性剤は、薬学的組成物での使用に好適な任意の疎水性界面活性剤であり得る。一般に、好適な疎水性界面活性剤は、約 1 0 未満の H L B 値を有する。疎水性界面活性剤の混合物もまた、本発明の範囲内にある。

## 【 0 1 1 3 】

追加の好適な可溶化剤の例には、エタノール、イソプロパノール、ブタノール、ベンジルアルコール、エチレングリコール、プロピレングリコール、ブタンジオールおよびその異性体、グリセロール、ペンタエリスリトール、ソルピトール、マンニトール、トランスクトール、ジメチルイソソルビド、ポリエチレングリコール、ポリプロピレン、ポリビニルアルコール、ヒドロキシプロピルメチルセルロースおよび他のセルロース誘導体、シクロデキストリンおよびシクロデキストリン誘導体などのアルコールおよびポリオール ; テトラヒドロフルフリルアルコール P E G エーテル ( B A S F から商品名 T e t r a g l y c o l で市販されている、グリコフロール ) またはメトキシ P E G ( U n i o n C a r b i d e ) などの約 2 0 0 ~ 約 6 0 0 0 の平均分子量を有するポリエチレングリコールのエーテル ; 2 - ピロリドン、2 - ピペリドン、カプロラクタム、N - アルキルピロリドン

、N - ヒドロキシアルキルピロリドン、N - アルキルピペリドン、N - アルキルカプロラクタム、ジメチルアセトアミド、およびポリビニルピロリドンなどのアミド；プロピオン酸エチル、クエン酸トリブチル、クエン酸アセチルトリエチル、クエン酸アセチルトリブチル、クエン酸トリエチル、オレイン酸エチル、カプリル酸エチル、酪酸エチル、トリアセチン、プロピレングリコールモノアセテート、プロピレングリコールジアセテート、カプロラクトンおよびその異性体、バレロラクトンおよびその異性体、ブチロラクトンおよび異性体などのエステル；ならびにジメチルアセトアミド、ジメチルイソソルビド（Ar l a s o l v e D M I（I C I））、N - メチルピロリドン（Ph a r m a s o l v e（I S P））、モノオクタノイン、ジエチレングリコールノノエチルエーテル（G a t t e f o s s eから商品名Transcutolで入手可能）、および水などの当該技術分野

10

【0114】

示されている場合を除いて、本明細書で言及される化合物は、標準的な商業的供給源から容易に入手可能である。

【0115】

透明な液体組成物は、組成物の総重量に基づいてそれが5重量%未満、3重量%未満、または1重量%未満の懸濁された固形分を含むため、肉眼で視覚的に透明である。

【0116】

必ずしも必須ではないが、本発明の組成物またはキットは、キレート剤、防腐剤、抗酸化剤、吸着剤、酸性化剤、アルカリ化剤、消泡剤、緩衝剤、着色剤、電解質、塩、安定化剤、張性改質剤、希釈剤、他の薬学的賦形剤、またはそれらの組み合わせを含み得る。

20

【0117】

本明細書で使用される場合、「抗酸化剤」という用語は、酸化を阻害する薬剤を意味することを意図しており、したがって、酸化プロセスによる調製物の劣化を防ぐために使用される。そのような化合物には、例としておよび限定することなく、アスコルビン酸、アスコルビン酸バルミテート、ビタミンE、ビタミンE誘導体、ブチル化ヒドロキシアニソール、ブチル化ヒドロキシトルエン、次亜リン酸、モノチオグリセロール、没食子酸プロピル、アスコルビン酸ナトリウム、重亜硫酸ナトリウム、ホルムアルデヒドスルホキシル酸ナトリウム、メタ重亜硫酸ナトリウム、および当業者に知られている他のそのような物質が含まれる。

30

【0118】

本明細書で使用される場合、キレート剤という用語は、溶液中の金属イオンをキレート化する化合物を意味することを意図している。例示的なキレート剤には、EDTA（エチレンジアミン四酢酸四ナトリウム）、DTPA（ジエチレントリアミン五酢酸五ナトリウム）、HEDTA（N - （ヒドロキシエチル） - エチレンジアミン三酢酸三ナトリウム塩）、NTA（ニトリロ三酢酸三ナトリウム）、エタノールジグリシンナトリウム（Na<sub>2</sub>EDG）、ジエタノールグリシンナトリウム（DEGNa）、クエン酸、および当業者に知られている他の化合物が含まれる。

【0119】

本明細書で使用される場合、「吸着剤」という用語は、物理的または化学的（化学吸着）手段によってその表面に他の分子を保持することができる薬剤を意味することを意図している。そのような化合物には、例としておよび限定することなく、粉末化および活性化された炭および当業者に知られている他の材料が含まれる。

40

【0120】

本明細書で使用される場合、「アルカリ化剤」という用語は、アルカリ性媒体を提供するために使用される化合物を意味することを意図している。そのような化合物には、例としておよび限定することなく、アンモニア溶液、炭酸アンモニウム、ジエタノールアミン、モノエタノールアミン、水酸化カリウム、ホウ酸ナトリウム、炭酸ナトリウム、重炭酸ナトリウム、水酸化ナトリウム、トリエタノールアミン、およびトロラミン、ならびに当

50

業者に知られている他のものが含まれる。

【0121】

本明細書で使用される場合、「酸性化剤」という用語は、酸性媒体を提供するために使用される化合物を意味することを意図している。そのような化合物には、例としておよび限定することなく、酢酸、アミノ酸、クエン酸、フマル酸および他のアルファ - ヒドロキシ酸、塩酸、アスコルビン酸、および硝酸、ならびに当業者に知られている他のものが含まれる。

【0122】

本明細書で使用される場合、「消泡剤」という用語は、充填組成物の表面に形成される発泡の量を防止または低減する化合物（単数または複数）を意味することを意図している。好適な消泡剤には、例としておよび限定することなく、ジメチコン、シメチコン、オクトキシノール、および当業者に知られている他のものが含まれる。

10

【0123】

本明細書で使用される場合、「緩衝剤」という用語は、酸またはアルカリの希釈または添加による pH の変化に抵抗するために使用される化合物を意味することを意図している。そのような化合物には、例としておよび限定することなく、メタリン酸カリウム、リン酸カリウム、一塩基性酢酸ナトリウム、ならびにクエン酸ナトリウム無水物および脱水物、ならびに当業者に知られている他のそのような材料が含まれる。

【0124】

本明細書で使用される場合、「希釈剤」または「充填剤」という用語は、錠剤およびカプセルの調製において所望のバルク、流動特性、および圧縮特性を作り出すための充填剤として使用される不活性物質を意味することを意図している。そのような化合物には、例としておよび限定することなく、二塩基性リン酸カルシウム、カオリン、ラクトース、スクロース、マンニトール、微結晶セルロース、粉末セルロース、沈降炭酸カルシウム、ソルビトール、およびデンプン、ならびに当業者に知られている他の材料が含まれる。

20

【0125】

本明細書で使用される場合、「防腐剤」という用語は、微生物の成長を防止するために使用される化合物を意味することを意図している。そのような化合物には、例としておよび限定することなく、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、安息香酸、ベンジルアルコール、塩化セチルピリジニウム、クロロブタノール、フェノール、フェニルエチルアルコール、硝酸フェニル水銀、酢酸フェニル水銀、チメロサル、メタクレゾール、塩化ミリスチルガンマピコリニウム、安息香酸カリウム、ソルビン酸カリウム、安息香酸ナトリウム、プロピオン酸ナトリウム、ソルビン酸、チモール、およびメチル、エチル、プロピル、またはブチルパラベン、ならびに当業者に知られている他のものが含まれる。

30

【0126】

本明細書で使用される場合、「着色剤」という用語は、薬学的調製物に色を付与するために使用される化合物を意味することを意図している。そのような化合物には、例としておよび限定することなく、食用赤色 3 号、食用赤色 20 号、食用黄色 6 号、食用青色 2 号、食用緑色 5 号、食用橙色 5 号、食用赤色 8 号、カラメル、および酸化鉄（黒色、赤色、黄色）、他の食用染料およびブドウ果皮抽出物、ビートレッド粉末、ベータカロチン、アナトー、カーマイン、ウコン、パプリカ、それらの組み合わせなどの天然着色剤、ならびに当業者に知られている他のそのような材料が含まれる。

40

【0127】

本明細書で使用される場合、「安定化剤」という用語は、物理的、化学的、または生化学的プロセスに対して活性薬剤を安定化するために使用され、そうでなければ薬剤の治療活性を低減させる化合物を意味することを意図している。好適な安定化剤には、例としておよび限定することなく、アルブミン、シアル酸、クレアチニン、グリシンおよび他のアミノ酸、ナイアシンアミド、アセチルトリプトン酸ナトリウム、酸化亜鉛、スクロース、グルコース、ラクトース、ソルビトール、マンニトール、グリセロール、ポリエチレングリコール、カプリル酸ナトリウムおよびサッカリンナトリウム、ならびに当業者に知られ

50

ている他のものが含まれる。

#### 【0128】

本明細書で使用される場合、「張度改質剤」という用語は、液体製剤の張度を調節するために使用され得る化合物（単数または複数）を意味することが意図している。好適な張度改質剤には、グリセリン、ラクトース、マンニトール、デキストロース、塩化ナトリウム、硫酸ナトリウム、ソルビトール、トレハロース、および当業者に知られている他のものが含まれる。

#### 【0129】

本発明の組成物はまた、固定油、落花生油、ゴマ油、綿実油、トウモロコシ油、およびオリーブ油などの油；オレイン酸、ステアリン酸、およびイソステアリン酸などの脂肪酸；ならびにオレイン酸エチル、ミリスチン酸イソプロピル、脂肪酸グリセリド、およびアセチル化脂肪酸グリセリドなどの脂肪酸エステルを含み得る。組成物は、エタノール、イソプロパノール、ヘキサデシルアルコール、グリセロール、およびプロピレングリコールなどのアルコール；2,2-ジメチル-1,3-ジオキソラン-4-メタノールなどのグリセロールケタール；ポリ（エチレングリコール）450などのエーテル；鉱油およびワセリンなどの石油系炭化水素；水；薬学的に好適な界面活性剤、懸濁化剤、もしくは乳化剤；またはそれらの混合物を含み得る。

