

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6596697号
(P6596697)

(45) 発行日 令和1年10月30日 (2019. 10. 30)

(24) 登録日 令和1年10月11日 (2019. 10. 11)

(51) Int. Cl. F I

A 6 1 K 31/20	(2006. 01)	A 6 1 K 31/20
A 6 1 K 38/06	(2006. 01)	A 6 1 K 38/06
A 6 1 P 9/10	(2006. 01)	A 6 1 P 9/10
A 6 1 P 21/02	(2006. 01)	A 6 1 P 21/02
A 6 1 P 25/00	(2006. 01)	A 6 1 P 25/00

請求項の数 13 (全 49 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2018-543858 (P2018-543858)

(86) (22) 出願日 平成29年9月27日 (2017. 9. 27)

(86) 国際出願番号 PCT/JP2017/034926

(87) 国際公開番号 W02018/066427

(87) 国際公開日 平成30年4月12日 (2018. 4. 12)

審査請求日 令和1年5月30日 (2019. 5. 30)

(31) 優先権主張番号 特願2016-195505 (P2016-195505)

(32) 優先日 平成28年10月3日 (2016. 10. 3)

(33) 優先権主張国・地域又は機関
日本国 (JP)

(31) 優先権主張番号 特願2017-184731 (P2017-184731)

(32) 優先日 平成29年9月26日 (2017. 9. 26)

(33) 優先権主張国・地域又は機関
日本国 (JP)

(73) 特許権者 519036558
ブリベンションファーマシューティカル (シャanghai) インコーポレイテッド
中華人民共和国上海市浦東新区蘭嵩路555号サンランドマイレンA1116
A1116 SunlandMaille
n, 555 Lansong Road
, Pudong New District,
Shanghai, China

(74) 代理人 110000796
特許業務法人三枝国際特許事務所

(72) 発明者 山村 道夫
東京都中央区京橋1-17-4 松永ビル
3F 株式会社セレステ内

早期審査対象出願

最終頁に続く

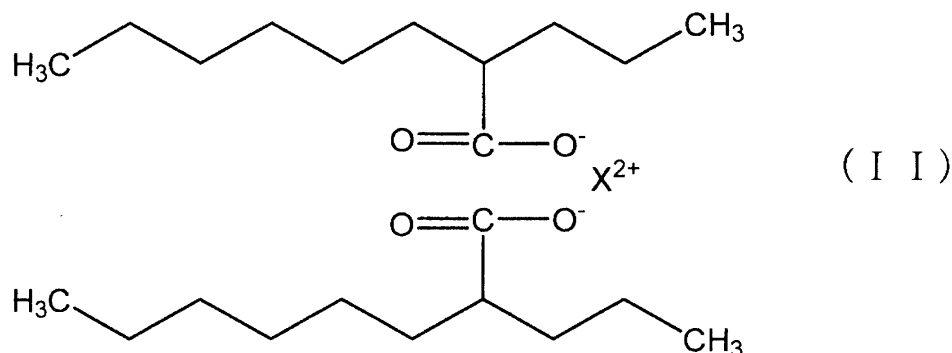
(54) 【発明の名称】 TRHアナログ及びアルンド酸を組み合わせてなる組成物、並びにアルンド酸の薬学的に許容される塩

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

下記一般式 (I I) で表される化合物の結晶、又は前記結晶の薬学的に許容される溶媒和物：

【化 1】



10

(X^{2+} は、2 価の陽イオンである。)。

【請求項 2】

前記 2 価の陽イオンが Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Fe^{2+} 、又は Ba^{2+} である、請求項 1 に記載の結晶、又は前記結晶の薬学的に許容される溶媒和物。

【請求項 3】

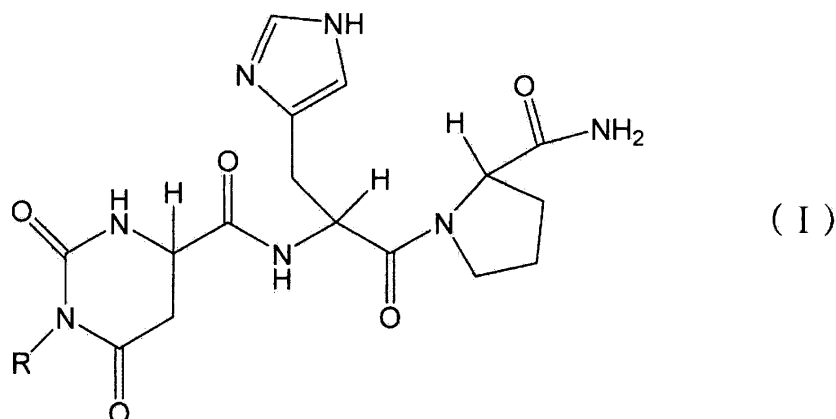
20

(A) 下記一般式 (I) で表される化合物、その薬学的に許容される塩、及びそれらの水和物から選択される少なくとも一種、及び

(B) 請求項 1 又は 2 に記載の結晶、及び前記結晶の薬学的に許容される溶媒和物から選択される少なくとも一種

を組み合わせる組成物：

【化 2】



10

(I)

(R は、水素原子、又は炭素数 1 ~ 6 のアルキル基である。)。

【請求項 4】

医薬組成物である、請求項 3 に記載の組成物。

20

【請求項 5】

認知症、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、進行性核上麻痺、多系統萎縮症、及びトリプレットリピート病から選択される神経変性疾患又は脳梗塞の予防及び / 又は治療用である、請求項 3 又は 4 に記載の組成物。

【請求項 6】

食品組成物である、請求項 3 又は 5 に記載の組成物。

【請求項 7】

学習障害を改善するために用いられる、請求項 3 ~ 6 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 8】

前記学習障害が、空間認知障害である、請求項 5 に記載の組成物。

30

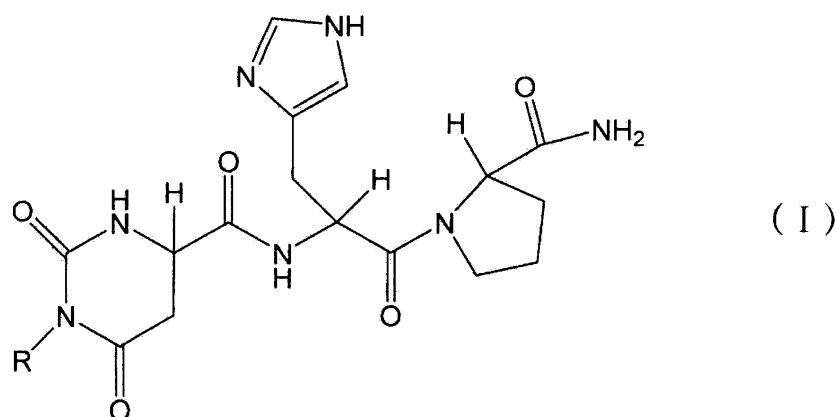
【請求項 9】

(A) 下記一般式 (I) で表される化合物、その薬学的に許容される塩、及びそれらの水和物から選択される少なくとも一種、及び

(B) アルンド酸、その薬学的に許容される塩、及びそれらの薬学的に許容される溶媒和物から選択される少なくとも一種

を組み合わせる組成物、学習障害の予防及び / 又は治療のために用いられる組成物：

【化 3】



40

(I)

(R は、水素原子、又は炭素数 1 ~ 6 のアルキル基である。)。

【請求項 10】

50

医薬組成物である、請求項 9 に記載の組成物。

【請求項 11】

食品組成物である、請求項 9 に記載の組成物。

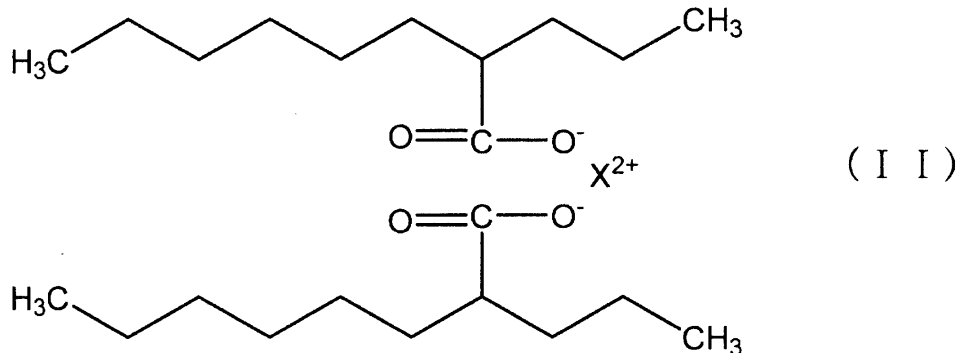
【請求項 12】

前記学習障害が、空間認知障害である、請求項 9 ～ 11 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 13】

メチル *tert*-ブチルエーテル、アセトニトリル及びジクロロメタンよりなる群から選択される少なくとも一種の溶媒中で 2 価の陽イオンをアルンド酸に作用させる工程を含む、下記一般式 (II) で表される化合物の結晶、又は前記結晶の薬学的に許容される溶媒和物の製造方法：

【化 4】



(X^{2+} は、2 価の陽イオンである。)。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、TRH アナログ及びアルンド酸を組み合わせてなる組成物、特に認知症、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、進行性核上麻痺、多系統萎縮症、トリプレットリピート病から選択される神経変性疾患又は脳梗塞の予防及び / 又は治療のために用いられる組成物、及び学習障害を改善するために用いられる組成物に関する。また、本発明は、アルンド酸の薬学的に許容される塩に関する。

【背景技術】

【0002】

厚生労働省のホームページによれば、認知症は、生後いったん正常に発達した種々の精神機能が慢性的に減退・消失することで、日常生活・社会生活を営めない状態であるとされている。また、同ホームページによれば、1995 年以降認知症の有病者数は年々増加しており、2015 年の集計では認知症を有する高齢者人口は約 262 万人であり、65 歳以上の高齢者人口に対する有病率は 8.4%とされている。さらに 2020 年には、65 歳以上の高齢者人口に対する有病率は 8.9%になると予測されている。

【0003】

認知症の症状としては、中心的な記憶などの認知機能障害（新しい情報を学習したり、以前に学習した情報を思い出したりする能力の障害）に加え、行動異常・精神症状（暴言・暴力、徘徊・行方不明、妄想等）が現れる。

【0004】

近年、アルツハイマー病患者や脳血管性認知症患者に甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン (TRH) を投与することにより、覚醒レベル、気分、意味記憶等が改善されることが報告されている。また、TRH のアナログである TA-0910 (タルチレリン) は、TRH よりもさらにその改善効果が高く、酸素欠乏処置によって誘導された健忘状態のラットに TA-0910 を投与することによって、1 回受動的回避学習試験における記憶の読み出しを改善することが報告されている。また、TA-0910 は、両側の淡蒼球腹側部、無名質、視索前野を含む領域 (BF) を破壊したラットに投与することにより、能動的回避

10

20

30

40

50

避学習試験における記憶の読み出しを改善することが報告されている（非特許文献１）。さらに、タルチレリンは、ショック症状の予防・治療に使用されることも知られている（特許文献１）。

【０００５】

一方、神経細胞はアストロサイト、シュワン細胞等のグリア細胞によって栄養補給や老廃物の排泄、イオンバランスの保持といった機能を補助されている。グリア細胞は、神経細胞の細胞機能の維持の他、グルタミン酸や - アミノ酪酸の代謝能、神経ペプチドやサイトカインの産生能を保持し、脳機能の制御において重要な役割を果たしている。グリア細胞の機能改善剤としては２-プロピルオクタン酸（アルンド酸）が知られており（特許文献２）、２-プロピルオクタン酸をリアクティブアストロサイトに作用させることにより $GABA_A$ 受容体の応答能力を回復させることが報告されている（特許文献２）。

10

【先行技術文献】

【特許文献】

【０００６】

【特許文献１】特開平７-０８２１６６号公報

【特許文献２】特開平７-３１６０９２号公報

【非特許文献】

【０００７】

【非特許文献１】Yamamura M, et al., 1991, Japan. J. Pharmacol. Vol. 55. p241-253

【発明の概要】

20

【発明が解決しようとする課題】

【０００８】

現在、厚生労働省においても認知症施策推進総合戦略（新オレンジプラン）として、身元不明の認知症高齢者等に関する特設サイトを設ける等、認知症高齢者の保護に取り組んでいる。認知症は、アメリカ精神医学会によるDSM-IVに基づいて診断されるが、この診断基準を満たす患者はかなり認知症が進んだ段階であり、早期治療にはつながらない点が指摘されている。Mild Cognitive Impairment (MCI) は、アルツハイマー病など認知症の前駆状態である軽度認知障害の１つであり、この段階、あるいはさらに早い段階で治療を開始することが必要であるが、例えばアルツハイマー病の治療薬として使用される抗コリンエステラーゼ阻害薬の塩酸ドネペジルはアルツハイマー病の進行抑制効果は低いといわれている。

30

【０００９】

これらの現状に鑑み、本発明は、認知症を含む神経変性疾患や脳梗塞を予防（進行抑制を含む）、及び／又は治療するための組成物を提供することを課題とする。また、認知症を含む神経変性疾患や虚血性脳疾患に付随する学習障害、特に空間認知障害の進行を抑制する、及び／又は改善するための組成物を提供することを課題とする。

さらには、アルンド酸の薬学的に許容される塩、及びその薬学的に許容される溶媒和物を提供することを課題とする。

【課題を解決するための手段】

【００１０】

40

本発明者は、鋭意研究を重ねたところ、TRHのアナログとアルンド酸との併用投与によりラット四血管閉塞モデルにおけるMorris水迷路試験の成績を改善することを見出した。すなわち、TRHのアナログとアルンド酸との併用投与は、学習障害を改善することを見出した。本発明者らは、アルンド酸の薬学的に許容される塩、及びその薬学的に許容される溶媒和物を取得した。

本発明は、当該知見に基づいて完成されたものであり、以下の態様を含む。

【００１１】

I. 組成物

I-1. (A) 下記一般式(I)で表される化合物、その薬学的に許容される塩、及びこれらの水和物から選択される少なくとも一種（以下、本明細書において「TRHアナログ

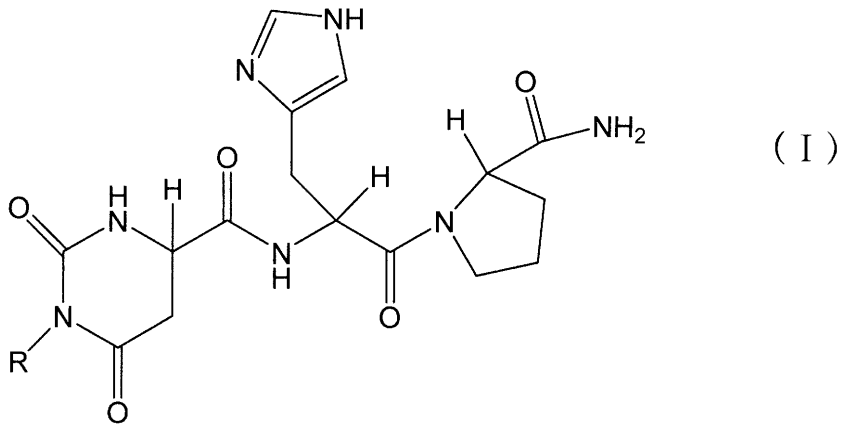
50

」ともいう)、及び

(B) アルンド酸、その薬学的に許容される塩、及びそれらの薬学的に許容される溶媒和物から選択される少なくとも一種

を組み合わせてなる組成物：

【化 1】



(R は、水素原子、又は炭素数 1 ~ 6 のアルキル基である。)。

I - 2 . (A) 成分と (B) 成分とがあらかじめ混合調整された配合剤の形態を有する、I - 1 に記載の組成物。

I - 3 . (A) 成分と (B) 成分とを使用時に混合調整して用いる形態を有する、I - 1 に記載の組成物。なお、当該形態には、少なくとも (A) 成分を含有する製剤と (B) 成分を含有する製剤とを含むキットが含まれる。

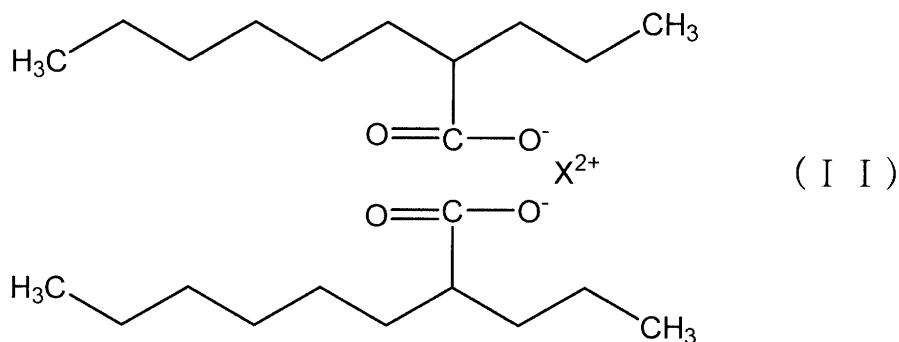
I - 4 . (A) 成分が、前記一般式 (I) で表される化合物の水和物である、I - 1 ~ I - 3 のいずれか一項に記載の組成物。

I - 5 . R がメチル基である、I - 1 ~ I - 4 のいずれか一項に記載の組成物。

I - 6 . (B) 成分がアルンド酸である、I - 1 ~ I - 5 のいずれか一項に記載の組成物。

I - 7 . (B) 成分が下記一般式 (II) で表されるアルンド酸塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物である、I - 1 ~ I - 5 のいずれか一項に記載の組成物：

【化 2】



(X²⁺ は、2 価の陽イオンである。)。

I - 8 . X²⁺ が Ca²⁺、Mg²⁺、Fe²⁺、Ba²⁺、⁺H₃N-NH₃⁺、⁺H₂N-NH₂⁺、又は ⁺HN-NH⁺ である、I - 7 に記載の組成物。

I - 9 . 医薬組成物である、I - 1 ~ I - 8 のいずれか一項に記載の組成物。

I - 10 . 認知症、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、進行性核上麻痺、多系統萎縮症、及びトリプレットリピート病から選択される神経変性疾患又は脳梗塞の予防及び / 又は治療用組成物である、I - 1 ~ I - 9 . に記載の組成物。

I - 11 . 食品組成物である、I - 1 ~ I - 8、及び I - 10 のいずれか一項に記載の組成物。

I - 12 . 学習障害を改善するために用いられる、I - 1 ~ 11 のいずれか一項に記載の組成物。

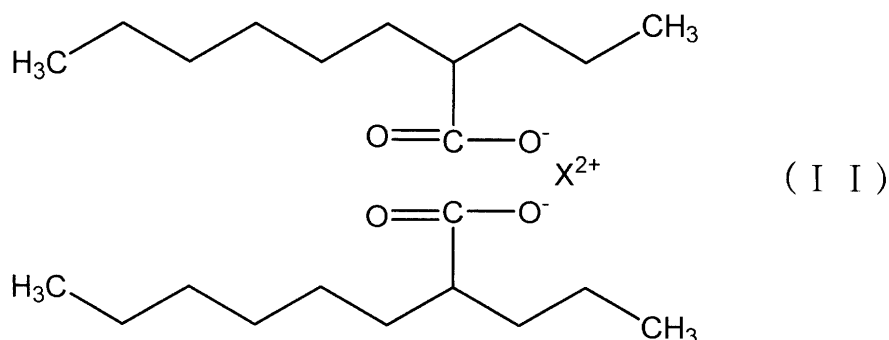
I - 13 . 前記学習障害が、空間認知障害である、I - 12 に記載の組成物。

【0012】

II . アルンド酸塩、その製造方法、及びアルンド酸塩の用途

II - 1 . 下記一般式 (II) で表される化合物、又はその溶媒和物：

【化3】



10

(X^{2+} は、2 価の陽イオンである。)。

II - 2 . X^{2+} が Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Ba^{2+} 、 $^+H_3N-NH_3^+$ 、 $^+H_2N=NH_2^+$ 、又は $^+HN-NH^+$ である、II - 1 に記載の化合物、又はその溶媒和物。

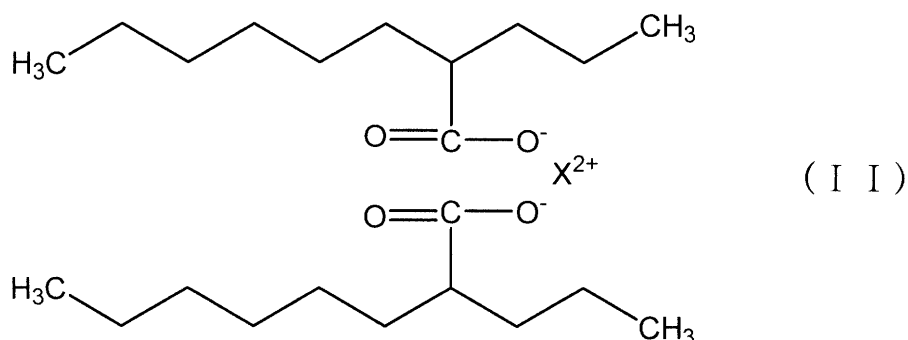
20

II - 3 . X^{2+} が Ca^{2+} であり、化合物が結晶構造を有する、II - 1 に記載の化合物、又はその溶媒和物。

II - 4 . 前記結晶が、表 1 又は 2 に記載の結晶である、II - 2 に記載の化合物、又はその溶媒和物。

II - 5 . 溶媒中で、2 価の陽イオンをアルンド酸に作用させる工程を含む、下記一般式 (II) で表される化合物の製造方法：

【化4】



30

(X^{2+} は、2 価の陽イオンである。)。

II - 6 . X^{2+} が Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Ba^{2+} 、 $^+H_3N-NH_3^+$ 、 $^+H_2N=NH_2^+$ 、又は $^+HN-NH^+$ である、II - 5 に記載の化合物の製造方法。

