

(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2009-501224

(P2009-501224A)

(43) 公表日 平成21年1月15日 (2009.1.15)

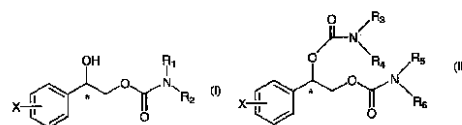
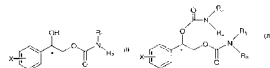
(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/27 (2006.01)	A 6 1 K 31/27	4 C 2 0 6
A 6 1 P 25/00 (2006.01)	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 25/14 (2006.01)	A 6 1 P 25/14	
A 6 1 P 25/16 (2006.01)	A 6 1 P 25/16	
A 6 1 P 25/18 (2006.01)	A 6 1 P 25/18	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 53 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2008-521436 (P2008-521436)	(71) 出願人	390033008 ジヤンセン・ファーマシューチカ・ナーム ローゼ・フエンノートシャツプ JANSSEN PHARMACEUTICAL CA NAAMLOZE VENNOOTSCHAP ベルギー・ビー-2340-ビールセ・ト ウルンホウトセベーク30
(86) (22) 出願日	平成18年7月7日 (2006.7.7)	(74) 代理人	110000741 特許業務法人小田島特許事務所
(85) 翻訳文提出日	平成20年3月7日 (2008.3.7)	(72) 発明者	ザオ, ボユ アメリカ合衆国ペンシルベニア州1944 6ランスデイル・ウェイマスサークル10 5
(86) 国際出願番号	PCT/US2006/026291		
(87) 国際公開番号	W02007/008562		
(87) 国際公開日	平成19年1月18日 (2007.1.18)		
(31) 優先権主張番号	60/698, 403		
(32) 優先日	平成17年7月12日 (2005.7.12)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
		最終頁に続く	

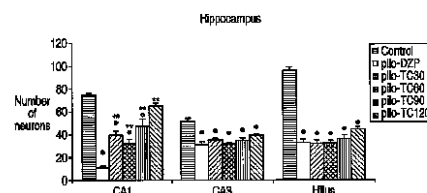
(54) 【発明の名称】 神経保護の方法

(57) 【要約】

【化1】



本発明は、治療的に有効量の、式 (I) 及び式 (II) よりなる群から選択される化合物、又は製薬学的に許容できるその塩又はエステル：〔式中、フェニルはフッ素、塩素、臭素及びヨウ素よりなる群から選択される1～5個のハロゲン原子でXにおいて置換され、そしてR₁、R₂、R₃、R₄、R₅及びR₆は独立して、水素及びC₁～C₄アルキルよりなる群から選択され、ここでC₁～C₄アルキルは場合によりフェニル（ここでフェニルは場合により、ハロゲン、C₁～C₄アルキル、C₁～C₄アルコキシ、アミノ、ニトロ及びシアノよりなる群から独立して選択される置換基で置換されていてもよい）で置換されていてもよい〕を、治療を必要とする被験体に投与する工程を含んでなる、神経保護を提供するための方法を対象とする。



* p < 0.05, * p < 0.01, statistically significant difference between pilo-TC and control i-saline rate

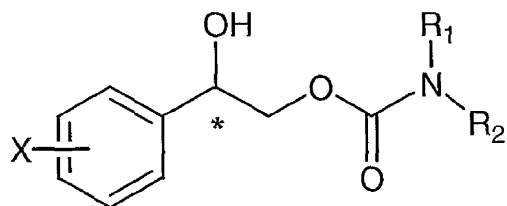
* p < 0.05, * p < 0.01, statistically significant differences between pilo-TC and pilo-DZP rate

【特許請求の範囲】

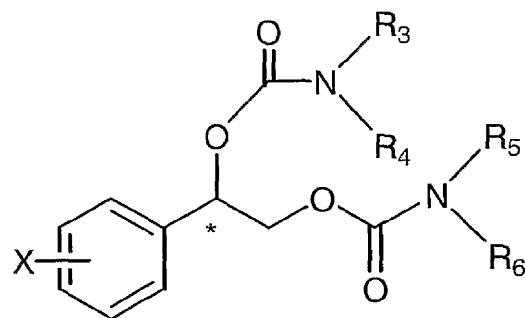
【請求項 1】

治療的に有効量の、式 (I) 及び式 (II) :

【化 1】



式(I)



式(II)

[式中、

フェニルはフッ素、塩素、臭素及びヨウ素よりなる群から選択される 1～5 個のハロゲン原子で X において置換されており、そして

R₁, R₂, R₃, R₄, R₅ 及び R₆ は独立して、水素及び C₁ - C₄ アルキルよりなる群から選択され、ここで C₁ - C₄ アルキルは場合によりフェニルで置換されていてもよい (ここでフェニルは場合により、独立してハロゲン、C₁ - C₄ アルキル、C₁ - C₄ アルコキシ、アミノ、ニトロ及びシアノよりなる群から選択される置換基で置換されていてもよい)]

よりなる群から選択される化合物又は製薬学的に許容できるその塩又はエステルを、神経保護薬 (neuroprotective drug) (NPD) による処置の必要な患者に投与することを含んでなる、神経保護を提供するための方法。

【請求項 2】

X が塩素である請求項 1 の方法。

【請求項 3】

X がフェニル環のオルソ位で置換されている請求項 1 の方法。

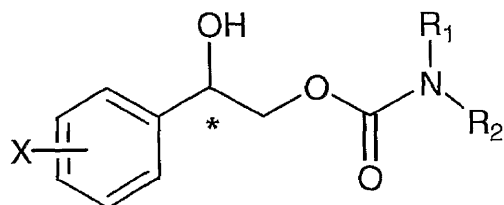
【請求項 4】

R₁, R₂, R₃, R₄, R₅ 及び R₆ が水素から選択される請求項 1 の方法。

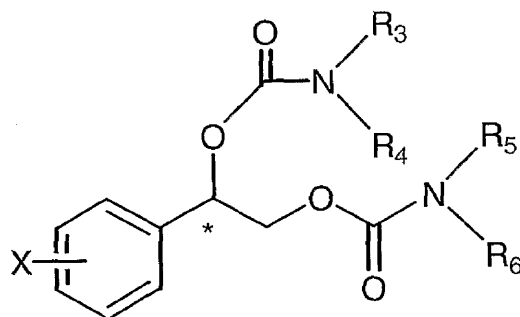
【請求項 5】

治療的に有効量の、式 (I) 及び式 (II) :

【化 2】



式(I)



式(II)

[式中、

フェニルはフッ素、塩素、臭素及びヨウ素よりなる群から選択される 1～5 個のハロゲン原子で X において置換されており、そして

R₁, R₂, R₃, R₄, R₅ 及び R₆ は独立して、水素及び C₁ - C₄ アルキルよりなる群から選択され、ここで C₁ - C₄ アルキルは場合によりフェニルで置換されていてもよい (ここでフェニルは場合により、独立してハロゲン、C₁ - C₄ アルキル、C₁ -

C₄ アルコキシ、アミノ、ニトロ及びシアノよりなる群から選択される置換基で置換されている（いてもよい）]、

よりなる群から選択されるエナンチオマー又は製薬学的に許容できるその塩又はエステルあるいはそこで式（I）及び式（II）よりなる群から選択される一方のエナンチオマーが優勢であるエナンチオマー混合物を、神経保護薬（NPD）による処置の必要な患者に投与することを含んでなる、神経保護を提供する方法。

【請求項 6】

X が塩素である請求項 5 の方法。

【請求項 7】

X がフェニル環のオルソ位で置換されている請求項 5 の方法。

10

【請求項 8】

R₁, R₂, R₃, R₄, R₅ 及び R₆ が水素から選択される請求項 5 の方法。

【請求項 9】

式（I）及び式（II）よりなる群から選択される一方のエナンチオマーが約 90% 以上の程度まで優勢である請求項 5 の方法。

【請求項 10】

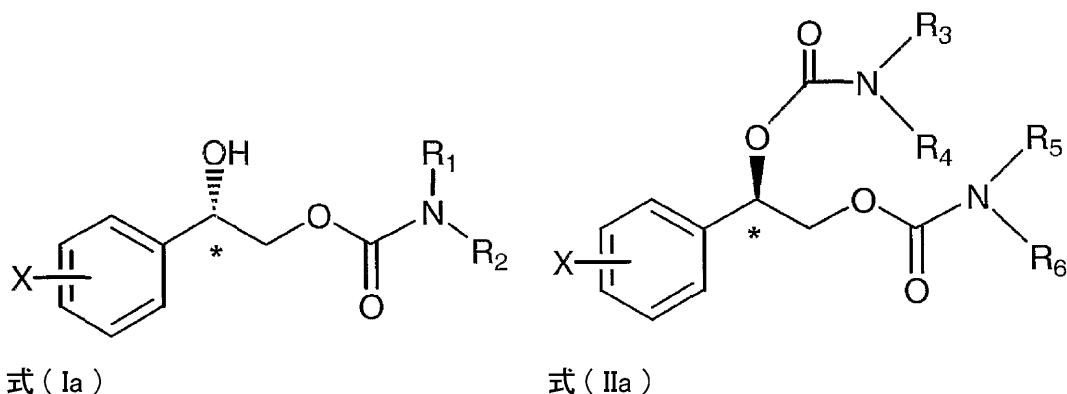
式（I）及び式（II）よりなる群から選択される一方のエナンチオマーが約 98% 以上の程度まで優勢である請求項 5 の方法。

【請求項 11】

式（I）及び式（II）よりなる群から選択されるエナンチオマーが、式（Ia）及び式（IIa）：

20

【化 3】



30

[式中、

フェニルはフッ素、塩素、臭素及びヨウ素よりなる群から選択される 1～5 個のハロゲン原子で X において置換されており、そして

R₁, R₂, R₃, R₄, R₅ 及び R₆ は独立して、水素及び C₁ - C₄ アルキルよりなる群から選択され、ここで C₁ - C₄ アルキルは場合によりフェニルで置換されている（ここでフェニルは場合により、独立してハロゲン、C₁ - C₄ アルキル、C₁ - C₄ アルコキシ、アミノ、ニトロ及びシアノよりなる群から選択される置換基で置換されている（いてもよい）]、

40

よりなる群から選択されるエナンチオマーである、請求項 5 の方法。

【請求項 12】

X が塩素である請求項 11 の方法。

【請求項 13】

X がフェニル環のオルソ位で置換されている請求項 11 の方法。

【請求項 14】

R₁, R₂, R₃, R₄, R₅ 及び R₆ が水素から選択される請求項 11 の方法。

【請求項 15】

式（Ia）及び式（IIa）よりなる群から選択される一方のエナンチオマーが約 90

50

%以上の程度まで優勢である請求項 11 の方法。

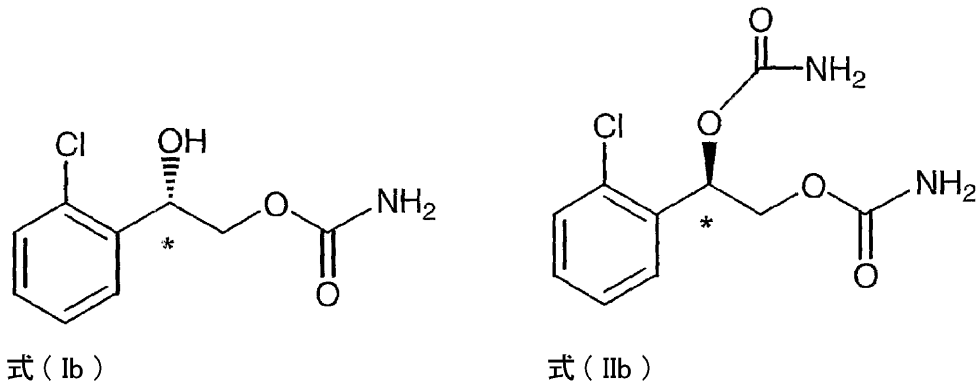
【請求項 16】

式 (I a) 及び式 (I I a) よりなる群から選択される一方のエナンチオマーが約 98 %以上の程度まで優勢である請求項 11 の方法。

【請求項 17】

式 (I) 及び式 (I I) よりなる群から選択されるエナンチオマーが、式 (I b) 及び式 (I I b) :

【化 4】



10

よりなる群から選択されるエナンチオマーである請求項 5 の方法。

20

【請求項 18】

式 (I b) 及び式 (I I b) よりなる群から選択される一方のエナンチオマーが約 90 %以上の程度まで優勢である請求項 17 の方法。

【請求項 19】

式 (I b) 及び式 (I I b) よりなる群から選択される一方のエナンチオマーが約 98 %以上の程度まで優勢である請求項 17 の方法。

【請求項 20】

患者に神経保護を必要にさせるニューロン損傷の 1 種又は複数の原因が、外傷性脳傷害 (TBI) ; 鈍角の及び貫通性頭部外傷を包含する、CNS 又は PNS に対するいずれかの種類の傷害又は外傷 ; CNS の感染症 ; 酸素欠乏症 ; 脳卒中 (CVA) ; CNS に影響する自己免疫疾患、例えば狼瘡 ; 出産傷害、例えば周産期呼吸停止 ; 心停止 ; 治療的又は診断的血管手術法、例えば頸動脈血管内膜切除術又は脳血管造影法 ; 脊髄外傷 ; 低血圧 ; 塞栓、高灌流又は低灌流からの CNS に対する傷害 ; 代謝障害、例えば糖尿病 ; 低酸素症 ; NPD に反応することが知られた障害に対して知られた遺伝的素因 ; CNS の空間占居病巣 ; 脳腫瘍、例えばグリア芽腫 ; CNS 中又はその周囲の出血又は大出血、例えば脳内出血又は硬膜下血腫 ; 脳水腫 ; 熱性痙攣 ; 高体温 ; 物質の乱用、外傷、卒中、虚血、ハンチントン病、アルツハイマー病、パーキンソン病、プリオン病異形クロイツフェルトヤコブ病、筋萎縮性側索硬化症 (ALS) 、糖尿病神経障害、オリブ橋小脳萎縮症、癲癇、発作、低血糖、手術又は他の介入物、網膜虚血 (糖尿病他) 、緑内障、網膜変性、多発性硬化症、毒性及び虚血性視神経障害、黄斑変性症、毒性又は有毒物質に対する CNS 又は PNS の露出 ; 薬物中毒又は禁断、例えばコカイン又はアルコール ; 神経変性障害又は関連状態の家族歴、痙攣重積状態の病歴 ; 患者が神経保護薬 (NPD) による処置を要するという、代理マーカー又はバイオマーカーからの証明、例えば構造的又は機能的病理を示す MRI スキャン、ニューロン分解産物の上昇した血清レベル、毛様体神経栄養因子 (CNTF) の上昇したレベル ; よりなる群から選択される、請求項 1 又は 5 に請求の方法。

30

40

【請求項 21】

患者に神経保護薬を必要とさせる 1 種又は複数の素因が、外傷性脳傷害 (TBI) 、鈍角の、閉鎖した及び貫通頭部外傷 ; 手術、卒中又は他の脳-血管事故 (CVA) ; 痙攣重積状態及び CNS の空間占居病巣 ; よりなる群から選択される、請求項 20 の方法。

【請求項 22】

50

1 種又は複数の素因が、鈍角の、閉鎖した又は貫通頭部外傷及び外科的介入物を包含する外傷性脳傷害（TBI）である請求項 2 1 の方法。

【請求項 2 3】

1 種又は複数の素因が卒中又は他の脳-血管事故（CVA）である請求項 2 1 の方法。

【請求項 2 4】

素因が神経変性疾患である請求項 2 3 の方法。

【請求項 2 5】

化合物（又はエナンチオマー）又は製薬学的に許容できるその塩又はエステルが、1 種又は複数の他の化合物又は治療剤との組み合わせ投与で投与される請求項 1 又は 5 の方法。

10

【請求項 2 6】

患者に対して神経保護効果が提供されるように、1 種又は複数の他の化合物又は治療剤が、1 項又は複数の以下の特性：抗酸化作用；NMDA 受容体拮抗性；内因性 GABA 障害を増強する能力；NO 合成酵素インヒビター作用；鉄結合能、例えば鉄キレート化剤；カルシウム結合能、例えば Ca（II）キレート化剤；亜鉛結合能、例えば Zn（II）キレート化剤；ナトリウム又はカルシウムイオンチャンネルブロック能；カリウム又は塩化物イオンチャンネルを開く能力；を有する化合物よりなる群から選択される、請求項 2 5 の方法。

【請求項 2 7】

1 種又は複数の化合物が更に、抗癲癇薬（AED）よりなる群から選択されることができ、請求項 2 6 の方法。

20

【請求項 2 8】

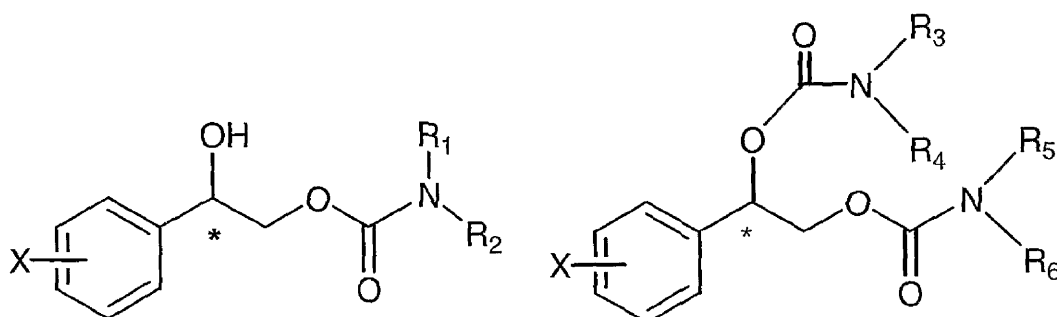
抗癲癇薬（AED）がカルバマゼピン、クロバザム、クロナゼパム、エトスクシミド、フェルバメート、ガバペンチン、ラモチギン、レベチラセタム、オキシカルバゼピン、フェノバルビタール、フェニトイン、プレガバリン、プリミドン、レチガビン、タラムパネル、チアガビン、トピラメート、バルプロエート、ピガバトリン、ゾニサミド、ベンゾジアゼピン、バルビツレート又は鎮静催眠剤；よりなる群から選択される、請求項 2 7 の方法。

【請求項 2 9】

製薬学的有効量の、式（I）及び式（II）：

30

【化 5】



式（I）

式（II）

40

〔式中、

フェニルはフッ素、塩素、臭素及びヨウ素よりなる群から選択される 1 個～5 個のハロゲン原子で X において置換されており、そして

R₁, R₂, R₃, R₄, R₅ 及び R₆ は独立して、水素及び C₁ - C₄ アルキルよりなる群から選択され、ここで C₁ - C₄ アルキルは場合によりフェニルで置換されていてもよく（ここでフェニルは場合により、独立してハロゲン、C₁ - C₄ アルキル、C₁ - C₄ アルコキシ、アミノ、ニトロ及びシアノよりなる群から選択される置換基で置換されていてもよい）〕、

よりなる群から選択されるエナンチオマー又は製薬学的に許容できるその塩又はエステル

50

あるいは、そこで式 (I) 及び式 (I I) よりなる群から選択される一方のエナンチオマーが優勢であるエナンチオマー混合物並びに製薬学的に許容できる担体又は賦形剤を含んでなる、神経保護を提供するための製薬学的組成物。

【請求項 30】

治療を要する患者に神経保護を提供するための、適当な使用のための情報又は指示書と一緒に、適当な包装物又は容器中に、請求項 29 に請求される製薬学的組成物の治療的に有効な投与剤形を含んでなるキット。

【請求項 31】

治療の有効量が約 0.01 mg / Kg / 1 回 ~ 約 100 mg / Kg / 1 回である請求項 1 又は 5 における方法。

【請求項 32】

患者が投与時にニューロン傷害又は機能不全の臨床的症状又は症候を発症していない、請求項 1 又は 5 に請求の方法。

【請求項 33】

患者が投与時にニューロン傷害又は機能不全を発症する危険にある、請求項 1 又は 5 に請求の方法。

【請求項 34】

患者が投与時に神経変性障害又は、ニューロン傷害の臨床的証拠を発症した、請求項 1 又は 5 に請求の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は概括的に薬理学、神経学及び精神医学の分野並びに哺乳動物の中枢神経系の細胞を損傷又は傷害から保護する方法を対象とする。本発明は更に具体的には、神経保護のための特定のカルバメート化合物の使用法を提供する。

【背景技術】

【0002】

中枢神経系 (CNS) 又は末梢神経系 (PNS) に対する種々の種類の傷害又は外傷は、甚大なそして長期持続性の神経学的及び／又は精神医学的症状及び障害をもたらす可能性がある。これが採ることができる 1 つの形態は、ニューロン又は中枢神経系 (CNS) の他の細胞の進行的死滅、すなわち神経変性又はニューロン変性である。例えばアルツハイマー病、多発性硬化症、脳一血管事故 (CVA) 卒中、外傷性脳傷害、脊髄傷害、視神経の変性、例えば虚血性視神経障害又は網膜変性及び他の脳神経系の障害の結果としてのニューロン変性は、その高い発生率及び長期にわたる後遺症の頻度の両者のために甚大な医学的及び公衆衛生的問題である。動物研究及び臨床試験により、アミノ酸伝達物質 (特にグルタメート)、酸化ストレス及び炎症反応がこれらの状態における細胞死に強力に貢献することが示された。

