

(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2019-507111

(P2019-507111A)

(43) 公表日 平成31年3月14日(2019.3.14)

(51) Int.Cl.		F I	テーマコード (参考)	
<b>C 0 7 C 211/29</b>	<b>(2006.01)</b>	C 0 7 C 211/29	C S P	4 C 2 0 6
<b>C 0 7 C 211/63</b>	<b>(2006.01)</b>	C 0 7 C 211/63		4 H 0 0 6
<b>A 6 1 K 31/137</b>	<b>(2006.01)</b>	A 6 1 K 31/137		
<b>A 6 1 P 25/08</b>	<b>(2006.01)</b>	A 6 1 P 25/08		
<b>A 6 1 P 25/00</b>	<b>(2006.01)</b>	A 6 1 P 25/00		
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 43 頁)				
(21) 出願番号	特願2018-532741 (P2018-532741)		(71) 出願人	515314845
(86) (22) 出願日	平成28年12月20日 (2016.12.20)			ゾゲニクス インターナショナル リミテッド
(85) 翻訳文提出日	平成30年8月10日 (2018.8.10)			イギリス国 パークシャー メイデンヘッド ブロードウェイ シエナ コート
(86) 国際出願番号	PCT/US2016/067852		(74) 代理人	100102978
(87) 国際公開番号	W02017/112701			弁理士 清水 初志
(87) 国際公開日	平成29年6月29日 (2017.6.29)		(74) 代理人	100102118
(31) 優先権主張番号	62/271,168			弁理士 春名 雅夫
(32) 優先日	平成27年12月22日 (2015.12.22)		(74) 代理人	100160923
(33) 優先権主張国	米国 (US)			弁理士 山口 裕孝
			(74) 代理人	100119507
				弁理士 刑部 俊
			(74) 代理人	100142929
				弁理士 井上 隆一
			最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 代謝抵抗性フェンフルラミン類縁体およびその使用法

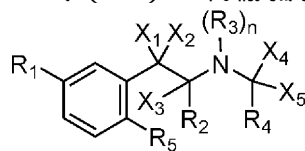
## (57) 【要約】

代謝抵抗性フェンフルラミン類縁体が提供される。本フェンフルラミン類縁体は、様々な疾患の治療において使用される。例えば、フェンフルラミン類縁体をそれを必要としている対象に投与することによるてんかんの治療方法が提供される。同様に、それを必要としている対象における食欲抑制方法が提供される。本方法を実施する際に使用するための薬学的組成物も提供される。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

式 (II) の代謝抵抗性フェンフルラミン類縁体化合物またはその塩：



(II)

式中：

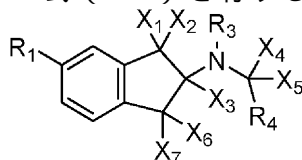
$R_1$  は  $CF_3$  または  $SF_5$  であり；

$R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_4$ 、および  $R_5$  は独立に水素、ハロゲン、アルコキシ、アシル、置換アシル、カルボキシ、シアノ、ヒドロキシ、置換アルコキシ、アルキル、置換アルキル、アリール、置換アリール、複素環、ヘテロアリール、置換ヘテロアリールおよび置換複素環から選択され、 $R_2$  と  $R_5$  または  $R_2$  と  $R_4$  は一緒に環状に連結されて、置換されていてもよいシクロアルキル環、複素環、アリール環またはヘテロアリール環を形成してもよく；

$X_1 \sim X_5$  はそれぞれ独立に H、D、F、アルキルまたは置換アルキルであり；かつ  $n$  は 1 または 2 であり、 $n$  が 2 である場合、窒素は正に荷電している。

## 【請求項 2】

式 (III) を有する、請求項 1 記載の化合物：

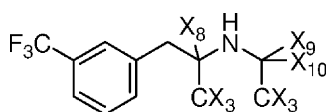


(III)

式中、 $X_6 \sim X_7$  はそれぞれ独立に H、D または F である。

## 【請求項 3】

式 (IV) を有する、請求項 1 記載の化合物：

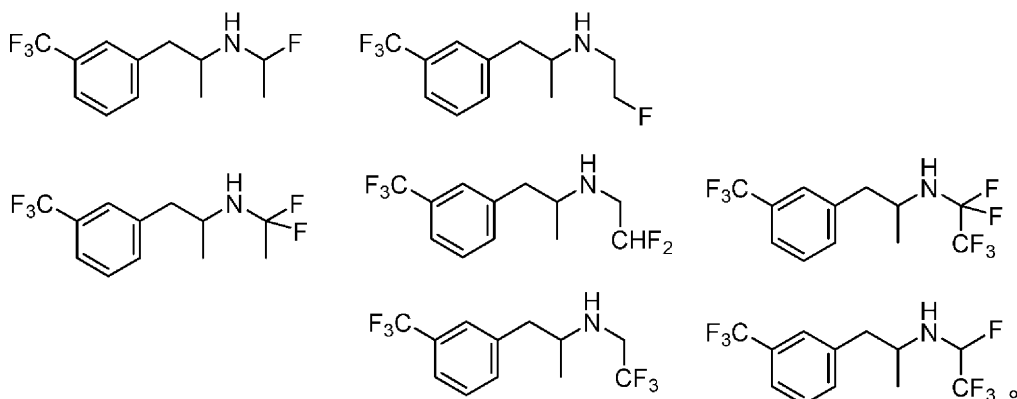


(IV)

式中、 $X_8 \sim X_{10}$  および各 X は独立に H、D または F であり、ただし少なくとも 1 つの  $X_8 \sim X_{10}$  または X が F であることを条件とする。

## 【請求項 4】

以下の構造の 1 つを有する、請求項 1 記載の化合物：



## 【請求項 5】

10

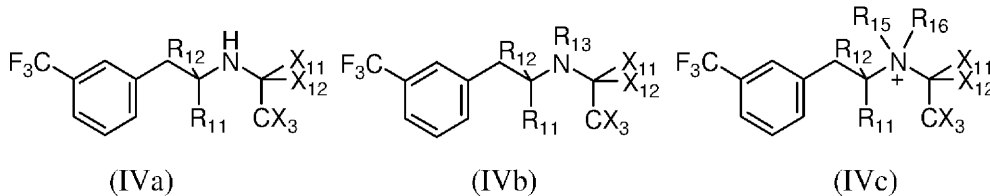
20

30

40

50

式 (IVa) ~ (IVc) の1つを有する、請求項1記載の化合物：

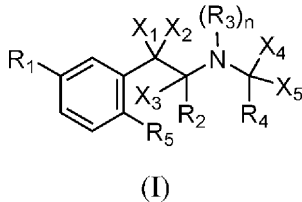


式中、各Xはそれぞれ独立にH、DまたはFであり；かつ

R<sub>11</sub> ~ R<sub>16</sub> はそれぞれ独立にアルキルまたは置換アルキルである。

【請求項6】

式 (I) を有する化合物またはその薬学的に許容される塩の治療的有効量を含む、薬学的組成物：



式中：

R<sub>1</sub> はCF<sub>3</sub>またはSF<sub>5</sub>であり；

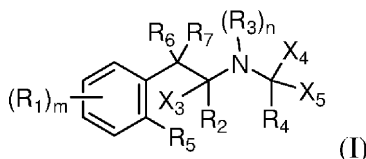
R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>およびR<sub>5</sub>は独立に水素、ハロゲン、アルコキシ、アシル、置換アシル、カルボキシ、シアノ、ヒドロキシ、置換アルコキシ、アルキル、置換アルキル、アリール、置換アリール、複素環、ヘテロアリール、置換ヘテロアリールおよび置換複素環から選択され、R<sub>2</sub>とR<sub>5</sub>またはR<sub>2</sub>とR<sub>4</sub>は一緒に環状に連結されて、置換されていてもよいシクロアルキル環、複素環、アリール環またはヘテロアリール環を形成してもよく；

X<sub>1</sub> ~ X<sub>5</sub> はそれぞれ独立にH、D、F、アルキルまたは置換アルキルであり；かつ

nは1または2であり、nが2である場合、窒素は正に荷電している。

【請求項7】

てんかんまたは神経関連疾患の治療方法であって、それを必要としている患者に、治療的有効量の式 (I) の代謝抵抗性フェンフルタミン類縁体またはその薬学的に許容される塩を投与する段階を含む、方法：



式中：

R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>、R<sub>5</sub>、R<sub>6</sub>およびR<sub>7</sub>は独立に水素、ハロゲン、X<sub>1</sub>、X<sub>2</sub>、アルコキシ、アシル、置換アシル、カルボキシ、シアノ、ヒドロキシ、アルコキシ、置換アルコキシ、アルキル、置換アルキル、アリール、置換アリール、複素環、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、置換複素環から選択され、または第2のR<sup>1</sup> ~ R<sup>7</sup>基と一緒に、置換されていてもよいシクロアルキル環、複素環、アリール環もしくはヘテロアリール環を形成し、R<sub>2</sub>とR<sub>5</sub>、R<sub>2</sub>とR<sub>4</sub>、R<sub>1</sub>とR<sub>5</sub>、R<sub>6</sub>とR<sub>7</sub>、および/またはR<sub>3</sub>とR<sub>6</sub>は環状に連結されており；

X<sub>1</sub> ~ X<sub>5</sub> はそれぞれ独立にH、D、F、アルキルまたは置換アルキルであり；

mは0 ~ 4であり；かつ

nは1または2であり、nが2である場合、窒素は正に荷電している。

【請求項8】

化合物が請求項1 ~ 5のいずれか一項記載の化合物である、請求項7記載の方法。

【請求項9】

対象に抗てんかん剤を同時投与する段階をさらに含む、請求項7記載の方法。

【請求項10】

対象における食欲抑制方法であって、それを必要としている対象に、食欲抑制量の式 (

10

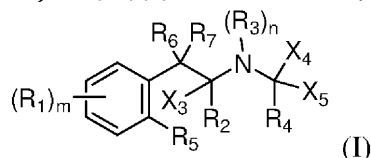
20

30

40

50

1) の化合物またはその薬学的に許容される塩を投与する段階を含む、方法：



式中：

$R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_4$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ および $R_7$ は独立に水素、ハロゲン、 $X_1$ 、 $X_2$ 、アルコキシ、アシル、置換アシル、カルボキシ、シアノ、ヒドロキシ、アルコキシ、置換アルコキシ、アルキル、置換アルキル、アリール、置換アリール、複素環、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、置換複素環から選択され、または第2の $R^1 \sim R^7$ 基と一緒に、置換されていてよい

シクロアルキル環、複素環、アリール環もしくはヘテロアリール環を形成し、 $R_2$ と $R_5$ 、 $R_2$ と $R_4$ 、 $R_1$ と $R_5$ 、 $R_6$ と $R_7$ 、および/または $R_3$ と $R_6$ は環状に連結されており；

$X_1 \sim X_5$ はそれぞれ独立にH、D、F、アルキルまたは置換アルキルであり；

$m$ は0～4であり；かつ

$n$ は1または2であり、 $n$ が2である場合、窒素は正に荷電している。

【請求項 1 1】

化合物が請求項1～5のいずれか一項記載の化合物である、請求項10記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

35 U.S.C. § 119 (e)に従い、本出願は、2015年12月22日提出の米国特許仮出願第62/271,168号に対する優先権の恩典を主張し、その出願の開示は全体が参照により本明細書に組み入れられる。

【0002】

分野

本発明は、一般には、アンフェタミン薬物フェンフルラミンに構造的に関連する化合物および神経関連疾患の治療におけるそれらの使用の分野に関する。

【背景技術】

【0003】

序

フェンフルラミンは、かつて肥満を治療するための食欲抑制剤として広く処方された、アンフェタミン薬物である。フェンフルラミンは、D-アンフェタミンの精神運動刺激および乱用の可能性がなく、5-ヒドロキシトリプタミン（セロトニン、5-HT）輸送体と相互作用して、ニューロンから5-HTを放出する。フェンフルラミンは、まれであり且つ悪性のてんかん症候群である、ドラベ症候群、または乳児重症ミオクロニーてんかんの治療における抗痙攣活性について調査されてきた。この種のてんかんはそれまで健康であった小児で早期発症する。

【0004】

フェンフルラミンによる食欲低下治療は、心臓線維化の状態を含む、心弁膜症および肺高血圧症の発生に関連づけられており、これは世界中の市場からのフェンフルラミンの撤退につながった。フェンフルラミンの主要な代謝物ノルフェンフルラミンの5-HT<sub>2B</sub>受容体との相互作用は、心臓弁肥大に関連する。てんかんの治療において、フェンフルラミンの公知の心血管リスクは有益な抗痙攣活性と比較検討される。

【発明の概要】

【0005】

概要

代謝抵抗性フェンフルラミン類縁体が提供される。本フェンフルラミン類縁体は、様々な疾患の治療において使用される。例えば、フェンフルラミン類縁体をそれを必要としている対象に投与することによるてんかんの治療方法が提供される。同様に、それを必要と

10

20

30

40

50

している対象における食欲抑制方法が提供される。本方法を実施する際に使用するための薬学的組成物も提供される。

【0006】

本発明のこれらおよび他の目的、利点、および特徴は、当業者には、以下により詳細に記載する、代謝抵抗性フェンフルラミン類縁体およびその使用法の詳細を読めば明らかになるであろう。

【発明を実施するための形態】

【0007】

定義

本明細書において用いられる「対象」なる用語は、哺乳動物を意味する。例示的哺乳動物には、ヒト、家庭内動物（例えば、イヌ、ネコなど）、農場動物（例えば、ウシ、ヒツジ、ブタ、ウマなど）または実験動物（例えば、サル、ラット、マウス、ウサギ、モルモットなど）が含まれるが、それらに限定されない。一定の態様において、対象はヒトである。「患者」とは、ヒトおよび非ヒト対象、特に哺乳動物対象を意味する。

【0008】

本明細書において用いられる「処置」、「処置すること」などの用語は、所望の薬理および/または生理効果を得ることを意味する。効果は、疾患もしくはその症状を完全もしくは部分的に防止するという観点から予防的であってもよく、かつ/または疾患および/もしくは疾患に起因し得る有害作用に対する部分的もしくは完全治癒の観点から治療的であってもよい。本明細書において用いられる「処置すること」、「処置」、「治療的」、または「治療」なる用語は、必ずしも疾患または状態の完全な治癒または消滅を意味しない。疾患または状態の任意の望まれない徴候または症状の、任意の程度までの任意の軽減を、処置および/または治療と考えることができる。さらに、処置は、患者の全体的な満足感または外観を悪化させる行為を含むこともある。本明細書において用いられる「処置」は、哺乳動物、特にヒトにおける疾患の任意の処置を対象とし：（a）疾患に罹りやすい可能性があるが、まだそれを有すると診断されていない、対象における疾患の出現を防止すること；（b）疾患を阻害する、すなわち、その発生を停止すること；および（c）疾患を軽減する、すなわち、疾患の退行を引き起こすことを含む。

【0009】

本明細書において用いられるpKaなる用語は、酸の酸解離定数（Ka）の負の対数（p）を意味し、溶液中に等しい濃度の酸とその共役塩基型が存在するpH値に等しい。

【0010】

「アルキル」とは、1~10の炭素原子、例えば、1~6つの炭素原子、または1~5つ、もしくは1~4つ、もしくは1~3つの炭素原子を有する、一価飽和脂肪族ヒドロカルビル基を意味する。この用語は、例として、メチル（CH<sub>3</sub>-）、エチル（CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>-）、n-プロピル（CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-）、イソプロピル（(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH-）、n-ブチル（CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-）、イソブチル（(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>-）、sec-ブチル（(CH<sub>3</sub>)(CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>)CH-）、t-ブチル（(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C-）、n-ペンチル（CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-）、およびネオペンチル（(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>CCH<sub>2</sub>-）などの直鎖および分枝ヒドロカルビル基を含む。

【0011】

「置換アルキル」なる用語は、アルキル鎖中の1つまたは複数の炭素原子が-O-、-N-、-S-、-S(O)<sub>n</sub>-（ここでnは0~2である）、-NR-（ここでRは水素またはアルキルである）などのヘテロ原子で置き換えられていてもよく、かつアルコキシ、置換アルコキシ、シクロアルキル、置換シクロアルキル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、アシル、アシルアミノ、アシルオキシ、アミノ、アミノアシル、アミノアシルオキシ、オキシアミノアシル、アジド、シアノ、ハロゲン、ヒドロキシル、オキソ、チオケト、カルボキシル、カルボキシルアルキル、チオアリールオキシ、チオヘテロアリールオキシ、チオヘテロシクロオキシ、チオール、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、ヘテロアリールオキシ、ヘテロシクリル、ヘテロシクロオキシ、ヒドロキシアミノ、アルコキシアミノ、ニトロ、-SO-アルキル、-SO-アリール、-SO-ヘテロ

10

20

30

40

50

アリール、 $-\text{SO}_2$ -アルキル、 $-\text{SO}_2$ -アリール、 $-\text{SO}_2$ -ヘテロアリール、および $-\text{NR}^a\text{R}^b$ からなる群より選択される1~5つの置換基を有する、本明細書において定義するアルキル基を意味し、ここで $\text{R}'$ および $\text{R}''$ は同じでも異なってもよく、かつ水素、置換されていてもよいアルキル、シクロアルキル、アルケニル、シクロアルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリールおよび複素環式から選択される。

#### 【0012】

「アシル」とは、基 $\text{H}-\text{C}(\text{O})-$ 、アルキル- $\text{C}(\text{O})-$ 、置換アルキル- $\text{C}(\text{O})-$ 、アルケニル- $\text{C}(\text{O})-$ 、置換アルケニル- $\text{C}(\text{O})-$ 、アルキニル- $\text{C}(\text{O})-$ 、置換アルキニル- $\text{C}(\text{O})-$ 、シクロアルキル- $\text{C}(\text{O})-$ 、置換シクロアルキル- $\text{C}(\text{O})-$ 、シクロアルケニル- $\text{C}(\text{O})-$ 、置換シクロアルケニル- $\text{C}(\text{O})-$ 、アリール- $\text{C}(\text{O})-$ 、置換アリール- $\text{C}(\text{O})-$ 、ヘテロアリール- $\text{C}(\text{O})-$ 、置換ヘテロアリール- $\text{C}(\text{O})-$ 、ヘテロシクリル- $\text{C}(\text{O})-$ 、および置換ヘテロシクリル- $\text{C}(\text{O})-$ を意味し、ここでアルキル、置換アルキル、アルケニル、置換アルケニル、アルキニル、置換アルキニル、シクロアルキル、置換シクロアルキル、シクロアルケニル、置換シクロアルケニル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、複素環式、および置換複素環式は本明細書において定義するとおりである。例えば、アシルは「アセチル」基 $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})-$ を含む。

10

#### 【0013】

「アシルオキシ」なる用語は、基アルキル- $\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 、置換アルキル- $\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 、シクロアルキル- $\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 、置換シクロアルキル- $\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 、アリール- $\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 、ヘテロアリール- $\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 、およびヘテロシクリル- $\text{C}(\text{O})\text{O}-$ を意味し、ここでアルキル、置換アルキル、シクロアルキル、置換シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、およびヘテロシクリルは本明細書において定義するとおりである。