40

II - 7 . 溶媒がメチルtert-ブチルエーテル、アセトニトリル及びジクロロメタンよりなる群から選択される少なくとも一種である、II - 5 に記載の製造方法。

II - 8 . II - 1 ~ II - 4 のいずれか一項に記載の化合物、及びその薬学的に許容される溶媒和物から選択される一種を含む、組成物。

II - 9 . 組成物が、TRHアナログ、その薬学的に許容される塩、及びそれらの水和物と組み合わせて使用されるものである、II - 8 に記載の組成物。

II - 10 . 組成物が医薬組成物である、II - 8、又はII - 9 に記載の組成物。

II - 11 . アストロサイトの機能を改善するために、又はリアクティブアストロサイトをアストロサイトに変化するために用いられる、II - 8 ~ II - 10 のいずれか一項に

50

記載の組成物。

Ⅱ - 12 . 神経変性疾患、脳脊髄外傷後の神経機能障害、脳腫瘍、感染に伴う脳脊髄疾患、又は多発性硬化症の治療及び / 又は予防のために用いられる、Ⅱ - 8 ~ Ⅱ - 10 のいずれか一項に記載の組成物。

Ⅱ - 13 . 神経変性疾患が、認知症、筋萎縮性側索硬化症、進行性核上麻痺、又は多系統萎縮症である、Ⅱ - 12 に記載の組成物。

Ⅱ - 14 . 感染に伴う脳脊髄疾患が、髄膜炎、脳膿瘍、クロイツフェルト - ヤコブ病、又はエイズ痴呆である、Ⅱ - 12 に記載の組成物。

Ⅱ - 15 . 脳腫瘍が、アストロサイトーマである、Ⅱ - 12 に記載の組成物。

Ⅱ - 16 . 組成物が食品組成物である、Ⅱ - 8、Ⅱ - 9 及びⅡ - 11 ~ 14 のいずれか一項に記載の組成物。 10

【発明の効果】

【0013】

TRHアナログとアルンド酸との併用投与は、空間記憶障害を改善することができる。また、TRHアナログとアルンド酸を併用投与する場合、TRHアナログ、又はアルンド酸を単独投与する際の用量よりも少ない用量で学習障害を改善することができ、また虚血によって脱落した神経細胞を再生することができる。

【図面の簡単な説明】

【0014】

【図1】 Morris 水迷路の平面図と実験室の配置を示す図である。 20

【図2】 実験スケジュールを示す図である。

【図3A】 1 ~ 5 群の海馬CA1のHE染色像である。

【図3B】 図3Aの強拡大である。

【図3C】 各ラットにおける左側の海馬CA1のHE染色像である。

【図4A】 (R) - アルンド酸のNMRの結果を示す図である。

【図4B】 塩化カルシウム法で合成したアルンド酸カルシウム塩のNMRの結果を示す図である。

【図5】 塩化カルシウム法で合成したアルンド酸カルシウム塩の熱分析の結果を示す図である。

【図6】 合成例4 ~ 8 で得られた残渣固形成分のXRPD解析の結果を示す。 30

【図7】 合成例4、6、8の上澄み液から得られた固形成分のXRPD解析の結果を示す。

【図8】 合成例9で得られた固形成分のXRPD解析の結果を示す。

【図9】 合成例10において母液から得られた固形成分の¹H NMRの結果を示す。

【図10】 合成例10において母液から得られた固形成分のXRPD解析の結果を示す。

【図11】 合成例10において母液から得られた固形成分のDSC解析及びTGA解析の結果を示す。

【図12】 合成例10において母液から得られた固形成分の偏光顕微鏡像を示す。

【図13】 合成例11において母液から得られた固形成分の¹H NMRの結果を示す。

【図14】 合成例11において母液から得られた固形成分と浮遊液から得られた固形成分のXRPD解析の結果を示す。 40

【図15】 合成例11において母液から得られた固形成分のDSC解析及びTGA解析の結果を示す。

【図16】 合成例11において母液から得られた固形成分の偏光顕微鏡像を示す。

【図17】 合成例12化合物の¹H NMRの結果を示す。

【図18】 合成例12化合物のXRPD解析の結果を示す。

【図19】 合成例12化合物のDSC解析及びTGA解析の結果を示す。

【図20】 合成例12化合物の偏光顕微鏡像を示す。

【図21】 合成例12化合物の論理構造式を示す。

【図22】 合成例12化合物のHPLC解析結果を示す。

【図23】 バッチNo. 05で得られた固形成分のXRPDの解析結果を示す。 50

【図 2 4】 バッチNo. 08、10、11、12で得られた固形成分のXRPDの解析結果を示す。

【図 2 5】 バッチNo. 08、10、11、12で得られた固形成分の偏光顕微鏡像及びXRPDの解析結果を示す。

【図 2 6】 加熱処理した合成例12化合物の偏光顕微鏡像及びXRPDの解析結果を示す。

【図 2 7】 加熱処理した合成例12化合物のXRPDの解析結果を示す。

【図 2 8 - 1】 合成例12化合物のXRPDのスペクトルを示す。

【図 2 8 - 2】 合成例12化合物のXRPDのピークの値を示す。

【図 2 9 - 1】 バッチNo. 05のXRPDのスペクトルを示す。

【図 2 9 - 2】 バッチNo. 05のXRPDのピークの値を示す。

【図 3 0 - 1】 バッチNo. 08のXRPDのスペクトルを示す。

10

【図 3 0 - 2】 バッチNo. 08のXRPDのピークの値を示す。

【図 3 1 - 1】 バッチNo. 10のXRPDのスペクトルを示す。

【図 3 1 - 2】 バッチNo. 10のXRPDのピークの値を示す。

【図 3 2 - 1】 バッチNo. 11のXRPDのスペクトルを示す。

【図 3 2 - 2】 バッチNo. 11のXRPDのピークの値を示す。

【図 3 3 - 1】 バッチNo. 12のXRPDのスペクトルを示す。

【図 3 3 - 2】 バッチNo. 12のXRPDのピークの値を示す。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 1 5 】

20

I . 組成物

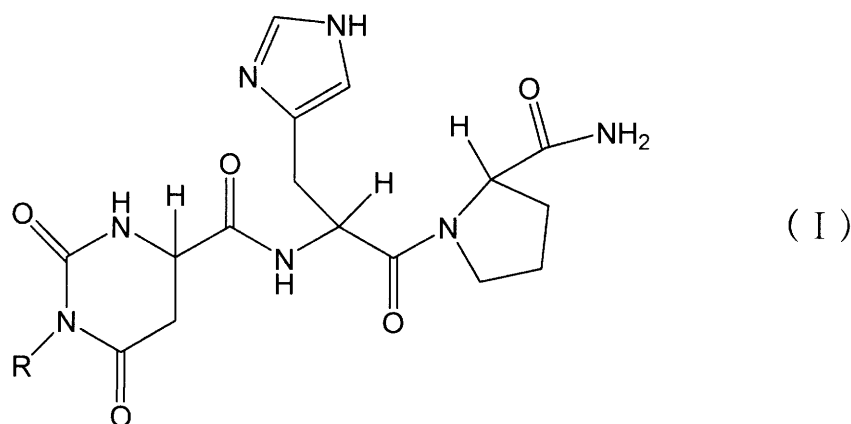
I - 1 . 組成物の成分及び組み合わせ組成物

本発明の組成物は、(A) T R H アナログ、その薬学的に許容される塩、及びそれらの水和物から選択される少なくとも一種、及び(B) アルンド酸、その薬学的に許容される塩、及びそれらの薬学的に許容される溶媒和物から選択される少なくとも一種を組み合わせる組成物、すなわち組み合わせ組成物である。

【 0 0 1 6 】

本発明において T R H アナログとは、下記一般式 (I) で表される化合物をいう：

【化 5】



30

(R は、水素原子、又は炭素数 1 ~ 6 のアルキル基であり、好ましくは炭素数 1 ~ 4 のアルキル基である。)。

【 0 0 1 7 】

R として好ましくは、水素原子、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、イソブチル基、s e c - ブチル基、又は t e r t - ブチル基、であり、より好ましくは水素原子、メチル基、又はエチル基であり、さらに好ましくはメチル基である。

【 0 0 1 8 】

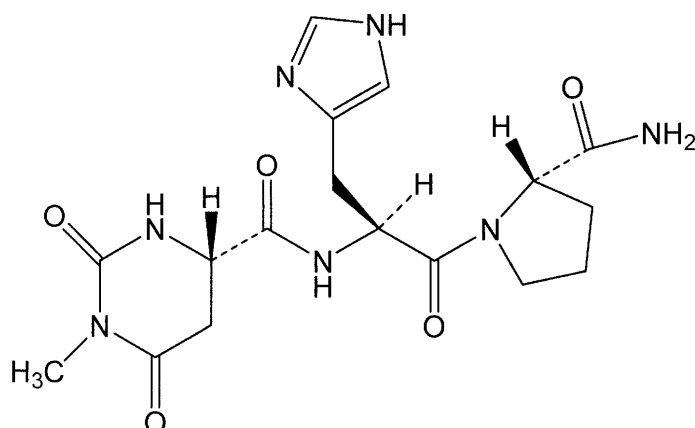
上記一般式 (I) で表される化合物として最も好ましくは、下記式 (I - 1) で表される化合物であり、これはタルチレリン、又は N - [(4 S) - 1 - メチル - 2 , 6 - ジオキソ - ヘキサヒドロピリジン - 4 - カルボニル] - L - ヒスチジル - L - プロリンアミド

50

とも呼ばれる。

【 0 0 1 9 】

【 化 6 】



(I - 1)

10

【 0 0 2 0 】

上記一般式 (I) 又は上記式 (I - 1) で表される化合物の薬学的に許容される塩としては、特に制限されない。当該塩として、例えば、塩酸塩、臭化水素酸塩、硫酸塩、硝酸塩のような無機酸付加塩；及び酢酸塩、酒石酸塩、マレイン酸塩、コハク酸塩、クエン酸塩、メタンスルホン酸塩、リンゴ酸塩、シュウ酸塩、ベンゼンスルホン酸塩等の有機酸付加塩を挙げることができる。これらの塩は、例えば、上記一般式 (I) で表される化合物を酸で処理することにより製造することができる。

20

【 0 0 2 1 】

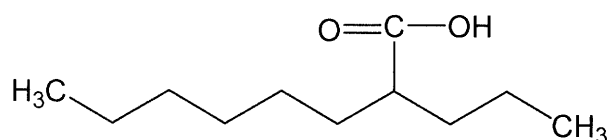
上記一般式 (I) 又は上記式 (I - 1) で表される化合物、又はその薬学的に許容される塩と溶媒和物を形成する溶媒は、特に制限されない。当該溶媒として、例えば、水、エタノール、アセトン、酢酸、1 - プロパノール、2 - プロパノール、酢酸エチル、ジエチルエーテル等を挙げることができる。好ましくは水、又はエタノールであり、より好ましくは水である。

【 0 0 2 2 】

本明細書においてアルンド酸とは、下式で表される化合物をいう：

30

【 化 7 】



アルンド酸は、R 体、S 体、及びラセミ体であってもよい。アルンド酸は、I U P A C 名で 2 - プロピルオクタン酸とも呼ばれることがある。

【 0 0 2 3 】

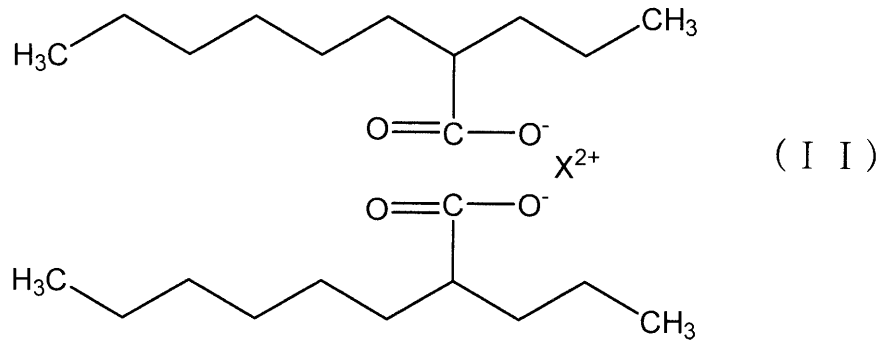
アルンド酸と溶媒和物を形成する溶媒は、特に制限されない。当該溶媒として、例えば、メタノール、エタノール、アセトン、酢酸エチル、クロロホルム、ジエチルエーテル、アセトニトリルを挙げることができる。好ましくは、エタノール、アセトン、酢酸エチル、ジエチルエーテル、又はこれらの混合物である。

40

【 0 0 2 4 】

アルンド酸の薬学的に許容される塩としては、特に制限されない。当該塩としては、例えば、ナトリウム塩、カリウム塩、及び下記一般式 (I I) で表される塩を挙げることができる：

【化 8】



10

(X^{2+} は、2 価の陽イオンである。)。

【 0 0 2 5 】

アルンド酸の薬学的に許容される塩として好ましくは、上記一般式 (I I) に記載の化合物であり、中でも X^{2+} が、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Ba^{2+} 、 $^+H_3N-NH_3^+$ 、 $^+H_2N=NH_2^+$ 、又は $^+HN-NH^+$ である化合物が好ましく、特に上記一般式 (I I) に記載の化合物の中でも X^{2+} が Ca^{2+} である化合物が好ましい。

【 0 0 2 6 】

アルンド酸の薬学的に許容される塩には、エナンチオマー、アモルファス、及び結晶が含まれる。特に X^{2+} が Ca^{2+} である場合、結晶であることが好ましい。さらに、前記結晶は、下記条件で行った粉末X線回折 (XRPD) の代表的なピークが、表 1 に記載の第 1 ピーク～第 3 ピークである結晶 1 又は 2、及び表 2 に記載の第 1 ピーク～第 4 ピークである結晶 3～5 よりなる群より選択される少なくとも 1 つが好ましい。また、結晶 3～5 については、表 2 に示される第 1 ピーク～第 7 ピークを有するものが好ましい。結晶 1 としては図 2 8 に示すピークを有するもの、結晶 2 としては図 2 9 に示すピークを有するもの、結晶 3 としては図 3 0 に示すピークを有するもの、結晶 4 としては図 3 1 に示すピークを有するもの、及び結晶 5 としては図 3 2 に示すピークを有するものが特に好ましい。ここで本明細書及び図面に記載の 2θ (°) の値は、 $\pm 0.2^\circ$ 程度、好ましくは $\pm 0.1^\circ$ 程度の誤差を含みうる。また、ここで本明細書及び図面に記載の半値全幅 (FWHM) は、 $\pm 0.1^\circ$ 程度、好ましくは $\pm 0.05^\circ$ 程度の誤差を含みうる。

20

30

【 0 0 2 7 】

解析条件

- チューブ: Cu: K- Alpha ($\lambda=1.54179$)
- ジェネレーター: Voltage: 40 kV; Current: 40 mA
- 走査範囲: 3 to 40 deg
- サンプル・回転速度 15 rpm.
- 走査速度: 10 deg./min

【 0 0 2 8 】

【表 1】

		結晶 1	結晶 2
第 1 ピーク	2 θ (°)	5.445	5.328
	高さ (%) *	100	100
	半値全幅 (°)	0.397	0.347
第 2 ピーク	2 θ (°)	5.959	5.86
	高さ (%) *	97.8	91.6
	半値全幅 (°)	0.445	0.347
第 3 ピーク	2 θ (°)	6.352	6.353
	高さ (%) *	71	63.4
	半値全幅 (°)	0.383	0.329

*最も高いピークを 100%とした場合の高さ

【 0 0 2 9 】

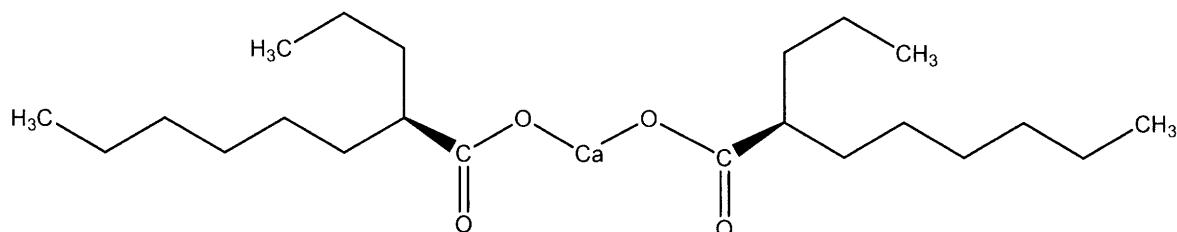
【表 2】

		結晶 3	結晶 4	結晶 5
第 1 ピーク	2 θ (°)	5.034	5.054	5.071
	高さ (%) *	100	39.5	100
	半値全幅 (°)	0.133	0.163	0.156
第 2 ピーク	2 θ (°)	5.819	5.327	5.862
	高さ (%) *	77.5	92	78.9
	半値全幅 (°)	0.145	0.293	0.164
第 3 ピーク	2 θ (°)	6.373	5.877	6.416
	高さ (%) *	35.7	100	40.2
	半値全幅 (°)	0.149	0.18	0.186
第 4 ピーク	2 θ (°)	6.592	6.371	6.649
	高さ (%) *	33.8	66	40.8
	半値全幅 (°)	0.115	0.274	0.163
第 5 ピーク	2 θ (°)	7.41	9.628	7.471
	高さ (%) *	7.3	4.9	9.4
	半値全幅 (°)	0.343	0.097	0.241
第 6 ピーク	2 θ (°)	9.173	10.727	9.216
	高さ (%) *	5.3	5.2	7.6
	半値全幅 (°)	0.251	0.373	0.135
第 7 ピーク	2 θ (°)	19.127	29.391	19.167
	高さ (%) *	6.2	4.2	8.9
	半値全幅 (°)	0.129	0.187	0.348

*最も高いピークを 100%とした場合の高さ

アルンド酸カルシウム塩として好ましくは、式：

【化 9】



で表される化合物である。

【 0 0 3 0 】

10

アルンド酸の薬学的に許容される塩は、特許文献 2 に記載の方法、又は後述するアルンド酸塩の合成法にしたがって製造することができる。

【 0 0 3 1 】

アルンド酸の薬学的に許容される塩と溶媒和物を形成する溶媒は、特に制限されない。当該溶媒として、例えば、水、エタノール、アセトン、酢酸、1 - プロパノール、2 - プロパノール、酢酸エチル、ジエチルエーテル等を挙げることができる。好ましくは水、エタノール、又はこれらの混合物であり、より好ましくは水である。

【 0 0 3 2 】

ここで「組み合わせてなる」とは、本発明が対象とする組成物が、

(i) (A) 成分と (B) 成分とが同一製剤中に混合調整された態様で含まれている状態 (配合剤) である場合、

20

(i i) (A) 成分単体若しくは (A) 成分を含有する製剤と、(B) 成分単体若しくは (B) 成分を含有する製剤とが、おのこの別個の製剤として包装されており、両者が組み合わせ物 (キット) として販売され、使用時に組み合わせ使用される場合、

(i i i) (A) 成分単体若しくは (A) 成分を含有する製剤と、(B) 成分単体若しくは (B) 成分を含有する製剤とがおのこの個別の製剤であり、これらが組み合わせ一つの包装物として販売され、使用時に組み合わせ使用される場合、又は

(i v) (A) 成分単体若しくは (A) 成分を含有する製剤と、(B) 成分単体若しくは (B) 成分を含有する製剤とが、おのこの別個の製剤として包装されており、また両者は別個の流通経路で市場に存在し、使用時に組み合わせ使用される場合

30

を包含する意味で用いられる。

【 0 0 3 3 】

すなわち、本発明において「組み合わせてなる組成物」とは、投与対象者に対する (A) 成分単体、又は (A) 成分を含有する製剤の投与が、(B) 成分単体、又は (B) 成分を含有する製剤の投与と、異時、同時又は並行して行われる態様であればよく、販売を含む流通段階における (A) 成分単体、及び (B) 成分の形態を特に問うものではない。なお、上記態様には、投与対象者に対する (A) 成分単体、又は (A) 成分を含有する製剤の投与を、(B) 成分単体、又は (B) 成分を含有する製剤の投与よりも先に行う態様、並びに投与対象者に対する (A) 成分単体、又は (A) 成分を含有する製剤の投与を、(B) 成分単体、又は (B) 成分を含有する製剤の投与よりも後に行う態様が含まれる。

40

【 0 0 3 4 】

また、ここで「(A) 成分を含有する製剤」とは (A) 成分に他の成分を組み合わせた製剤を意味し、また「(B) 成分を含有する製剤」とは (B) 成分に他の成分を組み合わせた製剤を意味し、それぞれ (A) 成分単体からなる製剤、及び (B) 成分単体からなる製剤と区別される。なお、他の成分としては、後述する製剤用の担体又は添加剤が含まれる。

【 0 0 3 5 】

ヒト以外の動物の場合、(A) 成分の 1 日当たりの最大投与量は、(A) 成分に換算して、30 mg / kg、好ましくは 10 mg / kg、より好ましくは 3 mg / kg である。

(A) 成分の 1 日当たりの最少投与量は、0 . 1 mg / kg、好ましくは 0 . 5 mg / k

50

g、より好ましくは1mg/kgである。(A)成分の1日当たりの投与量の範囲は上記最大投与量及び最少投与量の値から適宜設定することができる。

ヒトの場合、(A)成分の1日当たりの最大投与量は、(A)成分に換算して、135mg/ヒト、好ましくは100mg/ヒト、より好ましくは50mg/ヒト、さらに好ましくは40mg/ヒト、さらにより好ましくは10mg/ヒトである。(A)成分の1日当たりの最少投与量は、0.5mg/ヒト、好ましくは1mg/ヒト、より好ましくは2.5mg/ヒト、さらに好ましくは5mg/ヒトである。(A)成分の1日当たりの投与量の範囲は上記最大投与量及び最少投与量の値から適宜設定することができる。

