

(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2005-522432

(P2005-522432A)

(43) 公表日 平成17年7月28日(2005.7.28)

(51) Int.Cl.<sup>7</sup>**A61K 45/00****A61K 31/495****A61K 31/496****A61P 25/00****A61P 43/00**

F 1

A61K 45/00

A61K 31/495

A61K 31/496

A61P 25/00 101

A61P 43/00 101

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 18 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2003-565480 (P2003-565480)	(71) 出願人	397009934 グラクソ グループ リミテッド G L A X O G R O U P L I M I T E D イギリス ミドルセックス ユービー6 Oエヌエヌ グリーンフォード パークレー アベニュー グラクソ ウエルカム ハウス (番地なし) G l a x o W e l l c o m e H o u s e , B e r k e l e y A v e n u e G r e e n f o r d , M i d d l e s e x U B 6 O N N , G r e a t B r i t a i n
(86) (22) 出願日	平成15年2月4日 (2003.2.4)	(74) 代理人	100081422 弁理士 田中 光雄
(85) 翻訳文提出日	平成16年10月5日 (2004.10.5)		
(86) 國際出願番号	PCT/GB2003/000462		
(87) 國際公開番号	W02003/066056		
(87) 國際公開日	平成15年8月14日 (2003.8.14)		
(31) 優先権主張番号	0202680.5		
(32) 優先日	平成14年2月5日 (2002.2.5)		
(33) 優先権主張国	英國 (GB)		
(31) 優先権主張番号	0222616.5		
(32) 優先日	平成14年9月30日 (2002.9.30)		
(33) 優先権主張国	英國 (GB)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】ニューロン成長の促進方法

## (57) 【要約】

本発明は、哺乳類の中核神経系内のニューロン成長を促進する新規方法、かかる方法に用いるための化合物および組成物に関する。

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

哺乳類の中核神経系内のニューロン成長を促進する方法であって、 $5\text{-HT}_6$ 受容体アンタゴニストを投与する工程を含む方法。

**【請求項 2】**

該 $5\text{-HT}_6$ 受容体アンタゴニストが医薬組成物の形態で投与される、請求項1記載の方法。

**【請求項 3】**

該 $5\text{-HT}_6$ 受容体アンタゴニストが、5-クロロ-3-メチルベンゾ[*b*]チオフェン-2-スルホン酸(4-メトキシ-3-ピペラジン-1-イルフェニル)アミドまたはその医薬上許容される塩もしくは溶媒和物である、請求項1または請求項2記載の方法。  
10

**【請求項 4】**

医薬上許容される塩が塩酸塩である、請求項3記載の方法。

**【請求項 5】**

該 $5\text{-HT}_6$ 受容体アンタゴニストが、N-(3,5-ジクロロ-2-メトキシフェニル)-4-メトキシ-3-ピペラジン-1-イル-ベンゼンスルホンアミドまたはその医薬上許容される塩もしくは溶媒和物である、請求項1または請求項2記載の方法。

**【請求項 6】**

医薬上許容される塩が塩酸塩である、請求項5記載の方法。

**【請求項 7】**

哺乳類の中核神経系内のニューロン成長を促進するための医薬の製造における $5\text{-HT}_6$ 受容体アンタゴニストの使用。

**【請求項 8】**

該 $5\text{-HT}_6$ 受容体アンタゴニストが医薬組成物の形態で投与される、請求項7記載の使用。

**【請求項 9】**

該 $5\text{-HT}_6$ 受容体アンタゴニストが、5-クロロ-3-メチルベンゾ[*b*]チオフェン-2-スルホン酸(4-メトキシ-3-ピペラジン-1-イルフェニル)アミドまたはその医薬上許容される塩もしくは溶媒和物である、請求項7または請求項8記載の使用。  
20

**【請求項 10】**

医薬上許容される塩が塩酸塩である、請求項9記載の使用。

**【請求項 11】**

該 $5\text{-HT}_6$ 受容体アンタゴニストが、N-(3,5-ジクロロ-2-メトキシフェニル)-4-メトキシ-3-ピペラジン-1-イル-ベンゼンスルホンアミドまたはその医薬上許容される塩もしくは溶媒和物である、請求項7または請求項8記載の使用。

**【請求項 12】**

医薬上許容される塩が塩酸塩である、請求項11記載の使用。

**【請求項 13】**

哺乳類の中核神経系内のニューロン成長を促進するのに用いるための $5\text{-HT}_6$ 受容体アンタゴニストを含む医薬組成物。

**【請求項 14】**

該 $5\text{-HT}_6$ 受容体アンタゴニストが、5-クロロ-3-メチルベンゾ[*b*]チオフェン-2-スルホン酸(4-メトキシ-3-ピペラジン-1-イルフェニル)アミドまたはその医薬上許容される塩もしくは溶媒和物である、請求項13記載の医薬組成物。  
40

**【請求項 15】**

医薬上許容される塩が塩酸塩である、請求項14記載の医薬組成物。

**【請求項 16】**

該 $5\text{-HT}_6$ 受容体アンタゴニストが、N-(3,5-ジクロロ-2-メトキシフェニル)-4-メトキシ-3-ピペラジン-1-イル-ベンゼンスルホンアミドまたはその医薬上許容される塩もしくは溶媒和物である、請求項13記載の医薬組成物。  
50

**【請求項 1 7】**

医薬上許容される塩が塩酸塩である、請求項 1 6 記載の医薬組成物。

**【発明の詳細な説明】****【発明の詳細な説明】****【0 0 0 1】**

本発明は、哺乳類の中枢神経系内のニューロン成長を促進する新規方法、かかる方法において用いるための化合物および医薬組成物に関する。

**【0 0 0 2】**

アルツハイマー病またはパーキンソン病および卒中のよろな傷害に不隨するニューロンの永久喪失が、細胞の再生を不可能にするという広く行き渡った考え方は、成熟した脳内にある神絆幹細胞の多数の証拠により異議が唱えられている (Gage, F. H. (2000) *Science* 287, 1433-1438)。ニューロン新生およびこれらの新生細胞のシナプス可塑性は、ストレス、富化環境および運動により影響されうる (van Praag et al., (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96, 13427-13431; Nilsson et al., (1999) *J. Neurobiol.* 39, 569-578)。また、インシトゥで生み出された新しい細胞は生化学的に操作することができ、存在する構成内に取り込まれうる。5HT1A受容体を介するセロトニン、または抗鬱剤、例えはトラニルシプロミン、レボキセチンまたはフルオキセチンでの慢性的治療により、海馬ニューロン新生が刺激される (Gould, E. (1999) *Neuropsychopharmacol.* 21, 46S-51S; Malberg et al., (2000) *J. Neurosci.* 20, 9104-9110; BrezunおよびDaszuta (2000) 10 12, 391-396)。対照的に、競合NMDA受容体アンタゴニストCGP43487およびアヘン剤受容体アゴニストモルヒネは、海馬ニューロン新生の速度を減少させる (Eisch et al., (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97, 7579-7584; Nacher et al., (2001) *Eur. J. Neurosci.* 13, 512-520)。

