

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2017-525702

(P2017-525702A)

(43) 公表日 平成29年9月7日 (2017.9.7)

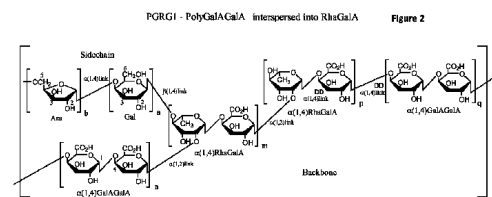
(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/715 (2006.01)	A 6 1 K 31/715	4 B 0 1 8
A 6 1 K 36/48 (2006.01)	A 6 1 K 36/48	4 C 0 8 4
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 C 0 8 6
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 2 1	4 C 0 8 8
A 6 1 P 13/12 (2006.01)	A 6 1 P 13/12	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 51 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2017-509000 (P2017-509000)	(71) 出願人	501085821
(86) (22) 出願日	平成27年8月17日 (2015.8.17)		ファーマジェネシス, インコーポレイテッド
(85) 翻訳文提出日	平成29年4月14日 (2017.4.14)		アメリカ合衆国 カリフォルニア 940
(86) 国際出願番号	PCT/US2015/045574		65, レッドウッド シティ, ツイン
(87) 国際公開番号	W02016/028714		ドルフィン ドライブ 303, ス
(87) 国際公開日	平成28年2月25日 (2016.2.25)		イート 600
(31) 優先権主張番号	62/038,583	(74) 代理人	100078282
(32) 優先日	平成26年8月18日 (2014.8.18)		弁理士 山本 秀策
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100113413
			弁理士 森下 夏樹
		(72) 発明者	ムッサー, ジョン エイチ.
			アメリカ合衆国 カリフォルニア 940
			70, サン カルロス, ロマ ロード
			71
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ポリガラクトツロナンラムノガラクトツロナン (PGRG1) 組成物

(57) 【要約】

本開示は、ポリガラクトツロナンラムノガラクトツロナン (PGRG1) 組成物、ならびに前記組成物を医学的に有用であり薬学的に有用な形態で作製する方法および使用する方法に関する。具体的には、本開示は *Astragalus* 属の植物の根から、さらに具体的には、種 *Astragalus membranaceus* から単離された精製 PGRG1 組成物、ならびに少なくとも 40 キロダルトン (kDa) の重量平均分子量を有する PGRG1 組成物を提供する。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

Astragalus membranaceus の根から得られる単離されたポリガラクトロナンラムノガラクトロン 1 (PGRG1) 組成物であって、前記組成物中の PGRG1 が、10 kDa から 50 kDa の重量平均分子量 (w a M W) および少なくとも 0.06 のラムノース対ガラクトロン酸 (Rha 対 Gal A) モルパーセント比を有する、組成物。

【請求項 2】

前記組成物中の PGRG1 が、 $[1, 4\text{-結合 Gal A Gal A}]_n$ が点在した $[1, 4$ および $1, 2\text{-結合 Rha Gal A}]_m$ の骨格構造を有する、請求項 1 に記載の単離された PGRG1 組成物。

10

【請求項 3】

前記 *Astragalus membranaceus* の変種が、*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. および *Astragalus membranaceus* (Fisch.) var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 種から選択される、請求項 1 に記載の単離された PGRG1 組成物。

【請求項 4】

前記 *Astragalus membranaceus* が、山西省、内モンゴル、甘粛省、河北省および遼寧省から選択される中華人民共和国の省で育った、請求項 1 から 3 のいずれかに記載の単離された PGRG1 組成物。

20

【請求項 5】

前記根が、2 年ものから 3 年ものの間の栽培された *Astragalus membranaceus* 植物由来である、請求項 1 から 4 のいずれかに記載の単離された PGRG1 組成物。

【請求項 6】

前記根が、3 年ものから 10 年ものの間の野生型 *Astragalus membranaceus* 植物由来である、請求項 1 から 4 のいずれかに記載の単離された PGRG1 組成物。

【請求項 7】

前記根が、2 年ものまでの栽培された *Astragalus membranaceus* 植物由来である、請求項 1 から 4 のいずれかに記載の単離された PGRG1 組成物。

30

【請求項 8】

40 から 120 kDa の重量平均分子量範囲を有し、請求項 1 から 7 のいずれかに記載の PGRG1 組成物から精製される、PGRG1 - 5 K 組成物。

【請求項 9】

(a) 治療有効量の請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載の単離された PGRG1 組成物または請求項 8 に記載の PGRG1 - 5 K 組成物、および任意選択で

(b) 薬学的に適切な賦形剤を含む、経口 PGRG1 製剤。

40

【請求項 10】

請求項 1 に記載の精製された PGRG1 組成物を生産する方法であって、

(a) *Astragalus membranaceus* の乾燥根を約 100 の水溶液中、合計で 9 時間にわたり抽出するステップと、

(b) ステップ (a) 由来の抽出物に、前記 PGRG1 組成物を沈殿させるのに十分な低級アルカノールを添加し、沈殿した前記 PGRG1 組成物を単離するステップとを含む、方法。

【請求項 11】

請求項 8 に記載の単離された PGRG1 - 5 K 組成物を生産する方法であって、

(a) 請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載の単離された PGRG1 組成物の水溶液を、分子量カットオフが 5 kDa のフィルターを通して限外濾過にかけるステップと、

50

(b) ステップ (a) 由来の保持液から前記 P G R G 1 - 5 K 組成物を単離するステップと

を含む、方法。

【請求項 1 2】

血液クレアチニンレベルを減少させることにより哺乳動物における腎臓疾患を処置する方法であって、非処置の哺乳動物中の血液クレアチニンレベルと比べて、血液クレアチニンレベルを減少させるのに有効な量の請求項 1 から 7 のいずれかに記載の単離された P G R G 1 組成物、請求項 6 に記載の P G R G 1 - 5 K 組成物、または請求項 8 に記載の経口 P G R G 1 製剤を前記哺乳動物に経口的に投与するステップを含む、方法。

【請求項 1 3】

造血を誘導するのに有効な量の請求項 1 から 7 のいずれかに記載の精製された P G R G 1 組成物、請求項 6 に記載の P G R G 1 - 5 K 組成物、または請求項 8 に記載の経口 P G R G 1 製剤を哺乳動物に経口的に投与することにより、増加した血液細胞数として測定される前記哺乳動物における造血を誘導する方法。

【請求項 1 4】

免疫系機能不全を処置するのに有効な量の請求項 1 から 7 のいずれかに記載の精製された P G R G 1 組成物、請求項 6 に記載の P G R G 1 - 5 K 組成物、または請求項 8 に記載の経口 P G R G 1 製剤を哺乳動物に経口的に投与することにより、免疫系機能不全を処置する方法。

【請求項 1 5】

前記哺乳動物がヒトである、請求項 1 2 から 1 4 に記載の方法。

【請求項 1 6】

腎臓疾患を処置するまたは改善することができる少なくとも 1 つの追加の治療剤を投与するステップをさらに含む、請求項 1 2 に記載の方法。

【請求項 1 7】

造血を誘導することができる少なくとも 1 つの追加の治療剤を投与するステップをさらに含む、請求項 1 3 に記載の方法。

【請求項 1 8】

免疫機能を向上させることができる少なくとも 1 つの追加の治療剤を投与するステップをさらに含む、請求項 1 4 に記載の方法。

【請求項 1 9】

請求項 1 から 7 のいずれかに記載の精製された P G R G 1 組成物、または請求項 8 に記載の P G R G 1 - 5 K 組成物を含む栄養補助食品。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本開示は、一般的には、植物組成物および天然の植物材料をポリガラクトナンラムノガラクトナン (P G R G 1) を含む医学的に有用であり薬学的に許容される組成物に変えるための方法、ならびに前記組成物を作製する方法および使用方法に関する。具体的には、本開示は *Astragalus* 属の植物の根から、さらに詳細には、種 *Astragalus membranaceus* から単離された精製 P G R G 1 組成物、ならびに少なくとも 40 キロダルトン (kDa) の重量平均分子量を有する P G R G 1 組成物を提供する。

【背景技術】

【0002】

Astragalus は、世界中に広く分布しているのが見られる 1 年生および多年生顕花草本ならびに小灌木の大きな属 (マメ科) である。*Astragalus* 植物は伝統的な中国およびベルシャ医学において何世紀もの間使用され、1980 年代には合衆国で人気を集めた。中国では、*Astragalus* は伝統的な中国医学の体系で使用された 50 の基本的な薬草のうちの 1 つであり、

10

20

30

40

50

【化 1】

huáng qí, [“Wang Qi,” “huang-qi” または “huangqi” (黄芪); *běi qí* (北芪) および

huáng huā huáng qí (黄花黄耆)]

として公知である。Astragalus は、免疫系を支援し増強するために人参、アンゼリカ、および甘草などの他の薬草と組み合わせて使用されることが多く、慢性肝炎のためにおよびがんの補助的療法として中国ではまだ広く使用されている。Astragalus は、風邪および上気道感染症のために、ならびに心臓病のためにも民間または伝統療法として使用されている。

10

【0003】

A. membranaceus (同義語 A. propinquus) の一般名はレンゲソウ、口コ草およびヤギのトゲ (goat's thorn) (A. gummifer、A. tragacanthus) を含む。Astragalus mongholicus (「Huangqi」) の乾燥根の調製物は中国医学では最も一般的に使用されている Astragalus 種である。

【0004】

2000 を超える種の Astragalus が存在するが、医学的に最も一般的に使用される2つの種は Astragalus membranaceus および Astragalus mongholicus である。例えば、A. membranaceus は肺および胃疾患を処置するために、ならびに制汗剤および利尿剤として使用されてきた。Astragalus membranaceus の根は、代謝および発汗を増加させ、治癒を促進し、疲労を低減し、肺、副腎および消化管の機能を向上させると主張されている強壮剤として使用されている。Astragalus membranaceus は、クロアチアで季節性アレルギー性鼻炎の処置に使用される栄養補助食品 Lectranal (登録商標) として登録されている植物とミネラルの複合体中の活性成分でもある。Radix Astragalii は、Astragalus mongholicus Bunge var. Dahuricus (DC.) Podlech および var. Mongholicus の全乾燥根である。Radix Astragalii の構成要素は、多糖、トリテルペノイド (アストラガロシド) ならびにイソフラボン (クマタケニン、カリコシンおよびホルモノネチンを含む) をそのグリコシドおよびマロネートと併せて含む。Radix Astragalii 抽出物の多糖組成物は解析され特徴付けられている (Xu ら、2008 年、「Molecular weight and monosaccharide composition of Astragalus polysaccharides」Molecules、13 巻 (10 号): 2408 ~ 2415 頁)。

20

30

【0005】

Astragalus の調製物はがん治療にも使用されており、例えば、トラガント、レンゲソウ根の粘着性樹液、およびスウェインソニン、レンゲソウを含む口コ草として公知のいくつかの植物により生成される水溶性インドールアルカロイドは薬学的に使用されてきた。医薬品および織物に使用されている天然のトラガカントゴムは、A. adscendens、A. gummifer、A. brachycalyx、および A. tragacanthus を含む中東に発生するいくつかの種の Astragalus から作られる。Astragalus brachypteris、Astragalus cephalotes、Astragalus microcephalus および Astragalus trojanus を含むトルコ種などの他の Astragalus 種はその抗がん特性について調査中である。Astragalus tongolensis および Astragalus scaberimus は、下痢、筋肉痺れ、血行不足、弱い肺、喘息、神経質、梅毒、癰癤および胆汁障害を治療するのに使用されてきた。Astragalus multiceps および Astragalus hamosus の種子は、疝痛、ハンセン病、皮膚軟化薬および粘滑薬のために使用されている。

40

50

【0006】

バイオテクノロジー企業も *Astragalus* 中の活性成分を同定しようと試みてきた。*Astragalus propinquus* (同義語 *A. membranaceus*) の抽出物はヒト使用のための延命抽出物として市場に出されており、例えば、サポニン「シクロアストラゲノール (cycloastragenol)」(a.k.a. 「TAT2」) を含有する TA-65 と呼ばれる乾燥根の専売抽出物は、「それが6から12か月使用後の老化した細胞障害性T細胞およびナチュラルキラー細胞のパーセンテージの低下をもたらしたという点で、免疫系における重大な年齢逆転効果と関連付けて考えられた」(Harleyら、2011年、*Rejuvenation Research* 14巻(1号): 45~56頁)。さらに、シクロアストラゲノールはHIV、ならびに慢性疾患または加齢と関連する感染症との戦いにおける助けとなるように研究中である。UCLAエイズ研究所での研究では、免疫細胞の老化過程におけるシクロアストラゲノールの機能およびウイルス感染への細胞応答に対するその効果に重点が置かれていた。シクロアストラゲノールは、染色体の末端を保護しがん過程を含む細胞複製において重要な役割を果たす、テロメアとして公知のDNAの短片の置換を媒介する酵素であるテロメラーゼの産生を増加させると思われる(Fauceら、2008年、*J. Immunology* 181巻(10号): 7400~7406頁)。

10

【0007】

植物のいくつかの部分は活性構成要素を含有しているように思われるが、植物処方で使用されるのはその根であることが最も多い。*Astragalus* 植物は多糖、サポニン、イソフラボノイドおよびフラボノイドの豊富な供給源である。*Astragalus* に起源をもつ多糖は「アストラガラン (astragalin)」と呼ばれている。サポニン(またはトリテルペングリコシド、「アストラガロシド」とも呼ばれる)、イソフラボノイド、およびフラボノイドはアグリコンまたはグリコシドからなる。乾燥根のアストラガロシド、トリゴノシド (trigonoside)、およびフラボノイド構成要素の量は、根の年齢、サイズおよび生育条件に応じて変化する。植物由来のサポニンは、おそらく先天免疫を誘発することにより広範囲のサイトカインの分泌を刺激すると報告されているので、*Astragalus* 種はワクチン用のアジュバンドを開発するためのその有用性についても調査中である(SongおよびHu、2009年、「*Adjuvant activities of saponins from traditional Chinese medicinal herbs.*」*Vaccine* 27巻(36号): 4883~90頁)。

20

30

【0008】

細胞壁成分ペクチンは植物において普遍的である。ペクチンは、植物細胞壁に豊富にある高度に不均一なクラスのGalA含有多糖である。ペクチン多糖には、構造クラスのホモガラクトン (HG)、キシロガラクトン (xylogalacturonan) (XGA)、アピオガラクトン (AGA)、およびラムノガラクトン (RG) と呼ばれる分岐鎖多糖が含まれる。ペクチン多糖のうち、最も豊富なのがホモガラクトン (HG)、メチルエステル化およびアセチル化されていることがある(1-4) - D - ガラクトン酸 (GalA) 残基のホモポリマーであり、HGはペクチンの約70%を構成し、RG-Iはペクチンのおおよそ35%およびRG-IIは約10%を構成する。

40

【0009】

RGは密接に関係する細胞壁ペクチン多糖の群であり、2種類のRGはラムノガラクトンI型(「RG-I」または「RGI」としても公知である)およびラムノガラクトンII型(「RG-II」または「RGI I」)である(Zakharchovaら、(2013年)*Organic Letters* 15巻(8号): 1826~1829頁)。RG-Iの化学構造は複雑であり、繰り返し交互になった結合ラムノースとD-ガラクトン酸二糖単位からなる骨格を有し、アラビナン、ガラクトン、またはアラビノガラクトンの数多くの分岐がラムノース残基のC-4に位置している(McNeillら、

50

1980年、Plant Physiol.、66巻：1128～1134頁；Zakh
arovaら、2013年、Organic Letters 15巻（8号）：182
6～1829頁）。したがって、ラムノガラクトナンI（RG-I）の骨格構造は繰り
返し二糖単位： $[\text{ - D - GalpA - 1, 2 - } \text{ - L - Rhap - 1, 4 }]_n$ を
含有する（Caffallら、2009年、Carb. Res. 344巻：1879～
1900頁）。

【0010】

ペクチンの構造的複雑さは、ある特定の興味深い生物学および産業的機能に関連する
多種多様な物理的および生化学的特性を付与する。ペクチンおよび他の壁多糖の質と量を
遺伝子操作および従来の育種技法ならびに化学合成を通じて操作することによりかなりの努力
が向けられてきた（Bacic、2006年、Proc. Natl. Acad. Sci. 102巻（15号）：5639～5640頁）。

10

【0011】

しかし、多くの植物組成物の複雑な化学的性質のせいで、植物組成物は制御され予測可
能な様式で使用するのは困難になることがある。植物材料から生成される生薬には、医薬
品に要求される制御、再現性、および規格化を望んでいる製造業者にとって、特有の問題
を呈した。原料の生育および収穫条件に起因する生薬に含有される複数の成分ならびに組
成および効力の大きな変動のせいで、得られる植物調製物の異なるバッチの化学組成の変
動を予測できないことがあり、そのような調製物は臨床状況での使用には適さなくなる。

20

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0012】

【非特許文献1】Xuら、Molecules.（2008年）13巻（10号）：24
08～2415頁

【非特許文献2】Harleyら、Rejuvenation Research（20
11年）14巻（1号）：45～56頁

【非特許文献3】Fauceら、J. Immunology（2008年）181巻（1
0号）：7400～7406頁

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

30

【0013】

したがって、医薬としてのAstragalus種の調製物は使用の長い歴史があるが
、本明細書に記載される請求項に係わる医学的に有用な組成物の必要性が残っている。

【課題を解決するための手段】

【0014】

関連技術およびそれに関係する制限の前述の例は説明目的であり、排他的なものではな
い。関連技術の他の制限は、明細書を読み、図を検討すれば当業者には明らかになるであ
ろう。

【0015】

一態様では、Astragalus membranaceusの根から得られる単離
されたポリガラクトナンラムノガラクトナン1（PGRG1）組成物であって、組成
物中のPGRG1が、10kDaから50kDaの重量平均分子量および少なくとも0.
06のラムノース対ガラクトン酸（Rha対GalA）モルパーセント比を有する組成
物が提供される。

40

【0016】

一態様では、40から120kDaの重量平均分子量範囲を有し、PGRG1組成物か
ら精製されるPGRG1-5K組成物が提供される。

【0017】

いくつかの実施形態では、PGRG1組成物またはPGRG1-5K組成物中の単離さ
れたPGRG1は、 $[1, 4 - \text{結合GalAGalA}]_n$ が点在した $[1, 4$ および $1,$

50

2 - 結合 R h a G a l A]_m の骨格構造を有する。

【0018】

いくつかの実施形態では、単離された P G R G 1 組成物または P G R G 1 - 5 K 組成物は、*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. および *Astragalus membranaceus* (Fisch.) var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 変種から選択される *Astragalus membranaceus* 変種から単離される。

【0019】

いくつかの実施形態では、P G R G 1 組成物または P G R G 1 - 5 K 組成物は、山西 (Shanxi) 省、内モンゴル、甘肅省、河北省および遼寧省から選択される中華人民共和国の省で育った *Astragalus membranaceus* の根から単離される。

10

【0020】

いくつかの実施形態では、P G R G 1 組成物または P G R G 1 - 5 K 組成物は、2 年ものまたはそれよりも若い栽培された *Astragalus membranaceus* 植物から単離される。いくつかの実施形態では、P G R G 1 組成物または P G R G 1 - 5 K 組成物は、2 年ものから 3 年もの間である栽培された *Astragalus membranaceus* 植物から単離される。いくつかの実施形態では、P G R G 1 組成物または P G R G 1 - 5 K 組成物は、約 3 年ものから 10 年もの間である野生型 *Astragalus membranaceus* 植物から単離される。

20

【0021】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される P G R G 1 組成物は、*Astragalus* 種の中に、例えば、*Astragalus membranaceus* Bge. に由来しており、*Angelica sinensis* Diels、*Angelica archangelica* または *Levisticum officinale* Koch 由来の多糖などの Dankuei の抽出物に由来していないし、それを含んでもいない。

【0022】

一態様では、治療有効量の単離された P G R G 1 組成物または P G R G 1 - 5 K 組成物および、任意選択で、薬学的に適切な賦形剤を含む、経口 P G R G 1 製剤が提供される。

30

【0023】

いくつかの実施形態では、組成物または製剤は、医薬効能を増強させることができる（またはできない）賦形剤または他の植物抽出物と組み合わせて投与される。

【0024】

一態様では、血液クレアチニンレベルを減少させることにより哺乳動物における腎臓疾患を処置する方法であって、非処置の哺乳動物中の血液クレアチニンレベルと比べて、血液クレアチニンレベルを減少させるのに有効な量の単離された P G R G 1 組成物または P G R G 1 - 5 K 組成物を哺乳動物に経口的に投与するステップを含む方法が提供される。一態様では、哺乳動物においてクレアチニン血液レベルを維持するまたは減少させることにより、測定される慢性腎臓疾患 (CKD) の進行を阻害するための方法が提供される。

40

【0025】

一態様では、造血を誘導するのに有効な量の精製された P G R G 1 組成物または P G R G 1 - 5 K 組成物を哺乳動物に経口的に投与するステップを含む、増加した血液細胞数として測定される哺乳動物における造血を誘導する方法が提供される。

【0026】

一態様では、免疫系を調節する方法が提供される。

【0027】

一態様では、免疫系機能不全を処置するのに有効な量の精製された P G R G 1 組成物または P G R G 1 - 5 K 組成物を哺乳動物に経口的に投与するステップを含む、免疫系機能不全を処置する方法が提供される。