#### 【0130】

薬学的製剤の技術分野で使用される化合物は、一般に、様々な機能または目的に役立つことを理解されたい。したがって、本明細書で名付けられた化合物が一度だけ言及されるか、または本明細書で2つ以上の用語を定義するために使用される場合、その目的または機能は、その名付けられた目的（複数可）または機能（複数可）のみに限定されると解釈されるべきではない。

#### 【0131】

製剤の1つ以上の構成成分は、その遊離塩基、または薬学的もしくは分析的に許容される塩形態で存在し得る。本明細書で使用される場合、「薬学的または分析的に許容される塩」は、イオン結合対を形成するために必要に応じて酸または塩基と化合物を反応させることにより修飾された化合物を指す。許容される塩の例には、例えば、非毒性の無機酸または有機酸から形成される従来の非毒性の塩が含まれる。好適な非毒性の塩には、塩酸、臭化水素酸、硫酸、スルホン酸、スルファミン酸、リン酸、硝酸、および当業者に知られている他のものなどの無機酸に由来するものが含まれる。アミノ酸、酢酸、プロピオン酸、コハク酸、グリコール酸、ステアリン酸、乳酸、リンゴ酸、酒石酸、クエン酸、アスコルビン酸、パモ酸、マレイン酸、ヒドロキシマレイン酸、フェニル酢酸、グルタミン酸、安息香酸、サリチル酸、スルファニル酸、2-アセトキシ安息香酸、フマル酸、トルエンスルホン酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、シュウ酸、イセチオン酸、および当業者に知られている他のものなどの有機酸から調製された塩。他の好適な塩の一覧は、Remington's Pharmaceutical Sciences, 17<sup>th</sup>. ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1985, p. 1418に見出され、その関連する開示は、参照により本明細書に組み込まれる。

#### 【0132】

「薬学的に許容される」という語句は、健全な医学的判断の範囲内で、人間および動物の組織との接触での使用に好適であり、過剰な毒性、刺激、アレルギー反応、または任意の他の問題もしくは合併症なく、合理的な利益/リスク比に相応する、化合物、材料、組成物、および/または剤形を指す。

#### 【0133】

剤形は、製薬業界で知られている任意の従来の手段によって作製することができる。液体剤形は、少なくとも1つの液体担体および神経保護組成物を容器に提供することによって調製することができる。1つ以上の他の賦形剤を、液体剤形に含めることができる。固体剤形は、少なくとも1つの固体担体および神経保護組成物を提供することによって調製することができる。1つ以上の他の賦形剤を、固体剤形に含めることができる。



## 【 0 1 3 4 】

剤形は、従来のパッケージング機器および材料を使用してパッケージすることができる。それは、パック、ボトル、ピア、バッグ、シリンジ、封筒、バケット、ブリストアパック、箱、アンブル、またはその他のそのような容器に入れることができる。

## 【 0 1 3 5 】

本発明は、神経学的状態を有する対象の集団における統計的に有意な数の対象の臨床状態を改善する方法を含み、方法は、本明細書に記載されるような神経保護組成物を対象の集団に投与することと、対象の臨床状態を判定することを含む。いくつかの実施形態では、統計的に有意な数は、集団の少なくとも 5 %、少なくとも 10 %、少なくとも 20 %、少なくとも 30 %、少なくとも 40 %、少なくとも 50 %、少なくとも 60 %、少なく

10

## 【 0 1 3 6 】

本明細書で使用される場合、「誘導体」は、a) 第 1 の化学物質に構造的に関連し、それから理論的に誘導可能な化学物質；b) 同様の第 1 の化合物から形成される化合物、もしくは第 1 の化合物の 1 つの原子が別の原子または原子の群で置き換えられた場合、別の第 1 の化合物から生じると考えられ得る化合物；c) 親化合物から誘導もしくは取得され、親化合物の必須要素を含む化合物；または d) 1 つ以上のステップで同様の構造の第 1 の化合物から生成され得る化学化合物である。例えば、誘導体は、その重水素化形態、酸化形態、脱水、不飽和、ポリマー複合体化、またはグリコシル化形態を含み得るか、あるいはエステル、アミド、ラクトン、同族体、エーテル、チオエーテル、シアノ、アミノ、アルキルアミノ、スルフヒドリル、複素環式、複素式環縮合、重合、ペグ化、ベンジリデニル、トリアゾリル、ピペラジニル、またはそれらの重水素化形態を含み得る。

20

## 【 0 1 3 7 】

上記の説明および以下の実施例を考慮して、当業者は、過度の実験をすることなく、請求された本発明を実施することができるであろう。上記は、本発明の実施形態の調製のためのある特定の手順を詳述する以下の実施例を参照してより理解されるであろう。これらの例になされる全ての参照は、説明を目的のためである。以下の実施例は、網羅的なものとみなされるべきではないが、本発明によって企図される多くの実施形態のうちのほんのいくつかのみの単なる例示とみなされるべきである。

30

## 【実施例】

## 【 0 1 3 8 】

トリテルペンは、Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO) から購入することができる。

## 【 0 1 3 9 】

## 実施例 1

## トリテルペン混合物の調製

以下の組成物を、示されたおおよそのモル比で指定されたトリテルペンを混合することによって作製した。

40

	トリテルペン（およその相対モル含有量）		
組成物	オレアノール酸 (O)	ウルソール酸 (U)	ベツリン酸 (B)
I(A-C)	3	2.2	1
II(A-C)	7.8	7.4	1
III(A-C)	10	1	1
IV(A-C)	1	10	1
V(A-C)	1	1	10
VI(A-C)	1	1	0
VII(A-C)	1	1	1
VIII(A-C)	10	1	0
IX(A-C)	1	10	0

10

## 【 0 1 4 0 】

各組成物について、3つの異なるそれぞれの溶液を作製し、よって各溶液中のトリテルペンの総濃度は、約 9  $\mu$ M、18  $\mu$ M、または 36  $\mu$ Mであった。

20

30

40

50

組成物 (全トリテルペン 含有量、 $\mu\text{M}$ )	トリテルペン (各々のおおよその内容物、 $\mu\text{M}$ )		
	オレアノール酸 (O)	ウルソール酸 (U)	ベツリン酸 (B)
I-A(36)	17.4	12.8	5.8
I-B(18)	8.7	6.4	2.9
I-C(9)	4.4	3.2	1.5
II-A(36)	17.3	16.4	2.2
II-B(18)	8.7	8.2	1.1
II-C(9)	4.3	4.1	0.6
III-A(36)	30	3	3
III-B(18)	15	1.5	1.5
III-C(9)	7.5	0.75	0.75
IV-A(36)	3	30	3
IV-B(18)	1.5	15	1.5
IV-C(9)	0.75	7.5	0.75
V-A(36)	3	3	30
V-B(18)	1.5	1.5	15
V-C(9)	0.75	0.75	7.5
VI-A(36)	18	18	0
VI-B(18)	9	9	0
VI-C(9)	4.5	4.5	0
VII-A(36)	12	12	12
VII-B(18)	6	6	6
VII-C(9)	3	3	3
VIII-A(36)	32.7	3.3	0
VIII-B(18)	16.35	1.65	0
VIII-C(9)	8.2	0.8	0
IX-A(36)	3.3	32.7	0
IX-B(18)	1.65	16.35	0
IX-C(9)	0.8	8.2	0

## 【 0 1 4 1 】

## 実施例 2

## 神経保護組成物の調製

神経保護組成物は、その個々のトリテルペン成分を混合して混合物を形成することによって調製することができる。神経保護を提供した上記で調製したトリテルペン混合物を、神経保護組成物に製剤化した。

## 【 0 1 4 2 】

## オレアノール酸およびウルソール酸を含む神経保護組成物

既知量のオレアノール酸およびウルソール酸を、本明細書で定義される構成成分の所定のモル比に従って混合した。構成成分は、固体形態で混合するか、または溶媒（複数可）、例えば、メタノール、エタノール、クロロホルム、アセトン、プロパノール、ジメチルスルホキシド（DMSO）、ジメチルホルムアミド（DMF）、ジメチルアセトアミド（DMAC）、N-メチルピロリドン（NMP）、水、もしくはそれらの混合物で混合した。得られた混合物は、本明細書に記載される相対モル比で構成成分を含んでいた。

## 【 0 1 4 3 】

薬学的に許容される神経保護組成物の場合、少なくとも1つの薬学的に許容される賦形剤を、薬理学的に活性な薬剤と混合した。神経保護組成物を、哺乳動物への投与のために製剤化する。

## 【 0 1 4 4 】

オレアノール酸およびベツリン酸を含む神経保護組成物

既知量のオレアノール酸およびベツリン酸を、本明細書で定義される構成成分の所定のモル比に従って混合した。構成成分は、固体形態で混合するか、または溶媒（複数可）、例えば、メタノール、エタノール、クロロホルム、アセトン、プロパノール、ジメチルスルホキシド（DMSO）、ジメチルホルムアミド（DMF）、ジメチルアセトアミド（DMAC）、N-メチルピロリドン（NMP）、水、もしくはそれらの混合物で混合した。得られた混合物は、本明細書に記載される相対モル比で構成成分を含んでいた。

10

## 【 0 1 4 5 】

薬学的に許容される神経保護組成物の場合、少なくとも1つの薬学的に許容される賦形剤を、薬理学的に活性な薬剤と混合した。神経保護組成物を、哺乳動物への投与のために製剤化する。

## 【 0 1 4 6 】

オレアノール酸、ウルソール酸、およびベツリン酸を含む神経保護組成物

既知量のオレアノール酸、ウルソール酸、およびベツリン酸を、本明細書で定義される構成成分の所定のモル比に従って混合した。構成成分は、固体形態で混合するか、または溶媒（複数可）、例えば、メタノール、エタノール、クロロホルム、アセトン、プロパノール、ジメチルスルホキシド（DMSO）、ジメチルホルムアミド（DMF）、ジメチルアセトアミド（DMAC）、N-メチルピロリドン（NMP）、水、もしくはそれらの混合物で混合した。得られた混合物は、本明細書に記載される相対モル比で構成成分を含んでいた。

20

## 【 0 1 4 7 】

薬学的に許容される神経保護組成物の場合、少なくとも1つの薬学的に許容される賦形剤を、薬理学的に活性な薬剤と混合した。神経保護組成物を、哺乳動物への投与のために製剤化する。

