

(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2010-504338

(P2010-504338A)

(43) 公表日 平成22年2月12日(2010.2.12)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>A 6 1 K 31/437 (2006.01)</b>	A 6 1 K 31/437	4 C 0 6 5
<b>C 0 7 D 471/04 (2006.01)</b>	C 0 7 D 471/04 1 0 2	4 C 0 8 6
<b>A 6 1 K 31/444 (2006.01)</b>	A 6 1 K 31/444	
<b>A 6 1 P 21/02 (2006.01)</b>	A 6 1 P 21/02	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 57 頁)

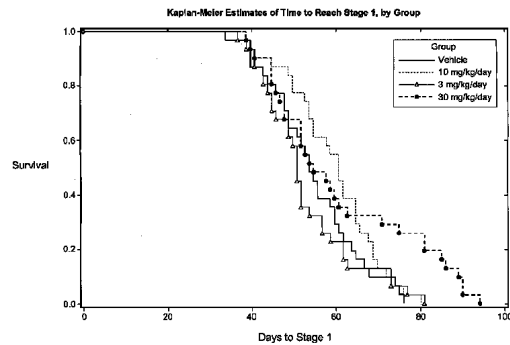
(21) 出願番号	特願2009-529260 (P2009-529260)	(71) 出願人	508223608 メディベ이션 ニューロロジー, インコーポレイテッド アメリカ合衆国 カリフォルニア 94105, サンフランシスコ, スピアー ストリート 201, 3アールディー フロアー
(86) (22) 出願日	平成19年9月20日 (2007.9.20)	(74) 代理人	100078282 弁理士 山本 秀策
(85) 翻訳文提出日	平成21年5月18日 (2009.5.18)	(74) 代理人	100062409 弁理士 安村 高明
(86) 国際出願番号	PCT/US2007/020516	(74) 代理人	100113413 弁理士 森下 夏樹
(87) 国際公開番号	W02008/036410		
(87) 国際公開日	平成20年3月27日 (2008.3.27)		
(31) 優先権主張番号	60/846, 139		
(32) 優先日	平成18年9月20日 (2006.9.20)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の治療のための水素化ピリド [4, 3-b] インドール

(57) 【要約】

本発明は、水素化ピリド [4, 3-b] インドール類、例えばディメボンなど、を使用してALSを治療および/または予防し、かつ/あるいは発病および/または発症を緩徐化するための方法を提供する。一つの実施形態において、本発明は、ALSを発症する危険のある個体(例えばSOD1変異体を有する個体)におけるALSの発病および/または発症を、その個体に有効量の水素化ピリド [4, 3-b] インドール、またはその薬学的に許容できる塩を投与することによって予防または緩徐化させる方法を提供する。



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の治療を必要とする個体における ALS を治療する方法であって、個体に有効量の水素化ピリド [4, 3-b] インドール、またはその薬学的に許容できる塩を投与することを含む、方法。

## 【請求項 2】

前記水素化ピリド [4, 3-b] インドールが、テトラヒドロピリド [4, 3-b] インドールである、請求項 1 に記載の方法。

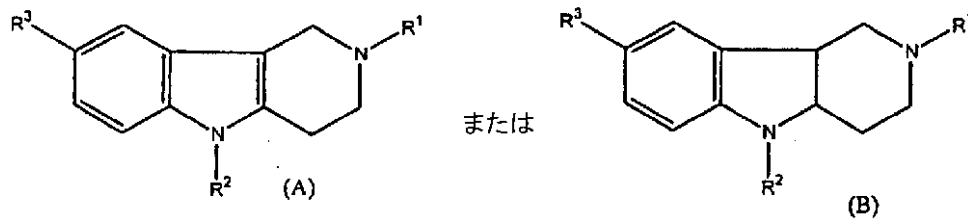
## 【請求項 3】

前記水素化ピリド [4, 3-b] インドールが、ヘキサヒドロピリド [4, 3-b] インドールである、請求項 1 に記載の方法。

10

## 【請求項 4】

前記水素化ピリド [4, 3-b] インドールが、次式を有する、請求項 1 に記載の方法  
【化 10】



20

[ 式中、

R<sup>1</sup> は、低級アルキルまたはアラルキルから選択され、

R<sup>2</sup> は、水素、アラルキルまたは置換ヘテロアラルキルから選択され、

R<sup>3</sup> は、水素、低級アルキルまたはハロから選択される ]。

## 【請求項 5】

アラルキルが、PhCH<sub>2</sub>- であり、置換ヘテロアラルキルが 6-CH<sub>3</sub>-3-Py-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>- である、請求項 4 に記載の方法。

## 【請求項 6】

R<sup>1</sup> が、CH<sub>3</sub>-、CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>-、または PhCH<sub>2</sub>- から選択され、

30

R<sup>2</sup> が、H-、PhCH<sub>2</sub>-、または 6-CH<sub>3</sub>-3-Py-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>- から選択され、

R<sup>3</sup> が、H-、CH<sub>3</sub>- または Br- から選択される、

請求項 4 に記載の方法。

## 【請求項 7】

前記水素化ピリド [4, 3-b] インドールが、

シス(±)2, 8-ジメチル-2, 3, 4, 4a, 5, 9b-ヘキサヒドロ-1H-ピリド [4, 3-b] インドール；

2-エチル-2, 3, 4, 5-テトラヒドロ-1H-ピリド [4, 3-b] インドール；

40

2-ベンジル-2, 3, 4, 5-テトラヒドロ-1H-ピリド [4, 3-b] インドール；

2, 8-ジメチル-5-ベンジル-2, 3, 4, 5-テトラヒドロ-1H-ピリド [4, 3-b] インドール；

2-メチル-5-(2-メチル-3-ピリジル)エチル-2, 3, 4, 5-テトラヒドロ-1H-ピリド [4, 3-b] インドール；

2, 8-ジメチル-5-(2-(6-メチル-3-ピリジル)エチル)-2, 3, 4, 5-テトラヒドロ-1H-ピリド [4, 3-b] インドール；

2-メチル-2, 3, 4, 5-テトラヒドロ-1H-ピリド [4, 3-b] インドール；

50

2, 8 - ジメチル - 2, 3, 4, 5 - テトラヒドロ - 1H - ピリド [ 4, 3 - b ] インドール ;

2 - メチル - 8 - ブロモ - 2, 3, 4, 5 - テトラヒドロ - 1H - ピリド [ 4, 3 - b ] インドール

からなる群から選択される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

前記水素化ピリド [ 4, 3 - b ] インドールが、2, 8 - ジメチル - 5 - ( 2 - ( 6 - メチル - 3 - ピリジル ) エチル ) - 2, 3, 4, 5 - テトラヒドロ - 1H - ピリド [ 4, 3 - b ] インドールである、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

前記薬学的に許容できる塩が、薬学的に許容できる酸性塩である、請求項 1 または 8 に記載の方法。

【請求項 10】

前記薬学的に許容できる塩が、塩酸塩である、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記水素化ピリド [ 4, 3 - b ] インドールが、2, 8 - ジメチル - 5 - ( 2 - ( 6 - メチル - 3 - ピリジル ) エチル ) - 2, 3, 4, 5 - テトラヒドロ - 1H - ピリド [ 4, 3 - b ] インドール二塩酸塩である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 12】

$R^1$  が  $CH_3$  - であり、 $R^2$  が H であり、 $R^3$  が  $CH_3$  - である、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 13】

$R^1$  が  $CH_3CH_2$  - または  $PhCH_2$  - であり、 $R^2$  が H - であり、 $R^3$  が  $CH_3$  - である、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 14】

$R^1$  が  $CH_3$  - であり、 $R^2$  が  $PhCH_2$  - であり、 $R^3$  が  $CH_3$  - である、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 15】

$R^1$  が  $CH_3$  - であり、 $R^2$  が 6 -  $CH_3$  - 3 - Py - (  $CH_2$  )<sub>2</sub> - であり、 $R^3$  が H - である、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 16】

$R^2$  が 6 -  $CH_3$  - 3 - Py - (  $CH_2$  )<sub>2</sub> - である、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 17】

$R^1$  が  $CH_3$  - であり、 $R^2$  が H - であり、 $R^3$  が H - または  $CH_3$  - である、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 18】

$R^1$  が  $CH_3$  - であり、 $R^2$  が H - であり、 $R^3$  が Br - である、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 19】

筋萎縮性側索硬化症 ( ALS ) と関係する変異した遺伝子または異常遺伝子を有するかあるいは ALS と診断された個体における ALS の進行を緩徐化させる方法であって、該個体に有効量の水素化ピリド [ 4, 3 - b ] インドール、またはその薬学的に許容できる塩を投与することを含む、方法。

【請求項 20】

前記水素化ピリド [ 4, 3 - b ] インドールが、テトラヒドロピリド [ 4, 3 - b ] インドールである、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 21】

前記水素化ピリド [ 4, 3 - b ] インドールが、ヘキサヒドロピリド [ 4, 3 - b ] インドールである、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 22】

10

20

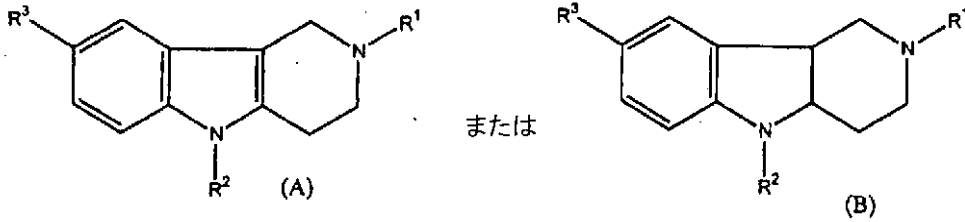
30

40

50

前記水素化ピリド[4, 3-b]インドールが、次式を有する、請求項17に記載の方法

【化11】



10

[式中、

- R<sup>1</sup>は、低級アルキルまたはアラルキルから選択され、
- R<sup>2</sup>は、水素、アラルキルまたは置換ヘテロアラルキルから選択され、
- R<sup>3</sup>は、水素、低級アルキルまたはハロから選択される]。

【請求項23】

アラルキルが、PhCH<sub>2</sub>-であり、置換ヘテロアラルキルが6-CH<sub>3</sub>-3-Py-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-である、請求項22に記載の方法。

【請求項24】

- R<sup>1</sup>が、CH<sub>3</sub>-、CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>-、またはPhCH<sub>2</sub>-から選択され、
  - R<sup>2</sup>が、H-、PhCH<sub>2</sub>-、または6-CH<sub>3</sub>-3-Py-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-から選択され、
  - R<sup>3</sup>が、H-、CH<sub>3</sub>-またはBr-から選択される、
- 請求項22に記載の方法。

20

【請求項25】

前記水素化ピリド[4, 3-b]インドールが、

- シス(±)2, 8-ジメチル-2, 3, 4, 4a, 5, 9b-ヘキサヒドロ-1H-ピリド[4, 3-b]インドール；
- 2-エチル-2, 3, 4, 5-テトラヒドロ-1H-ピリド[4, 3-b]インドール；
- 2-ベンジル-2, 3, 4, 5-テトラヒドロ-1H-ピリド[4, 3-b]インドール；
- 2, 8-ジメチル-5-ベンジル-2, 3, 4, 5-テトラヒドロ-1H-ピリド[4, 3-b]インドール；
- 2-メチル-5-(2-メチル-3-ピリジル)エチル-2, 3, 4, 5-テトラヒドロ-1H-ピリド[4, 3-b]インドール；
- 2, 8-ジメチル-5-(2-(6-メチル-3-ピリジル)エチル)-2, 3, 4, 5-テトラヒドロ-1H-ピリド[4, 3-b]インドール；
- 2-メチル-2, 3, 4, 5-テトラヒドロ-1H-ピリド[4, 3-b]インドール；
- 2, 8-ジメチル-2, 3, 4, 5-テトラヒドロ-1H-ピリド[4, 3-b]インドール；
- 2-メチル-8-プロモ-2, 3, 4, 5-テトラヒドロ-1H-ピリド[4, 3-b]インドール

からなる群から選択される、請求項19に記載の方法。

30

40

【請求項26】

前記水素化ピリド[4, 3-b]インドールが、2, 8-ジメチル-5-(2-(6-メチル-3-ピリジル)エチル)-2, 3, 4, 5-テトラヒドロ-1H-ピリド[4, 3-b]インドールである、請求項25に記載の方法。

【請求項27】

前記薬学的に許容できる塩が、薬学的に許容できる酸性塩である、請求項19または2

50



R<sup>2</sup> は、水素、アラルキルまたは置換ヘテロアラルキルから選択され、  
R<sup>3</sup> は、水素、低級アルキルまたはハロから選択される]。

【請求項 4 1】

アラルキルが、PhCH<sub>2</sub>-であり、置換ヘテロアラルキルが 6-CH<sub>3</sub>-3-Py-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-である、請求項 4 0 に記載の方法。

【請求項 4 2】

R<sup>1</sup> が、CH<sub>3</sub>-、CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>-、または PhCH<sub>2</sub>- から選択され、  
R<sup>2</sup> が、H-、PhCH<sub>2</sub>-、または 6-CH<sub>3</sub>-3-Py-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>- から選択され、

R<sup>3</sup> が、H-、CH<sub>3</sub>-または Br- から選択される、  
請求項 4 0 に記載の方法。

10

【請求項 4 3】

前記水素化ピリド [ 4 , 3 - b ] インドールが、

シス ( ± ) 2 , 8 - ジメチル - 2 , 3 , 4 , 4 a , 5 , 9 b - ヘキサヒドロ - 1 H - ピリド [ 4 , 3 - b ] インドール ;

2 - エチル - 2 , 3 , 4 , 5 - テトラヒドロ - 1 H - ピリド [ 4 , 3 - b ] インドール ;

2 - ベンジル - 2 , 3 , 4 , 5 - テトラヒドロ - 1 H - ピリド [ 4 , 3 - b ] インドール ;

2 , 8 - ジメチル - 5 - ベンジル - 2 , 3 , 4 , 5 - テトラヒドロ - 1 H - ピリド [ 4 , 3 - b ] インドール ;

2 - メチル - 5 - ( 2 - メチル - 3 - ピリジル ) エチル - 2 , 3 , 4 , 5 - テトラヒドロ - 1 H - ピリド [ 4 , 3 - b ] インドール ;

2 , 8 - ジメチル - 5 - ( 2 - ( 6 - メチル - 3 - ピリジル ) エチル ) - 2 , 3 , 4 , 5 - テトラヒドロ - 1 H - ピリド [ 4 , 3 - b ] インドール ;

2 - メチル - 2 , 3 , 4 , 5 - テトラヒドロ - 1 H - ピリド [ 4 , 3 - b ] インドール ;

2 , 8 - ジメチル - 2 , 3 , 4 , 5 - テトラヒドロ - 1 H - ピリド [ 4 , 3 - b ] インドール ;

2 - メチル - 8 - プロモ - 2 , 3 , 4 , 5 - テトラヒドロ - 1 H - ピリド [ 4 , 3 - b ] インドール

からなる群から選択される、請求項 3 7 に記載の方法。

20

30

【請求項 4 4】

前記水素化ピリド [ 4 , 3 - b ] インドールが、2 , 8 - ジメチル - 5 - ( 2 - ( 6 - メチル - 3 - ピリジル ) エチル ) - 2 , 3 , 4 , 5 - テトラヒドロ - 1 H - ピリド [ 4 , 3 - b ] インドールである、請求項 4 3 に記載の方法。

【請求項 4 5】

前記薬学的に許容できる塩が、薬学的に許容できる酸性塩である、請求項 3 7 または 4 4 に記載の方法。

【請求項 4 6】

前記薬学的に許容できる塩が、塩酸塩である、請求項 4 5 に記載の方法。

40

【請求項 4 7】

前記水素化ピリド [ 4 , 3 - b ] インドールが、2 , 8 - ジメチル - 5 - ( 2 - ( 6 - メチル - 3 - ピリジル ) エチル ) - 2 , 3 , 4 , 5 - テトラヒドロ - 1 H - ピリド [ 4 , 3 - b ] インドール二塩酸塩である、請求項 3 7 に記載の方法。

【請求項 4 8】

R<sup>1</sup> が CH<sub>3</sub>-であり、R<sup>2</sup> が H であり、R<sup>3</sup> が CH<sub>3</sub>-である、請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 4 9】

R<sup>1</sup> が CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>-または PhCH<sub>2</sub>-であり、R<sup>2</sup> が H-であり、R<sup>3</sup> が CH<sub>3</sub>-

50

である、請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 5 0】

$R^1$  が  $CH_3$  - であり、 $R^2$  が  $PhCH_2$  - であり、 $R^3$  が  $CH_3$  - である、請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 5 1】

$R^1$  が  $CH_3$  - であり、 $R^2$  が 6 -  $CH_3$  - 3 -  $Py$  -  $(CH_2)_2$  - であり、 $R^3$  が  $H$  - である、請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 5 2】

$R^2$  が 6 -  $CH_3$  - 3 -  $Py$  -  $(CH_2)_2$  - である、請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 5 3】

$R^1$  が  $CH_3$  - であり、 $R^2$  が  $H$  - であり、 $R^3$  が  $H$  - または  $CH_3$  - である、請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 5 4】

$R^1$  が  $CH_3$  - であり、 $R^2$  が  $H$  - であり、 $R^3$  が  $Br$  - である、請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 5 5】

(a) 水素化ピリド [ 4 , 3 - b ] インドール、またはその薬学的に許容できる塩および (b) 筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の治療、予防、進行の緩徐化あるいは発病および / または発症遅延化のための使用説明書を含むキット。

【請求項 5 6】

前記水素化ピリド [ 4 , 3 - b ] インドールが、テトラヒドロピリド [ 4 , 3 - b ] インドールである、請求項 5 5 に記載のキット。

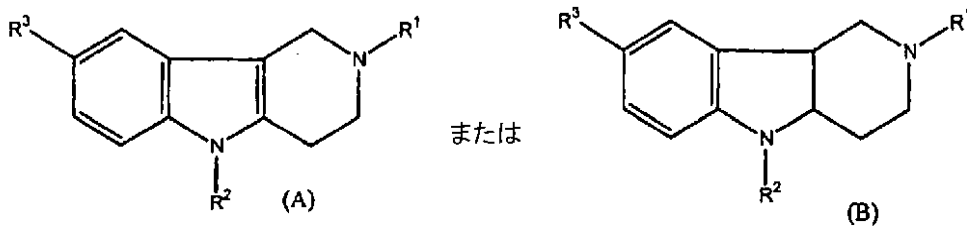
【請求項 5 7】

前記水素化ピリド [ 4 , 3 - b ] インドールが、ヘキサヒドロピリド [ 4 , 3 - b ] インドールである、請求項 5 5 に記載のキット。

【請求項 5 8】

前記水素化ピリド [ 4 , 3 - b ] インドールが、次式を有する、請求項 5 5 に記載のキット

【化 1 3】



[ 式中、

$R^1$  は、低級アルキルまたはアラルキルから選択され、

$R^2$  は、水素、アラルキルまたは置換ヘテロアラルキルから選択され、

$R^3$  は、水素、低級アルキルまたはハロから選択される ]。

【請求項 5 9】

アラルキルが、 $PhCH_2$  - であり、置換ヘテロアラルキルが 6 -  $CH_3$  - 3 -  $Py$  -  $(CH_2)_2$  - である、請求項 5 8 に記載のキット。

【請求項 6 0】

$R^1$  が、 $CH_3$  - 、 $CH_3CH_2$  - 、または  $PhCH_2$  - から選択され、

$R^2$  が、 $H$  - 、 $PhCH_2$  - 、または 6 -  $CH_3$  - 3 -  $Py$  -  $(CH_2)_2$  - から選択され、

$R^3$  が、 $H$  - 、 $CH_3$  - または  $Br$  - から選択される、

請求項 5 8 に記載のキット。

【請求項 6 1】

- 前記水素化ピリド [ 4 , 3 - b ] インドールが、  
 シス ( ± ) 2 , 8 - ジメチル - 2 , 3 , 4 , 4 a , 5 , 9 b - ヘキサヒドロ - 1 H - ピリド [ 4 , 3 - b ] インドール ;  
 2 - エチル - 2 , 3 , 4 , 5 - テトラヒドロ - 1 H - ピリド [ 4 , 3 - b ] インドール ;  
 ;  
 2 - ベンジル - 2 , 3 , 4 , 5 - テトラヒドロ - 1 H - ピリド [ 4 , 3 - b ] インドール ;  
 2 , 8 - ジメチル - 5 - ベンジル - 2 , 3 , 4 , 5 - テトラヒドロ - 1 H - ピリド [ 4 , 3 - b ] インドール ;  
 2 - メチル - 5 - ( 2 - メチル - 3 - ピリジル ) エチル - 2 , 3 , 4 , 5 - テトラヒドロ - 1 H - ピリド [ 4 , 3 - b ] インドール ; 10  
 2 , 8 - ジメチル - 5 - ( 2 - ( 6 - メチル - 3 - ピリジル ) エチル ) - 2 , 3 , 4 , 5 - テトラヒドロ - 1 H - ピリド [ 4 , 3 - b ] インドール ;  
 2 - メチル - 2 , 3 , 4 , 5 - テトラヒドロ - 1 H - ピリド [ 4 , 3 - b ] インドール ;  
 ;  
 2 , 8 - ジメチル - 2 , 3 , 4 , 5 - テトラヒドロ - 1 H - ピリド [ 4 , 3 - b ] インドール ;  
 2 - メチル - 8 - プロモ - 2 , 3 , 4 , 5 - テトラヒドロ - 1 H - ピリド [ 4 , 3 - b ] インドール ;  
 からなる群から選択される、請求項 5 5 に記載のキット。 20  
 【請求項 6 2】  
 前記水素化ピリド [ 4 , 3 - b ] インドールが、2 , 8 - ジメチル - 5 - ( 2 - ( 6 - メチル - 3 - ピリジル ) エチル ) - 2 , 3 , 4 , 5 - テトラヒドロ - 1 H - ピリド [ 4 , 3 - b ] インドールである、請求項 6 1 に記載のキット。  
 【請求項 6 3】  
 前記薬学的に許容できる塩が、薬学的に許容できる酸性塩である、請求項 5 5 または 6 2 に記載のキット。  
 【請求項 6 4】  
 前記薬学的に許容できる塩が、塩酸塩である、請求項 6 3 に記載のキット。  
 【請求項 6 5】 30  
 前記水素化ピリド [ 4 , 3 - b ] インドールが、2 , 8 - ジメチル - 5 - ( 2 - ( 6 - メチル - 3 - ピリジル ) エチル ) - 2 , 3 , 4 , 5 - テトラヒドロ - 1 H - ピリド [ 4 , 3 - b ] インドール二塩酸塩である、請求項 5 5 に記載のキット。  
 【請求項 6 6】  
 $R^1$  が  $CH_3$  - であり、 $R^2$  が H であり、 $R^3$  が  $CH_3$  - である、請求項 6 0 に記載のキット。  
 【請求項 6 7】  
 $R^1$  が  $CH_3CH_2$  - または  $PhCH_2$  - であり、 $R^2$  が H - であり、 $R^3$  が  $CH_3$  - である、請求項 6 0 に記載のキット。  
 【請求項 6 8】 40  
 $R^1$  が  $CH_3$  - であり、 $R^2$  が  $PhCH_2$  - であり、 $R^3$  が  $CH_3$  - である、請求項 6 0 に記載のキット。  
 【請求項 6 9】  
 $R^1$  が  $CH_3$  - であり、 $R^2$  が 6 -  $CH_3$  - 3 - Py - (  $CH_2$  ) <sub>2</sub> - であり、 $R^3$  が H - である、請求項 6 0 に記載のキット。  
 【請求項 7 0】  
 $R^2$  が 6 -  $CH_3$  - 3 - Py - (  $CH_2$  ) <sub>2</sub> - である、請求項 6 0 に記載のキット。  
 【請求項 7 1】  
 $R^1$  が  $CH_3$  - であり、 $R^2$  が H - であり、 $R^3$  が H - または  $CH_3$  - である、請求項 6 0 に記載のキット。 50