【0003】

傷害時又は虚血性発作時に、損傷されたニューロンが大量の神経伝達物質のグルタメートを放出し、それが周囲のニューロンに興奮毒性である (非特許文献 1 ~ 5 参照)。グルタメートは哺乳動物の神経系における興奮シナプス伝達物質である陰性に帯電したアミノ酸である。グルタメートの濃度は神経末端ではミリモルの範囲に到達することができるが、その細胞外濃度は神経毒性を予防するために低レベルに維持されている。グルタメートは高濃度で提供されるとニューロンに毒性であることができることが注目された。用語の「興奮毒性」は、高用量で適用されるとグルタメート (及び他のそのような興奮性アミノ酸) がニューロン上にもつ可能性がある細胞毒性効果を表すために使用されてきた。

【0004】

生理学的には、過剰な放出、取り込みの阻止、又はその両者がグルタメートの高レベルを達成することができる。通常、細胞外グルタメートの低濃度はニューロン及び星状細胞両者により維持される。ニューロンは細胞外貯蔵体中にグルタメートを保存し、その放出

10

20

30

40

50

を制御する。例えば、非特許文献6を参照されたい（非特許文献6）。星状細胞は特別の運搬体により細胞外グルタメートを取り込み、グルタメートをグルタミンに転化させ、次にそれがニューロン取り込みのために放出される。非特許文献7を参照されたい（非特許文献7参照）。興奮毒性の過程において、グルタメートがニューロンにより自己永続的方法で放出されて、グルタメート受容体の過剰な又は長期の活性化をもたらす。

【0005】

細胞外グルタメートの毒性レベルを閉じ込めるための神経支持的星状細胞の妥協した能力と一緒に、エネルギーの枯渇したニューロンに対するこのような過剰なグルタメート刺激の結合が、壊死及び細胞死によるニューロン死滅をもたらす。現在、中枢神経系の傷害及び疾患に伴うニューロン死滅を軽減するための種々の介入物が研究されている。非特許文献8を参照されたい（非特許文献8）。このような治療は、グルタメート放出インヒビター、グルタメート受容体アンタゴニスト、Ca²⁺チャンネルブロッカー、GABA受容体アゴニスト、ガングリオシド、神経栄養因子、カルパインインヒビター、カスパーゼインヒビター、フリーラジカル・スカベンジャー、免疫-及び細胞代謝モジュレーターを包含する。

【0006】

例えば、幾つかの研究が、1)ハンチントン病(HD)（非特許文献9）、2)アルツハイマー病(AD)（非特許文献10）、3)癲癇（非特許文献11）、4)ラティリスム（非特許文献12）、5)筋萎縮性側索硬化症(ALS)及びグアムのパーキンソン病様痴呆（非特許文献13）：の病理生理学並びに、卒中、虚血及び再灌流に伴う神経病理学（非特許文献14）におけるグルタメートの関与を示した（非特許文献9～14参照）。

【0007】

従って、ニューロンに対する傷害はグルタメート及びアスパルテートを包含する興奮性アミノ酸による受容体の過剰刺激により誘発されることができ（非特許文献15参照）。実際、グルタメート受容体のN-メチル-D-アスパルテート(NMDA)サブタイプが、シナプス伝達、学習及び記憶、並びにニューロンの発達を包含する、正常な脳機能における多数の重要な役割をもつことが示唆されている（非特許文献15、16参照）。しかし、グルタメート受容体のNMDAサブタイプの過剰刺激は、増加したフリーラジカル産生及びニューロン細胞死をもたらす、それは抗酸化剤により改変することができる（非特許文献17、18参照）。

【0008】

更に、多数の慢性神経変性状態において、炎症及び酸化ストレスが病理の重要な要素である。これらの状態は、アルツハイマー病(AD)を包含する。アルツハイマー病(AD)は脳内の神経原繊維のもつれ及び老人斑の蓄積並びにニューロンの広範な、進行性変性を特徴として示す。老人斑は、染色体21上に局在するAPP遺伝子によりコードされるアミロイド前駆体タンパク質(APP)が豊富である。ADの病原の基礎になる一般に容認される仮説は、APPの異常なタンパク質分解性開裂が、ニューロンに毒性であることが示されているベータアミロイド(A β)ペプチドの過剰な細胞外蓄積をもたらすことである（非特許文献19～22参照）。

【0009】

パーキンソン病(PD)は無運動、硬直、振顫及び姿勢異常よりなる運動の機能不全を特徴として示す進行性の神経変性障害である。この疾患は黒質圧縮部分(SNpc)中のドーパミン作動性ニューロンの実質的減少により証明されるような黒質・線条体のドーパミン作動性ニューロンの完全性及び機能の喪失（非特許文献23参照）並びに線条体中の内容物(content)、ドーパミンのシナプス及び小胞の運搬体の減少と関連付けられてきた（例えば非特許文献24参照）。

【0010】

外傷、多数の種類の傷害、虚血、代謝の混乱、例えば糖尿病低酸素症、トキシン又は外科的介入物の結果としての、ヒトを包含する哺乳動物の中枢神経系(CNS)又は末梢神

10

20

30

40

50

経系（PNS）におけるニューロン及び支持細胞の死滅が、機能の急性及び慢性及び進行性喪失及び身体障害の双方を誘発する。従って、この変性から哺乳動物の神経系の細胞を保護することができる、すなわち神経保護的である方法及び化合物の開発が必要である。

【非特許文献1】Choi et al., (1988), *Neuron* 1:623-634

【非特許文献2】Rothman et al., (1984), *J. Neurosci.* 4:1884-1891

【非特許文献3】Choi and Rothman, (1990), *Ann. Rev. Neurosci.* 13:171-182

【非特許文献4】David et al., (1988), *Exp. Eye Res.* 46:657-662 10

【非特許文献5】Drejer et al., (1985), *J. Neurosci.* 45:145-151

【非特許文献6】Reagan, R. F., *Excitotoxicity and Central Nervous System Trauma, The Neurobiology of Central Nervous Trauma*, New York, Oxford University Press, 1994, pp. 173-181 (Salzman SK, Faden AI, eds)

【非特許文献7】Robinson, M. B. & Dowd LA, *Adv Pharmacol*, 1997; 37:69-115 20

【非特許文献8】Kermer et al., *Cell Tissue Res* 298:383-395, 1999

【非特許文献9】Coyle and Schwartz, (1976), *Nature* 263:244-246

【非特許文献10】Maragos et al, (1987), *TINS* 10:65-68; 3

【非特許文献11】Nadler et al, (1978), *Nature* 271:676-677

【非特許文献12】Spencer et al, (1986), *Lancet* 239:1066-1067 30

【非特許文献13】Caine et al, (1986), *Lancet* 2:1067-1070

【非特許文献14】Dykens et al, (1987), *J. Neurochem.* 49:1222-1228

【非特許文献15】Lipton et al. (1994) *New Engl. J. Med.* 330:613-621

【非特許文献16】Meldrum et al. (1990) *Trends Pharmacol. Sci.* 11:379-387

【非特許文献17】Herin et al. (2001) *J. Neurochem.* 78:1307-1314 40

【非特許文献18】Rossato et al. (2002) *Neurosci. Lett.* 318:137-140

【非特許文献19】Selkoe et al., (1996), *J. Biol. Chem.* 271:487-498

【非特許文献20】Quinn et al., (2001), *Exp. Neurol.* 168:203-212

【非特許文献21】Mattson et al., (1997), *Alzheimer's Dis. Rev.* 12:1-14

【非特許文献22】Fakuyama et al., (1994), *Brain Res.* 667:269-272 50

【非特許文献 23】Pakkenberg et al. (1991) J. Neurol. Neurosurg. Psychiat. 54:30-33

【非特許文献 24】Guttman et al. (1997) Neurology 48:1578-1583

【発明の開示】

【0011】

本発明は概括的に神経保護的方法、そしてより具体的には、傷害、外傷、手術あるいは急性又は慢性疾患の経過からもたらされる哺乳動物の中枢神経系及び末梢神経系の細胞に対する障害の予防のための方法及び化合物を対象とする。

【0012】

本発明は一部は、単独であるいは 1 種又は複数の他の神経保護的医薬と組み合わせたいずれかで、カルバメート化合物の 1 族の 1 種又は複数のメンバーの投与が、哺乳動物の神経系に神経保護的效果を与えるという発見に基づく。

【0013】

本発明により提供される神経保護は、ニューロンの傷害又は損傷から、そして興奮毒性を包含する神経毒性からもたらされる損傷からの保護を包含する。従って、本発明により提供される神経保護は、卒中／虚血、外科的外傷、外傷性脳傷害 (TBI)、鈍角の、閉鎖又は貫通した頭部外傷、癲癇、ハンチントン病、筋萎縮性側索硬化症 (ALS)、糖尿病性神経障害及び低血糖性脳障害を包含する興奮毒性、例えばグルタメート興奮毒性を伴なうことができる急性及び慢性の神経変性障害の処置に有用であろう。

【0014】

本発明により提供される神経保護は、傷害組織又は疾病組織に対してあるいは神経の損傷に導くことが期待される事象中又はその前に予防的な方法でもたらしすることができる。

【0015】

本発明は、製薬学的に許容できる賦形剤と一緒に、単独で又はもう 1 種の医薬と組み合わせてのいずれかで、有効量の本発明の化合物又は製薬学的に許容できるその塩又はエステルを被験体に投与することにより、治療を要する被験体において、神経保護を提供するため；細胞変性又は細胞死を阻止するため；神経変性疾患の処置又は予防のため；あるいは化合物（例えばグルタメートのような興奮性アミノ酸；トキシン；又は細胞毒性副作用を与える予防的又は治療的化合物）の細胞毒性効果を緩和するための方法を提供する。種々の態様において、本発明の方法は興奮毒性、例えばグルタメート興奮毒性に対する保護を包含する。

【0016】

種々の態様において、被験体、例えばヒトは神経障害又は傷害を罹患しているかも知れず、あるいは物質乱用、外傷、卒中、虚血、ハンチントン病、アルツハイマー病、パーキンソン病、プリオン病、異形クロイツフェルトヤコブ病、筋萎縮性又は低血糖性脳障害から選択される状態を罹患しているかも知れず；あるいは手術又は他の介入物を受けているかも知れない。被験体は神経保護により利益を得るであろう前以て既存の状態をもつかも知れず、あるいは、患者は手術又は他の介入物期間中に起るかも知れないような同時の又はその後の神経傷害の有害な効果を減少させるために処置されるかも知れない。

【0017】

従って、本発明は、式 1 又は式 2：

【0018】

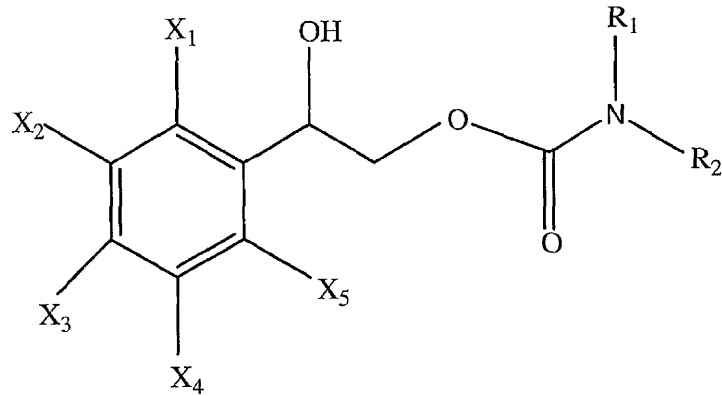
10

20

30

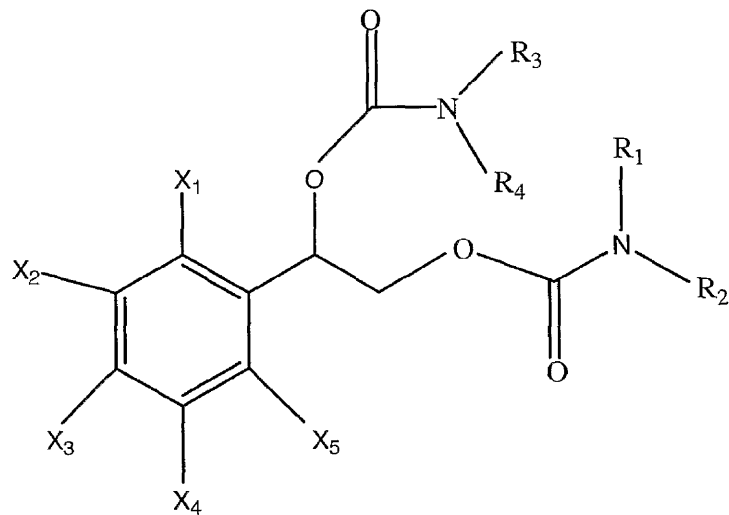
40

【化 1】



10

式1



20

式2

【0019】

〔式中、 R_1 、 R_2 、 R_3 及び R_4 は独立して、水素又は $C_1 - C_4$ アルキルであり、そして X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 及び X_5 は独立して水素、フッ素、塩素、臭素又はヨウ素である〕

を有する少なくとも1種の化合物を含んでなる、治療的に有効量の組成物を、治療を要する被験体に投与する工程を含んでなる、神経保護を提供するための方法を提供する。式1又は式2の該 $C_1 - C_4$ アルキル基は置換されていても又は未置換でもよい。本発明の1つのアスペクトにおいて、 $C_1 - C_4$ アルキル基はフェニル基で置換されている。フェニル基は未置換でも置換されていてもよい。特定の態様において、フェニル基は未置換であるかあるいはハロゲン、 $C_1 - C_4$ アルキル、 $C_1 - C_4$ アルコキシ、アミノ、ニトロ又はシアノで置換されている。

40

【0020】

本発明において、 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 及び X_5 は水素、フッ素、塩素、臭素又はヨウ素である。特定の態様において、 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 及び X_5 は独立して水素又は塩素である。本発明の好ましい態様において、 X_1 はフッ素、塩素、臭素又はヨウ素である。1つのアスペクトにおいて、 X_1 は塩素であり、そして X_2 、 X_3 、 X_4 及び X_5 は独立して水素である。もう1つの好ましい態様において、 R_1 、 R_2 、 R_3 及び R_4 は独立して水素である。

【0021】

本発明は被験体に神経保護を提供するための式1又は式2のエナンチオマーを提供する

50

。特定の態様において、式 1 又は式 2 の化合物はそれらの単一のエナンチオマーの形態にあるであろう。他の態様において、式 1 又は式 2 の化合物はその一方のエナンチオマーがもう一方のエナンチオマーに対して優勢であるエナンチオマー混合物の形態にあるであろう。1 つのアスペクトにおいて、エナンチオマーは 90 % 以上の程度まで又は 98 % 以上の程度まで優勢であろう。

【0022】

本発明はまた、その R_1 、 R_2 、 R_3 及び R_4 が独立して水素又は $C_1 - C_4$ アルキルであり、そして X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 及び X_5 が独立して水素、フッ素、塩素、臭素又はヨウ素である、式 1 又は式 2 を有する少なくとも 1 種の化合物を含んでなる、神経保護的な量の組成物を被験体に投与する工程を含んでなる方法を提供する。1 つの態様において、被験体に対する組成物の投与の前に、被験体がある形態の急性又は慢性神経変性あるいは神経系の傷害を罹患するか否かにつき決定されるであろう。

10

【0023】

本発明はまた、急性又は慢性神経変性又は神経系の傷害を発症する危険にある患者あるいは以下に定義されるような神経保護薬 (NPD) による処置の必要な患者を識別し、そして被験体に式 1 又は式 2 を有する少なくとも 1 種の化合物を含んでなる組成物を投与する工程を含んでなる方法を提供する。

【0024】

本発明の特定の態様において、神経保護を提供するための式 1 又は式 2 を有する化合物の治療的有効量は約 0.01 mg/Kg/1 回～約 150 mg/Kg/1 回である。

20

【0025】

特定の態様において、本発明の 1 種又は複数のエナンチオマー又は製薬学的に許容できるその塩又はエステル並びに製薬学的に許容できる担体又は賦形剤を含んでなる、神経保護を提供するための治療的有効量の製薬学的組成物が、神経保護薬又は NPD による処置の必要な被験体又は患者に投与される。

【0026】

式 1 又は式 2 を有する少なくとも 1 種の化合物を含んでなる製薬学的組成物が治療を必要とする被験体に投与される。特定の態様において、神経保護又は NPD による処置の必要な被験体又は患者は、中枢神経又は末梢神経の細胞に、ある形態の急性外傷又は傷害を経験した患者でもあるいは、ある形態の急性又は慢性の神経変性障害を有する患者であってもよい。1 つのアスペクトにおいて、被験体又は患者は投与時に、急性又は慢性神経変性障害を発症する危険にある、すなわち神経保護薬による処置の必要な患者であることを決定されるであろう。他の態様において、処置を要する被験体は、投与時に、それらの神経系の細胞に急性の傷害又は外傷を有する被験体である。

30

【0027】

発明の詳細な説明

本発明のカルバメート化合物

本発明は、治療を要する患者に対する神経保護に対して、2-フェニル 1, 2-エタンジオールモノカルバメート及びジカルバメートを使用する方法を提供する。

【0028】

本発明の方法に使用されるカルバメートエナンチオマーを包含するカルバメート化合物を合成し、精製する適当な方法は当業者に周知である。例えば、2-フェニル 1, 2-エタンジオールモノカルバメート及びジカルバメートの純粋なエナンチオマー形態及びエナンチオマー混合物は米国特許第 5, 854, 283, 5, 698, 588 及び 6, 103, 759 号明細書に記載されており、それらの開示はそれらの全体を引用により本明細書に編入されている。

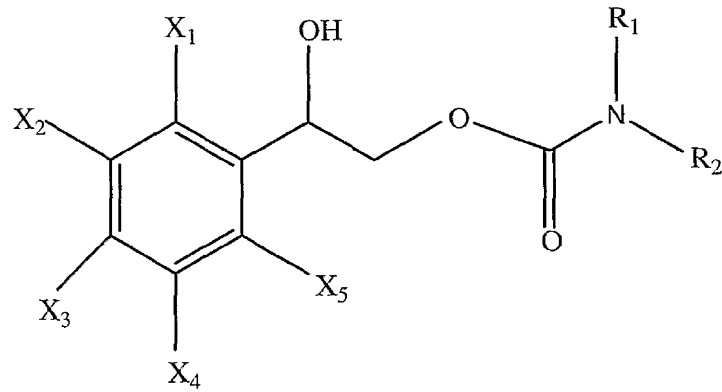
40

【0029】

本発明に従う代表的カルバメート化合物は式 1 又は式 2 :

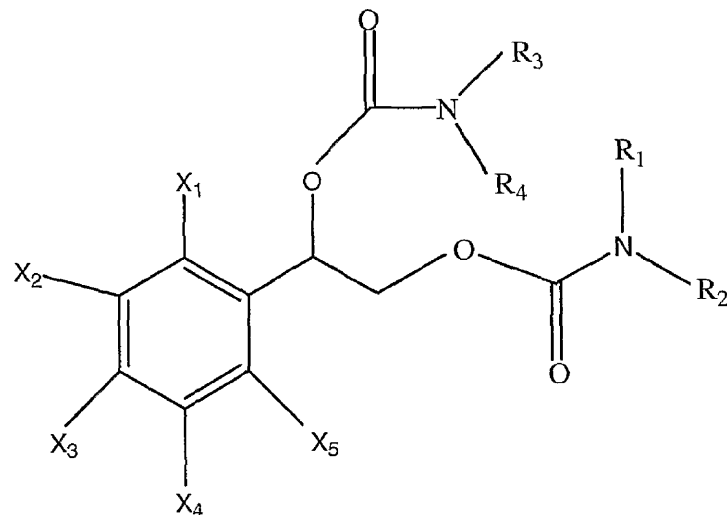
【0030】

【化 2】



10

式1



20

式2

【0031】

30

〔式中、 R_1 、 R_2 、 R_3 及び R_4 は独立して水素又は $C_1 - C_4$ アルキルであり、そして X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 及び X_5 は独立して、水素、フッ素、塩素、臭素又はヨウ素である〕を有するものを包含する。

【0032】

本明細書で使用される「 $C_1 - C_4$ アルキル」は 1～4 個の炭素原子を有する置換又は未置換脂肪族炭化水素を表す。「アルキル」の定義内に具体的に包含されるものは、場合により置換されていてもよい脂肪族炭化水素である。本発明の好ましい態様において、 $C_1 - C_4$ アルキルは未置換でもフェニルで置換されていてもよい。

【0033】

本明細書で使用される用語「フェニル」は単独で使用されても又はもう 1 つの基の一部として使用されても、6 個の炭素原子を有する置換又は未置換芳香族炭化水素環基と定義される。「フェニル」の定義内に具体的に包含されるものは、場合により置換されていてもよいフェニル基である。例えば、本発明の好ましい態様において、「フェニル」基は未置換でも、あるいはハロゲン、 $C_1 - C_4$ アルキル、 $C_1 - C_4$ アルコキシ、アミノ、ニトロ又はシアノで置換されていてもよい。

40

【0034】

本発明の好ましい態様において、 X_1 はフッ素、塩素、臭素又はヨウ素でありそして X_2 、 X_3 、 X_4 及び X_5 は水素である。

【0035】

本発明のもう 1 つの好ましい態様において、 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 及び X_5 は独立し

50

て塩素又は水素である。

【0036】

本発明のもう1つの好ましい態様において、 R_1 、 R_2 、 R_3 及び R_4 はすべて水素である。

【0037】

本発明の化合物上の置換基及び置換パターンは、化学的に安定であり、そして当業者に知られた技術並びに本明細書に提供される方法により容易に合成することができる化合物を提供するように当業者により選択されることが理解される。

