



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 공개특허공보(A)**

(11) 공개번호 10-2010-0024951  
 (43) 공개일자 2010년03월08일

- |   |  |
|---|--|
| <p>(51) Int. Cl.<br/> <i>A61K 31/44</i> (2006.01) <i>A61P 25/28</i> (2006.01)<br/> <i>A61P 27/02</i> (2006.01) <i>A61P 37/00</i> (2006.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2009-7026857<br/>             (22) 출원일자 2008년05월23일<br/>             심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2009년12월23일<br/>             (86) 국제출원번호 PCT/US2008/006667<br/>             (87) 국제공개번호 WO 2008/147551<br/>             국제공개일자 2008년12월04일</p> <p>(30) 우선권주장<br/>             60/931,771 2007년05월25일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인<br/> <b>메디베이션 뉴롤로지 인코퍼레이티드</b><br/>             미국 캘리포니아 94105 샌프란시스코 스피어 스트리트 201 씨드 플로어</p> <p>(72) 발명자<br/> <b>홍, 데이비드, 티.</b><br/>             미국 캘리포니아 94062 리우드 시티 로마 로드 36<br/> <b>프로터, 앤드류, 애셔</b><br/>             미국 캘리포니아 94301 팔로알토 노스 캘리포니아<br/>             애비뉴 185</p> <p>(74) 대리인<br/> <b>박종혁, 김정욱, 정삼영, 송봉식</b></p> |
|---|--|

전체 청구항 수 : 총 46 항

**(54) 세포를 자극하기 위한 방법 및 조성물**

**(57) 요약**

본 발명은 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 유리한 질병 또는 질환의 개시를 치료, 예방, 지연시키고, 및/또는 발생을 지연시키기 위한 조성물 및 방법을 제공한다. 이 조성물 및 방법은, 예를 들어, 다임본과 같은 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 및/또는 다임본과 같은 수소화된 피리도[4,3-b]인돌과 함께 배양한 세포를 포함한다. 일부 구체예에서, 조성물 및 방법은 또한 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물을 포함한다. 본 발명은 또한 하나 이상의 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 세포를 배양하는 것에 의해 세포를 활성화하고, 세포의 분화를 촉진하고, 및/또는 세포의 증식을 촉진하는 방법을 제공한다. 일부 구체예에서, 세포는 하나 이상의 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물과 함께 배양된다.

**특허청구의 범위**

**청구항 1**

수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 제 1 치료제의 유효한 양을 그것을 필요로 하는 개체에게 투여하는 것을 포함하고, 개체는 상해-관련 경도인지장애(MCI), 뉴런 사멸 매개 안구질환, 황반변성, 자폐증, 자폐 스펙트럼 장애, 아스페르거 증후군, 레트 증후군, 견열 손상, 척수 손상, 중증 근무력증, 길랑-바레 증후군, 다발성경화증, 신경병증, 및 비-뉴런 징후를 가지는, 질환의 개시를 치료, 예방, 지연시키고, 및/또는 발생을 지연시키는 방법.

**청구항 2**

제 1 항에 있어서, 상기 질환은 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 유리한 질환의 개시를 치료, 예방, 지연시키고, 및/또는 발생을 지연시키는데 유리한 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 3**

세포의 분화 및/또는 증식을 촉진하기에 충분한 조건하에서 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 세포를 인큐베이팅하는 단계를 포함하는 세포의 분화 및/또는 증식을 촉진하는 방법.

**청구항 4**

제 3 항에 있어서, 분화 및/또는 증식은 신경돌기 성장을 자극하고 및/또는 세포의 신경 발생을 향상시키는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 5**

신경돌기 성장을 자극하고 및/또는 신경 발생을 향상시키는데 유효한 양의 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염을 투여하는 것을 포함하는, 상해-관련 경도인지장애(MCI), 뉴런 사멸 매개 안구질환, 황반변성, 자폐증, 자폐 스펙트럼 장애, 아스페르거 증후군, 레트 증후군, 견열 손상, 척수 손상, 중증 근무력증, 길랑-바레 증후군, 다발성경화증, 신경병증, 및 비-뉴런 징후를 가지는 개체에서 신경돌기 성장을 자극하고 및/또는 신경 발생을 향상시키는 방법.

**청구항 6**

(i) 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 이것의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 제 1 치료제 및 (ii) 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물을 포함하는 제 2 치료제의 조합의 유효한 양을 그것을 필요로 하는 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 유리한 질환의 개시를 치료, 예방, 지연시키고, 및/또는 발생을 지연시키는 방법.

**청구항 7**

세포를 활성화하고, 세포의 분화를 촉진하고, 세포의 증식을 촉진하기에 충분한 조건하에서, 수소화된 피리도 [4,3-b] 인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염, 또는 이것의 두 가지 이상의 조합과 함께 인큐베이팅한 세포를 포함하는 제 1 치료제의 유효한 양을 그것을 필요로 하는 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 유리한 질환의 개시를 치료, 예방, 지연시키고, 및/또는 발생을 지연시키는 방법.

**청구항 8**

(i) 세포를 포함하는 제 1 치료제 및 (ii) 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 제 2 치료제의 조합의 유효한 양을 그것을 필요로 하는 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 유리한 질환의 개시를 치료, 예방, 지연시키고, 및/또는 발생을 지연시키는 방법.

**청구항 9**

다능성 줄기 세포를 포함하는 제 1 치료제 및 다능성 줄기 세포가 분화하도록 유발하는데 유효한 양의 수소화된

피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 제 2 치료제를 개체에 투여하는 단계를 포함하는 개체의 치료를 돕는 방법.

**청구항 10**

다능성 줄기 세포가 분화하도록 유발하는데 유효한 양의 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 개체로부터 분리된 배양 다능성 줄기 세포를 인큐베이팅하는 단계를 포함하는 다능성 줄기 세포를 분화하는 방법.

**청구항 11**

제 3 항 내지 제 10 항 중 어느 한 항의 방법에 의해 만들어진 분화된 세포를 개체에 투여하는 단계를 포함하는 뉴런 징후 또는 비-뉴런 징후를 가지는 개체의 치료를 돕는 방법.

**청구항 12**

제 1 항 내지 제 11 항 중 어느 한 항에 있어서, 수소화된 피리도[4,3-b] 인돌은 다임본(dimebon)인 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 13**

제 1 항 내지 제 12 항 중 어느 한 항에 있어서, 개체는 포유동물인 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 14**

제 13 항에 있어서, 포유동물은 개, 고양이, 돼지, 소, 원숭이, 마우스, 래트 및 인간으로 구성되는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 15**

제 5 항 및 제 7 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항에 있어서, 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물을 투여하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 16**

제 3 항, 제 4 항, 및 제 10 항 중 어느 한 항에 있어서, 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물과 함께 세포를 인큐베이팅하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 17**

제 3 항 내지 제 4 항 및 제 7 항 내지 제 8 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포 종류는 다능성 줄기 세포, 뉴런 줄기 세포, 비-뉴런 세포, 및 뉴런으로 구성되는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 18**

제 3 항 내지 제 4 항, 및 제 7 항 내지 제 8 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포 종류는 뉴런이고, 상기 방법은 뉴런의 하나 이상의 축색돌기의 길이를 증가시키는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 19**

제 3 항 내지 제 4 항, 및 제 7 항 내지 제 8 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포 종류는 뉴런 줄기 세포이고, 상기 방법은 뉴런 줄기 세포에서 뉴런으로의 분화를 촉진하는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 20**

제 19 항에 있어서, 뉴런 줄기 세포는 해마 뉴런, 대뇌피질 뉴런, 또는 척수 운동 뉴런으로 분화하는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 21**

제 6 항, 제 8 항 내지 제 9 항, 및 제 15 항 중 어느 한 항에 있어서, 제 1 및 제 2 치료제는 순차적으로 투여

되는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 22**

제 6 항, 제 8 항 내지 제 9 항, 및 제 15 항 중 어느 한 항에 있어서, 제 1 및 제 2 치료제는 동시에 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 23**

제 6 항, 제 8 항 내지 제 9 항, 및 제 15 항 중 어느 한 항에 있어서, 제 1 및 제 2 치료제는 동일한 약학 조성물에 함유되는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 24**

제 6 항, 제 8 항 내지 제 9 항, 및 제 15 항 중 어느 한 항에 있어서, 제 1 및 제 2 치료제는 별개의 약학 조성물에 함유되는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 25**

제 6 항, 제 8 항 내지 제 9 항, 및 제 15 항 중 어느 한 항에 있어서, 제 1 및 제 2 치료제는 적어도 상가 효과를 가지는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 26**

제 6 항, 제 8 항 내지 제 9 항, 및 제 15 항 중 어느 한 항에 있어서, 제 1 및 제 2 치료제는 상승 효과를 가지는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 27**

제 9 항, 제 10 항 및 제 17 항 중 어느 한 항에 있어서, 다능성 줄기 세포는 뉴런 줄기 세포 또는 비-뉴런 줄기 세포인 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 28**

제 27 항에 있어서, 뉴런 줄기 세포는 해마 뉴런, 대뇌피질 뉴런, 또는 척수 운동 뉴런으로 분화하는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 29**

제 27 항에 있어서, 비-뉴런 줄기 세포는 피부 세포, 심근 세포, 골격근 세포, 간 세포, 신장 세포, 또는 연골 세포로 분화하는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 30**

제 3 항, 제 4 항, 및 제 10 항 중 어느 한 항에 있어서, 인큐베이팅은 생체 밖에서 일어나는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 31**

제 3 항, 제 4 항, 및 제 10 항 중 어느 한 항에 있어서, 인큐베이팅은 생체 내에서 일어나는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 32**

제 3 항, 제 4 항, 및 제 10 항 중 어느 한 항에 있어서, 배양물로부터 분화 세포 종류를 선택하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 33**

제 32 항에 있어서, 선택된 분화 세포 종류는 해마 뉴런, 대뇌피질 뉴런, 또는 척수 운동 뉴런인 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 34**

제 11 항에 있어서, 분화 세포는 해마 뉴런, 대뇌피질 뉴런, 또는 척수 운동 뉴런인 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 35**

제 11 항에 있어서, 분화 세포는 비-뉴런 세포인 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 36**

제 35 항에 있어서, 비-뉴런 세포는 피부 세포, 심근 세포, 간 세포, 신장 세포, 및 연골 세포인 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 37**

제 11 항에 있어서, 분화 세포는 정맥 주사에 의해 전신에 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 38**

제 11 항에 있어서, 분화 세포는 직접 주사 또는 외과적 이식에 의해 국소적으로 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 39**

제 33 항에 있어서, 정맥 주사에 의해 전신에 분화세포를 투여하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 40**

제 33 항에 있어서, 직접 주사 또는 외과적 이식에 의해 국소적으로 분화 세포를 투여하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 41**

(a) 세포를 활성화하고, 세포의 분화를 촉진하고, 세포의 증식을 촉진하는데 충분한 양으로 수소화된 피리도 [4,3-b]인돌 또는 약학적으로 허용가능한 염, 또는 이것의 두 가지 이상의 조합을 포함하는 제 1 치료제, 및 (b) 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학 조성물.

**청구항 42**

(a) 세포를 활성화하고, 세포의 분화를 촉진하고, 세포의 증식을 촉진하는데 충분한 조건하에서, 수소화된 피리도 [4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염 또는 이것의 두 가지 이상의 조합과 함께 인큐베이팅한 세포를 포함하는 제 1 치료제, 및 (b) 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학 조성물.

**청구항 43**

제 41 항 또는 제 42 항에 있어서, 수소화된 피리도 [4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 제 2 치료제를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

**청구항 44**

(a) 세포를 활성화하고, 세포의 분화를 촉진하고, 세포의 증식을 촉진하는데 충분한 양으로 수소화된 피리도 [4,3-b] 인돌 또는 약학적으로 허용가능한 염, 또는 이것의 두 가지 이상의 조합을 포함하는 제 1 치료제, 및 (b) 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 유리한 질환의 진행을 치료, 예방, 늦추고, 개시를 지연시키고, 및/또는 발생을 지연시키는데 사용하기 위한 설명서를 포함하는 키트.

**청구항 45**

(a) 세포를 활성화하고, 세포의 분화를 촉진하고, 세포의 증식을 촉진하는데 충분한 조건하에서, 수소화된 피리도 [4,3-b] 인돌 또는 약학적으로 허용가능한 염, 또는 이것의 두 가지 이상의 조합과 함께 인큐베이팅한 세포를 포함하는 제 1 치료제, 및 (b) 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 유리한 질환의 진행을

치료, 예방, 늦추고, 개시를 지연시키고, 및/또는 발생을 지연시키는데 사용을 위한 설명서를 포함하는 키트.

**청구항 46**

제 44 항 또는 제 45 항 중 어느 한 항에 있어서, 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 제 2 치료제를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 키트.

**명세서**

**기술분야**

[0001] **관련 출원과의 상호 참조**

[0002] 본 출원은 그것 전체가 본원에 참고로써 포함되는 2007년 5월 25일 출원된 미국의 가특허출원 No. 60/931,771에 대해 우선권을 주장한다.

[0003] **연방 정부 지원의 연구하에서 이루어진 발명들에 대한 권리의 진술**

[0004] 해당없음.

