

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2008年1月24日 (24.01.2008)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2008/010315 A1

- (51) 国際特許分類:
A61K 45/00 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)
A61K 31/415 (2006.01) C07D 231/14 (2006.01)
A61K 31/4196 (2006.01) C07D 277/20 (2006.01)
A61K 31/426 (2006.01) C07D 277/46 (2006.01)
A61K 31/4439 (2006.01) C07D 401/14 (2006.01)
A61P 21/02 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2007/000765
- (22) 国際出願日: 2007年7月13日 (13.07.2007)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願2006-196343 2006年7月19日 (19.07.2006) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 学校法人日本医科大学 (NIPPON MEDICAL SCHOOL FOUNDATION) [JP/JP]; 〒1138602 東京都文京区千駄木1丁目1番5号 Tokyo (JP). 国立大学法人鳥取大学 (NATIONAL UNIVERSITY CORPORATION TOTTORI UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒6808550 鳥取県鳥取市湖山町南4丁目101 Tottori (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 西野 武士 (NISHINO, Takeshi) [JP/JP]; 〒1138602 東京都文京区千駄木1丁目1番5号 日本医科大学内 Tokyo (JP). 阿部 靖子 (ABE, Yasuko) [JP/JP]; 〒1138602 東京都文京区千駄木1丁目1番5号 日本医科大学内 Tokyo (JP). 加藤 信介 (KATO, Shinsuke) [JP/JP]; 〒6838503
- (54) Title: THERAPEUTIC AGENT FOR AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS
- (54) 発明の名称: 筋萎縮性側索硬化症治療薬
- (57) Abstract: Disclosed is a novel therapeutic agent for amyotrophic lateral sclerosis. The therapeutic agent comprises a compound which has an inhibitory effect on xanthine dehydrogenase and cannot act as a substrate for purine salvage pathway.
- (57) 要約: 新たな筋萎縮性側索硬化症治療薬の提供。 キサンチン脱水素酵素阻害作用を有しかつプリンサルベージ回路の基質とならない化合物を含有することを特徴とする筋萎縮性側索硬化症治療薬。
- (74) 代理人: 特許業務法人アルガ特許事務所 (THE PATENT CORPORATE BODY ARUGA PATENT OFFICE); 〒1030013 東京都中央区日本橋人形町1丁目3番6号共同ビル Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): 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.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (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), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告書
- 2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。



WO 2008/010315 A1

明 細 書

筋萎縮性側索硬化症治療薬

技術分野

[0001] 本発明は、筋萎縮性側索硬化症の治療薬に関する。

背景技術

[0002] 筋萎縮性側索硬化症（以下、ALS）は、有効な治療法確立が強く希求されている致死的神経変性疾患の代表で、日本においては厚生労働省の特定難病疾患に指定されている。ALSの有病率は10万人口当たり約3人から5人とされ、現在日本では約4,000から5,000人の患者がいると考えられている。尚かつ、本疾患は働き盛りである中年以降に発症する。従って、ALSの新規治療法の開発は、極めて重要である。

[0003] 歴史的には、ALSは1869年にCharcotとJoffroyにより記載された一つの疾患単位である（非特許文献1）。主に上位運動ニューロンと下位運動ニューロンの両者が障害される進行性の原因不明の疾患であり呼吸筋麻痺により死亡する運動ニューロン疾患として位置づけられる（非特許文献2）。この疾患が初めて記載されて以来、約130年経過した現在尚、その有効な治療法は確立していない。治療剤として神経栄養因子、神経保護効果、カスパーゼ抑制、銅キレート作用、グルタミン酸抑制作用、抗酸化剤等に基づいた薬剤の効果についての検討がなされている。しかし、現在、ALS治療薬として販売されているのは、グルタミン酸受容体のアゴニストとしてグルタミン酸抑制作用のあるリルゾールのみである（特許文献1）。

[0004] 抗酸化剤、すなわちフリーラジカルスカベンジャーであるビタミンE及びキサンチンオキシダーゼ阻害剤であるアロプリノールが、ALS患者由来の脳脊髄液の神経毒を*in vitro*で阻害することが知られている（非特許文献3）。

[0005] ALSのうち約5から10%は家族性筋萎縮性側索硬化症（以下、FAL

S)である(非特許文献4、5)。ALSの病因解明の一つの糸口として、1993年にFALSのうち約20%に、銅・亜鉛スーパーオキシドジスムターゼ(copper/zinc superoxide dismutase; SOD1)遺伝子に異常を持つ家系が存在することが報告された(非特許文献2、6、7)。この発見に基づいて、ヒト変異SOD1遺伝子を高発現するトランスジェニックマウスが遺伝子工学的に開発されている(非特許文献8)。このトランスジェニックマウスは、ヒトALSと同様に運動ニューロン障害による運動麻痺症状を呈し、やがて四肢麻痺、最終的には呼吸筋麻痺を惹起させ瀕死状態に陥り死亡する。尚かつ病理学的にもヒトと同様の運動ニューロン障害の病理組織像を示す。従って、このトランスジェニックマウスはヒトALS動物モデルとして有用である。最近、HSP(heat shock protein)誘導作用を有するヒドロキシルアミン誘導体である、アリモクロモル(arimocloamol)が、このSOD1(G93A)Tgマウスにおいて運動ニューロン退縮と延命作用を有し、ALSに有効であることが報告された(非特許文献9)。

特許文献1：特許第2713384号公報

非特許文献1：Charcot JM & Joffroy A. Arch Physiol (Paris) 1869; 2: 744-760

非特許文献2：Katoら. Neurodegeneration: The Molecular Pathology of Dementia and Movement Disorders. ISN Neuropath Press, 2003: pp350-368

非特許文献3：Neuroreport, Vol 7, No. 12, p1970-1972, 12, August, 1996

非特許文献4：Hudson AJ. Brain 1981; 104: 217-247

非特許文献5：Juneja Tら. Neurology 1997; 48: 55-57

非特許文献6：Deng HXら. Science 1993；261：1047－1051

非特許文献7：Rosen DRら. Nature 1993；362：59－62

非特許文献8：Gurney MEら. Science 1994；264：1772－1775

非特許文献9：Nature Medicine, 10：402－405, 2004

発明の開示

発明が解決しようとする課題

[0006] しかしながら、リルゾールのALSに対する治療効果は十分とはいえず、またビタミンEやアロプリノール等の抗酸化剤はALSの治療に有効とはいえない。また、アリモクロモルの治療効果についてもその有効性は十分とはいえない。

従って、さらに新たなALS治療薬の開発が望まれている。

課題を解決するための手段

[0007] かかる実状において、本発明者は、ヒト変異SOD1過剰発現トランスジェニックマウスを使用し、種々の薬物についてのALS治療作用を検討してきたところ、全く意外にも、キサンチン脱水素酵素阻害作用を有しかつプリンサルベージ回路の基質とならない化合物が、アロプリノールと比較して顕著に優れたALS治療作用を示すことを見出し、本発明を完成するに至った。

[0008] すなわち、本発明は、キサンチン脱水素酵素阻害作用を有しかつプリンサルベージ回路の基質とならない化合物を含有するALS治療薬を提供するものである。

また、本発明は、キサンチン脱水素酵素阻害作用を有しかつプリンサルベージ回路の基質とならない化合物の、ALS治療薬製造のための使用を提供するものである。

さらに、本発明は、キサンチン脱水素酵素阻害作用を有しかつプリンサルベージ回路の基質とならない化合物の有効量を投与することを特徴とするALSの予防又は治療方法を提供するものである。

発明の効果

[0009] 本発明によれば、キサンチン脱水素酵素阻害作用を有する前記化合物を投与することにより、ALSの発症防止、進行の遅延及び延命作用が得られ、ALSの治療が可能となる。

また、本発明の前記化合物のALS治療効果は、同じキサンチン脱水素酵素阻害剤であるアロプリノールに比べて顕著に強力である。また、アリモクロモルのALS治療効果は、本発明の化合物とその作用機序が異なることから、投与方法が異なり、非特許文献9によれば、10mg/kgの腹腔内投与で有効とされているのに対し、本発明の前記化合物は、5mg/kgの経口投与でも有効であり、アリモクロモルに比べても極めて強力なALS治療効果を有することは明らかである。

図面の簡単な説明

[0010] [図1] プラセボ投与実験群における各G1H-G93Aトランスジェニックマウスの臨床症候学的評価を示す図である。縦軸は臨床症候学ステージの度数を表し、横軸は生後日数を示す。

[図2] 発症前化合物(a)投与治療実験群における各G1H-G93Aトランスジェニックマウスの臨床症候学的評価を示す図である。縦軸は臨床症候学ステージの度数を表し、横軸は生後日数を示す。

[図3] 発症後化合物(a)投与治療実験群における各G1H-G93Aトランスジェニックマウスの臨床症候学的評価を示す図である。縦軸は臨床症候学ステージの度数を表し、横軸は生後日数を示す。

[図4] 発症前化合物(b)投与治療実験群における各G1H-G93Aトランスジェニックマウスの臨床症候学的評価を示す図である。縦軸は臨床症候学ステージの度数を表し、横軸は生後日数を示す。

[図5] 発症前化合物(c)投与治療実験群における各G1H-G93Aトランス

スジェニックマウスの臨床症候学的評価を示す図である。縦軸は臨床症候学ステージの度数を表し、横軸は生後日数を示す。

[図6] プラセボ投与実験群と発症前化合物 (a) 投与治療実験群の発症日におけるKaplan-Meier法のLogrank検定を示す図である。縦軸は発症確率を表し、横軸は生後日数を示す。

[図7] プラセボ投与実験群と発症前化合物 (a) 投与治療実験群の生存期間におけるKaplan-Meier法のLogrank検定を示す図である。縦軸は生存確率を表し、横軸は生後日数を示す。

[図8] プラセボ投与実験群と発症前化合物 (a) 投与治療実験群の病悩期間におけるKaplan-Meier法のLogrank検定を示す図である。縦軸は生存確率を表し、横軸は病悩期間の日数を示す。

[図9] プラセボ投与実験群と発症後化合物 (a) 投与治療実験群の生存期間におけるKaplan-Meier法のLogrank検定を示す図である。縦軸は生存確率を表し、横軸は生後日数を示す。

[図10] プラセボ投与実験群と発症後化合物 (a) 投与治療実験群の病悩期間におけるKaplan-Meier法のLogrank検定を示す図である。縦軸は生存確率を表し、横軸は病悩期間の日数を示す。

[図11] プラセボ投与実験群と発症前化合物 (b) 投与治療実験群の発症日におけるKaplan-Meier法のLogrank検定を示す図である。縦軸は発症確率を表し、横軸は生後日数を示す。

[図12] プラセボ投与実験群と発症前化合物 (b) 投与治療実験群の生存期間におけるKaplan-Meier法のLogrank検定を示す図である。縦軸は生存確率を表し、横軸は生後日数を示す。

[図13] プラセボ投与実験群と発症前化合物 (b) 投与治療実験群の病悩期間におけるKaplan-Meier法のLogrank検定を示す図である。縦軸は生存確率を表し、横軸は病悩期間の日数を示す。

[図14] プラセボ投与実験群と発症前化合物 (c) 投与治療実験群の発症日におけるKaplan-Meier法のLogrank検定を示す図である。

縦軸は発症確率を表し、横軸は生後日数を示す。

[図15] プラセボ投与実験群と発症前化合物（c）投与治療実験群の生存期間におけるKaplan-Meier法のLogrank検定を示す図である。縦軸は生存確率を表し、横軸は生後日数を示す。

[図16] プラセボ投与実験群と発症前化合物（c）投与治療実験群の病悩期間におけるKaplan-Meier法のLogrank検定を示す図である。縦軸は生存確率を表し、横軸は病悩期間の日数を示す。

[図17] 発症後化合物（c）投与治療実験群における各G1H-G93Aトランスジェニックマウスの臨床症候学的評価を示す図である。縦軸は臨床症候学ステージの度数を表し、横軸は生後日数を示す。

[図18] プラセボ投与実験群と発症後化合物（c）投与治療実験群の生存期間におけるKaplan-Meier法のLogrank検定を示す図である。縦軸は生存確率を表し、横軸は生後日数を示す。

[図19] プラセボ投与実験群と発症後化合物（c）投与治療実験群の病悩期間におけるKaplan-Meier法のLogrank検定を示す図である。縦軸は生存確率を表し、横軸は病悩期間の日数を示す。

[図20] アロプリノール投与治療実験群における各G1H-G93Aトランスジェニックマウスの臨床症候学的評価を示す図である。縦軸は臨床症候学ステージの度数を表し、横軸は生後日数を示す。

[図21] プラセボ投与実験群と発症前アロプリノール投与治療実験群の発症確率におけるKaplan-Meier法のLogrank検定を示す図である。縦軸は発症確率を表し、横軸は生後日数を示す。

[図22] プラセボ投与実験群と発症前アロプリノール投与治療実験群の生存確率におけるKaplan-Meier法のLogrank検定を示す図である。縦軸は生存確率を表し、横軸は生後日数を示す。

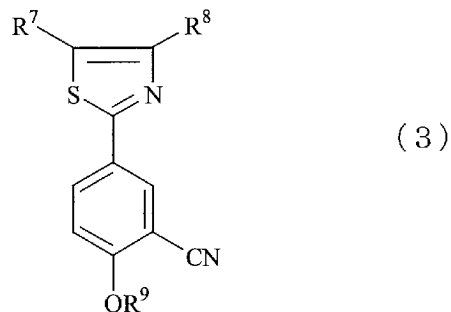
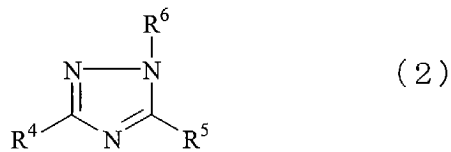
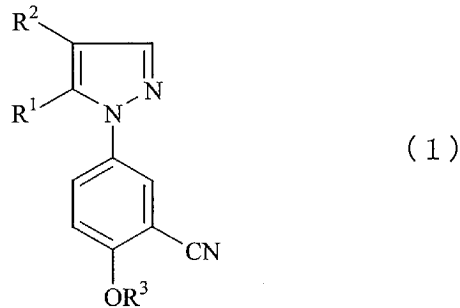
[図23] プラセボ投与実験群と発症前アロプリノール投与治療実験群の病悩期間におけるKaplan-Meier法のLogrank検定を示す図である。縦軸は生存確率を表し、横軸は病悩期間の日数を示す。

発明を実施するための最良の形態

[0011] 本発明のALS治療薬の有効成分である、キサンチン脱水素酵素阻害作用を有しかつプリンサルベージ回路の基質とならない化合物としては、当該作用を有する限り、その化学構造には影響されない。従って、従来既知の化合物を用いることができる。

例えば、フェニルイミダゾール構造、フェニルチアゾール構造、フェニルトリアゾール構造、ピリジルトリアゾール構造等の2つの芳香環と芳香族複素環とを有する構造を有するキサンチン脱水素酵素阻害剤等が挙げられる。本発明において、ALS治療薬としてより好ましい化合物は、次の式(1)、(2)又は(3)で表される化合物又はその塩である。

[0012] [化1]



[0013] (式中、R¹は水素原子、ハロゲン原子又はアミノ基を示し；

R²はカルボキシル基又はC₁₋₄アルコキシカルボニル基を示し；

R³はハロゲン、ヒドロキシ、C₁₋₄アルコキシ、カルボキシ、C₁₋₄アルコキシカルボニル及びアシルオキシから選ばれる1～2個の置換基を有していてもよいC₄₋₆アルキル基、C₃₋₆シクロアルキル基又はC₃₋₆シクロアルキル-C₁₋₄アルキル基を示し；

R⁴は、ハロゲン、シアノ及びフェニルから選ばれる1～2個の置換基を有していてもよいピリジル基；又はシアノ、ニトロ、C₁₋₄アルコキシ、N-C₁₋₄アルキルピペラジノ、C₁₋₄アルキルチオ、フェニルチオ及びC₁₋₄アルキルアミノから選ばれる1～2個の置換基を有していてもよいフェニル基を示し；

R⁵はシアノ、C₁₋₄アルキル、ハロゲン、C₁₋₄アルコキシ及びC₁₋₄アルキルチオから選ばれる置換基を有していてもよいピリジル基を示し；

R⁶は水素原子、又はピバロイルオキシ-C₁₋₄アルキル基を示し；

R⁷はカルボキシル基、C₁₋₆アルコキシカルボニル基、カルバモイル基、又はモノ-もしくはジ-C₁₋₆アルキルアミノカルボニル基を示し；

R⁸は水素原子、C₁₋₆アルキル基又はフェニル基を示し；

R⁹は水素原子又はC₁₋₁₀アルキル基を示す。)

[0014] これらの化合物は、前記のように2つの芳香環と芳香族複素環の構造の共通構造を有している。

[0015] これら式(1)、(2)及び(3)で表される化合物は、特許第3220987号公報、特許第3600832号公報、特開2005-41802号公報、特開平6-293746号公報、特開2002-105067号公報等に記載されており、優れたキサンチン脱水素酵素阻害作用を有することが知られている。しかし、これらの化合物がALS治療作用を有することは全く知られていない。

[0016] 式(1)中、R¹で示されるハロゲン原子としては、フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子等が挙げられる。R¹としては水素原子が特に好ましい。

- [0017] R^2 で示される C_{1-4} アルコキシカルボニル基としては、エトキシカルボニル基、プロポキシカルボニル基等が挙げられる。 R^2 としては、カルボキシル基が特に好ましい。
- [0018] R^3 で示される C_{4-6} アルキル基としては、直鎖又は分岐鎖の C_{4-6} アルキル基が挙げられ、例えば n -ブチル基、イソブチル基、*tert*-ブチル基、 n -ペンチル基、ネオペンチル基（2, 2-ジメチルプロピル）基、 n -ヘキシル基等が挙げられるが、このうちネオペンチル基が特に好ましい。 R^3 で示される C_{3-6} シクロアルキル基としては、シクロプロピル基、シクロペンチル基、シクロヘキシル基等が挙げられる。また、 C_{3-6} シクロアルキル- C_{1-4} アルキル基としては、シクロプロピルメチル基、シクロペンチルメチル基、シクロヘキシルメチル基、シクロペンチルエチル基、シクロキシルエチル基等が挙げられる。 R^3 としては、 C_{4-6} アルキル基がより好ましく、分岐鎖 C_{4-6} アルキル基がさらに好ましく、ネオペンチル基が特に好ましい。
- [0019] R^3 で示される C_{4-6} アルキル基、 C_{3-6} シクロアルキル基又は C_{3-6} シクロアルキル- C_{1-4} アルキル基には、ハロゲン、ヒドロキシ、 C_{1-4} アルコキシ、カルボキシ、 C_{1-4} アルコキシカルボニル及びアシルオキシから選ばれる1~2個の置換基が置換していてもよい。ここでハロゲンとしては、フッ素、塩素、臭素が挙げられる。 C_{1-4} アルコキシとしてはメトキシ、エトキシ等が挙げられる。 C_{1-4} アルコキシカルボニルとしてはメトキシカルボニル、エトキシカルボニル等が挙げられる。またアシルオキシとしてはアセトキシ、プロピオニルオキシ等が挙げられる。
- [0020] 式(1)の化合物のうち、より好ましい化合物は、 R^1 が水素原子であり、 R^2 がカルボキシル基であり、 R^3 が C_{4-6} アルキル基である化合物である。式(1)の化合物のうち、最も好ましい化合物は、 R^1 が水素原子であり、 R^2 がカルボキシル基であり、 R^3 がネオペンチル基（2, 2-ジメチルプロピル）である化合物（1-(3-シアノ-4-(2, 2-ジメチルプロポキシ)フェニル)-1H-ピラゾール-4-カルボン酸）である。
- [0021] 式(2)中、 R^4 で示されるピリジル基は、ハロゲン、シアノ及びフェニル

