

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2017 年 7 月 6 日 (06.07.2017)



(10) 国际公布号
WO 2017/113268 A1

(51) 国际专利分类号:

A61K 31/4375 (2006.01) *A61P 25/00* (2006.01)
A61K 31/444 (2006.01) *A61P 25/28* (2006.01)
A61K 31/496 (2006.01) *C12Q 1/02* (2006.01)
A61P 21/00 (2006.01) *G01N 33/50* (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2015/100061

(22) 国际申请日: 2015 年 12 月 31 日 (31.12.2015)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:

201511022767.5 2015 年 12 月 29 日 (29.12.2015) CN

(71) 申请人: 山东大学 (SHANDONG UNIVERSITY)
[CN/CN]; 中国山东省济南市历城区山大南路 27 号,
Shandong 250199 (CN)。

(72) 发明人: 许顺良 (XU, Shunliang); 中国山东省济南市
历城区山大南路 27 号, Shandong 250199 (CN)。
金鹏 (JIN, Peng); 中国山东省济南市历城区山大南
路 27 号, Shandong 250199 (CN)。

(74) 代理人: 济南金迪知识产权代理有限公司 (JINAN
JINDI INTELLECTUAL PROPERTY AGENCY CO.,
LTD.); 中国山东省济南市历城区山大南路 27 号,
Shandong 250199 (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保
护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG,
BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, 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, IR, IS,
JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU,
LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ,
NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA,
RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST,
SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ,
VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保
护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA,
RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ,
BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, 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,
RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM,
GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

根据细则 4.17 的声明:

— 关于发明人身份(细则 4.17(i))

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

(54) Title: COMPOUND TREATING AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS AND FRONTOTEMPORAL DEMENTIA AND APPLICATION THEREOF

(54) 发明名称: 用于治疗肌萎缩侧索硬化和额颞叶痴呆的化合物与应用

(57) Abstract: The present invention relates to a compound for treating amyotrophic lateral sclerosis (ALS) and frontotemporal dementia (FTD) and an application of the compound. The invention discloses a compound suppressing a toxicity induced by an rGGG-GCC repeat segment in a first intron of *C9ORF72* and an application of the compound in preparing a pharmaceutical drug for treating ALS and FTD. The compound suppressing the toxicity induced by the rGGGGCC repeat segment in the first intron of *C9ORF72* can significantly improve dyskinesias induced by the rGGGGCC repeat segment.

(57) 摘要: 本发明涉及用于治疗肌萎缩侧索硬化(ALS)和额颞叶痴呆(FTD)的化合物与应用, 其公开了抑制由 *C9orf72* 的第一内含子中的 rGGGGCC 重复片段引起的毒性的化合物在制备用于治疗肌萎缩侧索硬化(ALS)和额颞叶痴呆(FTD)的药物中的用途。本发明公开的抑制由 *C9orf72* 的第一内含子中的 rGGGGCC 重复片段引起的毒性的化合物可显著改善由 rGGGGCC 重复片段诱导的运动障碍。



WO 2017/113268 A1

用于治疗肌萎缩侧索硬化和额颞叶痴呆的化合物与应用

技术领域

本发明涉及用于治疗肌萎缩侧索硬化（ALS）和额颞叶痴呆（FTD）的化合物与应用，属于神经药物技术领域。

背景技术

C9ORF72 基因中外显子 1a 和 1b 之间的 GGGGCC 重复片段扩增被发现是肌萎缩侧索硬化（ALS）和额颞叶痴呆（FTD）的重要病因。扩增的 GGGGCC 重复片段不仅解释了以显性性状遗传 ALS 或 FTD 的家族的 40% 的病因，还占了欧洲和北美人群中所有 ALS 和 FTD 病例的 5-7%，从而使得其成为这两种疾病之一的最常见的遗传病因。

ALS 和 FTD 具有表型和病理重叠。ALS 是一种致命的退行性疾病，其主要影响运动神经元。基本特征是进行性乏力；然而，认知损害和行为改变（类似于见于 FTD 中的那些）是愈发得到认可的症状。FTD 是进行性痴呆疾病，其主要影响额皮层、岛叶皮层和前颞叶皮层的神经元，从而导致人格、行为和/或语言能力的显著变化。少数患有 FTD 的个体也发生 ALS。在病理学上，ALS 和 FTD 最常见地由 TAR DNA 结合蛋白（TDP-43）的异常积累表征。在遗传学上，分离 ALS 或 FTD（通常作为常染色体显性性状）的家庭的聚类支持了每种疾病具有强遗传基础的观点。连锁分析和基于家族的遗传研究已发现，几种基因（特别是 TAR DNA 结合蛋白（TARDBP）和肉瘤融合（FUS）蛋白）中的突变是 ALS 和 FTD 的罕见病因。还发现许多家族共分离 ALS、FTD 或两者作为常染色体显性性状并显示与 9p21 上的基因座连锁的证据。

最近，发现与 9p21 基因座连锁的原因是 *C9orf72* 中外显子 1a 和 1b 之间的异常扩增的 GGGGCC 重复片段。引起疾病所需的扩增的 GGGGCC 重复片段的确切大小不是精确已知的。GGGGCC 重复片段的扩增已从此被显示为 ALS 和 FTD 的最常见遗传病因。GGGGCC 扩增具有年龄依赖性外显率，到 80 岁时几乎完全外显。在生化学上，*C9orf72* 是很大程度上未表征的，但似乎在正常对照的脑中是普遍转录的。

ALS 和 FTD 的缓慢进展性质和 GGGGCC 扩增的非编码性质与其它非编码核苷酸重复片段病症（例如强直性肌营养不良、脆性 X 相关震颤/共济失调综合征（FXTAS）和脊髓小脑性共济失调）具有惊人的相似性。非编码重复片段如何导致疾病是未知的。一

种可能性是非编码重复片段通过破坏核和细胞质 RNA 加工来产生其毒性作用。据最近报道,非编码重复片段还可以被翻译成推测具有毒性的同聚物蛋白质。需要进一步的工作来阐明这些过程对疾病发病机制的相对贡献。RNA 介导的毒性的一种可能的机制是通过由转录的扩增重复片段隔离正常的 RNA 结合蛋白(RBP),从而导致可用于正常 RNA 代谢的 RBP 的耗尽。这些 RBP 的耗尽的效应包括:发育特异性转录物的丢失和明显的剪接异常。

以基于 riboGGGGCC (rGGGGCC) 扩增水平的增加,提出了 ALS 和 FTD 的 RNA 功能获得性机制。这种类型的 RNA 功能获得性机制已被建议作为在强直性肌营养不良(DM)和在 FXTAS 中扩增的 riboCGG (rCGG) 重复片段中的三联体重复片段相关性共济失调如 SCA8、SCA10 和 SCA12 的机制。

一些另外的证据还支持 ALS 和 FTD 的 RNA 介导的功能获得性毒性模型。已描述了使用果蝇(*Drosophila*)的 ALS 和 FTD 模型,并已证实 *C9orf72* 中外显子 1a 和 1b 之间的 rGGGGCC 重复片段是具有毒性的并且足以引起神经变性。

由于认识到果蝇与人共有许多结构和功能相关的基因家族,果蝇在过去十年中已经成为了用于人神经变性疾病的研究的首个模型系统。已显示,与神经变性相关的基因可以在果蝇中表达,引起与对应的人疾病(包括多聚谷氨酰胺疾病、帕金森病和阿尔茨海默病)的表型显著相似的表型。这些结果表明,神经元毒性和损失的分子机制在人和果蝇之间是保守的。在果蝇中这样的疾病模型的开发允许应用遗传方法来解决关于疾病进展的特定假说和测试候选修饰基因或治疗性药物化合物。

发明内容

本发明针对现有技术的不足,提供了可以治疗、预防 ALS 和 FTD 或减少 ALS 和 FTD 的症状或延迟 ALS 和 FTD 的进展的化合物、组合物和使用方法。

本发明技术方案如下:

抑制由 *C9orf72* 的第一内含子中的 rGGGGCC 重复片段引起的毒性的化合物在制备用于治疗肌萎缩侧索硬化(ALS)和额颞叶痴呆(FTD)的药物中的用途。

根据本发明优选的,所述化合物选自:OEM-34、OEM-62、OEM-77、OK-EM 026、OK-EM 027、OK-EM 028、OK-EM 029、OK-EM 033 和/或 OK-EM 036。

根据本发明优选的,所述化合物选自:OEM-34、OEM-62、OEM-77、OK-EM 026、OK-EM 027、OK-EM 028、OK-EM 029、OK-EM 033 和/或 OK-EM 036 的盐、酯或前药。

在一些实施方案中，提供了治疗或预防 ALS 和 FTD 的方法，包括给有此症状的宿主施用有效量的 OEM-34、OEM-62 或 OEM-77。

在某些实施方案中，宿主在其基因组的 *C9orf72* 基因中具有 30 个 GGGGCC 重复片段。在某些实施方案中，宿主患有肌萎缩侧索硬化。在某些实施方案中，宿主患有额颞叶痴呆。

在某些实施方案中，提供了药物组合物，其包含与药学上可接受的载体组合的 OEM-34、OEM-62 或 OEM-77。在某些实施方案中，化合物以有效治疗病症的剂量水平存在，其中所述病症是肌萎缩侧索硬化或额颞叶痴呆。

本发明公开内容的实施方案还包括筛选有效治疗或预防 ALS 和 FTD 的化合物的方法，其包括：1) 提供化合物文库；2) 将化合物的每一种施用至多个果蝇胚胎，其中每个果蝇胚胎包含与 *hs-hid* 转基因连锁的 GGGGCC₃₀ 重复片段，其中在热休克后，*hs-hid* 的表达将被激活；3) 使果蝇胚胎暴露于热休克；4) 测量每个容器中的蛹形成和成年果蝇，其中蛹形成和成年果蝇在包含挽救 GGGGCC₃₀ 重复片段的果蝇胚胎的化合物的容器中出现；和 5) 选择允许蛹或成年果蝇形成的化合物。