20

#### 【0014】

「アリール」または「Ar」は、単一の環（フェニル基に存在するなどの）または複数の縮合環を有する環系（そのような芳香環系の例にはナフチル、アンスリルおよびインダニルが含まれる）を有し、その縮合環は芳香族であってもなくてもよい、6~18炭素原子の一価芳香族炭素環基を意味し、ただし結合点は芳香環の原子を通じてであることを条件とする。この用語は、例として、フェニルおよびナフチルを含む。アリール置換基の定義によって別に制約されないかぎり、そのようなアリール基は、アシルオキシ、ヒドロキシ、チオール、アシル、アルキル、アルコキシ、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、シクロアルケニル、置換アルキル、置換アルコキシ、置換アルケニル、置換アルキニル、置換シクロアルキル、置換シクロアルケニル、アミノ、置換アミノ、アミノアシル、アシルアミノ、アルカリール、アリール、アリールオキシ、アジド、カルボキシル、カルボキシルアルキル、シアノ、ハロゲン、ニトロ、ヘテロアリール、ヘテロアリールオキシ、ヘテロシクリル、ヘテロシクロオキシ、アミノアシルオキシ、オキシアシルアミノ、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、チオアリールオキシ、チオヘテロアリールオキシ、 $-\text{SO}-$ アルキル、 $-\text{SO}-$ 置換アルキル、 $-\text{SO}-$ アリール、 $-\text{SO}-$ ヘテロアリール、 $-\text{SO}_2$ -アルキル、 $-\text{SO}_2$ -置換アルキル、 $-\text{SO}_2$ -アリール、 $-\text{SO}_2$ -ヘテロアリールおよびトロハロメチルから選択される、1~5つの置換基、または1~3つの置換基で置換されていてもよい。

30

#### 【0015】

「ヘテロアリール」は、環内の1~15炭素原子、例えば、1~10炭素原子ならびに酸素、窒素、および硫黄からなる群より選択される1~10ヘテロ原子の芳香族基を意味する。そのようなヘテロアリール基は、単一の環（ピリジニル、イミダゾリルまたはフリルなどの）または環系中（例えば、インドリジニル、キノリニル、ベンゾフラン、ベンズイミダゾリルまたはベンゾチエニルなどの基中）に複数の縮合環を有し得、ここで環系内の少なくとも1つの環は芳香族であり、かつ環系内の少なくとも1つの環は芳香族であり、ただし結合点は芳香環の原子を通じてであることを条件とする。一定の態様において、ヘテロアリール基の窒素および/または硫黄環原子は、任意に酸化されてN-オキシド（N=O）、スルフィニル、またはスルホニル部分を提供する。この用語は、例として、ピリジニル、ピロリル、インドリル、チオフェニル、およびフラニルを含む。ヘテロアリール置換基の定義

40

50

によって別に制約されないかぎり、そのようなヘテロアリール基は、アシルオキシ、ヒドロキシ、チオール、アシル、アルキル、アルコキシ、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、シクロアルケニル、置換アルキル、置換アルコキシ、置換アルケニル、置換アルキニル、置換シクロアルキル、置換シクロアルケニル、アミノ、置換アミノ、アミノアシル、アシルアミノ、アルカリール、アリール、アリールオキシ、アジド、カルボキシル、カルボキシルアルキル、シアノ、ハロゲン、ニトロ、ヘテロアリール、ヘテロアリールオキシ、ヘテロシクリル、ヘテロシクロオキシ、アミノアシルオキシ、オキシアシルアミノ、チオアルコキシ、置換チオアルコキシ、チオアリールオキシ、チオヘテロアリールオキシ、 $-SO-$ アルキル、 $-SO-$ 置換アルキル、 $-SO-$ アリール、 $-SO-$ ヘテロアリール、 $-SO_2-$ アルキル、 $-SO_2-$ 置換アルキル、 $-SO_2-$ アリールおよび $-SO_2-$ ヘテロアリール、ならびにトリハロメチルから選択される、1~5つの置換基、または1~3つの置換基で置換されていてもよい。

10

## 【0016】

「複素環」、「複素環式」、「ヘテロシクロアルキル」、および「ヘテロシクリル」は、単一の環または縮合架橋およびスピロ環系を含む複数の縮合環を有し、かつ1~10のヘテロ原子を含む3~20の環原子を有する、飽和または不飽和基を意味する。これらの環原子は、窒素、硫黄、または酸素からなる群より選択され、ここで、縮合環系において、1つまたは複数の環はシクロアルキル、アリール、またはヘテロアリールであり得、ただし結合点是非芳香環を通じてであることを条件とする。一定の態様において、複素環式基の窒素および/または硫黄原子は任意に酸化されてN-オキシド、 $-S(O)-$ 、または $-SO_2-$ 部分を

20

## 【0017】

複素環およびヘテロアリールの例には、アゼチジン、ピロール、イミダゾール、ピラゾール、ピリジン、ピラジン、ピリミジン、ピリダジン、インドリジン、イソインドール、インドール、ジヒドロインドール、インダゾール、プリン、キノリジン、イソキノリン、キノリン、フタラジン、ナフチルピリジン、キノキサリン、キナゾリン、シンノリン、プテリジン、カルバゾール、カルボリン、フェナントリジン、アクリジン、フェナントロリン、イソチアゾール、フェナジン、イソキサゾール、フェノキサジン、フェノチアジン、イミダゾリジン、イミダゾリン、ペペリジン、ペペラジン、インドリン、フタルイミド、1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン、4,5,6,7-テトラヒドロベンゾ[b]チオフエン、チアゾール、チアゾリジン、チオフエン、ベンゾ[b]チオフエン、モルホリニル、チオモルホリニル(チアモルホリニルとも呼ばれる)、1,1-ジオキソチオモルホリニル、ペペリジニル、ピロリジン、テトラヒドロフラニルなどが含まれるが、それらに限定されない。

30

## 【0018】

本明細書における開示に加えて、「置換された」なる用語は、指定の基またはラジカルを修飾するために用いられる場合、指定の基またはラジカルは1つまたは複数の水素原子がそれぞれ、互いに独立に、以下に定義する同じまたは異なる置換基で置き換えられていることも意味し得る。

## 【0019】

本明細書における個々の用語に関して開示される基に加えて、指定の基またはラジカルにおける飽和炭素原子上の1つまたは複数の水素を置換するための置換基(1つの炭素上の任意の2つの水素は $=O$ 、 $=NR^{70}$ 、 $=N-OR^{70}$ 、 $=N_2$ または $=S$ で置き換えられ得る)は、特に記載がないかぎり、 $-R^{60}$ 、ハロ、 $=O$ 、 $-OR^{70}$ 、 $-SR^{70}$ 、 $-NR^{80}R^{80}$ 、トリハロメチル、 $-CN$ 、 $-OCN$ 、 $-SCN$ 、 $-NO$ 、 $-NO_2$ 、 $=N_2$ 、 $-N_3$ 、 $-SO_2R^{70}$ 、 $-SO_2O^+M^+$ 、 $-SO_2OR^{70}$ 、 $-OSO_2R^{70}$ 、 $-OSO_2O^+M^+$ 、 $-OSO_2OR^{70}$ 、 $-P(O)(O^-)_2(M^+)_2$ 、 $-P(O)(OR^{70})O^+M^+$ 、 $-P(O)(OR^{70})_2$ 、 $-C(O)R^{70}$ 、 $-C(S)R^{70}$ 、 $-C(NR^{70})R^{70}$ 、 $-C(O)O^+M^+$ 、 $-C(O)OR^{70}$ 、 $-C(S)OR^{70}$ 、 $-C(O)NR^{80}R^{80}$ 、 $-C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$ 、 $-OC(O)R^{70}$ 、 $-OC(S)R^{70}$ 、 $-OC(O)O^+M^+$ 、 $-OC(O)OR^{70}$ 、 $-OC(S)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)R^{70}$ 、 $-NR^{70}C(S)R^{70}$ 、 $-NR^{70}CO_2^+M^+$ 、 $-NR^{70}CO_2R^{70}$ 、 $-NR^{70}C(S)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)NR^{80}R^{80}$ 、 $-NR^{70}C(NR^{70})R^{70}$ および $-NR^{70}C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$ であり、ここで $R^{60}$ は置換されていてもよいアルキル、シクロアルキル、ヘテロアルキル、ヘテロシクロアルキルアルキル、シクロアルキルアルキル、アリ

40

50

ール、アリールアルキル、ヘテロアリールおよびヘテロアリールアルキルからなる群より選択され、各 $R^{70}$ は独立に水素または $R^{60}$ であり；各 $R^{80}$ は独立に $R^{70}$ であるか、または2つの $R^{80}$ は、それらが結合している窒素原子と一緒に、5、6または7員ヘテロシクロアルキルを形成し、これはO、NおよびSからなる群より選択される同じまたは異なる追加のヘテロ原子の1~4つを任意に含んでもよく、そのうちNは-Hまたは $C_1$ - $C_3$ アルキル置換を有してもよく；かつ各 $M^+$ は正味の1正電荷を有する対イオンである。各 $M^+$ は独立に、例えば、 $K^+$ 、 $Na^+$ 、 $Li^+$ などのアルカリイオン； $N(R^{60})_4$ などのアンモニウムイオン；または $[Ca^{2+}]_{0.5}$ 、 $[Mg^{2+}]_{0.5}$ 、もしくは $[Ba^{2+}]_{0.5}$ （「下付き文字0.5は、そのような二価アルカリ土類イオンの対イオンの一方が本発明の化合物のイオン化型であり、他方が塩化物などの典型的な対イオンであり得ること、または2つの本明細書において開示するイオン化合物がそのような二価アルカリ土類イオンの対イオンとして役立ち得ること、または本発明の二重イオン化合物がそのような二価アルカリ土類イオンの対イオンとして役立ち得ることを意味する）などのアルカリ土類イオンであってもよい。具体例として、 $-NR^{80}R^{80}$ は $-NH_2$ 、 $-NH$ -アルキル、 $N$ -ピロリジニル、 $N$ -ピペラジニル、 $4N$ -メチル-ピペラジン-1-イルおよび $N$ -モルホリニルを含むことになる。

10

#### 【0020】

本明細書における開示に加えて、「置換」アルケン、アルキン、アリールおよびヘテロアリール基における不飽和炭素原子上の水素の置換基は、特に記載がないかぎり、 $-R^{60}$ 、ハロ、 $-O^+M^+$ 、 $-OR^{70}$ 、 $-SR^{70}$ 、 $-S^+M^+$ 、 $-NR^{80}R^{80}$ 、トリハロメチル、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-OCN$ 、 $-SCN$ 、 $-NO$ 、 $-NO_2$ 、 $-N_3$ 、 $-SO_2R^{70}$ 、 $-SO_3^+M^+$ 、 $-SO_3R^{70}$ 、 $-OSO_2R^{70}$ 、 $-OSO_3^+M^+$ 、 $-OSO_3R^{70}$ 、 $-PO_3^{2-}(M^+)_2$ 、 $-P(O)(OR^{70})O^+M^+$ 、 $-P(O)(OR^{70})_2$ 、 $-C(O)R^{70}$ 、 $-C(S)R^{70}$ 、 $-C(NR^{70})R^{70}$ 、 $-CO_2^+M^+$ 、 $-CO_2R^{70}$ 、 $-C(S)OR^{70}$ 、 $-C(O)NR^{80}R^{80}$ 、 $-C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$ 、 $-OC(O)R^{70}$ 、 $-OC(S)R^{70}$ 、 $-OCO_2^+M^+$ 、 $-OCO_2R^{70}$ 、 $-OC(S)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)R^{70}$ 、 $-NR^{70}C(S)R^{70}$ 、 $-NR^{70}CO_2^+M^+$ 、 $-NR^{70}CO_2R^{70}$ 、 $-NR^{70}C(S)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)NR^{80}R^{80}$ 、 $-NR^{70}C(NR^{70})R^{70}$ および $-NR^{70}C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$ であり、ここで $R^{60}$ 、 $R^{70}$ 、 $R^{80}$ および $M^+$ は前に定義したとおりであり、ただし置換アルケンまたはアルキンの場合、置換基は $-O^+M^+$ 、 $-OR^{70}$ 、 $-SR^{70}$ 、または $-S^+M^+$ ではないことを条件とする。

20

#### 【0021】

本明細書における個々の用語に関して開示される基に加えて、「置換」ヘテロアルキルおよびシクロヘテロアルキル基における窒素原子上の水素の置換基は、特に記載がないかぎり、 $-R^{60}$ 、 $-O^+M^+$ 、 $-OR^{70}$ 、 $-SR^{70}$ 、 $-S^+M^+$ 、 $-NR^{80}R^{80}$ 、トリハロメチル、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-NO$ 、 $-NO_2$ 、 $-S(O)_2R^{70}$ 、 $-S(O)_2O^+M^+$ 、 $-S(O)_2OR^{70}$ 、 $-OS(O)_2R^{70}$ 、 $-OS(O)_2O^+M^+$ 、 $-OS(O)_2OR^{70}$ 、 $-P(O)(O^-)_2(M^+)_2$ 、 $-P(O)(OR^{70})O^+M^+$ 、 $-P(O)(OR^{70})(OR^{70})$ 、 $-C(O)R^{70}$ 、 $-C(S)R^{70}$ 、 $-C(NR^{70})R^{70}$ 、 $-C(O)OR^{70}$ 、 $-C(S)OR^{70}$ 、 $-C(O)NR^{80}R^{80}$ 、 $-C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$ 、 $-OC(O)R^{70}$ 、 $-OC(S)R^{70}$ 、 $-OC(O)OR^{70}$ 、 $-OC(S)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)R^{70}$ 、 $-NR^{70}C(S)R^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(S)OR^{70}$ 、 $-NR^{70}C(O)NR^{80}R^{80}$ 、 $-NR^{70}C(NR^{70})R^{70}$ および $-NR^{70}C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$ であり、ここで $R^{60}$ 、 $R^{70}$ 、 $R^{80}$ および $M^+$ は前に定義したとおりである。

30

#### 【0022】

本明細書における開示に加えて、一定の態様において、置換されている基は1、2、3、もしくは4つの置換基、1、2、もしくは3つの置換基、1もしくは2つの置換基、または1つの置換基を有する。

40

#### 【0023】

上で定義したすべての置換基において、それ自体へのさらなる置換基を有する置換基を定義することによって得られるポリマー（例えば、それ自体が置換アリール基で置換され、その置換アリール基もさらに置換アリール基によって置換されている、置換基としての置換アリールを有する置換アリールなど）は、本明細書に含まれることが意図されない。そのような場合、そのような置換の最大数は3である。例えば、本明細書において具体的に企図される置換アリール基の連続置換は、置換アリール-(置換アリール)-置換アリールに制限される。

#### 【0024】

50



特に記載がないかぎり、本明細書において明白に定義されない置換基の名称は、官能基の末端部分を命名し、続いて結合点に向かって隣接する官能基を命名することにより得られる。例えば、置換基「アリーラルキルオキシカルボニル」は、基(アリール)-(アルキル)-O-C(=O)-を意味する。

【0025】

1つまたは複数の置換基を含む本明細書において開示する任意の基に関して、当然のことながら、そのような基は立体的に実現不可能および/または合成的に実行不可能な任意の置換または置換パターンを含まないことが理解される。加えて、本化合物は、これらの化合物の置換から得られるすべての立体化学的異性体を含む。

【0026】

「薬学的に許容される塩」なる用語は、哺乳動物などの患者への投与のために許容される塩(所与の投薬法に対して許容される哺乳動物の安全性を有する対イオンとの塩)を意味する。そのような塩は、薬学的に許容される無機または有機塩基および薬学的に許容される無機または有機酸から誘導することができる。「薬学的に許容される塩」は、その塩が、当技術分野において周知で、例にすぎないが、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、アンモニウム、テトラアルキルアンモニウムなどを含む、様々な有機および無機対イオンから誘導される、化合物の薬学的に許容される塩; ならびに分子が塩基性官能基を含む場合は、塩酸塩、臭化水素酸塩、ギ酸塩、酒石酸塩、ベシル酸塩、メシル酸塩、酢酸塩、マレイン酸塩、シュウ酸塩などの有機または無機酸の塩を意味する。

【0027】

「その塩」なる用語は、酸のプロトンが金属カチオンまたは有機カチオンなどのカチオンによって置き換えられたときに生成される化合物を意味する。該当する場合、塩は薬学的に許容される塩であるが、これは患者への投与が意図されない中間化合物の塩には要求されない。例として、本発明の化合物の塩には、化合物が無機または有機酸によってプロトン化されてカチオンを生成する場合の、塩のアニオン成分としての無機または有機酸の共役塩基との塩が含まれる。

【0028】

「溶媒和物」とは、溶媒分子と溶質の分子またはイオンとの組み合わせによって生成される複合体を意味する。溶媒は、有機化合物、無機化合物、または両方の混合物であり得る。溶媒のいくつかの例には、メタノール、N,N-ジメチルホルムアミド、テトラヒドロフラン、ジメチルスルホキシド、および水が含まれるが、それらに限定されない。溶媒が水の場合、生成される溶媒和物は水和物である。

【0029】

「立体異性体」とは、同じ原子連結性を有するが、空間の原子配列は異なる化合物を意味する。立体異性体には、シス-トランス異性体、EおよびZ異性体、鏡像異性体、ならびにジアステレオマーが含まれる。

【0030】

「互変異性体」とは、エノール-ケトおよびイミン-エナミン互変異性体などの、原子の電子結合および/もしくはプロトンの位置のみ異なる分子の交互の型、またはピラゾール、イミダゾール、ベンズイミダゾールトリアゾール、およびテトラゾールなどの、-N=C(H)-NH-環原子配列を含むヘテロアリール基の互変異性型を意味する。当業者であれば、他の互変異性環原子配列も可能であることを理解するであろう。

【0031】

「またはその塩もしくは溶媒和物もしくは立体異性体」なる用語は、本化合物の立体異性体の薬学的に許容される塩の溶媒和物などの、塩、溶媒和物および立体異性体のすべての並べ替えを含むことが意図されることが理解されるであろう。

【0032】

「薬学的有効量」および「治療的有效量」とは、指定の障害もしくは疾患またはその症状の1つもしくは複数の治療するため、および/あるいは疾患または障害の出現を防止するために十分な化合物の量を意味する。腫瘍原性増殖性障害に関して、薬学的または治療的

10

20

30

40

50

有効量は、特に、腫瘍の収縮を引き起こす、または腫瘍の成長速度を低減させるのに十分な量を含む。

【0033】

詳細な説明

本発明の化合物および方法を記載する前に、記載する特定の化合物および方法は、当然のことながら、変動し得るため、本発明はそれらに限定されないことが理解されるべきである。また、本発明の範囲は添付の特許請求の範囲によってのみ限定されるため、本明細書において用いられる用語は特定の態様を記載するためにすぎず、限定的であることを意図しないことも理解されるべきである。

【0034】

値の範囲が提供される場合、文脈が明らかにそうではないと示さないかぎり、その範囲の上限と下限との間の、下限の単位の10分の1までのそれぞれの介在値も、具体的に開示されることが理解される。指定の範囲における任意の指定の値または介在値と、その指定の範囲における任意の他の指定の値または介在値との間のより小さい範囲はそれぞれ、本発明の範囲内に含まれる。これらのより小さい範囲の上限および下限は独立に範囲に含まれ、または除外されてもよく、指定の範囲において任意の具体的に除外される限界があるとの条件で、限界のいずれか、もしくは両方がより小さい範囲に含まれる、またはいずれも含まれない、それぞれの範囲も本発明の範囲内に含まれる。指定の範囲が限界の一方または両方を含む場合、それらの含まれる限界のいずれか、または両方を除外する範囲も本発明に含まれる。

【0035】

特に記載がないかぎり、本明細書において用いられるすべての技術および科学用語は、当業者によって一般に理解されるのと同じ意味を有する。本明細書に記載のものと類似または等価の任意の方法および材料を本発明の実施または試験において用い得るが、いくつかの可能性のある好ましい方法および材料をここに記載する。本明細書において言及するすべての出版物は、出版物が引用されるものと関連して方法および/または材料を開示および記載するために、参照により本明細書に組み入れられる。本開示は、矛盾がある範囲までの組み入れられた出版物のいかなる開示にも取って代わることが理解される。