【0036】

当該(A)成分の投与は、上記投与量で1日に1回行ってもよく、必要に応じて、上記投与量を1日に2、3、4、又は5回に分けて、好ましくは、2、又は3回に分けて投与してもよい。

【0037】

(A)成分の投与期間は、疾患の予防又は治療に必要な期間投与することができる。投与期間は、例えば1、4、10、20、30、又は50週間以上であり、より好ましい投与期間をこの中から適宜設定することができる。投与は、毎日、1日おき、2日おきに行うことができるが、好ましくは毎日である。また、5～7日に1日程度休薬してもよい。

【0038】

ヒト以外の動物の場合、(B)成分の1日当たりの最大投与量は、(B)成分に換算して、500mg/kg、好ましくは300mg/kg、より好ましくは100mg/kgである。(B)成分の1日当たりの最少投与量は、3mg/kg、好ましくは10mg/kg、より好ましくは30mg/kgである。(B)成分の1日当たりの投与量の範囲は上記最大投与量及び最少投与量の値から適宜設定することができる。

【0039】

ヒトの場合、(B)成分の1日当たりの最大投与量は、(B)成分に換算して、2500mg/ヒト、好ましくは1000mg/ヒト、より好ましくは500mg/ヒト、さらに好ましくは100mg/ヒトである。(B)成分の1日当たりの最少投与量は、3mg/ヒト、好ましくは10mg/ヒト、より好ましくは30mg/ヒトである。(B)成分の1日当たりの投与量の範囲は上記最大投与量及び最少投与量の値から適宜設定することができる。

【0040】

また、(A)成分の投与量1重量部に対する(B)成分の投与量の割合は、0.1～500重量部であり、好ましくは1～100重量部であり、より好ましくは3～50重量部であり、さらに好ましくは、10～30重量部である。

【0041】

当該(B)成分の投与は、上記投与量で1日に1回行ってもよく、必要に応じて、上記投与量を1日に2、3、4、又は5回に分けて、好ましくは、2、又は3回に分けて投与してもよい。

【0042】

(B)成分の投与期間は、例えば1、4、10、20、30、又は50週間以上であり、より好ましい投与期間をこの中から適宜設定することができる。投与は、毎日、1日おき、2日おきに行うことができるが、好ましくは毎日である。また、5～7日に1日程度休薬してもよい。(B)成分の投与は、(A)成分の投与と同様に行うこともできる。

【0043】

(A)成分及び(B)成分は、それぞれ単体で、又は(A)成分及び(B)成分を配合した配合剤として、あるいは(A)成分及び(B)成分を他の成分を組み合わせた製剤((A)成分を含有する製剤、(B)成分を含有する製剤)として、経口投与、筋肉注射、皮下注射、及び/又は血管内投与等により投与することができる。

【0044】

(A)成分及び(B)成分の配合剤、(A)成分及び/又は(B)成分を含有する製剤

10

20

30

40

50

は、必要に応じて（Ａ）成分及び／又は（Ｂ）成分と適当な製剤用の担体又は添加剤を組み合わせて調製することができる。当該製剤の調製に用いられる担体や添加剤としては、製剤の剤形に応じて通常の薬剤に汎用される各種のもの、例えば賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、着色剤、矯味剤、矯臭剤、界面活性剤等を例示できる。

【 0 0 4 5 】

上記配合剤又は製剤が経口投与されるもの（舌下に投与されるものを含む）である場合の剤形は、特に制限されないが、錠剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤（硬質カプセル剤及び軟質カプセル剤を含む）、液剤、丸剤、懸濁剤、ゼリー製剤、及び乳剤等を例示できる。また上記配合剤又は製剤が、非経口投与されるものである場合には、注射剤、点滴剤、坐剤、点鼻剤、及び経肺投与剤等を例示できる。

10

【 0 0 4 6 】

上記配合剤又は製剤が、錠剤、散剤、顆粒剤、丸剤、カプセル剤等の経口用固形製剤である場合の調製に際しては、担体として例えば乳糖、白糖、塩化ナトリウム、ブドウ糖、尿素、デンプン、炭酸カルシウム、カオリン、結晶セルロース、ケイ酸、メチルセルロース、グリセリン、アルギン酸ナトリウム、アラビアゴム等の賦形剤；単シロップ、ブドウ糖液、デンプン液、ゼラチン溶液、ポリビニルアルコール、ポリビニルエーテル、ポリビニルピロリドン、カルボキシメチルセルロース、セラック、メチルセルロース、エチルセルロース、水、エタノール、リン酸カリウム等の結合剤；乾燥デンプン、アルギン酸ナトリウム、カンテン末、ラミナラン末、炭酸水素ナトリウム、炭酸カルシウム、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル類、ラウリル硫酸ナトリウム、ステアリン酸モノグリセリド、デンプン、乳糖等の崩壊剤；白糖、ステアリン酸、カカオバター、水素添加油等の崩壊抑制剤；ラウリル硫酸ナトリウム等の吸収促進剤；グリセリン、デンプン等の保湿剤；デンプン、乳糖、カオリン、ベントナイト、コロイド状ケイ酸等の吸着剤；精製タルク、ステアリン酸塩、ホウ酸末、ポリエチレングリコール等の滑沢剤等を使用できる。

20

【 0 0 4 7 】

ここで錠剤には、内服錠（裸錠、糖衣錠、ゼラチン被包錠、腸溶被錠、フィルムコーティング錠、二重錠、多層錠など）、チュアブル錠（口腔内で咀嚼しながら摂取するものを含む）、口中錠（トローチ等のように口腔内で溶解させたなら摂取するものを含む）、舌下錠、及びバツカル錠が含まれる。

【 0 0 4 8 】

上記配合剤又は製剤が、丸剤の経口用固形製剤である場合の調製に際しては、担体として、例えばブドウ糖、乳糖、デンプン、カカオ脂、硬化植物油、カオリン、タルク等の賦形剤；アラビアゴム末、トラガント末、ゼラチン等の結合剤；ラミナラン、カンテン等の崩壊剤等を使用できる。

30

【 0 0 4 9 】

上記配合剤又は製剤が、カプセル剤の経口用固形製剤である場合の調製に際しては、カプセル剤は有効成分を上記で例示した各種の担体と混合し、硬質カプセル、又は軟質カプセル等に充填して調製される。

【 0 0 5 0 】

上記配合剤又は製剤が液剤の場合には、液状を有していればよく、水性又は油性の懸濁液、溶液、シロップ、エリキシル剤、ドリンク剤であってもよい。液剤は通常の添加剤を用いて常法に従い、調製される。また液剤を充填する容器は、密閉できるものであれば制限されず、ガラス容器、アルミ製容器、及びプラスチック製容器であってもよい。

40

【 0 0 5 1 】

上記配合剤又は製剤が注射剤の場合の調製に際しては、担体として例えば水、エチルアルコール、マクロゴール、プロピレングリコール、エトキシ化イソステアリルアルコール、ポリオキシ化イソステアリルアルコール、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル類等の希釈剤；クエン酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、リン酸ナトリウム等の pH 調整剤；リン酸二カリウム、リン酸三ナトリウム、リン酸水素ナトリウム、クエン酸ナトリウム等の緩衝剤；ピロ亜硫酸ナトリウム、EDTA、チオグリコール酸、チオ乳酸等の安定

50

化剤；凍結乾燥した際の成形剤として例えばマンニトール、イノシトール、マルトース、シュクロース、ラクトース等の糖類を使用できる。なお、この場合等張性の溶液を調整するに十分な量のブドウ糖或いはグリセリンを医薬製剤中に含有せしめてもよく、また通常の溶解補助剤、無痛化剤、局所麻酔剤等を添加しても良い。これらの担体を添加して、常法により皮下、筋肉内、静脈内用注射剤を製造することができる。

【 0 0 5 2 】

上記配合剤又は製剤が点滴剤の場合には、投与化合物を生理食塩水、リンゲル液等を基本とした等張電解質輸液製剤に溶解して調製することができる。

【 0 0 5 3 】

(A) 成分単体、又は (A) 成分を含有する製剤と、(B) 成分単体、又は (B) 成分を含有する製剤とが、おのおの別個の製剤として包装されており、使用時に組み合わせて用いられる場合には (前述する「組み合わせてなる」(i i) 及び (i v) の態様)、(A) 成分単体、又は (A) 成分を含有する製剤を、(B) 成分単体、又は (B) 成分を含有する製剤の投与に先立って、又は並行して投与することができる。また別の態様として、(B) 成分単体、又は (B) 成分を含有する製剤を、(A) 成分単体、又は (A) 成分を含有する製剤の投与に先立って、又は並行して投与することができる。また勿論、両者を同時に投与することもできる。

10

【 0 0 5 4 】

(B) 成分単体、又は (B) 成分を含有する製剤の投与に先立って、(A) 成分単体、又は (A) 成分を含有する製剤を投与する場合には、(B) 成分単体、又は (B) 成分を含有する製剤の投与開始の直前～3日前に (A) 成分単体、又は (A) 成分を含有する製剤の投与を開始することができる。好ましくは、直前～2日前、より好ましくは直前～24時間前、さらに好ましくは直前～12時間前、最も好ましくは直前～3時間前に開始することができる。

20

【 0 0 5 5 】

(A) 成分単体、又は (A) 成分を含有する製剤の投与開始に先立って、(B) 成分単体、又は (B) 成分を含有する製剤を投与する場合には、(A) 成分単体、又は (A) 成分を含有する製剤の投与開始の直前～3日前、好ましくは直前～2日前、より好ましくは直前～24時間前、さらに好ましくは直前～12時間前、最も好ましくは直前～3時間前に開始することができる。

30

【 0 0 5 6 】

(A) 成分単体、又は (A) 成分を含有する製剤の投与期間、並びに (B) 成分単体、又は (B) 成分を含有する製剤の投与期間は、上述の通りである。

【 0 0 5 7 】

また、(A) 成分単体、又は (A) 成分を含有する製剤を、(B) 成分単体、又は (B) 成分を含有する製剤の投与と並行して投与する場合には、上述のように、(a) (A) 成分単体、又は (A) 成分を含有する製剤の投与と、(B) 成分単体、又は (B) 成分を含有する製剤の投与を同時に開始する態様、(b) (A) 成分単体、又は (A) 成分を含有する製剤の投与を、(B) 成分単体、又は (B) 成分を含有する製剤の投与に先だって開始する態様、(c) (B) 成分単体、又は (B) 成分を含有する製剤の投与を、(A) 成分単体、又は (A) 成分を含有する製剤の投与に先だって開始する態様が含まれる。好ましくは、(a) (A) 成分単体、又は (A) 成分を含有する製剤と、(B) 成分単体、又は (B) 成分を含有する製剤の投与を同時に開始することが好ましい。なお「並行投与」とは、投与時が同時か否かにかかわらず、異なる製剤に由来する (A) 成分と (B) 成分が生体内で共存する状態を形成することを意味する。例えば、(A) 成分単体、又は (A) 成分を含有する製剤投与後に (B) 成分単体、又は (B) 成分を含有する製剤を投与する場合、(B) 成分単体、又は (B) 成分を含有する製剤の投与によって、(B) 成分が先に生体内に存在している (A) 成分と共存状態を形成する場合には、(A) 成分単体、又は (A) 成分を含有する製剤と (B) 成分単体、又は (B) 成分を含有する製剤とが並行して投与されるということが出来る。

40

50

【 0 0 5 8 】

(A) 成分と (B) 成分の両方を同一製剤中に含有した配合剤は、(A) 成分及び (B) 成分の両方を含有していればよく、さらには上述の製剤用担体又は添加剤と組み合わせで調製することができる。

【 0 0 5 9 】

(A) 成分と (B) 成分の配合割合は、特に限定されない。例えば、(A) 成分の投与量 1 重量部に対する (B) 成分の投与量の割合は、1 ~ 1 0 0 0 重量部であり、当該割合の下限值として、好ましくは、3、1 0、又は 3 0 重量部である。当該割合の上限値として好ましくは、1 0 0、3 0 0、又は 1 0 0 0 重量部である。

【 0 0 6 0 】

調製された配合剤は、その剤形に合わせて、上記 (A) 成分及び (B) 成分の 1 日当たりの投与量の範囲となるように 1 日に 1 回投与してもよく、必要に応じて、上記投与量の範囲となるように 1 日に 2、3、4、又は 5 回に分けて、好ましくは、2、又は 3 回に分けて投与してもよい。

【 0 0 6 1 】

I - 2 . 医薬組成物

上記 I - 1 . に記載の組み合わせ組成物は、医薬組成物として使用することができる。本態様の医薬組成物は、認知症、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、進行性核上麻痺、多系統萎縮症、トリプレットリピート病等の神経変性疾患又は脳梗塞の予防及び / 又は治療のために使用することができる。

【 0 0 6 2 】

本態様において、「予防」には、症状の発症を抑制、及び / 又は遅延させることを含む。また「治療」には、発症している症状を軽減、及び / 又は消失させることを含む。

【 0 0 6 3 】

本態様において、「認知症」には、アルツハイマー病、脳血管性認知症、ピック病など前頭側頭型、レビー小体型認知症、及び感染症 (スピロヘータ、H I V ウイルス、プリオンなど) による認知症が含まれる。また、M C I 等の軽度認知障害も含まれる。認知症として好ましくは、軽度認知障害、アルツハイマー病、脳血管性認知症である。

【 0 0 6 4 】

本態様において、「多系統萎縮症」には、線条体黒質変性症、オリブ橋小脳萎縮症、シャイ・ドレーガー症候群等が含まれる。好ましくは、オリブ橋小脳萎縮症である。

本態様において、「トリプレットリピート病」には、ハンチントン舞蹈病、フリードライッヒ運動失調症、脊髄小脳変性症 1 型等が含まれる。

【 0 0 6 5 】

本態様において、「脳梗塞」は、脳組織の虚血によって神経細胞及び / 又はグリア細胞が死滅した状態、又は死滅しうる状態をいう。また、本態様の「脳梗塞」には、亜急性期から慢性期の脳梗塞、及び遷延性脳梗塞が含まれるものとする。本態様の「脳梗塞」として好ましくは、亜急性期から慢性期の脳梗塞、及び遷延性脳梗塞である。

【 0 0 6 6 】

さらに、本態様の医薬組成物は、学習障害を改善するために使用することができる。「学習障害」とは、新しい記憶のインプット、及び / 又はインプットされた記憶の読み出し (想起) が正常になされないことをいう。本態様において「学習障害」として、好ましくは空間認知障害、記憶障害非言語性学習障害であり、より好ましくは「空間認知障害」である。

【 0 0 6 7 】

本態様の医薬組成物の投与量、投与方法、及び製剤形態は上記 I - 1 . の説明に準ずる。

【 0 0 6 8 】

I - 3 . 食品組成物

上記 I - 1 . に記載の組み合わせ組成物は、食品組成物として使用することができる。

10

20

30

40

50

本態様の食品組成物の投与量、投与方法は上記Ⅰ - 1 . の説明に準ずる。また、本態様の食品組成物の剤形は、上記Ⅰ - 1 . に記載の経口投与される配合剤又は製剤の説明に準ずる。さらに、「投与量」及び「投与方法」なる表現は、「摂取量」及び「摂取方法」と、それぞれ読み替えることができる。

【 0 0 6 9 】

本態様の食品組成物には、一般食品、保健機能食品（機能性表示食品、栄養機能食品、特定保健用食品）が含まれる。保健機能食品の定義及び分類は、日本の健康増進法、及び食品衛生法に定めるところによる。

【 0 0 7 0 】

また、本態様の食品組成物は、上記Ⅰ - 3 . に記載の医薬組成物と同様の用途で使用できる。なお、各国の国内法において、飲食品組成物に疾患との関係を表示することが禁じられている場合には、上記疾患との関係を国内法に抵触しない表示形式に変更することができる。例えば、脳の若さを保つ、脳の健康を保つ、物忘れを防ぐ、記憶力を回復する、記憶力の低下を防ぐ、大人（特に高齢者）の迷子を防ぐ等の表現を食品組成物の用途の表示として使用することができる。

【 0 0 7 1 】

1 - 4 . アルンド酸、その薬学的に許容される塩、及びそれらの薬学的に許容される溶媒和物

さらに本発明には、アルンド酸、その薬学的に許容される塩、及びそれらの薬学的に許容される溶媒和物から選択される少なくとも一種を含む組成物であって、当該組成物が、T R Hアナログ、その薬学的に許容される塩、及びそれらの水和物から選択される少なくとも一種と組み合わせて使用される組成物が含まれる。上記1 - 1 ~ 1 - 3 の組み合わせ組成物にかかる説明、組み合わせ組成物の用途は、本項の組成物に全て援用される。

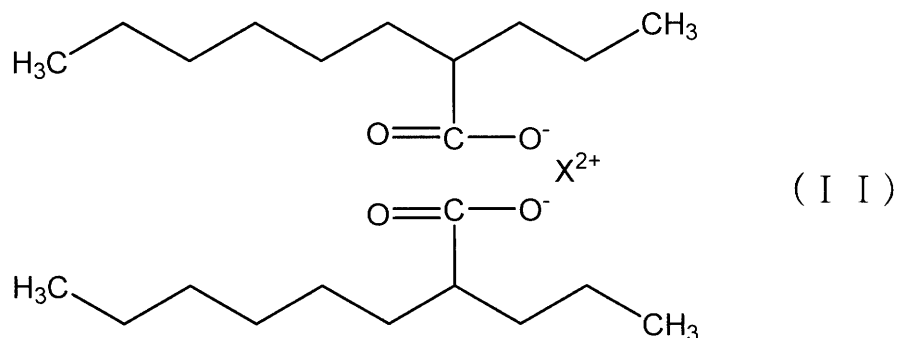
【 0 0 7 2 】

ⅠⅠ . アルンド酸塩、その製造方法、及びアルンド酸塩の用途

ⅠⅠ - 1 . アルンド酸塩

本態様におけるアルンド酸塩は、下記一般式（ⅠⅠ）で表される塩を挙げることができる：

【化10】



（ X^{2+} は、2 価の陽イオンである。）。

【 0 0 7 3 】

アルンド酸の薬学的に許容される塩として好ましくは、上記一般式（ⅠⅠ）に記載の化合物であり、中でも X^{2+} が、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Ba^{2+} 、 $^+H_3N-NH_3^+$ 、 $^+H_2N=NH_2^+$ 、又は $^+HN-NH^+$ である化合物が好ましく、特に上記一般式（ⅠⅠ）に記載の化合物の中でも X^{2+} が Ca^{2+} である化合物が好ましい。

【 0 0 7 4 】

アルンド酸の薬学的に許容される塩には、エナンチオマー、アモルファス、及び結晶が含まれる。特に X^{2+} が Ca^{2+} である場合、結晶であることが好ましい。さらに、前記結晶は、上記Ⅰ - 1 . で述べた結晶が好ましい。

【 0 0 7 5 】

アルンド酸の薬学的に許容される塩と溶媒和物を形成する溶媒は、特に制限されない。当該溶媒として、例えば、水、エタノール、アセトン、酢酸、1-プロパノール、2-プロパノール、酢酸エチル、ジエチルエーテル等を挙げることができる。好ましくは水、エタノール、又はこれらの混合物であり、より好ましくは水である。

【0076】

II-2. 一般式(II)で表される塩の合成方法

一般式(II)で表される塩の合成方法は、当該塩を合成できる限り制限されない。

例えば、上記I-1.に記載のアルンド酸に2価の陽イオンを作用させることにより合成することができる。

【0077】

具体的には、上記I-1.に記載のアルンド酸を0.1~1.5N程度の水酸化ナトリウム水溶液に溶解した後、0.5~2M程度の塩化カルシウムと混合し、固体を形成させる。固体から溶媒成分を除去し、必要に応じて洗浄と乾燥を行い、アルンド酸塩を得ることができる。

【0078】

また、別の態様として、アルンド酸を低級アルコール(メタノールやエタノールなど)に溶解し、この溶液に炭酸カルシウムを当量加える。析出したカルシウム塩をろ過分取し、アルコールで洗浄する。析出したカルシウム塩を精製水に再溶解させ、精製水を蒸発させた後、アルコールで洗浄し、再結晶を得ることができる。本明細書において、当量(e. q.)は、アルンド酸カルボキシル基1 molをちょうど中和することができる塩基量(mol)を示す。

【0079】

さらに、別の態様として、上記I-1.に記載のアルンド酸を0.1~1.5N程度の水酸化ナトリウム水溶液に溶解した後、アンモニア水と混合する。溶媒成分を除去して固体成分を得て、必要に応じて固体成分を洗浄と乾燥を行い、アルンド酸塩を得ることができる。

【0080】

別の態様として、例えばメチルtert-ブチルエーテル、アセトニトリル、ジクロロメタン等の溶媒の中で、好ましくは、メチルtert-ブチルエーテルの中で、上記I-1.に記載のアルンド酸を0.4~0.6当量程度の水酸化カルシウムと混合する。前記混合液を、例えば40~60度程度まで昇温し、昇温した温度で12時間から24時間程度維持し、その後室温(18から32度程度)にまで降温し、降温した温度で0.5~2時間程度維持する。維持後、前記混合液は懸濁液となるため、遠心により固形成分のカルシウム塩を得ることができる。また、遠心後の上澄み液については乾燥させることにより固形成分としてカルシウム塩を得ることができる。本方法によって合成されるカルシウム塩は、上記I-1.に記載の結晶1となる。