本发明公开内容的实施方案包括试剂盒以筛选化合物文库，所述试剂盒包含：多个果蝇胚胎，其中每个果蝇胚胎包含与 *hs-hid* 转基因连锁的 GGGGCC₃₀ 重复片段，所述 *hs-hid* 转基因在热休克后对于携带 GGGGCC₃₀ 重复片段的果蝇胚胎是致死的；和用于筛选化合物文库的一组指令。

在某些实施方案中，本发明公开内容涉及治疗肌萎缩侧索硬化的方法，其包括给有此需要的受试者施用有效量的化合物，所述化合物抑制由 GGGGCC 重复片段引起的毒性。在某些实施方案中，受试者被诊断具有 GGGGCC 重复片段扩增。在某些实施方案中，受试者被诊断患有 ALS。在某些实施方案中，受试者被诊断患有 FTD。在某些实施方案中，化合物选自：OEM-34、OEM-62 或 OEM-77。在某些实施方案中，化合物选自：OEM-34、OEM-62 或 OEM-77，或其盐、酯或前药。在某些实施方案中，化合物选自 OEM-34、OEM-62 或 OEM-77，或其盐、酯或前药。在某些实施方案中，化合物是 OEM-34、OEM-62 或 OEM-77。在某些实施方案中，化合物是用一种或多种取代基取代的本文提供的任何化合物。

在某些实施方案中，本公开内容涉及具有 GGGGCC 连锁的转基因的表达增加的遗传工程化果蝇。

本发明公开内容的其它组合物、方法、特征和优势在结合下文的附图和详细描述

后对于本领域技术人员而言将是或变得显而易见。意欲所有这样的另外的组合物、方法、特征和优势包括在本发明说明书内、包括在本发明公开内容的范围内、并受到所附权利要求书保护。

附图说明

图 1、抑制 rGGGGCC 重复片段介导的致死性的化学筛选对抑制由 rGGGGCC 重复片段引起的毒性的小分子的鉴定过程示意图；

在补充有或没有来自 2000 个小分子的文库的个体独特化合物的食物上将 Elav-Gal4 驱动子与 UAS-GGGGCC₃₀-EGFP/Cyo 杂交以产生子代胚胎。子代胚胎继续在补充有个体药物的食物上发育直到子代结束。在施用热休克后通过基于其基因型比较成年子代或蛹的数目获得相对活力；

图 2、改善由 rGGGGCC 重复片段引起的运动缺陷的小分子的鉴定过程示意图；

在补充有或没有所示的所选化合物的食物上将 Nervana-GAL4 驱动子与 UAS-GGGGCC₃₀-EGFP/Cyo 杂交以产生子代胚胎。选择基因型 UAS-GGGGCC₃₀-EGFP/nervana 的成年子代并随后就运动活性监测 48 小时龄的 30 只雌性未交配体，连续进行数周。每次同时监测用含有化合物的果蝇食物喂养的 30 只果蝇的运动；

图 3、可抑制由 rGGGGCC 重复片段引起的毒性的 3 种小分子的化学结构图；

图 4、在 7 天时针对所选药物的平均运动活性的百分比结果柱状图；

误差线表示 SEM；**P<0.001，*P<0.01。

图 5、可抑制由 rGGGGCC 重复片段引起的毒性的 6 种小分子的化学结构图；

具体实施方式

本发明公开内容通过参考下面的详细描述和包括在其中的实施例可以更容易地理解。在公开和描述本发明的化合物、组合物和方法之前，应理解，本发明公开内容并不局限于特定的药物载体或特定的药物制剂或给药方案，因为这些当然可以变化。还应理解，本文所使用的术语仅是用于描述具体实施方案的目的，而不意欲是限制性的。

定义

如本文所用，术语“受试者”包括人、哺乳动物（例如，猫、狗、马等）和需要治疗的其它活物种。活生物体可以是人或哺乳动物。“易患”神经元病症和相关病状的受试者可以被定义为不显示这些病状的一种或多种的明显症状但在遗传上、生理上或以其它方式处于发生这些病状的一种或多种的风险中的受试者。因此，本公开内容

的组合物和药剂可预防性地用于这些病状。此外，“组合物”或“药剂”可以包含如下文所述的一种或多种化学化合物和/或试剂。“活性组合物”可以包含一种或多种“活性化合物”。

术语“筛选”是指从化合物的文库鉴定满足标准（例如，但不限于，从致死剂量的谷氨酸挽救特别设计的果蝇）的一种或多种化合物。本公开内容的筛选方法可用于鉴定用于治疗与 rGGGGCC 重复片段介导的神经变性和本文所述的其它疾病和病症相关的病症的化合物（例如，待用于活性组合物的药物候选物）。

术语“衍生物”是指对所公开的化合物的修饰，包括但不限于所公开的化合物的水解、还原或氧化产物。特别地，该术语包括含氮环结构（包括但不限于，所公开的化合物的咪唑）的打开。水解、还原和氧化反应是本领域已知的。

如本文所用的术语“治疗有效量”是指所施用的化合物的量将在一定程度上减轻所治疗的病症的一种或多种症状，和/或该量将在一定程度上预防所治疗的处于发作风险的受试者的病症的一种或多种症状。

“药学上可接受的盐”是指保留游离碱的生物有效性和性质，并且通过与无机酸或有机酸如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸、甲磺酸、乙磺酸、对甲苯磺酸、水杨酸、苹果酸、马来酸、琥珀酸、酒石酸、柠檬酸和类似物反应而得到的那些盐。

“药物组合物”是指本文所述的一种或多种化合物或其药学上可接受的盐与其它化学组分例如生理上可接受的载体和赋形剂的混合物。药物组合物的一个目的是促进化合物至生物体的施用。

如本文所使用的，“药学上可接受的载体”是指不会对生物体引起显著刺激并且不会消除所施用化合物的生物活性和性质的载体或稀释剂。

“赋形剂”是指加入到药物组合物中以进一步促进化合物的施用的惰性物质。赋形剂的实例包括但不限于碳酸钙、磷酸钙、各种糖和各种类型的淀粉、纤维素衍生物、明胶、植物油和聚乙二醇。

疾病的“治疗”或“疗法”包括预防疾病在可能易患该疾病但还没有经历或表现出该疾病的症状的动物中发生（预防性治疗），抑制疾病（减缓或阻止其发展），提供疾病症状或副作用的缓解（包含姑息治疗），以及减轻疾病（引起的疾病消退）。

术语“前药”是指在体内被转化成生物活性形式的药剂。前药通常是有用的，因为在一些情况下，它们可以比母体化合物更容易地施用。它们可以，例如，通过口服

给药而可生物利用，而母体化合物则不能。前药还可在药物组合物中具有相对于母体药物的改善的溶解度。前药可以通过各种机制转化为母体药物，包括酶促过程和代谢水解。Harper, N. J. (1962). Drug Latentiation in Jucker, ed. Progress in Drug Research, 4:221-294; Morozowich 等人(1977). Application of Physical Organic Principles to Prodrug Design in E. B. Roche ed. Design of Biopharmaceutical Properties through Prodrugs and Analogs, APhA; Acad. Pharm. Sci.; E. B. Roche 编辑 (1977). Bioreversible Carriers in Drug in Drug Design, Theory and Application, APhA; H. Bundgaard 编辑(1985) Design of Prodrugs, Elsevier; Wang 等人(1999) Prodrug approaches to the improved delivery of peptide drug, Curr. Pharm. Design. 5(4):265-287; Pauletti 等人(1997). Improvement in peptide bioavailability: Peptidomimetics and Prodrug Strategies, Adv. Drug. Delivery Rev. 27:235-256; Mizen 等人(1998). The Use of Esters as Prodrugs for Oral Delivery of β -Lactam antibiotics, Pharm. Biotech. 11,:345-365; Gaignault 等人(1996). Designing Prodrugs and Bioprecursors I. Carrier Prodrugs, Pract. Med. Chem. 671-696; M. Asgharnejad (2000). Improving Oral Drug Transport Via Prodrugs, in G. L. Amidon, P. I. Lee and E. M. Topp, Eds., Transport Processes in Pharmaceutical Systems, Marcell Dekker, p. 185-218; Balant 等人(1990) Prodrugs for the improvement of drug absorption via different routes of administration, Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet., 15(2): 143-53; Balimane and Sinko (1999). Involvement of multiple transporters in the oral absorption of nucleoside analogues, Adv. Drug Delivery Rev., 39(1-3):183-209; Browne (1997). Fosphenytoin (Cerebyx), Clin. Neuropharmacol. 20(1): 1-12; Bundgaard (1979). Bioreversible derivatization of drugs--principle and applicability to improve the therapeutic effects of drugs, Arch. Pharm. Chemi. 86(1): 1-39; H. Bundgaard 编辑(1985) Design of Prodrugs, New York: Elsevier; Fleisher 等人(1996). Improved oral drug delivery: solubility limitations overcome by the use of prodrugs, Adv. Drug Delivery Rev. 19(2): 115-130; Fleisher 等人(1985). Design of prodrugs for improved gastrointestinal absorption by intestinal enzyme targeting, Methods Enzymol. 112: 360-81; Farquhar D, 等人(1983).