【0036】

本明細書および添付の特許請求の範囲において用いられる単数形「1つの(a)」、「1つの(an)」、および「その(the)」は、文脈が明らかにそうではないと示さないかぎり、複数の指示物を含むことに留意しなければならない。したがって、例えば、「1つの化合物」への言及はそのような化合物の複数を含み、「その方法」への言及は当業者には公知の1つまたは複数の方法およびその等価物への言及を含み、他も同様である。

【0037】

本明細書に記載される出版物は、本出願の出願日より以前にそれらが開示されているためだけに提供される。本明細書における如何なるものも、先行発明によりそのような出版物に先行する権利が本発明にはないと自認したと解釈されるべきではない。さらに、提供される出版物の日付は実際の出版日とは異なることもあり、これらは独立に確認する必要がある。

【0038】

代謝抵抗性フェンフルラミン類縁体

本開示は、全身代謝に抵抗性のフェンフルラミンの構造および/または機能類縁体に関する。本明細書において用いられる「フェンフルラミン類縁体」なる用語は、フェンフルラミンの構造および/または機能類縁体を意味する。フェンフルラミンの機能類縁体は必ずしも構造類縁体ではない。特に記載がないかぎり、本明細書において用いられるフェンフルラミン類縁体は機能および構造類縁体の両方を含む。いくつかの場合には、本フェンフルラミン類縁体は、インビボでの脱エチル化ノルフェンフルラミンへの代謝に抵抗性である。

【0039】

10

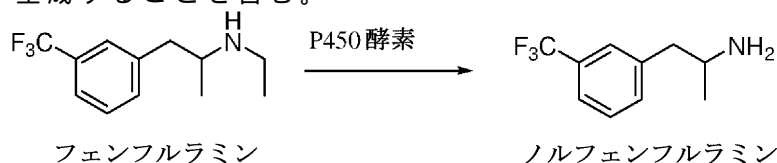
20

30

40

50

フェンフルラミンは、心疾患の事例増大のために薬物市場から撤退させられた、有効な食欲抑制剤である。フェンフルラミンはインビボでノルフェンフルラミンへと代謝される。そのような代謝は、以下に示すように、N-エチル基を切断してノルフェンフルラミンを生成することを含む。



#### 【 0 0 4 0 】

脱エチル化ノルフェンフルラミン代謝物は、肺高血圧および大動脈弁疾患の増大などの副作用を引き起こす、望ましくない生物活性を有し得る。

#### 【 0 0 4 1 】

本開示は、そのような望ましくない代謝に対して安定化されている化合物を提供する。本明細書において用いられる「代謝抵抗性」なる用語は、化合物の所期の薬理効果を低減するフェンフルラミンの任意の代謝経路に対するフェンフルラミンの安定性を意味する。それに対して本化合物が抵抗性であり得る、関心対象の1つの代謝経路は、肝臓内のP450酵素を介して起こりうる脱エチル化である。いくつかの場合には、フェンフルラミン類縁体は代謝的に安定と言う。

#### 【 0 0 4 2 】

##### ノルフェンフルラミンへの代謝

フェンフルラミンはインビボで、肝臓内のチトクロムP450酵素などの代謝酵素によってノルフェンフルラミンへと代謝される。フェンフルラミンをノルフェンフルラミンへと変換するヒト肝臓内の酵素には、CYP1A2、CYP2B6、およびCYP2D6が含まれ；CYP2C9、CYP2C19、およびCYP3A4も役割を果たす。

#### 【 0 0 4 3 】

##### フェンフルラミン類縁体

本開示の局面は、例えば、代謝酵素（例えば、本明細書に記載のとおり）の作用を介してのN-脱アルキル化に抵抗性のフェンフルラミンの類縁体を含む。いくつかの態様において、フェンフルラミン類縁体はチトクロムP450酵素に抵抗性である。一定の場合に、フェンフルラミン類縁体は、CYP2D6、CYP2C19、CYP1A2、CYP2B6、CYP3A4およびCYP2C9から選択されるP450酵素に抵抗性である。一定の場合に、フェンフルラミン類縁体は、CYP1A2、CYP2B6およびCYP2D6から選択されるP450酵素に抵抗性である。いくつかの場合に、本フェンフルラミン類縁体は、インビボでの一級アミンに対する脱アルキル化に対して安定化されている、二級、三級または四級アミノ基を含む。

#### 【 0 0 4 4 】

いくつかの場合に、類縁体はフッ化化合物、例えば、一つまたは複数のフッ素置換基を含むフェンフルラミンの類縁体である。いくつかの場合に、類縁体は、フェンフルラミンのアミン窒素に隣接する位置にフッ素置換基を含む。「隣接する」とは、アミン窒素のアルファ、ベータまたはガンマに位置する炭素原子の位置の置換を意味する。いくつかの態様において、フェンフルラミン類縁体は、チトクロムP450酵素に対する抵抗性を化合物に与える、1つまたは複数の追加の非フッ素置換基をさらに含む。一定の場合に、フェンフルラミン類縁体は、CYP2D6、CYP2C19、CYP1A2、CYP2B6、CYP3A4およびCYP2C9から選択されるP450酵素に対する抵抗性を化合物に与える、1つまたは複数の追加の非フッ素置換基をさらに含む。一定の場合に、フェンフルラミン類縁体は、CYP1A2、CYP2B6およびCYP2D6から選択されるP450酵素に対する抵抗性を化合物に与える、1つまたは複数の追加の非フッ素置換基をさらに含む。一定の場合に、類縁体は、CYP2D6代謝に対する抵抗性を化合物に与える、1つまたは複数の追加の非フッ素置換基をさらに含む。

#### 【 0 0 4 5 】

一般論として、pKaの変化は、P450酵素（例えば、CYP2D6）基質結合に顕著な影響をお

よばし得る。より塩基性のアミン基を含むP450酵素基質ほど、より高い親和性および触媒効率に関連する。本開示は、アミノ基のpKaがフェンフルラミンのアミン基に比べて低下している（すなわち、より低い塩基性）、フッ素置換類縁体を提供する。

【0046】

加えて、P450酵素などの代謝酵素の置換基の高い親油性は、高い親和性および触媒効率に関連し得る。一定の場合に、P450酵素はCYP2D6、CYP2C19、CYP1A2、CYP2B6 CYP3A4およびCYP2C9から選択される。本開示は、所望の低い親油性を化合物に与える、フェンフルラミンには存在しない1つまたは複数の親水性置換基を含む、フェンフルラミンの置換類縁体を提供する。

【0047】

関心対象の生物活性化合物の重水素化は、薬動力学（PK）、薬力学（PD）、および/または毒性の側面が改善された類縁体を生成し得る。いくつかの態様において、関心対象のフェンフルラミン類縁体は、アミノ窒素原子に隣接する任意の好都合な位置（例えば、本明細書に記載のとおり）に重水素置換基を含む。一定の場合に、フェンフルラミン類縁体は、3以上、4以上、または5以上の重水素置換基などの、複数の重水素置換基を含む。いくつかの場合に、重水素置換基は化合物上のアミノN原子に隣接する炭素原子、例えば、アルファ炭素原子上に位置する。いくつかの場合に、複数の重水素置換基はアミノ窒素に隣接する同じ炭素原子上に位置する。

【0048】

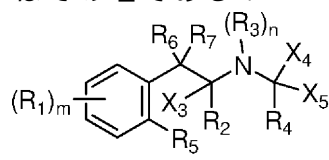
本フェンフルラミン類縁体に組み込むことができる関心対象の他の修飾には、フェンフルラミンの $-CF_3$ アリール置換基の、例えば、等配電子または等電子基による置き換え、および四級アミノ基の導入が含まれるが、それらに限定されない。いくつかの場合に、フェンフルラミンは、 $-SF_5$ アリール置換基を含む。一定の場合に、フェンフルラミン類縁体は、アミノ窒素が四級アミン、すなわち、正に荷電したアンモニウム基である、N-アルキル化類縁体である。いくつかの態様において、類縁体はN-メチル化アミン基を含む。

【0049】

本開示の局面は、化合物の代謝酵素への結合を立体的に妨害する、アミノN原子上の追加の置換基を含む、フェンフルラミン類縁体を含む。立体的に嵩高い基を提供するために、本化合物のN原子に任意の好都合な置換基を含んでもよい。いくつかの場合に、関心対象のN-置換基はN-アルキルまたはN-置換アルキル基である。いくつかの場合に、N-置換基はN-アリール、N-ヘテロアリール、N-置換アリールまたはN-置換ヘテロアリール基である。関心対象の置換基には、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、tert-ブチル、トリフルオロメチル、フェニル、ベンジルおよび置換ベンジルが含まれるが、それらに限定されない。いくつかの態様において、類縁体はN-t-ブチル基を含む。

【0050】

いくつかの態様において、フェンフルラミン類縁体は、式（I）を有する化合物、またはその塩である：



式中：

$R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_4$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ および $R_7$ は独立に水素、ハロゲン、 $X_1$ 、 $X_2$ 、アルコキシ、アシル、置換アシル、カルボキシ、シアノ、ヒドロキシ、アルコキシ、置換アルコキシ、アルキル、置換アルキル、アリール、置換アリール、複素環、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、置換複素環から選択され、または第2の $R^1 \sim R^7$ 基と一緒に、置換されていてよいシクロアルキル環、複素環、アリール環もしくはヘテロアリール環を形成し、 $R_2$ と $R_5$ 、 $R_2$ と $R_4$ 、 $R_1$ と $R_5$ 、 $R_6$ と $R_7$ 、および/または $R_3$ と $R_6$ は環状に連結されており； $X_1 \sim X_5$ はそれぞれ独立にH、D、F、アルキルまたは置換アルキルであり； $m$ は0～4であり；かつ

10

20

30

40

50

nは1または2であり、nが2である場合、窒素は正に荷電している。

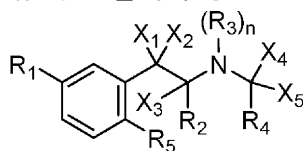
【0051】

式(1)のいくつかの態様において、 $R_2$ と $R_5$ は一緒に環状に連結されて、置換されていてもよいシクロアルキル環、複素環、アリール環またはヘテロアリール環を形成する。式(1)のいくつかの態様において、 $R_2$ と $R_4$ は一緒に環状に連結されて、置換されていてもよいシクロアルキル環、複素環、アリール環またはヘテロアリール環を形成する。式(1)のいくつかの態様において、 $R_1$ と $R_5$ は一緒に環状に連結されて、置換されていてもよいシクロアルキル環、複素環、アリール環またはヘテロアリール環を形成する。式(1)のいくつかの態様において、 $R_6$ と $R_7$ は一緒に環状に連結されて、置換されていてもよいシクロアルキル環、複素環、アリール環またはヘテロアリール環を形成する。式(1)のいくつかの態様において、 $R_3$ と $R_6$ は一緒に環状に連結されて、置換されていてもよいシクロアルキル環、複素環、アリール環またはヘテロアリール環を形成する

10

【0052】

いくつかの態様において、フェンフルラミン類縁体は、式(II)を有する化合物、またはその塩である：



(II)

20

式中：

$R_1$ はアルキル、置換アルキル（例えば、 $CF_3$ ）または $SF_5$ であり；

$R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_4$ および $R_5$ は独立に水素、ハロゲン、アルコキシ、アシル、置換アシル、カルボキシ、シアノ、ヒドロキシ、アルコキシ、置換アルコキシ、アルキル、置換アルキル、アリール、置換アリール、複素環、ヘテロアリール、置換ヘテロアリールおよび置換複素環から選択され、 $R_2$ と $R_5$ または $R_2$ と $R_4$ は任意に環状に連結されており；

$X_1 \sim X_5$ はそれぞれ独立にH、D、F、アルキルまたは置換アルキルであり；かつ

nは1または2であり、nが2である場合、窒素は正に荷電している。式(1)～(II)のいくつかの態様において、 $R_2$ および $R_4$ は独立に水素、アルキル、置換アルキル、アリール、置換アリール、複素環、ヘテロアリール、置換ヘテロアリールおよび置換複素環から選択される。式(II)のいくつかの態様において、 $R_2$ と $R_5$ は一緒に環状に連結されて、置換されていてもよいシクロアルキル環、複素環、アリール環またはヘテロアリール環を形成する。式(II)のいくつかの態様において、 $R_2$ と $R_4$ は一緒に環状に連結されて、置換されていてもよいシクロアルキル環、複素環、アリール環またはヘテロアリール環を形成する。一定の場合に、 $R_2$ は $R_5$ に環状に連結されて、例えば、5、6または7員炭素環または複素環を形成し、これは飽和でも不飽和でもよい。式(1)～(II)のいくつかの態様において、 $R_5$ は水素、ハロゲン、アルコキシ、アシル、置換アシル、カルボキシ、シアノ、置換アルコキシ、アルキルおよび置換アルキルから選択される。一定の場合に、 $R_5$ は $R_2$ に環状に連結されて、例えば、5、6または7員炭素環または複素環を形成し、これは飽和でも不飽和でもよい。式(1)～(II)のいくつかの態様において、各 $R_3$ は水素、アルキルおよび置換アルキルから選択される。式(1)～(II)のいくつかの態様において、nは1である。式(1)～(II)のいくつかの態様において、nは2である。式(1)のいくつかの態様において、 $R_3$ はHである。式(1)～(II)のいくつかの態様において、 $R_3$ はHである。いくつかの場合に、 $R_3$ はヘテロアリール、置換アリール、置換ヘテロアリールから選択される。いくつかの場合に、 $R_3$ はメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、tert-ブチル、トリフルオロメチル、フェニル、ベンジルおよび置換ベンジルから選択される。式(1)～(II)のいくつかの態様において、 $R_3$ はt-ブチルであり、かつnは1である。

30

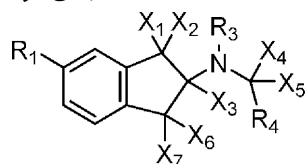
40

【0053】

式(1)～(II)のいくつかの態様において、フェンフルラミン類縁体は式(III)を有

50

する：



(III)

式中、 $X_1 \sim X_7$ はそれぞれ独立にH、DまたはFであり、かつ $R_1$ 、 $R_3$ および $R_4$ は式(Ⅰ)の任意の態様において定義したとおりである。式(Ⅲ)のいくつかの態様において、 $R_3$ は水素、アルキルおよび置換アルキルから選択される。式(Ⅲ)のいくつかの態様において、 $R_3$ はHである。式(Ⅲ)のいくつかの態様において、 $R_3$ はヘテロアリール、置換アリール、置換ヘテロアリールから選択される。いくつかの場合に、 $R_3$ はメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、tert-ブチル、トリフルオロメチル、フェニル、ベンジルおよび置換ベンジルから選択される。式(Ⅲ)のいくつかの態様において、 $R_3$ はt-ブチルである。

10

【0054】

式(Ⅲ)のいくつかの態様において、 $X_1 \sim X_7$ はそれぞれ独立にHまたはFである。式(Ⅲ)のいくつかの態様において、 $X_1 \sim X_7$ の少なくとも1つはFである。式(Ⅲ)のいくつかの態様において、 $X_1 \sim X_7$ の少なくとも2つはFである。式(Ⅲ)のいくつかの態様において、 $X_1 \sim X_7$ の少なくとも3つはFである。式(Ⅲ)のいくつかの態様において、 $X_1 \sim X_7$ の少なくとも4つはFである。式(Ⅲ)のいくつかの態様において、 $X_1 \sim X_7$ の少なくとも5つはFである。式(Ⅲ)のいくつかの態様において、 $X_1 \sim X_7$ の少なくとも6つはFである。

20

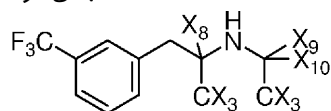
【0055】

式(Ⅲ)のいくつかの態様において、 $X_1 \sim X_7$ はそれぞれ独立にHまたはDである。式(Ⅲ)のいくつかの態様において、 $X_1 \sim X_7$ の少なくとも1つはDである。式(Ⅲ)のいくつかの態様において、 $X_1 \sim X_7$ の少なくとも2つはDである。式(Ⅲ)のいくつかの態様において、 $X_1 \sim X_7$ の少なくとも3つはDである。式(Ⅲ)のいくつかの態様において、 $X_1 \sim X_7$ の少なくとも4つはDである。式(Ⅲ)のいくつかの態様において、 $X_1 \sim X_7$ の少なくとも5つはDである。式(Ⅲ)のいくつかの態様において、 $X_1 \sim X_7$ の少なくとも6つはDである。

30

【0056】

式(Ⅰ)～(Ⅱ)のいくつかの態様において、フェンフルラミン類縁体は式(Ⅳ)を有する：



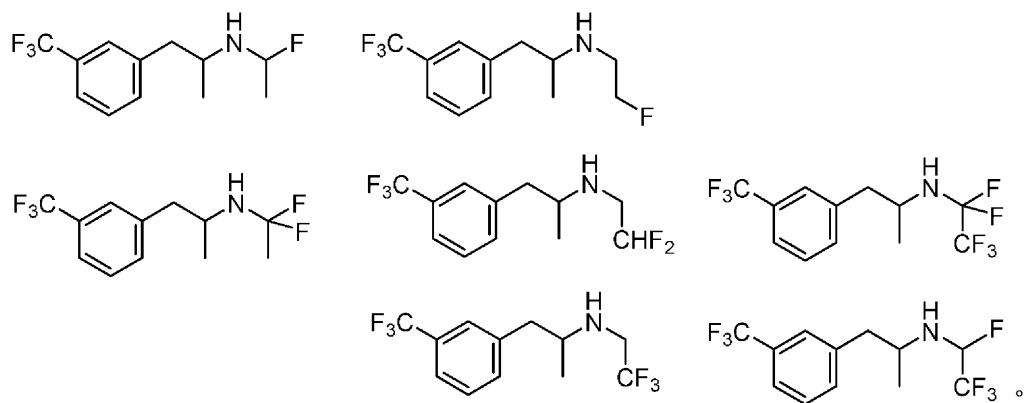
(IV)

式中、 $X_8 \sim X_{10}$ および各Xは独立にH、DまたはFであり、ただし少なくとも1つの $X_8 \sim X_{10}$ またはXがFであることを条件とする。式(Ⅳ)のいくつかの態様において、各XはFである。式(Ⅳ)のいくつかの態様において、各XはDである。式(Ⅳ)のいくつかの態様において、各XはHである。式(Ⅳ)のいくつかの態様において、各XはFである。式(Ⅳ)のいくつかの態様において、 $X_8$ はFである。式(Ⅳ)のいくつかの態様において、 $X_9$ および $X_{10}$ はそれぞれFである。

40

【0057】

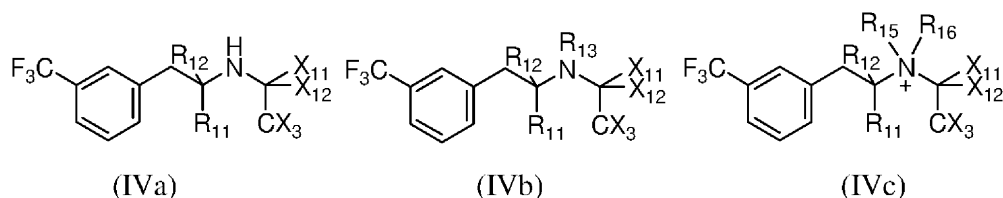
式(Ⅳ)のいくつかの態様において、フェンフルラミン類縁体は以下の構造の1つを有する：