から選ばれる 1 又は 2 個の置換基を有していてもよい。ここで、ハロゲン原子としては、フッ素原子、塩素原子、臭素原子等が挙げられる。

R⁴で示されるフェニル基は、シアノ、ニトロ、C₁₋₄アルコキシ、N-C₁₋₄アルキルピペラジノ、C₁₋₄アルキルチオ、フェニルチオ及びC₁₋₄アルキルアミノから選ばれる 1~2 個の置換基を有していてもよい。ここでC₁₋₄アルコキシとしてはメトキシ、エトキシ等が挙げられる。N-C₁₋₄アルキルピペラジノとしてはN-メチルピペラジノ、N-エチルピペラジノ等が挙げられる。C₁₋₄アルキルチオとしてはメチルチオ、エチルチオ等が挙げられる。C₁₋₄アルキルアミノとしては、メチルアミノ、エチルアミノ、イソプロピルアミノ等が挙げられる。

R⁴のうち、シアノピリジル基が好ましく、特に2-シアノピリジン-4-イル基が好ましい。

[0022] R⁵で示されるピリジル基は、シアノ基、ハロゲン原子、C₁₋₆アルコキシ基及びC₁₋₆アルキルチオ基から選ばれる 1 又は 2 個の置換基を有していてもよい。ここで、ハロゲン原子、C₁₋₆アルコキシ基、C₁₋₆アルキルチオ基の例としては、前記R⁴の場合と同じものが挙げられる。R⁵としては、ピリジル基が好ましく、特にピリジン-4-イル基が好ましい。

[0023] R⁶で示されるピバロイルオキシ-C₁₋₄アルキル基としては、ピバロイルオキシメチル基、ピバロイルオキシエチル基等が挙げられる。R⁶としては水素原子が好ましい。

[0024] 式(2)の化合物のうち、より好ましい化合物はR⁴がシアノピリジル基であり、R⁵がピリジル基であり、R⁶が水素原子である化合物である。式(2)の化合物のうち、最も好ましい化合物は、R⁴が2-シアノピリジン-4-イル基であり、R⁵がピリジン-4-イル基であり、R⁶が水素原子である化合物(4-(5-ピリジン-4-イル-1H-[1,2,4]トリアゾール-3-イル)ピリジン-2-カルボニル)である。

[0025] 式(3)中で、R⁷で示されるC₁₋₆アルコキシカルボニル基としてはメトキシカルボニル基、エトキシカルボニル基、イソプロピルオキシカルボニル

基、ブトキシカルボニル基等が挙げられる。モノーもしくはジ- C_{1-6} アルキルアミノカルボニル基としては、メチルアミノカルボニル基、エチルアミノカルボニル基、ジメチルアミノカルボニル基、ジエチルアミノカルボニル基等が挙げられる。 R^7 のうち、カルボキシル基又は C_{1-6} アルコキシカルボニル基がより好ましく、カルボキシル基が特に好ましい。

[0026] R^8 で示される C_{1-6} アルキル基としては、メチル基、エチル基、イソプロピル基、ブチル基、ペンチル基等が挙げられる。 R^8 としては C_{1-6} アルキル基が好ましく、メチル基が特に好ましい。

[0027] R^9 の C_{1-6} アルキル基としては、メチル基、エチル基、イソプロピル基、 n -ブチル基、イソブチル基（2-メチルプロピル基）、 t -ブチル基、ペンチル基、ネオペンチル基、ヘキシル基、オクチル基等が挙げられる。 R^9 としては、 C_{1-8} アルキル基が好ましく、 C_{2-6} アルキル基がより好ましく、イソブチル基（2-メチルプロピル基）が特に好ましい。

[0028] 式（3）の化合物のうち、 R^7 がカルボキシル基、 R^8 がメチル基、 R^9 がイソブチル基である化合物（2-[3-シアノ-4-(2-メチルプロポキシ)フェニル]-4-メチル-5-チアゾールカルボン酸）が特に好ましい。

[0029] 式（1）、（2）又は（3）で表される化合物の塩としては、薬学的に許容される塩が挙げられる。例えば、カルボキシル基における金属（ナトリウム、カリウム、カルシウム等）塩、有機酸塩基（ジエタノールアミン、トリメチルアミン）との塩が挙げられる。またアミノ基における酸付加塩、例えば塩酸塩、硫酸塩等の鉱酸塩、酢酸塩、クエン酸塩等の有機酸塩が挙げられる。また、式（1）、（2）又は（3）の化合物には、水和物等の溶媒和物が含まれる。また、これらの化合物には、光学異性体も含まれる。

[0030] キサンチン脱水素酵素阻害作用を有しかつプリンサルベージ回路の基質とならない化合物、特に式（1）、（2）及び（3）の化合物は、後述の実施例に示すように、優れたALSの発症防止作用、ALS症状の進行遅延作用及びALSによる死亡に対する延命作用を有し、ALS治療薬として有用である。そして、その作用はキサンチン脱水素酵素阻害作用を有し、プリンサ

ルベージ回路の基質になるアロプリノールに比べて顕著に強力である。また、式(2)及び(3)の化合物は、既に尿酸生成阻害剤として開発が進んでおり、安全性も高いことが知られている。ALSの発症は、突然に、持っている物を落としたり、足がもつれたり、ろれつが回らなくなるなどの初期症状で気づかれることがある。ALSの基本的症状は、筋肉の線維束性収縮症状、筋萎縮・筋力低下症状、球麻痺症状、錐体路症状である。筋肉の線維束性収縮症状は筋肉のピクツキとして認められる。筋萎縮・筋力低下症状に関しては、多くの場合、上肢や下肢の遠位部の筋萎縮・筋力低下から始まり、やがて両肢の近位部筋の障害に及ぶ。初期は握力低下(持っている物を落とす等)、足底の挙上困難(足首が上がらない等)であるが、やがて上肢挙上困難や歩行障害(足のもつれ・転倒等)を来し、日常生活動作が困難・不可能になり、寝たきり状態となる。寝たきり状態になるとさらに筋肉を動かさなくなり、二次的な筋肉の廃用萎縮を来し、筋萎縮・筋力低下を加速する。球麻痺症状とは咽喉頭筋・舌・咬筋・顔面筋等の筋萎縮・筋力低下徴候によるもので、発声・発語障害に基づく言語障害(言葉の不明瞭性等)や嚥下困難をきたす。やがて経口摂取困難状態になる。錐体路症状に関しては、四肢において筋肉の緊張が強くなり、つっぱって動かし難い等の異常筋緊張亢進を伴う運動麻痺(痙性麻痺)を生ずる。ALSではそれぞれの症状の程度と進展は様々であるが、予後はきわめて不良で、病期の進行は比較的速く、最終的には呼吸筋麻痺による呼吸不全を来し、人工呼吸器を用いなければ通常2-3年で死亡する。現在では気管切開後の人工呼吸器使用による呼吸管理により、生命そのものの延命は可能となった。しかし、患者の“生活の質(Quality of Life, QOL)”の高度の低下、経済的な保障不安、在宅療養での介護者(マンパワー)の不足等の問題要素があり、患者のみならず家族全員・全体に重大な社会的障害と苦痛を与える。しかも、患者の意識は最後まで正常で、一般に知能も障害されないため、患者は常に死の恐怖と向き合わなければならない過酷な状況となる。本発明の治療薬を用いることにより、ALSにおけるこれらの臨床症状が改善され、人工

呼吸器装着までの期間を延長でき、患者の” Q O L “を維持できる期間が長くなることが期待される。

- [0031] 本発明の医薬の投与経路は特に限定されず、経口的又は非経口的に投与することができる。非経口投与としては髄腔内、静脈内、動脈内、筋肉内、皮下又は皮内等への注射、吸入、直腸内、鼻腔内投与及び点鼻、点耳、点眼、外用投与等が挙げられる。
- [0032] 本発明の医薬としては、有効成分である前記化合物をそのまま患者に投与してもよいが、好ましくは、有効成分と薬学的に許容し得る添加物とを含む医薬組成物の形態の製剤として投与すべきである。薬学的に許容し得る添加物としては、例えば、賦形剤、崩壊剤ないし崩壊補助剤、結合剤、滑沢剤、コーティング剤、色素、希釈剤、基剤、溶解剤ないし溶解補助剤、等張化剤、pH調節剤、安定化剤、噴射剤、及び粘着剤等を用いることができる。
- [0033] 経口投与に適する製剤の例としては、例えば、錠剤、カプセル剤、散剤、細粒剤、顆粒剤、液剤、又はシロップ剤等を挙げることができ、非経口投与に適する製剤としては、例えば、注射剤、点滴剤、坐剤、吸入剤、点鼻剤、点耳剤、点眼剤、又は外用剤（貼付、軟膏、クリーム、ゲル、ローション、スプレーなどを含む）などを挙げることができる。
- [0034] 経口投与に適する製剤には、添加物として、例えば、ブドウ糖、乳糖、D-マンニトール、デンプン、又は結晶セルロース等の賦形剤；カルボキシメチルセルロース、デンプン、又はカルボキシメチルセルロースカルシウム等の崩壊剤又は崩壊補助剤；ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリビニルピロリドン、又はゼラチン等の結合剤；ステアリン酸マグネシウム又はタルク等の滑沢剤；ヒドロキシプロピルメチルセルロース、白糖、ポリエチレングリコール又は酸化チタン等のコーティング剤；ワセリン、流動パラフィン、ポリエチレングリコール、ゼラチン、カオリン、グリセリン、精製水、又はハードファット等の基剤を用いることができる。注射、点滴用、点鼻剤、点耳剤又は点眼剤に適する製剤には、注射用蒸留水、生理食塩水、プロピレングリコール等の水性あるいは用時溶解

型注射剤を構成し得る溶解剤又は溶解補助剤；ブドウ糖、塩化ナトリウム、D-マンニトール、グリセリン等の等張化剤；無機酸、有機酸、無機塩基又は有機塩基等のpH調節剤等の製剤用添加物を用いることができる。坐剤に適する製剤には、例えば、ポリエチレングリコール、ラノリン、カカオ脂、脂肪酸トリグリセリド等の基剤、及び必要に応じて非イオン界面活性剤のような界面活性剤等の添加物を用いることができる。

軟膏剤に適する製剤には、通常使用される基剤、安定剤、湿潤剤、保存剤等が必要に応じて用いられる。基剤としては、流動パラフィン、白色ワセリン、サラシミツロウ、オクチルドデシルアルコール、パラフィン等が挙げられる。保存剤としては、パラオキシ安息香酸メチル、パラオキシ安息香酸エチル、パラオキシ安息香酸プロピル等が挙げられる。

[0035] 貼付剤に適する製剤としては、通常の支持体に前記軟膏、クリーム、ゲル、ペースト等を常法により塗布したものが挙げられる。支持体としては、綿、スフ、化学繊維からなる織布、不織布や軟質塩化ビニル、ポリエチレン、ポリウレタン等のフィルムあるいは発泡体シートが適当である。

[0036] 本発明の医薬の投与量は、疾患の進行状況又は症状の程度、患者の年齢や体重などの諸条件に応じて適宜選択可能である。

実施例

[0037] 以下、実施例により本発明を具体的に説明するが、本発明はこれにより何ら制限されるものではない。

[0038] I. 材料及び方法

1. 薬剤

以下の4種類のキサンチン脱水素酵素阻害剤を用いた。

すなわち、1-[3-シアノ-4-(2,2-ジメチルプロポキシ)フェニル]-1H-ピラゾール-4-カルボン酸(化合物(a))と、4-(5-ピリジン-4-イル-1H-[1,2,4]トリアゾール-3-イル)ピリジン-2-カルボニトリル(化合物(b))と2-[3-シアノ-4-(2-メチルプロポキシ)フェニル]-4-メチル-5-チアゾールカルボン

酸（化合物（c））とアロプリノールの4種類を用いた。

- [0039] 1) 化合物（a）の濃度調整と投与量・投与方法は次の要領で行った。基剤として、0.5%メチルセルロースを作製する。化合物（a）5mgを瑯瑯製の乳鉢にてすりつぶした後、少量の0.5%メチルセルロースを加え、完全に懸濁させる。その後、徐々に少量の0.5%メチルセルロースを加え、最終的に10mLの0.5%メチルセルロースに化合物（a）5mgを懸濁させる。以上の方法により、5mg化合物（a）・0.5%メチルセルロース10mL（5mg/10mL）を作製し、化合物（a）をマウス体重1kg当たり5mg（5mg/kg）を1日1回経口的に投与した。
- [0040] 2) 化合物（b）の濃度調整と投与量・投与方法は化合物（a）と同様にして行った。この方法により、5mg化合物（b）・0.5%メチルセルロース10mL（5mg/10mL）を作製し、化合物（b）をマウス体重1kg当たり5mg（5mg/kg）を1日1回経口的に投与した。
- [0041] 3) 化合物（c）の濃度調整と投与量・投与方法は化合物（a）と同様にして行った。この方法により、5mg化合物（c）・0.5%メチルセルロース10mL（5mg/10mL）を作製し、化合物（c）をマウス体重1kg当たり5mg（5mg/kg）を1日1回経口的に投与した。
- [0042] 4) アロプリノールの濃度調整と投与量の投与方法は化合物（a）と同様にして行った。この方法により、5mgアロプリノール・0.5%メチルセルロース10mL（5mg/10mL）を作製し、アロプリノールをマウス体重1kg当たり5mg（5mg/kg）を1日1回経口的に投与した。
- [0043] 5) プラセボとしては、基剤である0.5%メチルセルロースのみをマウス体重1kg当たり10mL（10mL/kg）、すなわち、薬剤投与マウスの基剤と等容量を1日1回経口投与した。
- 6) 経口投与の方法は、プラスチックシリンジにて正確に容量を測定し、プラスチックシリンジに直接マウス用胃ゾンデをつなげ、経口・経食道的に確実に投与した。

[0044] 2. 実験動物

実験動物には、G93A点変異のヒト変異SOD1遺伝子を高コピー数（20-40コピー）過剰発現させた雄トランスジェニックマウスB6SJL-TgN [SOD1-G93A] 1Gur（G1H-G93Aトランスジェニックマウス, JR2726; Hemizygote）（Gurney M Eら. Science, 264, 1772-1775, 1994）をJackson Laboratory（Bar Harbor, 米国）から購入し、使用した。同時に、その雄の野生型同腹仔マウスB6SJL-TgN [SOD1-G93A] 1Gur（Wild-type）もJackson Laboratoryから購入し、使用した。

[0045] 3. マウスの臨床症候学的評価

マウスは毎日臨床症候学的評価を行った。臨床症候学的評価は、Jackson Laboratoryから到着1週間後から施行した。マウスの臨床症候学的評価は、次に示した基準にて行った。ステージ0度＝野生型同腹仔と同一俊敏性の行動をとれる。ステージ1度＝俊敏性の欠如、小刻みなふるえ（jittering）、尻尾挙上不全（limp tail）、筋力低下を伴う緩徐歩行のいずれか一つ以上の臨床症状を呈す。ステージ2度＝一側あるいは両側の後肢不完全麻痺を呈するが、前肢は正常。ステージ3度＝両側後肢高度麻痺を呈するが、前肢はほぼ正常。ステージ4度＝一側あるいは両側の前肢不完全麻痺を呈し、かつ両側後肢高度麻痺を呈する。ステージ5度＝高度四肢麻痺を呈しているか、もしくは瀕死状態。発症日、生存期間及び病悩期間については日数を持って表示した。病悩期間の日数表示については、1日間（1病日間）とは発症（臨床症候学的評価のステージ1度を持って発症したとする）より24時間以内に相当し、2日間（2病日間）とは発症より24時間を過ぎてから48時間以内に相当するものとし、以下同様にして、発症後の病悩日数を決定した。

[0046] 4. マウスの運動負荷試験

生後70日目より5日目ごとに、以下の5種類の運動負荷試験を施行し、各運動負荷試験における運動能力を評価した。すなわち、運動負荷試験施行

日は、生後70日、75日、80日、85日・・・と5日目ごとであり、生存期間中は運動負荷試験を施行し、死後の評価は以下の5種類の各運動負荷試験の定義に基づいた。

[0047] 1) 伸展反射試験

正常のマウスは、尾を持って空中に持ち上げると、両後肢の伸展反射が認められる。

マウスの伸展反射試験の評価は、次に示した基準にて行った。スコア0＝両後肢の伸展反射が認められる。スコア1＝どちらか一方の後肢の伸展反射が認められるのみで、反対側の後肢の伸展反射は認められない。スコア2＝両後肢の伸展反射が認められない。死後の伸展反射試験評価はスコア2と定義する。

[0048] 2) 傾斜面角度試験

傾斜面角度試験に用いた装置は、木製のボードを水平面より、それぞれ45度、65度、80度の各角度に固定可能な装置である。各角度に傾けた木製ボードの上に頭を上方に向けてマウスを置き、下方に落ちることなく、そのポジションを5秒間維持させる。マウスの傾斜面角度試験の評価方法は、45度、65度、80度の各角度(A度)において、下方に落ちることないポジションを維持できた秒数(T_A秒：5秒以下)を測定した後、角度(A度)と維持できた秒数(T_A秒)との掛けた数値の総和： $\Sigma (A \times T_A)$ を算定する。正常のマウスは、各角度に傾けた木製ボード上でそのポジションを5秒間維持可能であるので、 $\Sigma (A \times T_A) = 80 \times 5 + 65 \times 5 + 45 \times 5 = 950$ の値となる。マウスの傾斜面角度試験の評価は、次に示した基準にて行った。スコア0＝950。スコア1＝550を超え950未満。スコア2＝225を超え550以下。スコア3＝225以下。死後の傾斜面角度試験評価はスコア3と定義する。

[0049] 3) フットプリント試験

マウスの両後肢を黒インク瓶の中に浸し、その後に白い紙の上を歩かせる。歩行後のマウスの両後肢のフットプリントを解析する。マウスのフットプ

プリント試験の評価は、次に示した基準にて行った。スコアー0＝両後肢の歩幅がそれぞれ6 cmを超え、且つ両後肢を引きずった所見を認めない。スコアー1＝両後肢を引きずった所見を認めないが、両後肢の歩幅がそれぞれ6 cmを超えない。スコアー2＝一側の後肢を引きずった所見を認める。スコアー3＝両後肢を引きずった所見を認める。スコアー4＝歩行ができない状態。死後のフットプリント試験評価はスコアー4と定める。

[0050] 4) ロタロッド試験

ロタロッド試験に用いた装置 (Rota Rod Treadmill 7600型、Ugo Basile社、ミラノ、イタリア) は、直径3.6 cmの回転軸であり、1分間にこの回転軸が16回転 (1回転: 3.75秒) するように設定してある。マウスをこの条件設定で作動させているロタロッド試験装置の回転軸上に置き、この回転軸から落下するまでの時間を測定する。ただし、60秒を超える時間に達したときは、ロタロッド試験を中止する。マウスのロタロッド試験の評価は、次に示した基準にて行った。スコアー0＝60秒を超える。スコアー1＝30秒を超え60秒以下。スコアー2＝4秒を超え30秒以下。スコアー3＝4秒以下。死後のロタロッド試験評価はスコアー3と定める。

[0051] 5) ビームバランス試験

ビームバランス試験に用いた装置は、直径1.5 cmの木製の円柱 (梁: ビーム) を水平に保ち、30 cmの距離にそれぞれ足場となるプラットホームを設置したものである。マウスを一方のプラットホーム上に置き、30 cmの長さのビームを渡りきり反対側のプラットホームに達する時間を測定する。マウスのビームバランス試験の評価は、次に示した基準にて行った。スコアー0＝10秒以下。スコアー1＝10秒を超え15秒以下。スコアー2＝20秒を超えか、あるいは落下する。死後のビームバランス試験評価はスコアー2と定める。

[0052] 5. プラセボ・薬剤投与方法による実験デザイン

プラセボ投与と化合物 (a)、化合物 (b)、化合物 (c) 及びアロプリ

ノール投与方法とにより、7群に分けて実験を行った。すなわち、プラセボ投与実験群、発症前化合物（a）投与治療実験群、発症後化合物（a）投与治療実験群、発症前化合物（b）投与治療実験、発症前化合物（c）投与治療実験、発症後化合物（c）投与治療実験、発症前アロプリノール投与治療群の7群である。各群の詳細については以下に述べる。