Biologically Reversible Phosphate-Protective Groups, J. Pharm. Sci., 72(3): 324-325; Han, H. K. 等人(2000). Targeted prodrug design to optimize drug delivery, AAPS PharmSci., 2(1): E6; Sadzuka Y. (2000). Effective prodrug liposome and conversion to active metabolite, Curr. Drug Metab., 1(1):31-48; D. M. Lambert (2000) Rationale and applications of lipids as prodrug carriers, Eur. J. Pharm. Sci., 11 Suppl 2:S15-27; Wang, W. 等人(1999) Prodrug approaches to the improved delivery of peptide drugs. Curr. Pharm. Des., 5(4):265-87.

如本文所用，术语“局部活性剂”是指在施加至宿主（以局部施加的方式接触）的部位引起药理学应答的本公开内容的组合物。

如本文所用，术语“局部”是指将本公开内容的组合物施加至粘膜细胞和组织及皮肤的表面。

在整个说明书中，可选择基团及其取代基以提供稳定的部分和化合物。

所公开的化合物形成也在本发明的范围内的盐。对本文中任何式的化合物的提及被理解为包括对其盐的提及，除非另有说明。如本文所用的术语“盐”表示与无机和/或有机酸和碱形成的酸性和/或碱性盐。此外，当式 I 的活性化合物包含碱性部分和酸性部分两者时，可形成两性离子（“内盐”）并且其包括在如本文所用的术语“盐”内。药学上可接受的（例如，无毒性的，生理学可接受的）盐是优选的，尽管例如在制备过程中可使用的分离或纯化步骤中，也可使用其它盐。活性化合物的化合物的盐可以例如通过用一定量（例如等量）的酸或碱与活性化合物反应来形成，这在诸如其中盐沉淀的介质中进行或在水性介质中进行随后冻干。

含有碱性部分的所公开的化合物可以与各种有机酸和无机酸形成盐。示例性的酸加成盐包括乙酸盐（诸如与乙酸或三卤乙酸例如三氟乙酸形成的盐），己二酸盐，藻酸盐，抗坏血酸盐，天冬氨酸盐，苯甲酸盐，苯磺酸盐，硫酸氢盐，硼酸盐，丁酸盐，柠檬酸盐，樟脑酸盐，樟脑磺酸盐，环戊烷丙酸盐，二葡萄糖酸盐，十二烷基硫酸盐，乙磺酸盐，延胡索酸盐，葡萄糖庚酸盐(Glucoheptanoates)，甘油磷酸盐，半硫酸盐，庚酸盐，己酸盐，盐酸盐（与盐酸形成），氢溴酸盐（与氢溴酸形成），氢碘酸盐，2-羟基乙磺酸盐，乳酸盐，马来酸盐（与马来酸形成），甲磺酸盐（与甲磺酸形成），2-萘磺酸盐，烟酸盐，硝酸盐，草酸盐，果胶酸盐，过硫酸盐，3-苯基丙酸盐，磷酸盐，苦味酸盐，新戊酸盐，丙酸盐，水杨酸盐，琥珀酸盐，硫酸盐（例如与硫酸形成

的盐），磺酸盐（如本文提及的那些），酒石酸盐，硫氰酸盐，甲苯磺酸盐例如甲磺酸盐，十一酸盐等。

所公开的含有酸性部分的化合物可以与各种有机和无机碱形成盐。示例性碱性盐包括铵盐、碱金属盐例如钠盐、锂盐和钾盐，碱土金属盐例如钙盐和镁盐，与有机碱（例如，有机胺）诸如 benzathine、二环己胺，hydrabamine（与 N,N-二（去氢枞基）乙二胺形成）、N-甲基-D-葡萄糖胺、N-甲基-D-葡萄糖酰胺、叔丁基胺的盐，以及与氨基酸诸如精氨酸、赖氨酸的盐等。

碱性含氮基团可以用诸如例如低级烷基卤化物（例如，甲基、乙基、丙基和丁基氯化物、溴化物和碘化物）、二烷基硫酸酯（例如，二甲基、二乙基、二丁基和二戊基硫酸酯）、长链卤化物（例如，癸基、月桂基、肉豆蔻基和硬脂基氯化物、溴化物和碘化物）、芳烷基卤化物（例如，苄基和苯乙基溴化物）等的试剂季铵化。

术语“取代”是指其中至少一个氢原子被取代基替换的分子。当被取代时，一个或多个基团是“取代基”。分子可以是多取代的。在氧代取代基（“=O”）的情况下，两个氢原子被取代。在此上下文范围内的实例取代基可以包含卤素，羟基，烷基，烷氧基，硝基，氰基，氧代，碳环基，碳环烷基，杂碳环基，杂碳环烷基，芳基，芳基烷基，杂芳基，杂芳基烷基，-NRaRb，-NRaC(=O)Rb，-NRaC(=O)NRaNRb，-NRaC(=O)ORb，-NRaSO₂Rb，-C(=O)Ra，-C(=O)ORa，-C(=O)NRaRb，-OC(=O)NRaRb，-ORa，-SRa，-SORa，-S(=O)₂Ra，-OS(=O)₂Ra 和 -S(=O)₂ORa。在此上下文中的 Ra 和 Rb 可以是相同或不同的，并且独立地为氢，卤素羟基，烷基，烷氧基，烃基，氨基，烷基氨基，二烷基氨基，碳环基，碳环烷基，杂碳环基，杂碳环烷基，芳基，芳基烷基，杂芳基和杂芳基烷基。

本发明公开内容的化合物的溶剂合物也包括在本文中。化合物的溶剂合物优选是水合物。

在所公开的活性化合物及其盐可以以它们的互变异构形式存在的程度上，所有这样的互变异构形式在本文被考虑作为本公开内容的一部分。

本发明的化合物的所有立体异构体，例如可能由于各种取代基上的不对称碳原子上而存在的那些，包括对映异构形式（其甚至可以在不存在不对称碳的情况下存在）和非对映体形式，在本公开内容的范围内。本公开内容的化合物的各个立体异构体可以例如基本上不含其它异构体，或可以例如作为外消旋体混合或与所有其它的或另外

选择的立体异构体混合。本公开内容的化合物的手性中心可具有由 IUPAC 1974 Recommendation 所定义的 S 或 R 构型。

术语“包含”、“诸如”、“例如”等旨在引用示例性实施方案，而不是限制本公开内容的范围。

讨论

本发明公开内容的实施方案包括筛选方法、用于筛选化合物文库的试剂盒、包含一种或多种活性化合物的活性组合物、包含一种或多种活性化合物的药物组合物、治疗和/或预防肌萎缩侧索硬化和额颞叶痴呆的方法、用于治疗 and/或预防肌萎缩侧索硬化和额颞叶痴呆的试剂盒。

一般而言，本发明公开内容的实施方案包括筛选可以用于治疗肌萎缩侧索硬化和额颞叶痴呆的化合物（例如，药物候选物）的高通量方法。筛选是基于果蝇（例如，果蝇（fruit fly））的化合物筛选，其中化合物的功效通过对在一定的培养条件下蝇形成的数量或成年果蝇的出现进行打分来确定。满足筛选过程的化合物可以被选择作为活性化合物，其可以用于组合物和药物组合物以用有效量的活性组合物来治疗需要这样的治疗的宿主。

筛选方法的实施方案是有利的，因为它们提供了唯一已知的方法用于筛选可逆转 rGGGGCC 重复片段介导的毒性的临床后果的化合物。此外，使用果蝇提供了复杂生物体的筛选，其比较简单的筛选例如基于细胞的筛选更可能提供的有用的化合物。此外，含有 *C9orf72* 中的 rGGGGCC 重复片段的转基因果蝇显示与人表型一致的神经元细胞死亡。转基因果蝇模型已先前建立，它在报告基因 EGFP 的上游表达扩增的重复片段，并显示神经元细胞死亡在人 ALS 的发病机制中的直接参与。在此模型中，GAL4-UAS 系统被用来驱动转基因在不同的组织（包括果蝇眼）中的表达。果蝇显示模拟人表型的眼和运动神经元的神经变性。

一般而言，本发明公开内容的实施方案提供包含可用于治疗和/或预防 ALS 和 FTD 的一种或多种活性化合物的活性组合物。

筛选

本发明公开内容的实施方案包括筛选可用于治疗 ALS 和 FTD 的化合物（例如，药物候选物）的高通量方法。

具体地，本公开内容的实施方案包括使用基于果蝇（fruit fly）的化合物筛选来

筛选化合物以鉴定用于治疗ALS和FTD的药物候选物的方法。携带在*C9ord72* 中外显子1a和 1b之间的GGGGCC₃₀重复片段的果蝇表现出与在小鼠模型中和在人患者中所报道的那些相似的神经元和行为缺陷。已发现，rGGGGCC重复片段的表达导致在早期胚胎发育中的致死性。产生了用携带*hs-hid*转基因的*Cyo*平衡子平衡的UAS-GGGGCC30-EGFP转基因的果蝇株。在热休克后，*hid*的表达被激活，其导致GGGGCC₃₀果蝇胚胎中的细胞死亡和致死性。如在图 1 所显示的，在早期胚胎发育期间的热休克后，没有产生活的果蝇或蛹。

突变的胚胎被放入含有具有或不具有来自药物候选物文库的化合物的食物的适当容器（例如，96 孔容器）中。筛选了来自 2,000 个 FDA 批准的药物和天然产品的文库（The Spectrum Collection™）的 5 μM 和 40 μM 个体化合物。随后将小瓶保持在 25 °C 下进行 10 至 15 天以针对活力进行打分。药物候选物的功效通过对在一定时间范围后蛹形成的数量或成年果蝇的出现进行打分来测定。本公开内容的实施方案提供了针对直接和间接调节 rGGGGCC 重复片段介导的毒性和挽救突变果蝇避免热休克诱导的致死性的化合物的筛选。关于活性组合物和病症的其它细节描述于下文的实施例。

