

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：95125161

※申請日期：95.7.11

※IPC 分類：A61K 31/325 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

保護神經之方法

METHODS FOR NEUROPROTECTION

二、申請人：(共1人)

姓名或名稱：(中文/英文)

比商健生藥品公司

JANSSEN PHARMACEUTICA N.V.

代表人：(中文/英文)

寇菲立/DE CORTE, FILIP

住居所或營業所地址：(中文/英文)

比利時國 B-2340 比爾斯市賓河街 30 號

Turnhoutseweg 30, B-2340 Beerse, Belgium

國籍：(中文/英文)

比利時/BELGIUM

三、發明人：(共2人)

姓名：(中文/英文)

1. 崔羅伊/TWYMAN, ROY E.

2. 趙柏羽/ZHAO, BOYU

國籍：(中文/英文)

1.2. 均為美國/U.S.A.

四、聲明事項：

☐ 主張專利法第二十二條第二項 ☐ 第一款或 ☐ 第二款規定之事實，其事實發生日期為： 年 月 日。

☒ 申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

☒ 有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

美國；西元 2005 年 07 月 12 日；60/698,403

☐ 無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

☐ 主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

☐ 主張專利法第三十條生物材料：

☐ 須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

☐ 不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

九、發明說明：

本發明之背景

【發明所屬之技術領域】

本發明之領域

- 5 本發明一般係關於藥理學，神經病理學及精神病學之領域及關於保護哺乳動物中樞神經系統之細胞免於傷害或損傷的方法。更特別的，本發明係提供使用特定之胺基甲酸酯化合物於神經保護的方法。

【先前技術】

10 相關技藝的說明

- 各種中樞神經系統(CNS)或末梢神經系統(PNS)之損傷及外傷可產生深遠且長久的神經性及/或精神病性症狀及疾病。一種可採用的型式為中樞神經系統(CNS)之神經元或其他細胞之進行性死亡，亦即，神經變性或神經元變性。神經元變性係為例如，阿茲海默氏症，多發性硬化，腦-血管意外(CVAs)中風，外傷性腦部損傷，脊椎索損傷，視神經病變，例如，缺血性視神經病變或視網膜病變及其他中樞神經系統疾病的結果，由於長-期後遺症之高發生率及高頻率而為重大的醫藥及公共健康問題。動物研究及臨床實驗
- 15 顯示胺基酸傳遞質(尤其是麩胺酸鹽)，氧化的壓力及發炎作用強烈地助長此等症狀中之細胞死亡。
- 20

 當損傷或當缺血性傷害時，損傷的神經元釋放大量對周圍的神經元激發毒性之神經傳遞質麩胺酸鹽(柯義等，(1988)，神經元 1：623-634；洛斯曼等，(1984)，神經科學

期刊 4：1884-1891；柯義與洛斯曼，(1990)神經科學回顧
 年鑑 13：171-182；大衛等，(1988)，眼睛研究實驗 46：
 657-662；迪戎等，(1985)，神經科學期刊 45：145-151。麩
 胺酸鹽係為負電性的胺基酸，其係哺乳動物神經系統中激
 5 發毒性之突觸傳遞質。雖然在神經終端中麩胺酸鹽之濃度
 可達到百萬莫耳範圍，其細胞外的濃度維持在低含量下以
 避免神經毒性。業已注意到如果麩胺酸鹽以高濃度存在時
 對神經元具毒性。”激發毒性”一詞業已用來說明當以高劑
 量施用時，麩胺酸鹽(及其他此等刺激性胺基酸)可在神經
 10 元上具細胞毒性效應。

生理性地過度釋放，抑制吸收，或二者可達到高含量之
 麩胺酸鹽。通常，低濃度細胞外的麩胺酸鹽係藉由神經元
 及星形細胞二者來維持。神經元將麩胺酸鹽儲存於細胞內
 貯倉中並調節其釋放。參見，R.F.雷根，中樞神經系統之
 15 神經生物學中之激發毒性及中樞神經系統外傷，紐約，牛
 津大學報刊，1994，173-181 頁(SK 沙滋曼，AL.發登編
 輯)。星形細胞係藉著特定的運送器提取細胞外的麩胺酸鹽
 且將麩胺酸鹽化成麩胺酸，然後釋放以供神經元提取。參
 見，M.B.羅賓森&LA.多德，先進藥理學，1997；37：69-
 20 115。於激發毒性之過程中，麩胺酸鹽係藉由神經元而以自
 行-永存的方式釋放出來，導致麩胺酸鹽受體過量或長期的
 活性。

此等過量麩胺酸鹽在能量-耗盡之神經元上刺激與神經
 支持性星形細胞的協調能力連結，以隔離細胞外導致神經

元經由壞死及細胞凋亡而死亡之麩胺酸鹽的毒性濃度。目前進行檢驗各種介入以降低伴隨有中樞神經系統損傷及疾病之神經元死亡。參見，克默等，細胞組織研究 298：383-395，1999。此等治療法包括麩胺酸鹽釋放抑制劑，麩胺酸鹽受體拮抗劑，Ca²⁺通道阻斷劑，GABA 受體激動劑，神經結糖酯，神經營養因子，卡潘蛋白酶(calpain)抑制劑，卡司帕西酶(caspase)抑制劑，自由基淨化劑，免疫-及細胞代謝調節劑。

例如，許多研究業已顯示麩胺酸鹽涉及病理生理學中：

10 1) 亨丁頓氏舞蹈病(HD)(柯義爾及史瓦滋，(1976)，自然 263：244-246；2) 阿茲海默氏症(AD)(馬直古斯等，(1987)，TINS 10：65-68；3)癲癇症(納德勒等，(1978)，自然 271：676-677)；4) 山黧豆素中毒(史賓塞等，(1986)，蘭塞特 239：1066-1067；5) 肌萎縮性側索硬化(ALS)及關

15 島帕金森氏癡呆(凱恩等，(1986)，蘭塞特 2：1067-1070)以及於伴隨著中風，局部缺血及再灌注之神經病理學(參見，戴肯等，(1987)，神經化學期刊 49：1222-1228)。

因此，神經元之損傷可能係由刺激性胺基酸包括麩胺酸鹽及門冬胺酸鹽過度刺激受體所引起(參見，里普頓等

20 (1994) 新英格蘭醫學期刊 330：613-621)。確實，麩胺酸鹽受體之 N-甲基-D-門冬胺酸鹽(NMDA)亞型被聯想到在正常腦功能中具有許多重要的任務，包括突觸的傳輸，學習及記憶，及神經元發展(參見，里普頓等(1994)如前；美爾壯等(1990)醫藥科學趨勢 11：379-387)。然而，過度刺激麩胺

酸鹽受體之 NMDA 亞型導致自由基生成及神經元細胞死亡增加，其可藉由抗氧化劑來調節(參見，賀鈴等(2001)神經化學期刊 78：1307-1314；羅薩妥等(2002)神經科學文獻 318：137-140)。

- 5 此外，於許多慢性神經變性症狀中，發炎及氧化的壓力為病理學的主要要素。此等症狀包括阿茲海默氏症(AD)。阿茲海默氏症(AD)之特徵在於神經微纖維糾結與老人斑之蓄積，及腦中神經元之廣泛性，進行性變性。老人斑富含位在染色體 21 上之 APP 基因所編碼的澱粉樣蛋白前質蛋白質(APP)。在 AD 之發病原理下一般可接受的假說係 APP
- 10 之不正常解脞性裂解導致 β -澱粉樣蛋白(A β)胜肽之過量細胞外的蓄積，其業已顯示對神經元具毒性(參見，薛柯也等，(1996)，生物化學期刊 271：487-498；奎恩等，(2001)，神經學實驗 168：203-212；馬特森等，(1997)，阿
- 15 茲海默氏症回顧 12：1-14；博山等，(1994)，腦部研究 667：269-272)。

- 帕金森氏症(PD)係為具有運動機能障礙特徵之進行性神經變性疾病，其包括運動不能，僵硬，震顫及姿勢異常。該疾病狀業已伴隨著黑-紋狀體的源自多巴胺之神經元的
- 20 完整性及官能性之損失，係藉由物質黑質部分緻密層(SNpc)中源自多巴胺神經元之實質損失而證實(參見，巴肯柏等(1991)神經學神經手術精神病學 54：30-33)，及多巴胺於紋狀體中含量減少，突觸及疱疹性運送器(參見，例如，古德曼等(1997)神經學 48：1578-1583)。

外傷，許多種類損傷，局部缺血，代謝混亂，例如，糖尿病，組織缺血，毒素或手術參與引起急性及慢性二者及進行性功能損失及能力喪失的結果使得哺乳動物包括人類之中樞(CNS)或末梢(PNS)神經系統中神經元及支持細胞之死亡。因此，需要發展能夠保護哺乳動物神經系統免於該變性，亦即具神經保護之方法及化合物。

【發明內容】

本發明之摘要

本發明通常係關於神經保護的方法且更特別係關於預防由外傷，手術或急性或慢性疾病過程所造成哺乳動物中樞及末梢神經系統細胞損傷的方法及化合物。

本發明部份係根據一或多員胺基甲酸酯化合物單獨或與一種或多種其他神經保護醫藥品合併，投藥至哺乳動物神經系統上而提供神經保護效應之發現。

本發明所提供之神經保護係包括保護由神經損傷或傷害及由包括激發毒性之神經毒性所產生的傷害。因此，本發明所提供之神經保護係有用於治療涉及激發毒性，例如，麩胺酸鹽激發毒性，包括中風/局部缺血滿手術外傷，外傷性腦部損傷(TBI)，鈍性，閉鎖性或穿透性頭部外傷，癲癇，亨丁頓氏舞蹈病，肌萎縮性側索硬化(ALS)，糖尿病性神經病理學及低血糖性腦病之急性及慢性神經變性疾病。

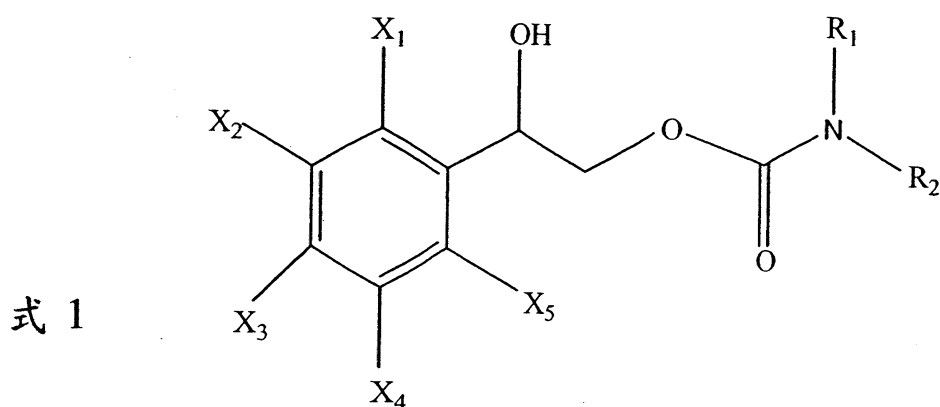
本發明所提供之神經保護可為損傷性或疾病性組織所造成者或預計導致神經損傷事件中或前之預防性方式者。

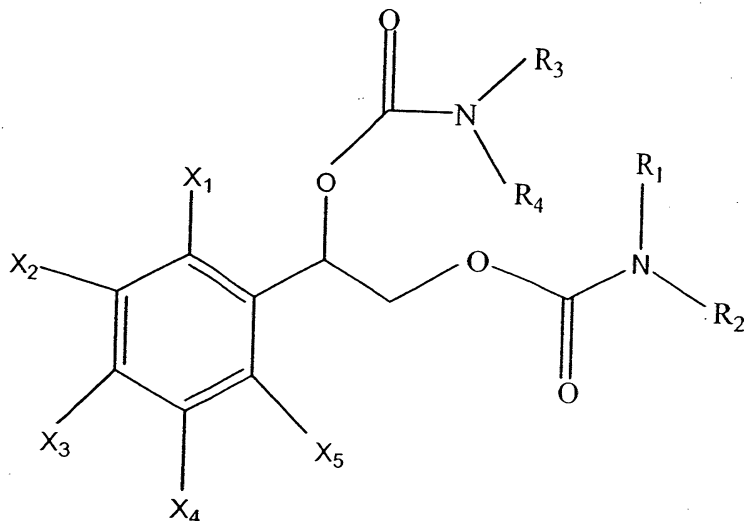
本發明係提供神經保護的方法，其係於需要其之個體中

藉著將有效量之本發明化合物，或其製藥上可接受的鹽或酯，單獨或與另一醫藥品以及製藥上可接受的賦形劑一起給藥至個體，用於抑制細胞變性或細胞死亡；用於治療或預防神經變性疾病；或用於改善化合物之細胞毒性效應(例如，刺激性胺基酸例如麩胺酸鹽；毒性；或細胞毒性副作用之預防性或治療性化合物)。於各種具體例中，本發明的方法包括保護以對抗激發毒性，例如，麩胺酸鹽激發毒性。

於各種具體例中，個體，例如，人類可為罹患神經傷害或損傷者；或可為罹患選自濫用藥物，外傷，中風，局部缺血，亨丁頓氏舞蹈病，阿茲海默氏症，帕金森氏症，傳染性蛋白質疾病，變化性克-埃二氏病，肌萎縮性或低血糖性腦病之症狀者；或可為進行手術或其他參與者。具有預先存在症狀的患者可藉由神經保護而獲益或者患者可經治療以降低同時或隨即，例如於手術或其他參與時發生之神經損傷的毒害產生效應。

因此，本發明係提供用於提供神經保護的方法，其包括將治療有效量之包括至少一種具式 1 或式 2 之化合物的組合物給藥至需要其之個體中：





5

式 2

其中， R_1 ， R_2 ， R_3 ，及 R_4 獨立為氫或 C_1 - C_4 烷基；且 X_1 ， X_2 ， X_3 ， X_4 及 X_5 獨立為氫，氟，氯，溴或碘。式 1 或式 2 之該 C_1 - C_4 烷基基團可經取代或未經取代。本發明之一觀點中， C_1 - C_4 烷基基團可被苯基所取代。苯基可為未經取代或經取代。於某些具體例中，苯基係未經取代或經鹵素， C_1 - C_4 烷基， C_1 - C_4 烷氧基，胺基，硝基，或氰基所取代。

於本發明中， X_1 ， X_2 ， X_3 ， X_4 ，及 X_5 可為氫，氟，氯，溴或碘。於特定具體例中， X_1 ， X_2 ， X_3 ， X_4 ，及 X_5 獨立為氫或氯。於本發明較佳具體例中， X_1 為氟，氯，溴或碘。於一方面中， X_1 為氯且 X_2 ， X_3 ， X_4 ，及 X_5 獨立為氫。於另一較佳具體例中， R_1 ， R_2 ， R_3 ，及 R_4 獨立為氫。

本發明係提供式 1 或式 2 之對映體於個體中以提供神經保護。於特定具體例中，式 1 或式 2 之化合物係以其單一對映體之型式。於其他具體例中，式 1 或式 2 之化合物係以對映體混合物的型式，其中之一對映體係較另一對映體

顯著。於一方面中，該對映體係顯著至 90%或更大的程度或至 98%或更大的程度。

本發明亦提供方法，其包括給藥至個體以神經保護量的組成物，其係包括至少一種具式 1 或式 2 之化合物，其中， R_1 ， R_2 ， R_3 ，及 R_4 獨立為氫或 C_1 - C_4 烷基；且 X_1 ， X_2 ， X_3 ， X_4 ，及 X_5 獨立為氫，氟，氯，溴或碘。於一具體例中，組成物投藥至個體之前，予以確定個體是否罹患某種型式之急性或慢性神經變性或神經系統損傷。

本發明亦提供方法，其包括確認患者係處於發展急性或慢性神經變性或神經系統損傷或需要用如下列所定義之神經保護藥物(NPD)治療之風險中，且將包含至少一種具有式 1 或式 2 化合物的組成物給藥至個體。

於本發明之特定具體例中，用於提供神經保護治療有效量之具式 1 或式 2 的化合物為由於 0.01 毫克/公斤/劑量至於 150 毫克/公斤/劑量。

於特定具體例中，係將可提供神經保護治療有效量之包括一種或多種本發明的對映體或其製藥上可接受的鹽或酯及製藥上可接受的載體或賦形劑之製藥組成物給藥至需要用神經保護藥物或 NPD 處理的個體或病患。

包括至少一種具式 1 或式 2 化合物之製藥組成物係給藥至需要其之個體中。於特定具體例中，需要用神經保護藥物或 NPD 處理之個體或病患可為經歷某種型式之中樞及末梢神經系統細胞急性外傷或損傷者或其具有某種型式之急性或慢性神經變性疾病者。於一方面中，個體或病患係在

給藥時被決定係在發展急性或慢性神經變性疾病風險上，亦即，需要用神經保護藥物處理之病患。於其他具體例中，需要其之個體係為給藥時其等之神經系統的細胞具有急性損傷或外傷者。

5

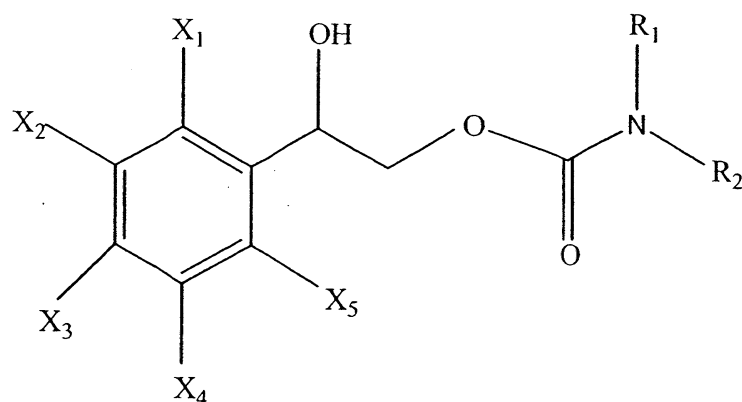
本發明之詳細說明

本發明之胺基甲酸酯化合物

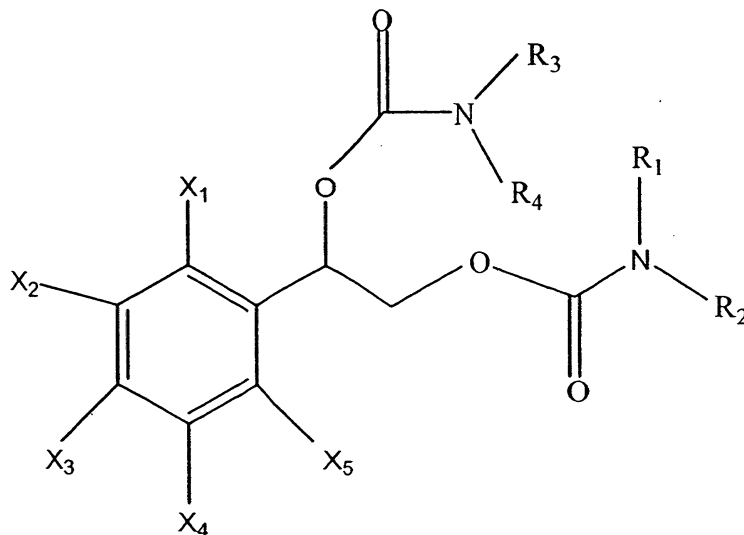
本發明係提供使用 2-苯基-1,2-乙二醇一胺基甲酸酯及二胺基甲酸酯至需要其之病患中以提供神經保護的方法。

使用於本發明方法中之合成及純化包括胺基甲酸酯對映體之胺基甲酸酯化合物的適當方法係此方面技藝中之人士所熟知者。例如，2-苯基-1,2-乙二醇一胺基甲酸酯及二胺基甲酸酯之純對映型式及對映體混合物係說明於美國專利案第 5,854,283，5,698,588 及 6,103,759 號中，其所揭示內容完全合併於本文中作為參考。

15 根據本發明之代表性胺基甲酸酯化合物係包括彼等具有式 1 或式 2 者：



式 1



5

式 2

其中， R_1 ， R_2 ， R_3 及 R_4 獨立為氫或 C_1 - C_4 烷基且 X_1 ， X_2 ， X_3 ， X_4 ，及 X_5 獨立為氫，氟，氯，溴或碘。

本文中所用之“ C_1 - C_4 烷基”一詞係指含有由 1 至 4 個
10 碳原子之經取代或未經取代的脂族烴類。特別包含於“烷基”之定義內者為彼等任意地經取代之脂族烴類。於本發明較佳具體例中， C_1 - C_4 烷基為未經取代或經苯基所取代。

本文中所用之“苯基”一詞，不管是單獨使用或作為另
15 一基團之一部份係定義為含有 6 個碳原子之經取代或未經取代之芳族烴環基團。特別包含於“苯基”之定義內者為彼等任意地經取代之苯基基團。例如，於本發明較佳具體例中，“苯基”基團係未經取代或被鹵素， C_1 - C_4 烷基， C_1 - C_4 烷氧基，胺基，硝基，或氰基所取代。

20 於本發明較佳具體例中， X_1 為氟，氯，溴或碘且 X_2 ， X_3 ， X_4 ，及 X_5 為氫。

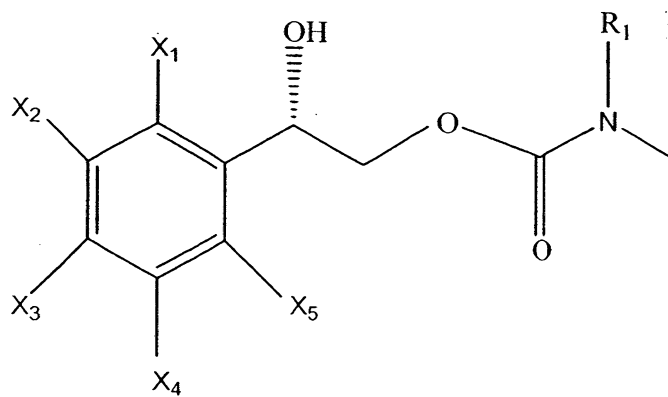
於本發明另一較佳具體例中， X_1 ， X_2 ， X_3 ， X_4 ，及 X_5 獨立為氯或氫。