[0005] 본 발명은 하기 (1)-(7) 중 어떤 것의 유효한 양을 그것을 필요로 하는 개체에 투여하는 것에 의해 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 유리한 질병 또는 질환의 개시를 치료, 예방, 지연시키고, 및/또는 발생을 지연시키기 위한 조성물 및 방법에 관한 것이다: (1) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염, (2) (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염 및 (ii) 성장 인자 및/또는 항-세포사멸(anti-cell death) 화합물의 조합, (3) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅한 세포, (4) (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염 및 (ii) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅한 세포의 조합, (5) (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염, (ii) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅한 세포, 및 (iii) 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물의 조합, (6) (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염 및 (ii) 세포(예로써, 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅하지 않은 세포)의 조합, 또는 (7) (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염, (ii) 세포(예로써, 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅하지 않은 세포), 및 (iii) 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물의 조합. 상기 치료제들은 또한 본원에서 "치료제 (1)-(7)"로서 언급될 수 있다. 일부 구체예에서, 성장 인자와 항-세포사멸 화합물은 둘 다 개체에 투여된다. 일부 변형에서, 치료 화합물은 다임본(dimebon)이다.

[0006] 본 발명은 또한 하나 이상의 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 세포를 인큐베이팅하는 것에 의해 세포를 활성화하고, 세포의 분화를 촉진하고, 및/또는 세포의 증식을 촉진하는 방법을 제공한다. 일부 구체예에서, 세포는 또한 하나 이상의 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물과 함께 인큐베이팅된다.

**배경기술**

[0007] 수많은 징후가 세포사멸 및/또는 감소된 세포 기능과 연루되어 있으며, 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화 및/또는 증식으로부터 이익을 얻는다. 예를 들어, 뉴런 세포사멸은 다양한 뉴런 징후와 관련된 것으로 믿어진다. 예를 들어, 뉴런 및 비-뉴런 징후를 치료 및/또는 예방하기 위한 화합물 및 약학 조성물, 및 뉴런 세포사멸을 억제하고 및/또는 뉴런의 생존을 향상시키는 방법이 크게 요망된다. 게다가, 존재하는 뉴런의 유효성을 증가시키는 화합물은 또한 치료적 가치를 가질 것이다.

[0008] **수소화된 피리도[4,3-b] 인돌의 개요**

[0009] 테트라- 및 헥사히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌 유도체 종류의 공지된 화합물은 넓은 범위의 생물학적 활성을 나타낸다. 2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌의 계열에서, 다음의 활성의 종류를 확인하였다: 항히스타민 활성(1968년 12월 6일 출원된 DE 1,813,229; 1969년 10월 20일 출원된 DE 1,952,800), 중추 억제 및 항-염증 활성(1970년 12월 3일 출원된 미국 특허 No. 3,718,657), 신경이완제 활성(Herbert C. A., Plattner S. S., Welch W. M., *Mol. Pharm.* 1980, 17(1):38-42) 및 기타. 2,3,4,4a,5,9b-헥사히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌 유도체는 항정신성(Welch W. M., Harbert C. A., Weissman A., Koe B. K., *J Med. Chem.*, 1986, 29(10):2093-2099), 항공격적, 항부정맥 및 다른 종류의 활성을 나타낸다.

[0010] 테트라- 또는 헥사히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌 유도체에 기초한 디아졸린(뱀히드롤린), 다임본, 도라스틴, 카

르비딘(디카르빈), 스토바딘 및 게보트롤린과 같은 다수의 약물이 제조된 것으로 공지되어 있다. 디아졸린(2-메틸-5-벤질-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b] 인돌 이염산) (Klyuev M. A., Drugs, used in "Medical Pract.", USSR, Moscow, "Meditzina" Publishers, 1991, p.512) 및 다임본(2,8-디메틸-5-(2-(6-메틸-3-피리딜)에틸)-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌 2염산염) (M.D. Mashkovsky, "Medicinal Drugs" in 2 vol. Vol. 1-12th Ed., Moscow, "Meditzina" Publishers, 1993, p.383) 및 도라스틴(2-메틸-8-클로로-5-[2-(6-메틸-3-피리딜)에틸]-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌 2염산염) (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, 26th Ed., p.196)은 항히스타민 약물로서 공지되어 있고; 카르비딘(디카르빈)(시스(±)-2,8-디메틸-2,3,4,4a,5,9b-헥사히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌 2염산염)은 항우울 효과를 가지는 신경이완제이며(L. N. Yakhontov, R. G. Glushkov, Synthetic Drugs, ed. by A. G. Natradze, Moscow, "Meditzina" Publishers, 1983, p.234-237), 그것의 (-)이성질체, 스토바딘은 항부정맥제로서 알려져 있고(Kitlova M., Gibela P., Drimal J., Bratisl. Lek.Listy, 1985, vol.84, No.5, p.542-549); 게보트롤린 8-플루오로-2-(3-(3-피리딜)프로필)-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌 2염산염은 항정신병제 및 불안완화제이다(Abou - Gharbi M., Patel U. R., Webb M. B., Moyer J. A., Ardnee T. H., J. Med. Chem., 1987, 30:1818-1823). 다임본은 20년 이상 동안 러시아에서 항알레르기제(발명자 인증 번호 1138164, IP Class A61K 31/47,5, C07D 209/52, 1985년 2월 7일 공개됨)로서 의약품에 사용되었다

[0011] 미국 특허 번호 6,187,785에서 기술되는 바와 같이, 다임본과 같은 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 유도체는 NMDA 길항제 특성을 갖는데, 이것은 그것들이 알츠하이머병과 같은 신경퇴행성 질병을 치료하는 것을 유용하게 한다. 또한, 미국 특허 번호 7,071,206 참조. WO 2005/055951에서 기술되는 바와 같이, 다임본과 같은 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 유도체는, 예를 들어, 피부-털 외피의 장애, 시각 장애 및 체중 감소를 포함하는 노인성 또는 노인 관련 징후 및/또는 병리 또는 질환의 개시 및/또는 발생을 지연시키는 것에 의해, 인간 또는 동물의 항노화제(geroprotector)로서 유용하다. 2006년 10월 4일 출원된 미국 특허 출원 일련 번호 11/543,341 및 2006년 10월 4일 출원된 미국 특허 출원 일련번호 No. 11/543,529는 헌팅턴 병의 진행 또는 개시 및/또는 발생을 치료 및/또는 예방하고 및/또는 늦추는데 사용을 위한 신경보호제로서 다임본과 같은 수소화된 피리도[4,3-b] 인돌 유도체를 개시한다. 또한 영어로 번역된 발명의 명칭이 "Agent for Treatment of Schizophrenia Based on Hydrogenated Pyrido[4,3-b]Indole (Variations), a Pharmacological Agent Based on it, and a Method of Using it."인 2006년 1월 25일 출원된 러시아 특허 출원을 참조.

[0012] 상당한 의학적 필요

[0013] 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화 및/또는 증식이 유리한 질병 또는 질환의 개시를 치료, 예방하고, 및/또는 발생을 지연시키기 위한 추가의 또는 다른 치료제들에 대한 상당한 관심과 필요가 남아있다. 바람직하게는, 새로운 치료제들은 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화 및/또는 증식이 유리한 질병 또는 질환을 가지는 개체에 대해 삶의 질을 개선하고 및/또는 생존 시간을 연장할 수 있다.

### 발명의 상세한 설명

[0014] **발명의 개요**

[0015] 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 다임본은 신경돌기 성장 및 신경발생을 자극하는 것으로 결정되었다. 따라서, 다임본은 성장 인자로서 작용하며 다양한 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식을 촉진하는 것으로 예상된다. 소분자 성장 인자로서 작용하는 다임본의 이런 능력은 대부분의 성장 인자가 다임본보다 훨씬 더 크고 매우 다른 3차원 구조를 가지는 단백질이라는 것을 현저하게 제공한다.

[0016] 본 발명은 하기의 어떤 유효한 양을 그것을 필요로 하는 개체에게 투여하는 것에 의해, 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 유리한 질병 또는 질환의 개시를 치료, 예방, 지연시키고, 및/또는 발생을 지연시키기 위한 조성물 및 방법에 관한 것이다: (1) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염, (2) (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염 및 (ii) 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물의 조합, (3) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅한 세포, (4) (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염 및 (ii) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅한 세포의 조합, (5) (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염, (ii) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅한 세포, 및 (iii) 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물의 조합, (6) (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염 및 (ii) 세포(예로써, 치료 화합물 또는

그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅하지 않은 세포)의 조합, 또는 (7) (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염, (ii) 세포(예로써, 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅하지 않은 세포), 및 (iii) 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물의 조합. 한 변형에서, 본 방법은 어떤 상기 치료제 (1)-(7)의 유효한 양을 그것을 필요로 하는 개체에 투여하는 것에 의해, 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화 및/또는 증식이 유리한 질병 또는 질환을 치료하는 방법이다. 다른 변형에서, 본 방법은 어떤 상기 치료제 (1)-(7)의 유효한 양을 그것을 필요로 하는 개체에 투여하는 것에 의해, 질병 또는 질환과 관련된 돌연변이 또는 비정상 유전자를 가지는 개체에서, 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화 및/또는 증식이 유리한 질병 또는 질환의 개시 및/또는 발생을 예방하고 또는 늦추는 방법이다. 다른 변형에서, 본 방법은 어떤 상기 치료제 (1)-(7)의 유효한 양을 그것을 필요로 하는 개체에 투여하는 것에 의해, 질병 또는 질환으로 진단된 개체에서, 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화 및/또는 증식이 유리한 질병 또는 질환의 개시 및/또는 발생을 예방하고 또는 늦추는 방법이다.

[0017] 본 발명은 또한 하나 이상의 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염 및/또는 하나 이상의 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물과 함께 세포를 인큐베이팅함으로써 세포를 활성화하고 및/또는 세포의 분화를 촉진하고 및/또는 세포의 증식을 촉진하는 방법을 제공한다. 본원에 기술되는 어떤 방법은 이러한 치료제를 필요로 하거나 또는 이러한 치료제가 필요한 위험에 있는 개체(예를 들어, 인간)를 선택하는 단계를 포함할 수 있다. 본원에 기술되는 어떤 방법 또는 다른 구체예에서, 본 화합물은 치료 화합물 다임본 또는 그것의 염산염 또는 이염산염과 같은 그것의 약학적으로 허용가능한 염일 수 있다.

[0018] 약학 조성물은 예로써, (i) 세포를 활성화하고, 세포의 분화를 촉진하고, 세포의 증식을 촉진하기에 충분한 양으로 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염, 또는 이것의 2가지 이상의 어떤 조합, 및 (ii) 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학 조성물을 포함한다. 다른 양태에서, 본 발명은 (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염 및 (ii) 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물의 조합을 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 다른 양태에서, 본 발명은 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅한 세포를 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 다른 양태에서, 본 발명은 (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염 및 (ii) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅한 세포의 조합을 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 다른 양태에서, 본 발명은 (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염, (ii) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅한 세포, 및 (iii) 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물의 조합을 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 다른 양태에서, 본 발명은 (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염 및 (ii) 세포(예로써, 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅하지 않은 세포)의 조합을 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 다른 양태에서, 본 발명은 (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염, (ii) 세포(예로써, 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅하지 않은 세포), 및 (iii) 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물의 조합을 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 한 변형에서, 상기 또는 본원에 기술된 어떤 조성물과 같은 약학 조성물은 약학적으로 허용가능한 담체를 더 포함한다. 본 발명은 또한 기술된 어떤 조성물이 약제로서 사용 및/또는 약제의 제조에서 사용될 수 있음을 제공한다.

[0019] 본 발명의 치료법을 포함하는 키트는 또한, 예로써 (i) 세포를 활성화하고, 세포의 분화를 촉진하고, 세포의 증식을 촉진하는데 충분한 양으로 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염 또는 이것 중 두 가지 이상의 어떤 조합, 및 (ii) 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 유리한 질병 또는 질환에서 사용을 위한 설명서를 포함한다. 한 양태에서, 본 발명은 (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염 및 (ii) 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물을 포함하는 키트를 제공한다. 다른 양태에서, 본 발명은 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅한 세포를 포함하는 키트를 제공한다. 다른 양태에서, 본 발명은 (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염 및 (ii) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅한 세포를 포함하는 키트를 제공한다. 다른 양태에서, 본 발명은 (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염, (ii) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅한 세포, 및 (iii) 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물을 포함하는 키트를 제공한다. 다른 양태에서, 본 발명은 (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염 및 (ii) 세포(예로써, 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅하지 않은 세포)를 포함하는 키트를 제공한다. 다른 양태에서, 본 발명은 (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염, (ii) 세포(예로써, 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅하지 않은 세포), 및 (iii) 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물을 포함하는 키트를 제공한다. 상기와 같은 본원에 기술되는 어떤 키트는 하나 이상의 세포

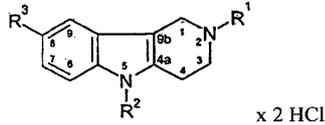
종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 유리한 질병 또는 질환에서 사용을 위한 설명서를 제공한다.

[0020] 본 발명의 다른 특징 및 이점은 하기 상세한 설명 및 청구항으로부터 명백하게 될 것이다.

**실시예**

[0261] 실시예 1. 다임본과 함께 배양한 뉴런의 신경돌기 성장의 증가

[0262] 다임본, 2,8-디메틸-5-(2-(6-메틸-3-피리딜)-에틸)-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌 2염산염을 수소화된 피리도[4,3-b]인돌의 대표적인 화합물로서 사용하였다.



[0263]

[0264] 상기식에서, R<sup>1</sup> 및 R<sup>3</sup>은 메틸이고,

[0265] R<sup>2</sup>는 2-(6-메틸-3-피리딜)-에틸이다.

[0266] 다임본을 대뇌피질 뉴런, 해마 뉴런 및 척수 운동 뉴런의 신경돌기 성장을 자극하기 위한 그것의 능력을 결정하기 위해 시험하였다. 유사한 방법을 해마 뉴런과 같은 다른 종류의 뉴런에서 신경돌기 성장을 자극하기 위한 다임본의 능력을 시험하기 위해 사용할 수 있다.