50

【0028】

いくつかの実施形態では、哺乳動物はヒトである。

【0029】

いくつかの実施形態では、方法は、少なくとも1つの追加の治療剤をPGRG1組成物またはPGRG1-5K組成物と組み合わせて投与するステップをさらに含む。

【0030】

一態様では、PGRG1組成物またはPGRG1-5K組成物を生産する方法であって、*Astragalus membranaceus*の乾燥根を約100の水溶液中、合計で9時間にわたり抽出するステップと、PGRG1組成物を沈殿させるのに十分な量で低級アルカノールを抽出物に添加し、単離され沈殿したPGRG1またはPGRG1-5K組成物を生じるステップを含む方法が提供される。

10

【0031】

一態様では、単離されたPGRG1-5K組成物を生産する方法であって、単離されたPGRG1組成物の水溶液を分子量カットオフが5kDaのフィルターを通して限外濾過にかけるステップと、保持液(*retentate*)からPGRG1-5K組成物を単離するステップを含む方法が提供される。

【0032】

一態様では、精製PGRG1組成物またはPGRG1-5K組成物を含む栄養補助食品(*dietary supplement*)が提供される。

【0033】

20

本開示の方法および組成物の追加の実施形態ならびに同類のものは、以下の説明、図、実施例、および特許請求の範囲から明らかになるであろう。前述のおよび以下の説明から認識することが可能であるように、本明細書に記載されるいずれの特長も皆、およびそのような特長のうちの2つまたはそれ超のいずれの組み合わせも皆、そのような組み合わせに含まれる特長が相互に矛盾していない限り、本開示の範囲内に含まれる。さらに、いかなる特長もまた特長の組み合わせも本開示のいかなる実施形態からも明確に除外される場合がある。特に、添付の実施例および図と併せて考慮した場合、本開示の追加の態様および利点は以下の説明および特許請求の範囲に明らかにされている。

【図面の簡単な説明】

【0034】

30

【図1】図1は、多糖において見出される代表的な糖残基を示す。

【0035】

【図2】図2は、代表的なPGRG1化学構造を示す。

【0036】

【図3】図3は、HPLC-RIによって分析された、PGRG1およびPGRG1-5Kの分子量分布を示す。

【0037】

【図4A】図4A~4Cは、HPLC-RIによるPGRG1の3つの重みつき平均分子量(*Weighted Average Molecular Weight*)(*w a M W*)分析を示す。

40

【図4B】図4A~4Cは、HPLC-RIによるPGRG1の3つの重みつき平均分子量(*w a M W*)分析を示す。

【図4C】図4A~4Cは、HPLC-RIによるPGRG1の3つの重みつき平均分子量(*w a M W*)分析を示す。

【0038】

【図5A】図5A~5Cは、HPLC-RIによるPGRG1-5Kの3つの*w a M W*分析を示す。

【図5B】図5A~5Cは、HPLC-RIによるPGRG1-5Kの3つの*w a M W*分析を示す。

【図5C】図5A~5Cは、HPLC-RIによるPGRG1-5Kの3つの*w a M W*分

50

析を示す。

【0039】

【図6】図6は、血液クレアチニンレベルに対するPGRG1の効果を示す。

【0040】

【図7-1】図7A~7Dは、それぞれ、血小板、白血球、好中球、赤血球に対するPGRG1の効果を示す。

【図7-2】図7A~7Dは、それぞれ、血小板、白血球、好中球、赤血球に対するPGRG1の効果を示す。

【発明を実施するための形態】

【0041】

本開示の種々の態様および実施形態は以下でさらに完全に明らかにされ説明される。そのような態様は、範囲が限定的ではなく、見本となり説明的であるように意図されており、多くの異なる形態で具体化することができ、これらの態様および実施形態を、本明細書に明示的に記載されている態様および実施形態に限定されると解釈するべきではない。むしろ、これらの態様および実施形態は、本開示が徹底して完全であり、その範囲を当業者に十分に伝達するように提供される。

【0042】

本開示の実施には、他の方法で指示されていなければ、当技術分野の範囲内の化学、生化学、および薬理学の従来の方法を用いることになる。そのような技法は文献において十分に説明されている。例えば、A. L. Lehninger, Biochemistry (Worth Publishers, Inc., 現行版); MorrisonおよびBoyd, Organic Chemistry (Allyn and Bacon, Inc., 現行版); J. March, Advanced Organic Chemistry (McGraw Hill, 現行版); Remington: The Science and Practice of Pharmacy, A. Gennaro編、第20版; Goodman & Gilman The Pharmacological Basis of Therapeutics, J. Griffith Hardman, L. L. Limbird, A. Gilman, 第10版「Synthesis of peptides and peptidomimetics」Methods of organic chemistry (Houben-Weyl): 第4版に対する追加の補巻、2004年、Goodman, Murray; Tonio, Claudio; Moroder, Luis; Felix, Arthur; Thieme Medical Publishers Inc.を参照されたい。

【0043】

I. 定義

他の方法で定義されていなければ、本明細書で使用する技術用語および科学用語はすべて、当業者が一般的に理解しているのと同じ意味を有する。本明細書に記載される方法、デバイスおよび材料に類似するまたは相当するいかなる方法、デバイスおよび材料も、本発明の実施または試験において使用することが可能である。本明細書で言及される出版物はすべて、本開示に関連して使用することがある出版物に報告されている方法論および材料を説明し開示する目的で、参照により本明細書に組み込まれる。

【0044】

本明細書においておよび添付の特許請求の範囲において使用されるように、単数形「1つ(a)」、「1つ(an)」、および「その(the)」は、文脈が他の方法で明確に指示していなければ、複数の参照対象を含む。したがって、例えば、「1つの炭水化物」への言及は単一の炭水化物分子ならびに2つまたはそれ超の同じまたは異なる炭水化物を含み、「1つのペクチン」への言及は単一種類のペクチンならびに2つまたはそれ超の同じまたは異なる種類のペクチンを含み、1つの「賦形剤」への言及は単一の賦形剤ならびに2つまたはそれ超の同じまたは異なる賦形剤を含む、などである。

10

20

30

40

50

【 0 0 4 5 】

ある範囲の値が提供される場合、その範囲の上限と下限の間のそれぞれの介在する値およびその言明された範囲中の他の任意の言明されたまたは介在する値は本開示内に包含することが意図されており、言明された範囲内の任意の言明された値または介在する値とその言明された範囲中の他の任意の言明されたまたは介在する値の間のそれぞれのさらに小さな範囲が包含される。これらのさらに小さな範囲の上限と下限はその範囲に独立して含まれるまたは除外されることがあり、限界のいずれかが、どちらもないまたは両方がさらに小さな範囲に含まれるそれぞれの範囲も包含され、言明された範囲中の任意の具体的に除外される制限を受ける。言明された範囲がその限界のうちの1つまたは両方を含む場合、その含まれる限界のいずれかまたは両方を除外する範囲も含まれる。例えば、1%から8%までの範囲が言明されている場合、2%、3%、4%、5%、6%、および7%、ならびに1%よりも大きいまたはそれに等しい範囲の値および8%よりも少ないまたはそれに等しい範囲の値も明示的に開示されることが意図されている。同様に、1 μmから8 μmまでの範囲が言明されている場合、2 μm、3 μm、4 μm、5 μm、6 μm、および7 μm、ならびに1 μmよりも大きいまたはそれに等しい範囲の値および8 μmよりも少ないまたはそれに等しい範囲の値も明示的に開示されることが意図されている。

10

【 0 0 4 6 】

Astragalus membranaceus の根から得られる単離されたポリガラクトナンラムノガラクトナン1 (PGRG1) 組成物であって、組成物中のPGRG1が10kDaから50kDaの重量平均分子量および少なくとも0.06のラムノース対ガラクトロン酸 (Rha対GalA) モルパーセント比を有する組成物が本明細書で提供される。言い換えると、組成物中のPGRG1は、モルパーセントで測定される少なくとも0.06のラムノース対ガラクトロン酸の比で存在する。

20

【 0 0 4 7 】

PGRG1組成物から精製され、40から120kDaの重量平均分子量範囲を有するPGRG1 - 5K組成物も提供される。

【 0 0 4 8 】

いくつかの実施形態では、単離されたPGRG1組成物またはPGRG1 - 5K組成物は、*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. および *Astragalus membranaceus* (Fisch.) var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao種から選択される *Astragalus membranaceus* 変種から単離される。

30

【 0 0 4 9 】

いくつかの実施形態では、PGRG1組成物またはPGRG1 - 5K組成物は、山西省、内モンゴル、甘粛省、河北省および遼寧省から選択される中華人民共和国の省で育った *Astragalus membranaceus* から単離される。

【 0 0 5 0 】

いくつかの実施形態では、PGRG1組成物またはPGRG1 - 5K組成物は、2年ものまたはそれよりも若い栽培された *Astragalus membranaceus* 植物から単離される。いくつかの実施形態では、PGRG1組成物またはPGRG1 - 5K組成物は、2年ものから3年もの間である栽培された *Astragalus membranaceus* 植物から単離される。いくつかの実施形態では、PGRG1組成物またはPGRG1 - 5K組成物は、約3年ものから10年もの間である野生型 *Astragalus membranaceus* 植物から単離される。

40

【 0 0 5 1 】

いくつかの実施形態では、PGRG1組成物またはPGRG1 - 5K組成物中のPGRG1は $[1, 4 - \text{結合 GalA GalA}]_n$ が点在した $[1, 4 \text{ および } 1, 2 - \text{結合 Rha GalA}]_m$ の骨格構造を有する。

【 0 0 5 2 】

治療有効量の単離されたPGRG1組成物またはPGRG1 - 5K組成物および任意選

50

択で薬学的に適切な賦形剤を含む経口 P G R G 1 製剤も提供される。

【 0 0 5 3 】

(a) *A s t r a g a l u s m e m b r a n a c e u s* の乾燥根を約 1 0 0 の水溶液中、合計で 9 時間にわたり抽出するステップと、抽出物に P G R G 1 組成物を沈殿させるのに十分な低級アルコールを添加して、単離された P G R G 1 組成物を生じるステップを含む、P G R G 1 組成物を生産する方法も提供される。

【 0 0 5 4 】

P G R G 1 組成物の水溶液を分子量カットオフが 5 k D a のフィルターを通して限外濾過にかけるステップと、保持液から P G R G 1 - 5 K 組成物を単離するステップを含む、P G R G 1 - 5 K 組成物を生産する方法も提供される。

10

【 0 0 5 5 】

非処置の哺乳動物中の血液クレアチニンレベルと比べて、血液クレアチニンレベルを減少させるのに有効な量で P G R G 1 組成物、P G R G 1 - 5 K 組成物、またはその経口製剤を哺乳動物に経口的に投与するステップを含む、血液クレアチニンレベルを減少させることにより哺乳動物における腎臓疾患を処置する方法も提供される。

【 0 0 5 6 】

造血を誘導するのに有効な量で P G R G 1 組成物、P G R G 1 - 5 K 組成物、またはその経口製剤を哺乳動物に経口的に投与することにより、増加した血液細胞数として測定される哺乳動物における造血を誘導する方法も提供される。

【 0 0 5 7 】

免疫系機能不全を処置するのに有効な量で P G R G 1 組成物、P G R G 1 - 5 K 組成物、またはその経口製剤を哺乳動物に経口的に投与することにより、免疫系機能不全を処置する方法も提供される。

20

【 0 0 5 8 】

いくつかの実施形態では、哺乳動物はヒトである。

【 0 0 5 9 】

いくつかの実施形態では、方法は少なくとも 1 つの追加の治療剤を投与するステップをさらに含む。

【 0 0 6 0 】

精製された P G R G 1 組成物または P G R G 1 - 5 K 組成物を含む栄養補助食品も提供される。

30

【 0 0 6 1 】

いくつかの実施形態では、変種は *A s t r a g a l u s m e m b r a n a c e u s* である。いくつかの実施形態では、組成物を調製するのに使用される植物組織はもっぱら植物の根から採取される。いくつかの実施形態では、骨格構造は [1 , 4 - 結合 G a l A G a l A] _n が点在した [1 , 4 および 1 , 2 - 結合 R h a G a l A] _m である。いくつかの実施形態では、生物活性は造血および腎臓保護である。いくつかの実施形態では、P G R G 1 は 5 k 透析により精製される。

【 0 0 6 2 】

本明細書で使用されるように、以下の用語は以下の意味を有するように意図されている。

40

【 0 0 6 3 】

語句「核酸配列」（または核酸分子）とは、一本または二本鎖形態の D N A または R N A 分子、特に本開示に従ったタンパク質またはタンパク質断片をコードする D N A を指す。「単離された核酸配列」とは、もはやそれが単離された天然環境にはない核酸配列、例えば、細菌宿主細胞中または植物の核またはプラスチドゲノム中の核酸配列を指す。

【 0 0 6 4 】

用語「タンパク質」または「ポリペプチド」は互換的に使用され、アミノ酸の鎖からなる分子を指し、特定の作用形式、サイズ、三次元構造または起源は関係がない。したがって、タンパク質の「断片」または「部分」をそれでも「タンパク質」と呼んでもよく、ま

50

たは「ポリペプチド」もしくは「ペプチド」と呼んでもよい。「単離されたタンパク質」は、もはやその天然環境にない、例えば、*in vitro*にまたは組換え細菌もしくは植物宿主細胞にあるタンパク質を指すのに使用される。酵素は酵素活性を含むタンパク質である。

【0065】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される PGRG1 または PGRG1 - 5K 組成物は、*Astragalus membranaceus* の葉、茎および / または根から得られる抽出物から少なくとも部分的に精製される。

【0066】

本明細書で使用される用語「精製された」、「実質的に精製された」、および「単離された」とは、PGRG1 または PGRG1 - 5K が通常その自然状態において会合している他の異なる化合物がない状態を指す。好ましくは、「精製された」、「実質的に精製された」、および「単離された」は、その組成物が所与の試料の質量のうち、重量で少なくとも 0.5%、1%、5%、10%、20%、30%、もしくは 40%、少なくとも 50%、少なくとも 60%、少なくとも 70%、少なくとも 75%、少なくとも 80%、少なくとも 85%、または少なくとも 90% を構成することを意味する。いくつかの実施形態では、これらの用語は PGRG1 または PGRG1 - 5K が所与の試料の質量のうち、重量で少なくとも 95% を構成する組成物を指す。本明細書で使用されるように、用語「精製された」、「実質的に精製された」、および「単離された」は、PGRG1 または PGRG1 - 5K 組成物を指す場合、植物供給源中に天然に存在することがあるものとは異なる精製または濃縮の状態も指す。(1) 他の会合している構造物もしくは化合物とは離れた精製、または (2) 植物供給源中では通常は会合していない構造物もしくは化合物との会合を含む、供給源中で天然に存在するものよりも大きい精製または濃縮のいかなる度合も「単離された」の意味内である。本明細書に記載される PGRG1 または PGRG1 - 5K 組成物は、当業者には公知の種々の方法および過程に従って、単離されていてもよく、あるいは天然では通常会合していない構造物もしくは化合物と会合していてもよい。

【0067】

さらに、本明細書で使用される用語「実質的に精製された」とは、その天然環境から取り除かれ、単離されまたは分離されており、かつその少なくとも 60% が、時には 75% が、時には 90% が、および時には 95% が、実質的に精製されていなければ天然に会合していることがあるまたは精製過程中に会合してしまった他の成分を含まない PGRG1 または PGRG1 - 5K 組成物を指す。

【0068】

いくつかの実施形態では、PGRG1 または PGRG1 - 5K 組成物は、例えば、熱、光、pH 変化、自動酸化、溶液での平衡のシフト、または濃度もしくはイオン強度の変化を用いた処理により他の植物成分から少なくとも部分的に精製されるまたは遊離される。したがって、本明細書に記載される組成物中の PGRG1 または PGRG1 - 5K は、その天然に存在する植物状況における元の PGRG1 または PGRG1 - 5K と比べて化学的にまたは熱的に改変されていることがある。

【0069】

タンパク質に類似して、多糖には一次、二次、三次および四次レベルの構造組織化 (structural organization) が存在し、したがって、多糖は分子、クラスター (凝集体)、ネットワークまたは相互作用のレベルで記載することが可能である。多糖の三次元分子構造解析は急激に研究が進んでいる分野である。さらに、多糖は、(1) その一次構造、すなわち、ポリマー鎖中の単糖残基の共有結合による連なり、(2) 一次配列が取ることがある空間での任意の幾何学的に規則正しい配置を規定するその二次「秩序」構造、(3) 二次配置が一緒に充填する方式を規定するその三次構造、および (4) 多糖と多糖の相互作用を規定するより高次の四次構造により記載することが可能である。カラギーナン、アルギネート、ペクチン、およびジェランでは、多糖クラスターおよびゲルネットワークが観察されている。ガラクトマンナンまたはコンニャクグルコマン

ナンとヘリックス形成藻類多糖またはキサンタンの相乗的相互作用では、より高いレベルの構造組織化（多糖と多糖の相互作用）が解明されてきた（EgglesonおよびDoyle、「Advances in Biopolymers: Molecules, Clusters, Networks, and Interactions」、第2章、19～34頁、935巻、2006年8月28日発行、Marshall L. Fishman、Phoebe X. Qi、およびLouise Wicker編）。

【0070】

本明細書で同定された例となる糖残基は、アラビノシル（Ara）、ラムノシル（Rha）、ガラクトロン酸（GalA）、ガラクトシル（Gal）、およびグルコシル（Glc）残基である〔図1〕。

10

【0071】

用語「医薬品グレード」とは、植物性薬物中のある特定の生物学的に活性なおよび／もしくは不活性な成分がある特定の絶対および／もしくは相対濃度範囲内でなければならないことならびに／または成分は、疾患、障害もしくは状態特異的生理活性アッセイによって測定した場合、ある活性レベルを示さなければならないことを意味する。疾患、障害または状態はヒトまたは動物に罹患することがある。

【0072】

本明細書で使用されるように、「成分」とは、植物組成物中に天然に存在するまたは規定された生理活性範囲（複数可）および／もしくは組成範囲内の成分を有する医薬品グレードの植物性薬物を調製するように、植物性薬物に添加されている別々の化合物（すなわち、化学物質）を意味する。

20

【0073】

「活性成分（複数可）」とは、疾患特異的バイオアッセイにおける個々の成分（複数可）活性の合計が植物材料の観察される生物活性の実質的な部分を占める1つまたは複数の成分（複数可）を意味する。いくつかの実施形態では、活性成分の活性の合計が観察される生物活性の大多数（50%を超える）を占める。

【0074】

本明細書で使用されるように、「画分」とは典型的には、溶解度、分子量範囲、極性範囲、吸着係数、結合特徴、化学反応性または選択的溶解度（selective solubility）などの定義されたパラメータを有する成分の群または構造的に類似する成分のクラスを意味する。最も多くは、画分は、クロマトグラフィー分離技法、すなわち、フラッシュクロマトグラフィー、分取高速液体クロマトグラフィー（HPLC）、分取ガスクロマトグラフィー、分取薄層クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、サイズ排除クロマトグラフィー、液液クロマトグラフィー、例えば、向流分配クロマトグラフィーまたは求心クロマトグラフィー（centripetal chromatography）の生成物になる。

30

【0075】

アセトゲニン、アルカロイド、炭水化物、カロテノイド、桂皮酸誘導体、脂肪酸、脂肪酸エステル、フラボノイド、グリコシド、イソプレノイド、大環状抗生物質、核酸、ペニシリン、ペプチド、フェノール類（phenolic）、ポリアセチレン、ポリケタイド、ポリフェノール、多糖、タンパク質、プロスタグランジン、ステロイドおよびテルペノイドは単独でまたは組み合わせて、本明細書に記載されるPGRG1組成物の活性成分（複数可）であり得る。

40

【0076】

これらの方法では、アリコートは生物学的に活性な成分と不活性な成分の両方に分離することができる。さらに、画分は関連する成分のクラスを含むことができる。

【0077】

「重量平均分子量（ wM_w ）」は、組成物中のポリマー（すなわち、多糖）の重量分布に基づいている。第1に、数平均分子量が計算され、これは試料中の分子の総重量を試料中の分子の総数で割る、すなわち $\sum N_i M_i / \sum N_i$ と定義されており、 N_i は分子の

50

数であり M_i はそれぞれの分子の質量である。次に、重量平均分子量 ($w a M W$) はそれぞれの種類の分子の重量分率から計算される (W_i はそれぞれの種類の分子により表される全重量の割合を表す)。したがって、重量平均分子量 ($w a M W$) は $W_i M_i$ に等しい。

【 0 0 7 8 】

植物についての生理活性 / 臨床適応症は、ヒトまたは他の動物の任意の疾患、障害または状態に関連していることがある。したがって、ヒトおよび / または動物疾患、障害もしくは状態の処置および / または改善および / または予防のための医薬品グレードの植物性薬物を生成する方法は有用である。例となる適応症には、アレルギー / 炎症性障害、心血管疾患、がんもしくは中枢神経系障害、胃腸障害、代謝障害、悪心または微生物もしくはウイルスにより誘導される障害が含まれるが、これらに限定されない。

10

【 0 0 7 9 】

「哺乳動物」には、ヒトならびにコンパニオンアニマル (ネコ、イヌ、および同類のもの) および家畜 (ウシ、ウマ、ヒツジ、ヤギ、ブタ、および同類のもの) などの非ヒト哺乳動物が含まれる。