於本發明另一較佳具體例中， R_1 ， R_2 ， R_3 ，及 R_4 皆為

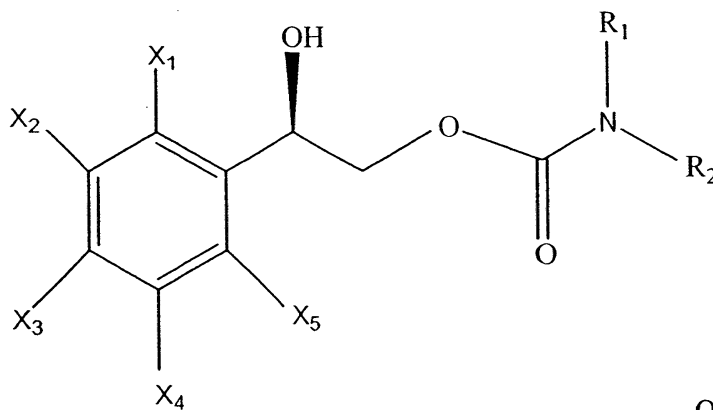
氮。

應瞭解的是在本發明化合物上之取代基及取代型式可由精於此方面技藝之人士選擇以提供化學性穩定且其可藉著已知於此方面技藝中之技術以及本文中所提供的方法而容易地合成的化合物。

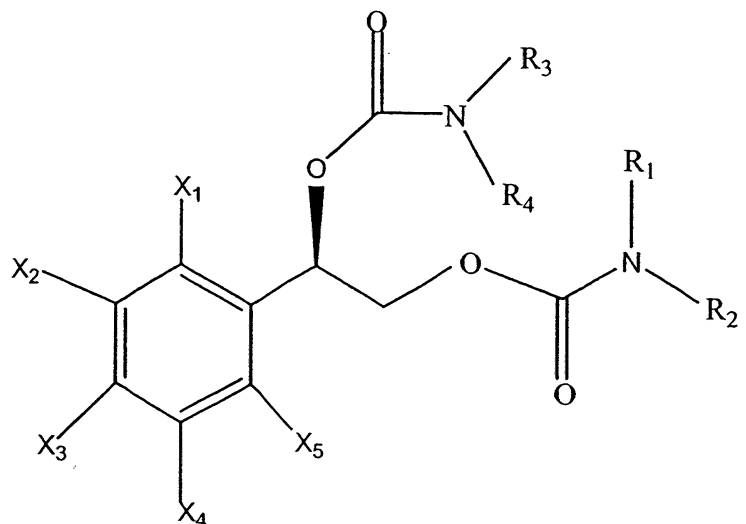
代表性 2-苯基-1,2-乙二醇一胺基甲酸酯及二胺基甲酸酯包括，例如，下列之化合物：



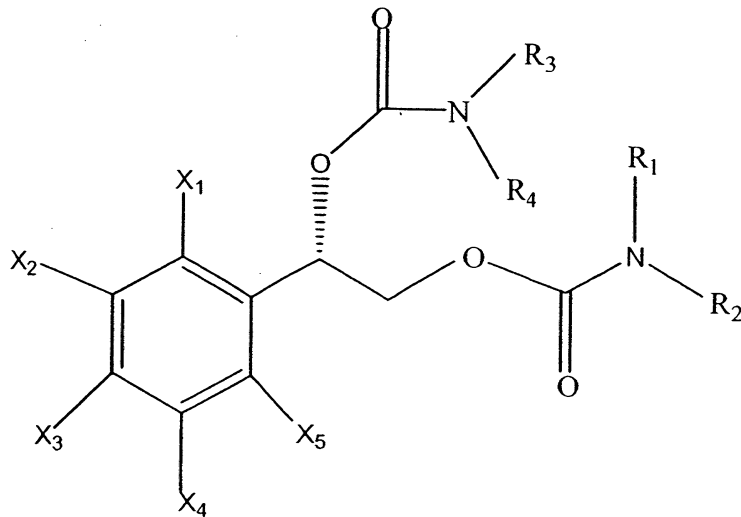
式 3



式 4

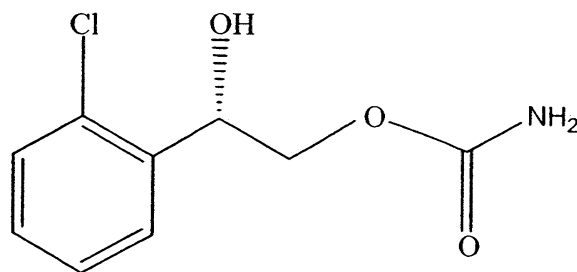


式 5



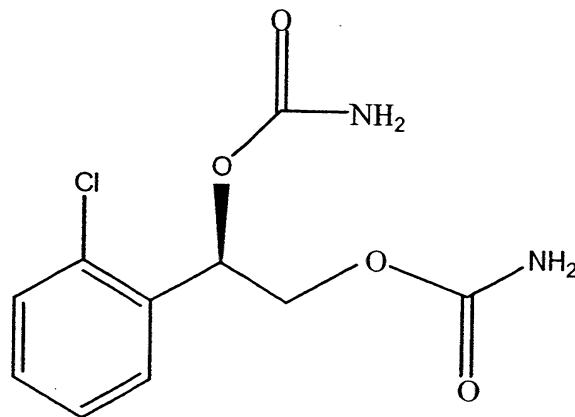
5

式 6



10

式 7

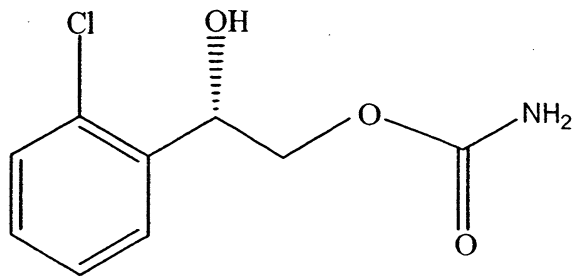


15

式 8

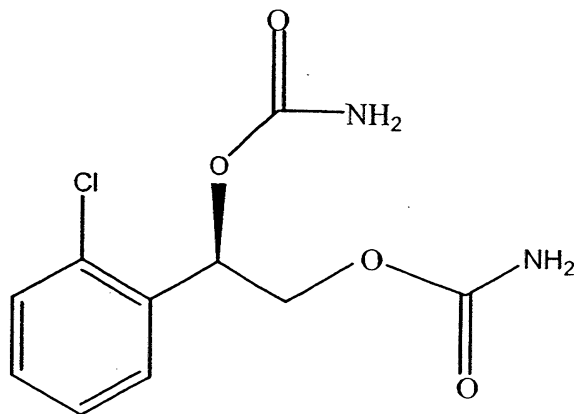
本發明係包括單離之式 1 或式 2 對映體的用途。於一較佳具體例中，包含單離之式 1 之 S-對映體的製藥組成物係用於患者中以提供神經保護。於另一較佳具體例中，包含單離之式 2 之 R-對映體的製藥組成物係用於患者中以提供神經保護。於另一具體例中，包含單離之式 1 之 S-對映體及單離之式 2 之 R-對映體的製藥組成物可用於患者中以提

式 5



5

式 7



10

式 8

本發明係提供使用式 1 及式 2 所代表之化合物的對映體及對映體混合物的方法。式 1 或式 2 之胺基甲酸酯對映體在苺基位置上含有不對稱掌性碳，其係鄰接於苯基環之脂族碳。

15

經單離的對映體為實質上不含相關對映體者。因此，經單離的對映體係指經由分離技術分離或經製備不含相關對映體之化合物。本文中所用之“實質上不含”一詞係指化合物係由一種明顯較大比例之對映體所組成。於較佳具體例中，化合物包括至少約 90 重量%較佳的對映體。於本發明之其他具體例中，化合物包括至少約 99 重量%較佳的對映體。較佳的對映體可藉由任何精於此方面技藝之人士所熟知的任何方法，包括高效液體色層分析法(HPLC) 及

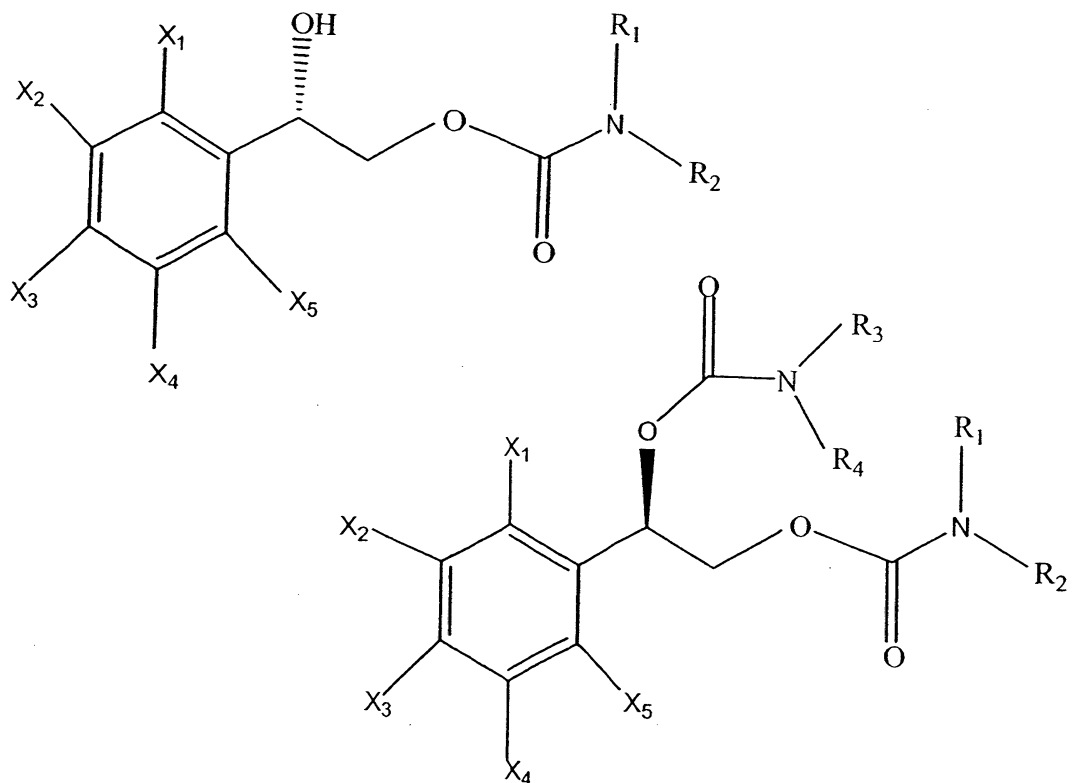
20

供神經保護。

本發明亦包括式 1 或式 2 之對映體混合物的用途。於本發明之一方面中，一種對映體佔優勢。混合物中佔優勢之對映體係為以大於任何其他存在於混合物中之對映體之數量，例如，以大於 50% 之量存在於混合物中者。於一方面，一種對映體係顯著至 90% 的程度或至 91%，92%，93%，94%，95%，96%，97% 或 98% 或更大的程度。於一較佳具體例中，於包含式 1 化合物之組成物中佔優勢的對映體係為式 1 之 S-對映體。於另一較佳具體例中，於包含式 2 化合物之組成物中佔優勢的對映體係為式 2 的 R-對映體。

於本發明較佳具體例中，本發明之組成物中以單獨的對映體或以顯著的對映體存在之對映體係以式 3 或式 5 代表，其中， X_1 ， X_2 ， X_3 ， X_4 ， X_5 ， R_1 ， R_2 ， R_3 ，及 R_4 係定義如前，或以式 7 或式 8 代表。

20 式 3



對掌鹽之形成與結晶作用，從外消旋混合物中單離出來，或較佳的對映體可藉著本文中所說明的方法製備。

製備較佳之對映體的方法應為精於此方面技藝之人士所已知且說明於，例如，佳克等，對映體，外消旋物及離析作用(威萊科學間，紐約，1981)；S.H.威蘭等，四面體 33：2725(1977)；E.L.艾里爾，碳化合物之立體化學(馬克葛羅-丘地，NY，1962)；及 S.H.威蘭，溶解劑及光分辨能力之表列，第 268 頁(E.L.艾里爾編撰；聖母院出版大學，聖母院，IN 1972)中。

此外，本發明之化合物可如說明於美國專利案第 3,265,728 (其所揭示內容完全合併於本文中作為參考且用於所有的目的上)，3,313,692 (其所揭示內容完全合併於本文中作為參考且用於所有的目的上)號及前文所參考之美國專利案第 5,854,283，5,698,588，及 6,103,759 (其所揭示內容完全合併於本文中作為參考且用於所有的目的上)號中者製備。

神經保護之本質

具有任何類型中樞(CNS)或末梢(PNS)神經系統之損傷或傷害包括視網膜之病患可從此等神經保護方法中獲益。該神經系統損傷可以為突然傷害或急性損傷神經系統之型式如，例如，於包括，但不侷限於急性神經變性疾病中者；急性損傷，組織缺氧-局部缺血或其組合導致神經元細胞死亡或受到連累。急性損傷包括，但不侷限於，外傷性腦部損傷(TBI)包括，閉鎖性，鈍性或穿透性頭部外傷，局

部腦部外傷，擴散性腦部傷害，脊椎索外傷，顱內或椎間的病灶(包括，但不侷限於，挫傷，穿透傷，剪切傷，脊椎索之壓傷或裂傷病灶或搖幌嬰兒之頸部扭傷症候群。

- 此外，氧或血供應喪失通常可引起，如於組織缺氧及/
- 5 或局部缺血中之急性損傷，包括，但不侷限於，腦血管機能不全，腦局部缺血或腦梗塞(包括，但不侷限於，超源於栓塞性閉塞及血栓之腦局部缺血或梗塞，視網膜局部缺血(糖尿病性或其他)，青光眼，視網膜變性，多發性硬化，毒性及缺血性視神經病變，急性局部缺血之後的再灌注，
- 10 出生前後的組織缺氧-缺血性損傷，任何類型之心臟停滯或顱內出血(包括，但不侷限於，硬膜上的，硬膜下的，蜘蛛膜下或腦內的出血)。

- 神經系統組織之外傷或損傷亦可以更慢性之型式及例如，彼等伴隨著進行性神經元細胞死亡或被連累一段期間
- 15 之進行性神經變性疾病，包括，但不侷限於，阿茲海默氏症，帕金森氏症，擴散性里維氏體疾病，進行性核上的癱瘓(史提爾-里察森二氏症候群(Steel-Richardson syndrome)，多發性系統變性(塞-德拉格氏症候群)，伴隨著神經變性之慢性癲癇性疾病，運動性神經元疾病(肌萎縮性側索硬化)，多發性硬化，變性運動失調，皮質基底變性，關島
- 20 ALS-帕金森氏症-癡呆症複徵，亞急性硬化性全腦炎，亨丁頓氏舞蹈病，帕金森氏症，synucleinopathies (包括多發性系統萎縮症)，原發性進行性失語症，紋狀黑質的變性，馬-約二氏疾病(Machado-Joseph disease)或第三型脊髓與小

腦的失調症及橄欖體橋腦小腦萎縮變性，延髓及假性延髓的癱瘓，脊椎及脊髓與延髓之肌肉萎縮症(甘迺迪氏症)，原發性側索硬化，家族性痙攣性下身麻痺，沃-赫二氏病(Werdnig-Hoffmann disease)，庫-魏二氏病(Kugelberg-Welander disease)，泰賽二氏病(Tay-Sachs disease)，家族性痙攣疾病，渥-庫-魏三氏病(Wohlfart-Kugelberg-Welander disease)，痙攣性下身輕癱，進行性多病灶性腦白質病，家族性自主神經機能障礙(李-德二氏症候群(Riley-Day syndrome))或傳染性蛋白質病(包括，但不侷限於，克-埃二氏病(Creutzfeld-Jakob disease)，格-史-舒三氏病(Gerstmann-Strussler-Scheinker disease)，庫魯病(Kuru disease)或致命性家族失眠症)。

此外，神經系統之外傷及進行性損傷可在各種精神病性疾病中發生，包括，但不侷限於，進行性，退化性型式之兩極性疾病或精神錯亂及失常障礙或精神分裂症，神經衝動控制疾病，強迫觀念-強迫行為疾病(OCD)，顳頁癲癇症中之行為改變及人格障礙。

於較佳具體例中，本發明之化合物係用於各種精神病性疾病中涉及神經系統的外傷及進行性損傷之疾病提供神經保護。此等疾病係選自下列的群組，包括：精神錯亂及失常的障礙，精神分裂症，神經衝動控制疾病，強迫觀念-強迫行為疾病(OCD)及人格障礙。

此外，外傷及損傷可為伴隨著明顯及廣泛記憶喪失之疾病的型式，其包括，但不侷限於，伴隨著與年齡相關之癱

呆的神經變性疾病，血管性癡呆，擴散性白色物質疾病(比瓦格氏病(Binswanger's disease))，內分泌或代謝性來源的癡呆，頭部外傷及擴散性腦部傷害的癡呆，癡呆性拳擊手或前葉癡呆，其包括，但不侷限於，紅肢病。

- 5 伴隨著神經元傷害之其他疾病包括，但不侷限於，伴隨著包括視網膜之神經系統之化學性，毒性，感染性及放射性損傷之疾病，胎兒發展期之損傷，出生時早產，缺氧性-局部缺血，來自於肝，血糖，尿毒，電解質及內分泌來源之損傷，精神病來源之損傷(包括，但不侷限於，精神錯亂，抑鬱，焦慮)，來自於神經末梢疾病及神經叢失調(包括神經叢癱瘓)之損傷或來自於神經病變之損傷(包括選自多病灶，感覺，運動，感覺-運動，自主性，感覺-自主性或髓鞘脫失神經病變之神經病變(包括，但不侷限於，格-巴二氏症候群(Guillain-Barre syndrome)或慢性發炎性髓鞘脫失多神經根神經病)或彼等源自於感染，發炎，免疫疾病，藥物濫用，藥理治療，毒物，外傷之神經病變(包括，但不侷限於，壓傷，擠傷，裂傷或節裂外傷)，代謝性疾病(包括，但不侷限於，內分泌或贅瘤旁的)，夏-馬二氏牙齒疾病(Charcot-Marie-Tooth disease)(包括，但不侷限於，經
- 10 1a，1b，2，4a 或 1-X 型連接)，弗利希氏病(Friedreich's ataxia)，異染性的腦質障礙症，雷素姆氏病(Refsum's disease)，腎上腺髓質神經性病變，失調症-毛細管擴張，迪戎-索塔二氏症(Djerine-Sottas)(包括，但不侷限於，A 或 B 型)，朗柏-伊頓二氏症候群(Lambert-Eaton syndrome)或頭蓋
- 15 20

骨的神經)。

因此，本文中所用之“神經保護”一詞應指抑制，避免，改善或降低哺乳類包括人類中樞或末梢神經系統中之機能障礙的嚴重性，神經細胞之變性或死亡，體軸或其等
5 之支持細胞。此包括於需要其之病患中治療或預防神經變性疾病；保護對抗化合物之激發毒性或改善細胞毒害效應(例如，刺激性的胺基酸例如，麩胺酸鹽；毒素；或預防性或治療性化合物其可發揮立即或延遲的細胞毒性副作用包括但不侷限於立即或延遲誘發細胞凋亡)。

10 因此，本文中所用之“需要用神經保護藥物(NPD)處理之病患”一詞係指任何病患其目前具有或可發展任何上述症候群或疾病，或任何疾病其中病患出現臨床症狀或預後者可從提供神經保護中獲益以預防發展，擴展，惡化或抗性增加以治療任何神經性或精神病性疾病。

15 “抗癲癇藥物”(AED)一詞係與“抗痙攣試劑”一詞交替使用且如本文中所用者，二詞均係指當將試劑給藥至個體或病患時，具有能夠抑制(例如，避免減緩，停止，或反轉)癲癇發作或腦病產生(ictogenesis)之活性的試劑。

20 “藥效原子”一詞係已知於此方面之技藝中，且如本文中所用者，係指能夠發揮選擇性生物化學效應，例如，抑制酵素，連接至受體，離子之螯合作用等之分子基團。經選擇的藥效原子可具有超過一種生物化學效應，例如，可為一種酵素之抑制劑及第二種酵素之激動劑。治療劑可包括一種或多種藥效原子，其可具有相同或不同的生物化學

活性。

本文中所用之“處理中”或“處理”一詞係指任何成功地預防或改善損傷，病變或症狀的指標，其包括任何目標或主體參數例如症狀之減輕；緩解；縮減或使損傷，病變，或症狀對病患更耐受；緩慢變性或衰退之速率；使變性之最終點稍削弱；或改進患者之身體或精神愉悅。症狀之處理或改善可根據目標或主體參數；包括身體檢驗的結果，神經病學檢驗，及/或精神病學評估。因此，“處理中”或“處理”一詞包括投服本發明之化合物或試劑以提供神經保護。於某些範例中，用本發明之化合物處理係與其他神經保護化合物或 AED's 合併以預防，抑制，或停滯神經元死亡或傷害或腦機能障礙或腦過度興奮(hyperexcitability)之進展。

本文中所用之“治療效應”一詞係指神經保護效應之有效的準備以避免或減小病患之中樞及末梢神經系統之細胞之死亡或傷害或機能障礙。

本文中所用之“治療有效量”一詞係指於需要此等神經保護處理之病患中以產生如前文中所定義之治療效應之一種或多種本發明化合物的足夠量。

本文中交替使用及本文中所用之“個體”或“病患”一詞係指可投服本發明化合物之任何哺乳類，其包括，但不侷限於，人類個體或病患。哺乳類一詞包括人類病患及非-人類靈長類，以及實驗動物例如兔子，大老鼠，及小老鼠，及其他動物。

於某些具體例中，本發明的方法可有利地用於治療病患其並未罹患或已知罹患此方面技藝中已知之可用胺基甲酸酯化合物或目前已知神經保護化合物或 AED's 有效處理之疾病。於此等情況中，使用本發明之方法及化合物係根據病患是否為如定義如前之"需要用神經保護藥物(NPD)處理之病患"一詞所做的確認而決定。