[0267] 대뇌피질 뉴런 및 척수 운동 뉴런을 분리하기 위해 표준 방법을 사용하였다. 1차 래트 대뇌피질 뉴런의 분리를 위해, 잉태의 제17일에 임신한 래트로부터 태아 뇌를 레이보비츠(Leibovitz) 배지(L15; Gibco)에서 준비하였다. 피질을 절개하였고, 뇌척수막을 제거하였다. 트립신(Gibco)을 DNase I과 함께 37°C에서 30분 동안 대뇌피질 뉴런을 분리하는데 사용하였다. 세포를 10% 소태아 혈청("FBS")(Gibco)과 함께 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle Media; Gibco)에서 10 mL 피펫으로 가루로 만들고, 실온에서 10분 동안 350 x g에서 원심분리하였다. 세포를 2% B27(Gibco) 및 0.5 mM L-글루타민(Gibco)로 보충한 Neurobasal 배지에서 현탁하였다. 세포를 5% CO<sub>2</sub>-95% 공기 분위기의 37°C에서 폴리-L-리신 코팅된 플레이트의 웰 당 30,000개의 세포로 유지하였다. 부착 후, 비히클 대조군 또는 다임본을 다른 농도로 배지에 첨가하였다. BDNF (50 ng/mL)를 신경돌기 성장을 위한 양성 대조군으로서 사용하였다. 처리 후, 배양물을 인산염-완충 식염수("PBS"; Gibco)로 세척하였고, PBS 중의 글루타르알데히드 2.5%에서 고정하였다. 세포를 3일 성장 후 고정시켰다. 신경돌기를 가지는 세포의 몇 장의 사진을 조건마다 카메라로 촬영하였다. 길이 측정을 Image-Pro Plus (France)의 소프트웨어를 사용하여 사진 분석에 의해 한다. 결과를 평균(s.e.m.)으로 나타내었다. 데이터의 통계적 분석을 일원 분산분석(ANOVA)을 사용하여 수행하였다.

[0268] 해마 뉴런을 분석하기 위해, 19일 잉태의 암컷 래트를 경추 탈골에 의해 죽이고, 태아를 자궁으로부터 제거하였다. 그것의 뇌를 제거하였고 레이보비츠의 빙냉한 배지(L15, Gibco, Invitrogen)에 두었다. 뇌척수막을 주의 깊게 제거하였고, 해마를 절개하였다. 해마 뉴런을 DNase I (Roche; Meylan)의 존재하에서 37°C에서 30분 동안 트립신처리하여 분리하였다. 반응을 10%의 FBS (Gibco)가 있는 DMEM(Gibco) 세포 배양 배지의 첨가에 의해 중단시켰다. 현탁액을 니들 주사기 21G를 사용하여 10-ml 피펫으로 가루로 만들고 실온에서 10분 동안 350 x g에서 원심분리하였다. 결과 펠렛을 2% B27 보충물 (Gibco) 및 2 mM의 글루타민(Gibco)으로 보충한 Neurobasal 배지 (Gibco)를 함유하는 배양 배지에서 재현탁하였다. 생존 세포를 트립판 블루 배제 시험(Sigma)을 사용하여 뉴바우어(Nebauer) 사이트미터로 카운팅하였고, 폴리-L-리신으로 미리 코팅한 페트리 접시 당 30,000개의 세포를 기준으로 씨딩하였다. 세포를 2시간 동안 부착시키고 5% CO<sub>2</sub>-95% 공기 분위기에서 37°C로 습한 인큐베이터에서 유지하였다. 부착 후, 비히클 대조군 또는 다임본을 배지에 다른 농도로 첨가하였다. BDNF (1.85 nM)를 신경돌기 성장에 대한 양성 대조군으로서 사용하였다. 치료 후, 배양물을 인산염-완충 식염수(PBS, Gibco)로 세척하였고 PBS 중의 글루타르알데히드 2.5%에 고정하였다. 세포를 3일 성장 후 고정하였다. 어떤 가지가 없는 신경돌기를 가지는 세포의 몇 장의 사진(~80)을 현미경에 고정된 카메라(Coolpix 995; Nikon)로 조건마다 촬영하였다. 길이 측정을 Image-Pro Plus (France)의 소프트웨어를 사용하여 사진 분석에 의해 하였다. 결과를 평균(s.e.m.)으로 나타내었다. 데이터의 통계적 분석을 일원 분산분석(ANOVA)을 사용하여 수행하였다. 적절한 경우, Fisher's PLSD 검정은 쌍별다중비교(multiple pairwise comparison)를 사용하였다. 유의 수준은 p ≤ 0.05로 설정하였다.

- [0269] 도 1은 첫 번째 래트 대뇌피질 뉴런의 신경돌기 성장에 대한 다임본 용량 반응 곡선이다. 다임본의 낮은 농도 (즉, 피코몰(pM) 및 나노몰(nM))은 1차 래트 대뇌피질 뉴런의 신경돌기 성장을 자극하였다. 도 2A-2C는 비히클 대조군(식염수)(도 2A), 0.14 nM 다임본 (도 2B), 또는 양성 대조군 BDNF(도 2C)으로 처리한 1차 래트 대뇌피질 뉴런의 신경돌기 성장의 대표적인 이미지이다.
- [0270] 도 3 및 도 4는 각각 첫번째 래트 해마 뉴런 및 1차 래트 척수 운동 뉴런의 신경돌기 성장에 대한 용량 반응 곡선이다. 다임본의 피코몰 및 나노몰 농도는 이들 뉴런에서 신경돌기 성장을 자극하였다.
- [0271] 1차 해마 뉴런을 사용하는 신경돌기 성장에서 다임본(100 nM)의 효과를 신경돌기 길이(대조군의 %로 표시, 도 5A) 및 뉴런 당 신경돌기의 수(도 5B)를 측정함으로써 평가하였다. 비히클, 다임본 및 BDNF (50 ng/mL)의 효과를 인큐베이팅의 24시간, 48 시간 및 72 시간 후 결정하였다. 비히클 처리와 비교할 때, 다임본은 신경돌기 길이, 및 뉴런 당 신경돌기의 수를 증가시켰다. 이들 종말점에서 다임본의 효과는 BDNF로 얻은 것에 상당한다.
- [0272] 실시예 2. 다임본이 투여된 래트에서 신경 발생의 증가
- [0273] 다임본, 2,8-디메틸-5-(2-(6-메틸-3-피리딜)-에틸)-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌 2염산염을 수소화된 피리도[4,3-b]인돌의 대표적인 화합물로서 사용하였다. 다임본을 생체 내 신경 발생을 증가시키는 그것의 능력을 결정하기 위해 시험하였다. 특히 건강한 래트의 뇌에서 신경 발생(예로써, 해마 신경 발생)을 촉진하는 다임본의 능력을 결정하였다.
- [0274] 위스타 래트를 찰스강(Charles River) 또는 할란 빈켈만(Harlan Winkelmann)(독일)으로부터 획득하였다. 수컷 래트는 동물 콜로니에 도달 시 3개월령이었다. 동물을 표준 조건하에서 오스트리아 정부의 과학부의 동물 복지 규정에 따라 동물 시설에 보관하였다. 체중의 기록을 계속하였다. 어떤 실험 조작 전에 적어도 일주일 동안 동물을 순응시켰다. 그룹 당 12마리의 래트를 12시간 명/암 주기에서 유지하였다. 동물 손실에 대한 보충을 위해서 3마리의 여분의 동물을 유지하였다. 모든 래트를 우리 당 4마리의 군으로 수용하였고 음식 및 물에 자유로운 접근을 하도록 했다.
- [0275] 래트를 5-브로모-2-데옥시우리딘(BrdU, Sigma #B9285, 50 mg/kg 체중 (b.w.)) 및 (i) 10 mg 다임본/kg b.w./1일 2회; (ii) 30 mg 다임본/kg b.w./1일 2회; (iii) 60 mg 다임본/kg b.w./1일 2회; 또는 (iv) 0.2 mL 비히클 (식염수) 1일 2회 중 하나를 복강투여(i.p.)로 받는 4개의 다른 처리군에 임의로 할당하였다. BrdU, 티미딘의 합성 뉴클레오타이드 유사체에 의한 처리는 뇌와 같은 살아있는 조직의 증식 세포를 검출하는데 흔히 사용된다. 다임본 및 비히클을 0.2 mL의 부피로 1일 2회 경구 투여하였다. BrdU를 2일마다 투여하였다. 매일의 다임본 또는 비히클 처리를 BrdU 처리 수 분전에 수행하였다. 제 14일에, 동물을 마지막 다임본 처리의 대략 4시간 후 그리고 마지막 BrdU 처리의 1일 후에 희생시켰다. 희생시킨 다임본을 매일 신선하게 제조하였다.
- [0276] 희생에서, 표준 마취를 사용하여 래트를 진정시켰다. 인산염 완충 식염수(PBS) 다음에 4% 파라포름알데히드/PBS로 경심관류 후, 각 래트의 뇌를 주의 깊게 제거하고, 한 시간 동안 4% 파라포름알데히드/PBS에서 후고정시키고, 동결보호동안 15% 수크로오스에 옮기고, 액체 이소펜탄에서 충격-냉동시켰다. 뇌를 냉각-절단까지 -80°C에서 저장하였다.
- [0277] 뇌를 냉동 조직 절편기를 사용하여 시상 봉합에서 절개하였고 염색할 때까지 -20°C에서 저장하였다. 5개의 층을 층마다 20 마이크로미터인 10개의 절편으로, 100 마이크로미터의 층간 조각 간격으로 절단하였다. 표준 크레실-바이올렛 염색을 동물 당 2개의 연속 조각에서 수행하였다. BrdU 면역조직화학법을 세포 분화의 형태학적 개요를 제공하기 위해 수량화하였다.
- [0278] BrdU 양성 세포/뉴런의 평가를 위해, 절편을 마우스 항-신경세포 핵(NeuN) 단일클론 항체(Chemicon) 및 항-BrdU (Abeam)와 함께 이중-인큐베이팅에 의해 처리하였다. 층 당 한 개의 절편을 마우스 항-신경세포 핵(NeuN) 단일클론 항체 1:800 (Chemicon, Hofheim, Germany) 및 항-BrdU (BrdU에 양 다클론) 1:500 (Abeam, Cambridge, UK)으로 3일 이중-인큐베이팅으로 처리하였다. 2차 항체는 Cy-3-접합된 순수한 아핀 염소 항-마우스 IgG (H+L) 1:200 (Jackson ImmunoResearch, Cambridgeshire, UK) 및 당나귀 항-양 IgG (H+L)의 Cy2-접합된 순수한 아핀 F(ab')<sub>2</sub> 단편 1:100 (Jackson ImmunoResearch, Cambridgeshire, UK)이었다. 간략하게, 항-NeuN 항체를 4°C에서 밤새 인큐베이팅하였고, Cy3 항체를 다음날에 실온에서 한 시간 동안 인큐베이팅한 후 항-BrdU 항체를 4°C에서 밤새 인큐베이팅하고 Cy2 항체를 실온에서 한 시간 동안 인큐베이팅하였다. BrdU 인큐베이팅 전에 세포 표면을 열기 위해서, 조각을 40°C에서 15분 동안 2N HCl로 처리하고, 그 다음에 내인성 퍼옥시다아제를 차단하기 위해 메탄올 혼합물(60 ml 메탄올, 2 ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 및 0.6 ml Triton X)에서 20분 동안 세척하였다. 니슬(Nissl) 염색을

전체적 염색으로서 사용하였다.

