

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2024-534952
(P2024-534952A)

(43)公表日 令和6年9月26日(2024.9.26)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 K	36/47 (2006.01)	A 6 1 K	36/47	4 B 0 1 8	
A 6 1 P	15/08 (2006.01)	A 6 1 P	15/08	4 C 0 7 6	
A 6 1 P	15/00 (2006.01)	A 6 1 P	15/00	4 C 0 8 3	
A 6 1 K	36/185 (2006.01)	A 6 1 K	36/185	4 C 0 8 4	
A 6 1 K	36/03 (2006.01)	A 6 1 K	36/03	4 C 0 8 8	
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全100頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2024-515109(P2024-515109)			(71)出願人	523356329
(86)(22)出願日	令和4年9月7日(2022.9.7)				ユバ バイオサイエンシーズ, インコーポレイテッド
(85)翻訳文提出日	令和6年5月2日(2024.5.2)				アメリカ合衆国 アラバマ 3 5 2 0 3 ,
(86)国際出願番号	PCT/US2022/042799				バーミングハム, ファースト アベニュー
(87)国際公開番号	WO2023/038999				ノース 1 5 0 0 ; スイート エル1 3 3
(87)国際公開日	令和5年3月16日(2023.3.16)			(74)代理人	100078282
(31)優先権主張番号	63/241,429				弁理士 山本 秀策
(32)優先日	令和3年9月7日(2021.9.7)			(74)代理人	100113413
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)				弁理士 森下 夏樹
(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,AT,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	100181674
					弁理士 飯田 貴敏
				(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】 卵巣老化、卵巣疾患および状態、ならびにその症状を処置するための組成物および方法

(57)【要約】
妊孕性を増強または改善する方法が開示される。生殖寿命を延長する方法が開示される。卵母細胞のミトコンドリア質量を増加させる方法または卵母細胞のミトコンドリア質量の減少を予防する方法が開示される。胚発生を改善する方法または胚の受精率を改善する方法が開示される。卵巣疾患または状態を処置または予防する方法が開示される。閉経周辺期、閉経期、またはその症状を低減、予防または遅延させる方法が開示される。方法は、emb l i c a抽出物、またはemb l i c a抽出物の化合物成分、もしくはemb l i c a抽出物の化合物成分と少なくとも9 5 %の類似性スコアを有する化合物成分を投与することを含む。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

対象の妊孕性を増強または改善する方法であって、有効量の、emblica抽出物、fucus抽出物、およびchebula抽出物、もしくはその薬学的に許容される形態の1つもしくは複数、またはemblica抽出物、fucus抽出物、およびchebula抽出物の1つもしくは複数の1つもしくは複数の化合物成分、もしくはその薬学的に許容される形態、またはemblica抽出物、fucus抽出物、およびchebula抽出物の1つもしくは複数の化合物成分と少なくとも95%の類似性スコアを有する1つもしくは複数の化合物、もしくはその薬学的に許容される形態を含む組成物を前記対象に投与することを含む、方法。

10

【請求項 2】

対象の生殖寿命を延長する方法であって、有効量の、emblica抽出物、fucus抽出物、およびchebula抽出物、もしくはその薬学的に許容される形態の1つもしくは複数、またはemblica抽出物、fucus抽出物、およびchebula抽出物の1つもしくは複数の1つもしくは複数の化合物成分、もしくはその薬学的に許容される形態、またはemblica抽出物、fucus抽出物、およびchebula抽出物の1つもしくは複数の化合物成分と少なくとも95%の類似性スコアを有する1つもしくは複数の化合物、もしくはその薬学的に許容される形態を含む組成物を前記対象に投与することを含む、方法。

20

【請求項 3】

対象の卵母細胞のミトコンドリア質量を増加させるまたは卵母細胞のミトコンドリア質量の減少を予防する方法であって、有効量の、emblica抽出物、fucus抽出物、およびchebula抽出物、もしくはその薬学的に許容される形態の1つもしくは複数、またはemblica抽出物、fucus抽出物、およびchebula抽出物の1つもしくは複数の1つもしくは複数の化合物成分、もしくはその薬学的に許容される形態、またはemblica抽出物、fucus抽出物、およびchebula抽出物の1つもしくは複数の化合物成分と少なくとも95%の類似性スコアを有する1つもしくは複数の化合物、もしくはその薬学的に許容される形態を含む組成物を前記対象に投与することを含む、方法。

30

【請求項 4】

胚発生を改善するまたは胚の受精率を改善する方法であって、有効量の、emblica抽出物、fucus抽出物、およびchebula抽出物、もしくはその薬学的に許容される形態の1つもしくは複数、またはemblica抽出物、fucus抽出物、およびchebula抽出物の1つもしくは複数の1つもしくは複数の化合物成分、もしくはその薬学的に許容される形態、またはemblica抽出物、fucus抽出物、およびchebula抽出物の1つもしくは複数の化合物成分と少なくとも95%の類似性スコアを有する1つもしくは複数の化合物、もしくはその薬学的に許容される形態を含む組成物を前記胚の対象供給源または前記胚に投与することを含む、方法。

【請求項 5】

対象の卵巣疾患または状態を処置または予防する方法であって、有効量の、emblica抽出物、fucus抽出物、およびchebula抽出物、もしくはその薬学的に許容される形態の1つもしくは複数、またはemblica抽出物、fucus抽出物、およびchebula抽出物の1つもしくは複数の1つもしくは複数の化合物成分、もしくはその薬学的に許容される形態、またはemblica抽出物、fucus抽出物、およびchebula抽出物の1つもしくは複数の化合物成分と少なくとも95%の類似性スコアを有する1つもしくは複数の化合物、もしくはその薬学的に許容される形態を含む組成物を前記対象に投与することを含む、方法。

40

【請求項 6】

胚発生を改善するまたは胚の受精率を改善する方法であって、卵細胞質をドナー卵母細胞から受精されるレシピエント卵母細胞に移植して、前記胚を形成することを含み、前記

50

ドナー卵母細胞が、前記レシピエント卵母細胞よりも高いミトコンドリアDNA (mtDNA) 含量を有し、ドナー対象、レシピエント対象、および前記胚の少なくとも1つが、有効量の、emblica抽出物、fucus抽出物、およびchebula抽出物、もしくはその薬学的に許容される形態の1つもしくは複数、またはemblica抽出物、fucus抽出物、およびchebula抽出物の1つもしくは両方の1つもしくは複数の化合物成分、もしくはその薬学的に許容される形態、またはemblica抽出物、fucus抽出物、およびchebula抽出物の1つもしくは複数の化合物成分と少なくとも95%の類似性スコアを有する1つもしくは複数の化合物、もしくはその薬学的に許容される形態を含む組成物を投与されている、方法。

【請求項7】

閉経周辺期、閉経期、またはその症状を低減、予防または遅延させる方法であって、有効量の、emblica抽出物、fucus抽出物、およびchebula抽出物、もしくはその薬学的に許容される形態の1つもしくは複数、またはemblica抽出物、fucus抽出物、およびchebula抽出物の1つもしくは複数の1つもしくは複数の化合物成分、もしくはその薬学的に許容される形態、またはemblica抽出物、fucus抽出物、およびchebula抽出物の1つもしくは複数の化合物成分と少なくとも95%の類似性スコアを有する1つもしくは複数の化合物、もしくはその薬学的に許容される形態を含む組成物を前記対象に投与することを含む、方法。

【請求項8】

有効量のemblica抽出物、emblica抽出物の1つもしくは複数の化合物成分、もしくはemblica抽出物の化合物成分と少なくとも95%の類似性スコアを有する1つもしくは複数の化合物成分、またはその薬学的に許容される形態を前記対象に投与することを含む、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項9】

有効量のfucus抽出物、fucus抽出物の1つもしくは複数の化合物成分、もしくはfucus抽出物の化合物成分と少なくとも95%の類似性スコアを有する1つもしくは複数の化合物成分、またはその薬学的に許容される形態を前記対象に投与することを含む、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項10】

有効量のchebula抽出物、chebula抽出物の1つもしくは複数の化合物成分、もしくはchebula抽出物の化合物成分と少なくとも95%の類似性スコアを有する1つもしくは複数の化合物成分、またはその薬学的に許容される形態を前記対象に投与することを含む、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項11】

前記emblica抽出物が、Embllica officinalisに由来する、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項12】

前記emblica抽出物の前記化合物成分が、1～5個のヒドロキシ基、および必要に応じて1～3個のO- (C₁～C₅アルキル) 基もしくはO- (C₁～C₅アルケニル) 基で置換された安息香酸もしくはその薬学的に許容される形態、または-CH=CH-(CH₂)_a-C(O)OH (式中、aは、0～5である) および1～5個のヒドロキシ基で置換されたベンゼンもしくはその薬学的に許容される形態、または前記の組合せである、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項13】

前記emblica抽出物の前記化合物成分が、没食子酸、バニリン酸、クロロゲン酸、5コーヒー酸、シリング酸、クマル酸、ケルセチン、エンブリカニンA、エンブリカニンB、プニグルコニン、ペダンクラギン、プニカフォリン、フィラネムブリン、ケンフェロール、エラグ酸、ケブリン酸、ケブラジン酸、プニカラギン、前記のいずれかの代謝産物、前記のいずれかと少なくとも95%の類似性スコアを有する化合物、または前記のいずれかの薬学的に許容される形態である、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 14】

前記 *fucus* 抽出物が、*Fucus vesiculosus*、*Fucus serratus*、*Fucus spiralis*、または *Fucus guiryi* に由来する、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 15】

前記 *fucus* 抽出物の前記化合物成分が、1～5 個のヒドロキシ基、および必要に応じて 1～3 個の $\text{O}-(\text{C}_1\sim\text{C}_5\text{アルキル})$ 基もしくは $\text{O}-(\text{C}_1\sim\text{C}_5\text{アルケニル})$ 基で置換された安息香酸もしくはその薬学的に許容される形態、または $-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_a-\text{C}(\text{O})\text{OH}$ (式中、 a は、0～5 である) および 1～5 個のヒドロキシ基で置換されたベンゼンもしくはその薬学的に許容される形態、または前記の組合せである、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

10

【請求項 16】

前記 *fucus* 抽出物の前記化合物成分が、没食子酸、バニリン酸、クロロゲン酸、コーヒー酸、シリング酸、クマル酸、ケルセチン、フコイダン、プニグルコニン、ペダンクラギン、プニカフォリン、フィラネム布林、ケンフェロール、エラグ酸、ケブリン酸、ケブラジン酸、プニカラギン、前記のいずれかの代謝産物、前記のいずれかと少なくとも 95% の類似性スコアを有する化合物、または前記のいずれかの薬学的に許容される形態である、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 17】

前記 *chebula* 抽出物が、*Terminilia chebula*、*Terminalia arborea*、または *Lumnitzera racemose* に由来する、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

20

【請求項 18】

前記 *chebula* 抽出物の前記化合物成分が、1～5 個のヒドロキシ基、および必要に応じて 1～3 個の $\text{O}-(\text{C}_1\sim\text{C}_5\text{アルキル})$ 基もしくは $\text{O}-(\text{C}_1\sim\text{C}_5\text{アルケニル})$ 基で置換された安息香酸もしくはその薬学的に許容される形態、または $-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_a-\text{C}(\text{O})\text{OH}$ (式中、 a は、0～5 である) および 1～5 個のヒドロキシ基で置換されたベンゼンもしくはその薬学的に許容される形態、または前記の組合せである、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 19】

前記 *chebula* 抽出物の前記化合物成分が、没食子酸、バニリン酸、クロロゲン酸、コーヒー酸、シリング酸、クマル酸、ケルセチン、フコイダン、プニグルコニン、ペダンクラギン、プニカフォリン、フィラネム布林、ケンフェロール、エラグ酸、ケブリン酸、ケブラジン酸、プニカラギン、前記のいずれかの代謝産物、前記のいずれかと少なくとも 95% の類似性スコアを有する化合物、または前記のいずれかの薬学的に許容される形態である、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

30

【請求項 20】

前記組成物が、

有効量の *emblica* 抽出物もしくはその薬学的に許容される形態、または *emblica* 抽出物の化合物成分もしくはその薬学的に許容される形態、または *emblica* 抽出物の化合物成分と少なくとも 95% の類似性スコアを有する化合物もしくはその薬学的に許容される形態；

40

有効量の *fucus* 抽出物もしくはその薬学的に許容される形態、または *fucus* 抽出物の化合物成分もしくはその薬学的に許容される形態、または *fucus* 抽出物の化合物成分と少なくとも 95% の類似性スコアを有する化合物もしくはその薬学的に許容される形態；および

有効量の *chebula* 抽出物もしくはその薬学的に許容される形態、または *chebula* 抽出物の化合物成分もしくはその薬学的に許容される形態、または *chebula* 抽出物の化合物成分と少なくとも 95% の類似性スコアを有する化合物もしくはその薬学的に許容される形態

50

の2つまたはそれよりも多くを含む、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項21】

前記組成物が、emblica抽出物、もしくはその薬学的に許容される形態、またはemblica抽出物の化合物成分と少なくとも95%の類似性スコアを有する化合物成分、もしくはその薬学的に許容される形態の1つまたは複数の化合物成分で強化されている、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項22】

前記組成物が、fucus抽出物、もしくはその薬学的に許容される形態、またはfucus抽出物の化合物成分と少なくとも95%の類似性スコアを有する化合物成分、もしくはその薬学的に許容される形態の1つまたは複数の化合物成分で強化されている、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

10

【請求項23】

前記組成物が、chebula抽出物、もしくはその薬学的に許容される形態、またはchebula抽出物の化合物成分と少なくとも95%の類似性スコアを有する化合物成分、もしくはその薬学的に許容される形態の1つまたは複数の化合物成分で強化されている、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項24】

前記emblica抽出物の前記1つもしくは複数の化合物成分、もしくは前記emblica抽出物の化合物成分と少なくとも95%の類似性スコアを有する前記1つもしくは複数の化合物成分が、精製されている、例えば、少なくとも80%精製されている、少なくとも85%精製されている、少なくとも90%精製されている、少なくとも95%精製されている、少なくとも98%精製されている、少なくとも99%精製されている、少なくとも99.9%精製されている、少なくとも99.99%精製されている、または少なくとも99.999%精製されている、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

20

【請求項25】

前記fucus抽出物の前記1つもしくは複数の化合物成分、もしくは前記fucus抽出物の化合物成分と少なくとも95%の類似性スコアを有する前記1つもしくは複数の化合物成分が、精製されている、例えば、少なくとも80%精製されている、少なくとも85%精製されている、少なくとも90%精製されている、少なくとも95%精製されている、少なくとも98%精製されている、少なくとも99%精製されている、少なくとも99.9%精製されている、少なくとも99.99%精製されている、または少なくとも99.999%精製されている、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

30

【請求項26】

前記chebula抽出物の前記1つもしくは複数の化合物成分、もしくは前記chebula抽出物の化合物成分と少なくとも95%の類似性スコアを有する前記1つもしくは複数の化合物成分が、精製されている、例えば、少なくとも80%精製されている、少なくとも85%精製されている、少なくとも90%精製されている、少なくとも95%精製されている、少なくとも98%精製されている、少なくとも99%精製されている、少なくとも99.9%精製されている、少なくとも99.99%精製されている、または少なくとも99.999%精製されている、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

40

【請求項27】

前記有効量が、治療有効量である、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項28】

投与が、ミトコンドリアバイオジェネシスを誘導するおよび／またはミトコンドリア機能を改善する、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項29】

前記有効量または治療有効量が、ミトコンドリアバイオジェネシスを誘導するのに十分である、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項30】

投与が、PGC-1a、TFAM、NRF-1、およびCOX IIから選択される少

50

なくとも1つのタンパク質の発現を増加させる、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項31】

投与が、月経周期をモジュレートする、例えば、月経周期を正常化する、排卵事象を増加させる、および／または前記対象もしくはレシピエント対象の抗ミュー管ホルモン（AMH）レベルを増加させる、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項32】

投与が、胚の異数性の確率および／またはリー症候群を減少させる、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項33】

投与が、卵巣疾患もしくは状態の少なくとも1つの症状、例えば、皮膚もしくは膣の乾燥、骨盤痛もしくは筋痙攣、炎症、延長されたもしくは不規則な月経周期、および排卵事象の減少の重症度もしくは頻度を低減するか、または低下させる、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項34】

前記組成物が、局所投与される、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項35】

前記組成物が、非経口、例えば、静脈内、腹腔内、または筋肉内投与される、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項36】

前記組成物が、経腸投与される、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項37】

前記組成物が、局所液剤、油剤、クリーム剤、乳剤、またはゲル剤として製剤化される、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項38】

前記組成物が、シャンプー剤、コンディショナー剤、スプレー剤、クリーム剤、ゲル剤、香膏、ボディウォッシュ、石鹸、ローション剤、またはメイクアップとして製剤化される、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項39】

前記組成物が、非経口液状液剤として製剤化される、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項40】

前記組成物が、経腸カプセル剤もしくは錠剤、または栄養補助食品もしくは食品、例えば、食品、フードサプリメント、医療用食品、食品添加物、機能性食品、もしくは飲料として製剤化される、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項41】

前記組成物が、局所投与される、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項42】

前記組成物が、全身投与される、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項43】

前記組成物が、即時放出のために製剤化される、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項44】

前記組成物が、持続放出、例えば、制御放出または徐放のために製剤化される、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項45】

前記組成物が、妊孕性を改善するための標準治療の処置と組み合わせて投与される、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項46】

前記組成物が、卵巣疾患もしくは状態、またはその症状を処置するための標準治療の処

10

20

30

40

50

置と組み合わせて投与される、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 47】

前記組成物が、クロミフェン、タモキシフェン、レトロゾール、メトホルミン、ゴナドトロピン、ゴナドトロピン放出ホルモン、ドーパミンアゴニスト、および他のホルモン処置の1つまたは複数を組み合わせて投与される、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 48】

前記組成物が、外科的手順、例えば、卵管手術、嚢胞もしくは粘膜下筋腫を除去もしくは破壊するための腹腔鏡手術、または腹腔鏡下卵巢多孔術と組み合わせて投与される、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 49】

前記組成物が、UV遮断剤、保湿剤、日焼け止め、しわクリーム、レチノイド、アルファヒドロキシ酸、ベータヒドロキシ酸、スクアレン、抗酸化剤、トレチノイン、グリコサミノグリカン（GAG）、乳酸、リンゴ酸、クエン酸、酒石酸、ハイドロキノン、コウジ酸、L-アスコルビン酸、甘草抽出物、N-アセチルグルコサミン、ナイアシンアミド、大豆、皮膚フィラーもしくは注射薬、例えば、ヒアルロン酸もしくはカルシウムヒドロキシルアパタイト、ボツリヌス毒素、レーザーリサーフェシング手順、超音波療法、ケミカルピーリング、例えば、グリコール酸ピーリング、トリクロロ酢酸もしくはサリチル酸、または皮膚剥離手順と組み合わせて投与される、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 50】

前記組成物が、細胞外小胞、コラーゲン、ヒアルロン酸、合成生物材料（例えば、ポリ乳酸（PLA）、ポリグリコール酸（PGA）、ポリカプロラクトン（PCL）、ポリエチレングリコール（PEG））、フィブリン、アルギネート、および複合生物材料から選択される、生物材料と組み合わせて投与されるか、または生物材料に封入される、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 51】

前記卵巢疾患または状態が、閉経周辺期、閉経期、子宮内膜症、卵巢嚢胞、閉経前または閉経後卵巢がん、例えば、卵巢上皮がん、卵巢腫瘍、例えば、卵巢胚細胞腫瘍、卵巢低悪性度腫瘍、および卵巢間質性腫瘍、多嚢胞性卵巢症候群（PCOS）、原発性卵巢機能不全（POI）、ならびに卵巢捻転から選択される、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 52】

前記組成物が、ホルモン療法、例えば、エストロゲン、プロゲステロン、テストステロン、またはその合形成態、選択的セロトニン再取り込み阻害剤（SSRI）、ガバペンチン、クロニジン、ホルモンによる避妊、ゴナドトロピン放出ホルモン（GnRH）アゴニストまたはアンタゴニスト、熱療法、痛み緩和、非ステロイド性抗炎症薬（NSAID）、例えば、イブプロフェンまたは他の鎮痛薬、スピロノラクトン、エフロルニチン、電気分解術、化学療法、放射線療法、および手術、例えば、子宮摘出術、両側卵管卵巢摘除術、および減量手術、ならびに生活様式の変化、例えば、体重減少、栄養の改善、および身体活動の増加の1つまたは複数と組み合わせて投与される、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 53】

前記胚が、体外受精（IVF）によって生成される、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 54】

前記胚のミトコンドリア含量を測定すること、および所定範囲内であるミトコンドリア含量の測定値に応答する前記胚を選択することをさらに含む、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 55】

前記ドナー卵母細胞が、自家のものである、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 56】

前記ドナー卵母細胞が、同種のものである、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 57】

前記ドナー卵母細胞が、異種のものである、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 58】

前記卵細胞質移植が、完全である、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 59】

前記卵細胞質移植が、例えば電気融合または直接卵細胞質注入による、部分的なものである、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

10

【請求項 60】

前記移植が、改変卵細胞質内精子注入法（ICSI）によって行われる、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 61】

前記移植が、前記卵母細胞に対する自律的生殖系列ミトコンドリアエネルギー移動（AUGMENT）によって行われる、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 62】

前記ドナー卵母細胞または前記レシピエント卵母細胞のmtDNAに対してCRISPR/Cas9遺伝子編集技術を使用することをさらに含む、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

20

【請求項 63】

受精される前記対象の卵母細胞のミトコンドリアDNA（mtDNA）に対してCRISPR/Cas9遺伝子編集技術を使用して、前記胚を形成することをさらに含む、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 64】

受精される前記対象の卵母細胞に幹細胞作製ミトコンドリアDNA（mtDNA）を導入して、前記胚を形成することをさらに含む、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 65】

発生の間に、前記胚の培養培地に抗酸化剤を導入することをさらに含む、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

30

【請求項 66】

前記移植が、核ゲノム移植、例えば、卵母細胞紡錘体移植、卵核胞（GV）移植、前核移植（PNT）、または極体核移植（PBNT）によって行われる、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 67】

前記対象またはレシピエント対象が、加齢関連の妊孕性の低減、不妊症、および／または卵巣老化によって特徴付けられる、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 68】

前記対象またはレシピエント対象が、40歳またはそれよりも上である、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

40

【請求項 69】

前記対象またはレシピエント対象が、早期生殖老化、例えば、原発性卵巣機能不全（POI）、早発性の延長されたもしくは不規則な月経周期、早発性の排卵事象の減少、早発閉経もしくは閉経周辺期、および／または早期生殖老化に関連する卵巣炎症によって特徴付けられる、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 70】

前記対象またはレシピエント対象が、40歳未満である、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 71】

前記対象またはレシピエント対象が、閉経期前である、先行する請求項のいずれかに記

50

載の方法。

【請求項 7 2】

前記対象またはレシピエント対象が、閉経周辺期である、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 7 3】

前記対象またはレシピエント対象が、閉経後である、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 7 4】

前記対象またはレシピエント対象が、減少した卵巢予備能（D O R）を有する、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 7 5】

前記対象またはレシピエント対象が、正常な卵巢予備能（N O R）を有する、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 7 6】

前記対象またはレシピエント対象が、肥満、糖尿病、慢性炎症、高血糖、自己免疫疾患、ならびに／または貧弱な生活様式の要因、例えば、喫煙、アルコール使用、薬物使用、化学物質（例えば、ビスフェノール A、終末糖化産物（A G E））および／もしくは放射線への曝露、栄養不足、例えば、焦げた食物の摂取の増加、飽和脂肪の摂取の増加、および／もしくは果物および野菜の摂取の低減、および／もしくは運動の低減の 1 つまたは複数を患っている、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 7 7】

前記対象またはレシピエント対象が、抗ミューラー管ホルモン（A M H）レベルの低減、例えば、約 8 0 n g / m L 未満、卵胞刺激ホルモン（F H L）レベルの増加、例えば、約 1 0 I U / L 超、エストラジオールレベルの増加、および／または胞状卵胞数（A F C）の低減、例えば、約 5 ～ 7 個未満の総卵胞によって特徴付けられる、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 7 8】

前記対象またはレシピエント対象が、体外受精（I V F）を受けているか、またはそれを試みていた、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 7 9】

前記対象またはレシピエント対象が、I V F に対する不十分な応答者である、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 8 0】

前記対象またはレシピエント対象が、I V F に対する正常な応答者である、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 8 1】

前記対象またはレシピエント対象が、生殖ホルモン、例えば、エストロゲンおよび／もしくはプロゲステロンの産生の低減、卵胞刺激ホルモン（F S H）の産生の増加、延長されたもしくは不規則な月経周期、子宮もしくは膣の萎縮、例えば、子宮内膜腺の減少、子宮の散在性性腺破綻（アポトーシス小体）、子宮の急性炎症、および／もしくは膣上皮の厚さの減少、排卵事象の減少、卵巢炎症、ならびに／または不妊症を患っている、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 8 2】

前記対象またはレシピエント対象が、マイトフュージン（M f n 1）遺伝子の異常、動的関連タンパク質 1（D r p 1）遺伝子の異常、カゼイン分解ペプチダーゼ P（C l p p）遺伝子の異常、成長分化因子 9（G D F 9）遺伝子の異常、脆弱 X 精神遅滞 1（F M R 1）遺伝子の異常、転写因子 A（T F A M）遺伝子の異常、ミトコンドリア D N A ポリメラーゼガンマ（P o l g A）遺伝子の異常、ミトコンドリア内膜ペプチダーゼ（I M P）遺伝子の異常、および／またはミトコンドリア A B C トランスポーター（M D R - 1）遺伝子の異常によって特徴付けられる、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 8 3】

前記対象またはレシピエント対象が、P P A R y、P G C - 1 a、P G C - 1 b、E R R、N R F - 1、N R F - 2、S I R T 1、S I R T 3、S I R T 4、および／または S I R T 5 の遺伝子発現の減少によって特徴付けられる、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 8 4】

前記対象またはレシピエント対象が、A M P 活性化プロテインキナーゼ (A M P K) および／もしくは P T E N 誘導キナーゼ 1 (P I N K 1) タンパク質発現の減少、ならびに／またはラパマイシンの哺乳動物標的 (m T O R) タンパク質発現の増加によって特徴付けられる、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

10

【請求項 8 5】

前記対象またはレシピエント対象が、前記胚または前記レシピエント卵母細胞を形成するために受精される卵母細胞において体細胞性ミトコンドリア D N A 変異、例えば、T 4 1 4 G 横断変異を有する、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 8 6】

前記対象またはレシピエント対象が、前記胚または前記レシピエント卵母細胞を形成するために受精される卵母細胞において遺伝性ミトコンドリア D N A (m t D N A) 変異、例えば、T 4 1 4 G 横断変異を有する、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 8 7】

前記対象またはレシピエント対象が、前記胚または前記レシピエント卵母細胞を形成するために受精される卵母細胞におけるミトコンドリア D N A (m t D N A) のレベルの減少、ならびに／または卵母細胞品質の低減、例えば、染色体誤整列および／もしくは紡錘体形成異常によって特徴付けられる、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

20

【請求項 8 8】

前記対象またはレシピエント対象が、スーパーオキシドジスムターゼ (S O D) の遺伝子発現の減少および／または A l d h 3 A 2 酵素のレベルの増加によって特徴付けられる、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 8 9】

前記対象またはレシピエント対象が、P r d x 3、P r d x 4、および／または T x n 2 酵素の m R N A 発現の減少によって特徴付けられる、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

30

【請求項 9 0】

前記対象またはレシピエント対象が、ターナー症候群、ガラクトース血症、および／または脆弱 X 症候群を患っている、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 9 1】

前記対象またはレシピエント対象が、進行性外眼筋麻痺 (P O E)、てんかんを伴う脊髄小脳失調症 (S C A E)、および／またはミトコンドリア脳筋症、乳酸アシドーシス、ならびに脳卒中様発作 (M E L A S) によって特徴付けられる、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 9 2】

前記対象が、神経学的状態によって特徴付けられる、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

40

【請求項 9 3】

前記対象またはレシピエント対象が、機能障害性卵胞形成、例えば、卵胞枯渇または卵胞機能不全によって特徴付けられる、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 9 4】

前記対象またはレシピエント対象が、三次卵胞数、例えば、早期胞状、胞状、および／もしくは排卵前の卵胞数の減少、ならびに／または黄体 (C L) 卵胞数の減少を有する、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 9 5】

50

前記対象またはレシピエント対象が、卵巣におけるエストロゲン受容体（E R） α および β の下方調節、E S R 1もしくはE S R 2遺伝子発現の低減、m i R - 2 0 6 - 3 p R N A発現の増加、1 7 β -エストラジオール（E 2）の卵巣産生の低減、ならびに／または脂質を持った卵巣間質細胞の増加によって特徴付けられる、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 9 6】

前記組成物が、ナノ粒子系送達担体を含む、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 9 7】

前記組成物が、皮膚透過増強剤を含むか、または皮膚透過増強剤、例えば、化学的皮膚透過増強剤もしくは物理的皮膚透過増強剤と組み合わせて投与される、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

10

【請求項 9 8】

前記組成物が、ミトコンドリア標的化剤、またはミトコンドリア標的化剤で機能化された送達担体を含む、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 9 9】

e m b l i c a抽出物の前記化合物成分が、前記e m b l i c a抽出物に由来したか、それから精製されたか、またはそれから単離されたものである、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 1 0 0】

e m b l i c a抽出物の前記化合物成分が、前記e m b l i c a抽出物以外の供給源に由来したか、それから精製されたか、またはそれから単離されたものである、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

20

【請求項 1 0 1】

e m b l i c a抽出物の前記化合物成分が、合成されたものである、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 1 0 2】

f u c u s抽出物の前記化合物成分が、前記f u c u s抽出物に由来したか、それから精製されたか、またはそれから単離されたものである、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 1 0 3】

f u c u s抽出物の前記化合物成分が、前記f u c u s抽出物以外の供給源に由来したか、それから精製されたか、またはそれから単離されたものである、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

30

【請求項 1 0 4】

f u c u s抽出物の前記化合物成分が、合成されたものである、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 1 0 5】

c h e b u l a抽出物の前記化合物成分が、前記c h e b u l a抽出物に由来したか、それから精製されたか、またはそれから単離されたものである、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

40

【請求項 1 0 6】

c h e b u l a抽出物の前記化合物成分が、前記c h e b u l a抽出物以外の供給源に由来したか、それから精製されたか、またはそれから単離されたものである、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 1 0 7】

c h e b u l a抽出物の前記化合物成分が、合成されたものである、先行する請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項 1 0 8】

治療的に許容される担体中に有効量のドナーm t D N Aを含む調製物と、有効量の、e m b l i c a抽出物、f u c u s抽出物、およびc h e b u l a抽出物、もしくはその薬

50

学的に許容される形態の1つもしくは複数、またはemblica抽出物、fucus抽出物、およびchebula抽出物の1つもしくは複数の1つもしくは複数の化合物成分、もしくはその薬学的に許容される形態、またはemblica抽出物、fucus抽出物、およびchebula抽出物の1つもしくは複数の化合物成分と少なくとも95%の類似性スコアを有する1つもしくは複数の化合物、もしくはその薬学的に許容される形態を含む組成物とを含む、キット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願に対する相互参照

本出願は、「卵巣疾患および状態、ならびにその症状を処置するための組成物および方法」という名称の2021年9月7日に提出された米国仮出願第63/241,429号に対する優先権を主張し、これは、すべての目的のために、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0002】

技術の分野

本明細書に開示される態様および実施形態は、ミトコンドリア機能障害に関する疾患および状態の処置の方法に関する。より具体的には、本明細書に開示される態様および実施形態は、ミトコンドリアDNA枯渇に関する疾患および状態の処置の方法に関する。

【背景技術】

【0003】

背景

ミトコンドリア機能障害、例えば、ミトコンドリアDNA (mtDNA) 枯渇は、多くの疾患および状態、例えば、mtDNA枯渇症候群、ミトコンドリア疾患、ウイルス感染、ウイルス感染により誘導される症状、老化、加齢関連慢性疾患、エネルギーレベルおよびバイタリティーの低減、ならびに他のヒトの病理に関与している。ミトコンドリアの生物学およびmtDNAの生物学、ならびにそのような疾患および状態におけるそれらの役割についての基本的な問題は、ほとんどが未解決のままである。ミトコンドリア機能障害を誘導することができる、ならびに／またはmtDNAのコピー数および／もしくは濃度をモジュレートすることができる動物モデルが開発されており、ミトコンドリアの病理学および疾患の経過におけるその役割を調査するための系を提供している。ミトコンドリア機能障害、例えば、mtDNA枯渇に関する疾患および状態のための処置方法についての必要性が存在する。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0004】

概要

一態様に従って、対象における妊孕性を増強または改善する方法が提供される。方法は、有効量の、emblica抽出物、fucus抽出物、およびchebula抽出物、もしくはその薬学的に許容される形態の1つもしくは複数、またはemblica抽出物、およびfucus抽出物、およびchebula抽出物の1つもしくは複数の1つもしくは複数の化合物成分、もしくはその薬学的に許容される形態、またはemblica抽出物、fucus抽出物、およびchebula抽出物の1つもしくは複数の化合物成分と少なくとも95%の類似性スコアを有する1つもしくは複数の化合物、もしくはその薬学的に許容される形態を含む組成物を対象に投与することを含み得る。

【0005】

一態様に従って、対象における生殖寿命を延長する方法が提供される。方法は、有効量の、emblica抽出物、fucus抽出物、およびchebula抽出物、もしくはその薬学的に許容される形態の1つもしくは複数、またはemblica抽出物、fucus抽出物、およびchebula抽出物の1つもしくは複数の1つもしくは複数の化合物

10

20

30

40

50

物成分、もしくはその薬学的に許容される形態、または *emblica* 抽出物、*fucus* 抽出物、および *chebula* 抽出物の1つもしくは複数の化合物成分と少なくとも95%の類似性スコアを有する1つもしくは複数の化合物、もしくはその薬学的に許容される形態を含む組成物を対象に投与することを含み得る。

【0006】

一態様に従って、対象における卵母細胞のミトコンドリア質量を増加させるまたは卵母細胞のミトコンドリア質量の減少を予防する方法が提供される。方法は、有効量の、*emblica* 抽出物、*fucus* 抽出物、および *chebula* 抽出物、もしくはその薬学的に許容される形態の1つもしくは複数の、または *emblica* 抽出物、*fucus* 抽出物、および *chebula* 抽出物の1つもしくは複数の1つもしくは複数の化合物成分、もしくはその薬学的に許容される形態、または *emblica* 抽出物、*fucus* 抽出物、および *chebula* 抽出物の1つもしくは複数の化合物成分と少なくとも95%の類似性スコアを有する1つもしくは複数の化合物、もしくはその薬学的に許容される形態を含む組成物を対象に投与することを含み得る。

10

【0007】

一態様に従って、胚発生を改善するまたは胚の受精率を改善する方法が提供される。方法は、有効量の、*emblica* 抽出物、*fucus* 抽出物、および *chebula* 抽出物、もしくはその薬学的に許容される形態の1つもしくは複数の、または *emblica* 抽出物、*fucus* 抽出物、および *chebula* 抽出物の1つもしくは複数の1つもしくは複数の化合物成分、もしくはその薬学的に許容される形態、または *emblica* 抽出物、*fucus* 抽出物、および *chebula* 抽出物の1つもしくは複数の化合物成分と少なくとも95%の類似性スコアを有する1つもしくは複数の化合物、もしくはその薬学的に許容される形態を含む組成物を胚の対象供給源または胚に投与することを含み得る。

20

【0008】

一態様に従って、対象における卵巣疾患または状態を処置または予防する方法が提供される。方法は、有効量の、*emblica* 抽出物、*fucus* 抽出物、および *chebula* 抽出物、もしくはその薬学的に許容される形態の1つもしくは複数の、または *emblica* 抽出物、*fucus* 抽出物、および *chebula* 抽出物の1つもしくは複数の1つもしくは複数の化合物成分、もしくはその薬学的に許容される形態、または *emblica* 抽出物、*fucus* 抽出物、および *chebula* 抽出物の1つもしくは複数の化合物成分と少なくとも95%の類似性スコアを有する1つもしくは複数の化合物、もしくはその薬学的に許容される形態を含む組成物を対象に投与することを含み得る。

30

【0009】

一態様に従って、胚発生を改善するまたは胚の受精率を改善する方法が提供される。方法は、卵細胞質をドナー卵母細胞から受精されるレシピエント卵母細胞に移植して、胚を形成することを含み得る。ドナー卵母細胞は、レシピエント卵母細胞よりも高いミトコンドリアDNA (mtDNA) 含量を有し得る。ドナー対象、レシピエント対象、および胚の少なくとも1つが、有効量の、*emblica* 抽出物、*fucus* 抽出物、*chebula* 抽出物、もしくはその薬学的に許容される形態の1つもしくは複数の、または *emblica* 抽出物、*fucus* 抽出物、および *chebula* 抽出物の1つもしくは複数の1つもしくは複数の化合物成分、もしくはその薬学的に許容される形態、または *emblica* 抽出物、*fucus* 抽出物、および *chebula* 抽出物の1つもしくは複数の化合物成分と少なくとも95%の類似性スコアを有する1つもしくは複数の化合物、もしくはその薬学的に許容される形態を含む組成物を投与されていてもよい。

40

【0010】

一態様に従って、閉経周辺期、閉経期、またはその症状を低減、予防または遅延させる方法が提供される。方法は、有効量の、*emblica* 抽出物、*fucus* 抽出物、および *chebula* 抽出物、もしくはその薬学的に許容される形態の1つもしくは複数の、または *emblica* 抽出物、*fucus* 抽出物、および *chebula* 抽出物の1つもしくは複数の1つもしくは複数の化合物成分、もしくはその薬学的に許容される形態、また

50

は *emblica* 抽出物、*fucus* 抽出物、および *chebula* 抽出物の 1 つもしくは複数の化合物成分と少なくとも 95 % の類似性スコアを有する 1 つもしくは複数の化合物、もしくはその薬学的に許容される形態を含む組成物を対象に投与することを含み得る。

【0011】

方法は、有効量の *emblica* 抽出物、*emblica* 抽出物の 1 つもしくは複数の化合物成分、もしくは *emblica* 抽出物の化合物成分と少なくとも 95 % の類似性スコアを有する 1 つもしくは複数の化合物成分、またはその薬学的に許容される形態を対象に投与することを含み得る。

【0012】

方法は、有効量の *fucus* 抽出物、*fucus* 抽出物の 1 つもしくは複数の化合物成分、もしくは *fucus* 抽出物の化合物成分と少なくとも 95 % の類似性スコアを有する 1 つもしくは複数の化合物成分、またはその薬学的に許容される形態を対象に投与することを含み得る。

【0013】

方法は、有効量の *chebula* 抽出物、*chebula* 抽出物の 1 つもしくは複数の化合物成分、もしくは *chebula* 抽出物の化合物成分と少なくとも 95 % の類似性スコアを有する 1 つもしくは複数の化合物成分、またはその薬学的に許容される形態を対象に投与することを含み得る。

【0014】

一部の実施形態では、*emblica* 抽出物は、*Emblica officinalis* に由来する。

【0015】

一部の実施形態では、*emblica* 抽出物の化合物成分は、1～5 個のヒドロキシ基、および必要に応じて 1～3 個の $\text{O}-(\text{C}_1\sim\text{C}_5\text{アルキル})$ 基もしくは $\text{O}-(\text{C}_1\sim\text{C}_5\text{アルケニル})$ 基で置換された安息香酸もしくはその薬学的に許容される形態、または $-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_a-\text{C}(\text{O})\text{OH}$ (式中、 a は、0～5 である) および 1～5 個のヒドロキシ基で置換されたベンゼンもしくはその薬学的に許容される形態、または前記の組合せである。

【0016】

一部の実施形態では、*emblica* 抽出物に含まれる化合物は、没食子酸、バニリン酸、クロロゲン酸、5 コーヒー酸、シリング酸、クマル酸、ケルセチン、エンブリカニン A、エンブリカニン B、プニグルコニン、ペダンクラギン、プニカフォルイン、フィラネム布林 (*phyllanemblin*)、ケンフェロール、エラグ酸、ケブリン酸、ケブラジン酸、プニカラギン、前記のいずれかの代謝産物、前記のいずれかと少なくとも 95 % の類似性スコアを有する化合物、または前記のいずれかの薬学的に許容される形態である。

【0017】

一部の実施形態では、*fucus* 抽出物は、*Fucus vesiculosus*、*Fucus serratus*、*Fucus spiralis*、または *Fucus giryi* に由来する。

【0018】

一部の実施形態では、*fucus* 抽出物の化合物成分は、1～5 個のヒドロキシ基、および必要に応じて 1～3 個の $\text{O}-(\text{C}_1\sim\text{C}_5\text{アルキル})$ 基もしくは $\text{O}-(\text{C}_1\sim\text{C}_5\text{アルケニル})$ 基で置換された安息香酸もしくはその薬学的に許容される形態、または $-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_a-\text{C}(\text{O})\text{OH}$ (式中、 a は、0～5 である) および 1～5 個のヒドロキシ基で置換されたベンゼンもしくはその薬学的に許容される形態、または前記の組合せである。

【0019】

一部の実施形態では、*fucus* 抽出物の化合物成分は、没食子酸、バニリン酸、クロ

10

20

30

40

50

ロゲン酸、コーヒー酸、シリング酸、クマル酸、ケルセチン、フコイダン、プニグルコニン、ペダンクラギン、プニカフォルイン、フィラネム布林、ケンフェロール、エラグ酸、ケブリン酸、ケブラジン酸、プニカラギン、前記のいずれかの代謝産物、前記のいずれかと少なくとも95%の類似性スコアを有する化合物、または前記のいずれかの薬学的に許容される形態である。

【0020】

一部の実施形態では、chebula抽出物は、Terminalia chebula、Terminalia arborea、またはLumnitzera racemosaに由来する。

【0021】

一部の実施形態では、chebula抽出物の化合物成分は、1～5個のヒドロキシ基、および必要に応じて1～3個のO-(C₁～C₅アルキル)基もしくはO-(C₁～C₅アルケニル)基で置換された安息香酸もしくはその薬学的に許容される形態、または-CH=CH-(CH₂)_a-C(O)OH(式中、aは、0～5である)および1～5個のヒドロキシ基で置換されたベンゼンもしくはその薬学的に許容される形態、または前記の組合せである。

【0022】

一部の実施形態では、chebula抽出物の化合物成分は、没食子酸、バニリン酸、クロロゲン酸、コーヒー酸、シリング酸、クマル酸、ケルセチン、フコイダン、プニグルコニン、およびペダンクラギン、プニカフォルイン、フィラネム布林、ケンフェロール、エラグ酸、ケブリン酸、ケブラジン酸、プニカラギン、前記のいずれかの代謝産物、前記のいずれかと少なくとも95%の類似性スコアを有する化合物、または前記のいずれかの薬学的に許容される形態である。

【0023】

一部の実施形態では、組成物は、有効量のemblica抽出物もしくはその薬学的に許容される形態、またはemblica抽出物の化合物成分もしくはその薬学的に許容される形態、またはemblica抽出物の化合物成分と少なくとも95%の類似性スコアを有する化合物もしくはその薬学的に許容される形態；有効量のfucus抽出物もしくはその薬学的に許容される形態、またはfucus抽出物の化合物成分もしくはその薬学的に許容される形態、またはfucus抽出物の化合物成分と少なくとも95%の類似性スコアを有する化合物もしくはその薬学的に許容される形態；および有効量のchebula抽出物もしくはその薬学的に許容される形態、またはchebula抽出物の化合物成分もしくはその薬学的に許容される形態、またはchebula抽出物の化合物成分と少なくとも95%の類似性スコアを有する化合物もしくはその薬学的に許容される形態の2つまたはそれよりも多くを含む。

【0024】

一部の実施形態では、組成物は、emblica抽出物、もしくはその薬学的に許容される形態、またはemblica抽出物の化合物成分と少なくとも95%の類似性スコアを有する化合物成分、もしくはその薬学的に許容される形態の1つまたは複数の化合物成分で強化されている。

【0025】

一部の実施形態では、組成物は、fucus抽出物、もしくはその薬学的に許容される形態、またはfucus抽出物の化合物成分と少なくとも95%の類似性スコアを有する化合物成分、もしくはその薬学的に許容される形態の1つまたは複数の化合物成分で強化されている。

【0026】

一部の実施形態では、組成物は、chebula抽出物、もしくはその薬学的に許容される形態、またはchebula抽出物の化合物成分と少なくとも95%の類似性スコアを有する化合物成分、もしくはその薬学的に許容される形態の1つまたは複数の化合物成分で強化されている。

10

20

30

40

50

【0027】

一部の実施形態では、emblica抽出物の1つもしくは複数の化合物成分、もしくはemblica抽出物の化合物成分と少なくとも95%の類似性スコアを有する1つもしくは複数の化合物成分は、精製されている、例えば、少なくとも80%精製されている、少なくとも85%精製されている、少なくとも90%精製されている、少なくとも95%精製されている、少なくとも98%精製されている、少なくとも99%精製されている、少なくとも99.9%精製されている、少なくとも99.99%精製されている、または少なくとも99.999%精製されている。

【0028】

一部の実施形態では、fucus抽出物の1つもしくは複数の化合物成分、もしくはfucus抽出物の化合物成分と少なくとも95%の類似性スコアを有する1つもしくは複数の化合物成分は、精製されている、例えば、少なくとも80%精製されている、少なくとも85%精製されている、少なくとも90%精製されている、少なくとも95%精製されている、少なくとも98%精製されている、少なくとも99%精製されている、少なくとも99.9%精製されている、少なくとも99.99%精製されている、または少なくとも99.999%精製されている。

10

【0029】

一部の実施形態では、chebula抽出物の1つもしくは複数の化合物成分、もしくはchebula抽出物の化合物成分と少なくとも95%の類似性スコアを有する1つもしくは複数の化合物成分は、精製されている、例えば、少なくとも80%精製されている、少なくとも85%精製されている、少なくとも90%精製されている、少なくとも95%精製されている、少なくとも98%精製されている、少なくとも99%精製されている、少なくとも99.9%精製されている、少なくとも99.99%精製されている、または少なくとも99.999%精製されている。

20

【0030】

一部の実施形態では、有効量は、治療有効量である。

【0031】

一部の実施形態では、投与は、ミトコンドリアバイオジェネシスを誘導するおよび／またはミトコンドリア機能を改善する。

【0032】

一部の実施形態では、有効量または治療有効量は、ミトコンドリアバイオジェネシスを誘導するのに十分である。

30

【0033】

一部の実施形態では、投与は、PGC-1a、TFAM、NRF-1、およびCOXIIから選択される少なくとも1つのタンパク質の発現を増加させる。

【0034】

一部の実施形態では、投与は、月経周期をモジュレートする、例えば、月経周期を正常化する、排卵事象を増加させる、および／または対象もしくはレシピエント対象の抗ミューラー管ホルモン（AMH）レベルを増加させる。

