(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7534779号
(P7534779)

(45)発行日　令和6年8月15日(2024.8.15)

(24)登録日　令和6年8月6日(2024.8.6)

(51)国際特許分類

Ａ６１Ｋ　31/424 (2006.01)	Ａ６１Ｋ	31/424	
Ａ６１Ｋ　31/19　(2006.01)	Ａ６１Ｋ	31/19	
Ａ６１Ｐ　43/00　(2006.01)	Ａ６１Ｐ	43/00	１２１
Ａ６１Ｐ　25/14　(2006.01)	Ａ６１Ｐ	25/14	
Ａ６１Ｐ　25/28　(2006.01)	Ａ６１Ｐ	25/28	

ＦＩ

請求項の数　10　（全15頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2020-195293(P2020-195293)
(22)出願日　令和2年11月25日(2020.11.25)
(65)公開番号　特開2021-84909(P2021-84909A)
(43)公開日　令和3年6月3日(2021.6.3)
審査請求日　令和5年9月15日(2023.9.15)
(31)優先権主張番号　108142968
(32)優先日　令和1年11月26日(2019.11.26)
(33)優先権主張国・地域又は機関
台湾(TW)

(73)特許権者　520462919
亞瑟瑞智科技管理顧問股▲ふん▼有限公司
台湾台中市南屯區大業里大▲とん▼１４街１１５號３樓
(74)代理人　110000578
名古屋国際弁理士法人
(72)発明者　何應瑞
台湾台中市南區工學路１４６巷５５號１６樓之３
(72)発明者　陳建宏
台湾台中市南區工學路１４６巷５５號１６樓之３
審査官　三上 晶子

最終頁に続く

(54)【発明の名称】　クラブラン酸及びバルプロ酸を含有する組成物並びにその組成物の使用

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

クラブラン酸及びバルプロ酸を含有することを特徴とする、癲癇を治療するのに用いられる組成物。

【請求項２】

クラブラン酸及びバルプロ酸を含有することを特徴とする、癲癇に関する運動障害及び認識機能障害を治療するのに用いられる組成物。

【請求項３】

クラブラン酸及びバルプロ酸を需要個体に共同投与し、てんかん発作を治療するための薬物を製造するためのクラブラン酸及びバルプロ酸を含有する組成物の使用。

【請求項４】

クラブラン酸及びバルプロ酸を需要個体に共同投与し、癲癇に関する運動障害及び認識機能障害を治療するための薬物を製造するためのクラブラン酸及びバルプロ酸を含有する組成物の使用。

【請求項５】

クラブラン酸の投与量は１日当たり０．０１６～１０ｍｇ／ｋｇ体重であることを特徴とする請求項３又は４に記載のクラブラン酸及びバルプロ酸を含有する組成物の使用。

【請求項６】

クラブラン酸の投与量は１日当たり０．０１６～４．９９ｍｇ／ｋｇ体重であることを特徴とする請求項５に記載のクラブラン酸及びバルプロ酸を含有する組成物の使用。

【請求項７】
バルプロ酸の投与量は１日当たり０．８～３０ｍｇ／ｋｇ体重であることを特徴とする請求項３又は４に記載のクラブラン酸及びバルプロ酸を含有する組成物の使用。
【請求項８】
バルプロ酸の投与量は１日当たり０．８～１９．９ｍｇ／ｋｇ体重であることを特徴とする請求項７に記載のクラブラン酸及びバルプロ酸を含有する組成物の使用。
【請求項９】
クラブラン酸及びバルプロ酸を含有する組成物を連続的に前記需要個体に投与することを特徴とする請求項３又は４に記載のクラブラン酸及びバルプロ酸を含有する組成物の使用。
【請求項１０】
クラブラン酸及びバルプロ酸を含有する組成物を断続的に前記需要個体に投与することを特徴とする請求項３又は４に記載のクラブラン酸及びバルプロ酸を含有する組成物の使用。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、クラブラン酸及びバルプロ酸を含有する組成物、特に癲癇、並びに／或いは癲癇に関する運動障害及び認識機能障害を治療するのに用いられる組成物並びにその組成物の使用に関するものである。
【背景技術】
【０００２】
癲癇（epilepsy）はてんかん発作（seizure、又はepileptic seizureと称する）を特徴とする神経性の病状（neurological medical condition）であり、多くの誘因があるが、癲癇患者の脳における異常放電（abnormal electrical activity）により、てんかん発作の症状（symptom）を齎すことが多い。
【０００３】
バルプロ酸（valproic acid，化学構造は図１に示す）は従来の抗てんかん薬（anticonvulsant）の中の第一選択治療薬（first-line treatment）であり、てんかん発作の症状を予防するのに用いられる。しかしながら、約３０％の癲癇患者がバルプロ酸による治療を受けてもてんかん発作の症状を有効的に抑えることができず、さらに、バルプロ酸は吐き気（nausea）、嘔吐（vomiting）、眠気（sleepiness）、口内乾燥（dry mouth）などの副作用（side effect）が生じやすい問題を有することに加え、肝機能（liver function）に影響し、腎尿細管の損傷が発生する可能性もあった。よって、バルプロ酸を使用する患者は定期に肝機能及び腎機能の検査を受けなければならず、生活上の不便さを齎すことがあった。
【０００４】
癲癇はてんかん発作の症状が生じることに加え、脳神経損傷（neuron lesion）又は神経細胞の死亡（neuronal cell death）に至ることもあり、運動障害及び認識機能障害などの症状を齎すことがあった。例えば、患者の運動協調性及びバランス能力に影響し、そして、患者の認識機能及び記憶能力にも影響することで、患者の生活の質（quality of life、略称QoL）が下がる問題があった。又、バルプロ酸などの従来の抗てんかん薬は癲癇による神経損傷を改善することができず、さらに、脳及び脊髄におけるγ―アミノ酪酸（γ-aminobutyric acid、略称GABA）を増やしてしまう。γ―アミノ酪酸は抑制的神経伝達物質（inhibitory neurotransmitter）であるため、神経、行為及び認識機能を抑制し、よって、バルプロ酸などの従来の抗てんかん薬は癲癇患者の運動障害及び認識機能障害を改善することができず、かえって運動障害及び認識機能障害などの症状を悪化させる。
【先行技術文献】
【特許文献】
【０００５】