- [0279] 피질 및 해마를 포함하는 시상 봉합의 타일형 이미지를 200-배 확대로 기록하였다. 각 단일 이미지는 소프트웨어 제어(StagePro) 자동 테이블을 장착한 NikonE800 현미경에 장착된 PCO PixelFly 카메라를 사용하였다. NeuN에 대해 적색 및 BrdU에 대해 녹색인 형광색 둘 다 개별적으로 기록하였다. 정량화를 위해 이미지를 합하였다. 평가된 변수는 영역, BrdU 양성 세포의 절대 수, BrdU 양성 뉴런의 수, 및 측정 영역에 대한 후자의 2개의 값을 포함하였다. 평가를 전체 해마, 특히 치아이랑 및 뇌실하층 구역에 집중하였다.
- [0280] 도 6A, 6B, 7A, 및 7B에 예시한 바와 같이, 다임본 치료는 해마 및 치아이랑에서 BrdU 염색 세포의 총 수를 증가시키고(각각 도 6A 및 도 7A), 뇌의 동일 영역에서 BrdU 염색 뉴런의 수를 증가시킨다(도 6B 및 7B).
- [0281] 실시예 3. 초파리 눈에서 광수용체 뉴런의 헌팅턴-유발 신경퇴화를 억제하기 위한 치료제 (1)-(7) 중 어떤 것과 같은 본 발명의 치료제 능력의 결정.
- [0282] 본 발명의 치료제는 초파리 눈에서 광수용체 뉴런의 돌연변이 헌팅턴-유발 신경퇴화를 억제하는 그것의 능력을 시험할 수 있다(파리 뇌의 신경퇴행적 변화를 반영함). 특히, 설치류 및 초파리류 유전자에 헌팅턴 병을 초래하는 헌팅턴 유전자의 삽입은 인간에서 보이는 헌팅턴 병의 많은 병리적 및 임상적 증상을 유발하는 것으로 다른 것들에 의해 나타났다. 따라서, 이들 트랜스제닉 동물의 연구는 인간에서 시험하기 전 잠재적 헌팅턴병 치료제의 약리학적 활성에 접근하는데 유용하다. 기술된 초파리 모델의 결과는 역사적으로 헌팅턴병에 대한 트랜스제닉 마우스 모델과 매우 관련되었다. 초파리 모델과 인간 헌팅턴병 질환의 밀접한 유사점은 J.L. Marsh et al, "Fly models of Huntington's disease", *Hum. Mol. Genet.*, 2003, 12(review issue 2): R187-R193에서 기술된다.
- [0283] 초파리는 신경퇴행성 질병을 모델링 하기 위한 훌륭한 선택이라고 생각하는데, 포유동물 신경계의 것과 다르지 않게 어느 정도는 시각, 후각, 학습 및 기억과 같은 구체적인 작용을 분리하는 구성을 가지는 완전한 기능의 신경계를 함유하기 때문이다. 게다가, 초파리의 겹눈은 현미경을 통해 직접적으로 시각화될 수 있는 특수화된 뉴런의 수백 개의 반복적인 배열로 구성되며, 이것으로 뉴런 세포사멸을 직접적으로 차단하는 잠재적인 신경보호 약물의 능력을 용이하게 평가할 수 있다. 결국, 질병과 관련된 것으로 알려진 인간 유전자들 중에서, 대략 75%는 초파리류와 아주 닮은 것을 가진다.
- [0284] 특히, 초파리의 돌연변이 헌팅턴 단백질의 발현은 인간 헌팅턴병의 특징 중 일부를 나타내는 파리 표현형을 초래한다. 첫째로, 헌팅턴병에서 추정되는 기병성인자(돌연변이 헌팅턴 단백질)는 폴리글루타민 또는 폴리Q 반복체로 불리는 뉴클레오티드의 반복된 3염기에 의해 코딩된다. 인간에서, 헌팅턴병의 중증도는 폴리Q 반복체의 길이와 관련된다. 동일한 폴리Q 길이 의존성이 초파리에서 보인다. 둘째로, 일반적으로 인생의 40 및 50대에 시작하는 헌팅턴병의 첫 번째 징후 및 증상을 나타내는 인간과 유사하게 후기 수명 단계(성숙한 유생, 번데기 및 성충 단계)에서 파리가 질병을 발생시키기는 하지만, 돌연변이 헌팅턴 단백질을 발현시키는 파리의 초기 단계(초기 유생 단계)에서 신경퇴행은 보이지 않는다. 셋째로, 헌팅턴병이 있는 인간 환자에서와 마찬가지로, 신경퇴행은 돌연변이 헌팅턴 유전자를 발현시키는 파리에서 진행되는 것으로 보인다. 넷째로, 헌팅턴-발현 파리에서 신경병리는 유사하게 고통받는 인간 환자에서와 같이 운동 기능의 손실을 가져온다. 마지막으로, 돌연변이 헌팅턴 단백질을 발현시키는 파리는, 헌팅턴병이 있는 환자에서와 같이 조기에 사망한다. 이런 이유로, 헌팅턴병의 초파리 모델에서 신경보호 효과를 나타내는 치료제는 인간에서 유리한 효과를 가지는 가장 적당한 치료제일 것으로 예상된다.
- [0285] 이 분석에 대해, 본 발명의 치료제(예를 들어, 0, 1  $\mu$ M, 5  $\mu$ M, 10  $\mu$ M, 100  $\mu$ M, 100, 300  $\mu$ M, 또는 1,000  $\mu$ M의 용량의 다임본과 같은 치료 화합물을 함유하는 치료제)는 모든 그것의 뉴런에서 돌연변이 헌팅턴 단백질을 발현시키도록 처리된 한 군의 트랜스제닉 초파리에 투여된다. 이것은 효모 GAL4 전사 인자에 의해 활성화되는 효모 상류 활성화자 서열의 조절하에서 전이 p-요소 DNA 벡터에 외래 유전자를 클로닝함으로써 수행된다. 이들 프로모터 용합을 트랜스제닉 동물을 만들기 위한 파리 배아에 주입한다. 외래 유전자는 조직 특이적 방법으로 GAL4 유전자를 발현시키는 파리의 다른 트랜스제닉 균주에 교차될 때까지 잠재성이다. 출생에서부터 사망까지 모든 뉴런에서 이식 유전자를 발현시키는 *Elav>Gal4*를 기술한 실험에서 사용한다.
- [0286] 치료제 시험을 위해, 20-30 *Httex1pQ93* 암컷을 *elav>Gal4* 수컷과 교배시켰고 알을 25°C에서 약 20시간 동안 수집하고, 바이알에 분배한다(*Htt* 효과로부터 약 70% 치사율을 예상). 부화시, 적어도 80 마리의 0-8시간령 파리를 수확하고 치료제-함유 음식(바이알 당 20마리의 번데기로부터 탈피된 성체)을 통하는 것과 같은 본 발명의 치료제를 두거나 제공하고 7일령일 때 점수화하였다. 치료제-함유 음식을 시험 파리들이 나오기 시작하는 바로

전에 제공한다.

- [0287] 연구를 위해 연령이 비슷한 대조군을 충분하게 수집하기 위해서 2 종류의 트랜스제닉 동물을 교배한다. 교배한 연령이 비슷한 성체(투여 군 당 약 20마리)를 7일 동안 치료제-함유 음식에 둔다. 동물에게 매일 신선한 음식을 전달하여 치료제의 불안정성에 의해 야기되는 어떤 효과를 최소화한다. 생존을 매일 점수화한다. 탈피의 6시간 내에 새로 탈피한 테스터 형제의 7-10마리를 점수화함으로써 제0일의 광수용체의 평균 수를 결정한다. 이는 치료제에 대한 노출 시간에서 퇴화의 기준선을 정한다. 제7일에, 동물을 희생시키고 살아있는 광수용체 뉴런의 수를 카운팅한다. 점수화는, 개개 기능의 광수용체가 후두부에 초점이 맞춰진 광선에 의해 나타나고, 눈의 광수용체 수준에 초점이 맞춰지는 복합 현미경 하에서 광선의 초점으로서 시각화되는 위동공(pseudopupil) 방법에 의한다. 위동공 분석을 위해, 파리는 머리를 자르고, 머리를 한 방울의 매니큐어액으로 현미경 슬라이드에 고정시킨다. 그 후 머리를 유침유로 칠하고 50× 오일 대물렌즈를 가지는 Nikon EFD- 3/Optiphot-2 복합 현미경을 사용하여 파리의 눈을 통해 광선을 투영한다.
- [0288] 다양한 농도의 치료제를 시험할 때(예를 들어, 5가지 이상의 치료제의 농도), 시험을 며칠로 나눌 수 있다. 이는 위동공 분석에 대한 시간을 허용한다. 다른 날짜에 나타나는 Elav>Gal4;UAS>HttQ93 성체 파리 사이에서 차이점이 관찰될 수 있기 때문에, 각 날짜에 대해 치료제 대조군을 설정하지 않는다. 데이터를 분석하기 위해, 미처리 성체를 동일한 날에 나타난 치료 처리 성체와 비교한다.
- [0289] 실시예 4. 초파리 모델의 운동 능력에서 치료제 (1)-(7)중 어떤 것과 같은 본 발명 치료제의 효과의 결정
- [0290] 초파리의 운동 기능에서 본 발명의 치료제 효과(상기 실시예에서 기술한 바와 같이 획득)를 그것들을 바이알의 바닥에 넣었을 때 위쪽으로 오르는 파리의 강한 음성 굴지성을 이용함으로써 평가할 수 있다. 예를 들어, Le Bourg and Lint (1992) Hypergravity and aging in Drosophila melanogaster. 4. Climbing activity. *Gerontol.* 38:59-64 참조. 동물을 눈금이 있는 용기(예를 들어, 메스 실린더)에 넣는다. 각 동물에 대해 5분의 휴식 기간과 함께 3번의 시도에 걸쳐 10초 후의 클라이밍 거리를 측정한다. 유리 바이알보다는 길고 가느다란 플라스틱 튜브를 사용하는 개별 실험에서, 30초 후의 클라이밍 거리를 또한 측정한다. 동물을 처리군의 지식 없이 결과에 대한 점수를 매긴다.
- [0291] 파리들을 클라이밍 거리를 측정하는 행동 분석(클라이밍 분석)을 사용하여 기능적 구출(functional rescue)에 대해 시험한다. 파리는 음성 굴지성이고 따라서 바닥을 두드리면 즉시 용기의 벽을 클라이밍한다. 이 분석에서, 클라이밍은 맹검으로 점수를 매기고, 각 동물은 3번의 시도가 주어지며 이후에 평균을 낸다. 다양한 농도의 본 발명의 치료제(예를 들어, 다임본과 같은 치료제의 0, 10, 100 또는 1,000 μM을 함유하는 치료제)를 함유하는 음식에 길들인 7일령의 동물의 클라이밍을 부화일의 동물의 클라이밍과 비교한다. 2번의 시도를 수행한다. 처음에, 큰 유리 바이알에서의 클라이밍 능력을 10초에 걸쳐 모니터링한다. 두번째 시도는 동물이 30초에 걸쳐 클라이밍하는 동안 길고 가느다란 플라스틱 튜브에서 시험하는 것을 제외하고는 첫 번째와 유사하다.
- [0292] 실시예 5. 중뇌 배양물에서 도파민성 및 가바성 뉴런(GABAergic neuron)에 대한 치료제 (1)-(7) 중 어떤 것과 같은 본 발명의 치료제의 독성의 결정
- [0293] 중뇌 배양물에서 도파민성 및 가바성 뉴런에 대해 본원에 기술한 치료제의 어떤 투여의 독성을 결정하기 위해 세포-기초 분석을 수행할 수 있다. 다른 농도의 본 발명의 치료제가 중뇌 배양물에 첨가될 수 있고, 도파민 및 GABA의 흡수를 평가한다. 이 실험은 하기 실시예에서 기술되는 바와 같은 MPP+ 독성에서 그것의 효과를 시험하기 위해 사용될 수 있는 본 발명의 치료제의 무-독성 용량을 정한다.
- [0294] 0 내지 100 μM의 범위에 있는 본 발명의 치료제의 용량을 표준 방법을 사용하여 시험한다(예를 들어, W. Church and S. Hewett, *J. Neurosci. Res.*, 73:811-817, 2003 참조). 처리를 전형적으로 3회로 수행한다. MPP+를 양성 대조군으로서 사용할 수 있다.
- [0295] 실시예 6. 중뇌 배양물을 MPP+에 의한 손상으로부터 보호하기 위한 치료제(1)-(7) 중 어떤 것과 같은 본 발명의 치료제의 능력의 결정.
- [0296] 치료제가 MPP+-유발된 도파민성 세포 손실을 방해하든지 아니든지 중뇌 배양물을 본원에 기술되는 치료제와 함께 및 치료제 없이 1-메틸-4-페닐피리딘("MPP+")에 노출시킬 수 있다. 특히, 중뇌 배양물을 1 또는 5 μM의 본 발명의 치료제의 존재하에서 24시간 동안 사전 인큐베이션시키고 그 후에 표준 방법을 사용하여 1 μM MPP+에 노출시킨다(예를 들어, W. Church and S. Hewett, *J Neurosci. Res.*, 73:811-817, 2003 참조). 처리는 전형적으로 3회로 행한다. 도파민과 GABA 흡수를 각각 세포 생존력의 마커로서 측정한다. 실험을 또한, 예를 들어, 1

μM로 사전 인큐베이팅한 배양물에 MPP+의 더 순한 용량(0.5 μM)을 첨가함으로써 수행할 수 있다.

[0297] 실시예 7. 1-메틸-4-페닐-1,2,3,6-테트라히드로피리딘("MPTP")-유발 흑질 선조체 변성의 마우스 모델에서 도파민 및 그것의 대사산물의 소모를 억제하기 위한 치료제 (1)-(7) 중 어떤 것과 같은 본 발명의 치료제의 능력의 결정

[0298] 파킨슨병의 생체내 모델을 또한 인간과 같은 포유동물에서 파킨슨병의 개시를 치료, 예방, 지연시키고, 및/또는 발생을 지연시키는 것으로 본원에 기술되는 치료제 중 어떤 것의 능력을 결정하는데 사용할 수 있다. 파킨슨병의 몇몇 동물 모델은 미국 특허 번호 6,878,858; 5,853,385; 7,105,504; 및 7,037,657에 기술되는 것과 같이 다른 것들에 의해 발생되었다. 다른 유용한 모델은 흑질 선조체 변성의 모델(예를 들어, 파라퀴트-유도 흑질 세포 손실; 예를 들어, Amy Manning-Bog *et al.*, *J. Neurosci.*, 23(8):3095-3099, 2003 참조) 및/또는 독성-유발 흑질 선조체 손상의 다른 패러다임(예를 들어, 만성 MPTP 노출)을 포함한다.

[0299] 한 방법에서, MPTP-유발 흑질 선조체 변성의 마우스 모델은 파킨슨 병의 개시를 치료, 예방, 지연시키고, 및/또는 발생을 지연시키는 것으로 본원에 기술되는 치료제의 능력을 분석하는데 사용된다. 특히, 측정은 MPTP에 의해 야기되는 마우스 선조체에서의 도파민 및 그것의 화합물(DOPAC 및 HVA)의 고갈을 예방하기 위한 본 발명의 치료제의 능력을 확인한다.

[0300] 구체적으로, 본 발명의 치료제는 MPTP 노출 전, 노출 시 및 노출 후에 투여한다. 동물은 MPTP에 전 2일 동안, 9:00 a.m. 및 4:00 p.m.에 치료제의 2번의 복강투여를 받는다. MPTP 투여일에, 마우스를 9:00 a.m.에 치료제를 주사 후, 1:00 p.m.에 MPTP를 주사하고, 4:00 p.m.에 다시 치료제를 주사한다. 최종적으로, MPTP 노출 후 6일 동안 마우스에게 1일에 2회 투여의 치료제를 제공한다. MPTP를 30 mg/kg의 용량으로 피하에 주사한다. 대조군 동물은 본 발명의 치료제 대신에 비히클을 받았고 MPTP 대신에 식염수를 받았다. 동물을 MPTP 노출 후 제7일에 경추탈골에 의해 희생시킨다. 대표적인 처리군을 하기에 요약한다.