物质的组合物

一般而言，包含一种或多种活性化合物的活性组合物可用于治疗和/或预防 ALS 和 FTD。

在某些实施方案中，化合物是 OEM-34，OEM-62 或 OEM-77。

基于本发明公开内容的实施方案和实施例中的讨论，开发了用于活性组合物的剂量方案。一般而言，大多数 I 期临床试验的起始剂量基于临床前试验，且通常是相当保守的。在临床前测试中对药物毒性的标准量度是由于治疗死亡的动物（啮齿动物）的百分率。10%的动物死亡时的剂量被称为 LD10，这在过去常常与人中的最大耐受剂量（MTD）关联（针对体表面积进行调整）。针对体表面积的调整包括宿主因素，例如，表面积、体重、代谢、组织分布、吸收率和排泄率。因此，标准的保守起始剂量为鼠 LD10 的十分之一，尽管如果其它物种（即，狗）对于药物更敏感，它可能会更低。预期在人中 I 期临床试验中的活性组合物的起始剂量会以这种方式来确定。此给药方案更详细地讨论于 Freireich E J, et al., Cancer Chemother Rep 50:219-244, 1966 中，其通过引用并入本文。

如上所述，治疗有效剂量水平将取决于许多因素。此外，在本领域的技术范围内

的是，以相对低的水平起始活性组合物的剂量，并增加剂量直至达到预期效果为止。

药物组合物

本发明公开内容的实施方案提供了组合物和药物组合物，其包含有效量的活性组合物（例如，一种或多种活性化合物）以治疗和/或预防诸如本文描述的那些病症。

本发明公开内容的药物活性组合物和剂型包括所公开的化合物的药学上可接受的盐或其药学上可接受的多晶型物、溶剂合物、水合物、去水合物、共晶体、无水或无定形形式。所公开的化合物的具体的盐包括，但不限于，其钠盐、锂盐、钾盐及其水合物。

本发明公开内容的药物组合物和单位剂型通常还包含一种或多种药学上可接受的赋形剂或稀释剂。由本公开内容的具体的化合物提供的优势例如但不限于增加的溶解度和/或增强的流动、纯度或稳定性（例如，吸湿性）特性可以使它们比现有技术更好地适合用于药物配制和/或施用至患者。

本发明公开内容的化合物的药物单位剂型适合用于口服、粘膜（例如，经鼻、舌下、阴道、含服或直肠）、肠胃外（例如，肌内、皮下、静脉内、动脉内或弹丸注射）、局部、或透皮施用至患者。剂型的实例包括，但不限于：片剂；囊片；胶囊，例如硬明胶胶囊和软弹性明胶胶囊；扁囊剂；糖锭剂；锭剂；分散剂；栓剂；软膏剂；泥敷剂（泥罨剂）；糊剂；粉剂；敷料；乳膏剂；硬膏剂；溶液；贴剂；气雾剂（例如，鼻喷雾剂或吸入剂）；凝胶；适合于口服或粘膜施用至患者的液体剂型，包括混悬剂（例如，水性或非水性液体悬浮液，水包油乳剂或油包水液体乳剂）、溶液和酏剂；适合于肠胃外施用至患者的液体剂型；和无菌固体（例如，晶体或无定形固体），其可被重建以提供适合于肠胃外施用至患者的液体剂型。

本发明公开内容的组合物的剂型的组成、形状和类型通常将取决于它们的用途而变化。例如，在疾病或病症的急性治疗中使用的剂型可比在相同疾病或病症的慢性治疗中使用的剂型包含更大量的活性成分，例如所公开的化合物或其组合。类似地，肠胃外剂型可以比用于治疗相同疾病或病症的口服剂型包含更少量的活性成分。其中本公开内容涵盖的特定剂型将彼此变化的这些和其它方式对于本领域技术人员而言将是显而易见的。参见，例如，Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed., Mack Publishing, Easton, Pa. (1990)。

典型的药物组合物和剂型包含一种或多种赋形剂。合适的赋形剂是配药学或制药

学领域中的本领域技术人员所公知的，并且在本文中提供了合适的赋形剂的非限制性实例。一种特定的赋形剂是否适合用于掺入药物组合物或剂型取决于多种本领域公知的因素，包含但不限于，其中剂型将被施用至患者的方式。例如，口服剂型如片剂或胶囊剂可含有不适合用于肠胃外剂型的赋形剂。特定赋形剂的适合性还可取决于剂型中的具体活性成分。例如，一些活性成分的分解可以通过一些赋形剂例如乳糖或当暴露于水时加速。含有伯胺或仲胺的活性成分对于这样的加速分解是特别易感的。

本发明公开内容还包括含有一种或多种降低活性成分的分解速率的化合物的药物组合物和剂型。这样的化合物（其在本文中称为“稳定剂”）包含但不限于抗氧化剂如抗坏血酸、pH 缓冲剂或盐缓冲剂。此外，本公开内容的药物组合物或剂型可含有一种或多种的溶解度调节剂，例如氯化钠、硫酸钠、磷酸钠或磷酸钾或有机酸。特别的溶解度调节剂是酒石酸。

类似于赋形剂的量和类型，剂型中活性成分的量 and 具体类型可取决于因素例如但不限于将其施用至患者的途径而不同。然而，本公开内容的化合物的典型剂型包括药学上可接受的盐，或其药学上可接受的多晶型物、溶剂合物、水合物、去水合物、共晶体、无水或无定形形式，其量为约 10 mg 至约 1000mg，优选约 25 mg 至约 750 mg，更优选 50 mg 至 500 mg。

此外，化合物和/或组合物可以使用基于脂质或聚合物的纳米颗粒递送。例如，纳米颗粒可以被设计来改善肠胃外施用的药物的药理学和治疗性质（Allen, T. M., Cullis, P. R. Drug delivery systems: entering the mainstream. Science. 303(5665): 1818-22 (2004)）。

口服剂型

本发明公开内容的适合于口服给药的药物活性组合物可以被呈递作为不连续的剂型，例如但不限于，片剂（包括但不限于刻痕片剂或包衣片剂）、丸剂、囊片、胶囊、咀嚼片、粉末包、扁囊剂、糖锭剂、糯米纸剂、气雾喷雾剂，或液体，例如但不限于，糖浆剂、酏剂、水性液体、非水性液体中的溶液或悬浮液、水包油乳剂或油包水乳剂。这样的组合物包含所公开的化合物的药学上可接受的盐的预定量，并且可以通过本领域技术人员公知的配药学方法制备。一般地参见，Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed., Mack Publishing, Easton, Pa. (1990)。

本发明公开内容的组合物的典型口服剂型通过按照常规药物复合技术将公开的化

合物的药学上可接受的盐与至少一种赋形剂组合在紧密掺合物中来制备。赋形剂可以采取各种形式，取决于给药所需的组合物的形式。例如，适用于口服液体或气雾剂剂型的赋形剂包括，但不限于水、二醇类、油类、醇类、调味剂、防腐剂和着色剂。适用于固体口服剂型（例如粉剂、片剂、胶囊和囊片）的赋形剂的实例包括，但不限于，淀粉、糖、微晶纤维素、高岭土、稀释剂、制粒剂、润滑剂、粘合剂和崩解剂。

由于其易于给药，片剂和胶囊代表最有利的固体口服单位剂型，在这种情况下，使用固体药物赋形剂。如果需要，片剂可以通过标准水性或非水性技术进行包衣。这些剂型可通过任何配药学方法制备。一般而言，药物组合物和剂型可以如下制备：将活性成分与液体载体、细碎的固体载体或两者均匀和紧密掺合，然后如果必要的话，将产物成型为所需的形式。

例如，片剂可以通过压制或模制来制备。压缩片可通过在合适的机器中压缩活性成分在自由流动形式例如粉末或颗粒中来制备，任选与一种或多种赋形剂混合。模制片剂可通过在合适的机器中将用惰性液体稀释剂润湿的粉状化合物的混合物模制来制备。

可以在本发明公开内容的口服剂型中使用的赋形剂的实例包括，但不限于粘合剂、填充剂、崩解剂和润滑剂。适合用于药物组合物和剂型的粘合剂包括，但不限于，玉米淀粉、马铃薯淀粉或其它淀粉，明胶，天然和合成的树胶如阿拉伯胶，海藻酸钠，海藻酸，其它海藻酸盐，黄蓍胶粉，瓜尔胶，纤维素及其衍生物（例如，乙基纤维素、醋酸纤维素、羧甲基纤维素钙、羧甲基纤维素钠），聚乙烯吡咯烷酮，甲基纤维素，预胶化淀粉，羟丙基甲基纤维素，（例如，No. 2208, 2906, 2910），微晶纤维素，及其混合物。

微晶纤维素的适当形式包括但不限于以 AVICEL-PH-101、AVICEL-PH-103 AVICEL RC-581 和 AVICEL-PH-105 出售的材料（可购自 FMC Corporation, American Viscose Division, Avicel Sales, Marcus Hook, Pa., U.S.A.），及其混合物。示例性的合适粘合剂是作为 AVICEL RC-581 出售的微晶纤维素和羧甲基纤维素钠的混合物。合适的无水或低水分赋形剂或添加剂包括 AVICEL-PH-103®和 Starch 1500 LM。

适合用于本文公开的药物组合物和剂型的填充剂的实例包括但不限于：滑石，碳酸钙（例如，颗粒或粉末），微晶纤维素，粉状纤维素，葡萄糖结合剂，高岭土，甘露醇，硅酸，山梨糖醇，淀粉，预胶化淀粉，以及它们的混合物。在本公开内容的药