## 【請求項 7 2】

R<sup>1</sup> が CH<sub>3</sub> - であり、R<sup>2</sup> が H - であり、R<sup>3</sup> が Br - である、請求項 6 0 に記載のキット。

## 【請求項 7 3】

A L S を治療し、予防し、そして / または、発病および / もしくは発症を遅延させるために有用な別の化合物またはその薬学的に許容できる塩を前記個体に投与することをさらに含む、請求項 1、1 9、または 3 7 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 7 4】

A L S を治療し、予防し、そして / または、発病および / もしくは発症を遅延させるために有用な別の化合物またはその薬学的に許容できる塩をさらに含む、請求項 5 5 に記載のキット。

10

## 【請求項 7 5】

( a ) 水素化ピリド [ 4 , 3 - b ] インドール、またはその薬学的に許容できる塩を含む第 1 治療薬、( b ) A L S を治療し、予防し、そして / または、発症および / もしくは発症を遅延させるために有用な別の化合物またはその薬学的に許容できる塩を含む第 2 治療薬、ならびに ( c ) 薬学的に許容できる担体を含む単位投薬形態。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0 0 0 1】

( 関連出願への相互参照 )

20

本願は、2 0 0 6 年 9 月 2 0 日に 出願された 米国仮特許出願第 6 0 / 8 4 6 , 1 3 9 号への優先権を主張し、この米国仮特許出願はその全体が、本明細書中に参考として援用される。

## 【0 0 0 2】

( 政府支援の研究の下でなされた発明への権利の陳述 )  
適用なし。

## 【0 0 0 3】

( 技術分野 )

本発明は、水素化ピリド [ 4 , 3 - b ] インドール、またはその薬学的に許容できる塩を個体に投与することによって筋萎縮性側索硬化症 ( A L S ) の治療、予防ならびに / または発病および / もしくは発症の遅延のために有用な方法および組成物に関する。

30

## 【背景技術】

## 【0 0 0 4】

( 発明の背景 )

神経変性疾患は、個体の脳または神経系のいずれかにおける神経細胞の変性を一般に特徴とする。これらの疾患は、衰弱させるものであり得、それらが引き起こす障害は多くの場合不可逆的である。

## 【0 0 0 5】

筋萎縮性側索硬化症病理学の概要

ルー・ゲーリック病とも呼ばれる筋萎縮性側索硬化症 ( A L S ) は、患者がすべての運動機能を徐々に失う普遍的に致死的な神経変性状態である。A L S には、家族型 ( 5 ~ 1 0 % ) および散発型の両方がある。家族型 ( F A L S ) は、いくつかのはっきりと区別できる遺伝子座位と今は関連付けられている。家族型の場合の約 1 5 ~ 2 0 % は、C u / Z n スーパーオキシドジスムターゼ 1 ( S O D 1 ) をコード化する遺伝子の変異が原因である。散発型と F A L S の間の臨床的および疫学的類似性を考えると、家族性疾患の理解は、散発性 A L S において起こり得る病態生理学的メカニズムの理解を容易にすることができる。

40

## 【0 0 0 6】

A L S は、大脳皮質、脳幹および脊髄中の運動神経細胞の発作を伴う。これら神経細胞の進行性変性は、しばしばそれらの消滅に至る。運動神経が消滅するにつれてそれらは筋

50

線維を刺激する能力を失い、その結果、脳は筋肉の動きを開始し制御する能力を失う。その疾患の後期には、患者は、彼等の認知機能はとどめるけれども、全体的に麻痺するようになる。

【0007】

A L Sの初期症状としては、特に腕および脚の筋肉ならびに言語、嚥下および呼吸と関連する筋肉の衰弱が増大することが挙げられる。衰弱および筋萎縮の症状は、通常は1つの肢において左右不同に遠位で始まり、次いで神経軸索内で広がって運動神経細胞の近接する群を巻き込む。症状は、延髄のまたは肢の筋肉のいずれにおいても始まる可能性がある。下位および上位運動神経細胞両方の関与の臨床的症状は、A L Sの確定診断に対して必要である。通常手足で発症した後期の患者で呼吸が侵されるが、時折延髄に発症した症状の患者における初期の徴候であり得る。

10

【0008】

自分自身で歩いたり、話したりあるいは呼吸することができずに、A L Sの患者は診断されて2～5年以内に死亡する。A L Sの罹患率は、人生の50歳代に大幅に増える。A L Sは毎年約30,000人のアメリカ人を侵し、8,000人近くが死亡していることが米国で報告されている。A L Sは、依然として最も壊滅的な疾患の1つのままであり、治療における進歩が切実に求められる。

【0009】

筋萎縮性側索硬化症発病機序の概要

A L Sの症状については多くが知られているが、発散型の発病機序について、および家族性A L Sにおける変異S O Dタンパク質の原因となる性質については殆ど知られていない。低酸素症、酸化ストレス、タンパク質凝集体、神経フィラメントおよびミトコンドリアの機能障害、非定型ポリオウイルス感染、外因性金属毒素による中毒、運動神経細胞を標的にした自己免疫プロセス、細胞骨格異常、栄養素欠乏ならびにグルタミン等の伝達物質による運動神経細胞の過剰興奮に由来する毒性を含む多くのモデルが推測されている。A L Sにおける運動神経細胞の消滅過程は、運動神経細胞の酸化損傷、興奮毒性の刺激作用と、ミトコンドリアおよび神経フィラメント等の重要なタンパク質の機能障害との間の複雑な相互作用を反映している可能性がある。

20

【0010】

筋萎縮性側索硬化症の発病機序における酸化損傷の役割

上で記したように、遺伝学的研究により、F A L Sのいくつかの場合、主要な異常は、細胞質ゾルの銅-亜鉛スーパーオキシドジスムターゼ(S O D 1)に関する遺伝子における変異であることが立証されている。35を超えるS O D 1中での異なる変異が、もっぱらF A L Sにおいて報告されている。S O D 1は、すべて真核細胞中に発現する約153のアミノ酸の金属酵素である。それは、マンガン依存のミトコンドリアのS O D(S O D 2)および銅/亜鉛細胞外S O D(S O D 3)を含めた3つのS O D酵素の仲間の1つである。S O D 1酵素の主要な機能は、そのスーパーオキシドアニオンの過酸化水素に転化することによる解毒作用であると考えられる。過酸化水素は、その後グルタチオンペルオキシダーゼまたはカタラーゼによって解毒されて水を形成する。スーパーオキシドは、それ自体潜在的に毒性があり、また過酸化水素の形成を経るかまたは一酸化窒素と反応することによって一層毒性のあるヒドロキシルラジカルを生成することができる。スーパーオキシドは、また、一酸化窒素と相互作用して細胞に対して直接毒性を持ち得るペルオキシ亜硝酸アニオンを形成し、ヒドロキシルラジカルも生ずる。S O D 1のこれらの生化学的性質の重要な意味あいは、F A L Sがフリーラジカルの恒常性の異常およびそれに伴う細胞の酸化ストレスの結果として起こり得ることである。散発性と家族性A L Sの間の類似性を考えると散発性A L Sもまたフリーラジカル疾患であり得る。

30

40

【0011】

F A L S変異のS O D 1機能に対する影響は、十分に理解されていない。多くのF A L Sと関連したS O D 1の変異は、脳および赤血球等の組織中のS O D 1活性を減少する。インビトロで、変異は、一般に、S O D 1分子の比活性度を必ずしも低下することなく変

50

異タンパク質の半減期を短縮して、その変異体分子の安定性を変えるようである。これらの変異が何故神経細胞死を引き起こすのかははっきりしないままである。慢性の器官型脊髄培養において、SOD1アンチセンスオリゴヌクレオチドの慢性投与によるSOD1の活性の部分的減少は、劇症性の運動神経細胞の死を含めたアポトーシス神経細胞死を引き起こす。その死滅過程は、インビトロで、抗酸化防衛を高める薬剤によって逆転される。

#### 【0012】

しかしながら、いくつかの関連する証拠は、その疾病が、SOD1機能の喪失からではなく、むしろ変異によるSOD1分子の不利なまたは新たな性質から起こることを示している。FALSのような優性遺伝性の疾病は、単一の変異対立遺伝子が、どうかして細胞に対して毒性を持つ新たな性質を備えた変異タンパク質を生成するために起こるものと思われる。いくつかの研究室が、高濃度の変異SOD1タンパク質を大量発現するマウスは、臨床的および病理学的にALSと似ている致命的、除神経的、麻痺性疾患を患うことを現在実証している。これらの研究成果は、SOD1変異の最初の効果が毒性機能の獲得であるという仮説を裏付ける。この不利な機能が得られる分子レベルのメカニズムは分かっていない。この疾病の主たる原因が確かに酸化細胞毒性である場合、推定される得られた機能は、1つまたは複数の有毒な酸化的中間体の細胞内の異常産生または輸送に関する。

10

#### 【0013】

フリーラジカルの濃度は、2つの主要な内在性の抗酸化系：非酵素フリーラジカルスカベンジャー類（ビタミンEおよびC、カロチンおよび尿酸）および酵素類（SOD、カタラーゼおよびグルタチオンペルオキシダーゼ）、によって調節される。活性酸素種は、極めて反応性に富み一般的には寿命が短い。それらの濃度を直接測定することは困難である。従って、さまざまな細胞成分に対する酸化損傷の程度を測定するには、DNA、タンパク質類および脂質類に対する酸化損傷のマーカーを含めたいくつかの生化学的パラメーターが使用される。タンパク質酸化は、血漿中および組織中のタンパク質カルボニル基を測定することによって定量化することができる。タンパク質カルボニル基は、対照と比較して散発性ALS患者およびFALSの患者からの脳および脊髄中で増加することが見出されている。

20

#### 【0014】

筋萎縮性側索硬化症の発症機序における神経細胞過剰刺激の役割

30

ALSの病気の原因に関する別の理論は、ALSにおける神経細胞死が、過剰の細胞外グルタメートによる神経細胞の過剰刺激の結果であるというものである。グルタメートは、グルタミン酸作動性神経細胞によって放出される神経伝達物質であり、グリア細胞中に取り込まれてそこでそれは酵素のグルタミン合成酵素によってグルタミンに転化される。グルタミンは次いで神経細胞に再び入り、グルタミナーゼによって加水分解されてグルタメートを形成し、神経伝達物質プールを再び満たす。正常な脊髄および脳幹中では、細胞外グルタメートの濃度は、1つには神経細胞を支える機能をするグリア細胞が、グルタメートを即座に吸収する興奮性アミノ酸輸送体タイプ2（EAAT2）タンパク質を使用するために、細胞外液中で低いマイクロモル濃度で保たれる。ALSの患者における正常なEAAT2タンパク質の欠乏は、その疾患の病理学において重要なこととして確認された。減少する濃度のEAAT2に対する1つの解釈は、EAAT2が異常にスプライスされることである。その異常スプライシングは、EAAT2タンパク質のCターミナル領域に位置する45~107個のアミノ酸の欠失によるスプライス変異を生ずる。EAAT2の不足または欠陥によって、細胞外グルタメートが蓄積し、神経細胞が連続的に炎症を起こす原因となる。そのグルタメートの蓄積は、神経細胞の連続的な炎症が、早期の細胞死をもたらすために神経細胞に対して毒性効果を有する。

40

#### 【0015】

筋萎縮性側索硬化症の発症機序におけるプロテアソームまたはタンパク質機能障害の役割

さらに、正常な老化の進行の結果として、体は変異またはミスフォールドしたタンパク

50

質を適切に退化させる能力を次第に失う証拠が蓄積している。プロテアソームは、細胞内タンパク質の最も標準的な劣化に関する生物学的機構の一部である。年齢が関係するプロテアソームの機能の喪失または機能の変化は、ALSを含む多くの神経変性状態の原因となり得る。

【0016】

筋萎縮性側索硬化症に対する適切な治療の欠如

現時点で、ALSに対する治療法は存在しないし、その疾病の進行を阻止するか逆転させるのに有効であることが証明されている治療薬も存在しない。ALSを治療する試みは、細胞保護効果を有する長鎖脂肪アルコールによるか、ピルビン酸の塩によるか、またはグルタメートカスケードを阻止するグルタミン合成酵素により神経変性を処置することを含んでいる。例えば、リルゾール(Riluzole)<sup>T M</sup>、グルタメート放出阻害剤は、ALSの治療用として、米国の食品医薬品局によって認可されており、少なくともいくつかのALSの患者の寿命を延ばしているようである。しかしながら、いくつかの報告書は、リルゾール<sup>T M</sup>治療は、生存日数を引き延ばすことはできるものの、患者の筋力の改善を提供するようではないことを示している。

10

【0017】

水素化ピリド[4, 3-b]インドール誘導体類の概要

テトラおよびヘキサヒドロ-1H-ピリド[4, 3-b]インドール誘導体のクラスの既知の化合物は、広範囲の生物学的活性を示す。一連の2, 3, 4, 5-テトラヒドロ-1H-ピリド[4, 3-b]インドール類においては、以下のタイプの活性が見出されている：抗ヒスタミン活性(特許文献1、1968年12月6日出願；特許文献2、1969年10月20日出願)、中枢性抑鬱および抗炎症活性(特許文献3、1970年12月3日出願)、神経遮断活性(非特許文献1)およびその他。2, 3, 4, 4a, 5, 9b-ヘキサヒドロ-1H-ピリド[4, 3-b]インドール誘導体類は、向精神活性(非特許文献2)、抗攻撃活性、抗不整脈活性およびその他のタイプの活性を示す。

20

【0018】

テトラまたはヘキサヒドロ-1H-ピリド[4, 3-b]インドール誘導体類に基づくいくつかの薬剤、例えば、ジアゾリン(メブヒドロリン)、ディメボン(dimebon)、ドラスチン、カルビジン(ジカルピン)、ストバジンおよびゲボトロリンなどが製造されていることが知られている。ジアゾリン(2-メチル-5-ベンジル-2, 3, 4, 5-テトラヒドロ-1H-ピリド[4, 3-b]インドール二塩酸塩)(非特許文献3)およびディメボン(2, 8-ジメチル-5-(2-(6-メチル-3-ピリジル)エチル)-2, 3, 4, 5-テトラヒドロ-1H-ピリド[4, 3-b]インドール二塩酸塩)(非特許文献4)ならびにドラスチン(2-メチル-8-クロロ-5-[2-(6-メチル-3-ピリジル)エチル]-2, 3, 4, 5-テトラヒドロ-1H-ピリド[4, 3-b]インドール二塩酸塩)(USAN and USP dictionary of drugs names (United States Adopted Names, 1961-1988, current US Pharmacopoeia and National Formula for Drugs and other nonproprietary drug names)、1989年、第26版、196頁)が抗ヒスタミン薬として知られており；カルビジン(ジカルピン)(シス(±)-2, 8-ジメチル-2, 3, 4, 4a, 5, 9b-ヘキサヒドロ-1H-ピリド[4, 3-b]インドール二塩酸塩)は、抗うつ作用を有する神経遮断薬であり(非特許文献5)、その(-)異性体ストバジンは、抗不整脈薬として知られており(非特許文献6)；ゲボトロリン8-フルオロ-2-(3-(3-ピリジル)プロピル)-2, 3, 4, 5-テトラヒドロ-1H-ピリド[4, 3-b]インドール二塩酸塩は、抗精神病および抗不安薬である(非特許文献7)。ディメボンは、ロシアにおいて20年以上抗アレルギー薬としての薬剤(発明者証第1138164号、IPC Class A61K 31/47, 5, C07 D 209/52、1985年、2月7日公開)として使用されている。

30

40

【0019】

50

特許文献4および特許文献5に記載されているように、ディメボンなどの水素化ピリド [ 4 , 3 - b ] インドール誘導体類は、アルツハイマー病などの神経変性疾患を治療するのにそれらを有用にするNMDAアンタゴニスト特性を有する。特許文献6に記載されているように、ディメボンなどの水素化ピリド [ 4 , 3 - b ] インドール誘導体類は、例えば年齢と結び付くか関係する、体毛外皮の障害、視覚障害および体重減少を含めた徴候、症状および/または状態の開始および/または発症を遅延させることによって、ヒトまたは動物のジェロプロテクター ( geroprotector ) として有用である。米国特許出願第11/543529号 ( 特許文献7 ) および同第11/543341号 ( 特許文献8 ) は、ディメボンなどの水素化ピリド [ 4 , 3 - b ] インドール誘導体類を、ハンチントン病の進行、発病および/または発症を治療および/または予防および/または緩徐化させることに使用するための神経保護薬 ( neuroprotector ) として開示している。2007年8月2日に公開された特許文献9は、統合失調症治療で使用するためのディメボンなどの水素化ピリド [ 4 , 3 - b ] インドール誘導体類について記載している。

10

## 【先行技術文献】

## 【特許文献】

## 【0020】

【特許文献1】独国特許発明第1813229号明細書

【特許文献2】独国特許発明第1952800号明細書

【特許文献3】米国特許第3718657号明細書

【特許文献4】米国特許第6187785号明細書

【特許文献5】米国特許第7021206号明細書

【特許文献6】国際公開第2005/055951号パンフレット

【特許文献7】米国特許出願公開第20070117835号明細書

【特許文献8】米国特許出願公開第20070117834号明細書

【特許文献9】国際公開第2007/087425号パンフレット

## 【非特許文献】

## 【0021】

【非特許文献1】Herbert C.A.、Plattner S.S.、Welch W. M.、Mol. Pharm.、1980年、17巻、1号、38~42頁

【非特許文献2】Welch W. M.、Harbert C.A.、Weissman A.、Koe B.K.、J. Med. Chem.、1986年、29巻、10号、2093~2099頁

【非特許文献3】Klyuev M.A.、Drugs, used in 「Medical Pract.」、USSR、Moscow、「Meditzina」Publishers、1991年、512頁

【非特許文献4】M.D. Mashkovsky、「Medicinal Drugs」 in 2 vol.、1巻、第12版、Moscow、「Meditzina」Publishers、1993年、383頁

【非特許文献5】L.N. Yakhontov、R. G. Glushkov、Synthetic Drugs、A.G. Natradze編、Moscow、「Meditzina」Publishers、1983年、234~237頁

【非特許文献6】Kitlova M.、Gibela P.、Drimal J.、 Bratisl. Lek. Listy、1985年、84巻、5号、542~549頁

【非特許文献7】Abou-Gharbi M.、Patel U.R.、Webb M. B.、Moyer J.A.、Ardnee T.H.、J. Med. Chem.、1987年、30巻、1818~1823頁

## 【発明の概要】

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0022】

20

30

40

50

### 大きな医学的必要性

A L S の治療、予防ならびに / または発病および / もしくは発症を遅延させるための追加的なまたは代替りの治療に対する大きな興味および必要性が残存している。好ましくは、その治療薬により、A L S の患者の生活の質を改善しかつ / または寿命を引き延ばすことができる。

#### 【課題を解決するための手段】

##### 【0023】

(発明の簡単な要旨)

水素化 [ 4 , 3 - b ] インドール、またはその薬学的に許容できる塩を用いる A L S の治療および / または予防ならびに / あるいは発病および / または発症を遅延させるための方法、化合物および組成物が記載されている。その方法および組成物は、化合物ディメボン ( 2 , 8 - ジメチル - 5 - ( 2 - ( 6 - メチル - 3 - ピリジル ) エチル ) - 2 , 3 , 4 , 5 - テトラヒドロ - 1 H - ピリド [ 4 , 3 - b ] インドール二塩酸塩 ) を無制限で含む本明細書に列挙する化合物を含むことができる。

10

##### 【0024】

一実施形態において、本発明は、治療に必要な個体の A L S を、その個体に有効量の水素化ピリド [ 4 , 3 - b ] インドール、またはその薬学的に許容できる塩を投与することによって治療する方法を提供する。別の実施形態において、本発明は、A L S と関係する変異した遺伝子または異常遺伝子 ( 例えば、S O D 1 変異体 ) を有する個体における A L S の発病および / または発症を予防または緩徐化させる方法を提供する。別の実施形態において、本発明は、A L S と診断された個体における A L S の進行を、その個体に有効量の水素化ピリド [ 4 , 3 - b ] インドール、またはその薬学的に許容できる塩を投与することによって緩徐化させる方法を提供する。別の実施形態において、本発明は、A L S を発症する危険のある個体 ( 例えば S O D 1 変異体を有する個体 ) における A L S の発病および / または発症を、その個体に有効量の水素化ピリド [ 4 , 3 - b ] インドール、またはその薬学的に許容できる塩を投与することによって予防または緩徐化させる方法を提供する。本明細書に開示されている方法のいずれにおいても、水素化ピリド [ 4 , 3 - b ] インドールはディメボンであり得る。

20

##### 【0025】

1 態様において、本発明は、( a ) 水素化ピリド [ 4 , 3 - b ] インドール、またはその薬学的に許容できる塩を含む第 1 治療薬、( b ) A L S の治療、予防ならびに / または発病および / もしくは発症を遅延させるのに有用な別の化合物またはその薬学的に許容できる塩を含む第 2 治療薬および ( c ) 薬学的に許容できる担体を含む単位投薬形態を提供する。

30

#### 【図面の簡単な説明】

##### 【0026】

【図 1】ショウジョウバエ ( ミバエ ) におけるディメボンの極小さい毒性を示す図である。

【図 2】ショウジョウバエ ( ミバエ ) モデルにおける光受容体神経細胞の変性を抑止するディメボンの能力を示す図である。

40

【図 3】両方の性を組み合わせた治療グループによる第 1 段階に到達する時間の Kaplan ・マイヤー推定値のグラフである。治療は、この動物モデルにおいて症状が発症した 8 5 日後に開始した。

【図 4】雌グループの治療による第 1 段階に到達する時間の Kaplan ・マイヤー推定値のグラフである。

【図 5】雄グループの治療による第 1 段階に到達する時間の Kaplan ・マイヤー推定値のグラフである。

【図 6】両方の性を組み合わせた治療グループによる第 2 段階に到達する時間の Kaplan ・マイヤー推定値のグラフである。治療は、この動物モデルにおいて症状が発症した 8 5 日後に開始した。

50

【図 7】雌グループの治療による第 2 段階に到達する時間の Kaplan・マイヤー推定値のグラフである。

【図 8】雄グループの治療による第 2 段階に到達する時間の Kaplan・マイヤー推定値のグラフである。

【図 9】両方の性を組み合わせた治療グループによる第 1 段階に到達する時間の Kaplan・マイヤー推定値のグラフである。

【図 10】両方の性を組み合わせた治療グループによる第 2 段階に到達する時間の Kaplan・マイヤー推定値のグラフである。

【図 11】SKN-SH細胞のイオノマイシン誘発毒性に対するディメボンの効果を示す図である。

【図 12】SYSH5Y細胞イオノマイシン誘発毒性に対するディメボンの効果を示す図である。

【図 13】インビトロ 2% (増殖因子取下げ) アッセイにおいて得られた神経細胞生存能力に対するディメボンの神経保護的効果を示す図である。神経細胞生存能力は、MTTアッセイの培養期間の終わりに評価し、結果は対照 (100%) に対する%として示されている。値は、パーセントでの平均の神経細胞生存能力および 2 つの 96 ウェルプレート (n = 8) により 2 日行った 2 つの独立した実験からの平均値の標準誤差を表している。

【発明を実施するための形態】

【0027】

定義

本明細書での使用に関して、はっきりと別段の記載がない限り、不定冠詞 (「a」、「an」) などは、1 つまたは複数を指す。また、「該化合物」または「ある化合物」と言うのは、本明細書に記載されている化合物ディメボンのような任意の化合物または薬学的に許容できるそれらの塩またはその他の形態を含むことを意味することがこの開示により理解され明示される。

