Espacenet

Bibliographic data: JP2009515895 (A) — 2009-04-16

NOVEL COLORED SOLUTIONS OF INJECTABLE DRUGS AND THEIR PHARMACEUTICALLY ACCEPTABLE SALTS

Inventor(s):

Applicant(s):

Classification: **- international:** ***A61K47/22; A61K9/08***
- cooperative: **A61K31/05**; **A61K31/135**; **A61K31/225**; **A61K31/40**; **A61K31/4164**; **A61K31/47**; **A61K31/4709**; **A61K31/4748**; **A61K31/5415**; **A61K31/55**; **A61K31/5513**; **A61K31/5517**; **A61K31/58**; **A61K31/661**; **A61K47/22**; **A61K9/0019**

Application number: JP20080540243 20061113 Global Dossier

Priority number(s): US20050736579P 20051114 ; US20050736372P 20051114 ; US20050735370P 20051114 ; US20060761283P 20060123 ; US20050736373P 20051114 ; US20050736577P 20051114 ; US20060761274P 20060123 ; US20060761282P 20060123 ; US20060761277P 20060123 ; US20050736578P 20051114 ; US20050736573P 20051114 ; US20050736574P 20051114 ; US20050736575P 20051114 ; WO2006US43963 20061113 ; US20060761276P 20060123 ; US20050736468P 20051114 ; US20050736576P 20051114 ; US20050736464P 20051114 ; US20050736374P 20051114

Also published as: AU2006315610 (A1) CA2635496 (A1) EP1951248 (A2) EP1951248 (A4) US2009156562 (A1) more

Abstract not available for JP2009515895 (A)
Abstract of corresponding document: WO2007059019 (A2)

The invention is directed to pharmaceutical compositions comprising colored solutions, colored emulsions, or colored powders of injectable pharmaceuticals wherein said pharmaceuticals are selected from the group consisting of muscle relaxants, hypnotics, induction agents, and anticholinergics. The formulations of the present invention may all be colored using fluorescein. Different colors may be achieved by either varying the concentration of fluorescein, or by combining fluorescein with another dye. The

invention is also directed to methods involving the use of said pharmaceutical compositions.

Bibliographic data

Title:	No title available
Pub/Pat no:	JP2009515895A
Pub/Issue Date:	2009-04-16
Inventor(s):	
Applicant(s):	
Classification:	A61K47/22AI; A61K9/08AI
Application number:	JP20080540243 2006-11-13
Priority number:	US20050736579P 2005-11-14; US20050736372P 2005-11-14; US20050735370P 2005-11-14; US20060761283P 2006-01-23; US20050736373P 2005-11-14; US20050736577P 2005-11-14; US20060761274P 2006-01-23; US20060761282P 2006-01-23; US20060761277P 2006-01-23; US20050736578P 2005-11-14; US20050736573P 2005-11-14; US20050736574P 2005-11-14; US20050736575P 2005-11-14; WO2006US43963 2006-11-13; US20060761276P 2006-01-23; US20050736468P 2005-11-14; US20050736576P 2005-11-14; US20050736464P 2005-11-14; US20050736374P 2005-11-14;

Abstract of JP2009515895A

(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2009-515895
(P2009-515895A)
(43)公表日　平成21年4月16日(2009.4.16)

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード（参考）
A61K 47/22	(2006.01)	A61K	47/22	4C076
A61K 9/08	(2006.01)	A61K	9/08	

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 74 頁）

(21)出願番号	特願2008-540243 (P2008-540243)
(86)(22)出願日	平成18年11月13日 (2006.11.13)
(85)翻訳文提出日	平成20年6月25日 (2008.6.25)
(86)国際出願番号	PCT/US2006/043963
(87)国際公開番号	WO2007/059019
(87)国際公開日	平成19年5月24日 (2007.5.24)
(31)優先権主張番号	60/736,578
(32)優先日	平成17年11月14日 (2005.11.14)
(33)優先権主張国	米国 (US)
(31)優先権主張番号	60/736,577
(32)優先日	平成17年11月14日 (2005.11.14)
(33)優先権主張国	米国 (US)
(31)優先権主張番号	60/736,579
(32)優先日	平成17年11月14日 (2005.11.14)
(33)優先権主張国	米国 (US)

(71)出願人　508138900
ウインチ　ピーター　ディー.
アメリカ合衆国　オハイオ州　ニュー　アルバニー　プレモ　リセス　４０８１
(74)代理人　100102978
弁理士　清水　初志
(74)代理人　100119507
弁理士　刑部　俊
(74)代理人　100128048
弁理士　新見　浩一
(74)代理人　100129506
弁理士　小林　智彦
(74)代理人　100130845
弁理士　渡邊　伸一

最終頁に続く

(54)【発明の名称】注射用薬物および薬学的に許容されるその塩の着色溶液

(57)【要約】
本発明は、筋弛緩剤、催眠剤、導入剤、および抗コリン作用剤からなる群より選択される注射用薬剤の着色された溶液、着色された乳濁液、または着色された粉末を含む薬学的組成物に関する。本発明の製剤は、いずれも、フルオレセインを使用して着色することができる。フルオレセインの濃度を変えること、またはフルオレセインを別の色素と併せることのいずれかによって、様々な色を達成することができる。本発明はまた、該薬学的組成物の使用を含む方法に関する。

【特許請求の範囲】
【請求項1】
色がフルオレセインを含む色素に由来する、着色された注射用薬剤。
【請求項2】
色が、フルオレセインおよびメチレンブルーを含む色素に由来する、請求項1記載の着色された注射用薬剤。
【請求項3】
色が、フルオレセインおよびインジゴカルミンを含む色素に由来する、請求項1記載の着色された注射用薬剤。
【請求項4】
色が、黄色、オレンジ色、明るいオレンジ色および緑色からなる群より選択される、請求項1記載の着色された注射用薬剤。
【請求項5】
色が緑色である、請求項2記載の着色された注射用薬剤。
【請求項6】
色が緑色である、請求項3記載の着色された注射用薬剤。
【請求項7】
薬剤が筋弛緩剤であり、色が、7mg/mL～250mg/mLの濃度のフルオレセインを含む色素に由来し、かつ明るいオレンジ色である、請求項1記載の着色された注射用薬剤。
【請求項8】
色が、7mg/mL～100mg/mLの濃度のフルオレセインを含む色素に由来し、かつ明るいオレンジ色である、請求項7記載の着色された注射用筋弛緩剤。
【請求項9】
薬剤が催眠剤であり、色が、1mg/mL～10mg/mLの濃度のフルオレセインを含む色素に由来し、かつオレンジ色である、請求項1記載の着色された注射用薬剤。
【請求項10】
色が、1.5mg/mL～2.5mg/mLの濃度のフルオレセインを含む色素に由来し、かつオレンジ色である、請求項9記載の着色された注射用催眠剤。
【請求項11】
薬剤が導入剤であり、色が、0.001mg/mL～2.5mg/mLの濃度のフルオレセインを含む色素に由来し、かつ黄色である、請求項1記載の着色された注射用薬剤。
【請求項12】
色が、0.05mg/mL～1.0mg/mLの濃度のフルオレセインを含む色素に由来し、かつ黄色である、請求項11記載の着色された注射用導入剤。
【請求項13】
薬剤が抗コリン作用剤であり、色が、0.001mg/mL～0.1mg/mLの濃度のフルオレセインおよび0.001mg/mL～0.05mg/mLの濃度のメチレンブルーを含む色素に由来し、かつ緑色である、請求項1記載の着色された注射用薬剤。
【請求項14】
色が、0.002mg/mL～0.02mg/mLの濃度のフルオレセインおよび0.002mg/mL～0.02mg/mLの濃度のメチレンブルーを含む色素に由来し、かつ緑色である、請求項13記載の着色された注射用抗コリン作用剤。
【請求項15】
薬剤が抗コリン作用剤であり、色が、0.001mg/mL～0.4mg/mLの濃度のフルオレセインおよび0.001mg/mL～0.05mg/mLの濃度のインジゴカルミンを含む色素に由来し、かつ緑色である、請求項1記載の着色された注射用薬剤。
【請求項16】
色が、0.002mg/mL～0.2mg/mLの濃度のフルオレセインおよび0.001mg/mL～0.03mg/mLの濃度のインジゴカルミンを含む色素に由来し、かつ緑色である、請求項15記載の着色され

た注射用抗コリン作用剤。
【請求項17】
色分けされた注射用薬剤を調製する方法であって、フルオレセインの濃度を変えることによって様々な色が作製される方法。
【請求項18】
フルオレセインの濃度を変えることによって黄色、オレンジ色および明るいオレンジ色が作製される、請求項17記載の方法。
【請求項19】
薬剤がベシル酸アトラクリウムである、請求項1記載の薬学的組成物。
【請求項20】
色が明るいオレンジ色である、請求項19記載の薬学的溶液。
【請求項21】
溶液の色がフルオレセインに由来する、請求項20記載の薬学的溶液。
【請求項22】
溶液の色がフルオレセインに由来し、かつ該溶液が水溶液である、請求項20記載の薬学的溶液。
【請求項23】
医用製剤として使用するための、請求項22記載の薬学的溶液。
【請求項24】
水、0.1mg/mL～250mg/mLの範囲のベシル酸アトラクリウムおよび7～250mg/mLの範囲のフルオレセインを含む、請求項19記載の薬学的溶液。
【請求項25】
1mg/mL～50mg/mLの範囲のベシル酸アトラクリウム、および7～100mg/mLの範囲のフルオレセインを含む、請求項24記載の薬学的溶液。
【請求項26】
10mg/mLの濃度のベシル酸アトラクリウムおよび10mg/mLの濃度のフルオレセインを含む、請求項24記載の薬学的溶液。
【請求項27】
下記からなる群より選択される溶液を含む、請求項19記載の薬学的溶液：
1mLあたりベシル酸アトラクリウム(10mg)およびフルオレセイン(10mg)を含有する、ベンゼンスルホン酸によってpHを3.5に調整した無菌水溶液；ならびに
1mLあたりベシル酸アトラクリウム(10mg)、ベンジルアルコール(10mg)、およびフルオレセイン(10mg)を含有する、ベンゼンスルホン酸によってpHを3.5に調整した無菌水溶液。
【請求項28】
筋弛緩応答を誘発するのに十分である、着色されたベシル酸アトラクリウム溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において筋弛緩応答を誘発する方法。
【請求項29】
溶液が水溶液であり、色が明るいオレンジ色であり、明るいオレンジ色がフルオレセインに由来する、請求項28記載の方法。
【請求項30】
薬剤がロクロニウムである、請求項1記載の薬学的組成物。
【請求項31】
色が明るいオレンジ色である、請求項30記載の薬学的組成物。
【請求項32】
溶液の色がフルオレセインに由来する、請求項31記載の薬学的組成物。
【請求項33】
溶液の色がフルオレセインに由来し、該溶液が水溶液である、請求項31記載の薬学的組成物。
【請求項34】

医用製剤として使用するための、請求項33記載の薬学的組成物。
【請求項35】
水、0.01mg/mL～100mg/mLの範囲の臭化ロクロニウム、および7～250mg/mLの範囲のフルオレセインを含む、請求項30記載の薬学的組成物。
【請求項36】
0.5mg/mL～10mg/mLの範囲の臭化ロクロニウムおよび7～100mg/mLの範囲のフルオレセインを含む、請求項35記載の薬学的溶液。
【請求項37】
1mg/mLの濃度の臭化ロクロニウムおよび10mg/mLの濃度のフルオレセインを含む、請求項35記載の薬学的溶液。
【請求項38】
下記からなる群より選択される、請求項30記載の薬学的組成物：
1mLあたり臭化ロクロニウム(10mg)、酢酸ナトリウム三水和物(2mg)、塩化ナトリウム(3.3mg)、およびフルオレセイン(50mg)を含有する、酢酸によってpHを4.0に調整した無菌水溶液；
1mLあたり臭化ロクロニウム(10mg)、酢酸ナトリウム三水和物(2mg)、塩化ナトリウム(3.3mg)およびフルオレセイン(15mg)を含有する、酢酸によってpHを4.0に調整した無菌水溶液；ならびに
1mLあたり臭化ロクロニウム(10mg)、酢酸ナトリウム三水和物(2mg)、塩化ナトリウム(3.3mg)、およびフルオレセイン(7mg)を含有する、酢酸によってpHを4.0に調整した無菌水溶液。
【請求項39】
筋弛緩応答を誘発するのに十分である、着色された臭化ロクロニウム溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において筋弛緩応答を誘発する方法。
【請求項40】
溶液が水溶液であり、色が明るいオレンジ色であり、明るいオレンジ色がフルオレセインに由来する、請求項39記載の方法。
【請求項41】
薬剤がベクロニウムである、請求項1記載の薬学的組成物。
【請求項42】
色が明るいオレンジ色である、請求項41記載の薬学的組成物。
【請求項43】
明るいオレンジ色がフルオレセインに由来する、請求項42記載の薬学的組成物。
【請求項44】
医用製剤として使用するための、請求項43記載の薬学的組成物。
【請求項45】
1mg～100mgの範囲の臭化ベクロニウムおよび70～25000mgの範囲のフルオレセインを含む粉末。
【請求項46】
臭化ベクロニウム(10mg)、クエン酸(20.75mg)、二塩基性リン酸ナトリウム(16.25mg)、マンニトール(97mg)、フルオレセイン(100mg)、ならびに水10mLを加えると、得られる溶液のpHが4になるようなリン酸および水酸化ナトリウムを含む粉末。
【請求項47】
筋弛緩応答を誘発するのに十分である、明るいオレンジ色の臭化ベクロニウム溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において筋弛緩応答を誘発する方法であって、該明るいオレンジ色がフルオレセインに由来する方法。
【請求項48】
薬剤がベシル酸シスアトラクリウムである、請求項1記載の薬学的組成物。
【請求項49】
色が明るいオレンジ色である、請求項48記載の薬学的溶液。

【請求項50】
溶液の色がフルオレセインに由来する、請求項49記載の薬学的溶液。
【請求項51】
溶液の色がフルオレセインに由来し、該溶液が水溶液である、請求項49記載の薬学的溶液。
【請求項52】
医用製剤として使用するための、請求項51記載の薬学的溶液。
【請求項53】
水、0.1mg/mL～250mg/mLの範囲のベシル酸シスアトラクリウム、および7～250mg/mLの範囲のフルオレセインを含む、請求項48記載の薬学的溶液。
【請求項54】
1mg/mL～50mg/mLの範囲のベシル酸シスアトラクリウムおよび7～100mg/mLの範囲のフルオレセインを含む、請求項53記載の薬学的溶液。
【請求項55】
10mg/mLの濃度のベシル酸シスアトラクリウムおよび10mg/mLの濃度のフルオレセインを含む、請求項53記載の薬学的溶液。
【請求項56】
下記からなる群より選択される、請求項48記載の薬学的溶液：
1mLあたりベシル酸シスアトラクリウム(10mg)およびフルオレセイン(10mg)を含有する、ベンゼンスルホン酸によってpHを3.5に調整した無菌水溶液；
1mLあたりベシル酸アトラクリウム(10mg)、ベンジルアルコール(10mg)、およびフルオレセイン(10mg)を含有する、ベンゼンスルホン酸によってpHを3.5に調整した無菌水溶液；
1mLあたりシスアトラクリウム10mg当量のベシル酸シスアトラクリウムおよびフルオレセイン(10mg)を含有する、ベンゼンスルホン酸によってpHを3.5に調整した無菌水溶液、
1mLあたりシスアトラクリウム10mg当量のベシル酸シスアトラクリウム、ベンジルアルコール(10mg)、およびフルオレセイン(10mg)を含有する、ベンゼンスルホン酸によってpHを3.5に調整した無菌水溶液；
1mLあたりシスアトラクリウム2mg当量のベシル酸シスアトラクリウムおよびフルオレセイン(10mg)を含有する、ベンゼンスルホン酸によってpHを3.5に調整した無菌水溶液；ならびに
1mLあたりシスアトラクリウム2mg当量のベシル酸シスアトラクリウム、ベンジルアルコール(10mg)、およびフルオレセイン(10mg)を含有する、ベンゼンスルホン酸によってpHを3.5に調整した無菌水溶液。
【請求項57】
筋弛緩応答を誘発するのに十分である、着色されたベシル酸シスアトラクリウム溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において筋弛緩応答を誘発する方法。
【請求項58】
溶液が水溶液であり、色が明るいオレンジ色であり、明るいオレンジ色がフルオレセインに由来する、請求項57記載の方法。
【請求項59】
薬剤がパンクロニウムである、請求項1記載の薬学的組成物。
【請求項60】
色が明るいオレンジ色である、請求項59記載の薬学的溶液。
【請求項61】
溶液の色がフルオレセインに由来する、請求項60記載の薬学的溶液。
【請求項62】
溶液の色がフルオレセインに由来し、該溶液が水溶液である、請求項60記載の薬学的溶液。
【請求項63】

医用製剤として使用するための、請求項62記載の薬学的溶液。
【請求項64】
水、0.01mg/mL～100mg/mLの範囲の臭化パンクロニウム、および7～250mg/mLの範囲のフルオレセインを含む、請求項59記載の薬学的溶液。
【請求項65】
0.5mg/mL～10mg/mLの範囲の臭化パンクロニウムおよび7～100mg/mLの範囲のフルオレセインを含む、請求項64記載の薬学的溶液。
【請求項66】
1mg/mLの濃度の臭化パンクロニウムおよび10mg/mLの濃度のフルオレセインを含む、請求項64記載の薬学的溶液。
【請求項67】
下記からなる群より選択される、請求項59記載の薬学的溶液：
1mLあたり臭化パンクロニウム(1mg)、無水酢酸ナトリウム(1.2mg)、ベンジルアルコール(10mg)、等張化のための塩化ナトリウム(約5mg)、およびフルオレセイン(15mg)を含有する、酢酸によってpHを4.0に調整した無菌水溶液；
1mLあたり臭化パンクロニウム(2mg)、無水酢酸ナトリウム(1.2mg)、ベンジルアルコール(10mg)、等張化のための塩化ナトリウム(約5mg)、およびフルオレセイン(15mg)を含有する、酢酸によってpHを4.0に調整した無菌水溶液；
1mLあたり臭化パンクロニウム(1mg)、無水酢酸ナトリウム(1.2mg)、ベンジルアルコール(10mg)、等張化のための塩化ナトリウム(約5mg)、およびフルオレセイン(7mg)を含有する、酢酸によってpHを4.0に調整した無菌水溶液；
1mLあたり臭化パンクロニウム(2mg)、無水酢酸ナトリウム(1.2mg)、ベンジルアルコール(10mg)、等張化のための塩化ナトリウム(約5mg)、およびフルオレセイン(7mg)を含有する、酢酸によってpHを4.0に調整した無菌水溶液；
1mLあたり臭化パンクロニウム(10mg)、酢酸ナトリウム三水和物(2mg)、塩化ナトリウム(3.3mg)、およびフルオレセイン(15mg)を含有する、酢酸によってpHを4.0に調整した無菌水溶液；ならびに
1mLあたり臭化パンクロニウム(10mg)、酢酸ナトリウム三水和物(2mg)、塩化ナトリウム(3.3mg)、およびフルオレセイン(7mg)を含有する、酢酸によってpHを4.0に調整した無菌水溶液。
【請求項68】
筋弛緩応答を誘発するのに十分である、着色された臭化パンクロニウム溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において筋弛緩応答を誘発する方法。
【請求項69】
溶液の色がフルオレセインに由来し、該色が明るいオレンジ色であり、溶液が水溶液である、請求項68記載の方法。
【請求項70】
薬剤がサクシニルコリンである、請求項1記載の薬学的組成物。
【請求項71】
色が明るいオレンジ色である、請求項70記載の薬学的組成物。
【請求項72】
溶液の色がフルオレセインに由来する、請求項71記載の薬学的組成物。
【請求項73】
溶液の色がフルオレセインに由来し、該溶液が水溶液である、請求項71記載の薬学的組成物。
【請求項74】
医用製剤として使用するための、請求項73記載の薬学的組成物。
【請求項75】
水、1mg/mL～250mg/mLの範囲の二塩化サクシニルコリンおよび7～250mg/mLの範囲のフルオレセインを含む、請求項70記載の薬学的組成物。

【請求項76】
20mg/mL～100mg/mLの範囲の二塩化サクシニルコリンおよび7～100mg/mLの範囲のフルオレセインを含む、請求項75記載の薬学的溶液。
【請求項77】
20mg/mLの濃度の二塩化サクシニルコリンおよび10mg/mLの濃度のフルオレセインを含む、請求項75記載の薬学的溶液。
【請求項78】
下記からなる群より選択される、請求項70記載の薬学的組成物：
1mLあたり二塩化サクシニルコリン(20mg)、塩化ナトリウム(4.5mg)、およびフルオレセイン(10mg)を含有する、塩酸によってpHを3.5に調整した無菌水溶液を含む薬学的組成物；
1mLあたり二塩化サクシニルコリン(20mg)、塩化ナトリウム(4.5mg)、メチルパラベン(0.1% w/w)、およびフルオレセイン(10mg)を含有する、塩酸によってpHを3.5に調整した無菌水溶液を含む薬学的組成物；
1mLあたり二塩化サクシニルコリン(50mg)、塩化ナトリウム(4.5mg)、およびフルオレセイン(10mg)を含有する、塩酸によってpHを3.5に調整した無菌水溶液を含む薬学的組成物；
1mLあたり二塩化サクシニルコリン(50mg)、塩化ナトリウム(4.5mg)、メチルパラベン(0.1% w/w)、およびフルオレセイン(10mg)を含有する、塩酸によってpHを3.5に調整した無菌水溶液を含む薬学的組成物；
1mLあたり二塩化サクシニルコリン(100mg)、塩化ナトリウム(4.5mg)、およびフルオレセイン(10mg)を含有する、塩酸によってpHを3.5に調整した無菌水溶液を含む薬学的組成物；
1mLあたり二塩化サクシニルコリン(100mg)、塩化ナトリウム(4.5mg)、メチルパラベン(0.1% w/w)、およびフルオレセイン(10mg)を含有する、塩酸によってpHを3.5に調整した無菌水溶液を含む薬学的組成物；
1mLあたり二塩化サクシニルコリン(20mg)、塩化ナトリウム(4.5mg)、メチルパラベン(0.18% w/w)、プロピルパラベン(0.02% w/w)、およびフルオレセイン(10mg)を含有する、塩酸によってpHを3.5に調整した無菌水溶液を含む薬学的組成物；
1mLあたり二塩化サクシニルコリン(50mg)、塩化ナトリウム(4.5mg)、メチルパラベン(0.18% w/w)、プロピルパラベン(0.02% w/w)、およびフルオレセイン(10mg)を含有する、塩酸によってpHを3.5に調整した無菌水溶液を含む薬学的組成物；ならびに
1mLあたり二塩化サクシニルコリン(100mg)、塩化ナトリウム(4.5mg)、メチルパラベン(0.18% w/w)、プロピルパラベン(0.02% w/w)、およびフルオレセイン(10mg)を含有する、塩酸によってpHを3.5に調整した無菌水溶液を含む薬学的組成物。
【請求項79】
筋弛緩応答を誘発するのに十分である、着色された二塩化サクシニルコリン溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において筋弛緩応答を誘発する方法。
【請求項80】
溶液の色が明るいオレンジ色であり、該明るいオレンジ色がフルオレセインに由来し、溶液が水溶液である、請求項79記載の方法。
【請求項81】
薬剤がロラゼパムである、請求項1記載の薬学的組成物。
【請求項82】
色がオレンジ色である、請求項81記載の薬学的組成物。
【請求項83】
オレンジ色がフルオレセインに由来する、請求項81記載の薬学的組成物。
【請求項84】
プロピレングリコールおよびポリエチレングリコールをさらに含む、請求項83記載の薬

学的組成物。
【請求項85】
医用製剤として使用するための、請求項84記載の薬学的組成物。
【請求項86】
ベンジルアルコール、0.5mg/mL～50mg/mLの範囲のロラゼパム、および1.0～10mg/mLの範囲のフルオレセインをさらに含む、請求項84記載の薬学的組成物。
【請求項87】
1mg/mL～10mg/mLの範囲のロラゼパムおよび1.5～5mg/mLの範囲のフルオレセインを含む、請求項86記載の薬学的組成物。
【請求項88】
約2mg/mLの濃度のロラゼパムおよび約2.5mg/mLの濃度のフルオレセインを含む、請求項86記載の薬学的組成物。
【請求項89】
0.5mg/mL～50mg/mLの範囲のロラゼパムおよび1.0～10mg/mLの範囲のフルオレセインを含む、請求項81記載の薬学的組成物。
【請求項90】
プロピレングリコール(80% v/v)、ポリエチレングリコール(18% v/v)およびベンジルアルコール(2% v/v)を含み、2mg/mLの濃度のロラゼパムおよび2.5mg/mLの濃度のフルオレセインをさらに含む溶液を含む、請求項81記載の薬学的組成物。
【請求項91】
前向健忘を導入するのに十分である、着色されたロラゼパム溶液を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において前向健忘を導入する方法。
【請求項92】
発作を制御するのに十分である、着色されたロラゼパム溶液を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物におけるてんかんを処置する方法。
【請求項93】
不安からの解放を提供するのに十分である、着色されたロラゼパム溶液を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物における不安を処置する方法。
【請求項94】
溶液の色がオレンジ色であり、該オレンジ色がフルオレセインに由来する、請求項91記載の方法。
【請求項95】
溶液の色がオレンジ色であり、該オレンジ色がフルオレセインに由来する、請求項92記載の方法。
【請求項96】
溶液の色がオレンジ色であり、該オレンジ色がフルオレセインに由来する、請求項93記載の方法。
【請求項97】
薬剤が塩酸ミダゾラムである、請求項1記載の薬学的組成物。
【請求項98】
色がオレンジ色である、請求項97記載の薬学的組成物。
【請求項99】
オレンジ色がフルオレセインに由来する、請求項98記載の薬学的組成物。
【請求項100】
溶液が水溶液である、請求項99記載の薬学的組成物。
【請求項101】
医用製剤として使用するための、請求項100記載の薬学的組成物。
【請求項102】
0.1mg/mL～50mg/mLの範囲の塩酸ミダゾラムおよび1～10mg/mLの範囲のフルオレセインを含む、請求項100記載の薬学的組成物。

【請求項103】
0.5mg/mL～10mg/mLの範囲の塩酸ミダゾラムおよび1.5～5mg/mLの範囲のフルオレセインを含む、請求項102記載の薬学的組成物。
【請求項104】
1mg/mLの濃度の塩酸ミダゾラムおよび2.5mg/mLの濃度のフルオレセインを含む、請求項103記載の薬学的組成物。
【請求項105】
塩酸ミダゾラム(1mg)、塩化ナトリウム(0.8% w/v)、エデト酸二ナトリウム(0.01% w/v)、ベンジルアルコール(1% w/v)、およびフルオレセイン(2.5mg)を含む、塩酸によってpHを3に調整した、請求項97記載の薬学的組成物。
【請求項106】
塩酸ミダゾラム(5mg)、塩化ナトリウム(0.8% w/v)、エデト酸二ナトリウム(0.01% w/v)、ベンジルアルコール(1% w/v)およびフルオレセイン(2.5mg)を含む、塩酸によってpHを3に調整した、請求項97記載の薬学的組成物。
【請求項107】
鎮静を導入するのに十分である、着色された塩酸ミダゾラム溶液を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において鎮静を導入する方法。
【請求項108】
麻酔を導入するのに十分である、着色された塩酸ミダゾラム溶液を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において麻酔を導入する方法。
【請求項109】
前向健忘を導入するのに十分である、着色された塩酸ミダゾラム溶液を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において前向健忘を導入する方法。
【請求項110】
溶液の色がオレンジ色であり、該オレンジ色がフルオレセインに由来する、請求項107記載の方法。
【請求項111】
溶液の色がオレンジ色であり、該オレンジ色がフルオレセインに由来する、請求項108記載の方法。
【請求項112】
溶液の色がオレンジ色であり、該オレンジ色がフルオレセインに由来する、請求項109記載の方法。
【請求項113】
薬剤がジアゼパムである、請求項1記載の薬学的組成物。
【請求項114】
組成物が溶液であり、色がオレンジ色である、請求項113記載の薬学的組成物。
【請求項115】
オレンジ色がフルオレセインに由来する、請求項114記載の溶液。
【請求項116】
プロピレングリコールおよびポリエチレングリコールをさらに含む、請求項115記載の溶液。
【請求項117】
プロピレングリコールおよびエチルアルコールをさらに含む、請求項115記載の溶液。
【請求項118】
医用製剤として使用するための、請求項115記載の溶液。
【請求項119】
プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、0.5mg/mL～50mg/mLの範囲のジアゼパム、および1.0～10mg/mLの範囲のフルオレセインをさらに含む、請求項115記載の溶液。
【請求項120】

プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、1mg/mL～10mg/mLの範囲のジアゼパム、および1.5～5mg/mLの範囲のフルオレセインをさらに含む、請求項115記載の溶液。
【請求項121】
プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、約4mg/mLの濃度のジアゼパム、および約2.5mg/mLの濃度のフルオレセインをさらに含む、請求項115記載の溶液。
【請求項122】
プロピレングリコール、エチルアルコール、0.5mg/mL～50mg/mLの範囲のジアゼパム、および1.0～10mg/mLの範囲のフルオレセインをさらに含む、請求項115記載の溶液。
【請求項123】
プロピレングリコール、エチルアルコール、1mg/mL～10mg/mLの範囲のジアゼパム、および1.5～5mg/mLの範囲のフルオレセインをさらに含む、請求項115記載の溶液。
【請求項124】
プロピレングリコール、エチルアルコール、約5mg/mLの濃度のジアゼパム、および約2.5mg/mLの濃度のフルオレセインをさらに含む、請求項115記載の溶液。
【請求項125】
組成物が乳濁液であり、色がオレンジ色である、請求項113記載の薬学的組成物。
【請求項126】
オレンジ色がフルオレセインに由来する、請求項125記載の乳濁液。
【請求項127】
大豆油および水をさらに含む、請求項125記載の乳濁液。
【請求項128】
医用製剤として使用するための、請求項126記載の乳濁液。
【請求項129】
0.5mg/mL～50mg/mLの範囲のジアゼパムおよび1.0～10mg/mLの範囲のフルオレセインをさらに含む、請求項127記載の乳濁液。
【請求項130】
1mg/mL～10mg/mLの範囲のジアゼパムおよび1.5～5mg/mLの範囲のフルオレセインをさらに含む、請求項127記載の乳濁液。
【請求項131】
約5mg/mLの濃度のジアゼパムおよび約2.5mg/mLの濃度のフルオレセインをさらに含む、請求項127記載の乳濁液。
【請求項132】
プロピレングリコール(80% v/v)、ポリエチレングリコール(18% v/v)、およびベンジルアルコール(2% v/v)を含み、4mg/mLの濃度のジアゼパムおよび2.5mg/mLの濃度のフルオレセインをさらに含む、溶液。
【請求項133】
注射用の水、ジアゼパム(5mg/mL)、プロピレングリコール(40% w/v)、エチルアルコール(10% w/v)、フルオレセイン(2.5mg/mL)、pHを6.5にするのに十分な安息香酸ナトリウムおよび安息香酸(5% w/v)、ならびにベンジルアルコール(1.5% w/v)を含む、請求項113記載の薬学的組成物。
【請求項134】
ジアゼパム(5mg/mL)、精留大豆油(150mg/mL)、ジアセチル化モノグリセリド(50mg/mL)、精留卵黄リン脂質(12mg/mL)、グリセリン(22.0mg/mL)、フルオレセイン(2.5mg/mL)、注射用の水、およびpHを約8に調節するための水酸化ナトリウムを含む、請求項113記載の薬学的組成物。
【請求項135】
前向健忘を導入するのに十分である、着色されたジアゼパム溶液を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において前向健忘を導入する方法。
【請求項136】
手術前の不安および緊張を軽減するのに十分である、着色されたジアゼパム溶液を哺乳

動物に投与することを含む、哺乳動物における手術前の不安および緊張を軽減する方法。
【請求項137】
急性不安を軽減するのに十分である、着色されたジアゼパム溶液を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物における急性不安および緊張を軽減する方法。
【請求項138】
てんかん重積持続状態を軽減するのに十分である、着色されたジアゼパム溶液を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物におけるてんかん重積持続状態を軽減する方法。
【請求項139】
アルコール禁断の症候を軽減するのに十分である、着色されたジアゼパム溶液を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物における急性アルコール禁断による急性動揺、震え、切迫性または急性振戦せん妄、および幻覚を軽減する方法。
【請求項140】
筋痙攣を軽減するのに十分である、着色されたジアゼパム溶液を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物における局所的症状、脳性麻痺、アテトーシス、スティッフマン症候群、または破傷風に伴う筋痙攣を軽減する方法。
【請求項141】
溶液がオレンジ色であり、該オレンジ色がフルオレセインに由来する、請求項135記載の方法。
【請求項142】
溶液がオレンジ色であり、該オレンジ色がフルオレセインに由来する、請求項136記載の方法。
【請求項143】
溶液がオレンジ色であり、該オレンジ色がフルオレセインに由来する、請求項137記載の方法。
【請求項144】
溶液がオレンジ色であり、該オレンジ色がフルオレセインに由来する、請求項138記載の方法。
【請求項145】
溶液がオレンジ色であり、該オレンジ色がフルオレセインに由来する、請求項139記載の方法。
【請求項146】
溶液がオレンジ色であり、該オレンジ色がフルオレセインに由来する、請求項140記載の方法。
【請求項147】
薬剤がエトミデートである、請求項1記載の薬学的組成物。
【請求項148】
色が黄色である、請求項147記載の薬学的組成物。
【請求項149】
溶液の色がフルオレセインに由来する、請求項148記載の薬学的組成物。
【請求項150】
溶液が水およびプロピレングリコールを含む、請求項149記載の薬学的組成物。
【請求項151】
医用製剤として使用するための、請求項150記載の薬学的組成物。
【請求項152】
水、プロピレングリコール、0.02mg/mL～20mg/mLの範囲のエトミデート、および0.001～2.5mg/mLの範囲のフルオレセインを含む、請求項147記載の薬学的組成物。
【請求項153】
0.5mg/mL～10mg/mLの範囲のエトミデートおよび0.05～1mg/mLの範囲のフルオレセインを含む、請求項152記載の薬学的溶液。
【請求項154】

2mg/mLの濃度のエトミデートおよび0.15mg/mLの濃度のフルオレセインを含む、請求項152記載の薬学的溶液。

【請求項155】

1mLあたりエトミデート(2mg)、プロピレングリコール35％（v/v)およびフルオレセイン(0.15mg)を含有する無菌水溶液を含む、請求項147記載の薬学的組成物。

【請求項156】

全身麻酔を導入するのに十分である、着色されたエトミデート溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において全身麻酔を導入する方法。

【請求項157】

溶液の色がフルオレセインに由来する、請求項156記載の方法。

【請求項158】

全身麻酔を維持するのに十分である、着色されたエトミデート溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において全身麻酔を維持する方法。

【請求項159】

溶液の色がフルオレセインに由来する、請求項158記載の方法。

【請求項160】

亜酸化窒素の使用をさらに含む、請求項159記載の方法。

【請求項161】

薬剤がプロポフォールである、請求項1記載の薬学的組成物。

【請求項162】

色が黄色である、請求項161記載の薬学的組成物。

【請求項163】

溶液または乳濁液の色がフルオレセインに由来する、請求項162記載の薬学的組成物。

【請求項164】

溶液または乳濁液が水および大豆油を含む、請求項163記載の薬学的組成物。

【請求項165】

医用製剤として使用するための、請求項164記載の薬学的組成物。

【請求項166】

水、1mg/mL～50mg/mLの範囲のプロポフォール、および0.001～2.5mg/mLの範囲のフルオレセインを含む、請求項161記載の薬学的組成物。

【請求項167】

5mg/mL～15mg/mLの範囲のプロポフォールおよび0.05～1mg/mLの範囲のフルオレセインを含む、請求項166記載の薬学的溶液または乳濁液。

【請求項168】

10mg/mLの濃度のプロポフォールおよび0.15mg/mLの濃度のフルオレセインを含む、請求項166記載の薬学的溶液または乳濁液。

【請求項169】

全身麻酔を導入するのに十分である、着色されたプロポフォール溶液または乳濁液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において全身麻酔を導入する方法。

【請求項170】

溶液または乳濁液の色がフルオレセインに由来する、請求項169記載の方法。

【請求項171】

鎮静を導入するのに十分である、着色されたプロポフォール溶液または乳濁液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において鎮静を導入する方法。

【請求項172】

溶液または乳濁液の色がフルオレセインに由来する、請求項171記載の方法。

【請求項173】

全身麻酔を維持するのに十分である、着色されたプロポフォール溶液または乳濁液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において全身麻酔を維持する方法

。
【請求項174】
溶液または乳濁液の色がフルオレセインに由来する、請求項173記載の方法。
【請求項175】
鎮静を維持するのに十分である、着色されたプロポフォール溶液または乳濁液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において鎮静を維持する方法。
【請求項176】
溶液または乳濁液の色がフルオレセインに由来する、請求項175記載の方法。
【請求項177】
全身麻酔を導入する、鎮静を導入する、全身麻酔を維持する、または鎮静を維持するのに十分である、黄色のプロポフォール溶液または乳濁液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において全身麻酔を導入する、鎮静を導入する、全身麻酔を維持する、または鎮静を維持する方法であって、該黄色がフルオレセインに由来する方法。
【請求項178】
薬剤がフォスプロポフォール二ナトリウムである、請求項1記載の薬学的組成物。
【請求項179】
色が黄色である、請求項178記載の薬学的組成物。
【請求項180】
溶液の色がフルオレセインに由来する、請求項179記載の薬学的組成物。
【請求項181】
溶液が水溶液である、請求項180記載の薬学的組成物。
【請求項182】
医用製剤として使用するための、請求項181記載の薬学的組成物。
【請求項183】
水、1mg/mL～50mg/mLの範囲のフォスプロポフォール二ナトリウムおよび0.001～2.5mg/mLの範囲のフルオレセインを含む、請求項178記載の薬学的組成物。
【請求項184】
5mg/mL～15mg/mLの範囲のフォスプロポフォール二ナトリウムおよび0.05～1mg/mLの範囲のフルオレセインを含む、請求項183記載の薬学的溶液。
【請求項185】
10mg/mLの濃度のフォスプロポフォール二ナトリウムおよび0.15mg/mLの濃度のフルオレセインを含む、請求項184記載の薬学的溶液。
【請求項186】
全身麻酔を導入するのに十分である、着色されたフォスプロポフォール二ナトリウム溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において全身麻酔を導入する方法。
【請求項187】
溶液の色がフルオレセインに由来する、請求項186記載の方法。
【請求項188】
鎮静を導入するのに十分である、着色されたフォスプロポフォール二ナトリウム溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において鎮静を導入する方法。
【請求項189】
溶液の色がフルオレセインに由来する、請求項188記載の方法。
【請求項190】
全身麻酔を維持するのに十分である、着色されたフォスプロポフォール二ナトリウム溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において全身麻酔を維持する方法。
【請求項191】
溶液の色がフルオレセインに由来する、請求項190記載の方法。
【請求項192】

鎮静を維持するのに十分である、着色されたフォスプロポフォール二ナトリウム溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において鎮静を維持する方法。
【請求項193】
溶液の色がフルオレセインに由来する、請求項192記載の方法。
【請求項194】
色がオレンジ色である、請求項178記載の薬学的組成物。
【請求項195】
溶液の色がフルオレセインに由来する、請求項194記載の薬学的組成物。
【請求項196】
溶液が水溶液である、請求項195記載の薬学的組成物。
【請求項197】
医用製剤として使用するための、請求項196記載の薬学的組成物。
【請求項198】
水、1mg/mL～50mg/mLの範囲のフォスプロポフォール二ナトリウム、および1～10mg/mLの範囲のフルオレセインを含む、請求項178記載の薬学的組成物。
【請求項199】
5mg/mL～15mg/mLの範囲のフォスプロポフォール二ナトリウムおよび1.5～5mg/mLの範囲のフルオレセインを含む、請求項198記載の薬学的溶液。
【請求項200】
10mg/mLの濃度のフォスプロポフォール二ナトリウムおよび2.5mg/mLの濃度のフルオレセインを含む、請求項198記載の薬学的溶液。
【請求項201】
全身麻酔を導入するのに十分である、着色されたフォスプロポフォール二ナトリウム溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において全身麻酔を導入する方法。
【請求項202】
溶液の色がフルオレセインに由来する、請求項201記載の方法。
【請求項203】
鎮静を導入するのに十分である、着色されたフォスプロポフォール二ナトリウム溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において鎮静を導入する方法。
【請求項204】
溶液の色がフルオレセインに由来する、請求項203記載の方法。
【請求項205】
全身麻酔を維持するのに十分である、着色されたフォスプロポフォール二ナトリウム溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において全身麻酔を維持する方法。
【請求項206】
溶液の色がフルオレセインに由来する、請求項205記載の方法。
【請求項207】
鎮静を維持するのに十分である、着色されたフォスプロポフォール二ナトリウム溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において鎮静を維持する方法。
【請求項208】
溶液の色がフルオレセインに由来する、請求項207記載の方法。
【請求項209】
薬剤が塩酸ケタミンである、請求項1記載の薬学的組成物。
【請求項210】
色が黄色である、請求項209記載の薬学的組成物。
【請求項211】
溶液の色がフルオレセインに由来する、請求項210記載の薬学的組成物。
【請求項212】

溶液が水溶液である、請求項211記載の薬学的組成物。
【請求項213】
医用製剤として使用するための、請求項212記載の薬学的組成物。
【請求項214】
水、10mg/mL～500mg/mLの範囲の塩酸ケタミン、および0.001～2.5mg/mLの範囲のフルオレセインを含む、請求項209記載の薬学的組成物。
【請求項215】
10mg/mL～250mg/mLの範囲の塩酸ケタミンおよび0.05～1mg/mLの範囲のフルオレセインを含む、請求項214記載の薬学的溶液。
【請求項216】
100mg/mLの濃度の塩酸ケタミンおよび0.15mg/mLの濃度のフルオレセインを含む、請求項214記載の薬学的溶液。
【請求項217】
1mLあたり塩酸ケタミン(100mg)、塩化ベンゼトニウム(0.1mg)、およびフルオレセイン(0.15mg)を含有する無菌水溶液を含む、請求項209記載の薬学的組成物。
【請求項218】
全身麻酔を導入するのに十分である、着色された塩酸ケタミン溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において全身麻酔を導入する方法。
【請求項219】
溶液の色がフルオレセインに由来する、請求項218記載の方法。
【請求項220】
ジアゼパムの使用をさらに含む、請求項219記載の方法。
【請求項221】
全身麻酔を維持するのに十分である、着色された塩酸ケタミン溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において全身麻酔を維持する方法。
【請求項222】
溶液の色がフルオレセインに由来する、請求項221記載の方法。
【請求項223】
ジアゼパムの使用をさらに含む、請求項222記載の方法。
【請求項224】
薬剤がアトロピンである、請求項1記載の薬学的組成物。
【請求項225】
色が緑色である、請求項224記載の薬学的溶液。
【請求項226】
溶液の色がフルオレセインおよびメチレンブルーに由来する、請求項225記載の薬学的溶液。
【請求項227】
溶液の色がフルオレセインおよびインジゴカルミンに由来する、請求項225記載の薬学的溶液。
【請求項228】
溶液が水溶液である、請求項226記載の薬学的溶液。
【請求項229】
溶液が水溶液である、請求項227記載の薬学的溶液。
【請求項230】
医用製剤として使用するための、請求項228または229記載の薬学的溶液。
【請求項231】
水、0.04mg/mL～4.0mg/mLの範囲のアトロピン、0.001～0.05mg/mLの範囲のメチレンブルー、および0.001～0.1mg/mLの範囲のフルオレセインを含む、請求項224記載の薬学的溶液。
【請求項232】

0.1mg/mL～2.0mg/mLの範囲のアトロピン、0.002～0.02mg/mLの範囲のメチレンブルー、および0.002～0.02mg/mLの範囲のフルオレセインを含む、請求項231記載の薬学的溶液。

【請求項233】

0.5mg/mLの濃度のアトロピン、0.003mg/mLの濃度のメチレンブルー、および0.004mg/mLの濃度のフルオレセインを含む、請求項232記載の薬学的溶液。

【請求項234】

水、0.04mg/mL～4.0mg/mLの範囲のアトロピン、0.001～0.05mg/mLの範囲のインジゴカルミン、および0.001～0.4mg/mLの範囲のフルオレセインを含む、請求項224記載の薬学的溶液。

【請求項235】

0.1mg/mL～2.0mg/mLの範囲のアトロピン、0.001～0.03mg/mLの範囲のインジゴカルミン、および0.002～0.2mg/mLの範囲のフルオレセインを含む、請求項234記載の薬学的溶液。

【請求項236】

0.5mg/mLの濃度のアトロピン、0.015mg/mLの濃度のインジゴカルミン、および0.006mg/mLの濃度のフルオレセインを含む、請求項235記載の薬学的溶液。

【請求項237】

水、アトロピン(0.4mg/mL)、メチルパラベン(0.1% w/v)、メチレンブルー(0.003mg/mL)、およびフルオレセイン(0.004mg/mL)を含む、硫酸によってpHを4.5に調整した、請求項224記載の薬学的溶液。

【請求項238】

水、アトロピン(0.4mg/mL)、メチルパラベン(0.1% w/v)、インジゴカルミン(0.015mg/mL)、およびフルオレセイン(0.006mg/mL)を含む、硫酸によってpHを4.5に調整した、請求項224記載の薬学的溶液。

【請求項239】

水、アトロピン(0.5mg/mL)、メチルパラベン(0.1% w/v)、メチレンブルー(0.003mg/mL)、およびフルオレセイン(0.004mg/mL)を含む、硫酸によってpHを4.5に調整した、請求項224記載の薬学的溶液。

【請求項240】

水、アトロピン(0.5mg/mL)、メチルパラベン(0.1% w/v)、インジゴカルミン(0.015mg/mL)、およびフルオレセイン(0.006mg/mL)を含む、硫酸によってpHを4.5に調整した、請求項224記載の薬学的溶液。

【請求項241】

水、アトロピン(1mg/mL)、メチルパラベン(0.1% w/v)、メチレンブルー(0.003mg/mL)、およびフルオレセイン(0.004mg/mL)を含む、硫酸によってpHを4.5に調整した、請求項224記載の薬学的溶液。

【請求項242】

水、アトロピン(1mg/mL)、メチルパラベン(0.1% w/v)、インジゴカルミン(0.015mg/mL)、およびフルオレセイン(0.006mg/mL)を含む、硫酸によってpHを4.5に調整した、請求項224記載の薬学的溶液。

【請求項243】

水、アトロピン(0.1mg/mL)、塩化ナトリウム(9mg/mL)、インジゴカルミン(0.015mg/mL)、およびフルオレセイン(0.006mg/mL)を含む、硫酸によってpHを4.2に調整した、請求項224記載の薬学的溶液。

【請求項244】

水、アトロピン(0.05mg/mL)、塩化ナトリウム(9mg/mL)、インジゴカルミン(0.015mg/mL)、およびフルオレセイン(0.006mg/mL)を含む、硫酸によってpHを4.2に調整した、請求項224記載の薬学的溶液。

【請求項245】

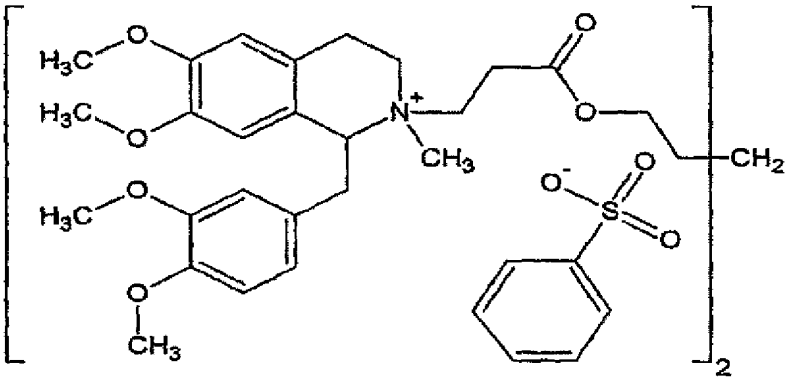
水、アトロピン(0.1mg/mL)、塩化ナトリウム(9mg/mL)、メチレンブルー(0.003mg/mL)、およびフルオレセイン(0.004mg/mL)を含む、硫酸によってpHを4.2に調整した、請求項224

記載の薬学的溶液。
【請求項246】
水、アトロピン(0.05mg/mL)、塩化ナトリウム(9mg/mL)、メチレンブルー(0.003mg/mL)、およびフルオレセイン(0.004mg/mL)を含む、硫酸によってpHを4.2に調整した、請求項224記載の薬学的溶液。
【請求項247】
抗コリン作用効果を導入するのに十分である、着色されたアトロピン溶液を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において抗コリン作用効果を導入する方法。
【請求項248】
溶液の色がフルオレセインおよびメチレンブルーに由来する、請求項247記載の方法。
【請求項249】
溶液の色がフルオレセインおよびインジゴカルミンに由来する、請求項247記載の方法。
【請求項250】
薬剤がグリコピロレートである、請求項1記載の薬学的組成物。
【請求項251】
色が緑色である、請求項250記載の薬学的溶液。
【請求項252】
溶液の色がフルオレセインおよびメチレンブルーに由来する、請求項251記載の薬学的溶液。
【請求項253】
溶液の色がフルオレセインおよびインジゴカルミンに由来する、請求項251記載の薬学的溶液。
【請求項254】
溶液が水溶液である、請求項252記載の薬学的溶液。
【請求項255】
溶液が水溶液である、請求項253記載の薬学的溶液。
【請求項256】
医用製剤として使用するための、請求項254または255記載の薬学的溶液。
【請求項257】
水、0.002mg/mL～2.0mg/mLの範囲のグリコピロレート、0.001～0.05mg/mLの範囲のメチレンブルー、および0.001～0.1mg/mLの範囲のフルオレセインを含む、請求項250記載の薬学的溶液。
【請求項258】
0.05mg/mL～1.0mg/mLの範囲のグリコピロレート、0.002～0.02mg/mLの範囲のメチレンブルー、および0.002～0.02mg/mLの範囲のフルオレセインを含む、請求項257記載の薬学的溶液。
【請求項259】
0.2mg/mLの濃度のグリコピロレート、0.003mg/mLの濃度のメチレンブルー、および0.004mg/mLの濃度のフルオレセインを含む、請求項258記載の薬学的溶液。
【請求項260】
水、0.002mg/mL～2.0mg/mLの範囲のグリコピロレート、0.001～0.05mg/mLの範囲のインジゴカルミン、および0.001～0.4mg/mLの範囲のフルオレセインを含む、請求項250記載の薬学的溶液。
【請求項261】
0.001mg/mL～1.0mg/mLの範囲のグリコピロレート、0.001～0.03mg/mLの範囲のインジゴカルミン、および0.002～0.2mg/mLの範囲のフルオレセインを含む、請求項260記載の薬学的溶液。
【請求項262】
0.2mg/mLの濃度のグリコピロレート、0.015mg/mLの濃度のインジゴカルミン、および0.

006mg/mLの濃度のフルオレセインを含む、請求項261記載の薬学的溶液。
【請求項263】
1mLあたり水、グリコピロレート(0.2mg)、ベンジルアルコール(0.9% w/v)、メチレンブルー(0.003mg)、およびフルオレセイン(0.004mg)を含有する無菌水溶液を含む、請求項250記載の薬学的溶液。
【請求項264】
1mLあたり水、グリコピロレート(0.2mg)、ベンジルアルコール(0.9% w/v)、インジゴカルミン(0.015mg)、およびフルオレセイン(0.006mg)を含有する無菌水溶液を含む、請求項250記載の薬学的溶液。
【請求項265】
抗コリン作用効果を導入するのに十分である、着色されたグリコピロレート溶液を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において抗コリン作用効果を導入する方法。
【請求項266】
溶液の色がフルオレセインおよびメチレンブルーに由来する、請求項265記載の方法。
【請求項267】
溶液の色がフルオレセインおよびインジゴカルミンに由来する、請求項265記載の方法。
【請求項268】
薬剤がガンタクリウムである、請求項1記載の薬学的組成物。
【請求項269】
色が明るいオレンジ色である、請求項268記載の薬学的溶液。
【請求項270】
溶液の色がフルオレセインに由来する、請求項268記載の薬学的溶液。
【請求項271】
溶液の色がフルオレセインに由来し、該溶液が水溶液である、請求項268記載の薬学的溶液。
【請求項272】
医用製剤として使用するための、請求項271記載の薬学的溶液。
【請求項273】
水、0.1mg/mL～250mg/mLの範囲のガンタクリウム、および7～250mg/mLの範囲のフルオレセインを含む、請求項268記載の薬学的溶液。
【請求項274】
1mg/mL～50mg/mLの範囲のガンタクリウムおよび7～100mg/mLの範囲のフルオレセインを含む、請求項273記載の薬学的溶液。
【請求項275】
筋弛緩応答を誘発するのに十分である、着色されたガンタクリウム溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において筋弛緩応答を誘発する方法。
【請求項276】
溶液が水溶液であり、色が明るいオレンジ色であり、明るいオレンジ色がフルオレセインに由来する、請求項275記載の方法。
【請求項277】
薬剤がミバクリウムである、請求項1記載の薬学的組成物。
【請求項278】
色が明るいオレンジ色である、請求項277記載の薬学的溶液。
【請求項279】
溶液の色がフルオレセインに由来する、請求項277記載の薬学的溶液。
【請求項280】
溶液の色がフルオレセインに由来し、該溶液が水溶液である、請求項277記載の薬学的溶液。
【請求項281】

医用製剤として使用するための、請求項280記載の薬学的溶液。
【請求項282】
水、0.1mg/mL～250mg/mLの範囲のミバクリウム、および7～250mg/mLの範囲のフルオレセインを含む、請求項277記載の薬学的溶液。
【請求項283】
1mg/mL～50mg/mLの範囲のミバクリウムおよび7～100mg/mLの範囲のフルオレセインを含む、請求項282記載の薬学的溶液。
【請求項284】
筋弛緩応答を誘発するのに十分である、着色されたミバクリウム溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において筋弛緩応答を誘発する方法。
【請求項285】
溶液が水溶液であり、色が明るいオレンジ色であり、明るいオレンジ色がフルオレセインに由来する、請求項284記載の方法。

【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【0001】
発明の分野
本発明は、注射用薬物および薬学的に許容されるその塩の着色された溶液を含む組成物および方法に関する。
【背景技術】
【0002】
背景
薬物送達の安全性は健康管理業界にとってきわめて重要である。投薬過誤が米国における年間7,000人の死亡原因であると推定されている(1999 Institute of Medicine report,「To Err is Human: Building a Safer Health System」(非特許文献1))。
【0003】
麻酔科の実務においては、医師および看護実施者が薬物の注射器を準備し、この注射器が、全身麻酔、鎮静および意識鎮静の導入および維持を通じて使用される。注射器は、透明なガラスバイアルから薬物を抜き取ってプラスチックの使い捨て注射器に入れることによって準備される。現在の実施法では、実施者は、多くの場合、内容物を詳細に示す印刷済みのラベルまたは手製の印を注射器に貼り付ける。ラベルは、薬の名称を事前に印刷されており、薬のクラスによって色分けされている。しかし、色分けされた注射器ラベルは、最終使用者によって正しく貼り付けられない限り、他のやり方では識別不可能な注射器の液体を特定することができない。注射器が誤ったラベルを貼られると、不適切な薬物使用が患者にとって大惨事となりかねない。大部分の薬液は、ひとたび注射器に引き込まれると、水の外見および稠度を有する。医師または看護実施者が印刷済みラベル、手製の印を貼り付ける、またはどの薬液が所与の注射器の中にあるのかを記憶しようとする際、過誤の機会が生じる。多忙な日、夜勤または救急事の過程で、誤ったラベルを貼られた注射器の危険性は急増する。現在のシステムの中心的な欠陥は、注射器に貼られたラベルを個々の健康管理提供者が見ること以外、注射器の内容物を決定することが不可能であるということである。
【0004】
前記に基づき、より安全な注射用薬液および使用方法が要望される。
【0005】
ベシル酸アトラクリウムは、有用な注射用筋弛緩剤である化合物2,2'-(3,11-ジオキソ-4,10-ジオキサトリデカメチレン)ビス(1,2,3,4-テトラヒドロ-6,7-ジメトキシ-2-メチル-1-ベラトリルイソキノリニウム)ジ(ベンゼンスルホネート)の一般名である。商品名TRACRIUM（登録商標)でも知られている。ベシル酸アトラクリウムの化学構造を式1に示す。



式1

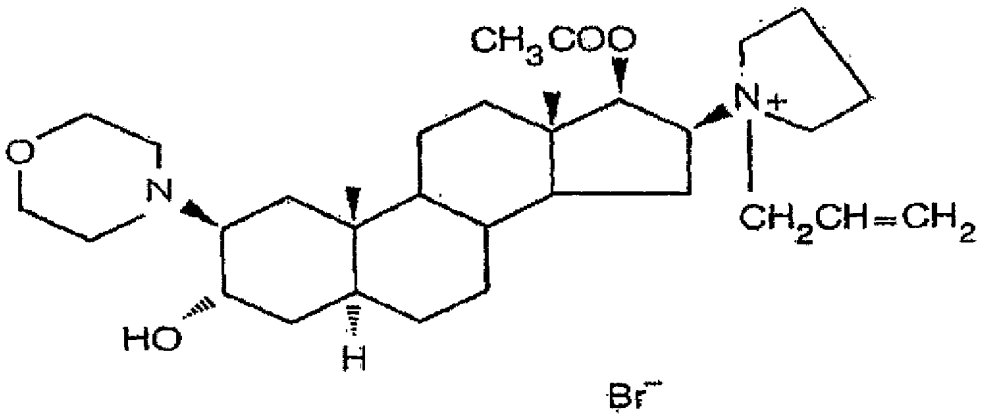
ベシル酸アトラクリウム

【0006】

ベシル酸アトラクリウムは、全身麻酔の補助剤として、手術または機械呼吸中に気管内挿管を容易にし、骨格筋弛緩を提供するために使用される。

【0007】

ロクロニウムは、有用な注射用筋弛緩剤である化合物1-〔17β-(アセチルオキシ)-3α-ヒドロキシ-2β-(4-モルホリニル)-5 a-アンドロスタン-16β-イル〕-1-(2-プロペニル)ピロリジニウムの一般名である。ロクロニウムは、参照により全体として本明細書に組み入れられる米国特許第4894369号(特許文献1)に記載されている。商品名ZEMURON (登録商標)およびESMERON(登録商標)でも知られている。臭化ロクロニウムの化学構造を式2に示す。



式2

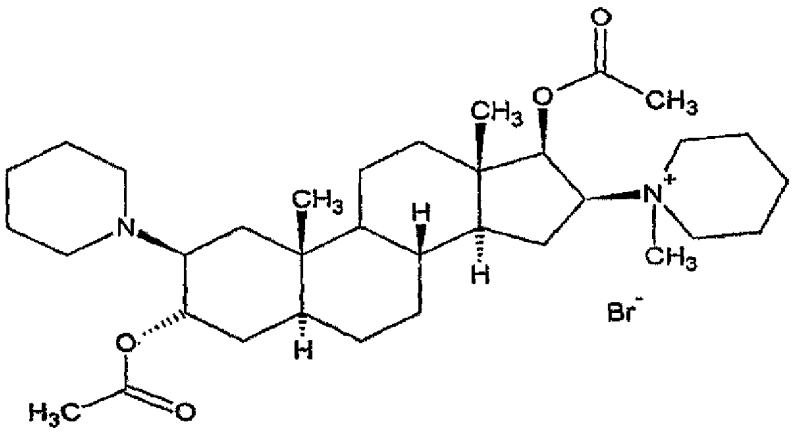
臭化ロクロニウム

【0008】

ロクロニウムは、全身麻酔の補助剤として、手術または手技手順中に機械呼吸を容易にし、骨格筋弛緩を提供するために使用される。

【0009】

ベクロニウムは、有用な注射用筋弛緩剤である化合物(+)-1-(3,17-ジアセトキシ-2-ピペリジノ-5-アンドロスタン-16-イル)-1-メチルピペリジニウムブロミドの一般名である。商品名NORCURON (登録商標)およびVECURON(登録商標)でも知られている。臭化ベクロニウムの化学構造を式3に示す。



式3

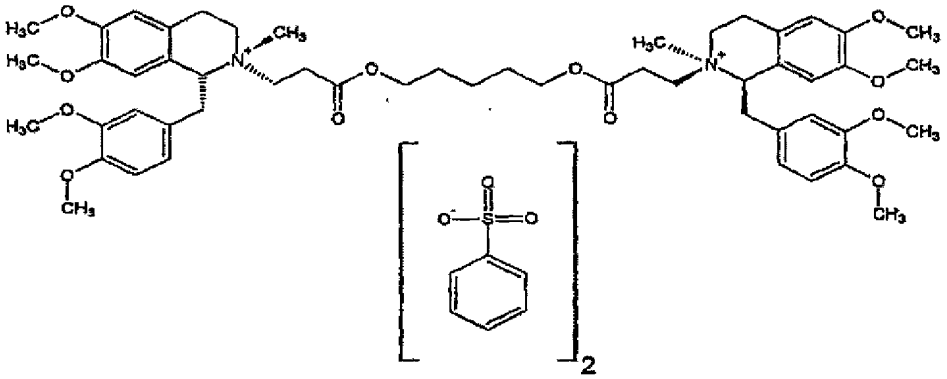
臭化ベクロニウム

【0010】

ベクロニウムは、全身麻酔の補助剤として、手術または手技手順中に機械呼吸を容易にし、骨格筋弛緩を提供するために使用される。

【0011】

ベシル酸シスアトラクリウムは、有用な注射用筋弛緩剤である化合物〔1R-〔1α,2α(1'R*,2'R*)〕〕-2,2'-〔1,5-ペンタンジイルビス〔オキシ(3-オキソ-3,1-プロパンジイル)〕〕ビス〔1-〔(3,4-ジメトキシフェニル)メチル〕-1,2,3,4-テトラヒドロ-6,7-ジメトキシ-2-メチルイソキノリニウム〕ジ(ベンゼンスルホネート)の一般名である。ベシル酸シスアトラクリウムの化学構造を式4に示す。



式4

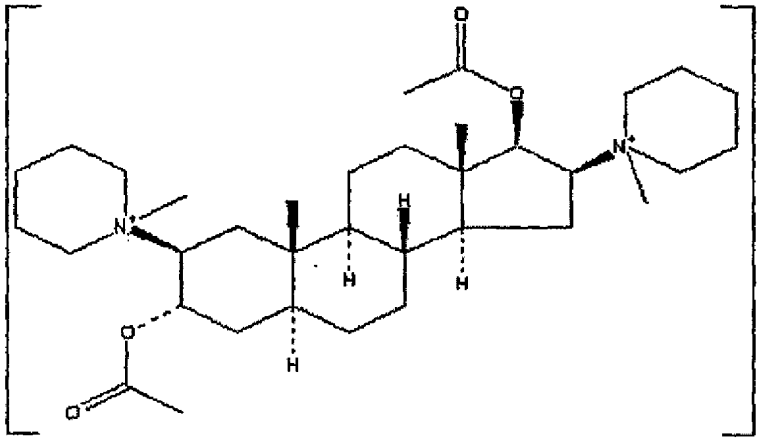
ベシル酸シスアトラクリウム

【0012】

ベシル酸シスアトラクリウムは、全身麻酔の補助剤として、手術または機械呼吸中に気管内挿管を容易にし、骨格筋弛緩を提供するために使用される。

【0013】

パンクロニウムは、有用な注射用筋弛緩剤である化合物3α,17β-ジアセトキシ-5α-アンドロスタン-2β,16β-イレンビス〔1-メチルピペリジニウム〕の一般名である。商品名PAVULON（登録商標）でも知られている。臭化パンクロニウムの化学構造を式5に示す。



式5

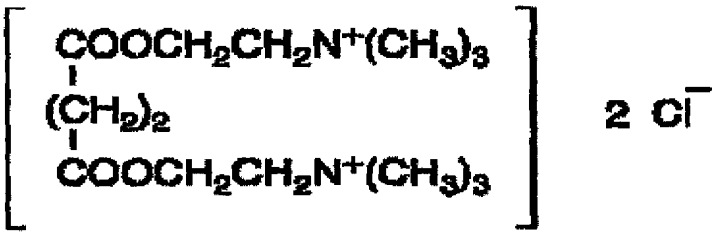
臭化パンクロニウム

【0014】

パンクロニウムは、全身麻酔の補助剤として、手術または手技手順中に機械呼吸を容易にし、骨格筋弛緩を提供するために使用される。

【0015】

サクシニルコリンは、有用な注射用筋弛緩剤である化合物2,2'-[(1,4-ジオキソ-1,4-ブタンジイル)ビス(オキシ)]ビス[N,N,N-トリメチルエタンアミニウム]の一般名である。塩化スキサメトニウム、スコリンまたは商品名ANECTINE（登録商標）、QUELICIN（登録商標）、FLO-PACK（登録商標）およびSUCOSTRIN（登録商標）でも知られている。二塩化サクシニルコリンの化学構造を式6に示す。



式6

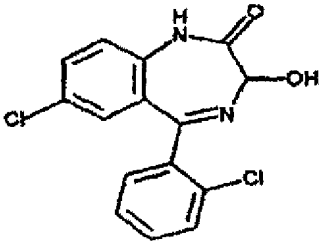
二塩化サクシニルコリン

【0016】

サクシニルコリンは、全身麻酔の補助剤として、手術または手技手順中に機械呼吸を容易にし、骨格筋弛緩を提供するために使用される。

【0017】

ロラゼパムは、化合物7-クロロ-5-(o-クロロフェニル)-1,3-ジヒドロ-3-ヒドロキシ-2H-1,4-ベンゾジアゼピン-2-オンの一般名である。商品名VERSED（登録商標）およびATIVAN（登録商標）でも知られている。ロラゼパムの化学構造を式7に示す。



式7

ロラゼパム

【0018】

注射用ロラゼパムは、以下の適用のために使用される。

i．不安および緊張を軽減し、大小の手術および診断手順に伴う事象の想記を減らす前投薬として。

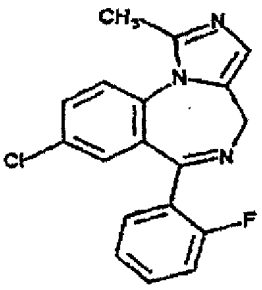
ii．急性不安症候の軽減。

iii．様々な部分および全汎タイプによって生じるてんかん重積持続状態の処置。ロラゼパム注射に応答することが知られている発作としては、全汎(強直・間代、「大」)発作、全汎欠神(「小」)発作または棘除波昏迷、単純部分(焦点運動)発作、複雑部分(精神運動)発作および複合型、たとえば焦点発症のある全汎発作がある。

iv．ロラゼパム注射による初期処置は、発作活動の長期的休止を生じさせる。

【0019】

ミダゾラムは、化合物8-クロロ-6-(2-フルオロフェニル)-1-メチル-4H-イミダゾ(1,5-a)(1,4)ベンゾジアゼピンの一般名である。商品名VERSED（登録商標)、SEDEVEN（登録商標)、HYPNOVEL（登録商標)およびDORMICUM（登録商標)でも知られている。ミダゾラムの遊離塩基の化学構造を式8に示す。



式8

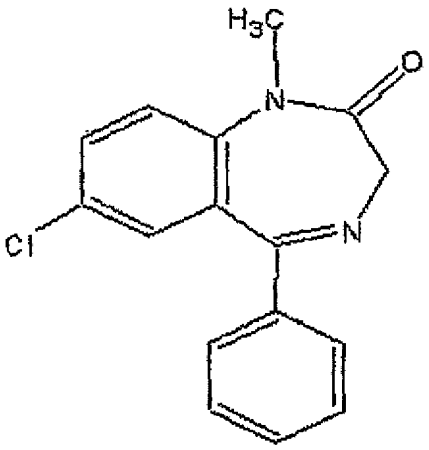
ミダゾラム

【0020】

静脈用塩酸ミダゾラムは、全身麻酔前の鎮静の導入、全身麻酔の導入および術前患者の記憶力を損なわすため(前向健忘)に使用される。塩酸ミダゾラムはまた、短い診断および内視鏡手順の前の意識鎮静のために使用されることもあり、また、短い外科的手順のための吸入揮発剤、亜酸化窒素および酸素(バランス麻酔)への催眠補充としても使用されることもある。

【0021】

ジアゼパムは、化合物7-クロロ-1,3-ジヒドロ-1-メチル-5-フェニル-2H-1,4-ベンゾジアゼピン-2-オンの一般名である。商品名VALIUM（登録商標)でも知られている。ジアゼパムの化学構造を式9に示す。



式9

ジアゼパム

【0022】

ジアゼパムは、以下の適用のために使用される：

i．不安および緊張を軽減し、大小の手術および診断手順に伴う事象の想記を減らすための前投薬および／または電気的除細動として。

ii．急性不安症候の軽減。

iii．様々な部分および全汎タイプによって生じるてんかん重積持続状態の処置。ジアゼパム注射に応答することが知られている発作としては、全汎(強直・間代、「大」)発作、全汎欠神(「小」)発作または棘除波昏迷、単純部分(焦点運動)発作、複雑部分(精神運動)発作および複合型、たとえば焦点発症のある全汎発作がある。

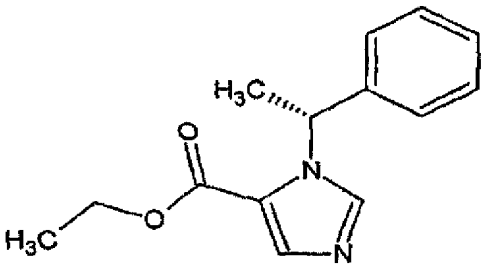
iv．ジアゼパム注射による初期処置は、発作活動の長期的休止を生じさせる。

v．急性アルコール禁断による急性動揺、震え、切迫性または急性振戦せん妄および幻覚の症候の軽減。

vi．局所的症状、脳性麻痺、アテトーシス、スティッフマン症候群または破傷風に伴う筋痙攣の処置。

【0023】

エトミデートは、有用な注射用麻酔導入剤である化合物(R)-(+)-エチル-1-(1-フェニルエチル)-1H-イミダゾール-5-カルボキシレートの一般名である。商品名AMIDATE（登録商標)およびHYPNOMIDATE（登録商標)でも知られている。エトミデートの化学構造を式10に示す。



式10

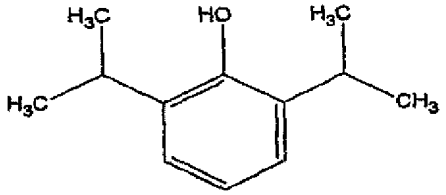
エトミデート

【0024】

エトミデートは全身麻酔の導入のために使用される。

【0025】

プロポフォールは、有用な注射用麻酔導入剤である化合物2,6-ジイソプロピルフェノールの一般名である。商品名DIPRIVAN（登録商標)およびDIPRIVAN VHA PLUS（登録商標)でも知られている。プロポフォールの化学構造を式11に示す。



式11

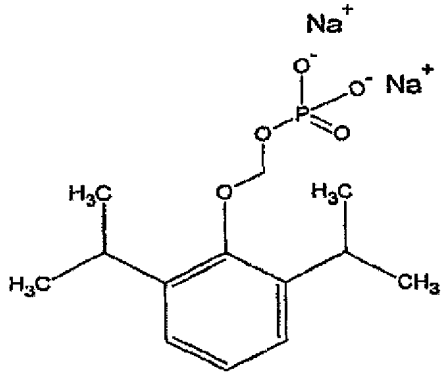
プロポフォール

【0026】

プロポフォールは、全身麻酔の導入および維持ならびに鎮静の導入および維持のために使用される。プロポフォールの溶液が、参照により本明細書に組み入れられるUS6,326,406(特許文献2)、20020107291 A1(特許文献3)、20040014718 A1(特許文献4)、20050004234 A1(特許文献5)、および20040235964 A1(特許文献6)に記載されている。

【0027】

フォスプロポフォール二ナトリウムは、有用な注射用麻酔導入剤プロポフォールのプロドラッグである化合物二ナトリウム(2,6-ジイソプロピルフェノキシ)メチルホスフェートの一般名である。商品名AQUAVAN（登録商標)でも知られている。フォスプロポフォール二ナトリウムの化学構造を式12に示す。



式12

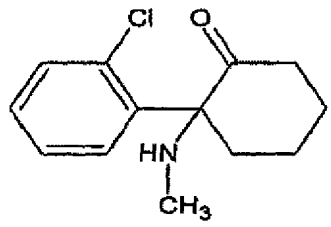
フォスプロポフォール二ナトリウム

【0028】

フォスプロポフォール二ナトリウムは、全身麻酔の導入および維持ならびに鎮静の導入および維持のために使用される。フォスプロポフォール二ナトリウムの溶液が、参照により本明細書に組み入れられるUS6204257(特許文献7)に記載されている。

【0029】

ケタミンは、有用な注射用麻酔導入剤である化合物2-(2-クロロフェニル)-2-(メチルアミノ)-シクロヘキサンの一般名である。商品名KETANEST（登録商標)、KETASET（登録商標)およびKETALAR（登録商標)でも知られている。ケタミンの遊離塩基形態の化学構造を式13に示す。



式13

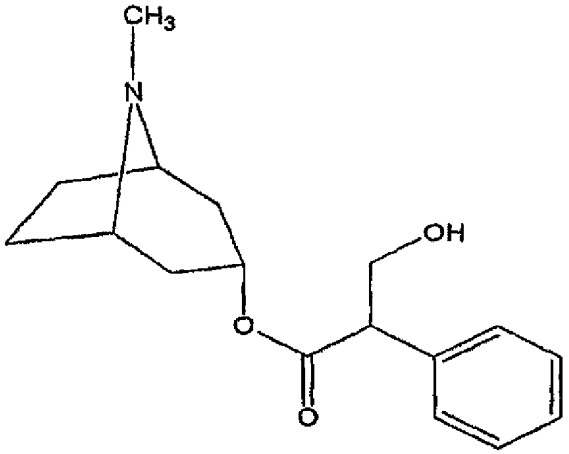
ケタミン

【0030】

塩酸ケタミンは、全身麻酔の導入および維持のために使用される。

【0031】

アトロピンは、ベラドンナ(Atropa belladonna)および他のナス科植物から抽出されるトロパンアルカロイドである。ヒオスシアミンとも知られ、商品名ATROPEN（登録商標)でも知られている。アトロピンの化学構造を式14に示す。



式14

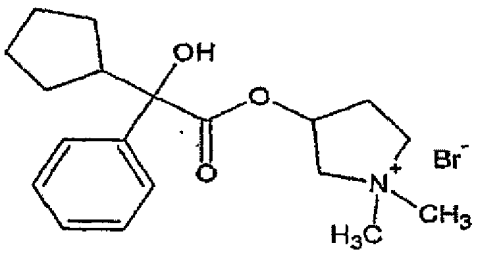
アトロピン

【0032】

注射用アトロピン、もっとも一般的には硫酸アトロピン一水和物は、唾液および気管支分泌物を減らし、反射性除脈を処置するための前麻酔として使用され、不整脈の応急処置でも使用される。

【0033】

グリコピロレートは、有用な注射用抗コリン作用剤である化合物3[(シクロペンチルヒドロキシフェニルアセチル)オキシ]-1,1-ジメチルピロリジニウムブロミドの一般名である。商品名ROBINUL（登録商標)でも知られている。グリコピロレートの化学構造を式15に示す。



式15

グリコピロレート

【0034】

注射用グリコピロレートは、麻酔導入および挿管中に唾液、気管気管支および咽頭分泌物を減らし、胃分泌物の量および遊離酸性度を下げ、心臓迷走神経阻害反射を遮断するための術前抗ムスカリン剤として使用される。

【0035】

【特許文献1】US 4894369
【特許文献2】US 6,326,406
【特許文献3】US 20020107291 A1
【特許文献4】US 20040014718 A1
【特許文献5】US 20050004234 A1
【特許文献6】US 20040235964 A1

【特許文献7】US 6204257
【非特許文献1】1999 Institute of Medicine report,「To Err is Human: Building a Safer Health System」
【発明の開示】
【0036】
発明の概要
着色された薬液は、一つの薬物クラスと別の薬物クラスとの混同を実施者が避けることを支援する。そのような着色剤は、健康管理提供者側の過誤を減らすために溶液に加えられる。
【0037】
本発明は、筋弛緩剤、催眠剤、導入剤および抗コリン作用剤からなる群より選択される注射用薬剤の着色された溶液、着色された乳濁液または着色された粉末を含む薬学的組成物に関する。本発明の製剤は、すべて、フルオレセインを使用して着色することができる。フルオレセインの濃度を変えることまたはフルオレセインを別の色素と合わせることのいずれかによって、様々な色を達成することができる。本発明はまた、該薬学的組成物の使用を含む方法に関する。
【0038】
着色された薬液のさらなる利点は、注入された薬物が管を通過し、患者の静脈に進入したことを実施者が目視的に確認することを可能にすることである。
【0039】
発明の詳細な説明
本発明は、着色された注射用薬剤であって、該色がフルオレセインを含む色素に由来する、着色された注射用薬剤に関する。
【0040】
本発明の態様は、着色された注射用薬剤であって、該色がフルオレセインおよびメチレンブルーを含む色素に由来する、着色された注射用薬剤である。
【0041】
本発明の態様は、着色された注射用薬剤であって、該色がフルオレセインおよびインジゴカルミンを含む色素に由来する、着色された注射用薬剤である。
【0042】
本発明の態様は、着色された注射用薬剤であって、該色が、フルオレセインを含む色素に由来し、かつ黄色、オレンジ色、明るいオレンジ色および緑色からなる群より選択される、着色された注射用薬剤である。
【0043】
本発明の態様は、着色された注射用薬剤であって、該色が、フルオレセインおよびメチレンブルーを含む色素に由来し、かつ緑色である、着色された注射用薬剤である。
【0044】
本発明の態様は、着色された注射用薬剤であって、該色が、フルオレセインおよびインジゴカルミンを含む色素に由来し、かつ緑色である、着色された注射用薬剤である。
【0045】
本発明の態様は、着色された注射用筋弛緩剤であって、該色が、7mg/mL～250mg/mLの濃度のフルオレセインを含む色素に由来し、かつ明るいオレンジ色である、着色された注射用筋弛緩剤である。
【0046】
本発明の態様は、着色された注射用筋弛緩剤であって、該色が、7mg/mL～100mg/mLの濃度のフルオレセインを含む色素に由来し、かつ明るいオレンジ色である、着色された注射用筋弛緩剤である。
【0047】
本発明の態様は、着色された注射用催眠剤であって、該色が、1mg/mL～10mg/mLの濃度

のフルオレセインを含む色素に由来し、かつオレンジ色である、着色された注射用催眠剤である。

【0048】

本発明の態様は、着色された注射用催眠剤であって、該色が、1.5mg/mL～2.5mg/mLの濃度のフルオレセインを含む色素に由来し、かつオレンジ色である、着色された注射用催眠剤である。

【0049】

本発明の態様は、着色された注射用導入剤であって、該色が、0.001mg/mL～2.5mg/mLの濃度のフルオレセインを含む色素に由来し、かつ黄色である、着色された注射用導入剤である。

【0050】

本発明の態様は、着色された注射用導入剤であって、該色が、0.05mg/mL～1.0mg/mLの濃度のフルオレセインを含む色素に由来し、かつ黄色である、着色された注射用導入剤である。

【0051】

本発明の態様は、着色された注射用抗コリン作用剤であって、該色が、0.001mg/mL～0.1mg/mLの濃度のフルオレセインおよび0.001mg/mL～0.05mg/mLの濃度のメチレンブルーを含む色素に由来し、かつ緑色である、着色された注射用抗コリン作用剤である。

【0052】

本発明の態様は、着色された注射用抗コリン作用剤であって、該色が、0.002mg/mL～0.02mg/mLの濃度のフルオレセインおよび0.002mg/mL～0.02mg/mLの濃度のメチレンブルーを含む色素に由来し、かつ緑色である、着色された注射用抗コリン作用剤である。

【0053】

本発明の態様は、着色された注射用抗コリン作用剤であって、該色が、0.001mg/mL～0.4mg/mLの濃度のフルオレセインおよび0.001mg/mL～0.05mg/mLの濃度のインジゴカルミンを含む色素に由来し、かつ緑色である、着色された注射用抗コリン作用剤である。

【0054】

本発明の態様は、着色された注射用抗コリン作用剤であって、該色が、0.002mg/mL～0.2mg/mLの濃度のフルオレセインおよび0.001mg/mL～0.03mg/mLの濃度のインジゴカルミンを含む色素に由来し、かつ緑色である、着色された注射用抗コリン作用剤である。

【0055】

本発明の態様は、色分けされた注射用薬剤を調製する方法であって、フルオレセインの濃度を変えることによって様々な色が作製される方法である。

【0056】

本発明の態様は、色分けされた注射用薬剤を調製する方法であって、フルオレセインの濃度を変えることによって黄色、オレンジ色および明るいオレンジ色が作製される方法である。

【0057】

本発明の態様は、着色されたベシル酸アトラクリウム溶液を含む薬学的溶液である。

【0058】

本発明の態様は、明るいオレンジ色のベシル酸アトラクリウム溶液を含む薬学的溶液である。

【0059】

本発明の態様は、明るいオレンジ色のベシル酸アトラクリウム溶液を含む薬学的溶液であって、該オレンジ色がフルオレセインに由来する薬学的溶液である。

【0060】

本発明の態様は、明るいオレンジ色のベシル酸アトラクリウム水溶液を含む薬学的溶液であって、該オレンジ色がフルオレセインに由来する薬学的溶液である。

【0061】

一つの態様で、本発明は、哺乳動物において筋弛緩応答を誘発するための、着色された

ベシル酸アトラクリウム溶液の治療的有効量を含む薬学的溶液を提供する。
【0062】
もう一つの態様で、本発明は、筋弛緩応答を誘発するのに十分である、着色されたベシル酸アトラクリウム溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において筋弛緩応答を誘発する方法を提供する。
【0063】
もう一つの態様で、本発明は、明るいオレンジ色のベシル酸アトラクリウム水溶液の治療的有効量を投与することを含む、哺乳動物において筋弛緩応答を誘発する方法であって、該溶液の明るいオレンジ色がフルオレセインに由来する方法を提供する。
【0064】
特に好ましい態様で、本発明は、水、0.1mg/mL～250mg/mLの範囲のベシル酸アトラクリウムおよび7～250mg/mLの範囲のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。
【0065】
特に好ましい態様で、本発明は、水、1mg/mL～50mg/mLの範囲のベシル酸アトラクリウムおよび7～100mg/mLの範囲のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。
【0066】
特に好ましい態様で、本発明は、水、10mg/mLの濃度のベシル酸アトラクリウムおよび10mg/mLの濃度のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。
【0067】
本発明の態様は、着色されたロクロニウム溶液を含む薬学的組成物である。
【0068】
本発明の態様は、明るいオレンジ色のロクロニウム溶液を含む薬学的組成物である。
【0069】
本発明の態様は、明るいオレンジ色のロクロニウム溶液を含む薬学的組成物であって、該明るいオレンジ色がフルオレセインに由来する薬学的組成物である。
【0070】
本発明の態様は、明るいオレンジ色のロクロニウム水溶液を含む薬学的組成物であって、該明るいオレンジ色がフルオレセインに由来する薬学的組成物である。
【0071】
一つの態様で、本発明は、哺乳動物において筋弛緩応答を誘発するための、着色された臭化ロクロニウム溶液の治療的有効量を含む薬学的組成物を提供する。
【0072】
もう一つの態様で、本発明は、筋弛緩応答を誘発するのに十分である、着色された臭化ロクロニウム溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において筋弛緩応答を誘発する方法を提供する。
【0073】
もう一つの態様で、本発明は、明るいオレンジ色の臭化ロクロニウム溶液の治療的有効量を投与することを含む、哺乳動物において筋弛緩応答を誘発する方法であって、該明るいオレンジ色がフルオレセインに由来する方法を提供する。
【0074】
特に好ましい態様で、本発明は、水、0.01mg/mL～100mg/mLの範囲の臭化ロクロニウムおよび7～250mg/mLの範囲のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。
【0075】
特に好ましい態様で、本発明は、水、0.5mg/mL～10mg/mLの範囲の臭化ロクロニウムおよび5～25mg/mLの範囲のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。
【0076】
特に好ましい態様で、本発明は、水、0.5mg/mL～10mg/mLの範囲の臭化ロクロニウムおよび7～100mg/mLの範囲のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。
【0077】
特に好ましい態様で、本発明は、水、1mg/mLの濃度の臭化ロクロニウムおよび10mg/mL

の濃度のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。
【0078】
本発明の態様は、着色されたベクロニウム粉末を含む薬学的組成物である。
【0079】
本発明の態様は、着色されたベクロニウム粉末であって、該色が明るいオレンジ色であるベクロニウム粉末である。
【0080】
本発明の態様は、明るいオレンジ色のベクロニウム粉末であって、該明るいオレンジ色がフルオレセインに由来する明るいオレンジ色のベクロニウム粉末である。
【0081】
本発明の態様は、明るいオレンジ色のベクロニウム粉末であって、該明るいオレンジ色がフルオレセインに由来する、医用製剤として使用するための、明るいオレンジ色のベクロニウム粉末である。
【0082】
本発明の態様は、筋弛緩応答を誘発するのに十分である、明るいオレンジ色の臭化ベクロニウム溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において筋弛緩応答を誘発する方法であって、該明るいオレンジ色がフルオレセインに由来する方法である。
【0083】
本発明の態様は、着色されたベシル酸シスアトラクリウム溶液を含む薬学的溶液である。
【0084】
本発明の態様は、明るいオレンジ色のベシル酸シスアトラクリウム溶液を含む薬学的溶液である。
【0085】
本発明の態様は、明るいオレンジ色のベシル酸シスアトラクリウム溶液を含む薬学的溶液であって、該オレンジ色がフルオレセインに由来する薬学的溶液である。
【0086】
本発明の態様は、明るいオレンジ色のベシル酸シスアトラクリウム水溶液を含む薬学的溶液であって、該オレンジ色がフルオレセインに由来する薬学的溶液である。
【0087】
一つの態様で、本発明は、哺乳動物において筋弛緩応答を誘発するための、着色されたベシル酸シスアトラクリウム溶液の治療的有効量を含む薬学的溶液を提供する。
【0088】
もう一つの態様で、本発明は、筋弛緩応答を誘発するのに十分である、着色されたベシル酸シスアトラクリウム溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において筋弛緩応答を誘発する方法を提供する。
【0089】
もう一つの態様で、本発明は、明るいオレンジ色のベシル酸シスアトラクリウム水溶液の治療的有効量を投与することを含む、哺乳動物において筋弛緩応答を誘発する方法であって、該溶液の明るいオレンジ色がフルオレセインに由来する方法を提供する。
【0090】
特に好ましい態様で、本発明は、水、0.1mg/mL～250mg/mLの範囲のベシル酸シスアトラクリウムおよび7～250mg/mLの範囲のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。
【0091】
特に好ましい態様で、本発明は、水、0.5mg/mL～25mg/mLの範囲のベシル酸シスアトラクリウムおよび7～100mg/mLの範囲のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。
【0092】
特に好ましい態様で、本発明は、水、2mg/mLの濃度のベシル酸シスアトラクリウムおよび10mg/mLの濃度のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。

【0093】
本発明の態様は、着色されたパンクロニウム溶液を含む薬学的溶液である。
【0094】
本発明の態様は、明るいオレンジ色のパンクロニウム溶液を含む薬学的溶液である。
【0095】
好ましい態様で、本発明は、明るいオレンジ色のパンクロニウム溶液を含む薬学的溶液であって、該明るいオレンジ色がフルオレセインに由来する薬学的溶液を提供する。
【0096】
好ましい態様で、本発明は、明るいオレンジ色のパンクロニウム水溶液を含む薬学的溶液であって、該明るいオレンジ色がフルオレセインに由来する薬学的溶液を提供する。
【0097】
一つの態様で、本発明は、哺乳動物において筋弛緩応答を誘発するための、着色された臭化パンクロニウム溶液の治療的有効量を含む薬学的溶液を提供する。
【0098】
もう一つの態様で、本発明は、筋弛緩応答を誘発するのに十分である、着色された臭化パンクロニウム溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において筋弛緩応答を誘発する方法を提供する。
【0099】
もう一つの態様で、本発明は、明るいオレンジ色の臭化パンクロニウム水溶液の治療的有効量を投与することを含む、哺乳動物において筋弛緩応答を誘発する方法であって、該溶液の明るいオレンジ色がフルオレセインに由来する方法を提供する。
【0100】
特に好ましい態様で、本発明は、水、0.01mg/mL～100mg/mLの範囲の臭化パンクロニウムおよび7～250mg/mLの範囲のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。
【0101】
特に好ましい態様で、本発明は、水、0.5mg/mL～10mg/mLの範囲の臭化パンクロニウムおよび5～25mg/mLの範囲のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。
【0102】
特に好ましい態様で、本発明は、水、0.5mg/mL～10mg/mLの範囲の臭化パンクロニウムおよび7～100mg/mLの範囲のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。
【0103】
特に好ましい態様で、本発明は、水、1mg/mLの濃度の臭化パンクロニウムおよび10mg/mLの濃度のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。
【0104】
本発明の態様は、着色されたサクシニルコリン溶液を含む薬学的溶液である。
【0105】
本発明の態様は、明るいオレンジ色のサクシニルコリン溶液を含む薬学的溶液である。
【0106】
本発明の態様は、明るいオレンジ色のサクシニルコリン溶液を含む薬学的溶液であって、該オレンジ色がフルオレセインに由来する薬学的溶液である。
【0107】
本発明の態様は、明るいオレンジ色のサクシニルコリン水溶液を含む薬学的溶液であって、該オレンジ色がフルオレセインに由来する薬学的溶液である。
【0108】
一つの態様で、本発明は、哺乳動物において筋弛緩応答を誘発するための、着色された二塩化サクシニルコリン溶液の治療的有効量を含む薬学的組成物を提供する。
【0109】
もう一つの態様で、本発明は、筋弛緩応答を誘発するのに十分である、着色された二塩化サクシニルコリン溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において筋弛緩応答を誘発する方法を提供する。

【0110】
もう一つの態様で、本発明は、明るいオレンジ色の二塩化サクシニルコリン水溶液の治療的有効量を投与することを含む、哺乳動物において筋弛緩応答を誘発する方法であって、該溶液の明るいオレンジ色がフルオレセインに由来する方法を提供する。
【0111】
特に好ましい態様で、本発明は、水、1mg/mL～250mg/mLの範囲の二塩化サクシニルコリンおよび7～250mg/mLの範囲のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。
【0112】
特に好ましい態様で、本発明は、水、20mg/mL～100mg/mLの範囲の二塩化サクシニルコリンおよび7～100mg/mLの範囲のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。
【0113】
特に好ましい態様で、本発明は、水、20mg/mLの濃度の二塩化サクシニルコリンおよび10mg/mLの濃度のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。
【0114】
本発明の態様は、着色されたロラゼパム溶液を含む薬学的組成物である。
【0115】
本発明の態様は、オレンジ色のロラゼパム溶液を含む薬学的組成物である。
【0116】
本発明の態様は、オレンジ色のロラゼパム溶液を含む薬学的組成物であって、該オレンジ色がフルオレセインに由来する薬学的組成物である。
【0117】
好ましい態様で、本発明は、プロピレングリコールおよびポリエチレングリコール中ロラゼパムのオレンジ色溶液を含む薬学的組成物であって、オレンジ色がフルオレセインに由来する薬学的組成物を提供する。
【0118】
本発明の態様は、ロラゼパムのプロピレングリコールおよびポリエチレングリコール溶液を含む、医用製剤として使用するための薬学的組成物であって、オレンジ色がフルオレセインに由来する薬学的組成物である。
【0119】
特に好ましい態様で、本発明は、0.5mg/mL～50mg/mLの範囲のロラゼパムおよび1.0～10mg/mLの範囲のフルオレセインのプロピレングリコール、ポリエチレングリコールおよびベンジルアルコール溶液を含む薬学的溶液を提供する。
【0120】
特に好ましい態様で、本発明は、1mg/mL～10mg/mLの範囲のロラゼパムおよび1.5～5mg/mLの範囲のフルオレセインのプロピレングリコール、ポリエチレングリコールおよびベンジルアルコール溶液を含む薬学的溶液を提供する。
【0121】
特に好ましい態様で、本発明は、約2mg/mLの濃度のロラゼパムおよび約2.5mg/mLの濃度のフルオレセインのプロピレングリコール、ポリエチレングリコールおよびベンジルアルコール溶液を含む薬学的溶液を提供する。
【0122】
もう一つの態様で、本発明は、前向健忘を導入するのに十分である、着色されたロラゼパム溶液を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において前向健忘を導入する方法を提供する。
【0123】
もう一つの態様で、本発明は、発作を制御するのに十分である、着色されたロラゼパム溶液を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物におけるてんかんを処置する方法を提供する。
【0124】
もう一つの態様で、本発明は、不安からの解放を提供するのに十分である、着色された

ロラゼパム溶液を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物における不安を処置する方法を提供する。

【0125】

もう一つの態様で、本発明は、オレンジ色のロラゼパム溶液を投与することを含む、哺乳動物において前向健忘を導入する方法であって、オレンジ色がフルオレセインに由来する方法を提供する。

【0126】

もう一つの態様で、本発明は、オレンジ色のロラゼパム溶液を投与することを含む、哺乳動物におけるてんかんを処置する方法であって、オレンジ色がフルオレセインに由来する方法を提供する。

【0127】

もう一つの態様で、本発明は、オレンジ色のロラゼパム溶液を投与することを含む、哺乳動物における不安を処置する方法であって、オレンジ色がフルオレセインに由来する方法を提供する。

【0128】

本発明の態様は、着色された塩酸ミダゾラム溶液を含む薬学的組成物である。

【0129】

本発明の態様は、オレンジ色の塩酸ミダゾラム溶液を含む薬学的組成物である。

【0130】

好ましい態様で、本発明は、塩酸ミダゾラムの水溶液を含む薬学的組成物であって、オレンジ色がフルオレセインに由来する薬学的組成物を提供する。

【0131】

本発明の態様は、塩酸ミダゾラムの水溶液を含む薬学的組成物であって、オレンジ色がフルオレセインに由来する薬学的組成物である。

【0132】

本発明の態様は、塩酸ミダゾラムの水溶液を含む、医用製剤として使用するための薬学的組成物であって、オレンジ色がフルオレセインに由来する薬学的組成物である。

【0133】

特に好ましい態様で、本発明は、水、0.1mg/mL～50mg/mLの範囲の塩酸ミダゾラムおよび1～10mg/mLの範囲のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。

【0134】

特に好ましい態様で、本発明は、水、0.5mg/mL～10mg/mLの範囲の塩酸ミダゾラムおよび1.5～5mg/mLの範囲のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。

【0135】

特に好ましい態様で、本発明は、水、1mg/mLの濃度の塩酸ミダゾラムおよび2.5mg/mLの濃度のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。

【0136】

もう一つの態様で、本発明は、水、0.5mg/mL～10mg/mLの範囲の塩酸ミダゾラム、1.5～5mg/mLの範囲のフルオレセインを含み、塩化ナトリウムさらにを含み、塩化ナトリウム濃度が10%（w/v）未満である薬学的溶液を含む。

【0137】

もう一つの態様で、本発明は、水、0.5mg/mL～10mg/mLの範囲の塩酸ミダゾラム、1.5～5mg/mLの範囲のフルオレセイン、10%（w/v）未満の塩化ナトリウムを含み、エデト酸二ナトリウムをさらに含み、エデト酸二ナトリウム濃度が1%（w/v）未満である薬学的溶液を含む。

【0138】

もう一つの態様で、本発明は、水、0.5mg/mL～10mg/mLの範囲の塩酸ミダゾラム、1.5～5mg/mLの範囲のフルオレセイン、10%（w/v）未満の塩化ナトリウム、1%（w/v）未満のエデト酸二ナトリウムを含み、pHを約3に調節するための塩酸をさらに含む薬学的溶液を含む。

【0139】
もう一つの態様で、本発明は、水、0.5mg/mL～10mg/mLの範囲の塩酸ミダゾラム、1.5～5mg/mLの範囲のフルオレセイン、10%（w/v)未満の塩化ナトリウム、1%（w/v)未満のエデト酸二ナトリウム、pHを約3に調節するための塩酸を含み、5%（w/v)未満のベンジルアルコールをさらに含む薬学的溶液を含む。
【0140】
もう一つの態様で、本発明は、鎮静を導入するのに十分である、着色された塩酸ミダゾラム溶液を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において鎮静を導入する方法を提供する。
【0141】
もう一つの態様で、本発明は、麻酔を導入するのに十分である、着色された塩酸ミダゾラム溶液を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において麻酔を導入する方法を提供する。
【0142】
もう一つの態様で、本発明は、前向健忘を導入するのに十分である、着色された塩酸ミダゾラム溶液を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において前向健忘を導入する方法を提供する。
【0143】
もう一つの態様で、本発明は、オレンジ色の塩酸ミダゾラム水溶液を投与することを含む、哺乳動物において鎮静を導入する方法であって、該オレンジ色がフルオレセインに由来する方法を提供する。
【0144】
もう一つの態様で、本発明は、オレンジ色の塩酸ミダゾラム水溶液を投与することを含む、哺乳動物において麻酔を導入する方法であって、該オレンジ色がフルオレセインに由来する方法を提供する。
【0145】
もう一つの態様で、本発明は、オレンジ色の塩酸ミダゾラム水溶液を投与することを含む、哺乳動物において前向健忘を導入する方法であって、該オレンジ色がフルオレセインに由来する方法を提供する。
【0146】
本発明の態様は、着色された注射用ジアゼパム製剤を含む薬学的組成物である。
【0147】
本発明の態様は、オレンジ色のジアゼパム溶液を含む薬学的組成物である。
【0148】
本発明の態様は、オレンジ色のジアゼパム乳濁液を含む薬学的組成物である。
【0149】
本発明の態様は、オレンジ色のジアゼパム溶液を含む薬学的組成物であって、該オレンジ色がフルオレセインに由来する薬学的組成物である。
【0150】
本発明の態様は、オレンジ色のジアゼパム乳濁液を含む薬学的組成物であって、該オレンジ色がフルオレセインに由来する薬学的組成物である。
【0151】
好ましい態様で、薬学的組成物は、オレンジ色のジアゼパムのプロピレングリコールおよびポリエチレングリコール溶液を含み、該オレンジ色はフルオレセインに由来する。
【0152】
好ましい態様で、薬学的組成物は、オレンジ色のジアゼパムのプロピレングリコールおよびエチルアルコール溶液を含み、該オレンジ色はフルオレセインに由来する。
【0153】
好ましい態様で、薬学的組成物は、オレンジ色のジアゼパムの大豆油および水乳濁液を含み、該オレンジ色はフルオレセインに由来する。

【0154】
本発明の態様は、オレンジ色のジアゼパムのプロピレングリコールおよびポリエチレングリコール溶液を含む、医用製剤として使用するための薬学的組成物であって、オレンジ色がフルオレセインに由来する薬学的組成物である。
【0155】
本発明の態様は、オレンジ色のジアゼパムのプロピレングリコールおよびポリエチレングリコール乳濁液を含む、医用製剤として使用するための薬学的組成物であって、オレンジ色がフルオレセインに由来する薬学的組成物である。
【0156】
特に好ましい態様で、本発明は、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、0.5mg/mL～50mg/mLの範囲のジアゼパムおよび1.0～10mg/mLの範囲のフルオレセインを含む溶液を提供する。
【0157】
特に好ましい態様で、本発明は、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、1mg/mL～10mg/mLの範囲のジアゼパムおよび1.5～5mg/mLの範囲のフルオレセインを含む溶液を提供する。
【0158】
特に好ましい態様で、本発明は、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、約4mg/mLの濃度のジアゼパムおよび約2.5mg/mLの濃度のフルオレセインを含む溶液を提供する。
【0159】
特に好ましい態様で、本発明は、プロピレングリコール、エチルアルコール、0.5mg/mL～50mg/mLの範囲のジアゼパムおよび1.0～10mg/mLの範囲のフルオレセインを含む溶液を提供する。
【0160】
特に好ましい態様で、本発明は、プロピレングリコール、エチルアルコール、1mg/mL～10mg/mLの範囲のジアゼパムおよび1.5～5mg/mLの範囲のフルオレセインを含む溶液を提供する。
【0161】
特に好ましい態様で、本発明は、プロピレングリコール、エチルアルコール、約5mg/mLの濃度のジアゼパムおよび約2.5mg/mLの濃度のフルオレセインを含む溶液を提供する。
【0162】
特に好ましい態様で、本発明は、大豆油、水、0.5mg/mL～50mg/mLの範囲のジアゼパムおよび1.0～10mg/mLの範囲のフルオレセインを含む乳濁液を提供する。
【0163】
特に好ましい態様で、本発明は、大豆油、水、1mg/mL～10mg/mLの範囲のジアゼパムおよび1.5～5mg/mLの範囲のフルオレセインを含む乳濁液を提供する。
【0164】
特に好ましい態様で、本発明は、大豆油、水、約5mg/mLの濃度のジアゼパムおよび約2.5mg/mLの濃度のフルオレセインを含む乳濁液を提供する。
【0165】
もう一つの態様で、本発明は、前向健忘を導入するのに十分である、着色されたジアゼパム溶液を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において前向健忘を導入する方法を提供する。
【0166】
もう一つの態様で、本発明は、手術前の不安および緊張を軽減するのに十分である、着色されたジアゼパム溶液を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物における手術前の不安および緊張を軽減する方法を提供する。
【0167】
もう一つの態様で、本発明は、急性不安を軽減するのに十分である、着色されたジアゼ

パム溶液を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物における急性不安および緊張を軽減する方法を提供する。

【0168】

もう一つの態様で、本発明は、てんかん重積持続状態を軽減するのに十分である、着色されたジアゼパム溶液を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物におけるてんかん重積持続状態を軽減する方法を提供する。

【0169】

もう一つの態様で、本発明は、アルコール禁断の症候を軽減するのに十分である、着色されたジアゼパム溶液を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物における急性アルコール禁断による急性動揺、震え、切迫性または急性振戦せん妄および幻覚を軽減する方法を提供する。

【0170】

もう一つの態様で、本発明は、筋痙攣を軽減するのに十分である、着色されたジアゼパム溶液を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物における局所的症状、脳性麻痺、アテトーシス、スティッフマン症候群または破傷風に伴う筋痙攣を軽減する方法を提供する。

【0171】

もう一つの態様で、本発明は、オレンジ色のジアゼパム溶液を投与することを含む、哺乳動物において前向健忘を導入する方法であって、該オレンジ色がフルオレセインに由来する方法を提供する。

【0172】

もう一つの態様で、本発明は、オレンジ色のジアゼパム溶液を投与することを含む、哺乳動物における手術前の不安および緊張を軽減する方法であって、該オレンジ色がフルオレセインに由来する方法を提供する。

【0173】

もう一つの態様で、本発明は、オレンジ色のジアゼパム溶液を投与することを含む、哺乳動物における急性不安および緊張を軽減する方法であって、該オレンジ色がフルオレセインに由来する方法を提供する。

【0174】

もう一つの態様で、本発明は、オレンジ色のジアゼパム溶液を投与することを含む、哺乳動物におけるてんかん重積持続状態を軽減する方法であって、該オレンジ色がフルオレセインに由来する方法を提供する。

【0175】

もう一つの態様で、本発明は、オレンジ色のジアゼパム溶液を投与することを含む、哺乳動物における急性アルコール禁断による急性動揺、震え、切迫性または急性振戦せん妄および幻覚を軽減する方法であって、該オレンジ色がフルオレセインに由来する方法を提供する。

【0176】

もう一つの態様で、本発明は、オレンジ色のジアゼパム溶液を投与することを含む、哺乳動物における局所的症状、脳性麻痺、アテトーシス、スティッフマン症候群または破傷風に伴う筋痙攣を軽減する方法であって、該オレンジ色がフルオレセインに由来する方法を提供する。

【0177】

本発明の態様は、着色されたエトミデート溶液を含む薬学的組成物である。

【0178】

本発明の態様は、着色されたエトミデート溶液を含む薬学的組成物である。

【0179】

本発明の態様は、黄色のエトミデート溶液を含む薬学的組成物である。

【0180】

もう一つの態様で、本発明は、全身麻酔を導入するのに十分である、着色されたエトミデート溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において全身麻酔

を導入する方法を提供する。

【0181】

もう一つの態様で、本発明は、黄色のエトミデート溶液の治療的有効量を投与することを含む、哺乳動物において全身麻酔を導入する方法であって、該溶液の黄色がフルオレセインに由来する方法を提供する。

【0182】

もう一つの態様で、本発明は、全身麻酔を維持するのに十分である、着色されたエトミデート溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において全身麻酔を維持する方法を提供する。

【0183】

もう一つの態様で、本発明は、黄色のエトミデート溶液の治療的有効量を投与することを含む、哺乳動物において全身麻酔を維持する方法であって、該溶液の黄色がフルオレセインに由来する方法を提供する。

【0184】

好ましい態様で、本発明は、水、プロピレングリコール、エトミデートおよびフルオレセインの溶液を含む薬学的組成物を提供する。

【0185】

もう一つの態様で、本発明は、水、プロピレングリコール、エトミデートおよびフルオレセインの溶液を含む、医用製剤として使用するための薬学的組成物を提供する。

【0186】

特に好ましい態様で、本発明は、水、プロピレングリコール、0.02mg/mL～20mg/mLの範囲のエトミデートおよび0.001～2.5mg/mLの範囲のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。

【0187】

特に好ましい態様で、本発明は、水、プロピレングリコール、0.5mg/mL～10mg/mLの範囲のエトミデートおよび0.05～1mg/mLの範囲のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。

【0188】

特に好ましい態様で、本発明は、水、プロピレングリコール、2mg/mLの濃度のエトミデートおよび0.15mg/mLの濃度のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。

【0189】

本発明の態様は、着色されたプロポフォール溶液または乳濁液を含む薬学的組成物である。

【0190】

本発明の態様は、着色されたプロポフォール溶液または乳濁液を含む薬学的組成物である。

【0191】

本発明の態様は、黄色のプロポフォール溶液または乳濁液を含む薬学的組成物である。

【0192】

一つの態様で、本発明は、哺乳動物において全身麻酔を導入するための、着色されたプロポフォール溶液または乳濁液の治療的有効量を含む薬学的組成物を提供する。

【0193】

もう一つの態様で、本発明は、全身麻酔を導入するのに十分である、着色されたプロポフォール溶液または乳濁液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において全身麻酔を導入する方法を提供する。

【0194】

もう一つの態様で、本発明は、鎮静を導入するのに十分である、着色されたプロポフォール溶液または乳濁液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において鎮静を導入する方法を提供する。

【0195】

もう一つの態様で、本発明は、全身麻酔を維持するのに十分である、着色されたプロポフォール溶液または乳濁液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において全身麻酔を維持する方法を提供する。

【0196】

もう一つの態様で、本発明は、鎮静を維持するのに十分である、着色されたプロポフォール溶液または乳濁液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において鎮静を維持する方法を提供する。

【0197】

もう一つの態様で、本発明は、黄色のプロポフォール溶液または乳濁液の治療的有効量を投与することを含む、哺乳動物において全身麻酔を導入する方法であって、該溶液または乳濁液の黄色がフルオレセインに由来する方法を提供する。

【0198】

もう一つの態様で、本発明は、黄色のプロポフォール溶液または乳濁液の治療的有効量を投与することを含む、哺乳動物において鎮静を導入する方法であって、該溶液または乳濁液の黄色がフルオレセインに由来する方法を提供する。

【0199】

もう一つの態様で、本発明は、黄色のプロポフォール溶液または乳濁液の治療的有効量を投与することを含む、哺乳動物において全身麻酔を維持する方法であって、該溶液または乳濁液の黄色がフルオレセインに由来する方法を提供する。

【0200】

もう一つの態様で、本発明は、黄色のプロポフォール溶液または乳濁液の治療的有効量を投与することを含む、哺乳動物において鎮静を維持する方法であって、該溶液または乳濁液の黄色がフルオレセインに由来する方法を提供する。

【0201】

好ましい態様で、本発明は、水、大豆油、プロポフォールおよびフルオレセインの溶液または乳濁液を含む薬学的組成物を提供する。

【0202】

もう一つの態様で、本発明は、水、大豆油、プロポフォールおよびフルオレセインの溶液または乳濁液を含む、医用製剤として使用するための薬学的組成物を提供する。

【0203】

特に好ましい態様で、本発明は、水、1mg/mL～50mg/mLの範囲のプロポフォールおよび0.001～2.5mg/mLの範囲のフルオレセインを含む溶液または乳濁液を提供する。

【0204】

特に好ましい態様で、本発明は、水、5mg/mL～15mg/mLの範囲のプロポフォールおよび0.05～1mg/mLの範囲のフルオレセインを含む溶液または乳濁液を提供する。

【0205】

特に好ましい態様で、本発明は、水、10mg/mLの濃度のプロポフォールおよび0.15mg/mLの濃度のフルオレセインを含む溶液または乳濁液を提供する。

【0206】

本発明の態様は、着色されたフォスプロポフォール二ナトリウム溶液を含む薬学的組成物である。

【0207】

本発明の態様は、黄色のフォスプロポフォール二ナトリウム溶液を含む薬学的組成物である。

【0208】

一つの態様で、本発明は、哺乳動物において全身麻酔を導入するための、着色されたフォスプロポフォール二ナトリウム溶液の治療的有効量を含む薬学的組成物を提供する。

【0209】

もう一つの態様で、本発明は、全身麻酔を導入するのに十分である、着色されたフォスプロポフォール二ナトリウム溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳

動物において全身麻酔を導入する方法を提供する。

【0210】

もう一つの態様で、本発明は、鎮静を導入するのに十分である、着色されたフォスプロポフォール二ナトリウム溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において鎮静を導入する方法を提供する。

【0211】

もう一つの態様で、本発明は、全身麻酔を維持するのに十分である、着色されたフォスプロポフォール二ナトリウム溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において全身麻酔を維持する方法を提供する。

【0212】

もう一つの態様で、本発明は、鎮静を維持するのに十分である、着色されたフォスプロポフォール二ナトリウム溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において鎮静を維持する方法を提供する。

【0213】

もう一つの態様で、本発明は、黄色のフォスプロポフォール二ナトリウム溶液の治療的有効量を投与することを含む、哺乳動物において全身麻酔を導入する方法であって、該溶液の黄色がフルオレセインに由来する方法を提供する。

【0214】

もう一つの態様で、本発明は、黄色のフォスプロポフォール二ナトリウム溶液の治療的有効量を投与することを含む、哺乳動物において鎮静を導入する方法であって、該溶液の黄色がフルオレセインに由来する方法を提供する。

【0215】

もう一つの態様で、本発明は、黄色のフォスプロポフォール二ナトリウム溶液の治療的有効量を投与することを含む、哺乳動物において全身麻酔を維持する方法であって、該溶液の黄色がフルオレセインに由来する方法を提供する。

【0216】

もう一つの態様で、本発明は、黄色のフォスプロポフォール二ナトリウム溶液の治療的有効量を投与することを含む、哺乳動物において鎮静を維持する方法であって、該溶液の黄色がフルオレセインに由来する方法を提供する。

【0217】

好ましい態様で、本発明は、フォスプロポフォール二ナトリウムおよびフルオレセインの水溶液を含む薬学的組成物を提供する。

【0218】

もう一つの態様で、本発明は、フォスプロポフォール二ナトリウムおよびフルオレセインの水溶液を含む、医用製剤として使用するための薬学的組成物を提供する。

【0219】

特に好ましい態様で、本発明は、水、1mg/mL～50mg/mLの範囲のフォスプロポフォール二ナトリウムおよび0.001～2.5mg/mLの範囲のフルオレセインを含む溶液を提供する。

【0220】

特に好ましい態様で、本発明は、水、5mg/mL～15mg/mLの範囲のフォスプロポフォール二ナトリウムおよび0.05～1mg/mLの範囲のフルオレセインを含む溶液を提供する。

【0221】

特に好ましい態様で、本発明は、水、10mg/mLの濃度のフォスプロポフォール二ナトリウムおよび0.15mg/mLの濃度のフルオレセインを含む溶液を提供する。

【0222】

本発明の態様は、着色されたフォスプロポフォール二ナトリウム溶液を含む薬学的組成物である。

【0223】

本発明の態様は、オレンジ色のフォスプロポフォール二ナトリウム溶液を含む薬学的組成物である。

【0224】
一つの態様で、本発明は、哺乳動物において全身麻酔を導入するための、着色されたフォスプロポフォール二ナトリウム溶液の治療的有効量を含む薬学的組成物を提供する。
【0225】
もう一つの態様で、本発明は、全身麻酔を導入するのに十分である、着色されたフォスプロポフォール二ナトリウム溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において全身麻酔を導入する方法を提供する。
【0226】
もう一つの態様で、本発明は、鎮静を導入するのに十分である、着色されたフォスプロポフォール二ナトリウム溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において鎮静を導入する方法を提供する。
【0227】
もう一つの態様で、本発明は、全身麻酔を維持するのに十分である、着色されたフォスプロポフォール二ナトリウム溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において全身麻酔を維持する方法を提供する。
【0228】
もう一つの態様で、本発明は、鎮静を維持するのに十分である、着色されたフォスプロポフォール二ナトリウム溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において鎮静を維持する方法を提供する。
【0229】
もう一つの態様で、本発明は、オレンジ色のフォスプロポフォール二ナトリウム溶液の治療的有効量を投与することを含む、哺乳動物において全身麻酔を導入する方法であって、該溶液のオレンジ色がフルオレセインに由来する方法を提供する。
【0230】
もう一つの態様で、本発明は、オレンジ色のフォスプロポフォール二ナトリウム溶液の治療的有効量を投与することを含む、哺乳動物において鎮静を導入する方法であって、該溶液のオレンジ色がフルオレセインに由来する方法を提供する。
【0231】
もう一つの態様で、本発明は、オレンジ色のフォスプロポフォール二ナトリウム溶液の治療的有効量を投与することを含む、哺乳動物において全身麻酔を維持する方法であって、該溶液のオレンジ色がフルオレセインに由来する方法を提供する。
【0232】
もう一つの態様で、本発明は、オレンジ色のフォスプロポフォール二ナトリウム溶液の治療的有効量を投与することを含む、哺乳動物において鎮静を維持する方法であって、該溶液のオレンジ色がフルオレセインに由来する方法を提供する。
【0233】
好ましい態様で、本発明は、フォスプロポフォール二ナトリウムおよびフルオレセインの水溶液を含む薬学的組成物を提供する。
【0234】
もう一つの態様で、本発明は、フォスプロポフォール二ナトリウムおよびフルオレセインの水溶液を含む、医用製剤として使用するための薬学的組成物を提供する。
【0235】
特に好ましい態様で、本発明は、水、1mg/mL～50mg/mLの範囲のフォスプロポフォール二ナトリウムおよび1～10mg/mLの範囲のフルオレセインを含む溶液を提供する。
【0236】
特に好ましい態様で、本発明は、水、5mg/mL～15mg/mLの範囲のフォスプロポフォール二ナトリウムおよび1.5～5mg/mLの範囲のフルオレセインを含む溶液を提供する。
【0237】
特に好ましい態様で、本発明は、水、10mg/mLの濃度のフォスプロポフォール二ナトリウムおよび2.5mg/mLの濃度のフルオレセインを含む溶液を提供する。

【0238】
本発明は、着色されたケタミン溶液を含む薬学的組成物に関する。
【0239】
本発明の態様は、着色された塩酸ケタミン溶液を含む薬学的組成物である。
【0240】
本発明の態様は、黄色の塩酸ケタミン溶液を含む薬学的組成物である。
【0241】
一つの態様で、本発明は、哺乳動物において全身麻酔を導入するための、着色された塩酸ケタミン溶液の治療的有効量を含む薬学的組成物を提供する。
【0242】
もう一つの態様で、本発明は、全身麻酔を導入するのに十分である、着色された塩酸ケタミン溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において全身麻酔を導入する方法を提供する。
【0243】
もう一つの態様で、本発明は、黄色の塩酸ケタミン水溶液の治療的有効量を投与することを含む、哺乳動物において全身麻酔を導入する方法であって、該溶液の黄色がフルオレセインに由来する方法を提供する。
【0244】
好ましい態様で、本発明は、水、塩酸ケタミンおよびフルオレセインの溶液を含む薬学的組成物を提供する。
【0245】
もう一つの態様で、本発明は、水、塩酸ケタミンおよびフルオレセインの溶液を含む、医用製剤として使用するための薬学的組成物を提供する。
【0246】
特に好ましい態様で、本発明は、水、10mg/mL～500mg/mLの範囲の塩酸ケタミンおよび0.001～2.5mg/mLの範囲のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。
【0247】
特に好ましい態様で、本発明は、水、10mg/mL～250mg/mLの範囲の塩酸ケタミンおよび0.05～1mg/mLの範囲のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。
【0248】
特に好ましい態様で、本発明は、水、プロピレングリコール、100mg/mLの濃度の塩酸ケタミンおよび0.15mg/mLの濃度のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。
【0249】
本発明の態様は、着色されたアトロピン溶液を含む薬学的組成物である。
【0250】
本発明の態様は、緑色のアトロピン溶液を含む薬学的組成物である。
【0251】
もう一つの態様で、本発明は、着色されたアトロピン溶液を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において抗コリン作用効果を導入する方法を提供する。
【0252】
もう一つの態様で、本発明は、緑色のアトロピン溶液を投与することを含む、哺乳動物において抗コリン作用効果を導入する方法であって、該緑色がフルオレセインおよびメチレンブルーに由来する方法を提供する。
【0253】
もう一つの態様で、本発明は、緑色のアトロピン溶液を投与することを含む、哺乳動物において抗コリン作用効果を導入する方法であって、該緑色がフルオレセインおよびインジゴカルミンに由来する方法を提供する。
【0254】
好ましい態様で、本発明は、水、アトロピン、フルオレセインおよびメチレンブルーの溶液を含む薬学的組成物を提供する。

【0255】
好ましい態様で、本発明は、水、アトロピン、フルオレセインおよびインジゴカルミンの溶液を含む薬学的組成物を提供する。
【0256】
もう一つの態様で、本発明は、水、アトロピン、フルオレセインおよびメチレンブルーの溶液を含む、医用製剤として使用するための薬学的組成物を提供する。
【0257】
もう一つの態様で、本発明は、水、アトロピン、フルオレセインおよびインジゴカルミンの溶液を含む、医用製剤として使用するための薬学的組成物を提供する。
【0258】
特に好ましい態様で、本発明は、水、0.04mg/mL～4.0mg/mLの範囲のアトロピン、0.001～0.05mg/mLの範囲のメチレンブルーおよび0.001～0.1mg/mLの範囲のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。
【0259】
特に好ましい態様で、本発明は、水、0.1mg/mL～2.0mg/mLの範囲のアトロピン、0.002～0.02mg/mLの範囲のメチレンブルーおよび0.002～0.02mg/mLの範囲のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。
【0260】
特に好ましい態様で、本発明は、水、1mg/mLの濃度のアトロピン、0.003mg/mLの濃度のメチレンブルーおよび0.004mg/mLの濃度のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。
【0261】
特に好ましい態様で、本発明は、水、0.04mg/mL～4.0mg/mLの範囲のアトロピン、0.001～0.05mg/mLの範囲のインジゴカルミンおよび0.001～0.4mg/mLの範囲のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。
【0262】
特に好ましい態様で、本発明は、水、0.1mg/mL～2.0mg/mLの範囲のアトロピン、0.001～0.03mg/mLの範囲のインジゴカルミンおよび0.002～0.2mg/mLの範囲のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。
【0263】
特に好ましい態様で、本発明は、水、1mg/mLの濃度のアトロピン、0.015mg/mLの濃度のインジゴカルミンおよび0.006mg/mLの濃度のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。
【0264】
本発明の態様は、着色されたグリコピロレート溶液を含む薬学的組成物である。
【0265】
本発明の態様は、緑色のグリコピロレート溶液を含む薬学的組成物である。
【0266】
もう一つの態様で、本発明は、着色されたグリコピロレート溶液を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において抗コリン作用効果を導入する方法を提供する。
【0267】
もう一つの態様で、本発明は、緑色のグリコピロレート溶液を投与することを含む、哺乳動物において抗コリン作用効果を導入する方法であって、該溶液の緑色がフルオレセインおよびメチレンブルーに由来する方法を提供する。
【0268】
もう一つの態様で、本発明は、緑色のグリコピロレート溶液を投与することを含む、哺乳動物において抗コリン作用効果を導入する方法であって、該溶液の緑色がフルオレセインおよびインジゴカルミンに由来する方法を提供する。
【0269】
好ましい態様で、本発明は、水、グリコピロレート、フルオレセインおよびメチレンブルーの溶液を含む薬学的組成物を提供する。

【0270】
好ましい態様で、本発明は、水、グリコピロレート、フルオレセインおよびインジゴカルミンの溶液を含む薬学的組成物を提供する。
【0271】
もう一つの態様で、本発明は、水、グリコピロレート、フルオレセインおよびメチレンブルーの溶液を含む、医用製剤として使用するための薬学的組成物を提供する。
【0272】
もう一つの態様で、本発明は、水、グリコピロレート、フルオレセインおよびインジゴカルミンの溶液を含む、医用製剤として使用するための薬学的組成物を提供する。
【0273】
特に好ましい態様で、本発明は、水、0.002mg/mL～2.0mg/mLの範囲のグリコピロレート、0.001～0.05mg/mLの範囲のメチレンブルーおよび0.001～0.1mg/mLの範囲のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。
【0274】
特に好ましい態様で、本発明は、水、0.05mg/mL～1.0mg/mLの範囲のグリコピロレート、0.002～0.02mg/mLの範囲のメチレンブルーおよび0.002～0.02mg/mLの範囲のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。
【0275】
特に好ましい態様で、本発明は、水、0.2mg/mLの濃度のグリコピロレート、0.003mg/mLの濃度のメチレンブルーおよび0.004mg/mLの濃度のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。
【0276】
特に好ましい態様で、本発明は、水、0.002mg/mL～2.0mg/mLの範囲のグリコピロレート、0.001～0.05mg/mLの範囲のインジゴカルミンおよび0.001～0.4mg/mLの範囲のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。
【0277】
特に好ましい態様で、本発明は、水、0.001mg/mL～1.0mg/mLの範囲のグリコピロレート、0.001～0.03mg/mLの範囲のインジゴカルミンおよび0.002～0.2mg/mLの範囲のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。
【0278】
特に好ましい態様で、本発明は、水、0.2mg/mLの濃度のグリコピロレート、0.015mg/mLの濃度のインジゴカルミンおよび0.006mg/mLの濃度のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。
【0279】
本発明の態様は、着色されたガンタクリウム溶液を含む薬学的組成物である。
【0280】
本発明の態様は、明るいオレンジ色のガンタクリウム溶液を含む薬学的溶液である。
【0281】
本発明の態様は、明るいオレンジ色のガンタクリウム溶液を含む薬学的溶液であって、該オレンジ色がフルオレセインに由来する薬学的溶液である。
【0282】
本発明の態様は、明るいオレンジ色のガンタクリウム水溶液を含む薬学的溶液であって、該オレンジ色がフルオレセインに由来する薬学的溶液である。
【0283】
一つの態様で、本発明は、哺乳動物において筋弛緩応答を誘発するための、着色されたガンタクリウム溶液の治療的有効量を含む薬学的溶液を提供する。
【0284】
もう一つの態様で、本発明は、筋弛緩応答を誘発するのに十分である、着色されたガンタクリウム溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において筋弛緩応答を誘発する方法を提供する。

【0285】
もう一つの態様で、本発明は、明るいオレンジ色のガンタクリウム水溶液の治療的有効量を投与することを含む、哺乳動物において筋弛緩応答を誘発する方法であって、該溶液の明るいオレンジ色がフルオレセインに由来する方法を提供する。
【0286】
特に好ましい態様で、本発明は、水、0.1mg/mL～250mg/mLの範囲のガンタクリウムおよび7～250mg/mLの範囲のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。
【0287】
特に好ましい態様で、本発明は、水、1mg/mL～50mg/mLの範囲のガンタクリウムおよび7～100mg/mLの範囲のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。
【0288】
本発明の態様は、着色されたミバクリウム溶液を含む薬学的組成物である。
【0289】
本発明の態様は、明るいオレンジ色のミバクリウム溶液を含む薬学的溶液である。
【0290】
本発明の態様は、明るいオレンジ色のミバクリウム溶液を含む薬学的溶液であって、該オレンジ色がフルオレセインに由来する薬学的溶液である。
【0291】
本発明の態様は、明るいオレンジ色のミバクリウム水溶液を含む薬学的溶液であって、該オレンジ色がフルオレセインに由来する薬学的溶液である。
【0292】
一つの態様で、本発明は、哺乳動物において筋弛緩応答を誘発するための、着色されたミバクリウム溶液の治療的有効量を含む薬学的溶液を提供する。
【0293】
もう一つの態様で、本発明は、筋弛緩応答を誘発するのに十分である、着色されたミバクリウム溶液の治療的有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物において筋弛緩応答を誘発する方法を提供する。
【0294】
もう一つの態様で、本発明は、明るいオレンジ色のミバクリウム水溶液の治療的有効量を投与することを含む、哺乳動物において筋弛緩応答を誘発する方法であって、該溶液の明るいオレンジ色がフルオレセインに由来する方法を提供する。
【0295】
特に好ましい態様で、本発明は、水、0.1mg/mL～250mg/mLの範囲のミバクリウムおよび7～250mg/mLの範囲のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。
【0296】
特に好ましい態様で、本発明は、水、1mg/mL～50mg/mLの範囲のミバクリウムおよび7～100mg/mLの範囲のフルオレセインを含む薬学的溶液を提供する。
【0297】
定義
本明細書で使用する用語「約」とは、平均+/-15%をいう。
【0298】
本明細書で使用する用語「抗コリン作用性」とは、通常は神経伝達物質によって占められるものと同じレセプタを求めて競合することによってアセチルコリンのムスカリン様効果を拮抗する薬剤を意味することを意図する。抗コリン作用性薬剤の例は、アトロピンおよびグリコピロレートを含む。
【0299】
本明細書で使用する用語「ベシル酸アトラクリウム」とは、式1に示す、2,2'-(3,11-ジオキソ-4,10-ジオキサトリデカメチレン)ビス(1,2,3,4-テトラヒドロ-6,7-ジメトキシ-2-メチル-1-ベラトリルイソキノリニウム)のジ(ベンゼンスルホネート)塩をいう。
【0300】

本明細書で使用する用語「明るいオレンジ色」とは、一つまたは複数の波長の光、主として570～650nmの波長の光の反射を特徴とする色をいう。例は、Pantone 881および約25mg/mL～10mg/mLの範囲のフルオレセインの水溶液を含むが、これらに限定されない。

【0301】

本明細書で使用する用語「色分け」とは、ユーザが、薬物のクラスおよび個々の薬品の両方を分類し、識別することを可能にする標準化色系の体系的適用である。このような系は、ユーザが、色を標準化された薬学的機能と照合させることを可能にする。

【0302】

本明細書で使用する用語「緑色」とは、一つまたは複数の波長の光、主として530～490nmの波長の光の反射を特徴とする色をいう。例は、Pantone 367、フルオレセインとメチレンブルーとの水溶液およびフルオレセインとインジゴカルミンとの水溶液を含むが、これらに限定されない。

【0303】

本明細書で使用する用語「催眠剤」とは、睡眠を導入する、または不安を軽減する、または発作を軽減する薬剤を意味することを意図する。催眠薬の例は、ジアゼパム、ロラゼパムおよびミダゾラムを含むが、これらに限定されない。

【0304】

本明細書で使用する用語「導入剤」とは、全身麻酔の導入および維持および／または鎮静の導入および維持に使用される薬剤を意味することを意図する。導入剤の例は、エトミデート、ケタミン、プロポフォールおよびフォスプロポフォール二ナトリウムを含む。

【0305】

本明細書で使用する用語「哺乳動物」とは、皮膚が毛髪によって覆われていること、および雌においては、子供を育てるための母乳生成性乳腺を特徴とする、ヒトをはじめとする種々の温血脊椎動物の任意の種をいう。哺乳動物としては、たとえば、ヒトならびに愛玩動物、たとえばイヌおよびネコ、実験動物、たとえばラットおよびマウスならびに家畜、たとえばウマおよびウシがある。

【0306】

本明細書で使用する用語「筋弛緩剤」とは、全身麻酔の補助剤として、手術または手技処置中に機械呼吸、気管内挿管を容易にし、骨格筋弛緩を提供するために使用される薬剤を意味することを意図する。筋弛緩剤の例は、アトラクリウム、ロクロニウム、シスアトラクリウム、サクシニルコリン、パンクロニウム、ベクロニウム、ガンタクリウムおよびミバクリウムを含む。

【0307】

本明細書で使用する用語「オレンジ色」とは、一つまたは複数の波長の光、主として570～650nmの波長の光の反射を特徴とする色をいう。例は、オレンジ151および約1mg/mL～10mg/mLの範囲のフルオレセインの水溶液を含むが、これらに限定されない。

【0308】

本明細書で使用する用語「Pantone」とは、色および関連する色系を参照するための国際的数値規格を開発した会社をいう。この数値的色識別は、デザイナ、製造者およびエンドユーザの間の正確な意思疎通を可能にする。

【0309】

本明細書で使用する用語「薬学的に許容されるアニオン」とは、カチオン性薬物の電荷を均衡させる、当技術分野で公知の無機または有機アニオンの群のいずれかをいう。そのようなアニオンの例は、塩化物、臭化物、硫酸、リン酸、メタンスルホン酸、ギ酸、酢酸、トリフルオロ酢酸、クエン酸、フマル酸、リンゴ酸、酒石酸、コハク酸およびサリチル酸のイオンを含む。

【0310】

本明細書で使用する用語「薬学的に許容される塩」とは、薬物の遊離塩基形態と組み合わされる、当技術分野で公知の無機または有機酸の群のいずれかをいう。そのような酸の例は、塩酸、硫酸、リン酸、メタンスルホン酸、ギ酸、酢酸、クエン酸、フマル酸、マレ

イン酸、酒石酸、コハク酸およびサリチル酸を含む。

【0311】

本明細書で使用する用語「薬学的組成物」とは、注射用溶液、注射用乳濁液および水または他の薬学的に許容される希釈剤の添加によって注射用溶液になる粉末をはじめとする注射用製剤をいう。

【0312】

本明細書で使用する用語「ロクロニウム」とは、薬学的に許容されるアニオンとの1-[17β-(アセチルオキシ)-3α-ヒドロキシ-2β-(4-モルホリニル)-5 a-アンドロスタン-16β-イル]-1-(2-プロペニル)ピロリジニウムをいう。

【0313】

本明細書で使用する用語「臭化ロクロニウム」とは、式2に示す、1個の臭化物アニオンとの1-[17β-(アセチルオキシ)-3α-ヒドロキシ-2β-(4-モルホリニル)-5a-アンドロスタン-16β-イル]-1-(2-プロペニル)ピロリジニウムをいう。

【0314】

本明細書で使用する用語「ベクロニウム」とは、薬学的に許容されるアニオンとの(+)-1-(3,17-ジアセトキシ-2-ピペリジノ-5-アンドロスタン-16-イル)-1-メチルピペリジニウムをいう。

【0315】

本明細書で使用する用語「臭化ベクロニウム」とは、式3に示す、1個の臭化物アニオンとの(+)-1-(3,17-ジアセトキシ-2-ピペリジノ-5-アンドロスタン-16-イル)-1-メチルピペリジニウムをいう。

【0316】

本明細書で使用する用語「ベシル酸シスアトラクリウム」とは、式4に示す、[1R-[1α,2α(1'R*,2'R*)]]-2,2'-[1,5-ペンタンジイルビス[オキシ(3-オキソ-3,1-プロパンジイル)]]ビス[1-[(3,4-ジメトキシフェニル)メチル]-1,2,3,4-テトラヒドロ-6,7-ジメトキシ-2-メチルイソキノリニウム]のジ(ベンゼンスルホネート)塩をいう。ベシル酸シスアトラクリウムは、10種の異性体の一つであり、該混合物の約15%を構成するということが当業者には理解されよう。

【0317】

本明細書で使用する用語「パンクロニウム」とは、薬学的に許容されるアニオンとの3α,17β-ジアセトキシ-5α-アンドロスタン-2β,16β-イレンビス[1-メチルピペリジニウム]をいう。

【0318】

本明細書で使用する用語「臭化パンクロニウム」とは、式5に示す、2個の臭化物アニオンとの3α,17β-ジアセトキシ-5α-アンドロスタン-2β,16β-イレンビス[1-メチルピペリジニウム]をいう。

【0319】

本明細書で使用する用語「サクシニルコリン」とは、薬学的に許容されるアニオンとの2,2'-[(1,4-ジオキソ-1,4-ブタンジイル)ビス(オキシ)]ビス[N,N,N-トリメチルエタナミニウム]をいう。

【0320】

本明細書で使用する用語「二塩化サクシニルコリン」とは、式6に示す、2個の塩化物アニオンとの2,2'-[(1,4-ジオキソ-1,4-ブタンジイル)ビス(オキシ)]ビス[N,N,N-トリメチルエタナミニウム]をいう。

【0321】

本明細書で使用する用語「ガンタクリウム」とは、(1R,2S)-2-(3-{[(2Z)-2-クロロ-4-{3-[(1S,2R)-6,7-ジメトキシ-2-メチル-1-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリニウム-2-イル]プロポキシ}-4-オキソブト-2-エノイル]オキシ}プロピル)-6,7-ジメトキシ-2-メチル-1-[(3,4,5-トリメトキシフェニル)メチル]-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリニウムジクロリドを意味することを意図する。この定義に含まれるも

のは、塩化物以外の薬学的に許容されるアニオンと対合した(1R,2S)-2-(3-{[(2Z)-2-クロロ-4-{3-[(1S,2R)-6,7-ジメトキシ-2-メチル-1-(3,4,5-トリメトキシフェニル)-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリニウム-2-イル]プロポキシ}-4-オキソブト-2-エノイル]オキシ}プロピル)-6,7-ジメトキシ-2-メチル-1-[(3,4,5-トリメトキシフェニル)メチル]-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリニウムカチオンである。

【0322】

本明細書で使用する用語「ミバクリウム」とは、[R-[R*,R*-(E)]]-2,2'-[(1,8-ジオキソ-4-オクテン-1,8-ジイル)ビス(オキシ-3,1-プロパンジイル)]ビス[1,2,3,4-テトラヒドロ-6,7-ジメトキシ-2-メチル-1-[(3,4,5-トリメトキシフェニル)メチル]イソキノリニウム]ジクロリドを意味することを意図する。この定義に含まれるものは、塩化物以外の薬学的に許容されるアニオンと対合した[R-[R*,R*-(E)]]-2,2'-[(1,8-ジオキソ-4-オクテン-1,8-ジイル)ビス(オキシ-3,1-プロパンジイル)]ビス[1,2,3,4-テトラヒドロ-6,7-ジメトキシ-2-メチル-1-[(3,4,5-トリメトキシフェニル)メチル]イソキノリニウム]カチオンである。

【0323】

本明細書で使用する用語「ロラゼパム」とは、式7に示す、7-クロロ-5-(o-クロロフェニル)-1,3-ジヒドロ-3-ヒドロキシ-2H-1,4-ベンゾジアゼピン-2-オンをいう。

【0324】

本明細書で使用する用語「塩酸ミダゾラム」とは、8-クロロ-6-(2-フルオロフェニル)-1-メチル-4H-イミダゾ(1,5-a)(1,4)ベンゾジアゼピンの塩酸塩をいう。

【0325】

本明細書で使用する用語「ジアゼパム」とは、式9に示す、7-クロロ-1,3-ジヒドロ-1-メチル-5-フェニル-2H-1,4-ベンゾジアゼピン-2-オンをいう。

【0326】

本明細書で使用する用語「エトミデート」とは、式10に示す、(R)-(+)-エチル-1-(1-フェニルエチル)-1H-イミダゾール-5-カルボキシレートをいう。

【0327】

本明細書で使用する用語「プロポフォール」とは、式11に示す、2,6-ジイソプロピルフェノールをいう。

【0328】

本明細書で使用する用語「フォスプロポフォール二ナトリウム」とは、式12に示す、二ナトリウム(2,6-ジイソプロピルフェノキシ)メチルホスフェートをいう。

【0329】

本明細書で使用する用語「ケタミン」とは、その遊離塩基形態であってもよいし、薬学的に許容される塩の形態のいずれでも、たとえば塩酸ケタミンであってもよい、2-(2-クロロフェニル)-2-(メチルアミノ)-シクロヘキサンをいう。

【0330】

本明細書で使用する用語「アトロピン」とは、硫酸アトロピン一水和物をいう。

【0331】

本明細書で使用する用語「グリコピロレート」とは、式15に示す、3[(シクロペンチルヒドロキシフェニルアセチル)オキシ]-1,1-ジメチルピロリジニウムブロミドをいう。

【0332】

本明細書で使用する用語「着色されたベシル酸シスアトラクリウム溶液の治療的有効量」とは、筋弛緩応答を誘発するのに有効な量をいう。この量は、用語「明るいオレンジ色のベシル酸アトラクリウム溶液の治療的有効量」によって指示されるものと同じ量である。たとえば、着色されたベシル酸アトラクリウム溶液は、麻酔を受ける患者において骨格筋弛緩を達成することができる。好ましくは、該溶液は、もっとも一般的な副作用、たとえばアレルギー反応、頻脈、血圧降下および発作を制御する量で投与される。

【0333】

本明細書で使用する用語「着色された臭化ロクロニウム溶液の治療的有効量」とは、筋

弛緩応答を誘発するのに有効な量をいう。この量は、用語「明るいオレンジ色の臭化ロクロニウム溶液の治療的有効量」によって指示されるものと同じ量である。たとえば、着色されたロクロニウム溶液は、麻酔を受ける患者において骨格筋弛緩を達成することができる。好ましくは、該溶液は、もっとも一般的な副作用、たとえばアレルギー反応を抑制する量で投与される。

【0334】

本明細書で使用する用語「明るいオレンジ色の臭化ベクロニウム溶液の治療的有効量」とは、筋弛緩応答を誘発するのに有効な量をいう。たとえば、明るいオレンジ色のベクロニウム溶液は、麻酔を受ける患者において骨格筋弛緩を達成することができる。好ましくは、該溶液は、もっとも一般的な副作用、たとえばアレルギー反応または用量の大きな未代謝部分の蓄積を抑制する量で投与される。

【0335】

本明細書で使用する用語「着色されたベシル酸シスアトラクリウム溶液の治療的有効量」とは、筋弛緩応答を誘発するのに有効な量をいう。この量は、用語「明るいオレンジ色のベシル酸シスアトラクリウム溶液の治療的有効量」によって指示されるものと同じ量である。たとえば、着色されたベシル酸シスアトラクリウム溶液は、麻酔を受ける患者において骨格筋弛緩を達成することができる。好ましくは、該溶液は、もっとも一般的な副作用、たとえばアレルギー反応を抑制する量で投与される。

【0336】

本明細書で使用する用語「着色された臭化パンクロニウム溶液の治療的有効量」とは、筋弛緩応答を誘発するのに有効な量をいう。この量は、用語「明るいオレンジ色の臭化パンクロニウム溶液の治療的有効量」によって指示されるものと同じ量である。たとえば、着色されたパンクロニウム溶液は、麻酔を受ける患者において骨格筋弛緩を達成することができる。好ましくは、該溶液は、もっとも一般的な副作用、たとえば心拍数および血圧の上昇を抑制する量で投与される。

【0337】

本明細書で使用する用語「着色されたサクシニルコリン溶液の治療的有効量」とは、筋弛緩応答を誘発するのに有効な量をいう。この量は、用語「明るいオレンジ色のサクシニルコリン溶液の治療的有効量」によって指示されるものと同じ量である。たとえば、着色されたサクシニルコリン溶液は、麻酔を受ける患者において骨格筋弛緩を達成することができる。好ましくは、該溶液は、もっとも一般的な副作用、たとえば高カリウム血症、不整脈、ミオグルブリン尿症、眼圧および胃内圧の上昇、開口障害、筋肉痛、線維束性攣縮、アレルギー反応および悪性高熱を抑制する量で投与される。

【0338】

本明細書で使用する用語「着色されたガンタクリウム溶液の治療的有効量」とは、筋弛緩応答を誘発するのに有効な量をいう。この量は、用語「明るいオレンジ色の二塩化ガンタクリウム溶液の治療的有効量」によって指示されるものと同じ量である。たとえば、着色されたガンタクリウム溶液は、麻酔を受ける患者において骨格筋弛緩を達成することができる。好ましくは、該溶液は、もっとも一般的な副作用、たとえば低血圧を抑制する量で投与される。

【0339】

本明細書で使用する用語「着色されたミバクリウム溶液の治療的有効量」とは、筋弛緩応答を誘発するのに有効な量をいう。この量は、用語「明るいオレンジ色の二塩化ミバクリウム溶液の治療的有効量」によって指示されるものと同じ量である。たとえば、着色されたミバクリウム溶液は、麻酔を受ける患者において骨格筋弛緩を達成することができる。好ましくは、該溶液は、もっとも一般的な副作用、たとえば顔、首および／または胸の周辺の皮膚潮紅および低血圧を抑制する量で投与される。

【0340】

本明細書で使用する用語「着色されたエトミデート溶液の治療的有効量」とは、全身麻酔を導入するのに有効な着色されたエトミデート溶液の量をいう。この量は、用語「黄色

のエトミデート溶液の治療的有効量」によって指示されるものと同じ量である。たとえば、着色されたエトミデート溶液は、全身麻酔を導入することができる。好ましくは、該溶液は、もっとも一般的な副作用、たとえば一過性静脈痛、一過性骨格筋運動、発作、無呼吸および副腎抑圧を抑制する量で投与される。

【0341】

本明細書で使用する用語「着色されたプロポフォール溶液の治療的有効量」とは、プロポフォールの一般的用途のいずれかに有効な着色されたプロポフォール溶液または乳濁液の量をいう。この量は、用語「黄色のプロポフォール溶液の治療的有効量」によって指示されるものと同じ量である。そのような用途は、たとえば、全身麻酔の導入および維持ならびに鎮静の導入および維持を含む。たとえば、着色されたプロポフォール溶液または乳濁液は、全身麻酔を導入することができる。好ましくは、該溶液または乳濁液は、もっとも一般的な副作用、たとえば一過性静脈痛、低血圧、徐脈、不全収縮および無呼吸を抑制する量で投与される。

【0342】

本明細書で使用する用語「着色されたフォスプロポフォール二ナトリウム溶液の治療的有効量」とは、フォスプロポフォール二ナトリウムの一般的用途のいずれかに有効な着色されたフォスプロポフォール二ナトリウム溶液の量をいう。この量は、用語「黄色のフォスプロポフォール二ナトリウム溶液の治療的有効量」によって指示されるものと同じ量であり、かつ、用語「オレンジ色のフォスプロポフォール二ナトリウム溶液の治療的有効量」によって指示されるものと同じ量である。そのような用途は、たとえば、全身麻酔の導入および維持ならびに鎮静の導入および維持を含む。たとえば、着色されたフォスプロポフォール二ナトリウム溶液は、全身麻酔を導入することができる。好ましくは、該溶液は、もっとも一般的な副作用、たとえば一過性静脈痛、低血圧、徐脈、不全収縮および無呼吸を抑制する量で投与される。

【0343】

本明細書で使用する用語「着色されたケタミン溶液の治療的有効量」とは、全身麻酔を導入するのに有効な着色された塩酸ケタミン溶液の量をいう。この量は、用語「黄色のケタミン水溶液の治療的有効量」によって指示されるものと同じ量である。たとえば、着色された塩酸ケタミン溶液は、全身麻酔を導入することができる。好ましくは、該溶液は、もっとも一般的な副作用、たとえば覚醒時せん妄、心拍数上昇、収縮性、血圧および頭蓋内圧上昇を抑制する量で投与される。

【0344】

本明細書で使用する用語「黄色」とは、一つまたは複数の波長の光、主として590～540nmの波長の光の反射を特徴とする色をいう。例は、約0.02mg/mL～1.0mg/mLの範囲のフルオレセインの水溶液または乳濁液を含むが、これらに限定されない。

【実施例】

【0345】

実施例

以下の実施例は例を示すに過ぎず、決して本発明を限定することを意図したものではない。

【0346】

実施例1

1mLあたりベシル酸アトラクリウム(10mg)およびフルオレセイン(10mg)を含有する、ベンゼンスルホン酸によってpHを3.5に調整した無菌水溶液。

【0347】

実施例2

1mLあたりベシル酸アトラクリウム(10mg)、ベンジルアルコール(10mg)およびフルオレセイン(10mg)を含有する、ベンゼンスルホン酸によってpHを3.5に調整した無菌水溶液。

【0348】

実施例3

1mLあたり臭化ロクロニウム(10mg)、酢酸ナトリウム三水和物(2mg)、塩化ナトリウム(3.3mg)およびフルオレセイン(50mg)を含有する、酢酸によってpHを4.0に調整した無菌水溶液。

【0349】

実施例4

1mLあたり臭化ロクロニウム(10mg)、酢酸ナトリウム三水和物(2mg)、塩化ナトリウム(3.3mg)およびフルオレセイン(15mg)を含有する、酢酸によってpHを4.0に調整した無菌水溶液。

【0350】

実施例5

1mLあたり臭化ロクロニウム(10mg)、酢酸ナトリウム三水和物(2mg)、塩化ナトリウム(3.3mg)およびフルオレセイン(7mg)を含有する、酢酸によってpHを4.0に調整した無菌水溶液。

【0351】

実施例6

臭化ベクロニウム(10mg)、クエン酸(20.75mg)、二塩基性リン酸ナトリウム(16.25mg)、マンニトール(97mg)、フルオレセイン(100mg)ならびに水10mLを加えると、得られる溶液のpHが4になるようなリン酸および水酸化ナトリウムを含有する粉末。

【0352】

実施例7

1mLあたりベシル酸シスアトラクリウム(10mg)およびフルオレセイン(10mg)を含有する、ベンゼンスルホン酸によってpHを3.5に調整した無菌水溶液。

【0353】

実施例8

1mLあたりベシル酸アトラクリウム(10mg)、ベンジルアルコール(10mg)およびフルオレセイン(10mg)を含有する、ベンゼンスルホン酸によってpHを3.5に調整した無菌水溶液。

【0354】

実施例9

1mLあたりシスアトラクリウム10mg当量のベシル酸シスアトラクリウムおよびフルオレセイン(10mg)を含有する、ベンゼンスルホン酸によってpHを3.5に調整した無菌水溶液。

【0355】

実施例10

1mLあたりシスアトラクリウム10mg当量のベシル酸シスアトラクリウム、ベンジルアルコール(10mg)およびフルオレセイン(10mg)を含有する、ベンゼンスルホン酸によってpHを3.5に調整した無菌水溶液。

【0356】

実施例11

1mLあたりシスアトラクリウム2mg当量のベシル酸シスアトラクリウムおよびフルオレセイン(10mg)を含有する、ベンゼンスルホン酸によってpHを3.5に調整した無菌水溶液。

【0357】

実施例12

1mLあたりシスアトラクリウム2mg当量のベシル酸シスアトラクリウム、ベンジルアルコール(10mg)およびフルオレセイン(10mg)を含有する、ベンゼンスルホン酸によってpHを3.5に調整した無菌水溶液。

【0358】

実施例13

1mLあたり臭化パンクロニウム(1mg)、無水酢酸ナトリウム(1.2mg)、ベンジルアルコール(10mg)、等張化のための塩化ナトリウム(約5mg)およびフルオレセイン(15mg)を含有する、酢酸によってpHを4.0に調整した無菌水溶液。

【0359】

実施例14
1mLあたり臭化パンクロニウム(2mg)、無水酢酸ナトリウム(1.2mg)、ベンジルアルコール(10mg)、等張化のための塩化ナトリウム(約5mg)およびフルオレセイン(15mg)を含有する、酢酸によってpHを4.0に調整した無菌水溶液。
【0360】
実施例15
1mLあたり臭化パンクロニウム(1mg)、無水酢酸ナトリウム(1.2mg)、ベンジルアルコール(10mg)、等張化のための塩化ナトリウム(約5mg)およびフルオレセイン(7mg)を含有する、酢酸によってpHを4.0に調整した無菌水溶液。
【0361】
実施例16
1mLあたり臭化パンクロニウム(2mg)、無水酢酸ナトリウム(1.2mg)、ベンジルアルコール(10mg)、等張化のための塩化ナトリウム(約5mg)およびフルオレセイン(7mg)を含有する、酢酸によってpHを4.0に調整した無菌水溶液。
【0362】
実施例17
1mLあたり臭化パンクロニウム(10mg)、酢酸ナトリウム三水和物(2mg)、塩化ナトリウム(3.3mg)およびフルオレセイン(15mg)を含有する、酢酸によってpHを4.0に調整した無菌水溶液。
【0363】
実施例18
1mLあたり臭化パンクロニウム(10mg)、酢酸ナトリウム三水和物(2mg)、塩化ナトリウム(3.3mg)およびフルオレセイン(7mg)を含有する、酢酸によってpHを4.0に調整した無菌水溶液。
【0364】
実施例19
1mLあたり二塩化サクシニルコリン(20mg)、塩化ナトリウム(4.5mg)およびフルオレセイン(10mg)を含有する、塩酸によってpHを3.5に調整した無菌水溶液を含む薬学的組成物。
【0365】
実施例20
1mLあたり二塩化サクシニルコリン(20mg)、塩化ナトリウム(4.5mg)、メチルパラベン(0.1% w/w)およびフルオレセイン(10mg)を含有する、塩酸によってpHを3.5に調整した無菌水溶液を含む薬学的組成物。
【0366】
実施例21
1mLあたり二塩化サクシニルコリン(50mg)、塩化ナトリウム(4.5mg)およびフルオレセイン(10mg)を含有する、塩酸によってpHを3.5に調整した無菌水溶液を含む薬学的組成物。
【0367】
実施例22
1mLあたり二塩化サクシニルコリン(50mg)、塩化ナトリウム(4.5mg)、メチルパラベン(0.1% w/w)およびフルオレセイン(10mg)を含有する、塩酸によってpHを3.5に調整した無菌水溶液を含む薬学的組成物。
【0368】
実施例23
1mLあたり二塩化サクシニルコリン(100mg)、塩化ナトリウム(4.5mg)およびフルオレセイン(10mg)を含有する、塩酸によってpHを3.5に調整した無菌水溶液を含む薬学的組成物。
【0369】
実施例24
1mLあたり二塩化サクシニルコリン(100mg)、塩化ナトリウム(4.5mg)、メチルパラベン(

0.1% w/w)およびフルオレセイン(10mg)を含有する、塩酸によってpHを3.5に調整した無菌水溶液を含む薬学的組成物。

【0370】

実施例25

1mLあたり二塩化サクシニルコリン(20mg)、塩化ナトリウム(4.5mg)、メチルパラベン(0.18% w/w)、プロピルパラベン(0.02% w/w)およびフルオレセイン(10mg)を含有する、塩酸によってpHを3.5に調整した無菌水溶液を含む薬学的組成物。

【0371】

実施例26

1mLあたり二塩化サクシニルコリン(50mg)、塩化ナトリウム(4.5mg)、メチルパラベン(0.18% w/w)、プロピルパラベン(0.02% w/w)およびフルオレセイン(10mg)を含有する、塩酸によってpHを3.5に調整した無菌水溶液を含む薬学的組成物。

【0372】

実施例27

1mLあたり二塩化サクシニルコリン(100mg)、塩化ナトリウム(4.5mg)、メチルパラベン(0.18% w/w)、プロピルパラベン(0.02% w/w)およびフルオレセイン(10mg)を含有する、塩酸によってpHを3.5に調整した無菌水溶液を含む薬学的組成物。

【0373】

実施例28

プロピレングリコール(80% v/v)、ポリエチレングリコール(18% v/v)およびベンジルアルコール(2% v/v)を含み、2mg/mLの濃度のロラゼパムおよび2.5mg/mLの濃度のフルオレセインをさらに含む薬学的溶液。

【0374】

実施例29

1mLあたり塩酸ミダゾラム(1mg)、塩化ナトリウム(0.8% w/v)、エデト酸二ナトリウム(0.01% w/v)、ベンジルアルコール(1% w/v)およびフルオレセイン(2.5mg)を含有する、塩酸によってpHを3に調整した無菌水溶液。

【0375】

実施例30

1mLあたり塩酸ミダゾラム(5mg)、塩化ナトリウム(0.8% w/v)、エデト酸二ナトリウム(0.01% w/v)、ベンジルアルコール(1% w/v)およびフルオレセイン(2.5mg)を含有する、塩酸によってpHを3に調整した無菌水溶液。

【0376】

実施例31

プロピレングリコール(80% v/v)、ポリエチレングリコール(18% v/v)およびベンジルアルコール(2% v/v)を含み、4mg/mLの濃度のジアゼパムおよび2.5mg/mLの濃度のフルオレセインをさらに含む溶液。

【0377】

実施例32

注射用の水、ジアゼパム(5mg/mL)、プロピレングリコール(40% w/v)、エチルアルコール(10% w/v)、フルオレセイン(2.5mg/mL)、pHを6.5にするのに十分な安息香酸ナトリウムおよび安息香酸(5% w/v)ならびにベンジルアルコール(1.5% w/v)を含む溶液。

【0378】

実施例33

ジアゼパム(5mg/mL)、精留大豆油(150mg/mL)、ジアセチル化モノグリセリド(50mg/mL)、精留卵黄リン脂質(12mg/mL)、グリセリン(22.0mg/mL)、フルオレセイン(2.5mg/mL)、注射用の水およびpHを約8に調節するための水酸化ナトリウムを含む乳濁液。

【0379】

実施例34

1mLあたりエトミデート(2mg)、プロピレングリコール(35% v/v)およびフルオレセイン(

0.15mg)を含有する無菌水溶液。
【0380】
実施例35
1mLあたり塩酸ケタミン(100mg)、塩化ベンゼトニウム(0.1mg)およびフルオレセイン(0.15mg)を含有する無菌水溶液。
【0381】
実施例36
水、アトロピン(0.4mg/mL)、メチルパラベン(0.1% w/v)、メチレンブルー(0.003mg/mL)およびフルオレセイン(0.004mg/mL)を含有する、硫酸によってpHを4.5に調整した薬学的溶液。
【0382】
実施例37
水、アトロピン(0.4mg/mL)、メチルパラベン(0.1% w/v)、インジゴカルミン(0.015mg/mL)およびフルオレセイン(0.006mg/mL)を含有する、硫酸によってpHを4.5に調整した薬学的溶液。
【0383】
実施例38
水、アトロピン(0.5mg/mL)、メチルパラベン(0.1% w/v)、メチレンブルー(0.003mg/mL)およびフルオレセイン(0.004mg/mL)を含有する、硫酸によってpHを4.5に調整した薬学的溶液。
【0384】
実施例39
水、アトロピン(0.5mg/mL)、メチルパラベン(0.1% w/v)、インジゴカルミン(0.015mg/mL)およびフルオレセイン(0.006mg/mL)を含有する、硫酸によってpHを4.5に調整した薬学的溶液。
【0385】
実施例40
水、アトロピン(1mg/mL)、メチルパラベン(0.1% w/v)、メチレンブルー(0.003mg/mL)およびフルオレセイン(0.004mg/mL)を含有する、硫酸によってpHを4.5に調整した薬学的溶液。
【0386】
実施例41
水、アトロピン(1mg/mL)、メチルパラベン(0.1% w/v)、インジゴカルミン(0.015mg/mL)およびフルオレセイン(0.006mg/mL)を含有する、硫酸によってpHを4.5に調整した薬学的溶液。
【0387】
実施例42
水、アトロピン(0.1mg/mL)、塩化ナトリウム(9mg/mL)、インジゴカルミン(0.015mg/mL)およびフルオレセイン(0.006mg/mL)を含有する、硫酸によってpHを4.2に調整した薬学的溶液。
【0388】
実施例43
水、アトロピン(0.05mg/mL)、塩化ナトリウム(9mg/mL)、インジゴカルミン(0.015mg/mL)およびフルオレセイン(0.006mg/mL)を含有する、硫酸によってpHを4.2に調整した薬学的溶液。
【0389】
実施例44
水、アトロピン(0.1mg/mL)、塩化ナトリウム(9mg/mL)、メチレンブルー(0.003mg/mL)およびフルオレセイン(0.004mg/mL)を含有する、硫酸によってpHを4.2に調整した薬学的溶液。

【0390】
実施例45
水、アトロピン(0.05mg/mL)、塩化ナトリウム(9mg/mL)、メチレンブルー(0.003mg/mL)およびフルオレセイン(0.004mg/mL)を含有する、硫酸によってpHを4.2に調整した薬学的溶液。
【0391】
実施例46
1mLあたり水、グリコピロレート(0.2mg)、ベンジルアルコール(0.9% w/v)、メチレンブルー(0.003mg)およびフルオレセイン(0.004mg)を含有する無菌水溶液。
【0392】
実施例47
1mLあたり水、グリコピロレート(0.2mg)、ベンジルアルコール(0.9% w/v)、インジゴカルミン(0.015mg)およびフルオレセイン(0.006mg)を含有する無菌水溶液。
【0393】
上記実施例では、フルオレセインは、3',6'-ジヒドロキシ-スピロ[イソベンゾフラン-1(3H),9'-[9H]キサンテン]-3-オンの二ナトリウム塩を意味することを意図する。当業者は、本発明の本質および範囲を逸することなく、ナトリウムの特性を有する他のカチオンを使用することもできることを理解するであろう。
【0394】
上記実施例では、メチレンブルーは、3,7-ビス(ジメチルアミノ)フェナザチオニウムクロリドを意味することを意図する。当業者は、本発明の本質および範囲を逸することなく、塩化物の特性を有する他のアニオンを使用することもできることを理解するであろう。
【0395】
上記実施例では、インジゴカルミンは、5,5'-インジゴ二硫酸の二ナトリウム塩を意味することを意図する。当業者は、本発明の本質および範囲を逸することなく、ナトリウムの特性を有する他のカチオンを使用することもできることを理解するであろう。
【0396】
上記実施例では、ベシル酸アトラクリウムは、2,2'-(3,11-ジオキソ-4,10-ジオキサトリデカメチレン)ビス(1,2,3,4-テトラヒドロ-6,7-ジメトキシ-2-メチル-1-ベラトリルイソキノリニウム)のジ(ベンゼンスルホネート)塩を意味することを意図する。当業者は、本発明の本質および範囲を逸することなく、ベンゼンスルホネートの特性を有する他の薬学的に許容されるアニオンを使用することもできることを理解するであろう。
【0397】
上記実施例では、ベシル酸シスアトラクリウムは、2,2'-(3,11-ジオキソ-4,10-ジオキサトリデカメチレン)ビス(1,2,3,4-テトラヒドロ-6,7-ジメトキシ-2-メチル-1-ベラトリルイソキノリニウム)のジ(ベンゼンスルホネート)塩を意味することを意図する。当業者は、本発明の本質および範囲を逸することなく、ベンゼンスルホネートの特性を有する他の薬学的に許容されるアニオンを使用することもできることを理解するであろう。
【0398】
ミダゾラムの遊離塩基を任意の数の酸と対合させて薬学的に許容される塩を生成することができることが当技術分野で周知である。着色された注射用製剤のそのような変形態様は、着色されたミダゾラムの注射用遊離塩基乳濁液と同様、本発明者らにより、本発明の範囲に入るものとみなされる。
【0399】
ケタミンは不斉炭素原子を有し、かつホモキラルまたはラセミ形態で調製することができることが当業者には公知である。ケタミンはまた、混合ホモキラルおよびラセミ形態で、0%～99.99%の範囲のエナンチオマー過剰率で調製することもできる。このような変形態様は本発明の本質および範囲に入るものとみなされる。
【0400】
上記実施例では、フォスプロポフォール二ナトリウムは、(2,6-ジイソプロピルフェノ

キシ)メチルホスフェートの二ナトリウム塩を意味することを意図する。当業者は、本発明の本質および範囲を逸することなく、ナトリウムの特性を有する他のカチオンを使用することもできることを理解するであろう。

【0401】

アトロピンが、カルボキシル基とフェニル基との間の不斉炭素原子から誘導されるエナンチオマーの混合物として単離されるということは当業者には公知である。着色されたアトロピン溶液はホモキラルまたはラセミ形態で調製することができるということは理解されている。着色されたアトロピン溶液はまた、ホモキラルおよびラセミ形態の任意の混合物として、0%～99.99%の範囲のエナンチオマー過剰率で調製することもできる。このような変形態様は本発明の本質および範囲に入るものとみなされる。

【0402】

上記実施例では、グリコピロレートは、3[(シクロペンチルヒドロキシフェニルアセチル)オキシ]-1,1-ジメチルピロリジニウムブロミドを意味することを意図する。当業者は、本発明の本質および範囲を逸することなく、臭化物の特性を有する他のアニオンを使用することもできることを理解するであろう。

【0403】

グリコピロレートがエナンチオマーの混合物であるということは当業者には公知である。着色されたグリコピロレート溶液はホモキラルまたはラセミ形態で調製することができるということは理解されている。着色されたグリコピロレート溶液はまた、ホモキラルおよびラセミ形態の混合物として、0%～99.99%の範囲のエナンチオマー過剰率で調製することもできる。このような変形態様は本発明の本質および範囲に入るものとみなされる。

【0404】

着色されたベシル酸アトラクリウム溶液はまた、無菌希釈剤、たとえば注射用の水、生理食塩水、不揮発性油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の合成溶媒を含むことができる。また、静脈製剤は、抗菌剤、たとえばベンジルアルコールまたはメチルパラベン、酸化防止剤、たとえばアスコルビン酸または亜硫酸水素ナトリウムおよびキレート化剤、たとえばEDTAを含むことができる。緩衝剤、たとえば酢酸塩、クエン酸塩またはリン酸塩および張度を調節するための薬剤、たとえば塩化ナトリウムまたはデキストロースを加えることもできる。静脈製剤は、ガラスまたはプラスチック製のアンプル、使い捨て注射器または多用量バイアルに封入することができる。好ましい希釈剤は水である。