【文献】Umka Welbat et al., Nutrients. 2016 May 18;8(5) 303
【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【０００６】
又、バルプロ酸などの従来の抗癲癇薬は連続的に薬物投与を行わなければならず、患者が服薬アドヒアランス（medication adherence）を維持することができず、医者の指示に従わない場合、てんかん発作やてんかん重積（status epilepticus）などのリスクを高める可能性があった。これに鑑みて、従来の抗癲癇薬を改善する必要がある。
【課題を解決するための手段】
【０００７】
本発明は、上記の課題を解決するため、てんかん発作、並びに癲癇に関する運動障害及び認識機能障害を治療するのに用いられる組成物を提供する。
【０００８】
また、本発明は、てんかん発作、並びに癲癇に関する運動障害及び認識機能障害を治療するのに用いられるクラブラン酸及びバルプロ酸を含有する組成物の使用を提供する。
【０００９】
本発明の癲癇を治療するのに用いられる組成物は、クラブラン酸及びバルプロ酸を含有する。また、本発明の癲癇に関する運動障害及び認識機能障害を治療するのに用いられる組成物は、クラブラン酸及びバルプロ酸を含有する。
【００１０】
よって、本発明の癲癇を治療するのに用いられる組成物、並びに癲癇に関する運動障害及び認識機能障害を治療するのに用いられる組成物では、クラブラン酸とバルプロ酸との協同作用により、てんかん発作を予防し、てんかん発作の程度を減弱し、及び歯状回の神経細胞を新生させることができるため、癲癇、並びに癲癇に関する運動障害及び認識機能障害を治療することができる効果を達成する（例えば、癲癇個体の運動協調性、及びバランス能力の損傷、物体認識能力の損傷、及び記憶能力の損傷を改善することができる）。
【００１１】
本発明のクラブラン酸及びバルプロ酸を含有する組成物の使用は、抗癲癇薬の製造に用いられ、クラブラン酸及びバルプロ酸を需要個体に共同投与することにより、需要個体のてんかん発作を治療する。または、本発明のクラブラン酸及びバルプロ酸を含有する組成物の使用は、癲癇に関する運動障害及び認識機能障害の治療薬の製造に用いられ、クラブラン酸及びバルプロ酸を需要個体に共同投与することにより、需要個体の脳神経細胞を新生させ、需要個体の癲癇に関する運動障害及び認識機能障害を治療する。
【００１２】
よって、クラブラン酸と共同投与することで、バルプロ酸の投与量を減らすことができるため、肝臓や腎臓などの代謝機能を有する器官に早く且つ効率的にバルプロ酸を代謝して分解させると共に、バルプロ酸が生物の体内に過度に溜まることを避け、バルプロ酸による神経、精神上及び行為上に対する影響を減少させ、且つ、過度のバルプロ酸の投与量によって肝臓や腎臓などの代謝機能を有する器官にかかる負担を軽減することができ、副作用が生じる可能性を低減させる効果を有する。
【００１３】
本発明のクラブラン酸及びバルプロ酸を含有する組成物の使用は、クラブラン酸の投与量は１日当たり０．０１６～１０ｍｇ／ｋｇ体重であり、好ましくは、１日当たり０．０１６～４．９９ｍｇ／ｋｇ体重で需要個体に投与され、且つバルプロ酸の投与量は１日当たり０．８～３０ｍｇ／ｋｇ体重であり、好ましくは、１日当たり０．８～１９．９ｍｇ／ｋｇ体重で需要個体に投与される。よって、需要個体のてんかん発作、並びに癲癇に関する運動障害及び認識機能障害を治療する効果を達成することができる。
【００１４】
本発明のクラブラン酸及びバルプロ酸を含有する組成物の使用は、クラブラン酸及びバルプロ酸を含有する組成物を連続的に或いは断続的に前記需要個体に投与することができ

る。よって、需要個体のてんかん発作、並びに癲癇に関する運動障害及び認識機能障害を治療する効果を達成することができる。

【図面の簡単な説明】

【００１５】

【図１】バルプロ酸の化学構造図である。

【図２】本発明のクラブラン酸の化学構造図である。

【図３】試験（Ｂ）のＡ０～Ａ５組のラットのてんかん発作（seizure）の程度を表す図である。

【図４ａ】試験（Ｃ）のローラーを表す図（一）である。

【図４ｂ】試験（Ｃ）のローラーを表す図（二）である。

【図５】試験（Ｃ）のＡ０～Ａ５組のラットの運動継続時間（riding time）を表す図である。

【図６ａ】試験（Ｄ）の開放空間のケージを表す図（一）である。

【図６ｂ】試験（Ｄ）の開放空間のケージを表す図（二）である。

【図７】試験（Ｄ）のＡ０～Ａ５組のラットの探索行動時間の百分比を表す図である。

【図８ａ】試験（Ｅ）のシャトル箱を表す図（一）である。

【図８ｂ】試験（Ｅ）のシャトル箱を表す図（二）である。

【図８ｃ】試験（Ｅ）のシャトル箱を表す図（三）である。

【図８ｄ】試験（Ｅ）のシャトル箱を表す図（四）である。

【図９】試験（Ｅ）のＡ０～Ａ５組のラットが暗室への移動時間である反応潜時を表す図である。

【図１０】試験（Ｆ））のＡ０～Ａ５組のラットの歯状回におけるＢｒｄＵ陽性細胞の数を表す図である。

【発明を実施するための形態】

【００１６】

本発明の実施の形態について、以下、図面を参照して説明する。本発明において「クラブラン酸（clavulanic acid）」とは図２に示すような化学構造を有し、β－ラクラム系（β-lactam molecular）に属する。クラブラン酸は抗生物質として抗菌力が弱いが、ペニシリン系抗生物質（penicillin-group antibiotics）との合剤として使用する場合、ペニシリン不活性化をさせないように、β－ラクタマーゼ（β-lactamase）を分泌する菌の抗微生物薬耐性（antibiotic resistance）を克服することができる。