10

## 【 0 0 5 8 】

式 (I) のいくつかの態様において、フェンフルラミン類縁体は式 (IVa) ~ (IVc) の1つを有する：



20

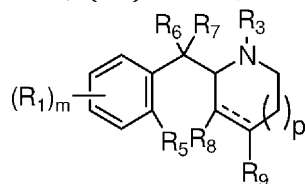
式中、 $X_{11}$ 、 $X_{12}$  および各Xは独立にH、DまたはFであり；かつ

$R_{11}$  ~  $R_{16}$  はそれぞれ独立にアルキルまたは置換アルキルである。式 (IVa) ~ (IVc) のいくつかの態様において、各XはFである。式 (IVa) ~ (IVc) のいくつかの態様において、 $X_{11}$  はFであり、かつ $X_{12}$  はHである。式 (IVa) ~ (IVc) のいくつかの態様において、 $X_{11}$  はFであり、かつ $X_{12}$  はFである。式 (IVa) ~ (IVc) のいくつかの態様において、 $X_{11}$  はFであり、かつ $X_{12}$  はDである。式 (IVa) ~ (IVc) のいくつかの態様において、 $X_{11}$  はDであり、かつ $X_{12}$  はDである。式 (IVa) ~ (IVc) のいくつかの態様において、 $R_{11}$  は置換アルキル（例えば、本明細書に記載のとおり）である。式 (IVa) ~ (IVc) のいくつかの態様において、 $R_{12}$  は置換アルキル（例えば、本明細書に記載のとおり）である。式 (IVa) ~ (IVc) のいくつかの態様において、 $R_{13}$  はメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、tert-ブチル、トリフルオロメチル、フェニル、ベンジルおよび置換ベンジルから選択される。式 (IVa) ~ (IVc) のいくつかの態様において、 $R_{13}$  はtert-ブチルである。式 (IVa) ~ (IVc) のいくつかの態様において、 $R_{15}$  および $R_{16}$  はそれぞれメチルなどのアルキルである。

30

## 【 0 0 5 9 】

式 (I) のいくつかの態様において、フェンフルラミン類縁体は式 (V) を有する：



(V)

40

式中、 $R_1$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_7$  およびmは上で定義したとおりであり、pは0、1または2であり、かつ $R_8$  および $R_9$  は独立に水素、ハロゲン、アルコキシ、アシル、置換アシル、カルボキシ、シアノ、ヒドロキシ、アルコキシ、置換アルコキシ、アルキル、置換アルキル、アリール、置換アリール、複素環、ヘテロアリール、置換ヘテロアリールおよび置換複素環から選択され、または $R_8$  および $R_9$  は環状に連結されて、さらに置換されていてもよい5または6員シクロアルキル、複素環、アリールまたはヘテロアリール環を形成し、ここで破線の結合は一重または二重共有結合を表す。

## 【 0 0 6 0 】

50

式(V)のいくつかの態様において、 $R^8$ および $R^9$ は環状に連結されていない。式(V)のいくつかの態様において、 $p$ は0である。式(V)のいくつかの態様において、 $p$ は1である。式(V)のいくつかの態様において、 $p$ は2である。式(V)のいくつかの態様において、各 $R_1$ は独立にハロゲン、 $CF_3$ 、 $SF_5$ 、アシル、置換アシル、カルボキシ、アルキルエステル、置換アルキルエステル、シアノ、ヒドロキシ、アルコキシ、置換アルコキシ、アルキル、置換アルキルから選択され； $R_7$ は水素、ヒドロキシ、アルコキシ、置換アルコキシ、アルキルカルボニルオキシ、または置換アルキルカルボニルオキシであり； $R_3$ は水素、アルキルまたは置換アルキルであり； $m$ は0~4であり；かつ $p$ は0または1である。式(V)のいくつかの態様において、 $R_6$ はアリールまたは置換アリールである。式(V)のいくつかの態様において、 $R_6$ はフェニルまたは置換フェニルである。式(V)のいくつかの態様において、 $R_6$ はヘテロアリールまたは置換ヘテロアリールである。

10

## 【0061】

式(V)のいくつかの態様において、 $R^8$ および $R^9$ は環状に連結され、一緒にアリールまたは置換アリール環、例えば、縮合ベンゼン環を形成する。式(V)のいくつかの態様において、 $R_6$ は $R_6$ は水素、フッ素または重水素である。式(V)のいくつかの態様において、 $R_6$ は $R_6$ は水素である。

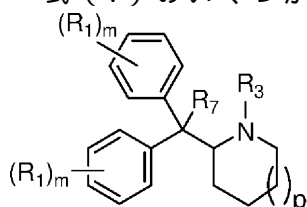
## 【0062】

式(V)のいくつかの態様において、 $R^8$ および $R^9$ は環状に連結され、一緒にアリールまたは置換アリール環を形成し、 $R_8$ および $R_5$ も環状に連結され、一緒に6員炭素環、例えば、部分不飽和縮合環を形成する。いくつかの場合に、化合物は縮合炭素環および複素環の4環系を含む。式(V)のいくつかの態様において、 $R_6$ は $R_6$ は水素、フッ素または重水素である。式(V)のいくつかの態様において、 $R_6$ は $R_6$ は水素である。

20

## 【0063】

式(V)のいくつかの態様において、フェンフルラミン類縁体は式(VI)を有する：



(VI)

30

式中、 $R_1$ 、 $R_3$ 、 $R_7$ 、および $m$ は上で定義したとおりであり、かつ $p$ は0、1または2である。

## 【0064】

式(VI)のいくつかの態様において、各 $R_1$ は独立にハロゲン、 $CF_3$ 、 $SF_5$ 、アシル、置換アシル、カルボキシ、アルキルエステル、置換アルキルエステル、シアノ、ヒドロキシ、アルコキシ、置換アルコキシ、アルキル、置換アルキルから選択され； $R_7$ は水素、ヒドロキシ、アルコキシ、置換アルコキシ、アルキルカルボニルオキシ、または置換アルキルカルボニルオキシであり； $R_3$ は水素、アルキルまたは置換アルキルであり；各 $m$ は0~4であり；かつ $p$ は0または1である。式(VI)の一定の態様において、各 $R_1$ は独立にハロゲン、 $CF_3$ 、 $SF_5$ 、カルボキシ、シアノ、ヒドロキシ、アルコキシ、置換アルコキシ、アルキル、置換アルキルから選択され； $R_7$ は水素またはヒドロキシであり； $R_3$ は水素、アルキルまたは置換アルキルであり；各 $m$ は0、1または2であり；かつ $p$ は0または1である。式(VI)の一定の態様において、 $R_7$ は水素またはヒドロキシであり； $R_3$ は水素、アルキルまたは置換アルキルであり；各 $m$ は0であり；かつ $p$ は0または1である。式(VI)の一定の態様において、 $R_7$ は水素である。式(VI)の一定の態様において、 $R_7$ はヒドロキシである。式(VI)の一定の態様において、 $R_3$ は水素である。式(VI)の一定の態様において、 $R_3$ はアルキルまたは置換アルキルである。式(VI)の一定の態様において、各 $m$ は0である。式(VI)の一定の態様において、 $p$ は0である。式(VI)の一定の態様において、 $p$ は1である。

40

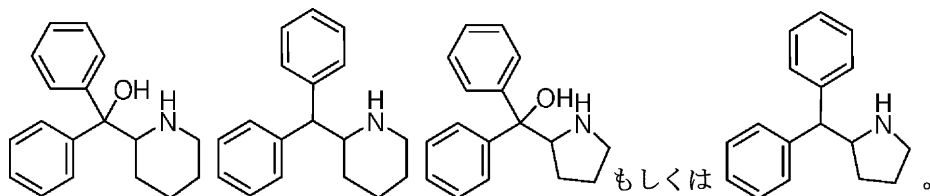
## 【0065】

式(VI)の一定の態様において、フェンフルラミン類縁体は以下の構造の1つ、または

50

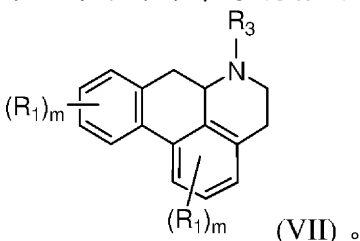


そのプロドラッグ、またはその立体異性体、またはその塩を有する：



【 0 0 6 6 】

式 (V) のいくつかの態様において、フェンフルラミン類縁体は式 (VII)、またはそのプロドラッグ、またはその立体異性体、またはその塩を有する：



10

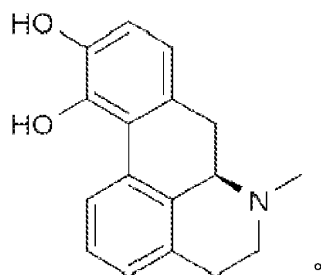
【 0 0 6 7 】

式 (VII) の一定の態様において、各  $R_1$  は独立にハロゲン、 $CF_3$ 、 $SF_5$ 、カルボキシ、シアノ、ヒドロキシ、アルコキシ、置換アルコキシ、アルキル、置換アルキルから選択され； $R_7$  は水素またはヒドロキシであり； $R_3$  は水素、アルキルまたは置換アルキルであり；かつ各  $m$  は 0、1 または 2 である。式 (VII) の一定の態様において、 $R_3$  は水素、アルキルまたは置換アルキルであり；かつ各  $m$  は 0 である。式 (VII) の一定の態様において、 $R_3$  は水素である。式 (VII) の一定の態様において、 $R_3$  はアルキルまたは置換アルキルである。式 (VII) の一定の態様において、各  $m$  は 0 である。

20

【 0 0 6 8 】

式 (VII) の一定の態様において、フェンフルラミン類縁体は以下の構造、またはそのプロドラッグ、またはその立体異性体、またはその塩を有する：



30

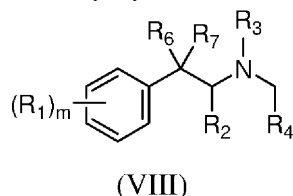
【 0 0 6 9 】

一定の場合に、フェンフルラミン類縁体はアボモルフィンまたはその構造類縁体もしくは誘導体である。関心対象のアボモルフィン構造類縁体および誘導体には、Holick et al. による EP1496915 に記載の化合物が含まれるが、それらに限定されない。一定の場合に、フェンフルラミン類縁体は N-プロピルノルアボモルフィンである。

40

【 0 0 7 0 】

式 (I) のいくつかの態様において、フェンフルラミン類縁体は式 (VIII) を有する：



式中、 $R_1 \sim R_4$ 、 $R_6$ 、 $R_7$  および  $m$  は上で定義したとおりである。

【 0 0 7 1 】

式 (VIII) の一定の態様において、各  $R_1$  は独立にハロゲン、 $CF_3$ 、 $SF_5$ 、カルボキシ、シ

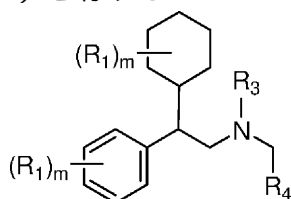
50

アノ、ヒドロキシ、アルコキシ、置換アルコキシ、アルキル、置換アルキルから選択され；かつ $m$ は0、1または2である。式(VIII)の一定の態様において、 $R_3$ は水素、アルキルまたは置換アルキルである。式(VIII)の一定の態様において、 $R_3$ は水素である。式(VIII)の一定の態様において、 $R_3$ はアルキルまたは置換アルキルである。式(VIII)の一定の態様において、 $m$ は0である。式(VIII)の一定の態様において、 $m$ は1であり、かつ $R_1$ は4-置換基である。式(VIII)の一定の態様において、 $R_7$ は水素である。式(VIII)の一定の態様において、 $R_2$ はアルキルまたは置換アルキルである。式(VIII)の一定の態様において、 $R_2$ は水素である。式(VIII)の一定の態様において、 $R_4$ は水素である。式(VIII)の一定の態様において、 $R_4$ はアルキルまたは置換アルキルである。式(VIII)の一定の態様において、 $R_6$ はシクロアルキル、置換シクロアルキル、アリール、置換アリール、複素環または置換複素環である。式(VIII)の一定の態様において、 $R_6$ および $R_7$ は環状に連結されて、1つまたは複数の $R_1$ で置換されていてもよい、4、5または6員シクロアルキル環を形成する。

10

## 【0072】

式(I)および(VIII)のいくつかの態様において、フェンフルラミン類縁体は式(IX)を有する：



(IX)

20

式中、 $R_1$ 、 $R_3$ 、 $R_4$ 、および各 $m$ は上で定義したとおりである。

## 【0073】

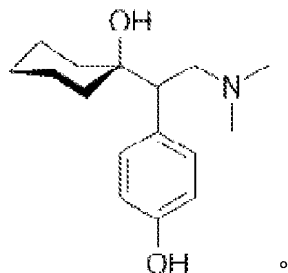
式(IX)の一定の態様において、各 $R_1$ は独立にハロゲン、 $CF_3$ 、 $SF_5$ 、カルボキシ、シアノ、ヒドロキシ、アルコキシ、置換アルコキシ、アルキル、置換アルキルから選択され；かつ各 $m$ は0、1または2である。式(IX)の一定の態様において、 $R_3$ は水素、アルキルまたは置換アルキルである。式(IX)の一定の態様において、 $R_3$ は水素である。式(IX)の一定の態様において、 $R_3$ はアルキルまたは置換アルキルである。式(IX)の一定の態様において、各 $m$ は0または1である。式(IX)の一定の態様において、各 $m$ は0または1であり、かつ $R_1$ は4-置換基である。式(IX)の一定の態様において、 $R_4$ は水素である。式(IX)の一定の態様において、 $R_4$ はアルキルまたは置換アルキルである。

30

## 【0074】

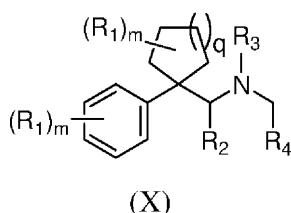
一定の態様において、フェンフルラミン類縁体はデスペンラファキシンまたはその構造類縁体もしくは誘導体である。一定の態様において、フェンフルラミン類縁体はデスペンラファキシンまたは0-デスメチルペンラファキシンである。式(VII)の一定の態様において、フェンフルラミン類縁体は以下の構造、またはそのプロドラッグ、またはその立体異性体、またはその塩を有する：

40



## 【0075】

式(I)および(VIII)のいくつかの態様において、フェンフルラミン類縁体は式(X)を有する：



式中、 $R_1 \sim R_4$ 、および各 $m$ は上で定義したとおりであり、かつ $q$ は0、1または2である。

【0076】

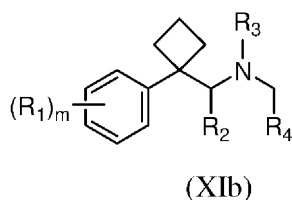
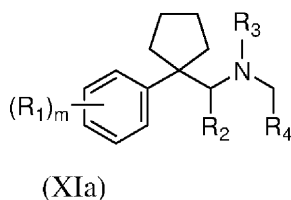
式(X)の一定の態様において、各 $R_1$ は独立にハロゲン、 $CF_3$ 、 $SF_5$ 、カルボキシ、シアノ、ヒドロキシ、アルコキシ、置換アルコキシ、アルキル、置換アルキルから選択され；かつ各 $m$ は0、1または2である。式(X)の一定の態様において、 $R_2$ はアルキルまたは置換アルキルである。式(X)の一定の態様において、 $R_2$ は水素である。式(X)の一定の態様において、 $R_3$ は水素、アルキルまたは置換アルキルである。式(X)の一定の態様において、 $R_3$ は水素である。式(X)の一定の態様において、 $R_3$ はアルキルまたは置換アルキルである。式(X)の一定の態様において、各 $m$ は0または1である。式(X)の一定の態様において、各 $m$ は0または1であり、かつ $R_1$ は4-置換基である。式(X)の一定の態様において、 $R_4$ は水素である。式(X)の一定の態様において、 $R_4$ はアルキルまたは置換アルキルである。

10

【0077】

式(X)のいくつかの態様において、フェンフルラミン類縁体は式(XIa)または(XIb)を有する：

20



【0078】

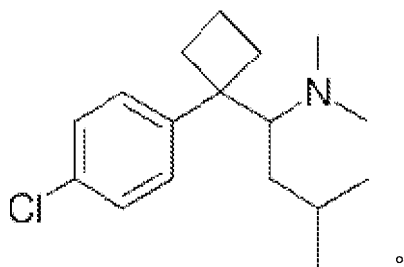
式(XIa)～(XIb)の一定の態様において、各 $R_1$ は独立にハロゲン、 $CF_3$ 、 $SF_5$ 、カルボキシ、シアノ、ヒドロキシ、アルコキシ、置換アルコキシ、アルキル、置換アルキルから選択され；かつ $m$ は0、1または2である。式(XIa)～(XIb)の一定の態様において、各 $R_1$ は独立にハロゲン、 $CF_3$ 、 $SF_5$ およびヒドロキシから選択され；かつ $m$ は0または1である。式(XIa)～(XIb)の一定の態様において、 $R_2$ はアルキルまたは置換アルキルである。式(XIa)～(XIb)の一定の態様において、 $R_2$ は水素である。式(XIa)～(XIb)の一定の態様において、 $R_3$ は水素である。式(XIa)～(XIb)の一定の態様において、 $R_3$ はアルキルまたは置換アルキルである。式(XIa)～(XIb)の一定の態様において、各 $m$ は0または1である。式(XIa)～(XIb)の一定の態様において、各 $m$ は0または1であり、かつ $R_1$ は4-置換基である。式(XIa)～(XIb)の一定の態様において、 $R_4$ は水素である。式(XIa)～(XIb)の一定の態様において、 $R_4$ はアルキルまたは置換アルキルである。

30

【0079】

一定の場合に、フェンフルラミン類縁体はシブトラミンまたはその構造類縁体もしくは誘導体である。関心対象のシブトラミン構造類縁体または誘導体には、ジデスメチルシブトラミンが含まれるが、それに限定されない。式(XIb)の一定の態様において、フェンフルラミン類縁体は以下の構造、またはそのプロドラッグ、またはその立体異性体、またはその塩を有する：

40



## 【 0 0 8 0 】

## フェンフルラミン化合物の調製

フェンフルラミンの任意の好都合な調製法を、本化合物の調製において適合させることができる。本フェンフルラミン類縁体の調製における使用のために適合させ得る、関心対象の例示的方法を以下に記載する。

10

## 【 0 0 8 1 】

フェンフルラミンは多くの様式で合成されており、いくつかは中間体1-(3-トリフルオロメチル)フェニル-プロパン-2-オンの合成を通じて行う。この米国特許第3,198,833号は、3-トリフルオロメチルフェニルアセトニトリルまたは対応するアルコールから出発してこのケトンいくつかの合成を記載する。

## 【 0 0 8 2 】

フェンフルラミンは1-(3-トリフルオロメチル)フェニル-プロパン-2-オンから、例えば、ハンガリー特許HU T055343に記載のように、アミンによる還元的アミノ化を通じて得ることができる。

20

## 【 0 0 8 3 】

米国特許第5,811,586号は、3-トリフルオロメチルアニリンのジアゾニウム塩を酢酸イソプロペニルと極性溶媒中、触媒量の第一銅塩および任意に塩基存在下で反応させ、粗生成物を亜硫酸水素複合体または減圧蒸留により精製することを含む、フェンフルラミンの合成における1-(3-トリフルオロメチル)フェニル-プロパン-2-オン中間体の製造のための工程を記載している。