[0053] 1) プラセボ投与実験群：

G1H-G93Aトランスジェニックマウス10匹と野生型同腹仔マウス10匹とを使用した。両者ともに生後80日よりプラセボとして0.5%メチルセルロース（10mL/kg）を経口的に投与した。経口投与期間は、G1H-G93Aトランスジェニックマウスにおいて運動麻痺が発症し、四肢麻痺及び瀕死状態に至るまで、連日投与した。野生型同腹仔マウス10匹は、プラセボである0.5%メチルセルロース（10mL/kg）を連日経口投与した。0.5%メチルセルロース（10mL/kg）を経口投与した野生型同腹仔マウス10匹は正常対照群として使用した。

[0054] 2) 化合物（a）投与治療実験群

（1）発症前化合物（a）投与治療実験群：

G1H-G93Aトランスジェニックマウス10匹を使用した。生後80日より5mg/kgの化合物（a）を連日経口に投与した。投与期間はそれぞれのG1H-G93Aトランスジェニックマウスが四肢麻痺を呈し瀕死状態に至るまでの期間である。

（2）発症後化合物（a）投与治療実験群：

G1H-G93Aトランスジェニックマウス10匹を使用した。臨床症候学的評価のステージ1度（＝俊敏性の欠如、小刻みなふるえ（jittering）、尻尾挙上不全（limp tail）、緩徐歩行のいずれか一つ以上の臨床症状を呈す）を持って発症したと捉え、この時点を含む日より5mg/kgの化合物（a）を連日経口に投与した。投与期間はそれぞれのG1H-G93Aトランスジェニックマウスが四肢麻痺を呈し瀕死状態に至るまでの期間である。

[0055] 3) 化合物 (b) 投与治療実験群

(1) 発症前化合物 (b) 投与治療実験群 :

G1H-G93Aトランスジェニックマウス10匹を使用した。生後80日より5mg/kgの化合物(b)を連日経口に投与した。投与期間はそれぞれのG1H-G93Aトランスジェニックマウスが四肢麻痺を呈し瀕死状態に至るまでの期間である。

[0056] 4) 化合物 (c) 投与治療実験群

(1) 発症前化合物 (c) 投与治療実験群 :

G1H-G93Aトランスジェニックマウス10匹を使用した。生後80日より5mg/kgの化合物(c)を連日経口に投与した。投与期間はそれぞれのG1H-G93Aトランスジェニックマウスが四肢麻痺を呈し瀕死状態に至るまでの期間である。

(2) 発症後化合物 (c) 投与治療実験群 :

G1H-G93Aトランスジェニックマウス10匹を使用した。臨床症候学的評価のステージ1度(=俊敏性の欠如、小刻みなふるえ(jittering)、尻尾挙上不全(limp tail)、緩徐歩行のいずれか一つ以上の臨床症状を呈す)を持って発症したと捉え、この時点を含む日より5mg/kgの化合物(c)を連日経口に投与した。投与期間はそれぞれのG1H-G93Aトランスジェニックマウスが四肢麻痺を呈し瀕死状態に至るまでの期間である。

[0057] 5) アロプリノール投与治療実験群

(1) 発症前アロプリノール投与治療実験群 :

G1H-G93Aトランスジェニックマウス10匹を使用した。生後80日より5mg/kgのアロプリノールを連日経口に投与した。投与期間はそれぞれのG1H-G93Aトランスジェニックマウスが四肢麻痺を呈し瀕死状態に至るまでの期間である。

[0058] 6. 病理組織学的検索

実験に供するマウスは、マウス体重1kg当たり1mLのペントバルビタ

ールナトリウムの腹腔内注射にて、麻酔を施行する。完全に麻酔下にあることを確認した後、開腹・開胸を行い、左心室・大動脈経由にて、37°Cの生理的食塩水の灌流にて全身臓器の血液を完全に除去する。全身臓器血液の完全除去は、胸部・腹部の大動脈、腸間膜動脈、肝臓、腎臓、胃・小腸・大腸表面の小動脈の血液の完全除去を直視下にて確認後、さらに50mLの37°C生理的食塩水の灌流を施行する。その後直ちに、4%パラホルムアルデヒド・0.1Mカコジル酸緩衝液にて灌流固定した後、脊髄を取り出し18時間4%パラホルムアルデヒド・0.1Mカコジル酸緩衝液にて再固定する。脊髄組織固定後、脊髄組織を検索するために、脊髄組織の各髄節部位を切り出す。検索した脊髄髄節組織は、脊髄の各部位の長さを考慮して、頸髄2部位（上部頸髄、下部頸髄）、胸髄3部位（上部胸髄、中部胸髄、下部胸髄）、腰髄2部位（上部腰髄、下部腰髄）を切り出し、合計7カ所を切り出し部位とした。切り出した各脊髄髄節組織はそれぞれパラフィン包埋し、パラフィンブロックを作製した後、ミクロトームにて5 μ m厚のパラフィン切片とする。パラフィン切片にはヘマトキシリン染色を施し、その後にエオシン染色をも行い、ヘマトキシリン・エオシン染色切片とする。

定量的解析には、各脊髄髄節パラフィンブロックから、5 μ m厚のパラフィン切片を連続25枚作製し、1枚目、7枚目、13枚目、19枚目、25枚目を選抜して、ヘマトキシリン・エオシン染色を施した。すなわち、25 μ m間隔をあけて、1枚ごとのパラフィン切片を選び、一つの脊髄髄節パラフィンブロックから、5枚のヘマトキシリン・エオシン染色を作製した。従って、頸髄全体では2部位10枚のヘマトキシリン・エオシン染色、胸髄全体では3部位15枚のヘマトキシリン・エオシン染色、腰髄全体では2部位10枚のヘマトキシリン・エオシン染色を作製した。

[0059] 前角運動ニューロンの数を算定するために、すべてのヘマトキシリン・エオシン染色切片について、顕微鏡用3CCDデジタルカラーカメラシステム（FX380：オリンパス社、東京、日本）の装着された光学顕微鏡（BX41：オリンパス社、東京、日本）にて観察した後、各脊髄髄節組織のヘマ

トキシリン・エオシン染色切片の脊髄前角領域（Rexed分類におけるV I I, V I I I, I Xに相当する領域）を撮影し、撮影された画像を画像解析・ファイリングソフトウェア（FLVFS-LS Ver. 1.12：オリンパス社、東京、日本）にて解析した。脊髄前角運動ニューロン（脊髄前角細胞）の定義については、ヘマトキシリン・エオシン染色切片上にて、明確な核小体を持つ核を有し、かつ直径が $25\mu\text{m}$ 以上の細胞体を含む細胞を脊髄前角細胞とした（Klivenyi P \bar{r} . Nature Med 1999; 5: 347-351、Kong J & Xu Z. J Neurosci 1998; 18: 3241-3250、Stephens B \bar{r} . Neuropathol Appl Neurobiol 2001; 27: 352-361）。この定義に基づいて、各ヘマトキシリン・エオシン染色切片につき、脊髄前角細胞数を算定した。一匹のマウスの頸髄、胸髄、腰髄のそれぞれの脊髄前角細胞数は、5枚のヘマトキシリン・エオシン染色切片の脊髄前角細胞数をすべて合計した全脊髄前角細胞数として算定した。すなわち、頸髄脊髄前角細胞数は、頸髄2部位10枚のヘマトキシリン・エオシン染色切片の脊髄前角細胞数をすべて合計した全脊髄前角細胞数を測定した後、5切片当たりの脊髄前角細胞数として算定した。胸髄脊髄前角細胞数は、胸髄3部位15枚のヘマトキシリン・エオシン染色切片の脊髄前角細胞数をすべて合計した全脊髄前角細胞数を測定した後、5切片当たりの脊髄前角細胞数として算定した。腰髄脊髄前角細胞数は、腰髄2部位10枚のヘマトキシリン・エオシン染色切片の脊髄前角細胞数をすべて合計した全脊髄前角細胞数を測定した後、5切片当たりの脊髄前角細胞数として算定した。

[0060] 7. 統計解析法

臨床症候学的評価の結果については、発症日、生存期間（四肢麻痺を呈し瀕死状態に至るまでの日数）、病悩期間（発症日を含め、四肢麻痺を呈し瀕死状態に至るまでの日数）、臨床症候学的評価の各ステージ度数の期間の各データ値は平均値±標準偏差で表示した。運動負荷試験の結果については、伸展反射試験、傾斜面角度試験、フットプリント試験、ロタロッド試験、ビ

ームバランス試験の各運動負荷試験の各スコア一値を平均値±標準偏差で表示した。病理組織学的検索結果については、算定した脊髄前角細胞数を平均値±標準偏差で表示した。

すべての統計解析はマッキントッシュソフトウェアのStatview (Ver. 5.0, SAS Institute Inc., カリフォルニア、米国) を用いて実施した。有意差検定にはMann-WhitneyのU検定とKaplan-Meier法のLogrank検定とを用い、危険率 $P < 0.05$ を持って統計的有意差があると判定した。

[0061] II. 結果

1. プラセボ・薬剤投与の各実験群の臨床症候学的評価の結果

1) プラセボ投与実験群：

プラセボ投与実験群におけるG1H-G93Aトランスジェニックマウスの発症日は、 99.9 ± 2.4 日、生存期間は、 119.7 ± 3.3 日、病悩期間 20.8 ± 2.3 日であった(表1A、2A、3A、4A)。プラセボ投与実験群におけるマウスの臨床症候学的評価の各ステージ度数の期間は、それぞれステージ1度= 6.6 ± 0.7 日、ステージ2度= 5.4 ± 0.8 日、ステージ3度= 4.3 ± 0.8 日、ステージ4度= 2.8 ± 0.6 日、ステージ5度= 1.7 ± 0.5 日であった(表1B、2B、3B、4B)(図1)。プラセボ投与実験群の正常対照群である野生型同腹仔マウスでは、10匹全例臨床症候学的評価のステージは全経過を通じて0度であった。

[0062] 2) 発症前化合物(a)投与治療実験群：

発症前化合物(a)投与治療実験群におけるG1H-G93Aトランスジェニックマウスの発症日は、 113.0 ± 4.8 日、生存期間は、 136.9 ± 3.8 日、病悩期間 24.9 ± 3.1 日であった(表1A)。発症前化合物(a)投与治療実験群におけるマウスの臨床症候学的評価の各ステージ度数の期間は、それぞれステージ1度= 7.5 ± 0.7 日、ステージ2度= 6.6 ± 1.2 日、ステージ3度= 5.4 ± 1.1 日、ステージ4度= 3.6 ± 0.7 日、ステージ5度= 1.8 ± 0.4 日であった(表1B)(図2

)。

[0063] 3) 発症後化合物 (a) 投与治療実験群 :

発症後化合物 (a) 投与治療実験群における G1H-G93A トランスジェニックマウスの発症日は、 99.8 ± 2.4 日、生存期間は、 122.7 ± 2.1 日、病悩期間 23.9 ± 1.7 日であった (表 2A)。発症後化合物 (a) 投与治療実験群におけるマウスの臨床症候学的評価の各ステージ度数の期間は、それぞれステージ 1 度 = 7.3 ± 0.7 日、ステージ 2 度 = 6.0 ± 0.7 日、ステージ 3 度 = 5.3 ± 0.9 日、ステージ 4 度 = 3.5 ± 0.5 日、ステージ 5 度 = 1.8 ± 0.4 日であった (表 2B) (図 3)。

[0064] 4) 発症前化合物 (b) 投与治療実験群 :

発症前化合物 (b) 投与治療実験群における発症日は、 111.6 ± 3.7 日、生存期間は、 134.9 ± 3.4 日、病悩期間 24.3 ± 3.4 日であった (表 3A)。発症前化合物 (b) 投与治療実験群におけるマウスの臨床症候学的評価の各ステージ度数の期間は、それぞれステージ 1 度 = 7.4 ± 0.7 日、ステージ 2 度 = 6.4 ± 1.2 日、ステージ 3 度 = 5.3 ± 1.2 日、ステージ 4 度 = 3.5 ± 0.5 日、ステージ 5 度 = 1.7 ± 0.5 日であった (表 3B) (図 4)。

[0065] 5) 発症前化合物 (c) 投与治療実験群 :

発症前化合物 (c) 投与治療実験群における G1H-G93A トランスジェニックマウスの発症日は、 112.0 ± 4.6 日、生存期間は、 136.4 ± 3.3 日、病悩期間 25.4 ± 3.2 日であった (表 4A)。発症前化合物 (c) 投与治療実験群におけるマウスの臨床症候学的評価の各ステージ度数の期間は、それぞれステージ 1 度 = 7.5 ± 0.9 日、ステージ 2 度 = 6.7 ± 1.2 日、ステージ 3 度 = 5.4 ± 1.1 日、ステージ 4 度 = 3.9 ± 1.1 日、ステージ 5 度 = 1.9 ± 0.3 日であった (表 4B) (図 5)。

[0066] 6) 発症後化合物 (c) 投与治療実験群 :

発症後化合物（c）投与治療実験群におけるG1H-G93Aトランスジェニックマウスの発症日は、 100.7 ± 4.3 日、生存期間は、 123.9 ± 3.2 日、病悩期間 24.2 ± 3.2 日であった（表5A）。発症後化合物（c）投与治療実験群におけるマウスの臨床症候学的評価の各ステージ度数の期間は、それぞれステージ1度= 7.6 ± 1.2 日、ステージ2度= 6.2 ± 0.8 日、ステージ3度= 5.4 ± 1.1 日、ステージ4度= 3.5 ± 0.5 日、ステージ5度= 1.5 ± 0.5 日であった（表5B）（図17）。

[0067] 7) 発症前アロプリノール投与治療実験群：

発症前アロプリノール投与治療実験群におけるG1H-G93Aトランスジェニックマウスの発症日は、 102.2 ± 4.4 日、生存期間は、 122.2 ± 1.3 日、病悩期間 21.0 ± 3.6 日であった（表6A）。発症前アロプリノール投与治療実験群におけるマウスの臨床症候学的評価の各ステージ度数の期間は、それぞれステージ1度= 6.8 ± 1.1 日、ステージ2度= 5.4 ± 1.3 日、ステージ3度= 4.4 ± 1.2 日、ステージ4度= 2.9 ± 0.7 日、ステージ5度= 1.5 ± 0.5 日であった（表6B）（図20）。

[0068] 2. 薬剤の有効性の臨床症候学的解析結果

1) 発症前化合物（a）投与治療の臨床症候学的有効性：

G1H-G93Aトランスジェニックマウスに、生後80日より $5\text{mg}/\text{kg}$ の化合物（a）を連日経口に投与することにより、プラセボ投与群より、発症日を有意に遅延させる発症遅延効果（ $P < 0.001$ 、Mann-Whitney U検定）、生存期間を有意に延長させる生存期間延長効果（ $P < 0.001$ 、Mann-Whitney U検定）、病悩期間を有意に延長させる病悩期間延長効果（ $P < 0.01$ 、Mann-Whitney U検定）を認めた（表1A）。さらに、プラセボ投与群と比較した発症前化合物（a）投与治療群の発症日（図6）、生存期間（図7）、病悩期間（図8）における各項目におけるKaplan-Meier法のLogrank

検定を施行したところ、各項目においてそれぞれ有意差を持って延長していた。すなわち、発症前化合物（a）投与によって、発症遅延効果、生存期間延長効果、病悩期間延長効果の各効果の明らかな有効性を認めた。臨床症候学的評価の各ステージ度数の期間に関して、発症前化合物（a）投与群はプラセボ投与群と比して、ステージ1度（ $P < 0.05$ 、Mann-Whitney U検定）、ステージ2度（ $P < 0.05$ 、Mann-Whitney U検定）、ステージ3度（ $P < 0.05$ 、Mann-Whitney U検定）、ステージ4度（ $P < 0.05$ 、Mann-Whitney U検定）の各項目においてそれぞれ有意差を持って延長していた（表1B）。

[0069] [表1]

1A

	N	発症日 (日数)	生存期間 (日数)	病悩期間 (日数)
プラセボ投与群	10	99.9±2.4	119.7±3.3	20.8±2.3
発症前化合物(a)投与群	10	113.0±4.8	136.9±3.8	24.9±3.1

N: 使用マウス匹数

P* < 0.001, Mann-Whitney U検定

P** < 0.01, Mann-Whitney U検定

1B

臨床症候ステージ	N	1度 (日数)	2度 (日数)	3度 (日数)	4度 (日数)	5度 (日数)
プラセボ投与群	10	6.6±0.7	5.4±0.8	4.3±0.8	2.8±0.6	1.7±0.5
発症前化合物(a)投与群	10	7.5±0.7	6.6±1.2	5.4±1.1	3.6±0.7	1.8±0.4

N: 使用マウス匹数

P* < 0.05, Mann-Whitney U検定

[0070] 2) 発症後化合物（a）投与の臨床症候学的有効性：

G1H-G93Aトランスジェニックマウスに、発症日より5mg/kgの化合物（a）を連日経口に投与することにより、プラセボ投与群より、病悩期間を有意に延長させる病悩期間延長効果（ $P < 0.05$ 、Mann-Whitney U検定）を認めたことにより、生存期間を有意に延長させる生存期間延長効果（ $P < 0.005$ 、Mann-Whitney U検定）をも示した（表2A）。加えて、プラセボ投与群と比較した発症後化合物（a）投与群の生存期間（図9）と病悩期間（図10）の2項目におけるKaplan-Meier法のLogrank検定を施行したところ、両項目においてそれぞれ有意差を持って延長していた。すなわち、発症後化合物（a

）投与によって、病悩期間延長効果に基づく生存期間延長効果の明らかな有効性を認めた。臨床症候学的評価の各ステージ度数の期間に関して、発症後化合物（a）投与群はプラセボ投与群と比して、ステージ3度（ $P < 0.05$ 、Mann-Whitney U検定）とステージ4度（ $P < 0.05$ 、Mann-Whitney U検定）の両項目においてそれぞれ有意差を持って延長していた（表2B）。

[0071] [表2]

2A

	N	発症日 (日数)	生存期間 (日数)	病悩期間 (日数)
プラセボ投与群	10	99.9±2.4	119.7±3.3	20.8±2.3
発症後化合物(a)投与群	10	99.8±2.4	122.7±2.1	23.9±1.7

N: 使用マウス匹数

P* < 0.005, Mann-Whitney U検定

P** < 0.05, Mann-Whitney U検定

2B

臨床症候ステージ	N	1度 (日数)	2度 (日数)	3度 (日数)	4度 (日数)	5度 (日数)
プラセボ投与群	10	6.6±0.7	5.4±0.8	4.3±0.8	2.8±0.6	1.7±0.5
発症後化合物(a)投与群	10	7.3±0.7	6.0±0.7	5.3±0.9	3.5±0.5	1.8±0.4

N: 使用マウス匹数

P* < 0.05, Mann-Whitney U検定

[0072] 3) 発症前化合物（b）投与治療の臨床症候学的有効性：

G1H-G93Aトランスジェニックマウスに、生後80日より5mg/kgの化合物（b）を連日経口に投与することにより、プラセボ投与群より、発症日を有意に遅延させる発症遅延効果（ $P < 0.001$ 、Mann-Whitney U検定）、生存期間を有意に延長させる生存期間延長効果（ $P < 0.001$ 、Mann-Whitney U検定）、病悩期間を有意に延長させる病悩期間延長効果（ $P < 0.01$ 、Mann-Whitney U検定）を認めた（表3A）。さらに、プラセボ投与群と比較した発症前化合物（b）投与群の発症日（図11）、生存期間（図12）、病悩期間（図13）における各項目におけるKaplan-Meier法のLogrank検定を施行したところ、各項目においてそれぞれ有意差を持って延長していた。すなわち、発症前化合物（b）投与によって、発症遅延効果、生存期

間延長効果、病悩期間延長効果の各効果の明らかな有効性を認めた。臨床症候学的評価の各ステージ度数の期間に関して、発症前化合物（b）投与群はプラセボ投与群と比して、ステージ1度（ $P < 0.05$ 、Mann-Whitney U検定）、ステージ2度（ $P < 0.05$ 、Mann-Whitney U検定）、ステージ3度（ $P < 0.05$ 、Mann-Whitney U検定）、ステージ4度（ $P < 0.05$ 、Mann-Whitney U検定）の各項目においてそれぞれ有意差を持って延長していた（表3B）。