## 【 0 1 4 8 】

実施例 3

脳切片ベースのOGDアッセイにおける組成物の評価

冠状脳切片（厚さ250 μm）を、いずれかの性別の出生後10日のスプラーグドーリーラットの仔（Charles River）から調製し、器官培養で確立した。NIHガイドラインに従って、Duke IACUCの承認および監視の下で、動物を殺した。簡潔には、脳組織切片を、氷冷人工脳脊髄液（ACSF）中で切断し、0.5%試薬グレードのアガロースに設けた培養培地（15%熱不活性化ウマ血清、10 mM KCl、10 mM HEPES、100 U/ml ペニシリン/ストレプトマイシン、1 mM ピルビン酸ナトリウム、および1 mM L-グルタミンを補充したNeurobasal A培地）の上に界面構成で播種した。虚血性損傷をモデル化するために、脳切片を、低O<sub>2</sub>（< 0.5%）を含むグルコースを含まないN<sub>2</sub>でバブリングしたACSFへの5.5分間の曝露によって、酸素グルコース欠乏（OGD）に晒した。

40

## 【 0 1 4 9 】

1時間後、対照およびOGD処理した脳切片を、黄色蛍光タンパク質（YFP）をコードするDNAでバイオリスティックにトランスフェクトした。ADまたはFTDの神経変性をモデル化するアッセイでは、それぞれWTアミロイド前駆体タンパク質（APP）への発現構築物と一緒にYFPで、またはコードされたヒトTau4RON（NCBI参照配列NM\_016834と同一）をコードしたハウス内で構築されたcDNAと一緒にYFPで、脳切片を同時トランスフェクトした。次いで、OGDアッセイのために、5%CO<sub>2</sub>下、37℃で24時間、またはAPPおよびtau4RON誘発神経変性アッセイの場

50

合は3日間、脳切片外植片をインキュベートした。脳切片外植時に、示される濃度で組成物を培養培地に添加した。

#### 【0150】

全ての脳切片アッセイについて、各脳切片の皮質領域の健康な錐体神経細胞の数を、Leica MZ10FL 蛍光実体顕微鏡で画像化した。皮質錐体神経細胞を、皮質板のそれらの特徴的な位置および方向によって、ならびに単一の、軟膜表面に対して放射状に向かう先端樹状突起のそれらの伸長によって容易に特定した。健康な皮質錐体神経細胞を、1) 皮質の錐体神経細胞層内に位置する頑丈で明るく標識された細胞体を呈するもの、2) 切片の軟膜表面に対して放射状に伸長する明確な先端樹状突起を保持するもの、3) 神経細胞体から直接 > 2 細胞体直径長の > 2 の明確な基底樹状突起を発現するもの、ならびに 4) 細胞体においておよび全ての神経突起全体で、YFP 視覚マーカーによる明確で連続的な細胞質標識を示すものとしてみなした。陰性対照条件 (OGD、APP トランスフェクト、または DMSO 担体のみで処理した tau4R トランスフェクト) に関して統計的に有意な差を、条件あたり N = 12 の脳切片で、ANOVA、続いて 0.05 信頼水準での Dunnett の事後比較検定を使用して判定した。各実験を、少なくとも 2 回実施した。

10

#### 【0151】

##### 実施例 4

##### 神経保護の判定のための時間遅延脳切片アッセイ

このアッセイは、以下の変更が行われたことを除いて、実施例 3 に従って実施した。OGD および評価されている組成物の導入の間に、指定される長さの時間をおいた。OGD 治療のタイミングに対して治療が遅れた場合の、脳切片に神経保護を提供する組成物の能力を判定した。

20

#### 【0152】

##### 実施例 5

##### Nrf2 活性化および ARE 遺伝子発現の組成物の評価

##### Nrf2 活性化

いずれかの性別の E18 スプライングドローリーラットまたは C57BL/6 マウス胚から、初代皮質線条体神経細胞共培養物を調製した。ルシフェラーゼレポーターアッセイには、Cignal 抗酸化応答レポーターキット (Qiagen) を使用した。40:1 のルシフェラーゼ: レニラプラスミドの 5x ARE ルシフェラーゼレポーター混合物を、Amara 電気穿孔装置 (Lonza) を使用して、皮質神経細胞および線条体神経細胞に別々にトランスフェクトした。電気穿孔法の後、神経細胞をプールし、成熟グリア培養物を含む 96 ウェルプレートにすぐに播種した。96 時間培養した後、Dual-Glo ルシフェラーゼアッセイシステムのプロトコルおよび試薬 (Promega) を使用して、採取する前に組成物を示される濃度で 7 時間または 24 時間添加した。SpectraMax L マイクロプレートリーダー (Molecular Devices) を使用して、2 波長発光を検出した。ルシフェラーゼ値を、内部レニラ (Renilla) 対照に正規化し、DMSO のみの治療対照を超える倍数発現を計算した。4~6 個の生物学的複製を使用して、少なくとも 3 つの独立した実験を行った。

30

#### 【0153】

##### ARE 遺伝子発現

ARE 標的遺伝子発現レベルの qPCR 定量化のために、皮質神経細胞および線条体神経細胞を、成熟グリア培養物を含む 96 ウェルプレートに播種し、96 時間培養した。組成物を、示される濃度で 6 時間培養物に添加した。処理期間の終了時に、細胞を溶解し、Absolutely RNA mini-prep キット (Agilent Technologies / Stratagene) を使用して、全 RNA を単離した。オリゴ dT プライマーおよび Superscript II 逆転写酵素 (Invitrogen) を使用して cDNA を生成した。得られた cDNA を、Gc1c (フォワード - 5' TGGCCACTATCTGCCCCAATT - 3' およびリバース - 5' - GTCTGTACACGTA G CCTCGGTAA - 3')、Nqo1 (フォワード - 5' - GCCCGCATGCAG

40

50

A T C C T - 3 ' およびリバース 5 ' - G G T C T C C T C C C A G A C G G T T T 3 ' )、  
 S r x ( f o r w a r d - 5 ' - G C T T C C T C T C G G G A G T C C T T - 3 ' および  
 リバース - 5 ' - C A G C A A C A G C G A C T A C G A A G T A A - 3 ' )、および H m  
 o x 1 ( フォワード - 5 ' - C C T C A C T G G C A G G A A A T C A T C - 3 ' およびリ  
 バース - 5 ' - C C T C G T G G A G A C G C T T T A C A T A - 3 ' ) ( I n t e g r a  
 t e d D N A T e c h n o l o g i e s ) について、SYBR GreenリアルタイムPCRマ  
 スターミックス ( L i f e T e c h n o l o g i e s ) および以下のマウス  
 プライマーを使用した遺伝子転写物の定量的PCRに使用した。ラットの皮質線  
 条体共培養試料について、使用したqPCRプライマーは、以前に記載される通り  
 であった ( v a n R o o n - M o m , W . M . e t a l . M u t a n t h u n t i n g t i n a c  
 t i v a t e s N r f 2 - r e s p o n s i v e g e n e s a n d i m p a i r s  
 d o p a m i n e s y n t h e s i s i n a P C 1 2 m o d e l o f H u n t  
 i n g t o n ' s d i s e a s e . B M C M o l e c u l a r B i o l o g y ( 2 0 0  
 8 ) , 9 , 1 - 1 3 , d o i : 1 0 . 1 1 8 6 / 1 4 7 1 - 2 1 9 9 - 9 - 8 4 ) 。各生  
 物学的試料を、ViiA7リアルタイムPCR装置 ( A p p l i e d B i o s y s t e  
 m s ) で、3つ組で測定し、倍数発現を、対応する対照GAPDHレベルへの正規化  
 後に計算した。

【0154】

#### 実施例6

ハンチントン病のインビトロ皮質線条体共培養アッセイにおける組成物の評価

このアッセイでは、無傷の脳切片を使用する代わりに、変異体h t tを、電気穿孔法を  
 介して、96ウェルプレートに配置された皮質神経細胞、線条体神経細胞、およびグリア  
 の高密度混合共培養に導入する。このアッセイプラットフォームの目標は、インビボでの  
 疾患関連神経細胞集団の相互接続性の重要な側面を再現する複雑な初代培養システムの生  
 物学的/臨床的関連性を、大規模な完全自動スクリーニングキャンペーンを実施する能力  
 と組み合わせることである。このアッセイでは、インビトロで、1~2週間の期間にわた  
 って、トランスフェクトした変異体h t t構築物は、線条体神経細胞および皮質神経細胞  
 の両方の進行性変性を誘発し、その後、Cellomics Arrayscan VTI  
 プラットフォームの自動画像取得およびオブジェクト検出アルゴリズムを使用して定量化  
 される。各データポイントを、ハンチントン病治療イニシアティブ ( C u r e H u n t  
 i n g t o n ' s D i s e a s e I n i t i a t i v e ) に関連して実施されている大  
 規模なスクリーニングキャンペーン中に開発されたプロトコルを使用して、Cellom  
 i c s A r r a y s c a nで、自動的にキャプチャ、処理、および分析された各ウェル  
 において16の画像を有する6個のウェルから描画した。完全な試験では、1週あたり4  
 サイクルの各サイクルで、約25,000の画像を収集および分析する。

【0155】

皮質線条体共培養アッセイプラットフォーム。

コンフルエントなグリアベッドを備えた96ウェルプレートを確立するために、神経細胞  
 播種の前に純粋なグリア培養物を調製する。次いで、皮質組織および線条体組織を、別  
 々に解剖し、適切なDNA構築物で「ヌクレオフェクト」し、YFP、CFP、およびm  
 C h e r r y などの異なる蛍光タンパク質の発現によって後から区別することができる。  
 次いで、これらの別々にトランスフェクトした皮質神経細胞および線条体神経細胞を、完  
 全に混合し、以前に播種したグリア単層を含む96ウェルプレートに播種する。組成物を  
 、この皮質線条体共培養プラットフォームで試験する。

【0156】

#### 実施例7

アルツハイマー病を含むがこれに限定されない神経学的状態の治療。

方法A：神経保護組成療法

アルツハイマー病を呈している対象に、神経保護組成物を処方し、治療関連用量を、処  
 方された投与計画に従って一定期間対象に投与する。対象の治療応答のレベルを、定期的