**【0 0 0 3】**

収集した一連のデータにより、ポリシアル酸化形態のニューロン細胞付着分子 (PSA-NCAM) が、成熟した神経系の視床下部、嗅球および海馬のような領域の、構造再生およびシナプス可塑性の支持に関与していることが示唆されている (Seki, T.およびArai, Y. (1993) *Neurosci. Res.* 17, 265-290; Kiss, J.およびRougon, G. (1997) *Curr. Opin. Neurobiol.* 7, 640-646)。ヒトを含むいくつかの哺乳類の成熟した海馬における構造可塑性は、歯状回顆粒細胞下帯における、ニューロン前駆体の増殖を含み、これら新たに産生された顆粒神経は一時的にNCAMPSAを発現する (Seki, T.およびArai, Y. (1993) *J. Neurosci.* 13, 2351-2358)。また、前脳室下帯から生じると推測される、新たに産生されたポリシアル酸化ニューロンが、大脳皮質の関連領域、例えは側頭葉において見出された (Doetsch et al. (1997) *J. Neurosci.* 17, 5046-5061; O'Connell et al., (1997) *J. Neurochem.* 68, 2538-2546; NiDhuill et al. (1999) *J. Neurosci. Res.* 55, 99-106; Gould et al. (1999) *Science* 286, 548-525)。さらに、回避条件付けまたは空間学習パラダイムのいずれかの統合の間、ポリシアル酸化細胞頻度における一時的な増加は、訓練期間後12時間後に生じ、ラット海馬および内側頭葉において観察される不隨樹状レモデリングに必須である (Fox et al. (1995) *J. Neurochem.* 65, 2796-2799; Murphy et al. (1996) *J. Neurochem.* 67, 1268-1274; O'Connell et al. (1997) *J. Neurochem.* 68, 2538-2546; O'Malley et al. (1998) *Neuroscience* 87, 607-613; O'Malley et al. (2000) *Neuroscience* 99, 229-232; Fox et al. (2000) *J. Neurobiol.* 45, 135-141)。

**【0 0 0 4】**

複数の5-ヒドロキシトリプタミン(5-HT)受容体が同定されており(5-HT1A / 1B / 1D / 1E / 1F、5-HT2A / 2B / 2C、5-HT3A / 3B、5-HT4A / 4B、5-HT5A / 5B、5-HT6および5-HT7A / 7B / 7C / 7D)、多数の証拠により、5-HT受容体が学習および記憶の役割を担っていることが示唆されている。5-HT受容体の5-HT<sub>6</sub>サブグループの多くのアンタゴニストが発見されており、国際公開番号WO98/27081、WO98/27058、WO99/0250

10

20

30

40

50

502、WO 99/37623、WO 99/42465、WO 00/12073、WO 00/12623、WO 01/32646(すべてSmithKline Beecham plc)により公開されており、これらの化合物は、ある種のCNS疾患、例えば不安症、鬱病、癲癇、強迫性傷害、片頭痛、アルツハイマー病(認知記憶の増強)、睡眠障害(日周期リズム障害を含む)、摂食障害、例えば拒食症および過食症、パニック発作、薬物乱用、例えばコカイン、エタノール、ニコチンおよびベンゾジアゼピンによる禁断症状、統合失調症、ADHD、脊髄損傷および/または頭部傷害に不隨する障害、例えば水頭症およびある種のG I障害、例えばIBSの治療に用いることができると考えられている。相対的に高レベルの5-HT<sub>6</sub>受容体は、海馬歯状回の分子層において見出され(Gerald et al. (1997) Brain Res. 746, 207-219)、この拮抗作用は、直接またはGABA作動性介在ニューロン介在阻害作用により、興奮性を増強させうる。

10

#### 【0005】

WO 98/27081の実施例83に開示されている一のかかる化合物は、5-クロロ-3-メチルベンゾ[b]チオフェン-2-スルホン酸(4-メトキシ-3-ピペラジン-1-イルフェニル)アミド塩酸塩であり、また、これはSB-271046とも称されている。SB-271046は、ヒト(pKi 8.8~8.9)およびラット(pKi 9.0)5-HT<sub>6</sub>受容体の強力なアンタゴニストとして特徴付けられている。加えて、該化合物は、55の他の受容体、結合部位およびイオン・チャンネルと比較して、5-HT<sub>6</sub>受容体に対して200倍以上感受性である。SB-271046は、経口で生物学的利用能があり、広範囲の投与量(0.1~30mg/kg)でのラット最大電気ショック発作閾値試験における、発作閾値(抗痙攣特性を示す作用)を増加させる(Routledge et al. (2000) British J. Pharm. 130, 1606-1612)。10mg/kgの経口投与で、SB-271046は、ラットの空間記憶タスクの記憶力を有意に改善し、かくして、ヒトの認知プロセスを増強させる可能性が強調されている(Rogers, D. C. & Hagan, J. J. (2001) Psychopharmacology 158: 114-119)。

20

#### 【0006】

本発明者らは、5-HT<sub>6</sub>受容体アンタゴニストが、脳領域、例えばラットの内側頭葉および関連する海馬において、基礎および学習により誘発されるポリシアル酸化ニューロン細胞頻度(frequency)を増加させることができる。

30

#### 【0007】

かくして、本発明により、哺乳類の中枢神経系内のニューロン成長を促進する方法であって、5-HT<sub>6</sub>受容体アンタゴニストを投与する工程を含む方法を提供する。