【００１７】

本発明において、クラブラン酸を需要個体に投与することで、需要個体のてんかん発作（seizure）、並びに癲癇に関する運動障害（motor symptom）及び認識機能障害（cognitive impairment）を治療することができるため、抗てんかん薬の製造、又は癲癇に関する運動障害及び認識機能障害の治療薬に用いられることができる。クラブラン酸は医薬的に許容可能なキャリアとさらに組み合わせて、医薬組成物として形成されることができ、よって、クラブラン酸は例えば錠剤、カプセル剤、粉薬、粒剤または液剤など、いかなる投与に便利な形式として製造されることができる。

【００１８】

本発明において、クラブラン酸は様々な適当の投与経路により前記需要個体に投与されることができ、例を挙げると、クラブラン酸は経口（orally）又は非経口（parenterally）により前記需要個体に投与されることができ、例えば、静脈内注射（intravenous injection、略称IV injection）、筋肉内注射（intramuscular injection、略称IM injection）、腹腔内注射（intraperitoneal injection、略称IP injection）、経皮投与、舌下投与又は吸入性投与により前記需要個体に投与されることができる。

【００１９】

また、本発明において、クラブラン酸を１日当たり０．０１６～１０ｍｇ／ｋｇ体重の投与量で前記需要個体に投与し、好ましくは、臨床上の投与量より低く、１日当たり０．０１６～４．９９ｍｇ／ｋｇ体重の投与量で前記需要個体に投与する。クラブラン酸は連

続的に（continuously）又は断続的に（intermittently）前記需要個体に投与することができる。詳しく述べると、クラブラン酸を２４時間以下の所定時間（predetermined time period）の間隔で前記需要個体に投与すると、クラブラン酸を連続的に前記需要個体に投与することになる。又、クラブラン酸を２４時間を超過する所定時間（predetermined time period）の間隔で前記需要個体に投与すると、クラブラン酸を断続的に前記需要個体に投与することになる。但し、前記の投与量及び投与頻度は前記需要個体及び投与経路に応じて異なる場合があるので、ここでは限定されない。

【００２０】

さらに、本発明のクラブラン酸と従来の抗癲癇薬（即ち、バルプロ酸）とは、それらの薬理効果（pharmacological effect）が現れる期間を重ねるように前記需要個体に共同に投与されることができ、これにより、前記需要個体のてんかん発作、並びに癲癇に関する運動障害及び認識機能障害を相乗的に（synergistically）治療する。詳しく述べると、クラブラン酸及びバルプロ酸を並行して（concurrently）前記需要個体に投与し（即ち、クラブラン酸及びバルプロ酸を同時に前記需要個体に投与する）、或いは、順番に（sequentially）クラブラン酸とバルプロ酸とを前記需要個体に投与し（即ち、クラブラン酸を優先して前記需要個体に投与して、クラブラン酸の薬物血中濃度（plasma drug concentration）が有効治療濃度（therapeutic drug concentration）を維持している状態のまま、バルプロ酸を前記需要個体に投与する。例えば、クラブラン酸を前記需要個体に投与した後に１０分から８時間までの間に、バルプロ酸を前記需要個体に投与する）、又は、順番にバルプロ酸とクラブラン酸とを前記需要個体に投与し（バルプロ酸を優先して前記需要個体に投与して、バルプロ酸の薬物血中濃度が有効治療濃度を維持している状態のまま、クラブラン酸を前記需要個体に投与する。例えば、バルプロ酸を前記需要個体に投与した後に１０分から８時間までの間に、クラブラン酸を前記需要個体に投与する）、或いは、クラブラン酸とバルプロ酸とを別々に（separately）前記需要個体に投与し（即ち、クラブラン酸を前記需要個体に投与して、クラブラン酸の薬物血中濃度が有効治療濃度より低くなった後に、バルプロ酸を前記需要個体に投与する。例えば、クラブラン酸を前記需要個体に投与してから８～１２時間後に、バルプロ酸を前記需要個体に投与する）、又は、バルプロ酸とクラブラン酸とを別々に需要個体に投与する（即ち、バルプロ酸を前記需要個体に投与して、バルプロ酸の薬物血中濃度が有効治療濃度より低くなった後に、クラブラン酸を前記需要個体に投与する。例えば、バルプロ酸を前記需要個体に投与してから８～１２時間後に、クラブラン酸を需要個体に投与する）。

【００２１】

又、前記需要個体のてんかん発作、並びに癲癇に関する運動障害及び認識機能障害を治療するために、バルプロ酸及び本発明のクラブラン酸を前記需要個体に共同に投与するとき、バルプロ酸は経口又は非経口により前記需要個体に投与されることができ、例えば、バルプロ酸は静脈内注射、筋肉内注射、腹腔内注射、経皮投与、舌下投与又は吸入性投与により、１日当たり０．８～３０ｍｇ／ｋｇ体重の投与量で前記需要個体に投与されることができ、好ましくは、臨床上の投与量より低く、１日当たり０．８～１９．９９ｍｇ／ｋｇ体重の投与量で前記需要個体に投与される。バルプロ酸を連続的に又は断続的に前記需要個体に投与することができる。但し、前記の投与量及び投与頻度は前記需要個体及び投与経路に応じて異なる場合があるので、ここでは限定されない。