[0073] [表3]

3A

	N	発症日 (日数)	生存期間 (日数)	病悩期間 (日数)
プラセボ投与群	10	99.9±2.4	119.7±3.3	20.8±2.3
発症前化合物(b)投与群	10	111.6±3.7	134.9±3.4	24.3±3.4

N: 使用マウス匹数

$P < 0.001$ 、Mann-Whitney U検定

$P < 0.01$ 、Mann-Whitney U検定

3B

臨床症候ステージ	N	1度 (日数)	2度 (日数)	3度 (日数)	4度 (日数)	5度 (日数)
プラセボ投与群	10	6.6±0.7	5.4±0.8	4.3±0.8	2.8±0.6	1.7±0.5
発症前化合物(b)投与群	10	7.4±0.7	6.4±1.2	5.3±1.2	3.5±0.5	1.7±0.5

N: 使用マウス匹数

$P < 0.05$ 、Mann-Whitney U検定

[0074] 4) 発症前化合物（c）投与治療の臨床症候学的有効性：

G1H-G93Aトランスジェニックマウスに、生後80日より5mg/kgの化合物（c）を連日経口に投与することにより、プラセボ投与群より、発症日を有意に遅延させる発症遅延効果（ $P < 0.001$ 、Mann-Whitney U検定）、生存期間を有意に延長させる生存期間延長効果（ $P < 0.001$ 、Mann-Whitney U検定）、病悩期間を有意に延長させる病悩期間延長効果（ $P < 0.01$ 、Mann-Whitney U検定）を認めた（表4A）。さらに、プラセボ投与群と比較した発症前化合物（c）投与治療群の発症日（図14）、生存期間（図15）、病悩期間（図16）における各項目におけるKaplan-Meier法のLogrank検定を施行したところ、各項目においてそれぞれ有意差を持って延長

していた。すなわち、発症前化合物（c）投与によって、発症遅延効果、生存期間延長効果、病悩期間延長効果の各効果の明らかな有効性を認めた。臨床症候学的評価の各ステージ度数の期間に関して、発症前化合物（c）投与群はプラセボ投与群と比して、ステージ1度（ $P < 0.05$ 、Mann-Whitney U検定）、ステージ2度（ $P < 0.05$ 、Mann-Whitney U検定）、ステージ3度（ $P < 0.05$ 、Mann-Whitney U検定）、ステージ4度（ $P < 0.05$ 、Mann-Whitney U検定）の各項目においてそれぞれ有意差を持って延長していた（表4B）。

[0075] [表4]

4A

	N	発症日 (日数)	生存期間 (日数)	病悩期間 (日数)
プラセボ投与群	10	99.9±2.4	119.7±3.3	20.8±2.3
発症前化合物(c)投与群	10	112.0±4.6	136.4±3.3	25.4±3.2

N: 使用マウス匹数

P* < 0.001 、Mann-Whitney U検定

P** < 0.01 、Mann-Whitney U検定

4B

臨床症候ステージ	N	1度 (日数)	2度 (日数)	3度 (日数)	4度 (日数)	5度 (日数)
プラセボ投与群	10	6.6±0.7	5.4±0.8	4.3±0.8	2.8±0.6	1.7±0.5
発症前化合物(c)投与群	10	7.5±0.9	6.7±1.2	5.4±1.1	3.9±1.1	1.9±0.3

N: 使用マウス匹数

P* < 0.05 、Mann-Whitney U検定

[0076] 5) 発症後化合物（c）投与の臨床症候学的有効性：

G1H-G93Aトランスジェニックマウスに、発症日より5mg/kgの化合物（c）を連日経口に投与することにより、プラセボ投与群より、病悩期間を有意に延長させる病悩期間延長効果（ $P < 0.05$ 、Mann-Whitney U検定）を認めたことにより、生存期間を有意に延長させる生存期間延長効果（ $P < 0.05$ 、Mann-Whitney U検定）をも示した（表5A）。加えて、プラセボ投与群と比較した発症後化合物（c）投与群の生存期間（図18）と病悩期間（図19）の2項目におけるKaplan-Meier法のLogrank検定を施行したところ、両項目に

においてそれぞれ有意差を持って延長していた。すなわち、発症後化合物（c）投与によって、病脳期間延長効果に基づく生存期間延長効果の明らかな有効性を認めた。臨床症候学的評価の各ステージ度数の期間に関して、発症後化合物（c）投与群はプラセボ投与群と比して、ステージ3度（ $P < 0.05$ 、Mann-Whitney U検定）とステージ4度（ $P < 0.05$ 、Mann-Whitney U検定）の両項目においてそれぞれ有意差を持って延長していた（表5B）。

[0077] [表5]

5A

	N	発症日（日数）	生存期間（日数）	病脳期間（日数）
プラセボ投与群	10	99.9±2.4	119.7±3.3	20.8±2.3
発症後化合物(c)投与群	10	100.7±4.3	123.9±3.2	24.2±3.2

N: 使用マウス匹数

$P < 0.05$, Mann-Whitney U検定

5B

臨床症候ステージ	N	1度（日数）	2度（日数）	3度（日数）	4度（日数）	5度（日数）
プラセボ投与群	10	6.6±0.7	5.4±0.8	4.3±0.8	2.8±0.6	1.7±0.5
発症後化合物(c)投与群	10	7.6±1.2	6.2±0.8	5.4±1.1	3.5±0.5	1.5±0.5

N: 使用マウス匹数

$P < 0.05$, Mann-Whitney U検定

[0078] 6) 発症前アロプリノール投与治療の臨床症候学的有効性:

G1H-G93Aトランスジェニックマウスに、生後80日より5mg/kgのアロプリノを連日経口に投与することにより、プラセボ投与群より、発症日を有意に遅延させる発症遅延効果（ $P > 0.05$ 、Mann-Whitney U検定）、生存期間を有意に延長させる生存期間延長（ $P > 0.05$ 、Mann-Whitney U検定）、病脳期間を有意に延長させる病脳期間延長効果（ $P > 0.05$ 、Mann-Whitney U検定）を認めなかった（表6A）。さらに、プラセボ投与群と比較したアロプリノール投与治療群の発症日（図21）、生存期間（図22）、病脳期間（図23

）における各項目におけるKaplan-Meier法のLogrank検定を施行したところ、各項目においてそれぞれ有意な延長を認めなかった。すなわち、発症前アロプリノール投与によって、発症遅延効果、生存期間延長効果、病脳期間延長効果の各効果の明らかな有効性を認めなかった。臨床症候学的評価の各ステージ度数の期間に関して、発症前アロプリノール投与群はプラセボ投与群と比して、ステージ1度（ $P > 0.05$ 、Mann-Whitney U検定）、ステージ2度（ $P > 0.05$ 、Mann-Whitney U検定）、ステージ3度（ $P > 0.05$ 、Mann-Whitney U検定）、ステージ4度（ $P > 0.05$ 、Mann-Whitney U検定）、ステージ5度（ $P > 0.05$ 、Mann-Whitney U検定）の各項目においてそれぞれ有意差を認めなかった（表6B）。

[0079] [表6]

6A

	N	発症日 (日数)	生存期間 (日数)	病脳期間 (日数)
プラセボ投与群	10	99.9±2.4	119.7±3.3	20.8±2.3
発症前アロプリノール投与群	10	102.2±4.4	122.2±1.3	21.0±3.6

N: 使用マウス匹数
 $P > 0.05$ 、Mann-Whitney U検定

6B

臨床症候ステージ	N	1度 (日数)	2度 (日数)	3度 (日数)	4度 (日数)	5度 (日数)
プラセボ投与群	10	6.6±0.7	5.4±0.8	4.3±0.8	2.8±0.6	1.7±0.5
発症前アロプリノール投与群	10	6.8±1.1	5.4±1.3	4.4±1.2	2.9±0.7	1.5±0.5

N: 使用マウス匹数
 $P > 0.05$ 、Mann-Whitney U検定

[0080] 3. プラセボ・薬剤投与の各実験群の運動負荷試験の結果

1) プラセボ投与実験群：

プラセボ投与実験群の正常対照群である野生型同腹仔マウスでは、伸展反射試験、傾斜面角度試験、フットプリント試験、ロタロッド試験、ビームバランス試験の各運動負荷試験において、それぞれのスコアは全経過を通じ

て10匹全例スコア=0であった。

プラセボ投与実験群におけるG1H-G93Aトランスジェニックマウスの各運動負荷試験の評価に関しては、以下の如くである。すなわち、伸展反射試験のスコアは、生後70日、75日、80日、85日、90日、95日ではスコア=0.0±0.0、100日ではスコア=0.4±0.5、105日ではスコア=1.0±0.0、110日ではスコア=1.4±0.5、115日ではスコア=1.9±0.3、120日以降140日まではスコア=2.0±0.0であった(表7~表9)。傾斜面角度試験のスコアは、生後70日、75日、80日、85日、90日、95日、100日ではスコア=0.0±0.0、105日ではスコア=0.2±0.4、110日ではスコア=1.0±0.8、115日ではスコア=2.3±0.5、120日以降140日まではスコア=3.0±0.0であった(表10~表12)。フットプリント試験のスコアは、生後70日、75日、80日、85日、90日、95日ではスコア=0.0±0.0、100日ではスコア=0.4±0.5、105日ではスコア=1.4±0.5、110日ではスコア=2.3±0.5、115日ではスコア=3.3±0.5、120日以降140日まではスコア=4.0±0.0であった(表13~表15)。ロタロッド試験のスコアは、生後70日、75日、80日、85日、90日、95日ではスコア=0.0±0.0、100日ではスコア=0.7±0.8、105日ではスコア=2.1±0.9、110日以降140日まではスコア=3.0±0.0であった(表16~表18)。ビームバランス試験のスコアは、生後70日、75日、80日、85日、90日、95日ではスコア=0.0±0.0、100日ではスコア=0.4±0.5、105日ではスコア=1.4±0.5、110日以降140日まではスコア=2.0±0.0であった(表19~表21)。

[0081] 2) 発症前化合物(a)投与治療実験群:

発症前化合物(a)投与治療実験群におけるG1H-G93Aトランスジ

エニックマウスの各運動負荷試験の評価に関しては、以下の如くである。すなわち、伸展反射試験のスコアは、生後70日、75日、80日、85日、90日、95日、100日、105日ではスコア=0.0±0.0、110日ではスコア=0.1±0.3、115日ではスコア=0.5±0.5、120日ではスコア=0.9±0.7、125日ではスコア=1.5±0.5、130日ではスコア=1.9±0.3、135日及び140日まではスコア=2.0±0.0であった（表7）。傾斜面角度試験のスコアは、生後70日、75日、80日、85日、90日、95日、100日、105日、110日ではスコア=0.0±0.0、115日ではスコア=0.1±0.3、120日ではスコア=0.4±0.5、125日ではスコア=1.1±0.9、130日ではスコア=2.1±0.9、135日ではスコア=2.7±0.5、140日ではスコア=3.0±0.0であった（表10）。フットプリント試験のスコアは、生後70日、75日、80日、85日、90日、95日、100日、105日ではスコア=0.0±0.0、110日ではスコア=0.1±0.3、115日ではスコア=0.6±0.7、120日ではスコア=1.8±0.9、125日ではスコア=2.8±0.4、130日ではスコア=3.4±0.5、135日ではスコア=3.9±0.3、140日ではスコア=4.0±0.0であった（表13）。ロタロッド試験のスコアは、生後70日、75日、80日、85日、90日、95日、100日、105日ではスコア=0.0±0.0、110日ではスコア=0.3±0.7、115日ではスコア=1.2±1.3、120日ではスコア=2.2±0.9、125日ではスコア=2.7±0.5、130日以降140日まではスコア=3.0±0.0であった（表16）。ビームバランス試験のスコアは、生後70日、75日、80日、85日、90日、95日、100日、105日ではスコア=0.0±0.0、110日ではスコア=0.1±0.3、115日ではスコア=0.7±0.8、120日ではスコア=1.2±0.9、125日ではスコア=1.7±0.5、130日以

降140日まではスコア $\bar{=}$ 2.0 \pm 0.0であった(表19)。

[0082] 3) 発症前化合物(b)投与治療実験群:

発症前化合物(b)投与治療実験群におけるG1H-G93Aトランスジェニックマウスの各運動負荷試験の評価に関しては、以下の如くである。すなわち、伸展反射試験のスコア $\bar{=}$ は、生後70日、75日、80日、85日、90日、95日、100日、105日ではスコア $\bar{=}$ 0.0 \pm 0.0、110日ではスコア $\bar{=}$ 0.1 \pm 0.3、115日ではスコア $\bar{=}$ 0.5 \pm 0.5、120日ではスコア $\bar{=}$ 1.3 \pm 0.5、125日ではスコア $\bar{=}$ 1.8 \pm 0.4、130日以降140日まではスコア $\bar{=}$ 2.0 \pm 0.0であった(表8)。傾斜面角度試験のスコア $\bar{=}$ は、生後70日、75日、80日、85日、90日、95日、100日、105日、110日ではスコア $\bar{=}$ 0.0 \pm 0.0、115日ではスコア $\bar{=}$ 0.1 \pm 0.3、120日ではスコア $\bar{=}$ 0.6 \pm 0.7、125日ではスコア $\bar{=}$ 1.4 \pm 0.7、130日ではスコア $\bar{=}$ 2.3 \pm 0.7、135日ではスコア $\bar{=}$ 2.9 \pm 0.3、140日ではスコア $\bar{=}$ 3.0 \pm 0.0であった(表11)。フットプリント試験のスコア $\bar{=}$ は、生後70日、75日、80日、85日、90日、95日、100日、105日ではスコア $\bar{=}$ 0.0 \pm 0.0、110日ではスコア $\bar{=}$ 0.1 \pm 0.3、115日ではスコア $\bar{=}$ 0.6 \pm 0.7、120日ではスコア $\bar{=}$ 1.8 \pm 1.0、125日ではスコア $\bar{=}$ 2.8 \pm 0.4、130日ではスコア $\bar{=}$ 3.4 \pm 0.5、135日ではスコア $\bar{=}$ 3.9 \pm 0.3、140日ではスコア $\bar{=}$ 4.0 \pm 0.0であった(表14)。ロタロッド試験のスコア $\bar{=}$ は、生後70日、75日、80日、85日、90日、95日、100日、105日ではスコア $\bar{=}$ 0.0 \pm 0.0、110日ではスコア $\bar{=}$ 0.5 \pm 0.7、115日ではスコア $\bar{=}$ 1.3 \pm 1.1、120日ではスコア $\bar{=}$ 2.5 \pm 0.5、125日以降140日まではスコア $\bar{=}$ 3.0 \pm 0.0であった(表17)。ビームバランス試験のスコア $\bar{=}$ は、生後70日、75日、80日、85日、90日、95日、100日、105日ではスコア $\bar{=}$ 0.0 \pm 0.0、110日ではスコア $\bar{=}$ 0.1 \pm 0.

3、115日ではスコア $\bar{=}$ 0.6 \pm 0.7、120日ではスコア $\bar{=}$ 1.5 \pm 0.5、125日以降140日まではスコア $\bar{=}$ 2.0 \pm 0.0であった(表20)。

[0083] 4) 発症前化合物(c)投与治療実験群:

発症前化合物(c)投与治療実験群におけるG1H-G93Aトランスジェニックマウスの各運動負荷試験の評価に関しては、以下の如くである。すなわち、伸展反射試験のスコア $\bar{=}$ は、生後70日、75日、80日、85日、90日、95日、100日、105日ではスコア $\bar{=}$ 0.0 \pm 0.0、110日ではスコア $\bar{=}$ 0.1 \pm 0.3、115日ではスコア $\bar{=}$ 0.5 \pm 0.5、120日ではスコア $\bar{=}$ 1.1 \pm 0.6、125日ではスコア $\bar{=}$ 1.7 \pm 0.5、130日以降140日まではスコア $\bar{=}$ 2.0 \pm 0.0であった(表9)。傾斜面角度試験のスコア $\bar{=}$ は、生後70日、75日、80日、85日、90日、95日、100日、105日、110日ではスコア $\bar{=}$ 0.0 \pm 0.0、115日ではスコア $\bar{=}$ 0.1 \pm 0.3、120日ではスコア $\bar{=}$ 0.8 \pm 0.6、125日ではスコア $\bar{=}$ 1.2 \pm 0.8、130日ではスコア $\bar{=}$ 2.3 \pm 0.7、135日ではスコア $\bar{=}$ 2.9 \pm 0.3、140日ではスコア $\bar{=}$ 3.0 \pm 0.0であった(表12)。フットプリント試験のスコア $\bar{=}$ は、生後70日、75日、80日、85日、90日、95日、100日、105日ではスコア $\bar{=}$ 0.0 \pm 0.0、110日ではスコア $\bar{=}$ 0.1 \pm 0.3、115日ではスコア $\bar{=}$ 0.7 \pm 0.8、120日ではスコア $\bar{=}$ 1.6 \pm 1.0、125日ではスコア $\bar{=}$ 2.7 \pm 0.5、130日ではスコア $\bar{=}$ 3.3 \pm 0.5、135日ではスコア $\bar{=}$ 3.9 \pm 0.3、140日ではスコア $\bar{=}$ 4.0 \pm 0.0であった(表15)。ロタロッド試験のスコア $\bar{=}$ は、生後70日、75日、80日、85日、90日、95日、100日、105日ではスコア $\bar{=}$ 0.0 \pm 0.0、110日ではスコア $\bar{=}$ 0.4 \pm 0.8、115日ではスコア $\bar{=}$ 1.3 \pm 1.3、120日ではスコア $\bar{=}$ 2.5 \pm 0.5、125日以降140日まではスコア $\bar{=}$ 3.0 \pm 0.0であった(表18)。ビームバランス試験のスコア $\bar{=}$ は

、生後70日、75日、80日、85日、90日、95日、100日、105日ではスコア＝0.0±0.0、110日ではスコア＝0.1±0.3、115日ではスコア＝0.7±0.8、120日ではスコア＝1.4±0.7、125日以降140日まではスコア＝2.0±0.0であった(表21)。

[0084] 4. 薬剤の有効性の運動負荷試験の解析結果

1) 発症前化合物(a)投与治療の運動負荷試験における有効性：

G1H-G93Aトランスジェニックマウスに、生後80日より5mg/kgの化合物(a)を連日経口に投与することにより、伸展反射試験に関しては、プラセボ投与群に比べて、105日、110日、115日、120日において、有意な有効効果(P<0.005、Mann-Whitney U検定)を示した(表7)。傾斜面角度試験に関しては、プラセボ投与群に比べて、110日、115日、120日、125日、130日において、有意な有効効果(P<0.05、Mann-Whitney U検定)を示した(表10)。フットプリント試験に関しては、プラセボ投与群に比べて、105日、110日、115日、120日、125日、130日において、有意な有効効果(P<0.05、Mann-Whitney U検定)を示した(表13)。ロタロッド試験に関しては、プラセボ投与群に比べて、105日、110日、115日において、有意な有効効果(P<0.005、Mann-Whitney U検定)を示した(表16)。ビームバランス試験に関しては、プラセボ投与群に比べて、105日、110日、115日において、有意な有効効果(P<0.005、Mann-Whitney U検定)を示した(表19)。

[0085] 2) 発症前化合物(b)投与治療の運動負荷試験における有効性：

G1H-G93Aトランスジェニックマウスに、生後80日より5mg/kgの化合物(b)を連日経口に投与することにより、伸展反射試験に関しては、プラセボ投与群に比べて、105日、110日、115日、120日において、有意な有効効果(P<0.01、Mann-Whitney U