物组合物中的粘合剂或填充剂通常以药物组合物或剂型的约 50 至约 99 重量百分比存在。

崩解剂用于本发明公开内容的组合物中，以提供当暴露于水性环境时崩解的片剂。含有过多崩解剂的片剂可能会膨胀，开裂，或在存储时崩解，而含有太少崩解剂的片剂可能不足以发生崩解并因而可改变活性成分从剂型释放的速率和程度。因此，应使用既不过少也过多的足够量的崩解剂（不会不利地改变活性成分的释放）来形成本公开内容的固体口服剂型。所使用的崩解剂的量基于配制类型和给药方式而变化，并且是本领域普通技术人员容易辨别。典型的药物组合物包含约 0.5 至约 15 重量百分比的崩解剂，优选约 1 至约 5 重量百分比的崩解剂。

可以用于形成本发明公开内容的药物组合物和剂型的崩解剂包括但不限于：琼脂，海藻酸，碳酸钙，微晶纤维素，交联羧甲纤维素钠，交聚维酮，波拉克林钾，淀粉羟乙酸钠，马铃薯或木薯淀粉，其它淀粉，预胶化淀粉，粘土，其它海藻胶，其它纤维素，树胶，以及它们的混合物。

可以用于形成本发明公开内容的药物组合物和剂型的润滑剂包括但不限于，硬脂酸钙，硬脂酸镁，矿物油，轻质矿物油，甘油，山梨糖醇，甘露醇，聚乙二醇，其它二醇类，硬脂酸，月桂基硫酸钠，滑石，氢化植物油（例如，花生油、棉籽油、葵花籽油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油），硬脂酸锌，油酸乙酯，月桂酸乙酯，琼脂，及其混合物。其它的润滑剂包括，例如，syloid 硅胶（AEROSIL®200，由 W. R. Grace Co. of Baltimore, Md. 制造），合成氧化硅的凝结气雾剂（由 Degussa Co. of Plano, Tex. 销售），CAB-O-SIL®（由 Cabot Co. of Boston, Mass. 销售的烧结二氧化硅产品），及其混合物。如果使用，润滑剂通常以其所掺入的药物组合物或剂型的少于约 1 重量百分比的量使用。

本发明公开内容还包括不含乳糖的药物组合物和剂型，其中这样的组合物优选含有很少（如果有的话）乳糖或其它单糖或二糖。如本文所用，术语“不含乳糖”表示存在的乳糖的量（如果有的话）不足以实质上增加活性成分的降解速率。

本发明公开内容的不含乳糖的组合物可包含本领域公知的且列于 USP (XXI)/NF (XVI)（其通过引用并入本文）中的赋形剂。一般而言，不含乳糖的组合物包含活性组合物中的化合物的药学上可接受的盐、粘合剂/填充剂以及以药物相容和药学上可接受量的润滑剂。优选的不含乳糖的剂型包含所公开的化合物的药学上可接受的盐、微晶

纤维素、预胶化淀粉和硬脂酸镁。

本发明公开内容还包括包含所公开的化合物作为活性成分的无水药物组合物和剂型，因为水可以促进一些化合物的降解。例如，加入水（例如，5%）在制药学领域中被广泛接受为模拟长期贮存的方式以测定制剂随时间的特性如货架期或稳定性。参加，例如，Jens T. Carstensen, *Drug Stability: Principles & Practice*, 379-80 (2nd ed., Marcel Dekker, NY, N.Y.: 1995)。水和热加速一些化合物的分解。因此，水对制剂的作用可具有重要意义，因为水分和/或湿度在制剂的制造、处理、包装、储存、运输和使用过程中经常遇到。

本发明公开内容的无水药物组合物和剂型可以使用无水或含有低水分的成分和低水分或低湿度条件来制备。包含乳糖和至少一种包含伯胺或仲胺的活性成分的药物组合物和剂型优选是无水的，如果预期在制造、包装和/或储存过程中与水分和/或湿气发生实质性接触。

无水药物组合物应该被制备和储存以使得其无水性质得到保持。因此，无水组合物优选使用已知防止暴露于水的材料包装，以使得它们可以包括在合适的制药试剂盒中。合适的包装的实例包括但不限于密封的箔、塑料、具有或不具有干燥剂的单位剂量容器（例如，小瓶）、泡罩包装和条带包装。

控释和缓释剂型

所公开的活性化合物的药学上可接受的盐可通过控释或缓释装置施用。控释药物产品具有相对于其非控释对应物改善药物治疗的共同目标。理想地，在医学治疗中使用最佳设计的控释制剂的特征在于最小化所使用的药物物质以在最小的时间量中治愈或控制病状。控释制剂的优点包含：1) 延长的药物活性；2) 降低给药频率；3) 提高患者依从性；4) 使用较少的药物总量；5) 减少局部或全身的副作用；6) 最小化药物的积累；7) 减少血液水平波动；8) 改善治疗功效；9) 减少药物活性的增强或损失；和 10) 改善的控制疾病或病状的速度。Kim, Cheng-ju, *Controlled Release Dosage Form Design*, 2 (Technomic Publishing, Lancaster, Pa.: 2000)。

常规剂型通常提供从制剂快速或立即释放药物。取决于药物的药理学和药物动力学，常规剂型的使用可导致该药物在患者的血液和其它组织中的浓度的大范围波动。这些波动可影响许多参数，例如给药频率、作用起始、药效持续时间、治疗血液水平的维持、毒性、副作用等。有利地，控释制剂可用于控制药物的作用起始、作用持续

时间、治疗窗口内的血浆水平以及峰值血液水平。特别地，控释或缓释剂型或制剂可以用于确保实现药物的最大效果，同时最小化潜在的不利影响和安全问题，其可能会由于药物剂量不足（即，低于最低治疗水平）以及超过药物的毒性水平而发生。

大多数控释制剂被设计成最初释放迅速产生所需的治疗效果的量的药物（活性成分），并且逐渐和连续释放其它量的药物以在延长的时间周期上维持该水平的治疗或预防效果。为了在体内维持药物此恒定水平，药物必须以将取代被代谢和从体内排出的药物的量的速率从剂型释放。活性成分的控释可通过各种条件来刺激，包括但不限于，pH、离子强度、渗透压、温度、酶、水、和其它生理条件或化合物。

各种已知的控释或缓释剂型、制剂和装置可调整用于与本公开内容的盐和组合物使用。实例包括，但不限于，在美国专利 No. 3,845,770; 3,916,899; 3,536,809; 3,598,123; 4,008,719; 5674,533; 5,059,595; 5,591,767; 5,120,548; 5,073,543; 5,639,476; 5,354,556; 5,733,566; 和 6,365,185 B1 中描述的那些；其每一个通过引用并入本文。这些剂型可用于提供一种或多种活性成分的缓慢或受控释放，其使用例如羟丙基甲基纤维素、其它聚合物基质、凝胶、可渗透的膜、渗透系统（例如 OROS®（Alza Corporation, Mountain View, Calif. USA））、多层包衣、微粒、脂质体、或微球或其组合，以通过不同的比例提供所需的释放特征谱。此外，可以使用离子交换材料来制备所公开的化合物固定的、吸附的盐形式，从而实现药物的受控递送。具体的阴离子交换剂的实例包括，但不限于，Duolite®A568 和 Duolite®AP143（Rohm&Haas, Spring House, Pa. USA）。

本发明公开内容的一个实施方案包括一种单位剂型，其包含所公开的化合物的药学上可接受的盐（例如，钠盐、钾盐或锂盐），或其多晶型物、溶剂合物、水合物、去水合物、共晶体，无水或无定形形式，以及一种或多种药学上可接受的赋形剂或稀释剂，其中所述药物组合物或剂型被配制用于受控释放。具体的剂型利用渗透药物递送系统。

一种具体的和公知的渗透药物递送系统被称为 OROS®（Alza Corporation, Mountain View, Calif. USA）。这种技术可以容易地调整用于本公开内容的化合物和组合物的递送。该技术的各个方面公开于美国专利 No. 6,375,978 B1; 6,368,626 B1; 6,342,249 B1; 6,333,050 B2; 6,287,295 B1; 6,283,953 B1; 6,270,787 B1; 6,245,357 B1; 和 6,132,420; 其每一个通过引用并入本文。可以用于施用本公开内容的化合物和

组合物的 OROS® 的特定适应体包括但不限于, OROS® Push-Pull®、Delayed Push-Pull®、Multi-Layer Push-Pull® 和 Push-Stick® System, 所有这些都是公知的。参见, 例如, 世界范围的网站 alza.com。可用于本发明公开内容的化合物和组合物的受控口服递送的另外 OROS® 系统包括 OROS®-CT 和 L-OROS®; 参见, *Delivery Times*, vol. 11, issue II (Alza Corporation)。

常规 OROS® 口服剂型通过压缩药物粉末 (例如, 活性组合物的化合物的盐) 至硬片剂、用纤维素衍生物涂覆片剂以形成一个半渗透膜、然后在包衣上钻孔 (例如用激光) 来制备。Kim, Chemg-ju, *Controlled Release Dosage Form Design*, 231-238 (Technomic Publishing, Lancaster, Pa.: 2000)。这样的剂型的优点是, 药物的递送速率不受生理或实验条件的影响。即使是具有 pH 依赖性溶解度的药物也可以以恒定速率递送而不论递送介质的 pH。但由于这些优点通过给药后在剂型内建立渗透压提供, 故常规 OROS® 药物递送系统不能用于有效地递送具有低水溶性的药物。因为本公开内容的活性组合物和复合物的化合物的盐 (例如, 活性组合物的化合物钠盐) 可以是比活性化合物本身远更溶于水的, 因而它们可非常适合于基于渗透递送给患者。然而, 本公开内容确实包括将活性化合物及其非盐异构体和异构体混合物掺入 OROS® 剂型。