#### 【0008】

好ましくは、ニューロン成長は、主に学習機能および記憶機能に関与する領域内、例えば哺乳類の中枢神経系の海馬または内側頭葉で促進されるだろう。

好ましくは、5-HT<sub>6</sub>受容体アンタゴニストは、医薬組成物の形態で投与されるだろう。

#### 【0009】

本発明の方法により治療することができる疾患は、神経変性疾患、例えばアルツハイマー病、パーキンソン病および卒中を含む。

40

#### 【0010】

該5-HT<sub>6</sub>受容体アンタゴニストが医薬組成物の形態で投与される場合、これは、1つまたはそれ以上の医薬上許容される賦形剤と混合して調製されうる。

#### 【0011】

本発明の第2の態様において、哺乳類の中枢神経系内のニューロン成長を促進するたの医薬製造における、5-HT<sub>6</sub>受容体アンタゴニストの使用を提供する。

#### 【0012】

本発明のさらなる態様において、哺乳類の中枢神経系内のニューロン成長を促進するのに用いるための5-HT<sub>6</sub>受容体アンタゴニストを含む医薬組成物を提供する。

#### 【0013】

50

適当には外界温度および大気圧で調製することができる、本発明の医薬組成物は、通常には、経口、非経口または直腸投与に適しており、錠剤、カプセル、経口液体製剤、粉末、顆粒、ロゼンジ、復元粉末、注射または注入可能溶液または懸濁液、あるいは坐剤の形態であってもよい。経口投与可能組成物が、一般的には好ましい。

## 【0014】

経口投与用の錠剤およびカプセルは、単位剤形であってもよく、慣用的な賦形剤、例えば結合剤、充填剤、打錠滑沢剤、崩壊剤および許容される湿潤剤を含んでいてもよい。錠剤は、通常の医薬手法においてよく知られている方法に従ってコートすることができる。

## 【0015】

経口液体製剤は、例えば水性または油性懸濁液、溶液、エマルジョン、シロップまたはエリキシルの形態であってもよく、あるいは使用前に水または他の適当なビヒクルで復元する乾燥粉末の形態であってもよい。かかる液体製剤は、慣用的な添加剤、例えば懸濁化剤、乳化剤、非水性ビヒクル（食用油を含んでいてもよい）、保存剤、および要すれば慣用的なフレーバーまたは着色剤を含有していてもよい。

## 【0016】

非経口投与に関しては、液体単位剤形を、本発明の化合物またはその医薬上許容される塩および滅菌ビヒクルを利用して調製することができる。使用するビヒクルおよび濃度に応じて、化合物は、ビヒクル中に懸濁または溶解することができる。溶液の調製において、化合物は、注射用に溶解し、濾過滅菌し、ついで、適当なバイアルまたはアンプルに充填し、シールすることができる。有利には、アジュバント、例えば局所麻酔剤、保存剤および緩衝剤を、ビヒクル中に溶解させる。安定性を増強するために、組成物をバイアルに充填した後に冷凍し、減圧下で水を除去することができる。非経口懸濁液は、化合物をビヒクル中に溶解する代わりに懸濁させ、滅菌を濾過により行えないこと以外は、実質的に同様の方法で調製する。化合物は、滅菌ビヒクルに懸濁させる前に、エチレンオキシドに曝して滅菌することができる。有利には、界面活性剤または湿潤剤が、化合物の均一な分散を促進するために組成物中に含まれる。

## 【0017】

組成物は、投与方法に応じて、0.1重量%～99%重量、好ましくは10～60重量%の活性物質を含有することができる。

## 【0018】

上記した障害の治療において用いられる化合物の投与量は、障害の重症度、患者の体重および他の同様の因子により、通常変化するだろう。しかしながら、一般的に指針としては、適当な単位投与量は、0.05～1000mg、より適当には0.05～200mg、例えば20～40mgであってもよく；かかる単位投与量は、1日1回以上の投与が必要とされてもよいが、好ましくは1日1回であり、かかる治療は、数週間または数ヶ月に及んでもよい。

## 【0019】

当該分野で知られている5-HT<sub>6</sub>受容体アンタゴニストは、哺乳類の中枢神経系内のニューロン成長を促進するのに使用することができる。例えば、これらの5-HT<sub>6</sub>受容体アンタゴニストは、国際公開番号WO98/27081、WO98/27058、WO99/02502、WO99/37623、WO99/42465、WO00/12073、WO00/12623、WO01/32646（すべて、SmithKline Beecham plc）（出典明示により本明細書に組み入れる）に開示されている。

## 【0020】

本発明の一の好ましい態様において、該5-HT<sub>6</sub>受容体アンタゴニストは、5-クロロ-3-メチルベンゾ[b]チオフェン-2-スルホン酸（4-メトキシ-3-ピペラジン-1-イルフェニル）アミドまたはその医薬上許容される塩もしくは溶媒和物であり、最も好ましくは塩酸塩である。

## 【0021】

本発明の第2の好ましい態様において、該5-HT<sub>6</sub>受容体アンタゴニストは、N-（

10

20

30

40

50

3 , 5 - ジクロロ - 2 - メトキシ - フェニル ) - 4 - メトキシ - 3 - ピペラジン - 1 - イル - ベンゼンスルホンアミドまたはその医薬上許容される塩もしくは溶媒和物であり、最も好ましくは塩酸塩である。

#### 【 0 0 2 2 】

本発明を、以下の実施例を参照することにより説明する：

##### 実施例

###### ( a ) 一般実験

実験に未使用の 80 日齢 ( N C A M - P S A 評価時 ) の雄のウイスター・ラット ( Wistar rat ) を、すべての試験で用いた。すべての動物を、 $22 \pm 2$  を維持し、標準的な 12 時間明 / 暗サイクルで、食餌および水を自由に摂れる状態で、個別に飼育した。動物を、いざれの実験開始の少なくとも 3 日前に、実験部屋に誘導した。  
10

実施例において、SB271046なる語は、5 - クロロ - 3 - メチルベンゾ [ b ] チオフェン - 2 - スルホン酸 ( 4 - メトキシ - 3 - ピペラジン - 1 - イルフェニル ) アミド 塩酸塩を意味し、SB399885語は、N - ( 3 , 5 - ジクロロ - 2 - メトキシ - フェニル ) - 4 - メトキシ - 3 - ピペラジン - 1 - イル - ベンゼンスルホンアミド 塩酸塩を意味する。