【0081】

前記方法により合成されたアルンド酸塩は、さらに再結晶化させることができる。再結晶化は、蒸発法又はスラリー法で行うことができるが、好ましくはスラリー法である。アルンド酸塩をアセトニトリル、水等に室温(18から32度程度)で懸濁し、0.5時間~1時間程度攪拌する。その後溶媒がアセトニトリルである場合には、室温(18から32度程度)、好ましくは23~28度程度で16時間から24時間程度溶媒を蒸発させる。また、溶媒が水である場合には、20~55度程度で16時間から72時間程度水を蒸発させる。アセトニトリルを溶媒とした場合には、上記I-1.に記載の結晶2となる。溶媒として水を用い、20~40度で蒸発を行った場合には、記I-1.に記載の結晶4又は5となる。溶媒として水を用い、45~55度で蒸発を行った場合には、記I-1.に記載の結晶3となる。

【0082】

II-3. 一般式(II)で表される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物を含む組成物

10

20

30

40

50

本態様は、上記ⅠⅠ-1.に記載の一般式(ⅠⅠ)で表される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物を含む組成物である。また、本態様には、上記ⅠⅠ-1.に記載の一般式(ⅠⅠ)で表される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物を含む組成物であって、当該組成物が、T R Hアナログ、その薬学的に許容される塩、及びそれらの水和物から選択される少なくとも一種と組み合わせて使用される組成物が含まれる。

本態様の組成物の投与量、投与方法、及び製剤形態等は、上記Ⅰ-1.に記載の(B)成分に関する説明に準ずる。また、上記ⅠⅠ-1.に記載の一般式(ⅠⅠ)で表される塩、又はその薬学的に許容される溶媒和物を含む組成物と、T R Hアナログ、その薬学的に許容される塩、及びそれらの水和物から選択される少なくとも一種の組み合わせについては、上記Ⅰ-1.に記載の組み合わせ組成物の説明をここに援用する。

10

【0083】

ⅠⅠ-4. 医薬組成物

上記ⅠⅠ-3.に記載の組成物は、医薬組成物として使用することができる。当該医薬組成物は、例えば特許文献2に記載の用途、それ以外の脳神経系疾患の治療及び/又は予防のために使用することができる。

【0084】

具体的には、本態様の医薬組成物は、アストロサイトの機能を改善するために、又はリアクティブアストロサイトをアストロサイトに変化するために使用することができる。

【0085】

また、本態様の医薬組成物は、神経変性疾患、脳脊髄外傷後の神経機能障害、脳腫瘍、感染に伴う脳脊髄疾患、又は多発性硬化症の治療及び/又は予防のために用いられる。ここで本態様における「神経変性疾患」は、上記Ⅰ-2.の説明に準ずる。好ましくは、認知症、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、進行性核上麻痺、又は多系統萎縮症である。本態様において「脳腫瘍」とは、グリア細胞に由来するグリオーマであり、好ましくはアストロサイトーマである。本態様において「感染に伴う脳脊髄疾患」とは、微生物の感染に伴って発症する疾患である限り制限されない。好ましくは、髄膜炎、脳膿瘍、クロイツフェルト-ヤコブ病、又はエイズ(AIDS)に伴う脳脊髄疾患である。

20

本態様における「予防」及び「治療」は、上記Ⅰ-2.の説明に準ずる。

【0086】

本態様の医薬組成物の投与量、投与方法、及び製剤形態等は上記Ⅰ-1.に記載の(B)成分に関する説明に準ずる。

30

【0087】

ⅠⅠ-5. 食品組成物

上記ⅠⅠ-2.に記載の組成物は、食品組成物として使用することができる。本態様の食品組成物の投与量、投与方法は上記Ⅰ-1.に記載の(B)成分に関する説明に準ずる。また、本態様の食品組成物の剤形は、上記Ⅰ-1.に記載の経口投与される(B)成分の製剤の説明に準ずる。さらに、「投与量」及び「投与方法」なる表現は、「摂取量」及び「摂取方法」と、それぞれ読み替えることができる。

【0088】

本態様の食品組成物には、一般食品、保健機能食品(機能性表示食品、栄養機能食品、特定保健用食品)が含まれる。保健機能食品の定義及び分類は、日本の健康増進法、及び食品衛生法に定めるところによる。

40

【0089】

また、本態様の食品組成物は、上記ⅠⅠ-4.に記載の医薬組成物と同様の用途で使用できる。なお、各国の国内法において、飲食品組成物に疾患との関係を表示することが禁じられている場合には、上記疾患との関係を国内法に抵触しない表示形式に変更することができる。例えば、日常生活動作をスムーズにさせる、物忘れを少なくする、言葉を容易に発声させる、大人(特に高齢者)の迷子の回数を減らす等の表現を食品組成物の用途の表示として使用することができる。

【実施例】

50

【0090】

以下、本発明を、実施例により更に具体的に説明するが、本発明はこれらにより限定されるものではない。

【0091】

I. 実施例 11. 実験方法1) 使用動物

実験には7週齢(体重200~240g)の雄性Crl: Wistar系ラットを1週間以上の順化期間をおいて実験に使用した。ラットは実験期間中、室温 23 ± 1 、湿度 $55 \pm 5\%$ 、12時間照明(6:30~18:30)の飼育室において餌(オリエンタル酵母、CRF-1)および水の自由摂取下で飼育した。

10

【0092】

2) 使用薬物

本試験に用いたアストロサイト機能改善剤であるアルンド酸(R)-(-)-2-プロピルオクタノ酸: Lot No. CS04818-503、M.W. 186.29、比重0.908)はケミカルソフト社において合成されたものを使用した。運動機能改善剤であるタルチレリン水和物(以下、タルチレリン、M.W. 463.47: N-[(4S) - 1 - メチル - 2, 6 - ジオキソヘキサヒドロピリミジン - 4 - カルボニル] - L - ヒスチジル - L - プロリンアミド (Lot No. N16P))はMatrix Scientific社より購入したものを使用した。アルンド酸は投与用量30 mg/kg/5 mLの場合、アルンド酸300mg (306 μ L) に1N NaOHを1.61mL加え溶解し、水又は0.5% CMC (カルボキシメチルセルロース) を48.084mL加え全量を50 mLとした。実験では、10倍濃度のアルンド酸溶液を作って、用時調製した。タルチレリンは投与用量3 mg/kgあるいは10mg/kgの場合、いずれも5 mL/kgの容量で蒸留水に溶解した。被験薬は四血管閉塞モデル作製の1週間後より、28日間(土日祝日を含む)経口投与した。

20

【0093】

3) 実験群

一群4~6匹として、5群を設けた。内訳は下記の通りである。1群は四血管閉塞の処置を行わなかった群であり、2~5群は四血管閉塞の処置を行った群である。

1群: Sham対照(蒸留水2 mL/kg/day)群

2群: 対照(蒸留水5 mL/kg/day)群

3群: アルンド酸(30 mg/kg/day)投与群

4群: タルチレリン(10 mg/kg/day)投与群

5群: アルンド酸(10 mg/kg/day)、及びタルチレリン(3 mg/kg/day)併用群

30

【0094】

2. 四血管閉塞モデル(four vessel occlusion model) の作製法1) 椎骨動脈焼灼手術

Pulsinelli & Brierleyの方法(Pulsinelli, W.A. and Brierley, J.B.: Stroke 10, 267, 1979)にほぼ準じた。すなわち、ネンラボナ(登録商標) ブタール(登録商標)による麻酔下で、脳定位固定装置にラットを腹臥位に固定し、背側頸部の皮膚および筋肉層を切開して、第一頸椎を露出した。第一頸椎の両端にあるalar foramina部位に双極性凝固器(瑞穂医科工業、MICROID)のピンセットの先端を刺入して脳底部へ上行している椎骨動脈を両側性に電気焼灼切断し、その後皮膚を縫合した。続いて、ラットを実験用手術台に背臥位に固定し直し腹側頸部の皮膚を切開して、両側総頸動脈を周囲の組織から分離し絹糸を輪状にかけた後、皮膚を縫合した。手術終了後、ラットはケージへ戻して観察し、行動上異常が認められないことを確認した。

40

【0095】

2) 総頸動脈閉塞ならびに血流再開後の一般症状観察

上記方法によって椎骨動脈を焼灼した24時間後、翌日総頸動脈結紮前の固定の為に、イソフルラン吸入麻酔下でラットを背位に固定し、腹側頸部の皮膚を再び開き、両側総頸動脈を露出した。まず右側の総頸動脈を動脈クレンメあるいはモスキート止血鉗子(いずれ

50

もシリコンチューブをかぶせて血管壁への刺激を可及的に少なくした)により閉塞し、約60秒後に左側を同様に閉塞する。両側総頸動脈閉塞中、即ち脳虚血中ラットは立ち直り反射(RR)が消失しており、背位固定の必要はないと思われるが、四肢の歩行様運動あるいは横転など突発的な動きが認められ、その事が鉗子をして血管を過度に引っ張り出させることになるために、脳虚血中は背位に固定したままにした。10分間の脳虚血後、鉗子を除去した。血流再開を直視下で確認した後、速やかに背位固定から自由にし、観察箱に静置し、実験には虚血が完成し正向反射が消失した動物で、行動が正常な動物4~6匹を1群として用いた。

【0096】

3. Morris水迷路試験(Morris Water Maze Test)の実験装置および実験配置

10

Morris水迷路試験では水を張った円形プール(直径168 cm、深さ40 cm)とラットが回避できるためのプラットホーム(直径10 cm、高さ30 cm)を用いた。Zone 3にはプールの中央から40 cm、周囲から23 cmのところ直径10 cm、高さが30 cmの透明プラスチック製の逃避用のプラットホームを1箇所セットした。実験時の水迷路の水温は23 (±1.5

)とした。四血管閉塞術後1週間目の群分け時と被験薬最終回投与翌日のHidden testではプラットホームから1 cmの高さ(水深31 cm)まで水を溜め、被験薬最終回投与3日後のTransfer testでは、プラットホームを取り除き、水深31 cmの高さまで水を溜めた。また、ラットが周囲の様々な空間的配置を記憶できるよう、壁にポスターや写真などの手がかりになるものを配置し、これらの手がかりの場所は実験中、常に一定とした(図1: Morris水迷路の平面図と実験室の配置)。

20

【0097】

図1において、Zone 1~Zone 4は円形プールの4分割領域を示している。また、E、W、S、Nは東西南北の方向を示す。実験者1人はSの位置で観察した。

水迷路上中央にCCDカメラを設置し、CCDカメラに接続したパソコンでラットの体毛の白色を自動的に感知し、泳いだ軌跡を解析した。

【0098】

4. 実験スケジュール

実験スケジュールを図2に示す。

具体的には、以下の手順に従って実験を進めた。

1) 8週齢(体重200~240 g)の雄性CrI: Wistar系ラットを40匹購入した。購入時に体重を測定した。順化期間は1週間以上とした。

30

2) 四血管閉塞手術(椎骨動脈焼灼手術24時間後、10分間の総頸動脈閉塞)後、血流再開後に一般症状を観察した。

3) 血流再開1週間後にMorris水迷路試験による30分間のインターバル、Cut off 180秒のHidden test 5試行を行い、水泳逃避潜時(プラットホーム到達時間)を指標に群分けを行った。群分け後、薬物の経口投与を開始した。

4) 薬物の経口投与は28日間行った。

5) 薬物の最終回投与翌日に、水迷路による空間記憶に関するHidden testを30分間のインターバル、Cut off 180秒の5試行を行った。30分後プラットホームを取り除き、水深31 cmの高さまで水を溜めたTransfer testを実施した。

40

Zone1の出発点から、ラットは水迷路の外側に頭を向けて水迷路内に投入された。プラットホームの位置は、水迷路内の東側(図1のEに相当する)の位置(図1のZone 3に相当する)に固定した。1回の試行は最大180秒とし、180秒以内にプラットホームに辿り着いた場合は15秒間そのまま放置した。180秒経過しても辿り着かなかった場合は実験者が手でプラットホームまで誘導し、そこで15秒間放置した。このラットは180秒間のHidden testと15秒間のプラットホームの放置の間に周囲の様々な空間的配置を手がかりにプラットホームの場所を学習することになる(Hidden test)。Hidden testでは、試行毎のゴールまで泳いだ軌跡、水泳距離、水泳逃避潜時(プラットホーム到達時間)、平均水泳速度を測定した。

被験薬最終回投与3日後にプラットホームを取り除き、水深31 cmの高さまで水を溜めた

50

Transfer testを実施した。これは、Hidden test時にゴールであったプラットホームを取り除いた状態で、ラットを自由に泳がせ、本来プラットホームがあった領域（図1のZone 3に相当する）を泳いでいた時間を調べるテストである。ラットごとに1試行のみ行い、時間は180秒とし、出発点はプラットホームの対面（図1参照）とした。Transfer testでは、各Zone 滞留時間、プラットホームの横切り回数を測定した。

各試行時のラットの行動は、CCDカメラと行動解析プログラムSMART（有限会社京都エル技研）を用い、ラットの体毛の白色と周囲の黒灰色の二値化により自動的に解析した。

Morris水迷路法による空間記憶に関する試験における各群間の有意差検定はノンパラメトリックDunnett型多重比較検定を行った。

6) Morris水迷路試験終了後、ラット脳を4%パラホルムアルデヒドで還流固定した。詳細は、以下の通りである。

（1）4%パラホルムアルデヒド・リン酸緩衝液の作製

40 gのパラホルムアルデヒドに400 mLの蒸留水を加え、加温式スターラーで溶解。その後透明になるまで1N NaOHを滴下した。溶解後全量を500 mLにメスアップした。使用時に市販のリン酸緩衝液生理食塩水PBS(10倍濃度)を100 mL加え、1000 mLとした。

（2）脳還流固定

Transfer test終了後、ラットを麻酔し、胸腔を開け、心臓を露出させ、心房を切開した。心臓から頸動脈へカテーテルを挿入し、ヘパリン生理食塩水を50 mL以上流した。続いて4%パラホルムアルデヒド・リン酸緩衝液を50 mL以上流した。還流操作は大動脈を結紮して行った。灌流固定後脳を取り出し、4%パラホルムアルデヒド・リン酸緩衝液中に浸透固定した。

（3）HE染色

この脳をクリオスタットで20 μmの厚さの連続凍結切片を作成する。連続切片は一枚おきにヘマトキシリン・エオジン染色した。光学顕微鏡下で染色した組織における脱落した神経細胞の程度を半定量的に評価した。

7) Morris水迷路試験で得られたデータについて、Dunnett型多重比較法により2群間の比較を行い、p値を求めた。

【0099】

5. 結果

試験中の各ラットの体重の推移を表3に示す。0日は、四血管閉塞手術（血流再開）後1週間目を示す。

【0100】

【表3】

群	体重推移（平均±S.E., 単位：g）				
	投与前	投与後			
	0日	7日目	14日目	21日目	28日目
1	241.6±5.2	264.6±5.7	277.4±6.1	292.0±7.8	314.3±8.1
2	228.1±3.8	234.8±4.1	250.1±4.8	279.3±5.1	303.5±6.4
3	228.7±4.9	255.5±5.1	272.6±7.4	288.0±7.1	308.5±5.0
4	228.6±4.5	256.6±8.7	272.3±10.3	291.3±12.0	307.2±12.2
5	224.8±3.7	257.7±4.9	269.0±6.2	287.4±7.8	318.7±8.6

群分け時および被験薬28日間投与後における各ラットのMorris水迷路試験の結果を表4に示す。

【0101】

【表 4】

群	Hidden test			Transfer test	
	群分け時 到達時間 (秒)	到達時間 (秒)	総移動距離 (m)	Zone3 滞留時間 (秒)	プラット ホーム 横切り回数
1	67.4	38.6	7.7	113.2	18
	75	56.2	12.9	93.4	10
	49.2	34.2	7.0	74.6	8
	57.6	43.2	7.7	109.3	9
	61.3	47.2	11.5	93.7	12
	68.1	31.4	5.3	102.1	16
平均±S.E.	63±3.7	42±3.7*	8.7±1.2**	98±5.7**	12.2±1.6*
2	102	87	18.4	57.7	5
	96.1	79.5	19.3	36.0	4
	125.4	100.1	22.3	43.8	3
	81.9	97.9	19.6	44.3	3
平均±S.E.	101±9.1	91±4.8	19.9±0.8	46±4.5	3.8±0.5
3	112.5	73.8	13.0	82.9	6
	86.9	82.2	15.8	66.0	9
	123.2	90.3	17.9	43.6	2
	87	66.5	22.8	55.2	5
平均±S.E.	102±9.2	78±5.2	17.4±2.1	62±8.4	5.5±1.4
4	100.1	68.9	19.8	58.5	8
	97.2	88.1	15.0	66.9	7
	85.5	76.4	12.3	47.1	4
	124.8	99.1	17.1	56.0	2
平均±S.E.	102±8.3	83±6.6	16.1±1.6	57±4.1	5.3±1.4
5	106.4	41.8	8.5	97.4	13
	88.9	32.1	7.00	101.4	11
	98.3	33.1	16.5	70.6	9
	111.6	59.5	11.2	70.9	8
平均±S.E.	101±5.0	42±6.3*	10.8±2.1*	85±8.3*	10.3±1.1*

*は2群に対して $p<0.05$ であったことを示す。

**は2群に対して $p<0.01$ であったことを示す。

次に、被験薬投与後の各群のHidden test及びTransfer testの結果を表5に示す。

【 0 1 0 2 】

10

20

30

【表 5】

群	一群 (匹数)	Hidden test		Transfer test	
		到達時間 (秒)	総移動距離 (m)	Zone 3 滞留時間(秒)	プラットフォーム 横切り回数
1	6	42±3.7*	8.7±1.2**	98±5.7**	12.2±1.6*
2	4	91±4.7	19.9±0.8	46±4.5	3.8±0.5
3	4	78±5.2	17.4±2.1	62±8.4	5.5±1.4
4	4	83±6.6	16.1±1.6	57±4.1	5.3±1.4
5	4	42±6.3*	10.8±2.1*	85±8.3*	10.3±1.1*

*は2群に対して $p<0.05$ であったことを示す。

**は2群に対して $p<0.01$ であったことを示す。

さらに、被験薬投与後の各群のTransfer testの際の各Zoneにおける滞在時間を表 6 に
、平均遊泳速度を表 7 に示す。

【 0 1 0 3 】

【表 6】

群	滞在時間 (秒)							
	Zone1	(%)	Zone2	(%)	Zone3	(%)	Zone4	(%)
1	21.6	11.9	24.5	13.4	113.2	62.1	22.9	12.6
	21.6	12.6	31.7	18.5	93.4	54.4	25.1	14.6
	22.3	13.2	15.1	9.0	74.6	44.3	56.4	33.5
	33.2	15.8	46.4	22.1	109.3	52.0	21.2	10.1
	24.3	13.7	18.9	10.7	93.7	52.9	40.1	22.7
	18.1	10.7	40.8	24.0	102.1	60.1	8.8	5.2
平均± S.E.	23.5± 2.1	13.0± 0.7	29.6± 5.0	16.3± 2.5	97.7± 5.7**	54.3± 2.6	29.1± 6.8	16.4± 4.1
2	30.7	18.2	21.5	12.8	57.7	34.2	58.6	34.8
	37.6	21.1	26.3	14.7	36.0	20.2	78.6	44.0
	35.6	19.5	63.3	34.7	43.8	24.0	39.9	21.9
	49.4	25.7	32.8	17.1	44.3	23.0	65.8	34.2
平均± S.E.	38.3± 4.0	21.1± 1.6	36.0± 9.4	19.8± 5.0	45.5± 4.5	25.4± 3.1	60.7± 8.1	33.7± 4.6
3	24.0	13.3	16.9	9.4	82.9	46.0	56.5	31.3
	32.5	19.3	34.4	20.4	66.0	39.1	35.7	21.2
	63.9	33.3	68.2	35.5	43.6	22.7	16.4	8.5
	45.8	25.4	48.3	26.8	55.2	30.6	31.0	17.2
平均± S.E.	41.6± 8.7	22.8± 4.3	42.0± 10.9	23.0± 5.5	61.9± 8.4	34.6± 5.1	34.6± 8.3	19.6± 4.7
4	24.5	13.6	63	35.1	58.5	32.6	33.6	18.7
	44.4	24.8	30.4	17.0	66.9	37.3	37.5	20.9
	38.6	21.2	29.6	16.2	47.1	25.8	67	36.8
	49.7	27.3	14.1	7.7	56	30.7	62.5	34.3
平均± S.E.	39.3± 5.4	21.7± 3.0	34.3± 10.3	19.0± 5.8	57.1± 4.1	31.6± 2.4	50.2± 8.5	27.7± 4.6
5	16.8	9.6	33.6	19.3	97.4	55.9	26.4	15.2
	21.9	11.3	27.2	14.0	101.4	52.2	43.8	22.5
	23.5	14.3	54	32.8	70.6	42.9	16.3	9.9
	38.8	20.8	29.6	15.9	70.9	38.0	47.3	25.3
平均± S.E.	25.3± 4.7	14.0± 2.0	36.1± 6.1	20.5± 4.3	85.1± 8.3*	47.3± 3.0	33.5± 7.3	18.2± 3.5

*は2群に対して $p<0.05$ であったことを示す。

**は2群に対して $p<0.01$ であったことを示す。

【 0 1 0 4 】

10

20

30

40

【表 7】

群	平均速度(m/s)	群	平均速度(m/s)
1	0.19	4	0.21
	0.16		0.13
	0.16		0.19
	0.13		0.15
	0.20	平均±S.E.	0.17±0.02
	0.14	5	0.19
平均±S.E.	0.16±0.01		0.15
2	0.21		0.15
	0.13		0.22
	0.19	平均±S.E.	0.18±0.02
	0.14	3	0.12
平均±S.E.	0.17±0.02		0.15
3	0.12		0.20
	0.15		0.16
	0.20		
	0.16		
平均±S.E.	0.16±0.02		