## 【 0 0 8 4 】

## 使用法

前述の化合物を様々な方法において用いてもよい。上で概要を記載したとおり、方法の局面は、それを必要としている対象に、関心対象の疾患または状態を治療または予防するためのフェンフルラミン類縁体（例えば、本明細書に記載のフェンフルラミンの構造または機能類縁体）の治療的有効量を投与する段階を含む。「治療的有効量」とは、所望の生物効果（例えば、てんかんの治療または予防）を誘発するのに十分な化合物の濃度を意味する。関心対象の疾患および状態には、てんかん、特にドラベ症候群、レノックス・ガストー症候群およびドゥース症候群を含むてんかんの難治性型、神経関連疾患、肥満および肥満関連疾患が含まれるが、それらに限定されない。

30

## 【 0 0 8 5 】

いくつかの態様において、本方法は、神経関連疾患を治療するために、対象に本化合物を投与する段階を含む。関心対象の神経関連疾患には、てんかん、ならびに乳児重症ミオクロニーてんかん（ドラベ症候群）、レノックス・ガストー症候群およびドゥース症候群が含まれるが、それらに限定されない。一定の態様において、対象はヒトである。一定の場合に、対象はドラベ症候群を患っている。一定の態様において、化合物を薬学的製剤として投与する。

40

## 【 0 0 8 6 】

したがって、本発明のさらなる局面に従って、フェンフルラミン類縁体の有効用量を患者に投与することにより、該患者の脳内の1つまたは複数の5-HT受容体を刺激する方法であって、該1つまたは複数の5-HT受容体は、特に5-HT<sub>1</sub>、5-HT<sub>1A</sub>、5-HT<sub>1B</sub>、5-HT<sub>1C</sub>、5-HT<sub>1D</sub>、5-HT<sub>1E</sub>、5-HT<sub>1F</sub>、5-HT<sub>2</sub>、5-HT<sub>2A</sub>、5-HT<sub>2B</sub>、5-HT<sub>2C</sub>、5-HT<sub>3</sub>、5-HT<sub>4</sub>、5-HT<sub>5</sub>、5-HT<sub>5A</sub>、5-HT<sub>5B</sub>、5-HT<sub>6</sub>、および5-HT<sub>7</sub>の1つまたは複数から選択される方法を提供する。本発明の本局

50

面の一定の態様において、患者はドラベ症候群と診断されている。

【0087】

本発明の態様において、フェンフルラミン類縁体の任意の有効用量を用いることができる。一定の態様において、約10mg/kg/日未満の1日用量を用い、例えば、約9mg/kg/日、約8mg/kg/日、約7mg/kg/日、約6mg/kg/日、約5mg/kg/日、約4mg/kg/日、約3mg/kg/日、約2mg/kg/日、約1mg/kg/日、約0.9mg/kg/日、約0.8mg/kg/日、約0.7mg/kg/日、約0.6mg/kg/日、または約0.5mg/kg/日を用いる。いくつかの場合に、約1mg/kg/日～約10mg/kg/日の間、例えば、約2mg/kg/日～約10mg/kg/日の間、約3mg/kg/日～約10mg/kg/日の間、約4mg/kg/日～約10mg/kg/日の間、または約5mg/kg/日～約10mg/kg/日の間の1日用量を用いる。いくつかの場合に、約0.5mg/kg/日～約1.0mg/kg/日の間の1日用量を用いる。一定の態様において、約1.0mg/kg/日未満の1日用量を用いる。いくつかの場合に、好ましい用量は約0.5～約0.01mg/kg/日未満である。

10

【0088】

上に示したように、投薬は患者の体重に基づく。しかし、便宜的に、投薬量は、1mg、2.5mg、5mg、10mg、15mg、20mg、30mg、40mg、または50mgの量などにあらかじめ設定してもよい。一般に、特定の患者のために有効な最低用量を用いるべきである。

【0089】

本発明の方法において投与するフェンフルラミン類縁体の用量は、経口崩壊錠を含む錠剤、カプセル剤、ロゼンジ、経口服液もしくはシロップ剤、経口乳剤、経口ゲル、経口フィルム、口腔液剤、例えば懸濁剤用の散剤などの経口剤形；注射用剤形；経皮パッチ、軟膏、クリームなどの経皮剤形；吸入剤形；および/または鼻、直腸、腔投与剤形が含まれるが、それらに限定されない、任意の薬学的に許容される剤形に製剤することができる。そのような剤形は、1日1回投与、または1日複数回投与（例えば、1日に2、3または4回投与）用に製剤することができる。

20

【0090】

本化合物の投与は、全身でも局所でもよい。一定の態様において、哺乳動物への投与は本化合物の全身放出（例えば、血流中への）を引き起こす。投与法には、経口、口腔、舌下、および直腸などの経腸経路；経皮および皮内などの局所投与；ならびに非経口投与が含まれる得る。適切な非経口経路には、皮下針またはカテーテルを介しての注射、例えば、静脈内、筋肉内、皮下、皮内、腹腔内、動脈内、心室内、くも膜下腔内、および前房内注射ならびに腔内、直腸、または鼻投与などの非注射経路が含まれる。一定の態様において、本化合物および組成物を経口投与する。一定の態様において、化合物を治療を必要としている領域に局所投与することが望ましいこともある。いくつかの態様において、本化合物の投与法は非経口投与である。これは、例えば、手術中の局所注入、例えば、手術後の創傷ドレッシングと併せての局所適用により、注射により、カテーテルにより、坐剤により、または埋込物により達成され得、該埋込物は、シアラスティック（sialastic）膜などの膜、または線維を含む、多孔性、非多孔性、またはゼラチン状の材料である。

30

【0091】

いくつかの態様において、本方法は、肥満を治療するために、対象に本化合物の食欲抑制量を投与する段階を含む。肥満を治療するための任意の好都合な方法を本フェンフルラミン類縁体と共に用いるために適合させてもよい。本明細書に記載の任意の薬学的組成物を、対象の肥満を治療する際に用いることができる。併用療法には、本化合物および1つまたは複数の追加の作用物質を含む単一の薬学的剤形の投与；ならびに本化合物および1つまたは複数の追加の作用物質の、それ自体の別々の薬学的剤形中での投与が含まれる。例えば、本化合物および食欲抑制活性を有する追加の活性作用物質（例えば、フェンテルミンまたはトピラマート）を患者に、組み合わせ製剤などの単一投薬組成物中で一緒に投与することもでき、または各作用物質を別々の剤形中で投与することもできる。別々の剤形を用いる場合、本化合物および1つまたは複数の追加の作用物質を同時に、または別々の食い違う時間、例えば、順次に投与することができる。いくつかの態様において、方法には、本フェンフルラミン類縁体、抗てんかん剤の対象への同時投与もさらに含まれる。

40

50

同時投与の方法において用いられる関心対象の抗てんかん剤には、アセタゾラミド、カルバマゼピン、クロバザム、クロナゼパム、エスリカルバゼピン酢酸エステル、エトスクシミド、ガバペンチン、ラコサミド、ラモトリジン、レベチラセタム、ニトラゼパム、オキシカルバゼピン、ペランパネル、ピラセタム、フェノバルビタール、フェニトイン、プレガバリン、プリミドン、レチガビン、ルフィナマイド、バルプロ酸ナトリウム、スチリペントール、チアギャビン、トピラメート、ピガバトリンおよびゾニサミドが含まれるが、それらに限定されない。

#### 【0092】

いくつかの態様において、本方法は、試料を本化合物と接触させる段階を含む、インビトロ法である。これらの方法において用い得るプロトコルは多く、ニューロン細胞からのセロトニン放出アッセイ法、無細胞アッセイ法、結合アッセイ法（例えば、5HT<sub>2B</sub>受容体結合アッセイ法）；細胞表現型を測定する細胞アッセイ法、例えば、遺伝子発現アッセイ法；および関心対象の状態（例えば、ドラベ症候群、レノックス・ガストー症候群またはドゥース症候群）の特定の動物モデルを含むアッセイ法が含まれるが、それらに限定されない。

10

#### 【0093】

##### 薬学的製剤

同様に提供されるのは、薬学的製剤である。薬学的製剤は、薬学的に許容される媒体中に存在する化合物（単独または1つもしくは複数の追加の活性作用物質存在下のいずれかで）を含む組成物である。「薬学的に許容される」なる用語は、ヒトなどの哺乳動物で用いるために、連邦もしくは州政府の規制当局によって承認されている、または米国薬局方もしくは他の一般に認められた薬局方に収載されていることを意味する。「媒体」なる用語は、哺乳動物への投与のためにそれと共に本発明の化合物を製剤する、希釈剤、補助剤、賦形剤、または担体を意味する。

20

#### 【0094】

賦形剤の選択は、部分的には、組成物を投与するために用いる、特定の化合物ならびに特定の方法によって決定されることになる。したがって、本発明の薬学的組成に適した多様な製剤がある。

#### 【0095】

本発明の方法において用いるフェンフルラミン類縁体の剤形は、フェンフルラミン類縁体を1つまたは複数の薬学的に許容される希釈剤、担体、補助剤などと、薬学的製剤の当業者には公知の様式で組み合わせることにより調製することができる。

30

#### 【0096】

例として、フェンフルラミン類縁体を通常の薬学的に許容される担体および賦形剤（すなわち、媒体）と混合し、水性液剤、錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、懸濁剤、シロップ剤、ウェーファーなどの形で用いることができる。そのような薬学的組成物は、一定の態様において、約0.1重量%～約90重量%の活性化合物、より一般的には約1重量%～約30重量%の活性化合物を含む。薬学的組成物は、可溶化剤、等張化剤、懸濁化剤、乳化剤、安定剤、保存剤、着色剤、希釈剤、緩衝化剤、界面活性剤、保湿剤、着香剤および崩壊剤などで、コーンスターチ、ゼラチン、ラクトース、ブドウ糖、ショ糖、微結晶セルロース、カオリン、マンニトール、リン酸2カルシウム、塩化ナトリウム、アルギン酸、植物油または他の同様の油、合成脂肪酸グリセリド、高級脂肪酸またはプロピレングリコールのエステル、コーンスターチ、ジャガイモデンプン、アカシア、トラガカント、ゼラチン、グリセリン、ソルビトール、エタノール、ポリエチレングリコール、コロイド状二酸化ケイ素、クロスカルメロースナトリウム、タルク、ステアリン酸マグネシウムおよびステアリン酸が含まれるが、それらに限定されない、一般的な担体および賦形剤を含んでもよい。本発明の製剤中で一般に用いる崩壊剤には、クロスカルメロース、微結晶セルロース、コーンスターチ、デンプングリコール酸ナトリウムおよびアルギン酸が含まれる。化合物を、植物油または他の同様の油、合成脂肪酸グリセリド、高級脂肪酸またはプロピレングリコールのエステルなどの、水性または非水性溶媒中に；望まれる場合は、可溶化剤、等

40

50

張化剤、懸濁化剤、乳化剤、安定剤および保存剤などの通常の添加剤と共に、溶解、懸濁または乳濁することにより、注射用の製剤へと製剤することもできる。

#### 【0097】

いくつかの態様において、経口投与に適した製剤には、(a) 水、または食塩水などの希釈剤中に溶解した有効量の化合物などの、液剤；(b) それぞれ所定の量の活性成分を、固体または顆粒として含む、カプセル剤、サシェまたは錠剤；(c) 適切な液体中の懸濁剤；および(d) 適切な乳剤が含まれ得る。錠剤の剤形は、ラクトース、マンニトール、コーンスターチ、ジャガイモデンプン、微結晶セルロース、アカシア、ゼラチン、コロイド状二酸化ケイ素、クロスカルメロースナトリウム、タルク、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、ならびに他の賦形剤、着色剤、希釈剤、緩衝化剤、保湿剤、保存剤、着香剤、および薬理的に適合性の賦形剤の1つまたは複数を含み得る。ロゼンジの剤形は、活性成分に加えて、本明細書に記載のものなどの賦形剤を含む、香料、通常はショ糖およびアカシアまたはトラガカント中の活性成分、ならびにゼラチンおよびグリセリン、またはショ糖およびアカシア、乳剤、ゲルなどの不活性基剤中に活性成分を含む香錠を含む。

10

#### 【0098】

いくつかの場合に、化合物を経口投与用に製剤する。いくつかの場合に、経口薬学的製剤のために、適切な賦形剤には、マンニトール、ラクトース、グルコース、ショ糖、デンプン、セルロース、ゼラチン、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、および/または炭酸マグネシウムなどの、薬学的等級の担体が含まれる。経口液体製剤において用いるために、組成物を、例えば、食塩水、水性デキストロース、グリセロール、またはエタノールなどの水性担体、好ましくは水または生理食塩水中での水和に適した、固体または液体型のいずれかで供給する、液剤、懸濁剤、乳剤、またはシロップ剤として調製してもよい。望まれる場合には、組成物は、湿潤剤、乳化剤、または緩衝剤などの、少量の非毒性補助物質を含んでもよい。

20

#### 【0099】

本発明の特定の製剤は液体剤形である。液体は液剤または懸濁剤であってもよく、所与の量の溶液で得られる、ミリグラム量で目盛りをつけたピペット付きの瓶に含まれる、経口液剤またはシロップ剤であってもよい。液剤は、小児用に液剤を調節することを可能にし、これは0.5mg~15mgのどこか、およびその間の任意の量を、0.5ミリグラムずつ増やして投与することができ、したがって0.5、1.0、1.5、2.0mgなどで投与することができる。

30

#### 【0100】

液体組成物は一般には、適切な液体担体、例えば、エタノール、グリセリン、ソルビトール、非水性溶媒、例えばポリエチレングリコール、油または水中の化合物または薬学的に許容される塩、および懸濁化剤、保存剤、界面活性剤、湿潤剤、着香または着色剤の懸濁液または溶液からなる。または、液体製剤は、再構成可能な粉末から調製することもできる。

#### 【実施例】

#### 【0101】

以下の実施例は、当業者に本発明をいかに作製し、使用するかを完全に開示および記載するために示すものであり、本発明者らがその発明であると考えたものの範囲を限定する意図はなく、また以下の実験が実施したすべてまたは唯一の実験であることを表す意図もない。用いる数字(例えば、量、温度など)に関して正確性を確保するために努力したが、いくつかの実験誤差および偏差は考慮されるべきである。特に記載がないかぎり、部は重量部であり、分子量は重量平均分子量であり、温度は摂氏度であり、かつ圧は大気圧または大気圧付近である。

40

#### 【0102】

##### 実施例1

##### 1-(3-トリフルオロメチル)フェニル-プロパン-2-オンの調製

35mLの水および45gの37%(w/w)塩酸水溶液を、攪拌機および滴加漏斗を備えたフラス

50

コに加える。24.25g (0.151モル) のm-トリフルオロメチルアニリンを、氷浴で10 まで冷却した後に加え、次いで5 で、150mLの水中に12.43g (0.180モル) の亜硝酸ナトリウムを含む水溶液をゆっくり加える。反応混合物を30分間攪拌し、次いで90mLの水、1.35g (0.014モル) の塩化第一銅、2.30g (0.013モル) の塩化第二銅二水和物、50mLのアセトン、40.8g (0.300モル) の酢酸ナトリウム三水和物および23g (0.230モル) の酢酸イソプロペニルにより作製した混合物中に、反応温度を30 に維持しながら、30分の間に加える。さらに30分間攪拌した後、反応混合物を20 にし、50mLの塩化メチレンを加え、二層を分離する。

#### 【0103】

水層を廃棄し、有機層を減圧下で油が得られるまで濃縮し、これを35gのメタ重亜硫酸ナトリウム、70mLの水および150mLのヘプタンで、室温で攪拌しながら12時間処理する。懸濁液をろ過し、亜硫酸水素複合体をフィルター上、50mLのヘプタンで洗浄し、次いで100mLの塩化メチレンおよび150mLの10% (w/v) 水酸化ナトリウム水溶液で作製した二相混合物に懸濁する。室温で1時間攪拌した後、層を分離し、水相を廃棄し、有機層を水で洗浄し、減圧下で蒸発させて、純粋なケトンを得る。

#### 【0104】

#### 実施例2

#### てんかんのゼブラフィッシュモデルを用いて類縁体の活性をアッセイする方法

scn1Lab変異に関してヘテロ接合 (scn1Lab+/-) であるゼブラフィッシュ胚 (Danio rerio) を、タッフル・ロングフィン (Tupfel longfin) 野生型 (WT scn1Lab+/+) と戻し交配する。成体ゼブラフィッシュを、標準的水産養殖条件下、28.0 、14/10時間の明/暗周期で飼育する。受精卵を自然産卵によって収集する。麻酔した魚 (トリカイン0.02%) をを鰭切除し、PCRによって遺伝子型判定を行う。遺伝子型判定後、試料を精製し (MinElute PCR精製キット)、LGC Genomicsによって配列決定する。同齡のタッフル・ロングフィン野生型幼生を対照群として使用する (WT scn1Lab+/+)。これらの胚および幼生を、28.0 のインキュベーター内、胚培地 (Danieaus) : 1.5mM HEPES、pH7.6、17.4mM NaCl、0.21mM KCl、0.12mM MgSO<sub>4</sub>、および0.18mM Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>中で、14/10時間の明/暗周期に保つ。

#### 【0105】

ホモ接合scn1Lab-/-変異体と対照WT scn1Lab+/+の移動運動活動を評価するために、4~8dpfのゼブラフィッシュ幼生を96穴プレートにおいて100 μLの胚培地に入れる。毎日、自動追跡デバイス (ZebraBox(商標)装置; Viewpoint, Lyon, France) で、30分間の順化後に10分間、幼生の軌道を追跡する (100秒の積分間隔)。記録は全て、日中の同じ時刻に行う。ZebraLab(商標)ソフトウェア (Viewpoint, Lyon, France) を用いて、大運動の総距離を記録し、定量化する。1条件あたり少なくとも24匹の幼生による少なくとも3回の独立した実験からのデータをプールする。

#### 【0106】

7dpfのゼブラフィッシュ幼生前脳におけるオープンフィールド記録によって、てんかん様活動を測定する。前脳にガラス電極を配置するために、ホモ接合scn1Lab-/-変異体および対照WT scn1Lab+/+を2%低融点アガロース (Invitrogen) に包埋する。このガラス電極は: 124mM NaCl、2mM KCl、2mM MgSO<sub>4</sub>、2mM CaCl<sub>2</sub>、1.25mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、26mM NaHCO<sub>3</sub>および10mMグルコースでできた人工脳脊髄液 (aCSF) (抵抗1~5M ) を充填し、高インピーダンス増幅器に接続する。続いて、電流クランプモードで、1kHzのローパスフィルタをかけ、0.1Hzのハイパスフィルタをかけて、デジタルゲイン10、10 μsのサンプリング間隔で、記録を行う (MultiClamp 700B増幅器、Digidata 1440Aデジタイザー、いずれもAxon instruments, USA)。1回の記録を10分間行う。以前に記載されたように (Orellana-Paucar et al, 2012)、棘波状突発活動の持続時間によって、てんかん様活動を定量化する。Clampfit 10.2ソフトウェア (Molecular Devices Corporation, USA) を利用してエレクトログラムを分析する。自発性てんかん様事象は、振幅がバックグラウンドノイズの3倍を超え、かつ50ミリ秒 (ms) より長く持続した場合に、考慮する。野生型ZF幼生では50msより短い持続時間を有するてんかん様事象の観察頻度が低いため、この閾値を選択する。