처리군	N
1. 대조군(단지 비히클)	6
2. 본 발명의 치료제 (10 mg/kg x 2/일, i.p.)	7
3. MPTP (30 mg/kg, s.c.)	7
4. MPTP (30 mg/kg, s.c.) + 본 발명의 치료제 (1 mg/kg x 2/일, i.p.)	8
5. MPTP (30 mg/kg, s.c.) + 본 발명의 치료제 (10 mg/kg x 2/일, i.p.)	8
총 C57BL/6 마우스 (8주령)	36

[0301] 실험의 마지막에, 마우스를 희생시키고, 선조체(좌 및 우)를 얼음에서 해부한다. 좌 선조체를 병냉한 0.4 M 과염소산에 즉시 넣고 DA, DOPAC 및 HVA의 분석을 진행한다. 중뇌 차단뿐만 아니라 우 선조체를 또한 절개하고 잠재적인 미래의 사용을 위해 저장한다(예를 들어, 필요하다면, 웨스턴(Western)에 의한 선조체 샘플에서 티로신 히드록실라아제 수준의 측정, 선조체 샘플에서 도파민 운송자 결합의 측정 및/또는 흑색질에서 도파민성 뉴런의 입체학적 카운팅을 후에 수행할 수 있다). DA, DOPAC 및 HVA를 앞서 기술한 방법 다음에 전기 화학적 검출로 HPLC에 의해 측정한다(Purisai *et al*, *Neurobiol. Dis.* 20:898-906, 2005).

[0303] 본 발명의 치료제의 신경보호 효과를 또한 0.01 mg/kg, 0.05 mg/kg, 0.10 mg/kg, 1 mg/kg, 및 5 mg/kg을 포함하는 저용량에서 이 프로토콜로 또는 흑질 선조체 변성(예를 들어, 파라퀴트-유도 흑질 세포 손실)의 다른 모델 및/또는 독성-유발 흑질 선조체 손상(예를 들어, 만성 MPTP 노출)을 사용하여 시험할 수 있다.

[0304] 실시예 8. 알츠하이머병의 개시 및/또는 발생을 치료, 예방 및/또는 지연시키기 위한 치료제 (1)-(7)과 같은 본 발명의 치료제의 능력을 결정하기 위한 생체내 모델의 사용.

[0305] 알츠하이머병의 생체 내 모델은 또한 인간과 같은 포유동물에서 알츠하이머병의 개시 및/또는 발생을 치료, 예방 및/또는 지연시키는 것으로 본원에서 기술되는 어떤 치료제의 능력을 결정하는데 사용될 수 있다. 알츠하이머병의 대표적인 동물 모델은 '스웨덴' 돌연변이 아밀로이드 전구체 단백질을 과발현하는 트랜스제닉 마우스를 포함한다(APP; Tg2576; K670N/M671L; Hsiao *et al*, 1996, *Science*, 274:99-102). 이들 마우스에 존재하는 표현형은 잘 특징지어져 있다(Holcomb L.A. *et al.*, 1998, *Nat. Med.*, 4:97-100; Holcomb L. A. *et al.*, 1999, *Behav. Gen.*, 29:177-185; and McGowan E., 1999, *Neurobiol. Dis.*, 6:231-244). 본 발명의 치료제의 신경보호 효과를 또한 0.01 mg/kg, 0.05 mg/kg, 0.10 mg/kg, 1 mg/kg, 및 5 mg/kg을 포함하는 저용량으로 이 모델에서, 또는 알츠하이머병의 다른 동물 모델을 사용하여 시험할 수 있다. 표준 방법을 본 발명의 어떤 치료제가 이들 마우스의 뇌에서 Aβ 침전물의 양을 감소시키는지 여부를 결정하기 위해 사용할 수 있다(예를 들어, 2004년 4월 22일 공개된 WO 2004/032868 참조).

- [0306] 실시예 9. 근위축성 측삭경화증의 개시 및/또는 발생을 치료, 예방 및/또는 지연시키는 치료제 (1)-(7)과 같은 본 발명의 치료제의 능력을 결정하기 위한 시험관 내 모델에서 사용.
- [0307] ALS의 시험관 내 모델은 SOD1 돌연변이에 의해 유발된 세포 독성을 감소시키는 것으로 본원에 기술된 어떤 치료제의 능력을 결정하는데 사용될 수 있다. 세포 독성의 감소는 인간과 같은 포유동물에서 ALS의 개시 및/또는 발생을 치료, 예방 및/또는 지연시키기 위한 능력을 나타낸다.
- [0308] 한 구체예에서 ALS, N2a 세포(예를 들어, 미국 캘리포니아 사우스 샌프란시스코 InPro Biotechnology에 의해 판매되는 마우스 신경모세포종 세포 연속변이 N2a)의 시험관내 모델은 본 발명의 다양한 농도의 치료제의 존재 또는 부재하에서 돌연변이 SOD1으로 일시적으로 트랜스펙션된다. 표준 방법은 Y. Wang *et al.*, (*J. Nucl. Med.*, 46(4):667-674, 2005)에 의해 기술되는 것과 같은 이런 트랜스펙션에 대해 사용될 수 있다. 세포 독성은 치료제가 N2a 세포에서 돌연변이 SOD1-매개 독성을 약화시키지 여부를 결정하기 위한 세포 카운팅, 면역염색, 및/또는 MTT 분석과 같은 어떤 통상적인 방법을 사용하여 측정될 수 있다(예를 들어, 미국 특허 번호 7,030,126; Y. Zhang *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 99(11):7408-7413, 2002; 또는 S. Fernaeus *et al.*, *Neurosci Letts.* 389(3): 133-6, 2005 참조).
- [0309] 실시예 10. 근위축성 측삭경화증의 개시 및/또는 발생을 치료, 예방 및/또는 지연시키기 위한 치료제 (1)-(7)과 같은 본 발명의 치료제의 능력을 결정하기 위한 생체 내 모델의 사용.
- [0310] ALS의 생체 내 모델은 또한 인간과 같은 포유동물에서 ALS의 개시 및/또는 발생을 치료, 예방 및/또는 지연시키기 위해 기술된 어떤 치료제의 능력을 결정하는데 사용될 수 있다. ALS 또는 운동 뉴런 변성의 몇몇 동물 모델은 미국 특허 번호 7,030,126 및 6,723,315에서 기술되는 것과 같은 다른 것들에 의해 나타났다.
- [0311] 예를 들어, ALS의 친숙한 형태를 초래하는 SOD의 돌연변이 형태를 발현하는 트랜스제닉 마우스의 몇몇 라인을 ALS의 무린 모델로서 구성하였다(미국 특허 번호 6,723,315). 글리신 93의 알라닌으로 치환을 수행하는 돌연변이 인간 SOD를 과발현하는 트랜스제닉 마우스(FALS<sub>G93A</sub> 마우스)는 사지의 마비에 의해 그 자체를 발현시키는 진행성 운동 뉴런 변성을 가지며, 4-6개월령에 죽는다(Gurney *et al.*, *Science*, 264, 1772-1775, 1994). 첫 번째 임상적 징후는 대략 90일에 사지의 떨림, 그 후 제 125일에 단계 길이의 감소로 구성된다. 조직학적 수준에서, 미토콘드리아 기원의 액포를 대략 제37일에 운동 뉴런에서 관찰할 수 있고, 운동 뉴런 손실을 제90일에 관찰할 수 있다. 미엘린화된 축삭돌기의 공격은 원칙적으로 배쪽 골수에서 관찰되며 등쪽 영역에서 약간 관찰된다. 보상 측부 재신경지배(Compensatory collateral reinnervation) 현상을 운동 플라그의 수준에서 관찰한다.
- [0312] FALS<sub>G93A</sub> 마우스는 치료적 전략의 개발에 대해서 뿐 아니라 ALS의 생리병리적 메커니즘의 연구를 위한 매우 양호한 동물 모델을 구성한다. 이들 마우스는 매우 많은 수의 ALS의 조직병리적 및 근전도 특성을 나타낸다. FALS<sub>G93A</sub> 마우스의 근전도 실험은 그것들이 ALS에 대한 많은 기준을 만족시킴을 나타낸다: (1) 동시 측부 재신경 지배를 가지는 운동 단위 수의 감소, (2) 자발적인 탈신경 활성화(섬유성 연속) 및 뒷다리 및 앞다리의 속상수축의 존재, (3) 유발된 운동 반응의 감소와 관련된 운동 전도 속도의 변형, 및 (4) 감각발작 없음. 게다가, 안면 신경 발작은 나이든 FALS<sub>G93A</sub> 마우스에서조차 드물고, 이는 또한 환자의 경우에도 마찬가지이다. FALS<sub>G93A</sub> 마우스는 Transgenic Alliance (L'Arbresle, 프랑스)로부터 이용가능하다. 추가로, 인간 SOD1(G93A) 유전자를 옮기는 이형 접합체의 트랜스제닉 마우스는(Bar Harbor, ME, USA) (미국 특허 번호 7,030,126)로부터 얻을 수 있다. 이들 마우스는 내인성 프로모터에 의해 구동되는 인간 G93A SOD 돌연변이의 25개 복제물을 가진다. 마우스의 생존은 복제 수에 의존적이다. 질병을 발생시키는 마우스 이형 접합체를 꼬리조각을 취하고 및 DNA를 추출한 후 PCR에 의해 확인할 수 있다.
- [0313] 급성 신경독성 병변(IDPN, 흥분독소로 처리) 후에 또는 유전적 결함(wobbler, pnn, Mnd 마우스 또는 HCSMA Dog)에 기인하여 운동 신경 변성을 가지는 다른 동물 모델이 존재한다(미국 특허 번호 6,723,315; Sillevist-Smitt & De Jong, *J Neurol. Sci.*, 91, 231-258, 1989; Price *et al.*, *Neurobiol. Disease*, 1, 3-11, 1994). 유전적 모델 중에서, pnn 마우스는 임상적, 조직학적 및 근전도 수준을 특히 잘 특징짓는다. pnn 돌연변이는 상염색체 열성 방식으로 전달되고 염색체 13에서 국소화된다. 동형접합 pnn 마우스는 2 내지 3주령의 후위 멤버들에서 나타나는 근위축증 및 마비가 발생한다. 모든 미-처리 pnn 마우스는 6 내지 7주령 전에 죽었다. 그것의 운동 뉴런의 변성은 신경 종말부의 수준에서 시작하며 운동 신경 및 특히 횡경막의 신경지배를 보장하는 가로막 신경에서 미엘린화된 섬유의 대량 손실을 끝낸다. FALS<sub>G93A</sub> 마우스와 대조적으로, 이런 근육 변성은 매우 빠르며 축삭돌기 측부의 재성장에 의한 재신경지배의 징후에 의해 실질적으로 수반되지 않는다. 근전도 수준에서, 근육

탈신경의 진행은 섬유성 연축의 외관 및 신경의 최대위 전기적 자극 후 야기되는 근육 반응의 진폭에서 상당한 감소를 특징으로 한다.