【0405】

着色されたロクロニウム溶液もまた、無菌希釈剤、たとえば注射用の水、生理食塩水、不揮発性油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の合成溶媒を含むことができる。また、静脈製剤は、抗菌剤、たとえばベンジルアルコールまたはメチルパラベン、酸化防止剤、たとえばアスコルビン酸または亜硫酸水素ナトリウムおよびキレート化剤、たとえばEDTAを含むことができる。緩衝剤、たとえば酢酸塩、クエン酸塩またはリン酸塩および張度を調節するための薬剤、たとえば塩化ナトリウムまたはデキストロースを加えることもできる。静脈製剤は、ガラスまたはプラスチック製のアンプル、使い捨て注射器または多用量バイアルに封入することができる。好ましい希釈剤は水である。

【0406】

着色されたベクロニウム粉末は、無菌希釈剤、たとえば注射用の水、生理食塩水、不揮発性油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の合成溶媒で希釈することができる。また、静脈製剤は、抗菌剤、たとえばベンジルアルコールまたはメチルパラベン、酸化防止剤、たとえばアスコルビン酸または亜硫酸水素ナトリウムおよびキレート化剤、たとえばEDTAを含むことができる。緩衝剤、たとえば酢酸塩、クエン酸塩またはリン酸塩および張度を調節するための薬剤、たとえば塩化ナトリウムまたはデキストロースを加えることもできる。静脈製剤は、ガラスまたはプラスチック製のアンプル、使い捨て注射器または多用量バイアルに封入することができる。好ましい希釈剤は

水である。
【0407】
着色されたベシル酸シスアトラクリウム溶液もまた、無菌希釈剤、たとえば注射用の水、生理食塩水、不揮発性油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の合成溶媒を含むことができる。また、静脈製剤は、抗菌剤、たとえばベンジルアルコールまたはメチルパラベン、酸化防止剤、たとえばアスコルビン酸または亜硫酸水素ナトリウムおよびキレート化剤、たとえばEDTAを含むことができる。緩衝剤、たとえば酢酸塩、クエン酸塩またはリン酸塩および張度を調節するための薬剤、たとえば塩化ナトリウムまたはデキストロースを加えることもできる。静脈製剤は、ガラスまたはプラスチック製のアンプル、使い捨て注射器または多用量バイアルに封入することができる。好ましい希釈剤は水である。
【0408】
着色されたパンクロニウム溶液もまた、無菌希釈剤、たとえば注射用の水、生理食塩水、不揮発性油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の合成溶媒を含むことができる。また、静脈製剤は、抗菌剤、たとえばベンジルアルコールまたはメチルパラベン、酸化防止剤、たとえばアスコルビン酸または亜硫酸水素ナトリウムおよびキレート化剤、たとえばEDTAを含むことができる。緩衝剤、たとえば酢酸塩、クエン酸塩またはリン酸塩および張度を調節するための薬剤、たとえば塩化ナトリウムまたはデキストロースを加えることもできる。静脈製剤は、ガラスまたはプラスチック製のアンプル、使い捨て注射器または多用量バイアルに封入することができる。好ましい希釈剤は水である。好ましい製剤は、等張化のための塩化ナトリウムを含む。好ましい緩衝剤は、酢酸ナトリウムとの酢酸である。
【0409】
着色されたサクシニルコリン溶液もまた、無菌希釈剤、たとえば注射用の水、生理食塩水、不揮発性油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の合成溶媒を含むことができる。また、静脈製剤は、抗菌剤、たとえばベンジルアルコールまたはメチルパラベン、酸化防止剤、たとえばアスコルビン酸または亜硫酸水素ナトリウムおよびキレート化剤、たとえばEDTAを含むことができる。緩衝剤、たとえば酢酸塩、クエン酸塩またはリン酸塩および張度を調節するための薬剤、たとえば塩化ナトリウムまたはデキストロースを加えることもできる。静脈製剤は、ガラスまたはプラスチック製のアンプル、使い捨て注射器または多用量バイアルに封入することができる。好ましい希釈剤は水である。
【0410】
着色されたジアゼパム溶液もまた、無菌希釈剤、たとえば注射用の水、生理食塩水、不揮発性油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の合成溶媒を含むことができる。また、静脈製剤は、抗菌剤、たとえばベンジルアルコールまたはメチルパラベン、酸化防止剤、たとえばアスコルビン酸または亜硫酸水素ナトリウムおよびキレート化剤、たとえばEDTAを含むことができる。緩衝剤、たとえば酢酸塩、クエン酸塩またはリン酸液を加えることもできる。静脈製剤は、ガラスまたはプラスチック製のアンプル、使い捨て注射器または多用量バイアルに封入することができる。好ましい希釈剤は、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、大豆油、水およびエチルアルコールである。好ましい抗菌剤はベンジルアルコールである。
【0411】
着色されたガンタクリウム溶液もまた、無菌希釈剤、たとえば注射用の水、生理食塩水、不揮発性油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の合成溶媒を含むことができる。また、静脈製剤は、抗菌剤、たとえばベンジルアルコールまたはメチルパラベン、酸化防止剤、たとえばアスコルビン酸または亜硫酸水素ナトリウムおよびキレート化剤、たとえばEDTAを含むことができる。緩衝剤、たとえば酢酸塩、クエン酸塩またはリン酸塩および張度を調節するための薬剤、たとえば塩化ナトリウムまたはデキストロースを加えることもできる。静脈製剤は、ガラスまたはプラスチック製のア

ンプル、使い捨て注射器または多用量バイアルに封入することができる。好ましい希釈剤は水である。

【0412】

着色されたミバクリウム溶液もまた、無菌希釈剤、たとえば注射用の水、生理食塩水、不揮発性油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の合成溶媒を含むことができる。また、静脈製剤は、抗菌剤、たとえばベンジルアルコールまたはメチルパラベン、酸化防止剤、たとえばアスコルビン酸または亜硫酸水素ナトリウムおよびキレート化剤、たとえばEDTAを含むことができる。緩衝剤、たとえば酢酸塩、クエン酸塩またはリン酸塩および張度を調節するための薬剤、たとえば塩化ナトリウムまたはデキストロースを加えることもできる。静脈製剤は、ガラスまたはプラスチック製のアンプル、使い捨て注射器または多用量バイアルに封入することができる。好ましい希釈剤は水である。

【0413】

着色されたロラゼパム溶液もまた、無菌希釈剤、たとえば注射用の水、生理食塩水、不揮発性油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の合成溶媒を含むことができる。また、静脈製剤は、抗菌剤、たとえばベンジルアルコールまたはメチルパラベン、酸化防止剤、たとえばアスコルビン酸または亜硫酸水素ナトリウムおよびキレート化剤、たとえばEDTAを含むことができる。緩衝剤、たとえば酢酸塩、クエン酸塩またはリン酸塩を加えることもできる。静脈製剤は、ガラスまたはプラスチック製のアンプル、使い捨て注射器または多用量バイアルに封入することができる。好ましい希釈剤はプロピレングリコール、ポリエチレングリコールであり、好ましい抗菌剤はベンジルアルコールである。

【0414】

着色された塩酸ミダゾラム溶液もまた、無菌希釈剤、たとえば注射用の水、生理食塩水、不揮発性油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の合成溶媒を含むことができる。また、静脈製剤は、抗菌剤、たとえばベンジルアルコールまたはメチルパラベン、酸化防止剤、たとえばアスコルビン酸または亜硫酸水素ナトリウムおよびキレート化剤、たとえばEDTAを含むことができる。緩衝剤、たとえば酢酸塩、クエン酸塩またはリン酸塩および張度を調節するための薬剤、たとえば塩化ナトリウムまたはデキストロースを加えることもできる。静脈製剤は、ガラスまたはプラスチック製のアンプル、使い捨て注射器または多用量バイアルに封入することができる。好ましい希釈剤は水である。

【0415】

着色されたエトミデート溶液もまた、無菌希釈剤、たとえば注射用の水、生理食塩水、不揮発性油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の合成溶媒を含むことができる。また、静脈製剤は、抗菌剤、たとえばベンジルアルコールまたはメチルパラベン、酸化防止剤、たとえばアスコルビン酸または亜硫酸水素ナトリウムおよびキレート化剤、たとえばEDTAを含むことができる。緩衝剤、たとえば酢酸塩、クエン酸塩またはリン酸塩および張度を調節するための薬剤、たとえば塩化ナトリウムまたはデキストロースを加えることもできる。静脈製剤は、ガラスまたはプラスチック製のアンプル、使い捨て注射器または多用量バイアルに封入することができる。好ましい希釈剤は水およびプロピレングリコールである。

【0416】

着色されたプロポフォール溶液または乳濁液もまた、無菌希釈剤、たとえば注射用の水、生理食塩水、不揮発性油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の合成溶媒を含むことができる。また、静脈製剤は、抗菌剤、たとえばベンジルアルコールまたはメチルパラベン、酸化防止剤、たとえばアスコルビン酸または亜硫酸水素ナトリウムおよびキレート化剤、たとえばEDTAを含むことができる。緩衝剤、たとえば酢酸塩、クエン酸塩またはリン酸塩および張度を調節するための薬剤、たとえば塩化ナトリウムまたはデキストロースを加えることもできる。静脈製剤は、ガラスまたはプラス

チック製のアンプル、使い捨て注射器または多用量バイアルに封入することができる。好ましい希釈剤は水および大豆油である。

【0417】

着色されたフォスプロポフォール二ナトリウム溶液もまた、無菌希釈剤、たとえば注射用の水、生理食塩水、不揮発性油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の合成溶媒を含むことができる。また、静脈製剤は、抗菌剤、たとえばベンジルアルコールまたはメチルパラベン、酸化防止剤、たとえばアスコルビン酸または亜硫酸水素ナトリウムおよびキレート化剤、たとえばEDTAを含むことができる。緩衝剤、たとえば酢酸塩、クエン酸塩またはリン酸塩および張度を調節するための薬剤、たとえば塩化ナトリウムまたはデキストロースを加えることもできる。静脈製剤は、ガラスまたはプラスチック製のアンプル、使い捨て注射器または多用量バイアルに封入することができる。好ましい希釈剤は水である。

【0418】

着色されたケタミン溶液もまた、無菌希釈剤、たとえば注射用の水、生理食塩水、不揮発性油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の合成溶媒を含むことができる。また、静脈製剤は、抗菌剤、たとえばベンジルアルコールまたはメチルパラベン、酸化防止剤、たとえばアスコルビン酸または亜硫酸水素ナトリウムおよびキレート化剤、たとえばEDTAを含むことができる。緩衝剤、たとえば酢酸塩、クエン酸塩またはリン酸塩および張度を調節するための薬剤、たとえば塩化ナトリウムまたはデキストロースを加えることもできる。静脈製剤は、ガラスまたはプラスチック製のアンプル、使い捨て注射器または多用量バイアルに封入することができる。好ましい希釈剤は水である。

【0419】

着色されたアトロピン溶液もまた、無菌希釈剤、たとえば注射用の水、生理食塩水、不揮発性油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の合成溶媒を含むことができる。また、静脈製剤は、抗菌剤、たとえばベンジルアルコールまたはメチルパラベン、酸化防止剤、たとえばアスコルビン酸または亜硫酸水素ナトリウムおよびキレート化剤、たとえばEDTAを含むことができる。緩衝剤、たとえば酢酸塩、クエン酸塩またはリン酸塩および張度を調節するための薬剤、たとえば塩化ナトリウムまたはデキストロースを加えることもできる。静脈製剤は、ガラスまたはプラスチック製のアンプル、使い捨て注射器または多用量バイアルに封入することができる。好ましい希釈剤は水である。

【0420】

着色されたグリコピロレート溶液もまた、無菌希釈剤、たとえば注射用の水、生理食塩水、不揮発性油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の合成溶媒を含むことができる。また、静脈製剤は、抗菌剤、たとえばベンジルアルコールまたはメチルパラベン、酸化防止剤、たとえばアスコルビン酸または亜硫酸水素ナトリウムおよびキレート化剤、たとえばEDTAを含むことができる。緩衝剤、たとえば酢酸塩、クエン酸塩またはリン酸塩および張度を調節するための薬剤、たとえば塩化ナトリウムまたはデキストロースを加えることもできる。静脈製剤は、ガラスまたはプラスチック製のアンプル、使い捨て注射器または多用量バイアルに封入することができる。好ましい希釈剤は水である。

【0421】

ベシル酸アトラクリウム溶液は、フルオレセインだけで着色することもできるし、当技術分野で公知の色素のいずれかと組み合わせて着色することもできる。該色素としては、FD&C青色1号、FD&C青色2号、メチレンブルー、インジゴカルミン、FD&C緑色3号、FD&C緑色5号、FD&C赤色3号、FD&C赤色28号、FD&C赤色33号、FD&C赤色40号、FD&C黄色5号、FD&C黄色6号、FD&C黄色10号、リボフラビン、パントテン酸および葉酸があるが、これらに限定されない。

【0422】

ロクロニウム溶液は、フルオレセインだけで着色することもできるし、当技術分野で公知の色素のいずれかと組み合わせて着色することもできる。該色素としては、FD&C青色1号、FD&C青色2号、メチレンブルー、インジゴカルミン、FD&C緑色3号、FD&C緑色5号、FD&C赤色3号、FD&C赤色28号、FD&C赤色33号、FD&C赤色40号、FD&C黄色5号、FD&C黄色6号、FD&C黄色10号、リボフラビン、パントテン酸および葉酸があるが、これらに限定されない。

【0423】

臭化ベクロニウムは乾燥粉末として市販されていることが当技術分野で公知である。一般的な実施法では、臭化ベクロニウムの10mgバイアルを注射用の静菌水10mLまたは適合性の希釈剤10mLで希釈して、臭化ベクロニウムを1mg/mL含有する溶液を得る。適合性の希釈剤としては、0.9%塩化ナトリウム注射液USP、5%デキストロース注射液USP、5%デキストロースおよび0.9%塩化ナトリウム注射液USP、ならびに無菌注射水USPおよび乳酸加リンゲル液USPがある。

【0424】

ベクロニウム溶液は、フルオレセインだけで着色することもできるし、当技術分野で公知の色素のいずれかと組み合わせて着色することもできる。該色素としては、FD&C青色1号、FD&C青色2号、メチレンブルー、インジゴカルミン、FD&C緑色3号、FD&C緑色5号、FD&C赤色3号、FD&C赤色28号、FD&C赤色33号、FD&C赤色40号、FD&C黄色5号、FD&C黄色6号、FD&C黄色10号、リボフラビン、パントテン酸および葉酸があるが、これらに限定されない。フルオレセインは、当技術分野で公知の任意の手段によって加えることができる。たとえば、フルオレセインは、ベクロニウム乾燥粉末に含めることもできるし、ベクロニウム粉末を溶解させる際に溶液として加えることもできる。

【0425】

ベシル酸シスアトラクリウム溶液は、フルオレセインだけで着色することもできるし、当技術分野で公知の色素のいずれかと組み合わせて着色することもできる。該色素としては、FD&C青色1号、FD&C青色2号、メチレンブルー、インジゴカルミン、FD&C緑色3号、FD&C緑色5号、FD&C赤色3号、FD&C赤色28号、FD&C赤色33号、FD&C赤色40号、FD&C黄色5号、FD&C黄色6号、FD&C黄色10号、リボフラビン、パントテン酸および葉酸があるが、これらに限定されない。

【0426】

パンクロニウム溶液は、フルオレセインだけで着色することもできるし、当技術分野で公知の色素のいずれかと組み合わせて着色することもできる。該色素としては、FD&C青色1号、FD&C青色2号、メチレンブルー、インジゴカルミン、FD&C緑色3号、FD&C緑色5号、FD&C赤色3号、FD&C赤色28号、FD&C赤色33号、FD&C赤色40号、FD&C黄色5号、FD&C黄色6号、FD&C黄色10号、リボフラビン、パントテン酸および葉酸があるが、これらに限定されない。

【0427】

サクシニルコリン溶液は、フルオレセインだけで着色することもできるし、当技術分野で公知の色素のいずれかと組み合わせて着色することもできる。該色素としては、FD&C青色1号、FD&C青色2号、メチレンブルー、インジゴカルミン、FD&C緑色3号、FD&C緑色5号、FD&C赤色3号、FD&C赤色28号、FD&C赤色33号、FD&C赤色40号、FD&C黄色5号、FD&C黄色6号、FD&C黄色10号、リボフラビン、パントテン酸および葉酸があるが、これらに限定されない。

【0428】

ガンタクリウム溶液は、フルオレセインだけで着色することもできるし、当技術分野で公知の色素のいずれかと組み合わせて着色することもできる。該色素としては、FD&C青色1号、FD&C青色2号、メチレンブルー、インジゴカルミン、FD&C緑色3号、FD&C緑色5号、FD&C赤色3号、FD&C赤色28号、FD&C赤色33号、FD&C赤色40号、FD&C黄色5号、FD&C黄色6号、FD&C黄色10号、リボフラビン、パントテン酸および葉酸があるが、これらに限定されない。

【0429】

ミバクリウム溶液は、フルオレセインだけで着色することもできるし、当技術分野で公知の色素のいずれかと組み合わせて着色することもできる。該色素としては、FD&C青色1号、FD&C青色2号、メチレンブルー、インジゴカルミン、FD&C緑色3号、FD&C緑色5号、FD&C赤色3号、FD&C赤色28号、FD&C赤色33号、FD&C赤色40号、FD&C黄色5号、FD&C黄色6号、FD&C黄色10号、リボフラビン、パントテン酸および葉酸があるが、これらに限定されない。

【0430】

ジアゼパム溶液は、フルオレセインだけで着色することもできるし、当技術分野で公知の色素のいずれかと組み合わせて着色することもできる。該色素としては、FD&C青色1号、FD&C青色2号、メチレンブルー、インジゴカルミン、FD&C緑色3号、FD&C緑色5号、FD&C赤色3号、FD&C赤色28号、FD&C赤色33号、FD&C赤色40号、FD&C黄色5号、FD&C黄色6号、FD&C黄色10号、リボフラビン、パントテン酸および葉酸があるが、これらに限定されない。

【0431】

ロラゼパム溶液は、フルオレセインだけで着色することもできるし、当技術分野で公知の色素のいずれかと組み合わせて着色することもできる。該色素としては、FD&C青色1号、FD&C青色2号、メチレンブルー、インジゴカルミン、FD&C緑色3号、FD&C緑色5号、FD&C赤色3号、FD&C赤色28号、FD&C赤色33号、FD&C赤色40号、FD&C黄色5号、FD&C黄色6号、FD&C黄色10号、リボフラビン、パントテン酸および葉酸があるが、これらに限定されない。

【0432】

塩酸ミダゾラム溶液は、フルオレセインだけで着色することもできるし、当技術分野で公知の色素のいずれかと組み合わせて着色することもできる。該色素としては、FD&C青色1号、FD&C青色2号、メチレンブルー、インジゴカルミン、FD&C緑色3号、FD&C緑色5号、FD&C赤色3号、FD&C赤色28号、FD&C赤色33号、FD&C赤色40号、FD&C黄色5号、FD&C黄色6号、FD&C黄色10号、リボフラビン、パントテン酸および葉酸があるが、これらに限定されない。

【0433】

エトミデート溶液は、フルオレセインだけで着色することもできるし、当技術分野で公知の色素のいずれかと組み合わせて着色することもできる。該色素としては、FD&C青色1号、FD&C青色2号、メチレンブルー、インジゴカルミン、FD&C緑色3号、FD&C緑色5号、FD&C赤色3号、FD&C赤色28号、FD&C赤色33号、FD&C赤色40号、FD&C黄色5号、FD&C黄色6号、FD&C黄色10号、リボフラビン、パントテン酸および葉酸があるが、これらに限定されない。

【0434】

プロポフォール組成物は、フルオレセインだけで着色することもできるし、当技術分野で公知の色素のいずれかと組み合わせて着色することもできる。該色素としては、FD&C青色1号、FD&C青色2号、メチレンブルー、インジゴカルミン、FD&C緑色3号、FD&C緑色5号、FD&C赤色3号、FD&C赤色28号、FD&C赤色33号、FD&C赤色40号、FD&C黄色5号、FD&C黄色6号、FD&C黄色10号、リボフラビン、パントテン酸および葉酸があるが、これらに限定されない。

【0435】

フォスプロポフォール二ナトリウム組成物は、フルオレセインだけで着色することもできるし、当技術分野で公知の色素のいずれかと組み合わせて着色することもできる。該色素としては、FD&C青色1号、FD&C青色2号、メチレンブルー、インジゴカルミン、FD&C緑色3号、FD&C緑色5号、FD&C赤色3号、FD&C赤色28号、FD&C赤色33号、FD&C赤色40号、FD&C黄色5号、FD&C黄色6号、FD&C黄色10号、リボフラビン、パントテン酸および葉酸があるが、これらに限定されない。

【0436】

ケタミン溶液は、フルオレセインだけで着色することもできるし、当技術分野で公知の色素のいずれかと組み合わせて着色することもできる。該色素としては、FD&C青色1号、FD&C青色2号、メチレンブルー、インジゴカルミン、FD&C緑色3号、FD&C緑色5号、FD&C赤色3号、FD&C赤色28号、FD&C赤色33号、FD&C赤色40号、FD&C黄色5号、FD&C黄色6号、FD&C黄色10号、リボフラビン、パントテン酸および葉酸があるが、これらに限定されない。

【0437】
アトロピン溶液は、フルオレセインだけで着色することもできるし、当技術分野で公知の色素のいずれかと組み合わせて着色することもできる。該色素としては、FD&C青色1号、FD&C青色2号、メチレンブルー、インジゴカルミン、FD&C緑色3号、FD&C緑色5号、FD&C赤色3号、FD&C赤色28号、FD&C赤色33号、FD&C赤色40号、FD&C黄色5号、FD&C黄色6号、FD&C黄色10号、リボフラビン、パントテン酸および葉酸があるが、これらに限定されない。好ましい色素は、フルオレセインをメチレンブルーと合わせたものおよびフルオレセインをインジゴカルミンと合わせたものである。
【0438】
グリコピロレート溶液は、フルオレセインだけで着色することもできるし、当技術分野で公知の色素のいずれかと組み合わせて着色することもできる。該色素としては、FD&C青色1号、FD&C青色2号、メチレンブルー、インジゴカルミン、FD&C緑色3号、FD&C緑色5号、FD&C赤色3号、FD&C赤色28号、FD&C赤色33号、FD&C赤色40号、FD&C黄色5号、FD&C黄色6号、FD&C黄色10号、リボフラビン、パントテン酸および葉酸があるが、これらに限定されない。好ましい色素は、フルオレセインをメチレンブルーと合わせたものおよびフルオレセインをインジゴカルミンと合わせたものである。
【0439】
ベシル酸アトラクリウム溶液は、冷蔵庫に入れて2～8℃で貯蔵し、かつ光から防護すべきであることが当技術分野で周知である。
【0440】
ロクロニウム溶液は、冷蔵庫に入れて2～8℃で貯蔵すべきであることが当技術分野で周知である。適合性の希釈剤としては、0.9%塩化ナトリウム注射液USP、5%デキストロース注射液USP、5%デキストロースおよび0.9%塩化ナトリウム注射液USP、無菌注射水USP、ならびに乳酸加リンゲル液USPがある。
【0441】
ベクロニウム溶液は、冷蔵庫に入れて30℃未満で貯蔵し、24時間後には捨てるべきであることが当技術分野で周知である。
【0442】
ベシル酸シスアトラクリウム溶液は、冷蔵庫に入れて2～8℃で貯蔵し、かつ光から防護すべきであることが当技術分野で周知である。
【0443】
パンクロニウム溶液は、冷蔵庫に入れて2～8℃で貯蔵すべきであることが当技術分野で周知である。一般的な実施法では、臭化パンクロニウム溶液は、製造元から、もっとも一般的に使用されている濃度である1mg/mLで納入される。または、原液を注射用の静菌水または適合性の希釈剤で希釈して、臭化パンクロニウムを1mg/mL含有する溶液を得る。適合性の希釈剤としては、0.9%塩化ナトリウム注射液USP、5%デキストロース注射液USP、5%デキストロース・0.9%塩化ナトリウム注射液USPおよび無菌注射水USPおよび乳酸加リンゲル液USPがある。
【0444】
サクシニルコリン溶液は、冷蔵庫に入れて2～8℃で貯蔵すべきであることが当技術分野で周知である。メチルパラベンのような防腐剤を含有するサクシニルコリンの溶液は、室温で14日間まで貯蔵することができる。
【0445】
使用方法
着色されたベシル酸アトラクリウム溶液の送達は非経口的であり、静脈内送達が特に好ましい。着色されたベシル酸アトラクリウム溶液の最小投与量は、哺乳動物において筋弛緩応答を誘発させる最低投与量である。たとえば、ベシル酸アトラクリウム溶液は、0.1mg/kg～1mg/kgの投与量で投与することができる。好ましい用量は、必要に応じて0.1mg/kg～0.5mg/kgであり、気管内挿管用の製剤における一例は0.4mg/kgである。哺乳動物の場合の最大投与量は、望まれない、または耐容しがたい副作用、たとえば心拍数または血圧の

変化を生じさせることなく筋弛緩を誘発する最高投与量である。いずれにしても、実施者は、当技術分野における熟練および知識によって指導され、本発明は、哺乳動物において記載された効果を達成するのに有効である投与量を限定なく含む。

【0446】

着色されたロクロニウム溶液の送達は非経口的であり、静脈内送達が特に好ましい。着色されたロクロニウム溶液の最小投与量は、哺乳動物において筋弛緩応答を誘発させる最低投与量である。たとえば、ロクロニウム溶液は、0.1mg/kg～2mg/kgの投与量で投与することができる。好ましい用量は、必要に応じて0.2mg/kg～1.2mg/kgであり、気管内挿管の場合の一例は0.8mg/kgである。哺乳動物の場合の最大投与量は、望まれない、または耐容しがたい副作用、たとえばアレルギー反応を生じさせることなく筋弛緩を誘発する最高投与量である。いずれにしても、実施者は、当技術分野における熟練および知識によって指導され、本発明は、哺乳動物において記載された効果を達成するのに有効である投与量を限定なく含む。

【0447】

着色されたベクロニウム溶液の送達は非経口的であり、静脈内送達が特に好ましい。着色されたベクロニウム溶液の最小投与量は、哺乳動物において筋弛緩応答を誘発させる最低投与量である。たとえば、ベクロニウム溶液は、0.01mg/kg～0.3mg/kgの投与量で投与することができる。好ましい用量は、必要に応じて0.04mg/kg～0.1mg/kgであり、気管内挿管の場合の一例は0.08mg/kgである。臭化ベクロニウムはまた、連続輸液によって投与することもでき、その場合、典型的な用量は約0.001mg/kg/分である。哺乳動物の場合の最大投与量は、望まれない、または耐容しがたい副作用、たとえばアレルギー反応を生じさせることなく筋弛緩を誘発する最高投与量である。いずれにしても、実施者は、当技術分野における熟練および知識によって指導され、本発明は、哺乳動物において記載された効果を達成するのに有効である投与量を非限定的に含む。

【0448】

着色されたベシル酸シスアトラクリウム溶液の送達は非経口的であり、静脈内送達が特に好ましい。着色されたベシル酸シスアトラクリウム溶液の最小投与量は、哺乳動物において筋弛緩応答を誘発させる最低投与量である。たとえば、ベシル酸シスアトラクリウム溶液は、0.01mg/kg～1mg/kgの投与量で投与することができる。好ましい用量は、必要に応じて0.05mg/kg～0.15mg/kgであり、気管内挿管の場合の一例は0.1mg/kgである。哺乳動物の場合の最大投与量は、望まれない、または耐容しがたい副作用、たとえばアレルギー反応を生じさせることなく筋弛緩を誘発する最高投与量である。いずれにしても、実施者は、当技術分野における熟練および知識によって指導され、本発明は、哺乳動物において記載された効果を達成するのに有効である投与量を非限定的に含む。

【0449】

着色されたパンクロニウム溶液の送達は非経口的であり、静脈内送達が特に好ましい。着色されたパンクロニウム溶液の最小投与量は、哺乳動物において筋弛緩応答を誘発させる最低投与量である。たとえば、パンクロニウム溶液は、0.02mg/kg～0.5mg/kgの投与量で投与することができる。好ましい用量は、必要に応じて0.04mg/kg～0.1mg/kgであり、気管内挿管の場合の一例は0.1mg/kgである。哺乳動物の場合の最大投与量は、望まれない、または耐容しがたい副作用、たとえば心拍数または血圧の上昇を生じさせることなく筋弛緩を誘発する最高投与量である。いずれにしても、実施者は、当技術分野における熟練および知識によって指導され、本発明は、哺乳動物において記載された効果を達成するのに有効である投与量を非限定的に含む。

【0450】

着色されたサクシニルコリン溶液の送達は非経口的であり、好ましい方法は静脈内および筋内送達であり、静脈内送達が特に好ましい。着色されたサクシニルコリン溶液の最小投与量は、哺乳動物において筋弛緩応答を誘発させる最低投与量である。たとえば、サクシニルコリン溶液は、0.25mg/kg～2mg/kgの投与量で投与することができる。好ましい用量は、必要に応じて1mg/kg～1.5mg/kgであり、一例は1mg/kgである。哺乳動物の場合の最

大投与量は、望まれない、または耐容しがたい副作用、たとえばアレルギー反応、高カリウム血症または不整脈を生じさせることなく筋弛緩を誘発する最高投与量である。いずれにしても、実施者は、当技術分野における熟練および知識によって指導され、本発明は、哺乳動物において記載された効果を達成するのに有効である投与量を非限定的に含む。

【0451】

着色されたガンタクリウム溶液の送達は非経口的であり、静脈内送達が特に好ましい。着色されたパンクロニウム溶液の最小投与量は、哺乳動物において筋弛緩応答を誘発させる最低投与量である。たとえば、ガンタクリウム溶液は、0.02mg/kg～0.5mg/kgの範囲の投与量で投与することができる。好ましい用量は、必要に応じて0.04mg/kg～0.1mg/kgであり、気管内挿管の場合の一例は0.1mg/kgである。哺乳動物の場合の最大投与量は、望まれない、または耐容しがたい副作用、たとえば低血圧を生じさせることなく筋弛緩を誘発する最高投与量である。いずれにしても、実施者は、当技術分野における熟練および知識によって指導され、本発明は、哺乳動物において記載された効果を達成するのに有効である投与量を非限定的に含む。

【0452】

着色されたミバクリウム溶液の送達は非経口的であり、静脈内送達が特に好ましい。着色されたパンクロニウム溶液の最小投与量は、哺乳動物において筋弛緩応答を誘発させる最低投与量である。たとえば、ミバクリウム溶液は、0.02mg/kg～0.5mg/kgの範囲の投与量で投与することができる。好ましい用量は、必要に応じて0.04mg/kg～0.1mg/kgであり、気管内挿管の場合の一例は0.1mg/kgである。哺乳動物の場合の最大投与量は、望まれない、または耐容しがたい副作用、たとえば低血圧を生じさせることなく筋弛緩を誘発する最高投与量である。いずれにしても、実施者は、当技術分野における熟練および知識によって指導され、本発明は、哺乳動物において記載された効果を達成するのに有効である投与量を非限定的に含む。

【0453】

着色されたジアゼパム溶液の送達は非経口的であり、好ましい方法は静脈内および筋内送達であり、静脈内送達が特に好ましい。着色されたジアゼパム溶液の最小投与量は、哺乳動物において所望の効果を誘発させる最低投与量である。たとえば、ジアゼパム溶液は、0.5mg/kg～20mg/kgの投与量で投与することができる。好ましい用量は、必要に応じて1mg/kg～10mg/kgであり、一例は2mg/kgである。たとえば、前向健忘を導入するためには、着色されたジアゼパム溶液は、5mg～15mgの範囲の投与量で投与することができる。たとえば、急性不安を軽減するためには、着色されたジアゼパム溶液は、中程度の不安の場合には2mg～5mgの範囲、重度の不安の場合には5mg～10mgの範囲の投与量で投与することができる。たとえば、てんかん重積持続状態を軽減するためには、着色されたジアゼパム溶液は、5mg～10mgの範囲の投与量で投与することができる。たとえば、急性アルコール禁断による急性動揺、震え、切迫性または急性振戦せん妄および幻覚を軽減するためには、着色されたジアゼパム溶液は、初回に10mg、必要ならば次に3～4時間あけて5mg～10mgの用量で投与することができる。たとえば、局所的症状、脳性麻痺、アテトーシス、スティッフマン症候群または破傷風に伴う筋痙攣を軽減するためには、着色されたジアゼパム溶液は、初回に5mg～10mgの範囲、必要ならば次に3～4時間あけて5mg～10mgの範囲の投与量で投与することができる。破傷風の場合、より大きな用量が必要になるかもしれない。哺乳動物の場合の最大投与量は、望まれない、または耐容しがたい副作用、たとえば呼吸停止を生じさせることなく所望の効果を誘発する最高投与量である。いずれにしても、実施者は、当技術分野における熟練および知識によって指導され、本発明は、哺乳動物において記載された効果を達成するのに有効である投与量を非限定的に含む。

【0454】

着色されたロラゼパム溶液の送達は非経口的であり、好ましい方法は静脈内および筋内送達であり、静脈内送達が特に好ましい。着色されたロラゼパム溶液の最小投与量は、哺乳動物において不安を軽減する、発作を制御する、または前向健忘を導入する最低投与量である。たとえば、ロラゼパム溶液は、0.002mg/kg～0.05mg/kgの投与量で、合計用量が

典型的に4mgを超えないように静脈投与することができる。好ましい用量は、必要に応じて滴定して0.002mg/kg～0.006mg/kgであり、一例は0.4mgの初回用量である。哺乳動物の場合の最大投与量は、望まれない、または耐容しがたい副作用、たとえば呼吸停止を生じさせることなく不安を軽減する、発作を制御する、または前向健忘を導入する最高投与量である。いずれにしても、実施者は、当技術分野における熟練および知識によって指導され、本発明は、哺乳動物において記載された効果を達成するのに有効である投与量を非限定的に含む。

【0455】

着色された塩酸ミダゾラム溶液の送達は非経口的であり、好ましい方法は静脈内および筋内送達であり、静脈内送達が特に好ましい。

【0456】

着色された塩酸ミダゾラム溶液の最小投与量は、哺乳動物において鎮静を導入する最低投与量である。たとえば、塩酸ミダゾラム溶液は、静脈投与され、0.25mg～10mgの投与量での開始を実施するために滴定されることができる。好ましい静脈用量は、必要に応じて0.5mg～2mgの範囲であり、一例は一度に1mgである。全身麻酔は、0.05mg/kg～0.5mg/kg、もっとも好ましくは0.1mg/kg～0.2mg/kgの範囲の用量でのミダゾラム投与によって導入することができる。意識喪失の発現は、ミダゾラムの投与の前の少量のオピオイドによって容易にすることができる。ミダゾラムはまた、効果が得られるように滴定される1～7mg/hrの維持輸液を使用することにより、集中治療室の状況で気管内挿管を受ける患者に鎮静を提供するために使用することもできる。哺乳動物の場合の最大投与量は、望まれない、または耐容しがたい副作用、たとえば呼吸停止を生じさせることなく、鎮静、麻酔または前向健忘を誘発する最高投与量である。いずれにしても、実施者は、当技術分野における熟練および知識によって指導され、本発明は、哺乳動物において記載された効果を達成するのに有効である投与量を非限定的に含む。

【0457】

着色されたエトミデート溶液の送達は非経口的であり、静脈内送達が特に好ましい。着色されたエトミデート溶液の最小投与量は、哺乳動物において全身麻酔を導入する最低投与量である。たとえば、エトミデート溶液は、0.15mg/kg～0.5mg/kgの投与量で投与することができる。全身麻酔の導入に好ましい用量は0.3mg/kgの範囲である。着色されたエトミデート溶液の最小投与量のもう一つの例は、哺乳動物において全身麻酔を維持する最低投与量である。たとえば、エトミデート溶液は、輸液として10～100mcg/kg/分の投与量で投与することができる。全身麻酔の維持に使用されるエトミデートは、吸入剤、たとえば亜酸化窒素、ハロゲン化メチルエチルエーテル(イソフルラン)または数多くの吸入揮発剤(デスフルラン、ハロタン、セボフルラン)のいずれかと併用することができる。多くの場合、エトミデートとともに麻薬輸液が必要であり、これらの薬剤は、投薬の臨床効能を最適化するために滴定される。哺乳動物の場合の最大投与量は、望まれない、または耐容しがたい副作用、たとえば一過性の静脈痛および一過性の骨格筋運動を生じさせることなく全身麻酔を導入する最高投与量である。いずれにしても、実施者は、当技術分野における熟練および知識によって指導され、本発明は、哺乳動物において記載された効果を達成するのに有効である投与量を非限定的に含む。

【0458】

着色されたプロポフォール溶液または乳濁液の送達は非経口的であり、静脈内送達が特に好ましい。着色されたプロポフォール溶液または乳濁液の最小投与量の例は、哺乳動物において全身麻酔を導入する最低投与量である。たとえば、プロポフォール溶液または乳濁液は、ボーラスとして、0.3mg/kg～30mg/kgの投与量で投与することができる。好ましい用量は、必要に応じて1mg/kg～5mg/kgであり、一例は2mg/kgである。着色されたプロポフォール溶液または乳濁液の最小投与量のもう一つの例は、哺乳動物において全身麻酔を維持する最低投与量である。全身麻酔の維持は、催眠を達成するのに適切な用量(50～200mcg/kg/分)でのプロポフォールの連続輸液を使用して達成することができる。または、全身麻酔は、吸入剤、たとえばハロゲン化メチルエチルエーテル(イソフルラン)または数多

くの吸入揮発剤(デスフルラン、ハロタン、セボフルラン)のいずれかで維持することもできる。これらのハロゲン化薬剤は、多くの場合、亜酸化窒素、麻薬の輸液またはプロポフォールの輸液と併せて使用される。プロポフォールが吸入剤またはタンデム輸液のいずれかとともに輸液として使用される場合、薬剤は、麻酔の目的を達成するために滴定される。着色されたプロポフォール溶液または乳濁液の最小投与量のもう一つの例は、哺乳動物において鎮静を導入する最低投与量である。たとえば、プロポフォール溶液または乳濁液は、輸液ポンプを使用する鎮静の目的のためには、25マイクログラム/kg/分～100マイクログラム/kg/分の範囲の投与量で滴定することができる。催眠を要する患者の場合、50マイクログラム/kg/分～200マイクログラム/kg/分の範囲の輸液用量が適切である。哺乳動物の場合の最大投与量は、望まれない、または耐容しがたい副作用、たとえば一過性の静脈痛および低血圧を生じさせることなく全身麻酔を導入する最高投与量である。いずれにしても、実施者は、当技術分野における熟練および知識によって指導され、本発明は、哺乳動物において記載された効果を達成するのに有効である投与量を非限定的に含む。

【0459】

着色されたフォスプロポフォール二ナトリウム溶液の送達は非経口的であり、静脈内送達が特に好ましい。着色されたフォスプロポフォール二ナトリウム溶液の最小投与量の例は、哺乳動物において全身麻酔を導入する最低投与量である。たとえば、フォスプロポフォール二ナトリウム溶液は、ボーラスとして、0.3mg/kg～30mg/kgの投与量で使用することができる。好ましい用量は、必要に応じて1mg/kg～5mg/kgであり、一例は2mg/kgである。着色されたフォスプロポフォール二ナトリウム溶液の最小投与量のもう一つの例は、哺乳動物において全身麻酔を維持する最低投与量である。全身麻酔の維持は、催眠を達成するのに適切な用量(50～200mcg/kg/分)でのフォスプロポフォール二ナトリウムの連続輸液を使用して達成することができる。または、全身麻酔は、吸入剤、たとえばハロゲン化メチルエチルエーテル(イソフルラン)または数多くの吸入揮発剤(デスフルラン、ハロタン、セボフルラン)のいずれかで維持することもできる。これらのハロゲン化薬剤は、多くの場合、亜酸化窒素、麻薬の輸液またはフォスプロポフォール二ナトリウムの輸液と併せて使用される。フォスプロポフォール二ナトリウムが吸入剤またはタンデム輸液のいずれかとともに輸液として使用される場合、薬剤は、麻酔の目的を達成するために滴定される。着色されたフォスプロポフォール二ナトリウム溶液の最小投与量のもう一つの例は、哺乳動物において鎮静を導入する最低投与量である。たとえば、フォスプロポフォール二ナトリウム溶液は、輸液ポンプを使用する鎮静のためには、25マイクログラム/kg/分～100マイクログラム/kg/分の範囲の投与量で滴定することができる。催眠を要する患者の場合、50マイクログラム/kg/分～200マイクログラム/kg/分の範囲の輸液用量が適切である。哺乳動物の場合の最大投与量は、望まれない、または耐容しがたい副作用、たとえば一過性の静脈痛および低血圧を生じさせることなく全身麻酔を導入する最高投与量である。いずれにしても、実施者は、当技術分野における熟練および知識によって指導され、本発明は、哺乳動物において記載された効果を達成するのに有効である投与量を非限定的に含む。

【0460】

着色された塩酸ケタミン溶液の送達は非経口的であり、静脈内送達が特に好ましい。着色された塩酸ケタミン溶液の最小投与量の例は、哺乳動物において全身麻酔を導入する最低投与量である。たとえば、静脈内塩酸ケタミン溶液は、0.02mg/kg～10mg/kgの投与量で投与することができる。好ましい静脈内用量は、必要に応じて0.5mg/kg～4mg/kgであり、麻酔の導入の場合の好ましい例は2mg/kgである。着色された塩酸ケタミン溶液は、全身麻酔の導入のためのジアゼパム、たとえばジアゼパム5～15mgとともに使用することもできる。着色された塩酸ケタミン溶液の最小投与量のもう一つの例は、哺乳動物において痛覚消失を提供する最低投与量である。たとえば、静脈内塩酸ケタミン溶液は、0.002mg/kg/分～0.02mg/kg/分の投与量で投与することができ、好ましい例は0.004mg/kg/分である。着色された塩酸ケタミン溶液はまた、全身麻酔を維持するためのジアゼパム、たとえばジアゼパム2～5mgとともに使用することもできる。哺乳動物の場合の最大投与量は、望まれ

ない、または耐容しがたい副作用、たとえば覚醒時せん妄、心拍数上昇、収縮性および頭蓋内圧を生じさせることなく全身麻酔を導入する最高投与量である。いずれにしても、実施者は、当技術分野における熟練および知識によって指導され、本発明は、哺乳動物において記載された効果を達成するのに有効である投与量を非限定的に含む。

【0461】

着色されたアトロピン溶液の送達は非経口的であり、静脈内送達が特に好ましい。着色されたアトロピン溶液の最小投与量は、哺乳動物において抗コリン作用効果を導入する最低投与量である。たとえば、アトロピン溶液は、必要に応じて0.01mg～200mg、0.1mg～1mgの投与量で投与することができ、一例は0.5mgである。哺乳動物の場合の最大投与量は、望まれない、または耐容しがたい副作用、たとえば頻脈、中枢神経系毒性、瞳孔散大、調節麻痺、高体温および気道分泌物の過度な乾燥を生じさせることなく抗コリン作用効果を導入する最高投与量である。いずれにしても、実施者は、当技術分野における熟練および知識によって指導され、本発明は、哺乳動物において記載された効果を達成するのに有効である投与量を非限定的に含む。

【0462】

着色されたグリコピロレート溶液の送達は非経口的であり、静脈内送達が特に好ましい。着色されたグリコピロレート溶液の最小投与量は、哺乳動物において抗コリン作用効果を導入する最低投与量である。たとえば、グリコピロレート溶液は、0.002mg/kg～合計1mgの投与量で投与することができる。前投薬の目的で使用される場合、多くの場合、0.005～0.01mg/kgの範囲の用量が妥当である。薬理的非脱分極性神経筋遮断の逆転のために抗コリンエステラーゼとともに使用される場合、0.01mg/kgの範囲の用量が典型的である。哺乳動物の場合の最大投与量は、望まれない、または耐容しがたい副作用、たとえば頻脈、瞳孔散大、調節麻痺、高体温および気道分泌物の過度な乾燥を生じさせることなく抗コリン作用効果を導入する最高投与量である。いずれにしても、実施者は、当技術分野における熟練および知識によって指導され、本発明は、哺乳動物において記載された効果を達成するのに有効である投与量を非限定的に含む。

【0463】

本発明の好ましい態様を、本発明を実施するための本発明者らが知る限りの最良の形態を含め、本明細書に記載した。前記記載を読むことにより、これらの好ましい態様の変形が当業者には明らかになる。本発明者らは、当業者がそのような変形を適切に利用することを予想し、本発明が本明細書で具体的に記載された以外のやり方で実施されることを想定している。したがって、本発明は、適用法によって許されるような、特許請求の範囲で定義する主題のすべての改変および等価物を含む。そのうえ、本明細書中で指示される場合または文脈によって明らかに矛盾する場合を除き、考えられるすべての変形における上記要素の任意の組み合わせが本発明によって包含される。

【手続補正書】

【提出日】平成20年7月17日(2008.7.17)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

色がフルオレセインを含む色素に由来する、着色された注射用薬剤。

【請求項2】

色が、フルオレセインおよびメチレンブルーを含む色素に由来する、請求項1記載の着色された注射用薬剤。

【請求項3】

色が、フルオレセインおよびインジゴカルミンを含む色素に由来する、請求項1記載の着色された注射用薬剤。

【請求項4】
薬剤が筋弛緩剤であり、色が、7mg/mL～250mg/mLの濃度のフルオレセインを含む色素に由来し、かつ明るいオレンジ色である、請求項1記載の着色された注射用薬剤。
【請求項5】
薬剤が催眠剤であり、色が、1mg/mL～10mg/mLの濃度のフルオレセインを含む色素に由来し、かつオレンジ色である、請求項1記載の着色された注射用薬剤。
【請求項6】
色が、1.5mg/mL～2.5mg/mLの濃度のフルオレセインを含む色素に由来し、かつオレンジ色である、請求項5記載の着色された注射用催眠剤。
【請求項7】
薬剤が導入剤であり、色が、0.001mg/mL～2.5mg/mLの濃度のフルオレセインを含む色素に由来し、かつ黄色である、請求項1記載の着色された注射用薬剤。
【請求項8】
薬剤が抗コリン作用剤であり、色が、0.001mg/mL～0.1mg/mLの濃度のフルオレセインおよび0.001mg/mL～0.05mg/mLの濃度のメチレンブルーを含む色素に由来し、かつ緑色である、請求項1記載の着色された注射用薬剤。
【請求項9】
薬剤が抗コリン作用剤であり、色が、0.001mg/mL～0.4mg/mLの濃度のフルオレセインおよび0.001mg/mL～0.05mg/mLの濃度のインジゴカルミンを含む色素に由来し、かつ緑色である、請求項1記載の着色された注射用薬剤。
【請求項10】
色分けされた注射用薬剤を調製する方法であって、フルオレセインの濃度を変えることによって様々な色が作製される方法。
【請求項11】
フルオレセインの濃度を変えることによって黄色、オレンジ色、および明るいオレンジ色が作製される、請求項10記載の方法。
【請求項12】
薬剤がベシル酸アトラクリウムであり、色が明るいオレンジ色である、請求項1記載の薬学的組成物。
【請求項13】
薬剤がロクロニウムであり、色が明るいオレンジ色である、請求項1記載の薬学的組成物。
【請求項14】
薬剤がベクロニウムであり、色が明るいオレンジ色である、請求項1記載の薬学的組成物。
【請求項15】
薬剤がベシル酸シスアトラクリウムであり、色が明るいオレンジ色である、請求項1記載の薬学的組成物。
【請求項16】
薬剤がパンクロニウムであり、色が明るいオレンジ色である、請求項1記載の薬学的組成物。
【請求項17】
薬剤がサクシニルコリンであり、色が明るいオレンジ色である、請求項1記載の薬学的組成物。
【請求項18】
薬剤がロラゼパムであり、色がオレンジ色である、請求項1記載の薬学的組成物。
【請求項19】
薬剤が塩酸ミダゾラムであり、色がオレンジ色である、請求項1記載の薬学的組成物。
【請求項20】
薬剤がジアゼパムであり、組成物が溶液であり、色がオレンジ色である、請求項1記載

の薬学的組成物。
【請求項21】
薬剤がエトミデートであり、色が黄色である、請求項1記載の薬学的組成物。
【請求項22】
薬剤がプロポフォールであり、色が黄色である、請求項1記載の薬学的組成物。
【請求項23】
薬剤がフォスプロポフォール二ナトリウムであり、色が黄色である、請求項1記載の薬学的組成物。
【請求項24】
薬剤がフォスプロポフォール二ナトリウムであり、色がオレンジ色である、請求項1記載の薬学的組成物。
【請求項25】
薬剤が塩酸ケタミンであり、色が黄色である、請求項1記載の薬学的組成物。
【請求項26】
薬剤がアトロピンであり、色が、フルオレセインおよびメチレンブルーに由来する緑色である、請求項1記載の薬学的組成物。
【請求項27】
薬剤がアトロピンであり、色が、フルオレセインおよびインジゴカルミンに由来する緑色である、請求項1記載の薬学的組成物。
【請求項28】
薬剤がグリコピロレートであり、色が、フルオレセインおよびメチレンブルーに由来する緑色である、請求項1記載の薬学的組成物。
【請求項29】
薬剤がグリコピロレートであり、色が、フルオレセインおよびインジゴカルミンに由来する緑色である、請求項1記載の薬学的組成物。
【請求項30】
薬剤がガンタクリウムであり、色が明るいオレンジ色である、請求項1記載の薬学的組成物。
【請求項31】
薬剤がミバクリウムであり、色が明るいオレンジ色である、請求項1記載の薬学的組成物。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 06/43963

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(8) - A61K 49/00; A61B 5/00, 8/00 (2007.10)
USPC - 424/10.3
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)
USPC:424/10.3

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
USPC:424/9.6, 643 (text search-see terms below)

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
PubWEST(USPT,PGPB,EPAB,JPAB); DialogPRO(Engineering); Google Scholar
Search Terms: See search terms on continuation page.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X — Y	US 2004/0202625 A1 (DANILOFF et al.) 14 October 2004 (14.10.2004) para [0014], [0048], [0053]-[0054], [0060], [0069], [0071], [0133], [0193]-[0194]	1,4 — 2-3,5-27, 30-38, 41-46, 48-56, 59-67, 70-78, 81-90, 97-106, 113-131, 133-134, 147-155, 161-168, 178-185, 194-200, 209-217, 224-246, 250-264, 268-274 and 277-283
Y	US 5,468,224 A (SOURYAL) 21 November 1995 (21.11.1995) col 2, ln 19-23, ln 50-55	2-3,5-6,13-18,226-246 and 252-264
Y	US 2004/0180949 A1 (SHASHOUA et al.) 16 September 2004 (16.09.2004) para [0055], [0102], [0123], [0147], [0239], [0242], [0262] ,[0275], [0292]-[0297], [0303]	7-16,19-27, 30-38, 41-46, 48-56, 59-67, 70-78, 81-90, 97-106, 113-131, 133-134, 147-155, 161-168, 178-185, 194-200, 209-217, 224-246, 250-264, 268-274 and 277-283
Y	US 6,438,398 B1 (PFLUGFELDER et al.) 20 August 2002 (20.08.2002) Fig.9	17-18

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐

* 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 application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
16 November 2007 (16.11.2007)	14 MAY 2008
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201	Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2007)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 06/43963

Box No. II　Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

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 No. III　Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

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

see extra 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 additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

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.:
1-27, 30-38, 41-46, 48-56, 59-67, 70-78, 81-90, 97-106, 113-131, 133-134, 147-155, 161-168, 178-185, 194-200, 209-217, 224-246, 250-264, 268-274, 277-283

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (2)) (April 2007)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/US 06/43963

Group I: claims 1-27, 30-38, 41-46, 48-56, 59-67, 70-78, 81-90, 97-106, 113-131, 133-134, 147-155, 161-168, 178-185, 194-200, 209-217, 224-246, 250-264, 268-274, 277-283, directed to colored pharmaceutical compositions involving flouroescein.

Group II: claims 28-29, 39-40, 47, 57-58, 68-69, 79-80, 275-276 and 284-285, directed to methods for eliciting a muscle relaxant response, etc.

Group III: claims 91, 94, 109, 112, 135 and 141 directed to methods for inducing retrograde amnesia, etc.

Group IV: claims 92, 95, 138 and 144-145 directed to methods for treatment of epilespy, etc.

Group V: claims 93, 96, 136-137 and 142-143, directed to methods for treatment of anxiety, etc.

Group VI: claims 107, 110, 171–172, 175-176, 188-189, 192-193, 203-204 and 207-208, directed to method for inducing sedation, etc.

Group VII: claims 108, 111, 137-140, 156-160, 169-170, 173-74,177, 186-187, 190-191, 201-202, 205-206 and 218-223, directed to methods for induction, maintenance, etc. of general aneshesia, etc.

Group VIII: claim 132, directed to a specific solution.

Group IX: claim 139, directed to a method for relieving acute agitation, etc.

Group X: claims 140 and 146, directed to methods for relieving muscle spasm, etc.

Group XI: claims 247-249 and 265-267, directed to methods for induction of an anticholinergic effect, etc.

The inventions listed as Groups I-XI do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because under PCT Rule 13.2 they lack the same or corresponding special technical feature. According to PCT Rule 13.2, unity of invention exists only when the same or corresponding technical feature is shared by all claimed inventions.

It will be readily understood that paricular pharmaceutical compositions are distinct from methods of treatment of various medical conditions to which they may be applied. In addition, the various methods of treatment are directed to distinct medical conditions, and such medical indications do share any common, unknown technical feature that would provide unity of invention. Therefore, the claims of groups I-XI lack the necessary unity of invention as required under PCT Rules 13.1 and 13.2.

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2007)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 06/43983

Search Terms: fluorescein,muscle,relaxant,anesthesia,hypnotic,induction,agent,dye,colorant, coloring,ketamine,midazolam,etomidate,atracurium,rocuronium,vecuronium,cisatracurium,pancuronium, orange,color,green,yellow,methylene blue,indigo carmine,pharmaceutical,injectable,anesthetic,bright orange,syringe

Form PCT/ISA/210 (extra sheet) (April 2007)

(31)優先権主張番号　60/736,576
(32)優先日　平成17年11月14日(2005.11.14)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　60/736,575
(32)優先日　平成17年11月14日(2005.11.14)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　60/736,573
(32)優先日　平成17年11月14日(2005.11.14)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　60/736,574
(32)優先日　平成17年11月14日(2005.11.14)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　60/736,372
(32)優先日　平成17年11月14日(2005.11.14)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　60/736,373
(32)優先日　平成17年11月14日(2005.11.14)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　60/735,370
(32)優先日　平成17年11月14日(2005.11.14)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　60/736,374
(32)優先日　平成17年11月14日(2005.11.14)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　60/736,468
(32)優先日　平成17年11月14日(2005.11.14)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　60/736,464
(32)優先日　平成17年11月14日(2005.11.14)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　60/761,282
(32)優先日　平成18年1月23日(2006.1.23)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　60/761,283
(32)優先日　平成18年1月23日(2006.1.23)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　60/761,277
(32)優先日　平成18年1月23日(2006.1.23)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　60/761,274
(32)優先日　平成18年1月23日(2006.1.23)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　60/761,276
(32)優先日　平成18年1月23日(2006.1.23)
(33)優先権主張国　米国(US)

(81)指定国　AP(BW,GH,GM,KE,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),

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

(74)代理人　100142929
弁理士　井上　隆一
(74)代理人　100114340
弁理士　大関　雅人
(72)発明者　ウインチ　ピーター　ディー.
アメリカ合衆国　オハイオ州　ニュー　アルバニー　ブレモ　リセス　４０８１

Ｆターム(参考) 4C076 AA12　BB11　CC01　DD59U DD60U DD61U FF11

Espacenet

Bibliographic data: JP2011516425 (A) — 2011-05-26

ADMINISTRATION OF BENZODIAZEPINE COMPOSITIONS

Inventor(s):

Applicant(s):

Classification: - international: ***A61K31/4174; A61K31/551; A61K31/5513; A61K31/5517; A61K47/10; A61K47/22; A61K47/26; A61K9/08; A61K9/10; A61K9/12; A61P25/08***
- cooperative: **A61K31/355**; **A61K31/5513**; **A61K9/0043**; **A61K9/008**

Application number: JP20110502124 20090327 Global Dossier

Priority number(s): US20080040558P 20080328 ; WO2009US38696 20090327

Also published as: AU2009228093 (A1) AU2009228093 (B2) CA2756690 (A1) CA2756690 (C) DK2271347 (T3) more

Abstract not available for JP2011516425 (A)
Abstract of corresponding document: WO2009121039 (A2)

The invention relates to pharmaceutical compositions comprising one or more benzodiazepine drugs for nasal administration, methods for producing and for using such compositions.

(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2011-516425
(P2011-516425A)
(43)公表日　平成23年5月26日(2011.5.26)

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード（参考）
A61K 31/4174	(2006.01)	A61K	31/4174	4C076
A61K 47/22	(2006.01)	A61K	47/22	4C086
A61K 47/10	(2006.01)	A61K	47/10	
A61K 31/551	(2006.01)	A61K	31/551	
A61K 31/5513	(2006.01)	A61K	31/5513	

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 66 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2011-502124 (P2011-502124)
(86)(22)出願日　平成21年3月27日 (2009.3.27)
(85)翻訳文提出日　平成22年11月25日 (2010.11.25)
(86)国際出願番号　PCT/US2009/038696
(87)国際公開番号　WO2009/121039
(87)国際公開日　平成21年10月1日 (2009.10.1)
(31)優先権主張番号　61/040,558
(32)優先日　平成20年3月28日 (2008.3.28)
(33)優先権主張国　米国(US)

(71)出願人　510258625
ヘイル　バイオファーマ　ベンチャーズ，エルエルシー
アメリカ合衆国　９２０２４　カリフォルニア州　エンシニータス　スイート　４３０　エヌ．　エル・カミノ・レアル　１０４２－ビー
(74)代理人　100082072
弁理士　清原　義博
(72)発明者　カート　スティーブ
アメリカ合衆国　９４５８７　カリフォルニア州　ユニオン・シティ　ウィップル・ロード　３２６０

最終頁に続く

(54)【発明の名称】ベンゾジアゼピン組成物の投与

(57)【要約】
【課題】本発明は、経鼻投与用の１以上のベンゾジアゼピン薬を含む医薬組成物、このような組成物を製造及び使用するための方法に関する。
【解決手段】　経鼻投与用の医薬組成物であって、組成物は、患者の１以上の鼻粘膜への投与用の薬学的に許容可能な製剤中に、ベンゾジアゼピン薬と、１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、あるいはそれらの任意の組合せと、１以上のアルコール又はグリコール、あるいはそれらの任意の組合せと、を備える。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
経鼻投与用の医薬組成物であって、
該組成物は、患者の１以上の鼻粘膜への投与用の薬学的に許容可能な製剤中に、
（ａ）ベンゾジアゼピン薬と、
（ｂ）約３０％から約９５％（Ｗ／Ｗ）までの量の１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、あるいはそれらの任意の組合せと、
（ｃ）約１０％から約７０％（Ｗ／Ｗ）までの量の１以上のアルコール又はグリコール、あるいはそれらの任意の組合せと、を備えることを特徴とする医薬組成物。
【請求項２】
前記ベンゾジアゼピン薬は、約３０％から約９５％（Ｗ／Ｗ）までの量の１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、あるいはそれらの任意の組合せ、及び約１０％から約７０％（Ｗ／Ｗ）までの量の１以上のアルコール又はグリコール、あるいはそれらの任意の組合せに溶解されることを特徴とする請求項１記載の医薬組成物。
【請求項３】
前記ベンゾジアゼピン薬は、アルプラゾラム、ブロチゾラム、クロルジアゼポキシド、クロバザム、クロナゼパム、クロラゼパム、デモキサゼパム、ジアゼパム、フルマゼニル、フルラゼパム、ハラゼパム、ミダゾラム、ノルダゼパム、メダゼパム、ニトラゼパム、オキサゼパム、メダゼパム、ロラゼパム、プラゼパム、クアゼパム、トリアゾラム、テマゼパム、ロプラゾラム、これらの任意の薬学的に許容可能な塩、及びこれらの任意の組合せからなる群から選択されることを特徴とする請求項２に記載の医薬組成物。
【請求項４】
前記ベンゾジアゼピン薬は、ジアゼパム又はその任意の薬学的に許容可能な塩であることを特徴とする請求項３に記載の医薬組成物。
【請求項５】
前記ベンゾジアゼピン薬は、ベンゾジアゼピンミクロ粒子、ナノ粒子、又はそれらの組合せを備えることを特徴とする請求項１記載の医薬組成物。
【請求項６】
前記ベンゾジアゼピンナノ粒子は、約５０００ｎｍ未満の有効平均粒径を備えることを特徴とする請求項５記載の医薬組成物。
【請求項７】
前記１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノールは、α－トコフェロール、β－トコフェロール、γ－トコフェロール、δ－トコフェロール、α－トコトリエノール、β－トコトリエノール、γ－トコトリエノール、δ－トコトリエノール、トコフェルソラン、それらの任意の異性体、それらの任意のエステル、それらの任意のアナログ又は誘導体、及びそれらの任意の組合せからなる群から選択されることを特徴とする請求項１記載の医薬組成物。
【請求項８】
前記１以上のアルコールは、エタノール、プロピルアルコール、ブチルアルコール、ペンタノール、ベンジルアルコール、それらの任意の異性体、又はそれらの任意の組合せからなる群から選択されることを特徴とする請求項１記載の医薬組成物。
【請求項９】
前記１以上のグリコールは、エチレングリコール、プロピレングリコール、ブチレングリコール、ペンチレングリコール、それらの任意の異性体、及びそれらの任意の組合せからなる群から選択されることを特徴とする請求項１記載の医薬組成物。
【請求項１０】
前記ベンゾジアゼピン薬は、約１ｍｇ／ｍＬから約６００ｍｇ／ｍＬまでの濃度で、前記医薬組成物中に存在することを特徴とする請求項１記載の医薬組成物。
【請求項１１】

前記ベンゾジアゼピン薬は、約１０ｍｇ／ｍＬから約２５０ｍｇ／ｍＬまでの濃度で、前記医薬組成物中に存在することを特徴とする請求項１記載の医薬組成物。
【請求項１２】
前記ベンゾジアゼピンは、約２０ｍｇ／ｍＬから約５０ｍｇ／ｍＬまでの濃度で、前記医薬組成物中に存在することを特徴とする請求項１１記載の医薬組成物。
【請求項１３】
前記１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、あるいはそれらの任意の組合せは、約４５％から約８５％（Ｗ／Ｗ）までの量であることを特徴とする請求項１記載の医薬組成物。
【請求項１４】
前記１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、あるいはそれらの任意の組合せは、約６０％から約７５％（Ｗ／Ｗ）までの量であることを特徴とする請求項１３記載の医薬組成物。
【請求項１５】
前記１以上のアルコール又はグリコール、あるいはそれらの任意の組合せは、約１５％から約５５％（Ｗ／Ｗ）までの量であることを特徴とする請求項１記載の医薬組成物。
【請求項１６】
前記１以上のアルコール又はグリコール、あるいはそれらの任意の組合せは、約２５％から約４０％（Ｗ／Ｗ）までの量であることを特徴とする請求項１５記載の医薬組成物。
【請求項１７】
前記医薬組成物は、医薬品有効成分、賦活剤、賦形剤、及びｐＨを調節し、組成物を緩衝し、分解を防ぎ、そして外観、匂い、又は味を改善するために用いられる薬剤からなる群から選択される、少なくとも１つの付加的成分をさらに備えることを特徴とする請求項１乃至１６いずれかに記載の医薬組成物。
【請求項１８】
前記薬学的に許容可能な製剤は、少なくとも約０．０１％（Ｗ／Ｗ）のアルキルグリコシドを備えることを特徴とする請求項１記載の医薬組成物。
【請求項１９】
前記薬学的に許容可能な製剤は、約０．０１％から約１％（Ｗ／Ｗ）までのアルキルグリコシドを備えることを特徴とする請求項１８記載の医薬組成物。
【請求項２０】
ベンゾジアゼピン薬で治療可能な疾患のある患者を処置する方法であって、
該方法は、
（ａ）ベンゾジアゼピン薬を含む経鼻投与用の医薬組成物と、約３０％から約９５％（Ｗ/Ｗ）までの量の、１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、あるいはそれらの任意の組合せと、及び約１０％から約７０％（Ｗ／Ｗ）までの量の１以上のアルコール又はグリコール、あるいはそれらの任意の組合せとを患者の１以上の鼻粘膜に投与する工程を含むことを特徴とする方法。
【請求項２１】
前記ベンゾジアゼピン薬は、約３０％から約９５％（Ｗ／Ｗ）までの量の１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、あるいはそれらの任意の組合せと、及び約１０％から約７０％（Ｗ／Ｗ）までの量の１以上のアルコール又はグリコール、あるいはそれらの任意の組合せに溶解されることを特徴とする請求項２０記載の方法。
【請求項２２】
前記患者がヒトであることを特徴とする請求項２１記載の方法。
【請求項２３】
前記ベンゾジアゼピン薬は、アルプラゾラム、ブロチゾラム、クロルジアゼポキシド、クロバザム、クロナゼパム、クロラゼパム、デモキサゼパム、ジアゼパム、フルマゼニル、フルラゼパム、ハラゼパム、ミダゾラム、ノルダゼパム、メダゼパム、ニトラゼパム、

オキサゼパム、メダゼパム、ロラゼパム、プラゼパム、クアゼパム、トリアゾラム、テマゼパム、ロプラゾラム、これらの任意の薬学的に許容可能な塩、及びこれらの任意の組合せからなる群から選択されることを特徴とする請求項２０記載の方法。

【請求項２４】

前記ベンゾジアゼピン薬は、ジアゼパム又はその任意の薬学的に許容可能な塩であることを特徴とする請求項２３記載の方法。

【請求項２５】

前記ベンゾジアゼピン薬は、ベンゾジアゼピンミクロ粒子、ナノ粒子、又はそれらの組合せを備えることを特徴とする請求項２０記載の方法。

【請求項２６】

前記ベンゾジアゼピンナノ粒子は、約５０００ｎｍ未満の有効平均粒径を備えることを特徴とする請求項２５記載の方法。

【請求項２７】

前記１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノールは、α－トコフェロール、β－トコフェロール、γ－トコフェロール、δ－トコフェロール、α－トコトリエノール、β－トコトリエノール、γ－トコトリエノール、δ－トコトリエノール、トコフェルソラン、それらの任意の異性体、それらの任意のエステル、それらの任意のアナログ又は誘導体、及びそれらの任意の組合せからなる群から選択されることを特徴とする請求項２０記載の方法。

【請求項２８】

前記１以上のアルコールは、エタノール、プロピルアルコール、ブチルアルコール、ペンタノール、ベンジルアルコール、それらの任意の異性体、又はそれらの任意の組合せからなる群から選択されることを特徴とする請求項２０記載の方法。

【請求項２９】

前記１以上のグリコールは、エチレングリコール、プロピレングリコール、ブチレングリコール、ペンチレングリコール、それらの任意の異性体、及びそれらの任意の組合せからなる群から選択されることを特徴とする請求項２０記載の方法。

【請求項３０】

前記ベンゾジアゼピン薬は、約１ｍｇ／ｍＬから約６００ｍｇ／ｍＬまでの濃度で、前記医薬組成物中に存在することを特徴とする請求項２０記載の方法。

【請求項３１】

前記ベンゾジアゼピン薬は、約１０ｍｇ／ｍＬから約２５０ｍｇ／ｍＬまでの濃度で、前記医薬組成物中に存在することを特徴とする請求項３０記載の方法。

【請求項３２】

前記ベンゾジアゼピン薬は、約２０ｍｇ／ｍＬから約５０ｍｇ／ｍＬまでの濃度で、前記医薬組成物中に存在することを特徴とする請求項３１記載の方法。

【請求項３３】

前記医薬組成物が、約４５％から約８５％（Ｗ／Ｗ）までの量の１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、あるいはそれらの任意の組合せを備えることを特徴とする請求項２０記載の方法。

【請求項３４】

前記医薬組成物が、約６０％から約７５％（Ｗ／Ｗ）までの量の１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、あるいはそれらの任意の組合せを備えることを特徴とする請求項３３記載の方法。

【請求項３５】

前記医薬組成物が、約１５％から約５５％（Ｗ／Ｗ）までの量の１以上のアルコール又はグリコール、あるいはそれらの任意の組合せを備えることを特徴とする請求項２０記載の方法。

【請求項３６】

前記医薬組成物が、約２５％から約４０％（Ｗ／Ｗ）までの量の１以上のアルコール又

はグリコール、あるいはそれらの任意の組合せを備えることを特徴とする請求項３５記載の方法。

【請求項３７】

前記組成物は、医薬品有効成分、賦活剤、賦形剤、及びｐＨを調節し、組成物を緩衝し、分解を防ぎ、そして外観、匂い、又は味を改善するために用いられる薬剤からなる群から選択される、少なくとも１つの付加的成分を備えることを特徴とする請求項２０記載の方法。

【請求項３８】

前記組成物は、薬学的に許容可能なスプレー製剤中に存在することを特徴とする請求項２０記載の方法。

【請求項３９】

前記ベンゾジアゼピンが、約１ｍｇから約２０ｍｇまでの治療的に効果的な量で、投与されることを特徴とする請求項３８記載の方法。

【請求項４０】

前記医薬組成物は、約１０μＬから約２００μＬまでの量を有する薬学的に許容可能なスプレー製剤中に存在することを特徴とする請求項３９記載の方法。

【請求項４１】

前記医薬組成物の投与は、前記ベンゾジアゼピンの治療的に効果的な量の少なくとも一部を、少なくとも１つの鼻孔中に噴霧する工程を備えることを特徴とする請求項４０記載の方法。

【請求項４２】

前記医薬組成物の投与は、前記ベンゾジアゼピンの治療的に効果的な量の少なくとも一部を、夫々の鼻孔中に噴霧する工程を備えることを特徴とする請求項４０記載の方法。

【請求項４３】

前記医薬組成物の投与は、第１の量の前記医薬組成物を第１の鼻孔中に噴霧する工程と、第２の量の前記医薬組成物を第２の鼻孔中に噴霧する工程と、任意に、事前に選択した時間遅延の後、第３の量の前記医薬組成物を前記第１の鼻孔中に噴霧する工程を備えることを特徴とする請求項４２記載の方法。

【請求項４４】

任意に事前に選択した時間遅延の後、少なくとも第４の量の前記医薬組成物を前記第２の鼻孔の中へ投与する工程をさらに備えることを特徴とする請求項４３記載の方法。

【請求項４５】

前記医薬組成物の経鼻投与は、前記医薬組成物により処置可能となり得る疾患の症状の発病前又は発病後の任意の時点で開始することを特徴とする請求項４３記載の方法。

【請求項４６】

前記薬学的に許容可能な製剤は、少なくとも約０．０１％（Ｗ／Ｗ）のアルキルグリコシドを備えることを特徴とする請求項２０記載の組成物。

【請求項４７】

前記薬学的に許容可能な製剤は、約０．０１％から約１％（Ｗ／Ｗ）までのアルキルグリコシドを備えることを特徴とする請求項２１記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

本出願は２００８年３月２８日に出願された米国の仮特許出願第６１／０４０，５５８号の３５Ｕ．Ｓ．Ｃ．§１１９（ｅ）優先権の利益を主張する。この出願の全ての内容は、それを参照することにより本出願に組み込まれる。

【０００２】

本発明は、ベンゾジアゼピン薬及びそれらの組成物の経鼻投与に関する

【背景技術】

【０００３】

限定するものではないが、ベンゾジアゼピンファミリーは、例えばジアゼパム、ロラゼパム、及びメダゼパム等の薬からなる。このファミリーの薬は、鎮静作用特性、精神安定特性及び筋弛緩特性を有するものとして認められる。これら薬は、精神安定弛緩薬及び骨格筋弛緩薬としてしばしば分類される。これらの薬は、不安定神経症、不眠症、激越、発作（例えば癲癇により引起されるもの等）、筋痙攣及び筋硬直（テタヌスにより引き起きされる）の症状、中枢神経抑制剤の継続的な乱用に関係する薬物離脱症候群、及び神経ガスへの暴露を抑制し、処置し、又は改善に有益であると考えられる。

【０００４】

ベンゾジアゼピンは、ニューロンのＧＡＢＡ$_A$受容体に結合することにより作用すると考えられ、おそらく、その受容体に形状の変化を引き起こし、ＧＡＢＡ$_A$受容体をガンマ－アミノ酪酸（ＧＡＢＡ）にさらに近づきやすくしている。

【０００５】

ＧＡＢＡは、ＧＡＢＡ$_A$受容体に結合する場合、ＧＡＢＡ$_A$受容体が結合するニューロン中へのＣｌ$^-$イオン洪水を促進する抑制性の神経伝達物質である。Ｃｌ$^-$イオンの増加は、ニューロンの細胞膜を過分極させる。これは、活動電位を伝えるニューロンの能力を完全に又は実質的に減少させる。この受容体を標的とすることは、神経系を通過する過度な活動電位に起因する、例えばテタヌス及び癲癇等の多くの疾患を処置するのに有益である。

【０００６】

ベンゾジアゼピン薬の現在の製剤は、経口で、直腸に、又は非経口で投与され得る。これら及び他の製剤のタイプを利用する能力は、溶解性チャレンジ（ｃｈａｌｌｅｎｇｅ）に起因して、多くの場合大きく限定される。

【０００７】

経口投与は、いくつかの不都合に起因して次善として考慮され得る。例えば、経口投与のベンゾジアゼピン薬の血漿中の治療的関連性のある濃度を達成するのに要求される時間は、かなり長く、例えば１時間又はそれ以上である。その上、ベンゾジアゼピン薬は、肝臓を通り抜けるので、多くの量が代謝される。従って、治療的な血漿中濃度を達成するには、多い用量が必要となる。さらに、発作及び筋痙攣の特性に起因して、患者又は介護人のいずれかは、ベンゾジアゼピン薬を経口投与することが非常に困難となる。

【０００８】

静脈内投与は、しばしば高速に投与する経路を提供する。しかしながら、静脈内投与は、一般的には厳重に制御された臨床状況における訓練された医療従事者に限定される。その上、無菌が維持されなければならない。さらに、任意の薬を静脈内に投与することは、苦痛であり、そして針恐怖症に苦しむ患者にとっておそらく実質的ではない。

【０００９】

ベンゾジアゼピン薬の坐薬組成物は、作用が速やかに始まる。しかしながら、坐薬の不便さは、患者の親しい知人及び患者の専門医療介護人の非常に少ないグループ以外の誰かにより投与される場合、明らかに障害となる。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【００１０】

いくつかの実施形態において、経鼻投与用の医薬組成物は、患者の１以上の鼻粘膜への投与用の薬学的に許容可能な製剤中に、ベンゾジアゼピン薬と、約３０％から約９５％（Ｗ／Ｗ）までの量の１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、あるいはそれらの任意の組合せと、約５％から約７０％（Ｗ／Ｗ）までの量、好ましくは約１０％から約７０％（Ｗ／Ｗ）までの量の１以上のアルコール又はグリコール、あるいはそれらの任意の組合せとを備える。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬は、約３０％から約９５％（Ｗ／Ｗ）までの量の１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、あるいはそれらの任意の組合せ、及び約５％から約７０％（Ｗ／Ｗ）までの量、好ましくは約１０％から約７０％（Ｗ／Ｗ）ま

での量の１以上のアルコール又はグリコール、あるいはそれらの任意の組合せに溶解される。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬は、担体系に溶解される。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬の少なくとも一部は、ミクロ粒子、ナノ粒子又はそれらの組合せを含む形態である。いくつかの実施形態において、組成物は、ベンゾジアゼピンミクロ粒子、ナノ粒子、又はそれらの組合せが実質的にない。

【００１１】

いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬は、アルプラゾラム、ブロチゾラム、クロルジアゼポキシド、クロバザム、クロナゼパム、クロラゼパム、デモキサゼパム、ジアゼパム、フルマゼニル、フルラゼパム、ハラゼパム、ミダゾラム、ノルダゼパム、メダゼパム、ニトラゼパム、オキサゼパム、メダゼパム、ロラゼパム、プラゼパム、クアゼパム、トリアゾラム、テマゼパム、ロプラゾラム、これらの任意の薬学的に許容可能な塩、及びこれらの任意の組合せからなる群から選択される。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬は、ジアゼパム、又はその薬学的に許容可能な塩である。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬は、ベンゾジアゼピンミクロ粒子、ナノ粒子、又はそれらの組合せを備える。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピンナノ粒子は、約５０００ｎｍ未満の有効平均粒径を備える。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬は、ベンゾジアゼピンミクロ粒子、ナノ粒子、又はそれらの組合せが実質的にない。

【００１２】

いくつかの実施形態において、１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノールは、α－トコフェロール、β－トコフェロール、γ－トコフェロール、δ－トコフェロール、α－トコトリエノール、β－トコトリエノール、γ－トコトリエノール、δ－トコトリエノール、トコフェルソラン、それらの任意の異性体、それらの任意のエステル、それらの任意のアナログ又は誘導体、及びそれらの任意の組合せからなる群から選択される。いくつかの実施形態において、合成トコフェロールは、ビタミンＥ　ＴＰＧＳ（ビタミンＥポリエチレングリコールコハク酸）を含み得る。いくつかの実施形態において、他方、合成トコフェロールは、例えばポリエチレングリコール等のグリコールポリマーと共有結合又は連結する（例えば２塩基酸の連結基を介して）トコフェロールを除外する。従って、いくつかの実施形態において、本明細書中に記載される組成物はビタミンＥ　ＴＰＧＳを除外する。

【００１３】

いくつかの実施形態において、１以上のアルコールは、エタノール、プロピルアルコール、ブチルアルコール、ペンタノール、ベンジルアルコール、それらの任意の異性体、又はそれらの任意の組合せからなる群から選択される。いくつかの実施形態において、１以上のグリコールは、エチレングリコール、プロピレングリコール、ブチレングリコール、ペンチレングリコール、それらの任意の異性体、及びそれらの任意の組合せからなる群から選択される。好適な実施形態において、グリコールは、グリコールポリマーを除外する。いくつかの好適な実施形態において、グリコールは、２００を超える平均分子量を備えるグリコールポリマーを除外する。いくつかの実施形態において、グリコールは、２００を超える平均分子量を備えるポリエチレングリコールを除外する。

【００１４】

いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬は、約１ｍｇ／ｍＬから約６００ｍｇ／ｍＬまでの濃度で、担体系中に存在する。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬は、約１０ｍｇ／ｍＬから約２５０ｍｇ／ｍＬまでの濃度で、担体系中に存在する。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピンは、約２０ｍｇ／ｍＬから約５０ｍｇ／ｍＬまでの濃度で、担体系中に存在する。

【００１５】

いくつかの実施形態において、担体系は、約４５％から約８５％（Ｗ／Ｗ）までの量の、１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、あるいはそれらの任意の組合せを備える。いくつかの実施形態において、担体系は、約６０％か

ら約７５％（Ｗ／Ｗ）までの量の、１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、あるいはそれらの任意の組合せを備える。いくつかの実施形態において、担体系は、約７０％（Ｗ／Ｗ）の量の、１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、あるいはそれらの任意の組合せを備える。

【００１６】

いくつかの実施形態において、担体系は、約１０％から約７０％（Ｗ／Ｗ）の量の、１以上のアルコール又はグリコール、あるいはそれらの任意の組合せを備える。いくつかの実施形態において、担体系は、約１５％から約５５％（Ｗ／Ｗ）の量の、１以上のアルコール又はグリコール、あるいはそれらの任意の組合せを備える。いくつかの実施形態において、担体系は、約２５％から約４０％（Ｗ／Ｗ）の量の、１以上のアルコール又はグリコール、あるいはそれらの任意の組合せを備える。いくつかの実施形態において、担体系は、約３０％（Ｗ／Ｗ）の量の、１以上のアルコール又はグリコール、あるいはそれらの任意の組合せ備える。

【００１７】

いくつかの実施形態において、組成物は、医薬品有効成分、賦活剤、賦形剤、及びｐＨを調整し、組成物を緩衝し、分解を防ぎ、そして外観、匂い、又は味を改善するために用いられる剤からなる群から選択される少なくとも１つの付加的な成分を備える。

【００１８】

いくつかの実施形態において、組成物は、１以上の追加の賦形剤、例えば１以上のパラベン、１以上のポビドン、及び／又は１以上のアルキルグリコシドを備える。

【００１９】

本発明は、また、ベンゾジアゼピン薬で治療可能な疾患のある患者を処置する方法を開示する。いくつかの実施形態において、患者はヒトである。いくつかの実施形態において、方法は、ベンゾジアゼピン薬を含む経鼻投与用の医薬組成物と、約３０％から約９５％（Ｗ/Ｗ）までの量の、１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、あるいはそれらの任意の組合せと、及び約５％から約７０％（Ｗ/Ｗ）までの量、好ましくは約１０％から約７０％（Ｗ／Ｗ）までの量の１以上のアルコール又はグリコール、あるいはそれらの任意の組合せとを患者の１以上の鼻粘膜に投与する工程を含む。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピンは、約３０％から約９５％（Ｗ／Ｗ）までの量の１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、あるいはそれらの任意の組合せ、及び約５％から約７０％までの量、好ましくは約１０％から約７０％（Ｗ／Ｗ）までの量の１以上のアルコール又はグリコール、あるいはそれらの任意の組合せに溶解される。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬は、担体系に溶解される。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬は、ベンゾジアゼピンミクロ粒子、ナノ粒子又はそれらの組合せを含む。いくつかの実施形態において、組成物は、ベンゾジアゼピンミクロ粒子、ナノ粒子、又はそれらの組合せが実質的にない。

【００２０】

いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬は、アルプラゾラム、ブロチゾラム、クロルジアゼポキシド、クロバザム、クロナゼパム、クロラゼパム、デモキサゼパム、ジアゼパム、フルマゼニル、フルラゼパム、ハラゼパム、ミダゾラム、ノルダゼパム、メダゼパム、ニトラゼパム、オキサゼパム、メダゼパム、ロラゼパム、プラゼパム、クアゼパム、トリアゾラム、テマゼパム、ロプラゾラム、又はこれらの任意の薬学的に許容可能な塩、及びこれらの任意の組合せからなる群から選択される。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬は、ジアゼピン又はその任意の薬学的に許容可能な塩である。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬は、１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール並びに１以上のアルコール又はグリコールを含む単相に完全に溶解される。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬は、ベンゾジアゼピンミクロ粒子、ナノ粒子、又はそれらの組合せを備える。いくつかの実施形態において、組成物は、さらに水を備える。いくつかのこのような実施形態において、ベン

ゾジアゼピンナノ粒子は、約５０００ｎｍ未満の有効平均粒径を備える。いくつかの実施形態において、組成物は、ベンゾジアゼピンミクロ粒子、ナノ粒子、又はそれらの組合せが実質的にない。

【００２１】

いくつかの実施形態において、１以上の天然又は合成トコフェロール又は天然又は合成トコトリエノールは、α－トコフェロール、β－トコフェロール、γ－トコフェロール、δ－トコフェロール、α－トコトリエノール、β－トコトリエノール、γ－トコトリエノール、δ－トコトリエノール、トコフェルソラン、それらの任意の異性体、それらの任意のエステル、それらの任意のアナログ又は誘導体、及びそれらの任意の組合せからなる群から選択される。

【００２２】

いくつかの実施形態において、１以上のアルコールは、エタノール、プロピルアルコール、ブチルアルコール、ペンタノール、ベンジルアルコール、それらの任意の異性体、及びそれらの任意の組合せからなる群から選択される。いくつかの実施形態において、１以上のグリコールは、エチレングリコール、プロピレングリコール、ブチレングリコール、ペンチレングリコール、それらの任意の異性体、及びそれらの任意の組合せからなる群から選択される。いくつかの実施形態において、アルコール又はグリコールは水がない（無水、ＵＳＰ）。いくつかの実施形態において、アルコールはエタノールである（無水、ＵＳＰ）。

【００２３】

いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬は担体系中に、約１ｍｇ／ｍＬから約６００ｍｇ／ｍＬまでの濃度で存在する。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬は担体系中に、約１０ｍｇ／ｍＬから約２５０ｍｇ／ｍＬまでの濃度で存在する。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬は担体系中に、約２０ｍｇ／ｍＬから約５０ｍｇ／ｍＬまでの濃度で存在する。

【００２４】

いくつかの実施形態において、担体系は、約４５％から約８５％（Ｗ／Ｗ）までの量の、１以上の天然又は合成トコフェロール又は天然又は合成トコトリエノール、あるいはそれらの任意の組合せを備える。いくつかの実施形態において、担体系は、約６０％から約７５％（Ｗ／Ｗ）までの量の、１以上の天然又は合成トコフェロール又は天然又は合成トコトリエノール、あるいはそれらの任意の組合せを備える。いくつかの実施形態において、担体系は、約７０％（Ｗ／Ｗ）の量の、１以上の天然又は合成トコフェロール又は天然又は合成トコトリエノール、あるいはそれらの任意の組合せを備える。

【００２５】

いくつかの実施形態において、担体系は、約１５％から約５５％（Ｗ／Ｗ）までの量の、１以上のアルコール又はグリコール、あるいはそれらの任意の組合せを備える。いくつかの実施形態において、担体系は約２５％から約４０％（Ｗ／Ｗ）の量の、１以上のアルコール又はグリコール、あるいはそれらの任意の組合せを備える。いくつかの実施形態において、担体系は約３０％（Ｗ／Ｗ）の量の、１以上のアルコール又はグリコール、あるいはそれらの任意の組合せ備える。

【００２６】

いくつかの実施形態において、組成物は、医薬品有効成分、賦活剤、賦形剤、及びｐＨを調節し、組成物を緩衝し、分解を防ぎ、そして外観、匂い、又は味を改善するために用いられる薬剤からなる群から選択される少なくとも１つの付加的成分を備える。

【００２７】

いくつかの実施形態において、組成物は、薬学的に許容可能なスプレー製剤中に存在し、さらに、１以上の患者の鼻粘膜に組成物を投与することを備える。いくつかの実施形態において、治療的に効果的な量は、約１ｍｇから約２０ｍｇまでのベンゾジアゼピンである。いくつかの実施形態において、医薬組成物は、約１０μＬから約２００μＬまでの量を有する薬学的に許容可能なスプレー製剤中に存在する。

【００２８】
いくつかの実施形態において、組成物の投与は、組成物の治療的に効果的な量の少なくとも一部を、少なくとも１つの鼻孔中に噴霧する工程を備える。いくつかの実施形態において、組成物の投与は、組成物の治療学的に効果的な量の少なくとも一部を、それぞれの鼻孔中に噴霧する工程を備える。いくつかの実施形態において、組成物の投与は、第１の量の組成物を、第１の鼻孔中に噴霧する工程と、第２の量の組成物を第２の鼻孔中に噴霧する工程と、任意に、事前に選択した時間遅延の後、第３の量の組成物を第１の鼻孔中に噴霧する工程を備える。いくつかの実施形態は、任意に事前に選択した時間遅延の後、少なくとも第４の量の組成物を第２の鼻孔の中へ投与する工程をさらに備える。

【００２９】
いくつかの実施形態において、組成物の投与は、組成物により処置可能となり得る疾患の症状の発病前又は発病後の任意の時点で開始する。

【００３０】
本発明の追加の実施形態、使用、及び効果は、本明細書中に記載される開示の考察に基づき、当該分野の当業者にとって明らかである。

【発明を実施するための形態】

【００３１】
本明細書中に言及される、全ての出版物、特許、及び特許出願は、それぞれの個別の出版物、特許、又は特許出願が、特に及び個別に、参照により組み込まれるものと示された場合と同様の程度に、参照されることにより本明細書中に組み込まれるものとする。

【００３２】
本明細書中に提供されるのは、１以上のベンゾジアゼピン薬の医薬組成物及び、このような医薬組成物を用いる方法である。このような医薬組成物は経鼻的に投与される。

【００３３】
いくつかの実施形態において、経鼻投与用の医薬組成物は、患者の１以上の鼻粘膜への投与用の薬学的に許容可能な製剤中に、ベンゾジアゼピン薬と、約３０％から約９５％（Ｗ／Ｗ）までの量の、１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、あるいはそれらの任意の組合せと、約１０％から約７０％（Ｗ／Ｗ）までの量の、１以上のアルコール又はグリコール、あるいはそれらの任意の組合せとを備える。いくつかの実施形態においてベンゾジアゼピン薬は、約３０％から約９５％（Ｗ／Ｗ）までの量の、１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、あるいはそれらの任意の組合せと、約１０％から約７０％（Ｗ／Ｗ）までの量の１以上のアルコール又はグリコール、あるいはそれらの任意の組合せとに溶解される。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬は、担体系に溶解される。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬の少なくとも一部は、ミクロ粒子、ナノ粒子、又はそれらの組合せの形態である。いくつかの実施形態において組成物には、ベンゾジアゼピンミクロ粒子、ナノ粒子、又はそれらの組合せが実質的にない。

【００３４】
いくつかの実施形態において、経鼻投与用の医薬組成物は、患者の１以上の鼻粘膜への投与用の薬学的に許容可能な製剤中に、ベンゾジアゼピン薬と、約３０％から約９５％（Ｗ／Ｗ）までの量の、１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、あるいはそれらの任意の組合せと、約５％から約７０％（Ｗ／Ｗ）までの量の、１以上のアルコール又はグリコール、あるいはそれらの任意の組合せとを備える。いくつかの実施形態においてベンゾジアゼピン薬は、約３０％から約９５％（Ｗ／Ｗ）までの量の、１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、あるいはそれらの任意の組合せと、約５％から約７０％（Ｗ／Ｗ）までの量の１以上のアルコール又はグリコール、あるいはそれらの任意の組合せとに溶解される。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬は、担体系に溶解される。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬の少なくとも一部は、ミクロ粒子、ナノ粒子、又はそれらの組合せの形態である。いくつかの実施形態において組成物には、ベンゾジアゼピンミクロ粒

子、ナノ粒子、又はそれらの組合せが実質的にない。

【００３５】

いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬は、アルプラゾラム、ブロチゾラム、クロルジアゼポキシド、クロバザム、クロナゼパム、クロラゼパム、デモキサゼパム、ジアゼパム、フルマゼニル、フルラゼパム、ハラゼパム、ミダゾラム、ノルダゼパム、メダゼパム、ニトラゼパム、オキサゼパム、メダゼパム、ロラゼパム、プラゼパム、クアゼパム、トリアゾラム、テマゼパム、ロプラゾラム、これらの任意の薬学的に許容可能な塩、及びこれらの任意の組合せから成る群から選択される。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬は、ジアゼパム、又はその薬学的に許容可能な塩である。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬は、ベンゾジアゼピンミクロ粒子、ナノ粒子、又はそれらの組合せを備える。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピンナノ粒子は、約５０００ｎｍ未満の有効平均粒径を有する。いくつかの実施形態において、組成物は、ベンゾジアゼピンミクロ粒子、ナノ粒子、又はそれらの組合せが実質的にない。

【００３６】

いくつかの実施形態において、１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノールは、α－トコフェロール、β－トコフェロール、γ－トコフェロール、δ－トコフェロール、α－トコトリエノール、β－トコトリエノール、γ－トコトリエノール、δ－トコトリエノール、トコフェルソラン（ｔｏｃｏｐｈｅｒｓｏｌａｎ）、それらの任意の異性体、それらの任意のエステル、それらの任意のアナログ又は誘導体、及びそれらの任意の組合せから成る群から選択される。いくつかの実施形態において、担体系は、ビタミンＥ　ＴＰＧＳなどの、トコフェロールコアと共有結合又は連結するグリコールポリマーを有する、１以上の合成トコフェロールを含み、このことは米国特許第６，１９３，９８５号に記載されており、これは全体として参照することにより本明細書中に組み込まれる。特に、ベンゾジアゼピンがトコフェロールの相には溶解していない、いくつかのベンゾジアゼピンの粒子懸濁液中では、ビタミンＥ　ＴＰＧＳが、粒子（ミクロ粒子、ナノ粒子、又は組合せ）の懸濁液を安定させるための所望の賦形剤であり得るということが見出されている。いくつかの実施形態において、他方では、担体系は、ビタミンＥ　ＴＰＧＳなどの、トコフェロールコアと共有結合又は連結するグリコールポリマーを有する合成トコフェロールを特に除外し、このことは米国特許第６，１９３，９８５号に記載されており、これは全体として参照することにより本明細書中に組み込まれる。

【００３７】

いくつかの実施形態において、１以上のアルコールは、エタノール、プロピルアルコール、ブチルアルコール、ペンタノール、ベンジルアルコール、それらの任意の異性体、又はそれらの任意の組合せから成る群から選択される。いくつかの実施形態において、アルコールはエタノール（無水、ＵＳＰ）である。いくつかの実施形態において、１以上のグリコールは、エチレングリコール、プロピレングリコール、ブチレングリコール、ペンチレングリコール、それらの任意の異性体、及びそれらの任意の組合せから成る群から選択される。いくつかの実施形態において、グリコールはプロピレングリコールＵＳＰである。いくつかの実施形態において、合成トコフェロールはビタミンＥ　ＴＰＧＳ（ビタミンＥポリエチレングリコールスクシネート）を含むことができる。いくつかの実施形態において、他方では、合成トコフェロールは、ポリエチレングリコールなどのグリコールポリマーと（例えば２塩基酸の連結基を介して）共有結合又は連結するトコフェロールを除外する。従って、いくつかの実施形態において、本明細書中に記載の組成物はビタミンＥ　ＴＰＧＳを除外する。

【００３８】

いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬は担体系中に、約１ｍｇ／ｍＬから約６００ｍｇ／ｍＬまでの濃度で存在する。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬は担体系中に、約１０ｍｇ／ｍＬから約２５０ｍｇ／ｍＬまでの濃度で存在する。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬は担体系中に、約２０ｍｇ／ｍＬから約５０ｍｇ／ｍＬまでの濃度で存在する。

【００３９】
いくつかの実施形態において、担体系は、約４５％から約８５％（Ｗ／Ｗ）までの量の、１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、あるいはそれらの任意の組合せを備える。いくつかの実施形態において、担体系は、約６０％から約７５％（Ｗ／Ｗ）までの量の、１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、あるいはそれらの任意の組合せを備える。いくつかの実施形態において、担体系は、約７０％（Ｗ／Ｗ）の量の、１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、あるいはそれらの任意の組合せを備える。いくつかの実施形態において、合成トコフェロールはビタミンＥ　ＴＰＧＳ（ビタミンＥポリエチレングリコールスクシネート）を含むことができる。いくつかの実施形態において、他方では、合成トコフェロールは、ポリエチレングリコールなどのグリコールポリマーと（例えば２塩基酸の連結基を介して）共有結合又は連結するトコフェロールを除外する。従って、いくつかの実施形態において、本明細書中に記載の組成物はビタミンＥ　ＴＰＧＳを除外する。

【００４０】
いくつかの実施形態において、担体系は１以上のアルコール又はグリコール、あるいはそれらの任意の組合せを、約１０％から約５５％まで、約１０％から約４０％まで、約１０％から約３５％まで、約１２％から約５５％まで、約１２％から約４０％まで、約１２％から約３５％まで、約１５％から約５５％まで、約１５％から約４０％まで、約１５％から約３５％まで、約１０％、約１２．５％、約１５％、約１７．５％、約２０％、約２２．５％、約２５％、約２７．５％、約３０％、約３２．５％、約３５％、約３７．５％、約４０％、約４２．５％、約４５％、約４７．５％、約５０％、約５２．５％、又は約５５％（Ｗ／Ｗ）の量で備える。いくつかの実施形態において、担体系は約２５％から約４０％（Ｗ／Ｗ）の量の、１以上のアルコール又はグリコール、あるいはそれらの任意の組合せを備える。いくつかの実施形態において、担体系は約３０％（Ｗ／Ｗ）の量の、１以上のアルコール又はグリコール、あるいはそれらの任意の組合せを備える。いくつかの実施形態において、アルコールはエタノールである、又はエタノールを含有する。いくつかの好ましい実施形態において、グリコールはグリコールポリマーを除外する。いくつかの好ましい実施形態において、グリコールは２００より大きい平均分子量を有するグリコールポリマーを除外する。いくつかの実施形態において、グリコールは約２００より大きい平均分子量を有するポリエチレングリコールを除外する。

【００４１】
いくつかの実施形態において、担体系は、約１５％から約５５％（Ｗ／Ｗ）の量の、１以上のアルコール又はグリコール、あるいはそれらの任意の組合せを備える。いくつかの実施形態において、担体系は約２５％から約４０％（Ｗ／Ｗ）の量の、１以上のアルコール又はグリコール、あるいはそれらの任意の組合せを備える。いくつかの実施形態において、担体系は約３０％（Ｗ／Ｗ）の量の、１以上のアルコール又はグリコール、あるいはそれらの任意の組合せ備える。

【００４２】
いくつかの実施形態において、組成物は、医薬品有効成分、賦活剤、賦形剤、及びｐＨを調整し、組成物を緩衝し、分解を防ぎ、そして外観、匂い、又は味を改善するために用いられる剤から成る群から選択される少なくとも１つの付加的な成分を備える。

【００４３】
いくつかの実施形態において、組成物は少なくとも１つのアルキルグリコシドを備える。いくつかの実施形態において、少なくとも１つのアルキルグリコシドは、米国特許第５，６６１，１３０号に記載のものであり、これは参照することにより本明細書中に組み込まれる。

【００４４】
いくつかの実施形態において、組成物は、天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、及びアルコール又はグリコールを備える溶媒中に完全に溶解し

ているベンゾジアゼピン薬を備える。いくつかの実施形態において、組成物は、天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、及びアルコール又はグリコールを備える溶媒中に完全に溶解しているベンゾジアゼピン薬を備え、そこで溶液は実質的に水がない。（いくつかの実施形態において、「実質的に水がない」とは、溶液が約１％未満、約０．５％未満、約０．２５％未満、又は約０．１％未満の水を含有することを示す。）いくつかの実施形態において、組成物は、１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、１以上のアルコール又はグリコール、及び任意に１以上のアルキルグリコシドから成る溶媒中に完全に溶解している、ベンゾジアゼピン薬から必須のものとして構成される。いくつかの実施形態において、組成物は、１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、１以上のアルコール又はグリコール、及び任意に１以上のアルキルグリコシドから成る溶媒中に完全に溶解している、ベンゾジアゼピン薬から必須のものとして構成され、そこで溶液は少なくとも実質的に水がない。（いくつかの実施形態において、「実質的に水がない」とは、溶液が約１％未満、約０．５％未満、約０．２５％未満、又は約０．１％未満の水を含有することを示す。）いくつかの実施形態において、組成物は、１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、１以上のアルコール又はグリコール、及び任意に１以上のアルキルグリコシドから成る溶媒中に溶解している、ベンゾジアゼピンから構成される。いくつかの実施形態において、組成物は、１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、１以上のアルコール又はグリコール、及び任意に１以上のアルキルグリコシドから成る溶媒中に溶解している、ベンゾジアゼピンから構成され、そこで溶液は少なくとも実質的に水がない。（いくつかの実施形態において、「実質的に水がない」とは、溶液が約１％未満、約０．５％未満、約０．２５％未満、又は約０．１％未満の水を含有することを示す。）

【００４５】

いくつかの実施形態において、組成物は、天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、及びアルコール又はグリコールを有する溶媒中に完全に溶解しているベンゾジアゼピン薬を備える。従って、いくつかの実施形態において、組成物は、ベンゾジアゼピンミクロ粒子、ナノ粒子、又はそれらの組合せが実質的にない。いくつかの実施形態において、組成物は、天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、及びアルコール又はグリコールを有する溶媒中に完全に溶解しているベンゾジアゼピン薬を備え、そこで溶液は少なくとも実質的に水がない。（いくつかの実施形態において、「実質的に水がない」とは、溶液が約１％未満、約０．５％未満、約０．２５％未満、又は約０．１％未満の水を含有することを示す。）いくつかの実施形態において、組成物は、１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、１以上のアルコール又はグリコール、及び任意に１以上のアルキルグリコシドから成る溶媒中に完全に溶解している、ベンゾジアゼピン薬から必須のものとして構成される。いくつかの実施形態において、組成物は、１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、１以上のアルコール又はグリコール、及び任意に１以上のアルキルグリコシドから成る溶媒中に完全に溶解している、ベンゾジアゼピン薬から必須のものとして構成され、そこで溶液は少なくとも実質的に水がない。（いくつかの実施形態において、「実質的に水がない」とは、溶液が約１％未満、約０．５％未満、約０．２５％未満、又は約０．１％未満の水を含有するこ

ることを示す。）

【００４６】

いくつかの実施形態において、組成物は、天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、及び１以上のアルコール又はグリコールを含有する担体系中に、少なくとも部分的に微粒子型で懸濁したベンゾジアゼピン薬を含有する。いくつかの実施形態において、実質的に全てのベンゾジアゼピン薬は微粒子形態である。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬の少なくとも一部はミクロ粒子又はナノ粒子の形態である。担体系は、その中で組成物中に存在する少なくとも１つのベンゾジアゼピンの量が、担体系中のその溶解性を超えるものである。いくつかの実施形態において、このような組成物中の担体系は水を含む。いくつかの実施形態において、このような液体担体系は、水及び１以上の賦形剤を含有する。いくつかの実施形態において、１以上の賦形剤は、担体系中に溶解又は懸濁されている。いくつかの実施形態において、少なくとも１つのこのような賦形剤は、担体系中のベンゾジアゼピンの粒子の懸濁液を安定させる。いくつかの実施形態において、担体系は様々な濃度のパラベン（例えば、メチルパラベン、プロピルパラベン等）、及び／又は、ポビドン（ポリビニルピロリドン）などの、様々な量の１以上の界面活性剤を含有し得る。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピンの粒子懸濁液は、ポリエチレングリコールなどの、１以上のグリコール重合体を特に除外する。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピンの粒子懸濁液は、２００ｇ／ｍｏｌより大きい分子量を有する、１以上のグリコール重合体を特に除外する。いくつかの実施形態において、組成物は、合成トコフェロール、１以上のパラベン、１以上のアルコール又はグリコール、１以上の界面活性剤及び水を備える担体系中に懸濁されたベンゾジアゼピンのミクロ粒子及び／又はナノ粒子を含む形態におけるベンゾジアゼピン薬を備える。いくつかの実施形態において、組成物はビタミンＥ　ＴＰＧＳ、メチルパラベンとプロピルパラベンの１もしくは両方、少なくとも１つのグリコール、ポビドン及び水を備える担体系中に懸濁されたベンゾジアゼピンのミクロ粒子及び／又はナノ粒子を含む形態におけるベンゾジアゼピン薬を備える。いくつかの実施形態において、組成物はビタミンＥ　ＴＰＧＳ、メチルパラベン、プロピルパラベン、プロピレングリコール、ポビドン及び水を備える担体系中に懸濁されたベンゾジアゼピンのミクロ粒子及び／又はナノ粒子を含む形態におけるベンゾジアゼピン薬を備える。いくつかの実施形態において、組成物は合成トコフェロール、１以上のパラベン、１以上のアルコール又はグリコール、１以上の界面活性剤及び水から必須のものとして構成される担体系中に懸濁されたベンゾジアゼピンのミクロ粒子及び／又はナノ粒子を含む形態におけるベンゾジアゼピン薬から必須のものとして構成される。いくつかの実施形態において、組成物はビタミンＥ　ＴＰＧＳ、メチルパラベンとプロピルパラベンの１もしくは両方、少なくとも１つのグリコール、ポビドン及び水から必須のものとして構成される担体系中に懸濁されたベンゾジアゼピンのミクロ粒子及び／又はナノ粒子を含む形態におけるベンゾジアゼピン薬から必須のものとして構成される。いくつかの実施形態において、組成物はビタミンＥ　ＴＰＧＳ、メチルパラベン、プロピルパラベン、プロピレングリコール、ポビドン及び水から必須のものとして成される担体系中に懸濁されたベンゾジアゼピンのミクロ粒子及び／又はナノ粒子を含む形態におけるベンゾジアゼピン薬から必須のものとして構成される。いくつかの実施形態において、組成物は合成トコフェロール、１以上のパラベン、１以上のアルコール又はグリコール、１以上の界面活性剤及び水から構成される担体系中に懸濁されたベンゾジアゼピンのミクロ粒子及び／又はナノ粒子を含む形態におけるベンゾジアゼピン薬から構成される。いくつかの実施形態において、組成物はビタミンＥ　ＴＰＧＳ、メチルパラベンとプロピルパラベンの１もしくは両方、少なくとも１つのグリコール、ポビドン及び水から構成される担体系中に懸濁されたベンゾジアゼピンのミクロ粒子又はナノ粒子を含む形態におけるベンゾジアゼピン薬から構成される。いくつかの実施形態において、組成物はビタミンＥ　ＴＰＧＳ、メチルパラベン、プロピルパラベン、プロピレングリコール、ポビドン及び水から構成される担体系中に懸濁されたベンゾジアゼピンのミクロ粒子及び／又はナノ粒子を含む形態におけるベンゾジアゼピン薬から構成される。

【００４７】

いくつかの実施形態において、組成物は、天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、１以上のアルコール又はグリコール、及びアルキルグリコシドを含有する担体系中に、少なくとも部分的に微粒子型で懸濁されたベンゾジアゼピン薬を含有する。いくつかの実施形態において、実質的に全てのベンゾジアゼピン薬は微粒子型である。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬の少なくとも一部はミクロ粒子又はナノ粒子の形態である。担体系は、その中で組成物中に存在する少なくとも１つのベンゾジアゼピンの量が、担体系中のその溶解性を超えるものである。いくつかの実施形態において、このような組成物中の担体系は水を含む。いくつかの実施形態において、このような液体担体系は、水及び１以上の賦形剤を含有する。いくつかの実施形態において、１以上の賦形剤は、担体系中に溶解又は懸濁されている。いくつかの実施形態において、少なくとも１つのこのような賦形剤は、担体系中のベンゾジアゼピンの粒子の懸濁液を安定させる。いくつかの実施形態において、担体系は様々な濃度のパラベン（例えば、メチルパラベン、プロピルパラベン等）、及び／又は、ポビドン（ポリビニルピロリドン）などの、様々な量の１以上の界面活性剤を含有し得る。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピンの粒子懸濁液は、ポリエチレングリコールなどの、１以上のグリコール重合体を特に除外する。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピンの粒子懸濁液は、２００ｇ／ｍｏｌより大きい分子量を有する、１以上のグリコール重合体を特に除外する。いくつかの実施形態において、組成物は、合成トコフェロール、１以上のパラベン、１以上のアルコール又はグリコール、アルキルグリコシド及び水を備える担体系中に懸濁されたベンゾジアゼピンのミクロ粒子及び／又はナノ粒子を含む形態におけるベンゾジアゼピン薬を備える。いくつかの実施形態において、組成物はビタミンＥ　ＴＰＧＳ、メチルパラベンとプロピルパラベンの１もしくは両方、少なくとも１つのグリコール、アルキルグリコシド及び水を備える担体系中に懸濁されたベンゾジアゼピンのミクロ粒子及び／又はナノ粒子を含む形態におけるベンゾジアゼピン薬を備える。いくつかの実施形態において、組成物はビタミンＥ　ＴＰＧＳ、メチルパラベン、プロピルパラベン、プロピレングリコール、アルキルグリコシド及び水を備える担体系中に懸濁されたベンゾジアゼピンのミクロ粒子及び／又はナノ粒子を含む形態におけるベンゾジアゼピン薬を備える。いくつかの実施形態において、組成物は合成トコフェロール、１以上のパラベン、１以上のアルコール又はグリコール、アルキルグリコシド、任意に界面活性剤及び水から必須のものとして構成される担体系中に懸濁されたベンゾジアゼピンのミクロ粒子及び／又はナノ粒子を含む形態におけるベンゾジアゼピン薬から必須のものとして構成される。いくつかの実施形態において、組成物はビタミンＥ　ＴＰＧＳ、メチルパラベンとプロピルパラベンの１もしくは両方、少なくとも１つのグリコール、アルキルグリコシド、任意にポビドン及び水から必須のものとして構成される担体系中に懸濁されたベンゾジアゼピンのミクロ粒子又はナノ粒子を含む形態におけるベンゾジアゼピン薬から必須のものとして構成される。いくつかの実施形態において、組成物はビタミンＥ　ＴＰＧＳ、メチルパラベン、プロピルパラベン、プロピレングリコール、アルキルグリコシド、任意にポビドン及び水から基本的に構成される担体系中に懸濁されたベンゾジアゼピンのミクロ粒子及び／又はナノ粒子を含む形態におけるベンゾジアゼピン薬から必須のものとして構成される。いくつかの実施形態において、組成物は合成トコフェロール、１以上のパラベン、１以上のアルコール又はグリコール、アルキルグリコシド、任意に１以上の界面活性剤、及び水から構成される担体系中に懸濁されたベンゾジアゼピンのミクロ粒子及び／又はナノ粒子を含む形態におけるベンゾジアゼピン薬から構成される。いくつかの実施形態において、組成物はビタミンＥ　ＴＰＧＳ、メチルパラベンとプロピルパラベンの１もしくは両方、少なくとも１つのグリコール、アルキルグリコシド、任意にポビドン及び水から構成される担体系中に懸濁されたベンゾジアゼピンのミクロ粒子又はナノ粒子を含む形態におけるベンゾジアゼピン薬から構成される。いくつかの実施形態において、組成物はビタミンＥ　ＴＰＧＳ、メチルパラベン、プロピルパラベン、プロピレングリコール、アルキルグリコシド、任意にポビドン及び水から構成される担体系中に懸濁されたベンゾジアゼピンのミクロ粒

子及び／又はナノ粒子を含む形態におけるベンゾジアゼピン薬から構成される。

【００４８】

本発明はまた、ベンゾジアゼピン薬を用いて処置可能であり得る疾患の患者を処置する方法を開示する。いくつかの実施形態において、患者はヒトである。いくつかの実施形態において、方法は、ベンゾジアゼピン薬を備える経鼻投与用の医薬組成物と、約３０％から約９５％（Ｗ／Ｗ）までの量の、１またはそれより多い天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、又はそれらの任意の組合せと、約５％から約７０％（Ｗ／Ｗ）までの量の、好ましくは約１０％から約７０％（Ｗ／Ｗ）までの量の、１又はそれより多いアルコール又はグリコール、又はそれらの任意の組合せとを、患者の１以上の鼻粘膜に投与する工程を備える。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピンは約３０％から約９５％（Ｗ／Ｗ）までの量の、１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、あるいはそれらの任意の組合せと、約５％から約７０％（Ｗ／Ｗ）までの量の、好ましくは約１０％から約７０％（Ｗ／Ｗ）までの量の、１以上のアルコール又はグリコール、あるいはそれらの任意の組合せの中に溶解される。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬は担体系中に溶解される。他の実施形態において、ベンゾジアゼピン薬の少なくとも一部はミクロ粒子、ナノ粒子、又はそれらの組合せを含む形態である。いくつかの実施形態において、組成物は実質的にベンゾジアゼピンのミクロ粒子、ナノ粒子、又はそれらの組合せがない。

【００４９】

いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬は、アルプラゾラム、ブロチゾラム、クロルジアゼポキシド、クロバザム、クロナゼパム、クロラゼパム、デモキサゼパム、ジアゼパム、フルマゼニル、フルラゼパム、ハラゼパム、ミダゾラム、ノルダゼパム、メダゼパム、ニトラゼパム、オキサゼパム、メダゼパム、ロラゼパム、プラゼパム、クアゼパム、トリアゾラム、テマゼパム、ロプラゾラム、又はこれらの薬学的に許容可能な任意の塩、及びこれらの任意の組合せから成る群から選択される。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬は、ジアゼパム、又はその薬学的に許容可能な塩である。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬は、ベンゾジアゼピンミクロ粒子、ナノ粒子、又はそれらの組合せを備える。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピンナノ粒子は、約５０００ｎｍ未満の有効平均粒径を有する。

【００５０】

いくつかの実施形態において、１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノールは、α－トコフェロール、β－トコフェロール、γ－トコフェロール、δ－トコフェロール、α－トコトリエノール、β－トコトリエノール、γ－トコトリエノール、δ－トコトリエノール、トコフェルソラン、それらの任意の異性体、それらの任意のエステル、それらの任意のアナログ又は誘導体、及びそれらの任意の組合せから成る群から選択される。合成トコフェロールは、ポリエチレングリコール基などの親水基を含むよう修飾されたトコフェロールを含み得、２塩基酸などの共有結合性の連結基を介してトコフェロールと共有結合あるいはトコフェロールと連結し得る。この型の例示的な合成トコフェロールは、当該分野の当業者は、同様の二塩基酸及び／又は親水基を有する他の合成トコフェロールを想像することができるが、ビタミンＥポリエチレングリコールスクシネート（ビタミンＥ　ＴＰＧＳ）である。

【００５１】

いくつかの実施形態において、１以上のアルコールは、エタノール、プロピルアルコール、ブチルアルコール、ペンタノール、ベンジルアルコール、それらの任意の異性体、又はそれらの任意の組合せから成る群から選択される。いくつかの実施形態において、１以上のグリコールは、エチレングリコール、プロピレングリコール、ブチレングリコール、ペンチレングリコール、それらの任意の異性体、及びそれらの任意の組合せから成る群から選択される。いくつかの実施形態において、１以上のグリコールは、ポリエチレングリコールなどのグリコール重合体を特に除外する。いくつかの実施形態において、１以上のグリコールは、２００ｇ／ｍｏｌより大きい分子量を有するグリコール重合体を特に除外

する。
【００５２】
いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬は担体系中に、約１ｍｇ／ｍＬから約６００ｍｇ／ｍＬまでの濃度で存在する。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬は担体系中に、約１０ｍｇ／ｍＬから約２５０ｍｇ／ｍＬまでの濃度で存在する。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬は担体系中に、約２０ｍｇ／ｍＬから約５０ｍｇ／ｍＬまでの濃度で存在する。
【００５３】
いくつかの実施形態において、担体系は、約４５％から約８５％（Ｗ／Ｗ）までの量の、１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、あるいはそれらの任意の組合せを備える。いくつかの実施形態において、担体系は、約６０％から約７５％（Ｗ／Ｗ）までの量の、１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、あるいはそれらの任意の組合せを備える。いくつかの実施形態において、担体系は、約７０％（Ｗ／Ｗ）の量の、１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、あるいはそれらの任意の組合せを備える。いくつかの実施形態において、特にベンゾジアゼピン薬の粒子懸濁液を考慮する場合、組成物はトコフェロール、特にトコフェロールと共有結合的に連結する親水基を有する合成トコフェロールを含み得る。他の実施形態において、特にベンゾジアゼピン薬の溶液を考慮する場合、トコフェロールは実質的に又は完全にビタミンＥ　ＴＰＧＳがない。
【００５４】
いくつかの実施形態において、担体系は約１０％から約５５％（Ｗ／Ｗ）の量の、１以上のアルコール又はグリコール、あるいはそれらの任意の組合せを備える。いくつかの実施形態において、担体系は約２５％から約４０％（Ｗ／Ｗ）の量の、１以上のアルコール又はグリコール、あるいはそれらの任意の組合せを備える。いくつかの実施形態において、担体系は約３０％（Ｗ／Ｗ）の量の、１以上のアルコール又はグリコール、あるいはそれらの任意の組合せを備える。いくつかの実施形態において、担体系における１以上のアルコール又はグリコール、あるいはそれらの任意の組合せの量は、約１０％から約５５％まで、約１０％から約４０％まで、約１０％から約３５％まで、約１２％から約５５％まで、約１２％から約４０％まで、約１２％から約３５％まで、約１５％から約５５％まで、約１５％から約４０％まで、約１５％から約３５％まで、約１０％、約１２．５％、約１５％、約１７．５％、約２０％、約２２．５％、約２５％、約２７．５％、約３０％、約３２．５％、約３５％、約３７．５％、約４０％、約４２．５％、約４５％、約４７．５％、約５０％、約５２．５％、又は約５５％（Ｗ／Ｗ）の量で備える。
【００５５】
いくつかの実施形態において、組成物は、医薬品有効成分、賦活剤、賦形剤、及びｐＨを調節し、組成物を緩衝し、分解を防ぎ、そして外観、匂い、又は味を改善するために用いられる剤から成る群から選択される、少なくとも１つの付加的な成分を備える。
【００５６】
いくつかの実施形態において、組成物はベンゾジアゼピン薬、天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、及びアルコール又はグリコールに加えて、少なくとも一つの透過賦活剤を備える。いくつかの実施形態において、透過賦活剤はアルキルグリコシドである。いくつかの実施形態において、アルキルグリコシドは、任意の疎水性アルキルにつなぎ合わされる任意の糖を指し、このことは米国特許第５，６６１，１３０号に記されており、これは全体として参照することにより本明細書中に組み込まれる。疎水性アルキルは、任意の適切な長さであることができ、例えば、炭鎖長が約９から約２４の炭素、特に炭鎖長が約１０から約１４の炭素であり得る。疎水性アルキルは、分岐であり得、及び／又は部分的に又は全体的に不飽和であり得る。アルキルは例えばカルボニル基を介してサッカライドコアにつなぎ合わされ、それによってエステル基が形成され得る。適切なアルキルグリコシドは、無毒性であり、非イオン性であり、本明細書中に記載されるように鼻腔内にベンゾジアゼピン薬が投与されるとその吸収を増大させることが

できるという特徴を有する。本発明に係るアルキルに共有結合的につなぎ合され得る例示的な糖類は、グルコース、マルトース、マルトトリオース、マルトテトロース、スクロース、及びトレハロースを含む。使用され得る例示的なアルキルグリコシドは、オクチル－、ノニル－、デシル－、ウンデシル－、ドデシル、トリデシル、テトラデシル、ペンタデシル、オクタデシルα－又はβ－Ｄ－マルトシド、－グルコシド、又はスクロシドを含む。いくつかの実施形態において、好ましいグリコシドは、９、１０、１２、１４、１６、１８、又は２０炭素原子のアルキル鎖にグリコシド結合により連結される、マルトース、スクロース、又はグルコースを含む。存在する場合、組成物中のアルキルグリコシドの量は、鼻腔内経路により投与されるベンゾジアゼピン薬の吸収を高めるために十分な量である。いくつかの実施形態において、組成物中のアルキルグリコシドの量は、ベンゾジアゼピン薬の吸収を高めるために選択され、同時に鼻粘膜を著しく刺激しない。いくつかの実施形態において、組成物中のアルキルグリコシドの量は約０．０１％（Ｗ／Ｖ）から約１％（Ｗ／Ｖ）までの範囲内である。いくつかの実施形態において、組成物中のアルキルグリコシドの量は約０．０５％（Ｗ／Ｖ）から約０．５％（Ｗ／Ｖ）まで、又は約０．１２５％（Ｗ／Ｖ）から約０．５％（Ｗ／Ｖ）までの範囲内である。

【００５７】

いくつかの実施形態において、組成物は薬学的に許容可能なスプレー製剤中にあり、さらに、１以上の、患者の鼻粘膜に組成物を投与することを備える。いくつかの実施形態において、治療的に効果的な量は約１ｍｇから約２０ｍｇまでのベンゾジアゼピンである。いくつかの実施形態において、医薬組成物は約１０μＬから約２００μＬまでの容量を有する、薬学的に許容可能なスプレー製剤中にある。

【００５８】

いくつかの実施形態において、組成物の投与は、組成物の治療的に効果的な量の少なくとも一部を、少なくとも１つの鼻孔の中へ噴霧する工程を備える。いくつかの実施形態において、組成物の投与は、組成物の治療的に効果的な量の少なくとも一部を、それぞれの鼻孔の中へ噴霧する工程を備える。いくつかの実施形態において、組成物の投与は、第１の量の組成物を第１の鼻孔の中へ噴霧する工程と、第２の量の組成物を第２の鼻孔の中へ噴霧する工程と、任意に事前に選択した時間遅延の後、第３の量の組成物を第１の鼻孔の中へ噴霧する工程とを備える。いくつかの実施形態は、任意に事前に選択した時間遅延の後、少なくとも第４の量の組成物を第２の鼻孔の中へ投与する工程を更に備える。

【００５９】

いくつかの実施形態において、組成物の投与は、組成物を用いて処置可能であり得る疾患の症状の発病前又は発病後の任意の時点で開始する。

【００６０】

定義

本明細書中に用いられるように、語句「治療的に効果的な量（又はより単純に「効果的な量」）」は、特定の治療応答を提供するのに十分な量を含み、この特定の治療応答を得るために、特定の処置を必要とする患者に薬が投与される。一般的な技術を有する臨床医は、薬の治療的に効果的な量は、患者、指示、及び投与される特定の薬に左右されることを認めるであろう。

【００６１】

本明細書中に用いられるように、修飾語句「約」は、その正式に認識された、おおよそという意味を有するよう意図されている。いくつかの実施形態において、用語は、修飾される値の特定の百分率内を意味するよう、より正確に解釈され得る。例えば、「約」はいくつかの実施形態において、±２０％、±１０％、±５％、±２％、又は±１％、又はそれ未満を意味し得る。

【００６２】

本明細書中に用いられるように、語句「アナログ又は誘導体」は、１又はそれより多い原子又は官能基が、異なる原子又は官能基と置換されているため、もう１つ別の分子とは異なる分子を含む。これにより同様の化学式を有するが異なる化学的及び／又は生物学的

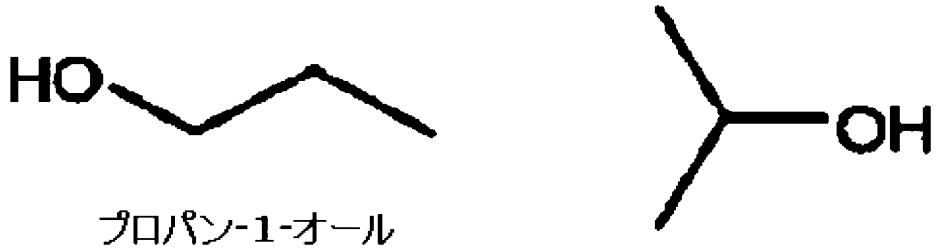
特性を有する分子がもたらされ得る。

【００６３】

本明細書中に用いられるように、用語「異性体」は、同一の化学式を有する分子を含むが、それらの間で分子の配置は異なり得る。これらの異なる配置により、同一の化学式を有するが、異なる化学的特性を有する分子がもたらされ得る。制約のない例として、プロパノールは化学式C_3H_7OHを有する。それはプロパン－１－オールとして見出され得るが、その場合、－ＯＨは末端炭素に付着して見出される。代替的に、それはプロパン－２－オールとして見出され得るが、その場合－ＯＨは第２炭素に付着して見出される。

【００６４】

【化１】



プロパン-1-オール

プロパン-2-オール

【００６５】

本明細書中に用いられるように、用語「発作」は、一般に認められる型の発作を含み、欠神発作、ミオクローヌス発作、間代発作、強直性発作、強直間代発作、及び脱力発作を含む。しばしば発作、特に重症な強直性発作又は強直間代発作は、患者又は患者をよく知る人によく知られた、１以上の前兆により予測される。それぞれの患者は一般的に異なる型の前兆を経験する。それらは患者に特有のものである。しかしながら、前兆は、可聴の、視覚の、嗅覚の、又は触覚の感覚として分類され得、通常、又は少なくともしばしば患者が発作を経験することより先に起こる。（発作を患う全ての患者が前兆を経験するわけではない。しかしながら前兆は最悪の型の発作、特に強直間代発作を患う人の間では珍しいものではない。）

【００６６】

本明細書中に用いられるように、用語「予防」は、疾患の発病を未然に防ぐことを指し、一時的に未然に防ぐことを含む。発作の場合には、警戒前兆（ｗａｒｎｉｎｇ　ａｕｒａ）の恩恵を受け、又は受けずに、のいずれかで起こり得る。

【００６７】

本明細書中に用いられるように、用語「処置」は、疾患の強さ及び／又は持続時間を減じること、又は同様の効果を指す。用語はまた、このような「処置」の副作用をも包含する。

【００６８】

本明細書中に用いられるように、別段に制限された場合を除き、用語「一つの（ａ）」又は「一つの（ａｎ）」は１またはそれより多くを意味し得る。

【００６９】

本明細書中に用いられるように、用語「備える（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）」は、その全ての変形において、請求項において用いられる移行句であり、本発明が、特に列挙された請求項要素を含む、又は含有するがそれらに限定されないということを示す。

【００７０】

本明細書中に用いられるように、用語「必須のものとして構成される」は、請求項において用いられる移行句であり、次に続く成分、部分、又は処理工程の一覧が、主張される組成物、機械、又は工程に存在せねばならないが、この請求項は、本発明の基礎的及び新

規の特性に実質的に影響を及ぼさない、一覧に記載されていない成分、部分、又は処理工程を受け入れる。

【００７１】

本明細書中に用いられるように、用語「構成される」は、請求項において用いられる移行句であり、主張される発明が請求項において説明されるそれらの要素のみを含むことを示す。

【００７２】

ベンゾジアゼピン薬

本発明の文脈において、用語「ベンゾジアゼピン薬」は、任意の治療上効果的なベンゾジアゼピン化合物、又は薬学的に許容可能な塩、又はそれらの組合せを含む。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピンは　アルプラゾラム、ジアゼパム、フルラゼパム、ロラゼパム、メダゼパム、メキサゾラム、ミダゾラム、テマゼパム及び薬学的に許容可能な塩、及びそれらの組合せから成る群の部材を備える。

【００７３】

付加的なベンゾジアゼピン化合物は、低いバイオアベイラビリティ、乏しい薬物動態学的特性、又は乏しい薬力学的特性のいずれかのため、わずかな治療上の恩恵を有する、又はほとんど治療的な恩恵を有さないとこれまで見なされてきたが、以下を提供することができる、本発明を介した利用を見出し得るということは、当該分野の当業者によって認識されるべきである。それらは、ベンゾジアゼピン薬の改善されたバイオアベイラビリティ、経鼻経路を介するより高濃度のベンゾジアゼピン薬の送達、血漿中のベンゾジアゼピンの治療レベルのより速い達成、肝門脈（ｌｉｖｅｒ　ｐｏｒｔａｌ　ｖｅｉｎ）の回避、及び、付随する初回通過効果の回避、及び／又は、ベンゾジアゼピン薬の脳へのより速い提示である。

【００７４】

例えば、大抵のベンゾジアゼピンはごくわずかに水に溶けるにすぎないため、治療的に効果的な量は、粘膜への塗布に適した水性溶媒の容量には溶解されることができない。いくつかの実施形態においてベンゾジアゼピン薬を溶解する改善された能力を提供する、本担体系を用いることにより、本発明は、ベンゾジアゼピン薬が、鼻粘膜を含む１以上の粘膜に投与されることを可能にする。これにより、入院又は不要な不快感なく、薬を投与することが可能となる。その上、経鼻投与などの、本発明のいくつかの実施形態において、消化器系は大部分は迂回され得る。この後者の改善により、改善されたバイオアベイラビリティ、血漿中のベンゾジアゼピンの治療レベルのより速い達成、肝門脈（ｌｉｖｅｒ　ｐｏｒｔａｌ　ｖｅｉｎ）の回避、及び／又は、付随する初回通過効果の回避を生じさせることができる。

【００７５】

組成物の経鼻投与により、膜と脳の近い近接性のため、１以上のベンゾジアゼピン薬のより速い脳への提示がもたらされることができる。例えば、発病している患者は、硬直した筋肉及び制御できない動きに苦しむ。これが経口及び／又は静脈内投与を困難又は不便にし得る。しかしながら、経鼻通路は開いたままであり、容易に利用可能であり、従って本発明の有用な投与経路である。

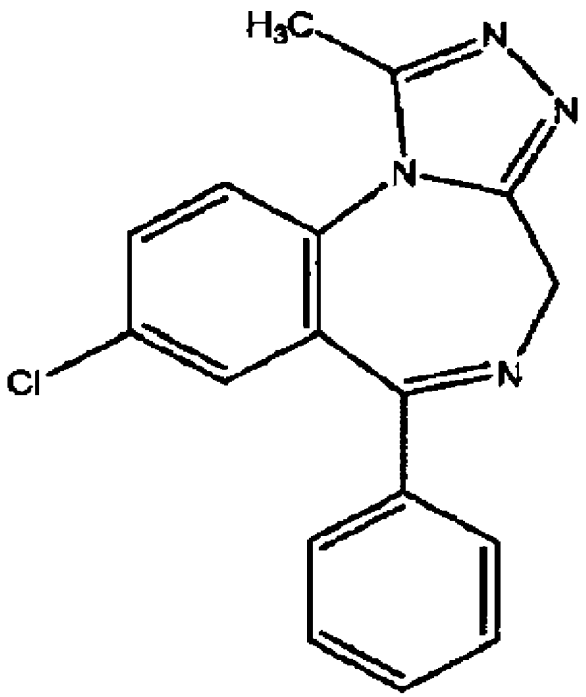
【００７６】

いくつかの実施形態において医薬組成物は、１以上の効果的な量のベンゾジアゼピン薬を用いた処置又は予防を受け入れる疾患に苦しむ患者を処置するために用いられる。制約のない例としてはこのような疾患は、不眠症、不安症、発作、筋痙攣及び硬直、並びに退薬症状を含むことができる。

【００７７】

いくつかの実施形態において、１以上のベンゾジアゼピン薬は、発作を処置し、発作から保護し、発作の強さを減じ又は改善し、発作の頻度を減じ又は改善し、及び／又は、発作の発生又は再発を予防するため、単独で又はもう一つの抗痙攣薬と併用して用いられる。

【００７８】
アルプラゾラム（８－クロロ－６－フェニル－１－メチル－４Ｈ－１，２，４－トリアゾロ［４，３－ａ］［１，４］ベンゾジアゼピン）
【００７９】
【化２】



【００８０】
アルプラゾラムは、鎮静の、精神安定の、及び筋弛緩性の特性を有するベンゾジアゼピン薬である。これは抗不安薬として分類される。アルプラゾラムは、パニック障害の処置に有用であるとも示されている。アルプラゾラムの投薬量は、指示により異なるが、治療量は投与量あたり約０．５から約４まで、好ましくは約１から約２ｍｇまでの範囲内で、１日あたり１から８、好ましくは２から８、いくつかの好ましい実施形態においては約４から約６回の範囲内であることが予期される。アルプラゾラムは、米国特許第３，９８７，０５２号に開示される工程を用いて製造され、これは全体として参照することにより本明細書中に組み込まれる。
【００８１】
いくつかの実施形態において、アルプラゾラムは、抗不安効果、鎮静効果、骨格筋弛緩効果、健忘作用、又は前述の効果の組合せを提供するため、単独で、又は他の薬と併用して用いられる。
【００８２】
いくつかの実施形態において、アルプラゾラムは、発作を処置し、発作から保護し、発作の強さを減じ又は改善し、発作の頻度を減じ又は改善し、及び／又は、発作の発生又は再発を予防するため、単独で又はもう一つの抗痙攣薬と併用して用いられる。発作から保護するため、患者が発病していない状態にある間、アルプラゾラムは、患者又は別の人（ヘルスケア専門家など）により投与され得る。発作からの保護が完全でない場合でさえ、アルプラゾラムの投与は、発作の強さを減じ又は改善し、及び／又は、発作の頻度を減じ又は改善し得る。いくつかの実施形態において、アルプラゾラムの投与は、発作の発生を予防し得る。いくつかの実施形態において、特に患者が連続的な発作又はてんかん重積状態を経験する傾向がある場合、アルプラゾラムの投与は、発作の循環を中断することを助け、従って発作の再発を予防し得る。ベンゾジアゼピン（ジアゼパムなど）に加えて、抗痙攣効果又は相乗的な抗痙攣効果を提供するため、他の抗痙攣薬がアルプラゾラムと組み

合わせられ得る。

【００８３】

アルプラゾラムはまた、患者が発作の状態にある間、もう一人の人（例えば、知人又は友人、家族の一員又はヘルスケア専門家）によって患者に投与されることもあり得る。従って、本発明によると、製剤の利点の一つは、急な治療環境において発作罹病者を処置するために、例えば経鼻的に、それらを投与され得ることである。ベンゾジアゼピン抗痙攣薬を、例えば経鼻投薬など、急に投薬することにより分け与えられ得る有益な治療効果の中には、発作の重症度の減少（例えば、筋肉の全身におよぶ弛緩、患者が経験する、発作に引き起こされた不安の減少、及び患者に幸福感を一般的に分け与えること）、発作の持続時間の減少、患者が反復発作を経験するであろう確率の減少、現在の発作と次の発作の間の間隔の拡大がある。従って、本発明のアルプラゾラム製剤、及び特に経鼻製剤は、いくつかの例においては約３０分未満、約１５分未満、約１０分未満、そしていくつかの場合においては約５分未満での、速やかな治療的な恩恵の発現を提供する。本発明のアルプラゾラム製剤、及び特に経鼻製剤は、静脈内の薬の投与や、直腸の薬の投与を必要としない、患者に治療上有益な薬を便利に投与することをもまた提供する。

【００８４】

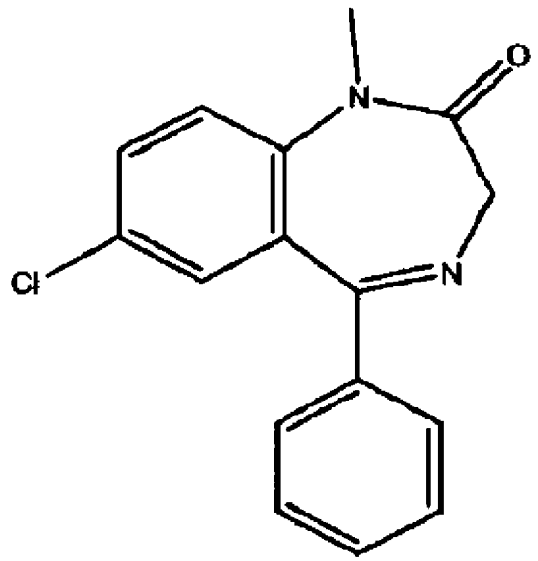
しばしば発作、特に重症な強直性発作又は強直間代発作は、患者又は患者をよく知る人によく知られた、１以上の前兆事象により予測される。これらの前兆はそれぞれの患者にほとんど独特であるが、可聴の、視覚の、嗅覚の、又は触覚の感覚として分類され得、通常、又は典型的に患者が発作を経験することより先に起こる。本発明のいくつかの実施形態において、方法は前兆の間に本発明に従ってベンゾジアゼピン薬の調製物を迅速に投与することを含む。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬のこのような耳内への（ｉｎｔｒａ－ａｕｒａｌ）投与、例えば経鼻投与による投与は、切迫した発作の効果（強さ、持続時間、又は両方）を予防又は少なくとも改善する。従って、本発明の文脈において、発作の予防は、警戒前兆（ｗａｒｎｉｎｇ　ａｕｒａ）の恩恵を受け、又は受けずに、のいずれかで、発作の発病を一時的に未然に防ぐことを指す。

【００８５】

ジアゼパム（７－クロロ－１－メチル－５－フェニル－１，３－ジヒドロ－２Ｈ－１，４－ベンゾジアゼピン－２－オン）

【００８６】

【化３】



【００８７】

ジアゼパムは、鎮静の、精神安定の、及び筋弛緩性の特性を有するベンゾジアゼピン薬である。これは抗不安薬、及び骨格筋弛緩薬として分類される。これは、抗不安の、抗痙

攣性の、鎮静の、骨格筋弛緩性の、及び健忘性の特性を有する。ジアゼパムの投薬量は、指示により異なり得るが、しかしながら、治療量は投与量あたり約１から約２０まで、好ましくは約２から約１０ｍｇまでの範囲内で、１日あたり１から８、好ましくは２から８、いくつかの好ましい実施形態においては約４から約６回の範囲内であることが予期される。ジアゼパムは、米国特許第３，３７１，０８５号、第３，１０９，８４３号、第３，１３６，８１５号、又は第３，１０２，１１６号の１つに開示される工程を用いて製造され、これらのそれぞれは全体として参照することにより本明細書中に組み込まれる。

【００８８】

いくつかの実施形態において、ジアゼパムは、抗不安効果、抗痙攣効果、鎮静効果、骨格筋弛緩効果、健忘作用、又は前述の効果の組合せを提供するため、単独で、又は他の薬と併用して用いられる。

【００８９】

いくつかの実施形態において、ジアゼパムは、発作を処置し、発作から保護し、発作の強さを減じ又は改善し、発作の頻度を減じ又は改善し、及び／又は、発作の発生又は再発を予防するため、単独で又はもう一つの抗痙攣薬と併用して用いられる。発作から保護するため、患者が発病していない状態にある間、ジアゼパムは、患者又は別の人（ヘルスケア専門家など）により投与され得る。発作からの保護が完全でない場合でさえ、ジアゼパムの投与は、発作の強さを減じ又は改善し、及び／又は、発作の頻度を減じ又は改善し得る。いくつかの実施形態において、ジアゼパムの投与は、発作の発生を予防し得る。いくつかの実施形態において、特に患者が連続的な発作又はてんかん重積状態を経験する傾向がある場合、ジアゼパムの投与は、発作の循環を中断することを助け、従って発作の再発を予防し得る。ベンゾジアゼピン（ジアゼパムなど）に加えて、相乗的な抗痙攣効果を提供するため、他の抗痙攣薬がジアゼパムと組み合わせられ得る。

【００９０】

ジアゼパムはまた、患者が発作の状態にある間、もう１人の人（例えば、知人又は友人、家族の一員又はヘルスケア専門家）によって患者に投与されることもあり得る。従って、本発明によると、製剤の利点の一つは、急な治療環境において発作罹病者を処置するために、例えば経鼻的に、それらを投与され得ることである。ベンゾジアゼピン抗痙攣薬を、例えば経鼻投薬など、急に投薬することにより分け与えられ得る有益な治療効果の中には、発作の重症度の減少（例えば、筋肉の全身におよぶ弛緩、患者が経験する、発作に引き起こされた不安の減少、及び患者に幸福感を一般的に分け与えること）、発作の持続時間の減少、患者が反復発作を経験するであろう確率の減少、現在の発作と次の発作の間の間隔の拡大がある。従って、本発明のジアゼパム製剤、及び特に経鼻製剤は、いくつかの例においては約３０分未満、約１５分未満、約１０分未満、そしていくつかの場合においては約５分未満での、速やかな治療的な恩恵の発現を提供する。本発明のジアゼパム製剤、及び特に経鼻製剤は、静脈内の薬の投与や、直腸の薬の投与を必要としない、患者への治療上有益な薬の便利な投与をもまた提供する。

【００９１】

しばしば発作、特に重症な強直性発作又は強直間代発作は、患者又は患者をよく知る人によく知られた、１以上の前兆事象により予測される。これらの前兆はそれぞれの患者にほとんど独特であるが、可聴の、視覚の、嗅覚の、又は触覚の感覚として分類され得、通常、又は典型的に患者が発作を経験することより先に起こる。本発明のいくつかの実施形態において、方法は前兆の間に本発明に従ってベンゾジアゼピン薬の調製物を迅速に投与することを含む。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬のこのような耳内への（ｉｎｔｒａ－ａｕｒａｌ）投与、例えば経鼻投与による投与は、切迫した発作の効果（強さ、持続時間、又は両方）を予防又は少なくとも改善する。従って、本発明の文脈において、発作の予防は、警戒前兆（ｗａｒｎｉｎｇ　ａｕｒａ）の恩恵を受け、又は受けずに、のいずれかで、発作の発病を一時的に未然に防ぐことを指す。

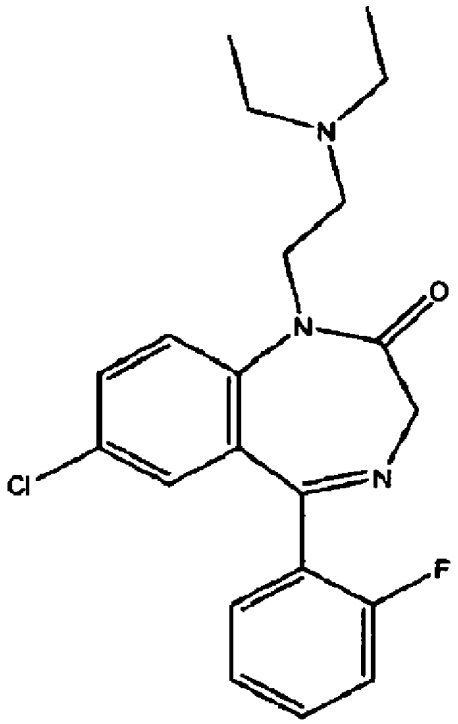
【００９２】

フルラゼパム（７－クロロ－５－（２－フルロフェニル）－２，３－ジヒドロ－１－（

２－（ジエチルアミノ）エチル）－１Ｈ－１，４－ベンゾジアゼピン－２－オン）

【００９３】

【化４】



【００９４】

フルラゼパムは、鎮静の（特に、催眠性の、及び催眠状態の）、抗不安の、抗痙攣性の、及び筋弛緩性の特性を有するベンゾジアゼピン薬である。これは鎮静薬、睡眠薬として分類される。フルラゼパムは、不眠症の処置に有用であると示されてきた。フルラゼパムの投薬量は、指示により異なるが、治療量は投与量あたり約５から約４０まで、好ましくは約２０から約３５ｍｇまでの範囲内で、１日あたり１から８、好ましくは２から８、いくつかの好ましい実施形態においては約４から約６回の範囲内であることが予期される。フルラゼパムは、米国特許第３，５６７，７１０号、又は第３，２９９，０５３号に開示される工程を用いて製造され、これらのそれぞれは全体として参照することにより本明細書中に組み込まれる。

【００９５】

いくつかの実施形態において、フルラゼパムは、抗不安効果、抗痙攣効果、鎮静効果、骨格筋弛緩効果、健忘作用、又は前述の効果の組合せを提供するため、単独で、又は他の薬と併用して用いられる。

【００９６】

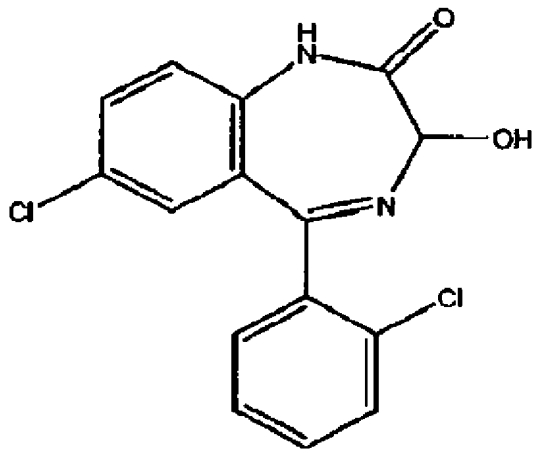
いくつかの実施形態において、フルラゼパムは、発作を処置し、発作から保護し、発作の強さを減じ又は改善し、発作の頻度を減じ又は改善し、及び／又は、発作の発生又は再発を予防するため、単独で又はもう一つの抗痙攣薬と併用して用いられる。発作から保護するため、患者が発病していない状態にある間、フルラゼパムは、患者又は別の人（ヘルスケア専門家など）により投与され得る。発作からの保護が完全でない場合でさえ、フルラゼパムの投与は、発作の強さを減じ又は改善し、及び／又は、発作の頻度を減じ又は改善し得る。いくつかの実施形態において、フルラゼパムの投与は、発作の発生を予防し得る。いくつかの実施形態において、特に患者が連続的な発作又はてんかん重積状態を経験する傾向がある場合、フルラゼパムの投与は、発作の循環を中断することを助け、従って発作の再発を予防し得る。ベンゾジアゼピン（ジアゼパムなど）に加えて、相乗的な抗痙攣効果を提供するため、他の抗痙攣薬がフルラゼパムと組み合わせられ得る。

【００９７】
フルラゼパムはまた、患者が発作の状態にある間、もう一人の人（例えば、知人又は友人、家族の一員又はヘルスケア専門家）によって患者に投与されることもあり得る。従って、本発明によると、製剤の利点の一つは、急な治療環境において発作罹病者を処置するために、例えば経鼻的に、それらを投与され得ることである。ベンゾジアゼピン抗痙攣薬を、例えば経鼻投薬など、急に投薬することにより分け与えられ得る有益な治療効果の中には、発作の重症度の減少（例えば、筋肉の全身におよぶ弛緩、患者が経験する、発作に引き起こされた不安の減少、及び患者に幸福感を一般的に分け与えること）、発作の持続時間の減少、患者が反復発作を経験するであろう確率の減少、現在の発作と次の発作の間の間隔の拡大がある。従って、本発明のフルラゼパム製剤、及び特に経鼻製剤は、いくつかの例においては約３０分未満、約１５分未満、約１０分未満、そしていくつかの場合においては約５分未満での、速やかな治療的な恩恵の発現を提供する。本発明のフルラゼパム製剤、及び特に経鼻製剤は、静脈内の薬の投与や、直腸の薬の投与を必要としない、患者への治療上有益な薬の便利な投与をもまた提供する。

【００９８】
しばしば発作、特に重症な強直性発作又は強直間代発作は、患者又は患者をよく知る人によく知られた、１以上の前兆事象により予測される。これらの前兆はそれぞれの患者にほとんど独特であるが、可聴の、視覚の、嗅覚の、又は触覚の感覚として分類され得、通常、又は典型的に患者が発作を経験することより先に起こる。本発明のいくつかの実施形態において、方法は前兆の間に本発明に従ってベンゾジアゼピン薬の調製物を迅速に投与することを含む。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬のこのような耳内への（ｉｎｔｒａ－ａｕｒａｌ）投与、例えば経鼻投与による投与は、切迫した発作の効果（強さ、持続時間、又は両方）を予防又は少なくとも改善する。従って、本発明の文脈において、発作の予防は、警戒前兆（ｗａｒｎｉｎｇ　ａｕｒａ）の恩恵を受け、又は受けずに、のいずれかで、発作の発病を一時的に未然に防ぐことを指す。

【００９９】
ロラゼパム（７－クロロ－５－（２－クロロフェニル）－３－ヒドロキシ－１，３－ジヒドロ－２Ｈ－１，４－ベンゾジアゼピン－２－オン）

【０１００】
【化５】



【０１０１】
ロラゼパムは、鎮静の、精神安定の、抗痙攣性の、健忘性の、及び筋弛緩性の特性を有するベンゾジアゼピン薬である。これは抗不安薬として分類される。ロラゼパムはまた、吐き気の処置に有用であると示されてきた。ロラゼパムの投薬量は、指示により異なるが、治療量は投与量あたり約０．１から約１０まで、好ましくは約０．２から約１ｍｇまで

の範囲内で、１日あたり１から８、好ましくは２から８、いくつかの好ましい実施形態においては約４から約６回の範囲内であることが予期される。ロラゼパムは、米国特許第３，２９６，２４９号に開示される工程を用いて製造され、これは全体として参照することにより本明細書中に組み込まれる。

【０１０２】

いくつかの実施形態において、ロラゼパムは、抗不安効果、抗痙攣効果、鎮静効果、骨格筋弛緩効果、健忘作用、又は前述の効果の組合せを提供するため、単独で、又は他の薬と併用して用いられる。

【０１０３】

いくつかの実施形態において、ロラゼパムは、発作を処置し、発作から保護し、発作の強さを減じ又は改善し、発作の頻度を減じ又は改善し、及び／又は、発作の発生又は再発を予防するため、単独で又はもう一つの抗痙攣薬と併用して用いられる。発作から保護するため、患者が発病していない状態にある間、ロラゼパムは、患者又は別の人（ヘルスケア専門家など）により投与され得る。発作からの保護が完全でない場合でさえ、ロラゼパムの投与は、発作の強さを減じ又は改善し、及び／又は、発作の頻度を減じ又は改善し得る。いくつかの実施形態において、ロラゼパムの投与は、発作の発生を予防し得る。いくつかの実施形態において、特に患者が連続的な発作又はてんかん重積状態を経験する傾向がある場合、ロラゼパムの投与は、発作の循環を中断することを助け、従って発作の再発を予防し得る。ベンゾジアゼピン（ジアゼパムなど）に加えて、相乗的な抗痙攣効果を提供するため、他の抗痙攣薬がロラゼパムと組み合わせられ得る。

【０１０４】

ロラゼパムはまた、患者が発作の状態にある間、もう一人の人（例えば、知人又は友人、家族の一員又はヘルスケア専門家）によって患者に投与されることもあり得る。従って、本発明によると、製剤の利点の一つは、急な治療環境において発作罹病者を処置するために、例えば経鼻的に、それらを投与され得ることである。ベンゾジアゼピン抗痙攣薬を、例えば経鼻投薬など、急に投薬することにより分け与えられ得る有益な治療効果の中には、発作の重症度の減少（例えば、筋肉の全身におよぶ弛緩、患者が経験する、発作に引き起こされた不安の減少、及び患者に幸福感を一般的に分け与えること）、発作の持続時間の減少、患者が反復発作を経験するであろう確率の減少、現在の発作と次の発作の間の間隔の拡大がある。従って、本発明のロラゼパム製剤、及び特に経鼻製剤は、いくつかの例においては約３０分未満、約１５分未満、約１０分未満、そしていくつかの場合においては約５分未満での、速やかな治療的な恩恵の発現を提供する。本発明のロラゼパム製剤、及び特に経鼻製剤は、静脈内の薬の投与や、直腸の薬の投与を必要としない、患者への治療上有益な薬の便利な投与をもまた提供する。

【０１０５】

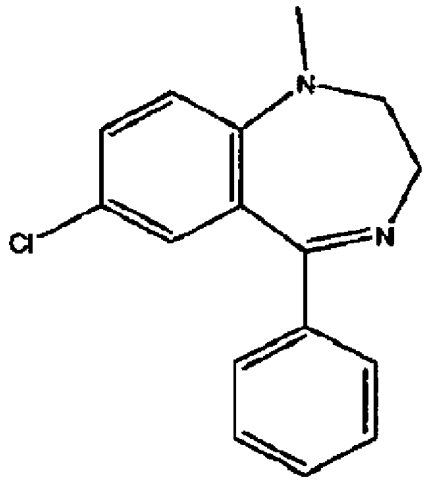
しばしば発作、特に重症な強直性発作又は強直間代発作は、患者又は患者をよく知る人によく知られた、１以上の前兆事象により予測される。これらの前兆はそれぞれの患者にほとんど独特であるが、可聴の、視覚の、嗅覚の、又は触覚の感覚として分類され得、通常、又は典型的に患者が発作を経験することより先に起こる。本発明のいくつかの実施形態において、方法は前兆の間に本発明に従ってベンゾジアゼピン薬の調製物を迅速に投与することを含む。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬のこのような耳内への（ｉｎｔｒａ－ａｕｒａｌ）投与、例えば経鼻投与による投与は、切迫した発作の効果（強さ、持続時間、又は両方）を予防又は少なくとも改善する。従って、本発明の文脈において、発作の予防は、警戒前兆（ｗａｒｎｉｎｇ　ａｕｒａ）の恩恵を受け、又は受けずに、のいずれかで、発作の発病を一時的に未然に防ぐことを指す。

【０１０６】

メダゼパム（７－クロロ－１－メチル－５－フェニル－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－１，４－ベンゾジアゼピン）

【０１０７】

【化６】



【０１０８】
メダゼパムは、鎮静の、精神安定の、抗痙攣性の、健忘性の、及び筋弛緩性の特性を有するベンゾジアゼピン薬である。これは抗不安薬として分類される。メダゼパムはまた、吐き気の処置に有用であると示されてきた。メダゼパムの投薬量は、指示により異なるが、治療量は投与量あたり約０．１から約１０まで、好ましくは約０．２から約１ｍｇまでの範囲内で、１日あたり１から８、好ましくは２から８、いくつかの好ましい実施形態においては約４から約６回の範囲内であることが予期される。メダゼパムは、米国特許第３，２４３，４２７号に開示される工程を用いて製造され、これは全体として参照することにより本明細書中に組み込まれる。
【０１０９】
いくつかの実施形態において、メダゼパムは、抗不安効果、抗痙攣効果、鎮静効果、骨格筋弛緩効果、健忘作用、又は前述の効果の組合せを提供するため、単独で、又は他の薬と併用して用いられる。
【０１１０】
いくつかの実施形態において、メダゼパムは、発作を処置し、発作から保護し、発作の強さを減じ又は改善し、発作の頻度を減じ又は改善し、及び／又は、発作の発生又は再発を予防するため、単独で又はもう一つの抗痙攣薬と併用して用いられる。発作から保護するため、患者が発病していない状態にある間、メダゼパムは、患者又は別の人（ヘルスケア専門家など）により投与され得る。発作からの保護が完全でない場合でさえ、メダゼパムの投与は、発作の強さを減じ又は改善し、及び／又は、発作の頻度を減じ又は改善し得る。いくつかの実施形態において、メダゼパムの投与は、発作の発生を予防し得る。いくつかの実施形態において、特に患者が連続的な発作又はてんかん重積状態を経験する傾向がある場合、メダゼパムの投与は、発作の循環を中断することを助け、従って発作の再発を予防し得る。ベンゾジアゼピン（ジアゼパムなど）に加えて、相乗的な抗痙攣効果を提供するため、他の抗痙攣薬がメダゼパムと組み合わせられ得る。
【０１１１】
メダゼパムはまた、患者が発作の状態にある間、もう一人の人（例えば、知人又は友人、家族の一員又はヘルスケア専門家）によって患者に投与されることもあり得る。従って、本発明によると、製剤の利点の一つは、急な治療環境において発作罹病者を処置するために、例えば経鼻的に、それらを投与され得ることである。ベンゾジアゼピン抗痙攣薬を、例えば経鼻投薬など、急に投薬することにより分け与えられ得る有益な治療効果の中には、発作の重症度の減少（例えば、筋肉の全身におよぶ弛緩、患者が経験する、発作に引き起こされた不安の減少、及び患者に幸福感を一般的に分け与えること）、発作の持続時間の減少、患者が反復発作を経験するであろう確率の減少、現在の発作と次の発作の間の

間隔の拡大がある。従って、本発明のメダゼパム製剤、及び特に経鼻製剤は、いくつかの例においては約３０分未満、約１５分未満、約１０分未満、そしていくつかの場合においては約５分未満での、速やかな治療的な恩恵の発現を提供する。本発明のメダゼパム製剤、及び特に経鼻製剤は、静脈内の薬の投与や、直腸の薬の投与を必要としない、患者への治療上有益な薬の便利な投与をもまた提供する。

【０１１２】

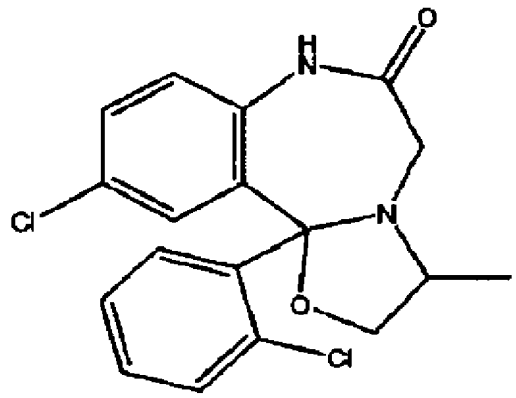
しばしば発作、特に重症な強直性発作又は強直間代発作は、患者又は患者をよく知る人によく知られた、１以上の前兆事象により予測される。これらの前兆はそれぞれの患者にほとんど独特であるが、可聴の、視覚の、嗅覚の、又は触覚の感覚として分類され得、通常、又は典型的に患者が発作を経験することより先に起こる。本発明のいくつかの実施形態において、方法は前兆の間に本発明に従ってベンゾジアゼピン薬の調製物を迅速に投与することを含む。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬のこのような耳内への（ｉｎｔｒａ－ａｕｒａｌ）投与、例えば経鼻投与による投与は、切迫した発作の効果（強さ、持続時間、又は両方）を予防又は少なくとも改善する。従って、本発明の文脈において、発作の予防は、警戒前兆（ｗａｒｎｉｎｇ　ａｕｒａ）の恩恵を受け、又は受けずに、のいずれかで、発作の発病を一時的に未然に防ぐことを指す。

【０１１３】

メキサゾラム（１０－クロロ－１１ｂ－（２－クロロフェニル）－１，３，７，１１ｂ－テトラヒドロ－３－メチルオキサゾロ［３，２－ｄ］［１，４］ベンゾジアゼピン－６（５Ｈ）－オン）

【０１１４】

【化７】



【０１１５】

メキサゾラムは、鎮静の、精神安定の、抗痙攣性の、健忘性の、及び筋弛緩性の特性を有するベンゾジアゼピン薬である。これは抗不安薬として分類される。メキサゾラムはまた、吐き気の処置に有用であると示されてきた。メキサゾラムの投薬量は、指示により異なるが、治療量は投与量あたり約０．１から約１０まで、好ましくは約０．２から約１ｍｇまでの範囲内で、１日あたり１から８、好ましくは２から８、いくつかの好ましい実施形態においては約４から約６回の範囲内であることが予期される。メキサゾラムは、米国特許第３，７２２，３７１号に開示される工程を用いて製造され、これは全体として参照することにより本明細書中に組み込まれる。

【０１１６】

いくつかの実施形態において、メキサゾラムは、抗不安効果、抗痙攣効果、鎮静効果、骨格筋弛緩効果、健忘作用、又は前述の効果の組合せを提供するため、単独で、又は他の薬と併用して用いられる。

【０１１７】

いくつかの実施形態において、メキサゾラムは、発作を処置し、発作から保護し、発作の強さを減じ又は改善し、発作の頻度を減じ又は改善し、及び／又は、発作の発生又は再

発を予防するため、単独で又はもう一つの抗痙攣薬と併用して用いられる。発作から保護するため、患者が発病していない状態にある間、メキサゾラムは、患者又は別の人（ヘルスケア専門家など）により投与され得る。発作からの保護が完全でない場合でさえ、メキサゾラムの投与は、発作の強さを減じ又は改善し、及び／又は、発作の頻度を減じ又は改善し得る。いくつかの実施形態において、メキサゾラムの投与は、発作の発生を予防し得る。いくつかの実施形態において、特に患者が連続的な発作又はてんかん重積状態を経験する傾向がある場合、メキサゾラムの投与は、発作の循環を中断することを助け、従って発作の再発を予防し得る。ベンゾジアゼピン（ジアゼパムなど）に加えて、相乗的な抗痙攣効果を提供するため、他の抗痙攣薬がメキサゾラムと組み合わせられ得る。

【０１１８】

メキサゾラムはまた、患者が発作の状態にある間、もう一人の人（例えば、知人又は友人、家族の一員又はヘルスケア専門家）によって患者に投与されることもあり得る。従って、本発明によると、製剤の利点の一つは、急な治療環境において発作罹病者を処置するために、例えば経鼻的に、それらを投与され得ることである。ベンゾジアゼピン抗痙攣薬を、例えば経鼻投薬など、急に投薬することにより分け与えられ得る有益な治療効果の中には、発作の重症度の減少（例えば、筋肉の全身におよぶ弛緩、患者が経験する、発作に引き起こされた不安の減少、及び患者に幸福感を一般的に分け与えること）、発作の持続時間の減少、患者が反復発作を経験するであろう確率の減少、現在の発作と次の発作の間の間隔の拡大がある。従って、本発明のメキサゾラム製剤、及び特に経鼻製剤は、いくつかの例においては約３０分未満、約１５分未満、約１０分未満、そしていくつかの場合においては約５分未満での、速やかな治療的な恩恵の発現を提供する。本発明のメキサゾラム製剤、及び特に経鼻製剤は、静脈内の薬の投与や、直腸の薬の投与を必要としない、患者への治療上有益な薬の便利な投与をもまた提供する。

【０１１９】

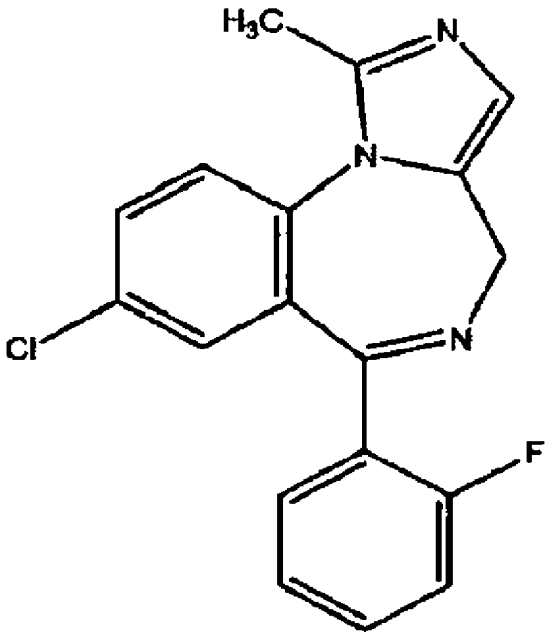
しばしば発作、特に重症な強直性発作又は強直間代発作は、患者又は患者をよく知る人によく知られた、１以上の前兆事象により予測される。これらの前兆はそれぞれの患者にほとんど独特であるが、可聴の、視覚の、嗅覚の、又は触覚の感覚として分類され得、通常、又は典型的に患者が発作を経験することより先に起こる。本発明のいくつかの実施形態において、方法は前兆の間に本発明に従ってベンゾジアゼピン薬の調製物を迅速に投与することを含む。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬のこのような耳内への（ｉｎｔｒａ－ａｕｒａｌ）投与、例えば経鼻投与による投与は、切迫した発作の効果（強さ、持続時間、又は両方）を予防又は少なくとも改善する。従って、本発明の文脈において、発作の予防は、警戒前兆（ｗａｒｎｉｎｇ　ａｕｒａ）の恩恵を受け、又は受けずに、のいずれかで、発作の発病を一時的に未然に防ぐことを指す。

【０１２０】

ミダゾラム（８－クロロ－６－（２－フルオロフェニル）－１－メチル－４Ｈ－イミダゾ（１，５－ａ）ベンゾジアゼピン）

【０１２１】

【化８】



【０１２２】

ミダゾラムは、抗不安の、健忘性の、催眠性の、抗痙攣性の、骨格筋弛緩性の、及び鎮静の特性を有する、三環系のベンゾジアゼピンである。ミダゾラムは、約４より低いｐＨで水に溶解できると見なされているが、中性ｐＨ（例えば、約６から８）で大抵の水溶液に比較的に不溶性である。従って、いくつかの実施形態において、ミダゾラムの水性の経鼻用調製物は、約５．５より上、好ましくは約６．０より上、又は約６．５より上のｐＨを有することが好ましい。いくつかの好ましい実施形態において、ｐＨは約６と９の間、約６と８の間である。脂溶性（およそ中性ｐＨで）のミダゾラムは、鼻粘膜中に急速に吸収され、ミダゾラムの能率的な摂取へ導くため、ミダゾラムの調製物は特に経鼻投与に適していると考えられる。更に、ミダゾラムは、ハイドロフルオロカーボン噴射剤、炭化水素噴射剤などといったエアロゾル投与技術において既知であるものなどの、非水性の送達ビヒクルの中に処方され得ると考えられる。