【 0 0 8 0 】

「病的状態」とは、動物などの生物の健康および幸福を損なう疾患または障害などの状態を指す。病的状態感受性または病的状態関連遺伝子とは、例えば、ヌクレオチド配列の変動により改変された場合、特定の疾患臨床表現型の発現を促進する遺伝子のことである。したがって、病的状態感受性遺伝子は、改変されると、生物が特定の疾患を発症させる可能性または一般的危険を増加させる潜在力を有する。

20

【 0 0 8 1 】

「死亡率」とは、生物、特に動物が全予想寿命を生き延びることがない統計上の尤度を指す。したがって、増大した死亡率と関連のある多型などの形質またはマーカーは、集団の若いほうの区分よりも年配の区分でのほうが観察される頻度は低い。

【 0 0 8 2 】

「疾患」は、医学治療から生じる健康に有害な状態 (「副作用」) を含む、動物の任意の不健康状態を含み、自己免疫疾患および、例えば、腎臓などの内臓の状態を含むことが可能である。

【 0 0 8 3 】

「疾患または障害を発症する素因」とは、特定の遺伝子型および / またはハプロタイプを有する被験体が、そのような遺伝子型および / またはハプロタイプを持たない被験体よりも特定の疾患または障害を発症する可能性が高いことを意味する。

30

【 0 0 8 4 】

「改善すること (*ameliorating*)」または「改善する (*ameliorate*)」とは、症状の緩和、寛解もしくは減少または患者の身体的もしくは精神的幸福感の向上などの任意の客観的または主観的パラメータを含む、病理または状態の処置における成功の任意の指標を指す。症状の改善は、身体検査および / または精神医学的評価の結果を含む、客観的または主観的パラメータに基づくことが可能である。

【 0 0 8 5 】

疾患の「処置すること (*treating*)」または「処置 (*treatment*)」は、疾患に罹りやすいがまだ疾患の症状を経験していないし示していない動物において疾患が生じるのを予防する (予防的処置)、疾患を阻害する (疾患の発症を遅くするまたは停止する)、疾患の症状または副作用から救済する (対処療法を含む)、および疾患を緩和する (疾患の後退を引き起こす) ことを含む。

40

【 0 0 8 6 】

「治療有効量」とは、疾患の処置のために動物に投与された場合、その疾患に処置をもたらすのに十分である量を意味する。

【 0 0 8 7 】

本開示の活性化合物 (複数可) および組成物 (複数可) は一般的には、処置されている

50

特定の疾患を処置するまたは予防するのに有効な量で使用されることになる。組成物は、治療的利益を達成するために治療的にまたは予防的利益を達成するために予防的に投与することができる。治療的利益とは、患者が基礎障害にまだ罹患することにはあるにしても、患者が感情または状態の向上を報告するような、処置している基礎障害の根絶または改善、例えば、基礎疾患、障害もしくはアレルギーの根絶もしくは改善、および/または基礎疾患、障害もしくはアレルギーに関連する症状のうちの1つもしくは複数の根絶もしくは改善を意味する。例えば、アレルギーに罹っている患者に活性化合物を投与すると、基礎にあるアレルギー応答が根絶されるまたは改善されるときだけではなく、患者が、アレルゲンへの曝露に続くアレルギーに関連する症状の重症度または持続時間の低減を報告するときも治療的利益をもたらす。治療的利益には、向上が実現されるかどうかにかかわらず、状態、障害、疾患またはアレルギーの進行を止めるまたは遅くすることも含まれる。

10

【0088】

投与される活性化合物（複数可）の量は、例えば、処置されている特定の適応症、投与形式、所望の利益が予防的であるのか治療的であるのか、処置されている適応症の重症度および患者の年齢と体重、特定の活性化合物の生物学的利用能等を含む種々の要因に依存することになる。有効投与量の決定は十分当業者の能力の範囲内である。最初の投与量は、最初は *in vitro* アッセイから見積もることができる。最初の投与量は、動物モデルなどの *in vivo* データから見積もることも可能である。

【0089】

組成物中の抽出物の量は、疾患の種類、被験体の年齢、性別、および体重などの要因に応じて変更することが可能である。投与レジメンは治療応答を最適化するように調整することができる。いくつかの実施形態では、当業者には公知である治療状況および要因の緊急性により指示される通りに、単回ボラスを施してもよく、数個の分割量を、時間をかけて投与してもよく、用量は比例的に減少させるもしくは増加させてもよく、またはその任意の組み合わせでもよい。投与量値 (*d o s a g e v a l u e*) は軽減させる状態の重症度によって変化してよいことは注目すべきである。投与レジメンは個体の必要性および組成物を投与しているまたはその投与を監督している人物の専門的判断に従って時間をかけて調整することができ、本明細書に記載される投与量範囲は例にすぎず医療従事者が選択することができる投与量範囲を限定するものではない。

20

【0090】

用語「投与」または「投与すること」とは、疾患の症状を診断する、予防する、処置する、または改善するために、組成物を被験体の細胞または組織内に *in vivo* でまたは *ex vivo* で取り込む方法を指す。一例では、化合物は *in vivo* で非経口的に被験体に投与することが可能である。別の例では、化合物は、組成物の有用性および効能を決定するためのアッセイを含むがこれに限定されない目的のために化合物を被験体由来の細胞組織と *ex vivo* で組み合わせることにより、被験体に投与することが可能である。化合物が1つまたは複数の活性薬剤と組み合わせられて被験体に取り込まれる場合、用語「投与」または「投与すること」は、例えば、上記の任意の薬剤などのその他の薬剤と一緒に化合物の逐次または同時の取り込みを含むことが可能である。本開示の医薬組成物は、その意図された投与経路と適合するように製剤化される。投与経路の例には、例えば、静脈内、皮内、筋肉内、および皮下注射などの非経口；経口；吸入；鼻腔内；経皮；経粘膜；ならびに直腸投与を含むが、これらに限定されない。

30

40

【0091】

本開示の化合物の「有効量」は、治療有効量または予防有効量を記載するために使用することが可能である。有効量は、疾患の症状を改善する量であっても可能である。「治療有効量」とは、所望の治療結果を達成するのに必要な投与量および期間で有効である量を指し、研究者、獣医、医師または他の臨床医が探究している応答であって、所望の効果をもたらす処置計画の一部でもある任意の生物学的または医学的応答を組織、系、または被験体において誘発する活性化合物、プロドラッグまたは医薬品の量のことも指す。いくつかの実施形態では、治療有効量は、障害の1つもしくは複数の症状の改善、障害の前進の

50

予防、または障害の後退を生じるのに十分な量で投与する必要がある。一例では、炎症により特徴付けられる炎症障害または自己免疫障害の処置では、治療有効量とは、好ましくは、組成物の所望の作用の少なくとも5%、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%、または少なくとも100%の測定可能な応答を与える治療剤の量を指す。用語「処置すること」とは、本明細書で教示される1つまたは複数の治療剤または予防剤を投与することである。

【0092】

「予防有効量」とは、血小板もしくは白血球数低下の重症度を予防するもしくは阻害する、または低下の底(nadir)を減らすなどの所望の予防結果を達成するのに必要な投与量および期間で有効である量を指す。典型的には、予防用量は、疾患の発症または疾患の症状を予防するまたは阻害するために、疾患の発症に先立って、または疾患の発症の初期段階で被験体において使用される。予防有効量は治療有効量よりも少ない、よりも多い、または等しくてもよい。

【0093】

いくつかの実施形態では、投与は経口で可能である。他の実施形態では、投与は皮下注射で可能である。いくつかの実施形態では、投与は無菌等張水性緩衝液を使用する静脈内注射で可能である。いくつかの実施形態では、投与は、可溶化剤および注射部位での不快感を和らげるリグノカインなどの局所麻酔薬を含むことが可能である。他の実施形態では、投与は、例えば、投与の容易さおよび均一性を得るために非経口的であってもよい。

【0094】

いくつかの実施形態では、組成物の治療または予防有効量は、約0.001 nMから約0.10 Mまで；約0.001 nMから約0.5 Mまで；約0.01 nMから約150 μMまで；約0.01 nMから約500 μMまで；約0.01 nMから約1000 μMまで、またはその中の任意の範囲の濃度に及ぶことができる。いくつかの実施形態では、組成物は、約0.001 mg/kgから約500 mg/kgまで；約0.005 mg/kgから約400 mg/kgまで；約0.01 mg/kgから約300 mg/kgまで；約0.01 mg/kgから約250 mg/kgまで；約0.1 mg/kgから約200 mg/kgまで；約0.2 mg/kgから約150 mg/kgまで；約0.4 mg/kgから約120 mg/kgまで；約0.15 mg/kgから約100 mg/kgまで；約0.15 mg/kgから約50 mg/kgまで；約0.5 mg/kgから約10 mg/kgまで、またはそのなかの任意の範囲に及ぶ量で投与することができ、ヒト被験体は平均して約70 kgと想定されている。

【0095】

投与量は、典型的には、約1 mg/kg/日から約100 mg/kg/日、200 mg/kg/日、300 mg/kg/日、400 mg/kg/日、または500 mg/kg/日までの範囲になるが、要因の中でもとりわけ、活性化合物の活性、その生物学的利用能、投与の形式および上で考察された種々の要因に応じて、それよりも高くても低くてもよい。投与量および間隔は、治療または予防効果を維持するのに十分である活性化合物(複数可)の血漿レベルを提供するように個々に調整することができる。局所表面(topical)投与などの、局所投与または選択的取り込みの場合、活性化合物(複数可)の有効局所濃度は血漿濃度に関係がなくてもよい。当業者であれば、過度の実験を行わなくとも有効な局所投与量を最適化することができるであろう。

【0096】

化合物は投与量単位で投与することが可能である。用語「投与量単位」とは、被験体への単位投与量として投与することが可能である化合物の別々の所定量を指す。活性化合物の所定量は所望の治療効果を生じるように選択することが可能であり、薬学的に許容される担体と一緒に投与することが可能である。それぞれの単位投与量中の所定量は、(a)

10

20

30

40

50

活性化合物の独特な特徴および達成される特定の治療効果、ならびに (b) そのような投与量単位を作り出し投与する技術に固有の限界を含むが、これらに限定されない要因に依存することが可能である。

【0097】

化合物 (複数可) は、とりわけ、処置されている適応症および処方する医師の判断に応じて、1日あたり1回、1日あたり2、3回もしくは数回、または1日あたり多数回でさえ投与することができる。

【0098】

好ましくは、活性化合物 (複数可) は、実質的な毒性を引き起こすことなく治療的または予防的利益を与えることになる。活性化合物 (複数可) の毒性は標準医薬手順を使用して決定することができる。毒性と治療 (または予防) 効果の間の用量比は治療指数である。高い治療指数を示す活性化合物 (複数可) が好ましい。

10

【0099】

「経粘膜的な」または類似する用語は、薬物の有効な治療血液レベルまたは深部組織レベルを達成するための浸透剤の粘膜内へのおよび粘膜を通る通過を意味する。

【0100】

「化学的増強剤」、「透過増強剤」、「浸透増強剤」、および同類のものは、浸透剤、薬物、または他の分子が粘膜を横切るフラックスを増加させる全ての増強剤を含むものとし、これらは、機能性によってのみ制限される。言い換えると、細胞膜無秩序化合物 (cell envelope disordering compound)、溶剤、ステロイド系洗剤、胆汁酸塩、キレート剤、界面活性剤、非界面活性剤、脂肪酸、および任意の他の化学的増強剤すべてが含まれるように意図されている。薬物または分析物が粘膜を横切るフラックスは、抵抗 (拡散係数) または推進力 (拡散のための勾配) のいずれかを变化させることにより増加させることが可能である。フラックスは、いわゆる透過または浸透または化学的増強剤の使用により増強することができる。

20

【0101】

浸透増強剤は、2つの主要な範疇の成分、すなわち、細胞膜無秩序化合物および溶剤または細胞膜無秩序化合物と溶剤の両方を含有する二元系を含む。しかし、上で考察されたように、ステロイド系洗剤、胆汁酸塩、キレート剤、界面活性剤、非界面活性剤、および脂肪酸などの他の範疇の浸透増強剤は公知である。

30

【0102】

ジエチレングリコールモノエチルまたはモノメチルエーテルからなる増強剤とプロピレングリコールモノラウエートおよびメチルラウエートの組み合わせは米国特許第4,973,468号に、プロゲストゲンおよびエストロゲンなどのステロイドの経皮送達を増強すると開示されている。薬物の経皮送達のためのグリセロールモノラウエートとエタノールからなる二重増強剤は米国特許第4,820,720号に明らかにされている。米国特許第5,006,342号は、C2からC4アルカンジオールの脂肪酸エステルまたは脂肪アルコールエーテルからなる経皮薬物投与のための数多くの増強剤を収載しており、エステル/エーテルのそれぞれの脂肪酸/アルコール部分は約8から22個の炭素原子である。米国特許第4,863,970号は、オレイン酸、オレイルアルコール、およびオレイン酸のグリセロールエステルなどの1つまたは複数の細胞膜無秩序化合物の指定された量を含む透過増強ビヒクルに含有される活性浸透剤; C2またはC3アルカノールならびに水などの不活性希釈剤を含む表面適用のための透過増強組成物を明らかにしている。

40

【0103】

他の浸透増強剤には、必ずしも二元系に関連しているわけではないが、Herschler、米国特許第3,551,554号; Herschler、米国特許第3,711,602号; およびHerschler、米国特許第3,711,606号に教示されているなどのDMSOまたはDMSOの水溶液、ならびにCooper、米国特許第4,557,943号に記述されているなどのアゾン (n-置換-アルキル-アザシクロアルキル

50

- 2 - オン)が含まれる。

【0104】

「浸透剤」、「薬物」、もしくは「薬理学的に活性な薬剤」または他の任意の類似する用語は、所望の生物学的もしくは薬理学的効果を誘導する当技術分野ではすでに公知の方法によるおよび/または本開示に教示される方法による経粘膜投与に適した、ペプチドを含む、任意の化学的または生物学的材料または化合物を意味し、効果には(1)生物に対して予防効果を有し、感染を予防するなど望ましくない生物学的効果を予防する、(2)疾患により引き起こされる状態を軽減する、例えば、疾患の結果として引き起こされる疼痛または炎症を軽減する、および/または(3)生物から疾患を軽減する、低減する、もしくは完全に排除するのいずれかを含むことができるが、これらに限定されない。効果は、局所的麻酔効果を提供するなど、局所的でもよく、または全身的でもよい。本開示は、新規の浸透剤または活性薬剤にまで及ぶものではない。むしろ、本開示は、現行の技術において存在するまたは本開示の化合物および組成物と組み合わせて使用するための活性薬剤として後に確立される可能性のある薬剤または浸透剤に限定されている。そのような物質には、皮膚を含む、身体表面および膜を通じてを含む、身体に正常に送達される広範なクラスの化合物が含まれる。一般に、これには、抗生物質および抗ウイルス剤などの抗感染症薬(antimicrobial);鎮痛剤および鎮痛剤組み合わせ;食欲減退薬(anorexiant);駆虫薬;関節炎治療薬(antiarthritic);抗喘息薬;抗痙攣薬;抗鬱薬;抗糖尿病薬;止痢薬;抗ヒスタミン薬;抗炎症薬;抗片頭痛調製物;制吐薬;抗腫瘍薬;抗パーキンソン病薬;鎮痒薬;抗精神病薬;解熱薬;鎮痙薬;抗コリン作用薬;交感神経作動薬(sympathomimetic);キサンチン誘導体;カリウムとカルシウムチャンネル遮断薬、ベータ遮断薬、アルファ遮断薬および抗不整脈薬を含む心血管調製物;降圧薬;利尿剤および抗利尿剤;全体的冠動脈、末梢および大脳を含む血管拡張薬;中枢神経系興奮薬;血管収縮薬;鬱血除去薬を含む咳および風邪調製物;コルチコステロイドを含むエストラジオールおよび他のステロイドなどのホルモン;催眠薬;免疫抑制薬;筋肉弛緩薬;副交感神経遮断薬;精神刺激薬;鎮静薬;ならびに精神安定薬が含まれるが、これらに限定されない。本開示の方法により、高分子量または低分子量のいずれの薬物が送達できるように、イオン化薬物と非イオン化薬物の両方を送達することができる。

10

20

30

【0105】

「頬側」薬物送達とは、頬粘膜を通して血流中への薬物の通過による薬物の送達を意味する。好ましくは、頬側薬物送達は、本明細書では、頬側投与量単位を、薬物治療を受けている個体の上歯肉または反対の内唇領域に置くことにより成し遂げられる。

【0106】

本明細書で使用される「賦形剤」または「ビヒクル」とは経口または頬側薬物投与に適した任意の賦形剤またはビヒクルを指し、当技術分野で公知の任意のそのような材料、例えば、非毒性であり組成物の他の成分と有害な様式で相互作用しない任意の液体、ゲル、溶剤、液体希釈剤、可溶化剤、または同類のものが含まれる。

【0107】

「薬学的に許容される賦形剤」とは、医薬組成物を調製するおよび/または投与するのに有用であり、一般に安全で、無毒で、望ましい希釈剤、アジュバンド、賦形剤またはビヒクルを意味し、ヒト医薬使用にならびに動物使用に許容される賦形剤を含む。そのような賦形剤は固体、液体、半固体、またはエアロゾル組成物の場合は、気体でもよい。これらの医薬担体には、ありとあらゆる生理的に適合する溶剤、分散媒、コーティング、抗菌および抗真菌薬、等張および吸収遅延剤、ならびに同類のものが含まれる。

40

【0108】

医薬担体の例には、水、油などの無菌液体、ならびに、例えば、リン脂質および糖脂質などの脂質が含まれるが、これらに限定されない。これらの無菌液体には、例えば、ピーナッツ油、ダイズ油、鉱油、ゴマ油、および同類のものなどの石油、動物、植物または合成起源由来の無菌液体が含まれるが、これらに限定されない。水は静脈内投与に好ましい

50

担体であってよい。食塩溶液、水性デキストロースおよびグリセリン溶液も、特に注射用溶液のための液体担体であってよい。担体は、州または連邦規制機関による承認または米国薬局方協会もしくは被験体において使用するための他の一般的に認知された供給源への収載後は薬学的に許容される。

【0109】

適切な医薬賦形剤には、デンプン、糖、不活性ポリマー、グルコース、ラクトース、スクロース、ゼラチン、麦芽、コメ、小麦粉、チョコク、シリカゲル、ステアリン酸ナトリウム、グリセロールモノステアレート、タルク、塩化ナトリウム、脱脂粉乳、グリセロール、プロピレン、グリコール、水、エタノール、および同類のものが含まれるが、これらに限定されない。組成物は少量の湿潤剤、乳化剤、pH緩衝剤、またはその組み合わせも含有することが可能である。

10

【0110】

組成物は溶液、懸濁物、エマルジョン、錠剤、丸剤、カプセル、粉末、徐放性製剤および同類のものの形態を取ることが可能である。経口製剤は、例えば、医薬品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、セルロース、炭酸マグネシウム、および同類のものなどの標準担体を含むことが可能である。Martin, E. W. Remington's Pharmaceutical Sciencesを参照されたい。補助活性化合物も組成物に組み込むことが可能である。いくつかの実施形態では、担体は非経口投与に適している。他の実施形態では、担体は静脈内、腹腔内、筋肉内、舌下または経口投与に適することが可能である。他の実施形態では、薬学的に許容される担体は薬学的に許容される塩を含むことができる。

20

【0111】

非経口投与のための医薬製剤はリボソームを含むことができる。リボソームおよびエマルジョンは、特に疎水性薬物に有用である送達ビヒクルまたは担体である。治療試薬の生物学的安定性に応じて、タンパク質安定化のための追加の戦略を用いてもよい。さらに、例えば、標的特異的抗体でコーティングされたりリボソームで、などの標的化薬物送達システムで薬物を投与することができる。リボソームは標的タンパク質に結合し、標的タンパク質を発現している細胞により選択的に吸収される。

【0112】

治療組成物は典型的には、製造および貯蔵条件下で無菌であり安定していなければならない。組成物は、溶液、マイクロエマルジョン、リボソーム、または高い薬物濃度に適した他の秩序化構造(ordered structure)として製剤化することが可能である。いくつかの実施形態では、担体は、水；エタノール；例えば、グリセロール、ポリプロピレングリコール、液体ポリエチレングリコール、および同類のものなどのポリオール；ならびにその組み合わせを含むがこれらに限定されない溶剤または分散媒であってよい。適切な流動性は、例えば、レシチンなどのコーティングを使用する、分散物中で必要な粒子サイズを維持する、および界面活性剤を使用するなどの種々の方式で維持することが可能である。

30

【0113】

いくつかの実施形態では、例えば、糖；マニトール、ソルビトール、グリセロール、およびその組み合わせを含むが、これらに限定されないポリアルコール；ならびに塩化ナトリウムなどの等張剤を使用することが可能である。例えば、モノステアリン酸塩、ゼラチン、および緩徐放出ポリマーなどの吸収を遅延する薬剤を含むことにより、持続性の吸収特徴を組成物中に導入することが可能である。担体を使用すれば活性化合物を急速放出から保護することができ、そのような担体には、移植片中の制御放出製剤およびマイクロカプセル化送達システムが含まれるが、これらに限定されない。例えば、エチレン酢酸ビニル、ポリ無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、ポリ乳酸、ポリカプロラクトン、ポリグリコール共重合体(PLG)、および同類のものなどの生分解性および生体適合性ポリマーを使用することが可能である。そのような製剤は一般的に、当業者には公知の方法を使用して調製することが可能である。