【００２２】

又、本発明においてクラブラン酸はバルプロ酸と共に組成物として作製されることができ、剤形（dosage form）の調整により、クラブラン酸及びバルプロ酸は並行或いは順番或いは別々に前記需要個体に投与されることができる。例を挙げると、前記組成物は少なくとも一つの医薬的に許容可能なキャリアをさらに含み、これにより、前記需要個体にてクラブラン酸及びバルプロ酸の放出量の調整を行うことができる。例えば、リポソーム（liposome）を用いてクラブラン酸（或いはバルプロ酸）を包むことにより、クラブラン酸（或いはバルプロ酸）を徐放させることで、クラブラン酸及びバルプロ酸が順番或いは別々に投与される目的を達する。

【００２３】
本発明のクラブラン酸の投与により、前記需要個体のてんかん発作、並びに癲癇に関する運動障害及び認識機能障害を効果的に治療できることを、及び本発明のクラブラン酸とバルプロ酸との共同投与による前記需要個体のてんかん発作、並びに癲癇に関する運動障害及び認識機能障害の治療効果が相乗効果（synergistic effect）を有することを証明するため、以下に示す試験を行った。
【００２４】
（Ａ）癲癇ラットの誘導及び試験の設計
【００２５】
本試験では雄性のＷｉｓｔａｒラット（８周齢、BioLASCO Taiwan Co.,Ltdより購入）を採用し、飼育環境は室温が２１～２４℃である飼育室に飼育され（照射時間及び暗黒時間がそれぞれ１２時間である）、且つ食物及び水を自由に取れるようにした。
【００２６】
試験の始まりの三日前、ロータロッド試験（rotarod test）によりラットの運動機能を測定し、試験の１～１３日目に、２日に１回の頻度で（即ち、試験の１、３、５、７、９、１１及び１３日目に）１回当たり３５ｍｇ／ｋｇ体重の量で腹腔内注射により、ペンチレンテトラゾール（pentylenetetrazol、略称ＰＴＺ）をラットに投与し、癲癇ラットを獲得した。試験の２１日目に、再び腹腔内注射によりＰＴＺをラットに投与した後、各組の癲癇ラットの癲癇程度を測定した。
【００２７】
そして、表１に示すように、試験の７日目から、毎日、腹腔内注射によりクラブラン酸及び／又はバルプロ酸をＡ２～Ａ５組の癲癇ラットに投与し、７日間（即ち、試験の７～１３日目）連続して治療を行った。Ａ０組の正常のラット及びＡ１の癲癇ラットに生理食塩水を投与した（１日当たり１ｍｌ／ｋｇ体重、腹腔内注射）。
【００２８】
【表１】

本試験で各組のラットの条件

組	ＰＴＺの誘導	クラブラン酸（ｍｇ／ｋｇ／日）	バルプロ酸（ｍｇ／ｋｇ／日）
Ａ０	—	０	０
Ａ１	＋	０	０
Ａ２	＋	１	０
Ａ３	＋	１０	０
Ａ４	＋	０	５０
Ａ５	＋	１	５０

【００２９】
又、試験の１４日目に、ロータロッド試験によりＡ０～Ａ５組のラットの運動機能を測定し、試験の１５～１７日目に、物体認識試験（object recognition test）によりＡ０～Ａ５組のラットの物体認識能力の損傷を測定し、そして、試験の１８～２０日目に、受

動的回避試験（passive avoidance test）によりＡ０～Ａ５組のラットの記憶能力の損傷を測定した。そして、試験の２２日目に、腹腔内注射により、ブロモデオキシウリジン（5'-bromo-2'-deoxyuridine，BrdU）をＡ０～Ａ５組のラットに投与して、新生の細胞（proliferating cell）を標定し、試験の２３日目に、Ａ０～Ａ５組のラットを犠牲し、歯状回（dentate gyrus）を有する組織切片を選択しＢｒｄＵ染色を行い、歯状回におけるＢｒｄＵ陽性細胞の数を算定した。

【００３０】

（Ｂ）てんかん発作の程度

【００３１】

本試験では、試験の１、３、５、７、９、１１，１３及び２１日目に、ラシーンスコア（Racine score）によりＡ０～Ａ５組のラットのてんかん発作の程度を評価した。てんかん発作の程度について６ランクに分けた。ランク１：口及び顔面の動き（mouth and facial movement）、ランク２：点頭（head nodding）、ランク３：ミオクローヌス発作（myoclonic seizure）、ランク４：前肢クローヌス（forelimb clonus）及び立ち上がり（stand on hindlimb）、ランク５：筋硬直（muscular rigidity）及び痙攣（spasm）、ランク６：死亡。

【００３２】

図３に示されるように、Ａ０組の正常のラットはランク０を維持し（図３の“○“で示す）、Ａ０～Ａ５組のラットはクラブラン酸及び／又はバルプロ酸が投与される前の１、３、５、７日目に、てんかん発作の程度が段々上がり（図３の“●“で示す）、そして、９、１１、１３日目に、生理食塩水を投与したＡ１組の癲癇ラット及び低い投与量のクラブラン酸を投与したＡ２組の癲癇ラットのてんかん発作の程度がランク３～４を維持し（図３の“◎“、“▲“で示す）、高い投与量のクラブラン酸を投与したＡ３組の癲癇ラットのてんかん発作の程度が緩和した（図３の“▼“で示す）。これにより、高い投与量のクラブラン酸は癲癇ラットのてんかん発作を治療することができることが示された。又、無効投与量のバルプロ酸を投与したＡ４組の癲癇ラットは、投与量不足のため、効果的にてんかん発作の程度を緩和することができなかった（図３の“■“で示す）。また、低い投与量のクラブラン酸と無効投与量のバルプロ酸とを共同投与したＡ５組の癲癇ラットのてんかん発作の程度が顕著に減少され（図３の“★“で示す）、且つ、その効果が単独で低い投与量のクラブラン酸を投与したＡ２組、及び単独で無効投与量のバルプロ酸を投与したＡ４組より明らかに優れ、クラブラン酸とバルプロ酸とを共同に投与することによってさらにてんかん発作の治療に対して相乗効果を有することを示した。