【0028】

「筋萎縮性側索硬化症」または「ALS」とは、上位運動神経細胞 (脳内の運動神経細胞) および / または下位運動神経細胞 (脊髄内の運動神経細胞) に影響を及ぼして運動神経の死をもたらす進行性の神経変性疾患を表すものと当技術分野では理解されている用語であり本明細書で使用する。本明細書で使用されるとき、用語「ALS」は、古典的な ALS (一般的に低位および上位運動神経細胞の両方に影響を及ぼす)、原発性側索硬化症 (PLS、一般的に上位運動神経のみに影響を及ぼす)、進行性球麻痺 (PBP または延髄発症、一般的に嚥下、咀嚼および話すことの困難が始まる ALS の種類)、進行性筋萎縮症 (PMA、一般的に下位運動神経のみに影響を及ぼす) および家族性 ALS (ALS の遺伝的種類) を含むがこれらに限定されない当技術分野で既知の ALS のすべての分類を含む。

【0029】

本明細書での使用に関して、はっきりと別段の記載がない限り、本明細書で用いられる「個体」とは、ヒトを含むがそれに限定されない哺乳動物を表す。その個体は、ALS を有すると診断されているかそれらしいと疑われるヒトであり得る。その個体は、ALS に関係する 1 つまたは複数の症状を示すヒトであり得る。その個体は、変異したか ALS と関係する異常な遺伝子を有するが ALS と診断されていないヒトであり得る。その個体は、遺伝的にまたは別の形で ALS を発症しやすいヒトであり得る。1 つの異形において、その個体は、アルツハイマー病、ハンチントン病または統合失調症と診断されておらずかつ / またはその発症の危険があると考えられていないヒトである。1 つの異形において、その個体は、高齢化と関係する認知機能障害を有さないヒトか、老化過程と関係する命に関わらない状態 (例えば、失明 (白内障)、毛深い皮膚の外皮の劣化 (脱毛症) または加齢に伴う筋肉細胞および脂肪細胞の消滅による体重の減少) を有さないヒトか、あるいはそれらの組合さったヒトである。

【0030】

10

20

30

40

50

本明細書で使用される、「危険な状態にある」個体とは、ALSの発症の危険のある個体である。「危険な状態にある」個体は、検出可能な疾患を有していても有していなくてもよく、本明細書に記載されている治療方法に先立って検出可能な疾患を示していても示していなくてもよい。「危険な状態にある」とは、個体がALSの発症と関連がある測定可能なパラメーターである1つまたは複数のいわゆる危険因子を有していることを意味する。1つまたは複数のこれらの危険因子を有している個体は、これらの危険因子（1つ以上）のない個体よりALSを発症するより高い確率を有する。これらの危険因子としては、以下に限定はされないが、年齢、性別、人種、食習慣、これまでの病歴、前駆型疾患の存在、遺伝的（即ち親譲りの）事柄、環境暴露などが挙げられる。ALSに対して危険な状態にある個体としては、例えば、この疾患を経験した血縁者を有する者、およびその者のリスクが遺伝子マーカーまたは生化学的マーカーの分析によって測定される者が挙げられる。

10

#### 【0031】

本明細書で使用される、「処置」または「治療」は、臨床結果を含めた有益なまたは望ましい結果を得るためのアプローチである。本発明の目的に関して、有益なまたは望ましい臨床結果としては、次の事柄：その疾患によりもたらされる別の症状を減らすこと、生活の質を向上させること、その疾患を治療するために必要な1つまたは複数のその他の薬剤の用量を減らすこと、その疾患の進行を遅延させること、および/または生存を引き延ばすこと、の1つまたは複数が挙げられるがこれらに限定はされない。いくつかの実施形態において、本発明の単一治療または併用治療は、ALSと関係する1つまたは複数の症状の重症度を、治療前の同じ被験者における対応する症状と比較して、またはその治療を受けていない他の被験者における対応する症状と比較して、少なくとも10、20、30、40、50、60、70、80、90、または95%減少させる。

20

#### 【0032】

本明細書で使用される、ALSの発症を「遅延させる」とは、その疾患の発症を、引き延ばす、妨げる、緩徐化する、遅らせる、安定させる、および/または延期することを意味する。この遅延は、その疾患および/または治療される個体の履歴に応じて変動する時間の長さのものであり得る。当業者には明らかなように、十分なまたは大幅な遅延は、実質的に、その個体はその疾患を発症させない予防を含む。ALSの発症を「遅延」させる方法は、その方法を使用しないのと比較したとき、所与の時間枠内の疾患の発症の確率を減少し、かつ/または所与の時間枠内のその疾患の程度を低下させる方法である。そのような比較は、一般的には統計的に意味のある数の被験者を用いる臨床研究に基づく。ALSの発症は、標準的な臨床技術、例えば標準的な神経学的検査/画像診断または患者との面談などを用いることにより検出可能であり得る。発症は、また、最初は検出することが不可能であり、出現、再発および発症を含み得る疾患の進行を意味することもあり得る。

30

#### 【0033】

本明細書で用いられる、「併用治療（薬）」によってとは、ALSの治療、予防ならびに/または発病および/もしくは発症を遅延させるために有用な、1つまたは複数の水素化ピリド[4,3-b]インドール類、または薬学的に許容できるそれらの塩類を含む第1治療薬を、1つまたは複数のその他の化合物類（または薬学的に許容できるそれらの塩類）を含む第2治療薬あるいは複数の治療（例えば外科手術）と併用して行うことを意味する。その他の化合物と「併用しての」投与としては、同じかもしくは異なる組成物の、連続の、同時のもしくは継続した投与が含まれる。いくつかの実施形態において、併用治療薬は、(i) 1つまたは複数の水素化ピリド[4,3-b]インドール類、または薬学的に許容できるそれらの塩類および(ii) 筋肉細胞へのエネルギー供給を促進または増加する薬剤の、COX-2阻害剤、ポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼ-1(PARP-1)阻害剤、3OSリボソームタンパク質阻害剤、NMDAアンタゴニスト、NMDAレセプターアンタゴニスト、ナトリウムチャンネル遮断薬、グルタミン酸放出阻害剤、K(V)4.3チャンネル遮断薬、抗炎症薬、5-HT1Aレセプターアゴニスト、神経栄養因子エンハンサー；運動神経細胞表現型生存および/または神経突起生成を促進する薬剤

40

50

；血液脳関門を破壊から保護する薬剤の、1つまたは複数の炎症性サイトカインの産生または活性の阻害剤、免疫調節薬、神経保護剤、アストロサイトの機能のモジュレーター、抗酸化物質（例えば小分子の触媒的抗酸化物質）、フリーラジカル捕捉剤；1つまたは複数の反応性酸素種の量を減少する薬剤；非タンパク質チオール含量の減少を阻止する薬剤の、正常な細胞のタンパク質修復経路の刺激剤（例えば分子シャペロンを活性化する薬剤など）、神経栄養剤、神経細胞死の阻害剤、神経突起成長の刺激剤；神経細胞の死を防止しかつ/または損傷した頭脳組織の再生を促進する薬剤の、サイトカインモジュレーター；ミクログリア細胞の活性化のレベルを低下する薬剤の、カンナビノイドCB1レセプターリガンド、非ステロイド系抗炎症薬、カンナビノイドCB2レセプターリガンド、クレアチン、クレアチン誘導体、ドーパミンレセプターアゴニスト例えばブラミペキソール塩酸塩などの立体異性体、毛様体神経栄養因子；毛様体神経栄養因子をコード化する薬剤の、グリア由来の神経栄養因子；グリア由来の神経栄養因子をコード化する薬剤の、ニューロトロフィン3；ニューロトロフィン3をコード化する薬剤、あるいは前述のものの2つ以上の組合せの1つまたは複数、が挙げられる。

10

## 【0034】

いくつかの変型において、その併用治療薬は1つまたは複数の薬学的に許容できる担体または賦形剤、非薬剤的に活性な化合物、および/または不活性物質を場合によって含む。

## 【0035】

本明細書で用いられる、「薬剤的に活性な化合物」により、「薬剤的に活性な化合物」または「活性成分」とは、例えばALSの治療および/または予防するならびに/あるいは発病および/または発症を遅延させる望ましい効果を引き出す化合物を意味する。

20

## 【0036】

用語「有効量」は、その有効性および毒性のパラメーター、ならびに開業している専門医の知識に基づくことと相まって、所与の治療形態において有効であるべき当該化合物（例えば、式（1）、（2）、（A）、または（B）により表現されている化合物などの本発明の併用治療薬または本明細書に記載の第2治療薬の成分）または併用治療薬の量を意味する。当技術分野では理解されているように、有効量は、1回分または複数回分の投与量であり得、即ち、所望される治療のエンドポイントを達成するためには単回投与または複数回投与が必要であり得る。いくつかの実施形態において、第1治療薬、第2治療薬、または併用治療薬の量は、以下：筋肉細胞、COX-2、ポリ（ADP-リボース）ポリメラーゼ-1（PARP-1）、30Sリボソームタンパク質、NMDA、NMDAレセプター、ナトリウムチャンネル、グルタミン酸塩、K（V）4.3チャンネル、炎症、5-HT1Aレセプター、神経栄養因子、神経細胞、運動神経細胞表現型生存、神経突起生成、血液脳関門の破壊、炎症性サイトカイン、免疫調節薬、神経保護剤、アストロサイト、抗酸化物質、フリーラジカル捕捉剤、非タンパク質チオール含量、正常な細胞のタンパク質修復経路、神経栄養剤、神経細胞死、神経突起成長、損傷した頭脳組織の再生、サイトカイン、ミクログリア細胞、カンナビノイドCB1レセプター、カンナビノイドCB1レセプターリガンド、カンナビノイドCB2レセプター、カンナビノイドCB2レセプターリガンド、クレアチン、クレアチン誘導体、ドーパミンレセプターアゴニスト例えばブラミペキソール塩酸塩などの立体異性体、毛様体神経栄養因子、グリア由来の神経栄養因子、またはニューロトロフィン3、の1つまたは複数の量または活性を調節する十分な量である。いくつかの実施形態において、1つまたは複数のこれらの量または活性は、治療前の同じ被験者における対応する量または活性と比較して、あるいは単一治療または併用治療を受けていない他の被験者における対応する活性と比較して少なくともまたは約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、150%、200%、300%、400%、500%以上変化する。この効果の大きさを測定するには、標準的方法、例えば精製酵素によるインビトロアッセイ、細胞に基づくアッセイ、動物モデルまたはヒトの試験など、を使用することができる。

30

40

## 【0037】

50

臨床状況において理解されるように、式(1)によるか式(2)によって表現される化合物あるいは本明細書に記載の任意の化合物(例えば式(A)または(B)によって表現される化合物)を含む薬物、化合物または薬剤組成物の有効投与量は、別の薬物、化合物または薬剤組成物(例えば本明細書に記載の第2治療薬など)と併用して達成することができる。従って、有効量は、1つまたは複数の治療薬を投与する状況の中で考えればよく、単一の薬物は1つまたは複数の他の薬物と併用して所望のまたは有益な結果を得ることができるか得られる場合に有効量が示されると考えることができる。本発明の併用治療薬における化合物は、各化合物について、同じか異なる投与の経路を用いて、連続、同時にまたは継続して投与することができる。従って、併用治療薬の有効量は、連続、同時にまたは継続して投与されたときに所望の結果を生ずる第1治療薬の量および第2治療薬の量を含む。同時投与される化合物の適切な用量はいずれも、場合によって複数化合物の複合作用(例えば相加効果もしくは相乗効果)のお陰で減少させることができる。

10

20

30

40

50

#### 【0038】

さまざまな実施形態において、第1治療薬および第2治療薬の組合せによる治療は、いずれかの治療薬単独の投与と比較して、相加的またはもっと言えば相乗的な(例えば相加的より大きい)結果をもたらすことができる。いくつかの実施形態において、個々の治療薬に対して一般に使用される量と比較して、より低い量のそれぞれ薬剤的に活性な化合物が、併用治療薬の一部として使用される。いくつかの実施形態において、併用治療薬を用いることにより、個々の化合物のいずれかを単独で使用するより同等以上の治療的有用性が得られる。いくつかの実施形態において、薬剤的に活性な化合物の単一治療薬に対して一般に使用される量より少ない量(例えば、より低い投与量またはより低い頻度の投薬スケジュール)を併用治療において用いて、同等以上の治療的有用性が得られる。いくつかの実施形態において、薬剤的に活性な化合物の少量の使用は、その化合物と関係する1つまたは複数の副作用の、数、重症度、頻度、または持続期間の減少をもたらす。

#### 【0039】

「治療的に有効な量」とは、所望の治療結果(例えば、ALSの重症度または持続期間を減少すること、ALSの重症度を安定化すること、またはALSの1つまたは複数の症状を取り除くこと)を生ずるための十分な化合物または併用治療薬の量を意味する。治療上の使用に関して有益なまたは望ましい結果としては、例えば、その合併症およびその疾患の発症の途中で現れる中間の病理学的表現型を含めたその疾患に起因する1つまたは複数の症状(生化学的、組織学的および/または行動上の)の減少、その疾患に罹患している者の生活の質の向上、その疾患を治療するために必要なその他の医薬品の投与量の減少、別の医薬品の効果の増強、その疾患の進行の遅延および/または患者の生存期間の延長などの臨床結果が挙げられる。

#### 【0040】

「予防的に有効な量」とは、ALSに罹患しやすくかつ/または発症する可能性のある個体に投与したとき、ALSの1つまたは複数の今後の症状の重症度を抑制または減少するのに十分な化合物または併用治療薬の量を意味する。予防的な使用に関して有益なまたは望ましい結果としては、例えば、その疾患の生化学的、組織学的および/または行動上の症状、その合併症およびその疾患の発症の途中で現れる中間の病理学的表現型を含めたその疾患のリスクの排除および減少、重症度の低下、または発症の遅延などの結果が挙げられる。

#### 【0041】

本明細書で用いられる用語「同時投与」とは、併用治療薬における第1治療薬と第2治療薬とが、約15分未満の時間間隔、例えば約10分未満、5分未満、または1分未満のいずれかで投与されることを意味する。化合物が同時に投与されるとき、第1治療薬および第2治療薬は、同じ組成物中(例えば、水素化ピリド[4,3-b]インドールおよび第2治療薬の両方を含む組成物)に含有させるか、または別の組成物中に含有させる(例えば、水素化ピリド[4,3-b]インドールを1つの組成物中に含有させ、第2治療薬を別の組成物中に含有させる)ことができる。

## 【 0 0 4 2 】

本明細書で用いられる用語「連続投与」とは、併用治療薬における第1治療薬および第2治療薬が約15分を超える時間間隔、例えば約20、30、40、50、60分またはそれ以上で投与されることを意味する。第1治療薬または第2治療薬のいずれが最初に投与されてもよい。第1治療薬および第2治療薬は、同じか異なるパッケージまたはキット中に入れることができる別の組成物中に含有される。

## 【 0 0 4 3 】

用語「制御放出」とは、薬物の放出が即時ではない薬物含有製剤またはその画分を意味し、即ち、「制御放出」製剤によれば、投与は薬物の吸収プール中への即時の放出を生じない。

10

## 【 0 0 4 4 】

本明細書で使用される、「薬学的に許容できる」、または「薬理学的に許容できる」とは、生物学的にまたはその他で、望ましくない材料ではなく、例えば、その材料は、何らの重大な望ましくない生物学的作用を引き起こしたりまたはそれが含まれている組成物の他のどの成分とも有害な形で相互作用をすることなく患者に投与される薬剤組成物中に組み込むことができることを意味する。薬学的に許容できる担体または賦形剤は、毒性試験および製造テストの必要な基準を好ましくは満たしており、かつ/または米国食品医薬品局により作成された不活性成分ガイド (the Inactive Ingredient Guide) に含まれている。

## 【 0 0 4 5 】

本明細書で使用される、「活性剤」、「アゴニスト」、または「エンハンサー」とは、生物学的に活性な化合物または細胞、例えば、筋肉細胞、5-HT<sub>1A</sub>レセプター、神経栄養因子、運動神経細胞、分子シャペロン、非タンパク質チオール、カンナビノイドCB<sub>1</sub>レセプター、カンナビノイドCB<sub>2</sub>レセプター、クレアチン、クレアチン誘導体、毛様態神経栄養因子、グリア由来の神経栄養因子、ニューロトロフィン3など、または前述のものの2つ以上の任意の組合せの量または活性を増す単一の治療薬または併用治療薬を意味する。いくつかの実施形態において、その活性剤、アゴニスト、またはエンハンサーは、活性を、治療前の同じ被験者における対応する活性と比較して、あるいは単一の治療薬または併用治療薬を受けていない他の被験者における対応する活性と比較して、少なくともまたは約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、150%、200%、300%、400%、500%以上増大させる。

20

30

## 【 0 0 4 6 】

本明細書で使用される、「阻害剤」、「アンタゴニスト」、または遮断薬とは、生物学的に活性な化合物または細胞、例えば、COX-2酵素、ポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼ-1(PARP-1)、3OSリボソームタンパク質、NMDA、NMDAレセプター、ナトリウムチャンネル、グルタミン酸放出、K(V)<sub>4.3</sub>チャンネル、炎症、炎症性サイトカイン、フリーラジカル、反応性酸素種、神経細胞死、ミクログリア細胞、または前述のものの2つ以上の任意の組合せの量または活性を減少または除去する単一の治療薬または併用治療薬を意味する。いくつかの実施形態において、その阻害剤、アンタゴニスト、または遮断薬は、活性を、治療前の同じ被験者における対応する活性と比較して、あるいは単一の治療薬または併用治療薬を受けていない他の被験者における対応する活性と比較して、少なくともまたは約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%または100%減少させる。

40

## 【 0 0 4 7 】

本明細書で使用される、「モジュレーター」とは、生物学的に活性な化合物または細胞、例えば、筋肉細胞、5-HT<sub>1A</sub>レセプター、神経栄養因子、運動神経細胞、分子シャペロン、非タンパク質チオール、カンナビノイドCB<sub>1</sub>レセプター、カンナビノイドCB<sub>2</sub>レセプター、クレアチン、クレアチン誘導体、毛様態神経栄養因子、グリア由来の神経栄養因子、ニューロトロフィン3、COX-2酵素、ポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼ-1(PARP-1)、3OSリボソームタンパク質、NMDA、NMDAレセプター

50

一、ナトリウムチャンネル、グルタミン酸放出、K(V)4.3チャンネル、炎症、炎症性サイトカイン、フリーラジカル、反応性酸素種、神経細胞死、ミクログリア細胞、サイトカイン、アストロサイト、または前述のものの2つ以上の任意の組合せの量または活性を増加または減少する単一の治療薬または併用治療薬を意味する。いくつかの実施形態において、その化合物は、活性を、治療前の同じ被験者における対応する活性と比較して、あるいは単一の治療薬または併用治療薬を受けていない他の被験者における対応する活性と比較して、少なくともまたは約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、150%、200%、300%、400%、500%以上改変する。

#### 【0048】

本明細書で使用される、「NMDAレセプターアンタゴニスト」とは、グルタメートに対するイオンチャンネル型レセプターであるN-メチル-D-アスパルテート(NMDA)レセプターの活性を減少または除去する単一治療薬または併用治療薬である。NMDAレセプターは、グルタメートおよび共アゴニストグリシンの両方を結合する。従って、NMDAレセプターアンタゴニストは、NMDAレセプターを活性化するグルタメートおよび/またはグリシンの能力を阻止することができる。いくつかの実施形態において、NMDAレセプターアンタゴニストは、NMDAレセプターの活性部位(例えば、グルタメートおよび/またはグリシンに対する結合部位)に結合するか、またはそのレセプターのアロステリック部位に結合する。NMDAレセプターアンタゴニストとNMDAレセプターとの相互作用は、可逆的または非可逆的であり得る。いくつかの実施形態において、そのアンタゴニストは、NMDAレセプターの活性を、治療前の同じ被験者における対応する活性と比較して、あるいは単一の治療薬または併用治療薬を受けていない他の被験者における対応する活性と比較して、少なくともまたは約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%または100%減少させる。典型的なNMDAレセプターアンタゴニストとしては、メマンチン(Forrest社により販売されているナメンダ(Namenda)(登録商標)、Merz社により販売されているアクスラ(Axura)(登録商標)、Merz社により販売されているアカチノール(Akatinol)(登録商標)、Lundbeck社から販売されているエビクサ(Ebixa)(登録商標)、ネラメキサン(Forrest Labs製)、アマンタジン、AP5(2-アミノ-5-ホスホペンタノエート、APV)、デキストロルファン、ケタミン、MK-801(ジゾシルピン)、フェンシクリジン、リルゾール、および7-クロロキヌレートなどが挙げられる。ネラメキサンの構造は、ナメンダのそれとは異なるが、それらは薬理的には同等である。

#### 【0049】

本明細書で使用される、「抗炎症薬」とは、炎症を減少または除去する単一治療薬または併用治療薬を意味する。いくつかの実施形態において、その化合物は、炎症を、少なくともまたは約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%または100%減少させる。

#### 【0050】

##### 筋萎縮性側索硬化症を治療するための方法

本明細書に記載の水素化ピリド[4,3-b]インドールは、ヒト等の哺乳動物におけるALSの治療、予防ならびに/または発病および/もしくは発症を遅延させるために使用することができる。実施例1に示されているように、代表的な水素化ピリド[4,3-b]インドールのディメポンは、1mMより低い投与量での毒性に関するショウジョウバエモデルにおいて顕著な毒性は示さなかった。さらに、ディメポンは、ハンチントン病のショウジョウバエモデルにおいて神経保護的効果を示した(実施例2)。この結果は、ALSの特徴である神経細胞死を阻止する本明細書に記載の水素化ピリド[4,3-b]インドール類の能力を立証している。ALSを治療または予防する水素化ピリド[4,3-b]インドール類の能力を判定するための例示的方法は実施例3~4に記載し、さらなる方法は実験の項で詳述する。

10

20

30

40

50

## 【0051】

かくして、本発明は、さまざまな方法、例えば「発明の概要」の中および本開示のほかの場所に記載されている方法を提供する。本発明の方法は、本明細書に記載の化合物類を使用する。例えば一実施形態において、本発明は、治療が必要な患者のALSを治療する方法であって、その個体に有効量の水素化ピリド[4, 3-b]インドール、例えばディメボンなど、またはその薬学的に許容できる塩を投与することを含む方法を提供する。一実施形態において、本発明は、ALSを発症する危険があると考えられる個体（例えば、親族の1人または複数がALSに罹患したことがある個体あるいはALSと関係する遺伝子の変異を有すると診断された個体）におけるALSの発病および/または発症を遅延させる方法であって、その個体に有効量の水素化ピリド[4, 3-b]インドール、例えばディメボンなど、またはその薬学的に許容できる塩を投与することを含む方法を提供する。一実施形態において、本発明は、遺伝的にALS発症に対して傾向が与えられている個体におけるALSの発病および/または発症を遅延させる方法であって、その個体に有効量の水素化ピリド[4, 3-b]インドール、例えばディメボンなど、またはその薬学的に許容できる塩を投与することを含む方法を提供する。一実施形態において、本発明は、ALSと関係する変異したまたは異常な遺伝子（例えばSOD1変異）を有するが、ALSとは診断されていない個体におけるALSの発病および/または発症を遅延させる方法であって、その個体に有効量の水素化ピリド[4, 3-b]インドール、例えばディメボンなど、またはその薬学的に許容できる塩を投与することを含む方法を提供する。一実施形態において、本発明は、遺伝的にALS発症に対して傾向が与えられているか、またはALSと関係する変異したまたは異常な遺伝子を有するが、ALSとは診断されていない個体におけるALSを予防する方法であって、その個体に有効量の水素化ピリド[4, 3-b]インドール、例えばディメボンなど、またはその薬学的に許容できる塩を投与することを含む方法を提供する。一実施形態において、本発明は、遺伝的にALS発症に対して傾向が与えられていると確認されていない個体におけるALSの発病および/または発症を予防する方法であって、その個体に有効量の水素化ピリド[4, 3-b]インドール、例えばディメボンなど、またはその薬学的に許容できる塩を投与することを含む方法を提供する。一実施形態において、本発明は、ALSと診断されている個体におけるALSの症状の激しさまたは重症度を減少する方法であって、その個体に有効量の水素化ピリド[4, 3-b]インドール、例えばディメボンなど、またはその薬学的に許容できる塩を投与することを含む方法を提供する。一実施形態において、本発明は、ALSと診断された個体の生存期間を延長する方法であって、その個体に有効量の水素化ピリド[4, 3-b]インドール、例えばディメボンなど、またはその薬学的に許容できる塩を投与することを含む方法を提供する。一実施形態において、本発明は、ALSと診断された個体の生活の質を向上させる方法であって、その個体に有効量の水素化ピリド[4, 3-b]インドール、例えばディメボンなど、またはその薬学的に許容できる塩を投与することを含む方法を提供する。1つの変形において、該方法は、上記の、例えば、ヒトにおけるALSの治療および/または予防ならびに/あるいは発病または発症を遅延させるいずれかの方法で使用するための薬剤の製造を含む。