【0035】

一部の実施形態では、投与は、胚の異数性の確率および／またはリー症候群を減少させる。

40

【0036】

一部の実施形態では、投与は、卵巣疾患もしくは状態の少なくとも1つの症状、例えば、皮膚もしくは膣の乾燥、骨盤痛もしくは筋痙攣、炎症、延長されたもしくは不規則な月経周期、および排卵事象の減少の重症度もしくは頻度を低減するか、または低下させる。

【0037】

一部の実施形態では、組成物は、局所投与される。

【0038】

一部の実施形態では、組成物は、非経口、例えば、静脈内、腹腔内、または筋肉内投与

50

される。

【0039】

一部の実施形態では、組成物は、経腸投与される。

【0040】

一部の実施形態では、組成物は、局所液剤、油剤、クリーム剤、乳剤、またはゲル剤として製剤化される。

【0041】

一部の実施形態では、組成物は、シャンプー剤、コンディショナー剤、スプレー剤、クリーム剤、ゲル剤、香膏、ボディウォッシュ、石鹸、ローション剤、またはメイクアップとして製剤化される。

【0042】

一部の実施形態では、組成物は、非経口液状液剤として製剤化される。

【0043】

一部の実施形態では、組成物は、経腸カプセル剤もしくは錠剤、または栄養補助食品もしくは食品、例えば、食品、フードサプリメント、医療用食品、食品添加物、機能性食品、もしくは飲料として製剤化される。

【0044】

一部の実施形態では、組成物は、局所投与される。

【0045】

一部の実施形態では、組成物は、全身投与される。

【0046】

一部の実施形態では、組成物は、即時放出のために製剤化される。

【0047】

一部の実施形態では、組成物は、持続放出、例えば、制御放出または徐放のために製剤化される。

【0048】

組成物は、妊孕性を改善するための標準治療の処置と組み合わせて投与され得る。

【0049】

組成物は、卵巣疾患もしくは状態、またはその症状を処置するための標準治療の処置と組み合わせて投与され得る。

【0050】

組成物は、クロミフェン、タモキシフェン、レトロゾール、メトホルミン、ゴナドトロピン、ゴナドトロピン放出ホルモン、ドーパミンアゴニスト、および他のホルモン処置の1つまたは複数を組み合わせて投与され得る。

【0051】

組成物は、外科的手順、例えば、卵管手術、嚢胞もしくは粘膜下筋腫を除去もしくは破壊するための腹腔鏡手術、または腹腔鏡下卵巣多孔術と組み合わせて投与され得る。

【0052】

組成物は、UV遮断剤、保湿剤、日焼け止め、しわクリーム、レチノイド、アルファヒドロキシ酸、ベータヒドロキシ酸、スクアレン、抗酸化剤、トレチノイン、グリコサミノグリカン（GAG）、乳酸、リンゴ酸、クエン酸、酒石酸、ハイドロキノン、コウジ酸、L-アスコルビン酸、甘草抽出物、N-アセチルグルコサミン、ナイアシンアミド、大豆、皮膚フィラーもしくは注射薬、例えば、ヒアルロン酸もしくはカルシウムヒドロキシルアパタイト、ボツリヌス毒素、レーザーリサーフェシング手順、超音波療法、ケミカルピーリング、例えば、グリコール酸ピーリング、トリクロロ酢酸もしくはサリチル酸、または皮膚剥離手順と組み合わせて投与され得る。

【0053】

組成物は、細胞外小胞、コラーゲン、ヒアルロン酸、合成生物材料（例えば、ポリ乳酸（PLA）、ポリグリコール酸（PGA）、ポリカプロラクトン（PCL）、ポリエチレングリコール（PEG））、フィブリン、アルギネート、および複合生物材料から選択さ

10

20

30

40

50

れる、生物材料と組み合わせて投与されるか、または生物材料に封入される。

【0054】

一部の実施形態では、卵巣疾患または状態は、閉経周辺期、閉経期、子宮内膜症、卵巣嚢胞、閉経前または閉経後卵巣がん、例えば、卵巣上皮がん、卵巣腫瘍、例えば、卵巣胚細胞腫瘍、卵巣低悪性度腫瘍、および卵巣間質性腫瘍、多嚢胞性卵巣症候群（PCOS）、原発性卵巣機能不全（POI）、ならびに卵巣捻転から選択される。

【0055】

組成物は、ホルモン療法、例えば、エストロゲン、プロゲステロン、テストステロン、またはその合形成態、選択的セロトニン再取り込み阻害剤（SSRI）、ガバペンチン、クロニジン、ホルモンによる避妊、ゴナドトロピン放出ホルモン（GnRH）アゴニストまたはアンタゴニスト、熱療法、痛み緩和、非ステロイド性抗炎症薬（NSAID）、例えば、イブプロフェンまたは他の鎮痛薬、スピロノラクトン、エフロルニチン、電気分解術、化学療法、放射線療法、および手術、例えば、子宮摘出術、両側卵管卵巣摘除術、および減量手術、ならびに生活様式の変化、例えば、体重減少、栄養の改善、および身体活動の増加の1つまたは複数と組み合わせて投与され得る。

10

【0056】

一部の実施形態では、胚は、体外受精によって生成され得る。

【0057】

方法は、胚のミトコンドリア含量を測定すること、および所定範囲内であるミトコンドリア含量の測定値に応答する胚を選択することをさらに含み得る。

20

【0058】

ドナー卵母細胞は、自家のものであり得る。

【0059】

ドナー卵母細胞は、同種のものであり得る。

【0060】

ドナー卵母細胞は、異種のものであり得る。

【0061】

一部の実施形態では、卵細胞質移植は、完全であり得る。

【0062】

一部の実施形態では、卵細胞質移植は、例えば電気融合または直接卵細胞質注入による、部分的なものであり得る。

30

【0063】

一部の実施形態では、移植は、改変卵細胞質内精子注入法（ICSI）によって行われ得る。

【0064】

一部の実施形態では、移植は、卵母細胞に対する自律的生殖系列ミトコンドリアエネルギー移動（AUGMENT）によって行われ得る。

【0065】

一部の実施形態では、方法は、ドナー卵母細胞またはレシピエント卵母細胞のmtDNAに対してCRISPR/Cas9遺伝子編集技術を使用することをさらに含み得る。

40

【0066】

方法は、受精される対象の卵母細胞のミトコンドリアDNA（mtDNA）に対してCRISPR/Cas9遺伝子編集技術を使用して、胚を形成することをさらに含み得る。

【0067】

方法は、受精される対象の卵母細胞に幹細胞作製ミトコンドリアDNA（mtDNA）を導入して、胚を形成することをさらに含み得る。

【0068】

方法は、発生の際に、胚の培養培地に抗酸化剤を導入することをさらに含み得る。

【0069】

一部の実施形態では、移植は、核ゲノム移植、例えば、卵母細胞紡錘体移植、卵核胞（

50

G V) 移植、前核移植 (P N T)、または極体核移植 (P B N T) によって行われ得る。

【0070】

一部の実施形態では、対象またはレシピエント対象は、加齢関連の妊孕性の低減、不妊症、および／または卵巣老化によって特徴付けられ得る。

【0071】

対象またはレシピエント対象は、40歳またはそれよりも上であり得る。

【0072】

対象またはレシピエント対象は、早期生殖老化、例えば、原発性卵巣機能不全 (P O I)、早発性の延長されたもしくは不規則な月経周期、早発性の排卵事象の減少、早発閉経もしくは閉経周辺期、および／または早期生殖老化に関連する卵巣炎症によって特徴付けられ得る。

10

【0073】

対象またはレシピエント対象は、40歳未満であり得る。

【0074】

対象またはレシピエント対象は、閉経期前であり得る。

【0075】

対象またはレシピエント対象は、閉経周辺期であり得る。

【0076】

対象またはレシピエント対象は、閉経後であり得る。

【0077】

対象またはレシピエント対象は、減少した卵巣予備能 (D O R) を有し得る。

20

【0078】

対象またはレシピエント対象は、正常な卵巣予備能 (N O R) を有し得る。

【0079】

対象またはレシピエント対象は、肥満、糖尿病、慢性炎症、高血糖、自己免疫疾患、ならびに／または貧弱な生活様式の要因、例えば、喫煙、アルコール使用、薬物使用、化学物質 (例えば、ビスフェノール A、終末糖化産物 (A G E)) および／もしくは放射線への曝露、栄養不足、例えば、焦げた食物の摂取の増加、飽和脂肪の摂取の増加、および／もしくは果物および野菜の摂取の低減、および／もしくは運動の低減の1つまたは複数进行

30

【0080】

対象またはレシピエント対象は、抗ミューラー管ホルモン (A M H) レベルの低減、例えば、約 80 ng / mL 未満、卵胞刺激ホルモン (F H L) レベルの増加、例えば、約 10 IU / L 超、エストラジオールレベルの増加、および／または胞状卵胞数 (A F C) の低減、例えば、約 5 ~ 7 個未満の総卵胞によって特徴付けられ得る。

【0081】

対象またはレシピエント対象は、体外受精 (I V F) を受けている、またはそれを試みてい得る。

【0082】

対象またはレシピエント対象は、I V F に対する不十分な応答者であり得る。

40

【0083】

対象またはレシピエント対象は、I V F に対する正常な応答者であり得る。

【0084】

対象またはレシピエント対象は、生殖ホルモン、例えば、エストロゲンおよび／もしくはプロゲステロンの産生の低減、卵胞刺激ホルモン (F S H) の産生の増加、延長されたもしくは不規則な月経周期、子宮もしくは膣の萎縮、例えば、子宮内膜腺の減少、子宮の散在性性腺破綻 (アポトーシス小体)、子宮の急性炎症、および／もしくは膣上皮の厚さの減少、排卵事象の減少、卵巣炎症、ならびに／または不妊症を患い得る。

【0085】

対象またはレシピエント対象は、マイトフュージン (M f n 1) 遺伝子の異常、動的関

50

連タンパク質 1 (Drp1) 遺伝子の異常、カゼイン分解ペプチダーゼ P (Clpp) 遺伝子の異常、成長分化因子 9 (GDF9) 遺伝子の異常、脆弱 X 精神遅滞 1 (FMR1) 遺伝子の異常、転写因子 A (TFAM) 遺伝子の異常、ミトコンドリア DNA ポリメラーゼガンマ (PolgA) 遺伝子の異常、ミトコンドリア内膜ペプチダーゼ (IMP) 遺伝子の異常、および／またはミトコンドリア ABC トランスポーター (MDR-1) 遺伝子の異常によって特徴付けられ得る。

【0086】

対象またはレシピエント対象は、PPAR γ 、PGC-1 α 、PGC-1 β 、ERR、NRF-1、NRF-2、SIRT1、SIRT3、SIRT4、および／または SIRT5 の遺伝子発現の減少によって特徴付けられ得る。

10

【0087】

対象またはレシピエント対象は、AMP 活性化プロテインキナーゼ (AMPK) および／もしくは PTEN 誘導キナーゼ 1 (PINK1) タンパク質発現の減少、ならびに／またはラパマイシンの哺乳動物標的 (mTOR) タンパク質発現の増加によって特徴付けられ得る。

【0088】

対象またはレシピエント対象は、胚またはレシピエント卵母細胞を形成するために受精される卵母細胞において体細胞性ミトコンドリア DNA 変異、例えば、T414G 横断変異を有し得る。

【0089】

対象またはレシピエント対象は、胚またはレシピエント卵母細胞を形成するために受精される卵母細胞において遺伝性ミトコンドリア DNA (mtDNA) 変異、例えば、T414G 横断変異を有し得る。

20

【0090】

対象またはレシピエント対象は、胚またはレシピエント卵母細胞を形成するために受精される卵母細胞におけるミトコンドリア DNA (mtDNA) のレベルの減少、ならびに／または卵母細胞品質の低減、例えば、染色体誤整列および／もしくは紡錘体形成異常によって特徴付けられ得る。

【0091】

対象またはレシピエント対象は、スーパーオキシドジスムターゼ (SOD) の遺伝子発現の減少および／または Aldh3A2 酵素のレベルの増加によって特徴付けられ得る。

30

【0092】

対象またはレシピエント対象は、Prdx3、Prdx4、および／または Txn2 酵素の mRNA 発現の減少によって特徴付けられ得る。

【0093】

対象またはレシピエント対象は、ターナー症候群、ガラクトース血症、および／または脆弱 X 症候群を患い得る。

【0094】

対象またはレシピエント対象は、進行性外眼筋麻痺 (POE)、てんかんを伴う脊髄小脳失調症 (SCAE)、および／またはミトコンドリア脳筋症、乳酸アシドーシス、ならびに脳卒中様発作 (MELAS) によって特徴付けられ得る。

40

【0095】

対象またはレシピエント対象は、神経学的状態によって特徴付けられ得る。

【0096】

対象またはレシピエント対象は、機能障害性卵胞形成、例えば、卵胞枯渇または卵胞機能不全によって特徴付けられ得る。

【0097】

対象またはレシピエント対象は、三次卵胞数、例えば、早期胞状、胞状、および／もしくは排卵前の卵胞数の減少、ならびに／または黄体 (CL) 卵胞数の減少を有し得る。

【0098】

50

対象またはレシピエント対象は、卵巣におけるエストロゲン受容体（E R） α および β の下方調節、E S R 1もしくはE S R 2遺伝子発現の低減、m i R - 2 0 6 - 3 p R N A発現の増加、1 7 β -エストラジオール（E 2）の卵巣産生の低減、ならびに／または脂質を持った卵巣間質細胞の増加によって特徴付けられ得る。

【0 0 9 9】

一部の実施形態では、組成物は、ナノ粒子系送達担体を含む。

【0 1 0 0】

一部の実施形態では、組成物は、皮膚透過増強剤を含むか、または皮膚透過増強剤、例えば、化学的皮膚透過増強剤もしくは物理的皮膚透過増強剤と組み合わせて投与される。

【0 1 0 1】

一部の実施形態では、組成物は、ミトコンドリア標的化剤、またはミトコンドリア標的化剤で機能化された送達担体を含む。

【0 1 0 2】

一部の実施形態では、e m b l i c a抽出物の化合物成分は、e m b l i c a抽出物に由来したか、それから精製されたか、またはそれから単離されたものである。

【0 1 0 3】

一部の実施形態では、e m b l i c a抽出物の化合物成分は、e m b l i c a抽出物以外の供給源に由来したか、それから精製されたか、またはそれから単離されたものである。

【0 1 0 4】

一部の実施形態では、e m b l i c a抽出物の化合物成分は、合成されたものである。

【0 1 0 5】

一部の実施形態では、f u c u s抽出物の化合物成分は、f u c u s抽出物に由来したか、それから精製されたか、またはそれから単離されたものである。

【0 1 0 6】

一部の実施形態では、f u c u s抽出物の化合物成分は、f u c u s抽出物以外の供給源に由来したか、それから精製されたか、またはそれから単離されたものである。

【0 1 0 7】

一部の実施形態では、f u c u s抽出物の化合物成分は、合成されたものである。

【0 1 0 8】

一部の実施形態では、c h e b u l a抽出物の化合物成分は、c h e b u l a抽出物に由来したか、それから精製されたか、またはそれから単離されたものである。

【0 1 0 9】

一部の実施形態では、c h e b u l a抽出物の化合物成分は、c h e b u l a抽出物以外の供給源に由来したか、それから精製されたか、またはそれから単離されたものである。

【0 1 1 0】

一部の実施形態では、c h e b u l a抽出物の化合物成分は、合成されたものである。

【0 1 1 1】

別の態様に従って、治療的に許容される担体中に有効量のドナーm t D N Aを含む調製物を含むキットが提供される。キットは、有効量の、e m b l i c a抽出物、f u c u s抽出物、およびc h e b u l a抽出物、もしくはその薬学的に許容される形態の1つもしくは複数の、またはe m b l i c a抽出物、f u c u s抽出物、およびc h e b u l a抽出物の1つもしくは複数の1つもしくは複数の化合物成分、もしくはその薬学的に許容される形態、またはe m b l i c a抽出物、f u c u s抽出物、およびc h e b u l a抽出物の1つもしくは複数の化合物成分と少なくとも9 5 %の類似性スコアを有する1つもしくは複数の化合物、もしくはその薬学的に許容される形態を含む組成物を含み得る。

【0 1 1 2】

本開示は、前記の態様および／または実施形態のいずれか1つまたは複数のすべての組合せ、ならびに詳細な説明および任意の例に示される実施形態のいずれか1つまたは複数

10

20

30

40

50

との組合せを企図する。

【0113】

添付する図面は、一定の縮尺で描くことを意図するものではない。図面において、さまざまな図に図示されるそれぞれ同一のまたはほぼ同一の構成成分は、類似の数字によって表される。明確性の目的のために、すべての構成成分が、すべての図面において表示されていなくてもよい。

【図面の簡単な説明】

【0114】

【図1-1】図1Aは、dox誘導および局所的emblica抽出物処置または対照処置の16週間後の対照マウスおよびmtDNA枯渇マウスのパラフィン背側皮膚切片における、相対蛍光単位(RFU)でのOXPHOS複合体IV(COXII)の免疫蛍光分析の定量を示す。データは、平均±SD(n=3)である；*P<0.05。図1Bは、dox誘導および局所的emblica抽出物処置または対照処置の16週間後の対照マウスおよびmtDNA枯渇マウス由来のmtDNAをコードする遺伝子についての背側皮膚RNAのRT-PCR分析を示す。

10

【図1-2】図1Cは、dox誘導および局所的emblica抽出物処置または対照処置の適用の16週間後の対照マウス(n=3)およびmtDNA枯渇マウス(n=3)由来の背側皮膚試料におけるmtDNA含量の定量(平均±s.e.m；*P<0.05、スチューデントのt検定)を示す。図1Dは、dox誘導および局所的emblica抽出物処置または対照処置の16週間後の対照マウスおよびmtDNA枯渇マウス由来皮膚切片における炎症細胞の定量分析を示す(平均±SD；*P≤0.05；**P≤0.01；***P≤0.001、スチューデントのt検定)。

20

【図2】図2Aは、(i) dox誘導後の対照マウス；(ii) dox誘導後のmtDNA枯渇マウス；(iii) dox誘導およびfucus抽出物による処置51日後の対照マウス；ならびに(iv) dox誘導およびfucus抽出物による処置51日後のmtDNA枯渇マウス(予防的介入)(それぞれの群についてn=3)の代表的な写真を示す。図2Bは、dox誘導および局所的fucus抽出物処置または対照処置の適用の16週間後の対照マウス(n=3)およびmtDNA枯渇マウス(n=3)由来の背側皮膚試料におけるmtDNA含量の定量(平均±s.e.m；*P<0.05、スチューデントのt検定)を示す。

30

【図3】図3は、emblica抽出物の予防的および治療的in vivo実験の概略図を示す。

【図4-1】図4Aは、一実施形態による、さまざまな組成物によるミトコンドリア複合体IVサブユニット2(COXII)の誘導された発現を示すグラフである。

【図4-2】図4Bは、一実施形態による、さまざまな組成物によるミトコンドリア転写因子A(TFAM)の誘導された発現を示すグラフである。

【図4-3】図4Cは、一実施形態による、さまざまな組成物によるペルオキシソーム増殖因子活性化受容体ガンマコアクチベーター1-アルファ(PGC-1a)の誘導された発現を示すグラフである。

【図5】図5は、一実施形態による、さまざまな組成物によって誘導されたミトコンドリアバイオジェネシスマーカーのCOXII、TFAM、およびPGC-1aのタンパク質レベルを示す電気泳動ゲルの画像である。

40

【図6】図6A~6Fは、投与後6時間~96時間におけるin vitroのemblica抽出物の投与によって誘導されたCOXII発現を示すグラフである。

【図7】図7A~7Fは、投与後6時間~96時間におけるin vitroのemblica抽出物の投与によって誘導されたTFAM発現を示すグラフである。

【図8】図8A~8Fは、投与後6時間~96時間におけるin vitroのemblica抽出物の投与によって誘導されたPGC-1a発現を示すグラフである。

【図9】図9A~9Dは、投与6時間後および24時間後におけるin vitroのemblica抽出物の投与、必要に応じてナノ粒子送達担体との投与によって誘導された

50

COXII 発現を示すグラフである。

【図10】図10A～10Bは、一実施形態による、emblica抽出物の成分のin vitro投与6時間後のCOXIIおよびTFAMの発現を示すグラフを含む。

【図11】図11A～11Dは、一実施形態による、emblica抽出物の成分のin vitro投与12時間後および24時間後のCOXIIおよびTFAMの発現を示すグラフを含む。

【図12】図12A～12Dは、一実施形態による、emblica抽出物の成分のin vitro投与12時間および24時間後のCOXIIおよびTFAMの発現を示すグラフを含む。

【図13】図13A～13Dは、一実施形態による、emblica抽出物の成分のin vitro投与12時間後および24時間後のCOXIIおよびTFAMの発現を示すグラフを含む。 10

【図14】図14A～14Dは、一実施形態による、emblica抽出物の成分のin vitro投与12時間後および24時間後のCOXIIおよびTFAMの発現を示すグラフを含む。

【図15】図15A～15Dは、一実施形態による、emblica抽出物の成分のin vitro投与6、12、24、および48時間後のCOXIIの発現を示すグラフを含む。

【図16】図16A～16Dは、一実施形態による、emblica抽出物の成分のin vitro投与6、12、24、および48時間後のTFAMの発現を示すグラフを含む。 20

【図17】図17A～17Dは、一実施形態による、emblica抽出物の成分のin vitro投与6、12、24、および48時間後のCOXIIの発現を示すグラフを含む。

【図18】図18A～18Dは、一実施形態による、emblica抽出物の成分のin vitro投与6、12、24、および48時間後のTFAMの発現を示すグラフを含む。

【図19】図19A～19Dは、一実施形態による、emblica抽出物の成分のin vitro投与6、12、24、および48時間後のCOXIIの発現を示すグラフを含む。 30

【図20】図20A～20Dは、一実施形態による、emblica抽出物の成分のin vitro投与6、12、24、および48時間後のTFAMの発現を示すグラフを含む。

【図21】図21A～21Dは、一実施形態による、emblica抽出物の成分のin vitro投与6、12、24、および48時間後のCOXIIの発現を示すグラフを含む。

【図22】図22A～22Dは、一実施形態による、emblica抽出物の成分のin vitro投与6、12、24、および48時間後のTFAMの発現を示すグラフを含む。

【図23】図23A～23Dは、一実施形態による、必要に応じてナノ粒子担体に封入された、ケブリン酸のin vitro投与6、12、24、および48時間後のCOXIIの発現を示すグラフを含む。 40

【図24】図24A～24Dは、一実施形態による、必要に応じてナノ粒子担体に封入された、ケブリン酸のin vitro投与6、12、24、および48時間後のTFAMの発現を示すグラフを含む。

【図25】図25A～25Bは、一実施形態による、必要に応じてナノ粒子担体に封入された、ケブリン酸のin vitro投与6時間後のCOXIIの発現を示すグラフを含む。

【図26-1】図26A～26Dは、一実施形態による、ナノ粒子担体に封入されたemblica抽出物のin vitro投与6、12、24、および48時間後のCOXII 50

Iの発現を示すグラフを含む。

【図26-2】図26A~26Dは、一実施形態による、ナノ粒子担体に封入されたemblica抽出物のin vitro投与6、12、24、および48時間後のCOXIの発現を示すグラフを含む。

【図27-1】図27A~27Dは、一実施形態による、ナノ粒子担体に封入されたemblica抽出物のin vitro投与6、12、24、および48時間後のTFAMの発現を示すグラフを含む。

【図27-2】図27A~27Dは、一実施形態による、ナノ粒子担体に封入されたemblica抽出物のin vitro投与6、12、24、および48時間後のTFAMの発現を示すグラフを含む。

【図28-1】図28A~28Dは、一実施形態による、ナノ粒子担体に封入されたemblica抽出物のin vitro投与6、12、24、および48時間後のCOXIの発現を示すグラフを含む。

【図28-2】図28A~28Dは、一実施形態による、ナノ粒子担体に封入されたemblica抽出物のin vitro投与6、12、24、および48時間後のCOXIの発現を示すグラフを含む。

【図29-1】図29A~29Dは、一実施形態による、ナノ粒子担体に封入されたemblica抽出物のin vitro投与6、12、24、および48時間後のCOXIの発現を示すグラフを含む。

【図29-2】図29A~29Dは、一実施形態による、ナノ粒子担体に封入されたemblica抽出物のin vitro投与6、12、24、および48時間後のCOXIの発現を示すグラフを含む。

【図30-1】図30A~30Dは、一実施形態による、ナノ粒子担体に封入されたemblica抽出物のin vitro投与6、12、24、および48時間後のTFAMの発現を示すグラフを含む。

【図30-2】図30A~30Dは、一実施形態による、ナノ粒子担体に封入されたemblica抽出物のin vitro投与6、12、24、および48時間後のTFAMの発現を示すグラフを含む。

【発明を実施するための形態】

【0115】

詳細な説明

ミトコンドリア機能障害は、多くのミトコンドリア疾患に関連し、その多くは、機能障害性ミトコンドリア酸化的リン酸化(OXPHOS)の結果である。ミトコンドリアOXPHOSは、細胞において、細胞のアデノシン三リン酸(ATP)の大部分の生成を構成する。OXPHOS機能は、核およびミトコンドリアゲノムの両方によってコードされるタンパク質の協調的発現に大きく依存する。ヒトミトコンドリアゲノムは、OXPHOS系の13のポリペプチドをコードし、核ゲノムは、OXPHOS系のアセンブリーに必要な残りの85超のポリペプチドをコードする。mtDNA枯渇は、OXPHOSを損ない、mtDNA枯渇症候群をもたらす(Alberio, et al., Mitochondrion 7, 6-12, 2007; Ryan, Met al., Annu. Rev. Biochem. 76, 701-722, 2007)。mtDNA枯渇症候群は、特定の組織における低いmtDNAレベルによって特徴付けられる不均一な障害の群である。異なる標的器官において、mtDNA枯渇は、特異的な病理学的な変化をもたらす(Tuppen, et al., Biochim. Biophys. Acta 1797, 113-128, 201)。mtDNA枯渇症候群は、mtDNA複製、ならびにミトコンドリアヌクレオチドの代謝および核サルベージ経路に関与する核がコードする遺伝子における遺伝的欠陥から生じる(Alberio, et al., Mitochondrion 7, 6-12, 2007)。mtDNA枯渇は、限定されるものではないが、mtDNA枯渇症候群、ミトコンドリア疾患、ウイルス感染、ウイルス感染により誘導される症状、老化、加齢関連慢性疾患または状態、エネルギーレベルおよびバイタリティーの低減、脱毛および白髪化を含む毛髪の老化の特徴、皮膚のしわおよび老人性黒子を含む皮膚の老化の特徴、皮膚の疾患および状

態、ならびに他のヒトの病理などの他のヒトの疾患および状態にも関わる。

【0116】

妊孕性および卵母細胞のミトコンドリア質量の減少は、典型的には、加齢に伴って生じる。胚発生および胚の受精率も、高齢により低下し得る。加えて、高齢個体は、多くの場合、卵巣疾患または障害のより高いリスクがある。妊孕性または卵母細胞のミトコンドリア質量の減少、胚発生および胚の受精率の低下、ならびにある特定の卵巣疾患および障害が、早期老化の結果として生じ得るという仮説も立てられる。例えば、原発性卵巣機能不全（POI）は、40歳前の卵巣機能の低減に関連する障害である。

【0117】

ミトコンドリア機能の一般的な低下は、老化の間に、広範囲にわたって報告されており、ミトコンドリア機能障害は、基礎をなす加齢性ヒト疾患の駆動力であることが公知である。特異的なmtDNA変異を持つマウスは、早期老化の兆候を提示することが示されている（すなわち、mtDNA枯渇マウス）。mtDNAにおける変異に加えて、研究は、年齢に伴うmtDNA含量およびミトコンドリアのコピー数の減少も示唆している。低いmtDNAのコピー数は、フレイルと関係があり、多民族集団について、総死亡率の予測因子である。最近の研究は、ヒトが、平均で、10年ごとに約4コピーのmtDNAを失うことを明らかにした。この研究は、mtDNAのコピー数の減少と加齢関連の生理学的パラメーターとの関連を特定した。

【0118】

蓄積している証拠は、ミトコンドリア機能障害、ミトコンドリア疾患、老化、および加齢関連疾患の間の強い関連性を示唆している。とりわけ、増加した体細胞mtDNA変異およびミトコンドリア機能の低下は、ヒトの老化の間に、広範囲にわたって報告されている。研究は、年齢に伴うmtDNA含量およびミトコンドリア数の減少も示唆している。

【0119】

定義

本明細書で使用される場合、「担体」という用語は、化合物とともに投与される希釈剤または媒体を指す。担体は、薬学的に許容される担体であってもよい。担体は、化粧品的に許容される担体であってもよい。好適な医薬担体の例は、E. W. Martinによる「Remington's Pharmaceutical Sciences」に記載されている。

【0120】

本明細書で使用される場合、「対応するアスパラギン酸」という用語は、ヒトPOLG1配列の1135位のアスパラギン酸の等価物であるPOLG1アミノ酸配列におけるアラニン（A）残基に変異しているアスパラギン酸（D）残基を意味する。特定の実施形態では、「対応するアスパラギン酸」は、S/T I/V H X、I S/T I/V H X、もしくはC/A I S/T I/V H Xのアミノ酸配列によってアミノ末端側に、および／またはX E V/I R、X E V/I R Y/F、もしくはX E V/I R Y/F Lのアミノ酸配列によってカルボキシ末端側に隣接しており、ここで、「X」は、アラニンに変異しているまたは変異するであろうアスパラギン酸アミノ酸を示す。

【0121】

本明細書で使用される場合、mtDNAに関する「枯渇した」、「枯渇」または「枯渇（depleter）」という用語は、ヒトまたは非ヒト動物、非ヒト動物の組織または細胞におけるmtDNAのコピー数および／または濃度の減少を指す。そのような決定は、本開示の化合物もしくは組成物が投与されていないヒト、または対照非ヒト動物組織または細胞（例えば、変異型POLG1ポリペプチドを発現していない、またはそれを発現しない非ヒト動物）に関して行われ得る。

【0122】

本明細書で使用される場合、疾患または状態の「処置」は、類似しているが未処置の患者と比較して、その疾患または状態の少なくとも1つの症状の重症度または頻度を低減することまたは低下させることを指す。処置はまた、類似しているが未処置の患者と比較し

10

20

30

40

50

て、疾患または状態の進行を停止させること、遅らせること、または反転させることを指し得る。処置は、疾患の根本原因および／または1つもしくは複数の症状に対処することを含み得る。

【0123】

本明細書で使用される場合、「有効量」という用語は、対象において所望の応答および／または効果を提供するのに有効である、対象に投与される本開示の化合物または組成物の量を指す。応答および／または効果は、美容応答および／または効果であってもよい。応答および／または効果は、治療的応答および／または効果であってもよい。応答および／または効果は、予防性もしくは予防的応答および／または効果であってもよい。

【0124】

本明細書で使用される場合、「治療有効量」という用語は、対象において本明細書に記載される疾患もしくは状態を処置するのに有効である、ならびに／または対象において所望の生理学的応答および／もしくは治療効果を生じるのに有効である、対象に投与される本開示の化合物または組成物の量を指す。所望の生理学的応答の一例としては、mtDNAのコピー数および／または濃度を増加させることが挙げられる。

【0125】

「有効量」または「治療有効量」を含む実際の用量は、投与の経路、対象のサイズおよび健康状態、処置される障害などに依存し得る。

【0126】

一部の実施形態では、本開示の文脈における「有効量」または「治療有効量」は、卵巣疾患または状態、およびその症状を処置または予防するのに十分であり得る。

【0127】

一部の実施形態では、本開示の文脈における「有効量」または「治療有効量」は、ミトコンドリアバイオジェネシスを誘導するのに十分である。「有効量」または「治療有効量」は、局所でミトコンドリアバイオジェネシスを誘導するのに十分であってもよい。「有効量」または「治療有効量」は、全身的にミトコンドリアバイオジェネシスを誘導するのに十分であってもよい。

【0128】

一部の実施形態では、本開示の文脈における「有効量」または「治療有効量」は、炎症表現型を減少させ、ミトコンドリア酸化的リン酸化複合体の発現を増加させ、ミトコンドリア酸化的リン酸化複合体の安定性を増加させ、NF- κ B、COX-2、INF- β 1、CCL5、MMP1、MMP2、MMP9、MMP13、IGF1R、VEGF、およびMRPS5からなる群から選択される少なくとも1つの遺伝子の発現を変更し、例えば、減少させ、TIMP1、KLOTHO、COL1A1、MTCO2、TFAM、およびVDACからなる群から選択される少なくとも1つの遺伝子の発現を変更し、例えば、増加させ、FGF2、FGFR1、COX7A1、PDK4、FAM173A、MRPL12、およびWNT11から選択されるミトコンドリアの健康および活性に関連する遺伝子の脱性を予防し、皮膚および／もしくは毛包における炎症性浸潤物を減少させ、ならびに／またはPGC-1 α 、TFAM、NRF-1、およびCOXIIから選択される少なくとも1つのタンパク質の発現を増加させる。

【0129】

一部の実施形態では、本開示の文脈における「有効量」または「治療有効量」は、mtDNAのコピー数または濃度を、少なくとも5%、例えば、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または100%増加させる。前記のそれぞれでは、低減または増加が規定される場合、そのような低減または増加は、本開示の化合物または組成物で処置されておらず、本明細書に記載される疾患または状態を患っている、対象または非ヒト動物に関して決定され得る。

10

20

30

40

50

【0130】

一部の実施形態では、本開示の文脈における「有効量」または「治療有効量」は、炎症表現型の発生を予防し、ミトコンドリア酸化リン酸化複合体の発現の減少を予防し、ミトコンドリア酸化リン酸化複合体の安定性の減少を予防し、NF-κB、COX-2、INF-β1、CCL5、MMP1、MMP2、MMP9、MMP13、IGF1R、VEGF、およびMRPS5からなる群から選択される少なくとも1つの遺伝子の発現の増加を予防し、TIMP1、KLOTHO、COL1A1、MTCO2、TFAM、およびVDACからなる群から選択される少なくとも1つの遺伝子の発現の減少を予防し、FGF2、FGFR1、COX7A1、PDK4、FAM173A、MRPL12、およびWNT11から選択されるミトコンドリアの健康および活性に関連する遺伝子の不活性化を予防し、皮膚および／もしくは毛包における炎症性浸潤物の増加を予防し、mtDNAのコピー数もしくは濃度の減少を予防し、ならびに／またはPGC-1α、TFAM、NRF-1、およびCOXIIから選択される少なくとも1つのタンパク質の発現の減少を予防する。

10

【0131】

本明細書で使用される場合、「賦形剤」という用語は、限定されるものではないが、長期の安定化、少量の強力な活性成分を含有する固形製剤を増量する（そのため、増量剤、フィラー、または希釈剤としばしば称される）などの目的のために、または薬物の吸収を促進する、粘度を低減する、もしくは溶解性を増強するなどの最終剤形における活性成分に対する治療的増強を付与するために含まれる、組成物の活性成分と一緒に製剤化される物質を意味する。賦形剤は、製造プロセスにおいて、予想される保存期間にわたる変性または凝集の防止などの*in vitro*安定性を補助することに加えて、粉末の流動性または非粘性を促進することなどによって、活性物質の取り扱いにおいて懸念事項を補助するためにも有用であり得る。賦形剤は、薬学的に許容される賦形剤であってもよい。賦形剤は、化粧品的に許容される賦形剤であってもよい。好適な賦形剤の例は、E. W. Martinによる「Remington's Pharmaceutical Sciences」に記載されている。

20

【0132】

本明細書で使用される場合、「を必要とする」（「処置を必要とする」という語句におけるなど）という用語は、対象が、本開示の化合物の投与を必要とする、またはそれから利益を受けるという医療専門家によって行われる判断を指す。この判断は、医療専門家の専門知識の領域において、限定されるものではないが、本開示の方法または薬物組成物によって処置可能である疾患または状態の結果として、対象が病気である、または病気になるという知識などの各種の要因に基づいて行われる。

30

【0133】

本明細書で使用される場合、「変異型POLG1」または「変異したPOLG1」という用語は、特定の種由来の野生型POLG1配列と比較して、少なくとも1つの変異を含有するその種由来のPOLG1アミノ酸配列を指す。変異は、疾患を引き起こす必要はない。単一の変異または2つ以上の変異が存在し得る。特定の実施形態では、単一のドミナントネガティブ変異は、必要に応じて1つまたは追加の変異とともに、存在していてもよい（限定されるものではないが、D1135A変異など）。

40

【0134】

本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される」という用語は、組成物の他の成分と適合性であり、化合物または組成物を受けている対象に有害ではない化合物を指す。一部の実施形態では、「薬学的に許容される」という用語は、連邦政府もしくは州政府の規制機関によって承認されていること、または動物、より特にヒトにおける使用のための、米国薬局方もしくは他の一般に認識される薬局方に列挙されていることを意味する。

【0135】

本明細書で使用される場合、「化粧品的に許容される」という用語は、組成物の他の化粧品成分と適合性であり、化合物または組成物を受けている対象に有害ではない化合物を指す。化粧品的に許容される組成物または化合物は、薬学的に許容され得る。しかしなが

50

ら、化粧品的に許容される組成物または化合物は、薬学的に許容される必要はない。

【0136】

本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される形態」という用語は、限定されるものではないが、本開示の化合物の溶媒和物、水和物、プロドラッグ、同形、多形、偽形、中性形態および塩形態を含む、対象に投与され得る本開示の化合物の公知の形態を含むことを意味する。

【0137】

本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される塩」という用語は、本発明の化合物の生理学および薬学的に許容される塩、すなわち、親化合物 (parent compound) の所望の生物学的活性を保持し、開示される化合物の望ましくない毒性効果を付与しない塩を指す。オリゴヌクレオチドについて、例示的な薬学的に許容される塩としては、限定されるものではないが、(a) ナトリウム、カリウム、アンモニウム、マグネシウム、カルシウムなどのカチオン、スペルミンおよびスペルミジンなどのポリアミンなどと形成される塩；(b) 無機酸、例えば、塩酸、臭化水素酸、硫酸、リン酸、硝酸などと形成される酸付加塩；(c) 例えば、酢酸、シュウ酸、酒石酸、コハク酸、マレイン酸、フマル酸、グルコン酸、クエン酸、リンゴ酸、アスコルビン酸、安息香酸、タンニン酸、パルミチン酸、アルギン酸、ポリグルタミン酸、ナフタレンスルホン酸、メタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、ナフタレンジスルホン酸、ポリガラクトツロ酸などのような有機酸と形成される塩；ならびに (d) 塩素、臭素、およびヨウ素などの元素アニオンから形成される塩が挙げられる。

10

20

【0138】

本明細書で使用される場合、「医薬組成物」という用語は、本開示の化合物の1つまたは複数と、限定されるものではないが、薬学的に許容される担体および／または賦形剤などの他の構成成分との混合物を指す。医薬組成物の目的は、本開示の化合物の投与を容易にすることである。

【0139】

一部の実施形態では、「化粧品的に許容される」賦形剤は、化粧品的に許容される材料、組成物、または媒体、例えば、液体もしくは固体フィラー、希釈剤、溶媒、または封入材料を指す。一部の実施形態では、それぞれの賦形剤は、化粧品製剤の他の成分と適合性であるという意味において、化粧品的に許容され、妥当な利益／リスク比に見合っており、過度の毒性、刺激、アレルギー反応、免疫原性、または他の問題もしくは合併症なく、ヒトおよび動物の組織または器官と接触する使用に好適である。

30

【0140】

本明細書で使用される場合、mtDNAに関する「充足した」、「充足」または「充足剤」という用語は、ヒトもしくは非ヒト動物、組織、または細胞におけるmtDNAのコピー数および／または濃度の増加を指す。そのような決定は、mtDNA枯渇を受けている（充足が開始される直前など）ヒトもしくは対照非ヒト動物組織、または細胞に関して行われ得る。ある特定の態様では、mtDNAの充足は、対照非ヒト動物、組織、または細胞（例えば、変異型POLG1ポリペプチドを発現していない、またはそれを発現しない非ヒト動物）において観察されるmtDNAのコピー数および／または濃度とおおよそ等しいmtDNAのコピー数および／または濃度をもたらす。

40

【0141】

本明細書で使用される場合、「溶媒和物」という用語は、好適な溶媒の1つまたは複数の分子が、結晶格子に組み込まれている、本開示の化合物、またはその薬学的に許容される塩を意味する。好適な溶媒は、投与される投薬量で生理学的に耐容性である。好適な溶媒の例は、エタノール、水などである。水が溶媒である場合、分子は、「水和物」と称され得る。

【0142】

本明細書で使用される場合、「対象」または「患者」という用語は、限定されるものではないが、脊椎動物、哺乳動物、動物（例えば、ネコ、イヌ、ウマ、ブタ、げっ歯動物な

50

ど) およびヒトを含む、動物界のすべてのメンバーを含む。ある特定の実施形態では、対象は、ヒトである。ある特定の実施形態では、対象は、動物、例えば、研究動物、例えば、マウス、ラットである。

【0143】

本明細書で使用される場合、「類似性」または「類似性スコア」という用語は、化合物に関して使用される場合、化学構造、化学的機能、および／または1つもしくは複数の化学的性質の、2つまたはそれよりも多くの化合物間の類似性の度合いを指す。類似性スコアは、任意の所与の化合物についての複数の化学反応をモデル化するように訓練されたディープニューラルネットワークによって作成されたデータを拡張することによって定量され得る。データは、化合物についての埋め込みスコアを作成するために、化合物の性質または化合物が関与する化学反応のマトリックスを定義する多次元ベクトルによって拡張され得る。2つまたはそれよりも多くの化合物の埋め込みスコアは、2つまたはそれよりも多くの化合物間の類似性スコアを作成するために比較され得る。

10

【0144】

本明細書に引用されるすべての特許出願、特許、および印刷刊行物は、すべての目的のために、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0145】

内因性および外因性老化に対するミトコンドリア機能の影響

ミトコンドリア機能障害は、内因性および外因性老化の両方に影響を及ぼす。皮膚のしわ、表皮肥厚、過角化による表皮過形成、および皮膚における著しい炎症性浸潤物の存在は、mtDNA枯渇マウスにおいて観察されており、ヒトにおける皮膚の外因性老化に類似する特徴を表す。さらにまた、内因性加齢関連遺伝子マーカーの発現の変化は、mtDNA枯渇マウスにおいて観察される表現型変化の根底にある内因性機構を裏付ける。

20

【0146】

コラーゲン線維の喪失は、皮膚のしわの基礎であることが報告されている。タンパク分解性マトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) 酵素とそれらの組織特異的阻害剤の組織阻害剤メタロプロテイナーゼ-1 (TIMP1) との間の厳格なバランスは、皮膚におけるコラーゲン線維含量を維持するために必須である。MMPの発現は、老化した皮膚において変化する。これらの報告と一致して、mtDNA枯渇マウスの皮膚は、MMPの発現の増加およびTIMP1の発現の減少を示し、皮膚のしわの発生に寄与するバランスの喪失を示す。mtDNA含量の充足は、しわのある皮膚および脱毛の反転をもたらすMMP発現を回復させた。これらの実験は、ミトコンドリアが、老化の調節因子であることを示す。この観察は、驚くべきものであり、ミトコンドリアと核のクロストークの根底にあるエピジェネティックな機構が、正常な皮膚および毛髪表現型の回復において重要な役割を果たしているはずであることを示唆する。

30

【0147】

mtDNAストレスは、炎症応答を誘発する。炎症も、老化および加齢性疾患の根底にある。mtDNA枯渇マウスにおける炎症のマーカーのレベルの増加は、mtDNA枯渇マウスの皮膚における活性化された免疫応答を示す。mtDNA枯渇の際の炎症応答のマスター調節因子であるNF-κBの発現の増加、およびmtDNA含量の回復後のその発現の低減は、NF-κBシグナル伝達が、mtDNA枯渇マウスにおいて観察される皮膚および毛包表現型に寄与する重要な機構であることを示唆する。さらにまた、mtDNAによってコードされるタンパク質の固有の特性は、N末端のN-ホルミル-L-メチオニンである。N-ホルミル化ペプチドは、細胞外空間に存在する場合、ミトコンドリア損傷関連分子パターンとして作用すること、および好中球を活性化するか、または免疫細胞の動員をもたらすケラチノサイト内因性応答を活性化することが公知である。以前の動物モデルは、局在化アプローチ (例えば、特異的な細胞型のみを標的にする) を使用して、mtDNAホメオスタシスおよび／またはmtDNAのコピー数もしくは濃度の変更を示したが、本開示は、制御された様式で、mtDNAホメオスタシスおよび／またはmtDNAのコピー数もしくは (of) 濃度の全体的および標的化破壊を提供する動物モデルを利用す

40

50

る。そのような動物モデルを使用して、本開示は、有意なmtDNA枯渇のバックグラウンドにおいて、ミトコンドリア機能障害に関する疾患および状態を処置する際に有効である化合物を特定した。加えて、本開示は、そのような化合物が、ミトコンドリア機能障害によって媒介される生理学および表現型効果を反転させることを実証する。反転される内因性および外因性老化の例示的な生理学および表現型効果としては、皮膚のしわの減少、脱毛の減少、成長期の毛包の増加、炎症遺伝子発現の減少、皮膚および毛包における炎症性浸潤物の減少、ならびに皮膚におけるコラーゲン含量の増加が挙げられる。

【0148】

さらに、従来の慣行の動物モデルの短い寿命に起因して、以前の研究は、老化プロセスに対するミトコンドリア機能障害の効果を決定できず、そのような研究は、ミトコンドリア機能障害に関する生理学および表現型変化の多くの出現を観察しなかった。そのため、従来の慣行は、本明細書に報告されるミトコンドリア機能障害に関するそのような生理学および表現型変化を処置するのに有効な化合物を特定することができなかった。

10

【0149】

前記の制限により、ミトコンドリア機能障害が未解決の困難さである皮膚の疾患および状態のための有効な処置が特定される。加えて、現在のモデルにおける通常の表皮発達および毛包の形態形成における異常に起因して、偽陽性および偽陰性結果の課題が多い。本開示は、動物全体または選択した細胞／組織においてミトコンドリア機能障害を誘発する（例えば、mtDNAの枯渇によって）変異したPOLG1ポリペプチド（限定されるものではないが、ドミナントネガティブ（DN）変異を発現するPOLG1ポリペプチドなど）を発現する誘導性非ヒト動物モデルを利用した。非ヒト動物モデルは、動物全体または特異的な細胞／組織におけるミトコンドリア機能の遍在性の抑制および回復を可能にする。

20

【0150】

開示される非ヒト動物モデルを使用して、mtDNAに関する疾患および状態を処置する際に有効な化合物を迅速に特定することができる。変異したPOLG1発現の発現の非存在下の動物モデルは、正常な表皮分化、および毛包の形態形成を維持し、この動物モデル系は、ミトコンドリア機能障害によって特徴付けられる各種の疾患および状態の処置のための治療を特定する際の価値あるツールになった。変異型POLG1ポリペプチドが発現されると、動物モデルは、皮膚のしわおよび脱毛の発生を含む皮膚の著明な表現型の加齢性変化を実証する。表現型変化は、ミトコンドリア機能が回復する場合（本明細書に記載される抽出物または化合物の投与によるなど）、可逆的である。