40

50

【 0 1 1 4 】

化合物は、例えば、注射のための油性懸濁物などの懸濁物として投与することができる。親油性溶剤またはビヒクルには、例えば、ゴマ油などの脂肪油；オレイン酸エチルまたはトリグリセリドなどの合成脂肪酸エステル；およびリポソームが含まれるが、これらに限定されない。注射のために使用することが可能な懸濁物は、例えば、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ソルビトール、またはデキストランなどの懸濁物の粘度を増加させる物質も含有することができる。任意選択で、懸濁物は化合物の溶解度を増加させ高濃縮溶液の調製を可能にする安定化剤または薬剤を含有することができる。

【 0 1 1 5 】

いくつかの実施形態では、無菌で注射可能な溶液は、有効量の活性化合物を上記の所望の追加の構成成分のいずれか 1 つまたは任意の組み合わせと一緒に溶剤に取り込み、濾過し、次に溶液を無菌化することにより調製することが可能である。別の実施形態では、分散物は、分散媒および上記の所望の追加の構成成分のいずれか 1 つまたは任意の組み合わせを含有する無菌ビヒクル中に活性化合物を取り込むことにより調製することが可能である。無菌粉末は、活性構成成分および任意の所望の追加の構成成分からなり得る粉末をもたらすように、真空乾燥、凍結乾燥、またはその組み合わせにより無菌で注射可能な溶液で使用するために調製することが可能である。さらに、追加の構成成分は別々に調製された無菌で濾過された溶液に由来することが可能である。別の実施形態では、抽出物は、抽出物の溶解度を増強する 1 つまたは複数の追加の化合物と組み合わせで調製することができる。

【 0 1 1 6 】

いくつかの実施形態では、化合物は、例えば、ジクロロジフルオロメタン、トリクロロジフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、二酸化炭素、またはその組み合わせなどの適切な噴霧体を含むことができるエアロゾルスプレーまたはネブライザーを通じての吸入により投与することが可能である。一例では、加圧エアロゾル用の投与量単位は計量バルブを通じて送達することができる。別の実施形態では、例えば、ゼラチンのカプセルおよびカートリッジは吸入器で使用するができ、例えば、デンプンまたはラクトースなどの適切な粉末基剤との化合物の粉末化混合物を含有するように製剤化することが可能である。

【 0 1 1 7 】

「栄養補助食品」とは、以下の食事構成成分；ビタミン、ミネラル、草本もしくは他の植物、アミノ酸、総食事摂取量を増加させることにより食事を補充するために人間が使用するための食食物質、または前述の構成成分のいずれかの濃縮物、代謝産物、構成要素、抽出物もしくは組み合わせのうちの 1 つまたは複数を含む食事を補充することを意図した産物を意味する。

【 0 1 1 8 】

「低級アルカノール」とは、1 から 6 個の炭素原子を有するアルコールを指す。低級アルカノールの例は、メタノール、エタノール、ブタノール、およびイソプロパノールである。

【 0 1 1 9 】

いくつかの実施形態では、低級アルカノールは、およそ室温で約 70 % 低級アルカノールの濃度まで溶剤に添加して沈殿物を作り出すことが可能である。いくつかの実施形態では、まず第 1 の沈殿ステップではより低い濃度の約 35 % 低級アルカノールを使用して、次に第 2 の沈殿ステップではより高い濃度の約 70 % 低級アルカノールを使用することにより沈殿は実行される。沈殿で使用する低級アルカノールの濃度は、例えば、20 % ~ 30 %、30 % ~ 40 %、40 % ~ 50 %、50 % ~ 60 %、60 % ~ 70 %、70 % ~ 80 %、80 % ~ 90 %、またはそのなかの任意の濃度に及ぶことが可能である。

【 0 1 2 0 】

植物の進化は絶えず発生している遺伝子変異に基づいており、多くの場合、種のうちの特定の個体が異なる色、サイズ、または成長習性に変異する。遺伝子変異とその表現型は

10

20

30

40

50

後代（子孫）に伝えられる。植物でこれが起こると、同じ学名を有する集団が存在し得るが、亜群は変動する特徴を示すことが可能である。変異した亜群がその親と著しく異なっており安定しているならば（形質は代々伝えられる）、植物のこの新しい群は変種名が割り当てられることが多い。変種名は変異が自然界で起こる場合に与えられる。

【0121】

したがって、*Astragalus* 種の「変種」（「var.」）とは、特定の *Astragalus membranaceus* 亜群、株、変異または品種を指す。*Astragalus membranaceus* の例となる変種は、*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge; *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge var. *mongholicus* (Bunge) P. K. Hsiao; *Astragalus propinquus* Schischkin; *Astragalus propinquus* Schischkin var. *glabra* Vyd. ; および *Phaca membranacea* Fisch である。同様に、品種名はヒトの影響のせいで変異が起こる場合に与えられ、品種名は cv. の後でまたは一重引用符内に書かれ、例えば、*Pinguicula moranensis* cv. *Superba* または *Pinguicula moranensis* ' *Superba* ' である。

【0122】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される PGRG1 組成物は *Astragalus* 種のみに、例えば、*Astragalus membranaceus* Bge. に由来し、*Angelica sinensis* Diels、*Angelica archangelica* または *Levisticum officinale* Koch 由来の多糖などの Dankuei の抽出物に由来しておらずまたはこれを含まない。

【0123】

多糖または糖残基の「修飾」とは、例えば、メチルエステル化および/またはアセチル化多糖または糖を指す。多糖または糖残基は、天然に存在していてもよいし、または合成類似体であってもよい。

【0124】

「ペクチン」は一次細胞壁におよび全ての植物細胞間の中層に豊富に存在する分岐ヘテロ多糖の複雑な群である。ペクチンポリマーは、- 1, 4 グリコシド結合により繋がった高比率の D - ガラクツロン酸残基を含有する化学的に多様な酸性分子である。このペクチン - (1 - 4) ポリガラクトン酸骨格は無作為にアセチル化しメチル化することが可能である。ペクチンは3つの主要な多糖：ポリガラクトナン (*polygalacturonan*)、ラムノポリガラクトナン I (RG - I) およびラムノポリガラクトナン II (RG - II) で構成されている。ガラクトネート (*galacturonate*) のカルボン酸の一部はメタノールにエステル化されている。L - ラムノース (6 - デオキシヘキソース) 残基は通常、鎖全体に点在している。D - ガラクツロン酸の L - ラムノースへの結合は - 1, 2 であり、D - ガラクツロン酸から鎖中の次のガラクトン酸への結合は - 1, 4 である。L - アラビノースまたは D - ガラクトースなどのモノマーを含有する中性の糖ポリマーの側鎖は、多くの場合、ラムノース残基に付着されている。したがって、RG - I 骨格 (ラムノシルおよび D - ガラクツロノシル (*galacturonosyl*)) 部分は、アラビノースおよびガラクトースの側鎖を有する「毛様」分岐点を含む (Bacic、2006年、Proc. Natl. Acad. Sci. 102 巻 (15 号) : 5639 ~ 5640 頁)。

【0125】

ペクチンは、動物用飼料産業においておよび食品工業においてゲル化剤として使用されている。反芻動物では、消化管中の細菌酵素および真菌酵素はその消化を助けている。柑橘果皮およびテンサイの加工に由来するペクチン豊富な副産物をもっと価値の高い材料に変換するペクチン分解酵素に、商業的関心がもたれている。エステラーゼ、ヒドロラーゼおよびリアーゼなどのペクチン分解性酵素は、ペクチン加工を必要とするほかの産業でも

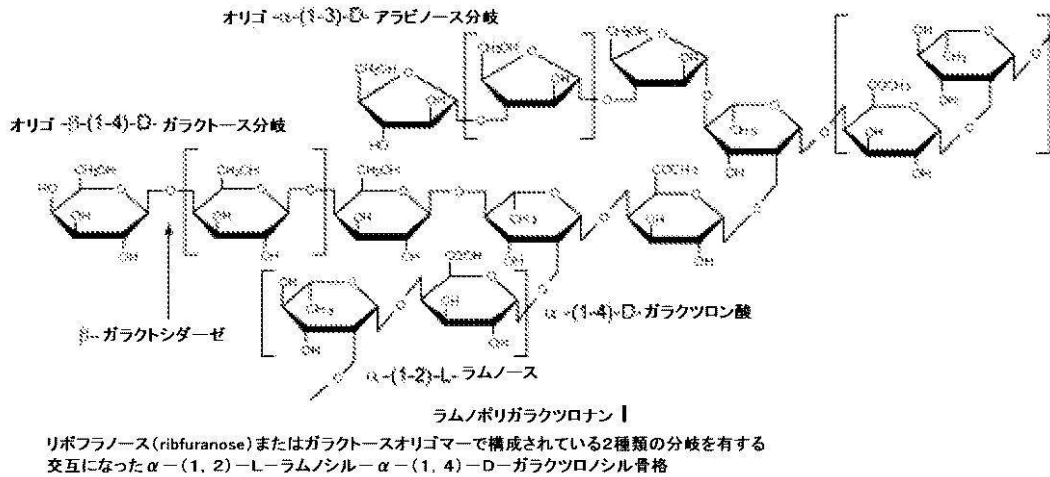
使用されている。

【 0 1 2 6 】

天然のペクチンでは、D - ガラクツロネートのカルボキシル基の大多数がメチルエステルである。一部の植物はアセチル化ガラクトツロネート残基も含有している。非エステル化カルボキシル基は、ペクチンにゲルを形成させる Mg^{2+} または Ca^{2+} などの二価カチオンを通じて結合することができる。

ラムノポリガラクトツロナン I (R G - I) の例は以下に示されている。

【 化 2 】



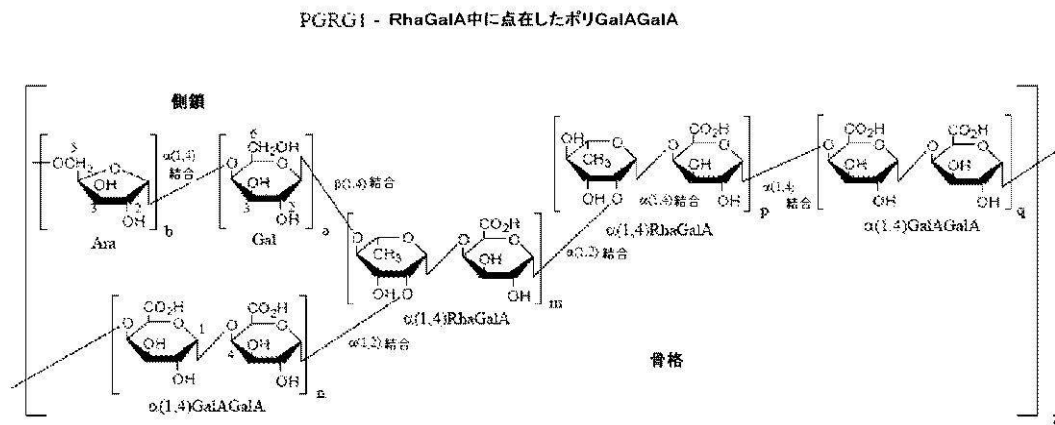
10

20

【 0 1 2 7 】

本明細書に開示される組成物の P G R G 1 の一般的構造は図 2 に図示されており、下に示されている。

【 化 3 】



30

【 0 1 2 8 】

P G R G 1 および P G R G - 5 K では、ポリ G a l A G a l A が R h a G a l A 1 ポリマー中に点在している。図 2 からは、P G R G 1 が骨格および側鎖において二糖、ラムノースガラクトツロン酸 (R h a G a l A) およびガラクトツロン酸ガラクトツロン酸 (G a l A G a l A) で作られた多糖であることを観察できる。骨格糖モノマーはピラノース形態である。二糖のそれぞれ中の個々の糖は、アルファ 1, 4 共有結合 (c o v a l e n t b o n d) を介して立体化学的および位置化学的に結合され (r e g i o c h e m i c a l l y l i n k e d) ている。個々の骨格の二糖二糖結合はアルファ 1, 2 結合またはアルファ 1, 4 結合されることが可能である。P G R G 1 中の側鎖は単糖、ガラクトース (G a l) およびアラビノース (A r a) で作られている。G a l および A r a はそれぞれピラノース形態およびフラノース形態である。G a l は R h a G a l A 骨格中の R h a にベータ (1, 4) 結合されており、A r a は G a l にアルファ (1, 4) 結合されてい

40

50

る。側鎖には著しい分岐が存在し得る。G a l 分岐は 2 , 3 , および / または 6 結合されることが可能であり、A r a は 2 , 3 , および / または 5 結合されることが可能である。

【 0 1 2 9 】

図 2 および上で示される P G R G 1 構造では、下付き文字の n、m、p、q、a、b、および z は、結果として得られるその構造が分子量に変換された場合、10 ~ 50 k D a の範囲内に収まる任意の整数であってよい。P G R G 1 - 5 K では、下付き文字の n、m、p、q、a、b、および z は、結果として得られるその構造が分子量に変換された場合、40 ~ 120 k D a の範囲内に収まる任意の整数であってよい。P G R G 1 と P G R G 1 - 5 K の両方では、整数 n、m、p、q、a、および b は、2 つの連続する整数が 0 に等しくなることはできないという条件で、0 に等しくなることが可能である。

10

【 0 1 3 0 】

前述の当技術分野では公知の多糖、ペクチンおよびラムノガラクトツロナン I 組成物は本明細書に記載される P G R G 1 および P G R G 1 - 5 K 組成物とは著しく異なることは当業者には明らかであろう。例えば、当技術分野では公知の組成物は、ほとんど必ず植物の多数の種に由来しており、これらの植物は不確定の期間および / または制御を受けていない条件下で成長しており、種々の不特定の生育時間後に収穫されており、化学組成に予測できない変動が生じている。さらに、当技術分野で公知の組成物は、一般に植物の根と葉の両方から単離されている。本開示の P G R G 1 組成物は A s t r a g a l u s m e m b r a n a c e u s の根から単離されており、少なくとも 40 キロダルトン (k D a) の重量平均分子量を有する。

20

【 0 1 3 1 】

例証となる出版物 (それぞれその全体が、参照により本明細書に組み込まれる) : 米国特許第 8 , 1 3 7 , 7 1 0 号 ; 米国特許出願公開第 2 0 1 2 0 1 4 1 4 1 2 号および同第 2 0 1 0 0 1 5 8 8 6 1 号 ; ならびに P C T 出願公開 W O 2 0 1 0 0 7 7 8 6 7 には、特発性血小板減少性紫斑病を処置するための A s t r a g a l u s m e m b r a n a c e u s の抽出物を含む組成物の調製および使用が開示される。抽出物は、例えば、約 3 . 5 対 1 より大きいアラビノース対ガラクトース比 ; 約 5 % ~ 約 1 0 % のラムノース ; 約 1 5 % ~ 約 2 0 % のガラクトース ; 約 1 0 % ~ 約 2 0 % のガラクトツロン酸 ; および約 1 0 % ~ 約 1 5 % のグルコースを有する A s t r a g a l u s m e m b r a n a c e u s の高収量の抽出物を含むことができる。記載されるいくつかの抽出物は、約 3 . 5 対 1 ~ 約 5 . 0 対 1 の範囲のアラビノース対ガラクトース比 ; 約 5 % ~ 約 1 0 % のラムノース、約 1 5 % ~ 約 2 0 % ガラクトース、および約 1 0 % ~ 約 1 5 % のグルコースを有する酸修飾アラビノガラクトタンパク質組成物を含む。組成物は、特発性血小板減少性紫斑病の処置およびそのような処置のための医薬の剤剤化に使用できる。また、中華人民共和国の内モンゴルまたは山西省で生育し得る A . m e m b r a n a c e u s B g e . v a r . m o n g h o l i c u s (B g e .) H s i a o または A . m e m b r a n a c e u s (F i s c h .) B g e . も開示される。一部の実施形態では、根は約二年ものの A s t r a g a l u s m e m b r a n a c e u s 植物由来である。一部の実施形態では、組成物は少なくとも 100 k D a の重量平均分子量を有する。一部の実施形態では、組成物は少なくとも 80 重量 % の炭水化物および 2 重量 % 以下のタンパク質を有する。一部の実施形態では、組成物は約 4 . 0 対 1 ~ 約 5 . 0 対 1 の範囲のアラビノース対ガラクトース比を有する。

30

40

【 0 1 3 2 】

P C T 出願公開第 W O 2 0 0 1 0 0 0 6 8 2 号および米国特許第 6 , 9 9 1 , 8 1 7 号は、A s t r a g a l u s m e m b r a n a c e u s、特に根から単離されたアラビノガラクトタン組成物を開示し、前記組成物は少なくとも 100 k D a の重量平均分子量を有し、静脈注射可能な水性剤剤へと再構成することができ、哺乳動物に静脈投与した場合、哺乳動物において、造血を刺激し、巨核球の増殖もしくは成熟を誘導し、I L - 1、I L - 6、T N F -、I F N -、G M - C S F もしくは G - C S F の産生を刺激し、好中球の産生もしくは作用を刺激し、好中球減少症、貧血症、もしくは血小板減少症を処置

50

し、細胞毒性（例えば、化学）剤もしくは放射線への曝露（偶発的もしくは非治療的曝露、および治療的曝露）からの回復を加速し、悪液質、嘔吐、もしくは薬物禁断症状を処置し、または生物学的応答を改変し、またはB型肝炎の肝細胞を保護するのに有用である。

【0133】

PCT出願公開第WO2010095808号は、糖尿病または肥満の予防または軽減のため、*Astragalus membranaceus*をアミラーゼおよび/またはセルラーゼを使用する加水分解に供することによって不溶性物質の抽出および回収の速度が増加することを特徴とする、酵素分解を用いる*Astragalus membranaceus*抽出物の生産方法、ならびにその方法によって生産される組成物を記載する。酵素分解を使用して生産される*Astragalus membranaceus*抽出物は、血中の糖、コレステロール、およびトリグリセリドを低下させ、糖尿病（2型糖尿病を含む）、脂肪肝、高脂血症、動脈硬化症、および肥満を予防または軽減するのに有利であるとされている。

10

【0134】

米国特許出願公開第US2010173026号は、マメ科の*Astragalus membranaceus* Fisch. Bge. Var. *mongolicus* Bge.のエストロゲン様抽出物、および前記抽出物を使用して、特にヒト女性においてエストロゲン様作用を達成する方法を記載する。一部の実施形態では、方法は更年期症候群の処置を含む。一部の実施形態では、方法はエストロゲン応答性乳がんなどエストロゲン受容体陽性がんの処置を含む。一部の実施形態では、方法は骨粗鬆症の処置または予防を含む。

20

【0135】

米国特許第7,498,048号；同第7,553,501号；および同第7,604,823号は、*Astragalus membranaceus*（いくつかの他の植物抽出物の中で）を含む植物機能性食品の混合物を開示する。

【0136】

米国特許第7,364,760号は、哺乳動物における免疫不全ウイルス感染と関連する疾患状態または病状の処置のための方法であって、*Radix Gentianae Longdanco* (*Gentianae longdanco*)、*Fructus Xanthii Sibirici* (*Xanthii sibirici*)、*Radix Bupleuri* (*Bupleurum chinense*)、*Radix Astragali* (*Astragalus membranaceus*)、および*Chrysanthemum Morifolium* (*Chrysanthemum morifolium*)の治療有効量の草本抽出物を含む治療有効量の医薬組成物を、それを必要とする哺乳動物に投与するステップを含み、前記組成物が少なくとも80から400の間の治療指数を有する方法を開示する。

30

【0137】

米国特許第4,843,067号は、免疫機能を増大させるための多糖含有医薬組成物 *huang - qi* (*Astragalus membranaceus* Bge. または *Astragalus gummifer* Labillard のいずれかから抽出した) および *Angelica sinensis* Diels、*Angelica archangelica* または *Levisticum officinale* Koch 由来の *Dankuei* の多糖を開示する。この *huang - qi* と *Dankuei* 多糖の *huang - qi* 多糖組み合わせは、根の粉末の水抽出およびエタノール沈殿により抽出可能であると述べられている。

40

【0138】

米国特許第4,944,946号は、同様に、ウイルスを阻害し、免疫機能を増大させるための4つの活性成分（（1）*Astragalus membranaceus* Bge または *Astragalus* の他の種由来の *Wang Qi* の多糖；（2）*Isatis tinctoria* L、*I. indigotica* Fort または *Baphi*

50

*cacanthus cusia Bremek*の中に由来する*Banlankensu* ; (3) *Chrysanthemum indicum* L由来の*Yejuhua*フラボノイド; および(4) *Dryopteris crassirhizoma Nakai*、*Osmunda japonica Thunb*、*Lunathyrium acrostichoides ching*または*Matteuccia stuthiopteris Todaro*の中に由来する*Guanzhonhsu*)の医薬組成物を記載する。

【0139】

欧州特許出願公開第EP0441278号は、免疫調節特性を有する*Astragalus membranaceus*のゴム状滲出物から抽出された多糖(12000~500000ダルトン)、およびこれらを含む医薬組成物を記載する。