検定)を示した(表8)。傾斜面角度試験に関しては、プラセボ投与群に比べて、110日、115日、120日、125日、130日において、有意な有効効果($P < 0.05$ 、Mann-Whitney U検定)を示した(表11)。フットプリント試験に関しては、プラセボ投与群に比べて、105日、110日、115日、120日、125日、130日において、有意な有効効果($P < 0.05$ 、Mann-Whitney U検定)を示した(表14)。ロタロッド試験に関しては、プラセボ投与群に比べて、105日、110日、115日において、有意な有効効果($P < 0.001$ 、Mann-Whitney U検定)を示した(表17)。ビームバランス試験に関しては、プラセボ投与群に比べて、105日、110日、115日において、有意な有効効果($P < 0.001$ 、Mann-Whitney U検定)を示した(表20)。

[0086] 3) 発症前化合物(c)投与治療の運動負荷試験における有効性:

G1H-G93Aトランスジェニックマウスに、生後80日より5mg/kgの化合物(c)を連日経口に投与することにより、伸展反射試験に関しては、プラセボ投与群に比べて、105日、110日、115日、120日において、有意な有効効果($P < 0.005$ 、Mann-Whitney U検定)を示した(表9)。傾斜面角度試験に関しては、プラセボ投与群に比べて、110日、115日、120日、125日、130日において、有意な有効効果($P < 0.05$ 、Mann-Whitney U検定)を示した(表12)。フットプリント試験に関しては、プラセボ投与群に比べて、105日、110日、115日、120日、125日、130日において、有意な有効効果($P < 0.01$ 、Mann-Whitney U検定)を示した(表15)。ロタロッド試験に関しては、プラセボ投与群に比べて、105日、110日、115日において、有意な有効効果($P < 0.005$ 、Mann-Whitney U検定)を示した(表18)。ビームバランス試験に関しては、プラセボ投与群に比べて、105日、110日、115日において、有意な有効効果($P < 0.005$ 、Mann-Whitney

U検定)を示した(表21)。

[0087] [表7]

伸展反射試験

生後日数	プラセボ投与群	発症前化合物 (a) 投与群	Mann-Whitney U検定	
生後70日	0.0±0.0	0.0±0.0	p>0.9	
生後75日	0.0±0.0	0.0±0.0	p>0.9	
生後80日	0.0±0.0	0.0±0.0	p>0.9	
生後85日	0.0±0.0	0.0±0.0	p>0.9	
生後90日	0.0±0.0	0.0±0.0	p>0.9	
生後95日	0.0±0.0	0.0±0.0	p>0.9	
生後100日	0.4±0.5	0.0±0.0	P=0.13	
生後105日	1.0±0.0	0.0±0.0	P=0.0002	<0.0005
生後110日	1.4±0.5	0.1±0.3	P=0.0004	<0.0005
生後115日	1.9±0.3	0.5±0.5	P=0.0003	<0.0005
生後120日	2.0±0.0	0.9±0.7	P=0.0025	<0.005
生後125日	2.0±0.0	1.5±0.5	P=0.0588	
生後130日	2.0±0.0	1.9±0.3	p>0.9	
生後135日	2.0±0.0	2.0±0.0	p>0.9	
生後140日	2.0±0.0	2.0±0.0	p>0.9	

[0088] [表8]

伸展反射試験

生後日数	プラセボ投与群	発症前化合物 (b) 投与群	Mann-Whitney U検定	
生後70日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後75日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後80日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後85日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後90日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後95日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後100日	0.4±0.5	0.0±0.0	P=0.13	
生後105日	1.0±0.0	0.0±0.0	P=0.0002	<0.0005
生後110日	1.4±0.5	0.1±0.3	P=0.0004	<0.0005
生後115日	1.9±0.3	0.5±0.5	P=0.0003	<0.0005
生後120日	2.0±0.0	1.3±0.5	P=0.008	<0.01
生後125日	2.0±0.0	1.8±0.4	P=0.44	
生後130日	2.0±0.0	2.0±0.0	P>0.99	
生後135日	2.0±0.0	2.0±0.0	P>0.99	
生後140日	2.0±0.0	2.0±0.0	P>0.99	

[0089]

[表9]

伸展反射試験

生後日数	プラセボ投与群	発症前化合物 (c) 投与群	Mann-Whitney U 検定	
生後70日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後75日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後80日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後85日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後90日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後95日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後100日	0.4±0.5	0.0±0.0	P=0.13	
生後105日	1.0±0.0	0.0±0.0	P=0.0002	<0.0005
生後110日	1.4±0.5	0.1±0.3	P=0.0004	<0.0005
生後115日	1.9±0.3	0.5±0.5	P=0.0003	<0.0005
生後120日	2.0±0.0	1.1±0.6	P=0.0025	<0.005
生後125日	2.0±0.0	1.7±0.5	P=0.25	
生後130日	2.0±0.0	2.0±0.0	P>0.99	
生後135日	2.0±0.0	2.0±0.0	P>0.99	
生後140日	2.0±0.0	2.0±0.0	P>0.99	

[0090] [表10]

傾斜面角度試験

生後日数	プラセボ投与群	発症前化合物 (a) 投与群	Mann-Whitney U 検定	
生後70日	0.0±0.0	0.0±0.0	p>0.99	
生後75日	0.0±0.0	0.0±0.0	p>0.99	
生後80日	0.0±0.0	0.0±0.0	p>0.99	
生後85日	0.0±0.0	0.0±0.0	p>0.99	
生後90日	0.0±0.0	0.0±0.0	p>0.99	
生後95日	0.0±0.0	0.0±0.0	p>0.99	
生後100日	0.0±0.0	0.0±0.0	p>0.99	
生後105日	0.2±0.4	0.0±0.0	P=0.44	
生後110日	1.0±0.8	0.0±0.0	P=0.0082	<0.01
生後115日	2.3±0.5	0.1±0.3	P=0.0002	<0.0005
生後120日	3.0±0.0	0.4±0.5	P=0.0002	<0.0005
生後125日	3.0±0.0	1.1±0.9	P=0.0002	<0.0005
生後130日	3.0±0.0	2.1±0.9	p=0.023	<0.05
生後135日	3.0±0.0	2.7±0.5	P=0.25	
生後140日	3.0±0.0	3.0±0.0	p>0.99	

[0091]

[表11]

傾斜面角度試験

生後日数	プラセボ投与群	発症前化合物 (b) 投与群	Mann-Whitney U 検定	
生後70日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後75日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後80日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後85日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後90日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後95日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後100日	0.0±0.0	0.0±0.0	P=0.13	
生後105日	0.2±0.4	0.0±0.0	P=0.449	
生後110日	1.0±0.8	0.0±0.0	P=0.0082	<0.01
生後115日	2.3±0.5	0.1±0.3	P=0.0002	<0.0005
生後120日	3.0±0.0	0.6±0.7	P=0.0002	<0.0005
生後125日	3.0±0.0	1.4±0.7	P=0.0002	<0.0005
生後130日	3.0±0.0	2.3±0.7	P=0.023	<0.05
生後135日	3.0±0.0	2.9±0.3	P=0.705	
生後140日	3.0±0.0	3.0±0.0	P>0.99	

[0092] [表12]

傾斜面角度試験

生後日数	プラセボ投与群	発症前化合物 (c) 投与群	Mann-Whitney U 検定	
生後70日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後75日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後80日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後85日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後90日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後95日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後100日	0.0±0.0	0.0±0.0	P=0.13	
生後105日	0.2±0.4	0.0±0.0	P=0.449	
生後110日	1.0±0.8	0.0±0.0	P=0.0082	<0.01
生後115日	2.3±0.5	0.1±0.3	P=0.0002	<0.0005
生後120日	3.0±0.0	0.8±0.6	P=0.0002	<0.0005
生後125日	3.0±0.0	1.2±0.8	P=0.0002	<0.0005
生後130日	3.0±0.0	2.3±0.7	P=0.023	<0.05
生後135日	3.0±0.0	2.9±0.3	P=0.705	
生後140日	3.0±0.0	3.0±0.0	P>0.99	

[0093]

[表13]

フットプリント試験

生後日数	プラセボ投与群	発症前化合物 (a) 投与群	Mann-Whitney U 検定	
生後70日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後75日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後80日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後85日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後90日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後95日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後100日	0.4±0.5	0.0±0.0	P=0.13	
生後105日	1.4±0.5	0.0±0.0	P=0.0002	<0.0005
生後110日	2.3±0.5	0.1±0.3	P=0.0002	<0.0005
生後115日	3.3±0.5	0.6±0.7	P=0.0002	<0.0005
生後120日	4.0±0.0	1.8±0.9	P=0.0002	<0.0005
生後125日	4.0±0.0	2.8±0.4	P=0.0002	<0.0005
生後130日	4.0±0.0	3.4±0.5	p=0.0233	<0.05
生後135日	4.0±0.0	3.9±0.3	p=0.256	
生後140日	4.0±0.0	4.0±0.0	P>0.99	

[0094] [表14]

フットプリント試験

生後日数	プラセボ投与群	発症前化合物 (b) 投与群	Mann-Whitney U 検定	
生後70日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後75日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後80日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後85日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後90日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後95日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後100日	0.4±0.5	0.0±0.0	P=0.13	
生後105日	1.4±0.5	0.0±0.0	P=0.0002	<0.0005
生後110日	2.3±0.5	0.1±0.3	P=0.0002	<0.0005
生後115日	3.3±0.5	0.6±0.7	P=0.0002	<0.0005
生後120日	4.0±0.0	1.8±1.0	P=0.0002	<0.0005
生後125日	4.0±0.0	2.8±0.4	P=0.0002	<0.0005
生後130日	4.0±0.0	3.4±0.5	P=0.0233	<0.05
生後135日	4.0±0.0	3.9±0.3	P=0.7055	
生後140日	4.0±0.0	4.0±0.0	P>0.99	

[0095]

[表15]

フットプリント試験

生後日数	プラセボ投与群	発症前化合物 (c) 投与群	Mann-Whitney U 検定	
生後70日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後75日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後80日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後85日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後90日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後95日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後100日	0.4±0.5	0.0±0.0	P=0.13	
生後105日	1.4±0.5	0.0±0.0	P=0.0002	<0.0005
生後110日	2.3±0.5	0.1±0.3	P=0.0002	<0.0005
生後115日	3.3±0.5	0.7±0.8	P=0.0002	<0.0005
生後120日	4.0±0.0	1.6±1.0	P=0.0002	<0.0005
生後125日	4.0±0.0	2.7±0.5	P=0.0002	<0.0005
生後130日	4.0±0.0	3.3±0.5	P=0.0082	<0.01
生後135日	4.0±0.0	3.9±0.3	P=0.7055	
生後140日	4.0±0.0	4.0±0.0	P>0.99	

[0096] [表16]

ロタロッド試験

生後日数	プラセボ投与群	発症前化合物 (a) 投与群	Mann-Whitney U 検定	
生後70日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後75日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後80日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後85日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後90日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後95日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後100日	0.7±0.8	0.0±0.0	P=0.0588	
生後105日	2.1±0.9	0.0±0.0	P=0.0002	<0.0005
生後110日	3.0±0.0	0.3±0.7	P=0.0002	<0.0005
生後115日	3.0±0.0	1.2±1.3	P=0.0025	<0.005
生後120日	3.0±0.0	2.2±0.9	P=0.0588	
生後125日	3.0±0.0	2.7±0.5	P=0.2568	
生後130日	3.0±0.0	3.0±0.0	P>0.99	
生後135日	3.0±0.0	3.0±0.0	P>0.99	
生後140日	3.0±0.0	3.0±0.0	P>0.99	

[0097]

[表17]

ロタロッド試験

生後日数	プラセボ投与群	発症前化合物 (b) 投与群	Mann-Whitney U 検定	
生後70日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後75日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後80日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後85日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後90日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後95日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後100日	0.7±0.8	0.0±0.0	P=0.0588	
生後105日	2.1±0.9	0.0±0.0	P=0.0002	<0.0005
生後110日	3.0±0.0	0.5±0.7	P=0.0002	<0.0005
生後115日	3.0±0.0	1.3±1.1	P=0.0007	<0.001
生後120日	3.0±0.0	2.5±0.5	P=0.0588	
生後125日	3.0±0.0	3.0±0.0	P>0.99	
生後130日	3.0±0.0	3.0±0.0	P>0.99	
生後135日	3.0±0.0	3.0±0.0	P>0.99	
生後140日	3.0±0.0	3.0±0.0	P>0.99	

[0098] [表18]

ロタロッド試験

生後日数	プラセボ投与群	発症前化合物 (c) 投与群	Mann-Whitney U 検定	
生後70日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後75日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後80日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後85日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後90日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後95日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後100日	0.7±0.8	0.0±0.0	P=0.0588	
生後105日	2.1±0.9	0.0±0.0	P=0.0002	<0.0005
生後110日	3.0±0.0	0.4±0.8	P=0.0002	<0.0005
生後115日	3.0±0.0	1.3±1.3	P=0.0025	<0.005
生後120日	3.0±0.0	2.5±0.5	P=0.0588	
生後125日	3.0±0.0	3.0±0.0	P>0.99	
生後130日	3.0±0.0	3.0±0.0	P>0.99	
生後135日	3.0±0.0	3.0±0.0	P>0.99	
生後140日	3.0±0.0	3.0±0.0	P>0.99	

[0099]

[表19]

ビームバランス試験

生後日数	プラセボ投与群	発症前化合物 (a) 投与群	Mann-Whitney U検定	
生後70日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後75日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後80日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後85日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後90日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後95日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後100日	0.4±0.5	0.0±0.0	P=0.13	
生後105日	1.4±0.5	0.0±0.0	P=0.0002	<0.0005
生後110日	2.0±0.0	0.1±0.3	P=0.0002	<0.0005
生後115日	2.0±0.0	0.7±0.8	P=0.0025	<0.005
生後120日	2.0±0.0	1.2±0.9	P=0.0588	
生後125日	2.0±0.0	1.7±0.5	P=0.2568	
生後130日	2.0±0.0	2.0±0.0	P>0.99	
生後135日	2.0±0.0	2.0±0.0	P>0.99	
生後140日	2.0±0.0	2.0±0.0		

[0100] [表20]

ビームバランス試験

生後日数	プラセボ投与群	発症前化合物 (b) 投与群	Mann-Whitney U検定	
生後70日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後75日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後80日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後85日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後90日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後95日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後100日	0.4±0.5	0.0±0.0	P=0.13	
生後105日	1.4±0.5	0.0±0.0	P=0.0002	<0.0005
生後110日	2.0±0.0	0.1±0.3	P=0.0002	<0.0005
生後115日	2.0±0.0	0.6±0.7	P=0.0007	<0.001
生後120日	2.0±0.0	1.5±0.5	P=0.0588	
生後125日	2.0±0.0	2.0±0.0	P>0.99	
生後130日	2.0±0.0	2.0±0.0	P>0.99	
生後135日	2.0±0.0	2.0±0.0	P>0.99	
生後140日	2.0±0.0	2.0±0.0	P>0.99	

[0101]

[表21]

ビームバランス試験

生後日数	プラセボ投与群	発症前化合物 (c) 投与群	Mann-Whitney U 検定	
生後70日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後75日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後80日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後85日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後90日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後95日	0.0±0.0	0.0±0.0	P>0.99	
生後100日	0.4±0.5	0.0±0.0	P=0.13	
生後105日	1.4±0.5	0.0±0.0	P=0.0002	<0.0005
生後110日	2.0±0.0	0.1±0.3	P=0.0002	<0.0005
生後115日	2.0±0.0	0.7±0.8	P=0.0025	<0.005
生後120日	2.0±0.0	1.4±0.7	P=0.0588	
生後125日	2.0±0.0	2.0±0.0	P>0.99	
生後130日	2.0±0.0	2.0±0.0	P>0.99	
生後135日	2.0±0.0	2.0±0.0	P>0.99	
生後140日	2.0±0.0	2.0±0.0	P>0.99	

[0102] 5. プラセボ・薬剤投与の各実験群の病理組織学的検索結果

1) プラセボ投与実験群：

プラセボ投与実験群におけるG1H-G93Aトランスジェニックマウスにおいては、頸髄における脊髄細胞数=4.3±3.5、胸髄における脊髄細胞数=2.5±4.3、腰髄における脊髄細胞数=3.7±2.4であった。(表22、23、24、25)。

[0103] 2) 発症前化合物 (a) 投与治療実験群：

発症前化合物 (a) 投与治療実験群におけるG1H-G93Aトランスジェニックマウスにおいては、頸髄における脊髄細胞数=3.3±3.1、胸髄における脊髄細胞数=1.6±2.1、腰髄における脊髄細胞数=3.7±3.3であった(表22)。

[0104] 3) 発症後化合物 (a) 投与治療実験群：

発症後化合物 (a) 投与治療実験群におけるG1H-G93Aトランスジェニックマウスにおいては、頸髄における脊髄細胞数=4.8±3.7、胸髄における脊髄細胞数=2.3±2.2、腰髄における脊髄細胞数=4.1±4.4であった(表23)。

[0105] 4) 発症前化合物 (b) 投与治療実験群 :

発症前化合物 (b) 投与治療実験群における G1H-G93A トランスジェニックマウスにおいては、頸髄における脊髄細胞数 = 4.6 ± 2.0 、胸髄における脊髄細胞数 = 1.9 ± 1.7 、腰髄における脊髄細胞数 = 5.3 ± 2.7 であった (表 24)。

[0106] 5) 発症前化合物 (c) 投与治療実験群 :

発症前化合物 (c) 投与治療実験群における G1H-G93A トランスジェニックマウスにおいては、頸髄における脊髄細胞数 = 5.2 ± 4.3 、胸髄における脊髄細胞数 = 1.6 ± 1.7 、腰髄における脊髄細胞数 = 4.1 ± 3.8 あった (表 25)。

[0107] 6. 薬剤投与治療による病理組織学的解析結果

1) 発症前化合物 (a) 投与治療による病理組織学的解析結果 :

G1H-G93A トランスジェニックマウスに生後 80 日より 5 mg/kg の化合物 (a) を連日経口に投与した治療実験群の終末病理組織像の脊髄前角細胞数とプラセボ投与実験群の終末病理組織像の脊髄前角細胞数との間には、頸髄、胸髄、腰髄において、それぞれ有意差は見られなかった (表 22) ($P > 0.05$, Mann-Whitney U 検定)。

[0108] 2) 発症後化合物 (a) 投与治療による病理組織学的解析結果 :

G1H-G93A トランスジェニックマウスに発症日より 5 mg/kg の化合物 (a) を連日経口に投与した治療実験群の終末病理組織像の脊髄前角細胞数とプラセボ投与実験群の終末病理組織像の脊髄前角細胞数との間には、頸髄、胸髄、腰髄において、それぞれ有意差は見られなかった (表 23) ($P > 0.05$, Mann-Whitney U 検定)。

[0109] 3) 発症前化合物 (b) 投与治療による病理組織学的解析結果 :

G1H-G93A トランスジェニックマウスに生後 80 日より 5 mg/kg の化合物 (b) を連日経口に投与した治療実験群の終末病理組織像の脊髄前角細胞数とプラセボ投与実験群の終末病理組織像の脊髄前角細胞数との間には、頸髄、胸髄、腰髄において、それぞれ有意差は見られなかった (表 2

4) ($P > 0.05$, Mann-Whitney U検定)。

[0110] 4) 発症前化合物 (c) 投与治療による病理組織学的解析結果：

G1H-G93Aトランスジェニックマウスに生後80日より5mg/kgの化合物 (c) を連日経口に投与した治療実験群の終末病理組織像の脊髄前角細胞数とプラセボ投与実験群の終末病理組織像の脊髄前角細胞数との間には、頸髄、胸髄、腰髄において、それぞれ有意差は見られなかった (表25) ($P > 0.05$, Mann-Whitney U検定)。

[0111] [表22]

病理組織学的解析結果

	N	頸髄前角細胞数	胸髄前角細胞数	腰髄前角細胞数
プラセボ投与群	10	4.3±3.5	2.5±4.3	3.7±2.4
発症前化合物(a)投与群	10	3.3±3.1	1.6±2.1	3.7±3.3

N: 使用マウス匹数
 $P > 0.05$, Mann-Whitney U検定

[0112] [表23]

病理組織学的解析結果

	N	頸髄前角細胞数	胸髄前角細胞数	腰髄前角細胞数
プラセボ投与群	10	4.3±3.5	2.5±4.3	3.7±2.4
発症後化合物(a)投与群	10	4.8±3.7	2.3±2.2	4.1±4.4