30

【0151】

非ヒト動物モデル

ある特定の態様では、本明細書に記載される方法は、制御された様式で変異型POLG1ポリペプチドを発現する遺伝子改変された非ヒト動物を利用する。そのような動物モデル由来の組織、器官および細胞も使用され得る。一実施形態では、変異型POLG1ポリペプチドは、遍在的に発現される（非ヒト動物のあらゆる細胞において）。別の実施形態では、変異型POLG1ポリペプチドは、特異的な組織もしくは組織のセット、または特異的な細胞型において発現される。そのような非ヒト動物モデルは、すべての目的のためにその全体が参照により本明細書に組み込まれる米国特許公開第2020-0085021-A1号に記載されている。

40

【0152】

特定の態様において、動物モデルは、ミトコンドリア（mt）DNA含量の低減、mtDNAのコピー数の低減、ミトコンドリアタンパク質発現の変化、ミトコンドリア酸化的リン酸化複合体の発現の低減、ミトコンドリア酸化的リン酸化複合体の安定性の低減、皮膚のしわ、脱毛、表皮の厚さの増加、表皮過形成、表皮肥厚、過角化、NF-κB、COX-2、INF-β1、CCL5、MMP1、MMP2、MMP9、MMP13、IGF1R、VEGF、およびMRPS5からなる群から選択される少なくとも1つの遺伝子の発現の変更（例えば、増大）、TIMP1およびKLOTHO、COL1A1、MTCO

50

2、TFAMおよびVDACからなる群から選択される少なくとも1つの遺伝子の発現の変更（例えば、減少）、皮膚の炎症の増加、ならびに異常な毛包からなる群から選択される少なくとも1つの特徴を示す。

【0153】

治療剤についてスクリーニングする方法

本開示は、任意の所与の化合物についての複数の化学反応をモデル化するように訓練された人工ニューラルネットワークを提供する。本明細書に記載される人工ニューラルネットワークの使用により、ミトコンドリアバイオジェネシスの公知の促進剤または阻害剤と類似性スコアを有する化合物および組成物が容易に特定され得る。類似性スコアは、化合物についての埋め込みスコアを作成するために、化合物の性質または化合物が関与する化学反応のマトリックスを定義する多次元ベクトルにおいて、ディープニューラルネットワークによって作成されたデータを拡張することによって定量され得る。化合物についての埋め込みスコアは、類似性スコアを作成するために、ミトコンドリアバイオジェネシスの公知の促進剤または阻害剤についての埋め込みスコアと比較され得る。したがって、本開示は、公知の化合物との十分な類似性スコアを有する化合物および組成物をスクリーニングする方法を提供する。特定された化合物は、ミトコンドリアバイオジェネシスを促進または阻害する際に有効であると予測される。

10

【0154】

本開示は、変異型POLG1ポリペプチドを含む、動物全体にわたってまたは特異的な組織においてのいずれかで、制御された様式で変異型POLG1ポリペプチドを発現する、非ヒト動物モデルを提供する。本明細書に記載される非ヒト動物モデルの使用により、ミトコンドリア機能障害に関する疾患および状態を処置する際に有効な化合物および組成物が容易に特定され得る。そのような非ヒト動物由来の細胞および組織を利用する方法も提供される。したがって、本開示は、mtDNA枯渇に関する疾患および状態を含む、対象におけるミトコンドリア機能障害に関する疾患および状態を処置するために有効な化合物および組成物をスクリーニングする方法を提供する。

20

【0155】

一実施形態では、本開示は、mtDNAのコピー数および／もしくは濃度の変化、ならびに／または機能障害性ミトコンドリアOXPHOSを含む、ミトコンドリア機能障害に少なくとも部分的に起因する疾患または状態の処置のための化合物の特定を提供する。そのような疾患および状態としては、限定されるものではないが、mtDNA枯渇症候群、ミトコンドリア疾患、卵巣疾患または状態およびその症状、老化、加齢関連慢性疾患、エネルギーレベルおよびバイタリティーの低減、ならびに他のヒトの病理が挙げられる。例示的なミトコンドリア疾患としては、心血管疾患、糖尿病、がん、神経障害、例えば、加齢関連神経障害、皮膚の疾患および状態、例えば、皮膚のしわ、皮膚の色素沈着の変化、老人性黒子、皮膚の老化の特徴、毛髪または頭皮の疾患および状態、例えば、脱毛、薄毛、毛髪の色素沈着の変化、例えば、毛髪の白髪化が挙げられる。

30

【0156】

一実施形態では、そのようなスクリーニングする方法は、a) ミトコンドリアバイオジェネシスの公知の促進剤または阻害剤についての複数の化学反応をモデル化するように訓練されたディープニューラルネットワークを提供するステップ；b) ディープニューラルネットワークを実行して、ミトコンドリアバイオジェネシスの公知の促進剤または阻害剤と少なくとも70%の類似性スコアの閾値を有する1つまたは複数の化合物を特定するステップ；c) 少なくとも1つの組み入れ基準に基づいて、1つまたは複数の特定された化合物を選択するステップ；およびd) アッセイにおいて少なくとも1つの選択された化合物を評価して、選択された化合物によるミトコンドリアバイオジェネシスに対する効果を決定するステップであって、アッセイが、in vitroアッセイ、ex vivoアッセイ、またはin vivoアッセイを含み得る、ステップを含む。少なくとも1つの組み入れ基準には、特定された化合物の構造的性質、機能的性質、物理的性質、または化学的性質が含まれ得る。例示的な性質としては、サイズ、電荷、イオン強度、結合強度、

40

50

価数、ハイブリダイゼーション、ミクロ分子構造、マクロ分子構造などが挙げられる。類似性スコアの閾値は、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%、少なくとも99.5%、少なくとも99.9%、少なくとも99.95%、少なくとも99.99%、またはそれよりも高くてもよい。

【0157】

一部の実施形態では、アッセイは、本明細書に記載されるように、変異型POLG1ポリペプチドの誘導性発現が可能な非ヒト動物を用いて、少なくとも1つの選択された化合物をスクリーニングすることを含んでいてもよい。一部の実施形態では、本明細書において特定されるように、アッセイは、少なくとも1つの選択された化合物をスクリーニングして、ミトコンドリア健康バイオマーカーのタンパク質または遺伝子発現に対する影響を測定することを含んでいてもよい。スクリーニングする方法は、ディープニューラルネットワークを実行して、少なくとも1つの特定された化合物および／または少なくとも1つの選択された化合物と少なくとも70%の類似性スコアを有する1つまたは複数の化合物を特定することによって繰り返されてもよい。一部の実施形態では、ディープニューラルネットワークは、少なくとも1つの特定された化合物および／または少なくとも1つの選択された化合物を用いて再訓練されてもよい。

10

【0158】

一実施形態では、そのようなスクリーニングする方法は、a) 変異型POLG1ポリペプチドの誘導性発現が可能な非ヒト動物を提供するステップ；b) 変異型POLG1ポリペプチドの発現を刺激するステップであって、変異型POLG1ポリペプチドの発現を刺激することで、生理学的または表現型応答を誘導する、ステップ；c) ステップb)の前またはステップb)の後のいずれかで、薬剤を非ヒト動物に投与するステップ；d) 病理に対する薬剤の効果を決定するステップ；およびe) 薬剤の効果を対照動物と比較するステップであって、薬剤の投与後の非ヒト動物における生理学的または表現型応答の低減または増加（適切な場合）が、薬剤が生理学的または表現型応答の処置のための治療剤であることを示す、ステップを含む。

20

【0159】

別の実施形態では、本開示は、ミトコンドリア機能障害の処置のための治療剤を特定するための方法を提供する。

30

【0160】

別の実施形態では、本開示は、ミトコンドリア機能障害に関連する疾患もしくは状態、またはその症状の処置のための治療剤を特定するための方法を提供する。

【0161】

別の実施形態では、本開示は、ミトコンドリア機能障害に関する加齢関連慢性疾患、またはその症状の処置のための治療剤を特定するための方法を提供する。

【0162】

別の実施形態では、本開示は、エネルギーレベルおよび／またはバイタリティーの減少もしくは状態を改善または予防するための治療剤を特定するための方法を提供する。

【0163】

別の実施形態では、本開示は、卵巣疾患または状態およびその症状を処置または予防するための治療剤を特定するための方法を提供する。記載されるスクリーニングする方法のいずれかでは、薬剤としては、限定されるものではないが、化合物、医薬組成物、化粧品組成物、抽出物、植物抽出物、海藻抽出物、微生物抽出物、生物学的化合物および組成物（例えば、タンパク質、DNA、RNA、siRNA、ワクチンなど）、および微生物が挙げられ得る。さらに、薬剤は、FDAなどの規制当局によって承認された薬剤のライブラリーを含むライブラリーから選択されてもよい。

40

【0164】

記載されるスクリーニングする方法のいずれかでは、本開示のトランスジェニック非ヒト動物のいずれかが使用されてもよい。

50

【0165】

記載されるスクリーニングする方法のいずれかでは、ステップb)は、誘導剤化合物をトランスジェニック非ヒト動物に提供すること、または、トランスジェニック非ヒト動物由来の誘導剤化合物を控えることによって達成されてもよい。

【0166】

記載されるスクリーニングする方法のいずれかでは、薬剤は、ステップb)の前に添加される。記載されるスクリーニングする方法のいずれかでは、薬剤は、ステップb)の後に添加される。

【0167】

記載されるスクリーニングする方法のいずれかでは、動物モデルは、先行するセクションに記載される動物モデルである。記載されるスクリーニングする方法のいずれかでは、変異型POLG1ポリペプチドは、本明細書に記載される任意の変異型POLG1ポリペプチドであってもよい。ある特定の態様では、変異型POLG1ポリペプチドは、ドミナントネガティブ変異を含む。ある特定の態様では、変異型POLG1ポリペプチドは、D1135A変異を含む。

【0168】

処置の方法

一実施形態では、本開示は、対象におけるミトコンドリア機能障害に関する加齢関連慢性疾患もしくは状態、またはその症状を処置または予防するための方法であって、有効量の本開示の化合物、またはその薬学的に許容される形態を前記対象に投与することを含む、方法を提供する。一実施形態では、本開示は、対象におけるミトコンドリア機能障害に関する老化の特徴、またはその症状を処置または予防するための方法であって、有効量の本開示の化合物、またはその薬学的に許容される形態を前記対象に投与することを含む、方法を提供する。

【0169】

本開示は、mtDNA枯渇を含む、ミトコンドリア機能障害に関する疾患および状態を処置または予防するために有効な化合物および組成物を提供する。ミトコンドリア機能障害に関連する疾患および状態には、卵巣疾患または状態、およびその症状が含まれる。本明細書に開示される方法によって処置され得る卵巣疾患または状態には、例えば、閉経周辺期、閉経期、子宮内膜症、卵巣嚢胞、閉経前または閉経後卵巣がん、例えば、卵巣上皮がん、卵巣腫瘍、例えば、卵巣胚細胞腫瘍、卵巣低悪性度腫瘍、および卵巣間質性腫瘍、多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)、原発性卵巣機能不全(POI)、ならびに卵巣捻転が含まれる。卵巣疾患または状態は、不妊症、早期卵巣老化、および卵母細胞のミトコンドリア質量の低減に関連し得る。処置には、例えば、皮膚もしくは膣の乾燥、骨盤痛もしくは筋痙攣、炎症、延長されたもしくは不規則な月経周期、および排卵事象の減少を含む、卵巣疾患もしくは状態の症状の重症度もしくは頻度を低減することまたは低下させることが含まれ得る。処置または予防は、ミトコンドリアバイオジェネシスを誘導することおよび／またはミトコンドリア機能を改善することを含み得る。

【0170】

そのため、ある特定の実施形態では、本開示は、閉経周辺期、閉経期、および／またはその症状を処置または予防する、例えば、低減する、阻害する、遅延させる、および／または反転させるために有効な化合物ならびに組成物を提供する。閉経周辺期は、閉経期前の段階、または最終期間である。閉経周辺期は、ホルモンのレベルの変化、例えば、エストロゲンの低減および／または卵胞刺激ホルモン(FSH)の増加、排卵の低減、ならびに延長されたまたは不規則な月経周期によって特徴付けられ得る。ある特定の例では、閉経周辺期は、血液試料における約20IU/mL~30IU/mLまたはそれよりも高いFSHレベルによって特徴付けられてもよく、閉経期は、血液試料における約25IU/mL~135IU/mLまたはそれよりも高いFSHレベルによって特徴付けられてもよい。しかしながら、一般に、ホルモンのレベルの任意の変化は、対象のベースラインレベルと比較されて、対象が閉経周辺期または閉経後を経験しているかどうかで決定され得る

。閉経周辺期および閉経期の症状には、気分の変化、性欲の変化、集中力のトラブル、頭痛、ホットフラッシュ、寝汗、膣の乾燥、睡眠のトラブル、関節痛または筋肉痛、大量の発汗、頻尿、および他の月経前（PMS）様症状が含まれる。

【0171】

ある特定の実施形態では、卵巣疾患または状態、およびその症状には、ミトコンドリア機能障害に関連するものが含まれる。任意の特定の理論に縛られないが、本明細書に開示される化合物は、ミトコンドリアDNAのコピー数もしくは濃度の減少を阻害すること、ミトコンドリアDNAの枯渇を阻害すること、ミトコンドリアDNAの分解を阻害すること、ミトコンドリアDNAのコピー数もしくは濃度の増加に寄与すること、ミトコンドリアDNAを充足させること、および／またはミトコンドリアDNAの活性の増加を促進することにより観察される効果を示し得る。

10

【0172】

本明細書に開示される方法は、対象における妊孕性を増強または改善することに関する。対象の妊孕性の任意の低減は、加齢関連または早期であり得る。例えば、本明細書に開示される疾患、状態、または症状は、加齢関連の卵巣老化または早期の卵巣老化に関連し得る。本明細書に開示される方法は、対象の生殖寿命を延長することに関する。

【0173】

ある特定の実施形態に従って、本明細書に開示される方法は、対象の卵母細胞のミトコンドリア質量を増加させること、または卵母細胞のミトコンドリア質量の減少を予防することに関する。

20

【0174】

ある特定の抽出物は、mtDNAを促進および／または阻害する1つまたは複数の化合物を含むとして特定されている。emblica抽出物、fucus抽出物、およびchebula抽出物が本明細書に記載される。類似の抽出物、特に、本明細書に開示される1つもしくは複数の化合物、本明細書に開示される抽出物を構成する化合物、および／または本明細書に開示される1つもしくは複数の化合物と少なくとも95%の類似性スコアを有する化合物を含む抽出物が、類似のmtDNAの促進および／または阻害を提供すると予想されることが理解されるべきである。したがって、他の抽出物、他の抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物、および他の抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物と少なくとも95%の類似性スコアを有する化合物は、本開示の範囲内である。

30

【0175】

例示的な抽出物としては、Polygonum aviculare抽出物、Physalis gngulata抽出物、Dunaliella salina抽出物、Camellia sinensis葉抽出物、Tremella fuciformis sporocarp抽出物、Alteromonas ferment抽出物、Theobromacacao（ココア）種子抽出物、Vitis vinifera（ブドウ）花細胞抽出物、Mirabilis jalapacallus抽出物、Alteromonas ferment抽出物、およびVibrio alginolyticus発酵濾過物が挙げられる。

40

【0176】

したがって、本明細書に記載される化合物は、抽出物に由来し得るか、それから精製され得るか、またはそれから単離され得る。本明細書に記載される化合物は、抽出物以外の供給源に由来し得るか、それから精製され得るか、またはそれから単離され得る。抽出物の化合物成分は、別の天然または人工供給源に由来し得るか、それから精製され得るか、またはそれから単離され得る。他の実施形態では、本明細書に記載される化合物は、合成であり得る。例えば、本開示の化合物は、実験室、製造、または他の状況において合成され得る。上記は、抽出物に含有される化合物またはその成分、およびその高い類似性スコアを有する化合物に適用される。

【0177】

50

本明細書に開示される方法は、有効量の *emblica* 抽出物またはその薬学的に許容される形態を前記対象に投与することを含み得る。

【0178】

本明細書に開示される方法は、有効量の *emblica* 抽出物に由来するか、それを構成するか、もしくはそれから精製される化合物もしくはその薬学的に許容される形態、または *emblica* 抽出物に由来するか、それを構成するか、もしくはそれから精製される化合物と少なくとも95%の類似性スコアを有する化合物、もしくはその薬学的に許容される形態を前記対象に投与することを含み得る。

【0179】

本明細書に開示される方法は、有効量の *fucus* 抽出物またはその薬学的に許容される形態を前記対象に投与することを含み得る。

10

【0180】

本明細書に開示される方法は、有効量の *fucus* 抽出物に由来するか、それを構成するか、もしくはそれから精製される化合物もしくはその薬学的に許容される形態、または *fucus* 抽出物に由来するか、それを構成するか、もしくはそれから精製される化合物と少なくとも95%の類似性スコアを有する化合物、もしくはその薬学的に許容される形態を前記対象に投与することを含み得る。

【0181】

本明細書に開示される方法は、有効量の *chebula* 抽出物またはその薬学的に許容される形態を前記対象に投与することを含み得る。

20

【0182】

本明細書に開示される方法は、有効量の *chebula* 抽出物に由来するか、それを構成するか、もしくはそれから精製される化合物もしくはその薬学的に許容される形態、または *chebula* 抽出物に由来するか、それを構成するか、もしくはそれから精製される化合物と少なくとも95%の類似性スコアを有する化合物、もしくはその薬学的に許容される形態を前記対象に投与することを含み得る。

【0183】

本開示は、一般に、抽出物、および抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物に関し得る。抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物と少なくとも95%、例えば、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、少なくとも99.5%、少なくとも99.9%、少なくとも99.95%、少なくとも99.99%、少なくとも99.995%、または少なくとも99.999%の類似性スコアを有する化合物が、本明細書に記載される任意の組成物において利用され得ることが理解されるべきである。

30

【0184】

理論に縛られることを望まないが、本明細書に開示される組成物の投与は、ミトコンドリアDNAのコピー数もしくは濃度の減少の阻害、ミトコンドリアDNAの枯渇の阻害、ミトコンドリアDNAの分解の阻害、または前記の組合せに関与し得ると考えられる。理論に縛られることを望まないが、本明細書に開示される組成物の投与は、ミトコンドリアバイオジェネシスを誘導すること、および／またはミトコンドリア機能を改善することに関与し得ると考えられる。

40

【0185】

ある特定の態様に従って、本明細書に開示される組成物の投与は、ミトコンドリア酸化的リン酸化複合体の発現の増加、ミトコンドリア酸化的リン酸化複合体の安定性の増加、ならびに／またはPGC-1 α 、TFAM、NRF-1、およびCOXIIから選択される少なくとも1つのタンパク質の発現の増加に関与し得る。

【0186】

ある特定の態様に従って、本明細書に開示される組成物の投与は、月経周期のモジュレーション、例えば、月経周期を正常化すること、例えば、月経周期の量および／または頻度を調節することを含み得る。本明細書に開示される組成物の投与は、排卵事象の増加を

50

伴い得る。本明細書に開示される組成物の投与は、対象の抗ミューラー管ホルモン（AMH）レベルの増加を伴い得る。さらに、本明細書に開示される組成物の投与は、胚の異数性の確率および／またはリー症候群を減少させ得る。

【0187】

ある特定の態様では、emblica抽出物は、Emblica officinalis（Phyllanthus emblica、インディアングーズベリー、またはそのヒンディー語名でアムラとしても公知）に由来する。Emblica officinalis由来のそのような抽出物は、所望により、植物の任意の部分に由来していてもよい。例えば、抽出物は、Emblica officinalisの幹部分、果実部分、または幹部分および果実部分の両方に由来し得る。そのような抽出物の調製において、Emblica officinalisは、粉末化された形態で提供され、限定されるものではないが、水性の酢酸エチル、エタノールおよびメタノールなどの当技術分野において公知の化学溶媒を使用して抽出され得る。本明細書に開示される他の溶媒または賦形剤が使用されてもよい。ある特定の例示的な実施形態では、化学溶媒はメタノールであり得る。

10

【0188】

ある特定の態様では、emblica抽出物、またはemblica抽出物に由来するか、それを構成するか、もしくはそれから精製される化合物の有効量は、1～100mg、例えば、1mg、5mg、10mg、20mg、30mg、40mg、50mg、60mg、70mg、80mg、90mg、または100mgである。

20

【0189】

ある特定の態様では、emblica抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物は、タンニンの分解産物であり、ここで、emblica抽出物は、必要に応じて、上記に記載された通りである。ある特定の態様では、emblica抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物は、エラジタンニンである。ある特定の態様では、emblica抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物は、エンブリカニンA、エンブリカニンB、プニグルコニン、ペダンクラギン、および／またはケブリン酸である。

【0190】

ある特定の態様では、化合物は、エラジタンニン、またはエラジタンニンと少なくとも95%の類似性スコアを有する化合物である。例示的なエラジタンニン、およびそのようなエラジタンニンと高い類似性スコアを有する化合物を表1に列挙する。エラジタンニンと高い類似性スコアを有する他の化合物は、本開示の範囲内である。

30

表1：エラジタンニン、およびエラジタンニンと高い類似性スコアを有する化合物

40

50

【表 1 - 1】

エラジタンニン	エラジタンニンと高い類似性スコアを有する化合物
エンブリカニン b	オイゲニン
エンブリカニン a	1,2,3,4-テトラキス-O-ガロイル-アルファ-D-グルコース
エンブリカニン a	1,2,3,6-テトラガロイルグルコース
エンブリカニン b	ブニカフォルン
エンブリカニン a	4-ヒドロキシ-3,5-ビス(3,4,5-トリヒドロキシベンゾイルオキシ)-6- [(3,4,5- トリヒドロキシベンゾイルオキシ)メチル]オキサソ-2-イル 3,4,5-トリヒドロ キシベンゾエート
エンブリカニン b	ブニカリン
エンブリカニン a	トンニンギアニン A
エンブリカニン a	サゲリン酸
エンブリカニン b	カスアリイン
エンブリカニン a	プルナシン 2',3',4',6'-テトラ-O-ガラート
エンブリカニン b	エピガロカテキン-(4 ベータ→8)-エピガロカテキン-3-O-ガラート
エンブリカニン b	アルジュナ
エンブリカニン a	ヒエマロシド A
エンブリカニン b	トラパイン
エンブリカニン a	4-[3,4-ジヒドロキシ-5-(3,4,5-トリヒドロキシベンゾイルオキシ)ベンゾイ ルオキシ]-1- ヒドロキシ-3,5-ビス(3,4,5-トリヒドロキシベンゾイルオキシ)シクロヘキサ ン-1- カルボン酸
エンブリカニン a	ペンタガロイルグルコース
エンブリカニン a	ミリセチン 3-(2'',3''-ジガロイルラムノシド)
エンブリカニン b	トリロパチン G
エンブリカニン b	スタチュリン
エンブリカニン a	オイタンニン
エンブリカニン b	トンニンギアニン A
エンブリカニン b	カスターアギン

10

20

30

40

50

【表 1 - 2】

エンブリカニン b	カスアリクチン
エンブリカニン a	ユンナネン酸 G
エンブリカニン a	ラブドシイン
エンブリカニン b	2-(3,4-ジヒドロキシフェニル)-5,7-ジヒドロキシ-8-[3,5,7-トリヒドロキシ-2-(3,4,5-トリヒドロキシフェニル)-3,4-ジヒドロ-2H-1-ベンゾピラン-4-イル]-3,4-ジヒドロ-2H-1-ベンゾピラン-3-イル 3,4,5-トリヒドロキシベンゾエート
エンブリカニン b	プテロカリアニン C
エンブリカニン b	テルカタイン
エンブリカニン a	トラパイン
エンブリカニン b	テリマグランジン I
エンブリカニン b	サゲリン酸
エンブリカニン b	パエオニアニン E
エンブリカニン a	2-(3-[1-カルボキシ-2-(3,4-ジヒドロキシフェニル)エトキシ]カルボニル)-2-(3,4-ジヒドロキシフェニル)-7,8-ジヒドロキシ-1,2-ジヒドロナフタレン-1-カルボニルオキシ)-3-(3,4-ジヒドロキシフェニル)プロパン酸
エンブリカニン a	2-[2-(3,4-ジヒドロキシフェニル)-5,7-ジヒドロキシ-4-オキソ-4H-クロメン-3-イル]オキシ)-4,5-ジヒドロキシ-6-[(3,4,5-トリヒドロキシベンゾイルオキシ)メチル]オキサソ-3-イル 3,4,5-トリヒドロキシベンゾエート
エンブリカニン a	レムリン B
エンブリカニン a	アルジュナ
エンブリカニン a	5-ヒドロキシフェルロイル-Coa
エンブリカニン a	ゲラニン酸 B
エンブリカニン a	カスアリイン
エンブリカニン a	オイゲニン
エンブリカニン a	シナポイル-Coa
エンブリカニン b	ゲラニン

10

20

30

40

50

【表 1 - 3】

エンブリカニン a	フェルロイル-Coa
エンブリカニン a	バラノホタンニン A
エンブリカニン b	6-(4-[7-[(6-カルボキシ-3,4,5-トリヒドロキシオキサン-2-イル)オキシ]-5-ヒドロキシ-4-オキソ-4H-クロメン-2-イル]フェノキシ)-5-[(6-カルボキシ-4,5-ジヒドロキシ-3-[[3-(4-ヒドロキシフェニル)プロパ-2-エノイル]オキシ]オキサン-2-イル)オキシ]-3,4-ジヒドロキシオキサン-2-カルボン酸
エンブリカニン a	ケブラジン酸
エンブリカニン b	オイタンニン
エンブリカニン b	バラノホタンニン A
エンブリカニン b	ミリセチン 3-(2'',3''-ジガロイルラムノシド)
エンブリカニン b	ブラジミシン C
エンブリカニン b	5,5''-ビス-[2,3-ジカルボキシ-6,7-ジヒドロキシ-1-(3',4'-ジヒドロキシフェニル)-1,2-ジヒドロナフタレン]
エンブリカニン a	スタチュリン
エンブリカニン a	ズニカフォリン
エンブリカニン b	アルヌシイン
エンブリカニン b	フィランツシイン D
エンブリカニン a	カフェオイル-Coa

10

20

30

40

50

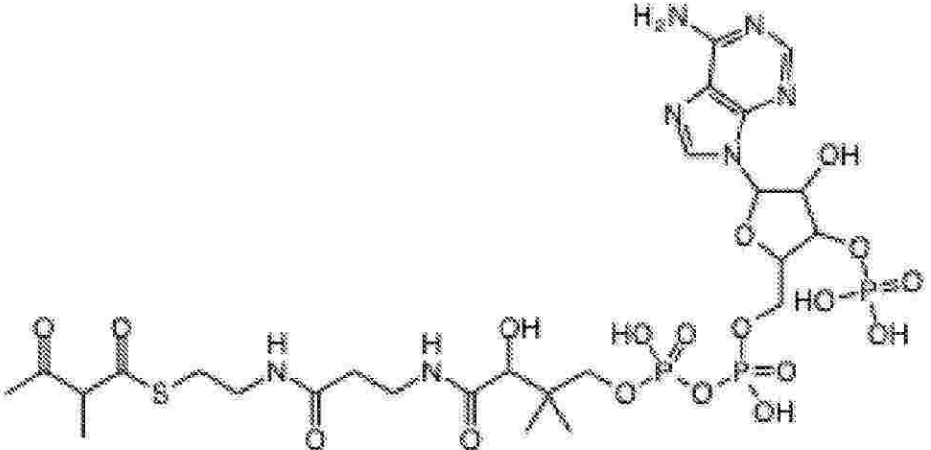
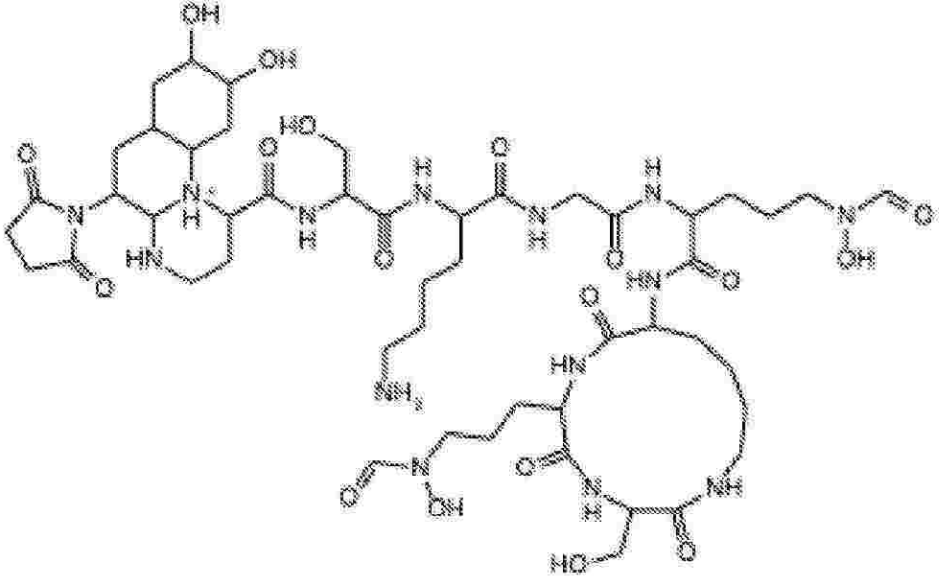
【0191】

ある特定の態様では、化合物は、ケブリン酸、またはケブリン酸と少なくとも95%の類似性スコアを有する化合物である（下記の式I）。ケブリン酸と高い類似性スコアを有する例示的な化合物を表2に列挙する。

【0192】

表2：ケブリン酸と高い類似性スコアを有する化合物。

【表 2 - 1】

COCONUT データベース からの化合物ID	構造
CNP0285899	 The chemical structure of CNP0285899 is a complex molecule. It features a central chain of amide bonds. On the left, there is a thioether linkage to a branched alkyl group. On the right, the chain is connected to a ribose sugar moiety, which is further linked to a purine base (adenine). The molecule also contains several phosphate groups, including a cyclic phosphate and a linear phosphate chain.
CNP0059074	 The chemical structure of CNP0059074 is a large, complex molecule. It features a central chain of amide bonds. On the left, there is a cyclic amide (lactam) structure. On the right, the chain is connected to a ribose sugar moiety, which is further linked to a purine base (adenine). The molecule also contains several phosphate groups, including a cyclic phosphate and a linear phosphate chain.

10

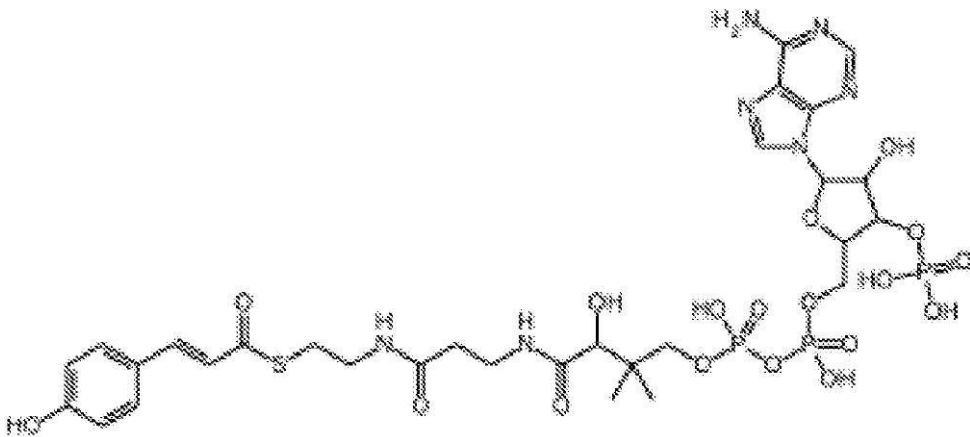
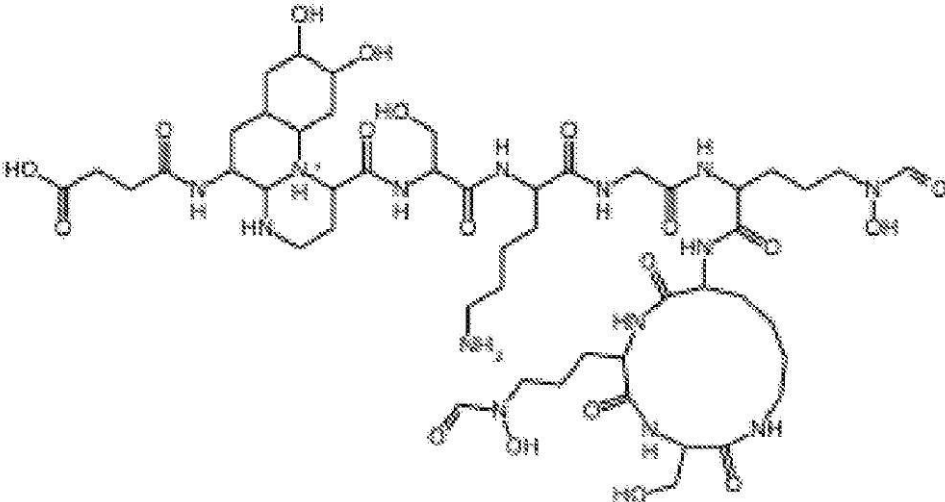
20

30

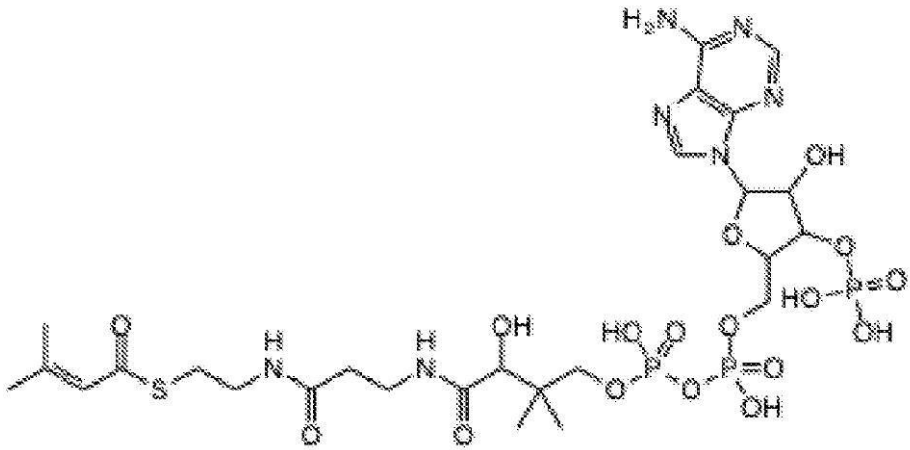
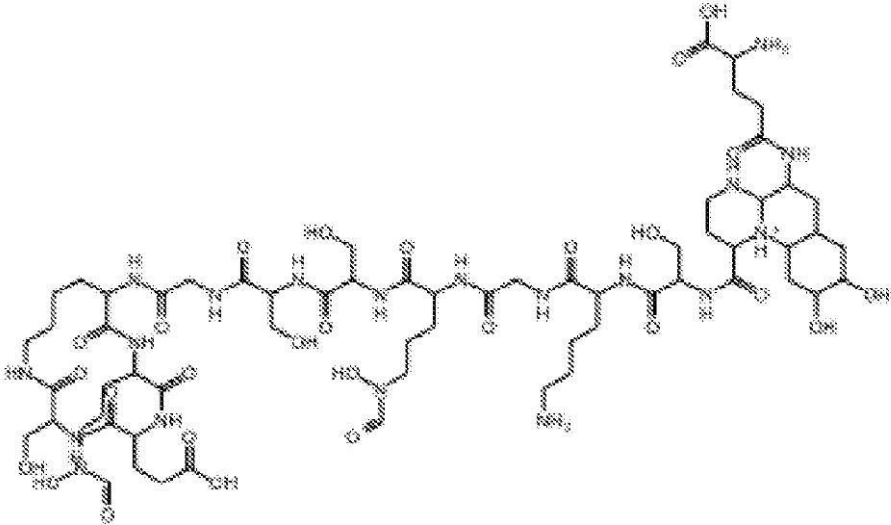
40

50

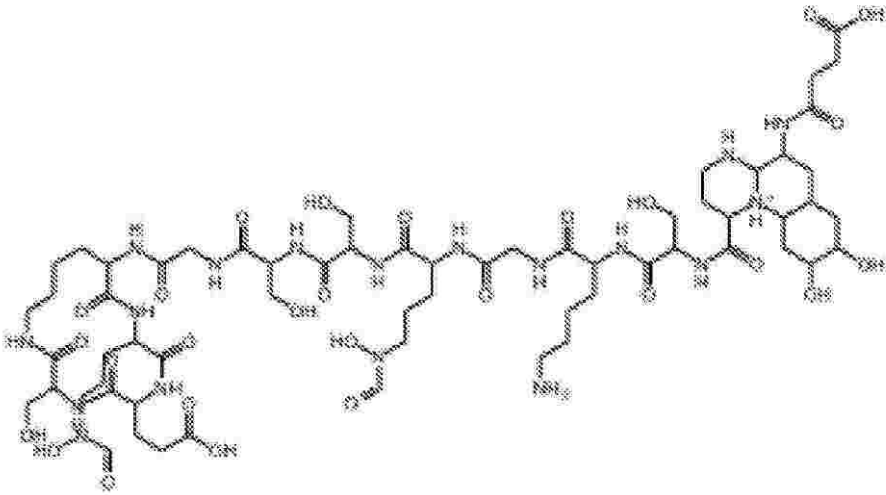
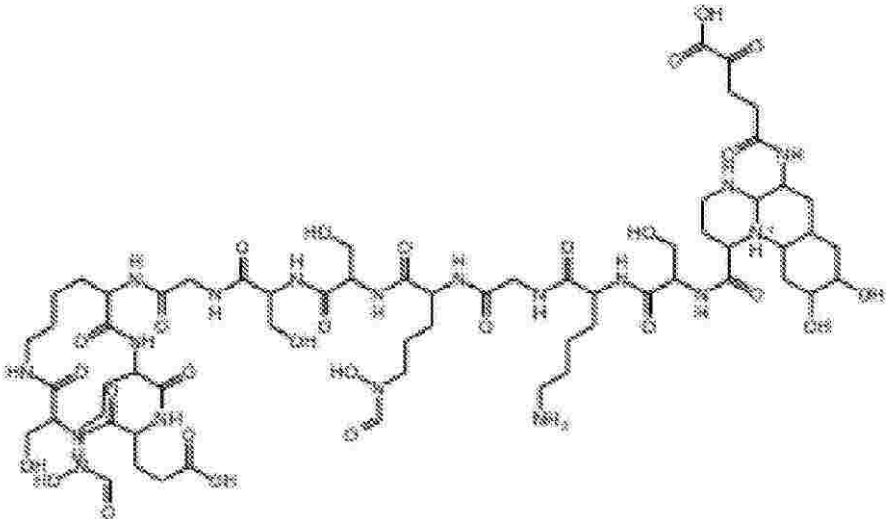
【表 2 - 2】

CNP0343660	 Chemical structure of CNP0343660, a complex molecule featuring a 4-hydroxyphenyl group, a trans-alkene, a thioether, a dipeptide, a hydroxy-ketone, a tert-butyl group, a cyclic phosphate, and a nucleoside derivative with a 2-aminopurine base.
CNP0139083	 Chemical structure of CNP0139083, a complex molecule featuring a carboxylic acid, a peptide backbone, a bicyclic amine, a cyclic phosphate, a 2-aminopurine base, and a large macrocyclic structure with multiple amide and hydroxyl groups.

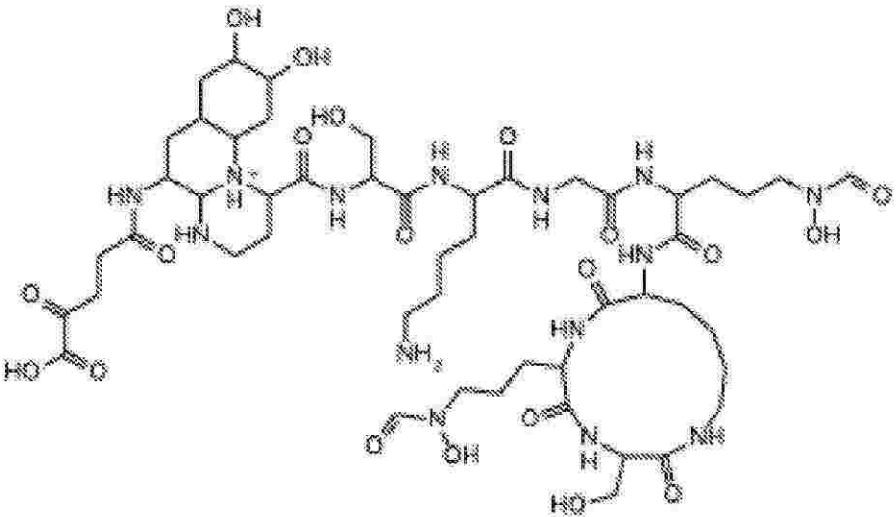
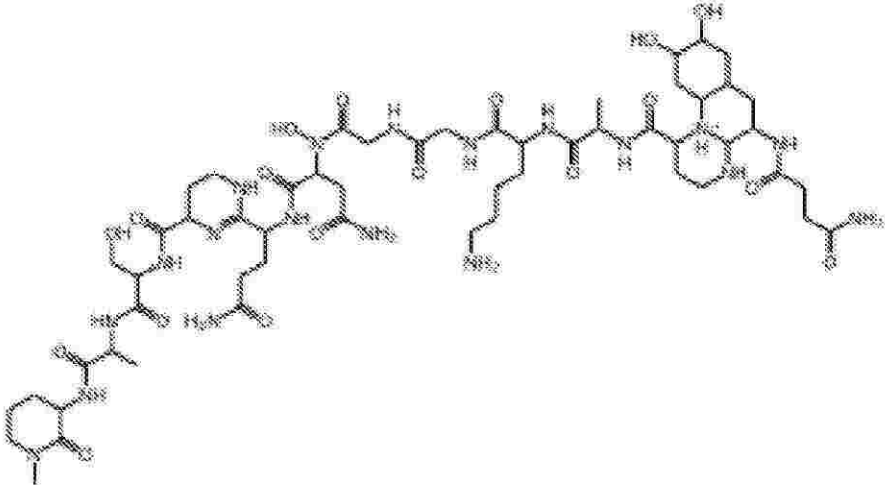
【表 2 - 4】

CNP0415802	 The chemical structure of CNP0415802 is a complex molecule. It features a central chain of amide bonds. On the left, there is a thioether group connected to a carbonyl. On the right, there is a phosphate group connected to a ribose sugar, which is further connected to a purine base. The molecule also contains several hydroxyl groups and a tertiary amine.	10
CNP0070782	 The chemical structure of CNP0070782 is a long, complex molecule. It features a central chain of amide bonds. On the left, there is a thioether group connected to a carbonyl. On the right, there is a phosphate group connected to a ribose sugar, which is further connected to a purine base. The molecule also contains several hydroxyl groups and a tertiary amine.	20 30

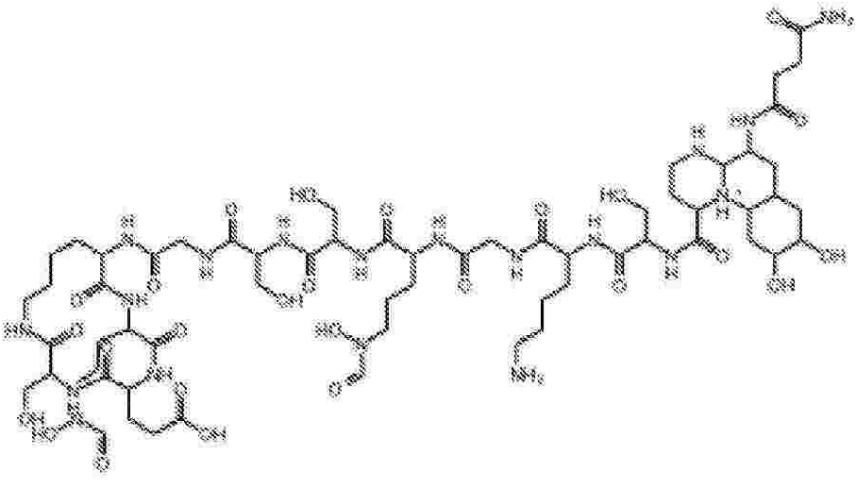
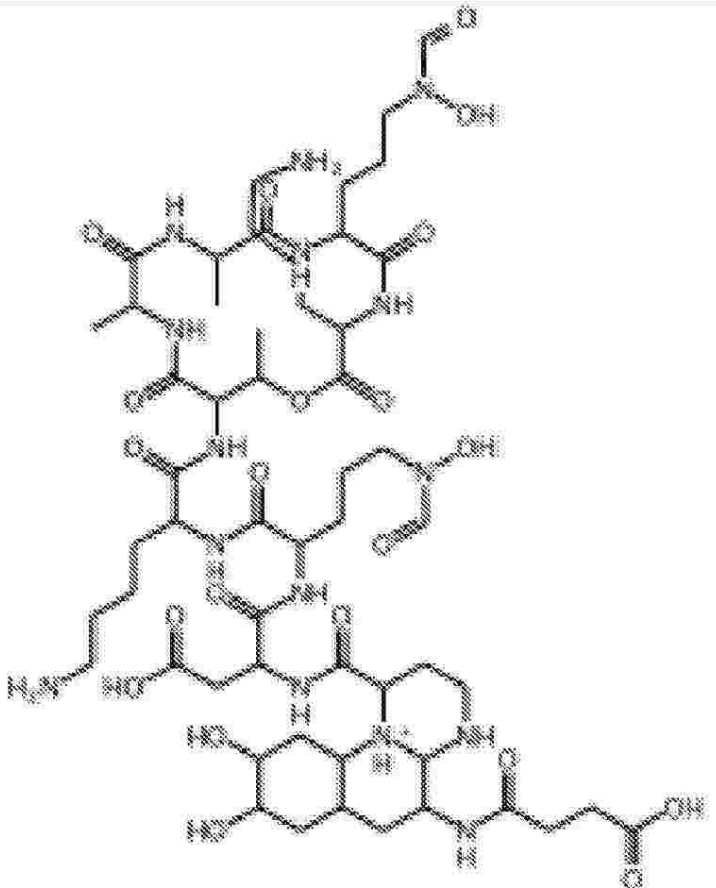
【表 2 - 5】