10

20

30

40

## 【0052】

本明細書で開示されている方法、製剤、キットおよび発明で使用するための化合物。

## 【0053】

特定の数の炭素を有する有機残基または部分が言及されているとき、はっきりと別段の記載がない限り、それはすべてのその幾何異性体を含むことを表す。例えば、「ブチル」は、n-ブチル、sec-ブチル、イソブチルおよびt-ブチルを含み、「プロピル」は、n-プロピルおよびイソプロピルを含む。

## 【0054】

用語「アルキル」は、直鎖、分枝または環状炭化水素構造およびそれらの組合せを表し、包含する。好ましいアルキル基は、20個(C20)以下の炭素原子を有するものである。より好ましいアルキル基は、15個未満または10個未満または8個未満の炭素原子

50

を有するものである。

【0055】

用語「低級アルキル」とは、1～5個の炭素原子のアルキル基を意味する。低級アルキル基の例としては、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、s-ブチルおよびt-ブチルなどが挙げられる。低級アルキルは、アルキルのサブセットである。

【0056】

用語「アリール」とは、単環（例えばフェニル）または複数の縮合環（例えばナフチルまたはアントリル）（その縮合環は芳香族であってもよく、なくてもよい（例えば、2-ベンゾオキサゾリノン、2H-1,4-ベンゾオキサイン-3(4H)-オン-7-イル））などを有する6～14個の炭素原子の不飽和芳香族炭素環基を意味する。好ましいアリールは、フェニルおよびナフチルを含む。

10

【0057】

用語「ヘテロアリール」は、環内の炭素原子が2～10個と酸素、窒素および硫黄から選択されるヘテロ原子が1～4個の芳香族炭素環基を意味する。かかるヘテロアリール基は、単環（例えばピリジルまたはフリル）または複数の縮合環（例えばインドリジニルまたはベンゾチエニル）を有することができる。ヘテロアリール残基の例としては、例えば、イミダゾリル、ピリジニル、インドリル、チオフェネイル、チアゾリル、フラニル、ベンズイミダゾリル、キノリニル、イソキノリニル、ピリミジニル、ピラジニル、テトラゾリルおよびピラゾリルが挙げられる。

【0058】

用語「アラルキル」は、アリール部分がアルキル残基を介して親構造に結合している残基を意味する。例は、ベンジル、フェネチルなどである。

20

【0059】

用語「ヘテロアラルキル」は、ヘテロアリール部分がアルキル残基を介して親構造に結合している残基を意味する。例としては、フラニルメチル、ピリジニルメチル、ピリミジニルエチルなどが挙げられる。

【0060】

用語「置換ヘテロアラルキル」は、1～3個の置換基、例えば、ヒドロキシ、アルキル、アルコキシ、アルケニル、アルキニル、アミノ、アリール、カルボキシル、ハロ、ニトロおよびアミノからなる群から選択される残基、により置換されているヘテロアリール基を意味する。

30

【0061】

用語「ハロ」または「ハロゲン」は、フルオロ、クロロ、プロモおよびヨードを意味する。

【0062】

本明細書に記載のシステム、方法およびキットで使用するための化合物は、水素化ピリド[4,3-b]インドール類、またはその薬学的に許容できる酸性塩または塩基塩等の塩類である。水素化ピリド[4,3-b]インドールは、テトラヒドロピリド[4,3-b]インドールまたはその薬学的に許容できる塩であり得る。水素化ピリド[4,3-b]インドールは、また、ヘキサヒドロピリド[4,3-b]インドールまたはその薬学的に許容できる塩であり得る。その水素化ピリド[4,3-b]インドール化合物類は、非置換の水素化ピリド[4,3-b]インドール化合物類または3個を超える置換基を有する水素化ピリド[4,3-b]インドール化合物類も考えられるが、1～3個の置換基により置換することができる。適当な置換基としては、以下に限定はされないが、アルキル、低級アルキル、アラルキル、ヘテロアラルキル、置換ヘテロアラルキル、およびハロが挙げられる。

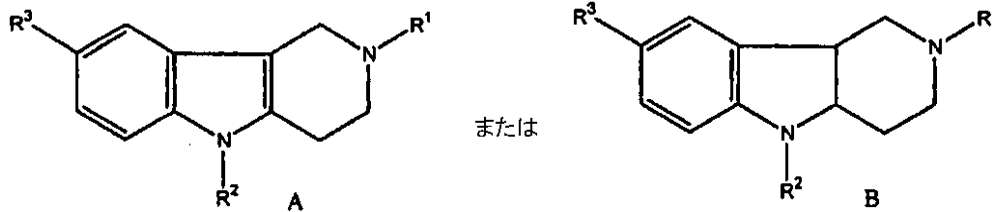
40

【0063】

特定の水素化ピリド[4,3-b]インドールは、式AおよびB:

【0064】

## 【化1】



によって例示され、式中、 $R^1$ は、アルキル、低級アルキルおよびアラルキルからなる群から選択され、 $R^2$ は、水素、アラルキルおよび置換ヘテロアラルキルからなる群から選択され、 $R^3$ は、水素、アルキル、低級アルキルおよびハロからなる群から選択される。

10

## 【0065】

1つの変形において、 $R^1$ は、アルキル、例えば、 $C_1 \sim C_{15}$ アルキル、 $C_{10} \sim C_{15}$ アルキル、 $C_1 \sim C_{10}$ アルキル、 $C_2 \sim C_{15}$ アルキル、 $C_2 \sim C_{10}$ アルキル、 $C_2 \sim C_8$ アルキル、 $C_4 \sim C_8$ アルキル、 $C_6 \sim C_8$ アルキル、 $C_6 \sim C_{15}$ アルキル、 $C_{15} \sim C_{20}$ アルキル、 $C_1 \sim C_8$ アルキルおよび $C_1 \sim C_6$ アルキルからなる群から選択されるアルキルである。1つの変形において、 $R^1$ は、アラルキルである。1つの変形において、 $R^1$ は、低級アルキル、例えば、 $C_1 \sim C_2$ アルキル、 $C_1 \sim C_4$ アルキル、 $C_2 \sim C_4$ アルキル、 $C_1 \sim C_5$ アルキル、 $C_1 \sim C_3$ アルキルおよび $C_2 \sim C_5$ アルキルからなる群から選択される低級アルキルである。

20

## 【0066】

1つの変形において、 $R^1$ は、直鎖アルキル基である。1つの変形において、 $R^1$ は、分枝アルキル基である。1つの変形において、 $R^1$ は、環状アルキル基である。

## 【0067】

1つの変形において、 $R^1$ は、メチルである。1つの変形において、 $R^1$ は、エチルである。1つの変形において、 $R^1$ は、メチルまたはエチルである。1つの変形において、 $R^1$ は、メチルまたはベンジル等のアラルキル基である。1つの変形において、 $R^1$ は、エチルまたはベンジル等のアラルキル基である。

## 【0068】

1つの変形において、 $R^1$ は、アラルキル基である。1つの変形において、 $R^1$ は、前の段落で列挙したアルキルまたは低級アルキル置換基のいずれか1つがアリール基によりさらに置換されているアラルキル基（例えば、 $Ar-C_1 \sim C_6$ アルキル、 $Ar-C_1 \sim C_3$ アルキルまたは $Ar-C_1 \sim C_{15}$ アルキル）である。1つの変形において、 $R^1$ は、前の段落で列挙したアルキルまたは低級アルキル置換基のいずれか1つが単環のアリール残基により置換されているアラルキル基である。1つの変形において、 $R^1$ は、前の段落で列挙したアルキルまたは低級アルキル置換基のいずれか1つがフェニル基によりさらに置換されているアラルキル基（例えば、 $Ph-C_1 \sim C_6$ アルキルまたは $Ph-C_1 \sim C_3$ アルキル、 $Ph-C_1 \sim C_{15}$ アルキル）である。1つの変形において、 $R^1$ はベンジルである。

30

## 【0069】

$R^1$ に対するすべての変形は、ありとあらゆる $R^1$ 、 $R^2$ および $R^3$ の組合せが具体的にかつ個々に列挙された場合と同じく、 $R^2$ および $R^3$ に対して以下で述べるいずれの変形も兼ねることを意味しておりここではっきりと記述しておく。

40

## 【0070】

1つの変形において、 $R^2$ はHである。1つの変形において、 $R^2$ はアラルキル基である。1つの変形において、 $R^2$ は置換ヘテロアラルキル基である。1つの変形において、 $R^2$ は、水素またはアラルキル基である。1つの変形において、 $R^2$ は、水素または置換ヘテロアラルキル基である。1つの変形において、 $R^2$ は、アラルキル基または置換ヘテロアラルキル基である。1つの変形において、 $R^2$ は、水素、アラルキル基および置換ヘテロアラルキル基からなる群から選択される。

50

## 【0071】

1つの変形において、 $R^2$ は、 $R^2$ が上で $R^1$ について記したアラルキルのいずれか1つのアラルキル基であり得、 $R^1$ について列挙したありとあらゆるアラルキルの同じ変形が $R^2$ に対して独立して個々に列挙される。

## 【0072】

1つの変形において、 $R^2$ は、ヘテロアラルキルのアルキル部分が任意のアルキルまたは低級アルキル基、例えば $R^1$ に対して上で列挙したものなどであり得る置換ヘテロアラルキル基である。1つの変形において、 $R^2$ は、ヘテロアリール基が1~3個の $C_1 \sim C_3$ アルキル置換基により置換されている置換ヘテロアラルキル(例えば、6-メチル-3-ピリジルエチル)である。1つの変形において、 $R^2$ は、ヘテロアリール基が1~3個のメチル基により置換されている置換ヘテロアラルキル基である。1つの変形において、 $R^2$ は、ヘテロアリール基が1個の低級アルキル置換基により置換されている置換ヘテロアラルキル基である。1つの変形において、 $R^2$ は、ヘテロアリール基が1個の $C_1 \sim C_3$ アルキル置換基により置換されている置換ヘテロアラルキル基である。1つの変形において、 $R^2$ は、ヘテロアリール基が1個または2個のメチル基により置換されている置換ヘテロアラルキル基である。1つの変形において、 $R^2$ は、ヘテロアリール基が1個のメチル基により置換されている置換ヘテロアラルキル基である。

10

## 【0073】

他の変形において、 $R^2$ は、ヘテロアラルキル基のヘテロアリール部分が単環のヘテロアリール基である直前の段落中の置換ヘテロアラルキル基のいずれか1つである。他の変形において、 $R^2$ は、ヘテロアラルキル基のヘテロアリール部分が複数縮合環ヘテロアリール基である直前の段落中の置換ヘテロアラルキル基のいずれか1つである。他の変形において、 $R^2$ は、ヘテロアラルキル部分がピリジル基(Py)である直前の段落中の置換ヘテロアラルキル基のいずれか1つである。

20

## 【0074】

1つの変形において、 $R^2$ は、6- $CH_3$ -3-Py-( $CH_2$ )<sub>2</sub>-である。

## 【0075】

1つの変形において、 $R^3$ は、水素である。他の変形において、 $R^3$ は、上で $R^1$ について記したアルキル基のいずれか1つであり、 $R^1$ について列挙したありとあらゆるアルキルの同じ変形が $R^3$ に対して独立して個々に列挙される。別の変形において、 $R^3$ は、ハロ基である。1つの変形において、 $R^3$ は、水素またはアルキル基である。1つの変形において、 $R^3$ は、ハロまたはアルキル基である。1つの変形において、 $R^3$ は、水素またはハロ基である。1つの変形において、 $R^3$ は、水素、アルキルおよびハロからなる群から選択される。1つの変形において、 $R^3$ は、Brである。1つの変形において、 $R^3$ は、Iである。1つの変形において、 $R^3$ は、Fである。1つの変形において、 $R^3$ は、Clである。

30

## 【0076】

特定の変形において、該水素化ピリド[4, 3-b]インドールは、2, 8-ジメチル-5-(2-(6-メチル-3-ピリジル)エチル)-2, 3, 4, 5-テトラヒドロ-1H-ピリド[4, 3-b]インドールまたはその薬学的に許容できる塩である。

40

## 【0077】

水素化ピリド[4, 3-b]インドール類は、当業者には容易に知られるその薬学的に許容できる塩の形をしていることができる。その薬学的に許容できる塩としては、薬学的に許容できる酸性塩が挙げられる。特定の薬学的に許容できる塩の例としては、塩酸塩または二塩酸塩が挙げられる。特定の変形において、その水素化ピリド[4, 3-b]インドールは、2, 8-ジメチル-5-(2-(6-メチル-3-ピリジル)エチル)-2, 3, 4, 5-テトラヒドロ-1H-ピリド[4, 3-b]インドールの薬学的に許容できる塩、例えば2, 8-ジメチル-5-(2-(6-メチル-3-ピリジル)エチル)-2, 3, 4, 5-テトラヒドロ-1H-ピリド[4, 3-b]インドール二塩酸塩(ディメボン)などである。

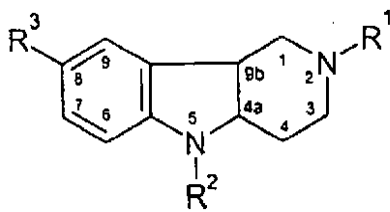
50

【0078】

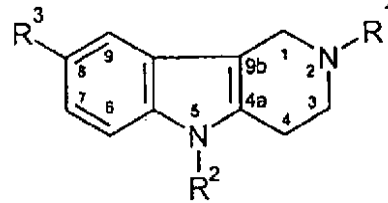
特定の水素化ピリド[4,3-b]インドールは、また、式(1)によるか式(2)により表現することができる：

【0079】

【化2】



(1)



(2)

10

一般式(1)または(2)の化合物に関して、

$R^1$  は、 $-CH_3$ 、 $CH_3CH_2-$ 、または  $PhCH_2-$  (ベンジル) であり、

$R^2$  は、 $-H$ 、 $PhCH_2-$ 、または  $6CH_3-3-Py-(CH_2)_2-$  であり

$R^3$  は、 $-H$ 、 $-CH_3$  または  $-Br$  であり、

上記置換基の任意の組合せである。式(1)および(2)の置換基のすべての可能な組合せは、あたかもそれぞれ単独の個々の化合物が化学名により列挙されたのと同じように特定の個々の化合物と考えられる。同様に考えられるのは、上に列挙した置換基から1つまたは複数の可能な部分をいずれか削除した、例えば  $R^1$  が  $-CH_3$  を表す場合、 $R^2$  が、 $-H$ 、 $PhCH_2-$ 、または  $6CH_3-3-Py-(CH_2)_2-$  であり、 $R^3$  が、 $-H$ 、 $-CH_3$  または  $-Br$  であるか、または  $R^1$  が  $-CH_3$  を表す場合、 $R^2$  が、 $6CH_3-3-Py-(CH_2)_2-$  であり、 $R^3$  が、 $-H$ 、 $-CH_3$  または  $-Br$  である式(1)または(2)の化合物である。

20

【0080】

上記のおよび本明細書中のどの化合物も、薬学的に許容できる酸との塩および第四級化誘導体の形をしていることができる。

【0081】

その化合物は、 $R^1$  が  $-CH_3$  であり、 $R^2$  が  $-H$  であり、 $R^3$  が  $-CH_3$  である式(1)であり得る。その化合物は、 $R^1$  が  $-CH_3$ 、 $CH_3CH_2-$ 、または  $PhCH_2-$  によって表され、 $R^2$  が  $-H$ 、 $PhCH_2-$ 、または  $6CH_3-3-Py-(CH_2)_2-$  であり、 $R^3$  が  $-H$ 、 $-CH_3$  または  $-Br$  である式(2)であり得る。その化合物は、 $R^1$  が  $CH_3CH_2-$  もしくは  $PhCH_2-$  であり、 $R^2$  が  $-H$  であり、 $R^3$  が  $-H$  である式(2)であるか、または  $R^1$  が  $-CH_3$  であり、 $R^2$  が  $PhCH_2-$  であり、 $R^3$  が  $-CH_3$  である化合物、または  $R^1$  が  $-CH_3$  であり、 $R^2$  が  $6-CH_3-3-Py-(CH_2)_2-$  であり、 $R^3$  が  $-CH_3$  である化合物、または  $R^1$  が  $-CH_3$  であり、 $R^2$  が  $-H$  であり、 $R^3$  が  $-H$  もしくは  $-CH_3$  である化合物、または  $R^1$  が  $-CH_3$  であり、 $R^2$  が  $-H$  であり、 $R^3$  が  $-Br$  である化合物であり得る。

30

【0082】

本明細書に開示されている方法において使用することができる文献から既知の化合物としては以下の特定の化合物が挙げられる。

40

【0083】

1. シス(±)2,8-ジメチル-2,3,4,4a,5,9b-ヘキサヒドロ-1H-ピリド[4,3-b]インドールおよびその二塩酸塩；

2. 2-エチル-2,3,4,5-テトラヒドロ-1H-ピリド[4,3-b]インドール；

3. 2-ベンジル-2,3,4,5-テトラヒドロ-1H-ピリド[4,3-b]インドール；

4. 2,8-ジメチル-5-ベンジル-2,3,4,5-テトラヒドロ-1H-ピリド[4,3-b]インドールおよびその二塩酸塩；

50

5. 2 - メチル - 5 - ( 2 - メチル - 3 - ピリジル ) エチル - 2 , 3 , 4 , 5 - テトラヒドロ - 1 H - ピリド [ 4 , 3 - b ] インドールおよびそのセスキ硫酸塩 ;

6. 2 , 8 - ジメチル - 5 - ( 2 - ( 6 - メチル - 3 - ピリジル ) エチル ) - 2 , 3 , 4 , 5 - テトラヒドロ - 1 H - ピリド [ 4 , 3 - b ] インドールおよびその二塩酸塩 ( デイメボン ) ;

7. 2 - メチル - 2 , 3 , 4 , 5 - テトラヒドロ - 1 H - ピリド [ 4 , 3 - b ] インドール ;

8. 2 , 8 - ジメチル - 2 , 3 , 4 , 5 - テトラヒドロ - 1 H - ピリド [ 4 , 3 - b ] インドールおよびそのメチル ヨージド ;

9. 2 - メチル - 8 - プロモ - 2 , 3 , 4 , 5 - テトラヒドロ - 1 H - ピリド [ 4 , 3 - b ] インドールおよびその塩酸塩。

10

【 0 0 8 4 】

1つの変形において、該化合物は、式AまたはBの、 $R^1$ が、低級アルキルまたはベンジルから選択され、 $R^2$ が、水素、ベンジルまたは6 -  $CH_3$  - 3 -  $Py - (CH_2)_2$  - から選択され、 $R^3$ が、水素、低級アルキルまたはハロゲンから選択されるもの、あるいはそれらの任意の薬学的に許容できる塩である。別の変形においては、 $R^1$ が、-  $CH_3$ 、 $CH_3CH_2$  -、またはベンジルから選択され、 $R^2$ が、- H、ベンジルまたは6 -  $CH_3$  - 3 -  $Py - (CH_2)_2$  - から選択され、 $R^3$ が、- H、-  $CH_3$ または- Brから選択され、あるいはそれらの任意の薬学的に許容できる塩である。別の変形においては、該化合物は、ラセミ混合物としての、または実質的に純粋な(+)型または実質的に純粋な(-)型のシス(±)2, 8 - ジメチル - 2, 3, 4, 4a, 5, 9b - ヘキサヒドロ - 1H - ピリド [ 4, 3 - b ] インドール ; 2 - エチル - 2, 3, 4, 5 - テトラヒドロ - 1H - ピリド [ 4, 3 - b ] インドール ; 2 - ベンジル - 2, 3, 4, 5 - テトラヒドロ - 1H - ピリド [ 4, 3 - b ] インドール ; 2, 8 - ジメチル - 5 - ベンジル - 2, 3, 4, 5 - テトラヒドロ - 1H - ピリド [ 4, 3 - b ] インドール ; 2 - メチル - 5 - ( 2 - メチル - 3 - ピリジル ) エチル - 2, 3, 4, 5 - テトラヒドロ - 1H - ピリド [ 4, 3 - b ] インドール ; 2, 8 - ジメチル - 5 - ( 2 - ( 6 - メチル - 3 - ピリジル ) エチル ) - 2, 3, 4, 5 - テトラヒドロ - 1H - ピリド [ 4, 3 - b ] インドール ; 2 - メチル - 2, 3, 4, 5 - テトラヒドロ - 1H - ピリド [ 4, 3 - b ] インドール ; 2, 8 - ジメチル - 2, 3, 4, 5 - テトラヒドロ - 1H - ピリド [ 4, 3 - b ] インドール ; または2 - メチル - 8 - プロモ - 2, 3, 4, 5 - テトラヒドロ - 1H - ピリド [ 4, 3 - b ] インドールまたは前記の任意のものの薬学的に許容できる任意の塩からなる群から選択される。1つの変形において、該化合物は、式AまたはBの、 $R^1$ が、-  $CH_3$ であり、 $R^2$ が、- Hであり、 $R^3$ が、-  $CH_3$ であるものまたはそれらの薬学的に許容できる任意の塩であり得る。該化合物は、式AまたはBの、 $R^1$ が、 $CH_3CH_2$  - またはベンジルであり、 $R^2$ が、- Hであり、 $R^3$ が、-  $CH_3$ であるものまたはそれらの薬学的に許容できる任意の塩であり得る。該化合物は、式AまたはBの、 $R^1$ が、-  $CH_3$ であり、 $R^2$ が、ベンジルであり、 $R^3$ が、-  $CH_3$ であるものまたはそれらの薬学的に許容できる任意の塩であり得る。該化合物は、式AまたはBの、 $R^1$ が、-  $CH_3$ であり、 $R^2$ が、6 -  $CH_3$  - 3 -  $Py - (CH_2)_2$  - であり、 $R^3$ が、- Hであるものまたはそれらの薬学的に許容できる任意の塩であり得る。該化合物は、式AまたはBの、 $R^1$ が、-  $CH_3$ であり、 $R^2$ が、- Hであり、 $R^3$ が、- Hもしくは-  $CH_3$ であるものまたはそれらの薬学的に許容できる任意の塩であり得る。該化合物は、式AまたはBの、 $R^1$ が、-  $CH_3$ であり、 $R^2$ が、- Hであり、 $R^3$ が、- Brであるものまたはそれらの薬学的に許容できる任意の塩であり得る。該化合物は、式AまたはBの、 $R^1$ が、低級アルキルまたはアラキルから選択され、 $R^2$ が、水素、アラキルまたは置換ヘテロアラキルから選択され、 $R^3$ が、水素、低級アルキルまたはハロゲンから選択されるものであり得る。

20

30

40

【 0 0 8 5 】

50

該システムおよび方法で使用するための化合物は、2, 8 - ジメチル - 5 - ( 2 - ( 6 - メチル - 3 - ピリジル ) エチル - 2, 3, 4, 5 - テトラヒドロ - 1 H - ピリド [ 4, 3 - b ] インドールまたはその薬学的に許容できる任意の塩、例えばその酸性塩、塩酸塩または二塩酸塩などであり得る。