於某些具體例中，本發明係提供神經保護的方法。於特定具體例中，此等方法係包括將治療有效量之本發明的胺基甲酸酯化合物給藥至病患，其係尚未發展出對神經系統細胞顯明，臨床的損傷或傷害之徵兆或症候群，但由於神經系統損傷或外傷或由於某些已知生物化學或基因性素質或發現此等障礙之一種或多種經證實的生物標記而可能為發展神經元損傷之高風險群。

因此，於某些具體例中，本發明之方法及組成物係對於冒著發展神經元傷害之風險，但尚未發展出臨床證據之患者中直接趨向神經保護。該病患可簡單為在"較大的風險"可藉由確認主體，或其家族，醫療史，身體檢查或具有大於發展神經元傷害之平均風險之指標中之任何因子而決定。因此，該等藉由任何可能方法所得到的病患係在"較大風險"之確認可用來決定病患是否應用本發明的方法處理。

因此，於舉例說明之具體例中，可從本發明之方法及化合物處理中獲益之個體可使用經接受的掃描方法測定神經元傷害之風險因子而證實。此等掃描方法包括，例如，習

用作業以測定風險因子，其包括但不侷限於，例如，閉鎖性或穿透性之頭部外傷，CNS 感染，細菌性或病毒性腦血管疾病包括但不侷限於中風，腦腫瘤，腦水腫，囊尾幼蟲病，吡咯紫質沉著病，藥物戒除包括但不侷限於鎮靜性-安眠藥或酒精戒斷，不正常之出生前後的歷史包括出生時之缺氧症或任何類型之出生損傷，大腦癱瘓，學習不良，過度反應，孩童熱病性痙攣史，癲癇性重積狀態史，癲癇或任何與癲癇發作相關疾病之家族史，腦發炎症疾病包括，狼瘡，直接或藉由胎盤傳送之藥物中毒，包括但不侷限於古柯鹼毒藥，父母親的血緣，及用對於神經系統毒害(包括影響精神之醫藥品)之醫藥品的處理。

可根據各種“代用品標記”或“生物標記”來決定不具臨床徵兆或症狀用 NPD 處理而獲益之病患。

本文中所用之“代用品標記”及“生物標記”一詞係交替使用且係指任何解剖學，生物化學，結構，電性，基因或化學指示或標記，其可確實地與目前存在或未來發展之神經元傷害相吻合者。於某些範例中，腦-顯影技術，例如，電腦斷層攝影法(CT)，磁共振顯影(MRI)或正電子發射斷層攝影法(PET)，可用於決定個體是否冒著神經元傷害之風險。

本發明方法之適當生物標記包括但不侷限於：藉由 MRI，CT 或其他顯影技術測定海馬中之硬化，萎縮症或體積流失或顯明的中線顱硬化(MTS)或類似相關解剖學的病理學；檢測病患之血液中，分子類之血清或組織，例如蛋

白質或其他生物化學的生物標記，例如，睫狀體神經營養因子(CNTF)提升的程度或神經元降解產物提昇的血清濃度；或其他來自於需要用神經保護藥物處理之病患之代用品標記或生物標記的證明。

5 期望的是將來能發展出更多此等使用各種偵測技術之生物標記。應想要任何此等現存的或可能未來發展之神經元傷害的標記或指示，如本文中所用之後面的名稱，可用於本發明之方法中以決定用本發明之化合物及方法處理之需要性。

10 個體具有，或可能冒著發展神經元傷害之風險之確認亦將包括，例如，醫藥評估其包括完整的病史，身體檢查，及一系列相關的血液試驗。其亦可包括腦電波(EEG)，CT，MRI 或 PET 掃描。發展神經元傷害或損傷增加的風險亦可藉助於基因試驗，包括基因表現態樣或含基因組之蛋白
15 質技術(proteomic techniques)而確認(參見，D.史密特，M.A.洛佳維斯基，癲癇症研究 50；71-78 (2002)，及 W.洛史，D. 史密特，癲癇症研究 50；3-16(2002))。

20 至於可以藉由神經保護藥物穩定或改善之精神性疾病，例如，兩極性障礙，精神錯亂及失常的障礙，精神分裂症，神經衝動控制障礙等，上述試驗亦可包括目前狀態檢驗及病患症狀過程之詳細史，例如於一段期間之情緒障礙症狀及精神病性症狀及相關於病患已接受一段期間之其他處理，例如，生命圖。此等及其他特定及慣常的方法使得臨床師可使用本發明的方法及調配物來選擇需要治療之病

患。

於本發明某些具體例中，適當使用於本發明操作中之胺基甲酸酯化合物係單一地或與至少一種或多種其他化合物或治療劑，例如，與其他神經保護藥物或抗癲癇藥物，抗
5 痙攣藥物相容性地一起給藥。於此等具體例中，本發明係於病患中提供治療或預防神經元損傷的方法。該方法包括給藥至需要處理之病患的步驟，有效量之本文中所揭示的胺基甲酸酯之一種與有效量之一種或多種其他化合物或治療劑其具有提供神經保護的能力或治療或預防癲癇發作或
10 癲癇產生的能力或增進本發明化合物之神經保護效應的能力。

化合物，治療劑或已知的藥物與本發明之化合物之“共伴給藥”或“合併給藥”一詞係指藥物與一種或多種化合物給藥，於此時已知的藥物及化合物二者將具有治療的效
15 應。某些情況中，該治療效應係協乘的。此等共伴給藥可涉及並行(亦即，同時)，於前，或之後的藥物給藥與有關本發明化合物之給藥。一般精於此方面技藝之人士於決定特別的藥物及本發明化合物之給藥的適當時間，次序及劑量上沒有困難。

20 該一種或多種其他化合物或治療劑可選自具有一種或多種下列特性之化合物：抗氧化劑活性；NMDA 受體拮抗劑活性，內因性 GABA 抑制作用之增進；NO 合成酶抑制劑活性；鐵結合能力，例如，鐵螯合劑；鈣結合能力，例如，鈣(II)螯合劑；鋅結合能力，例如，鋅(II)螯合劑；於

病患 CNS 中有效阻斷鈉或鈣離子通道，或開放鉀或氯離子通道的能力。

於某些較佳具體例中，一種或多種其他化合物或治療劑係藉著連接到 NMDA 受體而拮抗 NMDA 受體(例如，藉著
5 連結至 NMDA 受體之甘胺酸連接位置)及/或該試劑係藉著減低神經膠質 GABA 之提取而增進 GABA 抑制性。

此外，該一種或多種其他化合物或治療劑可為任何已知於壓抑癲癇發作活性之試劑，甚至該化合物並非係已知於提供神經保護者。通常，此等試劑係包括但不侷限於任何
10 已知於精於此方面技藝之人士或未來所發現之有效的 AED，例如，適當的試劑，包括但不侷限於胺甲醯氮革，克洛巴沙 (clobazam)，氯硝西洋，乙琥胺，費巴美 (felbamate)，加巴潘亭 (gabapentin)，拉莫提珍 (lamotigine)，里維提拉西坦 (levetiracetam)，氧卡巴氮雜
15 革 (oxcarbazepine)，苯巴比妥，雙苯丙脲，普利加巴林 (pregabalin)，去氧苯比妥，雷替加品 (retigabine)，他嵐潘尼 (talampanel)，提加品 (tiagabine)，托吡拉酸鹽，丙戊酸鹽，維加巴新 (vigabatrin)，桑尼沙米 (zonisamide)，苯並二氮雜革，巴比妥鹽及鎮靜性安眠藥。

20 此外，於某些具體例中，本發明之化合物可單獨使用或彼此合併或與一種或多種如前文所說明之其他治療醫藥品，或其等之鹽類或酯類合併，以製造用來提供神經保護至需要其之病患或個體中為目的之醫藥品。

作為醫藥品之胺基甲酸酯化合物

本發明係提供式 1 及/或式 2 之對映體混合物及單離的對映體作為醫藥品。胺基甲酸酯化合物係調配成醫藥品以於患者中提供神經保護。

通常，本發明之胺基甲酸酯化合物可作為製藥組成物藉由任何已知於此方面技藝中用於投服治療藥物的方法，包括口部，口腔，局部，全身性(例如，經皮，鼻內，或藉由栓劑)，或非經腸胃(例如，肌肉內，皮下，或靜脈注射)給藥。將化合物直接給藥至神經系統可包括，例如，給藥至大腦內，心室內，腦室內，椎管內，腦池內的，脊髓內或脊椎周圍藉著經由顱內或椎間針或導管含或不含泵裝置之給藥途徑而傳送。

此外，於眼之疾病或症狀包括，但不侷限於；視網膜局部缺血(糖尿病性或其他)，青光眼，視網膜變性，黃斑部退化，多發性硬化，毒性及缺血性視神經病變之情況中，本發明之化合物包括化合物之組合物可藉著外用直接給藥至眼睛，亦即，至鞏膜或其他，例如，眼滴劑或藉著眼部植入或其他緩慢的傳送裝置包括中心體包括直接注射於玻璃體液等中。

組成物可採用錠劑，藥片，膠囊，半固體，粉末，持續性釋放調配物，溶液，懸浮液，乳濁液，糖漿，酏劑，氣溶膠，或任何其他適當組成物的型式；且包括至少一種本發明之化合物與至少一種製藥上可接受的賦形劑合併。適當的賦形劑係一般精於此方面技藝之人士所熟知者，且彼等，及調配組成物的方法可於此等標準參考，如阿風索

AR: 雷明頓之醫藥科學，第 17 版，馬克印刷公司，伊斯頓 PA，1985 中發現，其所揭示內容完全合併於本文中作為參考且用於所有目的上。適當的液態載體，尤其是注射用溶液，包括水，食鹽水溶液，葡萄糖水溶液，及乙二醇。

胺基甲酸酯化合物可以水性懸浮液提供。本發明之水性懸浮液可含有胺基甲酸酯化合物與適合製造水性懸浮液之賦形劑拌合。此等賦形劑可包括，例如，懸浮劑，例如，羧基甲基纖維素鈉，甲基纖維素，羥基丙基甲基纖維素，藻朊酸鈉，聚乙烷基吡咯烷酮，西黃蓍膠及金合歡膠，及分散劑或潤滑劑例如天然生成之磷脂(例如，卵磷脂)，氧化烯與脂肪酸之濃縮產物(例如，聚氧化乙烯硬脂酸酯)，氧化乙烯與長鏈脂族醇之濃縮產物(例如，十七烷基伸乙基氧基十六烷醇)，氧化乙烯與從脂肪酸與己糖醇所導生之部份酯的濃縮產物(例如聚氧化乙烯山梨糖醇單-油酸酯)，或氧化乙烯與從脂肪酸與己糖醇酐所導生之部份酯的濃縮產物(例如，聚氧化乙烯山梨糖醇酐單-油酸酯)。

水性懸浮液亦可含有一種或多種防腐劑例如，乙基或正-丙基對-羥基苯甲酸酯，一種或多種著色劑，一種或多種香味劑，及一種或多種甜化劑，例如，蔗糖，天門冬胺或糖精。調配物可調節滲透性。

使用於本發明方法中之油性懸浮液可藉著將胺基甲酸酯化合物懸浮於植物油，例如，落花生油，橄欖油，芝麻油或椰子油中，或於礦物油例如液態石蠟；或此等之混合物

中而調配。油性懸浮液可含有增稠劑，例如，蜂蠟，硬石蠟或十六醇。可加入甜化劑以提供可口的口服製劑，例如，甘油，山梨糖醇或蔗糖。此等調配物可藉著添加抗氧化劑例如抗壞血酸而保存。注射用油性載體之例，參見敏
5 妥，醫藥實驗理論期刊 281：93-102，1997。本發明之醫藥調配物亦可為"水包油"乳濁液型式。油相可為植物油或礦物油，如上所說明者，或此等之混合物。

適當的乳化劑包括天然生成之樹膠，例如金合歡膠及西黃蓍膠，天然生成之磷脂，例如大豆卵磷脂，從脂肪酸與
10 己糖醇酐所導生的酯類或部份的酯，例如山梨糖醇酐單-油酸酯，及此等部份的酯與氧化乙烯之濃縮產物，例如，聚氧化乙烯山梨糖醇酐單-油酸酯。乳濁液亦可含有甜化劑及香味劑，如於糖漿及酞劑之調配物。此等調配物亦可含有緩和劑，防腐劑，或著色劑。

15 所選擇之化合物可單獨或與其他適當的組成份合併而製成氣溶膠調配物(亦即，彼等可經"噴霧化")經由吸入給藥。可將氣溶膠調配物置於經加壓之可接受的推進器，例如，二氯二氟甲烷，丙烷，氮等中。

適合非經腸胃給藥，例如，藉由關節間(關節中)，靜脈
20 內，肌肉內，皮內，腹膜內，及皮下途徑之本發明的調配物可包括水性或非-水性，等滲壓無菌水注射溶液，其可含有抗氧化劑，緩衝劑，抑菌劑，及可使調配物與預定接受者之血液成為等滲壓之溶質，且水性或非-水性無菌懸浮液可包括懸浮劑，增溶劑，增稠劑，穩定劑及防腐劑。可接

受的載體及溶劑之中可使用者為水及林格氏溶液，等滲壓之氯化鈉。此外，無菌經固定的油類可習用地用作為溶劑或懸浮介質。可使用於該目的之任何溫和經固定的油包括合成的一-或二甘油酯。此外，脂肪酸例如油酸可同樣的用於注射用製劑中。此等溶液係無菌且通常不含不想要的物質。

當化合物足夠可溶時，其等可直接溶解於含有或不含適當有機溶劑，例如丙二醇或聚乙二醇之生理食鹽水中。極度分散之化合物的分散液可於水性澱粉或羧基甲基纖維素鈉溶液中，或於適當的油，例如落花生油中調製。此等調配物可藉著習用熟知的殺菌技術而殺菌。調配物可含有所需要近似生理條件之製藥上可接受的輔助物質，例如 pH 調節及緩衝劑，毒性調節劑，例如，醋酸鈉，氯化鈉，氯化鉀，氯化鈣，乳酸鈉等。

此等調配物中之胺基甲酸酯化合物的濃度可廣泛地變化，且主要根據流體體積，黏度，體重等，根據經選擇之特別的給藥模式及病患之需求而選擇。於 IV 給藥時，調配物可為無菌注射製劑，例如，無菌注射用水性或油性懸浮液。該懸浮液可根據已知的技藝使用彼等適當的分散劑或潤濕劑及懸浮劑而調配。無菌注射用製劑亦可為於無毒性非經腸胃可接受之稀釋劑及溶劑，例如 1,3-丁二醇之溶液中之無菌注射溶液或懸浮液。所推薦的調配物可存在於單位-劑量或多重-劑量密封的容器，例如，安瓿及小瓶中。注射用溶液及懸浮液可從各類說明於前之無菌粉末，顆

粒，及錠劑中製備。

適用於本發明操作中之胺基甲酸酯化合物可以且適宜口服給藥。本發明之化合物於組成物中之數量可依組成物型式，單位劑量大小，賦形劑種類，及其他精於此方面技藝之人士所熟知之因素而廣泛地變化。通常，最終組合物可包括，例如，由 0.000001 重量百分比(重量%)至 10 重量%，宜為 0.00001 重量%至 1 重量%之胺基甲酸酯化合物，其餘為賦形劑或賦形劑類。

口服給藥之醫藥調配物可使用熟知於此方面技藝之製藥上可接受的載體以適合口服給藥之劑量而調配。此等載體能使醫藥調配物調配成適合病患消化之單位劑量型式，如錠劑，藥片，粉末，藥丸，膠囊，液體，錠片，凝膠，糖漿，生料，懸浮液等。

適合口服給藥之調配物可包括(a) 液態溶液，例如有效量之製藥配劑懸浮於稀釋劑，例如水，食鹽水或 PEG400 中；(b) 膠囊，小袋或錠劑，各個含有預先決定量之活性成份，如液體，固體，顆粒或凝膠；(c) 於適當液體中之懸浮液；及(d)適當的乳濁液。

經口使用之醫藥製劑可透過本發明之化合物與固態賦形劑合併而獲得，如果想要，可任意研磨產生的混合物，及處理顆粒的混合物，於添加適當的其他化合物後，而獲得錠劑或藥丸核。適當的固態賦形劑為碳水化合物或蛋白質填料且包括，但不侷限於糖類，包括乳糖，蔗糖，甘露糖醇，或山梨糖醇；澱粉來自於玉米，小麥，稻米，馬鈴薯

或其他植物；纖維素例如甲基纖維素，羥基甲基纖維素，羥基丙基甲基-纖維素或羧基甲基纖維素鈉；及樹膠包括阿拉伯樹膠及西黃蓍膠；以及蛋白質例如凝膠及膠原。如果想要，可加入崩解劑或增溶劑，例如交聯聚乙烷基吡咯烷酮，瓊脂，藻朊酸，或其鹽，例如藻朊酸鈉。錠劑型式可包括一種或多種乳糖，蔗糖，甘露糖醇，山梨糖醇，磷酸鈣，玉米澱粉，馬鈴薯澱粉，微晶纖維素，凝膠，膠質二氧化矽，滑石，硬脂酸鎂，硬脂酸，及其他賦形劑，染劑，填料，黏合劑，稀釋劑，緩衝劑，濕潤劑，防腐劑，香味劑，染料，崩解劑，及製藥上可相容的載體。錠片型式可包括含有活性成份於增香劑中，例如，蔗糖，以及糖錠包含活性成份於惰性基質中，例如，凝膠及甘油或蔗糖及金合歡乳濁劑，明膠等以及已知於此方面技藝中之活性成份，載體。

15 本發明之化合物亦可以為栓劑型式給藥以供藥物之肛門給藥。此等調配物可藉著將藥物與適當的非-刺激性賦形劑，其於一般溫度下為固態但於肛溫下為液態且因此於肛門中熔融而釋放藥物，混合而製備。此等物質為椰子油及聚乙二醇。

20 本發明之化合物亦可藉著鼻內，眼球內，陰道內，及肛門內途徑給藥，包括栓劑，吹入劑，粉末及氣溶膠調配物(例如，類固醇吸藥，參見洛哈塔吉，臨床藥理期刊 35：1187-1193，1995；提佳瓦，過敏性氣喘免疫學年鑑 75：107-111，1995)。

根據本發明之化合物可調配成敷藥棒，溶液，懸浮液，乳濁液，明膠，乳劑，軟膏，糊膏，膠凍，塗料，粉末，及氣溶膠而藉由局部的途徑經皮傳送。

包膠物質亦可使用本發明之化合物且”組成物”一詞可包括活性成份與包膠物質作為調配物，含或不含其他載體而合併。例如，本發明之化合物亦可以中心體於身體中緩慢釋放而傳送。於一具體例中，中心體可經由皮內注射含中心體之藥物(例如，米非普利斯東(mifepristone))，其係於皮下緩緩地釋放(參見拉歐，J. Biomater Sci. Polym. 第7版：623-645，1995；作為生物降解用及注射用明膠調配物(參見，例如，佳歐，醫藥研究 12：857-863，1995)；或以口服給藥之中心體(參見，例如，艾耳斯，醫藥藥理期刊 49：669-674，1997)給藥。經皮及皮內二種途徑可提供數週或數月恆定的傳送。扁囊劑亦可用於傳送本發明之化合物。

於另一具體例中，本發明之化合物可藉著使用與細胞膜稠合或經細胞內攝之微脂粒而傳送，亦即，藉著使用連接至微脂粒之配位子，該微脂粒係附著至細胞之表面膜蛋白質受體而導致細胞內攝作用。藉由使用微脂粒，特別是當微脂粒表面攜帶標的細胞之特定配位子時，或者優先針對特定器官，可將胺基甲酸酯化合物集中傳送至標的細胞中(參見，例如，阿-穆罕默德，微包膠期刊 13：293-306，1996；鍾恩，現行生物技術主張 6：698-708，1995；歐斯楚，美國醫院醫藥期刊 46：1576-1587，1989)。

本發明之醫藥調配物可以鹽提供且可用許多酸類成形，

該酸包括但不侷限於氫氯酸，硫酸，醋酸，乳酸，酒石酸，蘋果酸，琥珀酸等。鹽類趨向於更可溶於水性或其他質子性溶劑中，其為對應的游離基型式。其他情況中，較佳的製劑可為經冷凍乾燥的粉末，其可含有，例如，任何
5 或全部下列者：1 mM - 50 mM 組胺酸，0.1% - 2%蔗糖，2% - 7% 甘露糖醇，於 4.5 至 5.5 pH 範圍下，於使用前與緩衝劑合併。

製藥上可接受的鹽類及酯類係指製藥上可接受且具有想要的藥理特性之鹽類及酯類。此等鹽類包括所形成的鹽類
10 中其中化合物上之酸性質子能夠與無機或有機鹼反應。適當的無機鹽類包括彼等與鹼金屬，例如，鈉及鉀，鎂，鈣及鋁所形成者。適當的有機鹽類包括彼等與有機鹼類例如胺鹼，例如乙醇胺，二乙醇胺，三乙醇胺，胺基丁三醇，N-甲基還原葡萄糖胺等所形成者。製藥上可接受的鹽類亦可
15 包括從母化合物中之胺基團與無酸酸(例如，氫氯酸及氫溴酸)及有機酸(例如，醋酸，檸檬酸，順式丁烯二酸及烷-及芳烯(arene-)磺酸例如，甲烷磺酸及苯磺酸)進行反應所形成之酸加成鹽類。製藥上可接受的酯類包括從出現於化合物中之羧基，磺醯基氧基與膦酸基氧基所形成的酯。當出現
20 兩種酸性基團時，製藥上可接受的鹽或酯可為單-酸-單-鹽或酯或二-鹽或酯；且同樣的當出現超過兩種酸性基團時，某些或全部此等基團可被鹽化或酯化。

本發明中所指名的化合物可以未經鹽化或未經酯化的型式，或以經鹽化及/或經酯化的型式出現，且將指名之此等

化合物將包括原化合物(未經鹽化及未經酯化)及其製藥上可接受的鹽類及酯類。本發明包括式 1 或式 2 之製藥上可接受的鹽及酯型式。超過一種式 1 或式 2 之對映體的結晶型式可存在且因此亦包含於本發明中。