#### 【 0 0 2 3 】

###### ( b ) N C A M P S A 発現の定量分析

###### ( i ) 凍結切片法

新たに解剖したラットの全脳を、注意深く、最適切削温度 ( OCT ) 化合物でコートし、乾燥氷冷 n - ヘキサンを含有する Cryoprep 冷凍装置中に入れた。OCT 化合物 n - ヘキサンの機能は、組織を均等に冷凍させ、かくして、凍結による悪影響を回避する。すべての実験の水平断面図は、Microtome Series 500 低温保持装置で、半自動的または自動的に切断した。新たな冷凍脳切片 ( $12 \mu m$ ) を、低温保護して、- 15 で切り取った。すべての切片を実験日に準備し、前もって切り取り、冷凍保存することはなかった。N C A M P S A - 陽性海馬歯状回顆粒細胞層 / 門境界細胞の分析に関して、10 の代替切片を、ブレグマ ( Bregma ) ( Paxinos and Watson, 1986 ) の下 - 5 . 6 mm に相当するレベルで取り、このレベルで、この細胞集団が最大限に見られた。  
20

また、ラット内側頭葉におけるポリシアル酸化ニューロンの頻度は、5 - HT<sub>6</sub> アンタゴニストに慢性被爆させて、実験した。内嗅皮質および嗅周皮質の第 I I 層に位置し、頻度の背腹増加を示すこれらのポリシアル酸化ニューロンは、ブレグマレベル - 7 . 1 , - 7 . 6 , - 8 . 1 および - 8 . 6 で試験された。  
30

#### 【 0 0 2 4 】

###### ( i i ) 免疫組織化学的プロトコル

ブレグマ ( 上記を参照 ) を基準にして種々のレベルで、冷凍した組織から水平凍結切片を切り取り、これらを、d H<sub>2</sub> O 中に希釈したポリ - 1 - リシンでコートされたスライドガラス上に置いて解凍し、70 % のエタノールで 30 分間浸漬した。ついで、各々の切片を 10 分間、0 . 1 M のリン酸緩衝セイライン ( PBS ) 中で 2 回洗浄し、1 % ( w / v ) のウシ血清アルブミンおよび 1 % ( v / v ) の正常ヤギ血清を含有する PBS 中に 1 : 500 で希釈した一次抗体と、室温で、加湿したチャンバー中で、20 時間インキュベートして、非特異的染色を減少させた。加湿チャンバーにより切片を蒸発から防止した。一次抗体は、P S A に対して単クローニ性であり、これは、Professor G, Rougon ( CNRS UMR 6545, 13288 Marseille, France ) により提供されている。一次抗体のインキュベーションが完了すると、各々の切片を、PBS で 10 分間 2 回洗浄し、1 % の B S A および 1 % の N G S を含有する PBS 中に希釈係数 1 : 100 で希釈した、二次抗体と加湿したチャンバー中で 3 時間室温でインキュベートした。二次抗体は、フルオレセインにコンジュゲートしたヤギ抗マウス IgM ( FITC ) である。二次インキュベーションに続いて、切片を再び PBS で 10 分間 2 回洗浄し、蛍光増強培地 C i t i f l u o r ( 登録商標 ) に置き、Leitz DM RB 蛍光顕微鏡で蛍光を観察した。  
40

#### 【 0 0 2 5 】

## ( i i i ) N C A M P S A 発現の定量評価

定量画像分析を、高感度 C C D ビデオカメラを有する蛍光顕微鏡に接続された、Leica Quantimet 500 (登録商標) P . C . - に基づくソフトウェアパッケージを用いて行った。各々の顕微鏡レンズは、1 mm の目盛りを用いる、長さおよび面積に対する目盛りがついている。右の歯状回顆粒細胞層 / 門境界の N C A M P S A - 免疫反応性ニューロンの総数は、プレグマ ( Paxinos and Watson, 1986 ) から - 5 . 6 mm で始まる 7 つの代替  $12 \mu\text{m}$  切片において計数し、 $5 \sim 10 \mu\text{m}$  の周核体の二重計算を防止する。細胞の同定を、核対比染色ヨウ化プロピジウム ( $40 \text{ ng} / \text{ml}$  の PBS ; 60 秒) を用いることにより補助した。ついで、細胞の数を歯状回顆粒細胞層の総面積で除し、 $p 80$  ラットに関する平均顆粒細胞層面積を掛け、これはこのレベルで  $0 . 15 \pm 0 . 01 \text{ mm}^2$  である。これを各々の切片に対して行い、平均  $\pm$  SEM を、各々の脳に関して計算し、その結果を PSA - 陽性細胞 / 単位面積として表した。ついで、これらの結果を用いて、各々の動物群に関する平均  $\pm$  SEM を得た。細胞同定を、再び、核対比染色ヨウ化プロピジウム ( $40 \text{ ng} / \text{ml}$  の PBS ; 60 秒) を、可能性ある二重計算を除外する代替切片と用いることにより行った。細胞数を、大脳皮質の長さで除し、大脳皮質の平均長さを掛けて、これは  $10 \text{ mm}$  であった。これを、各々の切片に対して行い、平均  $\pm$  SEM を、各々の脳に関して計算し、その結果を、PSA - 陽性細胞 / 単位面積で表した。これらの結果を用いて、各々の動物群の最終平均  $\pm$  SEM を得た。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 2 6 】

## ( i v ) 水迷路学習

## 1 . 行動評価

このプロトコルにおいて、動物を学習の 5 日前に学習環境下に誘導し、標準的な条件により別個に飼育した。動物を、1 および 2 日目は操作せずに放置してその環境に慣れし、3 、 4 および 5 日目に、動物を操作し、体重を測定し、5 分間の間オープンフィールド装置での自然行動を評価する。オープンフィールド研究は、すべての学習プロシージャの主要部分からなる。オープンフィールド装置は、 $620 \text{ mm}$  の奥行き、 $620 \text{ mm}$  の幅および  $150 \text{ mm}$  の高さの、黒く塗られた木材からなる。装置の白く塗られた床は、左右に線を引き、 $77 \times 77 \text{ mm}$  四方の一連の箱にそれを分割する。自発運動を、300 秒間に横切った線の数として測定した。観測された他の行動は、立ち上がり、身繕い、立毛、排便および身構えであった。これらの行動評価は、学習計画に対して応答していない動物を検出するため、または試験結果を混同させうる不当な薬剤効果の可能性を検出するために非常に重要である。