【００３３】

また、注意すべき点は、７日に連続して治療を行った後（即ち、試験の７～１３日目）、試験の１４～２０日目に治療を止めても、高い投与量のクラブラン酸が投与されたＡ３組の癲癇ラット、或いは低い投与量のクラブラン酸と無効投与量のバルプロ酸とが投与されたＡ５組の癲癇ラットは、それらのてんかん発作の程度（図３の“▼“、“★“で示す）が依然として生理食塩水を投与したＡ１組の癲癇ラットのてんかん発作の程度より明らかに低かった（図３の“◎“で示す）。

【００３４】

（Ｃ）ロータロッド試験

【００３５】

続いてロータロッド試験により、Ａ０～Ａ５組のラットの運動機能を測定した。詳しく言うと、試験の始まりの三日前の訓練期（training session）において、ＰＴＺの誘導を行わなかったラット（即ち、正常のラット）を試験ラットＲとして、図４aに示すローラーＷの上に走らせた（ローラーの回転速度は０ｒｐｍから２５ｒｐｍに加速し、１回につき６分にして、その間に５分の休憩を挟んで３回の訓練を行った）。

【００３６】

試験の１４日目に、Ａ０～Ａ５組のラットをそれぞれ試験ラットＲとして回転速度が２５ｒｐｍであるローラーＷの上に走らせ、試験ラットＲがバランスを崩してローラーから

落ちるのが早ければ早いほど（図４ｂに示されるように）、試験ラットＲの運動協調性（coordination）、及びバランス能力（balance）の損傷が厳しいことを示した。

【００３７】

図５に示されるように、Ａ０組の正常のラットに対して生理食塩水が投与された癲癇ラット（Ａ１組）の運動継続時間は明らかにより短く（Ｐ＜０．０１、Ａ０組と比べた）、但し、低い投与量或いは高い投与量のクラブラン酸で癲癇ラットの運動継続時間は顕著に増加した（Ａ２組はＡ０組と比べて差異がなく、Ａ３組はＡ１組と比べて、Ｐ＜０．０５）。又、無効投与量のバルプロ酸は癲癇ラットの運動協調性、及びバランス能力の損傷を改善することができないが（Ａ４組はＡ０組と比べて、Ｐ＜０．００１）、低い投与量のクラブラン酸と無効投与量のバルプロ酸とを共同に投与することによって癲癇ラットの運動協調性、及びバランス能力の損傷を改善することができた（Ａ５組はＡ０組と比べて差異がない）。

【００３８】

（Ｄ）物体認識試験

【００３９】

試験の１５～１７日目に、物体認識試験によりＡ０～Ａ５組の物体認識能力の損傷程度を評価した。詳しく言うと、暴露期（exposure session）のとき、試験ラットＲを図６ａに示す開放空間のケージ（open box）内に５分間置き、前記開放空間のケージにおいて三つの角にそれぞれ大きさ、色、形及び材質が同様で、且つ特殊な匂いがない物体（object、以下旧物体Ｏ１、Ｏ２、Ｏ３と称する）を設置した。

【００４０】

試験の１７日目の試験期（test session）に同様に試験ラットＲを図６ａに示す開放空間のケージ内に置き、そして、Ａ０～Ａ５組の試験ラットＲが旧物体Ｏ１に対して探索する時間（T_{O1}）及び旧物体Ｏ１、Ｏ２、Ｏ３に対して探索する時間の合計（$T_{O1+O2+O3}$）をそれぞれ記録し、試験ラットＲが旧物体Ｏ１に対して探索する時間の百分比（（T_{O1}／$T_{O1+O2+O3}$）×１００％）を計算した。続いて５分後、前記旧物体Ｏ１を前記旧物体Ｏ１、Ｏ２、Ｏ３と異なる大きさ、色、形及び材質を有する新物体Ｏ４に置換し（図６ｂ示すように）、再び試験ラットＲを開放空間のケージに置き、Ａ０～Ａ５組の試験ラットＲが新物体Ｏ４に対して探索する時間（T_{O4}）及び旧物体Ｏ２、Ｏ３と新物体Ｏ４に対して探索する時間の合計（$T_{O2+O3+O4}$）を記録し、測定しようとするラットＲが旧物体Ｏ４に対して探索する時間の百分比（（T_{O4}／$T_{O2+O3+O4}$）×１００％）を計算した。

【００４１】

図７に示されるように、Ａ０組の正常のラットは新物体Ｏ４に対する探索行動の時間の百分比が旧物体Ｏ１に対する探索行動の時間の百分比より明らかに高く、正常のラットが環境において新物体Ｏ４を認識することができることが示された（Ｐ＜０．００１）。且つ、生理食塩水が投与された癲癇ラット（Ａ１組）の試験結果により、癲癇ラットの認識能力は損傷が生じたため、前記新物体Ｏ４を認識することができなかった。又、低い投与量或いは高い投与量のクラブラン酸が投与された癲癇ラットは（Ａ２組、Ａ３組）環境において新物体Ｏ４を認識することができ（Ａ２組Ｐ＜０．００１、Ａ３組Ｐ＜０．００５）、無効投与量のバルプロ酸は癲癇ラットの認識能力の損傷を改善することができなかった（Ａ４組）。注意すべき点は、低い投与量のクラブラン酸と無効投与量のバルプロ酸とを共同に投与することによって癲癇ラットの認識能力の損傷を改善することができ（Ａ５組、Ｐ＝０．００８）、且つ、その効果が単独で低い投与量のクラブラン酸を投与したＡ２組、及び単独で無効投与量のバルプロ酸を投与したＡ４組より明らかに優れ、クラブラン酸とバルプロ酸とを共同に投与することによってさらに癲癇個体の物体認識能力の損傷の治療に対して相乗効果を有することを示した。