【０１２３】

ミダゾラムの投薬量は、指示により異なるが、治療量は投与量あたり約０．１から約２０まで、好ましくは約０．２から約１０ｍｇまでの範囲内で、１日あたり１から８、好ましくは２から８、いくつかの好ましい実施形態においては約４から約６回の範囲内であることが予期される。ミダゾラムは、米国特許第４，２８０，９５７号、又は第５，８３１，０８９号の一つに開示される工程を用いて製造され、これらのそれぞれは全体として参照することにより本明細書中に組み込まれる。

【０１２４】

いくつかの実施形態において、ミダゾラムは、抗不安効果、抗痙攣効果、鎮静効果、骨格筋弛緩効果、健忘作用、又は前述の効果の組合せを提供するため、単独で、又は他の薬と併用して用いられる。

【０１２５】

いくつかの実施形態において、ミダゾラムは、発作を処置し、発作から保護し、発作の強さを減じ又は改善し、発作の頻度を減じ又は改善し、及び／又は、発作の発生又は再発を予防するため、単独で又はもう一つの抗痙攣薬と併用して用いられる。発作から保護するため、患者が発病していない状態にある間、ミダゾラムは、患者又は別の人（ヘルスケア専門家など）により投与され得る。発作からの保護が完全でない場合でさえ、ミダゾラムの投与は、発作の強さを減じ又は改善し、及び／又は、発作の頻度を減じ又は改善し得

る。いくつかの実施形態において、ミダゾラムの投与は、発作の発生を予防し得る。いくつかの実施形態において、特に患者が連続的な発作又はてんかん重積状態を経験する傾向がある場合、ミダゾラムの投与は、発作の循環を中断することを助け、従って発作の再発を予防し得る。ベンゾジアゼピン（ジアゼパムなど）に加えて、相乗的な抗痙攣効果を提供するため、他の抗痙攣薬がミダゾラムと組み合わせられ得る。

【０１２６】

ミダゾラムはまた、患者が発作の状態にある間、もう一人の人（例えば、知人又は友人、家族の一員又はヘルスケア専門家）によって患者に投与されることもあり得る。従って、本発明によると、製剤の利点の一つは、急な治療環境において発作罹病者を処置するために、例えば経鼻的に、それらを投与され得ることである。ベンゾジアゼピン抗痙攣薬を、例えば経鼻投薬など、急に投薬することにより分け与えられ得る有益な治療効果の中には、発作の重症度の減少（例えば、筋肉の全身におよぶ弛緩、患者が経験する、発作に引き起こされた不安の減少、及び患者に幸福感を一般的に分け与えること）、発作の持続時間の減少、患者が反復発作を経験するであろう確率の減少、現在の発作と次の発作の間の間隔の拡大がある。従って、本発明のミダゾラム製剤、及び特に経鼻製剤は、いくつかの例においては約３０分未満、約１５分未満、約１０分未満、そしていくつかの場合においては約５分未満での、速やかな治療的な恩恵の発現を提供する。本発明のミダゾラム製剤、及び特に経鼻製剤は、静脈内の薬の投与や、直腸の薬の投与を必要としない、患者への治療上有益な薬の便利な投与をもまた提供する。

【０１２７】

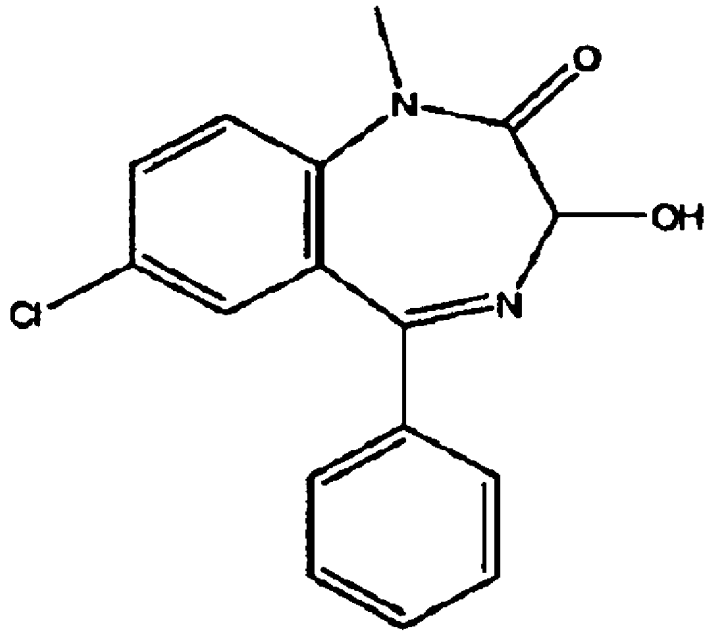
しばしば発作、特に重症な強直性発作又は強直間代発作は、患者又は患者をよく知る人によく知られた、１以上の前兆事象により予測される。これらの前兆はそれぞれの患者にほとんど独特であるが、可聴の、視覚の、嗅覚の、又は触覚の感覚として分類され得、通常、又は典型的に患者が発作を経験することより先に起こる。本発明のいくつかの実施形態において、方法は前兆の間に本発明に従ってベンゾジアゼピン薬の調製物を迅速に投与することを含む。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬のこのような耳内への（ｉｎｔｒａ－ａｕｒａｌ）投与、例えば経鼻投与による投与は、切迫した発作の効果（強さ、持続時間、又は両方）を予防又は少なくとも改善する。従って、本発明の文脈において、発作の予防は、警戒前兆（ｗａｒｎｉｎｇ　ａｕｒａ）の恩恵を受け、又は受けずに、のいずれかで、発作の発病を一時的に未然に防ぐことを指す。

【０１２８】

テマゼパム（７－クロロ－１－メチル－５－フェニル－３－ヒドロキシ－１，３－ジヒドロ－２Ｈ－１，４－ベンゾジアゼピン－２－オン）

【０１２９】

【化９】



【０１３０】
テマゼパムは、鎮静の、精神安定の、抗痙攣性の、健忘性の、及び筋弛緩性の特性を有するベンゾジアゼピン薬である。これは抗不安薬として分類される。テマゼパムはまた、吐き気の処置に有用であると示されてきた。テマゼパムの投薬量は、指示により異なるが、治療量は投与量あたり約１から約５０まで、好ましくは約５から約３０ｍｇまでの範囲内で、１日あたり１から８、好ましくは２から８、いくつかの好ましい実施形態においては約４から約６回の範囲内であることが予期される。テマゼパムは、米国特許第３，３４０，２５３号、又は第３，３７４，２２５号に開示される工程を用いて製造され得、これらのそれぞれは全体として参照することにより本明細書中に組み込まれる。
【０１３１】
いくつかの実施形態において、テマゼパムは、抗不安効果、抗痙攣効果、鎮静効果、骨格筋弛緩効果、健忘作用、又は前述の効果の組合せを提供するため、単独で、又は他の薬と併用して用いられる。
【０１３２】
いくつかの実施形態において、テマゼパムは、発作を処置し、発作から保護し、発作の強さを減じ又は改善し、発作の頻度を減じ又は改善し、及び／又は、発作の発生又は再発を予防するため、単独で又はもう一つの抗痙攣薬と併用して用いられる。発作から保護するため、患者が発病していない状態にある間、テマゼパムは、患者又は別の人（ヘルスケア専門家など）により投与され得る。発作からの保護が完全でない場合でさえ、テマゼパムの投与は、発作の強さを減じ又は改善し、及び／又は、発作の頻度を減じ又は改善し得る。いくつかの実施形態において、テマゼパムの投与は、発作の発生を予防し得る。いくつかの実施形態において、特に患者が連続的な発作又はてんかん重積状態を経験する傾向がある場合、テマゼパムの投与は、発作の循環を中断することを助け、従って発作の再発を予防し得る。ベンゾジアゼピン（ジアゼパムなど）に加えて、相乗的な抗痙攣効果を提供するため、他の抗痙攣薬がテマゼパムと組み合わせられ得る。
【０１３３】
テマゼパムはまた、患者が発作の状態にある間、もう一人の人（例えば、知人又は友人、家族の一員又はヘルスケア専門家）によって患者に投与されることもあり得る。従って、本発明によると、製剤の利点の一つは、急な治療環境において発作罹病者を処置するために、例えば経鼻的に、それらを投与され得ることである。ベンゾジアゼピン抗痙攣薬を

、例えば経鼻投薬など、急に投薬することにより分け与えられ得る有益な治療効果の中には、発作の重症度の減少（例えば、筋肉の全身におよぶ弛緩、患者が経験する、発作に引き起こされた不安の減少、及び患者に幸福感を一般的に分け与えること）、発作の持続時間の減少、患者が反復発作を経験するであろう確率の減少、現在の発作と次の発作の間の間隔の拡大がある。従って、本発明のテマゼパム製剤、及び特に経鼻製剤は、いくつかの例においては約３０分未満、約１５分未満、約１０分未満、そしていくつかの場合においては約５分未満での、速やかな治療的な恩恵の発現を提供する。本発明のテマゼパム製剤、及び特に経鼻製剤は、静脈内の薬の投与や、直腸の薬の投与を必要としない、患者への治療上有益な薬の便利な投与をもまた提供する。

【０１３４】

しばしば発作、特に重症な強直性発作又は強直間代発作は、患者又は患者をよく知る人によく知られた、１以上の前兆事象により予測される。これらの前兆はそれぞれの患者にほとんど独特であるが、可聴の、視覚の、嗅覚の、又は触覚の感覚として分類され得、通常、又は典型的に患者が発作を経験することより先に起こる。本発明のいくつかの実施形態において、方法は前兆の間に本発明に従ってベンゾジアゼピン薬の調製物を迅速に投与することを含む。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬のこのような耳内への（ｉｎｔｒａ－ａｕｒａｌ）投与、例えば経鼻投与による投与は、切迫した発作の効果（強さ、持続時間、又は両方）を予防又は少なくとも改善する。従って、本発明の文脈において、発作の予防は、警戒前兆（ｗａｒｎｉｎｇ　ａｕｒａ）の恩恵を受け、又は受けずに、のいずれかで、発作の発病を一時的に未然に防ぐことを指す。

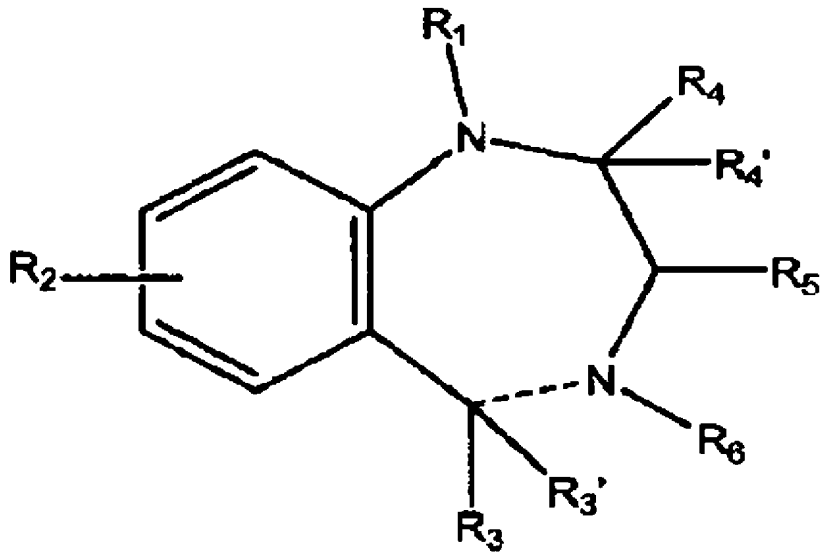
【０１３５】

薬学的に許容可能な塩

ベンゾジアゼピンは、概して式Ｉの塩基性構造を有する。

【０１３６】

【化１０】



式Ｉ

【０１３７】

ここでＲ$_1$からＲ$_5$は置換基である。特定の実施形態において、Ｒ$_1$は任意に置換されたアルキルであるか、又はＲ$_4$とともに環を形成し、Ｒ$_2$はハロゲン（例えばＣｌ、Ｂｒ）であり、Ｒ$_3$は任意に置換されたアリール（例えば、２－クロロ又は２－フルオロフェニル）であり、Ｒ$_5$はＨ又はＯＨであり、Ｒ$_4$及びＲ$_4$’は共に、それらが付いている炭素とともにカルボニル（Ｃ＝Ｏ）を形成する、或いは、Ｒ$_4$及びＲ$_1$はそれらが各々付い

ているジアゼパム環原子とともに任意に置換された複素環式環を形成し、R_3'及びR_6はともに二重結合を形成する、又は、それらが各々付いているジアゼパム環原子とともに任意に置換された複素環式環を形成するよう結合され得る。このような塩基性化合物は、薬学的に許容可能な無機酸及び薬学的に許容可能な有機酸などの薬学的に許容可能な酸を用いて、酸付加塩を形成し得る。

【０１３８】

薬学的に許容可能な無機酸は、ＨＣｌ、H_2SO_4、H_2SO_3、H_3PO_4、H_3PO_3、及び当該分野の当業者に認められる他のものを含む。薬学的に許容可能な有機酸は、酢酸、安息香酸、酒石酸、クエン酸、シュウ酸、マレイン酸、マロン酸等を含む。従って、いくつかの実施形態において、薬学的に許容可能な酸は、１－ヒドロキシ－２－ナフトエ酸、２，２－ジクロロ酢酸、２－ヒドロキシエタンスルホン酸、２－オキソグルタル酸、４－アセトアミド安息香酸、４－アミノサリチル酸、酢酸、アジピン酸、アスコルビン酸（Ｌ）、アスパラギン酸（Ｌ）、ベンゼンスルホン酸、安息香酸、樟脳酸（＋）、カンファー－１０－スルホン酸（＋）、カプリン酸（デカン酸）、カプロン酸（ヘキサン酸）、カプリル酸（オクタン酸）、炭酸、桂皮酸、クエン酸、シクラミン酸、ドデシル硫酸、エタン－１，２－ジスルホン酸、エタンスルホン酸、ギ酸、フマル酸、ガラクタル酸、ゲンチシン酸、グルコヘプトン酸（Ｄ）、グルコン酸（Ｄ）、グルクロン酸（Ｄ）、グルタミン酸、グルタル酸、グリセロリン酸、グリコール酸、馬尿酸、臭化水素酸、塩酸、イソ酪酸、乳酸（ＤＬ）、ラクトビオン酸、ラウリン酸、マレイン酸、リンゴ酸（－Ｌ）、マロン酸、マンデル酸（ＤＬ）、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸（ベシル酸）、ナフタレン－１，５－ジスルホン酸、ナフタレン－２－スルホン酸、ニコチン酸、硝酸、オレイン酸、シュウ酸、パルミチン酸、パモン酸（ｐａｍｏｉｃ　ａｃｉｄ）、リン酸、プロピオン酸、ピログルタミン酸（－Ｌ）、サリチル酸、セバシン酸、ステアリン酸、コハク酸、硫酸、酒石酸（＋Ｌ）、チオシアン酸、トルエンスルホン酸（ｐ）及びウンデシレン酸から構成される群から選択され得る。他の薬学的に許容可能な酸は、薬学的に許容可能な酸性（アニオン性）ポリマー、又は薬学的に許容可能な両性ポリマーであり得る。当該分野の当業者は、酸付加塩を作り出すため、他の塩基性の医薬品有効成分が前述の酸と結合され得ることを認める。同様に、当該分野の当業者は、いくつかの実施形態において、いくつか又は全ての加えられた酸がそれ自体で医薬品有効成分となることが好都合であることを認める。

【０１３９】

いくつかの実施形態において、本発明は、１以上の酸性の医薬品有効成分を備える経鼻組成物を提供する。上記の化合物のいずれが酸性であるかを決定することは、当該技術分野の当業者において、十分に考慮されている。このような化合物は、例えば、１以上の無機塩基（例えば$NaOH$、KOH、$NaHCO_3$、Na_2CO_3、NH_3）、又は有機塩基を加えることにより、塩基付加塩として調製され得る。薬学的に許容化可能な塩基を選ぶことは当該分野の当業者において考慮されている。

【０１４０】

既知のベンゾジアゼピン化合物は、抗不安の、抗痙攣の、鎮静の、及び／又は骨格筋弛緩性の効果を有する。用語「抗痙攣の」は、発作を処置すること、発作から保護すること、発作の強さを減じ又は改善すること、発作の頻度を減じ又は改善すること、及び／又は、発作の発生又は再発を予防することを含む。この点において、発作を処置することは、進行中の発作の休止、進行中の発作の強さの減少、進行中の発作の持続時間の減少を含む。発作から保護することは、接近する発作を未然に防ぐことを含む。

【０１４１】

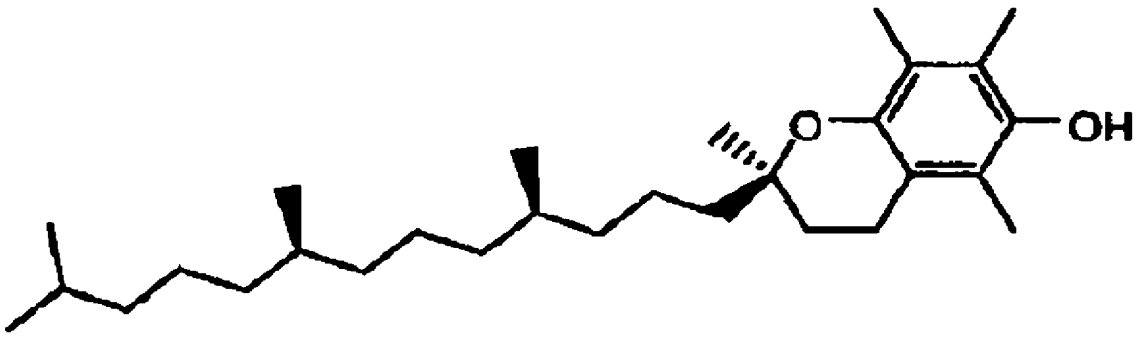
担体系

ビタミンＥは、脂溶性のメチル化されたフェノールである。この分類を備える少なくとも８つの天然由来の化合物が存在し、それらは、α－トコフェロール、β－トコフェロール、γ－トコフェロール、δ－トコフェロール、α－トコトリエノール、β－トコトリエノール、γ－トコトリエノール、及びδ－トコトリエノールで、これらの全ては本発明の

組成物及び方法において用いられ得る。これらの化合物のそれぞれに多数の異性体が存在し、それらの全ては本発明の組成物及び方法において用いられ得る。これらの化合物のそれぞれにまた、トコフェルソランを含む、多数のエステルが存在し、それらのすべては本発明の組成物及び方法において用いられ得る。本明細書中に用いられるように、ビタミンＥは、任意の天然又は合成トコフェロール、トコトリエノール、それらの任意の異性体、それらの任意のエステル、それらの任意のアナログ又は誘導体、又はそれらの任意の組合せを指す。

【０１４２】

【化１１】



【０１４３】

α－トコフェロール

ビタミンＥを備える化合物は抗酸化剤である。それらは、心臓病、癌、白内障、黄斑変性、緑内障、アルツハイマー病、及びパーキンソン病の症状を予防し、それらの発病を遅らせ、又は改善することができるという証拠もまた存在する。

【０１４４】

本発明は、ビタミンＥが、ベンゾジアゼピン薬にとって効果的な担体を供給できることを見出した。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピンはビタミンＥに溶解できる、又は部分的に溶解できる。いくつかの実施形態において、ビタミンＥは、ミクロ粒子、ナノ粒子、又はそれらの任意の組合せとして存在し得る。更に、ビタミンＥの使用は、敏感な粘膜の炎症を回避すること、及び／又は、炎症を起こしている粘膜を落ち着かせることのいずれかの付加的な恩恵を有す。

【０１４５】

ビタミンＥは、一般的に疎水性に分類され、担体として用いられる時にはエマルションとしての製剤に限定され得る。しかしながら、エマルションは数個の欠点を有し得る。例えば、それらは作りだすのが困難であり、また非常に不安定であり得る。更に、それらは皮膚の表面上に、油の薄膜を残し得る。従って、エマルションの欠点を回避するため、本発明のいくつかの実施形態は、ビタミンＥと、１以上の低級アルキルアルコール又は１以上の低級アルキルグリコール、又はそれらの組合せ中の、１以上のベンゾジアゼピン薬の溶液を備える。

【０１４６】

低級アルキルアルコールは、６以下の炭素原子を有するものである。従って、エタノール、プロピルアルコール、ブチルアルコール、ペンタノール、ベンジルアルコール、それらの任意の異性体、又はそれらの任意の組合せのいずれかが、用いられ得る。

【０１４７】

低級アルキルグリコールは、６以下の炭素原子を有するものである。従って、エチレングリコール、プロピレングリコール、ブチレングリコール、ペンチレングリコール、それらの任意の異性体、又はそれらの任意の組合せのいずれかが、用いられ得る。

【０１４８】

追加の賦形剤

いくつかの実施形態において、組成物はベンゾジアゼピン薬、天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、及びアルコール又はグリコールに加えて、少なくとも１つの透過賦活剤を備える。いくつかの実施形態において、透過賦活剤は少なくとも１つのアルキルグリコシドである。いくつかの実施形態において、アルキルグリコシドは、任意の疎水性アルキルにつなぎ合わされる任意の糖を指し、このことは米国特許第５，６６１，１３０号に記されており、これは全体として参照することにより本明細書中に組み込まれる。疎水性アルキルは、任意の適切な長さであることができ、例えば、炭鎖長が約９から約２４の炭素、特に炭鎖長が約１０から約１４の炭素であり得る。疎水性アルキルは、分岐であり得、及び／又は部分的に又は全体的に不飽和であり得る。アルキルは例えばカルボニル基を介してサッカライドコアにつなぎ合わされ得、それによってエステル基が形成され得る。適切なアルキルグリコシドは、無毒性であり、非イオン性であり、本明細書中に記載されるように鼻腔内に投与されるとベンゾジアゼピン薬の吸収を増大させることができるという特徴を有する。本発明に係るアルキルに共有結合的につなぎ合わされ得る例示的な糖類は、グルコース、マルトース、マルトトリオース、マルトテトロース、スクロース、及びトレハロースを含む。使用され得る例示的なアルキルグリコシドは、オクチル－、ノニル－、デシル－、ウンデシル－、ドデシル、トリデシル、テトラデシル、ペンタデシル、オクタデシルα－又はβ－Ｄ－マルトシド、－グルコシド、又はスクロシドを含む。いくつかの実施形態において、好ましいグリコシドは、９、１０、１２、１４、１６、１８、又は２０炭素原子のアルキル鎖にグリコシド結合により連結される、マルトース、スクロース、又はグルコースを含む。本発明に従って経鼻組成物に使用され得る特定の賦形剤は、アルキルサッカライド（ａｌｋｙｌｓａｃｃｈａｒｉｄｅ）を含み、アルキルサッカライドは、ドデシルマルトシド、テトラデシルマルトシド、スクロースドデカノエイト、スクロースモノステアリン、スクロースジステアリン、及び／又は２又はそれより多いそれらの組合せを含む。本発明の実施形態において特に有用であるとみなされるアルキルグリコシドは、Ａｅｇｉｓ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ，ＬＬＣ、サンディエゴ、カリホルニアよりＩｎｔｒａｖａｉｌ（登録商標）の名で販売されているものを含む。他のアルキルグリコシドは、親水性親油性バランス（ＨＬＢ）数が約１０から２０、特に約１１から１５を有するものから選択され得る。ＨＬＢ数は２００９年２月１９日に公開された、米国公開公報２００９／００４７３４７号に説明されるように決定され、この公報の全体、及び特に段落［００７５］から［００７９］は、参照することにより本明細書中に組み込まれる。存在する場合、組成物中のアルキルグリコシドの量は、鼻腔内経路により投与されるベンゾジアゼピン薬の吸収を高めるために十分な量である。いくつかの実施形態において、組成物中のアルキルグリコシドの量は、ベンゾジアゼピン薬の吸収を高めるために選択され、同時に鼻粘膜を著しく刺激しない。いくつかの実施形態において、組成物中のアルキルグリコシドの量は、約０．０１％（Ｗ／Ｖ）から約１％（Ｗ／Ｖ）までの範囲内である。いくつかの実施形態において、組成物中のアルキルグリコシドの量は、約０．０５％（Ｗ／Ｖ）から約０．５％（Ｗ／Ｖ）まで、又は約０．１２５％（Ｗ／Ｖ）から約０．５％（Ｗ／Ｖ）までの範囲内である。

【０１４９】

用語「透過賦活剤」は、粘膜を介する吸収を増大し、及び／又はバイオアベイラビリティを増大するよう作用する任意の物質を意味する。いくつかの実施形態において、このような物質は、粘液溶解薬、分解性酵素インヒビター、及び粘膜細胞膜の透過性を増大する化合物を含む。所与の化合物が「賦活剤」であるかどうかは、関連のない小さい極性分子を薬として備える、賦活剤を有し、又は有さない２つの製剤を、インビボ又は有効なモデル試験において、比較することにより、及び、薬の摂取が臨床的にかなりの程度まで高められるかどうかを決定することにより、決定される。賦活剤は、慢性毒性の点で、いかなる問題をももたらしてはならない、なぜなら、インビボで、賦活剤は非刺激的であるべきであり、及び／又は、任意の有意な刺激効果を有することなく通常の細胞構成要素に急速に代謝されるべきであるためである。

【０１５０】

いくつかの実施形態において、好ましい賦活物質、リゾリン脂質、例えば、卵又は大豆レシチンから得られるリゾホスファチジルコリンがある。異なるアシル基を有する他のリゾホスファチジルコリンや、同様の膜修飾特性を有する、ホスファチジルエタノールアミン及びホスファチジン酸から産生されるリゾ化合物が用いられ得る。アシルカルニチン（例えばパルミトイル－ｄｌ－カルニチン－クロライド）が選択肢である。いくつかの実施形態において、適切な濃度は０．０２％から２０％Ｗ／Ｖである。

【０１５１】

いくつかの実施形態において、ふさわしい賦活剤は、キレート化剤（ＥＧＴＡ、ＥＤＴＡ、アルギン酸塩）、界面活性剤（特に非イオン性の物質）、アシルグリセロール、脂肪酸及び塩、チロキサポール及び生物学的洗浄剤を含み、これらはシグマカタログ（ＳＩＧＭＡ　Ｃａｔａｌｏｇ）１９８８、ページ３１６から３２１に載っている（これは参照することにより本明細書中に組み込まれる）。また、膜流動性及び透過性を修飾する剤が適切であり、それらは、エナミン（例えば、エチルアセトアセテートのフェニルアラニンエナミン）、マロネート（例えば、ジエチレンオキシメチレンマロネート）サリチル酸塩、胆汁酸塩、及びアナログ並びにフシジン酸塩（ｆｕｓｉｄａｔｅｓ）などである。適切な濃度は、２０％Ｗ／Ｖまでである。

【０１５２】

従って、いくつかの実施形態において、本発明は、患者の１以上の鼻粘膜への投与用の薬学的に許容可能な製剤中に、約３０％から約９５％（Ｗ／Ｗ）までの量の、ベンゾジアゼピン薬、１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、あるいはそれらの任意の組合せと、１以上のアルキルグリコシドと、約１０％から約７０％（Ｗ／Ｗ）までの量の、１以上のアルコール又はグリコール、もしくはそれらの任意の組合せとを備える、経鼻投与用の医薬組成物を提供する。いくつかの実施形態において、アルキルグリコシドはＩｎｔｒａｖａｉｌ（登録商標）ブランドのアルキルグリコシドである。いくつかの実施形態において、アルキルグリコシドは、ドデシルマルトシド、テトラデシルマルトシド、スクロースドデカノエイト、スクロースモノステアリン、スクロースジステアリン、及び／又は２以上のそれらの組合せである。いくつかの実施形態において、アルキルグリコシドは、ドデシルマルトシドである。いくつかの実施形態において、アルキルグリコシドは、テトラデシルマルトシドである。いくつかの実施形態において、アルキルグリコシドは、スクロースドデカノエイトである。いくつかの実施形態において、アルキルグリコシドは、スクロースモノステアリンである。いくつかの実施形態において、アルキルグリコシドは、スクロースジステアリンである。いくつかの実施形態において、アルキルグリコシドは、ドデシルマルトシド、テトラデシルマルトシド、スクロースドデカノエイト、スクロースモノステアリン、又はスクロースジステアリンの、２以上の組合せである。

【０１５３】

従って、いくつかの実施形態において、本発明は、患者の１以上の鼻粘膜への投与用の薬学的に許容可能な製剤中に、約３０％から約９５％（Ｗ／Ｗ）までの量の、ミクロ粒子、ナノ粒子又は両方を備えるベンゾジアゼピン薬、１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノール、あるいはそれらの任意の組合せと、１以上のアルキルグリコシドと、約１０％から約７０％（Ｗ／Ｗ）までの量の、１以上のアルコール又はグリコール、もしくはそれらの任意の組合せとを備える、経鼻投与用の医薬組成物を提供する。いくつかの実施形態において、アルキルグリコシドはＩｎｔｒａｖａｉｌ（登録商標）ブランドのアルキルグリコシドである。いくつかの実施形態において、アルキルグリコシドは、ドデシルマルトシド、テトラデシルマルトシド、スクロースドデカノエイト、スクロースモノステアリン、スクロースジステアリン、及び／又は２以上のそれらの組合せである。いくつかの実施形態において、アルキルグリコシドは、ドデシルマルトシドである。いくつかの実施形態において、アルキルグリコシドは、テトラデシルマルトシドである。いくつかの実施形態において、アルキルグリコシドは、スクロースドデカノエイトである。いくつかの実施形態において、アルキルグリコシドは、スクロースモノステ

アリンである。いくつかの実施形態において、アルキルグリコシドは、スクロースジステアリンである。いくつかの実施形態において、アルキルグリコシドは、ドデシルマルトシド、テトラデシルマルトシド、スクロースドデカノエイト、スクロースモノステアリン、又はスクロースジステアリンの、２以上の組合せである。

【０１５４】

粘膜調製物

粘膜調製物は、２５０μＬ未満の、好ましくは１５０μＬ未満の、及び理想的には２５から１００μＬまでの容量を有する、計量スプレーで一般的に投与される。本発明で禁じられるものではないが、投与量当たり約３００μＬより大きい容量の投与は通常、膜の吸収能力を超える。これにより、薬学的に活性な成分の大部分が失われることとなる。

【０１５５】

調製物、特に鼻用調製物の投薬量の容量は、好ましくは２５から１００μＬに及ぶ。前記の範囲を超える容量は、その過剰分が嚥下されると、洞を迂回し、喉の後ろを流れ落ち得る。

【０１５６】

アルプラゾラム

アルプラゾラムの投薬量は、指示により異なるが、治療量は投与量あたり約０．５から約４まで、好ましくは約１から約２ｍｇまでの範囲内で、１日あたり１から８、好ましくは２から８、いくつかの好ましい実施形態においては約４から約６回の範囲内であることが予期される。アルプラゾラムは、米国特許第３，９８７，０５２号に開示される工程を用いて製造され、これは全体として参照することにより本明細書中に組み込まれる。

【０１５７】

経鼻製剤として、アルプラゾラムは、２５から２５０μＬの計量スプレーで投与され得る。いくつかの好ましい実施形態において、アルプラゾラムは、５０から１５０μＬ、特に約１００μＬの計量スプレーで投与される。

【０１５８】

ジアゼパム

ジアゼパムの投薬量は、指示により異なり得るが、しかしながら、治療量は投与量あたり約１から約２０まで、好ましくは約２から約１０ｍｇまでの範囲内で、１日あたり１から８、好ましくは２から８、いくつかの好ましい実施形態においては約４から約６回の範囲内であることが予期される。ジアゼパムは、米国特許第３，３７１，０８５号、第３，１０９，８４３号、第３，１３６，８１５号、又は第３，１０２，１１６号の１つに開示される工程を用いて製造され、これらのそれぞれは全体として参照することにより本明細書中に組み込まれる。

【０１５９】

経鼻製剤として、ジアゼパムは、２５から２５０μＬの計量スプレーで投与され得る。いくつかの好ましい実施形態において、ジアゼパムは、５０から１５０μＬ、特に約１００μＬの計量スプレーで投与される。

【０１６０】

フルラゼパム

フルラゼパムの投薬量は、指示により異なるが、治療量は投与量あたり約５から約４０まで、好ましくは約２０から約３５ｍｇまでの範囲内で、１日あたり１から８、好ましくは２から８、いくつかの好ましい実施形態においては約４から約６回の範囲内であることが予期される。フルラゼパムは、米国特許第３，５６７，７１０号、又は第３，２９９，０５３号の１つに開示される工程を用いて製造され、これらのそれぞれは全体として参照することにより本明細書中に組み込まれる。

【０１６１】

経鼻製剤として、フルラゼパムは、２５から２５０μＬの計量スプレーで投与され得る。いくつかの好ましい実施形態において、フルラゼパムは、５０から１５０μＬ、特に約１００μＬの計量スプレーで投与される。

【０１６２】
ロラゼパム
ロラゼパムの投薬量は、指示により異なるが、治療量は投与量あたり約０．１から約１０まで、好ましくは約０．２から約１ｍｇまでの範囲内で、１日あたり１から８、好ましくは２から８、いくつかの好ましい実施形態においては約４から約６回の範囲内であることが予期される。ロラゼパムは、米国特許第３，２９６，２４９号に開示される工程を用いて製造され、これは全体として参照することにより本明細書中に組み込まれる。
【０１６３】
経鼻製剤として、ロラゼパムは、２５から２５０μＬの計量スプレーで投与され得る。いくつかの好ましい実施形態において、ロラゼパムは、５０から１５０μＬ、特に約１００μＬの計量スプレーで投与される。
【０１６４】
メダゼパム
メダゼパムの投薬量は、指示により異なるが、治療量は投与量あたり約０．１から約１０まで、好ましくは約０．２から約１ｍｇまでの範囲内で、１日あたり１から８、好ましくは２から８、いくつかの好ましい実施形態においては約４から約６回の範囲内であることが予期される。メダゼパムは、米国特許第３，２４３，４２７号に開示される工程を用いて製造され、これは全体として参照することにより本明細書中に組み込まれる。
【０１６５】
経鼻製剤として、メダゼパムは、２５から２５０μＬの計量スプレーで投与され得る。いくつかの好ましい実施形態において、メダゼパムは、５０から１５０μＬ、特に約１００μＬの計量スプレーで投与される。
【０１６６】
メキサゾラム
メキサゾラムの投薬量は、指示により異なるが、治療量は投与量あたり約０．１から約１０まで、好ましくは約０．２から約１ｍｇまでの範囲内で、１日あたり１から８、好ましくは２から８、いくつかの好ましい実施形態においては約４から約６回の範囲内であることが予期される。メキサゾラムは、米国特許第３，７２２，３７１号に開示される工程を用いて製造され得、これは全体として参照することにより本明細書中に組み込まれる。
【０１６７】
経鼻製剤として、メキサゾラムは、２５から２５０μＬの計量スプレーで投与され得る。いくつかの好ましい実施形態において、メキサゾラムは、５０から１５０μＬ、特に約１００μＬの計量スプレーで投与される。
【０１６８】
ミダゾラム
ミダゾラムの投薬量は、指示により異なるが、治療量は投与量あたり約０．１から約２０まで、好ましくは約０．２から約１０ｍｇまでの範囲内で、１日あたり１から８、好ましくは２から８、いくつかの好ましい実施形態においては約４から約６回の範囲内であることが予期される。ミダゾラムは、米国特許第４，２８０，９５７号、又は第５，８３１，０８９号の一つに開示される工程を用いて製造され、これらのそれぞれは全体として参照することにより本明細書中に組み込まれる。
【０１６９】
経鼻製剤として、ミダゾラムは、２５から２５０μＬの計量スプレーで投与され得る。いくつかの好ましい実施形態において、ミダサゾラムは、５０から１５０μＬ、特に約１００μＬの計量スプレーで投与される。
【０１７０】
テマゼパム
テマゼパムの投薬量は、指示により異なるが、治療量は投与量あたり約１から約５０まで、好ましくは約５から約３０ｍｇまでの範囲内で、１日あたり１から８、好ましくは２から８、いくつかの好ましい実施形態においては約４から約６回の範囲内であることが予

期される。テマゼパムは、米国特許第３，３４０，２５３号、又は第３，３７４，２２５号に開示される工程を用いて製造され、これらのそれぞれは全体として参照することにより本明細書中に組み込まれる。

【０１７１】

経鼻製剤として、テマゼパムは、２５から２５０μＬの計量スプレーで投与され得る。いくつかの好ましい実施形態において、テマゼパムは、５０から１５０μＬ、特に約１００μＬの計量スプレーで投与される。

【０１７２】

製剤

いくつかの実施形態は、患者の１以上の粘膜に、治療的に効果的な量の１以上のベンゾジアゼピン薬、又はそれらの薬学的に許容可能な塩を投与することを備える。組成物のいくつかの実施形態は、１以上のベンゾジアゼピン薬、又はそれらの薬学的に許容可能な塩を、約６００ｍｇ／ｍＬまでの濃度で備える組成物を開示する。他の組成物は、１以上のベンゾジアゼピン薬、又はそれらの薬学的に許容可能な塩を、約１０ｍｇ／ｍＬから約２５０ｍｇ／ｍＬまでの濃度で備える組成物を開示する。更に、いくつかの実施形態は、１以上のベンゾジアゼピン薬、又はそれらの薬学的に許容可能な塩を、約２０ｍｇ／ｍＬから約５０ｍｇ／ｍＬまでの濃度で備える組成物を開示する。

【０１７３】

いくつかの実施形態は、約５０％から約９０％（Ｗ／Ｗ）のビタミンＥと約１０％から約５０％（Ｗ／Ｗ）の低級アルコール又は低級アルキルグリコール、又はそれらの任意の組合せである担体系を開示する。いくつかの実施形態は、約６５％から約７５％（Ｗ／Ｗ）のビタミンＥと約２５％から約３５％（Ｗ／Ｗ）の低級アルキルアルコール又は低級アルキルグリコール、又はそれらの任意の組合せである担体系を開示する。更にいくつかの実施形態は、約７０％（Ｗ／Ｗ）のビタミンＥと約３０％（Ｗ／Ｗ）の低級アルキルアルコール又は低級アルキルグリコール、又はそれらの任意の組合せである担体系を開示する。

【０１７４】

本発明のいくつかの実施形態は、ベンゾジアゼピン薬組成物を患者に投与する方法を提供する。好ましい実施形態は、ジアゼパムの使用を備える。方法のいくつかの実施形態は、所望の結果が達成されるまで、約１．０ｍｇから約２０．０ｍｇのジアゼパムの投薬量レベルを開示する。他の投薬量レベルは、所望の結果が達成されるまで約２．０ｍｇから約１５．０ｍｇの投薬量レベルを開示する。いくつかの実施形態は、所望の結果が達成されるまで、約５．０ｍｇから約１０．０ｍｇの投薬量レベルを開示する。

【０１７５】

方法のいくつかの実施形態において、投薬量容量は、約１０μＬから約２００μＬまでに及ぶ。いくつかの実施形態において、投薬量容量は、約２０μＬから約１８０μＬまでに及ぶ。更にいくつかの実施形態は、約５０μＬから約１４０μＬの投薬量容量を開示する。

【０１７６】

製剤工程

いくつかの実施形態において、経鼻投与用の組成物は、ベンゾジアゼピンミクロ粒子、ナノ粒子、又はそれらの組合せを実質的に有さない。いくつかの実施形態において、組成物はビタミンＥを液化するまでゆっくり温める又は熱することにより作られる。次に、１以上のベンゾジアゼピン薬が加えられる。混合物は、１以上のベンゾジアゼピン薬が溶解する又は実質的に溶解されるまで、撹拌され、熱せられる。次に、１以上のアルコールまたはグリコール、もしくはそれらの任意の組合せが、組成物に加えられる。組成物は、粘性の低い組成物が得られるまで撹拌される。

【０１７７】

前述の製剤は、好ましくは無菌であり、ｍｌ当たりとして、許容レベルを１０下回る細菌数を有する。加えて、病原体は好ましくは存在しない。

【０１７８】
いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬は、ベンゾジアゼピンのミクロ粒子及び／又はナノ粒子懸濁液として処方される。ミクロ粒子及びナノ粒子ベンゾジアゼピンの調製は、製粉などの方法によって成し遂げられ得る。このような方法は、当該分野の当業者に知られている。
【０１７９】
いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬は溶液として処方される。製剤を調製する工程の間、ミクロ粒子及び／又はナノ粒子ベンゾジアゼピン薬を使用することにより、溶媒系におけるベンゾジアゼピン薬の全体的な溶解度を改善することができることが、本発明の１つの態様として考慮される。
【０１８０】
追加の活性及び不活性成分
更に、組成物、及び組成物を使用する方法のいくつかの実施形態は、活性成分から選択される組成物中の追加の成分を備える。制約のない例として、このような活性成分は、インスリン、カルシトニン（例えば、豚の、ヒトの、サケの、ニワトリの、又はウナギの）及びそれらの合成修飾物、エンケファリン、ＬＨＲＨ及びアナログ（ナファレリン、ブセレリン、ゾリデックス（Ｚｏｌｉｄｅｘ））、ＧＨＲＨ（成長ホルモン放出ホルモン）、ニフェジピン、ＴＨＦ（胸腺液性因子）、ＣＧＲＰ（カルシトニン遺伝子関連ペプチド）、心房性ナトリウム利尿ペプチド、抗生物質、メトクロプラミド、エルゴタミン、ピゾチジン（Ｐｉｚｏｔｉｚｉｎ）、経鼻ワクチン（特にＨＩＶワクチン、麻疹、ライノウイルス１３型及び呼吸器合胞体ウイルス）、ペンタミジン、ＣＣＫ（コレシストキニン）、ＤＤＶＡＰ、インターフェロン、成長ホルモン（ソラトトロピア（ｓｏｌａｔｏｔｒｏｐｉｒ）ポリペプチド又はそれらの誘導体（好ましくは１０００から３０００００までの分子量を有する）、セクレチン、ブラジキニンアンタゴニスト、ＧＲＦ（成長放出因子）、ＴＨＦ、ＴＲＨ（甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン）、ＡＣＴＨアナログ、ＩＧＦ（インスリン様成長因子）、ＣＧＲＰ（カルシトニン遺伝子関連ペプチド）心房性ナトリウム利尿ペプチド、バソプレシン及びアナログ（ＤＤＡＶＰ、リプレシン）、メトクロプラミド、偏頭痛処置（ジヒドロエルゴタミン、エルゴメトリン、エルゴタミン、ピゾチジン（Ｐｉｚｏｔｉｚｉｎ））、経鼻ワクチン（特にエイズワクチン）第ＶＩＩＩ因子、コロニー刺激因子、Ｇ－ＣＳＦ（顆粒球コロニー刺激因子）、ＥＰＯ（エリスロポエチン）ＰＴＨ（副甲状腺ホルモン）又はそれらの薬学的に許容可能な塩、又はそれらの組合せを含む。
【０１８１】
更に、組成物、及び組成物を使用する方法のいくつかの実施形態は、他の抗痙攣薬から選択される組成物中の追加の成分を備える。制約のない例として、このような活性成分は、パラアルデヒド；芳香族アリルアルコール（スチリペントールなど）；バルビツール酸塩（例えば、フェノバルビトール（ｐｈｅｎｏｂａｒｂｉｔｏｌ）、プリミドン、メチルフェノバルビタール、メタルビタール及びバルベキサクロン）；臭化物（臭化カリウムなど）；カルバミン酸塩（フェルバメートなど）；カルボキサミド（カルバマゼピン及びオクスカルバゼピン）；脂肪酸（バルプロ酸、バルプロ酸ナトリウム、及びジバルプロエクスナトリウム、ビガバトリン、プロガビド、チアガビン）；フルクトース、トピラマート、ギャバ（Ｇａｂａ）アナログ（例えば、ガバペンチン及びプレガバリン）；ヒダントイン（例えばエトトイン、フェニトイン、メフェニトイン及びホスフェニトイン）；オキサゾリジンジオン（パラメタジオン、トリメタジオン、エタジオン）；プロピオン酸塩（例えばベクラミド）、ピリミジンジオン（例えばプリミドン）；ピロリジン（例えばブリバラセタム、レベチラセタム及びセレトラセタム）；コハク酸イミド（例えばエトスクシミド、フェンスクシミド及びメスクシミド）；スルホンアミド（例えばアセタゾラミド、スルチアム、メタゾラミド及びゾニサミド）；トリアジン（ラモトリジンなど）；尿素（フェネツリド、フェナセミド）；バルプロイルアミド（ｖａｌｐｒｏｙｌａｍｉｄｅｓ）（バルプロミド及びバルノクタミド）；及び他の抗痙攣薬、又は薬学的に許容可能な塩又はそれらの組合せを含む。

【０１８２】
更に、組成物、及び組成物を使用する方法のいくつかの実施形態は、他の抗痙攣薬から選択される組成物中の追加の成分を備える。制約のない例として、このような活性成分は、テトラサイクリン塩酸塩、ロイコマイシン、ペニシリン、ペニシリン誘導体、エリスロマイシン、ゲンタマイシン、スルファチアゾール及びニトロフラゾンなどの抗生物質及び抗菌剤；ベンゾカインなどの局所麻酔剤；フェニレフリン塩酸塩、塩酸テトラヒドロゾリン、硝酸ナファゾリン、塩酸オキシメタゾリン及びトラマゾリン塩酸塩などの血管収縮剤；ジギタリス及びジゴキシンなどの強心剤；ニトログリセリン及びパパベリン塩酸塩などの血管拡張剤；塩酸クロルヘキシジン、ヘキシルレゾルシノール、塩化デカリニウム及びエタクリジンなどの消毒剤；塩化リゾチーム、デキストラナーゼなどの酵素；ビタミンＤ、活性ビタミンＤ及びビタミンＣなどの骨代謝調節剤；性ホルモン；降圧剤；鎮静剤；抗腫瘍薬；ヒドロコルチゾン、プレドニゾン、フルチカゾン、プレドニゾロン、トリアムシノロン、トリアムシノロンアセトニド、デキサメタゾン、ベタメタゾン、ベクロメタゾン、及びジプロピオン酸ベクロメタゾンなどのステロイド性抗炎症剤；アセトアミノフェン、アスピリン、アミノピリン、フェニルブタゾン、メダナミック（ｍｅｄａｎａｍｉｃ）酸、イブプロフェン、ジクロフェナクナトリウム、インドメタシン（ｉｎｄｏｍｅｔｈａｃｉｎｅ）、コルヒチン、及びプロベノシド（ｐｒｏｂｅｎｏｃｉｄ）などの非ステロイド性抗炎症剤；キモトリプシン及びブロメラインセラチオペプチダーゼ（ｂｒｏｍｅｌａｉｎ ｓｅｒａｔｉｏｐｅｐｔｉｄａｓｅ）などの酵素的な抗炎症剤；塩酸ジフェンヒドラミン、クロロフェニラミンマレイン酸塩（ｃｈｌｏｒｏｐｈｅｎｉｒａｍｉｎｅ ｍａｌｅａｔｅ）及びクレマスチンなどの抗ヒスタミン剤；クロモグリク酸ナトリウム、コデインリン酸塩、及び塩酸イソプロテレノールなどの抗アレルギー剤及び鎮咳－去痰、抗ぜんそく薬、又はそれらの薬学的に許容可能な塩又はそれらの組合せを含む。
【０１８３】
更に、組成物、及び組成物を使用する方法のいくつかの実施形態は、組成物中の追加の不活性成分を備える。制約のない例として、安定剤、着色剤、ｐＨ調整剤、緩衝剤、分解を防ぎ得る薬剤などの保存剤、湿潤剤、及び香味剤などの少量の成分もまた存在し得る。着色剤の例には、β－カロチン、赤色２号及び青色１号が含まれる。保存剤の例にはステアリン酸、ステアリン酸アスコルビル及びアスコルビン酸が含まれる。矯味薬の例には、メントール及び柑橘類香料が含まれる。
【０１８４】
いくつかの実施形態において、本発明の薬送達システムは、好都合に吸収賦活剤を備える。用語「賦活剤」は、粘膜を介する吸収を増大し、及び／又は、バイオアベイラビリティを増大させるよう作用する任意の物質を意味する。いくつかの実施形態において、このような物質は、粘液溶解薬、分解性酵素インヒビター、及び粘膜細胞膜の透過性を増大する化合物を含む。所与の化合物が「賦活剤」であるかどうかは、関連のない小さい極性分子を薬として備える、賦活剤を有し、又は有さない２つの製剤を、インビボ又は有効なモデル試験において、比較することにより決定され、薬の摂取が臨床的にかなりの程度まで高められるかどうかを決定することにより決定される。賦活剤は、慢性毒性の点で、いかなる問題をももたらしてはならない、なぜなら、インビボで、賦活剤は非刺激的であるべきであり、及び／又は、任意の有意の刺激効果を有さない正常な細胞構成要素に急速に代謝されるべきである。
【０１８５】
いくつかの実施形態において、好ましい賦活物質、リゾリン脂質、例えば、卵又は大豆レシチンから得られるリゾホスファチジルコリンがある。異なるアシル基を有する他のリゾホスファチジルコリンや、ホスファチジルエタノールアミン及びホスファチジン酸から産生され、同様の膜修飾特性を有するリゾ化合物が用いられ得る。アシルカルニチン（例えばパルミトイル－ｄｌ－カルニチン－クロライド）が選択肢である。いくつかの実施形態において、適切な濃度は０．０２％から２０％Ｗ／Ｖである。
【０１８６】

いくつかの実施形態において、ふさわしい賦活剤は、キレート化剤（ＥＧＴＡ、ＥＤＴＡ、アルギン酸塩）、界面活性剤（特に非イオン性の物質）、アシルグリセロール、脂肪酸及び塩、チロキサポール及び生物学的洗浄剤を含み、これらはシグマカタログ（ＳＩＧＭＡ　Ｃａｔａｌｏｇ）１９８８、ページ３１６から３２１に載っている（これは参照することにより本明細書中に組み込まれる）。また、膜流動性及び透過性を修飾する剤が適切であり、それらは、エナミン（例えば、エチルアセトアセテートのフェニルアラニンエナミン）、マロネート（例えば、ジエチレンオキシメチレンマロネート）、サリチル酸塩、胆汁酸塩、及びアナログ並びにフシジン酸塩（ｆｕｓｉｄａｔｅｓ）などである。適切な濃度は、２０％Ｗ／Ｖまでである。

【０１８７】

いくつかの実施形態において、本発明は、追加の薬学的アジュバントを備える生体接着ミクロスフェア中に又は生体接着ミクロスフェア上に組み込まれる薬の送達を利用し、活性薬及び粘液溶解薬、ペプチダーゼインヒビター又は非薬物ポリペプチド基質を単独で又は組合せで含有するシステムに適用する。適宜、粘液溶解薬は、Ｎ－アセチルシステイン、及びその誘導体などのチオール含有化合物である。ペプチドインヒビタには、アクチノニン、アマスタチン、ベスタチン、クロロアセチル－ＨＯＬｅｕ－Ａｌａ－Ｇｌｙ－ＮＨ．ｓｕｂ．２、ジプロチンＡ及びＢ、エベラクトンＡ及びＢ、Ｅ－６４、ロイペプチン、ペプスタチンＡ、ホスホラミドン、Ｈ－Ｔｈｒ－（ｔＢｕ）－Ｐｈｅ－Ｐｒｏ－ＯＨ、アプロチニン、カリクレイン、キモスタチン、ベンズアミジン、キモトリプシン及びトリプシンが含まれる。適切な濃度は、０．０１％から１０％Ｗ／Ｖである。当該分野の当業者は、賦活剤が含まれるべきかどうかを容易に決定することができる。

【０１８８】

投与

いくつかの実施形態において、組成物の投与は、治療的に効果的な量の組成物の少なくとも一部を、少なくとも１つの粘膜上に投与することを備える。いくつかの実施形態において、組成物の投与は、治療的に効果的な量の組成物の少なくとも一部を、少なくとも１つの鼻孔中に噴霧することを備える。いくつかの実施形態において、組成物の投与は、治療的に効果的な量の組成物の少なくとも一部を、それぞれの鼻孔中に噴霧することを備える。いくつかの実施形態において、組成物の投与は、組成物の第１の量を第１の鼻孔中に噴霧すること、組成物の第２の量を第２の鼻孔中に噴霧すること、及び任意に事前に選択した時間遅延の後、組成物の第３の量を第１の鼻孔中に噴霧することを備える。いくつかの実施形態は、任意に事前に選択した時間遅延の後、少なくとも組成物の第４の量を第２の鼻孔中に投与することを更に備える。

【０１８９】

アルプラゾラム

アルプラゾラムの投薬量は、指示により異なるが、治療量は投与量あたり約０．５から約４まで、好ましくは約１から約２ｍｇまでの範囲内で、１日あたり１から８、好ましくは２から８、いくつかの好ましい実施形態においては約４から約６回の範囲内であることが予期される。アルプラゾラムは、米国特許第３，９８７，０５２号に開示される工程を用いて製造され、これは全体として参照することにより本明細書中に組み込まれる。

【０１９０】

経鼻製剤として、アルプラゾラムは、２５から２５０μＬの計量スプレーで投与され得る。いくつかの好ましい実施形態において、アルプラゾラムは、５０から１５０μＬ、特に約１００μＬの計量スプレーで投与される。いくつかの実施形態において、第１の計量スプレーは第１の鼻孔に適用され、必要であれば第２の計量スプレーが第２の鼻孔に適用される。いくつかの任意の実施形態において、第３の計量スプレーが第１の鼻孔に適用される。いくつかの実施形態において、第４の計量スプレーが第２の鼻孔に適用される。いくつかの実施形態において、患者に全ての標的治療量が投与されるまで、追加の計量スプレーが、交互の鼻孔に適用される。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬の同じ鼻孔への適用の間に、数秒から５分間、好ましくは約１０秒から約１分間の時間の増

加分がある。これにより、薬が鼻粘膜を通過し、血流中に入る時間が与えられる。任意に時間間隔で区切る、それぞれの鼻孔への計量スプレーの多数回適用は、ベンゾジアゼピン薬を血流中に全て吸収することを可能にするために十分少しずつ、全治療量を投与することを可能とし、喉の奥の下への薬の損失を避けることができる。

【０１９１】

ジアゼパム

ジアゼパムの投薬量は、指示により異なり得るが、しかしながら、治療量は投与量あたり約１から約２０まで、好ましくは約２から約１０ｍｇまでの範囲内で、１日あたり１から８、好ましくは２から８、いくつかの好ましい実施形態においては約４から約６回の範囲内であることが予期される。ジアゼパムは、米国特許第３，３７１，０８５号、第３，１０９，８４３号、第３，１３６，８１５号、又は第３，１０２，１１６号の１つに開示される工程を用いて製造され、これらのそれぞれは全体として参照することにより本明細書中に組み込まれる。

【０１９２】

経鼻製剤として、ジアゼパムは、２５から２５０μＬの計量スプレーで投与され得る。いくつかの好ましい実施形態において、ジアゼパムは、５０から１５０μＬ、特に約１００μＬの計量スプレーで投与される。いくつかの実施形態において、第１の計量スプレーは第１の鼻孔に適用され、必要であれば第２の計量スプレーが第２の鼻孔に適用される。いくつかの任意の実施形態において、第３の計量スプレーが第１の鼻孔に適用される。いくつかの実施形態において、第４の計量スプレーが第２の鼻孔に適用される。いくつかの実施形態において、患者に全ての標的治療量が投与されるまで、追加の計量スプレーが、交互の鼻孔に適用される。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬の同じ鼻孔への適用の間に、数秒から５分間、好ましくは約１０秒から約１分間の時間の増加分がある。これにより、薬が鼻粘膜を通過し、血流中に入る時間が与えられる。任意に時間間隔で区切り、それぞれの鼻孔への計量スプレーの多数回適用は、ベンゾジアゼピン薬を血流中に全て吸収することを可能にするために十分少しずつ、全治療量を投与することを可能とし、喉の奥の下への薬の損失を避けることができる。

【０１９３】

フルラゼパム

フルラゼパムの投薬量は、指示により異なるが、治療量は投与量あたり約５から約４０まで、好ましくは約２０から約３５ｍｇまでの範囲内で、１日あたり１から８、好ましくは２から８、いくつかの好ましい実施形態においては約４から約６回の範囲内であることが予期される。フルラゼパムは、米国特許第３，５６７，７１０号、又は第３，２９９，０５３号の１つに開示される工程を用いて製造され、これらのそれぞれは全体として参照することにより本明細書中に組み込まれる。

【０１９４】

経鼻製剤として、フルラゼパムは、２５から２５０μＬの計量スプレーで投与され得る。いくつかの好ましい実施形態において、フルラゼパムは、５０から１５０μＬ、特に約１００μＬの計量スプレーで投与される。いくつかの実施形態において、第１の計量スプレーは第１の鼻孔に適用され、必要であれば第２の計量スプレーが第２の鼻孔に適用される。いくつかの任意の実施形態において、第３の計量スプレーが第１の鼻孔に適用される。いくつかの実施形態において、第４の計量スプレーが第２の鼻孔に適用される。いくつかの実施形態において、患者に全ての標的治療量が投与されるまで、追加の計量スプレーが、交互の鼻孔に適用される。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬の同じ鼻孔への適用の間に、数秒から５分間、好ましくは約１０秒から約１分間の時間の増加分がある。これにより、薬が鼻粘膜を通過し、血流中に入る時間が与えられる。任意に時間間隔で区切る、それぞれの鼻孔への計量スプレーの多数回適用は、ベンゾジアゼピン薬を血流中に全て吸収することを可能にするために十分少しずつ、全治療量を投与することを可能とし、喉の奥の下への薬の損失を避けることができる。

【０１９５】

ロラゼパム

ロラゼパムの投薬量は、指示により異なるが、治療量は投与量あたり約０．１から約１０まで、好ましくは約０．２から約１ｍｇまでの範囲内で、１日あたり１から８、好ましくは２から８、いくつかの好ましい実施形態においては約４から約６回の範囲内であることが予期される。ロラゼパムは、米国特許第３，２９６，２４９号に開示される工程を用いて製造され、これは全体として参照することにより本明細書中に組み込まれる。

【０１９６】

経鼻製剤として、ロラゼパムは、２５から２５０μＬの計量スプレーで投与され得る。いくつかの好ましい実施形態において、ロラゼパムは、５０から１５０μＬ、特に約１００μＬの計量スプレーで投与される。いくつかの実施形態において、第１の計量スプレーは第１の鼻孔に適用され、必要であれば第２の計量スプレーが第２の鼻孔に適用される。いくつかの任意の実施形態において、第３の計量スプレーが第１の鼻孔に適用される。いくつかの実施形態において、第４の計量スプレーが第２の鼻孔に適用される。いくつかの実施形態において、患者に全ての標的治療量が投与されるまで、追加の計量スプレーが、交互の鼻孔に適用される。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬の同じ鼻孔への適用の間に、数秒から５分間、好ましくは約１０秒から約１分間の時間の増加分がある。これにより、薬が鼻粘膜を通過し、血流中に入る時間が与えられる。任意に時間間隔で区切る、それぞれの鼻孔への計量スプレーの多数回適用は、ベンゾジアゼピン薬を血流中に全て吸収することを可能にするために十分少しずつ、全治療量を投与することを可能とし、喉の奥の下への薬の損失を避けることができる。

【０１９７】

メダゼパム

メダゼパムの投薬量は、指示により異なるが、治療量は投与量あたり約０．１から約１０まで、好ましくは約０．２から約１ｍｇまでの範囲内で、１日あたり１から８、好ましくは２から８、いくつかの好ましい実施形態においては約４から約６回の範囲内であることが予期される。メダゼパムは、米国特許第３，２４３，４２７号に開示される工程を用いて製造され、これは全体として参照することにより本明細書中に組み込まれる。

【０１９８】

経鼻製剤として、メダゼパムは、２５から２５０μＬの計量スプレーで投与され得る。いくつかの好ましい実施形態において、メダゼパムは、５０から１５０μＬ、特に約１００μＬの計量スプレーで投与される。いくつかの実施形態において、第１の計量スプレーは第１の鼻孔に適用され、必要であれば第２の計量スプレーが第２の鼻孔に適用される。いくつかの任意の実施形態において、第３の計量スプレーが第１の鼻孔に適用される。いくつかの実施形態において、第４の計量スプレーが第２の鼻孔に適用される。いくつかの実施形態において、患者に全ての標的治療量が投与されるまで、追加の計量スプレーが、交互の鼻孔に適用される。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬の同じ鼻孔への適用の間に、数秒から５分間、好ましくは約１０秒から約１分間の時間の増加分がある。これにより、薬が鼻粘膜を通過し、血流中に入る時間が与えられる。任意に時間間隔で区切る、それぞれの鼻孔への計量スプレーの多数回適用は、ベンゾジアゼピン薬を血流中に全て吸収することを可能にするために十分少しずつ、全治療量を投与することを可能とし、喉の奥の下への薬の損失を避けることができる。

【０１９９】

メキサゾラム

メキサゾラムの投薬量は、指示により異なるが、治療量は投与量あたり約０．１から約１０まで、好ましくは約０．２から約１ｍｇまでの範囲内で、１日あたり１から８、好ましくは２から８、いくつかの好ましい実施形態においては約４から約６回の範囲内であることが予期される。メキサゾラムは、米国特許第３，７２２，３７１号に開示される工程を用いて製造され、これは全体として参照することにより本明細書中に組み込まれる。

【０２００】

経鼻製剤として、メキサゾラムは、２５から２５０μＬの計量スプレーで投与され得る

。いくつかの好ましい実施形態において、メキサゾラムは、５０から１５０μＬ、特に約１００μＬの計量スプレーで投与される。いくつかの実施形態において、第１の計量スプレーは第１の鼻孔に適用され、必要であれば第２の計量スプレーが第２の鼻孔に適用される。いくつかの任意の実施形態において、第３の計量スプレーが第１の鼻孔に適用される。いくつかの実施形態において、第４の計量スプレーが第２の鼻孔に適用される。いくつかの実施形態において、患者に全ての標的治療量が投与されるまで、追加の計量スプレーが、交互の鼻孔に適用される。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬の同じ鼻孔への適用の間に、数秒から５分間、好ましくは約１０秒から約１分間の時間の増加分がある。これにより、薬が鼻粘膜を通過し、血流中に入る時間が与えられる。任意に時間間隔で区切る、それぞれの鼻孔への計量スプレーの多数回適用は、ベンゾジアゼピン薬を血流中に全て吸収することを可能にするために十分少しずつ、全治療量を投与することを可能とし、喉の奥の下への薬の損失を避けることができる。

【０２０１】

ミダゾラム

ミダゾラムの投薬量は、指示により異なるが、治療量は投与量あたり約０．１から約２０まで、好ましくは約０．２から約１０ｍｇまでの範囲内で、１日あたり１から８、好ましくは２から８、いくつかの好ましい実施形態においては約４から約６回の範囲内であることが予期される。ミダゾラムは、米国特許第４，２８０，９５７号、又は第５，８３１，０８９号の一つに開示される工程を用いて製造され、これらのそれぞれは全体として参照することにより本明細書中に組み込まれる。

【０２０２】

経鼻製剤として、ミダゾラムは、２５から２５０μＬの計量スプレーで投与され得る。いくつかの好ましい実施形態において、ミダゾラムは、５０から１５０μＬ、特に約１００μＬの計量スプレーで投与される。いくつかの実施形態において、第１の計量スプレーは第１の鼻孔に適用され、必要であれば第２の計量スプレーが第２の鼻孔に適用される。いくつかの任意の実施形態において、第３の計量スプレーが第１の鼻孔に適用される。いくつかの実施形態において、第４の計量スプレーが第２の鼻孔に適用される。いくつかの実施形態において、患者に全ての標的治療量が投与されるまで、追加の計量スプレーが、交互の鼻孔に適用される。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬の同じ鼻孔への適用の間に、数秒から５分間、好ましくは約１０秒から約１分間の時間の増加分がある。これにより、薬が鼻粘膜を通過し、血流中に入る時間が与えられる。任意に時間間隔で区切る、それぞれの鼻孔への計量スプレーの多数回適用は、ベンゾジアゼピン薬を血流中に全て吸収することを可能にするために十分少しずつ、全治療量を投与することを可能とし、喉の奥の下への薬の損失を避けることができる。

【０２０３】

テマゼパム

テマゼパムの投薬量は、指示により異なるが、治療量は投与量あたり約１から約５０まで、好ましくは約５から約３０ｍｇまでの範囲内で、１日あたり１から８、好ましくは２から８、いくつかの好ましい実施形態においては約４から約６回の範囲内であることが予期される。テマゼパムは、米国特許第３，３４０，２５３号、又は第３，３７４，２２５号に開示される工程を用いて製造され、これらのそれぞれは全体として参照することにより本明細書中に組み込まれる。

【０２０４】

経鼻製剤として、テマゼパムは、２５から２５０μＬの計量スプレーで投与され得る。いくつかの好ましい実施形態において、テマゼパムは、５０から１５０μＬ、特に約１００μＬの計量スプレーで投与される。いくつかの実施形態において、第１の計量スプレーは第１の鼻孔に適用され、必要であれば第２の計量スプレーが第２の鼻孔に適用される。いくつかの任意の実施形態において、第３の計量スプレーが第１の鼻孔に適用される。いくつかの実施形態において、第４の計量スプレーが第２の鼻孔に適用される。いくつかの実施形態において、患者に全ての標的治療量が投与されるまで、追加の計量スプレーが、

交互の鼻孔に適用される。いくつかの実施形態において、ベンゾジアゼピン薬の同じ鼻孔への適用の間に、数秒から５分間、好ましくは約１０秒から約１分間の時間の増加分がある。これにより、薬が鼻粘膜を通過し、血流中に入る時間が与えられる。任意に時間間隔で区切る、それぞれの鼻孔への計量スプレーの多数回適用は、ベンゾジアゼピン薬を血流中に全て吸収することを可能にするために十分少しずつ、全治療量を投与することを可能とし、喉の奥の下への薬の損失を避けることができる。

【０２０５】

当該分野の当業者は、前述の疾患を処置するためのベンゾジアゼピン薬の、体系的な治療的に効果的な量は、疾病の重症度だけでなく、患者の年齢、大きさ、体重、及び一般的な健康状態によって異なるということを承知している。投与の頻度も同様に、組成物の製剤によって異なり、１日当たり任意の数の投与量が用いられるよう調整されることができる。

【０２０６】

実施例

本発明はこれより、以下の例示的な、非限定の実施例を参照して示される。

【０２０７】

実施例１

ジアゼパムを備える医薬組成物が調製される。それは経鼻送達装置を介して送達されるための溶液として処方される。組成物は、成人のてんかんと関連する発作を処置又は予防するために用いられる。処置は、発作が始まった前又は後のいずれかで実施される。患者が発病している場合、それは、任意の経鼻送達装置からの１パフ（５．０ｍｇ／パフ（５．０ｍｇ／０．１ｍＬ、及び、０．１ｍＬ／パフ）で１パフ）として、５分毎に、発作の停止まで投与される。しかしながら、それは、それぞれの鼻孔中に鼻孔当たり１パフ（２．５ｍｇ／パフ（５．０ｍｇ／０．１ｍＬ、及び、０．０５ｍＬ／パフ）で２パフ）として、５分毎に、発作の停止まで与えられ得る。この実施例による組成物は、以下の表に示される。

【０２０８】

【表１】

表 1-1

5.0 mg/0.1mL	ジアゼパム
70.0 mg	α-トコフェロール
0.1 mL	エタノール（適量0.1mLまで）

【０２０９】

実施例２

ジアゼパムを備える医薬組成物が調製される。それは、経鼻送達装置を介して送達されるための溶液として処方される。組成物は、小児のてんかんと関連する発作を処置又は予防するために用いられる。処置は発作が始まった前又は後のいずれかで実施される。患者が発病している場合、それは、経鼻送達装置からの１パフ（２．０ｍｇ／パフ（２．０ｍｇ／０．１ｍＬ、及び、０．１ｍＬ／パフ）で１パフ）として投与される。発作が中止しない場合、５分後もう１投与量が投与され得る。しかしながら、それは、それぞれの鼻孔中に鼻孔当たり１パフ（１．０ｍｇ／パフ（２．０ｍｇ／０．１ｍＬ、及び、０．０５ｍＬ／パフ）で２パフ）として与えられることができる。発作が中止しない場合、５分後もう１投与量が投与され得る。この例による組成物は以下の表に示される。

【０２１０】

【表２】

表 2-1

2.0 mg/0.1mL	ジアゼパム
70.0 mg	α-トコフェロール
0.1 mL	エタノール (適量0.1mLまで)

【０２１１】
実施例３－ジアゼパム溶液の製剤
一般的に、ベンゾジアゼピン溶液は、１以上の天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノールと１以上の低級アルコール又はグリコールを混合して、均一混合物が形成されるまで混ぜ合わせ、その均一混合物にベンゾジアゼピン薬を加え、ベンゾジアゼピン薬が均一混合物中に完全に溶解するまで成分を熱し及び混ぜ合わせ、混合物を冷却し、混合物を低級アルコール又はグリコールで、最終質量又は容量へともたらすことにより処方され得る。
【０２１２】
前述の工程により、２つの異なるジアゼパム溶液が処方された。ビタミンＥ　ＵＳＰ及び無水エタノール　ＵＳＰが以下の表に示される量で加えられ、混ぜ合わされることにより均一混合物を形成した。以下の表に示される量のジアゼパムがその後、均一混合物に加えられた。成分は、ジアゼパムが完全に溶解するまで、４０から４５℃に混ぜ合わせながら熱せられ、その結果溶液を形成した。溶液は２０から２５℃に冷却され、その結果溶液は無水エタノール　ＵＳＰを用いて最終標的重量となり、溶液は均一性を確実にするため完全に混ぜ合わされた。溶液はその後製造工程の試験用にサンプル抽出され、３ｍＬの琥珀色のガラスバイアルに入れられた。
【０２１３】
【表３】

表3-1: ジアゼパム溶液－70 mg/mL

構成要素	溶液 00 (65% ビタミン E) 濃度 (mg/mL)	溶液 02 (80% ビタミン E) 濃度 (mg/mL)
ジアゼパム USP	70.0	70.0
ビタミン E USP	650.0	800.0
無水エタノール USP	適量1mLまで	適量1mLまで

【０２１４】
ジアゼパムの量と、ビタミンＥ及びエタノールの相対量を変えることにより、追加の様々な濃度のジアゼパム溶液が同様の方法で作られる。他のベンゾジアゼピン溶液は、ジアゼパムの代わりに１以上のベンゾジアゼピンを使うことにより作られる。アルキルグリコシドなどの他の成分が、工程の適切な段階で（例えば、ベンゾジアゼピンの添加の前又は添加と同時に）加えられ得る。
【０２１５】
実施例４－ジアゼパム懸濁液の製剤
一般的に、ベンゾジアゼピン懸濁液は、ベンゾジアゼピンを微粒子化し、ベンゾジアゼピンを担体と混合することにより処方される。担体は、１以上の低級アルコール又はグリ

コールを水と混合し、天然又は合成トコフェロールもしくは天然又は合成トコトリエノールを加え、トコフェロール又はトコトリエノールが溶解するまで混合物を熱し、１以上のパラベンを加えてパラベンが溶解するまで混ぜ合わせ担体を冷却することにより、調製される。ベンゾジアゼピンが担体に加えられるとすぐに、界面活性剤などの追加の賦形剤が任意に加えられ、担体中に溶解されることができる。懸濁液はその後、水を用いて最終質量又は容量へともたらされる。

【０２１６】

２つの異なるベンゾジアゼピン懸濁液が、前述の一般的な工程により処方された。２つの異なるジアゼパムの粒径が調製され、それらは、Ａ：高圧微粒子化により調製される小さい粒径、及びＢ：低圧微粒子化により調製される大きい粒径である。担体は、プロピレングリコールＵＳＰと、精製水ＵＳＰとを混合し、その後ビタミンＥポリエチレングリコールスクシネートＮＦを加え、その後混合された成分を約４５℃に混ぜ合わせ及び熱することにより調製された。混ぜ合わせることはビタミンＥポリエチレングリコールスクシネートが完全に溶解するまで続けられた。担体はその後、２０から２５℃に冷却された。微粒子化されたジアゼパム（Ａ及びＢ）はその後担体に加えられ、ジアゼパムが完全に担体中に分散するまで強く混ぜ合わされた。ポリビニルピロリドンポビドンＵＳＰ／ＮＦがその後混合物に加えられ、完全に溶解するまで混ぜ合わされた。懸濁液はその後、精製水ＵＳＰを用いて重量へともたらされた。懸濁液はその後、均一になるまで混ぜ合わされ、製造工程の試験用にサンプル抽出され、３ｍＬの琥珀色のガラスバイアルに入れられた。

【０２１７】

【表４】

表4-1: ジアゼパム懸濁液製剤

構成要素	懸濁液 03 (200 mg/mL ジアゼパム) 濃度 (mg/mL)	懸濁液 01 (100 mg/mL ジアゼパム) 濃度 (mg/mL)
ジアゼパム USP	200.00	100.00
ビタミンEポリエチレングリコールスクシネート NF	100.0	100.0
メチルパラベン NF	2.0	2.0
プロピルパラベン NF	0.5	0.5
プロピレングリコール USP	100.0	100.0
ポビドン USP/NF	25.0	25.0
精製水 USP/EP	適量1mLまで	適量1mLまで

【０２１８】

ジアゼパム及び任意に他の賦形剤の量を変えることにより、追加の様々な濃度のジアゼパムの懸濁液が、同様の方法で作られる。他のベンゾジアゼピン懸濁液は、ジアゼパムの代わりに１以上のベンゾジアゼピンを使うことにより作られる。アルキルグリコシドなどの他の成分が、工程の適切な段階で加えられることができる。例えば、アルキルグリコシドは、担体の配合中に担体に加えられ得、又はポビドンの添加と同時、或いは添加後に懸濁液混合物に加えられ得る。

【０２１９】

実施例５－ジアゼパム溶液及び懸濁液の安定性

溶液００及び０２（実施例３）及び懸濁液０１及び０３（実施例４）が、２５℃／６０ＲＨ、３０℃／６５％ＲＨ、及び４０℃／７５％ＲＨで安定した状態で提示された。４つの異なる製剤のそれぞれ１回分が、３ｍｌのねじ蓋式の蓋を有するバイアルに入れられ、対応するアクチュエーターとともに、３つの保存条件で提示された。それらは、それらの

対応するＰａｒｔｉｃｌｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅの初期サンプル管理番号とともに、表１に列挙される。

【０２２０】

【表５】

表5-1： PSIサンプル管理番号の概要

製剤 #	25°C/60% RH	30°C/65% RH	40°C/75% RH
溶液 00－70 mg/ml 溶液 , 65% ビタミン E	083101.01	083101.02	083101.02
溶液 02－70 mg/ml 溶液 , 80% ビタミン E	083102.01	083102.02	083102.03
懸濁液 01－100 mg/ml 懸濁液	083103.01	083103.02	083103.03
懸濁液 03－200 mg/ml 懸濁液	083104.01	083104.02	083104.03

【０２２１】

サンプルは、スプレー内容物の均一性、スプレー容量、ジアゼパム含有量、ジアゼパム関連物質、及びメチルパラベン並びにプロピルパラベンアッセイ（懸濁液サンプルのみ）を試験された。単位重量はＵＳＰ＜７５５＞毎として決定された。

【０２２２】

平均アッセイ値の概要及び他の全ての結果は、表５－４、５－５、５－６、及び５－７に与えられる。開始時点、１カ月及び３カ月時点での結果もまた、比較のために示される。個別のスプレー内容物の均一性の結果は、表５－８、５－９、５－１０、５－１１、５－１２、５－１３、５－１４、及び５－１５に与えられる。

【０２２３】

一般的に、アッセイの全て及び他の結果は、ジアゼパム関連化合物Ａ及びＢを除いて、初期データと同様である。

【０２２４】

関連化合物Ａは、いくつかのサンプルについて、多くて（ＮＭＴ）０．０１％という仕様を満たさなかった（表２を参照）。関連化合物Ａは、時間及び温度とともに増大した。

【０２２５】

【表６】

表5-2: 関連化合物A T6M結果の概要

溶液/懸濁液 #	25°C/60% RH	30°C/65% RH	40°C/75% RH
溶液 00	仕様を満たす	0.058%	0.051%
溶液 02	仕様を満たす	仕様を満たす	仕様を満たす
懸濁液 01	0.038%	0.046%	0.157%
懸濁液 03	0.019%	0.029%	0.081%

【０２２６】

関連化合物Ｂもまた、時間及び温度とともに増大しており、現状では懸濁液及び１つの溶液製剤の両方について、４０℃でＮＭＴ０．１％の仕様に満たない。製剤２６０２のみが、全ての不純物の仕様を満たす。

【０２２７】
【表７】

表5-3: 関連化合物B T6M結果の概要

溶液/懸濁液 #	25°C/60% RH	30°C/65% RH	40°C/75% RH
溶液 00	仕様を満たす	仕様を満たす	0.398%
溶液 02	仕様を満たす	仕様を満たす	仕様を満たす
懸濁液 01	仕様を満たす	仕様を満たす	0.289%
懸濁液 03	仕様を満たす	仕様を満たす	0.123%

【０２２８】

【表８】

表５－４：溶液００結果の概要

溶液 例、70mg/mL、65% ビタミンE	仕様		開始	1ヶ月 25°C/60 %RH	1ヶ月 30°C/65 %RH	1ヶ月 40°C/75 %RH	3カ月 25°C/60 %RH	3カ月 30°C/65 %RH	3カ月 40°C/75 %RH	6ヶ月 25°C/60 %RH	6ヶ月 30°C/65 %RH	6ヶ月 40°C/75 %RH
記載	黄色からオレンジの溶液		琥珀色溶液	琥珀色溶液	琥珀色溶液	琥珀色溶液	琥珀色溶液	琥珀色溶液	琥珀色溶液	琥珀色溶液	琥珀色溶液	琥珀色溶液
同定－UV	UV及びRT標準品に従う		パス	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
アッセイ シアゼパム（%）	90.0から110.0%		100.1	100.3	93.9	98.8	96.3	96.9	101.2	97.5	94.6	100.6
不純物（%）（1）												
ノルダゼパム	NMT 0.3%		0.005	0.01	0.014	0.019	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013
関連化合物B	NMT 0.1%		ND	0.002	0.007	0.03	0.008	0.016	0.089	0.024	0.098	0.398
関連化合物A	NMT 0.01%		0.002	0.002	0.004	0.011	0.002	0.002	0.01	0.005	0.058	0.051
未知	NMT 0.1%		0.011	0.012	0.014	0.03	0.037	0.039	0.047	0.035	0.066	0.055
総計	NMT 1.0%		0.0	0.0	0.0	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.2	0.5
微生物限定	USPを満たす（61）		パス	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	パス	試験せず	試験せず
全重量（g）	報告結果		1.108	1.103	1.111	1.112	1.109	1.109	1.113	1.103	1.111	1.109
全容量（ml）	報告結果		1.102	1.109	1.105	1.106	1.103	1.103	1.108	1.107	1.105	1.103
スプレー注量（μl）	報告結果		133.9	140.7	146.0	140.5	145.1	143.5	139.6	131.4	試験せず	136.4
平均スプレー含有量（%）	報告結果		95.0	101.2	106.4	99.4	99.7	94.6	99.4	95.7	試験せず	108.7
粘度（Pa*s）	報告結果		0.14	0.096	0.12	0.12	0.096	0.14	0.12	0.12	0.11	0.11

（1）LOQは約0.006%であり、LODは約0.002%である。LOQ以下の結果が、目的の方向示すために○の表で報告される。

【０２２９】

【表９】

表５－５：溶液０２結果の概要

溶液02, 70mg/ml, 65% ビタミンE	仕様	開始	１ヶ月 25°C/60 %RH	１ヶ月 30°C/65 %RH	１ヶ月 40°C/75 %RH	３カ月 25°C/60 %RH	３カ月 30°C/65 %RH	３カ月 40°C/75 %RH	６ヶ月 25°C/60 %RH	６ヶ月 30°C/65 %RH	６ヶ月 40°C/75 %RH
記載	黄色からオレンジの溶液	琥珀色溶液	琥珀色溶液	琥珀色溶液	琥珀色溶液	琥珀色溶液	琥珀色溶液	琥珀色溶液	琥珀色溶液	琥珀色溶液	琥珀色溶液
同定－UV	UV及びRT標準品に従う	パス	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
アッセイ ジアゼパム（%）	90.0から110.0%	100.5	94.9	96.2	103.3	98.0	97.2	99.6	97.0	94.3	100.3
不純物（%）(1)											
ノルダゼパム	NMT 0.3%	0.003	0.004	0.005	0.006	0.005	0.005	0.006	0.005	0.004	0.005
関連化合物B	NMT 0.1%	ND	0.002	0.003	0.006	0.003	0.005	0.032	0.007	0.020	0.058
関連化合物A	NMT 0.01%	0.003	0.002	0.002	0.003	0.002	0.002	0.004	0.003	0.009	0.007
未知	NMT 0.1%	0.01	0.012	0.014	0.018	0.019	0.025	0.032	0.014	0.020	0.018
総計	NMT 1.0%	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.1	0.1
微生物限定	USPを満たす{61}	パス	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	パス	試験せず	試験せず
全重量（g）	報告結果	1.135	1.117	1.128	1.123	1.116	1.133	1.137	1.124	1.133	1.127
全容量（ml）	報告結果	1.184	1.165	1.177	1.172	1.164	1.182	1.186	1.172	1.183	1.176
スプレー送達（μl）	報告結果	115.0	137.5	137.6	133.1	143.9	136.3	143.8	129.3	試験せず	124.2
平均スプレー含有量（%）	報告結果	98.6	97.6	97.7	100.7	98.7	94.7	100.5	95.8	試験せず	97.1
粘度 (Pa*s)	報告結果	0.69	0.68	0.64	0.68	0.63	0.65	0.64	0.61	0.55	0.56

（１）LOQは約0.006%であり、LODは約0.002%である。LOQ以下の結果が、目的の方向示すためにこの表で報告される。

【０２３０】

【表１０】

表５－６：懸濁液０１結果の概要

懸濁液01、100 mm/ml	仕様	開始	1ヶ月 25°C/60 %RH	1ヶ月 30°C/65 %RH	1ヶ月 40°C/75 %RH	3カ月 25°C/60 %RH	3カ月 30°C/65 %RH	3カ月 40°C/75 %RH	6ヶ月 25°C/60 %RH	6ヶ月 30°C/65 %RH	6ヶ月 40°C/75 %RH
記載	濁った色から白色溶液	白色分散	白色分散	白色分散	白色分散	白色分散	白色分散	白色分散	白色分散	淡黄色分散	黄色分散
同定－UV	UV及びRT標準品に従う	パス	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
アッセイ ジアゼパム（%）	90.0から110.0%	102.8	102.6	100.9	104.3	101.3	101.8	103.6	100.7	104.3	99.4
不純物（%）（1）											
ノルタゼパム	NMT 0.3%	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
関連化合物B	NMT 0.1%	ND	ND	ND	0.004	ND	0.004	0.053	0.005	0.013	0.289
関連化合物A	NMT 0.01%	ND	0.01	0.02	0.034	0.026	0.036	0.08	0.038	0.046	0.157
未知	NMT 0.1%	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.007	0.007	0.008	0.007	0.018
総計	NMT 1.0%	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.1	0.1	0.5
メチルパラベン（%）	80.0%-115.%	97.7	100.2	92.1	100.3	101.4	100.6	101.6	106.0	103.2	103.2
プロピルパラベン（%）	80.0%115.0%	100.2	100.5	92.2	99.2	100.6	99	100	98.5	97.6	96.7
微生物限定	USPを満たす{61}	パス	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	パス	試験せず	試験せず
全重量（g）	報告結果	1.254	1.252	1.252	1.244	1.246	1.248	1.247	1.245	1.242	1.235
全容量（ml）	報告結果	1.198	1.196	1.196	1.188	1.191	1.193	1.191	1.190	1.187	1.180
スプレー送達（μl）	報告結果	132.5	131.2	126	123.9	137.6	137.8	136.3	140.0	試験せず	137.6
平均スプレー含有量（%）	報告結果	92.2	94.2	91.1	89.9	101.5	100.4	95.3	101.8	試験せず	95.94
粘度（Pa*s）	報告結果	0.0098	0.0098	0.0092	0.0090	0.0092	0.0093	0.0089	0.0082	0.0080	0.0092

（1）LOQは約0.006%であり、LODは約0.002%である。LOQ以下の結果が、目的の方向示すためにこの表で報告される。

【０２３１】

【表１１】

表５－７：懸濁液０３結果の概要

懸濁液03、200mg/mL	仕様	開始	1ヶ月 25°C/60 %RH	1ヶ月 30°C/65 %RH	1ヶ月 40°C/75 %RH	3カ月 25°C/60 %RH	3カ月 30°C/65 %RH	3カ月 40°C/75 %RH	6ヶ月 25°C/60 %RH	6ヶ月 30°C/65 %RH	6ヶ月 40°C/75 %RH
記載	濁った色から白色分散	白色分散	白色分散	白色分散	白色分散	白色分散	白色分散	白色分散	白色分散	淡黄色分散	黄色分散
同定－UV	UV及びRT標準品に従う	パス	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
アッセイ ジアゼパム（%）	90.0から110.0%	100.7	101.2	98.9	101.6	102.6	103.6	103.1	100.5	98.9	100.1
不純物（%）（1）											
ノルダゼパム	NMT 0.3%	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
関連化合物B	NMT 0.1%	ND	ND	ND	ND	0.002	ND	0.023	0.002	0.008	0.123
関連化合物A	NMT 0.01%	ND	0.005	0.01	0.017	0.017	0.012	0.039	0.019	0.029	0.081
未知	NMT 0.1%	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008	0.007	0.008
総計	NMT 1.0%	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.2
メチルパラベン（%）	80.0%-115.%	93.4	101.1	93.8	99.7	101.5	101.6	101.2	103.5	97.2	102.1
プロピルパラベン（%）	80.0%115.0%	95.6	100.2	94	98.4	100.1	101.3	99.2	97.1	91.9	95.9
微生物限定	USPを満たす{61}	パス	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	パス	試験せず	試験せず
全重量（g）	報告結果	1.276	1.28	1.259	1.272	1.279	1.279	1.276	1.280	1.262	1.260
全容量（ml）	報告結果	1.186	1.19	1.171	1.183	1.19	1.19	1.187	1.190	1.173	1.172
スプレー送達（μl）	報告結果	112.4	137.4	134.3	119.9	138.9	139.3	134.3	149.4	試験せず	138.0
平均スプレー含有量（%）	報告結果	82.8	99.3	97.3	86.7	98.6	102.3	96.2	98.2	試験せず	98.7
粘度（Pa*s）	報告結果	0.021	0.017	0.017	0.019	0.016	0.016	0.018	0.014	0.013	0.015

（1）LOQは約0.006%であり、LODは約0.002%である。LOQ以下の結果が、目的の方向示すためにこの表で報告される。

【０２３２】

【表１２】

表5-8: 溶液00 25℃/60%RH スプレー内容物均一性結果

サンプル	収集重量, g	作動重量, g	回収 ジアゼパム, mg	% 回収 ジアゼパム
1	0.13061	0.13259	9.59355	97.89
2	0.13217	0.13451	9.78206	99.82
3	0.12365	0.13332	8.85797	90.39
4	0.12761	0.13072	9.39720	95.89
5	0.14702	0.15216	8.91438	90.96
6	0.13414	0.13702	9.22442	94.13
7	0.12959	0.13384	9.84590	100.47
8	0.12367	0.14603	8.88093	90.62
9	0.13367	0.13425	9.92610	101.29
平均	0.13135	0.13716	9.380	95.72
標準偏差	0.0070	0.0071	0.4309	4.3970
% RSD	5.35	5.20	4.59	4.59

【０２３３】

【表１３】

表5-9: 溶液00 40℃/75%RH スプレー内容物均一性結果

サンプル	収集重量, g	作動重量, g	回収ジア ゼパム, mg	% 回収 ジアゼパム
1	0.14139	0.15111	10.57237	107.88
2	0.14731	0.15146	11.62831	118.66
3	0.14489	0.14684	10.94206	111.65
4	0.14237	0.14873	11.94883	121.93
5	0.12188	0.13415	9.78103	99.81
6	0.12756	0.13047	9.78347	99.83
7	0.13549	0.13841	10.45221	106.66
8	0.12323	0.12543	9.41177	96.04
9	0.14299	0.14517	11.35701	115.89
平均	0.13635	0.14131	10.653	108.70
標準偏差	0.0097	0.0095	0.8884	9.0649
% RSD	7.14	6.76	8.34	8.34

【０２３４】

【表１４】

表5-10: 溶液02 25℃/60%ＲＨ スプレー内容物均一性結果

サンプル	収集重量, mg	作動重量, mg	回収 ジアゼパム, mg	% 回収 ジアゼパム
1	0.12280	0.12611	8.88043	90.62
2	0.13318	0.13549	9.55581	97.51
3	0.13260	0.13452	9.71837	99.17
4	0.12064	0.12305	9.48123	96.75
5	0.13215	0.13582	9.34463	95.35
6	0.13559	0.13790	9.48722	96.81
7	0.13158	0.13371	9.43613	96.29
8	0.13357	0.13495	9.79164	99.91
9	0.12165	0.12443	8.84732	90.28
平均	0.12931	0.13178	9.394	95.85
標準偏差	0.0058	0.0056	0.3303	3.3701
% RSD	4.52	4.25	3.52	3.52

【０２３５】

【表１５】

表5-11: 溶液02 40℃/75%RH スプレー内容物均一性結果

サンプル	収集重量, g	作動重量, g	回収 ジアゼパム, mg	% 回収 ジアゼパム
1	0.12336	0.12563	9.02005	92.04
2	0.05723	0.05792	9.43076	96.23
3	0.13554	0.13908	9.93829	101.41
4	0.13619	0.13679	9.87755	100.79
5	0.13227	0.13414	9.64403	98.41
6	0.13331	0.13515	9.80808	100.08
7	0.13455	0.13844	9.31952	95.10
8	0.13314	0.13736	9.28106	94.70
9	0.13249	0.13387	9.32935	95.20
平均	0.12423	0.12649	9.517	97.11
標準偏差	0.0254	0.0260	0.3148	3.2119
% RSD	20.45	20.57	3.31	3.31

【０２３６】

【表１６】

表5-12:懸濁液01 25℃/60%RH スプレー内容物均一性結果

サンプル	収集重量, g	作動重量, g	回収 ジアゼパム, mg	% 回収 ジアゼパム
1	0.12873	0.12999	12.85366	91.81
2	0.14011	0.14247	13.68122	97.72
3	0.14515	0.14757	14.09449	100.67
4	0.13205	0.13347	14.18775	101.34
5	0.14554	0.14743	14.48202	103.44
6	0.14473	0.14682	14.39897	102.85
7	0.13229	0.13411	14.87853	106.28
8	0.14357	0.14581	14.82712	105.91
9	0.14741	0.14940	14.86732	106.20
平均	0.13995	0.14190	14.252	101.80
標準偏差	0.0070	0.0074	0.6602	4.7154
% RSD	5.03	5.18	4.63	4.63

【０２３７】

【表１７】

表5-13: 懸濁液01 40℃/75%RH スプレー内容物均一性結果

サンプル	収集重量, g	作動重量, g	回収 ジアゼパム, mg	% 回収 ジアゼパム
1	0.14411	0.14869	13.04770	93.20
2	0.14066	0.14151	13.23277	94.52
3	0.13012	0.13485	13.78126	98.44
4	0.14667	0.14879	13.36970	95.50
5	0.14294	0.14338	12.54309	89.59
6	0.13797	0.14253	13.25396	94.67
7	0.13374	0.13594	13.41984	95.86
8	0.12388	0.12559	14.34944	102.50
9	0.13790	0.14011	13.88564	99.18
平均	0.13755	0.14015	13.431	95.94
標準偏差	0.0073	0.0073	0.5223	3.7310
% RSD	5.28	5.19	3.89	3.89

【０２３８】

【表１８】

表5-14: 懸濁液03 25℃/60%RH スプレー内容物均一性結果

サンプル	収集重量, g	作動重量, g	回収 ジアゼパム, mg	% 回収 ジアゼパム
1	0.13604	0.13897	25.93418	92.62
2	0.14608	0.14792	26.21721	93.63
3	0.15294	0.15425	30.05570	107.34
4	0.14728	0.14910	25.78804	92.10
5	0.15352	0.15493	26.60721	95.03
6	0.15242	0.15401	29.51030	105.39
7	0.15118	0.15254	28.43104	101.54
8	0.15322	0.15556	28.03664	100.13
9	0.15197	0.15393	26.82906	95.82
平均	0.14941	0.15125	27.490	98.18
標準偏差	0.0057	0.0053	1.5812	5.6472
% RSD	3.79	3.50	5.75	5.75

【０２３９】

【表１９】

表5-15: 懸濁液03 40℃/75%RH スプレー内容物均一性結果

サンプル	収集重量, g	作動重量, g	回収 ジアゼパム, mg	% 回収 ジアゼパム
1	0.13574	0.13797	28.14588	100.52
2	0.13639	0.13803	27.04437	96.59
3	0.14082	0.14195	26.78985	95.68
4	0.12962	0.13249	29.07192	103.83
5	0.12518	0.12683	27.39785	97.85
6	0.14423	0.14541	28.50133	101.79
7	0.13922	0.14096	27.34617	97.66
8	0.14146	0.14313	27.17415	97.05
9	0.14902	0.15344	27.20939	97.18
平均	0.13796	0.14002	27.631	98.68
標準偏差	0.0073	0.0076	0.7642	2.7294
% RSD	5.28	5.43	2.77	2.77

【０２４０】

実施例６

実施例３及び４に記載される溶液及び懸濁液の全ては、本明細書中に記載される追加の適当量のアルキルグリコシド、例えば、ドデシルマルトシド、テトラデシルマルトシド、スクロースドデカノエイト、スクロースモノステアリン、スクロースジステアリン、及び／又は２又はそれより多いそれらの組合せ、あるいはＡｅｇｉｓ Ｔｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ，サンディエゴ、カリホルニアにより市販されているＩｎｔｒａｖａｉｌ（登録商標）

等と共に製剤される。添加されたアルキルグリコシドを備える溶液及び懸濁液は、変更すべきところは変更して、実施例５に記載されるように安定性を加える。

【０２４１】

実施例７

実施例３、４及び６の溶液及び懸濁液は、適切な動物モデル例えば、マウス、ラット、ウサギ又は犬等で薬物動態を評価される。先ず、夫々の動物（例えば、ウサギ）がベンゾジアゼピン薬の量を静脈内投与される。静脈内投与されたベンゾジアゼピン薬の量は、より少ない量が選択され、例えば、鼻腔内投与に効果的な投与量と判断される量のおおよそ半分が選択される。例えば、ウサギに投与されるジアゼパムの静脈内投与量は、約０．０５から０．２ｍｇ／ｋｇ、例えば、約０．１ｍｇ／ｋｇである。投与前及び投与後特定時間で血液が直ちに採血される。血漿中の薬物レベルが、夫々の血液サンプルでアッセイされる。少なくとも１日の休薬期間の後、夫々の動物は、実施例３、４及び６に記載される溶液又は懸濁液の量を静脈内に投与される。血液は、投与前及び静脈内投与後と略同じ特定時間に、直ちに採血された。薬物動態曲線は（時間に対する薬物の血漿中濃度）、投与の静注経路で構成されるとともに、鼻腔内投与経路で投与される溶液及び懸濁液の夫々で構成される。

【０２４２】

毒性は、既知の方法により評価される。特に、組織学的試料は、試験動物の鼻粘膜組織から採取される。他の毒物学的方法が同様に任意に用いられる。

【０２４３】

実施例８

実施例３、４及び６の溶液及び懸濁液は、適切な動物モデル例えば、マウス、ラット、ウサギ又は犬等での血液脳関門を越えて薬物を送達する能力が評価される。夫々の動物は、血液脳関門を通過する薬物の能力を決定するために、代用品として使用される造影剤例えば色素を任意に含む溶液又は懸濁液で、実施例３、４及び６に記載の溶液又は懸濁液の量を鼻腔内に投与される。薬物又は造影剤がどのように血液脳関門を通過するのかを決定するために、懸濁液又は溶液の投与後、溶液又は造影剤が選択時間点で検出される。これらの結果は、薬物又は造影剤を含む静脈注射用の溶液で得られた類似の結果と比較された。

【０２４４】

実施例９

上記の溶液及び／又は懸濁液は、ヒトにおける薬物動態で評価され得る。通常、健康なヒト被験者は、薬物の量を静脈内投与される。静脈内投与に選択される量は、任意の量であるが、人の発作を処置するのに効果的と考えられるに都合のよい投与量である。ヒトに投与されるジアゼピンの静脈内投与は、１から１５ｍｇの範囲であり、例えば約７．５ｍｇである。血液は、投与前及び投与後の選択時間点で直ちに採血される。薬物の血漿中濃度が、血液試料の夫々でアッセイされる。少なくとも１日の休薬期間の後、夫々の被験者は、本明細書中に記載される溶液又は懸濁液の量を、静脈内に投与される。血液は、投与前及び静脈内投与後の略同じ特定時間に、直ちに採血される。静脈注射時点と略同じ投与後時点で直ちに採血される。薬物動態曲線は（時間に対する薬物の血漿中濃度）、静脈投与経路及び鼻腔内投与経路で構成される。

【０２４５】

実施例１０

上記溶液及び／又は懸濁液は、適切な動物モデルで有効性が評価される。手短に言うと、試験される溶液又は懸濁液の各投与量に対して、試験動物が、発作誘発刺激で刺激される。刺激は、光刺激、音刺激、化学刺激又は他の刺激であり、効果的にモデル動物において発作を誘導する。動物は、発病するとすぐに、本明細書中に記載される溶液又は懸濁液が、動物に鼻腔内投与される。溶液及び／又は懸濁液の投与量の有効性は、試験投与量に対する動物の反応に基づいて評価される。この手段は、十分量の反復を介して繰り返され、十分な数の投与で繰り返され、薬物の鼻腔内投与により発作を処置するに効果的と考え

られる投与量が確認される。

【０２４６】

本発明の好適な実施形態は、本明細書中に示され、記載されているが、このような実施形態が、限定されることなく提供されることは、当該分野の当業者にとって明らかである。多くの変化、変更、及び置換は、本発明から逸脱することなく、当該分野の当業者に思い浮かぶだろう。本明細書中に記載される本発明の実施形態の様々な代替は、本発明を実行するのに使用されることを理解されるべきである。次の請求項は、本発明の範囲、これら請求項の範囲内の方法及び構造を規定し、それら等価物はそれらによりカバーされることを目的とする。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2009/038696

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 31/5513(2006.01)i, A61K 31/355(2006.01)i, A61K 9/16(2006.01)i, A61K 47/10(2006.01)i, A61P 25/22(2006.01)i

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)
IPC8 as above

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 practicable, search terms used)
eKOMPASS, Google scholar

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2007043057 A2 (TOUITOU, ELKA et. al.) 19 April 2007 See claims 18 and 35, p. 6 (line 1-3), 8 (line 3-11)	1-19
A	WO 2005117830 A1 (CAMURUS AB, SWED) 15 December 2005 See whole document	1-19
A	WO 2006075123 A1 (CAMURUS AB, SWED) 20 July 2006 See whole document	1-19
A	WO 2007144081 A2 (LTS LOHMANN THERAPIE-SYSTEM A.-G.) 21 December 2007 See whole document ----------//----------	1-19

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent 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 citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents,such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
28 SEPTEMBER 2009 (28.09.2009)	**28 SEPTEMBER 2009 (28.09.2009)**
Name and mailing address of the ISA/KR Korean Intellectual Property Office Government Complex-Daejeon, 139 Seonsa-ro, Seo-gu, Daejeon 302-701, Republic of Korea Facsimile No. 82-42-472-7140	Authorized officer KIM, YONG Telephone No. 82-42-481-8164

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2008)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2009/038696

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 20-45
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 20-45 pertain to methods for treatment of the human body by therapy, as well as prevention method, and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under Article 17(2)(a)(i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.

2. ☒ Claims Nos.: 46, 47
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:
Claims 46 and 47 relate to a composition, and are indicated as referring to claims 20 and 21, respectively. However, the claims 20 and 21 relate to a method of treating a patient. Thus claims 46 and 47 are too unclear to make meaningful search possible

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 No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

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

1. ☐ As all required addtional 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 and, where applicable, the payment of a protest fee.
☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (2)) (July 2008)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/US2009/038696

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2007-043057 A2	19.04.2007	CN 101325944 A	17.12.2008
		EP 1933809 A2	25.06.2008
		JP 2009-511571 A	19.03.2009
		WO 2007-043057 A3	15.11.2007
		WO 2007-043057 A3	19.04.2007
WO 2005-117830 A1	15.12.2005	AT 401054 T	15.08.2008
		AU 2005-249274 A1	06.06.2005
		AU 2005-324794 A1	09.12.2005
		PI 0511807 A	15.01.2008
		CA 2569513 A1	15.12.2005
		CA 2594710 A1	20.07.2006
		CA 2594718 A1	20.07.2006
		CA 2594711 A1	20.07.2006
		CA 2609810 A1	14.12.2006
		CN 101217940 A	09.07.2008
		CN 101217940 A0	09.07.2008
		DE 602005008247 D1	28.08.2008
		DK 1768650 T3	29.09.2008
		EP 1848403 A1	31.10.2007
		EP 1845942 A1	24.10.2007
		EP 1843746 A1	17.10.2007
		EP 1768650 B1	16.07.2008
		EP 1768650 A1	04.04.2007
		EP 1888031 A1	20.02.2008
		ES 2309766 T3	16.12.2008
		JP 2008-501676 T	24.01.2008
		JP 2008-526932 A	24.07.2008
		JP 2008-501676 A	24.01.2008
		JP 2008-526933 A	24.07.2008
		JP 2008-542437 A	27.11.2008
		JP 2008-526934 A	24.07.2008
		KR 10-2007-0046815 A	03.05.2007
		KR 10-2007-0104599 A	26.10.2007
		US 2009-0170782 A1	02.07.2009
		US 2009-0155193 A1	18.06.2009
		US 2009-0069221 A1	12.03.2009
		US 2008-0146490 A1	19.06.2008
		US 2008-0124394 A1	29.05.2008
		US 2007-0265190 A1	15.11.2007
		US 2008-0085263 A1	10.04.2008
		WO 2006-075123 A1	20.07.2006
		WO 2006-075125 A1	20.07.2006
		WO 2006-075124 A1	20.07.2006
		WO 2006-131730 A1	14.12.2006

(Continued on Next Page)

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 2008)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/US2009/038696

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2006-075123 A1	20.07.2006	AU 2005-249274 A1	06.06.2005
		AU 2005-324794 A1	09.12.2005
		CA 2569513 A1	15.12.2005
		CA 2594710 A1	20.07.2006
		CA 2594711 A1	20.07.2006
		CA 2594718 A1	20.07.2006
		CA 2609810 A1	14.12.2006
		CN 101217940 A	09.07.2008
		CN 101217940 A0	09.07.2008
		EP 1848403 A1	31.10.2007
		EP 1845942 A1	24.10.2007
		EP 1843746 A1	17.10.2007
		EP 1768650 B1	16.07.2008
		EP 1768650 A1	04.04.2007
		EP 1888031 A1	20.02.2008
		JP 2008-542437 A	27.11.2008
		JP 2008-526934 A	24.07.2008
		JP 2008-526933 A	24.07.2008
		JP 2008-526932 A	24.07.2008
		JP 2008-501676 A	24.01.2008
		KR 10-2007-0046815 A	03.05.2007
		KR 10-2007-0104599 A	26.10.2007
		US 2007-0265190 A1	15.11.2007
		US 2008-0085263 A1	10.04.2008
		US 2009-0170782 A1	02.07.2009
		US 2009-0155193 A1	18.06.2009
		US 2009-0069221 A1	12.03.2009
		US 2008-0146490 A1	19.06.2008
		US 2008-0124394 A1	29.05.2008
		WO 2006-075125 A1	20.07.2006
		WO 2006-075124 A1	20.07.2006
		WO 2005-117830 A1	15.12.2005
		WO 2006-131730 A1	14.12.2006
WO 2007-144081 A2	21.12.2007	CA 2654477 A1	21.12.2007
		DE 102006027795 A1	20.12.2007
		EP 2029098 A2	04.03.2009
		WO 2007-144081 A3	10.04.2008
		WO 2007-144081 A3	21.12.2007

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 2008)

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I		テーマコード（参考）
A61K	***31/5517***	***(2006.01)***	A61K	31/5517	
A61K	***47/26***	***(2006.01)***	A61K	47/26	
A61K	***9/12***	***(2006.01)***	A61K	9/12	
A61K	***9/08***	***(2006.01)***	A61K	9/08	
A61K	***9/10***	***(2006.01)***	A61K	9/10	
A61P	***25/08***	***(2006.01)***	A61P	25/08	

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

(72)発明者 メデイロス デイビッド
アメリカ合衆国 ９４０８０ カリフォルニア州 サウス・サンフランシスコ クラウン・サークル ２１２
(72)発明者 グウォズ ギャリー トマス
アメリカ合衆国 １８０６４ ペンシルベニア州 ナザレス サウス・メイン・ストリート ３２９
(72)発明者 ロクスリー アンドリュー
アメリカ合衆国 １８０６４ ペンシルベニア州 フィラデルフィア ＃５ マーケット・ストリート １２６
(72)発明者 ミッチニック マーク
アメリカ合衆国 １１９３７ ニューヨーク州 イースト・ハンプトン スリー・マイル・ハーバー・ドライブ ８０
(72)発明者 ヘイル デイビッド
アメリカ合衆国 ９２０２４ カリフォルニア州 エンシニータス スイート ４３０ エヌ．エル・カミノ・レアル １０４２－ビー

Fターム(参考) 4C076 AA12 AA22 AA24 BB25 CC01 DD37 DD37R DD38 DD59 DD69
EE16 EE23 FF04 FF36 FF52 FF61 FF65
4C086 AA01 AA02 BC38 BC56 CB12 CB13 MA03 MA05 MA08 MA13
MA17 MA23 MA59 NA10 ZA06

Espacenet

Bibliographic data: JPH01151528 (A) — 1989-06-14

TRANSMUCOUS ABSORBEFACIENT

Inventor(s): MURANISHI SHOZO ± (MURANISHI SHOZO)

Applicant(s): TAIHO PHARMACEUTICAL CO LTD ± (TAIHO YAKUHIN KOGYO KK)

Classification: **- international:** ***A61K47/00; A61K47/26; A61K9/02;*** (IPC1-7): A61K47/00; A61K9/02

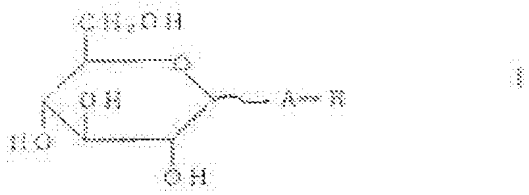
- cooperative:

Application number: JP19870311680 19871208

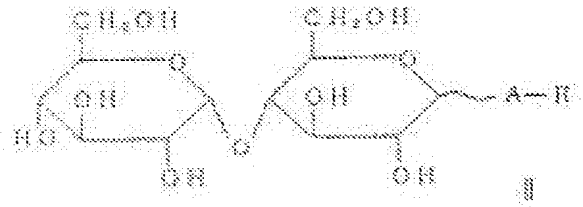
Priority number(s): JP19870311680 19871208

Abstract of JPH01151528 (A)

PURPOSE:To obtain a transmucous absorbefacient for a hardly absorbable drug, by using a (thio)ether compound of monosaccharides or disaccharides as an active component. CONSTITUTION:The objective transmucous absorbefacient contains an ether compound or thioether compound of monosaccharides (e.g. L-arabinose or D- mannose) or disaccharides (e.g. maltose) and a 6-18C aliphatic hydrocarbon, preferably a compound of formula I or formula II (A is O or S; R is 6-18C aliphatic hydrocarbon group). The amount of drug component in a mucous administration drug containing said absorbefacient is preferably 0.1-20wt.%, especially 0.5-5wt.%. The (thio)ether compound is e.g. n-octyl-beta-D-(thio) glucopyranoside or n-lauryl-beta-D-maltopyranoside.



I



II

⑲日本国特許庁（JP）　⑪特許出願公開

⑫公開特許公報（A）　平1－151528

⑤1Int.Cl.⁴	識別記号	庁内整理番号	⑬公開　平成1年(1989)6月14日
A 61 K 47/00	326	E－7417－4C	
9/02		E－7417－4C	

審査請求　未請求　発明の数 1　（全6頁）

⑤4発明の名称　経粘膜吸収促進剤

⑳特　願　昭62－311680

㉒出　願　昭62(1987)12月8日

特許法第30条第1項適用　昭和62年9月18日　日本薬剤学会発行の「日本薬剤学会第3年会講演要旨集」において発表

⑦2発明者　村西　昌三　京都府京都市上京区烏丸通一条上ル西入ル観三橋町562－19

⑦1出願人　大鵬薬品工業株式会社　東京都千代田区神田錦町1－27

⑦4代理人　弁理士　田村　巌

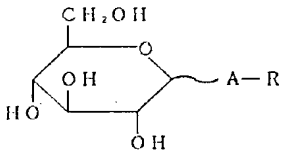
明　細　書

1．発明の名称　経粘膜吸収促進剤

2．特許請求の範囲

(1) 単糖類もしくは二糖類と炭素数6～18の脂肪族炭化水素のエーテル化合物もしくはチオエーテル化合物の1種以上を有効成分として含有する難吸収性薬物の経粘膜吸収促進剤。

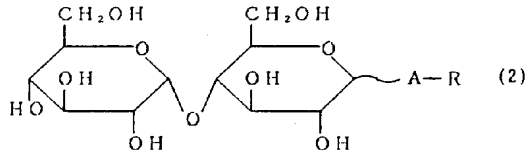
(2) 単糖類と脂肪族炭化水素のエーテル化合物もしくはチオエーテル化合物が下記一般式(1)で表わされる化合物である特許請求の範囲第1項記載の経粘膜吸収促進剤。



(1)

(式中、Aは酸素原子又は硫黄原子を、Rは炭素数6～18の脂肪族炭化水素基を示す)

(3) 二糖類と脂肪族炭化水素のエーテル化合物もしくはチオエーテル化合物が下記一般式(2)で表わされる化合物である特許請求の範囲第1項記載の経粘膜吸収促進剤。



(2)

(式中、Aは酸素原子又は硫黄原子を、Rは炭素数6～18の脂肪族炭化水素基を示す)

3．発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は新規な経粘膜吸収促進剤に関する。

(従来の技術)

吸収促進剤を含有する粘膜投与製剤の開発は、水溶性薬物や生理活性ペプチド等の難吸収性薬物を注射によらず有効に全身に適用するためのアプローチの1つとして注目されているが、実用に供した例は依然として少ない。理想的な吸収促進剤が具備すべき条件としては、強力かつ安全でまた安定であること、さらに製剤化した時にもその効力が損なわれず、主薬並びに製剤の安定性にも影響を与えないことなどが挙げられる。

粘膜からの吸収性を向上させるための研究は、従来より盛んに行われており、親水性界面活性剤の使用、脂肪酸類及びミセルの使用、エナミン誘導体、サリチル酸誘導体の添加等がある。〔J. Pharm. Sci. 66 (7) 955 (1955); 薬剤学 38 (2) 67 (1978); Clin. Res. 25 (3) 386A; J. Pharm. Dyn. 3 24 (1980); Int. J. Pharm. 2 101 (1979); 特公昭55－8486; 特公昭55－8456; 特開昭57－158719; 特開昭58－177995; 特開昭59－176209等〕。

しかしこれらの中には、組織粘膜を損傷したり、効果が不十分であつたり、製剤化が困難である等の欠点を有するものが多く、より有効且つ安全で使用し易い吸収促進剤の開発が期待されている。

（発明が解決しようとする問題点）

本発明の目的は、より効果が強力で、安全且つ安定した経粘膜吸収促進剤を提供することにある。

（問題点を解決するための手段）

本発明は単糖類もしくは二糖類と炭素数6～18の脂肪族炭化水素のエーテル化合物もしくはチオエーテル化合物の1種以上を有効成分として含有する難吸収性薬物の経粘膜吸収促進剤に係る。

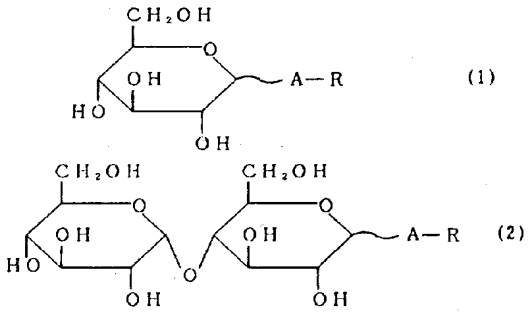
本発明者は有用な経粘膜吸収促進剤の開発を目的として鋭意研究を重ねた結果、実用上更に有用な上記本発明を完成するに至つた。

本発明における単糖類としては例えばL－アラビノース、D－キシロース、D－リボース、D－グルコース、D－マンノース、D－ガラクトース、D－フルクトース、また二糖類としてはマルトース、セロビオース、トレハロース、ゲンチオビオース、イソマルトース、乳糖、シヨ糖等が挙げられる。

本発明における炭素数6～18の脂肪族炭化水素は直鎖状でも分枝状でもよく、又飽和或いは不飽和のどちらでもよい。

上記飽和炭化水素から水素原子が1つ除かれて生成する飽和炭化水素基としては、例えばヘキシル、ヘプチル、オクチル、ノニル、デシル、ウンデシル、ドデシル、トリデシル、テトラデシル、ヘキサデシル、オクタデシル、2－メチルヘキシル、2－エチルペンチル、2－エチルヘキシル、2－エチルヘプチル、2－エチルオクチル、2－エチルノニル、2－エチルデシル、2－エチルウンデシル、3,7－ジメチルオクチル、2－ヘキシルデシル、2－オクチルデシル、2,4,4－トリメチルペンチル等の直鎖及び分枝鎖のものが挙げられる。又、不飽和炭化水素基としては、例えばCis－3－ヘキセニル、1－エテニルヘキシル、オレイル、リノレイル等が挙げられる。

上記糖類と脂肪族炭化水素とのエーテルもしくはチオエーテル化合物の中でも下記式(1)及び(2)



（式中、Aは酸素原子又は硫黄原子を、Rは炭素数6～18の脂肪族炭化水素基を示す）で表わされる化合物が好ましい。

これらの好ましい化合物の具体例としては以下のものが挙げられる。

n－オクチル－β－D－グルコピラノシド、

2－エチルヘキシル－α,β－D－グルコピラノシド、

n－オクチル－β－D－チオグルコピラノシド、

n－ヘプチル－β－D－チオグルコピラノシド、

n－ラウリル－β－D－マルトピラノシド

これらの糖類の脂肪族炭化水素との(チオ)エーテル類は生体粘膜、例えば直腸粘膜、その他の胃腸管粘膜、眼粘膜、口腔粘膜、膣粘膜、鼻粘膜を通しての薬物の吸収性を著しく高め、バイオアベイラビリテイーを良好に改善せしめることができる。他方これらの糖類の脂肪族炭化水素との(チオ)エーテル類は生体粘膜刺激性が少なく安全な化合物であり、容易に入手できるものである。

本発明で吸収促進効果を期待される薬物として

は、生体膜透過性が、増強剤を必要とする程度に低い薬物であり、例えば抗炎症剤、循環器官用剤、抗微生物剤、ホルモン剤、制癌剤、抗アレルギー用剤、呼吸器官用剤、中枢神経系用剤、末梢神経系用剤、生物学的製剤等にその例を見い出すことができる。

抗炎症剤としては、例えばアロプリノールが挙げられ、循環器官用剤としては、例えばメチルドパ、グアネチジンの如き抗高血圧剤、トラピジル、クエン酸ニカメタートの如き血管拡張剤、プロプラノロール、コンドロイチン硫酸の如き抗血液凝固剤等を挙げることができる。

抗微生物剤としては、例えばペニシリンG、ペニシリンV、メチシリン、クロキサシリン、アンピシリン、ヘタシリン、シクラシリン、アモキシシリン、カルベニシリン、スルベニシリン等のペニシリン型抗生物質、セファピリン、セファロリジン、セフォキシチン、セファロチン、セファゾリン、セファログリシン、セファレキシン等のセファロスポリン型抗生物質、ストレプトマイシン、カナマイシン、ゲンタマイシン、フラジオマイシン等のアミノグリコシド型抗生物質などが挙げられる。

ホルモン剤としては、例えばインシュリン、アンジオテンシン、バソプレシン、プロチレリン、ゴナドトロピン放出ホルモン、コルチコトロピン、黄体刺激ホルモン、黄体形成ホルモン、カルシトニン、ガストリン等が挙げられる。

制癌剤としては、例えば5－フルオロウラシル、ウラシル、6－メルカプトプリン、メトトレキサート、ブレオマイシン、ダウノルビシン、ドキソルビシン、L－アスパラギナーゼなどが挙げられる。

抗アレルギー用剤、呼吸器官用剤としては、例えばクロモグリケートの如き抗喘息剤などが挙げられる。中枢神経系用剤としては、例えば、臭化水素酸スコポラミン等が挙げられる。末梢神経系用剤としては、例えばプロカイン、メピバカイン、テトラカインなどが挙げられる。生物学的製剤としては、例えばトリプシン、キモトリプシン、ウロキナーゼ、インターフエロン、インターロイキンなどが挙げられる。

上記薬物は本発明に適用できるものの1例であつて全てではないと理解されるべきである。

又、本発明の粘膜吸収促進剤は上記薬剤と同時に又はその前後に投与することができるが、好ましくは予め配合剤としておくのが良い。

本発明の経粘膜吸収促進剤を用いた粘膜投与製剤にあつては、有効成分の配合量は薬物の種類、量、製剤の形態などによつて異なり一概には言えないが、製剤全重量に対して0.1～20重量%が好ましく、より好ましくは0.5～5重量%である。

本発明の経粘膜吸収促進剤を用いた粘膜投与製剤は例えば坐剤、溶液剤、懸濁剤、フイルム剤、エアゾール剤、錠剤、顆粒剤、細粒剤等が挙げられるが、目的とする剤形に応じて、薬物と経粘膜吸収促進剤以外の成分を含有せしめることができる。例えば坐剤とする場合の基剤としては炭素数6～30の脂肪酸とグリセリンのエステル類、例えばダイナミツト・ノーベル社製、ウイテツプゾール、ミグリオール(いずれも商標)、ヤシ油、大豆油等の植物油、又はこれらを水素添加、アセチル化、分画抽出等により改質したもの等が挙げられ、またソフトカプセル坐剤とする場合には剤皮としてゼラチン等が挙げられる。溶液剤とする場合にはエタノール、精製水、グリコール等が通常用いられ、懸濁剤の場合にはアラビアゴム、トラガント、ゼラチン、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース(CMC)等が通常用いられる。フイルム剤の場合にはヒドロキシプロピルセルロース、メチルセルロース、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール等の基剤が用いられ、錠剤、顆粒剤、細粒剤の場合には乳糖、結晶セルロース、とうもろこしでんぷん等の賦形剤やヒドロキシプロピルセルロース、メチルセルロース等の結合剤等が通常用いられる。又エアゾール剤の場合には噴射剤としてジクロロジフルオロメタン等が通常用いられる。

これらの添加物を含有する粘膜投与製剤は、通常行われている公知の方法によつて製造すること

ができ、その投与量も公知の量で良く、通常成人体重当り1日の有効成分が約0.01～20mg／kgの範囲とするのが好ましい。

（実　施　例）

次に本発明の吸収促進剤を配合した製剤の具体的な処方例を掲げる。

処方例1

セファロリジン	500mg
n－ラウリル－β－D－マルトピラノシド	30mg
ウイテツプゾール W－35	1470mg
1坐剤当り	2000mg

上記配合割合で坐剤を調製した。

処方例2

アンピシリンナトリウム	250mg
2－エチル－ヘキシル－α，β－D－チオグルコピラノシド	40mg
ウイテツプゾール W－35	1710mg
1坐剤当り	2000mg

上記配合割合で坐剤を調製した。

処方例3

インシュリン	50 U
n－オクチル－β－D－グルコピラノシド	2mg
精製水	適量
1回噴霧量当り	0.1mℓ

上記配合割合で経鼻投与（ネブライザー）用の溶液剤を調製した。

処方例4

セファロチンナトリウム	250mg
n－オクチル－β－D－チオグルコピラノシド	100mg
結晶セルロース	150mg
デンプングリコール酸ナトリウム	150mg
ヒドロキシプロピルセルロース	20mg
ヒドロキシプロピルセルロースフタレート	300mg
マクロゴール 6000	30mg
1包当り	1000mg

上記配合割合で腸溶性顆粒剤を調製した。

処方例5

セフピラミド	18重量部
n－ラウリル－β－D－マルトピラノシド	2重量部
ウイテツプゾール W－35	80重量部

上記配合割合で坐剤を調製した。

処方例6

セフピラミド	18重量部
n－ラウリル－β－D－マルトピラノシド	1重量部
ウイテツプゾール W－35	81重量部

上記配合割合で坐剤を調製した。

処方例7～9

pH7.4のリン酸緩衝食塩水100mℓに対し、n－オクチル－β－D－グルコピラノシド（n－OG）をそれぞれ100mM（約2.9W/V%）、50mM（約1.5W/V%）、20mM（約0.6W/V%）の濃度に調製して溶液剤とした。

処方例10～12

処方例7と同様にしてn－オクチル－β－D－チオグルコピラノシド（OTG）をそれぞれ100mM（約3.1W/V%）、50mM（約1.5W/V%）、10mM（約0.3W/V%）の濃度に調製して溶液剤とした。

処方例13～14

処方例7と同様にしてn－ヘプチル－β－D－チオグルコピラノシド（HTG）をそれぞれ100mM（約2.9W/V%）、50mM（約1.5W/V%）の濃度に調製して溶液剤とした。

処方例15～17

処方例7と同様にして2－エチルヘキシル－α，β－D－グルコピラノシド（b－OG）をそれぞれ100mM（約2.9W/V%）、50mM（約1.5W/V%）、35mM（約1.0W/V%）の濃度に調製して溶液剤とした。

処方例18～21

処方例7と同様にしてn－ラウリル－β－D－マルトピラノシド（LM）をそれぞれ50mM（約2.6W/V%）、10mM（約0.5W/V%）、5mM（約0.26W/V%）、2.5mM（約0.13W/V%）の濃度に調製して溶液剤とした。

処方例22

セフピラミド　18重量部
n－ヘキシル－β－D－グルコピラノシド　2重量部
ウイテツプゾール W－35　80重量部
上記配合割合で坐剤を調製した。

処方例23
セフピラミド　18重量部
n－ヘキシル－β－D－チオグルコピラノシド　2重量部
ウイテツプゾール W－35　80重量部
上記配合割合で坐剤を調製した。

処方例24
セフピラミド　18重量部
n－オクタデシル－β－D－グルコピラノシド　2重量部
ウイテツプゾール W－35　80重量部
上記配合割合で坐剤を調製した。

処方例25
セフピラミド　18重量部
1－エテニルヘキシル－α－D－グルコピラノシド　2重量部
ウイテツプゾール W－35　80重量部
上記配合割合で坐剤を調製した。

処方例26
セフピラミド　18重量部
9－オクタデセニル－β－D－グルコピラノシド　2重量部
ウイテツプゾール W－35　80重量部
上記配合割合で坐剤を調製した。

次に吸収試験を示し、経粘膜吸収促進作用を説明する。

＜吸収試験＞

当試験においては、Wistar系雄性ラット(240～300g)の結腸下部より肛門部までの6cmを吸収部位として行つた。

(1) 処方例7～21の溶液剤及び対照例としてpH 7.4のリン酸塩緩衝食塩水100mlに難吸収性の薬物モデルとして水溶性の蛍光色素である6－カルボキシフルオレセイン(CF)0.1gを溶解し、16時間絶食したペントバルビタール麻酔下のラットの大腸ループ内に体重250g当り125μl投与後、頸動脈より経時的に採血を行い、血中6－カルボキシフルオレセイン濃度を蛍光光度法(EX：490nm、EM：520nm)により定量した。結果を第1～5図に示す。

(2) 処方例7(n－OG、約2.9W/V%)、処方例10(OTG、約3.1W/V%)の溶液剤及び対照例としてpH 7.4のリン酸塩緩衝食塩水100mlにセフピラミド12g又はペプレオマイシン1.6gを各々溶解し、16時間絶食したペントバルビタール麻酔下のラットの大腸ループ内に上記の各溶液を体重250g当り125μl投与後、頸動脈より経時的に採血を行い、血中セフピラミド又はペプレオマイシン濃度をペーパーデイスク法(bacillus sub. ATCC6623)により定量し、それぞれの血中濃度下面積(AUC)を求めた。結果を第1表に示す。

第1表

薬物	粘膜吸収促進剤	最高血中濃度 (μg/ml)	$AUC^{0-2.5h}$ (μg・min/ml)
セフピラミド (60mg/kg)	－	－	223.6± 35.7
	n－OG 100mM	51.6±12.0	2594.9±225.9
	OTG 100mM	45.3± 5.7	2692.0±189.3
ペプレオマイシン (8mg/kg)	－	－	50.8± 11.3
	n－OG 100mM	3.6± 0.4	233.3± 16.3
	OTG 100mM	4.9± 0.3	361.2± 25.1

(3) 処方例5、6及び対照例としてセフピラミド18重量部、ウイテツプゾール W－35(82重量部)の配合割合より成る処方を固化、成形した坐剤83mgを16時間絶食したラットの直腸に投与し、以下吸収実験(2)と同様に採血及び血中濃度の定量を行つた。結果を第6図に示す。

以上の吸収試験から本発明の経粘膜吸収促進剤は難吸収性薬物の粘膜吸収に優れた効果を有することが明らかである。

4．図面の簡単な説明

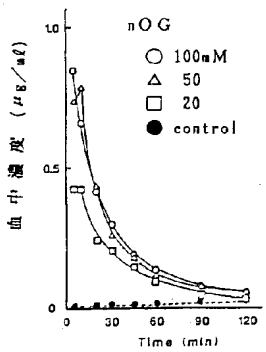
第１～６図は吸収試験における薬物の血中濃度の経時変化を示すグラフである。

（以　上）

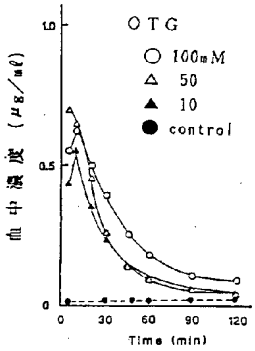
出　願　人　　大鵬薬品工業株式会社

代　理　人　　弁理士　田　村　　巌

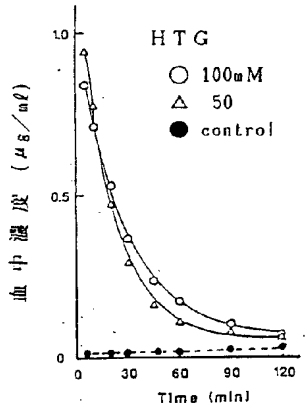
第　1　図



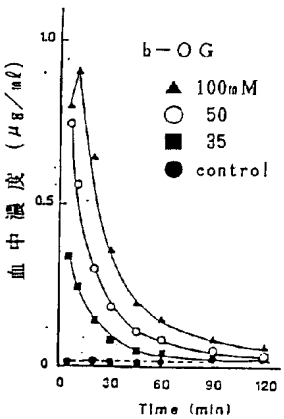
第　2　図



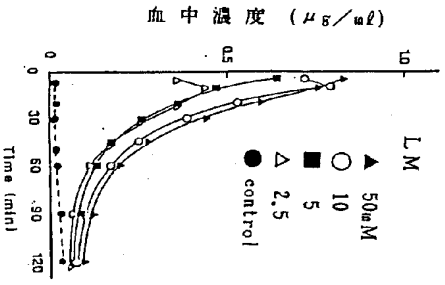
第　3　図



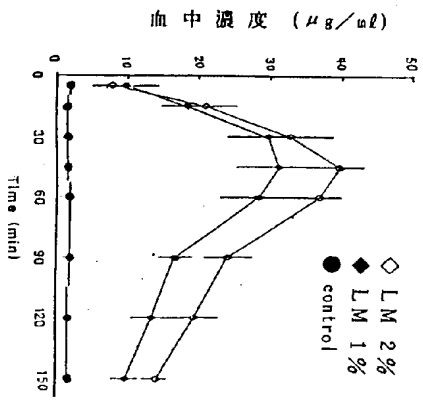
第　4　図



第　5　図



第　6　図



Espacenet

Bibliographic data: JPH05507085 (A) — 1993-10-14

A PHARMACEUTICAL PREPARATION CONTAINING N-GLYCOFUROLS AND N-ETHYLENE GLYCOLS

Inventor(s):

Applicant(s):

Classification: - international: ***A61K38/26; A61K38/28; A61K47/10; A61K47/22; A61K9/00; A61K9/08; A61K9/14;*** (IPC1-7): A61K47/10; A61K9/08
- cooperative: **A61K38/26**; **A61K38/28**; **A61K47/10**; **A61K47/22**; **A61K9/0043**

Application number: JP19910509706 19910503

Priority number(s): DK19900002075 19900830 ; DK19900001170 19900510

Also published as: AT164080 (T) AU1358695 (A) AU654950 (B2) AU687496 (B2) AU7643591 (A) more

Abstract not available for JPH05507085 (A)
Abstract of corresponding document: WO9116929 (A1)

A pharmaceutical preparation for application of biologically active substance(s) to a mucosal membrane of a mammal comprising one or more substance(s) selected from the group consisting of n-glycofurols represented by formula (I), wherein n is 1 to 8, and n-ethylene glycols represented by the formula (II): H(OCH2CH2)pOH, wherein p is 1 to 14, produces a high plasma concentration of the pharmaceutically active substance(s) nearly as rapid as by i.v. administration.



(I)

Bibliographic data

Title:	DIAZEPAM PREPARATION FOR RECTAL INFUSION
Pub/Pat no:	JPS60208911A
Pub/Issue Date:	1985-10-21
Inventor(s):	ENOMOTO HIROSHI |MASUDA HIROTOSHI |OUMI SHIYOUICHI |OKA HIROKI |KAGITANI MASAO |NISHIDA MASAYUKI |SUYAMA TADAKAZU
Applicant(s):	GREEN CROSS CORP
Classification:	C07D243/24AI; A61K9/02AI; A61K31/55AI; A61K31/551AI; A61P25/20AI; C07D243/16AI; C07D243/18AI
Application number:	JP19840060060 1984-03-28
Priority number:	JP19840060060 1984-03-28;

Abstract of JPS60208911A

PURPOSE:To prepare the titled drug preparation having excellent transrectal absorption and transferability to the brain, and low toxicity, by adding a compound selected from aleic acid, calcium chloride, EDTA and glycine as an assistant to promote the transrectal absorption. CONSTITUTION:The objective diazepam preparation for rectal infusion can be prepared by mixing diazepam with one or more compounds selected from maleic acid, calcium chloride, EDTA and glycine as an assistant to promote the transrectal absorption. The agent is administered in the form of suppository, rectal infusion, etc., and the infusion is preferable because the control of the dose can be carried out easily. The base of the infusion is e.g. propylene glycol, etc., and above all, methylacetamide, benzoic acid, etc. are especially preferable because of its low stimmulation to the rectum and anus, etc. The amount of the absorption assistant is 0.1-5w/v% of the preparation. Dose: 20-30mg for adult and 5-10mg for child by rectal infusion.

⑲日本国特許庁（JP）　⑪特許出願公開

⑫公開特許公報（A）　昭60－208911

⑤1Int.Cl.⁴	識別記号	庁内整理番号	⑬公開　昭和60年(1985)10月21日
A 61 K 9/02	AAE	6742－4C	
31/55	AAY	6664－4C	
// C 07 D 243/24		8413－4C	審査請求　未請求　発明の数 1　（全 4頁）

⑤4発明の名称　ジアゼパム直腸投与製剤

⑳特　願　昭59－60060
㉒出　願　昭59(1984)3月28日

⑦2発明者　榎本　浩　大阪市港区築港3－3番1－541
⑦2発明者　増田　博俊　尼崎市尾浜町3－17－7
⑦2発明者　近江　昭一　尼崎市尾浜町3丁目32番　4A－306号
⑦2発明者　岡　博樹　京都市西京区川島玉頭町67－4　桂ガーデンハイツ105号
⑦2発明者　鍵谷　昌男　橿原市山之坊町427－22
⑦2発明者　西田　正行　大阪府三島郡島本町青葉3丁目2－6－304
⑦2発明者　須山　忠和　京都府綴喜郡田辺町松井ケ丘4丁目3番7号
⑦1出願人　株式会社ミドリ十字　大阪市東区今橋1丁目15番地の1
⑦4代理人　弁理士　高島　一

明　細　書

1．発明の名称

ジアゼパム直腸投与製剤

2．特許請求の範囲

(1)　少なくともジアゼパムおよびジアゼパムの直腸吸収促進助剤として、マレイン酸、塩化カルシウム、EDTA及びグリシンより選ばれる1種又は2種以上を含有することを特徴とするジアゼパム直腸投与製剤。

(2)　ジアゼパムの溶解剤として、メチルアセトアミド、メチルピロリドン、安息香酸およびその塩、グリチルリチン酸塩、馬尿酸塩、ニコチン酸およびその塩、ニコチン酸アミド、N－メチルニコチン酸アミドより選ばれる1種又は2種以上を含有することを特徴とする特許請求の範囲第(1)項記載のジアゼパム直腸投与製剤。

3．発明の詳細な説明

本発明は、直腸吸収性及び脳への移行性に優れ、毒性の少ないジアゼパム注腸液に関する。

ジアゼパム（7－クロロ－1，3－ジヒドロ－1－メチル－5－フェニル－2H－1，4－ベンゾジアゼピン－2－オン）は、従来から鎮静効果、筋肉弛緩効果に加え、強い抗痙攣効果を有するため、痙攣時の治療に用いられている。ジアゼパムは通常、経口剤又は注射液として用いられるが、経口剤は吸収が遅く効果発現に時間を要する。注射液のうち静脈投与の場合は静脈路の確保及び緩徐な速度による投与を必要とし、一方筋肉投与の場合は疼痛等の刺激をおこし、小児以下の者への投与は禁止されている。

注射による副作用をのがれるために、坐剤による投与も提案される。しかし、坐剤にしても吸収は経口剤より速いもののまだまだ満足しうるものではなく、又、投与量の加減が困難である。

注射による、かかる副作用をのがれるために、直腸投与製剤が提案されているが、その吸収は経口投与製剤より速いものの、まだまだ満足しうるものではない。

かかる実情下に、本発明者らは、種々研究を重ねてきたところ、ジアゼパムをマレイン酸、塩化

カルシウム（$CaCl_2$）、ＥＤＴＡ又はグリシンと共に直腸投与すれば、ジアゼパムの直腸吸収が促進され、ジアゼパムの血中濃度が速やかに上昇し、かつ、作用臓器である脳への移行性がよく、かつ脳中への蓄積性が少ないことを見いだし、さらに研究を重ねて本発明を完成するに至った。

即ち、本発明は、少なくともジアゼパムおよびジアゼパムの直腸吸収促進助剤として、マレイン酸、塩化カルシウム、ＥＤＴＡ及びグリシンより選ばれる１種又は２種以上を含有することを特徴とするジアゼパム直腸投与製剤に関する。

本発明の製剤は、既知の剤型、例えば坐剤、注腸液などがあげられ、注腸液は、投与量の調節等が容易であるので、より好適なものである。

これら製剤の基剤としては、従来既知のものを用いればよい。

特に、注腸液用の基剤（溶解剤）としては、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、メチルアセトアミド、メチルピロリドン、安息香酸及びその塩、グリチルリチン酸塩、馬尿酸塩、ニコチン酸及びその塩、ニコチン酸アミド、Ｎ－メチルニコチン酸アミドなどが例示される。これらの中、特に好ましいものはメチルアセトアミド、メチルピロリドン、安息香酸およびその塩（例えば、ナトリウム塩などのアルカリ金属塩など）、グリチルリチン酸塩（例えば、ジカリウム塩などのアルカリ金属塩など）、馬尿酸塩（例えば、ナトリウム塩などのアルカリ金属塩など）、ニコチン酸およびその塩（例えば、ナトリウム塩などのアルカリ金属塩など）、ニコチン酸アミド、Ｎ－メチルニコチン酸アミドなどは、直腸、肛門部位に対する刺激が少ないなどの利点を有しているので、特に好ましいものである。

注腸液においては、さらに溶解補助剤として、エチルアルコール、ベンジルアルコールなどを配合することが好ましい。

吸収助剤は、本発明製剤中に通常0.１～５ｗ／ｖ％、好ましくは0.２～２ｗ／ｖ％配合される。

上記の量の場合、直腸、肛門に対する刺激が少なく、また吸収促進効果にも優れている。

溶解剤は、通常１０～６０ｗ／ｖ％、好ましくは１０～５５ｗ／ｖ％配合される。

溶解補助剤は，1.５～２０ｗ／ｖ％、好ましくは７～１７ｗ／ｖ％配合される。これ以上の量では直腸部位に対する刺激性が強くなる。

注腸液におけるその他の配合成分としては、水、グリセリンなどがあげられる。

水の配合量は、通常２０～６５ｗ／ｖ％、好ましくは３５～６５ｗ／ｖ％である。

本発明の注腸液は小児の熱性痙攣、重積状態等の痙攣時の処置及び小児歯科領域での小児の鎮静化に、成人で２０～３０㎎／人、小児で５～１０㎎／人を肛門から注入して使用される。

以下に本発明の実施例を示す。

実施例１

ジアゼパム５ｇをエタノール１５０ml、ベンジルアルコール１５mlの混合溶液に溶解し、Ｎ－メチルニコチンアミド２７５ｇ、マレイン酸２ｇ及び水を加えて１ℓとした。この溶液を２mlずつ注腸用容器に充填し、ジアゼパム１０㎎含有製剤とする。

実施例２

ジアゼパム５ｇをエタノール１５０ml、ベンジルアルコール１５mlの混合溶液に溶解し、プロピレングリコール３００ｇ、Ｎ－メチルニコチンアミド１００ｇ、マレイン酸２ｇ及び水を加えて１ℓとした。この溶液を２mlずつ注腸用容器に充填し、ジアゼパム１０㎎含有製剤とする。

実施例３

ジアゼパム５ｇをエタノール１５０ml、ベンジルアルコール１５mlの混合溶液に溶解し、プロピレングリコール４６０ｇ、Ｎ－メチルニコチンアミド１６ｇ、マレイン酸1.５ｇ及び水を加えて１ℓとした。この溶液を２mlずつ注腸用容器に充填し、ジアゼパム１０㎎含有製剤とする。

実施例４

ジアゼパム５ｇをエタノール１５０ml、ベンジルアルコール１５mlの混合溶液に溶解し、Ｎ－メチルニコチン酸アミド１３８ｇ、ニコチン酸１０ｇ、マレイン酸８ｇ及び水を加えて１ℓとした。

この溶液を2mlずつ注腸用容器に充填し、ジアゼパム10mg含有製剤とする。

実施例5

ジアゼパム5gをエタノール150ml、ベンジルアルコール15mlの混合溶液に溶解し、N-メチルニコチン酸アミド138g、安息香酸ナトリウム138g、マレイン酸4g及び水を加えて1ℓとした。この溶液を2mlずつ注腸用容器に充填し、ジアゼパム10mg含有製剤とする。

実施例6

ジアゼパム5gをエタノール150ml、ベンジルアルコール15mlの混合溶液に溶解し、N-メチルニコチン酸アミド138g、ニコチン酸アミド138g、マレイン酸4g及び水を加えて1ℓとした。この溶液を2mlずつ注腸用容器に充填し、ジアゼパム10mg含有製剤とする。

実施例7

ジアゼパム5gをエタノール150ml、ベンジルアルコール15mlの混合溶液に溶解し、グリチルリチン酸ジカリウム138g、マレイン酸2g及び水を加えて1ℓとした。この溶液を2mlずつ注腸用容器に充填し、ジアゼパム10mg含有製剤とする。

実施例8

ジアゼパム5gをエタノール150ml、ベンジルアルコール15mlの混合溶液に溶解し、N-メチルニコチン酸アミド275g、$CaCl_2$ 20g及び水を加えて1ℓとした。この溶液を2mlずつ注腸用容器に充填し、ジアゼパム10mg含有製剤とする。

実施例9

ジアゼパム5gをエタノール50ml、ベンジルアルコール15mlの混合溶液に溶解し、馬尿酸ナトリウム270g、ポリエチレングリコール4000 275g、$CaCl_2$ 20g及び水を加えて1ℓとした。この溶液を2mlずつ注腸用容器に充填し、ジアゼパム10mg含有製剤とする。

実施例10

ジアゼパム5gをエタノール100ml、ベンジルアルコール15mlの混合溶液に溶解し、プロピレングリコール275g、安息香酸ナトリウム135g、EDTA-2ナトリウム1g、グリシン5g及び水を加えて1ℓとした。この溶液を2mlずつ注腸用容器に充填し、ジアゼパム10mg含有製剤とする。

実施例11

ジアゼパム5gをエタノール150ml、ベンジルアルコール15mlの混合溶液に溶解し、メチルピロリドン550g、マレイン酸8g、及び水を加えて1ℓとした。この溶液を2mlずつ注腸用容器に充填し、ジアゼパム10mg含有製剤とする。

比較例1

実施例1の製剤からマレイン酸を除いた製剤。

比較例2（市販注射液）

ジアゼパム0.5w/v%、プロピレングリコール40%、安息香酸ナトリウム及び安息香酸5w/v%、エチルアルコール10%、ベンジルアルコール1.5%を含む水溶液

比較例3（臨床使用されている注腸液）

ジアゼパム0.5w/v%、グリコフロール55w/v%、エタノール8w/v%、ベンジルアルコール1.5w/v%を含む水溶液

実験例

ジアゼパム含有製剤の注腸後におけるジアゼパムの脳中移行を調べる実験を行った。ジアゼパムとして、^3H-ジアゼパム（放射活性4μc/mg）を用い、各々の製剤は、各実施例1～11と同様の方法で得たものを用いた。実験動物としては、ウィスター系ラット（雄）を用い、各製剤0.2ml/匹を注腸し、その後経時的に脳中の^3Hをシンチレーションカウンターによって測定することによってジアゼパムの脳中移行を検討、その結果を第1図に示した。その結果、本願製剤（×—×）の早期な脳中移行が立証された。第1図には本発明製剤のうち、実施例1のみを示したが、他の本発明製剤も同様の結果を示した。なお、比較例として、実施例1の製剤からマレイン酸を除いたもの（比較例1，×┈┈×）、市販注射液（比較例2，●—●）および臨床使用されている注腸液（比較例3，○—○）を用いた。

第１図に示した結果から明らかなように、本発明製剤は、直腸吸収性、脳移行性に優れ、かつ効果発現後は、脳に蓄積されることなく、速やかに排泄され、速やかに脳が正常状態に復帰される。

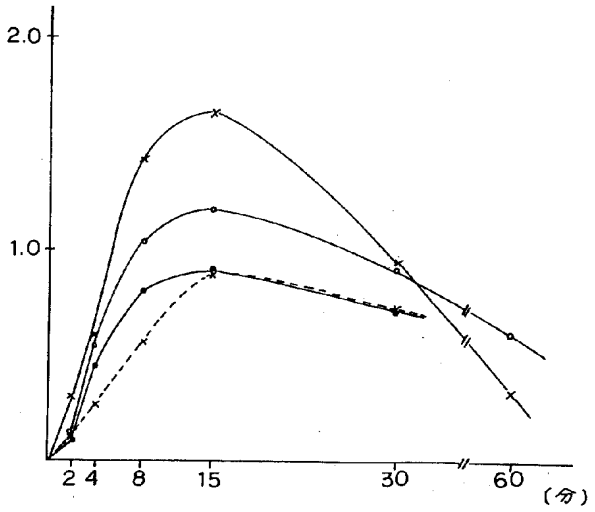
４．図面の簡単な説明

第１図は、本発明製剤の優位性を示すグラフである。

×—×　本発明製剤
×‥‥×　比較例１の製剤
●—●　比較例２の製剤
○--○　比較例３の製剤

特許出願人　株式会社　ミドリ十字
代　理　人　弁理士　高　島　一

第１図



手　続　補　正　書（自発）

昭和６０年５月１０日

特許庁長官　殿

１．事件の表示
　昭和５９年特許願第０６００６０号

２．発明の名称
　ジアゼパム直腸投与製剤

３．補正をする者
　事件との関係　特許出願人
　名称　株式会社　ミドリ十字

４．代　理　人　〒541
　住所　大阪市東区平野町４丁目53番地３
　　ニューライフ平野町 406号
　　TEL (06) 227-1156
　　高島国際特許事務所
　氏名　弁理士（8079）高　島　一

５．補正の対象
　明細書の「発明の詳細な説明」の欄

６．補正の内容
　(1)明細書第１０頁、第６行の「μｃ／ｍｇ」を「μＣｉ／ｍｇ」に訂正する。

方式

Bibliographic data

Title:	TRANSNASAL CALCITONIN AGENT CONTAINING ABSORBEFACIENT
Pub/Pat no:	JPS61267528A
Pub/Issue Date:	1986-11-27
Inventor(s):	KAGAYA SEIYA |HASUMI TOSHIJI |SONOBE TAKASHI |ARIGA MASAYOSHI
Applicant(s):	YAMANOUCHI PHARMA CO LTD
Classification:	A61K9/00AI; A61K9/08AI; A61K38/23AI; A61K47/02AI; A61K47/06AI; A61K47/10AI; A61K47/12AI; A61K47/22AI
Application number:	JP19850263544 1985-11-21
Priority number:	JP19840248898 1984-11-26;

Abstract of JPS61267528A

PURPOSE:To provide an excellent transnasal calcitonin agent containing calcitonin as an active component in combination with a specific absorbefacient. CONSTITUTION:A pharmaceutical composition for intranasal administration can be produced by using calcitonin as an active component, adding one or more absorbefacients selected from benzyl alcohol, ethanol, thiamine or its salt, salicylic acid or its salt,s capric acid or its salt, macrogol 400, pyridoxal or its salt, malic acid or its salt and pyrophosphoric acid or its salt, and mixing or impregnating the above components in a liquid diluent or a carrier suitable for the application to the nasal mucosa. The agent is used as an aqueous solution, hydrogel or solid powder. The amount of calcitonin is 200-6,000IU/ml, preferably 500-2,000IU/ml in the case of aqueous solution. It is administered preferably at a dose of 0.05-0.2ml and 1-5 doses daily by dripping or spraying into the nasal cavity.

⑲日本国特許庁（JP）　⑪特許出願公開

⑫公開特許公報（A）　昭61－267528

⑤1Int.Cl.⁴	識別記号	庁内整理番号	⑬公開　昭和61年(1986)11月27日
A 61 K 37/30 47/00 // A 61 K 9/08 9/12	306	7138－4C E－6742－4C	

審査請求　未請求　発明の数 1　（全5頁）

⑤4発明の名称　吸収促進剤を含有するカルシトニン経鼻剤

⑳特　願　昭60－263544
㉒出　願　昭60(1985)11月21日
優先権主張　㉜昭59(1984)11月26日㉝日本(JP)㉛特願　昭59－248898

⑦2発明者　加賀谷　誠也　焼津市三ケ名1506－6－304号
⑦2発明者　蓮見　俊士　藤枝市駿河台2－6－2
⑦2発明者　園部　尚　藤枝市南駿河台5－13－8
⑦2発明者　有賀　政義　静岡市日出町1－7　シテイスペース602
⑦1出願人　山之内製薬株式会社　東京都中央区日本橋本町2丁目5番地1
⑦4代理人　弁理士　藤野　清也　外1名

明　細　書

1. 発明の名称

吸収促進剤を含有するカルシトニン経鼻剤

2. 特許請求の範囲

(1) (イ)カルシトニンおよび(ロ)ベンジルアルコール，エタノール，チアミンまたはその塩，サリチル酸またはその塩，カプリン酸またはその塩，マクロゴール400，ピリドキサールまたはその塩，リンゴ酸またはその塩およびピロリン酸またはその塩からなる群から選択された1種以上の吸収促進剤を粘膜に適用するに適した液体希釈剤または担体中に含ませてなるカルシトニンの鼻内投与用医薬組成物。

(2) チアミンまたはその塩を吸収促進剤とする特許請求の範囲第(1)項記載のカルシトニンの鼻内投与用医薬組成物。

(3) ピロリン酸またはその塩を吸収促進剤とする特許請求の範囲第(1)項記載のカルシトニンの鼻内投与用医薬組成物。

(4) ベンジルアルコールを吸収促進剤とする特許第(1)項記載のカルシトニンの鼻内投与用医薬組成物。

(5) サリチル酸またはその塩を吸収促進剤とする特許請求の範囲第(1)項記載のカルシトニンの鼻内投与用医薬組成物。

(6) チアミンまたはその塩及びピロリン酸またはその塩を吸収促進剤とする特許請求の範囲第(1)項記載のカルシトニンの鼻内投与用医薬組成物。

3. 発明の詳細な説明

(イ) 産業上の利用分野

この発明はカルシトニンを有効成分とする鼻内投与用医薬組成物に関し，特定の吸収促進剤を含有するすぐれたカルシトニン経鼻剤に関するものである。

(ロ) 従来の技術及びその問題点

カルシトニンは骨多孔症，高カルシウム血症，ページェット病等の治療に用いられる種々の医薬活性を有するポリペプチドホルモンである。

カルシトニンは一般の生理活性ペプチドと同様，胃腸管内で消化液によって分解されるため経口投与ができず，又，吸収も悪いため，通常は注射による投与が行なわれているが，患者に与える苦痛は大きく，自己投与が出来ないなど不便であったし，経費もかさむといった難点があった。

そこで最近になってカルシトニン類を経鼻ルートで用いることにより通常の筋肉注射の場合と同様の効果が奏せられることが見出され，種々のカルシトニン経鼻剤組成物が提案されている。しかしカルシトニンの如き分子量の大きなポリペプタイドはそのままで経鼻吸収がされ難いため，吸収促進剤として，たとえば界面活性剤を含有させることが普通行なわれている（特開昭59－89619，同59－130820号公報）。このとき界面活性剤としては両性，カチオン性のものも用いられるが，非イオン性，その中でも特にポリオキシエチレンラウリルエーテルのようなエーテル型界面活性剤の吸収促進性が特にすぐれていると言われている。しかしながらこのエーテル型界面活性剤は鼻粘膜を破壊し，これにより内部への薬物透過機能を発揮するもので，強い組織障害性を有しており，そのまま実用に供するには問題があった。

(ハ) 問題点を解決するための手段

本発明者等はカルシトニンの吸収を促進させ，かつ実用に供し得る経鼻投与形態について鋭意研究を重ねた結果，ある種の吸収促進剤をカルシトニン含有経鼻医薬組成物に添加することにより上記の目的を達成し得ることを見出し，本発明に到達したものである。

(イ) カルシトニンおよび

(ロ) ベンジルアルコール，エタノール，チアミンまたはその塩，サリチル酸またはその塩，カプリン酸またはその塩，マクロゴール400，ピリドキサールまたはその塩，リンゴ酸またはその塩およびピロリン酸またはその塩からなる群から選択された1種以上の吸収促進剤

を鼻粘膜に適用するに適した液体希釈剤または担体中に含ませてなる鼻内投与用医薬組成物に関するものである。

本発明で用いられるカルシトニンはサーモンカルシトニン，ヒトカルシトニン，エルカトニン，豚カルシトニン等，種々のものが用いられる。

また，カルシトニンの経鼻吸収を促進する物質としては，ベンジルアルコール，エタノール，チアミン，サリチル酸，カプリン酸，マクロゴール400，ピリドキサール，リンゴ酸およびピロリン酸の中から選択される。これらの吸収促進剤の中，塩を形成するものは，それらの塩として用いてもよい。ピリドキサール，チアミン等の塩基性物質の場合は，塩酸塩，硝酸塩などが用いられ，また，ピロリン酸，サリチル酸，リンゴ酸，カプリン酸等の酸性物質の場合は，ナトリウム塩，カリウム塩などが用いられる。

吸収促進剤は，単独で用いてもよく，また2種以上混合して用いてもよい。

本発明の鼻内投与用医薬組成物は水性溶液，ヒドロゲルまたは固体粉末の形態とすることができる。

水性溶液はカルシトニン及び吸収促進剤を水または緩衝液に常法により溶解して製造され，このとき必要に応じ添加剤を添加，溶解してもよい。水性溶液は安定性の点からpH 3～5が好ましい。

緩衝液としてはクエン酸塩，酒石酸塩，リンゴ酸塩等が用いられ，pH 3～5が好ましい。

添加剤としては経鼻剤用に通常用いられる，殺菌，防腐剤，増粘剤，界面活性剤，安定化剤等を加えることができる。

殺菌，防腐剤は鼻内用組成物に通常用いられるものでよく，パラオキシ安息香酸エステル，プロピレングリコール，塩化ベンゼトニウム，ソルビン酸（Na）等が例として挙げられる。

増粘剤としてはポリビニルアルコール，ポリビニルピロリドン，デキストラン等を用いる

ことができる。

界面活性剤は各種添加剤の分散，乳化剤として添加され，粘膜刺激のほとんどない非イオン性界面活性剤が好ましい。これらの非イオン性界面活性剤としては，たとえばポリオキシエチレンモノステアレート，ポリオキシエチレンソルビタモノオレート，ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油等が用いられる。

安定化剤としてはゼラチンやアルブミンが挙げられる。

投与形態としては，鼻腔内投与のため滴下容器，スプレー容器または鼻用エアゾールアプリケータなどを用いて，滴下あるいは噴霧投与する方法が使用される。

粉末形態の場合，通常の粉剤の場合と同様更にマンニット，イノシトール，グルコース等を加え，溶解後，凍結乾燥し，得られた固体を微粉末として経鼻投与する。このような粉剤はカプセルに充填し，該カプセルを，針を備えたスプレー器具にセットして針を貫通させ，カプセルの上下に微小孔をあけ，空気をゴム球等で送り込み粉剤を噴出させる方法等が採られる。なお，エタノール，ベンジルアルコール等の揮発性液体成分を吸収促進剤とする場合には，粉末形態は適しない。

水性ゲル剤の場合，一般に用いられるゲル基剤，例えば天然ガム類，メチルセルロース類，アクリル酸重合体，ビニル重合体又は多糖類等を用いて水性ゲルとする。

本発明の医薬組成物における，有効成分たるカルシトニン，吸収促進剤及び各種添加剤の使用割合は特に限定されず，溶液，ゲル，粉末の形態等に応じ適宜決めることができる。カルシトニンの配合量はカルシトニン点鼻用組成物が水性溶液の形態の場合，200～6000 IU/mlの濃度が一般的であり，好ましくは500～2000 IU/mlの濃度であり，投与量は0.05～0.2 ml／回が好ましく，投与回数は1日1～5回が適当である。また吸収促進剤は種類によって異なるが，水性溶液の形態の場合0.05～15％（w/v）の範囲内が適当であるが，特に好ましい使用割合はエタノールについては，1.0～10％（w/v），その他の吸収促進剤については0.1～5％（w/v）である。

(ニ) 作　用

カルシトニン経鼻剤において，特定の促進剤を用いることにより，鼻腔粘膜からの吸収効率が高まり，すぐれたカルシトニン経鼻剤ということができる。

(ホ) 実施例及び効果

以下に実施例を挙げて本発明を更に詳しく説明するが，本発明はこれに限定されるものではない。

製造例1

	1 ml中
サーモンカルシトニン	350 IU
クエン酸水和物	12.2 mg
クエン酸ナトリウム	12.4 mg
吸収促進剤	（第1表参照）

第1表

記号	吸収促進剤	量（mg）
a	対照	—
b	ベンジルアルコール	1.0
c	〃	10
d	エタノール	50
e	リンゴ酸	30
f	カプリン酸ナトリウム	10
g	サリチル酸ナトリウム	10
h	マクロゴール400	10
i	塩酸チアミン	10
j	塩酸ピリドキサール	10
k	ピロリン酸ナトリウム	30
l	ピロリン酸ナトリウム 塩酸チアミン	30 30
m	ピロリン酸ナトリウム ベンジルアルコール	30 10

サーモンカルシトニン及び吸収促進剤を表記の2倍の濃度になるように，表記濃度のクエン酸一水和物及びクエン酸ナトリウム溶液に各々溶解し，1規定塩酸水溶液又は1規定苛性ソーダ水溶液でpH 4.0とした後，水を加え

てlmlとし，両者を等容量混合する。なお，サリチル酸は懸濁製剤であり，また，カプリン酸ナトリウムはpH 8に調整されている。

実施例 1

18時間絶食させたSD系雄性ラット（115－145g）をペントバルビタール麻酔（50mg/kg，腹腔内注射）し，製造例1で作成した水性カルシトニン製剤a～mを5 IU/kg投与した。

投与方法はポリエチレンチューブ（PE 10，クレイ・アダムス）を連結したマイクロシリンジ（2μl）を用い鼻中隔5～6 mmのところに体重に応じて約2μl注入した。カルシトニン製剤の鼻粘膜からの吸収性の評価は血清中カルシウム濃度を測定することにより行ない，カルシウムメーター（CA－30，常光）を用いカルシウム濃度を定量した。投与前及び投与1，2，3時間後に順次ラットを屠殺し，下行大静脈より採血した。結果を第2表に示す。なお，第2表に示した値は3匹以上のラットの平均値である。

第 2 表

カルシトニン（5 IU/kg）の鼻腔内投与後1，2，3時間における血清カルシウム濃度

記号	吸収促進剤	濃度%	Ca mg %		
			1	2	3（時間）
a	対照	—	10.65	10.24	10.81
b	ベンジルアルコール	0.1	9.01	—	11.17
c	ベンジルアルコール	1	8.41	10.53	10.73
d	エタノール	5	8.46	11.12	11.14
e	リンゴ酸	3	8.87	11.59	10.24
f	カプリン酸ナトリウム	1	8.67	—	—
g	サリチル酸ナトリウム	1	8.56	9.33	10.71
h	マクロゴール400	1	8.71	11.24	11.18
i	塩酸チアミン	1	8.48	9.59	11.37
j	塩酸ピリドキサール	1	8.85	—	11.70
k	ピロリン酸ナトリウム	3	8.97	9.21	9.84
l	ピロリン酸ナトリウム	3	—	8.68	—
	塩酸チアミン	3			
m	ピロリン酸ナトリウム	3	—	8.64	—
	ベンジルアルコール	1			

投与前の血清中カルシウム濃度 10.67 mg %

第2表から特定の吸収促進剤の添加により血清中Ca濃度は　対照　と比較し有意に低下していることがわかる。

製造例1と同様にして，以下の製造例に示すカルシトニン経鼻剤組成物を得た。これらのカルシトニン溶液は実施例1と同様に血清中カルシウム濃度の低下を示している。

製造例 2

豚カルシトニン	1400 IU
ベンジルアルコール	10 mg
リンゴ酸	13.4 mg
パラオキシ安息香酸メチル	5 mg
パラオキシ安息香酸プロピル	2 mg

1N苛性ソーダ水溶液でpH 4.0とし，水を加えて最終容量を1 mlとする。

製造例 3

エルカトニン	1400 IU
サリチル酸	10 mg
塩化ベンゼトニウム	0.1 mg
酒石酸	30 mg
ハイドロキシプロピルセルロース	20 mg

1N苛性ソーダ水溶液でpH 4.0とし，水を加えて最終容量を1 mlとする。

製造例 4

サケカルシトニン	1400 IU
マクロゴール400	10 mg
塩酸チアミン	10 mg
クエン酸一水和物	12.2 mg
クエン酸ナトリウム	12.4 mg

水を加えて最終容量を1 mlとする。

実施例 5

サケカルシトニン	14000 IU
ピロリン酸ナトリウム	300 mg
ベンジルアルコール	100 mg
塩化ベンゼトニウム	1 mg
クエン酸一水和物	122 mg
クエン酸ナトリウム	124 mg

5N塩酸でpH 4.0とし水を加えて最終容量を10 mlとする。

実施例 6

サケカルシトニン	14000 IU
ピロリン酸ナトリウム	300 mg
D－リボース	300 mg
塩化ベンゼトニウム	1 mg
クエン酸一水和物	122 mg
クエン酸ナトリウム	124 mg

5N塩酸でpH 4.0とし水を加えて最終容量を10 mlとする。

特許出願人
山之内製薬株式会社
代理人
弁理士 藤野清也
弁理士 長井省三

PCT WORLD INTELLECTUAL PROPERTY ORGANIZATION
International Bureau

INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(51) International Patent Classification 7 :
A61K 31/52, 9/06, 9/107, 47/26

A1

(11) International Publication Number: **WO 00/01390**

(43) International Publication Date: 13 January 2000 (13.01.00)

(21) International Application Number: PCT/EP99/04606

(22) International Filing Date: 2 July 1999 (02.07.99)

(30) Priority Data:
MI98A001528 3 July 1998 (03.07.98) IT

(71) Applicant *(for all designated States except US)*: RECORDATI S.A. CHEMICAL AND PHARMACEUTICAL COMPANY [CH/CH]; Piazza Boffalora, 4, CH–6830 Chiasso (CH).

(72) Inventors; and
(75) Inventors/Applicants *(for US only)*: SANTUS, Giancarlo [IT/IT]; Via Zuara, 8, I–20146 Milan (IT). MARCELLONI, Luciano [IT/IT]; Via Albino, 12, I–20147 Milan (IT). GOLZI, Roberto [IT/IT]; Via E. Toti, 26, I–26100 Cremona (IT).

(74) Agent: GERVASI, Gemma; Notarbartolo & Gervasi S.p.A., Corso di Porta Vittoria, 9, I–20122 Milan (IT).

(81) Designated States: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, 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, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, UG, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published
With international search report.

(54) Title: TOPICAL ACICLOVIR FORMULATIONS

(57) Abstract

Described are topical formulations for the administration of aciclovir. These formulations can be used in the preventive and therapeutic treatment of infections from *Herpes virus* and are characterised by the presence of sucrose esters as promoters of active ingredient absorption.