CNP0102046		10
CNP0098207		20 30

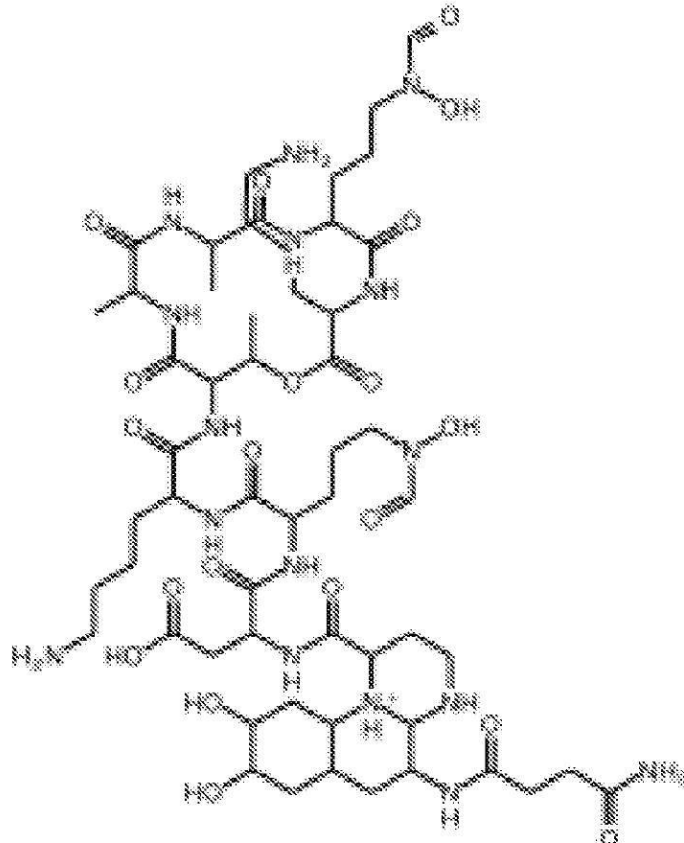
【表 2 - 6】

CNP0026197	 Chemical structure of CNP0026197, a complex polypeptide derivative. It features a long chain of amino acids with various modifications, including a large cyclic structure on the right side and a carboxylic acid group on the left.	10
CNP0326396	 Chemical structure of CNP0326396, a complex polypeptide derivative. It features a long chain of amino acids with various modifications, including a large cyclic structure on the right side and a carboxylic acid group on the left.	20 30

【表 2 - 7】

CNP0384812	 Chemical structure of CNP0384812, a complex polycyclic molecule featuring multiple fused and linked rings, including a central pyridine-like core, with various functional groups such as hydroxyl, amine, and carbonyl groups.	10
CNP0024232	 Chemical structure of CNP0024232, a complex polycyclic molecule featuring multiple fused and linked rings, including a central pyridine-like core, with various functional groups such as hydroxyl, amine, and carbonyl groups.	20 30 40

【表 2 - 8】

CNP0070582	
-------------------	---

10

20

【0193】

ある特定の態様では、emblica抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物は、1～5個のヒドロキシ基、および必要に応じて1～3個のO-(C₁～C₅アルキル)基またはO-(C₁～C₅アルケニル)基で置換された安息香酸である。ある特定の態様では、emblica抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物は、1～3個のヒドロキシ基、および必要に応じて1～2個のO-(C₁～C₅アルキル)基またはO-(C₁～C₅アルケニル)基で置換された安息香酸である。

30

【0194】

ある特定の態様では、emblica抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物は、-CH=CH-(CH₂)_a-C(O)OH(式中、aは、0～5である)および1～5個のヒドロキシ基で置換されたベンゼンである。ある特定の態様では、emblica抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物は、-CH=CH-(CH₂)_a-C(O)OH(式中、aは、0～5である)および1～3個のヒドロキシ基で置換されたベンゼンである。ある特定の態様では、emblica抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物は、-CH=CH-(CH₂)_a-C(O)OH(式中、aは、0である)および1～3個のヒドロキシ基で置換されたベンゼンである。

40

【0195】

ある特定の態様では、emblica抽出物に由来するか、それに含まれるか、またはそれから精製される化合物は、没食子酸、バニリン酸、クロロゲン酸、コーヒー酸、シリング酸、クマル酸(coumaric acid)、ケルセチン、エンブリカニンA、エンブリカニンB、プニグルコニン、およびペダンクラギン、プニカフォルン、フィラネム布林、ケンフェロール、エラグ酸、ケ布林酸、ケブラジン酸、プニカラギン、または前記のいずれかの代謝産物である。

50

【0196】

ある特定の態様では、emblica抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物は、アスコルビン酸またはクエン酸である。

【0197】

ある特定の態様では、emblica抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物は、没食子酸、バニリン酸、クロロゲン酸、コーヒー酸、シリング酸、クマル酸、ケルセチン、ビタミンC、または前記のいずれかの代謝産物である。

【0198】

ある特定の態様では、emblica抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物は、没食子酸、または没食子酸と少なくとも95%の類似性スコアを有する化合物である。

10

【0199】

ある特定の態様では、組成物における活性薬剤は、没食子酸である。活性薬剤は、エラジタンニンであってもよく、またはそれを含んでもよい。活性薬剤は、エンブリカニンA、エンブリカニンB、プニグルコニン、ペダンクラギン、および／もしくはケブリン酸であってもよく、またはそれを含んでもよい。

【0200】

ある特定の実施形態に従って、組成物は、emblica抽出物の成分である1つまたは複数の化合物で強化されたemblica抽出物を含んでもよい。emblica抽出物の化合物成分、またはemblica抽出物の化合物成分の組合せは、精製されていてもよく、例えば、少なくとも80%精製されていてもよく、少なくとも85%精製されていてもよく、少なくとも90%精製されていてもよく、少なくとも95%精製されていてもよく、少なくとも98%精製されていてもよく、少なくとも99%精製されていてもよく、少なくとも99.9%精製されていてもよく、少なくとも99.99%精製されていてもよく、または少なくとも99.999%精製されていてもよい。

20

【0201】

ある特定の態様では、emblica抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物の有効量、必要に応じて組成物の活性薬剤の有効量は、1~100mgの、例えば、1mg、5mg、10mg、20mg、30mg、40mg、50mg、60mg、70mg、80mg、90mg、または100mgの、emblica抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物である。

30

【0202】

ある特定の態様では、fucus抽出物は、Fucus vesiculosus、Fucus serratus、Fucus spiralis、またはFucus guiryiに由来する。ある特定の態様では、fucus抽出物は、Fucus vesiculosusに由来する。そのような抽出物は、所望により、藻類の任意の部分に由来していてもよい。そのような抽出物の調製において、Fucus vesiculosus、Fucus serratus、Fucus spiralis、またはFucus guiryiは、粉末化された形態で提供され、限定されるものではないが、水性の酢酸エチル、エタノールおよびメタノールなどの当技術分野において公知の化学溶媒を使用して抽出され得る。本明細書に開示される他の溶媒または賦形剤が使用されてもよい。ある特定の例示的な実施形態では、化学溶媒はメタノールであり得る。

40

【0203】

ある特定の態様では、fucus抽出物の有効量は、抽出物の1~100mg、例えば、fucus抽出物の1mg、5mg、10mg、20mg、30mg、40mg、50mg、60mg、70mg、80mg、90mg、または100mgである。

【0204】

ある特定の態様では、fucus抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物は、1~5個のヒドロキシ基、および必要に応じて1~3個のO-(C₁~C₅アルキル)基またはO-(C₁~C₅アルケニル)基で置換された安息香酸

50

である。ある特定の態様では、*fucus* 抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物は、1～3個のヒドロキシ基、および必要に応じて1～2個のO-(C₁～C₅アルキル)基またはO-(C₁～C₅アルケニル)基で置換された安息香酸である。

【0205】

ある特定の態様では、*fucus* 抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物は、 $-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_a-\text{C}(\text{O})\text{OH}$ (式中、*a*は、0～5である) および1～5個のヒドロキシ基で置換されたベンゼンである。ある特定の態様では、*fucus* 抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物は、 $-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_a-\text{C}(\text{O})\text{OH}$ (式中、*a*は、0～5である) および1～3個のヒドロキシ基で置換されたベンゼンである。ある特定の態様では、*fucus* 抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物は、 $-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_a-\text{C}(\text{O})\text{OH}$ (式中、*a*は、0である) および1～3個のヒドロキシ基で置換されたベンゼンである。

10

【0206】

ある特定の態様では、*fucus* 抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物は、没食子酸、バニリン酸、クロロゲン酸、コーヒー酸、シリング酸、クマル酸、または前記のいずれかの代謝産物である。

【0207】

ある特定の態様では、*fucus* 抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物は、没食子酸である。

20

【0208】

ある特定の態様では、組成物における活性薬剤は、没食子酸、または没食子酸と少なくとも95%の類似性スコアを有する化合物である。ある特定の態様では、組成物における活性薬剤は、ケブリン酸、またはケブリン酸と少なくとも95%の類似性スコアを有する化合物 (例えば、上記の表2を参照されたい) である。活性薬剤は、エラジタンニン、またはエラジタンニンと少なくとも95%の類似性スコアを有する化合物 (例えば、上記の表1を参照されたい) であってもよく、またはそれを含んでもよい。活性薬剤は、フコイダン、またはフコイダンと少なくとも95%の類似性スコアを有する化合物であってもよく、またはそれを含んでもよい。

30

【0209】

ある特定の態様では、組成物は、*fucus* 抽出物の成分である1つまたは複数の化合物で強化された*fucus* 抽出物を含んでもよい。*fucus* 抽出物の化合物成分、または*fucus* 抽出物の化合物成分の組合せは、精製されていてもよく、例えば、少なくとも80%精製されていてもよく、少なくとも85%精製されていてもよく、少なくとも90%精製されていてもよく、少なくとも95%精製されていてもよく、少なくとも98%精製されていてもよく、少なくとも99%精製されていてもよく、少なくとも99.9%精製されていてもよく、少なくとも99.99%精製されていてもよく、または少なくとも99.999%精製されていてもよい。

【0210】

ある特定の態様では、*fucus* 抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物の有効量、必要に応じて組成物の活性薬剤の有効量は、1～100mg、例えば、1mg、5mg、10mg、20mg、30mg、40mg、50mg、60mg、70mg、80mg、90mg、または100mgの、*fucus* 抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物である。

40

【0211】

ある特定の態様では、*chebula* 抽出物は、*Terminalia chebula*、*Terminalia arborea*、または*Lumnitzera racemosa*に由来する。ある特定の態様では、*chebula* 抽出物は、*Terminalia chebula*に由来する。そのような抽出物は、所望により、植物の任意の部分

50

に由来していてもよい。そのような抽出物の調製において、*Terminilia chebula*、*Terminalia arborea*、または*Lumnitzera racemosa*は、粉末化された形態で提供され、限定されるものではないが、水性の酢酸エチル、エタノールおよびメタノールなどの当技術分野において公知の化学溶媒を使用して抽出され得る。本明細書に開示される他の溶媒または賦形剤が使用されてもよい。ある特定の例示的な実施形態では、化学溶媒はメタノールであり得る。

【0212】

ある特定の態様では、*chebula*抽出物の有効量は、抽出物の1～100mg、例えば、*chebula*抽出物の1mg、5mg、10mg、20mg、30mg、40mg、50mg、60mg、70mg、80mg、90mg、または100mgである。

10

【0213】

ある特定の態様では、*chebula*抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物は、タンニンの分解産物である。ある特定の態様では、*chebula*抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物は、エラジタンニンである。ある特定の態様では、*chebula*抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物は、ケブリン酸である。

【0214】

ある特定の態様では、*chebula*抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物は、タンニンの分解産物である。ある特定の態様では、*fucus*抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物は、エラジタンニンである。ある特定の態様では、*fucus*抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物は、フコイダンである。

20

【0215】

ある特定の態様では、*chebula*抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物は、1～5個のヒドロキシ基、および必要に応じて1～3個のO-（C₁～C₅アルキル）基またはO-（C₁～C₅アルケニル）基で置換された安息香酸である。ある特定の態様では、*fucus*抽出物に由来するか、それに含まれるか、またはそれから精製される化合物は、1～3個のヒドロキシ基、および必要に応じて1～2個のO-（C₁～C₅アルキル）基またはO-（C₁～C₅アルケニル）基で置換された安息香酸である。

30

【0216】

ある特定の態様では、*chebula*抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物は、 $-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_a-\text{C}(\text{O})\text{OH}$ （式中、*a*は、0～5である）および1～5個のヒドロキシ基で置換されたベンゼンである。ある特定の態様では、*chebula*抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物は、 $-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_a-\text{C}(\text{O})\text{OH}$ （式中、*a*は、0～5である）および1～3個のヒドロキシ基で置換されたベンゼンである。ある特定の態様では、*chebula*抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物は、 $-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_a-\text{C}(\text{O})\text{OH}$ （式中、*a*は、0である）および1～3個のヒドロキシ基で置換されたベンゼンである。

40

【0217】

ある特定の態様では、*chebula*抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物は、没食子酸、バニリン酸、クロロゲン酸、コーヒー酸、シリング酸、クマリン酸、または前記のいずれかの代謝産物である。

【0218】

ある特定の態様では、*chebula*抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物は、ケブリン酸である。

【0219】

ある特定の態様では、組成物における活性薬剤は、ケブリン酸、またはケブリン酸と少なくとも95%の類似性スコアを有する化合物（例えば、上記の表2を参照されたい）で

50

ある。活性薬剤は、エラジタンニン、またはエラジタンニンと少なくとも95%の類似性スコアを有する化合物（例えば、上記の表1を参照されたい）であってもよく、またはそれを含んでいてもよい。

【0220】

ある特定の実施形態に従って、組成物は、chebula抽出物の成分である1つまたは複数の化合物で強化されたchebula抽出物を含んでいてもよい。chebula抽出物の化合物成分、またはchebula抽出物の化合物成分の組合せは、精製されていてもよく、例えば、少なくとも80%精製されていてもよく、少なくとも85%精製されていてもよく、少なくとも90%精製されていてもよく、少なくとも95%精製されていてもよく、少なくとも98%精製されていてもよく、少なくとも99%精製されていてもよく、少なくとも99.9%精製されていてもよく、少なくとも99.99%精製されていてもよく、または少なくとも99.999%精製されていてもよい。

10

【0221】

ある特定の態様では、chebula抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物の有効量、必要に応じて組成物の活性薬剤の有効量は、1~100mgの、例えば、1mg、5mg、10mg、20mg、30mg、40mg、50mg、60mg、70mg、80mg、90mg、または100mgの、chebula抽出物に由来するか、それを構成するか、またはそれから精製される化合物である。

【0222】

方法、および前記の態様のいずれかは、有効量のemblica抽出物またはemblica抽出物の化合物成分、有効量のfucus抽出物またはfucus抽出物の化合物成分、および有効量のchebula抽出物またはchebula抽出物の化合物成分の2つまたはそれよりも多くを含む組成物を投与することを含んでいてもよい。ある特定の実施形態に従って、emblica抽出物またはemblica抽出物の化合物成分、fucus抽出物またはfucus抽出物の化合物成分、およびchebula抽出物またはchebula抽出物の化合物成分の2つまたはそれよりも多くは、疾患または状態の処置において相乗効果を提供し得る。

20

【0223】

本明細書に開示される組成物は、emblica抽出物またはemblica抽出物の化合物成分、fucus抽出物またはfucus抽出物の化合物成分、chebula抽出物またはchebula抽出物の化合物成分、BAMLET 10、BAMLET 50、フェルラ酸、ケルセチン、ウロリチンA、プテロスチルベン、アカデシン、エンベリン、EGCG、エリオシトリン、没食子酸、ゴミシン(gomisin) A、ルテイン、ルテオリン、NAD、ルチン、ゼアキサンチン、およびメラトニンの1つもしくは複数を含み得るか、またはそれで強化され得る。

30

【0224】

本明細書に開示される組成物は、生物材料と組み合わせて、および／またはそれに封入されて投与されてもよい。生物材料は、好ましい細胞相互作用の促進、比較的高い薬物ロード含量、制御可能な薬物放出、優れた受動的および能動的標的化、生物適合性、および低毒性を含む、薬物送達のためのある特定の利点を提供する。生物材料は、3つの基本的なカテゴリーに分類することができる：1) 天然生物材料（例えば、細胞外小胞、コラーゲン、ヒアルロン酸、フィブリン）、2) 合成生物材料（例えば、ポリ乳酸(PLA)、ポリグリコール酸(PGA)、ポリカプロラクトン(PCL)、ポリエチレングリコール(PEG))、および3) 複合生物材料（例えば、タンパク質-多糖複合生物材料、ナノ複合生物材料、スポンジ）。

40

【0225】

生物材料は、卵巣疾患および状態の処置のために、本明細書に開示される化合物、および必要に応じた併用療法を封入および送達するために使用され得る。ある特定の実施形態に従って、本明細書に記載される生物材料は、非毒性、生物適合性、生分解性、生物吸収性であり得、および／または結果として生じる炎症反応なく、細胞および組織の再生をサ

50

ポートすることが可能であり得る。生物材料は、人工卵巢構築物、卵胞発達、細胞および／または組成物の生物材料封入、ならびに天然細胞外小胞の送達と併せて使用されてもよい。例示的な生物材料には、細胞外小胞、コラーゲン、ヒアルロン酸、合成生物材料、フィブリン、およびアルギネートが含まれる。

【0226】

細胞外小胞（EV）は、エキソソーム（約50～150nm）およびマイクロベシクル（約100～1000nm）から構成される細胞由来膜構造の異種群であり、これは、異なる体液中の生物活性材料およびタンパク質を運び、それらの内容物をレシピエント細胞に送達する。EVは、免疫系との良好な生物適合性および低毒性を含む複数の利点に起因して、最新の薬物送達のための、本明細書に開示される組成物の有効なナノ担体として用いられ得る。幹細胞由来EVは、機能的miRNAおよびタンパク質を卵巢組織に移植するために用いられ得る。加えて、EVは、さまざまな起源の幹細胞から容易に単離され得、標的卵巢細胞に移動して、それらの治療効果を示し得る生物学的に活性な分子を運び得る。

10

【0227】

コラーゲンは、動物界において最も豊富な細胞外基質タンパク質であり、これは、組織中でロードを伝達し、細胞のための非常に生物適合性の環境を提供する。コラーゲンは、幹細胞に基づく卵巢療法のための足場として使用されてもよい。そのような足場は、原発性卵巢機能不全（POF）のための処置と併せて用いられ得、脂肪由来幹細胞（ADSC）の長期保持を増加させ得、定期的な性周期、E2レベルの上昇、妊孕性の改善、および臨床妊娠の成功を含む、卵巢機能の回復に寄与し得る。コラーゲンは、本明細書に開示される組成物の卵巢組織への標的化送達を改善するために使用されてもよい。

20

【0228】

ヒアルロン酸（HA）は、すべての脊椎動物に存在し、ほとんどの成熟組織におけるECMの重要な構成成分であり、卵巢における卵胞の発達に貢献する微小環境の確立において重要な役割を果たす。HAは、優れた物理化学的性質を有し、薬物送達のために使用され得る。自己架橋HAは、卵巢療法の処置における肝細胞の移植を改善するための良好な細胞足場である。加えて、HAは、本明細書に開示される組成物の卵巢組織への標的化送達を改善するために使用されてもよい。

【0229】

フィブリン（FIB）は、組織損傷後に形成される天然足場であり、これは、優れた生物適合性、制御性、生分解性、ならびに細胞および生物材料を標的部位に移動させる能力を有する。フィブリン-アルギネート3次元カプセルにおいて培養された一次卵胞に由来する霊長類卵母細胞を用いて、受精のための減数分裂をリスタートし得る。フィブリン足場は、成長因子の放出を制御すること、および細胞浸潤の連続的な経路を作出することによって、卵胞移植のために使用され得る。フィブリンは、本明細書に開示される組成物の卵巢組織への標的化送達を改善するために使用されてもよい。

30

【0230】

合成生物材料は、標的生物組織の物理化学的および機械的性質に従って、設計、選択、および／または調整され得る。PEGは、一般に使用される生物適合性ポリマーであり、PEGヒドロゲルは、卵胞のための良好な微小環境を提供することが示されている。合成生物材料は、本明細書に開示される組成物を標的卵巢組織に送達するように設計され得る。

40

【0231】

アルギネートは、ヒトにおける非毒性で、栄養分に富んだ、生物適合性および生分解性の非分枝多糖の群である。アルギネートは、ポリマーネットワーク中に細胞を捕捉しながら、栄養素および成長因子を自由に通過させるのに十分に大きいポアを有する、生理学的条件下で、柔らかいヒドロゲルを形成することが可能である。アルギネートは、本明細書に開示される組成物の卵巢組織への標的化送達を改善するために使用されてもよい。

【0232】

50

方法、および前記の任意の態様は、i) 処置または投与を必要とする対象を特定するステップ；および (ii) 本開示の化合物または本開示の化合物を含む医薬組成物を提供するステップの1つまたは複数をさらに含んでもよい。

【0233】

前記の実施形態のいずれか、および前記の任意の態様では、「予防すること」という用語が使用される場合、この用語は、少なくとも部分的な阻害、例えば、10%の阻害、20%の阻害、30%の阻害、40%の阻害、50%の阻害、60%の阻害、70%の阻害、80%の阻害、90%の阻害、95%の阻害、または95%超の阻害を指し得る。

【0234】

前記の実施形態のいずれか、および前記の任意の態様では、「改善すること」という用語が使用される場合、この用語は、少なくとも部分的な改善、例えば、10%の改善、20%の改善、30%の改善、40%の改善、50%の改善、60%の改善、70%の改善、80%の改善、90%の改善、95%の改善、または95%超の改善を指し得る。

10

【0235】

前記の実施形態のいずれか、および前記の任意の態様では、「増強すること」という用語が使用される場合、この用語は、少なくとも部分的な増強、例えば、10%の増強、20%の増強、30%の増強、40%の増強、50%の増強、60%の増強、70%の増強、80%の増強、90%の増強、95%の増強、または95%超の増強を指し得る。

【0236】

前記の実施形態のいずれか、および前記の任意の態様では、「増加させること」という用語が使用される場合、この用語は、少なくとも部分的な増加、例えば、10%の増加、20%の増加、30%の増加、40%の増加、50%の増加、60%の増加、70%の増加、80%の増加、90%の増加、95%の増加、または95%超の増加を指し得る。この用語は、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、100倍、またはそれよりも高い増加を指し得る。

20

【0237】

前記の実施形態のいずれか、および前記の任意の態様では、化合物、またはその薬学的に許容される形態は、単独で、または医薬組成物の一部分として投与され得る。医薬組成物は、化合物の溶液を薬学的に好適な担体と組み合わせることによって製剤化されてもよい。化合物の溶液は、1~1,000mgの化合物、例えば、10~600mg、20~500mg、30~200mg、50~100mg、または1mg、5mg、10mg、20mg、30mg、40mg、50mg、60mg、70mg、80mg、90mg、100mg、200mg、300mg、400mg、500mg、600mg、700mg、800mg、900mg、もしくは1,000mgの化合物を含んでもよい。

30

【0238】

化合物および薬学的に好適な担体は、1:5~5:1の比で組み合わせられてもよい。医薬組成物は、1~1,000mg/mlの化合物、例えば、10~600mg/ml、20~500mg/ml、30~200mg/ml、50~100mg/ml、または1mg/ml、5mg/ml、10mg/ml、20mg/ml、30mg/ml、40mg/ml、50mg/ml、60mg/ml、70mg/ml、80mg/ml、90mg/ml、100mg/ml、200mg/ml、300mg/ml、400mg/ml、500mg/ml、600mg/ml、700mg/ml、800mg/ml、900mg/ml、もしくは1,000mg/mlの化合物の濃度を有するように製剤化されてもよい。

40

【0239】

医薬組成物は、0.01%~2%の化合物、例えば、0.01%、0.02%、0.05%、0.1%、0.2%、0.5%、1%、または2%の化合物の濃度を有するように製剤化されてもよい。

【0240】

医薬組成物は、2.5~50μMの化合物、例えば、2.5μM、5μM、10μM、

50

25 μ M、または50 μ Mの化合物の濃度を有するように製剤化されてもよい。医薬組成物は、50～500 μ Mの化合物、例えば、50 μ M、100 μ M、200 μ M、300 μ M、400 μ M、または500 μ Mの化合物の濃度を有するように製剤化されてもよい。

【0241】

医薬組成物は、2.5～50 μ Mの化合物、例えば、2.5 μ g/L、5 μ g/L、10 μ g/L、25 μ g/L、または50 μ g/Lの化合物の濃度を有するように製剤化されてもよい。医薬組成物は、50～500 μ g/Lの化合物、例えば、50 μ g/L、100 μ g/L、200 μ g/L、300 μ g/L、400 μ g/L、または500 μ g/Lの化合物の濃度を有するように製剤化されてもよい。

10

【0242】

前記の実施形態のいずれか、および前記の任意の態様では、化合物、またはその薬学的に許容される形態は、単独で、または化粧品組成物の一部分として投与され得る。化粧品組成物は、化合物の溶液を化粧品的に好適な担体と組み合わせることによって製剤化されてもよい。化合物の溶液は、1～1,000mgの化合物、例えば、10～600mg、20～500mg、30～200mg、50～100mg、または1mg、5mg、10mg、20mg、30mg、40mg、50mg、60mg、70mg、80mg、90mg、100mg、200mg、300mg、400mg、500mg、600mg、700mg、800mg、900mg、もしくは1,000mgの化合物を含んでいてもよい。

20

【0243】

化合物および化粧品的に好適な担体は、1：5～5：1の比で組み合わせられてもよい。化粧品組成物は、1～1,000mg/mlの化合物、例えば、10～600mg/ml、20～500mg/ml、30～200mg/ml、50～100mg/ml、または1mg/ml、5mg/ml、10mg/ml、20mg/ml、30mg/ml、40mg/ml、50mg/ml、60mg/ml、70mg/ml、80mg/ml、90mg/ml、100mg/ml、200mg/ml、300mg/ml、400mg/ml、500mg/ml、600mg/ml、700mg/ml、800mg/ml、900mg/ml、もしくは1,000mg/mlの化合物の濃度を有するように製剤化されてもよい。

30

【0244】

方法のいずれか、および前記の任意の態様では、本明細書に記載される化合物は、薬学的に許容される塩、溶媒和物、または水和物の形態である。そのような化合物は、薬学的に許容される塩、例えば、酸付加塩、およびその複合体として製剤化されてもよい。そのような塩の調製は、薬剤の物理的特徴を変更することによって、その生理学的効果を妨げることなく、薬理学的使用を容易にし得る。物理的性質の有用な変更の例としては、限定されるものではないが、溶解性を増加させて、より高い濃度の化合物を投与することを容易にすることが挙げられる。

【0245】

方法のいずれか、および前記の任意の態様では、本明細書に記載される化合物または抽出物は、局所、静脈内、腹腔内、非経口、筋肉内、経口、または気道を介して投与される。方法のいずれか、および前記の任意の態様では、化合物または抽出物は、局所投与される。方法のいずれか、および前記の任意の態様では、化合物または抽出物は、非経口的に、例えば、注射によって投与される。

40

【0246】

本明細書に記載される化合物または抽出物は、例えば、疾患または状態の局部部位で、局部投与されてもよい。本明細書に記載される化合物または抽出物は、例えば、疾患または状態の標的部位への、局部投与のために製剤化されてもよい。本明細書に記載される化合物または抽出物は、全身投与されてもよい。全身投与は、例えば、局所、静脈内、腹腔内、非経口、筋肉内、経口、または気道を介してであってもよい。本明細書に記載される

50

化合物または抽出物は、全身投与のために製剤化されてもよい。

【0247】

方法のいずれか、および前記の態様のいずれかでは、対象動物は、脊椎動物である。方法のいずれか、および前記の任意の態様では、対象は、哺乳動物である。方法のいずれか、および前記の任意の態様では、対象は、ヒトである。方法のいずれか、および前記の態様のいずれかでは、対象は、非ヒト動物、例えば、げっ歯動物、例えば、マウスである。

【0248】

一部の態様では、対象は、雌であってもよい。一部の態様では、対象は、雄であってもよい。対象は、以下の民族性／人種の1つとして特徴付けられてもよい：アジア人、黒人もしくはアフリカ系アメリカ人、ヒスパニックもしくはラテン系アメリカ人、白人、または多人種。対象は、1歳未満、または1～5歳、5～10歳、10～20歳、20～30歳、30～40歳、40～50歳、50～60歳、もしくは60歳超であってもよい。対象は、ウイルス感染に起因する重度の疾病のリスクの増加を引き起こすか、もしくは標準治療の処置が、ウイルス感染に起因する重度の疾病のリスクの増加を引き起こす状態を患っていてもよく、またはそれと診断されていてもよい。そのような状態には、例えば、がん、慢性腎臓疾患、慢性肺疾患（慢性閉塞性肺疾患（COPD）、喘息、間質性肺疾患、嚢胞性線維症、および肺高血圧症など）、認知症もしくは他の神経学的状態、1型もしくは2型糖尿病、ダウン症、心臓状態（心不全、冠動脈疾患、心筋症、または高血圧など）、免疫抑制状態、肝臓疾患、過体重（例えば、25またはそれよりも大きい肥満度指数を有する）、肥満（例えば、30またはそれよりも大きい肥満度指数を有する）、妊娠、鎌状赤血球症もしくはサラセミア、現在もしくは以前に喫煙者である、固形器官もしくは血液幹細胞移植を受けたことがある、脳卒中もしくは脳血管疾患、物質使用障害、同時ウイルス感染、例えば、HIV感染、SARS-CoV-2感染、インフルエンザ感染、もしくはMERSC感染、または重症の疾病のリスクを増加させるもしくは標準治療がウイルス感染に起因して重症の疾病のリスクの増加を引き起こすとして米国疾病管理予防センター（CDC）によって同定された任意の兆候が含まれる。

【0249】

方法のいずれか、および前記の任意の態様では、化合物または抽出物は、有効量で投与される。好適な有効量は、本明細書でより詳細に記載される。方法のいずれか、および前記の態様のいずれかでは、化合物または抽出物は、治療有効量で投与される。方法のいずれか、および前記の任意の態様では、投与するステップは、処置の経過に従って、化合物または抽出物の単回用量を投与することを含んでいてもよい（用量が有効量を含有し得る場合）。方法のいずれか、および前記の任意の態様では、投与するステップは、処置の経過に従って、化合物または抽出物の2以上の用量を投与することを含んでいてもよい（1または複数の用量が有効量を含有し得る場合）。処置の経過の間に投与されるそれぞれの用量における化合物または抽出物の量は、同じである必要はない。例えば、投与するステップは、処置の経過の間に、少なくとも1つの負荷用量、および少なくとも1つの維持用量を投与することを含んでいてもよい。投与は、本明細書でより詳細に記載される。

【0250】

化合物は、予防的処置として投与されてもよい。化合物は、化粧品的または治療的処置として投与されてもよい。

【0251】

本明細書に開示される化合物は、さまざまな適用、例えば、化粧品および／または治療適用において使用され得る。化合物は、意図される使用、例えば、化粧品または治療適用のための有効量で投与されてもよい。一部の実施形態では、組成物は、所望の化粧品効果を有するのに十分な化合物の濃度または量、例えば、有効量を含んでいてもよい。一部の実施形態では、組成物は、所望の治療効果を有するのに十分な化合物の濃度または量、例えば、有効量を含んでいてもよい。

【0252】

投与の量および／または頻度は、ミトコンドリアバイオジェネシスを誘導するのに十分

10

20

30

40

50

であってもよい。投与の量および／または頻度は、ミトコンドリア機能障害、ミトコンドリア機能障害に関連する疾患もしくは状態、またはその症状、ミトコンドリア機能障害に関連する加齢関連慢性状態、またはその症状、および／あるいはエネルギーレベルまたはバイタリティーの減少の少なくとも1つの進行を処置、阻害、または予防するのに十分であってもよい。投与の量および／または頻度は、対象または臨床採点者によって採点されるように、定性的スケールにおけるパラメーターのスコアを修正するのに十分であってもよい。定性的スケールは、以下のカテゴリー：なし（最良の可能性がある状態）、軽度、中等度、重度（最悪の可能性がある状態）を含み得る。定性的スケールは、把握されたまたは実際のエネルギーレベルおよび／またはバイタリティーを指していてもよい。

【0253】

一部の態様では、有効量の化合物を投与することで、ミトコンドリア機能障害、ミトコンドリア機能障害に関連する疾患もしくは状態、またはその症状、ミトコンドリア機能障害に関連する加齢関連慢性状態、またはその症状、および／あるいはエネルギーレベルまたはバイタリティーの減少の少なくとも1つの進行が制限または阻害されてもよい。例えば、有効量の化合物は、ミトコンドリア機能障害、ミトコンドリア機能障害に関連する疾患もしくは状態、またはその症状、ミトコンドリア機能障害に関連する加齢関連慢性状態、またはその症状、および／あるいはエネルギーレベルまたはバイタリティーの減少の少なくとも1つの進行を遅くしてもよい。一部の実施形態では、有効量の化合物を投与することで、ミトコンドリアバイオジェネシス、ミトコンドリア機能、および／またはエネルギーレベルもしくはバイタリティーの増加が促進されてもよい。

【0254】

一部の態様では、有効量の化合物を投与することで、PGC-1 α 、TFAM、NRF-1、およびCOX IIから選択される少なくとも1つのタンパク質の発現を増加させ得る。有効量を投与することで、FGF-21およびIL-6から選択される少なくとも1つのタンパク質、またはウイルス感染に関連する任意のサイトカインの発現を減少させ得るか、またはその発現の増加を阻害し得る。有効量を投与することで、SARS-CoV-2に感染した対象におけるATP関連呼吸、最大呼吸および予備容量の少なくとも1つを増加させ得るか、またはその減少を阻害し得る。有効量を投与することで、1つまたは複数の宿主ミトコンドリア遺伝子、例えば、MRPS2、MRPS5、MRPS25、MRPS27、NDUFAF1、NDUFB9、NDUFAF2、ATP1B1、ATP6V1A、ACADM、AASS、PMPCB、PITRM1、COQ8B、PMPCA、およびTom70とのウイルスタンパク質の相互作用をモジュレートし得る、例えば、それを増加させ得るか、またはそれを減少させ得る。有効量を投与することで、ACE2の発現を増加させ得る。

【0255】

化合物または組成物の量は、対象における卵巣疾患または状態を処置または予防するのに有効であり得る。組成物の量は、妊孕性を改善もしくは増強する、および／または生殖寿命を延長するのに有効であり得る。ある特定の実施形態では、有効量を投与することで、例えば、治療有効量または化粧有効量を投与することで、ミトコンドリアバイオジェネシスを誘導し、および／またはミトコンドリア機能を改善し得る。例えば、一部の実施形態では、有効量を投与することで、卵母細胞のミトコンドリア質量を増加させ、または卵母細胞のミトコンドリア質量の減少を予防し得る。

【0256】

一部の態様では、化合物は、対象における疾患または状態の開始前に投与されてもよい。化合物は、対象における疾患または状態の発生の間に投与されてもよい。化合物は、対象における疾患または状態の少なくとも部分的な低減後に投与されてもよい。

【0257】

化合物は、卵巣疾患または状態の引き金または前兆、例えば、延長されたもしくは不規則な月経周期、排卵事象の減少、および／または月経痙攣もしくは月経痛に応答して投与されてもよい。

【0258】

化合物は、ミトコンドリア機能障害または加齢関連状態、例えば、老化、早期老化、習慣的な睡眠状態、体重減少、紫外（UV）光曝露、化学剤もしくは治療剤、例えば、化学療法および／または放射線療法による処置、喫煙、脱水、または浸漬の引き金、あるいはその兆候の警告に応答して投与されてもよい。対象は、例えば、年齢、民族、皮膚の種類、眼の色、習慣、または遺伝に基づく、ミトコンドリア機能障害の状態に対する素因があってもよい。

【0259】

方法は、対象が処置または投与を必要とするかどうかを決定することをさらに含んでいてもよい。

10

【0260】

化合物を含む組成物は、保湿剤、消臭剤、香料、着色料、昆虫忌避剤、洗浄剤、またはUV遮断剤を追加で含んでいてもよい。組成物は、ミクロスフェアまたはマイクロカプセルを含んでいてもよい。

【0261】

組成物は、即時放出または持続放出のために製剤化されていてもよい。組成物は、制御放出または徐放のために製剤化されていてもよい。例えば、組成物は、6時間、12時間、18時間、24時間、36時間、48時間、またはそれよりも長い期間にわたる徐放のために製剤化されていてもよい。

【0262】

20

対象は、正常なミトコンドリア機能を有するとして特徴付けられてもよい。対象は、ミトコンドリア機能の低減を有するとして特徴付けられてもよい。対象は、循環mtDNA、例えば、血漿mtDNAおよび／または細胞質mtDNAのレベルの増加を有するとして特徴付けられてもよい。

【0263】

対象は、加齢関連の妊孕性の低減、不妊症、および／または卵巣老化によって特徴付けられてもよい。例えば、一部の実施形態では、対象またはレシピエント対象は、40歳またはそれよりも上である。

【0264】

対象は、早期老化または早期老化の症状を経験しているとして特徴付けられてもよい。例えば、対象は、早期生殖老化を経験しているとして特徴付けられてもよく、これには、原発性卵巣機能不全（POI）、早発性の延長されたもしくは不規則な月経周期、早発性の排卵事象の減少、早発閉経もしくは閉経周辺期、および／または早期生殖老化に関連する卵巣炎症の1つまたは複数が含まれ得る。そのような実施形態では、対象は、40歳未満であってもよい。

30

【0265】

一部の実施形態では、対象は、減少した卵巣予備能（DOR）を有していてもよい。他の実施形態では、対象は、正常な卵巣予備能（NOR）を有していてもよい。

【0266】

対象は、閉経期前、閉経周辺期、または閉経後であってもよい。

40

【0267】

対象は、生殖ホルモン、例えば、エストロゲンおよび／もしくはプロゲステロンの産生の低減、卵胞刺激ホルモン（FSH）の産生の増加、延長されたもしくは不規則な月経周期、子宮もしくは膣の萎縮、例えば、子宮内膜腺の減少、子宮の散在性性腺破綻（アポトースス小体）、子宮の急性炎症、および／もしくは膣上皮の厚さの減少、排卵事象の減少、卵巣炎症、ならびに／または不妊症を患い得る。

【0268】

対象は、機能障害性卵胞形成、例えば、卵胞枯渇または卵胞機能不全によって特徴付けられ得る。例えば、対象は、三次卵胞数、例えば、早期胞状、胞状、および／もしくは排卵前の卵胞数の減少、ならびに／または黄体（CL）卵胞数の減少を有し得る。

50

【0269】

対象は、卵巣におけるエストロゲン受容体（ER） α および β の下方調節、ESR1もしくはESR2遺伝子発現の低減、miR-206-3p RNA発現の増加、17 β -エストラジオール（E2）の卵巣産生の低減、ならびに／または脂質を持った卵巣間質細胞の増加によって特徴付けられ得る。

【0270】

対象は、抗ミュー管ホルモン（AMH）レベルの低減、例えば、約80 ng/mL未満、卵巣刺激ホルモン（FHL）レベルの増加、例えば、約10 IU/L超、エストラジオールレベルの増加、および／または胞状卵胞数（AFC）の低減、例えば、約5～7個未満の総卵胞によって特徴付けられてもよい。

10

【0271】

ある特定の実施形態では、対象は、肥満、糖尿病、慢性炎症、高血糖、自己免疫疾患、ならびに／または貧弱な生活様式の要因、例えば、喫煙、アルコール使用、薬物使用、化学物質（例えば、ビスフェノールA、終末糖化産物（AGE））および／もしくは放射線への曝露、栄養不足、例えば、焦げた食物の摂取の増加、飽和脂肪の摂取の増加、および／もしくは果物および野菜の摂取の低減、および／もしくは運動の低減の1つまたは複数を持っていると特徴付けられ得る。

【0272】

ある特定の実施形態では、対象は、体外受精（IVF）を受けていてもよい。ある特定の実施形態では、対象は、成功または不成功で、以前にIVFを試みていてもよい。対象は、IVFに対する不十分な応答者であってもよい。他の実施形態では、対象は、IVFに対する正常な応答者であってもよい。

20

【0273】

対象は、胚またはレシピエント卵母細胞を形成するために受精される卵母細胞においてミトコンドリアDNA変異を有していてもよい。変異は、体細胞性であっても遺伝性であってもよい。ある特定の実施形態では、変異は、例えば、T414G横断変異であり得る。

【0274】

対象は、胚を形成するために受精される卵母細胞におけるミトコンドリアDNA（mtDNA）のレベルの減少によって特徴付けられてもよい。対象は、卵母細胞品質の低減、例えば、染色体誤整列および／もしくは紡錘体形成異常によって特徴付けられてもよい。

30

【0275】

対象は、マイトフュージン（Mfn1）遺伝子の異常、動的関連タンパク質1（Drp1）遺伝子の異常、カゼイン分解ペプチダーゼP（Clpp）遺伝子の異常、成長分化因子9（GDF9）遺伝子の異常、脆弱X精神遅滞1（FMR1）遺伝子の異常、転写因子A（TFAM）遺伝子の異常、ミトコンドリアDNAポリメラーゼガンマ（PolgA）遺伝子の異常、ミトコンドリア内膜ペプチダーゼ（IMP）遺伝子の異常、および／またはミトコンドリアABCトランスポーター（MDR-1）遺伝子の異常によって特徴付けられ得る。対象は、PPAR γ 、PGC-1a、PGC-1b、ERR、NRF-1、NRF-2、SIRT1、SIRT3、SIRT4、および／またはSIRT5の遺伝子発現の減少によって特徴付けられ得る。対象は、AMP活性化プロテインキナーゼ（AMPK）および／もしくはPTEN誘導キナーゼ1（PINK1）タンパク質発現の減少、ならびに／またはラパマイシンの哺乳動物標的（mTOR）タンパク質発現の増加によって特徴付けられ得る。

40

【0276】

対象は、スーパーオキシドジスムターゼ（SOD）の遺伝子発現の減少および／またはAldh3A2酵素のレベルの増加によって特徴付けられてもよい。対象は、Prdx3、Prdx4、および／またはTxn2酵素のmRNA発現の減少によって特徴付けられてもよい。

【0277】

50

一部の実施形態では、対象は、神経学的状態によって特徴付けられ得る。一部の実施形態では、対象は、ターナー症候群、ガラクトース血症、および／または脆弱X症候群を患い得る。一部の実施形態では、対象は、進行性外眼筋麻痺（POE）、てんかんを伴う脊髄小脳失調症（SCAE）、および／またはミトコンドリア脳筋症、乳酸アシドーシス、ならびに脳卒中様発作（MELAS）によって特徴付けられ得る。

【0278】

ある特定の実施形態では、対象は、以下の1つまたは複数によって特徴付けられてもよい：皮膚における炎症表現型、ミトコンドリアタンパク質発現の変化、ミトコンドリア酸化的リン酸化複合体の発現の低減、ミトコンドリア酸化的リン酸化複合体の安定性の低減、皮膚のコラーゲン含量の減少、表皮の厚さの増加、表皮過形成の増加、表皮肥厚、過角化、NF- κ B、COX-2、INF- β 1、CCL5、MMP1、MMP2、MMP9、MMP13、IGF1R、VEGF、およびMRPS5からなる群から選択される少なくとも1つの遺伝子の発現の増加、TIMP1、KLOTHO、COL1A1、MTCO2、TFAM、およびVDACからなる群（the ground）から選択される遺伝子の少なくとも1つの発現の減少、ならびに皮膚における炎症性浸潤物の増加。対象は、PGC-1 α 、TFAM、NRF-1、およびCOXIIから選択される少なくとも1つのタンパク質の発現の減少を有するとして特徴付けられてもよい。

10

【0279】

一部の態様では、方法は、第2の量の化合物を対象に投与することをさらに含んでもよい。第2の量は、同じ製剤の第2の用量として投与されてもよい。第2の量は、別の製剤で投与されてもよい。第2の量は、同じ投与の経路によって、別の製剤で、例えば、局所液剤または油剤が、シャンプー剤、コンディショナー剤、スプレー剤、クリーム剤、ゲル剤、ボディウォッシュ、石鹸、またはローション剤とともに投与されてもよい。第2の量は、別の投与の経路によって投与されてもよく、例えば、それぞれの量は、独立して、局所、非経口、または経腸投与されてもよい。

20

【0280】

一部の態様では、方法は、第2の化合物を対象に投与することをさらに含んでもよい。第2の化合物は、同じ抽出物の成分である化合物であってもよい。第2の化合物は、別の抽出物の成分である化合物であってもよい。第2の化合物は、第1の化合物と少なくとも95%の類似性スコアを有する化合物であってもよい。第2の化合物は、同じ製剤で投与されてもよい。第2の化合物は、別の製剤で投与されてもよい。

30

【0281】

化合物は、併用療法の一部として投与されてもよい。方法は、化合物と組み合わせて第2の処置を投与することを含んでもよい。化合物は、第2の処置を開始する前の期間に投与されてもよい。化合物は、第2の処置と併せて投与されてもよい。化合物は、第2の処置を停止した後の期間に投与されてもよい。第2の処置は、代替の投与の方式を介して投与されてもよい。第2の処置は、化粧品的小および／または治療的処置であってもよい。

【0282】

化合物は、疾患もしくは状態、またはその症状を処置するために承認されているか、あるいはそれを処置するために通常使用される、第2の薬剤、例えば、化粧品または治療剤と組み合わせて投与されてもよい。

40

【0283】

化合物は、妊孕性を改善するための標準治療の処置と組み合わせて投与されてもよい。例えば、化合物は、クロミフェン、タモキシフェン、レトロゾール、メトホルミン、ゴナドトロピン、ゴナドトロピン放出ホルモン、ドーパミンアゴニスト、および他のホルモン処置の1つまたは複数を組み合わせて投与され得る。

【0284】

化合物は、卵巣疾患または状態を処置するための標準治療の処置と組み合わせて投与されてもよい。例えば、化合物は、ホルモン療法、例えば、エストロゲン、プロゲステロン

50

、テストステロン、またはその合形成態、選択的セロトニン再取り込み阻害剤（SSRI）、ガバペンチン、クロニジン、ホルモンによる避妊、ゴナドトロピン放出ホルモン（GnRH）アゴニストまたはアンタゴニスト、熱療法、痛み緩和、非ステロイド性抗炎症薬（NSAID）、例えば、イブプロフェンまたは他の鎮痛薬、スピロノラクトン、エフロルニチン、電気分解術、化学療法、放射線療法、手術、例えば、子宮摘出術、両側卵管卵巣摘除術、および減量手術、ならびに生活様式の変化、例えば、体重減少、栄養の改善、および身体活動の増加の1つまたは複数と組み合わせて投与され得る。

【0285】

化合物は、カフェイン、ビタミンB（例えば、B1、B2、B3、B5、B6、B8、B9および／またはB12）、ビタミンC、ビタミンD、鉄、マグネシウム、および／または亜鉛と組み合わせて投与されてもよい。

10

【0286】

化合物は、UV遮断剤、保湿剤、日焼け止め、しわクリーム、レチノイド、アルファーヒドロキシ酸、ベーターヒドロキシ酸、スクアレン、抗酸化剤、トレチノイン、グリコサミノグリカン（GAG）、乳酸、リンゴ酸、クエン酸、酒石酸、ハイドロキノン、コウジ酸、L-アスコルビン酸、甘草抽出物、N-アセチルグルコサミン、ナイアシンアミド、大豆、皮膚フィラーもしくは注射薬、例えば、ヒアルロン酸もしくはカルシウムヒドロキシルアパタイト、ボツリヌス毒素、レーザーリサーフェッシング手順、超音波療法、ケミカルピーリング、例えば、グリコール酸ピーリング、トリクロロ酢酸もしくはサリチル酸、または皮膚剥離手順と組み合わせて投与されてもよい。