【００４２】

（Ｅ）受動的回避試験

【００４３】

試験の１８～２０日目に、Ａ０～Ａ５組のラットの記憶能力の損傷程度を評価するため

に、図８ａ～８ｄに示すシャトル箱（shuttle box）で受動的回避試験を行った。

【００４４】

シャトル箱は摺動扉Ｄ（guillotine door）を介して明室Ｃ１（light chamber）と暗室Ｃ２（dark chamber）とを繋げ、まず、探索期（exploration session）に、図８ａに示すように、摺動扉Ｄを開けて試験ラットＲを暗室Ｃ２に置き、試験ラットＲが明室Ｃ１と暗室Ｃ２とを自由に探索することができるようにした。

【００４５】

学習期（learning session）に、摺動扉Ｄを閉めて図８ｂに示すように、試験ラットＲを明室Ｃ１に置き、そして、３０秒後摺動扉Ｄを開け、試験ラットＲが強い背光性（photophobism）を有するため、図８ｃに示すように、すぐに暗室Ｃ２へ移動し、その時、図８ｄに示すように、すぐに摺動扉Ｄを閉めて暗室Ｃ２に移動した試験ラットＲに電気刺激Ｓ（foot shock）を与えた。

【００４６】

２４時間の待つ期間（retention session）を経た後、同様に図８ｂに示すように、試験ラットＲを明室Ｃ１に置き、摺動扉Ｄを開け、その試験ラットＲが暗室Ｃ２への移動時間である反応潜時（latency）を記録し、反応潜時が短いほど試験ラットＲの記憶能力の損傷が厳しいことを示した。

【００４７】

図９に示すように、Ａ０組の正常のラットと比べて、生理食塩水が投与された癲癇ラット（Ａ１組）が明らかに短い反応潜時を有し（Ａ０組と比べて、Ｐ＜０．０１）、低い投与量のクラブラン酸が投与された癲癇ラット（Ａ２組）の反応潜時が短く（Ａ０組と比べて、Ｐ＜０．０５）、無効投与量のバルプロ酸により癲癇ラットの記憶能力の損傷を改善することができないが（Ａ４組はＡ０組と比べて、Ｐ＜０．０５）、低い投与量のクラブラン酸と無効投与量のバルプロ酸とを共同に投与することによって癲癇ラットの記憶能力の損傷を改善することができ（Ａ５組がＡ１組と比べて、Ｐ＜０．００１、Ａ５組がＡ２、Ａ４組と比べて、Ｐ＜０．０１）、クラブラン酸とバルプロ酸とを共同に投与することによってさらに癲癇個体の記憶能力の損傷の治療に対して相乗効果を有することを示した。

【００４８】

（Ｆ）組織病理学の分析

【００４９】

試験の２２日目に、腹腔内注射により、ブロモデオキシウリジン（5'-bromo-2'-deoxyuridine，BrdU）を使用して新生の細胞を標定し、そして試験の２３日目に、Ａ１～Ａ５組の試験ラット犠牲にした後、大脳の冠状切断（coronal section）を行い、歯状回（dentate gyrus）を有する組織切片を選択しＢｒｄＵ染色を行い、歯状回においてＢｒｄＵ陽性細胞の数を算定した。その結果を図１０に示す。

【００５０】

図１０に示すように、Ａ０組の正常のラットと比べて、生理食塩水が投与された癲癇ラット（Ａ１組）のＢｒｄＵ陽性細胞の数が顕著に下がり（Ａ０組と比べて、Ｐ＜０．０５）、神経細胞の新生機能の損傷を示した。そして、無効投与量のバルプロ酸（Ａ４組）によって神経細胞の新生機能の損傷を改善することができなかった（Ａ０組と比べて、Ｐ＜０．０５）。但し、低い投与量或いは高い投与量のクラブラン酸を投与された癲癇ラットであれ（Ａ２、Ａ３組）、低い投与量のクラブラン酸と無効投与量のバルプロ酸とを共同に投与された癲癇ラットであれ（Ａ５組）、いずれもＢｒｄＵ陽性細胞の数を正常に回復させることができた（Ａ０組と比べて差異がない）。

【００５１】

なお、体表面積（body surface area、略称BSA）の投与量転換（dose translation）の式（Shannon R.S. et al. (2007), FASEB J., 22: 659-661）によってさらに前記の投与量を算出し、クラブラン酸とバルプロ酸とを共同に投与する際に、クラブラン酸の投与量は１日当たり０．０１６～１０ｍｇ／ｋｇ体重であり、バルプロ酸の投与量は１日当たり０．８～３０ｍｇ／ｋｇ体重であり、好ましくは、クラブラン酸の投与量は臨床上

の投与量より低く、１日当たり０．０１６～４．９９ｍｇ／ｋｇ体重であり、且つバルプロ酸の投与量は臨床上の投与量より低く、１日当たり０．８～１９．９９ｍｇ／ｋｇ体重であることが判明する。

【００５２】

総合すると、本発明の癲癇を治療するのに用いられる組成物、並びに癲癇に関する運動障害及び認識機能障害を治療するのに用いられる組成物では、クラブラン酸とバルプロ酸との協同作用により、てんかん発作を予防し、てんかん発作の程度を減弱させ、及び歯状回の神経細胞を新生させることができるため、癲癇、並びに癲癇に関する運動障害及び認識機能障害を治療することができる効果を達成する（例えば、癲癇個体の運動協調性、及びバランス能力の損傷、物体認識能力の損傷、及び記憶能力の損傷を改善することができる）。

【００５３】

さらに、クラブラン酸と共に投与することで、バルプロ酸の投与量を減らすことができるため、肝臓や腎臓などの代謝機能を有する器官に早く且つ効率的にバルプロ酸を代謝して分解させると共に、バルプロ酸が生物の体内に過度に溜まることを避け、バルプロ酸による神経、精神上及び行為上に対する影響を減少させ、且つ、過度のバルプロ酸の投与量によって肝臓や腎臓などの代謝機能を有する器官にかかる負担を軽減することができ、副作用が生じる可能性を低減させる効果を有する。