- 5 本發明之製藥組成物，除了胺基甲酸酯化合物之外，可任意含有至少一種有用於治療伴隨著提供神經保護之疾病或症狀的其他治療劑。

調配製藥組成物的方法業已說明於許多公開案中，例如，醫藥劑量型式：錠劑，第 2 版。修訂及擴充版。第 1-10 3 卷，由萊柏曼等編輯；醫藥劑量型式：非經腸胃醫藥，第 1-2 卷，由亞維斯等編輯；及醫藥劑量型式：分散系統，第 1-2 卷，由萊柏曼等編輯；由馬塞爾迪克公司印製，其所揭示內容完全合併於本文中作為參考且用於所有的目的上。

- 15 製藥組成物一般係調配成無菌，實質上等滲壓且完全符合美國食物及藥物管理之所有良好製造作業(GMP)的規範。

劑量攝取法

- 20 本發明係提供使用胺基甲酸酯化合物於哺乳類中而提供神經保護的方法。提供神經保護所需要之胺基甲酸酯化合物的數量係定義為治療上或製藥上有效量之劑量。該使用之有效劑量安排及數量，亦即，投藥或劑量攝取法係依各種因素包括疾病階段，病患之身體狀況，年齡等而定。給藥的模式亦列入考慮病患之計算劑量攝取中。

通常精於此方面技藝之人士能夠無需具有關於該技藝及本揭示內容之非常經驗，來決定本發明操作中特別經取代之胺基甲酸酯化合物的治療有效量(參見，例如，萊柏曼，醫藥劑量型式(第 1-3 卷，1992)；萊德，1999，醫藥化合物之技藝，科學及技術；及皮卡，1999，劑量計算)。治療有效劑量亦為一種其中活性劑之任何毒性或有害的副作用比臨床條件中之治療有利效應重要。應進一步注意各個特別的主體，特定劑量攝取法應根據個別的需求及給藥或監督化合物給藥人士之專業判斷，於一段期間予以評估及調節。

為了治療目的，可將本文中所揭示的組成物或化合物以單一巨丸傳送，經由一段延長的期間，或重複給藥流程連續傳送(例如，以小時，每日或每週，重複的給藥流程)給藥至個體。本發明之醫藥調配物可以例如，每日一次或多次，每週 3 次，或每週給藥。於本發明之一具體例中，本發明之醫藥調配物係每日一次或二次口服給藥。

使用本發明化合物之治療攝取法可於，例如，個體罹患腦傷害損傷或其他初期傷害之後但於個體被診斷出具有癲癇症或其他神經元損傷表現之前開始。於一具體例中，被確認處於發展神經元傷害之高風險之個體或具有伴隨著發展神經元傷害風險之疾病，例如，神經性組織缺氧之個體，可用本發明之胺基甲酸酯化合物開始治療攝取。

於某些具體例中，可於腦傷害性損傷或初期傷害發生後，將胺基甲酸酯每日給藥達一段時間(週，月，年)。列

席醫生係以例如，病患之臨床檢驗，或藉由測量血液或腦脊髓液中之藥物濃度而知道如何決定胺基甲酸酯化合物業已達到治療有效濃度。

於本說明書中，生物性活性劑之治療有效劑量可包括延時治療攝取法內之重複劑量，其在臨床上產生明顯的結果而提供神經保護。本說明書中有效劑量之決定典型的係根據動物模式研究接著藉由人類臨床試驗及藉由明顯降低患者中標的曝露症狀或疾病之發生或嚴重性作為有效劑量及給藥流程測定之指南。該相關之適當動物包括，例如，鼠科動物，老鼠，豬，貓科動物，非-人類靈長動物，及其他已知於此方面技藝中可接受的動物模式。或者，有效劑量可使用試管內模式來決定(例如，免疫學及病理組織學的分析)。使用此等模式，典型的僅需要一般的計算及調節來測定適當的濃度及劑量以投服治療有效量之生物性活性劑(例如，鼻內有效，經皮有效，經靜脈有效，或肌肉內有效的數量以引出想要的反應)。

於本發明範例具體例中，化合物之單位劑量型式係製備用於標準給藥攝取法。於此方式中，組合物可在醫師的指示下容易的分成較小的劑量。例如，單位劑量可製成包裝的粉末，小瓶或安瓿且宜為膠囊或錠劑型式。

存在於此等組成物單位劑量型式中之活性化合物可根據病患之特別需要，以例如，由於 10 毫克至於 1 克或更多之量存在，而用於每日單一或多重給藥。藉由於一克之最低每日劑量起始治療攝取法，胺基甲酸酯化合物之血液濃度

可用來確定是否為較大或較小劑量。

本發明胺基甲酸酯化合物之有效給藥可例如，以由於 0.01 毫克/公斤/劑量至於 150 毫克/公斤/劑量之口服或非經腸胃劑量給藥。較佳者為，係由於 0.1 毫克/公斤/劑量至於 5 25 毫克/公斤/劑量，更佳為由於 0.2 至於 18 毫克/公斤/劑量給藥。因此，具有例如平均重量為 70 公斤之患者每劑量所含有之活性成份的治療有效量，如本文中所說明者，可為例如，由於 1 毫克/天至於 7000 毫克/天。

本發明之方法亦提供用於提供神經保護的套組。於包括 10 一種或多種本發明之胺基甲酸酯化合物，可能添加一種或多種治療有利之其他化合物之醫藥品調配於適當的載體中之後，可將其放置於適當的容器中且予以標記以提供神經保護。另外，可將另一包含至少一種有用於提供神經保護，治療癲癇產生，癲癇症或另一伴隨著神經元傷害之疾病或疾病之其他治療劑的醫藥品置於容器中且予以標記以 15 供治療所指明之疾病。此等標記可包括，例如，關於投服各醫藥品之數量，頻率及方法的指示。

雖然，為了清楚了解的目的，本發明業已藉實例詳細說明於前，此方面技藝之人士應顯而易知，特定改變及修正 20 係包含於揭示內容內且可無需非常經驗而在用來闡明而非限制之後附申請專利範圍之範疇內操作。下列實例係為闡明本發明特定的觀點而提供且並非用來限制。

【實施方式】

實例

用於提供神經保護之式(I)及式(II)化合物的活性係用下列實驗實例來評估。於實例 1 及 2 中單離之式 1 的 S-對映體活性(例如，式 7)於本文中稱為“試驗化合物”(TC)，係在經癲癇所誘發之老鼠模式中評估以測定化合物於神經保護及於老鼠中處理由鋰及毛果芸香鹼所誘發之顳葉癲癇之模式中之癲癇產生的效應。此等實例係為闡明本發明之各種具體例但並非用任何方式來限制。

實例 1

顳葉癲癇之鋰-毛果芸香鹼模式

將老鼠中藉由伴隨著鋰(鋰-pilo)之毛果芸香鹼所誘發的模式複製多數臨床及人類顳葉癲癇之神經生理學特色(杜司基等，1989，突觸 3：154-171；卡維海洛，1995，義大利神經科學期刊 16：33-37)。於成年鼠中，將毛果芸香鹼全身性給藥導致癲癇性重積狀態(SE)。第一天中之致命率達 30-50%。於存活的動物中，在海馬形成，梨狀及鼻內皮質，丘腦，扁桃腺狀複體，新腦皮質及物質黑質內之神經單元傷害顯著。此急性癲癇發作期間接著為平均持續 14-25 天之“安靜”無-癲癇發作期，之後，所有的動物呈現每週通常 2 至 5 次頻率之自發性再發性痙攣癲癇發作(杜司基等，1989，突觸 3：154-171；卡維海洛，1995，義大利神經科學期刊 16：33-37；杜比等，2001，神經實驗 167：227-241)。

鋰-毛果芸香鹼及用試驗化合物處理

將詹維爾生殖中心(法國珍納-聖-塞爾)所提供 225-250

克重之雄性維斯塔(Wistar)老鼠於控制的標準條件下圈養(循環光照/黑暗，早上 7 點至晚上 7 點開燈)，可隨意取用食物及水。所有的動物實驗係根據 1986 年 11 月 24 日歐洲交流協調會指令(86/609/EEC)及法國農業部(執照 67-97 號)之法規進行。為了植入電極，老鼠係經由腹腔注射 2.5 毫克/公斤二氮平(DZP，二氮平製劑，羅氏公司，法國)及 1 毫克/公斤氯胺酮氫氧化氯(伊馬劑 1000(Imalgene)，法國隆美律公司)而麻醉。將四個單一-接觸記錄電極放置在頭蓋骨之頂頁皮質上，每邊各二個。

10 癲癇性重積狀態誘導：

用試驗化合物處理及自發性再發性癲癇發作(SRS)之發生

所有的老鼠接受氯化鋰(3 毫當量/公斤，經由腹腔，美國密蘇里州聖路易市席格馬公司)；於 20 小時後，將動物放進樹脂玻璃盒中，以便記錄皮質 EEG 的基線。將甲基東莨菪素溴化物(1 毫克/公斤，s.c.，席格馬公司)給藥以限制痙攣劑之末端效應。SE 係在甲基-東莨菪素後 30 分鐘藉由注射毛果芸香鹼氫氯化物(25 毫克/公斤，s.c.，席格馬公司)而誘發。記錄整個 SE 期間之左右兩側 EEG 皮質活性註明行為變化。

20

試驗化合物增加劑量的效應係在 3 組老鼠上研究。第一組動物於 SE 發動後 1 小時，經由腹腔接受 10 毫克/公斤試驗化合物(pilo-TC10)，而第 2 及 3 組分別接受 30 及 60 毫克/公斤試驗化合物(pilo-TC30 及 pilo-TC60)。

另一組係在 SE 發動後 1 小時注射 2 毫克/公斤二氮平 (DZP, 肌肉內注射)。此為標準處理以改進 SE(pilo-DZP)後動物之存活率。控制組接受食鹽水以替代毛果芸香鹼及試驗化合物(食鹽水-食鹽水)。然後將 SE 存活之 pilo-試驗化合物老鼠注射，於第一試驗化合物注射後於 10 小時將相同劑量之試驗化合物第二次經由腹腔注射且保持用試驗化合物於每日二次處理之下再處理 6 天。第一次注射於 10 小時後，於 SE 之日 pilo-DZP 接受 1 毫克/公斤 DZP 第二次注射。之後，pilo-DZP 及食鹽水-食鹽水老鼠接受每日二次等體積的食鹽水。

試驗化合物在 EEG 上及在發生 SRS 之潛伏期上的效應係藉由每日 10 小時之每日動物視訊記錄及每週二次 8 小時電圖活性之記錄調查。

細胞密度之定量

細胞密度之定量係在 SE 後第 6 天在 8 隻 pilo-DZP, 8 隻 pilo-TC10, 7 隻 pilo-TC30, 7 隻 pilo-TC60, 及 6 隻食鹽水-食鹽水老鼠上進行。於 SE 後第 14 天，將老鼠用 1.8 克/公斤戊巴比妥予以深層麻醉(Dolethal®, Vetoquinol, 盧爾市, 法國)。然後將腦移除且冰凍。於切片機中連續切下 20 微米玻片切片，於硫堇染色前予以風乾數日。

細胞密度之定量係用 10×10 盒 1 厘米²顯微柵條在冠狀切片上根據老鼠腦寰椎之趨實體性協調而進行(帕辛諾斯及華森, 1986, 老鼠腦中之趨實體性協調, 第 2 版, 學院報刊, 聖地牙哥)。細胞計數係以盲法進行二次且為至少 3

個得自於各個動物中 2 個相鄰切片之平均值的平均。計數僅包括大於 10 微米的細胞，較小者視為神經膠質細胞。

Timm 染色

於自發性再發性癲癇發作發動 2 個月之後，在長期曝露
 5 於試驗化合物或 DZP 之老鼠上及 3 隻食鹽水-食鹽水之老鼠
 中檢測苔狀纖維芽殖。將動物深層麻醉且用食鹽水接著用
 含有 100 毫升 1.15% (重量/體積)Na₂S 於 0.1M 磷酸鹽緩衝
 液中，及含有 100 毫升 4% (體積/體積)甲醛於 0.1M 磷酸鹽
 緩衝液中予以經心(transcardially)灌注。將腦從頭蓋骨中移
 10 除，於 4%甲醛中予以後-固定 3-5 小時且在玻片冷凍切片
 組織(vibratome)上切下 40 微米切片且覆在凝膠-包埋的玻片
 上。

次日，將切片於黑暗中於 26°C 含有 50%(重量/體積)阿
 拉伯膠(160 毫升)，檸檬酸鈉緩衝液(30 毫升)，5.7% (重量/
 15 體積)氫醌(80 毫升)及 10%(重量/體積)硝酸銀(2.5 毫升)之溶
 液中變化 40-45 分鐘。然後將切片於 40°C 用自來水沖洗至
 少 45 分鐘，用蒸餾水迅速沖洗且予以乾燥。將其等於乙醇
 中脫水且蓋上玻片。

苔狀纖維芽殖係根據前文所說明之標準於背側的海馬中
 20 評估(卡瓦索斯等，1991，神經科學期刊 11：2795-2803)，
 其係如下列者：0-DG 之尖及脊間無顆粒；1-稀疏顆粒於
 DG 之尖及脊間不勻稱分佈中之上位粒狀的區域中；2-更多
 顆粒於 DG 之尖及脊間連續分佈中之上位粒狀的區域中；
 3-顯著的顆粒於尖及脊間連續模式中，具有於尖及脊之間

偶而稀疏的融合顆粒；4-顯著的顆粒於尖及脊之間形成融合密集薄片帶且 5-顆粒之融和密集薄片帶延展至內分子層中。

數據分析

- 5 將非-配對學生之 t-試驗用於進行 SE 於 pilo-食鹽水及 pilo-試驗化合物動物中之特性比較。二組中所捉到之老鼠數目之間的比較係用 Chi 方塊試驗進行。於神經元傷害時，各組間的統計分析係用 ANOVA 接著用費舍試驗之多重比較使用統計軟體(費舍 RA，1946a，研究工作者統計法(第十版)奧利弗&波意德，愛登堡；費舍 RA，1946b，實驗設計(第四版)奧利弗&波意德，愛登堡)進行。

鋰-毛果芸香鹼癲癇性重積狀態之行為及 EEG 特徵

- 將 250-330 克重之史巴克-道利老鼠全數進行由 Li-lipo 所誘發的 SE。SE 的行為特徵係在 pilo-食鹽水及 pilo-試驗化合物兩組中確認。毛果芸香鹼注射後 5 分鐘之內，老鼠逐漸產生腹瀉，豎毛及其他擬副交感神經刺激的徵兆。隨後的 15-20 分鐘，老鼠呈現出把頭上下快速擺動，扒扒，咀嚼及探究的行為。再發性癲癇發作係在投服毛果芸香鹼後 15-20 分鐘開始。此等伴隨著具有舉起及跌倒事件之頭及兩側前肢的癲癇發作，於毛果芸香鹼後約 35-40 分鐘進展成 SE，如前文中所說明者(特斯基等，1983，行為腦研究 9：315-335)。

SE 期間之 EEG 模式

於 SE 之第一小時期間，由於沒有藥理處理，EEG 之幅

度逐漸增加而頻率降低。於毛果芸香鹼注射後 5 分鐘內，於皮質中正常的背景 EEG 活性係用低電壓快速活性替代，而於海馬中顯示出 θ 節律(5-7Hz)。以 15-20 分鐘將高電壓快速活性疊置於海馬 θ 節律上，且單離的高電壓穿刺只在
5 海馬中記錄，然而皮質之活性並未實質地改變。

毛果芸香鹼注射後 35-40 分鐘，動物之海馬及皮質二者中出現產生具高電壓快速活性之典型的電位圖癲癇發作，其首先如於癲癇發作之前的活性爆發且接著連續一連串的高電壓穿刺及多刺，持續直到投服 DZP 或試驗化合物。於
10 SE 約 3-4 小時之時，海馬 EEG 之特點為 pilo-DZP 中及 pilo-10 組中海馬及皮質二者之週期性放電圖(PEDs，於一次/一秒)。EEG 背景活性之幅度於 pilo-TC60 動物中為低。以 SE 之 6-7 小時計，穿刺活性仍出現於經 DZP-及 TC10-處理之老鼠的皮質及海馬中，而 EEG 之幅度減低且回復到
15 TC30 老鼠之海馬基線水準及於經 TC60 處理之老鼠的二結構中。TC10，TC30 及 TC60 組之間沒有差別。以 SE 之 9 小時計，單離的穿刺仍記錄於經試驗化合物處理之老鼠的海馬中及偶而於皮質中。此時，二結構中之背景活性幅度極低。

20 由 SE 誘發的死亡率

於 SE 後第一個 48 小時中，死亡率係類似於 pilo-DZP 老鼠(23%，5/22)，pilo-TC10 老鼠(26%，6/23)，及 pilo-TC30 老鼠(20%，5/25)中者。pilo-TC60 老鼠中之死亡率大幅降低，其中，其只達到 4%(1/23)。差異性於統計上係顯

著的($p < 0.01$)。

安靜期之 EEG 特徵及自發性再發性發作之發生

安靜期中之 EEG 模式係類似於 pilo-DZP 及 pilo-TC10，30 或 60 老鼠中者。SE 後 24 及 48 小時，基線 EEG 仍具有於 PEDs 上發生大振動或穿刺重疊的特徵。試驗化合物注射或載體注射後 1 及 8 小時之間，pilo-DZP 或 pilo-TC10 組中沒有變化。於 TC30 及 TC60 老鼠中，當注射 10 分鐘後，且 TC30 組用大幅度之穿刺替代且 TC60 組以小幅度之穿刺替代時，PEDs 之頻率及幅度即降低。注射 4 小時後，後兩組中之 EEG 回復到基線水準。SE 後 6 天，EEG 之幅度仍比毛果芸香鹼注射前低且於多數組別中仍可偶而於 pilo-DZP，-TC10 及 -TC30 老鼠中記錄到穿刺。於 pilo-TC60 老鼠中，大幅度穿刺之頻率比所有其他的組別者高。於試驗化合物或載體-注射後，pilo-DZP 及 pilo-TC10 組中之 EEG 記錄不受注射所影響。pilo-TC30 老鼠中，注射誘發慢速波於海馬及皮質二者之 EEG 上發生且 pilo-TC60 老鼠中穿刺之頻率降低。

將所有的老鼠曝露於 DZP，TC10 及 TC30 中且研究直到長期發展出具有類似潛伏期之 SRS。pilo-DZP 老鼠中之潛伏期為 18.2 ± 6.9 天($n = 9$)，pilo-TC10 老鼠中者為 15.4 ± 5.1 天($n = 7$)，pilo-TC30 老鼠中者為 18.9 ± 9.0 天($n = 10$)。於進行 TC60 之老鼠組中，老鼠之子群變成具有類似其他組別潛伏期之癲癇，亦即， 17.6 ± 8.7 天($n = 7$)而另一組老鼠變成具有 SE-後由 109 至 191 天範圍(149.8 ± 36.0)

天， $n = 4$)之較長延遲的癲癇性且一隻老鼠並未於 SE-後 9 個月延遲中變成癲癇。pilo-DZP，pilo-TC10，pilo-TC30 及 pilo-TPM60 老鼠之第一子群之間對 SRS 之潛伏期的差異性於統計上並不顯著。沒有任何食鹽水-食鹽水老鼠($n = 5$)發展出 SRS。

為了計算經毛果芸香鹼-曝露之老鼠中的 SRS 頻率，將癲癇發作嚴重性及特出之階段 III(面部肌肉及前肢之陣攣性發作)及階段 IV-V 癲癇發作(後腿直立起來及跌倒)列入考慮。pilo-DZP 及 pilo-試驗化合物老鼠中，每週階段 III SRS 之頻率係在各組中變化。於 pilo-DZP 及 pilo-TC60 (具有早期 SRS 發動)組中於首先的 3 星期中係低，恆定的且於 pilo-DZP 組中第 4 週時業已消失。階段 III SRS 之頻率比 pilo-TC10 組中者高，其中於第 3 及 4 週時之增加明顯超過 pilo-DZP 值。多數組中，更嚴重之階段 IV-V SRS 的頻率於第一週時為最高，除了具有晚期癲癇發作發動之 pilo-TC30 及 TC60 之外，其中 TC30 組之 SRS 頻率於有個 4 週中皆恆定且超過具晚期 SRS 發動之 pilo-TC60 組最先的 2 週，其中沒有階段 IV-V 癲癇發作，其中第 2 週後沒有癲癇發作之記錄。相較於 pilo-DZP 組(每週 11.3 SRS)，第一週時，階段 IV-V SRS 之頻率於 TC10，TC30 及 TC60 (具有早期 SRS 發動)組(每週 2.3-6.1 SRS)中明顯降低。於 2-4v 週時所有組別之階段 IV-V SRS 的頻率皆降低相較於第一週者達到每週 2-6 次癲癇發作之值，除了具有早期 SRS 發動之 pilo-TC60 組外，其中癲癇發作之每週發作頻率較於

pilo-DZP 組者明顯降低至 0.6-0.9 次癲癇發作，其中 SRS 之頻率係在由 3.3 至 5.8 範圍。

海馬，丘腦及皮質中之細胞密度

與食鹽水-食鹽水老鼠比較，pilo-DZP 老鼠中海馬 CA1
 5 區中之細胞數大量減低(70%於錐體細胞層中脫落)，而 CAS
 區之傷害較不嚴重(CA3a 中細胞損失 54%且 CA3b 中為
 31%)。於鋸齒狀腦回中，pilo-DZP 老鼠肺門中之細胞遭受
 巨幅損失(73%)，然而粒細胞層並未顯示出看得到的損傷。
 類似損傷可在腹面海馬中觀察到，但細胞計數並未在該區
 10 中進行。外側丘腦核中亦記錄巨量損傷(細胞損失 91%)，
 而中央脊側丘腦核為中度損傷(56%)。梨狀皮質中，細胞損
 失皆在 III-IV 層中，其不再看得到且於 pilo-DZP 老鼠 II 層
 中達到 53%。背側鼻內皮質中，II 及 III-IV 層中遭受輕微
 損傷(分別為 9 及 15%)。腹面鼻內皮質之 II 層全部保存，
 15 而 III-IV 層遭受 44%細胞損失。

pilo-試驗化合物動物之海馬中，細胞損失相較於 pilo-
 DZP 老鼠 CA1 錐體層中者係降低，其中細胞損失於 pilo-
 DZP 中達 75%且於 pilo-TC30 或於 pilo-TC60 動物中分別達
 35 及 16%。該差異性於二試驗化合物劑量上係統計上顯著
 20 的。於 CAS 錐體層中，試驗化合物並未於 CA3a 區中提供
 任何保護，而 60 毫克/公斤試驗化合物劑量於 CA3b 中具明
 顯的神經保護性。於鋸齒狀腦回中，肺門中之細胞損失類
 似 pilo-試驗化合物(69-72%)及 pilo-DZP 動物(73%)中者。
 於二丘腦核中，60 毫克/公斤劑量於外側及中央背側核中亦