20

【0287】

化合物は、外科的手順、例えば、卵管手術、嚢胞もしくは粘膜下筋腫を除去もしくは破壊するための腹腔鏡手術、または腹腔鏡下卵巣多孔術と組み合わせて投与されてもよい。

【0288】

化合物は、抗酸化剤と組み合わせて投与されてもよい。例示的な抗酸化剤としては、CoQ10、ビタミンC、ビタミンE、カロテノイド、例えば、ベーターカロテン、ミネラル、例えば、セレンおよびマンガン、グルタチオン、リポ酸、フラボノイド、ベータフラビノイド、フェノール、ポリフェノール、植物エストロゲン、メシル酸ミトキノール、ならびにユビキノンが挙げられる。

【0289】

fucus化合物は、emblica抽出物、またはemblica抽出物の化合物成分と組み合わせて投与されてもよい。fucus化合物は、chebula抽出物、またはchebula抽出物の化合物成分と組み合わせて投与されてもよい。emblica化合物は、fucus抽出物、またはfucus抽出物の化合物成分とともに投与されてもよい。emblica化合物は、chebula抽出物、またはchebula抽出物の化合物成分とともに投与されてもよい。ある特定の実施形態に従って、emblica化合物、fucus化合物、およびchebula化合物の2つまたはそれよりも多くの組合せは、疾患または状態の処置において相乗効果を提供し得る。

30

【0290】

1つまたは複数の実施形態に従って、有効量の化合物は、対象の顔に投与されてもよい。1つまたは複数の実施形態に従って、化合物は、対象の頭皮に投与されてもよい。1つまたは複数の実施形態に従って、化合物は、対象の身体に投与されてもよい。例えば、化合物は、対象の顔、眼領域、首、頭皮、頭部、肩、腕、手、脚、脇の下、胴体、胸、足、膝、足首、背中、臀部、または生殖器の1つまたは複数に（to one or more of the more of）適用されてもよい。

40

【0291】

1つまたは複数の実施形態に従って、有効量の化合物は、経腸または非経口投与されてもよい。

【0292】

in vitro処置方法、例えば、体外受精（in vitro fertiliz

50

a t i o n : I V F)

ある特定の実施形態に従って、対象は、体外受精（I V F）を受けていてもよい。対象は、成功または不成功で、以前にI V Fを試みていてもよい。対象は、I V Fに対する不十分な応答者であってもよい。他の実施形態では、対象は、I V Fに対する正常な応答者であってもよい。

【 0 2 9 3 】

I V Fの間に、卵母細胞は、典型的には、対象の卵巣から回収され、i n v i t r oで活発な運動精子と共に置かれて、1つまたは複数の胚が生成される。生存能力がある胚は、対象または代理母の子宮に移植するために選択され得る。さらなる生存能力がある胚は、将来の移植のために保存されてもよい。本明細書に開示される方法は、胚発生を改善すること、または胚の受精率を改善することを含み得る。

10

【 0 2 9 4 】

そのため、一部の実施形態では、胚は、I V Fによって生成されてもよい。方法は、胚のミトコンドリア含量を測定すること、および所定範囲内であるミトコンドリア含量の測定値に応答する胚を選択することを含んでいてもよい。所定範囲は、健康な範囲、例えば、正常な卵巣予備能（N O R）および妊孕性に関連する範囲に対応していてもよい。

【 0 2 9 5 】

方法は、本明細書に開示される組成物を対象または胚に投与することを含んでいてもよい。例えば、方法は、発生の際に、胚の培養培地に組成物を導入することによって、胚を処置することを含んでいてもよい。組成物は、胚発生または受精率を改善するのに有効な量で導入されてもよい。方法は、組成物と組み合わせて、培養培地に抗酸化剤を導入することを含んでいてもよい。

20

【 0 2 9 6 】

ある特定の実施形態では、方法は、卵細胞質をドナー卵母細胞から受精される対象のレシピエント卵母細胞に移植して、胚を形成することを含んでいてもよい。一般に、ドナー卵母細胞は、対象のレシピエント卵母細胞よりも高いミトコンドリアDNA（m t D N A）含量を有していてもよい。ドナー卵母細胞は、自家であってもよい。ドナー卵母細胞は、同種であってもよい。ドナー卵母細胞は、異種であってもよい。そのような実施形態では、組成物は、ドナー対象、レシピエント対象、および／または胚に投与されてもよい。

【 0 2 9 7 】

対象は、胚を形成するために受精される卵母細胞においてミトコンドリアDNA変異を有していてもよい。変異は、体細胞性または遺伝性であってもよい。ある特定の実施形態では、変異は、例えば、T 4 1 4 G横断変異であってもよい。一部の実施形態では、対象は、胚を形成するために受精される卵母細胞におけるミトコンドリアDNA（m t D N A）のレベルの減少によって特徴付けられてもよい。対象は、卵母細胞品質の低減、例えば、染色体誤整列および／もしくは紡錘体形成異常によって特徴付けられてもよい。

30

【 0 2 9 8 】

一部の実施形態では、卵細胞質移植は、完全移植であってもよい。他の実施形態では、卵細胞質移植は、部分的であってもよい。部分的卵細胞質移植は、電気融合または直接卵細胞質注入によってであってもよい。

40

【 0 2 9 9 】

卵細胞質移植は、いくつかの方法の1つによって行われ得る。一部の実施形態では、卵細胞質移植は、改変卵細胞質内精子注入法（I C S I）によって行われてもよい。一部の実施形態では、卵細胞質移植は、卵母細胞に対する自律的生殖系列ミトコンドリアエネルギー移動（A U G M E N T）によって行われてもよい。卵細胞質移植は、核ゲノム移植、例えば、卵母細胞紡錘体移植、卵核胞（G V）移植、前核移植（P N T）、または極体核移植（P B N T）によって行われてもよい。

【 0 3 0 0 】

一部の実施形態では、方法は、受精される対象の卵母細胞のミトコンドリアDNA（m t D N A）に対してC R I S P R／C a s 9遺伝子編集技術を使用して、胚を形成する

50

ことを含んでいてもよい。卵細胞質移植を含む実施形態では、方法は、ドナー卵母細胞またはレシピエント卵母細胞のmtDNAに対してCRISPR/Cas 9遺伝子編集技術を使用することを含んでいてもよい。

【0301】

一部の実施形態では、方法は、受精される対象の卵母細胞に幹細胞作製ミトコンドリアDNA (mtDNA) を導入して、胚を形成することを含んでいてもよい。そのため、ある特定の実施形態では、mtDNA移植は、ドナー卵母細胞なしで生じ得る。

【0302】

そのため、別の態様に従って、治療剤としてmtDNAを含む調製物が提供される。調製物は、治療的に許容される担体中に有効量のドナーmtDNAを含んでいてもよい。mtDNAは、CRISPR/Cas 9によって編集されてもよい。mtDNAは、幹細胞が作成するものであってもよい。mtDNAは、完全卵細胞質移植または部分的卵細胞質移植の形態であってもよい。

【0303】

mtDNAを含む調製物を含むキットも開示される。キットは、本開示の化合物、またはその薬学的に許容される形態を追加で含んでいてもよい。

【0304】

投薬量および投与

方法に従って、本開示の化合物は、有効量で対象に（または対象の細胞に接触して）投与されてもよい。

【0305】

ある特定の実施形態では、本開示の化合物の治療有効量は、約0.05mg/kg/日～約50mg/kg/日の範囲である。ある特定の実施形態では、有効量は、約0.05mg/kg/日～約40mg/kg/日の範囲である。ある特定の実施形態では、有効量は、約0.05mg/kg/日～約30mg/kg/日の範囲である。ある特定の実施形態では、有効量は、約0.05mg/kg/日～約20mg/kg/日の範囲である。ある特定の実施形態では、有効量は、約0.05mg/kg/日～約10mg/kg/日の範囲である。ある特定の実施形態では、有効量は、約0.05mg/kg/日～約8mg/kg/日の範囲である。ある特定の実施形態では、有効量は、約0.05mg/kg/日～約6mg/kg/日の範囲である。ある特定の実施形態では、有効量は、約0.05mg/kg/日～約4mg/kg/日の範囲である。ある特定の実施形態では、有効量は、約0.05mg/kg/日～約3mg/kg/日の範囲である。ある特定の実施形態では、有効量は、約0.05mg/kg/日～約2mg/kg/日の範囲である。ある特定の実施形態では、有効量は、約0.05mg/kg/日～約1mg/kg/日の範囲である。ある特定の実施形態では、有効量は、約0.05mg/kg/日～約0.8mg/kg/日の範囲である。ある特定の実施形態では、有効量は、約0.05mg/kg/日～約0.6mg/kg/日の範囲である。ある特定の実施形態では、有効量は、約0.05mg/kg/日～約0.4mg/kg/日の範囲である。ある特定の実施形態では、上記に記載される1日あたりの量は、処置の経過に従って投与され、1日あたり単回用量または2以上の用量で投与されてもよい。上記に記載される1日あたりの量は、処置の経過に従って投与されてもよく、それぞれの日に1用量 (q. d.) または2用量 (b. i. d.) で投与されてもよく、ここで、それぞれの用量における本開示の化合物の量は、同じである必要はない。

【0306】

ある特定の実施形態では、それぞれの用量は、処置の経過に従って投与される。本明細書で使用される場合、「用量」という用語は、処置の経過に従って、所与の時点で投与される本開示の化合物の量を指す。例えば、本開示の化合物についての処置の経過が、b. i. d. (1日あたり2回/投与) で7日間である場合、1～7日目のそれぞれにおける2回の投与は、本開示の化合物の用量 (それぞれの日に2用量) を投与することをそれぞれ含む。ある特定の実施形態では、用量は、処置の経過に従って、q. d. (1日あたり1

10

20

30

40

50

回／投与）で投与される。ある特定の実施形態では、用量は、処置の経過に従って、b．i．d．で投与される。ある特定の実施形態では、用量は、処置の経過に従って、t．i．d．（1日あたり3回／投与）で投与される。

【0307】

2またはそれよりも多くの用量が、処置の経過に従って、所与の日に投与される場合、処置の経過に従って投与されるそれぞれの用量は、同じ量の本開示の化合物を含有していてもよく、または処置の経過に従って投与される1もしくは複数の用量は、処置の経過に従って投与される別の用量と比較して、より多いまたはより少ない量の本開示の化合物を含有していてもよい。例えば、本開示の化合物についての処置の経過が、b．i．d．で7日間である場合、1日目に投与される第1の用量は、第1の量（すなわち、2mg／kg）を含有していてもよく、1日目に投与される第2の用量は、第2の量（すなわち、0.5mg／kg）を含有していてもよい。別の例として、本開示の化合物についての処置の経過が、b．i．d．で7日間である場合、1日目に投与される第1の用量は、第1の量（すなわち、2mg／kg）を含有していてもよく、1日目に投与される第2の用量は、第2の量（すなわち、0.5mg／kg）を含有していてもよく、2～4日目のそれぞれに投与される2用量は、第2の量を含有していてもよく、5～7日目のそれぞれに投与される2用量は、第3の量（すなわち、1mg／kg）を含有していてもよい。

10

【0308】

用量は、下位用量にさらに分割されていてもよい。任意の所与の用量は、単一の単位剤形または2以上の単位剤形で送達されてもよい。例えば、IV投与によって与えられる場合の用量は、単回IV注入（すなわち、単回の5mg／kgのIV注入）として、または順に投与される2回もしくはそれよりも多くのIV注入（すなわち、2回の2.5mg／kgのIV注入）として提供されてもよい。さらに、下位用量は、例えば、別個の大まかな間隔をおいた投与の数、例えば、吸入器からの複数回の吸入、眼への複数の滴の適用によって、または経口投与のための複数の錠剤であってよい。

20

【0309】

ある特定の実施形態では、2以上の用量の本開示の化合物は、処置の経過の間に投与される。したがって、本明細書に記載される方法では、方法は、処置の経過の間に、複数用量の投与を含んでいてもよい。ある特定の実施形態では、処置の経過は、数か月～数年の範囲であってもよい。ある特定の実施形態では、処置の経過は、2日～1か月、2日～3週間、2日～2週間、または2日～1週間の範囲であってもよい。ある特定の実施形態では、処置の経過は、1年～20年またはそれよりも長い範囲であってもよい。ある特定の実施形態では、用量は、処置の経過の間、1日あたり少なくとも1回（すなわち、1～3回）送達される。ある特定の実施形態では、用量は、処置の経過の間、毎日投与されない（例えば、用量は、処置の経過の間、1日おきに、3日ごとに、毎週、または毎月、1日あたり少なくとも1回（1 timer）投与されるべきである）。さらにまた、それぞれの用量における本開示の化合物の量は、上記に考察されたように、同じである必要はない。ある特定の実施形態では、前記のうち、1もしくは複数の用量、または用量のすべてが、有効量の本開示の化合物を含有する。

30

【0310】

一実施形態では、処置の経過は、負荷用量として少なくとも1用量、および維持用量として少なくとも1用量を投与することを含んでいてもよく、ここで、負荷用量は、維持用量と比較して、より多くの量の本開示の化合物を含有する（例えば、限定されるものではないが、2～10倍高い）。この実施形態の一態様では、負荷用量は、単回投与または2以上の投与のいずれかとして、最初に投与され、それに続いて処置の残りの経過を通して、1または複数の維持用量が投与される。例えば、q．d．で10年間毎週の処置の経過について、3mg／kgの負荷用量が、処置の経過の1週目に第1の用量として投与され、それに続いて処置の残りの経過の間、毎週、0.5mg／kgの維持用量が投与されてもよい。さらにまた、負荷用量は、処置の経過の間に投与される第1の用量ではない用量として与えられてもよい。例えば、負荷用量は、週における第1の用量として、および1

40

50

または複数の追加の週（例えば、10および20週目）における用量として投与されてもよい。

【0311】

一実施形態では、処置の経過は、第1の組成物に製剤化された第1の用量を投与すること、および第2の組成物に製剤化された少なくとも1つの第2のまたはその後の用量を投与することを含んでいてもよい。第1の組成物および第2の組成物は、同じ製剤であってもよい。第1の組成物および第2の組成物は、異なる製剤であってもよい。

【0312】

医薬品、化粧品、および／または食物組成物

ある量、例えば、有効量の本開示の化合物を含む医薬組成物が提供される。一実施形態では、そのような医薬組成物は、治療有効量の本開示の化合物を含有する。加えて、他の活性薬剤が、そのような医薬組成物に含まれていてもよい。含まれる追加の活性薬剤は、処置される疾患または状態に基づいて選択され得る。

10

【0313】

開示される医薬組成物は、1つまたは複数の本開示の化合物を、単独で、または追加の活性薬剤と組み合わせて、薬学的に許容される担体および／もしくは賦形剤と組み合わせて、ならびに／または化粧品的に許容される担体および／もしくは賦形剤と組み合わせて含んでいてもよい。そのような医薬組成物は、本明細書に記載される方法における使用のための医薬の製造において使用されてもよい。本開示の化合物は、遊離形態および薬学的に許容される形態、例えば、薬学的に許容される塩の両方において有用である。

20

【0314】

薬学的に許容される担体および／もしくは賦形剤、ならびに／または化粧品的に許容される担体および／もしくは賦形剤は、当業者に周知である。担体および／または賦形剤の選択は、一部分では、特定の化合物（複数可）によって、および化合物の組成物を投与するために使用される特定の方法によって、決定される。したがって、本開示の化合物の多種多様な好適な製剤が存在する。以下の方法および賦形剤は、単なる例示であって、決して限定するものではない。好適な担体および賦形剤としては、水、アルコール、およびポリエチレングリコールなどの溶媒、固体吸収剤および希釈剤、表面活性剤、懸濁化剤、打錠結合剤、滑沢剤、香料、ならびに着色剤が挙げられる。薬学的におよび／または化粧品的に許容される担体には、ポリマーおよびポリマーマトリックスが含まれ得る。許容される担体の例としては、数ある中でも、カルボキシメチルセルロース、結晶セルロース、グリセリン、アラビアガム、ラクトース、ステアリン酸マグネシウム、メチルセルロース、粉末、食塩水、アルギン酸ナトリウム、スクロース、デンプン、タルク、および水が挙げられる。典型的には、許容される担体は、組成物中の活性薬剤に対して化学的に不活性であり、使用の条件下で、有害な副作用または毒性を有さない。

30

【0315】

例えば、洗浄剤などの界面活性剤も、製剤における使用のために好適である。界面活性剤の具体例としては、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、酢酸ビニルおよびビニルピロリドンのコポリマー、ポリエチレングリコール、ベンジルアルコール、マンニトール、グリセロール、ソルビトール、またはソルビタンのポリオキシエチレン化エステル；レシチンもしくはカルボキシメチルセルロースナトリウム；またはアクリル誘導体、例えば、メタクリレートなど、非イオン性界面活性剤、例えば、アルカリ性ステアレート、特に、ステアリン酸ナトリウム、ステアリン酸カリウムもしくはステアリン酸アンモニウム；ステアリン酸カルシウムもしくはステアリン酸トリエタノールアミン；硫酸アルキル、特に、ラウリル硫酸ナトリウムおよびセチル硫酸ナトリウム；ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウムもしくはジオクチルスルホコハク酸ナトリウム；または脂肪酸、特に、ココナツ油に由来するもの、陽イオン性界面活性剤、例えば、式 $N^+R^1R^2R^3R^4$ 、 R^1, R^2, R^3, R^4 、 R^5, R^6, R^7, R^8 、 $R^9, R^{10}, R^{11}, R^{12}$ 、 $R^{13}, R^{14}, R^{15}, R^{16}$ 、 $R^{17}, R^{18}, R^{19}, R^{20}$ 、 $R^{21}, R^{22}, R^{23}, R^{24}$ 、 $R^{25}, R^{26}, R^{27}, R^{28}$ 、 $R^{29}, R^{30}, R^{31}, R^{32}$ 、 $R^{33}, R^{34}, R^{35}, R^{36}$ 、 $R^{37}, R^{38}, R^{39}, R^{40}$ 、 $R^{41}, R^{42}, R^{43}, R^{44}$ 、 $R^{45}, R^{46}, R^{47}, R^{48}$ 、 $R^{49}, R^{50}, R^{51}, R^{52}$ 、 $R^{53}, R^{54}, R^{55}, R^{56}$ 、 $R^{57}, R^{58}, R^{59}, R^{60}$ 、 $R^{61}, R^{62}, R^{63}, R^{64}$ 、 $R^{65}, R^{66}, R^{67}, R^{68}$ 、 $R^{69}, R^{70}, R^{71}, R^{72}$ 、 $R^{73}, R^{74}, R^{75}, R^{76}$ 、 $R^{77}, R^{78}, R^{79}, R^{80}$ 、 $R^{81}, R^{82}, R^{83}, R^{84}$ 、 $R^{85}, R^{86}, R^{87}, R^{88}$ 、 $R^{89}, R^{90}, R^{91}, R^{92}$ 、 $R^{93}, R^{94}, R^{95}, R^{96}$ 、 $R^{97}, R^{98}, R^{99}, R^{100}$ 、 $R^{101}, R^{102}, R^{103}, R^{104}$ 、 $R^{105}, R^{106}, R^{107}, R^{108}$ 、 $R^{109}, R^{110}, R^{111}, R^{112}$ 、 $R^{113}, R^{114}, R^{115}, R^{116}$ 、 $R^{117}, R^{118}, R^{119}, R^{120}$ 、 $R^{121}, R^{122}, R^{123}, R^{124}$ 、 $R^{125}, R^{126}, R^{127}, R^{128}$ 、 $R^{129}, R^{130}, R^{131}, R^{132}$ 、 $R^{133}, R^{134}, R^{135}, R^{136}$ 、 $R^{137}, R^{138}, R^{139}, R^{140}$ 、 $R^{141}, R^{142}, R^{143}, R^{144}$ 、 $R^{145}, R^{146}, R^{147}, R^{148}$ 、 $R^{149}, R^{150}, R^{151}, R^{152}$ 、 $R^{153}, R^{154}, R^{155}, R^{156}$ 、 $R^{157}, R^{158}, R^{159}, R^{160}$ 、 $R^{161}, R^{162}, R^{163}, R^{164}$ 、 $R^{165}, R^{166}, R^{167}, R^{168}$ 、 $R^{169}, R^{170}, R^{171}, R^{172}$ 、 $R^{173}, R^{174}, R^{175}, R^{176}$ 、 $R^{177}, R^{178}, R^{179}, R^{180}$ 、 $R^{181}, R^{182}, R^{183}, R^{184}$ 、 $R^{185}, R^{186}, R^{187}, R^{188}$ 、 $R^{189}, R^{190}, R^{191}, R^{192}$ 、 $R^{193}, R^{194}, R^{195}, R^{196}$ 、 $R^{197}, R^{198}, R^{199}, R^{200}$ 、 $R^{201}, R^{202}, R^{203}, R^{204}$ 、 $R^{205}, R^{206}, R^{207}, R^{208}$ 、 $R^{209}, R^{210}, R^{211}, R^{212}$ 、 $R^{213}, R^{214}, R^{215}, R^{216}$ 、 $R^{217}, R^{218}, R^{219}, R^{220}$ 、 $R^{221}, R^{222}, R^{223}, R^{224}$ 、 $R^{225}, R^{226}, R^{227}, R^{228}$ 、 $R^{229}, R^{230}, R^{231}, R^{232}$ 、 $R^{233}, R^{234}, R^{235}, R^{236}$ 、 $R^{237}, R^{238}, R^{239}, R^{240}$ 、 $R^{241}, R^{242}, R^{243}, R^{244}$ 、 $R^{245}, R^{246}, R^{247}, R^{248}$ 、 $R^{249}, R^{250}, R^{251}, R^{252}$ 、 $R^{253}, R^{254}, R^{255}, R^{256}$ 、 $R^{257}, R^{258}, R^{259}, R^{260}$ 、 $R^{261}, R^{262}, R^{263}, R^{264}$ 、 $R^{265}, R^{266}, R^{267}, R^{268}$ 、 $R^{269}, R^{270}, R^{271}, R^{272}$ 、 $R^{273}, R^{274}, R^{275}, R^{276}$ 、 $R^{277}, R^{278}, R^{279}, R^{280}$ 、 $R^{281}, R^{282}, R^{283}, R^{284}$ 、 $R^{285}, R^{286}, R^{287}, R^{288}$ 、 $R^{289}, R^{290}, R^{291}, R^{292}$ 、 $R^{293}, R^{294}, R^{295}, R^{296}$ 、 $R^{297}, R^{298}, R^{299}, R^{300}$ 、 $R^{301}, R^{302}, R^{303}, R^{304}$ 、 $R^{305}, R^{306}, R^{307}, R^{308}$ 、 $R^{309}, R^{310}, R^{311}, R^{312}$ 、 $R^{313}, R^{314}, R^{315}, R^{316}$ 、 $R^{317}, R^{318}, R^{319}, R^{320}$ 、 $R^{321}, R^{322}, R^{323}, R^{324}$ 、 $R^{325}, R^{326}, R^{327}, R^{328}$ 、 $R^{329}, R^{330}, R^{331}, R^{332}$ 、 $R^{333}, R^{334}, R^{335}, R^{336}$ 、 $R^{337}, R^{338}, R^{339}, R^{340}$ 、 $R^{341}, R^{342}, R^{343}, R^{344}$ 、 $R^{345}, R^{346}, R^{347}, R^{348}$ 、 $R^{349}, R^{350}, R^{351}, R^{352}$ 、 $R^{353}, R^{354}, R^{355}, R^{356}$ 、 $R^{357}, R^{358}, R^{359}, R^{360}$ 、 $R^{361}, R^{362}, R^{363}, R^{364}$ 、 $R^{365}, R^{366}, R^{367}, R^{368}$ 、 $R^{369}, R^{370}, R^{371}, R^{372}$ 、 $R^{373}, R^{374}, R^{375}, R^{376}$ 、 $R^{377}, R^{378}, R^{379}, R^{380}$ 、 $R^{381}, R^{382}, R^{383}, R^{384}$ 、 $R^{385}, R^{386}, R^{387}, R^{388}$ 、 $R^{389}, R^{390}, R^{391}, R^{392}$ 、 $R^{393}, R^{394}, R^{395}, R^{396}$ 、 $R^{397}, R^{398}, R^{399}, R^{400}$ 、 $R^{401}, R^{402}, R^{403}, R^{404}$ 、 $R^{405}, R^{406}, R^{407}, R^{408}$ 、 $R^{409}, R^{410}, R^{411}, R^{412}$ 、 $R^{413}, R^{414}, R^{415}, R^{416}$ 、 $R^{417}, R^{418}, R^{419}, R^{420}$ 、 $R^{421}, R^{422}, R^{423}, R^{424}$ 、 $R^{425}, R^{426}, R^{427}, R^{428}$ 、 $R^{429}, R^{430}, R^{431}, R^{432}$ 、 $R^{433}, R^{434}, R^{435}, R^{436}$ 、 $R^{437}, R^{438}, R^{439}, R^{440}$ 、 $R^{441}, R^{442}, R^{443}, R^{444}$ 、 $R^{445}, R^{446}, R^{447}, R^{448}$ 、 $R^{449}, R^{450}, R^{451}, R^{452}$ 、 $R^{453}, R^{454}, R^{455}, R^{456}$ 、 $R^{457}, R^{458}, R^{459}, R^{460}$ 、 $R^{461}, R^{462}, R^{463}, R^{464}$ 、 $R^{465}, R^{466}, R^{467}, R^{468}$ 、 $R^{469}, R^{470}, R^{471}, R^{472}$ 、 $R^{473}, R^{474}, R^{475}, R^{476}$ 、 $R^{477}, R^{478}, R^{479}, R^{480}$ 、 $R^{481}, R^{482}, R^{483}, R^{484}$ 、 $R^{485}, R^{486}, R^{487}, R^{488}$ 、 $R^{489}, R^{490}, R^{491}, R^{492}$ 、 $R^{493}, R^{494}, R^{495}, R^{496}$ 、 $R^{497}, R^{498}, R^{499}, R^{500}$ 、 $R^{501}, R^{502}, R^{503}, R^{504}$ 、 $R^{505}, R^{506}, R^{507}, R^{508}$ 、 $R^{509}, R^{510}, R^{511}, R^{512}$ 、 $R^{513}, R^{514}, R^{515}, R^{516}$ 、 $R^{517}, R^{518}, R^{519}, R^{520}$ 、 $R^{521}, R^{522}, R^{523}, R^{524}$ 、 $R^{525}, R^{526}, R^{527}, R^{528}$ 、 $R^{529}, R^{530}, R^{531}, R^{532}$ 、 $R^{533}, R^{534}, R^{535}, R^{536}$ 、 $R^{537}, R^{538}, R^{539}, R^{540}$ 、 $R^{541}, R^{542}, R^{543}, R^{544}$ 、 $R^{545}, R^{546}, R^{547}, R^{548}$ 、 $R^{549}, R^{550}, R^{551}, R^{552}$ 、 $R^{553}, R^{554}, R^{555}, R^{556}$ 、 $R^{557}, R^{558}, R^{559}, R^{560}$ 、 $R^{561}, R^{562}, R^{563}, R^{564}$ 、 $R^{565}, R^{566}, R^{567}, R^{568}$ 、 $R^{569}, R^{570}, R^{571}, R^{572}$ 、 $R^{573}, R^{574}, R^{575}, R^{576}$ 、 $R^{577}, R^{578}, R^{579}, R^{580}$ 、 $R^{581}, R^{582}, R^{583}, R^{584}$ 、 $R^{585}, R^{586}, R^{587}, R^{588}$ 、 $R^{589}, R^{590}, R^{591}, R^{592}$ 、 $R^{593}, R^{594}, R^{595}, R^{596}$ 、 $R^{597}, R^{598}, R^{599}, R^{600}$ 、 $R^{601}, R^{602}, R^{603}, R^{604}$ 、 $R^{605}, R^{606}, R^{607}, R^{608}$ 、 $R^{609}, R^{610}, R^{611}, R^{612}$ 、 $R^{613}, R^{614}, R^{615}, R^{616}$ 、 $R^{617}, R^{618}, R^{619}, R^{620}$ 、 $R^{621}, R^{622}, R^{623}, R^{624}$ 、 $R^{625}, R^{626}, R^{627}, R^{628}$ 、 $R^{629}, R^{630}, R^{631}, R^{632}$ 、 $R^{633}, R^{634}, R^{635}, R^{636}$ 、 $R^{637}, R^{638}, R^{639}, R^{640}$ 、 $R^{641}, R^{642}, R^{643}, R^{644}$ 、 $R^{645}, R^{646}, R^{647}, R^{648}$ 、 $R^{649}, R^{650}, R^{651}, R^{652}$ 、 $R^{653}, R^{654}, R^{655}, R^{656}$ 、 $R^{657}, R^{658}, R^{659}, R^{660}$ 、 $R^{661}, R^{662}, R^{663}, R^{664}$ 、 $R^{665}, R^{666}, R^{667}, R^{668}$ 、 $R^{669}, R^{670}, R^{671}, R^{672}$ 、 $R^{673}, R^{674}, R^{675}, R^{676}$ 、 $R^{677}, R^{678}, R^{679}, R^{680}$ 、 $R^{681}, R^{682}, R^{683}, R^{684}$ 、 $R^{685}, R^{686}, R^{687}, R^{688}$ 、 $R^{689}, R^{690}, R^{691}, R^{692}$ 、 $R^{693}, R^{694}, R^{695}, R^{696}$ 、 $R^{697}, R^{698}, R^{699}, R^{700}$ 、 $R^{701}, R^{702}, R^{703}, R^{704}$ 、 $R^{705}, R^{706}, R^{707}, R^{708}$ 、 $R^{709}, R^{710}, R^{711}, R^{712}$ 、 $R^{713}, R^{714}, R^{715}, R^{716}$ 、 $R^{717}, R^{718}, R^{719}, R^{720}$ 、 $R^{721}, R^{722}, R^{723}, R^{724}$ 、 $R^{725}, R^{726}, R^{727}, R^{728}$ 、 $R^{729}, R^{730}, R^{731}, R^{732}$ 、 $R^{733}, R^{734}, R^{735}, R^{736}$ 、 $R^{737}, R^{738}, R^{739}, R^{740}$ 、 $R^{741}, R^{742}, R^{743}, R^{744}$ 、 $R^{745}, R^{746}, R^{747}, R^{748}$ 、 $R^{749}, R^{750}, R^{751}, R^{752}$ 、 $R^{753}, R^{754}, R^{755}, R^{756}$ 、 $R^{757}, R^{758}, R^{759}, R^{760}$ 、 $R^{761}, R^{762}, R^{763}, R^{764}$ 、 $R^{765}, R^{766}, R^{767}, R^{768}$ 、 $R^{769}, R^{770}, R^{771}, R^{772}$ 、 $R^{773}, R^{774}, R^{775}, R^{776}$ 、 $R^{777}, R^{778}, R^{779}, R^{780}$ 、 $R^{781}, R^{782}, R^{783}, R^{784}$ 、 $R^{785}, R^{786}, R^{787}, R^{788}$ 、 $R^{789}, R^{790}, R^{791}, R^{792}$ 、 $R^{793}, R^{794}, R^{795}, R^{796}$ 、 $R^{797}, R^{798}, R^{799}, R^{800}$ 、 $R^{801}, R^{802}, R^{803}, R^{804}$ 、 $R^{805}, R^{806}, R^{807}, R^{808}$ 、 $R^{809}, R^{810}, R^{811}, R^{812}$ 、 $R^{813}, R^{814}, R^{815}, R^{816}$ 、 $R^{817}, R^{818}, R^{819}, R^{820}$ 、 $R^{821}, R^{822}, R^{823}, R^{824}$ 、 $R^{825}, R^{826}, R^{827}, R^{828}$ 、 $R^{829}, R^{830}, R^{831}, R^{832}$ 、 $R^{833}, R^{834}, R^{835}, R^{836}$ 、 $R^{837}, R^{838}, R^{839}, R^{840}$ 、 $R^{841}, R^{842}, R^{843}, R^{844}$ 、 $R^{845}, R^{846}, R^{847}, R^{848}$ 、 $R^{849}, R^{850}, R^{851}, R^{852}$ 、 $R^{853}, R^{854}, R^{855}, R^{856}$ 、 $R^{857}, R^{858}, R^{859}, R^{860}$ 、 $R^{861}, R^{862}, R^{863}, R^{864}$ 、 $R^{865}, R^{866}, R^{867}, R^{868}$ 、 $R^{869}, R^{870}, R^{871}, R^{872}$ 、 $R^{873}, R^{874}, R^{875}, R^{876}$ 、 $R^{877}, R^{878}, R^{879}, R^{880}$ 、 $R^{881}, R^{882}, R^{883}, R^{884}$ 、 $R^{885}, R^{886}, R^{887}, R^{888}$ 、 $R^{889}, R^{890}, R^{891}, R^{892}$ 、 $R^{893}, R^{894}, R^{895}, R^{896}$ 、 $R^{897}, R^{898}, R^{899}, R^{900}$ 、 $R^{901}, R^{902}, R^{903}, R^{904}$ 、 $R^{905}, R^{906}, R^{907}, R^{908}$ 、 $R^{909}, R^{910}, R^{911}, R^{912}$ 、 $R^{913}, R^{914}, R^{915}, R^{916}$ 、 $R^{917}, R^{918}, R^{919}, R^{920}$ 、 $R^{921}, R^{922}, R^{923}, R^{924}$ 、 $R^{925}, R^{926}, R^{927}, R^{928}$ 、 $R^{929}, R^{930}, R^{931}, R^{932}$ 、 $R^{933}, R^{934}, R^{935}, R^{936}$ 、 $R^{937}, R^{938}, R^{939}, R^{940}$ 、 $R^{941}, R^{942}, R^{943}, R^{944}$ 、 $R^{945}, R^{946}, R^{947}, R^{948}$ 、 $R^{949}, R^{950}, R^{951}, R^{952}$ 、 $R^{953}, R^{954}, R^{955}, R^{956}$ 、 $R^{957}, R^{958}, R^{959}, R^{960}$ 、 $R^{961}, R^{962}, R^{963}, R^{964}$ 、 $R^{965}, R^{966}, R^{967}, R^{968}$ 、 $R^{969}, R^{970}, R^{971}, R^{972}$ 、 $R^{973}, R^{974}, R^{975}, R^{976}$ 、 $R^{977}, R^{978}, R^{979}, R^{980}$ 、 $R^{981}, R^{982}, R^{983}, R^{984}$ 、 $R^{985}, R^{986}, R^{987}, R^{988}$ 、 $R^{989}, R^{990}, R^{991}, R^{992}$ 、 $R^{993}, R^{994}, R^{995}, R^{996}$ 、 $R^{997}, R^{998}, R^{999}, R^{1000}$ 、 $R^{1001}, R^{1002}, R^{1003}, R^{1004}$ 、 $R^{1005}, R^{1006}, R^{1007}, R^{1008}$ 、 $R^{1009}, R^{1010}, R^{1011}, R^{1012}$ 、 $R^{1013}, R^{1014}, R^{1015}, R^{1016}$ 、 $R^{1017}, R^{1018}, R^{1019}, R^{1020}$ 、 $R^{1021}, R^{1022}, R^{1023}, R^{1024}$ 、 $R^{1025}, R^{1026}, R^{1027}, R^{1028}$ 、 $R^{1029}, R^{1030}, R^{1031}, R^{1032}$ 、 $R^{1033}, R^{1034}, R^{1035}, R^{1036}$ 、 $R^{1037}, R^{1038}, R^{1039}, R^{1040}$ 、 $R^{1041}, R^{1042}, R^{1043}, R^{1044}$ 、 $R^{1045}, R^{1046}, R^{1047}, R^{1048}$ 、 $R^{1049}, R^{1050}, R^{1051}, R^{1052}$ 、 $R^{1053}, R^{1054}, R^{1055}, R^{1056}$ 、 $R^{1057}, R^{1058}, R^{1059}, R^{1060}$ 、 $R^{1061}, R^{1062}, R^{1063}, R^{1064}$ 、 $R^{1065}, R^{1066}, R^{1067}, R^{1068}$ 、 $R^{1069}, R^{1070}, R^{1071}, R^{1072}$ 、 $R^{1073}, R^{1074}, R^{1075}, R^{1076}$ 、 $R^{1077}, R^{1078}, R^{1079}, R^{1080}$ 、 $R^{1081}, R^{1082}, R^{1083}, R^{1084}$ 、 $R^{1085}, R^{1086}, R^{1087}, R^{1088}$ 、 $R^{1089}, R^{1090}, R^{1091}, R^{1092}$ 、 $R^{1093}, R^{1094}, R^{1095}, R^{1096}$ 、 $R^{1097}, R^{1098}, R^{1099}, R^{1100}$ 、 $R^{1101}, R^{1102}, R^{1103}, R^{1104}$ 、 $R^{1105}, R^{1106}, R^{1107}, R^{1108}$ 、 $R^{1109}, R^{1110}, R^{1111}, R^{1112}$ 、 $R^{1113}, R^{1114}, R^{1115}, R^{1116}$ 、 $R^{1117}, R^{1118}, R^{1119}, R^{1120}$ 、 $R^{1121}, R^{1122}, R^{1123}, R^{1124}$ 、 $R^{1125}, R^{1126}, R^{1127}, R^{1128}$ 、 $R^{1129}, R^{1130}, R^{1131}, R^{1132}$ 、 $R^{1133}, R^{1134}, R^{1135}, R^{1136}$ 、 $R^{1137}, R^{1138}, R^{1139}, R^{1140}$ 、 $R^{1141}, R^{1142}, R^{1143}, R^{1144}$ 、 $R^{1145}, R^{1146}, R^{1147}, R^{1148}$ 、 $R^{1149}, R^{1150}, R^{1151}, R^{1152}$ 、 $R^{1153}, R^{1154}, R^{1155}, R^{1156}$ 、 $R^{1157}, R^{1158}, R^{1159}, R^{1160}$ 、 $R^{1161}, R^{1162}, R^{1163}, R^{1164}$ 、 $R^{1165}, R^{1166}, R^{1167}, R^{1168}$ 、 $R^{1169}, R^{1170}, R^{1171}, R^{1172}$ 、 $R^{1173}, R^{1174}, R^{1175}, R^{1176}$ 、 $R^{1177}, R^{1178}, R^{1179}, R^{1180}$ 、 $R^{1181}, R^{1182}, R^{1183}, R^{1184}$ 、 $R^{1185}, R^{1186}, R^{1187}, R^{1188}$ 、 $R^{1189}, R^{1190}, R^{1191}, R^{1192}$ 、 $R^{1193}, R^{1194}, R^{1195}, R^{1196}$ 、 $R^{1197}, R^{1198}, R^{1199}, R^{1200}$ 、 $R^{1201}, R^{1202}, R^{1203}, R^{1204}$ 、 $R^{1205}, R^{1206}, R^{1207}, R^{1208}$ 、 $R^{1209}, R^{1210}, R^{1211}, R^{1212}$ 、 $R^{1213}, R^{1214}, R^{1215}, R^{1216}$ 、 $R^{1217}, R^{1218}, R^{1219}, R^{1220}$ 、 $R^{1221}, R^{1222}, R^{1223}, R^{1224}$ 、 $R^{1225}, R^{1226}, R^{1227}, R^{1228}$ 、 $R^{1229}, R^{1230}, R^{1231}, R^{1232}$ 、 $R^{1233}, R^{1234}, R^{1235}, R^{1236}$ 、 $R^{1237}, R^{1238}, R^{1239}, R^{1240}$ 、 $R^{1241}, R^{1242}, R^{1243}, R^{1244}$ 、 $R^{1245}, R^{1246}, R^{1247}, R^{1248}$ 、 $R^{1249}, R^{1250}, R^{1251}, R^{1252}$ 、 $R^{1253}, R^{1254}, R^{1255}, R^{1256}$ 、 $R^{1257}, R^{1258}, R^{1259}, R^{1260}$ 、 $R^{1261}, R^{1262}, R^{1263}, R^{1264}$ 、 $R^{1265}, R^{1266}, R^{1267}, R^{1268}$ 、 $R^{1269}, R^{1270}, R^{1271}, R^{1272}$ 、 $R^{1273}, R^{1274}, R^{1275}, R^{1276}$ 、 $R^{1277}, R^{1278}, R^{1279}, R^{1280}$ 、 $R^{1281}, R^{1282}, R^{1283}, R^{1284}$ 、 $R^{1285}, R^{1286}, R^{1287}, R^{1288}$ 、 $R^{1289}, R^{1290}, R^{1291}, R^{1292}$ 、 $R^{1293}, R^{1294}, R^{1295}, R^{1296}$ 、 $R^{1297}, R^{1298}, R^{1299}, R^{1300}$ 、 $R^{1301}, R^{1302}, R^{1303}, R^{1304}$ 、 $R^{1305}, R^{1306}, R^{1307}, R^{1308}$ 、 $R^{1309}, R^{1310}, R^{1311}, R^{1312}$ 、 $R^{1313}, R^{1314}, R^{1315}, R^{1316}$ 、 $R^{1317}, R^{1318}, R^{1319}, R^{1320}$ 、 $R^{1321}, R^{1322}, R^{1323}, R^{1324}$ 、 $R^{1325}, R^{1326}, R^{1327}, R^{1328}$ 、 $R^{1329}, R^{1330}, R^{1331}, R^{1332}$ 、 $R^{1333}, R^{1334}, R^{1335}, R^{1336}$ 、 $R^{1337}, R^{1338}, R^{1339}, R^{1340}$ 、 $R^{1341}, R^{1342}, R^{1343}, R^{1344}$ 、 $R^{1345}, R^{1346}, R^{1347}, R^{1348}$ 、 $R^{1349}, R^{1350}, R^{1351}, R^{1352}$ 、 $R^{1353}, R^{1354}, R^{1355}, R^{1356}$ 、 $R^{1357}, R^{1358}, R^{1359}, R^{1360}$ 、 $R^{1361}, R^{1362}, R^{1363}, R^{1364}$ 、 $R^{1365}, R^{1366}, R^{1367}, R^{1368}$ 、 $R^{1369}, R^{1370}, R^{1371}, R^{1372}$ 、 $R^{1373}, R^{1374}, R^{1375}, R^{1376}$ 、 $R^{1377}, R^{1378}, R^{1379}, R^{1380}$ 、 $R^{1381}, R^{1382}, R^{1383}, R^{1384}$ 、 $R^{1385}, R^{1386}, R^{1387}, R^{1388}$ 、 $R^{1389}, R^{1390}, R^{1391}, R^{1392}$ 、 $R^{1393}, R^{1394}, R^{1395}, R^{1396}$ 、 $R^{1397}, R^{1398}, R^{1399}, R^{1400}$ 、 $R^{1401}, R^{1402}, R^{1403}, R^{1404}$ 、 $R^{1405}, R^{1406}, R^{1407}, R^{1408}$ 、 $R^{1409}, R^{1410}, R^{1411}, R^{1412}$ 、 $R^{1413}, R^{1414}, R^{1415}, R^{1416}$ 、 $R^{1417}, R^{1418}, R^{1419}, R^{1420}$ 、 $R^{1421}, R^{1422}, R^{1423}, R^{1424}$ 、 $R^{1425}, R^{1426}, R^{1427}, R^{1428}$ 、 $R^{1429}, R^{1430}, R^{1431}, R^{1432}$ 、 $R^{1433}, R^{1434}, R^{1435}, R^{1436}$ 、 $R^{1437}, R^{1438}, R^{14$

ある臭化セチルトリメチルアンモニウム、式 $N + R' R'' R'''$ （ここで、R 基は、同一または異なる、必要に応じて、ヒドロキシ炭化水素基である）のアミン塩；使用される陽イオン性界面活性剤の 1 つであるオクタデシルアミン塩酸塩、非イオン性界面活性剤、例えば、必要に応じてポリオキシエチレン化されたソルビタンのエステル、特に、ポリソルベート 80、もしくはポリオキシエチレン化アルキルエーテル；ステアリン酸ポリエチレングリコール、ヒマシ油のポリオキシエチレン化誘導体、ポリグリセロールエステル、ポリオキシエチレン化脂肪アルコール、ポリオキシエチレン化脂肪酸もしくはエチレンオキシドおよびプロピレンオキシドのコポリマー、両性界面活性剤、例えば、ベタインの置換ラウリル化合物が挙げられる。

【0316】

例示的な薬学的に許容される担体および／もしくは賦形剤、ならびに／または化粧品のに許容される担体および／もしくは賦形剤としては、水、シリカ、グリセリン、ジメチコン、ブチレングリコール、ペンチレングリコール、エトキシジグリコール、ポリアクリレート-13、ペンタペプチド-34トリフルオロアセテート、ポリイソブテン、リゾレシチン、スクレロチウムガム、プルラン、ポリソルベート20、シリンジリデンマロン酸ジエチルヘキシル、カプリルグリコール、ステアリン酸グリセリル、ステアリン酸PEG-100、セテアリアルアルコール、butyrospermum parkii（シア）バター、アセチルテトラペプチド-2、ベタイン、メラニン、酢酸トコフェロール、トコフェロール、ヒドロキシアセトフェノン、カプリル酸／カプリン酸トリグリセリド、パチルアルコール、C12～15アルキルベンゾエート、パンテノール、セテアレス-20、キサンタンガム、エチルヘキシルグリセリン、EDTA二ナトリウム、プロパンジオール、カプリルグリコール、ソルビン酸カリウム、ソルビン酸、およびフェノキシエタノールが挙げられる。

【0317】

本開示の化合物、および本開示に記載されるようなそのような化合物を含有する医薬組成物は、個々の治療剤としてまたは追加の治療剤と組み合わせてのいずれかとして、医薬との併用に利用可能な任意の従来の方法によって投与することができる。

【0318】

一実施形態では、本開示の化合物は、単独であるか、または医薬組成物の一部分としてであるかにかかわらず、有効量で投与される。投与される有効量および投薬量は、当然ながら、公知の要因、例えば、特定の薬剤の薬力学的特徴およびその投与の形式および経路、レシピエントの年齢、健康状態および体重；疾患の状況または状態の重症度およびステージ；併用処置の種類；処置の頻度；ならびに所望の効果に応じて変わる。

【0319】

投与される化合物の総量はまた、投与の経路、タイミングおよび頻度、ならびに化合物の投与および所望の生理学的効果に付随する可能性がある任意の有害な副作用の存在、特質および程度によって決定される。さまざまな状態または疾患の状況、特に、慢性の状態または疾患の状況が、複数回投与を含む長期処置を必要とし得ることは当業者によって認識される。

【0320】

これらの医薬組成物または化粧品組成物では、本開示の化合物（複数可）は、通常、組成物の総重量に基づいて約0.5～95重量%、または組成物の総重量に基づいて約0.1～99.9重量%の量で存在する。複数の剤形が、単一处置の部分として投与されてもよい。