## 【 0 0 2 7 】

## 2 . 装置

水迷路装置は、特にブラックパースペックス (black Perspex) における従来の設計で構成される、円形プール (直径  $1 \text{ m}$  、高さ  $80 \text{ cm}$  ) からなる。温度は、水を循環させるポンプを有する二重底により覆われた発熱体により、26 に維持した。プラットホーム (直径  $11 \text{ cm}$  ) は、水面下  $1 . 5 \text{ cm}$  に沈め、また、ブラックパースペックスからなる。学習の間、プラットホームは、側壁から  $30 \text{ cm}$  の迷路の四分円の 1 つに隠した。迷路およびプラットホームのブラックパースペックスは、脱出行為を誘導する手掛け合図を迷路内に与えない。しかしながら、学習ルームは、脱出学習に必要な空間地図の作成を補助する、いくつかの迷路外の見える手掛け合図を与える。自動化追跡システム「水迷路 3 . 1 」を用いた。このプログラムは、デジタルカメラにより獲得したビデオ画像および画像獲得ボード、測定した経路の長さ、期間、最大速度、角 (泳ぎを開始した方向と終点 (プラットホーム) の間の角) およびエントリー数および水迷路の各々の四分円において費やした水泳時間を分析する。

## 【 0 0 2 8 】

## 3 . 単一セッション水迷路学習

これは、前記した刊行物 ( Murphy et al. (1996) J. Neurochem. 67, 1268-1274 ) に記載のような学習および記憶強化に付随する分子事象を研究するために用いられる標準的な

パラダイムである。各々の試験は、3つの所定の位置の1つで、迷路の壁に向かい合わせたラットから始める。ラットに迷路を探索させ、60秒の標準期間内に隠されたプラットホームを見つけるのに要した時間を、脱出待ち時間として測定した。最初の試験において、60秒以内にプラットホームを発見するのに失敗したラットを、10秒間その位置においた。次の試験において、プラットホームの発見に失敗した動物には、二度とそれを示さなかった。試験間隔を300秒開けた5回の試験で、脱出待ち時間を測定した。

急性的および慢性的に処理した群からの動物を上記のように試験した。すべての動物は、試験1および試験5の間、プラットホームを発見する待ち時間の減少が示されるように、課題を習得した [ 急性試験：薬剤処理して学習したもの - F ( 4 , 19 ) = 3 . 531 ; p = 0 . 032 ; 未処理で学習したもの - F ( 4 , 19 ) = 7 . 748 ; p = 0 . 0014 ] [ 慢性試験：薬剤処理して学習したもの - F ( 4 , 19 ) = 13 . 345 ; p < 0 . 0001 ; 未処理で学習したもの - F ( 4 , 19 ) = 1 . 455 ; p = 0 . 2647 ] 。続いて、試験5の終了の12時間後、動物を、頸部脱臼により死亡させ、脳組織を取り出し、上記したNCAMポリシアル酸化の定量のために低温保存した。

#### 【 0029 】

##### ( v ) データ分析

NCAM PSA - 陽性細胞数を、各々の細胞群から得た。結果を、群あたり少なくとも3~6の値を有する平均±SEMとして表し、ANOVAまたは記載した非対応非パラメータスチュードントt - 検定により分析した。

#### 【 0030 】

##### ( c ) プロモデオキシリジン ( BrdU ) 発現の定量分析

##### ( i ) 組織調製

pH 7 . 4 で 4 % のパラホルムアルデヒド溶液を用いて経心腔的灌流に続いて、脳を除去し、同じ固定液中に一晩貯蔵した。続いて、脳を注意深く最適切断温度 ( OCT ) 化合物でコートし、ドライアイスで冷却したn - ヘキサンを含むCryoprep冷凍装置中に置いた。OCT化合物およびn - ヘキサンの機能は、組織の均等冷却を付与し、かくして、冷凍による悪影響を避けるものである。

#### 【 0031 】

##### ( ii ) 凍結切片法

すべての試験の切片を、水平方向に、Microtome Series 500 低温保持装置で、手動で切断した。新たな凍結脳切片 ( 50 μm ) を、低温保護しながら - 25 °C で切断した。すべての切片を実験日に調製し、前もって切断して冷凍保存しない。これにより、最適な組織形態が得られる。BrdU - 免疫陽性海馬歯状回顆粒細胞層細胞の分析に関して、8つのフローフローティング ( free-floating ) 切片を各々の脳から得、抗凍結剤 ( 0 . 32 M のシーカロース ) 中に貯蔵した。これらはブレグマ下 - 4 . 1 mm と等価であるレベルで開始する 500 μm 間隔で得られる。

#### 【 0032 】

##### ( iii ) 免疫組織学的プロトコル

切片を抗凍結剤から取り出し、5 mM の MgCl<sub>2</sub> および 1 mM の CaCl<sub>2</sub> ( DNAse 酵素の安定化に必要 ) を含有する 0 . 1 M の PBS 溶液中で、各々 5 分間 3 回洗浄した。DNA変性のため、切片を 37 °C で 1 時間 DNase ( 1000 ユニット / ml ) 中でインキュベートした。この切片を再び洗浄し、10% w/v の NG S で 30 分間遮断し、ついで、室温で 20 時間、10% の NG S ( v/v ) を含有する PBS 中に 1 : 100 で希釈した一次抗体 ( 抗 - BrdU ラット IgG, Harlan UK ) とインキュベートして、非特異的染色を減少させた。続いて、切片を洗浄し、室温で 1 時間、10% の NG S を含有する PBS 中に再び 1 : 200 で希釈した、二次抗体 ( Alexa 488 - 複合ヤギ抗 - ラット IgG, Molecular Probes UK ) とインキュベートした。二次インキュベーションに続いて、切片を再び洗浄し、Citifluor 中にいた。