N: 使用マウス匹数
 $P > 0.05$, Mann-Whitney U検定

[0113] [表24]

病理組織学的解析結果

	N	頸髄前角細胞数	胸髄前角細胞数	腰髄前角細胞数
プラセボ投与群	10	4.3±3.5	2.5±4.3	3.7±2.4
発症前化合物(b)投与群	10	4.6±2.0	1.9±1.7	5.3±2.7

N: 使用マウス匹数
 $P > 0.05$, Mann-Whitney U検定

[0114] [表25]

病理組織学的解析結果

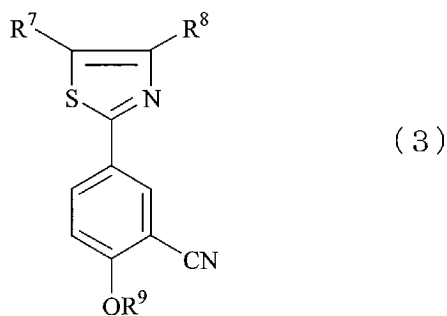
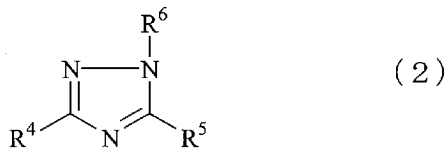
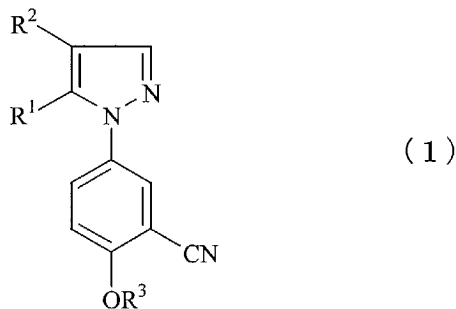
	N	頸髄前角細胞数	胸髄前角細胞数	腰髄前角細胞数
プラセボ投与群	10	4.3±3.5	2.5±4.3	3.7±2.4
発症前化合物(c)投与群	10	5.2±4.3	1.6±1.7	4.1±3.8

N: 使用マウス匹数
 $P > 0.05$, Mann-Whitney U検定

請求の範囲

- [1] キサンチン脱水素酵素阻害作用を有しかつプリンサルベージ回路の基質とならない化合物を含有することを特徴とする筋萎縮性側索硬化症治療薬。
- [2] 前記化合物が、次の一般式（１）、（２）又は（３）で表される化合物又はその塩である請求項１記載の筋萎縮性側索硬化症治療薬。

[化1]



（式中、R¹は水素原子、ハロゲン原子又はアミノ基を示し；

R²はカルボキシル基又はC₁₋₄アルコキシカルボニル基を示し；

R³はハロゲン、ヒドロキシ、C₁₋₄アルコキシ、カルボキシ、C₁₋₄アルコキシカルボニル及びアシルオキシから選ばれる1～2個の置換基を有していてもよいC₄₋₆アルキル基、C₃₋₆シクロアルキル基又はC₃₋₆シクロアルキル-C₁₋₄アルキル基を示し；

R⁴は、ハロゲン、シアノ及びフェニルから選ばれる1～2個の置換基を有していてもよいピリジル基；又はシアノ、ニトロ、C₁₋₄アルコキシ、N-C₁₋₄アルキルピペラジノ、C₁₋₄アルキルチオ、フェニルチオ及びC₁₋₄アルキルアミノから選ばれる1～2個の置換基を有していてもよいフェニル基を示し；

R⁵はシアノ、C₁₋₄アルキル、ハロゲン、C₁₋₄アルコキシ及びC₁₋₄アルキルチオから選ばれる置換基を有していてもよいピリジル基を示し；

R⁶は水素原子、又はピバロイルオキシ-C₁₋₄アルキル基を示し；

R⁷はカルボキシル基、C₁₋₆アルコキシカルボニル基、カルバモイル基、又はモノ-もしくはジ-C₁₋₆アルキルアミノカルボニル基を示し；

R⁸は水素原子、C₁₋₆アルキル基又はフェニル基を示し；

R⁹は水素原子又はC₁₋₁₀アルキル基を示す。）

[3] 式(1)中のR¹が水素原子、ハロゲン原子又はアミノ基であり；R²がカルボキシル基又はC₁₋₄アルコキシカルボニル基であり；R³がC₄₋₆アルキル基、C₃₋₆シクロアルキル基又はC₃₋₆シクロアルキル-C₁₋₄アルキル基であり；

式(2)中のR⁴がシアノ、ハロゲン、C₁₋₆アルコキシ及びC₁₋₆アルキルチオから選ばれる1又は2個の置換基を有するピリジル基であり；R⁵がシアノ、ハロゲン、C₁₋₆アルコキシ及びC₁₋₆アルキルチオから選ばれる1又は2個の置換基を有していてもよいピリジル基であり；R⁶が水素原子であり；

式(3)中のR⁷がカルボキシル基又はC₁₋₆アルコキシカルボニル基であり；

R⁸が水素原子又はC₁₋₆アルキル基であり；

R⁹がC₁₋₈アルキル基である請求項2記載の筋萎縮性側索硬化症治療薬。

[4] 式(1)中のR¹が水素原子、R²がカルボキシル基、R³がC₄₋₆アルキル基であり；式(2)中のR⁴がシアノピリジル基、R⁵がピリジル基であり；式(3)中のR⁷がカルボキシル基、R⁸がC₁₋₆アルキル基であり、R⁹がC

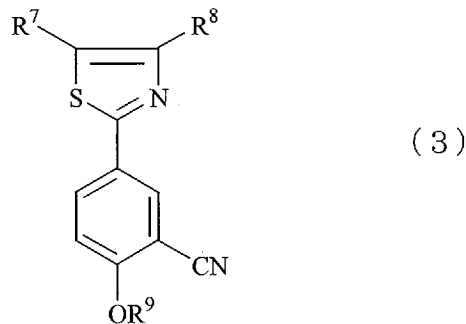
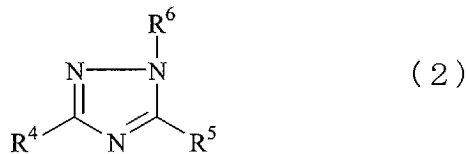
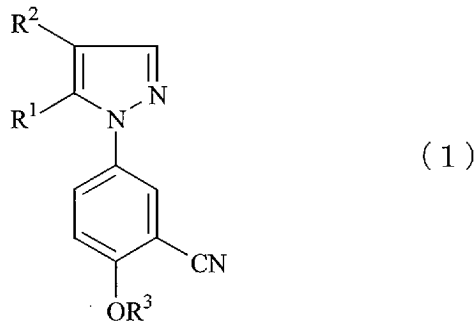
2-6 アルキル基である請求項 2 又は 3 記載の筋萎縮性側索硬化症治療薬。

[5] 式 (1) 中の R¹が水素原子、R²がカルボキシル基、R³がネオペンチル基であり；式 (2) 中の R⁴が 2-シアノピリジン-4-イル基であり、R⁵がピリジン-4-イル基であり；式 (3) 中の R⁷がカルボキシル基、R⁸がメチル基、R⁹がイソブチル基である請求項 2~4 のいずれか 1 項記載の筋萎縮性側索硬化症治療薬。

[6] キサンチン脱水素酵素阻害作用を有しかつプリンサルベージ回路の基質とならない化合物の、筋萎縮性側索硬化症治療薬製造のための使用。

[7] 前記化合物が、次の一般式 (1)、(2) 又は (3) で表される化合物又はその塩である請求項 6 記載の使用。

[化2]



(式中、R¹は水素原子、ハロゲン原子又はアミノ基を示し；

R^2 はカルボキシル基又は C_{1-4} アルコキシカルボニル基を示し；

R^3 はハロゲン、ヒドロキシ、 C_{1-4} アルコキシ、カルボキシ、 C_{1-4} アルコキシカルボニル及びアシルオキシから選ばれる1～2個の置換基を有していてもよい C_{4-6} アルキル基、 C_{3-6} シクロアルキル基又は C_{3-6} シクロアルキル- C_{1-4} アルキル基を示し；

R^4 は、ハロゲン、シアノ及びフェニルから選ばれる1～2個の置換基を有していてもよいピリジル基；又はシアノ、ニトロ、 C_{1-4} アルコキシ、 $N-C_{1-4}$ アルキルピペラジノ、 C_{1-4} アルキルチオ、フェニルチオ及び C_{1-4} アルキルアミノから選ばれる1～2個の置換基を有していてもよいフェニル基を示し；

R^5 はシアノ、 C_{1-4} アルキル、ハロゲン、 C_{1-4} アルコキシ及び C_{1-4} アルキルチオから選ばれる置換基を有していてもよいピリジル基を示し；

R^6 は水素原子、又はピバロイルオキシ- C_{1-4} アルキル基を示し；

R^7 はカルボキシル基、 C_{1-6} アルコキシカルボニル基、カルバモイル基、又はモノ-もしくはジ- C_{1-6} アルキルアミノカルボニル基を示し；

R^8 は水素原子、 C_{1-6} アルキル基又はフェニル基を示し；

R^9 は水素原子又は C_{1-10} アルキル基を示す。）

[8] 式(1)中の R^1 が水素原子、ハロゲン原子又はアミノ基であり； R^2 がカルボキシル基又は C_{1-4} アルコキシカルボニル基であり； R^3 が C_{4-6} アルキル基、 C_{3-6} シクロアルキル基又は C_{3-6} シクロアルキル- C_{1-4} アルキル基であり；

式(2)中の R^4 がシアノ、ハロゲン、 C_{1-6} アルコキシ及び C_{1-6} アルキルチオから選ばれる1又は2個の置換基を有するピリジル基であり； R^5 がシアノ、ハロゲン、 C_{1-6} アルコキシ及び C_{1-6} アルキルチオから選ばれる1又は2個の置換基を有していてもよいピリジル基であり； R^6 が水素原子であり；

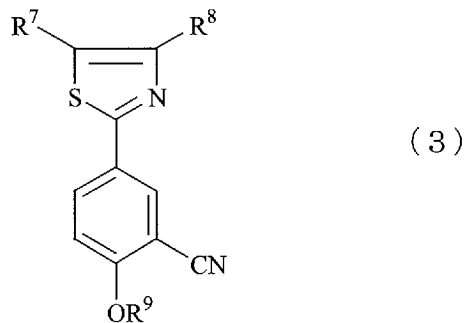
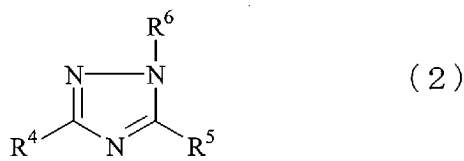
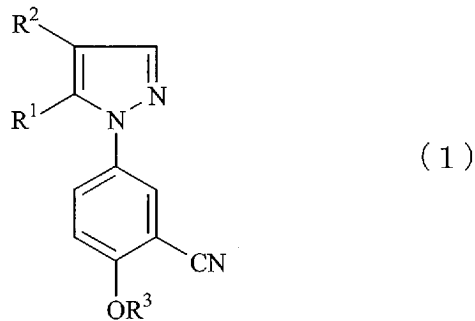
式(3)中の R^7 がカルボキシル基又は C_{1-6} アルコキシカルボニル基であり；

R^8 が水素原子又は C_{1-6} アルキル基であり；

R^9 が C_{1-8} アルキル基である請求項7記載の使用。

- [9] 式(1)中の R^1 が水素原子、 R^2 がカルボキシ基、 R^3 が C_{4-6} アルキル基であり；式(2)中の R^4 がシアノピリジル基、 R^5 がピリジル基であり；式(3)中の R^7 がカルボキシ基、 R^8 が C_{2-6} アルキル基であり、 R^9 が C_{1-6} アルキル基である請求項7又は8記載の使用。
- [10] 式(1)中の R^1 が水素原子、 R^2 がカルボキシ基、 R^3 がネオペンチル基であり；式(2)中の R^4 が2-シアノピリジン-4-イル基であり、 R^5 がピリジン-4-イル基であり；式(3)中の R^7 がカルボキシ基、 R^8 がメチル基、 R^9 がイソブチル基である請求項7~9のいずれか1項記載の使用。
- [11] キサンチン脱水素酵素阻害作用を有しかつプリンサルベージ回路の基質とならない化合物の有効量を投与することを特徴とする筋萎縮性側索硬化症の予防又は治療方法。
- [12] 前記化合物が、次の一般式(1)、(2)又は(3)で表される化合物又はその塩である請求項11記載の予防又は治療方法。

[化3]



(式中、 R^1 は水素原子、ハロゲン原子又はアミノ基を示し；

R^2 はカルボキシル基又は C_{1-4} アルコキシカルボニル基を示し；

R^3 はハロゲン、ヒドロキシ、 C_{1-4} アルコキシ、カルボキシ、 C_{1-4} アルコキシカルボニル及びアシルオキシから選ばれる1～2個の置換基を有しているもよい C_{4-6} アルキル基、 C_{3-6} シクロアルキル基又は C_{3-6} シクロアルキル- C_{1-4} アルキル基を示し；

R^4 は、ハロゲン、シアノ及びフェニルから選ばれる1～2個の置換基を有しているもよいピリジル基；又はシアノ、ニトロ、 C_{1-4} アルコキシ、 $N-C_{1-4}$ アルキルピペラジノ、 C_{1-4} アルキルチオ、フェニルチオ及び C_{1-4} アルキルアミノから選ばれる1～2個の置換基を有しているもよいフェニル基を示し；

R⁵はシアノ、C₁₋₄アルキル、ハロゲン、C₁₋₄アルコキシ及びC₁₋₄アルキルチオから選ばれる置換基を有していてもよいピリジル基を示し；

R⁶は水素原子、又はピバロイルオキシ-C₁₋₄アルキル基を示し；

R⁷はカルボキシル基、C₁₋₆アルコキシカルボニル基、カルバモイル基、又はモノ-もしくはジ-C₁₋₆アルキルアミノカルボニル基を示し；

R⁸は水素原子、C₁₋₆アルキル基又はフェニル基を示し；

R⁹は水素原子又はC₁₋₁₀アルキル基を示す。）

[13] 式(1)中のR¹が水素原子、ハロゲン原子又はアミノ基であり；R²がカルボキシル基又はC₁₋₄アルコキシカルボニル基であり；R³がC₄₋₆アルキル基、C₃₋₆シクロアルキル基又はC₃₋₆シクロアルキル-C₁₋₄アルキル基であり；

式(2)中のR⁴がシアノ、ハロゲン、C₁₋₆アルコキシ及びC₁₋₆アルキルチオから選ばれる1又は2個の置換基を有するピリジル基であり；R⁵がシアノ、ハロゲン、C₁₋₆アルコキシ及びC₁₋₆アルキルチオから選ばれる1又は2個の置換基を有していてもよいピリジル基であり；R⁶が水素原子であり；

式(3)中のR⁷がカルボキシル基又はC₁₋₆アルコキシカルボニル基であり；

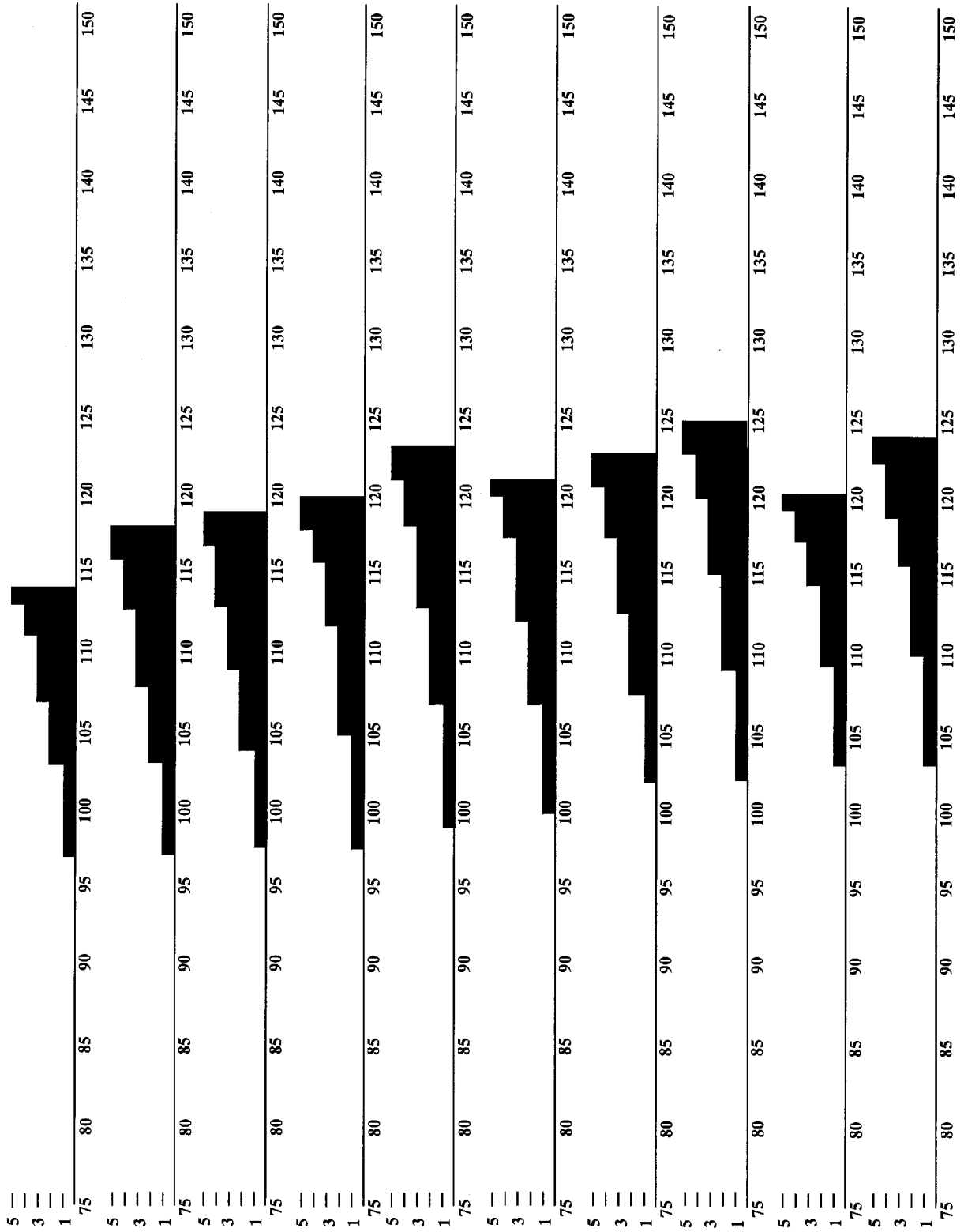
R⁸が水素原子又はC₁₋₆アルキル基であり；

R⁹がC₁₋₈アルキル基である請求項12記載の予防又は治療方法。

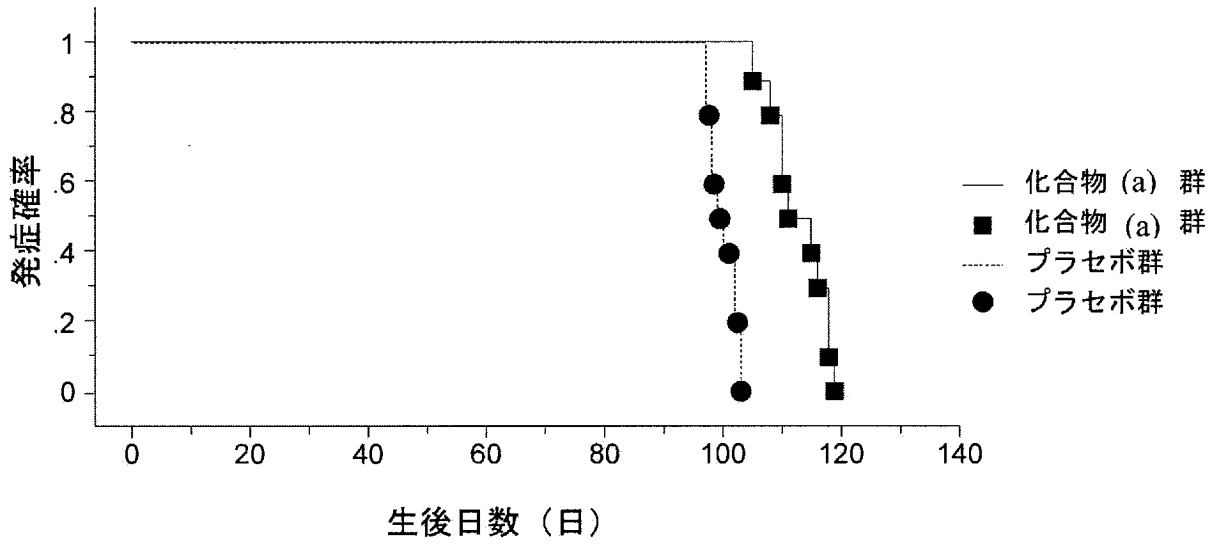
[14] 式(1)中のR¹が水素原子、R²がカルボキシル基、R³がC₄₋₆アルキル基であり；式(2)中のR⁴がシアノピリジル基、R⁵がピリジル基であり；式(3)中のR⁷がカルボキシル基、R⁸がC₁₋₆アルキル基であり、R⁹がC₂₋₆アルキル基である請求項12記載の予防又は治療方法。