FOR THE PURPOSES OF INFORMATION ONLY

Codes used to identify States party to the PCT on the front pages of pamphlets publishing international applications under the PCT.

AL	Albania	**ES**	Spain	**LS**	Lesotho	**SI**	Slovenia
AM	Armenia	**FI**	Finland	**LT**	Lithuania	**SK**	Slovakia
AT	Austria	**FR**	France	**LU**	Luxembourg	**SN**	Senegal
AU	Australia	**GA**	Gabon	**LV**	Latvia	**SZ**	Swaziland
AZ	Azerbaijan	**GB**	United Kingdom	**MC**	Monaco	**TD**	Chad
BA	Bosnia and Herzegovina	**GE**	Georgia	**MD**	Republic of Moldova	**TG**	Togo
BB	Barbados	**GH**	Ghana	**MG**	Madagascar	**TJ**	Tajikistan
BE	Belgium	**GN**	Guinea	**MK**	The former Yugoslav Republic of Macedonia	**TM**	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	**GR**	Greece			**TR**	Turkey
BG	Bulgaria	**HU**	Hungary	**ML**	Mali	**TT**	Trinidad and Tobago
BJ	Benin	**IE**	Ireland	**MN**	Mongolia	**UA**	Ukraine
BR	Brazil	**IL**	Israel	**MR**	Mauritania	**UG**	Uganda
BY	Belarus	**IS**	Iceland	**MW**	Malawi	**US**	United States of America
CA	Canada	**IT**	Italy	**MX**	Mexico	**UZ**	Uzbekistan
CF	Central African Republic	**JP**	Japan	**NE**	Niger	**VN**	Viet Nam
CG	Congo	**KE**	Kenya	**NL**	Netherlands	**YU**	Yugoslavia
CH	Switzerland	**KG**	Kyrgyzstan	**NO**	Norway	**ZW**	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	**KP**	Democratic People's Republic of Korea	**NZ**	New Zealand		
CM	Cameroon			**PL**	Poland		
CN	China	**KR**	Republic of Korea	**PT**	Portugal		
CU	Cuba	**KZ**	Kazakstan	**RO**	Romania		
CZ	Czech Republic	**LC**	Saint Lucia	**RU**	Russian Federation		
DE	Germany	**LI**	Liechtenstein	**SD**	Sudan		
DK	Denmark	**LK**	Sri Lanka	**SE**	Sweden		
EE	Estonia	**LR**	Liberia	**SG**	Singapore		

TOPICAL ACICLOVIR FORMULATIONS

Field of invention

Object of the present invention are topical formulations useful in the treatment of viral infections of the skin and mucous membranes, which contain the active ingredient 9-(2-hydroxymethoxymethyl)guanine, known as aciclovir, and are characterised by the inclusion of sucrose esters as absorption promoters.

Previous art

Aciclovir, its salts and the esters derived from it, have long been known for their antiviral action, as extensively described in the British patent GB 1,523,865.

Several topical formulations containing aciclovir have been described in the previous art. In particular, patent EP 44,543 describes formulations of aciclovir in oil/water mixtures which contain at least 30% of a polyvalent alcohol miscible with water, and patent application WO 97/34,607 describes topical oil-in-water formulations containing at least 10% diethylene glycol monoethylether known by the commercial name Transcutol®.

The present invention relates to topical formulations for the administration of aciclovir, which contain a sucroester as an element promoting absorption of the active ingredient through the skin.

The sucroesters are sucrose esters obtained by reaction of sucrose with one or more fatty acids having a linear chain with an even number of carbon atoms ranging from 12 to 18, are widely used and have many applications in the pharmaceutical and food fields. These esters are commercially known by the name SUCROESTER® (Gattefossé S.A. - Saint Priest - France) or CRODESTA® (Croda Surfactants Ltd. - Goole - UK).

Sucroesters belong to the class of non-ionic surfactants, are endowed with good stability and do not undergo - after preparation of the finished products - any hydrolytic processes of a chemical or enzymatic nature. Being made up of a sugar with fatty acids, they are absolutely harmless compounds and not at all aggressive against the skin, thus being an excipient capable of meeting all of the cosmetic requirements of a topical preparation.

Description of invention

It has now been found, and it is an object of the present invention, that, when a sucrose ester is added to the ingredients of topical formulations for the administration of aciclovir via emulsified mixtures of lipids in water, these formulations become particularly effective in improving absorption and tolerance of aciclovir compared to both the commercial formulations and those described in the previous art.

The topical formulations which are an object of the invention comprise: from 0.1% to 10% w/w of aciclovir or any of its salts or any of its esters; from 0.1% to 40% w/w of a sucrose ester; from 20% to 40% w/w of water, incorporated in a mixture with an oily phase.

The lipidic component of the emulsion is made up of known materials and is emulsified with the aqueous component in accordance with processes known in the art. One or more emulsifying agents can be added to the ingredient of the lipidic phase, which can be a fat or an oil, to make the emulsion stable in time.

The ingredients of the oily phase are chosen predominantly on the basis of the cosmetic characteristics desired in the finished products since the solubility of aciclovir in oils and fats is confined to a limited range.

Example of the lipidic materials which can be used are linear or branched mono- or dialkylesters of esters of fatty acids such as, for example, isopropylmyristate and isopropylpalmitate, mixtures of cetyl and stearyl alcohol known by the commercial name Crodamol®, high-molecular-weight lipids such as white paraffin or liquid paraffin and other mineral oils.

Examples of emulsifiers and emulsion stabilising agents include cetyl alcohol, sodium lauryl sulphate, stearyl alcohol, polyoxyethylene alkylesters such as Brij® 72 and 721 and polyoxystearyl esters such as Steareth® 2 and 21.

In addition to water, the aqueous phase of the emulsion can also contain other ingredients such as glycerine and glycol. However, the amount of these ingredients is preferably lower than 30%.

Based on what described in the previous art (EP 044 543), an amount higher than 30% of polyalcohols such as glycerine and glycol is normally added to the

aqueous phase to be used for the emulsion in order to increase aciclovir solubility in the phase.

However, the presence of an amount of propylene glycol in amounts higher than 30% can cause poor-skin-tolerance reactions due to the dehydrating action peculiar to this glycol. This is particularly important when the topical preparation is to be applied onto areas of skin which is no longer sound, as is the case of lesions caused by *Herpes labialis*.

It has now been found, and it is an object of the invention, that the addition of esters of sucrose to the formulation ingredients allows these amounts of glycol in the formulation to be reduced far below 30%, at the same time increasing the therapeutic and cosmetic efficacy of the formulation thanks to the ability of sucroesters to act as promoters of the absorption of the active ingredient through the skin.

The sucroesters being substances which result from the combination of sucrose with normal food fats and, in particular, myristic acid, oleic acid, palmitic acid or stearic acid, they have a molecular structure with amphiphilic characteristics, both lipophilic and hydrophilic. These amphiphilic characteristics can be appropriately modulated using the sucroester most suitable for the various absorption requirements. In fact, the higher the number of sugar hydroxyls substituted by fatty acids, the more the lipophilic characteristics of sucroesters increase, and vice versa.

Thanks to the contemporary presence of hydrophilic and lipophilic groups in the molecule and the resulting ability of distribution in the skin layers with lipophilic characteristics (the horny layer) and the layers with hydrophilic characteristics (the dermis), the sucroesters are thus capable of acting as absorption promoters, helping permeation of substances which would otherwise be poorly absorbed.

Among the various types of sucroesters, the monoesters are particularly useful in helping formation of oil-in-water emulsions. The sucrose monoesters are scarcely soluble in cold water, while they are soluble in hot water, ethyl alcohol and acetone. Their amphiphilic characteristics are represented by HLB (Hydrophilic Lypophilic Balance) values which can range from 7 to 14. For example: sucrose

monopalmitate (HLB 14), sucrose mono/distearate (HLB 11), sucrose distearate (HLB 7).

For a typical implementation of the present invention, sucrose monopalmitate is preferred among the monoesters for its high HLB value which, in addition to helping formation of an oil-in-water emulsion, contributes to stabilising it.

The preferred composition ratios (w/w) for a formulation suitable for the administration of aciclovir according to the present invention include: sucrose monopalmitate 15%, aciclovir 5%, cetostearyl alcohol 3-10%, propylene glycol 5-30%, mineral oil 5-15%, Steareth® 21 2-5%, sodium lauryl sulphate 0.1-1%, purified water as needed to reach 100%.

Optionally, although it has been found that the addition of these preservatives is not strictly necessary for storage in time of the topical formulations described in the present invention, one or more preservatives such as, for example, p-oxybenzoates, sodium benzoate, benzalkonium chloride and the like, can be added to these formulations as a precautionary complement in case of long-term storage.

A process to prepare the above topical formulations, too, is an integrant part of the invention. This process consists in stirring aciclovir or any of its salts or esters, a sucrose ester, the active ingredients, the excipients making up the oily phase and those making up the aqueous phase in a suitable emulsifier, up to formation of an oil/water emulsion.

The method of formulating the emulsion can vary depending on the amount and nature of the ingredients and follows the processes known in emulsion formation described, for example, in A. R. Gennaro: "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", 19th Ed., Ch. 21, 282-291, Mack Publ. Co. (1995).

The preferred method is that of hot(70°C)-suspending aciclovir in the aqueous phase together with the sucrose esters, sodium lauryl sulphate, propylene glycol and to finally add this mixture to the ingredients of the fatty phase kept in a melted state at a temperature of about 60 to 70°C. The emulsion forms after the addition of the aqueous phase to the vigorously-stirred oily phase.

The preferred apparatus for formation of the emulsion is a turboemulsifier, which

allows vigorous stirring under vacuum, thus avoiding incorporation of air and the consequent formation of bubbles in the final cream.

The topical formulation prepared in accordance with the invention can be used for the treatment or prevention of viral infections caused by *Herpes zoster, Herpes varicella* and type-1 or 2 *Herpes simplex*. In particular, it was found to be useful in cases of *Herpes labialis*. The formulation should be applied to the skin 1 to 6 times daily, preferably from 3 to 5 times.

It is also obvious that the formulations referred to in the present invention, even though they are conceived in particular for the administration of aciclovir and its derivatives, can easily adapt to the topical administration of other antiviral analogues of aciclovir such as, for example, famciclovir, penciclovir, valaciclovir and the like, or their synergetic combinations with other antiviral agents such as derivatives of guanine, vidarabine, citarabine and the like.

Provided below are some examples which are only meant to better describe the subject invention and show its advantages and applicability, but without being a limitation of same.

EXAMPLE 1

Aciclovir	5 %
Sucrose monopalmitate	15%
Cetostearyl alcohol	6.75%
Propylene glycol	20%
Sodium lauryl sulphate	0.75%
Poloxamer 407	1%
Mineral oil	5%
Stringy petrolatum	12.5%
Water	34%

An oily phase was prepared by melting a mixture made up of stringy petrolatum, mineral oil and cetostearyl alcohol at 60°C. An aqueous solution made up of sodium lauryl sulphate, Poloxamer® 407, propylene glycol, sucrose monopalmitate

and water in which micronised aciclovir had been hot(60°C)-dispersed was slowly added to the hot-stirred oily phase, and allowed to cool to ambient temperature. The cream which formed was filled into 10-gram aluminium tubes internally coated with epoxy resin.

EXAMPLE 2

Micronised aciclovir	5 %
Sucrose distearate	20%
Cetostearyl alcohol	6.75%
Propylene glycol	20%
Sodium lauryl sulphate	0.75%
Poloxamer® 407	1%
Mineral oil	5%
Stringy petrolatum	12.5%
Water q.s. to	100%

An oily phase was prepared by melting at 60°C made up of stringy petrolatum, mineral oil and cetostearyl alcohol. An aqueous phase made up of sodium lauryl sulphate, Poloxamer® 407, propylene glycol, sucrose distearate and water in which micronised aciclovir had been hot(70°C)-suspended, was added to the oily phase. Addition was slow with continuous hot-stirring, and cooling to ambient temperature was allowed. The cream which formed was filled into 5-gram aluminium tubes internally coated with epoxy resin.

EXAMPLE 3

Aciclovir	5%
Sucrose mono/distearate	15%
Stearyl alcohol	5%
Cetyl alcohol	5%
Propylene glycol	15%
Brij® 721	2,5%
Brij® 72	2,5%
Mineral oil	5%
Stringy petrolatum	12.5%
Water q.s. to	100%

An oily phase made up of stringy petrolatum, mineral oil, cetyl and stearyl alcohol was prepared by melting at 60°C. An aqueous solution made up of Brij® 721 and Brij® 72, propylene glycol, sucrose mono/distearate and water in which micronised aciclovir had been hot(60°C)-suspended, was added to the oily phase. Addition was slow with continuous hot-stirring, and cooling to ambient temperature was allowed.

EXAMPLE 4

A formulation having the following composition was prepared:

Micronised aciclovir	263 g
Sucroester® WE 15*	750 g
Cetostearyl alcohol	338 g
Propylene glycol	1000 g
Sodium lauryl sulphate	37 g
Poloxamer® 407**	50 g
Mineral oil	250 g
Stringy petrolatum	625 g
Water	1700 g

* Sucrose monopalmitate

** Copolymer of polyoxyethylene-polyoxypropylene

The ingredients of a fatty phase made up of stringy petrolatum, mineral oil and cetostearyl alcohol, were transferred into a Pressindustria-5L turboemulsifier. The temperature was brought to 60°C and the ingredients were allowed to melt for about 30 minutes. Water, sodium lauryl sulphate, Poloxamer® 407 were separately added into a 5-L dissolution tank and the mixture was heated to 70°C. After complete dissolution of the mixture, propylene glycol and sucrose monopalmitate were added and stirred for about 30 minutes at a temperature of 70°C. After achieving again complete dissolution, micronised aciclovir was added and suspended with stirring using an UltraTurrax® homogeniser, and a constant temperature was maintained. A 70 mmHg vacuum was created in the turboemulsifier and the turbine was started at 2800 rpm, stirring at 45 rpm. The homogeneous suspension made up of the aqueous phase at 65°C was slowly added to the stirred oily phase contained in the turboemulsifier, maintaining the temperature at 60°C, vacuum at 70 mmHg and stirring constant for 20 minutes. In the end cooling to ambient temperature was allowed for about 2 hours. The cream, with a homogeneous appearance, pH 7.1 and a viscosity of 12,000 cps, was filled into 5- or 10-gram tubes.

EXAMPLE 5

A sample of cream containing 5% aciclovir marketed by Glaxo-Wellcome with the name Zovirax® Cream and having the following per-cent w/w composition:

Aciclovir	5%
Cetostearyl alcohol	6.75%
Propylene glycol	40%
Sodium lauryl sulphate	0.75%
Poloxamer 407	1%
Mineral oil	5%
Stringy petrolatum	12.5%
Water	29.0%

was used a s a reference standard for permeation studies.

The cream described in Example 1 was compared with the above commercial cream Zovirax® using a percutaneous absorption apparatus (Crown Glass Company, New Jersey, USA) which uses continuous-flow Bronaugh cells to measure permeation through the skin of Guinea pigs (R. Bronaugh et al., Journal Pharmaceutical Sciences, 74, 64-67 (1985)).

The skin of Guinea pigs was mounted on Bronaugh cells having a surface of 0.3 sq.cm. to which an amount of cream equal to 200-250 mg was applied. A solution of phosphate buffer pH 7.4 was circulated for 48 hours and the various fractions were collected every 8 hours. The collected fractions were analysed by a reverse-phase HPLC method using a Waters-625 apparatus with a C18µ Bondapack column, injecting 20 µl, eluting with the mobile phase water:methanol:acetic-acid (840/160/1) at a rate of 1 ml/minute, determining absorption with a UV detector at 254 nm. The results of the permeation test are shown in Table 1 below:

TABLE 1

Formulation	Cumulative amount permeated in 48 hours
Cream Example 1	370.7 µg/sq.cm.
Zovirax® 5% Cream	274.8 µg/sq.cm.

It is obvious that the formulation in Example 1 could permeate through the skin layer in 48 hours an amount of aciclovir higher by at least 25% than the amount which was permeated by the commercial reference formulation Zovirax® 5% Cream. Based on this, the formulation which is an object of the invention allows improved drug permeation through the skin and induces improved drug absorption and, as a result, improved therapeutic efficacy.

CLAIMS

1. A pharmaceutical composition for the topical treatment of viral infections, comprising aciclovir, or any of its salts or esters, and a mixture of lipid ingredients in water, such composition containing from 0.1% to 40% w/w of a sucrose ester.

2. A pharmaceutical composition in accordance with claim 1, characterised by the fact that the mixture is an emulsion made up of a lipid phase, an aqueous phase, emulsifiers and emulsion-stabilising agents.

3. A pharmaceutical composition in accordance with claim 2, characterised by the fact that the ingredients of the lipid phase are chosen from a group made up of linear or branched mono- or dialkylesters of fatty acid esters, mixtures of cetyl and stearyl alcohol and high-molecular-weight lipids.

4. A pharmaceutical composition in accordance with claim 2, characterised by the fact that the ingredients of the aqueous phase include a total amount of glycerine and propylene glycol lower than 30% w/w.

5. A pharmaceutical composition in accordance with claim 2, characterised by the fact that the emulsifiers and emulsion-stabilising agents are chosen from a group made up of cetyl alcohol, sodium lauryl sulphate, stearyl alcohol, cetostearyl alcohol, polyoxyethylene alkylethers and polyoxy stearylethers.

6. A pharmaceutical composition in accordance with claim 1, characterised by the fact that the sucrose ester is a monoester of a fatty acid having an even number of carbon atoms.

7. A pharmaceutical composition in accordance with claim 6, characterised by the fact that the esterifying fatty acid is chosen from a group made up of myristic acid, oleic acid, palmitic acid and stearic acid.

8. A pharmaceutical composition in accordance with any preceding claim, comprising the following per-cent w/w ratios referred to the total weight of the composition: aciclovir, or any of its salts or any of its esters: from 0.1% to 10%; sucrose ester: from 0.1% to 40%; water in admixture with a phase of oily ingredients: from 20% to 40%.

9. A pharmaceutical composition in accordance with claim 1, comprising the following percent w/w ratios referred to the total weight of the composition:

aciclovir (5%), sucrose monopalmitate (15%), cetostearyl alcohol (6.75%), propylene glycol (20%), sodium lauryl sulphate (0.75%), Poloxamer ® 407 (1%), mineral oil (5%), stringy pertolatum (12.5%), water (34%).

10. A process for the preparation of the pharmaceutical composition described in claims 1-9, characterised by stirring: aciclovir or any of its salts or esters, a sucrose ester, the excipients making up the lipid phase and the excipients making up the aqueous phase in a turboemulsifier until a stable emulsion is obtained.

11. The use of a pharmaceutical composition in accordance with any preceding claim in preparing a medication useful in the treatment or prevention of viral infections caused by *Herpes zoster, Herpes varicella* and type-1 or 2 *Herpes simplex*.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int ional Application No
PCT/EP 99/04606

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 A61K31/52 A61K9/06 A61K9/107 A61K47/26

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)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 5 447 729 A (G.W.BELENDUIK ET AL.) 5 September 1995 (1995-09-05) claims 1,4-9,12,16 examples column 2, line 15 - line 43	1-11
Y	WO 95 26715 A (DUMEX) 12 October 1995 (1995-10-12) claims 1,6,9,14,20,26,46 page 5, line 11 - line 14 page 8, line 23 - line 24 page 10, line 1 - line 4 page 19, line 6	1-11
Y	WO 96 40144 A (PHARMAVENE) 19 December 1996 (1996-12-19) claims 1-9,14-22	1-11

-/--

[X] Further documents are listed in the continuation of box C.

[X] 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.

"&" 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 October 1999	26/10/1999

Name and mailing address of the ISA	Authorized officer
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	Scarponi, U

1

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. ional Application No
PCT/EP 99/04606

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication,where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 0 044 543 A (WELLCOME) 27 January 1982 (1982-01-27) cited in the application the whole document	1-11
A	WO 97 34607 A (GLAXO) 25 September 1997 (1997-09-25) cited in the application the whole document	1-11
A	WO 97 09978 A (M.WEIDNER) 20 March 1997 (1997-03-20) claims 1-5,30 page 6, line 6 - line 12 page 13, line 5 page 15, line 7 - line 11	1-11
A	WO 95 16434 A (LIDAK) 22 June 1995 (1995-06-22) the whole document	1-11
A	WO 94 20072 A (PHARMACIA) 15 September 1994 (1994-09-15) claims 1,7,8,25,31,32	1-11

1

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Int. ..ional Application No
PCT/EP 99/04606

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5447729 A	05-09-1995	AU 695053 B	06-08-1998
		AU 2276095 A	30-10-1995
		CA 2187202 A	19-10-1995
		EP 0754031 A	22-01-1997
		JP 9511744 T	25-11-1997
		WO 9527479 A	19-10-1995
WO 9526715 A	12-10-1995	AT 180971 T	15-06-1999
		AU 685262 B	15-01-1998
		AU 2255095 A	23-10-1995
		CA 2186750 A	12-10-1995
		DE 69510190 D	15-07-1999
		EP 0752855 A	15-01-1997
		FI 963867 A	27-11-1996
		JP 9510980 T	04-11-1997
		NO 964113 A	27-11-1996
WO 9640144 A	19-12-1996	US 5883103 A	16-03-1999
		AU 702377 B	18-02-1999
		AU 5968996 A	30-12-1996
		CA 2224230 A	19-12-1996
		EP 0840611 A	13-05-1998
		JP 11506759 T	15-06-1999
EP 44543 A	27-01-1982	GB 2080106 A,B	03-02-1982
		AR 225680 A	15-04-1982
		AT 381025 B	11-08-1986
		AT 318081 A	15-01-1986
		AU 547391 B	17-10-1985
		AU 7307381 A	21-01-1982
		BG 60450 B	28-04-1995
		CA 1172169 A	07-08-1984
		CS 229674 B	18-06-1984
		CY 1309 A	06-12-1985
		DD 203464 A	26-10-1983
		DK 321681 A,B,	19-01-1982
		ES 504046 A	01-04-1983
		FI 812257 A,B,	19-01-1982
		GR 75104 A	13-07-1984
		HK 95485 A	06-12-1985
		IE 51120 B	01-10-1986
		IL 63351 A	31-10-1983
		IT 1171399 B	10-06-1987
		JP 1048885 B	20-10-1989
		JP 1563405 C	12-06-1990
		JP 57042615 A	10-03-1982
		KE 3561 A	01-11-1985
		LT 2117 R	15-08-1993
		LV 5174 A	10-10-1993
		MC 1408 A	16-07-1982
		MY 38986 A	31-12-1986
		NZ 197744 A	10-05-1983
		PH 16308 A	05-09-1983
		PT 73391 A,B	01-08-1981
		RO 82678 A	23-05-1984
		SG 72085 G	02-05-1986
		SU 1375113 A	15-02-1988
		US 4963555 A	16-10-1990

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/EP 99/04606

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)		Publication date
EP 44543	A		ZA	8104925 A	23-02-1983
			ZW	17181 A	23-02-1983
WO 9734607	A	25-09-1997	AU	2036297 A	10-10-1997
WO 9709978	A	20-03-1997	AU	6869996 A	01-04-1997
WO 9516434	A	22-06-1995	AU	693476 B	02-07-1998
			AU	7719294 A	03-07-1995
			CA	2156063 A	22-06-1995
			CN	1142764 A	12-02-1997
			EP	0738141 A	23-10-1996
			JP	9506612 T	30-06-1997
			SG	43833 A	14-11-1997
			US	5534554 A	09-07-1996
WO 9420072	A	15-09-1994	CA	2091152 A	06-09-1994
			AU	676279 B	06-03-1997
			AU	6225394 A	26-09-1994
			EP	0687172 A	20-12-1995
			FI	954143 A	19-10-1995
			JP	8507515 T	13-08-1996
			NO	953461 A	06-11-1995
			NZ	262541 A	24-04-1997
			US	5785976 A	28-07-1994
			US	5885486 A	23-03-1999

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
14 December 2000 (14.12.2000)

PCT

(10) International Publication Number
WO 00/74681 A1

(51) International Patent Classification[7]: A61K 31/451, 31/4523, C07D 401/10, A61K 31/453, C07D 405/14, 401/14, 211/22, 405/12, 211/26, 417/10, A61P 9/00

(21) International Application Number: PCT/IB00/00667

(22) International Filing Date: 18 May 2000 (18.05.2000)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
9912961.1 3 June 1999 (03.06.1999) GB

(71) Applicant *(for GB only)*: **PFIZER LIMITED** [GB/GB]; Ramsgate Road, Sandwich, Kent CT13 9NJ (GB).

(71) Applicant *(for all designated States except GB, US)*: **PFIZER INC.** [US/US]; 235 East 42nd Street, New York, NY 10017 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants *(for US only)*: **DACK, Kevin, Neil** [GB/GB]; Pfizer Central Research, Ramsgate Road, Sandwich, Kent CT13 9NJ (GB). **FRAY, Michael, Jonathan** [GB/GB]; Pfizer Central Research, Ramsgate Road, Sandwich, Kent CT13 9NJ (GB). **WHITLOCK, Gavin, Alistair** [GB/GB]; Pfizer Central Research, Ramsgate Road, Sandwich, Kent CT13 9NJ (GB). **LEWIS, Mark, Llewellyn** [GB/GB]; Pfizer Central Research, Ramsgate Road, Sandwich, Kent CT13 9NJ (GB). **THOMSON, Nicholas, Murray** [GB/GB]; Pfizer Central Research, Ramsgate Road, Sandwich, Kent CT13 9NJ (GB).

(74) Agents: **SPIEGEL, Allen, J.**; c/o Simpson, Alison, Urquhart-Dykes & Lord, 30 Welbeck Street, London W1M 7PG et al. (GB).

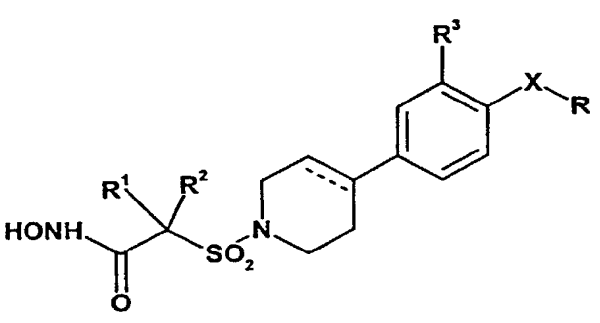
(81) Designated States *(national)*: AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Designated States *(regional)*: ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:
— *With international search report.*

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: METALLOPROTEASE INHIBITORS



(I)

(57) Abstract: Compounds of formula (I) and pharmaceutically-acceptable derivatives thereof, are matrix metalloprotease inhibitors, useful in treatment of conditions mediated by matrix metalloproteases, such as chronic dermal ulcers.

WO 00/74681 A1

METALLOPROTEASE INHIBITORS

This invention relates to a series of substituted α-aminosulphonyl-acetohydroxamic acids which are inhibitors of zinc-dependent metalloprotease enzymes. In particular, the compounds are inhibitors of certain members of the matrix metalloprotease (MMP) family.

Matrix metalloproteases (MMPs) constitute a family of structurally similar zinc-containing metalloproteases, which are involved in the remodelling and degradation of extracellular matrix proteins, both as part of normal physiological processes and in pathological conditions. Since they have high destructive potential, MMPs are usually under close regulation and failure to maintain MMP regulation has been implicated as a component of a number of diseases and conditions including pathological conditions, such as atherosclerotic plaque rupture, heart failure, restenosis, periodontal disease, tissue ulceration, cancer metastasis, tumour angiogenesis, age-related macular degeneration, fibrotic disease, rheumatoid arthritis, osteoarthritis and inflammatory diseases dependent on migratory inflammatory cells.

Another important function of certain MMPs is to activate various enzymes, including other MMPs, by cleaving the pro-domains from their protease domains. Thus some MMPs act to regulate the activities of other MMPs, so that over-production of one MMP may lead to excessive proteolysis of extracellular matrix by another. Moreover, MMPs have different substrate preferences (shown in the following Table for selected family members) and different functions within normal and pathological conditions. For recent reviews of MMPs, see Current Pharmaceutical Design, 1996, 2, 624 and Exp. Opin. Ther. Patents, 1996, 6, 1305.

TABLE

Enzyme	Other Names	Preferred Substrates
MMP-1	collagenase-1; interstitial collagenase	collagens I, II, III, VII, X; gelatins
MMP-2	gelatinase A; 72kDa gelatinase	gelatins; collagens IV, V, VII, X; elastin; fibronectin; activates pro-MMP-13
MMP-3	stromelysin-1	proteoglycans; laminin; fibronectin; gelatins
MMP-8	collagenase-2; neutrophil collagenase	collagens I, II, III
MMP-9	gelatinase B; 92kDa gelatinase	gelatins; collagens IV, V; elastin
MMP-13	collagenase-3	collagens I, II, III; gelatins
MMP-14	MT-MMP-1	activates pro-MMP-2 & 13; gelatins

Excessive production of MMP-3 is thought to be responsible for pathological tissue breakdown which underlies a number of diseases and conditions. For example, MMP-3 has been found in the synovium

and cartilage of osteoarthritis and rheumatoid arthritis patients, thus implicating MMP-3 in the joint damage caused by these diseases: see Biochemistry, 1989, 28, 8691 and Biochem. J., 1989, 258, 115. MMP-13 is also thought to play an important role in the pathology of osteoarthritis and rheumatoid arthritis: see Lab. Invest., 1997, 76, 717 and Arthritis Rheum., 1997, 40, 1391.

The over-expression of MMP-3 has also been implicated in the tissue damage and chronicity of chronic wounds, such as venous ulcers, diabetic ulcers and pressure sores: see Brit. J. Dermatology, 1996, 135, 52. Collagenase-3 (MMP-13) has also recently been implicated in the pathology of chronic wounds (*J Invest Dermatol*, 1997, *109*, 96-101).

Furthermore, the production of MMP-3 may also cause tissue damage in conditions where there is ulceration of the colon (as in ulcerative colitis and Crohn's disease: see J. Immunol., 1997 158, 1582 and J. Clin. Pathol., 1994, 47, 113) or of the duodenum (see Am. J. Pathol., 1996, 148, 519).

Moreover, MMP-3 is also thought to be involved in skin diseases such as dystrophic epidermolysis bullosa (see Arch. Dermatol. Res., 1995, 287, 428) and dermatitis herpetiformis (see J. Invest. Dermatology, 1995, 105, 184).

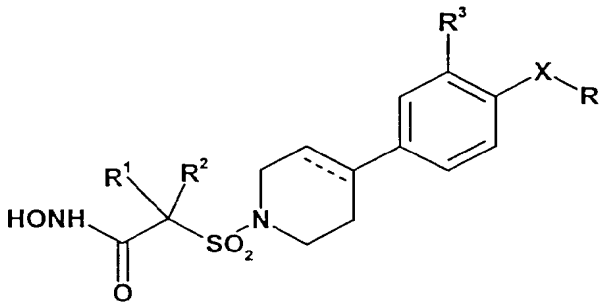
Rupture of atherosclerotic plaques by MMP-3 has also been described (see e.g. Circulation, 1997, 96, 396). Thus, MMP-3 inhibitors may find utility in the treatment of conditions caused by or complicated by embolic phenomena such as cardiac or cerebral infarctions.

Studies of human cancers have shown that MMP-2 is activated on the invasive tumour cell surface (see J. Biol.Chem., 1993, 268, 14033) and BB-94, a non-selective peptidic hydroxamate MMP inhibitor, has been reported to decrease the tumour burden and prolong the survival of mice carrying human ovarian carcinoma xenografts (see Cancer Res., 1993, 53, 2087).
Various series of MMP inhibitors have appeared in the literature which have a carbonyl moiety (CO) and a sulphone moiety (SO_2) with a two atom "spacer" interposed between them. For example, α-arylsulphonamido-substituted acetohydroxamic acids are disclosed in EP-A-0606046, WO-A-9627583 and WO-A-9719068, whilst EP-A-0780386 discloses certain related sulphone-substituted hydroxamic acids.

The compounds of the present invention represent a new class of compounds, and are inhibitors of some of the members of the MMP family. In particular, they are inhibitors of MMP-3 and/or MMP-13, with certain compounds exhibiting varying degrees of selectivity over other MMPs, such as MMP-1, MMP-2, MMP-9 and MMP-14. Thus they may be of utility in treating diseases and conditions mediated by MMPs, in particular MMP-3 and/or MMP-13.

A series of substances related to the instant invention were disclosed in International Patent Application number publication no. WO 99/29667, herein incorporated by reference in its entirety.

According to one aspect of the present invention ("A"), there is provided a compound of formula (I):



(I)

and pharmaceutically-acceptable salts thereof, and solvates thereof,

wherein

the dotted line represents an optional bond,

X is a monocyclic aromatic linker moiety selected from phenylene, pyridinylene, pyrazolylene, thiazolylene, thienylene, furylene, pyrimidinylene, pyrazinylene, pyridazinylene, pyrrolylene, oxazolylene, isoxazolylene, oxadiazolylene, thiadiazolylene, imidazolylene, triazolylene, or tetrazolylene;

R is H, C_{1-4} alkyl optionally substituted by C_{1-4} alkoxy, NR^4R^5 or OH, or R is C_{1-4} alkoxy optionally substituted by 1 or 2 substituents selected from (C_{1-4} alkyl optionally substituted by OH), C_{1-4} alkoxy, OH and NR^4R^5;

R^1 and R^2 are each independently H, C_{1-6} alkyl optionally substituted by OH or C_{1-4} alkoxy, or C_{2-6} alkenyl;

or R^1 and R^2 are taken together, with the C atom to which they are attached, to form a 3- to 7-membered ring optionally incorporating a hetero- moiety selected from O, S, SO, SO_2 and NR^6, and which 3- to 7-membered ring is optionally substituted by one or more OH;

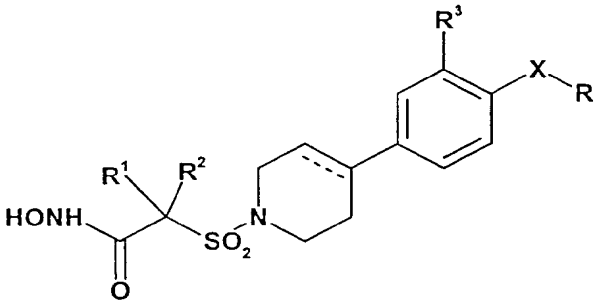
R^3 is H, halo, methyl, or methoxy;

R^4 and R^5 are each independently H or C_1 to C_6 alkyl optionally substituted by OH, C_1 to C_4 alkoxy or aryl,

or R^4 and R^5 can be taken together with the N atom to which they are attached , to form a 3- to 7-membered ring, optionally incorporating a further hetero- moiety selected from O, S, SO_2 and NR^7; and

R^6 and R^7 are each independently H or C_1 to C_4 alkyl.

According to a further aspect of the invention ("B"), there is provided a compound of formula (I):



(I)

and pharmaceutically-acceptable salts thereof, and solvates thereof,

wherein

the dotted line represents an optional bond;

X is a monocyclic aromatic linker moiety selected from pyrazolylene, thiazolylene, pyrazinylene, pyridazinylene, pyrrolylene, oxazolylene, isoxazolylene, oxadiazolylene, thiadiazolylene, imidazolylene, triazolylene, or tetrazolylene;

R is H, C_{1-4} alkyl optionally substituted by C_{1-4} alkoxy or NR^4R^5 or OH, or

C_{1-4} alkoxy optionally substituted by 1 or 2 substituents selected from (C_{1-4} alkyl optionally substituted by OH), C_{1-4} alkoxy, OH and NR^4R^5;

R^1 and R^2 are each independently H, C_{1-6} alkyl optionally substituted by OH or C_{1-4} alkoxy, or C_{2-6} alkenyl;

or R^1 and R^2 are taken, together with the C atom to which they are attached, to form a 3- to 7-membered ring optionally incorporating a hetero- moiety selected from O, S, SO, SO_2 and NR^6, and which 3- to 7-membered ring is optionally substituted by one or more OH;

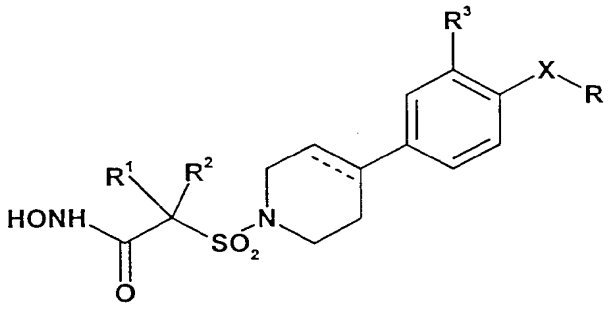
R^3 is H, halo, methyl, or methoxy;

R^4 and R^5 are each independently H or C_1 to C_6 alkyl optionally substituted by OH, C_1 to C_4 alkoxy or aryl,

or R^4 and R^5 can be taken together with the N atom to which they are attached , to form a 3- to 7-membered ring, optionally incorporating a further hetero- moiety selected from O, S, SO_2 and NR^7; and

R^6 and R^7 are each independently H or C_1 to C_4 alkyl.

According to a further aspect of the invention ("C") there is provided a compound of formula (I):



(I)

and pharmaceutically-acceptable salts thereof, and solvates thereof,

wherein

the dotted line represents an optional bond;

X is a monocyclic aromatic linker moiety selected from phenylene, pyridinylene, pyrazolylene, thiazolylene, thienylene, furylene, pyrimidinylene, pyrazinylene, pyridazinylene, pyrrolylene, oxazolylene, isoxazolylene, oxadiazolylene, thiadiazolylene, imidazolylene, triazolylene, or tetrazolylene;

R is C_{1-4} alkyl substituted by NR^4R^5, C_{1-4} alkoxy substituted by NR^4R^5, or C_{1-4} alkoxy substituted by 2 substituents selected from (C_{1-4} alkyl optionally substituted by OH), C_{1-4} alkoxy, OH and NR^4R^5;

R^1 and R^2 are each independently H, C_{1-6} alkyl optionally substituted by OH or C_{1-4} alkoxy, or C_{2-6} alkenyl;

or R^1 and R^2 are taken together, with the C atom to which they are attached, to form a 3- to 7-membered ring optionally incorporating a hetero- moiety selected from O, S, SO, SO_2 and NR^6, and which 3- to 7-membered ring is optionally substituted by one or more OH;

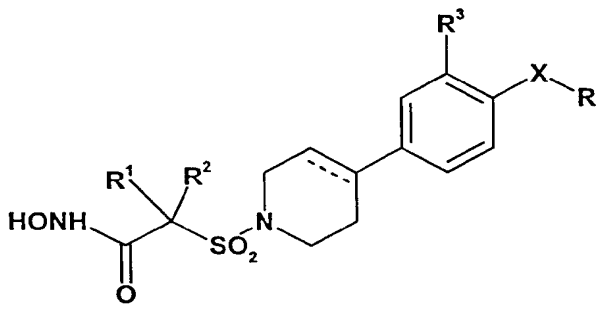
R^3 is H, halo, methyl, or methoxy;

R^4 and R^5 are each independently H or C_1 to C_6 alkyl optionally substituted by OH, C_1 to C_4 alkoxy or aryl,

or R^4 and R^5 can be taken together with the N atom to which they are attached , to form a 3- to 7-membered ring, optionally incorporating a further hetero- moiety selected from O, S, SO_2 and NR^7; and

R^6 and R^7 are each independently H or C_1 to C_4 alkyl.

According to a further aspect of the invention ("D") there is provided a compound of formula (I):



(I)

and pharmaceutically-acceptable salts thereof, and solvates thereof,

wherein

the dotted line represents an optional bond,

X is a monocyclic aromatic linker moiety selected from phenylene, pyridinylene, pyrazolylene, thiazolylene, thienylene, furylene, pyrimidinylene, pyrazinylene, pyridazinylene, pyrrolylene, oxazolylene, isoxazolylene, oxadiazolylene, thiadiazolylene, imidazolylene, triazolylene, or tetrazolylene;

R is H, C_{1-4} alkyl optionally substituted by C_{1-4} alkoxy, NR^4R^5 or OH, or

C_{1-4} alkoxy optionally substituted by 1 or 2 substituents selected from (C_{1-4} alkyl optionally substituted by OH), C_{1-4} alkoxy, OH and NR^4R^5;

R^1 and R^2 are each independently C_{1-6} alkyl substituted by OH;

or R^1 and R^2 are taken together, with the C atom to which they are attached, to form a 3- to 7-membered ring optionally incorporating a hetero- moiety selected from O, S, SO, SO_2 and NR^6, and which 3- to 7-membered ring is substituted by one or more OH;

R^3 is H, halo, methyl, or methoxy;

R^4 and R^5 are each independently H or C_1 to C_6 alkyl optionally substituted by OH, C_1 to C_4 alkoxy or aryl,

or R^4 and R^5 can be taken together with the N atom to which they are attached , to form a 3- to 7-membered ring, optionally incorporating a further hetero- moiety selected from O, S, SO_2 and NR^7; and

R^6 and R^7 are each independently H or C_1 to C_4 alkyl.

In all the above definitions A, B, C and D, unless otherwise indicated, alkyl, alkenyl, alkoxy, etc. groups having three or more carbon atoms may be straight chain or branched chain.

All the compounds of formula (I) in aspects A, B, C and D above may contain one or more chiral centres and therefore can exist as stereoisomers, i.e. as enantiomers or diastereoisomers, as well as mixtures thereof. The invention includes both the individual stereoisomers of the compounds of formula (I) and any mixture thereof. Separation of diastereoisomers may be achieved by conventional techniques, e.g. by fractional crystallisation or chromatography (including HPLC) of a diastereoisomeric mixture of a compound of formula (I) or a suitable salt or derivative thereof. An individual enantiomer of a compound of formula (I) may be prepared from a corresponding optically pure intermediate or by resolution, either by HPLC of the racemate using a suitable chiral support or, where appropriate, by fractional crystallisation of the diastereoisomeric salts formed by reaction of the racemate with a suitable optically active base or acid, as appropriate to the specific compound to be resolved. Furthermore, compound of formula (I) which contain alkenyl groups can exist as cis- or trans- geometric isomers. Again, the invention includes both the separated individual geometric isomers as well as mixtures thereof. Certain of the compounds of formula (I) may be tautomeric and all possible tautomers are included in the scope of this invention. Certain of the compounds of formula (I) may exhibit zwitterionic behaviour and all possible zwitterions are included in the scope of this invention. Also included in the invention are radiolabelled derivatives of compounds of formula (I) which are suitable for biological studies.

The pharmaceutically acceptable salts of all the compounds of the formula (I) include the acid addition and the base salts thereof. The term "pharmaceutically acceptable" means suitable for use in human or non-human animal medicine.

Suitable acid addition salts are formed from acids which form non-toxic salts and examples include the hydrochloride, hydrobromide, hydroiodide, sulphate, hydrogen sulphate, nitrate, phosphate, hydrogen phosphate, acetate, maleate, fumarate, lactate, tartrate, citrate, gluconate, succinate, benzoate, methanesulphonate, benzenesulphonate and p-toluenesulphonate salts.

Suitable base salts are formed from bases which form non-toxic salts and examples include the aluminium, calcium, lithium, magnesium, potassium, sodium, zinc, tris, meglumine, choline, olamine, diolamine, ethylenediamine, benethamine, benzathene, glucosamine, nicotinamide, ornithine, guanidine, guanine, arginine and procaine salts.

For a review on suitable salts see for example Berge et al, J. Pharm. Sci., 66, 1-19 (1977).

Solvates (e.g. hydrates) of the compounds and salts of aspects A, B, C and D of the invention are included in the invention. In some cases, the solvate may be the direct product of a reaction to make a compound or salt of the invention in a solvent, in which case no further transformation step would be necessary. In other cases, solvates may be made by methods known in the art, such as by crystallisation from a solvent.

Prodrugs of the compounds of aspects A, B, C and D of the invention, their pharmaceutically acceptable salts and solvates thereof, are also envisaged by the invention. For reference as to how to prepare prodrugs, see standard texts in this field, for example "Design of Prodrugs" ed. H.Bundgaard (1985, Elsevier, Amsterdam / New York / Oxford).

For aspects C and D of the invention, X is preferably phenylene, pyridinylene, pyrazolylene or thiazolylene.
For aspects C and D of the invention, X is more preferably 1,3-phenylene, 2,6-pyridinylene, 1,3-pyrazolylene or 2,5-thiazolylene.

For aspect B of the invention X is preferably pyrazolylene or thiazolylene.
For aspect B of the invention X is more preferably 1,3-pyrazolylene or 2,5-thiazolylene.

For aspects B and D of the invention R is preferably H, methoxy, $O(CH_2)_2OH$, $O(CH_2)_2OCH_3$, $O(CH_2)_2N(CH_3)_2$, $O(CH_2)_2NHCH_3$, $O(CH_2)_2NH_2$, CH_2NHCH_3, morpholinomethyl, 2-morpholinoethoxy, 2R-2,3-dihydroxy-1-propyloxy, 2S-2,3-dihydroxy-1-propyloxy or 1,3-dihydroxy-2-propyloxy.
For aspects B and D of the invention R is most preferably $O(CH_2)_2OH$ or $O(CH_2)_2NH_2$.

For aspect C of the invention R is preferably $O(CH_2)_2N(CH_3)_2$, $O(CH_2)_2NHCH_3$, $O(CH_2)_2NH_2$, CH_2NHCH_3, morpholinomethyl, 2-morpholinoethoxy, 2R-2,3-dihydroxy-1-propyloxy, 2S-2,3-dihydroxy-1-propyloxy or 1,3-dihydroxy-2-propyloxy.
For aspect C of the invention R is most preferably $O(CH_2)_2NH_2$.

For aspects B and C of the invention preferably R^1 and R^2 are each independently C_{1-6} alkyl optionally substituted by OH,
or R^1 and R^2 are taken together, with the C atom to which they are attached, to form a 3- to 7-membered ring optionally incorporating a hetero- moiety selected from O, S, SO, SO_2 and NR^6, and which 3- to 7-membered ring is optionally substituted by one or more OH.
For aspects B and C of the invention more preferably R^1 and R^2 are each CH_3,
or R^1 and R^2 are taken together, with the C atom to which they are attached, to form a tetrahydropyran-4-ylidene, piperidin-4-ylidene, 1-methylpiperidin-4-ylidene, or 3,4-dihydroxycyclopentylidene moiety.
For aspects B and C of the invention, yet more preferably R^1 and R^2 are taken together, with the C atom to which they are attached, to form a tetrahydropyran-4-ylidene, *cis*-3,4-dihydroxycyclopentylidene, *trans*-3,4-dihydroxycyclopentylidene or piperidin-4-ylidene moiety.
For aspects B and C of the invention, most preferably R^1 and R^2 are taken together, with the C atom to which they are attached, to form a tetrahydropyran-4-ylidene, piperidin-4-ylidene, or *cis*-3,4-dihydroxycyclopentylidene where the hydroxy substituents have a *cis*-relationship to the hydroxamate moiety.

For aspect D of the invention, R^1 and R^2 are preferably taken together, with the C atom to which they are attached, to form a 3,4-dihydroxycyclopentylidene moiety.
For aspect D of the invention, most preferably R^1 and R^2 are taken together, with the C atom to which they are attached, to form a *cis*-3,4-dihydroxycyclopentylidene group where the hydroxy substituents have a *cis*-relationship to the hydroxamate moiety.

For aspects A, B, C and D of the invention R^3 is preferably methyl.

A preferred group of substances are those selected from the compounds of the Examples and the pharmaceutically acceptable salts and solvates thereof, especially the compounds of Examples 3, 6 and 14 below, and salts and solvates thereof.

The invention further provides synthetic methods for the production of compounds, salts and solvates of the invention, which are described below and in the Examples. The skilled man will appreciate that the compounds and salts of the invention could be made by methods other than those herein described, by adaptation of the methods herein described and/or adaptation of methods known in the art, for example the art described herein. Specific art which may be mentioned includes WO 99/29667, "Comprehensive Organic Transformations" by RC Larock, VCH Publishers Inc. (1989), "Advanced Organic Chemistry" by J March, Wiley Interscience (1985), "Designing Organic Synthesis" by S Warren, Wiley Interscience (1978),

"Organic Synthesis - The Disconnection Approach" by S Warren, Wiley Interscience (1982), "Guidebook to Organic Synthesis" by RK Mackie and DM Smith, Longman (1982), "Protective Groups in Organic Synthesis" by TW Greene and PGM Wuts, John Wiley and Sons Inc. (1999), and PJ Kocienski, in "Protecting Groups", Georg Thieme Verlag (1994), references therein, and any updated versions of the aforementioned standard works.

Where desired or necessary, the compound of formula (I) can be converted into a pharmaceutically acceptable salt thereof, conveniently by mixing together solutions of a compound of formula (I) and the desired acid or base, as appropriate. The salt may be precipitated from solution and collected by filtration, or may be collected by other means such as by evaporation of the solvent. In some cases, the salt may be the direct product of a reaction to make a compound or salt of the invention in a solvent, in which case no further transformation step would be necessary.

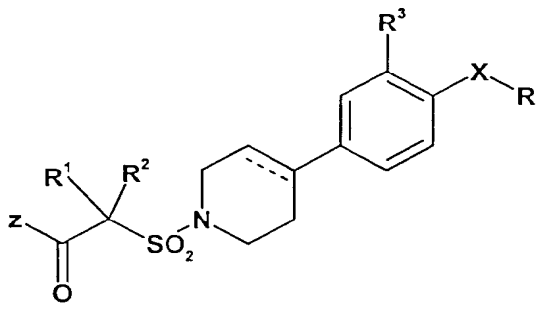
It is to be understood that the synthetic transformation methods mentioned herein may be carried out in various different sequences in order that the desired compounds can be efficiently assembled. The skilled chemist will exercise his judgement and skill as to the most efficient sequence of reactions for synthesis of a given target compound.

It will be apparent to those skilled in the art that sensitive functional groups may need to be protected and deprotected during synthesis of a compound of the invention. This may be achieved by conventional methods, for example as described in "Protective Groups in Organic Synthesis" by TW Greene and PGM Wuts, John Wiley & Sons Inc (1999).

The following methods are illustrative of the general synthetic procedures which may be adopted in order to obtain the compounds of the invention.

In the synthetic methods below, unless otherwise specified, the substituents are as defined above with reference to the compounds of formula (I) as defined above with respect to aspects A, B, C and D.

A compound of formula (I) may be prepared directly from a corresponding acid or acid derivative of formula (II):



(II)

where Z is chloro, bromo, iodo, C_{1-3} alkyloxy or HO.

When prepared directly from the ester of formula (II), where Z is C_{1-3} alkyloxy, the reaction may be carried out by treatment of the ester with hydroxylamine, preferably up to a 3-fold excess of hydroxylamine, in a suitable solvent at from about room temperature to about 85°C. The hydroxylamine is conveniently generated in situ from a suitable salt such as its hydrochloride salt by conducting the reaction in the presence of a suitable base such as an alkali metal carbonate or bicarbonate, e.g. potassium carbonate. Preferably the solvent is a mixture of methanol and tetrahydrofuran and the reaction is temperature is from about 65 to 70°C.

Alternatively, the ester (II, where Z is C_{1-3} alkyloxy) may be converted by conventional hydrolysis to the corresponding carboxylic acid (II, Z is HO) which is then transformed to the required hydroxamic acid of formula (I). [If the R, R^1 or R^2 moieties contain any free hydroxyl groups, these should be protected with groups inert to this functional group interconversion reaction sequence, and released following it, using standard methodology.]

Preferably the hydrolysis of the ester is effected under basic conditions using about 2- to 6-fold excess of an alkali metal hydroxide in aqueous solution, optionally in the presence of a co-solvent, at from about room temperature to about 85°C. Typically the co-solvent is a mixture of methanol and tetrahydrofuran or a mixture of methanol and 1,4-dioxan and the reaction temperature is from about 40 to about 70°C.

The subsequent coupling step may be achieved using conventional amide-bond forming techniques, e.g. via the acyl halide derivative (II, Z is Cl, I or Br) and hydroxylamine hydrochloride in the presence of an excess of a tertiary amine such as triethylamine or pyridine to act as acid-scavenger, optionally in the presence of a catalyst such as 4-dimethylaminopyridine, in a suitable solvent such as dichloromethane, at from about 0°C to about room temperature. For convenience, pyridine may also be used as the solvent. Such acyl halide substrates are available from the corresponding acid via conventional methods.

In particular, any one of a host of amino acid coupling variations may be used. For example, the acid of formula (II) wherein Z is HO may be activated using a carbodiimide such as 1,3-dicyclohexylcarbodiimide or 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride (often

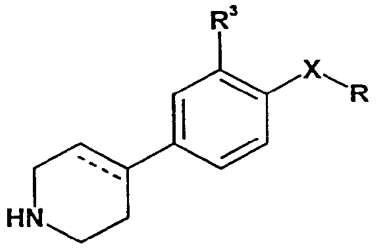
referred to as "water-soluble carbodiimide" or "WSCDI") optionally in the presence of 1-hydroxybenzotriazole or 1-hydroxy-7-aza-1H-1,2,3-benzotriazole (HOAt) and/or a catalyst such as 4-dimethylaminopyridine, or by using HOAt or a halotrisaminophosphonium salt such as bromotris(pyrrolidino)-phosphonium hexafluorophosphate. Either type of coupling is conducted in a suitable solvent such as dichloromethane, N-methylpyrrolidine (NMP)or dimethylformamide (DMF), optionally in the presence of pyridine or a tertiary amine such as N-methylmorpholine or N-ethyldiisopropylamine (for example when either the hydroxylamine or the activating reagent is presented in the form of an acid addition salt), at from about 0°C to about room temperature. Typically, from 1.1 to 2.0 molecular equivalents of the activating reagent and from 1.0 to 4.0 molecular equivalents of any tertiary amine present are employed.

Preferred reagents for mediating the coupling reaction are HOAt, WSCDI and O-(7-azabenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium hexafluorophosphate (HATU).

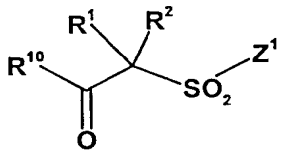
Preferably a solution of the acid (II, Z is HO) and N-ethyldiisopropylamine in a suitable solvent such as anhydrous dimethylformamide or anhydrous 1-methylpyrrolidin-2-one, under nitrogen, is treated with up to a 1.5-fold excess of HATU at about room temperature followed, after about 15 to 30 minutes, with up to about a 3-fold excess of hydroxylamine hydrochloride and up to about a 4-fold excess of N-ethyldiisopropylamine, optionally in the same solvent, at the same temperature.

More preferably the acid (II, Z is HO) is reacted with a carbodiimide, HOBt and hydroxylamine hydrochloride in pyridine in a suitable co-solvent such as dichloromethane.

An ester of formula (II, Z is C_{1-3} alkyloxy) may be prepared from an appropriate amine of formula (III) by sulphonylation with an appropriate compound of formula (IV), wherein R^{10} is C_{1-3} alkyloxy and Z^1 is a leaving group such as Br, I or Cl.



(III)



(IV)

Preferably, Z^1 is chloro.

The reaction may be effected in the presence of an appropriate base in a suitable solvent at from about 0°C to about room temperature. For example, when both R^1 and R^2 are hydrogen, an appropriate base is

1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene and a suitable solvent is dichloromethane. Alternatively, the base can be sodium imidazolide. An alternative method is to make a N-trialkylsilyl dervative of (III), and mix with (IV) at room temperature in tetrahydrofuran (THF) in the presence of a catalytic amount of benzenesulphonic acid (BSA).

Certain esters of formula (II, Z is C_{1-3} alkyloxy) wherein at least one of R^1 and R^2 is other than hydrogen may be conveniently obtained from the α-carbanion of an ester of formula (II) wherein at least one of R^1 and R^2 is hydrogen by conventional C-alkylation procedures using an alkylating agent of formula (VA) or (VB):

$$R^1Z^1 \text{ or } R^2Z^1 \text{ (VA)}$$

$$Z^2(CH_2)_qZ^3 \text{ (VB)},$$

where the $(CH_2)_q$ moiety of (VB) optionally incorporates a hetero- moiety selected from O, S, SO, SO_2 and NR^6, and is optionally substituted by one or more optionally protected OH, and which NR^6 group may be optionally protected, wherein R^1 and R^2 are not hydrogen, Z^2 and Z^3 may be the same or different and are suitable leaving groups such as chloro, bromo, iodo, C_1-C_4 alkanesulphonyloxy, trifluoromethanesulphonyloxy or arylsulphonyloxy (e.g. benzenesulphonyloxy or p-toluenesulphonyloxy), and q is 3, 4, 5, 6 or 7. Other conditions are outlined below - sections vii) and x).

Preferably, Z^2 and Z^3 are selected from bromo, iodo and p-toluenesulphonyloxy.

The carbanion may be generated using an appropriate base in a suitable solvent, optionally in the presence of a phase transfer catalyst (PTC). Typical base-solvent combinations may be selected from lithium, sodium or potassium hydride, lithium, sodium or potassium bis(trimethylsilyl)amide, lithium diisopropylamide and butyllithium, potassium carbonate, sodium or potassium t-butoxide, together with toluene, ether, DMSO, 1,2-dimethoxyethane, tetrahydrofuran, 1,4-dioxan, dimethylformamide, N,N-dimethylacetamide, 1-methylpyrrolidin-2-one and any mixture thereof.

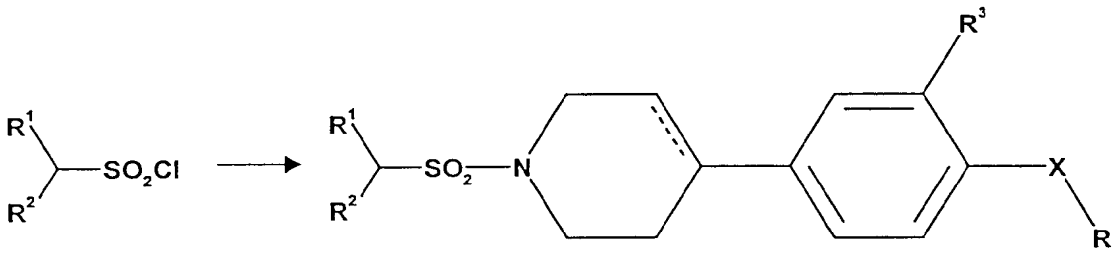
Preferably the base is sodium hydride and the solvent is dimethylformamide, optionally with tetrahydrofuran as co-solvent, or 1-methylpyrrolidin-2-one. For monoalkylation up to about a 10% excess of base is employed whilst, for dialkylation, from about 2 to about 3 molar equivalents are generally appropriate.

Typically, the carbanion is generated at about room temperature, under nitrogen, and subsequently treated with the required alkylating agent at the same temperature.
Clearly, when dialkylation is required and R^1 and R^2 are different, the substituents may be introduced in tandem in a "one-pot reaction" or in separate steps.

An amine of formula (III) may be obtained by standard chemical procedures.

Other amines of formula (III), when neither commercially available nor subsequently described, can be obtained either by analogy with the processes described in the Preparations section below or by conventional synthetic procedures, in accordance with standard textbooks on organic chemistry or literature precedent, from readily accessible starting materials using appropriate reagents and reaction conditions.

Another way of making compounds of formula (II) where ZCO is an ester moiety, is via the reaction sequence



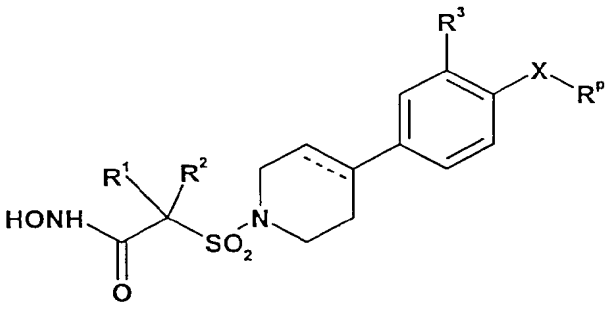
(V) (VI)

The appropriate sulphonyl chloride (V) is reacted with compound (III - see above) optionally in the presence of a base and in a suitable solvent. The resulting sulphonamide (VI) is reacted with a suitable base such as n-butyllithium, sodium hydride or potassium t-butoxide in a suitable anhydrous non-protic solvent to generate the carbanion α to the sulphonamide moiety, which is then reacted with for example dimethyl carbonate or methyl chloroformate, in suitable conditions, either of which reagent would give the compound (II) where Z is methoxy.

Compounds of formula (I) where R contains a free NH, NH_2 and/or OH group (apart from on the hydroxamic acid moiety) may conveniently be prepared from a corresponding N- or O-protected species (VII below). As such, compounds of formula (VII) where R^p is a O- and/or N-protected version of a corresponding compound of the formula (I), are included in the scope of this invention, with regard to aspects A, B, C and D of the invention and the specific compounds of formula (I) mentioned herein, such as those mentioned in the Preparations, as appropriate, below. Suitable protection / deprotection regimes are well known in the art, such as those mentioned in "Protective Groups in Organic Synthesis" by TW Greene and PGM Wuts, John Wiley & Sons Inc (1999).

Suitable OH-protecting groups and regimes include the ethers such as t-butyloxy, tri(C_{1-4})silyloxy, etc., and esters such as carbonates, sulphonates, C_{1-4} acylates, etc. mentioned by Greene and Wuts, *ibid.* chapter 2. Suitable NH-protecting groups and regimes can be found in Greene and Wuts, *ibid.* chapter 7, and include amides such as "Boc", amines such as benzyl, etc.

Compounds of formula (VII) may be made by methods described herein and /or by variation of methods described herein which the skilled man will appreciate are routine variations.



(VII)

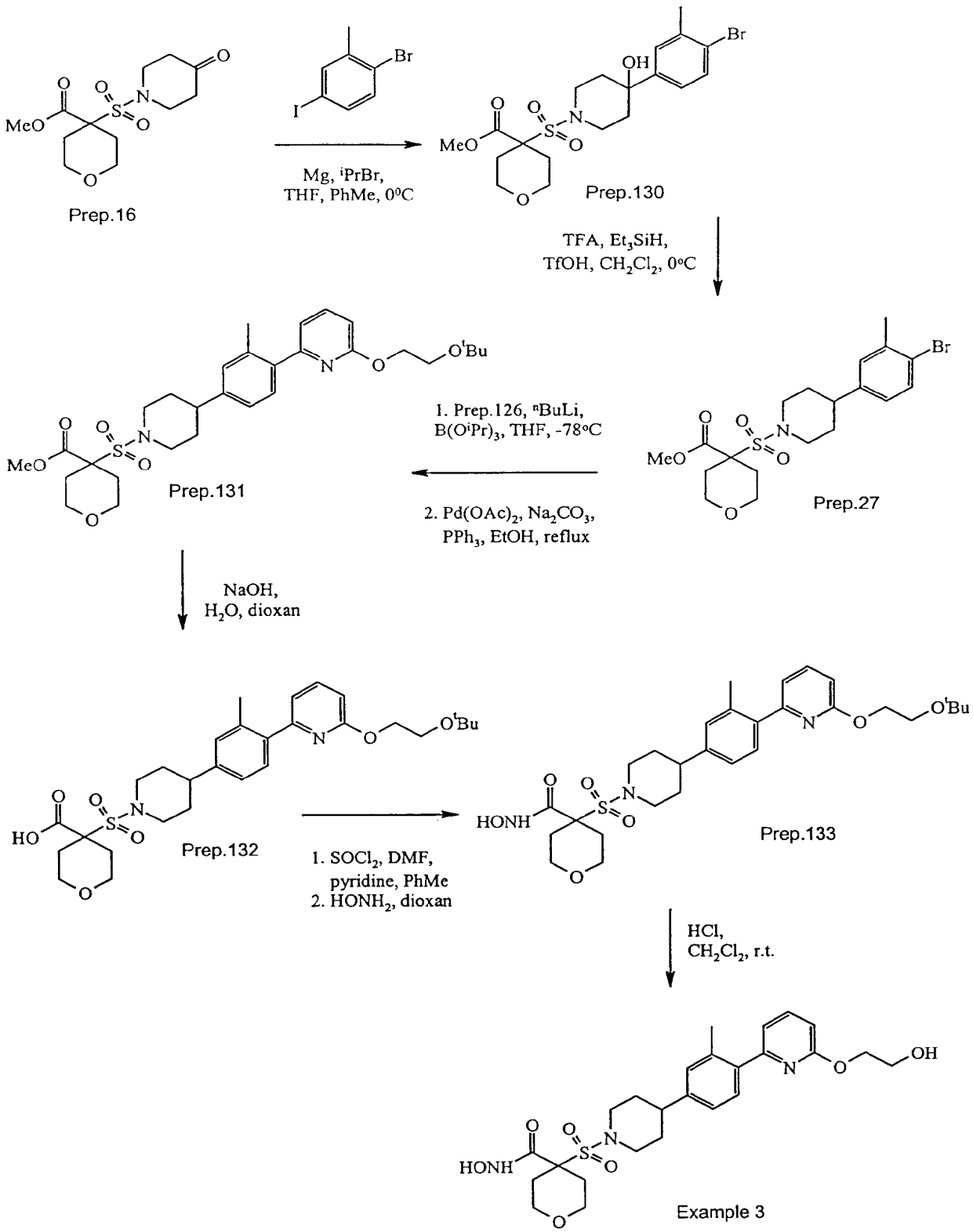
An example of a suitable OH-protecting group is the trimethylsilyl (TMS) group and the protection, reaction, deprotection sequence can be summarised by steps a) to c) below:

a) $ClSiMe_3$ (1.1 equiv per OH), WSCDI (1.1 to 1.2 equiv), HOBT or HOAT (1 to 1.1 equiv),

b) $NH_2OH.HCl$ (3 equiv) in DMF/pyridine or CH_2Cl_2/pyridine (3/1 to 1/1) at rt for between 4 and 20 hours.

c) TMS group removed by acid work-up.

Another example of a suitable OH-protecting group is the t-butyl ('Bu) group which can be carried through the synthetic process and removed in the last step of the process. An example of the route is outlined in the scheme below (in relation to the synthesis of the compound of Example 3 - via compounds of the Preparations mentioned below).

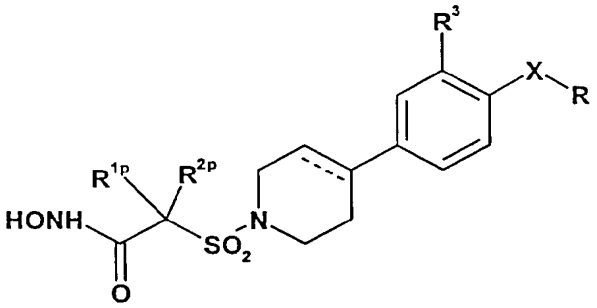

Prep.16
Mg, iPrBr,
THF, PhMe, 0°C
Prep.130
TFA, Et3SiH,
TfOH, CH2Cl2, 0°C
Prep.27
1. Prep.126, nBuLi,
B(OiPr)3, THF, -78°C
2. Pd(OAc)2, Na2CO3,
PPh3, EtOH, reflux
Prep.131
NaOH,
H2O, dioxan
Prep.132
1. SOCl2, DMF,
pyridine, PhMe
2. HONH2, dioxan
Prep.133
HCl,
CH2Cl2, r.t.
Example 3

An example of a suitable NH-protecting group is the t-butoxycarbonyl (Boc) group. This group can be introduced in standard ways, such as those delineated in the Examples and Preparations section below. After the hydroxamic acid unit has been introduced, the Boc group can be removed for example by treatment of the N-Boc compound in methanol or dichloromethane saturated with HCl gas, at room temperature for 2 to 4 hours.

Compounds of formula (I) where R^1 and/or R^2, either independently or together, contain a free NH, NH_2 and/or OH group (apart from on the hydroxamic acid moiety) may conveniently be prepared from a corresponding N- and/or O-protected species (XII below). As such, compounds of formula (XII) where R^{1p} and/or R^{2p} is a O- and/or N-protected version of a corresponding compound of the formula (I), are included in the scope of this invention, with regard to aspects A, B, C and D of the invention and the specific compounds of formula (I) mentioned herein, such as those compounds of formula (XII) mentioned in the Preparations, as appropriate, below. Suitable protection / deprotection regimes are well known in the art, such as those mentioned in "Protective Groups in Organic Synthesis" by TW Greene and PGM Wuts, John Wiley & Sons Inc (1999).

Suitable OH-protecting groups and regimes include the ethers such as t-butyloxy, tri(C_{1-4})silyloxy, etc., and esters such as carbonates, sulphonates, C_{1-4} acylates, etc. mentioned by Greene and Wuts, *ibid.* chapter 2. Suitable NH-protecting groups and regimes can be found in Greene and Wuts, *ibid.* chapter 7, and include amides such as "Boc", amines such as benzyl, etc.

Compounds of formula (XII) may be made by methods described herein and /or by variation of methods described herein which the skilled man will appreciate are routine variations.



(XII)

An example of a suitable OH-protecting group is the trimethylsilyl (TMS) group and the protection, reaction, deprotection sequence can be summarised by steps a) to c) below:

a) $ClSiMe_3$ (1.1 equiv per OH), WSCDI (1.1 to 1.2 equiv), HOBT or HOAT (1 to 1.1 equiv),

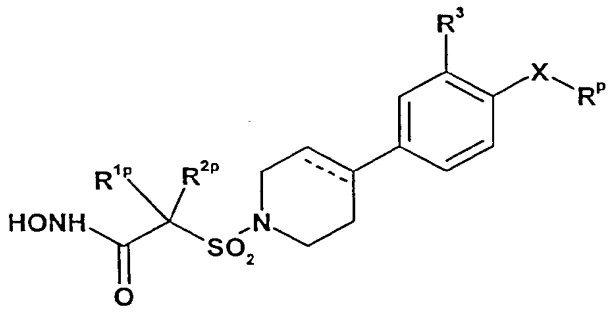
b) $NH_2OH.HCl$ (3 equiv) in DMF/pyridine or CH_2Cl_2/pyridine (3/1 to 1/1) at rt for between 4 and 20 hours.

c) TMS group removed by acid work-up.

Another example of a suitable OH-protecting group is the t-butyl ('Bu) group which can be carried through the synthetic process and removed in the last step of the process. An example of the route is outlined in the scheme below (in relation to the synthesis of the compound of Example 3 - via compounds of the Preparations mentioned below).

An example of a suitable NH-protecting group is the t-butoxycarbonyl (Boc) group. This group can be introduced in standard ways, such as those delineated in the Examples and Preparations section below. After the hydroxamic acid unit has been introduced, the Boc group can be removed for example by treatment of the N-Boc compound in methanol or dichloromethane saturated with HCl gas, at room temperature for 2 to 4 hours.

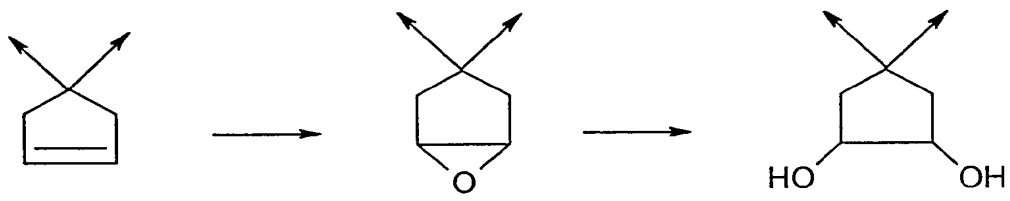
An extension of the above is where the compound of formula (I) contains a free, OH, NH and/or NH_2 group in R^1, R^2 and R (e.g. some Examples below). In thos case a suitable precursor could be the compound of formula (XIII) below:



(XIII)

where the substituents are as previously defined

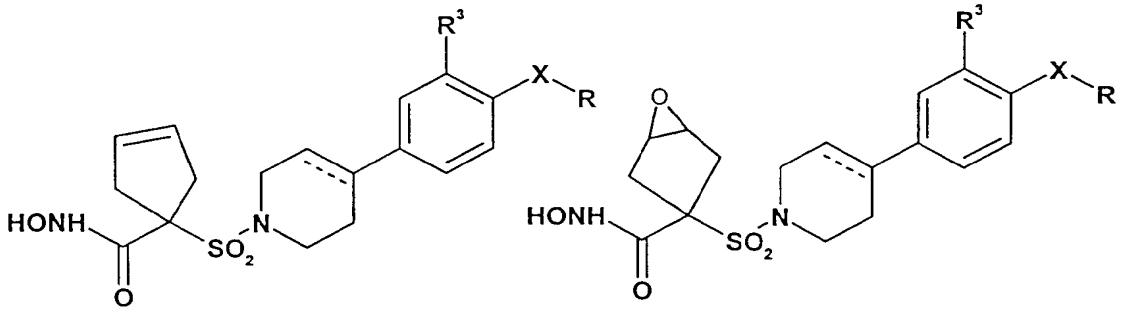
Compounds of formula (I) and appropriate intermediates thereto where R^1 and R^2 are taken together as 3,4-dihydroxycyclopentylidene can be made via the corresponding intermediacy of a corresponding cyclopent-3-enylidene moiety, viz.:



Cyclopentylidene intermediates can be epoxidised to give the corresponding epoxide using standard methods. The epoxide can be reacted in a number of different methods to give the diol product. By

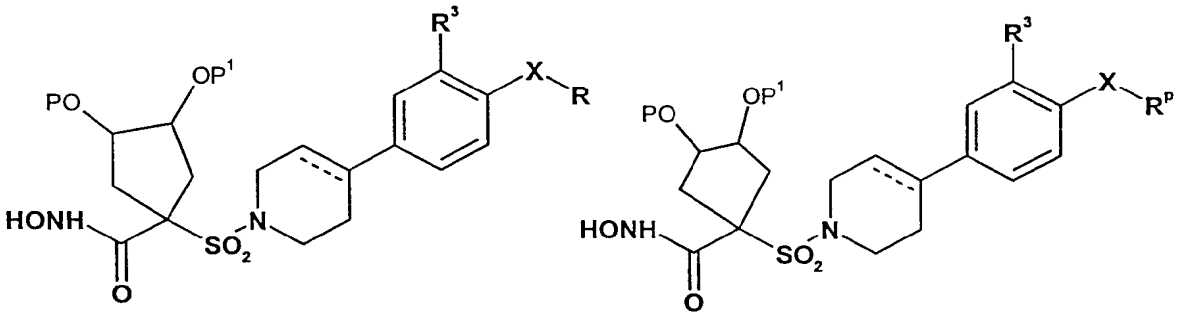
suitable choice of reagents, conditions etc., the skilled chemist can make diols with any desired stereochemistry, using well-known methods.

As such, compounds of the formula (VIII) and (IX) below are included in the scope of the invention, with regard to aspects A, B, C and D and also with respect to intermediates to appropriate individual compounds of formula (I) mentioned herein.



(VIII) (IX)

Also included in the invention are intermediates of formula (X) and (XI, where R^p is defined as above for compounds of formula (VII) wherein P and P^1 represent standard OH and 1,2-diol protecting groups mentioned in Greene and Wuts, *ibid.*, chapter 2. P and P^1 are preferably taken together and form an acetonide moiety.



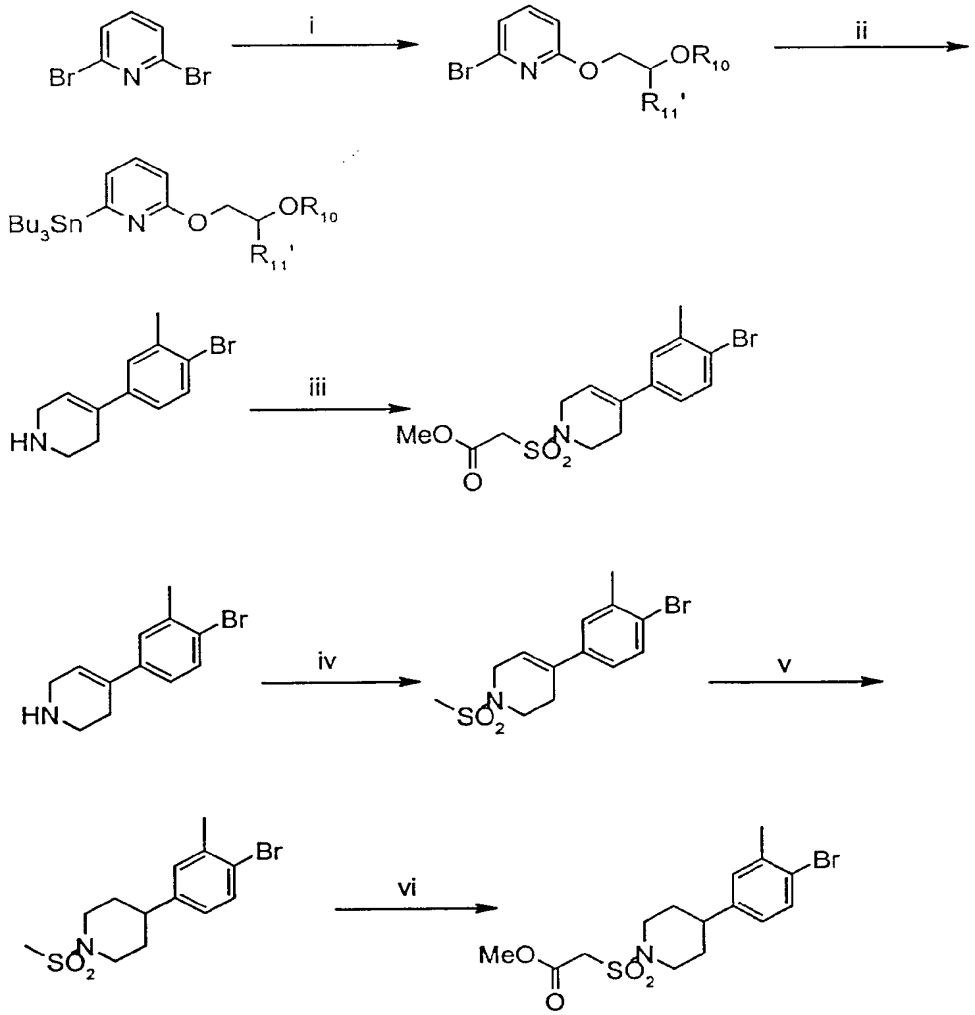
(X) (XI)

Certain specific compounds of formulae (VIII), (IX), (X) and (XI) are mentioned in the Preparations below.

Moreover, persons skilled in the art will be aware of variations of, and alternatives to, those processes described herein, including in the Examples and Preparations sections, which allow the compounds defined by formula (I) to be obtained, such as carrying out certain bond-forming or functional group interconversion reactions in different sequences.

Examples of the preparation of a number of intermediates and final compounds are outlined in the following synthetic schemes, where the abbreviations used are standard and well-known to the person skilled in the art. Routine variation of these routes can give all the required compounds of the invention.

Route 1 (*Pyridyl alcohols*)



i = NaH (1.1 equiv), $HOCH_2CHR11'OR10$ (1 equiv) in toluene, reflux for 2 to 5 hours

ii = n-BuLi (1.1 equiv), Bu_3SnCl (1.1 equiv), THF, -70°C to room temperature.
Or, $Pd(PPh_3)_4$ (0.01 to 0.05 equiv), $[SnMe_3]_2$ (1.1 equiv), dioxan, reflux for 2 to 5 hrs.

iii = BSA (0.5 equiv), $MeCO_2CH_2SO_2Cl$ (1.2 equiv), THF, rt for 18 hours.

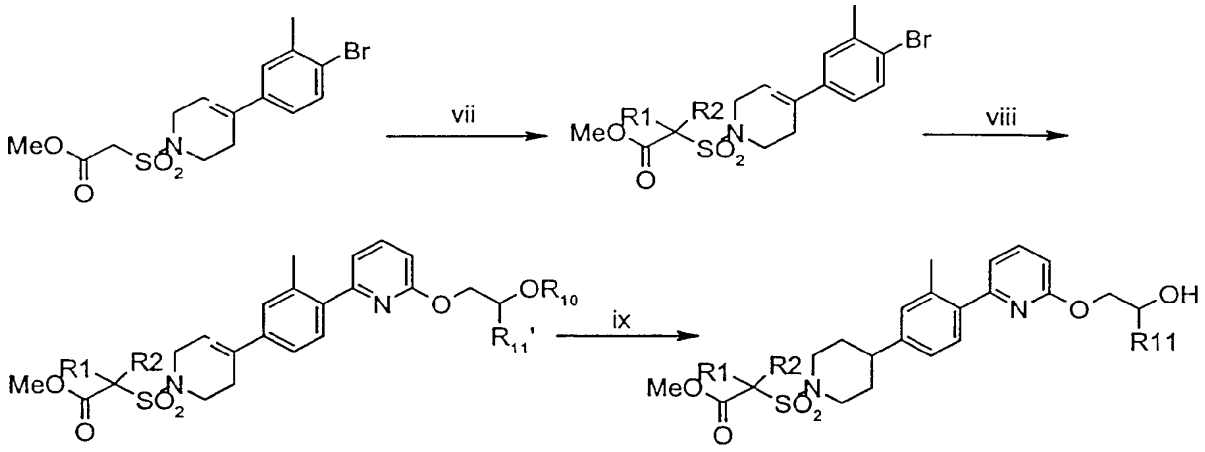
iv = $MeSO_2Cl$ (1.2 equiv), Et_3N (1.4 equiv), CH_2Cl_2, rt, for an hour.

v = Et_3SiH (3 equiv), CF_3SO_3H (0.1 equiv), TFA:CH_2Cl_2 (1:1), rt, for 1-24 hrs.

vi = NaH (2 equiv), Me_2CO_3 (4 equiv), toluene, reflux for 2 hours.

R10-alcohol protecting group- e.g. benzyl or dioxalane (for diols)

R11'-H or a protected alcohol



vii = (VB), (1.3 equiv), K_2CO_3 (3 equiv), DMSO, rt, 18-24 hours,

or KOtBu (2.5 equiv), (VA) or (VB) (excess), in THF, rt for 72 hours.

viii = Stille coupling-$Pd(PPh_3)_4$ (0.05 equiv), stannane (1.5 equiv), toluene, reflux for 4 to 20 hours.

OR $PdCl_2(PPh_3)_2$ (0.05 equiv), stannane (1.1 equiv), THF, reflux for 17 hours.

ix = NH_4^+ HCO_3^- (excess) $Pd(OH)_2/C$, AcOH, MeOH, reflux for 20 hours,

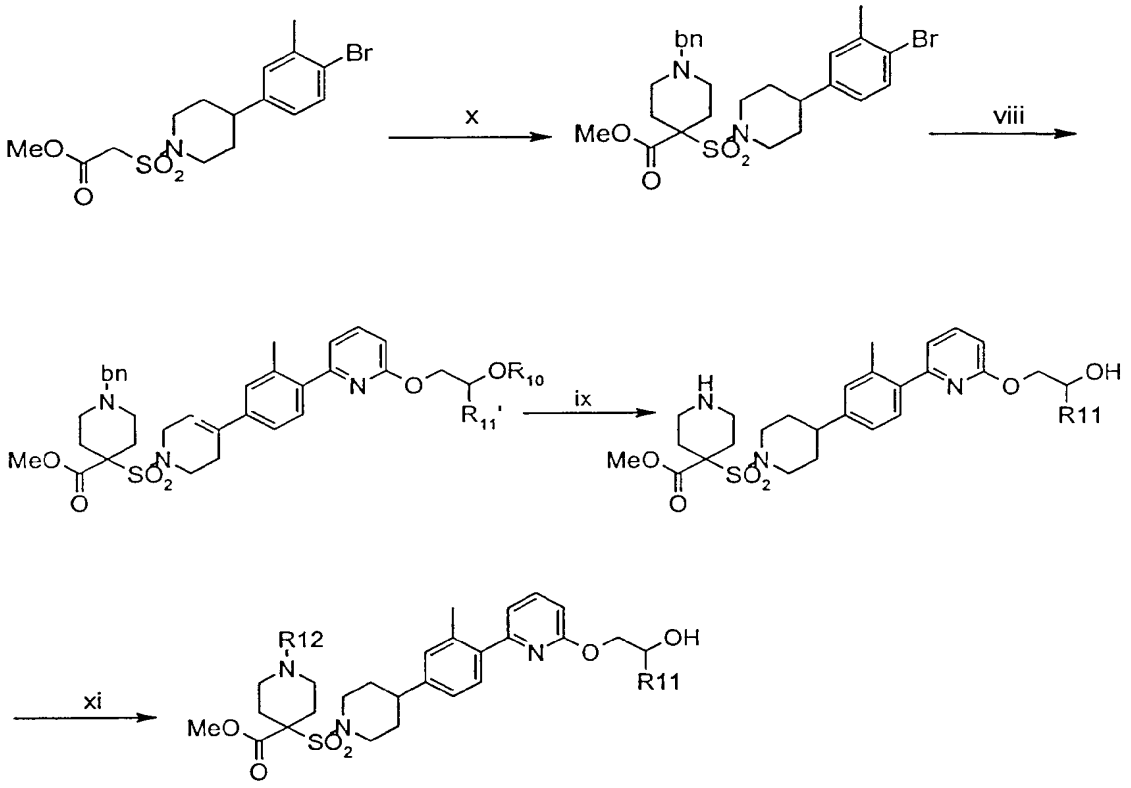
OR 10% Pd/C, in MeOH or EtOH, 3.3 atmospheres, room temperature, for 6 to 17 hours,-both methods also deprotect any benzyl group. (2N HCl, dioxan (3:1), rt, 75 mins at rt- deprotects the dioxalane)

OR $Pd(OH)_2/C$, NH_4^+ HCO_3^- (excess), in MeOH:dioxan (2.5:1), 60°C for 2 hours.

R11 = H or deprotected alcohol

Similarly

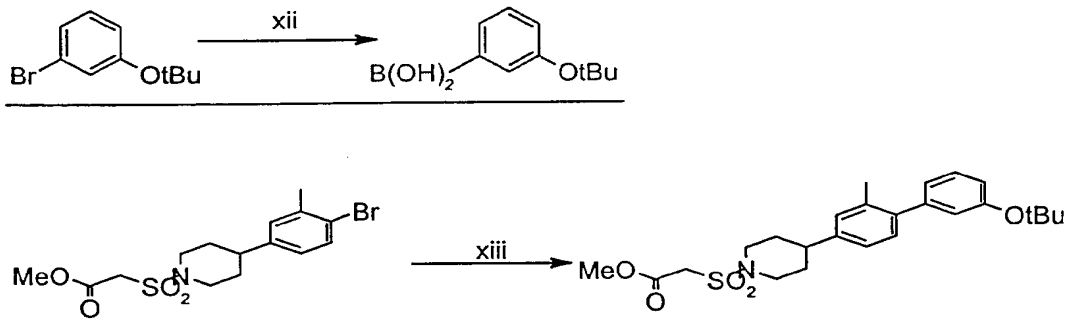
when R1R2 when taken together, are a piperidine group:

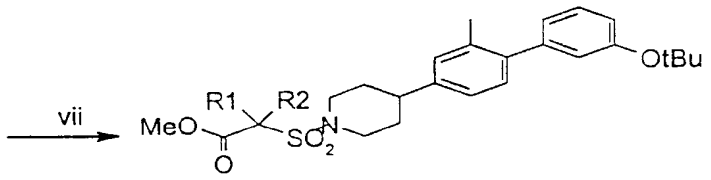


x = NaH (3 equiv), tetra-nBuNH$_4$Br (1 equiv), BnN(CH$_2$CH$_2$Cl)$_2$ (0.95 equiv), NMP, 60°C for 6 hours.

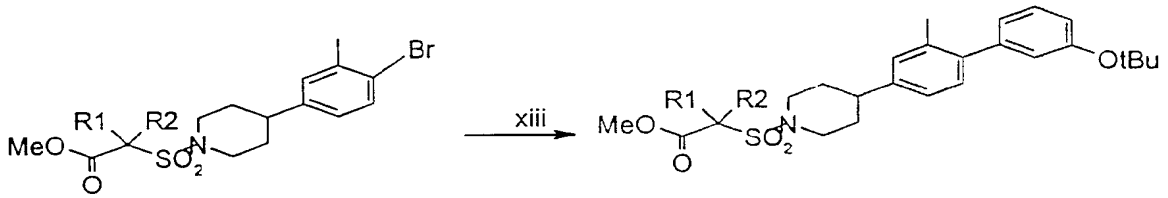
xi = When R12 is Me, formaldehyde (4 equiv), Na(OAc)$_3$BH (2 equiv), CH$_2$Cl$_2$, 20 hrs at rt.
When R12 is Boc, (Boc)$_2$O (1.05 equiv), Et$_3$N (1.1 equiv), CH$_2$Cl$_2$, rt for an hour.

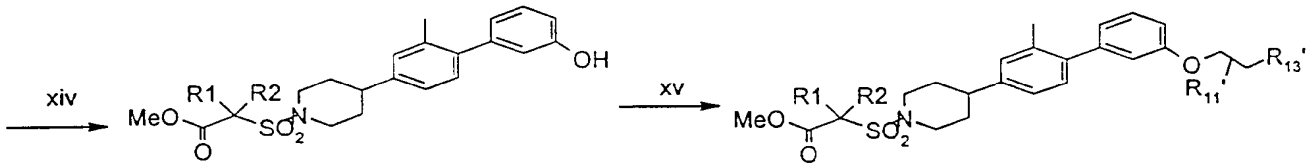
Route 2 (*Phenyl alcohols*)





Or





xii = nBuLi (1.1 equiv), $B[OCH(CH_3)_2]_3$ (1.5 equiv), THF, -70°C to rt.

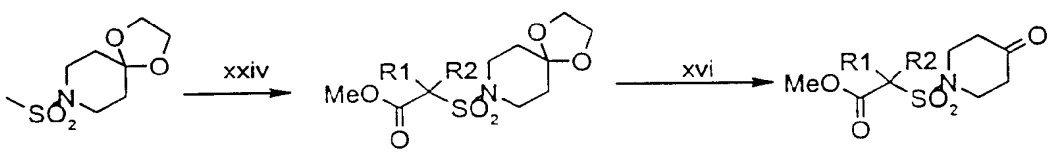
xiii = Suzuki coupling- arylboronic acid (1.2 to 1.5 equiv), CsF (2 to 2.6 equiv), $P(o\text{-}tol)_3$ (0.1 equiv), $Pd_2(dba)_2$ (0.005 equiv), DME, reflux for 6 to 50 hours.

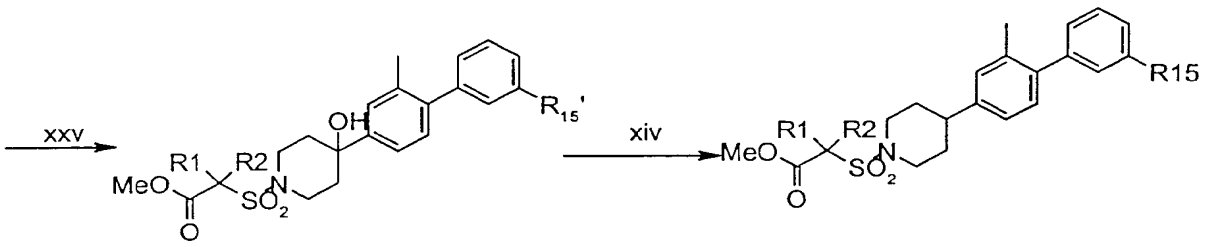
xiv = Et_3SiH (3 equiv), TFA:CH_2Cl_2 (1:1), rt for 2 to 24 hours.

xv = R/S glycidol (1 equiv), Et_3N (catalytic), MeOH, reflux for 20 hours.
OR, Mitsunobu reaction -DEAD (1.5 equiv), PPh_3 (1.5 equiv), HOCH(R11')CH_2OR13' (1.5 equiv) in THF, rt for 3 hours.
R11' is H or optionally protected alcohol
and R13' is optionally protected alcohol

For preparation 50 to 51, requires Bn deprotection using the conditions described in ix.

Alternative route



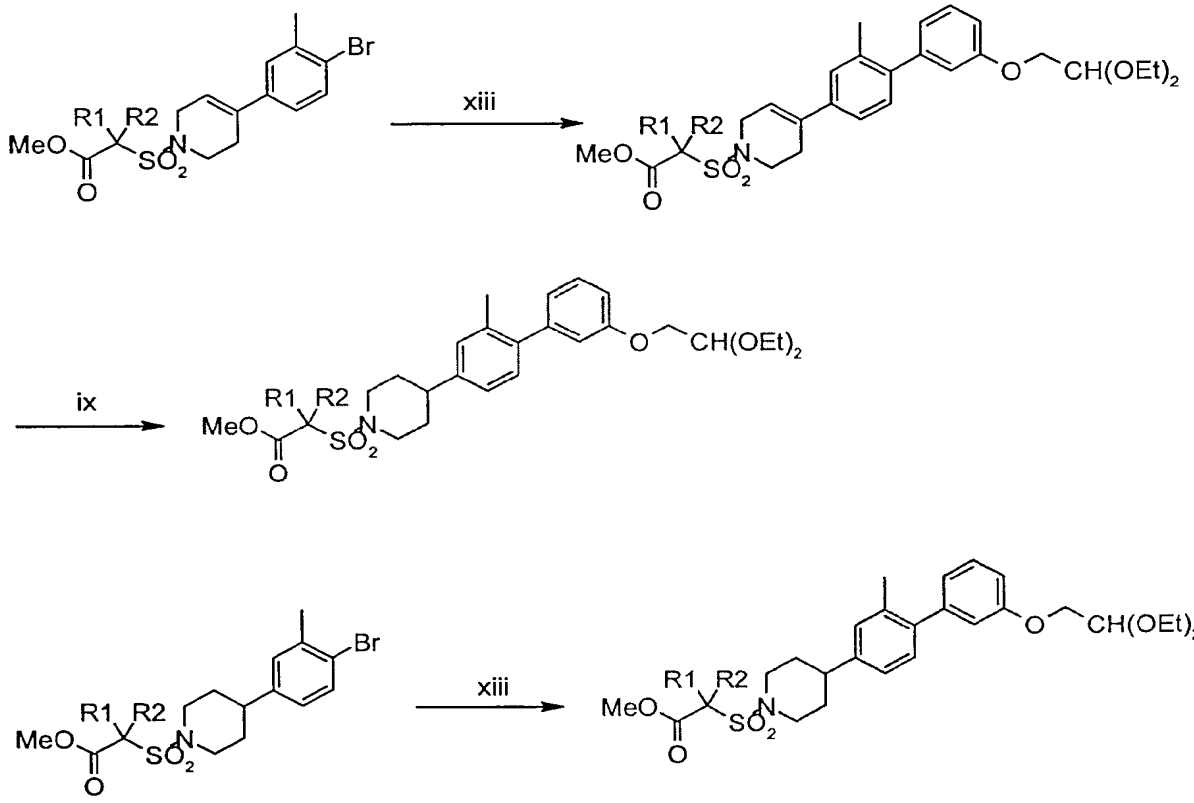


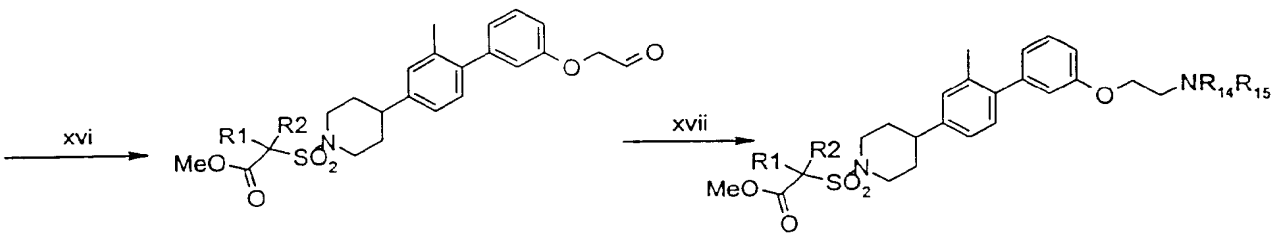
xxiv = *i*- NaH (2.2 equiv), Me_2CO_3 (5 equiv), toluene, MeOH (catalytic), 90°C, overnight.
ii- $O(CH_2CH_2Br)_2$ (1.3 equiv), NMP, 90°C, 20 hrs.

xxv = Grignard reagant (1.1equiv), THF, -78°C to rt over approx hr.

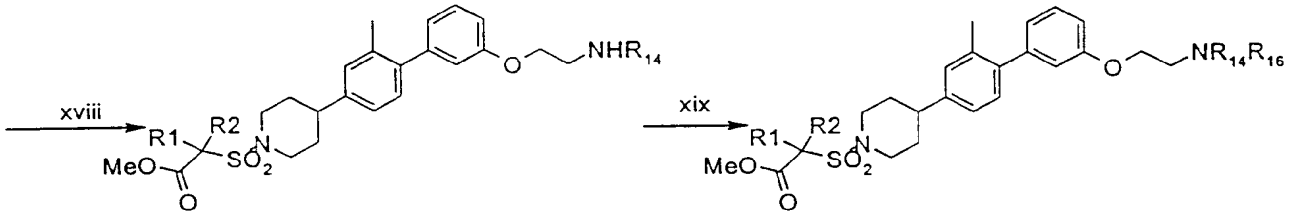
R15'-optionally protected alcohol, in prep 48 this is a t-butyl ether.
R15-OH, for prep 48.

Route 3 *(Phenyl aminoalcohols)*





When R15 is a protecting group, eg. benzyl, deprotection, followed by protection using an alternative group eg Boc, can be used as shown below:



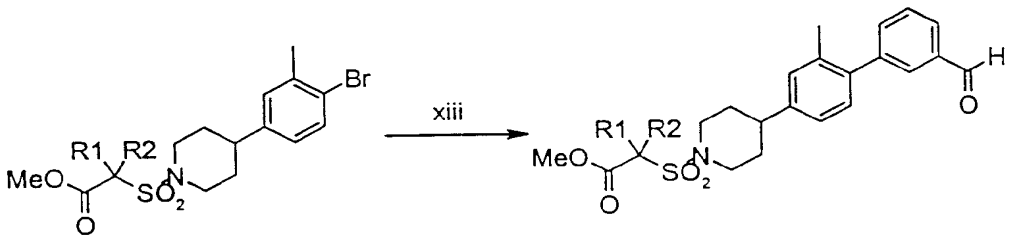
xvi = 1N HCl (1 to 2.3 equiv), acetone:dioxan (1:1), 70°C for 2 to 6 hours.

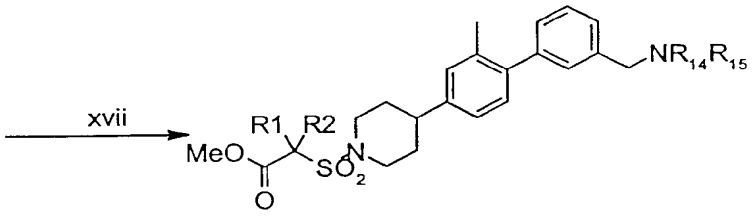
xvii = Reductive amination-amine (5.5 equiv), $Na(OAc)_3BH$ (3 to 4 equiv), CH_2Cl_2, rt, overnight.

xviii = $Pd(OH)_2/C$, MeOH, 50 psi, rt, 18 hrs.

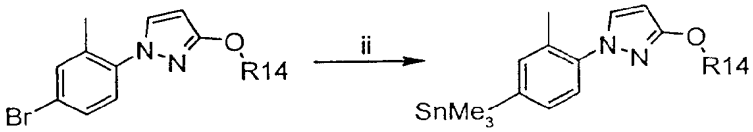
xix = When R16 is Boc,
$(Boc)_2O$ (1 to1.1 equiv), Et_3N (optional, 1 equiv), DMAP (optional, cat), CH_2Cl_2, rt, 3 hrs.

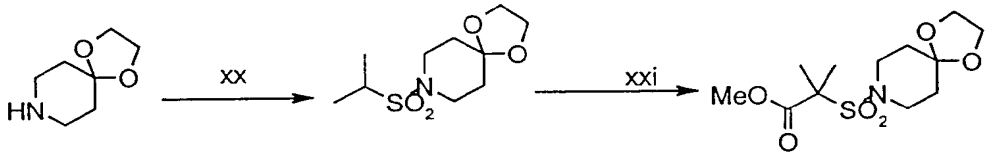
Route 4 *(aminoalkyl phenyls)*

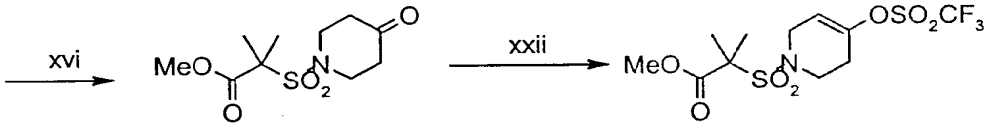


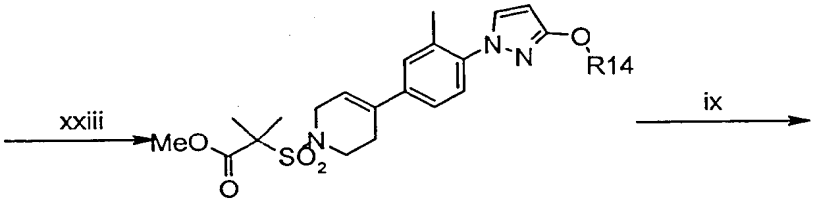


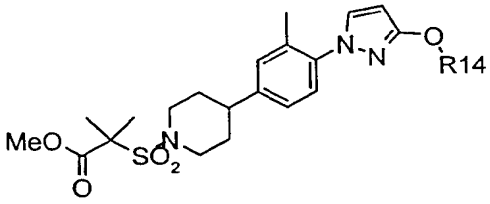
Route 5 (*Heterocycles*)











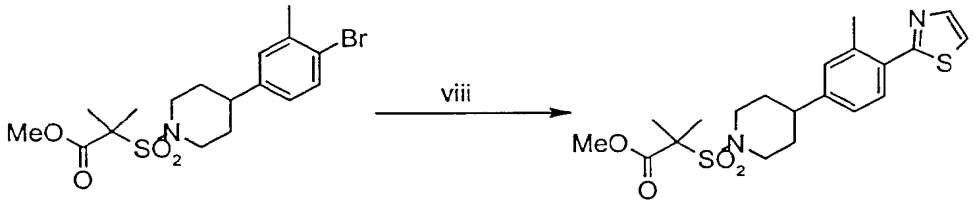
xx = iso-$PrSO_2Cl$ (1 equiv), Et_3N (1.1 equiv), CH_2Cl_2, 3hours at rt.

xxi = n-BuLi (1.1 equiv), MeOCOCl (1.2 equiv), THF -78° to rt.

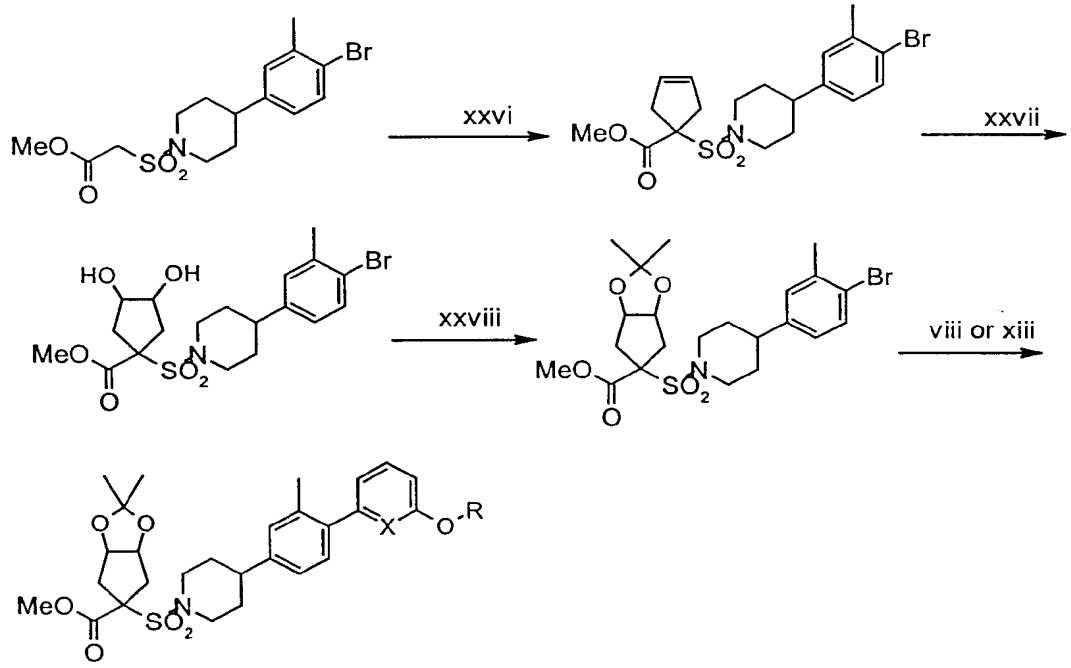
xxii = 2,6-di-t-Bu-4-Me pyridine (2.5 equiv), $(CF_3SO_2)_2O$ (2.5 equiv), CH_2Cl_2, 4°C to rt, 5 days.

xxiii = $Pd_2(dba)_3$ (0.02 equiv), vinyl triflate (1.1 equiv), Ph_3As (0.21 equiv), CuI (0.1 equiv) in NMP, 75°C for 5 hrs.

Thiazoles



Route 6 (*Cyclopentanediols*)



xxvi = NaH (1.1 equiv), tetra-nBuNH_4Br (1 equiv), $ClCH_2CHCHCH_2Cl$ (1.1 equiv), NMP, r.t for 3 hours, then NaH (1.1 equiv), 2 days.

xxvii = NMO (1.1 equiv), OsO_4 (3 mol%), dioxan/water, r.t. 18 hours
OR
(a) AgOAc (2.3 equiv), AcOH, r.t for 18 hours (b) 1N NaOH, dixoan/water

xxviii = 2,2-Dimethoxypropane (2 equiv), TsOH (0.1 equiv), DMF, 50°C for 4.5 hours.

Biological Test Methods

The biological activities of the compounds of the present invention were determined by the following test methods, which are based on the ability of the compounds to inhibit the cleavage of various fluorogenic peptides by MMPs 1, 2, 3, 9, 13 and 14.

The assays for MMPs 2, 3, 9 and 14 are based upon the original protocol described in Fed.Euro.Biochem.Soc., 1992, 296, 263, with the minor modifications described below.

Inhibition of MMP-1

Enzyme Preparation

Catalytic domain MMP-1 was prepared in Pfizer Central Research laboratories in a standard manner from sources known to the skilled person, including some of the references mentioned herein. A stock solution of MMP-1 (1μM) was activiated by the addition of aminophenylmercuric acetate (APMA), at a final concentration of 1mM, for 20 minutes at 37°C. MMP-1 was then diluted in Tris-HCl assay buffer (50mM Tris, 200mM NaCl, 5mM $CaCl_2$, 20μM $ZnSO_4$ and 0.05% Brij 35, pH 7.5) to a concentration of 10nM. The final concentration of enzyme used in the assay was 1nM.

Substrate

The fluorogenic substrate used in this assay was Dnp-Pro-β-cyclohexyl-Ala-Gly-Cys(Me)-His-Ala-Lys-(N-Me-Ala)-NH_2 as originally described in Anal. Biochem., 1993, 212, 58. The final substrate concentration used in the assay was 10μM.

Determination of Enzyme Inhibition

The test compound was dissolved in dimethyl sulphoxide and diluted with assay buffer so that no more than 1% dimethyl sulphoxide was present. Test compound and enzyme were added to each well of a 96 well plate and allowed to equilibrate for 15 minutes at 37°C in an orbital shaker prior to the addition of substrate. Plates were then incubated for 1 hour at 37°C prior to determination of fluorescence (substrate cleavage) using a fluorimeter (Fluostar; BMG LabTechnologies, Aylesbury, UK) at an excitation

wavelength of 355 nm and emission wavelength of 440 nm. The potency of inhibition was measured from the amount of substrate cleavage obtained using a range of test compound concentrations and, from the resulting dose-response curve, an IC_{50} value (the concentration of inhibitor required to inhibit 50% of the enzyme activity) was calculated.

Inhibition of MMP-2, MMP-3 and MMP-9

Enzyme Preparation

Catalytic domains MMP-2, MMP-3 and MMP-9 were prepared in Pfizer Central Research laboratories in a standard manner from sources known to the skilled person, including some of the references mentioned herein. A stock solution of MMP-2, MMP-3 or MMP-9 (1μM) was activated by the addition of APMA. For MMP-2 and MMP-9, a final concentration of 1mM APMA was added, followed by incubation for 1 hour at 37°C. MMP-3 was activated by the addition of 2mM APMA, followed by incubation for 3 hours at 37°C. The enzymes were then diluted in Tris-HCl assay buffer (100mM Tris, 100mM NaCl, 10mM $CaCl_2$ and 0.16% Brij 35, pH 7.5) to a concentration of 10nM. The final concentration of enzyme used in the assays was 1nM.

Substrate

The fluorogenic substrate used in this screen was Mca-Arg-Pro-Lys-Pro-Tyr-Ala-Nva-Trp-Met-Lys(Dnp)-NH_2 (Bachem Ltd., Essex, UK) as originally described in J.Biol.Chem., 1994, 269, 20952. This substrate was selected because it has a balanced hydrolysis rate against MMPs 2, 3 and 9 (k_{cat}/k_m of 54,000, 59,400 and 55,300 s^{-1} M^{-1} respectively). The final substrate concentration used in the assay was 5μM.

Determination of Enzyme Inhibition

The test compound was dissolved in dimethyl sulphoxide and diluted with assay buffer so that no more than 1% dimethyl sulphoxide was present. Test compound and enzyme were added to each well of a 96 well plate and allowed to equilibrate for 15 minutes at 37°C in an orbital shaker prior to the addition of substrate. Plates were then incubated for 1 hour at 37°C, prior to determination of fluorescence using a fluorimeter (Fluostar; BMG LabTechnologies, Aylesbury, UK) at an excitation wavelength of 328nm and emission wavelength of 393nm. The potency of inhibition was measured from the amount of substrate cleavage obtained using a range of test compound concentrations and, from the resulting dose-response curve, an IC_{50} value (the concentration of inhibitor required to inhibit 50% of the enzyme activity) was calculated.

Inhibition of MMP-13

Enzyme Preparation

Human recombinant MMP-13 was prepared by PanVera Corporation (Madison, Wisconsin) and characterised at Pfizer Central Research laboratories. A 1.9 mg/ml stock solution was activated with 2mM APMA for 2 hours at 37°C. MMP-13 was then diluted in assay buffer (50mM Tris, 200mM NaCl, 5mM $CaCl_2$, 20μM $ZnCl_2$ and 0.02% Brij 35, pH 7.5) to a concentration of 5.3nM. The final concentration of enzyme used in the assay was 1.3nM.

Substrate

The fluorogenic substrate used in this screen was Dnp-Pro-Cha-Gly-Cys(Me)-His-Ala-Lys(NMA)-NH_2. The final substrate concentration used in the assay was 10μM.

Determination of Enzyme Inhibition

The test compound was dissolved in dimethyl sulphoxide and diluted with assay buffer so that no more than 1% dimethyl sulphoxide was present. Test compound and enzyme were added to each well of a 96 well plate. The addition of substrate to each well initiated the reaction. Fluorescence intensity was determined using a 96 well plate fluorimeter (Cytofluor II; PerSeptive Biosystems, Inc., Framingham, MA) at an excitation wavelength of 360nm and emission wavelength of 460nm. The potency of inhibition was measured from the amount of substrate cleavage obtained using a range of test compound concentrations and, from the resulting dose-response curve, an IC_{50} value (the concentration of inhibitor required to inhibit 50% of the enzyme activity) was calculated.

Inhibition of MMP-14

Enzyme Preparation

Catalytic domain MMP-14 was prepared in Pfizer Central Research laboratories in a standard manner from sources known to the skilled person, including some of the references mentioned herein. A 10μM enzyme stock solution was activated for 20 minutes at 25°C following the addition of 5μg/ml of trypsin (Sigma, Dorset, UK). The trypsin activity was then neutralised by the addition of 50μg/ml of soyabean trypsin inhibitor (Sigma, Dorset, UK), prior to dilution of this enzyme stock solution in Tris-HCl assay buffer (100mM Tris, 100nM NaCl, 10mM $CaCl_2$, 0.16% Brij 35, pH 7.5) to a concentration of 10nM. The final concentration of enzyme used in the assay was 1nM.

Substrate

The fluorogenic substrate used in this screen was Mca-Pro-Leu-Gly-Leu-Dpa-Ala-Arg-NH_2 (Bachem Ltd., Essex, UK) as described in J.Biol.Chem., 1996, 271, 17119.

Determination of enzyme inhibition

This was performed in the same manner as described for MMPs 2, 3 and 9.

For use in mammals, including humans, the compounds of formula (I) or their salts or solvates of such compounds or salts, can be administered alone, but will generally be administered in admixture with a pharmaceutically or veterinarily acceptable diluent or carrier selected with regard to the intended route of administration and standard pharmaceutical practice. For example, they can be administered orally, including sublingually, in the form of tablets containing such excipients as starch or lactose, or in capsules or ovules either alone or in admixture with excipients, or in the form of elixirs, solutions or suspensions containing flavouring or colouring agents. The compound or salt could be incorporated into capsules or tablets for targetting the colon or duodenum via delayed dissolution of said capsules or tablets for a particular time following oral administration. Dissolution could be controlled by susceptibility of the formulation to bacteria found in the duodenum or colon, so that no substantial dissolution takes places before reaching the target area of the gastrointestinal tract. The compounds or salts can be injected parenterally, for example, intravenously, intramuscularly or subcutaneously. For parenteral administration, they are best used in the form of a sterile aqueous solution or suspension which may contain other substances, for example, enough salt or glucose to make the solution isotonic with blood. They can be administered topically, in the form of sterile creams, gels, suspensions, lotions, ointments, dusting powders, sprays, drug-incorporated dressings or via a skin patch. For example they can be incorporated into a cream consisting of an aqueous or oily emulsion of polyethylene glycols or liquid paraffin, or they can be incorporated into an ointment consisting of a white wax soft paraffin base, or as hydrogel with cellulose or polyacrylate derivatives or other viscosity modifiers, or as a dry powder or liquid spray or aerosol with butane/propane, HFA or CFC propellants, or as a drug-incorporated dressing either as a tulle dressing, with white soft paraffin or polyethylene glycols impregnated gauze dressings or with hydrogel, hydrocolloid, alginate or film dressings. The compound or salt could also be administered intraocularly as an eye drop with appropriate buffers, viscosity modifiers (e.g. cellulose derivatives), preservatives (e.g. benzalkonium chloride (BZK)) and agents to adjust tenicity (e.g. sodium chloride). Such formulation techniques are well-known in the art. In some instances the formulations may advantageously also contain an antibiotic. All such formulations may also contain appropriate stabilisers and preservatives.

For veterinary use, a compound of formula (I), or a veterinarily acceptable salt thereof, or a veterinarily acceptable solvate of either entity, is administered as a suitably acceptable formulation in accordance with normal veterinary practice and the veterinary surgeon will determine the dosing regimen and route of administration which will be most appropriate for a particular animal.

Reference to treatment includes prophylaxis as well as alleviation of established conditions, or the symptoms thereof.

For oral and parenteral administration to animal (inc. human) patients, the daily dosage level of the compounds of formula (I) or their salts will be from 0.001 to 20, preferably from 0.01 to 20, more preferably from 0.1 to 10, and most preferably from 0.5 to 5 mg/kg (in single or divided doses). Thus tablets or capsules of the compounds will contain from 0.1 to 500, preferably from 50 to 200, mg of active compound for administration singly or two or more at a time as appropriate.

For topical administration to animal (inc. human) patients with chronic wounds, the daily dosage level of the compounds, in suspension or other formulation, could be from 0.001 to 30mg/ml, preferably from 0.01 to 10 mg/ml.

The physician or veterinary surgeon in any event will determine the actual dosage which will be most suitable for a an individual patient and it will vary with the age, weight and response of the particular patient. The above dosages are exemplary of the average case; there can of course be individual instances where higher or lower dosage ranges are merited, and such are within the scope of this invention.

Thus the invention provides a pharmaceutical composition comprising a compound of formula (I), or a pharmaceutically acceptable salt thereof, or solvate thereof, together with a pharmaceutically acceptable diluent or carrier.

The invention also provides a compound of formula (I), or a pharmaceutically acceptable salt thereof, or solvate thereof, or a pharmaceutical composition containing any of the foregoing, for use as a human medicament.

In yet another aspect, the invention provides the use of a compound of formula (I), or a pharmaceutically acceptable salt thereof, in the manufacture of a human medicament for the treatment of a condition mediated by one or more MMPs.

Moreover, the invention provides the use of a compound of formula (I), or a pharmaceutically acceptable salt thereof, for the manufacture of a human medicament for the treatment of atherosclerotic plaque rupture, myocardial infarction, heart failure, restenosis, stroke, periodontal disease, tissue ulceration, wounds, skin diseases, cancer metastasis, tumour angiogenesis, age-related macular degeneration, fibrotic disease, rheumatoid arthritis, osteoarthritis and inflammatory diseases dependent on migratory inflammatory cells.

Additionally, the invention provides a method of treating a medical condition for which a MMP inhibitor is indicated, in an animal such as a mammal (including a human being), which comprises administering to said animal a therapeutically effective amount of a compound of formula (I), or a pharmaceutically acceptable salt thereof, or a pharmaceutically acceptable solvate of either entity, or a pharmaceutical composition containing any of the foregoing.

Still further, the invention provides a method of treating atherosclerotic plaque rupture, myocardial infarction, heart failure, restenosis, stroke, periodontal disease, tissue ulceration, wounds, skin diseases, cancer metastasis, tumour angiogenesis, age-related macular degeneration, fibrotic disease, rheumatoid arthritis, osteoarthritis and inflammatory diseases dependent on migratory inflammatory cells, in a animal (including a human being), which comprises administering to said animal a therapeutically effective amount of a compound of formula (I), or a pharmaceutically or veterinarily acceptable salt thereof, or a pharmaceutically acceptable solvate of either entity, or a pharmaceutical composition containing any of the foregoing.

Biological data

The compounds of Examples 3, 4, 5, 6, 7, 10 and 14 gave the following IC_{50} values (in nM concentrations) in tests mentioned above:

MMP-3	MMP-2	MMP-1	MMP-14	MMP-9
<10	>100	>1000	>2000	>70

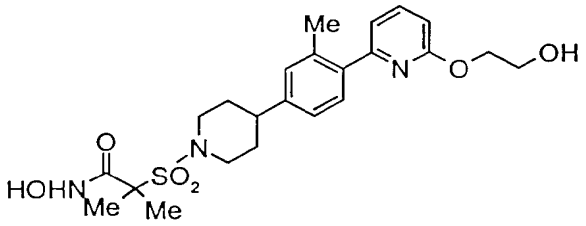
The syntheses of the compounds of the invention and of the intermediates for use therein are illustrated by the following Examples and Preparations.

EXAMPLES AND PREPARATIONS

Room temperature (rt) means 20 to 25°C. Flash chromatography refers to column chromatography on silica gel (Kieselgel 60, 230-400 mesh). Melting points are uncorrected. ^{1}H Nuclear magnetic resonance (NMR) spectra were recorded using a Bruker AC300, a Varian Unity Inova-300 or a Varian Unity Inova-400 spectrometer and were in all cases consistent with the proposed structures. Characteristic chemical shifts are given in parts-per-million downfield from tetramethylsilane using conventional abbreviations for designation of major peaks: e.g. s, singlet; d, doublet; t, triplet; q, quartet; m, multiplet; br, broad. Mass spectra were recorded using a Finnigan Mat. TSQ 7000 or a Fisons Intruments Trio 1000 mass spectrometer. LRMS means low resolution mass spectrum and the calculated and observed ions quoted refer to the isotopic composition of lowest mass. Hexane refers to a mixture of hexanes (hplc grade) b.p. 65-70°C. Ether refers to diethyl ether. Acetic acid refers to glacial acetic acid. 1-Hydroxy-7-aza-1H-1,2,3-benzotriazole (HOAt), N-[(dimethylamino)-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]pyridin-1-ylmethylene]-N-methylmethaninium hexafluorophosphate N-oxide (HATU) and 7-azabenzotriazol-1-yloxytris(pyrrolidino)phosphonium hexafluorophosphate (PyAOP) were purchased from PerSeptive Biosystems U.K. Ltd. "Me" is methyl, "Bu" is butyl, "Bn" is benzyl. Other abbreviations and terms are used in conjunction with standard chemical practice.

Example 1

N-Hydroxy 2-[(4-{4-[6-(2-hydroxyethoxy)pyridin-2-yl]-3-methylphenyl}piperidin-1-yl)sulphonyl]-2-methylpropanamide



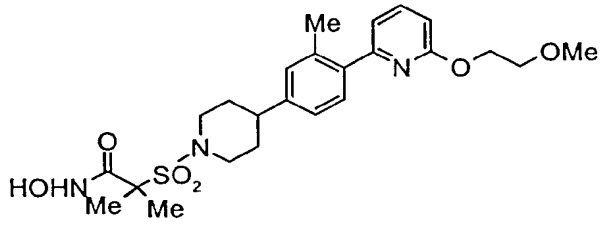
N,N-Dimethylformamide (10ml) was added to a solution of the acid from preparation 70 (430mg, 0.93mmol) in pyridine (5ml), followed by chlorotrimethylsilane (130µl, 1.03mmol) and the solution stirred for 1 ½ hours. 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride (215mg, 1.11mmol) and 1-hydroxybenzotriazole hydrate (130mg, 0.93mmol) were added, and the reaction stirred for a further 2 hours. Hydroxylamine hydrochloride (195mg, 2.8mmol) was then added, and the reaction stirred at room temperature overnight. The reaction mixture was acidified to pH 1 using 2N hydrochloric acid, stirred for an hour, and then the pH re-adjusted to pH 4. Water (50ml) was added, the resulting precipitate filtered, washed with water and dried under vacuum. This solid was purified by column chromatography on silica gel using dichloromethane:methanol:0.88 ammonia (90:10:1) as eluant to afford the title compound as a white solid, (220mg, 49%).

mp 137-140°C

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 300MHz) δ: 1.50 (s, 6H), 1.61 (m, 2H), 1.80 (m, 2H), 2.36 (s, 3H), 2.68 (m, 1H), 3.05 (m, 2H), 3.72 (m, 4H), 4.25 (t, 2H), 4.79 (t, 1H), 6.76 (d, 1H), 7.05 (d, 1H), 7.17 (m, 2H), 7.35 (d, 1H), 7.76 (dd, 1H), 9.00 (s, 1H), 10.55 (s, 1H).

Example 2

N-Hydroxy 2-{[4-(4-{6-[2-(methoxy)ethoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulphonyl}-2-methylpropanamide



O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N'N'-tetramethyluronium hexafluorophosphate (425mg, 0.95mmol) and N-ethyldiisopropylamine (150µl, 0.70mmol) were added to a solution of the acid from preparation 71

(300mg, 0.63mmol) in N,N-dimethylformamide (10ml), and the solution stirred at room temperature for 30 minutes. Hydroxylamine hydrochloride (158mg, 1.9mmol) and additional N-ethyldiisopropylamine (410µl, 1.9mmol) were added, and the reacton stirred at room temperature overnight. The reaction mixture was diluted with water (20ml), and pH 7 buffer solution (20ml), and then extracted with ethyl acetate (3x30ml). The combined organic extracts were washed with brine (3x), water (2x), then dried ($MgSO_4$), filtered and evaporated in vacuo. The residue was triturated with di-isopropyl ether to afford the title compound as an off-white solid, (220mg, 71%).

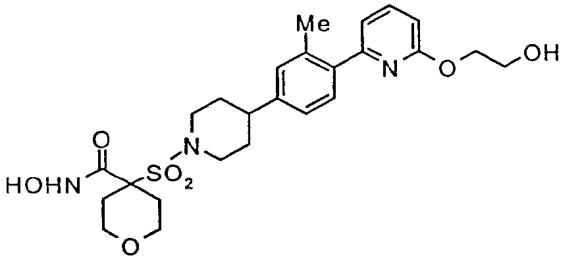
mp 134-138°C

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 300MHz) δ: 1.48 (s, 6H), 1.61 (m 2H), 1.80 (m, 2H), 2.36 (s, 3H), 2.66 (m, 1H), 3.05 (m, 2H), 3.28 (s, 3H), 3.62 (t, 2H), 3.78 (m, 2H), 4.38 (t, 2H), 6.78 (d, 1H), 7.06 (d, 1H), 7.16 (m, 2H), 7.35 (d, 1H), 7.76 (m, 1H).

Anal. Found: C, 59.65; H, 7.12; N, 7.69. $C_{24}H_{33}N_3O_6S$;0.2i-Pr_2O requires C, 59.59; H, 7.04; N, 8.04%.

Example 3

N-Hydroxy 4-{[4-(4-{6-[2-hydroxyethoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulphonyl}tetrahydro-2H-pyran-4-carboxamide



Chlorotrimethylsilane (2.1ml, 16.46mmol) was added to a solution of the acid from preparation 72 (7.55g, 14.96mmol) in N,N-dimethylformamide (150ml), and pyridine (150ml), and the solution stirred at room temperature under a nitrogen atmosphere for 1 hour. 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride (3.44g, 17.95mmol) and 1-hydroxy-7-azabenzotriazole (2.04g, 14.96mmol) were added, and stirring was continued for a further 45 minutes. Hydroxylamine hydrochloride (3.12g, 44.8mmol) was then added and the reaction stirred at room temperature for 72 hours. The reaction mixture was acidified to pH 2 using hydrochloric acid, stirred for 30 minutes, and the pH then re-adjusted to pH 4 using 1N sodium hydroxide solution. The mixture was extracted with ethyl acetate (3x), the combined organic extracts washed with brine, dried ($MgSO_4$), filtered and evaporated in vacuo. The residue was purified by column chromatography on silica gel using ethyl acetate as eluant, and recrystallised from methanol/ethyl acetate to afford the title compound as a white solid, (3.75g, 48%).

mp 193-194°C

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.61 (m, 2H), 1.79 (m, 2H), 1.92 (m, 2H), 2.36 (m 5H), 2.62 (m, 1H), 3.01 (m, 2H), 3.19 (m, 2H), 3.70 (m, 4H), 3.82 (m, 2H), 4.25 (t, 2H), 4.75 (br, t, 1H), 6.70 (d, 1H), 7.01 (d, 1H), 7.12 (m, 2H), 7.30 (d, 1H), 7.62 (dd, 1H), 9.10 (s, 1H), 10.94 (s, 1H).

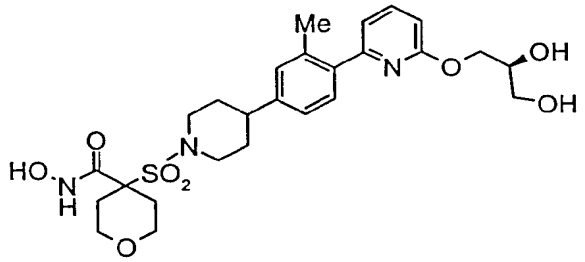
LRMS : m/z 520 $(M+1)^+$

Anal. Found: C, 57.73; H, 6.39; N, 7.99. $C_{25}H_{33}N_3O_7S$ requires C, 57.79; H, 6.40; N, 8.09%.

Alternative route: Hydrogen chloride gas was bubbled through a solution of the tert-butyl ether from preparation 133 (3.0g, 5.22mmol) in anhydrous trifluoroacetic acid (30ml) and dichloromethane (30ml) for 10 minutes, then stirred at room temperature overnight. Nitrogen gas was bubbled through the reaction mixture for 1hour and then 5N NaOH solution until the solution was pH6. The resulting precipitate was cooled to 0°C, filtered and washed with cold water. The resulting solid was dissolved in hot ethyl acetate (500ml) and the organic layer was washed with water (3x250ml) and brine (250ml) and then dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated in vacuo. On cooling to 0°C overnight a solid formed and was filtered, washed with cold ethyl acetate and dried. The title compound was obtained as a beige solid (1.6g, 60%).

Example 4

N-Hydroxy 4-{[4-(4-{6-[(2S)-2,3-dihydroxy-1-propoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulphonyl}tetrahydro-2H-pyran-4-carboxamide



Chlorotrimethylsilane (168µl, 1.32mmol) was added to a solution of the acid from preparation 73 (318mg, 0.60mmol) in dichloromethane (6ml), and pyridine (2ml), and the solution stirred at room temperature under a nitrogen atmosphere for 1 hour. 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride (138mg, 0.72mmol) and 1-hydroxy-7-azabenzotriazole (90mg, 0.66mmol) were added, and stirring was continued for a further hour. Hydroxylamine hydrochloride (124mg, 1.80mmol) was added and the reaction stirred at room temperature for 2 hours. The reaction mixture was evaporated in vacuo, the residue dissolved in methanol, the solution acidified to pH 1 using hydrochloric acid (2M),

then stirred for 10 minutes. The solution was diluted with water, the pH adjusted to 6, and the resulting precipitate filtered and dried. The solid was purified by column chromatography on silica gel using dichloromethane:methanol (90:10) as eluant, and recrystallised from methanol/di-isopropyl ether to give the title compound as a white solid, (200mg, 60%).

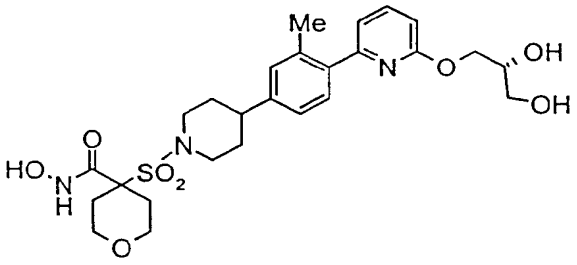
^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.61 (m, 2H), 1.79 (m, 2H), 1.92 (m, 2H), 2.36 (m, 5H), 2.63 (m, 1H), 3.03 (m, 2H), 3.08-3.31 (m, 3H), 3.40 (m, 2H), 3.68-3.89 (m, 4H), 4.15 (m, 1H), 4.25 (m, 1H), 4.56 (br, s, 1H), 4.80 (br, s, 1H), 6.75 (d, 1H), 7.04 (d, 1H), 7.14 (m, 2H), 7.34 (d, 1H), 7.75 (m, 1H), 9.14 (s, 1H), 10.96 (s, 1H).

LRMS : m/z 550 $(M+1)^+$

Anal. Found: C, 50.70; H, 6.00; N, 6.93. $C_{26}H_{35}N_3O_8S;0.6H_2O$ requires C, 50.97; H, 6.21; N, 6.86%.

Example 5

N-Hydroxy 4-{[4-(4-{6-[(2R)-2,3-dihydroxy-1-propoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulphonyl}tetrahydro-2H-pyran-4-carboxamide



The title compound was prepared from the acid from preparation 74, following the procedure described in example 4. The crude product was purified by crystallisation from ethyl acetate to give an off-white solid (180mg, 58%).

mp 125-130°C

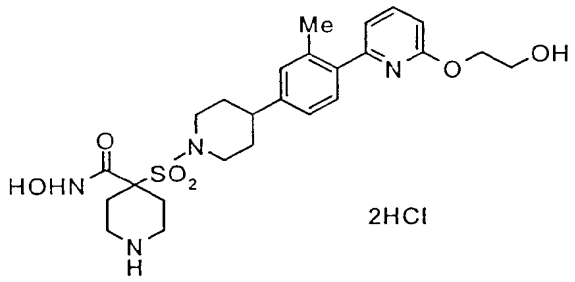
^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.60 (m, 2H), 1.78 (m, 2H), 1.90 (m, 2H), 2.36 (m, 5H), 2.64 (m, 1H), 3.02 (m, 2H), 3.20 (m, 2H), 3.40 (m, 2H), 3.72 (m, 2H), 3.78 (m, 1H), 3.83 (m, 2H), 4.14 (m, 1H), 4.24 (m, 1H), 4.55 (dd, 1H), 4.80 (d, 1H), 6.75 (d, 1H), 7.03 (d, 1H), 7.15 (m, 2H), 7.32 (d 1H), 7.75 (m, 1H), 9.14 (s, 1H), 10.95 (s, 1H).

LRMS : m/z 572 $(M+23)^+$

Anal. Found: C, 55.32; H, 6.57; N, 7.28. $C_{26}H_{35}N_3O_8S;H_2O$ requires C, 55.02; H, 6.57; N, 7.40%.

Example 6

N-Hydroxy 4-{[4-(4-{6-[2-hydroxyethoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulphonyl}-piperidine-4-carboxamide dihydrochloride



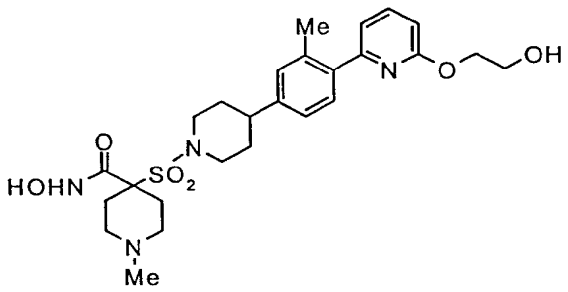
Hydrogen chloride gas was bubbled through an ice-cold solution of the hydroxamic acid from preparation 87 (135mg, 0.22mmol) in methanol (20ml), and the solution was stirred at room temperature. The reaction mixture was evaporated in vacuo, and the residue azeotroped with methanol. The solid was recrystallised from methanol/ether to afford the title compound as a white solid, (88mg, 64%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.63 (m, 2H), 1.80 (m, 2H), 2.07 (m, 2H), 2.35 (s, 3H), 2.56-2.72 (m, 5H), 2.08 (m, 2H), 2.38 (m, 2H), 3.72 (m, 4H), 4.24 (t, 2H), 4.44-4.67 (br, s, 2H), 6.76 (d, 1H), 7.04 (d, 1H), 7.17 (m, 2H), 7.34 (d, 1H), 7.75 (m, 1H), 8.97 (m, 1H), 9.18 (m, 1H).

LRMS : m/z 519 $(M+1)^+$

Example 7

N-Hydroxy 4-{[4-(4-{6-[2-hydroxyethoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulphonyl}-1-methyl-piperidine-4-carboxamide



The title compound was prepared from the acid from preparation 75 and hydroxylamine hydrochloride following a similar procedure to that described in example 1. The reaction mixture was acidified to pH 2 using hydrochloric acid, this mixture stirred for 45 minutes, then basified to pH 8 using sodium hydroxide solution (2N). This solution was extracted with ethyl acetate (3x), the combined organic

extracts washed with water, then brine, dried (Na_2SO_4), filtered and evaporated in vacuo. The residue was dried at 60°C, under vacuum to afford the title compound (39mg, 8%).

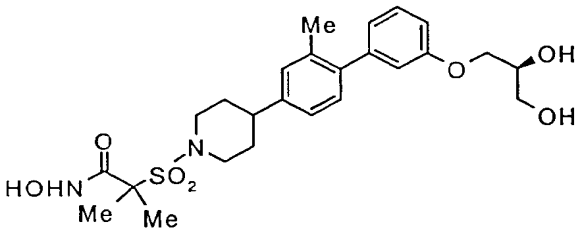
^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.60 (m, 2H), 1.78 (m, 4H), 1.86 (m, 2H), 2.8 (s, 3H), 2.35 (s, 3H), 2.40 (m, 2H), 2.59-2.75 (m, 3H), 3.01 (m, 2H), 3.68 (m, 4H), 4.25 (t, 2H), 4.75 (t, 1H), 6.75 (d, 1H), 7.03 (d, 1H), 7.15 (m, 2H), 7.32 (d, 1H), 7.74 (m, 1H), 9.06 (br, s, 1H), 10.88 (br, s, 1H).

LRMS : m/z 533 $(M+1)^+$

Anal. Found: C, 57.91; H, 6.82; N, 10.24. $C_{26}H_{36}N_4O_6S;0.3H_2O$ requires C, 58.04; H, 6.86; N, 10.41%.

Example 8

N-Hydroxy 2-[4-(4-{3-[(2S)-2,3-dihydroxy-1-propoxy]phenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]-2-methylpropanamide



The title compound was prepared from the acid from preparation 77, following a similar procedure to that described in example 3. The crude product was recrystallised from methanol/di-isopropyl ether, to give the desired product (75mg, 24%) as a white solid. The mother liquors were evaporated in vacuo, and purified by column chromatography on silica gel using an elution gradient of dichloromethane:methanol (98:2 to 95:5) to give an additional (38mg, 12%) of the desired product.

mp 152-154°C

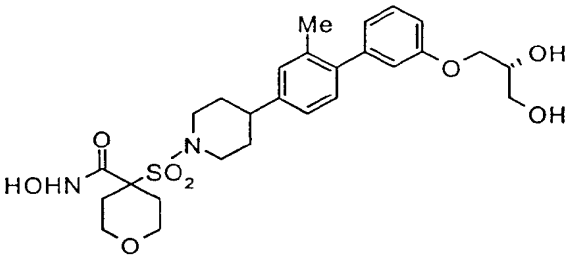
^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.44 (s, 6H), 1.60 (m, 2H), 1.78 (m, 2H), 2.18 (s, 3H), 2.61 (m, 1H), 3.02 (m, 2H), 3.39 (m, 2H), 3.71 (m, 3H), 3.82 (m, 1H), 3.98 (m, 1H), 4.56 (m, 1H), 4.82 (m, 1H), 6.82 (m, 3H), 7.08 (m, 2H), 7.12 (s, 1H), 7.26 (m, 1H), 8.94 (s, 1H), 10.69 (s, 1H).

LRMS : m/z 529 $(M+23)^+$

Anal. Found: C, 58.10; H, 6.70; N, 5.09. $C_{25}H_{34}N_2O_7S;0.5MeOH$ requires C, 58.60; H, 6.94; N, 5.36%.

Example 9

N-Hydroxy 4-{4-[4-(3-[(2R)-2,3-dihydroxy-1-propoxy]phenyl)-3-methylphenyl]-piperidin-1-ylsulphonyl}-tetrahydro-(2H)-pyran-4-carboxamide



Chlorotrimethylsilane (45µl, 0.37mmol) was added to a solution of the acid from preparation 79 (90mg, 0.17mmol) in dichloromethane (2ml), and pyridine (1ml), and the solution stirred at room temperature under a nitrogen atmosphere for 1 hour. 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride (40mg, 0.21mmol) and 1-hydroxy-7-azabenzotriazole (26mg, 0.19mmol) were added, and stirring was continued for a further hour. Hydroxylamine hydrochloride (36mg, 0.51mmol) was then added and the reaction stirred at room temperature for a further 2 hours. The reaction mixture was diluted with methanol (5ml), acidified to pH 1 using hydrochloric acid, and the mixture stirred vigorously for an hour. The mixture was extracted with dichloromethane (3x30ml), the combined organic extracts dried (Na_2SO_4), filtered and evaporated. The residue was purified by column chromatography on silica gel using dichloromethane:methanol (90:10) as eluant to afford the title compound as an off-white solid, (40mg, 43%).

mp 141-145°C

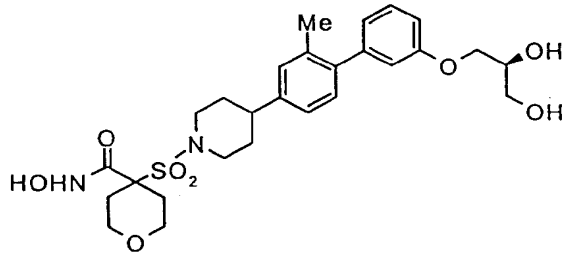
^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.60 (m, 2H), 1.78 (m, 2H), 1.90 (m, 2H), 2.20 (s, 3H), 2.38 (m, 2H), 2.62 (m, 1H), 3.03 (m, 2H), 3.20 (m, 2H), 3.42 (m, 2H), 3.66-3.90 (m, 6H), 4.01 (m, 1H), 4.60 (m, 1H), 4.90 (m, 1H), 6.84 (m, 3H), 7.14 (m, 3H), 7.30 (m, 1H), 9.18 (s, 1H), 10.98 (1H, s).

LRMS : m/z 571 $(M+23)^+$

Anal. Found: C, 59.22; H, 6.80; N, 5.11. $C_{27}H_{36}N_2O_8S$ requires C, 59.11; H, 6.61; N, 5.11%.

Example 10

N-Hydroxy 4-{4-[4-(3-{(2S)-2-hydroxy-2-hydroxymethyl}ethoxyphenyl)-3-methylphenyl]-piperidin-1-ylsulphonyl}-tetrahydro-2H-pyran-4-carboxamide



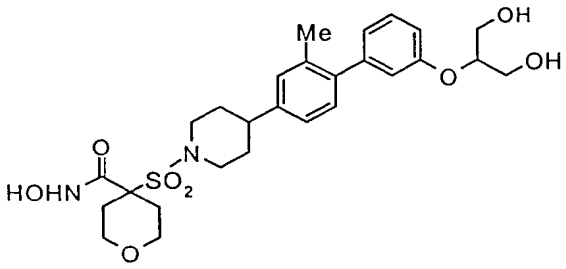
The title compound was prepared, from the acid from preparation 80, following a similar procedure to that described in example 9. The crude product was triturated with methanol/di-isopropyl ether, and the resulting precipitate filtered and dried to afford the title compound as a buff-coloured solid, (158mg, 45%).

mp 132-134°C

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.60 (m, 2H), 1.78 (m, 2H), 1.90 (m, 2H), 2.20 (s, 3H), 2.38 (m, 2H), 2.62 (m, 1H), 3.02 (m, 2H), 3.20 (m, 2H), 3.42 (dd, 2H), 3.68-3.90 (m, 6H), 4.00 (m, 1H), 4.60 (t, 1H), 4.97 (d, 1H), 6.81 (m, 2H), 6.90 (m, 1H), 7.08 (s, 2H), 7.15 (s, 1H), 7.29 (dd, 1H), 9.14 (s, 1H), 10.98 (s, 1H).

Example 11

N-Hydroxy 4-{4-[4-(3-{1,3-dihydroxy-2-propoxyphenyl)-3-methylphenyl]-piperidin-1-ylsulphonyl}-tetrahydro-2H-pyran-4-carboxamide



The title compound was obtained (25%) as a white solid, from the acid from preparation 78 and hydroxylamine hydrochloride, using a similar procedure to that described in example 9.

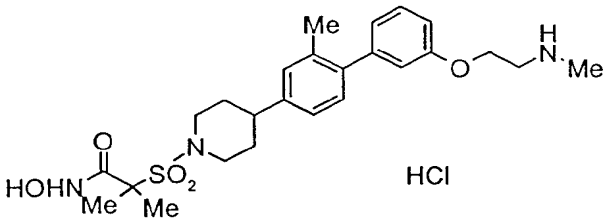
^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.60 (m, 2H), 1.79 (m, 2H), 1.90 (m, 2H), 2.20 (s, 3H), 2.39 (m, 2H), 2.62 (m, 1H), 3.02 (m, 2H), 3.20 (m, 2H), 3.57 (m, 4H), 3.70 (m, 2H), 3.84 (m, 2H), 4.24 (m, 1H), 4.78 (m, 2H), 6.82 (d, 1H), 6.90 (m, 2H), 7.14 (m, 3H), 7.28 (m, 1H), 9.18 (br, s, 1H).

LRMS : m/z 570 $(M+23)^+$

Anal. Found: C, 56.98; H, 6.65; N, 5.15. $C_{27}H_{36}N_2O_8S;H_2O$ requires C, 57.22; H, 6.76; N, 4.94%.

Example 12

N-Hydroxy 2-{[4-(4-{3-[2-(methylamino)ethoxy]phenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-yl]sulphonyl}-2-methylpropanamide hydrochloride



Dichloromethane saturated with hydrogen chloride (12ml) was added to a solution of the hydroxamic acid from preparation 88 (120mg, 0.2mmol) in dichloromethane (1ml), and the reaction stirred at room temperature for 4 hours. The resulting precipitate was filtered, then washed with, dichloromethane, ether, then dried under vacuum at 60°C, to afford the title compound as a solid, (90mg, 85%).

mp 180-184°C

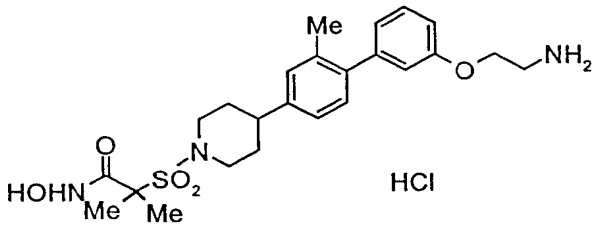
^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.44 (s, 6H), 1.60 (m, 2H), 1.78 (m, 2H), 2.18 (s, 3H), 2.59 (m, 3H), 3.02 (m, 2H), 3.28 (m, 2H), 3.72 (m, 2H), 4.23 (t, 2H), 6.90 (m, 3H), 7.08 (s, 2H), 7.16 (s, 1H), 7.34 (m, 1H), 8.83 (br s, 2H), 10.80 (s, 1H).

LRMS : m/z 490 $(M+1)^+$

Anal. Found: C, 54.25; H, 6.93; N, 7.44. $C_{25}H_{35}N_3O_5S;HCl;H_2O;0.1CH_2Cl_2$ requires C, 54.56; H, 6.97; N, 7.60%.

Example 13

N-Hydroxy 2-[4-(4-{3-(2-aminoethoxy)phenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]-2-methylpropanamide hydrochloride



The title compound was obtained as a solid (76%), from the hydroxamic acid from preparation 89, following the procedure described in example 12.

mp 204-206°C

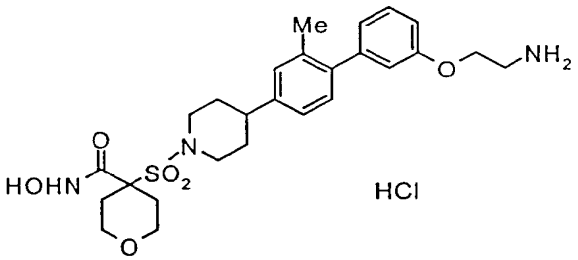
^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.48 (s, 6H), 1.60 (m, 2H), 1.80 (m, 2H), 2.20 (s, 3H), 2.64 (m, 2H), 3.06 (m, 2H), 3.20 (t, 2H), 3.75 (m, 2H), 4.20 (t, 2H), 6.94 (m, 3H), 7.12 (s, 2H), 7.18 (s, 1H), 7.38 (m, 2H), 8.01 (br s, 1H), 8.99 (s, 1H).

LRMS : m/z 476 $(M+1)^+$

Anal. Found: C, 55.21; H, 6.74; N, 7.83. $C_{24}H_{33}N_3O_5S;HCl;0.5H_2O$ requires C, 55.32; H, 6.77; N, 8.06%.

Example 14

N-Hydroxy 4-{[4-(-4-{6-[2-aminoethoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulphonyl}tetrahydro-2H-pyran-4-carboxamide hydrochloride



A saturated solution of hydrogen chloride in dichloromethane (250ml) was added to a solution of the hydroxamic acid from preparation 90 (4.5g, 7.28mmol) in dichloromethane (30ml), and the reaction stirred at room temperature for 3 ½ hours. The mixture was cooled in an ice-bath, the resulting precipitate filtered off, and washed with dichloromethane, then ether. The solid was then dried under vacuum at 70°C to afford the title compound (3.1g, 77%).

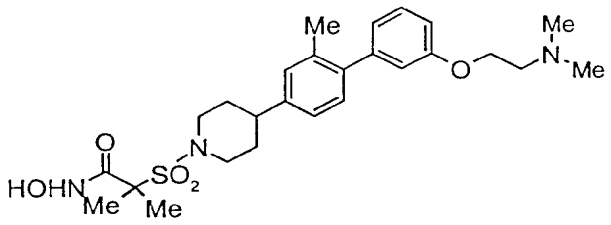
mp 208-210°C

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.60 (m, 2H), 1.78 (m, 2H), 1.90 (m, 2H), 2.19 (s, 3H), 2.38 (m, 2H), 2.62 (m, 1H), 3.02 (m, 2H), 3.19 (m, 6H), 3.70 (m, 2H), 3.83 (m, 2H), 4.18 (t, 2H), 6.92 (m, 3H), 7.06 (s, 2H), 7.17 (s, 1H), 7.35 (m, 1H), 9.12 (s, 1H).

LRMS : m/z 518 $(M+1)^+$

Example 15

N-Hydroxy 2-[4-(4-{3-(2-N,N-dimethylaminoethoxy)phenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]-2-methylpropanamide



1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride (130mg, 0.68mmol) and 1-hydroxy-7-azabenzotriazole (80mg, 0.59mmol) were added to a solution of the acid from preparation 83 (270mg, 0.55mmol) in pyridine (6ml) and dichloromethane (6ml) under a nitrogen atmosphere, and the suspension stirred for 30 minutes. N,N-dimethylformamide (5ml), was added, and the reaction warmed to 50°C to obtain a solution. Hydroxylamine hydrochloride (115mg, 1.65mmol) was added and the reaction stirred at room temperature for 18 hours. The reaction mixture was partitioned between ethyl acetate (100ml) and pH 7 buffer solution (30ml), and the phases separated. The organic layer was washed with water (2x30ml), brine (30ml), dried (Na_2SO_4), filtered and evaporated in vacuo. The residue was azeotroped with toluene (3x), and ethyl acetate (2x), and dried under vacuum at 60°C, to afford the title compound as a solid, (180mg, 65%).

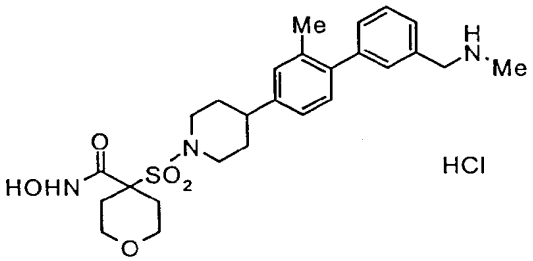
^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.48 (s, 6H), 1.60 (m, 2H), 1.78 (m, 2H), 2.19 (s, 9H), 2.60 (m, 3H), 3.03 (m, 2H), 3.76 (m, 2H), 4.05 (t, 2H), 6.80 (m, 2H), 6.86 (m, 1H), 7.06 (m, 2H), 7.12 (s, 1H), 7.28 (m, 1H).

LRMS : m/z 504 $(M+1)^+$

Anal. Found: C, 60.43; H, 7.50; N, 8.08. $C_{26}H_{37}N_3O_5S;0.75H_2O$ requires C, 60.38; H, 7.50; N, 8.12%.

Example 16

N-Hydroxy 4-{[4-(4-{3-(methyl)aminomethyl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulphonyl}tetrahydro-2H-pyran-4-carboxamide hydrochloride



A solution of dichloromethane saturated with hydrogen chloride (20ml) was added to a solution of the hydroxamic acid from preparation 91 (347mg, 0.58mmol) in dichloromethane (10ml), and the solution

stirred at room temperature for 4 hours. The reaction mixture was concentrated in vacuo, and the residue triturated with hot methanol/di-isopropyl ether to give the title compound as a white solid, (202mg, 64%).

mp 213-214°C

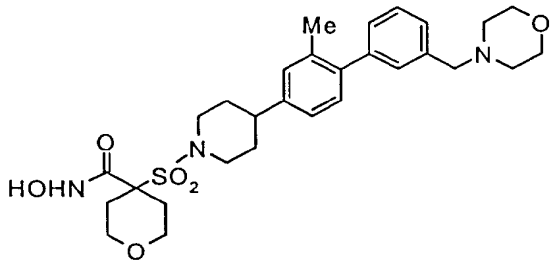
^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.60 (m, 2H), 1.78 (m, 2H), 1.97 (m, 2H), 2.20 (s, 3H), 2.38 (m, 2H), 2.46 (s, 3H), 2.62 (m, 1H), 3.01 (m, 2H), 3.18 (m, 2H), 3.70 (m, 2H), 3.82 (m, 2H), 4.12 (s, 2H), 7.10 (m, 3H), 7.35 (s, 1H), 7.43 (m, 3H), 9.10 (br, s, 1H), 10.92 (s, 1H).

LRMS : m/z 502 $(M+1)^+$

Anal. Found: C, 57.16; H, 6.72; N, 7.64. $C_{26}H_{35}N_3O_5S;HCl;0.5H_2O$ reqires C, 57.08; H, 6.82; N, 7.68%.

Example 17

N-Hydroxy 4-{[4-(3-methyl-4-{3-[4-morpholinylmethyl]}phenyl)piperidin-1-yl]sulphonyl}tetrahydro-2H-pyran-4-carboxamide



1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride (265mg, 1.38mmol) and 1-hydroxy-7-azabenzotriazole (157mg, 1.15mmol) were added to a solution of the acid from preparation 86 (625mg, 1.15mmol) in pyridine (6ml) and N,N-dimethylformamide (6ml) under a nitrogen atmosphere, and the suspension stirred for 1 hour. Hydroxylamine hydrochloride (210mg, 3.45mmol) was added and the reaction stirred at room temperature for 18 hours. The reaction mixture was partitioned between ethyl acetate and pH 7 buffer solution, the phases separated, and the aqueous layer extracted with ethyl acetate. The combined organic solutions were washed with water, brine, then dried ($MgSO_4$), filtered and concentrated in vacuo. The crude product was purified by column chromatography on silica gel using dichloromethane:methanol (95:5) as eluant, and recrystallised from ethyl acetate to give the desired product as a white solid, (398mg, 62%).

mp 177-179°C

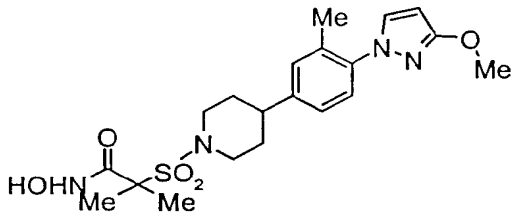
^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.60 (m, 2H), 1.78 (m, 2H), 1.88 (m, 2H), 2.17 (s, 3H), 2.36 (m, 6H), 2.60 (m, 1H), 3.00 (m, 2H), 3.19 (m, 2H), 3.46 (s, 2H), 3.53 (m, 4H), 3.70 (m, 2H), 3.81 (m, 2H), 7.06 (m, 7H), 9.10 (s, 1H), 10.92 (s, 1H).

LRMS : m/z 558 $(M+1)^+$

Anal. Found: C, 62.15; H, 7.01; N, 7.40. $C_{29}H_{39}N_3O_6S$ requires C, 62.46; H, 7.05; N, 7.53%.

Example 18

N-Hydroxy 2-({4-[4-(3-methoxy-1H-pyrazol-1-yl)-3-methylphenyl]piperidin-1-yl}sulphonyl)-2-methylpropanamide



1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride (129mg, 0.67mmol) and 1-hydroxy-7-azabenzotriazole (76mg, 0.56mmol) were added to a solution of the acid from preparation 103 (235mg, 0.56mmol) in pyridine (1.5ml) and dichloromethane (3ml) under a nitrogen atmosphere, and the suspension stirred for 30 minutes. Hydroxylamine hydrochloride (78mg, 1.12mmol) was added and the reaction stirred at room temperature for 18 hours. The reaction mixture was poured into ethyl acetate (100ml), washed with pH 7 buffer solution (2x50ml) then dried ($MgSO_4$), filtered and evaporated in vacuo. The residual white solid was recrystallised from hot ethyl acetate, to afford the title compound as a white solid, (156mg, 64%).

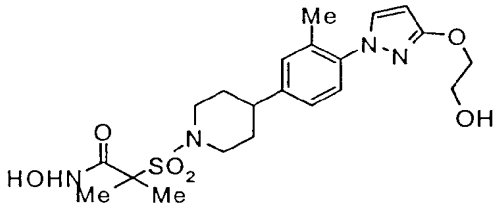
mp 172-173°C

^{1}H nmr (CD_3OD, 400MHz) δ: 1.58 (s, 6H), 1.74 (m, 2H), 1.82 (m, 2H), 2.20 (s, 3H), 2.70 (m, 1H), 3.09 (m, 2H), 3.87 (m, 5H), 5.84 (s, 1H), 7.16 (m, 1H), 7.20 (m, 2H), 7.48 (s, 1H).

Anal. Found: C, 55.04; H, 6.42; N, 12.77. $C_{20}H_{28}N_4O_5S$ requires C, 55.03; H, 6.47; N, 12.83%.

Example 19

N-Hydroxy 2-[(4-{4-[3-(2-hydroxyethoxy)-1H-pyrazol-1-yl]-3-methylphenyl}piperidin-1-yl)sulphonyl]-2-methylpropanamide



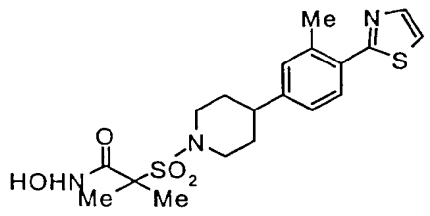
Pyridine (6ml) was added to a suspension of the acid from preparation 104 (325mg, 0.72mmol) in dichloromethane (6ml), and the solution purged with nitrogen. Chlorotrimethylsilane (858mg, 0.79mmol) was added, the solution stirred for an hour, then 1-hydroxy-7-azabenzotriazole (98mg, 0.72mmol) was added, followed by 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride (166.8mg, 0.87mmol), and the solution was stirred for a further hour. Hydroxylamine hydrochloride (150mg, 2.16mmol) was then added and the reaction stirred at room temperature for 17 hours. The reaction was partitioned between ethyl acetate and pH 7 buffer solution, and the pH of the mixture carefully adjusted to 3 using hydrochloric acid (2N). The layers were separated, the organic phase dried ($MgSO_4$), filtered and evaporated in vacuo, and the residue triturated with ether. The resulting white solid was filtered, then dissolved in a solution of acetic acid (10ml), water (10ml), and methanol (10ml), and this mixture stirred at room temperature for 45 minutes. The solution was poured into pH 7 buffer (300ml), extracted with ethyl acetate (3x100ml), and the combined organic extracts dried ($MgSO_4$), filtered and concentrated in vacuo. The residue was azeotroped with toluene and ethyl acetate, and triturated several times with ether to give the title compound as a white solid, (141mg, 42%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.43 (s, 6H), 1.59 (m, 2H), 1.77 (m, 2H), 2.19 (s, 3H), 2.62 (m, 1H), 3.00 (m, 2H), 3.66 (m, 4H), 4.05 (t, 2H), 4.72 (br, t, 1H), 5.84 (s, 1H), 7.15 (m, 1H), 7.19 (m, 2H), 7.72 (s, 1H), 8.90 (s, 1H), 10.66 (s, 1H).

Anal. Fond: C, 53.85; H, 6.49; N, 11.86. $C_{21}H_{30}N_4O_6S$ requires C, 54.06; H, 6.48; N, 12.01%.

Example 20

N-Hydroxy 2-methyl-2-({4-[3-methyl-4-(1,3-thiazol-2-yl)phenyl]piperidin-1-yl}sulphonyl)propanamide



The title compound was prepared from the acid from preparation 105, following the procedure described in example 18. The crude product was crystallised from a minimum volume of methanol to give the desired product as a white solid, (58mg, 35%).

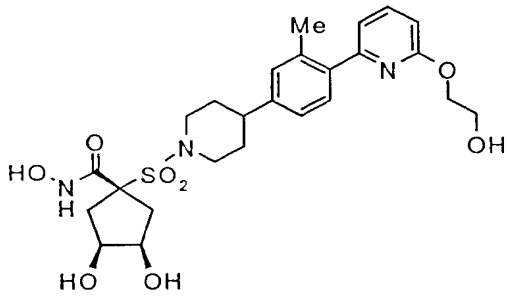
mp 199-201°C

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.45 (s, 6H), 1.60 (m, 2H), 2.44 (s, 3H), 2.65 (m, 1H), 3.01 (m, 2H), 3.14 (s, 2H), 3.72 (m, 2H), 7.18 (d, 1H), 7.20 (s, 1H), 7.61 (d, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 8.82 (br, s, 1H), 10.60 (s, 1H).

Anal. Found: C, 53.51; H, 5.92; N, 9.75. $C_{19}H_{25}N_3O_4S_2$ requires C, 53.88; H, 5.95; N, 9.92%.

Example 21

(1α,3α,4α)-*N*,3,4-trihydroxy-1-[(4-{4-[6-(2-hydroxyethoxy)pyridin-2-yl]-3-methylphenyl}piperidin-1-yl)sulfonyl]cyclopentanecarboxamide



Hydrogen chloride gas was bubbled through a solution of the tert-butyl ether from preparation 121 (260mg, 0.412mmol) in trifluoroacetic acid (10ml) and dichloromethane (10ml) for 5 minutes, and the reaction was stirred for 5 $^1/_2$ hours at ambient temperature. The reaction mixture was evaporated in vacuo and the resulting oil azeotroped with toluene (x2) before partitioning between ethyl acetate (50ml) and pH7 phosphate buffer solution (40ml). The organic layer was separated and the aqueous layer was extracted with ethyl acetate (2x50ml). The combined organic extracts were dried (Na_2SO_4), filtered and evaporated in vacuo. The resulting solid, which contained some of the starting compound, was resubmitted to the reaction conditions. After 5 hours at ambient temperature nitrogen gas was bubbled through the reaction mixture for 15 minutes. The reaction mixture was then evaporated in vacuo and the resulting oil azeotroped with toluene (x2) before partitioning between ethyl acetate (50ml) and pH7 phosphate buffer solution (40ml). The organic layer was separated and the aqueous layer extracted with ethyl acetate (2x50ml). The combined organic extracts were dried (Na_2SO_4), filtered and evaporated in vacuo. The resulting solid was purified by column chromatography on silica gel using dichloromethane/methanol (98:2 to 93:7) as eluant. The title compound was isolated as a white solid (30mg, 15%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.59 (m, 2H), 1.76 (m, 2H), 2.22 (m, 2H), 2.32 (s, 3H), 2.39 (m, 2H), 2.60 (m, 1H), 2.99 (t, 2H), 3.64 (m, 4H), 3.90 (s, 2H), 4.23 (m, 2H), 4.54 (s, 2H), 4.75 (t, 1H), 6.72 (d, 1H), 7.03 (d, 1H), 7.15 (m, 2H), 7.31 (d, 1H), 7.73 (t, 1H), 8.95 (s, 1H), 10.69 (s, 1H).

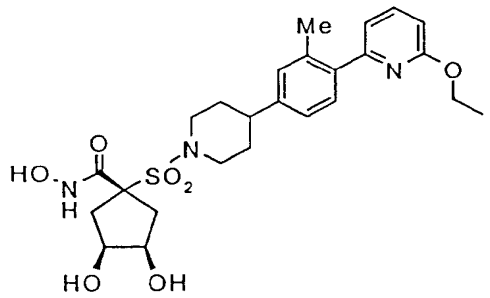
LRMS :m/z 536 $(M+1)^+$.

mp 215-218°C

Anal. Found: C, 49.73; H, 5.67; N, 6.45. $C_{25}H_{33}N_3O_8S$;TFA, 0.5MeOH requires C, 49.62; H, 5.45; N, 6.31%.