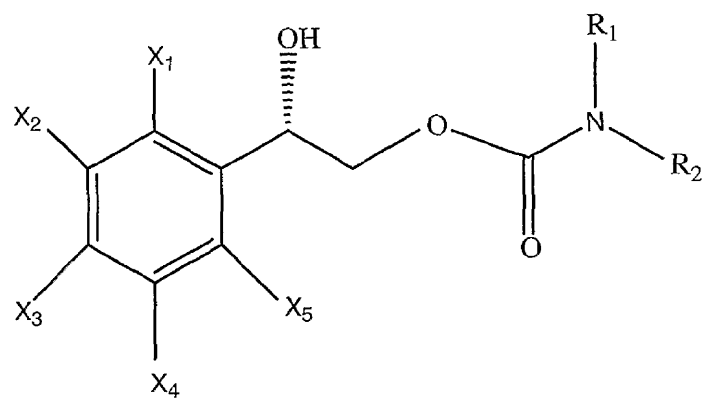
【0038】

代表的な2-フェニル1, 2-エタンジオールモノカルバメート及びジカルバメートは
例えば、以下の化合物：

10

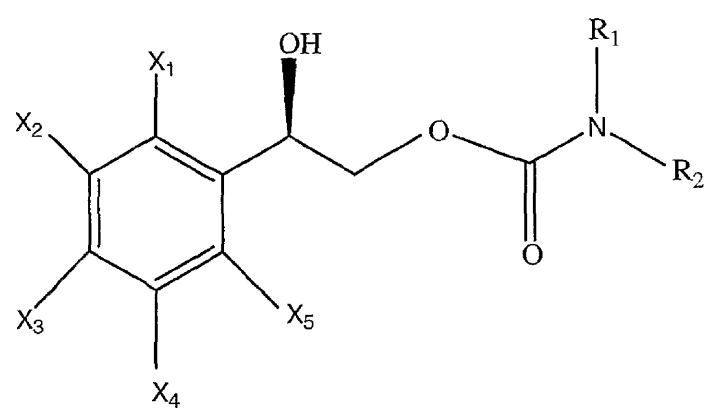
【0039】

【化 3】



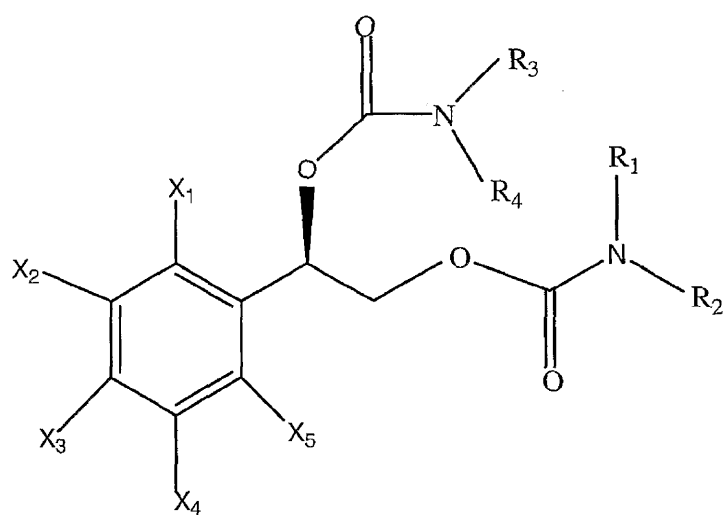
10

式3



20

式4



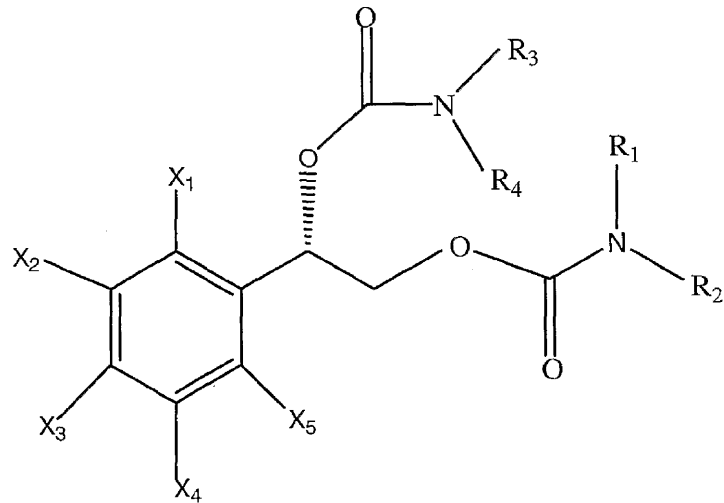
30

40

式5

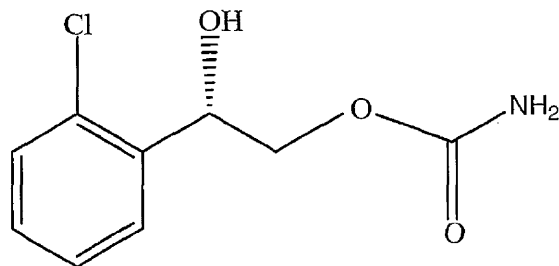
【 0 0 4 0 】

【化 4】



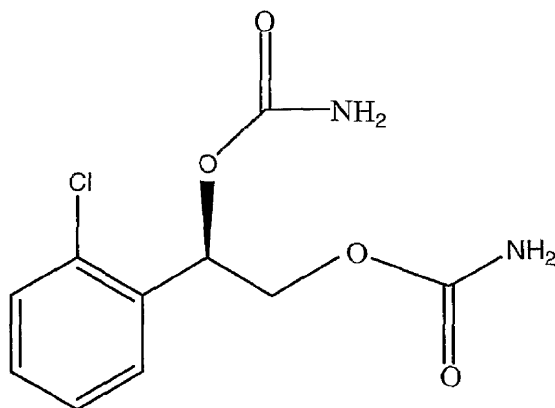
10

式6



20

式7



30

式8

【0041】
を包含する。

40

【0042】

本発明は式1及び式2の単離エナンチオマーの使用を包含する。1つの好ましい態様において、式1の単離S-エナンチオマーを含んでなる製薬学的組成物が被験体に神経保護を提供するために使用される。もう1つの好ましい態様においては、式2の単離R-エナンチオマーを含んでなる製薬学的組成物が被験体に神経保護を提供するために使用される。もう1つの態様において、式1の単離S-エナンチオマー及び式2の単離R-エナンチオマーを含んでなる製薬学的組成物が被験体に神経保護を提供するために使用されることができる。

【0043】

50

本発明はまた、式 1 又は式 2 のエナンチオマーの混合物の使用を包含する。本発明の 1 つのアスペクトにおいて、一方のエナンチオマーが優勢であろう。混合物中で優勢であるエナンチオマーは、混合物中に存在するいずれかの他方のエナンチオマーよりも多い量で、例えば 50 % を超える量で混合物中に存在するものである。1 つのアスペクトにおいて、一方のエナンチオマーは 90 % の程度まで、あるいは 91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 % 又は 98 % 以上の程度まで優勢であろう。1 つの好ましい態様において、式 1 の化合物を含んでなる組成物中で優勢であるエナンチオマーは式 1 の S-エナンチオマーである。もう 1 つの好ましい態様において、式 2 の化合物を含んでなる組成物中で優勢であるエナンチオマーは式 2 の R-エナンチオマーである。

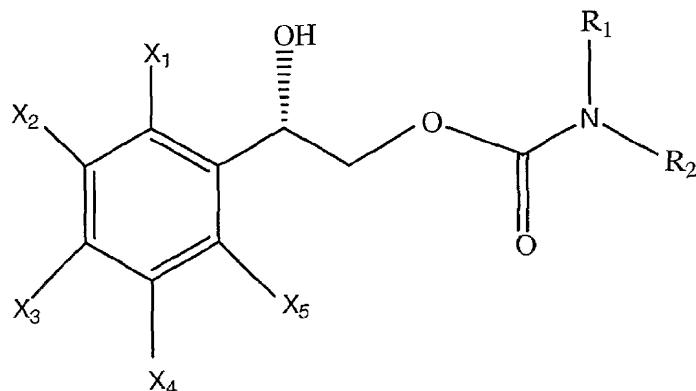
【0044】

10

本発明の好ましい態様において、本発明の組成物中で単一のエナンチオマーとして又は優勢なエナンチオマーとして存在するエナンチオマーは、式中 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、 X_5 、 R_1 、 R_2 、 R_3 及び R_4 が前記のとおりに定義される式 3 又は式 5 によりあるいは式 7 又は式 8 により表される。

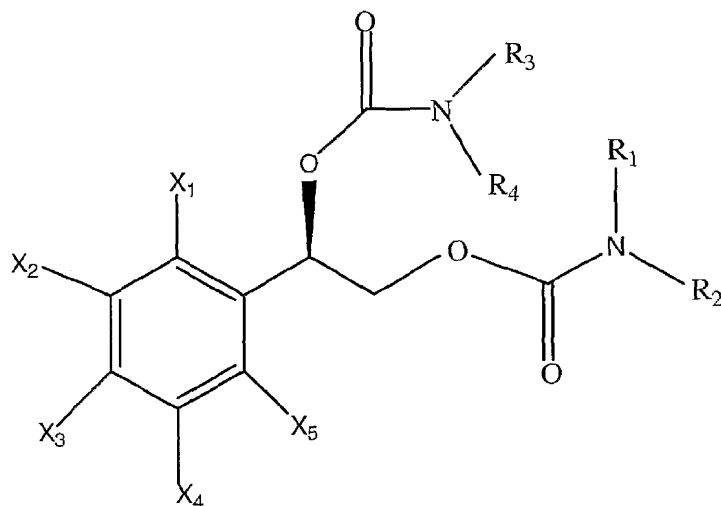
【0045】

【化 5】



20

式 3



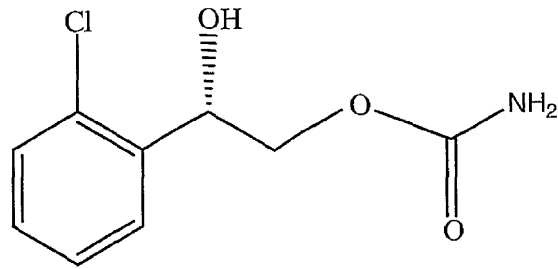
30

式 5

40

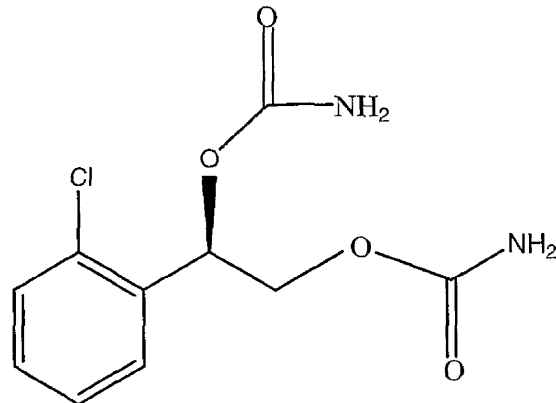
【0046】

【化 6】



式7

10



20

式8

【0047】

本発明は、式1及び式2により表される化合物のエナンチオマー及びエナンチオマー混合物を使用する方法を提供する。式1又は式2のカルバメートエナンチオマーはフェニル環に隣接する脂肪族炭素である、ベンジル位における不斉キラル炭素を含有する。

【0048】

単離されるエナンチオマーは対応するエナンチオマーを実質的に含まないものである。従って、単離エナンチオマーは分離法により分離される又は対応するエナンチオマーを含まずに調製される化合物を表す。本明細書で使用される用語「実質的に含まない」は、化合物が有意により大きい割合の一方のエナンチオマーでなることを意味する。好ましい態様において、化合物は少なくとも約90重量%の好ましいエナンチオマーを包含する。本発明の他の態様において、化合物は少なくとも約99重量%の好ましいエナンチオマーを包含する。好ましいエナンチオマーは高速液体クロマトグラフィー（HPLC）及びキラル塩の形成及び結晶化を包含する、当業者に知られたいずれかの方法によりラセミ混合物から単離するかあるいは、好ましいエナンチオマーを本明細書に記載の方法により調製することができる。

30

【0049】

好ましいエナンチオマーの調製法は当業者に知られていると思われるので、例えば Jacques, et al., *Enantiomers, Racemates and Resolutions* (Wiley Interscience, New York, 1981); Wilen, S. H., et al., *Tetrahedron* 33: 2725 (1977); Eliel, E. L. *Stereochemistry of Carbon Compounds* (McGraw-Hill, NY, 1962); 及び Wilen, S. H. *Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions* p. 268 (E. L. Eliel, Ed., Univ. of Notre Dame Press, Notre Dame, IN 1972) に記載されている。

40

【0050】

50

更に、本発明の化合物は米国特許第 3, 265, 728 号明細書（その明細はその全体をすべての目的のために引用により本明細書に編入されている）、第 3, 313, 692 号明細書（その明細はその全体をすべての目的のために引用により本明細書に編入されている）及び前記に引用された米国特許第 5, 854, 283 号、第 5, 698, 588 号及び第 6, 103, 759 号明細書（その明細はその全体をすべての目的のために引用により本明細書に編入されている）に記載のように調製することができる。

【0051】

神経保護の性状

中枢神経（CNS）又は、網膜を包含する末梢神経（PNS）系に対するいずれかの種類の傷害又は損傷を有する患者はこれらの神経保護法から利益を得ることができる。この神経系の傷害は例えば、ニューロン細胞死又は障害（compromise）をもたらす、限定はしないが、急性傷害、低酸素虚血又はそれらの組み合わせ物を包含する急性神経変性障害におけるような神経系に対する突然の障害又は急性傷害の形態を採る可能性がある。急性傷害は限定はされないが、閉鎖した、鈍角の又は貫通した脳外傷、局所性（focal）脳外傷、拡散脳損傷、脊髄傷害、頭蓋内又は脊柱内病巣（限定はされないが、脊髄の挫傷、貫通、剪断、圧縮又は裂傷病巣あるいは幼児の揺さぶり鞭打ち症を包含）を包含する外傷性脳傷害（TBI）を包含する。

【0052】

更に、概括的に酸素又は血液供給の剥奪は、限定はされないが、心血管不全、脳虚血又は脳梗塞（塞栓性閉塞症及び血栓症から発生する脳虚血又は梗塞、網膜虚血（糖尿病性他）、緑内障、網膜変性、多発性硬化症、毒性及び虚血性視神経障害、急性虚血後の再灌流、周産期低酸素－虚血傷害、心停止又はあらゆるタイプの頭蓋内出血（限定はされないが、硬膜外、硬膜下、クモ膜下又は脳内出血を包含）を包含）を包含する低酸素症及び／又は虚血におけるような急性傷害を誘発する可能性がある。

【0053】

神経系の組織に対する外傷又は傷害はまた、限定はされないが、アルツハイマー病、ピック病、拡散レービー小体病、進行性核上麻痺（スチール・リチャードソン症候群）、多系変性（シャイ・ドレーガー症候群）、神経変性を伴う慢性癲癇状態、運動ニューロン病（筋萎縮性側索硬化症）、多発性硬化症、変性運動失調、皮質基底変性、グアムの ALS・パーキンソン・痴呆複合物、亜急性硬化性汎脳炎、ハンチントン病、パーキンソン病、シヌクレイノパシー（synucleinopathies）（多系萎縮を包含）、原発性進行性失語症、線条体黒質変性症、マシャド・ジョーゼフ病又は脊髄小脳失調タイプ 3 及びオリブ橋小脳変性症、延髄及び偽球麻痺、脊髄及び脊髄延髄筋萎縮（ケネディー病）、原発性側索硬化症、家族性痙攣性対麻痺、ウェルドニッヒ・ホフマン病、クーゲルベルグ・ウェランデル病、テイ・サックス病、サンドホフ病、家族性痙攣性疾患、ポールファルト・クーゲルベルク・ウェランデル病、痙攣性不全対麻痺、進行性多焦点白質脳症、家族性自律神経障害（ライリー・デイ症候群）あるいはプリオン病（限定はされないが、クロイツフェルトヤコブ病、ゲルストマン・ストルスラー・シャインカー病、クールー（Kurur）病又は致死性家族性不眠症を包含）を包含する、長期間にわたる進行性ニューロン細胞死又は障害を伴うもののような、より慢性で、進行性の神経変性障害の形態を採る可能性がある。

【0054】

更に、神経系に対する外傷及び進行性傷害は、限定はされないが、双極性障害又は分裂情動性障害又は、統合失調症、衝動制御障害、強迫性衝動性障害（OCD）、一過性大脳葉癲癇における行動の変化及び人格障害の、進行性の悪化する形態を包含する、種々の精神医学的障害に起る可能性がある。

【0055】

1 つの好ましい態様において、本発明の化合物は種々の精神医学的障害における神経系に対する外傷及び進行性傷害に関与する障害における神経保護を提供するために使用されるであろう。これらの障害は、分裂情動障害、統合失調症、衝動制御障害、強迫性衝動性

障害（OCD）及び人格障害：よりなる群から選択されるであろう。

【0056】

更に、外傷及び傷害は、限定はされないが、年齢関連痴呆、血管性痴呆、拡散性白質病（ピンスワンゲル病）、内分泌又は代謝源の痴呆、頭部外傷及び拡散脳損傷の痴呆、拳闘家痴呆又は、限定はされないが、ピック病を包含する前頭葉痴呆に関連する神経変性障害を包含する、明白な高度の記憶喪失を伴う障害の形態を採る可能性がある。

【0057】

神経傷害と関連する他の障害は、限定はされないが、網膜を包含する神経系の化学的、毒性の、感染性の及び放射線傷害と関連する障害、胎児の発育期の傷害、出生時未熟児、無酸素一虚血、肝臓、血糖、尿毒症、電解質及び内分泌源からの傷害、精神医学源の傷害（限定はされないが、精神病理、鬱病又は心配症を包含）、末梢疾患及び叢障害（plexopathies）（叢麻痺を包含）からの傷害又は神経障害からの傷害〔多焦点、感覚、運動、感覚－運動、自律神経、感覚－自律神経又は脱髄神経障害（限定はされないが、ギラン－バレー症候群又は慢性炎症性脱髄多発性神経根障害を包含）から選択される神経障害あるいは感染症、炎症、免疫障害、薬物乱用、薬理学的処置、トキシン、外傷（限定はされないが、圧縮、粉碎、裂傷又は細分化外傷を包含）、代謝障害（限定はされないが、内分泌又は腫瘍随伴障害を包含）、シャルコー・マリー・トゥース病（限定はされないが、タイプ1a、1b、2、4a又は1-X結合を包含）、フリードライヒ運動失調、異染色性白質萎縮症、レフサム病、副腎骨髄神経障害、毛細血管拡張性運動失調症、ジェリン・ソッタ（Jerine-Sottas）（限定はされないが、タイプA又はBを包含）、ランベルト・イートン症候群又は頭部神経の障害から発生する神経障害、から選択される神経障害を包含〕を包含する。

【0058】

従って、本明細書で使用される用語「神経保護」は、ヒトを包含する哺乳動物の中樞神経又は末梢神経系中の神経細胞、軸索又はそれらの支持細胞の機能不全、変性又は死滅の重篤度を阻止、予防、緩和又は減少すること；を意味することとする。これは、処置を要する患者における、神経変性疾患の処置又は予防；化合物（例えばグルタメートのような興奮性アミノ酸；トキシン又は、限定はされないが、細胞死の即座の又は遅れた誘発を包含する、即座の又は遅れた細胞毒的副作用を与える予防的もしくは治療的化合物）の興奮毒性に対する保護又はその細胞毒性効果を緩和することを包含する。

【0059】

従って、本明細書で使用される用語「神経保護薬（NPD）による処置の必要な患者」は、前記の症候又は障害のいずれか、あるいは、患者の現在の臨床状態又は予後が、いずれかの神経学的又は精神医学的障害の発症、拡大、悪化又は、処置に対する増加した抵抗；を阻止するための神経保護を提供することから利益を得ることができるであろう、いずれかの障害を、現在有する又は発症する可能性があるあらゆる患者を表すであろう。

【0060】

用語「抗癲癇薬」（AED）は用語「抗痙攣剤」と互換性に使用され、そして本明細書で使用される双方の用語は、薬剤が被験体又は患者に投与される時に発作活動又は急発作発生（ictogenesis）を阻止する（例えば予防する、遅延させる、停止する、又は逆転させる）ことができる薬剤を表す。

【0061】

用語「薬作用発生団」は当該技術分野で知られており、そして本明細書で使用されるように、選択される生化学的効果、例えば酵素の阻害、受容体への結合、イオンのキレート化等を実施することができる分子部分を表す。選択される薬作用発生団は2種以上の生化学的効果をもつことができ、例えば1つの酵素のインヒビターであり、そして第2の酵素のアゴニストであることができる。治療剤は、同一の又は異なる生化学的作用をもつことができる1個以上の薬作用発生団を包含することができる。

【0062】

本明細書で使用される用語「処置すること」又は「処置」は、症状の軽減；寛解；減少

10

20

30

40

50

のようないずれかの客観的又は主観的パラメーターを包含する傷害、病理又は状態の予防又は緩和、あるいは傷害、病理学又は状態を患者により耐容できるものにさせる；変性又は低下の速度を遅延させる；変性の最終点をより悲劇的でなくする；あるいは被験体の身体的又は精神的福利を改善する点における成功のなんらかの証拠を表す。症候の処置又は緩和は、身体検査、神経学的検査及び／又は精神医学的評価の結果を包含する、客観的又は主観的パラメーターに基づくことができる。従って、用語「処置すること」又は「処置」は神経保護を提供するための本発明の化合物又は薬剤の投与を包含する。場合によっては、本発明の化合物による処置は、ニューロンの死滅又は損傷又は脳機能不全又は脳過剰興奮性の進行を予防、阻止又は停止するための、他の神経保護化合物又はA E Dと組み合わせ、実施されるであろう。