#### 【 0033 】

##### ( iv ) BrdU 発現の定量評価

10

20

30

40

50

右歯状回顆粒細胞層におけるBrdU-免疫活性細胞の頻度を、海馬の全範囲にわたる10個の無作為な切片において計数した。ついで、定量画像分析を、Leica Quantimet 500ソフトウェアを用いて行い、各々の切片の顆粒細胞層の面積を、ついで、顆粒細胞層容量をカバリエリ(Cavalieri)法で測定した。ついで、顆粒細胞層あたりのBrdU-免疫陽性細胞の総数を、得られた細胞密度および顆粒細胞層容量から確立し、これを用いて顆粒細胞層あたりのBrdU-免疫陽性細胞平均±SEM数を得た。統計分析にはスチューデントt-検定を用いた。

## 【0034】

実施例1：SB271046の慢性投与の、海馬中のニューロン細胞成長への影響

40日齢の雄の動物(上記したセクション(a)に詳細を記載した一般的な方法に従って保持した)に、3、10または20mg/kgのSB271046を、チューブにより40日間投与した。薬剤投与は、動物を死亡させる24時間前に終了した。動物の体重を得、一般的な物理的状態を毎日測定した。メチルセルロース(1%w/v)処理対照および抗精神病剤クロザピンを比較に用いた。ついで、NCAM PSA発現を、各々の5つの群(例えば、対照、3、10および20mg/kgのSB271046およびクロザピン)の動物に関して上記したセクション(b)(i)~(iii)に記載の一般的な方法に従って定量した。

## 【0035】

得られたデータを、上記セクション(b)(v)に記載のように分析し、SB271046が、下記する表1に記載のように、投与量に依存して、ラット海馬歯状回の副脳室領域のポリシアル酸化ニューロンの頻度の有意な増加が見られた。この効果は、ビヒクル処理対照または抗精神病剤クロザピンでは、観察されなかった。これらのポリシアル酸化ニューロンは、顆粒細胞層/門境界に位置する蛍光細胞により示され、樹状突起は海馬歯状回の分子層にまで及んだ。

## 【0036】

## 【表1】

表1

治療	P S A 免疫陽性細胞頻度
対照	6.3.4±3.5
SB271046 (3mg/kg)	7.0.3±3.9
SB271046 (10mg/kg)	8.2.4±1.7*
SB271046 (20mg/kg)	8.5.8±8.4*
クロザピン (5mg/kg)	6.9.8±1.6

\*対照に対してP<0.05、一元ANOVA；すべての場合においてn=6

## 【0037】

また、ラットの内側頭葉におけるポリシアル酸化ニューロンの頻度は、下記表2に記載のように、SB271046(20mg/kg)に慢性的に暴露することにより増加した。これらのポリシアル酸化ニューロンは、内嗅皮質および嗅周皮質の第I層に位置し、頻度の背腹増加が示される。ブレグマレベル7.1、-7.6および8.6で、ポリシアル酸化細胞頻度は、メチルセルロース処理対照動物と比較して有意に増加した。ブレグマレベル-8.1においては、ポリシアル酸化細胞頻度の有意な増加はなかった。

## 【0038】

## 【表2】

表2

プレグマレベル (mm)	対照	P S A 免疫陽性細胞頻度						
		S B	2	7	1	0	4	6
								(20mg/kg) 处理
-7.1	47.3 ± 4.2	61.	7	±	1.	7	*	
-7.6	52.6 ± 3.8	69.	9	±	0.	9	*	
-8.1	111.1 ± 6.9	125.	4	±	3.	5		
-8.6	141.3 ± 4.9	178.	3	±	12.	2	*	

10

## 【0039】

対照群は、二次ANOVAにより、治療群とは有意に行っている。各々のプレグマレベル間での有意な相違を、星印により示し ( $p < 0.05$ 、非対応非パラメータースチュードントt-検定)、すべての場合において  $n = 3$ 。

## 【0040】

実施例2：S B 2 7 1 0 4 6 の急性的および慢性的投与の、海馬のニューロン細胞成長の学習誘発活性化に対する影響

80日齢の雄の動物（上記したセクション(a)に詳細を記載した一般的な方法に従って保持した）に、上記セクション(b)(iv)に記載した方法に従って水迷路学習を行う30分前に、20mg/kgのS B 2 7 1 0 4 6 をチューブにより投与するか（急性投与）、または40日齢の雄の動物に、20mg/kgのS B 2 7 1 0 4 6 をチューブで40日間投与し、80日齢で、上記セクション(b)(iv)に記載した方法に従って水迷路学習を行った（慢性投与）。メチルセルロース(1%w/v)処理対照を、比較のために用いた。ついで、NCAM PSA発現を、4つの群の動物（例えば、未学習、学習対照、20mg/kgのS B 2 7 1 0 4 6 を投与した動物）を、上記したセクション(b)(i)～(iii)に記載の一般的な方法に従って定量した。

20

## 【0041】

得られたデータを、上記セクション(b)(v)に記載のように分析し、S B 2 7 1 0 4 6 の急性投与では、水迷路学習後12時間で、薬剤を投与した未学習の動物と比較して、また、学習したが薬剤陰性である動物に関して、ラット海馬歯状回の副脳質領域のポリシアル酸化ニューロンの頻度の有意な増加が見られた（表3）。同様の結果が、S B 2 7 1 0 4 6 に慢性的に暴露した動物で得られた（表4）。

30

## 【0042】

## 【表3】

表3

処理	P S A 免疫陽性制帽頻度
1. 未学習の対照	65.2 ± 2.4
2. 学習後12時間経過した対照	85.3 ± 1.8
3. S B 2 7 1 0 4 6 (20mg/kg)	64.2 ± 4.3
—処理した未学習対照	
4. S B 2 7 1 0 4 6 (20mg/kg)	96.0 ± 5.5
—処理した学習後12時間経過した対照	

40

## 【0043】

## 【表4】

表3の統計評価

データポイント比較	p 値
1 対 2	0. 0 0 0 3
3 対 4	0. 0 0 4 4
2 対 4	0. 0 3 6 1

非対応非パラメータースチュードント t - 検定、すべての場合において n = 3 - 6

10

## 【0 0 4 4】

## 【表5】

表4

処理	P S A 免疫陽性細胞頻度
1. 未学習の対照	6 3. 4 ± 3. 5
2. 学習後 12 時間経過した対照	8 1. 1 ± 1. 6
3. S B 2 7 1 0 4 6 ( 2 0 m g / k g )	8 5. 8 ± 1. 3
—処理して未学習の対照	
4. S B 2 7 1 0 4 6 ( 2 0 m g / k g )	1 0 9. 8 ± 1. 8
—処理して学習後 12 時間経過した対照	