10

20

【 0 1 0 5 】

表 3 に示すように、投与前（0 日）の 2 群から 5 群の体重は 1 群のそれに比較して四血管閉塞手術によるストレス及び摂食嚥下障害（食物を認識してから口に運び、取りこんで咀嚼して飲み込むまでの障害）が原因と考えられる体重減少が観察された。以後、3 群、4 群及び 5 群の体重は 2 群のそれに比べ投与 28 日目まで順調な体重増加推移が認められ、特に 5 群の 28 日目の体重は、1 群と同程度に回復した。このことから、アルンド酸とタルチレリンの併用投与は、四血管閉塞手術によるストレス及び摂食嚥下障害を緩解させると考えられた。

30

【 0 1 0 6 】

表 4 に示すように、四血管閉塞の処置を行わなかった 1 群のラットと比較して、四血管閉塞の処置を行った 2 ～ 5 群のラットは、群分け時にプラットホームへの到達時間が長くなっており、場所学習能力が低下していることが示された。各被験薬の効果を表 5 に示す。アルンド酸を単独で投与した 3 群及びタルチレリンを単独で投与した 4 群では、Hidden test における到達時間の改善は認められなかった。また、総移動距離も対照群である 2 群と比較して顕著に改善したとはいえなかった。これに対して、アルンド酸とタルチレリンを併用投与した 5 群では、Hidden test におけるプラットホームへの到達時間が顕著に短くなり、Sham 対照群である 1 群に匹敵する時間となった。そして、総移動距離も 2 ～ 4 群と比較して顕著に短くなった。このことから、アルンド酸とタルチレリンを併用投与することにより、四血管閉塞によって失われた場所学習能力及び場所記憶能力（空間学習能力及び空間記憶能力）を取り戻すことができることができると考えられた。

40

【 0 1 0 7 】

また、表 5 に示すように、Transfer test においてもアルンド酸とタルチレリンの併用効果が認められた。1 群と比較して 2 ～ 4 群のラットではプラットホームが設置されていた Zone 3 での滞留時間は短く、プラットホームがあった位置の横切り回数も少なかった。このことから、2 ～ 4 群のラットは、Zone 3 にプラットホームがあったことを思い出せて

50

いない（記憶が読み出せていない）と考えられた。これに対して、5群のラットは、Zone 3での滞留時間が2～4群よりも長くなっており、プラットホームがあった位置の横切り回数も多く、1群に近い値となった。このことから、アルンド酸とタルチレリンの併用により、記憶の読み出し（想起）を改善することが示された。一方、2～4群もZone1、Zone2、Zone4の滞在時間が極端に短くなることはなく（表6）、1～5群の間で平均遊泳速度には差は認められなかったことから（表7）、四血管閉塞処置による運動機能の低下の可能性はないと考えられた。したがって、得られた結果は学習能力及び記憶能力に依存するものであり、アルンド酸とタルチレリンの併用投与には、Morris水迷路試験で評価される空間学習能力及び空間記憶能力を改善する効果があると考えられる。

【0108】

この空間学習能力及び空間記憶能力の改善効果は、HE染色による海馬CA1領域の病理組織標本からも裏付けられた（表8及び図3A、B、C）。四血管閉塞再開通モデルでは、虚血後3～7日に海馬CA1錐体細胞の遅発性神経細胞死が認められる（Johansen F. F., et al.: Acta Neuropathologia 61,135-140 1983）。今回の実験でも虚血1週間後のMorris水迷路試験で遅発性神経細胞死によると考えられる到達時間の延長が認められた。また、表8及び図3A、B、Cに示すように四血管閉塞の処置28日後において、海馬CA1神経細胞の脱落が認められた。その脱落は遅発性神経細胞死が生じた後に投与（治療）されたタルチレリンでも同様に観察されたが、アルンド酸ならびにアルンド酸とタルチレリンの併用投与では遅発性神経細胞死は軽微なものであった。しかしながら、アルンド酸は海馬CA1神経細胞の再生を促したにもかかわらず、Morris水迷路試験における空間学習能力及び空間記憶能力に影響しなかった。一方、アルンド酸とタルチレリンの併用投与では空間学習・記憶能力を改善させたことから、アルンド酸により再生された神経細胞がタルチレリンによって神経回路の構築が促進された結果、空間学習能力及び空間記憶能力の改善効果を発揮されたと推察された。また、アルンド酸とタルチレリンの併用投与により神経細胞再生と神経回路形成の促進が示唆されたことから、アルンド酸とタルチレリンの併用投与は、他の神経変性疾患や脳梗塞においても、神経再生と回路形成を促進する効果が期待される。

【0109】

10

20

【表 8】

群	一群 (匹数)	4-VO	動物番号	CA1 脱落の有無及び程度	
				左	右
1	6	-	101	-	-
			102	-	-
			103	-	-
			104	-	-
			105	-	-
			106	-	-
2	4	+	201	+++	+++
			202	++	++
			203	+++	+++
			204	++	+++
3	4	+	301	+	+
			302	-	-
			303	+	+
			304	-	-
4	4	+	401	+++	+++
			402	++	++
			403	++	++
			404	+++	+++
5	4	+	501	++	+
			502	+	++
			503	+	+
			504	+	++

-: 脱落なし、+: 神経細胞の脱落（軽度）、++: 神経細胞の脱落（中等度）、

+++: 神経細胞の脱落（重度）

【0110】

さらに、アルンド酸とタルチレリンを併用する場合の用量はそれぞれを単独で用いる場合の約1/3であるにもかかわらず、上記効果が得られた。したがって、アルンド酸とタルチレリンの併用は、アルンド酸及びタルチレリンの副作用を低減させた状態で上記効果が得られると期待される。また、アルンド酸には独特の苦みがあるが、アルンド酸とタルチレリンを併用する場合、用量が低いことから、服用時の不快感も軽減されることが期待される。

【0111】

II. 実施例 2

以下の方法により、アルンド酸塩を合成した。

1. 合成例 1（塩化カルシウム法）

アルンド酸100 μ L（90.8 mg、0.487 mmol、 $d = 0.908$ ）に1N水酸化ナトリウム1000 μ L（1.0 mmol）を加え溶解し、無色澄明な溶液を得た。この溶液に1M 塩化カルシウム（ CaCl_2 ）を100 μ L加え塊状の白濁物を形成させ、超音波破碎を行いさらに塊状白濁物を分散させた。水分を蒸発させて白濁物を乾固し固体を得た。

得られた化合物についてFT-IR、熱分析、及び元素分析を行った。FT-IRは、FT-IR装置（サーモフィッシャーサイエンティフィック製Nicolet iS5 FT-IR）にATRアタッチメント（iD5ATR）を装着して、ATR法により測定した。測定は大阪新薬株式会社に依頼した。熱分析には、TG/DTA装置（リガク製Thermoplus EV02 TG8121）およびDSC装置（リガク製Thermoplus EV02 DSC8231）を使用した。アルミ製の試料容器を用いて、TG/DTAは200 mJ/min、DSCは50 mJ/minの窒素気流中で、いずれの場合も、昇温速度は50 C/minで測定した。なお、DSCはアルミ蓋を載せクリンプせずに測定した。元素分析は、C、H、Nコーダーによる定量分析を住化分析センターに、ICP発光によるNaおよびCaの定量分析を京都府中小企業技術センターに試験委託した。

【0112】

10

アルンド酸のFT-IRの結果を図4Aに、得られた化合物のFT-IRの結果を図4Bに、示す。また、得られた化合物の熱分析（熱重量測定TG、示差熱分析DTA、示差走査熱量測定DSC）の結果を図5に示す。

また、元素分析の結果は、C:48.5%、H:7.8%、N:<0.3、Na:19.5、Ca:4.77であった。

【0113】

2. 合成例2（炭酸カルシウム法）

アルンド酸を低級アルコール（メタノールやエタノールなど）に溶解し、この溶液に炭酸カルシウム $\text{Ca}(\text{CO}_3)_2$ を当量加える。析出したカルシウム塩をろ過分取し、アルコールで洗浄する。析出したカルシウム塩を精製水に再溶解させ、精製水を蒸発させた後、アルコールで洗浄し、再結晶を得る。

20

【0114】

3. 合成例3（アンモニア法）

アルンド酸100 μL （90.8 mg、0.487 mmol、 $d = 0.908$ ）に1N水酸化ナトリウム1000 μL （1.0 mmol）を加え溶解し、無色澄明な溶液を得た。この溶液にアンモニア（ NH_3 ）水を100 μL 加えた後、水分を蒸発させて固体を得た。得られた固体について、合成例1と同様にFT-IR、熱分析、及び元素分析を行った。

【0115】

III. 実施例3

以下の方法により、アルンド酸カルシウム塩を合成した。本実施例において、単位1 e. q.（当量）はアルンド酸カルボキシル基1 molをちょうど中和することができる塩基量（mol）を示す。

30

1. 試薬

本項におけるアルンド酸カルシウム塩の合成には、下記表9に示す試薬を用いた。

【0116】

【表 9】

試薬名	Grade	メーカー名	Lot No.
アルンド酸		ソフトケミカル社	CS04818-503
水酸化カルシウム(Ca(OH) ₂)	AR	Sinopharm Chenmical Reagent	F20070126
塩化カルシウム(CaCl ₂)	AR	Shanghai Experiment Reagent	20150107
水酸化ナトリウム	AR	Shanghai Experiment Reagent	20150111
メタノール	HPLC	Merck	10886807715
エタノール	HPLC	J.T.Baker	0000155943
Acetone	AR	CINC Technologies (Shanghai)	07306090
メチル tert-ブチルエーテル(MtBE)	AR	CINC Technologies (Shanghai)	15307010
アセトニトリル (ACN)	HPLC	Merck	TA055230
テトラヒドロフラン(THF)	HPLC	MACRON	1612529801
ジクロロメタン(DCM)	HPLC	ANPEL Laboratory Technologies (Shanghai) Inc.	4012001.4000
ヘプタン	AR	Shanghai Experiment Reagent	2000144
酢酸エチル (EA)	AR	CINC Technologies (Shanghai)	093070101
2-プロパノール (IPA)	HPLC	Sigma-Aldrich	WXBC5107V
メチルエチルケトン(MEK)	AR	Sinopharm	1800228187
34805-HYDRANAL- Composite 5	KF titration reagent	Honeywell	SZBG2980H

【 0 1 1 7 】

2 . 解析方法

合成された各化合物の解析は、以下の装置、及び解析条件にて行った。

2 - 1 . 粉末X線回折 (XRPD)

XRPDには、X-ray Powder Diffractometer (D8 advance、Bruker) を使用した。解析条件は以下の通りである。

- チューブ: Cu: K- Alpha ($\lambda = 1.54179$) .
- ジェネレーター: Voltage: 40 kV; Current: 40 mA.
- 走査範囲: 3 to 40 deg;
- サンプル・回転速度 15 rpm.
- 走査速度: 10 deg./min

【 0 1 1 8 】

2 - 2 . 示差走査熱量測定 (DSC)

DSCには、Differential Scanning Calorimetry (Q2000、TA Instruments) を使用した。サンプル (~ 1 mg) を、ピンホールを備えた気密アルミニウムパンに入れ、10 /min. で25 から300 まで加熱した。

【 0 1 1 9 】

2 - 3 . 熱重量分析 (TGA)

TGAには、Thermal Gravimetric Analysis (Q5000IR、TA Instruments) を使用した。サンプル (3 ~ 5 mg) を、開放型気密プラチナパンに入れ、25 mL/minのN₂存在下で10 /minで30 から300 、又は25 mL/minのN₂存在下で10 /minで重量%が投入時重量の80%になるまで加熱した。

【 0 1 2 0 】

2 - 4 . ¹H NMR解析

^1H NMR解析は、次の方法に従って、 ^1H proton Nuclear Magnetic (Ultrashield、Bruker) を使用して行った。サンプル (10 mg) を1.0 mLメタノール- d_4 (MeOD) に溶解し、このサンプルを磁場強度400 MHzで解析した。

【 0 1 2 1 】

2 - 5 . 偏光顕微鏡 (PLM)

偏光顕微鏡は、5メガピクセルCCDを搭載したLV100 PL (Nikon) を使用した。

【 0 1 2 2 】

2 - 6 . 高速液体クロマトグラフィー (HPLC)

HPLCには、Agilent 1260 (Agilent) を使用した。条件は表 1 0 に示す。

【 0 1 2 3 】

【表 1 0 】

装置	High Performance Liquid Chromatograph		
カラム詳細	Eclipse plus C18 3.5 um_959961-902		
カラム温度	25°C		
移動相 A	0.1% FA in water		
移動相 B	Acetonitrile		
流速	1 mL/min		
勾配プロファイル	Time (mins)	% Mobile Phase A	% Mobile Phase B
	0.00	95	5
	15.00	5	95
	15.10	95	5
	20.00	95	5
流速	1.0 mL/min		
検出波長	210 nm		
インジェクション容量	10 μL		
希釈	メタノール		

【 0 1 2 4 】

2 - 7 . 化合物の構造推定

化合物の構造は、アルンド酸 (R - (-) アルンド酸) とカルシウムイオン (Ca^{2+}) の分子構造の情報から推定した。後述するICP-OESの解析値、KF滴定の結果、NMRの結果に基づいて、特徴の推定、化学量論の確認を行った。

【 0 1 2 5 】

2 - 8 . 誘導結合プラズマ原子発光分光法 (ICP-OES)

サンプル100 mgをマイクロウェーブ下で塩酸6mL及び硝酸2mLの混合液に溶解し、Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer (700 Series、Agilent) を使って、下記条件で解析した。

- Transmit power: 1.3 KV.
- Carrier gas: Ar.
- Plasma gas flow: 15 L/min.
- Auxiliary gas flow: 1.5 L/min.
- Atomizer pressure: 220 KPa.
- Detection mode: axial observation.
- Calibration type: linear.

【 0 1 2 6 】

2 - 9 . カール・フィッシャー (KF) 滴定

容積KF滴定装置Volumetric Karl Fischer (V20、Mettler-Toledo) に溶媒としてメタノールを入れ、サンプル100 mgを投入した。HYDRANAL- Composite 5で、終点まで滴定した。

【 0 1 2 7 】

3 . 参考合成例 1 ~ 7

102 μ L (100 mg) のアルンド酸を500 μ Lのエタノール、アセトン、又はメタノールに溶解した。そこに22.1 mgの $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 、0.35g/mlの CaCl_2 (100 μ L) 又は0.54 g/mLのNaOH水溶液50 μ Lを添加した (参考合成例 1 : エタノールと CaCl_2 の組み合わせ、参考合成例 1 : エタノールと $\text{Ca}(\text{OH})_2$ の組み合わせ、参考合成例 3 : アセトンと CaCl_2 の組み合わせ、参考合成例 4 : アセトンと $\text{Ca}(\text{OH})_2$ の組み合わせ、参考合成例 5 : メタノールと CaCl_2 の組み合わせ、参考合成例 6 : メタノールと $\text{Ca}(\text{OH})_2$ の組み合わせ、参考合成例 7 : メタノールとNaOHの組み合わせ) 。添加後のバイアルを50 $^\circ\text{C}$ まで加温し、50 $^\circ\text{C}$ で2時間インキュベートした。参考合成例 1 ~ 7 では、結晶は得られなかった (図示せず) 。

【 0 1 2 8 】

4 . 合成例 4 ~ 8 及び参考合成例 8 ~ 1 2

22.12 mgの $\text{Ca}(\text{OH})_2$ を複数の2 mLバイアルにそれぞれ計量した。そこにそれぞれ102 μ L (100 mg) のアルンド酸を加えた。 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ とアルンド酸が入れられたバイアルそれぞれに、異なる溶媒を500 μ Lずつ加えた。溶媒として、MtBE (合成例 4)、ACN (合成例 5)、THF (合成例 6)、DCM (合成例 7)、ヘプタン (合成例 8) を使用した。溶媒添加後のバイアルを50 $^\circ\text{C}$ まで加温し、50 $^\circ\text{C}$ で18時間インキュベートした。その後前記バイアルを25 $^\circ\text{C}$ まで冷却し、25 $^\circ\text{C}$ で1時間インキュベートした。インキュベーションが終わったバイアル中の液体は、懸濁液となった。懸濁液を遠心し、残渣固形成分と上澄み液とを分離した。残渣固形成分と上澄み液を、真空オーブンを使用して30 $^\circ\text{C}$ で3時間乾燥させた。乾燥後得られたそれぞれの固形成分について、XRPDで解析を行った。

表 1 1 に合成例 4 ~ 8 の性状を示す。

【 0 1 2 9 】

【表 1 1】

合成例	Base	Solvents	Observation	XRPD Result	
				Solids from suspension	Solids from liquid
4	$\text{Ca}(\text{OH})_2$ (0.55 e.q.)	MtBE	Suspension	Pattern C-I	Pattern C-I
5		ACN	Oil came out	Pattern C-I	N/A
6		THF	Suspension	Partially amorphous	Partially amorphous
7		DCM	Frozen*	Pattern C-I	N/A
8		Heptane	Suspension	Few $\text{Ca}(\text{OH})_2$ + amorphous	Amorphous

*: この系は凍結し残渣固形成分と上澄み液を分離することができなかったため、反応液全体をオーブンに入れ乾燥させた。

【 0 1 3 0 】

また、図 6 及び図 7 に各固形成分のXRPD解析の結果を示す。XRPD解析において、2 $^\circ$ ($^\circ$) (2 -Theta ($^\circ$)) 5 ~ 7 付近に、新たなピークパターン (「パターンC-I」とする)

が確認できた。合成例 4 ～ 8 の残渣固形成分には、アルンド酸カルシウム塩と思われる固形成分が存在していることが示された（図 6）。合成例 4、6、8 については上澄み液から得られた固形成分にもアルンド酸カルシウム塩が存在していると考えられた（図 7）。

【 0 1 3 1 】

次に、 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ に代えて CaCl_2 を使用して $\text{Ca}(\text{OH})_2$ と同様のプロトコールでアルンド酸カルシウムの合成を試みた（参考合成例 8（MtBE）、参考合成例 9（ACN）、参考合成例 10（THF）、参考合成例 11（DCM）、参考合成例 12（ヘプタン））。しかしながら、 CaCl_2 では、XRPD 解析において、新たなピークは認められなかった（図示せず）。

5．合成例 9 及び参考合成例 13

次に、アルンド酸のナトリウム塩を調製し、アルンド酸ナトリウムからアルンド酸カルシウムを調製する方法を試みた。

【 0 1 3 2 】

5 - 1．参考合成例 13

102 μL （100 mg）のアルンド酸を 500 μL のアセトンに溶解し、この溶液に 0.54 g/mL の NaOH 水溶液 50 μL を加えた。この溶液を 50℃ まで加温し、50℃ で 2 時間インキュベーションした。0.35 mg/mL の CaCl_2 水溶液（100 μL ）をインキュベーションが終わった溶液に加えた。この反応により油性成分が現れた。さらにそこに 400 μL の水を加え、50℃ で 2 時間インキュベートし、その後 25℃ まで冷却し、25℃ で 20 時間インキュベートした。油状成分はそのまま変化せず、固形化しなかった。

【 0 1 3 3 】

5 - 2．合成例 9

102 μL （100 mg）のアルンド酸を 500 μL の THF に溶解し、この溶液に 0.54 g/mL の NaOH 水溶液 50 μL を加えた。この溶液を 50℃ まで加温し、50℃ で 4 時間インキュベーションした。その後インキュベーションが終わった溶液を 25℃ まで冷却し、25℃ で 20 時間インキュベートした。0.35 mg/mL の CaCl_2 水溶液 100 μL をインキュベーションが終わった溶液に加えた。この反応により懸濁液が得られた。この懸濁液を 50℃ まで加温し、50℃ で 2 時間インキュベートし、その後 25℃ まで冷却した。懸濁液は、遠心して残渣固形成分と上澄み液（母液）を分離した。母液は、30℃ の吸引オープンで 17 時間乾燥させた。その結果、ゲル状の固体が得られた。懸濁液の残渣固形成分と、母液から得られた固形成分を XRPD で解析した。

【 0 1 3 4 】

5 - 3．結果

合成例 9 及び参考合成例 13 で得られる化合物の性状を表 1 2 に示す。また、図 8 に XRPD の結果を示す。

【表 1 2】

	Base	Solvents	Observation	XRPD Result	
				Solids from suspension	Solids from liquid
合成例 9	1.1 e.q. NaOH	THF	Suspension	NaCl	Amorphous
参考合成例 13	+ 0.55 e.q. CaCl_2	Acetone: water (1v:1v)	Oil came out	N/A	N/A

合成例 9 では、母液からアモルファスが得られたが、残渣固形成分は NaCl であった。参考合成例 13 では、固形成分は得られなかった。

【 0 1 3 5 】

6．合成例 1 0

アルンド酸カルシウムの合成系として、上記合成例 4 の系を用い 1200mg のアルンド酸を使用してスケールアップを試みた。

【 0 1 3 6 】

44.24 mgのCa(OH)₂と、204 μL (200 mg) のアルンド酸を1.0mLのMtBEに懸濁した。懸濁液を40℃まで加温し、40℃で24時間インキュベートした。その後懸濁液を25℃まで冷却した。一部の固形成分は溶解せず、非常に粘性が高くなった。溶媒を吸引オープンで乾燥し、ゲル状の固形成分を得た。この固形成分を2.0 mLのメタノールに溶解した。溶解せずに残った固形成分を遠心分離で除去し、上澄み液を回収した。当該上澄み液（母液）に対して吸引下で回転蒸発を行った。湿った残渣を吸引オープンを使用して30℃で65時間乾燥させた。乾燥後得られたそれぞれの固形成分について、¹H NMR、XRPD、DSC、TGA及びPLMの解析を行った。