10

【0063】

本明細書で使用される用語「治療的效果」は、患者の中枢神経又は末梢神経系の細胞の死滅又は損傷又は機能不全を予防する又は最少にするための神経保護効果の有効な提供を表す。

【0064】

本明細書で使用される用語「治療的有效量」は、このような神経保護処置を要する被験体又は患者における、前記に定義の治療的效果をもたらすための、十分量の、本発明の1種又は複数の化合物を意味する。

【0065】

用語「被験体」又は「患者」は本明細書では互換性使用され、本明細書では、限定はされないが、本発明の組成物をそれに投与することができるヒトの患者又は被験体を包含する人類を包含する、あらゆる哺乳動物を意味する。用語の哺乳動物はヒトの患者及びヒト以外の霊長類並びに、ウサギ、ラット及びマウスのような実験動物及び他の動物を包含する。

20

【0066】

幾つかの態様においては、本発明の方法は、有利には、カルバメート化合物又は現在知られている神経保護化合物又はA E Dで有効に処置されることが当該技術分野で知られている状態を罹患していない又は罹患していることが知られている患者を処置するために使用されるであろう。これらの症例では、本発明の方法及び化合物を使用するという決定は、患者が、その用語が前記に定義されるような「神経保護薬（N P D）による処置の必要な患者」であるか否かの決定に基づいて実施されるであろう。

30

【0067】

幾つかの態様において、本発明は神経保護の方法を提供する。特定の態様において、これらの方法は、神経系の細胞に対して傷害又は損傷の明白な臨床的徴候又は症状をまだ発症してはいないが、神経系に対する傷害又は外傷のために、あるいは生化学的又は遺伝的のいずれかの何か知られた素因あるいは1種又は複数のこれらの障害の証明されたバイオマーカーの所見のために、神経障害の発症の高い危険群にあるかも知れない患者に、治療的に有効量の本発明のカルバメート化合物を投与する工程を含んでなる。

【0068】

従って、幾つかの態様において、本発明の方法及び組成物は、神経障害を発症する危険にあるが、まだ臨床的証拠を発症してはいない被験体における神経保護を対象とする。この患者は単に、被験体又はかれらの家族におけるいずれかの因子、医学歴、身体検査あるいは、ニューロン損傷を発症する平均より高い危険度を示すテストの認識により決定されるように「より高い危険性」にある可能性がある。従って、患者がいずれかの利用可能な方法により「より高い危険度」にある可能性があるというこの決定は、患者が本発明の方法で処置されるべきであるかどうか決定するために使用することができる。

40

【0069】

従って、代表的態様において、本発明の方法及び化合物による処置から利益を得ることができる被験体は、ニューロン損傷に対する危険因子を決定するための承認されたスクリーニング法を使用して識別することができる。これらのスクリーニング法は例えば、例え

50

ば閉鎖した又は貫通したいずれかの頭部外傷、細菌又はウイルス性CNS感染症、限定はしないが卒中を包含する脳血管疾患、脳腫瘍、脳水腫、囊尾虫症、ポルフィリン症、代謝脳症、限定はしないが鎮静催眠剤又はアルコール禁断を包含する薬物禁断、出生時無酸素症又はいずれかの種類の出生時障害を包含する異常周産期病歴、脳性麻痺、学習障害、多動症、幼児期の熱性痙攣歴、痙攣重積状態の病歴、癲癇又はいずれかの発作関連障害の家族歴、狼瘡を包含する脳の炎症性疾患、限定はしないがコカイン中毒を包含する直接的又は胎盤運搬のいずれかによる薬物中毒、両親の近親結婚並びに向精神薬投薬を包含する神経系に対して毒性である医薬による処置を包含する、危険因子を決定するための従来の処置法を包含する。

【0070】

患者が、臨床的徴候又は症状をもたない患者における、NPDによる処置から利益を得るかも知れないという決定は、種々の「代理マーカー」又は「バイオマーカー」に基づくことができる。

【0071】

本明細書で使用される用語「代理マーカー」及び「バイオマーカー」は互換性に使用され、ニューロン障害の現在の存在又は将来の発症と信頼性に相関させることができるいずれかの解剖学的、生化学的、構造的、電気的、遺伝的又は化学的指標又はマーカーを表す。幾つかの症例では、コンピューター断層撮影（CT）、磁気共鳴画像（MRI）又は陽電子発射断層撮影（PET）のような脳撮影法を使用して、被験体がニューロン障害の危険にあるかどうかを決定することができる。

【0072】

本発明の方法に適するバイオマーカーは限定はしないが、海馬における梗塞、萎縮又は容量減少あるいは明白な近心の一過性梗塞（MTS）あるいは同様な関連した解剖学的病理のMRI、CT又は他の撮影法による決定；タンパク質又は他の生化学的バイオマーカーのような分子群の患者の血液、血清又は組織中の検出、例えば毛様体の神経栄養因子（CNTF）の高いレベル又はニューロン分解産物の高い血清レベル；あるいは患者が神経保護薬による処置を要するという代理マーカー又はバイオマーカーからの他の証拠を包含する。

【0073】

広範な検出法を使用する、ずっと多数のこのようなバイオマーカーが将来開発されるであろうと期待される。ニューロン損傷（この用語は本明細書に使用される）の存在又は可能な将来の発症のいずれかのこのようなマーカー又は指標を、本発明の化合物及び方法による処置の必要を決定するための本発明の方法に使用することができることが意図される。

【0074】

被験体がニューロン障害を有する又は発症する危険にあるかも知れないという決定はまた、例えば完全な病歴、身体検査及び一連の関連血液試験を包含する医学的評価を包含するであろう。それはまた、脳波（EEG）、CT、MRI又はPETスキャンを包含することができる。ニューロン損傷又は傷害を発症する増加した危険の決定はまた、遺伝子発現プロファイル作成又はプロテオミックス法を包含する遺伝子試験により実施することができる（Schmidt, D. Rogawski, M. A. Epilepsy Research 50; 71-78 (2002) 及び Loscher, W, Schmidt D. Epilepsy Research 50; 3-16 (2002) を参照されたい）。

【0075】

神経保護薬により安定化又は改善することができる精神医学的障害、例えば双極性障害、分裂情動障害、統合失調症、衝撃調節障害、等に対して、前記の試験はまた、現在の状態の検査及び、気分障害の症状及び長期にわたりそして、患者が長い間に受けてきたかも知れない他の処置に関連した精神病的症状のような患者の症状の経過の詳細な病歴、例えば生涯病歴を包含することができる。これら及び他の特別のそして定常的方法が、臨床家に、本発明の方法及び調合物を使用する治療の必要な患者を選択させる。

10

20

30

40

50

【0076】

本発明の幾つかの態様において、本発明の実施における使用に適するカルバメート化合物は単独で、あるいは、少なくとも1種又は複数の他の化合物又は治療剤、例えば他の神経保護薬又は抗癲癇薬、抗痙攣薬と同時のいずれかで投与されるであろう。これらの態様において、本発明は、患者におけるニューロンの傷害を処置又は予防するための方法を提供する。該方法は、処置を必要とする患者に、神経保護を提供する又は発作もしくは癲癇発生を処置もしくは予防する能力、あるいは本発明の化合物の神経保護効果を増強する能力を有する、有効量の、1種又は複数の他の化合物又は治療剤と組み合わせて、本明細書に開示された有効量の1種のカルバメート化合物を投与する；工程を包含する。

【0077】

本発明の化合物との、化合物、治療剤又は知られた薬剤の「同時投与」又は「組み合わせ投与」は、知られた薬剤及び化合物双方が治療的效果をもつであろう時の、薬剤及び1種又は複数の化合物の投与を意味する。場合により、この治療効果は相乗的であろう。このような同時投与は、本発明の化合物の投与に対する薬剤の同時（すなわち同じ時に）の、前の、又はその後の投与を伴うことができる。当業者は、特定の薬剤及び本発明の化合物に対して適当な投与のタイミング、順序及び用量を決定するのに何の困難も見いださないであろう。

【0078】

前記の1種又は複数の他の化合物あるいは治療剤は、1つ又は複数の以下の特性：抗酸化作用、NMDA受容体アンタゴニスト作用、内因性GABA阻害の増強、NO合成酵素インヒビター作用、鉄結合能、例えばキレート化剤、カルシウム結合能、例えばCa(II)キレート化剤、亜鉛結合能、例えばZn(II)キレート化剤、患者のCNS中のナトリウム又はカルシウムイオンチャンネルを有効にブロックする能力あるいは、カリウム又は塩化物イオンチャンネルを開く能力、を有する化合物から選択することができる。

【0079】

幾つかの好ましい態様において、1種又は複数の他の化合物あるいは治療剤は、NMDA受容体に結合することにより（例えばNMDA受容体のグリシン結合部位に結合することにより）NMDA受容体に拮抗するであろう、そして／又はその物質はグリアのGABA取り込みを減少することによりGABA阻害を増強するであろう。

【0080】

更に、前記の1種又は複数の他の化合物あるいは治療剤は、たとえその化合物が神経保護を提供することが知られていなくても、発作活動を抑制することが知られたいずれかの薬剤であることができる。このような薬剤は限定はされないが、当業者に知られた、又は将来発見されるいずれかの有効なAEDを包含するであろう、適当な薬剤は例えば、限定はされないが、カルバマゼピン、クロバザム、クロナゼパム、エトスクシミド、フェルバメート、ガパベンチン、ラモチギン、レベチラセタム、オキシカルバゼピン、フェノバルビタール、フェニトイン、プレガバリン、プリミドン、レチガビン、タラムパネル、チアガビン、トピラメート、バルプロエート、ピガバトリン、ゾニサミド、ベンゾチアゼピン、バルビツレート及び一般的に鎮静催眠剤を包含する。

【0081】

更に、幾つかの態様において、本発明の化合物は、治療を要する患者又は被験体に神経保護を提供する目的のための医薬製造のために、単独で、あるいは互いに組み合わせて、あるいは前記の1種又は複数の他の治療薬又はそれらの塩もしくはエステルと組み合わせてのいずれかで使用されるであろう。

【0082】

医薬としてのカルバメート化合物

本発明は医薬として式1及び／又は式2のエナンチオマー混合物及び単離エナンチオマーを提供する。カルバメート化合物は被験体に神経保護を提供するための医薬として調査される。

【0083】

概括的に、本発明のカルバメート化合物は経口、舌下、局所、全身（例えば、経皮的、鼻腔内又は座薬により）、あるいは非経口（例えば、筋肉内、皮下又は静脈内注射）を包含する、治療薬を投与するための当該技術分野で知られたいずれかの方法により、製薬学的組成物として投与することができる。直接に神経系に対する化合物の投与は例えば、ポンプ装置を使用して又は使用せずに頭蓋内又は脊椎内用の針又はカテーテルを介した送達による大脳内、室内、脳室内、鞘内、槽内、脊髓内又は脊髓周囲投与経路への投与を包含することができる。

【0084】

更に、限定はされないが、網膜虚血（糖尿病性、他）、緑内障、網膜変性、黄斑変性、多発性硬化症、毒性及び虚血性視神経障害を包含する目の疾患又は障害の症例においては、化合物の組み合わせ物を包含する本発明の化合物は目に対する直接の体外からの適用、すなわち強膜、あるいは、例えば点眼剤により、あるいは眼内移植又は、硝子体液等中への直接注入によることを包含する微細球を包含する他の遅い送達装置により投与することができる。

【0085】

組成物は錠剤、ピル、カプセル、半固体、散剤、持続放出調合物、液剤、懸濁物、エマルション、シロップ、エリキシル、エアゾール又はいずれかの他の適当な組成物の形態を採ることができる、そして少なくとも1種の製薬学的に許容できる賦形剤と組み合わせた、少なくとも1種の本発明の化合物を含んでなることができる。適した賦形剤は当業者には周知であり、それら及び組成物の調合法は、その開示が、全体をすべての目的のために引用により本明細書に編入された、Alfonso AR: Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton PA, 1985, のような標準参考文献中に認めることができる。特に注射液に適した液体担体は、水、生理食塩水、デキストロス水溶液及びグリコールを包含する。

【0086】

カルバメート化合物は水性懸濁液として提供することができる。本発明の水性懸濁液は水性懸濁液の製造に適する賦形剤と混合したカルバメート化合物を含有することができる。このような賦形剤は、例えばナトリウムカルボキシメチルセルロース、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ナトリウムアルギネート、ポリビニルピロリドン、ガムトラガカント及びガムアカシアのような懸濁剤、並びに天然に存在するホスファチド（例えばレシチン）、脂肪酸とのアルキレンオキシドの縮合生成物（例えばポリオキシエチレンステアレート）、長鎖の脂肪族アルコールとのエチレンオキシドの縮合生成物（例えば、ヘプタデカエチレンオキシセタノール）、脂肪酸及びヘキシトールから誘動される部分エステルとのエチレンオキシドの縮合生成物（例えば、ポリオキシエチレンソルビトールモノオレエート）又は脂肪酸及びヘキシトール無水物から誘動される部分エステルとのエチレンオキシドの縮合生成物（例えば、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート）のような、分散剤又は湿潤化剤を包含することができる。

【0087】

水性懸濁液はまた、エチル又はn-プロピルp-ヒドロキシベンゾエートのような1種又は複数の保存剤、1種又は複数の着色剤、1種又は複数の香り付け剤及び、スクロース、アスパルテム又はサッカリンのようないくつかの1種又は複数の甘味剤を含有することができる。調合物は浸透性に対して調整することができる。

【0088】

本発明の方法における使用のための油懸濁物は落花生油、オリーブ油、ゴマ油又はココナツ油のような植物油、あるいは流動パラフィンのような鉱油、あるいはこれらの混合物中にカルバメート化合物を懸濁させることにより調合することができる。油懸濁物は蜜蝋、硬化パラフィン又はセチルアルコールのような増粘剤を含有することができる。グリセロール、ソルビトール又はスクロースのような甘味剤は、味のよい経口調製物を提供するために添加することができる。これらの調合物はアスコルビン酸のような抗酸化剤の添加

により保存することができる。注射用油ベヒクルの1例として、M i n t o , J . P h a r m a c o l . E x p . T h e r . 2 8 1 : 9 3 - 1 0 2 , 1 9 9 7を参照されたい。本発明の製薬学的調合物はまた、水中油エマルションの形態にすることができる。油相は前記の植物油又は鉱油又はこれらの混合物であることができる。

【0089】

適した乳化剤はアカシアガム及びトラガカントガムのような天然に存在するガム、大豆レシチンのような天然に存在するホスファチド、ソルビタンモノオレエートのような脂肪酸とヘキシトール無水物から誘導されるエステル又は部分エステル並びにポリオキシエチレンソルビタンモノオレエートのようなエチレンオキシドとのこれらの部分エステルの縮合生成物を包含する。エマルションはまた、シロップ及びエリキシルの調合物中におけるような甘味剤及び香り付け剤含有することができる。このような調合物はまた、緩和薬、保存剤又は着色剤を含有することができる。

10

【0090】

単独で又は他の適当な成分と組み合わせて、選択すべき化合物は、吸入により投与されるためのエアゾール調合物に製造することができる（すなわち、それらは「噴霧」することができる）。エアゾール調合物はジクロロジフルオロメタン、プロパン、窒素等のような加圧された許容できる噴射剤中に入れることができる。

【0091】

例えば関節内（関節内）、静脈内、筋肉内、皮内、腹腔内及び皮下経路によるような非経口投与に適する本発明の調合物は、水性及び非水性の、等張滅菌注射液を包含することができ、それらは抗酸化剤、バッファー、静菌剤及び、その調合物を意図される受益者の血液と等張にさせる溶質並びに、懸濁剤、可溶化剤、増粘剤、安定剤及び保存剤を包含することができる水性及び非水性滅菌懸濁物を含有することができる。使用することができる許容できるベヒクル及び溶媒の中には、水、リンゲル液、等張塩化ナトリウムがある。更に、滅菌不揮発性油を、溶媒又は懸濁媒質として便利に使用することができる。この目的のためには合成モノーもしくはジグリセリドを包含するいずれかの緩和な不揮発性油を使用することができる。更に、オレイン酸のような脂肪酸も同様に注射液の調製に使用することができる。これらの液剤は滅菌され、一般に望ましくない物質を含まない。

20

【0092】

化合物が十分に可溶性である場合は、それらはプロピレングリコール又はポリエチレングリコールのような適当な有機溶媒の使用を伴って又は伴わずに通常の生理食塩水中に直接溶解することができる。微細に粉碎された化合物の分散物はデンプン又はナトリウムカルボキシメチルセルロース水溶液あるいは落花生油のような適当な油中で構成することができる。これらの調合物は従来の、周知の滅菌法により滅菌することができる。調合物は、pH調整及びバッファー剤、毒性調整剤、例えば酢酸ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化カルシウム、乳酸ナトリウム等、のような生理学的状態に似せるために必要な製薬学的に許容できる補助物質を含有することができる。

30

【0093】

これらの調合物中のカルバメート化合物の濃度は広範にばらつくことができ、選択される特定の投与方法及び患者の需要に従って、主として、流体の容量、粘度、体重等に基づいて選択されるであろう。静脈内投与のためには調合物は、滅菌注射水溶液又は油性懸濁物のような滅菌注射用調製物であることができる。この懸濁物は、これらの適当な分散剤又は湿潤化剤及び懸濁剤を使用して知られた当該技術に従って調合することができる。滅菌注射用調製物はまた、1, 3-ブタンジオール溶液のような無毒の非経口に許容できる希釈剤又は溶媒中の滅菌注射液又は懸濁物であることができる。推奨物（c o m m e n d s）の調合物はアンプル及びバイアルのような単位用量又は複数用量のシール容器内に提供することができる。注射液及び懸濁物は、滅菌粉末、顆粒及び前記の種類の錠剤から調製することができる。

40

【0094】

本発明の実施における使用に適するカルバメート化合物は経口投与することができ、好

50

ましくは経口投与される。組成物中の本発明の化合物の量は、組成物のタイプ、単位用量のサイズ、賦形剤の種類、及び当業者に周知の他の因子に応じて広範にばらつく可能性がある。概括的に、最終組成物は例えば0.000001重量パーセント(%w)～10%wのカルバメート化合物、好ましくは0.00001%w～1%wを含んでなることができ、残りは1種又は複数の賦形剤である。

【0095】

経口投与用製薬学的調合物は、経口投与に適する投与物に当該技術分野で周知の製薬学的に許容できる担体を使用して調合することができる。このような担体は、製薬学的調合物を、患者による摂取に適した錠剤、ピル、散剤、糖衣錠、カプセル、液剤、ロゼンジ、ゲル、シロップ、スラリー、懸濁物、等のような単位投与剤形に調合させることができる。

10

【0096】

経口投与に適した調合物は(a)水、生理食塩水又はPEG400のような希釈剤中に懸濁された有効量の製薬学的調合物のような溶液、(b)それぞれが液体、固体、顆粒又はゼラチンのような、前以て決定された量の有効成分を含有するカプセル、分包又は錠剤、(c)適当な液体中の懸濁物並びに(d)適当なエマルション、よりなることができる。

【0097】

経口使用のための製薬学的調製物は、場合により、生成される混合物を粉碎し、そして所望される場合は適当な更なる化合物を添加後に顆粒の混合物を処理して、錠剤又は糖衣錠のコアを得て、固形賦形剤との本発明の化合物の組み合わせにより得ることができる。適当な固形の賦形剤は炭水化物又はタンパク質充填剤であり、限定はされないが、ラクトース、スクロース、マニトール又はソルビトールを包含する糖；トウモロコシ、小麦、米、ジャガイモ、又は他の植物からのデンプン；メチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース又はナトリウムカルボキシメチルセルロースのようなセルロース；並びにアラビアゴム及びトラガカントを包含するガム並びにゼラチン及びコラーゲンのようなタンパク質、を包含する。所望される場合は、架橋ポリビニルピロリドン、寒天、アルギン酸又はその塩(アルギン酸ナトリウムのような)のような崩壊剤又は溶解剤を添加することができる。錠剤形態は1種又は複数のラクトース、スクロース、マニトール、ソルビトール、リン酸カルシウム、コーンスターチ、ジャガイモデンプン、微細結晶セルロース、ゼラチン、コロイド状二酸化ケイ素、タルク、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸及び他の賦形剤、着色剤、充填剤、結合剤、希釈剤、緩衝剤、湿潤化剤、保存剤、香り付け剤、染料、崩壊剤及び製薬学的に相容性の担体を包含することができる。ロゼンジ形態は、フレーバー(例えば、スクロース)中の有効成分並びに、有効成分に加えて当該技術分野で知られた担体を含有する、ゼラチン及びグリセリン又はスクロース及びアカシアエマルション、ゲル等のような不活性基剤中の有効成分を含んでなる芳香製剤を含んでなることができる。

20

30

【0098】

本発明の化合物はまた、薬剤の直腸内投与のための座薬の形態で投与することができる。これらの調合物は、薬剤を、常温で固体であるが、直腸温度で液体であり、従って直腸内で融解して薬剤を放出するであろう、適当な刺激性のない賦形剤と混合することにより調製することができる。このような材料はココアバター及びポリエチレングリコールである。

40

【0099】

座薬、吸入剤、散剤及びエアゾール調合物(例えば、ステロイド吸入剤については、Rohatagi, J. Clin. Pharmacol. 35:1187-1193, 1995; Tjwa, Ann. Allergy Asthma Immunol. 75:107-111, 1995を参照されたい)を包含する本発明の化合物はまた、鼻腔内、点眼、腔内及び直腸内経路により投与することができる。