## 【0107】

類縁体（アゴニスト）およびアンタゴニストは、異なる5-HT<sub>サフティブ</sub>受容体に対するそれらの高い選択的親和性（ナノモル濃度範囲の $K_i$ ）と、それらのlogP値（すなわち>1、ゼブラフィッシュ幼生において良好なバイオアベイラビリティを示すと予想される（Milan, 2003））とに基づいて選択することができる。化合物をジメチルスルホキシド（DMSO、99.9%分光法等級、Acros Organics）に溶解し、最終DMSO濃度が0.1%w/vになるように胚培地で希釈し、これを媒体対照（VHC）としても提供する。

## 【0108】

各化合物の最大耐容濃度（MTC）を評価するために、6dpf 齢のWT scn1Lab+/+ゼブラフィッシュ幼生を、96穴プレート（組織培養プレート、平底、FALCON(登録商標)、USA）中、標準的な水産養殖条件下、28℃、14/10時間の明/暗周期で、異なる濃度の化合物またはVHCと共にインキュベートする（培地は毎日補充する）。各幼生を、以下の毒性の徴候について、48時間にわたって顕微鏡下で個別にチェックする：尾に軽く接触した時の接触応答の減少または欠如、姿勢の崩れ、身体変形、浮腫、心拍数または循環の変化、および死亡。最大耐容濃度（MTC）は、試料への曝露48時間以内に12匹のゼブラフィッシュ幼生中12匹に毒性の徴候が観察されない最も高い濃度と定義する。この実験全体を通して、このMTC（表1および表2）を使用する。

## 【0109】

scn1Lab-/-変異体およびWT scn1Lab+/+の幼生を同じプレートに配列し、受精後6日目（dpf）に、96穴プレートの個々のウェル中でフェンフルラミン類縁体（それらのMTC）またはVHCで処置する。28℃、14/10時間の明/暗周期でのインキュベーションと、30分間のチャンパー順化後に、6および7dpfの幼生を、暗条件下で10分間、移動運動活動について追跡する（100秒の積分間隔）。1.5時間のインキュベーション時間をさらに短時間処置という（6dpf）。さらに、これらの幼生を22時間超インキュベートした後、すなわち長時間処置後に分析する（7dpf）。パラメーターlardistを用いて総移動運動活動を定量化し、cmの単位でプロットする。いくつかの場合に、処置条件あたり少なくとも9匹の幼生を使った2回（5-HT<sub>1B</sub>アゴニスト、5-HT<sub>1F</sub>アゴニスト、5-HT<sub>3</sub>アゴニスト、5-HT<sub>4</sub>アゴニスト、5-HT<sub>5A</sub>アゴニスト、5-HT<sub>6</sub>アゴニスト、および5-HT<sub>1B</sub>アンタゴニストと、5-HT<sub>7</sub>アンタゴニストを除く全てのアンタゴニスト）または3回（フェンフルラミン化合物、5-HT<sub>1A</sub>アゴニスト、5-HT<sub>1D</sub>アゴニスト、5-HT<sub>1E</sub>アゴニスト、5-HT<sub>2A</sub>アゴニスト、5-HT<sub>2B</sub>アゴニスト、および5-HT<sub>2C</sub>アゴニスト）の独立した実験から得たデータを一つにプールする。

## 【0110】

前述のように、7dpfのゼブラフィッシュ幼生前脳におけるオープンフィールド記録によって、てんかん様活動を測定する。scn1Lab-/-変異体およびWT scn1Lab+/+幼生を、6dpf時に、フェンフルラミン（25  $\mu$ M）、以前のアッセイ法（下記参照）において移動運動低減活性を示した機能類縁体（5-HT<sub>5A</sub>アゴニストを除く）（MTC）、陰性対照（3.125  $\mu$ M 5-HT<sub>2B</sub>アゴニスト）またはVHCと共に、最低22時間インキュベートする（長時間処置）。実験条件あたり少なくとも8匹のscn1Lab-/-変異体幼生から、7dpfの幼生の記録をとる。野生型幼生ではてんかん様活動があまり観測されないため、処置WT scn1Lab+/+幼生については、条件あたり少なくとも5匹を分析する。異なる処置条件についてエレクトログラフ記録を定量化する。

## 【0111】

7dpf 齢のゼブラフィッシュ幼生の頭部を用いて、神経伝達物質ドーパミン、ノルアドレナリンおよびセロトニンの存在量を定量する。チューブ1本あたり6つの頭部を、100  $\mu$ lの0.1M酸化防止剤緩衝液（ビタミンCを含む）中、氷上で1分間ホモジナイズする。ホモジネートを4℃、15 000gで、15分間遠心分離する。上清（70  $\mu$ l）を滅菌チューブに移し、分析するまで-80℃で保存する。

## 【0112】

神経伝達物質の定量は、マイクロボアLC-ECD法（Sophie Sarre, Katrien Thorre, Ilse Smolders, 1997）に基づく。クロマトグラフィーシステムは、LC Packings/Dionex（Ams

10

20

30

40

50

terdam, The Netherlands) の FAMOS マイクロオートサンプラー、Gilson (Villiers-le-Bell, France) の 307 ピストンポンプ、Dionex の DEGASYS DG-1210 脱気装置、および Antec (Zoeterwoude, The Netherlands) の  $\mu$ -VT03 フローセル (0.7mm グラッシーカーボン作用電極、Ag/AgCl 基準電極、25  $\mu$ m スペース) を装備した DECADE II 電気化学検出器からなる。移動相は、87% V/V 水性緩衝溶液 pH5.5 (100mM 酢酸ナトリウム三水和物、20mM クエン酸一水和物、2mM デカンスルホン酸ナトリウム、0.5mM エデト酸二ナトリウム) および 13% V/V アセトニトリルの混合物である。この移動相を 60  $\mu$ L/分の流速で注入する。オートサンプラートレイの温度は 15℃ に設定し、注入量は 10  $\mu$ L である。Bioanalytical Systems (West Lafayette, Indiana, United States) のマイクロボア UniJet C8 カラム (100  $\times$  1.0mm、5  $\mu$ m) を固定相として使用する。分離および検出温度は 35℃ で行い、検出電位は Ag/AgCl に対して +450mV とする。データ取得は Data Apex (Prague, The Czech Republic) の Clarity クロマトグラフィーソフトウェア・バージョン 3.0.2 によって行う。神経伝達物質の量 (nmol) を 6 つの頭部の総質量に基づいて計算する。

10

20

30

40

50

#### 【0113】

統計解析は GraphPad Prism 5 ソフトウェア (GraphPad Software, Inc.) を用いて行う。一元配置 ANOVA と、続いて ダネット 多重比較検定を用いて、幼生の移動運動活動を評価する。値を平均  $\pm$  標準偏差 (SD) として表す。LFP 測定 (エレクトログラフ上の脳活動) は マン・ホイットニー 検定によって分析する。処置群と等価な対照群 (scn1Lab<sup>-/-</sup> 変異体または WT scn1Lab<sup>+/+</sup>) との間の統計的有意差 ( $p < 0.05$ ) は、ゼブラフィッシュ幼生の移動運動またはエレクトログラフ上の脳活動の減少または増加を示すと考える。全てのデータが正規性検定 (ダゴスティーノ・ピアソン (D'Agostino & Pearson) オムニバス正規性検定) に合格したため、scn1Lab<sup>-/-</sup> 変異体の神経伝達物質量を スチューデント t 検定によって WT scn1Lab<sup>+/+</sup> 幼生と比較する。

#### 【0114】

##### 実施例 3

ドラベ症候群のゼブラフィッシュモデルにおける表現型に基づく抗てんかん薬スクリーニング

本開示によって提供する化合物の抗痙攣活性を、インビトロでハイスループット変異体ゼブラフィッシュスクリーニングアッセイ法を用いて評価する。以下の方法を、本フェンフルラミン類縁体を評価する際の使用のために適合させることができる。

#### 【0115】

##### 動物: Scn1A

ゼブラフィッシュを、標準的な 14:10 時間の明/暗周期の下、光および温度制御した水産養殖施設で維持する。成体ヘテロ接合 scn1Lab<sup>±</sup> 変異体ゼブラフィッシュを、1.5L タンクで、1 つのタンクあたり 5~12 匹の密度で飼育し、1 日 2 回給餌する (乾燥フレークおよび/または生きたブラインシュリンプを補充したフレーク)。水質を持続的にモニターして、以下の条件を維持する: 温度、28~30℃; pH7.4~8.0; 導電率、690~710mS/cm。ゼブラフィッシュ胚を丸形ペトリ皿 (カタログ #FB0875712、Fisher Scientific) において、逆浸透蒸留水中 0.03% Instant Ocean (Aquarium Systems, Inc.) および 000002% メチレンブルーからなる「胚培地」中で維持する。

#### 【0116】

幼生ゼブラフィッシュ群を野生型 (WT; TL 株) または TL 野生型に少なくとも 10 世代戻し交配した scn1Lab (didys552) ヘテロ接合動物から繁殖させる。早くも受精後 3 日 (dpf) で広範に分散したメラノソームを有し、視覚的により濃く見える、ホモ接合変異体 (n=6544) (図 1b)、または WT 幼生 (n=71) を 5dpf または 6dpf ですべての実験で用いる。胚および幼生をプラスチック製ペトリ皿 (直径 90mm、深さ 20mm) において飼育し、密度を 60 匹/皿に制限する。3~7dpf の間の幼生は識別可能な性染色体がない。ケアおよび維持プロトコルは要求に従う [Guide for the Care and Use of Animals (ebruary Inc., 2011) に概要が示され、Institutional Animal Care and Use Committee による承認が必要である (プロトコル #AN108659-01D)]。

## 【0117】

試験物質：スクリーニングのための化合物は10mM DMSO溶液として提供する。移動運動または電気生理学試験のための試験物質を胚培地に溶解し、100Mの初期濃度および2%の最終DMSO濃度で試験する。すべての薬物スクリーニング試験において、化合物をコード化し、実験は化合物の性質を知らされていない研究者が実施する。寒天包埋幼生における拡散をより限定するために、0.5~1mMの間の薬物濃度を電気生理学アッセイ法のために用いる。

## 【0118】

## 発作モニタリング

ゼブラフィッシュ幼生を、胚培地を含む透明平底96穴マイクロプレート（カタログ#260 836、Fisher Scientific）の1つのウェルに個別に入れる。移動運動の変化を試験するために、マイクロプレートを封入された運動追跡デバイスの内部に置き、室温で10~15分間、暗い状態に馴化させる。1ウェルあたり1匹の移動運動プロットを、EthoVision XTソフトウェアを実行しているDanioVisionシステム（DanioVision、Noldus Information Technology）を用い、10分の記録時間で得；バックグラウンドよりも濃い物体を特定するための閾値検出設定を各実験について最適化する。発作点数化を以下の3ステージスケール（Baraban et al., 2005）を用いて実施する：ステージ0、遊泳活動がない、またはほとんどない；ステージI、短期間の遊泳活動が増加；ステージII、急速な「渦巻き様」巡回遊泳行動；ならびにステージIII、発作性全身クローヌス様痙攣、および短時間の姿勢喪失。WTの魚は通常はステージ0またはIで採点される。プロットを移動距離（ミリメートル）および平均速度（ミリメートル/秒）について分析する。以前に報告されたように（Winter et al., 2008；Baraban et al., 2013）、速度変化は発作行動のより高感度アッセイ法である。

## 【0119】

発作行動の基準線記録を、前述のように、胚培地中で泳がせた変異体から得；第二の移動運動プロットを、試験化合物に溶液を変え、15~30分間平衡化した後に得る。陽性ヒット指定の基準は以下のとおりである：（1）平均速度の44%の低下（例えば、対照追跡試験で測定した試行と試行の間の変動性に基づく値；図1c）；および（2）試験魚の少なくとも50%の移動運動プロットにおいてステージ0またはステージI発作行動への低減。移動運動アッセイ法において「陽性ヒット」と分類された各試験化合物を、立体顕微鏡による直接視覚化の下、60分間の薬物曝露後に外部刺激に反応しての動きおよび目に見える心拍に基づいて魚が生きていると確認する。

## 【0120】

毒性（または致死性）は、試験魚の少なくとも50%において、外部刺激に反応しての目に見える心拍または動きがないことと定義される。興奮性亢進は、化合物が試験魚の少なくとも50%において、遊泳速度および/またはステージIII発作活動の44%の増大を引き起こすことと定義される。一次移動運動スクリーニングで特定されたヒット化合物を、前述の方法を再度用いて、選択し、再スクリーニングする。2回の一次移動運動アッセイ法において好結果で、2つの独立のゼブラフィッシュ群で毒性と分類されない、選択された化合物ストックを、さらに電気生理学アッセイ法における試験にかける。

## 【0121】

電気生理学アッセイ法：ゼブラフィッシュ幼生を、ブンガロトキシン（1mg/ml）で短時間麻痺させ、1.2%アガロース中で固定し；フィールド記録を前脳構造から得る。てんかん様事象をClampfit（Molecular Devices）において事後に特定し、基準線ノイズレベルの3倍および持続時間500msよりも大きい、マルチスパイクまたはポリスパイクの上向きまたは下向き膜偏位と定義する。電気生理学実験中に、ゼブラフィッシュ幼生を、CCDカメラおよびモニターを装備したOlympus BX51WI正立顕微鏡で直接視覚化により血流および心拍が有るか（または無いか）についてモニターする。

## 【0122】

## データ分析

10

20

30

40

50

特に記載がないかぎり、データを平均およびSEMで示す。特に記載がないかぎり、ペアワイズ統計学的有意性を、適宜、スチューデント両側独立t検定、ANOVA、またはマンホイットニー順位和検定により決定する。特に記載がないかぎり、結果は $p < 0.05$ で有意と考える。

#### 【0123】

##### 実施例4

##### 抗痙攣活性に対する多重電極アレイスクリーニング

試験物質を、未処置野生型およびDS KOマウスから採取した海馬脳切片の主要な領域（CA1、CA3、歯状回）にわたる多重電極アレイ記録（MEA）を用いて、疾患を反映すると特定された電気生理学的パラメーターに対するそれらの効果を測定することにより、治療標的として評価する。

10

#### 【0124】

組織調製：雄および雌129S野生型およびDS KOマウスを、頸椎脱臼により人道的に屠殺する。1匹あたり1つ以下の切片を用いて、任意の1つの実験条件を調べる。脳を迅速に（<2分）摘出し、NaCl 124mM、KCl 3mM、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.25mM、NaHCO<sub>3</sub> 36mM、MgSO<sub>4</sub>・6H<sub>2</sub>O 1mM、d-グルコース10mMおよびCaCl<sub>2</sub> 2mMを含む、冷却し、カルボキシジェネートした（carboxygenated）（95%O<sub>2</sub>：5%CO<sub>2</sub>）人工脳脊髄液（aCSF）に入れた。通常の横断海馬切片（Eger et al., 2002a）を450μmの厚さでCampden Vibroslice/M組織スライサー（Campden Instruments、Loughborough、UK）を用いて切断し、aCSF中、室温で少なくとも1時間置いた後に記録を開始する。

20

#### 【0125】

てんかん様活動のMg<sup>2+</sup>不含誘導のために、aCSFから置き換えなしにMgSO<sub>4</sub>・6H<sub>2</sub>Oを除去する。標準またはMg<sup>2+</sup>不含aCSFを適宜、解剖および記録の間に用い、記録の間、以前に調製した濃縮ストックの一定量から、陽性対照、試験物質、および媒体を加える。一定量を調製直後に凍結し、使用前に個別に解凍する。すべての試薬および薬物はSigma-Aldrich（Poole、UK）から入手する。陽性対照および試験物質はDMSOに1000×作業濃度で溶解し、aCSF中への組み込み前に使用するまで-20℃で保存し；最大DMSO浴濃度は0.1%2.2である。

#### 【0126】

MEA記録：各海馬切片の電気的活動をMEAを用いてモニターし、記録する（それぞれ直径30μmの59電極、間隔200μmおよび記録半径100μm、図1A；Multi Channel Systems、GmbH、Reutlingen、Germany）。

30

#### 【0127】

記録の前に、MEAを5%（w/v）Terg-A-Zyme（Cole-Palmer、London、UK）、メタノールおよび最後に蒸留水で清浄にする。

#### 【0128】

アプライシ（約4l）蒸発させたメタノール中の硝酸セルロース溶液（0.24%、w/v、Protran Nitrocellulose Transfer Membranes；Schleicher & Schuell Bioscience Inc., NH, USA；Ma et al., 2008）を用いて切片をMEAに付着させる。MEA上の切片の位置を、Nikon TS-51顕微鏡（Nikon、Japan）による倍率×4での観察によって確認し、切片および電極の位置の画像はMikro-Okularカメラ（Meade Instruments Corp., CA、USA；図1A）によりPCに取り込む。いったん接着すれば、切片をカルボキシジェネートしたaCSF（約2ml/分）で持続的に灌流する。シナプス伝導性LFP成分を良好に分離し、切片生存時間を最大にするために、切片を21℃で維持する。切片生存能およびMEA電極との接触を、切片上のMEA電極を通じて電圧パルス（STG2004 stimulator、Multi Channel Systems GmbH、Reutlingen、Germany）（200s二相性パルス、±0.5～3.0V）をかけて、局所フィールド電位を誘起することにより評価する。

40

#### 【0129】

各作用物質に対して、条件ごとおよび各組織型（変異体および野生型）で12～15の記録を作製する。120チャンネルデュアルヘッドステージ増幅器（MEA60 System、Multi Chann

50

el Systems GmbH, Reutlingen, Germany) によりシグナルを増幅 (1200 × ゲイン) し、60 チャンネルすべてでチャンネルごとに最低10kHzで同時にサンプリングする。データはMC Rackソフトウェア (Multi Channel Systems GmbH, Reutlingen, Germany) を用いてPCに取り込んで、オフライン分析のためにデータをモニターし、記録する。

#### 【0130】

データ分析：データ分析を、Matlab 6.5および7.0.4のためのインハウススクリプト (Mathworks, Natick, MA, USA; 著者らからの請求により利用可能な、本試験を通して用いたMatlabスクリプト) を用いて実施する。データを加工し、提示するために、Microsoft Excel (Microsoft, Redmond, USA) およびMC DataTool (Multi Channel Systems GmbH, Reutlingen, Germany) も用いる。

10

#### 【0131】

生データを2Hzハイパス二次バターワースフィルターを用いてフィルターにかけ、浴灌流に関連する超低周波数アーチファクトを除去する。対照実験中のバースト振幅および周波数の変化を、インハウスMatlab 7.0.4スクリプトを用いて評価する。データを10kHzから500Hzに低解像度処理し、それにより単一のMatlabスクリプトは実験内の各バーストのピーク振幅 (V) およびピークが生じる時間を戻した。これらのデータを、振幅および周波数の代表的プロットに用いる。

#### 【0132】

加えて、関心対象の時間の直前10のバーストのピーク振幅を用いて、平均振幅を10分間隔で計算する。同じ10のバーストを用いて周波数も計算し、ここで周波数 =  $10 / (\text{最後のバーストの時間} - \text{最初のバーストの時間})$  である。異なる電極および切片からのこの型のデータをプールする場合、各電極記録からの最初のバーストを0秒に起こったと考え；続くバーストを同じ量により相殺する。これは異なる材料からの記録間の比較性を改善した。振幅および周波数の変化を評価する対照実験において、平均振幅および周波数の値をバースト開始の30分後に計算した値に規準化する。