[15] 式(1)中のR¹が水素原子、R²がカルボキシル基、R³がネオペンチル基であり；式(2)中のR⁴が2-シアノピリジン-4-イル基であり、R⁵がピリジン-4-イル基であり；式(3)中のR⁷がカルボキシル基、R⁸がメチル基、R⁹がイソブチル基である請求項12記載の予防又は治療方法。

[X] 1

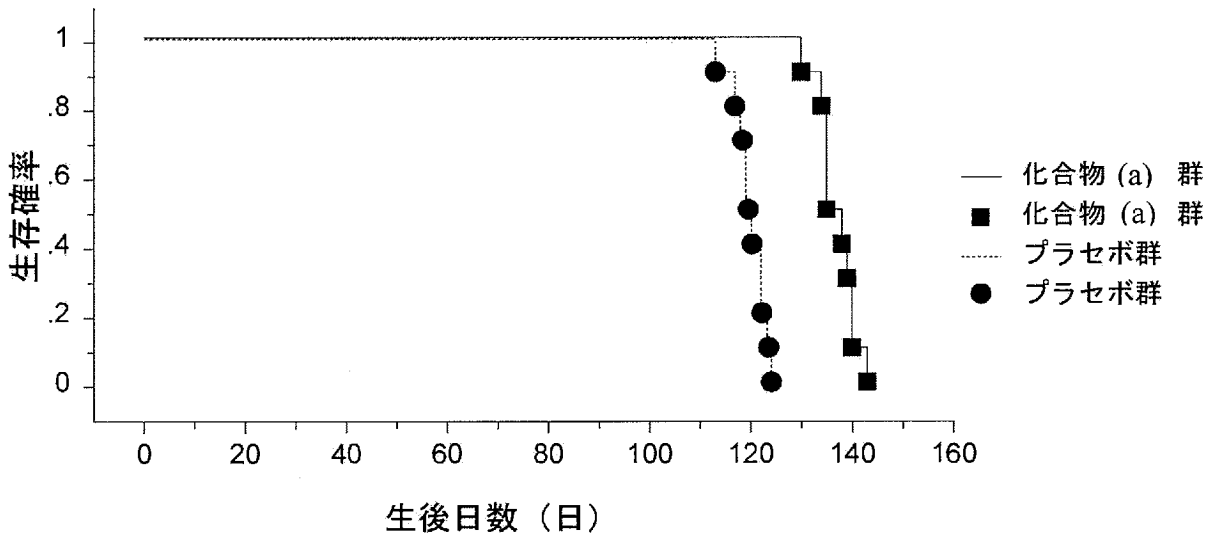


[図6]



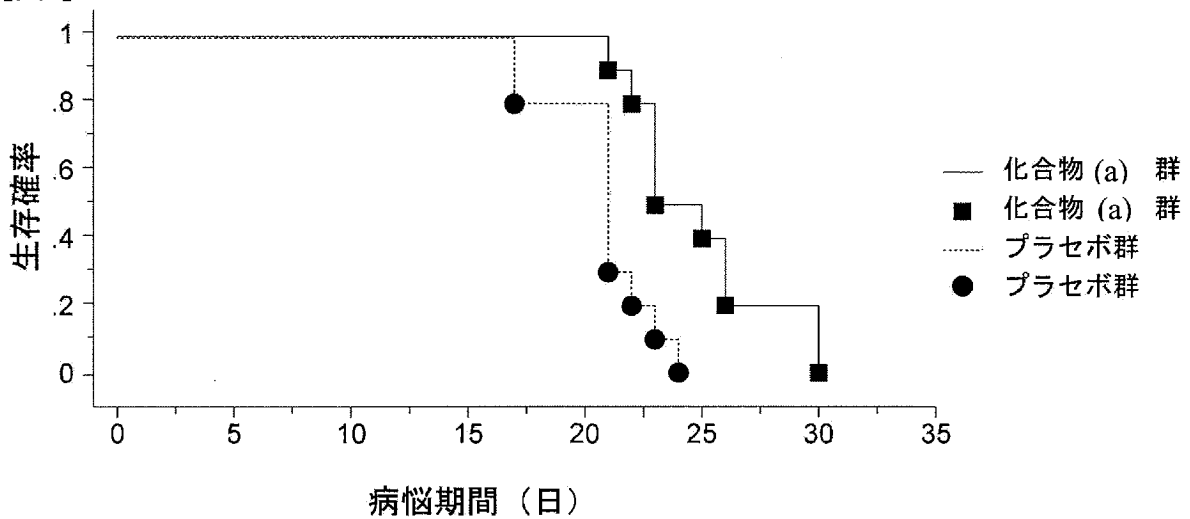
プラセボ投与実験群と発症前化合物(a)投与治療実験群間の有意差 $P < 0.0001$

[図7]



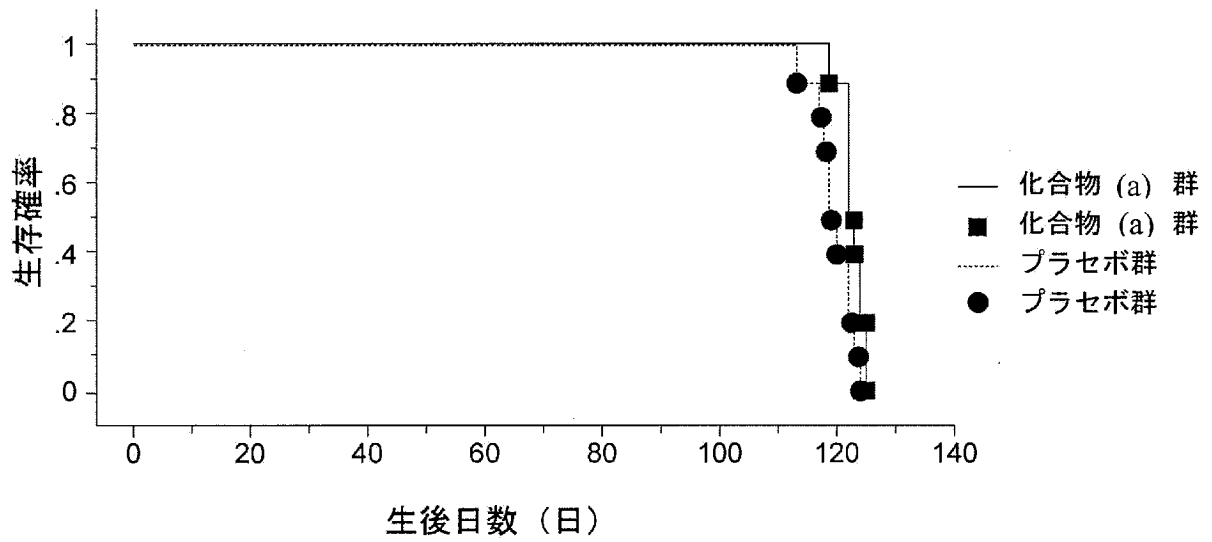
プラセボ投与実験群と発症前化合物(a)投与治療実験群間の有意差 $P < 0.0001$

[図8]



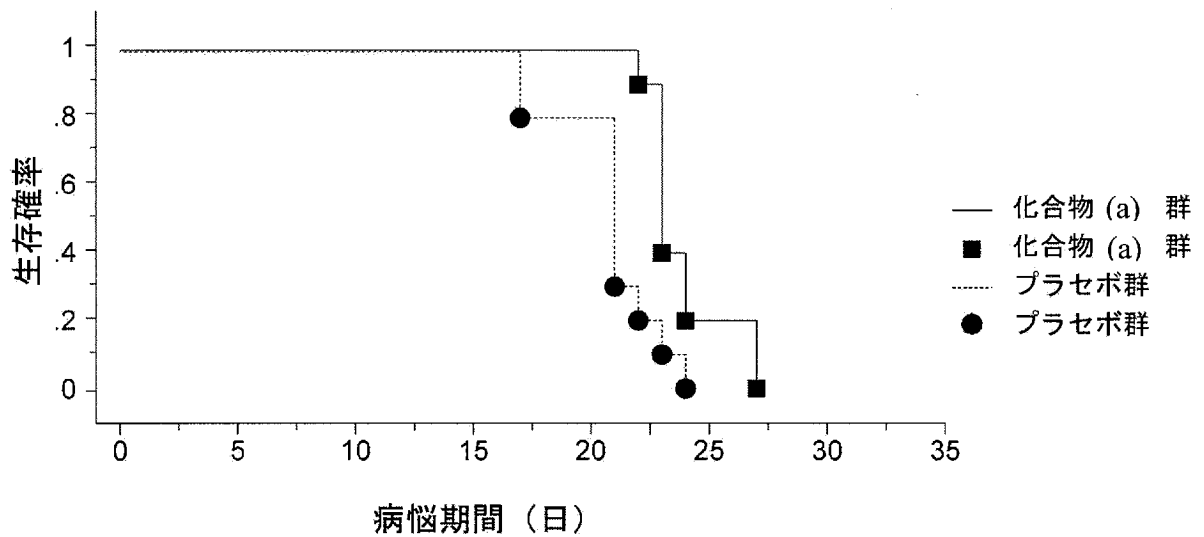
プラセボ投与実験群と発症前化合物(a)投与治療実験群間の有意差 $P < 0.002$

[図9]



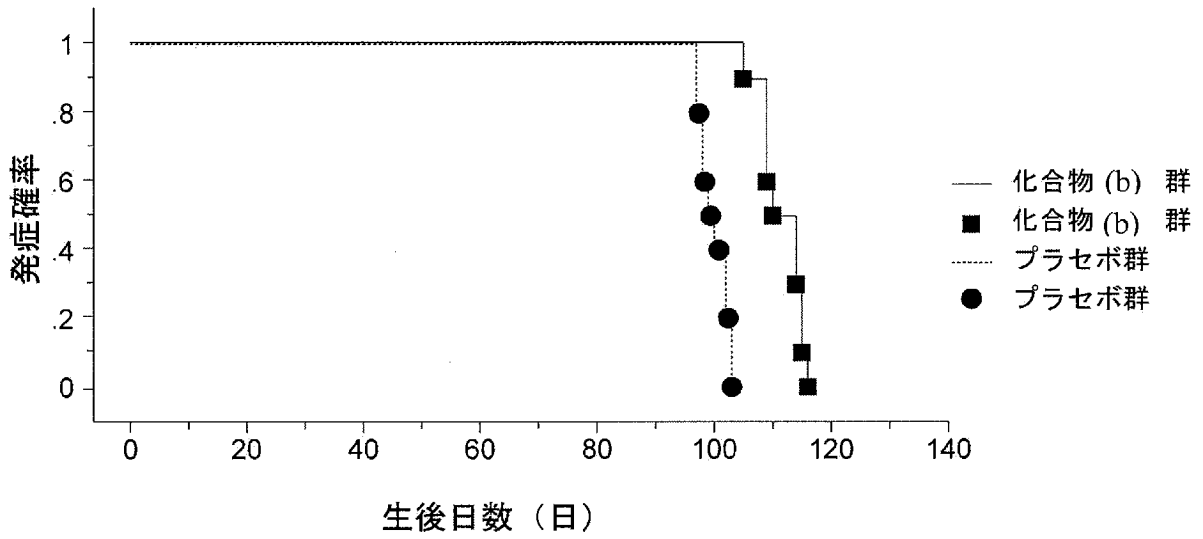
プラセボ投与実験群と発症後化合物(a)投与治療実験群間の有意差 P=0.024

[図10]



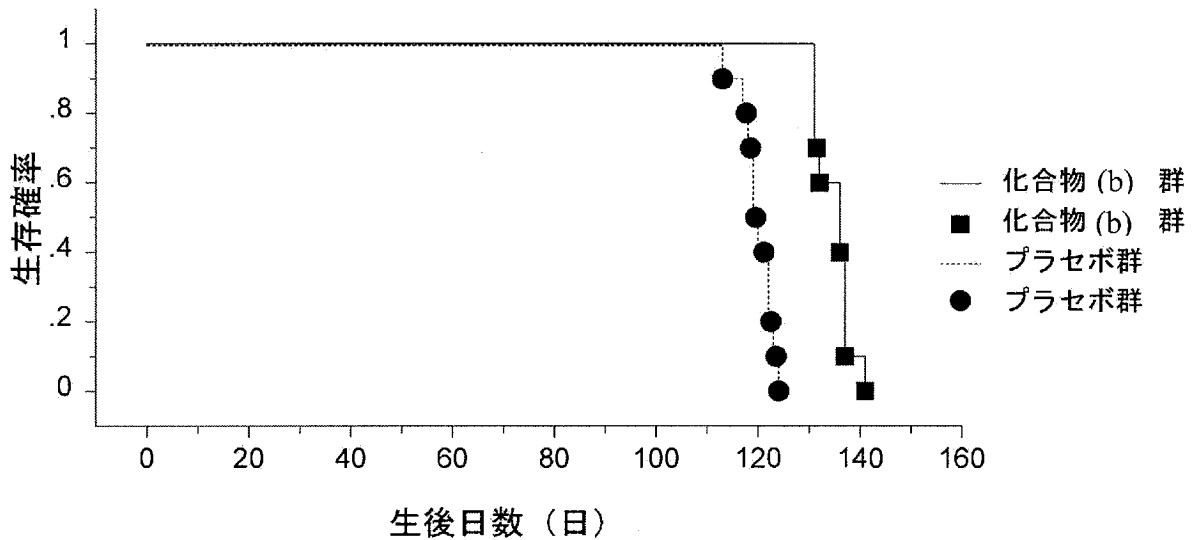
プラセボ投与実験群と発症後化合物(a)投与治療実験群間の有意差 P=0.003

[図11]



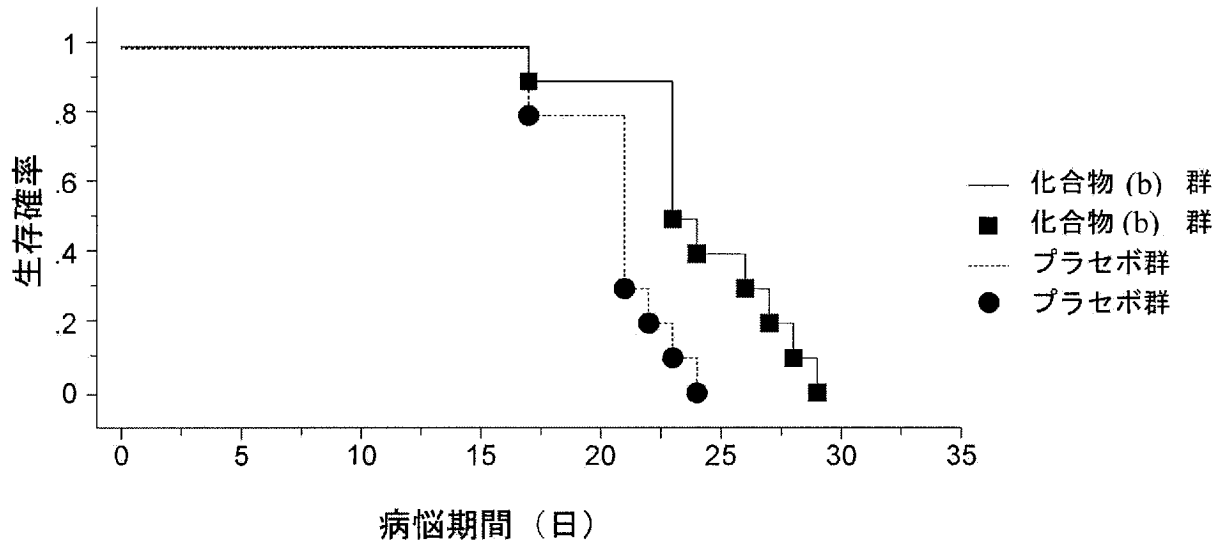
プラセボ投与実験群と発症前化合物 (b) 投与治療実験群間の有意差 $P < 0.0001$

[図12]



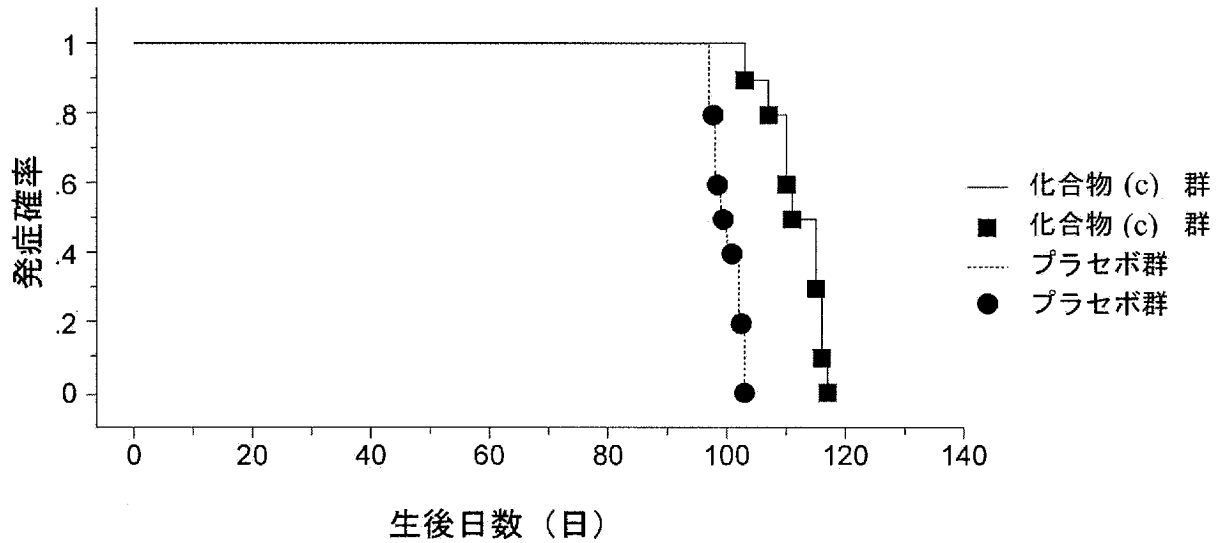
プラセボ投与実験群と発症前化合物 (b) 投与治療実験群間の有意差 $P < 0.0001$

[図13]