【0100】

50

本発明の化合物は経皮的に、局所経路により送達することができ、アプリケーションステック、液剤、懸濁物、エマルション、ゲル、クリーム、軟膏、ペースト、ゼリー、塗り薬、散剤及びエアゾールとして調合することができる。

【0101】

カプセル封入材もまた、本発明の化合物とともに使用することができ、用語「組成物」は、他の担体を伴って又は伴わずに、調合物としてカプセル封入材と組み合わせた有効成分を包含することができる。例えば、本発明の化合物はまた、体内における遅延放出のための微細球として送達することができる。1つの態様において、微細球を、皮下で緩徐に放出する(Rao, J. Biomater Sci. Polym. Ed. 7: 623-645, 1995を参照されたい)薬剤(例えば、ミフェプリストン)一含有微細球の皮内注射により;生物分解性及び注射可能なゲル調合物として(例えば、Gao, Pharm. Res. 12: 857-863, 1995を参照されたい);又は経口投与用微細球として(例えば、Eyles, J. Pharm. Pharmacol. 49: 669-674, 1997を参照されたい)投与することができる。経皮的及び皮内経路は双方とも数週間又は数カ月間一定の送達を与える。糖衣錠もまた本発明の化合物の送達には使用することができる。

10

【0102】

もう1つの態様において、本発明の化合物は、細胞膜と融合する又はエンドサイトーシスされるリポソームの使用により、すなわちエンドサイトーシスをもたらす細胞の表面膜タンパク質受容体に結合するリポソームに付着したリガンドを使用することにより、送達することができる。リポソームを使用することにより、特にリポソームの表面が標的細胞に特異的なリガンドを担持する、あるいは特異的な器官に優先的に導かれる場合に、インビボの標的細胞中にカルバメート化合物の送達を集中させることができる(例えば、Al-Muhammed, J. Microencapsul. 13: 293-306, 1996; Chonn, Curr. Opin. Biotechnol. 6: 698-708, 1995; Ostro, Am. J. Hosp. Pharm. 46: 1576-1587, 1989を参照されたい)。

20

【0103】

本発明の製薬学的調合物は塩として提供することができ、そして限定はされないが、塩酸、硫酸、酢酸、乳酸、酒石酸、リンゴ酸、コハク酸、等を包含する多数の酸により形成することができる。塩は、対応する遊離塩基形態である水性又は他のプロトン溶媒中に、より可溶性の傾向がある。他の場合には、好ましい調製物は凍結乾燥粉末であることができ、それは例えば、使用前にバッファーと合わせる、pH範囲4.5~5.5の、以下: 1mM~50mMのヒスチジン、0.1%~2%のスクロース、2%~7%のマニトールのいずれか又はすべてを含有することができる。

30

【0104】

製薬学的に許容できる塩及びエステルは、製薬学的に許容でき、そして所望の薬理学的特性をもつ塩及びエステルを意味する。このような塩は、化合物中に存在する酸性プロトンが無機又は有機塩基と反応することができる場合に形成することができる塩を包含する。適当な無機塩は、アルカリ金属、例えばナトリウム及びカリウム、マグネシウム、カルシウム及びアルミニウムとともに形成されるものを包含する。適当な有機塩は、アミン塩基、例えばエタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン、トロメタミン、N-メチルグルカミン、等のような有機塩基とともに形成されるものを包含する。製薬学的に許容できる塩はまた、親化合物中のアミン部分の、無機酸(例えば塩酸及び臭化水素酸)及び有機酸(例えば酢酸、クエン酸、マレイン酸、並びにメタンスルホン酸及びベンゼンスルホン酸のようなアルカン-及びアレノ-スルホン酸)との反応から形成される酸付加塩を包含することができる。製薬学的に許容できるエステルは、化合物中に存在するカルボキシ、スルホニルオキシ及びホスホノキシ基から形成されるエステルを包含する。2個の酸性基が存在する時は、製薬学的に許容できる塩又はエステルはモノ-酸-モノ-塩又はエステルあるいはジ-塩又はエステルであることができ、そして同様に、2個

40

50

を超える酸性基が存在する場合には、このような基の幾つか又はすべてが塩になり、又はエステル化されることができる。

【0105】

本発明中で名前を挙げた化合物は非塩化又は非エステル化形態、あるいは塩化及び／又はエステル化形態で存在することができ、そしてこのような化合物の命名は元来の（非塩化及び非エステル化）化合物及び製薬学的に許容できるその塩及びエステル双方を包含することが意図される。本発明は式1及び式2の製薬学的に許容できる塩及びエステル形態を包含する。式1又は式2のエナンチオマーの2種以上の結晶形態が存在する可能性があり、従って、それらも本発明に包含される。

【0106】

本発明の製薬学的組成物は、カルバメート化合物に加えて、場合により、神経保護を提供することに関連する疾患又は状態の処置に有用な、少なくとも1種の他の治療剤を含有することができる。

【0107】

製薬学的組成物を調合する方法は、Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets、第2版、改定及び増刷、1-3巻、編集 Lieberman 等；Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications、1-2巻、Avis et al 編集；及び Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems、1-2巻、Lieberman 等編集；Marcel Dekker, Inc 発行、のような多数の発刊物に記載されており、それらの明細はそれらの全体をすべての目的のために引用により本明細書に編入されている。

【0108】

製薬学的組成物は概括的に滅菌された、実質的に等張として、そして米国食品医薬品局の適正製造基準（GMP）規制に完全に準拠して調合される。

【0109】

投与計画

本発明はカルバメート化合物を使用して哺乳動物における神経保護を提供する方法を提供する。神経保護を提供するために要するカルバメート化合物の量は治療的又は製薬学的有効量と定義される。この使用に有効な投与計画及び量、すなわち、投与量又は投与計画は、疾患の段階、患者の身体状態、年齢等を包含する種々の因子に左右されるであろう。患者に対する投与計画を計算する際、投与方法も考慮に入れる。

【0110】

当業者は、必要以上の実験を伴わずに、その技術及び本明細を参考にして、本発明の実施のための特定の置換カルバメート化合物の治療的に有効量を決定することができるであろう（例えば、Lieberman, Pharmaceutical Dosage Forms (Vols. 1-3, 1992)；Lloyd, 1999, The art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding；及び Pickar, 1999, Dosage Calculations を参照されたい）。治療的有效量はまた、そこで有効物質のあらゆる毒性又は有害な副作用が、臨床的な意味で治療的に有益な効果により打ち負かされるものである。更に、各特定の被験体に対して、個体の需要及び化合物を投与する又は投与を監督する人の職業的判断に従って、特別の投与計画が長期にわたり評価され、調整されるべきであることに注意しなければならない。

【0111】

処置の目的のためには、本明細書に開示された組成物又は化合物は、1回のボーラス送達で、長期間にわたる連続的送達により、又は反復投与プロトコール（例えば、1時間、1日又は毎週1回の反復投与プロトコールにより）で被験体に投与することができる。本発明の製薬学的調合物は例えば、1日1回又は数回、毎週3回又は毎週1回で投与することができる。本発明の1つの態様において、本発明の製薬学的調合物は毎日1回又は2回

経口投与される。

【0112】

本発明の化合物による処置計画は例えば、被験体が脳損傷傷害又は他の初回発作を罹患した後に、しかし被験体が癲癇又はニューロン傷害の他の徴候をもつと診断される前に開始することができる。1つの態様において、ニューロン傷害を発症する高い危険性にあると識別される被験体又は、ニューロン傷害を発症している危険性を伴う疾患、例えば新生児低酸素症を有する被験体は、本発明のカルバメート化合物による処置計画を開始することができる。

【0113】

特定の態様において、カルバメート化合物は脳損傷傷害又は初回発作の発生後、一定の期間（週、月、年）にわたり毎日投与することができる。担当医は、例えば患者の臨床検査により、あるいは血液又は脳脊髄液中の薬剤レベルを測定することにより、カルバメート化合物が治療的に有効レベルに達したことを、いかにして決定するかを知るであろう。

【0114】

これに関して、1種又は複数の生物学的に活性な物質の治療的に有効な投与量は、神経保護を提供するために臨床的に有意な結果をもたらすであろう長期の処置計画内の反復投与量を包含することができる。これに関する有効量の決定は、典型的には動物モデルの研究とその後のヒトの臨床試験に基づき、そして被験体における標的とされる露出症状又は状態の発生又は重篤度を有意に減少する有効な用量及び投与プロトコルを決定することにより誘導される。これに関する適当なモデルは例えばネズミ、ラット、ブタ、ネコ、ヒト以外の霊長類及び当該技術分野で知られた他の許容される動物モデル被験体を包含する。あるいはまた、有効量はインビトロモデル（例えば、免疫学的及び組織病理学的アッセイ）を使用して決定することができる。このようなモデルを使用して、典型的にはごく通常の計算及び調整が必要とされて、1種又は複数の生物学的に活性な物質の治療的有效量（例えば、所望の反応を誘発するための鼻腔内投与で有効な、経皮的投与で有効な、静脈内投与で有効な、又は筋肉内投与で有効な量）を投与するために適当な濃度及び用量を決定する。

【0115】

本発明の代表的態様において、標準の投与計画のための、化合物の単位投与剤形が調製される。この方法で、組成物は医師の指示により、より少量の用量に容易に準分割することができる。例えば、単位用量は分包散剤、バイアル又はアンプルに、そして好ましくはカプセル又は錠剤形態に構成することができる。

【0116】

組成物のこれらの単位投与剤形中に存在する有効化合物は、患者の特定の需要に従って毎日1回又は複数回の投与に対し、例えば約10mg～約1グラム以上の量で存在することができる。約1グラムの最低1日量により処置計画を開始することにより、カルバメート化合物の血中レベルを使用して、より大量又は少量の用量を適用するか否かを決定することができる。

【0117】

本発明のカルバメート化合物の有効な投与は例えば、約0.01mg/kg/1回～約150mg/kg/1回の経口又は非経口用量で投与することができる。好ましくは、投与は約0.1mg/kg/1回～約25mg/kg/1回、より好ましくは約0.2～約18mg/kg/1回であろう。従って、本明細書に記載の投与単位当たりには含有される有効成分の治療的有效量は例えば、70kgの平均体重をもつ被験体に対して、例えば約1mg/日～約7000mg/日であることができる。

【0118】

本発明の方法はまた、神経保護を提供する際に使用のためのキットを提供する。治療的利益をもつ1種又は複数の他の化合物の可能な添加とともに、本発明の1種又は複数のカルバメート化合物を含んでなる製薬学的組成物が適当な担体中に調合された後に、それを適当な容器に入れて、神経保護提供のためのラベルを貼ることができる。更に、神経保護

提供、癲癇発生、癲癇又は、ニューロン傷害と関連するもう1つの障害又は状態の処置に有用な少なくとも1種の他の治療剤を含んでなるもう1つの医薬も同様にその容器内に入れて、適用疾患の処置用にラベルを貼ることができる。このようなラベル貼付は、例えば各医薬の投与の量、頻度及び方法に関する指示書を包含することができる。

【0119】

以上の発明は、理解の明確化の目的のために、例を挙げて、詳細に説明されてきたが、特定の変更及び修飾は、開示により理解され、そして限定しない具体化により提示される付記の請求項の範囲内で、不必要な実験なしで実施することができることは当業者に明白であろう。以下の実施例は本発明の特別のアスペクトを具体的に示すために提供され、限定を意味しない。

10

【0120】

実施例

神経保護を提供する際に使用のための式(I)及び式(II)の化合物の活性を以下の実験的実施例において評価した。実施例1及び2において、本明細書で「試験化合物」TCと呼ばれる式1の単離S-エナンチオマー(例えば、式7)の活性を、ラットにおいてリチウム及びピロカルピンにより誘発された一過性大脳葉癲癇のモデルにおける神経保護に対する、そして癲癇発生の処置における化合物の効果を決定するために、誘発された癲癇のラットモデルにおいて評価した。これらの実施例は本発明の種々の態様を具体的に示す方法であることが意図され、どんな方法でも本発明を限定することは意図されない。

20

【実施例1】

【0121】

一過性大脳葉癲癇のリチウム-ピロカルピンモデル

リチウムと結合されたピロカルピン(Li-Pilo)によりラットに誘発されるモデルはヒトの一過性大脳葉癲癇の臨床的及び神経生理学的特徴の大部分を再現する(TurSKI et al., 1989, Synapse 3:154-171; Cavalheiro, 1995, Ital J Neurol Sci 16:33-37)。成熟ラットにおいて、ピロカルピンの全身投与は痙攣重積状態(SE)をもたらす。死亡率は最初の数日で30~50%に達する。生存動物において、ニューロン損傷は海馬体、梨状皮質及び内側嗅皮質、視床、扁桃体、新皮質及び黒質内に優勢である。この急性発作期間の次に、14~25日間の平均期間継続する「沈黙した」発作不在相が続く、次いですべての動物が1週間に2~5回の通常の頻度で自然発生の反復痙攣発作を示す(TurSKI et al., 1989, Synapse 3:154-171; Cavalheiro, 1995, Ital J Neurol Sci 16:33-37; Dubé et al., 2001, Exp Neurol 167:227-241)。

30

【0122】

リチウム-ピロカルピン及び試験化合物による処置

Janvier 飼育センター(Le Genest-St-Isidore, France)により提供される、225~250gの雄のウィスターラットを調整標準条件下(明/暗周期、7.00 a.m.~7.00 p.m.点灯下)で飼料及び水を自由に与えて飼育した。すべての動物実験を1986年11月24日の欧州共同体協議会指令(86/609/EEC)及びフランス農業省(License N° 67-97)の規則に準拠して実施した。電極の移植のためにラットを2.5mg/kgのジアゼパム(DZP, Valium, Roche, France)及び1mg/kgのケタミンクロルヒドレート(Imalgene 1000, Rhone Merrieux, France)の腹腔内注射により麻酔した。4個の単接点記録電極を片側に2個ずつ、頭蓋上の頭頂外皮上に置いた。

40

【0123】

痙攣重積状態の誘発

試験化合物による処置及び自然発生の反復発作(SRS)の発生

すべてのラットが塩化リチウム(3meq/kg, 腹腔内, Sigma, St Louis

50

i s, M o, U. S. A.) を投与され、約 20 時間後に、基底線の皮質の E E G を記録するために、動物をプレクシグラスの箱の中に入れた。メチルスコポラミンプロミド (1 m g / k g、皮下, S i g m a) を投与して、痙攣剤の末梢効果を限定した。メチルスコポラミンの 30 分後にピロカルピン塩酸 (25 m g / k g、皮下, S i g m a) を注射することにより S E を誘発した。S E の全期間中、両側の E E G 皮質活性を記録し、行動の変化に注目した。

【0124】

試験化合物の漸増用量の効果を 3 群のラットで研究した。第 1 群の動物は S E の開始の 1 時間後に 10 m g / k g の試験化合物 (p i l o - T C 10) の腹腔内投与を受け、他方第 2 群及び 3 群の動物はそれぞれ、30 及び 60 m g / k g の試験化合物 (p i l o - T C 30 及び p i l o - T C 60) を受けた。

10

【0125】

もう 1 つの群は、S E の開始の 1 時間後に 2 m g / k g のジアゼパム (D Z P、筋肉内) を注射された。これは S E 後の動物の生存を改善するための標準的処置である (p i l o - D Z P)。対照群はピロカルピン及び試験化合物の代りに生理食塩水を受けた (生理食塩水 - 生理食塩水)。次に、S E 生存 p i l o - 試験化合物ラットは最初の試験化合物注射の約 10 時間後に、同量の試験化合物の第 2 の腹腔内注射を受け、更に 6 日間、試験化合物による 1 日 2 回の処置下で維持された。P i l o - D Z P ラットは S E の日の第 1 の注射の約 10 時間後に 1 m g / k g の D Z P の第 2 の注射を受けた。その後、P i l o - D Z P ラット及び生理食塩水 - 生理食塩水ラットは同量の生理食塩水を 1 日 2 回受けた。

20

【0126】

E E G に対する、そして S R S の発生に対する潜伏期に対する試験化合物の効果を、毎日 10 時間、動物の毎日のビデオ記録及び 8 時間の毎週 2 回のエレクトログラフ活性の記録により研究した。

【0127】

細胞密度の定量

8 匹の p i l o - D Z P、8 匹の p i l o - T C 10、7 匹の p i l o - T C 30、7 匹の p i l o - T C 60 及び 6 匹の生理食塩水 - 生理食塩水ラットにつき S E 後の 6 日目に、細胞密度の定量を実施した。S E の 14 日後に、動物を 1.8 g / k g のペントバルビタール (D o l e t h a l ^(R), V e t o q u i n o l, L u r e, F r a n c e) で深く麻酔した。次に脳を切除し、凍結した。20 μ m の連続切片をクリオスタット中で切断し、チオニン染色の前に数日間空気乾燥した。

30

【0128】

細胞密度の定量を、ラット脳アトラスの定位座標に従って冠状断面上で 10 $\times$ 10 ボックスの 1 c m ² の顕微鏡グリッドにより実施した (P a x i n o s a n d W a t s o n, 1986, The Rat brain in Stereotaxic Coordinates, 2nd ed. Academic Press, San Diego)。細胞計数をブラインド法で 2 回実施し、各個々の動物において、2 枚の連続切片からの少なくとも 3 種の値の平均であった。計数は 10 μ m を超える細胞のみを伴ない、より小さいものはグリア細胞であると考えられた。

40

【0129】

T i m m 染色

自然発生の反復発作の開始の 2 カ月後に、試験化合物又は D Z P に暴露された慢性期のラット及び 3 匹の生理食塩水 - 生理食塩水ラットにおいて、苔状繊維の萌芽を検査した。動物を深く麻酔し、生理食塩水で、次に 100 m l の 1.15 % (w / v) の N a ₂ S (0.1 M のリン酸バッファー中) 及び 100 m l の 4 % (v / v) のホルムアルデヒド (0.1 M のリン酸バッファー中) により心臓を経て灌流した。脳を頭蓋から外し、3 ~ 5 時間 4 % ホルムアルデヒド中に後固定し、40 μ m の切片をスライドビブラトーム上で切断し、ゼラチンコートスライド上に固定した。

50

【0130】

翌日、切片を40～45分間、50% (w/v) のアラビアゴム (160ml)、クエン酸ナトリウムバッファー (30ml)、5.7% (w/v) のヒドロキノン (80ml) 及び10% (w/v) の硝酸銀 (2.5ml) の26℃の溶液中で暗所で現像した。次に切片を少なくとも45分間40℃の水道水ですすぎ、蒸留水で急速にすすぎ、乾燥させた。それらをエタノール中で脱水し、ガラスでカバーした。

【0131】

前記の標準に従って、背側海馬における苔状繊維萌芽を評価し (Cavazos et al., 1991, J Neurosci 11:2795-2803.)、それは以下: 0-DGのチップ (tips) とクレスト (crest) 間に顆粒状物なし; 1-DGのチップとクレスト間に寄せ集めの分布の顆粒上領域に散発的顆粒; 2-DGのチップとクレスト間に連続的分布のより多数の顆粒; 3-チップとクレスト間の合流した顆粒のまばらなパッチを伴う、チップとクレスト間に連続的パターンの顕著な顆粒; 4-チップとクレスト間に合流して密集した層状帯を形成する顕著な顆粒; 並びに5-内部分子層中に延伸する顆粒の合流して密集した層状帯、である。

【0132】

データ分析

pilo-生理食塩水及びpilo-試験化合物投与動物におけるSEの特徴の比較のために非対スチューデントt-テストを使用した。両群で発作を起こすラット数の間の比較を、Chi平方テストにより実施した。ニューロン損傷に対しては、群の間の統計分析は、ANOVA、次にStatviewソフトウェア (Fisher RA, 1946a, Statistical Methods for Research Workers (10th edition) Oliver & Boyd, Edinburgh; Fisher RA, 1946b, The Design of Experiments (4th edition) Oliver & Boyd, Edinburgh) を使用する多数の比較のためのFisherのテストを使用して実施した。

【0133】

リチウム-ピロカルピン痙攣重積状態の行動的及びEEGの特徴

250～330g体重の全Sprague-DawleyラットをLi-Pilo誘発SEに暴露した。SEの行動的特徴はpilo-生理食塩水及びpilo-試験化合物群双方において同様であった。ピロカルピン注射後5分以内に、ラットは下痢、立毛及びコリン作動性刺激の他の徴候を示した。その後の15～20分間に、ラットは頭部上下運動、引っ掻き運動、咀嚼及び探索行動を示した。ピロカルピン投与の約15～20分後に反復性発作が開始した。立ち上がり及び転倒を伴う頭部及び両側前肢のミオクロオスのエピソードを伴うこれらの発作 (seizure) は、前記 (Turiski et al., 1983, Behav Brain Res 9:315-335) のようにピロカルピン投与の約35～40分後にSEに発展した。

【0134】

SE期間中のEEGパターン

薬理的処置の不在時のSEの第1時間中は、EEGの振幅は徐々に増加し、他方周波数は減少した。ピロカルピン注射の5分以内に、正常な背景EEG活動が皮質中の低電圧の急速な活性と置き換わり、他方シータリズム (5～7Hz) が海馬中に現れた。15～20分までに、高電圧の急速な活性が海馬のシータリズムに重なり、孤立した高電圧スパイクが海馬でのみが記録され、他方、皮質の活性は実質的に変化しなかった。

【0135】

ピロカルピン注射の35～40分後までに、動物は海馬及び皮質の双方に存在する高電圧の急速な活性を伴う典型的なエレクトログラフ発作を発症し、それらは最初に、発作に先駆ける活性の突発として起り、そしてDZP又は試験化合物の投与まで継続する、一続きの連続的高電圧スパイク及びボリスパイクが続いた。SEの約3～4時間目に、海馬のEEGは、pilo-DZP及びpilo-10群において、海馬及び皮質双方にお