10

【0140】

欧州特許出願公開第EP01374881号は、以下の漢方生薬：*Ma Huang* (*Ephedra sinica*)、*Xing Ren* (*Prunus armeniaca*)、*Gan Cao* (*Glycyrrhiza uralensis licorice*)、*Huang Qin* (*Scutellaria baicalensis*)、*Huang Lian* (*Coptis chinensis*)、*Huang Bai* (*Phellodron chinense*)、*Kuang Dong Hua* (*Tusilago farfara*)、*Bai Bu* (*Stemona sessilifolia*)、*C*
*huan Bei MU*または*Bei MU* (*Fritillaria cirrhosa*)、*Di Long* (*Pheretima aspergillum*)、*Bu Gu Zhi* (*Psoralea corylifolia*)、*Dang Shen* (*Codonopsis pilosula*)、*Shan Zha* (*Crataegrus pinnatifida*)、*Ma Ya* (*Hordeum vulgare*)、*Shen Qu* (*Massa fermentata medicalis*)、*Wu Wei Zi* (*Schisandra chinensis*)、*Shi Gao* (*Gypsum*)、*Su Zi* (*Perilla frutescens*)、*Zi Wan* (*Aster tataricus*)、*Bai Shao* (*Paeonia lactiflora*)、*Jin Yin Hua* (*Lonicera japonica*)、*Lian Qiao* (*Forsythia suspensa*)、*Jing Jie* (*Schizonepeta tenuifolia*)、*Huang Qi* (*Astragalus membranaceus*)、*Fang Feng* (*Ledebouriella divaricata*)の一部または全てから作製される喘息のための医薬製剤を開示する。

20

30

【0141】

PCT出願公開第WO2002078722および欧州特許第EP1374880は、実質的に漢方薬用草本：*Panax ginseng*、*Poria cocos*、*Atractylodes macrocephala*、*Angelica sinensis*、*Astragalus membranaceus*、*Curcuma zedoaria*、*Scutellaria baicalensis*、*Coptis chinensis*、*Phellodron chinense*、*Glycyrrhiza uralensis*、*Crataegus pinnatifida*、*Hordeum vulgare*、*Salvia miltiorrhiza*、*Schisandra chinensis*、*Hedyotis diffusa*、*Ophiophogon japonicus*、*Lobelia chinensis lour*、*Scutellaria barbaba*、*Massa fermentata medicalis*、*Bupleurum scorzonerifolium*、*Pinellia ternata*、*Citrus reticulara*、*Melia toosendan*、*Paeonia lactiflora*、*Ganoderma lucium*および*Zingiber officinale*からなる腫瘍の処置のための抗腫瘍組成物を開示する。

40

【0142】

50

PCT出願公開第WO2009126652号は、感染性疾患、がん、自己免疫疾患、アレルギー、炎症、毒性、肥満ならびに/またはヒト、動物、植物および他の生物の他の障害の生物学的マーカーおよび治療標的、特にグリカン関連標的の迅速な同定のためのグリカンまたは炭水化物ベースの方法を開示する。

【0143】

PCT出願公開第WO2000059520号は、限定はされないが、呼吸器障害など、アレルギーおよび炎症反応の処置または予防のための草本組成物ならびに使用を記載する。組成物は、草本または草本の植物学上もしくは園芸学上の等価物または草本抽出物の化学的もしくは機能的等価物を含み、前記組成物がアレルギーまたは炎症反応の予防または処置に有効であり、組成物の有効性がプラセボ対照試験と関連し、組成物中の前記草本が：(i) 気道を開いたままに保つ；(ii) 脾臓および消化系を活気づける；(iii) 腎臓ならびに尿路および生殖管の機能を強化する；(iv) 炎症を除去する；ならびに(v) 血液循環を促進しうっ血を取り除くために選択され、組成物中の草本が、草本の5つの群のうち少なくとも1つを含むリストから選択され、第1の群が、Mahuang、Guizhi、Cangerzi、Xinyi、Bohe、Xixin、Xingren、Chaihu、Yinxingye、BaiziおよびFangfengを含み、第2の群が、Baizhu、Shanyao、Dangshen、Dazao、Gancao、HuangqiおよびHuangjingを含み、第3の群が、Tusizi、Roucongrong、Fuzi、Yinyanghuo、Buguzhi、DihuangおよびXianmaoを含み、第4の群が、Huangqin、WumeiおよびWuweiziを含み、第5の群が、Taoren、Chuanxiong、DanpiおよびChishaoを含む。

10

20

【0144】

PCT出願公開第WO2006122454号は、糖尿病を処置するための医薬組成物およびその調製方法を記載し、医薬組成物はRehmannia glutinosa Liboschの根、Astragalus membranaceus (Fisch.) Bge. var. mongholicus (Bge.) Hsiao、Astragalus membranaceus (Fisch.) Bgeの根、Dioscorea opposita Thunbの根茎、Pueraria lobata (Willd.) Ohwi Pueraria thomsonii Benthの根、Trichosanthes kirilowii Maxim、Trichosanthes rosthornii Harmsの根、Zeamays Lの柱頭、Schisandra sphenanthera Rehd. Et Wils.の果実(fructus)、およびグリベンクラミドを含む原料薬からなる。医薬組成物は、腎臓陰(kidney-Yin)を養い、気(vital energy)に役立ち、唾液の分泌を促進する機能を有し、気および陰の両方において欠乏のある糖尿病、すなわち、インスリン非依存性糖尿病の処置において使用される。

30

【0145】

日本特許第JP01061411号は、KANKYO (Zingiber officinaleの根茎) からなるONRI-YAKU (温化薬(warming drug))、KOKA (Carthamus tinctoriusの花) からなるKAKKETSU-KYOYO-YAKU (血液活性化薬)、NINJIN (Panax ginsengの根茎) およびOUGI (Astragalus membranaceusの根) からなるHOKI-YAKU (活性化薬)、TOKI (Angelica acutilobaの根(rot)) からなるHOKETSU-YAKU (造血薬) およびHOKOTSUSHI (Psoralea corylifoliaの豆) からなるHOYO-YAKU (中枢神経興奮薬) を使用することによって、血液循環の改善、育毛および発毛の促進、ならびに抜け毛の予防に有効な発毛剤(hair-restoration agent)を開示する。発毛薬は、基本成分として、(a) 脾臓、胃および心臓を温め、頭皮のはげたまたは毛髪がまばらな部分で血液循環を促進し、血液循環を改善するのに有効な

40

50

KANKYOからなるONRI-YAKU、(b)血流の停滞を除くおよび防ぐのに有効なKOKA、TONIN(*Prunus persica*の種(stone))およびTANJIIN(*Schinopsis lorentzii*の樹皮)からなるKAKKETSU-KYOYO-YAKU、(c)活力の欠乏を補充する、血液の生成を刺激する、ならびに脾臓および胃を活気づけるのに有効なNINJINおよびOUGIからなるHOKI-YAKU、(d)血液を補充するおよび活性化するのに有効なTOKIからなるHOKETSU-YAKU、ならびに(e)エネルギーおよび生命力を活気づけるおよび養うのに有効な、ならびに頭皮のはげたおよび毛髪の喪失した部分を刺激し、脾臓および胃を温め活性化し、血流の停滞を除いて血液の循環を滑らかに維持するのに有効なHOKOTSUSHIからなるHOYO-YAKUを含有する。

10

【0146】

日本特許第JP06070217号は、*A. mongholicus* Bungeおよび*A. membranaceus*の地上部分由来の多糖および生体防御活性化剤を開示する。生体防御活性化剤は、*Astragalus mongholicus*および*Astragalus membranaceus*の地上部分に由来するアラビノース、ラムノース、フコース、キシロース、マンノース、ガラクトース、グルコース、グルクロン酸、およびガラクトン酸から選択される多糖組成物を含む有効成分を含有する。

【0147】

研究刊行物：

Astragalus mongholicus Bungeの空中部分の抽出物から単離された13種類の多糖は、パイエル板免疫担当細胞に対して免疫調節活性を有することが報告された。末端ベータ-D-GlcAを有するベータ-D-(1->3,6)-ガラクトシル側鎖を有するラムノガラクトナンI(RG-I)は、ペクチンに富んだ画分において活性を示した。興味深いことに、末端GlcAは、アラビノガラクトナンに富んだ画分の活性に必要ではなく、少なくとも2つの異なる免疫調節構造を示唆している。(Hiroaki Kiyoharaら、2010年、「Different contributions of side-chains in beta-D-(1->3,6)-galactans on intestinal Peyer's patch-immunomodulation by polysaccharides from *Astragalus mongholicus* Bunge.」*Phytochemistry*、71巻(2~3号):280~293頁)。

20

30

【0148】

モノクローナル抗体CCRC-M7は、免疫原としてRG-Iを使用して生成した同様の結合特異性を有する抗体の群の代表例である。CCRC-M7によって認識されるエпитープはいくつかの植物多糖および膜糖たんぱく質に存在する。RG-Iからのアラビノシル残基の選択的な酵素的または化学的除去は、CCRC-M7の多糖への結合能を減少させるが、消失はしない。対照的に、RG-Iからのアラビノシルとガラクトシル残基両方の酵素的除去は、CCRC-M7の生じる多糖への結合を完全に消失する。CCRC-M7結合部位と競合する化学的に定義されたオリゴ糖類を使用する競合ELISA法によって、(1-6)-結合ベータ-D-ガラクトシル残基を含有するオリゴ糖類が、試験したものの中で最良の競合物であり、三糖類、五糖類、および六糖類は等しく有効であることを示した。間接ELISA法および競合ELISA法の合わせた結果は、CCRC-M7によって認識される最小エпитープは、少なくとも1つのアラビノシル残基が付加された少なくとも3つのガラクトシル残基を含有する(1-6)-結合ベータ-ガラクトナンを包含することを示唆している。(Steffanら、「Characterization of a monoclonal antibody that recognizes an arabinosylated (1-6)-beta-D-galactan epitope in plant complex carbohydrate s.」*Carbohydrate Res.* 275巻(2号)295~307頁)。

40

【0149】

50

6種のIranian Astragalus「ヤギの角」低木植物(Astragalus parrowianus、Astragalus fluccosus、Astragalus rahensis、Astragalus gossypinus、Astragalus microcephalus、およびAstragalus compactus)由来のトラガントゴム試料は、トラガントゴムの構成とエマルジョン安定化特性の間の何らかの可能性のある相関関係を調べるために、それらの詳細な化学組成に関して、粘弾特性およびエマルジョン安定化効果について評価した。6種のゴムの単糖類構成も多様であるが、全てのゴムが比較的高レベルのガラクトン酸(およそ100~330mg/g)、アラビノース(50~360mg/g)、キシロース(およそ150~270mg/g)、およびガラクトース(およそ40~140mg/g)を含有し、ならびにフコース、ラムノースおよびグルコースもまた含有する。ホエイタンパク質単離物ベースのエマルジョンにおける、安定化剤として作用するゴムの能力は多様であり、A. fluccosusゴムが最高のエマルジョン安定化効果を示した。エマルジョン安定化効果はメトキシ化度およびゴムのガラクトン酸含量と直線的かつ正に相関するが、アセチルまたはフコース含量とは相関しなかった。特に高い相関は、可溶性ゴム部分におけるメトシルレベルとエマルジョン安定化の間に見出される。(Ebrahimdazehら、「Mucilage content and its sugar composition in Astragalus species from Iran.」2000年、Pakistan J. of Bot., 32巻(1号):131~140頁; Balaghiら、「Compositional analysis and rheological characterization of gum tragacanth exudates from six species of Iranian Astragalus.」2011年、Food Hydrocolloids, 25巻(7号):1775~1784頁; Gavlighiら、「Stabilization of emulsions by gum tragacanth (Astragalus spp.) correlates to the galacturonic acid content and methoxylation degree of the gum.」2013年、Food Hydrocolloids, 31巻(1号):5~14頁)。

10

20

30

【0150】

以下の参考文献には、Astragalus種の成分の研究に使用される様々な技術、例えば、限定はされないが、DEAE-Sephacryl Fast FlowおよびSephacryl S-300クロマトグラフィー、¹Hおよび¹³C NMR分光法、NOESYおよびHMBC実験が記載される:

Kuliev, V. B. および Kasumov, K. N. 「Polysaccharides of the gum - Astragalus microcephalus - in the Azerbaijan - SSR USSR.」1982年、Rastit Resur, 18巻(3号):390~394頁;

Svechnikovaら、「Triterpene Glycosides of Astragalus and their Genins XI. Cyclosiversioside G-A Triglycoside from Astragalus sieversianus.」1983年、Chemistry of Natural Compounds 19巻(3号):296~299頁;

Wangら、「Isolation and structural analysis of an acidic polysaccharide from Astragalus membranaceus (Fisch.) Bunge.」2006年、Journal of Integrative Plant Biology, 48巻(11号):1379~1384頁;

Turska-Szewczuk, 「Structural studies of the O-specific polysaccharide from the l

40

50

ipopolysaccharide of Mesorhizobium huakuii strain S-52, the symbiotic partner of Astragalus sinicus.」2011年、Carbohydrate Research、346巻(8号):1065~1069頁;

Kimら、「Variation of Astragalosides Contents in Cultivated Astragalus membranaceus.」2012年、Korean J. Medicinal Crop Sci. 20巻(5号):372~380頁;および

Fuら、「Structural features of a polysaccharide from Astragalus membranaceus (Fisch.) Bge. var. mongholicus (Bge.) Hsiao.」2013年、J. Asian Nat. Prod. Res. 15巻(6号):687~692頁。

【0151】

一部の実施形態では、本明細書に記載のPGRG1組成物はAstragalus種のみ、例えばAstragalus membranaceus Bge.に由来し、Angelica sinensis Diels、Angelica archangelicaまたはLevisticum officinale Koch由来の多糖など、Dankueiの抽出物に由来しないまたは含まない。

【0152】

PGRG1組成物

本明細書に開示および記載される単離されたPGRG1組成物は水溶性であり、10~50kDaの重量平均分子量を有する。それは主に、ガラクトuron酸、ラムノシル、アラビノシル、ガラクトシル、グルコシル残基からなり、少なくとも20%のラムノース+ガラクトuron酸総モル%および少なくとも0.06%のラムノース対ガラクトuron酸の比を有する。このPGRG1組成物の代表的な糖組成を以下の表1に示す。

【表1】

表1: 糖残基組成(モル%)

	Ara (Mol%)	Rha (Mol%)	GalA (Mol%)	Gal (Mol%)	Glc (Mol%)
PGRG1	15.8	1.8	24.1	8.3	50.0

【0153】

Rha対GalA比(1.8/24.1)=0.0747。

【0154】

PGRG1は、Astragalus membranaceusから抽出された約50%の小分子を含有する。

【0155】

PGRG1組成物の調製

単離および精製されたPGRG1多糖組成物は、第1に、Astragalus membranaceusを熱水で抽出するステップにより調製した。典型的には、乾燥根を刈り込み、清潔な水および70%エタノールなどの消毒液で洗浄し、薄い切片に切断し、ほぼ無菌条件下で乾燥し、「根チップ」と呼ばれるものを得ることにより、加工し、チップにしたまたは薄片にした清潔な乾燥根を調製した。熱水は典型的には80℃以上であり、しばしば90℃以上であり、一部の実施形態では約100℃である。さらに、根からのPGRG1の実質的なおよび/または最適な抽出をもたらすために多くの抽出サイクルを使用することができ、典型的には、各サイクル100℃で3時間にわたり少なくとも3サイクルを実施した。細かく砕いた乾燥根の調製に続く全てのステップは、典型的には、清潔な装置を用いるほぼ無菌条件下で行った。60~70%の減圧下での蒸発によるなど、「根チップ」約1L/kgの濃度まで熱水抽出物を濃縮し、次いで高濃度の低級アルコール(例えば、40~80%エタノール、またはより具体的には60~70%エタノール

）での沈殿によるなど、水溶性ではない材料を除去するために処理し、PGRG1多糖組成物を沈殿させた。沈殿物は、次いで水に再溶解させ、低級アルコール濃度、例えば20～40%エタノールで再び沈殿させ、デンプンを除去した。上清は次いで、高濃度の低級アルコール、例えば60～80%エタノールで沈殿させた。沈殿物を、結果生じる典型的には黄色粉末のPGRG1多糖組成物まで乾燥した（典型的には、噴霧乾燥、減圧乾燥、または凍結乾燥による）。

【0156】

PGRG1-5K組成物

「PGRG1-5K」は、MWが5000より小さい分子を除去する5000MWカットオフ限界濾過後、上記のPGRG1組成物の多糖画分から得る。PGRG1-5Kは重量でPGRG1のおよそ52%である。

10

【0157】

PGRG1のように、PGRG1-5Kは主に、ガラクトツロン酸、ラムノシル、アラビノシル、ガラクトシル、グルコシル残基からなり、少なくとも20%の総モル%のラムノース+ガラクトツロン酸および少なくとも0.06%のラムノース対ガラクトツロン酸比を有する。このPGRG1組成物の代表的な糖組成を以下の表2に示す。

【表2】

表2: 糖残基組成(モル%)

	Ara (Mol%)	Rha (Mol%)	GalA (Mol%)	Gal (Mol%)	Glc (Mol%)
PGRG1-5K	18.2	2.0	27.3	10.1	42.0

20

【0158】

Rha対GalA(2.0/27.3)の比=0.0733

【0159】

単離されたPGRG1-5K組成物の調製

PGRG1-5K組成物は、PGRG1沈殿物が5K MWCO UFシステムを使用して単離および限外濾過されたことを除いて、上記のPGRG1組成物と同じ方法で調製された。この5K限外濾過の保持液をさらに濃縮し、濃縮物を70%エタノール沈殿後、噴霧乾燥機により、または60～70%の減圧オープンを経して乾燥し、このPGRG1-5K組成物を生成した。

30

【0160】

骨格構造

本明細書に記載のように、PGRG1およびPGRG1-5K組成物の骨格構造は以下の一般的な構造を有する。

【0161】

[1,4-結合GalAGalA]_nが点在した[1,4および1,2-結合RhaGalA]_m

【0162】

腎臓疾患

40

腎臓は、血液からの廃棄物および過剰体液の除去、血液中の塩およびミネラルの維持、血圧の調節を含むいくつかの生命維持の役割を実施する。腎臓が損傷した場合、体内に老廃物および体液が蓄積し、足首の腫れ、嘔吐、衰弱、浅眠、および息切れを引き起こす。未処置のままにした場合、病的腎臓は、最終的には機能を完全に停止することがある。腎臓機能の喪失は、深刻であり潜在的に致命的である。腎臓は、血圧の調節を助ける酵素レニン、赤血球産生を刺激するエリスロポエチンおよび骨健康に必要なビタミンDの活性形態も産生する。腎臓疾患は本質的に、急性または慢性であり得る。急性腎不全は、失血を伴う外傷性損傷、腎臓への血流の突然の減少、敗血症と呼ばれる重症感染症中のショックによる腎臓への損傷、前立腺肥大によるなど尿流の閉塞、特定の薬物もしくは毒素による損傷、または妊娠合併症の結果として起こり得る。

50

【0163】

慢性腎臓疾患 (CKD)

慢性腎臓疾患 (CKD) は、数カ月または数年の期間にわたる腎機能の進行性の欠損である。悪化する腎臓機能の症状は、非特異的であり、通常具合が悪く、食欲低下を経験することを含む場合がある。しばしば、慢性腎臓疾患は、高血圧もしくは糖尿病を患うヒト、または慢性腎臓疾患を患う親族がいるヒトなど、腎臓の疾患または障害を患うリスクがあると分かっている人々のスクリーニングの結果として診断される。CKDは、心血管疾患、貧血症または心膜炎など、その認識された合併症の1つをもたらす場合にも同定され得る。CKDは、腎臓機能の低下が3カ月にわたり存在するはずの急性腎臓疾患と区別される。(全米腎臓基金 KDOQI Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, Classification and Stratification, Am. J. Kidney Dis. 39巻: S1~S000頁、2002年(補遺1))。

G-CSFは、動物モデルにおけるシスプラチン誘発急性腎不全において腎損傷の減少をもたらす尿細管上皮細胞の再生を加速し、アポトーシスを防ぐことが報告された。(Nishidaら、2004年、Biochem Biophys Res Commun. 324巻(1号): 341~7頁)。腎機能における造血サイトカインのプラスの効果は、マウスにおけるシスプラチン誘発ARFにおいて観察された。理論に縛られることなく、本明細書においては、PGRG1がヒト末梢血単核細胞(PBMC)においてG-CSF産生を刺激するため、PGRG1誘発のG-CSFレベルの上昇によりCKDを患うヒトにおいてみられるPGRG1の保護効果を(少なくとも一部は)説明できると考えられる。CKDにおいて、エリスロポエチン(EPO)は、二次処置として、それが低い赤血球(RBC)レベルを上昇するので、十分支持的であるが、厳密には、EPOが基礎疾患を処置する例は少ない。したがって、PGRG1および/またはPGRG1-5K組成物の治療効果を、本明細書において企図する。