【 0 0 8 6 】

ピリド [ 4, 3 - b ] インドール環構造中に2つの立体中心 ( 例えば化合物 ( 1 ) の炭素 4 a および 9 b ) を有する本明細書に開示されている化合物はいずれも、その立体中心がシス型またはトランス型である化合物が挙げられる。組成物は、実質的に純粋な形の化合物を含み、例えば実質的に純粋な S, S または R, R または S, R または R, S 化合物の組成物であり得る。実質的に純粋な化合物の組成物とは、その組成物が異なる立体化学的形態をした化合物の不純物を、15% を越えてまたは10% を越えてまたは5% を越えてまたは3% を越えてまたは1% を越えて含有しないことを意味する。例えば、実質的に純粋な S, S 化合物の組成物とは、その組成物が、R, R または S, R または R, S の形態の化合物を、15% を越えてまたは10% を越えてまたは5% を越えてまたは3% を越えてまたは1% を越えて含有しないことを意味する。組成物は、立体異性体の混合物であって、その混合物が、等量または等量ではない複数のエナンチオマー ( 例えば S, S と R, R ) または複数のジアステレオマー ( 例えば S, S と R, S または S, R ) であり得るものとしての化合物を含むことができる。組成物は、2個または3個または4個のかかる立体異性体の任意の比率の立体異性体の混合物としての化合物を含むことができる。ピリド [ 4, 3 - b ] インドール環構造中以外の立体中心を有する本明細書に開示されている化合物類は、以下に限定されないが、任意の比率のエナンチオマー類およびジアステレオマー類を含むかかる化合物のすべての立体化学的変形を意味し、ラセミ混合物およびエナンチオリッチにした混合物およびその他の可能な混合物を含む。構造により立体化学がはっきりと示されない場合を除いて、当該構造は、画かれている化合物のすべての可能な立体異性体を包含することを意味する。

【 0 0 8 7 】

シス ( ± ) 2, 8 - ジメチル - 2, 3, 4, 4 a, 5, 9 b - ヘキサヒドロ - 1 H - ピリド [ 4, 3 - b ] インドールおよびその二塩酸塩についての合成および神経遮断特性についての研究は、例えば、次の出版物 : Yakhontov, L. N., Glushkov, R. G., Synthetic therapeutic drugs, A. G. Natradze, 編者, Moscow Medicina, 1983年、234 ~ 237 頁、に報告されている。上の化合物 2, 8, および 9 の合成およびセロトニンアンタゴニストとしてのそれらの特性についてのデータは、例えば、C. J. Cattanch, A. Cohen および B. H. Brown, J. Chem. Soc. ( Ser. C ), 1968年、1235 ~ 1243 頁、に報告されている。上の化合物 3 の合成は、例えば、論文、N. P. Buu-Hoi, O. Rous sel, P. Jacquignon, J. Chem. Soc., 1964年、2号、708 ~ 711 頁に報告されている。N. F. Kucherova および N. K. Kochetkov ( 一般化学 ( ロシア語 ) )、1956年、26 巻、3149 ~ 3154 頁 ) は、上の化合物 4 の合成について記載している。上の化合物 5 および 6 の合成は、A. N. Kost, M. A. Yurovskaya, T. V. Mel'nikova による論文、Chemistry of heterocyclic compounds, 1973年、2号、207 ~ 212 頁に記載されている。上の化合物 7 の合成は、U. Horlein により、Chem. Ber., 1954年、87 巻、hft 4、463 ~ 472 頁に記載されている。M. Yurovskaya および I. L. Rodionov は、Chemistry of heterocyclic compounds ( 1981年、8号、1072 ~ 1078 頁 ) の中で上の化合物 8 のヨウ化メチル化物の合成について記載している。

【 0 0 8 8 】

典型的な併用治療薬

10

20

30

40

50

本発明は、また、水素化ピリド [ 4 , 3 - b ] インドールを含む第 1 治療薬 ( 例えば式 ( 1 )、( 2 )、( A ) または ( B ) により表現される化合物など) および 1 つまたは複数の他の化合物 ( 例えば ALS の治療、予防ならびに / または発病および / もしくは発症を遅延させるために有用である化合物またはその薬学的に許容できる塩など) を含む第 2 治療薬を含む併用治療薬を特色とする。

【 0 0 8 9 】

典型的な第 2 治療薬は、1 つまたは複数の次の化合物を含む：筋肉細胞へのエネルギー供給を促進または増加する薬剤の、COX - 2 阻害剤、ポリ ( ADP - リボース ) ポリメラーゼ - 1 ( PARP - 1 ) 阻害剤、3 OS リボソームタンパク質阻害剤、NMDA アンタゴニスト、NMDA レセプターアンタゴニスト、ナトリウムチャンネル遮断薬、グルタミン酸放出阻害剤、K ( V ) 4 . 3 チャンネル遮断薬、抗炎症薬、5 - HT 1 A レセプターアゴニスト、神経栄養因子エンハンサー；運動神経細胞表現型生存および / または神経突起生成を促進する薬剤；血液脳関門を破壊から保護する薬剤の、1 つまたは複数の炎症性サイトカインの産生または活性の阻害剤、免疫調節薬、神経保護剤、アストロサイトの機能のモジュレーター、抗酸化物質 ( 例えば小分子の触媒的抗酸化物質 )、フリーラジカル捕捉剤；1 つまたは複数の反応性酸素種の量を減少する薬剤；非タンパク質チオール含量の減少を阻止する薬剤の、正常な細胞のタンパク質修復経路の刺激剤 ( 例えば分子シャペロンを活性化する薬剤など )、神経栄養剤、神経細胞死の阻害剤、神経突起成長の刺激剤；神経細胞の死を防止しかつ / または損傷した頭脳組織の再生を促進する薬剤の、サイトカインモジュレーター；ミクログリア細胞の活性化のレベルを低下する薬剤の、カンナビノイド CB 1 レセプターリガンド、非ステロイド系抗炎症薬、カンナビノイド CB 2 レセプターリガンド、クレアチン、クレアチン誘導体、ドーパミンレセプターアゴニスト例えばプラミペキソール塩酸塩などの立体異性体、毛様体神経栄養因子；毛様体神経栄養因子をコード化する薬剤の、グリア由来の神経栄養因子；グリア由来の神経栄養因子をコード化する薬剤の、ニューロトロフィン 3 ；ニューロトロフィン 3 をコード化する薬剤、および前述のものの 2 つ以上の組合せ。

【 0 0 9 0 】

いくつかの実施形態において、該第 2 治療薬としては、それぞれが他の化合物 ( 1 つ以上 ) が有していない活性を有する 2 つ以上の化合物が挙げられる。いくつかの実施形態において、該第 2 治療薬は、2 つ以上の異なる活性を有する 1 つの化合物、例えば次のもの：筋肉細胞へのエネルギー供給を促進または増加する薬剤の、COX - 2 阻害剤、ポリ ( ADP - リボース ) ポリメラーゼ - 1 ( PARP - 1 ) 阻害剤、3 OS リボソームタンパク質阻害剤、NMDA アンタゴニスト、NMDA レセプターアンタゴニスト、ナトリウムチャンネル遮断薬、グルタミン酸放出阻害剤、K ( V ) 4 . 3 チャンネル遮断薬、抗炎症薬、5 - HT 1 A レセプターアゴニスト、神経栄養因子エンハンサー；運動神経細胞表現型生存および / または神経突起生成を促進する薬剤；血液脳関門を破壊から保護する薬剤の、1 つまたは複数の炎症性サイトカインの産生または活性の阻害剤、免疫調節薬、神経保護剤、アストロサイトの機能のモジュレーター、抗酸化物質 ( 例えば小分子の触媒的抗酸化物質 )、フリーラジカル捕捉剤；1 つまたは複数の反応性酸素種の量を減少する薬剤；非タンパク質チオール含量の減少を阻止する薬剤の、正常な細胞のタンパク質修復経路の刺激剤 ( 例えば分子シャペロンを活性化する薬剤など )、神経栄養剤、神経細胞死の阻害剤、神経突起成長の刺激剤；神経細胞の死を防止しかつ / または損傷した頭脳組織の再生を促進する薬剤の、サイトカインモジュレーター；ミクログリア細胞の活性化のレベルを低下する薬剤の、カンナビノイド CB 1 レセプターリガンド、非ステロイド系抗炎症薬、カンナビノイド CB 2 レセプターリガンド、クレアチン、クレアチン誘導体、ドーパミンレセプターアゴニスト例えばプラミペキソール塩酸塩などの立体異性体、毛様体神経栄養因子；毛様体神経栄養因子をコード化する薬剤の、グリア由来の神経栄養因子；グリア由来の神経栄養因子をコード化する薬剤の、ニューロトロフィン 3 ；ニューロトロフィン 3 をコード化する薬剤、の 2 つ以上として機能する化合物などが挙げられる。

【 0 0 9 1 】

10

20

30

40

50

筋肉細胞へのエネルギーの供給を促進または増大する典型的なクレアチンは、ALS-02である。ALS-02は、超高純度のクレアチンの臨床型を組み込む治療薬である。アビセナ(Avicena)社の未来の薬剤候補、ALS-02は、ALSの治療のための現在第三相臨床試験中である。クレアチンは、脊椎動物中に天然に発生する窒素を含む有機酸であり、筋肉細胞にエネルギーを供給するのを助ける。ALS-02は、ALSの治療のために、2002年にFDAによりオーファンドラッグの指名を供与された。

【0092】

典型的なクレアチン誘導体は、ALS-08である。ALS-08は、COX-2阻害剤のセレコキシブまたはミノサイクリンと組み合わせてALSの治療のための第二相臨床試験中であるアビセラ社により製造されたクレアチン誘導体である。ALS-08/セレコキシブおよびALS-08/ミノサイクリンの組合せは、ALSの動物モデルにおいて、個々の薬剤単独以上に神経変性を減少し、生き残りを引き延ばす相加効果を実証している。

10

【0093】

典型的なポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼ-1(PARP-1)阻害剤および30Sリボソームタンパク質阻害剤は、ミノサイクリンである。ミノサイクリンは、ミクログリア活性化を阻止し、カスパーゼ活性化を阻止し、それによりアポトーシスを阻止することによって作用すると考えられる。

【0094】

典型的で非限定のNMDAレセプターアンタゴニストのリストは、メマンチン(Forest社により販売されているナメンダ(Namenda)(登録商標)、Merz社により販売されているAxura(登録商標)、Merz社により販売されているAktinol(登録商標)、Lundbeck社により販売されているEbixa(登録商標))、ネラメキサン(Neramexane)(Forest Labs製)、アマンタジン、AP5(2-アミノ-5-ホスホノペンタノエート、APV)、デキストロルファン、ケタミン、MK-801(ジゾシルピン)、フェンシクリジン、リルゾールおよび7-クロロキヌレートを含む。ネラメキサンの構造は、ナメンダのそれとは異なるが、それらは薬理学的には同等である。

20

【0095】

典型的なナトリウムチャンネル阻害剤、グルタメート放出阻害剤、およびK(V)4.3チャンネル阻害剤は、リルゾールである。リルゾールは、グルタメート興奮毒性および神経毒性を最小化する多重経路に作用すると考えられる。

30

【0096】

典型的な抗炎症薬は、プロシステイン(Procysteine)である。抗炎症薬はミクログリア活性化、サイトカイン放出、炎症性メディエータ、および/または細胞損傷を減少することができる。

【0097】

典型的な5-HT1Aレセプターアゴニスト、神経栄養因子エンハンサー、運動神経細胞表現型生存および/または神経突起生成を促進する薬剤、および血液脳関門を破壊から保護する薬剤は、キサリプロデンである。この化合物は、血液脳関門を破壊から保護しながら運動神経細胞表現型生存および/または神経突起生成を促進することが報告されており、それは炎症性サイトカインの産生の阻止の結果であり得る。2001年1月、キサリプロデンは、ALSの治療に対して、E.U.においてオーファンドラッグの指定を受けた。

40

【0098】

典型的な毛様体神経栄養因子は、組み換え型ヒト毛様体神経栄養因子である。毛様体神経栄養因子は、神経突起伸長を改善し、神経細胞の構造的完全性を維持し、神経分化を制御し、かつ/または神経生存を改善することができる。

【0099】

典型的な免疫調節治療薬は、グラチラマー酢酸塩例えばコポリマー1などである(グラ

50

チラマー酢酸塩は、コパクソン (Copaxone) (登録商標) と呼ばれる)。Teva社は、この化合物を用いてALSの治療に対する第二相試験を行っている。その会社は、経口製剤を前臨床的に評価している。

【0100】

典型的な神経保護剤およびアストロサイトの機能のモジュレーターは、アルンド酸である。アルンド酸は、オノ(小野)社においてALSの経口治療に対して第二相試験中である。アルンド酸は、アストロサイトの機能を調節するものと考えられる。

【0101】

典型的な抗酸化物質およびフリーラジカル捕捉剤は、AEOL-10150、MnDTEIPである。AEOL-10150は、Aeolus Pharmaceuticals社においてALSの静脈内治療に対しての第1相試験中の小分子の触媒的抗酸化物質である。この化合物は、ALSにおいて上位および下位両方の運動神経の変性に関与すると考えられる炎症カスケードを開始する広範な反応性酸素種を捕捉する。該化合物は、前臨床の動物モデルにおけるALSの症状の治療において有効性を示している。

10

【0102】

正常な細胞のタンパク質修復経路の典型的な刺激剤は、アリモクロモルマレートである。アリモクロモルマレートは、現在CytRx社においてALSの経口治療のための第二相臨床試験を受けている。該化合物は、正常な細胞のタンパク質修復経路を分子シャペロンの活性化を経て刺激するメカニズムによって機能するものと考えられる。

20

【0103】

典型的な神経栄養剤、神経細胞死の阻害剤、神経突起成長の刺激剤、1つまたは複数の反応性酸素種の量を減少する薬剤、非タンパク質チオール含量の減少を阻止する薬剤は、T-817(1-[3-[2-(1-ベンゾチエン-5-イル)エトキシ]プロピル]アゼチジン-3-オルマレート)である。この化合物は、神経細胞の死を阻止し、神経突起成長を促進する。前臨床試験において、T-817MAは、また、ミトコンドリアの活性酸素種(ROS)産生の初期のニトロプルシドナトリウム(SNP)により生じる増加を遅延させ、非タンパク質チオール含量の減少を阻止することによって酸化ストレスを減少した。

【0104】

神経細胞の死を予防しかつ/または損傷した脳組織の再生を促進する典型的な神経栄養剤は、AX-200である。この薬剤は、神経細胞の死を予防し、損傷した脳組織の再生を促進する。Sygnis Bioscience社は、ALSの治療に対するその薬剤の可能性を評価している。

30

【0105】

典型的な抗炎症薬、サイトカインモジュレーター、およびミクログリア細胞の活性化のレベルを低下する薬剤は、ホスファチジルグリセロール(PG)含有リボソーム類、例えばVP-025などである。VP-025は、Vasogen社においてALSの治療に対して第1相試験中である。臨床前調査により、VP-025は、血液脳関門を横断して、ミクログリア細胞の活性のレベルを低下させることにより、サイトカイン調節を含めた強力な抗炎症活性を生じることが示されている。神経保護的効果のこの活性およびエビデンスは、記憶および学習と関係する特定の神経経路の機能の保存をもたらす。

40

【0106】

典型的なカンナビノイドCB1レセプターリガンド、非ステロイド系抗炎症薬、およびカンナビノイドCB2レセプターリガンドは、カンナビノールである。かかる化合物は、さまざまな炎症性、虚血性、および/または興奮毒性の状態に対して神経保護的効果を有し得る。

【0107】

典型的な抗酸化剤および神経保護薬は、(+)-R-ブラミペキソールである。ドーパミンレセプターアゴニストブラミペキソール塩酸塩の不活性な立体異性体の(+)-R-ブラミペキソールは、現在バージニア大学においてALSの治療に対して第二相試験を受

50

けている。過去の研究により、(+) - R - プラミペキソールは、反応性酸素種 (ROS) を捕捉し、ミトコンドリア中に蓄積することができるが見出されている。酸化ストレスによって引き起こされた神経系細胞死の前臨床モデルは、その薬剤が神経保護的効果を引き起こすことを示している。

【0108】

毛様体神経栄養因子をコード化する典型的な薬剤は、ヒトCTNF (毛様体神経栄養因子) をコード化するE1削除組み換え型Ad5アデノウイルスである。毛様体神経栄養因子は、神経突起伸長を改善し、神経細胞の構造的完全性を維持し、神経分化を制御し、かつ/または神経生存を改善することができる。

【0109】

グリア由来の神経栄養因子をコード化する典型的な薬剤は、ヒトGDNF (グリア由来神経栄養因子) をコード化するE1削除組み換え型Ad5アデノウイルスである。グリア由来神経栄養因子は、神経突起伸長を改善し、神経細胞の構造的完全性を維持し、神経分化を制御し、かつ/または神経生存を改善することができる。神経細胞を死から保護し、神経突起伸長を誘発し、かつ/または神経発生を誘発する薬剤は、神経細胞の減少を遅延させかつ/または新たな神経細胞の発生を促すのに治療的に有用であり得る。

【0110】

ニューロトロフィン3をコード化する典型的な薬剤は、ヒトNT3 (NTF3) (ニューロトロフィン3) をコード化するE1削除組み換え型Ad5アデノウイルスである。ニューロトロフィン3は、神経突起伸長を改善し、神経細胞の構造的完全性を維持し、神経分化を制御し、かつ/または神経生存を改善することができる。神経細胞を死から保護する薬剤は、神経細胞の減少を遅延させかつ/または新たな神経細胞の発生を促すのに治療的に有用であり得る。

【0111】

本発明の第2治療薬で使用するための別の典型的な化合物は、コレスト-4-エン-3-オンオキシム、例えばTRO-19622などである。第1相臨床試験がTrophos社においてALSの治療のために進行中である。TRO-19622は、培養液中で運動神経細胞の生存を促進しており、ALS患者の脊髄運動神経細胞の死を減少する可能性がある。TRO-19622は、ミトコンドリア透過性転移ポアの安定化およびプロアポトーシス因子の阻止によって作用するものと思われる。

【0112】

本発明の第2治療薬で使用するための別の典型的な化合物は、サリドマイドである。サリドマイドは、抗血管新生特性および免疫調節性を有する。

【0113】

本発明の第2治療薬で使用するための別の典型的な化合物は、セフトリアキソンである。セフトリアキソンは、抗興奮特性ならびに抗酸化特性を有する。

【0114】

典型的なフリーラジカル捕捉剤は、MCI-186 (エダラボン) である。

【0115】

本発明の第2治療薬で使用するためのその他の典型的な化合物としては、ALSを改善する、安定化させる、除去する、遅延させる、または予防することが知られているか期待される任意の化合物が挙げられる。

【0116】

典型的な製剤類

本明細書に記載の1つまたはいくつかの化合物は、活性成分としての該化合物または複数の化合物を当技術分野において既知の薬理的に許容できる担体と共に組み合わせることによって製剤例えば医薬製剤などの調製において使用することができる。そのシステムの治療形態 (経皮貼付対経口錠剤) によってその担体は、さまざまな形のものであり得る。さらに、医薬品は、保存料、可溶化剤、安定剤、再湿潤剤、乳化剤、甘味料、染料、調整剤、浸透圧調節のための塩類、緩衝剤、コーティング剤または酸化防止剤を含むことが

10

20

30

40

50

できる。ディメボンなどの化合物を含む調剤は、重要な治療特性を有するその他の物質も含有することができる。治療形態は、通常の標準用量によって表すことができ、既知の製薬方法によって準備することができる。適当な配合は、例えば、参照により本明細書に組み込む Remington's Pharmaceutical Sciences、Mack Publishing Company、ペンシルベニア州フィラデルフィア、第20版(2000年)の中に見出すことができる。

#### 【0117】

##### 典型的な投与計画

本発明での使用に関して、はっきりと別段の記載がない限り、本発明の化合物または併用治療薬は、任意の利用できる剤形によって個体に投与することができる。1つの変形において、該化合物または併用治療薬は標準的な即時放出剤形として個体に投与される。1つの変形において、該化合物または併用治療薬は、持続放出製剤か、または個体への化合物の送達速度を、延長された期間であり得る所望の期間、例えば対応する即時放出剤形が同じ量(例えば重量またはモル量で)の化合物または併用治療薬を放出するために要する時間より長く、数時間または数日であり得る期間にわたって持続することができる系などの持続放出系の一部として個体に投与される。望ましい期間は、少なくとも投与された化合物または併用治療薬の薬物消失半減期であり得、およそ、例えば、少なくとも約6時間または少なくとも約12時間または少なくとも約24時間または少なくとも約30時間または少なくとも約48時間または少なくとも約72時間または少なくとも約96時間または少なくとも約120時間または少なくとも約144時間またはそれ以上の時間のいずれかであり得、そして少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約8週間、または少なくとも約16週間またはそれ以上であり得る。

#### 【0118】

該化合物または併用治療薬は、即時放出性または持続放出性のいずれであっても、経口、粘膜(例えば、経鼻、舌下、腔内、頬側または直腸)、非経口(例えば、筋肉内、皮下、または静脈内)、局所あるいは経皮の送達形態を含む任意の利用できる送達経路に対して処方することができる。化合物または併用治療薬は、持続送達形態であってもよいがそうであることを必要としない送達形態を、適当な担体と共に提供するように処方ことができ、それには、以下に限定はされないが、錠剤、カプレット、カプセル(例えば、硬ゼラチンカプセルおよび軟弾性ゼラチンカプセルなど)、カシェ剤、トローチ、菓子錠剤、ガム、分散体、座薬、軟膏、パップ剤(湿布剤)、ペースト剤、粉剤、包帯剤、クリーム剤、液剤、パッチ剤、エアロゾル(例えばスプレー式または吸入式鼻薬)、ゲル剤、懸濁剤(例えば水性または非水性液体懸濁液、水中油型乳剤または油中水液体乳剤)、液剤およびエリキシル剤が含まれる。

#### 【0119】

送達形態中のディメボンなどの化合物の量は、約10ng~約1,500mg以上であり得る単一治療薬の単一の活性成分の化合物または併用治療薬の複数の活性成分の化合物の任意の有効量であり得る。1つの変形において、持続放出系等の送達形態は、約30mg未満の化合物を含む。1つの変形において、複数日投与が可能な単一の持続放出系等の送達形態は、化合物の1日量が約30mg未満の化合物であるように化合物の量を含む。

#### 【0120】

即時放出系または持続放出系のいずれであっても、化合物の剤形を含む治療計画は、体重1kg当たり約0.1mgと約10mgの間の用量の化合物を少なくとも1日一回、治療効果を達成するのに必要な期間中、個体に投与することを含み得る。他の変形において、本明細書に記載の水素化ピリド[4,3-b]インドールの1日量(または他の投与頻度での量)は、約0.1mg/kgと約8mg/kgの間;または約0.1mg/kgと約6mg/kgの間;または約0.1mg/kgと約4mg/kgの間;または約0.1mg/kgと約2mg/kgの間;または約0.1mg/kgと約1mg/kgの間;または約0.5mg/kgと約10mg/kgの間;または約1mg/kgと約10mg/kgの間;

kgの間；または約2mg/kgと約10mg/kgの間；または約4mg/kgと約10mg/kgの間；または約6mg/kgと約10mg/kgの間；または約8mg/kgと約10mg/kgの間；または約0.1mg/kgと約5mg/kgの間；または約0.1mg/kgと約4mg/kgの間；または約0.5mg/kgと約5mg/kgの間；または約1mg/kgと約5mg/kgの間；または約1mg/kgと約4mg/kgの間；または約2mg/kgと約4mg/kgの間；または約1mg/kgと約3mg/kgの間；または約1.5mg/kgと約3mg/kgの間；または約2mg/kgと約3mg/kgの間；または約0.01mg/kgと約10mg/kgの間；または約0.01mg/kgと約4mg/kgの間；または約0.01mg/kgと約2mg/kgの間；または約0.05mg/kgと約10mg/kgの間；または約0.05mg/kgと約8mg/kgの間；または約0.05mg/kgと約4mg/kgの間；または約0.05mg/kgと約3mg/kgの間；または約10kgから約50kgの間；または約10mg/kgと約100mg/kgの間または約10mg/kgと約250mg/kgの間；または約50mg/kgと約100mg/kgの間または約50mg/kgと約200mg/kgの間；または約100mg/kgと約200mg/kgの間または約200mg/kgと約500mg/kgの間；または約100mg/kgを超える用量；または約500mg/kgを超える用量である。いくつかの実施形態において、限定するものではないが約0.05mg/kgの1日量を含んでよい約0.1mg/kg未満の1日量などの、ディメボンの1日量が投与される。