20

## 【0 0 4 5】

## 【表6】

表4の統計評価

データポイント比較	p 値
1 対 2	0. 0 0 9
3 対 4	0. 0 4 8 4
2 対 4	0. 0 0 0 2

非対応非パラメータースチュードント t - 検定、すべての場合において n = 3

30

## 【0 0 4 6】

## 実施例3：S B 3 9 9 8 8 5 の慢性投与の、海馬内のニューロン細胞成長に対する影響

40日齢の雄の動物（上記したセクション（a）に詳細を記載した一般的な方法に従つて保持した）に、3、10または20m g / k g のS B 3 9 9 8 8 5 をチューブで40日間投与した。薬剤投与は動物を死亡させる24時間前に終えた。動物の体重を得、一般的な物理的状態を毎日測定した。メチルセルロース（1% w / v）処理対照を比較に用いた。さらにS B 2 7 1 0 4 6 ( 2 0 m g / k g ) 処理群を、前記した実験の結果と比較できるように利用した。ついで、N C A M P S A 発現を上記したセクション（b）(i) ~ (i i i) に記載の一般的な方法に従つて定量した。

40

## 【0 0 4 7】

得られたデータを、上記したセクション（b）(v) に記載のように分析し、S B 3 9 9 8 8 5 では、表5に示すように、投与量に依存して、ラット海馬歯状回におけるポリシアル酸化ニューロンの頻度の有意な増加が見られた。この効果はビヒクリ処理対照においては観察されなかった。これらのポリシアル酸化ニューロンは、顆粒細胞層 / 門境界に位置する蛍光細胞により示され、樹状突起は海馬歯状回の分子層にまで及んだ。

## 【0 0 4 8】

## 【表7】

表5

処理	P S A 免疫陽性細胞頻度
対照	5 8 . 7 ± 3 . 9
S B 3 9 9 8 8 5 (3 m g / k g)	8 1 . 4 ± 5 . 3 *
S B 3 9 9 8 8 5 (1 0 m g / k g)	8 7 . 4 ± 5 . 4 *
S B 3 9 9 8 8 5 (2 0 m g / k g)	1 0 4 . 2 ± 4 . 4 *
S B 2 7 1 0 4 6 繰り返し (2 0 m g / k g)	7 8 . 3 ± 3 . 4 *

\* 対照に対して  $P < 0 . 0 5$  、スチューデントt一検定；すべての場合において $n = 6$ 

10

対照に対する S B 3 9 9 8 8 5 、一元ANOVA、 $F (3, 23) = 1 5 . 3$  ;  
 $P < 0 . 0 0 0 1$ 

10

## 【0049】

さらに、差異分析は、慢性 S B 3 9 9 8 8 5 処理による海馬ポリシアル酸化ニューロンの基底頻度の投与量依存増加が、実施例1の慢性 S B 2 7 1 0 4 6 で観察されたものよりも有意に大きいことを示している ( $F [1, 21] = 5 . 8 8 2$ ;  $P = 0 . 0 2 4 4$ )。さらに、この実験において、実施例1に観察されたものと比較して、S B 2 7 1 0 4 6 - 処理動物のラット海馬歯状回の副脳室領域における、ポリシアル酸化ニューロンの頻度の差異はない。

20

## 【0050】

実施例4：S B 3 9 9 8 8 5 の慢性投与の、水迷路学習後の、海馬ポリシアル酸化ニューロン細胞頻度に対する影響

40日齢の雄の動物（上記したセクション(a)に詳細を記載した一般的な方法に従つて保持した）に、チューブで40日間、20m g / k g の S B 3 9 9 8 8 5 を投与し、80日齢の上記セクション(b)(i v)に記載の方法に従つて水迷路学習を行った（慢性投与）。メチルセルロース(1% w / v)処理対照を比較に用いた。ついで、NCAM P S A 発現を、上記セクション(b)(i)-(iii)に記載の一般的な方法により定量した。

30

## 【0051】

得られた結果を、上記セクション(b)(v)に記載のように分析し、S B 3 9 9 8 8 5 の慢性投与では、水迷路学習後12時間で、薬剤を投与した未学習の動物と比較して、また、学習したが薬剤陰性である動物に関して、ラット海馬歯状回の副脳室領域のポリシアル酸化ニューロンの頻度の有意な増加が見られた（表6）。

## 【0052】

## 【表8】

表6

処理	P S A 免疫陽性細胞頻度
1. 未学習の対照	5 8 . 7 ± 3 . 9
2. 学習後12時間経過した対照	9 1 . 3 ± 6 . 5
3. S B 3 9 9 8 8 5 (2 0 m g / k g)	1 0 4 . 2 ± 4 . 4
—で処理して未学習の対照	
4. S B 3 9 9 8 8 5 (2 0 m g / k g)	1 2 5 . 9 ± 4 . 7
—で処理して学習後12時間経過した対照	

40

## 【0053】

## 【表9】

## 統計評価

データポイント比較	p 値
1 対 2	0. 0 0 2 7
3 対 4	0. 0 1 8 9
2 対 4	0. 0 1 2 7

非対応非パラメータースチュードント t - 検定、すべての場合において n = 3

## 【0054】

さらに、慢性的に S B 3 9 9 8 8 5 ( 2 0 m g / k g ) を投与したこれらの動物において、水迷路学習の 1 2 時間後、海馬ポリシアル酸化ニューロンの観察された頻度の有意な増加は、実施例 2 における S B 2 7 1 0 4 6 处理後に観察されたものよりも有意に大きかった ( スチュードント t - 検定 ; P = 0 . 0 3 3 7 ) 。