【0321】

活性薬剤は、固体剤形、例えば、カプセル剤、錠剤、および散剤、または液体剤形、例えば、乳液、エリキシル剤、シロップ剤および懸濁剤で経腸投与することができる。これは、無菌の液体剤形で、非経口投与することもできる。本開示の化合物（複数可）は、鼻腔内に（点鼻）、または経肺系を介した吸入によって、例えば、噴霧剤に基づく定量吸入器もしくは乾燥粉末吸入デバイスによって、投与することもできる。他の剤形としては、

局所投与、例えば、パッチ機構または軟膏を介した経皮投与が挙げられる。

【0322】

経腸または経口投与に好適な製剤は、乳液、水、食塩水、緩衝溶液、乳児用調製粉乳、他の好適な担体、またはその組合せなどの希釈剤に溶解された有効量の化合物（複数可）などの液状液剤であってもよい。本開示の化合物の経腸または経口投与に好適な製剤は、Shaji, et al., Indian J Pharm Sci. 2008 May-Jun; 70(3): 269-277 ; Bruno, et al., Ther Deliv. 2013 Nov; 4(11): 1443-1467 ; Ibrahim, et al., DARU Journal of Pharmaceutical Sciences, 2020, 28, 403-416によって例示されるように、当技術分野において公知である。次いで、化合物（複数可）は、投与の直前に、希釈剤と混合することができる。代替の実施形態では、経腸または経口投与に好適な製剤は、カプセル剤、サッシェ、錠剤、ロゼンジ剤、およびトローチ剤であり得る。それぞれの実施形態では、製剤は、固形剤または顆粒剤、粉剤・散剤（powder）、懸濁剤、および好適な乳剤として、所定量の本開示の化合物（複数可）を含有し得る。液体製剤は、許容される界面活性剤、懸濁化剤、または乳化剤の添加ありまたはなしのいずれかで、水、ならびにアルコール、例えば、エタノール、ベンジルアルコール、プロピレングリコール、グリセリン、およびポリエチレンアルコールなどの希釈剤を含んでいてもよい。カプセル剤形態は、例えば、界面活性剤、滑沢剤、ならびに不活性フィラー、例えば、ラクトース、スクロース、リン酸カルシウム、およびトウモロコシデンプンを含む、通常のハードシェルまたはソフトシェルゼラチン型のものであり得る。錠剤形態は、以下の1つまたは複数を含むことができる：ラクトース、スクロース、マンニトール、トウモロコシデンプン、ジャガイモデンプン、アルギン酸、微結晶性セルロース、アカシア、ゼラチン、グアーガム、コロイド状二酸化ケイ素、クロスカルメロースナトリウム、タルク、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸亜鉛、ステアリン酸、ならびに他の賦形剤、着色料、希釈剤、緩衝剤、崩壊剤、保湿剤、保存剤、香味剤、および薬理学的に適合する担体。

10

20

【0323】

ロゼンジ剤形態は、フレーバー、通常、スクロースおよびアカシア、またはトラガカント中に活性成分を含むことができ、活性成分に加えて、当技術分野において公知である担体などを含有する、ゼラチンおよびグリセリン、またはスクロースおよびアカシア、エマルジョン、ならびにゲルなどの不活性基剤中に活性成分を含むトローチ剤であり得る。

30

【0324】

非経口投与に好適な製剤は、抗酸化剤、バッファー、静菌剤、および製剤を患者の血液と等張にするような溶質を含有し得る、水性および非水性の、等張無菌注射液剤、ならびに、懸濁化剤、可溶化剤、増粘剤、安定剤、および保存剤を含有し得る、水性および非水性の滅菌懸濁剤を含む。化合物（複数可）は、許容される界面活性剤、例えば、石鹸もしくは洗浄剤、懸濁化剤、例えば、ペクチン、カルボマー、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、もしくはカルボキシメチルセルロース、または乳化剤および他の薬学的アジュバントの添加ありまたはなしの、許容される担体中、例えば、水、食塩水、水性デキストロースおよび関係する糖溶液を含む、滅菌の液体または液体の混合物、アルコール、例えば、エタノール、イソプロパノール、もしくはヘキサデシルアルコール、グリコール、例えば、プロピレングリコールもしくはポリエチレングリコール、例えば、ポリ（エチレングリコール）400、グリセロール、ケタール、例えば、2,2-ジメチル-1,3-ジオキソラン-4-メタノール、エーテル、油、脂肪酸、脂肪酸エステルもしくはグリセリド、またはアセチル化脂肪酸グリセリド中の生理学的に許容される希釈剤中で投与することができる。

40

【0325】

非経口製剤において使用され得る油としては、石油、動物油、植物油、または合成油が挙げられる。油の具体例としては、ピーナッツ油、ダイズ油、ゴマ油、綿実油、コーン油、オリーブ油、ペトロラタム、および鉱物油が挙げられる。非経口製剤における使用のための好適な脂肪酸としては、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

50

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、好適な脂肪酸エステル
の例である。非経口製剤における使用のための好適な石鹼としては、脂肪族アルカリ金属塩
、アンモニウム塩、およびトリエタノールアミン塩が挙げられ、好適な洗浄剤としては、
（a）例えば、ジメチルジアルキルアンモニウムハライドおよびアルキルピリジニウムハ
ライドなどの陽イオン性洗浄剤、（b）例えば、アルキル、アリールおよびオレフィンス
ルホネート、アルキル、オレフィン、エーテル、およびモノグリセリドサルフェート、な
らびにスルホスクシネートなどの陰イオン性洗浄剤、（c）例えば、脂肪族アミノキシド
、脂肪酸アルカノールアミド、およびポリオキシエチレンポリプロピレンコポリマーな
どの非イオン性洗浄剤、（d）例えば、ベータ-アミノプロピオン酸アルキル、および2
-アルキルイミダゾリン第四級アンモニウム塩などの両性洗浄剤、ならびに（e）その混
合物が挙げられる。

10

【0326】

非経口製剤は、典型的には、液剤中に約0.5重量%～約50重量%の化合物（複数可
）を含有する。好適な保存剤およびバッファーを、そのような製剤において使用すること
ができる。注射の部位における刺激を最小化または排除するために、そのような組成物は
、約12～約17の親水性-親油性バランス（HLB）を有する1つまたは複数の非イオ
ン性界面活性剤を含有していてもよい。そのような製剤における界面活性剤の量は、約5
重量%～約15重量%の範囲である。好適な界面活性剤としては、ポリエチレンソルビタ
ン脂肪酸エステル、例えば、ソルビタンモノオレート、およびプロピレンオキシドとプ
ロピレングリコールの縮合によって形成される、エチレンオキシドと疎水性塩基の高分子
量付加体が挙げられる。

20

【0327】

本開示の化合物（複数可）は、経鼻または経肺吸入を介して投与されるエアロゾル製剤
に製剤化することができる。これらのエアロゾル製剤は、ジクロロジフルオロメタン、プ
ロパン、および窒素などの加圧される許容される噴霧剤に入れられ得る。そのようなエア
ロゾル製剤は、定量吸入器によって投与されてもよい。それらはまた、ネブライザーまた
はアトマイザーなどの非加圧調製物のための医薬品として製剤化されてもよい。

【0328】

単独の、または他の好適な構成成分と組み合わせられる本開示の化合物（複数可）は、経
鼻または経肺スプレー剤として水溶液で投与されてもよく、当業者に公知の各種の方法に
よってスプレー形態で投与されてもよい。経鼻スプレー剤として液体を分注するためのシ
ステムは、米国特許第4,511,069号に開示されている。製剤は、複数回用量の容
器、例えば、米国特許第4,511,069号に開示される密閉分注システム中に存在し
ていてもよい。追加のエアロゾル送達形態としては、例えば、圧縮空気ネブライザー、ジ
ェットネブライザー、超音波ネブライザー、および圧電型ネブライザーが挙げられ得、こ
れは、医薬溶媒、例えば、水、エタノール、またはその混合物に溶解または懸濁した活性
薬剤を送達する。

30

【0329】

本開示の経鼻および経肺溶液は、典型的には、薬物または送達される薬物を含み得、必
要に応じて、非イオン性界面活性剤（例えば、ポリソルベート-80）などの表面活性剤
、および1つまたは複数のバッファーを用いて製剤化され得る。一部の実施形態では、経
鼻スプレー溶液は、噴霧剤をさらに含む。経鼻スプレー溶液のpHは、必要に応じて、約
pH3.0～6.0、または4.5+/-0.5である。これらの組成物内での使用のため
の好適なバッファーは、上記に記載された通りであるか、またはそうでなければ当技術
分野において公知である。保存剤、界面活性剤、分散剤、またはガスを含む他の構成成分
が、化学的安定性を増強または維持するために添加されてもよい。好適な保存剤としては
、限定されるものではないが、フェノール、メチルパラベン、パラベン、m-クレゾール
、チオメルサル、クロロブタノール、塩化ベンジルアルコニウムなどが挙げられる。好
適な界面活性剤としては、限定されるものではないが、オレイン酸、ソルビタントリオレ
エート、ポリソルベート、レシチン、ホスファチジルコリン、ならびにさまざまな長鎖ジ

40

50

グリセリドおよびリン脂質が挙げられる。好適な分散剤としては、限定されるものではないが、エチレンジアミン四酢酸などが挙げられる。好適なガスとしては、限定されるものではないが、窒素、ヘリウム、クロロフルオロカーボン（CFC）、ハイドロフルオロカーボン（HFC）、二酸化炭素、空気などが挙げられる。

【0330】

代替の実施形態内で、経鼻および経肺製剤は、鼻腔内送達のために、適切な粒子サイズ、または適切な粒子サイズ範囲内の形態の、通常凍結乾燥された、乾燥した活性薬剤を含む乾燥粉末製剤として投与される。経鼻または経肺通路内での沈着のために適切な最小粒子サイズは、多くの場合、約 $0.5\ \mu\text{m}$ の空気力学的質量中央径（MMAED）、通常、約 $1\ \mu\text{m}$ の MMAED、より典型的には、約 $2\ \mu\text{m}$ の MMAED である。経鼻通路内での沈着のために適切な最大粒子サイズは、多くの場合、約 $10\ \mu\text{m}$ の MMAED、通常、約 $8\ \mu\text{m}$ の MMAED、より典型的には、約 $4\ \mu\text{m}$ の MMAED である。これらのサイズ範囲内の鼻腔内および肺呼吸に適する粉末（pulmonarily respirable powder）は、ジェットミリング、噴霧乾燥、溶媒沈殿、超臨界流体凝縮などのような各種の従来の技法によって生成することができる。適切な MMAED のこれらの乾燥粉末は、経肺または経鼻吸入の際の患者の呼吸に依拠して、粉末をエアロゾル化された量へと分散させる従来の乾燥粉末吸入器（DPI）を介して患者に投与することができる。あるいは、乾燥粉末は、粉末をエアロゾル化された量へと分散させるための外部粉末ソースを使用する空気支援デバイス、例えば、ピストンポンプを介して投与されてもよい。

10

【0331】

経鼻または経肺送達のための組成物を製剤化するために、活性薬剤は、さまざまな薬学的および／または化粧品的に許容される添加剤、ならびに活性薬剤（複数可）の分散のための基剤または担体と組み合わせることができる。所望の添加剤としては、限定されるものではないが、pH 制御剤、例えば、アルギニン、水酸化ナトリウム、グリシン、塩酸、クエン酸などが挙げられる。加えて、局所麻酔剤（例えば、ベンジルアルコール）、等張剤（例えば、塩化ナトリウム、マンニトール、ソルビトール）、吸収阻害剤（例えば、Tween（登録商標）80）、溶解性増強剤（例えば、シクロデキストリンおよびその誘導体）、安定剤（例えば、血清アルブミン）、および還元剤（例えば、グルタチオン）を含むことができる。経鼻または経肺送達のための組成物が液体である場合に、製剤の張度は、 0.9% （w/v）の生理的食塩水の張度を構成単位とする参照を用いて測定される場合、典型的には、実質的に不可逆的な組織損傷が投与の部位の鼻粘膜において誘発されない値に調整される。一般に、溶液の張度は、約 $1/3 \sim 3$ 、より典型的には、 $1/2 \sim 2$ 、最も多くの場合に、 $3/4 \sim 1.7$ の値に調整される。

20

30

【0332】

本開示の化合物（複数可）は、活性薬剤および任意の所望の添加剤を分散させる能力を有する親水性化合物を含み得る基剤または媒体に分散されていてもよい。基剤は、限定されるものではないが、ポリカルボン酸またはその塩、カルボン酸無水物（例えば、無水マレイン酸）と他のモノマー（例えば、メチル（メタ）アクリレート、アクリル酸など）とのコポリマー、ポリ酢酸ビニル、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドンなどの親水性ビニルポリマー、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロースなどのセルロース誘導体など、およびキトサン、コラーゲン、アルギン酸ナトリウム、ゼラチン、ヒアルロン酸、およびそれらの非毒性金属塩などの天然ポリマーを含む広範囲の好適な担体から選択され得る。多くの場合、生分解性ポリマー、例えば、ポリ乳酸、ポリ（乳酸-グリコール酸）コポリマー、ポリヒドロキシ酪酸、ポリ（ヒドロキシ酪酸-グリコール酸）コポリマー、およびその混合物が基剤または担体として選択される。あるいは、または加えて、合成脂肪酸エステル、例えば、ポリグリセリン脂肪酸エステル、ショ糖脂肪酸エステルなどを担体として用いることができる。親水性ポリマーおよび他の担体を、単独で、または組み合わせて使用することができ、増強された構造の完全性が、部分的な結晶化、イオン結合、架橋などによって担体に付与され得る。担体は、鼻粘膜への直接適用のための液体または粘稠な溶液、ゲル、ペースト、粉末、ミクロスフェアおよびフィルム

40

50

を含む、各種の形態で提供され得る。この文脈での選択された担体の使用は、活性薬剤の吸収の促進をもたらし得る。

【0333】

本開示の化合物は、「ミトコンドリア機能を改善するための組成物および方法」という名称の2022年3月18日に出願された国際特許出願第PCT/US2022/020983号に記載されるようにして製剤化されてもよく、その全開示は、すべての目的のために、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0334】

本開示の化合物は、ナノ粒子系送達担体中で製剤化されてもよい。本明細書に開示されるナノ粒子送達系は、ミトコンドリア標的化送達および化合物の治療能力の改善において利益を提供し得る。ナノ粒子製剤は、それらの元の形態の薬物分子を効率的に輸送し、疎水性薬物分子を可溶化し、分子の半減期を増強し、分子に起因する副作用および免疫原性を減少させることが示されている。本明細書に開示されるナノ粒子送達担体は、増強された皮膚の透過、より高い安定性、部位特異的標的化、例えば、ミトコンドリアマトリックス内部のカーゴの効率的な送達、高い捕捉効率、および／または化合物の時間制御された、例えば、遅延もしくは持続的な放出を提供するように選択または設計されていてもよい。製剤の化合物を対象の標的部位に効率的に送達するように設計され得るナノ粒子送達担体の性質には、表面化学、コーティング、構造、サイズ、凝集する能力、および溶解性が含まれる。例示的なナノ粒子は、"Nanotherapeutic Approaches to Target Mitochondria in Cancer," (Mani, 2021)および"Role of Nanotechnology in Cosmeceuticals: A Review of Recent Advances," (Kaul, 2018)に記載されており、これらのそれぞれは、すべての目的のために、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0335】

ナノ粒子送達担体は、炭素系ナノ材料、リポソーム送達媒体、ポリマーナノ担体、ミセル、デンドリマー、親油性カチオン、固体-脂質ナノ粒子(SLN)、ペプチド系ナノ材料、ナノ構造脂質担体(NLC)、ニオソーム、ナノエマルジョン、金属ナノ粒子、ナノスフェア、ポリマーソーム、キュボソーム、およびその組合せを含んでいてもよく、ならびに／またはそれで機能化されていてもよい。送達担体は、ミトコンドリアの標的化または特異的な細胞型の標的化のために設計されていてもよい。例示的なミトコンドリア標的化剤としては、抗体、PEGなどのポリマー機能部分、トリフェニルホスフィン(TPP)などの親油性カチオン、およびミトコンドリア透過性ペプチド(MPP)などのペプチドが挙げられる。送達担体は、標的化部分から形成されてもよく、例えば、本明細書に開示される化合物を封入もしくはそれとコンジュゲートしていてもよく、および／または送達担体は、表面標的化部分で機能化されていてもよい。ナノ粒子担体は、約10~5000nm、例えば、10~50nm、10~100nm、50~500nm、50~100nm、100~500nm、500~1000nm、または1000nm~5000nmの平均サイズを有するような寸法であってもよく、これは、標的組織、送達される化合物、およびナノ材料の他の性質に基づいて選択され得る。

【0336】

例示的な炭素系ナノ材料としては、カーボンドット(CドットまたはCD)、カーボンナノチューブ(CNT)、グラフェン誘導体、ナノダイヤモンド(ND)、量子ドット(QD)、および磁性ナノ粒子(MNP)が挙げられる。カーボンナノ粒子は、例えば、球形、楕円形、管、角形状、およびその組合せを含む異なる形状に形成されていてもよい。

【0337】

CNTは、円筒状の管に形成されたグラフェンシートである。CNTは、低い毒性プロファイル、良好な生物適合性、および標的化蓄積が実証されている。本開示のCNTは、単層カーボンナノチューブ(SWCNT)および／または多層カーボンナノチューブ(MWCNT)であり得る。SWCNTは、1~10nmの範囲のより小さな直径を有する。

MWCNTは、2～50nmの範囲のより大きな直径を有する。CNTは、標的化配列で機能化されていてもよい。例えば、CNTは、ミトコンドリアおよび／または特異的な細胞型を標的にするように機能化されていてもよい。グラフェン誘導体は、二次元の炭素同位体も含む。グラフェン誘導体は、特異的な物理化学的性質、例えば、高い表面積および選択された多面的な表面性質を示すように設計されていてもよい。グラフェン誘導体は、ミトコンドリアおよび／または特異的な細胞型への標的化送達のために、機能化、例えば、表面機能化されていてもよい。CNTは、毛髪の着色料および化粧品の毛髪ケア製剤において成功裏に使用されている。

【0338】

ナノダイヤモンドは、生物分子に対する高い親和性、生物適合性、および非細胞傷害性または低細胞傷害性を提供することが示されている。ナノダイヤモンド、量子ドット、および磁性ナノ粒子は、標的化送達のために、本明細書に開示される化合物とコンジュゲートされていてもよい。ある特定のMNPは、本明細書に開示される化合物を封入するように設計されていてもよい。QDは、一般に、選択された物理的および化学的特徴を提供するように設計されたシェルによって層状になった半導電性コアから形成される。MNPは、磁性コア、例えば、酸化鉄材料コア、ならびに生理学的環境において安定性および生物適合性を改善するように設計された表面コーティングから形成される。そのため、MNPおよびQDは、それらの選択された使用のために、非常に適応可能である。

【0339】

リポソーム系送達媒体は、典型的には、内部二重層および内部水性コア領域を有する脂質二重層から構成される封入された球形のベシクルから形成される。リポソームは、単層または多層構造を有し得る。リポソームは、標的化送達および／または制御放出送達のために有効な表面化学を有するように設計されていてもよい。例えば、操作されたリポソームは、改善された細胞アップデート、およびミトコンドリアにおける送達化合物の蓄積を示している。抗酸化剤、例えば、カロテノイド、CoQ10、リコピン、ならびにビタミンA、EおよびKなどの作用物質は、リポソームに組み込まれて、物理的および化学的安定性が増幅され得る。リポソームは、ホスファチジルコリンとともに製剤化されて、皮膚および毛髪ケア製品に保湿性を提供してもよい。植物性リン脂質およびダイズリン脂質は、それらの高含量のエステル化必須脂肪酸のための局所製剤とともに使用されてもよい。例えば、活性薬剤とともに適用される場合、皮膚のバリア機能が増加し、水分喪失が減少する。ある特定のリポソームが、しわの低減、ニキビ処置における発しんの減少、および皮膚の滑らかさの増加に対する効果を有することが示されている。

【0340】

ニオソームは、自己集合した水和した非イオン性界面活性剤から構成される二重層構造を有するベシクルである。ニオソームは、それらの脂質に組み込まれたコレステロールを有していてもよく、コレステロールを含んでいなくてもよい。ニオソームは、界面活性剤巨大分子が、二重層として組織化されている場合に形成される膜によって本明細書に開示される化合物を封入している、多層または単層構造として調合されてもよい。例示的な非イオン性界面活性剤としては、span（登録商標）、tween（登録商標）、brj（登録商標）、アルキルアミド、ソルビタンエステル、クラウンエステル、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、およびステロイド様界面活性剤が挙げられる。ニオソームは、本明細書に開示される化合物を封入して、延長された全身循環、および標的組織への増強された透過を提供してもよい。化粧品およびスキンケア適用におけるニオソームは、皮膚透過、捕捉された成分の安定性の増加、および典型的にはあまり吸収されない化合物の生物学的利用率の改善を提供する。ニオソームは、粒子のサイズおよび形状に影響を及ぼす、界面活性剤の特質および構造、膜組成、ならびに水和の温度を制御することによって、標的適用のために設計されていてもよい。プロニオソームと呼ばれる特殊なニオソームが使用されてもよい。プロニオソームは、使用の直前に水和されて、水性ニオソーム分散液を生じる、非イオン系界面活性剤ベシクルである。薬物送達をさらに増強するために、ニオソームおよびプロニオソームは、製剤中で組み合わせられてもよい。

【0341】

ポリマーナノ担体は、一般に、生分解性ポリマーから形成される。ポリマーナノ担体は、リザーバー型（化合物がポリマーのコアに溶解／分布しているナノカプセル）、マトリックス型（化合物がポリマーマトリックスに捕捉されているナノスフェア）、およびその組合せであってもよい。ポリマーナノ担体は、低毒性、容易な改変（例えば、標的化送達のため）、高い薬物ロード能力、小さなサイズ、良好な水溶解性、および生物適合性の利益を提供し得る。ミトコンドリアの標的化のための例示的なポリマーナノ担体としては、親水性ブロックポリマー、例えば、ポリエチレングリコール（PEG）、ポリε-カプロラクトン（PCL）が挙げられる。本明細書に開示される他のナノ粒子は、例えば、表面親水性ブロックポリマーを含めることによって（例えば、PEG化）、ミトコンドリアの標的化のために改変されていてもよい。ポリマーソームは、両親媒性の自己集合性ブロックコポリマーから形成された人工ベシクルである。ポリマーソームは、典型的には、親水性コアおよび親油性二重層を有する。ポリマーソームは、高度にカスタマイズ可能である。薬物の封入および放出能力は、生分解性および／または刺激に応答性であるブロックコポリマーを用いてポリマーソームを形成することによって制御されてもよい。ポリマーソームの組成および分子量は、刺激への応答、膜の厚さ、浸透性、柔軟性、およびサイズなどの性質を制御するように選択されてもよい（ポリマーソームは、50 nm～5000 nmまたはそれよりも大きい半径を有するように設計されていてもよい）。ポリマーソームは、皮膚の弾力性の改善、および皮膚細胞の活性化エネルギーの増強などの利益を提供する。

10

20

【0342】

キュボソームは、水性脂質および界面活性剤の自己集合性液晶粒子から形成されたナノ構造粒子である。キュボソームは、強くパッキングされた構造中に界面活性剤制御二重層によって分けられた水性製剤の2つの別々のベシクルを囲い込む、両連続液相から形成される。キュボソームは、2超の別々のベシクルを有する蜂の巣状構造として設計されてもよい。それぞれのベシクルの放出は、別々に制御されてもよい。キュボソームは、化合物の制御放出および／または標的化放出を提供する、脂質生分解性を持つ、ならびに異なる薬物ロードモダリティを有する高い内部表面積を有するなどの利益を提供し得る。

【0343】

ミセルは、親水性ヘッドおよび疎水性テールを有する、一般に事実上両親媒性であるコロイド凝集体である。ミセルナノ粒子のサイズおよび形状は、溶液の等張性の強度、pH、温度、および両親媒性分子の特質を変更することによって選択されてもよい。ミセルは、ミトコンドリアにおける本明細書に開示される化合物の取り込みを改善するために利用されてもよい。例えば、ミセル製剤は、低吸収化合物の生物学的利用率を改善する、ミトコンドリア膨化を予防する（より小さいミトコンドリアの浸透性移行ポア（mPTP）の開閉部、および傷害の予防を示す）、および細胞をニトロソ化ストレスから保護することが見出されている、"Curcumin Micelles Improve Mitochondrial Function in Neuronal PC12 Cells and Brains of NMRI Mice - Impact on Bioavailability" (Hagl, 2015)（すべての目的のために、その全体が、参照により本明細書に組み込まれる）。ミセルは、ミトコンドリアを標的化するTPP、MPP、またはPEG化などの標的化基で機能化されていてもよい。一部の実施形態では、ミセルナノ粒子は、ポリマーミセルであってもよい。

30

40

【0344】

デンドリマーは、糖、アミノ酸、および／またはヌクレオチドから形成され得る過剰分枝巨大分子である。デンドリマーは、一般に、中心コア、繰り返される枝部、および多様な周辺基から形成される。周辺基は、標的化送達などの標的適用のために設計または機能化されていてもよい。デンドリマーの利益には、薬物の封入を提供する能力、高い水溶解性、高い保持時間、生分解性、特異性、低毒性、ならびに単分散性、多原子価、および安定性などの性質を提供し得る表面改変能力が含まれる。デンドリマーは、TPP、MPP、またはPEG化などの標的化基で機能化されていてもよい。デンドリマーは、化合物を

50

封入するように、または化合物とコンジュゲートするように調合されてもよい。

【0345】

親油性カチオンは、血漿およびミトコンドリア膜を透過し得る正に荷電したイオンである。親油性カチオンは、ミトコンドリアに蓄積される傾向がある。そのため、TPP、デカリニウム (dequalinium)、およびローダミン123などの親油性カチオンは、ミトコンドリア標的化治療的送達のために利用され得る。非局在化親油性カチオン (DLC) は、膜を横断する強いミトコンドリア標的化能力を有し、細胞のミトコンドリア内で付着した部分の特異的凝集を駆動する。そのため、DLCは、標的化送達のためのナノ粒子担体としておよび／または表面改変として利用され得る。例えば、本明細書に開示される組成物は、TPPなどのDLCにコンジュゲートされていてもよく、または標的化送達のためのTPP表面機能化を有する別の担体に封入されていてもよい。

10

【0346】

固体-脂質ナノ粒子は、50~1000 nm、例えば、50~500 nmまたは50~100 nmの範囲内のサブミクロンコロイド担体である。SLNは、一般に、油系または類脂質コアを有する水または液体界面活性剤溶液中に散在した生理学的脂質から形成される。SLNは、脂肪マトリックス中の複合グリセリド混合物、精製トリグリセリド、およびリン脂質疎水性鎖を有するワックスから調製されてもよい。SLNは、小さなサイズ、大きな表面積、高い薬物ロード能力、および界面での相の接触などの利益を提供する。SLNは、化合物の制御放出または徐放を提供するように設計されていてもよい。化粧品および医薬品では、SLNは、皮膚を通る本明細書に開示される化合物の透過の増加を提供し得る。SLNは、紫外線 (UV) 抵抗性、皮膚の水和を増加させるために使用され得る閉塞性、およびそれらの固体の性質に起因する良好な合体安定性を有し得、これは、活性分子の移動性および漏出を低減する。

20

【0347】

ナノ構造脂質担体 (NLC) は、固体脂質を空間的に不適合な液状脂質組成物と混合することによって形成された脂質ナノ粒子の形態であり、アモルファス固体を形成する。NLCは、不完全型、アモルファス型、または多重型のものであってもよい。NLC粒子は、典型的には、10 nm~1000 nmのサイズの範囲である。生分解性および生理学的脂質から製剤化される場合、NLCは、非常に低い毒性を示す。そのため、NLC製剤は、全身性副作用の低減およびより高い薬物ロード能力の利益を提供し得る。NLCは、二相性の薬物放出パターンを有するように設計されていてもよい。例えば、第1の化合物放出プロファイルは、即時放出または制御放出であり得、第2の化合物放出プロファイルは、制御放出または遅延放出であり得る。SLNのように、NLCも、皮膚を通る本明細書に開示される化合物の透過の増加、紫外線 (UV) 抵抗性、皮膚の水和を増加させるために使用され得る閉塞性、および良好な合体安定性を提供し得る。

30

【0348】

ナノエマルジョンは、界面活性剤と組み合わされた油相および水相から形成された脂質の動力学的および熱力学的に安定な分散液である。本明細書に開示されるナノエマルジョンは、水中油型、油中水型、または両連続調合物であってもよい。ナノエマルジョンの性質は、調製の方法を制御することによって設計されてもよい。ナノエマルジョンは、典型的には、低い油または水界面張力を有する小粒子または液滴を含む、分散した相である。ナノエマルジョンは、典型的には (typically)、リン脂質の単分子層によって囲まれた親油性コアから形成される。ナノエマルジョンは、低い粘度、高い動力学的安定性、高い界面面積、高い可溶化能力、および吸収の速度の増加などの利益を提供する。化粧品および医薬品では、ナノエマルジョンは、活性成分の迅速な透過および能動輸送、ならびに皮膚への保湿を提供し得る。ナノエマルジョンは、フォーム剤、クリーム剤、スプレー剤、または液剤に製剤化されてもよい。

40

【0349】

ある特定のナノ粒子製剤、例えば、SLN、ナノエマルジョン、リポソーム、およびニオソームは、保湿性製剤において使用され、長期間水分を保持する保湿剤を提供し得る。

50

【0350】

金属ナノ粒子は、特異的性質を有するように設計されていてもよく、ナノスフェア、ナノシェル、ナノクラスター、ナノロッド、ナノスター、ナノキューブ、分枝状、およびナノトライアングルの形状であってもよい。金属ナノ粒子の形状、サイズ、および誘電性は、共振周波数に対する効果を有し得る。金属ナノ粒子は、サイズ、表面積、および結晶性を制御することによって、高い薬物ロード能力を有し、細胞壁を効率的に透過するように設計されていてもよい。金属ナノ粒子の利益には、血液循環の加速、抗炎症性、防腐性、皮膚の堅さおよび弾力性を改善すること、老化を遅延させること、および皮膚の代謝に活力を与えることが含まれる。例示的な金属ナノ粒子は、金、銀、および銅である。そのような金属ナノ粒子は、強い抗真菌性および／または抗細菌性を提供することが示されている。別の例示的な金属ナノ粒子は、二酸化チタン (TiO_2) であり、これは、紫外線 (UV) 照射からの保護を提供することが示されている。金属ナノ粒子は、天然で不活性、非常に安定、生物適合性、および非細胞傷害性であるように設計されていてもよい。2つ以上の金属を使用して、選択された性質を有する金属ナノ複合体を形成してもよい。

10

【0351】

ナノスフェアは、コア-シェル構造を有する球状ナノ粒子である。化合物は、ナノ粒子に封入、コンジュゲート、溶解、またはそうでなければ捕捉され得る。ナノスフェアは、結晶構造またはアモルファス構造であり得る。ナノスフェアは、生分解性または非生分解性であり得る。例示的な生分解性バイオスフェアとしては、ゼラチン、改変デンプン、およびアルブミンナノスフェアが挙げられる。1つの例示的な非生分解性ナノスフェアは、ポリ乳酸である。化粧品および医薬品では、ナノスフェアは、本明細書に開示される化合物をより正確におよび効率的に皮膚の深い層に送達するために使用され得る。ナノスフェアは、アクチン老化に対する保護を提供することが示されている。

20

【0352】

ペプチド系ナノ材料は、ペプチド結合によって連結されたいくつかのアミノ酸から作られた生物分子である。ペプチドは、一般に、酵素分解に起因して、腎臓における迅速なクリアランスを提供する。ペプチドナノ材料は、標的化および蓄積能力、小さなサイズ、生成の容易さおよびカスタマイズ可能性、ならびに生物適合性を含むいくつかの利益を提供し得る。ある特定のペプチドナノ材料は、温度、pH、イオン強度、または宿主とペプチドとの間の分子相互作用などの環境要因に応答して、別個の形状およびサイズに自己集合するように設計されていてもよい。ペプチドナノ粒子はまた、標的化送達のために機能化されていてもよい。機能化されたペプチドは、標的能の改善および有効性の増強を示すことが見出されている。

30

【0353】

ミトコンドリア標的化能力を有する1つの例示的なペプチドナノ粒子は、ミトコンドリア透過性ペプチド (MPP) である。MPPは、ミトコンドリアの二重膜に効率的に透過することができる細胞透過性ペプチドである。MPPは、一般に、正に荷電したペプチドであるように設計または選択される。ミトコンドリア膜の強い負電荷に起因して、正に荷電したペプチドは、ミトコンドリアを透過することができる。MMPは、すべての目的のために、その全体が参照により本明細書に組み込まれる "Mitochondrial targeted strategies and their application for cancer and other diseases treatment," (Li, 2020) に、より詳細に記載されている。そのため、MPPは、標的化送達のためのナノ粒子担体および／または表面改変として利用され得る。例えば、本明細書に開示される組成物は、MPPにコンジュゲートされていてもよく、または標的化送達のためのMPP表面機能化を有する別の担体に封入されていてもよい。

40

【0354】

本明細書に開示される製剤は、1つまたは複数の皮膚透過増強剤を含んでいてもよい。一般に、小さな中程度の親油性分子は、皮膚バリアを透過する可能性がある。他の化合物は、皮膚のバリア性を減少させること、または外部エネルギーの入力により皮膚を横断する化合物の移動を能動的に駆動することのいずれかによってバリアを透過させる、好適な

50

皮膚透過増強剤を必要とし得る。皮膚透過増強剤は、"Penetration Enhancement of Topical Formulations," (Ng, 2018)および"Transdermal Delivery Systems in Cosmetics," (Kim, 2020)に記載されており、これらのそれぞれは、すべての目的のために、その全体が、参照により本明細書に組み込まれる。

【0355】

本明細書に開示されるナノ粒子送達担体は、化合物のための皮膚透過の増強を提供し得る。本明細書に開示される製剤は、1つまたは複数の化学的または物理的皮膚透過増強剤を、追加してまたは代替的に含有していてもよい。例示的な化学的皮膚透過増強剤としては、エタノールおよびグリコールなどのアルコール、ジメチルスルホキシドなどのスルホキシド、ラウロカブラム、ピロリドン、ジメチルイソソルビド、ミリスチン酸イソプロピル、プロピレングリコール、オレイン酸、ユーカリプトール、水／水(aqua) (水和)、界面活性剤、尿素、脂肪酸、脂肪アルコール、ならびにテルペンおよび／またはテルペノイドが挙げられる。例示的な物理的皮膚透過増強剤としては、ローラー、スクレーパー、スクラバー、スクラバー、マイクロダーマブレーションニードル、イオントフォレーションデバイス、電気穿孔デバイス、超音波デバイス、例えば、ソノフォレーション、熱アブレーション、磁気泳動、フォトメカニカル波、電子線照射、および低光線治療デバイス、例えば、発光ダイオード(LED)源が挙げられる。2つまたはそれよりも多くの皮膚透過増強剤が、相乗的に、製剤中で使用されてもよい。

10

【0356】

化学的皮膚透過増強剤は、薬物化合物の経皮吸収を増強するための皮膚科学製品、経皮製品、化粧品製品、および医薬品製品に含まれていてもよい。化学的増強剤は、本明細書に開示される化合物の溶解性、透過、および／もしくは吸収を可能にし得るか、またはそれを改善し得る。例示的な化学的増強剤を下記に記載する。

20

【0357】

水(水(aqua))は、一般に、組成物の流動性を増加させ、より高い浸透性を提供する。加えて、水は、皮膚バリアを水和し、浸透の改善のために皮膚の脂質および／またはタンパク質を変更する。水和性化合物、例えば、グリセロールおよび尿素は、角質層の水和を容易にすること、およびバリア内の親水性拡散チャネルを形成することによって、経皮浸透を促進し得る。

【0358】

エタノールおよびプロピレンなどのアルコール溶媒は、化合物の流動性を増加させることによって透過の増強を提供し得、良溶媒としても作用する。浸透の度合いは、脂肪アルコールのアルキル鎖の長さを制御することによって選択されてもよい。

30

【0359】

界面活性剤は、一般に、製剤の活性成分および角質層内の脂質を含む、親油性薬剤を可溶化する。そのため、界面活性剤は、上皮細胞膜に分配すること、および膜脂質のパッキングを破壊すること、膜の完全性を低減する構造欠陥を形成することによって、皮膚浸透性を増強し得る。皮膚浸透に対する界面活性剤の効果は、界面活性剤の濃度および種類を選択することによって設計されてもよい。界面活性剤は、陰イオン性、陽イオン性、または非イオン性であってもよい。陰イオン性界面活性剤は、それらがケラチンおよび脂質と相互作用するので、皮膚または毛髪適用のために選択され得る。陽イオン性界面活性剤は、それらが極性相互作用を介して皮膚タンパク質と相互作用するので、皮膚適用のために選択され得る。非イオン性界面活性剤は、一般に、皮膚に対してあまり刺激性ではなく、良好な耐容性を有する。

40

【0360】

脂肪酸は、経皮的薬物吸収を増加させ得る。典型的には長く非分枝の脂肪族テールを有するカルボン酸である長鎖脂肪酸は、アルキル鎖の長さの効果として、経皮的薬物吸収を増加させることが実証されている。低分子量アルカノールは、角質層の脂肪マトリックスにおいて化合物の溶解性を増強するための可溶化剤として作用し得る。リノール酸、アルファリノール酸、およびアラキドン酸などの多価不飽和脂肪酸は、皮膚浸透を増強し得

50

る。1つの例示的な脂肪酸化学的透過増強剤は、オレイン酸である。オレイン酸は、流動性の増加、および分子の浸透に対する抵抗性の低減を提供する。

【0361】

テルペンは、植物抽出物において一般に見出される炭化水素である。テルペノイドは、追加の官能基を含有するテルペンである。透過増強を提供し得るテルペンの1つの群は、酸素含有テルペンである。例示的な酸素含有テルペンとしては、メントール、チモール、カルバクロール、メントン、およびシネオールが挙げられる。そのようなテルペンは、アルコールと類似の機構で透過を増強し得る。しかしながら、テルペンは、天然産物と考えられ得る。テルペンの利益には、最小限の刺激性および毒性を伴う高い経皮能力が含まれる。

10

【0362】

本開示の化合物は、ミトコンドリア標的化剤とともに製剤化されてもよい。例示的なミトコンドリア標的化剤としては、抗体、PEGなどのポリマー機能部分、トリフェニルホスフィン(TPP)などの親油性カチオン、およびミトコンドリア標的化ペプチド(MPP)などのペプチドが挙げられる。

【0363】

本開示の化合物は、代替的に、生理学的条件に近づけるために必要な薬学的および／または化粧品的に許容される担体物質、例えば、pH調整剤および緩衝化剤、張度調整剤、湿潤剤などとして、例えば、酢酸ナトリウム、乳酸ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化カルシウム、ソルビタンモノラウレート、トリエタノールアミンオレエートなどを含有していてもよい。固体組成物のために、例えば、医薬グレードのマニトール、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、タルカム、炭酸マグネシウムなどを含む、従来の非毒性の薬学的および／または化粧品的に許容される担体を使用することができる。

20

【0364】

本開示の組成物はまた、液剤、マイクロエマルジョン、または高濃度の活性成分に好適な他の秩序構造物として製剤化することができる。担体は、例えば、水、エタノール、ポリオール(例えば、グリセロール、プロピレングリコール、および液体ポリエチレングリコールなど)、およびその好適な混合物を含有する、溶媒または分散媒であり得る。液剤に適した流動性は、例えば、レシチンなどのコーティングの使用によって、分散性製剤の場合、所望の粒子サイズの維持によって、および界面活性剤の使用によって、維持することができる。

30

【0365】

ある特定の実施形態では、本開示の化合物(複数可)および組成物は、時間放出製剤で、例えば、遅延放出ポリマーを含む組成物で投与される。そのような組成物は、迅速な放出に対して保護する担体、例えば、ポリマー、マイクロカプセル化送達システムまたは生物付着性ゲルなどの制御放出媒体を用いて調製することができる。本発明のさまざまな組成物における延長された送達は、吸収を遅延させる剤、例えば、モノステアリン酸アルミニウム(aluminum monostearate)ヒドロゲルおよびゼラチンを組成物に含めることによってもたすことができる。制御放出製剤が所望される場合、本発明に従う使用に好適な制御放出結合剤には、活性薬剤に対して不活性であり、生物活性薬剤を組み込むことができる任意の生物適合性制御放出材料が含まれる。多数のそのような材料が、当技術分野において公知である。

40

局所投与に好適な製剤には、活性成分に加えて、当技術分野において公知の担体などを含有する、液剤、油剤、クリーム剤、乳剤、およびゲル剤が含まれる。局所製剤は、医薬品製剤または化粧品製剤であってもよい。一部の実施形態では、化合物は、シャンプー剤、コンディショナー剤、スプレー剤、クリーム剤、ゲル剤、香膏、ボディウォッシュ、石鹸、ローション剤、またはメイクアップとして製剤化される。

【0366】

本開示の化合物および本開示の組成物は、単位投与または複数回投与用密閉容器、例え

50

ば、アンプルおよびバイアル中に存在することができ、使用直前に、注射のために、無菌液体賦形剤、例えば、水の添加だけを必要とするフリーズドライ（凍結乾燥）状態で保管することができる。好適な単位用量、すなわち、有効量は、選択された化合物の投与が示され、当然ながら、所望の臨床エンドポイントに応じて変わる条件のそれぞれについて適切に設計された臨床試験の間に決定され得る。即時注射液剤および懸濁剤は、無菌の粉末、顆粒、および錠剤から調製することができる。注射用組成物のための有効な薬学的に許容される担体についての要件は、当業者に周知である。Pharmaceutics and Pharmacy Practice, J.B. Lippincott Co., Philadelphia, Pa., Banker and Chalmers, Eds., 238-250 (1982)およびASHP Handbook on Injectable Drugs, Toissel, 4th ed., 622-630 (1986)を参照されたい。

10

【0367】

加えて、直腸投与のために好適な製剤は、乳化基剤または水溶性基剤などの各種の基剤と混合することによって、坐剤として存在していてもよい。膣投与のために好適な製剤は、活性成分に加えて、当技術分野において適切であることが公知である担体などを含有する、ペッサリー、タンポン、クリーム、ゲル、ペースト、フォーム、またはスプレー処方として存在していてもよい。

【0368】

本明細書に開示される組成物は、各種の天然産物に関連していてもよく、そのような産物の例を、下記に示す。本明細書に開示される組成物は、天然産物として製剤化されていてもよい。本明細書に開示される組成物は、天然産物と組み合わせて投与されてもよい。本明細書に開示される組成物は、天然産物に組み込まれていてもよい。これらの天然産物は、本開示全体にわたって開示される製剤または組成物から構成されていてもよい。

20

【0369】

天然産物は、市販目的の産物であってもよく、またはそれを含んでいてもよく、天然供給源から生成された、栄養補助食品、および食品、例えば、食品、フードサプリメント、医療用食品、食品添加物、機能性食品、もしくは飲料を指していてもよい。天然産物は、例えば、疾患または状態の処置において、治療利益であり得る、薬理的または生物学的活性を有していてもよい。天然産物は、伝統医薬、美容目的の処置、化粧品、およびスパ処置に含まれていてもよい。本明細書で言及される天然産物は、1つまたは複数の他の構成成分、例えば、賦形剤を含む組成物または製剤に組み込まれる天然産物と記載される構成成分のいずれか1つまたは複数を含んでいてもよい。天然産物と称される調製物または製剤は、本明細書に定義される天然産物、および1つまたは複数の追加の構成成分または成分を含んでいてもよい。本開示全体にわたって考察される組成物、調製物、または製剤のいずれかは、1つもしくは複数の天然産物であってもよく、またはそれを含んでいてもよい。

30

【0370】

当業者は、本開示の化合物を患者に投与する好適な方法が利用可能であること、および2つ以上の経路を使用して、特定の化合物を投与することができるが、特定の経路が、別の経路よりもより即時のおよびより有効な反応を提供し得ることを認識するであろう。

【実施例】

40

【0371】

これらのおよび他の実施形態の機能および利点は、以下の実施例からより良好に理解することができる。これらの実施例は、本来的に説明を意図するものであって、本発明の範囲を限定するものとしてみなされない。

【0372】

（実施例1）

emblica抽出物由来の化合物の同定

emblicaに存在する化合物を同定するために、emblica抽出物を調製し、HPLCによって分析した。

【0373】

50

この実施例では、*E. officinalis* 抽出物を含有する 40.9 グラムのカプレット (Himalaya Drug Company、Sugar Land、TX ロット 112000924；それぞれのカプレットは、250 mg の果実抽出物 (45 % のタンニン) および 350 mg の粉末の幹 (2 % のタンニン) を含有する) を、250 ml のメタノールとともに室温で 6 時間攪拌した。得られた溶液を、濾過して、不溶性材料を除去し、メタノール層を、Rotovap を使用して取り除いた (画分 1)。濾過ステップから得られた固体材料を、追加の 250 ml のメタノールとともに室温で 4 時間攪拌し、濾過して、不溶性材料を除去し、フィルター漏斗およびメタノール層を、Rotovap を使用して取り除いた (画分 2)。画分 1 および 2 を合わせて、8.25 グラムの暗色の含水固体を得た。

【0374】

上記に記載されたようにして単離された 450 mg の固体を、2 ml のメタノールに溶解した。得られた溶液を、すべての内容物が溶液になるまで超音波処理し、Phenomenex Gemini (登録商標) 5 μ M NX-C18 110A 150 $\times$ 4.6 mm 液体クロマトグラフィーカラム (Phenomenex、Torrance、CA) を用いる ACCQPrep 装置 (Teledyne ISCO、Lincoln、NE) を使用する分取 HPLC 精製に付した。HPLC を、下記の表 3 に記載される 2 つの溶媒グラジエントを用いて行った。

表 3：HPLC グラジエント

【表 3】

グラジエント時間(分)	% 溶媒 A	% 溶媒 B	流速(ml/分)
0	0	100	42.5
5	0	100	42.5
20	90	10	45.2
24	90	10	42.5
26	5	95	42.5
28	5	95	42.5
29	50	50	42.5
43	50	50	42.5

溶媒 A- アセトニトリル； 溶媒 B- 水

水は、PureLab (登録商標) Ultra 水精製システム (ELGA LabWater、Woodridge、IL) により精製した。

【0375】

収集した画分を取り除き、画分を 11 の別々のバイアルに移した。1 mg のそれぞれの画分を取り、1.5 ml バイアル中で、1 ml のメタノールに溶解した。得られた溶液を、すべての内容物が溶液になるまで超音波処理し、Phenomenex Gemini (登録商標) 5 μ M NX-C18 110A 150 $\times$ 4.6 mm 液体クロマトグラフィーカラム (Phenomenex、Torrance、CA) を用いる Agilent 1100 シリーズ装置 (Agilent Technologies、Santa Clara、CA) を使用する分析的 HPLC 分析に付した。HPLC を、下記の表 4 に記載される 2 つの溶媒グラジエントを用いて行った。