10

20

#### 【0121】

ディメボン等の化合物は、有効な投与計画に従って望ましい期間または継続期間、例えば、少なくとも約1カ月、少なくとも約2カ月、少なくとも約3カ月、少なくとも約6カ月、少なくとも約12カ月またはそれ以上にわたって、個体に投与することができる。1つの変形において、該化合物は、個体の生命の存続期間に対する日々のまたは断続的な計画に基づいて投与される。

#### 【0122】

投薬回数は、約週1回の投与であり得る。投薬回数は、約1日1回の投与であり得る。投薬回数は、約週1回以上の投与であり得る。投薬回数は、約1日3回投与未満であり得る。投薬回数は、約週3回の投与であり得る。投薬回数は、約週4回の投与であり得る。投薬回数は、約週2回の投与であり得る。投薬回数は、約週1回以上の投与であり得るが毎日の投与より少ない。投薬回数は、約月1回投与であり得る。投薬回数は、約週2回投与であり得る。投薬回数は、約月1回以上の投与であり得るが、週1回の投与より少ない。投薬回数は、断続的（例えば、7日間1日1回投与の後7日間投与なしが、任意の14日間について、例えば約2カ月、約4カ月、約6カ月またはそれ以上繰り返される）であり得る。投薬回数は、連続的（例えば連続する週に対して週1回の投与）であり得る。いずれの投薬回数も、本明細書に記載の任意の化合物を、本明細書に記載の任意の用量と共に採用ことができ、例えば、投薬回数は、0.1mg/kg未満または約0.05mg/kg未満のディメボンの1日1回の投与であり得る。

30

40

#### 【0123】

1つの変形において、ディメボンは、1日1回5mgの用量で投与される。1つの変形において、ディメボンは、1日2回5mgの用量で投与される。1つの変形において、ディメボンは、1日3回5mgの用量で投与される。1つの変形において、ディメボンは、1日1回10mgの用量で投与される。1つの変形において、ディメボンは、1日2回10mgの用量で投与される。1つの変形において、ディメボンは、1日3回10mgの用量で投与される。1つの変形において、ディメボンは、1日1回20mgの用量で投与される。1つの変形において、ディメボンは、1日2回20mgの用量で投与される。1つの変形において、ディメボンは、1日3回20mgの用量で投与される。1つの変形において、ディメボンは、1日1回40mgの用量で投与される。1つの変形において、ディメボンは、1日2回40mgの用量で投与される。1つの変形において、ディメボンは、

50

1日3回40mgの用量で投与される。

【0124】

典型的キット

本発明は、さらに、本明細書に記載のような1つまたは複数の化合物を含むキットを提供する。そのキットは、本明細書に開示されている化合物のいずれかおよび使用説明書を使用することができる。1つの変形において、該キットは、ディメポンを使用する。その化合物は、任意の許容できる形態で処方されることができる。該キットは、本明細書に記載の任意の1つまたは複数の用途に対して使用することができ、従って、任意の1つまたは複数の提示されている用途（例えば、ALSの治療および/または予防ならびに/あるいは発病および/または発症を遅延させること）に対する使用説明書を含むことができる。

10

【0125】

キットは、一般に、適当な包装からなる。該キットは、本明細書に記載の化合物のいずれかを含む1つまたは複数の容器を含むことができる。各成分（複数の成分が存在する場合）は、別々の容器中に包装することができ、あるいは交差反応性および保存寿命が許す場合はいくつかの成分を1つの容器中に混ぜ合わせることができる。

【0126】

該キットは、本発明の方法の成分（1つ以上）の使用（ALSの治療および/または予防ならびに/あるいは発病および/または発症を遅延させること）と関係する使用説明書を含んでいる、電子記憶媒体（例えば、磁気ディスクまたは光ディスク）も許容できるが、一般に書面での使用説明書である一組の使用説明書を適宜含むことができる。キットと同梱のその使用説明書は、その成分および個体へのそれらの投与についての情報を一般に含む。

20

【0127】

以下の実施例を提供して本発明を説明するが、本発明を限定するためではない。

【実施例】

【0128】

（実施例1）

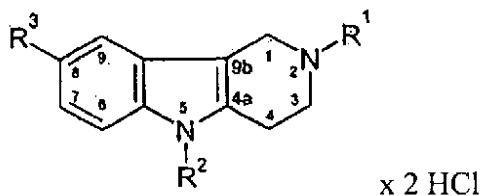
ディメポンの毒性の測定

ディメポン、2,8-ジメチル-5-(2-(6-メチル-3-ピリジル)エチル-2,3,4,5-テトラヒドロ-1H-ピリド[4,3-b]インドール二塩酸塩を、水素化ピリド[4,3-b]インドール類の代表的な化合物として使用した。

30

【0129】

【化3】



40

式中、R<sup>1</sup>およびR<sup>3</sup>は、メチルであり、

R<sup>2</sup>は、2-(6-メチル-3-ピリジル)-エチルである。

【0130】

ディメポンを、米国特許仮出願第60/723403号に記載されているように、野生型のショウジョウバエ属ショウジョウバエにおける毒性レベルについて評価した。ディメポンをその毒性を調査するために、10μMから1mMの範囲の用量で日々投与した。この実験では、未処理の対照群も調査した。示された濃度は、動物が随意に飲み/食べた食品中のディメポンの濃度である。その食品は、コーンミール、ブドウ糖、酵母および寒天からなった。

【0131】

50

約500個の野生型ショウジョウバエの卵をグレープジュースプレートに集め、蒸留水で洗浄し、1パイアルごとに100個を移し、25℃で生育した。その成虫の子孫を10日後始まった孵化後(さなぎケースから出てくる)記録した。毒性に対して使用した基準は、孵化した動物の数(%)および孵化の時間である。例えば、薬物が有毒である場合、さなぎケースから出てくる動物はより少ない可能性があり、または同数の動物が孵化はするが無処理の対照群より遅い可能性がある。

【0132】

図1に示されているように、ディメポンは、1mMの用量に到達するまでは顕著な毒性は引き起こさず、その時点で孵化する動物の%の減少があり、出現の時間が約1日遅くなった。

【0133】

(実施例2)

ショウジョウバエの目の中の光受容体神経細胞のハンチンチン誘発神経変性を阻止するディメポンの能力の測定

米国特許仮出願第60/723403号およびさらに下で述べられているように、本明細書に開示されている化合物のクラスの代表メンバーであるディメポンは、ハンチントン病について当技術分野で認められているショウジョウバエモデルにおいて著しくポジティブな結果を有しており、対照と比較して改善された保護効果を示した。この結果は、本明細書に記載されている水素化ピリド[4,3-b]インドールのALSの特徴である神経細胞死を阻止する能力を裏付ける。

【0134】

ショウジョウバエ属ショウジョウバエは、それが哺乳動物の神経系のそれとあまり変わらない形で、視覚、嗅覚、学習および記憶等の特殊化した機能を分離する構造を備えた完全に機能的な神経系を含んでいるために、神経変性疾患をモデル化するための優れた選択と考えられている。その上、ショウジョウバエの複眼は、顕微鏡により直接見ることができる特殊化された神経細胞の何百もの繰り返しの配列により構成されており、それに基づいて神経細胞死を直接阻止する見込みのある神経保護薬の能力を容易に評価することができる。最後に、疾患と関係あることが知られている人間の遺伝子のうちの約75%は、ショウジョウバエ属ショウジョウバエの対応物を有する。

【0135】

特に、ショウジョウバエ属ショウジョウバエにおける変異ハンチンチンタンパク質の発現は、ヒトのハンチントン病の特徴のいくつかを示すハエ表現型を生じる。第1に、ハンチントン病(変異ハンチンチンタンパク質)における推定される病原体は、ポリグルタミンまたはポリQリピートと呼ばれるヌクレオチドの繰り返されるトリプレット(CAG)によりコード化される。ヒトにおいて、ハンチントン病の重症度はポリQリピートの長さに関連している。同様のポリQ長さ依存状態がショウジョウバエで見られる。第2に、ハエは、後期のライフステージ(成長しきった幼虫、さなぎおよび老化しつつある成虫段階)において、生涯の40代および50代に始まるハンチントン病の最初の徴候および症状が一般に現れるヒトと同じように、その疾患を発現するとはいえ、ハエにおける若年齢(初期の幼虫期)では変異ハンチンチンタンパク質を発現する神経変性は見られない。第3に、変異ハンチンチン遺伝子が発現するハエで見られる神経変性は、それがハンチントン病のヒトの患者におけるように進行する。第4に、ハンチンチン発現ハエにおける神経病理は、同様に苦しめられているヒトの患者においてそうであるように、運動機能の喪失をもたらす。最後に変異ハンチンチンタンパク質を発現するハエは、ハンチントン病の患者がそうであるように早死にする。これらの理由によって、ハンチントン病のショウジョウバエモデルにおける神経保護的効果を示す化合物は、多分にヒトにおける有利な効果を有する化合物であることが期待される。

【0136】

ディメポン、2,8-ジメチル-5-(2-(6-メチル-3-ピリジル)エチル)-2,3,4,5-テトラヒドロ-1H-ピリド[4,3-b]インドール二塩酸塩を、[

10

20

30

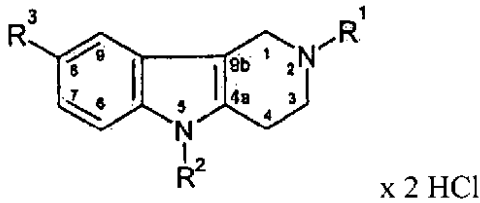
40

50

4, 3 - b ] インドール類の代表的な化合物として使用した。

【 0 1 3 7 】

【 化 4 】



式中、 $R^1$  および  $R^3$  は、メチルであり、  
 $R^2$  は、2 - (6 - メチル - 3 - ピリジル) - エチルである。

10

【 0 1 3 8 】

ディメポンを、米国特許仮出願第 60 / 723403 号に記載されているように、変異ハンチンチンタンパク質をショウジョウバエのすべての神経細胞中で発現するように設計した遺伝子導入ショウジョウバエの 1 群に投与した。これは、外来遺伝子を、酵母の GAL4 転写因子によって活性化した酵母の上流活性化因子配列の制御下で、置き換え可能な p エlement DNA ベクターにクローニングすることによって達成された。遺伝子導入動物を生じさせるためにこれらのプロモーター融合物をハエの幼虫に注入した。外来遺伝子は、GAL4 遺伝子を組織特異的な形で発現する別のハエの遺伝子導入系に交雑されるまでは静かである。誕生から死までのすべての神経細胞中で導入遺伝子を発現する  $E1av > Gal4$  を、記載されている実験では使用した。

20

【 0 1 3 9 】

調査に厳密に適合した十分な老化した対照を集めるために、2つのタイプの遺伝子導入動物を交雑させた。交雑した同齢の成体（投与グループごとに ~ 20 匹）に 7 日間薬剤含有食品をあてがった。動物は、化合物の不安定な性質によって引き起こされる何らかの影響を最小限にするために毎日新鮮な食品のところに移した。生存を毎日記録した。7 日目に動物を犠牲にし、生き残っている光受容体神経細胞の数を数えた。スコアリングは、機能している個々の光受容体が頭の後ろに集中している光によって明らかにされ、目の光受容体レベルに焦点が合わされている複合顕微鏡下の光の集中した点として視覚化される偽瞳孔法によった。ディメポンは光受容体を用量に依存する形で保護することが見出された。

30

【 0 1 4 0 】

図 2 に示されているように、ショウジョウバエの目の中の光受容体神経細胞の変異によるハンチンチン誘発神経変性（ハエの脳における神経変性の変化を反映する）を阻止するその能力について試験したとき、ディメポンは、100  $\mu$ M の用量で、未治療の対照と比較して統計的に有意な ( $p = 0.0014$ ) 神経細胞の救出をもたらした。確かめられたその効果の大きさは、強力に救出する対照化合物であるとみなされる小分子の rhokinaze 阻害剤の、陽性のヒストリカル対照、Y - 27632 に匹敵する。100  $\mu$ M 用量と比較して小さいけれどもまだ明らかな神経細胞の救出が 10  $\mu$ M 用量で観察されるディメポンによる用量依存性のハエの神経細胞の救出が観察された。1 mM のディメポン用量（前の毒性の研究において若干毒性のある用量であることが立証されている）は、なおも神経細胞の救出を生じるように見えるが、100  $\mu$ M または 10  $\mu$ M のディメポン用量より程度は低い。

40

【 0 1 4 1 】

示された結果は、ショウジョウバエの目の神経細胞の変異によるハンチンチン誘発神経変性を、ディメポンが統計的に信頼できる形で阻止することを示唆している。その記載されたショウジョウバエモデルにおける結果は、ハンチントン病に対する遺伝子導入マウスのモデルと歴史的に非常によく相関している。ヒトのハンチントン病の状態にショウジョウバエのモデルが酷似していることは、J. L. Marshら、「Fly models of Huntington's Disease」、Human Molecu

50

lar Genetics、2003年、12巻、レビュー号2、R187~R193、に記載されている。従って、ディメポンは、ハンチントン病を治療、予防し、進行を緩徐化するか、あるいは発病および/または発症を遅延させる医薬品で使用するための有望な新たな作用物質であるものと考えられる。上記の事柄すべては、ディメポンおよび本明細書に開示されている化合物のクラスが、ハンチントン病を治療、予防し、進行を緩徐化するか、あるいは発病および/または発症を遅延させるための有望な効果的薬剤であることを示唆している。

【0142】

(実施例3)

筋萎縮性側索硬化症の治療、予防ならびに/または発病および/もしくは発症を遅延させる本発明の化合物の能力を判定するためのインビトロモデルの使用

ALSのインビトロモデルは、本明細書に記載の任意の水素化ピリド[4, 3-b]インドール類(ディメポンなど)または併用治療薬のSOD1の変異によって生じる細胞毒性を減少する能力を判定するために使用することができる。細胞毒性の減少は、ヒトなどの哺乳動物におけるALSの治療、予防ならびに/または発病および/もしくは発症を遅延させる能力を示す。

【0143】

ALSの1つの典型的なインビトロモデルにおいては、N2a細胞類(例えば、InPro Biotechnology社、米国カリフォルニア州サウスサンフランシスコ、により販売されているマウス神経芽種細胞クラインN2a)に、さまざまな濃度のディメポン等の水素化ピリド[4, 3-b]インドールの存在するまたは存在しない中で、変異体SOD1を一過性に形質移入する。この形質移入には標準方法、例えばY. Wangら、(Journal of Nuclear Medicine、46(4):667~674頁、2005年)により記載されている方法を使用することができる。細胞毒性は、その水素化ピリド[4, 3-b]インドールがN2a細胞中の変異体SOD1が介在した毒性を弱めるかどうかを判定する任意の定型の方法、例えば細胞計数、免疫染色および/またはMTTアッセイなどを用いて測定することができる(例えば、米国特許第7030126号; Y. Zhangら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、99(11):7408~7413頁、2002年; またはS. Fernaeusら、Neurosci Lett.、389(3):133~6頁、2005年、参照)。

【0144】

(実施例4)

筋萎縮性側索硬化症の治療、予防ならびに/または発病および/もしくは発症を遅延させる本発明の化合物の能力を判定するためのインビボモデルの使用

ALSのインビボモデルも、本明細書に記載の任意の水素化ピリド[4, 3-b]インドール類(ディメポンなど)または併用治療薬の、ヒトなどの哺乳動物におけるALSの治療、予防ならびに/または発病および/もしくは発症を遅延させる能力を判定するために使用することができる。ALSまたは運動神経細胞変性のいくつかの動物モデルは、例えば、米国特許第7030126号および米国特許第6723315号に記載されているものなどが、他の人達により開発されている。

【0145】

例えば、家族型のALSに關与する変異型のSODを発現する遺伝子導入マウスのいくつかの系統がALSのマウスモデルとして構成されている(米国特許第6723315号)。アラニンによるグリシン93の代替を運ぶ変異したヒトSODを過剰発現する遺伝子導入マウス(FALS<sub>G93A</sub>マウス)は、進行性の運動神経細胞の変性を有し、それ自体を肢の麻痺によって発現し、4~6カ月の年齢で死亡する(Gurneyら、Science、264、1772~1775頁、1994年)。最初の臨床的症状は、約90日目の肢の震え、次いで125日目のステップの長さの減少からなる。組織学的レベルで、ミトコンドリア起源の小胞は、約37日から運動神経細胞中で観察することができ、運動

10

20

30

40

50

神経細胞の消失は90日から観察することができる。有髄軸索への攻撃は、主に腹部の髄で観察され、背部ではわずかである。代償性側副神経再支配現象が、運動ブランクのレベルで観察される。

#### 【0146】

FALS<sub>G93A</sub> マウスは、ALSの生理病理学的メカニズムの研究のためならびに治療方針の作成のための非常に良好な動物モデルを構成する。これらのマウスは、多数のALSの病理組織学および電気筋運動記録の特徴を示す。FALS<sub>G93A</sub> マウスの電気筋運動記録の性能は、ALSに関する基準：(1)付随する側副神経再支配を伴う運動単位の数の減少、(2)自然発生的除神経活性(細動)と後肢および前肢における線維束性攣縮の存在、(3)誘起される運動反応の減少と関連する運動伝導の速度の修正、および(4)感覚のない攻撃、の多くをそれらが満たすことを示している。その上、顔面神経の発病は、老いたFALS<sub>G93A</sub> マウスにおいてさえ、患者の場合と同様にまれである。FALS<sub>G93A</sub> マウスは、Transgenic Alliance社(L'Arbre s.l.e、フランス)から入手できる。さらに、ヒトSOD1(G93A)遺伝子を所有するヘテロ接合遺伝子導入マウスは、Jackson Laboratory(バーハーバー、米国メイン州)から入手することができる(米国特許第7030126号)。これらのマウスは、内在性プロモーターによって推進されるヒトG93A SOD変異の25個のコピーを有する。マウスの生存は、コピーに依存する。疾患を発症するマウスのヘテロ接合体は、尾の一部を採りDNAを抽出した後PCRにより確認することができる。

10

20

#### 【0147】

急性神経毒損傷(IDPNによる処理、興奮毒による処理)に続くか、または遺伝子欠陥が原因となる運動神経細胞変異を有するその他の動物モデル(wobblerマウス、pmnマウス、運動神経変性(Mnd)マウスまたはHCsMA Dog)が存在する(米国特許第6723315号; Sillevius-SmittおよびDe Jong、J. Neurol. Sci.、91巻、231~258頁、1989年; Priceら、Neurobiol. Disease、1、3~11、11994)。遺伝モデルのうち、pmnマウスは、臨床、組織学および電気筋運動記録レベルに関して特によく特性を示す。pmnの変異は、常染色体劣性遺伝モードで伝達され13番染色体上に位置づけられている。ホモ接合性のpmnマウスは2~3週間の時期から後のメンバーに現れる筋萎縮および麻痺を発症する。処理しないpmnマウスは、すべて6~7週間が経つ前に死亡する。それらの運動神経細胞の変性は、神経末端のレベルで始まり、隔壁の神経支配を確かにする運動神経中、特に横隔神経中の有髄線維の大量のロスに終わる。FALS<sub>G93A</sub> マウスとは逆に、この筋肉の除神経は、非常に速く、実質的に軸索側枝の再生による神経再支配の徴候を伴わない。電気筋運動記録レベルに関して、筋肉除神経の過程は、細動の出現および神経の過最大の電氣的な刺激の後に引き起こされる筋反応の大きさの顕著な減少によって特徴付けられる。

30

40

#### 【0148】

一連のXt/pm n遺伝子導入マウスもこれまで別のALSのマウスモデルとして使用されてきた(米国特許第6723315号)。これらのマウスは、最初にC57/B156またはDBA2雌マウスとXt/pm n<sup>+</sup>/Xt<sup>+</sup>pm n雄マウスの間で交雑させ(ストレイン129)、続いて2番目に子孫のXt/pm n<sup>+</sup>/Xt<sup>+</sup>pm n<sup>+</sup>ヘテロ接合体の雌(N1)と最初の雄の間で交雑させることによって得る。子孫のマウス(N2)のうちの、Xtアレル(特別数字表現型により示される)およびpanアレル(PCRによって決まる)を有するXt/pm n<sup>+</sup>/Xt<sup>+</sup>pm n二重ヘテロ接合体(Xt/pm nマウスと呼ぶ)をその後の交雑のために選択した。

40

#### 【0149】

本明細書に記載の1つまたは複数の水素化ピリド[4,3-b]インドールのALSのインビボモデルにおける活性度を試験するための1つの典型的な方法においては、雌のマウス(B6SJL)を購入して、アラニンによるグリシン93の代替を運ぶ変異したヒトSODを過剰発現する遺伝子導入雄マウス(例えばFALS<sub>G93A</sub> マウス)と共に繁殖

50

させる。2匹の雌を1匹の雄と共に各ケージに入れ、少なくとも毎日妊娠を監視する。各妊娠した雌が確認されたらそれをケージから移し、新たな妊娠していない雌を加える。子の40～50%が遺伝子導入型であることが期待されるので、例えば少なくとも200匹の子のコロニーをほぼ同時に誕生させることができる。3週間経ったところで遺伝子型を同定した後、遺伝子導入した子を離乳させ雌雄別に異なるケージに分離する。

#### 【0150】

少なくとも80匹の遺伝子導入マウス(雄と雌の両方)を4つのグループ:1)ピヒクル処理(20匹のマウス)、2)用量1(3mg/kg/日、20匹のマウス)、3)用量2(10mg/kg/日、20匹のマウス)および3)用量3(30mg/kg/日、20匹のマウス)、にランダムに振り分ける。マウスを毎日診断する。この診断は、体重、外観(ファーコート、活性など)の分析および運動協調性を含む。治療は、ほぼ第3段階で開始し、マウスを安楽死させるまで続ける。試験する水素化ピリド[4,3-b]インドールは、マウスの食品中に入れてそれらに投与する。

10

#### 【0151】

臨床疾患の発症は、マウスをその肢の震えおよび筋力について検査することによって採点記録した。マウスを尾の基部の近くを優しく持ち上げて筋肉の震えを記録し、後肢の伸びを測定する。筋肉の衰弱はマウスがその後肢を伸ばすことができないことの中に反映される。マウスは、運動神経細胞の機能障害の症状に対する5点のスケールに基づいて採点する:5-症状なし、4-1つまたは複数の肢が虚弱、3-1つまたは複数の肢が跛行、2-1つまたは複数の肢が麻痺、1-背中をつけて置いたとき正常に戻ることができず反射神経に対して陰性な動物。

20

#### 【0152】

麻痺の徴候を示す動物の場合、ケージ内に湿らせた食品ペレットを置く。マウスが食品ペレットに近づくことができない場合、栄養剤を補助給餌により投与する(経口で1日2回確保)。生理食塩水を腹腔内投与により1mlを必要に応じて1日2回補う。さらにこれらのマウスは毎日計量する。必要に応じてマウスは研究員が清潔にし、ケージの寝具類は頻繁に取り換える。終末期疾患において、マウスはそれらのケージの中で片側に横たわる。マウスは、それらが10秒以内に正常に戻ることができない場合、またはそれらがその体重の20%を失った場合は直ちに安楽死させる。

#### 【0153】

各処理グループの中で4番目、8番目、12番目、16番目および20番目に犠牲にした動物から脊髄を集める(処理グループごとに合計5匹の動物、全部で20匹の動物)。これらの脊髄を、標準方法(例えば、J. Liura, Neuron, 43(1):5~17頁、2004年、参照)を用いて、ミトコンドリア中の変異SOD1含量について分析する。