【0164】

CKDはクレアチニンの血液検査によって同定される。高レベルのクレアチニンは、低い糸球体濾過率および結果として老廃物を排出する腎臓の能力の減少を示す。CKDの初期ステージではクレアチニンレベルは正常であり、尿検査(尿試料の試験)により腎臓が尿中へのタンパク質または赤血球の喪失を示す場合、状態が発見される。腎臓損傷の基礎原因を完全に調べるため、様々な形態の医療画像化、血液検査、およびしばしば腎生検(腎臓組織の小さい試料を取り出す)を、腎臓機能不全の可逆的原因があるか見つけ出すために用いる。(National Kidney Foundation KDOQI Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, Classification and Stratification, Am. J. Kidney Dis. 39巻: S1~S000頁、2002年(補遺1))。最近の診療ガイドラインは慢性腎臓疾患の重症度を5つのステージに分類し、ステージ1は軽度であり通常ほとんど症状を引き起こさず、ステージ5は未処置の場合平均余命がわずかな重病である。ステージ5のCKDは、しばしば末期腎疾患(ESRD)または末期腎不全(ESRF)と呼ばれ、現在では古い用語、慢性腎臓不全(CKF)または慢性腎不全(CRF)と同義である。

【0165】

腎機能

腎臓病学において、腎機能は、腎臓の状態および腎生理学におけるその役割の指標である。糸球体濾過率(GFR)は腎臓を通る濾過液の流量を記載する。クレアチニークリアランス率(C_{cr} または $CrCl$)は、単位時間あたりのクレアチニンが排除された血漿の体積であり、GFRを概算するための有用な尺度である。クレアチニークリアランスはクレアチニン分泌に起因してGFRを超える。

【 0 1 6 6 】

GFRは典型的には、時間あたりの体積の単位、例えば、分あたりのミリリットルmL/minで記録される。濾過画分と比較する。

【 化 4 】

$$GFR = \frac{\text{尿濃度} \times \text{尿流量}}{\text{血漿濃度}}$$

【 0 1 6 7 】

しかし、臨床上の実施では、血清のクレアチニンレベルに基づくクレアチンクリアランスまたはクレアチンクリアランスの推定値が、GFRの測定に使用される。一般に使用されるクレアチンクリアランスの推定値のための代替マーカーは、コッククロフト-ゴールト(CG)式であり、順に、mL/minでのGFRを推定する：それは式を最初に発表した科学者に因んで名づけられ、クレアチンクリアランスを予測するために、血清クレアチニン測定値および患者の体重を用いる。最初に発表された式は、以下である：

【 化 5 】

$$eC_{Cr} = \frac{(140 - \text{年齢}) \times \text{質量(キログラム)} \times [\text{女性の場合、} 0.85]}{72 \times \text{血清クレアチニン(mg/dL)}}$$

【 0 1 6 8 】

GFRを算出する1つの推定ツールは、メイヨーの二次方程式である。この式は、腎臓機能が保存された患者においてGFRをより良好に推定するための試みにおいてRuleによって開発された。MDRD式は、腎臓機能が保存された患者においてGFRを過小評価しがちであると十分に認識されている。

【 0 1 6 9 】

方程式は、以下である：

$$eGFR = \exp(1.911 + 5.249 / \text{血清クレアチニン} - 2.114 / \text{血清クレアチニン}^2 - 0.00686 \times \text{年齢} - [\text{女性の場合、} 0.205])$$

【 0 1 7 0 】

白血球減少症、貧血症、血小板減少症

血液は多面的な体液であり、それにより必須栄養素が体中の組織へと送達される媒体である。平均して、成人の身体は5リットル超の血液を含有する。血液は、その半分超が液体の血漿であるため、静脈および動脈を自由に流れ、血液体積の残りは、大部分が血漿中に懸濁された固体細胞および細胞断片からなる。3つの主要な血液障害は貧血症、白血球減少症、および血小板減少症である。

【 0 1 7 1 】

白血球減少症

白血球減少症は、血液に見出される白血球(WBC)の数の減少であり、それは個体を感染のリスクが増加した状態にする。好中球減少症は、白血球減少症のサブタイプであり、最も豊富な白血球である循環する好中球顆粒球の数の減少を指す。白血球減少症および好中球減少症という用語は、好中球数が最も重要な感染リスクの指標であるため、時折交換可能に使用され得る。低い白血球数は、風邪またはインフルエンザなど、急性ウイルス感染による場合がある。それは化学療法、放射線療法、骨髄線維症および再生不良性貧血と関連し得る。HIVおよびAIDSも、白血球への脅威である。低い白血球数の他の原因は、全身性エリテマトーデス、ホジキンリンパ腫、いくつかの種類のがん、腸チフス、マラリア、結核、デング熱、リケッチア感染症、脾臓の肥大、葉酸欠乏症、オウム病、および敗血症を含む。銅および亜鉛など、特定のミネラルの欠乏など、多くの他の原因が存在する。白血球の数および機能に影響し得る薬物は、クロザピン、プロピオン、ミノサイクリン、バルプロ酸、ラモトリジン、メトロニダゾールを含む。WBC数を抑制する他の薬物は、シロリムス、ミコフェノール酸モフェチル、タクロリムス、シクロスポリンおよびTNF阻害剤などの免疫抑制剤である。Rebif、AvonexおよびBeta

10

20

30

40

50

seron など、多発性硬化症の処置に使用されるインターフェロンも、白血球減少症を引き起こす場合がある。化学療法は、腫瘍など、急速に増殖する細胞を標的化するが、急速な増殖として骨髄によって特徴付けられるため、白血球にも影響を及ぼすことがある。がん処置の一般的な副作用は、好中球（特定の種類の白血球）が減少する好中球減少症である。

【0172】

貧血症

貧血症は、赤血球（RBC）の数の減少である。その広範な意味において貧血症はまた、血液中のヘモグロビンの正常な量または質よりも少ないものである。数値的な発生における変形または欠如により各ヘモグロビン分子の酸素結合能の減少を含む。全てのヒト細胞が生存のために酸素に依存するため、貧血症の様々な程度は広範な臨床的帰結を有することができる。貧血症は、最も一般的な血液疾患であり、多くの人々で未確定なままであり、症状は軽症であり得る。最も一般的には、人々は労作時に疲労または息切れを報告する。非常に重症な貧血症では、身体は心拍出量を増加し得る。貧血症は、典型的には、RBC の数およびヘモグロビンレベルを報告する全血球算定で診断される。400 種類超の貧血症があり、それらは3つの原因に分けられる：失血、RBC 産生の減少、またはRBC の破壊。RBC は出血によって失われ、長期にわたってゆっくり起こり、しばしば未検出なままであり得る。この種の慢性出血は、一般的に、潰瘍、痔、胃炎（胃の炎症）、およびがんなどの胃腸状態、アスピリンまたはイブプロフェンなど非ステロイド抗炎症薬（NSAIDs）の使用、または女性の月経および出産、特に月経出血が過剰である場合、および多胎妊娠の場合から生じる。減少したまたは不完全なRBC 産生により生じる貧血では、身体はほとんど血液細胞を産生せず、血液細胞は正しく機能しない。いずれの場合も、貧血症が生じ得る。RBC は、異常なRBC またはRBC が適切に働くために必要なミネラルおよびビタミンの欠乏により、不完全でありまたは減少され得る。貧血症のこれらの原因と関連する状態は、鎌状赤血球貧血、鉄欠乏性貧血、ビタミン欠乏、骨髄および幹細胞の問題を含む。

10

20

【0173】

血小板減少症

血小板減少症は、低い血小板数の医学用語である。血小板（栓球）は血液凝固において重要な役割を果たす無色の血液細胞である。血小板は、血管の穴に凝集および栓を形成することにより失血を止める。血小板減少症は、軽症であり、徴候および症状をほとんど引き起こさない。稀なケースでは、血小板の数が少ないため、危険な内出血が起こり得る。血小板減少症は、通常、基礎原因が処置される場合に改善する。時には、薬物適用、外科手術、または輸血が慢性血小板減少症の処置を手助けし得る。低い血小板数、血小板減少症は様々な理由で引き起こされ、血小板産生の減少、血小板破壊もしくは消費の増加、または脾臓血球貯蔵の増加に分けることができる。血小板産生の減少は、通常骨髄の問題と関係する。これらの状態のいくつかでは、赤血球および白血球産生も影響され得る。骨髄に影響するウイルス感染は、例えば、パルボウイルス、風疹、おたふく風邪、水痘（水疱瘡）、C型肝炎、エプステインバーウイルス、およびHIVである。再生不良性貧血は、骨髄が任意の血液細胞の産生に失敗した場合に使用される一般用語である。これは、いくつかのウイルス感染（パルボウイルスまたはHIV）、薬物適用（金、クロラムフェニコール、ジランチン、パルプロ酸（デパコート））、または放射線によって引き起こされ得る。化学療法薬は、頻繁に血小板減少症を引き起こす。チアジド系利尿薬など、いくつかの他の薬物は、血小板産生を抑制し得る。骨髄および血液のがんまたはリンパ節のがんは、様々な程度の血小板減少症を引き起こし得る。長期のアルコールは、骨髄の直接毒性を引き起こし得る。ビタミンB12 および葉酸の欠乏は、骨髄による低い血小板産生をもたらす。血小板破壊または消費の増加は、いくつかの医学的状态において見られ得る。多くの薬物適用は、血小板に対する免疫反応を引き起こすことにより、低い血小板数を引き起こし、スルホンアミド抗生物質、カルバマゼピン、ジゴキシン、キニン、キニジン、アセトアミノフェン、リファンピン、およびヘパリンを含み得る。特発性血小板減少性紫斑病

30

40

50

(ITP)は、免疫系が血小板を攻撃する状態である。全身性エリテマトーデス(SLE)または他の自己免疫疾患など、いくつかのリウマチ状態は、血液産物の輸血および臓器移植、血栓性血小板減少性紫斑病(TTP)および溶血性尿毒症症候群(HUS)、ヘルプ症候群、ならびに播種性血管内凝固障害(disseminated intravascular coagulopathy)(DIC)を含む血小板破壊を引き起こし得る。脾臓血球貯留は、様々な理由のために脾臓の肥大または機能における変化の結果として低い血小板数ももたらす。脾臓肥大による血小板減少症の一般的な原因は、門脈圧亢進症(肝硬変、例えば慢性B型肝炎または慢性C型肝炎)を伴う進行した肝臓疾患および血液のがん(白血病またはリンパ腫)を含み得る。

【0174】

免疫障害

免疫障害は免疫系の機能障害である。これらの障害は、影響される免疫系の成分(複数可)によってか、免疫系が過活動であるか不活動であるかによってか、または状態が先天的であるか後天的であるかによって特徴付けることができる。国際免疫連合によると、150超の原発性免疫不全疾患(PID)が特徴付けられている。しかし、後天性免疫不全の数はPIDの数を超える。ほとんどの人々が少なくとも1つの原発性免疫不全を有することが示唆されてきた(CasanovaおよびAbel, 2007年、「Primary immunodeficiencies: a field in its infancy」Science 317巻(5838号):617~9頁)。しかし、免疫系の冗長性により、これらの多くは未検出のままである。

【0175】

自己免疫疾患は、身体に通常存在する物質および組織に対する身体の異常な免疫反応から生じる。これは、特定の臓器(例えば、自己免疫性甲状腺炎)に限られ、または異なる場所の特定の組織(例えば、肺と腎臓両方における基底膜に影響し得るグッドパスチャー病)を含み得る。自己免疫疾患の処置は、典型的には、免疫抑制-免疫反応を低下する薬物適用を伴う。多くの自己免疫疾患が認識されている。自己免疫疾患の基礎病態生理学の主な理解は、自己免疫疾患間の遺伝的共有の著しい程度を同定したゲノムワイド関連走査(genome wide association scan)の適用であった。いくつかの自己免疫障害の一部のリストは、ループス、強皮症、特定の種類の溶血性貧血、血管炎、I型糖尿病、グレーブス病、関節リウマチ、多発性硬化症、グッドパスチャー症候群、悪性貧血、いくつかの型のミオパシー、および後期ライム病を含む。

【0176】

自己免疫の臨床的特徴および実験室的特徴を表す多くの免疫不全症候群がある。感染を除去する免疫系の能力の低下は、免疫系の恒久的な活性化により自己免疫を引き起こす要因となり得る。例としては、複数の自己免疫疾患がみられる分類不能型免疫不全症(CVID)、例えば、炎症性腸疾患、自己免疫性血小板減少症、および自己免疫性甲状腺疾患、ならびに汎血球減少、発疹、リンパ節腫脹、および肝脾腫大が一般的にみられる家族性血球貪食性リンパ組織球症(FHL)(常染色体劣勢原発性免疫不全症)が挙げられる。

【0177】

慢性腎臓疾患(CKD)および有用性

本開示の有用性は、CKDプロセスを遅らせることを示す、動物においてクレアチニンレベルを減少することである。慢性腎臓疾患の悪化を遅らせることを明解に示す具体的な処置は存在しない。血管炎など、CKDの基礎原因がある場合、これは損傷を遅らせるために直接処置され得る。より進んだステージでは、処置は貧血症および骨疾患に必要とされ得る。重症CKDでは、透析の形態を含み得るが、理想的には腎臓移植を構成する、腎置換療法を必要とする。(全米腎臓基金KDIGO Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, Classification and Stratification, Am J Kidney Dis 39巻:S1~S000頁、2002年(補遺1))。

10

20

30

40

50

【 0 1 7 8 】

白血球減少症、貧血症、血小板減少症、および有用性

本開示の有用性は、それぞれ白血球減少症、貧血症、および血小板減少症を有する動物においてWBC、RBC、および血小板を増加することである。これらの血液障害の従来の処置は、しばしば重大な副作用によって妨げられ、いくつかの重症なケースでは、患者は侵襲的手法を行うか、または彼らの残りの人生の間、薬物適用を受ける。しかし、遺伝子治療など新興の治療技術は、近い将来貧血症の予後を改善し得る。さらに、いくつかの血液障害は、容易に処置可能な状態によって引き起こされ得るが、しばしば正当に評価されない。例えば、男性において、低テストステロンは貧血症を引き起こし得、テストステロン置換療法は、この集団において健康な赤血球産生を促進することが示された。

10

【 0 1 7 9 】

自己免疫疾患および有用性

本開示の有用性は、過活動であるか不活発である免疫系を調節することである。処置の目的は、症状を低減し、自己免疫プロセスを制御し、疾患と戦う身体的能力を維持することである。特定の疾患および症状に応じて、いずれかの処置が使用される。何人かの患者は、身体が欠如しているホルモンまたはビタミンを置き換えるために栄養補助剤 (s u p p l e m e n t) を必要とする場合がある。例としては、甲状腺栄養補助剤、B12などのビタミン、またはインスリン注射が挙げられる。自己免疫障害が血液に影響する場合、輸血が必要な場合がある。免疫系の反応を制御または減少させるために処方される医薬には、コルチコステロイド (プレドニゾンなど)、およびアザチオプリン、シクロフォスファミド、ミコフェノール酸、シロリムス、またはタクロリムスなどの非ステロイド薬が挙げられる。

20

【 0 1 8 0 】

1994年の栄養補助食品健康教育法 (D i e t a r y S u p p l e m e n t H e a l t h A n d E d u c a t i o n A c t) (「 D S H E A 」)

1994年の栄養補助食品健康教育法 (「 D S H E A 」) は、栄養補助食品を定義および規制するアメリカ合衆国連邦規約の1994年の法令である。D S H E A は、用語「栄養補助食品」が、以下の食用成分：ビタミン、ミネラル、草本、または他の植物、アミノ酸、全食事摂取量を増加させることによって食事を補うためのヒトによる使用のための食用物質、または先に述べた成分のいずれかの濃縮物、代謝物、構成成分、抽出物、もしくは組み合わせのうちの1または複数を保持するまたは含有する、食事を補うことを意図する生産物 (タバコ以外) を意味するように規定する。さらに、栄養補助食品は、栄養補助食品と表示しなければならず、かつ摂取を意図し、かつ従来の食品として、または一回分の食事 (m e a l) もしくは食事の単一の品目としての使用を表してはならない。さらに栄養補助食品は、認可または許可前に食品または栄養補助食品として市販されていなければ、新薬、抗生物質または生物製剤として調査のために認可または許可することはできない。D S H E A のもと、栄養補助食品は、薬物定義の目的を除いて、食品であると考えられる。

30

【 0 1 8 1 】

医薬製剤および投与

一般に、本開示の第1の態様の精製されたP G R G 1 組成物および本開示の第2の態様のP G R G 1 - 5 K 組成物は、経口投与により治療有効量で、単独でまたは慢性腎臓疾患を阻害することができる少なくとも1つの他の治療剤と組み合わせて投与される。治療有効量は、疾患、その重症度、処置される動物の年齢および相対的健康ならびに他の因子によって広く異なり得る。当業者は過度の実験を行うことなく、その技量および本開示を考慮して、所与の疾患のための本開示の組成物の治療有効量を決定することができる。

40

【 0 1 8 2 】

一般に、本開示の第1の態様の精製されたP G R G 1 組成物および本開示の第2の態様のP G R G 1 - 5 K 組成物は、単独でまたは医薬製剤として投与され、一部の実施形態では経口投与され得る。医薬製剤において、本開示の第1の態様の精製されたP G R G 1 組

50

成物および本開示の第2の態様のPGRG1-5K組成物は、別の活性剤および/または経口賦形剤と組み合わせて生じ得る。適切な経口賦形剤は、当業者に周知である。

【0183】

典型的には、抗腎炎剤として投与された場合、本開示の精製されたPGRG1組成物およびPGRG1-5K組成物は経口投与される。製剤化された場合、本開示の組成物における化合物の量は、組成物の種類、単位投与量のサイズ、賦形剤の種類、および当業者に周知の他の因子によって広く異なり得る。一般に、単独で投与された場合、化合物の量は400mg~4グラムまで変わり得る。

【0184】

本開示の精製されたPGRG1組成物およびPGRG1-5K組成物は、任意選択により、リンシノプリル(linsinopril)など、例えばアンジオテンシン変換酵素阻害剤(ACEI)から選択される腎炎を改善することができる少なくとも1つの他の治療剤と組み合わせて投与され得る。

10

【実施例】

【0185】

以下の非限定的な例は本発明(複数可)の特徴を強調する。しかし、本開示は、以下に記載の特定の実施形態に限定され则认为されるべきではない。

【0186】

全ての市販されている材料は、受け取ったままで使用される。全ての単離された材料は、タンパク質含量、糖含量、糖残基分析、分子量分布、および糖結合分析によって特徴付けられる。

20

【0187】

(実施例1)

PGRG1組成物の調製

ステップA. 根チップ加工

【0188】

乾燥Astragalus membranaceus原材料(根)(220kg)を限外濾過水によって無菌洗浄し、汚染部位を除去し、70%エタノールに一晩漬け、0.3~0.5mmの厚さのチップに切断し、ほぼ無菌のオープンで60~70℃で乾燥して根チップに加工した。10%未満の乾燥減量(loss on drying)で、およそ200kgの乾燥チップが得られる。

30

【0189】

ステップB. 多糖組成物抽出および精製

【0190】

乾燥根チップ(200kg)を、約100℃で3回、それぞれ3時間、限外濾過水によって抽出する。第1の抽出に添加した水は2000L、第2の抽出は1600L、および第3の抽出は1200Lであった。約4500Lの合わせた全水抽出物が得られ、60~80℃で減圧濃縮システムを使用して濃縮し、体積約200Lの濃縮物を得た。200Lの抽出物を70%エタノールで沈殿させ、水不溶性小分子を除去した。得られた沈殿は、次いで水に懸濁させ、30~35%エタノールで沈殿させて水溶性の低い多糖、タンパク質、および他の大きな分子を除去した。上清を70%エタノールで再沈殿させ、水溶性の高い多糖またはPGRG1を回収した。沈殿を水に溶解させ、噴霧乾燥してPGRG1を得た(7kgまたは3.5%の乾燥飲料チップ(drink chip))。得られたPGRG1組成物は黄色粉末、水溶性、pH5~6であり、乾燥減量は6%未満である。

40

【0191】

フローチャート1

【0192】

乾燥Astragalus根(220kg)

【0193】

- 飲料チップ加工

50

【0194】

乾燥根チップ (200 kg)

【0195】

- 100 で水により3回抽出した (第1の抽出 水2000 L、第2の抽出 水1600 L、第3の抽出 水1200 L)。

【0196】

水抽出物 (4500 L)

【0197】

- 60 ~ 80 Cで濃縮し、水を除去した

【0198】

濃縮された抽出物 (200 L)

10

【0199】

- 70 %エタノール沈殿 - 1、水不溶性分子を除去する

【0200】

- 30 %エタノール沈殿、水不溶性多糖を除去する

【0201】

- 70 %エタノール沈殿 - 2、RGI多糖を沈殿させる

【0202】

- 噴霧乾燥、乾燥RGI多糖を回収する

【0203】

PGRG1収量 (7 kg、根チップから3.5 %)

20

【0204】

(実施例2)

PGRG1 - 5 K組成物の調製

ステップA、根チップ加工 - 実施例1、ステップA、参照

【0205】

ステップB、多糖組成物抽出および精製

【0206】

乾燥根チップ (200 kg) を、約100 で3回、それぞれ3時間、限外濾過水によって抽出した。第1の抽出に添加した水は2000 L、第2の抽出は1600 L、および第3の抽出は1200 Lであった。約4500 Lの合わせた全水抽出物が得られ、60 ~ 80 Cで減圧濃縮システムを使用して濃縮し、体積約200 Lの濃縮物を得た。200 Lの抽出物を70 %エタノールで沈殿させ、水不溶性小分子を除去した。得られた沈殿は、次いで水に懸濁させ、30 ~ 35 %エタノールで沈殿させて水溶性の低い多糖、タンパク質、および他の大きな分子を除去した。上清を70 %エタノールで再沈殿させ、水溶性の高い多糖またはPGRG1を回収した。沈殿を水に溶解させ、噴霧乾燥してPGRG1を得た (7 kg または3.5 %の乾燥飲料チップ)。