本发明公开内容的活性组合物的具体的剂型包括: 限定腔的壁, 所述壁具有在其中形成或可形成的出口孔并且至少壁的一部分是半渗透的; 位于远离出口孔的腔内并与壁的半渗透部分流体连通的可扩张层; 位于邻近出口孔的腔内并与可扩张层处于直接或间接的接触关系的干燥或基本上干燥状态的药物层; 和介于壁的内表面与位于腔内的药物层的至少外表面之间的流动促进层, 其中所述药物层包含活性组合物的化合物的盐, 或其多晶型物、溶剂合物、水合物、去水合物、共晶体、无水或无定形形式。参见美国专利 No. 6, 368, 626, 其全部内容通过引用并入本文。

本发明公开内容的另一特定剂型包括: 限定腔的壁, 所述壁具有在其中形成或可形成的出口孔并且至少壁的一部分是半渗透的; 位于远离出口孔的腔内并与壁的半渗透部分流体连通的可扩张层; 位于邻近出口孔的腔内并与可扩张层处于直接或间接的接触关系的药物层; 所述药物层包含吸附在多孔颗粒中的液体、活性剂制剂, 所述多孔颗粒被调整用于耐受足以形成没有液体、活性剂制剂的显著渗出的压实药物层的压紧力, 剂型任选在出口孔和药物层之间具有安慰剂层, 其中活性剂制剂包含活性化合物的化合物的盐, 或其多晶型物、溶剂合物、水合物、去水合物、共晶体、无水或无

定形式。参见美国专利 No. 6, 342, 249, 其全部内容通过引用并入本文。

肠胃外剂型

肠胃外剂型可以通过各种途径施用至患者，包括但不限于皮下、静脉内（包含弹丸注射）、肌内和动脉内途径。因为肠胃外剂型的施用通常绕开患者对污染物的天然防御，故肠胃外剂型优选是无菌的，或者能够在对患者施用之前进行灭菌。肠胃外剂型的实例包括但不限于，准备用于注射的溶液、准备溶解或悬浮在药学上可接受的注射用媒介物中的干燥产品、准备用于注射的悬浮液、以及乳剂。此外，可以制备控释肠胃外剂型用于患者的给药，包括但不限于，施用 DUROS® 型剂型，以及剂量倾泻。

可用于提供本发明公开内容的肠胃外剂型的合适的媒介物本领域技术人员所熟知的。实例包括，但不限于：无菌水；注射用 USP 水；盐溶液；葡萄糖溶液；水性媒介物，例如但不限于，氯化钠注射液、林格氏注射液、右旋糖注射液、右旋糖和氯化钠注射液以及乳酸林格氏注射液；水混溶媒介物，例如但不限于，乙醇、聚乙二醇和丙二醇；和非水性媒介物，例如但不限于，玉米油、棉籽油、花生油、芝麻油、油酸乙酯、肉豆蔻酸异丙酯和苯甲酸苄酯。

可改变或修改本文公开的活性组合物的药学上可接受的盐的溶解度的化合物也可以掺入到本公开内容的肠胃外剂型中，包括常规和控释肠胃外剂型。

局部、透皮和粘膜剂型

本发明公开内容的局部剂型包括但不限于：乳膏剂，洗剂，软膏剂，凝胶，洗发剂，喷雾剂，气雾剂，溶液，乳剂，和本领域技术人员已知的其它形式。参见，例如，Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed., Mack Publishing, Easton, Pa. (1990)；和 Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, 4th ed., Lea &Febiger, Philadelphia, Pa. (1985)。对于非喷雾的局部剂型，通常使用包含与局部应用相容的载体或一种或多种赋形剂并且具有优选大于水的动力学粘度的粘性至半固体或固体形式。合适的制剂包括但不限于，溶液、悬浮液、乳剂、乳膏剂、软膏剂、粉剂、搽剂、油膏剂等，如果需要的话，对它们进行灭菌或与助剂（例如，防腐剂、稳定剂、润湿剂、缓冲剂或盐）混合用于影响各种性质，例如，渗透压。其它合适的局部剂型包括可喷雾的气雾剂制剂，其中活性成分（优选与固体或液体惰性载体组合）包装在与加压挥发物（例如，气体推进剂，例如氟利昂）的混合物中或挤压瓶中。如果需要的话，增湿剂或湿润剂也可以添加至药物组合物和剂型。这样的附加成分的实例是本

领域公知的。参见，例如，Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed., Mack Publishing, Easton, Pa. (1990)。

本发明公开内容的活性组合物的透皮和粘膜剂型包括但不限于眼用溶液、贴剂、喷雾剂、气雾剂、乳膏剂、洗剂、栓剂、软膏剂、凝胶、溶液、乳剂、悬浮液、或本领域技术人员已知的其它形式。参见，例如，Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed., Mack Publishing, Easton, Pa. (1990); 和 Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, 4th Ed., Lea &Febiger, Philadelphia, Pa. (1985)。适合用于治疗口腔内的粘膜组织的剂型可以被配制成漱口剂、口腔凝胶、或口腔贴剂。另外的透皮剂型包括“贮库型”或“基质型”贴剂，其可被施加到皮肤上并佩戴特定的时间段，以允许渗透所需量的活性成分。

可用于施用本发明公开内容的活性成分的透皮剂型和给药方法的实例包括但不限于，在如下美国专利中公开的那些：No. 4,624,665; 4,655,767; 4,687,481; 4,797,284; 4,810,499; 4,834,978; 4,877,618; 4,880,633; 4,917,895; 4,927,687; 4,956,171; 5,035,894; 5,091,186; 5,163,899; 5,232,702; 5,234,690; 5,273,755; 5,273,756; 5,308,625; 5,356,632; 5,358,715; 5,372,579; 5,421,816; 5,466,465; 5,494,680; 5,505,958; 5,554,381; 5,560,922; 5,585,111; 5,656,285; 5,667,798; 5,698,217; 5,741,511; 5,747,783; 5,770,219; 5,814,599; 5,817,332; 5,833,647; 5,879,322; 和 5,906,830，其每一个通过引用整体并入本文。

可用于提供本发明公开内容包含的透皮和粘膜剂型的合适的赋形剂（例如，载体和稀释剂）和其它材料是制药领域的普通技术人员所公知的，并取决于给定药物组合物或剂型将被应用于特定组织或器官。考虑到该事实，典型的赋形剂包括但不限于：水，丙酮，乙醇，乙二醇，丙二醇，丁烷-1,3-二醇，肉豆蔻酸异丙酯，棕榈酸异丙酯，矿物油，及其混合物，以形成无毒的和药学上可接受的剂型。

取决于待治疗的具体组织，与本发明公开内容的活性组合物的化合物的药学上可接受的盐结合治疗之前或在用本发明公开内容的活性组合物的化合物的药学上可接受的盐治疗后使用另外的组分。例如，渗透增强剂可用于帮助递送活性成分至组织或穿过组织。合适的渗透增强剂包括但不限于：丙酮；各种醇，如乙醇，油醇，四氢呋喃；烷基亚砷如二甲基亚砷；二甲基乙酰胺；二甲基甲酰胺；聚乙二醇；吡咯烷酮，例如聚乙烯吡咯烷酮；聚乙烯吡咯烷酮级（聚乙烯吡咯酮，聚维酮）；尿素；和各种水溶

性或不溶性糖酯类，例如 TWEEN 80（聚山梨酯 80）和 SPAN 60（脱水山梨醇单硬脂酸酯）。

药物组合物或剂型的 pH 或该药物组合物或剂型所应用于的组织的 pH 也可以进行调节以改善活性成分的递送。类似地，溶剂载体的极性、其离子强度或张力可进行调节以改善递送。化合物例如硬脂酸酯也可以被加入到药物组合物或剂型中，以有利地改变活性成分的亲水性或亲脂性，从而改善递送。在这点上，硬脂酸酯可以用作为制剂的脂质媒介物、作为乳化剂或表面活性剂、和作为递送增强剂或渗透增强剂。活性组合物的化合物的药学上可接受的盐的不同水合物、去水合物、共晶体、溶剂合物、多晶型物、无水或无定形形式可用于进一步调节所得的组合物的性质。

试剂盒

在一些实施方案中，本发明公开内容的药物组合物的活性成分可能不在同一时间或通过同一施用途径给患者施用。因此，本公开内容包括试剂盒，其在由医师使用时，可以简化适当量的活性成分至患者的施用。

典型的试剂盒包含活性组合物的活性化合物的药学上可接受的盐的单位剂型。具体地，活性组合物的活性化合物的药学上可接受的盐是钠盐、锂盐或钾盐，或其多晶型物、溶剂合物、水合物、去水合物、共晶体，无水或无定形形式。试剂盒可进一步包含可用于施用活性成分的装置。这样的装置的实例包括但不限于注射器、滴液袋、贴剂和吸入剂。试剂盒可以包含使用试剂盒的说明书。

本发明公开内容的试剂盒可进一步包含可用于施用一种或多种活性成分（例如，活性化合物）的药学上可接受的媒介物。例如，如果活性成分以必需经重建以用于肠胃外给药的固体形式提供，则试剂盒可包含合适的媒介物的密封容器，在其中可以溶解活性成分以形成适合用于肠胃外给药的不含颗粒的无菌溶液。

药学上可接受的媒介物的实例包括但不限于：注射用 USP 水；水性媒介物，例如，但不限于，氯化钠注射液、林格氏注射液、右旋糖注射液、右旋糖和氯化钠注射液、和乳酸林格氏注射液；水混溶媒介物例如但不限于，乙醇、聚乙二醇和丙二醇；和非水性媒介物，例如但不限于，玉米油、棉籽油、花生油、芝麻油、油酸乙酯、肉豆蔻酸异丙酯和苯甲酸苄酯。