30

#### 【0154】

必要に応じて、ALSマウスモデルにおける水素化ピリド[4,3-b]インドールの効果は、例えば、米国特許第6933310号または米国特許第6723315号に記載されているような、二頭筋の大きさ、筋肉の形態、電氣的な刺激に対する筋肉の反応、脊髄運動神経細胞の数、筋機能、および/または酸化的損傷の量を測定する標準方法を用いてさらに特徴を明らかにすることができる。

40

#### 【0155】

ALSの上記のインビボモデルのいずれかにおいてピヒクル対照と比較してより少ない筋衰弱および/または運動神経細胞の数のより小さい減少をもたらす化合物は、ALSの治療または予防に関してヒトにおいて有益な効果を有する最も可能性のある化合物であることが期待される。

#### 【0156】

(実施例5)

G93AmSOD遺伝子導入マウス治療モデルにおけるディメボンの評価

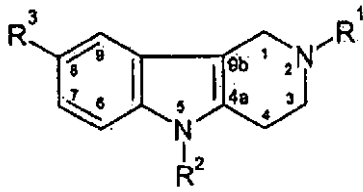
G93AmSOD遺伝子導入マウス治療モデル(例えば、Gurney MEら、19

50

94年、Science、264巻、1772～1775頁、参照)は、哺乳動物におけるALSを治療するための本明細書に記載の水素化ピリド[4,3-b]インドール類のいずれか(例えばディメボンなど)または併用治療薬の能力を測定するために使用することができる。ディメボン、2,8-ジメチル-5-(2-(6-メチル-3-ピリジル)エチル)-2,3,4,5-テトラヒドロ-1H-ピリド[4,3-b]インドール二塩酸塩、を[4,3-b]インドール類の代表的化合物として使用した。

【0157】

【化5】



x 2 HCl

式中、 $R^1$  および  $R^3$  は、メチルであり、  
 $R^2$  は、2-(6-メチル-3-ピリジル)-エチルである。

【0158】

この調査に関しては、G93AmSODマウスを4つの治療グループにランダムに振り分けた。マウスは離乳させて、85日間正常食で育てた。ほぼ80日目または臨床的に注目された場合はそれより早く始まって、動物は後肢の衰弱に対する毎日の評価を受けた(段階3の疾患の時まで)。一般にこれは85日の1週間のうちに起こった。85日目にマウスに飲用水中のディメボンを次の濃度で与えた: ビヒクル対照(0 mg/kg/日)、低用量(3 mg/kg/日)、中用量(10 mg/kg/日)、および高用量(30 mg/kg/日)。その飲用水を3～4日毎に変え、各ケージは、ほぼ3～5匹の動物を保持した。

【0159】

動物はそれらの体力および機能の評価するために、毎日計量し、分析した。後肢の麻痺が起こった日を記録した(段階2の疾患に進行)。動物が30秒後にもはや正常に戻ることができなくなった日も記録した(段階1の疾患～死亡の代用)。段階1の疾患に到達すると、動物は安楽死させた。動物が体重の10%を失ったことが分かったとき、それらには確実な手の給餌を毎日提供した。動物がもはや確実に飲用水に到達できなくなったとき、それらには腹腔内注入によりそれらの毎日のmg/kg用量を与えた。分析は、段階2に到達する時間と段階1に到達する時間に関してグループを比較するために実施した。下でさらに記すように、処理グループの効果を含むCox比例ハザードモデルを適合した。

【0160】

段階2までの時間

処理グループの効果を含むCox比例ハザード回帰モデルは、両性の組合せについての段階2までの時間に対して適合した。4つのグループの間に違いの無い帰無仮説の試験に加えて、処理したグループのそれぞれの対照グループに対する対の比較の試験をした。そのモデルは、SAS PHREGプロシージャーを用いて適合させた。同タイプのモデルを次にそれぞれの性についてのデータに別々に適合した。表1および図3～5は、3つのモデルからの結果をまとめている。

【0161】

10

20

30

40

## 【表 1】

表 1  
段階2までの時間: Cox比例ハザード回帰モデルによる結果

比較	両性の 組合せ	雌	雄
グループの間に違いの無い尤度比検定からのp値	0.0405	0.0520	0.2670
3 mg/kg/日 対 ビヒクル:			
ハザード比	0.969	0.882	0.984
p値	0.9025	0.7359	0.9629
10 mg/kg/日 対 ビヒクル:			
ハザード比	0.652	0.659	0.545
p値	0.0948	0.2585	0.0924
30 mg/kg/日 対 ビヒクル:			
ハザード比	0.522	0.359	0.698
p値	0.0182	0.0145	0.3301

10

20

両性の組合せにおいて、4つのグループの間の全般的な違いは統計的に有意であった。その違いは雌においてほとんど有意であった。3つの分析すべてにおいて、そのハザード比は、用量が増すと一本調子で減少した。両性の組合せおよび雌において、30 mg/kg/日のグループとビヒクルのグループの違いは統計的に有意であった。これらの結果に基づいて、表 2 は、3つの処理グループのそれぞれについて、ビヒクルのグループにおける平均の百分率として表したグループの平均を示している。

【 0 1 6 2 】

## 【表 2】

30

表 2

段階2までの平均時間(ビヒクルグループにおける平均の百分率として表されている)

処理グループ	両性の組合 せ	雌	雄
3 mg/kg/日	99.8%	100.2%	99.4%
10 mg/kg/日	104.9%	104.9%	104.9%
30 mg/kg/日	104.8%	107.7%	101.8%

## 段階 1 までの時間

40

処理グループの効果を含むCox比例ハザード回帰モデルは、両性の組合せについての段階 1 までの時間に対して適合した。4つのグループの間に違いの無い帰無仮説の試験に加えて、処理したグループのそれぞれの対照グループに対する対の比較の試験をした。そのモデルは、SAS PHREGプロシージャーを用いて適合させた。同タイプのモデルを次にそれぞれの性についてのデータに別々に適合した。表 3 および図 6 ~ 8 は、3つのモデルからの結果をまとめている。

【 0 1 6 3 】

【表 3】

表 3  
段階1までの時間: Cox比例ハザード回帰モデルによる結果

比較	両性の 組合せ	雌	雄
グループの間に違いの無い尤度比検 定からのp値	0.0182	0.0098	0.2283
3 mg/kg/日 対 ビヒクル:			
ハザード比	1.112	1.089	0.967
p値	0.6783	0.8194	0.9253
10 mg/kg/日 対 ビヒクル:			
ハザード比	0.738	0.855	0.524
p値	0.2337	0.6698	0.0784
30 mg/kg/日 対 ビヒクル:			
ハザード比	0.505	0.314	0.647
p値	0.0151	0.0086	0.2439

10

20

両性の組合せならびに雌において、4つのグループの間の全般的な違いは統計的に有意であった。3 mg/kg/日のグループ対ビヒクルに対するハザード比は、両性の組合せにおけるものと雌におけるもののそれよりわずかに大きいけれどもその増加の大きさは小さかった。両性の組合せにおけるものと雌におけるものにおいて、30 mg/kg/日に対するハザード比の比較は、対応する10 mg/kg/日の比較についてのハザード比より小さかった。しかしながら、雄においては、最小のハザード比は、10 mg/kg/日の比較についてであった。両性の組合せにおけるものと雌におけるものにおいて、30 mg/kg/日のグループとビヒクルのグループとの間の違いは、統計的に有意であった。これらの結果に基づいて、表4は、3つの処理グループのそれぞれについて、ビヒクルのグループにおける平均の百分率として表したグループの平均を示している。

30

【0164】

【表 4】

表 4

段階1までの平均時間(ビヒクルグループにおける 平均の百分率として表されている)

処理グループ	両性の組合 せ	雌	雄
3 mg/kg/日	98.8%	97.4%	100.2%
10 mg/kg/日	103.3%	102.3%	104.2%
30 mg/kg/日	104.7%	107.0%	102.4%

40

要約すれば、両性の組合せについては、グループ間での生存(段階1に到達する時間)における全体的な違いは統計的に有意( $p = 0.04$ )であり、雌のマウスについては統計的に有意なところほとんど達した( $p = 0.052$ )。3つの生存分析すべてにおいて、ハザード比は、用量が増加するにつれて一本調子で減少し、治療効果に対する用量反応相関を示唆している。両性の組合せにおけるものと雌において、30 mg/kg/日のグループとビヒクル対照のグループとの間の違いは統計的に有意であった( $p = 0.018 \sim 0.014$ )。同様の発見が、疾患の進行の分析において示された(段階2に至る時間)。動物の中途打ち切りは必要なかった。

【0165】

50

## (実施例6)

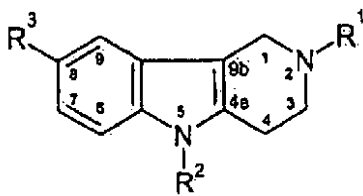
G93AmSOD遺伝子導入マウス予防モデルにおけるディメボンの評価

G93AmSOD遺伝子導入マウス予防モデルは、哺乳動物におけるALSの発病および/または発症を予防および/または遅延させるための本明細書に記載の任意の水素化ピリド[4,3-b]インドール類(例えばディメボンなど)または併用治療薬の能力を測定するために使用することができる。この予防モデルにおいては、治療は、実施例5における治療モデルに対して行われた85日目(症状が始まった後)よりもむしろ32日目(症状が始まる前)に開始する。ディメボン、2,8-ジメチル-5-(2-(6-メチル-3-ピリジル)エチル)-2,3,4,5-テトラヒドロ-1H-ピリド[4,3-b]インドール二塩酸塩、を[4,3-b]インドール類の代表化合物として使用した。

10

【0166】

【化6】



x 2 HCl

式中、 $R^1$  および  $R^3$  は、メチルであり、

$R^2$  は、2-(6-メチル-3-ピリジル)-エチルである。

20

【0167】

この調査に関しては、ほぼ108匹のG93AmSODマウスを4つの治療グループにランダムに振り分けた。マウスは離乳させて、32日間正常食で育てた。ほぼ80日目または臨床的に注目された場合はそれより早く始まって、動物は後肢の衰弱に対する毎日の評価を受けた(段階3の疾患の時まで)。ほぼ32日目にマウスに飲用水中のディメボンを次の濃度で与えた:ピヒクルの対照(0mg/kg/日)、低用量(10mg/kg/日)、中用量(30mg/kg/日)、および高用量(100mg/kg/日)。その飲用水を3~4日毎に変え、各ケージは、ほぼ3~5匹の動物を保持した。

【0168】

動物はそれらの体力および機能を評価するために、毎日計量し、分析した。後肢の麻痺が起こった日を記録した(段階2の疾患に進行)。動物が30秒後にもはや正常に戻ることができなくなった日も記録した(段階1の疾患~死亡の代用)。段階1の疾患に到達すると、動物は安楽死させた。動物が体重の10%を失ったことが分かったとき、それらには確実な手の給餌を毎日提供した。動物がもはや確実に飲用水に到達できなくなったとき、それらには1日1回の腹腔内注入によりそれらの毎日のmg/kg用量を与えた。そのグループは、段階3に到達する時間、段階2に到達する時間、および段階1に到達する時間に関して比較した(図9および10)。これらの同じ分析を、性によって層別化した動物で繰り返した。分析方法は、実施例5に対するのと基本的に同じである。

30

【0169】

## (実施例7)

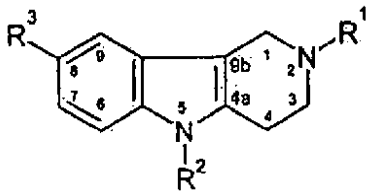
G93AmSOD遺伝子導入マウス治療モデルにおけるディメボンのより高い投与量の評価

必要に応じて、G93AmSOD遺伝子導入マウス治療モデルにおいてより高いディメボンの投与量を試験することにより哺乳動物におけるALSを治療するディメボンの能力の特徴をさらに明らかにすることができる。この調査に関しては、ディメボン、2,8-ジメチル-5-(2-(6-メチル-3-ピリジル)エチル)-2,3,4,5-テトラヒドロ-1H-ピリド[4,3-b]インドール二塩酸塩、を[4,3-b]インドール類の代表化合物として使用した。

40

【0170】

## 【化7】



x 2 HCl

式中、 $R^1$  および  $R^3$  は、メチルであり、

$R^2$  は、2 - (6 - メチル - 3 - ピリジル) - エチルである

この調査は、ほぼ30匹の動物を2つのグループ：ピヒクル対照グループ(0 mg/kg/日)および高投与量グループ(100 mg/kg/日)、にランダムに振り分けた以外は基本的に実施例5に記載したように実施した。使用した分析方法は、実施例5および6に記載されているものと基本的に同じである。早期(32日目)対末期(85日目)の治療開始の効果の比較を行った。

## 【0171】

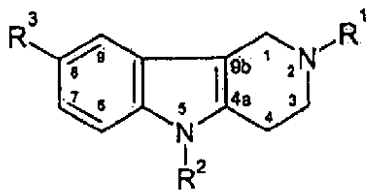
(実施例8)

G93AmSOD遺伝子導入マウス予防モデルにおけるリルゾールとディメボンの組合せ対リルゾール単独の効果の比較

必要に応じて、G93AmSOD遺伝子導入マウス予防モデルは、本明細書に記載の任意の併用治療薬(例えば、ディメボンなどの水素化ピリド[4,3-b]インドールと第2治療薬)の哺乳動物におけるALSの発病および/または発症を予防および/または遅延させる能力を判定するために使用することができる。この調査に関しては、ディメボン、2,8-ジメチル-5-(2-(6-メチル-3-ピリジル)エチル)-2,3,4,5-テトラヒドロ-1H-ピリド[4,3-b]インドール二塩酸塩、が[4,3-b]インドール類の代表化合物として使用されている。

## 【0172】

## 【化8】



x 2 HCl

式中、 $R^1$  および  $R^3$  は、メチルであり、

$R^2$  は、2 - (6 - メチル - 3 - ピリジル) - エチルである。

## 【0173】

リルゾールは、ALSの治療、予防ならびに/あるいは発病および/または発症を遅延させるために有用な代表的な第2治療薬として使用されている。

## 【0174】

この調査は、ほぼ60匹の動物を2つのグループにランダムに振り分ける以外は基本的に実施例6に記載したように実施する。ほぼ32日目に、マウスに、次の濃度：

- ・ リルゾール(30 mg/kg/日)およびディメボン(30 mg/kg/日)
- ・ リルゾール(30 mg/kg/日)単独

での飲用水中のディメボンおよび/またはリルゾールを与える。

## 【0175】

その他のケアの態様は基本的に実施例6に記載されている通りである。動物は、分析をして、それらが段階3、段階2、および次に段階1に到達するのに必要な時間を測定する。毒性の任意の徴候を評価するために臨床観察する。

## 【0176】

(実施例9)

10

20

30

40

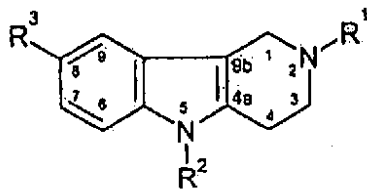
50

## 運動神経細胞に対するディメボンの効果の評価

必要に応じて、G93A mSOD遺伝子導入マウス予防モデルは、本明細書に記載の任意の水素化ピリド[4,3-b]インドール(例えばディメボンなど)または併用治療薬の下位運動神経細胞の数に影響を及ぼす能力を判定するために使用することができる。この調査に関しては、ディメボン、2,8-ジメチル-5-(2-(6-メチル-3-ピリジル)エチル)-2,3,4,5-テトラヒドロ-1H-ピリド[4,3-b]インドール二塩酸塩、が[4,3-b]インドール類の代表化合物として使用されている。

【0177】

【化9】



x 2 HCl

式中、R<sup>1</sup>およびR<sup>3</sup>は、メチルであり、  
R<sup>2</sup>は、2-(6-メチル-3-ピリジル)-エチルである。

【0178】

この調査は、ほぼ60匹の動物を2つのグループにランダムに振り分ける以外は基本的に実施例6で記載したように実施する。ほぼ32日目に、マウスに、次の濃度：

- ・ピヒクル対照(0mg/kg/日)-3グループ
- ・ディメボン(30mg/kg/日)-3グループ

での飲用水中のディメボンを与える。

【0179】

投与の開始に続く3つの異なる時点で、動物を犠牲にし、かん流/固定を経て、それらの脳および脊髄を単離させる。6週間目に10匹のピヒクル対照および10匹のディメボンの動物を犠牲にする。12週間目に10匹のピヒクル対照および10匹のディメボンの動物を犠牲にする。18週間目に10匹のピヒクル対照および10匹のディメボンの動物を犠牲にする。犠牲にする日の朝の午前10時のかん流/固定の直前に、血漿の試料を直接の心穿孔によって得る。動物を盲検組織病理学法によって評価し、腰部脊髄レベルの運動神経細胞を手作業で定量化する。分析により、各時点におけるピヒクル対照の動物の神経細胞数に対するディメボンの動物の神経細胞数を比較する。さらに染色法および組織病理学アセスメントを実施してこの治療モデルにおけるディメボンの作用のメカニズムを評価することができる。さらなる薬物動態学的-薬力学的分析を実施することができる。

【0180】

(実施例10)

イオノマイシンによって誘発された毒性に対するディメボンの効果の評価

ヒトの神経膠芽種細胞株を神経細胞毒物のイノマイシンから保護するディメボンの能力を調査した。ディメボンの神経保護効果は、その化合物が細胞株に対して直接的および広範な神経保護特性を有することを示しており、ALSの治療に有益であることが期待される。

【0181】

2つのヒト神経芽腫細胞株、SK-N-SH細胞およびSY-SH5Y細胞、を用いてこれらの実験を行った。SK-N-SH細胞は、10%FBSを補ったEMEM中、37、5%CO<sub>2</sub>で維持した。SH-SY5Y細胞は、10%FBSを補ったEMEMとF12媒体が1:1の混合物中、37、5%CO<sub>2</sub>で維持した。

【0182】

細胞は、必要なピヒクル100μlを含有する96ウェルプレート中、1ウェル当たり3×10<sup>4</sup>の細胞で播種した。播種1日後、細胞を、血清を含まないMEMピヒクル中の3通りに異なる濃度のイオノマイシン(アッセイ媒体)で100μlの終末容積中で24

10

20

30

40

50

時間処理した。細胞の生存は、以下のようなMTS減少アッセイによって測定した。MTS (20  $\mu$ l) を37 で少なくとも1時間各ウェルに加えた。490nmにおける吸光度を、マイクロプレートリーダーを用いて測定した。さまざまな濃度のディメボンを用いてイオノマイシン処理した細胞に対する効果を調査した。細胞は、前に詳しく述べたように同じ密度で播種した。細胞は100  $\mu$ lの終末容積中に1.5  $\mu$ Mのイオノマイシンとさまざまな濃度のディメボンを含む溶液により24時間処理した。各実験は3通りに行い細胞の生存はMTS減少アッセイによって測定した。結果は参照として対照細胞(アッセイビヒクルのみで培養した)を用いてグラフ化した。パーセント(%)生存率は、対照(ディメボンおよびイオノマイシン処理なし)に対する各試料についてのMTS信号の百分率である。3つの独立した実験を統計分析に向けて考察した。ダネットの多重比較事後調査分析が後に続くノンパラメトリック分散分析を用いた。図11および12は、それぞれ、SK-N-SH細胞およびSY-SH5Y細胞のイオノマイシン誘発毒性に対するディメボンの効果を図解している。

10

## 【0183】

(実施例11)

血清枯渇によって生じる毒性に対するディメボンの効果の評価

ヒヨコの初代神経細胞を低血清から保護するディメボンの能力を調査した。ディメボンの神経保護効果は、その化合物が細胞株に対して直接的および広範な神経保護特性を有することを示しており、ALSの治療に有益であろう。

20

## 【0184】

細胞: Lohman Brownニワトリ胚ハイブリッドをアッセイのために使用した。1日経った受精卵を、地元のニワトリ畜産家(Schropper Geflügel GmbH、オーストリア)から購入し、適切な条件下(12 および湿度80%)で研究室に保存した。胎生期に卵は繁殖用インキュベーターには移さず、胎生8日まで37.8 および湿度55%で回転し続けているところで保存した。おおよそ5~6個のニワトリ胚を実験ごとに使用して神経細胞を分離した。

## 【0185】

卵を70%エタノールで拭き、大きな鉗子の平滑な末端で割った。その胚の断首後、終脳を覆っている組織を取り除き、半球を集めた。ほぐれた組織および残っている髄膜はいずれも除去した後、半球を、栄養培地を含む皿に移した。その組織を1mlのピペットを用い、細孔の大きさが100  $\mu$ mの無菌のナイロンの篩を通して3回絞ることによって機械的に引き離した。

30

## 【0186】

ポリ-D-リシンを被覆した96ウェルマイクロタイタープレート(Bioccoat)を使用して細胞を培養した。3  $\times$  10<sup>5</sup>細胞/栄養培地1ml(48000細胞/ウェル)を含む培地(160  $\mu$ l)をマイクロタイタープレートの各ウェルに加えた。プレートは、培地を変更することなく37、湿度95%および5%CO<sub>2</sub>で保った。神経細胞は、培養液中数時間後に突起を伸ばし始めた。

## 【0187】

低血清培養条件: 本明細書に記載の2%増殖因子引き抜き実験のために使用する低血清培地は、1gのグルコース/lおよび2%のFCSによるEMEMを含む。対照培地は、4.5gのグルコース/lおよび5%のNu SerumによるDMEMを含む。細胞培養液をマイコプラズマまたはその他の厄介な微生物による感染から遠ざけるために、硫酸ゲンタマイシン(0.1mg/栄養培地1ml)をDMEMおよびEMEMに加えた。

40

## 【0188】

ディメボンを、8日間の全体実験期間の1日目に細胞に適用した。細胞の生存率は、プレートリーダー(570nm)を用いるMTTアッセイにより測定した。このアッセイは、ミトコンドリアのデヒドロゲナーゼ(コハク酸デヒドロゲナーゼ)による黄色のMTT(3-(4,5-ジメチルチアゾール-2-イル)-2,5-ジフェニルテトラゾリウムブロミド)のダークブルーのホルマザン結晶への還元に基づく。この反応は生きている細

50

胞中のみで触媒作用を受けるので細胞生存率の定量化にはこのアッセイのみが使用できる。細胞生存率の測定のためにMTT溶液を各ウェルに0.5mg/mlの終末濃度で加えた。2時間後、そのMTTを含む培地を吸引した。細胞を3%のSDSにより溶解し、ホルマザン結晶をイソプロパノール/HCl中に溶解した。光学密度を予測するためプレートリーダー(Anthos HT II)を波長570nmで使用した。細胞増殖率は光学密度(OD)で表した。

#### 【0189】

増殖因子引き抜きアッセイにおいて、ディメボンは、MTTおよびカルセインAMアッセイにおいて投与量依存性で統計的に有意なOD570nmでの増加を示した。対照と比較した統計的に有意な違いは、1250nmのディメボン濃度(MTTに対しては $p < 0.05$ およびカルセインAMに対しては $p < 0.01$ )およびそれを超えるところで得られた。MTTアッセイにおける最大の効果は6250nmのディメボン濃度で得られ、それは対照よりほぼ287%上であった。試験した最高の濃度(31250nm)では、MTTにおける効果は、6250nmの濃度で得られたものより小さかった。結果は図13に示されている。

10

#### 【0190】

##### (実施例12)

筋萎縮性側索硬化症を治療し、予防し、かつ/または発病および/もしくは発症を遅延させる本発明の化合物の能力を判定するための人体臨床試験の使用

必要に応じて、本明細書に記載の任意の水素化ピリド[4, 3-b]インドール(例えばディメボンなど)または併用治療薬は、ALSを治療し、予防し、かつ/または発病および/もしくは発症を遅延させるその化合物の能力を判定するためにヒトで試験することもできる。標準方法、例えば、米国特許第5527814号または米国特許第5780489号に記載されている方法をこれらの臨床試験のために使用することができる。