分別降低 65 及 42%神經元傷害而具保護性。於腦皮質中，用試驗化合物處理所獲得之神經元保護相較於 DZP 者僅在最高劑量 60 毫克/公斤。在二種最低劑量 10 及 30 毫克/公斤時，梨狀皮質之 III-IV 層中所觀察到的細胞總損失及組織瓦解與 pilo-DZP 老鼠及 pilo-試驗化合物老鼠中者相同且不容許於任何組別中任何計數。於梨狀皮質之 II 及 III-IV 層中，pilo-DZP 老鼠中所記錄之 TC60 處理降低的神經元損傷分別為 41 及 44%。相較於 pilo-DZP 老鼠，腹面鼻內皮質中之 III-IV 層中的神經保護係由投服 TC60 所誘發且達到 31%。鼻內皮質中，pilo-TC10 老鼠中之細胞損失與 pilo-DZP 老鼠之背側鼻內皮質之 III-IV 層(損傷 28%多)及腹面鼻內皮質之 III-IV(損傷 35%多)比較呈現輕微的惡化。於試驗化合物之其他劑量時，鼻內皮質中之細胞損失類似於 pilo-DZP 老鼠中所記錄者。

15 海馬中之苔狀纖維芽殖

所有於 pilo-DZP 及 pilo-TPM 組中呈現 SRS 的老鼠顯示類似鋸齒狀腦回內分子層中 Timm 染色的強度(2-4 級)。Timm 染色係在鋸齒狀腦回之上層及下層葉片上出現。上層葉片中 Timm 級數的平均值於 pilo-DZP 老鼠中(n=9)達 2.8 ± 0.8 ，於 pilo-TC10 老鼠中(n=7)達 1.5 ± 0.6 ，於 pilo-TC30 老鼠中(n=10)達 2.6 ± 1.0 ，及於 pilo-TC60 老鼠之整個組中(n=11)達 1.5 ± 0.7 。當根據 SRS 之潛伏期而將 60 毫克/公斤之 pilo-試驗化合物組細分時，具有早期 SRS 發生之子群顯示出 1.8 ± 0.6 (n = 6)之 Timm 級數且具有晚期發生或無

SRS 之老鼠子群具有 1.2 ± 0.6 ($n = 5$) 之 Timm 級數。pilo-DZP 中所記錄的值與 pilo-TC 10 ($p = 0.032$) 中及具有晚期之 pilo-TC60 ($p = 0.016$) 或無癲癇發作的值係統計上顯著地不同。

5 討論及結論

本研究之結果顯示用試驗化合物之 7-日處理於 SE 發動後 1 小時起始能夠保護某些腦部區，例如，於 CA1 及 CA3b 區之錐體細胞層，中央脊側丘腦，梨狀皮質之 II 及 IIMV 層及腹面鼻內皮質之 III-IV 層中免於神經元傷害，但
10 僅係在試驗化合物之最高劑量時，亦即，60 毫克/公斤。試驗化合物之後劑量亦能夠延遲 SRS 發生，至少於動物之子群中變成具有比其他組動物之平均延遲於 9-倍長的癲癇性，且一動物於 SE 後延遲 9 個月中不會變成癲癇性。

此等結果顯示一具有多數抗癲癇-市售藥物典型特性之
15 抗-發作特性的化合物亦能夠延遲癲癇產生，亦即，為抗癲癇產生者。本研究之數據亦顯示試驗化合物之處理，無論所用之劑量為何，可降低癲癇症之嚴重性，因為其降低階段 IV-V 癲癇發作的次數，以 TC60 處理觀察到主要係在第一週及 4 週整個期間發生。此外，於 TC10 組中，較不嚴重之階段 III 癲癇發作產生增加的轉變，其係比 pilo-DZP
20 組中之次數更多。

實例 2

本計劃的目的係繼續前文實例 1 中試驗化合物(TC)於顛頁癲癇之鋰-毛果芸香鹼(Li-pilo)模式中之潛能的神經保護

及抗癲癇產生特性研究的報導。該研究係接續實例 1 中所說明的第一個者，其中顯示 TC 能夠保護海馬，梨狀及腹面鼻內皮質之 CA1 及 CA3 區免於由 Li-Pilo 癲癇性重積狀態(SE)所誘發的神經元傷害。此等神經保護特性多數係發生在最高劑量 60 毫克/公斤下研究且處理能夠延遲 36%老鼠產生自發性癲癇發作(11 中之 4)。本研究中，吾人主張研究以 TC 之較高劑量處理神經元傷害及癲癇產生上的後果。

顫頁癲癇症之鋰-毛果芸香鹼模式

- 10 將老鼠中藉由伴隨著鋰之毛果芸香鹼(Li-Pilo)所誘發之癲癇模式複製多數人類顫葉癲癇之臨床及神經生理特性(特斯基等，1989；卡維海洛，1995)。於成年老鼠中，毛果芸香鹼之全身性給藥導致 SE，其可持續至多 24 小時。第一天的致死率達 30-50%。於存活的動物中，在海馬形成，梨狀及鼻內皮質，丘腦，扁桃腺狀複體，新腦皮質及物質黑質內之神經元傷害顯著。此急性癲癇發作期間接著為平均持續 14-25 天之“安靜”無-癲癇發作期，之後，所有的動物呈現每週通常 2 至 5 次頻率之自發性再發性痙攣癲癇發作(杜司基等，1989；卡維海洛，1995；杜比等，2001)。
- 15 目前的抗癲癇藥物不能預防癲癇產生且僅短暫地在於再發生癲癇發作上生效。
- 20

吾人之前文研究中，吾人研究於單一治療中所給定之 TC 增加的劑量潛能的神經保護及抗癲癇產生效應且與多數用於預防高死亡率所給定之吾等標準二氮平(DZP)處理比

較。此等數據顯示 SE 發動後 1 小時用 10, 30 或 60 毫克/公斤 TC 開始 7-天處理能夠保護某些腦部區域免於神經元傷害。該效應於 CA1 及 CA3b 區域之錐體細胞層，中央脊側丘腦，梨狀皮質之 II 及 III-IV 層及腹面鼻內皮質之 III-IV 層係統計上顯著，但僅係在 TC 之最高劑量，亦即，60 毫克/公斤時。再者，顯示的是 TC 之後劑量亦為唯一能夠延遲 SRS 發生者，至少於變成具有比其他組動物平均於 9-倍長延遲癲癇症之動物子群中，且一動物於 SE 後 9 個月之延遲中不會變成癲癇。

10 本研究中，不同的 TC 劑量，亦即，30, 60, 90 及 120 毫克/公斤之效應係用如前文研究中之相同設計來試驗。處理係在 SE 發動一小時後開始且將動物用相同劑量的藥物予以第二次注射。該早期的 SE 處理係接著 6 天的 TC 處理。該報導係關於四種不同的 TC 劑量在神經元傷害上之效應
15 係於海馬，海馬旁皮質，丘腦及扁桃腺中於 SE 後 14 天及在自發性癲癇性癲癇發作之潛伏期及頻率上評估。

動物

將詹維爾生殖中心(法國珍納-聖-塞爾)所提供之成年雄性史巴克-道利老鼠於控制，不擁擠的標準條件下於 20-22°C 下(循環光照/黑暗，早上 7 點至晚上 7 點開燈)圈養，
20 可隨意取用食物及水。所有的動物實驗係根據 1986 年 11 月 24 日歐洲交流協調會指令(86/609/EEC)及法國農業部(執照 67-97 號)之法規進行。

癲癇性重積狀態誘導，TC 處理及 SRS 之發生

所有的老鼠接受氯化鋰(3 毫當量/公斤，經由腹腔，美國密蘇里州聖路易市席格馬公司)且於 20 小時後，所有的動物亦接受甲基東莨菪素溴化物(1 毫克/公斤，s.c.，席格馬公司)其係給藥以限制痙攣劑之末端效應。SE 係在甲基-

5 東莨菪素後 30 分鐘藉著注射毛果芸香鹼氫氯化物(25 毫克/公斤，s.c.，席格馬公司)而誘導。增加 TC 劑量的效應係在 5 組老鼠中研究。動物於 SE 發動後 1 小時，經由腹腔接受 2.5 毫克/公斤 DZP，肌肉內注射，或 30，60，90 或 120 毫克/公斤 TC (TC30，TC60，TC90，TC120)。控制組接受載

10 體替代毛果芸香鹼及 TC。然後將 SE 存活的老鼠注射，DZP 組於第一次 TC 注射後於 10 小時用 1.25 毫克/公斤 DZP 進行第二次經由腹腔注射給或以相同之 TC 劑量於早晨且保持每日二次處理下用 TC 再處理 6 天，而 DZP 老鼠接受載體注射。

15 DZP 及 TC 之 4 劑量在癲癇產生上的效應係藉由每天 10 小時之每日動物視訊記錄調查。視訊記錄進行 4 週，其整個期間看到第一次癲癇發作產生以及癲癇發作的總次數。總計 8 週癲癇後，然後移去視訊記錄系統且將動物於其等被殺死之前再保留於吾人之動物設施中 4 個星期。視

20 訊記錄 5 個月後，將未出現癲癇發作的老鼠殺死。

細胞密度之定量

細胞密度之定量於 SE 後進行二次：第一組係在 SE 後 14 天研究且包括 7 隻 DZP，8 隻 TC30，11 隻 TC60，10 隻 TC90，8 隻 TC120 及 8 隻未進行 SE 之控制組老鼠。將

用於研究對 SRS 之潛伏期之第二組在第一次 SRS 後 8 週或當延遲中沒有看到 SRS 時第 5 個月殺死且其中包括 14 隻 DZP，8 隻 TC30，10 隻 TC60，11 隻 TC90，9 隻 TC120 老鼠。此時，研究癲癇產生之第二組動物中的神經元計數
 5 仍在進行中且長-期計數及關於研究這部份的數據將不包括於本報告中。

神經計數時，動物係用 1.8 克 / 公斤戊巴比妥 (Dolethal®，Vetoquinol，盧爾市，法國) 予以深層麻醉。然後將腦移除且冰凍。於切片機中連續切下 20 微米切片，於
 10 硫堇染色前予以風乾數日。細胞密度之定量係用 10 x 10 盒 1 厘米² 顯微柵條在冠狀切片上根據老鼠腦寰椎之趨實體性協調而進行(帕辛諾斯及華森，1986)。將計數之柵條放在感興趣的大腦結構界定區之孔洞上且用 200-或 400-倍顯微放大於每個單一腦結構所界定者上進行計數。細胞計數係
 15 藉由不了解動物處理之單一觀察者在各區三個相鄰切片之每邊上進行二次。將各腦結構中 12 個計數區中所獲得的細胞數予以平均。該步驟係用於將可因重複計算而導致細胞數超出估計之潛在錯誤降至最小。接觸柵條之下及右緣之神經元不予計數。計數僅涉及細胞體大於 10 微米之神經
 20 元。具有小細胞體之細胞被視為神經膠體細胞且不予計數。

數據分析

於神經元傷害及癲癇產生時，各組間的統計分析係藉助於單-向變化分析接著藉由後-霍丹納或費舍試驗使用統計

軟體而進行。

結果

鋰-毛果芸香鹼癲癇性重積狀態之行為特徵

將總數 143 隻重量 250-330 克之史巴克-道利老鼠進行
 5 由鋰-毛果芸香鹼(Li-lipo)所誘發的 SE。於該數目中 10 隻
 沒有發展 SE，而 133 隻老鼠發展出全部特徵的 Li-pilo
 SE。於 li-pilo-DZP 及 li-pilo-TC 組中二者之 SE 的行為特徵
 相同。毛果芸香鹼注射後 5 分鐘內，老鼠逐漸產生腹瀉，
 豎毛及其他擬副交感神經刺激的徵兆。於隨後的 15-20 分
 10 鐘期間，老鼠呈現出把頭上下快速擺動，扒抓，咀嚼及探
 究的行為。再發性癲癇發作係在投藥毛果芸香鹼後約 15-20
 分鐘開始。此等伴隨著頭及兩側前肢具有舉起及跌倒事件
 之癲癇發作，於毛果芸香鹼後約 35-40 分鐘進展成 SE，如
 前文中所說明者(特斯基等，1989，杜貝等，2001；安德雷
 15 等，2003)。未遭受 SE 且接受鋰及食鹽水之控制組包括 20
 隻老鼠。

於 SE 後 14 天時進行細胞計數之 57 隻動物組中，總數
 13 隻老鼠於 SE 後第一個 48 小時期間死亡。死亡率依處理
 而不同：DZP 老鼠 36% (4/11)，TC30 老鼠 33% (4/12)，
 20 TC60 老鼠 8% (1/12)，TC90 老鼠 0% (0/10)及 TC120 老鼠
 33% (4/12)死亡。於 DZP 組中，4 隻老鼠於 SE 後首先的
 24 小時死亡。TC30 老鼠組中，一隻老鼠於 SE 之日死亡，
 一隻老鼠於 SE 後 24 小時內且二隻老鼠於 48 小時內死亡。
 於 TC60 老鼠組中，一隻老鼠於 SE 後 48 小時死亡。於

TC120 老鼠組中，SE 後二隻老鼠於 24 小時內且二隻於 48 小時內死亡。

進行對 SRS 潛伏期及晚期細胞計數研究之 55 隻老鼠組中，SE 後第一個 48 小時內之死亡率如下：DZP 老鼠 7% (1/14)，TC30 老鼠 27% (3/11)，TC60 老鼠 0% (0/10)，TC90 老鼠 0% (0/11)及 TC120 老鼠 0% (0/9)死亡。DZP 老鼠組中，一隻老鼠於 SE 後第一個 24 小時期間死亡。於 TC30 組中，二隻老鼠於 SE 後 24 小時內且一隻於 48 小時內死亡。

10 早期中海馬及皮質中之細胞密度(SE 後 14 天)

與控制組老鼠比較，DZP 老鼠中海馬 CA1 區中之神經元數量大幅降低(於錐體細胞層中下降 85%)，而 CA3 區之損傷量不太大(損失 40%)(表 1 及圖 1)。於鋸齒狀腦回中，DZP 老鼠於肺門中遭受大量神經元損失(65%)，而粒細胞層並未顯示顯明的傷害。相同的傷害分佈可在腹面海馬中觀察到，但並未在該區中進行細胞計數。

於丘腦中，中央脊側中心及外側，背外側內側背及於中心內側核之神經元損失中等(分別下降 18，24，40 及 34%)，於中央脊側核中較顯著(49%)且主要係在背外側核之腹外側部份(90%)(下表 1 及圖 2)。

	控制組 (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 區	74.8 ± 1.5	10.9 ± 1.9**	39.3 ± 4.4*** ^o	31.9 ± 4.4*** ^o	47.7 ± 6.6* ^o	65.5 ± 2.9 ^o

CA3 區	52.1 ± 2.7	31.3 ± 2.9**	35.7 ± 1.8**	31.6 ± 1.4**	35.1 ± 2.9**	39.8 ± 1.5**
肺門	96.4 ± 3.5	33.5 ± 3.0**	33.0 ± 3.2**	32.8 ± 3.3**	37.5 ± 3.1**	44.8 ± 2.9**
丘腦						
中央脊側 內側	31.9 ± 0.9	16.4 ± 1.9**	11.5 ± 2.5**	19.1 ± 2.6**	23.1 ± 2.8°	28.6 ± 0.8°
中央脊側 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°
中央脊側 外側	25.9 ± 0.6	19.6 ± 0.8**	20.5 ± 0.7**	18.9 ± 0.6**	22 ± 1.2°	24.4 ± 1.1°
背外側， 內側，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*
背外側， 腹面外側	97.8 ± 1.7	9.7 ± 2.5**	8.8 ± 2.8**	56.7 ± 8.7**	71.8 ± 5.3°*	79.0 ± 4.7°
中心內側	113.1 ± 5.9	74.2 ± 7.4*	75.6 ± 7.7*	83.7 ± 9.6*	88.2 ± 8.5	108.2 ± 6.6°
扁桃腺						
底及側邊	46.7 ± 1.2	12.8 ± 5.3**	27.3 ± 4.9***	27.8 ± 4.3***	40.7 ± 1.6°	42.7 ± 1.3°
內側，背側 前	84.3 ± 3.8	40.0 ± 2.5**	46.8 ± 5.0**	58.4 ± 2.8***	72.2 ± 5.7°	80.2 ± 2.6°
內側，腹面 後	35.1 ± 1.7	21.8 ± 2.4**	22.3 ± 1.8**	26.2 ± 2.9**	30.7 ± 3.7°	34.7 ± 1.7°
腦皮質						
梨狀，第 II 層，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°
梨狀，第 II 層，腹面	33.0 ± 0.8	3.6 ± 0.7**	7.2 ± 3.8**	13.7 ± 4.2**	18.4 ± 4.0°	30.5 ± 1.3°
梨狀， 第 III 層	19.2 ± 0.7	1.2 ± 1.2**	1.8 ± 1.8**	6.4 ± 2.3**	9 ± 3.0°	15 ± 2.2°
鼻內，第 II 層，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°
鼻內，第 II 層，腹面	26.8 ± 0.7	21.7 ± 1.3**	22.7 ± 0.9	23.3 ± 0.8**	25.4 ± 1.1°	25.1 ± 0.6
鼻內，III/IV 層，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°
鼻內，III/IV 層，腹面	28.7 ± 1.7	7.7 ± 2.3**	13.2 ± 1.9**	16.5 ± 2.2**	23.7 ± 1.5°	24.5 ± 1.4°

表 1：TC 增加的劑量於進行 li-pilo SE 老鼠之海馬，丘

腦，扁桃腺及腦皮質中之神經元細胞體數目上的效應

* $p < 0.05$ ，** $p < 0.01$ ，pilo-TC 與控制鋰-食鹽水老鼠間之統計上的顯著差異性

$^{\circ}p < 0.05$ ， $^{\circ\circ}p < 0.01$ ，pilo-TC 與 pilo-DZP 老鼠間之統計

5 上的顯著差異性

扁桃腺中，內側腹面後核中的神經元損失為中等(38%)且底及側邊及內側背前核中較顯著(分別下降 73 及 53%)。中心核中沒有神經元損傷(表 1 及圖 3)。

10 相較於控制經食鹽水-處理之老鼠，DZP 老鼠中，梨狀皮質中神經損失幾乎全部在第 III 層(94%)中，其不再真的可看得到且於背側及腹面第 II 層中分別達到 66 及 89%。於背側鼻內皮質中，第 II 及 III-IV 層中遭受輕微損傷(分別為 18 及 24%)且腹面第 II 及 III/IV 層中，傷害分別達 22 及 74%(表 1 及圖 4)。

15 與 DZP 老鼠 CA1 錐體細胞層中者比較，經 TC-處理之動物的海馬中，細胞損失明顯減低。於 TC30，60 或 90 老鼠中該減低顯著(細胞損失 36-47%)且於 TC120 組中甚為明顯(細胞損失 12%)。所有 TC 劑量之差異性係統計上的顯著(表 1 及圖 1)。於 CA3 錐體層中，由 RWJ 所誘發者僅於 120 毫克/公斤劑量時有輕微的神經保護傾向，
20 但 DZP 組之差異性不明顯。相較於 DZP 動物(下降 66%)，鋸齒狀腦回之肺門中的細胞損失類似於 DZP 及 TC30，60 及 90 組中者(下降 61-66%)且於 TC120 組中有稍微降低損傷的傾向(神經元損失 53%)。此等差異性沒有

任何一個為統計上顯著。

於丘腦中，神經損失係類似於 DZP 及 TC30 及 TC60 老鼠中者。TC 於 60 毫克/公斤劑量時於背外側內側背側核中及於 90 及 120 毫克/公斤二種最高劑量時於所有的丘腦核中具明顯地保護性，雖然於 TC90 老鼠中之中央脊側中心及中心內側核中差異性並未達到顯著。與 DZP 老鼠相比較，TC120 老鼠中之神經元脫落相當減低。除了背外側內側背側核中者(表 1 及圖 2)外，係在由 4 至 19% 範圍且神經元的數目不再與控制動物者明顯不同。於扁桃腺中，TC 於 30 毫克/公斤時於底及側邊核中及於 60 毫克劑量時亦於內側背側前核中具明顯保護性。於最高劑量時，TC 極具神經保護性；神經元的數目不再與控制量者明顯不同且於所有扁桃腺核中之控制程度達到 86-99%(表 1 及圖 3)。

與 30 毫克/公斤劑量之 DZP 處理比較，於腦皮質中，用 TC 處理之任何皮質區皆無明顯保護性。於 60 毫克/公斤時，TC 僅於背側梨狀皮質第 II 層中明顯降低神經損失(與 DZP 組中之 66%比較下降 25%)。相較於 DZP 處理，於 90 及 120 毫克/公斤時，TC 明顯保護所有三個區域之梨狀皮質且於 TC 最高劑量 120 毫克/公斤時，神經元的密度達到控制量之 78-96%，甚至於梨狀皮質中，背側 II 層及 III 層其中 DZP 組中之神經元總數幾乎全部耗盡。於背側及腹面鼻內質之所有層中，TC 之二種最低劑量，30 及 60 毫克/公斤不能提供任何神經元保護。TC 之 90-