Example 22

(1α,3α,4α)-1-({4-[4-(6-ethoxypyridin-2-yl)-3-methylphenyl]piperidin-1-yl}sulfonyl)-*N*,3,4-trihydroxycyclopentanecarboxamide



2N Hydrochloric acid (2ml) was added to a solution of the dioxolane from preparation 122 in dioxan (2ml) and tetrahydrofuran (2ml) and the reaction mixture was stirred at ambient temperature for 18 hours. The reaction mixture was evaporated in vacuo and the resulting solid partitioned between pH7 phosphate buffer solution (20ml) and ethyl acetate (20ml). The aqueous layer was extracted with ethyl acetate (2x20ml) and the combined organic extracts were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated in vacuo. The resulting solid was recrystalised from ethyl acetate to afford the title compound as a white solid (95mg, 70%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.25 (t, 3H), 1.58 (m, 2H), 1.76 (m, 2H), 2.22 (m, 2H), 2.35 (s, 3H), 2.38 (m, 2H), 2.60 (m, 1H), 2.99 (t, 2H), 3.66 (d, 2H), 3.85 (s, 2H), 4.25 (q, 2H), 4.61 (s, 2H), 6.71 (d, 1H), 7.03 (d, 1H), 7.12 (m, 2H), 7.31 (d, 1H), 7.72 (t, 1H), 9.00 (s, 1H), 10.78 (s, 1H).

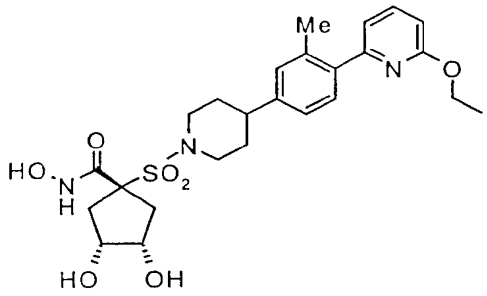
LRMS :m/z 520 $(M+1)^+$.

mp 204-205°C

Anal. Found: C, 57.42; H, 6.36; N, 7.98. $C_{25}H_{33}N_3O_7S$; 0.25 H_2O requires C, 57.29; H, 6.44; N, 8.02%.

Example 23

(1α,3β,4β)-1-({4-[4-(6-ethoxypyridin-2-yl)-3-methylphenyl]piperidin-1-yl}sulfonyl)-*N*,3,4-trihydroxycyclopentanecarboxamide



The title compound was prepared from the dioxolane from preparation 123 in a similar procedure to that described in example 22. This afforded the title compound as a white solid (50mg, 55%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.27 (t, 3H), 1.62 (m, 2H), 1.78 (m, 2H), 2.09 (m, 2H), 2.35 (s, 3H), 2.61 (m, 1H), 2.74 (m, 2H), 3.01 (t, 2H), 3.69 (m, 4H), 4.29 (q, 2H), 4.49 (s, 2H), 6.69 (d, 1H), 7.02 (d, 1H), 7.12 (m, 2H), 7.31 (d, 1H), 7.73 (t, 1H), 8.92 (s, 1H), 10.71 (s, 1H).

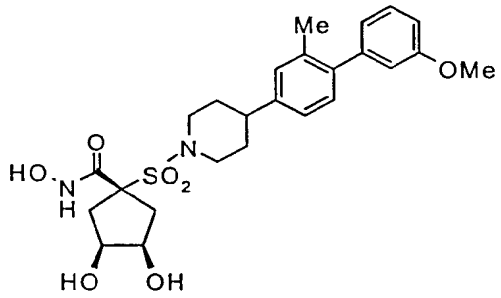
LRMS :m/z 520 $(M+1)^+$.

mp 196-197°C

Anal. Found: C, 56.83; H, 6.32; N, 7.83. $C_{25}H_{33}N_3O_7S$; 0.5 H_2O requires C, 56.80; H, 6.48; N, 7.95%.

Example 24

(1α,3α,4α)-*N*,3,4-trihydroxy-1-{4-[4-(3-methoxyphenyl)-3-methylphenyl]piperidin-1-ylsulfonyl}cyclopentanecarboxamide



2N Hydrochloric acid (2ml) was added to a solution of the dioxolane from preparation 124 in dioxan (3ml) and tetrahydrofuran (2ml) and the reaction mixture was stirred at ambient temperature for 4 hours. The reaction mixture was evaporated in vacuo and the resulting solid was partitioned between water (20ml) and ethyl acetate (20ml). The aqueous layer was extracted with ethyl acetate (2x20ml) and the combined organic extracts were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated in vacuo. The resulting solid was recrystalised from ethyl acetate to afford the title compound as a white solid (60mg, 46%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.58 (m, 2H), 1.76 (m, 2H), 2.19 (s, 3H), 2.24 (m, 2H), 2.38 (m, 2H), 2.60 (m, 1H), 2.99 (t, 2H), 3.71 (m, 5H), 3.79 (s, 2H), 4.54 (s, 2H), 6.82 (m, 3H), 7.11 (m, 3H), 7.32 (t, 1H), 8.97 (s, 1H), 10.70 (s, 1H).

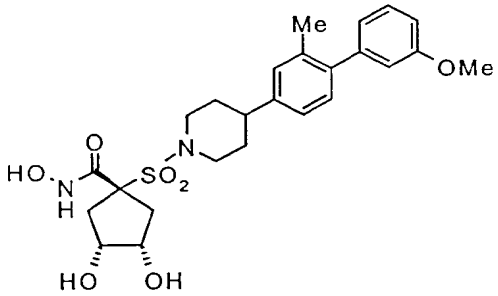
LRMS :m/z 527 $(M+23)^+$.

mp 201-202°C

Anal. Found: C, 58.85; H, 6.36; N, 5.51. $C_{25}H_{32}N_2O_7S$; 0.25 H_2O requires C, 58.98; H, 6.43; N, 5.50%.

Example 25

(1α,3β,4β)-*N*,3,4-trihydroxy-1-{4-[4-(3-methoxyphenyl)-3-methylphenyl]piperidin-1-ylsulfonyl}cyclopentanecarboxamide



The title compound was prepared from the dioxolane from preparation 125 in a similar procedure to that described in example 24. This afforded the title compound as a white solid (55mg, 50%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.59 (m, 2H), 1.76 (m, 2H), 2.17 (m, 2H), 2.19 (s, 3H), 2.60 (m, 1H), 2.71 (m, 2H), 2.99 (t, 2H), 3.70 (m, 7H), 4.61 (s, 2H), 6.82 (m, 3H), 7.12 (m, 3H), 7.32 (t, 1H), 9.00 (s, 1H), 10.82 (s, 1H).

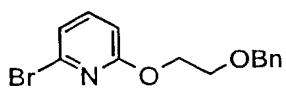
LRMS :m/z 503 $(M-1)^-$.

mp 188-189°C

Anal. Found: C, 58.97; H, 6.50; N, 5.49. $C_{25}H_{32}N_2O_7S$; 0.25 H_2O requires C, 58.98; H, 6.43; N, 5.50%.

Preparation 1

2-[2-(Benzyloxy)ethoxy]-6-bromopyridine

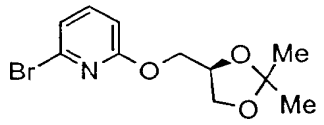


Sodium hydride (900mg, 60% dispersion in mineral oil, 22.5mmol) was added portionwise to an ice-cold solution of 2-(benzyloxy)ethanol (3.0g, 20.0mmol) in toluene (100ml), and the solution stirred for 30 minutes. 2,6-Dibromopyridine (4.75g, 20.0mmol) was added, and the reaction heated under reflux for 2 hours. The cooled mixture was diluted with water (100ml), and extracted with ethyl acetate (3x100ml). The combined organic extracts were dried ($MgSO_4$), filtered and evaporated in vacuo to give the title compound as a yellow oil, (quantitative).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 300MHz) δ: 3.82 (t, 2H), 4.52 (t, 2H), 4.62 (s, 2H), 6.75 (d, 1H), 7.05 (d, 1H), 7.22-7.46 (m, 6H).

Preparation 2

2-Bromo-6-{[(4R)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl]methoxy}pyridine

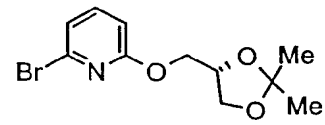


Sodium hydride (1.62g, 60% dispersion in mineral oil, 40.5mmol) was added portionwise to an ice-cooled solution of (R)-(-)-1,2-O-isopropylideneglycerol (4.86g, 36.8mmol) in toluene (100ml), and once addition was complete, the solution was allowed to warm to room temperature and stirred for 30 minutes. 2,6-Dibromopyridine (8.72g, 36.8mmol) was added, and the reaction heated under reflux for 5 hours. The cooled mixture was diluted with water, the layers separated, and the aqueous phase extracted with ether. The combined organic extracts were dried ($MgSO_4$), filtered and evaporated in vacuo to afford the title compound as a yellow oil (quantitative).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 300MHz) δ: 1.39 (s, 3H), 1.45 (s, 3H), 3.83 (dd, 1H), 4.16 (dd, 1H), 4.37 (m, 2H), 4.46 (m, 1H), 6.75 (d, 1H), 7.06 (d, 1H), 7.40 (dd, 1H).

Preparation 3

2-Bromo-6-{[(4S)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl]methoxy}pyridine

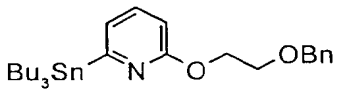


The title compound was obtained as a yellow oil (quantitative), from (S)-(-)-1,2-O-isopropylideneglycerol and 2,6-dibromopyridine, following the procedure described in preparation 2.

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 300MHz) δ: 1.40 (s, 3H), 1.45 (s, 3H), 3.83 (dd, 1H), 4.16 (dd, 1H), 4.37 (m, 2H), 4.48 (m, 1H), 6.76 (d, 1H), 7.06 (d, 1H), 7.41 (m/dd, 1H).

Preparation 4

2-[2-(Benzyloxy)ethoxy]-6-(tributylstannyl)pyridine

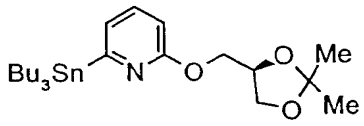


n-Butyllithium (13.8ml, 1.6M solution in hexanes, 22.0mmol) was added dropwise to a cooled (-78°C) solution of the bromide from preparation 1 (20.0mmol) in anydrous THF (100ml), so as to maintain the internal temperature <-70°C, and the solution stirred for 20 minutes. Tri-n-butyltin chloride (6.0ml, 22.0mmol) was added slowly to maintain the temperature <-70°C, and the reaction then allowed to warm to room temperature over 1 hour. The reaction was diluted with water, the mixture extracted with Et_2O (2x100ml), and the combined organic extracts dried ($MgSO_4$), filtered and evaporated in vacuo. The residue was purified by column chromatography on silica gel using pentane:Et_2O (98:2) as eluant, to afford the title compound as a colourless oil, (7.0g, 67%).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 300MHz) δ: 0.88 (t, 9H), 1.06 (m, 6H), 1.35 (m, 6H), 1.58 (m, 6H), 3.83 (t, 2H), 4.56 (t, 2H), 4.62 (s, 2H), 6.61 (d, 1H), 6.99 (d, 1H), 7.24-7.40 (m, 6H).

Preparation 5

2-{[(4R)-2,2-Dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl]methoxy}-6-(tributylstannyl)pyridine

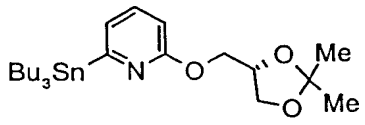


The title compound was prepared as an oil (quantitative) from the bromide of preparation 2, using a similar procedure to that described in preparation 4.

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 300MHz) δ: 0.88 (t, 9H), 1.06 (t, 6H), 1.25-1.40 (m, 9H), 1.45 (s, 3H), 1.50-1.70 (m, 6H), 3.83 (dd, 1H), 4.15 (dd, 1H), 4.40 (m, 2H), 4.52 (m, 1H), 6.60 (d, 1H), 7.00 (d, 1H), 7.40 (dd, 1H).

Preparation 6

2-{[(4S)-2,2-Dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl]methoxy}-6-(tributylstannyl)pyridine

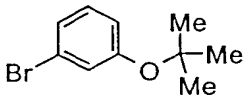


The title compound was obtained as a colourless oil (71%), from the bromide from preparation 3, following a similar procedure to that described in preparation 5.

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 300MHz) δ: 0.89 (t, 9H), 1.07 (t, 6H), 1.35 (m, 6H), 1.40 (s, 3H), 1.48 (s, 3H), 1.58 (m, 6H), 3.83 (dd, 1H), 4.16 (dd, 1H), 4.40 (m, 2H), 4.52 (m, 1H), 6.60 (d, 1H), 7.00 (d, 1H), 7.40 (dd, 1H).

Preparation 7

3-Bromo-1-(tert-butoxy)benzene

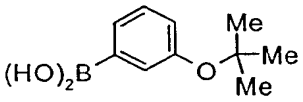


Condensed isobutylene (100ml) was added via a dry ice/acetone cold finger, to dichloromethane (70ml) at -30°C, followed by a solution of 3-bromophenol (21.5g, 125mmol) in dichloromethane (30ml). Trifluoromethanesulphonic acid (1.5g, 10.0mmol) was added dropwise, the reaction cooled to -75°C, and stirred for 2 hours. Triethylamine (1.4ml, 10.0mmol) was then added, the solution allowed to warm to room temperature and then concentrated in vacuo to remove the isobutylene. The remaining solution was washed with water, dried (Na_2SO_4), filtered and evaporated to give the desired product as a pale yellow oil, (33g, slightly impure).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.37 (s, 9H), 6.89 (d, 1H), 7.04-7.20 (m, 3H).

Preparation 8

3-(tert-Butoxy)-phenylboronic acid

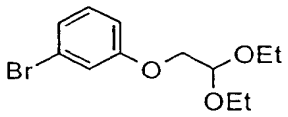


n-Butyllithium (40ml, 2.5M in hexanes, 100mmol) was added dropwise to a cooled (-78°C) solution of the bromide from preparation 7 (23.9g, 90mmol) in tetrahydrofuran (300ml), so as to maintain the temperature below -70°C. The resulting solution was stirred for 1 hour, and triisopropyl borate (30.6ml, 135mmol) was added dropwise over 10 minutes. The reaction was allowed to warm to room temperature, diluted with ether (150ml) then extracted with sodium hydroxide solution (1N). The combined aqueous layers were washed with ether and then re-acidified to pH 2 using hydrochloric acid (2N). This aqueous mixture was extracted with dichloromethane (3x200ml), the combined organic extracts dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated in vacuo. The resulting white solid was stirred vigorously in pentane, filtered (twice) then dried under vacuum to give the title compound as a white solid, (13.1g, 75%).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.39 (s, 9H), 7.19 (m, 1H), 7.37 (m, 1H), 7.79 (m, 1H), 7.88 (m, 1H).

Preparation 9

1-Bromo-3-(2,2-diethoxyethoxy)benzene

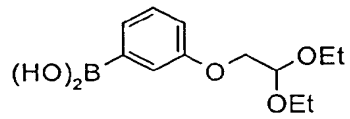


A mixture of potassium carbonate (1.5g, 10.9mmol), 3-bromophenol (1.73g, 10.0mmol) and bromoacetaldehyde diethyl acetal (1.5ml, 9.67mmol) in dimethylsulphoxide (10ml) was heated at 160°C for 1 ½ hours. The cooled reaction was partitioned between water (50ml) and ethyl acetate (100ml), and the phases separated. The aqueous layer was extracted with ethyl acetate (50ml), the combined organic solutions washed consecutively with 1N sodium hydroxide solution, water (2x), brine and then dried (Na_2SO_4), filtered and evaporated in vacuo. The residue was purified by medium pressure column chromatography on silica gel using an elution gradient of ether:pentane (0:100 to 5:95) to afford the title compound (2.01g, 72%).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.22 (t, 6H), 3.60 (m, 2H), 3.75 (m, 2H), 3.97 (d, 2H), 4.80 (t, 1H), 6.82 (d, 1H), 7.07 (m, 3H).

Preparation 10

3-(2,2-Diethoxyethoxy)phenylboronic acid

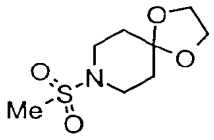


n-Butyllithium (18.5ml, 2.5M in hexanes, 46.25mmol) was added dropwise to a cooled (-78°C) solution of the bromide from preparation 9 (11.4g, 39.6mmol) in anhydrous tetrahydrofuran (100ml), so as to maintain the internal temperature <-70°C. This solution was stirred for 1 hour, then triisopropyl borate (1.13g, 6.0mmol) added slowly, and the reaction allowed to warm to room temperature over 3 hours. The mixture was cooled in an ice-bath, acidified to pH 4 using 2N hydrochloric acid, and quickly extracted with ethyl acetate (2x500ml). The combined organic extracts were washed with water and brine, dried (Na_2SO_4), filtered and evaporated in vacuo. The residual oil was purified by medium pressure column chromatography on silica gel using an elution gradient of ether:pentane (0:100 to 50:50) to afford the title compound (8.24g, 82%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.14 (t, 6H), 3.58 (m, 2H), 3.66 (m, 2H), 3.94 (d, 2H), 4.80 (t, 1H), 6.98 (m, 1H), 7.22 (m, 1H), 7.37 (m, 2H), 8.00 (s, 2H).

Preparation 11

1-Methylsulphonyl-piperidin-4-one ethylene ketal



Methanesulphonyl chloride (24.8g, 0.217mol) was added dropwise to a solution of 4-piperidone ethylene ketal (28.2g, 0.197mol) and triethylamine (30.2ml, 0.217mol) in ether (280ml), and the reaction stirred at room temperature for 3 hours. The mixture was washed consecutively with water (2x), hydrochloric acid (1N), and saturated sodium bicarbonate solution, dried ($MgSO_4$), filtered and evaporated in vacuo. The residue was triturated with hexane, filtered and dried to give the desired product as an off-white solid (41.6g, 95%).

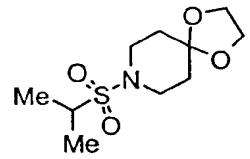
mp 107-109°C

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.78 (m, 4H), 2.75 (s, 3H), 3.32 (m, 4H), 3.92 (s, 4H).

Anal. Found: C, 43.23; H, 6.85; N, 6.23. $C_8H_{15}NO_4S$ requires C, 43.42; H, 6.83; N, 6.33%.

Preparation 12

1-Isopropylsulphonyl-piperidin-4-one ethylene ketal



Isopropylsulphonyl chloride (5.6ml, 50mmol) was added dropwise to an ice-cooled solution of 4-piperidone ethylene ketal (6.4ml, 50mmol) and triethylamine (7.7ml, 55mmol) in dichloromethane (100ml), and the reaction stirred at room temperature for 3 hours. The mixture was washed with water (2x), dried ($MgSO_4$), filtered and evaporated in vacuo. The residue was crystallised from ether/pentane to afford the title compound as a solid, (10.55g, 85%).

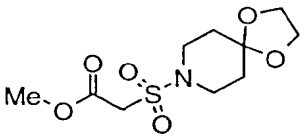
mp 66-67°C

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.34 (d, 6H), 1.77 (m, 4H), 3.18 (m, 1H), 3.43 (m, 4H), 3.98 (s, 4H).

Anal. Found: C, 48.19; H, 7.74; N, 5.50. $C_{10}H_{19}NO_4S$ requires C, 48.15; H, 7.75; N, 5.56%.

Preparation 13

Methyl 2-(1,4-dioxa-8-azaspiro[4.5]dec-8-ylsulphonyl)acetate



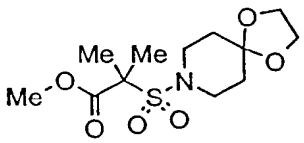
Potassium tert-butoxide (24.6g, 219mmol) was added portionwise to a solution of the ethylene ketal from preparation 11 (32.3g, 146mmol) and dimethyl carbonate (61ml, 730mmol) in tetrahydrofuan (200ml), and once addition was complete, the reaction was stirred at room temperature overnight under a nitrogen atmosphere. The reaction was poured into a mixture of hydrochloric acid (1N) and ether and the layers separated. The aqueous layer was extracted with ethyl acetate, the combined organic solutions washed with brine, dried ($MgSO_4$), filtered and evaporated in vacuo. The residue was suspended in di-isopropyl ether, the mixture heated to reflux, cooled, and filtered, to afford the title compound as a solid, (26.7g, 65%).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.77 (m, 4H), 3.42 (m, 4H), 3.78 (s, 3H), 3.92 (s, 2H), 3.95 (s, 4H).

Anal. Found: C, 42.69; H, 6.16; N, 4.93. $C_{10}H_{17}NO_6S$ requires C, 43.00; H, 6.14; N, 5.02%.

Preparation 14

Methyl 2-(1,4-dioxa-8-azaspiro[4.5]dec-8-ylsulphonyl)-2-methylpropanoate



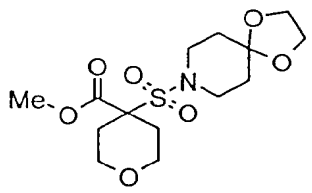
N-Butyl lithium (28ml, 1.6M in hexanes, 44.1mmol) was added dropwise to a cooled (-78°C) solution of the sulphonamide from preparation 12 (10g, 40.1mmol) in tetrahydrofuran (100ml), so as to maintain a temperature below -45°C. Once addition was complete the solution was allowed to warm to 0°C, and then recooled to -78°C. Methyl chloroformate (3.7ml, 48.1mmol) was added dropwise so as to maintain the temperature below -45°C, the reaction stirred for 30 minutes, then allowed to warm to room temperature. The reaction mixture was partitioned between ethyl acetate and water, and the layers separated. The organic phase was washed with water, dried ($MgSO_4$), filtered and evaporated in vacuo. The crude product was triturated with ether to give the title compound as a solid, (9.88g, 80%).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.60 (s, 6H), 1.76 (m, 4H), 3.48 (m, 4H), 3.79 (s, 3H), 3.98 (s, 4H).

Anal. Found: C, 46.80; H, 6.87; N, 4.49. $C_{12}H_{21}NO_6S$ requires C, 46.89; H, 6.89; N, 4.56%.

Preparation 15

Methyl 4-(1,4-dioxa-8-azaspiro[4.5]dec-8-ylsulphonyl)tetrahydro-2H-pyran-4-carboxylate



Sodium hydride (880mg, 60% dispersion in mineral oil, 22mmol) was added to a solution of the sulphonamide from preparation 11 (2.21g, 10mmol) and dimethyl carbonate (4.2ml, 50mmol) in dry toluene (40ml), and the mixture heated at 90°C for 90 minutes. Tlc analysis showed starting material present, so methanol (20?l) was added, and the reaction stirred at 90°C overnight. 1-Methyl-2-pyrrolidinone (10ml) and bis(2-bromoethyl)ether (1.63ml, 13mmol) were added, and the reaction stirred for a further 20 hours at 90°C, and at room temperature for 3 days. The reaction mixture was partititoned between 1N citric acid solution and ether, and the layers separated. The organic phase was washed with water, dried ($MgSO_4$), filtered and evaporated in vacuo. The residue was triturated with ether to give the title compound as a white solid, (1.05g, 30%).

Alternative method

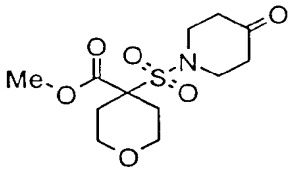
Potassium tert-butoxide (220ml, 1M in tetrahydrofuran, 220mmol) was added dropwise to a solution of the acetate from preparation 13 (27.9g, 100mmol) and bis(2-bromoethyl)ether (16.3ml, 130mmol) in tetrahydrofuran (200ml) and 1-methyl-2-pyrrolidinone (20ml), and the reaction stirred at room temperature overnight. Tlc analysis showed starting material remaining, so tetrabutylammonium iodide (3.7g, 10mmol) and sodium hydride (2.0g, 60% dispersion in mineral oil, 50mmol) were added, and the reaction stirred for a further 72 hours. Additional 1-methyl-2-pyrrolidinone (100ml), sodium hydride (4.0g, 60% dispersion in mineral oil, 100mmol) and bis(2-bromoethyl)ether (12.6ml, 100mmol) were added, and the reaction continued for a further 24 hours. The reaction was poured into a mixture of ether and 10% citric acid solution, and the layers separated. The aqueous phase was extracted with ether, the combined organic solutions washed with water, dried ($MgSO_4$), filtered and evaporated in vacuo.The residue was suspended in ether, the mixture heated to reflux, cooled and the resulting precipitate filtered, washed with ether and dried to give the title compound, (7.2g, 21%).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.70 (m, 4H), 2.16 (m, 2H), 2.35 (m, 2H), 3.24 (m, 2H), 3.41 (m, 4H), 3.80 (s, 3H), 3.94 (m, 6H).

LRMS : m/z 372 $(M+23)^+$

Preparation 16

Methyl 4-(4-oxo-piperidin-1-ylsulphonyl)tetrahydro-2H-pyran-4-carboxylate



Hydrochloric acid (20ml, 1N) was added to a solution of the ethylene ketal from preparation 15 (7.1g, 20.3mmol) in acetone (20ml) and 1,4-dioxan (20ml), and the reaction stirred at 60°C for 6 hours, and then left at room temperature overnight. The reaction was neutralised by adding sodium bicarbonate portionwise, and this mixture concentrated in vacuo. The residue was diluted with water, then extracted with ethyl acetate (3x). The combined organic extracts were dried ($MgSO_4$), filtered and evaporated in vacuo.The crude product was triturated with ether/di-isopropyl ether, to give the desired product as a solid (4.1g, 66%).

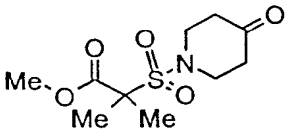
mp 158-160°C

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 2.18 (m, 2H), 2.38 (m, 2H), 2.48 (m, 4H), 3.26 (m, 2H), 3.60 (br, m, 4H), 3.82 (s, 3H), 3.98 (m, 2H).

Anal. Found: C, 47.14; H, 6.28; N, 4.54. $C_{12}H_{19}NO_6S$ requires C, 47.20; H, 6.27; N, 4.59%.

Preparation 17

Methyl 2-methyl-2-(4-oxo-piperidin-1-ylsulphonyl)propanoate



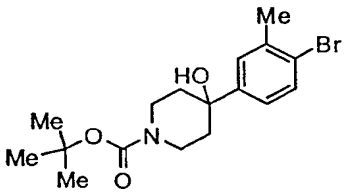
The title compound was obtained as a solid (98%) after trituration with pentane from the ethylene ketal from preparation 14, following a similar method to that described in preparation 16.

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.67 (s, 6H), 2.57 (m, 4H), 3.68 (m, 4H), 3.80 (s, 3H).

Anal. Found: C, 45.51; H, 6.52; N, 5.14. $C_{10}H_{17}NO_5S$ requires C, 45.61; H, 6.51; N, 5.32%.

Preparation 18

tert-Butyl 4-[4-(4-bromo-3-methylphenyl)-4-hydroxypiperidine-1-carboxylate



A 2.5M solution of n-butyl lithium in hexane (38ml, 94mmol) was added over about 10 minutes to a stirred mixture of 2-bromo-5-iodo-toluene (28g, 94mmol) in anhydrous ether (500ml) under nitrogen, at about -75°C. After a further 15 minutes, a solution of t-butyl 4-oxopiperidine-1-carboxylate (17 g, 85 mmol) in anhydrous tetrahydrofuran (50 ml) was added at such a rate that the reaction temperature was maintained below -60°C.

The reaction mixture was stirred at about -75°C for 1 hour, and allowed to warm to 0°C and quenched with aqueous ammonium chloride solution. The organic phase was separated, washed with water, dried ($MgSO_4$), filtered and evaporated in vacuo. The residue was dissolved in pentane and cooled to 0°C to crystallise the title compound, which was collected by filtration as a colourless solid (20.1 g, 64%).

m.p. 102-103°C.

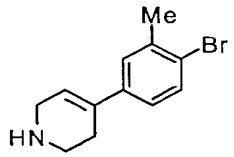
^{1}H nmr ($CDCl_3$) δ: 1.48 (s, 9H), 1.51 (s, 1H), 1.70 (d, 2H), 1.96 (m, 2H), 2.40 (s, 3H), 3.22 (t, 2H), 4.02 (m, 2H), 7.15 (dd, 1H), 7.36 (d, 1H), 7.50 (d, 1H).

LRMS :m/z 369/371 $(M+1)^+$

Anal. Found: C, 55.14; H, 6.58; N, 3.76. $C_{17}H_{24}BrNO_3$ requires C, 55.14; H, 6.53; N, 3.78%.

Preparation 19

4-(4-Bromo-3-methylphenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridine



Trifluoroacetic acid (100ml) was added to a stirred solution of the bromide from preparation 18 (20g, 54mmol) in dichloromethane (100 ml) at room temperature. After a further 18 hours, the reaction mixture was evaporated in vacuo and the residue basified with 2M aqueous sodium hydroxide solution to pH>12. The resulting mixture was extracted with ether, the combined extracts washed with water, dried ($MgSO_4$), filtered and evaporated under reduced pressure to yield the title compound as a low melting solid, (13.6 g, 100%).

^{1}H nmr ($CDCl_3$) δ: 1.60 (br, s, 1H), 2.40 (m, 5H), 3.10 (t, 2H), 3.52 (m, 2H), 6.10 (br, s, 1H), 7.05 (dd, 1H), 7.22 (d, 1H), 7.46 (d, 1H).

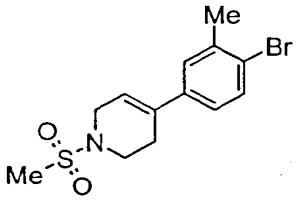
LRMS :m/z 251/253 $(M+1)^+$.

Alternative Method -

Para-toluenesulphonic acid (10.27g, 54mmol) was added to a stirred solution of the bromide from preparation 18 (10g, 27mmol) in toluene (130ml) at room temperature. The gelatinous mixture was heated to reflux in a Dean-Stark apparatus for 90 minutes, and then cooled to room temperature which resulted in a thick white precipitate. The mixture was basified with 2M sodium hydroxide solution, and extracted with ethyl acetate (3x), then the combined extracts were washed with water, dried ($MgSO_4$) and evaporated under reduced pressure to yield the title as a low melting solid, (6.8 g, 100%).

Preparation 20

4-(4-Bromo-3-methylphenyl)-1-methylsulphonyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine



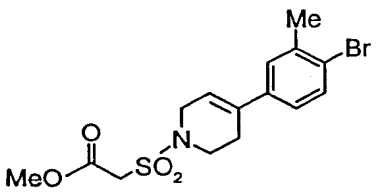
Methanesulphonyl chloride (17.5ml, 227mmol) was added dropwise to an ice-cooled solution of triethylamine (34.4ml, 247mmol) and the amine from preparation 19 (51.8g, 206mmol) in dichloromethane (400ml), and the reaction then stirred at room temperature for 1 hour. Tlc analysis showed starting material remaining, so additional methanesulphonyl chloride (1.75ml, 22.7mmol) and triethylamine (5ml, 35.9mmol) were added, and stirring continued for a further hour. The reaction was diluted with hydrochloric acid (200ml, 2N) and water (300ml), and the phases separated. The aqueous layer was extracted with dichloromethane (2x250ml) the combined organic extracts washed with brine (200ml), dried ($MgSO_4$), filtered and concentrated in vacuo. The residual solid was triturated with iso-propyl ether, filtered and dried to afford the title compound as a pale yellow solid, (65.1g, 96%).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 300MHz) δ: 2.40 (s, 3H), 2.62 (m, 2H), 2.85 (s, 3H), 3.54 (m, 2H), 3.95 (m, 2H), 6.04 (m, 1H), 7.04 (dd, 1H), 7.21 (m, 1H), 7.50 (d, 1H).

LRMS m/z 347, 349 $(M+18)^+$

Preparation 21

Methyl 2-[4-(4-bromo-3-methylphenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-1-ylsulphonyl]acetate



N,O-Bis(trimethylsilyl)acetamide (0.9ml, 4.0mmol) was added to a stirred solution of the amine from preparation 19 (2.0g, 7.9mmol) in anhydrous tetrahydrofuran (40ml), under nitrogen, at room temperature. A solution of methyl chlorosulphonylacetate (1.64g, 9.5mmol) in anhydrous tetrahydrofuran (15 ml) was added and the reaction mixture stirred at room temperature for 18 hours. The resulting mixture was evaporated in vacuo, and partitioned between ethyl acetate and aqueous sodium bicarbonate solution. The organic layer was separated and washed with water, dried ($MgSO_4$), filtered and evaporated in vacuo. The residue was purified by column chromatography on silica gel, using dichloromethane as eluant, followed by crystallisation from diisopropyl ether, to give the title compound as a colourless solid, (1.65 g, 55%).

m.p. 110-112°C.

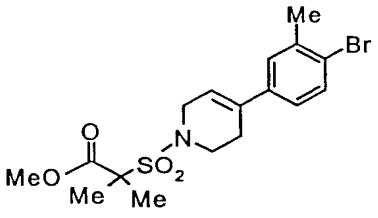
^{1}H nmr ($CDCl_3$) δ: 2.40 (s, 3H), 2.60 (m, 2H), 3.60 (t, 2H), 3.80 (s, 3H), 4.01 (s, 2H), 4.07 (m, 2H), 6.02 (br, s,1H), 7.02 (dd, 1H), 7.21 (d, 1H), 7.50 (d, 1H).

LRMS :m/z 404/406 $(M+18)^+$

Anal. Found: C, 46.32; H, 4.62; N, 3.55. $C_{15}H_{18}BrNO_4S$ requires C, 46.40; H, 4.67; N, 3.61%.

Preparation 22

Methyl 2-[4-(4-bromo-3-methylphenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-1-ylsulphonyl]-2-methyl-propanoate



Iodomethane (2ml, 32.1mmol) was added to a stirred mixture of the acetate from preparation 21 (5g, 12.9mmol) and potassium carbonate (5.4g, 39.1mmol), in anhydrous dimethylsulfoxide (50ml), under nitrogen, at room temperature. After 24 hours the reaction mixture was partitioned between ether and water, separated, and the organic layer was washed with water, dried ($MgSO_4$), filtered and evaporated in vacuo. The residue was purified by flash chromatography, using diethyl ether:pentane (40:60 to 100:0) as eluant, followed by crystallisation from diisopropyl ether, to give the title compound as a colourless solid, (4.7 g, 87%).

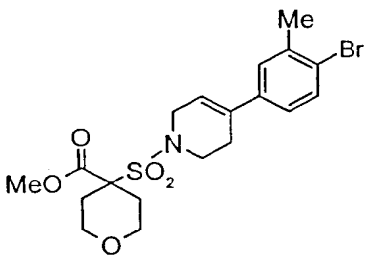
m.p. 100-101°C.

^{1}H nmr ($CDCl_3$) δ: 1.67 (s, 6H), 2.40 (s, 3H), 2.58 (m, 2H), 3.60 (t, 2H), 3.80 (s, 3H), 4.08 (m, 2H), 6.00 (br, s, 1H), 7.03 (dd, 1H), 7.21 (d, 1H), 7.49 (d, 1H).

Anal. Found: C, 49.00; H, 5.33; N, 3.28. $C_{17}H_{22}BrNO_4S$ requires C, 49.04; H, 5.33; N, 3.36%.

Preparation 23

Methyl 4-[4-(4-bromo-3-methylphenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-1-ylsulphonyl]tetrahydro-2H-pyran-4-carboxylate



Bis-2-iodoethyl ether (3.9g, 12.0mmol) was added to a stirred mixture of the acetate from preparation 21 (3.6 g, 9.3mmol) and potassium carbonate (3.8g, 27.8mmol), in anhydrous dimethylsulfoxide (50ml), under nitrogen, at room temperature. After 18 hours the reaction mixture was partitioned between diethyl ether and water, separated, and the organic layer was washed with water, dried ($MgSO_4$), filtered and evaporated in vacuo. The residue was purified by flash chromatography, using a mixture of dichloromethane and methanol (99:1) as eluant, followed by crystallisation from diisopropyl ether, to give the title compound as a colourless solid, (3.43 g, 80%).

m.p. 128-130°C.

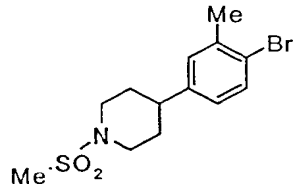
^{1}H nmr ($CDCl_3$) δ: 2.23 (m, 2H), 2.40 (s, 3H), 2.42 (m, 2H), 2.58 (m, 2H), 3.30 (m, 2H), 3.58 (m, 2H), 3.87 (s, 3H), 4.00-4.10 (m, 4H), 6.00 (br, s, 1H), 7.02 (dd, 1H), 7.21 (d, 1H), 7.49 (d, 1H).

LRMS :m/z 477 $(M+18)^+$

Anal. Found: C, 49.92; H, 5.40; N, 2.90. $C_{19}H_{24}BrNO_5S$ requires C, 49.78; H, 5.28; N, 3.06%.

Preparation 24

4-(4-Bromo-3-methylphenyl)-1-(methylsulphonyl)piperidine



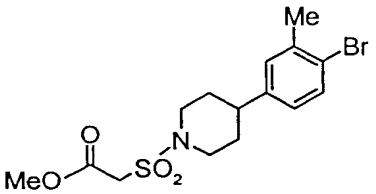
Triethylsilane (47.2ml, 296mmol), followed by trifluoromethanesulphonic acid (1.73ml, 19.7mmol) were added to a solution of the sulphonamide from preparation 20 (65.0g, 197mmol) in dichloromethane (300ml) and trifluoroacetic acid (300ml), and the reaction stirred at room temperature for an hour. Tlc analysis showed starting material remaining, so additional triethylsilane (75.2ml, 471mmol) and trifluoromethanesulphonic acid (0.86ml, 9.8mmol) were added and the reaction stirred for a further 20 hours at room temperature. The reaction was concentrated in vacuo, the residue poured into saturated aqueous potassium carbonate solution, and the mixture extracted with dichloromethane (3x650ml). The combined organic extracts were washed with brine (500ml), dried ($MgSO_4$), filtered and concentrated in vacuo. The crude product was triturated with hot methanol/hexane, filtered and dried to give the title compound (52.43g, 80%) as a buff-coloured solid.

^1H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.78 (m, 2H), 1.90 (m, 2H), 2.37 (s, 3H), 2.52 (m, 1H), 2.77 (m, 5H), 3.94 (m, 2H), 6.83 (m, 1H), 7.02 (s, 1H), 7.42 (m, 1H).

LRMS : m/z 354, 356 $(M+23)^+$

Preparation 25

Methyl 2-[4-(4-bromo-3-methylphenyl)piperidin-1-ylsulphonyl]acetate



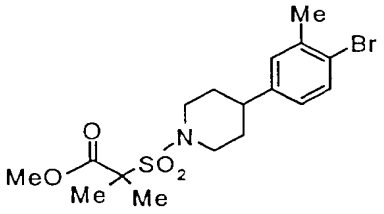
Sodium hydride (12.2g, 60% dispersion in mineral oil, 305mmol) was added to a solution of the sulphonamide from preparation 24 (50.61g, 152mmol) and dimethylcarbonate (63.8ml, 760mmol) in toluene (600ml), and the reaction heated under reflux for 1 ½ hours. The reaction was partitioned between ethyl acetate (1000ml), and cooled hydrochloric acid (600ml, 1N), and the layers separated. The aqueous layer was extracted with ethyl acetate (500ml), the combined organic extracts washed with brine (3x300ml), dried ($MgSO_4$), filtered and concentrated in vacuo. The residue was triturated with hexane, and the solid filtered. This was re-crystallised from di-isopropyl ether and dried in vacuo to give the title compound as buff-coloured crystals, (40.9g, 69%).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.77 (m, 2H), 1.84 (m, 2H), 2.37 (s, 3H), 2.58 (m, 1H), 2.97 (m, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.96 (m, 4H), 6.84 (m, 1H), 7.02 (s, 1H), 7.42 (d, 1H).

LRMS m/z 412, 414 $(M+23)^+$

Preparation 26

Methyl 2-[4-(4-bromo-3-methylphenyl)piperidin-1-ylsulphonyl]-2-methyl-propanoate



Triethylsilane (1.43ml, 9.0mmol) followed by trifluoromethanesulphonic acid (0.02ml, 0.3mmol) were added to a solution of the 1,2,3,6-tetrahydropyridine from preparation 22 (1.25g, 3.0mmol) and trifluoroacetic acid (15ml) in dichloromethane (15ml), and the reaction was stirred for an hour at room temperature. The reaction mixture was concentrated in vacuo, the residue diluted with dichloromethane (25ml), then partitioned between ethyl acetate (150ml) and saturated sodium bicarbonate solution (150ml), and the layers separated. The aqueous phase was extracted with ethyl acetate (2x35ml), the combined organic solutions dried ($MgSO_4$), filtered and evaporated in vacuo. The residual solid was triturated with di-isopropyl ether to give the title compound as a white solid, (963mg, 77%).

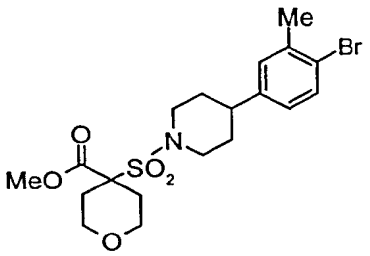
mp 103-106°C

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.52 (m, 8H), 1.77 (m, 2H), 2.28 (s, 3H), 2.63 (m, 1H), 3.00 (m, 2H), 3.70 (m, 5H), 6.98 (dd, 1H), 7.20 (s, 1H), 7.42 (dd, 1H).

Anal. Found: C, 48.42; H, 5.74; N, 3.27. $C_{17}H_{24}BrNSO_4$ requires C, 48.81; H, 5.78 N, 3.35%.

Preparation 27

Methyl 4-[4-(4-bromo-3-methylphenyl)piperidin-1-ylsulphonyl]tetrahydro-2H-pyran-4-carboxylate



Sodium hydride (60% dispersion in mineral oil, 1.16g, 29.0mmol) was added to a stirred solution of the acetate from preparation 25 (10.14 g, 26.0mmol) in N-methyl pyrrolidinone (60 ml) at ambient

temperature under nitrogen. After 45 minutes, bis-2-bromoethyl ether (4.26 ml, 33.8 mmol) was added to the stirred mixture, and after a further 150 minutes an additional portion of sodium hydride (60% dispersion in mineral oil; 1.16 g, 29 mmol) was added, and the mixture left stirring for 18 hours. The solvent was removed under reduced pressure, and the residues was partitioned between ethyl acetate and water. The organic layer was collected, washed with brine, dried ($MgSO_4$), and evaporated under reduced pressure. The residue was crystallised from ethyl acetate and diisopropyl ether to give the title compound as a colourless solid (7.34 g, 61%). The filtrate was evaporated and purified by flash chromatography eluting with dichloromethane, and crystallisation from ethyl acetate and diisopropyl ether to give an additional batch of the title compound as a colourless solid (1.86 g, 15%). A small sample was recrystallised from ethyl acetate for further characterisation.

m.p. 162-163°C.

^{1}Hnmr ($CDCl_3$) δ: 1.65-1.83 (m, 4H), 2.20 (m, 2H), 2.38 (s, 3H), 2.40 (m, 2H), 2.57 (m, 1H), 3.00 (m, 2H), 3.29 (m, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.87-4.00 (m, 4H), 6.83 (d, 1H), 7.02 (s, 1H), 7.41 (d, 1H).

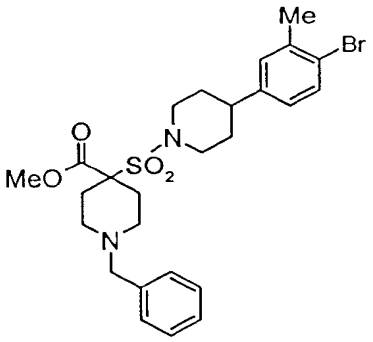
LRMS :m/z 460/462 $(M+1)^+$.

Anal. Found: C,49.49; H,5.68; N,2.93. $C_{19}H_{26}BrNO_5S$ requires C,49.57; H,5.69; N,3.04%.

Alternative Route: Triethylsilane (50ml, 0.30mol) was added dropwise over 2 min to a solution of the carbinol from preparation 130 (60g, 0.12mol) in dichloromethane (150ml) and trifluoroacetic acid (150ml), at 0°C, under nitrogen. Triflic acid (0.53ml, 6.0mmol) was added dropwise over 10 min and the resulting mixture was stirred at 0°C for 4h. Dichloromethane (300ml) and demineralised water (300ml) were added and the aqueous phase was separated. The organic phase was washed with water (200ml), saturated sodium bicarbonate solution (2x200ml) and demineralised water (200ml) and then concentrated *in vacuo* to a colourless solid. The solid was slurried in hot ethyl acetate (300ml) for 20 min and the mixture was cooled to 0°C and then filtered. The residue was dried *in vacuo* to leave the title compound as a colourless solid (53g, 92%).

Preparation 28

Methyl 1-benzyl-4-[4-(4-bromo-3-methylphenyl)piperidin-1-ylsulphonyl]-4-piperidinecarboxylate



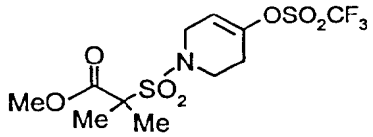
The acetate from preparation 25 (4.17g, 10.7mmol) was added portionwise to a suspension of sodium hydride (994mg, 60% dispersion in mineral oil, 33.1mmol) in 1-methyl-2-pyrrolidinone (40ml), and the resulting solution stirred for an hour. Tetra-butyl ammonium bromide (3.44g, 10.7mmol) and N-benzyl-bis-(2-chloroethyl)amine (2.73g, 10.1mmol) were added portionwise, and once addition was complete, the reaction was stirred at 60°C for 6 hours. The cooled reaction was partitioned between water and ethyl acetate, the layers separated, and the aqueous phase extracted with ethyl acetate. The combined organic extracts were washed with water, dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated in vacuo. The crude product was purified by column chromatography on silica gel twice, using an elution gradient of dichloromethane:ether (100:0 to 90:10) to afford the title compound (3.04g, 52%).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.63-1.81 (m, 4H), 1.88 (m, 2H), 2.16 (m, 2H), 2.36 (s, 3H), 2.42 (m, 2H), 2.55 (m, 1H), 2.88 (m, 2H), 2.98 (m, 2H), 3.40 (s, 2H), 3.82 (m, 5H), 6.83 (d, 1H), 7.00 (s, 1H), 7.22 (m, 5H), 7.40 (d, 1H).

LRMS m/z 549, 551 $(M+1)^+$

Preparation 29

Methyl 2-methyl-2-{4-[trifluoromethanesulphonyloxy]-1,2,3,6-tetrahydropyridin-1-ylsulphonyl}propanoate



2,6-Di-tert-butyl-4-methylpyridine (3.7g, 18mmol) was added to a solution of the ketone from preparation 17 (3.8g, 14.5mmol) in dichloromethane (50ml), and the solution then cooled to 4°C. Trifluoromethane sulphonic anhydride (2.95ml, 17.5mmol) was added dropwise, and the reaction then stirred at room temperature for 17 hours. Tlc analysis showed starting material remaining, so additional 2,6-di-tert-butyl-4-methylpyridine (3.7g, 18mmol) and trifluoromethane sulphonic anhydride (2.7ml, 16mmol) were added portionwise to the stirred reaction over the following 4 days. The mixture was then filtered, the filtrate concentrated in vacuo, and the residue triturated with ether. The resulting solid was filtered off, and the filtrate evaporated in vacuo. This crude product was purified by column

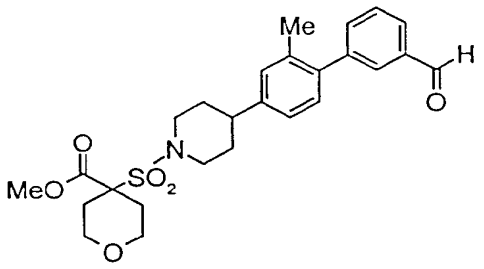
chromatography on silica gel using an elution gradient of hexane:ethyl acetate (91:9 to 50:50) to afford the title compound (4.25g, 74%) as a white solid.

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.64 (s, 6H), 2.56 (m, 2H), 3.60 (m, 2H), 3.79 (s, 3H), 4.06 (m, 2H), 5.80 (m, 1H).

Anal. Found: C, 33.62; H, 4.03; N, 3.43. $C_{11}H_{16}F_3NO_7S_2$ requires C, 33.42; H, 4.08; N, 3.54%.

Preparation 30

Methyl 2-[4-(4-{3-formylphenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]tetrahydro-2H-pyran-4-carboxylate



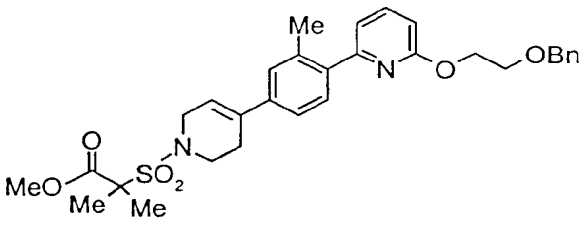
A mixture of the bromide from preparation 27 (4.02g, 8.73mmol), 3-formylphenylboronic acid (1.83g, 11.56mmol), cesium fluoride (3.46g, 22.8mmol), tris(dibenzylideneacetone)palladium (0) (430mg, 0.47mmol) and tri(o-tolyl)phosphine (284mg, 0.93mmol) in 1,2-dimethoxyethane (70ml) was heated under reflux for 6 hours. The cooled reaction was diluted with water and the mixture extracted with ethyl acetate (3x). The combined organic extracts were washed with brine, dried ($MgSO_4$), filtered and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel using an elution gradient of ethyl acetate:hexane (25:75 to 40:60), and triturated with di-isopropyl ether to give the title compound as a solid, (2.69g, 63%).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.75-1.95 (m, 4H), 2.20 (m, 5H), 2.40 (m, 2H), 2.62 (m, 1H), 3.03 (m, 2H), 3.30 (m, 2H), 3.82-4.02 (m, 7H), 7.07 (m, 2H), 7.16 (m, 1H), 7.56 (m, 2H), 7.81 (m, 2H), 10.02 (s, 1H).

LRMS : m/z 508 $(M+23)^+$

Preparation 31

Methyl 2-[4-(4-{6-[2-benzyloxy]ethoxypyridin-2-yl}-3-methylphenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-1-ylsulphonyl]-2-methyl-propanoate



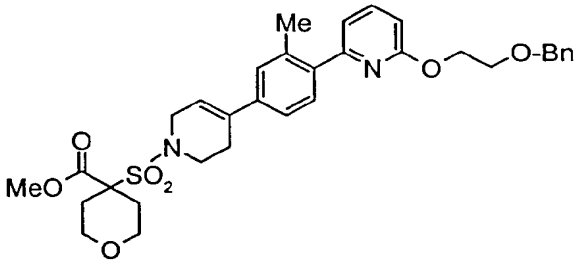
A mixture of the stannane from preparation 4 (2.8g, 5.4mmol) and the bromide from preparation 22 (1.5g, 3.62mmol), and tetrakis(triphenylphosphine)palladium (0) (205mg, 0.18mmol) in toluene (35ml) was heated under reflux overnight. The cooled mixture was evaporated in vacuo and the residue purified by column chromatography on silica gel using pentane:ethyl acetate (75:25) as eluant, to afford the title compound as a colourless oil, (1.7g, 83%).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 300MHz) δ: 1.69 (s, 6H), 2.42 (s, 3H), 2.64 (m, 2H), 3.62 (t, 2H), 3.82 (m, 5H), 4.14 (m, 2H), 4.56 (t, 2H), 4.62 (s, 2H), 6.06 (s, 1H), 6.77 (d, 1H), 7.0 (d, 1H), 7.22-7.42 (m, 8H), 7.62 (m, 1H).

LRMS : m/z 565 $(M+1)^+$

Preparation 32

Methyl 4-[4-(4-{6-[2-benzyloxy]ethoxypyridin-2-yl}-3-methylphenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-1-ylsulphonyl]tetrahydro-2H-pyran-4-carboxylate



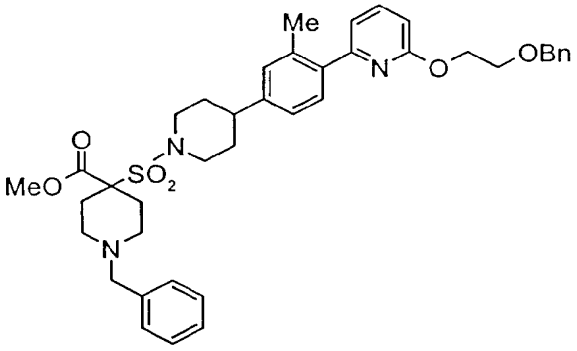
A mixture of the stannane from preparation 4 (1.74g, 3.36mmol) and the bromide from preparation 23 (1.1g, 2.4mmol) and tetrakis(triphenylphosphine)palladium (0) (138mg, 0.14mmol) in toluene (16ml) was heated under reflux for 4 hours. The cooled reaction was diluted with water, and the mixture extracted with ether (3x). The combined organic extracts were washed with brine, dried ($MgSO_4$), filtered through Arbocel® and evaporated in vacuo. The residual yellow oil was purified by column chromatography on silica gel using an elution gradient of pentane:ether (50:50 to 25:75) to afford the title compound as a pale yellow oil, (1.18g, 81%).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 2.22 (m, 2H), 2.42 (m, 5H), 2.62 (m, 2H), 3.34 (m, 2H), 3.60 (m, 2H), 3.82 (t, 2H), 3.88 (s, 3H), 4.01 (m, 2H), 4.09 (m, 2H), 4.55 (t, 2H), 4.61 (s, 2H), 6.05 (m, 1H), 6.76 (d, 1H), 6.99 (d, 1H), 7.21-7.41 (m, 78H), 7.61 (m, 1H).

LRMS : m/z 607 $(M+1)^+$

Preparation 33

Methyl 1-benzyl-4-{[4-(4-{6-[2-benzyloxyethoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulphonyl}-piperidin-4-carboxylate



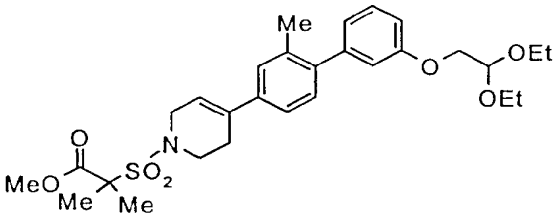
The stannane from preparation 4 (4.05g, 7.8mmol), followed by tris(triphenylphosphine) palladium (0) (410mg, 0.35mmol) were added to a solution of the bromide from preparation 28 (3.91g, 7.1mmol) in toluene (50ml), and the reaction de-gassed, then heated under a nitrogen atmosphere reflux for 7 hours. Aqueous potassium fluoride solution (20ml, 25%) was added to the cooled reaction, the mixture stirred at room temperature for 20 minutes, then filtered through Arbocel®. The filtrate was diluted with ethyl acetate, washed with brine, dried (Na_2SO_4), filtered and evaporated in vacuo. The residue was purified by column chromatography on silica gel twice, using an elution gradient of ethyl acetate:hexane (40:60 to 60:40) to give the desired product as a yellow crystalline solid, (2.77g, 56%).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.74-1.95 (m, 6H), 2.17 (m, 2H), 2.37 (s, 3H), 2.44 (m, 2H), 2.60 (m, 1H), 2.88 (m, 2H), 3.00 (m, 2H), 3.40 (s, 2H), 3.80 (m, 5H), 3.88 (m, 2H), 4.52 (t, 2H), 4.59 (s, 2H), 6.70 (d, 1H), 6.95 (d, 1H), 7.03 (m, 2H), 7.18-7.37 (m, 11H), 7.58 (m, 1H).

LRMS : m/z 699 $(M+1)^+$

Preparation 34

Methyl 2-[4-(4-{3-[2,2-diethoxyethoxy]phenyl}-3-methylphenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-1-ylsulphonyl]-2-methyl-propanoate



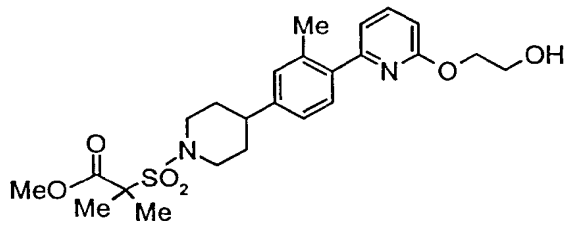
A mixture of cesium fluoride (1.81g, 11.92mmol), tri-o-tolyl phosphine (180mg, 0.59mmol), tris(dibenzylideneacetone)dipalladium (0) (280mg, 0.31mmol) and the boronic acid from preparation 10 (1.83g, 7.2mmol) and the bromide from preparation 22 (2.5g, 6.0mmol) in anhydrous 1,2-dimethoxyethane (60ml), was heated under reflux for 5 ½ h. The cooled reaction mixture was partitioned between water and ethyl acetate, and this mixture filtered through Arbocel®. The filtrate was separated, the organic phase washed with water, then brine, dried (Na_2SO_4), filtered and evaporated in vacuo. The residual green oil was purified by medium pressure column chromatography on silica gel using an elution gradient of pentane:ethyl acetate (100:0 to 85:15) to afford the title compound, (3.04g, 93%).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 300MHz) δ: 1.24 (t, 6H), 1.69 (s, 6H), 2.28 (s, 3H), 2.64 (m, 2H), 3.62 (m, 4H), 3.80 (m, 5H), 4.04 (d, 2H), 4.12 (m, 2H), 4.84 (t, 1H), 6.06 (m, 1H), 6.92 (m, 3H), 7.14-7.38 (m, 4H).

LRMS : m/z 563 $(M+18)^+$

Preparation 35

Methyl 2-[(4-{4-[6-(2-hydroxyethoxy)pyridin-2-yl]-3-methylphenyl}-piperidin-1-yl)sulphonyl]-2-methyl-propanoate



A mixture of the benzyl ether from preparation 31 (1.7g, 3.0mmol), ammonium formate (3.0g, 50.0mmol), palladium hydroxide on carbon (500mg) and acetic acid (10ml) in methanol (30ml) was heated under reflux overnight. Additional ammonium formate (1.5g, 25.0mmol) and palladium hydroxide on carbon (1.5g) were added and the reaction heated under reflux for a further 72 hours. The cooled mixture was filtered through Arbocel®, and the filter pad washed well with ethyl acetate. The combined filtrates were neutralised using saturated sodium bicarbonate solution, the phases separated, and the aqueous layer extracted with ethyl acetate (2x100ml). The combined organic extracts were dried ($MgSO_4$), filtered and evaporated in vacuo to give the title compound as a colourless solid, (1.2g, 84%).

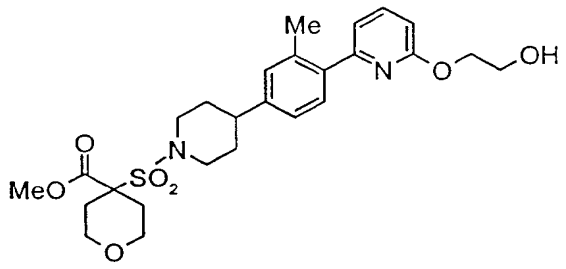
mp 108-111°C

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 300MHz) δ: 1.64 (s, 6H), 1.78-1.94 (m, 4H), 2.40 (s, 3H), 2.65 (m, 1H), 3.07 (m, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.97 (m, 4H), 4.50 (t, 2H), 6.7 (d, 1H), 7.00 (d, 1H), 7.10 (m, 2H), 7.38 (d, 1H), 7.65 (m, 1H).

LRMS : m/z 477 $(M+1)^+$

Preparation 36

Methyl 4-{[4-(4-{6-[2-hydroxyethoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulphonyl}tetrahydro-2H-pyran-4-carboxylate



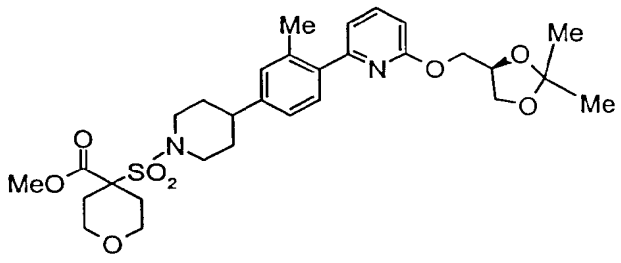
The title compound was prepared from the benzyl ether from preparation 32 in 93% yield, following a similar procedure to that described in preparation 35.

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 300MHz) δ: 1.70-1.95 (m, 4H), 2.22 (m, 2H), 2.40 (m, 5H), 2.64 (m, 1H), 3.06 (m, 2H), 3.34 (m, 2H), 3.92 (m, 7H), 4.00 (m, 2H), 4.50 (t, 2H), 6.78 (d, 1H), 7.00 (d, 1H), 7.10 (m, 2H), 7.38 (d, 1H), 7.65 (m, 1H).

LRMS : m/z 519 $(M+1)^+$

Preparation 37

Methyl 4-({4-[4-(6-{[(4R)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl]methoxy}pyridin-2-yl)-3-methylphenyl]piperidin-1-yl}sulphonyl)tetrahydro-2H-pyran-4-carboxylate



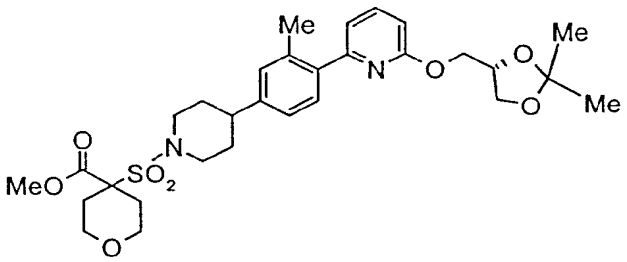
A mixture of the stannane from preparation 5 (2.0g, 4.97mmol) and the bromide from preparation 27 (1.76g, 3.82mmol) and tetrakis(triphenylphosphine)palladium (0) (242mg, 0.21mmol) in toluene (50ml) was heated under reflux for 7 hours. The cooled mixture was concentrated under reduced pressure and the residue purified by column chromatography on silica gel twice, using an elution gradient of ether:pentane (66:34 to 34:66) to give the title compound as a white solid, (1.29g, 57%).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 300MHz) δ: 1.40 (s, 3H), 1.46 (s, 3H), 1.77-1.95 (m, 4H), 2.21 (m, 2H), 2.40 (m, 5H), 2.64 (m, 1H), 3.04 (m, 2H), 3.34 (m, 2H), 3.81-4.04 (m, 8H), 4.15 (dd, 1H), 4.40 (m, 2H), 4.50 (m, 1H), 6.75 (d, 1H), 7.00 (d, 1H), 7.09 (m, 2H), 7.38 (d, 1H), 7.62 (m, 1H).

LRMS : m/z 611 $(M+23)^+$

Preparation 38

Methyl 4-({4-[4-(6-{[(4S)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl]methoxy}pyridin-2-yl)-3-methylphenyl]piperidin-1-yl}sulphonyl)tetrahydro-2H-pyran-4-carboxylate



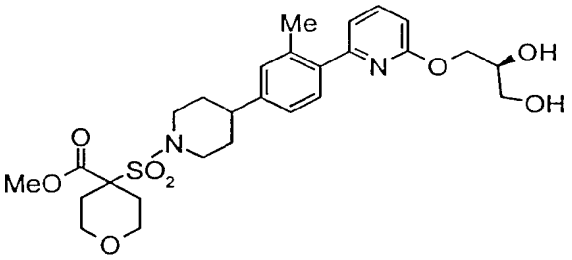
The title compound was obtained as a white solid (65%), after recrystallisation from methanol, from the stannane from preparation 6 and the bromide from preparation 27, following a similar procedure to that described in preparation 37.

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 300MHz) δ: 1.40 (s, 3H), 1.46 (s, 3H), 1.78-1.95 (m, 4H), 2.21 (m, 2H), 2.42 (m, 5H), 2.65 (m, 1H), 3.08 (m, 2H), 3.35 (m, 2H), 3.81-4.05 (m, 8H), 4.14 (dd, 1H), 4.40 (m, 2H), 4.50 (m, 1H), 6.76 (d, 1H), 6.99 (d, 1H), 7.08 (m, 2H), 7.38 (d, 1H), 7.62 (m, 1H).

LRMS : m/z 589 $(M+1)^+$

Preparation 39

Methyl 4-{[4-(4-{6-[(2S)-2,3-dihydroxy-1-propoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulphonyl}tetrahydro-2H-pyran-4-carboxylate

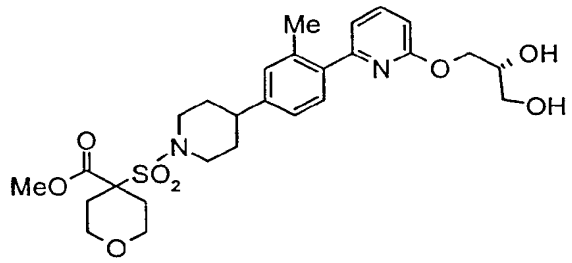


A solution of the dioxolane from preparation 37 (799mg, 1.36mmol) in 1,4-dioxan (10ml) was added to an ice-cooled solution of hydrochloric acid (30ml, 2N), and the reaction stirred for 75 minutes. The solution was poured into saturated sodium bicarbonate solution (200ml), and the resulting precipitate filtered and dried. The solid was recrystallised from ethy acetate/di-isopropyl ether, to afford the desired product as a white powder, (642mg, 86%).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 300MHz) δ: 1.70-2.42 (m, 12H), 2.64 (m, 1H), 3.04 (m, 2H), 3.34 (m, 2H), 3.63 (m, 6H), 3.84-4.19 (m, 5H), 4.50 (m, 2H), 6.77 (d, 1H), 7.00 (d, 1H), 7.09 (m, 2H), 7.35 (d, 1H), 7.68 (m, 1H).

Preparation 40

Methyl 4-{[4-(-4-{6-[(2R)-2,3-dihydroxy-1-propoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulphonyl}tetrahydro-2H-pyran-4-carboxylate



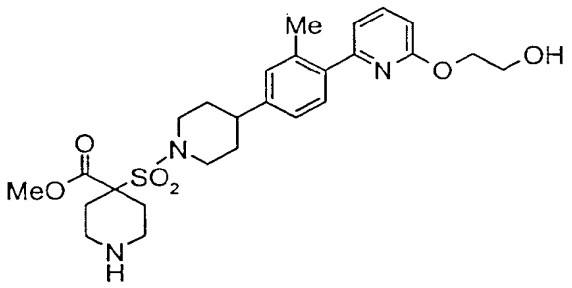
The title compound was obtained as a white crystalline solid (86%), from the dioxolane from preparation 38, following the procedure described in preparation 39.

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.76-1.92 (m, 4H), 2.21 (m, 2H), 2.40 (m, 5H), 2.50 (t, 1H), 2.64 (m, 1H), 3.06 (m, 2H), 3.34 (m, 2H), 3.64 (m, 2H), 3.72 (m, 5H), 4.00 (m, 3H), 4.12 (d, 1H), 4.50 (m, 2H), 6.78 (d, 1H), 7.01 (d, 1H), 7.10 (m, 2H), 7.36 (d, 1H), 7.68 (m, 1H).

LRMS : m/z 571 $(M+23)^+$

Preparation 41

Methyl 4-{[4-(4-{6-[2-hydroxyethoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulphonyl}-piperidine-4-carboxylate



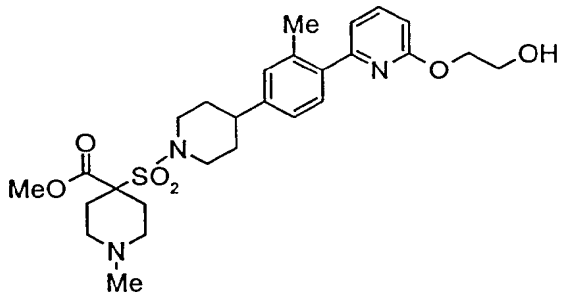
A mixture of the benzyl piperidine from preparation 33 (3.32g, 4.76mmol), ammonium formate (3.0g, 47.6mmol) and palladium hydroxide on carbon (3.32g) in a solution of acetic acid:methanol:tetrahydrofuran (2:2:1, 30ml) was heated under reflux for 2 hours. The cooled reaction was filtered through Arbocel®, washing through with tetrahydrofuran, and the filtrate concentrated in vacuo. The residue was partitoned between water and ethyl acetate, and the layers separated. The organic phase was dried (Na_2SO_4), filtered and evaporated in vacuo. The crude product was purified by column chromatography on silica gel using an elution gradient of dichloromethane:methanol (90:10 to 85:15) to afford the title compound, (1.28g, 52%).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.73-1.88 (m, 4H), 2.00 (m, 2H), 2.38 (s, 3H), 2.42-2.64 (m, 5H), 3.02 (m, 2H), 3.16 (m, 2H), 3.85 (m, 7H), 4.46 (t, 2H), 6.73 (d, 1H), 6.98 (d, 1H), 7.05 (m, 2H), 7.34 (d, 1H), 7.60 (m, 1H).

LRMS : m/z 518 $(M+1)^+$

Preparation 42

Methyl 4-{[4-(4-{6-[2-hydroxyethoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulphonyl}-1-methylpiperidine-4-carboxylate



Formaldehyde (0.49ml, 37 wt.% in water, 4.9mmol) was added to a solution of the piperidine from preparation 41 (634mg, 1.22mmol) in dichloromethane (30ml), and the solution was stirred vigorously at room temperature for 30 minutes. Sodium triacetoxyborohydride (519mg, 2.45mmol) was added and the reaction was stirred at room temperature for 20 hours. The reaction was washed with water, dried

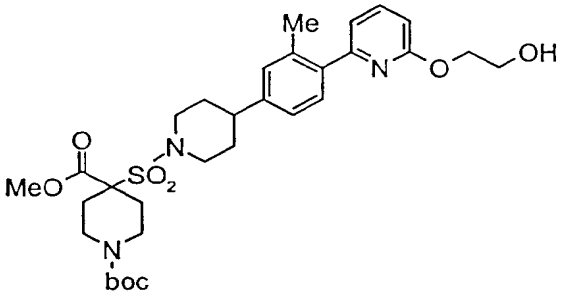
(Na_2SO_4), filtered and evaporated in vacuo. The crude product was purified by column chromatography on silica gel using dichloromethane:methanol (95:5) as eluant to give the title compound (559mg, 86%).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.76-1.95 (m, 6H), 2.20 (m, 5H), 2.38 (s, 3H), 2.50 (m, 2H), 2.62 (m, 1H), 2.90 (m, 2H), 3.03 (m, 2H), 3.84 (s, 3H), 3.94 (m, 4H), 4.48 (m, 2H), 6.76 (d, 1H), 6.99 (d, 1H), 7.06 (m, 2H), 7.35 (d, 1H), 7.63 (m, 1H).

LRMS : m/z 554 $(M+23)^+$

Preparation 43

Methyl 1-(tert-butoxycarbonyl)- 4-{[4-(4-{6-[2-hydroxyethoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulphonyl}-4-piperidinecarboxylate



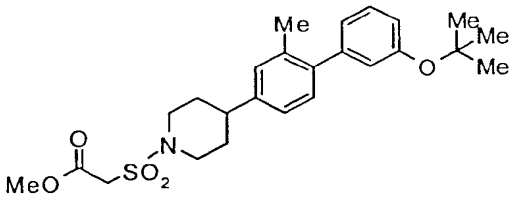
Triethylamine (175µl, 1.26mmol) was added to a solution of the amine from preparation 41 (594mg, 1.15mmol) in dichloromethane (100ml), followed by portionwise addition of di-tert-butyl dicarbonate (262mg, 1.20mmol). The reaction mixture was stirred at room temperature for an hour, then concentrated in vacuo to a volume of 20ml. The solution was diluted with ether (150ml), washed with hydrochloric acid (0.5N), brine, then dried ($MgSO_4$), filtered and evaporated in vacuo.
The residue was purified by column chromatography on silica gel using dichloromethane:methanol (95:5) as eluant to give the title compound (653mg, 92%) as a white foam.

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.42 (s, 9H), 1.75-1.90 (m, 4H), 2.01 (m, 2H), 2.38 (s, 3H), 2.45 (m, 2H), 2.63 (m, 3H), 3.02 (m, 2H), 3.50 (m, 1H), 3.87 (m, 7H), 4.17 (m, 2H), 4.46 (m, 2H), 6.75 (m, 1H), 6.98 (m, 1H), 7.05 (m, 2H), 7.35 (m, 1H), 7.62 (m, 1H).

LRMS : m/z 640 $(M+23)^+$

Preparation 44

Methyl 2-[4-(4-{3-tert-butoxyphenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]acetate



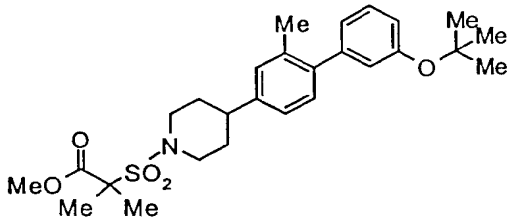
Nitrogen was bubbled through a mixture of cesium fluoride (3.71g, 24.44mmol), tri-o-tolyl phosphine (34mg, 0.11mmol), tris(dibenzylideneacetone)dipalladium (0) (50mg, 0.05mmol) the bromide from preparation 25 (4.27g, 11.0mmol) and the boronic acid from preparation 8 (3.2g, 16.5mmol) in anhydrous 1,2-dimethoxyethane (40ml). The reaction was then heated at 90°C under a nitrogen atmosphere for 50 hours. The cooled reaction mixture was diluted with ethyl acetate, the mixture washed with water (3x), dried ($MgSO_4$), filtered and concentrated in vacuo. The residue was purified by column chromatography on silica gel using an elution gradient of hexane:ethyl acetate (95:5 to 50:50) to give the title compound as an oil, that crystallised on standing, (3.15g, 62%).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.36 (s, 9H), 1.83 (m, 2H), 1.97 (m, 2H), 2.22 (s, 3H), 2.62 (m, 1H), 2.98 (m, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.98 (m, 4H), 6.94 (m, 3H), 7.04 (m, 2H), 7.17 (d, 1H), 7.23 (m, 1H).

LRMS : m/z 582 $(M+23)^+$

Preparation 45

Methyl 2-[4-(4-{3-tert-butoxyphenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]-2-methyl-propanoate



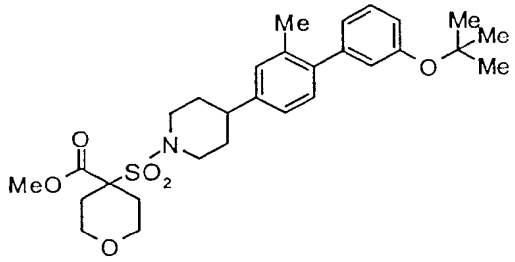
Potassium tert-butoxide (13.63ml, 1M in tetrahydrofuran, 13.63mmol) was added dropwise to a solution of the acetate from preparation 44 (2.5g, 5.45mmol) and methyl iodide (3.4ml, 54.5mmol) in tetrahydrofuran, and once addition was complete, the reaction was stirred at room temperature for 72 hours. The mixture was partitioned between ethyl acetate and water and the layers separated. The organic phase was dried ($MgSO_4$), filtered and evaporated in vacuo, to give the crude title compound, which was used without further purification (3.1g).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.36 (s, 9H), 1.63 (s, 6H), 1.77-1.94 (m, 4H), 2.22 (s, 3H), 2.63 (m, 1H), 3.05 (m, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.95 (m, 2H), 6.90-7.10 (m, 5H), 7.18 (m, 1H), 7.24 (m, 1H).

LRMS : m/z 488 $(M+1)^+$

Preparation 46

Methyl 4-[4-(4-{3-tert-butoxyphenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]-tetrahydro-2H-pyran-4-carboxylate



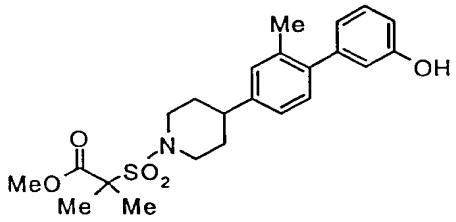
Nitrogen was bubbled through a mixture of cesium fluoride (2.19g, 14.43mmol), tri-o-tolyl phosphine (20mg, 0.065mmol), tris(dibenzylideneacetone)dipalladium (0) (30mg, 0.032mmol) and the bromide from preparation 27 (2.9g, 6.5mmol) and the boronic acid from preparation 8 (1.78g, 9.75mmol) in anhydrous 1,2-dimethoxyethane (40ml). The reaction was then heated under reflux under a nitrogen atmosphere for 24 hours. The cooled reaction was partitioned between ethyl acetate and water, the organic phase dried ($MgSO_4$), filtered and concentrated in vacuo. The residue was triturated with di-isopropyl ether, the solid filtered and dried under vacuum, to give the desired product as a cream-coloured solid, (2.0g, 58%). The filtrate was concentrated in vacuo and the residual oil purified by column chromatography on silica gel using an elution gradient of hexane:dichloromethane:methanol (50:50:0 to 0:100:0 to 0:99:1) to provide an additional (630mg, 18%) of the title compound.

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.37 (s, 9H), 1.76-1.92 (m, 4H), 2.20 (m, 5H), 2.40 (m, 2H), 2.60 (m, 1H), 3.02 (m, 2H), 3.29 (m, 2H), 3.86 (m, 5H), 3.98 (m, 2H), 6.94 (m, 3H), 7.02 (m, 2H), 7.14 (m, 1H), 7.22 (m, 1H).

LRMS : m/z 552 $(M+23)^+$

Preparation 47

Methyl 2-[4-(4-{3-hydroxyphenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]-2-methyl-propanoate



Trifluoroacetic acid (25ml) was added to a solution of the tert-butoxy ether from preparation 45 (4.8g, 9.80mmol) in dichloromethane (50ml), and the solution stirred for 4 hours. The reaction mixture was concentrated in vacuo, and the residue purified by column chromatography on silica gel, twice using an elution gradient of dichloromethane :methanol (10:0 to 95:5) to give the desired product (536mg, 13%).

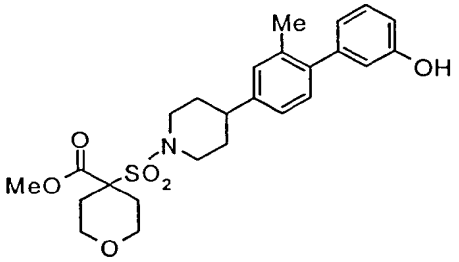
^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.62 (s, 6H), 1.76-1.92 (m, 4H), 2.22 (s, 3H), 2.62 (m, 1H), 3.04 (m, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.95 (m, 2H), 6.78 (m, 2H), 6.83 (m, 1H), 7.03 (m, 2H), 7.15 (m, 1H), 7.21 (m, 1H).

LRMS : m/z 454 $(M+23)^+$

Anal. Found: C, 63.70; H, 6.70; N, 3.20. $C_{23}H_{29}NO_5S$ requires C, 64.01; H, 6.77; N, 3.25%.

Preparation 48

Methyl 4-[4-(4-{3-hydroxyphenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]-tetrahydro-2H-pyran-4-carboxylate



Triethylsilane (2ml, 13.05mmol), followed by trifluoroacetic acid (5ml) were added to an ice-cooled solution of the tert-butyl ether from preparation 46 (2.3g, 4.35mmol) in dichloromethane (5ml) and the reaction stirred for 2 hours. The mixture was concentrated in vacuo, and the residue azeotroped with toluene. The resulting foam was triturated with di-isopropyl ether, filtered and dried to afford the title compound as a solid, (1.94g, 94%).

Alternative method

Palladium (II) acetate (300mg, 1.34mmol) and triphenylphosphine (708mg, 2.70mmol) were suspended in acetone (90ml), and sonicated for 2 minutes. The suspension was then added to a mixture of 5-bromo-2-iodotoluene (7.9g, 27mmol), and the boronic acid from preparation 8 (5.7g, 29.4mmol) in aqueous sodium carbonate (42ml, 2N). The reaction mixture was heated under reflux for 2 hours, then cooled and diluted with water (300ml). This mixture was extracted with ether (2x250ml), the combined organic extracts dried ($MgSO_4$), filtered and evaporated in vacuo. The residue was purified by column chromatography on silica gel using hexane:ether (99:1) as eluant to give 3-(4-bromo-2-methylphenyl)phenyl tert-butyl ether, 7.9g.

A solution of this intermediate ether (480mg, 1.5mmol) in tetrahydrofuran (2ml), followed by a crystal of iodine, were added to magnesium (45mg, 1.8mmol), and the mixture was heated under reflux for 2 hours. The solution was diluted with tetrahydrofuran (3ml), cooled to -78°C, and a solution of the ketone from

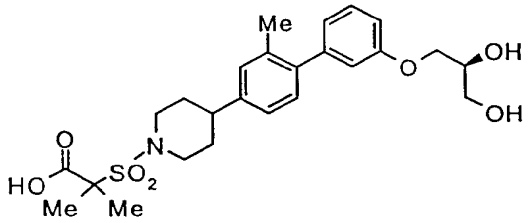
preparation 16 (425mg, 1.4mmol) in tetrahydrofuran (15ml) added dropwise.The reacton mixture was stirred at -78°C for 30 minutes, then allowed to warm to room temperature. Aqueous ammonium chloride was added, the mixture extracted with ethyl acetate (2x50ml) and the combined organic extracts were dried ($MgSO_4$), filtered and evaporated in vacuo. The residue was purified by column chromatography on silica gel using pentane:ethyl acetate (50:50) to afford methyl 4-[4-(4-{3-tert-butoxyphenyl}-3-methylphenyl)-4-hydroxypiperidin-1-ylsulphonyl]-tetrahydro-2H-pyran-4-carboxylate as a clear oil, 280mg.

Triethylsilane (0.5ml, 3.14mmol), followed by trifluoroacetic acid (5ml) were added to a solution of this intermediate (350mg, 0.64mmol) in dichloromethane (5ml), and the reaction stirred at room temperature overnight. The reaction mixture was concentrated in vacuo, the residue azeotroped with toluene and the resulting solid dried under vacuum to afford the title compound, (300mg).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.74-1.90 (m, 4H), 2.20 (m, 5H), 2.40 (m, 2H), 2.62 (m, 1H), 3.02 (m, 2H), 3.29 (m, 2H), 3.87 (m, 5H), 3.98 (m, 2H), 6.77 (m, 2H), 6.83 (d, 1H), 7.02 (m, 2H), 7.15 (d, 1H), 7.21 (m, 1H).

Preparation 49

Methyl 2-[4-(4-{3-[(2S)-2,3-dihydroxypropoxy]phenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]-2-methyl-propanoate



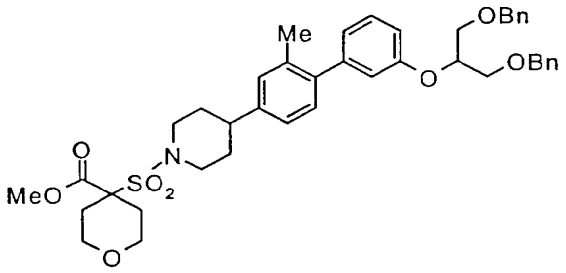
A mixture of the alcohol from preparation 47 (800mg, 1.86mmol), S-glycidol (0.12ml, 1.86mmol), and triethylamine (10μl, 0.09mmol) in methanol (10ml) was heated under reflux overnight. Tlc analysis showed starting material remaining, so the mixture was concentrated to low volume, and heated under reflux for a further 4 hours. The cooled reaction was evaporated in vacuo and the residue purified by column chromatography on silica gel using an elution gradient of hexane:ethyl acetate (91:9 to 50:50). The desired product was obtained as an oil, that gave a white foam on drying under vacuum, (391mg, 42%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.50 (s, 6H), 1.58 (m, 2H), 1.80 (m, 2H), 2.18 (s, 3H), 2.67 (m, 1H), 3.02 (m, 2H), 3.40 (m, 2H), 3.74 (m, 6H), 3.83 (m, 1H), 3.98 (m, 1H), 4.55 (m, 1H), 4.80 (m, 1H), 6.80 (m, 2H), 6.84 (m, 1H), 7.05 (m, 3H), 7.26 (m, 1H).

LRMS: m/z 528 $(M+23)^+$

Preparation 50

Methyl 4-[4-(4-{3-[1,3-dibenzyloxy-2-propoxy]phenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]-tetrahydro-2H-pyran-4-carboxylate

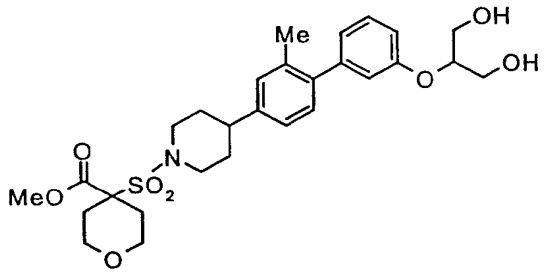


A mixture of the alcohol from preparation 48 (300mg, 0.63mmol), diethyl azodicarboxylate (150µl, 0.95mmol), triphenylphosphine (250mg, 0.95mmol), and 1,3-dibenzyloxy-2-propanol (260mg, 0.95mmol) in tetrahydrofuran (6ml), was stirred at room temperature for 3 hours. Tlc analysis showed some starting material remaining, so additional 1,3-dibenzyloxy-2-propanol (80mg, 0.3mmol), triphenyl phosphine (80mg, 0.3mmol) and diethyl azodicarboxylate (50µl, 0.32mmol) were added, and stirring was continued for an hour. The mixture was evaporated in vacuo, and the residue purified by column chromatography on silica gel using pentane:ethyl acetate (66:34) as eluant to give the title compound as a colourless oil, (400mg, 87%).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.75-1.94 (m, 4H), 2.20 (m, 5H), 2.40 (m, 2H), 2.62 (m, 1H), 3.04 (m, 2H), 3.30 (m, 2H), 3.75 (m, 4H), 3.89 (m, 5H), 3.99 (m, 2H), 4.57 (m, 5H), 6.89 (m, 3H), 7.02 (m, 2H), 7.14 (d, 1H), 7.24 (m, 11H).

Preparation 51

Methyl 4-[4-(4-{3-[1,3-dihydroxy-2-propoxy]phenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]-tetrahydro-2H-pyran-4-carboxylate



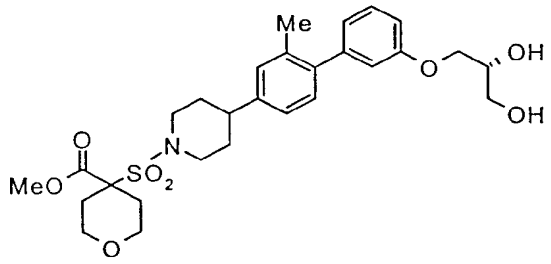
A mixture of the dibenzyl ether from preparation 50 (770mg, 1.06mmol), ammonium formate (1.4g, 11.0mmol) and palladium hydroxide on carbon (400mg) in methanol (40ml) was heated under reflux for 2 hours. Tlc analysis showed some starting material remaining, so additional palladium hydroxide (300mg) was added, and the reaction was heated under reflux overnight. The cooled mixture was filtered through Arbocel®, and the filtrate evaporated in vacuo. The crude product was purified by column

chromatography on silica gel using ethyl acetate:pentane (84:16) as eluant to afford the title compound as a white foam, (375mg, 65%).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.76-1.94 (m, 6H), 2.20 (m, 5H), 2.40 (m, 2H), 2.62 (m, 1H), 3.04 (m, 2H), 3.29 (m, 2H), 3.90 (m, 10H), 3.99 (m, 2H), 6.94 (m, 3H), 7.03 (m, 2H), 7.16 (d, 1H), 7.30 (m, 1H).

Preparation 52

Methyl 4-[4-(4-{3-[(2R)-2,3-dihydroxypropoxy]phenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]-tetrahydro-2H-pyran-4-carboxylate



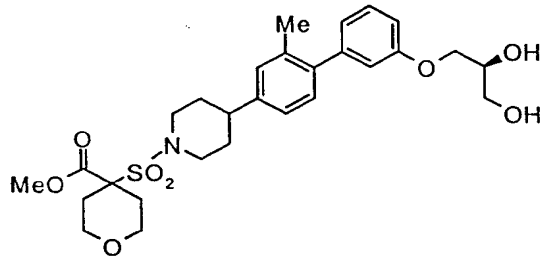
The title compound was obtained (17%) from the compound from preparation 48 and R-glycidol, following a similar procedure to that described in preparation 49.

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.75-1.97 (m, 4H), 2.20 (m, 5H), 2.40 (m, 2H), 2.61 (m, 1H), 3.02 (m, 2H), 3.28 (m, 2H), 3.58-4.14 (m, 12H), 6.84 (m, 3H), 7.02 (m, 2H), 7.15 (m, 1H), 7.26 (m, 1H).

LRMS: m/z 570 $(M+23)^+$

Preparation 53

Methyl 4-[4-(4-{3-[(2S)-2,3-dihydroxypropoxy]phenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]-tetrahydro-2H-pyran-4-carboxylate



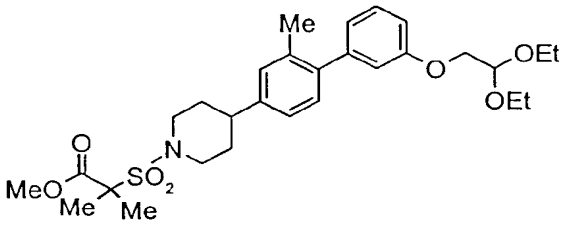
The title compound was obtained as a white solid (52%) after recrystallisation from di-isopropylether, from the alcohol of preparation 48 and S-glycidol, following a similar procedure to that described in preparation 49.

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 300MHz) δ: 1.50-1.66 (m, 2H), 1.81 (m, 2H), 1.99 (m, 2H), 2.19-2.34 (m, 5H), 2.70 (m, 1H), 3.06 (m, 2H), 3.20 (m, 2H), 3.43 (m, 2H), 3.70-3.98 (m, 9H), 4.00 (dd, 1H), 4.60 (t, 1H), 4.90 (d, 1H), 6.80-6.95 (m, 3H), 7.15 (m, 3H), 7.31 (m, 1H).

LRMS: m/z 570 $(M+23)^+$

Preparation 54

Methyl 2-[4-(4-{3-(2,2-diethoxyethoxy)phenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]-2-methylpropanoate



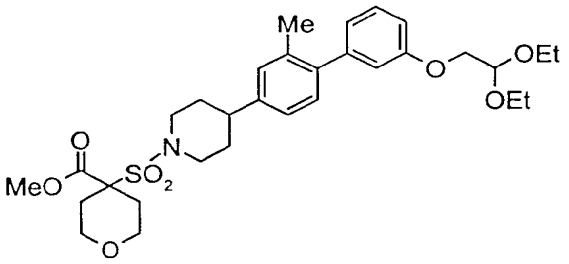
20% Palladium hydroxide on carbon (250mg) was added to a solution of the 1,2,3,6-tetrahydropyridine from preparation 34 (3.0g, 5.5mmol) and ammonium formate (1.04g, 16.5mmol) in methanol (70ml) and 1,4-dioxan (28ml), and the reaction was stirred at 60°C for 2 hours. Additional ammonium formate (1.0g, 15.8mmol) and palladium hydroxide on carbon (250mg) were added and stirring was continued for a further 2 hours. The mixture was cooled, filtered through Arbocel®, and the filter pad washed well with methanol. The combined filtrates were evaporated in vacuo and the residue partitioned between water and ether. The layers were separated, the organic phase washed with water, brine, dried ($MgSO_4$), filtered and evaporated in vacuo to give the title compound as a colourless oil, (2.8g, 93%).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 300MHz) δ: 1.22 (t, 6H), 1.68 (s, 6H), 1.78-1.96 (m, 4H), 2.25 (s, 3H), 2.64 (m, 1H), 3.08 (m, 2H), 3.60-3.82 (m, 7H), 3.94-4.05 (m, 4H), 4.84 (t, 1H), 6.90 (m, 3H), 7.09 (m, 2H), 7.18 (d, 1H), 7.29 (d, 1H).

Anal. Found: C, 63.43; H, 7.75; N, 2.46. $C_{29}H_{41}NO_7S$ requires C, 63.60; H, 7.55; N, 2.56%.

Preparation 55

Methyl 4-[4-(4-{3-(2,2-diethoxyethoxy)phenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]-tetrahydro-2H-pyran-4-carboxylate



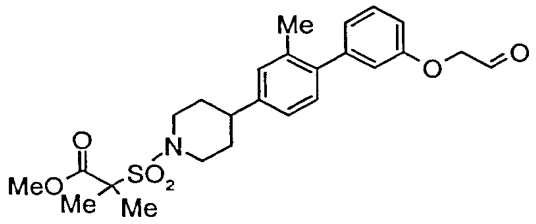
A mixture of cesium fluoride (4.3g, 28.3mmol), tri-o-tolyl phosphine (352mg, 1.15mmol), tris(dibenzylideneacetone)dipalladium (0) (535mg, 0.59mmol) and the boronic acid from preparation 10 (3.89g, 14.95mmol) and bromide from preparation 27 (5.0g, 10.86mmol) in anhydrous 1,2-dimethoxyethane (70ml), was heated under reflux for 4 ½ h. The cooled reaction mixture was concentrated in vacuo to half its volume, then partitioned between water and ethyl acetate. The layers were separated, the aqueous phase extracted with ethyl acetate (3x), and the combined organic solutions filtered through Arbocel®. The filtrate was washed with brine, dried (Na_2SO_4), filtered and evaporated in vacuo. The residual green oil was purified twice, by column chromatography on silica gel using an elution gradient of dichloromethane:methanol (100:0 to 97:3), then triturated with di-isopropyl ether, to afford the title compound as a white solid, (2.38g, 37%).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.20 (t, 6H), 1.76-1.94 (m, 4H), 2.20 (m, 5H), 2.40 (m, 2H), 2.61 (m, 1H), 3.02 (m, 2H), 3.31 (m, 2H), 3.61 (m, 2H), 3.74 (m, 2H), 3.90 (m, 5H), 4.00 (m, 3H), 4.80 (m, 1H), 6.85 (m, 3H), 7.03 (m, 2H), 7.16 (d, 1H), 7.24 (m, 2H).

LRMS: m/z 612 $(M+23)^+$

Preparation 56

Methyl 2-methyl-2-[4-(4-{3-(2-oxoethoxy)phenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]propanoate



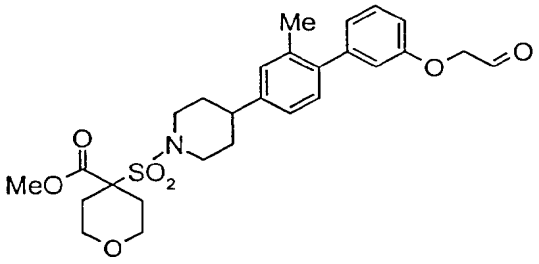
Hydrochloric acid (19ml, 1N, 19mmol) was added to a solution of the diethyl ketal from preparation 54 (4.43g, 8.1mmol) in acetone (19ml) and 1,4-dioxan (22ml), and the reaction stirred at 70°C for 2 hours. The cooled mixture was neutralised using sodium bicarbonate, concentrated in vacuo, and the residue partitioned between ether and water. The layers were separated, and the organic phase was washed with water, brine, then dried (Na_2SO_4), filtered and evaporated in vacuo. The residue was azeotroped with ethyl acetate, to afford the title compound (quantitative).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 300MHz) δ: 1.67 (s, 6H), 1.78-1.96 (m, 4H), 2.26 (s, 3H), 2.66 (m, 1H), 3.09 (m, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.98 (m, 2H), 4.60 (s, 2H), 6.86 (m, 2H), 6.98 (d, 1H), 7.09 (m, 2H), 7.17 (d, 1H), 7.35 (m, 1H), 9.90 (s, 1H).

LRMS : m/z 491 $(M+18)^+$

Preparation 57

Methyl 4-[4-(4-{3-(2-oxoethoxy)phenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]-tetrahydro-2H-pyran-4-carboxylate



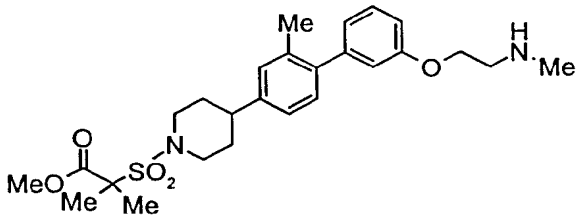
The title compound was obtained as a white foam (quantitative), from the diethyl ketal from preparation 55, following the procedure described in preparation 56.

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.77-1.93 (m, 4H), 2.21 (m, 5H), 2.40 (d, 2H), 2.62 (m, 1H), 3.02 (m, 2H), 3.30 (m, 2H), 3.88 (m, 5H), 3.99 (m, 2H), 4.57 (s, 2H), 6.83 (m, 2H), 6.94 (d, 1H), 7.03 (m, 2H), 7.15 (d, 1H), 7.30 (m, 1H), 9.83 (s, 1H).

Anal. Found: C, 61.79; H, 6.66; N, 2.46. $C_{27}H_{33}NO_7S;0.25CH_3CO_2C_2H_5;0.4H_2O$ requires C, 61.72; H, 6.62; N, 2.57%.

Preparation 58

Methyl 2-methyl-2-[4-(4-{3-(2-methylaminoethoxy)phenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]propanoate



Sodium triacetoxyborohydride (1.5g, 7.08mmol) was added portionwise over 1 hour to a solution of the aldehyde from preparation 56 (1.0g, 2.1mmol) and methylamine (5.8ml, 2N in tetrahydrofuran,

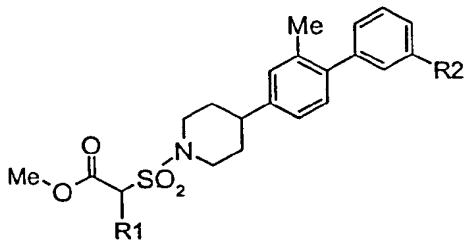
11.6mmol) in dichloromethane (50ml), and once addition was complete, the reaction was stirred at room temperature overnight. The reaction was partitioned between ethyl acetate and saturated sodium bicarbonate solution, and the layers separated, The organic phase was washed with water, brine, dried (Na_2SO_4), filtered and evaporated in vacuo to give a colourless oil. This was purified by medium pressure column chromatography on silica gel using an elution gradient of dichloromethane:methanol (100:0 to 90:10) to afford the title compound as a foam, (650mg, 63%).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.62 (s, 6H), 1.76-1.90 (m, 4H), 2.22 (s, 3H), 2.56 (s, 3H), 2.61 (m, 1H), 3.04 (m, 4H), 3.78 (s, 3H), 3.95 (m, 2H), 4.12 (t, 2H), 6.83 (m, 3H), 7.03 (m, 2H), 7.14 (d, 1H), 7.24 (m, 1H).

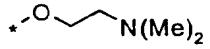
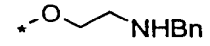
Anal. Found: C, 58.39; H, 6.90; N, 4.97. $C_{26}H_{36}N_2O_5S;0.75CH_2Cl_2$ requires C, 58.17; H, 6.84; N, 5.07%.

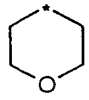
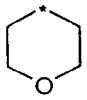
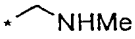
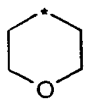
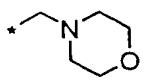
Preparations 59 to 63

The compounds of the general formula:



were prepared from the corresponding aldehydes and amines, following similar procedures to those described in preparation 58.

Prep No.	Aldehyde	R1	R2	Data
59	56	$(Me)_2$		mp 83-85°C ^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.62 (s, 6H), 1.78-1.94 (m, 4H), 2.22 (s, 3H), 2.30 (s, 6H), 2.60 (m, 1H), 2.70 t, 2H), 3.02 (m, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.96 (m, 2H), 4.06 (t, 2H), 6.83 (m, 3H), 7.02 (m, 2H), 7.15 (d, 1H), 7.22 (m, 1H). LRMS : m/z 503 $(M+1)^+$ Anal. Found: C, 63.82; H, 7.52; N, 5.45. $C_{27}H_{38}N_2O_5S;0.1CH_2Cl_2$ requires C, 63.68; H, 7.53; N, 5.48%.
60	56	$(Me)_2$		^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.66 (s, 6H), 1.59-1.95 (m, 4H), 2.24 (s, 3H), 2.65 (m, 1H), 3.05 (m, 4H), 3.80 (s, 3H), 3.96 (m, 2H), 4.12 (t, 2H), 4.42 (d, 2H), 5.70 (br, s,

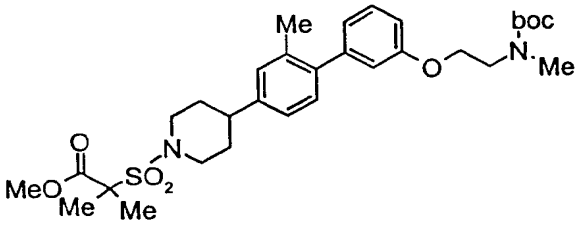
				1H), 6.85 (m, 3H), 7.07 (m, 2H), 7.17 (d, 1H), 7.24-7.38 (m, 6H). LRMS : m/z 565 $(M+1)^+$
61	57			^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) ?: 1.75-1.92 (m, 4H), 2.20 (m, 5H), 2.40 (d, 2H), 2.62 (m, 1H), 3.00 (m, 4H), 3.28 (m, 2H), 3.88 (m, 5H), 3.99 (m, 2H), 4.09 (m, 2H), 4.40 (m, 2H), 5.60 (br s, 1H), 6.82 (m, 3H), 7.02 (m, 2H), 7.16 (d, 1H), 7.19-7.35 (m, 6H). LRMS : m/z 607 $(M+1)^+$
62[1]	30			mp 119-120°C ^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.50 (s, br, 1H), 1.75-1.92 (m, 4H), 2.20 (m, 5H), 2.40 (m, 5H), 2.61 (m, 1H), 3.02 (m, 2H), 3.30 (m, 2H), 3.75-4.01 (m, 9H), 7.01 (m, 2H), 7.16 (m, 2H), 7.24 (m, 3H). LRMS : m/z 501 $(M+1)^+$
63[2]	30			^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.75-1.94 (m, 4H), 2.20 (m, 5H), 2.40 (m, 6H), 2.61 (m, 1H), 3.02 (t, 2H), 3.30 (t, 2H), 3.50 (s, 2H), 3.66 (m, 4H), 3.87 (m, 7H), 7.02 (m, 2H), 7.16 (m, 2H), 7.26 (m, 3H). LRMS : m/z 557 $(M+1)^+$

1 = purified by crystallisation from ethyl acetate/dichloromethane/di-isopropyl ether.

2 = purified by column chromatography on silica gel using ethyl acetate:pentane (75:25) as eluant, and recrystallised from ethyl acetate.

Preparation 64

Methyl 2-[4-(4-{3-(2-[(N-tert-butoxycarbonyl)(N-methyl)amino]ethoxy)phenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]-2-methyl-propanoate



A mixture of the compound from preparation 58 (640mg, 1.31mmol), triethylamine (180µl, 1.30mol), di-tert-butyl dicarbonate (290mg, 1.33mmol) and 4-dimethylaminopyridine (catalytic) in dichloromethane (10ml) was stirred at room temperature for 3 hours. The reaction mixture was diluted with dichloromethane (50ml), and washed with water, brine, dried (Na_2SO_4), filtered and evaporated in vacuo.

The residual oil was purified by medium pressure column chromatography on silica gel using an elution gradient of
pentane:dichloromethane:methanol (100:0:0 to 0:99.5:0.5) to afford the title compound as a gum, (590mg, 77%).

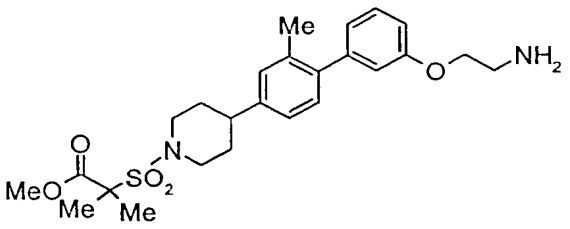
^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.42 (s, 9H), 1.62 (s, 6H), 1.77-1.90 (m, 4H), 2.22 (s, 3H), 2.63 (m, 1H), 2.97 (s, 3H), 3.03 (m, 2H), 3.58 (m, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.95 (m, 2H), 4.08 (m, 2H), 6.82 (m, 3H), 7.04 (m, 2H), 7.16 (d, 1H), 7.25 (m, 1H).

LRMS : m/z 611 $(M+23)^+$

Anal. Found: C, 60.51; H, 7.19; N, 4.47. $C_{31}H_{44}N_2O_7S$;0.4CH_2Cl_2 requires C, 60.56; H, 7.25; N, 4.50%.

Preparation 65

Methyl 2-[4-(4-{3-(2-aminoethoxy)phenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]-2-methyl-propanoate



A mixture of the amine from preparation 60 (1.2g, 2.12mmol) and 20% palladium hydroxide on carbon (250mg) in methanol (75ml), was hydrogenated at 50psi and room temperature for 18 hours. The reaction mixture was filtered through Arbocel®, and the filter pad washed well with methanol. The combined filtrates were evaporated in vacuo to give an oil. This was purified by medium pressure column chromatography on silica gel using an elution gradient of dichloromethane:methanol (100:0 to 90:10) to afford the title compound (610mg, 60%).

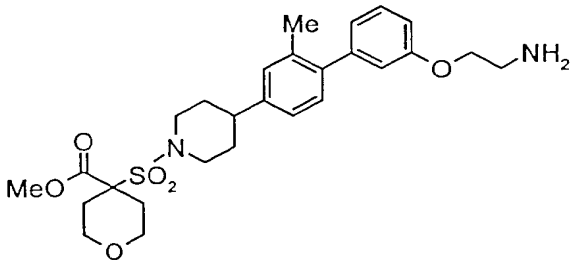
^{1}H nmr ($CDCl_3$, 300MHz) δ: 1.66 (s, 6H), 1.78-1.97 (m, 4H), 2.28 (s, 3H), 2.66 (m, 1H), 3.10 (m, 4H), 3.82 (s, 3H), 3.99 (m, 4H), 6.88 (m, 3H), 7.10 (m, 2H), 7.19 (d, 1H), 7.30 (m, 1H).

LRMS : m/z 475 $(M+1)^+$

Anal. Found: C, 61.26; H, 7.09; N, 5.63. $C_{25}H_{34}N_2O_5S$;0.25dichloromethane requires C, 61.16; H, 7.01; N, 5.65%.

Preparation 66

Methyl 4-[4-(4-{3-(2-aminoethoxy)phenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]-tetrahydro-2H-pyran-4-carboxylate



The title compound was obtained as a solid (65%) from the compound from preparation 61, following the procedure described in preparation 65.

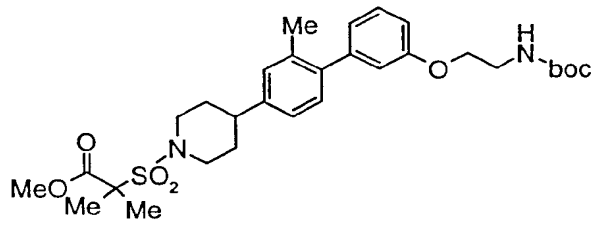
^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.76-1.92 (m, 4H), 2.20 (m, 5H), 2.40 (m, 2H), 2.62 (m, 1H), 3.04 (m, 4H), 3.30 (m, 2H), 3.88 (m, 5H), 3.98 (m, 4H), 6.82 (m, 3H), 7.03 (m, 2H), 7.16 (d, 1H), 7.22 (m, 1H).

LRMS: m/z 517 $(M+1)^+$

Anal. Found: C, 62.30; H, 6.98; N, 5.40. $C_{27}H_{36}N_2O_6S;0.05CH_2Cl_2$ requires C, 62.37; H, 6.99; N, 5.38%.

Preparation 67

Methyl 2-[4-(4-{3-(2-[(tert-butoxycarbonyl)amino]ethoxy)phenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]-2-methyl-propanoate



The title compound was obtained as a white foam (69%) from the amine from preparation 65, following a similar procedure to that described in preparation 64.

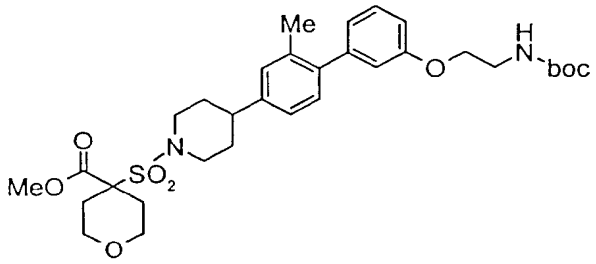
^{1}H nmr ($CDCl_3$, 300MHz) δ: 1.44 (s, 9H), 1.65 (s, 6H), 1.78-1.95 (m, 4H), 2.25 (s, 3H), 2.64 (m, 1H), 3.08 (m, 2H), 3.55 (m, 2H), 3.81 (s, 3H), 3.97 (m, 2H), 4.04 (t, 2H), 4.99 (br, s, 1H), 6.80-6.94 (m, 3H), 7.08 (m, 2H), 7.18 (d, 1H), 7.32 (m, 1H).

LRMS : m/z 597 $(M+23)^+$

Anal. Found: C, 62.49; H, 7.46; N, 4.78. $C_{30}H_{42}N_2O_7S$ requires C, 62.69; H, 7.37; N, 4.87%.

Preparation 68

Methyl 4-[4-(4-{3-(2-[(tert-butoxycarbonyl)amino]ethoxy)phenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]-tetrahydro-2H-pyran-4-carboxylate



Di-tert-butyl dicarbonate (300mg, 1.37mmol) was added to a solution of the amine from preparation 66 (650mg, 1.26mmol) in dichloromethane (10ml), and the reaction stirred at room temperature for 18 hours. The reaction was diluted with dichloromethane (50ml), then washed with water (2x), brine, then dried (Na_2SO_4), filtered and evaporated in vacuo. The residue was purified by medium pressure column chromatography on silica gel using an elution gradient of dichloromethane:methanol (99.5:0.5 to 99:1) to afford the title compound as a white foam, (710mg, 91%).

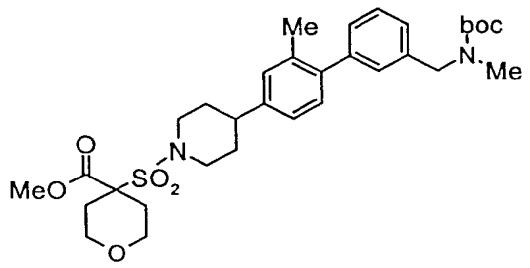
^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.40 (s, 9H), 1.78-1.92 (m, 4H), 2.20 (m, 5H), 2.40 (d, 2H), 2.61 (m, 1H), 3.02 (m, 2H), 3.30 (m, 2H), 3.50 (m, 2H), 3.88 (m, 5H), 4.00 (m, 4H), 4.86 (br s, 1H), 6.82 (m, 3H), 7.02 (m, 2H), 7.15 (d, 1H), 7.05 (m, 1H).

LRMS: m/z 639 $(M+23)^+$

Anal. Found: C, 62.15; H, 7.20; N, 4.47. $C_{32}H_{44}N_2O_8S$ requires C, 62.32; H, 7.19; N, 4.54%.

Preparation 69

Methyl 4-[4-(4-{3-([N-tert-butoxycarbonyl-N-methylamino]methyl)phenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]-tetrahydro-2H-pyran-4-carboxylate



The title compound was prepared from the amine from preparation 62, using a similar procedure to that described in preparation 64. The crude product was purified by column chromatography on silica gel using an elution gradient of ethyl acetate:pentane (25:75 to 50:50) and triturated with di-isopropyl ether to give the title compound as a white solid, (714mg, 65%).

mp 122-123°C.

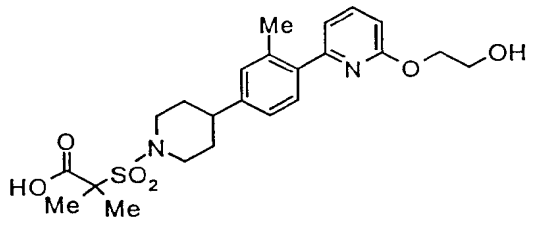
^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.42 (s, 9H), 1.75-1.92 (m, 4H), 2.20 (m, 5H), 2.40 (m, 2H), 2.61 (m, 1H), 2.82 (s, 3H), 3.03 (m, 2H), 3.30 (m, 2H), 3.85 (m, 5H), 3.99 (m, 2H), 4.42 (s, 2H), 7.03 (m, 2H), 7.17 (m, 4H), 7.35 (m, 1H).

LRMS : m/z 623 $(M+23)^+$

Anal. Found: C, 63.92; H, 7.36; N, 4.57. $C_{32}H_{44}N_2O_7S$ requires C, 63.98; H, 7.38; N, 4.66%.

Preparation 70

2-[4-{4-[6-(2-Hydroxyethoxy)pyridin-2-yl]-3-methylphenyl}-piperidin-1-ylsulphonyl]-2-methylpropanoic acid



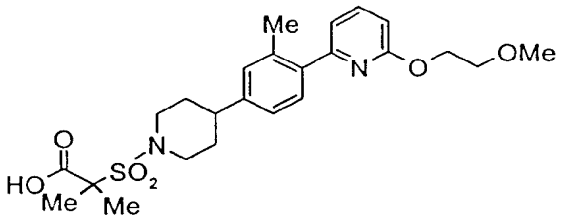
A mixture of the methyl ester from preparation 35 (4.1g, 8.6mmol) and aqueous sodium hydroxide (17ml, 1N, 17.0mmol) in methanol (50ml), was heated under reflux for 30 minutes, then cooled. The reaction was concentrated in vacuo, the residue dissolved in water (200ml), and the solution acidified to pH 4. The resulting precipitate was filtered off, washed with water, dried under vacuum, and recrystallised from ethyl acetate, to afford the title compound as a white solid, (3.15g, 79%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 300MHz) δ: 1.42-1.70 (m, 8H), 1.80 (m, 2H), 2.37 (s, 3H), 2.70 (t, 1H), 3.06 (m, 2H), 3.68 (m, 2H), 3.80 (m, 2H), 4.25 (t, 2H), 4.80 (br, s, 1H), 6.77 (d, 1H), 7.06 (d, 1H), 7.17 (m, 2H), 7.35 (d, 1H), 7.77 (m, 1H), 13.38 (br, s, 1H).

Anal. Found : C, 58.35; H, 6.38; N, 5.83. $C_{23}H_{30}N_2O_6S;0.5H_2O$ requires C, 58.85; H, 6.62; N, 5.94%.

Preparation 71

2-(4-{4-[6-(2-Methoxyethoxy)pyridin-2-yl]-3-methylphenyl}-piperidin-1-ylsulphonyl)-2-methylpropanoic acid



Sodium hydride (60mg, 60% dispersion in mineral oil, 1.5mmol) was added to a solution of the methyl ester from preparation 35 (300mg, 0.63mmol) in tetrahydrofuran (10ml), and the solution stirred for 15 minutes. Methyl iodide (200µl, 3.3mmol) was added and the reaction heated under reflux for 45 minutes. Aqueous sodium hydroxide solution (2ml, 1N, 2.0mmol) and methanol (5ml) were then added, and the mixture heated under refux for a further 30 minutes. The reaction mixture was cooled to room temperature, diluted with water (20ml), and acidified to pH 4. This solution was extracted with dichloromethane (3x30ml), the combined organic extracts dried (Na_2SO_4), filtered and evaporated in vacuo to afford the title compound as a pale yellow foam, (quantitative).

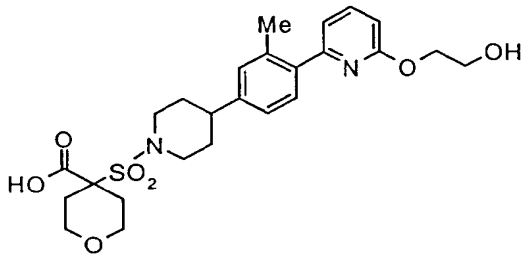
mp 142-146°C

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 300MHz) δ: 1.68 (s, 6H), 1.78-1.96 (m, 4H), 2.41 (s, 3H), 2.66 (m, 1H), 3.09 (m, 2H), 3.43 (s, 3H), 3.78 (t, 2H), 4.00 (m, 2H), 4.52 (t, 2H), 6.78 (d, 1H), 6.98 (d, 1H), 7.08 (m, 2H), 7.38 (d, 1H), 7.61 (d, 1H).

LRMS : m/z 433 $(M-CO_2)^+$

Preparation 72

4-[4-(4-{6-[2-Hydroxyethoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-ylsulphonyl]tetrahydro-2H-pyran-4-carboxylic acid



Aqueous sodium hydroxide (5.56ml, 1N, 5.56mmol) was added to a solution of the methyl ester from preparation 36 (720mg, 1.39mmol) in methanol (20ml), and the reaction heated under reflux for 3 hours, and stirred for a further 18 hours, at room temperature. The mixture was concentrated in vacuo to remove the methanol, and the solution acidified to pH 4 using acetic acid solution. This was extracted with ethyl

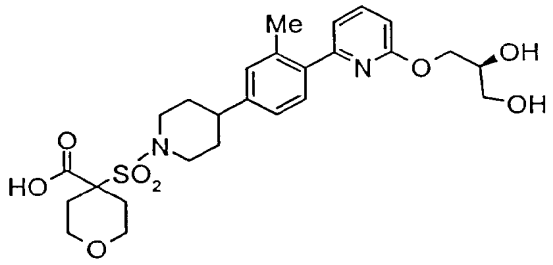
acetate (3x), the combined organic extracts washed with brine, dried ($MgSO_4$), filtered and evaporated in vacuo. The residual solid was recrystallised from ethyl acetate/di-isopropyl ether to afford the title compound as a solid, (517mg, 74%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 300MHz) δ: 1.62 (m, 2H), 1.82 (m, 2H), 1.98 (m, 2H), 2.24 (m, 2H), 2.36 (s, 3H), 2.74 (m, 1H), 3.09 (t, 2H), 3.22 (m, 2H), 3.64-3.82 (m, 4H), 3.94 (dd, 2H), 4.28 (t, 2H), 4.80 (br s, 1H), 6.78 (d, 1H), 7.06 (d, 1H), 7.16 (m, 2H), 7.36 (d, 1H), 7.78 (m, 1H), 13.82 (br s, 1H).

LRMS : m/z 527 $(M+18)^+$

Preparation 73

4-[4-(4-{6-[(2S)-2,3-dihydroxy-1-propoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-ylsulphonyl]-tetrahydro-2H-pyran-4-carboxylic acid



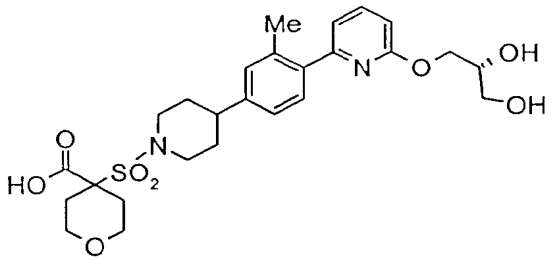
Aqueous sodium hydroxide (3.5ml, 1M, 3.5mmol) was added to a solution of the methyl ester from preparation 39 (640mg, 1.17mmol) in methanol (15ml) and 1,4-dioxan (15ml), and the reaction heated under reflux for 2 hours. Tlc analysis showed starting material remaining, so additonal sodium hydroxide (2ml, 1M, 2mmol) was added and the reaction heated under reflux for a further 3 hours. The cooled reaction mixture was concentrated under reduced pressure, the residue dissolved in water, and the pH adjusted to 4 using hydrochloric acid (2N). The resulting precipitate was filtered and dried, and the filtrate extracted with dichloromethane (2x). The combined organic extracts were dried ($MgSO_4$), filtered and evaporated in vacuo, and the product combined with the filtered solid. This was recrystallised from dichloromethane/ethyl acetate twice, to yield the title compound as a white solid, (579mg, 92%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.60 (m, 2H), 1.80 (m, 2H), 1.92 (m, 2H), 2.23 (d, 2H), 2.34 (s, 3H), 2.66 (m, 1H), 3.08 (m, 2H), 3.17-3.42 (m, 3H), 3.78 (m, 3H), 3.88 (m, 2H), 4.14 (dd, 1H), 4.26 (dd, 1H), 4.60 (br, s, 1H), 4.85 (br, s, 1H), 6.76 (d, 1H), 7.04 (d, 1H), 7.15 (m, 2H), 7.34 (m, 2H), 7.74 (dd, 1H).

LRMS : m/z 557 $(M+23)^+$

Preparation 74

4-[4-(4-{6-[(2R)-2,3-dihydroxy-1-propoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-ylsulphonyl]-tetrahydro-2H-pyran-4-carboxylic acid



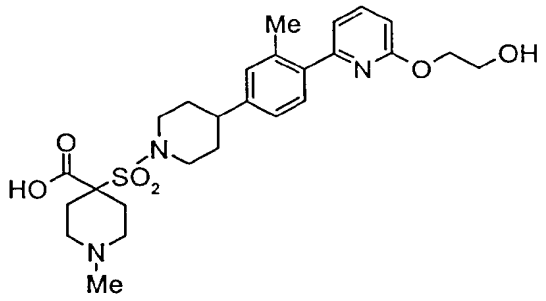
The title compound was obtained as a white solid (87%) from the methyl ester of preparation 40, following a similar procedure to that described in preparation 73.

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 300MHz) δ: 1.61 (m, 2H), 1.80 (m, 2H), 1.96 (m, 2H), 2.24 (m, 2H), 2.36 (s, 3H), 2.70 (m, 1H), 3.06 (m, 2H), 3.14-3.44 (m, 4H), 3.78 (m, 3H), 3.93 (m, 2H), 4.14 (m, 1H), 4.26 (m, 1H), 4.59 (m, 1H), 4.84 (m, 1H), 6.76 (d, 1H), 7.06 (d, 1H), 7.15 (m, 2H), 7.35 (d, 1H), 7.76 (m, 1H), 13.80 (br, s, 1H).

LRMS : m/z 557 $(M+23)^+$

Preparation 75

4-[4-(4-{6-[2-Hydroxyethoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-ylsulphonyl]-1-methylpiperidine-4-carboxylic acid

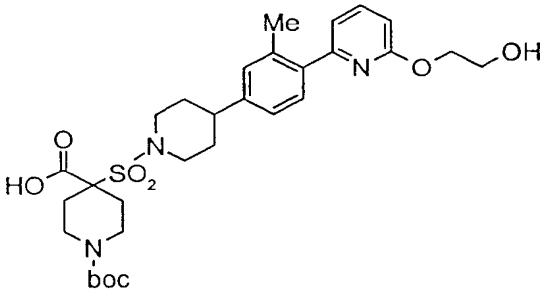


A mixture of the methyl ester from preparation 42 (200mg, 0.38mmol) and aqueous sodium hydroxide (1.5ml, 1N, 1.5mmol) in methanol (8ml) and 1,4-dioxan (8ml) was heated under reflux overnight. The cooled reaction was concentrated in vacuo, the residue acidified to pH 4 using acetic acid, and extraction with ethyl acetate attempted. A precipitate formed in the organic layer, that was filtered off, and combined with the residual solid in the separating funnel, to provide the desired compound as a white powder, (quantitative).

LRMS : m/z 518 $(M+1)^+$

Preparation 76

1-(tert-Butoxycarbonyl)- 4-[4-(4-{6-[2-hydroxyethoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-ylsulphonyl]-piperidine-4-carboxylic acid



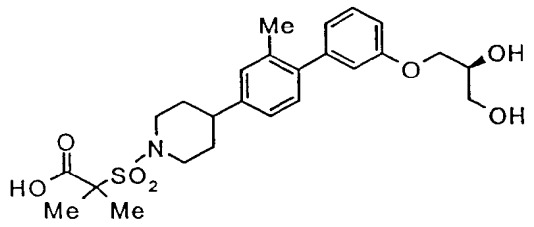
The title compound was obtained as a white solid (87%), from the methyl ester from preparation 43, following a similar procedure to that described in preparation 75.

mp 148-149°C

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 300MHz) δ: 1.42 (s, 9H), 1.80 (m, 4H), 2.00 (m, 2H), 2.36 (s, 3H), 2.41 (m, 2H), 2.58-2.79 (m, 4H), 3.02 (m, 4H), 3.92 (m, 5H), 4.44 (m, 2H), 6.76 (m, 1H), 6.99 (m, 1H), 7.07 (m, 2H), 7.34 (m, 1H), 7.65 (m, 1H).

Preparation 77

2-[4-(4-{3-[(2S)-2,3-Dihydroxy-1-propoxy]phenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]-2-methyl-propanoic acid



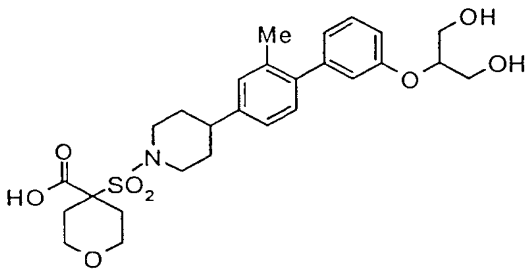
Aqueous sodium hydroxide (1.55ml, 1M, 1.55mmol) was added to a solution of the methyl ester from preparation 49 (391mg, 0.77mmol) in methanol (5ml), and the reaction stirred at room temperature overnight. The mixture was partitioned between ethyl acetate and hydrochloric acid (2N), and the phases separated. The organic layer was dried ($MgSO_4$), filtered and concentrated in vacuo. The residual solid was triturated with di-isopropyl ether, filtered and dried under vacuum, to give the title compound as a white solid, (320mg, 85%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.48 (s, 6H), 1.59 (m, 2H), 1.79 (m, 2H), 2.18 (s, 3H), 2.64 (m, 1H), 3.04 (m, 2H), 3.40 (m, 2H), 3.78 (m, 3H), 3.82 (m, 1H), 3.98 (m, 1H), 4.57 (br, s, 1H), 4.82 (br, s, 1H), 6.80 (m, 2H), 6.85 (m, 1H), 7.05 (m, 2H), 7.12 (m, 1H), 7.27 (m, 1H), 13.25 (br, s, 1H).

Anal. Found: C, 60.77; H, 6.89; N, 2.78. $C_{25}H_{33}NO_7S$ requires C, 61.08; H, 6.77; N, 2.85%.

Preparation 78

4-[4-(4-{3-[2,3-dihydroxy-2-propoxy]phenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]-tetrahydro-2H-pyran-4-carboxylic acid

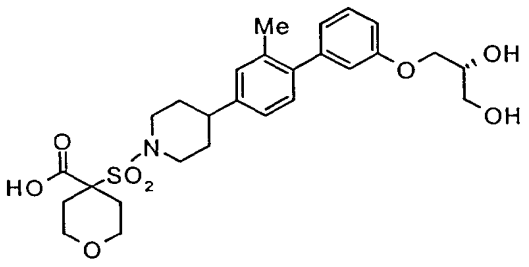


A mixture of the methyl ester from preparation 51 (370mg, 0.68mmol), aqueous sodium hydroxide (3ml, 1M, 3mmol) in methanol (5ml) and 1,4-dioxan (5ml), was heated under reflux for 6 hours. The cooled reaction was concentrated in vacuo, and then diluted with water. This aqueous solution was acidified to pH 2 using hydrochloric acid (2N), and the resulting precipitate filtered, washed with water and dried under vacuum, to give the desired product (270mg, 74%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.60 (m, 2H), 1.79 (m, 2H), 1.95 (m, 2H), 2.19 (m, 5H), 2.63 (m, 1H), 3.02 (m, 4H), 3.56 (m, 4H), 3.76 (m, 2H), 3.88 (m, 2H), 4.22 (m, 1H), 4.68 (m, 2H), 6.78-6.95 (m, 3H), 7.08 (m, 3H), 7.25 (m, 1H).

Preparation 79

4-[4-(4-{3-[(2R)-2,3-Dihydroxy-1-propoxy]phenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]-tetrahydro-(2H)-pyran-4-carboxylic acid



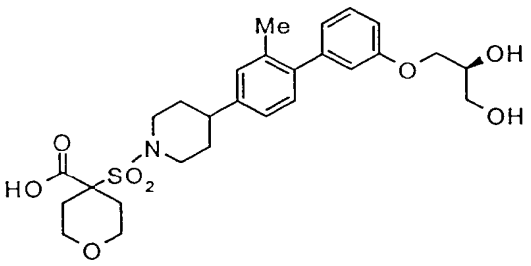
A mixture of the methyl ester from preparation 52 (110mg, 0.20mmol), aqueous sodium hydroxide (1ml, 1M, 1mmol) in methanol (5ml) and 1,4-dioxan (5ml) was heated under reflux for 2 hours. The cooled reaction was evaporated in vacuo, the residue dissolved in water and acidified to pH 1 using hydrochloric acid (1N). The resulting precipitate was filtered, the solid washed with water, and dried under vacuum to give the title compound (91mg, 85%) as a white solid.

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.60 (m, 2H), 1.80 (m, 2H), 1.94 (m, 2H), 2.20 (m, 5H), 2.65 (m, 1H), 3.05 (m, 2H), 3.18-3.48 (m, 4H), 3.77 (m, 3H), 3.88 (m, 3H), 4.00 (m, 1H), 6.81 (m, 2H), 6.89 (m, 1H), 7.10 (m, 3H), 7.30 (m, 1H).

LRMS : m/z 556 $(M+23)^+$

Preparation 80

4-[4-(4-{3-[(2S)-2,3-Dihydroxy-1-propoxy]phenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]-tetrahydro-(2H)-pyran-4-carboxylic acid

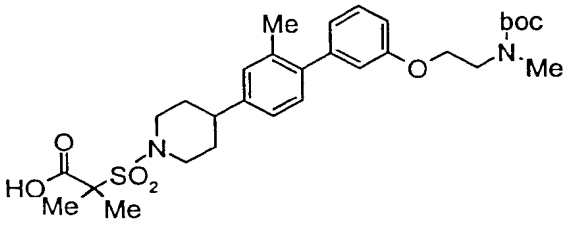


The title compound was obtained as a solid (66%) from the methyl ester from preparation 53, following the procedure described in preparation 79.

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.60 (m, 2H), 1.80 (m, 2H), 1.96 (m, 2H), 2.22 (m, 5H), 2.68 (m, 1H), 3.06 (m, 2H), 3.21 (m, 2H), 3.42 (d, 2H), 3.78 (m, 3H), 3.90 (m, 3H), 4.00 (m, 1H), 6.81 (m, 2H), 6.90 (d, 1H), 7.12 (m, 3H), 7.31 (dd, 1H).

Preparation 81

2-[4-(4-{3-(2-[N-tert-Butoxycarbonyl-N-methylamino]ethoxy)phenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]-2-methylpropanoic acid



A mixture of the methyl ester from preparation 64 (540mg, 0.92mmol), and aqueous sodium hydroxide (6ml, 1N, 6.0mmol) in 1,4-dioxan (2.3ml) and methanol (6ml) was heated under reflux for 3 ½ h. The cooled mixture was concentrated in vacuo to remove the organic solvents, and the residual aqueous solution was acidified to pH 4 using acetic acid. This was extracted with ethyl acetate (2x), the combined organic extracts washed with water, brine, dried (Na_2SO_4), filtered and evaporated in vacuo. The residue

was azeotroped with toluene, then ethyl acetate, and finally dichloromethane to afford the title compound as a white foam, (520mg, 98%).

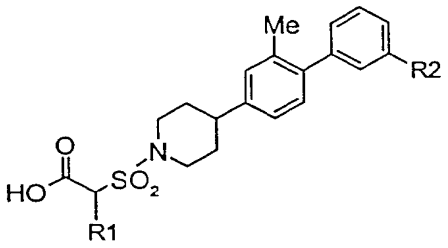
^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.41 (s, 9H), 1.64 (s, 6H), 1.78-1.94 (m, 4H), 2.22 (s, 3H), 2.63 (m, 1H), 2.97 (s, 3H), 3.06 (m, 2H), 3.59 (m, 2H), 3.98 (m, 2H), 4.08 (t, 2H), 6.83 (m, 3H), 7.04 (m, 2H), 7.16 (d, 1H), 7.26 (m, 1H).

LRMS : m/z 597 $(M+23)^+$

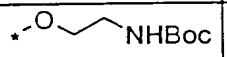
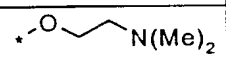
Anal. Found: C, 61.17; H, 7.27; N, 4.65. $C_{30}H_{42}N_2O_7S;0.2CH_2Cl_2$ requires C, 61.30; H, 7.22; N, 4.73%.

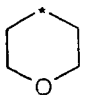
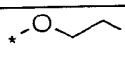
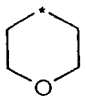
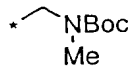
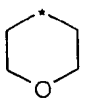
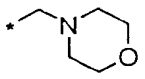
Preparations 82 to 86

The compounds of the general formula:



were prepared from the corresponding methyl esters, following similar procedures to those described in preparation 81.

Prep No.	Starting ester	R1	R2	Data
82	67	$(Me)_2$		^{1}H nmr (DMSO-d_6, 300MHz) δ: 1.36 (s, 9H), 1.50 (s, 6H), 1.62 (m, 2H), 1.81 (m, 2H), 2.20 (s, 3H), 2.68 (m, 1H), 3.06 (m, 2H), 3.28 (m, 4H), 3.80 (m, 2H), 3.98 (t, 2H), 6.80-6.99 (m, 3H), 7.14 (m, 2H), 7.30 (m, 1H). LRMS : m/z 583 $(M+23)^+$ Anal. Found: C 58.94; H, 7.02; N, 4.64. $C_{29}H_{40}N_2O_7S;0.4CH_2Cl_2$ requires C, 59.02; H, 6.94; N, 4.68%.
83[1]	59	$(Me)_2$		mp 230-232°C ^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.46 (s, 6H), 1.60 (m, 2H), 1.80 (m, 2H), 2.18 (s, 3H), 2.25 (s, 6H), 2.64 (m, 3H), 3.02 (m, 2H), 3.78 (m, 2H), 4.06 (t, 2H), 6.80 (m, 2H), 6.86 (d, 1H), 7.08 (m, 2H), 7.28 (dd, 1H). Anal. Found: C, 62.70; H, 7.37; N, 5.53. $C_{26}H_{36}N_2O_5S;0.5H_2O$ requires C, 62.75; H, 7.49; N, 5.63%.

84	68			mp 194-196°C ^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.42 (s, 9H), 1.75-1.92 (m, 4H), 2.22 (m, 5H), 2.38 (d, 2H), 2.61 (m, 1H), 3.06 (m, 2H), 3.40 (m, 2H), 3.50 (m, 2H), 3.98 (m, 6H), 6.82 (m, 3H), 7.02 (m, 2H), 7.14 (d, 1H), 7.23 (m, 1H). Anal. Found: C, 61.20; H, 7.05; N, 4.60. $C_{31}H_{42}N_2O_8S;0.25H_2O$ requires C, 61.32; H, 7.05; N, 4.61%.
85[2]	69			mp 196-197°C ^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.38 (s, 9H), 1.60 (m, 2H), 1.80 (m, 2H), 1.95 (m, 2H), 2.19 (s, 3H), 2.20 (m, 2H), 2.64 (m, 1H), 2.76 (s, 3H), 3.02 (t, 2H), 3.18 (m/t, 2H), 3.77 (m, 2H), 3.86 (m, 2H), 4.38 (s, 2H), 7.12 (m, 6H), 7.37 (m, 1H). LRMS : m/z 609 $(M+23)^+$
86[3]	63			^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.59 (m, 2H), 1.80 (m, 2H), 1.90 (m, 2H), 2.20 (m, 6H), 2.62-2.79 (m, 4H), 3.00-3.22 (m, 6H), 3.65 (m, 4H), 3.76 (m, 2H), 3.88 (m, 2H), 7.12 (m, 4H), 7.25 (m, 1H), 7.39 (m, 2H). LRMS : m/z 543 $(M+1)^+$

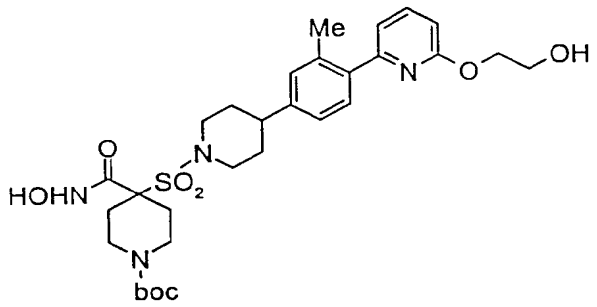
1 = isolated by filtration from aqueous acetic acid solution.

2 = recrystallised from ethyl acetate/methanol

3 = triturated with di-isopropyl ether

Preparation 87

N-Hydroxy 1-(tert-butoxycarbonyl)-4-{[4-(4-{6-[2-hydroxyethoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulphonyl}-piperidine-4-carboxamide



Chlorotrimethylsilane (70µl, 0.55mmol) was added to a solution of the acid from preparation 76 (300mg, 0.50mmol) in dichloromethane (4ml), and pyridine (2ml), and the solution stirred at room temperature under a nitrogen atmosphere for 1 hour. 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride (115mg, 0.60mmol) and 1-hydroxy-7-azabenzotriazole (75mg, 0.55mmol) were added, and stirring was continued for a further hour. Hydroxylamine hydrochloride (104mg, 1.50mmol) was added and the reaction stirred at room temperature overnight. The reaction mixture was diluted with water, the solution

acidified to pH 1 using hydrochloric acid (2M), then extracted with ethyl acetate. The combined organic solutions were washed with brine, dried ($MgSO_4$), filtered and evaporated in vacuo. The residue was triturated with ethyl acetate, the resulting precipitate filtered and the filtrate evaporated in vacuo. The residue was recrystallised from ethyl acetate to afford the title compound (148mg, 48%) as a white solid.

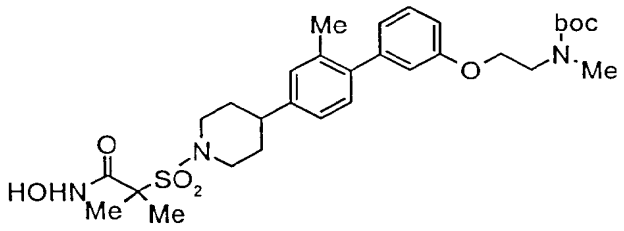
mp 180-181°C

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.39 (s, 9H), 1.55-1.81 (m, 6H), 2.36 (s, 3H), 2.42 (m, 2H), 2.62 (m, 3H), 3.03 (m, 2H), 3.70 (m, 4H), 3.95 (m, 2H), 4.24 (t, 2H), 4.78 (br, t, 1H), 6.75 (d, 1H), 7.04 (d, 1H), 7.15 (m, 2H), 7.34 (d, 1H), 7.75 (m, 1H), 9.16 (s, 1H), 11.00 (s, 1H).

LRMS : m/z 617 $(M-1)^+$

Preparation 88

N-Hydroxy 2-[4-(4-{3-(2-[(N-tert-butoxycarbony-N-methyl)amino]ethoxy)phenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]-2-methylpropanamide



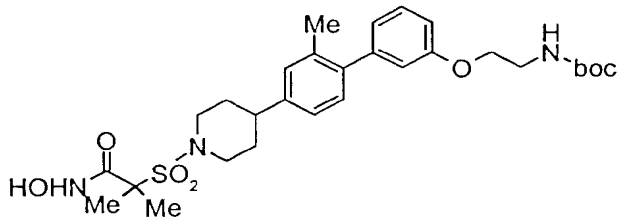
O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N'N'-tetramethyluronium hexafluorophosphate (540mg, 1.42mmol) was added to a solution of the acid from preparation 81 (520mg, 0.90mmol) and N-ethyldiisopropylamine (193µl, 1.12mmol) in N-methylpyrrolidinone (10ml), and the reaction stirred at room temperature under a nitrogen atmosphere for 40 minutes. Hydroxylamine hydrochloride (210mg, 3.02mmol) and additional N-ethyldiisopropylamine (730µl, 4.23mmol) were added, and the reaction stirred at room temperature overnight. The mixture was partitioned between ethyl acetate and pH 7 buffer solution, and the layers separated. The organic phase was washed consecutively with water, brine, then dried ($NaSO_4$), filtered and evaporated in vacuo. The crude product was purified by medium pressure column chromatography on silica gel using an elution gradient of dichloromethane:methanol (99.5:0.5 to 98:2 to 80:20) to afford the title compound, (180mg, 34%).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.40 (s, 9H), 1.63 (s, 6H), 1.78 (m, 2H), 1.86 (m, 2H), 2.22 (s, 3H), 2.61 (m, 1H), 2.97 (s, 3H), 3.03 (m, 2H), 3.58 (m, 2H), 3.94 (m, 2H), 4.08 (m, 2H), 6.60 (s, 1H), 6.64 (m, 2H), 7.02 (m, 2H), 7.17 (d, 1H), 7.26 (dd, 1H), 8.99 (s, 1H), 10.75 (s, 1H).

Anal. Found: C, 60.96; H, 7.33; N, 7.11. $C_{30}H_{43}N_3O_7S$ requires C, 61.10; H, 7.35; N, 7.12%.

Preparation 89

N-Hydroxy 2-[4-(4-{3-(2-[(tert-butoxycarbonyl)amino]ethoxy)phenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]-2-methylpropionamide



The title compound was obtained (49%) from the acid from preparation 82, following a similar procedure to that described in preparation 88.

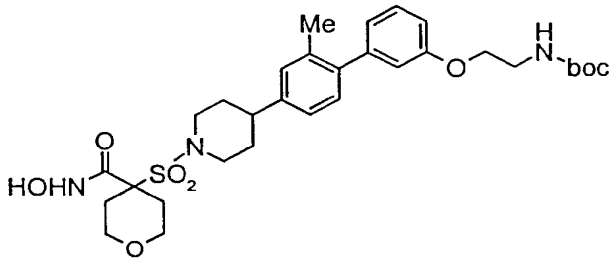
^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.37 (s, 9H), 1.48 (s, 6H), 1.60 (m, 2H), 1.79 (m, 2H), 2.20 (s, 3H), 2.64 (m, 1H), 3.04 (m, 2H), 3.28 (m, 2H), 3.75 (m, 2H), 3.98 (t, 2H), 6.80-6.98 (m, 4H), 7.10 (s, 2H), 7.15 (s, 1H), 7.30 (dd, 1H), 8.99 (s, 1H), 10.55 (s, 1H).

LRMS : m/z 598 $(M+23)^+$

Anal. Found: C, 59.25; H, 7.09; N, 7.38. $C_{29}H_{41}N_3O_7S;0.1CH_2Cl_2$ requires C, 59.83; H, 7.11; N, 7.19%.

Preparation 90

N-Hydroxy 4-[4-(4-{3-(2-[(N-tert-butoxycarbonyl)amino]ethoxy)phenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]-tetrahydro-2H-pyran-4-carboxamide



1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride (260mg, 1.36mmol) and 1-hydroxy-7-azabenzotriazole (150mg, 1.1mmol) were added to a solution of the acid from preparation 84 (620mg, 1.03mmol) in pyridine (2ml) and dichloromethane (6ml), and the mixture stirred at room temperature for 30 minutes. Hydroxylamine hydrochloride (155mg, 2.25mmol) was added and the reaction stirred at room temperature for 18 h. The reaction mixture was partitioned between ethyl acetate and pH 7 buffer solution, and the layers separated. The aqueous phase was extracted with ethyl acetate, the combined

organic solutions washed again with pH 7 buffer solution, then brine, dried (Na_2SO_4), filtered and evaporated in vacuo. The residue was azeotroped with toluene, and then purified by medium pressure column chromatography on silica gel using an elution gradient of dichloromethane:methanol (100:0 to 90:10). The product was recrystallised from ethyl acetate/pentane to afford the title compound as a solid, (340mg, 53%).

mp 181-182°C

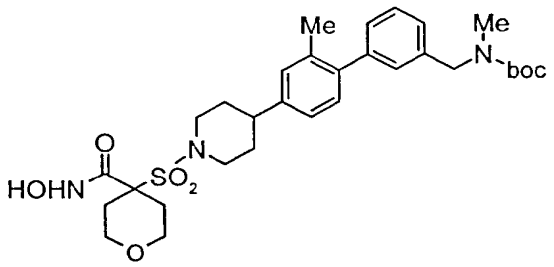
^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.35 (s, 9H), 1.60 (m, 2H), 1.78 (m, 2H), 1.90 (m, 2H), 2.19 (s, 3H), 2.28 (m, 2H), 2.61 (m, 1H), 3.02 (m, 2H), 3.20 (m, 2H), 3.22 (m, 2H), 3.70 (m, 2H), 3.84 (m, 2H), 3.98 (t, 2H), 6.79-6.95 (m, 4H), 7.08 (s, 2H), 7.15 (s, 1H), 7.28 (m, 1H), 9.10 (s, 1H), 10.93 (s, 1H).

LRMS : m/z 640 $(M+23)^+$

Anal. Found: C, 60.27; H, 7.04; N, 6.63. $C_{31}H_{43}N_3O_8S$ requires C, 60.27; H, 7.02; N, 6.88%.

Preparation 91

N-Hydroxy 4-[4-(4-{3-(N-tert-butoxycarbonyl-N-methyl)aminomethyl)phenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]-tetrahydro-2H-pyran-4-carboxamide



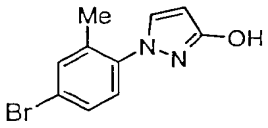
1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride (216mg, 1.12mmol) and 1-hydroxy-7-azabenzotriazole (128mg, 0.94mmol) were added to a solution of the acid from preparation 85 (550mg, 0.94mmol) in pyridine (2ml) and N,N dimethylformamide (6ml), and the mixture stirred at room temperature for 1 hour. Hydroxylamine hydrochloride (195mg, 2.82mmol) was added and the reaction stirred at room temperature overnight. The reaction mixture was partitioned between ethyl acetate and pH 7 buffer solution, and the layers separated. The aqueous phase was extracted with ethyl acetate (x2), the combined organic solutions washed with 2N hydrochloric acid, dried ($MgSO_4$), filtered and evaporated in vacuo. The residue was crystallised from methanol/ethyl acetate to afford the title compound as a solid, (393mg, 70%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.36 (s, 9H), 1.59 (m, 2H), 1.78 (m, 2H), 1.88 (m, 2H), 2.18 (s, 3H), 2.27 (m, 2H), 2.61 (m, 1H), 2.76 (s, 3H), 3.00 (m, 2H), 3.18 (m, 2H), 3.68 (m, 2H), 3.82 (m, 2H), 4.38 (s, 2H), 7.09 (m, 3H), 7.18 (m, 3H), 7.38 (m, 1H), 9.10 (s, 1H), 10.92 (s, 1H).

LRMS : m/z 624 $(M+1)^+$

Preparation 92

1-(4-Bromo-2-methylphenyl)-1H-pyrazol-3-ol



Potassium tert-butoxide (20ml, 1M in tert-butanol, 20.0mmol) was added to 1-(4-bromo-2-methylphenyl)hydrazine (J.Chem.Soc. 109; 1916; 582)(2.01g, 10.0mmol) to give a dark brown suspension. Ethyl propiolate (1.02ml, 10mmol) was then added dropwise over 10 minutes, with cooling, and once addition was complete, the reaction was heated under reflux for 4 hours. The reaction was diluted with water (200ml) and this mixture washed with dichloromethane (2x50ml). The aqueous phase was acidified using hydrochloric acid (2N), extracted with dichloromethane (5x100ml), these combined organic extracts dried ($MgSO_4$), filtered and evaporated in vacuo. The crude product was purified by column chromatography on silica gel using dichloromethane:methanol (98:2) as eluant, and triturated with ether/di-isopropyl ether to give the title compound (615mg, 24%) as a solid.

mp 208-210°C

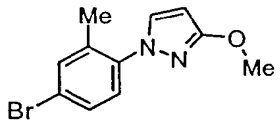
^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 2.26 (s, 3H), 5.75 (s, 1H), 7.22 (d, 1H), 7.44 (d, 1H), 7.57 (s, 1H), 7.74 (s, 1H), 10.00 (s, 1H).

LRMS : m/z 253, 255 $(M+1)^+$

Anal.Found: C, 47.31; H, 3.52; N, 10.99. $C_{10}H_9BrN_2O$ requires C, 47.46; H, 3.58; N, 11.07%.

Preparation 93

1-(4-Bromo-2-methylphenyl)-3-methoxy-1H-pyrazole



A mixture of the pyrazole from preparation 92 (1.52g, 6.0mmol), potassium carbonate (828mg, 6.0mmol), and dimethylsulphate (624ml, 6.6mmol) in 1-methyl-2-pyrrolidinone (15ml) was heated at 90°C for 5 hours. Tlc analysis showed starting material remaining, so additional potassium carbonate (828mg, 6.0mmol) and dimethylsulphoxide (624?l, 6.6mmol) were added, and stirring continued at 90°C for a further 18 hours. The cooled reaction was poured into water (200ml), and the mixture extracted with ethyl acetate (3x100ml). The combined organic extracts were washed with brine (3x100ml), dried

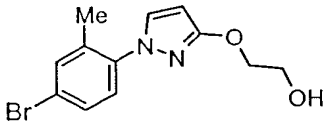
($MgSO_4$), filtered and concentrated in vacuo. The residue was purified by column chromatography on silica gel using dichloromethane as the eluant, to give the desired product as a pale yellow oil, (970mg, 61%).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 2.30 (s, 3H), 3.95 (s, 3H), 5.30 (s, 1H), 5.85 (s, 1H), 7.19 (d, 1H), 7.38 (m, 1H), 7.43 (s, 1H).

LRMS : m/z 267, 269 $(M+1)^+$

Preparation 94

1-(4-Bromo-2-methylphenyl)-3-(2-hydroxyethoxy)-1H-pyrazole



2-Bromoethanol (1.55ml, 21.8mmol) was added to a mixture of the alcohol from preparation 92 (2.76g, 10.9mmol) and potassium carbonate (3.01g, 21.8mmol) in N,N-dimethylformamide (50ml), and the reaction stirred at 80°C for 5 hours. The cooled mixture was concentrated in vacuo, the residue suspended in ethyl acetate (250ml), and the mixture washed with water (5x50ml). The organic phase was dried ($MgSO_4$), filtered and evaporated in vacuo. The crude product was purified by column chromatography on silica gel using dichloromethane:ether (80:20) as eluant, and crystallised from di-isopropyl ether to give the desired product as buff-coloured crystals, (1.61g, 50%).

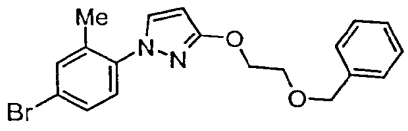
mp 104-105°C

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 2.24 (s, 3H), 2.58 (br, s, 1H), 3.92 (m, 2H), 4.36 (t, 2H), 5.84 (d, 1H), 7.15 (d, 1H), 7.35 (m, 2H), 7.40 (s, 1H).

Anal. Found: C, 48.38; H, 4.30; N, 9.34. $C_{12}H_{13}BrN_2O_2$ requires C, 48.50; H, 4.41; N, 9.43%.

Preparation 95

3-(2-Benzyloxyethoxy)-1-(4-bromo-2-methylphenyl)-1H-pyrazole



A solution of the alcohol from preparation 94 (1.55g, 5.2mmol) in tetrahydrofuran (12ml) was added to a suspension of sodium hydride (229mg, 60% dispersion in mineral oil, 5.73mmol) in tetrahydrofuran (10ml), and the resulting mixture stirred for 2 minutes under a nitrogen atmosphere. Benzyl bromide

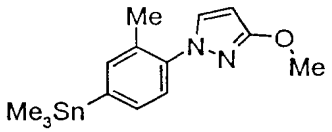
(681µl, 5.73mmol) was then added and the reaction heated under reflux for 16 hours. The cooled reaction mixture was poured into brine (70ml) and extracted with ethyl acetate (3x50ml). The combined organic solutions were dried ($MgSO_4$), filtered and concentrated in vacuo to give a yellow oil. The crude product was purified by column chromatography on silica gel using an elution gradient of hexane:ethyl acetate (90:10 to 80:20) to give the title compound as a colourless oil, (1.93g, 96%).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 2.24 (s, 3H), 3.80 (t, 2H), 4.38 (t, 2H), 4.60 (s, 2H), 5.66 (s, 1H), 7.12 (d, 1H), 7.21 (m, 2H), 7.32 (m, 5H), 7.40 (s, 1H).

LRMS : m/z 409, 411 $(M+23)^+$

Preparation 96

3-Methoxy-1-[(2-methyl-4-trimethylstannyl)phenyl]-1H-pyrazole

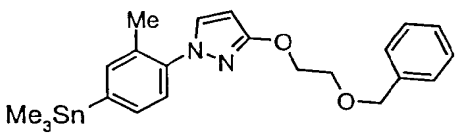


Tetrakis(triphenylphosphine)palladium (0) (30mg, 0.026mmol) was added to a solution of the bromide from preparation 93 (659mg, 2.47mmol), and hexamethylditin (889mg, 2.71mmol) in 1,4-dioxan (8ml), and nitrogen bubbled through the resulting mixture. The reaction was heated under reflux for 4 ½ hours, then tlc analysis showed starting material remaining. Additional tetrakis(triphenylphosphine)palladium (0) (48mg) was added and the reaction heated under reflux for a further 16 hours. 50% Aqueous potassium fluoride solution (5ml) was added to the cooled reaction, the mixture stirred for 15 minutes, then filtered through Arbocel®, washing through with ether. The filtrate was washed with brine (30ml), dried ($MgSO_4$), filtered and evaporated in vacuo. The crude product was purified by column chromatography on silica gel using pentane:ether (90:10) as eluant to give the title compound as a pale yellow oil, (598mg, 69%).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 0.27 (s, 9H), 2.26 (s 3H), 3.92 (s, 3H), 5.80 (s, 1H), 7.21 (m, 2H), 7.35 (m, 2H).

Preparation 97

3-(2-Benzyloxyethoxy)-1-[2-methyl-4-(trimethylstannyl)phenyl]-1H-pyrazole



Tetrakis(triphenylphosphine)palladium (0) (286mg, 0.25mmol) was added to a solution of the bromide from preparation 95 (1.92g, 4.96mmol), and hexamethylditin (1.78g, 5.45mmol) in 1,4-dioxan (18ml), and nitrogen bubbled through the resulting mixture. The reaction was heated under reflux for 2 hours,

then cooled. Potassium fluoride solution (5ml, 50%) was added, the mixture stirred for 30 minutes, and filtered though Arbocel®, washing through well with ethyl acetate (150ml). The filtrate was washed with brine (2x30ml), dried ($MgSO_4$), filtered and evaporated in vacuo. The residue was purified by column chromatography on silica gel using hexane:ether (84:16) to afford the desired product as a crystalline solid, (1.87g, 80%).

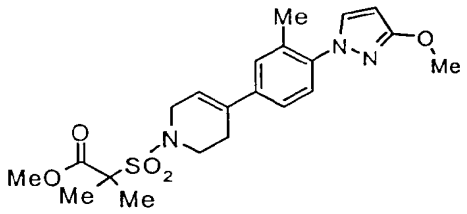
mp 50-52°C

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 0.28 (s, 9H), 2.24 (s, 3H), 3.80 (t, 2H), 4.40 (t, 2H), 4.60 (s, 2H), 5.82 (s, 1H), 7.22 (m, 3H), 7.33 (m, 6H).

Anal. Found: C, 56.21; H, 5.97; N, 5.95. $C_{22}H_{28}N_2O_2Sn$ requires C, 56.08; H, 5.99; N, 5.95%.

Preparation 98

Methyl 2-{4-[4-(3-methoxy-1H-pyrazol-1-yl}-3-methylphenyl]-1,2,3,6-tetrahydropyridin-1-ylsulphonyl}-2-methyl-propanoate



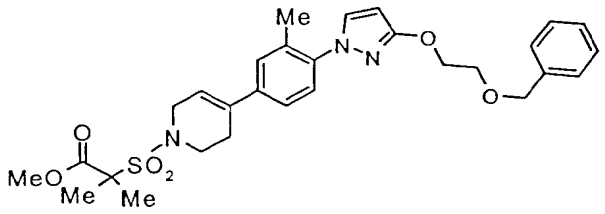
Tris(dibenzylideneacetone)dipalladium(0) (30.7mg, 0.034mmol) was added to a solution of the vinyl triflate from preparation 29 (727mg, 1.84mmol), the stannane from preparation 96 (590mg, 1.68mmol), and triphenylarsine (104mg, 0.36mmol) in 1-methyl-2-pyrrolidinone (4ml), and the solution stirred under a nitrogen atmosphere. Copper (I) iodide (16mg, 0.17mmol) was added, the solution de-gassed, and the reaction then stirred at 60°C for 30 minutes, and at 75°C for a further 4 ½ hours. Potassium fluoride solution (3ml, 50%) was added to the cooled reaction, stirring continued for 15 minutes, and the mixture filtered through Arbocel®, washing through with ethyl acetate (150ml). The filtrate was washed with water (30ml), brine (30ml), dried ($MgSO_4$), filtered and evaporated in vacuo. The residual orange foam was purified by column chromatography on silica gel using pentane:ether (50:50) to afford the title compound as a pale yellow gum, (588mg, 81%).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.63 (s, 6H), 2.30 (s, 3H), 2.59 (m, 2H), 3.60 (t, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.94 (s, 3H), 4.08 (m, 2H), 5.81 (d, 1H), 6.00 (m, 1H), 7.21 (m, 3H), 7.36 (s, 1H).

LRMS : m/z 434 $(M+1)^+$

Preparation 99

Methyl 2-{4-[4-(3-{2-benzyloxyethoxy}-1H-pyrazol-1-yl}-3-methylphenyl]-1,2,3,6-tetrahydropyridin-1-ylsulphonyl}-2-methyl-propanoate



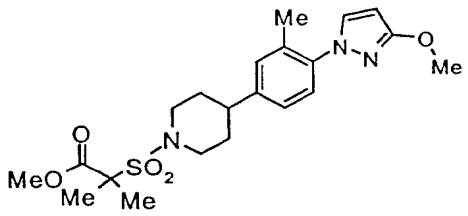
The title compound was obtained as a yellow oil (75%) from the triflate from preparation 29 and the stannane of preparation 97, using a similar method to that described in preparation 98.

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.64 (s, 6H), 2.27 (s, 3H), 2.58 (m, 2H), 3.59 (m, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.80 (t, 2H), 4.09 (m, 2H), 4.39 (t, 2H), 4.60 (s, 2H), 5.85 (s, 1H), 6.00 (m, 1H), 7.21 (m, 4H), 7.34 (m, 5H).

LRMS : m/z 576 $(M+23)^+$

Preparation 100

Methyl 2-{4-[4-(3-methoxy-1H-pyrazol-1-yl}-3-methylphenyl]piperidin-1-ylsulphonyl}-2-methylpropanoate



10% Palladium on charcoal (60mg) was added to a solution of the 1,2,3,6-tetrahydropyridine from preparation 98 (580mg, 1.38mmol) in methanol (20ml), and the mixture hydrogenated at 50 psi and room temperature for 6 hours. Tlc analysis showed starting material remaining, so additional 10% palladium on charcoal (50mg) was added, and the mixture hydrogenated for a further 18 hours. The reaction mixture was filtered through Arbocel®, the filtrate suspended in dichloromethane (50ml), re-filtered through Arbocel®, and the filtrate evaporated in vacuo, to give the desired product as a colourless solid, (365mg, 61%).

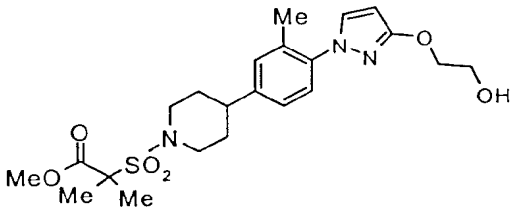
mp 109-110°C

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.61 (s, 6H), 1.75-1.86 (m, 4H), 2.25 (s, 3H), 2.62 (m, 1H), 3.02 (m, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.94 (m, 5H), 5.80 (d, 1H), 7.06 (m, 2H), 7.21 (m, 2H).

LRMS : m/z 458 $(M+23)^+$

Preparation 101

Methyl 2-{4-[4-(3-{2-hydroxyethoxy}-1H-pyrazol-1-yl}-3-methylphenyl]piperidin-1-ylsulphonyl}-2-methylpropanoate



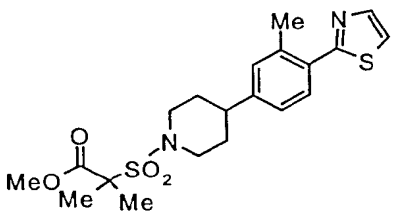
A mixture of the benzyl ether from preparation 99 (790mg, 1.42mmol) and 10% palladium on charcoal (160mg) in ethanol (35ml) was hydrogenated at 50 psi and room temperature for 17 hours. Tlc analysis showed starting material remaining, so acetic acid (2ml), and additional 10% palladium on charcoal (80mg) were added, and the reaction continued for a further 48 hours, with additional 10% palladium on charcoal (160mg) added portionwise. The reaction mixture was filtered through Arbocel®, washing through with ethanol, and the filtrate concentrated in vacuo. The residue was partitioned between ethyl acetate (100ml) and saturated sodium bicarbonate solution (100ml), the layers separated and the organic phase dried ($MgSO_4$), filtered and evaporated in vacuo to give the title compound as a colourless oil, (630mg, 95%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.46-1.62 (m, 8H), 1.80 (m, 2H), 2.19 (s, 3H), 2.71 (m, 1H), 3.02 (m, 2H), 3.10 (m, 2H), 3.62-3.79 (m, 5H), 4.10 (m, 2H), 4.60 (m, 1H), 5.84 (s, 1H), 7.12 (m, 1H), 7.19 (m, 2H), 7.69 (s, 1H).