10

20

30

40

50

に判定する。ある用量で治療応答のレベルが低すぎる場合、対象における治療応答の所望のレベルが達成されるまで、所定の用量漸増スケジュールに従って用量が漸増される。神経保護組成物による対象の治療は、必要に応じて継続され、患者が所望の臨床的エンドポイントに達するまで、用量または投与計画が必要に応じて調節され得る。

【0157】

方法B．併用療法：神経保護組成物および別の治療薬

アルツハイマー病またはその症状を治療するための1つ以上の他の治療薬と組み合わせて神経保護組成物を対象に処方および投与することを除いて、上記の方法Aに従う。次いで、神経保護組成物の前、後、またはそれとともに1つ以上の他の治療薬を投与することができる。1つ以上の他の治療薬の用量漸増（または漸減）もまた行うことができる。好適な1つ以上の他の治療薬には、Namenda（商標）（メマンチンHCl）、Aricapt（商標）（ドネペジル）、Razadyne（商標）（ガランタミン）、Exelon（商標）（リバスチグミン）、Cognex（商標）（タクリン）、およびアマンタジンが含まれる。

10

【0158】

実施例8

ハンチントン病を含むがこれに限定されない神経学的状態の治療。

方法A．神経保護組成療法

ハンチントン病を呈している対象に、神経保護組成物を処方し、治療関連用量を、処方された投与計画に従って一定期間対象に投与する。対象の治療応答のレベルを、定期的に判定する。ある用量で治療応答のレベルが低すぎる場合、対象における治療応答の所望のレベルが達成されるまで、所定の用量漸増スケジュールに従って用量が漸増される。神経保護組成物による対象の治療は、必要に応じて継続され、患者が所望の臨床的エンドポイントに達するまで、用量または投与計画が必要に応じて調節され得る。投与される用量は、本明細書に記載されるものと同様であり得る。

20

【0159】

方法B．併用療法：神経保護組成物および別の治療薬

ハンチントン病またはその症状を治療するための1つ以上の他の治療薬と組み合わせて神経保護組成物を対象に処方および投与することを除いて、上記の方法Aに従う。神経保護組成物の前、後、またはそれとともに1つ以上の他の治療薬を投与することができる。1つ以上の他の治療薬の用量漸増（または漸減）もまた行うことができる。好適な1つ以上の他の治療薬には、ビタミンE、バクロフェン（CoQ10の誘導体）、ラモトリギン（抗けいれん薬）、レマセミド（低親和性NMDAアンタゴニストである麻酔薬）、およびリルゾール（Naチャネル遮断薬）が含まれる。

30

【0160】

実施例9

虚血性脳卒中を含むがこれに限定されない神経学的状態の治療。

方法A．神経保護組成療法

虚血性脳卒中を呈している対象に、神経保護組成物を処方し、治療関連用量を、処方された投与計画に従って一定期間対象に投与する。対象の治療応答のレベルを、定期的に判定する。ある用量で治療応答のレベルが低すぎる場合、対象における治療応答の所望のレベルが達成されるまで、所定の用量漸増スケジュールに従って用量が漸増される。神経保護組成物による対象の治療は、必要に応じて継続され、患者が所望の臨床的エンドポイントに達するまで、用量または投与計画が必要に応じて調節され得る。投与される用量は、本明細書に記載されるものと同様であり得る。

40

【0161】

方法B．併用療法：神経保護組成物および別の治療薬

虚血性脳卒中またはその症状を治療するための1つ以上の他の治療薬と組み合わせて神経保護組成物を対象に処方および投与することを除いて、上記の方法Aに従う。神経保護組成物の前、後、またはそれとともに1つ以上の他の治療薬を投与することができる。1

50

つ以上の他の治療薬の用量漸増（または漸減）もまた行うことができる。

#### 【 0 1 6 2 】

##### 実施例 1 0

パーキンソン病を含むがこれに限定されない神経学的状態の治療。

##### 方法 A . 神経保護組成療法

パーキンソン病を呈している対象に、神経保護組成物を処方し、治療関連用量を、処方された投与計画に従って一定期間対象に投与する。対象の治療応答のレベルを、定期的に判定する。ある用量で治療応答のレベルが低すぎる場合、対象における治療応答の所望のレベルが達成されるまで、所定の用量漸増スケジュールに従って用量が漸増される。神経保護組成物による対象の治療は、必要に応じて継続され、患者が所望の臨床的エンドポイントに達するまで、用量または投与計画が必要に応じて調整され得る。投与される用量は、本明細書に記載されるものと同様であり得る。

10

#### 【 0 1 6 3 】

##### 方法 B . 併用療法：神経保護組成物および別の治療薬

パーキンソン病またはその症状を治療するための 1 つ以上の他の治療薬と組み合わせて神経保護組成物を対象に処方および投与することを除いて、上記の方法 A に従う。次いで、神経保護組成物の前、後、またはそれとともに 1 つ以上の他の治療薬を投与することができる。1 つ以上の他の治療薬の用量漸増（または漸減）もまた行うことができる。好適な 1 つ以上の他の治療薬には、カルビドパおよびレボドパの組み合わせ、ラサギリン、プラミベキソール、ロピンロール、アマンタジン、メマンチン、エンタカボン、ロチゴチン、ベンズトロピン、セレギリン、ピペリデン、カルビドパおよびレボドパおよびエンタカボンの組み合わせ、トリヘキシルフェニジル、リバスチグミン、アポモルフィン、レボドパ、カルビドパ、プロモクリプチン、ベラドンナ、トルカボン、またはそれらの組み合わせが含まれる。

20

#### 【 0 1 6 4 】

##### 実施例 1 1

アルツハイマー病（t a u 4 R および A P P）のインビトロアッセイにおける神経保護組成物の評価

皮質錐体神経細胞の A P P / A b e t a 誘発変性のラットの脳切片モデルでは、バイオリスティックトランスフェクションを使用して、Y F P などの重要なマーカーを導入するだけでなく、脳切片内の同じ神経細胞集団に疾患遺伝子構築物を導入する。したがって、A P P / A 脳切片モデルは、Y F P を A P P アイソフォームと同時トランスフェクトし、脳切片の調製およびトランスフェクション後 3 ~ 4 日間の期間にわたって、皮質錐体神経細胞の進行性変性をもたらす。データは、神経保護組成物が、A P P でトランスフェクトした脳切片に濃度依存性神経保護を提供することを示す。

30

#### 【 0 1 6 5 】

##### 実施例 1 2

脳卒中および非脳卒中のインビトロアッセイにおける神経保護組成物の評価

##### 方法 A . 脳卒中：皮質脳切片および O G D の調製。

新皮質の脳切片を、P N D 7 スプライングドローラットの仔から調製した。大脳皮質を解剖し、厚さ 4 0 0 μ の切片に切り、1 μ M の M K - 8 0 1 とともに冷たい人工脳脊髄液を含む容器に移した後に播種した；M K - 8 0 1 は、その後のいかなる手順にも含まなかった。一過性酸素 - グルコース欠乏（O G D）を使用して虚血性損傷を模倣するために、各脳の方の半球からの切片を、低 O<sub>2</sub>（0 . 5 %）環境で 7 . 5 分間、グルコースを含まない、N<sub>2</sub> でバブリングした人工脳脊髄液に曝露した。次いで、O G D 切片を、ニトロセルロースまたは M i l l i c e l l（M i l l i p o r e）透過性膜上の反対側の半球からの対照切片と並べて播種し、それらは O G D なしであることを除いて同一に調製した。播種から 3 0 分後、脳切片の対をトランスフェクトし、2 4 ウェルプレートに移し、加湿チャンバー内で、5 % C O<sub>2</sub> 下、3 7 ° でインキュベートした。各実験では、5 ~ 6 分間の酸素グルコース欠乏（O G D）を使用して、2 4 時間までに健康な皮質神経細胞の > 5 0 %

40

50



損失を誘発した。内部陽性対照として設定濃度の対照物質を使用した。組成物の様々な濃度を評価する

方法 B . 非脳卒中 : 脳切片アッセイ。

【 0 1 6 6 】

組成物を、「非脳卒中」脳切片、すなわち、切片にし、YFPでトランスフェクトしたが、OGDを介した追加の外傷を受けていないもので試験した。上記の実験手順を参照されたい。

【 0 1 6 7 】

実施例 1 3

神経保護組成物を含む剤形の調製

10

方法 A . クレモフォルベースの薬物送達システム

以下の成分を、示される量で提供する。

試薬名	機能	製剤の割合 (w/w%)
PBI-01011	活性剤	3.7
ビタミンE	抗酸化剤	0.1
ラブラゾル	界面活性剤	9.2
エタノール	共溶媒	9.6
クレモフォルEL	界面活性剤	62.6
クレモフォルRH40	界面活性剤	14.7

20

【 0 1 6 8 】

賦形剤を瓶に分注し、New Brunswick Scientific C24KC 冷蔵インキュベーターシェーカーで、60 で24時間振盪して、均一性を確実にする。次に、試料を引き抜き、可溶化について視覚的に検査する。

方法 B . G M O / クレモフォルベースの薬物送達システム

【 0 1 6 9 】

以下の成分を、示される量で提供する。

30

試薬名	機能	製剤の割合 (w/w%)
PBI-01011	活性剤	4.7
ビタミンE	抗酸化剤	0.1
ラブラゾル	界面活性剤	8.5
エタノール	共溶媒	7.6
クレモフォルEL	界面活性剤	56.1
グリセロールモノオレエート	界面活性剤	23.2

40

【 0 1 7 0 】

方法 A の手順に従う。

【 0 1 7 1 】

方法 C . ラブラゾルベースの薬物送達システム

以下の成分を、示される量で提供する。

50

試薬名	機能	製剤の割合 (w/w%)
PBI-01011	活性剤	3.7
ビタミンE	抗酸化剤	0.1
ラブラゾル	界面活性剤	86.6
エタノール	共溶媒	9.6