【 0 1 3 7 】

合成例10で得られる化合物の性状を表 1 3 に示す。また、¹H NMR、XRPD、DSC、TGA及びPLMの結果をそれぞれ図 9 ~ 12に示す。

【 0 1 3 8 】

【表 1 3】

	Base	Solvents	Observation	XRPD Result	
				Solids from suspension*	Solids from liquid
合成例 10	0.55 e.q. Ca(OH) ₂	MtBE	Suspension	N/A	Pattern C-I

【 0 1 3 9 】

¹H NMRにおいて、合成例10で母液から得られた固形成分の水素の総数は理論値と一致していた。MtBE又はメタノールの残留は認められなかった（図 9）。XRPDでは、合成例10において母液から得られた固形成分は、合成例 4 と同じピークパターンC-Iを示した（図10）。合成例10のDSCスキャン（図11）では、1つの吸熱ピークが92.04℃に現れ、続いて147.50℃に別の吸熱が現れた。TGAスキャンでは、25.4℃から143.3℃までで4.11%の重量減少を示した。また、143.3℃から237.7℃までで0.78%の重量減少を示した。偏光顕微鏡観察では、結晶が確認された（図12）。

【 0 1 4 0 】

7. 合成例11

次に、500mgのアルンド酸を用いて、合成例9の系のスケールアップを試みた。

510 μL (500 mg) のアルンド酸を500 μLのTHFに溶解し、この溶液に0.54 g/mLのNaOH水溶液250 μLを加えた。この溶液を50℃まで加温し、50℃で3時間インキュベートした。溶液は透明になった。その後インキュベーションが終わった溶液に0.33g/mLのCaCl₂水溶液500 μLを加えた。この反応により懸濁液が得られた。この懸濁液を50℃で3時間維持し、その後25℃まで冷却し、25℃で30分インキュベートした。懸濁液は、遠心して残渣固形成分と上澄み液（母液）を分離した。残渣固形成分は2.0mLのTHFで洗浄した。母液は、吸引下で回転蒸発させ溶媒を除去した。湿った残渣を吸引オープンを使用して30℃で65時間乾燥させた。乾燥後得られたそれぞれの固形成分について、¹H NMR、XRPD、DSC、TGA及びPLMの解析を行った。残渣固形成分を、XRPDで解析した。

【 0 1 4 1 】

合成例11で得られる化合物の性状を表 1 4 に示す。また、¹H NMR、XRPD、DSC、TGA及びPLMの結果をそれぞれ図13~16に示す。

【 0 1 4 2 】

【表 1 4】

	Base	Solvents	Observation	XRPD Result	
				Solids from suspension	Solids from liquid
合成例 11	1.1 e.q. NaOH + 0.55 e.q. CaCl ₂	THF	Suspension	NaCl	Amorphous

【 0 1 4 3】

10

¹H NMRにおいて、合成例11で母液から得られた固形成分の水素の総数は理論値と一致していた。しかしながら、約0.38%のTHFが残留していた（図13）。XRPDでは、合成例11の懸濁液の残渣固形成分はNaClであることが示された（図14）。合成例11において母液から得られた固形成分はアモルファスフォームであった（図14）。合成例11のアモルファス固体のDSCスキャン（図15）によれば、TGAスキャンでは、27.6 から135.1 までで4.06%の重量減少を示した。また、135.1 から196.0 までで2.65%の重量減少を示した。偏光顕微鏡観察では、結晶が確認された（図16）。

【 0 1 4 4】

8 . 合成例12

アルンド酸カルシウムの合成方法としては、合成例 4 の系がシンプルであり、且つ純度の高い化合物を得ることができた。そこで、この系を使って 6 gのアルンド酸からの合成を試みた。

20

【 0 1 4 5】

1.33 gの Ca(OH)₂と、6120 μl (6g) のアルンド酸を30 mLのMtBEに懸濁した。懸濁液を50 まで加温し、50 で21時間インキュベートした。その後懸濁液を25 まで冷却した。いくつかの固形成分は溶解せず、依然として不透明であった。懸濁液を8000r.p.m.で5分遠心し、不溶性の固形成分を除去し、上澄み液（母液）を回収した。母液の溶媒を回転蒸発により除去した。得られた湿った残渣を吸引オープンを使用して30 で2時間乾燥させた。乾燥後得られたそれぞれの固形成分（以下 「合成例12化合物」とする）について、¹H NMR、XRPD、DSC、TGA、PLM、論理構造、純度、溶解性の解析を行った。また、前記固形成分中のカルシウム含有量を、誘導結合プラズマ原子発光分光法（ICP-OES）で測定した。また、水分含有量をカール・フィッシャー（KF）滴定で測定した。

30

【 0 1 4 6】

合成例12で得られる化合物の性状を表 1 5 に、純度を表 1 6 に、溶解性を表 1 7 に示す。また、¹H NMR、XRPD、DSC、TGA、PLM、論理構造、HPLCの結果をそれぞれ図17～22に示す。

【 0 1 4 7】

【表 1 5】

	Observation	XRPD Results	Calcium content (measured by ICP-OES)	Theoretical calcium content	Water content (KF)
合成例 12	Suspension	Pattern C-I	10.34%	9.76%	5.03%

40

【 0 1 4 8】

¹H NMRにおいて、合成例12化合物の水素の総数は理論値と一致していた。MtBEの残留は認められなかった（図17）。XRPD解析では、合成例12化合物のピークパターンはC-Iを示した（図18）。また、合成例12化合物のXRPDの各ピークを数値化した表を図28に示す。合

50

成例12化合物のDSCスキャン（図19）によれば、1つの吸熱ピークが151.1 に現れた。TG Aスキャンでは、35 から150 までで4.6%の重量減少を示した。偏光顕微鏡観察では、合成例12化合物は、アモルファス状であった（図20）。合成例12化合物のカルシウム含有量は、10.34%であった（表15）。前記固形成分のアルンド酸の含有量は、83.85%でありアルンド酸とカルシウムの比は1:0.57であった。水分含量は、約5.03%であった（表15）。この結果から、合成されたアルンド酸カルシウム塩にわずかに水が残っていることが示唆された。

【0149】

理論上のカルシウム含量は、図21に示すカルシウム塩の理論構造（calcium (R)-2-propyloctanoate (S)-2-propyloctanoate、Chemical Formula: C₂₂H₄₂CaO₄、分子量：410.64、Elemental Analysis: C, 64.35; H, 10.31; Ca, 9.76; O, 15.58）に基づいて9.76%と算出された。

【0150】

純度の解析は、HPLCで行った。アルンド酸又は合成例12化合物について、それぞれ100mgずつを20mLのメタノールに25 で溶解し、HPLC解析に供した。合成例12の母液からの固形成分の純度は、99.54%であり、不純物の混入は認められなかった（表16、図22）。

【0151】

【表16】

Item	Lot no.	Purity	Calculated content of arundic acid	Calcium content (ICP-OES)	Acid: calcium ratio
アルンド酸	CS04818-503	99.54%	N/A	N/A	N/A
Calcium salt	合成例 12 化合物	99.54%	83.85%	10.34%	1:0.57

【0152】

25 での異なる溶媒中のカルシウム塩の近似溶解度を、目視観察と組み合わせた手動希釈によって試験した。その結果を表17に示す。合成例12化合物は水には溶解しにくいですがエタノール、2 - プロパノール、MtBE、EA、THFには、溶解した。

【0153】

【表 17】

Solvents	Solubility at 25°C S(mg/ml)
メタノール	N/A*
エタノール	S>184.8
2-プロパノール	S>210.0
EA	S>198.8
THF	S>198.0
ACN	S<1.5
MEK	94.4<S<188.8
MtBE	S>215.2
Acetone	S<1.7
water	S<1.0

*: 常に不透明であり、透明になる濃度を決定することができなかった。

【0154】

9. 再結晶スクリーニング

9-1. スラリー法又は蒸発法による再結晶化

合成例12化合物をスラリー法又は蒸発法で再結晶化することを試みた。

再結晶化させるための各溶媒は、表18に示す。500 μ lの各溶媒に、合成例12化合物30 mgを25℃で懸濁させた。1時間攪拌した後、溶媒としてTHF、MtBE、エタノール、及び2-プロパノールを使用した系は、溶液が透明になった。これらの系については、蒸発法で再結晶化を試みた。蒸発法では、25℃で21時間溶液を空気に接触させて溶媒を蒸発させた。また、溶液が透明にならなかった溶媒系については、スラリー法で再結晶化を試みた。スラリー法では、溶液を表18に示す条件で懸濁した後、8,000 r.p.m.で5分間遠心して、溶媒を除去した。その後、残渣固形成分を20℃で2.5時間吸引オープンで乾燥させた。

結果を表18に示す。

【0155】

【表 18】

Batch no.	Solvent	Temp.	Time	Method	Observation	Crystalline
01	MeOH	25°C	21hr	Slurry	Gel-like	N/A
02	EtOH	25°C	21hr	Evaporation	Sticky liquids	N/A
03	2-Propanol	25°C	21hr	Evaporation	Sticky liquids	N/A
04	THF	25°C	21hr	Evaporation	Gel-like	N/A
05	ACN	25°C	21hr	Slurry	Suspension	Pattern C-I
06	MtBE	25°C	21hr	Evaporation	Clear liquid	N/A
07	MEK	25°C	21hr	Slurry	Clear liquid	N/A
08	H ₂ O	25°C	21hr	Slurry	Suspension	Pattern C-II
09	EA	25°C	21hr	Slurry	Gel-like	N/A
10	H ₂ O	50°C	42hr	Slurry	Suspension	Pattern C-I
11	H ₂ O	35°C	65hr	Slurry	Suspension	Pattern C-II
12	H ₂ O	35°C	89hr	Slurry	Suspension	Pattern C-II

【 0 1 5 6 】

再結晶化により、結晶が得られた系は、溶媒をACNとしたバッチNo. 05、及び溶媒をH₂OとしたバッチNo. 08、10、11、12であった。

【 0 1 5 7 】

再結晶化した固体をXRPDで解析した結果を図23及び図24に示す。バッチNo. 05と10は、ピークパターンC-Iを示した(図23)。また、バッチNo. 08、11及び12は、バッチNo. 10及び合成例12のピークパターンC-Iとは異なるC-IIを示した(図24)。図25にバッチNo. 08、10、11、12の偏光顕微鏡像を示す。

【 0 1 5 8 】

また、図29にバッチNo. 05のXRPDのピークの値を、図30にバッチNo. 08のXRPDのピークの値を、図31にバッチNo. 10のXRPDのピークの値を、図32にバッチNo. 11のXRPDのピークの値を、図33にバッチNo. 12のXRPDのピークの値を示す。

10

【 0 1 5 9 】

さらに、メタノール/水混合液、エタノール/水混合液、ACN/水混合液、THF/水混合液、EA/水混合液を溶媒としてスラリー法で再結晶化を試みたが、固形成分は得られなかった。

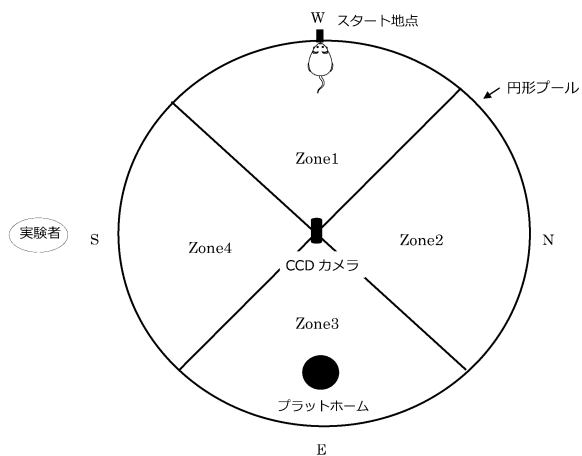
【 0 1 6 0 】

9 - 2 . 加熱法による結晶多形スクリーニング

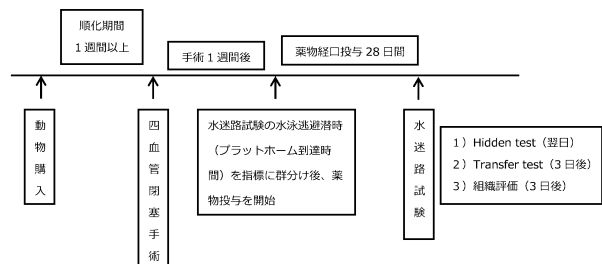
合成例12化合物30 mgを開放バイアルに入れ、60 又は80 に加熱したオープン内で19時間又は91時間インキュベートした。インキュベーション終了後、XRPD解析と偏光顕微鏡観察を行った。その結果を図26と図27に示す。19時間のインキュベーションでは、合成例12化合物の形態及びXRPDパターンに変化は認められなかった。91時間インキュベーションでも、化合物の形態に変化は認められなかった。