毫克/公斤劑量明顯保護腹面鼻內皮質之 II 及 III/IV 層(相較於 DZP 組中之 19 及 73%，背側部份之 II 及 II/IV 層中及腹面部份之 II 層中仍保持 4 及 17%傷害)。於 TC 最高劑量 120 毫克/公斤時，鼻內皮質所有的部份，背側及腹面二者皆受到保護且此等區域中之神經元數不再明顯與控制組中之程度不同(相較於 DZP 組中之 27-81%，85-94%神經元存活)。

再發性癲癇發作之潛伏期及頻率

DZP 組(14 隻老鼠)中自發性癲癇發作之潛伏期達到 15.5 ± 2.3 天之平均值且類似於 TC30 組(8 隻老鼠)中者(11.6 ± 2.5 天)。於 TC 之較高濃度時，可將動物分成具有短及長潛伏期的子群。短潛伏期被認為是 SE 後任何期間比 40 天短者。某些老鼠呈現第一次自發性癲癇發作的潛伏期類似於 DZP 及 TC 組中所記錄者，但老鼠的數目呈現出該短潛伏期值隨 TC 濃度增加而逐漸減少。因此，於 30 毫克/公斤時，70%的老鼠(7/10)具有短的癲癇發作潛伏期，而於 90 及 120 毫克/公斤時，該百分比分別達到 36% (4/11)及 11%(1/9)(下表 2 及圖 5)。

處理	動物數	第一次自發性癲癇發作之潛伏期(天)	
DZP	14	15.5 ± 2.34	
pilo-TC30	8	11.6 ± 2.5	
pilo-TC60	10	2 組	
		短潛伏期(n=7)	長潛伏期(n=3)
		17.4 ± 5.4	76.7 ± 15.6***°

pilo-TC90	11	3 組		
		短潛伏期(n=4)	長潛伏期 (n=2)	非癲癇性 (n=5)
		14.8 ± 5.7	52.0 ± 1.0*°	150***°
pilo-TC120	9	3 組		
		短潛伏期(n=1)	長潛伏期 (n=4)	非癲癇性 (n=4)
		13.0	84.5 ± 16.7***°	150***°

表 2：TC 增加的劑量於自發性癲癇發作之潛伏期上的效應

**p < 0.01, *p<0.05, 與 pilo-DZP 組比較之統計上的顯著差異性

5 °°p < 0.01, °p<0.05, 與短潛伏期組比較之統計上的顯著差異性

於 TC60, 90 及 120 組中, 具有長潛伏期老鼠的平均值類似且係在由 52 至 85 天範圍。最後, 於 TC 之二種最高劑量時, 吾人能夠確認於 SE-後 150 天期間沒有發展任何癲癇發作之老鼠的百分比。非-癲癇老鼠於 TC 二種劑量時百分比達 45%。

記錄四週期間自發性發作之頻率類似。其顯示 DZP 及 TC30 組中有較高的傾向, 而於 TC60, 90 及 120 組中較低(圖 6)。此等差異性在各個週頻率之程度上並未達到統計上的顯著性但於四週期間癲癇發作之總數或平均數達到顯著性。

癲癇發作的次數亦根據第一次自發性癲癇發作之潛伏期期間而標繪。於四週之記錄中，具有短潛伏期的動物較具有長潛伏期期間的老鼠顯示出有超過 2-3 倍癲癇發作的傾向。由於 ANOVA 並未顯示出任何顯著性而沒有統計分析可以進行，極可能係由於 TC120 動物之短潛伏期子群中僅有一隻動物之故(圖 7)。然而，當將所有的潛伏期值對癲癇發作次數標繪時，明顯的反向關係導致具有 -0.4 相關係數之直線(圖 8)。

吾等需要再進行二個測定以結束該分析。第一個是動物上的細胞計數，其係視訊所記錄者及接著於第一次自發性癲癇發作後 2 個月或於第 5 個月後殺死時進行以研究腦傷害之程度及位置及自發性癲癇發作之發生及/或潛伏期間之潛在關係。第二個係於追蹤一-年發生癲癇發作之老鼠中進行以研究吾人聲稱”非癲癇性”的動物是否於 5 個月時仍保持無癲癇發作。

本研究的結果顯示用 TC 處理於 Li-pilo 誘導之 SE 發動後 1 小時起動時於海馬之 CA1 錐體細胞層，及於腹面及背側梨狀及鼻內皮質中之所有層中具有神經保護的特性。TC 亦保護丘腦及扁桃腺核。然而，除了於 CA1，一個丘腦及一個扁桃腺核中外，TC 於 30 毫克/公斤劑量時沒有保護性。於 60 毫克/公斤之劑量時，背側梨狀皮質的 II 層及第二個扁桃腺核亦被保護。於 90 及 120 毫克/公斤時，藥物保護多數所研究之大腦區，除了海馬 CA3 及鉅齒狀腦回之肺門外。後二個結構加上背外側腹面背側丘腦核為唯一的

區域其中神經元的數目保持與控制組之 120 毫克/公斤 TC 劑量明顯不同。此等數據清楚地顯示 TC 之極有效的神經保護特性。分子似乎可預防屬於由 Li-pilo 所誘發之緣癲癇回路亦即海馬，丘腦，扁桃腺及副海馬皮質中多數區域中之神經元死亡。此等為吾人業已於經鋰-pilo-處理之老鼠的癲癇產生過程中偵測到 MRI 信號(羅氏等，2002a)之所有區域。沒有被 TC 有效保護之僅有的二個區域為 CA3 錐體細胞層及鉅齒狀腦回之肺門。後區域遭受快速及大量細胞損傷(安德雷等，2001；羅氏等，2002a)且無任一前文研究中所使用之神經保護能夠保護該結構。根據早期研究確認該結構業已確認為鋰-pilo 模式中癲癇發作之起始及維持的重要區(杜貝等，2000)。顯然的，本案數據顯示癲癇產生可以預防，即便是該區中之傷害仍相當明顯。視訊所記錄之動物組上的長-期細胞計數能夠顯示是否該區中傷害的程度對該模式中之癲癇產生係重要的。

於 30 毫克/公斤劑量時處理不會影響第一次自發性癲癇發作的潛伏期。於 3 倍高量時，動物發展癲癇症之百分比係如 DZP 或 TC30 老鼠般的快速，但該子群之相關重要性與所用之 TC 劑量相反。另一子群，於藥物之二種最高劑量時於 4-6 倍長之潛伏期後發展恆定數(每組 2-4 隻動物)之癲癇，4-5 隻老鼠於 5 個月後並未變成癲癇性，亦即，短潛伏期期間之於 10 倍及長潛伏期者之 2-3 倍。該癲癇產生之可能與動物中基礎皮質中所保護的神經元數有關。該假設係根據吾人注意到 SE 後 14 天進行短期神經元計數之

動物基礎皮質中神經保護程度中某些多相性的事實。然而，此時，吾人尚未於用於研究癲癇產生之動物中進行神經元計數且因此，基礎皮質中存活的神經元數與癲癇產生之速率或甚至產生間之潛在關係上沒有獲得結論。

- 5 本研究中所獲得的數據與前文吾人團隊所報導之 TC
60 毫克/公斤劑量保護海馬及基礎皮質免於神經元傷害及
延遲再發性癲癇發作產生的研究一致(參見前文報導，
2002)。彼等確信基礎皮質之保護可為影響癲癇之鋰-毛果
10 芸香鹼模式中誘發疾病改善之主要因素。基礎皮質作為癲
癇過程之啟動劑的主要任務係如前藉由吾等團隊於鋰-毛果
芸香鹼模式中展示(安德雷等，2003；羅氏等，2002a，
b)。

結論，該研究的結果顯示試驗化合物(TC)具有極顯著的抗-癲癇產生效應。

15 實例 2 的參考

- 安德雷 V，馬雷斯考 C，涅里格 A，費里滋 JM (2001)
有助於顛頁癲癇之鋰-毛果芸香鹼模式中發展自發性再
發性癲癇發作之海馬卡巴產生之(GABAergic)系統的替
代法。

20 海馬 11：452-468。

- 安德雷 V，里哥洛特 MA，康寧 E，費蘭敦 A，涅里格
A (2003) 普利加巴林(pregabalin)於老鼠之鋰-毛果芸香
鹼模式中長期處理保護基礎皮質及延遲自發性癲癇發作
發生。癲癇症 44：893-903。

- 卡維海洛 EA (1995) 癲癇之毛果芸香鹼模式，義大利神經科學期刊 16：33-37。
- 杜貝 C，馬雷斯考 C，涅里格 A (2000) 代謝性及神經病理性探討鋰-毛果芸香鹼所誘發的癲癇產生期間發生
5 於未成年及成年老鼠腦中成形變化之了解。癲癇症 41 (附錄 6)：S36-S43。
- 杜貝 C，波耶特 S，馬雷斯考 C，涅里格 A (2001) 於
10 未成年及成年老鼠中長期癲癇之鋰-毛果芸香鹼模式中神經元損失與發作中葡萄糖代謝之間的關係。實驗神經學 167：227-241。
- 帕辛諾斯 G，華森 C (1986) 趨實體性協調中之老鼠腦，第 2 版，學院報刊，聖地牙哥。
- 羅氏 C，雷洛伊 C，涅里格 A，納默 IJ (2002a) 磁性共振影像對成年老鼠顳頁癲癇之鋰-毛果芸香鹼模式研究的貢獻。癲癇症 43：325-335。
15
- 羅氏 C，雷洛伊 C，涅里格 A，納默 IJ (2002b) 於 P21-天-大的老鼠中，皮質傷害於發展顳頁癲癇的預言值：使用鋰-毛果芸香鹼模式之 MRI 探討。癲癇症 43：1129-1136。
- 特斯基 L，艾肯諾米多 C，特斯基 WA，波多洛脫 ZA，卡維海洛 EA (1989)回顧：擬副交感神經機制及癲癇產生。由毛果芸香鹼所誘發的癲癇發作：棘手癲癇症之新穎實驗模式。突觸 3：154-171。
20

實例 3

PC12 細胞血清斷除模式

血清斷除係為細胞毒性之環境激發免疫反應，其導致培育的細胞系以及各種組織器官之主要細胞，包括神經細胞中之細胞死亡。特別是，嗜鉻母細胞(PC) 12 細胞業已
 5 廣泛使用為用於許多神經變性及細胞死亡相關的疾病之試管內神經元細胞模式(慕里爾等，粒線體之游離鈣含量(羅得-2 螢光)及鹽基鞘胺醇-依賴之細胞死亡時，神經元分化之 PC12 細胞中之超結構替代法，綜合神經學期刊，2000，426(2)，297-315；德米查基等，類鴉片短暫性避免
 10 細胞凋亡機制之活性作用接著短期間之血清斷除，神經化學期刊，2000，74(3)，960-969；卡里雷等，神經生長因子及血清斷除後降低的細胞凋亡；四價甘油醛-3-磷酸酯去氫酶轉化成二聚體，分子藥理學，2000，57(1)，2-12)。將 PC12 細胞培育於添加 10%經熱-不活化的馬血清及 5%
 15 胎牛血清(FBS)之無菌介質(RPMI 1640)中。培養介質亦含有青黴素-鏈黴素-新黴素抗體(分別為 50.微米.克，50.微米.克，100 微米.克)。介質係每隔一天更換且將細胞變成對數相接近細胞流動。

將控制細胞培育於一般介質中無需任何處理。將式 7
 20 或式 8 之對映體(10.mu.M)充分混合於介質中且然後施用於細胞。於 2 天之分析時，式 7 或式 8 (10.mu.M)之對映體僅在血清斷除時施用一次到細胞上。於 7 天之分析時，將式 7 或式 8 (10.mu.M)之對映體在血清斷除時且之後每 48 小時當細胞用新鮮的新不含-血清介質更換時施用於細胞上。

於血清斷除組中，細胞係培育於不含另外之式 7 或式 8 的對映體之不含-血清的介質中。細胞存活係藉由 3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-5-(3-羧基--甲氧基苯基)-2-(4-磺基苯基)-2H-四唑鎢內鹽(MTS)分析於血清斷除後 2 或 7 天測定。

- 5 於實驗終了時，將細胞用新鮮的介質清洗且用 MTS 溶液於含 5% CO₂ 經濕化之 37°C 培育器中培育 1.5 小時。於培育期後，將細胞立即用 Softmax 程式(分子裝置)分析。MTS 分析為用於測定給定實驗裝置中存活之細胞數的量熱法。該分析係根據四唑鎢鹽，MTS 之細胞轉化成可溶解於
- 10 組織培養介質中之甲嘧且直接在 490 毫微米下於 96-孔洞分析板中測定。吸光度係直接與培養基中存活細胞數成比例。控制細胞中之任意吸光度讀數係以 100% 存活率表示。

- 表 3 所列舉之數據顯示口服給藥以式 7 及式 8 之對映體於 PC12 細胞血清斷除模式中細胞存活率上的效應。

表 3 (細胞存活率%)

	2 天 存活率(%)	7 天 存活率(%)
控制組	100	100
不含-血清	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

實例 4**短暫腦性局部缺血老鼠模式**

式 7 之對映體(試驗化合物)係在短暫腦性局部缺血中度腦動脈閉塞(MCAO)老鼠模式(如 H.長沢及 K.小暮，中風，1989，20，1037；及，E. 席隆佳，P.R.溫斯汀，S.卡爾森及 R.坎明，中風，1989，20，84)中使用雄性維斯塔老鼠以 10 及 100 毫克/公斤(靜脈注射) MK 801 (代啞西平(Dizocilpine)順式丁烯二酸鹽；CAS 註冊號碼 77086-22-7，商業上可得到之神經保護化合物))用作為正性控制(3 毫克/公斤，經由腹腔)而調查。

將老鼠(n= 12)隨機編置於四實驗組之一組中且予以麻醉。將從內頸動脈之動脈，前腦動脈及後腦動脈流入中腦動脈的血用該步驟予以阻斷。阻斷一小時後，將動物用載體(於一小時期間靜脈注射給藥)處理 1 小時，控制組(單一劑量經由腹腔於一小時期間之起始時給藥)及二劑量式 7 之對映體(於一小時期間靜脈注射給藥)。阻斷二小時後進行再灌注。

將動物殺死且製備每個腦之 20 毫米-厚的冠狀切片。將來自於前至枕骨皮質中之四十個切片(亦即每個 800nM)中之一個用於定量大腦病灶的程度。玻片係使用經甲苯基紫染色的切片(根據尼塞爾步驟)製備且在光顯微鏡下檢視。

根據出現形態改變的細胞來測定個別老鼠之冠狀切片中之區域性局部缺血的表面積。將神經元損傷或梗塞的面

積予以測量且然後相加。將每個動物之皮質及紋狀體體積計算出來(局部缺血的總表面積乘以 0.8 毫米(厚度))。

MCAO 模式分析

將隨機分置到四個實驗組之各動物的平均體積(.+-.S.E.M.)用單-向 ANOVA(單向 ANOVA 為比較 3 種或多種不相配之組別之統計方法)，接著藉由霍丹納 t-試驗(二方法係併入美國加州卡拉巴沙市，巴林博公司之 Statview 512+軟體)進行比較。

如下表 4 中所示者，當 p 值 < 0.05 時與載體組(¹p < 0.01；²p < 0.05)比較，其結果被認為係統計性顯著。

處理	N	平均梗塞體積(毫米 ³) ± S.E.M.		
		皮質體積	紋狀體	總計
載體， 10 毫升/公斤	12	275.5 ± 27.1	79.4 ± 3.6	354.9 ± 29.9
MK801@ 3 毫克/公斤	12	95.8 ± 24.5 ¹	56.1 ± 5.3 ²	151.9 ± 28.7 ¹
式 7 @ 10 毫克/公斤	12	201.0 ± 23.9	75.9 ± 2.6	276.9 ± 25.4
式 8 @ 100 毫克/公斤	12	98.8 ± 29.5 ¹	63.0 ± 5.9 ²	161.9 ± 34.3 ¹

引證的參考

本文中所引證之所有參考的全部內容係合併於本文中作為參考且用於相同程度之所有目的中如同各個公開案或專利案或專利申請案已特別且個別地指明全部併入本文作為參考而用於所有的目的上。

本文中參考之討論僅係為了概述其等之作者所做的主張且不對任何先前技術所設立的參考作承諾。申請者保留質疑所引證之參考的正確性及適當性的權力。

本發明並非用來限制本申請案中所說明之特定的具體例，其係作為本發明個別觀點之單一闡明。精於此方面技藝之人士應顯而易知本發明可在不背離其精神或範圍內逕做許多修正及變化。精於此方面技藝之人士應可從上述說明及附帶的圖形顯而易知本發明之範圍內功能上相等的方法及裝置，以及本文中所列舉者。此等修正及變化係涵蓋於後附申請專利範圍之範疇內。本發明只被後附申請專利範圍的條款，以及此等申請專利範圍所賦予之相等內容之全部範圍所限制。

【圖式簡單說明】

圖 1：係顯示 TC 增加的劑量於 li-pilo SE 後第 14 天所計算之海馬不同區域中許多神經元數目上的效應圖。數值係以神經元細胞體於各有意義區域中之數目 $\pm$ S.E.M.表示。

圖 2：係顯示 TC 增加的劑量於 li-pilo SE 後第 14 天所計算之扁桃腺不同核中許多神經元數目上的效應圖。數值係以神經元細胞體於各有意義區域中之數目 $\pm$ S.E.M.表示。

圖 3：係顯示 TC 增加的劑量於 li-pilo SE 後第 14 天所計算之丘腦不同核中許多神經元上的效應圖。數值係以神經元細胞體於各有意義區域中之數目 $\pm$ S.E.M.表示。

圖 4：係顯示 TC 增加的劑量於 li-pilo SE 後第 14 天所計算皮質不同核中許多神經元上的效應圖。數值係以神經元細胞體於各有意義區域中之數目 $\pm$ S.E.M.表示。

圖 5：係顯示 TC 增加的劑量於第一次自發性癲癇發作之潛伏期上的效應圖。數值係以每組之平均潛伏天數 $\pm$ S.E.M.表示。

圖 6：係顯示 TC 增加的劑量於四週期間於視訊記錄之自發性癲癇發作頻率上的效應圖。數值係以癲癇發作之平均數 $\pm$ S.E.M.表示。總數係代表 4 週期間視訊記錄所觀察到之癲癇發作的總數且平均係代表每週癲癇發作的平均數。平方總和試驗顯示出於癲癇發作的總數($p=0.045$)及每週癲癇發作平均數($p=0.045$)上之處理效應。

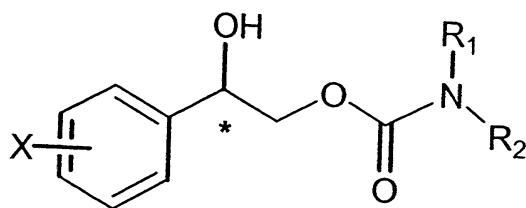
圖 7：係顯示根據潛伏期至第一次自然癲癇發作所標繪之視訊記錄四週期間之癲癇發作總數(SL = 短潛伏期，LL= 長潛伏期)。數值係以各子群癲癇發作的平均數 $\pm$ S.E.M.表示。平方總和試驗並未顯示任何明顯的處理效應。

圖 8：係顯示潛伏期至第一次自然癲癇發作間之相關性及於接著四週期間所觀察到之癲癇發作的總數。

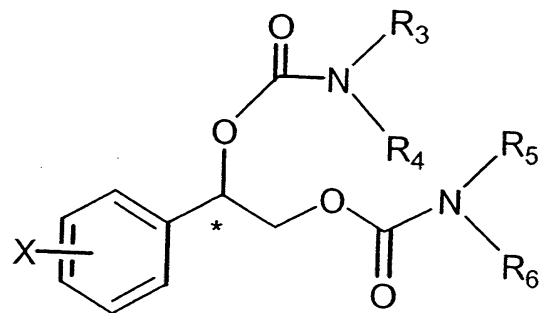
五、中文發明摘要：

本發明係關於提供保護神經的方法，其包括將治療有效量之選自包括式(I)及式(II)之化合物，或其製藥上可接受的鹽或酯之基團給藥至需要其之病患：

5



式(I)



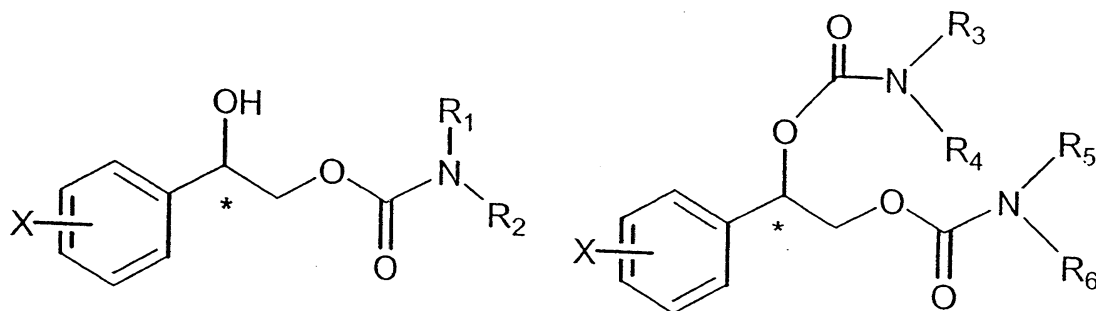
式(II)

其中，苯基係在 X 上被一個至五個選自包括氟、氯、溴及碘之基團的鹵素原子所取代；且， R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 及 R_6 係獨立選自包括氫及 C_1 - C_4 烷基之基團；其中， C_1 - C_4 烷基係任意的被苯基(其中，苯基係任意的被獨立選自包括鹵素、 C_1 - C_4 烷基、 C_1 - C_4 烷氧基、胺基、硝基及氰基之基團的取代基所取代)所取代。

20

六、英文發明摘要：

This invention is directed to methods for providing neuroprotection comprising administering to a subject in need thereof a therapeutically effective amount of a compound selected from the group consisting of Formula (I) and Formula (II), or a pharmaceutically acceptable salt or ester thereof :



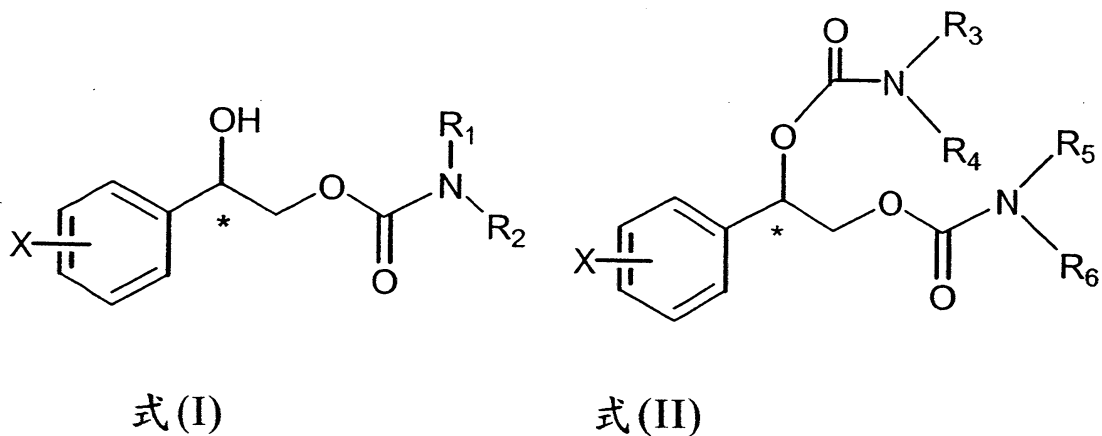
Formula (I)

Formula (II)

wherein phenyl is substituted at X with one to five halogen atoms selected from the group consisting of fluorine, chlorine, bromine and iodine; and, R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 and R_6 are independently selected from the group consisting of hydrogen and C_1 - C_4 alkyl; wherein C_1 - C_4 alkyl is optionally substituted with phenyl (wherein phenyl is optionally substituted with substituents independently selected from the group consisting of halogen, C_1 - C_4 alkyl, C_1 - C_4 alkoxy, amino, nitro and cyano).