- [0314] Xt/pmn 트랜스제닉 마우스의 라인은 또한 ALS의 다른 무린 모델로서 이전에 사용하였다(미국 특허 번호 6,723,315). 이들 마우스는 첫째로 C57/B156 또는 DBA2 암컷 마우스와 Xt pmn<sup>+</sup>/Xt<sup>+</sup> pmn 수컷 마우스(균주 129) 사이, 다음에 둘째로 자손 Xt pmn<sup>+</sup>/Xt<sup>+</sup> pmn<sup>+</sup> 이형 접합 암컷(N1)과 처음의 수컷 사이를 교배하여 얻는다. 자손 마우스(N2) 중에서, Xt 대립유전자(Extra digit 표현형에 의해 증명) 및 pan 대립유전자(PCR에 의해 결정)를 옮기는 Xt pmn<sup>+</sup>/Xt<sup>+</sup> pmn 이종 이형접합체성("Xt pmn 마우스"로 부름)을 미래의 교배를 위해 선택한다.
- [0315] ALS의 생체 내 모델에서 본원에 기술되는 치료제의 활성을 시험하기 위한 한 대표적인 방법에서, 암컷 마우스(B6SJL)를 알라닌에 의한 글리신 93의 치환을 수행하는 돌연변이된 SOD를 과발현하는 트랜스제닉 수컷(예를 들어, FALS<sub>G93A</sub> 마우스)과 함께 기르기 위해 구입한다. 2마리의 암컷을 한 마리의 수컷과 함께 각각 우리에 넣고 임신을 위해 적어도 매일 모니터링한다. 각각의 임신한 암컷을 확인하면, 그것을 우리로부터 제거하고, 새로운 비-임신 암컷을 추가한다. 40-50%의 새끼가 트랜스제닉일 것으로 예상되기 때문에, 적어도 200마리의 새끼의 콜로니가 대략 동시에 태어날 수 있다. 3주령에 유전자분류 후, 트랜스제닉 새끼를 젖을 떼고 성별에 따라 다른 우리에 분리한다.
- [0316] 적어도 80마리의 트랜스제닉 마우스(수컷과 암컷 둘 다)를 4개의 군으로 무작위화한다: 1) 비히클 처리 (20마리 마우스), 2) 투여 1 (3 mg/kg/일; 20마리 마우스), 3) 투여 2 (10 mg/kg/일; 20마리 마우스) 및 3) 투여 3 (30 mg/kg/일; 20 마우스). 마우스를 매일 평가한다. 이 평가는 체중, 외관(털 외피, 활동도 등) 및 운동 협응의 분석을 포함한다. 처리는 대략 3단계에서 시작하며 마우스를 안락사시킬 때까지 계속한다. 한 양태에서, 시험되는 본 발명의 치료제는 마우스에 그것들의 음식으로 투여된다. 본 발명의 치료제의 신경보호 효과는 또한 0.01 mg/kg, 0.05 mg/kg, 0.10 mg/kg, 1 mg/kg, 및 5 mg/kg을 포함하는 저용량에서, ALS의 다른 모델을 사용하여 이 프로토콜로 시험될 수 있다.
- [0317] 임상적 질병의 개시는 마우스를 그것의 사지의 떨림 및 근육 강도에 대해 시험함으로써 점수를 매긴다. 마우스를 꼬리를 기초로 천천히 들어올리고 어떤 근육 떨림을 기록하고, 뒷다리 신장을 측정한다. 근육 약화는 뒷다리를 신장하는 것에서 마우스의 무능력을 반영한다. 마우스를 운동 뉴런 기능장애의 증상에 대해 5개의 점수 등급으로 점수를 매긴다: 5 - 증상 없음; 4 - 하나 이상의 사지에서 약화; 3 - 하나 이상의 사지에서 절뚝거리기; 2 - 하나 이상의 사지에서 마비; 1 - 동물의 등쪽으로 두었을 때 그 자신이 똑바로 할 수 없는, 반사에 부정적인 동물.
- [0318] 마비의 징후를 나타내는 동물에서, 축축하게 한 음식 펠릿을 우리 안에 넣는다. 마우스가 음식 펠릿에 도달할 수 없을 때, 영양 보충물을 보조 급식을 통해 투여한다(Ensure<sup>®</sup>, 경구투여, 1일에 2회). 생리 식염수를, 필요하다면 복강 투여로 1일 2회 1ml 보충한다. 추가로, 이 마우스들을 매일 체중을 잰다. 필요하다면, 마우스를 연구원들이 씻기고, 우리의 깔짚을 주기적으로 교체한다. 질병의 마지막-단계에, 마우스는 그것의 우리에서 옆으로 눕는다. 마우스를, 그것들이 10초 내에 스스로 똑바로 일으킬 수 없다면, 또는 그것들이 체중의 20%가 감소되었다면 즉시 안락사시킨다.
- [0319] 각 처리군에서 안락사시킨 4번째, 8번째, 12번째, 16번째 및 20번째 동물로부터 척수를 수집한다(처리 군 당 총 5마리의 동물, 전체 20마리의 동물). 이 척수들을 표준 방법을 사용하여 미토콘드리아에서 돌연변이 SOD1 함량을 분석한다(예를 들어, J. Liu *et al*, *Neuron*, 43(1):5-17, 2004 참조).
- [0320] 원한다면, ALS 마우스 모델에서 본 발명의 치료제의 효과는, 예를 들어, 미국 특허 번호 6,933,310 또는 6,723,315에서 기술되는 바와 같이 이두근의 크기, 근육 형태, 전기적 자극에 대한 근육 반응, 척수 운동 뉴런의 수, 근육 기능 및/또는 산화적 손상의 양을 측정하는 표준 방법을 사용하여 더 특징지을 수 있다.
- [0321] ALS의 상기 생체 내 모델 중 어떤 것에서 비히클 대조군과 비교하여 더 적은 근육 약화 및/또는 운동 뉴런의 수의 더 적은 감소를 초래하는 치료제는 ALS의 치료 또는 예방에 대해 필시 유리한 효과를 가지는 치료제가 되는 것으로 예상된다.
- [0322] 실시예 11. 뉴런 사멸 매개 안구질환의 개시 및/또는 발생을 치료, 예방, 및/또는 지연시키기 위한 치료제 (1)-(7) 중 어떤 것과 같은 본 발명의 치료제의 능력을 결정하기 위한 생체 내 모델의 사용
- [0323] 안질의 생체 내 모델은 뉴런 사멸 매개 안구질환의 개시 및/또는 발생을 치료 및/또는 예방 및/또는 지연시키는

것으로 본원에서 기술되는 어떤 치료법의 능력을 결정하기 위해 사용될 수 있다.

- [0324] 건조형 황반변성 및/또는 스타르가르트 황반변성을 포함하는 황반변성과 같은 뉴런 사멸 매개 안구질환의 개시 및/또는 발생을 치료 및/또는 예방 및/또는 지연시키는 것으로 본원에 기술되는 치료제의 활성을 시험하기 위한 하나의 대표적인 방법은 G. Karan *et al.* (*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005, 102(11):4164-4169)에 의해 기술되는 ELOVL4 돌연변이 마우스 모델을 사용한다. 이 모델은 ELOVL4의 돌연변이 형태를 발현하는 트랜스제닉 마우스를 수반하는데, 이것은 마우스가 망막색소내피 (RPE) 다음에 RPE 사멸 및 광수용체 변성에 의한 상당한 리포푸신 축적을 진행시키는 것을 야기한다. 마우스가 명백히 반점을 가지지 않는 반면(시력과 함께 가장 민감하게 수반되는 중심 망막 내 영역), 이 모델은 ARMD와 유사하게 망막 중심에서 망막 세포의 변성과 사멸을 야기하고, 또한 ARMD에서 보이는 침착과 매우 유사한 망막 침착을 야기한다. 이 모델은 인간 건조형 황반변성 및 STGD와 상당히 유사한 것으로 믿어진다.
- [0325] G. Karan (*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005, 102(11):4164-4169)에 의해 기술되는 방법에 따라서, 4-개월 실험을 고 용량 처리군에 6마리 마우스, 저용량 처리군에 6마리, 미처리군에 대해 6마리의 동일연령 대조군을 사용하여 수행한다(19주까지 젓을 뺀다). 평균 마우스는 20g이며, 15ml/100g 체중, 또는 1일 당 3ml의 물을 마신다. 본 발명의 치료제의 고용량은 1일 당 36  $\mu\text{g/g}$ , 또는 1일 당 720  $\mu\text{g}$ /마우스의 치료 화합물을 함유하는 치료제이다. 치료제의 저용량은 1일 당 12  $\mu\text{g/g}$ , 또는 1일 당 240  $\mu\text{g}$ /마우스의 치료 화합물을 함유하는 치료제이다. 따라서 음용수는 240  $\mu\text{g/ml}$  (고용량) 및 80  $\mu\text{g/ml}$  (저용량)의 치료제를 함유한다. 각 동물(개별 우리에 수용함)에 의해 소비되는 치료제의 정확한 양을 소급적으로 결정할 수 있다. 본 발명의 치료제의 신경보호 효과는 또한 0.01 mg/kg, 0.05 mg/kg, 0.10 mg/kg, 1 mg/kg, 및 5 mg/kg을 포함하는 저 용량에서 이런 프로토콜로, 또는 뉴런 사멸 매개 안구질환의 다른 모델을 사용하여 시험될 수 있다.
- [0326] 4개월의 처리 마지막에 분석을 조직학적 절단 및 광수용체 세포 손실의 양을 사용하여 수행한다. 조직학적 절단 및 양을 현미경을 수반하는 것과 같은 G. Karan *et al.* (*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005, 102(11):4164-4169)에 의해 기술되는 방법에 의할 수 있다.
- [0327] 다른 종말점은, 예로써 (1) 1주일에 1회 측정된 체중; (2) 1회/1일 내지 2회/1주일과 같은 마우스의 케이지사이드(cageside) 임상 관찰을 실험 노트에 기록; (3) 각 마우스에 대한 터미널(terminal) 혈장 샘플의 수집 및 분석, 이 샘플은 약동학 또는 다른 분석에 대해 EDTA에서 유지될 수 있다; (4) 치료제가 마우스에게 이용가능한 기간 동안 물 중에서 안정하다는 것을 때때로 기록한 물병 샘플의 수집 및 분석을 고려할 수 있다.
- [0328] 실시에 12. 치료제 (1)-(7)과 같은 본 발명의 치료제의 특성을 차단하는 NMDA-유도 전류를 평가하는 방법.
- [0329] 본 발명의 치료제를 그것의 NMDA-유발 전류 차단 특성을 결정하기 위해 평가할 수 있다. 실험을 래트 뇌 피질의 새로 분리한 뉴런 또는 배양한 래트 해마 뉴런에서 패치 클램프 방법에 의해 수행한다. 배양을 위한 뉴런을 트립신화 후 피펫팅하는 방법에 의해 신생아 래트(제1-2일)의 해마로부터 얻는다. 배양 배지에서 현탁한 세포들을 3mL 양으로 6-웰 플랑세트(Nunc) 또는 페트리 접시에 놓고, 폴리-L-리신으로 코팅한 유리를 처음에 두었다. 세포 농도는 전형적으로  $2.5 \times 10^{-6}$  -  $5 \times 10^{-6}$  세포/mL이다. 배양 배지는  $\text{NaHCO}_3$ 를 사용하여 7-7.4의 pH로, 10% 송아지 혈청, 2 mM 글루타민, 50  $\mu\text{g/ml}$  겐타마이신, 15 mM 글루코오스, 및 20 mM KCl으로 보충한 이글의 최소 배지(Eagle's minimal medium) 및 DME/F12 배지로 구성된다(11). 배양물을 함유하는 플랑세트를 37°C 및 100% 습도의  $\text{CO}_2$  인큐베이터에 둔다. 시토신 아라비노사이드 10-20  $\mu\text{l}$ 를 배양의 제3일에 두 번째로 첨가한다. 배양의 6-7일 후, 1 mg/mL 글루코오스를 배지에 첨가하고, 배지를 하기 실험에 따라 교환한다. 배양한 해마 뉴런을 0.4 mL 작업 챔버에 둔다. 작업 용액은 하기 조성물을 가진다: 150.0 mM NaCl, 5.0 mM KCl, 2.6 mM  $\text{CaCl}_2$ , 2.0 mM  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 10.0 mM HEPES, 및 15.0 mM 글루코오스, pH 7.36.
- [0330] NMDA의 적용에 의해 만들어진 막전위를 전체 세포 배지에서 패치 클램프 전기생리적 방법에 의해 기록한다. 물질의 적용은 급속 초용합의 방법으로 행한다. 전류를 하기 조성물로 채운 보로실리케이트 미소전극의 도움으로 기록한다: 100.0 mM KCl, 11.0 mM EGTA, 1.0 mM  $\text{CaCl}_2$  1.0, 1.0 mM  $\text{MgCl}_2$  1.0, 10 mM HEPES, 및 5.0 mM ATP, pH 7.2. EPC-9 기기(HEKA, Germany)를 기록을 위해 사용한다. 전류를 또한 HEKA로부터 구입한 펄스 프로그램을 사용하여 펜티엄-IV PC의 하드 디스크에 기록한다. 결과를 펄스피트(Pulsetit) 프로그램(HEKA)의 도움으로 분석한다.
- [0331] NMDA의 적용은 배양한 해마 뉴런에서 유입 전류를 유도한다. NMDA의 적용에 의해 야기되는 전류의 차단 효과를 가지는 본 발명의 치료제는, NMDA를 수반하는 본원에 개시된 어떤 질병의 치료를 위해, NMDA 길항제로서 또는

하나 이상의 NMDA 길항제 특성을 가지는 치료제로서 유용한 것으로 예상된다. 치료제를 또한 그것들이, 배양한 래트 해마 뉴런의 NMDA-유도 전류에서 MK-801의 효과를 차단하는 것을 감소시키는지 여부를 결정하기 위해 시험할 수 있다. NMDA 수용체에서 MK-801(및 유사하게는 펜사이클리딘)의 채널-차단 효과의 감소는 그것의 정신이상 상태를 일으키는 효과를 감소시키고, 따라서 정신분열증에 대한 증상 특성의 제거를 가져올 수 있다. 따라서, MK-801의 차단 효과를 감소시키는 본 발명의 치료제는 정신분열증의 개시 및/또는 발생을 치료, 예방 및/또는 지연시키는데 유용한 것으로 예상된다.

[0332] 실시예 13. 정신분열증의 개시 및/또는 발생을 치료, 예방 및/또는 지연시키기 위한 치료제 (1)-(7) 중 어떤 것과 같은 본 발명의 치료제의 능력을 결정하기 위한 생체 내 모델의 사용.

[0333] 정신분열증의 생체 내 모델은 정신분열증의 개시 및/또는 발생을 치료 및/또는 예방 및/또는 지연시키는 것으로 본원에 기술되는 어떤 치료제의 능력을 결정하기 위해 사용될 수 있다.

[0334] 정신분열증의 개시 및/또는 발생을 치료 및/또는 예방 및/또는 지연시키는 것으로 본원에 기술되는 하나 이상의 치료제의 활성을 시험하기 위한 한 가지 대표적인 모델은, 동물(예를 들어, 비-영장류(예로써, 래트) 또는 영장류(예로써, 원숭이))에 만성적으로 투여되고, 정신분열증의 인간에서 보이는 것과 유사한 기능 장애를 초래하는 펜사이클리텐을 사용한다. Jentsch *et al.*, 1997, *Science* 277:953-955 및 Piercey *et al.*, 1988, *Life Sci.* 43(4):375-385) 참조. 표준 실험 프로토콜을 이런 또는 다른 동물 모델에서 사용할 수 있다. 본 발명의 치료제의 신경보호 효과는 또한 0.01 mg/kg, 0.05 mg/kg, 0.10 mg/kg, 1 mg/kg, 및 5 mg/kg을 포함하는 용량에서 이 프로토콜로, 또는 정신분열증의 다른 모델을 사용하여 시험할 수 있다.

[0335] 실시예 14. 치료제 (1)-(7) 중 어떤 것과 같은 본 발명의 치료제의 칼슘 차단 특성의 결정.