在另一个实施方案中，用于筛选候选药物的化合物的试剂盒包含多个果蝇胚胎。每个果蝇胚胎包含与 *hs-hid* 转基因连锁的 *C9orf72* 中的 GGGGCC₃₀ 重复片段（其中热休克

对于GGGGCC₃₀转基因的果蝇胚胎是致死的)和一套用于筛选化合物文库的说明书。

实施例

通过化学筛选对抑制由肌萎缩侧索硬化(ALS)排列 rGGGGCC 重复片段引起的毒性的化合物的鉴定

ALS 和 FTD 的果蝇疾病模型提供了实验证据表明, *C9orf72* 中的 rGGGGCC 重复片段单独地足以以重复剂量方式引起神经变性。参见 Xu 等人, PNAS, 2013, 110:7778-7783。具有 *C9orf72* 中的 rGGGGCC₃₀ 重复片段的表达的果蝇没有达到成年期。致死主要在幼虫形成之前的胚胎发育过程中发生。利用这种致死性, 设计了高通量策略来与 ALS 和 FTD 相关的小分子筛选化学文库。UAS-GGGGCC₃₀-EGFP 转基因用携带与热休克诱导性凋亡 hid (hs-hid) 转基因重组的卷翅 (Cyo) 标记物的染色体平衡 (w¹¹¹⁸, UAS-GGGGCC₃₀-EGFP/TM2 Cyo:hs-hid)。然后, 使用果蝇 GAL4/UAS 系统测试成年子代的活力。UAS-GGGGCC₃₀-EGFP/TM2 Cyo:hs-hid 的杂交用纯合的泛神经元 elav-Gal4 驱动子来进行。存在杂合非 Cyo 成年子代 (elav-GAL4/+; UAS-GGGGCC₃₀-EGFP/+) 的缺失, 这证实了神经元中 rGGGGCC₃₀ 重复片段的表达导致致死性。唯一活着的子代将携带 elav-GAL4/+; +/TM2 Cyo:hs-hid。此外, 在热休克后, 携带 elav-GAL4/+; +/TM2 Cyo:hs-hid 的子代也死亡, 因为 hid 的表达导致可存活的胚胎阶段的细胞死亡和致死。

由于致死的挽救是容易打分的表型, 故能够使用该测定进行化学筛选以鉴定可以改善/恢复表达 rGGGGCC 重复片段的果蝇的活力的小分子。如示意图所描述的 (图 1), 在补充有来自 2000 种美国食品和药物管理局 (FDA) 批准的药物和天然产物 (The Spectrum Collection, MicroSource Discovery Systems, Inc.) 的 40 μ m 个体独特的化合物的食物中喂养 elav-GAL4 和 UAS-GGGGCC₃₀-EGFP/TM2 Cyo:hs-hid 之间的杂交体对照果蝇。随后在第 2 天, 对杂交体进行热休克以清除 (elav-GAL4/+; +/TM2 Cyo:hs-hid) 子代, 随后将小瓶保持在 25°C 进行 10-15 天, 以针对任何活的果蝇 (elav-GAL4/+; UAS-GGGGCC₃₀-EGFP/+) (其否则是致死的) 进行打分。

在初步筛选的 2000 种化合物中, 有 24 种化合物被发现导致蛹壳形成或成年非 Cyo 子代 (elav-GAL4/+; UAS-GGGGCC₃₀-EGFP/+) 的出现。由于蛹壳形成还代表仅由于热休克导致的死亡子代 (elav-GAL4/+; +/TM2 Cyo:hs-hid), 基于从杂交体中恢复的果蝇或蛹的百分比选择前 50% (24 种化合物中的 12 种) 用于使用运动测定的进一步验证。

验证可以改善由 *C9orf72* 中的 rGGGGCC 重复片段引起的运动缺陷的化合物

为了进一步验证这些化合物，开发了二次行为测定法。在该测定中，将 UAS-GGGGCC30-EGFP 转基因果蝇与运动神经元特异性驱动子 Ok371-GAL4 进行杂交，所述驱动子可以驱动 rGGGGC 重复片段在运动神经元中的表达，从而使我们能够就运动缺陷分析成年果蝇。rGGGGC 重复片段的表达导致运动障碍（图 2）。如图 2A 所示的，在补充有各种化合物的食物中建立 UAS-GGGGCC30-EGFP/TM2 Cyo 与 Ok371-GAL4 之间的杂交。收集子代果蝇（UAS-GGGGCC30-EGFP/Ok371-GAL4）以监测运动。为了持续监测果蝇的运动，建立了果蝇活动监测（DAM）系统以用于此目的。参见 Pfeiffenberger 等人，Locomotor activity level monitoring using the Drosophila Activity Monitoring (DAM) System. Cold Spring Harb. Protoc. 2010。

对于每种化合物，每次同时监测每组中用包含该化合物的果蝇食物喂养的 30 只果蝇的运动。收集数据，并分析运动活性（图 2）。每种药物处理重复至少三次。结果显示，OEM-34、OEM-62 和 OEM-77 可显著改善由 rGGGGC 重复片段诱导的运动障碍（图 3 和 4）。

权 利 要 求 书

1. 抑制由 *C9orf72* 的第一内含子中的 rGGGGCC 重复片段引起的毒性的化合物在制备用于治疗肌萎缩侧索硬化 (ALS) 和额颞叶痴呆 (FTD) 的药物中的用途。
2. 如权利要求 1 所述的用途, 其特征在于, 所述药物的受试者被诊断患有肌萎缩侧索硬化。
3. 2. 如权利要求 1 所述的用途, 其特征在于, 所述药物的受试者被诊断患有额颞叶痴呆。
4. 如权利要求 1 所述的用途, 其特征在于, 所述化合物选自: OEM-34、OEM-62、OEM-77、OK-EM 026、OK-EM 027、OK-EM 028、OK-EM 029、OK-EM 033 和/或 OK-EM 036。
5. 如权利要求 1 所述的用途, 其特征在于, 所述化合物选自: OEM-34、OEM-62、OEM-77、OK-EM 026、OK-EM 027、OK-EM 028、OK-EM 029、OK-EM 033 和/或 OK-EM 036 的盐、酯或前药。