20

#### 【0133】

Matlab 6.5におけるMEAToolsのインハウス適合 (Egert et al., 2002b) を用いてサンプリング点 (10kHz) ごとに1フレームでの生データファイルからコンタープロットを構築することにより、バースト伝播パスを決定し、JPEG画像フォーマットにエクスポートする前に、5点Savitzky-Golayフィルターを用いて内挿する。個々のJPEGを連結し、後に低速再生するためにPhotolapse (<http://home.hccnet.nl/s.vd.palen/photolapsedlc.html>) を用いてAVIアニメーションに変換する。バースト開始部位、停止部位および結果としての伝播パスを決定した後、バースト開始 (CA3) および停止 (CA1) 部位に最も近い電極位置でバーストピークが起こった時間を、MC Rackで確認する。開始から停止までの距離をImageJ (Abramoff et al., 2004) を用いて計算し、時間および距離の値から示された方法で誘導した伝播速度を計算する。平均伝播速度をプールしたデータから誘導する。

30

#### 【0134】

スペクトログラムをNeuroexplorer 4.045 (NexTechnologies, Littleton, MA, USA) により、20msウィンドウシフト、8192高速フーリエ変換 (FFT) 周波数分割および250Hzでの周波数カットオフを用いて生成する。スペクトログラムを、パワースペクトル密度 (dB) の対数としてのスペクトルパワーの式により、比較のために規準化する。パワースペクトル密度の値は、2048 FFT周波数分割および250Hzの周波数カットオフを用いてのNeuroexplorerを用いて生成する。代表的なパワースペクトル密度プロットを周波数範囲0 ~ 50Hzについて示し、5点ガウスフィルターを用いて平滑化する。しかし、抗痙攣薬非存在下および存在下での全パワー変化の定量化のために、完全非平滑化周波数範囲 (0 ~ 250Hz) を用いる。でんかん様および抗痙攣剤処置した状態における等しい期間 (150s) のデータセットを、パワースペクトルの構築およびその後の定量化において用いる。

40

#### 【0135】

抗痙攣薬存在下での全パワーの変化を、各電極について100M4-AP存在下またはMg<sup>2+</sup>非存在下の全パワーのパーセンテージとして表す。次いで、個々の電極からのパーセンテージ

50

値を平均前の海馬領域（CA1、CA3および歯状回（DG））としてプールする。＞1の切片調製物からの4の電極からのデータを各領域について分析する。抗痙攣薬を加える実験において、まず100M 4-APまたはMg<sup>2+</sup>不含aCSFの適用によりバーストを誘導し；バースト開始の30分後、フェノバルビタールまたはフェルバメートを適用する。バーストの周波数、振幅および持続時間の差を、薬物適用（バースト開始後30分）前の10のバーストと、薬物適用30分後の10のバーストとの間で評価する。AED適用後30分の最後の5分間にバーストが記録されなければ、バーストは消滅したと考える。この場合、持続する切片生存能およびMEAとの接触の忠実度を、前述の電極刺激を介してのフィールド電位の誘起により確認する。

#### 【0136】

10

統計学的有意性を、すべての規準化データならびにモデル間の周波数および待ち時間の比較の場合に、マンホイットニーノンパラメトリックU検定により判定する。伝播速度に対する抗痙攣薬の効果の有意性を、両側対応スチューデントt検定を用いて試験する。すべての場合にp 0.05を有意と考える。すべてのデータは平均±S.E.M.として表し、データを各海馬領域（DG、CA3、CA1）について示す。

#### 【0137】

##### 実施例5

##### 生存試験

候補治療剤の用量反応曲線を、野生型およびScn1a<sup>-/-</sup>変異体ノックアウトマウスを用いて生成する。

20

#### 【0138】

動物の処置：129S野生型マウス（対照）および129S Scn1aノックアウトマウス（「DS K 0マウス」）はThe Jackson Laboratory（MMRRC Stock No: 37107-JAX）から入手する。すべての動物手順はすべての適用可能な動物福祉規制に従う。

#### 【0139】

おおよそ等しい数の雄および雌を有する10～12匹の群を媒体、陽性対照、または試験物質のいずれかで処置する。動物に0.08mlの注射量を1日2回、0900および1600時にP8から屠殺するまで皮下注射する。注射部位は以下の順に循環させる：左肩、右肩、左腰、右腰。投薬濃度は一定量の投与を保持するように調節する。

#### 【0140】

30

処置後、動物を離乳後2日（P23/P24）または数学モデルにより要求されればすぐに屠殺する。次いで、動物をコルモゴロフ・スミルノフ（Kolmogorov-Smirnov）福祉スコア（群間比較（Massey, F. J. 'The Kolmogorov-Smirnov Test for Goodness of Fit.' Journal of the American Statistical Association. Vol. 46, No. 253, 1951, pp. 68-78）およびマンテル・コックス（Mantel-Cox）またはゲーハン・ブレスロー・ウィルコクソン（Gehan-Breslow-Wilcoxon）死亡率検定（前者については、Mantel N., 'Evaluation of survival data and two new rank order statistics arising in its consideration' Cancer Chemother Rep. 1966 PMID: 5910392参照）を用いて評価する。得られたデータを統計分析にかけ（下記参照）、メジアン、IQRおよび最大/分で示す（死亡率%を除く）。

#### 【0141】

40

##### 実施例6

ドラベ症候群患者に対する可能性のある治療剤としての化合物の、人工多能性幹細胞皮質ニューロンを用いての評価

関心対象の化合物の治療的有効性を、単独または他の一般に用いられる抗痙攣剤と併用して、フェンフルラミンに反応することが公知のドラベ症候群患者由来の人工多能性幹細胞（iPSC）皮質ニューロンを用いて評価する。試験物質について得られた結果をフェンフルラミンについて得られたものと比較する。以下の方法を、本フェンフルラミン類縁体の評価において用いるために適合させることができる。

#### 【0142】

##### A. 材料と方法

50

### ヒト iPSC の皮質ニューロンへの分化

フェンフルラミンに反応することが公知のドラベ症候群患者から得た iPSC 細胞を皮質錐体様ニューロンおよび皮質介在ニューロンへと分化させる。

【0143】

#### 皮質錐体様ニューロンの生成

はじめに iPSC をアキュターゼ (Accutase) または 0.5mM EDTA (Lonza) により単細胞に分離し、10  $\mu$ M ROCK 阻害剤を含む hESC 培地中でゼラチンコーティングしたプレート上に 1 時間培養する。次いで、懸濁した iPSC を 10ng/ml FGF2 を含む MEF 馴化 hESC 培地中でマトリゲル (Matrigel) コーティングした 12 穴プレート上で再培養する。95% コンフルエンスで、培地を 1  $\mu$ M ドルソモルフィンおよび 10  $\mu$ M SB431542 を補足した 3N 培地に交換する。細胞を 8~11 日間培養し、神経誘導を「神経ロゼット」の出現によりモニターする。神経上皮細胞をディスパーゼ (Dispase) または 5mM EDTA により分離し、マトリゲルコーティングしたプレート上で 20ng/ml FGF2 を含む 3N 培地中で再培養する。2~4 日後、FGF2 を取り除いて分化を促進する。培養物をアキュターゼで継代し、3N 培地中の齧歯類前脳グリアまたはヒト iPSC 由来グリア細胞を播種した 60mm マトリゲルコーティングプレート上、 $5 \times 10^5$  で再培養し、1 日おきに培地交換して最大 100 日間維持する。

10

【0144】

#### 皮質介在ニューロンの生成

iPSC 胚様体 (EB) を、TGF- $\beta$  阻害剤を含む、前述のものと類似の神経誘導培地中、神経上皮シートが形成されるまで培養する。次いで、神経上皮シートを、高濃度の Pur を用いて淡蒼球原基 (MGE) 様前駆細胞へとパターン形成させ、MGE 様前駆細胞を GABA 作動性介在ニューロンへと分化させる。GABA 作動性介在ニューロンのほぼ純粋な集団 (90%) を生成し、培養 7 週間後に GABA についての免疫細胞化学試験を実施することにより確認する。

20

【0145】

#### 全細胞における電位開口型ナトリウム電流および活動電位発火の測定

関心対象化合物の単独および公知の AED 存在下での、全細胞における電位開口型ナトリウム電流および活動電位発火に対する効果を、全細胞電位および電流固定記録を用いて測定する。第一段階として、試験化合物の濃度増加のナトリウム電流に対する効果を電位固定下で測定する。次いで、試験化合物の誘起および自発性活動電位発火に対する効果を電流固定下で測定する。

30

【0146】

#### 電位または電流固定実験中の薬物の灌流

試験化合物 (最終濃度 10  $\mu$ M ~ 1mM) または媒体 (ナトリウム電流記録溶液または ACSF) を、基礎ナトリウム電流レベルまたは活動電位発火の記録後に、ニューロン上に灌流する。次いで、短期および長期薬物適用の効果を測定する。

【0147】

関心対象の化合物の濃度増加に反応しての電位感受性ナトリウム電流および活動電位発火の変化を、ドラベ症候群のためによく処方される以下の AED の、示した最終濃度での存在下、および非存在下で評価することができる: トピラマート (200  $\mu$ M)、スチリペントール (100  $\mu$ M)、バルプロ酸 (250  $\mu$ M)、およびクロバザム (3  $\mu$ M)。

40

【0148】

#### 電位固定記録

電位固定記録を以前に記載のように実施する。Brackenbury et. al, Abnormal neuronal patterning occurs during early postnatal brain development of Scn1b-null mice and precedes hyperexcitability. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013; 110(3):1089-94. PMID: 3549092 参照。

【0149】

分離したナトリウム電流を単ニューロン (双極または錐体) から室温 (21~22  $^{\circ}$ C) で下記を含む浴液存在下で記録する: 120mM NaCl、1mM BaCl<sub>2</sub>、2mM MgCl<sub>2</sub>、0.2mM CdCl<sub>2</sub>、1mM CaCl<sub>2</sub>、10mM HEPES、20mM TEA-Cl および 10mM グルコース (CsOH により pH7.35、モル浸透圧

50

濃度：300～305mOsm)。先端熱加工したパッチピペットをハウケイ酸ガラスキャピラリー（Warner Instrument Corp.）からSutter P-97プレー（Sutter Instrument Co.）を用いて作製し、下記を含む内部液を充填する：1mM NaCl、177mM N-メチル-D-グルカミン、10mM EGTA、2mM MgCl<sub>2</sub>、40mM HEPES、および25mMホスホクレアチン-トリス（H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>によりpH7.2）。培養液を浴記録液に交換し、細胞を含むプレートを記録装置上に置いた後、10～120分以内に記録を実施する。収集する実験データは、電流-電圧関係、電流密度、活性化の電圧依存性、不活化の電圧依存性、および不活化からの回復を含む。

#### 【0150】

##### 電流固定記録

電流固定記録をLiu et. al, Dravet syndrome patient-derived neurons suggest a novel epilepsy mechanism. Ann Neurol. 2013; 74(1):128-39. PMCID: 3775921に記載のように実施する。

#### 【0151】

iPSC由来ニューロンにおける活動電位の電流固定記録のために、パッチピペットに下記からなる内液を充填する：135mM、K-グルコネート；4mM、NaCl；0.5mM、CaCl<sub>4</sub>；10mM、HEPES；5mM、EGTA、2mM、Mg-ATPおよび0.4mM、GTP（pH7.3、KOHで調節）。iPSCニューロンを下記からなる液に浸漬する：115mM、NaCl；2.5mM、KCl；1mM、MgCl<sub>2</sub>；1.25mM、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>；26mM、NaHCO<sub>3</sub>；2mM、CaCl；10 HEPESおよび10mM、D-グルコース（pH7.4、NaOHで調節）。個々の活動電位をそれらの静止膜電位から、一連の1ms脱分極電流を閾値以下のレベルから始めて0.02nA増分で一定の活動電位生成まで注入することにより誘起する。最初の活動電位の開始に必要な最小電流を閾値電流と定義する。反復スパイク発火を、1500ms脱分極電流（0.02nA）をそれらの静止レベルでの保持電位から注入することにより誘起する。自発性発火をそれらの静止膜電位で保持したニューロンから記録する。

#### 【0152】

定量的データを平均およびSEMで示す。ペアワイズ統計学的有意性を、適宜、スチューデントズ両側対応/独立t検定、またはマンホイットニー順位和検定により決定する。多重比較をANOVAと、続くチューキー事後分析を用いて行う。結果はP<0.05で有意と考える。

#### 【0153】

##### iPSC皮質ニューロンクラスターの自発性活動電位発火の測定

MEA記録中の薬物の投与：

漸増濃度の試験化合物および媒体を、ヒトiPSCニューロンを含む96穴プレート（1枚のプレートに対照1名およびドラベ対象1名で、条件ごとに1名あたり6穴）の各ウェルの培地に加え、続いて基礎活性レベルを記録する。各ウェルは、自発性活動電位の細胞外記録のための8つの電極を含む。記録を1時間にわたり15分ごとに5分間行い、ニューロン分化の第5～7週の3週間にわたり毎週繰り返す。すべての実験は二つ組で実施する。

#### 【0154】

##### MEA記録

対照およびドラベ症候群ヒトiPSC由来ニューロンを、ウェルごとに8つの電極を含むAxion 96穴MEAチップ上で培養する。プレートをフィブロネクチンでコーティングし、1.3×10<sup>6</sup>細胞/mlの密度でニューロン前駆細胞を播種する。MEAシステムによって検出された細胞外電気信号を、組込みAxion増幅器およびサンプリングソフトウェアを用いて増幅し、閉鎖システムは細胞を37℃に維持し、長期記録のために5%CO<sub>2</sub>環境の維持を可能にする。活動電位分析を、NeuroExplorerソフトウェアを用いて実施する。ウェルごとおよび電極ごとのスパイク率、バースティング率、同期性放電（すなわち複数の電極で同時に起こる）の程度および局所フィールド電位の形態を判定する。

#### 【0155】

添付の特許請求の範囲にかかわらず、本明細書に示す開示は以下の条項によっても規定される：

#### 【0156】

第1条 てんかんまたは神経関連疾患の治療方法であって、それを必要としている対象に

10

20

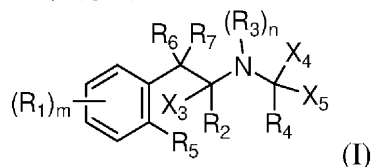
30

40

50



、治療的有効量の式 (I) の化合物またはその薬学的に許容される塩を投与する段階を含む、方法：

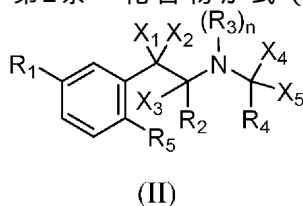


式中：

$R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_4$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ および $R_7$ は独立に水素、ハロゲン、 $X_1$ 、 $X_2$ 、アルコキシ、アシル、置換アシル、カルボキシ、シアノ、ヒドロキシ、アルコキシ、置換アルコキシ、アルキル、置換アルキル、アリール、置換アリール、複素環、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、置換複素環から選択され、または第2の $R^1 \sim R^7$ 基と一緒に、置換されていてもよいシクロアルキル環、複素環、アリール環もしくはヘテロアリール環を形成し、 $R_2$ と $R_5$ 、 $R_2$ と $R_4$ 、 $R_1$ と $R_5$ 、 $R_6$ と $R_7$ 、および/または $R_3$ と $R_6$ は環状に連結されており； $X_1 \sim X_5$ はそれぞれ独立にH、D、F、アルキルまたは置換アルキルであり； $m$ は0～4であり；かつ $n$ は1または2であり、 $n$ が2である場合、窒素は正に荷電している。

【0157】

第2条 化合物が式 (II) を有する化合物、またはその塩である、第1条記載の方法：

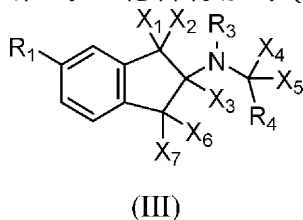


式中：

$R_1$ はアルキル、置換アルキル（例えば、 $CF_3$ ）または $SF_5$ であり； $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_4$ および $R_5$ は独立に水素、ハロゲン、アルコキシ、アシル、置換アシル、カルボキシ、シアノ、ヒドロキシ、アルコキシ、置換アルコキシ、アルキル、置換アルキル、アリール、置換アリール、複素環、ヘテロアリール、置換ヘテロアリールおよび置換複素環から選択され、 $R_2$ と $R_5$ または $R_2$ と $R_4$ は環状に連結されていてもよく； $X_1 \sim X_5$ はそれぞれ独立にH、D、F、アルキルまたは置換アルキルであり；かつ $n$ は1または2であり、 $n$ が2である場合、窒素は正に荷電している。

【0158】

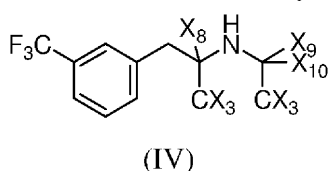
第3条 化合物が式 (III) を有する化合物である、第1または2条記載の方法：



式中、 $X_1 \sim X_7$ はそれぞれ独立にH、DまたはFであり、かつ $R_1$ 、 $R_3$ および $R_4$ は式 (I) の任意の態様において定義したとおりである。

【0159】

第4条 化合物が式 (IV) を有する化合物である、第1または2条記載の方法：



10

20

30

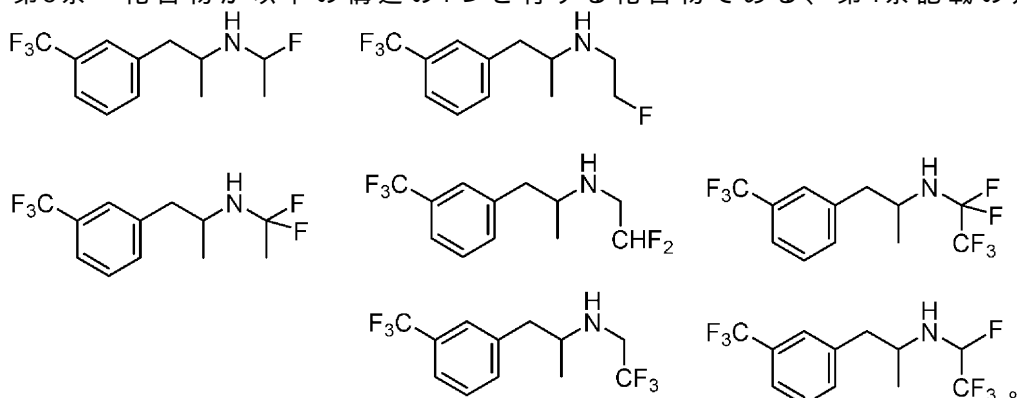
40

50

式中、 $X_8 \sim X_{10}$  および各Xは独立にH、DまたはFであり、ただし少なくとも1つの $X_8 \sim X_{10}$  だがXがFであることを条件とする。

【0160】

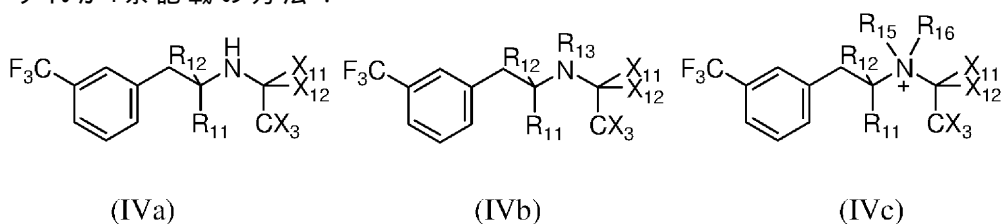
第5条 化合物が以下の構造の1つを有する化合物である、第4条記載の方法：



10

【0161】

第6条 化合物が式(IVa)～(IVc)の1つを有する化合物である、第1、2および4条のいずれか1条記載の方法：

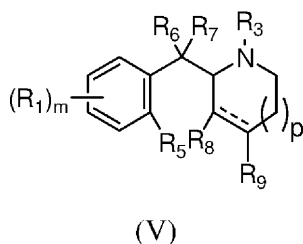


20

式中、 $X_{11}$ 、 $X_{12}$  および各Xは独立にH、DまたはFであり；かつ  
 $R_{11} \sim R_{16}$  はそれぞれ独立にアルキルまたは置換アルキルである。