る周期的エレクトログラフ放電（PED、約1回／秒）を特徴として示した。EEGの背景活性の振幅はp i l o - T C 6 0動物において低かった。SEの6～7時間までに、スパイク活性はD Z P - 及びT C 1 0 - 処置ラットにおける皮質及び海馬中にはまだ存在し、他方、EEGの振幅はT C 3 0ラットの海馬及びT C 6 0処置ラットの両構造物中において減少し、そして基底線レベルまで戻った。T C 1 0、T C 3 0及びT C 6 0群間に差異はなかった。SEの9時間までに、試験化合物 - 処置ラットの海馬及び、時々皮質に、孤立スパイクがまだ記録された。その時点で背景活性は両構造物において非常に低い振幅を有した。

【0136】

SEに誘発される死亡率

SE後の最初の48時間中、p i l o - D Z Pラット（23%、5／22）、p i l o - T C 1 0ラット（26%、6／23）及びp i l o - T C 3 0ラット（20%、5／25）において死亡率は同様であった。死亡率はp i l o - T C 6 0ラットにおいて著しく減少し、それは4%（1／23）のみに達した。その差は統計的に有意であった（ $p < 0.01$ ）。

【0137】

沈黙相のEEG特徴及び自然発生反復性発作の発生

沈黙期中のEEGパターンはp i l o - D Z P及びp i l o - T C 1 0、- T C 3 0又は- T C 6 0ラットにおいて同様であった。SE後の24時間及び48時間目に、基底線のEEGはまだ、その上に大きな波又はスパイクが重なることができる、PEDの発生の特徴を示した。試験化合物又はベヒクル注射後の1～8時間の間は、p i l o - D Z P又はp i l o - T C 1 0群に変化はなかった。T C 3 0及びT C 6 0ラットにおいて、PEDの周波数及び振幅は注射の10分後にすぐに減少し、T C 3 0群では大きな振幅のスパイクにより、そしてT C 6 0群では低い振幅のスパイクにより置き換わった。注射の4時間後までに、EEGは後者の2群においては基底線レベルに戻った。SEの6日後までに、EEGはピロカルピン注射前よりもまだ低い振幅を示し、大部分の群においてスパイクはp i l o - D Z P、- T C 1 0及び- T C 3 0ラットにおいて時々、まだ記録することができた。p i l o - T C 6 0ラットにおいて、大きい振幅のスパイクの周波数はすべての他の群より高かった。T C 化合物又はベヒクル注射後に、EEG記録はp i l o - D Z P及びp i l o - T C 1 0群においては注射により影響を受けなかった。p i l o - T C 3 0ラットにおいては、注射は海馬及び皮質双方のEEG上に遅い波の発生並びにp i l o - T C 6 0ラットにおいては、スパイクの減少した周波数を誘発した。

【0138】

慢性相が同様な潜伏期を伴うSR Sを発症するまで、すべてのラットがD Z P、T C 1 0及びT C 3 0に暴露され、研究された。潜伏期はp i l o - D Z Pラットにおいて 18.2 ± 6.9 日（ $n = 9$ ）、p i l o - T C 1 0ラットにおいて 15.4 ± 5.1 日（ $n = 7$ ）、p i l o - T C 3 0ラットにおいて 18.9 ± 9.0 日（ $n = 10$ ）であった。T C 6 0に暴露されたラット群において、ラットの1サブグループは他の群のものと類似の潜伏期、すなわち 17.6 ± 8.7 日（ $n = 7$ ）を伴って癲癇になり、他方もう1つの群のラットはSE後109～191日の範囲のずっと長い遅延を伴って癲癇になり（ 149.8 ± 36.0 日、 $n = 4$ ）、そして1匹のラットはSE後9カ月の遅延で癲癇になっていない。p i l o - D Z P、p i l o - T C 1 0、p i l o - T C 3 0及びp i l o - T P M 6 0ラットの第1のサブグループ間のSR Sに対する潜伏期の相異は統計的に有意ではなかった。生理食塩水 - 生理食塩水ラット（ $n = 5$ ）はどれもSR Sを発症しなかった。

【0139】

ピロカルピン暴露ラットにおけるSR Sの頻度を計算するために、発作の重篤度及び顕著な段階I I I（顔面筋肉及び前肢の間代性発作）及び段階I V～Vの発作（立ち上がり及び転倒）を考慮した。p i l o - D Z P及びp i l o - 試験化合物ラットにおける1週間当たりの段階I I IのSR Sの頻度は群間でばらついていて、それは最初の3週間は、

10

20

30

40

50

p i l o - D Z P 及び p i l o - T C 6 0 (早期の S R S 開始を伴った) 群で低く、一定であり、p i l o - D Z P 群においては第 4 週中に消失した。段階 I I I の S R S の頻度は p i l o - T C 1 0 群でより高く、それは 3 週と 4 週の間中、p i l o - D Z P の値より有意に増加した。より重篤な段階 I V ~ V の S R S の頻度は大部分の群で第 1 週中に最高であったが、例外は p i l o - T C 3 0 及び T C 6 0 で遅い発作開始を伴ない、そこで S R S の頻度は T C 3 0 群では全 4 週間にわたり一定であり、そして、p i l o - T C 6 0 群においては、段階 I V ~ V の発作をもたない、遅い S R S 開始を伴なって最初の 2 週間は一定であり、第 2 週後には発作は記録されなかった。段階 I V ~ V の S R S の頻度は第 1 週間中において、p i l o - D Z P 群 (1 1 . 3 S R S / 週) に比較して、T C 1 0、T C 3 0 及び T C 6 0 (早期 S R S 開始を伴なう) 群において有意に減少した (2 . 3 ~ 6 . 1 S R S / 週) 。 2 ~ 4 週の間中は、段階 I V ~ V の S R S の頻度は、2 ~ 6 回の発作 / 週の値に到達した第 1 週に比較して、すべての群で減少したが、例外は、早期 S R S 開始を伴なう p i l o - T C 6 0 群であって、その発作の頻度は、S R S の頻度が 3 . 3 ~ 5 . 8 の範囲であった p i l o - D Z P 群に比較して、0 . 6 ~ 0 . 9 回の発作 / 週に有意に減少した。

10

【 0 1 4 0 】

海馬、視床及び皮質における細胞密度

生理食塩水 - 生理食塩水ラットに比較して p i l o - D Z P ラットにおいて、細胞数は、海馬の C A 1 領域において大規模に減少し (錐体細胞層において 7 0 % の細胞減少) 、他方 C A S 領域は比較的損傷が少なかった (C A 3 a において 5 4 % の細胞減少、そして C A 3 b において 3 1 % の減少) 。 歯状回においては、p i l o - D Z P ラットは門において顕著な細胞減少を経験し (7 3 %) 、他方顆粒細胞層は可視的損傷を示さなかった。同様な損傷が腹側海馬に認められたが、この領域では細胞計数を実施しなかった。側面視床核には顕著な損傷が記録されたが (9 1 % の細胞減少) 、中間背側の視床核はより軽度

20

【 0 1 4 1 】

p i l o - 試験化合物投与動物の海馬において、細胞減少は C A 1 錐体層において p i l o - D Z P ラットに比較して軽減され、そこで細胞減少は p i l o - D Z P において 7 5 % に達し、p i l o - T C 3 0 又は p i l o - T C 6 0 動物においてそれぞれ 3 5 % 及び 1 6 % であった。この差は 2 種の試験化合物用量において統計的に有意であった。C A S 錐体層において、試験化合物は C A 3 a 領域に何の保護をも与えたかったが、6 0 m g / k g の試験化合物用量は C A 3 b において有意に神経保護的であった。歯状回において、門の細胞減少は p i l o - 試験化合物 (6 9 ~ 7 2 %) 及び p i l o - D Z P 動物 (7 3 %) で同様であった。2 種の視床核において 6 0 m g / k g の用量はまた、側面及び中間背側核においてそれぞれ 6 5 % 及び 4 2 % だけニューロン損傷軽減において保護的であった。大脳皮質において、試験化合物による処置は、最高用量、6 0 m g / k g においてのみ D Z P に比較してニューロンの保護を与えた。2 種の低い用量、1 0 m g / k g 及び 3 0 m g / k g においては梨状皮質の層 I I I ~ I V に認めた総細胞減少及び組織破壊は p i l o - D Z P ラットと p i l o - 試験化合物ラットにおいて同様であり、どちらの群においても計数できなかった。梨状皮質の層 I I 及び I I I ~ I V において、T C 6 0 の処置は p i l o - D Z P ラットに記録されたニューロン損傷をそれぞれ 4 1 及び 4 4 % 減少した。腹側内側嗅皮質における神経保護は、層 I I I ~ I V において T C 6 0 投与により誘発され、p i l o - D Z P ラットに比較して、3 1 % に達した。内側嗅皮質においては、p i l o - D Z P ラットに比較して p i l o - T C 1 0 ラットにおいて、背側内側嗅皮質の層 I I I ~ I V において (2 8 % 多い損傷) 、そして腹側内側嗅皮質の層 I I I ~ I V において (3 5 % 多い損傷) 細胞減少の僅かな悪化をみた。試験化合物の他の用量に

30

40

50

においては、内側嗅皮質の細胞減少は p i l o - D Z P ラットに記録されたものと同様であった。

【0142】

海馬における苔状繊維萌芽

p i l o - D Z P 及び p i l o - T P M 群で S R S を示すすべてのラットが歯状回の内部分子層に T i m m 染色の同様な強度を示した (2 ~ 4 点)。T i m m 染色は歯状回の上部及び下部のブレード双方の上に存在した。上部ブレードにおける T i m m 評価の平均値は p i l o - D Z P ラット (n = 9) において 2.8 ± 0.8 に達し、p i l o - T C 10 ラット (n = 7) において 1.5 ± 0.6 、p i l o - T C 30 ラット (n = 10) において 2.6 ± 1.0 そして p i l o - T C 60 ラット (n = 11) の全群において 1.5 ± 0.7 に達した。p i l o - T C 60 群が S R S に対する潜伏期に従って準分割されると、早期 S R S 発生を伴うサブグループは 1.8 ± 0.6 (n = 6) の T i m m スコアを示し、S R S の遅い発生又は不在を伴うラットのサブグループは 1.2 ± 0.6 (n = 5) の T i m m スコアを有した。p i l o - D Z P ラットで記録された値は p i l o - T C 10 (p = 0.032) 及び遅い発作を伴った又は発作をもたない p i l o - T C 60 サブグループ (p = 0.016) における値と統計的に有意に異なっていた。

10

【0143】

考察及び結論

本研究の結果は、S E の開始の 1 時間後に開始する試験化合物による 7 日間の処置が、ある脳領域、例えば C A 1 及び C A 3 b 領域の錐体細胞層、中間背側視床、梨状皮質の I I I 及び I I I ~ I V 層及び腹側内側嗅皮質の層 I I I ~ I V においてニューロン損傷から保護することができるが、試験化合物の最高用量、すなわち $60 \text{ mg} / \text{kg}$ においてのみであったことを示す。試験化合物の后者の用量はまた、少なくとも動物の 1 つのサブグループにおいて S R S の発生を遅らせることができ、そこでは動物の他の群におけるより約 9 倍長い、平均遅延を伴って癲癇になり、そして 1 匹は S E 後 9 カ月間遅れて癲癇にならなかった。

20

【0144】

これらの結果は、大部分の抗癲癇の市販薬の古典的な特性である、発作抑制性をもつ 1 つの化合物はまた、癲癇発生を遅らせる、すなわち癲癇発生抑制的であることができることを示す。本研究のデータはまた、使用される用量に拘わらず、試験化合物の処置は、それが主として発生の第 1 週間中に、そして T C の処置に伴う 4 週間の全観察期間中に、段階 I V ~ V の発作数を減少するので、癲癇の重症度を減少することを示す。更に、T C 10 群において、p i l o - D Z P 群におけるより多数である、重症度の低い段階 I I I の発作発生の増加に移行する。

30

【実施例 2】

【0145】

本プロジェクトの目的は、一過性大脳葉癲癇のリチウム-ピロカルピン (L i - P i l o) モデルにおける試験化合物 (T C) の潜在的神経保護及び癲癇発生抑制の特性の研究を追跡することであった。本研究は、T C が、L i - P i l o 痙攣重積状態 (S E) により誘発されるニューロン損傷から、海馬の領域 C A 1 及び C A 3、梨状及び腹側内側嗅皮質を保護することができることが示された実施例 1 に記載の第 1 の研究の続きである。大部分のこれらの神経保護特性は、研究された最高用量、 $60 \text{ mg} / \text{kg}$ で起り、そしてその処置はラットの 36% (11 中 4 において) に自然発生発作の発生を遅延させることができた。本研究においては、ニューロン損傷及び癲癇発生に対する、より高い用量の T C による処置の結果を研究することを提案する。

40

【0146】

一過性大脳葉癲癇のリチウム-ピロカルピンモデル

リチウムと結合されたピロカルピン (L i - P i l o) によりラットに誘発される癲癇のモデルは、ヒトの一過性大脳葉癲癇の大部分の臨床的及び神経生理学的特徴を再現する (T u r s k i e t a l . , 1989 ; C a v a l h e i r o , 1995) 。成熟ラ

50

ットにおいて、ピロカルピンの全身投与は24時間まで継続する可能性があるSEをもたらす。死亡率は最初の数日間に30～50%に達する。生存動物におけるニューロン損傷は、海馬体、梨状皮質及びに内側嗅皮質、視床、扁桃体、新皮質及び黒質内に優勢である。この急性発作期間の次に、14～25日間の平均期間中継続する「沈黙した」発作不在相が続く、その後すべての動物が1週間に2～5回の通常の頻度で自然発生の反復痙攣発作を示す(Turski et al., 1989; Cavalheiro, 1995; Dube et al., 2001)。近年の抗癲癇薬は癲癇発生を予防せず、反復発作に対して一過性に有効なだけである。

【0147】

われわれの以前の研究において、われわれは、単独治療で投与されるTCの漸増用量の潜在的な神経保護性及び癲癇発生抑制効果を研究し、大部分高い死亡率を妨げるために投与される、われわれの標準のジアゼパム(DZP)処置に比較した。これらのデータは、SEの開始の1時間後に開始する10、30又は60mg/kgのTCによる7日間の処置がニューロン損傷からある脳領域を保護することができることを示す。この効果は、CA1及びCA3b領域の錐体細胞層、中間背側視床、梨状皮質の層II及びIII～IV並びに腹側内側嗅皮質の層III～IVにおいて統計的に有意であるが、TCの最高用量、すなわち60mg/kgにおいてのみである。更に、TCの後者の用量はまた、動物の少なくとも1つのサブグループにおいてSRSEの発生を遅らせることができた唯一の用量であるように見え、そこでは動物の他の群におけるより約9倍長い平均遅延を伴って癲癇になり、そして1匹はSE後9カ月の遅れを伴って癲癇にならなかった。

【0148】

本研究において、TCの異なる用量、すなわち30、60、90及び120mg/kg(TC30、TC60、TC90及びTC120)の効果を前研究と同様な計画を使用して試験した。処置はSEの開始の1時間後に開始し、動物を同量の薬剤の2回目の注射で処置した。SEの早期のこの処置の次に6日間のTC処置を続けた。この報告はSEの14日後の海馬、傍海馬皮質、視床及び扁桃において評価されるニューロン損傷並びに自然発生癲癇発作に対する潜伏期及びその頻度に対する4種の異なる用量のTCの効果を対象とする。

【0149】

動物

Janvier 飼育センター(Le Genest-St-Isle, フランス)により提供される、成熟雄のSprague-Dawleyラットを20-22°Cの、調整された、混雑しない標準条件下(明/暗周期、7.00a.m.～7.00p.m.点灯)で飼料及び水を自由に与えて飼育した。すべての動物実験を1986年11月24日の欧州共同体協議会指令(86/609/EEC)及びフランス農業省(License N° 67-97)の規則に準拠して実施した。

【0150】

痙攣重積状態の誘発、TC処置及びSRSEの発生

すべてのラットが塩化リチウム(3meq/kg, 腹腔内, Sigma, St Louis, Mo, U.S.A.)を投与され、約20時間後に、すべての動物がまた、痙攣剤の末梢効果を限定するために投与されるメチルスコポラミブロミド(1mg/kg、皮下, Sigma)を投与された。メチルスコポラミンの30分後にピロカルピン塩酸(25mg/kg、皮下, Sigma)を注射することによりSEを誘発した。TC(RWJ)の漸増用量の効果を5群のラットで研究した。動物はSE開始の1時間後に2.5mg/kgのDZP、筋肉内、又は、30、60、90又は120mg/kgのTC(TC30、TC60、TC90、TC120)腹腔内いずれかの投与を受けた。対照群はピロカルピン及びTCの代りにベヒクルを投与された。SE生存ラットは次に、第1のTC注射の約10時間後に、DZP群に対しては第2の1.25mg/kgのDZPの腹腔内注射を、又は朝と同量のTCを注射され、更に6日間、1日21回のTC処置(皮下)で維持され、他方DZPラットはベヒクル注射を受けた。

【0151】

癲癇発生に対するD Z P及び4用量のT Cの効果を毎日、10時間、動物の1日のビデオ記録により研究した。ビデオ記録は第1の発作が認められた4週間実施され、並びに全期間にわたり発作の総数を記録した。次に動物をビデオ記録システムから外し、更に4週間、われわれの動物施設に飼育し、次に全8週間の癲癇期間後に殺戮した。発作を示さなかったラットはビデオ記録の5カ月後に殺戮した。

【0152】

細胞密度の定量

細胞密度の定量はS E後に2回実施した：第1群はS Eの14日後に研究し、7匹のD Z P、8匹のT C 30、11匹のT C 60、10匹のT C 90、8匹のT C 120及びS Eに暴露されなかった8匹の対照ラットからなった。S R Sに対する潜伏期の研究のために使用された第2群は、第1のS R Sの8週間又は、S R Sがその遅延に認めることができない場合は5カ月後に殺戮され、14匹のD Z P、8匹のT C 30、10匹のT C 60、11匹のT C 60、9匹のT C 120ラットにより構成された。現在、ニューロン計数は癲癇発生につき研究された動物の第2群においてはまだ進行中であり、長期の計数及び研究のその部分に関するデータは本報告には包含されないであろう。

【0153】

ニューロン計数のためには、動物を1.8 g/kgのペントバルビタール(D o l e t h a l^(R), V e t o q u i n o l, L u r e, F r a n c e)で深く麻酔した。次に脳を切除し、凍結した。20 µmの連続切片をクリオスタット中で切断し、チオニン染色の前に数日間空気乾燥した。細胞密度の定量を、ラット脳アトラスの定位座標に従う冠状断面上で10×10ボックスの1 cm²の顕微鏡グリッドにより実施した(P a x i n o s a n d W a t s o n, 1986)。計数用グリッドを問題の脳構造物の十分に規定された領域に配置し、各単一の脳構造物に規定される200-又は400-倍の顕微鏡拡大により計数を実施した。細胞計数を、動物の処置を知らされていない一人の観察者により、各領域に対し、3枚の隣接切片の両側で2回実施した。各脳構造物中の12種の計数領域で得られた細胞数を平均した。この方法を使用して、細胞数の過剰算定をもたらす二重計数からもたらされる可能性がある潜在的な誤差を最小にした。グリッドの内部及び右端に接するニューロンは計数しなかった。計数は10 µmを超える細胞体をもつニューロンのみを伴った。小細胞体をもつ細胞はグリア細胞と考えられ、計数されなかった。

【0154】

データ分析

ニューロン損傷及び癲癇発生に対する、群間の統計的分析は一元配置分散分析、次にS t a t i s t i c aソフトウェアを使用するD u n n e t t又はF i s h e rテストにより実施された。

【0155】

結果リチウム-ピロカルピン痙攣重積状態の行動の特徴

250-330 g体重の総数143匹のS p r a g u e - D a w l e yラットをリチウム-ピロカルピン(L i - p i l o)誘発S Eに暴露した。この数字中、10匹はS Eを発症せず、他方133匹のラットは完全な特徴的L i - p i l o S Eを発症した。S Eの行動的特徴はl i - p i l o - D Z P及びl i - p i l o - T C群の両方で同様であった。ピロカルピン注射の5分以内に、ラットは下痢、立毛及びコリン作動性刺激の他の徴候を発症した。その後の15-20分間に、ラットは頭部上下運動、引っ掻き運動、咀嚼及び探索行動を示した。ピロカルピン投与の約15-20分後に反復性発作が開始した。立ち上がり及び転倒を伴う頭部及び両側前肢のミオクローヌスのエピソードを伴うこれらの発作(s e i z u r e)は、前記(T u r s k i e t a l., 1989; D u b e e t a l., 2001; A n d r e e t a l., 2003)のようにピロカルピン投与の約35-40分後にS Eに発展した。S Eに暴露させず、リチウム及び生理食塩水を受けた対照群は20匹のラットから構成された。

【0156】

SEの14日後に細胞計数に使用された57匹の動物の群において、総数13匹のラットはSE後の最初の48時間中に死亡した。死亡率の程度は処置とともに変動し：DZPラットの36% (4/11)、TC30ラット33% (4/12)、TC60ラット8% (1/12)、TC90ラット0% (0/10) 及びTC120ラット33% (4/12) が死亡した。DZP群において、4匹のラットがSE後の最初の24時間以内に死亡した。TC30ラットの群において、1匹のラットはSEの当日に死亡し、1匹はSE後の24時間までに死亡し、そして2匹は48時間までに死亡した。TC60ラット群においては、1匹がSE後の48時間目に死亡した。TC120ラットの群では、2匹がSE後の24時間までに、そして2匹が48時間までに死亡した。