## 【 0 1 7 2 】

方法 A の手順に従う。

## 【 0 1 7 3 】

方法 D . ビタミン E - T P G S ベースのミセル形成システム

以下の成分を、示される量で提供する。

構成成分	機能	重量% (w/w)
ビタミンE	抗酸化剤	1.0
ビタミンE TPGS	界面活性剤	95.2
PBI-01011	活性剤	3.8

## 【 0 1 7 4 】

方法 A の手順に従う。

## 【 0 1 7 5 】

方法 E . 多構成成分薬物送達システム

以下の成分を、示される量で提供する。

構成成分	重量 (g)	重量% (w/w)
ビタミンE	10.0	1.0
クレモフォールELP	580.4	55.9
ラブラゾル	89.0	8.6
グリセロールモノオレエート	241.0	23.2
エタノール	80.0	7.7
PBI-01011	38.5	3.7
合計	1038.9	100

## 【 0 1 7 6 】

方法 A の手順に従う。

## 実施例 1 4

腸溶コーティングされたカプセルの調製

ステップ I : 液体充填カプセルの調製

## 【 0 1 7 7 】

硬ゼラチンカプセル ( 5 0 カウント、 0 0 サイズ ) に、実施例 1 3 の液体組成物を充填する。これらのカプセルに、 8 0 0 m g の製剤を充填し、次いで、 5 0 % エタノール / 5 0 % 水溶液で、手で密封する。次いで、カプセルを、以下の成分を示される量で含む 2 2 % ゼラチン溶液で、手でバンディングする。

10

20

30

40

50

成分	重量 (g)
ゼラチン	140.0
ポリソルベート80	6.0
水	454.0
合計	650.0

## 【 0 1 7 8 】

ゼラチン溶液を完全に混合し、1～2時間膨潤させた。膨潤後、溶液をしっかりと覆い、55のオープンに入れて液化させる。ゼラチン溶液全体が液体になると、バンディングを行う。先の尖った丸い3/0アーティストブラシを使用して、ゼラチン溶液をカプセルに塗布する。シオノギ社から提供されているバンディングキットを使用する。バンディング後、カプセルを、周囲条件に12時間保持し、バンドを硬化させる。

10

## 【 0 1 7 9 】

ステップII：液体充填カプセルのコーティング

以下の表に列挙される成分からコーティング分散液を調製する。

成分	重量%	固形分%	固形分 (g)	g/パッチ
オイドラギットL 30D55	40.4	60.5	76.5	254.9
TEC	1.8	9.0	11.4	11.4
アルタルク (AlTal c) 500V	6.1	30.5	38.5	38.5
水	51.7	該当なし	該当なし	326.2
合計	100.0	100.0	126.4	631.0

20

## 【 0 1 8 0 】

ステップIのバンディングしたカプセルを使用する場合、分散液を、 $20.0 \text{ mg/cm}^2$ のコーティングレベルまでカプセルに塗布する。以下の条件を使用して、カプセルをコーティングする。

30

パラメータ	設定
コーティング装置	ベクターLDSCS-3
パッチサイズ	500g
吸気温度	40°C
排気温度	27～30°C
吸気量	20～25CFM
パン速度	20rpm
ポンプ速度	9rpm (3.5～4.0g/分)
ノズル圧	15psi
ノズル径	1.0mm
錠剤ベッドからの距離*	2～3インチ

40

\* スプレーノズルを、ノズルおよびスプレー経路の両方が吸気の流路の下になるように設定した。

## 【 0 1 8 1 】

50

## 実施例 15

## 神経保護組成物を含む錠剤の調製

3%サイロイド244FPおよび97%微結晶セルロース(MCC)の初期錠剤化混合物を混合する。次いで、実施例13に従って調製された組成物の既存のバッチを、湿式造粒を介してサイロイド/MCC混合物に組み込む。この混合物は、以下の表で「初期錠剤化混合物」と標識される。圧縮性を高めるために、追加のMCCをさらに顆粒状で添加する。初期錠剤化混合物へのこの添加を、「さらなる顆粒状添加」と標識する。さらなる顆粒状添加から得られた混合物は、「最終錠剤化混合物」と同じ組成物である。

構成成分	重量 (g)	重量% (w/w)
初期錠剤化混合物		
微結晶セルロース	48.5	74.2
コロイド状二酸化ケイ素/サイロイド244FP	1.5	2.3
実施例13からの製剤	15.351	23.5
合計	65.351	100.0

10

## さらなる顆粒状添加

構成成分	重量 (g)	重量% (w/w)
初期集計混合物	2.5	50.0
微結晶セルロース	2.5	50.0
合計	5	100.0

20

## 最終錠剤化混合物：

## 略称

構成成分	重量 (g)	重量% (w/w)
微結晶セルロース	4.36	87.11
コロイド状二酸化ケイ素/サイロイド244FP	0.06	1.15
実施例13からの製剤	0.59	11.75
合計	5.00	100

30

## 最終錠剤化混合物：

## 詳細

構成成分	重量 (g)	重量% (w/w)
微結晶セルロース	4.36	87.11
コロイド状二酸化ケイ素/サイロイド244FP	0.06	1.15
ビタミンE	0.01	0.11
クレモフォールELP	0.33	6.56
ラブラゾル	0.05	1.01
グリセロールモノオレエート	0.14	2.72
エタノール	0.05	0.90
PBI-01011	0.02	0.44
合計	5.00	100.00

40

サイロイド 244FP は、Grace Davison によって製造されたコロイド状二酸化ケイ素である。コロイド状二酸化ケイ素は、吸着剤、流動促進剤、および錠剤崩壊剤などのいくつかの機能を提供するために一般的に使用される。サイロイド 244FP を、その重量の 3 倍の油を吸着するその能力およびその 5.5 ミクロンの粒子サイズのために選択した。

#### 【0183】

本明細書で使用される場合、特に明記されない限り、「約」または「おおよそ」という用語は、指定された値の  $\pm 10\%$ 、 $\pm 5\%$ 、 $\pm 2.5\%$ 、または  $\pm 1\%$  を意味すると解釈される。本明細書で使用される場合、特に明記されない限り、「実質的に」という用語は、「大部分」、「少なくとも大部分」、「70% 超」、「85% 超」、「90% 超」、「95% 超」、「98% 超」、または「99% 超」を意味すると解釈される。

10

#### 【0184】

本明細書で範囲が指定されている場合、範囲は、その中の全ての数値を含む。

#### 【0185】

上記は、本発明の特定の実施形態の詳細な説明である。本発明の特定の実施形態を例示の目的で本明細書に説明してきたが、本発明の精神および範囲から逸脱することなく様々な修正を行うことができることを理解されたい。したがって、本発明は、添付の特許請求の範囲による場合を除いて限定されない。本明細書で開示および特許請求される実施形態は全て、本開示に照らして過度の実験なしで作成および実行することができる。

次に、本発明のまた別の好ましい態様を示す。

20

1. 神経保護組成物であって、主要な薬理学的に活性な構成成分として、  
オレアノール酸である第 1 のトリテルペンと、

a) ウルソール酸、および b) ベツリン酸からなる群から選択される少なくとも 1 つの  
第 2 のトリテルペンと、を含み、

第 1 のトリテルペン：少なくとも 1 つの第 2 のトリテルペンのモル比が、約 9 ~ 12 :  
約 0.33 ~ 5 であり、

前記第 1 のトリテルペンおよび前記少なくとも 1 つの第 2 のトリテルペンが独立して、  
各発生において、それらの遊離酸、塩、誘導体、またはプロドラッグから選択される、神  
経保護組成物。

2. 第 1 のトリテルペン：少なくとも 1 つの第 2 のトリテルペンの前記モル比が、9 ~  
12 : 約 0.33 ~ 5、約 9 ~ 12 : 約 0.4 ~ 5、約 9 ~ 12 : 約 0.5 ~ 5、約 9 ~  
12 : 約 0.7 ~ 5、約 9 ~ 12 : 約 0.9 ~ 5、約 9 ~ 12 : 約 1 ~ 5、約 9 ~ 12 :  
約 0.33 ~ 4、約 9 ~ 12 : 約 0.4 ~ 4、約 9 ~ 12 : 約 0.5 ~ 4、約 9 ~ 12 :  
約 0.7 ~ 4、約 9 ~ 12 : 約 0.9 ~ 4、約 9 ~ 12 : 約 1 ~ 4、約 9 ~ 12 : 約 0.  
33 ~ 3、約 9 ~ 12 : 約 0.4 ~ 3、約 9 ~ 12 : 約 0.5 ~ 3、約 9 ~ 12 : 約 0.  
7 ~ 3、約 9 ~ 12 : 約 0.9 ~ 3、約 9 ~ 12 : 約 1 ~ 3、約 9 ~ 12 : 約 0.33 ~  
2、約 9 ~ 12 : 約 0.4 ~ 2、約 9 ~ 12 : 約 0.5 ~ 2、約 9 ~ 12 : 約 0.7 ~ 2  
、約 9 ~ 12 : 約 0.9 ~ 2、約 9 ~ 12 : 約 1 ~ 2、約 10 ~ 1 : 約 1 ~ 5、約 10 ~  
1 : 約 1 ~ 3、約 9 ~ 12 : 約 0.5 ~ 1.5、約 9 ~ 11 : 約 0.5 ~ 1.5、約 9.  
5 ~ 10.5 : 約 0.75 ~ 1.25、約 9.5 ~ 10.5 : 約 0.8 ~ 1.2、または  
約 9.75 ~ 10.5 : 約 0.9 ~ 1.1 である、上記 1 に記載の神経保護組成物。

30

3. 前記第 1 のトリテルペンが、オレアノール酸またはその塩であり、  
少なくとも 1 つの第 2 のトリテルペンが、a) ウルソール酸またはその塩、および b)  
ベツリン酸またはその塩からなる群から選択される、上記 1 または 2 に記載の神経保護組  
成物。

40

4. 主要な薬理学的に活性な構成成分として、  
オレアノール酸、またはその塩、誘導体、もしくはプロドラッグ(OA)と、  
ウルソール酸、またはその塩、誘導体、もしくはプロドラッグ(UA)と、  
ベツリン酸、またはその塩、誘導体、もしくはプロドラッグ(BA)と、を含み、  
OA : UA : BA のモル比が、約 9 ~ 12 : 約 0.2 ~ 2.5 : 約 0.2 ~ 2.5 である