[0336] 본 발명의 치료제의 칼슘-차단 특성의 평가를 Bachurin *et al.* ("Neuroprotective and cognition enhancing properties of MK-801 flexible analogs. Structure-activity relationships," *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2001, 939:219-235)에 의해 기술된 프로토콜에 따르는 새로 태어난(8-11일) 래트의 뇌로부터 분리한 시냅소솜의 P2-단편으로 수행한다. 이 분석에서, 글루타메이트 수용체와 관련된 이온 채널을 통한 칼슘 이온의 특이적 흡수를 억제하기 위한 치료제의 능력을 결정한다.

[0337] 시냅소솜을 인큐베이션 완충제 A(132mM NaCl, 5 mM KCl, 5 mM HEPES)에 두고, 전체 실험 동안 0°C로 유지한다. 시냅소솜의 알리쿼트(50  $\mu$ l)를 본 발명의 치료제 및 방사선표지된 칼슘, <sup>45</sup>Ca를 함유하는 배지 A에 넣는다. 칼슘 흡수는 20  $\mu$ l의 글루타메이트 10 mM 용액의 배지에 넣음으로써 자극한다. 30°C에서 5분 인큐베이션 후, 반응을 GF/B 필터를 통해 여과함으로써 중단하고, 그 후에 냉각한 완충제 B(145 mM KCl, 10 mM Tris, 5 mM Trilon B)로 3회 세척한다. 그 후에, 필터를 방사선 표지된 칼슘을 검출하기 위해 분석한다. SL-4000 액체섬광계수기(Intertechnique, Fairfield, NJ, USA)를 사용하여 측정을 수행한다. 처음의 스크리닝을 각 화합물의 5  $\mu$ M 용액으로 수행한다. 특이적 칼슘 흡수를 다음의 식을 사용하여 계산한다:  $K(43/21) = [(Ca_4 - Ca_3)/(Ca_2 - Ca_1)] * 100\%$ , 여기서 Ca<sub>1</sub>은 대조 실험군에서의 칼슘 흡수이고(글루타메이트 또는 첨가 약물이 없음); Ca<sub>2</sub>는 단지 글루타메이트의 존재하에서 칼슘 흡수이고(글루타메이트 유발 칼슘 흡수 - GICU); Ca<sub>3</sub>은 단지 치료제의 존재하에서 칼슘 흡수이고(첨가된 글루타메이트 없음); Ca<sub>4</sub>는 글루타메이트와 치료제 둘 다 존재하에서 칼슘 흡수이다.

[0338] 언급한 칼슘-차단 특성을 소유하는 치료제는 항노화제로서 잠재력을 가질 수 있다(Z.S. Khachaturian, "Calcium hypothesis of Alzheimer's disease and brain aging," *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1994, 747:1-11).

[0339] 실시예 15. 항노화제로서 치료제 (1)-(7) 중 어떤 것과 같은 본 발명의 치료제의 활성의 결정.

[0340] 본 발명의 치료제는 실험 동물에서 수명을 연장하고 및/또는 수명의 질을 개선하는(노화를 수반하는 병리의 양 또는 중증도의 변화를 특징으로 함) 약제로서 평가될 수 있다. 실험을 C57/B 암컷 마우스로 12개월령부터 시작하여 수행한다. 마우스를 방마다 10마리의 동물로, 방에 가둬둔다. 대조군과 실험군 둘 다 각 군당 50마리의 동물을 포함한다. 동물은 음식과 물에 접근이 자유롭다. 낮-밤 주기는 12시간이다.

[0341] 실험 전, 동물에 의한 매일 및 매주의 물 소비를 측정한다. 한 양태에서, 각 동물이 평균적으로 하루에 3 mg/kg의 치료제를 소비하는 양으로 본 발명의 치료제를 물에 첨가한다. 치료제를 함유하는 물이 있는 병을 매 7일마다 교체한다. 대조군의 동물은 순수한 물을 받는다. 실험 전에, 모든 동물은 체중을 재고, 모든 방에서 모든 동물의 총 체중 뿐만 아니라 모든 군 및 모든 방에서의 평균 체중을 결정한다. 피부, 털, 및 눈의 상태를 또한 육안 검사로 결정한다. 바람직하게는, 모든 동물은 건강한 것으로 보이며, 실험 전 어떤 명백한 병변도 가지지 않

는다. 모든 이들 변수의 평가를 매달을 기준으로 수행한다. 본 발명의 치료제의 신경보호 효과를 또한 0.01 mg/kg, 0.05 mg/kg, 0.10 mg/kg, 1 mg/kg, 및 5 mg/kg을 포함하는 더 낮은 용량에서 이 프로토콜로, 또는 항노화의 다른 모델을 사용하여 시험할 수 있다.

- [0342] **수명**
- [0343] 수명의 길이를 인구학적 방법을 사용하여 평가한다. 이 변수는 모든 연령 군에서 사망 가능성이다. 사망 가능성을 감소 또는 억제하는 치료제는 항노화제로서 유용할 것으로 예상된다.
- [0344] **동물 체중의 동역학**
- [0345] 동물 체중의 감소를 대조군의 실험 동안 예상한다. 이것은 노인성 체중 감소로서 알려진 자연적인 과정이다. 이런 체중 손실을 감소시키는 치료제는 항노화제로서 유용할 것으로 예상된다.
- [0346] **시각 장애**
- [0347] 한쪽 또는 양쪽 눈의 백내장의 발생으로서 나타나는 시각 장애는 동물의 대조군에서 예상된다. 백내장이 있는 동물 수를 감소시키는 치료제는 항노화제로서 유용할 것으로 예상된다.
- [0348] **피부 및 털 질환**
- [0349] 부분 탈모 또는 소위 탈모의 형태로 피부-털 외피에 장애를 가지는 동물은 대조군에서 예상된다. 탈모가 있는 동물의 수 또는 탈모의 증증도를 감소시키는 치료제는 항노화제로서 유용할 것으로 예상된다.
- [0350] 실시에 16. 개의 인지 기능장애 증후군을 억제하는 치료제 (1)-(7) 중 어떤 것과 같은 본 발명의 치료제의 능력의 결정.
- [0351] 하기 대표적인 실험 변수를 하기 3개의 실시예(실시예 24-26)에서 개의 인지 기능장애 증후군을 억제하기 위한 본 발명의 치료제의 능력을 시험하기 위해 사용할 수 있다. 활동의 증가(예로써, 낮 시간 활동의 증가), 보행활동의 증가, 호기심의 증가, 또는 탐사행동의 증가를 초래하는 치료제는 개의 인지 기능장애 증후군을 억제하는데 유용할 것으로 예상된다(예를 들어, 개에서 노화-관련 행동 결핍의 징후의 개선을 야기함).
- [0352] **피험자**
- [0353] 대표적인 피험자를 표 2에서 요약한다. 단지 배제 기준은 연구의 목적 또는 수행을 방해할 수 있는 어떤 질병 또는 질환의 부재이다.

**표 2**

[0354] **피험자의 요약**

종/품종:	개/무작위적 공급원 비글 개
초기 연령:	> 7세
초기 체중:	연구 초기에 대략 8 내지 18 kg의 범위에 있음
성별:	수컷과 암컷 둘 다
혈통:	다양한 공급원으로부터 얻고 적어도 3개월 동안 재능을 시험한 피험자
확인:	문신/태그
총 수:	12

- [0355] **수용, 사육 및 환경**
- [0356] 대표적인 시험 시설은 개 수용을 위한 2개의 구역을 함유한다. 첫 번째는 16개의 열로 마주보는 32개의 스테인리스강 우리로 구성된다. 각 우리는 5 피트 x 16 피트이며, 2 피트 x 4 피트의 자리가 있다. 일부 우리는 반으로 나뉘어 있다 (2.5 피트 x 16 피트). 두 번째는 12개의 열로 마주보는 24개의 아연도강 우리로 구성된다. 두 영역에서, 바닥은 에폭시 페인팅되고 가열된다. 시설의 바깥 벽은 시설로 들어가는 자연광을 허용하는 천장(바닥 수준으로부터 대략 10피트) 근처에 창문이 있다. 개들을 친화성 및 성별에 기초하여 일반적으로 우리 당 4마리씩 수용한다. 자연적인 명-암 스케줄을 사용한다. 우리를 분말 세제로 매일 청소한다.
- [0357] 개는 벽에 고정된 자동 급수 시스템 또는 볼(bowl)을 통해 물에 자유롭게 접근하도록 한다. 개가 일정한 체중을 유지하도록 조절된 양으로 표준 성체 유지 음식(예를 들어, Purina Pro Plan® Chicken & Rice)을 1일에 1회

공급한다.

[0358] 수용 온도 및 습도를 자동 온도 조절 및 지속적 환기에 의해 상대적으로 일정하게 유지한다. 실내 환경 조건은 하기와 같은 설계 명세서를 가진다: single-pass air supply with a minimum of approximately 2100 c.f. filtered air changes per minute, 60 ± 10%의 상대적 습도, 20 ± 3°C의 온도, 및 자연적인 명-암 주기.

[0359] 행동 풍부화(Enrichment)는 우리의 동료 및/또는 장난감의 존재에 의해 제공된다. 모든 개들은 연구의 개시 전에 수의학 검사를 받는다. 연구 과정에 걸쳐, 훈련받은 사람이 모든 유해 사례를 기록하고 필요할 때 책임 있는 수의사 또는 연구 지휘자에게 연락한다.

[0360] 용량 및 투여

[0361] 연구 개시 전 개들의 체중을 잰다. 본 발명의 치료제를 함유하는 캡슐을 체중에 따라서 각 개에 대해 준비한다. 하기 용량의 본 발명의 치료제를 사용할 수 있다: 2, 6 및 20 mg/kg. 본 발명의 치료제의 신경보호 효과를 또한 0.01 mg/kg, 0.05 mg/kg, 0.10 mg/kg, 1 mg/kg, 및 5 mg/kg을 포함하는 더 낮은 용량에서 이 프로토콜로, 또는 개의 인지 기능장애 증후군의 다른 모델을 사용하여 시험할 수 있다. 본 연구에 달리 포함되지 않는 전문가들은 캡슐을 준비한다. 연구의 제어 단계 동안, 피험자들에게 텅 빈 젤라틴 캡슐을 투여한다. 시험 및 대조군 품목을 매일 1회 축축한 개 먹이의 미트볼 속으로, PO로 개에게 투여한다. 개개의 피험자들을 각 처리일의 동일 시간에 캡슐로 투여한다.

[0362] 실험 설계

[0363] 연구 설계는 4번의 7일 시험 차단(시험 차단은 3일의 체외 배출 기간과 4일의 처리/시험 기간을 합한 것을 말한다)으로 구성된다. 첫 번째 시험 차단은 대조군이고 피험자는 그 7일 동안 처리를 받지 않는다. 이후에, 연구는 모든 피험자가 다른 순서로 모두 3회 투여 수준의 시험 품목을 시험하는 라틴정방설계 (Latin-square design)에 따른다(하기 표 3을 참조). 이것을 달성하기 위해, 12마리의 피험자를 가능한 정도까지 성별과 연령에 균형을 맞추어서 2마리 피험자의 6개 군으로 나눈다.

**표 3**

개의 군(A-F는 각각 두마리의 개를 가지는 개의 군을 말한다) 및 투여 순서(투여 순서 칸의 A는 2mg/kg의 용량을 말하고; 투여 순서 칸의 B는 6 mg/kg의 용량을 말하고; 투여 순서 칸의 C는 20 mg/kg의 용량을 말한다).

개의 군	투여 순서
A	ABC
B	ACB
C	BAC
D	BCA
E	CAB
F	CBA

[0364]

[0365] 대조군 시험 차단을 완료한 후, 각 군은 그 군에 대해 미리 정한 주문에서 시험 품목의 3회 투여를 받는다. 각 시험 차단에 대해, 피험자들은 첫 번째 4일 동안 그것들 저마다의 처리를 받는다. 각 시험 차단의 제4일에, 피험자들에게 호기심 시험을 2회 시험하는데; 첫 번째는 품목 투여의 한 시간 후이고, 두 번째는 품목 투여의 4시간 후이다. 남은 3일을 각 시험 차단에 대한 체외 배출일로 생각한다(표 4).

**표 4**

피험자들은 각 시험 차단 동안 4일의 처리 및 3일의 체외 배출일을 받는다.

활동	시험일(들)
대조군	1-4
체외 배출 0	5-7
시험 품목 투여 제 1 상	8-11
체외 배출 1	12-14
시험 품목 투여 제 2 상	15-18
체외 배출 2	19-21
시험 품목 투여 제 3 상	22-25

[0366]

[0367]

데이터 수집과 분석

[0368]

연구의 시작시, Actiwatch<sup>®</sup> 목줄을 각 개에게 걸어두고 목줄을 연구 기간 동안 켜 놓은 상태로 유지한다. 모든 행동 시험은 앞서 정한 프로토콜을 따른다. 행동 시험을 개방 시험장에서 수행하기 위해, 데이터 분석을 DogAct 행동 소프트웨어(CanCog Technologies Inc., Toronto, ON, Canada)를 사용하여 수행한다. Actiware-Rhythm<sup>®</sup> 소프트웨어를 낮-밤 측정을 위한 활동 카운트를 얻기 위해 사용한다.

[0369]

Actiwatch<sup>®</sup> 데이터를 치료와 일시적으로 연결된 활동 형태의 변화 및 낮/밤 활동의 변화 둘 다를 조사하기 위해 분석한다.