10

【0157】

SRSに対する潜伏期の研究及び最近の細胞計数に使用された55匹の動物群において、SE後の最初の48時間以内の死亡率の度合いは以下であった：DZPラットの7% (1/14)、TC30ラットの27% (3/11)、TC60ラットの0% (0/10)、TC90ラットの0% (0/11) そしてTC120ラットの0% (0/9) が死亡した。DZPラットの群においては、SE後の24時間以内に1匹のラットが死亡した。TC30の群においては、2匹のラットがSE後の24時間までに、そして48時間までに1匹が死亡した。

【0158】

早期相 (SEの14日後) における海馬及び皮質の細胞密度

20

対照ラットに比較してDZPラットにおいては、ニューロン数は海馬のCA1領域で膨大に減少し (錐体細胞層において85%低下)、他方CA3領域は損傷が少なかった (40%の低下) (表1及び図1)。歯状回においては、DZPラットは門において顕著なニューロン減少を経験した (65%) が、顆粒細胞層は明白な損傷を示さなかった。損傷の同様な分布が腹側海馬に認められたが、この領域で細胞計数は実施されなかった。

【0159】

視床においては、ニューロン減少は中間背側の中心及び側面、背側の側面の中間背側及び中心の中間核に軽度であり (それぞれ、18、24、40及び34%の低下)、中間背側の核 (49%) でより顕著であり、そして背側の側面核の腹側の側面部 (90%) で主要であった (以下の表1及び図2)。

30

【0160】

【表 1】

表 1: li-piloSEに暴露されたラットの海馬、視床、扁桃及び大脳皮質におけるニューロン細胞体数に対するTCの漸増用量の効果

	対照 (n=10)	pilo-DZP (n=7)	pilo-TC30 (n=8)	pilo-TC60 (n=11)	pilo-TC90 (n=10)	Pilo-TC120 (n=8)
海馬						
CA1 領域	74.8 ± 1.5	10.9 ± 1.9**	39.3 ± 4.4**°	31.9 ± 4.4**°	47.7 ± 6.6*°	65.5 ± 2.9°°
CA3 領域	52.1 ± 2.7	31.3 ± 2.9**	35.7 ± 1.8**	31.6 ± 1.4**	35.1 ± 2.9**	39.8 ± 1.5**
門	96.4 ± 3.5	33.5 ± 3.0**	33.0 ± 3.2**	32.8 ± 3.3**	37.5 ± 3.1**	44.8 ± 2.9**
視床						
中間背側の中間	31.9 ± 0.9	16.4 ± 1.9**	11.5 ± 2.5**	19.1 ± 2.6**	23.1 ± 2.8°°	28.6 ± 0.8°°
中間背側の中心	31.9 ± 1.2	26.3 ± 1.8**	26.9 ± 0.6*	24.1 ± 1**	27.4 ± 1.5	29.9 ± 1.7°
中間背側の側面	25.9 ± 0.6	19.6 ± 0.8**	20.5 ± 0.7**	18.9 ± 0.6**	22 ± 1.2*°	24.4 ± 1.1°°
背側の側面中間、背側	102.2 ± 2.5	61 ± 6.3**	64.2 ± 9.3**°°	77.5 ± 3.9**°°	79.4 ± 3.1**°°	89.8 ± 3.7*°
背側の側面、腹側の側面	97.8 ± 1.7	9.7 ± 2.5**	8.8 ± 2.8**	56.7 ± 8.7**	71.8 ± 5.3°°*	79.0 ± 4.7°°
中心の中間	113.1 ± 5.9	74.2 ± 7.4*	75.6 ± 7.7*	83.7 ± 9.6*	88.2 ± 8.5	108.2 ± 6.6°
扁桃						
基底側面	46.7 ± 1.2	12.8 ± 5.3**	27.3 ± 4.9**°	27.8 ± 4.3**°°	40.7 ± 1.6°°	42.7 ± 1.3°°
中間、背側前方	84.3 ± 3.8	40.0 ± 2.5**	46.8 ± 5.0**	58.4 ± 2.8**°	72.2 ± 5.7°°	80.2 ± 2.6°°
中間、腹側後方	35.1 ± 1.7	21.8 ± 2.4**	22.3 ± 1.8**	26.2 ± 2.9**	30.7 ± 3.7°°	34.7 ± 1.7°°
大脳皮質						
梨状、層 II、背側	36.6 ± 0.8	12.6 ± 4.2**	15.7 ± 2.9**	27.5 ± 2.8**°°	32.4 ± 1.1°°	35.2 ± 1.1°°
梨状、層 II、腹側	33.0 ± 0.8	3.6 ± 0.7**	7.2 ± 3.8**	13.7 ± 4.2**	18.4 ± 4.0°°	30.5 ± 1.3°°
梨状、層 III	19.2 ± 0.7	1.2 ± 1.2**	1.8 ± 1.8**	6.4 ± 2.3**	9 ± 3.0°°	15 ± 2.2°°
内側嗅、層 II、背側	29 ± 0.6	23.5 ± 0.7**	23.4 ± 0.6**	23.9 ± 0.5**	26.3 ± 0.9**	27.3 ± 0.5°°
内側嗅、層 II、腹側	26.8 ± 0.7	21.7 ± 1.3**	22.7 ± 0.9	23.3 ± 0.8**	25.4 ± 1.1°	25.1 ± 0.6
内側嗅、層 III/IV、背側	29.2 ± 0.9	22.3 ± 0.5**	22.3 ± 0.5**	23.2 ± 0.8**	26.7 ± 0.8*	26.4 ± 0.7°°
内側嗅、層 III/IV、腹側	28.7 ± 1.7	7.7 ± 2.3**	13.2 ± 1.9**	16.5 ± 2.2**	23.7 ± 1.5°°	24.5 ± 1.4°°

* p < 0.05, ** p < 0.01, pilo-TC 及び対照の li-生理食塩水ラット間に統計的有意差

° p < 0.05, °° p < 0.01, pilo-TC 及び pilo-DZP ラット間に統計的有意差

【0161】

扁桃において、ニューロン減少は中間腹側後方核（38%）において軽度であり、基底

10

20

30

40

50

側面及び中間腹側の前方核（それぞれ 73% 及び 53% の低下）においてより著明であった。中心核にニューロン損傷はなかった（表 1 及び図 3）。

【0162】

梨状皮質において、ニューロン減少はほとんど全体的に層 III（94%）にあり、それはもはや実際に可視的ではなく、対象の生理食塩水処置ラットに比較して DZP ラットにおいて背側及び腹側の層 III においてそれぞれ 66% 及び 89% に達した。背側の内側嗅皮質において、層 III 及び III-IV は僅かな損傷（それぞれ 18% 及び 24%）を受け、そして腹側の層 III 及び III-IV において損傷はそれぞれ 22% 及び 74% に達した（表 1 及び図 4）。

【0163】

TC 処置動物の海馬において、細胞減少は CA1 錐体細胞層において DZP ラットに比較して有意に減少した。この減少は TC30、60 又は 90 のラットで顕著であり（36～47% の細胞減少）、TC120 群で明らかであった（12% 細胞減少）。すべての TC 用量で統計的に有意差があった（表 1 及び図 1）。CA3 錐体層において、120 mg/kg 用量においてのみ RWJ により誘発された僅かな神経保護の傾向があったが、DZP 群との相異は有意ではなかった。歯状回においては、門における細胞減少は DZP 及び TC30、60 及び 90 群において同様であり（61～66% の低下）、TC120 群においては DZP 動物（66% の低下）に比較して減少された損傷の僅かな傾向があった（53% ニューロン減少）。これらの差はいずれも統計的に有意ではなかった。

【0164】

視床においては、ニューロン減少は DZP 及び TC30 及び TC60 ラットで同様であった。TC は背側の側面の中間背側核において 60 mg/kg 用量で、そして 2 種の大量用量、90 及び 120 mg/kg においては、すべての視床核で有意に保護的であったが、その差は、TC90 ラットにおける中間背側の中心及び中心の中間核においては有意に達しなかった。TC120 ラットにおいては、ニューロン低下は DZP ラットに比較してかなり減少した。それは 4～19% の範囲にあり、ニューロン数は背側の側面の中間背側核を除いて対照動物と有意差はなかった（表 1 及び図 2）。扁桃においては、TC は基底側面核において 30 mg/kg 用量で、そして 60 mg/kg 用量においては中間背側前方核においてもまた、有意に保護的であった。最高用量において、TC は著しく神経保護的であり、ニューロン数は対照のレベルともはや有意には異ならず、すべての扁桃核において対照のレベルの 86～99% に達した（表 1 及び図 3）。

【0165】

大脳皮質においては、TC による処置は、30 mg/kg の用量において、DZP 処置に比較していずれの皮質領域をも有意に保護しなかった。60 mg/kg において、TC は背側の梨状皮質の層 III 中にのみニューロン減少を有意に低下させた（DZP 群の 66% に比較して 25% の低下）。90 及び 120 mg/kg においては、TC は、DZP 処置に比較して梨状皮質のすべての 3 領域で有意に保護し、そして TC の最高用量、120 mg/kg で、梨状皮質の、背側の層 III 及び層 III-IV においてもニューロン密度は対照レベルの 78～96% に達し、そこでは DZP 群ではニューロン数はほとんど全体に消耗された。背側及び腹側内側嗅皮質のすべての層において、TC の 2 種の最低用量、30 及び 60 mg/kg は何の神経保護をも与えなかった。TC の 90 mg/kg 用量は腹側内側嗅皮質の層 III 及び III-IV を有意に保護した（DZP 群における 19 及び 73% に比較して、背側部分の層 III 及び III-IV 及び腹側部分の層 III に 4 及び 17% の損傷が残った）。TC の最大用量、120 mg/kg において、内側嗅皮質のすべての部分、背側及び腹側両方が保護され、これらの領域のニューロン数は対照のレベルと有意差はなかった（DZP 群の 27～81% に比較して、ニューロンの 85～94% が生存した）。

【0166】

反復発作に対する潜伏期及びその頻度

自然発生発作に対する潜伏期は DZP 群（14 ラット）において 15.5 ± 2.3 日の

10

20

30

40

50

平均値に達し、T C 3 0 群（8 ラット）と同様であった（ 11.6 ± 2.5 日）。T C のより大量濃度において、動物は短い潜伏期及び長い潜伏期をもつサブグループに準分類することができるであろう。短い潜伏期はS E 後4 0 日より短い期間と考えられた。何匹かのラットは、D Z P 及びT C 群で記録されたものと同様な、最初の自然発生発作に対する潜伏期を示したが、この短い潜伏期の値を示すラット数は、T C 濃度の増加とともに徐々に減少した。従って3 0 m g / k g において、ラットの7 0 %（7 / 1 0）が発作に対し短い潜伏期を有し、他方9 0 及び1 2 0 m g / k g においては、この率はそれぞれ3 6 %（4 / 1 1）及び1 1 %（1 / 9）に達した（以下の表2 及び図5）。

【0 1 6 7】

【表2】

10

表2: 自然発生発作に対する潜伏期に対するTCの漸増用量の効果

処置	動物数	最初の自然発生発作に対する潜伏期(日数)		
DZP	14	15.5 ± 2.34		
Pilo-TC30	8	11.6 ± 2.5		
Pilo-TC60	10	2 群		
		短い潜伏期 (n=7)		長い潜伏期 (n=3)
		17.4 ± 5.4		$76.7 \pm 15.6^{** \circ \circ}$
Pilo-TC90	11	3 群		
		短い潜伏期 (n=4)	長い潜伏期 (n=2)	非癲癇性 (n=5)
		14.8 ± 5.7	$52.0 \pm 1.0^{* \circ}$	$150^{** \circ \circ}$
Pilo-TC120	9	3 群		
		短い潜伏期 (n=1)	長い潜伏期 (n=4)	非癲癇性 (n=4)
		13.0	$84.5 \pm 16.7^{** \circ \circ}$	$150^{** \circ \circ}$

20

30

** p < 0.01, * p < 0.05, pilo-DZP 群に比較して統計的に有意差

$\circ \circ$ p < 0.01, $\circ$ p < 0.05, 短い潜伏期群に比較して統計的に有意差

【0 1 6 8】

T C 6 0、9 0 及び1 2 0 群において、長い潜伏期をもつラットの平均値は同様であり、5 2 ~ 8 5 日の範囲にあった。最後にT C の2 種の大量用量においては、S E 後1 5 0 日の期間にわたり、どんな発作をも発症しなかったある割合のラットを確認することができた。非癲癇ラットの率は双方のT C 用量で4 5 %に達した。

40

【0 1 6 9】

自然発生発作の頻度は記録の4 週間にわたり同様であった。それはD Z P 及びT C 3 0 群でより高い傾向を示し、他方T C 6 0、9 0 及び1 2 0 群でより低かった（図6）。これらの相異は、各個々の毎週の頻度レベルにおいては統計的に有意差に達しなかったが、4 週間にわたる発作の総数又は平均数に対しては有意差に達した。

【0 1 7 0】

発作数はまた最初の自然発生発作に対する潜伏期間に従ってプロットされた。短い潜伏

50

期をもつ動物は長い潜伏期をもつラットよりも、記録の4週間にわたり、2～3倍多い発作を示す傾向を示した。恐らくTC120動物の短い潜伏期のサブグループには唯一匹の動物が存在したために、ANOVAが何の有意差をも示さなかったので、統計的分析は実施することができなかった(図7)。しかし、すべての潜伏期の値を発作数に対してプロットすると、-0.4の相関係数をもつ直線をもたらし有意な逆相関が存在した(図8)。

【0171】

この分析を最終化するために、2件の更なる測定を実施する必要がある。第1は、最初の自然発生発作後2カ月間ビデオで記録されて追跡された、又は脳損傷の程度及び位置と、自然発生発作の発生及び／又はそれに対する潜伏期間の間の潜在的な相関を研究するために5カ月目に殺戮された動物に対する細胞計数である。第2のものは、5カ月目に「非癲癇」であると宣言される動物が発作を起こさないままでいるかどうかを研究するために、ラットの群の発作発生の1年間の追跡を実施することであろう。

【0172】

本研究の結果は、Lipilo誘発SEの開始1時間後に開始するTCによる処置が海馬のCA1錐体細胞層並びに腹側及び背側の梨状及び内側嗅皮質のすべての層中で神経保護性を有することを示す。TCはまた、視床及び扁桃核を保護する。しかしTCは、CA1における、1例の視床及び1例の扁桃核を除き、30mg/kgの用量では保護的でない。60mg/kgの用量では、背側の梨状皮質の層II及び第2の扁桃核もまた保護される。90及び120mg/kgにおいては、薬剤は、海馬のCA3及び歯状回の門を除き、研究された大部分の脳領域を保護する。後者の2つの構造物プラス背側の側面の腹側背側の視床核が、ニューロン数が120mg/kgのTC用量において対照と有意差をもったままの唯一の領域である。これらのデータから、TCの極めて強力な神経保護性が明らかに見える。該分子はLipiloにより誘発される辺縁系の癲癇の回路に属する大部分の領域、すなわち海馬、視床、扁桃及び傍海馬皮質におけるニューロン死滅を予防するように思われる。これらはすべて、われわれがLipilo処置ラットで癲癇発生の経過中MRI信号を検出した領域である(Roch et al., 2002a)。TCにより有効に保護されない唯2種の領域は、CA3錐体細胞層及び、歯状回の門である。後者の領域は急速な、膨大な細胞損傷を受け(Andre et al., 2001; Roch et al., 2002a)、そして以前の研究に使用された神経保護のいずれもこの構造物を保護することができなかった。確認された以前の研究に基づき、この構造物はLipiloモデルにおける癲癇発作の開始及び維持におけるキー領域として識別された(Dube et al., 2000)。本データは明らかに、損傷がこの領域に極めて顕著に残る場合ですら、癲癇発生を予防することができることを示す。ビデオ記録された動物群に対する長期の細胞計数は、この領域の損傷の程度がこのモデルにおける癲癇発生に対して決定的であるか(critical)どうかを示すことができるであろう。

【0173】

処置は30mg/kgの用量において、最初の自然発生発作に対する潜伏期に影響を与えなかった。3種のより高い用量においては、ある割合の動物がDZP又はTC30ラットと同様に早く癲癇を発症したが、このサブグループの相対的重要性は使用されるTC用量に逆相関した。サイズ(2～4匹/群)の一定なもう1つのサブグループは4～6倍長い潜伏期後に癲癇を発症したが、他方、薬剤の2種の最高用量においては、4～5匹のラットは5カ月後、すなわち短い潜伏期間の約10倍、そして長い潜伏期間の2～3倍の期間の後にも癲癇にならなかった。癲癇の発症のこの遅延は、動物の基底皮質中で保護されたニューロン数と相関するかも知れない。この推定は、SEの14日後に短期のニューロン計数にかけた動物の基底皮質中の神経保護の程度に、ある均一性が認められた事実に基づく。しかし、現在のところ、癲癇発生の研究に使用された動物においてニューロン計数は実施されておらず、従って基底皮質中に生存しているニューロン数と、癲癇発生の率又は発生との潜在的な相関に対する結論を出すことはできない。

【0174】

本研究で得たデータは、60mg/kg用量のTCがニューロン損傷から海馬及び基底皮質を保護し、そして反復発作の発生を遅らせた（以前の報告、2002を参照されたい）ことを報告する本グループの以前の研究と一致する。それらは、基底皮質の保護が、癲癇のリチウム-ピロカルピンモデルにおいて、疾患改変効果を誘発するキー因子である可能性があることを確証する。癲癇過程の開始物としての基底皮質の重要な役割は、リチウム-ピロカルピンモデルにおいてわれわれのグループにより以前に示された（Andre et al., 2003; Roch et al., 2002a, b）。

結論として、本研究の結果は、試験化合物（TC）が非常に有望な癲癇発生抑制効果を有することを示す。

10

【0175】

実施例2に対する引用文献

Andre V, Marescaux C, Nehlig A, Fritschy JM (2001) (海馬のGABA作動系の変更は、一過性大脳葉癲癇のリチウム-ピロカルピンモデルにおける自然発生の反復発作の発症の原因である。) *Hippocampus* 11:452-468.

Andre V, Rigoulot MA, Koning E, Ferrandon A, Nehlig A (2003) (長期プレガバリン処置は基底皮質を保護し、そしてラットのリチウム-ピロカルピンモデルにおける自然発生発作の発生を遅らせる) *Epilepsia* 44:893-903.

20

Cavalheiro EA (1995) (癲癇のピロカルピンモデル) *Ital J Neurol Sci* 16:33-37.

Dube C, Marescaux C, Nehlig A (2000) (リチウム-ピロカルピン誘発癲癇発生期間中の未成熟及び成熟ラット脳に発生する可塑的变化の理解に対する代謝的及び神経病理学的方法) *Epilepsia* 41 (Suppl 6): S36-S43.

Dube C, Boyet S, Marescaux C, Nehlig A (2001) (未成熟及び成熟ラットにおける癲癇のリチウム-ピロカルピンモデルの慢性相期間中の、ニューロン減少と発作間のグルコース代謝の間の相関) *Exp Neurol* 167:227-241.

30

Paxinos G, Watson C (1986) (定位座標におけるラット脳), 2nd ed. Academic Press, San Diego.

Roch C, Leroy C, Nehlig A, Namer IJ (2002a) (成熟ラットにおける一過性大脳葉癲癇のリチウム-ピロカルピンモデルの研究に対する磁気共鳴画像の寄与) *Epilepsia* 43:325-335.

Roch C, Leroy C, Nehlig A, Namer IJ (2002b) (生後P21日ラットにおける一過性大脳葉癲癇の発症に対する皮質傷害の予測的価値: リチウム-ピロカルピンモデルを使用するMRI法) *Epilepsia* 43:1129-1136.

Turski L, Ikonomidou C, Turski WA, Bortolotto ZA, Cavalheiro EA (1989) (総論: コリン作動機序及び癲癇発生。ピロカルピンにより誘発される発作: 手に負えない癲癇の新規実験モデル) *Synapse* 3:154-171.