表 4：HPLC グラジエント

【表 4】

グラジエント時間(分) n)	% 溶媒 A	% 溶媒 B	流速 (ml/ 分)
0	0	100	1
5	0	100	1
20	97.5	2.5	1
24	90	10	1
26	5	95	1
28	5	95	1
29	100	0	1
43	100	0	1

10

溶媒 A- 0.1% のトリフルオロ酢酸 (TFA) を有するアセトニトリル
溶媒 B- 0.1% の TFA を有する水
水は、PureLab (登録商標) Ultra 水精製システム (ELGA LabWater、Woodridge、IL) により精製した。

【0376】

emblica 抽出物中の特異的化合物を同定するために、表 5 に示される標準物質を使用した。

表 5：emblica 抽出物化合物同定標準物質

20

【表 5】

一般名	Cas 番号	供給源	保持時間(分)
没食子酸	149-91-7	Acros	6.88
		Organics	7.22
バニリン酸	121-34-6	Alfa Aesar	27.64
クロロゲン酸	327-97-9	TCI America	28.61
コーヒー酸	331-39-5	TCI America	28.65
シリンガ酸	530-57-4	Acros Organics	28.86
tp クマリン酸	501-98-4	TCI America	29.52
ケルセチン	849061-97-8	Acros Organics	30.63
ビタミンC	50-81-7	Sigma	2.36
		Aldrich	3.3

30

【0377】

標準物質を、1 ml のメタノールに 1 mg の標準物質を溶解し、溶液を超音波処理し、2 ml のバイアルに溶液を添加することによって調製した。試料を、上記に記載されたようにして分析的 HPLC に付し、純度を検証した。組合せた標準物質の溶液を、100 ul のそれぞれの標準物質を別々の 2 ml のバイアルに添加することによって作製した。標準物質を使用して、emblica 抽出物中の構成成分を同定した。

【0378】

以下の化合物 (表 6) を、上記に記載されたようにして調製および分析された emblica 抽出物において同定した。

表 6：emblica 抽出物において同定された化合物

50

【表 6】

一般名	Cas 番号	emblica 錠剤中の推定量
没食子酸	149-91-7	70%
バニリン酸	121-34-6	2 % 未満
クロロゲン酸	327-97-9	2 % 未満
コーヒー酸	331-39-5	2 % 未満
シリンガ酸	530-57-4	2 % 未満
lp クマリン酸	501-98-4	2 % 未満
ケルセチン	849061-97-8	2 % 未満
ビタミンC	50-81-7	20%

【 0 3 7 9 】

加えて、およそ 2 0 の他の化合物が存在したが、まだ同定されていない。

【 0 3 8 0 】

(実施例 2)

emblica 抽出物の適用の効果を改善する in vivo のエネルギーおよびバイタリティーを示す予測実施例

さらなる特定の組み入れ基準なしで、目立った目のしわの形態の老化を示す 3 5 ～ 7 0 歳の年齢の男性および女性対象を、研究のために評価する。対象は、選択されるあらかじめ定義された選択肢を有する 1 0 の選択質問のベースライン質問票を完成させる。質問票は、ベースラインのエネルギーレベルおよびバイタリティーに関する情報を要求する。他のベースラインパラメーターは、DermaTOP（表面構造の三次元イメージング）による皮膚の粗さ（Ra、Rz）、Corneometer（Courage & Khazaka、Cologne、Germany）（静電容量測定）による皮膚の水和、およびCutometer（3 0 0 mbar の吸引の間の皮膚の変位の光学的測定）による皮膚の弾力性について測定する。

【 0 3 8 1 】

対象に、emblica 抽出物（2 ～ 5 滴の emblica 抽出物オイル）またはプラセボを、およそ 1 2 週間、毎日 2 回、顔の片側に局所適用する。研究は、スプリットフェイスデザインで行う。抗しわ性を、目じりの小じわの領域において眼窩周囲で測定する。皮膚の保湿効果を、頬の骨上で評価する。emblica 抽出物の効果を、参照製品またはプラセボと比較する。

【 0 3 8 2 】

対象は、研究の終了時に、最後の質問票を完成させる。最後の質問票は、ベースラインのエネルギーレベルおよびバイタリティーに関する情報を要求する。皮膚の粗さ（Ra、Rz）、皮膚の水和、および皮膚の弾力性も、研究の終了時に測定する。ベースラインの結果を、最後の結果と比較する。

【 0 3 8 3 】

emblica 抽出物の投与は、エネルギーレベルおよびバイタリティーを改善すると

予想される。emblica抽出物の投与は、皮膚の粗さ、皮膚の水和、皮膚の弾力性、および質問票によって測定される追加の定性的パラメーターを含む老化関連パラメーターを改善することも予想される。

【0384】

(実施例3)

in vivoでのemblica抽出物によるミトコンドリアDNA枯渇および機能の回復ならびに炎症の抑制

これらの実験では、8～9週齢の雌C57BL/6対照マウスおよびmtDNA枯渇マウス(D1135A-POLG1を発現する)の剪毛された背側皮膚を、200μlの50mg/mlのemblica抽出物軟膏(方法セクションに記載されるようにして調製)または対応する量の対照軟膏(emblica抽出物を欠く)で、dox投与(200mg/kg食餌のみ)の開始の1週間前に開始して、毎日局所処置し、16週間(112日)、毎日の適用を継続した。

10

【0385】

mtDNA機能の反転に対するemblica抽出物処置の効果を、emblica抽出物軟膏または対照軟膏で処置されたmtDNA枯渇マウスのパラフィン包埋した背側皮膚切片をOxphos複合体IV抗体(COXII)で染色することによって調べた(n=3)。対照処置と比較して、emblica抽出物で処置されたmtDNA枯渇の皮膚におけるCOXII染色の統計学的に有意な増加が観察された(図1A)。加えて、mtDNAをコードする遺伝子のRT-PCR分析は、対照処置と比較して、emblica抽出物で処置されたmtDNA枯渇の皮膚における上方調節を示した(図1B)。最後に、mtDNA含量の増加が、対照処置と比較して、emblica抽出物で処置されたmtDNA枯渇マウスからの皮膚試料において観察された(図1C)。

20

【0386】

本明細書に記載されるように、mtDNA枯渇マウスの皮膚は、肥満細胞、好中球およびリンパ球を含む、真皮および付属器周囲の混合炎症細胞の増加を示した。emblica抽出物による処置後、mtDNA枯渇マウスの皮膚は、肥満細胞(ギムザ+ve陽性細胞; p=3.56E-07)、顆粒球(MPO+ve細胞; P=0.002)、マクロファージおよび組織球(CD163+ve細胞; p=0.007)、ならびにBリンパ球(Pax-5+ve細胞; p=0.042)を含む、真皮および付属器周囲の炎症細胞の統計学的に有意な減少を示した(図1D)。対照軟膏で処置されたmtDNA枯渇マウスに対して、emblica抽出物で処置されたmtDNA枯渇マウスの皮膚試料における炎症遺伝子の発現の減少も観察された(データは示さない)。

30

【0387】

(実施例4)

in vivoでのfucus抽出物によるしわのある皮膚および脱毛の反転によって証拠付けられるミトコンドリアDNA枯渇の回復

ミトコンドリアDNAおよび機能を回復させる他の薬剤の能力を調査するために、fucus抽出物を調べた。ミトコンドリアDNA枯渇の反転は、しわのある皮膚および脱毛の反転によって証拠付けられる。しかし、ミトコンドリアDNA枯渇の反転は、他の兆候に対する治療効果を有する。

40

【0388】

これらの実験では、8～9週齢の雌C57BL/6対照マウスおよびmtDNA枯渇マウス(D1135A-POLG1を発現する)の剪毛された背側皮膚を、200μlの50mg/mlのfucus抽出物軟膏(方法セクションに記載されるようにして調製)または対応する量の対照軟膏(fucus抽出物を欠く)で、dox投与(200mg/kg食餌および5%のスクロース水中2mg/mL)の開始の1週間前に開始して、毎日局所処置し、51日間継続した(それぞれの群についてn=4)。

【0389】

結果を図2Aに示す。以前の結果と一致して、mtDNA枯渇マウスへのdox投与は

50

、有意な脱毛および皮膚のしわの表現型をもたらした。f u c u s 抽出物の投与は、f u c u s 抽出物処置なしのm t D N A 枯渇マウス（d o x 投与単独）と比較して、脱毛および皮膚のしわの表現型を部分的に反転させた。対照マウスは、d o x 単独、またはf u c u s 抽出物と組み合わせたd o x で処置された場合に、効果を示さなかった。

【0390】

（実施例5）

i n v i v o のf u c u s 抽出物によるミトコンドリアD N A 含量の回復

ミトコンドリアD N A 含量に対するf u c u s 抽出物処置の効果も調べた。実施例4の動物からの皮膚試料を収集し、ミトコンドリアD N A 含量について分析し、結果を図2 B に示す。図2 B に示されるように、m t D N A 枯渇マウスへのd o x 投与は、対照マウスと比較して、ミトコンドリアD N A 含量の有意な減少をもたらした。f u c u s 抽出物の投与は、ミトコンドリアD N A 含量を完全に回復させた。これらの結果は、m t D N A 枯渇マウスにおける脱毛およびしわのある皮膚の表現型を反転させることに対するf u c u s 抽出物の有利な効果が、ミトコンドリアD N A 含量の保存と関連することを示す。

【0391】

（実施例6）

i n v i t r o のミトコンドリアバイオジェネシス調節タンパク質の発現

e m b l i c a 抽出物、その構成成分、f u c u s 抽出物、および関連化合物を、投与後6時間、24時間、および48時間の時点で、ミトコンドリア複合体I V サブユニット2（C O X I I）、ミトコンドリア転写因子A（T F A M）、およびペルオキシソーム増殖因子活性化受容体ガンマコアクチベーター1-アルファ（P G C-1 a）を含むミトコンドリアバイオジェネシス調節タンパク質の誘導発現についてi n v i t r o で試験した。結果を、図4 A ~ 4 C のグラフおよび図5のゲル電気泳動画像に提示する。

【0392】

試験された組成物の多くは、D M S O 参照と比較して、タンパク質の発現の増加を示した。発現は、通常、時間の増加とともに増加した。

【0393】

（実施例7）

i n v i t r o のミトコンドリアバイオジェネシス調節タンパク質の延長された発現

e m b l i c a 抽出物を、一般に前の実施例に記載されるようにして、投与後6時間、12時間、24時間、48時間、72時間、および96時間の時点で、ミトコンドリア複合体I V サブユニット2（C O X I I）、ミトコンドリア転写因子A（T F A M）、およびペルオキシソーム増殖因子活性化受容体ガンマコアクチベーター1-アルファ（P G C-1 a）を含むミトコンドリアバイオジェネシス調節タンパク質の誘導発現についてi n v i t r o で試験した。0.01%、0.05%、0.1%および0.2%のe m b l i c a 抽出物の製剤を試験した。結果を、図6 A ~ 6 F（C O X I I 発現）、7 A ~ 7 F（T F A M 発現）、および8 A ~ 8 F（P G C-1 a 発現）のグラフに提示する。一般的な傾向で、ある特定の製剤は、より早い時点よりも96時間後に、より高い発現を誘導した。

【0394】

ナノ粒子送達担体を用いて製剤化されたe m b l i c a 抽出物を、投与後6時間および24時間の時点で、C O X I I の誘導発現についてi n v i t r o で試験し、非封入組成物と比較した。結果を、図9 A ~ 9 D のグラフに提示する。具体的には、図9 A は、非カプセル化組成物の投与6時間後のC O X I I 発現を示す。図9 B は、ナノカプセル化組成物の投与6時間後のC O X I I 発現を示す。図9 C は、非カプセル化組成物の投与24時間後のC O X I I 発現を示す。図9 D は、ナノカプセル化組成物の投与24時間後のC O X I I 発現を示す。

【0395】

図9 A ~ 9 D に提示されるデータに示されるように、すべてのe m b l i c a 抽出物製剤は、C O X I I 発現の増加を示し、ある特定のナノカプセル化製剤は、C O X I I 発現

10

20

30

40

50

のより高い増加を示した。

【0396】

(実施例8)

*in vitro*のミトコンドリアバイオジェネシス調節タンパク質の発現

*emblica*抽出物の選択された構成要素を、一般に前の実施例に記載されるようにして、投与後6、12、24、および48時間の時点で、COXIIおよびTFAMを含むミトコンドリアバイオジェネシス調節タンパク質の誘導発現について*in vitro*で試験した。種々の濃度の製剤を試験した。結果を、図10Aから22Dのグラフに提示する。簡潔には、ケブラジン酸、ケブリン酸、ケンフェロール、エラグ酸、アスコルビン酸、クエン酸、没食子酸、ケルセチン、プニカラギンを、 $2.5\mu\text{M}$ ～ $100\mu\text{M}$ の範囲の濃度で、標的タンパク質の誘導発現について試験した。

10

【0397】

(実施例9)

*emblica*抽出物およびケブリン酸のナノカプセル化

*emblica*抽出物およびケブリン酸製剤およびナノカプセル化ケブリン酸製剤を、一般に実施例4に記載されるようにして、投与後6、12、18、および24時間の時点で、ミトコンドリアバイオジェネシス調節タンパク質COXIIおよびTFAMの誘導発現について*in vitro*で試験した。種々の濃度の製剤を試験した。結果を、図23A～23D (COXII) および24A～24D (TFAM) のグラフに提示する。

【0398】

20

0.01%～0.2%の*emblica*抽出物および $50\sim400\mu\text{g}/\text{L}$ をロードする種々の濃度のナノ粒子の投与6時間後のCOXIIの誘導発現を試験した。結果を、図31A～31Bのグラフに提示する。図25A～25Bのグラフに示されるように、より高い効果は、より多くの化合物ロードの結果として観察された。

【0399】

$4.4\mu\text{m}$ ～ $95\mu\text{m}$ のサイズのナノ粒子組成物の投与6、12、24、および48時間後のCOXIIおよびTFAMの誘導発現(*emblica*抽出物ありおよびなし)を試験した。結果を、図26A～26D (COXII)、図27A～27D (TFAM)、および図28A～28D (COXII) のグラフに提示する。グラフにおいて、x軸の凡例は以下の通りである。

30

ナノA：Y100 (*emblica*抽出物) 粉末がロードされた(40%のLF；平均粒子サイズ= $11.6\mu\text{m}$)

ナノB：Y100 (*emblica*抽出物) オイルがロードされた(42%のLF；平均粒子サイズ= $9.4\mu\text{m}$)

ナノC：非ドープブランク (平均粒子サイズ= $7.7\mu\text{m}$)

ナノD：大サイズのオクチルドープブランク (平均粒子サイズ= $95\mu\text{m}$)

ナノE：小サイズのオクチルドープブランク (平均粒子サイズ= $4.4\mu\text{m}$)

【0400】

図26A～26D、27A～27D、および28A～28Dのグラフに示されるように、より高い効果は、一般に、より小さな粒子の結果として観察された。

40

【0401】

より小さなサイズを有するナノ粒子組成物の投与6、12、24、および48時間後のCOXIIおよびTFAMの誘導発現(*emblica*抽出物ありおよびなし)(オクチルドーピングありおよびオクチルドーピングなし)を試験した。結果を、図29A～29D (COXII)、および図30A～30D (TFAM) のグラフに提示する。図29A～29Dおよび30A～30Dに提示されるデータに示されるように、オクチルドープ粒子は、それらの非ドープ対応物よりも高い発現を示した。

【0402】

全体的に、データは、ナノ粒子のロードおよびナノ粒子のサイズに応じたミトコンドリアバイオジェネシスの誘導が、ミトコンドリアバイオジェネシスに影響を及ぼすことを示

50

す。ナノ粒子調製物（オクチルドープと非ドープとの間）およびロードの相違は、ミトコンドリアバイオジェネシスの誘導に対する効果を有する。

【0403】

材料および方法

mtDNA枯渇マウスの作製

D1135A-POLG1部位特異的変異を、部位特異的変異誘発キット（Agilent、Santa Clara、CA、USA）を使用して、全長ヒトPOLG1相補的DNA（cDNA）において作り出した。部位特異的変異誘発のために使用されたプライマー配列は以下の通りであり、変異部位は大文字である：D1135A__F：5'-gc
atcagcatccatgCGgagggttcgcctaccctgg-3'およびD11
35A__R：5'-ccagggtagcgaacctcCGcatggatgctgat
gc-3'。変異を、配列決定によって確認した。D1135A-POLG1 cDNA
を、dox誘導性哺乳動物発現ベクターのpTRE-Tight-BI-AcGFP1（
Clontech、Palo Alto、CA、USA）にサブクロニングした。ヒト
D1135A-POLG1（POLG1-DN）の生殖系列伝達を得るために、pTRE
-Tight-BI-AcGFP1-D1135A-POLG1構築物のC57BL/6
マウス由来の受精卵母細胞へのマイクロインジェクションを行った。潜在的なファウン
ダーを、ヒトPolg1導入遺伝子の存在についてのテールバイオプシーからのゲノムDN
Aを、PCRを使用してスクリーニングすることによって、特定した。ヘテロ接合性ヒト
POLG1陽性（+／POLG1-DN⁺）のファウンダーの雄マウスを、CAG-rt
TA3（rtTA）C57BL/6雌マウス（Jackson Laboratories、ストック番号016532）と交尾させて、+／POLG1-DN⁺rtTA⁺ヘテ
ロ接合性トランスジェニックマウスを得た。+／POLG1-DN⁺rtTA⁺ヘテロ接
合性マウスを、異種交配させて、ホモ接合性POLG1-DN⁺rtTA⁺／POLG1
-DN⁺rtTA⁺マウス（mtDNA枯渇マウス）を作製した。この交配は、正常な産
仔数（6～7頭の仔）、および遺伝子型のメンデル分布、すなわち、野生型、ヘテロ接合
性+／POLG1-DN⁺または+／rtTA⁺およびホモ接合性POLG1-DN⁺rt
TA⁺／POLG1-DN⁺rtTA⁺の1：2：1の分布をもたらし、POLG1-D
N対立遺伝子についてのホモ接合性が、胎仔または出生後の致死性をもたらさないこと
を示した。すべてのマウスは、食餌（200mg/kg食餌）および水（5%のスクロー
ス水中2mg/mlのdox）中のdoxを、自由に与えた。すべての動物実験は、動物
実験委員会によって確立されたガイドラインに従うことによって実施した。

【0404】

組織学および免疫組織化学的分析

背側および他の組織からの皮膚を、緩衝化ホルマリン中で固定し、パラフィンに包埋し
、切片化し（5μM）、ヘマトキシリンおよびエオシンで染色した。皮膚切片を、ギムザ
染色で染色して、肥満細胞を検出した一方で、MPO、CD3、CD163、およびPa
x-5抗体を、免疫組織化学的分析による他の種類の炎症細胞の検出のために使用した（
Carson, et al., Histotechnology: A Self-Instruction Text, 3 ed., A
merican Society for Clinical Pathology Press, Hong Kong, 2009）。

【0405】

RT-PCRおよびmtDNA含量分析

RT-PCRによって相対遺伝子発現を測定するために、皮膚試料からの総細胞RNA
を、トリゾール（Invitrogen、Carlsbad、CA、USA）を使用して
単離した。およそ1000～2000ngのRNAを、試料にわたって正規化し、cDN
Aを、Iscript cDNA合成キット（Bio-Rad Laboratories、Hercules、CA、USA）を使用して作製した。次いで、cDNAを、Gr
een Taq PCR混合物（Promega、Madison、WI、USA）およ
び下記の表1に示される遺伝子特異的プライマーを使用するRT-PCRに付した。PC
R産物を、1.5～2%のアガロースゲルに流し、ゲル撮影システムを使用して撮影した

。少なくとも3回の生物学的反復を、それぞれのPCRにおいて使用した。β2-ミクログロブリンまたはRNU6Bを、それぞれのPCRにおいて内部対照として使用した。

【0406】

皮膚および他の組織におけるmtDNA含量分析を、前に報告されたようにして (Singh et al., PloS One, 10, e0139846, 2015)、行った。簡潔には、mtDNA含量を、以下のプライマーを用いる絶対的定量により、リアルタイムPCRによって分析した：mMitof：5'-CTAGAAACCCCGAAACCAAA-3'、mMitofR：5'-CCAGCTATCACCAAGCTCGT-3'、mB2MF：5'-ATGGGAAGCCGAACATACTG-3'、およびmB2MR：5'-CAGTCTCAGTGGGGGTGAAT-3'。ベータ-2-ミクログロブリン (B2M) を、内部対照として使用した。

【表7】

表7- 遺伝子型判定のために使用したプライマー		
標的	フォワードプライマー	リバースプライマー
POLG1	CAA GGT CCA GAG AGA AAC TG	CTC TGT ACC ACC CAA TTC AC
CAG-rfTA	CTG CTG TCC ATT CCT TAT TC	CGA AAC TCT GGT TGA CAT G
GFP	GGG CAA TAA GAT GGA GTA CA	TGG ACA GGT AGT GGT TAT CG
RT-PCRのために使用したプライマー		
POLG1	CCA GGG AGA GTT TAT AAC CA	CAA ATT CCT CAA ACA GCC AC
COXII	GGC ACC TTC ACC AAA ATC AC	CGG TTG TTG ATT AGG CGT TT
NDI	CCT ATC ACC CTT GCC ATC AT	TTG CTG CTT CAG TTG ATC GT
NF-κB	TGG CCG TGG AGT ACG ACA A	GCA TCA CCC TCC AGA AGC A
MMP2	ACC TGA ACA CTT TCT ATG GCT G	CTT CCG CAT GGT CTC GAT G
MMP9	CTG GAC AGC CAG ACA CTA AAG	CTC GCG GCA AGT CTT CAG AG
TIMP1	CTT GGT TCC CTG GCG TAC TC	ACC TGA TCC GTC CAC AAA CAG
COL1A1	CTG GCG GTT CAG GTC CAA T	TTC CAG GCA ATC CAC GAG C
シクロオキシゲナーゼ2	AAC CGC ATT GCC TCT GAA T	CAT GTT CCA GGA GGA TGG AG
CCL5	AGA TCT CTG CAG CTG CCC TCA	GGA GCA CTT GCT GCT GGT GTA G
IL28a	AGG TCT GGG AGA ACA TGA CTG	CTG TGG CCT GAA GCT GTG TA
IFNB1	GTC ATG GGT TTC TCA TGA AGA ACA G	CAG ACC CCT TCC AGT GAT TCA TC
VEGF	GAG GAT GTC CTC ACT CGG ATG	GTC GTG TTT CTG GAA GTG AGC AA
IGF1R	CGA GCT TCC TGT GAA AGT GAT GT	CAC GTT ATG ATG ATT CGG TTC TTC
Klotho	GGA CAT TTC CCT GTG ACT TTG C	AGA GAG AGT AGT GTC CAC TTG AAC GT
MRPS5	AAC CAC TGT CTG ACC AGC TTG	AGT CTC TGC TAA TGC GCC TTT
RNU6B	CTC GCT TCG GCA GCA CA	AAC GCT TCA CGA ATT TGC GT
B2M	ATG GGA AGC CGA ACA TAC TG	CAG TCT CAG TGG GGG TGA AT

【0407】

マイクロアレイ遺伝子分析

総RNA試料を、dox誘導の5日後に、POLG1 D1135Aを発現するMCF-7細胞から、およびトリゾール抽出法 (Invitrogen) によってdoxの非存在下で5日間成長させた細胞から、抽出した。Illuminaヒトマイクロアレイ遺伝子発現分析を、以前に記載されたようにして、総RNA試料を用いて行った。

BN-PAGEおよびウエスタンブロット分析

【0408】

ミトコンドリアの単離を、以前に記載されたようにして (Johnstone et al., J Biol Chem, 277, 42197-42204, 2002)、行った。ミトコンドリアOXPHOSスーパー複合体を分析するために、ブルーネイティブポリアクリルアミドゲル電気泳動 (BN-PAGE) を、以前に記載されたようにして (Schagger et al., Methods

Enzymol, 260, 190-202, 1995)、皮膚試料から調製されたミトコンドリア画分を用いて行った。皮膚試料中のミトコンドリアOXPHOSサブユニットのタンパク質発現を、標準的な免疫プロットに従って行った。OXPHOS複合体のサブユニットに対する一次モノクローナル抗体(Mitosciences、Eugene、OR、USA)を含有するプレミックスカクテルを使用して、BN-PAGE分析においてOXPHOSスーパー複合体、および免疫プロット分析においてOXPHOSサブユニットのタンパク質発現を検出した。電位依存性陰イオンチャネル(VDAC)または β -アクチン抗体を、ロード対照として使用した。

【0409】

OXPHOS複合体の酵素活性の分析

単離されたミトコンドリアを、以前に記載されたようにして(Owens et al., PloS One, 6, e23846, 2011)、OXPHOS複合体の酵素活性の測定のために使用した。

【0410】

透過型電子顕微鏡法

皮膚試料の透過型電子顕微鏡分析を、以前に記載されたようにして(NAG et al., J Mol Cell Cardiol, 15, 301-317, 1983)、行った。画像を、FEI-Technai電子顕微鏡を使用して取得した。

【0411】

細胞培養

野生型C57BL/6(対照細胞)およびD1135A-POLG1部位特異的変異を含有するmtDNA枯渇マウス(POLG1-DN細胞)由来の皮膚線維芽細胞を作製し、記載されたようにして(Todaro et al., J Cell Biol, 17, 299-313 (1963))、自発的に不死化した。これらの細胞を、10%のFBS(Atlanta Biologicals、Lawrenceville、GA)が補充されたDMEM/F12(Cellgro、Herndon、VA)中で維持した。皮膚線維芽細胞においてPOLG1-DN発現を誘導するために、水に溶解した $1\mu\text{g}/\text{ml}$ のdoxを、培養中の細胞に添加し、インキュベーションの6日後、細胞を、PBSで洗浄し、総RNAの単離のためにトリゾール中に収集した。

【0412】

細胞増殖および細胞生存を推定するために、MTTアッセイを、以前に記載されたようにして(Ronghe et al., J Steroid Biochem Mol Biol, 144 PtB, 500-512, 2014)、行った。対照細胞およびPOLG1-DN細胞の両方を、最初に、dox($1\mu\text{g}/\text{ml}$)で3日間処理し、次いで、細胞を、dox($1\mu\text{g}/\text{ml}$)含有培養培地ありまたはなしで、3000個の細胞/ウェルの密度で96ウェルプレートに蒔いた。読み取りを、24時間ごとに取得した。

【0413】

emblica抽出物の調製

emblica officinalisを、市販のカプレット(Himalaya Drug Company、Sugar Land、TX)から得た。それぞれのカプレットは、600mg(250mgの果実抽出物(45%のタンニン)、350mgの粉末の幹(2%のタンニン))を含有する。カプレットを、粉碎し、滅菌水に溶解して、 $100\text{mg}/\text{ml}$ の溶液を作製し、次いで、濾過した。次いで、emblica溶液を、局所適用用の適切な軟膏基剤と混合した。好適な軟膏基剤としては、限定されるものではないが、dermabase軟膏(MARCELLE(登録商標);水、鉱物油、プロピレングリコール、ステアリルアルコール、セチルエステル、セチルアルコール、ステアリン酸グリセリル、ラウリル硫酸ナトリウム、レシチン、およびメチルパラベン)および1:1w/v)およびGeritrex親水性軟膏(NDC 54162-670-14)が挙げられる。軟膏基剤およびemblica溶液を、任意の好都合な比、例えば、1:5w/vのemblica溶液対軟膏基剤~5:1w/vのemblica溶液対軟膏基剤で

10

20

30

40

50

添加し得る。軟膏基剤および *emblica* 溶液を、 $1:1w/v$ の *emblica* 溶液対軟膏基剤の比で添加し得る。

【0414】

fucus 抽出物の調製

Fucus vesiculosus (bladder wrack、black tang、rockweed、bladder fucus、sea oak、cut weed、dyers fucus、red fucus、および rock wrack としても公知) 粉末を、Maine Coast Sea Vegetables, Inc. (Hancock, MN) から得た。水溶液 ($100mg/ml$) 溶液を、*fucus* 粉末から調製し、濾過した。次いで、*fucus* 溶液を、局所適用用の適切な軟膏基剤と混合した。好適な軟膏基剤としては、限定されるものではないが、dermabase 軟膏 (MARCELLE (登録商標) ; 水、鉱物油、プロピレングリコール、ステアリルアルコール、セチルエステル、セチルアルコール、ステアリン酸グリセリル、ラウリル硫酸ナトリウム、レシチン、およびメチルパラベン) および $1:1w/v$ および Geritrex 親水性軟膏 (NDC 54162-670-14) が挙げられる。軟膏基剤および *fucus* 溶液を、任意の好都合な比、例えば、 $1:5w/v$ の *fucus* 溶液対軟膏基剤～ $5:1w/v$ の *fucus* 溶液対軟膏基剤で添加し得る。軟膏基剤および *fucus* 溶液を、 $1:1w/v$ の *fucus* 溶液対軟膏基剤の比で添加し得る。

10

【0415】

emblica 抽出物の *in vivo* 実験設計

動物実験のために、マウスの背側皮膚を、皮膚への組成物の投与の開始のおよそ2日前に脱毛した (例えば、低用量のイソフルラン吸入麻酔下で剪毛した)。さまざまな活性組成物および対照組成物を、記載されたようにして、毎日、背側皮膚に局所適用した。マウスの皮膚を、収集および分析の前に脱毛した。

20

【0416】

$100mg/ml$ 水溶液の濃度の *emblica* 抽出物軟膏を、それぞれの日に、マウスの背側皮膚の規定の剪毛領域に、局所適用した。対照組成物は、*emblica* 抽出物の添加なしの、同じ量の軟膏基剤を含んでいた。

【0417】

$100mg/ml$ 水溶液の濃度の *fucus* 抽出物軟膏を、それぞれの日に、マウスの背側皮膚の規定の剪毛領域に、局所適用した。対照組成物は、*fucus* 抽出物の添加なしの、同じ量の軟膏基剤を含んでいた。

30

【0418】

mtDNA 枯渴マウス (D1135A-POLG1 変異を含有する)、および野生型 C57BL/6 マウス (対照) を、予防的および治療的実験において使用した。

【0419】

予防的実験では、上記に記載される毎日の *emblica* 抽出物処置を、POLG1-DN の dox 媒介誘導を開始する7日前に開始した。mtDNA 枯渴マウスおよび野生型 C57BL/6 マウスの両方を、2つの処置群: i) 対照群 (軟膏基剤のみで処置、 $n=5$) ; および ii) 試験群 (*emblica* 抽出物軟膏で処置、 $n=5$) に分割した。毎日の投与を、実験の最後まで継続した (112日まで)。

40

【0420】

治療的実験では、野生型 C57BL/6 マウス (対照) および mtDNA 枯渴マウスを、最初に、30日間 dox で誘導し、次いで、上記に記載される *emblica* 抽出物処置を、毎日、実験の最後まで適用した (112日まで)。mtDNA 枯渴マウスおよび野生型 C57BL/6 マウスの両方を、2つの処置群: i) 対照群 (軟膏基剤のみで処置、 $n=5$) ; および ii) 試験群 (*emblica* 抽出物軟膏で処置、 $n=5$) に分割した。

【0421】

dox 投与の期間、実施例 1～13 について、マウスに、食餌 ($200mg/kg$ 食餌

50

）および水（５％のスクロース水中の２ｍｇ／ｍｌのｄｏｘ）中のｄｏｘを自由に与え、実施例１４～１５について、マウスに、食餌（２ｍｇ／ｋｇ食餌）および水（５％のスクロース水中の２ｍｇ／ｍｌのｄｏｘ）中のｄｏｘを自由に与えた。予防的および治療的 *in vivo* 実験の両方の概略図を図３に示し、実施例３～５のある特定の試験で、*emblica* 抽出物または *fucus* 抽出物の投与の時間経過が、図３で指定された期間の最後（すなわち、１１２日まで）を超えて継続したことに留意されたい。

【０４２２】

統計分析

統計分析を、対応のないスチューデントの *t* 検定を使用して行った。データを、平均 ± *s.e.m.* として表す。＜０．０５の *P* 値を有意とみなした。すべての細胞実験を、少なくとも３回繰り返した。

【０４２３】

本明細書で使用される語法および用語は、説明の目的のためであり、限定するものとしてみなされるべきではない。本明細書で使用される場合、「複数」という用語は、２つまたはそれよりも多くの事項または構成成分を指す。「含む (*comprising*)」、「含む (*including*)」、「持つ (*carrying*)」、「有する (*having*)」、「含有する (*containing*)」、および「含む (*involving*)」という用語は、明細書または特許請求の範囲などにかかわらず、オープンエンドの用語である、すなわち、「含むが、限定されるものではない (*including but not limited to*)」を意味する。そのため、そのような用語の使用は、その後列挙される事項、およびその等価物、ならびに追加の事項を包含することを意味する。特許請求の範囲に関して、「からなる」および「から本質的になる」という移行句のみが、それぞれ、クローズドまたは半クローズドの移行句である。特許請求の範囲の要素を修飾するための特許請求の範囲における「第１」、「第２」、「第３」などのような順序を示す用語の使用は、方法の行為が行われる別のまたは一次的な順序に対するある特許請求の範囲の要素の任意の優先度、好ましさ、または順序をそれ自体によって暗示するものではなく、特許請求の範囲の要素を識別するために、ある特定の名称を有する特許請求の範囲の一要素を、（順序を示す用語の使用がなければ）同じ名称を有する別の要素から識別する表示として単に使用される。

【０４２４】

少なくとも１つの実施形態のいくつかの態様をこのように記載することで、さまざまな変更、改変、および改善に当業者が容易に気付くであろうことが認識されるべきである。任意の実施形態に記載される任意の特性は、任意の他の実施形態の任意の特性に含まれていてもよく、またはそれと置換されてもよい。そのような変更、改変、および改善は、本開示の一部であることが意図され、本発明の範囲内であることが意図される。したがって、前記の説明および図面は、例としてのみである。

【０４２５】

当業者は、本明細書に記載されるパラメーターおよび構成が、例示的なものであること、ならびに実際のパラメーターおよび／または構成が、開示される方法および材料が使用される特定の適用に依存することを認識すべきである。当業者はまた、慣例的な実験だけを使用して、開示される特定の実施形態に対する等価物を認識すべきであり、またはそれを説明することが可能であるはずである。