20

#### 【0191】

1つの典型的な方法において、ALSの被験者は、標準プロトコル、例えば米国特許第5780489号に記載されているものなど、を用いる水素化ピリド[4, 3-b]インドールの耐用性、薬物動態および薬力学第1相試験に登録する。次に第2相の二重盲検ランダム化対照試験を実施して水素化ピリド[4, 3-b]インドールの有効性を判定する(例えば、米国特許第5780489号を参照)。水素化ピリド[4, 3-b]インドールの活性は、臨床試験における「標準的」治療法と考えられている抗グルタメート剤のリルゾール<sup>TM</sup>の活性と比較することができる。別法では、または加えて、水素化ピリド[4, 3-b]インドールとリルゾール<sup>TM</sup>との併用の有効性をリルゾール<sup>TM</sup>単独のそれと比較することができる。被験者は、ALS機能評価点またはALSの特定の症状の分析を用いてALSの進行について分析することができる。また、生存の長さを治療グループの間で比較することもできる(例えば、米国特許第5780489号参照)。

30

#### 【0192】

##### (実施例13)

筋萎縮性側索硬化症を治療し、予防し、かつ/または発病および/もしくは発症を遅延させる本発明の化合物の能力を判定するための人体臨床試験の使用

本明細書に記載の任意の水素化ピリド[4, 3-b]インドール(例えばディメボンなど)または併用治療薬のALS治療し、予防し、かつ/または発病および/もしくは発症を遅延させる能力を判定する典型的な臨床試験を以下に記載する。第2相の多施設ランダム化二重盲検プラセボ対照試験を用いる。ほぼ100人の被験者を米国内のほぼ20のALS治療施設における試験に登録する。その試験は、3週間のスクリーニング期間および2週間の安全性フォローアップ期間と共に9カ月の投与期間を含む。最初の有効性の評価項目は、ALSFRS-R(ALS機能評定尺度-改訂版(ALS functional rating scale-revised))の平均的变化である。2番目の有効性の評価項目としては、気管開口形成術を受けない生存期間、運動単位数の概算、および強制肺活量における平均の相対的变化が挙げられる。安全性、耐用性、および/または薬

40

50

物動態も測定することができる。併用薬に関しては、被験者が登録前の少なくとも30日間安定な投与が続いていたことを条件として、リルゾール、クレアチン、および補酵素Qが許容される。その他の実験的なALSの疾患を修飾する治療は登録前30日間および調査期間中は排除される。CYP2D6の強力阻害剤類は、登録前30日間および調査期間中は排除される。

【0193】

第3相の多国籍ランダム化二重盲検プラセボ対照試験も実施することができる。ほぼ450人の被験者を、ほぼ25の米国におけるALS治療施設および20の欧州における治療施設に登録する。その試験は、12~18カ月の投与期間(その期間は第2相の結果による)、3週間のスクリーニング期間および2週間の安全性フォローアップ期間を含む。最初の評価項目は、気管開口形成術を受けない生存期間である。2番目の有効性の評価項目としては、ALSFRS-Rの平均的变化、強制肺活量における平均的变化、生活の質、および安全性が挙げられる。併用薬に関しては、被験者が登録前の少なくとも30日間安定な投与が続いていたことを条件として、リルゾール、クレアチン、および補酵素Qが許容される。その他の実験的なALSの疾患を修飾する治療は登録前30日間および調査期間中は排除される。CYP2D6の強力阻害剤類は、登録前30日間および調査期間中は排除される。

10

【0194】

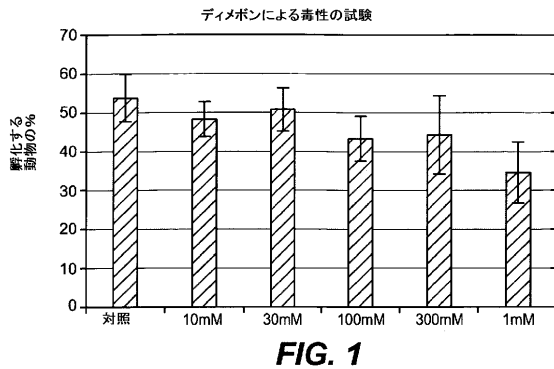
前述の発明を明瞭な理解を目的として図解および実例によって少し詳しく説明してきたが、一定の小さな変化および修正が行われるであろうことは当業者にとっては当然である。それ故、当該説明および実施例は、本発明の範囲を限定するものと解釈すべきではない。

20

【0195】

本明細書に開示したすべての参考文献、出版物、特許、および特許出願は、それら全体として参照により本明細書に組み込む。

【図1】



【図3】

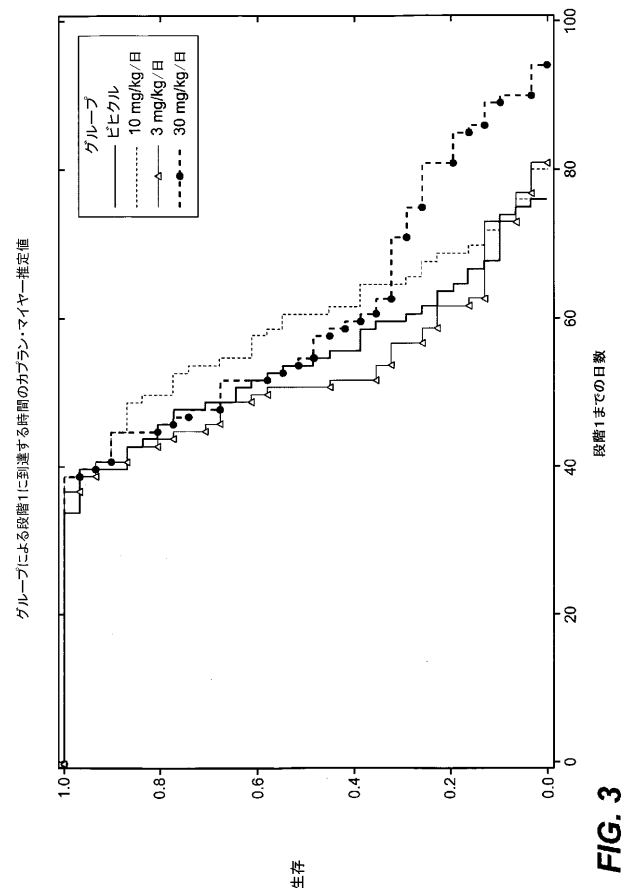


FIG. 3

【図2】

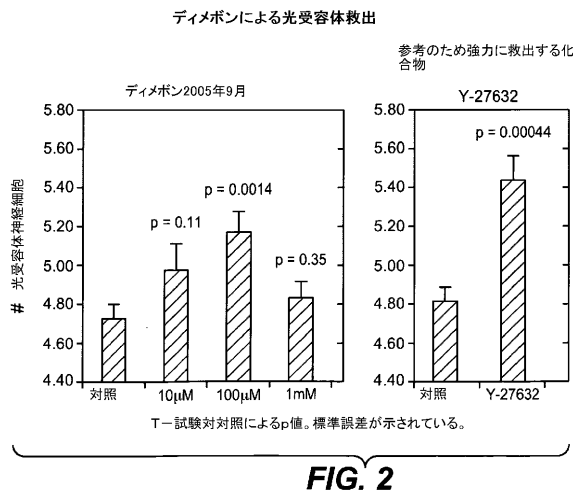
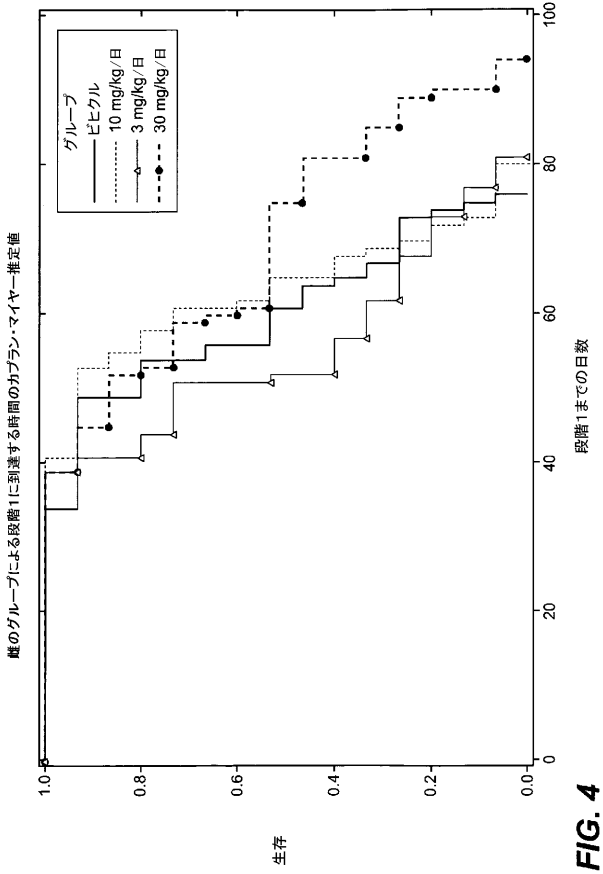
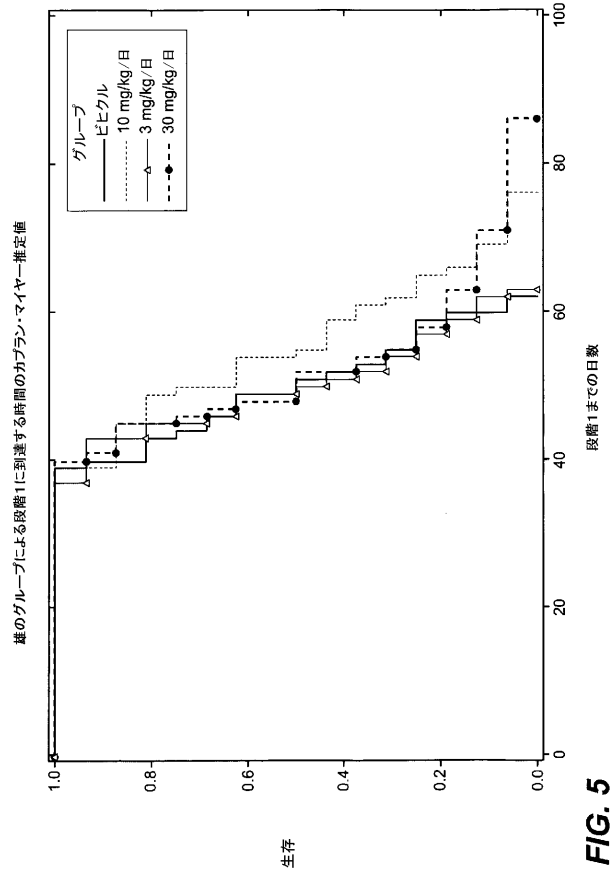


FIG. 2

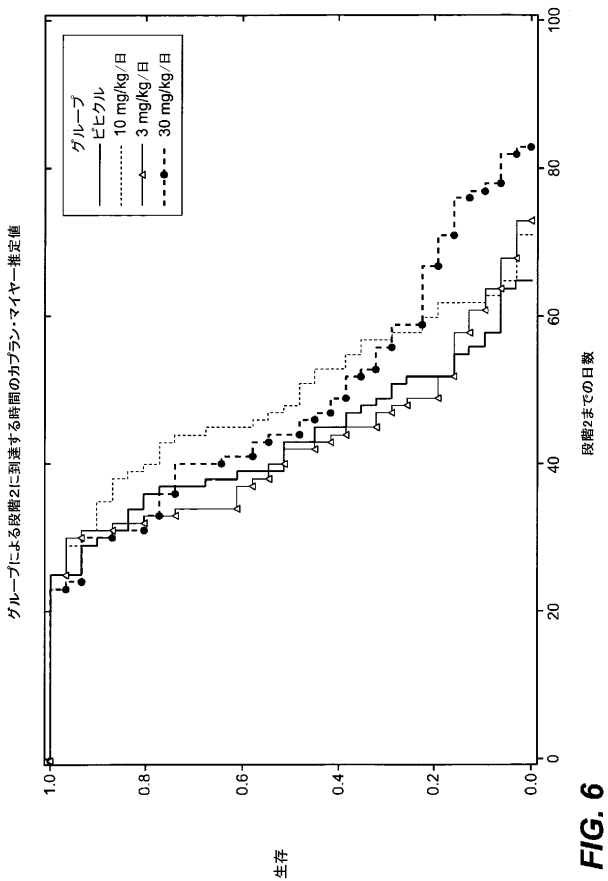
【 図 4 】



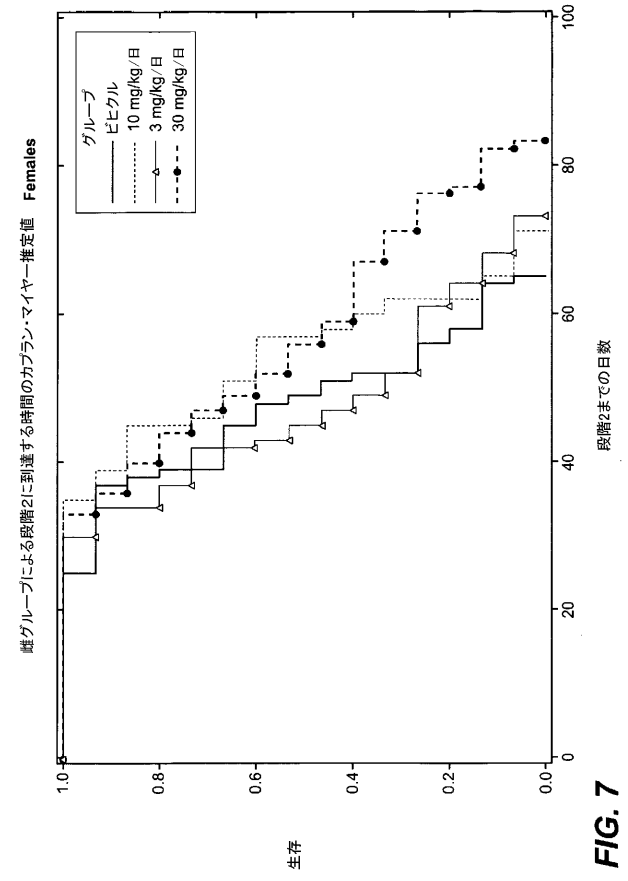
【 図 5 】



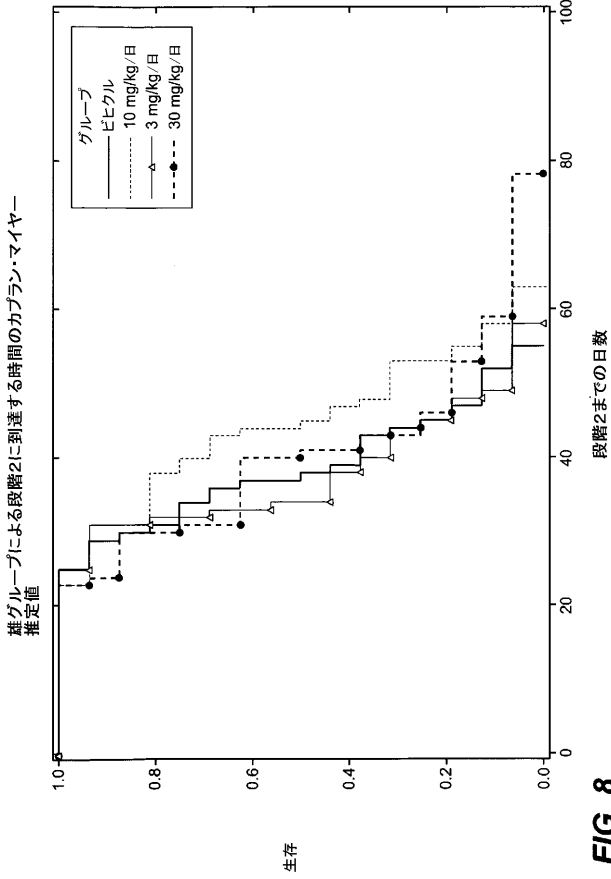
【 図 6 】



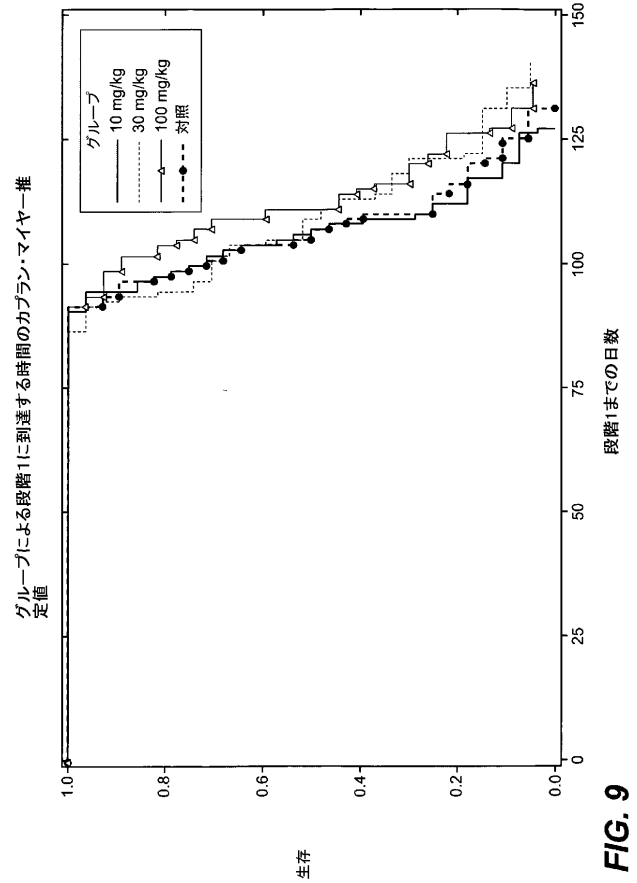
【 図 7 】



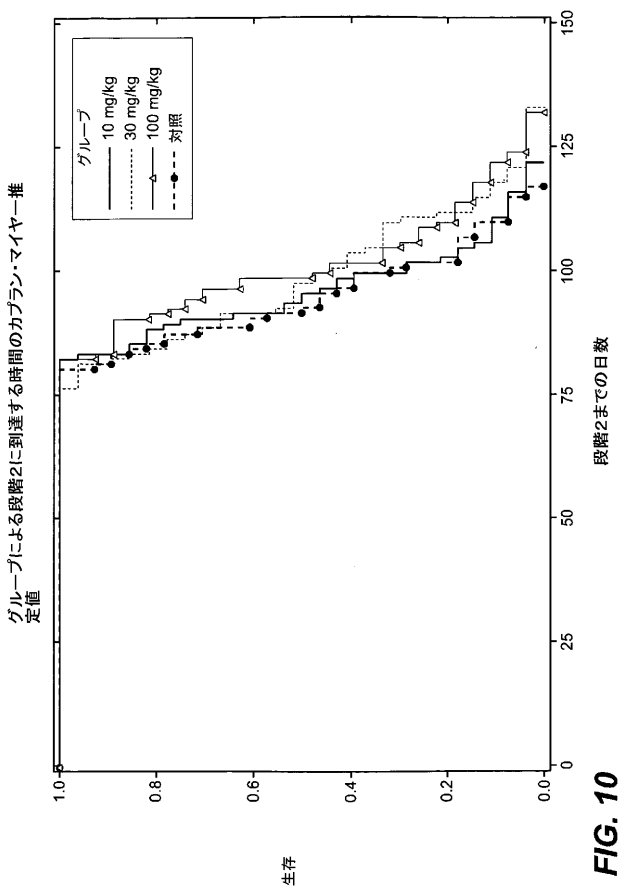
【 図 8 】



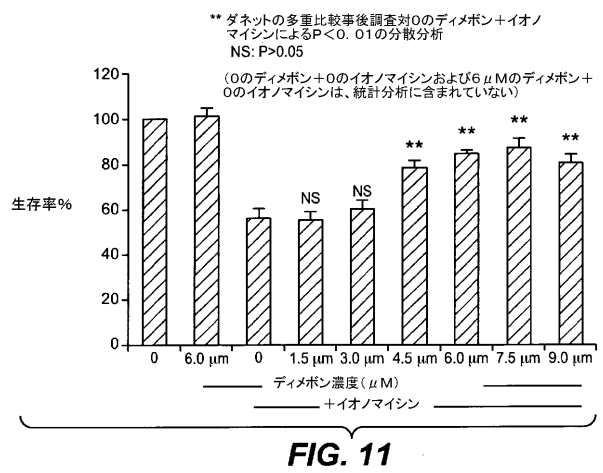
【 図 9 】



【 図 10 】



【 図 11 】



【 図 1 2 】

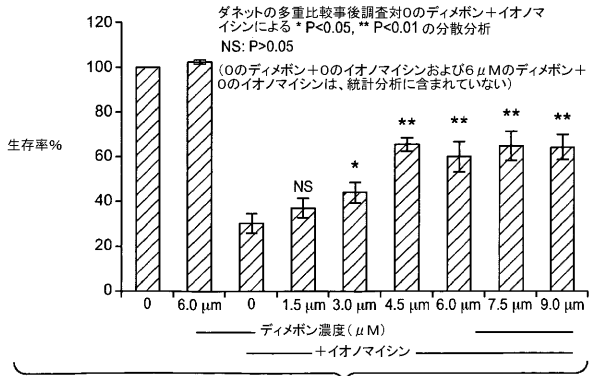


FIG. 12

【 図 1 3 】

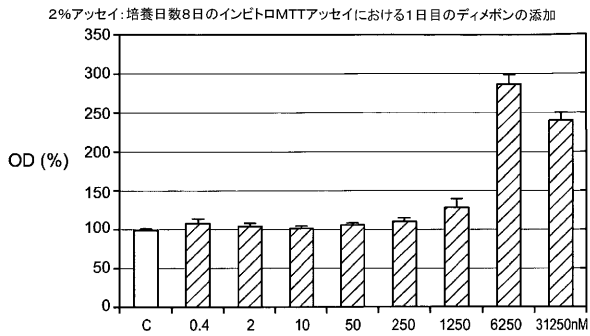


FIG. 13

## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No PCT/US2007/020516
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> INV. A61K31/475 A61P25/28		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, EMBASE, BIOSIS, CHEM ABS Data		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	VINCENT ANDREA M ET AL: "Identification of candidate drugs for the treatment of ALS." AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS AND OTHER MOTOR NEURON DISORDERS : OFFICIAL PUBLICATION OF THE WORLD FEDERATION OF NEUROLOGY, RESEARCH GROUP ON MOTOR NEURON DISEASES MAR 2005, vol. 6, no. 1, March 2005 (2005-03), pages 29-36, XP009096168 ISSN: 1466-0822 abstract page 31, left-hand column, paragraph 2 page 32; table I page 34; table II page 35: "Conclusion"	1-75
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> 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 document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *Z* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
20 February 2008		05/03/2008
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax (+31-70) 340-3016		Authorized officer  Paul Soto, Raquel

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No  
PCT/US2007/020516

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2006/050165 A (YOO SEO HONG [US]) 11 May 2006 (2006-05-11) page 11, lines 10-18 claims 52-55,68	1-75

International Application No. PCT/US2007/020516

**FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCTISA/ 210**

Continuation of Box II.1

Although claims 1-54 and 73 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.

Continuation of Box II.1

Claims Nos.: 1-54, 73

Rule 39.1(iv) PCT - Method for treatment of the human or animal body by therapy

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US2007/020516**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.: 1-54, 73  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
2.  Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers allsearchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying an 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.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No.

PCT/US2007/020516

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2006050165 A	11-05-2006	AU 2005302452 A1	11-05-2006
		CA 2585471 A1	11-05-2006
		EP 1814558 A2	08-08-2007
		KR 20070089926 A	04-09-2007

## フロントページの続き

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

(72)発明者 ハング, デイビッド

アメリカ合衆国 カリフォルニア 94062, レッドウッド シティ, ロマ ロード 36

Fターム(参考) 4C065 AA05 BB04 CC09 DD02 EE02 HH09 JJ01 KK05 KK09 LL01  
PP12  
4C086 AA01 AA02 AA03 CB05 MA01 MA04 MA13 MA16 MA22 MA23  
MA28 MA31 MA32 MA35 MA37 MA43 MA47 MA52 MA56 MA57  
MA59 MA60 MA63 MA66 NA14 ZA94 ZC75