40

【実施例3】

【0176】

PC12細胞血清除去モデル

血清除去 (withdrawal) は、神経細胞を包含する培養細胞株並びに種々の組織源の一次細胞における細胞死をもたらす細胞毒性の環境的チャレンジである。とりわけ褐色細胞腫 (PC) 12細胞は広範な神経変性及び細胞死関連障害に対するインビトロのニューロン細胞モデルとして広く使用されてきた (Murriel, et al, Mito

50

chondrial free calcium levels (Rhod-2 fluorescence) and ultrastructural alterations in neuronally differentiated PC12 cells during ceramide-dependent cell death (セラミド依存性細胞死期間のミトコンドリアを含まないカルシウムレベル (Rhod-2 蛍光) 及びニューロンとして分化されたPC12細胞の超構造的変化), J. Comp. Neurol., 2000, 426 (2), 297-315; Dermitzaki, et al, Opioids transiently prevent activation of apoptotic mechanisms following short periods of serum withdrawal (オピオイドは、短期間の血清除去後の細胞死機序の活性化を一時的に抑制する), J. Neurochem., 2000, 74 (3), 960-969; Carlile, et al, Reduced apoptosis after nerve growth factor and serum withdrawal: conversion of tetrameric glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase to a dimer (神経増殖因子及び血清除去後に減少する細胞死: 四量体のグリセロアルデヒド-3-ホスフェート・デヒドロゲナーゼの二量体への転化), Mol Pharmacol., 2000, 57 (1), 2-12)。PC12細胞は10%の熱不活性化ウマ血清及び5%のウシ胎仔血清 (FBS) を添加された滅菌培地 (RPMI 1640) 中で培養した。培養培地はまた、ペニシリン-ストレプトマイシン-ネオマイシンの抗生物質 (それぞれ50. μ g、50. μ g、100. μ g) を含有した。培地は1日おきに交換され、細胞は密集に近いlog相中を通過させた (cells were passed in log phase near confluence)。

【0177】

対照の細胞はいずれの処置も伴わずに、通常の培地中で培養した。式7又は式8のエナンチオマー (10. μ M) を培地中で十分に混合し、次に細胞に適用した。2日間のアッセイのために、式7又は式8のエナンチオマー (10. μ M) を血清除去時に1回細胞に適用したのみである。7日間のアッセイに対し、式7又は式8のエナンチオマー (10. μ M) を血清除去時に細胞に適用し、その後48時間毎に細胞を新鮮な新たな血清非含有培地と交換した。血清除去群においては、細胞を式7又は式8のエナンチオマーを更に添加することなく、血清非含有培地中で培養した。細胞生存率を、血清除去の2日又は7日後に3- (4, 5-ジメチルチアゾルー2-イル) -5- (3-カルボキシメトキシフェニル) -2- (4-スルホフェニル) -2H-テトラゾリウム分子内塩 (MTS) アッセイにより決定した。

【0178】

実験の最後に、細胞を新鮮培地で洗浄し、湿潤化された37℃の5% CO₂のインキュベーター中で1.5時間MTS溶液とともにインキュベートした。インキュベート期間後、細胞をSoftmax プログラム (Molecular Devices) を使用して即座に分析した。MTSアッセイはある実験設定における変動する細胞数を決定する熱量測定法である。該アッセイはテトラゾリウム塩、MTSの、組織培養培地中に可溶性のホルマザンへの細胞の転化に基づき、96-ウエルアッセイプレート中で490nmにおいて直接測定される。その吸収は培地中の生存細胞数に正比例する。対照細胞中の任意の吸収値が100%生存率としてあらわされる。

【0179】

表3はPC12細胞の血清除去モデルにおける式7及び式8の経口投与エナンチオマーの細胞生存率に対する効果を表すデータを記載する。

【0180】

【表 3】

表3(細胞生存率(%))

	2日 生存率 (%)	7日 生存率 (%)
対照	100	100
血清非含有	49.6 ± 2.6	23.8 ± 2.6
式 7	69.4 ± 1.7 ¹	79.9 ± 4.0 ²
式 8	66.4 ± 5.4 ¹	85.2 ± 0.6 ²

10

【実施例 4】

【0181】

一過性脳虚血ラットモデル

式7のエナンチオマー（試験化合物）を10及び100mg/kg（静脈内）において雄のウイスターラットを使用して、一過性脳虚血中間脳動脈閉塞（MCAO）ラットのモデル（Nagasawa H. and Kogure K., Stroke, 1989, 20, 1037; 及び, Zea Longa E., Weinstein P. R., Carlson S. and Cummins R., Stroke, 1989, 20, 84中に記載）において研究した。MK 801（ジゾシルピン・マレエート; CAS 登録番号77086-22-7, 市販の神経保護化合物）を正の対照（3mg/kg, 腹腔内）として使用した。

20

【0182】

ラット（n=12）を4つの実験群の1つにランダムに指定し、麻酔した。この方法により中間脳動脈中への内部頸動脈、前方脳動脈及び後方脳動脈からの血流をブロックした。ブロックの1時間後に、動物を、ベヒクル（1時間にわたり静脈内投与された）、対照（1時間の開始時に1回の腹腔内投与として投与された）及び式7のエナンチオマーの2回量投与（two doses）（1時間にわたる静脈内投与）で1時間にわたり処置した。ブロックの2時間後、再灌流を実施した。

【0183】

動物を殺戮し、各脳の20mm-厚さの冠状切片を調製した。脳病巣の程度を定量するために、前頭皮質から後頭皮質への40枚の切片毎に1枚（すなわち、800nM毎）を使用した。クレシルバイオレットで染色した（Nissl法に従って）切片を使用してスライドを調製し、光学顕微鏡下で検査した。

30

【0184】

個々のラットの冠状断面の局所的虚血表面積を、形態学的変化をもつ細胞の存在に従って決定した。ニューロン傷害又は梗塞面積を測定し、次に積算した。皮質及び線条体の容量を各動物につき計算した（総虚血表面積×0.8mm（厚さ））。

【0185】

MCAO モデルの分析

4実験群にランダムに指定された各動物に対する平均容量（±S.E.M.）を、一元配置ANOVA（一元配置ANOVAは3種以上の非対群を比較する統計法である）、次にDunnett'のt-テストを使用して比較した（両方の方法はStatview 512+ソフトウェア, BarinPower, Calabasas, Calif., USAに取り込まれている）。

40

【0186】

以下の表4に示されるように、ベヒクル群に比較してp値が<0.05である時に、結果は有意であると考えられた（¹p<0.01; ²p<0.05）。

【0187】

【表 4】

表4

処置	N	平均梗塞容量 (mm ³) ± S.E.M.		
		皮質	線条体	総容量
ベヒクル, 10 mL/kg	12	275.5 ± 27.1	79.4 ± 3.6	354.9 ± 29.9
MK 801 @ 3 mg/kg	12	95.8 ± 24.5 ¹	56.1 ± 5.3 ²	151.9 ± 28.7 ¹
式 7 @ 10 mg/kg	12	201.0 ± 23.9	75.9 ± 2.6	276.9 ± 25.4
式 7 @ 100 mg/kg	12	98.8 ± 29.5 ¹	63.0 ± 5.9 ²	161.9 ± 34.3 ¹

10

【0188】

引用文献

本明細書に引用されたすべての文献は、あたかも個々の刊行物又は特許又は特許出願物がそれぞれ、特別にそして個別にすべての目的のためにその全体を引用により編入されることが示されるものと同程度に、その全体をすべての目的のために引用により本明細書に編入されている。

【0189】

本明細書の文献の考察はそれらの著者により実施された主張を単に要約することが意図され、どんな文献も先行技術を構成することは承諾されていない。出願者は引用文献の精度及び妥当性を問題にする (challenge) 権利を保持する。

20

【0190】

本発明は、本発明の個々のアスペクトの単一の具体例として意図される、本出願書に記載の特定の態様に関して限定されない。本発明の多数の修飾物及び変更物は、当業者に明白であろうように、その精神及び範囲から逸脱せずに実施することができる。本明細書に列挙されたものに加え、本発明の範囲内の、機能的に同等な方法及び装置は、以上の説明及び付記の図面から当業者に明白であろう。このような修飾物及び変更物は付記の請求項の範囲内に入ることが意図される。本発明は、このような請求項がそれに対して権利をもつ全範囲の同等物とともに、付記の請求項の条件によってのみ限定されることができる。

【図面の簡単な説明】

30

【0191】

【図1】 *l i - p i l o S E* の 14 日目に計数された、海馬の異なる領域中のニューロン数に対する T C の漸増用量の効果を示すグラフである。値は問題の各領域中のニューロン細胞体の数 ± S . E . M として表される。

【図2】 *l i - p i l o S E* の 14 日後に計数された、扁桃の異なる核中のニューロン数に対する T C の漸増用量の効果を示すグラフである。値は問題の各領域中のニューロン細胞体の数 ± S . E . M として表される。

【図3】 *l i - p i l o S E* の 14 日後に計数された、視床の異なる核中のニューロン数に対する T C の漸増用量の効果を示すグラフである。値は問題の各領域中のニューロン細胞体の数 ± S . E . M として表される。

40

【図4】 *l i - p i l o S E* の 14 日後に計数された、皮質の異なる領域中のニューロン数に対する T C の漸増用量の効果を示すグラフである。値は問題の各領域中のニューロン細胞体の数 ± S . E . M として表される。

【図5】最初の自然発生発作に対する潜伏期に対する T C の漸増用量の効果を示すグラフである。値は各群に対する平均潜伏期の日数 ± S . E . M として表される。

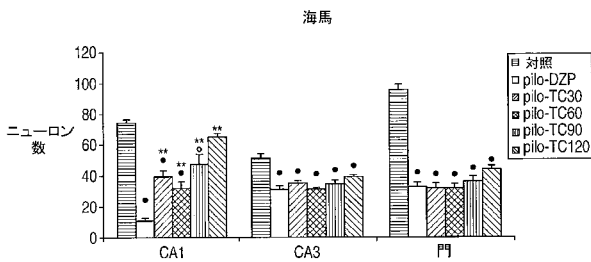
【図6】4週間の期間にわたりビデオ記録された自然発生発作の頻度に対する T C の漸増用量の効果を示すグラフである。値は発作の平均数 ± S . E . M として表される。総量はビデオ記録の4週間の期間中に認めた発作の総数を表し、平均は1週間当たりの平均発作数を表す。Anova テストは、発作の総数 (p = 0 . 0 4 5) 及び1週間当たりの平均発作数 (p = 0 . 0 4 5) に対する処置の効果を示した。

50

【図 7】最初の自然発生発作に対する潜伏期に従ってプロットした、4週間にわたりビデオ記録された発作の総数を示す（S L＝短い潜伏期、L L＝長い潜伏期）。値は各サブグループに対する平均発作数±S.E.Mとして表される。ANOVAテストは処置のなんの有意な効果をも示さなかった。

【図 8】最初の自然発生発作に対する潜伏期と、その後4週間に認めた発作の総数との間の相関を示す。

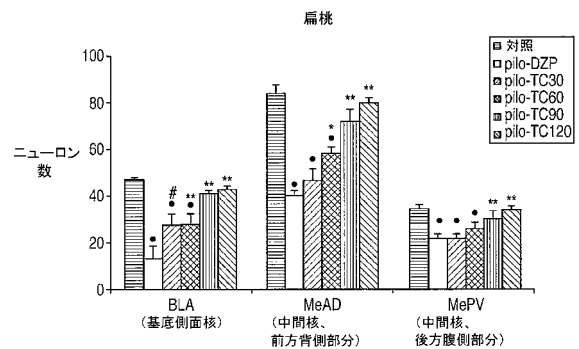
【図 1】

FIG. 1

○ $p < 0.05$, ● $p < 0.01$, pilo-TCと対照のii-生理食塩水ラット間に統計的に有意差

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, pilo-TCとpilo-DZPラット間に統計的に有意差

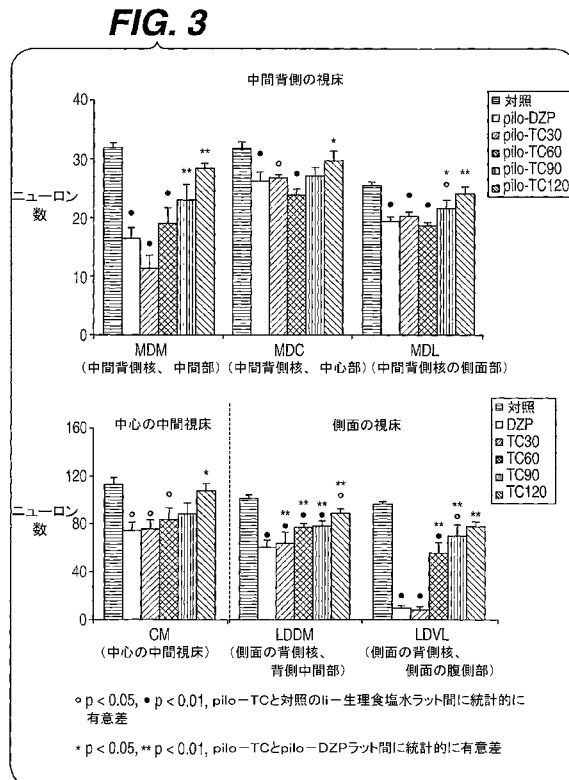
【図 2】

FIG. 2

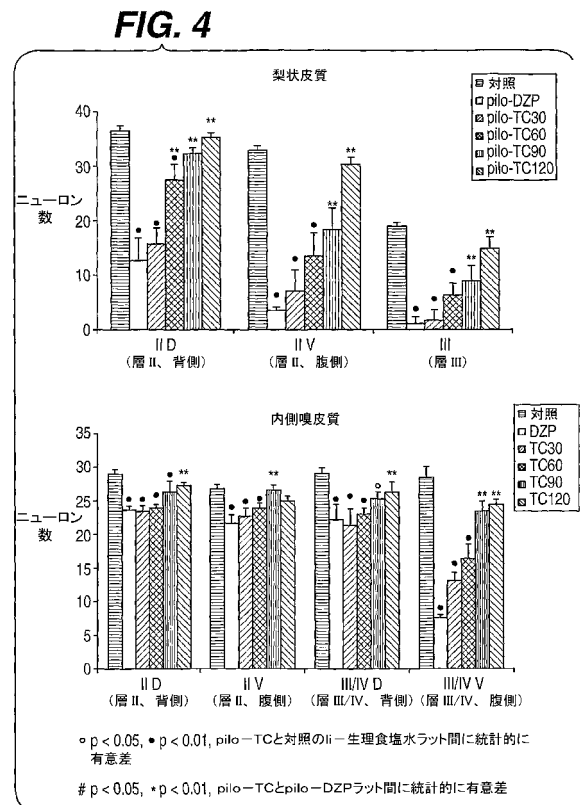
○ $p < 0.05$, ● $p < 0.01$, pilo-TCと対照のii-生理食塩水ラット間に統計的に有意差

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, pilo-TCとpilo-DZPラット間に統計的に有意差

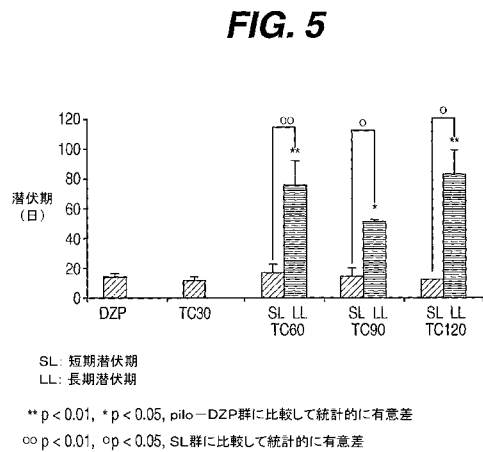
【図 3】



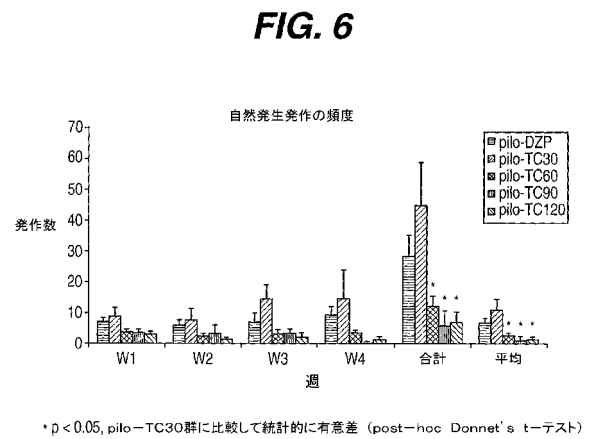
【図 4】



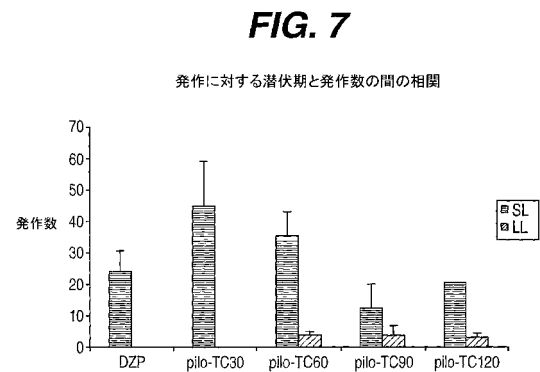
【図 5】



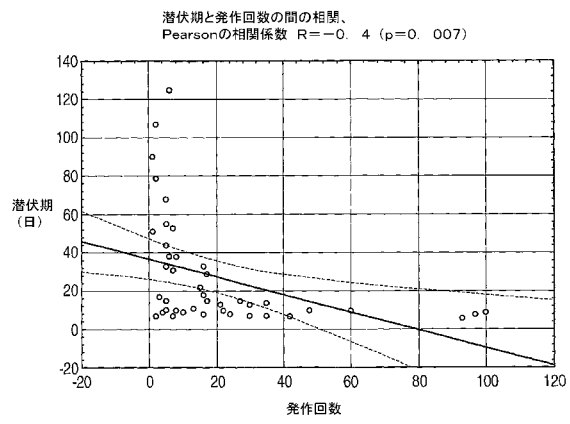
【図 6】



【図 7】



【図 8】

FIG. 8

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No PCT/US2006/026291
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K31/27 A61P25/28 A61K31/325		
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) A61K A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, EMBASE, CHEM ABS Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 02/067925 A (ORTHO-MCNEIL PHARMACEUTICAL, INC) 6 September 2002 (2002-09-06) page 14, line 32 - page 15, line 3; claims page 12, line 18 - page 14, line 20 -----	1-34
X	WO 01/13904 A (ORTHO-MCNEIL PHARMACEUTICAL, INC) 1 March 2001 (2001-03-01) page 10, lines 7-12 page 13, line 25 - page 14, line 13; claims; example A4 -----	1-34
E	WO 2007/002906 A (ALZA CORP [US]; WEYERS RICHARD G [US]; SATHYAN GAYATRI [US]; OUYING [] 4 January 2007 (2007-01-04) claims ----- -/-	29,30
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document 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		Date of mailing of the International search report
13 June 2007		05/07/2007
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Friederich, Martin

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2006/026291

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	WO 2006/033947 A (JANSSEN PHARMACEUTICA NV [BE]; CHOI YONG MOON [US]; GORDON ROBERT [US]) 30 March 2006 (2006-03-30) claims	1-34
P,A	NOVAK G P ET AL: "Carisbamate (RNJ-333369) New Antiepileptic Drugs: Discovery, Development, and Update" NEUROTHERAPEUTICS 2007 UNITED STATES, vol. 4, no. 1, 2007, pages 106-109, XP002437457 ISSN: 1933-7213	
P,A	BIALER M ET AL: "Progress report on new antiepileptic drugs: A summary of the Eighth Eilat Conference (EILAT VIII)" EPILEPSY RESEARCH 2007 NETHERLANDS, vol. 73, no. 1, 2007, pages 1-52, XP002437458 ISSN: 0920-1211	
P,A	BIALER M ET AL: "Valproic Acid: Second Generation New Antiepileptic Drugs: Discovery, Development, and Update" NEUROTHERAPEUTICS 2007 UNITED STATES, vol. 4, no. 1, 2007, pages 130-137, XP002437459 ISSN: 1933-7213	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2006/026291

Box 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:
Although claims 1-28 and 31-44 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
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.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box 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 an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
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.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2006/026291

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 02067925	A	06-09-2002	BR 0207645 A	28-12-2004
			CA 2439295 A1	06-09-2002
			CN 1503667 A	09-06-2004
			CZ 20032313 A3	18-08-2004
			EP 1383489 A1	28-01-2004
			HK 1065486 A1	01-09-2006
			HU 0303264 A2	28-01-2004
			JP 2004523555 T	05-08-2004
			MX PA03007718 A	12-11-2004
			NO 20033798 A	26-09-2003
			NZ 527990 A	27-01-2006
			PL 364680 A1	13-12-2004
			US 2002165273 A1	07-11-2002
			US 2004171679 A1	02-09-2004
			YU 67403 A	15-12-2006
WO 0113904	A	01-03-2001	AT 284223 T	15-12-2004
			AU 782759 B2	25-08-2005
			AU 6895800 A	19-03-2001
			BG 106420 A	30-09-2002
			BR 0013439 A	30-04-2002
			CA 2381797 A1	01-03-2001
			CN 1379686 A	13-11-2002
			CZ 20020524 A3	13-11-2002
			DE 60016602 D1	13-01-2005
			DE 60016602 T2	03-11-2005
			EP 1210118 A2	05-06-2002
			ES 2234651 T3	01-07-2005
			HU 0203198 A2	28-02-2003
			JP 2003507421 T	25-02-2003
			MX PA02001820 A	14-07-2003
			NO 20020728 A	05-04-2002
			NZ 517106 A	29-04-2005
			PL 353266 A1	03-11-2003
			PT 1210118 T	28-02-2005
			SK 2262002 A3	04-02-2003
			TR 200201067 T2	23-09-2002
			UA 75868 C2	15-06-2006
			ZA 200201403 A	19-05-2003
WO 2007002906	A	04-01-2007	NONE	
WO 2006033947	A	30-03-2006	AU 2005287174 A1	30-03-2006
			CA 2580640 A1	30-03-2006

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 25/28	(2006.01)	A 6 1 P 25/28	
A 6 1 P 25/32	(2006.01)	A 6 1 P 25/32	
A 6 1 P 25/36	(2006.01)	A 6 1 P 25/36	
A 6 1 P 25/08	(2006.01)	A 6 1 P 25/08	
A 6 1 P 21/04	(2006.01)	A 6 1 P 21/04	
A 6 1 P 9/10	(2006.01)	A 6 1 P 9/10	
A 6 1 P 3/10	(2006.01)	A 6 1 P 3/10	
A 6 1 P 35/00	(2006.01)	A 6 1 P 35/00	

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,NL,PL,PT,RO,SE,SI,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,LA,L C,LK,LR,LS,LT,LU,LV,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PG,PH,PL,PT,RO,RS,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 テイウマン, ロイ・イー

アメリカ合衆国ペンシルベニア州08901 ドイルスタウン・バイロンドライブ3355

Fターム(参考) 4C206 AA01 AA02 HA23 MA01 MA04 NA05 ZA01 ZA02 ZA06 ZA15
ZA16 ZA18 ZA40 ZB26 ZC35