20

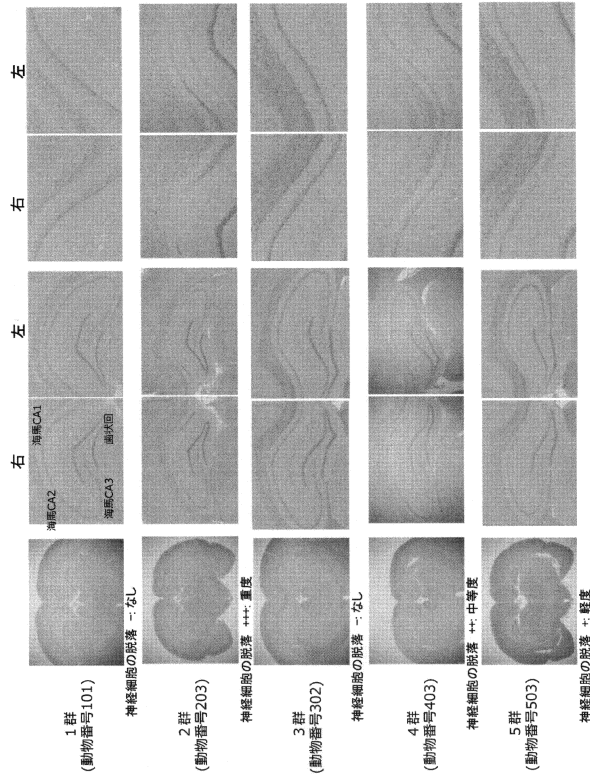
【 図 1 】



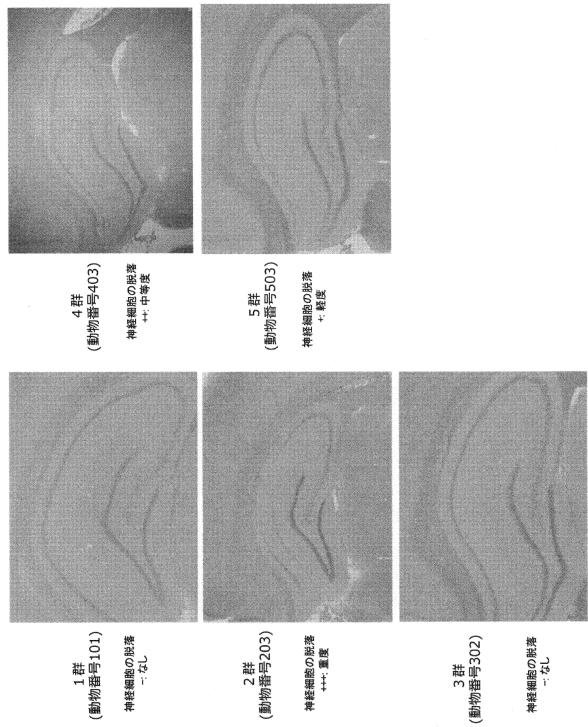
【 図 2 】



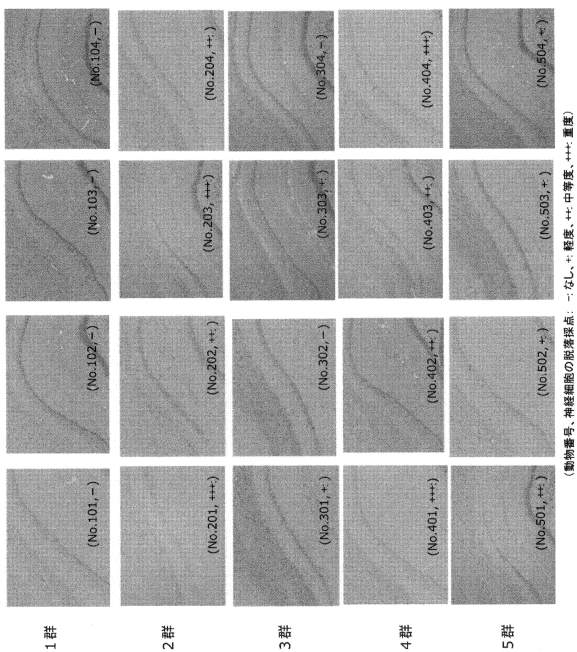
【図 3 A】



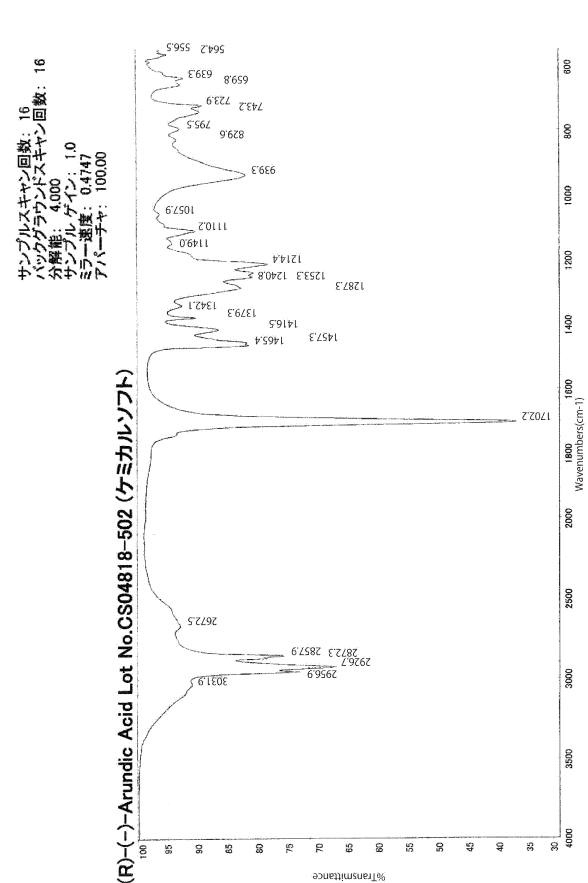
【図 3 B】



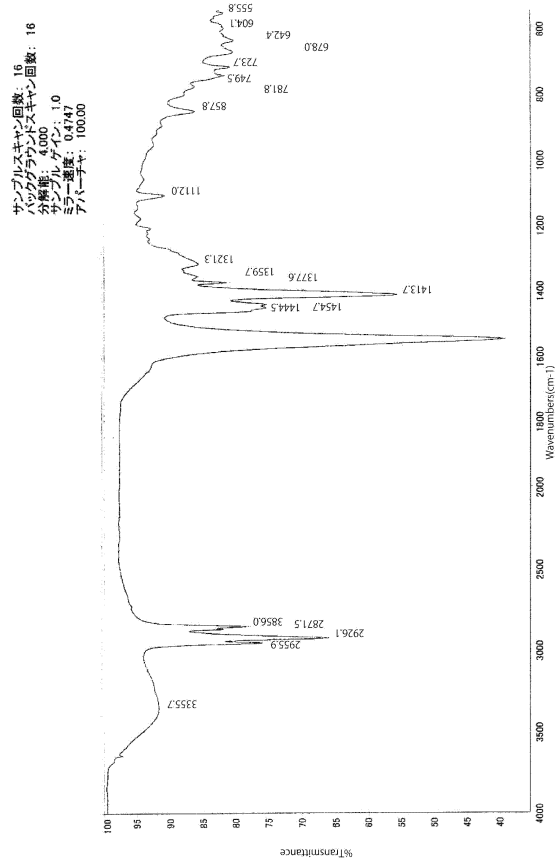
【図 3 C】



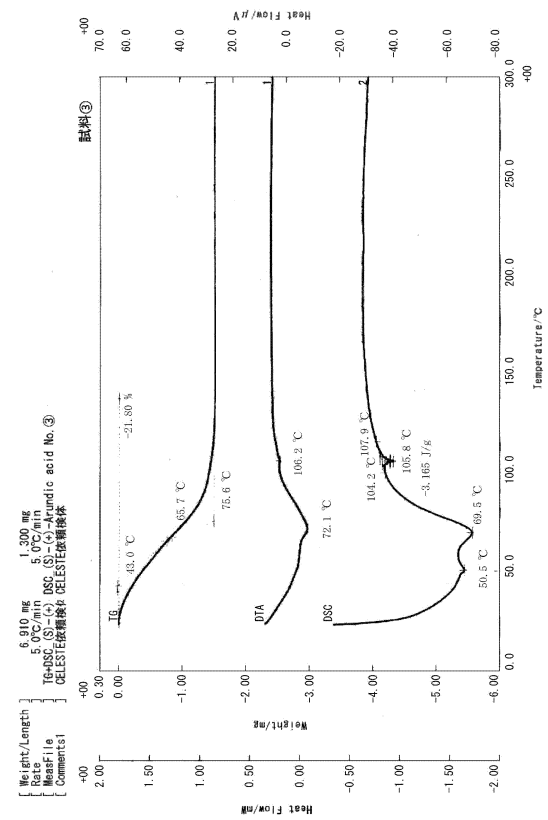
【図 4 A】



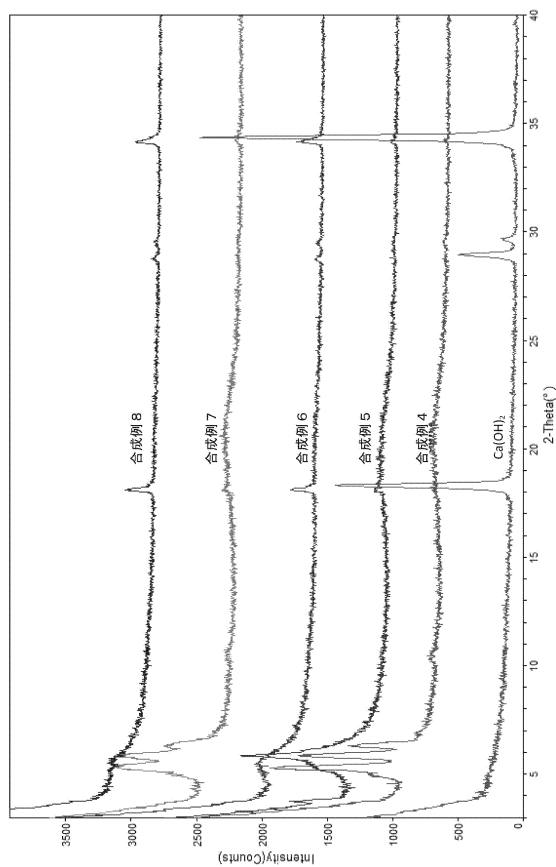
【図 4 B】



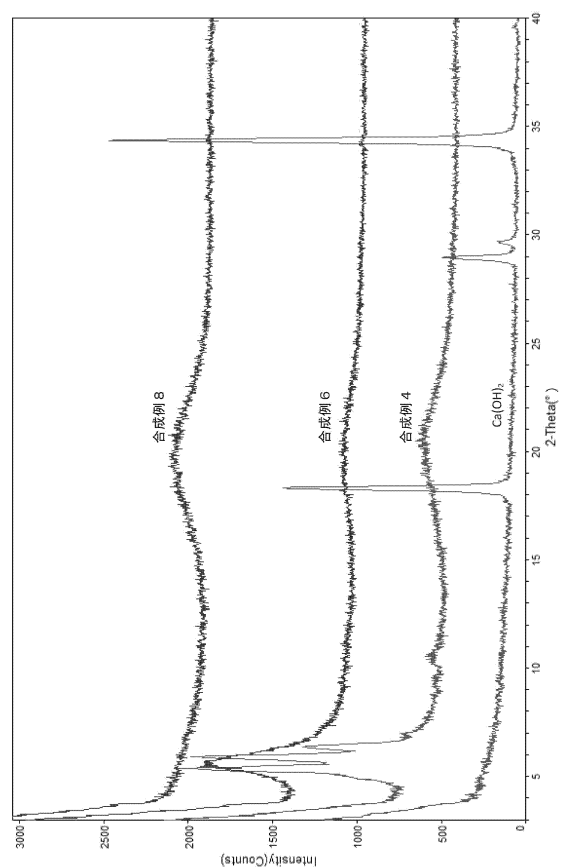
【図 5】



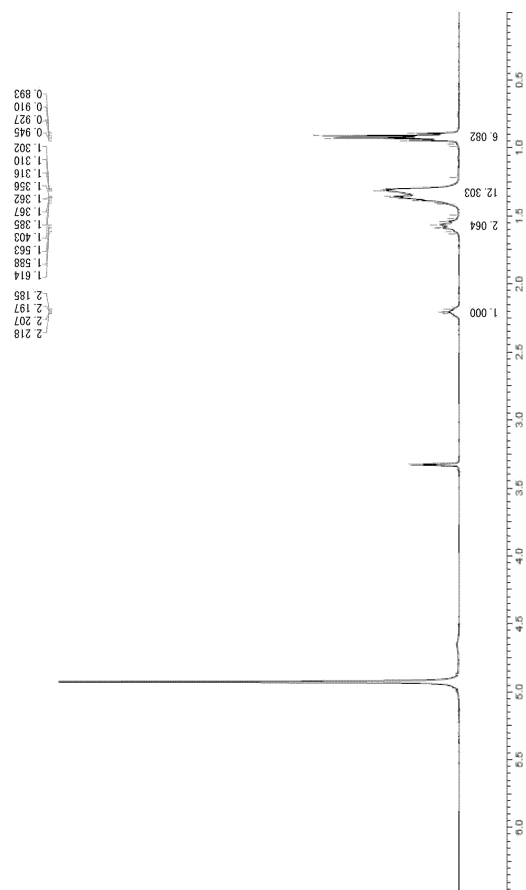
【図 6】



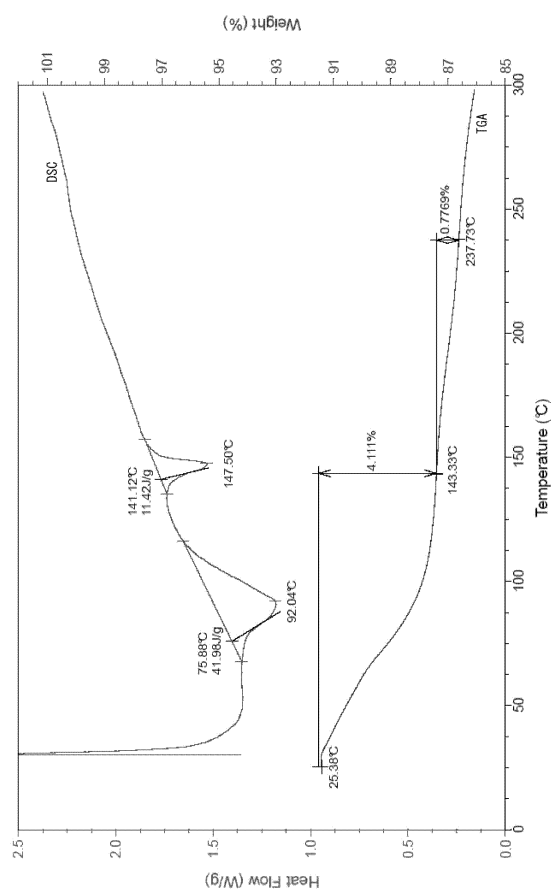
【図 7】



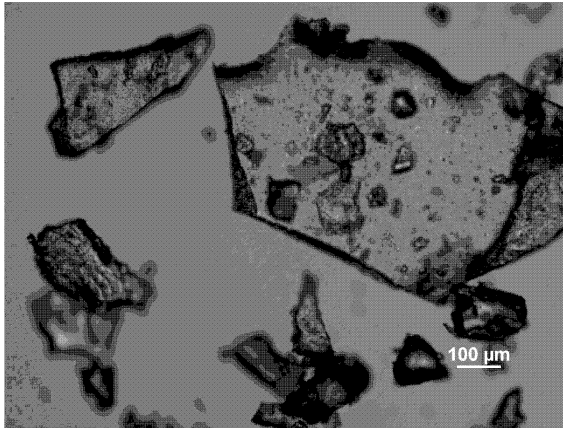
【 図 9 】



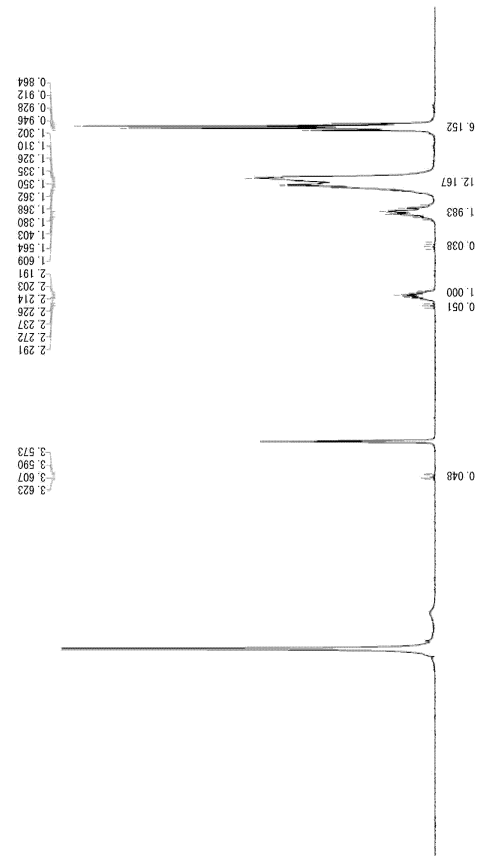
【 ㊦ 1 1 】



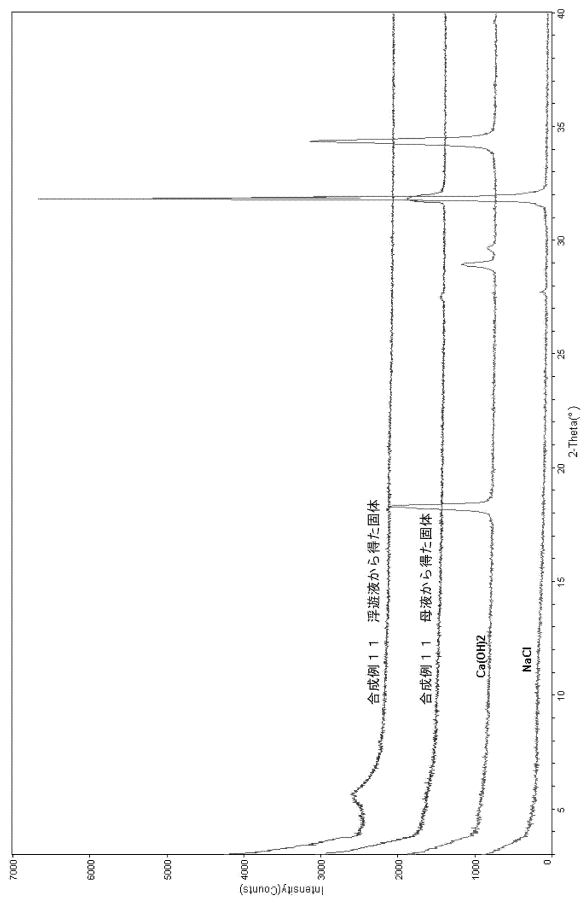
【図 1 2】



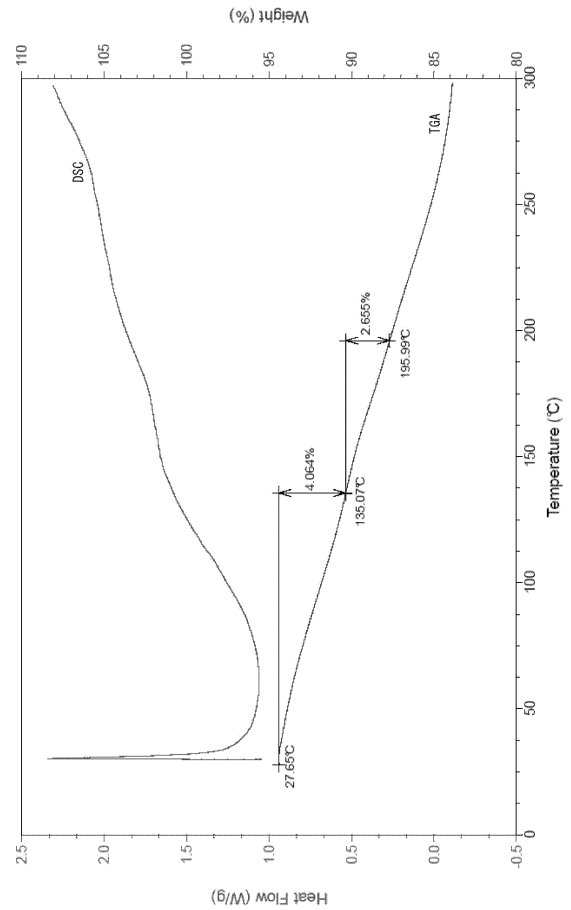
【図 1 3】



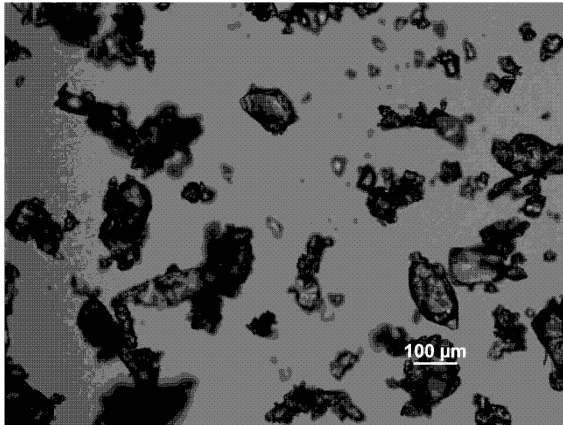
【図 1 4】



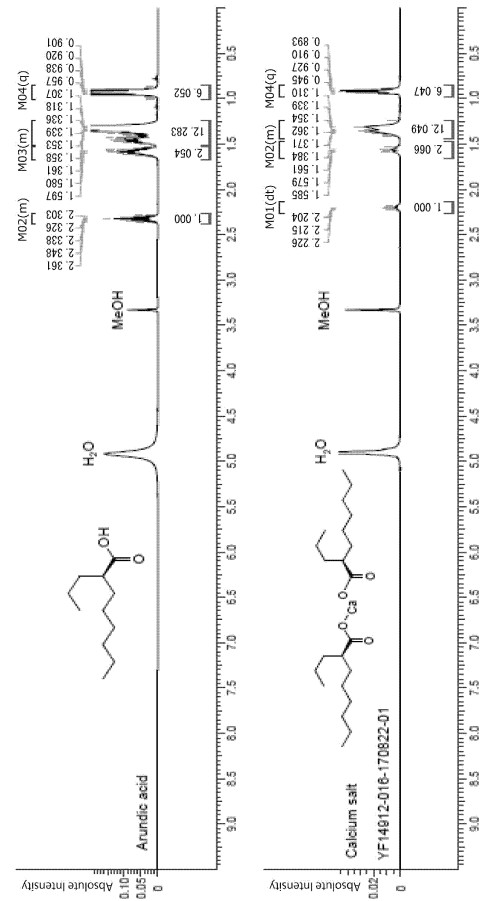
【図 1 5】



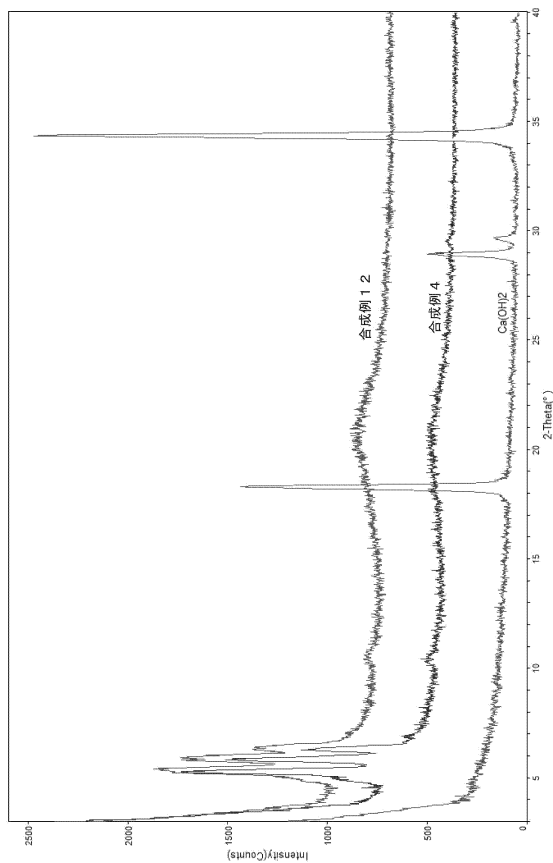
【図 16】



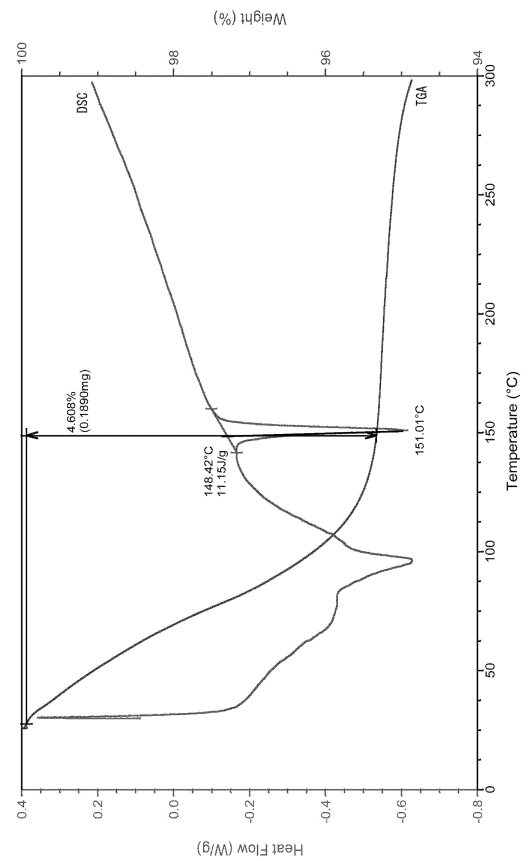
【図 17】



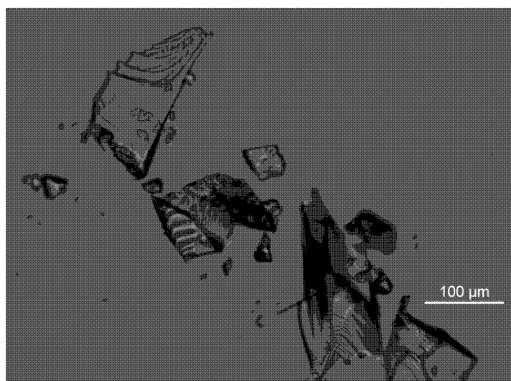
【図 18】



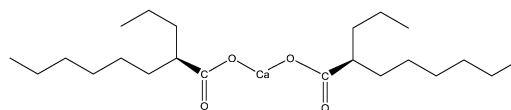
【図 19】



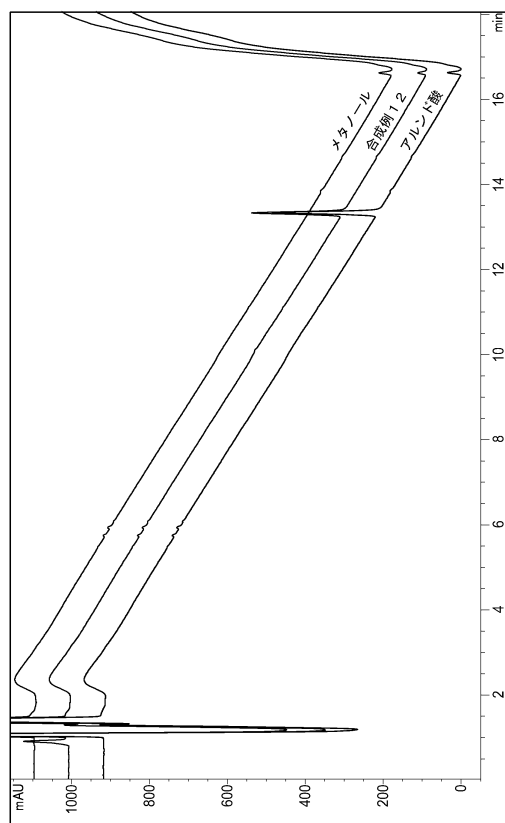
【図 20】



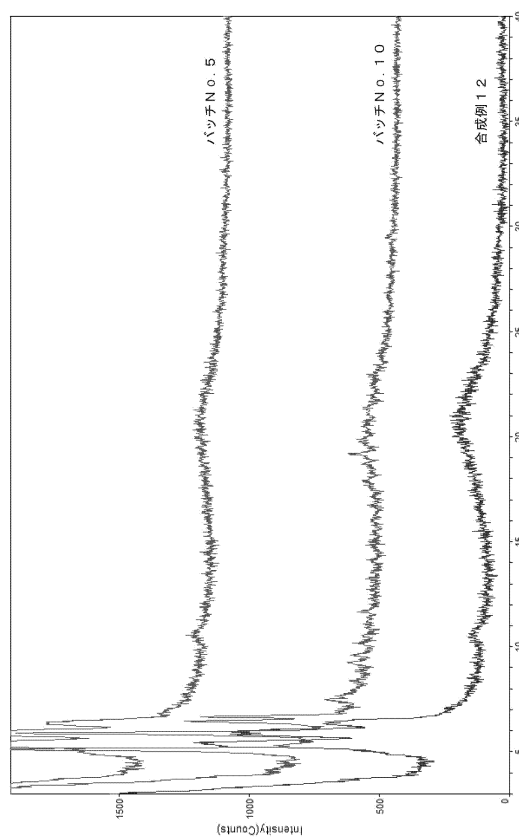
【図 21】



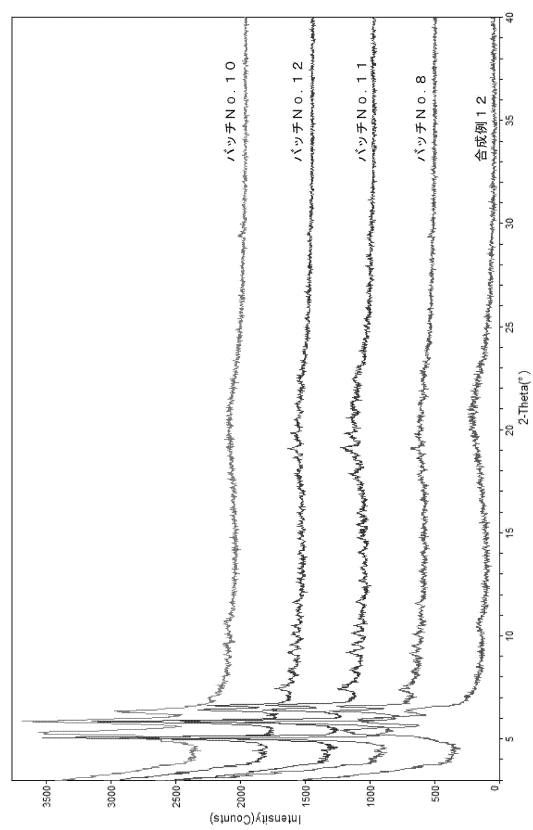
【図 22】



【図 23】



【図 2 4】



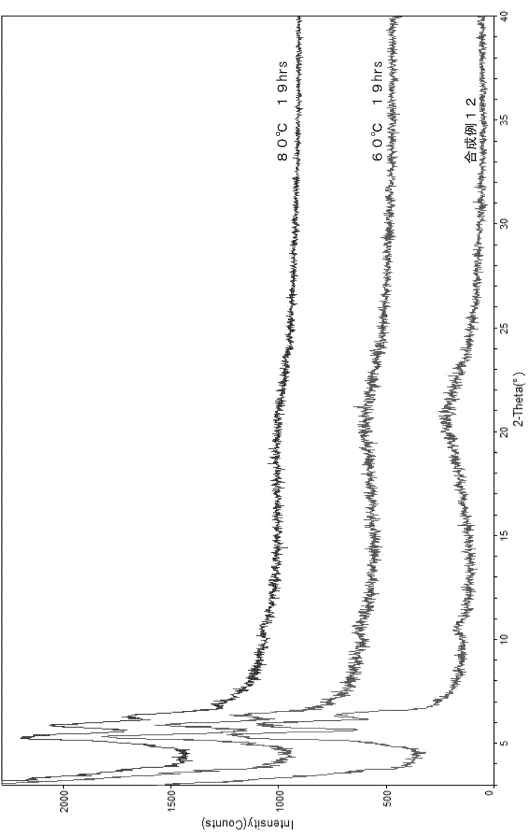
【図 2 5】

Item	Temp. (°C)	Time (hr)	PLM results	XRPD results	XRPD pattern
Slurry in water system	25	21			C-II
	35	65			C-II
	35	89			C-II
	50	42			C-I