【0162】

第7条 化合物が式(V)を有する化合物である、第1条記載の方法：



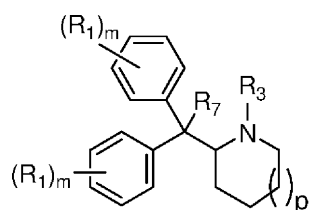
30

式中、 $R_1$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_7$  およびmは上で定義したとおりであり、pは0、1または2であり、かつ $R_8$  および $R_9$  は独立に水素、ハロゲン、アルコキシ、アシル、置換アシル、カルボキシ、シアノ、ヒドロキシ、アルコキシ、置換アルコキシ、アルキル、置換アルキル、アリール、置換アリール、複素環、ヘテロアリール、置換ヘテロアリールおよび置換複素環から選択され、または $R_8$  および $R_9$  は環状に連結されて、さらに置換されていてもよい5または6員シクロアルキル、複素環、アリールまたはヘテロアリール環を形成し、ここで破線の結合は一重または二重共有結合を表す。

40

【0163】

第8条 化合物が式(VI)を有する化合物である、第7条記載の方法：

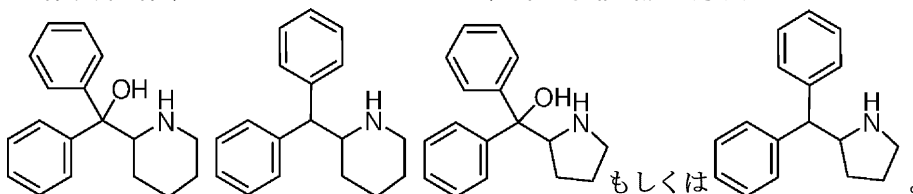


(VI)

式中、 $R_1$ 、 $R_3$ 、 $R_7$ 、および $m$ は上で定義したとおりであり、かつ $p$ は0、1または2である。

## 【0164】

第9条 化合物が以下の構造の1つを有する化合物、またはそのプロドラッグ、またはその  
立体異性体、またはその塩である、第8条記載の方法：

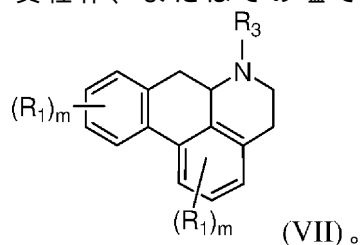


10

## 【0165】

第10条 化合物が式(VII)を有する化合物、またはそのプロドラッグ、またはその立体  
異性体、またはその塩である、第7条記載の方法：

20

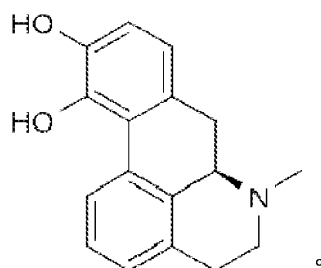


(VII)。

## 【0166】

第11条 化合物が以下の構造、またはそのプロドラッグ、またはその立体異性体、または  
その塩を有する、第10条記載の方法：

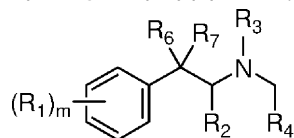
30



## 【0167】

第12条 化合物が式(VIII)を有する化合物である、第1条記載の方法：

40

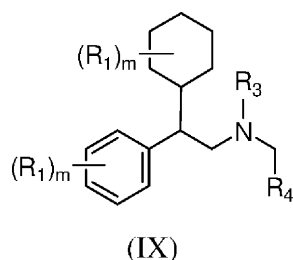


(VIII)

式中、 $R_1 \sim R_4$ 、 $R_6$ 、 $R_7$ および $m$ は上で定義したとおりである。

## 【0168】

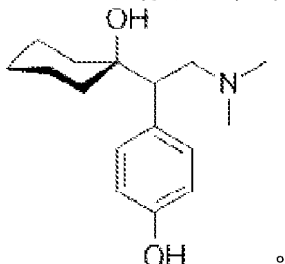
第13条 化合物が式(IX)を有する化合物である、第12条記載の方法：



式中、 $R_1$ 、 $R_3$ 、 $R_4$ 、および各 $m$ は上で定義したとおりである。

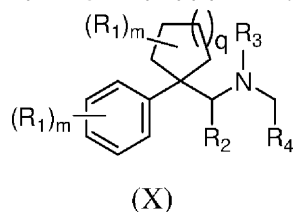
【0169】

第14条 化合物が以下の構造、またはそのプロドラッグ、またはその立体異性体、またはその塩を有する、第13条記載の方法：



【0170】

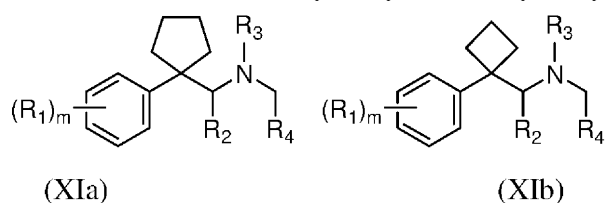
第15条 化合物が式(X)を有する化合物である、第12条記載の方法：



式中、 $R_1 \sim R_4$ 、および各 $m$ は上で定義したとおりであり、かつ $q$ は0、1または2である。

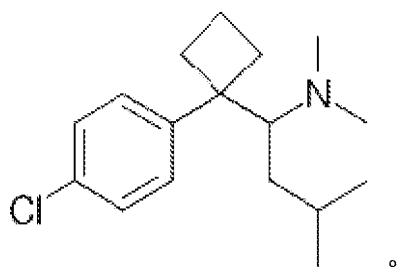
【0171】

第16条 化合物が式(XIa)または(XIb)を有する化合物である、第15条記載の方法：



【0172】

第17条 化合物が以下の構造、またはそのプロドラッグ、またはその立体異性体、またはその塩を有する、第16条記載の方法：



【0173】

第18条 対象に抗てんかん剤を同時投与する段階をさらに含む、第7条記載の方法。

【0174】

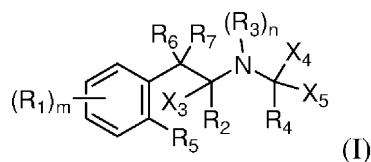
第19条 対象における食欲抑制方法であって、それを必要としている対象に、食欲抑制量の式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩を投与する段階を含む、方法：

10

20

30

40



式中：

$R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_4$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ および $R_7$ は独立に水素、ハロゲン、 $X_1$ 、 $X_2$ 、アルコキシ、アシル、置換アシル、カルボキシ、シアノ、ヒドロキシ、アルコキシ、置換アルコキシ、アルキル、置換アルキル、アリール、置換アリール、複素環、ヘテロアリール、置換ヘテロアリール、置換複素環から選択され、または第2の $R^1 \sim R^7$ 基と一緒に、置換されていてもよいシクロアルキル環、複素環、アリール環もしくはヘテロアリール環を形成し、 $R_2$ と $R_5$ 、 $R_2$ と $R_4$ 、 $R_1$ と $R_5$ 、 $R_6$ と $R_7$ 、および/または $R_3$ と $R_6$ は環状に連結されており；

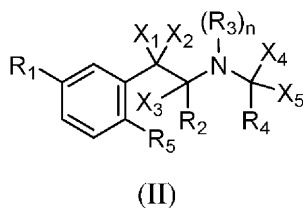
$X_1 \sim X_5$ はそれぞれ独立にH、D、F、アルキルまたは置換アルキルであり；

$m$ は0～4であり；かつ

$n$ は1または2であり、 $n$ が2である場合、窒素は正に荷電している。

【0175】

第20条 化合物が式(II)を有する化合物、またはその塩である、第19条記載の方法：



式中：

$R_1$ はアルキル、置換アルキル（例えば、 $CF_3$ ）または $SF_5$ であり；

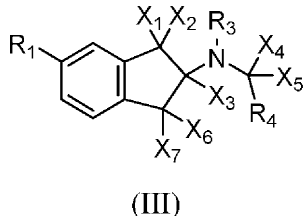
$R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_4$ および $R_5$ は独立に水素、ハロゲン、アルコキシ、アシル、置換アシル、カルボキシ、シアノ、ヒドロキシ、アルコキシ、置換アルコキシ、アルキル、置換アルキル、アリール、置換アリール、複素環、ヘテロアリール、置換ヘテロアリールおよび置換複素環から選択され、 $R_2$ と $R_5$ または $R_2$ と $R_4$ は環状に連結されていてもよく；

$X_1 \sim X_5$ はそれぞれ独立にH、D、F、アルキルまたは置換アルキルであり；かつ

$n$ は1または2であり、 $n$ が2である場合、窒素は正に荷電している。

【0176】

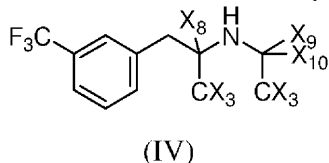
第21条 化合物が式(III)を有する化合物である、第19または20条記載の方法：



式中、 $X_1 \sim X_7$ はそれぞれ独立にH、DまたはFであり、かつ $R_1$ 、 $R_3$ および $R_4$ は式(I)の任意の態様において定義したとおりである。

【0177】

第22条 化合物が式(IV)を有する化合物である、第19または20条記載の方法：



式中、 $X_8 \sim X_{10}$ および各Xは独立にH、DまたはFであり、ただし少なくとも1つの $X_8 \sim X_{10}$ またはXがFであることを条件とする。

【0178】

10

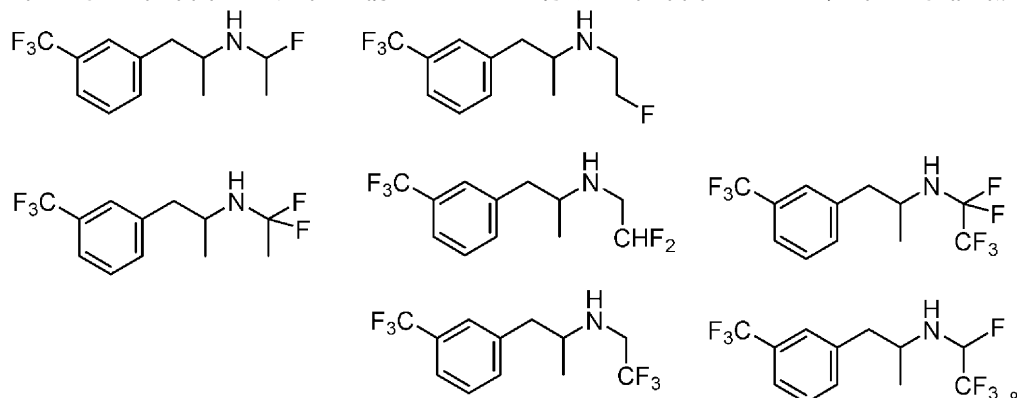
20

30

40

50

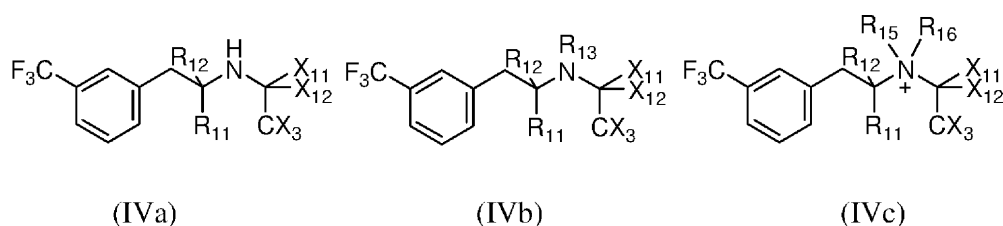
第23条 化合物が以下の構造の1つを有する化合物である、第22条記載の方法：



10

【0179】

第24条 化合物が式(IVa)～(IVc)の1つを有する化合物である、第19、20および22条のいずれか1条記載の方法：

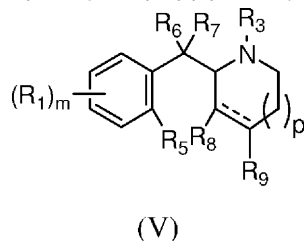


20

式中、 $X_{11}$ 、 $X_{12}$ および各Xは独立にH、DまたはFであり；かつ  
 $R_{11} \sim R_{16}$ はそれぞれ独立にアルキルまたは置換アルキルである。

【0180】

第25条 化合物が式(V)を有する化合物である、第19条記載の方法：



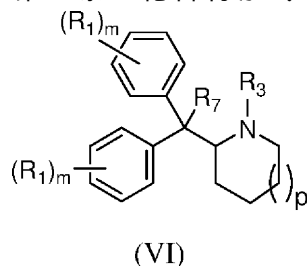
30

式中、 $R_1$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_7$ およびmは上で定義したとおりであり、pは0、1または2であり、かつ $R_8$ および $R_9$ は独立に水素、ハロゲン、アルコキシ、アシル、置換アシル、カルボキシ、シアノ、ヒドロキシ、アルコキシ、置換アルコキシ、アルキル、置換アルキル、アリール、置換アリール、複素環、ヘテロアリール、置換ヘテロアリールおよび置換複素環から選択され、または $R_8$ および $R_9$ は環状に連結されて、さらに置換されていてもよい5または6員シクロアルキル、複素環、アリールまたはヘテロアリール環を形成し、ここで破線の結合は一重または二重共有結合を表す。

【0181】

40


第26条 化合物が式(VI)を有する化合物である、第25条記載の方法：



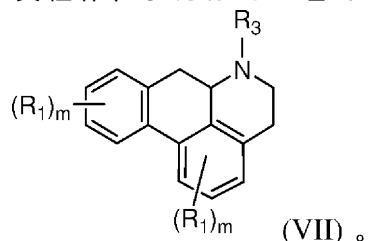
式中、 $R_1$ 、 $R_3$ 、 $R_7$ 、およびmは上で定義したとおりであり、かつpは0、1または2である。

【0182】

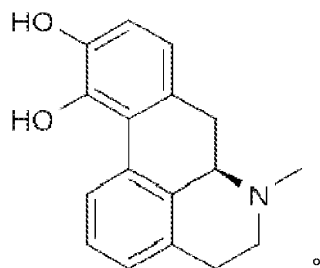
50



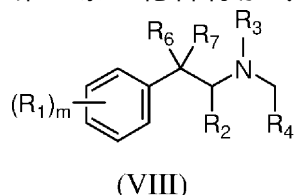
10



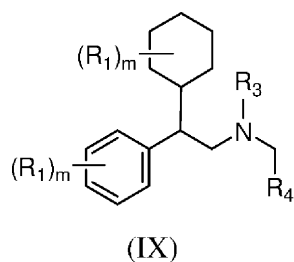
20



30

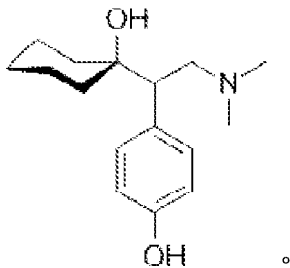


第31条 化合物が式(IX)を有する化合物である、第30条記載の方法：



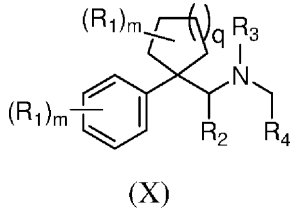
40

第32条 化合物が以下の構造、またはそのプロドラッグ、またはその立体異性体、またはその塩を有する、第31条記載の方法：



【 0 1 8 8 】

第33条 化合物が式 (X) を有する化合物である、第30条記載の方法：

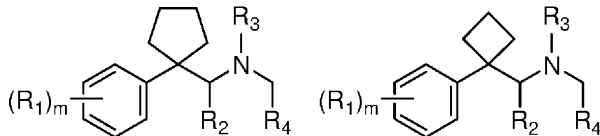


(X)

式中、R<sub>1</sub> ~ R<sub>4</sub>、および各mは上で定義したとおりであり、かつqは0、1または2である。

【 0 1 8 9 】

第34条 化合物が式 (XIa) または (XIb) を有する化合物である、第33条記載の方法：

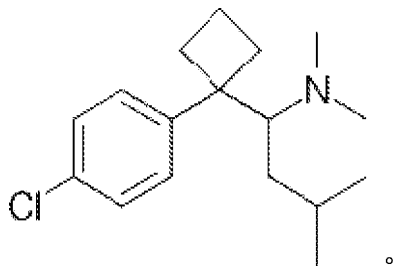


(XIa)

(XIb)。

【 0 1 9 0 】

第35条 化合物が以下の構造、またはそのプロドラッグ、またはその立体異性体、またはその塩を有する、第34条記載の方法：



【 0 1 9 1 】

前述の記載は単に本発明の原理を示すにすぎない。当業者であれば、本明細書に明白に記載または示していないが、本発明の原理を具体化し、その精神および範囲内に含まれる、様々な配置を考案し得ることが理解されよう。さらに、本明細書において列挙するすべての例および条件の用語は、主として読者が本発明の原理および本発明者による技術の促進に寄与する概念を理解する際の助けとなることが意図され、そのような具体的に列挙する例および条件に対する制限はないと解釈されるべきである。さらに、本明細書の原理、局面、および態様、ならびにその具体例を記載する、本明細書におけるすべての言明は、その構造的および機能的等価物の両方を含むことが意図される。加えて、そのような等価物は、現在公知の等価物および将来開発される等価物、すなわち、構造に関係なく、同じ機能を果たす任意の開発される要素の両方を含むことが意図される。したがって、本発明の範囲は、本明細書において示し、記載する、例示的態様に限定されると意図されない。それよりも、本発明の範囲および精神は添付の特許請求の範囲によって具体化される。



## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US16/67852

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC - A61K 31/40; C07C 211/29, 211/30 (2017.01)  
CPC - C07C 211/29, 211/27, 211/30

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)

See Search History document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

See Search History document

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

See Search History document

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2007/073503 A2 (BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY) 28 June 2007; paragraphs [0014], [0045]-[0046]	1-2
X — Y	US 5,587,398 A (ELMALEH, DR et al.) 24 December 1998; column 2, lines 13-23; column 3, lines 1-20; column 4, lines 15-22, 33-41; column 5, lines 35-65	1, 3-7, 10 ----- 8
Y	US 2014/0142140 A1 (BIRD, P) 22 May 2014; claim 16	9

☐ 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 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

30 January 2017 (30.01.2017)

Date of mailing of the international search report

17 FEB 2017

Name and mailing address of the ISA/

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents  
P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450  
Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer

Shane Thomas

PCT Helpdesk: 571-272-4300  
PCT OSP: 571-272-7774

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JS16/67852

**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.: 8, 11  
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 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.:

**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.

## フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(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), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), 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, DJ, 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, KH, KN, KP, KR, KW, 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

(74)代理人 100148699  
弁理士 佐藤 利光

(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 100205707  
弁理士 小寺 秀紀

(74)代理人 100114340  
弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100114889  
弁理士 五十嵐 義弘

(74)代理人 100121072  
弁理士 川本 和弥

(72)発明者 ファー スティーブン ジェイ .  
アメリカ合衆国 9 4 5 6 3 カリフォルニア州 オリンダ ロバート ロード 1 2

(72)発明者 ボイド ブルックス エム .  
アメリカ合衆国 9 4 7 0 2 カリフォルニア州 パークレー チャニング ウェイ 1 1 3 8

Fターム(参考) 4C206 AA01 AA02 AA03 FA08 KA01 MA01 MA04 NA03 NA05 NA06  
ZA02 ZA06

4H006 AA01 AA03 AB21