50

、上記 1 に記載の神経保護組成物。

5. OA:UA:BAの前記モル比が、約10:約1:約1、約9~11:約0.5~1.5:約0.5~1.5、約9.5~10.5:約0.75~1.25:約0.75~1.25、約9.5~10.5:約0.8~1.2:約0.8~1.2、約9.75~10.5:約0.9~1.1:約0.9~1.1、約9~12:約0.15~2.5:約0.15~2.5、約9~12:約0.2~2.5:約0.2~2.5、約9~12:約0.25~2.5:約0.25~2.5、約9~12:約0.35~2.5:約0.35~2.5、約9~12:約0.45~2.5:約0.45~2.5、約9~12:約0.5~5:約0.5~2.5、約9~12:約0.16~2:約0.16~2、約9~12:約0.2~2:約0.2~2、約9~12:約0.25~2:約0.25~2、約9~12:約0.25~2:約0.25~2、約9~12:約0.45~2:約0.45~2、約9~12:約0.5~2:約0.5~2、約9~12:約0.16~1.5:約0.16~1.5、約9~12:約0.2~1.5:約0.2~1.5、約9~12:約0.25~1.5:約0.25~1.5、約9~12:約0.45~1.5:約0.45~1.5、約9~12:約0.5~1.5:約0.5~1.5、約9~12:約0.16~1:約0.16~1、約9~12:約0.2~1:約0.2~1、約9~12:約0.25~1:約0.25~1、約9~12:約0.35~1:約0.35~1、約9~12:約0.45~1:約0.45~1、約9~12:約0.5~1:約0.5~1、約10~1:約0.5~2.5:約0.5~2.5、約10~1:約0.1~1.5:約0.1~1.5、約9~12:約0.25~0.75:約0.25~0.75、約9.5~10.5:約0.35~0.7:約0.35~0.7、約9.5~10.5:約0.4~0.6:約0.4~0.6、または約9.75~10.5:約0.45~0.6:約0.45~0.6である、上記 4 に記載の神経保護組成物。

10

20

6. 主要な薬理的に活性な構成成分として、

オレアノール酸またはその塩、

ウルソール酸またはその塩、および

ベツリン酸またはその塩を含む、上記 4 または 5 に記載の神経保護組成物。

7. 前記神経保護組成物が、強心配糖体、ステロイド、および薬理的に活性な多糖類を除外する、上記 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の神経保護組成物。

30

8. 1 つ以上の他の治療上有効な薬剤をさらに含む、上記 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の神経保護組成物。

9. 前記 1 つ以上の他の治療上有効な薬剤が、BACE (ベータ - セクレターゼ 1 ; ベータ部位アミロイド前駆体タンパク質切断酵素 1、ベータ部位 APP 切断酵素 1、膜関連アスパラギン酸プロテアーゼ 2、メマプシン - 2、アスパルチルプロテアーゼ 2、および ASP 2) 阻害剤、AZD 3293、アセチルコリンエステラーゼ阻害剤、Namenda (商標) (メマンチン HCl)、Aricept (商標) (ドネペジル)、Razadyne (商標) (ガランタミン)、Exelon (商標) (リバスチグミン)、Cognex (商標) (タクリン)、抗けいれん剤、NMDA (n - メチル d - アスパラギン酸塩) 受容体アンタゴニスト、ナトリウムチャンネル遮断薬ビタミン E、バクロフェン (CoQ 10 の誘導体)、ラモトリギン (抗けいれん剤)、レマセミド (低親和性 NMDA アンタゴニストである麻酔薬)、リルゾール (Na チャンネル遮断薬)、アルテプラゼ (血栓溶解剤)、レボドパ、カルビドパ、アマンタジン、COMT (カテコール O - メチルトランスフェラーゼ) 阻害剤、トルカボン、エンタカボン、オピカボン、ドーパミンアゴニスト、プロモクリプチン、ペルゴリド、プラミベキソール、ロピニロール、ピリベジル、カベルゴリン、アボモルフィン、リスリド、MAO - B (モノアミンオキシダーゼ - B) 阻害剤 (選択的および非選択的 MAO - B 阻害剤)、抗コリン薬、コリンエステラーゼ阻害剤、イソカルボキサジド、ニアラミド、フェネルジン、ヒドラカルバジン、ラサギリン、セレギリン、リネゾリド、またはそれらの組み合わせからなる群から選択される、上記 8 に記載の神経保護組成物。

40

50

10 . 少なくとも1つの薬学的賦形剤および上記1～8または9のいずれか一項に記載の神経保護組成物を含む薬学的剤形。

11 . 対象の神経学的状態を治療する方法であって、それを必要とする対象に、前記神経学的状態を治療するための有効量で、上記1～8もしくは9のいずれか一項に記載の神経保護組成物、または上記10に記載の薬学的剤形のうちの1つ以上を投与することを含む、方法。

12 . 前記対象の前記神経学的状態が、アルツハイマー病、パーキンソン病、脳卒中、ハンチントン病、タウパシー ( t a u p a t h y )、またはアミロイドベータ前駆体タンパク質の過剰なタンパク質分解、対象の神経細胞のシナプスにおけるアミロイドベータタンパク質の蓄積、対象の神経細胞のシナプスにおけるアミロイド線維の形成、もしくは対象の神経細胞のシナプスにおけるアミロイドプラークの形成に関連する病因を有する状態であるかどうかを判定することと、

前記神経保護組成物の投与を指示することと、

処方された初期投与計画に従って一定期間、前記神経保護組成物の初期用量を前記対象に投与することと、

前記神経保護組成物による治療に対する対象の臨床応答および/または治療応答の妥当性を定期的に判定することと、

前記対象の臨床応答および/または治療応答が妥当である場合、所望の臨床エンドポイントが達成されるまで、必要に応じて前記神経保護組成物による治療を継続すること、または

前記対象の臨床応答および/または治療応答が前記初期用量および初期投与計画で妥当でない場合、前記対象の所望の臨床応答および/または治療応答が達成されるまで、前記用量を漸増または漸減させることと、を含む、上記11に記載の方法。

13 . 前記方法が、前記神経学的状態に罹患するリスクのある対象の集団を特定することとをさらに含む、上記12に記載の方法。

14 . 前記リスクのある対象の集団が、前記対象の進む年齢、前記神経学的状態の家族歴、神経学的状態の発生に対する遺伝的素因、前記対象におけるA p o E 4遺伝子の存在および発現、女性の性別、心血管疾患(例えば、高血圧および高コレステロール値)、糖尿病(特に、この疾患の2型または成人発症型)、ダウン症候群、頭部外傷、低い学校教育のレベル、喫煙、過度のアルコール消費、ならびに/または薬物乱用によって特徴付けられる、上記13に記載の方法。

15 . 前記神経保護組成物が、長期間にわたって繰り返し基準で投与され、a) 前記繰り返し基準が、毎日、1日おき、2日おき、3日おき、4日おき、5日おき、6日おき、毎週、1週おき、2週おき、3週おき、毎月、隔月、半月毎、1ヶ月おき、2ヶ月おき、四半期毎、四半期おき、季節毎、三半期毎、季節毎、半年毎、および/もしくは毎年であり、b) 前記長期間が、1週間以上、1ヶ月以上、1四半期以上、および/もしくは1年以上であり、ならびに/またはc) 前記有効用量が、1日に1回以上投与される、上記1～14のいずれか一項に記載の方法。

16 . 対象の脳卒中を治療する時間遅延方法であって、

対象が前記脳卒中に罹患した後の遅延期間内に、初期投与計画に従って神経保護組成物の初期用量を投与することであって、前記神経保護組成物が、上記1～9のいずれか一項による、投与することと、

前記神経保護組成物による治療に対する対象の臨床応答および/または治療応答の妥当性を判定することと、

前記対象の臨床応答および/または治療応答が妥当である場合、所望の臨床エンドポイントが達成されるまで、必要に応じて神経保護組成物による治療を継続すること、または

前記対象の臨床応答および/または治療応答が前記初期用量および初期投与計画で妥当でない場合、前記対象の所望の臨床応答および/または治療応答が達成されるまで、前記用量を漸増または漸減させることと、を含む、時間遅延方法。

17 . 前記遅延期間が、10時間以下、8時間以下、6時間以下、4時間以下、3時間

10

20

30

40

50

以下、2時間以下、1時間以下、45分以下、30分以下、20分以下、または10分以下である、上記16に記載の方法。

18. 対象の臨床応答および/または治療応答の妥当性を判定することが、身体の片側の顔、腕、および/または足の任意の弱さ、身体の片側の顔、腕、および/または足のしびれ、話し言葉を理解することができないこと、話すまたははっきりと話すことができないこと、書くことができないこと、めまいおよび/または歩行不均衡、複視、ならびに異常に重度の頭痛の評価によって行われる、上記16または17に記載の方法。

19. 前記組成物が、1つ以上の他の治療上有効な薬剤をさらに含む、上記1~18のいずれか一項に記載の発明。

20. 治療を必要とする対象の神経学的状態を治療する方法であって、主要な薬理学的に活性な薬剤として少なくとも2つのトリテルペンを含む神経保護組成物を投与することを含み、

10

第1のトリテルペンが、オレアノール酸であり、

少なくとも1つの第2のトリテルペンが、a)ウルソール酸、およびb)ベツリン酸からなる群から選択され、

前記第1のトリテルペンおよび前記少なくとも1つの第2のトリテルペンが独立して、各発生において、それらの遊離酸、塩、誘導体、またはプロドラッグから選択され、

前記第1のトリテルペンが、前記少なくとも1つの第2のトリテルペンの少なくとも4倍モル過剰で存在する、方法。

21. 前記オレアノール酸、ウルソール酸、およびベツリン酸が存在し、オレアノール酸が、個々に各ウルソール酸およびベツリン酸の少なくとも4倍モル過剰で存在する、上記20に記載の方法。