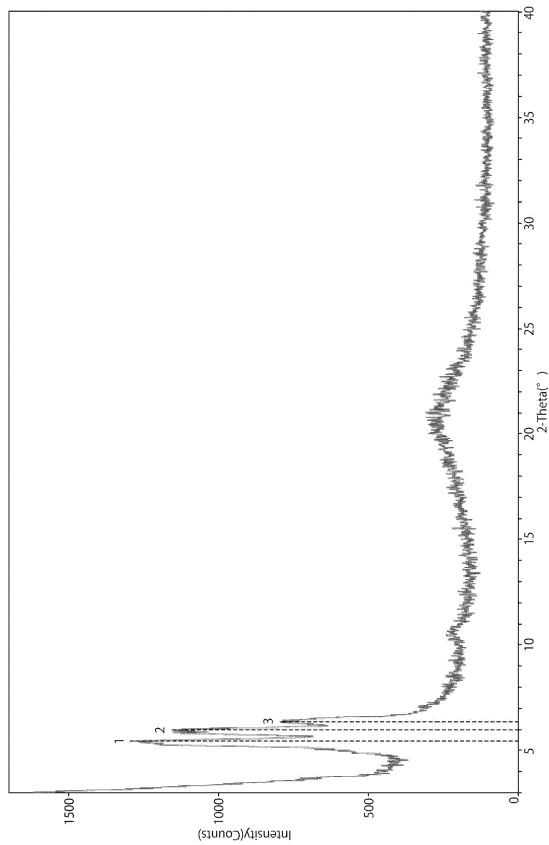
【図 2 6】

Temp. (°C)	Time (hr)	PLM results	XRPD results	XRPD pattern
60	19			C-I
80	19			C-I
60	91		N/A	N/A
80	91		N/A	N/A

【図 2 7】



【図 28 - 1】



【図 28 - 2】

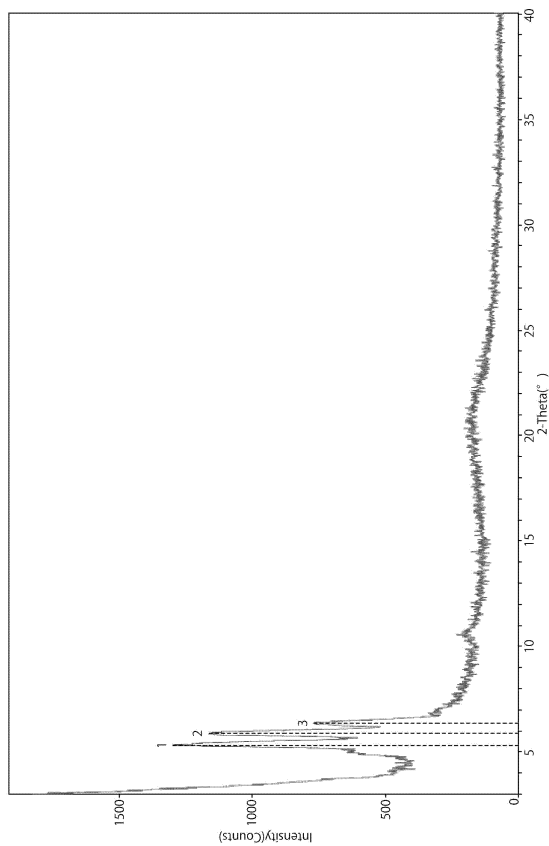
Peak Search Report (3 Peaks, Max P/N = 10.6)

PEAK: 27-pts/Parabolic Filter, Threshold=3.0, Cutoff=0.1%, BG=3/1.0, Peak-Top=Summit

No.	2-Theta	d(A)	BG	Height	Highest I%	Area	Area I%	FWHM
1	5.445	16.2176	558	735	100	17396	91.1	0.397
2	5.959	14.8191	436	719	97.8	19094	100	0.445
3	6.352	13.9031	272	522	71	11927	62.5	0.383

d(A) = d spacing(A), BG = back ground signal, Height = peak height
 I% = percentage compared with the highest area, FWHM = full width at half maximum

【図 29 - 1】



【図 29 - 2】

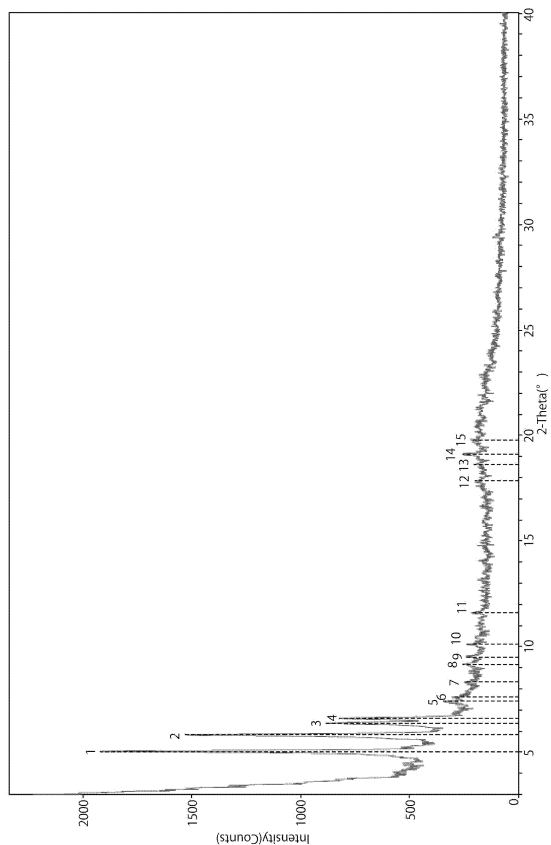
Peak Search Report (3 Peaks, Max P/N = 11.3)

PEAK: 27-pts/Parabolic Filter, Threshold=3.0, Cutoff=0.1%, BG=3/1.0, Peak-Top=Summit

No.	2-Theta	d(A)	BG	Height	Highest I%	Area	Area I%	FWHM
1	5.328	16.5727	489	812	100	16788	100	0.347
2	5.86	15.0692	421	744	91.6	15419	91.8	0.347
3	6.353	13.9007	252	515	63.4	10110	60.2	0.329

d(A) = d spacing(A), BG = back ground signal, Height = peak height
 I% = percentage compared with the highest area, FWHM = full width at half maximum

【図 30 - 1】



【図 30 - 2】

Peak Search Report (15 Peaks, Max P/N = 16.9)

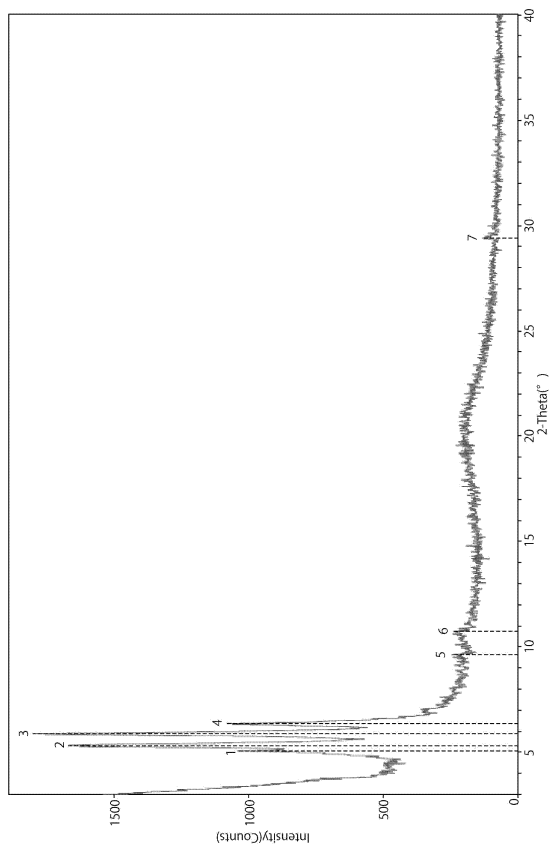
PEAK: 17-pts/Parabolic Filter, Threshold=3.0, Cutoff=0.1%, BG=3/1.0, Peak-Top=Summit

No.	2-Theta	d(A)	BG	Height	Highest I%	Area	Area I%	FWHM
1	5.034	17.5394	442	1479	100	11728	100	0.133
2	5.819	15.1766	383	1146	77.5	9887	84.3	0.145
3	6.373	13.8566	353	528	35.7	4690	40	0.149
4	6.592	13.3973	320	500	33.8	3420	29.2	0.115
5	7.41	11.9201	233	108	7.3	1324	11.3	0.206
6	7.594	11.6318	226	76	5.1	1557	13.3	0.343
7	8.316	10.6239	196	50	3.4	353	3	0.118
8	9.173	9.6333	175	78	5.3	1170	10	0.251
9	9.511	9.2909	175	64	4.3	776	6.6	0.203
10	10.098	8.7524	165	69	4.7	527	4.5	0.128
11	11.594	7.6263	152	62	4.2	767	6.5	0.207
12	17.853	4.9643	142	54	3.7	1025	8.7	0.318
13	18.63	4.7587	155	46	3.1	383	3.3	0.14
14	19.127	4.6363	160	91	6.2	698	6	0.129
15	19.804	4.4793	168	50	3.4	580	4.9	0.194

d(A) = d spacing(A), BG = back ground signal, Height = peak height

I% = percentage compared with the highest area, FWHM = full width at half maximum

【図 31 - 1】



【図 31 - 2】

Peak Search Report (7 Peaks, Max P/N = 14.4)

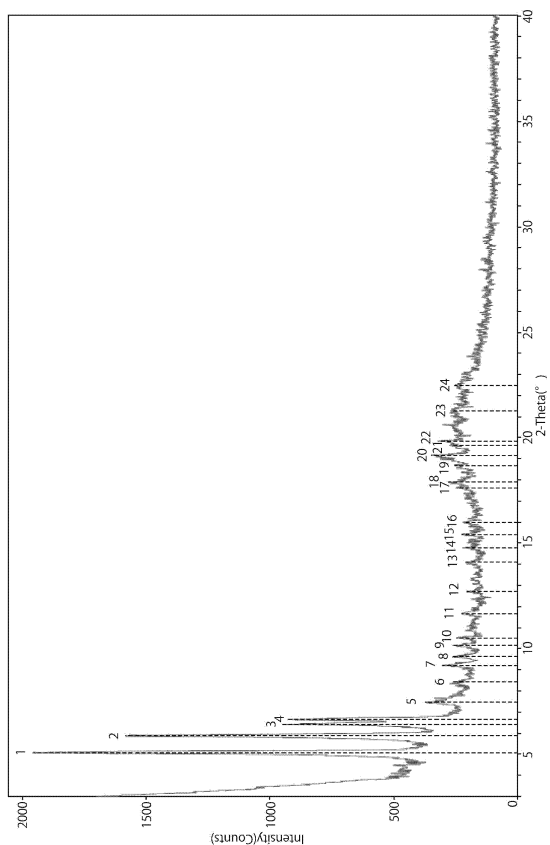
PEAK: 21-pts/Parabolic Filter, Threshold=3.0, Cutoff=0.1%, BG=3/1.0, Peak-Top=Summit

No.	2-Theta	d(A)	BG	Height	Highest I%	Area	Area I%	FWHM
1	5.054	17.4719	557	484	39.5	4713	23.9	0.163
2	5.327	16.5758	544	1127	92	19714	100	0.293
3	5.877	15.0247	577	1225	100	13170	66.8	0.18
4	6.371	13.8608	271	809	66	13210	67	0.274
5	9.628	9.1782	183	60	4.9	346	1.8	0.097
6	10.727	8.2409	172	64	5.2	1422	7.2	0.373
7	29.391	3.0364	77	51	4.2	568	2.9	0.187

d(A) = d spacing(A), BG = back ground signal, Height = peak height

I% = percentage compared with the highest area, FWHM = full width at half maximum

【図 3 2 - 1】



【図 3 2 - 2】

Peak Search Report (24 Peaks, Max P/N = 17.6)

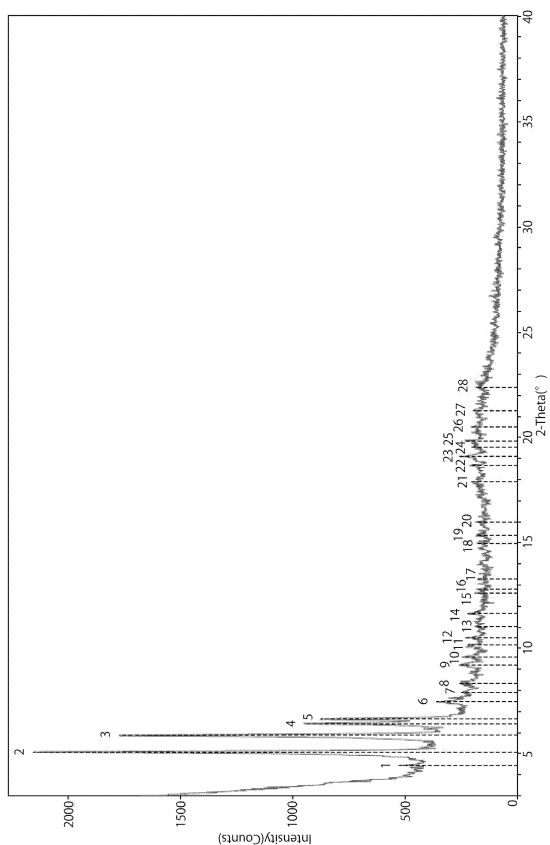
PEAK: 19-pts/Parabolic Filter, Threshold=3.0, Cutoff=0.1%, BG=3/1.0, Peak-Top=Summit

No.	2-Theta	d(A)	BG	Height	Highest 1%	Area	Area 1%	FWHM
1	5.071	17.4103	399	1559	100	14540	100	0.156
2	5.862	15.0644	352	1230	78.9	12046	82.8	0.164
3	6.416	13.7645	319	627	40.2	6953	47.8	0.186
4	6.649	13.2818	290	636	40.8	6182	42.5	0.163
5	7.471	11.8225	223	147	9.4	2117	14.6	0.241
6	8.419	10.4938	197	59	3.8	665	4.6	0.189
7	9.216	9.5884	184	118	7.6	950	6.5	0.135
8	9.608	9.1973	176	84	5.4	456	3.1	0.091
9	10.157	8.702	169	88	5.6	698	4.8	0.133
10	10.514	8.4072	175	69	4.4	466	3.2	0.113
11	11.661	7.5823	161	61	3.9	605	4.2	0.166
12	12.717	6.9553	148	53	3.4	251	1.7	0.079
13	14.085	6.2825	146	60	3.8	578	4	0.162
14	14.779	5.9892	148	70	4.5	710	4.9	0.17
15	15.422	5.7407	161	60	3.8	636	4.4	0.178
16	15.996	5.5362	163	54	3.5	347	2.4	0.108
17	17.635	5.025	176	69	4.4	1918	13.2	0.466
18	17.889	4.9542	181	96	6.2	1636	11.3	0.286
19	18.684	4.7452	193	58	3.7	1108	7.6	0.32
20	19.167	4.6268	207	138	8.9	2861	19.7	0.348
21	19.631	4.5185	213	54	3.5	999	6.9	0.31
22	19.845	4.4701	220	98	6.3	1002	6.9	0.171
23	21.249	4.1779	216	51	3.3	855	5.9	0.281
24	22.47	3.9535	189	61	3.9	1832	12.6	0.504

d(A) = d spacing(A), BG = back ground signal, Height = peak height

1% = percentage compared with the highest area, FWHM = full width at half maximum

【図 3 3 - 1】



【図 3 3 - 2】

Peak Search Report (28 Peaks, Max P/N = 18.8)

PEAK: 17-pts/Parabolic Filter, Threshold=3.0, Cutoff=0.1%, BG=3/1.0, Peak-Top=Summit

No.	2-Theta	d(A)	BG	Height	Highest 1%	Area	Area 1%	FWHM
1	4.453	19.8277	442	83	4.7	440	3.3	0.089
2	5.072	17.4091	407	1749	100	13205	100	0.127
3	5.861	15.0675	368	1403	80.2	10396	78.7	0.124
4	6.43	13.7336	356	593	33.9	4518	34.2	0.128
5	6.634	13.313	328	546	31.2	2837	21.5	0.087
6	7.46	11.8408	229	127	7.3	1318	10	0.174
7	7.919	11.1558	213	33	1.9	151	1.1	0.072
8	8.33	10.6051	189	66	3.8	517	3.9	0.131
9	9.193	9.6117	168	85	4.9	1022	7.7	0.202
10	9.591	9.2141	159	83	4.7	810	6.1	0.164
11	10.144	8.7133	155	63	3.6	698	5.3	0.186
12	10.494	8.423	157	69	3.9	614	4.6	0.149
13	11.032	8.0133	155	31	1.8	421	3.2	0.214
14	11.655	7.5867	148	70	4	817	6.2	0.196
15	12.623	7.0067	133	54	3.1	418	3.2	0.13
16	12.799	6.911	138	42	2.4	374	2.8	0.149
17	13.287	6.6581	131	41	2.3	333	2.5	0.136
18	14.994	5.9038	130	45	2.6	424	3.2	0.158
19	15.336	5.7727	134	48	2.7	939	7.1	0.328
20	15.996	5.5359	136	48	2.7	658	5	0.23
21	17.889	4.9542	144	58	3.3	1633	12.4	0.472
22	18.665	4.75	151	58	3.3	734	5.6	0.212
23	19.096	4.6437	151	103	5.9	904	6.8	0.147
24	19.553	4.5361	155	45	2.6	706	5.3	0.263
25	19.856	4.4678	151	78	4.5	1712	13	0.368
26	20.501	4.3287	159	44	2.5	831	6.3	0.298
27	21.295	4.169	150	43	2.5	706	5.3	0.275
28	22.386	3.9682	138	46	2.6	582	4.4	0.2

d(A) = d spacing(A), BG = back ground signal, Height = peak height

1% = percentage compared with the highest area, FWHM = full width at half maximum

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
A 6 1 P 25/16 (2006.01)		A 6 1 P 25/16	
A 6 1 P 25/28 (2006.01)		A 6 1 P 25/28	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)		A 6 1 P 43/00	1 2 1
A 2 3 L 33/10 (2016.01)		A 2 3 L 33/10	
C 0 7 C 51/43 (2006.01)		C 0 7 C 51/43	C S P
C 0 7 C 53/128 (2006.01)		C 0 7 C 53/128	

(72)発明者 立石 成人
 東京都中央区京橋 1 - 1 7 - 4 松永ビル 3 F 株式会社セレステ内

審査官 渡部 正博

(56)参考文献 特開 2 0 0 6 - 1 4 3 7 0 8 (J P , A)
 国際公開第 2 0 0 5 / 1 0 5 7 2 2 (W O , A 1)
 特開昭 6 2 - 2 3 4 0 2 9 (J P , A)
 KWON, Myoung-Ok, et al., List of drugs in development for neurodegenerative diseases ,
 Neurodegenerative Dis , 2 0 0 4 年 , Vol.1 , p113-152 , 特にp139,149

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)
 A 6 1 K 3 1 / 0 0 - 3 1 / 8 0
 A 6 1 K 3 8 / 0 0 - 3 8 / 5 8
 A 6 1 P 9 / 1 0
 J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)
 C A p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)