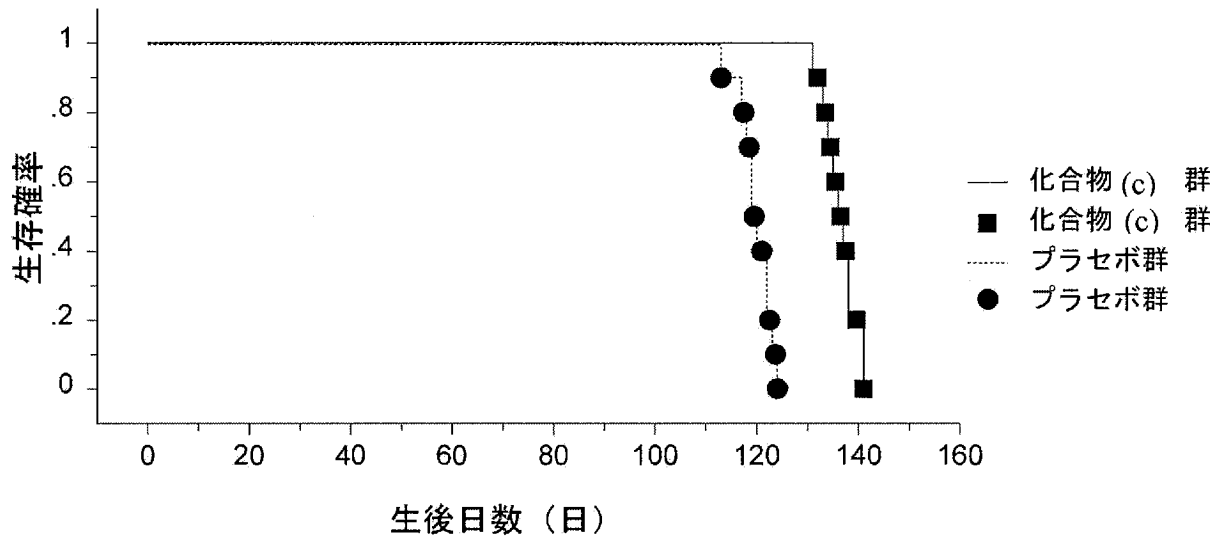
プラセボ投与実験群と発症前化合物 (b) 投与治療実験群間の有意差 $P < 0.005$

[図14]



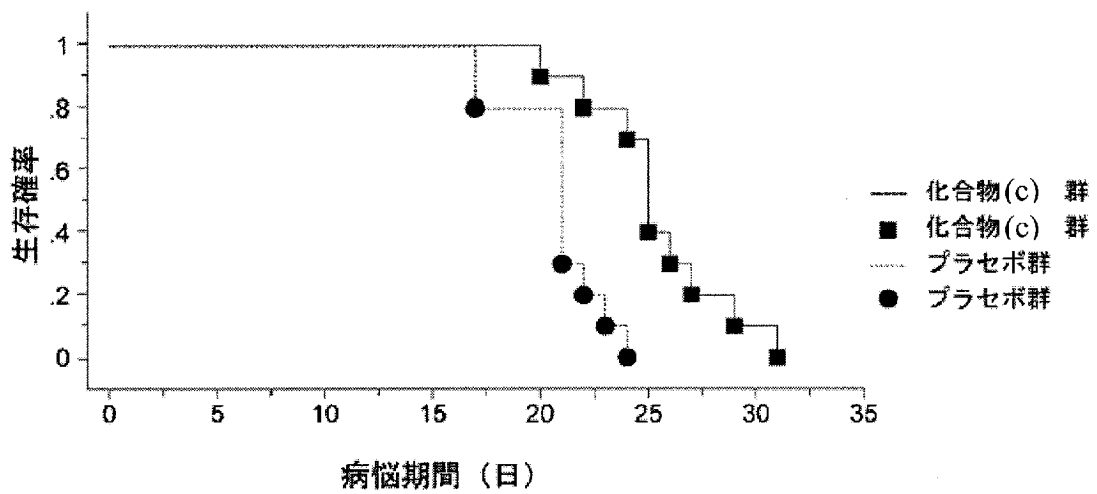
プラセボ投与実験群と発症前化合物 (c) 投与治療実験群間の有意差 $P < 0.0001$

[図15]



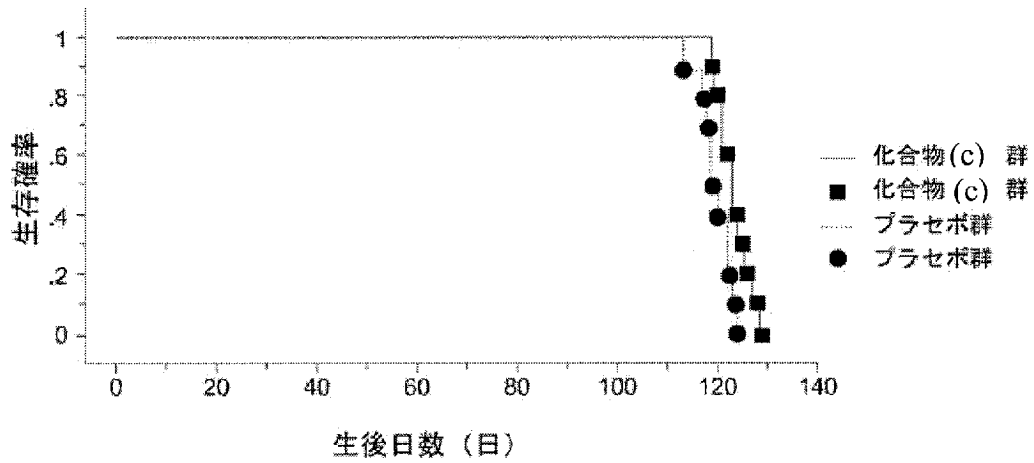
プラセボ投与実験群と発症前化合物(c)投与治療実験群間の有意差 $P < 0.0001$

[図16]



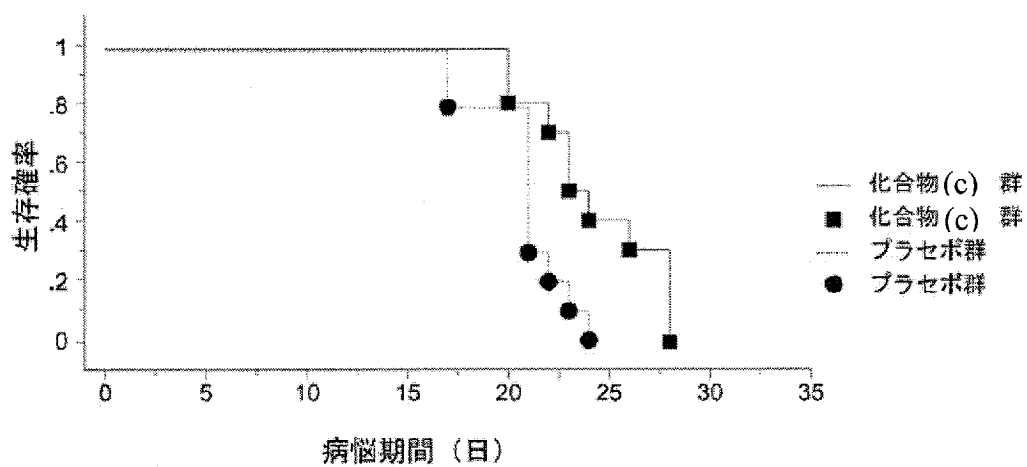
プラセボ投与実験群と発症前化合物(c)投与治療実験群間の有意差 $P < 0.0005$

[図18]



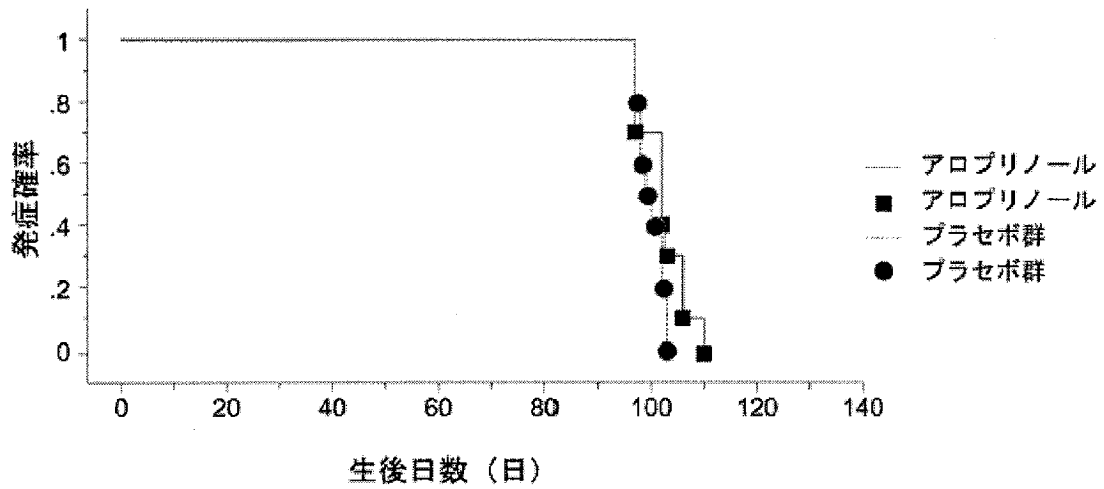
プラセボ投与実験群と発症後化合物(c)投与治療実験群間の有意差 $P=0.0065$

[図19]



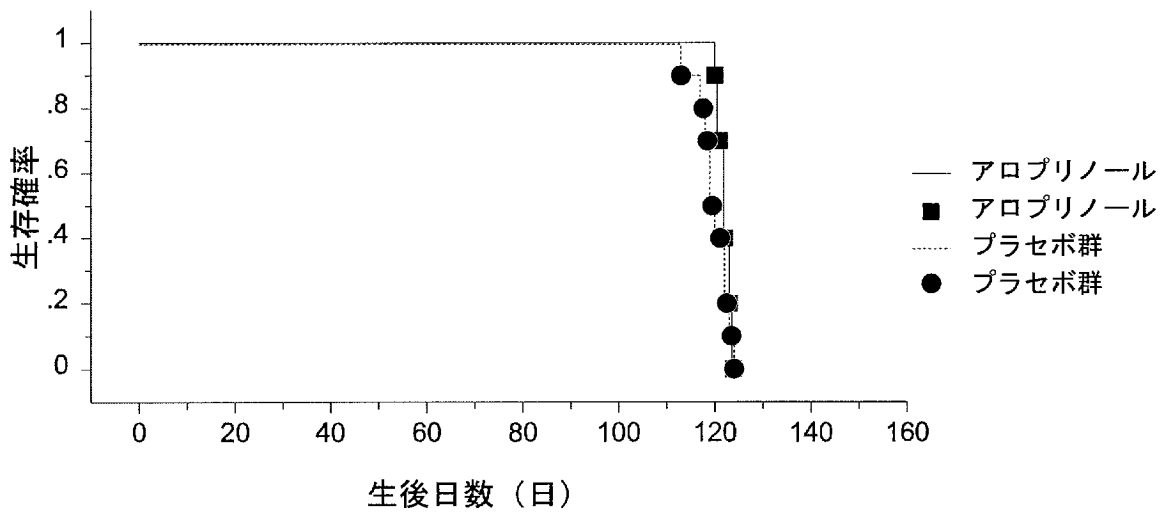
プラセボ投与実験群と発症後化合物(c)投与治療実験群間の有意差 $P=0.015$

[図21]



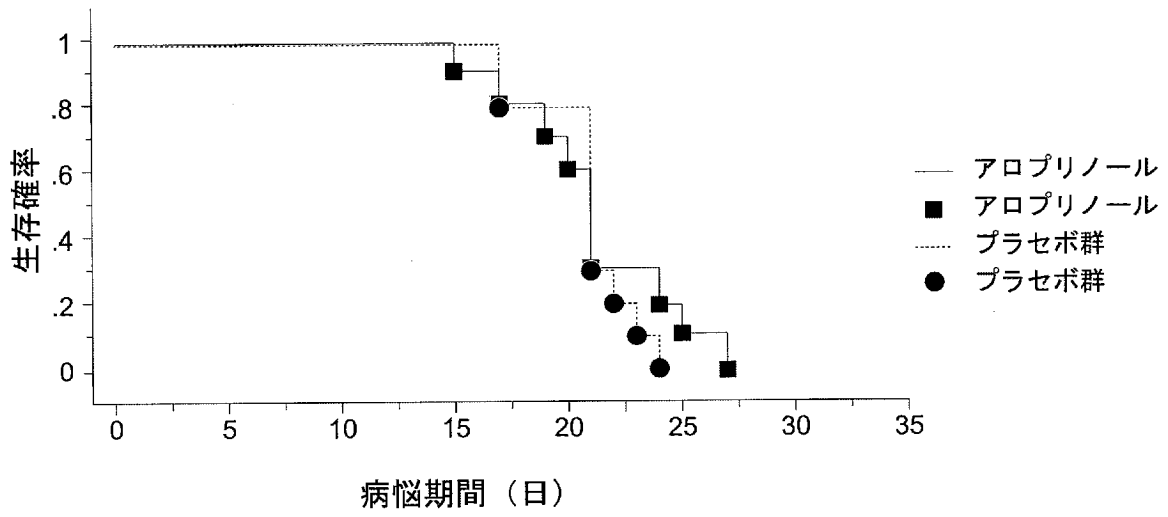
プラセボ投与実験群と発症前アロプリノール投与治療実験群間の有意差 P=0.1162

[図22]



プラセボ投与実験群と発症前アロプリノール投与治療実験群間の有意差 P=0.1310

[図23]



プラセボ投与実験群と発症前アロプリノール投与治療実験群間の有意差 $P=0.6003$

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/000765

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 A61K45/00(2006.01)i, A61K31/415(2006.01)i, A61K31/4196(2006.01)i,
 A61K31/426(2006.01)i, A61K31/4439(2006.01)i, A61P21/02(2006.01)i,
 A61P43/00(2006.01)i, C07D231/14(2006.01)i, C07D277/20(2006.01)i,
 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
 A61K45/00, A61K31/415, A61K31/4196, A61K31/426, A61K31/4439, A61P21/02,
 A61P43/00, C07D231/14, C07D277/20, C07D277/46, C07D401/14

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
 Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2007
 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2007 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2007

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
 CAPLUS (STN), MEDLINE (STN), BIOSIS (STN), EMBASE (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	Terro, F. etc., 'Antioxidant drug block in vitro the neurotoxicity of CSF from patients with amyotrophic lateral sclerosis', NeuroReport, Vol.7, 1996, pages 1970-1972	1-10
Y	WO 2003/064410 A1 (FUJI YAKUHIN CO., LTD.), 07 August, 2003 (07.08.03), Full text & EP 1471065 A1 & US 2005/004175 A1	1-10
Y	WO 98/18765 A1 (YOSHITOMI PHARM IND KABUSHIKI KAISHA), 07 May, 1998 (07.05.98), Full text & EP 936217 A1 & US 6015829 A	1-10

Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

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

Date of the actual completion of the international search 09 August, 2007 (09.08.07)	Date of mailing of the international search report 21 August, 2007 (21.08.07)
---	--

Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/000765

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 92/09279 A1 (TEIJIN LTD.), 11 June, 1992 (11.06.92), Full text & EP 513379 A1 & US 5614520 A	1-10
Y	JP 2002-105067 A (TEIJIN LTD.), 10 April, 2002 (10.04.02), Full text (Family: none)	1-10
A	Berger, R. etc., 'Analysis of aldehyde oxidase and xanthine dehydrogenase/oxidase as possible candidate genes for autosomal recessive familial amyotrophic lateral sclerosis', Somatic Cell and Molecular, Vol.21, No.2, 1995, pages 121-131	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/000765

Continuation of A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
(International Patent Classification (IPC))

C07D277/46(2006.01) i, C07D401/14(2006.01) i

(According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/000765

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.: 11-15
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
The inventions as set forth in claims 11 to 15 pertain to methods for treatment of the human body by therapy and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of Article 17(2)(a)(i) of the PCT (continued to extra sheet)
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 all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest
the

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, 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

International application No.

PCT/JP2007/000765

Continuation of Box No.II-1 of continuation of first sheet (2)

and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.

Each of the medical inventions of claims 1 and 6 comprises a compound that is defined by a desired property "a compound which has an inhibitory effect on xanthine dehydrogenase and cannot act as a substrate for purine salvage pathway" as an active ingredient. The inventions of claims 1 and 6 include all of the compounds having the property. However, among these compounds, those which are disclosed in the meaning within PCT Article 5 are limited to an extremely small part of the compounds as claimed. Therefore, it is not considered that these claims are supported by the disclosure of the description in the meaning within PCT Article 6.

With respect to the property "a compound which has an inhibitory effect on xanthine dehydrogenase and cannot act as a substrate for purine salvage pathway", even though the common technical knowledge at the time of filing the present application is taken into the consideration, it does not appear that the scope of the compound having the property can be specified. Thus, these claims do not comply with the requirement of clearness under PCT Article 6, too.

Such being the case, a search was made on the relationship between xanthine dehydrogenase and amyotrophic lateral sclerosis and the relationship between the compounds specified in claims 2 and 7 and amyotrophic lateral sclerosis.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. A61K45/00(2006.01)i, A61K31/415(2006.01)i, A61K31/4196(2006.01)i, A61K31/426(2006.01)i, A61K31/4439(2006.01)i, A61P21/02(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i, C07D231/14(2006.01)i, C07D277/20(2006.01)i, C07D277/46(2006.01)i, C07D401/14(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. A61K45/00, A61K31/415, A61K31/4196, A61K31/426, A61K31/4439, A61P21/02, A61P43/00, C07D231/14, C07D277/20, C07D277/46, C07D401/14

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2007年
日本国実用新案登録公報	1996-2007年
日本国登録実用新案公報	1994-2007年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS (STN), MEDLINE (STN), BIOSIS (STN), EMBASE (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	Terro, F. etc., 'Antioxidant drug block in vitro the neurotoxicity of CSF from patients with amyotrophic lateral sclerosis', NeuroReport, Vol.7, 1996, pages 1970-1972	1-10
Y	WO 2003/064410 A1 (FUJI YAKUHIN CO LTD) 2003.08.07, 全文 & EP 1471065 A1 & US 2005/004175 A1	1-10

C欄の続きにも文献が列挙されている。

パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー	の日の後に公表された文献
「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの	「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの	「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)	「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献	「&」同一パテントファミリー文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願	

国際調査を完了した日 09.08.2007	国際調査報告の発送日 21.08.2007
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 高岡 裕美 電話番号 03-3581-1101 内線 3492

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	WO 98/18765 A1 (YOSHITOMI PHARM IND KK) 1998.05.07, 全文 & EP 936217 A1 & US 6015829 A	1-10
Y	WO 92/09279 A1 (TEIJIN LTD) 1992.06.11, 全文 & EP 513379 A1 & US 5614520 A	1-10
Y	JP 2002-105067 A (TEIJIN LTD) 2002.04.10, 全文 (ファミリーなし)	1-10
A	Berger, R. etc., 'Analysis of aldehyde oxidase and xanthine dehydrogenase/oxidase as possible candidate genes for autosomal recessive familial amyotrophic lateral sclerosis', Somatic Cell and Molecular, Vol.21, No.2, 1995, pages 121-131	1-10

第II欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT17条(2)(a))の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. 請求の範囲 1 1 - 1 5 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、請求の範囲 1 1 - 1 5 の発明は、人体を治療する方法に関するものであって、PCT条約17条(2)(a)(i)及びPCT規則39.1(iv)の規定より、国際調査機関が国際調査を行うことを要しない対象に係るものである。
2. 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第III欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

1. 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- 追加調査手数料の納付を伴う異議申立てがなかった。

請求の範囲1及び6に係る医薬発明は、「キサンチン脱水素酵素阻害作用を有しかつプリンサルベージ回路の基質をならない化合物」という、所望の性質により定義された化合物を有効成分とするものである。そして、請求の範囲1及び6に係る発明は、そのような性質を有するあらゆる化合物を包含するものであるが、PCT条約第5条の意味において開示されているのは、クレームされた化合物のごくわずかな部分に過ぎず、PCT条約第6条の意味での、明細書の開示による裏付けを欠くものと認められる。

また、「キサンチン脱水素酵素阻害作用を有しかつプリンサルベージ回路の基質をならない化合物」は、出願時の技術常識を勘案してもそのような性質を有する化合物の範囲を特定することができないことから、PCT条約第6条の意味における明確性の要件も欠いている。

よって、調査は、キサンチン脱水素酵素と筋萎縮性側索硬化症との関連性、及び、請求の範囲2及び7にて特定されている化合物群と筋萎縮性側索硬化症との関連性について行った。