20

22. ウルソール酸のモル含有量が、ベツリン酸のモル含有量に近い、上記21に記載の方法。

23. 前記神経保護組成物が、強心配糖体、ステロイド、および薬理学的に活性な多糖類を除外する、上記1~22のいずれか一項に記載の発明。

30

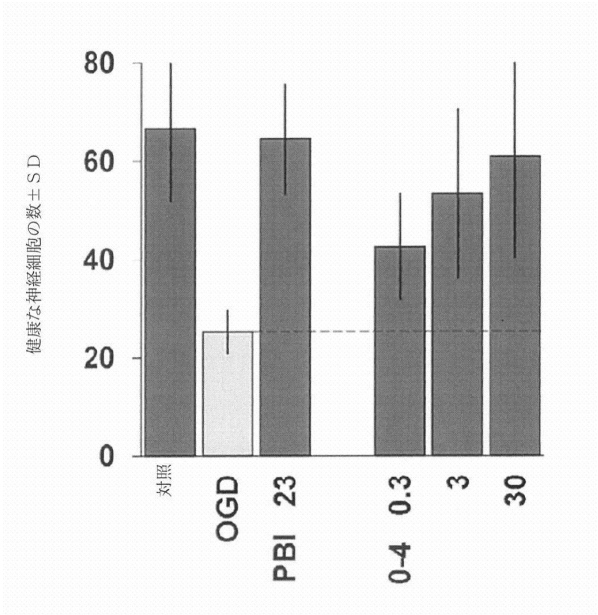
40

50

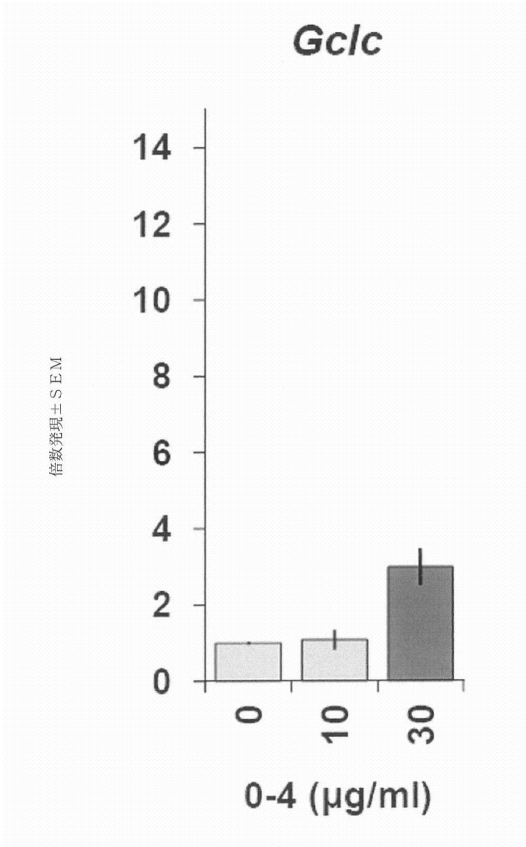


【図面】

【図 1】



【図 2 A】



10

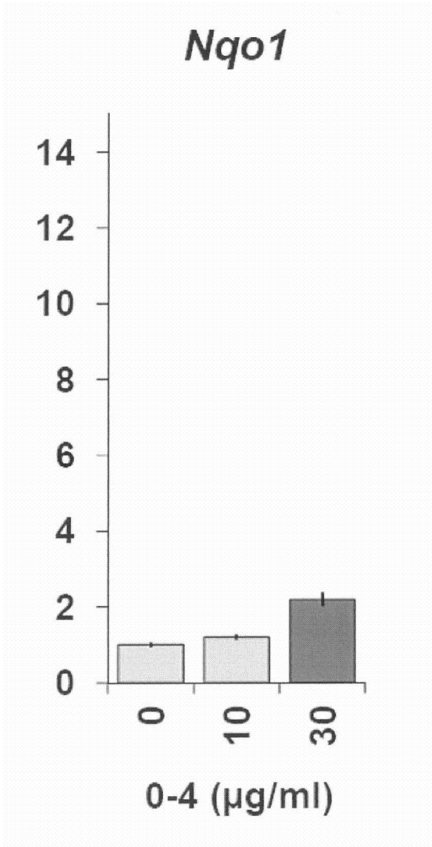
20

30

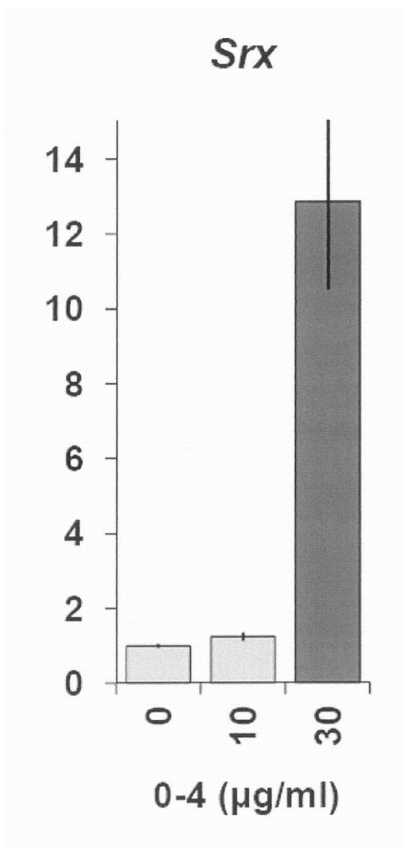
40

50

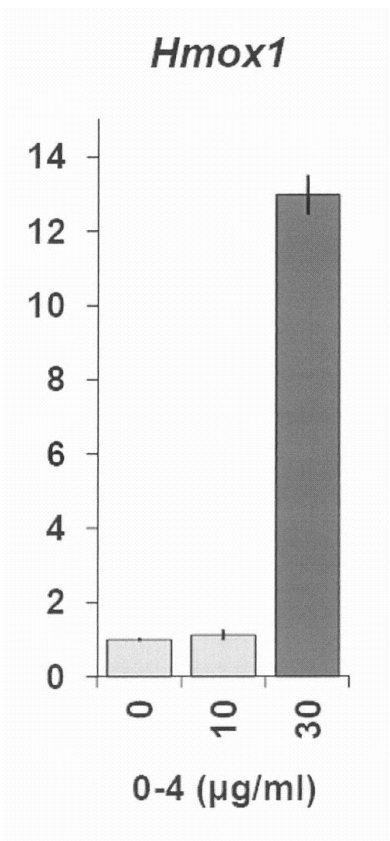
【図 2 B】



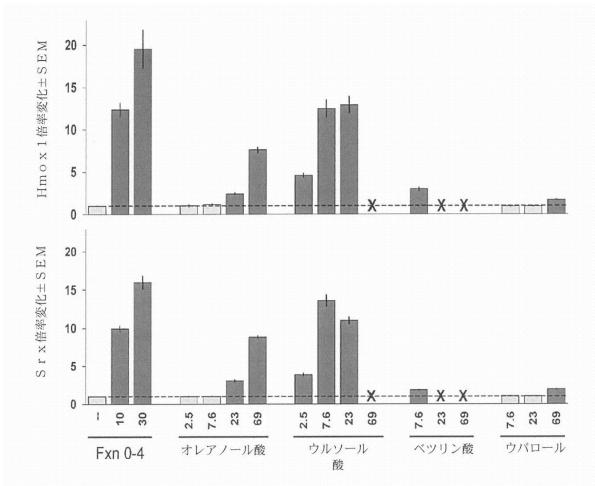
【図 2 C】



【図 2 D】



【図 3】



10

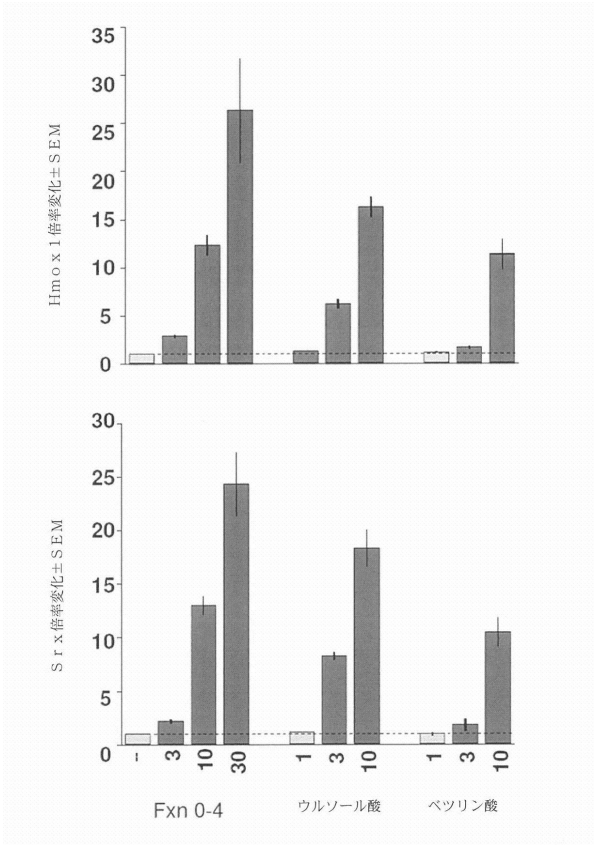
20

30

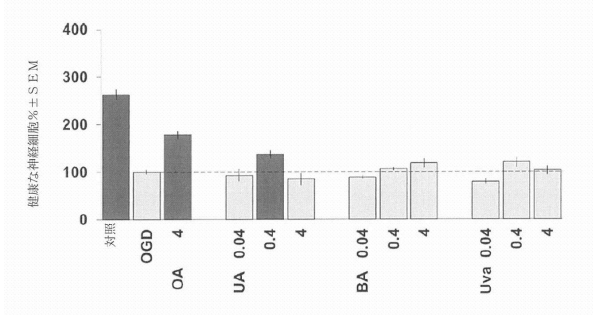
40

50

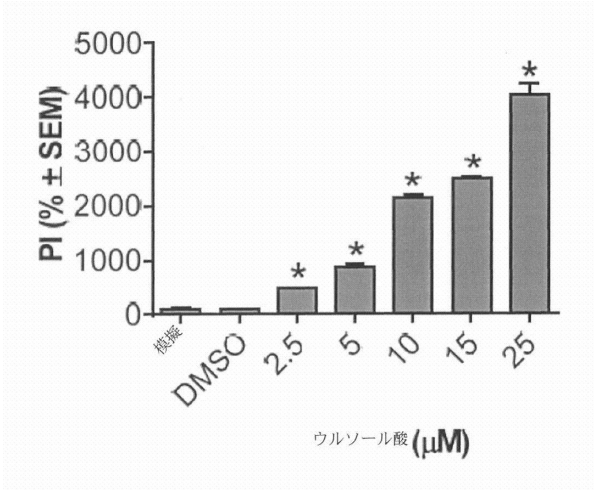
【図 4】



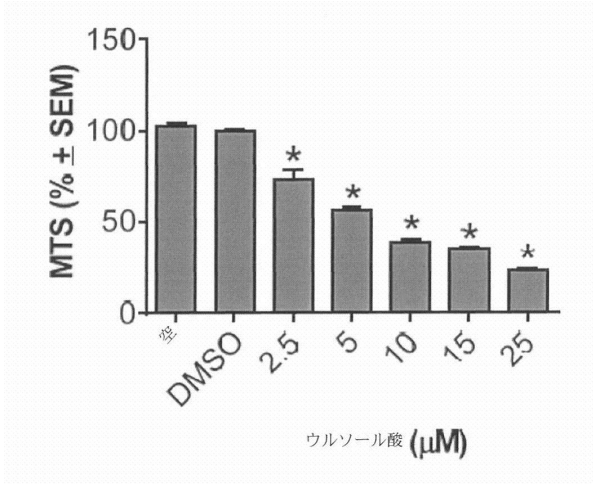
【図 5】



【図 6 A】



【図 6 B】



10

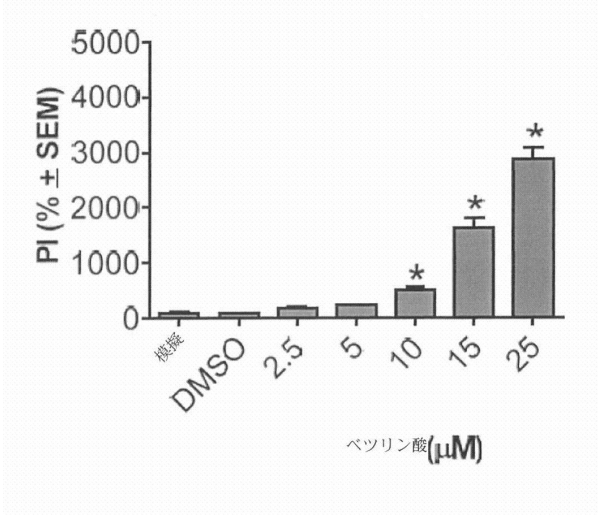
20

30

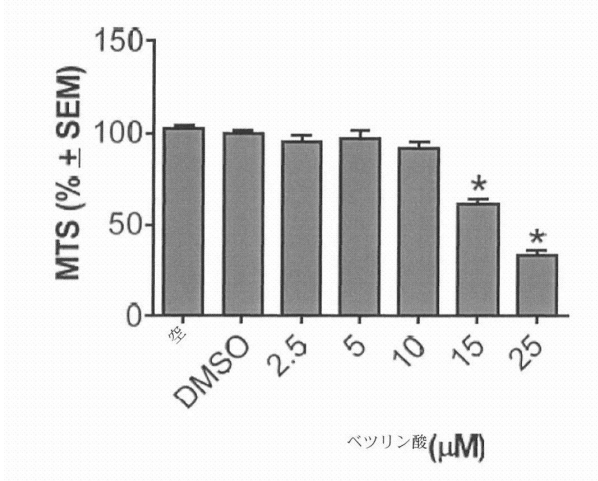
40

50

【図 7 A】

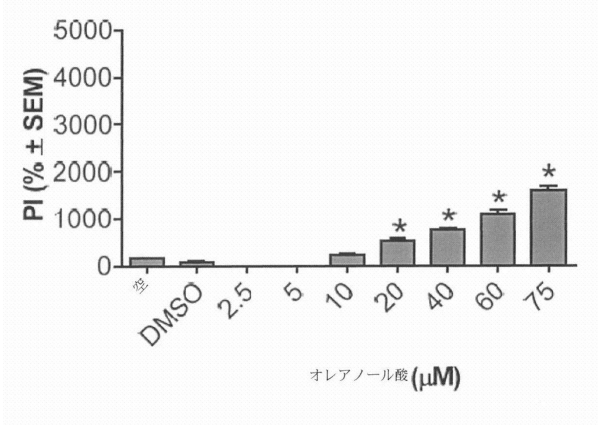


【図 7 B】

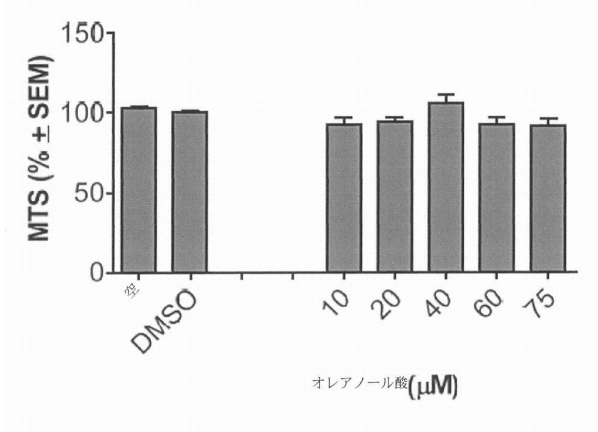


10

【図 8 A】