十、申請專利範圍：

1. 一種提供神經保護的方法，其包括將治療有效量之選自包括式(I)及式(II)之基團的化合物，或其製藥上可接受的鹽或酯，給藥至需要用神經保護性藥物(NPD)處理之病患：



其中，

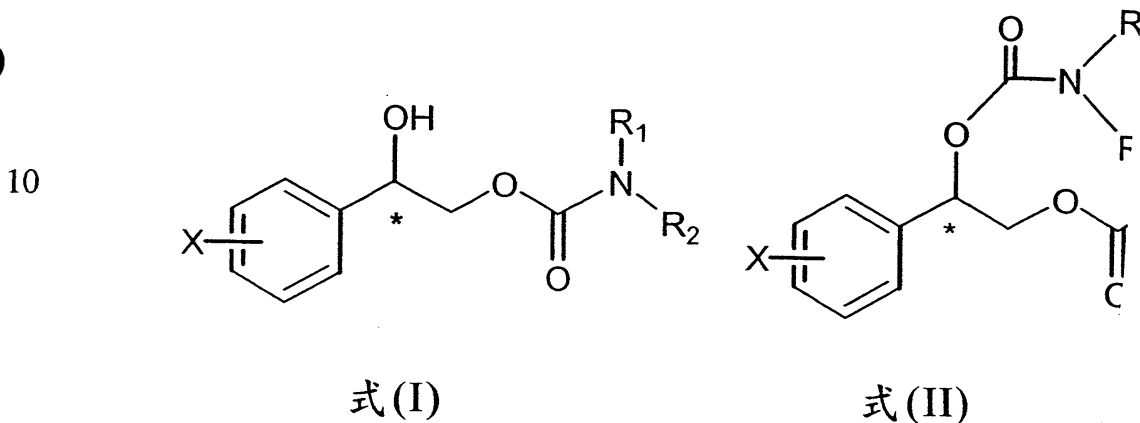
苯基係在 X 上被一個至五個選自包括氟，氯，溴及碘之基團的鹵素原子所取代；且，

R_1 ， R_2 ， R_3 ， R_4 ， R_5 及 R_6 係獨立選自包括氫及 C_1 - C_4 烷基之基團；其中， C_1 - C_4 烷基係任意的被苯基(其中，苯基係任意的被獨立選自包括鹵素， C_1 - C_4 烷基， C_1 - C_4 烷氧基，胺基，硝基及氰基之基團的取代基所取代)所取代。

2. 如申請專利範圍第 1 項之方法，其中，X 為氯。
3. 如申請專利範圍第 1 項之方法，其中，X 係在苯環之鄰位上被取代。
4. 如申請專利範圍第 1 項之方法，其中， R_1 ， R_2 ， R_3 ，

R_4 ， R_5 及 R_6 係選自氫。

5. 一種提供神經保護之方法，其包括將治療有效量之選自包括式(I)及式(II)之基團的對映體，或其製藥上可接受的鹽或酯，或對映混合物(其中，選自包括式(I)及式(II)基團之對映體中之一種佔優勢)給藥至需要用神經保護性藥物(NPD)處理之病患：



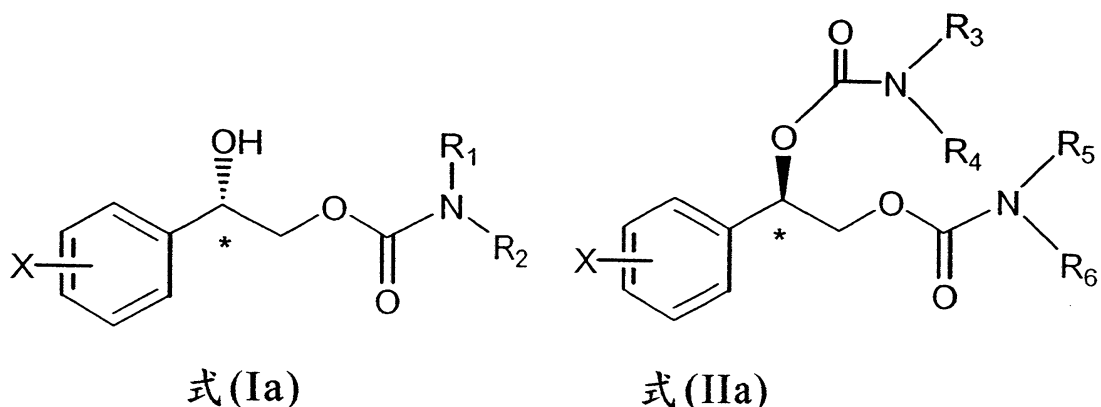
其中，

- 15 苯基係在 X 上被一個至五個選自包括氟，氯，溴及碘之基團的鹵素原子所取代；且，

R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 及 R_6 係獨立選自包括氫及 C_1 - C_4 烷基之基團；其中， C_1 - C_4 烷基係任意的被苯基(其中，苯基係任意的被獨立選自包括鹵素， C_1 - C_4 烷基， C_1 - C_4 烷氧基，胺基，硝基及氰基之基團的取代基所取代)所取代。

6. 如申請專利範圍第 5 項之方法，其中，X 為氯。
7. 如申請專利範圍第 5 項之方法，其中，X 係在苯環之鄰位上被取代。

8. 如申請專利範圍第 5 項之方法，其中， R_1 ， R_2 ， R_3 ， R_4 ， R_5 及 R_6 係選自氫。
9. 如申請專利範圍第 5 項之方法，其中，選自包括式(I)及式(II)基團之對映體中之一種係顯著至約 90%或更大的程度。
10. 如申請專利範圍第 5 項之方法，其中，選自包括式(I)及式(II)基團之對映體中之一種係顯著至約 98%或更大的程度。
11. 如申請專利範圍第 5 項之方法，其中，選自包括式(I)及式(II)基團之對映體係選自包括式(Ia)及式(IIa)基團之對映體：

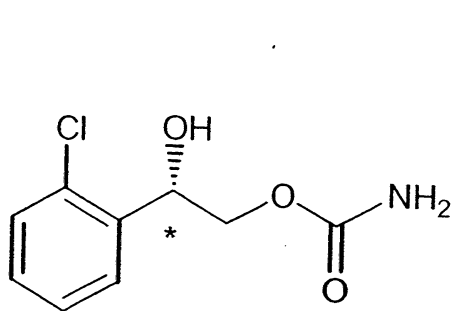


其中，

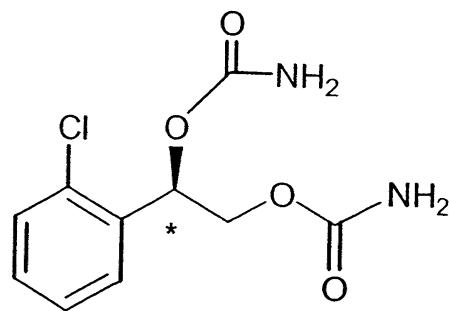
苯基係在 X 上被一個至五個選自包括氟，氯，溴及碘之基團的鹵素原子所取代；且，

R_1 ， R_2 ， R_3 ， R_4 ， R_5 及 R_6 係獨立選自包括氫及 C_1 - C_4 烷基之基團；其中， C_1 - C_4 烷基係任意的被苯基(其中，苯基係任意的被獨立選自包括鹵素， C_1 - C_4 烷基， C_1 - C_4 烷氧基，胺基，硝基及氰基之基團的取代基所取代)所取代。

12. 如申請專利範圍第 11 項之方法，其中，X 為氯。
13. 如申請專利範圍第 11 項之方法，其中，X 係在苯環之鄰位上被取代。
14. 如申請專利範圍第 11 項之方法，其中， R_1 ， R_2 ， R_3 ， R_4 ， R_5 及 R_6 係選自氫。
15. 如申請專利範圍第 11 項之方法，其中，選自包括式(Ia)及式(IIa)基團中之一種對映體係顯著至約 90%或更大的程度。
16. 如申請專利範圍第 11 項之方法，其中，選自包括式(Ia)及式(IIa)基團中之一種對映體係顯著至約 98%或更大的程度。
17. 如申請專利範圍第 5 項之方法，其中，選自包括式(I)及式(II)基團之對映體係為選自包括式(Ib)及式(IIb)之基團的對映體：



式(Ib)



式(IIb)

18. 如申請專利範圍第 17 項之方法，其中，選自包括式(Ib)及式(IIb)基團之一種對映體係顯著至約 90%或更大的程度。
19. 如申請專利範圍第 17 項之方法，其中，選自包括式(Ib)

及式(IIb)基團之一種對映體係顯著至約 98%或更大的程度。

20. 如申請專利範圍第 1 或 5 項中之方法，其中，使病患成為需要神經保護之可能的神經傷害原因係選自包括下列之群組：外傷性腦部損傷(TBI)，包括鈍性及穿透性頭部外傷之對 CNS 或 PNS 之任何類型的損傷或外傷；CNS 感染；缺氧症；中風(CVAs)；影響 CNS 之自體免疫疾病，例如，狼瘡；出生損傷，例如，出生前後的窒息；心臟停滯；治療性或診斷性血管手術過程，例如，頸動脈之動脈內膜切除術或腦血管 X 光顯影；脊椎索外傷；低血壓；由栓塞，高或低灌注對 CNS 之損傷；代謝性疾病，例如，糖尿病，組織缺氧；已知對 NPDs 反應之疾病之已知的發生誘因；CNS 之腫瘤；腦腫瘤，例如，神經膠母細胞瘤；CNS 中或周圍流血或出血，例如，大腦內流血或硬膜下血腫；腦水腫；熱病性痙攣；發熱；濫用藥物，外傷，中風，局部缺血，亨丁頓氏舞蹈病，阿茲海默氏症，帕金森氏症，傳染性蛋白質病變化性-埃二氏病(prion disease variant Creutzfeld -Jakob disease)，肌萎縮性側索硬化(ALS)，糖尿病性神經病變，橄欖體橋腦小腦萎縮，癲癇症，發作，低血糖，手術或其他參與，視網膜局部缺血(糖尿病性或者其他)，青光眼，視網膜變性，多發性硬化，毒性及缺血性視神經病變，黃斑部退化，CNS 或 PNS 曝露於毒性或有毒試劑；藥物中毒

或戒斷，例如，古柯鹼或酒精；神經變性疾病或相關疾病之家族史，癲癇性重積狀態史；病患需要用神經保護藥物(NPD)治療之代用品標記或生物標記的證據，例如顯示結構或官能性病理學之 MRI 掃描，神經元降解產物之血清濃度的提升，睫狀體神經營養因子(CNTF)提升的程度。

21. 如申請專利範圍第 20 項之方法，其中，使病患成為需要神經保護之誘病因素係選自包括下列之群組：外傷性腦部損傷(TBI)，鈍性，閉鎖性及穿透性頭部外傷；手術，中風或其他腦-血管意外(CVA)；癲癇性重積狀態及 CNS 之腫瘤。

22. 如申請專利範圍第 21 項之方法，其中，該誘病因素係包括鈍性，閉鎖性或穿透性頭部外傷及手術參與之外傷性腦部損傷(TBI)。

23. 如申請專利範圍第 21 項之方法，其中，該誘病因素為中風或其他腦-血管意外(CVA)。

24. 如申請專利範圍第 23 項之方法，其中，該誘病因素為神經變性疾病。

25. 如申請專利範圍第 1 或 5 項中之方法，其中，該化合物(或對映體)或其製藥上可接受的鹽或酯係與一種或多種其他化合物或治療劑合併給藥而投藥。

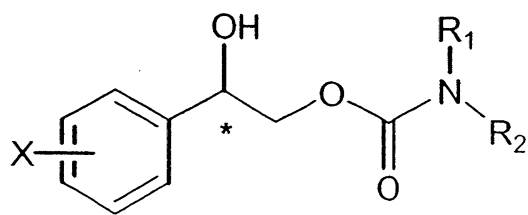
26. 如申請專利範圍第 25 項之方法，其中，該一種或多種其他化合物或治療劑係選自包括具有一種或多種下列特性之化合物群組：抗氧化劑活性；NMDA 受體拮抗

性，內因性 GABA 抑制作用之增進；NO 合成酶抑制劑活性；鐵結合能力，例如，鐵螯合劑；鈣結合能力，例如，鈣(II)螯合劑；鋅結合能力，例如，鋅(II)螯合劑；阻斷鈉或鈣離子通道之能力；開放鉀或氯離子通道之能力；以便將神經保護效應提供至病患。

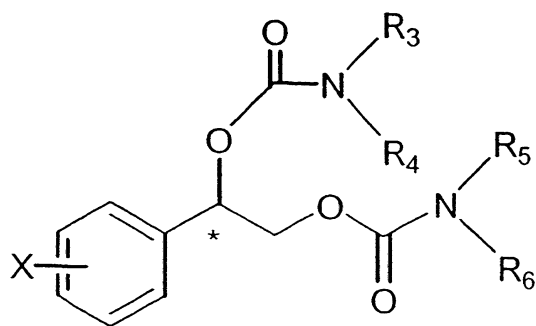
27. 如申請專利範圍第 26 項之方法，其中，該一種或多種化合物可另外選自包括抗-癲癇藥物(AEDs)之群組。

28. 如申請專利範圍第 27 項之方法，其中，該抗-癲癇藥物(AED)係選自包括下列的群組：胺甲鹽氮革，克洛巴沙(clobazam)，氯硝西泮，乙琥胺，費巴美(felbamate)，加巴潘亭(gabapentin)，拉莫提珍(lamotigine)，里維提拉西坦(levetiracetam)，氧卡巴氮雜革(oxcarbazepine)，苯巴比妥，雙苯丙脲，普利加巴林(pregabalin)，去氧苯比妥，雷替加品(retigabine)，他嵐潘尼(talampanel)，提加品(tiagabine)，托吡拉酸鹽，丙戊酸鹽，維加巴新(vigabatrin)，桑尼沙米(zonisamide)，苯並二氮雜革，巴比妥鹽或鎮靜性安眠藥。

29. 一種提供神經保護之製藥組合物，其包括製藥上有效量之對映體，或其製藥上可接受的鹽或酯，其係選自包括式(I)及式(II)之群組或對映體混合物，其中選自包括式(I)及式(II)群組中之一種對映體係佔優勢：



式(I)



式(II)

其中，

苯基係在 X 上被一個至五個選自包括氟，氯，溴及碘之基團的鹵素原子所取代；且，

10 R_1 ， R_2 ， R_3 ， R_4 ， R_5 及 R_6 係獨立選自包括氫及 C_1 - C_4 烷基之基團；其中， C_1 - C_4 烷基係任意的被苯基(其中，苯基係任意的被獨立選自包括鹵素， C_1 - C_4 烷基， C_1 - C_4 烷氧基，胺基，硝基及氰基之基團的取代基所取代)所取代及製藥上可接受的載體或賦形劑。

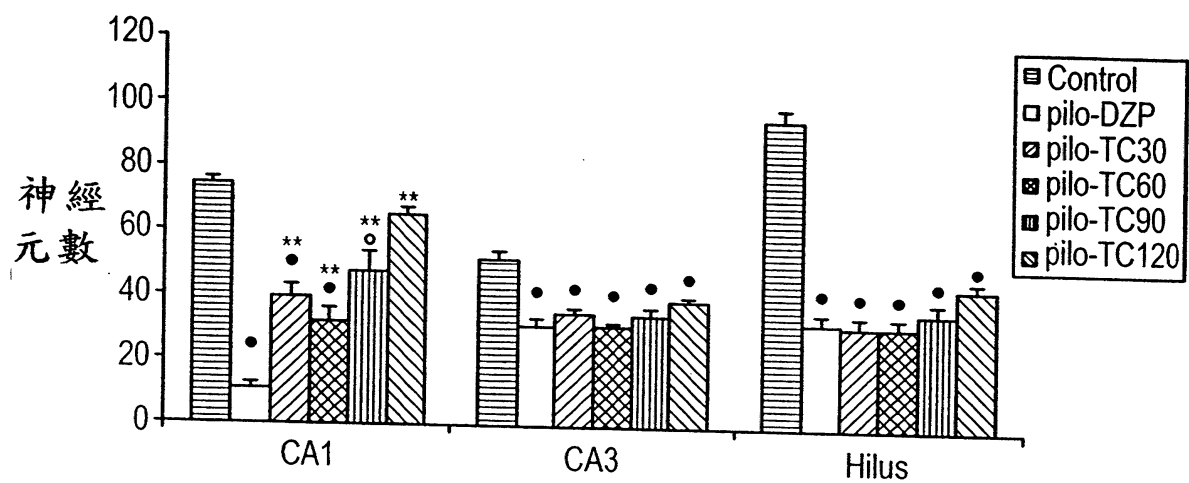
15 30. 一種套組，其包括如申請專利範圍第 29 項中之製藥組成物的治療有效劑量型式於適當的包裝或容器中連同其等適當用法之資料或說明以對於需要其之病患提供神經保護。

20 31. 如申請專利範圍第 1 或 5 項中之方法，其中，治療有效量係由約 0.01 毫克/公斤/劑量至約 100 毫克/公斤/劑量。

32. 如申請專利範圍第 1 或 5 項中之方法，其中，該病患於該給藥之時尚未發展出神經損傷或障礙之臨床徵兆或徵候群。

圖 1

海馬



° $p < 0.05$, • $p < 0.01$, pilo-TC 及控制組鋰-食鹽水老鼠間之統計顯著差異性

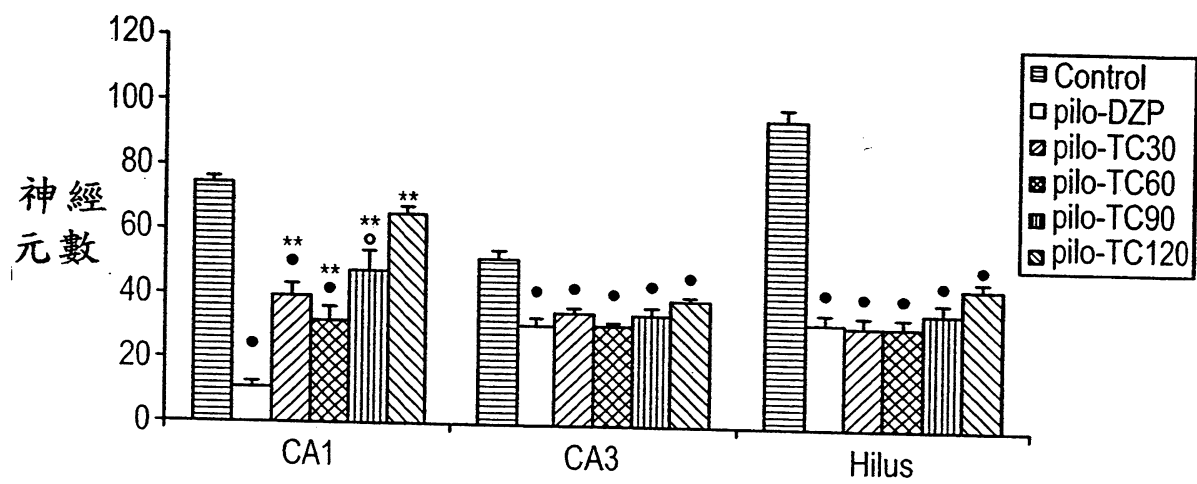
* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, pilo-TC 及 pilo-DZP 老鼠間之統計顯著差異性