【００５４】

なお、本発明は連続的に薬物投与を行わなければならない従来の抗癲癇薬に対して、単独でクラブラン酸を投与することであれ、或いは、クラブラン酸とバルプロ酸とを共同に投与することであれ、治療が止まっても依然として優れたてんかん発作抑制効果を維持することができると共に、同様に癲癇に関する運動障害及び認識機能障害を改善することができる効果を有する。

【００５５】

注意すべき点は、薬物での治療方法の開発に関して、最終的に臨床試験を行い、患者に対して有効性を検証しなければならず、また、患者の安全性及び権益を考慮する上、患者が使用している薬物をすぐに止めさせるわけにはいかないため、臨床試験を行う際に、被験薬と患者が使用している薬物とを併用することになる（即ち、add-on study）が、それに対して、本発明ではクラブラン酸及びバルプロ酸を含有する組成物の使用はその併用の検証結果であり、本発明の効果である。

【００５６】

本発明は、その精神及び必須の特徴事項から逸脱することなく他のやり方で実施することができる。従って、本明細書に記載した実施形態は例示的なものであり、本発明の範囲を限定するものではない。

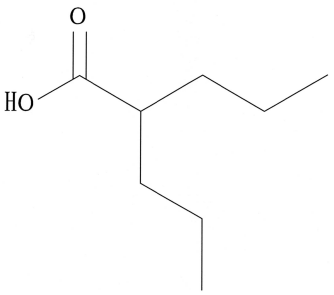
【符号の説明】

【００５７】

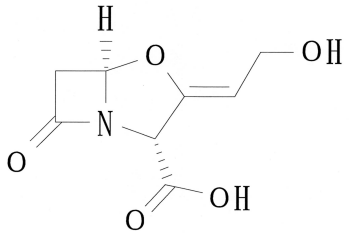
Ｃ１	明室
Ｃ２	暗室
Ｄ	摺動扉
Ｏ１、Ｏ２、Ｏ３	旧物体
Ｏ４	新物体
Ｒ	試験ラット
Ｓ	電気刺激
Ｗ	ローラー