【図 8 B】



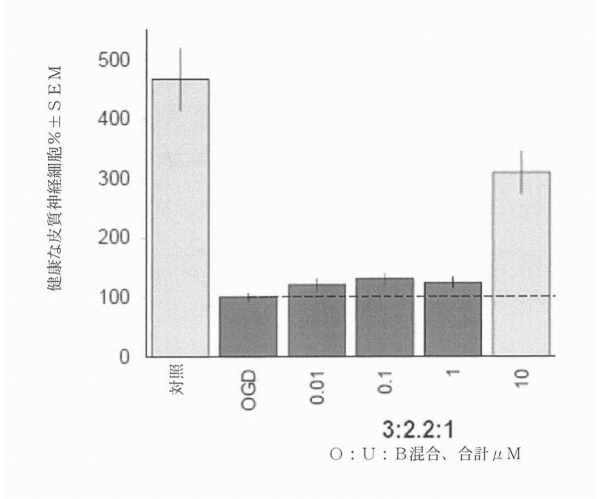
20

30

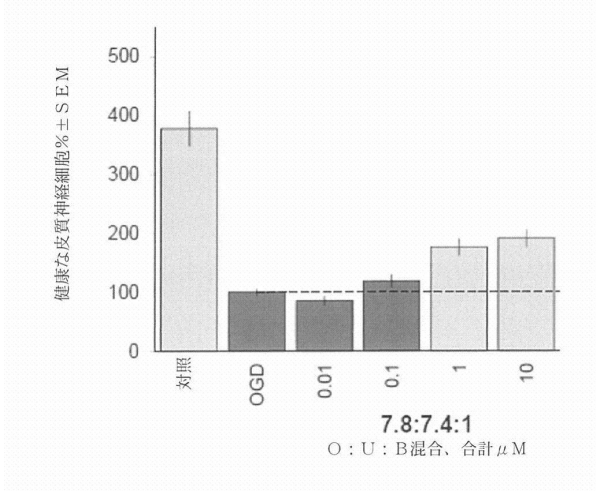
40

50

【図 9 A】

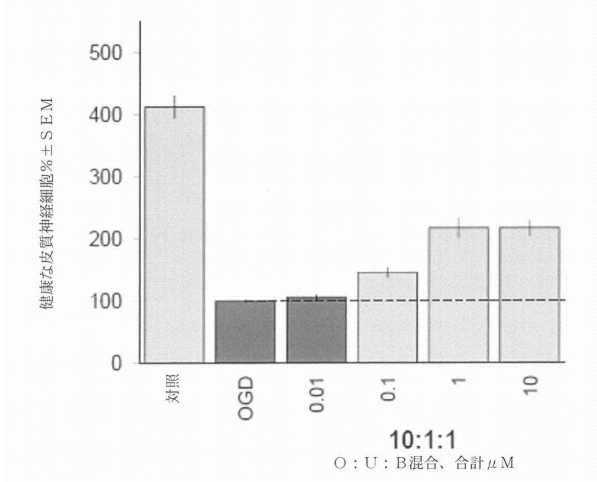


【図 9 B】

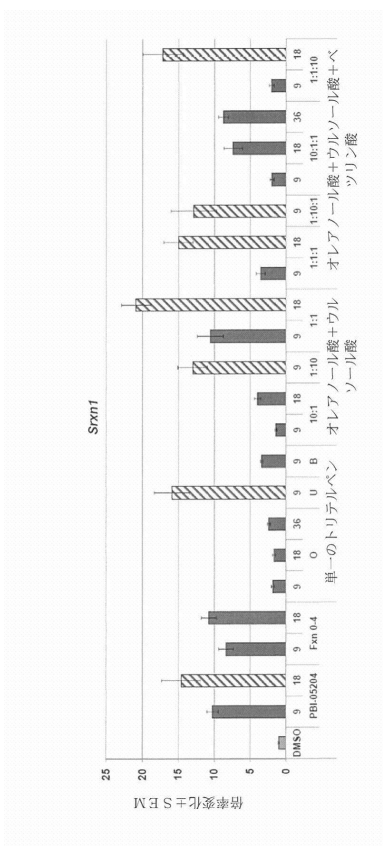


10

【図 9 C】



【図 10 A】



20

30

40

50



## フロントページの続き

弁理士 市川 さつき  
(74)代理人 100111796  
弁理士 服部 博信  
(74)代理人 100123766  
弁理士 松田 七重  
(72)発明者 ニューマン ロバート エイ  
アメリカ合衆国 メイン州 0 4 6 8 4 サリー ホエール ロック レーン 1 1 2  
(72)発明者 アディントン オーティス シー  
アメリカ合衆国 テキサス州 7 8 2 3 2 サン アントニオ マスタング サークル 3 2 0  
(72)発明者 ロー ドナルド シー  
アメリカ合衆国 テキサス州 7 8 2 3 2 サン アントニオ グレンウッド ドライブ 3 1 2  
(72)発明者 カルテンバッチ リンダ エス  
アメリカ合衆国 ノースカロライナ州 2 7 2 7 8 ヒルズバラ クラブツリー クリーク ロード 5 0 4  
審査官 平井 裕彰  
(56)参考文献 特表 2 0 1 6 - 5 2 1 7 1 7 ( J P , A )  
特表 2 0 1 3 - 5 4 2 9 8 8 ( J P , A )  
(58)調査した分野 (Int.Cl. , D B 名)  
A 6 1 K 3 1 / 0 0 ~ 3 3 / 4 4  
A 6 1 P 1 / 0 0 ~ 4 3 / 0 0  
C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S ( S T N )