## 【0055】

実施例 5 : S B 2 7 1 0 4 6 または S B 3 9 9 8 8 5 の慢性投与の海馬ニューロン新生に対する影響

4 0 日齢の雄の動物 ( 上記したセクション ( a ) に詳細を記載した一般的な方法に従って保持した ) に、 4 0 日間チューブで 2 0 m g / k g の S B 2 7 1 0 4 6 または S B 3 9 9 8 8 5 を投与した ( 慢性投与 ) 。最後の 8 日間は、各々の処理群からの研究動物に、脳ニューロン新生を研究するのに広く使われている D N A 合成のマーカーであるプロモデオキシウリジン ( B r d U 、 1 0 0 m g / k g 、 非経口 ) ( Gage (2002) J. Neurosci. 22, 612-613 ) を投与した。薬剤投与を動物を死亡させる 2 4 時間前に終えた。動物の体重を得、一般的な物理的状態を毎日観察した。メチルセルロース ( 1 % w / v ) 処理対照を、比較に用いた。ついで、 B r d U 発現を、上記セクション ( c ) に記載の方法に従って定量した。

## 【0056】

S B 2 7 1 0 4 6 または S B 3 9 9 8 8 5 慢性投与のいずれかにより、表 7 に示すように、ビヒクリ処理対照と比較して、海馬歯状回顆粒細胞層における B r d U - 免疫陽性細胞の発現が有意に変化し、両方の化合物が、神経速度を変えることなく、 N C A M P S A 発現を活性化させる能力が示された。

## 【0057】

## 【表10】

## 表7

処理	B r d U - 免疫陽性細胞数／ 顆粒細胞層
対照	2 4 3 2 ± 4 3 5 . 8
S B 2 7 1 0 4 6 ( 2 0 m g / k g )	2 3 3 2 ± 1 3 6 . 5
対照	2 4 5 6 . 7 ± 2 5 0 . 9
S B 3 9 9 8 8 5 ( 2 0 m g / k g )	2 9 6 . 7 ± 4 9 . 1

## 【0058】

本明細書に記載された特許および特許出願は、本明細書に出典明示により組み入れる。

## 【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		PCT/GB 03/00462
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 A61K31/496 A61K31/4985		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 A61K		
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, CHEM ABS Data, EMBASE, BIOSIS, MEDLINE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	US 6 423 717 B1 (WYMAN PAUL ADRIAN ET AL) 23 July 2002 (2002-07-23) cited in the application column 7, line 8-14; claims 1,8,11; examples 72,83 ----	1-17
X	MIGUEL-HIDALGO, J.-J.: "SB-271046 SmithKline Beecham" CURRENT OPINION IN INVESTIGATIONAL DRUGS, vol. 2, no. 1, 2001, pages 118-122, XP008016781 page 118, left-hand column, paragraphs 1-4 ----	1-17
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in 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.		
*Z* document member of the same patent family.		
Date of the actual completion of the International search	Date of mailing of the international search report	
20 May 2003	28/05/2003	
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  Beyss, E	

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

PCT/GB 03/00462

**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 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 1-6 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 II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)**

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

see additional sheet

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 Application No. PCT/GB 03 00462

**FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/SA/ 210**

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. Claims: 1, 2, 7, 8, 13 all in part, 3, 4, 9, 10, 14, 15

Pharmaceutical composition containing  
5-chloro-3-methylbenzo'b'thiophene-2-sulfonic acid  
(4-methoxy-3-piperazin-1-ylphenyl)amide and its use

2. Claims: 1, 2, 7, 8, 13 all in part, 5, 6, 11, 12, 16, 17

Pharmaceutical composition containing  
N-3,5-dichloro-2-methoxy-phenyl)-4-methoxy-3-piperazin-1-yl-b  
enzenesulfonamide and its use

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/GB 03/00462

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
US 6423717	B1 23-07-2002	AU	729056 B2	25-01-2001
		AU	6090498 A	15-07-1998
		BG	103530 A	31-01-2000
		BR	9713734 A	28-03-2000
		CN	1246116 A	01-03-2000
		CZ	9902203 A3	17-11-1999
		EA	2351 B1	25-04-2002
		WO	9827081 A1	25-06-1998
		EP	0946539 A1	06-10-1999
		HU	0000658 A2	28-02-2001
		JP	2001506646 T	22-05-2001
		NO	993003 A	18-06-1999
		NZ	335970 A	26-10-2001
		PL	334337 A1	28-02-2000
		SK	80899 A3	14-02-2000
		TR	9901361 T2	23-08-1999
		TW	418205 B	11-01-2001
		ZA	9711319 A	17-06-1999

## フロントページの続き

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	F I	テーマコード(参考)
C 07D 295/08	C 07D 295/08	A
C 07D 333/62	C 07D 333/62	

(81) 指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,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,IT,LU,MC,NL,PT,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,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NO,NZ,OM,PH,PL,PT,RO,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(74) 代理人 100106518

弁理士 松谷 道子

(74) 代理人 100116311

弁理士 元山 忠行

(74) 代理人 100122301

弁理士 富田 憲史

(74) 代理人 100127638

弁理士 志賀 美苗

(72) 発明者 アンドリュー・フォーリー

アイルランド、ダブリン4、ベルフィールド、ユニバーシティ・カレッジ・ダブリン、コンウェイ  
・インスティテュート、デパートメント・オブ・ファーマコロジー

(72) 発明者 ヘレン・ギャラガー

アイルランド、ダブリン4、ベルフィールド、ユニバーシティ・カレッジ・ダブリン、コンウェイ  
・インスティテュート、デパートメント・オブ・ファーマコロジー

(72) 発明者 ジェイムズ・ハーガン

イギリス、シーエム19・5エイダブリュー、エセックス、ハーロウ、サード・アベニュー、ニュ  
ー・フロンティアーズ・サイエンス・パーク・サウス、グラクソsmithkline

(72) 発明者 キアラン・リーガン

アイルランド、ダブリン4、ベルフィールド、ユニバーシティ・カレッジ・ダブリン、コンウェイ  
・インスティテュート、デパートメント・オブ・ファーマコロジー

(72) 発明者 ニール・アップトン

イギリス、シーエム19・5エイダブリュー、エセックス、ハーロウ、サード・アベニュー、ニュ  
ー・フロンティアーズ・サイエンス・パーク・サウス、グラクソsmithkline

F ターム(参考) 4C084 AA17 NA14 ZA02 ZC42

4C086 AA01 AA02 BC50 MA01 MA04 NA14 ZA02 ZC42