30

【0207】

ステップC、多糖組成物単離

【0208】

PGRG1 - 5 K組成物を得るために、3.5 kgのPGRG1を単離し、MWCF5000ダルトンのメンブレンを有するUFシステムを使用して限外濾過した。限外濾過は5サイクル循環し、各サイクルにより体積約50 %まで濃縮し、小分子を除去した。濃縮物を70 %エタノールで沈殿させ、水に懸濁後、減圧オープン乾燥または噴霧乾燥機乾燥し、PGRG1 - 5 K (1.82 kg) を得た。このさらに精製されたPGRG1多糖組成物 (PGRG1 - 5 K) は淡黄色粉末、水溶性、pH 5 ~ 6であり、乾燥減量は6 %未満である。

40

【0209】

フローチャート2

【0210】

50

乾燥 Astragalus 根 (2 2 0 k g)

【 0 2 1 1 】

- 飲料チップ加工

【 0 2 1 2 】

乾燥飲料チップ (2 0 0 k g)

【 0 2 1 3 】

- 1 0 0 で水により 3 回抽出した (第 1 の抽出 水 2 0 0 0 L 、 第 2 の抽出 水 1 6 0 0 L 、 第 3 の抽出 水 1 2 0 0 L) 。

【 0 2 1 4 】

水抽出物 (4 5 0 0 L)

10

【 0 2 1 5 】

- 6 0 ~ 8 0 C で濃縮し、水を除去した

【 0 2 1 6 】

濃縮された抽出物 (2 0 0 L)

【 0 2 1 7 】

- 7 0 % エタノール沈殿 - 1 、水不溶性分子を除去する

【 0 2 1 8 】

- 3 0 % エタノール沈殿、水不溶性多糖を除去する

【 0 2 1 9 】

- 7 0 % エタノール沈殿 - 2 、 R G I 多糖を沈殿させる

20

【 0 2 2 0 】

- 噴霧乾燥、乾燥 R G i 多糖を回収する

【 0 2 2 1 】

R G I 組成物 (7 k g 、飲料チップの 3 . 5 %)

【 0 2 2 2 】

- 5 0 0 0 M W C F 、各サイクル 5 0 % 体積で 5 サイクル限外濾過し、水溶性小分子を除去する

【 0 2 2 3 】

- 7 0 % エタノール沈殿

【 0 2 2 4 】

- 減圧オープン乾燥、または噴霧乾燥

30

【 0 2 2 5 】

P G R G 1 - 5 K 組成物 (1 . 8 2 k g)

【 0 2 2 6 】

単離され、精製された P G R G 1 組成物の分析：

P G R G 1 は、水溶性多糖組成物であり、バイオラッド法によりタンパク質含量について分析し結果 2 . 2 8 w t % を提供し、糖含量は P h - H ₂ S O ₄ 法によって分析し結果 4 2 . 2 w t % を得て、T M S 誘導体 - G C 法の結果により糖組成を以下の表 3 に要約し、図 3 に G P C - H P L C - R I D による M W 分布および決定を、メチル化 G C - M S によるグリコシル結合組成を以下に述べる。

40

【表 3】

表 3: PGRG1 グリコシル残基組成、分析された TMS 誘導体/GC 法:

	Ara (Mol%)	Rha (Mol%)	GalA (Mol%)	Gal (Mol%)	Glc (Mol%)
PGRG1	15.8	1.8	24.1	8.3	50.0

【 0 2 2 7 】

P G R G 1 タンパク質含量は 2 . 2 8 w t % 、およびその糖含量は 4 2 . 2 w t % である。

【 0 2 2 8 】

50

P G R G 1 糖組成を表 3 に示す。その中では、少なくとも 5 つの糖残基を同定し、それらは、アラビノシル (A r a)、ラムノシル (R h a)、ガラクトン酸 (G a l A)、ガラクトシル (G a l)、およびグルコシル (G l c) 残基であった。

【 0 2 2 9 】

図 3 に示すように、P G R G 1 分子量 (M W) または重量平均分子量 (w a M W) を G P C / H P L C によって決定した。多糖は 1 0 k D a より大きく、1 0 k D a ~ 5 0 k D a の範囲である。プルラン標準を用いて、これらの多糖は 2 つの M W 範囲に分けることができ：多糖の 1 つの型は約 1 0 0 k D a を中心とし、他の型は約 1 2 k D a を中心とする。要約すると、P G R G 1 における多糖は、分子量分布に基づいておよそ 5 0 % を占め、P G R G 1 は 1 0 k D a ~ 5 0 k D a の重量平均分子量 (w a M W) を有する。

10

【 0 2 3 0 】

多糖の P G R G 1 のグリコシル結合は、部分的にメチル化されたアルジトールアセテートの誘導体によって決定した。ウロン酸残基のカルボキシル基は、S u p e r D e u t e r i d e によって還元し、続いてアセチル化した。G C - M S システムを分析に使用した。主なグリコシル結合は、以下の通りである：末端結合に加えて、A r a f : 5 - 、2 , 5 - 、および 3 , 5 - 結合；G a l p : 6 - および 3 , 6 - 結合；G l c : p 4 - 、4 , 6 - 結合；G l c p : 4 - および 4 , 6 - 結合；R h a p : 2 - および 2 , 4 - 結合；G a l A p : 4 - 、および 2 , 4 - 結合。

【 0 2 3 1 】

P G R G 1 - 5 K の分析：

20

P G R G 1 - 5 K もまた、水溶性多糖組成物であり、バイオラッド法により 2 . 9 7 w t % と分析されたタンパク質含量、P h - H ₂ S O ₄ 法によって 4 4 . 9 w t % と分析された糖含量、表 4 に示すように T M S 誘導体 - G C 法による糖組成、図 3 の下のパネルに G P C - H P L C - R I D による M W 分布および決定、ならびにメチル化 G C - M S によるグリコシル結合組成について分析した。

【 0 2 3 2 】

そのタンパク質含量は 2 . 9 7 w t % であり、その糖含量は 4 4 . 9 w t % である。

【 0 2 3 3 】

以下の表 4 に示すように、その糖組成に関して、5 つの糖残基が同様に同定され、それらは、アラビノシル、ラムノシル、ガラクトン酸、ガラクトシル、およびグルコシル残基である。

30

【 0 2 3 4 】

P G R G 1 - 5 K 分子量または重量平均分子量は、図 3 に示すように 5 0 ~ 1 2 0 k であると G P C - H P L C によって決定された。P G R G 1 - 5 K は、小分子が除去された後の P G R G 1 の多糖部分であるため、高い分子量 (> 5 K) 曲線は、P G R G 1 と同じである。同じメチル化 - G C / M S 法によって決定されたそのグリコシル結合組成にも当てはまる。

【 表 4 】

表 4: PGRG1-5K のグリコシル残基組成、分析された TMS 誘導体-GC 法:

	Ara (Mol%)	Rha (Mol%)	GalA (Mol%)	Gal (Mol%)	Glc (Mol%)
PGRG1-5K	18.2	2.0	27.3	10.1	42.0

40

【 0 2 3 5 】

P G R G 1 および P G R G 1 - 5 K 多糖の構造：

P G R G 1 および P G R G 1 - 5 K の分析に基づいて、特にグリコシル残基組成、グリコシル結合組成、および M W 分布、P G R G 1 および P G R G 1 - 5 K における多糖は、主に多糖ポリガラクトンランラムノガラクトンランおよびグルカンからなる。P G R G 1 および P G R G 1 - 5 K に存在するポリガラクトンランラムノガラクトンランは、[1 , 4 - 結合 G a l A G a l A]_n が点在した [1 , 4 および 1 , 2 - 結合 R h a G a l A]

50

m からなる骨格、および主に R h a の 4 位に結合する G a l、A r a、および G l c からなる中性糖残基の中から作製される様々なサイズの側鎖から構成される。グルカンは、[1, 4 - 結合 G l c] n の骨格を有する - 1, 4 (1, 6) - グルカンであり、G l c からなる側鎖は骨格 G l c にたいいてい 6 位を介して結合する。

【 0 2 3 6 】

(実施例 3)

C K D 臨床データ

患者は、高血圧を提示し、血液分析は、正常よりも高いクレアチニンレベル (> 1 . 1 m g / d l) を示した。A C E 阻害剤を用いて患者の血圧を正常範囲内に安定化した後、P G R G 1 による処置を開始した (実施例 6 参照) 。

10

【 0 2 3 7 】

結果の調査により、P G R G 1 による最初の処置時 (毎日、経口で 9 0 0 m g) にクレアチニンレベルのその後の降下があったことを示す。P G R G 1 処置の中断は、高いクレアチニンレベルを結果としてもたらず。処置の再開は、結果としてクレアチニンの高い正常範囲を低下させる (< 1 . 4 m g / d l) 。

【 0 2 3 8 】

このデータを調べる別の方法は、計算されたゲル濾過率 (c G F R) を使用する。

【 0 2 3 9 】

(実施例 4)

i n v i t r o アッセイ

i n v i t r o アッセイは、免疫機能および造血機能を増強する P G R G 1 の能力を評価するために使用できる。これらのアッセイは、標準化された薬理活性を有する精製された、活性 P G R G 1 画分の開発のための便利なアッセイシステムを提供するためにも使用できる。i n v i t r o アッセイにおいて活性であると示された P G R G 1 抽出物は、次いでその有効性を評価する適切な i n v i v o モデルでチェックすることができる (添付の i n v i v o 活性を参照) 。マウス脾臓細胞増殖およびヒト末梢血単核細胞 (P B M C) によるサイトカイン産生は、P G R G 1 抽出物が、潜在的な免疫刺激活性および造血活性を有するかどうかを示すために使用することができる。測定されたサイトカインは、これらのサイトカインが造血および免疫機能に含まれるため、I L - 6、および G - C S F であった。P B M C は調製が容易であり、ならびに免疫および造血機能の研究に適している。

20

30

【 0 2 4 0 】

C 3 H / H e J マウス脾臓細胞増殖

6 ~ 8 週齢の雌の C 3 H / H e J マウス由来の脾臓細胞 (J a c k s o n L a b o r a t o r i e s、B a r H a r b o r、M a i n e) を、以下のように調製した。脾臓をマウスから取り出し、無菌のペトリディッシュ中 1 0 m l の冷 H B S S に置いた。脾臓を半分に切断し、2 枚の無菌のマイクロスライドの艶消し側の間でおだやかに圧縮した。細胞懸濁物は、次いで無菌のナイロンメッシュ (N y t e x、T e t c o # H D - 3 - 8 5) を通して 1 5 m l の円錐形のポリプロピレン遠心チューブへと濾過し、B e c k m a n G P R 卓上遠心機 (G H - 3 . 7 ローター) で 1 0 分間 2 0 0 x g で遠心分離した。H B S S 中でのさらなる洗浄後、脾臓細胞は、5 0 μ M 2 - メルカプトエタノール、2 m M グルタミン、1 m M ピルビン酸ナトリウム、非必須アミノ酸、1 0 0 U / m l ペニシリン、1 0 0 μ g / m l ストレプトマイシン、および 1 0 % の熱不活化ウシ胎仔血清 (S i g m a、# F 1 4 4 2) を含有する R P M I 1 6 4 0 培地 (G i b c o) 中に 2 . 5 x 1 0 6 個の細胞 / m l となるように再懸濁させた。

40

【 0 2 4 1 】

様々な濃度で 1 0 0 μ l の細胞および 1 0 0 μ l の試験試料を含有する三連のアリコート、丸底 9 6 ウェルプレート (C o s t a r # 3 7 9 9) 中、3 日間 5 % C O 2 インキュベーター内で 3 7 ° でインキュベートした。1 0 0 μ l の細胞および 1 0 0 μ l の培地を含有する 6 個のウェルは、対照として働いた。1 μ C i の [3 H] チミジンを含有す

50

る50マイクロリットルの培地 (A m e r s h a m、49 C i / m m o l) を、インキュベーションの最後の18時間の前に各ウェルに添加した。次いで、製造業者の指示によってセルハーベスター (H a r v e s t e r 9 6、T o m t e c I n c.) を使用して、細胞をフィルターマット (ガラス繊維フィルター、W a l l a c) 上で回収した。液体シンチレーションカウンタ (1205 B e t a p l a t e、P h a r m a c i a L K B B i o t e c h n o l o g y, I n c.) で試料を加工および計数し、結果を 2.5×10^5 個の細胞につき分あたりの計数 (c p m) として報告した。

【0242】

結果は、三連の決定値の平均 + / - 標準偏差 (S D) として表した。対照値は6つの別々の決定値の平均を表す。値は、増殖指数 (P I) としても表され、試料培養物の分あたりの計数 (c p m) の平均数を対照培養物の平均 c p m によって割った。典型的な対照値は、2000 ~ 6000 c p m の範囲であった。

10

【0243】

C 3 H / H e J 増殖アッセイにおいて、結果を、三連の決定値の平均 + / - 標準偏差 (S D) として表した。対照値は、6つの別々の決定値の平均を表す。有意性は、独立スチューデントの t 検定を使用して決定した。

【0244】

活性化されたヒト P B M C によるサイトカイン産生

ヒト末梢血単核細胞 (P B M C) は確立された方法を使用して調製した。およそ 25 m l / ドナーの、ヒト血液バフィーコート試料は、スタンフォード大学医療センターの血液バンクから入手した。無菌技術を使用して、バフィーコート試料を、室温でカルシウムおよびマグネシウムを含まないハンクス平衡塩類溶液 (H B S S、G i b c o) の添加によって、総体積 100 m l におだやかに再懸濁した。体積 25 m l の細胞懸濁物は、次いで 50 m l の円錐形の遠心チューブ内で 15 m l の F i c o l l - P a q u e (P h a r m a c i a L K B B i o t e c h n o l o g y, I n c.) 上に重ねた。チューブを B e c k m a n G P R 卓上遠心機 (G H - 3、7 ローター) で、15 で 30 分間 $400 \times g$ にて遠心分離した。

20

【0245】

遠心分離後、界面における P B M C 懸濁物を新しい 50 m l チューブに移し、総体積 45 m l の H B S S に再懸濁させ、15 で 10 分間 $354 \times g$ にて遠心分離した。

30

【0246】

上清を捨て、細胞ペレットを H B S S により総体積 45 m l になるように再懸濁させ、15 で 10 分間 $265 \times g$ にて再び遠心分離した。細胞ペレットは 10 m l の X - V i v o 組織培養培地 (B i o W h i t t a k e r、M D) 中に再懸濁させ、血球計算板を使用して計数した。ポリスチレンチューブ (F a l c o n # 2057、B e c t o n D i c k i n s o n) および 2 人の異なるドナー由来の P B M C を以下の設定に使用した。P B M C 懸濁物を $4 \times 10^6 / m l$ に希釈し、1 m l を最終濃度 $3 \mu g / m l$ の 0.5 m l のフィトヘマグルチニン P (P H A - P、P h a r m a c i a 27 - 3707 - 01) の存在下で様々な濃度の 0.5 m l の試験試料とともにインキュベートした。チューブあたりの総体積は 2 m l であった。P H A 単独で処理した細胞の別のアリコートは対照として働いた。7% C O₂ のインキュベーター内で 37 で 24 時間インキュベーション後、チューブを 15 で 10 分間 $1600 \times g$ にて B e c k m a n G P R 卓上遠心機 (G H - 3、7 ローター) で遠心分離し、上清を回収し、アッセイの前に - 70 で保存した。細胞ペレットをトリパンブルーで染色し、以下に記載のように生存度を評価した。

40

【0247】

サイトカイン測定値は、ヒトサイトカイン I L - 1、I L - 6、T N F -、G M - C S F および G - C S F (R & D s y s t e m s、M N) およびヒト I F N - (E n d o g e n、M A) のための市販されている E L I S A アッセイキットを使用して製造業者のプロトコールにしたがって行った。光学濃度は、マイクロプレートリーダーを使用して決定した (T h e r m o m a x、M o l e d u l a r D e v i c e s、C A)。結

50

果はマイクロプレートリーダーに備えられたソフトウェアを使用して算出し、上清中の産生されたサイトカインの pg/ml として表した。結果は試料対対照 (S/C) の比として表し、S は PHA プラス試験試料で刺激した PBMC において産生されたサイトカインの量であり、C は PHA 単独で刺激した PBMC において産生されたサイトカインの量である。S/C 値は測定された各サイトカインについて算出した。いくつかのデータを以下の表 5 に示し、示した各 S/C 値は単回の決定を表す。

【0248】

PGRG1 および PGRG1-5K の脾臓細胞増殖およびサイトカイン産生の *in vitro* 刺激を以下の表 5 に示す。

【表 5】

表 5: 脾臓細胞増殖およびサイトカイン産生

試料	濃度 (ug/ml)	脾臓細胞増殖 C3H/HeJ (S/C)	サイトカイン 産生 IL-6, S/C	サイトカイン 産生 G-CSF (S/C)
PGRG1	200	12.7	3.2	13.7
	150	11.1	3.3	9.7
	100	8.2	2.0	6.3
	30	4.4	1.9	2.8
	10	2.2	1.2	2.0
	3	1.7	1.4	1.9
PGRG1-5K	200	15.8	7.8	43.6
	150	13.7	7.4	42.6
	100	11.1	5.8	35.3
	30	6.0	5.4	25.3
	10	4.5	4.4	16.7
	3	2.3	3.4	7.2

【0249】

PGRG1 は、マウス脾臓細胞およびヒト末梢血単核細胞の両方を刺激し、顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) および IL-6 など他のサイトカインを産生することが観察された。G-CSF はまた、尿細管の上皮細胞の再生を加速し、マウスの急性腎不全のシスプラチン誘発モデルにおいてそれらのアポトーシスを防ぐことが示されたため、PGRG1 は、その腎保護効果の少なくとも一部の要因であり得る G-CSF の上昇を誘発すると考えられる。

【0250】

(実施例 5)

骨髄抑制は、特定のがんまたは移植拒絶反応を防ぐための放射線療法または化学療法を受ける患者が直面する深刻な問題である。白血球減少症/好中球減少症、血小板減少症、貧血症、および頻繁に凝固障害、細菌、ウイルス、または真菌感染、全身疲労、および倦怠感など、二次的な合併症をもたらす状態である。PGRG1 を調べ、マウスモデルにおける末梢血細胞の放射線誘発性の欠乏から異なる血液成分の回収を増強するかどうか決定した。

【0251】

動物

10~12 週齢の雌の BALB/c マウス (19~21 g) を Charles River Laboratories (Wilmington, MA) から入手し、標準的な食品ペレットおよびネオマイシン (80 mg/L, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) を含有する水で維持した。ネオマイシン処置は、実験開始の 5~7 日前に開始した。

【0252】

対照

顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF; ニューボジェン、フィルグラスチム) を Amg

10

20

30

40

50

en (Thousand Oaks, CA) から入手し、使用直前の各日に $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ で無菌食塩水中に希釈した。それは、先の研究 (23) で記載した最小有効用量、 $100 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ (およそ $2 \mu\text{g}/\text{マウス}/\text{日}$) で使用した。対照動物に使用した無菌食塩水 (0.9% 塩化ナトリウム注射、USP、NDC 0074-4888-99) および薬物調製物は、Abbott Laboratories (North Chicago, IL) から入手した。

【0253】

処置プロトコール

0 日目、それぞれ 5 ~ 6 匹のマウスの群は、Philips 250 kVp X 線装置 (スタンフォード大学、Palo Alto, CA) において 450 cGy の X 線照射を受けた。処置は同じ日 (0 日目) の分割投薬レジメン開始 4 ~ 5 時間後に、次いでその後、1 ~ 4、7 ~ 9、14 ~ 16、21 ~ 23、および 28 日目に各日およそ同じ時間に与えた。動物がこの分割レジメンに従って投薬されるかまたは 28 日間毎日投薬されるかで、有意差は観察されなかった (実験 / コンピューターファイル HEM4 および Notebook # 160 における比較データ)。対照群は、(a) 正常、非照射、非処置マウス (重量比較のベースライン対照、データは示さない)、(b) 食塩水の皮下注射を受けた照射マウス (陰性対照)、または (c) $100 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ の G-CSF の皮下注射を受けた照射マウス (陽性対照) を含み、G-CSF が有効であることを実証した (データは示さない)。

10

【0254】

全ての動物は、各注射の前に秤量し、 $20 \sim 50 \mu\text{l}$ の血液を注射後 4 日目に開始し、4 週間、週 2 回尾静脈から得た。動物は、実験期間を通して正常体重 (正常、非照射、非処置マウスに対して) を維持した。

20

【0255】

末梢血計数

血小板 (PLT)、白血球 (WBC)、および赤血球 (RBC) を含む末梢血パラメータは、Serono System 9000 自動セルカウンタ (Baker Diagnostics, Allentown, PA) を使用して測定した。血液塗抹標本をガラススライド上に作成し、Leukostat Stain Kit (No. CS-430、Fisher Scientific, Wilmington, PA) により染色し、Nikon Labophot-2 顕微鏡下で WBC 分画を行った。統計分析を独立 t-検定またはマンホイットニーのノンパラメトリック検定を使用して行った。血小板 (PLT)、白血球 (WBC)、好中球、および赤血球 (RBC) に対する PGRG1 の効果の結果を図 7A ~ 7D に要約する。