LRMS : m/z 488 $(M+23)^+$

Preparation 102

Methyl 2-methyl-2-{4-[3-methyl-4-(1,3-thiazol-2-yl)phenyl]piperidin-1-ylsulphonyl}-propanoate



Bis(triphenylphosphine)palladium (II) chloride (49mg, 0.07mmol) was added to a solution of the bromide from preparation 26 (577mg, 1.38mmol) and 2-(trimethylstannyl)-1,3-thiazole (Synthesis, 1986, 757) (372mg, 1.5mmol) in tetrahydrofuran (3.5ml), and the resulting mixture was de-gassed, and placed

under an argon atmosphere. The reaction was heated under reflux for 17 hours. Tlc analysis showed starting material remaining, so additional 2-(trimethylstannyl)-1,3-thiazole (173mg, 0.8mmol) and bis(triphenylphosphine)palladium (II) chloride (49mg, 0.07mmol) were added, the mixture was de-gassed, and then heated under reflux for a further 17 hours. The cooled mixture was concentrated in vacuo, and the residue purified by column chromatography on silica gel using an elution gradient of hexane:ethyl acetate (91:9 to 66:34). The product was re-purified by column chromatography on silica gel using ether as eluant to give the title compound as a buff-coloured solid, (240mg, 40%).

mp 111-114°C

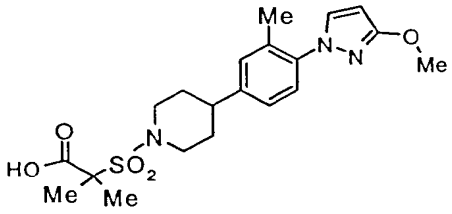
^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.52 (s, 6H), 1.58 (m, 2H), 1.81 (m, 2H), 2.45 (s, 3H), 2.74 (m, 1H), 3.04 (m, 2H), 3.74 (m, 5H), 7.18 (d, 1H), 7.21 (s, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.78 (d, 1H), 7.92 (d, 1H).

LRMS : m/z 445 $(M+23)^+$

Anal. Found: C, 56.64; H, 6.19; N, 6.55. $C_{20}H_{26}N_2S_2O_4$ requires C, 56.85; H, 6.20; N, 6.63%.

Preparation 103

2-{4-[4-(3-Methoxy-1H-pyrazol-1-yl}-3-methylphenyl]piperidin-1-ylsulphonyl}-2-methylpropanoic acid



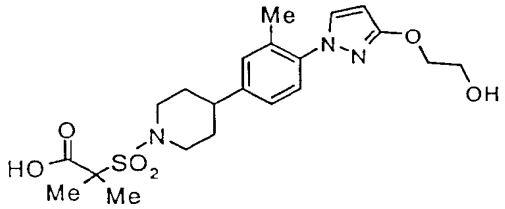
A mixture of the methyl ester from preparation 100 (355mg, 0.82mmol), and aqueous sodium hydroxide (5.9ml, 1M, 5.9mmol) in methanol (5ml) and 1,4-dioxan (5ml) was heated under reflux for 2 hours. The cooled reaction was diluted with water and acidified to pH 3 using hydrochloric acid (2N). The resulting precipitate was filtered off, washed with water, and dried under vacuum at 75°C to give the title compound as a white powder, (281mg, 82%).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.63 (s, 6H), 1.70-1.90 (m, 4H), 2.24 (s, 3H), 2.62 (m, 1H), 3.04 (m, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.98 (m, 2H), 5.80 (s, 1H), 7.04 (m, 3H), 7.32 (m, 1H).

Anal. Found: C, 56.78; H, 6.40; N, 9.71. $C_{20}H_{27}N_3O_5S$ requires C, 56.99; H, 6.46; N, 9.97%.

Preparation 104

2-{4-[4-(3-{2-Hydroxyethoxy}-1H-pyrazol-1-yl}-3-methylphenyl]piperidin-1-ylsulphonyl}-2-methylpropanoic acid



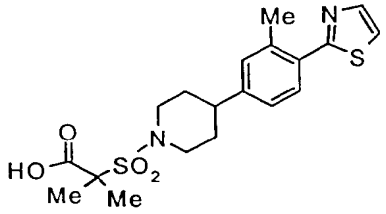
A mixture of the methyl ester from preparation 101(520mg, 1.2mmol), and aqueous sodium hydroxide (3.6ml, 1M, 3.6mmol) in 1,4-dioxan (5ml) was heated under reflux for 2 ½ hours. The cooled reaction was partitioned between water (100ml) and ethyl acetate (100ml), acidified to pH 2 using hydrochloric acid (2N), and the phases separated. The aqueous layer was extracted with ethyl acetate (2x35ml), the combined organic solutions dried ($MgSO_4$), filtered and concentrated in vacuo. The residue was triturated with ether twice, to afford the title compound as a white solid, (338mg, 62%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 300MHz) δ: 1.47 (s, 6H), 1.59 (m, 2H), 1.79 (m, 2H), 2.19 (s, 3H), 2.70 (m, 1H), 3.02 (m, 2H), 3.64 (m, 2H), 3.79 (m, 2H), 4.09 (t, 2H), 4.62 (m, 1H), 5.84 (s, 1H), 7.12 (m, 1H), 7.18 (m, 2H), 7.69 (s, 1H), 13.1 (br, s, 1H).

LRMS : m/z 474 $(M+23)^+$

Preparation 105

2-Methyl-2-{4-[3-methyl-4-(1,3-thiazol-2-yl)phenyl]piperidin-1-ylsulphonyl}-propanoic acid



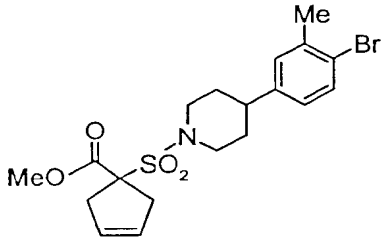
The title compound was obtained as a white solid (92%) from the methyl ester of preparation 102, following a similar procedure to that described in preparation 104.

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.47 (s, 6H), 1.60 (m, 2H), 1.80 (m, 2H), 2.45 (s, 3H), 2.70 (m, 1H), 3.03 (m, 2H), 3.78 (m, 2H), 7.18 (d, 1H), 7.21 (s, 1H), 7.63 (d, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.92 (s, 1H), 13.37 (br, s, 1H).

Anal. Found: C, 55.28; H, 5.90; N, 6.70. $C_{19}H_{24}N_2O_4S_2$ requires C, 55.86; H, 5.92; N, 6.86%.

Preparation 106

Methyl 1-{[4-(4-bromo-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulfonyl}-3-cyclopentene-1-carboxylate



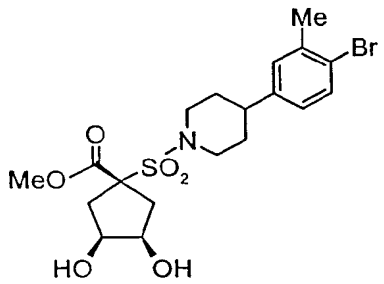
A suspension of sodium hydride (1.1g, 60% dispersion in mineral oil, 28mmol) was cooled to 0°C in anhydrous N-methyl pyrrolidinone (30ml) under nitrogen. A solution of the ester from preparation 25 (10g, 26mmol) in N-methyl pyrrolidinone (70ml) was added dropwise with stirring and the reaction mixture allowed to warm to ambient temperature over 50 minutes. 1,4-dichlorobut-2-ene (3.0ml, 28mmol) and tetrabutylammonium bromide (8.3g, 26mmol) were added to the reaction mixture and after a further 3 hours an additional portion of sodium hydride (1.1g, 60% dispersion in mineral oil, 28mmol) was added. The mixture was stirred for a further 2 days. The reaction mixture was partitioned between ethyl acetate (300ml) and water (300ml) and the layers separated. The aqueous layer was extracted with ethyl acetate (300ml) and the combined organic extracts were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated in vacuo. The residue was purified by flash chromatography eluting with dichloromethane to give the title compound as a white solid (7.4g, 65%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.45 (m, 2H), 1.75 (m, 2H), 2.28 (s, 3H), 2.64 (m, 1H), 2.95 (m, 4H), 3.14 (d, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.78 (s, 2H), 5.63 (s, 2H), 6.98 (d, 1H), 7.21 (s, 1H), 7.43 (d, 1H).

LRMS :m/z 464/466 $(M+23)^+$.

Preparation 107

Methyl (1α,3α,4α)-1-{[4-(4-bromo-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulfonyl}-3,4-dihydroxycyclopentanecarboxylate



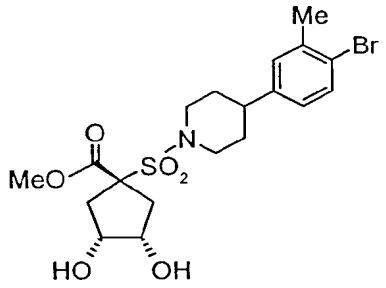
N-methylmorpholine N-oxide (580mg, 4.97mmol) and osmium tetroxide (2.5 weight % in tert-butanol, 1.1ml, 0.136mmol) were added to a solution of the cyclopentene from preparation 106 (2.0g, 4.52mmol) in dioxan (20ml), water (0.1ml), and the solution stirred at room temperature for 18 hours. The reaction mixture was partitioned between ethyl acetate (200ml) and water (300ml) and the layers separated. The aqueous layer was extracted with ethyl acetate (2x200ml), and the combined organic extracts were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated in vacuo. The residue was purified by column chromatography on silica gel using dichloromethane/methanol (100:0 to 97:3) as eluant to afford the title compound as a white solid (1.2g, 56%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.47 (m, 2H), 1.77 (m, 2H), 2.28 (m, 5H), 2.42 (s, 2H), 2.63 (m, 1H), 2.91 (m, 2H), 3.75 (m, 5H), 3.85 (s, 2H), 4.62 (s, 2H), 6.98 (d, 1H), 7.21 (s, 1H), 7.43 (d, 1H).

LRMS :m/z 498/500 $(M+23)^+$.

Preparation 108

Methyl (1α,3β,4β)-1-{[4-(4-bromo-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulfonyl}-3,4-dihydroxycyclopentanecarboxylate



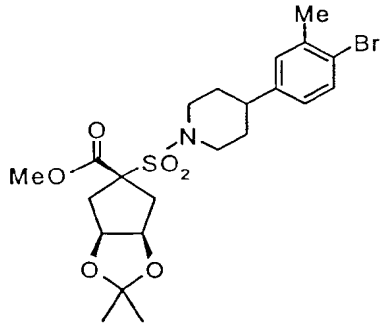
Silver acetate (2.1g, 12.46mmol) and iodine (1.5g, 5.81mmol) were added to a solution of the cyclopentene from preparation 106 (2.45g, 5.54mmol) in glacial acetic acid (125ml) and the mixture was stirred at ambient temperature for 1 hour. Wet acetic acid (2.5ml of a 1:25 water/glacial acetic acid mixture) was then added and the reaction was heated to 95°C for 3 hours and then stirred at ambient temperature for 18 hours. Sodium chloride was added to the mixture and the resulting precipitate was filtered through arbocel® and then washed with toluene. The resulting filtrate was concentrated in vacuo, azeotroped with toluene to give a solid which was triturated with diisopropyl ether. This solid was further purified by flash chromatography eluting with dichloromethane to give the intermediate monoacetate compound as a beige solid (1.35g, 50%). 1N sodium hydroxide (4ml) was added to a solution of the monoacetate intermediate in dioxan/methanol (12ml/8ml) and the reaction was stirred at ambient temperature for 1 hour. The solvent was removed under reduced pressure, and the residue was partitioned between ethyl acetate (50ml) and water (75ml), and the layers separated. The aqueous layer was extracted with ethyl acetate (2x50ml), and the combined organic extracts were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated in vacuo to give the title compound as a white solid (875mg, 70%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.55 (m, 2H), 1.87 (m, 2H), 2.18 (m, 2H), 2.30 (s, 3H), 2.63 (m, 3H), 2.98 (t, 2H), 3.72 (m, 7H), 4.68 (s, 2H), 6.98 (d, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.43 (d, 1H).

LRMS :m/z 498/500$(M+23)^+$.

Preparation 109

Methyl (3aα,5α,6aα)-5-{[4-(4-bromo-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulfonyl}-2,2-dimethyltetrahydro-3a*H*-cyclopenta[*d*][1,3]dioxole-5-carboxylate



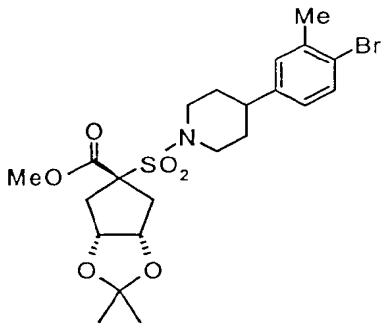
2,2-Dimethoxypropane (0.74ml, 6mmol) and p-toluenesulfonic acid (60mg, 0.3mmol) were added to a solution of the diol from preparation 107 (1.43g, 3mmol) in anhydrous dimethylformamide (10ml) under nitrogen. The reaction was warmed to 50°C for 4.5hours. The mixture was diluted with ethyl acetate (50ml) and water (40ml) and the layers separated. The aqueous layer was extracted with ethyl acetate (2x50ml), and the combined organic extracts were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated in vacuo. The resulting solid was recrystalised from ethyl acetate/di-isopropyl ether to give the title compound as a white solid (1.05g, 70%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.17 (s, 3H), 1.20 (s, 3H), 1.47 (m, 2H), 1.77 (m, 2H), 2.23 (m, 2H), 2.32 (s, 3H), 2.65 (m, 3H), 2.95 (t, 2H), 3.72 (m, 5H), 4.64 (s, 2H), 6.98 (d, 1H), 7.21 (s, 1H), 7.43 (d, 1H).

LRMS :m/z 538/540 $(M+23)^+$.

Preparation 110

Methyl (3aβ,5α,6aβ)-5-{[4-(4-bromo-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulfonyl}-2,2-dimethyltetrahydro-3aH-cyclopenta[d][1,3]dioxole-5-carboxylate



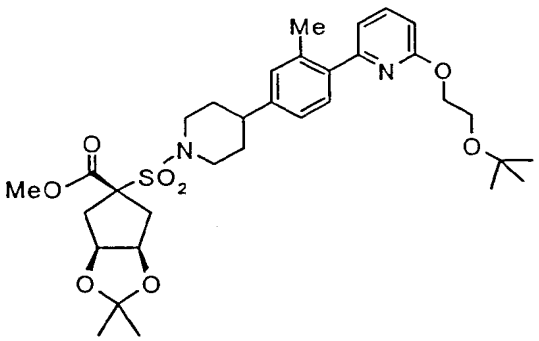
The title compound was prepared from the diol from preparation 108 in a similar procedure to that described in preparation 109. The title compound was isolated as a pale yellow solid (1.3g, 75%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.11 (s, 3H), 1.42 (s, 3H), 1.57 (m, 2H), 1.78 (m, 2H), 2.18 (m, 2H), 2.30 (s, 3H), 2.62 (m, 1H), 2.78 (m, 2H), 2.98 (t, 2H), 3.72 (m, 5H), 4.58 (m, 2H), 6.98 (d, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.43 (d, 1H).

LRMS :m/z 538/540(M+23)$^+$.

Preparation 111

Methyl (3aα,5α,6aα)-5-{[4-(4-{6-[2-(*tert*-butoxy)ethoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulfonyl}-2,2-dimethyltetrahydro-3a*H*-cyclopenta[*d*][1,3]dioxole-5-carboxylate



A mixture of the stannane from preparation 127 (2.3g, 4.78mmol) and the aryl bromide from preparation 109 (1.9g, 3.68mmol), and tetrakis(triphenylphosphine)palladium (0) (213mg, 0.18mmol) in toluene (25ml) was refluxed under nitrogen for 10 hours, then stirred at ambient temperature for 7 hours. The mixture was evaporated in vacuo and to the resulting oil was added ethyl acetate (30ml) and aqueous potassium fluoride solution (20ml) and stirred rapidly for 10 minutes. The resulting precipitate was filtered off on arbocel® washing with ethyl acetate. The filtrate was allowed to separate, and the aqueous layer extracted with ethyl acetate (30ml). The combined organic extracts were dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated in vacuo. The residue was purified by column chromatography on silica gel using

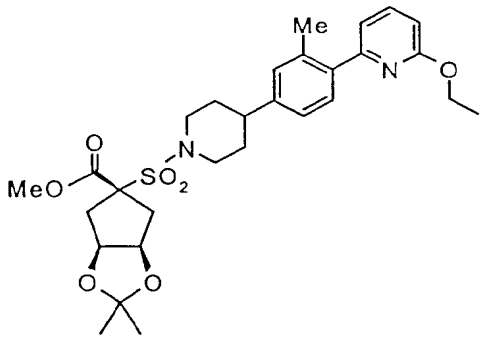
pentane:ethyl acetate (98:2 to 60:40) as eluant. The resulting solid was recrystalised from ethyl acetate to afford the title compound as a white solid, (1.4g, 60%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.13 (s, 9H), 1.17 (s, 3H), 1.20 (s, 3H), 1.57 (m, 2H), 1.80 (m, 2H), 2.23 (m, 2H), 2.32 (s, 3H), 2.69 (m, 3H), 2.95 (t, 2H), 3.60 (m, 2H), 3.72 (m, 5H), 4.29 (m, 2H), 4.68 (s, 2H), 6.73 (d, 1H), 7.03 (d, 1H) 7.15 (m, 2H), 7.31 (d, 1H), 7.75 (t, 1H).

LRMS :m/z 654 $(M+23)^+$.

Preparation 112

Methyl (3aα,5α,6aα)-5-({4-[4-(6-ethoxypyridin-2-yl)-3-methylphenyl]piperidin-1-yl}sulfonyl)-2,2-dimethyltetrahydro-3a*H*-cyclopenta[*d*][1,3]dioxole-5-carboxylate



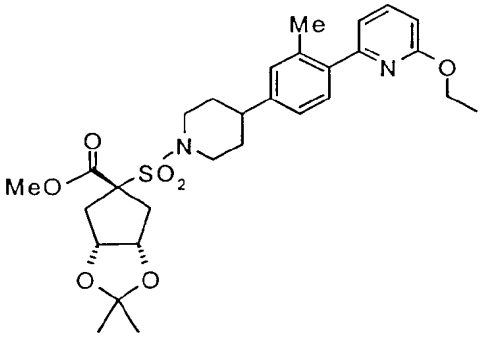
The title compound was prepared from the aryl bromide from preparation 109 and the stannane from preparation 129 in a similar procedure to that described in preparation 111. The title compound was isolated as a white solid (1.1g, 50%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.15 (s, 3H), 1.19 (s, 3H), 1.25 (t, 3H), 1.57 (m, 2H), 1.80 (m, 2H), 2.23 (m, 2H), 2.35 (s, 3H), 2.65 (m, 3H), 2.95 (t, 2H), 3.65 (m, 2H), 3.72 (m, 3H), 4.28 (q, 2H), 4.66 (d, 2H), 6.68 (d, 1H), 7.03 (d, 1H), 7.15 (m, 2H), 7.33 (d, 1H), 7.72 (t, 1H).

LRMS :m/z 581 $(M+23)^+$.

Preparation 113

Methyl (3aβ,5α,6aβ)-5-({4-[4-(6-ethoxypyridin-2-yl)-3-methylphenyl]piperidin-1-yl}sulfonyl)-2,2-dimethyltetrahydro-3a*H*-cyclopenta[*d*][1,3]dioxole-5-carboxylate



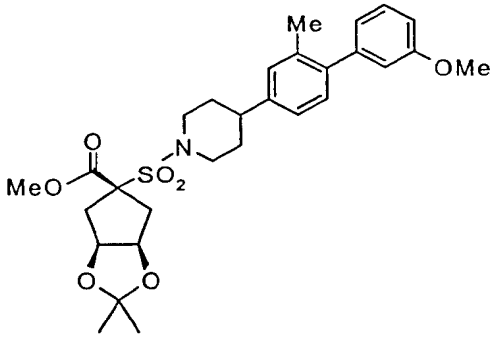
The title compound was prepared from the aryl bromide from preparation 110 and the stannane from preparation 129 in a similar procedure to that described in preparation 111. The title compound was isolated as a white foam (413mg, 60%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.21 (s, 3H), 1.28 (t, 3H), 1.42 (s, 3H), 1.57 (m, 2H), 1.80 (m, 2H), 2.18 (m, 2H), 2.35 (s, 3H), 2.65 (m, 1H), 2.80 (m, 2H), 3.00 (t, 2H), 3.75 (m, 2H), 3.77 (s, 3H), 4.28 (q, 2H), 4.56 (m, 2H), 6.68 (d, 1H), 7.03 (d, 1H), 7.15 (m, 2H), 7.35 (d, 1H), 7.72 (t, 1H).

LRMS :m/z 559 $(M+1)^+$.

Preparation 114

Methyl (3aα,5α,6aα)-5-{4-[4-(3-methoxyphenyl)-3-methylphenyl]piperidin-1-ylsulfonyl}-2,2-dimethyltetrahydro-3a*H*-cyclopenta[*d*][1,3]dioxole-5-carboxylate



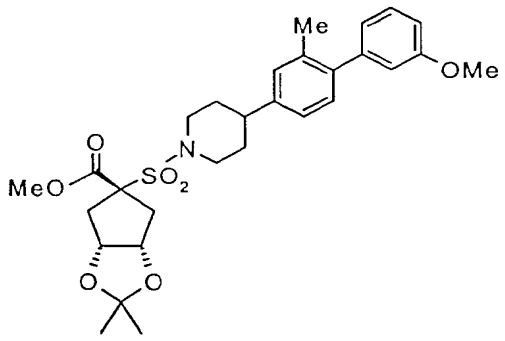
A mixture of the aryl bromide from preparation 109 (1.03, 1.99mmol), 3-methoxyphenylboronic acid (364mg, 2.40mmol), cesium fluoride (606mg, 4.00mmol), tris(dibenzylideneacetone)dipalladium(0) (91mg, 0.1mmol) and tri(o-tolyl)phosphine (61mg, 0.2mmol) in 1,2-dimethoxyethane (25ml) was heated under reflux under nitrogen for 9 hours. The cooled reaction was diluted with water and ethyl acetate, filtered through arbocel®, which was washed with water and ethyl acetate. The organic layer was separated, and washed with brine, dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated in vacuo. The residue was purified by column chromatography on silica gel using pentane:ethyl acetate (95:5 to 60:40) as eluant. The title compound was obtained as a white solid (630mg, 60%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.15 (s, 3H), 1.18 (s, 3H), 1.57 (m, 2H), 1.79 (m, 2H), 2.18 (m, 5H), 2.65 (m, 3H), 2.95 (t, 2H), 3.65 (m, 8H), 4.64 (m, 2H), 6.82 (m, 3H), 7.10 (m, 3H), 7.29 (m, 1H).

LRMS :m/z 566 $(M+23)^+$.

Preparation 115

Methyl (3aβ,5α,6aβ)-5-{4-[4-(3-methoxyphenyl)-3-methylphenyl]piperidin-1-ylsulfonyl}-2,2-dimethyltetrahydro-3a*H*-cyclopenta[*d*][1,3]dioxole-5-carboxylate



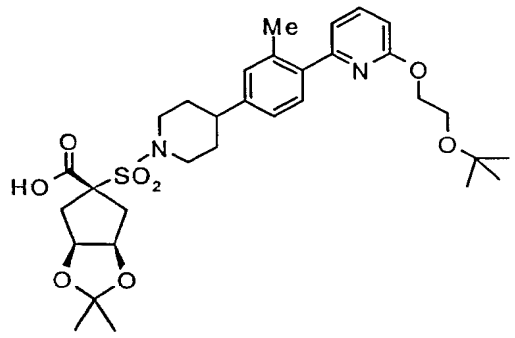
The title compound was prepared from the aryl bromide from preparation 110 in a similar procedure to that described in preparation 114 and was isolated as a white foam (310mg, 45%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.20 (s, 3H), 1.40 (s, 3H), 1.57 (m, 2H), 1.80 (m, 2H), 2.18 (m, 5H), 2.67 (m, 1H), 2.81 (m, 2H), 2.95 (t, 2H), 3.75 (m, 8H), 4.57 (m, 2H), 6.82 (m, 3H), 7.10 (m, 3H), 7.29 (m, 1H).

LRMS :m/z 566 $(M+23)^+$.

Preparation 116

(3aα,5α,6aα)-5-{[4-(4-{6-[2-(*tert*-butoxy)ethoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulfonyl}-2,2-dimethyltetrahydro-3a*H*-cyclopenta[*d*][1,3]dioxole-5-carboxylic acid



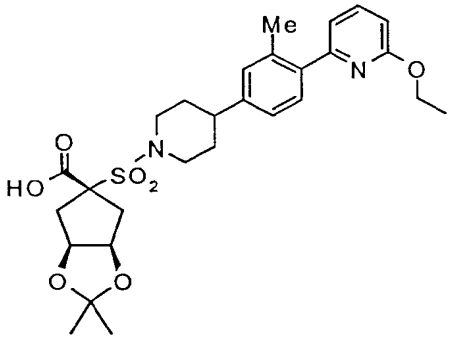
A mixture of the methyl ester from preparation 111 (1.4g, 2.22mmol) and aqueous sodium hydroxide (5.5ml, 2N, 11.1mmol) in methanol (7ml) and dioxan (7ml) was heated under reflux for 1hour, then allowed to cool. The reaction was concentrated in vacuo, the residue dissolved in water (20ml), and the solution acidified to pH 4 with glacial acetic acid. The aqueous was extracted with ethyl acetate (2x 50ml) and the collected organic layers dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated in vacuo. The resulting oily solid was azeotroped with toluene then triturated with cold ethyl acetate to afford the title compound as a white solid (1.0g, 75%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.13 (s, 9H), 1.16 (s, 3H), 1.28 (s, 3H), 1.57 (m, 2H), 1.75 (m, 2H), 2.26 (m, 5H), 2.59 (m, 3H), 3.05 (t, 2H), 3.60 (m, 2H), 3.72 (d, 2H), 4.28 (m, 2H), 4.58 (m, 2H), 6.73 (d, 1H), 7.03 (d, 1H), 7.15 (m, 2H), 7.31 (d, 1H), 7.75 (t, 1H) 12.9 (s, 1H).

LRMS :m/z 617 $(M+1)^+$.

Preparation 117

(3aα,5α,6aα)-5-({4-[4-(6-ethoxypyridin-2-yl)-3-methylphenyl]piperidin-1-yl}sulfonyl)-2,2-dimethyltetrahydro-3a*H*-cyclopenta[*d*][1,3]dioxole-5-carboxylic acid



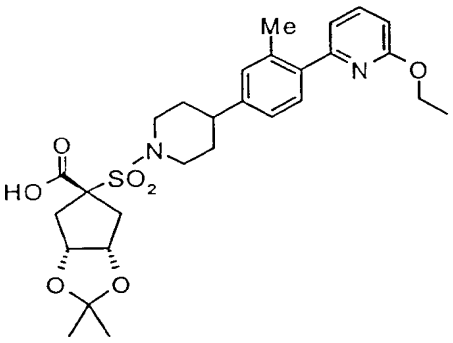
A mixture of the methyl ester from preparation 112 (780mg, 1.40mmol) and aqueous sodium hydroxide (3.5ml, 2N, 6.98mmol) were dissolved in methanol (5ml) and dioxan (5ml) and were heated under reflux for 1.5 hour, then allowed to cool. The reaction was concentrated in vacuo, the residue dissolved in water (20ml), and the solution acidified to pH 4 with glacial acetic acid. The resulting mixture was extracted with ethyl acetate (2x 50ml) and the collected organic layers dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated in vacuo. This afforded the title compound as a white solid (240mg, 85%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 0.93 (s, 3H), 1.14 (m, 6H), 1.41 (m, 2H), 1.58 (m, 2H), 2.01 (m, 2H), 2.13 (s, 3H), 2.43 (m, 3H), 2.78 (m, 2H), 3.50 (m, 2H), 4.08 (m, 2H), 4.43 (m, 2H), 6.48 (m, 1H), 6.80 (d, 1H), 6.91 (m, 2H), 7.10 (m, 1H), 7.51 (m, 1H) 13.10 (s, 1H).

LRMS :m/z 545 $(M+1)^+$.

Preparation 118

(3aβ,5α,6aβ)-5-({4-[4-(6-ethoxypyridin-2-yl)-3-methylphenyl]piperidin-1-yl}sulfonyl)-2,2-dimethyltetrahydro-3a*H*-cyclopenta[*d*][1,3]dioxole-5-carboxylic acid



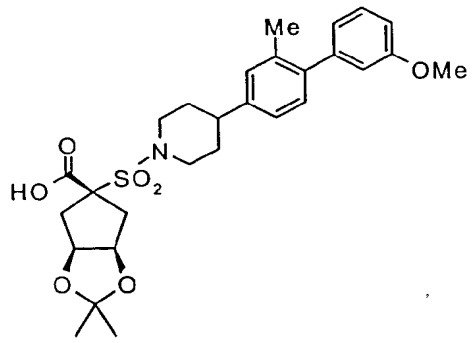
The title compound was prepared from the methyl ester from preparation 113 in a similar procedure to that described in preparation 117 and was isolated as a white foam (250mg, 65%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.21 (s, 3H), 1.28 (t, 3H), 1.42 (s, 3H), 1.61 (m, 2H), 1.80 (d, 2H), 2.18 (m, 2H), 2.35 (s, 3H), 2.65 (m, 1H), 2.80 (m, 2H), 3.00 (t, 2H), 3.78 (d, 2H), 4.28 (q, 2H), 4.56 (m, 2H), 6.68 (d, 1H), 7.01 (d, 1H), 7.15 (m, 2H), 7.35 (d, 1H), 7.72 (t, 1H), 13.65 (s, 1H).

LRMS :m/z 545 $(M+1)^+$.

Preparation 119

(3aα,5α,6aα)-5-{4-[4-(3-methoxyphenyl)-3-methylphenyl]piperidin-1-ylsulfonyl}-2,2-dimethyltetrahydro-3a*H*-cyclopenta[*d*][1,3]dioxole-5-carboxylic acid



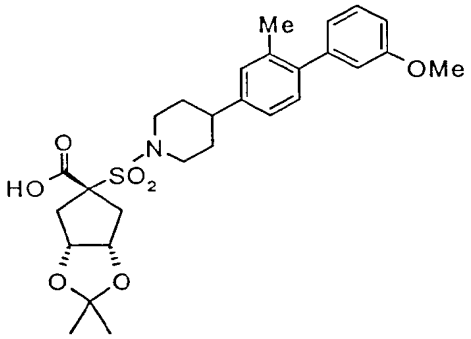
A mixture of the methyl ester from preparation 114 (630mg, 1.16mmol) and aqueous sodium hydroxide (3.0ml, 2N, 5.80mmol) were dissolved in methanol (5ml) and dioxan (5ml) and heated under reflux for 1hour, then allowed to cool. The reaction was concentrated in vacuo, the residue dissolved in water (20ml), and the solution acidified to pH 1 with 2N hydrochloric acid. The resulting mixture was extracted with ethyl acetate (2x 50ml) and the collected organic layers dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated in vacuo. This afforded the title compound as a white solid (500mg, 83%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.13 (s, 3H), 1.22 (s, 3H), 1.58 (m, 2H), 1.79 (m, 2H), 2.18 (m, 5H), 2.62 (m, 3H), 2.97 (t, 2H), 3.71 (m, 5H), 4.64 (m, 2H), 6.82 (m, 3H), 7.06 (m, 2H), 7.14 (s, 1H), 7.29 (t, 1H).

LRMS :m/z 528 $(M-1)^-$.

Preparation 120

(3aβ,5α,6aβ)-5-{4-[4-(3-methoxyphenyl)-3-methylphenyl]piperidin-1-ylsulfonyl}-2,2-dimethyltetrahydro-3a*H*-cyclopenta[*d*][1,3]dioxole-5-carboxylic acid



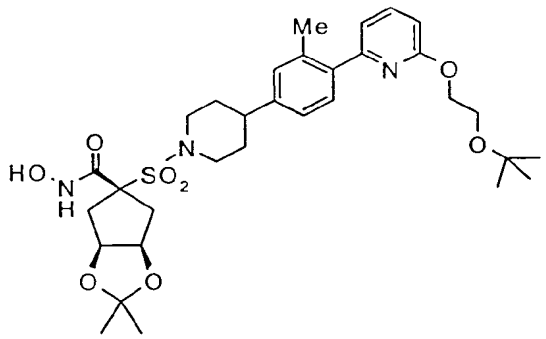
The title compound was prepared from the methyl ester from preparation 115 in a similar procedure to that described in preparation 119 and was isolated as a white foam (250mg, 85%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.20 (s, 3H), 1.40 (s, 3H), 1.58 (m, 2H), 1.80 (m, 2H), 2.15 (m, 2H), 2.18 (s, 3H), 2.65 (m, 1H), 2.78 (m, 2H), 2.99 (t, 2H), 3.77 (m, 5H), 4.56 (m, 2H), 6.82 (m, 3H), 7.10 (m, 3H), 7.29 (t, 1H), 13.78 (s, 1H).

LRMS :m/z 528 $(M-1)^-$.

Preparation 121

(3aα,5α,6aα)-*N*-hydroxy-5-{[4-(4-{6-[2-(*tert*-butoxy)ethoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulfonyl}-2,2-dimethyltetrahydro-3a*H*-cyclopenta[*d*][1,3]dioxole-5-carboxamide



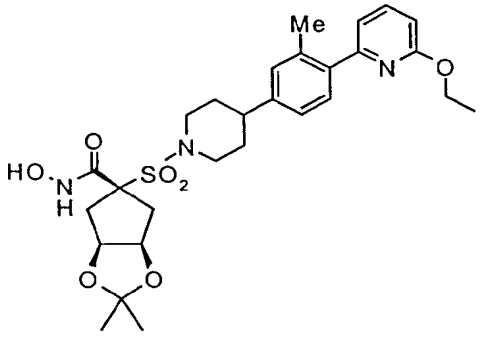
1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride (190mg, 0.973mmol) and 1-hydroxy-7-azabenzotriazole (121mg, 0.892mmol) were added to a solution of the acid from preparation 116 (500mg, 0.811mmol) in N,N-dimethylformamide (6ml) and pyridine (3ml) and the reaction was stirred under nitrogen for 50 minutes. Hydroxylamine hydrochloride (170mg, 2.43mmol) was then added, and the reaction stirred at room temperature overnight. The reaction was diluted with ethyl acetate (50ml) and washed with pH 7 phosphate buffer solution (30ml). The aqueous layer was extracted with ethyl acetate (2x 50ml) and the combined organic extracts were washed with brine, then water, dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated in vacuo. The resulting solid was recrystallised from ethyl acetate to afford the title compound as a white solid (260mg, 50%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.15 (s, 9H), 1.16 (s, 3H), 1.20 (s, 3H), 1.59 (m, 2H), 1.75 (m, 2H), 2.17 (m, 2H), 2.31 (s, 3H), 2.59 (m, 1H), 2.66 (d, 2H), 2.99 (t, 2H), 3.59 (m, 2H), 3.64 (d, 2H), 4.28 (m, 2H), 4.62 (m, 2H), 6.72 (d, 1H), 7.03 (d, 1H), 7.15 (m, 2H), 7.29 (d, 1H), 7.70 (t, 1H), 8.85 (s, 1H), 10.82 (s, 1H).

LRMS :m/z 632 $(M+1)^+$.

Preparation 122

(3aα,5α,6aα)-*N*-hydroxy-5-({4-[4-(6-ethoxypyridin-2-yl)-3-methylphenyl]piperidin-1-yl}sulfonyl)-2,2-dimethyltetrahydro-3a*H*-cyclopenta[*d*][1,3]dioxole-5-carboxamide



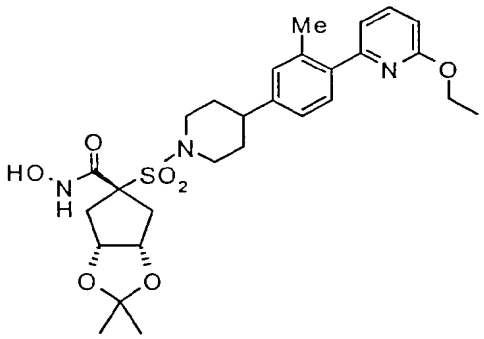
The title compound was prepared from the acid from preparation 117 in a similar procedure to that described in preparation 121, and was isolated as a white solid (150mg, 60%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.13 (s, 3H), 1.21 (s, 3H), 1.25 (t, 3H), 1.61 (m, 2H), 1.76 (m, 2H), 2.18 (m, 2H), 2.32 (s, 3H), 2.60 (m, 1H), 2.77 (d, 2H), 2.99 (t, 2H), 3.63 (d, 2H), 4.25 (q, 2H), 4.63 (m, 2H), 6.68 (d, 1H), 7.02 (d, 1H), 7.14 (m, 2H), 7.30 (d, 1H), 7.71 (t, 1H), 8.86 (s, 1H), 10.82 (s, 1H).

LRMS :m/z 560 $(M+1)^+$.

Preparation 123

(3aβ,5α,6aβ)-*N*-hydroxy-5-({4-[4-(6-ethoxy-pyridin-2-yl)-3-methylphenyl]piperidin-1-yl}sulfonyl)-2,2-dimethyltetrahydro-3a*H*-cyclopenta[*d*][1,3]dioxole-5-carboxamide



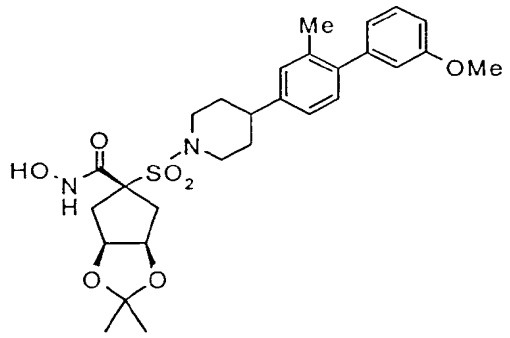
The title compound was prepared from the acid from preparation 118 in a similar procedure to that described in preparation 121. The title compound was isolated after column chromatography (using dichloromethane/methanol 99:1 as eluant) as a white solid (107mg, 45%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.20 (s, 3H), 1.28 (t, 3H), 1.40 (s, 3H), 1.61 (m, 2H), 1.80 (d, 2H), 2.05 (m, 2H), 2.30 (s, 3H), 2.62 (m, 1H), 2.97 (m, 4H), 3.70 (d, 2H), 4.28 (q, 2H), 4.45 (m, 2H), 6.68 (d, 1H), 7.01 (d, 1H), 7.15 (m, 2H), 7.32 (d, 1H), 7.72 (t, 1H), 9.00 (s, 1H), 10.39 (s, 1H).

LRMS :m/z 560 $(M+1)^+$.

Preparation 124

(3aα,5α,6aα)-*N*-hydroxy-5-{4-[4-(3-methoxyphenyl)-3-methylphenyl]piperidin-1-ylsulfonyl}-2,2-dimethyltetrahydro-3a*H*-cyclopenta[*d*][1,3]dioxole-5-carboxamide

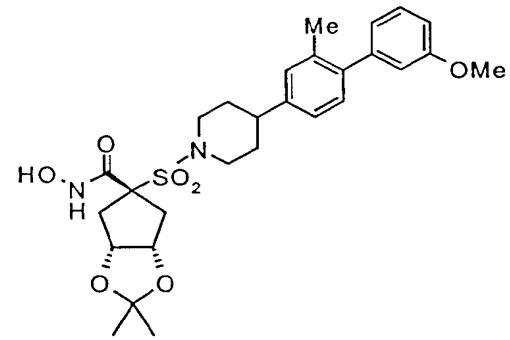


The title compound was prepared from the acid from preparation 119 in a similar procedure to that described in preparation 121, and was isolated as a white solid (110mg, 43%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.13 (s, 3H), 1.22 (s, 3H), 1.58 (m, 2H), 1.77 (m, 2H), 2.18 (m, 5H), 2.58 (m, 1H), 2.75 (d, 2H), 2.98 (t, 2H), 3.65 (d, 2H), 3.75 (s, 3H), 4.63 (m, 2H), 6.82 (m, 3H), 7.08 (s, 2H), 7.15 (s, 1H), 7.28 (t, 1H), 8.85 (s, 1H), 10.82 (s, 1H).

Preparation 125

(3aβ,5α,6aβ)-*N*-hydroxy-5-{4-[4-(3-methoxyphenyl)-3-methylphenyl]piperidin-1-ylsulfonyl}-2,2-dimethyltetrahydro-3a*H*-cyclopenta[*d*][1,3]dioxole-5-carboxamide



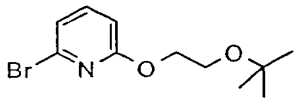
The title compound was prepared from the acid from preparation 120 in a similar procedure to that described in preparation 121. The title compound was isolated after column chromatography (using dichloromethane/methanol 98:2 as eluant) as a white solid (130mg, 50%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.20 (s, 3H), 1.40 (s, 3H), 1.58 (m, 2H), 1.78 (m, 2H), 2.05 (m, 2H), 2.18 (s, 3H), 2.60 (m, 1H), 2.95 (m, 4H), 3.67 (m, 2H), 3.74 (s, 3H), 4.42 (m, 2H), 6.82 (m, 3H), 7.08 (s, 2H), 7.13 (s, 1H), 7.29 (t, 1H), 9.09 (s, 1H), 10.49 (s, 1H).

LRMS :m/z 543 $(M-1)^-$.

Preparation 126

2-[2-(*tert*-butoxy)ethoxy]-6-bromopyridine



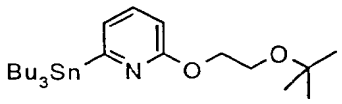
Sodium hydride (6.8g, 60% dispersion in mineral oil, 0.169mol) was added portionwise to an ice-cold solution of 2-(tert-butoxy)ethanol (20.0g, 0.169mol) in toluene (500ml) under nitrogen, and the solution stirred for 30 minutes whilst warming to ambient temperature. 2,6-Dibromopyridine (40.0, 0.169mol) was added, and the reaction heated under reflux for 3 hours. The mixture was allowed to cool to ambient temperature and was diluted with water (1000ml), and extracted with ethyl acetate (2x400ml). The combined organic extracts were dried (Na_2SO_4), filtered and evaporated in vacuo to give the title compound as a yellow oil (quantitative).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.21 (s, 9H), 3.67 (t, 2H), 4.40 (t, 2H), 6.68 (d, 1H), 7.05 (d, 1H), 7.38 (t, 1H).

LRMS :m/z 296/298 $(M+23)^+$.

Preparation 127

2-[2-(*tert*-butoxy)ethoxy]-6-(tributylstannyl)pyridine



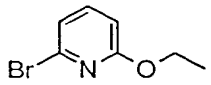
n-Butyllithium (71ml, 2.5M solution in hexanes, 0.177mol) was added dropwise to a cooled (-78°C) solution of the bromide from preparation 126 (46.3g, 0.169mol) in anhydrous THF (1000ml) under nitrogen, so as to maintain the internal temperature <-70°C, and the solution stirred for 10 minutes. Tri-n-butyltin chloride (48ml, 0.177mol) was added slowly to maintain the internal temperature <-70°C, and the reaction was then allowed to warm to room temperature over 1 hour. The reaction was diluted with water (1000ml), the mixture extracted with Et_2O (2x1000ml), and the combined organic extracts dried (Na_2SO_4), filtered and evaporated in vacuo. The residue was purified by column chromatography on silica gel using pentane:Et_2O (100:1 to 98:2) as eluant, to afford the title compound as a colourless oil, (45.5g, 55%).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 0.86 (t, 9H), 1.04 (m, 6H), 1.21 (s, 9H), 1.35 (m, 6H), 1.58 (m, 6H), 3.69 (t, 2H), 4.43 (t, 2H), 6.58 (d, 1H), 6.97 (m, 1H), 7.37 (m, 1H).

LRMS :m/z 506/508 $(M+23)^+$.

Preparation 128

2-bromo-6-ethoxypyridine



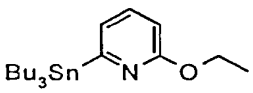
Sodium ethoxide (1.5g, 63mmol sodium, in ethanol (30ml)) was added to 2,6-dibromopyridine (15g, 63mmol) in toluene (150ml) at ambient temperature under nitrogen, and the reaction heated under reflux for 5 hours. The cooled mixture was diluted with water (100ml), and extracted with ethyl acetate (2x100ml). The combined organic extracts were dried (Na_2SO_4), filtered and evaporated in vacuo. The residue was purified by column chromatography on silica gel using pentane/ethyl acetate (100:0 to 95:5) as eluant to give the title compound as a yellow oil, (quantitative).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 1.37 (t, 3H), 4.35 (q, 2H), 6.62 (d, 1H), 7.01 (d, 1H), 7.38 (t, 1H).

LRMS :m/z 202/204 $(M+1)^+$.

Preparation 129

2-ethoxy-6-(tributylstannyl)pyridine



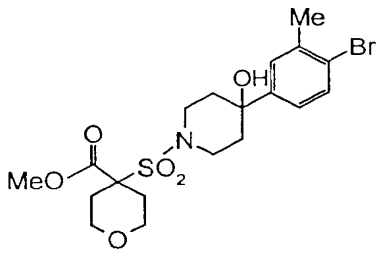
The title compound was prepared from the bromide from preparation 128 in a similar procedure to that described in preparation 127, and was isolated as a colourless oil (1.3g, 6%).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 0.86 (t, 9H), 1.04 (m, 6H), 1.36 (m, 9H), 1.57 (m, 6H), 4.38 (q, 2H), 6.52 (d, 1H), 6.95 (m, 1H), 7.37 (m, 1H).

LRMS :m/z 434/436 $(M+23)^+$.

Preparation 130

Methyl 4-{[4-(4-bromo-3-methylphenyl)-4-hydroxy-1-piperidin-1-yl]sulfonyl}tetrahydro-2*H*-pyran-4-carboxylate

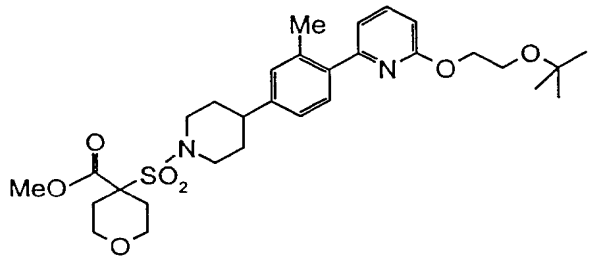


Iso-propylbromide (20ml, 0.21mol) was added dropwise over 1h to a stirred mixture of magnesium (4.7g, 0.19mol) in THF (50ml) and toluene (50ml), under nitrogen. The mixture was stirred at room temperature for 1 hour and then cooled to 0°C. A solution of 2-bromo-5-iodotoluene (57g, 0.19mol) in toluene (50ml) was added dropwise over 30 min, between 0 and 5°C, and the mixture was stirred at 0°C for 30min. The mixture was then added dropwise over 45 min to a stirred suspension the ketone from preparation 16 (50g, 0.16mol) in toluene (250ml), between 0 and 5°C, under nitrogen. The resulting mixture was stirred at 0°C for 1 hour and then citric acid solution (10%, 400ml) and ethyl acetate (200ml) were added. The organic phase was separated and the aqueous phase was re-extracted with ethyl acetate (2x200ml). The combined organic phases were washed with water (200ml) and concentrated *in vacuo* to a solid which was purified by re-crystallisation from toluene (500ml) to give the title compound as a colourless solid (66g, 84%).

^{1}H nmr ($CDCl_3$, 300MHz) δ: 1.70-1.77 (m, 2H), 2.02-2.26 (m, 4H), 2.38-2.42 (m, 5H), 3.30 (t, 2H), 3.45 (t, 2H), 3.67-3.75 (m, 2H), 3.88 (s, 3H), 3.99 (dd, 2H), 7.14 (dd, 1H), 7.31 (d, 1H), 7.50 (d, 1H).

Preparation 131

Methyl 4-{[4-(4-{6-[2-(*tert*-butoxy)ethoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulfonyl}tetrahydro-2*H*-pyran-4-carboxylate



A solution of n-butyllithium in hexanes (2.5M, 3.1ml, 7.7mmol) was added dropwise over 5 min to a solution of the bromopyridine from preparation 126 (2.0g, 7.3mmol) in THF (20ml) at –78°C, under

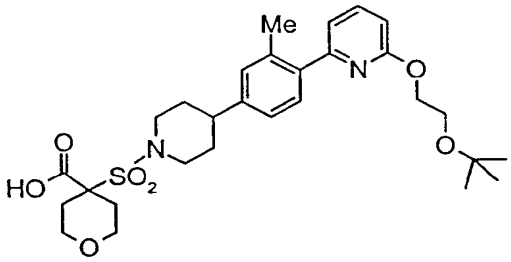
nitrogen. The mixture was stirred at –78°C for 10 min and then tri-*iso*-propylborate (1.9ml, 8.0mmol) was added dropwise over 10 min. The mixture was stirred at –78°C for 10 min and then allowed to warm to room temperature over 1 hour. The aryl bromide from preparation 27 (2.7g, 5.8mmol), palladium acetate (82mg, 0.36mmol), triphenylphosphine (191mg, 0.73mmol), ethanol (20ml) and aqueous sodium carbonate (2M, 20ml) were added and the mixture was heated to reflux for 4 hours, under nitrogen, and then cooled. Ethyl acetate (50ml) and demineralised water (50ml) were added and the organic phase was separated. The aqueous phase was re-extracted with ethyl acetate (2x30ml) and the combined organic phases were washed with demineralised water (50ml) and then concentrated *in vacuo* to a solid. Purification by re-crystallisation from methanol (30ml) gave the title compound as a colourless solid (2.0g, 60%).

^{1}H nmr (CD_3OD, 300MHz) δ: 1.12 (s, 9H), 1.50-1.69 (m, 2H), 1.72-1.88 (m, 2H), 1.91-2.05, (m, 2H), 2.24-2.30 (m, 2H), 2.34 (m, 3H), 2.65-2.78 (m, 1H), 3.00-3.23 (m, 4H), 3.61 (t, 2H), 3.70-3.78 (m, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.87-3.95 (m, 2H), 4.30 (t, 2H), 6.74 (d, 1H), 7.05 (d, 1H), 7.10-7.17 (m, 2H), 7.33 (d, 1H), 7.73 (t, 1H).

LCMS :m/z 575 $(M+H)^+$

Preparation 132

4-{[4-(4-{6-[2-tert-butoxyethoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulfonyl}-tetrahydro-2H-pyran-4-carboxylic acid



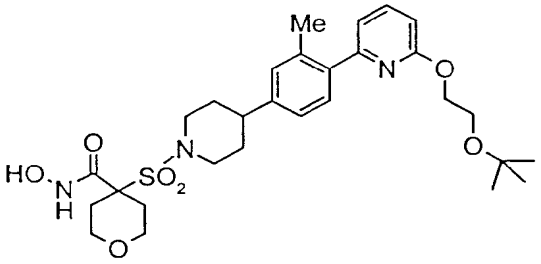
A mixture of the methyl ester from preparation 131 (9.1g, 16.0mmol) and aqueous sodium hydroxide (80ml, 1N, 80.0mmol) in dioxan (250ml) were heated under reflux for 2 hours. Methanol (100ml) and aqueous sodium hydroxide (40ml, 1N, 40.0mmol) were added and the mixture refluxed for a further 2 hours, then allowed to cool to ambient temperature. The reaction was concentrated in vacuo, the residue dissolved in water (200ml), and the solution acidified to pH 4 with glacial acetic acid. The aqueous layer was extracted with ethyl acetate (2x 200ml) and the combined organic extracts were washed with brine (200ml), then water (2x200ml), dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated in vacuo. The resulting oily solid was azeotroped with toluene then triturated with cold di-isopropyl ether to afford the title compound as a pale yellow solid (7.66g, 85%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.13 (s, 9H), 1.61 (m, 2H), 1.79 (m, 2H), 1.95 (m, 2H), 2.22 (d, 2H), 2.32 (s, 3H), 2.66 (m, 1H), 3.05 (t, 2H), 3.20 (t, 2H), 3.60 (t, 2H), 3.76 (d, 2H), 3.88 (m, 2H), 4.28 (t, 2H), 6.73 (d, 1H), 7.03 (d, 1H), 7.12 (m, 2H), 7.31 (d, 1H), 7.75 (t, 1H), 13.77 (s, 1H).

LRMS :m/z 583 $(M+23)^+$.

Preparation 133

N-Hydroxy-4-[(4-{4-[6-(2-*tert*-butoxyethoxy)pyridin-2-yl]-3-methylphenyl}piperidin-1-yl)sulfonyl]tetrahydro-2*H*-pyran-4-carboxamide



1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride (3.15g, 16.0mmol) and 1-hydroxy-7-azabenzotriazole (2.05g, 15.0mmol) were added to a solution of the acid from preparation 132 (7.66g, 14mmol) in anhydrous dichloromethane (80ml) and pyridine (80ml) and the reaction was stirred under nitrogen for 1hour. Hydroxylamine hydrochloride (2.85g, 41.0mmol) was then added, and the reaction stirred at room temperature overnight. The reaction was diluted with dichloromethane (200ml) and washed with pH 7 phosphate buffer solution (200ml). The aqueous layer was extracted with dichloromethane (2x 200ml) and the combined organic extracts were washed with dilute aqueous acetic acid (150ml), brine (150ml), then water (150ml), dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated in vacuo. The resulting solid was azeotroped with toluene and then recrystallised from ethyl acetate and di-isopropyl ether to afford the title compound as a white solid (6.3g, 75%).

^{1}H nmr (DMSO-d_6, 400MHz) δ: 1.13 (s, 9H), 1.61 (m, 2H), 1.78 (m, 2H), 1.91 (m, 2H), 2.37 (m, 5H), 2.62 (m, 1H), 3.05 (t, 2H), 3.20 (t, 2H), 3.60 (t, 2H), 3.73 (d, 2H), 3.83 (m, 2H), 4.28 (t, 2H), 6.73 (d, 1H), 7.03 (d, 1H), 7.12 (m, 2H), 7.31 (d, 1H), 7.72 (t, 1H), 9.05 (s, 1H), 10.90 (s, 1H).

LRMS :m/z 598 $(M+23)^+$.

CLAIMS

1. N-Hydroxy 4-{[4-(4-{6-[2-hydroxyethoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulphonyl}tetrahydro-2H-pyran-4-carboxamide and the pharmaceutically acceptable salts thereof, and solvates thereof.

2. A compound selected from :
N-hydroxy 2-[(4-{4-[6-(2-hydroxyethoxy)pyridin-2-yl]-3-methylphenyl}piperidin-1-yl)sulphonyl]-2-methylpropanamide;
N-hydroxy 2-{[4-(4-{6-[2-(methoxy)ethoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulphonyl}-2-methylpropanamide;
N-hydroxy 4-{[4-(4-{6-[2-hydroxyethoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulphonyl}tetrahydro-2H-pyran-4-carboxamide;
N-hydroxy 4-{[4-(4-{6-[(2S)-2,3-dihydroxy-1-propoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulphonyl}tetrahydro-2H-pyran-4-carboxamide;
N-hydroxy 4-{[4-(4-{6-[(2R)-2,3-dihydroxy-1-propoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulphonyl}tetrahydro-2H-pyran-4-carboxamide;
N-hydroxy 4-{[4-(4-{6-[2-hydroxyethoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulphonyl}-piperidine-4-carboxamide dihydrochloride;
N-hydroxy 4-{[4-(4-{6-[2-hydroxyethoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulphonyl}-1-methyl-piperidine-4-carboxamide;
N-hydroxy 2-[4-(4-{3-[(2S)-2,3-dihydroxy-1-propoxy]phenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]-2-methylpropanamide;
N-hydroxy 4-{4-[4-(3-[(2R)-2,3-dihydroxy-1-propoxy]phenyl)-3-methylphenyl]-piperidin-1-ylsulphonyl}-tetrahydro-(2H)-pyran-4-carboxamide;
N-hydroxy 4-{4-[4-(3-{(2S)-2-hydroxy-2-hydroxymethyl}ethoxyphenyl)-3-methylphenyl]-piperidin-1-ylsulphonyl}-tetrahydro-2H-pyran-4-carboxamide;
N-hydroxy 4-{4-[4-(3-{1,3-dihydroxy-2-propoxyphenyl)-3-methylphenyl]-piperidin-1-ylsulphonyl}-tetrahydro-2H-pyran-4-carboxamide;
N-hydroxy 2-{[4-(4-{3-[2-(methylamino)ethoxy]phenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-yl]sulphonyl}-2-methylpropanamide hydrochloride;
N-hydroxy 2-[4-(4-{3-(2-aminoethoxy)phenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]-2-methylpropanamide hydrochloride;
N-hydroxy 4-{[4-(-4-{6-[2-aminoethoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulphonyl}tetrahydro-2H-pyran-4-carboxamide hydrochloride;
N-hydroxy 2-[4-(4-{3-(2-N,N-dimethylaminoethoxy)phenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]-2-methylpropanamide;
N-hydroxy 4-{[4-(4-{3-(methyl)aminomethyl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulphonyl}tetrahydro-2H-pyran-4-carboxamide hydrochloride;

N-hydroxy 4-{[4-(3-methyl-4-{3-[4-morpholinylmethyl]}phenyl)piperidin-1-yl]sulphonyl}tetrahydro-2H-pyran-4-carboxamide;

N-hydroxy 2-({4-[4-(3-methoxy-1H-pyrazol-1-yl)-3-methylphenyl]piperidin-1-yl}sulphonyl)-2-methylpropanamide;

N-hydroxy 2-[(4-{4-[3-(2-hydroxyethoxy)-1H-pyrazol-1-yl]-3-methylphenyl}piperidin-1-yl)sulphonyl]-2-methylpropanamide;

N-hydroxy 2-methyl-2-({4-[3-methyl-4-(1,3-thiazol-2-yl)phenyl]piperidin-1-yl}sulphonyl)propanamide;

(1α,3α,4α)-*N*,3,4-trihydroxy-1-[(4-{4-[6-(2-hydroxyethoxy)pyridin-2-yl]-3-methylphenyl}piperidin-1-yl)sulfonyl]cyclopentanecarboxamide;

(1α,3α,4α)-1-({4-[4-(6-ethoxypyridin-2-yl)-3-methylphenyl]piperidin-1-yl}sulfonyl)-*N*,3,4-trihydroxycyclopentanecarboxamide;

(1α,3β,4β)-1-({4-[4-(6-ethoxypyridin-2-yl)-3-methylphenyl]piperidin-1-yl}sulfonyl)-*N*,3,4-trihydroxycyclopentanecarboxamide;

(1α,3α,4α)-*N*,3,4-trihydroxy-1-{4-[4-(3-methoxyphenyl)-3-methylphenyl]piperidin-1-ylsulfonyl}cyclopentanecarboxamide; and

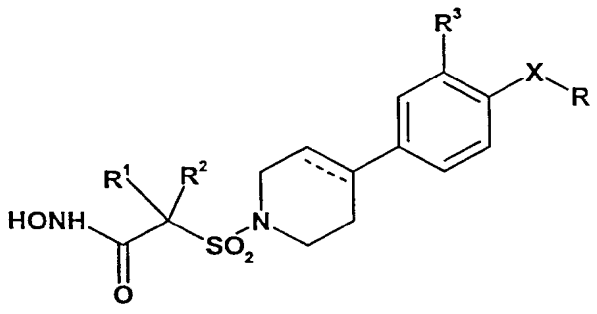
(1α,3β,4β)-*N*,3,4-trihydroxy-1-{4-[4-(3-methoxyphenyl)-3-methylphenyl]piperidin-1-ylsulfonyl}cyclopentanecarboxamide,

and the pharmaceutically acceptable salts thereof, and solvates thereof.

3. N-Hydroxy 4-{[4-(4-{6-[2-hydroxyethoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulphonyl}-piperidine-4-carboxamide and the pharmaceutically acceptable salts thereof, and solvates thereof.

4. N-Hydroxy 4-{[4-(-4-{6-[2-aminoethoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulphonyl}tetrahydro-2H-pyran-4-carboxamide and the pharmaceutically acceptable salts thereof, and solvates thereof.

5. A compound of formula (I):



(I)

and pharmaceutically-acceptable salts thereof, and solvates thereof,

wherein

the dotted line represents an optional bond;

X is a monocyclic aromatic linker moiety selected from pyrazolylene, thiazolylene, pyrazinylene, pyridazinylene, pyrrolylene, oxazolylene, isoxazolylene, oxadiazolylene, thiadiazolylene, imidazolylene, triazolylene, or tetrazolylene;

R is H, C_{1-4} alkyl optionally substituted by C_{1-4} alkoxy or NR^4R^5 or OH, or

C_{1-4} alkoxy optionally substituted by 1 or 2 substituents selected from (C_{1-4} alkyl optionally substituted by OH), C_{1-4} alkoxy, OH and NR^4R^5;

R^1 and R^2 are each independently H, C_{1-6} alkyl optionally substituted by OH or C_{1-4} alkoxy, or C_{2-6} alkenyl;

or R^1 and R^2 are taken, together with the C atom to which they are attached, to form a 3- to 7-membered ring optionally incorporating a hetero- moiety selected from O, S, SO, SO_2 and NR^6, and which 3- to 7-membered ring is optionally substituted by one or more OH;

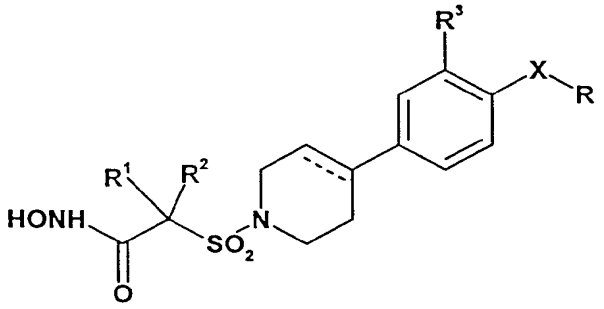
R^3 is H, halo, methyl, or methoxy;

R^4 and R^5 are each independently H or C_1 to C_6 alkyl optionally substituted by OH, C_1 to C_4 alkoxy or aryl,

or R^4 and R^5 can be taken together with the N atom to which they are attached , to form a 3- to 7-membered ring, optionally incorporating a further hetero- moiety selected from O, S, SO_2 and NR^7; and

R^6 and R^7 are each independently H or C_1 to C_4 alkyl.

6. A compound of formula (I):



(I)

and pharmaceutically-acceptable salts thereof, and solvates thereof,

wherein

the dotted line represents an optional bond;

X is a monocyclic aromatic linker moiety selected from phenylene, pyridinylene, pyrazolylene, thiazolylene, thienylene, furylene, pyrimidinylene, pyrazinylene, pyridazinylene, pyrrolylene, oxazolylene, isoxazolylene, oxadiazolylene, thiadiazolylene, imidazolylene, triazolylene, or tetrazolylene;

R is C_{1-4} alkyl substituted by NR^4R^5, C_{1-4} alkoxy substituted by NR^4R^5, or C_{1-4} alkoxy substituted by 2 substituents selected from (C_{1-4} alkyl optionally substituted by OH), C_{1-4} alkoxy, OH and NR^4R^5;

R^1 and R^2 are each independently H, C_{1-6} alkyl optionally substituted by OH or C_{1-4} alkoxy, or C_{2-6} alkenyl;

or R^1 and R^2 are taken together, with the C atom to which they are attached, to form a 3- to 7-membered ring optionally incorporating a hetero- moiety selected from O, S, SO, SO_2 and NR^6, and which 3- to 7-membered ring is optionally substituted by one or more OH;

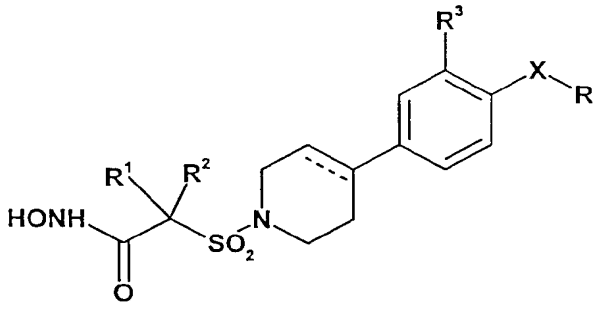
R^3 is H, halo, methyl, or methoxy;

R^4 and R^5 are each independently H or C_1 to C_6 alkyl optionally substituted by OH, C_1 to C_4 alkoxy or aryl,

or R^4 and R^5 can be taken together with the N atom to which they are attached , to form a 3- to 7-membered ring, optionally incorporating a further hetero- moiety selected from O, S, SO_2 and NR^7,

and R^6 and R^7 are each independently H or C_1 to C_4 alkyl.

7. A compound of formula (I):



(I)

and pharmaceutically-acceptable salts thereof, and solvates thereof,

wherein

the dotted line represents an optional bond,

X is a monocyclic aromatic linker moiety selected from phenylene, pyridinylene, pyrazolylene, thiazolylene, thienylene, furylene, pyrimidinylene, pyrazinylene, pyridazinylene, pyrrolylene, oxazolylene, isoxazolylene, oxadiazolylene, thiadiazolylene, imidazolylene, triazolylene, or tetrazolylene;

R is H, C_{1-4} alkyl optionally substituted by C_{1-4} alkoxy, NR^4R^5 or OH, or

C_{1-4} alkoxy optionally substituted by 1 or 2 substituents selected from (C_{1-4} alkyl optionally substituted by OH), C_{1-4} alkoxy, OH and NR^4R^5;

R^1 and R^2 are each independently C_{1-6} alkyl substituted by OH;

or R^1 and R^2 are taken together, with the C atom to which they are attached, to form a 3- to 7-membered ring optionally incorporating a hetero- moiety selected from O, S, SO, SO_2 and NR^6, and which 3- to 7-membered ring is substituted by one or more OH;

R^3 is H, halo, methyl, or methoxy;

R^4 and R^5 are each independently H or C_1 to C_6 alkyl optionally substituted by OH, C_1 to C_4 alkoxy or aryl,

or R^4 and R^5 can be taken together with the N atom to which they are attached , to form a 3- to 7-membered ring, optionally incorporating a further hetero- moiety selected from O, S, SO_2 and NR^7, and

R^6 and R^7 are each independently H or C_1 to C_4 alkyl.

8. A compound, salt or solvate according to claim 6 or claim 7 where X is phenylene, pyridinylene, pyrazolylene or thiazolylene.

9. A compound, salt or solvate according to claim 8 wherein X is 1,3-phenylene, 2,6-pyridinylene, 1,3-pyrazolylene or 2,5-thiazolylene.

10. A compound, salt or solvate according to claim 5 wherein X is pyrazolylene or thiazolylene.

11. A compound, salt or solvate according to claim 10 wherein X is 1,3-pyrazolylene or 2,5-thiazolylene.

12. A compound, salt or solvate according to claim 5 or claim 7 wherein R is H, methoxy, $O(CH_2)_2OH$, $O(CH_2)_2OCH_3$, $O(CH_2)_2N(CH_3)_2$, $O(CH_2)_2NHCH_3$, $O(CH_2)_2NH_2$, CH_2NHCH_3, morpholinomethyl, 2-morpholinoethoxy, 2R-2,3-dihydroxy-1-propyloxy, 2S-2,3-dihydroxy-1-propyloxy or 1,3-dihydroxy-2-propyloxy.

13. A compound, salt or solvate according to claim 12 wherein R is $O(CH_2)_2OH$ or $O(CH_2)_2NH_2$.

14. A compound, salt or solvate according to claim 6 wherein R is $O(CH_2)_2N(CH_3)_2$, $O(CH_2)_2NHCH_3$, $O(CH_2)_2NH_2$, CH_2NHCH_3, morpholinomethyl, 2-morpholinoethoxy, 2R-2,3-dihydroxy-1-propyloxy, 2S-2,3-dihydroxy-1-propyloxy or 1,3-dihydroxy-2-propyloxy.

15. A compound, salt or solvate according to claim 14 wherein R is $O(CH_2)_2NH_2$.

16. . A compound, salt or solvate according to claim 5 or claim 6 wherein R^1 and R^2 are each independently C_{1-6} alkyl optionally substituted by OH,
or R^1 and R^2 are taken together, with the C atom to which they are attached, to form a 3- to 7-membered ring optionally incorporating a hetero- moiety selected from O, S, SO, SO_2 and NR^6, and which 3- to 7-membered ring is optionally substituted by one or more OH.

17. A compound, salt or solvate according to claim 16 wherein R^1 and R^2 are each CH_3,
or R^1 and R^2 are taken together, with the C atom to which they are attached, to form a tetrahydropyran-4-ylidene, piperidin-4-ylidene, 1-methylpiperidin-4-ylidene, or 3,4-dihydroxycyclopentylidene moiety.

18. A compound, salt or solvate according to claim 17 wherein R^1 and R^2 are taken together, with the C atom to which they are attached, to form a tetrahydropyran-4-ylidene, *cis*-3,4-dihydroxycyclopentylidene, *trans*-3,4-dihydroxycyclopentylidene or piperidin-4-ylidene moiety.

19. A compound, salt or solvate according to claim 18 wherein R^1 and R^2 are taken together, with the C atom to which they are attached, to form a tetrahydropyran-4-ylidene, piperidin-4-ylidene, or *cis*-3,4-

dihydroxycyclopentylidene where the hydroxy substituents have a *cis*-relationship to the hydroxamate moiety.

20. A compound, salt or solvate according to claim 7 wherein R^1 and R^2 are taken together, with the C atom to which they are attached, to form a 3,4-dihydroxycyclopentylidene moiety.

21. A compound, salt or solvate according to claim 20 wherein R^1 and R^2 are taken together, with the C atom to which they are attached, to form a *cis*-3,4-dihydroxycyclopentylidene group where the hydroxy substituents have a *cis*-relationship to the hydroxamate moiety.

22. A compound, salt or solvate according to any one of claims 5 to 21 wherein R^3 is methyl and the optional double bond depicted as a dotted line in formula (I) is absent.

23. A pharmaceutical composition comprising a substance according to any one of claims 1 to 22 and a pharmaceutically acceptable diluent, adjuvant or carrier.

24. A substance according to any one of claims 1 to 22 for use as a medicament.

25. The use of a substance according to any one of claims 1 to 22 in the manufacture of a medicament for the treatment of a MMP-mediated disease, condition or process.

26. A method of treatment of a MMP-mediated disease, condition or process comprising administration of an effective amount of a substance according to any one of claim 1 to 22.

27. A compound selected from:
methyl 4-(4-oxo-piperidin-1-ylsulphonyl)tetrahydro-2H-pyran-4-carboxylate;
methyl 4-{[4-(4-bromo-3-methylphenyl)-4-hydroxy-1-piperidin-1-yl]sulfonyl}tetrahydro-2*H*-pyran-4-carboxylate;
methyl 4-{[4-(4-{6-[2-(*tert*-butoxy)ethoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulfonyl}tetrahydro-2*H*-pyran-4-carboxylate;
4-{[4-(4-{6-[2-tert-butoxyethoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulfonyl}-tetrahydro-2H-pyran-4-carboxylic acid; and
N-hydroxy-4-[(4-{4-[6-(2-*tert*-butoxyethoxy)pyridin-2-yl]-3-methylphenyl}piperidin-1-yl)sulfonyl]tetrahydro-2*H*-pyran-4-carboxamide.

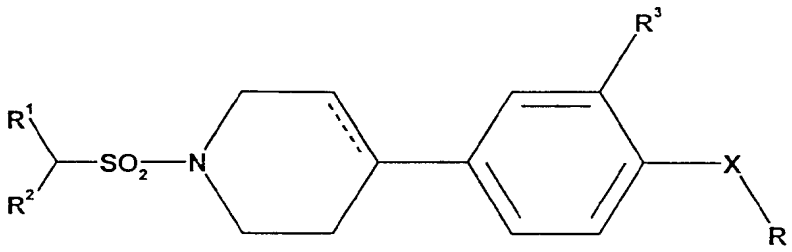
28. A compound selected from:
N-hydroxy 1-(tert-butoxycarbonyl)-4-{[4-(4-{6-[2-hydroxyethoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulphonyl}-piperidine-4-carboxamide;
1-(tert-butoxycarbonyl)- 4-[4-(4-{6-[2-hydroxyethoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-ylsulphonyl]-piperidine-4-carboxylic acid;

methyl 1-(tert-butoxycarbonyl)- 4-{[4-(4-{6-[2-hydroxyethoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulphonyl}-4-piperidinecarboxylate;
methyl 4-{[4-(4-{6-[2-hydroxyethoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulphonyl}-piperidine-4-carboxylate;
methyl 1-benzyl-4-{[4-(4-{6-[2-benzyloxyethoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulphonyl}-piperidin-4-carboxylate;
methyl 1-benzyl-4-[4-(4-bromo-3-methylphenyl)piperidin-1-ylsulphonyl]-4-piperidinecarboxylate; and
methyl 2-[4-(4-bromo-3-methylphenyl)piperidin-1-ylsulphonyl]acetate

29. A compound selected from:
N-hydroxy 4-[4-(4-{3-(2-[(N-tert-butoxycarbonyl)amino]ethoxy)phenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]-tetrahydro-2H-pyran-4-carboxamide;
Preparation 84;
methyl 4-[4-(4-{3-(2-[(tert-butoxycarbonyl)amino]ethoxy)phenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]-tetrahydro-2H-pyran-4-carboxylate;
methyl 4-[4-(4-{3-(2-aminoethoxy)phenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]-tetrahydro-2H-pyran-4-carboxylate;
Preparation 61;
methyl 4-[4-(4-{3-(2-oxoethoxy)phenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]-tetrahydro-2H-pyran-4-carboxylate; and
methyl 4-[4-(4-{3-(2,2-diethoxyethoxy)phenyl}-3-methylphenyl)-piperidin-1-ylsulphonyl]-tetrahydro-2H-pyran-4-carboxylate.

30. A compound selected from:
4-[4-(4-{6-[2-hydroxyethoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-ylsulphonyl]tetrahydro-2H-pyran-4-carboxylic acid;
methyl 4-{[4-(4-{6-[2-hydroxyethoxy]pyridin-2-yl}-3-methylphenyl)piperidin-1-yl]sulphonyl}tetrahydro-2H-pyran-4-carboxylate;
methyl 4-[4-(4-{6-[2-benzyloxy]ethoxypyridin-2-yl}-3-methylphenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-1-ylsulphonyl]tetrahydro-2H-pyran-4-carboxylate; and
methyl 4-[4-(4-bromo-3-methylphenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-1-ylsulphonyl]tetrahydro-2H-pyran-4-carboxylate.

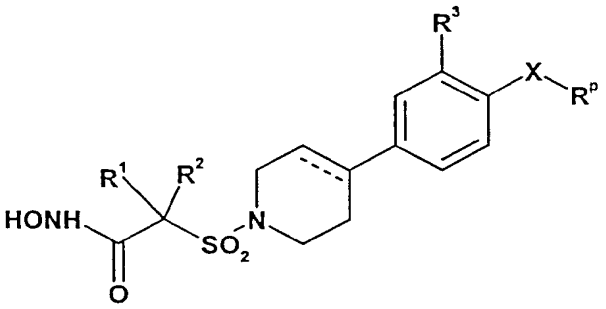
31. A compound of formula (VI):



(VI)

wherein the substituents R^1, R^2, R^3, X and R are as defined above in relation to any one of claims 5, 6 or 7.

32. A compound of formula (VII):

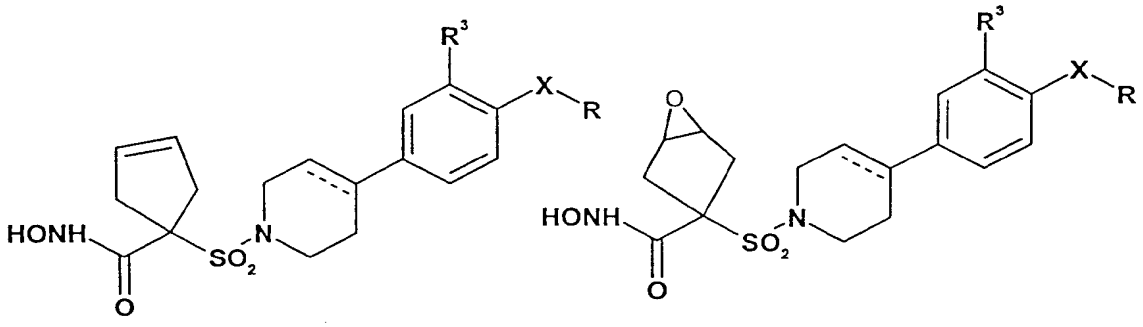


(VII)

wherein R^1, R^2, R^3 and X are as defined in any one of claims 5, 6 or 7, and where R^p is a NH- and/or OH-protected version of the corresponding compound of formula (I) as defined in any one of claims 5, 6 or 7, and where the corresponding compound of formula (I) as defined in any one of claims 5, 6 or 7 contains a free NH, NH_2 or OH group.

33. A process for making a compound of formula (I) as defined in any one of claims 5, 6 or 7 where R contains a free NH, NH_2 or OH group, which comprises deprotecting a corresponding compound of formula (VII) as defined in claim 32.

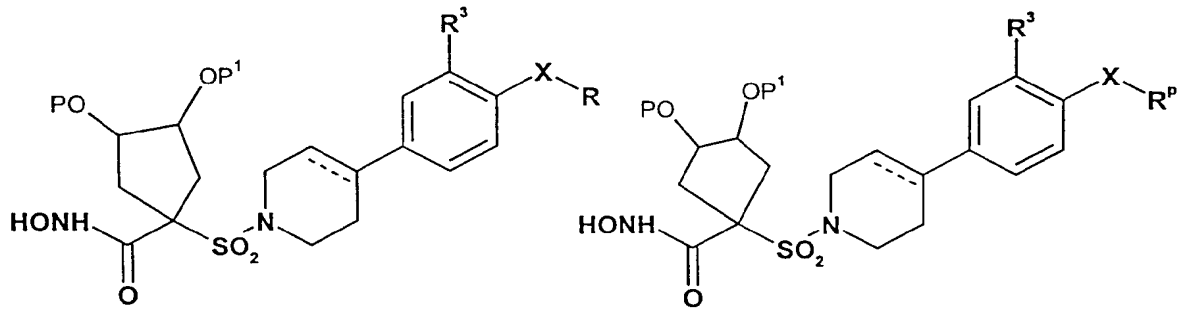
34. A compound of formula (VIII) or (IX):



(VIII) (IX)

where R^3, X and R are as defined in any one of claims 5, 6 or 7.

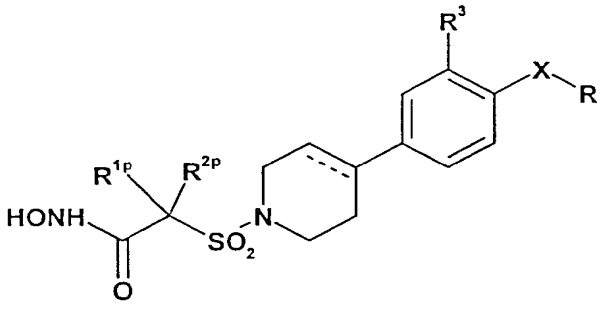
35. A compound of formula (X) or (XI) :



(X) (XI)

wherein R^3, X and R are as defined in any one of claims 5, 6 or 7, R^p is as defined in claim 32, and P and P^1 are OH-protecting groups which may be taken independently or together.

36. A compound of formula (XII):

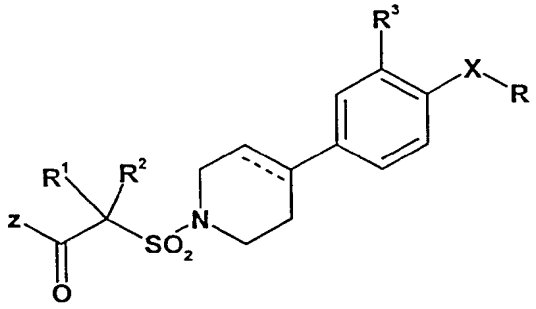


(XII)

wherein R^3, X and R are as defined in any one of claims 5, 6 or 7 and R^{1p} and R^{2p} is a N- and/or O-protected precursor which, on deprotection would give a corresponding compound of formula (I) as defined in the corresponding claim 5, 6 or 7.

37. A process for making a compound of formula (I) as defined in any one of claims 5, 6 or 7 where R^1 and/or R^2 contains a free NH, NH_2 or OH group, which comprises deprotecting a corresponding compound of formula (XII) as defined in claim 36.

38. A compound of formula (II) :

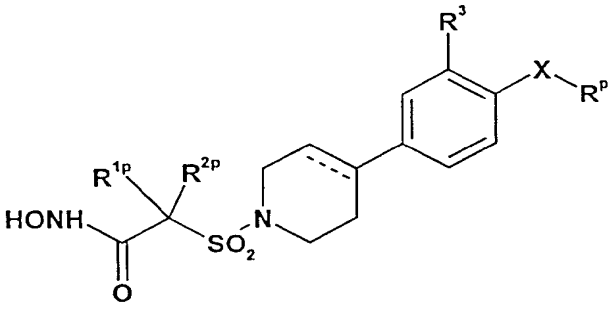


(II)

where R^1, R^2, R^3, X and R are as defined in any one of claims 5, 6 or 7, and where Z is a leaving group such as chloro, bromo, iodo, C_{1-3} alkyloxy or HO.

39. A process for making a compound of formula (I) as defined in any one of claims 5, 6 or 7, which comprises reaction of a compound of formula (II) as defined in claim 38 with hydroxylamine.

40. A compound of formula (XIII):



(XIII)

wherein R^3, X and R are as defined in any one of claims 5, 6 or 7 and R^{1p} , R^{2p} and R are independently a N- and/or O-protected precursor which, on deprotection would give a corresponding compound of formula (I) as defined in the corresponding claims 5, 6 or 7 where R^1, R^2 and R contain a free NH, NH_2 and/or OH group.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter nal Application No
PCT/IB 00/00667

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 A61K31/451 A61K31/4523 C07D401/10 A61K31/453 C07D405/14
C07D401/14 C07D211/22 C07D405/12 C07D211/26 C07D417/10
A61P9/00

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 C07D A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 99 29667 A (WHITLOCK GAVIN ALISTAIR ;DACK KEVIN NEIL (GB); PFIZER LTD (GB); PF) 17 June 1999 (1999-06-17) cited in the application examples	1-7
A	EP 0 780 386 A (HOFFMANN LA ROCHE ;AGOURON PHARMA (US)) 25 June 1997 (1997-06-25) cited in the application abstract	
A	EP 0 606 046 A (CIBA GEIGY AG) 13 July 1994 (1994-07-13) cited in the application abstract	

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ 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.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
4 August 2000	16/08/2000

Name and mailing address of the ISA	Authorized officer
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	De Jong, B

2

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter onal Application No
PCT/IB 00/00667

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9929667 A	17-06-1999	AU 1230199 A	28-06-1999
EP 0780386 A	25-06-1997	AU 700725 B	14-01-1999
		AU 7548296 A	31-07-1997
		BR 9606134 A	03-11-1998
		CA 2193178 A	21-06-1997
		CN 1160045 A	24-09-1997
		CZ 9603740 A	14-01-1998
		HR 960612 A	28-02-1998
		HU 9603494 A	30-11-1998
		JP 2921673 B	19-07-1999
		JP 9249638 A	22-09-1997
		NO 965413 A	23-06-1997
		NZ 299941 A	27-05-1998
		PL 317604 A	23-06-1997
		TR 970547 A	21-07-1997
		US 5932595 A	03-08-1999
EP 0606046 A	13-07-1994	US 5455258 A	03-10-1995
		AT 159012 T	15-10-1997
		AU 684255 B	11-12-1997
		AU 5265593 A	04-05-1995
		BR 1100131 A	14-03-2000
		CA 2112779 A	07-07-1994
		DE 69314456 D	13-11-1997
		DE 69314456 T	26-02-1998
		DK 606046 T	04-05-1998
		ES 2107648 T	01-12-1997
		FI 940012 A	07-07-1994
		GR 3025611 T	31-03-1998
		HK 1002633 A	04-09-1998
		HU 70536 A	30-10-1995
		IL 108229 A	30-10-1998
		JP 2951527 B	20-09-1999
		JP 6256293 A	13-09-1994
		MX 9400276 A	29-07-1994
		NO 940038 A,B,	07-07-1994
		NZ 250517 A	26-10-1995
		SG 42933 A	17-10-1997
		US 5506242 A	09-04-1996
		US 5552419 A	03-09-1996
		US 5646167 A	08-07-1997
		US 5672615 A	30-09-1997
		ZA 9400048 A	11-08-1994

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 1992)

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
16 January 2003 (16.01.2003)

PCT

(10) International Publication Number
WO 03/004015 A1

(51) International Patent Classification[7]: A61K 31/355, 31/5513, 31/5517, A61P 25/08, A61K 9/107, A61P 25/18, 25/20

(21) International Application Number: PCT/GB02/03005

(22) International Filing Date: 1 July 2002 (01.07.2002)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
0116107.4 30 June 2001 (30.06.2001) GB

(71) Applicant *(for all designated States except US)*: **WEST PHARMACEUTICAL SERVICES DRUG DELIVERY & CLINICAL RESEARCH CENTRE LIMITED** [GB/GB]; Albert Einstein Centre, Nottingham Science & Technology Park, University Boulevard, Nottingham NG7 2TN (GB).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants *(for US only)*: **CHENG, Yu-Hui** [CN/GB]; West Pharmaceutical Services Drug Delivery & Clinical Research Centre Ltd, Albert Einstein Centre, Nottingham Science & Technology Park, University Boulevard, Nottingham NG7 2TN (GB). **ILLUM, Lisbeth** [DK/GB]; West Pharmaceutical Services Drug Delivery & Clinical Research Centre Ltd, Albert Einstein Centre, Nottingham Science & Technology Park, University Boulevard, Nottingham NG7 2TN (GB). **BOND, John** [GB/GB]; West Pharmaceutical Services Drug Delivery and Clinical Research Centre Ltd, Albert Einstein Centre, Nottingham Science & Technology Park, University Boulevard, Nottingham NG7 2TN (GB). **WATTS, Peter** [GB/GB]; West Pharmaceutical Services Drug Delivery & Clinical Research Centre Ltd, Albert Einstein Centre, Nottingham Science & Technology Park, University Boulevard, Nottingham NG7 2TN (GB).

(74) Agent: **MCNEENEY, Stephen, P.**; Eric Potter Clarkson, Park View House, 58 The Ropewalk, Nottingham NG1 5DD (GB).

(81) Designated States *(national)*: 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, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Designated States *(regional)*: ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:
— *with international search report*

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: OIL-IN-WATER EMULSIONS COMPRISING A BENZODIAZEPINE DRUG

(57) Abstract: There is provided oil-in-water emulsion compositions comprising a benzodiazepine drug, such as midazolam, that is dissolved in an oil phase that comprises 1 to 35% (w/w) vitamin E.

WO 03/004015 A1

OIL-IN-WATER EMULSIONS COMPRISING A BENZODIAZEPINE DRUG

This invention relates to new oil-in-water emulsion compositions.

Emulsion systems have long been used for pharmaceutical purposes. Such systems include oil-in-water emulsions, water-in-oil emulsions and more complex systems known as multiple emulsions.

Oil-in-water emulsions, in which the continuous phase is aqueous and the dispersed phase is oily in nature, may be used for a variety of purposes and administered *via* a variety of routes, including injection as well as administration to the eye, nose, lung, gastrointestinal tract or vagina.

Benzodiazepine compounds, which act on the central nervous system to cause sedation, hypnosis, decreased anxiety, muscle relaxation, anterograde amnesia and to prevent convulsions, are widely used in medicine. The benzodiazepine drug midazolam (8-chloro-6-(2-fluorophenyl)-1-methyl-4H-imidazo[1,5α-][1,4]benzodiazepine) is used as a sedative, especially in a hospital setting and particularly as premedication prior to surgery.

The intranasal administration of aqueous solutions of midazolam as a sedative prior to minor invasive surgical and medical procedures has been widely reported (see, for example, S. Björkman *et al. British Journal of Anaesthesia* 79, 575-580 (**1997**) and N. C. T. Wilton *et al. Anesthesiology* 69, 972-975 (**1988**)). It has been especially used in the paediatric patient group. Apart from being a patient group in which alleviation of anxiety is particularly beneficial, the use of intranasal midazolam has been largely confined to children because of limited solubility of the drug substance. The aqueous solubility of midazolam is low, and to deliver a therapeutic dose to an adult by the intranasal route would require a prohibitively large

dose volume. An additional drawback of the intranasal administration of midazolam, and which could limit its use (especially in children), is the irritation and stinging that it causes in the nasal cavity. At least part of the cause of this discomfort is thought to be the acidic pH of the simple aqueous solutions of midazolam that are used.

WO 00/24373 describes oil-in-water emulsions of drugs that are poorly soluble in water, especially non-steroidal anti-inflammatory drugs and drugs for the treatment of pain, erectile dysfunction and Parkinson's disease. Compositions comprising Vitamin E and benzodiazepines are neither disclosed nor suggested.

Compositions comprising benzodiazepines are described in US 4,950,664. The use of vitamin E in such compositions is neither disclosed nor suggested. Further, preferred dosage forms are solutions, suspensions and gels.

A formulation containing 17 mg/mL midazolam, achieved by using sulfobutylether-β-cyclodextrin as a solubilising agent, has been described by Loftsson *et al.* (*Int. J. Pharm.* 212, 29-40, (**2001**)). Penkler et al describes the use of randomly methylated β-cyclodextrin to produce a solution containing 10 mg/mL midazolam (*AAPS PharmSci. Supplement* 1, S-3642, (**1999**)).

WO 97/03651 describes emulsion compositions containing vitamin E as a solubilising agent. There is no suggestion in this document of emulsions containing benzodiazepines.

Emulsion formulations of drug compounds are described in US 6,193,985. The compositions comprise active agent dissolved in an oil phase comprising tocopherol (vitamin E), wherein the vitamin E comprises 20 to 95% w/w of the compositions. The second phase of the emulsion comprises vitamin E TPGS as the emulsifying agent. Vitamin E TPGS is a water soluble derivative of vitamin E and consists of tocopherol esterified with succinic acid, the other acidic group of the latter being esterified with polyethylene glycol 1000. Compositions in which the oil phase comprises 1 to 35% (w/w) of vitamin E are neither disclosed nor suggested.

Nonetheless, there is an unmet need for benzodiazepine (and especially midazolam) compositions that contain high concentrations of active agent, that give minimal irritation of the nasal cavity on intranasal administration, and that are stable over prolonged periods.

We have found, surprisingly, that the above-mentioned problems may be solved using an emulsion formulation in which both the amount of oil phase in the emulsion as well as the vitamin E content of that oil phase are carefully selected. We have additionally found that emulsion stability may be further enhanced by addition of a non-ionic surfactant and/or a cellulose-based thickening agent. When administered into the nasal cavity, the emulsion is well tolerated.

Thus, according to the invention there is provided oil-in-water emulsion compositions for the delivery of a benzodiazepine drug to a patient comprising:

(a) an oil phase, which phase comprises 10 to 60% (w/v) of the emulsion, and which phase comprises vitamin E in an amount 1 to 35% (w/w of that phase) and a benzodiazepine drug;

(b) an aqueous phase; and

(c) an emulsion stabiliser,

which compositions are referred to hereinafter as "the emulsions according to the invention".

It is preferred that the emulsions according to the invention are adapted for intranasal administration.

When used herein, the term "vitamin E" includes all tocol and tocotrienol derivatives that exhibit vitamin E activity. It is preferred that the vitamin E is water insoluble and/or non-water dispersible. The nomenclature for vitamin E and related compounds is unclear in current practice and can vary when used by different compendia and organisations. The United States Pharmacopoeia describes vitamin E as a form of α-tocopherol. This includes D- or D,L-α-tocopherol, D- or D,L-α-tocopherol acetate and D- or D,L-α-tocopherol succinate. The Association of Official Analytical Chemists (AOAC) states that the term vitamin E should be used as a generic description for all tocol and tocotrienol derivatives that exhibit vitamin E activity. Thus the term tocopherols is synonymous with vitamin E but also for methyl tocols. α-Tocopherol is a trivial name without defined stereochemistry.

The vitamin E is preferably in the form of the free alcohol, but suitable tocopherol derivatives include esters of tocopherol such as the linoleate, nicotinate, acetate or acid succinate ester.

The emulsions according to the invention have an oil phase that comprises one or more pharmaceutically acceptable oils. These oils are preferably non-hydroxylated (i.e. they have a hydroxyl value of less than 20) and as such they include vegetable oils such as soybean oil, sesame oil, safflower

oil, canola oil, corn oil, cottonseed oil and olive oil as well as marine oils such as cod liver oil and sardine oil. Preferred oils are sesame oil, canola oil, corn oil, cottonseed oil, and, especially, soybean oil.

The emulsions according to the invention preferably have an oil phase that represents 12 to 50% (w/v) and more preferably 15 to 40% (w/v) of the total emulsion. Further, the emulsions according to the invention preferably have an oil phase that comprises 2.5 to 30% (w/w) (such as 5 to 25% (w/w)) vitamin E.

When used herein, the term "benzodiazepine drug" will be understood by those skilled in the art to include all pharmacologically active compounds that possess the benzodiazepine (sub-)structure, and which may act on the central nervous system. See also the definition provided in Goodman & Gilman's "*The Pharmacological Basis of Therapeutics*", 9th Edition (1996), McGraw-Hill at pages 363 and 364, the relevant disclosure in which document is hereby incorporated by reference. Examples of suitable benzodiazepine drugs include alprazolam, bentazepam, bromazepam, brotizolam, camazepam, chlordiazepoxide, cinolazepam, clobazam, clonazepam, clorazepic acid, clorazepate, clotiazepam, clozapine, delorazepam, diazepam, estazolam, ethyl loflazepate, etizolam, fludiazepam, flunitrazepam, flurazepam, halazepam, ketazolam, loprazolam, lorazepam, lormetazepam, metaclazepam, mexazolam, midazolam, nimetazepam, nitrazepam, oxazepam, pinazepam, prazepam, quazepam, temazapem, tetrazepam and triazolam. Preferred benzodiazepine drugs include alprazolam, chlordiazepoxide, clonazepam, clorazepate, diazepam, estazolam, flurazepam, halazepam, lorazepam, nitrazepam, oxazepam, prazepam, quazepam, temazapem, triazolam and, especially, midazolam.

The benzodiazepine drug content of the emulsions according to the invention is dependent upon the solubility of the benzodiazepine drug in question and the dose that needs to be delivered to the patient. For an intranasal formulation delivered as a liquid, the typical dose volume is in the range 0.1 to 0.4 mL although smaller or larger volumes may also be given. The benzodiazepine drug may be incorporated into the emulsions according to the invention by being dissolved into the oil phase prior to emulsification. The benzodiazepine drug content of the oil phase prior to preparation of the emulsions according to the invention is preferably in the range 1 to 1000 mg/mL, more preferably 2 to 800 mg/mL and most preferably 4 to 600 mg/mL. The benzodiazepine drug content of the final oil-in-water emulsion is preferably in the range 0.1 to 300 mg/mL, more preferably 0.5 to 250 mg/mL and most preferably 1 to 200 mg/mL.

When used herein, the term "emulsion stabiliser" refers to agents that, when present in emulsions according to the invention, either prevent or retard phase separation (i.e. the formation of distinct oil and/or water layers) in the emulsions. The term therefore includes agents that prevent phase separation in the emulsions according to the invention for one or more hours or, preferably, for one or more days (e.g. 3 or more days, such as one or more weeks, and, particularly, one or more months).

The emulsion stabiliser is preferably incorporated into the emulsions according to the invention *via* the aqueous phase. Preferred emulsion stabilisers include one or more thickening and/or, particularly, emulsifying agents. Suitable thickening agents include cellulose-based thickening agents such as methylcellulose, hydroxyethylcellulose, hydroxypropyl cellulose and hydroxypropyl methylcellulose. Suitable emulsifying agents include:

(a) ionic surfactants (e.g. phospholipids such as lecithin); and

(b) non-ionic surfactants (e.g. polyoxyethylene sorbitan fatty acid esters, polyoxyethylene stearates, polyoxyethylene castor oil derivatives and polyoxyethylene alkyl ethers).

Detailed descriptions of the non-ionic surfactants mentioned above may be found in the "*Handbook of Pharmaceutical Excipients*", Kibbe (ed), 3rd edition, American Pharmaceutical Association (Washington) and Pharmaceutical Press (London), 2000.

Principle sources of lecithin are eggs and soybeans. Synonyms for lecithin include egg lecithin; mixed soybean phosphatides; ovolecithin; egg yolk phospholipids; soybean lecithin; soybean phospholipids; vegetable lecithin.

Preferred emulsions according to the invention include those that include an emulsion stabiliser that is an emulsifying agent (e.g. an ionic surfactant such as lecithin). In this respect, preferred emulsions according to the invention also include those in which lecithin is employed as an emulsion stabiliser, and a non-ionic surfactant and/or a thickening agent, as hereinbefore defined, is/are optionally employed as (a) further emulsion stabiliser(s).

The amount of emulsion stabiliser (e.g. lecithin) used in the emulsion according to the invention is preferably in the range 0.01 to 15% (w/v), more preferably 0.05 to 10% (w/v) and most preferably 0.1 to 5% (w/v).

When present in the emulsions according to the invention, the non-ionic surfactant may have a concentration that is preferably in the range 0.01 to 25% (w/v), more preferably 0.05 to 20% (w/v) and most preferably 0.1 to 15% (w/v).

When present in the emulsions according to the invention, the thickening agent may have a concentration that is dependent upon its molecular weight. However, its concentration in an emulsion according to the invention is preferably in the range 0.01 to 20% (w/v), more preferably 0.05 to 15% (w/v) and most preferably 0.1 to 10% (w/v).

The pH of the emulsions according to the invention is an important determinant of how well they are tolerated when administered into the nasal cavity. The emulsion may cause irritation and stinging if the pH is too high or low. Further, when the emulsion according to the invention comprises midazolam, it is also preferable to avoid a low pH in order to minimise drug partitioning from the oil phase into the aqueous phase. High concentrations of midazolam in the aqueous phase may exacerbate irritation.

Measuring accurately the pH of an oil-in-water emulsion may be problematic. Indeed, it may be more convenient to measure the pH of the aqueous phase of the emulsion. This measurement may be performed by centrifugation of the emulsion at a force adequate to separate the oil and aqueous phases into separate layers. The aqueous layer may then be removed and the pH measured. The pH of the aqueous phase of an emulsion according to the invention is preferably in the range pH 5.0 to 8.0, more preferably 5.25 to 7.8 and most preferably pH 5.5 to 7.6.

The pH of the aqueous phase of the emulsions according to the invention may be adjusted and controlled by means well known to those skilled in the art, such as buffer salts, acids and bases. Thus, the aqueous phase may contain one or more of the following pH controlling agents: organic acids (e.g. citric acid and the like) or alkali metal (e.g. sodium) salts thereof, pharmaceutically acceptable salts (e.g. sodium, magnesium or calcium salts) of inorganic acids (such as carbonic acid or phosphoric acid), oxides of

magnesium, as well as alkali, and alkaline earth, metal (e.g. sodium, calcium, potassium and the like) sulphates, metabisulphates, propionates and sorbates. The aqueous phase may, in particular, comprise a buffered aqueous solution, such as phosphate-buffered saline, that has a pH within any of the above-mentioned ranges (e.g. pH 7.4).

The emulsions according to the invention may, if necessary, be adjusted to approximately the same osmotic pressure as that of the body fluids. This may be desirable where a composition is to be applied to delicate tissue membranes, such as those found in the nasal cavity. A composition that has been adjusted in this manner is said to be isotonic and will not tend to swell or contract the tissues with which it comes into contact and will result in minimal discomfort on application. The formation of isotonic preparations may be achieved by adding an ionic compound, such as sodium chloride, or a non-ionic compound to the composition. Suitable non-ionic compounds include glycerol and mannitol.

The emulsions according to the invention may also contain other ingredients in the oil and/or aqueous phases such as antioxidants, chelating agents, preservatives or other agents generally used in pharmaceutical liquid or emulsion formulations. Such agents are well known to those skilled in the art.

Preferred emulsions according to the invention include those that are stable with respect to phase separation for one or more days (e.g. 3 or more days, such as one or more weeks, and, particularly, one or more months). When used herein, the term "stable with respect to phase separation" includes compositions that, on storage, either do not form a distinct oil layer or form a distinct layer of non-coalesced oil droplets that may be redispersed by

gentle shaking (e.g. shaking by hand) alone. The latter process, by which a layer of stabilised oil droplets separates, is known as "creaming".

In their simplest form, the emulsions according to the invention are prepared by dissolving or dispersing emulsion stabiliser in the aqueous phase. The aqueous phase is then mixed with the oil phase (comprising vitamin E, oil and the benzodiazepine drug) to form a dispersion of oil droplets.

Thus, according to a further aspect of the invention, there is provided a process for the preparation of an emulsion according to the invention, which process comprises:

(i) addition of an emulsion stabiliser, as hereinbefore defined, to an aqueous component (e.g. water) to form the aqueous phase;

(ii) addition of vitamin E, and of a benzodiazepine drug, as hereinbefore defined, to an oil to form the oil phase; and

(iii) mixing the oil phase and the aqueous phase together.

The size and size distribution of the oil droplets in the emulsions according to the invention will depend on the method of mixing. In stable emulsions, the droplet size, as measured by techniques such as light microscopy or laser diffraction, generally lies in the range 0.1 to 10 μm. High shear mixing using equipment such as a homogeniser or a microfluidiser is the preferred method of preparing pharmaceutical emulsions.

According to a further aspect of the invention, there is provided the use of an emulsion according to the invention for the manufacture of a medicament for the administration of a benzodiazepine drug (e.g. midazolam) to a patient in need of such administration.

Similarly, another aspect of the invention provides a method of administering a benzodiazepine drug (e.g. midazolam) to a patient, which method comprises administering to the patient an emulsion according to the invention.

In another aspect of the invention, there is provided the use of an emulsion according to the invention in the manufacture of a medicament for the treatment of a condition in which benzodiazepine drug treatment is indicated.

Particular conditions where benzodiazepine drug treatment may be indicated include anxiety disorders, convulsive disorders (e.g. febrile convulsions and convulsions from status epilepticus), disturbed behaviour, parasomnias (e.g. insomnia, restless leg syndrome, sleepwalking or night terrors), dyspnoea, muscle spasm (e.g. from spasticity, dystonias, stiff-man syndrome, cerebral palsy, poisoning or tetanus), emesis (e.g. nausea and vomiting associated with, for example, cancer chemotherapy), schizophrenia, vertigo and withdrawal syndromes (e.g. alcohol or opioid withdrawal).

Benzodiazepine drugs may also be given for premedication (e.g. before general anaesthesia or to provide sedative cover for minor surgical or investigative procedures) and/or to induce sedation, hypnosis and/or anterograde amnesia. Preferred indications include the provision of sedative cover for minor surgical or investigative procedures.

The emulsions according to the invention may be administered orally or parenterally. When used herein, the term "parenterally" includes administration to the muscles, subcutaneous tissue, peritoneal cavity, venous system, arterial system, lymphatic system, spinal fluid (intrathecal,

epidural) and joint cavities. Parenteral formulations will be sterile and usually pyrogen-free.

The emulsions according to the invention may also be administered to the gastrointestinal tract or other mucosal surfaces, such as the eye, nose, vagina or rectal cavity.

It is preferred that the emulsions according to the invention are administered intranasally. When adapted for intranasal administration, the emulsions according to the invention may be administered to the nasal cavity in forms including drops or sprays. Spray devices can be single ("unit") dose or multiple dose systems and are available from various commercial sources, including Pfeiffer, Valois, Bespak and Becton-Dickinson.

Emulsions according to the invention have the advantage that they may be more stable than (particularly with respect to phase separation), be better tolerated than, be less toxic than, have fewer side effects than, have better pharmacokinetic properties than, be more easily prepared than, or have any other useful properties over, compositions known in the prior art.

Moreover, emulsions according to the invention also have the advantage that they may be prepared using established pharmaceutical processing methods and employ materials that are approved for use in food or pharmaceuticals or are of like regulatory status.

The invention is illustrated, but in no way limited, by the following examples.

Examples

Example 1

Placebo emulsion comprising 25% w/v oil phase in which oil phase comprises 40% w/w vitamin E

The oil phase was prepared by mixing 10 g of vitamin E (Sigma, Poole, UK) with 15 g of soybean oil (Oleificio SABO, Manno, Switzerland). Into 50 mL of phosphate buffered saline solution (PBS; Sigma) was dispersed 1.2 g of egg yolk phospholipid (lecithin; Kabi Pharmacia, Sweden), followed by the addition of 2.2 g of glycerol (Sigma). A coarse emulsion was prepared by mixing the oil and aqueous phases using a Silverson L4R homogeniser. The coarse emulsion was adjusted to a 100 mL volume with PBS and further emulsified by passing through a Rannie Mini-Lab high pressure valve homogeniser set at 1000 bar pressure.

Example 2

Placebo emulsion comprising 25% w/v oil phase in which oil phase comprises 20% w/w vitamin E

The oil phase was prepared by mixing 5 g of vitamin E with 20 g of soybean oil. The emulsion was then prepared in an identical manner to Example 1.

Example 3

Placebo emulsion comprising 33.3% w/v oil phase in which oil phase comprises 20% w/w vitamin E

The oil phase was prepared by mixing 6.66 g of vitamin E with 26.64 g of soybean oil. The emulsion was then prepared in an identical manner to Example 1.

Example 4

Placebo emulsion comprising 40% w/v oil phase in which oil phase comprises 20% w/w vitamin E

The oil phase was prepared by mixing 8 g of vitamin E with 32 g of soybean oil. The emulsion was then prepared in an identical manner to Example 1.

Example 5

Stability of emulsions prepared in Examples 1-4

Samples of the emulsions prepared in Examples 1-4 were sealed into 50 mL clear glass injection vials and stored at room temperature. The appearance of the emulsions was recorded over a 7-day period. The results are provided in the table below. Examples 2,3 and 4 showed good physical stability over the test period. Although there was some separation of the two phases (creaming), the uniform appearance of the emulsions could be restored with gentle shaking.

Example 1, with an oil phase comprising 40% w/w vitamin E, had poor stability and the oil phase readily separated. It was not possible to restore the emulsion to its original uniform state by means of shaking.

Sample	Time of observation				
	Start	**3 hours**	**1 day**	**3-4 days**	**7 days**
Ex. 1	Stable	Stable	Slight separation, easily redispersed	Separation	Separation
Ex. 2	Stable	Stable	Stable	Stable	Slight separation, easily redispersed
Ex. 3	Stable	Stable	Stable	Slight separation, easily redispersed	Slight separation, easily redispersed
Ex. 4	Stable	Stable	Slight separation, easily redispersed	Slight separation, easily redispersed	Slight separation, easily redispersed

Example 6

Emulsion containing 10 mg/mL midazolam and 25% w/v oil phase

Vitamin E (5 g) and 20 g of soybean oil were weighed into a 50 mL beaker. Midazolam (1 g; R. W. Unwin, Welwyn, UK) was added to the vitamin E/soybean oil and the mixture was warmed and stirred at 30-40°C until the drug had dissolved. Egg yolk phospholipid (1.2 g; lecithin) was weighed into a 250 mL beaker and dispersed into 50 mL of pH 7.4 phosphate buffered saline solution at 30-40°C. Glycerol (2.2 g) was added to the lecithin dispersion. The oil phase was added to the aqueous phase and the two were mixed together by homogenisation for 1 minute at 7000-8000 rpm using a Silverson L4R mixer. The coarse emulsion thus formed was made up to a volume of 100 mL and then passed three times through a Rannie Mini-Lab homogeniser at a pressure of 1000 bar. The final product was a milky white to off-white emulsion.

Example 7

Emulsion containing 10 mg/mL midazolam and 33% w/v oil phase

Vitamin E (6.66 g) and 26.64 g of soybean oil were weighed into a 50 mL beaker. Midazolam (1 g) was added to the vitamin E/soybean oil and the mixture was warmed and stirred at 30-40°C until the drug had dissolved. The emulsion was then prepared according to Example 6.

Example 8

Emulsion containing 10 mg/mL midazolam with polyoxyethylene 20 sorbitan monooleate as additional emulsifier

Vitamin E (5 g) and 20 g of soybean oil are weighed into a 50 mL beaker. Midazolam (1 g) is added to the vitamin E/soybean oil and the mixture is warmed and stirred at 30-40°C until the drug has dissolved. Egg yolk phospholipid (1.2 g; lecithin) and 0.5 g of polyoxyethylene 20 sorbitan monooleate (Sigma) is weighed into a 250 mL beaker and dispersed into 50 mL of pH 7.4 phosphate buffered saline solution at 30-40.C. Glycerol (2.2 g) is added to this aqueous phase. The oil phase is added to the aqueous phase and the two are mixed together by homogenisation for 1 minute at 7000-8000 rpm using a Silverson L4R mixer. The coarse emulsion thus formed is made up to a volume of 100 mL and then passed three times through a Rannie Mini-Lab homogeniser at a pressure of 1000 bar. The final product will be a milky white to off-white emulsion.

Example 9

Emulsion containing 10 mg/mL midazolam with methylcellulose as thickening agent

Vitamin E (6.66 g) and 26.64 g of soybean oil are weighed into a 50 mL beaker. Midazolam (1 g) is added to the vitamin E/soybean oil and the mixture is warmed and stirred at 30-40°C until the drug has dissolved. Egg yolk phospholipid (1.2 g; lecithin) and 0.5 g of methylcellulose (Methocel®

A15LV; Colorcon, Orpington, UK) are weighed into a 250 mL beaker and dispersed into 50 mL of pH 7.4 phosphate buffered saline solution at 30-40°C. Glycerol (2.2 g) is added to the lecithin dispersion. The oil phase is added to the aqueous phase and the two are mixed together by homogenisation for 1 minute at 7000-8000 rpm using a Silverson L4R mixer. The coarse emulsion thus formed is made up to a volume of 100 mL and then passed three times through a Rannie Mini-Lab homogeniser at a pressure of 1000 bar. The final product will be a milky white to off-white emulsion.

Example 10

Emulsion containing 10 mg/mL midazolam with polyoxyl 40 stearate as additional emulsifier and hydroxypropyl methylcellulose as thickening agent

Vitamin E (6.66 g) and 26.64 g of soybean oil are weighed into a 50 mL beaker. Midazolam (1 g) is added to the vitamin E/soybean oil and the mixture is warmed and stirred at 30-40°C until the drug has dissolved. Egg yolk phospholipid (1.2 g; lecithin), 0.5 g of polyoxyl 40 stearate (polyoxyethylene (40) stearate; Sigma) and 0.5 g of hydroxypropyl methylcellulose (Methocel® K4M; Colorcon) are weighed into a 250 mL beaker and dispersed into 50 mL of pH 7.4 phosphate buffered saline solution at 30-40°C. Glycerol (2.2 g) is added to the lecithin dispersion. The oil phase is added to the aqueous phase and the two are mixed together by homogenisation for 1 minute at 7000-8000 rpm using a Silverson L4R mixer. The coarse emulsion thus formed is made up to a volume of 100 mL and then passed three times through a Rannie Mini-Lab homogeniser at a pressure of 1000 bar. The final product will be a milky white to off-white emulsion.

Example 11

Tolerability of midazolam emulsion in sheep

The sheep is an excellent animal model for nasal pharmacokinetic studies with a large nasal cavity and the ability to receive human-sized doses of drugs and formulations. If an irritant drug or formulation is administered intranasally to the sheep, it may cause the animal to sneeze and snort and the extent of sneezing and snorting may be related to the irritancy of the formulation. A group of five sheep were each administered with a midazolam emulsion formulation of identical composition to Example 7 as part of a pharmacokinetic study. Each animal, weighing approximately 55 kg, was administered intranasally with the emulsion at a dose volume of 0.02 mL/kg divided equally between both nostrils i.e. a 55 kg sheep received 0.55 mL of emulsion per nostril. In the 60 minutes following dosing, any incidences of sneezing or snorting were recorded. There were no incidences in any of the five animals during this period, indicating that the formulation was extremely well tolerated.

Claims

1. An oil-in-water emulsion composition for the delivery of a benzodiazepine drug to a patient comprising:
   (a) an oil phase, which phase comprises 10 to 60% (w/v) of the emulsion, and which phase comprises vitamin E in an amount 1 to 35% (w/w of that phase) and a benzodiazepine drug;
   (b) an aqueous phase; and
   (c) an emulsion stabiliser.

2. A composition as claimed in Claim 1, wherein the benzodiazepine drug is alprazolam, bentazepam, bromazepam, brotizolam, camazepam, chlordiazepoxide, cinolazepam, clobazam, clonazepam, clorazepic acid, clorazepate, clotiazepam, clozapine, delorazepam, diazepam, estazolam, ethyl loflazepate, etizolam, fludiazepam, flunitrazepam, flurazepam, halazepam, ketazolam, loprazolam, lorazepam, lormetazepam, metaclazepam, mexazolam, midazolam, nimetazepam, nitrazepam, oxazepam, pinazepam, prazepam, quazepam, temazapem, tetrazepam or triazolam.

3. A composition as claimed in Claim 2, wherein the benzodiazepine drug is alprazolam, chlordiazepoxide, clonazepam, clorazepate, diazepam, estazolam, flurazepam, halazepam, lorazepam, midazolam, nitrazepam, oxazepam, prazepam, quazepam, temazapem or triazolam.

4. A composition as claimed in Claim 3, wherein the benzodiazepine drug is midazolam.

5. A composition as claimed in any one of the preceding claims, wherein the oil phase comprises a non-hydroxylated oil.

6. A composition as claimed in Claim 5, wherein the non-hydroxylated oil is soybean oil, sesame oil, safflower oil, canola oil, corn oil, cottonseed oil, olive oil, cod liver oil or sardine oil.

7. A composition as claimed in Claim 6, wherein the non-hydroxylated oil is soybean oil, sesame oil, canola oil, corn oil or cottonseed oil.

8. A composition as claimed in Claim 7, wherein the non-hydroxylated oil is soybean oil.

9. A composition as claimed in any one of the preceding claims, wherein the oil phase represents 12 to 50% (w/v) of the emulsion.

10. A composition as claimed in Claim 9, wherein the oil phase represents 15 to 40% (w/v) of the emulsion.

11. A composition as claimed in any one of the preceding claims, wherein the oil phase comprises 2.5 to 30% (w/w) vitamin E.

12. A composition as claimed in Claim 11, wherein the oil phase comprises 5 to 25% (w/w) vitamin E.

13. A composition as claimed in any one of the preceding claims, wherein the benzodiazepine drug content of the oil-in-water emulsion is in the range 0.1 to 300 mg/mL.

14. A composition as claimed in any one of the preceding claims, wherein the emulsion stabiliser is one or more thickening and/or emulsifying agents.

15. A composition as claimed in Claim 14, wherein the emulsion stabiliser is an emulsifying agent.

16. A composition as claimed in Claim 15, wherein the emulsifying agent is an ionic surfactant.

17. A composition as claimed in Claim 16, wherein the ionic surfactant is a phospholipid.

18. A composition as claimed in Claim 17, wherein the phospholipid is lecithin.

19. A composition as claimed in any one of Claims 15 to 18, wherein a non-ionic surfactant and/or a thickening agent is/are optionally employed as (a) further emulsion stabiliser(s).

20. A composition as claimed in Claim 19, wherein the non-ionic surfactant is selected from the group consisting of a polyoxyethylene sorbitan fatty acid ester, a polyoxyethylene stearate, a polyoxyethylene castor oil derivative and a polyoxyethylene alkyl ether.

21. A composition as claimed in Claim 19 or Claim 20, wherein the thickening agent is cellulose-based.

22. A composition as claimed in Claim 21, wherein the thickening agent is methylcellulose, hydroxyethylcellulose, hydroxypropyl cellulose or hydroxypropyl methylcellulose.

23. A composition as claimed in any one of the preceding claims, wherein the pH of the aqueous phase is in the range pH 5.0 to 8.0.

24. A composition as claimed in any one of the preceding claims, wherein the emulsion is stable with respect to phase separation for one or more days.

25. The use of a composition as defined in any one of Claims 1 to 24 for the manufacture of a medicament for the administration of a benzodiazepine drug to a patient in need of such administration.

26. Use as claimed in Claim 25 wherein the benzodiazepine drug is midazolam.

27. A method of administering a benzodiazepine drug to a patient, which method comprises administering to the patient a composition as defined in any one of Claims 1 to 24.

28. A method as claimed in Claim 27, wherein the emulsion is administered intranasally.

29. The use of a composition as defined in any one of Claims 1 to 24 in the manufacture of a medicament for the treatment of a condition in which benzodiazepine drug treatment is indicated.

30. The use as claimed in Claim 29, wherein the condition to be treated is an anxiety disorder, a convulsive disorder, disturbed behaviour, a parasomnia, dyspnoea, muscle spasm, emesis, schizophrenia, vertigo or a withdrawal syndrome.

31. The use as claimed in Claim 29, wherein the benzodiazepine drug is given for premedication and/or to induce sedation, hypnosis and/or anterograde amnesia.

32. A process for the preparation of a composition as defined in any one of Claims 1 to 24, which process comprises:

(i) addition of an emulsion stabiliser to an aqueous component to form the aqueous phase;

(ii) addition of vitamin E, and of a benzodiazepine drug, to an oil to form the oil phase; and

(iii) mixing the oil phase and the aqueous phase together.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/GB 02/03005

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 A61K9/107 A61K31/5513 A61K31/5517 A61K31/355 A61P25/08
A61P25/18 A61P25/20

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, BIOSIS, MEDLINE, EMBASE, PASCAL, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 6 193 985 B1 (SONNE METTE RYDAHL) 27 February 2001 (2001-02-27) cited in the application example 9 ---	1-32
A	EP 0 391 369 A (YISSUM RES DEV CO) 10 October 1990 (1990-10-10) tables I,III ---	1-32
Y	WO 00 24373 A (DAVIS STANLEY STEWART ;ILLUM LISBETH (GB); WEST PHARM SERV DRUG RE) 4 May 2000 (2000-05-04) cited in the application page 6, line 24-26; claims 1-4,17 --- -/--	1-32

[X] Further documents are listed in the continuation of box C.

[X] 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.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
26 September 2002	07/10/2002

Name and mailing address of the ISA	Authorized officer
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	Zimmer, B

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/GB 02/03005

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 97 03651 A (DANBIOSYST UK ;ILLUM LISBETH (GB); WASHINGTON CLIVE (GB); LAWRENCE) 6 February 1997 (1997-02-06) cited in the application page 15, line 23 -page 16, line 17; claim 6	1-32
A	EP 0 163 924 A (ROSHDY ISMAIL) 11 December 1985 (1985-12-11) claim 1	1-32

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/GB 02/03005

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
US 6193985 B1	27-02-2001	AU	697540 B2	08-10-1998
		AU	2670595 A	05-12-1995
		CA	2189328 A1	23-11-1995
		WO	9531217 A1	23-11-1995
		EP	0762896 A1	19-03-1997
		FI	964583 A	15-11-1996
		NO	964832 A	13-01-1997
		NZ	287857 A	24-09-1998
EP 0391369 A	10-10-1990	IL	89856 A	13-05-1993
		IL	93558 A	27-11-1995
		AT	110563 T	15-09-1994
		AU	614465 B2	29-08-1991
		AU	5292790 A	11-10-1990
		CA	2013755 A1	05-10-1990
		DE	69011922 D1	06-10-1994
		DE	69011922 T2	12-01-1995
		EP	0391369 A2	10-10-1990
		JP	2083211 C	23-08-1996
		JP	2290809 A	30-11-1990
		JP	7121857 B	25-12-1995
		US	5364632 A	15-11-1994
		KR	9300044 B1	06-01-1993
WO 0024373 A	04-05-2000	AU	6353699 A	15-05-2000
		EP	1123085 A1	16-08-2001
		WO	0024373 A1	04-05-2000
		NO	20011985 A	23-04-2001
		US	2001055569 A1	27-12-2001
WO 9703651 A	06-02-1997	AU	712621 B2	11-11-1999
		AU	6527596 A	18-02-1997
		CA	2224734 A1	06-02-1997
		EP	0839025 A1	06-05-1998
		WO	9703651 A1	06-02-1997
		GB	2317562 A ,B	01-04-1998
		JP	11509545 T	24-08-1999
		NO	975931 A	17-12-1997
		US	2002025337 A1	28-02-2002
EP 0163924 A	11-12-1985	DE	3416209 A1	21-11-1985
		AT	70441 T	15-01-1992
		DE	3584909 D1	30-01-1992
		EP	0163924 A1	11-12-1985

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
30 January 2003 (30.01.2003)

PCT

(10) International Publication Number
WO 03/007978 A1

(51) International Patent Classification[7]: A61K 38/00, 38/12, 39/395, 51/00, C07K 16/00, C12N 5/00

(21) International Application Number: PCT/US01/17748

(22) International Filing Date: 2 June 2001 (02.06.2001)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(71) Applicant: **ALBANY MEDICAL COLLEGE** [US/US]; 47 New Scotland Avenue, Albany, NY 12208 (US).

(72) Inventors: **ANDERSEN, Thomas, T.**; Center for Cardiovascular Sciences, Albany Medical College, 47 New Scotland Avenue, Albany, NY 12208 (US). **BENNETT, James, A.**; Center for Immunology and Microbial Diseases, Albany Medical College, 47 New Scotland Avenue, Albany, NY 12208 (US). **JACOBSON, Herbert, I.**; Cancer Center, Albany Medical Center, 47 New Scotland Avenue, Albany, New York 12208 (US). **MESFIN, Fassil, B.**; Center for Immunology and Microbial Diseases, Albany Medical College, 47 New Scotland Avenue, Albany, NY 12208 (US).

(74) Agent: **ELRIFI, Ivor, R.**; Mintz, Levin, Cohn, Ferris,, Glovsky and Popeo, P.C., One Financial Center, Boston, MA 02111 (US).

(81) Designated States *(national)*: AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, 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, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Designated States *(regional)*: ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:
— *with international search report*

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

WO 03/007978 A1

(54) Title: ALPHA-FETOPROTEIN PEPTIDES AND USES THEREOF

(57) Abstract: The subject invention addresses the need for methods of treatment and prevention of breast cancer, and other cancers, by providing a peptide of eight to twenty amino acids in length which comprises a hydrophilic analog of an alpha-fetoprotein peptide having SEQ ID NO:6: EMTPVNPG. The peptides may be linear, but are preferably cyclic. The peptides may be provided as dimers or other multimers. A composition comprising the peptide, and antibody that specifically binds to the peptide, a method of reducing estrogen-stimulated growth of cells using the peptides, as well as a method of treating or preventing cancer, such as breast cancer, are also provided. The treatment or prevention method can include the use of tamoxifen therapy in combination with the peptide therapy.

ALPHA-FETOPROTEIN PEPTIDES AND USES THEREOF

This application claims priority of U.S. Provisional Patent Application No. 60/208,614, filed June 1, 2000.

The subject invention was made with support from National Institutes of Health Grant No. CA 87434 and U.S. Army Grant Nos. DAMD 17-99-1-9054 and DAMD 17-99-1-9370. The U.S. Government has certain rights in this invention.

FIELD OF THE INVENTION

The subject invention is directed generally to alpha-fetoprotein, and more particularly to peptides derived from alpha-fetoprotein and their use to treat and/or prevent cancers, including breast cancer.

BACKGROUND OF THE INVENTION

Throughout this application various publications are referenced, many in parenthesis. Full citations for each of these publications are provided at the end of the Detailed Description. The disclosures of each of these publications in their entireties are hereby incorporated by reference in this application.

Every year in the U.S., 180,000 new cases of breast cancer are diagnosed and approximately 60% of these are ER+ (Martin et al. 1994). Moreover, every year there are a substantial number of breast cancer recurrences and many of these are ER+. Tamoxifen has been the mainstay for medical treatment of ER+ breast cancer and has provided significant clinical benefit (Fisher et al. 1989; Fisher et al. 1998). However, there is a substantial number of ER+ breast cancers that are refractory to tamoxifen due to either intrinsic or acquired resistance. New treatments for these ER+, tamoxifen-refractory breast cancers are needed, and some promising agents are currently being evaluated in

clinical trial. Letrozole, which blocks estrogen synthesis by inhibiting aromatase, and goserelin, which stifles ovarian release of estrogen by inhibiting gonadotropin release, are both being tested for this purpose (Goss et al. 2001; Nystedt et al. 2000).

Several population and epidemiologic studies as well as laboratory studies have indicated that alpha-fetoprotein (AFP) interferes with estrogen-dependent responses, including the growth-promoting effects of estrogen on breast cancer (Bennett et al. 1998). For example, Couinaud et al. (1973) have reported that women with AFP-secreting hepatomas develop amenorrhea which self-corrects following removal of the hepatoma, and Mizejewski et al. (1983) have shown that AFP inhibits the responsiveness of the uterus to estrogen. Jacobson et al. (1989) and Richardson et al. (1998) have shown that elevated levels of AFP during pregnancy are associated with subsequent reduction in lifetime risk for breast cancer, and Jacobson et al. have hypothesized that this could be caused by a diminution in estrogen-dependent breast cancers (Jacobson et al. 1989). Sonnenschein et al. (1980) have shown in rats that an AFP-secreting hepatoma prevents the growth of an estrogen-dependent breast cancer in the same rat. Finally, it has been shown that AFP purified from a human hepatoma culture and then injected into tumor-bearing immune-deficient mice stopped the growth of estrogen-receptor-positive (ER+), but not estrogen-receptor-negative (ER-), human breast cancer xenografts in these mice, and did so by a mechanism different from that of tamoxifen (Bennett et al. 1998).

More recently, the active site of AFP responsible for its antiestrotrophic activity has been identified (Mesfin et al. 2000). It consists of amino acids 472-479

(SEQ ID NO:6: EMTPVNPG), an 8-mer sequence in the 580-amino acid AFP molecule.

Aggregation of proteins and peptides has been seen with full length AFP as well as with subunits of AFP. Wu et al. (1985) showed that AFP tends to form aggregates, which may contribute to its loss of anti-estrotrophic activity during storage. Eisele et al. (2001) reported that oligomers of various sizes formed during storage of a 34-mer peptide (amino acids 447-480) derived from AFP. Similar aggregation behavior has been seen with a number of other protein and peptide pharmaceuticals including human interferon gamma (Kendrick et al. 1998), human calcitonin (Bauer et al. 1994), insulin (Sluzky et al. 1991), and synthetic beta-amyloid peptide (Hilbich et al. 1991; Christmanson et al. 1993; Halverson et al. 1990). Hughes et al. (1996) and Hilbich et al. (1992) reported inhibition of amyloid peptide aggregation by substitution of hydrophobic phenylalanine with hydrophilic threonine or by adding poly-lysine at the carboxy-terminus of the amyloid peptide.

As indicated above, tamoxifen is currently the most widely used agent for the treatment of estrogen-responsive breast cancers and has provided significant benefit to women with this disease (Fisher et al. 1989; Fisher et al. 1998). However, one problem connected with its clinical use is that not all ER+ breast cancers are sensitive to this drug. About one-third to one-sixth (depending on the lab cutoff for ER positivity) of the ER+, newly diagnosed breast cancers do not respond to tamoxifen (Jensen et al. 1996). Moreover, it is not uncommon that women whose disease is being successfully managed by tamoxifen therapy will in time experience recurrence during treatment apparently because their

tumor has acquired resistance to the drug. Because these two groups constitute a substantial number of woman whose disease fails to respond to tamoxifen therapy, it is important to seek alternative treatment methods.

SUMMARY OF THE INVENTION

The subject invention addresses the need for methods of treatment and prevention of breast cancer, and other cancers, by providing a peptide of eight to twenty amino acids in length which comprises a hydrophilic analog of an alpha-fetoprotein peptide having SEQ ID NO:6: EMTPVNPG. The peptides may be linear, but are preferably cyclic. The peptides may be provided as dimers or other multimers. A composition comprising the peptide, an antibody that specifically binds to the peptide, a method of reducing estrogen-stimulated growth of cells using the peptide, as well as a method of treating or preventing cancer, such as breast cancer, are also provided. The treatment or prevention method can include the use of tamoxifen therapy in combination with the peptide therapy.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

These and other features and advantages of this invention will be evident from the following detailed description of preferred embodiments when read in conjunction with the accompanying drawings in which:

Figures 1a and 1b illustrate the anti-uterotrophic activity of octapeptide, SEQ ID NO:2: QMTPVNPG, measured in the immature mouse uterine growth assay. Peptide or vehicle control was injected i.p. into immature female Swiss mice. One hour later 0.5 μg of E_2 or vehicle control was injected i.p. into these mice. Twenty-two hours later, uteri were dissected and weighed. Percent

inhibition of E_2-stimulated growth of uterus by peptide was calculated as described in Materials and Methods. There were five to eight replicate mice per treatment group. (Figure 1a) Peptide dose-response. (Figure 1b) Anti-estrotrophic activity as a function of peptide storage time at -20°C in the lyophilized state, 1 μg peptide per mouse;

Figures 2a and 2b illustrate the anti-uterotrophic activity of fractions from gel-filtration chromatography of stored octapeptide, SEQ ID NO:2: QMTPVNPG. Peptide, SEQ ID NO:2: QMTPVNPG, was fractionated using a Waters SW 200 gel-filtration column using phosphate buffered saline pH 7.4 as mobil phase. Fractions which had significant UV absorbance at 230 nm were collected at twenty second intervals. The first fraction (Frac I), the last fraction (Frac III), and the starting material (UnFrac) were all tested in the immature mouse uterine growth assay as described in Figures 1a and 1b. One μg of peptide was injected i.p. into mice in all cases, and percent inhibiton of E_2-stimulated growth was measured;

Figures 3a and 3b illustrate the anti-uterotrophic activity of *cyclo*-(SEQ ID NO:7: EMTPVNPGQ). (Figure 3a) dose-response. (Figure 3b) effect of time in storage;

Figures 4a and 4b illustrate the anti-uterotrophic activity of peptide with hydroxyproline substituted for proline. (Figure 4a) dose-response. (Figure 4b) effect of time in storage;

Figure 5 illustrates the anti-estrotrophic activity of hydroxyproline-substituted linear peptide against MCF-7 human breast cancer xenografts. There were five to eight replicate mice per treatment group. Estrogen was provided via a slow release pellet implanted subcutaneously. Peptide was given twice a day i.p. at a dose of 1 μg per mouse. Tumor volumes in each mouse were

measured at the time of tumor implantation and at 10-day intervals thereafter during survival laparotomies. At 30 days after tumor implantation, tumor volumes in the E_2 + peptide group were significantly different from tumor volumes in the E_2 alone group, $p \leq 0.05$; Wilcoxon ranks-sum test;

Figures 6a and 6b illustrate the anti-uterotrophic activity of cyclized peptide with hydroxyproline substituted for proline. (Figure 6a) dose-response. (Figure 6b) effect of time in storage;

Figure 7 illustrates the anti-estrotrophic activity of cyclized peptide with hydroxyproline substituted for proline against MCF-7 human breast cancer xenografts. Experimental protocol is described in legend to Figure 5 and Materials and Methods. At 20 days and 30 days after tumor implantation tumor volumes in the E_2 + peptide group were significantly different from tumor volumes in the E_2 alone group, $p < 0.05$; Wilcoxon ranks-sum test;

Figure 8 illustrates the effect of linear hydroxyproline-substituted peptide on binding of E_2 to its receptor. Rabbit uterine cytosol was used as a source of estrogen receptor. All incubations were performed in triplicate, each containing 100 μl of cytosol, 20 μl of 10 nM 6,7-^{3}H estradiol (50 Ci/mmol), and 80 μl of test agent at the final concentrations indicated on the abscissa. Details of the assay are described in Materials and Methods. Concentration of [^{3}H]E_2-complex with receptor in the presence of different concentrations of test agent is expressed as a percentage of the amount of complex formed in the absence of test agent;

Figures 9a and 9b illustrate the effect of AFP-derived peptide on growth of estrogen-receptor-positive MCF-7 and MCF-7/Tam human breast cancer xenografts. Tumors were implanted as described in

Materials and Methods. Estrogen (●) was provided via a slow-release pellet of estradiol (E_2) implanted s.c. ▲ Peptide was given twice a day i.p. at a dose of 1 μg per injection. ■ Tamoxifen was given once a day i.p. at a dose of 50 μg per mouse. Tumor volumes in each mouse were measured at the time of tumor implantation, again at day 15 after tumor implantation during survival laparotomy and again at day 30 after tumor implantation during necropsy. There was a minimum of 5 mice per group. (Figure 9a) MCF-7 tumors. At day 30 after tumor implantation, tumor volumes in the E_2 + Pep group and in the E_2 + Tam group were significantly different from tumor volumes in the E_2 alone group, $p < 0.05$, Wilcoxon Ranks Sum Test. (Figure 9b) MCF-7 subline made resistant to tamoxifen in culture. At day 30 after tumor implantation, tumor volumes in the E_2 + Pep group but not in the E_2 + Tam group were significantly different from tumor volumes in the E_2 alone group, $p < 0.05$, Wilcoxon Ranks Sum Test;

Figure 10 illustrates the effect of AFP-derived peptide on growth of estrogen-receptor-positive T47D human breast cancer xenografts. See legend to Figures 9a and 9b for experimental protocol. At day 30 after tumor implantation, tumor volumes in the E_2 + Pep group were significantly different from tumor volumes in the E_2 alone group, $p < 0.05$, Wilcoxon Ranks Sum Test;

Figure 11 illustrates the effect of AFP-derived peptide on growth of estrogen-receptor-negative MDA-MB-231 human breast cancer xenografts. See legend to Figures 9a and 9b for experimental protocol. There were no differences in tumor volumes between any of the groups;

Figure 12 illustrates the effect of AFP-derived peptide on binding of E_2 to its receptor. Rabbit uterine cytosol was used as a source of estrogen receptor. All

incubations were performed in triplicate, each containing 100 μl of cytosol, 20 μl of 10 nM 6,7-^{3}H estradiol (50 Ci/mmol), and 80 μl of test agent at the final concentrations indicated on the abscissa. Concentration of [^{3}H]E_2-complex with receptor in the presence of different concentrations of test agent is expressed as a percentage of the amount of complex formed in the absence of test agent; and

Figure 13a shows the effect of estradiol (E_2), AFP-derived peptide (Pep) and tamoxifen (Tam) on the growth of the immature mouse uterus. The assay procedure is described in the Materials and Methods. Various doses indicated on the abscissa of each test agent were injected i.p. Twenty-two hours later uteri were harvested and weighed. Mean normalized uterine weights (mg uterine weight/g mouse body weight) for each group are shown on the ordinate. In Figure 13b, Pep (1 μg) or vehicle (saline, 0.2 ml) were injected i.p. One hour later E_2 (0.5 μg) or Tam (1.0 μg) were injected i.p. Twenty-two hours later uteri were harvested and weighed. Normalized uterine weights in the E_2 + Pep and Tam + Pep groups were significantly different respectively from normalized uterine weights in the E_2 group and Tam group, $p < 0.05$, Wilcoxon Ranks Sum Test.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

The subject invention provides a peptide of eight to twenty amino acids in length which comprises a hydrophilic analog of an alpha-fetoprotein peptide having SEQ ID NO:6: EMTPVNPG. The peptide may be linear or cyclic, and may include (D) as well as (L) amino acids. For imaging purposes, the peptide may be labeled with a detectable marker, such as a radiolabel. The radiolabel may be provided by attaching an additional amino acid to

the peptide, the additional amino acid being radiolabeled. In one embodiment, the peptide comprises an amino acid sequence selected from the group consisting of: SEQ ID NO:2: QMTPVNPG
SEQ ID NO:3: QMTPVNPGE
SEQ ID NO:4: EMTOVNOG
SEQ ID NO:5: EMTOVNOGQ
SEQ ID NO:7: EMTPVNPGQ
SEQ ID NO:8: EMTOVNPG
SEQ ID NO:9: EMTOVNPGQ
SEQ ID NO:10: EMTPVNOG and
SEQ ID NO:11: EMTPVNOGQ,
or a peptidomimetic of said peptide.

Dimers of the said peptides (such as a peptide having SEQ ID NO:4 in combination with a peptide having SEQ ID NO:5, or a peptide having SEQ ID NO:3 in combination with a peptide having SEQ ID NO:10), or other multimers (three or more peptides), are also provided by the subject invention.

The peptide is preferably provided as a composition which comprises the peptide and a suitable carrier. In order to improve stability and shelf-life, in one embodiment the peptide is provided as a composition with a stabilization excipient (such as dodecyl maltoside or mannitol).

Antibodies to the peptide are also provided, which are useful to track the peptides in the body. The peptides can also be tracked by directly labeling the peptides themselves with a detectable marker such as a radiolabel, as discussed above.

The peptides of the subject invention are useful in a method of reducing estrogen-stimulated growth of cells. This is accomplished by exposing the cells to the peptide, which can occur in vitro and in vivo. Since

tamoxifen (and similar substances) have been used previously in the treatment of breast cancer, the subject invention also provides a method of reducing estrogen-stimulated growth of cells which further comprises exposing the cells to tamoxifen (used in it's broadest interpretation to include analogs and derivatives thereof) before, during, or after exposing the cells to the peptide.

Further provided is a method of treating or preventing cancer in a subject, which comprises administering to the subject an amount of the peptide sufficient to treat or prevent cancer. Such cancers include, for example, estrogen-dependent cancers such as breast cancer. As stated above, this peptide therapy can be combined with administration of tamoxifen to enhance treatment and/or prevention.

The peptides of the subject invention have been designed as therapeutic agents that are effective against breast cancer. They also have use in the fight against prostate cancer and other cancers which are affected by the steroid hormone/thyroid hormone superfamily of receptors. It may be that these peptides or analogs would serve as first-line defense agents, but it is also possible that they would serve as adjunct therapeutic agents. For example, the currently utilized drug-of-choice in the fight against breast cancer is tamoxifen, but tamoxifen suffers from a side effect of causing uterine cancer in 0.2 % of users. The peptides described in this invention inhibit the uterine growth that is stimulated by tamoxifen, and so may be useful as adjunct therapy along with tamoxifen.

Other endocrine-related situations in which these peptides might be active include those where AFP has been shown to improve symptoms, such as inflammatory diseases

such as rheumatoid arthritis. AFP has also been shown to play a therapeutic role in myasthenia gravis and an AFP analog may be useful in this situation. AFP has been reported to play a role in maternal tolerance of the fetus and therefore an active analog of AFP should have use in organ transplant rejection. Also, use against lymphoproliferative disorders would be appropriate. Since AFP and AFP analogs dampen the response to estrogen and, in all likelihood, progesterone, an AFP analog may be useful in situations such as birth control, abortion, endometriosis, and menopause. For example, post-menopausal estrogen supplementation for bone effects might be a situation in which adjunct treatment with these peptides may prove effective.

These peptides, which are derivatives of a safe, naturally-occurring protein (AFP), are likely to be significantly less toxic than tamoxifen or raloxifene. These analogs may thus be useful as preventive agents so that breast (or prostate or other) cancers do not occur.

By modifying these agents with radiolabel or other identifiable means, it is likely that they would serve as agents that could detect breast (or other) cancers earlier than can any other existing method.

The preferred route of administration of peptides is currently injection, which may be acceptable for treatment of cancer or for early detection of cancer. For prevention, transdermal administration of peptides may be preferable, so that administration by means of a patch that may be worn while delivering a prescribed dose of drug should be considered.

Antibodies to the peptides have commercial value for use in measuring the concentration of drug in serum, and for other reasons. Similarly, radiolabeled (or otherwise labeled) peptides and peptidomimetics can be used for

detecting such agents in serum or for investigational purposes such as exploring the mechanism of action of these agents.

In the context of this invention, to "expose" cells (including the cells of tissues) to a peptide means to add the peptide, usually in a liquid carrier, to a cell suspension or tissue sample in vitro, or to administer the peptide to cells or tissues within an animal (including a human) subject in vivo.

For therapeutics, the formulation of therapeutic compositions and their subsequent administration is believed to be within the skill in the art. In general, for therapeutics, a patient suspected of needing such therapy is given a peptide in accordance with the invention, commonly in a pharmaceutically acceptable carrier, in amounts and for periods which will vary depending upon the nature of the particular disease, its severity and the patient's overall condition. The pharmaceutical compositions may be administered in a number of ways depending upon whether local or systemic treatment is desired and upon the area to be treated. Administration may be topical (including ophthalmic, vaginal, rectal, intranasal, transdermal), oral or parenteral. Parenteral administration includes intravenous drip or infusion, subcutaneous, intraperitoneal or intramuscular injection, pulmonary administration, e.g., by inhalation or insufflation, or intrathecal or intraventricular administration.

Formulations for topical administration may include transdermal patches, ointments, lotions, creams, gels, drops, suppositories, sprays, liquids and powders. Conventional pharmaceutical carriers, aqueous, powder or oily bases, thickeners and the like may be necessary or

desirable. Coated condoms, gloves and the like may also be useful.

Compositions for oral administration include powders or granules, suspensions or solutions in water or non-aqueous media, capsules, sachets or tablets. Thickeners, flavoring agents, diluents, emulsifiers, dispersing aids or binders may be desirable. The peptides may be provided in the form of liposome delivery vehicles.

Compositions for parenteral, intrathecal or intraventricular administration may include sterile aqueous solutions which may also contain buffers, diluents and other suitable additives.

Dosing is dependent on severity and responsiveness of the condition to be treated, with course of treatment lasting from several days to several months or until a cure is effected or a diminution of disease state is achieved. Optimal dosing schedules can be calculated from measurements of drug accumulation in the body. Persons of ordinary skill can easily determine optimum dosages, dosing methodologies and repetition rates. Optimum dosages may vary depending on the relative potency of individual peptides, and can generally be calculated based on IC_{50}'s or EC_{50}'s. For example, given the molecular weight of a peptide and an effective dose such as an IC_{50}, for example (derived experimentally), a dose in mg/kg is routinely calculated.

The peptide drugs, and peptidomimetics thereof (including mimotopes and anti-mimotopes) can be made using various methods known in the art. A monoclonal antibody can be prepared which specifically binds to the peptide, thereby interfering with activity.

The monoclonal antibodies can be produced by hybridomas. A hybridoma is an immortalized cell line

which is capable of secreting a specific monoclonal antibody.

In general, techniques for preparing polyclonal and monoclonal antibodies as well as hybridomas capable of producing the desired antibody are well known in the art (see Campbell, A.M., "Monoclonal Antibody Technology: Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology", Elsevier Science Publishers, Amsterdam, The Netherlands (1984); St. Groth, et al., J Immunol Methods 35:1-21 (1980)). Any animal (mouse, rabbit, etc.) which is known to produce antibodies can be immunized with the peptide (or an antigenic fragment thereof). Methods for immunization are well known in the art. Such methods include subcutaneous or intraperitoneal injection of the peptide. One skilled in the art will recognize that the amount of the peptide used for immunization will vary based on the animal which is immunized, the antigenicity of the peptide, and the site of injection.

The peptide which is used as an immunogen may be modified or administered in an adjuvant in order to increase the peptide's antigenicity. Methods of increasing the antigenicity of a peptide are well known in the art and include, but are not limited to, coupling the antigen with a heterologous protein (such as a globulin or beta-galactosidase) or through the inclusion of an adjuvant during immunization.

For monoclonal antibodies, spleen cells from the immunized animals are removed, fused with myeloma cells, such as SP2/O-Ag 15 myeloma cells, and allowed to become monoclonal antibody producing hybridoma cells.

Any one of a number of methods well known in the art can be used to identify the hybridoma cell which produces an antibody with the desired characteristics. These include screening the hybridomas with an ELISA assay,

western blot analysis, or radioimmunoassay (Lutz, et al., Exp Cell Res 175:109-124 (1988)).

Hybridomas secreting the desired antibodies are cloned and the class and subclass are determined using procedures known in the art (Campbell, A.M., "Monoclonal Antibody Technology: Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology", Elsevier Science Publishers, Amsterdam, The Netherlands (1984)).

For polyclonal antibodies, antibody containing antisera is isolated from the immunized animal and is screened for the presence of antibodies with the desired specificity using one of the above-described procedures.

Once a monoclonal antibody which specifically binds to the peptide is identified, the monoclonal can be used to identify peptides capable of mimicking the inhibitory activity of the monoclonal antibody. One such method utilizes the development of epitope libraries and biopanning of bacteriophage libraries. Briefly, attempts to define the binding sites for various monoclonal antibodies have led to the development of epitope libraries. Parmley and Smith developed a bacteriophage expression vector that could display foreign epitopes on its surface (Parmley, S.F. & Smith, G.P., Gene 73:305-318 (1988)). This vector could be used to construct large collections of bacteriophage which could include virtually all possible sequences of a short (e.g. six-amino-acid) peptide. They also developed biopanning, which is a method for affinity-purifying phage displaying foreign epitopes using a specific antibody (see Parmley, S.F. & Smith, G.P., Gene 73:305-318 (1988); Cwirla, S.E., et al., Proc Natl Acad Sci USA 87:6378-6382 (1990); Scott, J.K. & Smith, G.P., Science 249:386-390 (1990); Christian, R.B., et al., J Mol Biol 227:711-718 (1992);

Smith, G.P. & Scott, J.K., Methods in Enzymology 217:228-257 (1993)).

After the development of epitope libraries, Smith et al. then suggested that it should be possible to use the bacteriophage expression vector and biopanning technique of Parmley and Smith to identify epitopes from all possible sequences of a given length. This led to the idea of identifying peptide ligands for antibodies by biopanning epitope libraries, which could then be used in vaccine design, epitope mapping, the identification of genes, and many other applications (Parmley, S.F. & Smith, G.P., Gene 73:305-318 (1988); Scott, J.K., Trends in Biochem Sci 17:241-245 (1992)).

Using epitope libraries and biopanning, researchers searching for epitope sequences found instead peptide sequences which mimicked the epitope, i.e., sequences which did not identify a continuous linear native sequence or necessarily occur at all within a natural protein sequence. These mimicking peptides are called mimotopes. In this manner, mimotopes of various binding sites/proteins have been found.

The sequences of these mimotopes, by definition, do not identify a continuous linear native sequence or necessarily occur in any way in a naturally-occurring molecule, i.e. a naturally occurring protein. The sequences of the mimotopes merely form a peptide which functionally mimics a binding site on a naturally-occurring protein.

Many of these mimotopes are short peptides. The availability of short peptides which can be readily synthesized in large amounts and which can mimic naturally-occurring sequences (i.e. binding sites) offers great potential application.

Using this technique, mimotopes to a monoclonal antibody that recognizes the peptide of the subject invention can be identified. Once the sequence of the mimotope is determined, the peptide drugs can be chemically synthesized.

The peptides for use in the subject invention can contain any naturally-occurring or non-naturally-occurring amino acids, including the D-form of the amino acids, amino acid derivatives and amino acid mimics, so long as the desired function and activity of the peptide is maintained. The choice of including an (L)- or a (D)-amino acid in the peptide depends, in part, on the desired characteristics of the peptide. For example, the incorporation of one or more (D)-amino acids can confer increased stability on a peptide and can allow a peptide to remain active in the body for an extended period of time. The incorporation of one or more (D)-amino acids can also increase or decrease the pharmacological activity of a peptide.

The peptide may also be cyclized, since cyclization may provide the peptide with superior properties over their linear counterparts. Cyclization is discussed further below.

Modifications to the peptide backbone and peptide bonds thereof are encompassed within the scope of amino acid mimic or mimetic (the resulting peptide being a peptidomimetic). Such modifications can be made to the amino acid, derivative thereof, non-amino acid moiety or the peptide either before or after the amino acid, derivative thereof or non-amino acid moiety is incorporated into the peptide. What is critical is that such modifications mimic the peptide backbone and bonds which make up the same and have substantially the same spacial arrangement and distance as is typical for

traditional peptide bonds and backbones. An example of one such modification is the reduction of the carbonyl(s) of the amide peptide backbone to an amine. A number of reagents are available and well known for the reduction of amides to amines such as those disclosed in Wann et al., JOC 46:257 (1981) and Raucher et al., Tetrahedron Lett 21:14061 (1980). An amino acid mimic is, therefore, an organic molecule that retains the similar amino acid pharmacophore groups as are present in the corresponding amino acid and which exhibits substantially the same spatial arrangement between functional groups.

The substitution of amino acids by non-naturally occurring amino acids and amino acid mimics as described above can enhance the overall activity or properties of an individual peptide thereof based on the modifications to the backbone or side chain functionalities. For example, these types of alterations can enhance the peptide's stability to enzymatic breakdown and increase biological activity. Modifications to the peptide backbone similarly can add stability and enhance activity.

One skilled in the art, using the identified sequences can easily synthesize the peptides for use in the invention. Standard procedures for preparing synthetic peptides are well known in the art. The novel peptides can be synthesized using: the solid phase peptide synthesis (SPPS) method of Merrifield, J Am Chem Soc 85:2149 (1964) or modifications of SPPS; or, the peptides can be synthesized using standard solution methods well known in the art (see, for example, Bodanzsky, "Principles of Peptide Synthesis", 2d Ed., Springer-Verlag (1993)). Alternatively, simultaneous multiple peptide synthesis (SMPS) techniques well known in the art can be used. Peptides prepared by the method

of Merrifield can be synthesized using an automated peptide synthesizer such as the Applied Biosystems 431A-01 Peptide Synthesizer (Mountain View, Calif.) or using the manual peptide synthesis technique described by Houghten, Proc Natl Acad Sci USA 82:5131 (1985).

Materials and Methods

Cell Lines. T47D and MDA-MB-231 human breast cancer cell lines were purchased from the American Type Culture Collection (Manassas, VA). Growth medium for T47D cells consisted of RPMI 1640 (Life Technologies, Germantown, MD) supplemented with 10% fetal bovine serum (Life Technologies) and 8 μg/ml bovine insulin (Sigma, St. Louis, MO). Growth medium for MDA-MB-231 consisted of Dulbecco's Modified Eagle Medium (Life Technologies) supplemented with L-glutamine (2 mM), non-essential amino acids (1%, Life Technologies) and bovine insulin (1 μg/ml). The MCF-7 cell line was obtained from Dr. Alberto C. Baldi, Institute of Experimental Biology and Medicine, Buenos Aires, Argentina, and was maintained as previously described by Gierthy et al. (1991). This strain of MCF-7 demonstrated 17β-estradiol (E_2) sensitivity in regard to induction of tissue plasminogen activator, cell proliferation and in vivo tumor growth and was sensitive to the suppression of these effects by tamoxifen (12-Continuous exposure of these cells to 1 μM tamoxifen citrate during routine culture conditions (1:10 subculture ratio once a week) resulted after 6 months in a strain that was resistant to the suppressive effects of tamoxifen in vitro.

Peptide Synthesis. Peptides were synthesized using FMOC solid phase peptide synthesis on a Pioneer Peptide Synthesis System (PerSeptive Biosystem, Inc., Framingham, MA)(see also Mesfin et al. 2000). Briefly, peptides were

assembled on a solid support (Fmoc-Polyethylene-Graft Polystyrene Support) from the C-terminus, reacting the deblocked amino (N)-terminus of support-bound amino acid with the activated carboxyl (C)-terminus of the incoming amino acid to form an amide bond. Amino acids used in the synthesis had their N^{α}-amino group protected by the 9-fluorenylmethoxycarbonyl (Fmoc) group, which was removed by piperidine at the end of each cycle in the synthesis. Side-chain protecting groups of amino acids were Asn(Trt), Gln(Trt), Glu(OtBu), Hyp(tBu), Thr(tBu) which were deprotected by trifluoroacetic acid (TFA) after peptide synthesis. The carboxyl-group of the amino acid was activated with HATU [O-(7-azabenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium hexafluorophosphate] obtained from PerSeptive Biosystems Inc. The specific amino acid derivatives, supports, and reagents used in the synthesis were purchased from PerSeptive Biosystems Inc. and NovaBiochem, San Diego, CA.

After synthesis was completed, the resin was washed three times with 100% propanol and the cleavage reaction was achieved by incubating the resin in 10 ml trifluoracetic acid/thioanisole/anisole/1,2-ethanedithiol (90:5:2:3) per 0.5 g resin for 5 hours. The cleavage reaction mixture was filtered using a sintered glass funnel to separate the solid resin from the peptide solution. Filtrate volume was reduced to 1 ml by evaporation facilitated with a gentle stream of air and the peptides were precipitated by addition of 15 ml dry-ice chilled ethyl ether. The peptides were allowed to settle for five minutes at -80°C, and the supernatant was aspirated. The peptides were then washed twice in similar manner with 15 ml of ethyl ether. After three further washings with 15 ml of ethyl acetate:diethylether (1.5:1, room temperature), the peptides were dissolved in

deionized water, purified by reverse phase HPLC (see details below), lyophilized, and stored at -20°C.

Cyclization of the Peptides. Cyclization of peptides was accomplished using methods described by Kates et al. (17, 18). Briefly, N-alpha FMOC-L-glutamic acid-alpha-allyl ester at the C-terminus of the synthetic peptide was coupled to the resin via the gamma carboxylic acid. Removal of the N^{α}-FMOC allowed the remaining amino acids to be incorporated sequentially into the growing peptide. A free alpha-carboxyl group was then generated upon removal of the allyl group from the C-terminal Glu (18). This alpha-carboxyl group was then coupled to the free N-terminal residue of the peptide (while on the resin) in order to generate the cyclic peptide, which was then removed from the resin in such a way as to yield the gamma-carboxamido derivative (i.e, Q). The cyclic peptide was then purified and characterized as described below.

Purification of Peptides. Purification of peptides was accomplished using a Waters Delta-Pak C_{18} (19 mm x 30 cm) reverse phase column with a pore diameter of 300 Å on a Waters 650E liquid chromatography system equipped with a 486 adjustable absorbance detector and a 600E controller. The column was operated with gradient using a 0.1% trifluoroacetic acid in water as solvent A and 0.1% trifluoroacetic acid in acetonitrile as solvent B. The gradient was set as follows: 100% solvent A for the first 4 min, followed by increasing acetonitrile from 0-40% solvent B over the next 35 min then isocratically at 40% B for 11 min, and followed by a linear gradient of 40-100% B over 10 min all with a flow rate of 7 ml/min. Peptide was monitored at 230 nm and fractions containing pure peptide (>95% purity) were pooled together and lyophilized.

Peptide Characterization. Amino acid analyses of all peptides were performed using the Waters AccQ-Tag amino acid analysis system (19;20). Peptides were analyzed by mass spectrometry using standard alpha-cyano-4-hydroxysinnipinic acid and sinnipinic acid matrices. Integrity of cyclized peptides was further validated using the Kaiser test (21) to ensure absence of free terminal amino group.

Immature Mouse Uterine Growth Assay. A bioassay for anti-estrotrophic activity was performed using an immature mouse uterine growth assay (22). Swiss/Webster female mice, 6-8 g in body weight (13-15 days old), were obtained from Taconic Farms (Germantown, NY). Mice were weighed and distributed into treatment groups (typically 5 mice per group) such that each group contained the same range of body weight. In a typical experiment, each group received two sequential intraperitoneal injections spaced one hour apart. Test material or vehicle control for that material was contained in the first injectant. Estradiol (E_2) or vehicle control for E_2 was contained in the second injectant. Twenty-two hours after the second injection, uteri were dissected, trimmed free of mesenteries, and immediately weighed. The uterine weights were normalized to mouse body weights (mg uterine weight/g of body weight) to compensate for differences in body weight among litters of the same age. Experiments employed a minimum of five mice per group, and the mean normalized uterine weight ± standard error for each group was calculated. Percent growth inhibition in a test group was calculated from the normalized uterine wet weights as described below.

Growth Inhibition (%) =

$$\frac{\text{Full } E_2\text{-Stimulation} - E_2\text{-Stimulation in Test Group}}{\text{Full } E_2\text{-Stimulation} - \text{No } E_2\text{-Stimulation}} \times 100\ \%$$

Differences between groups were evaluated, employing the non-parametric Wilcoxon Sum of Ranks test (one-sided). In all cases, growth inhibitions that were greater than 25% were significant at $p \leq 0.05$.

Human Breast Cancer Xenograft Assay. A bioassay for anti-breast cancer activity was performed according to Bennett et al. (23;24). Confluent MCF-7 human breast cancer cells were trypsinized into suspension and pelleted by centrifugation at 200 x g. The pellet was then solidified into a fibrin clot by exposing it to 10 µl of fibrinogen (50 mg/ml) and 10 µl of thrombin (50 units/ml). The solid mass of MCF-7 cells was then cut into pieces 1.5 mm in diameter. A tumor segment of ~1.5 mm in diameter was implanted under the kidney capsule of an immunodeficient ICR-SCID male mouse (Taconic Farms) that weighed about 25 g. Estrogen supplementation was accomplished by s.c. implantation of a silastic tubing capsule containing solid E_2 inserted on the day of tumor implantation. Peptide was injected i.p. every twelve hours at a dose of 1 µg per mouse. Tumor growth was monitored during survival laparotomy at 10-day intervals by measurement of the diameters of the short (d) and long axes (D) of each tumor, using a dissecting microscope equipped with an ocular micrometer. Tumor volumes were calculated using the formula $(\pi/6)(d)^2D$, assuming the tumor shape to be an ellipsoid of revolution around its long axis (D). There were five to seven replicate mice included in each treatment group. Mean tumor volume ± standard error in each group was calculated for display of growth curves. Significance of differences between groups were tested using the one-sided Wilcoxon Sum of Ranks Test.

Assessment of Estrogen Receptor Antagonism. Commercially obtained rabbit uteri (Pel-Freez Biological,

Rogers, AR) were used as a source of estrogen receptor. Uteri were pulverized in a stainless steel impact mortar under liquid nitrogen and homogenized (20% w/v) in assay buffer [10 mM Tris (pH 7.4), 1.5 mM EDTA, 10% glycerol, 10 mM monothioglycerol, and 10 mM sodium molybdate] on ice. Centrifugation (50,000 x g) for 1 h yielded a supernatant containing cytosol, which was adjusted with assay buffer to 2.5 mg protein/ml. All incubations were carried out in triplicate, each containing 100 μl of cytosol, 20 μl of 10 mM 6,7-[^{3}H]estradiol (50 Ci/mmol; DuPont Pharmaceuticals Company, Wilmington, Delaware, U.S.A.), and 80 μl of putative antagonist in assay buffer. Total count tubes received 20 μl of [^{3}H]estradiol and 180 μl of assay buffer. After incubation overnight at 4°C, all but the total count tubes received 300 μl of dextran-coated charcoal suspension; tubes were agitated for 15 min and then centrifuged (1,000 x g) for 15 min. Supernatants were decanted into counting vials, scintillant was added, and protein-bound tritium was determined by liquid scintillation counting.

EXAMPLE I

Development of a Synthetic Cyclized Peptide Derived from Alpha-Fetoprotein.

Earlier, it had been shown that an energy-minimized structure of octapeptide SEQ ID NO:6: EMTPVNPG indicated that the peptide had potential to form a horseshoe shaped structure (Mesfin et al. 2000). Energy-minimization studies of an analog of this peptide, that would be generated by substitution of the N-terminal glutamic acid with glutamine (SEQ ID NO:2: QMTPVNPG), indicated that this product would have potential to bow even further inward and form a pseudo-cyclic structure. This pseudo-cyclic structure may have greater structural stability

due to hydrogen bonding between the N-terminal glutamine gamma-carboxamide group and the C-terminal glycine alpha-carboxamide. This linear analog (SEQ ID NO:2: QMTPVNPG) was therefore synthesized, and its biological activity was compared to SEQ ID NO:6: EMTPVNPG in the estrogen-dependent immature mouse uterine growth assay. SEQ ID NO:2: QMTPVNPG inhibited the estrogen-stimulated growth of mouse uterus with an optimal dose of 1 μg/mouse (Figure 1a), similar to the native octapeptide SEQ ID NO:6: EMTPVNPG. These results suggested that the substitution of glutamic acid to glutamine did not detract from the biological activity and also did not change the biphasic nature of the dose-response curve. Shelf-life studies indicated that SEQ ID NO:2: QMTPVNPG stored somewhat better than the native octapeptide (SEQ ID NO:6: EMTPVNPG), but its anti-estrotrophic activity also diminished to insignificant levels after five weeks of storage (Figure 1b), indicating that the putative stabilization was not sufficient to prevent loss of biological activity during storage.

As shown in Table I, aged octapeptide SEQ ID NO:2: QMTPVNPG, stored in the lyophilized state at -20°C for over one year, was completely biologically inactive. However, brief treatment with 4 M urea restored its biological activity, suggesting that this peptide might have aggregated during storage, resulting in loss of biological activity. A scrambled form of the Q octapeptide had no biological activity either with or without urea treatment. The biological activity of stored inactive SEQ ID NO:6: EMTPVNPG was likewise regenerated by 4 M urea.

Gel-filtration column chromatography of aged peptide (SEQ ID NO:2: QMTPVNPG) yielded a single peak (Figure 2b) which became broader as a function of time in storage.

This suggested that small aggregates (dimers, trimers) were forming during storage. Although gel filtration chromatography has low resolution for monomers, dimers, and trimers in this size range (841 Da to 2523 Da), the width of the peak suggested that aggregates might be separating from monomer. Fractions from different portions of the broad peak from aged, chromatographed peptide were therefore tested for biological activity. The higher molecular weight fraction (Figure 2b, left side of peak) was biologically inactive while the lower molecular weight fraction (Figure 2b, right side of peak) was active in the estrogen-dependent immature mouse uterine growth assay. This suggested that the octapeptide SEQ IDNO:2: QMTPVNPG, like its parent protein and precursor 34-mer peptide (Wu et al. 1985; Eisele et al. 2001), aggregated during prolonged storage in the lyophilized state and only partially dissociated during chromatography, and that the monomeric form of the peptide was the active species. While not especially hydrophobic, the peptide does carry a net charge of only +1 at neutral pH, and taken together with the chromatography and urea evidence, it is reasonable to conclude that hydrophobicity played a role in its aggregation.

In addition to aggregation, small peptides such as octapeptide SEQ ID NO:6: EMTPVNPG or SEQ ID NO:2: QMTPVNPG have structural flexibility that allows them to attain a variety of different structural conformations. Since it was thought unlikely that all structural conformers of octapeptide SEQ IDNO:6: EMTPVNPG or SEQ ID NO:2: QMTPVNPG would be biologically active, it seemed appropriate to employ the strategy of conformational constraint in an effort to produce stable analogs. Therefore, cyclic analogs were generated to limit the

number of conformers. Also hydrophilic analogs were generated to reduce the aggregation potential of the peptide by minimizing possible hydrophobic interactions discussed above.