33. 如申請專利範圍第 1 或 5 項中之方法，其中，該病患於該給藥之時係處於發展出神經損傷或障礙之風險上。

5 34. 如申請專利範圍第 1 或 5 項中之方法，其中，該病患於該給藥之時業已發展出神經變性疾病或神經損傷之臨床證據。

圖 1

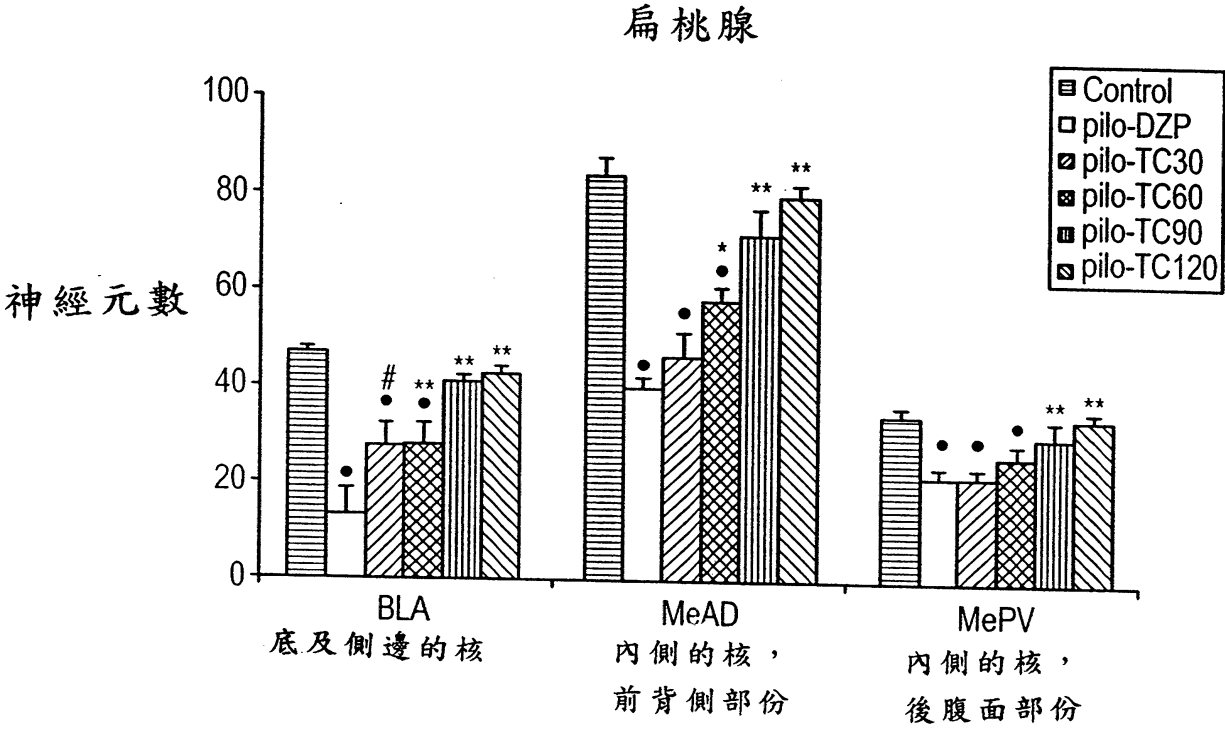
海馬



°p<0.05, •p < 0.01, pilo-TC 及控制組鋰-食鹽水老鼠間之統計顯著差異性

*p<0.05, **p < 0.01, pilo-TC 及 pilo-DZP 老鼠間之統計顯著差異性

圖 2



[°]p<0.05, [•]p < 0.01, pilo-TC 及控制組鋰-食鹽水老鼠間之統計顯著差異性

*p<0.05, **p < 0.01, pilo-TC 及 pilo-DZP 老鼠間之統計顯著差異性

圖 3

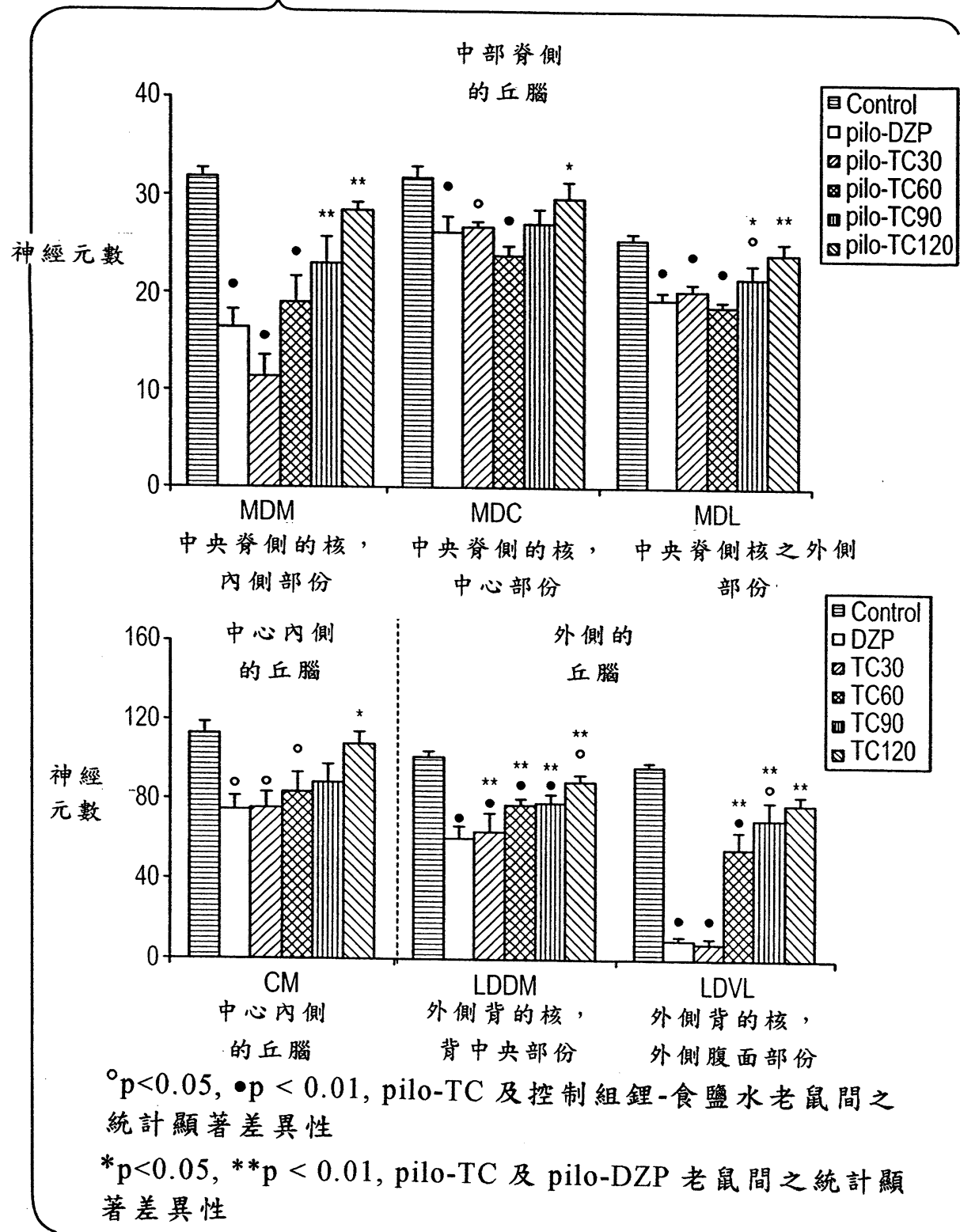
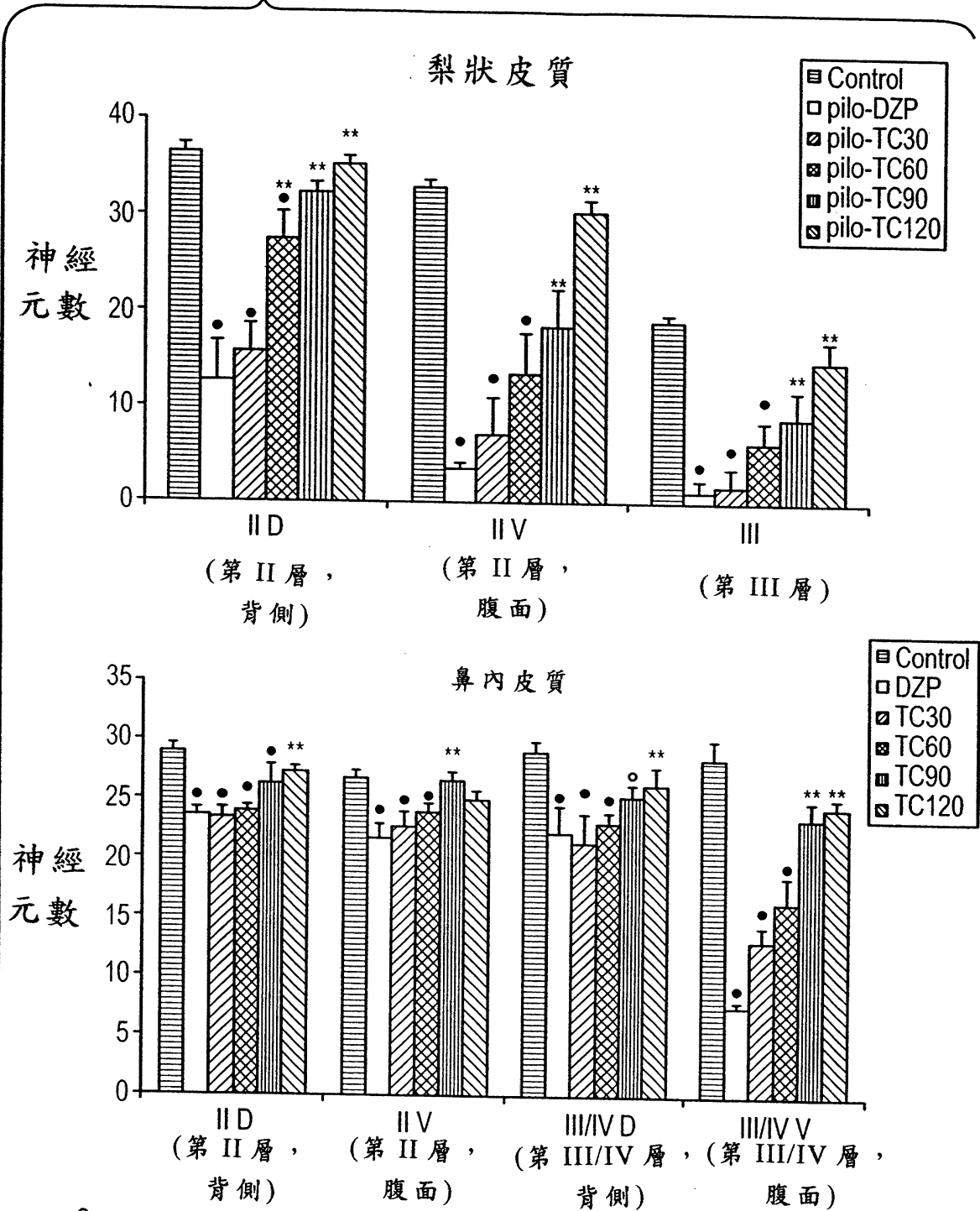


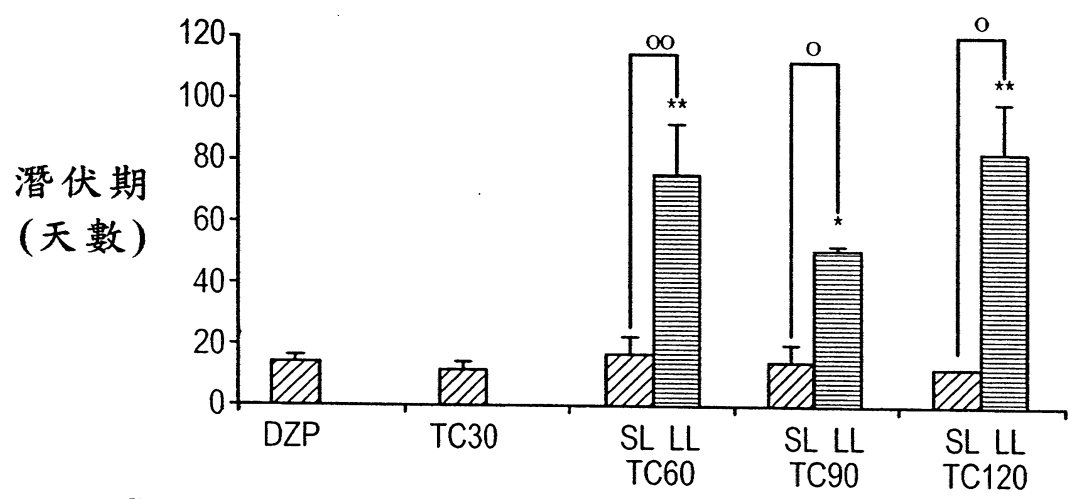
圖 4



°p<0.05, •p<0.01, pilo-TC 及控制組鋰-食鹽水老鼠間之統計顯著差異性

#p<0.05, **p<0.01, pilo-TC 及 pilo-DZP 老鼠間之統計顯著差異性

圖 5



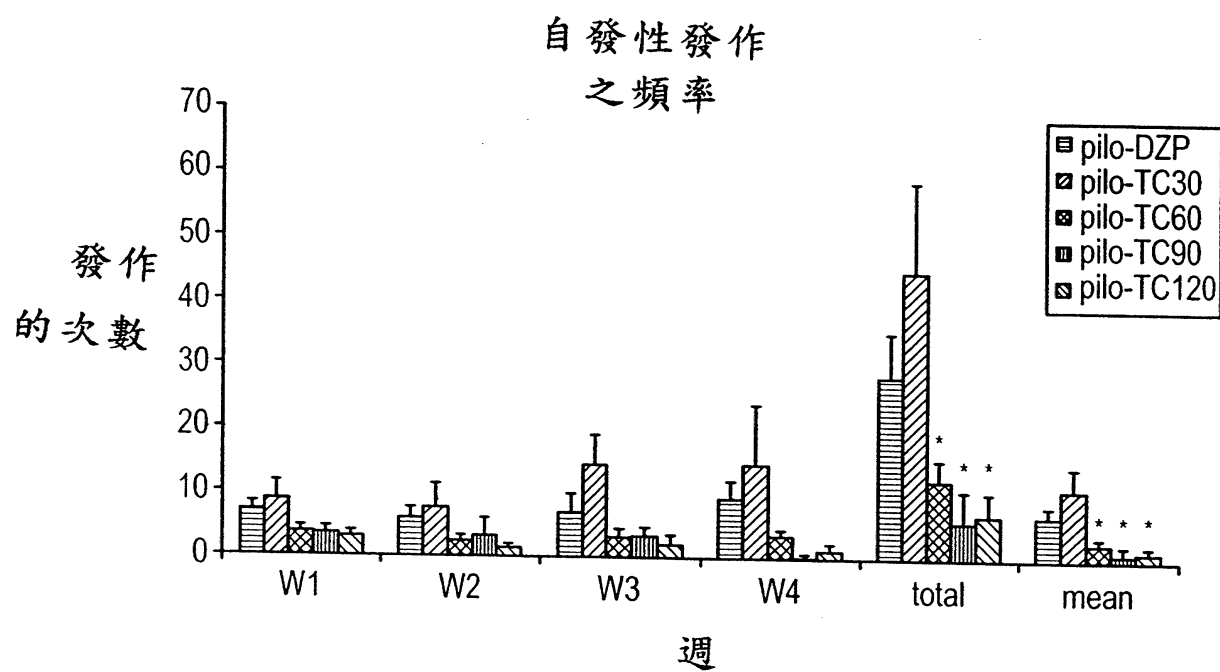
SL：短潛伏期

LL：長潛伏期

**p<0.01, *p < 0.05，與 pilo-DZP 組比較之統計顯著差異性

°°p<0.01, °p < 0.05，與 SL 組比較之統計顯著差異性

圖 6



* $p < 0.05$, 與 pilo-TC30 組(後-霍丹納試驗)比較之統計顯著差異性

圖 7

發作潛伏期及次數間之關係

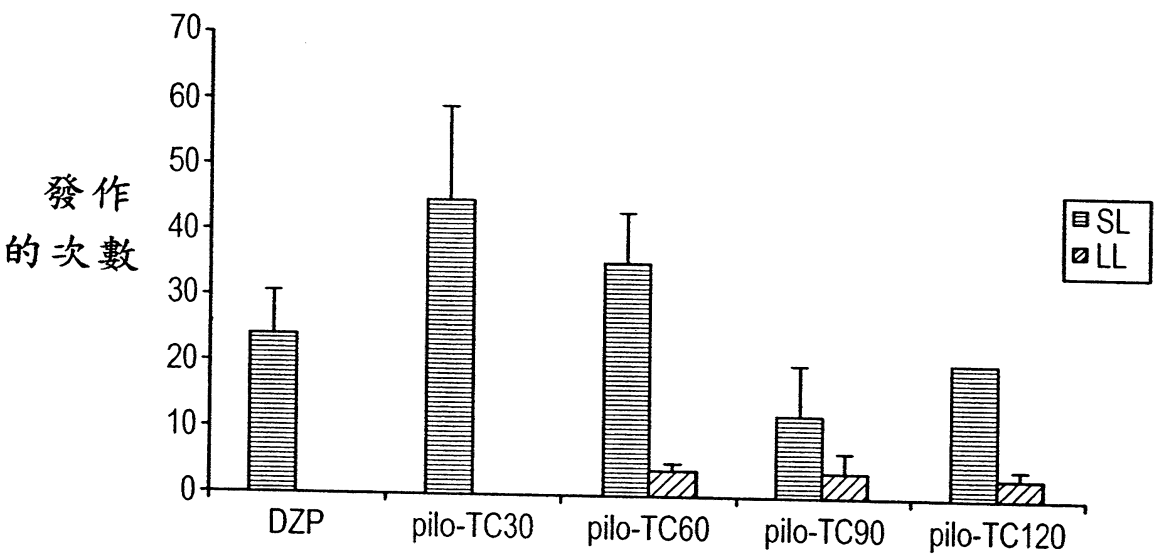
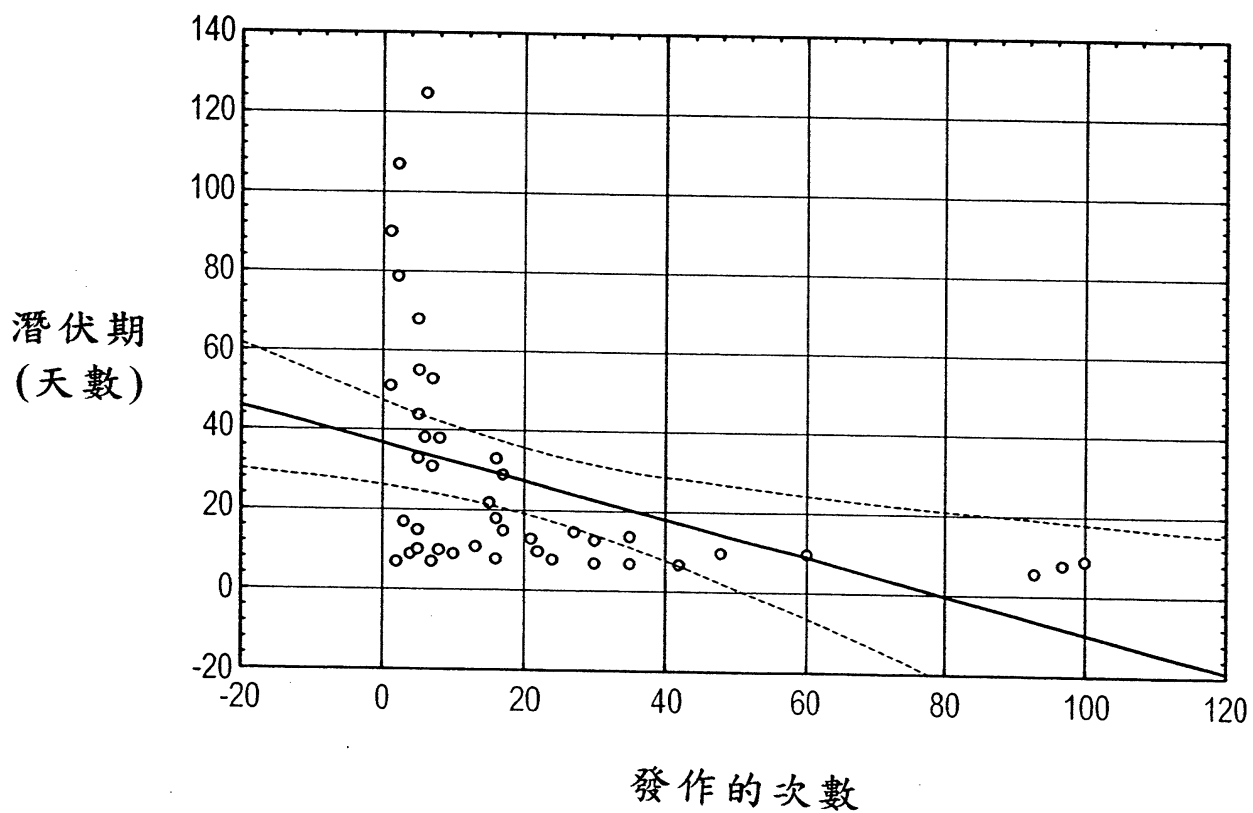


圖 8

發作潛伏期及次數間之關係

皮爾森之相關係數 $R = -0.4$ ($p=0.007$)

七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 (1) 圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

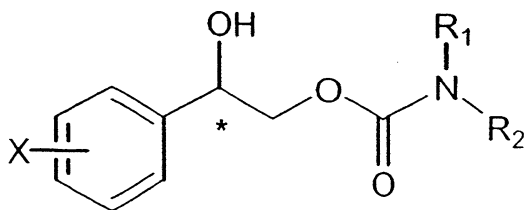
無

5

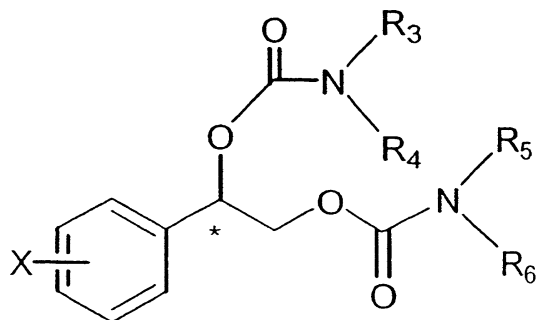
10

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

15



式(I)



式(II)