30

(実施例 6)

【表 6】

PGRG1 を使用するがん患者の臨床試験

患者	年齢	がん	がんのステージ	診断時間
患者 1	男性, 63	肺がん腺癌	IV	2012 年 5 月 1 日
患者 2	男性 56	小細胞肺がん	IIIB	2012 年 5 月 8 日

患者 1 の結果

化学療法	PGRG1 の使用	WBC (正常 4~10)	RBC (正常 3.5~5.5)	PIT (正常 100~300)
前	なし	7.87	4.56	264
1 回目および 2 回目後	なし	3.88	3.0	212
3 回目後	使用した	9.8	3.21	237
4 回目後	使用した	7.0	4.84	582
5 回目後	使用した	6.78	3.92	279
6 回目後	使用した	10.0	4.42	277

10

患者 2 の結果

化学療法	RG-1 の使用	WBC (正常 4~10)	RBC (正常 3.5~5.5)	PIT (正常 100~300)
前	なし	8.9	4.75	300
1 回目後	なし	2.6	3.3	125
2 回目後	使用した	6.0	3.85	170
3 回目後	使用した	3.8	4.52	217
4 回目後	使用した	3.8	2.99	148
5 回目後	使用した	4.8	3.63	228
6 回目後	使用した	試験せず	試験せず	試験せず

20

【0256】

患者 1 は、2 回目の化学療法後毎日、朝の 5 時および夕方の 5 時に、PGRG1 (カプセルにつき 450 mg の PGRG1) の 10 個のカプセルを摂取した。1 回目および 2 回目の化学療法後および PGRG1 の摂取前、患者 1 は衰弱を感じ、食欲がなく、胃が不快であることを報告した。PGRG1 の摂取後、患者 1 は衰弱、食欲不振、および胃の不快感が、処置の 6 週目までに正常に戻ったことを報告した。

30

【0257】

患者 2 は、1 回目の化学療法後毎日、朝の 4 時および夕方の 4 時に、PGRG1 (カプセルにつき 450 mg の PGRG1) の 8 個のカプセルを摂取した。1 回目の化学療法後および PGRG1 の摂取前、患者 2 は衰弱を感じ、汗ばみ、食欲がないと報告した。PGRG1 の摂取後、患者は衰弱、食欲不振、および体の発汗が、6 週目までに正常に戻ったことを示した。

【0258】

様々な特定の実施形態が例示され記載されたが、具体的に開示された材料および技術の等価物が適用可能であり、様々な変更が本発明 (複数可) の精神および範囲から逸脱することなく行うことができることを認識されたい。そのような等価物は以下の請求項に含まれることを意図するものである。したがって、本開示は、本明細書に開示の特定の実施形態に限定されるものではなく、例として提示されるものであることを理解されたい。本明細書において特定の用語が用いられるが、それらは一般的なおよび記述的な意味においてのみ使用され、限定を目的としない。

40

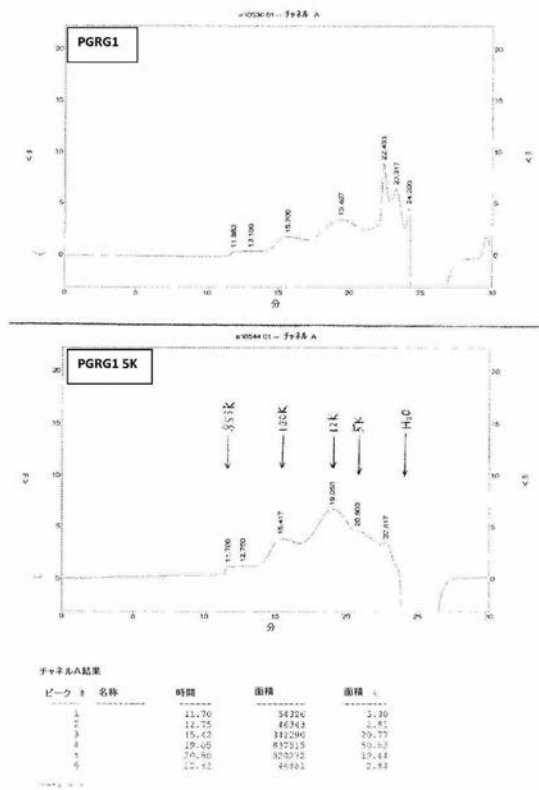
【0259】

本開示に引用される特許、特許出願、記事、書籍、論文、インターネットウェブページ、および他の出版物を含むがこれに限定されない本出願に引用される全ての文献および類似の材料は、そのような文献および類似の材料の形式に関わらず、それぞれが個々に参照

50

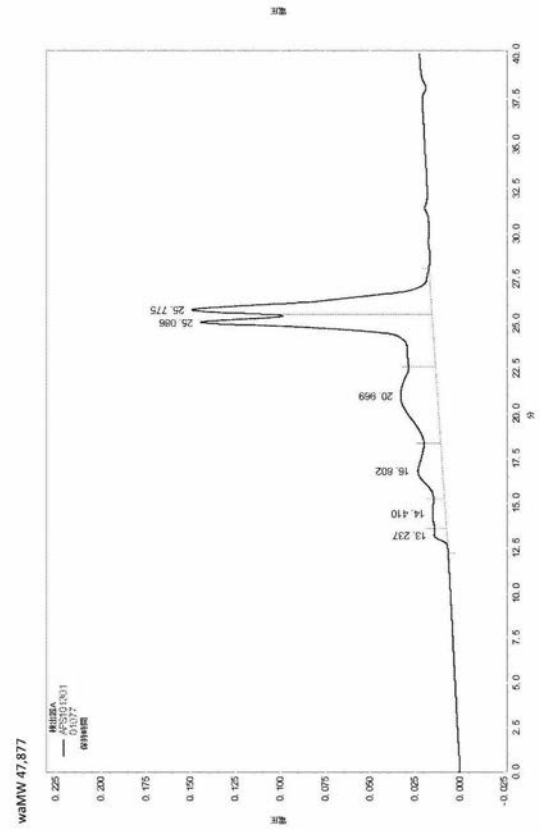
【図 3】

Figure 3: HPLC-RIIによって分析された、PGRG1およびPGRG1 5Kの分子量分布



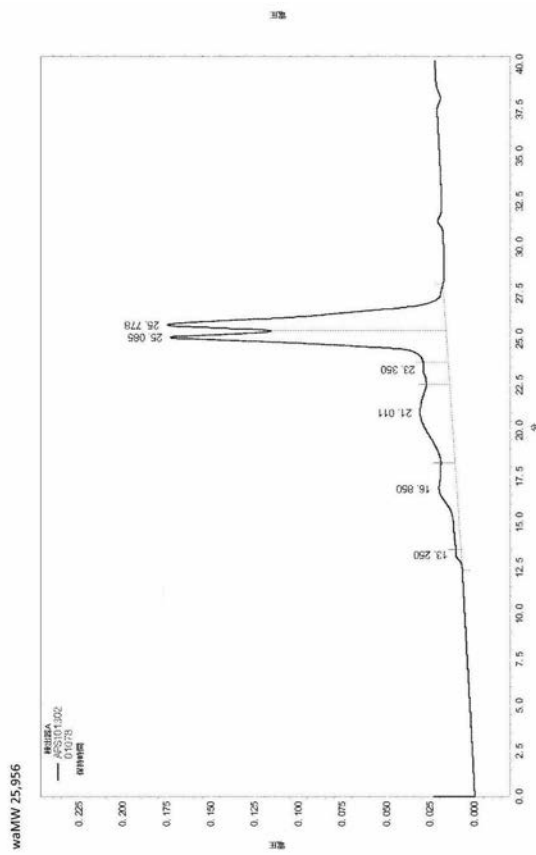
【図 4 A】

Figure 4A: HPLC-RIIによって分析された、PGRG1の重みつき平均分子量(waMW)



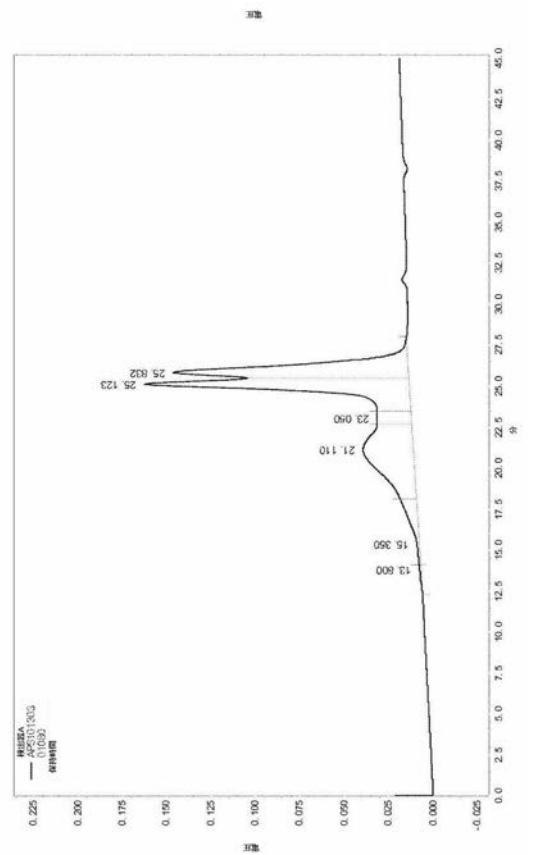
【図 4 B】

Figure 4B: HPLC-RIIによって分析された、PGRG1の重みつき平均分子量(waMW)



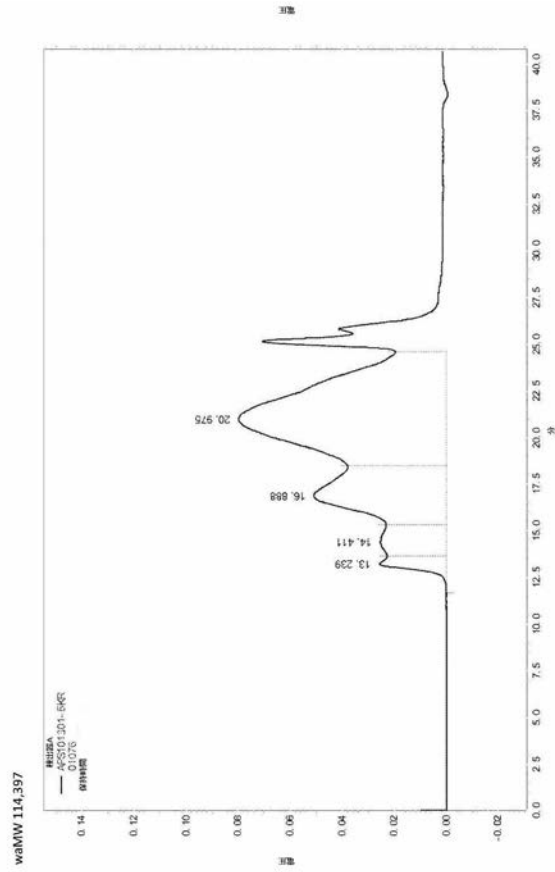
【図 4 C】

Figure 4C: HPLC-RIIによって分析された、PGRG1の重みつき平均分子量(waMW)



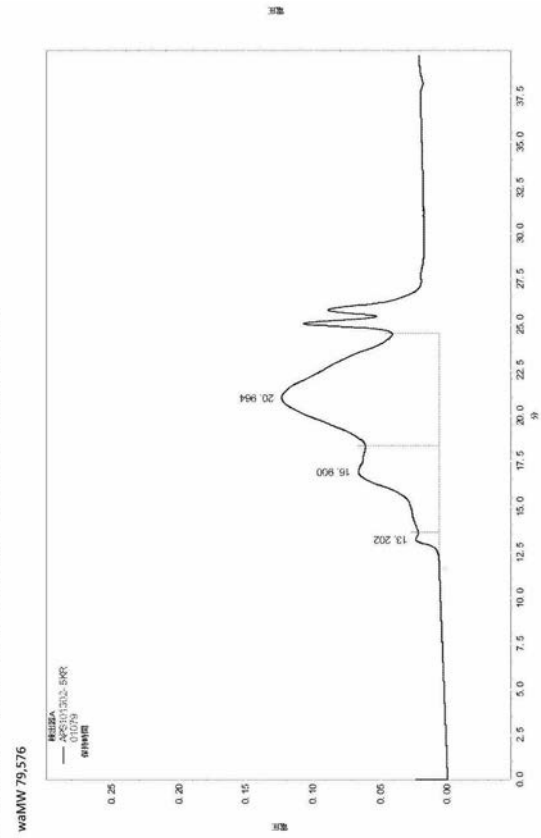
【図 5 A】

Figure 5A: HPLC-RIIによって分析された、PGRG1-5Kの重みつき平均分子量 (waMW)



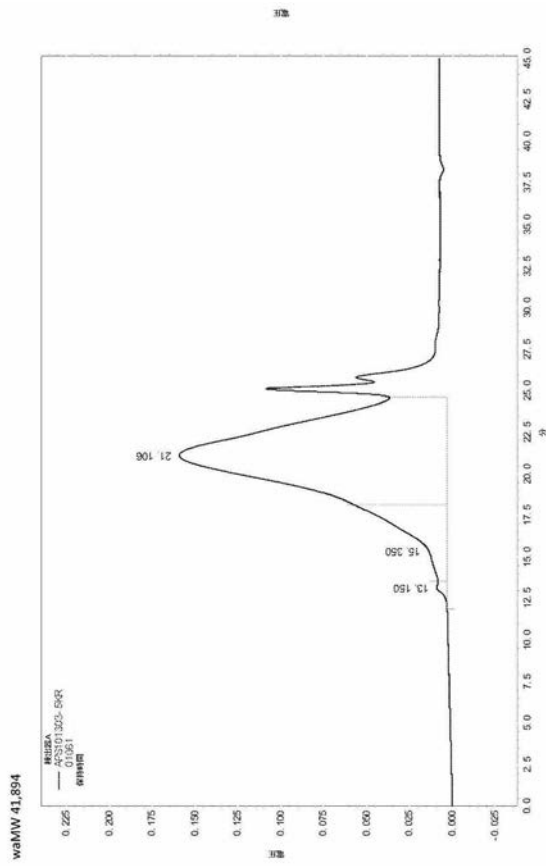
【図 5 B】

Figure 5B: HPLC-RIIによって分析された、PGRG1-5Kの重みつき平均分子量 (waMW)



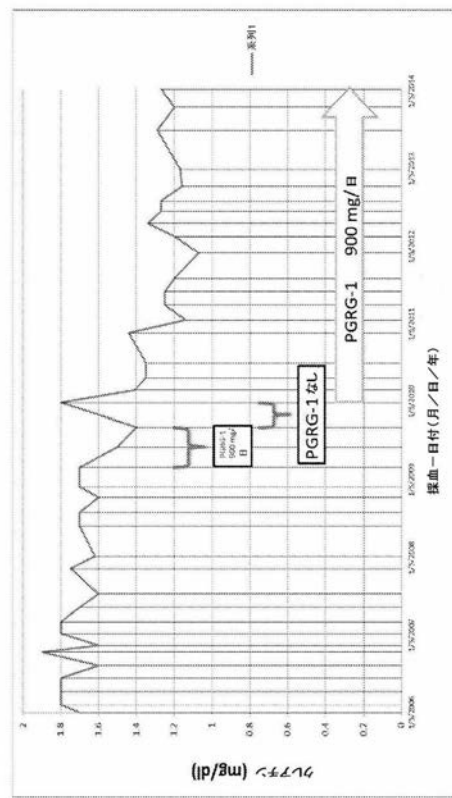
【図 5 C】

Figure 5C: HPLC-RIIによって分析された、PGRG1-5Kの重みつき平均分子量 (waMW)



【図 6】

Figure 6:



【図 7 - 1】

Figure 7A: PLTに対するPGRG1の効果

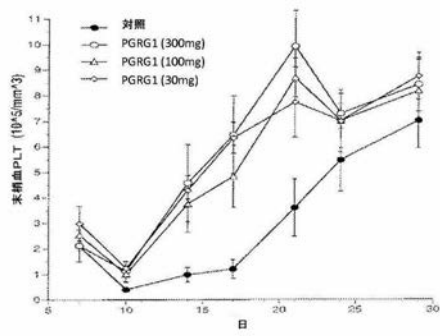
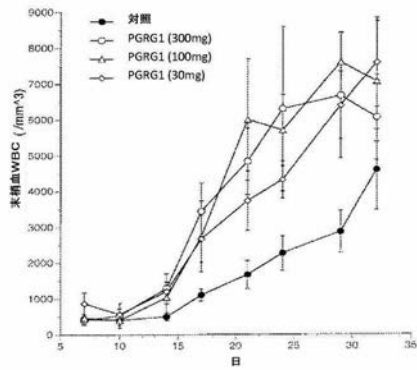


Figure 7B: WBCに対するPGRG1の効果



【図 7 - 2】

Figure 7C: 好中球に対するPGRG1の効果

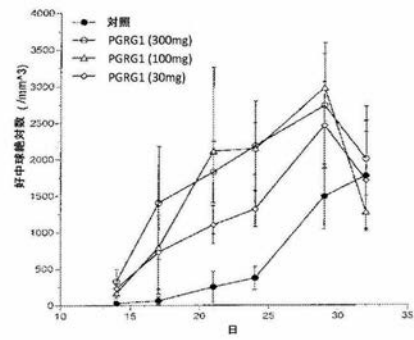
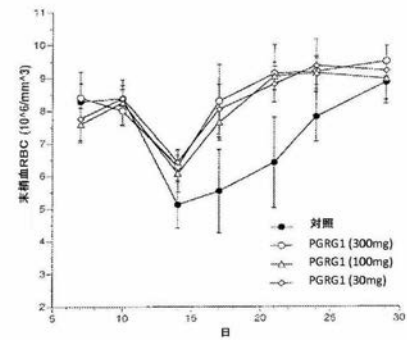


Figure 7D: RBCに対するPGRG1の効果



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 15/45574

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - A61K 36/481, A61K 36/00, A61P 31/12, A61P 13/12, A01N 65/00 (2015.01) CPC - A61K 36/481, A61K 36/00, A61K 2236/00, A61K 2236/37, A01N 65/00, A61K 2236/331 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) IPC(8): A61K 36/481, A61K 36/00, A61P 31/12, A61P 13/12, A01N 65/00 (2015.01) CPC: A61K 36/481, A61K 36/00, A61K 2236/00, A61K 2236/37, A01N 65/00, A61K 2236/331 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched USPC: 424/746, 424/757, 424/764, 424/777 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) PatBase, Google Patents, Google Scholar, Google Web, search terms: polygalacturonan rhamnogalacturonan 1, PGRG 1, Astragalus membranaceus, mole percent ratio, Rha:GalA, 1,2-linked RhaGalA, Shanxi, Inner Mongolia, Gansu, Hebei, dried roots, precipitate, lower alkanol, weight average molecular weight, rhamnose-to-galacturonic acid											
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <table border="1"> <thead> <tr> <th>Category*</th> <th>Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th>Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>US 2012/0141412 A1 (AN et al.) 07 June 2012 (07.06.2012) para [0012], [0015], [0119], [0120], [0122], [0123]</td> <td>1, 3, 4, 10</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>US 2014/0056946 A1 (HELIN et al.) 27 February 2014 (27.02.2014) para [0003], [0005]</td> <td>2</td> </tr> </tbody> </table>			Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	X	US 2012/0141412 A1 (AN et al.) 07 June 2012 (07.06.2012) para [0012], [0015], [0119], [0120], [0122], [0123]	1, 3, 4, 10	Y	US 2014/0056946 A1 (HELIN et al.) 27 February 2014 (27.02.2014) para [0003], [0005]	2
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.									
X	US 2012/0141412 A1 (AN et al.) 07 June 2012 (07.06.2012) para [0012], [0015], [0119], [0120], [0122], [0123]	1, 3, 4, 10									
Y	US 2014/0056946 A1 (HELIN et al.) 27 February 2014 (27.02.2014) para [0003], [0005]	2									
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/>											
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family											
Date of the actual completion of the international search 04 October 2015 (04.10.2015)		Date of mailing of the international search report 09 NOV 2015									
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: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774									

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 15/45574

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.: 5-9, 11-19
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)Int.Cl.		F I	テーマコード (参考)
A 6 1 P 7/00 (2006.01)		A 6 1 P 7/00	
A 6 1 P 37/02 (2006.01)		A 6 1 P 37/02	
A 2 3 L 33/125 (2016.01)		A 2 3 L 33/125	

(81)指定国 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,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,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JP,KE,KG,KN,KP,KR,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,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US

(72)発明者 アン , ジェンファ
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 5 6 0 , ニューアーク , ニューキャッスル コート
 3 5 3 3 2

F ターム(参考) 4B018 LB10 MD33 MD61 ME14 MF01 MF06
 4C084 AA19 MA52 NA14 ZA51 ZA81 ZB07 ZC75
 4C086 AA01 AA02 EA25 GA17 MA01 MA02 MA04 MA52 NA14 ZA51
 ZA81 ZB07 ZC75
 4C088 AB59 AC11 BA12 CA05 CA17 MA52 NA14 ZA51 ZA81 ZC35
 ZC75