说明书附图

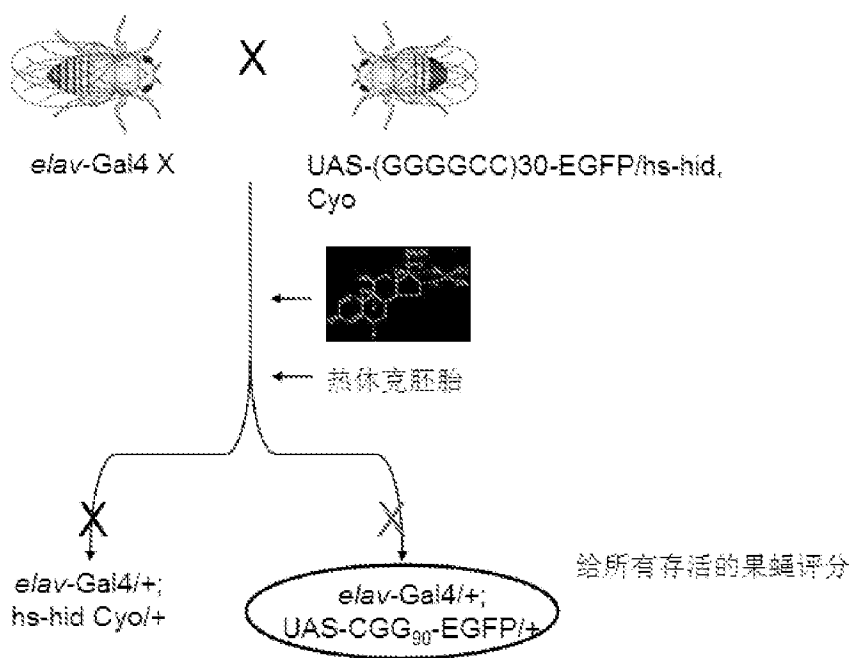


图 1

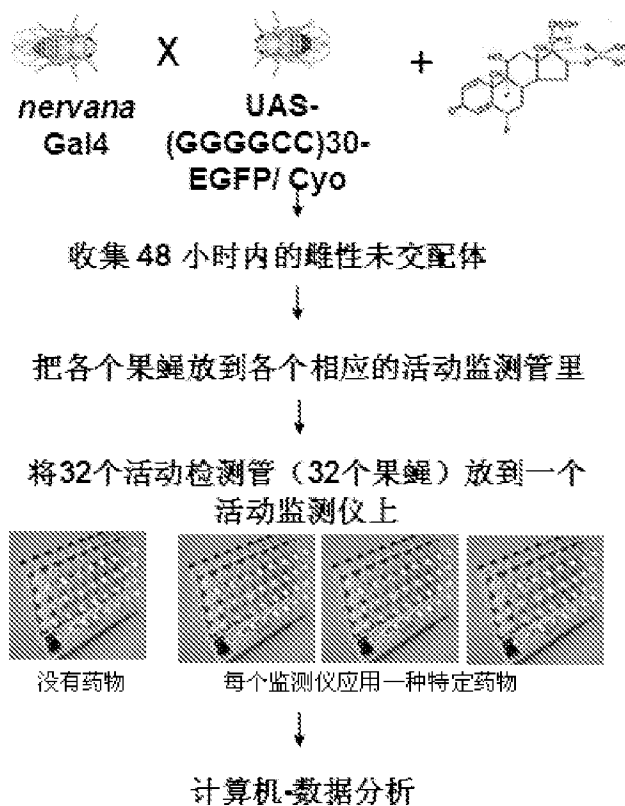


图 2

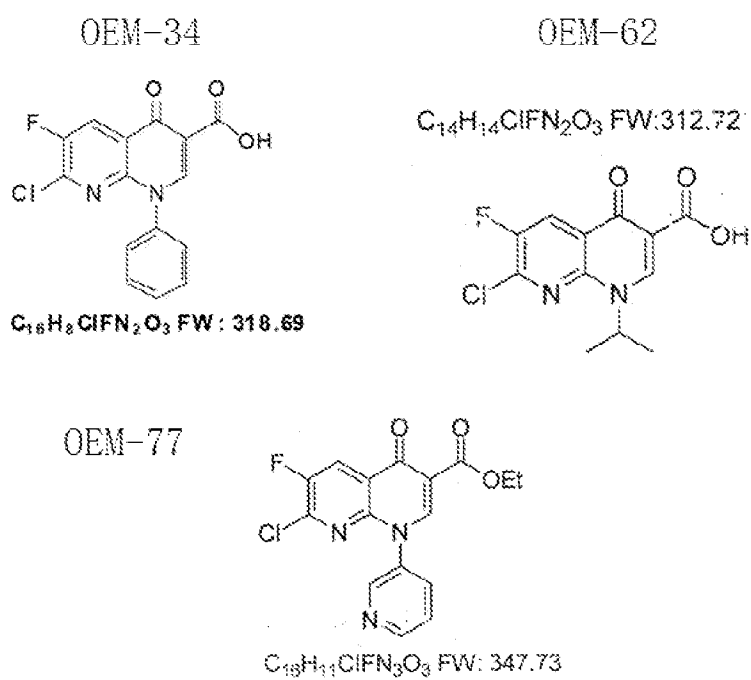


图 3

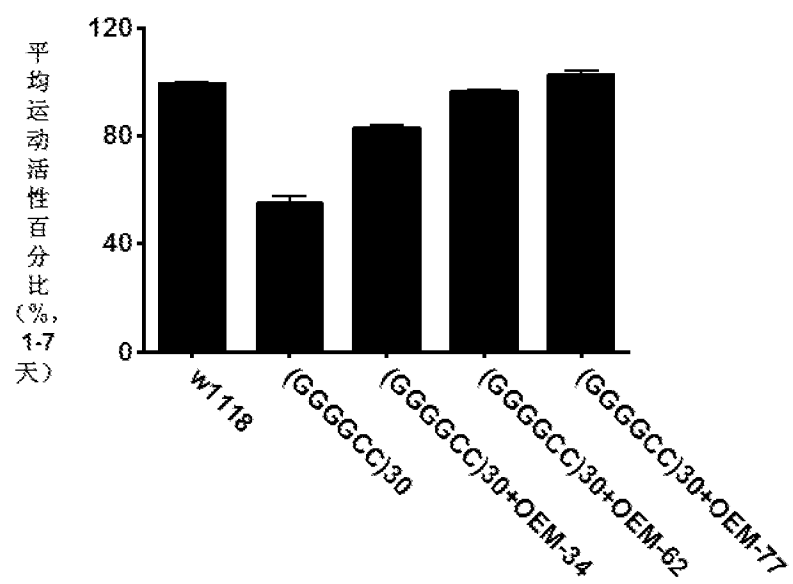
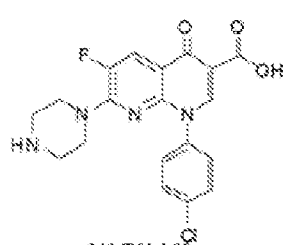
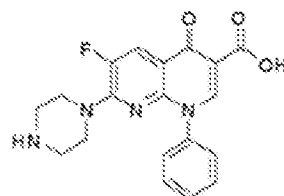


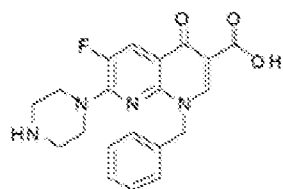
图 4



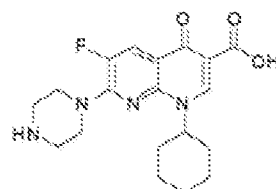
OK-EM 026
 $C_{19}H_{16}ClFN_4O_3$ FW: 402.81



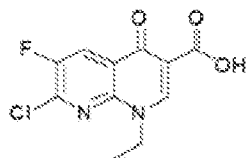
OK-EM 027
 $C_{19}H_{17}FN_4O_3$ FW: 368.36



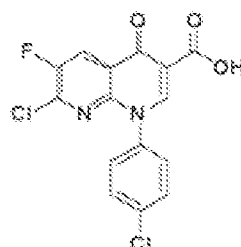
OK-EM 028
 $C_{20}H_{17}FN_4O_5$ FW: 382.39



OK-EM 029
 $C_{19}H_{23}FN_4O_3$ FW: 374.41



OK-EM 033
 $C_{11}H_8ClFN_2O_3$ FW: 270.64



OK-EM 036
 $C_{16}H_7Cl_2FN_2O_3$ FW: 353.13

图 5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2015/100061

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 31/4375 (2006.01) i; A61K 31/444 (2006.01) i; A61K 31/496 (2006.01) i; A61P 21/00 (2006.01) i; A61P 25/00 (2006.01) i; A61P 25/28 (2006.01) i; C12Q 1/02 (2006.01) i; G01N 33/50 (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)

A61K; A61P; C12Q; G01N

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)

DWPI, CNKI, WPI, EPODOC, CNPAT, SIPOABS, CPRS, WOTXT, USTXT, EPTXT, JPTXT, KRTXT, CA, CHINESE PHARMACEUTICAL PATENT DATABASE (CTCPMD), Elsevier, STN: carbostyryl, dementia, frontotemporal, C90RF72, naphthyridine, carboxylic acid, amyotrophic lateral sclerosis, frontotemporal dementia, ALS, FTD, structure of compounds

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 104684558 A (YEDA RESEARCH AND DEVELOPMENT COMPANY LTD.), 03 June 2015 (03.06.2015), claims 5 and 8, and description, paragraphs 0025-0028, 0063-0064 and 0082-0084	1-5
X	CN 105637090 A (IONIS PHARMACEUTICALS, INC.), 01 June 2016 (01.06.2016), description, paragraphs 0007 and 0012-0013	1-3

☐ 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 application or patent but 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 28 September 2016 (28.09.2016)	Date of mailing of the international search report 10 October 2016 (10.10.2016)
Name and mailing address of the ISA/CN: State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No.: (86-10) 62019451	Authorized officer FAN, Hua Telephone No.: (86-10) 62089313

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2015/100061

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 104684558 A	03 June 2015	EP 2879678 A1	10 June 2015
		HK 1205453 A1	18 December 2015
		US 2015164891 A1	18 June 2015
		WO 2014020608 A1	06 February 2014
		JP 2015523410 A	13 August 2015
CN 105637090 A	01 June 2016	EP 3055414 A2	17 August 2016
		SG 11201602597Y A	30 May 2016
		KR 20160062069 A	01 June 2016
		IL 244759 D0	21 April 2016
		CA 2926408 A1	16 April 2015
		WO 2015054676 A2	16 April 2015
		WO 2015054676 A3	04 June 2015
		AU 2014331652 A1	21 April 2016

A. 主题的分类		
A61K 31/4375(2006.01)i; A61K 31/444(2006.01)i; A61K 31/496(2006.01)i; A61P 21/00(2006.01)i; A61P 25/00(2006.01)i; A61P 25/28(2006.01)i; C12Q 1/02(2006.01)i; G01N 33/50(2006.01)i		
按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类		
B. 检索领域		
检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)		
A61K; A61P; C12Q; G01N		
包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献		
在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))		
DWPI, CNKI, WPI, EPODOC, CNPAT, SIPOABS, CPRS, WOTXT, USTXT, EPTXT, JPTXT, KRTXT, CA, 中国药物专利数据库 (CTCPD), 中国药物专利数据库 (CTCPD), Elsevier, STN: 茶啉, 喹诺酮, 羧酸, 肌萎缩侧索硬化, 痴呆, 额颞叶, 化合物结构式, C90RF72, naphthyridine, carboxylic acid, amictrophic lateral sclerosis, frontotemporal dementia, ALS, FTD, structure of compounds		
C. 相关文件		
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	CN 104684558 A (耶达研究及发展有限公司) 2015年 6月 3日 (2015 - 06 - 03) 权利要求5, 8, 说明书第0025-0028, 0063-0064, 0082-0084段	1-5
X	CN 105637090 A (IONIS制药公司) 2016年 6月 1日 (2016 - 06 - 01) 说明书第0007, 0012-0013段	1-3
☐ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☒ 见同族专利附件。		
* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件		
国际检索实际完成的日期		国际检索报告邮寄日期
2016年 9月 28日		2016年 10月 10日
ISA/CN的名称和邮寄地址		受权官员
中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088		樊华
传真号 (86-10)62019451		电话号码 (86-10)62089313

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2015/100061

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	104684558	A	2015年 6月 3日	EP	2879678	A1	2015年 6月 10日
				HK	1205453	A1	2015年 12月 18日
				US	2015164891	A1	2015年 6月 18日
				WO	2014020608	A1	2014年 2月 6日
				JP	2015523410	A	2015年 8月 13日
CN	105637090	A	2016年 6月 1日	EP	3055414	A2	2016年 8月 17日
				SG	11201602597Y	A	2016年 5月 30日
				KR	20160062069	A	2016年 6月 1日
				IL	244759	D0	2016年 4月 21日
				CA	2926408	A1	2015年 4月 16日
				WO	2015054676	A2	2015年 4月 16日
				WO	2015054676	A3	2015年 6月 4日
				AU	2014331652	A1	2016年 4月 21日