【図面】

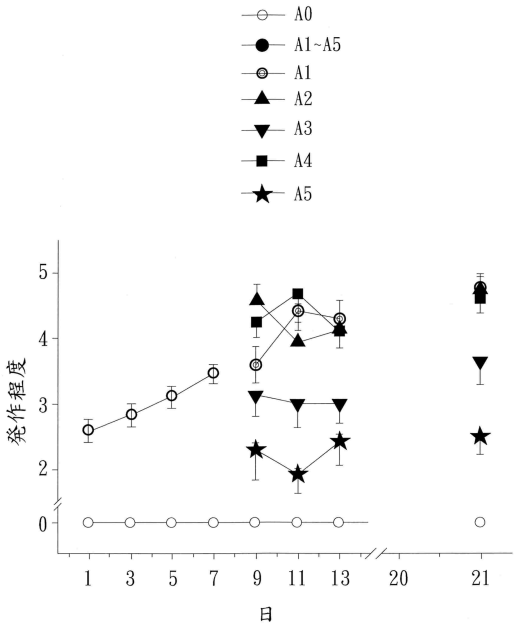
【図１】



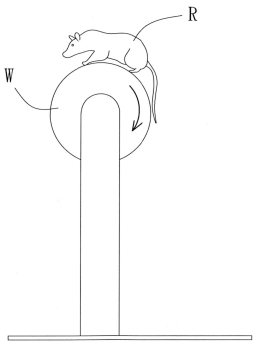
【図２】



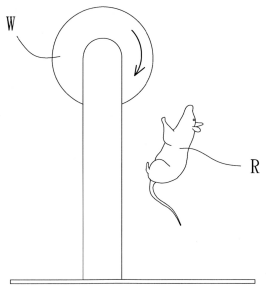
【図３】



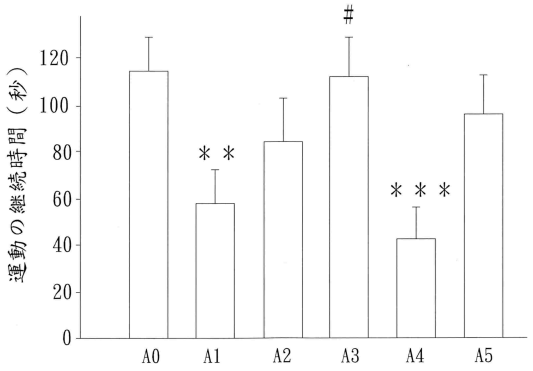
【図４ａ】



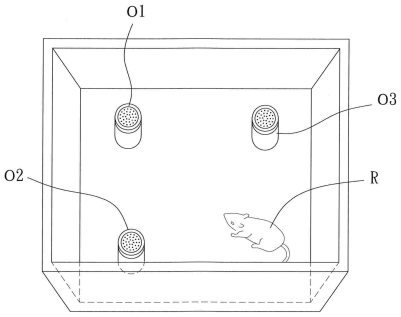
【図４ｂ】



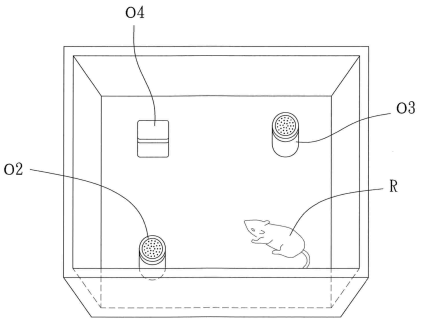
【図５】



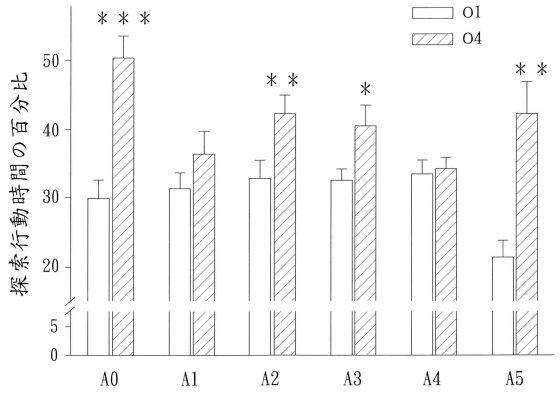
【図６ａ】



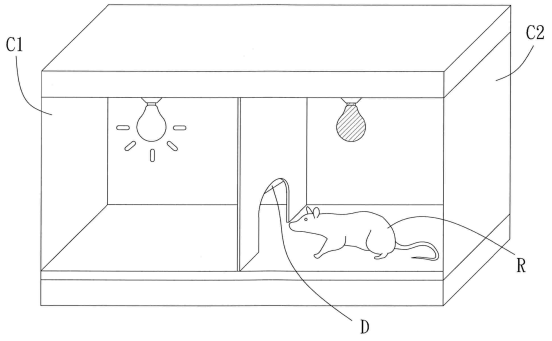
【図６ｂ】



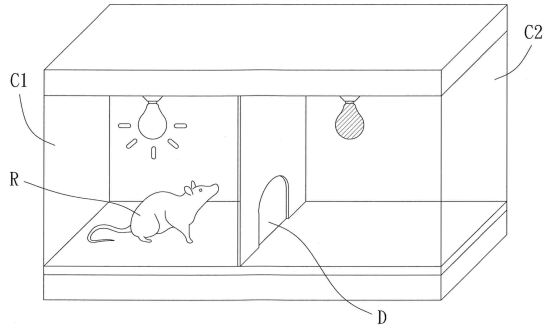
【図７】



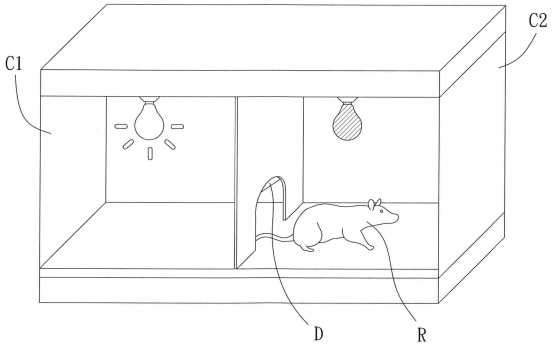
【図８ａ】



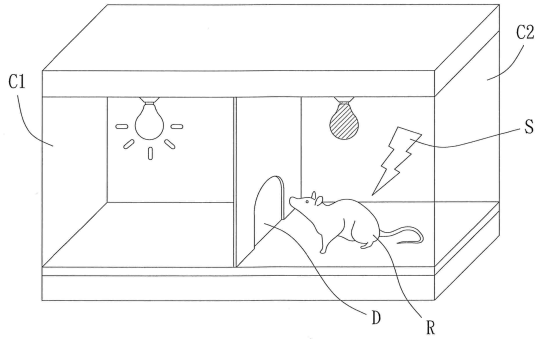
【図８ｂ】



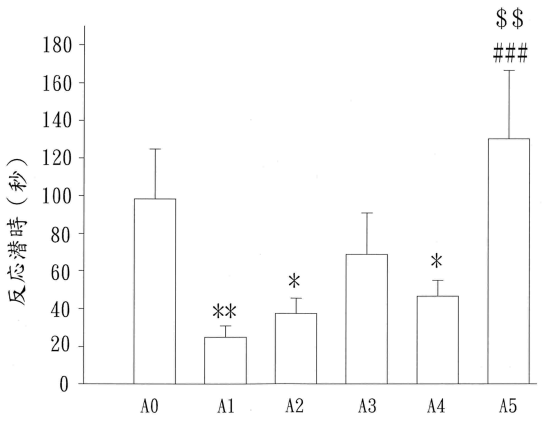
【図８ｃ】



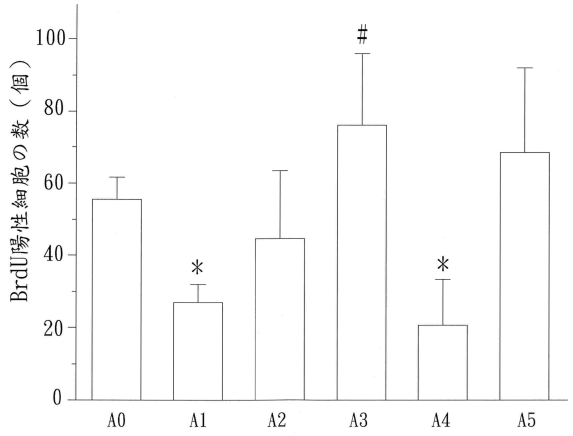
【図８ｄ】



【図９】



【図１０】



フロントページの続き

(51)国際特許分類			FI	
A61P	*25/08*	*(2006.01)*	A61P	25/08
A61P	*25/00*	*(2006.01)*	A61P	25/00

(56)参考文献 β-lactamase inhibitors display anti-seizure properties in an invertebrate assay，Neuroscience，2010年，169，1800-1804
Effects of amoxicillin/clavulanic acid on the pharmacokinetics of valproic acid，Drug Design, Development and Therapy，2015年，9，4559-4563
Computational study of the competitive binding of valproic acid glucuronide and carbapenem antibiotics to acylpeptide hydrolase，Drug Metabolism and Pharmacokinetics，2017年，32，201-207

(58)調査した分野 (Int.Cl.，DB名)
A61K 31／33－33／44
A61P 1／00－43／00
JSTPlus／JMEDPlus／JST7580（JDreamIII）
CAplus／REGISTRY／MEDLINE／EMBASE／BIOSIS（STN）