10

20

30

40

50

【図面】
【図 1 - 1】

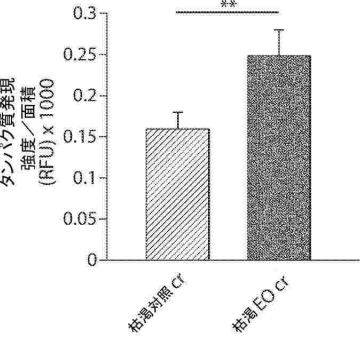


FIG. 1A

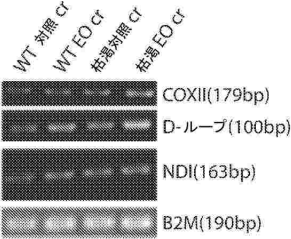


FIG. 1B

【図 1 - 2】

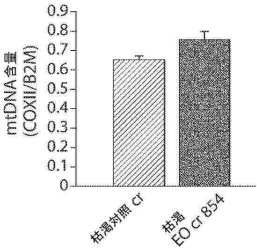


FIG. 1C

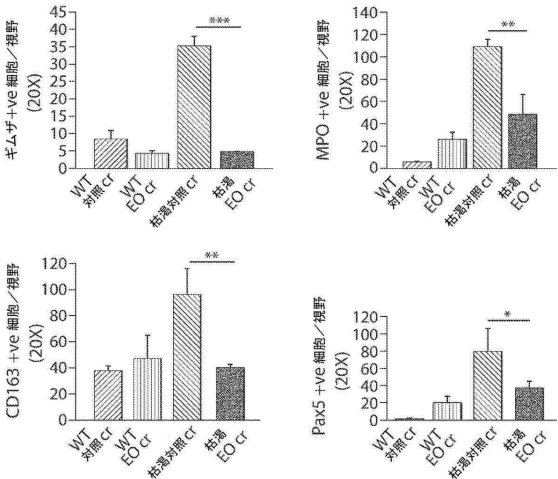


FIG. 1D

【図 2】

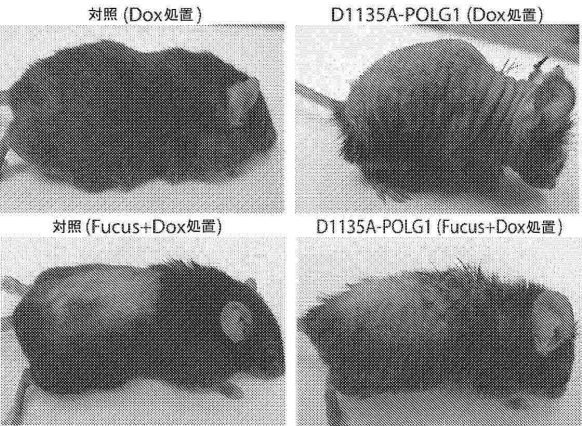


FIG. 2A

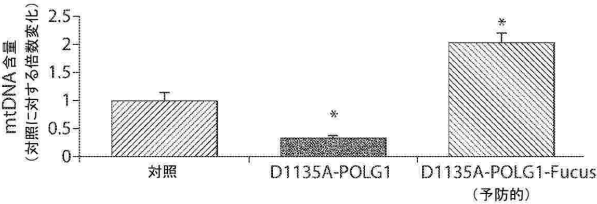


FIG. 2B

【図 3】

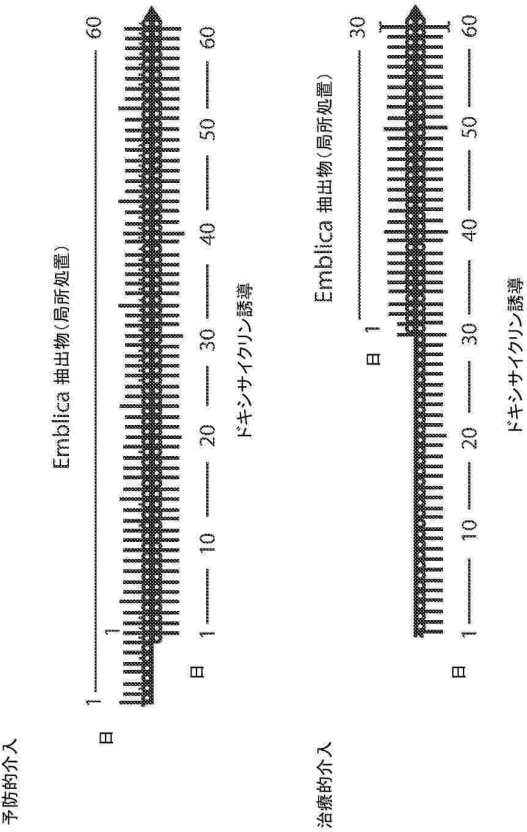


FIG. 3

10

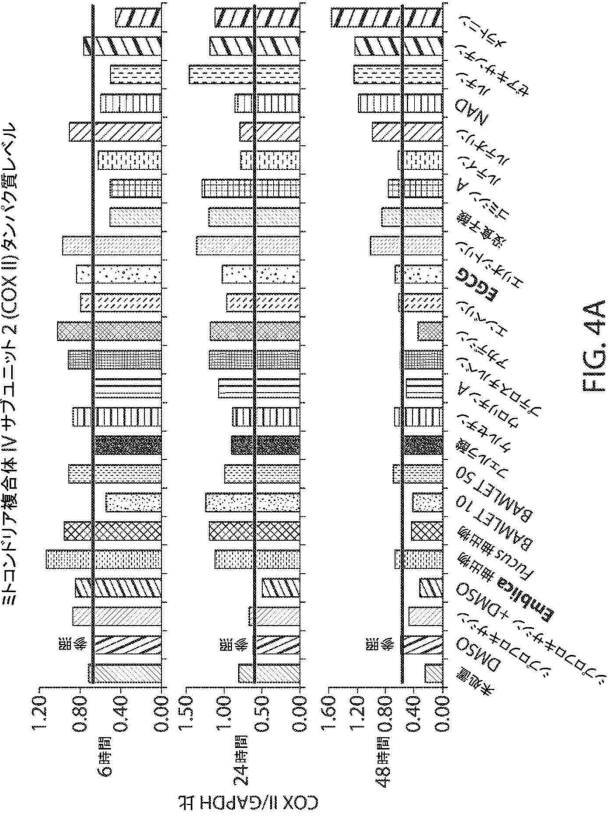
20

30

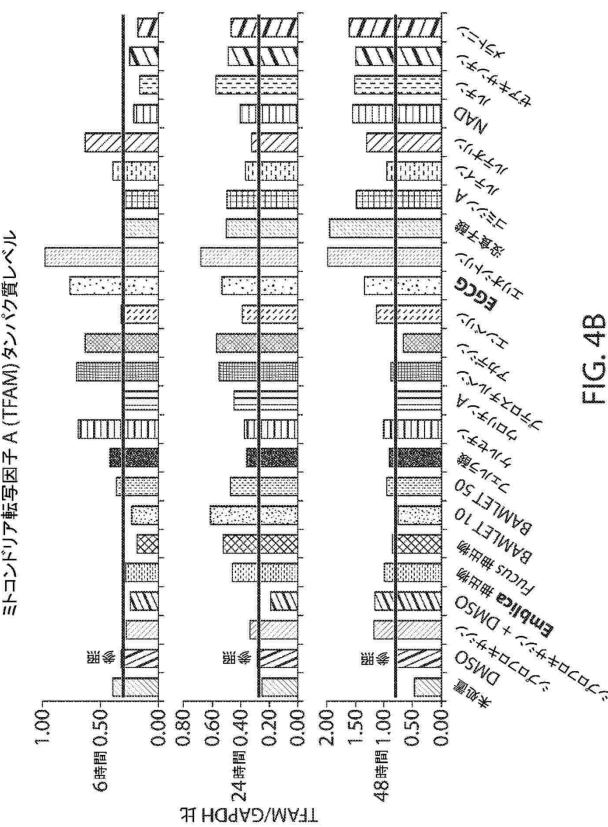
40

50

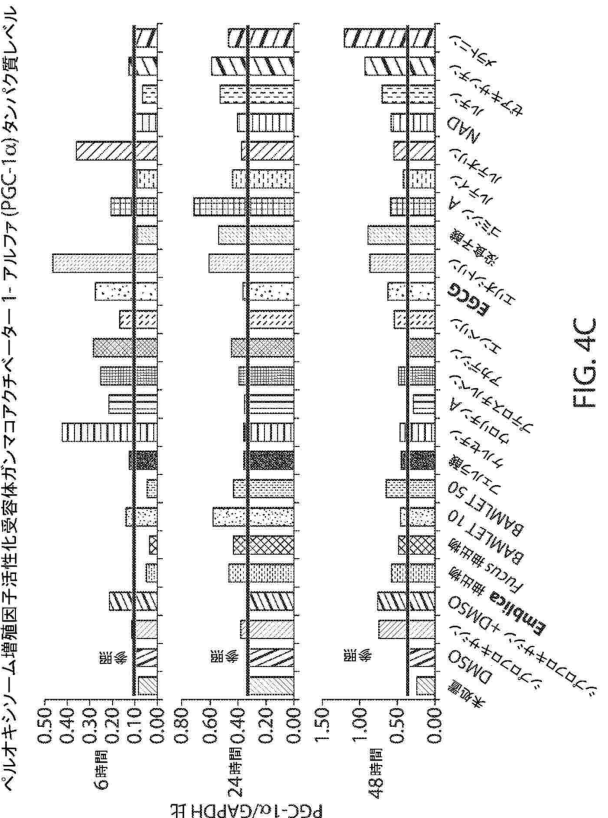
【図 4 - 1】



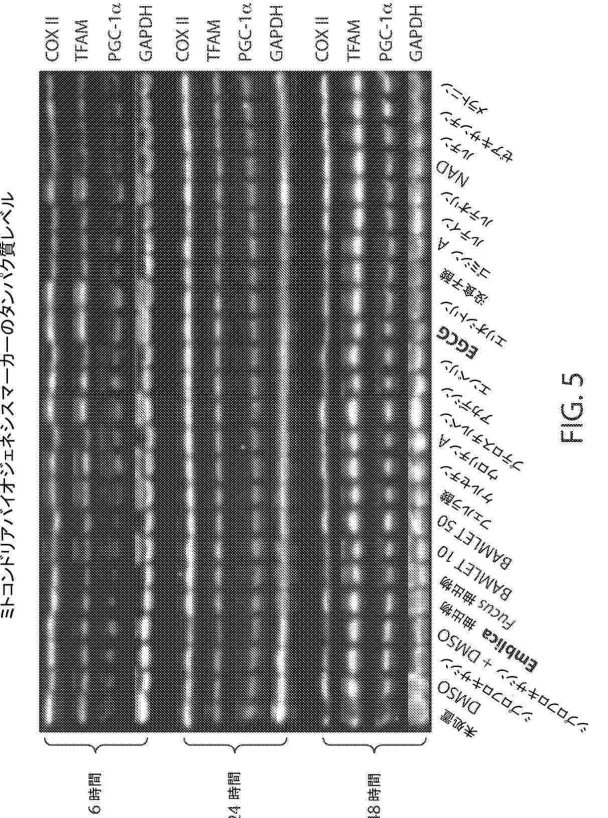
【図 4 - 2】



【図 4 - 3】



【図 5】



10

20

30

40

50

【図 6】

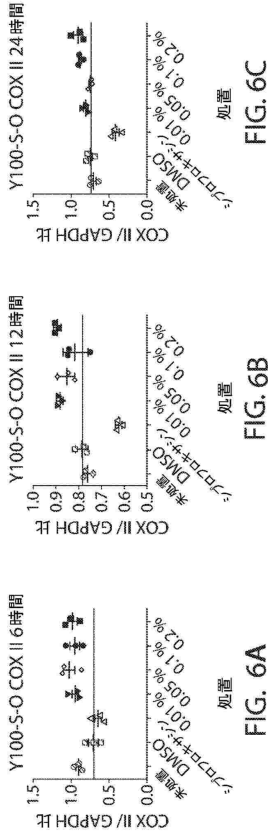


FIG. 6A

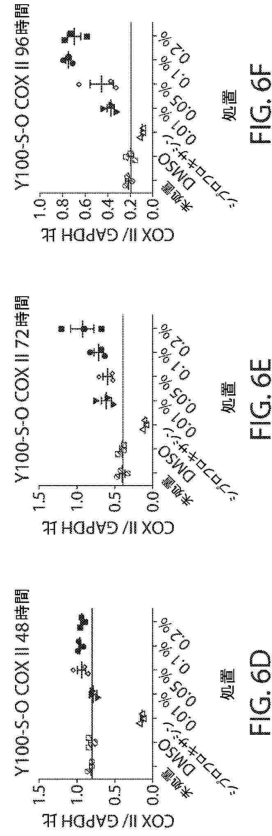


FIG. 6B

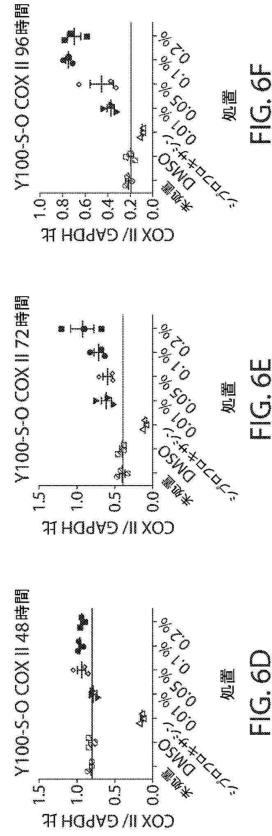


FIG. 6C

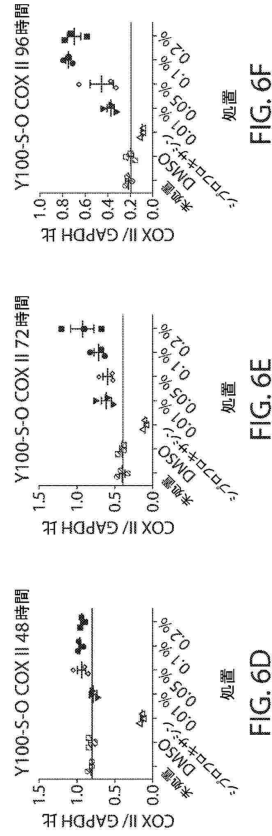


FIG. 6D

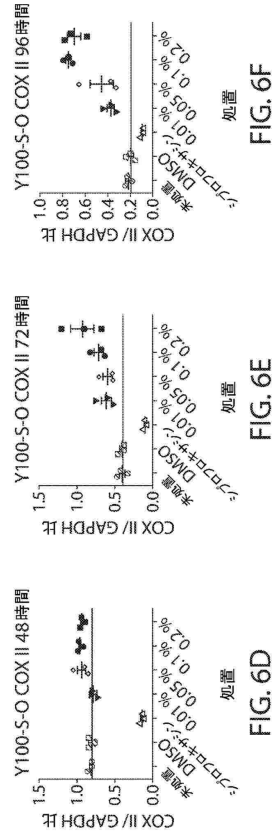


FIG. 6E

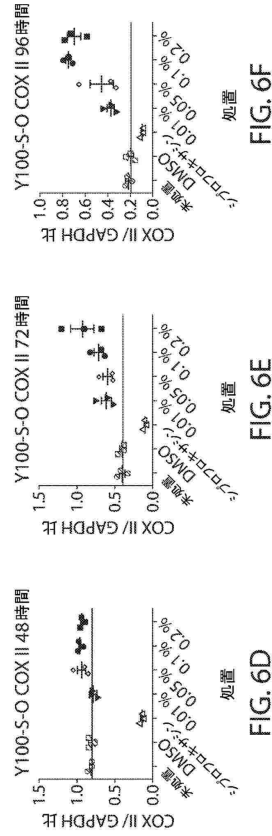


FIG. 6F

【図 7】

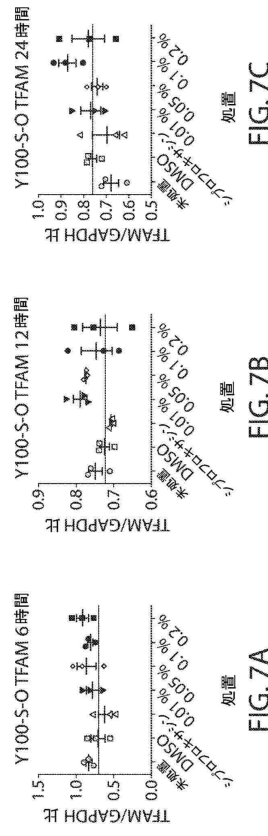


FIG. 7A

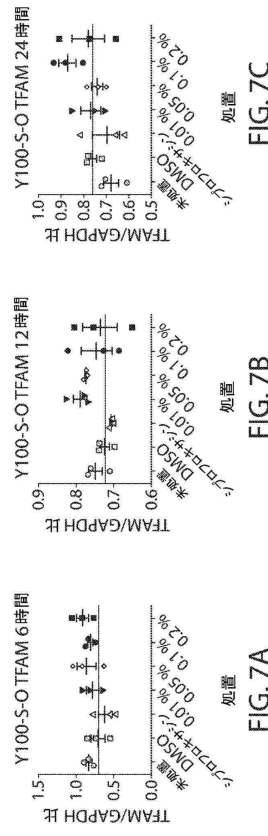


FIG. 7B

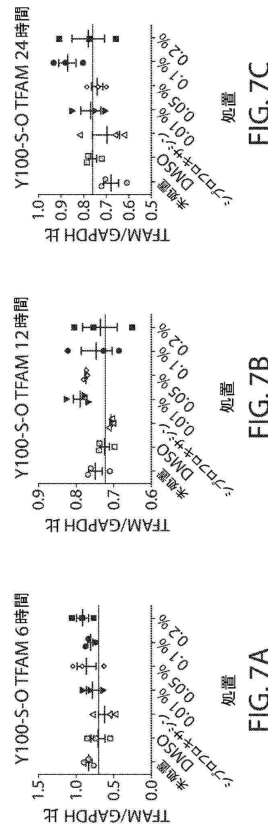


FIG. 7C

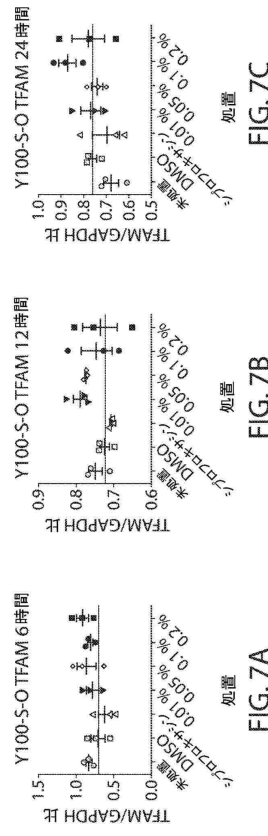


FIG. 7D

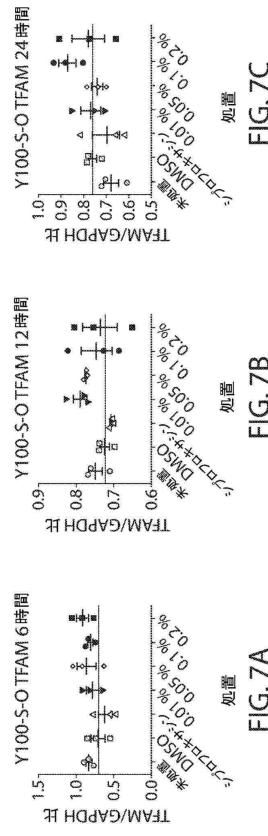


FIG. 7E

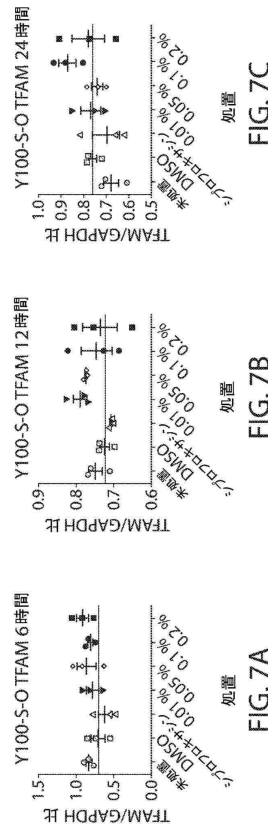


FIG. 7F

【図 8】

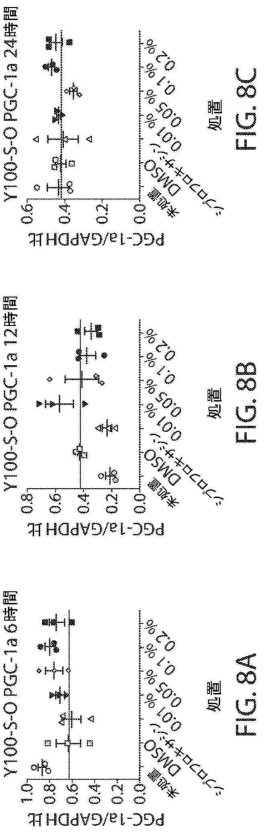


FIG. 8A

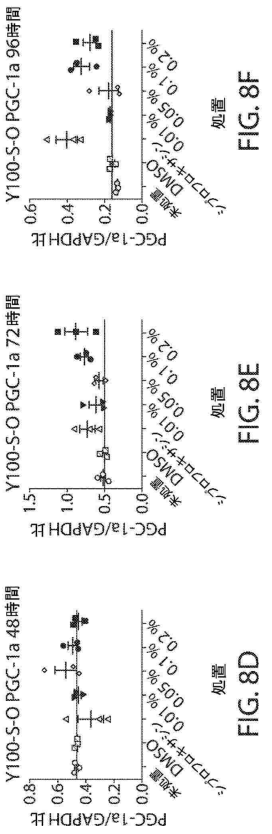


FIG. 8B

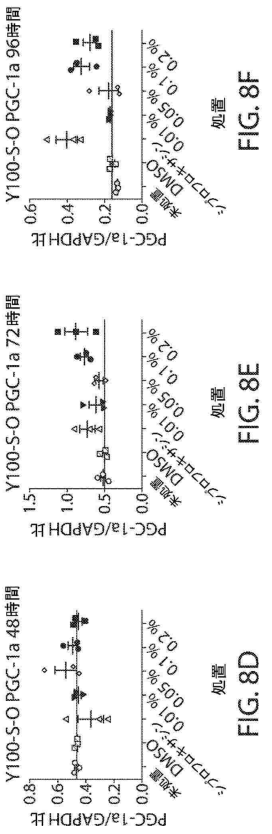


FIG. 8C

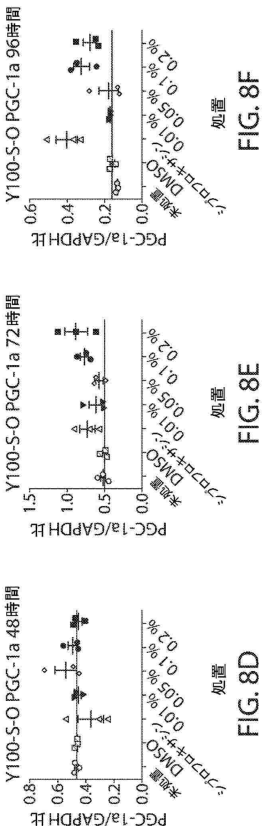


FIG. 8D

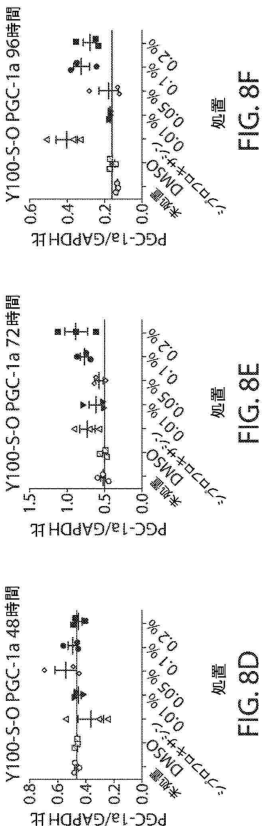


FIG. 8E

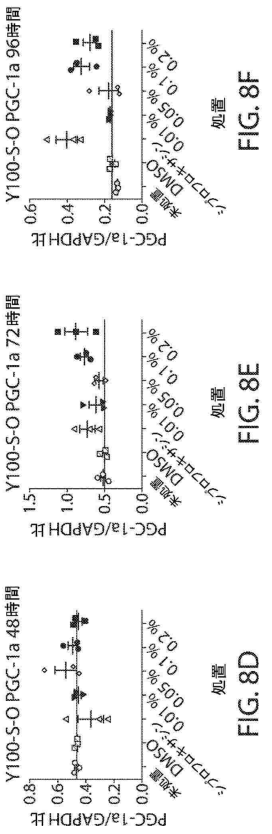


FIG. 8F

【図 9】

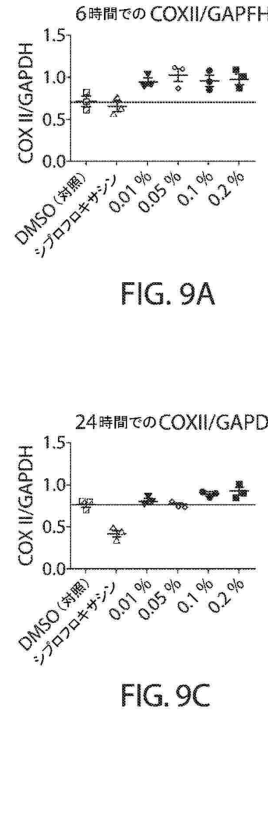


FIG. 9A

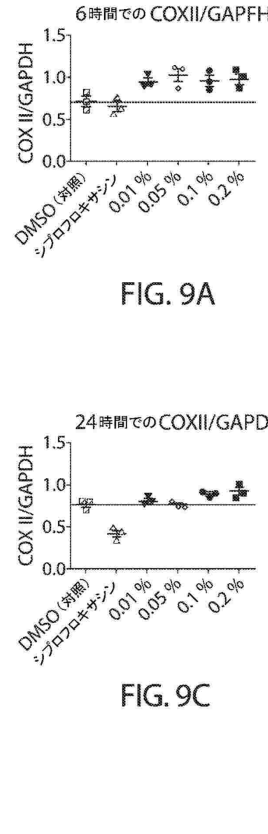


FIG. 9B

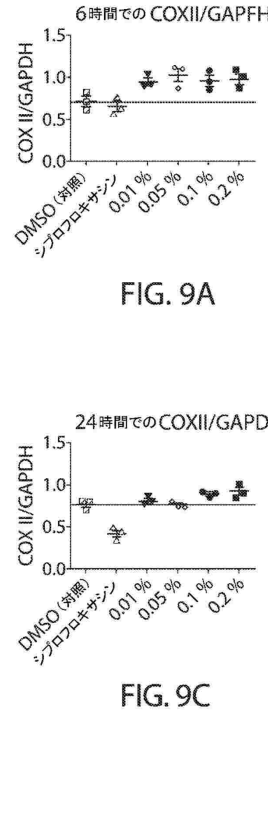


FIG. 9C

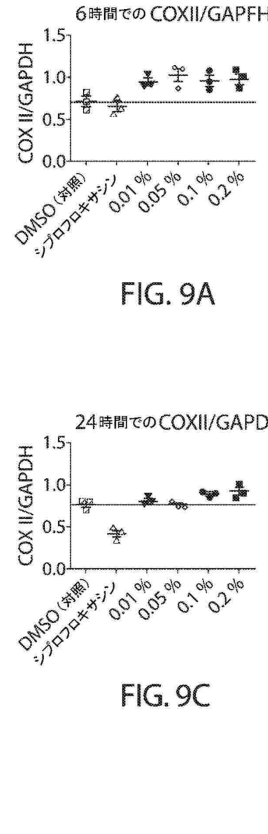


FIG. 9D

10

20

30

40

50

【図 10】

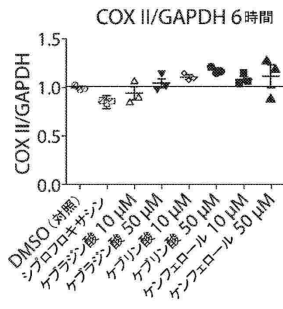


FIG. 10A

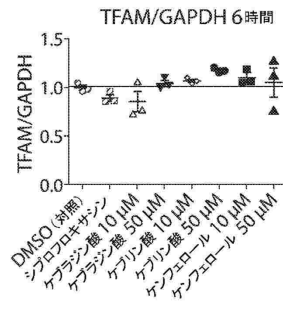


FIG. 10B

【図 11】

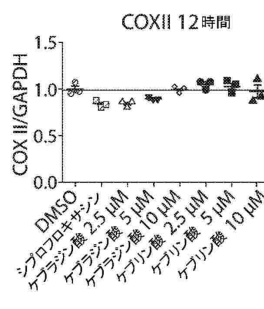


FIG. 11A

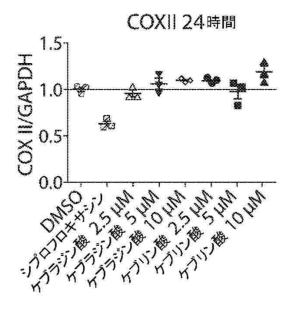


FIG. 11B

10

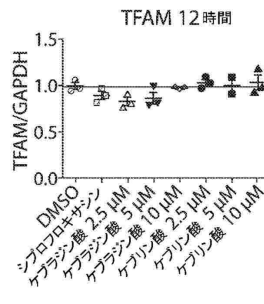


FIG. 11C

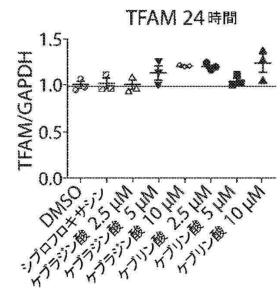


FIG. 11D

20

【図 12】

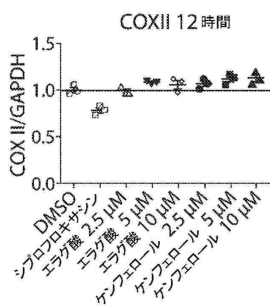


FIG. 12A

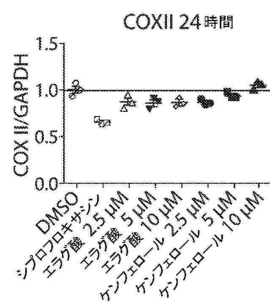


FIG. 12B

【図 13】

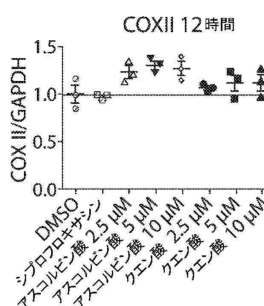


FIG. 13A

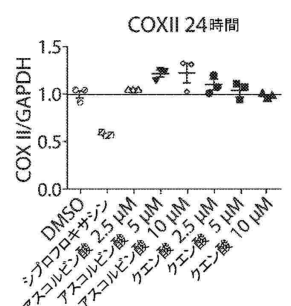


FIG. 13B

30

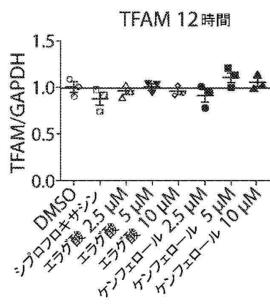


FIG. 12C

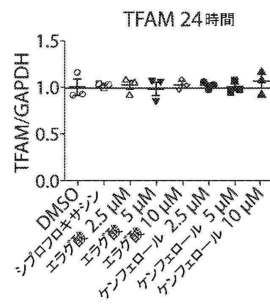


FIG. 12D

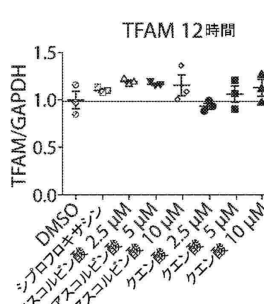


FIG. 13C

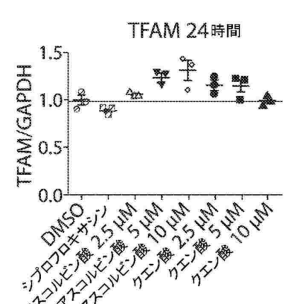


FIG. 13D

40

50

【図 1 4】

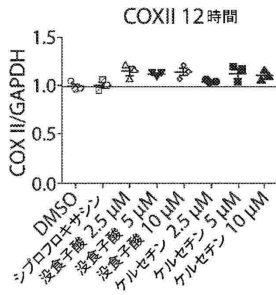


FIG. 14A

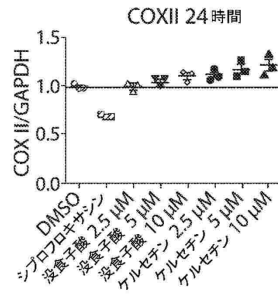


FIG. 14B

【図 1 5】

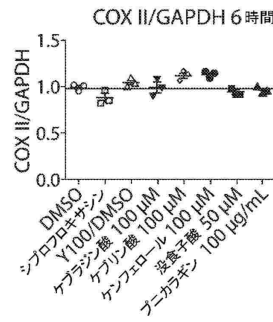


FIG. 15A

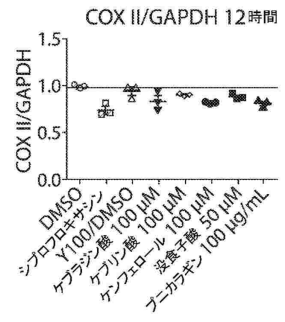


FIG. 15B

10

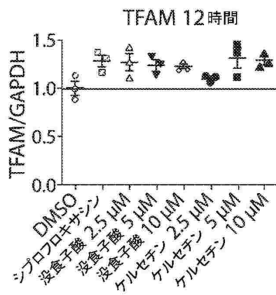


FIG. 14C

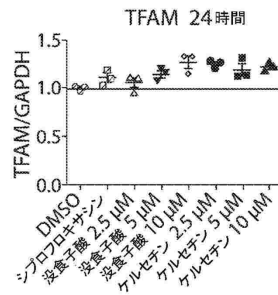


FIG. 14D

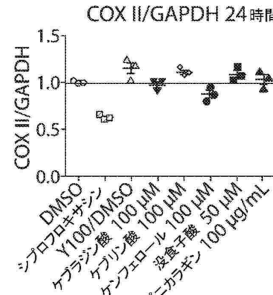


FIG. 15C

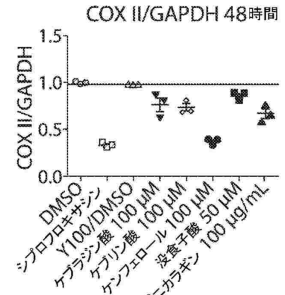


FIG. 15D

20

【図 1 6】

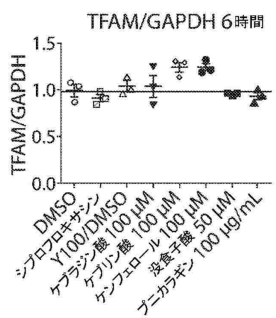


FIG. 16A

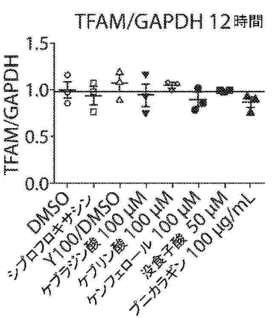


FIG. 16B

【図 1 7】

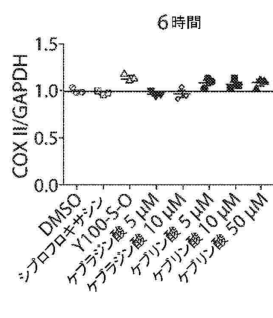


FIG. 17A

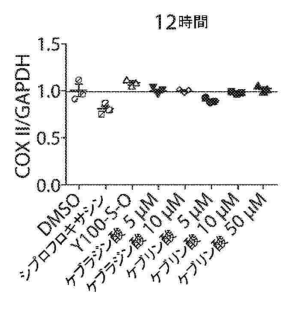


FIG. 17B

30

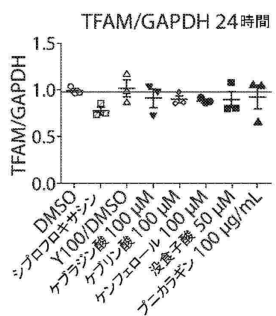


FIG. 16C

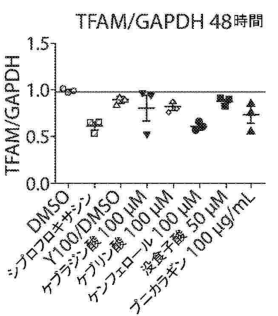


FIG. 16D

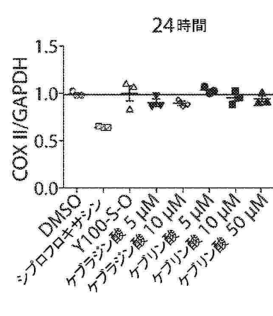


FIG. 17C

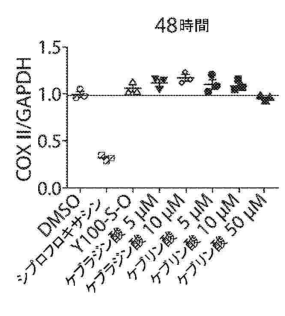


FIG. 17D

40

50

【図 18】

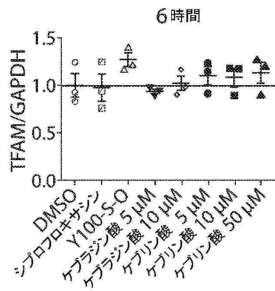


FIG. 18A

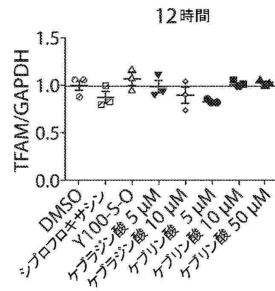


FIG. 18B

【図 19】

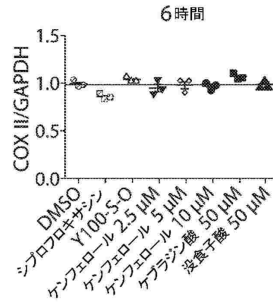


FIG. 19A

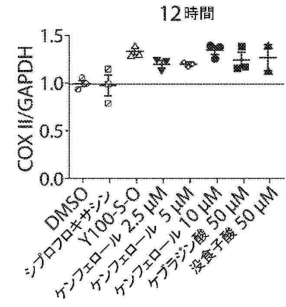


FIG. 19B

10

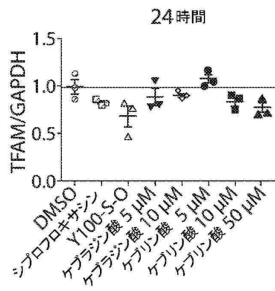


FIG. 18C

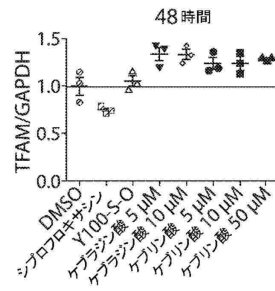


FIG. 18D

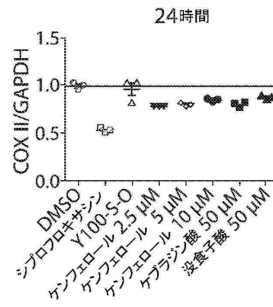


FIG. 19C

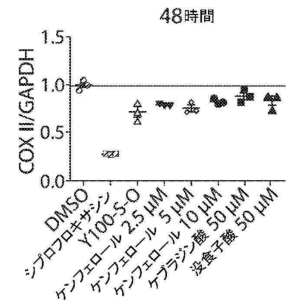


FIG. 19D

20

【図 20】

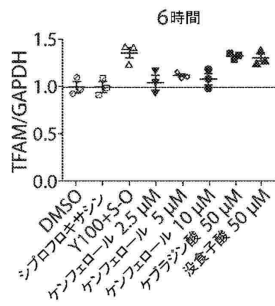


FIG. 20A

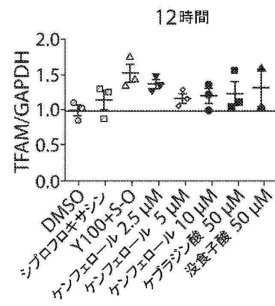


FIG. 20B

【図 21】

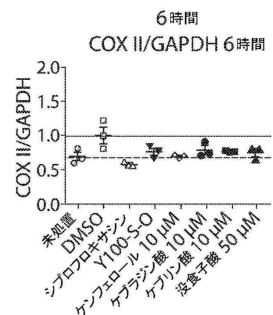


FIG. 21A

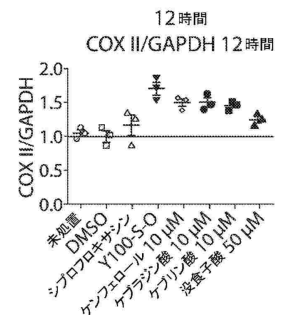


FIG. 21B

30

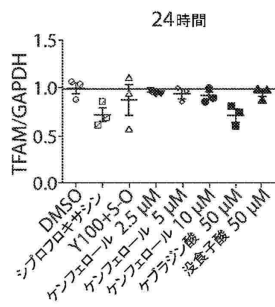


FIG. 20C

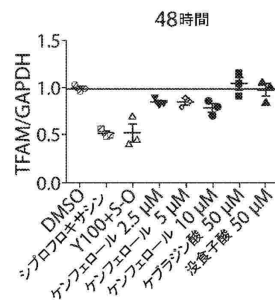


FIG. 20D

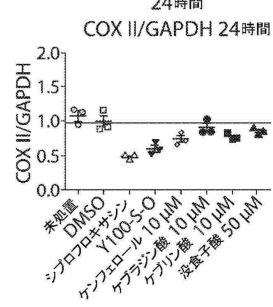


FIG. 21C

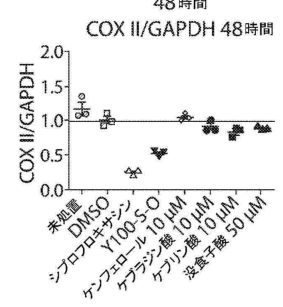


FIG. 21D

40

50

【図 2 2】

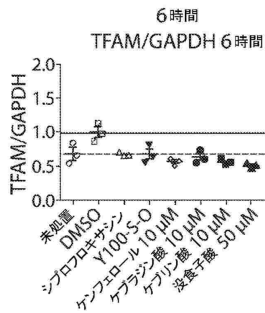


FIG. 22A

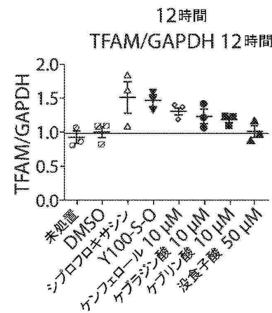


FIG. 22B

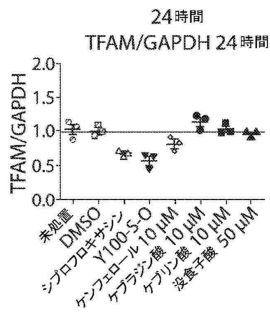


FIG. 22C

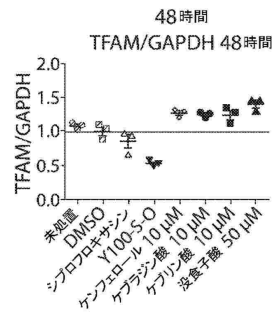


FIG. 22D

【図 2 3】

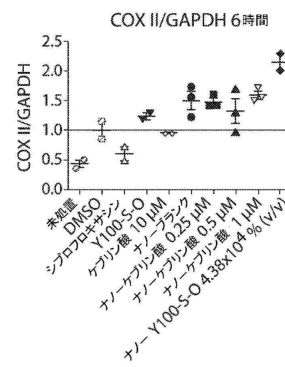


FIG. 23A

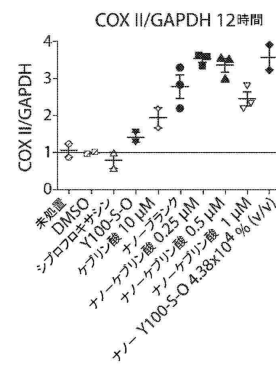


FIG. 23B

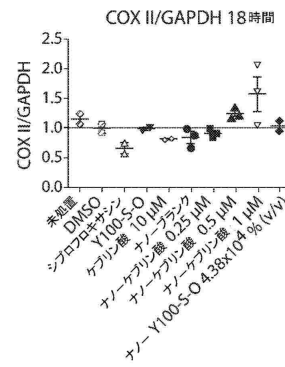


FIG. 23C

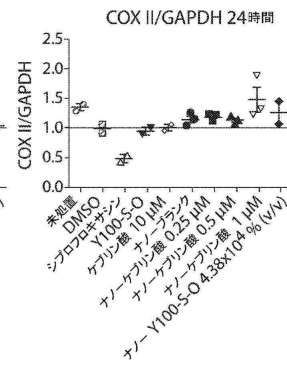


FIG. 23D

【図 2 4】

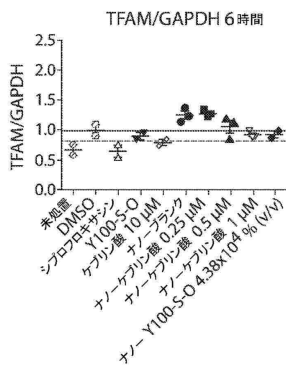


FIG. 24A

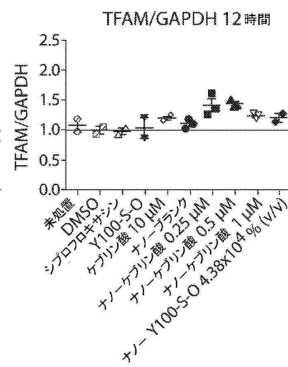


FIG. 24B

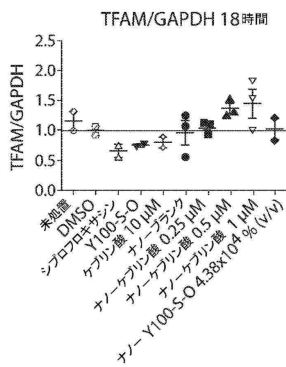


FIG. 24C

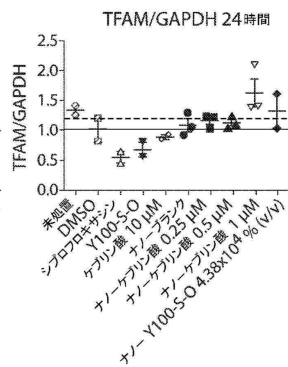


FIG. 24D

【図 2 5】

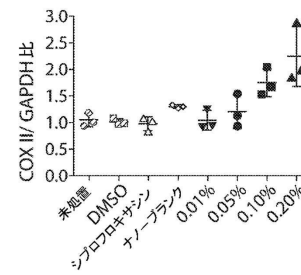


FIG. 25A

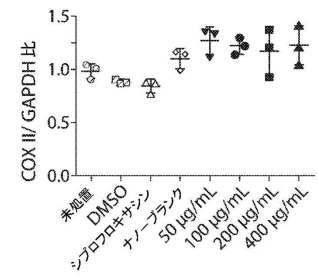


FIG. 25B

10

20

30

40

50

【図 26-1】

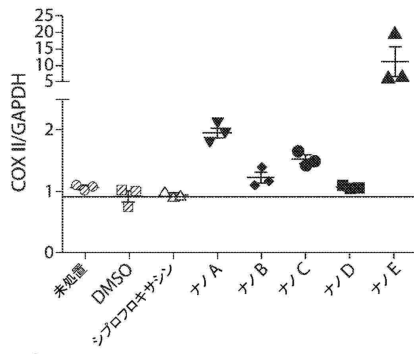


FIG. 26A

【図 26-2】

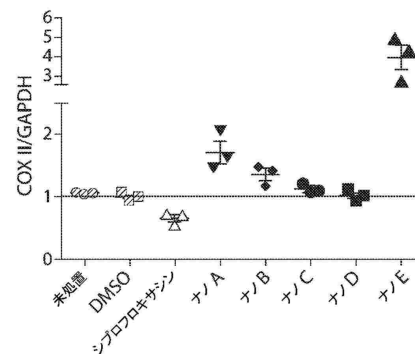


FIG. 26C

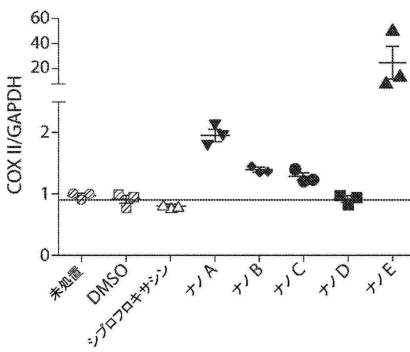


FIG. 26B

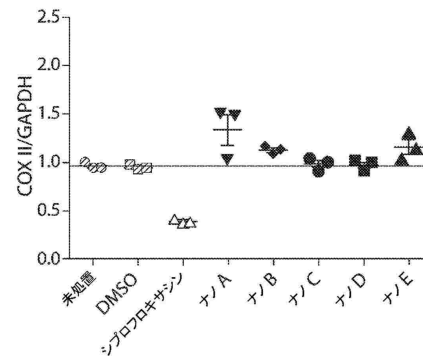


FIG. 26D

【図 27-1】

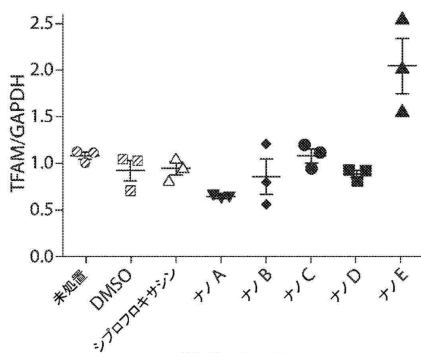


FIG. 27A

【図 27-2】

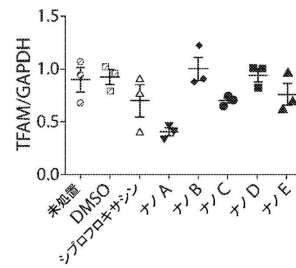


FIG. 27C

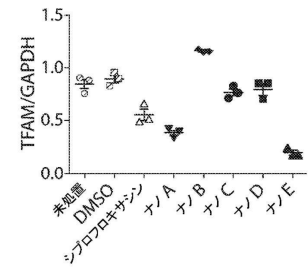


FIG. 27D

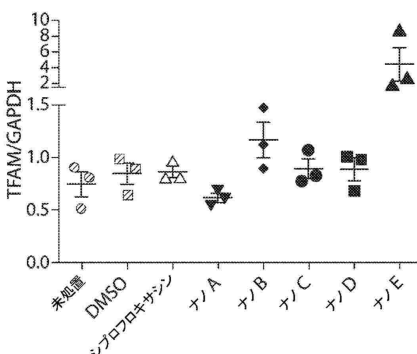


FIG. 27B

10

20

30

40

50

【図 28-1】

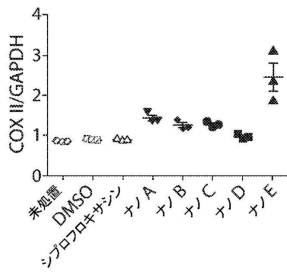


FIG. 28A

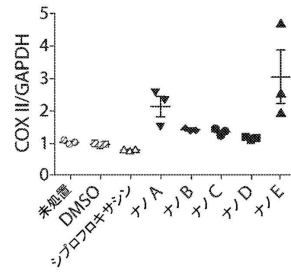


FIG. 28B

【図 28-2】

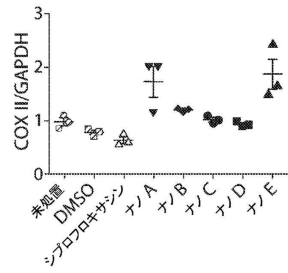


FIG. 28C

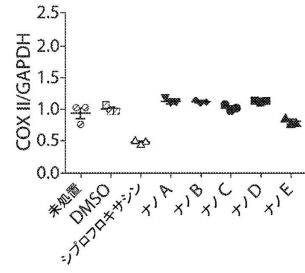


FIG. 28D

10

【図 29-1】

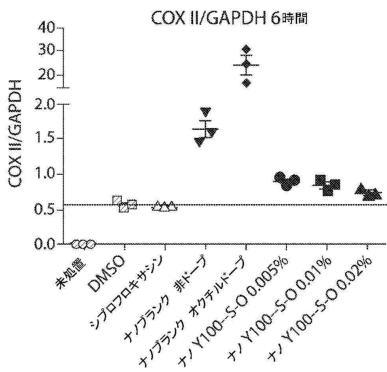


FIG. 29A

【図 29-2】

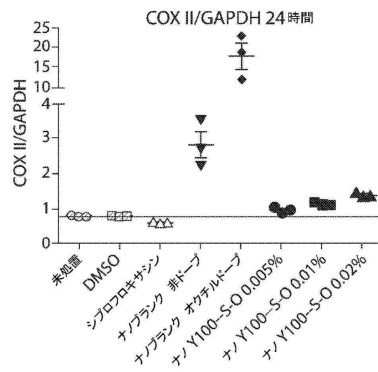


FIG. 29C

20

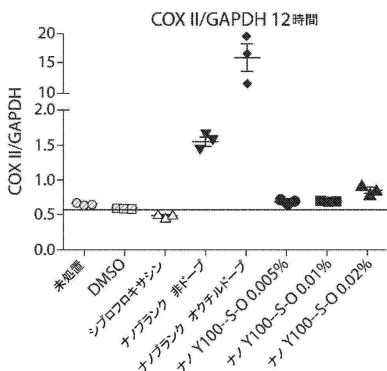


FIG. 29B

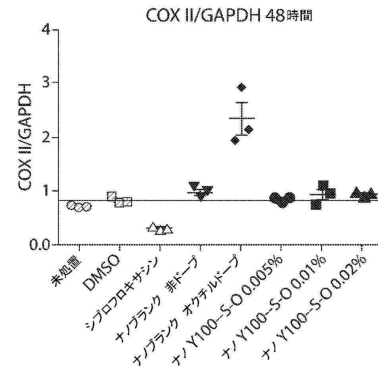


FIG. 29D

30

40

50

【図 30-1】

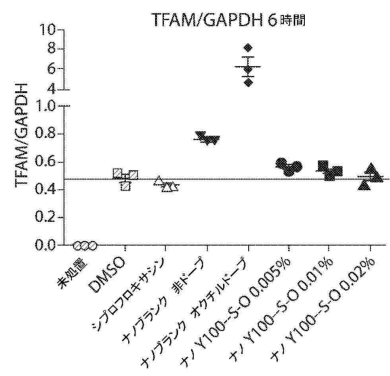


FIG. 30A

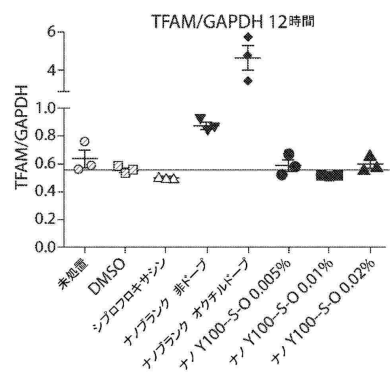


FIG. 30B

【図 30-2】

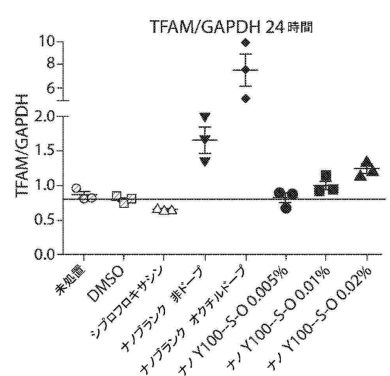


FIG. 30C

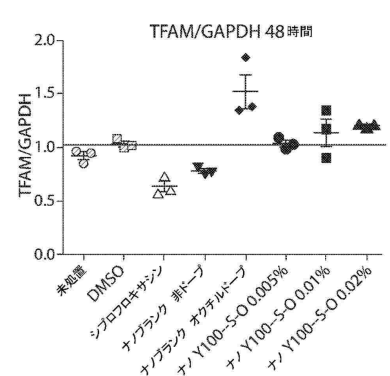


FIG. 30D

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 22/42799

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC - INV. A61K 36/00, A61P 15/08, C12N 15/11 (2022.01) ADD. A61Q 19/08 (2022.01) CPC - INV. A61K 36/00, A61P 15/08, C12N 15/11 ADD. A61Q 19/08 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) See Search History document		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched See Search History document		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) See Search History document		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X — Y	US 2012/0316130 A1 (HENDRIX) 13 December 2012 (13.12.2012); entire document, especially abstract, claim 36, claim 39, [0007], [0031], [0033], [0037]	1-2, 5, 7 8/(1-2, 5, 7)
X — Y	TW 201834678 A (TAIWAN MITOCHONDRION APPLIED TECHNOLOGY CO LTD) 01 October 2018 (01.10.2018); entire document, especially abstract, pg 3 para 4-5	3-4, 8/(3-4) 6, 8/6
Y	US 2015/0132853 A1 (Advanced Cell Technology, Inc.) 14 May 2015 (14.05.2015); entire document, especially abstract, [0030]-[0031], [0046], [0052]	6, 8/6
Y	JP 2010059186 A (KRACIE SEIYAKU KK) 18 March 2010 (18.03.2010); entire document, especially abstract	8/(1-2, 5, 7)
Y	US 2020/0054682 A1 (Imel Biotherapeutics, Inc.) 20 February 2020 (20.02.2020); entire document, especially [0018], [0027], [0038], [0058]	108
Y	US 2018/0008657 A1 (TAIWAN MITOCHONDRION APPLIED TECHNOLOGY CO., LTD.) 11 January 2018 (11.01.2018); entire document, especially abstract	108
A	Wikipedia, "Mitochondrial DNA", 24 June 2021 (24.06.2021), retrieved on 14 November 2022 from https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Mitochondrial_DNA&oldid=1030181313 ; entire document, especially pg 1 para 1	6
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 14 November 2022		Date of mailing of the international search report DEC 19 2022
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer Kari Rodriguez Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2022)

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 22/42799

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 9-107
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

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

Remark on Protest

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

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	9/10 (2006.01)	A 6 1 K	9/10
A 6 1 K	9/08 (2006.01)	A 6 1 K	9/08
A 6 1 K	9/06 (2006.01)	A 6 1 K	9/06
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 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00
A 6 1 K	8/9789(2017.01)	A 6 1 K	8/9789
A 6 1 K	8/9711(2017.01)	A 6 1 K	8/9711
A 6 1 Q	1/00 (2006.01)	A 6 1 Q	1/00
A 6 1 Q	5/12 (2006.01)	A 6 1 Q	5/12
A 6 1 Q	5/02 (2006.01)	A 6 1 Q	5/02
A 6 1 Q	19/10 (2006.01)	A 6 1 Q	19/10
A 2 3 L	33/105(2016.01)	A 2 3 L	33/105

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,N
E,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,
CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,J
M,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY
,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,T
H,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

弁護士 山本 健策

(72)発明者 シン, ケシャフ ケー.

アメリカ合衆国 アラバマ 3 5 2 0 3, バーミンガム, ファースト アベニュー ノース 1 5 0
0 ; スイート エル 1 3 3

F ターム (参考) 4B018 LB08 LB10 MD09 MD25 ME14 MF01
4C076 AA06 AA08 AA09 AA11 AA16 AA36 AA53 BB13 BB15 BB21
BB29 CC17
4C083 AA111 CC03 CC23 CC33 CC38 DD08 DD31 DD41 EE50
4C084 AA19 NA05 ZA811 ZA812 ZC511 ZC512
4C088 AA13 AB12 AB46 BA08 BA32 MA02 MA07 MA16 MA22 MA27
MA28 MA35 MA37 MA52 MA55 MA56 MA60 MA63 MA66 NA05 NA14
ZA81 ZC51