A linear peptide precursor for a potential cyclic peptide analog was synthesized by adding a glutamine residue to the C-terminus of the native octapeptide. This strategy provides a number of advantages: a) the glycine residue, shown earlier to be essential for biological activity (Mesfin et al. 2000), would not be involved in a cyclizing peptide bond, thereby retaining a conformation more like that in the native protein; b) addition of glutamine to the C-terminus and retention of glutamic acid at the N-terminus maintains a charge (-1) on the peptide after cyclization which may be advantageous in diminishing hydrophobically-induced aggregation; and c) the allyl-protection of the C-terminal amino acid facilitates the chemistry necessary to effect cyclization. This linear nonapeptide (SEQ ID NO:7: EMTPVNPGQ) was found to inhibit the estrogen-stimulated growth of mouse uterus with maximal inhibition at dose of 1 μg/mouse. Thus adding a glutamine residue to the C-terminal of octapeptide SEQ ID NO:6: EMTPVNPG did not diminish its biological activity. *Cyclo*-(SEQ ID NO:7: EMTPVNPGQ) was then synthesized by a head-to-tail cyclization reaction of the precursor nonapeptide as described in the Materials and Methods section. *Cyclo*-(SEQ ID NO:7: EMTPVNPGQ) exhibited dose dependent inhibition of estrogen-stimulated growth of immature mouse uterus with maximal inhibitory activity at a dose of 10 μg per mouse (Figure 3a) and was also very active at the optimal dose of the linear peptides (1 μg). Nevertheless, storage experiments indicated that this cyclized peptide had somewhat extended but still rather

limited shelf-life (Figure 3b). After prolonged storage of six months, *cyclo*-(SEQ ID NO:7: EMTPVNPGQ) exhibited significant, albeit not optimal, biological activity (Figure 3b). Treatment of aged *cyclo*-(SEQ ID NO:7: EMTPVNPGQ) with 4 M urea restored the optimal biological activity which suggested that the cyclic peptide might also have aggregated during storage in the lyophilized state.

In order to generate a more hydrophilic analog, the linear octapeptide SEQ ID NO:4: EMTOVNOG, where O is hydroxyproline, was produced. Like the native octapeptide, this more hydrophilic species exhibited dose dependent inhibition of estrogen-stimulated growth of immature mouse uterus with maximal effect at a dose of 1 μg per mouse (Figure 4a). This result showed that the substitution (proline to 4-hydroxyproline) did not affect biological activity. Of critical importance, this hydrophilic octapeptide exhibited indefinite shelf-life when tested in the immature mouse uterine growth assay (Figure 4b). Further, octapeptide SEQ ID NO:4: EMTOVNOG inhibited the estrogen-dependent growth of MCF-7 human breast cancer xenografts indicating that peptide activity extended to human breast cancer tissue (Figure 5).

Cyclo-(SEQ ID NO:5: EMTOVNOGQ) was synthesized by head-to-tail cyclization of the precursor nonapeptide as described in the Materials and Methods section. This analog incorporates conformational constraint as well as hydrophilic substitution of amino acids. *Cyclo*-(SEQ ID NO:5: EMTOVNOGQ) exhibited dose dependent inhibition of estrogen-stimulated growth of immature mouse uterus with the maximum inhibitory activity at a dose of 10 μg per mouse (Figure 6a). Interestingly, this peptide retained significant anti-estrotrophic activity at doses higher than 10 μg/mouse, leading to a rather broad active dose

range. There was no evidence of toxicity to the mice, even at an effective dose of 1 mg/mouse. Furthermore, storage experiments indicated that cyclo-(SEQ ID NO:5: EMTOVNOGQ) had indefinite shelf-life (Figure 6b). This peptide was therefore tested for anti-breast cancer activity, and like the linear form it significantly inhibited the estrogen-dependent growth of MCF-7 human breast cancer xenografts (Figure 7).

As shown in Figure 8, the linear hydroxyproline-containing octapeptide did not interfere with estradiol binding to its receptor over a broad peptide concentration range, whereas raloxifene at a concentration of 100 nM completely inhibited this association.

The results of this study demonstrated that rational design approaches led to stepwise improvements in the therapeutic usefulness of an anti-estrotrophic peptide derived from AFP. The native peptide, SEQ ID NO:6: EMTPVNPG, and an analog with a minor modification, SEQ ID NO:2: QMTPVNPG, were problematic in that they lost their antiestrotrophic activity after a relatively short time of four to five weeks in storage. The urea as well as the chromatography data suggested that monomeric units of these peptides were aggregating during storage, leading to biologically inactive oligomers. By mass spectrometry analysis, there was no evidence of other possible changes such as asparagine deamidation, methionine oxidation, or pyroglutamate formation to account for loss in biological activity. In these octapeptides, it is likely that the hydrocarbon side chains of proline and valine created a hydrophobic pocket that associated with like pockets on adjacent monomers resulting in aggregation during storage. However, by increasing the peptide's hydrophilicity by replacing the two prolines with 4-

hydroxyprolines, this hydrophobic interaction was apparently impeded since the biological activity of the 4-hydroxyproline containing peptide did not diminish over time in storage. The net result is that this minor but novel design modification yielded a peptide with indefinite shelf life which is eminently more translatable to the clinic in comparison to a peptide with only four weeks of shelf life.

A variety of excipients were evaluated as cryoprotectants and lyoprotectants for the native AFP-derived octapeptide SEQ ID NO:6: EMTPVNPG. Mannitol as well as dodecylmaltoside significantly prolonged shelf-life of the peptide, whereas sucrose did not do so.

It was considered that cyclization of this peptide would limit its flexibility and thereby reduce the number of possible conformations it could assume and that this may in turn broaden the effective dose range assuming that different conformations are not all biologically active and may in fact interfere with each other. However, we did not want to lose the advantages accrued from the hydroxyproline substitutions, and therefore the two approaches were combined. This was remarkably successful. The cyclic, hydrophilic analog, *cyclo*-(SEQ ID NO:5: EMTOVNOGQ), has full biological activity and indefinite shelf-life. What was even more beneficial about this analog was that its dose-response curve was substantially broadened greatly increasing the range of doses over which the agent was effective. With linear peptide the dose-response curve was biphasic. A dose of 1.0 μg/mouse produced maximal inhibition, while higher doses showed reduced anti-estrotrophic activity. By contrast, with cyclo-(SEQ ID NO:5: EMTOVNOGQ) the shape of the dose-response curve was sigmoidal, with 1.0 μg up to 1.0 mg per mouse providing similar antiestrotrophic

activity. This greatly expands the active dose range and increases the probability of maintaining an effective dose in humans.

The finding that both linear and cyclized peptides completely stopped the growth of human MCF-7 breast cancer xenografts is highly significant and certainly demonstrates the relevance of these peptides to breast cancer therapeutics. The magnitude of their inhibitory effect was similar to that of tamoxifen which was also shown to stop MCF-7 breast cancer xenograft growth in an earlier study (Bennett et al. 1998). However, their mechanism of action seems to be different from that of tamoxifen, in that they do not interfere with estrogen binding to its receptor. This opens the possibility of combining these agents with tamoxifen or using them in place of tamoxifen when, as so often happens, an estrogen receptor positive breast cancer becomes resistant to tamoxifen (Howell et al. 1995).

EXAMPLE II

Prevention of Growth of Estrogen-Dependent Human Breast Cancers Sensitive and Resistant to Tamoxifen.

An 8-mer peptide (SEQ ID NO:4: EMTOVNOG) derived from alpha-fetoprotein (AFP) was compared to tamoxifen for activity against growth of human breast cancer xenografts implanted in immune-deficient mice. Both peptide and tamoxifen prevented growth of estrogen-receptor-positive MCF-7 and T47D human breast cancer xenografts. A subline of MCF-7, made resistant to tamoxifen by a six-month exposure to this drug in culture, was found to be resistant to tamoxifen in vivo. Peptide completely prevented the xenograft growth of this tamoxifen-resistant subline of MCF-7. Neither peptide nor tamoxifen were effective in slowing the xenograft

growth of the estrogen-receptor-negative MDA-MB-231 human breast cancer. A worrisome toxicity of tamoxifen is its hypertrophic effect on the uterus. In this study, tamoxifen was shown to stimulate the growth of the immature mouse uterus in vivo, and the peptide significantly inhibited tamoxifen's uterotrophic effect. The mechanism of action of peptide is different from that of tamoxifen in that the peptide does not interfere with the binding of [^{3}H]estradiol to the estrogen receptor. In conclusion, AFP-derived peptide appears to be a novel agent that interferes with the growth of tamoxifen-sensitive as well as tamoxifen-resistant estrogen-receptor-positive human breast cancers; it inhibits the uterotrophic side effect of tamoxifen; and thus it can be used in combination with or in place of tamoxifen for treatment of estrogen-receptor-positive human breast cancers.

It was determined in a screening assay of the inhibition of E_2-stimulated growth of immature mouse uterus by AFP-derived peptide that an effective anti-estrotrophic dose of SEQ ID NO:4: EMTOVNOG was 0.1 μg to 1.0 μg per mouse. Also, preliminary pharmacokinetic studies suggested that the biological half-life of this peptide in these mice was two to three hours. Therefore, for the breast cancer xenograft studies, it was deemed reasonable to administer this peptide twice a day at a dose of 1.0 μg per i.p. injection into tumor-bearing SCID mice. The ER+ MCF-7 human breast cancer was used as a first step in evaluating the effectiveness of this peptide against human breast cancer. As shown in Figure 9a, MCF-7 xenografts were completely dependent on estrogen for growth in SCID mice. They underwent an approximate threefold increase in tumor volume in the presence of a slow-release E_2 implant during the 30-day

observation. Without E_2 supplementation, there was no tumor growth. When E_2-supplemented mice were given twice-daily injections of 1 μg of peptide, there was no significant increase in tumor volume over the 30-day observation period. Similarly, when E_2-supplemented tumors were given once-daily injections of 50 μg of tamoxifen, there was no increase in tumor volume. When a subline of MCF-7 that had been made resistant to tamoxifen in cell culture was used, a rather provocative outcome was obtained. Xenografts of this subline were still completely dependent on E_2 for growth (Figure 9b). With E_2 supplementation, they grew somewhat slower than the parent line, approximately doubling in tumor volume over the 30-day observation period. Interestingly, tamoxifen was only minimally effective in retarding the growth of this subline, such that at day 30 after tumor implantation, the tumor volume in the E_2 plus tamoxifen group was not significantly smaller than that found in the group receiving E_2 only (Figure 9b). In contrast, peptide completely stopped the growth of this tamoxifen-resistant MCF-7 subline. The peptide was also tested on ER+ T47D human breast cancer. Like the MCF-7, T47D xenografts were completely dependent on E_2 supplementation for growth (Figure 10) and more than doubled in tumor volume over the 30-day observation period. Daily treatment with peptide during this time interval completely prevented tumor growth (Figure 10). An ER-human breast cancer, MDA-MB-231, was then tested for sensitivity to peptide. This tumor grew independent of estrogen supplementation and demonstrated a rather aggressive growth rate during the second two weeks of the observation period (Figure 11). Daily treatment with peptide had no effect on the growth of this tumor at any time during the 30 day observation period (Figure 11).

Similarly, tamoxifen did not affect the growth of this ER- tumor.

It appears that peptide interferes with E-dependent, but not E-independent, breast cancer growth. As a first step in evaluating the mechanism of action of this peptide, it was compared to tamoxifen as a competitor of E_2 for binding to ER. As shown in Figure 12, tamoxifen exhibits its well documented interference with E_2 binding to ER. The IC_{50} and IC-100 for tamoxifen were 5×10^{-8} M and 5×10^{-7} M respectively. In contrast, peptide produced no interference with E_2 binding to ER over a peptide concentration range of 10^{-10} M to 10^{-5} M. Thus the mechanism by which peptide interferes with response to estrogen is clearly different from that of tamoxifen.

A troublesome side effect of tamoxifen in women has been its hypertrophic effect on the uterus (Assikis et al. 1995). It is likewise an estrogen agonist in the murine uterus. As shown in Figure 13a, tamoxifen stimulated the growth of immature mouse uterus by 50% at a dose of 1 μg/mouse. Tamoxifen's potency was approximately one-tenth that of E_2, but nevertheless, Figure 13a reaffirms that tamoxifen acts as an estrogen agonist on the murine uterus, even though it antagonizes the effect of estrogen on cancer of the breast. Peptide, on the other hand, had no uterotrophic effect whatsoever (Figure 13a), even at a dose of 10 μg/mouse, which is tenfold greater than the dose employed to prevent breast cancer growth (Figures 9a, 9b and 11). Moreover, peptide inhibited the uterotrophic effect of tamoxifen as well as that of estradiol (Figure 13b).

The results of this study demonstrate that a synthetic 8-mer peptide derived from AFP prevented the E_2-stimulated growth of human breast cancer xenografts, including an ER+ breast cancer line that had become

resistant to tamoxifen during chronic exposure to this drug in culture. This acquired resistance is similar to what happens in patients whose cancers become resistant to tamoxifen during chronic treatment with this drug (Norris et al. 1999). The peptide had no effect on the growth of ER- breast cancer, which is consistent with the activity found with its parent protein, AFP (Bennett et al. 1998).

Although preferred embodiments have been depicted and described in detail herein, it will be apparent to those skilled in the relevant art that various modifications, additions, substitutions and the like can be made without departing from the spirit of the invention and these are therefore considered to be within the scope of the invention as defined in the claims which follow.

Table I. Effect of urea on the biological activity of stored peptide.

	Test Agent	*Storage Time*	*% Inhibition of E2-Stimulated Growth of Immature Mouse Uterus ± SE* [b]
I	Octapeptide SEQ ID NO:2: QMTPVNPG	Fresh	38 ± 3
II	Octapeptide SEQ ID NO:2: QMTPVNPG	Stored over 1 year	0 ± 2
III	II after Urea Treatment [a]	None	34 ± 4
IV	Scrambled Octapeptide	Fresh	2 ± 5
V	IV after Urea Treatment	None	0 ± 4

[a] Peptides were dissolved in phosphate buffered saline pH 7.4 at a concentration of 200 μg/ml. They were then diluted to 20 μg/ml in 4 M urea and incubated at room temperature for one hour. After incubation they were diluted to 2 μg/ml in buffer and 0.5 ml of this preparation (1 μg) was injected into mice as described in legend to Figures 1a and 1b. This diluted dose of urea had no adverse effects on mice.

[b] Assessed as described in legend to Figure 1a and 1b.

REFERENCES

Assikis, V.J., et al., Int J Gynecol Obstet 49:241-257 (1995).

Bauer, H.H., et al., Biochemistry 33:12276-12282 (1994).

Bennett, J.A., et al., Clin Cancer Res 4:2877-2884 (1998).

Christmanson, L., et al., Diabetologia 36:183-188 (1993).

Couinaud, C., et al., Ann Chir 27:151-156 (1973).

Eisele, L.E., et al., J Pept Res 57:29-38 (2001).

Fisher, B., et al., N Engl J Med 320:479-484 (1989).

Fisher, B., et al., J Natl Cancer Inst 90:1371-1388 (1998).

Gierthy, J.F., et al., J Cell Biochem 45:177-187 (1991).

Goss, P.E., et al., J Clin Oncol 19:881-894 (2001).

Halverson, K., et al., Biochemistry 29:2639-2644 (1990).

Hilbich, C., et al., J Mol Biol 218:149-163 (1991).

Hilbich, C., et al., J Mol Biol 228:460-473 (1992).

Howell, A., et al., Lancet 345:29-30 (1995).

Hughes, S.R., et al., Proc Natl Acad Sci USA 93:2065-2070 (1996).

Jacobson, H.I., et al., in *Biological Activities of Alpha-Fetoprotein*, eds. Mizejewski, G.J. and Jacobson, H.I., CRC Press, Inc., Boca Raton, FL, pp. 94-100 (1989).

Jensen, E.V., et al., in *Cancer Medicine*, eds. Holland, J.F., et al., Williams & Wilkins, Baltimore, MD, pp. 1049-1060 (1996).

Kendrick, B.S., et al., J Pharm Sci 87:1069-1076 (1998).

Martin, M.B., et al., Breast Cancer Res Treat 31:183-189 (1994).

Mesfin, F.B., et al., Biochim Biophys Acta 1501:33-43 (2000).

Mizejewski, G.J., et al., Proc Natl Acad Sci USA 80:2733-2737 (1983).

Norris, J.D., et al., Science 285:744-746 (1999).

Nystedt, M., et al., Acta Oncol 39:959-968 (2000).

Richardson, B.E., et al., Am J Epidemiol 148:719-727 (1998).

Sluzky, V., et al., Proc Natl Acad Sci USA 88:9377-9381 (1991).

Sonnenschein, C., et al., J Natl Cancer Inst 64:1147-1152 (1980).

Wu, J.T., et al., Clin Chem 31:1692-1697 (1985).

What Is Claimed Is:

1. A peptide of eight to twenty amino acids in length which comprises a hydrophilic analog of an alpha-fetoprotein peptide having SEQ ID NO:6: EMTPVNPG.

2. The peptide of claim 1 wherein the peptide is linear.

3. The peptide of claim 1 wherein the peptide is cyclic.

4. The peptide of claim 1 wherein one or more of the amino acids is a (D)-amino acid.

5. The peptide of claim 1 which comprises an amino acid sequence selected from the group consisting of:

SEQ ID NO:2: QMTPVNPG
SEQ ID NO:3: QMTPVNPGE
SEQ ID NO:4: EMTOVNOG
SEQ ID NO:5: EMTOVNOGQ
SEQ ID NO:7: EMTPVNPGQ
SEQ ID NO:8: EMTOVNPG
SEQ ID NO:9: EMTOVNPGQ
SEQ ID NO:10: EMTPVNOG and
SEQ ID NO:11: EMTPVNOGQ,

or a peptidomimetic of said peptide.

6. The peptide of claim 1 labeled with a detectable marker.

7. The peptide of claim 6 wherein the detectable marker is a radiolabel.

8. The peptide of claim 7 wherein the radiolabel is a radiolabeled additional amino acid.

9. A dimeric peptide consisting of two peptides of claim 1.

10. The dimeric peptide of claim 9 wherein the two peptides are SEQ ID NO:4 and SEQ ID NO:5.

11. The dimeric peptide of claim 9 wherein the two peptides are SEQ ID NO:3 and SEQ ID NO:10.

12. A multimeric peptide consisting of three or more peptides of claim 1.

13. A composition comprising the peptide of claim 1 and a suitable carrier.

14. The composition of claim 13 wherein the suitable carrier includes a stabilization excipient.

15. The composition of claim 14 wherein the stabilization excipient is dodecyl maltoside or mannitol.

16. An antibody that specifically binds to the peptide of claim 1.

17. A method of reducing estrogen-stimulated growth of cells, the method comprising exposing cells to the peptide of claim 1.

18. The method of claim 17 which further comprises exposing the cells to tamoxifen before, during, or after exposing the cells to the peptide.

19. A method of treating or preventing cancer in a subject which comprises administering to the subject an amount of the peptide of claim 1 effective to treat or prevent cancer in the subject.

20. The method of claim 19 wherein the cancer is estrogen-dependent cancer.

21. The method of claim 20 wherein the estrogen-dependent cancer is breast cancer.

22. The method of claim 19 which further comprises administering a suitable amount of tamoxifen to the subject before, during, or after administering the peptide to the subject.

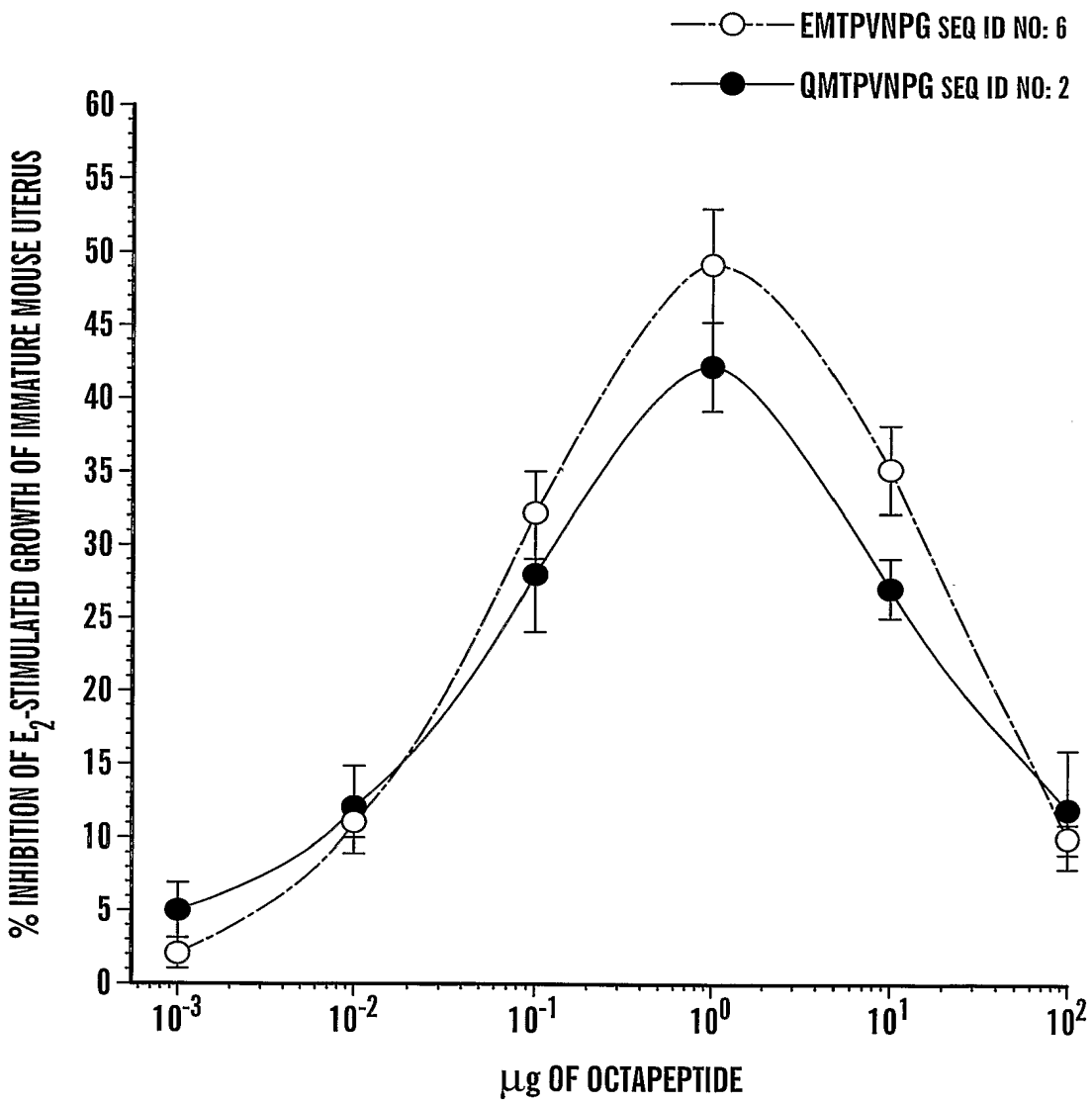

EMTPVNPG SEQ ID NO: 6
QMTPVNPG SEQ ID NO: 2
% INHIBITION OF E_2-STIMULATED GROWTH OF IMMATURE MOUSE UTERUS
60
55
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
10^{-3}
10^{-2}
10^{-1}
10^{0}
10^{1}
10^{2}
μg OF OCTAPEPTIDE

FIG. 1a

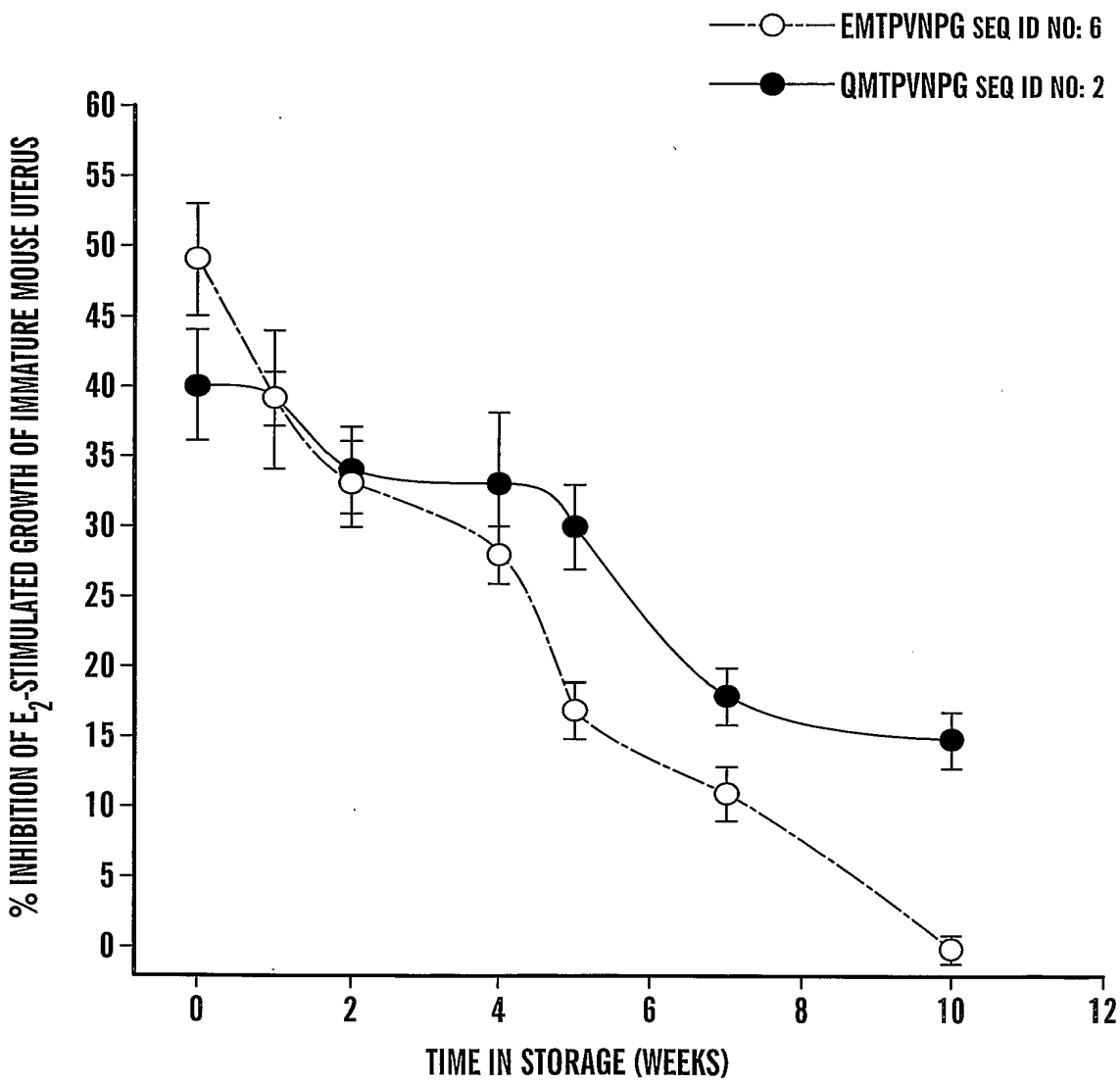

EMTPVNPG SEQ ID NO: 6
QMTPVNPG SEQ ID NO: 2
% INHIBITION OF E_2-STIMULATED GROWTH OF IMMATURE MOUSE UTERUS
60
55
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
0
2
4
6
8
10
12
TIME IN STORAGE (WEEKS)

FIG. 1b

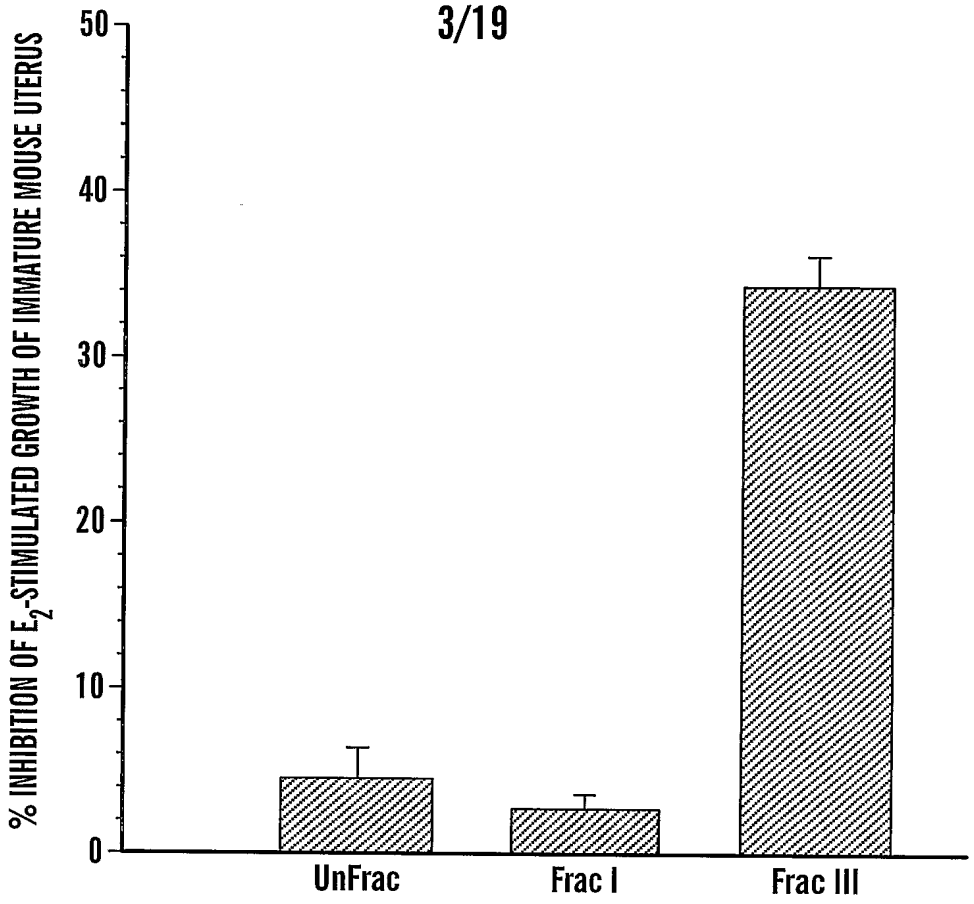

% INHIBITION OF E_2-STIMULATED GROWTH OF IMMATURE MOUSE UTERUS
50
40
30
20
10
0
UnFrac
Frac I
Frac III

FIG. 2a

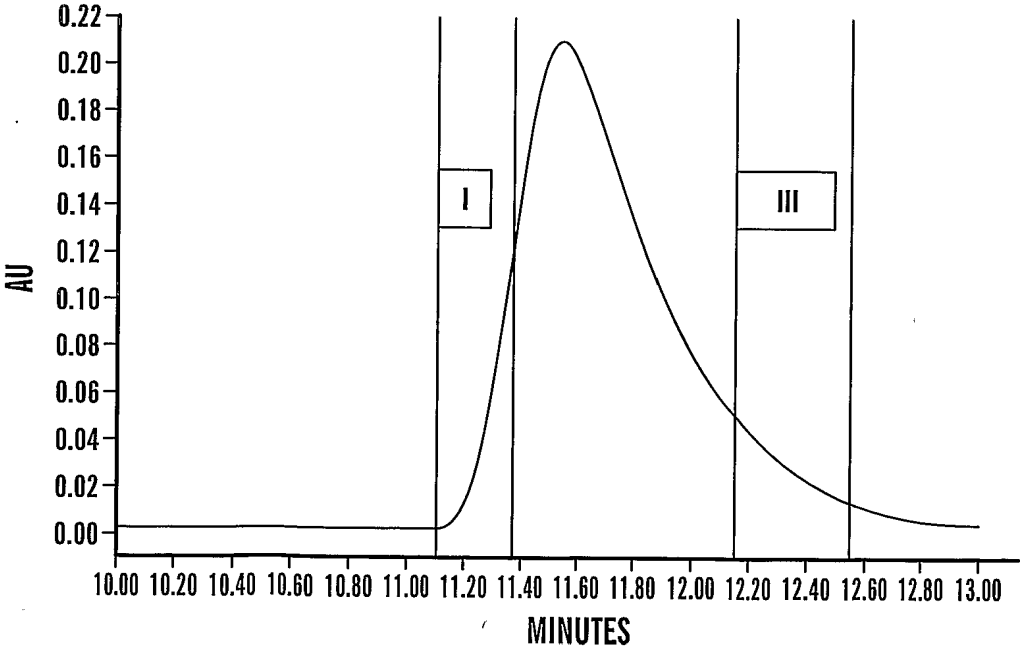

AU
0.22
0.20
0.18
0.16
0.14
0.12
0.10
0.08
0.06
0.04
0.02
0.00
I
III
10.00 10.20 10.40 10.60 10.80 11.00 11.20 11.40 11.60 11.80 12.00 12.20 12.40 12.60 12.80 13.00
MINUTES

FIG. 2b

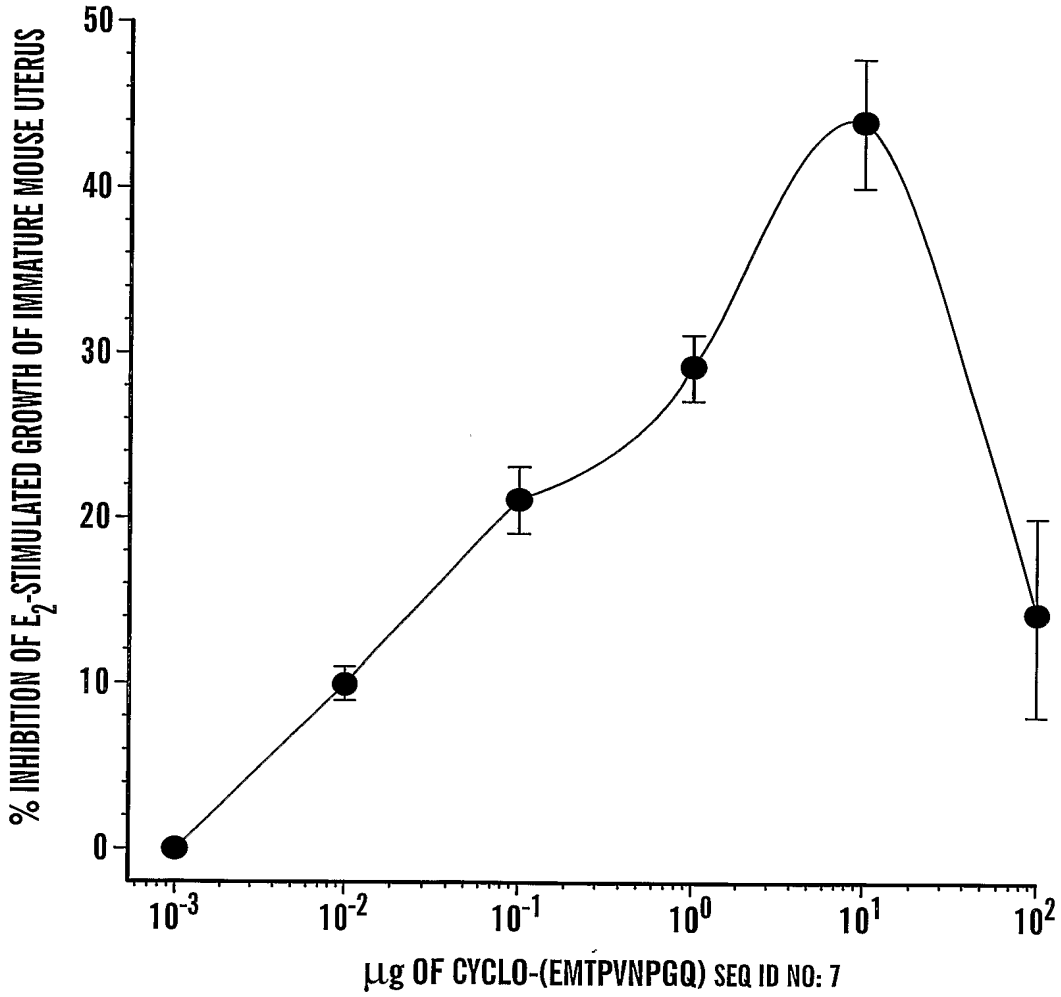

% INHIBITION OF E_2-STIMULATED GROWTH OF IMMATURE MOUSE UTERUS
50
40
30
20
10
0
10^{-3}
10^{-2}
10^{-1}
10^{0}
10^{1}
10^{2}
µg OF CYCLO-(EMTPVNPGQ) SEQ ID NO: 7

FIG. 3a

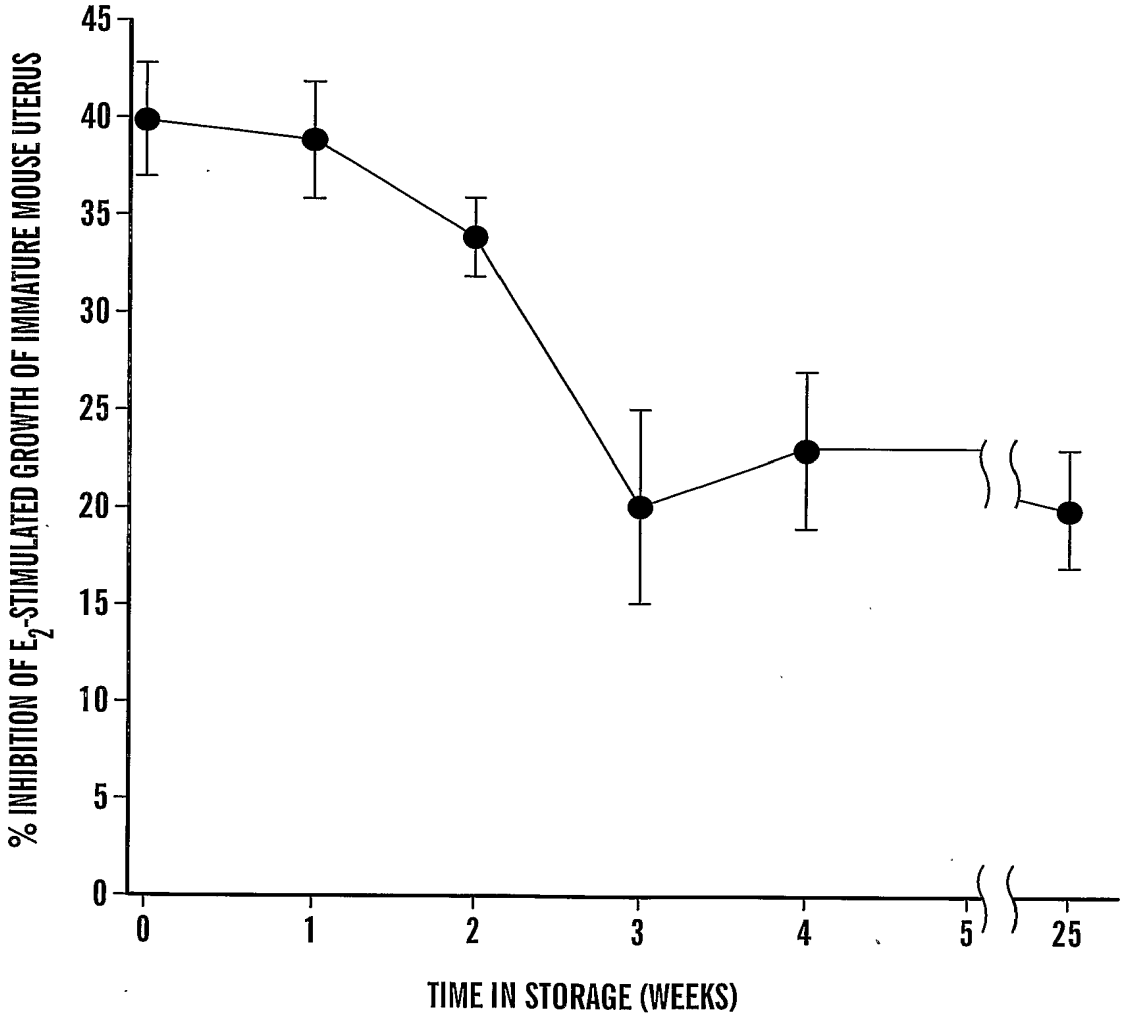

% INHIBITION OF E_2-STIMULATED GROWTH OF IMMATURE MOUSE UTERUS
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
0
1
2
3
4
5
25
TIME IN STORAGE (WEEKS)

FIG. 3b

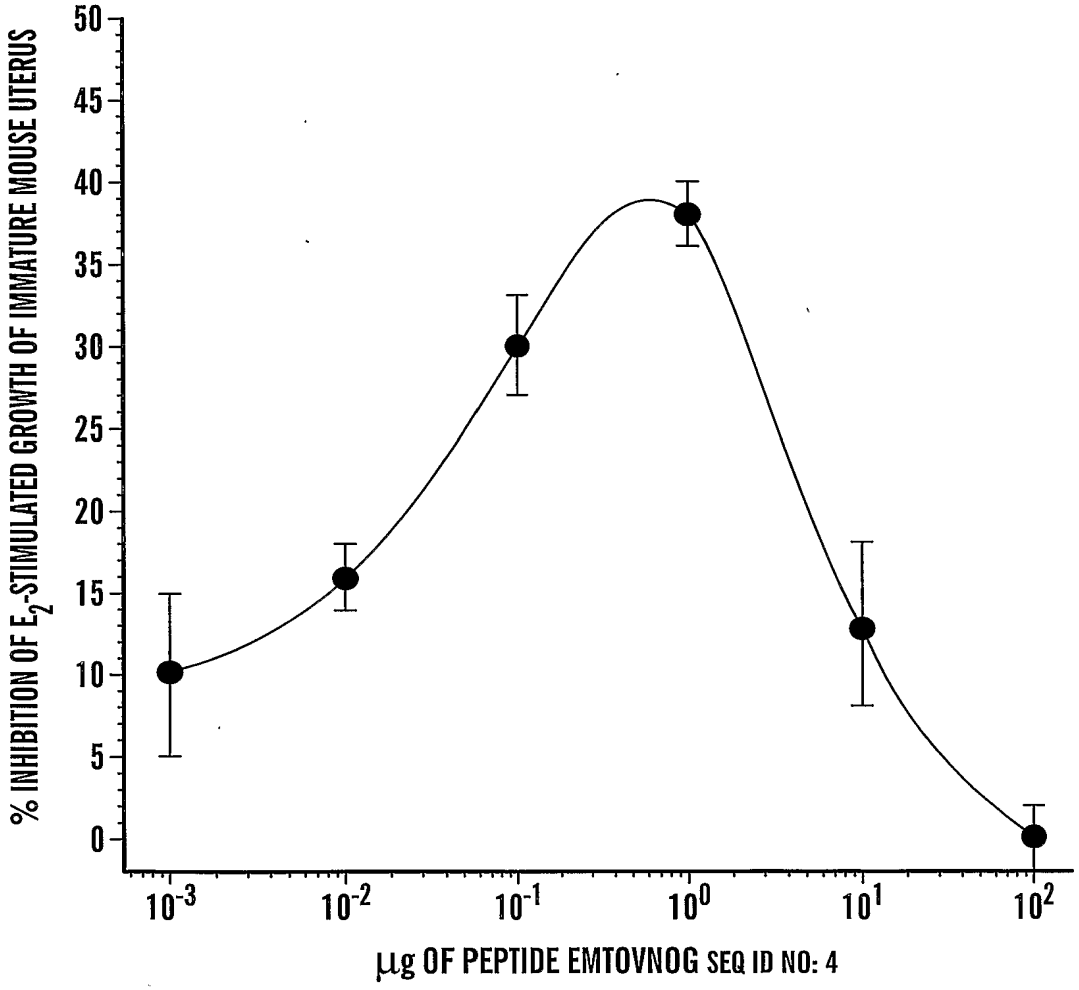

% INHIBITION OF E_2-STIMULATED GROWTH OF IMMATURE MOUSE UTERUS
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
10^{-3}
10^{-2}
10^{-1}
10^{0}
10^{1}
10^{2}
μg OF PEPTIDE EMTOVNOG SEQ ID NO: 4

FIG. 4a

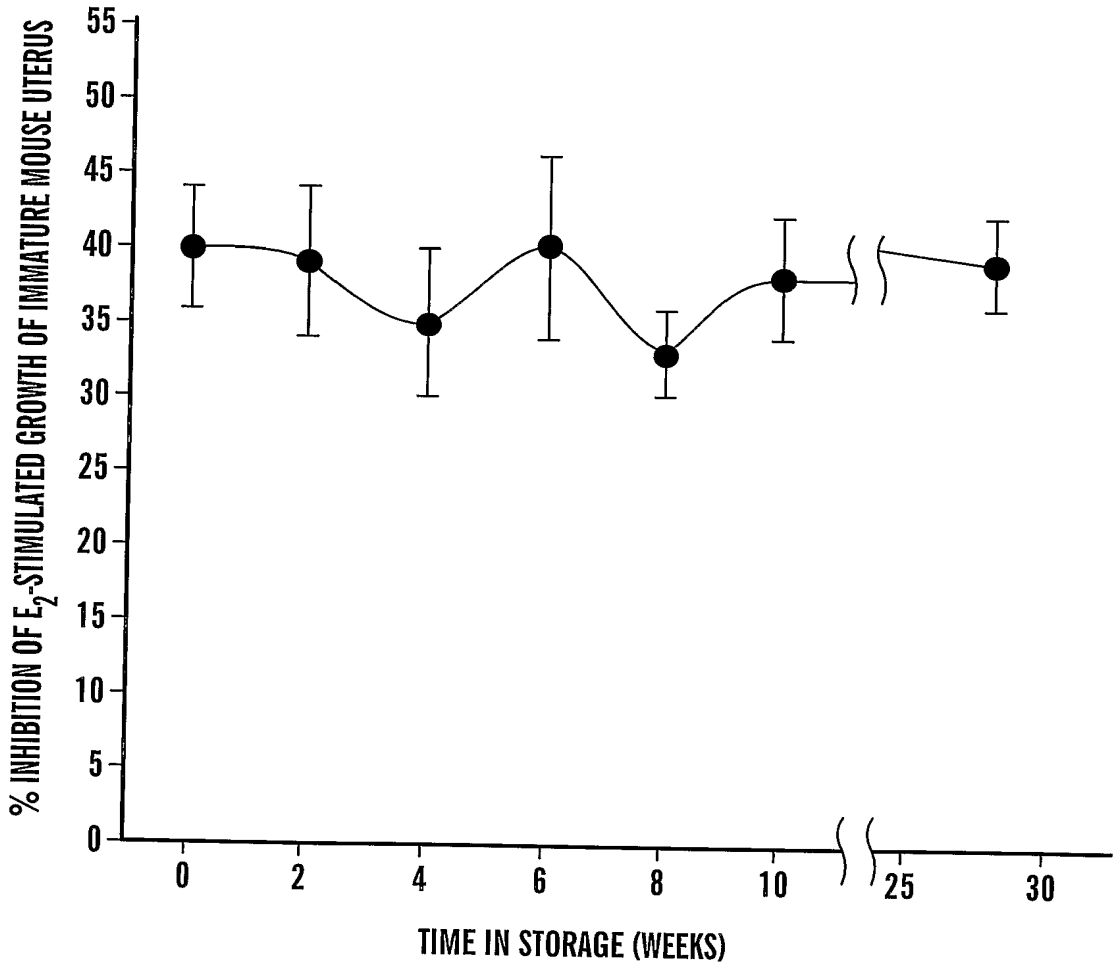

% INHIBITION OF E_2-STIMULATED GROWTH OF IMMATURE MOUSE UTERUS
55
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
0
2
4
6
8
10
25
30
TIME IN STORAGE (WEEKS)

FIG. 4b

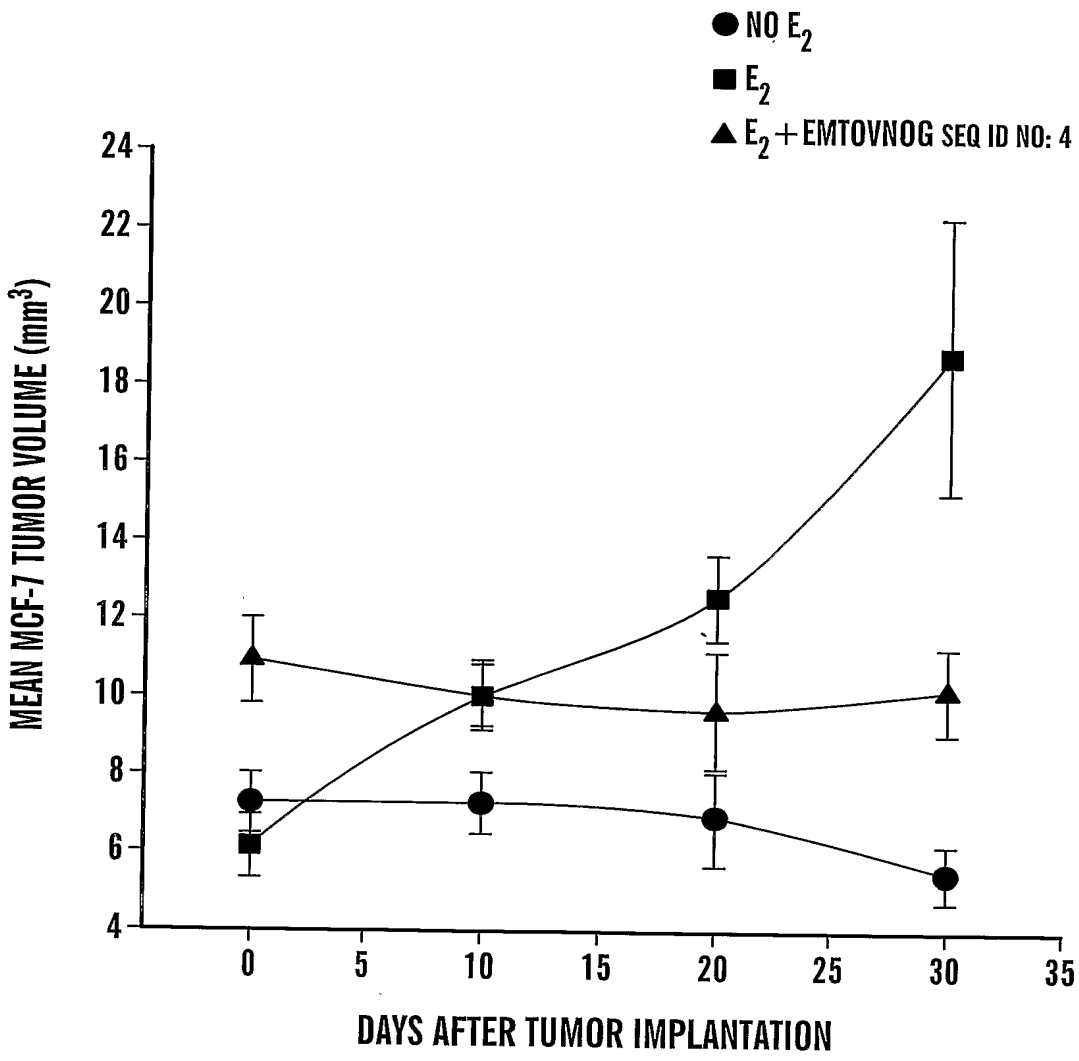

NO E_2
E_2
E_2 + EMTOVNOG SEQ ID NO: 4
MEAN MCF-7 TUMOR VOLUME (mm^3)
24
22
20
18
16
14
12
10
8
6
4
0
5
10
15
20
25
30
35
DAYS AFTER TUMOR IMPLANTATION

FIG. 5

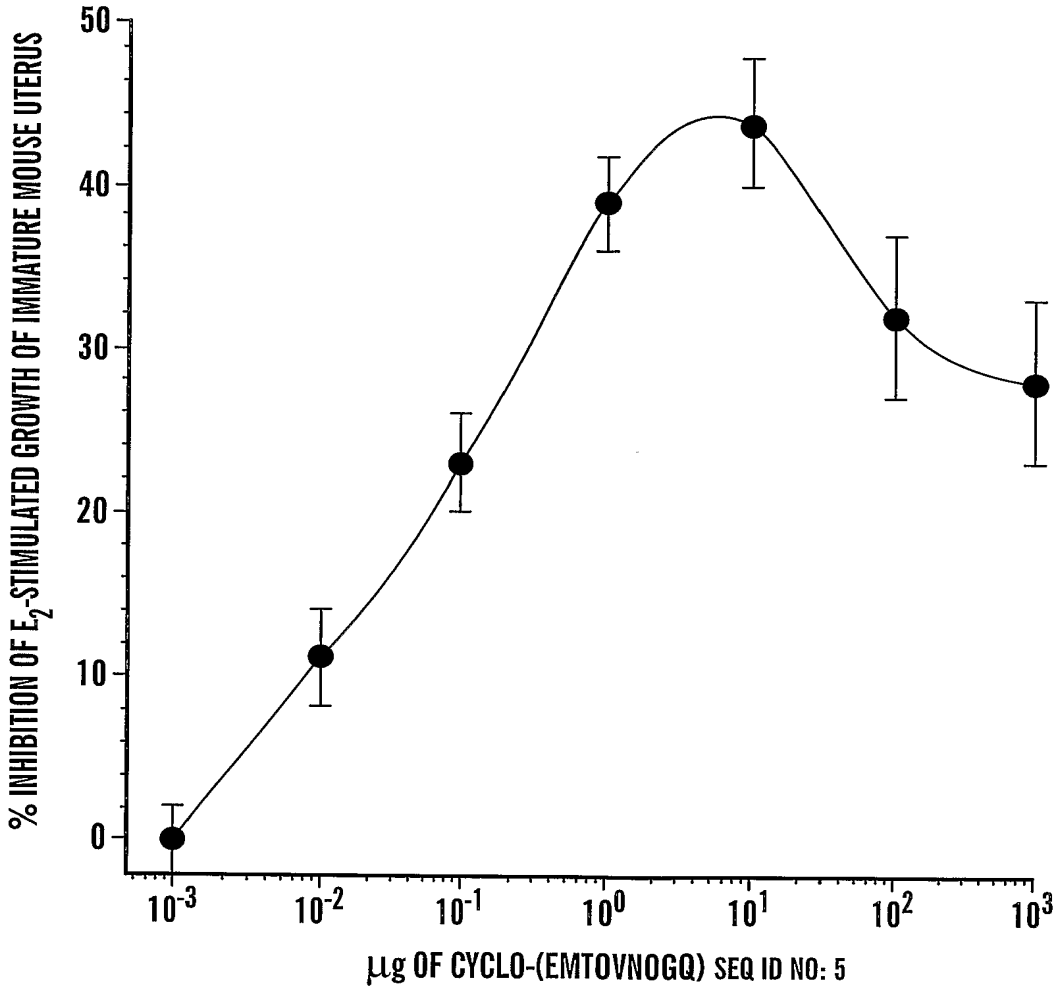

% INHIBITION OF E_2-STIMULATED GROWTH OF IMMATURE MOUSE UTERUS
50
40
30
20
10
0
10^{-3}
10^{-2}
10^{-1}
10^{0}
10^{1}
10^{2}
10^{3}
μg OF CYCLO-(EMTOVNOGQ) SEQ ID NO: 5

FIG. 6a

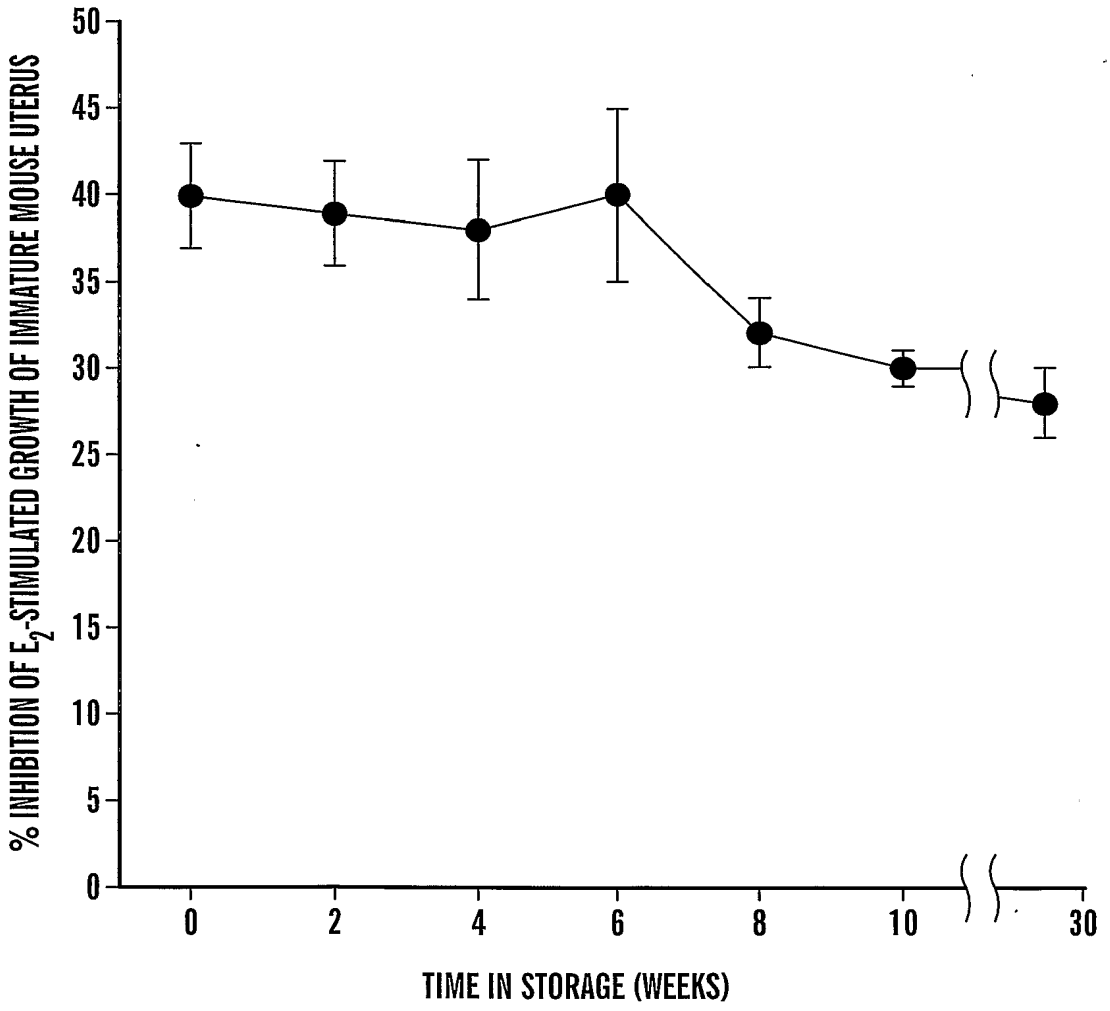

% INHIBITION OF E_2-STIMULATED GROWTH OF IMMATURE MOUSE UTERUS
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
0
2
4
6
8
10
30
TIME IN STORAGE (WEEKS)

FIG. 6b

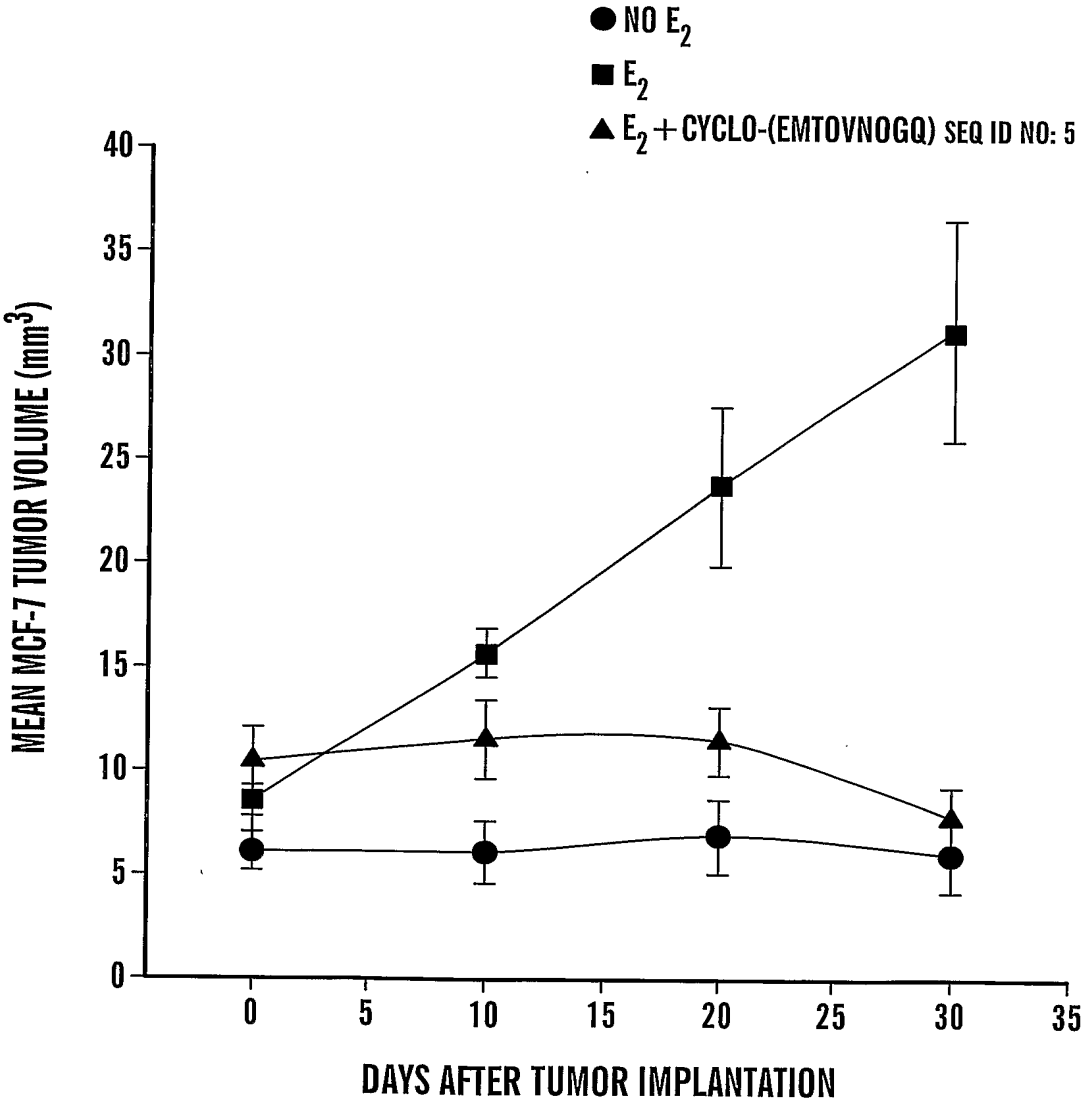

NO E_2
E_2
E_2 + CYCLO-(EMTOVNOGQ) SEQ ID NO: 5
MEAN MCF-7 TUMOR VOLUME (mm^3)
0
5
10
15
20
25
30
35
40
0
5
10
15
20
25
30
35
DAYS AFTER TUMOR IMPLANTATION

FIG. 7

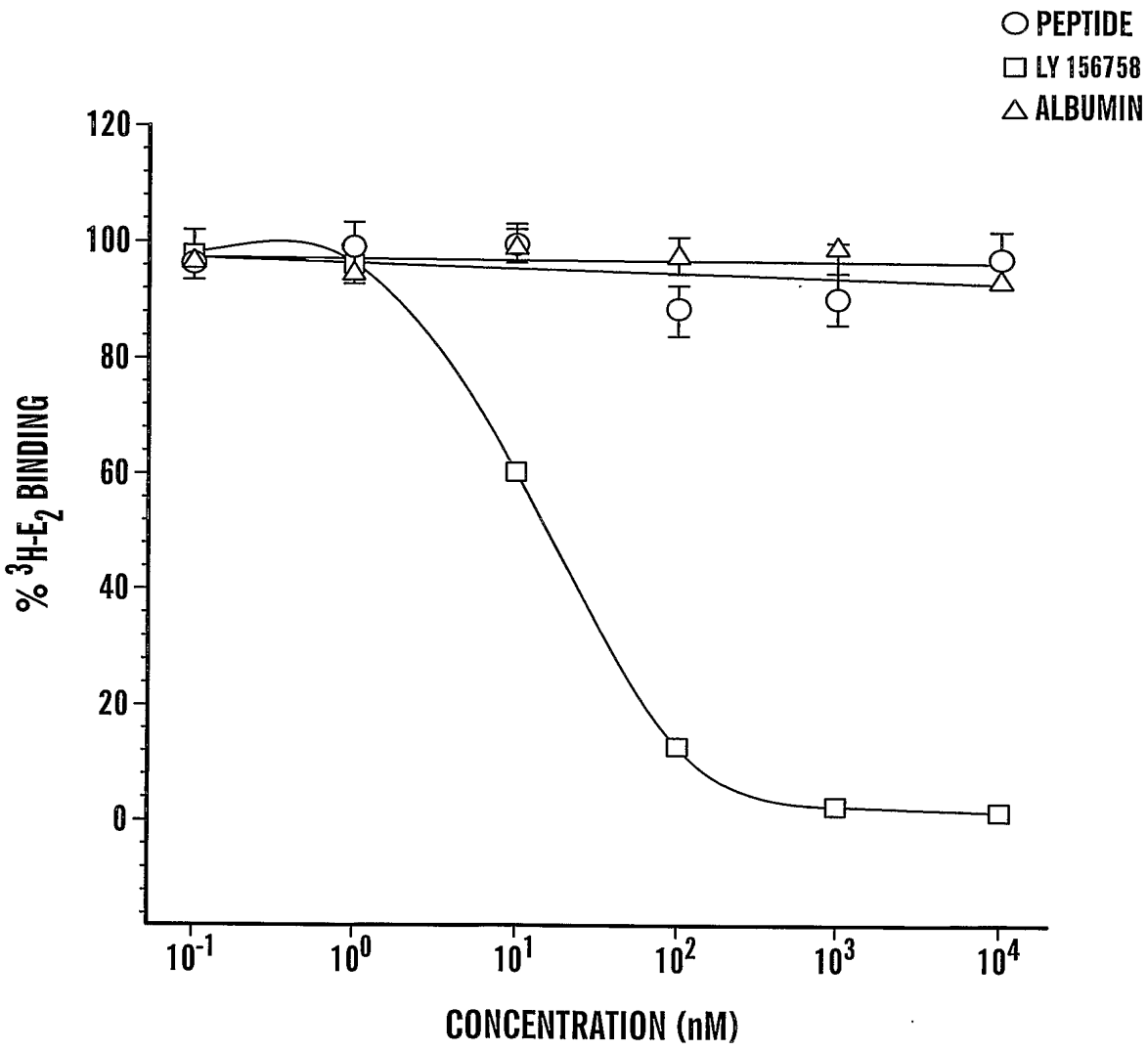

PEPTIDE
LY 156758
ALBUMIN
120
100
80
60
40
20
0
% ^{3}H-E_2 BINDING
10^{-1}
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
CONCENTRATION (nM)

FIG. 8

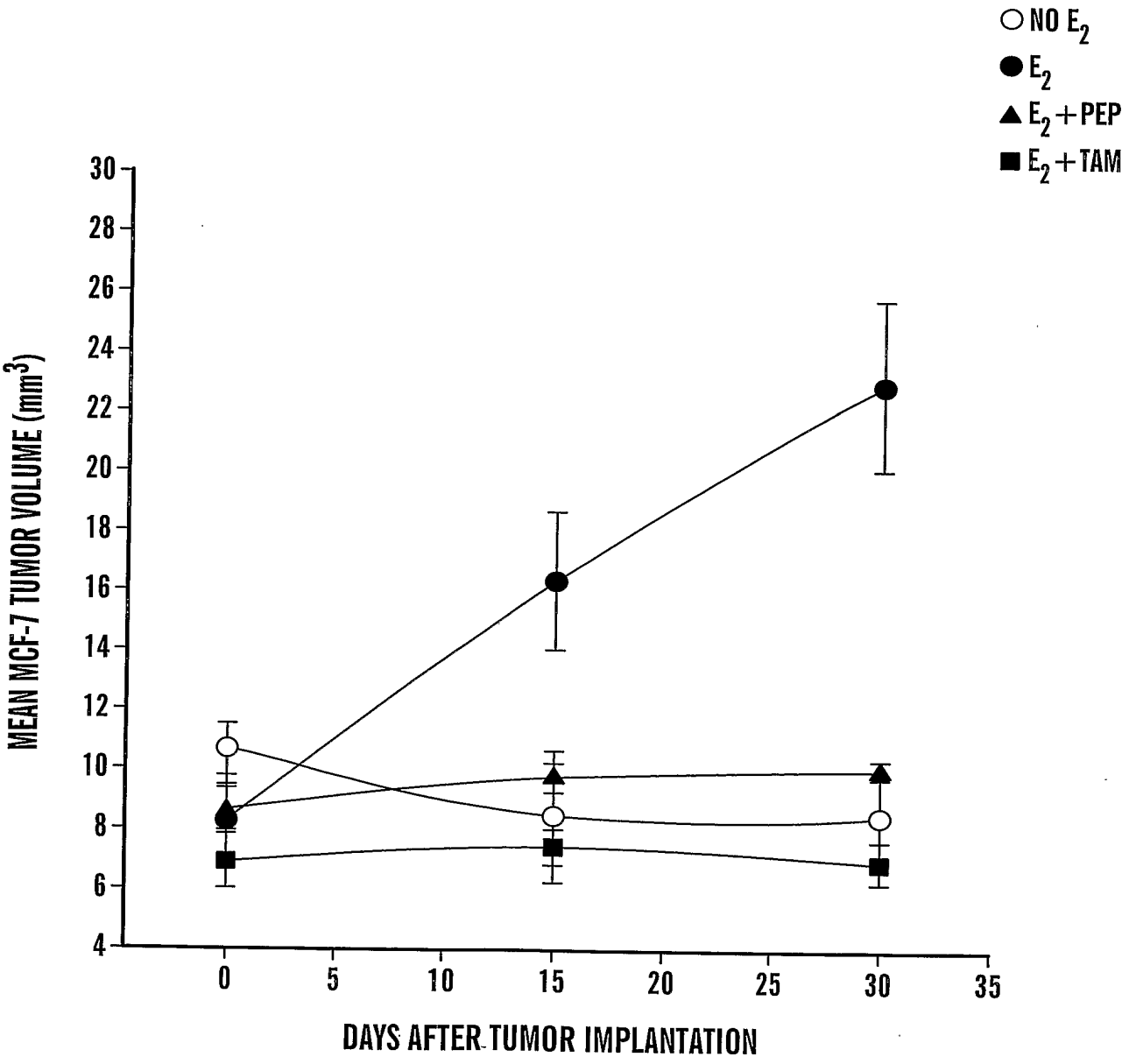

NO E_2
E_2
E_2 + PEP
E_2 + TAM
MEAN MCF-7 TUMOR VOLUME (mm^3)
30
28
26
24
22
20
18
16
14
12
10
8
6
4
0
5
10
15
20
25
30
35
DAYS AFTER TUMOR IMPLANTATION

FIG. 9a

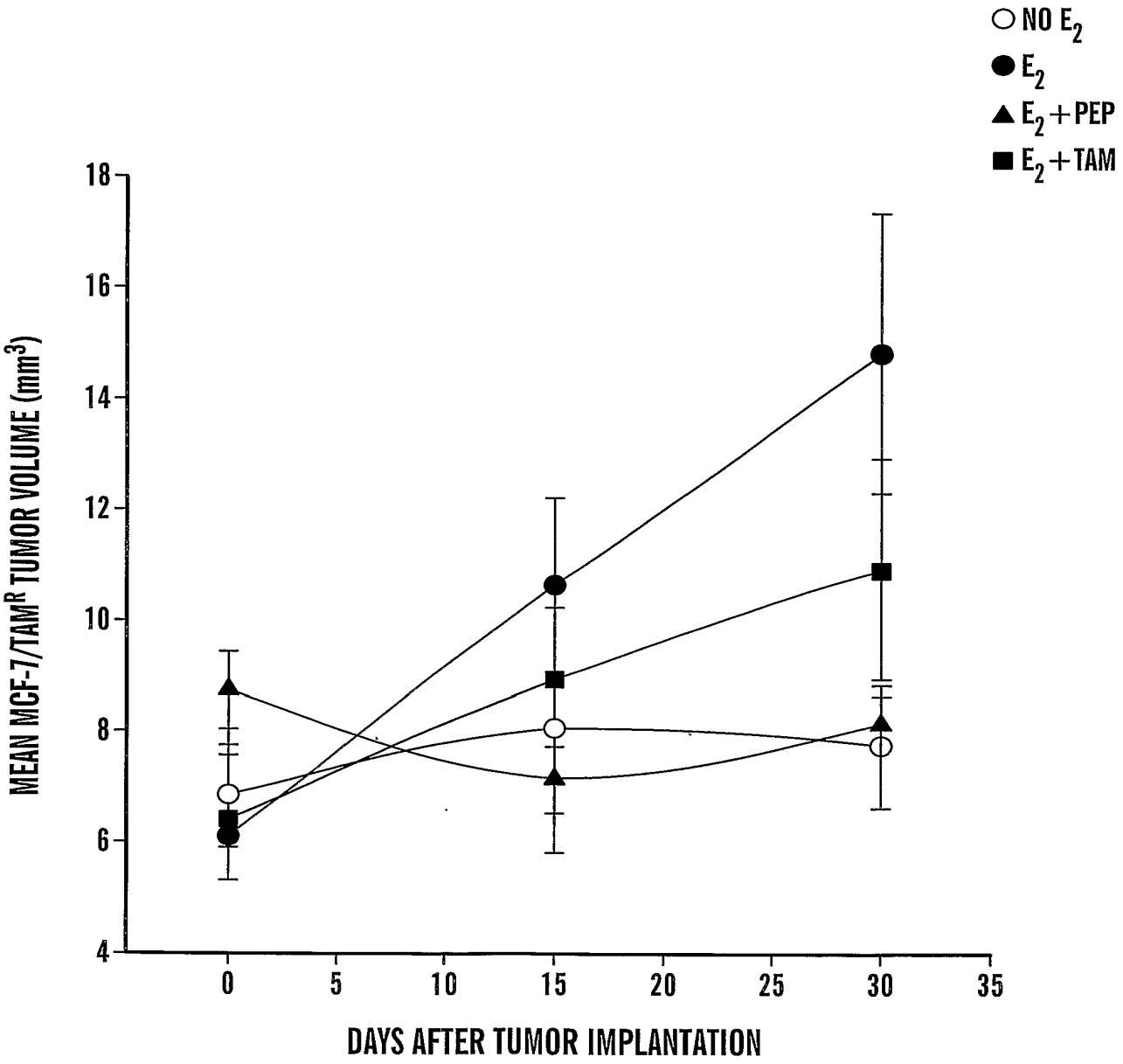

NO E_2
E_2
E_2 + PEP
E_2 + TAM
MEAN MCF-7/TAM^R TUMOR VOLUME (mm^3)
18
16
14
12
10
8
6
4
0
5
10
15
20
25
30
35
DAYS AFTER TUMOR IMPLANTATION

FIG. 9b

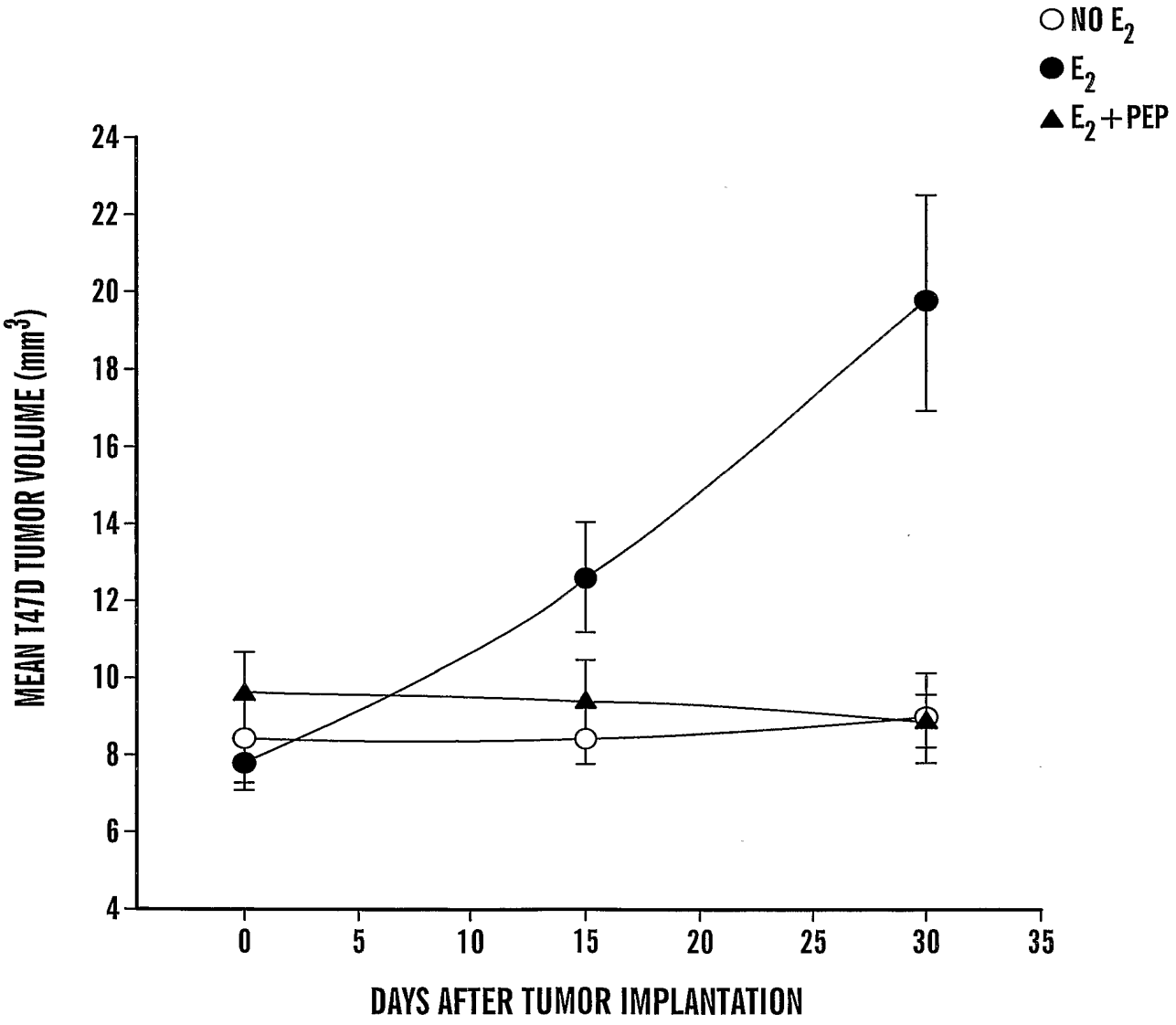

NO E_2
E_2
E_2 + PEP
MEAN T47D TUMOR VOLUME (mm^3)
24
22
20
18
16
14
12
10
8
6
4
0
5
10
15
20
25
30
35
DAYS AFTER TUMOR IMPLANTATION

FIG. 10

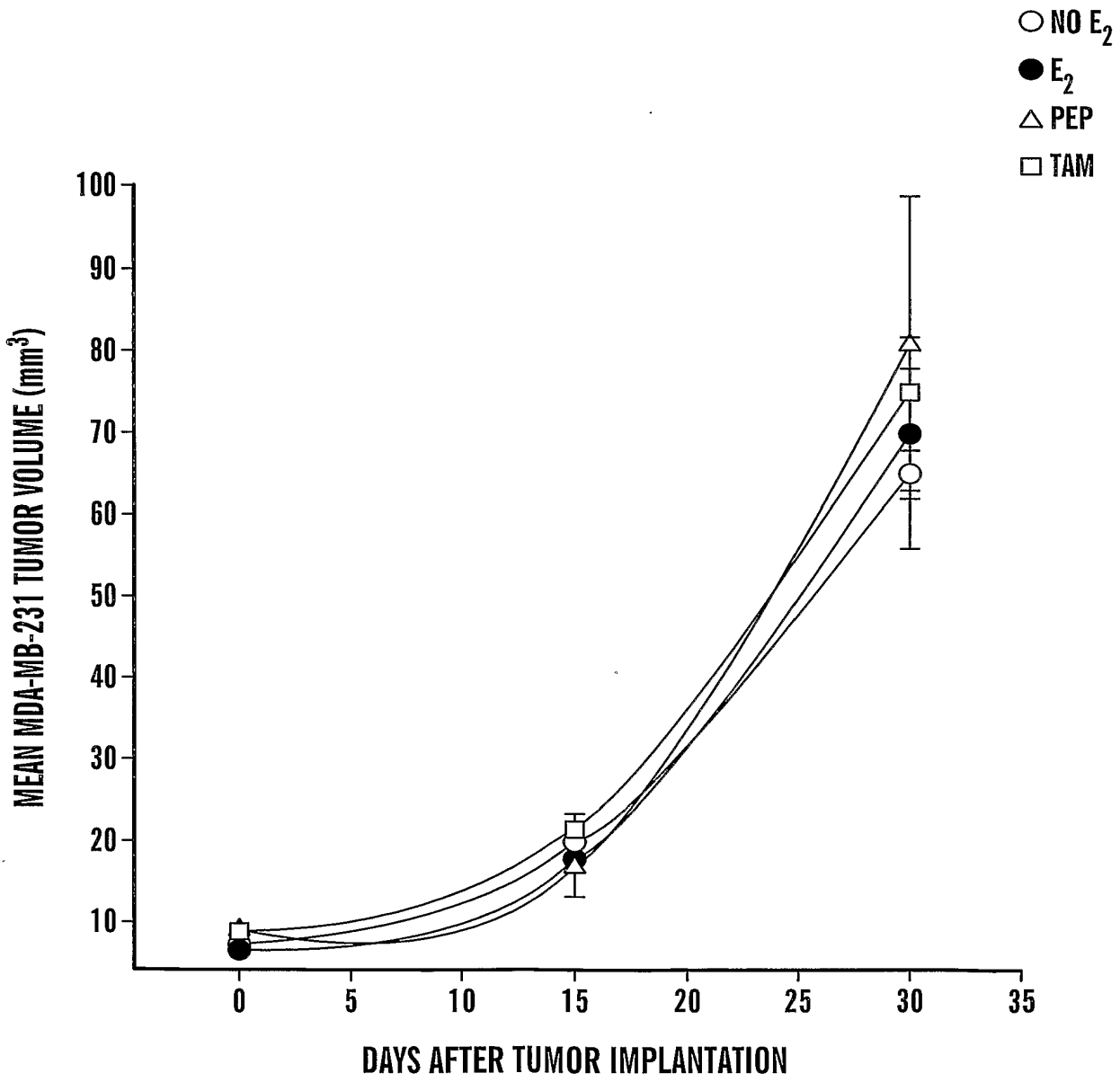

NO E_2
E_2
PEP
TAM
MEAN MDA-MB-231 TUMOR VOLUME (mm^3)
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
5
10
15
20
25
30
35
DAYS AFTER TUMOR IMPLANTATION

FIG. 11

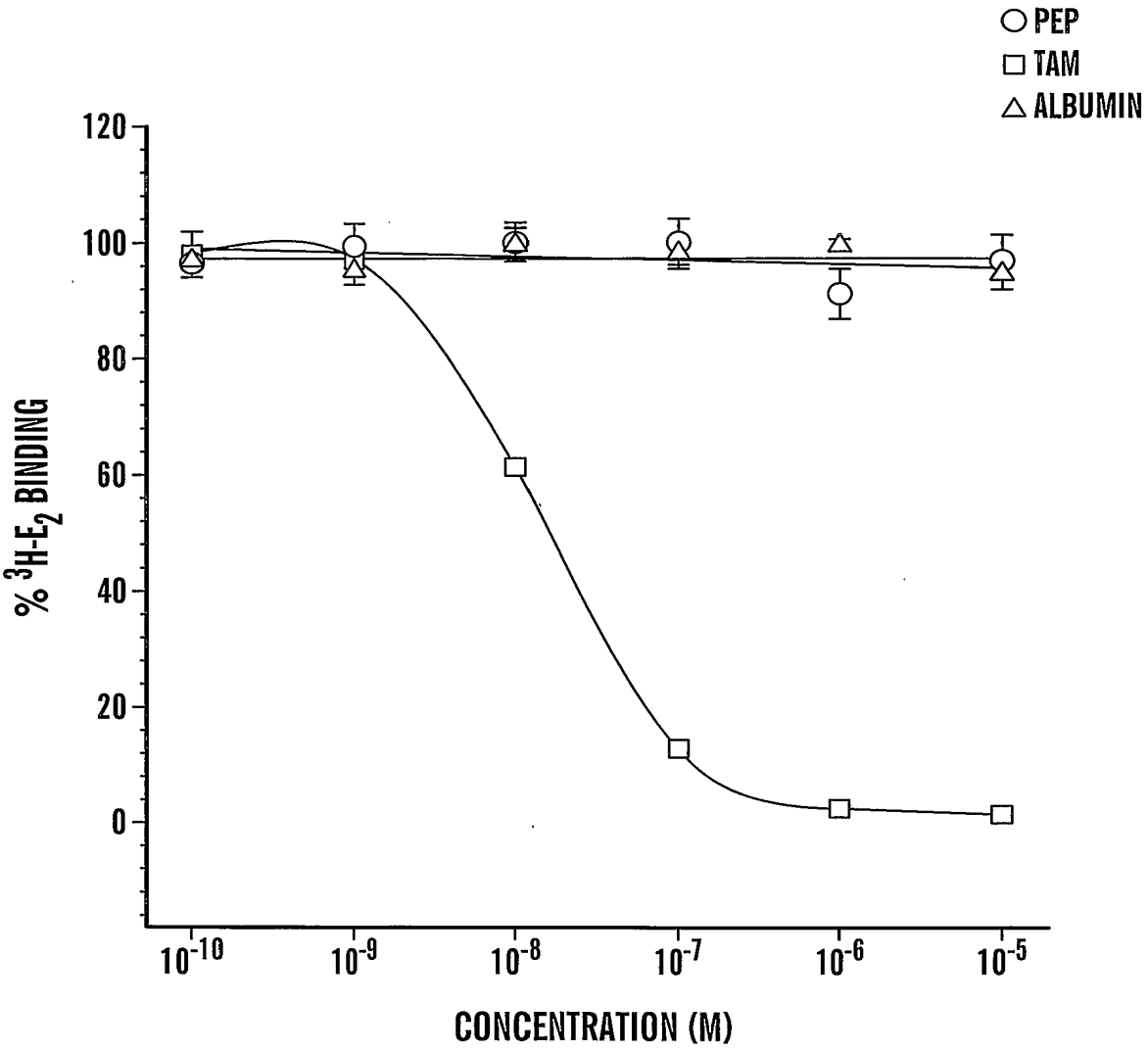

PEP
TAM
ALBUMIN
120
100
80
60
40
20
0
% ^{3}H-E_2 BINDING
10^{-10}
10^{-9}
10^{-8}
10^{-7}
10^{-6}
10^{-5}
CONCENTRATION (M)

FIG. 12

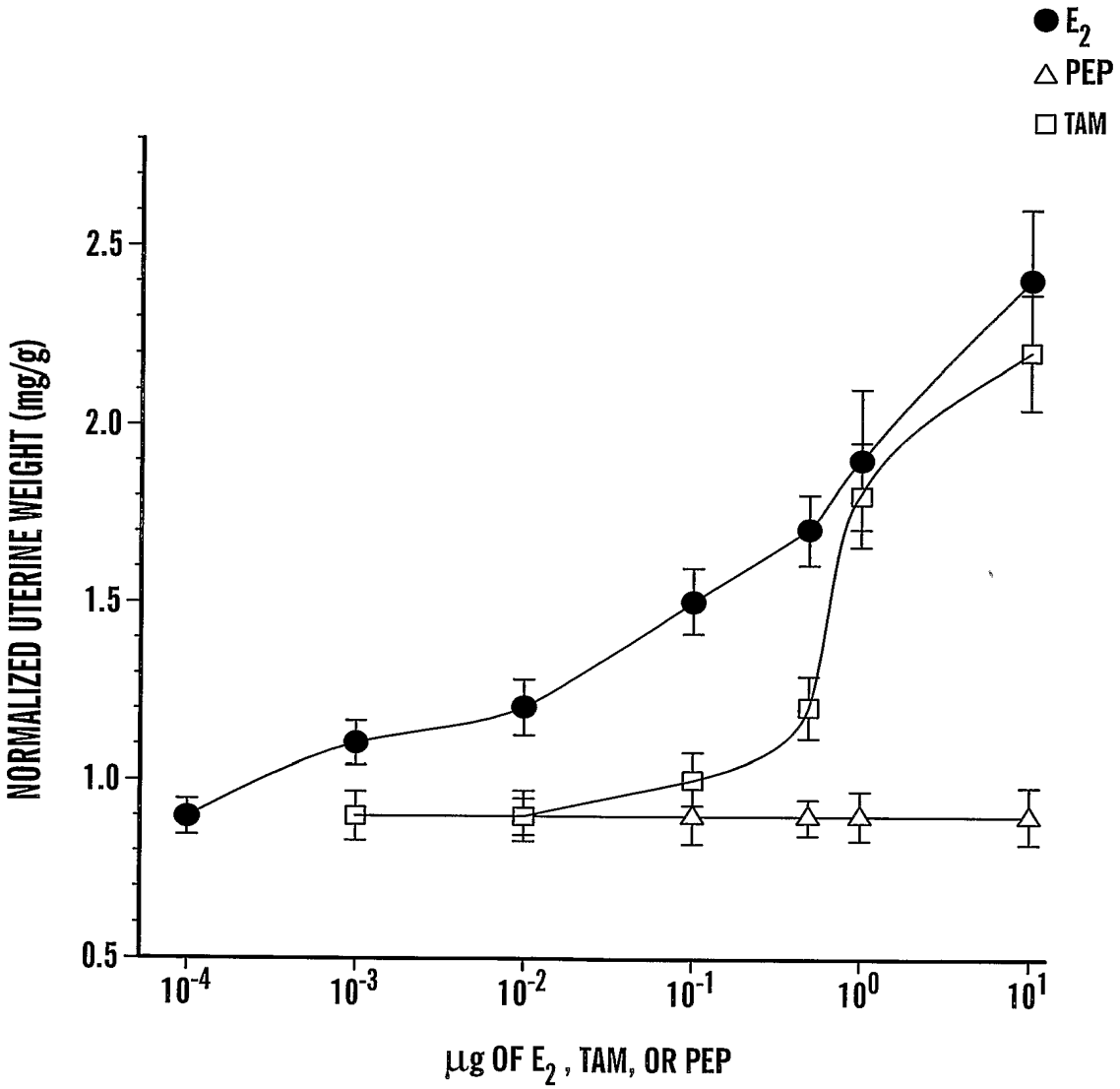

E2
PEP
TAM
NORMALIZED UTERINE WEIGHT (mg/g)
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
10-4
10-3
10-2
10-1
100
101
µg OF E2 , TAM, OR PEP

FIG. 13a

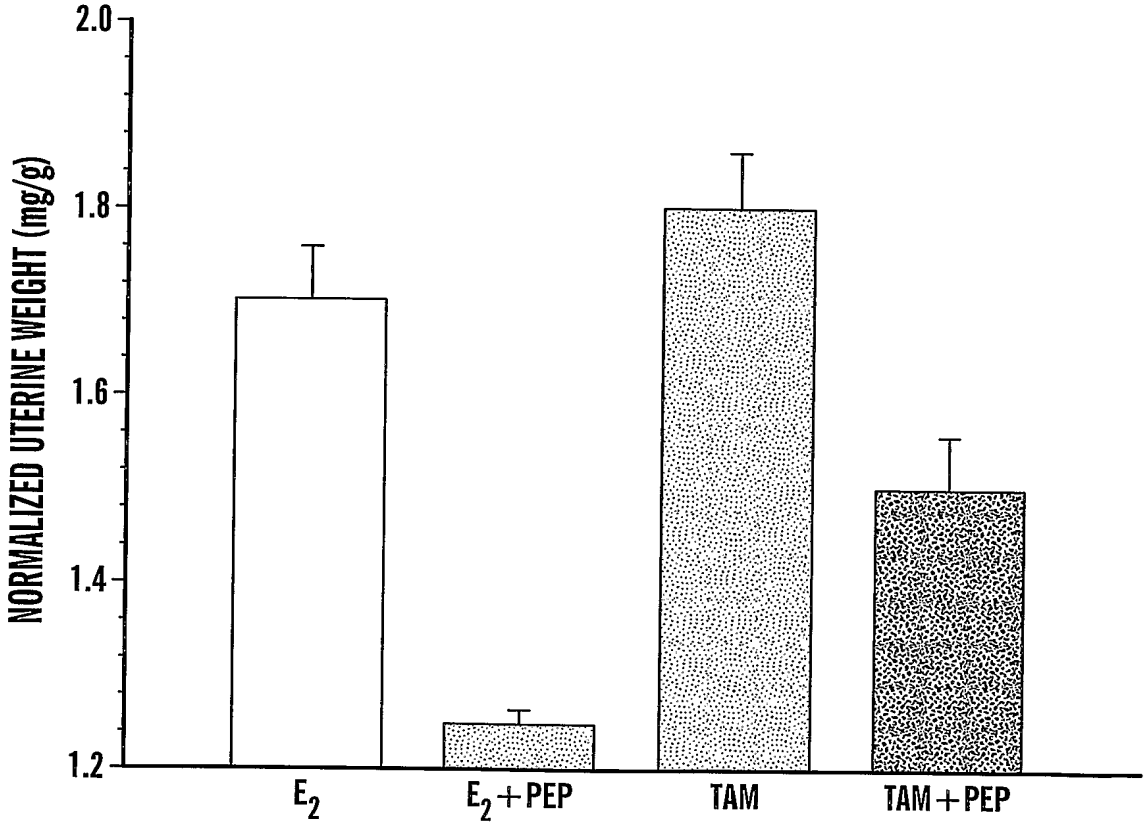

2.0
1.8
1.6
1.4
1.2
NORMALIZED UTERINE WEIGHT (mg/g)
E2
E2+PEP
TAM
TAM+PEP

FIG. 13b

SEQUENCE LISTING

<110> Albany Medical College

<120> Alpha-Fetoprotein Peptides and Uses Thereof

<130> 010.00122

<140>
<141>

<150> US 60/208,614
<151> 2000-06-01

<160> 11

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1
<211> 34
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 1
Leu Ser Glu Asp Lys Leu Leu Ala Cys Gly Glu Gly Ala Ala Asp Ile
1 5 10 15

Ile Ile Gly His Leu Cys Ile Arg His Glu Met Thr Pro Val Asn Pro
20 25 30

Gly Val

<210> 2
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 2
Gln Met Thr Pro Val Asn Pro Gly
1 5

<210> 3
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 3
Gln Met Thr Pro Val Asn Pro Gly Glu
1 5

<210> 4
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MOD_RES
<222> (4)
<223> 4Hyp

<220>
<221> MOD_RES
<222> (7)
<223> 4Hyp

<400> 4
Glu Met Thr Pro Val Asn Pro Gly
1 5

<210> 5
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MOD_RES
<222> (4)
<223> 4Hyp

<220>
<221> MOD_RES
<222> (7)
<223> 4Hyp

<400> 5
Glu Met Thr Pro Val Asn Pro Gly Gln
1 5

<210> 6
<211> 8

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 6
Glu Met Thr Pro Val Asn Pro Gly
1 5

<210> 7
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 7
Glu Met Thr Pro Val Asn Pro Gly Gln
1 5

<210> 8
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MOD_RES
<222> (4)
<223> 4Hyp

<400> 8
Glu Met Thr Pro Val Asn Pro Gly
1 5

<210> 9
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MOD_RES
<222> (4)
<223> 4Hyp

<400> 9
Glu Met Thr Pro Val Asn Pro Gly Gln
1 5

<210> 10
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MOD_RES
<222> (7)
<223> 4Hyp

<400> 10
Glu Met Thr Pro Val Asn Pro Gly
1 5

<210> 11
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MOD_RES
<222> (7)
<223> 4Hyp

<400> 11
Glu Met Thr Pro Val Asn Pro Gly Gln
1 5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US01/17748

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(7) :A61K 38/00, 38/12, 39/395, 51/00; C07K 16/00; C12N 5/00

US CL :Please See Extra Sheet.

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)

U.S. : 514/9, 13,14, 15, 16; 530/317, 326, 327, 328, 387.1; 424/1.69, 139.1; 435/387

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 practicable, search terms used)

Please See Extra Sheet.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X ------ Y	Mesfin et al. Alpha-fetoprotein-derived antiesterotrophic octapeptide. Biochimica et Biophysica Acta. 2000, Vol. 1501, pages 33-43.	1 and 13-14 ---------- 2-12 and 15
Y	US 5,707,963 A (MIZEJEWSKI) 13 January 1998, abstract and SEQ ID NOS: 1, 5 and 8.	1-15
Y	WANG et al. Parenteral Formulations of Proteins and Peptides: Stability and Stabilizers. Journal of Parenteral Science & Technology. Supplement 1988, Vol. 42, pages S4-S26, especially page S4 and Table V.	13-15

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [ ] See patent family annex.

*	Special categories of cited documents:	"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
"A"	document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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
"E"	earlier document published on or after the international filing date	"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
"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)	"&"	document member of the same patent family
"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		

Date of the actual completion of the international search 16 OCTOBER 2001	Date of mailing of the international search report 15 NOV 2001
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703) 305-3230	Authorized officer ABDEL A. MOHAMED Telephone No. (703) 308-0196

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1998)★

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US01/17748

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	KINI et al. A common structural feature enclosing interaction sites: Prediction of protein-protein interaction sites and development of potent biactive peptides. Current Topics in Peptide & Prot. Res., 1994, Vol 1, pages 297-311, especially pages 297 and 309.	3
A	DRYLAND et al. Peptide Synthesis. Part 8. A System for Solid-phase Synthesis Under Low Pressure Continous Flow Conditions. J. Chem. Sco. Perkin Trans. January 1986, Vol. 1, pages 125-137, especially page 125.	1-15

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1998)★

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US01/17748

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER:
US CL :

514/9, 13,14, 15, 16; 530/317, 326, 327, 328, 387.1; 424/1.69, 139.1; 435/387

B. FIELDS SEARCHED
Electronic data bases consulted (Name of data base and where practicable terms used):

APS, CAS ONLINE, DIALOG, MEDLINE, EMBASE, BIOSIS, WPIDS
search terms: Alpha fetoprotein peptide or AFP, cycliz? radiolabel? dimer? or polymer? or multimer? or mimetic? composit? or formulat? stabilz? carrier? excipient? maltoside# or manitol#

BOX II. OBSERVATIONS WHERE UNITY OF INVENTION WAS LACKING
This ISA found multiple inventions as follows:

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be searched, the appropriate additional search fees must be paid.

Group I, claims 1-15, drawn to a composition comprising a peptide of 8-20 amino acids of an alpha-fetoprotein.

Group II, claim 16, drawn to an antibody.

Group III, claims 17-18, drawn to a method of reducing estrogen-stimulated growth of cells.

Group IV, claims 19-22, drawn to a method of treating or preventing cancer in a subject.

The inventions listed as Groups I and II-IV do not relate to a single inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons: The peptide of Group I (A peptide of eight to twenty amino acids comprising a hydrophilic analog of an alpha-fetoprotein peptide having SEQ ID NO:6)is directed to the special technical feature, defined as a contribution over the prior art having antiesterotrophic activity as admittedly acknowledged on page 2, lines 32 to page 3, lines 1-2 in the instant disclosure and as taught by Mesfin et al. (Biochimica et Biophysica Acta-Molecular Basis of Diseases, Vol. 1501, No. 1, pp. 33-43, 2000). With respect to the antibody of Group II and methods of Groups III and IV, they are directed to different methods of using the same peptide of Group I (i.e., particularly peptide of claim 1). Group II (claim 16) is directed to an antibody that specifically binds to the peptide of claim 1 while Group I (i.e., claims 1-15) is directed to a peptide with detectable marker and a composition thereof having a suitable carrier that includes a stabilization excipient. Group III (claims 17-18) is directed to a method of reducing estrogen-stimulated growth of cells by exposing the cells to the peptide of claim 1 (i.e., *in vitro* method) while Group IV (claims 19-22) is directed to a method of treating or preventing cancer in a subject by administering the peptide of claim 1 (i.e. *in vivo* method). Thus, the antibody and the two methods using the same peptide (i.e., peptide of claim 1) as recited above do not correspond to the same technical feature and are not connected in design, operation or effect because they differ in method steps, parameters and reagents used, and as such, the peptide composition, the antibody and the methods as grouped are different from each other because they represent different technical features and different inventive endeavors. Hence, the peptide used in different methods have different structures, functions and different effects. Thus, the Groups require different patent and literature search and a reference teaching the use of a composition having antiesterotrophic activity will not teach the use of an antibody and *vice versa*. Similarly, *in vitro* assay of exposing cells to reduce estrogen-stimulated growth will not teach the *in vivo* use to treat or prevent cancer in a subject and *vice versa*. Therefore, Groups I-IV do not share the same technical features, the inventions do not relate to a single inventive concept.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inte onal application No.
PCT/US01/17748

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international 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:

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:

Please See Extra 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.:
1-15

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle
Bureau international

(43) Date de la publication internationale
10 juillet 2003 (10.07.2003)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 03/055464 A1

(51) Classification internationale des brevets[7] : A61K 9/00, 47/10, 47/26

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR02/04575

(22) Date de dépôt international :
27 décembre 2002 (27.12.2002)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
01/16934 27 décembre 2001 (27.12.2001) FR

(71) Déposants *(pour tous les États désignés sauf US)* : **BESINS INTERNATIONAL BELGIQUE** [BE/BE]; Groot Bijgaardenstraat 128, B-1620 Drogenbos (BE). **GALENIX INNOVATIONS** [FR/FR]; Allée des Palanques, F-33127 Saint-Jean d'Illac (FR).

(72) Inventeurs; et
(75) Inventeurs/Déposants *(pour US seulement)* : **BESSE, Jérôme** [FR/FR]; Chemin des Vins, Barbat, F-33480 Listrac Medoc (FR). **BESSE, Laurence** [FR/FR]; Chemin des Vins, Barbat, F-33480 Listrac Medoc (FR).

(74) Mandataires : **CATHERINE, Alain** etc.; Cabinet Harle et Phelip, 7, rue de Madrid, F-75008 Paris (FR).

(81) États désignés *(national)* : 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.

(84) États désignés *(régional)* : brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SI, SK, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Déclaration en vertu de la règle 4.17 :
relative à la qualité d'inventeur (règle 4.17.iv)) pour US seulement

Publiée :
— *avec rapport de recherche internationale*
— *avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues*

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

WO 03/055464 A1

(54) **Title:** MICRONIZED PHARMACEUTICAL OR NUTRACEUTICAL POWDER WITH IMMEDIATE RELEASE

(54) **Titre :** POUDRE MICRONISEE PHARMACEUTIQUE OU NUTRACEUTIQUE A LIBERATION IMMEDIATE.

(57) **Abstract:** The invention concerns a micronized pharmaceutical or nutraceutical powder with immediate release having a grain size distribution of not more than 100 μm, and comprising the combination of at least an active substance, at least a wetting agent and at least a diluent.

(57) **Abrégé :** La présente invention concerne une poudre micronisée pharmaceutique ou nutraceutique à libération immédiate ayant une granulométrie d'au plus 100 μm, et comprenant la combinaison d'au moins une substance active, au moins un agent mouillant et au moins un agent diluant.

POUDRE MICRONISEE PHARMACEUTIQUE OU NUTRACEUTIQUE A LIBERATION IMMEDIATE

La présente invention concerne une poudre micronisée pharmaceutique ou nutraceutique à libération immédiate, pour application mucosale, en particulier buccale.

L'utilisation d'une poudre micronisée selon l'invention, pour préparer une composition pharmaceutique ou nutraceutique, permet une libération rapide (ou « flash ») de la substance active lorsque la composition la comprenant est administrée par voie mucosale, en particulier buccale.

Des formes galéniques permettant une libération rapide d'une substance active sont déjà connues. Il s'agit de comprimés de type « lyoc » ou à délitement rapide dans la bouche comme par exemple la technologie Zydis® (Scherer)®), ou encore des systèmes de type films présentés sous forme de « wafer », c'est-à-dire des films pour application buccale permettant une dissolution plus ou moins rapide des substances actives.

Cependant, ces deux formes galéniques présentent plusieurs inconvénients. Les comprimés souffrent d'une friabilité importante, ce qui rend délicate leur manipulation et par ailleurs leur temps de délitement est très souvent supérieur à 10 secondes. Les films sont difficiles à appliquer du fait de leur très faible épaisseur. En outre, les deux formes galéniques souffrent d'un inconvénient majeur en ce qu'elles ne permettent qu'une charge relativement faible en substance active, des excipients divers et variés étant nécessaires à leur intégrité structurelle.

Les Sociétés Demanderesses ont donc cherché à développer une forme galénique pouvant pallier aux inconvénients rencontrés par les formulations antérieures.

Elles ont ainsi réussi à mettre au point une poudre dont l'utilisation dans une composition pharmaceutique ou nutraceutique permet une libération rapide et immédiate de la substance active seule ou en association, lorsque ladite composition est administrée par voie buccale.

Au sens de la présente invention, on entend par « libération rapide et immédiate » une libération de la totalité de la ou les substances actives en moins de 30 secondes, de préférence moins de 15, et plus préférentiellement encore en moins de 10 secondes.

La poudre selon l'invention, contrairement aux comprimés et films de l'art antérieur, n'est délicate ni dans sa manipulation ni dans son application. Elle permet en outre une charge importante en substance active En effet la charge en substances actives par unité de prises peut être largement supérieure aux 20 mg imposés notamment par la technologie des films de type « WAFER » ou équivalent.

La poudre selon la présente invention présente donc de nombreux avantages par rapport aux formes galéniques connues dans l'art antérieur.

Ainsi, la présente invention concerne une poudre micronisée pharmaceutique ou nutraceutique à libération immédiate ayant une granulométrie d'au plus 100 µm, et comprenant la combinaison d'au moins une substance active, au moins un agent mouillant et au moins un agent diluant.

De préférence, la poudre micronisée à libération immédiate de l'invention comprend, par rapport au poids total de la composition, de 0,001% à 99% en poids de substance(s) active(s), de 1% à 60% en poids d'agent(s) mouillant(s) et de 0,1% à 99% d'agent(s) diluant(s). L'homme du métier adapte les proportions des différents constituants de la poudre micronisée à libération immédiate, selon des techniques conventionnelles de préparation de formulations galéniques comme par exemple celles décrites dans (i) J. Control Release, 1999, Vol. 61 : 175-183, (ii) J. Pharm., 2000, 171-277, (iii) J. Control Release, 2001, Vol. 77 : 1-6 ou encore (iv) J. Pharm. Pharmacol., 1996, Vol. 48 : 255, afin que la poudre possède les caractéristiques physiques, mécaniques et chimiques définies dans la présente description, notamment les caractéristiques de granulométrie, de cinétique de libération de la ou des substances actives ou encore d'humidité résiduelle.

Par substance active, on entend selon l'invention toute substance ayant une activité mesurable de nature thérapeutique ou nutraceutique envers l'organisme, homme ou animal, sur lequel cette substance active est appliquée ou administrée.

Par agent mouillant, on entend selon l'invention un agent accélérant la solubilisation et/ou la dissolution de la ou des substances actives et des autres excipients contenus dans la poudre micronisée. En particulier, un agent mouillant selon l'invention se caractérise en ce qu'il permet un haut indice de mouillabilité de ladite poudre micronisée, comme cela peut être visualisé par mesure de l'angle de contact (α) à l'aide d'un goniomètre, qui est faible et de

préférence compris entre 0 et 90°, préférentiellement entre 0 et 60° et plus préférentiellement entre 0 et 45°

Par agent diluant, on entend selon l'invention un agent utilisé pour compléter la composition de la poudre micronisée contenant la ou les substances actives, jusqu'à obtention d'un volume total prédéterminé contenant une quantité choisie de la ou des substance(s) active(s), le volume de la ou des substances actives elles-mêmes, selon la nature de ces substances actives, étant en général insuffisant pour la réalisation d'une poudre micronisée finale dont le volume désiré comprend la quantité adaptée de ladite ou desdites substances actives.

Selon l'invention, on a montré qu'une poudre micronisée ayant la combinaison des caractéristiques ci-dessus et possédant une granulométrie d'au plus 100 µm, du fait d'une grande surface active, permettait une excellente biodisponibilité de la ou des substances actives qu'elle contient, pour les sites ou récepteurs cellulaires cibles visés sur la muqueuse.

Par « granulométrie » d'une poudre micronisée à libération immédiate selon l'invention, on entend la taille moyenne des grains qui la constituent. La taille moyenne des grains peut être mesurée par toute technique conventionnelle connue en soi. Notamment, l'homme du métier peut avoir recours à une mesure de la granulométrie à laser du type Beckman Coulter® ou Malvern®, comme cela est décrit dans les exemples.

Le demandeur a observé que la distribution de taille des grains de la poudre micronisée à libération immédiate de l'invention suit une courbe de Gauss étroite, la valeur de granulométrie correspondant en conséquence à la taille réelle de la majorité des grains contenue dans ladite poudre.

La poudre micronisée à libération immédiate selon l'invention possède avantageusement une humidité résiduelle comprise entre 0,01% et 15%, et de préférence entre 0,1% et 5%, comme mesuré avec un analyseur d'humidité de type Sartorius® MA 30 commercialisé par la société Sartorius et utilisé selon les recommandations du fabricant, comme cela est illustré dans les exemples. La faible humidité résiduelle de la poudre micronisée à libération immédiate selon l'invention permet d'éviter, ou à tout le moins de réduire fortement, la formation d'agrégats entre les grains contenus dans ladite poudre. En effet, la formation d'agrégats est de nature à affecter la valeur de surface active de la poudre en contact avec les muqueuses, lors de son application, et en

conséquence la valeur de biodisponibilité de la ou des substances actives pour les sites ou récepteurs cibles dans les muqueuses.

On a aussi montré selon l'invention que, dans certaines limites, plus la granulométrie de la poudre micronisée est petite, plus on accroît la biodisponibilité de la ou des substances actives vis-à-vis des sites cibles visés et plus on réduit la durée nécessaire à la libération totale de la ou des substances actives vers les sites ou récepteurs cibles sur la muqueuse.

Ainsi, préférentiellement, la poudre micronisée selon l'invention possède une granulométrie d'au plus 50 µm, et de manière tout à fait préférée d'au plus 10 µm.

A l'exemple 1, on illustre une poudre micronisée à libération immédiate selon l'invention possédant une granulométrie de moins de 3 µm.

On a aussi montré selon l'invention qu'avec une poudre micronisée ayant une granulométrie inférieure à 0,01 µm, la capacité de libération immédiate de la ou des substances active était altérée, notamment du fait d'une agglomération en amas des grains de la poudre, entre eux. Ainsi, avec une poudre micronisée de granulométrie trop fine, on réduit la biodisponilité de la ou des substances actives pour les sites cibles sur les muqueuses, du fait de la rétention de la ou des substances actives au sein de la poudre, au cœur des agglomérats de grains qui se forment. En d'autres termes, contrairement à ce qui pouvait être attendu, une réduction trop grande de la granulométrie de la poudre micronisée, en deçà de 0,01 µm, a pour effet de réduire la surface active de ladite poudre en contact avec les muqueuses, par rapport à une poudre micronisée de granulométrie plus grande, par exemple de 1 µm ou 5 µm.

Selon un mode préférentiel de réalisation de la poudre micronisée à libération immédiate selon l'invention, ladite poudre présente une granulométrie comprise entre 0,01 µm et 100 µm, avantageusement entre 0,1 µm et 100 µm, préférentiellement encore entre 1 µm et 50 µm et de manière tout à fait préférée entre 1 µm et 20 µm.

La poudre micronisée à libération immédiate de l'invention possède une cinétique de dissolution dans un milieu aqueux de moins de trente secondes, et le plus souvent de moins de dix secondes, que ce soit dans des tampons ayant un pH allant de 5 à 9, ou que ce soit dans une solution aqueuse de salive artificielle.

Ainsi, selon une caractéristique avantageuse de la poudre micronisée à libération immédiate de l'invention, ladite poudre permet la libération de la totalité de la ou des substances actives en moins de 30 secondes, avantageusement en moins de 15 secondes, et de manière tout à fait préférée en moins de 10 secondes.

La poudre micronisée à libération immédiate de l'invention est spécifiquement adaptée à la libération rapide d'une substance active, ou d'une combinaison de substances actives, *in situ*, au niveau des muqueuses, en particulier des muqueuses buccales.

Selon un mode de réalisation préféré de la poudre micronisée à libération immédiate, la ou les substance(s) active(s) elle(s)-même(s) est (sont) sous forme micronisée.

Ainsi, selon un mode préférentiel de réalisation de la poudre micronisée selon l'invention, les substances actives sont micronisées avec les autres ingrédients. Ceci accroît encore la capacité de la poudre à libérer rapidement, et de manière homogène, la ou les substances actives, du fait d'une augmentation de la surface de contact de celles-ci avec la muqueuse. Par ailleurs, plusieurs systèmes de conditionnement de la poudre sont particulièrement bien adaptés tel que la pulvérisation de produits micronisés ou l'utilisation de sachets-doses ou capsules thermoformées muni d'un opercule pelable.

Les substances actives de la poudre utilisée selon l'invention peuvent être sélectionnées parmi celles classiquement utilisées dans les familles pharmaco-thérapeutiques suivantes : allergologie, anesthésie/réanimation, cancérologie et hématologie, cardiologie et angiologie, contraception et interruption de grossesse, dermatologie, endocrinologie, gastro-entérohépatologie, gynécologie et obstétrique, immunologie et médicament de transplantation, infectiologie et parasitologie, métabolisme diabète et nutrition, neurologie/psychiatrie, ophtalmologie, oto-rhino-laryngologie, pneumologie, rhumatologie, stomatologie, toxicologie, urologie/néphrologie, ainsi que parmi les antalgiques / antipyrétique et antispasmodiques, anti-inflammatoires, les produits de contraste utilisés en radiologie, les hémostatiques, et les produits de traitement du sang et dérivés.

Avantageusement, les substances actives peuvent être sélectionnées dans le groupe constitué par les substances actives passant la barrière mucosale et atteignant la circulation systémique, telles que les exemples non

limitatifs cités ci-après : l'acétate de cyprotérone, l'acétate de norethistérone, la progestérone, le 3-kéto-désogestrel, le norgestimate, le lévonorgestrel, le désogestrel, le gestodène, les estrogènes naturels tels que l'estradiol ou ses dérivés, les estrogènes synthétiques tels que l'éthinylestradiol, la Δ-4-androstènedione, la testostérone, la dihydrotestostérone ou androstanolone, la DHEA, la trinitrine, le fentanyl, la nitroglycérine, la nicotine (nicotine S(-)), la scopolamine, la clonidine, l'isosorbide dinitrate, l'alclométasone dipropionate, le phloroglucinol, la molsidomine, ainsi que leurs associations.

Elles peuvent également être sélectionnées parmi les substances actives passant la barrière mucosale et ayant une action localisée telles que : l'acétazolamide, l'acyclovir, l'adapalène, l'alclométhasone dipropionate, l'amcinonide, l'améleine, le bamethan sulfate + escine, la bétaméthasone valérate, la bétaméthasone dipropionate, le bufexamac, la caféine, le calcipotriol monohydrate, le cetrimonium bromure, le clobétasol propionate, le crilanomère, la désonide, le dexpanthénol, le diclofénac, le diflucortolone, la valérate, le difluprednate, la diphénydramine chlorhydrate, l'econazole nitrate, l'erythromicine, le flumétasone pivalate, le fluocinolone acétonide, la fluocinodine, le fluocortolone, le fluocortolone hexanoate, le fluocortolone pivalate, l'hydrocortisone, l'hydrocortisone acétate, l'ibacitabine, l'ibuprofène, l'imiquimod, le kétoconazole, le kétoprofène, la lidocaine, la métronidazole, le miconazole nitrate, le minoxidil, le niflumide acide, la penciclovir, le peroxyde benzoyle, la piroxam, la povidone iodé, la promestriène, la pyrazonibutasone, la roxithromycine, la sulfacétalmide, le triamconolone, le tazarotène, le trétinoïne et l'isotrétinoïne, le triclocarban, le vidarabine monophosphate ainsi que leurs associations.

Elles peuvent également être sélectionnées parmi les substances actives suivantes : l'agoniste β-3 adrénergique, l'hormone de croissance, l'oxybutinine, la buprenorphine, le pergolide, le nestorone, le 7α-méthyl-19-nortestérone, la mécamylamine, le salbutamol, le clenbutérol, la sélégiline, la buspirone, la kétotifen, la lidocaïne, le kétorolac, l'eptazocine, l'insuline, l'interféron α, les prostaglandines, l'acide 5 aminolévulinique, la benzodiazepine alprozolam, le diclofenac, le fenoprofen, le flubiprofen, le kétoprofen, la méthylphénidate, la miconazole, le piroxicam, la bruprenorphine, l'alprozolam, la dexmedetomidine, la prazosin (antagoniste α adrénergique), l'alprostadil, le tulobutérol (agoniste β adrénergique), thinylestradiol + norelgestromi, le kétorolac, la physostigmine, le

medindolol (agoniste α adrénergique), la rotigotine (dopamine D2 antagoniste), la thiatolserine ainsi que leurs associations.

Elles peuvent également être sélectionnées parmi les substances actives suivantes : Esomeprazole, Melagatran (en cas de thrombose), Rosuvastatine, Ezetimide, Pitavastatine (Hyperlipidemie), Mitiglinide (Diabète de type II), Cilomilast, Viozan (Asthme), Aripipazole (psychiatrie), Omapatrilat (hypertenseur),Orzel (Cancérologie), Caspofongine acétate, Voriconazole (infections), nouveaux Inhibiteurs COX tels que Etoricoxib (inflammation), Valdecoxib (Arthrites) et Parecoxib, Substance P antagoniste (Dépression), Darifenacine (urologie), Eletriptan (Migraine), Alosetron, Tegaserod, Capravirine (HIV) , Finastéride (inhibiteur de la 5-alpha réductase) ainsi que leurs associations (liste non limitative).

La poudre utilisée selon l'invention peut contenir une ou plusieurs substances actives, en association entre elles.

Pour des applications nutraceutiques, la substance active peut être choisie parmi la liste des matières premières autorisées en tant que compléments alimentaires comme par exemple dans le groupe constitué par les vitamines, les sels minéraux, la levure de bière, etc.

L'agent mouillant peut être un agent mouillant conventionnellement désigné comme tel, par exemple dans la Pharmacopée européenne ou encore dans la Pharmacopée des Etats-Unis d'Amérique (USP) en vigueurou touts autres agents mouillant de qualité pharmaceutique ou nutraceutique. Un agent mouillant contenu dans une poudre micronisée de l'invention englobe également les agents classés dans la Pharmacopée européenne ou dans la Pharmacopée des Etats-Unis d'Amérique (USP) comme agents tensioactifs. En effet, selon un aspect particulier de la poudre micronisée à libération immédiate de l'invention, on utilise aussi les agents tensioactifs comme agents mouillants.

De préférence, un agent mouillant est sélectionné dans le groupe constitué par les polyols tels que le sorbitol, ou encore la glycérine, le PEG, l'hexylène glycol, la triacétine, les huiles végétales hydrogénées telle que l'huile de ricin hydrogénée, les copolymères du polyoxy(éthylène)polyoxy(propylène) tel que le Lutrol® F68, les polyoxyéthylène alkyl éthers tel que le Cremophor®, ainsi que leurs mélanges (liste non limitative).

De préférence, l'agent diluant est sélectionné dans le groupe constitué par le carbonate ou bicarbonate de calcium, sodium, le sucrose, le mannitol, le xylitol, le sorbitol, le lactose, le maltotol, le glucose, la poudre de cellulose ou

cellulose microcristalline, l'amidon et ses dérivés, le phosphate de calcium dibasique, le phosphate de calcium tribasique, le sulfate de calcium, les dextrates, les dextrines, les excipients de dextrose, le fructose, le kaolin, le lactitol, ainsi que leurs mélanges (liste non limitative).

Préférentiellement, la poudre micronisée selon l'invention comprend aussi au moins un agent anti-statique.

On a en effet montré selon l'invention que l'ajout d'au moins un agent anti-statique permettait d'accroître de manière significative la capacité de la poudre micronisée selon l'invention à libérer rapidement la totalité de la ou des substances actives que ladite poudre contient. L'ajout d'au moins un agent anti-statique permet d'éviter, ou à tout le moins de réduire fortement, la formation d'agrégats de poudre qui sont dus à la faible granulométrie de cette dernière. Ainsi, l'ajout d'au moins un agent anti-statique permet l'obtention d'une poudre micronisée de faible granulométrie ne comprenant pas d'agrégats entre les grains, et dont les grains, bien séparés les uns des autres, permettent l'obtention d'une surface de contact maximale de la poudre avec les muqueuses, lors de son application sur ces dernières, et en conséquence une accessibilité ou biodisponibilité maximale de la ou des substances actives pour les sites ou récepteurs cibles correspondants sur les muqueuses.

De préférence, la poudre micronisée à libération immédiate de l'invention comprend, par rapport au poids total de la composition, de 0,01% à 10% d'un ou plusieurs agent(s) anti-statique(s).

De préférence, un agent anti-statique est sélectionné dans le groupe constitué de la silice colloïdale, du silicate de magnésium, du talc, du silicate de calcium et du phosphate de calcium tribasique (liste non limitative).

La poudre utilisée selon l'invention peut également comprendre un liant sélectionné dans le groupe constitué par l'acacia, l'acide alginique, la carboxyméthylcellulose sodique, la cellulose microcristalline, les dextrines, l'éthylcellulose, la gélatine, le glucose, la gomme guar, l'hydroxypropylméthylcellulose, la méthylcellulose, l'oxyde de polyéthylène, la povidone, l'amidon prégélatinisé, ainsi que leurs mélanges (liste non limitative).

La poudre utilisée selon l'invention peut également comprendre, si nécessaire, un promoteur de pénétration, préférentiellement désigné dans la présente description « promoteur d'absorption ». On entend par « promoteur d'absorption», toute molécule favorisant la diffusion d'une substance active à travers la peau ou de la muqueuse de façon réversible, et tout agent de

solubilisation ou agent mouillant favorisant le partage de la substance active entre le véhicule et la couche cornée de l'épiderme ou la muqueuse.

Dans les cas où le promoteur d'absorption est aussi un agent mouillant tel que défini ci-dessus, ledit promoteur d'absorption est ajouté à la composition de la poudre micronisée qui comprend déjà un agent mouillant.

Le promoteur d'absorption peut être sélectionné dans le groupe constitué par les esters d'acide gras aliphatiques comme le myristate d'isopropyle, les acides gras comme l'acide oléique ; les alcools ou polyols tels que l'éthanol, le propylèneglycol et le polyéthylèneglycol ; les composants des huiles essentielles et dérivés terpéniques (comme l'eugenol, le géraniol, le nérol, l'eucalyptol, le menthol) ; les tensioactifs, de préférence non ioniques, tels que le polyoxyéthylène sorbitan (ester d'acide gras), le polyoxyéthylène alkyl éther, le polyoxyéthylène dérivé de l'huile de ricin; les hydratants comme la glycérine, l'urée ; des kératolytiques comme les alpha-hydroxyacides (acide lactique, acide citrique, etc.), le 23-lauryl ether, l'aprotinin, l'azone, le chlorure de benzalkonium, le chlorure de cétylpyridinium, le bromure de cétyltriméthylammonium, les cyclodextrines, le dextran sulfate, l'acide laurique, l'acide laurique, la lysophosphatidylcholine, le menthol, le méthoxysalicylate, le méthyloleate, l'acide oléique, la phosphatidylcholine, le polyoxyethylene, le polysorbate 80, l'EDTA de sodium, le glycocholate de sodium, le glycodeoxycholate de sodium, le lauryl sulfate de sodium, le salycilate de sodium, le taurocholate de sodium, le taurodeoxycholate de sodium, les sulfoxides, les alkyl glycosides, ainsi que leur mélange (liste non limitative). Par ailleurs, afin d'améliorer la compliance du patient, on peut éventuellement ajouter à la composition un agent édulcorant et/ou un agent aromatisant

L'agent édulcorant peut être sélectionné dans le groupe constitué par l'aspartame, les dextrates, le dextrose, le fructose, le mannitol, le saccharinate de sodium ou de calcium, le sorbitol, le sucralose, le sucrose, ainsi que leurs mélanges (liste non limitative).

L'agent aromatisant peut être sélectionné dans le groupe constitué par les arômes d'origine synthétiques, semi-synthétiques ou naturels. On peut citer par exemple la menthe, la menthe poivrée, le citron, la banane, la fraise, la framboise, la mandarine, l'orange, la vanille, les fruit de la passion, le caramel, ainsi que leurs mélanges.

La composition contenant la poudre utilisée selon l'invention est administrée par voie mucosale. Elle peut être appliquée, par exemple, sur la

muqueuse buccale, la muqueuse nasale ou la muqueuse vaginale, et également en application sublinguale.

De manière générale, la poudre micronisée à libération immédiate de l'invention peut être utilisée avec ou dans tout dispositif permettant son application sur la surface d'une muqueuse.

De façon avantageuse, la composition comprenant la poudre utilisée selon l'invention, se présente sous une forme sèche conditionnée dans un pulvérisateur oudans un sachet-dose à 4 soudures ou dans un sachet-dose à 3 soudures tel que le « stick pack qui est un sachet tubulaire avec une soudure longitudinale et une soudure à chaque extrémité du tube, ou dans une capsule thermoformée muni d'un opercule pelable ou encore dans tout autre conditionnement adapté à l'administration de poudre connu de l'homme du métier. Ces conditionnements permettent la délivrance aisée d'une dose précise de matière active.

Tous les procédés connus de l'homme du métier peuvent être utilisés dans le cadre de la réalisation de la poudre utilisée selon l'invention.

On peut citer comme exemple de méthode de préparation d'une poudre : la granulation, par voie humide ou par voie sèche, suivie d'une micronisation.

Ou selon un autre mode de réalisation, la substance active est micronisée puis mélangée avec les excipients sous forme de poudre, et le mélange ainsi obtenu est granulé, par granulation par voie humide ou par voie sèche, puis micronisé.

Avantageusement, pour préparer une poudre micronisée à libération immédiate selon l'invention, on mélange (i) la ou les substances actives, (ii) le ou les agent(s) mouillant(s), (iii) le ou les agent(s) diluant(s), préférentiellement (iv) le ou les agent(s) anti-statique(s) et éventuellement aussi (v) les autres excipients, tels que le ou les agent(s) liant(s) et/ou le ou les promoteur(s) d'absorption dans un dispositif du type mélangeur-granulateur-sécheur, jusqu'à homogénéisation du mélange. Puis, une solution ou suspension de mouillage est incorporée sous agitation afin d'obtenir un granulé humide, qui est ensuite séché afin d'évaporer le solvant de granulation.

La poudre est ensuite micronisée, après calibrage.

Pour la micronisation, on utilise de préférence la méthode conventionnelle à jet d'air, par exemple en utilisant un appareil de micronisation à jet d'air du type ALPINE ou JET MILL, selon les recommandations du fabricant.

Les paramètres préférés pour une micronisation sur un appareil microniseur GALETTE Alpine 200AS sont les suivants :

- Injecteur : 7 à 8 bars ;
- Couronne : 4 à 6 Bars ; et
- Vitesse : 25 kg/h.

Dans un essai particulier réalisé par le demandeur, la poudre avant micronisation avait une taille moyenne de grains (granulométrie)d'environ 160 µm. A près micronisation, la poudre micronisée à libération immédiate obtenue possédait une granulométrie de 2,3 µm.

La substance active seule ou bien le mélange final d'ingrédients peuvent être micronisés.

L'invention est en outre illustrée, sans pour autant être limitée, la figure et les exemples suivants.

La **Figure 1** illustre le profil de distribution de taille des grains de la poudre micronisée à libération immédiate de l'invention préparée à l'Exemple 2, avant et après micronisation.

- En abscisse : Taille des particules, exprimée en µm ;
- En ordonnées : Volume, exprimé en pourcentage.

La **Figure 2** illustre le profil de distribution de taille des grains de la poudre micronisée à libération immédiate de l'invention préparée à l'Exemple 3, avant et après micronisation.

- En abscisse : Taille des particules, exprimée en µm ;
- En ordonnées : Volume, exprimé en pourcentage.

EXEMPLE 1 : POUDRES A UTILISER SELON L'INVENTION

On prépare quatre poudres présentant chacune la composition pondérale suivante :

Tableau 1

Composition	Quantité en %
Phloroglucinol	10
Sorbitol	89
Propylène glycol	1

Tableau 2

Composition	Quantité en %
Testostérone	10
Sorbitol	88
Crémophor RH40	2

Tableau 3

Composition	Quantité en %
Dihydrotestostérone	5
Xylitol	90
Glycérol	3
Tween 80	2

Tableau 4

Composition	Quantité en %
Molsidomine	10
Xylitol	83
Propylène glycol	5
Montanox 80	2

Les différents composants pulvérulents à l'exception de l'agent antistatique sont mélangés dans un mélangeur-granulateur de type mélangeur-granulateur-sécheur sous vide ROTOLAB ZANCHETTA® ou équivalent jusqu'à homogénéisation du mélange. Ensuite, une solution ou suspension de mouillage comprenant le ou les composant(s) liquide(s) est incorporée sous agitation afin d'obtenir un granulé humide.

Ce granulé est ensuite séché dans des conditions adaptées afin d'évaporer le solvant de granulation. Ce granulé est ensuite séché et calibré

puis micronisé à l'aide d'un appareil de micronisation à jet d'air de type ALPINE ou JETMIL (ou équivalent).

EXEMPLE 2 : POUDRE A LIBERATION IMMEDIATE SELON L'INVENTION

On prépare une poudre présentant la composition pondérale suivante :

Tableau 5

Composition	Quantité en %
Apomorphine	10
Sorbitol	89,01
Propylène glycol	0,90
Silice colloïdale	0,09

Procédé de fabrication :

Les différents composants pulvérulents à l'exception de l'agent anti-statique sont mélangés dans un mélangeur-granulateur de type mélangeur-granulateur-sécheur sous vide ROTOLAB ZANCHETTA ou équivalent jusqu'à homogénéisation du mélange. Ensuite, une solution ou suspension de mouillage comprenant le ou les composant(s) liquide(s) est incorporée sous agitation afin d'obtenir un granulé humide.

Ce granulé est ensuite séché dans des conditions adaptées afin d'évaporer le solvant de granulation, calibré, puis micronisé à l'aide d'un appareil de micronisation à jet d'air de type GALETTE ALPINE 200AS ou JETMIL (ou équivalent)

Paramètre de micronisation :

Injecteur : 8Bars, Couronne : 6Bars, Vitesse : 25Kg/h.

Afin de réduire les phénomènes d'agglomération dus à la faible granulométrie de la poudre micronisée, un agent anti-statique (silice colloïdale) préalablement tamisé est ajouté par mélange progressif dans un mélangeur Turbula.

Contrôles sur granulé avant micronisation

-Granulométrie : réalisée à l'aide d'un granulomètre laser Malvern Mastersizer 2000 équipé d'un vibreur Sirocco 2000

Paramètres : Pression=2bars ; Vibration=80%

Résultat : granulométrie moyenne=157,98µm

-Aptitude à l'écoulement : selon test Pharmacopée européenne 4.2 ; 2.9.16 Ecoulement
masse échantillon=100g, Temps d'écoulement = ∞

-Volume apparent : selon test Pharmacopée Européenne 4.2 ; 2.9.15
masse échantillon=100g
Volume apparent à V0=166 mL
Volume apparent à V10= 156 mL
Volume apparent à V500= 148 mL
V10-V500= 6 mL

-Mesure du taux d'humidité relative : réalisé à l'aide d'un analyseur d'humidité MA 30 Sartorius
Paramètres : masse de l'échantillon=2g, Température=75°C, Temps de dessiccation=automatique
Résultat : Humidité relative= 1,41%

Contrôle sur poudre micronisée finale

-Granulométrie : réalisée à l'aide d'un granulomètre laser Malvern Mastersizer 2000 équipé d'un vibreur Sirocco 2000
Paramètres : Pression=3bars ; Vibration=70%
Résultat : granulométrie moyenne=2,349µm

-Aptitude à l'écoulement : selon test Pharmacopée européenne 4.2 ; 2.9.16 Ecoulement
masse échantillon=100g, Temps d'écoulement = ∞

-Volume apparent : selon test Pharmacopée européenne 4.2 ; 2.9.15
masse échantillon=50g
Volume apparent à V0=178 mL
Volume apparent à V10= 170 mL
Volume apparent à V500= 164 mL
V10-V500= 8 mL

-Mesure du taux d'humidité relative : réalisée à l'aide d'un analyseur d'humidité MA 30 Sartorius
Paramètres : masse de l'échantillon=3g environ, Température=75°C, Temps de dessiccation = automatique, nombre d'essai = 3
Résultat : Humidité relative moyenne = 1,08%

-Cinétique de dissolution in vitro
Conditions opératoires : 1g de poudre micronisée sont dissous à 37°C dans 10g de milieu, sous agitation magnétique à 500 RPM

Tableau 6

Milieu	Temps (s)
Tampon phosphate pH 4,5	4,63
Tampon phosphate pH 8	8,36
Tampon phosphate pH 7,4	5,87
Salive artificielle	2,72

Le profil de distribution de taille des grains de la poudre selon l'Exemple 2, avant et après micronisation, est illustré sur la Figure 1.

EXEMPLE 3 : POUDRE A LIBERATION IMMEDIATE SELON L'INVENTION

On prépare une poudre présentant la composition pondérale suivante :

Tableau 7

Composition	Quantité en %
Testostérone	10

Dextran	87,91
Glycérol	1,99
Silice colloïdale	0,1

Procédé de fabrication :

Les différents composants pulvérulant à l'exception de l'agent anti-statique sont mélangés dans un mélangeur-granulateur de type mélangeur-granulateur-sécheur Lit d'air fluidisé équipé d'une buse top spray ou équivalent jusqu'à homogénéisation du mélange. Ensuite, une solution ou suspension de mouillage comprenant le ou les composant(s) liquide(s) est pulvérisée à l'aide d'une buse de pulvérisation, sur le produit en mouvement afin simultanément de répartir la solution de façon homogène et de le sécher pour évaporer le solvant de granulation.

Ce granulé est calibré, puis micronisé à l'aide d'un appareil de micronisation à jet d'air de type GALETTE ALPINE 200AS ou JETMIL (ou équivalent). Les paramètres de réglage sont identiques à ceux décrits dans l'exemple I.

Afin de réduire les phénomènes d'agglomération dus à la faible granulométrie de la poudre micronisée, un agent anti-statique (silice colloïdale) préalablement tamisé est ajouté par mélange progressif dans un mélangeur Turbula.

Contrôles sur poudre micronisée finale

-Cinétique de dissolution in vitro

Conditions opératoires : 1g de poudre micronisée sont dissous à 37°C dans 10g de milieu, sous agitation magnétique à 500 RPM

Tableau 8

Milieu	Temps (s)
Tampon phosphate pH 4,5	8,9
Tampon phosphate pH 8	7,23
Tampon phosphate pH 7,4	7,74

Salive artificielle	6,78

Le profil de distribution de taille des grains de la poudre selon l'Exemple 3, avant et après micronisation, est illustré sur la Figure 2.

Exemple 4 : POUDRE A LIBERATION IMMEDIATE SELON L'INVENTION

On prépare une poudre présentant la composition pondérale suivante :

Tableau 9

Composition	Quantité en %
Dihydrotestostérone	5
Mannitol	90
Propylène glycol	3
	2

Procédé de fabrication :

Selon exemple 2.

Contrôles sur poudre micronisée finale

-Cinétique de dissolution in vitro

Conditions opératoires : 1g de poudre micronisée sont dissous à 37°C dans 10g de milieu, sous agitation magnétique à 500 RPM

Tableau 10

Milieu	Temps (s)
Tampon phosphate pH 4,5	6,28
Tampon phosphate pH 8	7,71
Tampon phosphate pH 7,4	6,14
Salive artificielle	4,97

REVENDICATIONS

1. Poudre micronisée pharmaceutique ou nutraceutique à libération immédiate ayant une granulométrie d'au plus 100 µm, et comprenant la combinaison d'au moins une substance active, au moins un agent mouillant et au moins un agent diluant.

2. Poudre selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle possède une granulométrie d'au plus 50 µm.

3. Poudre selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle possède une granulométrie d'au plus 10 µm.

4. Poudre selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisée en ce qu'elle permet la dissolution de la totalité de la ou des substances actives en moins de 30 secondes, lorsqu'elle est administrée par voie mucosale.

5. Poudre selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisée en ce que la substance active est sous forme micronisée.

6. Poudre selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisée en ce que la substance active est sélectionnée dans le groupe constitué par l'acétate de cyprotérone, l'acétate de norethistérone, la progestérone, le 3-kéto-désogestrel, le norgestimate, le lévonorgestrel, le désogestrel, le gestodène, les estrogènes naturels tels que l'estradiol ou ses dérivés, les estrogènes synthétiques tels que l'éthinylestradiol, la Δ-4-androstènedione, la testostérone, la dihydrotestostérone ou androstanolone, la DHEA, la trinitrine, le fentanyl, la nitroglycérine, la nicotine (nicotine S(-)), la scopolamine, la clonidine, l'isosorbide dinitrate, l'alclométasone dipropionate, le phloroglucinol, la molsidomine, l'acétazolamide, l'acyclovir, l'adapalène, l'alclométhasone dipropionate, l'amcinonide, l'améleine, le bamethan sulfate + escine, la bétaméthasone valérate, la bétaméthasone dipropionate, le bufexamac, la caféine, le calcipotriol monohydrate, le cetrimonium bromure, le clobétasol propionate, le crilanomère, la désonide, le dexpanthénol, le diclofénac, le diflucortolone, la valérate, le difluprednate, la diphénydramine chlorhydrate, l'econazole nitrate, l'erythromicine, le flumétasone pivalate, le fluocinolone acétonide, la fluocinodine, le fluocortolone, le fluocortolone hexanoate, le fluocortolone pivalate, l'hydrocortisone, l'hydrocortisone acétate, l'ibacitabine, l'ibuprofène, l'imiquimod, le kétoconazole, le kétoprofène, la lidocaine, la métronidazole, le miconazole nitrate, le minoxidil, le niflumide

acide, la penciclovir, le peroxyde benzoyle, la piroxam, la povidone iodé, la promestriène, la pyrazonibutasone, la roxithromycine, la sulfacétalmide, le triamconolone, le tazarotène, le trétinoïne et l'isotrétinoïne, le triclocarban, le vidarabine monophosphate, l'agoniste β-3 adrénergique, l'hormone de croissance, l'oxybutinine, la buprenorphine, le pergolide, le nestorone, le 7α-méthyl-19-nortestérone, la mécamylamine, le salbutamol, le clenbutérol, la sélégiline, la buspirone, la kétotifen, la lidocaïne, le kétorolac, l'eptazocine, l'insuline, l'interféron α, les prostaglandines, l'acide 5 aminolévulinique, la benzodiazepine alprozolam, le diclofenac, le fenoprofen, le flubiprofen, le kétoprofen, la méthylphénidate, la miconazole, le piroxicam, la bruprenorphine, l'alprozolam, la dexmedetomidine, la prazosin (antagoniste α adrénergique), l'alprostadil, le tulobutérol (agoniste β adrénergique), thinylestradiol + norelgestromi, le kétorolac, la physostigmine, le medindolol (agoniste α adrénergique), la rotigotine (dopamine D2 antagoniste), la thiatolserine, Esomeprazole, Melagatran (en cas de thrombose), Rosuvastatine, Ezetimide, Pitavastatine (Hyperlipidemie), Mitiglinide (Diabète de type II), Cilomilast, Viozan (Asthme), Aripipazole (psychiatrie), Omapatrilat (hypertenseur),Orzel (Cancérologie), Caspofongine acétate, Voriconazole (infections), nouveaux Inhibiteurs COX tels que Etoricoxib (inflammation), Valdecoxib (Arthrites) et Parecoxib, Substance P antagoniste (Dépression), Darifenacine (urologie), Eletriptan (Migraine), Alosetron, Tegaserod, Capravirine (HIV) , Finastéride (inhibiteur de la 5-alpha réductase), ainsi que leurs associations.

7. Poudre selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisée en ce que la (les) substance(s) active(s) est (sont) sélectionnée(s) dans le groupe constitué par les vitamines, les sels minéraux, la levure de bière.

8. Poudre selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, caractérisée en ce que l'agent mouillant est sélectionné parmi les polyols tels que le sorbitol, ou encore la glycérine, le PEG, l'hexylène glycol, la triacétine, les huiles végétales hydrogénées telle que l'huile de ricin hydrogénée, les copolymères du polyoxy(éthylène)polyoxy(propylène) tel que le Lutrol® F68, les polyoxyéthylène alkyl éthers tel que le Cremophor®, ainsi que leurs mélanges.

9. Utilisation d'une poudre selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, caractérisée en ce que l'agent diluant est sélectionné dans le groupe constitué par le carbonate ou bicarbonate de calcium, sodium, le sucrose, le mannitol, le xylitol, le sorbitol, le lactose, le maltotol, le glucose, la

poudre de cellulose ou cellulose microcristalline, l'amidon et ses dérivés, le phosphate de calcium dibasique, le phosphate de calcium tribasique, le sulfate de calcium, les dextrates, les dextrines, les excipients de dextrose, le fructose, le kaolin, le lactitol, ainsi que leurs mélanges.

10. Poudre selon l'une des revendications 1 à 9, caractérisée en ce qu'elle comprend en outre un agent anti-statique.

11. Poudre selon la revendication 10, caractérisée en ce que l'agent anti-statique est sélectionné dans le groupe constitué de la silice colloïdale, le silicate de magnésium, le talc, le silicate de calcium et le phosphate de calcium tribasique, ainsi que leur mélanges.

12. Poudre selon l'une quelconque des revendications 1 à 11, caractérisée en ce qu'elle comprend en outre un agent liant pouvant être sélectionné dans le groupe constitué par l'acacia, l'acide alginique, la carboxyméthylcellulose sodique, la cellulose microcristalline, les dextrines, l'éthylcellulose, la gélatine, le glucose, la gomme guar, l'hydroxypropylméthylcellulose, la méthylcellulose, l'oxyde de polyéthylène, la povidone, l'amidon prégélatinisé, ainsi que leurs mélanges.

13. Poudre selon l'une quelconque des revendications 1 à 12, caractérisée en ce qu'elle comprend en outre un promoteur d'absorption sélectionné dans le groupe constitué par les esters d'acide gras aliphatiques comme le myristate d'isopropyle, les acides gras comme l'acide oléique ; les alcools ou polyols tels que l'éthanol, le propylèneglycol et le polyéthylèneglycol ; les composants des huiles essentielles et dérivés terpéniques (comme l'eugenol, le géraniol, le nérol, l'eucalyptol, le menthol) ; les tensioactifs, de préférence non ioniques, tels que le polyoxyéthylène sorbitan (ester d'acide gras), le polyoxyéthylène alkyl éther, le polyoxyéthylène dérivé de l'huile de ricin; les hydratants comme la glycérine, l'urée ; des kératolytiques comme les alpha-hydroxyacides (acide lactique, acide citrique, etc.), le 23-lauryl ether, l'aprotinin, l'azone, le chlorure de benzalkonium, le chlorure de cétylpyridinium, le bromure de cétyltriméthylammonium, les cyclodextrines, le dextran sulfate, l'acide laurique, l'acide laurique, la lysophosphatidylcholine, le menthol, le méthoxysalicylate, le méthyloleate, l'acide oléique, la phosphatidylcholine, le polyoxyethylene, le polysorbate 80, l'EDTA de sodium, le glycocholate de sodium, le glycodeoxycholate de sodium, le lauryl sulfate de sodium, le salycilate de sodium, le taurocholate de sodium, le taurodeoxycholate de sodium, les sulfoxides, les alkyl glycosides, ainsi que leur mélange

14. Poudre selon l'une quelconque des revendications 1 à 13, caractérisée en ce qu'elle comprend en outre un agent édulcorant et/ou un agent aromatisant.

15. Poudre selon la revendication 14, caractérisée en ce que l'agent édulcorant est sélectionné dans le groupe constitué par l'aspartame, les dextrates, le dextrose, le fructose, le mannitol, le saccharinate de sodium ou de calcium, le sorbitol, le sucralose, le sucrose, ainsi que leurs mélanges.

16. Poudre selon la revendication 14, caractérisée en ce que l'agent aromatisant est sélectionné dans le groupe constitué par par les arômes d'origine synthétiques, semi-synthétiques ou naturels. On peut citer par exemple la menthe, la menthe poivrée, le citron, la banane, la fraise, la framboise, la mandarine, l'orange, la vanille, les fruit de la passion, le caramel, ainsi que leurs mélanges.

17. Poudre selon l'une quelconque des revendications 1 à 16, caractérisée en ce qu'elle se présente sous une forme adaptée à son application sur la muqueuse buccale, la muqueuse nasale ou la muqueuse vaginale.

18. Poudre selon l'une des revendications 1 à 14, caractérisée en ce qu'elle se présente sous une forme adaptée à son application sur la muqueuse buccale par voie sublinguale.

19. Poudre selon l'une quelconque des revendications 1 à 18, caractérisée en ce qu'elle se présente sous une forme pulvérisable.

20. Poudre selon l'une quelconque des revendications 1 à 18, caractérisée en ce qu'elle se présente conditionnée dans un sachet-dose.

21. Poudre selon l'une quelconque des revendications 1 à 18, caractérisée en ce qu'elle se présente conditionnée dans une capsule thermoformée muni d'un opercule pelable.

22. Poudre selon l'une quelconque des revendications 1 à 18, caractérisée en ce qu'elle se présente dans un conditionnement adapté à l'administration de poudre connu de l'homme du métier.

23. Utilisation d'une poudre selon l'une des revendications 1 à 20, pour la fabrication d'une composition pharmaceutique ou nutraceutique à libération immédiate.

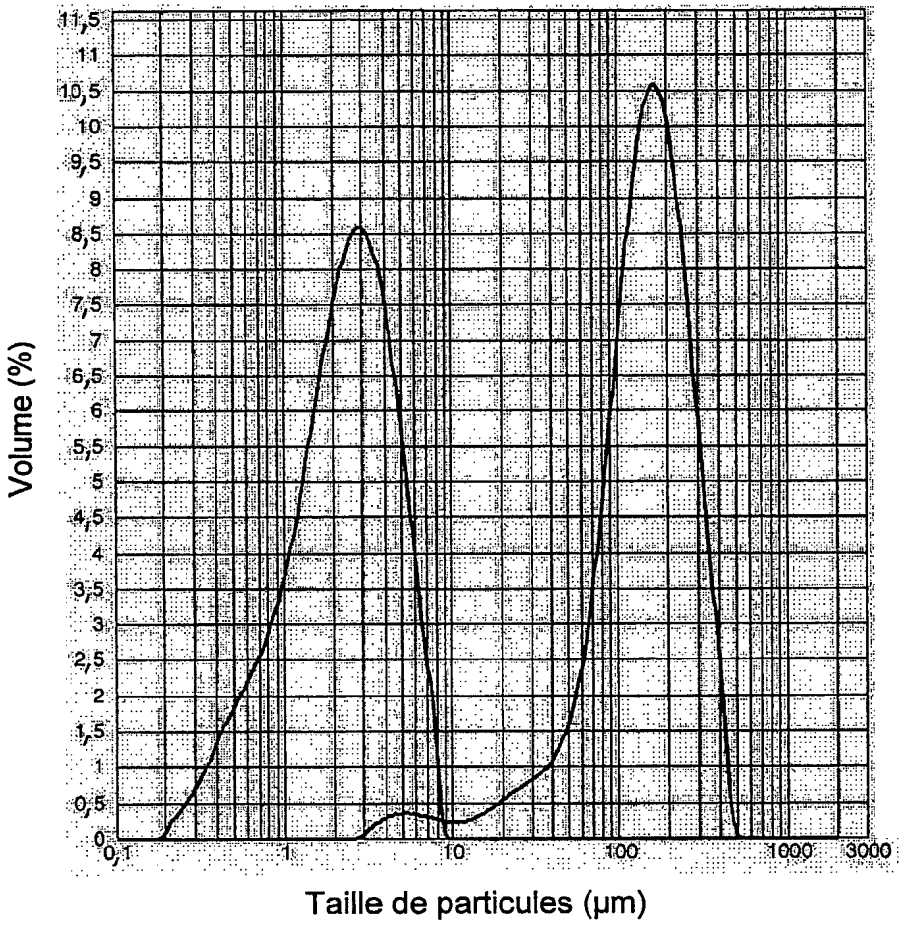

Volume (%)
11,5
11
10,5
10
9,5
9
8,5
8
7,5
7
6,5
6
5,5
5
4,5
4
3,5
3
2,5
2
1,5
1
0,5
0
0,1
1
10
100
1000
3000
Taille de particules (µm)

FIGURE 1

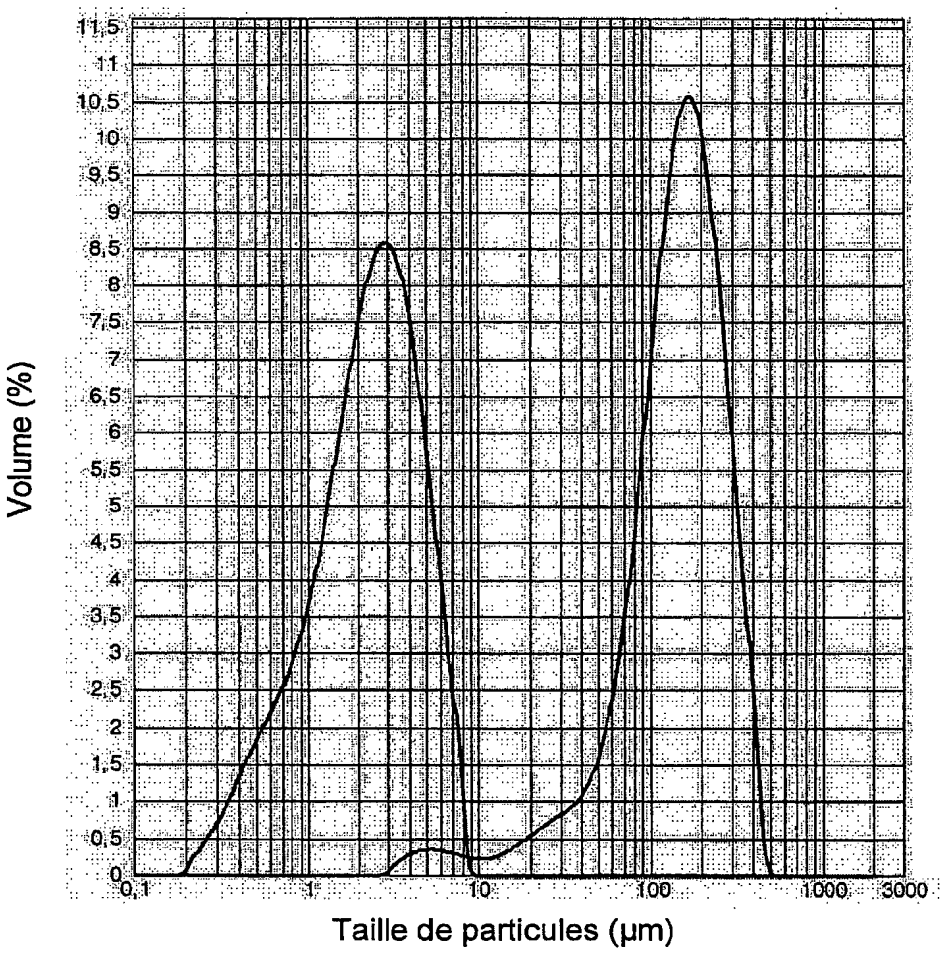

Volume (%)
11,5
11
10,5
10
9,5
9
8,5
8
7,5
7
6,5
6
5,5
5
4,5
4
3,5
3
2,5
2
1,5
1
0,5
0
0,1
1
10
100
1000
3000
Taille de particules (µm)

FIGURE 2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Interna - l Application No
PCT/FR 02/04575

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 A61K9/00 A61K47/10 A61K47/26

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)
WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 073 374 A (J.A. MCCARTY) 17 December 1991 (1991-12-17) claims column 2, line 13 - line 48 column 1, line 23 - line 34 ---	1,6,8,9, 12,13, 17,18,23
X	US 5 157 030 A (A. GALAT) 20 October 1992 (1992-10-20) claims examples --- -/--	1,4,5,8, 9,12,13, 17,19, 22,23

[X] Further documents are listed in the continuation of box C.

[X] 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.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
16 April 2003	28/04/2003

Name and mailing address of the ISA	Authorized officer
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	Scarponi, U

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Interna | Application No
PCT/FR 02/04575

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication,where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 99 24019 A (ORBON) 20 May 1999 (1999-05-20) claims page 4, line 4 - line 10 example 3	1,6,8,9, 13,22,23
X	WO 99 51239 A (DU PONT) 14 October 1999 (1999-10-14) claims 1-5,15-17 page 5, line 3 -page 6, line 14 page 6, line 36 -page 7, line 15 page 9, line 31 -page 10, line 25 examples page 11, line 5 - line 9 page 2, line 31 - line 33	1,4, 8-13,19, 21-23
A	US 5 320 848 A (R.P. GEYER ET AL.) 14 June 1994 (1994-06-14) claims column 4, line 34 - line 35 examples column 5, line 3 - line 68	1-23
A	EP 0 358 951 A (BASF) 21 March 1990 (1990-03-21) claims column 2, line 35 - line 40	1-23
A	US 5 068 467 A (Y. KUNIMI ET AL.) 26 November 1991 (1991-11-26) claims	1-23
A	EP 0 266 113 A (AMERICAN HOME PRODUCTS) 4 May 1988 (1988-05-04) claims examples	1-23
A	WO 01 03672 A (PROGRAPHARM) 18 January 2001 (2001-01-18) claims examples	1-23

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

nation on patent family members

Interna | Application No
PCT/FR 02/04575

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5073374 A	17-12-1991	AU 631584 B2	03-12-1992
		AU 4665489 A	26-06-1990
		CA 2004033 A1	31-05-1990
		DK 92991 A	16-05-1991
		EP 0371466 A1	06-06-1990
		EP 0446298 A1	18-09-1991
		JP 4502318 T	23-04-1992
		NO 912001 A	24-05-1991
		NZ 231570 A	25-06-1991
		WO 9006136 A1	14-06-1990
		US 5112616 A	12-05-1992
		ZA 8909070 A	29-08-1990
US 5157030 A	20-10-1992	NONE	
WO 9924019 A	20-05-1999	AU 1307399 A	31-05-1999
		CN 1244794 T	16-02-2000
		EP 0966271 A1	29-12-1999
		JP 2001507722 T	12-06-2001
		WO 9924019 A1	20-05-1999
WO 9951239 A	14-10-1999	AT 223719 T	15-09-2002
		AU 3463799 A	25-10-1999
		BR 9908810 A	19-12-2000
		CA 2321523 A1	14-10-1999
		CN 1296412 T	23-05-2001
		DE 69902893 D1	17-10-2002
		DK 1067936 T3	17-02-2003
		EE 200000589 A	15-04-2002
		EP 1067936 A1	17-01-2001
		ES 2181417 T3	16-02-2003
		HU 0101517 A2	28-11-2001
		JP 2002510634 T	09-04-2002
		NO 20005043 A	06-10-2000
		NZ 507566 A	26-11-2002
		PL 343421 A1	13-08-2001
		PT 1067936 T	31-12-2002
		SK 14612000 A3	10-07-2001
		WO 9951239 A1	14-10-1999
		US 6238695 B1	29-05-2001
		US 2001012518 A1	09-08-2001
US 5320848 A	14-06-1994	US 5380535 A	10-01-1995
		AU 653423 B2	29-09-1994
		AU 2146792 A	08-01-1993
		CA 2103443 A1	29-11-1992
		EP 0587744 A1	23-03-1994
		JP 2948317 B2	13-09-1999
		JP 6511478 T	22-12-1994
		WO 9221328 A1	10-12-1992
EP 358951 A	21-03-1990	DE 3827362 A1	15-02-1990
		AT 75941 T	15-05-1992
		DE 58901404 D1	17-06-1992
		EP 0358951 A1	21-03-1990
		JP 2243630 A	27-09-1990
		US 4950654 A	21-08-1990

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

mation on patent family members

Interna | Application No
PCT/FR 02/04575

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5068467 A	26-11-1991	JP 1213245 A	28-08-1989
		JP 1828511 C	15-03-1994
		JP 5036424 B	31-05-1993
		AU 2983789 A	24-08-1989
		CA 1333071 A1	15-11-1994
		CN 1035510 A ,B	13-09-1989
		DE 68902657 D1	08-10-1992
		DE 68902657 T2	28-01-1993
		EP 0330352 A1	30-08-1989
		KR 9305255 B1	17-06-1993
EP 266113 A	04-05-1988	US 4760093 A	26-07-1988
		AT 63464 T	15-06-1991
		AU 594203 B2	01-03-1990
		AU 7950987 A	28-04-1988
		CA 1290251 A1	08-10-1991
		DE 3770116 D1	20-06-1991
		EP 0266113 A1	04-05-1988
		ES 2032450 T3	16-02-1993
		GR 3002108 T3	30-12-1992
		IE 61952 B1	30-11-1994
		JP 2542400 B2	09-10-1996
		JP 63112513 A	17-05-1988
		KR 9513751 B1	15-11-1995
WO 0103672 A	18-01-2001	FR 2795962 A1	12-01-2001
		AU 5993600 A	30-01-2001
		BG 106398 A	30-09-2002
		BR 0012250 A	26-03-2002
		CN 1373658 T	09-10-2002
		CZ 20020018 A3	17-04-2002
		EP 1194125 A1	10-04-2002
		WO 0103672 A1	18-01-2001
		HU 0202062 A2	28-12-2002
		JP 2003504324 T	04-02-2003
		NO 20016308 A	21-12-2001
		SK 19392001 A3	04-04-2002
		TR 200200013 T2	21-06-2002
		US 2002098227 A1	25-07-2002

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No
PCT/FR 02/04575

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 7 A61K9/00 A61K47/10 A61K47/26

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)
CIB 7 A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)
WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie °	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	US 5 073 374 A (J.A. MCCARTY) 17 décembre 1991 (1991-12-17) revendications colonne 2, ligne 13 - ligne 48 colonne 1, ligne 23 - ligne 34 ---	1,6,8,9, 12,13, 17,18,23
X	US 5 157 030 A (A. GALAT) 20 octobre 1992 (1992-10-20) revendications exemples --- -/--	1,4,5,8, 9,12,13, 17,19, 22,23

[X] Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

[X] Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

° Catégories spéciales de documents cités:

"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date

"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'inven tion revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'inven tion revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale
16 avril 2003	28/04/2003

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale	Fonctionnaire autorisé
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk Tel. (+31–70) 340–2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31–70) 340–3016	Scarponi, U

Formulaire PCT/ISA/210 (deuxième feuille) (juillet 1992)

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie °	Identification des documents cités, avec,le cas échéant, l'indicationdes passages pertinents	no. des revendications visées
X	WO 99 24019 A (ORBON) 20 mai 1999 (1999-05-20) revendications page 4, ligne 4 - ligne 10 exemple 3	1,6,8,9, 13,22,23
X	WO 99 51239 A (DU PONT) 14 octobre 1999 (1999-10-14) revendications 1-5,15-17 page 5, ligne 3 -page 6, ligne 14 page 6, ligne 36 -page 7, ligne 15 page 9, ligne 31 -page 10, ligne 25 exemples page 11, ligne 5 - ligne 9 page 2, ligne 31 - ligne 33	1,4, 8-13,19, 21-23
A	US 5 320 848 A (R.P. GEYER ET AL.) 14 juin 1994 (1994-06-14) revendications colonne 4, ligne 34 - ligne 35 exemples colonne 5, ligne 3 - ligne 68	1-23
A	EP 0 358 951 A (BASF) 21 mars 1990 (1990-03-21) revendications colonne 2, ligne 35 - ligne 40	1-23
A	US 5 068 467 A (Y. KUNIMI ET AL.) 26 novembre 1991 (1991-11-26) revendications	1-23
A	EP 0 266 113 A (AMERICAN HOME PRODUCTS) 4 mai 1988 (1988-05-04) revendications exemples	1-23
A	WO 01 03672 A (PROGRAPHARM) 18 janvier 2001 (2001-01-18) revendications exemples	1-23

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs au: nbres de familles de brevets

Deman ternationale No
PCT/FR 02/04575

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)		Date de publication
US 5073374	A	17-12-1991	AU	631584 B2	03-12-1992
			AU	4665489 A	26-06-1990
			CA	2004033 A1	31-05-1990
			DK	92991 A	16-05-1991
			EP	0371466 A1	06-06-1990
			EP	0446298 A1	18-09-1991
			JP	4502318 T	23-04-1992
			NO	912001 A	24-05-1991
			NZ	231570 A	25-06-1991
			WO	9006136 A1	14-06-1990
			US	5112616 A	12-05-1992
			ZA	8909070 A	29-08-1990
US 5157030	A	20-10-1992	AUCUN		
WO 9924019	A	20-05-1999	AU	1307399 A	31-05-1999
			CN	1244794 T	16-02-2000
			EP	0966271 A1	29-12-1999
			JP	2001507722 T	12-06-2001
			WO	9924019 A1	20-05-1999
WO 9951239	A	14-10-1999	AT	223719 T	15-09-2002
			AU	3463799 A	25-10-1999
			BR	9908810 A	19-12-2000
			CA	2321523 A1	14-10-1999
			CN	1296412 T	23-05-2001
			DE	69902893 D1	17-10-2002
			DK	1067936 T3	17-02-2003
			EE	200000589 A	15-04-2002
			EP	1067936 A1	17-01-2001
			ES	2181417 T3	16-02-2003
			HU	0101517 A2	28-11-2001
			JP	2002510634 T	09-04-2002
			NO	20005043 A	06-10-2000
			NZ	507566 A	26-11-2002
			PL	343421 A1	13-08-2001
			PT	1067936 T	31-12-2002
			SK	14612000 A3	10-07-2001
			WO	9951239 A1	14-10-1999
			US	6238695 B1	29-05-2001
			US	2001012518 A1	09-08-2001
US 5320848	A	14-06-1994	US	5380535 A	10-01-1995
			AU	653423 B2	29-09-1994
			AU	2146792 A	08-01-1993
			CA	2103443 A1	29-11-1992
			EP	0587744 A1	23-03-1994
			JP	2948317 B2	13-09-1999
			JP	6511478 T	22-12-1994
			WO	9221328 A1	10-12-1992
EP 358951	A	21-03-1990	DE	3827362 A1	15-02-1990
			AT	75941 T	15-05-1992
			DE	58901404 D1	17-06-1992
			EP	0358951 A1	21-03-1990
			JP	2243630 A	27-09-1990
			US	4950654 A	21-08-1990

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale No
PCT/FR 02/04575

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)		Date de publication
US 5068467	A	26-11-1991	JP	1213245 A	28-08-1989
			JP	1828511 C	15-03-1994
			JP	5036424 B	31-05-1993
			AU	2983789 A	24-08-1989
			CA	1333071 A1	15-11-1994
			CN	1035510 A ,B	13-09-1989
			DE	68902657 D1	08-10-1992
			DE	68902657 T2	28-01-1993
			EP	0330352 A1	30-08-1989
			KR	9305255 B1	17-06-1993
EP 266113	A	04-05-1988	US	4760093 A	26-07-1988
			AT	63464 T	15-06-1991
			AU	594203 B2	01-03-1990
			AU	7950987 A	28-04-1988
			CA	1290251 A1	08-10-1991
			DE	3770116 D1	20-06-1991
			EP	0266113 A1	04-05-1988
			ES	2032450 T3	16-02-1993
			GR	3002108 T3	30-12-1992
			IE	61952 B1	30-11-1994
			JP	2542400 B2	09-10-1996
			JP	63112513 A	17-05-1988
			KR	9513751 B1	15-11-1995
WO 0103672	A	18-01-2001	FR	2795962 A1	12-01-2001
			AU	5993600 A	30-01-2001
			BG	106398 A	30-09-2002
			BR	0012250 A	26-03-2002
			CN	1373658 T	09-10-2002
			CZ	20020018 A3	17-04-2002
			EP	1194125 A1	10-04-2002
			WO	0103672 A1	18-01-2001
			HU	0202062 A2	28-12-2002
			JP	2003504324 T	04-02-2003
			NO	20016308 A	21-12-2001
			SK	19392001 A3	04-04-2002
			TR	200200013 T2	21-06-2002
			US	2002098227 A1	25-07-2002

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
3 March 2005 (03.03.2005)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2005/018565 A2

(51) International Patent Classification[7]: A61K

(21) International Application Number:
PCT/US2004/027156

(22) International Filing Date: 18 August 2004 (18.08.2004)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/560,748 21 August 2003 (21.08.2003) US
60/598,672 3 August 2004 (03.08.2004) US

(71) Applicant *(for all designated States except US)*: **TRANSORAL PHARMACEUTICALS, INC.** [US/US]; 300 Tamal Plaza, Suite 220, Corte Madera, CA 94925 (US).

(72) Inventor; and

(75) Inventor/Applicant *(for US only)*: **SINGH, Nikhilesh, N.** [US/US]; 1220 Shelter Bay Avenue, Mill Valley, CA 94941 (US).

(74) Agents: **KEZER, William, B.** et al.; Townsend and Townsend and Crew LLP, Two Embarcadero Center, 8th Floor, San Francisco, CA 94111-3834 (US).

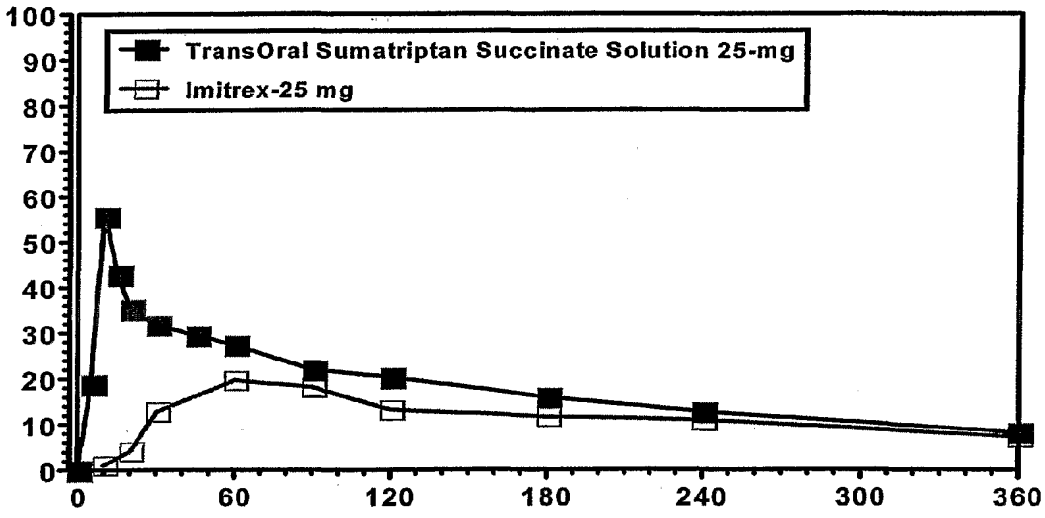
(81) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of national protection available)*: AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available)*: ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:
— *without international search report and to be republished upon receipt of that report*

[Continued on next page]

(54) Title: COMPOSITIONS FOR DELIVERING 5-HT AGONISTS ACROSS THE ORAL MUCOSA AND METHODS OF USE THEREOF



(57) Abstract: The present invention provides novel compositions for the delivery of a 5-hydroxytryptamine (5-HT) agonist across the oral mucosa. In particular, the buffer system in the compositions of the present invention raises the pH of saliva to a pH greater than about 9.9, thereby facilitating the substantially complete conversion of the 5-HT agonist from its ionized to its un-ionized form. As a result, the dose of 5-HT agonist is rapidly and efficiently absorbed by the oral mucosa. Furthermore, delivery of the 5-HT agonist across the oral mucosa advantageously bypasses hepatic first pass metabolism of the drug and avoids enzymatic degradation of the drug within the gastrointestinal tract. Methods for using the compositions of the present invention for treating migraines are also provided.

WO 2005/018565 A2

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

COMPOSITIONS FOR DELIVERING 5-HT AGONISTS ACROSS THE ORAL MUCOSA AND METHODS OF USE THEREOF

CROSS-REFERENCES TO RELATED APPLICATIONS

[0001] This application claims priority to each of USSN 10/646,659, filed August 21, 2003 and USSN 60/598,672 filed August 3, 2004 (Atty Docket No. 022205-000310US), the disclosures of each being incorporated herein by reference.

STATEMENT AS TO RIGHTS TO INVENTIONS MADE UNDER FEDERALLY SPONSORED RESEARCH OR DEVELOPMENT

[0002] NOT APPLICABLE

REFERENCE TO A "SEQUENCE LISTING," A TABLE, OR A COMPUTER PROGRAM LISTING APPENDIX SUBMITTED ON A COMPACT DISK

[0003] NOT APPLICABLE

BACKGROUND OF THE INVENTION

[0004] While there are various types of dosage forms, solid dosage forms for oral administration are perhaps among the most preferred by patients, and among the most prevalently used. These dosage forms are typically medicaments formulated as tablets, capsules, or liquids, which are swallowed. Oral administration, however, has several disadvantages, such as drug losses during hepatic first pass metabolism, during enzymatic degradation within the GI tract, and during absorption. These drug losses not only increase the variability in drug response, but also often require that the medicament be given in greater initial doses. In addition, because the drug has to pass through the gastrointestinal system in order to enter the blood stream, the time to reach a therapeutic effect may be quite long, typically around forty-five minutes or longer.

[0005] Accordingly, other routes of drug administration have been investigated, including those involving transport across the mucous membranes. Of the various mucous membranes (*e.g.*, oral, rectal, vaginal, ocular, nasal, etc.), drug delivery via the mucous membranes in the

oral cavity seems to be the most easily tolerated by patients. In addition to avoiding the problems with traditional oral administration, drug delivery via the mucous membranes of the oral cavity has certain other advantages, due to the properties of the oral mucosa itself. For example, the mucous membranes of the oral cavity are highly vascularized and well supplied with lymphatic drainage sites.

[0006] In general, the mucous membranes of the oral cavity can be divided into five main regions: the floor of the mouth (sublingual), the cheeks (buccal), the gums (gingival), the roof of the mouth (palatal), and the lining of the lips. These regions differ from each other with respect to their anatomy, drug permeability, and physiological response to drugs. For example, in terms of permeability, sublingual is more permeable than buccal, which is more permeable than palatal. This permeability is generally based on the relative thickness and degree of keratinization of these membranes, with the sublingual mucosa being relatively thin and non-keratinized, the buccal mucosa being thicker and non-keratinized, and the palatal mucosa being intermediate in thickness, but keratinized.

[0007] In addition to the differences in permeability of the various mucous membranes, the extent of drug delivery is also affected by the properties of the drug to be delivered. The ability of a molecule to pass through any mucous membrane is dependent upon its size, its lipid solubility, and the extent to which it is ionized, among other factors.

[0008] The extent to which a drug is ionized has further been investigated with respect to drug delivery across the mucous membranes. Ionization is dependant on the dissociation constant, or pKa of the molecule, and the pH of the molecule's surrounding environment. In its un-ionized form, a drug is sufficiently lipophilic to traverse a membrane via passive diffusion. In fact, according to the pH partition hypothesis, only un-ionized, non-polar drugs will penetrate a lipid membrane.

[0009] At equilibrium, the concentrations of the un-ionized form of the drug are equal on both sides of the membrane. As the concentration gradient drives passive diffusion, an increase in the percentage of the un-ionized form of a drug correspondingly increases the transmucosal absorption of the drug. Maximum absorption across the membrane is thought to occur when a drug is 100% in its un-ionized form. Similarly, absorption across the membrane decreases as the extent of ionization increases. Therefore, one may influence the extent of drug absorption across the mucous membranes of the oral cavity by altering the salivary pH.

[0010] Some of the known transmucosal dosage forms include the use of a single buffering agent in order to change the pH of the saliva and tissues surrounding the buccal mucosa. However, these single buffering agents typically react with an acid or a base to create a final pH that is dependent upon the initial pH of the saliva of the user. A buffering agent used to attain a final pH that is dependent upon the initial pH of the user results in great variability. The extent of ionization, and hence the extent of absorption across the mucous membranes cannot be predicted with any sort of accuracy. This may pose significant problems when calculating precise doses, minimizing variability in patient response, and proving consistency in drug loading to the regulatory authorities. In addition, a single buffering agent is typically not capable of sustaining a given pH over a period of time for optimal absorption. While others in the art have disclosed the use of more than one buffering agent, these aforementioned problems are not easily cured by the nonchalant addition of an extra buffering agent, which may be unsafe and cause irreversible damage to the mucous membranes of the oral cavity. As such, a buffering system capable of achieving and sustaining a final pH independent of the initial pH in order to increase transmucosal absorption has not heretofore been demonstrated.

[0011] Similarly, a buffer system that facilitates substantially complete conversion of the ionized form of a drug to the un-ionized form in the shortest period of time, which is critical for producing rapid delivery of practically an entire drug dose across the oral mucosa, has not heretofore been demonstrated. Previous dosage forms resulted in great variability in drug delivery, due to the variability in the rates in which a drug was released from its carrier. That is, the rates of drug release in previously described chewing gums or lozenges are largely dependent upon the rate of chewing or sucking of the user. The variability in these rates from user to user further exacerbates the ability to predict the final amount of drug that will enter systemic circulation. In addition, the rate of drug release from chewing gums is further dependent upon the ability of the drug to be released from the gum base. Often times, the gum base strongly adheres to the drug, making portions of the drug unavailable for absorption.

[0012] Accordingly, there is a need in the art for compositions for delivering therapeutic agents across the oral mucosa having buffer systems that facilitate absorption of the agents in a safe and stable manner. Similarly, there is a need in the art for compositions for delivering therapeutic agents across the oral mucosa having a buffer system that produces a final pH, independent of the initial pH, and sustains that final pH for a given period of time. In

addition, there is a need in the art for compositions capable of rapidly facilitating substantially complete conversion of a therapeutic agent from its ionized to its un-ionized form. The present invention satisfies these and other needs.

BRIEF SUMMARY OF THE INVENTION

[0013] The present invention provides novel compositions for the delivery of a 5-hydroxytryptamine (5-HT) agonist across the oral mucosa. In particular, the buffer system in the compositions of the present invention raises the pH of saliva to a pH greater than about 9.9, thereby facilitating the substantially complete conversion of the 5-HT agonist from its ionized to its un-ionized form. As a result, the dose of 5-HT agonist is rapidly and efficiently absorbed by the oral mucosa. Furthermore, delivery of the 5-HT agonist across the oral mucosa advantageously bypasses hepatic first pass metabolism of the drug and avoids enzymatic degradation of the drug within the gastrointestinal tract. Methods for using the compositions of the present invention for treating migraines are also provided.

[0014] As such, in one aspect, the present invention provides a composition for delivery of a 5-HT agonist across the oral mucosa, the composition comprising:

(a) a 5-HT agonist or a pharmaceutically acceptable salt thereof;

(b) a carrier; and

(c) a ternary buffer system comprising a carbonate salt, a bicarbonate salt, and a metal oxide,

wherein the ternary buffer system raises the pH of saliva to a pH greater than about 9.9 irrespective of the starting pH of saliva.

[0015] In another aspect, the present invention provides a composition for delivery of a 5-HT agonist across the oral mucosa, the composition comprising:

(a) a 5-HT agonist or a pharmaceutically acceptable salt thereof;

(b) a carrier; and

(c) a ternary buffer system comprising a carbonate salt, a bicarbonate salt, and a citrate, phosphate, or borate salt,

wherein the ternary buffer system raises the pH of saliva to a pH greater than about 9.9 irrespective of the starting pH of saliva.

[0016] In yet another aspect, the present invention provides a composition for delivery of a 5-HT agonist across the oral mucosa, the composition comprising:

(a) a 5-HT agonist or a pharmaceutically acceptable salt thereof;

(b) a carrier; and

(c) a buffer system comprising a carbonate salt or a bicarbonate salt and two or more buffering agents selected from the group consisting of a metal oxide, a citrate salt, a phosphate salt, and a borate salt,

wherein the buffer system raises the pH of saliva to a pH greater than about 9.9 irrespective of the starting pH of saliva.

[0017] In still yet another aspect, the present invention provides a composition for delivery of a 5-HT agonist across the oral mucosa, the composition comprising:

(a) a 5-HT agonist or a pharmaceutically acceptable salt thereof;

(b) a carrier; and

(c) a binary buffer system comprising a carbonate salt or a bicarbonate salt and a metal oxide,

wherein the binary buffer system raises the pH of saliva to a pH greater than about 9.9 irrespective of the starting pH of saliva.

[0018] In a further aspect, the present invention provides a composition for delivery of a 5-HT agonist across the oral mucosa, the composition comprising:

(a) a 5-HT agonist or a pharmaceutically acceptable salt thereof;

(b) a carrier; and

(c) a binary buffer system comprising a carbonate salt or a bicarbonate salt and a citrate, phosphate, or borate salt,

wherein the binary buffer system raises the pH of saliva to a pH greater than about 9.9 irrespective of the starting pH of saliva.

[0019] In another aspect, the present invention provides a composition for delivery of a 5-HT agonist across the oral mucosa, the composition comprising:

(a) a 5-HT agonist or a pharmaceutically acceptable salt thereof;

(b) a carrier; and

(c) a binary buffer system comprising a metal oxide and a citrate, phosphate, or borate salt,

wherein the binary buffer system raises the pH of saliva to a pH greater than about 9.9 irrespective of the starting pH of saliva.

[0020] In yet another aspect, the present invention provides a method for treating a migraine in a subject in need thereof, the method comprising:

administering to the subject a composition comprising a therapeutically effective amount of a 5-HT agonist or a pharmaceutically acceptable salt thereof, a carrier, and a ternary buffer system comprising a carbonate salt, a bicarbonate salt, and a metal oxide, wherein the ternary buffer system raises the pH of saliva to a pH greater than about 9.9 irrespective of the starting pH of saliva.

[0021] Other objects, features, and advantages of the present invention will be apparent to one of skill in the art from the following detailed description and figures.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

[0022] Figure 1 shows the mean plasma concentration over time for Formulation A (25 mg buccal sumatriptan succinate solution) and Formulation B (25 mg Imitrex® oral tablet).

[0023] Figure 2 shows the pH stability of a 9 mg and a 12.5 mg sublingual sumatriptan composition of the present invention.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

I. Definitions

[0024] As used herein, the following terms have the meanings ascribed to them unless specified otherwise.

[0025] The term "migraine" refers to an intense, throbbing, typically unilateral headache characterized by sharp pain and often accompanied by symptoms such as nausea, vomiting, sensitivity to light and/or sound, stuffy or runny nose, watery eyes, dizziness, mood changes, allodynia, and visual disturbances. Migraines are typically recurring headaches, and most migraine sufferers (*i.e.*, subjects) experience at least one migraine attack a month. Migraines can happen at any time and, if left untreated, can last from about 4 hours to about 3 days. One skilled in the art will appreciate that migraine symptoms can not only vary between subjects, but can also vary between migraine attacks in a given subject. The pain from a migraine is moderate to severe in intensity and can affect one of both sides of the head as well as other areas such as the back of the neck, the face, the eyes, and the sinuses. Types of migraine suitable for treatment with the compositions of the present invention include,

without limitation, migraine without aura and migraine with aura. The term "migraine without aura" refers to the most common type of migraine and includes an intense, throbbing headache that is typically accompanied by sensitivity to light and/or sound. The term "migraine with aura" refers to a type of migraine that is preceded by aura.

[0026] As used herein, the term "aura" refers to the visual disturbances that some migraine sufferers have before a migraine attack. Aura typically develops gradually immediately preceding a migraine and lasts less than about an hour. Generally, about 3 out of every 10 subjects who suffer from migraines experience aura before a migraine attack. Aura is accompanied by symptoms including, without limitation, visual changes such as tunnel vision, blind spots, blurred vision, seeing flashing lights, seeing jagged lines, seeing spots, and difficulty in focusing; sensory or motor changes such as numbness or tingling of the lips, face, or hands on one or both sides and weakness in the arms and/or legs on one or both sides; and speech or language changes such as the inability to understand words, loss of speech, and the inability to speak normally.

[0027] The terms "therapeutic agent" and "drug" are used interchangeably herein to refer to a substance having a pharmaceutical, pharmacological, psychosomatic, or therapeutic effect. Preferably, the therapeutic agent or drug is a 5-hydroxytryptamine (5-HT) agonist. Suitable 5-HT agonists for use in the present invention include, without limitation, sumatriptan, naratriptan, rizatriptan, eletriptan, almotriptan, zolmitriptan, frovatriptan, F 11356, pharmaceutically acceptable salts thereof, and combinations thereof. In a particularly preferred embodiment, the 5-HT agonist is sumatriptan, in all suitable forms. In other embodiments of the present invention, the therapeutic agent or drug is a combination of a 5-HT agonist and a 5-HT antagonist. Suitable 5-HT antagonists for use in the present invention include, without limitation, ondansetron, palonosetron, tropisetron, lerisetron, alosetron, granisetron, dolasetron, bernesetron, ramosetron, azaseteron, itasetron, zacopride, cilasetron, and any other 5-HT antagonist containing an imidazole, oxazole, thiazole, pyrazole, 3-pyrroline, or pyrrolidine group. In still other embodiments of the present invention, the therapeutic agent or drug is a combination of a 5-HT agonist and a non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID). Suitable NSAIDs for use in the present invention include, without limitation, traditional NSAIDs such as aspirin (*i.e.,* acetylsalicylic acid), ibuprofen, flurbiprofen, acetaminophen, diclofenac, diflunisal, etodolac, indomethacin, ketoprofen, ketorolac, naproxen, nabumetone, oxaprozin, piroxicam, sulindac, and tolmetin; selective

cyclooxygenase inhibitors such as celecoxib, rofecoxib, and valdecoxib; and combinations thereof.

[0028] The term "therapeutically effective amount" refers to the amount of a 5-HT agonist that is capable of achieving a therapeutic effect in a subject in need thereof. For example, a therapeutically effective amount of a 5-HT agonist can be the amount that is capable of preventing or relieving one or more symptoms associated with a migraine or a cluster headache.

[0029] The term "bioavailability" refers to the rate and/or extent to which a drug is absorbed or becomes available to the treatment site in the body.

[0030] As used herein, the phrase "substantially complete conversion of the 5-HT agonist from its ionized to its un-ionized form" refers to greater than about 50% conversion of the 5-HT agonist from its ionized form into its un-ionized form. For example, the buffer system may favor at least about 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, or 99% conversion of the 5-HT agonist from its ionized form into its un-ionized form. In some embodiments, the conversion occurs within about 10 minutes following administration.

[0031] The term "administering" refers to administration of the compositions of the present invention to the mucous membranes of the oral cavity (*i.e.,* oral mucosa). Examples of suitable sites of administration within the oral mucosa include, without limitation, the mucous membranes of the floor of the mouth (sublingual mucosa), the cheeks (buccal mucosa), the gums (gingival mucosa), the roof of the mouth (palatal mucosa), the lining of the lips, and combinations thereof. Preferably, the compositions of the present invention are administered to the sublingual mucosa, buccal mucosa, or a combination thereof.

II. General

[0032] The present invention provides novel compositions for the delivery of a 5-HT agonist across the oral mucosa. In particular, the buffer system in the compositions of the present invention raises the pH of saliva to a pH greater than about 9.9, thereby facilitating the substantially complete conversion of the 5-HT agonist from its ionized to its un-ionized form. Furthermore, delivery of the 5-HT agonist across the oral mucosa advantageously bypasses hepatic first pass metabolism of the drug and avoids enzymatic degradation of the drug within the gastrointestinal tract. As a result, the 5-HT agonist reaches the systemic circulation in a substantially shorter period of time and at a substantially higher concentration

than with traditional oral (*e.g.*, tablet) administration. Methods for using the compositions of the present invention for treating migraines are also provided.

[0033] The present invention is based upon the surprising discovery that the addition of an oxide component such as magnesium oxide to the buffer system is extremely beneficial for (a) raising the pH of saliva to a pH of about 9.9 or more, irrespective of starting pH; (b) reducing the corrosivity of the carbonate component present in the buffer system; (c) serving as a secondary binding agent thereby eliminating the need for stearic acid; and (d) lowering the amount of the carbonate component needed to produce the desired pH. Without intending to be bound by any particular theory, it is believed that the oxide component (*e.g.*, magnesium oxide and aluminum oxide) acts as a cytoprotective agent, protecting cells against the high pH of carbonate and bicarbonate components present in the buffered compositions.

III. Description of the Embodiments

[0034] The present invention provides, in one aspect, a composition for delivery of a 5-HT agonist across the oral mucosa, the composition comprising:

(a) a 5-HT agonist or a pharmaceutically acceptable salt thereof;

(b) a carrier; and

(c) a ternary buffer system comprising a carbonate salt, a bicarbonate salt, and a metal oxide,

wherein the ternary buffer system raises the pH of saliva to a pH greater than about 9.9 irrespective of the starting pH of saliva.

[0035] In one embodiment, the ternary buffer system raises the pH of saliva to a pH of from about 9.9 to about 11, *e.g.*, about 9.9, 10.0, 10.1, 10.2, 10.3, 10.4, 10.5, 10.6, 10.7, 10.8, 10.9, 11.0, irrespective of the starting pH of saliva. In another embodiment, the 5-HT agonist is selected from the group consisting of sumatriptan, naratriptan, rizatriptan, eletriptan, almotriptan, zolmitriptan, frovatriptan, and combinations thereof. In some embodiments, sumatriptan is the preferred 5-HT agonist. In certain instances, the composition further comprises a 5-HT antagonist. In certain other instances, the composition further comprises a non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID). In another embodiment, the carbonate salt is selected from the group consisting of sodium carbonate, potassium carbonate, calcium carbonate, ammonium carbonate, and magnesium carbonate. In yet another embodiment, the bicarbonate salt is selected from the group consisting of sodium bicarbonate, potassium bicarbonate, calcium bicarbonate, ammonium bicarbonate, and magnesium bicarbonate. In

still yet another embodiment, the metal oxide is amorphous magnesium oxide or aluminum oxide. In a preferred embodiment, the ternary buffer system comprises sodium carbonate, sodium bicarbonate, and amorphous magnesium oxide. In another preferred embodiment, the sodium bicarbonate is dessicant-coated sodium bicarbonate.

[0036] In another embodiment, the compositions of the present invention are in a dosage form selected from the group consisting of a lozenge, a chewing gum, a chewable tablet, and a dissolving tablet such as a slow-dissolving tablet or a quick-dissolving tablet. Preferably, the composition is a lozenge or a dissolving tablet. A description of lozenge, chewing gum, and quick-dissolving tablet compositions containing a 5-HT agonist is provided in the Examples below.

[0037] In a preferred embodiment, the 5-HT agonist is delivered across an oral mucosa selected from the group consisting of the sublingual mucosa, the buccal mucosa, and a combination thereof. Preferably, the composition is administered sublingually so that the 5-HT agonist is delivered across the sublingual mucosa.

[0038] In another embodiment, the carrier is typically a solid, semi-solid, or liquid such as a binder, a gum base, or combinations thereof. Suitable binders for use in the compositions of the present invention include, without limitation, sugar alcohols such as mannitol, sorbitol, and xylitol; sugars such as lactose, dextrose, sucrose, glucose, and powdered sugar; other substances such as inositol, molasses, maltodextrin, starch, cellulose, microcrystalline cellulose, polyvinylpyrrolidone, acacia gum, guar gum, tragacanth gum, alginate, extract of Irish moss, panwar gum, ghatti gum, mucilage of isapol husks, Veegum®, larch arabogalactan, gelatin, methylcellulose, ethylcellulose, carboxymethylcellulose, hydroxypropylmethylcellulose, polyacrylic acid (*e.g.,* Carbopol), calcium silicate, calcium phosphate, dicalcium phosphate, calcium sulfate, kaolin, sodium chloride, polyethylene glycol; and combinations thereof. Suitable gum bases for use in the compositions of the present invention include, for example, materials selected from among the many water-insoluble and saliva-insoluble gum base materials known in the art. In certain instances, the gum base comprises at least one hydrophobic polymer and at least one hydrophilic polymer. Non-limiting examples of suitable hydrophobic and hydrophilic polymers for gum bases include both natural and synthetic polymers such as elastomers, rubbers, and combinations thereof. Examples of suitable natural polymers include, without limitation, substances of plant origin such as chicle, jelutong, gutta percha, crown gum, and combinations thereof.

Examples of suitable synthetic polymers include elastomers such as butadiene-styrene copolymers, isobutylene and isoprene copolymers (*e.g.,* "butyl rubber"), polyethylene, polyisobutylene, polyvinylester (*e.g.,* polyvinyl acetate and polyvinyl acetate phthalate), and combinations thereof. In other instances, the gum base comprises a mixture of butyl rubber (*i.e.,* isobutylene and isoprene copolymer), polyisobutylene, and optionally, polyvinylacetate (*e.g.,* having a molecular weight of approximately 12,000).

[0039] In yet another embodiment, the compositions of the present invention can further comprise a sweetening agent, a flavoring agent, a protecting agent, a plasticizer, a wax, an elastomeric solvent, a filler material, a preservative, or combinations thereof. In still yet another embodiment, the compositions of the present invention can further comprise a lubricating agent, a wetting agent, an emulsifying agent, a solubilizing agent, a suspending agent, a coloring agent, a disintegrating agent, or combinations thereof. In a preferred embodiment, the average particle size of the drug in the compositions described herein is about 20 microns, as compared to a typical average drug particle size of from about 75 to about 100 microns. In another preferred embodiment, the average particle size of the drug in the compositions described herein is less than or equal to the average particle size of the carrier ingredients (*e.g.,* gum base, binders, *etc.*).

[0040] In preferred embodiments of the present invention, the 5-HT agonist is sumatriptan and the ternary buffer system comprises sodium carbonate, sodium bicarbonate, and amorphous magnesium oxide. Such compositions are preferably formulated in the form of a lozenge, candy, or dissolving tablet for sublingual administration. As a result, upon sublingual administration, sumatriptan is delivered across the sublingual mucosa. Preferably, the sodium bicarbonate is dessicant-coated sodium bicarbonate. In certain instances, a weight percent of amorphous magnesium oxide greater than or equal to the combined or individual weight percent of sodium carbonate and sodium bicarbonate is preferred. In certain other instances, a weight percent of amorphous magnesium oxide less than the combined or individual weight percent of sodium carbonate and sodium bicarbonate is used, *e.g.,* from about 0.1% to about 10%.

[0041] In certain instances, the composition comprises from about 2.5 to about 4.5 weight percent sumatriptan; from about 4.0 to about 7.0 weight percent sodium carbonate; from about 8.0 to about 12.0 weight percent dessicant-coated sodium bicarbonate; and from about 20 to about 30 weight percent amorphous magnesium oxide. In a preferred embodiment, the

composition comprises about 3.5 weight percent sumatriptan; about 5.5 weight percent sodium carbonate; about 9.0 weight percent dessicant-coated sodium bicarbonate; and about 25 weight percent amorphous magnesium oxide.

[0042] In another aspect, the present invention provides a composition for delivery of a 5-HT agonist across the oral mucosa, the composition comprising:

(a) a 5-HT agonist or a pharmaceutically acceptable salt thereof;

(b) a carrier; and

(c) a ternary buffer system comprising a carbonate salt, a bicarbonate salt, and a citrate, phosphate, or borate salt,

wherein the ternary buffer system raises the pH of saliva to a pH greater than about 9.9 irrespective of the starting pH of saliva.

[0043] In one embodiment, the ternary buffer system raises the pH of saliva to a pH of from about 9.9 to about 11, irrespective of the starting pH of saliva. Suitable 5-HT agonists for use in the present invention are described above. Suitable carbonate salts and bicarbonate salts for use in the ternary buffer systems of the present invention are also described above. In certain instances, the composition further comprises a 5-HT antagonist. In certain other instances, the composition further comprises an NSAID.

[0044] Suitable citrate, phosphate, and borate salts include, without limitation, any salt of citric acid, phosphoric acid, or boric acid known in the art. For example, in some embodiments, the citrate salt is selected from the group consisting of sodium citrate, potassium citrate, calcium citrate, magnesium citrate, and ammonium citrate. In other embodiments, the phosphate salt is selected from the group consisting of monobasic sodium phosphate, dibasic sodium phosphate, monobasic potassium phosphate, dibasic potassium phosphate, monobasic calcium phosphate, dibasic calcium phosphate, monobasic magnesium phosphate, dibasic magnesium phosphate, monobasic ammonium phosphate, and dibasic ammonium phosphate. In yet other embodiments, the borate salt is selected from the group consisting of sodium borate, potassium borate, calcium borate, magnesium borate, and ammonium borate. In certain instances, the ternary buffer system comprises a carbonate salt, a bicarbonate salt, and a citrate salt. In certain other instances, the ternary buffer system comprises a carbonate salt, a bicarbonate salt, and a phosphate salt. In further instances, the ternary buffer system comprises a carbonate salt, a bicarbonate salt, and a borate salt.

[0045] In another embodiment, the compositions of the present invention are in any of the dosage forms described above. Preferably, the 5-HT agonist is delivered across an oral mucosa as described above. In yet another embodiment, the carrier is selected from the group consisting of a binder, a gum base, and combinations thereof. Suitable binders and gum bases for use in the compositions of the present invention are described above.

[0046] In still yet another embodiment, the compositions of the present invention can further comprise one or more of the additional agents described above. In preferred embodiments, the average particle size of the drug in the compositions described herein is about 20 microns and/or is less than or equal to the average particle size of the carrier ingredients (*e.g.*, gum base, binders, *etc.*).

[0047] In preferred embodiments of the present invention, the 5-HT agonist is sumatriptan and the ternary buffer system comprises sodium carbonate, sodium bicarbonate, and a citrate, phosphate, or borate salt. Such compositions are preferably formulated in the form of a lozenge, candy, or dissolving tablet for sublingual administration.

[0048] In yet another aspect, the present invention provides a composition for delivery of a 5-HT agonist across the oral mucosa, the composition comprising:

(a) a 5-HT agonist or a pharmaceutically acceptable salt thereof;

(b) a carrier; and

(c) a buffer system comprising a carbonate salt or a bicarbonate salt and two or more buffering agents selected from the group consisting of a metal oxide, a citrate salt, a phosphate salt, and a borate salt,

wherein the buffer system raises the pH of saliva to a pH greater than about 9.9 irrespective of the starting pH of saliva.

[0049] In one embodiment, the buffer system raises the pH of saliva to a pH of from about 9.9 to about 11, irrespective of the starting pH of saliva. Suitable 5-HT agonists for use in the present invention are described above. Suitable carbonate salts and bicarbonate salts for use in the buffer systems of the present invention are also described above. In certain instances, the composition further comprises a 5-HT antagonist. In certain other instances, the composition further comprises an NSAID.

[0050] In another embodiment, the metal oxide is magnesium oxide or aluminum oxide. Preferably, the magnesium oxide is amorphous magnesium oxide. Suitable citrate, phosphate, and borate salts include, without limitation, any salt of citric acid, phosphoric

acid, or boric acid known in the art such as those described above. In certain instances, the buffer system comprises a carbonate salt or a bicarbonate salt, a metal oxide, and a citrate, phosphate, or borate salt. In certain other instances, the buffer system comprises a carbonate salt or a bicarbonate salt, a citrate salt, and a phosphate salt. In certain instances, the buffer system comprises a carbonate salt or a bicarbonate salt, a citrate salt, and a borate salt. In certain other instances, the buffer system comprises a carbonate salt or a bicarbonate salt, a phosphate salt, and a borate salt.

[0051] In yet another embodiment, the compositions of the present invention are in any of the dosage forms described above. Preferably, the 5-HT agonist is delivered across an oral mucosa as described above. In still yet another embodiment, the carrier is selected from the group consisting of a binder, a gum base, and combinations thereof. Suitable binders and gum bases for use in the compositions of the present invention are described above.

[0052] In a further embodiment, the compositions of the present invention can further comprise one or more of the additional agents described above. In preferred embodiments, the average particle size of the drug in the compositions described herein is about 20 microns and/or is less than or equal to the average particle size of the carrier ingredients (*e.g.*, gum base, binders, *etc.*).

[0053] In preferred embodiments of the present invention, the 5-HT agonist is sumatriptan and the buffer system comprises sodium carbonate or sodium bicarbonate and two or more buffering agents selected from the group consisting of a metal oxide, a citrate salt, a phosphate salt, and a borate salt. Such compositions are preferably formulated in the form of a lozenge, candy, or dissolving tablet for sublingual administration.

[0054] In still yet another aspect, the present invention provides a composition for delivery of a 5-HT agonist across the oral mucosa, the composition comprising:

(a) a 5-HT agonist or a pharmaceutically acceptable salt thereof;

(b) a carrier; and

(c) a binary buffer system comprising a carbonate salt or a bicarbonate salt and a metal oxide,

wherein the binary buffer system raises the pH of saliva to a pH greater than about 9.9 irrespective of the starting pH of saliva.

[0055] In one embodiment, the binary buffer system raises the pH of saliva to a pH of from about 9.9 to about 11, irrespective of the starting pH of saliva. Suitable 5-HT agonists for use

in the present invention are described above. Suitable carbonate salts, bicarbonate salts, and metal oxides for use in the binary buffer systems of the present invention are also described above. In certain instances, the composition further comprises a 5-HT antagonist. In certain other instances, the composition further comprises an NSAID.

[0056] In another embodiment, the compositions of the present invention are in any of the dosage forms described above. Preferably, the 5-HT agonist is delivered across an oral mucosa as described above. In yet another embodiment, the carrier is selected from the group consisting of a binder, a gum base, and combinations thereof. Suitable binders and gum bases for use in the compositions of the present invention are described above.

[0057] In still yet another embodiment, the compositions of the present invention can further comprise one or more of the additional agents described above. In preferred embodiments, the average particle size of the drug in the compositions described herein is about 20 microns and/or is less than or equal to the average particle size of the carrier ingredients (*e.g.,* gum base, binders, *etc.*).

[0058] In preferred embodiments of the present invention, the 5-HT agonist is sumatriptan and the binary buffer system comprises sodium carbonate or sodium bicarbonate and amorphous magnesium oxide. Such compositions are preferably formulated in the form of a lozenge, candy, or dissolving tablet for sublingual administration. In certain instances, a weight percent of amorphous magnesium oxide greater than or equal to the weight percent of sodium carbonate or sodium bicarbonate is preferred. In certain other instances, a weight percent of amorphous magnesium oxide less than the weight percent of sodium carbonate or sodium bicarbonate is used, *e.g.,* from about 0.1% to about 10%.

[0059] In a further aspect, the present invention provides a composition for delivery of a 5-HT agonist across the oral mucosa, the composition comprising:

(a) a 5-HT agonist or a pharmaceutically acceptable salt thereof;

(b) a carrier; and

(c) a binary buffer system comprising a carbonate salt or a bicarbonate salt and a citrate, phosphate, or borate salt,

wherein the binary buffer system raises the pH of saliva to a pH greater than about 9.9 irrespective of the starting pH of saliva.

[0060] In one embodiment, the binary buffer system raises the pH of saliva to a pH of from about 9.9 to about 11, irrespective of the starting pH of saliva. Suitable 5-HT agonists for use

in the present invention are described above. Suitable carbonate salts, bicarbonate salts, and citrate, phosphate, and borate salts for use in the binary buffer systems of the present invention are also described above. In certain instances, the composition further comprises a 5-HT antagonist. In certain other instances, the composition further comprises an NSAID.

[0061] In another embodiment, the compositions of the present invention are in any of the dosage forms described above. Preferably, the 5-HT agonist is delivered across an oral mucosa as described above. In yet another embodiment, the carrier is selected from the group consisting of a binder, a gum base, and combinations thereof. Suitable binders and gum bases for use in the compositions of the present invention are described above.

[0062] In still yet another embodiment, the compositions of the present invention can further comprise one or more of the additional agents described above. In preferred embodiments, the average particle size of the drug in the compositions described herein is about 20 microns and/or is less than or equal to the average particle size of the carrier ingredients (*e.g.,* gum base, binders, *etc.*).

[0063] In preferred embodiments of the present invention, the 5-HT agonist is sumatriptan and the binary buffer system comprises sodium carbonate or sodium bicarbonate and a citrate, phosphate, or borate salt. Such compositions are preferably formulated in the form of a lozenge, candy, or dissolving tablet for sublingual administration.

[0064] In another aspect, the present invention provides a composition for delivery of a 5-HT agonist across the oral mucosa, the composition comprising:

(a) a 5-HT agonist or a pharmaceutically acceptable salt thereof;

(b) a carrier; and

(c) a binary buffer system comprising a metal oxide and a citrate, phosphate, or borate salt,

wherein the binary buffer system raises the pH of saliva to a pH greater than about 9.9 irrespective of the starting pH of saliva.

[0065] In one embodiment, the binary buffer system raises the pH of saliva to a pH of from about 9.9 to about 11, irrespective of the starting pH of saliva. Suitable 5-HT agonists for use in the present invention are described above. Suitable metal oxides and citrate, phosphate, and borate salts for use in the binary buffer systems of the present invention are also described above. In certain instances, the composition further comprises a 5-HT antagonist. In certain other instances, the composition further comprises an NSAID.

[0066] In another embodiment, the compositions of the present invention are in any of the dosage forms described above. Preferably, the 5-HT agonist is delivered across an oral mucosa as described above. In yet another embodiment, the carrier is selected from the group consisting of a binder, a gum base, and combinations thereof. Suitable binders and gum bases for use in the compositions of the present invention are described above.

[0067] In still yet another embodiment, the compositions of the present invention can further comprise one or more of the additional agents described above. In preferred embodiments, the average particle size of the drug in the compositions described herein is about 20 microns and/or is less than or equal to the average particle size of the carrier ingredients (*e.g.*, gum base, binders, *etc.*).

[0068] In preferred embodiments of the present invention, the 5-HT agonist is sumatriptan and the binary buffer system comprises amorphous magnesium oxide and a citrate, phosphate, or borate salt. Such compositions are preferably formulated in the form of a lozenge, candy, or dissolving tablet for sublingual administration.

[0069] In yet another aspect, the present invention provides a method for treating a migraine in a subject in need thereof, the method comprising:

administering to the subject a composition comprising a therapeutically effective amount of a 5-HT agonist or a pharmaceutically acceptable salt thereof, a carrier, and a ternary buffer system comprising a carbonate salt, a bicarbonate salt, and a metal oxide, wherein the ternary buffer system raises the pH of saliva to a pH greater than about 9.9 irrespective of the starting pH of saliva.

[0070] In a preferred embodiment, the composition delivers the 5-HT agonist across the oral mucosa such as, for example, the sublingual mucosa, the buccal mucosa, or a combination thereof. Preferably, the composition is administered sublingually so that the 5-HT agonist is delivered across the sublingual mucosa. Suitable migraines that can be treated with the compositions of the present invention include, without limitation, a migraine without aura and a migraine with aura.

[0071] In one embodiment, the ternary buffer system raises the pH of saliva to a pH of from about 9.9 to about 11, irrespective of the starting pH of saliva. Suitable 5-HT agonists for use in the present invention are described above. Suitable carbonate salts, bicarbonate salts, and metal oxides for use in the ternary buffer systems of the present invention are also

described above. In certain instances, the composition further comprises a 5-HT antagonist. In certain other instances, the composition further comprises an NSAID.

[0072] In addition to a ternary buffer system comprising a carbonate salt, a bicarbonate salt, and a metal oxide, other buffer systems are suitable for use in the compositions of the present invention. For example, in an alternative embodiment, the ternary buffer system comprises a carbonate salt, a bicarbonate salt, and a citrate, phosphate, or borate salt. In another alternative embodiment, the buffer system comprises a carbonate salt or a bicarbonate salt and two or more buffering agents selected from the group consisting of a metal oxide, a citrate salt, a phosphate salt, and a borate salt. In yet another alternative embodiment, the buffer system is a binary buffer system comprising a carbonate salt or a bicarbonate salt and a metal oxide. In still yet another alternative embodiment, the buffer system is a binary buffer system comprising a carbonate salt or a bicarbonate salt and a citrate, phosphate, or borate salt. In a further alternative embodiment, the buffer system is a binary buffer system comprising a metal oxide and a citrate, phosphate, or borate salt. In still yet another alternative embodiment, the buffer system is a binary buffer system comprising a carbonate salt and a bicarbonate salt, preferably sodium carbonate and sodium bicarbonate.

[0073] In another embodiment, the compositions of the present invention are in any of the dosage forms described above. In yet another embodiment, the carrier is selected from the group consisting of a binder, a gum base, and combinations thereof. Suitable binders and gum bases for use in the compositions of the present invention are described above.

[0074] In still yet another embodiment, the compositions of the present invention can further comprise one or more of the additional agents described above. In preferred embodiments, the average particle size of the drug in the compositions described herein is about 20 microns and/or is less than or equal to the average particle size of the carrier ingredients (*e.g.,* gum base, binders, *etc.*).

[0075] In preferred embodiments of the present invention, the 5-HT agonist is sumatriptan and the ternary buffer system comprises sodium carbonate, sodium bicarbonate, and amorphous magnesium oxide. Such compositions are preferably formulated in the form of a lozenge, candy, or dissolving tablet for sublingual administration. In certain instances, a weight percent of amorphous magnesium oxide greater than or equal to the combined or individual weight percent of sodium carbonate and sodium bicarbonate is preferred. In certain other instances, a weight percent of amorphous magnesium oxide less than the

combined or individual weight percent of sodium carbonate and sodium bicarbonate is used, *e.g.*, from about 0.1% to about 10%.

A. 5-HT Agonists

[0076] The 5-hydroxytryptamine (5-HT) agonists of the present invention are preferably selected from sumatriptan, naratriptan, rizatriptan, eletriptan, almotriptan, zolmitriptan, frovatriptan, F 11356, pharmaceutically acceptable salts thereof, and combinations thereof. More preferably, the 5-HT agonist is sumatriptan, in all suitable forms. The 5-HT agonists described herein are basic compounds with selective or non-selective vasoactivity on blood vessels.

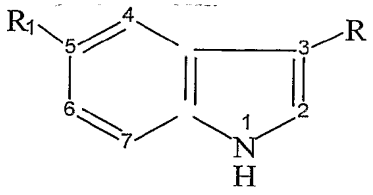
[0077] In general, the 5-HT agonists of the present invention have an ionized form and an un-ionized form. In certain instances, the 5-HT agonist is initially present at least partly in an ionized form. In certain other instances, the 5-HT agonist is initially present in an un-ionized form. As described in more detail below, the buffer system of the compositions described herein helps to convert substantially all of the 5-HT agonist from its ionized form to its un-ionized form. Alternatively, the buffer system helps ensure that the 5-HT agonist, initially in an un-ionized form, remains in an un-ionized form.

[0078] As used herein, the term "5-HT agonist" includes all pharmaceutically acceptable forms of the 5-HT agonist being described. For example, the 5-HT agonist can be in a racemic or isomeric mixture, a solid complex bound to an ion exchange resin, or the like. In addition, the 5-HT agonist can be in a solvated form. The term "5-HT agonist" is also intended to include all pharmaceutically acceptable salts, derivatives, and analogs of the 5-HT agonist being described, as well as combinations thereof. For example, the pharmaceutically acceptable salts of the 5-HT agonist include, without limitation, the succinate, tartarate, bitartarate, dihydrochloride, salicylate, hemisuccinate, citrate, maleate, hydrochloride, carbamate, sulfate, nitrate, and benzoate salt forms thereof, as well as combinations thereof and the like.

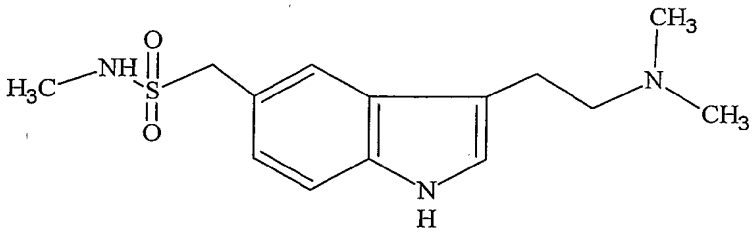
[0079] Conversion of the ionized form to the un-ionized form for the 5-HT agonist is related to pH according to the formula: $pH = pKa + Log_{10}$ (un-ionized concentration/ionized concentration). When the pH is the same as the pKa, equimolar concentrations of the un-ionized form and ionized form exist. For basic compounds such as the 5-HT agonists described herein, when the pH is one unit higher than the pKa, the ratio of the un-ionized form to the ionized form is 91:9. Similarly, when the pH is two units higher than the pKa, the

ratio of un-ionized form to the ionized form is 100:1. As noted above, the un-ionized form is lipophilic and, therefore, more capable of passing through mucous membranes such as the oral mucosa than the ionized form, which is lipophobic in nature. Accordingly, increasing the pH of the saliva favors conversion of the ionized form into the un-ionized form for basic compounds such as the 5-HT agonists described herein, and the final pH can be determined by making use of the above formula.

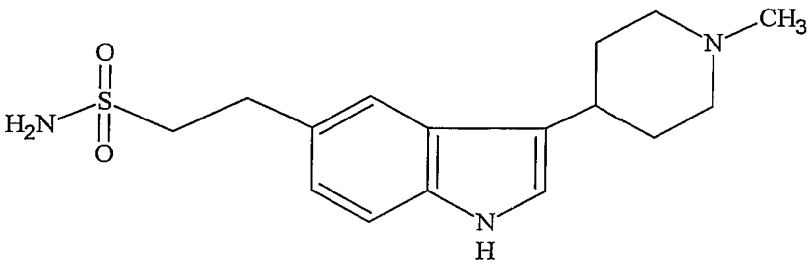
[0080] The 5-HT agonists of the present invention are indole derivatives useful in the treatment of conditions such as migraines, having the following basic indole nucleus:



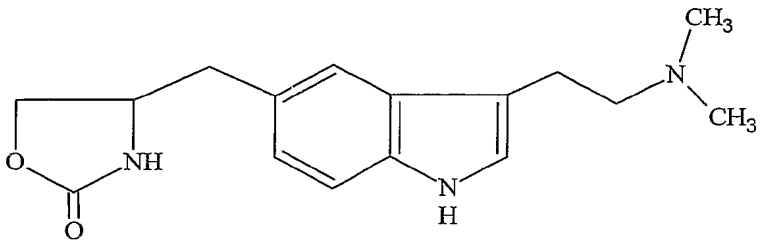
wherein R is typically an alkyl, alkenyl, cycloalkyl, or cycloalkenyl group and R_1 is typically a sulfonamide, an oxazolidinone, a triazole, or a sulfonyl group, any of which may be optionally substituted. More particularly, the 5-HT agonists of the present invention are preferably selected from the group consisting of sumatriptan, naratriptan, rizatriptan, eletriptan, almotriptan, zolmitriptan, frovatriptan, and F 11356, having the following structures:



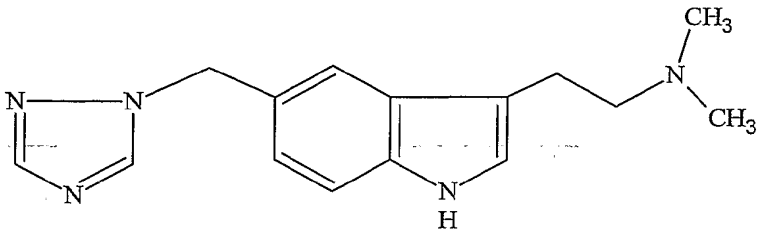
Sumatriptan



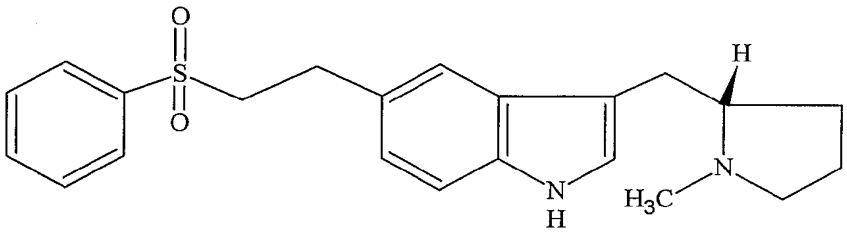
Naratriptan



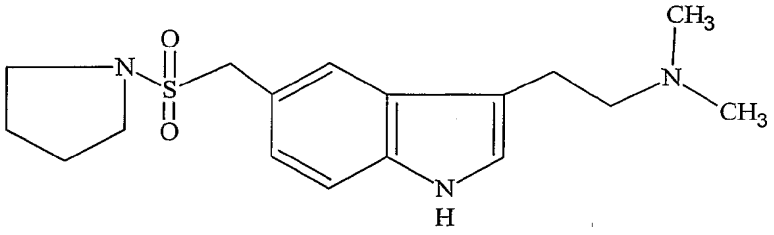
Zolmitriptan



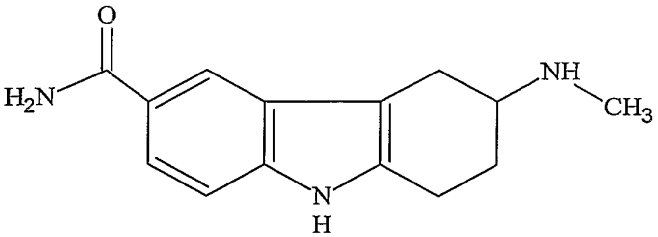
Rizatriptan



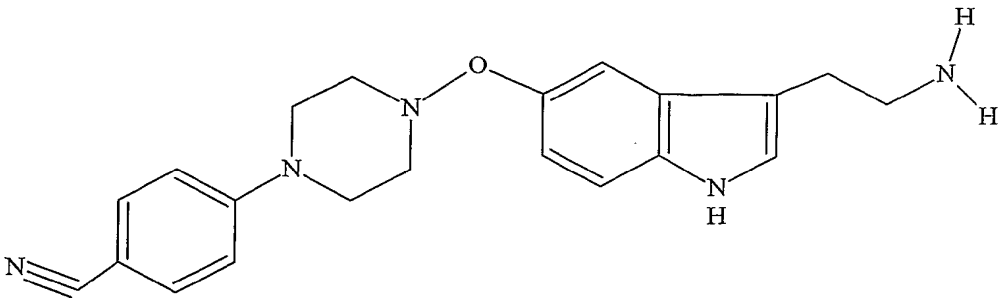
Eletriptan



Almotriptan



Frovatriptan

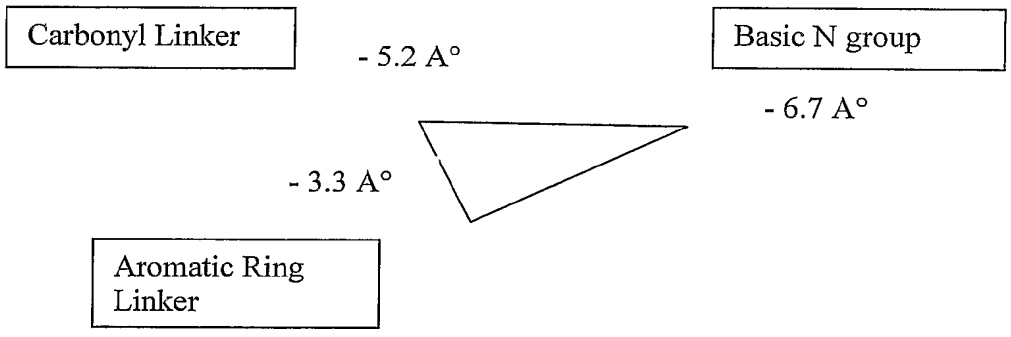


F 11356

[0081] For the above-described 5-HT agonists, the primary, secondary, or tertiary amines typically control the extent of ionization of the compound.

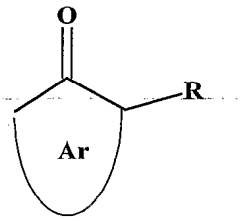
[0082] The 5-HT agonists of the present invention bind with high affinity to one or more 5-HT_1 receptor subtypes. Without being bound to any particular theory, the therapeutic activity of the 5-HT agonists of the present invention in treating migraines is attributed to one or more of the following mechanisms: (1) activation of 5-HT_1 receptors located on intracranial blood vessels (*e.g.*, arteriovenous anastomoses) by 5-HT agonists to stimulate vasoconstriction; and (2) activation of 5-HT_1 receptors located on sensory nerve endings in the trigeminal system to inhibit pro-inflammatory neuropeptide (*e.g.*, vasoactive intestinal peptide, substance P, calcitonin gene-related peptide) release.

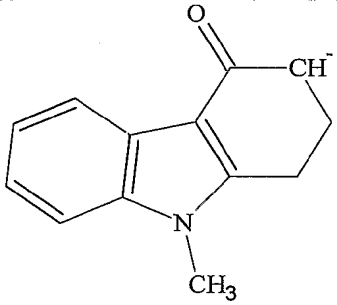
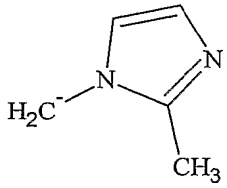
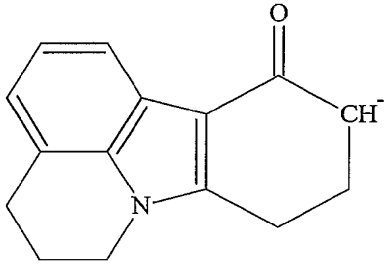
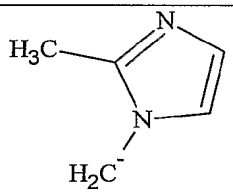
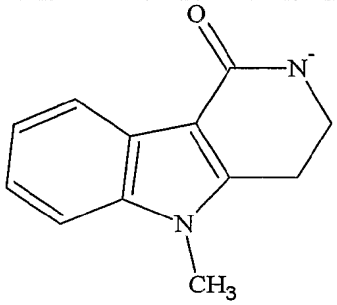
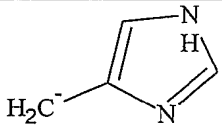
[0083] In other embodiments of the present invention, a 5-HT antagonist and/or a non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) is delivered in combination with a 5-HT agonist. 5-HT antagonists typically consist of three main components: (1) an aromatic structure; (2) a carbonyl-containing linking moiety; and (3) an out-of-plane basic nitrogen containing heterocyclic group. These groups have the specific spatial arrangement shown below:



[0084] Suitable 5-HT antagonists for use in the present invention include, without limitation, 5-HT antagonists wherein the carbonyl linker is incorporated within the fused ring of the aromatic group (*see,* Table 1) and 5-HT antagonists wherein the carbonyl linker is directly attached (*i.e.,* as a spacer unit) to the aromatic ring and the basic nitrogen group (*see,* Table 2).

Table 1. 5-HT antagonists wherein the carbonyl linker is incorporated within the fused aromatic ring.



5-HT Antagonist	Ar	R
Ondansetron		
Cilasetron		
Alosetron		

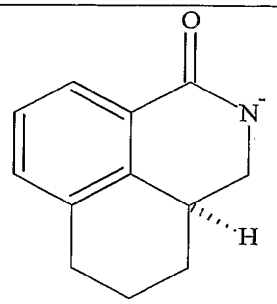
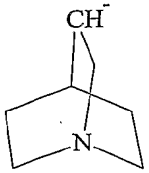
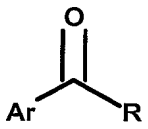
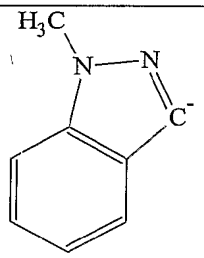
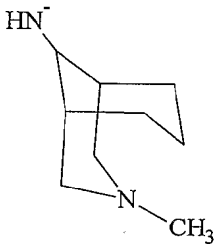
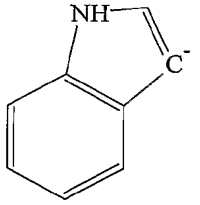
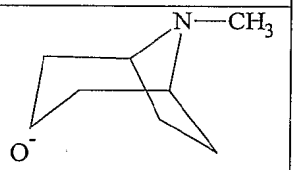
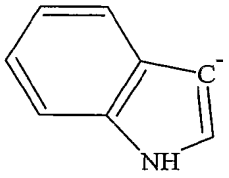
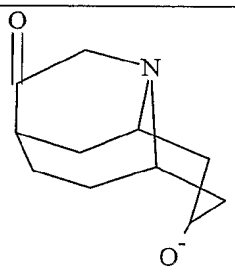
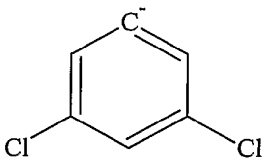
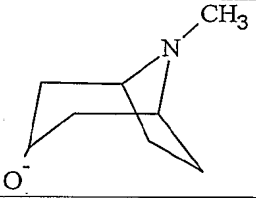
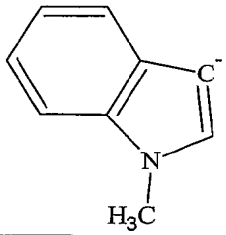
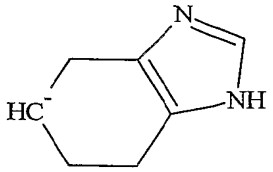
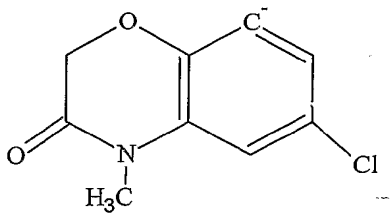
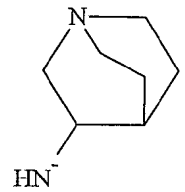
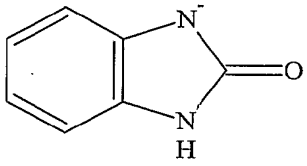
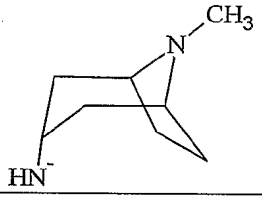
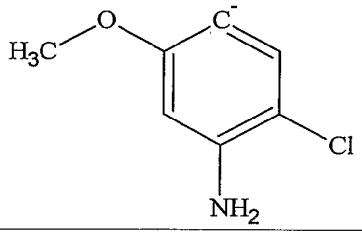
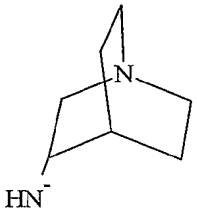
5-HT Antagonist	Ar	R
Palonosetron		

Table 2. 5-HT antagonists wherein the carbonyl linker is attached to the aromatic ring and the basic nitrogen group as a spacer.



5-HT Antagonist	Ar	R
Granisetron		
Tropisetron		
Dolasetron		
Bernesetron		

5-HT Antagonist	Ar	R
Ramosetron		
Azasetron		
Itasetron		
Zacopride		

[0085] As shown in Tables 1 and 2, the constant feature among the 5-HT antagonists is the basic nitrogen group. The basic nitrogen group can be classified generally as an imidazole group or as a nitrogen-containing heterobicyclic derivative.

[0086] Using the above formula, the overall lipophilicity and ionization of the 5-HT antagonists can be controlled and modulated by regulating the pH of the medium containing the 5-HT antagonist relative to the pKa of the basic nitrogen group. For example, 5-HT antagonists that contain nitrogen in an imidazole group have a pKa in the region of about 7.4, and can thus be substantially converted to their un-ionized, lipophilic form at a pH greater than about 8.4. Similarly, 5-HT antagonists that contain nitrogen in a bicyclic ring have a pKa of about 8.8, and can thus be substantially converted to their un-ionized, lipophilic form at a pH greater than about 9.8. Specific examples of suitable 5-HT antagonists for use in the present invention include, without limitation, ondansetron, palonosetron, tropisetron, lerisetron, alosetron, granisetron, dolasetron, bernesetron, ramosetron, azaseteron, itasetron,

zacopride, cilasetron, and any other 5-HT antagonist containing an imidazole, oxazole, thiazole, pyrazole, 3-pyrroline, or pyrrolidine group.

[0087] Suitable NSAIDs for use in the present invention include, without limitation, traditional NSAIDs such as aspirin (*i.e.*, acetylsalicylic acid), ibuprofen, flurbiprofen, acetaminophen, diclofenac, diflunisal, etodolac, indomethacin, ketoprofen, ketorolac, naproxen, nabumetone, oxaprozin, piroxicam, sulindac, and tolmetin; selective cyclooxygenase inhibitors such as celecoxib, rofecoxib, and valdecoxib; and combinations thereof.

B. Buffer Systems

[0088] Although a binary composition of sodium carbonate and sodium bicarbonate can generally raise the pH of saliva to a level of about 8.0-9.8, the carbonate component must be present in an amount substantially higher than the bicarbonate component when a pH of about 9.0-9.8 is desired. However, with higher levels of carbonate, a corrosive effect on the oral mucosa and other oral tissues generally develops. As such, binary compositions containing only sodium carbonate and sodium bicarbonate have reduced utility for delivering the therapeutic agents of the present invention across the oral mucosa.

[0089] The present invention overcomes such limitations by providing, in one embodiment, ternary buffer systems comprising a carbonate salt, a bicarbonate salt, and an oxide component such as, for example, magnesium oxide or aluminum oxide. Although basic buffering agents are typically used in the buffer systems of the present invention, one skilled in the art will appreciate that acidic agents can also be used to adjust the pH of the buffer system as long as the buffer system as a whole raises the pH of saliva to a pH greater than about 9.9 (*e.g.*, about 9.9-11).

[0090] The concentration of each buffer system component is tailored such that the final salivary pH is achieved and sustained for a period of time, *e.g.*, for at least about 2 minutes, at least about 5 minutes, at least about 10 minutes, at least about 20 minutes, or at least about 60 minutes. This typically involves a sensory and safety procedure involving adjusting the amounts of each buffer system component and measuring the final pH over time. In this way, selection of an appropriate weight ratio for each buffer system component can be easily determined in just a few trials. For example, the weight ratio of carbonate salt to bicarbonate salt for a ternary buffer system can be from about 1:10 to about 10:1, preferably from about

1:5 to about 5:1, more preferably from about 1:3 to about 3:1, and still more preferably from about 1:2 to about 2:1.

[0091] The carbonate salt is generally selected from sodium carbonate, potassium carbonate, calcium carbonate, ammonium carbonate, and magnesium carbonate. Preferably, the carbonate salt is sodium carbonate or potassium carbonate. Most preferably, the carbonate salt is sodium carbonate. Similarly, the bicarbonate salt is generally selected from sodium bicarbonate, potassium bicarbonate, calcium bicarbonate, ammonium bicarbonate, and magnesium bicarbonate. Preferably, the bicarbonate salt is sodium bicarbonate or potassium bicarbonate. Most preferably, the bicarbonate salt is sodium bicarbonate. In some embodiments, a dessicant-coated sodium bicarbonate is preferred. The amount of carbonate salt and bicarbonate salt used in the ternary buffer system is an amount that is sufficient, when used with the metal oxide, to raise salivary pH to a pH of about 9.5, preferably about 9.9 or more, and more preferably from about 9.9 to about 11, *e.g.*, about 9.9, 10.0, 10.1, 10.2, 10.3, 10.4, 10.5, 10.6, 10.7, 10.8, 10.9, 11.0, irrespective of the starting pH.

[0092] In certain instances, the amount of bicarbonate salt in the ternary buffer system is greater than or equal to the amount of carbonate salt. For example, the weight ratio of bicarbonate salt to carbonate salt can be from about 1:1 to about 10:1, preferably from about 1:1 to about 5:1, and more preferably from about 1:1 to about 3:1. In a particularly preferred embodiment, the weight ratio of bicarbonate salt to carbonate salt is from about 1.5:1 to about 2:1. In certain other instances, the amount of bicarbonate salt in the ternary buffer system is less than the amount of carbonate salt.

[0093] Quite surprisingly, the addition of an oxide component such as magnesium oxide as a third component of the ternary buffer system has now been found to be extremely beneficial for (a) raising the pH of saliva to a pH of about 9.9 or more, irrespective of starting pH; (b) reducing the corrosivity of the carbonate component; (c) serving as a secondary binding agent thereby eliminating the need for stearic acid; and (d) lowering the amount of the carbonate component needed to produce the desired pH. Without intending to be bound by any particular theory, it is believed that the oxide component (*e.g.*, magnesium oxide and aluminum oxide) acts as a cytoprotective agent, protecting cells against the high pH of carbonate and bicarbonate in the buffered compositions.

[0094] The amount of the oxide component used in the ternary buffer systems of the present compositions is an amount that is sufficient, when used with the remaining

components, to raise salivary pH to a pH of about 9.5, preferably about 9.9 or more, and more preferably from about 9.9 to about 11, irrespective of the starting pH. In some embodiments, amorphous magnesium oxide is preferred. In certain instances, the weight percent of the oxide component is greater than or equal to the combined weight percent of the carbonate salt and the bicarbonate salt. For example, the weight ratio of the oxide component to the carbonate salt and the bicarbonate salt can be from about 1:1 to about 10:1, preferably from about 1:1 to about 5:1, and more preferably from about 1:1 to about 3:1, and most preferably from about 1.5:1 to about 2:1. In certain other instances, the weight percent of the oxide component is greater than or equal to the weight percent of either the carbonate salt or the bicarbonate salt. In still other instances, the weight percent of the oxide component is less than the combined or individual weight percent of the carbonate salt and the bicarbonate salt, yet sufficient to provide an optimum pH of saliva as described above as well as good mouth feel properties.

[0095] In view of the above, the buffer systems of the present invention, in some of the most preferred embodiments, are ternary buffer systems containing sodium carbonate, sodium bicarbonate, and amorphous magnesium oxide.

[0096] Alternatively, in another embodiment, the buffer systems of the present invention are ternary buffer system comprising a carbonate salt, a bicarbonate salt, and a third buffering agent such as a citrate, phosphate, or borate salt. The concentration of each buffer system component is tailored such that the final salivary pH is achieved and sustained for a period of time, *e.g.*, for at least about 2 minutes, at least about 5 minutes, at least about 10 minutes, at least about 20 minutes, or at least about 60 minutes.

[0097] Suitable carbonate salts and bicarbonate salts are described above. The amount of carbonate salt and bicarbonate salt used in the ternary buffer system is an amount that is sufficient, when used with the third buffering agent, to raise salivary pH to a pH of about 9.5, preferably about 9.9 or more, and more preferably from about 9.9 to about 11, irrespective of the starting pH.

[0098] The third buffering agent is generally selected from a citrate salt such as sodium citrate, potassium citrate, calcium citrate, magnesium citrate, and ammonium citrate; a phosphate salt such as monobasic sodium phosphate, dibasic sodium phosphate, monobasic potassium phosphate, dibasic potassium phosphate, monobasic calcium phosphate, dibasic calcium phosphate, monobasic magnesium phosphate, dibasic magnesium phosphate,

monobasic ammonium phosphate, and dibasic ammonium phosphate; a borate salt such as sodium borate, potassium borate, calcium borate, magnesium borate, and ammonium borate; an ascorbate salt such as potassium ascorbate or sodium ascorbate; an acetate salt such as potassium acetate or sodium acetate; and alkaline starch. However, one skilled in the art will appreciate that essentially any salt of citric acid, phosphoric acid, boric acid, ascorbic acid, or acetic acid is suitable for use in the buffer systems of the present invention. The amount of the third buffering agent used in the ternary buffer system is an amount that is sufficient, when used with the remaining components, to raise salivary pH to a pH of about 9.5, preferably about 9.9 or more, and more preferably from about 9.9 to about 11, irrespective of the starting pH.

[0099] In certain instances, the amount of the carbonate salt or bicarbonate salt in the ternary buffer system is greater than or equal to the amount of the third buffering agent. For example, the weight ratio of the carbonate salt or bicarbonate salt to the third buffering agent can be from about 1:1 to about 10:1, preferably from about 1:1 to about 5:1, and more preferably from about 1:1 to about 3:1. In certain other instances, the amount of the carbonate salt or bicarbonate salt in the ternary buffer system is less than or equal to the amount of the third buffering agent. For example, the weight ratio of the carbonate salt or bicarbonate salt to the third buffering agent can be from about 1:1 to about 1:10, preferably from about 1:1 to about 1:5, and more preferably from about 1:1 to about 1:3.

[0100] Alternatively, in yet another embodiment, the buffer systems of the present invention are buffer systems comprising a carbonate salt or a bicarbonate salt and two or more buffering agents selected from the group consisting of a metal oxide, a citrate salt, a phosphate salt, and a borate salt. The concentration of each buffer system component is tailored such that the final salivary pH is achieved and sustained for a period of time, *e.g.*, for at least about 2 minutes, at least about 5 minutes, at least about 10 minutes, at least about 20 minutes, or at least about 60 minutes.

[0101] Suitable carbonate salts and bicarbonate salts are described above. The amount of carbonate salt or bicarbonate salt used in the buffer system is an amount that is sufficient, when used with the remaining components, to raise salivary pH to a pH of about 9.5, preferably about 9.9 or more, and more preferably from about 9.9 to about 11, irrespective of the starting pH.

[0102] The two or more buffering agents are generally selected from a metal oxide, a citrate salt, a phosphate salt, a borate salt, an ascorbate salt, an acetate salt, and alkaline starch. Suitable metal oxides include, without limitation, magnesium oxide and aluminum oxide. Suitable citrate, phosphate, borate, ascorbate, and acetate salts include, without limitation, essentially any salt of citric acid, phosphoric acid, boric acid, ascorbic acid, or acetic acid known in the art such as those described above. The amount of the additional buffering agents used in the buffer system is an amount that is sufficient, when used with the carbonate salt or bicarbonate salt, to raise salivary pH to a pH of about 9.5, preferably about 9.9 or more, and more preferably from about 9.9 to about 11, irrespective of the starting pH.

[0103] In certain instances, the buffer system comprises a carbonate salt or a bicarbonate salt, a metal oxide, and a citrate, phosphate, or borate salt. Preferably, the metal oxide is amorphous magnesium oxide. In certain other instances, the buffer system comprises a carbonate salt or a bicarbonate salt, a citrate salt, and a phosphate salt. In certain instances, the buffer system comprises a carbonate salt or a bicarbonate salt, a citrate salt, and a borate salt. In certain other instances, the buffer system comprises a carbonate salt or a bicarbonate salt, a phosphate salt, and a borate salt.

[0104] In certain instances, the amount of the carbonate salt or bicarbonate salt in the buffer system is greater than or equal to the amount of the metal oxide or the citrate, phosphate, or borate salt. For example, the weight ratio of the carbonate salt or bicarbonate salt to the metal oxide or the citrate, phosphate, or borate salt can be from about 1:1 to about 10:1, preferably from about 1:1 to about 5:1, and more preferably from about 1:1 to about 3:1. In certain other instances, the amount of the carbonate salt or bicarbonate salt in the buffer system is less than or equal to the amount of the metal oxide or the citrate, phosphate, or borate salt. For example, the weight ratio of the carbonate salt or bicarbonate salt to the metal oxide or the citrate, phosphate, or borate salt can be from about 1:1 to about 1:10, preferably from about 1:1 to about 1:5, and more preferably from about 1:1 to about 1:3.

[0105] Alternatively, in still yet another embodiment, the buffer systems of the present invention are binary buffer systems comprising a carbonate salt or a bicarbonate salt and a metal oxide. The concentration of each buffer system component is tailored such that the final salivary pH is achieved and sustained for a period of time, *e.g.*, for at least about 2 minutes, at least about 5 minutes, at least about 10 minutes, at least about 20 minutes, or at least about 60 minutes.

[0106] Suitable carbonate salts, bicarbonate salts, and metal oxides are described above. The amount of carbonate salt or bicarbonate salt used in the binary buffer system is an amount that is sufficient, when used with the oxide component, to raise salivary pH to a pH of about 9.5, preferably about 9.9 or more, and more preferably from about 9.9 to about 11, irrespective of the starting pH. In certain instances, the amount of the oxide component in the binary buffer system is greater than or equal to the amount of either the carbonate salt or bicarbonate salt. For example, the weight ratio of the oxide component to the carbonate salt or bicarbonate salt can be from about 1:1 to about 10:1, preferably from about 1:1 to about 5:1, and more preferably from about 1:1 to about 3:1. In certain other instances, the amount of the oxide component in the binary buffer system is less than the amount of either the carbonate salt or bicarbonate salt.

[0107] Alternatively, in a further embodiment, the buffer systems of the present invention are binary buffer systems comprising a carbonate salt or a bicarbonate salt and a second buffering agent such as a citrate, phosphate, or borate salt. The concentration of each buffer system component is tailored such that the final salivary pH is achieved and sustained for a period of time, *e.g.,* for at least about 2 minutes, at least about 5 minutes, at least about 10 minutes, at least about 20 minutes, or at least about 60 minutes.

[0108] Suitable carbonate salts and bicarbonate salts are described above. The amount of carbonate salt or bicarbonate salt used in the binary buffer system is an amount that is sufficient, when used with the second buffering agent, to raise salivary pH to a pH of about 9.5, preferably about 9.9 or more, and more preferably from about 9.9 to about 11, irrespective of the starting pH. In certain instances, the amount of the second buffering agent in the binary buffer system is greater than or equal to the amount of either the carbonate salt or bicarbonate salt. For example, the weight ratio of the second buffering agent to the carbonate salt or bicarbonate salt can be from about 1:1 to about 10:1, preferably from about 1:1 to about 5:1, and more preferably from about 1:1 to about 3:1. In certain other instances, the amount of the second buffering agent in the binary buffer system is less than or equal to the amount of either the carbonate salt or bicarbonate salt. For example, the weight ratio of the second buffering agent to the carbonate salt or bicarbonate salt can be from about 1:1 to about 1:10, preferably from about 1:1 to about 1:5, and more preferably from about 1:1 to about 1:3.

[0109] The second buffering agent is generally selected from a citrate salt, a phosphate salt, a borate salt, an ascorbate salt, an acetate salt, and alkaline starch as described above. The amount of the second buffering agent used in the binary buffer system is an amount that is sufficient, when used with the carbonate salt or bicarbonate salt, to raise salivary pH to a pH of about 9.5, preferably about 9.9 or more, and more preferably from about 9.9 to about 11, irrespective of the starting pH.

[0110] Alternatively, in another embodiment, the buffer systems of the present invention are binary buffer systems comprising a metal oxide and a citrate, phosphate, or borate salt. The concentration of each buffer system component is tailored such that the final salivary pH is achieved and sustained for a period of time, *e.g.*, for at least about 2 minutes, at least about 5 minutes, at least about 10 minutes, at least about 20 minutes, or at least about 60 minutes.

[0111] The metal oxide is typically magnesium oxide or aluminum oxide. Preferably, the magnesium oxide is amorphous magnesium oxide. Suitable citrate, phosphate, and borate salts include, without limitation, essentially any salt of citric acid, phosphoric acid, or boric acid known in the art such as those described above. The amount of the metal oxide used in the binary buffer system is an amount that is sufficient, when used with the citrate, phosphate, or borate salt, to raise salivary pH to a pH of about 9.5, preferably about 9.9 or more, and more preferably from about 9.9 to about 11, irrespective of the starting pH. Similarly, the amount of the citrate, phosphate, or borate salt used in the binary buffer system is an amount that is sufficient, when used with the metal oxide, to raise salivary pH to a pH of about 9.5, preferably about 9.9 or more, and more preferably from about 9.9 to about 11, irrespective of the starting pH.

[0112] In certain instances, the amount of the metal oxide in the binary buffer system is greater than or equal to the amount of the citrate, phosphate, or borate salt. For example, the weight ratio of the metal oxide to the citrate, phosphate, or borate salt can be from about 1:1 to about 10:1, preferably from about 1:1 to about 5:1, and more preferably from about 1:1 to about 3:1. In certain other instances, the amount of the metal oxide in the binary buffer system is less than or equal to the amount of the citrate, phosphate, or borate salt. For example, the weight ratio of the metal oxide to the citrate, phosphate, or borate salt can be from about 1:1 to about 1:10, preferably from about 1:1 to about 1:5, and more preferably from about 1:1 to about 1:3.

[0113] While the foregoing discussion has focused on the ability of the buffer system to alter salivary pH to favor substantial conversion to the un-ionized form of a therapeutic agent, the buffer system may also have subsidiary beneficial effects on the extent of absorption across the oral mucosa. For example, the buffer system can create a final salivary pH that in turn affects the molecular configuration of the therapeutic agent in a way in which absorption across the oral mucosa is increased. It is to be understood that these subsidiary beneficial effects of the buffer system are still further advantages of the present invention and are within the general scope of the buffer system and compositions herein described.

C. Dosage Forms

[0114] The compositions of the present invention may take the form of solid, semi-solid, lyophilized powder, or liquid dosage forms, such as, for example, tablets (*e.g.*, chewable, slow-dissolving, quick-dissolving), pills, capsules, lozenges, candies, gums, powders, solutions, suspensions, emulsions, aerosols, or the like. Preferably, the dosage form is a chewing gum, quick-dissolving tablet, candy, or lozenge.

[0115] While each subject or patient possesses unique factors that may affect the rate and extent of absorption of the therapeutic agents described herein, dosage forms such as chewing gums, quick-dissolving tablets, or lozenges offer advantages over the traditional dosage forms for oral administration. For example, each of these dosage forms avoids hepatic first pass metabolism, degradation within the gastrointestinal tract, and drug loss during absorption. Consequently, the amount of therapeutic agent required per dose is less than that which would be required if formulated, for example, in a pill or tablet for oral administration. Similarly, with each of these dosage forms, the bioavailability of the therapeutic agent is increased, thereby reducing the time to onset of therapeutic activity.

[0116] As used herein, the term "dosage form" refers to physically discrete units suitable as unitary dosages for human subjects and other mammals, each unit containing a predetermined quantity of therapeutic agent calculated to produce the desired onset, tolerability, and therapeutic effects, in association with one or more suitable pharmaceutical excipients such as carriers. Methods for preparing such dosage forms are known or will be apparent to those skilled in the art. For example, in some embodiments, a chewing gum dosage form of the present invention can be prepared according to the procedures set forth in U.S. Pat. No. 4,405,647. In other embodiments, a tablet, lozenge, or candy dosage form of the present invention can be prepared according to the procedures set forth in, for example, *Remington:*

The Science and Practice of Pharmacy, 20th Ed., Lippincott, Williams & Wilkins (2003); *Pharmaceutical Dosage Forms, Volume 1: Tablets*, 2nd Ed., Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y. (1989); and similar publications. The dosage form to be administered will, in any event, contain a quantity of the therapeutic agent in a therapeutically effective amount for relief of the condition being treated when administered in accordance with the teachings of this invention.

[0117] As used herein, the term "carrier" refers to a typically inert substance used as a diluent or vehicle for a drug such as a therapeutic agent. The term also encompasses a typically inert substance that imparts cohesive qualities to the composition. Suitable carriers for use in the compositions of the present invention include, without limitation, a solid, semi-solid, or liquid such as a binder or a gum base. Non-limiting examples of binders include mannitol, sorbitol, xylitol, maltodextrin, lactose, dextrose, sucrose, glucose, inositol, powdered sugar, molasses, starch, cellulose, microcrystalline cellulose, polyvinylpyrrolidone, acacia gum, guar gum, tragacanth gum, alginate, extract of Irish moss, panwar gum, ghatti gum, mucilage of isapol husks, Veegum®, larch arabogalactan, gelatin, methylcellulose, ethylcellulose, carboxymethylcellulose, hydroxypropylmethylcellulose, polyacrylic acid (*e.g.*, Carbopol), calcium silicate, calcium phosphate, dicalcium phosphate, calcium sulfate, kaolin, sodium chloride, polyethylene glycol, and combinations thereof. These binders can be pre-processed to improve their flowability and taste by methods known in the art such as freeze drying (*see, e.g.*, Fundamentals of Freeze-Drying, *Pharm. Biotechnol.*, 14:281-360 (2002); Lyophililization of Unit Dose Pharmaceutical Dosage Forms, *Drug. Dev. Ind. Pharm.*, 29:595–602 (2003)); solid-solution preparation (*see, e.g.*, U.S. Pat. No. 6,264,987); and lubricant dusting and wet-granulation preparation with a suitable lubricating agent (*see, e.g.*, *Remington: The Science and Practice of Pharmacy, supra*). For example, Mannogem® and Sorbogem®, sold by SPI Pharma Group (New Castle, DE), are freeze-dried processed forms of mannitol and sorbitol, respectively. Typically, the compositions of the present invention comprise from about 25% to about 90% by weight of the binder, and preferably from about 50% to about 80%. However, one skilled in the art will appreciate that the compositions of the present invention can be made without any binders, *e.g.*, to produce a highly friable dosage form.

[0118] Non-limiting examples of gum bases include materials selected from among the many water-insoluble and saliva-insoluble gum base materials known in the art. For example, in some instances, the gum base comprises at least one hydrophobic polymer and at

least one hydrophilic polymer. Non-limiting examples of suitable hydrophobic and hydrophilic polymers for gum bases include both natural and synthetic polymers such as elastomers, rubbers, and combinations thereof. Examples of suitable natural polymers include, without limitation, substances of plant origin such as chicle, jelutong, gutta percha, crown gum, and combinations thereof. Examples of suitable synthetic polymers include elastomers such as butadiene-styrene copolymers, isobutylene and isoprene copolymers (*e.g.*, "butyl rubber"), polyethylene, polyisobutylene, polyvinylester (*e.g.*, polyvinyl acetate and polyvinyl acetate phthalate), and combinations thereof. In other instances, the gum base comprises a mixture of butyl rubber (*i.e.*, isobutylene and isoprene copolymer), polyisobutylene, and optionally, polyvinylacetate (*e.g.*, having a molecular weight of approximately 12,000). Typically, the gum base comprises from about 25% to about 75% by weight of these polymers, and preferably from about 30% to about 60%.

[0119] The compositions of the present invention can additionally include lubricating agents; wetting agents; emulsifying agents; solubilizing agents; suspending agents; preserving agents such as methyl-, ethyl-, and propyl-hydroxy-benzoates, butylated hydroxytoluene, and butylated hydroxyanisole; sweetening agents; flavoring agents; coloring agents; and disintegrating agents (*i.e.*, dissolving agents) such as crospovidone as well as croscarmellose sodium and other cross-linked cellulose polymers.

[0120] Lubricating agents can be used to prevent adhesion of the dosage form to the surface of the dies and punches, and to reduce inter-particle friction. Lubricating agents may also facilitate ejection of the dosage form from the die cavity and improve the rate of granulation flow during processing. Examples of suitable lubricating agents include, without limitation, magnesium stearate, calcium stearate, zinc stearate, stearic acid, simethicone, silicon dioxide, talc, hydrogenated vegetable oil, polyethylene glycol, mineral oil, and combinations thereof. The compositions of the present invention can comprise from about 0% to about 10% by weight of the lubricating agent, and preferably from about 1% to about 5%.

[0121] Sweetening agents can be used to improve the palatability of the composition by masking any unpleasant tastes it may have. Examples of suitable sweetening agents include, without limitation, compounds selected from the saccharide family such as the mono-, di-, tri-, poly-, and oligosaccharides; sugars such as sucrose, glucose (corn syrup), dextrose, invert sugar, fructose, maltodextrin, and polydextrose; saccharin and salts thereof such as

sodium and calcium salts; cyclamic acid and salts thereof; dipeptide sweeteners; chlorinated sugar derivatives such as sucralose and dihydrochalcone; sugar alcohols such as sorbitol, sorbitol syrup, mannitol, xylitol, hexa-resorcinol, and the like, and combinations thereof. Hydrogenated starch hydrolysate, and the potassium, calcium, and sodium salts of 3,6-dihydro-6-methyl-1-1,2,3-oxathiazin-4-one-2,2-dioxide may also be used. Of the foregoing, sorbitol, mannitol, and xylitol, either alone or in combination, are preferred sweetening agents. The compositions of the present invention can comprise from about 0% to about 80% by weight of the sweetening agent, preferably from about 5% to about 75%, and more preferably from about 25% to about 50%.

[0122] Flavoring agents can also be used to improve the palatability of the composition. Examples of suitable flavoring agents include, without limitation, natural and/or synthetic (*i.e.,* artificial) compounds such as peppermint, spearmint, wintergreen, cinnamon, menthol, cherry, strawberry, watermelon, grape, banana, peach, pineapple, apricot, pear, raspberry, lemon, grapefruit, orange, plum, apple, fruit punch, passion fruit, chocolate (*e.g.,* white, milk, dark), vanilla, caramel, coffee, hazelnut, combinations thereof, and the like. Coloring agents can be used to color code the composition, for example, to indicate the type and dosage of the therapeutic agent therein. Suitable coloring agents include, without limitation, natural and/or artificial compounds such as FD & C coloring agents, natural juice concentrates, pigments such as titanium oxide, silicon dioxide, and zinc oxide, combinations thereof, and the like. The compositions of the present invention can comprise from about 0% to about 10% by weight of the flavoring and/or coloring agent, preferably from about 0.1% to about 5%, and more preferably from about 2% to about 3%.

1. Chewing Gums

[0123] When the dosage form is a chewing gum, the compositions of the present invention comprise a 5-HT agonist or a pharmaceutically acceptable salt thereof, a carrier such as a gum base, a binary or ternary buffer system, and optionally a protecting agent. The chewing gum composition may further comprise lubricating agents, wetting agents, emulsifying agents, suspending agents, preserving agents, sweetening agents, flavoring agents, and coloring agents. Typically, the chewing gum composition comprises from about 0.001% to about 10.0% by weight of the 5-HT agonist (in whatever chosen form, measured as per its free base form), more typically from about 0.01% to about 5.0%, and still more typically from about 0.1% to about 3.0%. One skilled in the art understands that the foregoing percentages will vary depending upon the particular source of 5-HT agonist utilized, the

amount of 5-HT agonist desired in the final formulation, as well as on the particular release rate of 5-HT agonist desired. The binary or ternary buffer system of the chewing gum composition provides for a final salivary pH in excess of at least about 9.5, preferably at least about 9.9, and more preferably in the range of from about 9.9 to about 11. The chewing gum composition typically comprises from about 20% to about 95% by weight of the gum base, more typically from about 30% to about 85%, and most typically from about 50% to about 70% of the gum base.

[0124] The chewing gum composition may further comprise a protecting agent. The protecting agent coats at least part of the therapeutic agent, typically upon the mixing of the two agents. The protecting agent may be mixed with the therapeutic agent in a ratio of from about 0.1 to about 100 by weight, preferably in a ratio of from about 1 to about 50, and more preferably in a ratio of about 1 to about 10. Without being bound to any particular theory, the protecting agent reduces the adhesion between the therapeutic agent and the gum base so that the therapeutic agent may be more easily released from the gum base. In this way, the therapeutic agent may be delivered across the mucous membranes of the oral cavity within about 5 to about 20 minutes of chewing, preferably within about 10 minutes of chewing. A variety of different protecting agents may be used. Examples of suitable protecting agents include, without limitation, calcium stearate, glycerin monostearate, glyceryl behenate, glyceryl palmitostearate, hydrogenated castor oil, hydrogenated vegetable oil type I, light mineral oil, magnesium lauryl sulfate, magnesium stearate, mineral oil, poloxamer, polyethylene gycol, sodium benzoate, sodium chloride, sodium lauryl sulfate, stearic acid, cab-o-sil, talc, zinc stearate, and combinations thereof.

[0125] The gum base may additionally include plasticizers such as softeners or emulsifiers. Such plasticizers may, for example, help reduce the viscosity of the gum base to a desirable consistency and improve its overall texture and bite. Plasticizers may also facilitate the release of the therapeutic agent upon mastication. Non-limiting examples of plasticizers include lecithin, mono- and diglycerides, lanolin, stearic acid, sodium stearate, potassium stearate, glycerol triacetate, glycerol monostearate, glycerin, and combinations thereof. The gum base typically comprises from about 0% to about 20% by weight of the plasticizer, and more typically from about 5% to about 15%.

[0126] The gum base may further comprise waxes such as beeswax and microcrystalline wax, fats or oils such as soybean and cottonseed oil, and combinations thereof. Typically, the

gum base comprises from about 0% to about 25% by weight of these waxes and oils, and more typically comprises from about 15% to about 20%.

[0127] In addition, the gum base may further comprise one or more elastomeric solvents such as rosins and resins. Non-limiting examples of such solvents include methyl, glycerol, and pentaerythritol esters of rosins, modified rosins such as hydrogenated, dimerized or polymerized rosins, or combinations thereof (*e.g.,* pentaerythritol ester of partially hydrogenated wood rosin, pentaerythritol ester of wood rosin, glycerol ester of wood rosin, glycerol ester of partially dimerized rosin, glycerol ester of polymerized rosin, glycerol ester of tall oil rosin, glycerol ester of wood rosin and partially hydrogenated wood rosin and partially hydrogenated methyl ester of rosin such as polymers of alpha-pinene or beta-pinene, terpene resins including polyterpene, and combinations thereof). Typically, the gum base comprises from about 0% to about 75% by weight of the elastomeric solvent, and more typically less than about 10%.

[0128] The gum base may further comprise a filler material to enhance the chewability of the final chewing gum composition. Fillers that are substantially non-reactive with other components of the final chewing gum formulation are preferable. Examples of suitable fillers include, without limitation, calcium carbonate, magnesium silicate (*i.e.,* talc), dicalcium phosphate, metallic mineral salts (*e.g.,* alumina, aluminum hydroxide, and aluminum silicates), and combinations thereof. Typically, the gum base comprises from about 0% to about 30% by weight of the filler, and more typically from about 10% to about 20%.

[0129] One skilled in the art will appreciate that the gum base need not be prepared from its individual components. For example, the gum base can be purchased with the desired ingredients contained therein, and can be modified to include additional agents. Several manufacturers produce gum bases suitable for use with the described chewing gum compositions. Examples of such gum bases include, without limitation, Pharmgum™ M, S, or C (SPI Pharma Group; New Castle, DE). In general, Pharmagum™ comprises a mixture of gum base, sweetening agent, plasticizer, and sugar.

[0130] In certain instances, the chewing gum composition includes a therapeutic agent centerfill. A centerfill may be particularly suitable when immediate release of the therapeutic agent is preferred. In addition, encapsulating the therapeutic agent in a centerfill may help to mask any undesirable taste that the therapeutic agent may have. In these instances, the gum base surrounds, at least in part, a centerfill. The centerfill comprises at least one therapeutic

agent, and may be a liquid or semi-liquid material. The centerfill material can be a synthetic polymer, a semi-synthetic polymer, low-fat, or fat-free and contain one or more sweetening agents, flavoring agents, coloring agents, and/or scenting agents. Preferably, the centerfill includes a binary or ternary buffer system as described herein. Methods for preparing a centerfill chewing gum are described, for example, in U.S. Pat. No. 3,806,290, which is hereby incorporated by reference in its entirety.

[0131] The chewing gum compositions can have any desired shape, size, and texture. For example, the composition can have the shape of a stick, tab, gumball, and the like. Similarly, the chewing gum can be any desirable color. For example, the chewing gum can be any shade of red, blue, green, orange, yellow, violet, indigo, and mixtures thereof, and can be color coded to indicate the type and dosage of the therapeutic agent therein. The chewing gum can be individually wrapped or grouped together in pieces for packaging by methods well known in the art.

2. Tablets

[0132] When the dosage form is a tablet such as a dissolving tablet (*i.e.*, disintegrating tablet) or chewable tablet, the compositions of the present invention comprise a 5-HT agonist or a pharmaceutically acceptable salt thereof, a carrier such as a binder, and a binary or ternary buffer system. The tablet composition may further comprise lubricating agents, wetting agents, emulsifying agents, suspending agents, preserving agents, sweetening agents, flavoring agents, coloring agents, and disintegrating agents. Typically, the tablet compositions of the present invention comprise from about 0.001% to about 10.0% by weight of the 5-HT agonist (in whatever chosen form, measured as per its free base form), and more typically from about 1.0% to about 5.0%. In some embodiments, about 3.5% by weight of the 5-HT agonist is used. One skilled in the art understands that the foregoing percentages will vary depending upon the particular source of 5-HT agonist utilized, the amount of 5-HT agonist desired in the final formulation, as well as on the particular release rate of 5-HT agonist desired. The buffer system of the tablet composition provides for a final salivary pH in excess of at least about 9.5, preferably at least about 9.9, and more preferably in the range of from about 9.9 to about 11.

[0133] In certain embodiments, the tablet is a dissolving tablet such as a slow-dissolving or quick-dissolving tablet that is dissolved by a subject's saliva, without the need for chewing. For example, a dissolving tablet placed on the subject's tongue can be used for buccal

delivery of the therapeutic agent. Alternatively, a dissolving tablet placed underneath the subject's tongue can be used for sublingual delivery of the therapeutic agent. This type of dosage form may be particularly desirable for pediatric and geriatric patients, since small children and aged individuals often have difficulty chewing certain items. Typically, the dissolving tablet is formulated to dissolve within about 1 to about 15 minutes, preferably within about 2 to about 10 minutes, *e.g.*, within about 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, or 10 minutes, following administration. One skilled in the art will understand that quick-dissolving tablets dissolve faster than slow-dissolving tablets, which are typically dissolved gradually rather than rapidly by a subject's saliva. In a preferred embodiment, the slow-dissolving or quick-dissolving tablet delivers the therapeutic agent across the sublingual mucosa.

[0134] In certain other embodiments, the tablet is a chewable tablet that is chewed by a subject and formulated to dissolve either rapidly or gradually. For example, a chewable tablet placed on the subject's tongue can be used for buccal delivery of the therapeutic agent. During chewing, the chewable tablet can be moved around within the mouth and can sometimes be parked between the gums and the cheeks or underneath the tongue. As a result, at least a portion of the therapeutic agent contained within a chewable tablet may also be delivered sublingually (*i.e.*, across the sublingual mucosa). Typically, the chewable tablet is formulated to dissolve within about 1 to about 15 minutes, preferably within about 2 to about 10 minutes, *e.g.*, within about 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, or 10 minutes, following administration.

[0135] As described above, the dissolving and chewable tablets of the present invention are typically formulated to dissolve within about 1 to 15 minutes following administration. However, while these time frames are amenable to maximum exposure of the therapeutic agent to the oral mucosa (*e.g.*, to the sublingual and/or buccal mucosa), they are not always amenable to user compliance (*e.g.*, users may swallow too frequently and, therefore, hinder maximal transmucosal absorption). Consequently, in certain instances, it may be desirable to strike a balance between patient compliance and maximum exposure time of the therapeutic agent to the oral mucosa. This can be accomplished, for example, by reducing the tablet size (*e.g.*, from about 700-800 mg to about 200-300 mg) without reducing the concentration or amount per unit dose of the buffer system or the therapeutic agent. In addition, subtle changes to the tablet formulation such as, for example, replacing one flavoring agent for another (*e.g.*, chocolate for spearmint) or replacing one binder or sweetening agent for another (*e.g.*, lactose for mannitol or sorbitol) may be used to reduce salivation.

[0136] The carrier present in the tablets of the present invention is typically a binder that is useful in keeping the tablet in a semi-solid state, and may be a solid or a liquid, and may for example be a high-melting point fat or waxy material. Materials suitable as binders are discussed in detail above and may be used alone or in combination in the tablet compositions of the present invention. In addition, binders such as mannitol, sorbitol, lactose, sucrose, and inositol can impart properties to the tablet that permit or enhance its disintegration in the mouth.

[0137] The tablet composition may further comprise a protecting agent. The protecting agent coats at least part of the therapeutic agent, typically upon the mixing of the two agents. The protecting agent may be mixed with the therapeutic agent in a ratio of from about 0.1 to about 100 by weight, preferably in a ratio of from about 1 to about 50, and more preferably in a ratio of about 1 to about 10. Without being bound to any particular theory, the protecting agent reduces the adhesion between the therapeutic agent and the binder so that the therapeutic agent may be more easily released from the binder. In this way, the therapeutic agent may be delivered across the mucous membranes of the oral cavity within about 5 to about 20 minutes, preferably within about 10 minutes. Materials suitable as protecting agents are discussed in detail above and may be used alone or in combination in the tablet compositions of the present invention.

[0138] The tablet composition may also comprise one or more elastomeric solvents such as rosins and resins. Non-limiting examples of such solvents are discussed in detail above and may be used alone or in combination in the tablet compositions of the present invention. In addition, the tablet composition may further comprise waxes such as beeswax and microcrystalline wax, fats or oils such as soybean and cottonseed oil, and combinations thereof. Moreover, the tablet composition may additionally include plasticizers such as softeners or emulsifiers. Such plasticizers may, for example, help reduce the viscosity of the salivary solution of the dissolved tablet to a desirable consistency and improve its overall texture and bite and help facilitate the release of the therapeutic agent. Non-limiting examples of such plasticizers are discussed in detail above and may be used alone or in combination in the tablet compositions of the present invention.

[0139] In certain instances, the tablet composition includes a therapeutic agent centerfill. A centerfill may be particularly suitable when immediate release of the therapeutic agent is preferred. In addition, encapsulating the therapeutic agent in a centerfill may help to mask

any undesirable taste that the therapeutic agent may have. In these instances, the binder surrounds, at least in part, a centerfill. The centerfill comprises at least one therapeutic agent, and may be a liquid or semi-liquid material. The centerfill material can be low-fat or fat free and contain one or more sweetening agents, flavoring agents, coloring agents, and/or scenting agents. Preferably, the centerfill includes a binary or ternary buffer system as described herein.

[0140] In certain other instances, the tablet composition of the present invention is multilayered. In this way, the dissolving or chewable tablet can be designed to provide more than one therapeutic agent, *e.g.,* two or more 5-HT agonists or one or more 5-HT agonists in combination with one or more non-5-HT agonist therapeutic agents. For example, with a bi-layered tablet, the first layer contains a 5-HT agonist and the second layer contains the same or different 5-HT agonist or a non-5-HT agonist therapeutic agent. Typically, the first layer comprises the dissolving or chewable portion of the tablet, and the second (*i.e.,* subsequent) layer is coated by the first layer. This type of formulation may be particularly suitable when immediate release of the 5-HT agonist, followed by gastrointestinal absorption of a second therapeutic agent, is desirable. Gastrointestinal absorption of the second therapeutic agent may be desirable, for example, in order to mitigate co-morbid symptoms or to sustain the therapeutic benefit of the 5-HT agonist in the dissolving or the chewable portion of the tablet. Alternatively, the second layer is present as a layer lateral to the first layer. The second layer typically comprises at least one therapeutic agent, and can also comprise one or more sweetening agents, flavoring agents, coloring agents, and scenting agents as described above. In some instances, the second layer further includes a binary or ternary buffer system as described herein.

[0141] In still other instances, the combination of 5-HT agonists with or without non-5-HT agonist therapeutic agents need not take the form of a multilayered tablet, but instead comprises a single homogenous tablet layer. This type of formulation may also be used in the case where gastrointestinal absorption of at least one therapeutic agent is desirable. In this case, the relative extent of ionization of the two or more therapeutic agents determines how they are to be absorbed. For example, those therapeutic agents that are un-ionized are absorbed through the oral mucosa, while the ionized agents are swallowed for gastrointestinal absorption.

[0142] The tablet compositions can have any desired shape, size, and texture. For example, the tablet can have the shape of a stick, tab, pellet, sphere, and the like. Similarly, the tablet can be any desirable color. For example, the tablet can be any shade of red, blue, green, orange, yellow, violet, indigo, and mixtures thereof, and can be color coded to indicate the type and dosage of the therapeutic agent therein. The tablets can be individually wrapped or grouped together in pieces for packaging by methods well known in the art.

3. Lozenges

[0143] When the dosage form is a lozenge or candy, the compositions of the present invention comprise a 5-HT agonist or a pharmaceutically acceptable salt thereof, a carrier such as a binder, and a binary or ternary buffer system. The lozenge or candy composition may further comprise lubricating agents, wetting agents, emulsifying agents, suspending agents, preserving agents, sweetening agents, flavoring agents, coloring agents, and disintegrating agents. A general discussion of lozenges and candies is provided, *e.g.*, in *Pharmaceutical Dosage Forms, Volume 1: Tablets*, 2nd Ed., Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., pages 75-418 (1989).

[0144] Typically, the lozenge or candy compositions of the present invention comprise from about 0.001% to about 10.0% by weight of the 5-HT agonist (in whatever chosen form, measured as per its free base form), preferably from about 1.0% to about 5.0%, and more preferably from about 2.5% to about 4.5%. One skilled in the art understands that the foregoing percentages will vary depending upon the particular source of 5-HT agonist utilized, the amount of 5-HT agonist desired in the final formulation, as well as on the particular release rate of 5-HT agonist desired. The buffer system for the lozenge or candy composition is typically a binary or ternary buffer system comprising amorphous magnesium oxide with a carbonate salt and/or a bicarbonate salt. For example, a ternary buffer system typically comprises from about 4.0% to about 7.0% by weight sodium carbonate; from about 8.0% to about 12.0% by weight dessicant-coated sodium bicarbonate; and from about 20% to about 30% by weight amorphous magnesium oxide. The buffer system provides for a final salivary pH in excess of at least about 9.5, preferably at least about 9.9, and more preferably in the range of from about 9.9 to about 11. In a preferred embodiment, the lozenge or candy composition comprises about 3.5% by weight 5-HT agonist, about 5.5% by weight sodium carbonate, about 9.0% by weight dessicant-coated sodium bicarbonate, and about 25% by weight amorphous magnesium oxide. Examples of sumatriptan lozenge compositions are provided in Example 5 below.

[0145] In certain embodiments, the lozenge or candy is dissolved by a subject's saliva, without the need for chewing. For example, a lozenge placed on the subject's tongue can be used for buccal delivery of the therapeutic agent. Alternatively, a lozenge placed underneath the subject's tongue can be used for sublingual delivery of the therapeutic agent. This type of dosage form may be particularly desirable for pediatric and geriatric patients, since small children and aged individuals often have difficulty chewing certain items. Typically, the lozenge is formulated to dissolve within about 1 to about 15 minutes, preferably within about 2 to about 10 minutes, *e.g.,* within about 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, or 10 minutes, following administration. In a preferred embodiment, the lozenge or candy delivers the therapeutic agent across the sublingual mucosa.

[0146] As described above, the lozenges the present invention are typically formulated to dissolve within about 1 to 15 minutes following administration. However, while these time frames are amenable to maximum exposure of the therapeutic agent to the oral mucosa (*e.g.,* to the sublingual and/or buccal mucosa), they are not always amenable to user compliance (*e.g.,* users may swallow too frequently and, therefore, hinder maximal transmucosal absorption). Consequently, in certain instances, it may be desirable to strike a balance between patient compliance and maximum exposure time of the therapeutic agent to the oral mucosa. This can be accomplished, for example, by reducing the lozenge size (*e.g.,* from about 700-800 mg to about 200-300 mg) without reducing the concentration or the amount per unit dose of the buffer system or the therapeutic agent. In addition, subtle changes to the lozenge formulation such as, for example, replacing one flavoring agent for another (*e.g.,* chocolate for spearmint) or replacing one binder or sweetening agent for another (*e.g.,* lactose for mannitol or sorbitol) may be used to reduce salivation.

[0147] The carrier present in the lozenges of the present invention is typically a binder that is useful in keeping the lozenge in a semi-solid state, and may be a solid or a liquid, and may for example be a high-melting point fat or waxy material. Materials suitable as binders are discussed in detail above and may be used alone or in combination in the lozenge compositions of the present invention. In addition, binders such as mannitol, sorbitol, lactose, sucrose, and inositol can impart properties to the lozenge that permit or enhance its disintegration in the mouth.

[0148] The lozenge composition may further comprise a protecting agent. The protecting agent coats at least part of the therapeutic agent, typically upon the mixing of the two agents.

The protecting agent may be mixed with the therapeutic agent in a ratio of from about 0.1 to about 100 by weight, preferably in a ratio of from about 1 to about 50, and more preferably in a ratio of about 1 to about 10. Without being bound to any particular theory, the protecting agent reduces the adhesion between the therapeutic agent and the binder so that the therapeutic agent may be more easily released from the binder. In this way, the therapeutic agent may be delivered across the mucous membranes of the oral cavity within about 5 to about 20 minutes, preferably within about 10 minutes. Materials suitable as protecting agents are discussed in detail above and may be used alone or in combination in the lozenge compositions of the present invention.

[0149] The lozenge composition may also comprise one or more elastomeric solvents such as rosins and resins. Non-limiting examples of such solvents are discussed in detail above and may be used alone or in combination in the tablet compositions of the present invention. In addition, the lozenge composition may further comprise waxes such as beeswax and microcrystalline wax, fats or oils such as soybean and cottonseed oil, and combinations thereof. Moreover, the lozenge composition may additionally include plasticizers such as softeners or emulsifiers. Such plasticizers may, for example, help reduce the viscosity of the salivary solution of the dissolved lozenge to a desirable consistency and improve its overall texture and bite and help facilitate the release of the therapeutic agent. Non-limiting examples of such plasticizers are discussed in detail above and may be used alone or in combination in the lozenge compositions of the present invention.

[0150] In certain instances, the lozenge composition includes a therapeutic agent centerfill. A centerfill may be particularly suitable when immediate release of the therapeutic agent is preferred. In addition, encapsulating the therapeutic agent in a centerfill may help to mask any undesirable taste that the therapeutic agent may have. In these instances, the binder surrounds, at least in part, a centerfill. The centerfill comprises at least one therapeutic agent, and may be a liquid or semi-liquid material. The centerfill material can be a synthetic polymer, a semi-synthetic polymer, low-fat, or fat free and contain one or more sweetening agents, flavoring agents, coloring agents, and/or scenting agents. Preferably, the centerfill includes a binary or ternary buffer system as described herein.

[0151] In certain other instances, the lozenge composition of the present invention is multilayered. In this way, the lozenge can be designed to provide more than one therapeutic agent, *e.g.,* two or more 5-HT agonists or one or more 5-HT agonists in combination with one

or more non-5-HT agonist therapeutic agents. For example, with a bi-layered lozenge, the first layer contains a 5-HT agonist and the second layer contains the same or different 5-HT agonist or a non-5-HT agonist therapeutic agent. Typically, the first layer comprises the dissolving portion of the lozenge, and the second (*i.e.,* subsequent) layer is coated by the first layer. This type of formulation may be particularly suitable when immediate release of the 5-HT agonist, followed by gastrointestinal absorption of a second therapeutic agent, is desirable. Gastrointestinal absorption of the second therapeutic agent may be desirable, for example, in order to mitigate co-morbid symptoms or to sustain the therapeutic benefit of the 5-HT agonist in the dissolving portion of the lozenge. Alternatively, the second layer is present as a layer lateral to the first layer. The second layer typically comprises at least one therapeutic agent, and can also comprise one or more sweetening agents, flavoring agents, coloring agents, and scenting agents as described above. In some instances, the second layer further includes a binary or ternary buffer system as described herein.

[0152] In still other instances, the combination of 5-HT agonists with or without non-5-HT agonist therapeutic agents need not take the form of a multilayered lozenge, but instead comprises a single homogenous lozenge layer. This type of formulation may also be used in the case where gastrointestinal absorption of at least one therapeutic agent is desirable. In this case, the relative extent of ionization of the two or more therapeutic agents determines how they are to be absorbed. For example, those therapeutic agents that are un-ionized are absorbed through the oral mucosa, while the ionized agents are swallowed for gastrointestinal absorption.

[0153] The lozenge compositions can have any desired shape, size, and texture. For example, the lozenge can have the shape of a stick, tab, pellet, sphere, and the like. Similarly, the lozenge can be any desirable color. For example, the lozenge can be any shade of red, blue, green, orange, yellow, violet, indigo, and mixtures thereof, and can be color coded to indicate the type and dosage of the therapeutic agent therein. The lozenges can be individually wrapped or grouped together in pieces for packaging by methods well known in the art.

[0154] In addition to the preferred dosage forms described above, the compositions of the present invention can also take to form of a solution formulation for delivery of a 5-HT agonist across the oral mucosa. For example, the solution formulation can be administered sublingually by using a two-chamber syringe delivery system, in which the upper chamber

contains an unbuffered 5-HT agonist solution, the lower chamber contains the dry buffer system components, and a non-permeable membrane separates the upper and lower chambers. Depressing the syringe ruptures the non-permeable membrane and allows mixing of the unbuffered 5-HT agonist solution with the dry buffer system components. The resulting buffered 5-HT agonist solution is then released from the tip of the syringe. As such, by simply placing the tip of the syringe anywhere underneath a subject's tongue and depressing the syringe, a solution formulation of the present invention can be used to deliver the 5-HT agonist across the subject's sublingual mucosa.

[0155] Accordingly, the present invention further provides A composition for delivery of a 5-HT agonist across the oral mucosa, said composition comprising: (a) a 5-HT agonist or a pharmaceutically acceptable salt thereof, preferably sumatriptan; (b) a carrier; and (c) a binary buffer system comprising a carbonate salt and a bicarbonate salt, wherein the binary buffer system raises the pH of saliva to a pH greater than about 9.9 irrespective of the starting pH of saliva. Preferably, the composition is a solution that is prepared just prior to administration to the oral mucosa. In certain preferred embodiments, the binary buffer system comprises sodium bicarbonate and sodium carbonate wherein the ratio of sodium bicarbonate to sodium carbonate is from about 2:1 to about 5:1 by weight. In other embodiments, sodium carbonate is used in an amount that is equivalent to, or in excess of sodium bicarbonate. More particularly, the compositions are those that provide peak plasma levels of sumatriptan in less than 15 minutes (e.g, about 1-15 minutes), preferably in about 5 minutes to about 10 minutes.

D. Methods of Administration

[0156] The compositions of the present invention are useful in therapeutic applications, *e.g.,* for treating a migraine. Importantly, the compositions of the present invention provide the rapid delivery of a 5-HT agonist across the oral mucosa by raising the pH of saliva to a pH greater than about 9.9, irrespective of the starting pH of saliva. In particular, the delivery of the therapeutic agent across the oral mucosa avoids hepatic first pass metabolism, degradation within the gastrointestinal tract, and drug loss during absorption. As a result, the therapeutic agent reaches the systemic circulation in a substantially shorter period of time and at a substantially higher concentration than with traditional oral (*e.g.,* tablet) administration.

[0157] The compositions of the present invention have particular utility in the area of human and veterinary therapeutics. Generally, administered dosages will be effective to deliver picomolar to micromolar concentrations of the 5-HT agonist to the appropriate site.

[0158] Administration of the compositions of the present invention is preferably carried out via any of the accepted modes of administration to the mucous membranes of the oral cavity. Examples of suitable sites of administration within the oral mucosa include, without limitation, the mucous membranes of the floor of the mouth (sublingual mucosa), the cheeks (buccal mucosa), the gums (gingival mucosa), the roof of the mouth (palatal mucosa), the lining of the lips, and combinations thereof. These regions differ from each other with respect to their anatomy, drug permeability, and physiological response to drugs. Preferably, the compositions of the present invention are administered to the sublingual mucosa, buccal mucosa, or a combination thereof.

[0159] The oral mucosa, possessing a rich blood supply and suitable drug permeability, is an especially attractive route of administration for systemic drug delivery. Furthermore, delivery of a therapeutic agent across the oral mucosa bypasses hepatic first pass metabolism, avoids enzymatic degradation within the gastrointestinal tract, and provides a more suitable enzymatic flora for drug absorption. As used herein, the term "sublingual delivery" refers to the administration of a therapeutic agent across the mucous membranes lining the floor of the mouth and/or the ventral tongue. The term "buccal delivery" as used herein refers to the administration of a therapeutic agent across the mucous membranes lining the cheeks.

[0160] The oral mucosa is composed of an outermost layer of stratified squamous epithelium. Beneath this layer lies a basement membrane, *i.e.*, the lamina propria, followed by the submucosa as the innermost layer. The epithelium of the oral mucosa is similar to the stratified squamous epithelia found in the rest of the body in that it contains a mitotically active basal cell layer, advancing through a number of differentiating intermediate layers to the superficial layers, where cells are shed from the surface of the epithelium (Gandhi *et al.*, *Ind. J. Pharm. Sci.*, 50:145-152 (1988)). For example, the epithelium of the buccal mucosa is about 40-50 cell layers thick, while that of the sublingual epithelium contains somewhat fewer cell layers. The epithelial cells increase in size and become flatter as they travel from the basal layers to the superficial layers.

[0161] The turnover time for buccal mucosal epithelium, estimated at 5-6 days, is representative of the turnover time for sublingual mucosal epithelium as well as other

epithelia in the oral mucosa (Harris *et al.*, *J. Pharm. Sci.*, 81:1-10 (1992)). The thickness of the oral mucosa varies depending on the site in the oral cavity. For example, the buccal mucosa measures at about 500-800 μm in thickness, while the hard and soft palatal mucosa, the sublingual mucosa, the ventral tongue, and the gingival mucosa measure at about 100-200 μm in thickness. The composition of the epithelium also varies depending on the site in the oral cavity. For example, the mucosae of areas subject to mechanical stress (*i.e.*, the gingivae and hard palate) are keratinized similar to the epidermis. However, the mucosae of the soft palate, the sublingual region, and the buccal region are not keratinized (Harris *et al.*, *supra*). The keratinized epithelia contain neutral lipids like ceramides and acylceramides, which have been associated with providing a barrier function. As a result, these epithelia are relatively impermeable to water. In contrast, non-keratinized epithelia, such as sublingual and buccal epithelia, do not contain acylceramides and have only small amounts of ceramide (Wertz *et al.*, *Crit. Rev. Ther. Drug Carr. Sys.*, 8:237-269 (1991); Squier *et al.*, *J. Invest. Dermat.*, 96:123-126 (1991); Squier *et al.*, in *Oral Mucosal Drug Delivery*, Ed. M. J. Rathbone, Marcel Dekker, Inc., New York, New York, 1-26 (1996)). Non-keratinized epithelia also contain small amounts of neutral but polar lipids, *e.g.*, cholesterol sulfate and glucosyl ceramides. As such, these epithelia have been found to be considerably more permeable to water than keratinized epithelia (Harris *et al.*, *supra*; Wertz *et al.*, *supra*; Squier *et al.*, *supra*, 1991).

[0162] In general, the oral mucosa is a somewhat leaky epithelia intermediate between that of the epidermis and intestinal mucosa. For example, the permeability of the buccal mucosa is estimated to be about 4-4000 times greater than that of skin (Galey *et al.*, *J. Invest. Dermat.*, 67:713-717 (1976)). The permeability of different regions of the oral mucosa generally decrease in the order of sublingual mucosa greater than buccal mucosa, and buccal mucosa greater than palatal mucosa (Harris *et al.*, *supra*). This permeability is generally based upon the relative thickness and degree of keratinization of these membranes, with the sublingual mucosa being relatively thin and non-keratinized, the buccal mucosa being thicker and non-keratinized, and the palatal mucosa being intermediate in thickness, but keratinized.

[0163] The epithelial cells of the oral mucosa are surrounded by mucus comprising primarily complexes of proteins and carbohydrates that may or may not be attached to certain regions on the cell surface. The mucus may play a role in cell-cell adhesion, as well as acting as a lubricant, allowing cells to move relative to one another (Tabak *et al.*, *J. Oral Pathol.*, 11:1-17 (1982)). In stratified squamous epithelia found elsewhere in the body, mucus is

synthesized by specialized mucus secreting cells such as goblet cells; however, in the oral mucosa, mucus is secreted by the major and minor salivary glands as part of saliva (Tabak *et al.*, *supra*; Rathbone *et al.*, *Adv. Drug Del. Rev.*, 13:1-22 (1994)). At physiological pH, the mucus network carries a negative charge due to the sialic acid and sulfate residues present on the carbohydrates. At this pH, mucus can form a strongly cohesive gel structure that binds to the epithelial cell surface as a gelatinous layer (Gandhi *et al.*, *supra*). Without being bound to any particular theory, the buffer systems of the present invention neutralize the sialic acid residues present on the carbohydrates and prevent them from interacting with the therapeutic agent, thereby further enhancing drug permeation.

[0164] Another feature of the environment of the oral cavity is the presence of saliva produced by the salivary glands. Saliva is the protective fluid for all tissues of the oral cavity. Saliva is an aqueous fluid with about 1% organic and inorganic materials. The major determinant of the salivary composition is the flow rate, which in turn depends upon factors such as the time of day, the type of stimulus, and the degree of stimulation. The salivary pH typically ranges from about 5.5 to about 7.0, depending on the flow rate. For example, at high flow rates, the sodium and bicarbonate concentrations increase, leading to an increase in the pH. Because the daily salivary volume is between about 0.5 to about 2 liters, the oral cavity provides an aqueous environment for the hydration and/or dissolution of the oral mucosal dosage forms of the present invention.

[0165] The sublingual mucosa is the most highly permeable region of the oral cavity, and provides rapid absorption and high bioavailability of a drug in a convenient, accessible, and well-accepted route of administration (Harris *et al.*, *supra*). Suitable sublingual dosage forms include, without limitation, tablets (*e.g.*, quick-dissolving, slow-dissolving), lozenges, candy, and soft gelatin capsules filled with liquid drug. Such systems create a very high drug concentration in the sublingual region before they are systemically absorbed across the sublingual mucosa. As a result, the sublingual mucosa is particularly well-suited for producing a rapid onset of action, and sublingual dosage forms can be used to deliver drugs with shorter delivery period requirements and/or less frequent dosing regimens. Although the buccal mucosa is considerably less permeable than the sublingual area, rapid absorption and high bioavailability of a drug can also be observed with buccal administration. Suitable buccal dosage forms include, without limitation, chewing gums, tablets (*e.g.*, quick-dissolving, slow-dissolving), lozenges, candy, and the like. Both the buccal mucosa and the

sublingual mucosa are far superior to the gastrointestinal tract for providing increased absorption and bioavailability of a drug.

[0166] To increase the permeability of drugs through the oral mucosa, penetration enhancers can be included in the dosage forms of the present invention. The penetration enhancers may be of the type that alters the nature of the oral mucosa to enhance penetration, or of the type that alters the nature of the therapeutic agent to enhance penetration through the oral mucosa. Suitable penetration enhancers include, without limitation, polyoxyethylene 23-lauryl ether, aprotin, azone, benzalkonium chloride, cetylpyridinium chloride, cetyltrimethylammonium bromide, cyclodextrin, dextran sulfate, lauric acid, propylene glycol, lysophosphatidylcholine, menthol, methoxysalicylate, methyloleate, oleic acid, phosphatidylcholine, polyoxyethylene, polysorbate 80, sodium ethylenediaminetetraacetic acid ("EDTA"), sodium deoxycholate, sodium glycocholate, sodium glycodeoxycholate, sodium lauryl suflate, sodium salicylate, sodium taurocholate, sodium taurodeoxycholate, as well as certain sulfoxides and glycosides, and combinations thereof.

IV. Examples

[0167] The following examples are offered to illustrate, but not to limit, the claimed invention.

Example 1. Sumatriptan Membrane Assay.

[0168] This example illustrates the beneficial effects of pH adjustment on membrane penetration for a sumatriptan dosage form.

[0169] The effect of pH adjustment on the extent of ionization, and hence, the extent to which a therapeutic agent will traverse the mucous membrane can be demonstrated using a membrane assay; *see, e.g.,* Kansy *et al., J. Med. Chem.*, 41:1007-1010 (1998); and Avdeef, *Curr. Topics Med. Chem.*, 1:277-351 (2001). This assay uses a lipid-coated membrane to predict lipid mucosal membrane penetration. The membrane apparatus consists of a dodecane membrane sandwiched between a donor and acceptor cell. The lipid-coated membrane is less porous then the mucous membrane of the oral cavity. Thus, the enhancement seen in the membrane assay is very likely to be magnified *in vivo*.

[0170] The dissociation constant (pKa) of sumatriptan is 9.5, and therefore the drug would be 100% un-ionized at pH 11.5 and 90% at pH 10.5. Membrane assays were performed

using sumatriptan succinate at pH values of 9.0, 9.5, and 10.0. The final pH values of these solutions were adjusted using freshly prepared 0.01 M sodium bicarbonate/sodium carbonate buffer. Permeation was measured by determining the concentration of sumatriptan in the acceptor cell, and is expressed as P_e (effective permeability in centimeters per second). As shown in Table 3 below, the effective permeability of sumatriptan increased with pH.

Table 3: Effective permeability (P_e) of sumatriptan in a membrane assay.

pH	P_e (cm/s)
9.0	5.99
9.5	9.45
10.0	15.61

Example 2. Sumatriptan Pharmacokinetic Study.

[0171] This example illustrates the pharmacokinetic profile of a sumatriptan solution of the present invention as compared to a dose equivalent commercial oral tablet.

[0172] Because the lipid-coated membrane is less porous than the mucous membrane of the oral cavity, the enhancement seen in the membrane assay is very likely to be magnified *in situ*, resulting in enhanced buccal absorption and higher bioavailability of sumatriptan relative to a dose equivalent commercial oral tablet. To evaluate the pharmacokinetic profile of a buccally administered sumatriptan formulation, a 25 mg sumatriptan succinate solution buffered at pH 10 with 150 mg sodium bicarbonate and 50 mg sodium carbonate (Formulation A) was compared to a dose equivalent commercial oral tablet formulation (Formulation B), *i.e.,* Imitrex® (GlaxoSmithKline; Research Triangle Park, NC), in four healthy subjects following a 10 hour overnight fast. Subject demographics are shown in Table 4 below.

Table 4. Subject demographics.

Number of Subjects	4 (1 female; 3 male)
Average Age (yr)	32 (min. 19; max. 45)
Frame	medium
Average Weight (kg)	75 (min. 62; max. 82)
Average Height (cm)	176 (min. 165; max. 182)

[0173] A single dose, open-label, randomized, two treatment, two-way crossover study with a three day washout period between treatments was performed. The sample size used in this study is typical for assessing safety/tolerability (Simon *et al.*, *J. Natl. Cancer Inst.*, 89:1138-1147 (1997)) and for comparing routes of administration (Chang *et al.*, *Ann. Pharmacother.*, 33:781-786 (1999)). Furthermore, due to the crossover nature of this study, each subject acts as his or her own control. As a result, variables such as age, gender, and differences in physiology and enzymology are controlled; *see, e.g.,* Chow *et al.*, Marcel Dekker, 1992, page 30). For Formulation A, blood samples were taken at 0, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, and 360 minutes following administration. For Formulation B, blood samples were taken at 0, 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, and 360 minutes following administration. High pressure liquid chromatography (HPLC)-tandem mass spectrometry (MS) assays were performed to determine plasma sumatriptan levels. The assay parameters are shown in Table 5 below.

Table 5. Sumatriptan assay parameters.

Molecular Ions Analyzed	296.4 (parent); 58 (daughter)
Calibration Curve Concentration Range	1-200 ng/ml plasma
Curve and Coefficient of Correlation	Power curve (log-log straight line) with linearity $r^2 > 0.996$
Minimum Detectable Concentration	0.1 ng/ml
Typical Plasma Volume	100 μl

[0174] Figure 1 shows the mean plasma concentration over time for Formulation A (25 mg buccal sumatriptan succinate solution) and Formulation B (25 mg sumatriptan succinate oral tablet). Table 6 below shows the pharmacokinetic parameters determined for both formulations. This study demonstrates that delivery of sumatriptan across the oral mucosa produced plasma sumatriptan concentrations that were over three times greater than those observed for the commercial oral tablet during the hour immediately following administration. In addition, peak plasma sumatriptan concentrations were achieved within 10 minutes following buccal administration, while peak plasma sumatriptan concentrations were not achieved until 60 minutes following commercial oral tablet administration. As such, the present study shows that sumatriptan from the buffered solution is rapidly absorbed and has substantially better bioavailability than the commercial oral tablet.

Table 6. Pharmacokinetic parameters for Formulation A and Formulation B.

Formulation	Formulation A (sumatriptan succinate solution)	Formulation B (Imitrex®)
C_{max} (ng/ml)	55.6 ± 24.2 (31.3; 88.3)	20.1 ± 5.2 (15.2; 27.5)
T_{max} (hr)	0.17	1.06 ± 0.31 (0.8; 1)
$AUC_{0\text{-}6\ hr}$ (ng.hr/ml)	107.4 ± 37.8 (79.8; 160.9)	68.9 ± 12.1 (57.7; 84.5)
$AUC_{0\text{-}1\ hr}$ (ng.hr/ml)	31.9 ± 11.5 (21.6; 47.9)	10.2 ± 2.1 (8.1; 13.2)

Values represent the mean ± standard deviation (SD). The numbers in parentheses represent the minimum and maximum values, respectively.

Example 3. Sumatriptan Gum Compositions.

[0175] This example illustrates the sumatriptan chewing gum compositions of the present invention.

[0176] Sumatriptan can be formulated as a chewing gum composition as described above. In these embodiments, the unit dose or serving of the chewing gum comprises from about 0.1 to about 100 milligrams (mg) sumatriptan (as measured in its free base form), preferably from about 1 to about 50 mg, and more preferably from about 2 to about 25 mg. In other embodiments, the unit dose comprises from about 2 to about 20 mg sumatriptan, preferably from about 5 to about 15 mg. Extra sumatriptan, for example, up to from about 10% to about 25% by weight, can be added as "overage" or as the amount that may be expected to be "washed away" and not otherwise released or absorbed during mastication.

[0177] Given in weight percentages, the sumatriptan chewing gum composition comprises from about 0.001% to about 2.0% sumatriptan (in whatever chosen form, measured as per its free base form), and preferably from about 0.002% to about 1.0%. In some embodiments, about 0.008% sumatriptan is used. One skilled in the art understands that the foregoing percentages will vary depending upon the particular source of sumatriptan utilized, the amount of sumatriptan desired in the final formulation, as well as on the particular release rate of sumatriptan desired. The buffer system of the sumatriptan chewing gum composition provides for a final salivary pH in excess of at least about 9.5, preferably at least about 9.9, and more preferably in the range of from about 9.9 to about 11.

[0178] A sumatriptan chewing gum was made according to the following procedure. Silicon dioxide USP (0.35 kg) was passed through a #20 mesh screen and then loaded into a blender containing 0.810 kg mannitol granular USP and 9.430 kg Pharmagum C. The material was blended for 10 minutes. Sumatriptan succintate EP (0.173 kg) was ground with silicon dioxide (0.02 kg) using a mortar and pestle. The remaining silicon dioxide, along with 0.228 kg magnesium stearate, was added into the mortar while continuing to grind. The ground materials were transferred into a plastic bag, and the mortar was rinsed using 0.01 kg silicone dioxide, and transferred into the bag. The contents of the bag were then blended for five minutes.

[0179] Equal parts of the blended bag contents and the blended mannitol gum base mixture were blended for an additional five minutes. This process was repeated until all the sumatriptan and gum base mixture had been blended together. Sodium carbonate (0.110 kg), sodium bicarbonate (0.570 kg), gum acacia (0.43 kg), xanthan gum (0.013 kg), and aspartame (0.072 kg), were then loaded into the blender with natural and artificial flavors and blended for ten minutes with 0.090 kg of silicon dioxide. The flavors used were as follows: natural

and artificial grape flavor S.D. (0.215 kg); natural and artificial cherry flavor (0.108 kg); natural and artificial fruit punch flavor S.D. (0.180 kg); natural cherry WONF DURAROME® flavor (0.215 kg); and natural passion fruit type DURAROME® flavor (0.035 kg).

[0180] The blend was passed through a #12 mesh screen and then blended for an additional 15 minutes. Magnesium stearate (0.114 kg) was passed through a #20 mesh screen, added to the blend, and blended for five minutes. The blend was collected and placed in plastic bags. Two silica gel desiccant bags were placed around the plastic bags to absorb ambient moisture. The blend was then compressed and compacted using a tablet press. By using the above-described procedure, the average particle size of the drug (*i.e.*, sumatriptan) in the chewing gum is about 20 microns, as compared to a typical average drug particle size of from about 75 to about 100 microns. In addition, the average particle size of the drug in the chewing gum is less than or equal to the average particle size of the carrier ingredients (*e.g.*, gum base, binders, *etc.*).

[0181] The sumatriptan chewing gum compositions of the present invention can be used, *e.g.*, for treating a migraine. After introduction of a serving size piece of the gum composition into the mouth, the subject chews the gum as is normally done with any non-medicated type of chewing gum for about 20-30 minutes, at approximately an average rate of about 10-45 chews per minute. The gum is then discarded.

[0182] A serving of the sumatriptan chewing gum is typically designed to cause a loaded sumatriptan concentration level in the bloodstream of at least about 5 to about 300 nanograms (ng) of sumatriptan per milliliter (ml) of plasma. The ratio of the maximum plasma concentration (C_{max}) to the time to achieve that maximum plasma concentration (T_{max}) is preferably within a range of about 10 ng/ml x hr to about 1000 ng/ml x hr, and more preferably within a range of about 100 ng/ml x hr to about 500 ng/ml x hr. The chewing gum compositions of the present invention provide a convenient, reliable, practical, and painless system for delivering sumatriptan across the oral mucosa. Notably, the chewing gum compositions are capable of rapidly delivering sumatriptan so that a therapeutically effective amount of sumatriptan enters the bloodstream within 20 minutes, 10 minutes, or even within 1-2 minutes after sumatriptan is released from the carrier.

Example 4. Sumatriptan Quick-Dissolving Tablet Compositions.

[0183] This example illustrates the quick-dissolving sumatriptan tablet compositions of the present invention.

[0184] Given in weight percentages, the sumatriptan quick-dissolving tablet composition typically comprises from about 0.001% to about 10.0% sumatriptan (in whatever chosen form, measured as per its free base form), and more typically from about 1.0% to about 5.0%. In some embodiments, about 3.5% sumatriptan is used. One skilled in the art understands that the foregoing percentages will vary depending upon the particular source of sumatriptan utilized, the amount of sumatriptan desired in the final formulation, as well as on the particular release rate of sumatriptan desired. The buffer system of the sumatriptan quick-dissolving tablet composition provides for a final salivary pH in excess of at least about 9.5, preferably at least about 9.9, and more preferably in the range of from about 9.9 to about 11.

[0185] A sumatriptan quick-dissolving tablet was made according to the following procedure. Mannitol (3.633 kg) and sorbitol (0.330 kg) were blended for ten minutes. Sodium bicarbonate (0.330 kg), sodium carbonate (0.165 kg), natural peppermint flavor (0.125 kg), natural menthol flavor (0.025 kg), and sucralose (0.020 kg) were blended separately for ten minutes. Stearic acid (0.125 kg), magnesium stearate (0.075 kg), and sumatriptan succinate (0.172 kg) were blended for ten minutes and then passed through a #12 mesh screen. The blended mixtures were then added together and compressed into tablets. By using this procedure, the average particle size of the drug (*i.e.,* sumatriptan) in the quick-dissolving tablet is about 20 microns, as compared to a typical average drug particle size of from about 75 to about 100 microns. In addition, the average particle size of the drug in the quick-dissolving tablet is less than or equal to the average particle size of the carrier ingredients (*e.g.,* gum base, binders, *etc.*).

[0186] The sumatriptan quick-dissolving tablets of the present invention can be used, *e.g.,* for treating a migraine. As such, the quick-dissolving tablets provide a convenient, reliable, practical, and painless system for delivering sumatriptan across the oral mucosa. Notably, the quick-dissolving tablets are capable of rapidly delivering sumatriptan so that a therapeutically effective amount of sumatriptan enters the bloodstream within 20 minutes, 10 minutes, or even within 1-2 minutes after sumatriptan is released from the carrier.

Example 5. Sumatriptan Lozenge Compositions.

[0187] This example illustrates the sumatriptan lozenge compositions of the present invention.

[0188] Given in weight percentages, the sumatriptan lozenge composition typically comprises from about 0.001% to about 10.0% sumatriptan (in whatever chosen form, measured as per its free base form), preferably from about 1.0% to about 5.0% sumatriptan, and more preferably from about 2.5% to about 4.5% sumatriptan. The buffer system for the sumatriptan lozenge composition is typically a binary or ternary buffer system comprising amorphous magnesium oxide with a carbonate salt and/or a bicarbonate salt. For example, a ternary buffer system typically comprises from about 4.0% to about 7.0% sodium carbonate; from about 8.0% to about 12.0% dessicant-coated sodium bicarbonate; and from about 20% to about 30% amorphous magnesium oxide. In a preferred embodiment, the sumatriptan lozenge composition comprises about 3.5% sumatriptan, about 5.5% sodium carbonate, about 9.0% dessicant-coated sodium bicarbonate, and about 25% amorphous magnesium oxide. The buffer system provides for a final salivary pH in excess of at least about 9.5, preferably at least about 9.9, and more preferably in the range of from about 9.9 to about 11.

[0189] A sumatriptan sublingual lozenge was made according to the formulation shown in Table 7. Briefly, mannitol and sorbitol were blended. Sodium carbonate, dessicant-coated sodium bicarbonate, magnesium oxide, natural and artificial spearmint flavor, and sucralose were blended separately. Magnesium stearate and sumatriptan were blended and then passed through a #12 mesh screen. The blended mixtures were then added together and compressed to produce white round lozenges. By using this procedure, the average particle size of the drug (*i.e.,* sumatriptan) in the lozenge is about 20 microns, as compared to a typical average drug particle size of from about 75 to about 100 microns. In addition, the average particle size of the drug in the lozenge is less than or equal to the average particle size of the carrier ingredients (*e.g.,* gum base, binders, *etc.*). The unit weight for each lozenge was 250 mg.

Table 7. Sumatriptan lozenge formulation.

Material	Unit Quantity (mg)	Batch Quantity (g)
Sodium Carbonate, NF	14.000	294.000
Sodium Bicarbonate (Effer Soda)	23.000	483.000
Sumatriptan	9.000	189.000
Mannogem EZ (Mannitol), USP	40.000	840.000
Sorbogem 712 (Sorbitol), NF	80.000	1680.000
Magnesium Oxide @ Mg = 57%	63.400	1331.400
Natural & Artificial Spearmint Flavor	6.500	136.500
Sucralose, NF	1.100	23.100
Silicon Dioxide, USP	5.500	115.500
Magnesium Stearate, NF	7.500	157.500

The batch quantity formulation produces 21,000 unit doses.

[0190] As shown in Figure 2, the sublingual lozenge containing 9 mg sumatriptan had a pH of above 10.2 and maintained a stable pH at 25°C and 60% relative humidity (RH). A sublingual lozenge containing 12.5 mg sumatriptan had a pH of about 9.9 and maintained a stable pH (*see,* Figure 2).

[0191] The sumatriptan lozenges of the present invention can be used, *e.g.,* for treating a migraine. As such, the lozenges provide a convenient, reliable, practical, and painless system for delivering sumatriptan across the oral mucosa. For example, the sumatriptan lozenges are simply kept in the mouth (*i.e.,* under the tongue) for about two or more minutes. Preferably, the sumatriptan lozenges dissolve within about 6 minutes following administration.

[0192] The use of a ternary buffer system comprising sodium carbonate, sodium bicarbonate, and magnesium oxide in the lozenges of the present invention raises the pH of saliva to a pH greater than about 9.9 irrespective of the starting pH of saliva, thus allowing for the rapid delivery across the oral mucosa (*e.g.,* sublingual mucosa) of a therapeutically effective amount of sumatriptan. As a result, sumatriptan enters the bloodstream within 20 minutes, 10 minutes, or even within 1-2 minutes after being released from the carrier. Notably, the magnesium oxide in the ternary buffer system serves several important functions including, for example, raising the pH of the formulation, masking the corrosiveness of

sodium carbonate, serving as a secondary binding agent thereby eliminating the need for stearic acid, and lowering the amount of sodium carbonate needed to produce the desired pH.

[0193] All publications and patent applications cited in this specification are herein incorporated by reference as if each individual publication or patent application were specifically and individually indicated to be incorporated by reference. Although the foregoing invention has been described in some detail by way of illustration and example for purposes of clarity of understanding, it will be readily apparent to those of ordinary skill in the art in light of the teachings of this invention that certain changes and modifications may be made thereto without departing from the spirit or scope of the appended claims.

WHAT IS CLAIMED IS:

1. A composition for delivery of a 5-HT agonist across the oral mucosa, said composition comprising:

(a) a 5-HT agonist or a pharmaceutically acceptable salt thereof;

(b) a carrier; and

(c) a ternary buffer system comprising a carbonate salt, a bicarbonate salt, and a metal oxide,

wherein said ternary buffer system raises the pH of saliva to a pH greater than about 9.9 irrespective of the starting pH of saliva.

2. A composition of claim **1**, wherein said ternary buffer system raises the pH of saliva to a pH of from about 9.9 to about 11 irrespective of the starting pH of saliva.

3. A composition of claim **1**, wherein said 5-HT agonist is selected from the group consisting of sumatriptan, naratriptan, rizatriptan, eletriptan, almotriptan, zolmitriptan, frovatriptan, and combinations thereof.

4. A composition of claim **1**, wherein said carbonate salt is selected from the group consisting of sodium carbonate and potassium carbonate.

5. A composition of claim **1**, wherein said bicarbonate salt is selected from the group consisting of sodium bicarbonate and potassium bicarbonate.

6. A composition of claim **1**, wherein said metal oxide is selected from the group consisting of magnesium oxide and aluminum oxide.

7. A composition of claim **6**, wherein said magnesium oxide is amorphous magnesium oxide.

8. A composition of claim **1**, wherein said ternary buffer system comprises sodium carbonate, sodium bicarbonate, and amorphous magnesium oxide.

9. A composition of claim **1**, wherein said carrier is selected from the group consisting of a binder, a gum base, and combinations thereof.

10. A composition of claim **9**, wherein said gum base comprises at least one hydrophobic polymer and at least one hydrophilic polymer.

11. A composition of claim **9**, wherein said binder is selected from the group consisting of a sugar, a sugar alcohol, and combinations thereof.

12. A composition of claim **11**, wherein said sugar alcohol is selected from the group consisting of mannitol, sorbitol, xylitol, and combinations thereof.

13. A composition of claim **1**, wherein said composition is a dosage form selected from the group consisting of a lozenge, a chewing gum, a chewable tablet, and a dissolving tablet.

14. A composition of claim **13**, wherein said dissolving tablet is selected from the group consisting of a slow-dissolving tablet and a quick-dissolving tablet.

15. A composition of claim **1**, wherein said oral mucosa is selected from the group consisting of the sublingual mucosa, the buccal mucosa, and a combination thereof.

16. A composition of claim **1**, further comprising a 5-HT antagonist.

17. A composition of claim **1**, further comprising a non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID).

18. A composition of claim **1**, wherein the average particle size of said 5-HT agonist or a pharmaceutically acceptable salt thereof is less than or equal to the average particle size of said carrier.

19. A composition of claim **1**, wherein said 5-HT agonist is sumatriptan and said ternary buffer system comprises sodium carbonate, sodium bicarbonate, and amorphous magnesium oxide.

20. A composition of claim **19**, wherein said composition is a lozenge or a dissolving tablet.

21. A composition of claim **20**, wherein said composition is administered sublingually.

22. A composition of claim **19**, wherein said sodium bicarbonate is dessicant-coated sodium bicarbonate.

23. A composition of claim **19**, wherein the weight percent of amorphous magnesium oxide is greater than the combined weight percent of sodium carbonate and sodium bicarbonate.

24. A composition of claim **23**, wherein said composition comprises from about 2.5 to about 4.5 weight percent sumatriptan; from about 4.0 to about 7.0 weight percent sodium carbonate; from about 8.0 to about 12.0 weight percent dessicant-coated sodium bicarbonate; and from about 20 to about 30 weight percent amorphous magnesium oxide.

25. A composition of claim **24**, wherein composition comprises about 3.5 weight percent sumatriptan; about 5.5 weight percent sodium carbonate; about 9.0 weight percent dessicant-coated sodium bicarbonate; and about 25 weight percent amorphous magnesium oxide.

26. A composition for delivery of a 5-HT agonist across the oral mucosa, said composition comprising:

(a) a 5-HT agonist or a pharmaceutically acceptable salt thereof;

(b) a carrier; and

(c) a ternary buffer system comprising a carbonate salt, a bicarbonate salt, and a citrate, phosphate, or borate salt,

wherein said ternary buffer system raises the pH of saliva to a pH greater than about 9.9 irrespective of the starting pH of saliva.

27. A composition of claim **26**, wherein said ternary buffer system raises the pH of saliva to a pH of from about 9.9 to about 11 irrespective of the starting pH of saliva.

28. A composition of claim **26**, wherein said 5-HT agonist is selected from the group consisting of sumatriptan, naratriptan, rizatriptan, eletriptan, almotriptan, zolmitriptan, frovatriptan, and combinations thereof.

29. A composition of claim **26**, wherein said carbonate salt is selected from the group consisting of sodium carbonate and potassium carbonate.

30. A composition of claim **26**, wherein said bicarbonate salt is selected from the group consisting of sodium bicarbonate and potassium bicarbonate.

31. A composition of claim **26**, wherein said citrate salt is selected from the group consisting of sodium citrate, potassium citrate, calcium citrate, magnesium citrate, and ammonium citrate.

32. A composition of claim **26**, wherein said phosphate salt is selected from the group consisting of monobasic sodium phosphate, dibasic sodium phosphate, monobasic potassium phosphate, dibasic potassium phosphate, monobasic calcium phosphate, dibasic calcium phosphate, monobasic magnesium phosphate, dibasic magnesium phosphate, monobasic ammonium phosphate, and dibasic ammonium phosphate.

33. A composition of claim **26**, wherein said borate salt is selected from the group consisting of sodium borate, potassium borate, calcium borate, magnesium borate, and ammonium borate.

34. A composition of claim **26**, further comprising a metal oxide.

35. A composition of claim **26**, wherein said carrier is selected from the group consisting of a binder, a gum base, and combinations thereof.

36. A composition of claim **26**, wherein said composition is a dosage form selected from the group consisting of a lozenge, a chewing gum, a chewable tablet, and a dissolving tablet.

37. A composition of claim **36**, wherein said dissolving tablet is selected from the group consisting of a slow-dissolving tablet and a quick-dissolving tablet.

38. A composition of claim **26**, wherein said oral mucosa is selected from the group consisting of the sublingual mucosa, the buccal mucosa, and a combination thereof.

39. A composition of claim **26**, wherein the average particle size of said 5-HT agonist or a pharmaceutically acceptable salt thereof is less than or equal to the average particle size of said carrier.

40. A composition of claim **26**, wherein said 5-HT agonist is sumatriptan and said ternary buffer system comprises sodium carbonate, sodium bicarbonate, and a citrate, phosphate, or borate salt.

41. A composition of claim **40**, wherein said composition is a lozenge or a dissolving tablet.

42. A composition of claim **41**, wherein said composition is administered sublingually.

43. A composition for delivery of a 5-HT agonist across the oral mucosa, said composition comprising:

(a) a 5-HT agonist or a pharmaceutically acceptable salt thereof;

(b) a carrier; and

(c) a buffer system comprising a carbonate salt or a bicarbonate salt and two or more buffering agents selected from the group consisting of a metal oxide, a citrate salt, a phosphate salt, and a borate salt,

wherein said buffer system raises the pH of saliva to a pH greater than about 9.9 irrespective of the starting pH of saliva.

44. A composition of claim **43**, wherein said ternary buffer system raises the pH of saliva to a pH of from about 9.9 to about 11 irrespective of the starting pH of saliva.

45. A composition of claim **43**, wherein said 5-HT agonist is selected from the group consisting of sumatriptan, naratriptan, rizatriptan, eletriptan, almotriptan, zolmitriptan, frovatriptan, and combinations thereof.

46. A composition of claim **43**, wherein said carbonate salt is selected from the group consisting of sodium carbonate and potassium carbonate.

47. A composition of claim **43**, wherein said bicarbonate salt is selected from the group consisting of sodium bicarbonate and potassium bicarbonate.

48. A composition of claim **43**, wherein said carrier is selected from the group consisting of a binder, a gum base, and combinations thereof.

49. A composition of claim **43**, wherein said composition is a dosage form selected from the group consisting of a lozenge, a chewing gum, a chewable tablet, and a dissolving tablet.

50. A composition of claim **49**, wherein said dissolving tablet is selected from the group consisting of a slow-dissolving tablet and a quick-dissolving tablet.

51. A composition of claim **43**, wherein said oral mucosa is selected from the group consisting of the sublingual mucosa, the buccal mucosa, and a combination thereof.

52. A composition of claim **43**, wherein the average particle size of said 5-HT agonist or a pharmaceutically acceptable salt thereof is less than or equal to the average particle size of said carrier.

53. A composition of claim **43**, wherein said composition is administered sublingually.

54. A composition for delivery of a 5-HT agonist across the oral mucosa, said composition comprising:

(a) a 5-HT agonist or a pharmaceutically acceptable salt thereof;

(b) a carrier; and

(c) a binary buffer system comprising a carbonate salt or a bicarbonate salt and a metal oxide,

wherein said binary buffer system raises the pH of saliva to a pH greater than about 9.9 irrespective of the starting pH of saliva.

55. A composition of claim **54**, wherein said binary buffer system raises the pH of saliva to a pH of from about 9.9 to about 11 irrespective of the starting pH of saliva.

56. A composition of claim **54**, wherein said 5-HT agonist is selected from the group consisting of sumatriptan, naratriptan, rizatriptan, eletriptan, almotriptan, zolmitriptan, frovatriptan, and combinations thereof.

57. A composition of claim **54**, wherein said carbonate salt is selected from the group consisting of sodium carbonate and potassium carbonate.

58. A composition of claim **54**, wherein said bicarbonate salt is selected from the group consisting of sodium bicarbonate and potassium bicarbonate.

59. A composition of claim **54**, wherein said metal oxide is selected from the group consisting of magnesium oxide and aluminum oxide.

60. A composition of claim **59**, wherein said magnesium oxide is amorphous magnesium oxide.

61. A composition of claim **54**, wherein said binary buffer system comprises sodium carbonate and amorphous magnesium oxide.

62. A composition of claim **54**, wherein said binary buffer system comprises sodium bicarbonate and amorphous magnesium oxide.

63. A composition of claim **54**, wherein said carrier is selected from the group consisting of a binder, a gum base, and combinations thereof.

64. A composition of claim **54**, wherein said composition is a dosage form selected from the group consisting of a lozenge, a chewing gum, a chewable tablet, and a dissolving tablet.

65. A composition of claim **56**, wherein said dissolving tablet is selected from the group consisting of a slow-dissolving tablet and a quick-dissolving tablet.

66. A composition of claim **54**, wherein said oral mucosa is selected from the group consisting of the sublingual mucosa, the buccal mucosa, and a combination thereof.

67. A composition of claim **54**, wherein the average particle size of said 5-HT agonist or a pharmaceutically acceptable salt thereof is less than or equal to the average particle size of said carrier.

68. A composition of claim **54**, wherein said 5-HT agonist is sumatriptan and said binary buffer system comprises sodium carbonate or sodium bicarbonate and amorphous magnesium oxide.

69. A composition of claim **68**, wherein said composition is a lozenge or a dissolving tablet.

70. A composition of claim **69**, wherein said composition is administered sublingually.

71. A composition of claim **68**, wherein the weight percent of amorphous magnesium oxide is greater than the weight percent of sodium carbonate or sodium bicarbonate.

72. A composition for delivery of a 5-HT agonist across the oral mucosa, said composition comprising:

(a) a 5-HT agonist or a pharmaceutically acceptable salt thereof;

(b) a carrier; and

(c) a binary buffer system comprising a carbonate salt or a bicarbonate salt and a citrate, phosphate, or borate salt,

wherein said binary buffer system raises the pH of saliva to a pH greater than about 9.9 irrespective of the starting pH of saliva.

73. A composition of claim **72**, wherein said binary buffer system raises the pH of saliva to a pH of from about 9.9 to about 11 irrespective of the starting pH of saliva.

74. A composition of claim **72**, wherein said 5-HT agonist is selected from the group consisting of sumatriptan, naratriptan, rizatriptan, eletriptan, almotriptan, zolmitriptan, frovatriptan, and combinations thereof.

75. A composition of claim **72**, wherein said carbonate salt is selected from the group consisting of sodium carbonate and potassium carbonate.

76. A composition of claim **72**, wherein said bicarbonate salt is selected from the group consisting of sodium bicarbonate and potassium bicarbonate.

77. A composition of claim **72**, wherein said carrier is selected from the group consisting of a binder, a gum base, and combinations thereof.

78. A composition of claim **72**, wherein said composition is a dosage form selected from the group consisting of a lozenge, a chewing gum, a chewable tablet, and a dissolving tablet.

79. A composition of claim **78**, wherein said dissolving tablet is selected from the group consisting of a slow-dissolving tablet and a quick-dissolving tablet.

80. A composition of claim **72**, wherein said oral mucosa is selected from the group consisting of the sublingual mucosa, the buccal mucosa, and a combination thereof.

81. A composition of claim **72**, wherein the average particle size of said 5-HT agonist or a pharmaceutically acceptable salt thereof is less than or equal to the average particle size of said carrier.

82. A composition of claim **72**, wherein said 5-HT agonist is sumatriptan and said binary buffer system comprises sodium carbonate or sodium bicarbonate and and a citrate, phosphate, or borate salt.

83. A composition of claim **82**, wherein said composition is a lozenge or a dissolving tablet.

84. A composition of claim **83**, wherein said composition is administered sublingually.

85. A composition for delivery of a 5-HT agonist across the oral mucosa, said composition comprising:

(a) a 5-HT agonist or a pharmaceutically acceptable salt thereof;

(b) a carrier; and

(c) a binary buffer system comprising a metal oxide and a citrate, phosphate, or borate salt,

wherein said binary buffer system raises the pH of saliva to a pH greater than about 9.9 irrespective of the starting pH of saliva.

86. A composition of claim **85**, wherein said binary buffer system raises the pH of saliva to a pH of from about 9.9 to about 11 irrespective of the starting pH of saliva.

87. A composition of claim **85**, wherein said 5-HT agonist is selected from the group consisting of sumatriptan, naratriptan, rizatriptan, eletriptan, almotriptan, zolmitriptan, frovatriptan, and combinations thereof.

88. A composition of claim **85**, wherein said metal oxide is selected from the group consisting of magnesium oxide and aluminum oxide.

89. A composition of claim **88**, wherein said magnesium oxide is amorphous magnesium oxide.

90. A composition of claim **85**, wherein said carrier is selected from the group consisting of a binder, a gum base, and combinations thereof.

91. A composition of claim **85**, wherein said composition is a dosage form selected from the group consisting of a lozenge, a chewing gum, a chewable tablet, and a dissolving tablet.

92. A composition of claim **91**, wherein said dissolving tablet is selected from the group consisting of a slow-dissolving tablet and a quick-dissolving tablet.

93. A composition of claim **85**, wherein said oral mucosa is selected from the group consisting of the sublingual mucosa, the buccal mucosa, and a combination thereof.

94. A composition of claim **85**, wherein the average particle size of said 5-HT agonist or a pharmaceutically acceptable salt thereof is less than or equal to the average particle size of said carrier.

95. A composition of claim **85**, wherein said 5-HT agonist is sumatriptan and said binary buffer system comprises amorphous magnesium oxide and a citrate, phosphate, or borate salt.

96. A composition of claim **95**, wherein said composition is a lozenge or a dissolving tablet.

97. A composition of claim **96**, wherein said composition is administered sublingually.

98. A composition for delivery of a 5-HT agonist across the oral mucosa, said composition comprising:

(a) a 5-HT agonist or a pharmaceutically acceptable salt thereof;

(b) a carrier; and

(c) a binary buffer system comprising a carbonate salt and a bicarbonate salt,

wherein said binary buffer system raises the pH of saliva to a pH greater than about 9.9 irrespective of the starting pH of saliva.

99. A composition of claim **98**, wherein said 5-HT agonist is sumatriptan and said binary buffer system is combined with sumatriptan to form a solution just prior to delivery of sumatriptan to the oral mucosa.

100. A composition of claim **98**, wherein said 5-HT agonist is sumatriptan and said binary buffer system comprises sodium bicarbonate and sodium carbonate wherein the ratio of sodium bicarbonate to sodium carbonate is from about 2:1 to about 5:1 by weight.

101. A composition of claim **100**, said composition delivering a peak plasma concentration within about 1-15 minutes following administration.

102. A method for treating a migraine in a subject in need thereof, said method comprising:

administering to said subject a composition comprising a therapeutically effective amount of sumatriptan or a pharmaceutically acceptable salt thereof, a carrier, and a binary buffer system comprising a carbonate salt and a bicarbonate salt, wherein said binary buffer system raises the pH of saliva to a pH greater than about 9.9 irrespective of the starting pH of saliva.

103. A method in accordance with claim **102**, wherein said composition is a solution composition.

104. A method in accordance with claim **103**, wherein said binary buffer system comprises sodium bicarbonate and sodium carbonate wherein the ratio of sodium bicarbonate to sodium carbonate is from about 2:1 to about 5:1 by weight, and said composition provides a peak plasma concentration within about 1-15 minutes following administration to said subject.

105. A method for treating a migraine in a subject in need thereof, said method comprising:

administering to said subject a composition comprising a therapeutically effective amount of a 5-HT agonist or a pharmaceutically acceptable salt thereof, a carrier,

and a ternary buffer system comprising a carbonate salt, a bicarbonate salt, and a metal oxide, wherein said ternary buffer system raises the pH of saliva to a pH greater than about 9.9 irrespective of the starting pH of saliva.

106. A method of claim **105**, wherein said ternary buffer system raises the pH of saliva to a pH of from about 9.9 to about 11 irrespective of the starting pH of saliva.

107. A method of claim **105**, wherein said composition delivers said 5-HT agonist across the oral mucosa.

108. A method of claim **107**, wherein said oral mucosa is selected from the group consisting of the sublingual mucosa, the buccal mucosa, and a combination thereof.

109. A method of claim **105**, wherein said migraine is selected from the group consisting of a migraine without aura and a migraine with aura.

110. A method of claim **105**, wherein said 5-HT agonist is selected from the group consisting of sumatriptan, naratriptan, rizatriptan, eletriptan, almotriptan, zolmitriptan, frovatriptan, and combinations thereof.

111. A method of claim **105**, wherein said carbonate salt is selected from the group consisting of sodium carbonate and potassium carbonate.

112. A method of claim **105**, wherein said bicarbonate salt is selected from the group consisting of sodium bicarbonate and potassium bicarbonate.

113. A method of claim **105**, wherein said metal oxide is selected from the group consisting of magnesium oxide and aluminum oxide.

114. A method of claim **113**, wherein said magnesium oxide is amorphous magnesium oxide.

115. A method of claim **105**, wherein said ternary buffer system comprises sodium carbonate, sodium bicarbonate, and amorphous magnesium oxide.

116. A method of claim **105**, wherein said carrier is selected from the group consisting of a binder, a gum base, and combinations thereof.

117. A method of claim **105**, wherein said composition is a dosage form selected from the group consisting of a lozenge, a chewing gum, a chewable tablet, and a dissolving tablet.

118. A method of claim **117**, wherein said dissolving tablet is selected from the group consisting of a slow-dissolving tablet and a quick-dissolving tablet.

119. A method of claim **105**, wherein said oral mucosa is selected from the group consisting of the sublingual mucosa, the buccal mucosa, and a combination thereof.

120. A method of claim **105**, further comprising a 5-HT antagonist.

121. A method of claim **105**, further comprising a non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID).

122. A method of claim **105**, wherein the average particle size of said 5-HT agonist or a pharmaceutically acceptable salt thereof is less than or equal to the average particle size of said carrier.

123. A method of claim **105**, wherein said 5-HT agonist is sumatriptan and said ternary buffer system comprises sodium carbonate, sodium bicarbonate, and amorphous magnesium oxide.

124. A method of claim **123**, wherein said composition is a lozenge or a dissolving tablet.

125. A method of claim **124**, wherein said composition is administered sublingually.

126. A method of claim **123**, wherein the weight percent of amorphous magnesium oxide is greater than the combined weight percent of sodium carbonate and sodium bicarbonate.

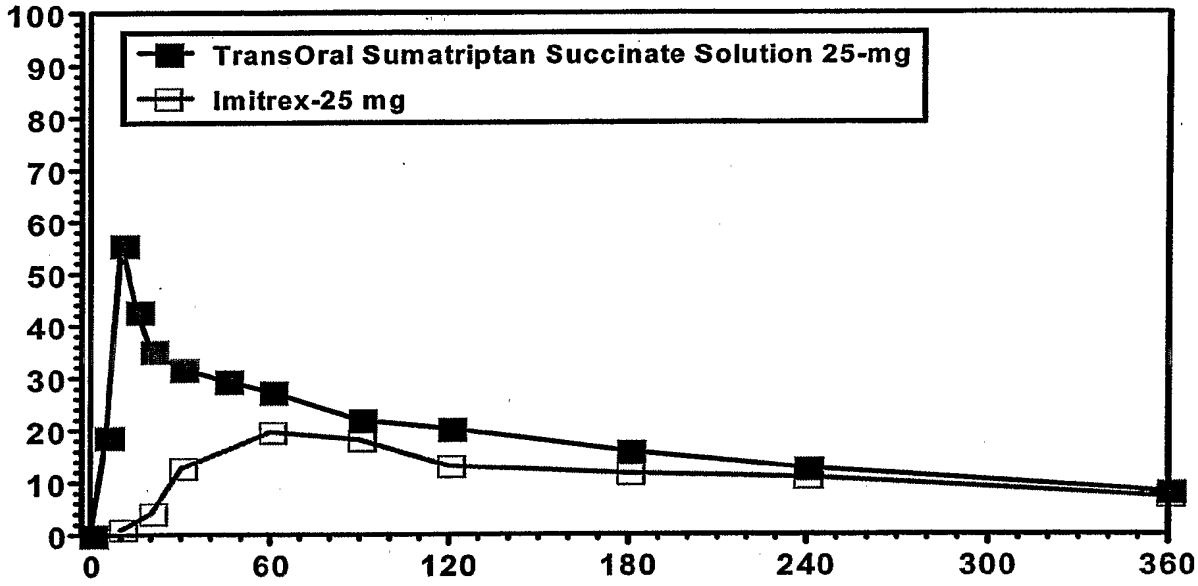

TransOral Sumatriptan Succinate Solution 25-mg
Imitrex-25 mg
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
60
120
180
240
300
360

FIG. 1

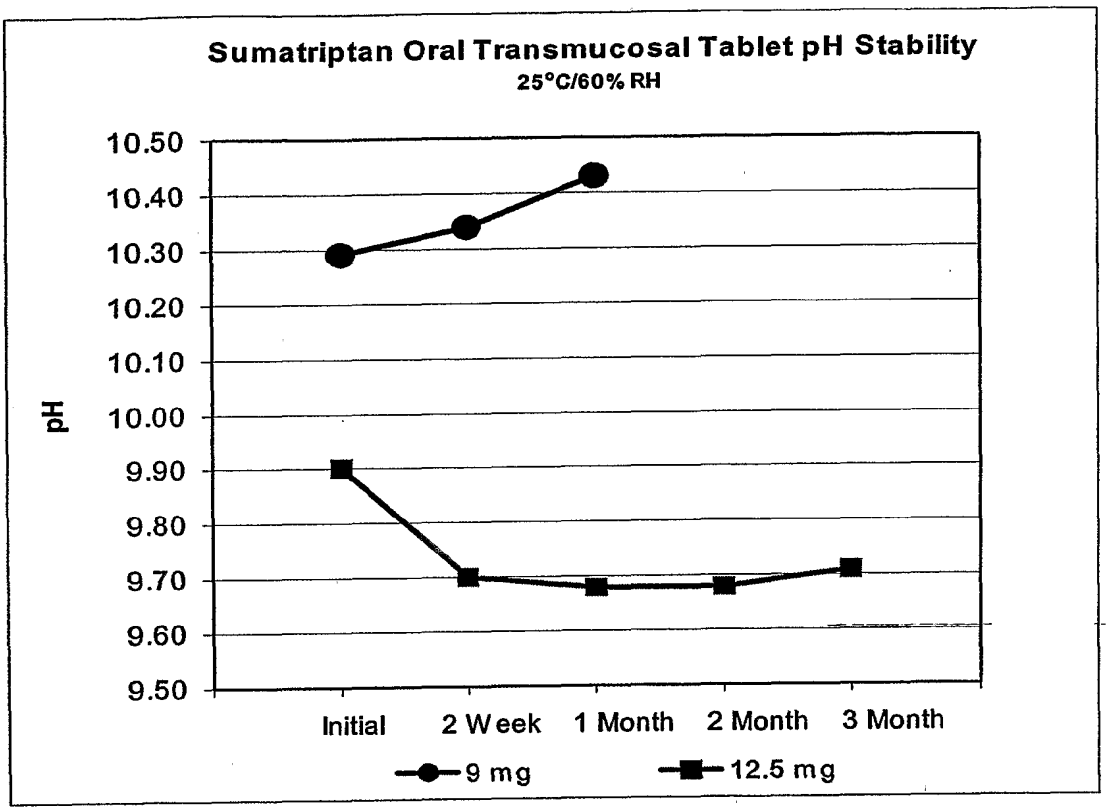

Sumatriptan Oral Transmucosal Tablet pH Stability
25°C/60% RH
pH
10.50
10.40
10.30
10.20
10.10
10.00
9.90
9.80
9.70
9.60
9.50
Initial
2 Week
1 Month
2 Month
3 Month
9 mg
12.5 mg

FIG. 2