[0370]

치료 조건과 관련된 활동의 변화를 평가하기 위해, 투여 후 5시간의 기간에 걸쳐 시간 마다의 활동을 계산한다. 그 후 데이터를 피험자 내 변수(within subject variable)로서, 투여 후 시간(1-5 시간), 치료일(각 조건에 대해 1-4일) 및 용량(대조군, 2, 6, 및 20 mg/kg)으로 반복 측정 분산분석(ANOVA)에 의해 분석한다. 시험 순서는 초기 분석의 피험자 간 변수(between subject variable)로서 역할을 한다. 낮 밤-활동 수준을 시험하기 위해, 낮 및 밤 활동 수준을 각각의 24-시간 기간 동안 계산한다. 데이터를 우선, 피험자 내 변수로서 용량(대조군, 2, 6, 및 20 mg/kg), 치료일(각 조건에 대해 1-4일), 및 상(낮 및 밤)으로 반복 측정 ANOVA에 의해 분석한다. 다시 한 번, 순서는 피험자 간 변수로서 역할을 한다.

[0371]

호기심 테스트를 위해, 각 행동 측정을 피험자 내 변수 및 피험자 간 변수로서 용량(대조군, 2, 6, 및 20 mg/kg), 시험(제 1 및 제 2)으로 반복 측정 ANOVA를 사용하여 개별적으로 분석한다.

[0372]

모든 데이터를 Statistica 6.0<sup>®</sup> 소프트웨어 패키지(Statsoft, Inc., Tulsa, OK, USA)를 사용하여 분석한다. 적절한 때 사후 Fisher's를 주요 효과 및 상호작용을 시험하기 위해 사용한다.

[0373]

투여 후 활동 형태 및 낮-밤 활동 리듬

[0374]

활동은 인지와 관련된 마커이다. 활동을 치료일의 작용 뿐 아니라 치료 후 투여 및 시간의 작용으로서 평가한다.

[0375]

투여후 활동 형태 및 24시간의 활동 리듬을 앞서 기술한 바와 같은 활동의 변화 및 활동 주기의 상의 변화를 검출하는 Actiwatch<sup>®</sup> 방법을 사용하여 평가한다(Siwak et al., 2003, "Circadian Activity Rhythms in Dogs Vary with Age and Cognitive Status," *Behav. Neurosci.*, 111:813-824). 간략하게, 일반적인 활동 형태는 개에 적합하게 된 Mini-Mitter<sup>®</sup> Actiwatch-16<sup>®</sup> 활동 모니터링 시스템(Mini-Mitter Co., Inc., Bend, OR)을 사용하여 28 연속일 동안 모니터링 한다. Actiwatch-16<sup>®</sup>은 5분 간격으로 총 활동의 수를 제공하도록 프로그램한 활동 센서를 함유한다. 개의 목줄에 Actiwatch-16<sup>®</sup>을 붙이는 것은 활동 및 휴식의 연속 형태를 기록하는 것을 허용한다.

[0376]

실시에 17. 개의 인지 기능장애 중후군을 억제하기 위한 본 발명의 치료제의 능력을 결정하기 위한 일반적인 활성 시험

[0377]

Actiwatch<sup>®</sup> 데이터의 첫 번째 분석은 행동 활동에서 치료제의 투여 후 효과의 전반적인 상황을 제공한다. 따라

서, 투여 후 5-시간 기간 동안 데이터는 우선 5회의 한-시간 차단으로 분리된다. 따라서, 각 치료일 동안 각 피험자의 데이터는 5번의 연속적인 한-시간 활동 점수로 구성된다. 데이터를 그 후 피험자 내 변수로서 투여 후 시간(1-5 시간), 치료일(각 조건에 대해 1-4) 및 용량(대조군, 2, 6, 및 20 mg/kg)으로 반복 측정 분산 분석에 의해 분석한다. 시험 순서는 초기 분석에서 피험자간 변수로서 역할을 한다.

- [0378] 실시에 18. 개의 인지 기능장애 증후군을 억제하기 위한 본 발명의 치료제의 능력을 결정하기 위한 낮 밤 활동 분석.
- [0379] 낮/밤 활동 데이터를 피험자 내 변수로서 용량, 1일 배출, 및 상으로 그리고 피험자 간 변수로서 시험 순서로 반복-측정 ANOVA에 의해 분석한다.
- [0380] 실시에 19. 개의 인지 기능장애 증후군을 억제하기 위한 본 발명의 치료제의 능력을 결정하기 위한 호기심 시험
- [0381] 이것은 환경에 대한 주의와 보행활동 둘 다를 평가하는 탐사 행동의 시험이다(Siwak *et al.*, 2001, "Effect of Age and Level of Cognitive Function on Spontaneous and Exploratory Behaviors in the Beagle Dog," *Learning Mem.*, 8:317-258). 피험자를 10분의 기간 동안 개방 시험장에 둔다. 7개의 물체를 시험장에 두고 피험자가 방과 물체를 자유롭게 탐사하도록 허용한다.
- [0382] 개방 활동 시험장은 트레이킹을 용이하게 하기 위한 직사각형의 격자 형태인 바닥에 사용된 전기 테이프의 조각이 있는 텅 빈 시험 방으로 구성된다(대략 8 피트 x 10 피트). 시험에 영향을 미치는 후각 신호를 감소시키기 위해 시험 방의 바닥을 시험 전에 그리고 개들 사이에서 닦는다. 개방으로 수행되는 시험을 위해, 개들을 시험 방에 넣고, 그것들의 행동을 5- 또는 10-분의 기간에 걸쳐 비디오테이프에 녹화한다. 그러나, 모든 개들을 대조군 및 20 mg/kg 용량에서 시험하고, 개별 분석을 비교 대조군 및 고용량 처리와 비교하여 수행한다.
- [0383] 시험방 내 개의 움직임 형태를 기록한다. 추가로, 쿵쿵거림, 배뇨, 치장, 점핑, 사육, 비활동성 및 소리내기를 포함하는 다양한 행동의 발생 빈도를 표시하기 위해 키보드 키를 누른다. 소프트웨어는 또한 보행활동의 전체 거리 측정을 제공한다. 추가로, 일반적인 활동, 물체와의 상호작용(물체에 대해 들어올리기, 접촉, 쿵쿵거림 및 배뇨)를 평가하고, 탐사 행동의 측정으로서 사용한다. 배뇨 빈도는 표지행동을 나타낸다.
- [0384] 실시에 20. 동물 모델에서 인지 작용 및 기억을 개선시키는데 치료제 (1)-(7) 중 어떤 것과 같은 본 발명의 치료제의 능력을 결정.
- [0385] 뉴런의 사전 파괴가 없었던 동물의 기억에서 치료제의 작용을 연구하기 위해, 알려진 물체의 새로운 위치의 인식 시험을 사용할 수 있다(B. Kolb, K. Buhrmann, R. McDonald and R. Sutherland, "Object location memory test" *Cereb. Cortex*, 1994, 6:664-680; D. Gaffan, *Eur. J. Neurosci.*, 1992, 4:381-388; T. Steckler, W.H.I.M. Drinkenburgh, A. Sahgal and J.P. Aggleton, *Prog. Neurobiol.*, 1998, 54:289-311).
- [0386] 실험을 3-5개월령이며 20-24g의 무게가 나가는 C57BL/6 수컷 마우스에서 수행한다. 동물을 08.00 내지 20.00의 빛으로 12/12 시간의 명/암 기간의 우리에 5마리를 함께 비바리움(Vivarium)에서 유지하고 물과 음식에 대해 자유롭게 접근시킨다. 관찰 챔버를 백색의 불투명한 유리 우리로 만들고 48x38x30 cm를 측정한다. 2.7 cm의 직경 및 5.5 cm의 높이인 갈색 유리 바이알을 시험 물체로서 사용한다. 동물에 도입하기 2-3분 전, 챔버 및 시험 물체를 85% 알코올로 문지른다. 동물을 챔버의 중심에 둔다.
- [0387] 한 양태에서, 본 발명의 치료제를 증류수에 용해하고 10g의 동물 중량 당 0.05 ml의 부피로 훈련 1시간 전에 위관영양법으로 투여한다. 대응하는 부피의 용매를 대조군 동물에 투여한다.
- [0388] 제1일에, 마우스를 시험방으로 가져오고 20-30분 동안 적응시킨다. 그 후에, 각 동물을 순응시키기 위해, 알코올로 미리 처리한 텅 빈 행동 챔버에 10분 동안 둔다. 동물을 그 후 우리에 되돌려놓고 비바리움에 보낸다.
- [0389] 다음날, 동일한 마우스를 20-30분 동안 순응시킨 시험방으로 가져오고, 그 후 위관영양법으로 치료제(즉, 본 발명의 치료제를 함유하는 용액)를 제공한다. 물질의 투여 한 시간 후, 동물을, 인식을 위해 2개의 동일한 물체(유리 바이알)가 코너로부터 14.5 cm의 거리에서 대각선에 위치한 바닥의 행동 챔버에 둔다. 각 동물에 대한 훈련 시간은 20분이다. 20분 후, 그것을 우리에 되돌려놓고 비바리움에 보낸다.
- [0390] 시험을 훈련 후 48시간에 수행한다. 이 목적을 위해, 적응 후 동물을 다시 순응시키기 위해 1분 동안 챔버에 둔다. 잠시 후, 그것을 제거하고 한 물체를 동물에게 알려진 위치에서 챔버의 바닥에 두고, 새로운 위치에 다른 것을 둔다. 10분의 기간에 걸쳐 개별적으로 각 물체를 조사하는데 소비한 시간을 2개의 전기 스톱워치를 사용하여 0.1초의 정확도로 기록한다. 동물의 행동을 거울을 통해 관찰한다. 물체에 대해 2 cm의 거리로 동물 코의 의

도적인 접근 또는 코로 물체의 직접 접촉은 긍정적인 조사 반응으로서 간주한다.

- [0391] 각 마우스에 대한 백분율 조사 시간을 식  $tN1/(tK1 + tN1) \times 100$ 을 사용하여 계산할 수 있다. 2개 물체의 조사에 소비한 총 시간을 100%로 한다. 결과를 스튜던트의 t-검정 방법을 사용하여 추가로 처리한다. 이 동물 모델의 기억을 자극하는 치료제는 인간에서도 마찬가지로 그렇게 할 것이다.
- [0392] 실시예 21. 경동맥의 불가역적 폐색에 의해 만들어지는 허혈의 래트 뇌 모델에서 허혈을 감소시키는데 치료제 (1)-(7) 중 어떤 것과 같은 본 발명의 치료제의 능력을 결정.
- [0393] 본 발명의 치료제를 또한 허혈을 억제하는 것에서 그것의 능력을 측정하기 위해 시험할 수 있다. 경동맥의 불가역적 폐색에 의해 만들어지는 래트 뇌 허혈은 뇌순환 및 편두통의 치료를 위한 제제의 실험적 연구를 위한 방법론적 지침에 따라서 수행한다 - "Handbook on the experimental (preclinical) study of new pharmacological substances", Meditsina, Moscow, 2005, pp. 332-338.
- [0394] 실험을 포수클로랄(350 mg/kg, i/p)로 마취시킨 200-250 g의 무게가 나가는 이종교배 수컷 백색 래트로 수행한다. 총경동맥의 불가역적 단일-단계 양측성 결찰을 동물에서 수행한다. 허위-수술한 동물의 군에서, 혈관에 결찰을 하였지만 팍 조이지는 않는다. 수술의 완료 후, 동물을 무작위로 군으로 나누고: 군 1의 래트는 예를 들어, 30분 후, 그 다음에 수술 후 14일에 0.1 mg/kg의 용량으로 복강내로 본 발명의 치료제가 제공되고; 군 2의 래트는 30분 후, 그 다음에 수술 후 14일에 0.1 mg/kg의 용량으로 복강내로 니모디핀이 제공된다. 본 발명 치료제의 신경보호 효과는 또한 0.001 mg/kg, 0.005 mg/kg, 0.01 mg/kg, 0.05 mg/kg, 0.10 mg/kg, 1 mg/kg, 및 5 mg/kg을 포함하는 더 낮은 용량의 이 프로토콜로, 또는 다른 허혈의 모델을 사용하여 시험될 수 있다. 니모디핀을 본 발명의 치료제의 유효성과 비교하기 위해 사용한다. 대조군 및 허위-수술 동물에 동시에 생리 식염수 (0.9% 염화나트륨)를 제공한다. 데이터를 모수적 및 비모수적 방법을 사용하여 Biostat 프로그램의 도움으로 통계적으로 처리한다.
- [0395] 경동맥의 결찰에 의해 유발된 뇌허혈을 가지는 동물의 신경학적 결손을 I.V.Gannushkina의 변형에서 McGraw 뇌졸중-지수를 사용하여 결정한다(Functional angioarchitectonics of the brain, Moscow, Meditsina, 1977, 224 pp). 질환의 중증도를 대응하는 점수의 함으로부터 결정한다. 뇌졸중-지수 등급(둔한 움직임, 사지 약화, 눈꺼풀 처짐, 떨림, 안검하수증, 순환적 움직임)에서 2.5 포인트 까지의 경중의 증상이 있는 래트의 수 및 신경 손상의 심각한 징후 - 사지 마비, 하지의 마비, 측위위가 있는 래트의 수를 기록한다. 손상의 양, 증상의 중증도 또는 수, 또는 허혈에 의한 사망의 수를 감소시키는 치료제는 인간의 허혈을 치료하는데 유용할 것으로 예상된다.
- [0396] 실시예 22: 외상 후 혈종(출혈성 상해) 모델에서 손상을 감소시키는 치료제 (1)-(7) 중 어떤 것과 같은 본 발명의 치료제의 능력의 결정.
- [0397] 본 발명의 치료제를 또한 그것들이 뇌내 외상 후 혈종(출혈성 상해) 모델에서 보호 효과를 가지는지 여부를 알아내기 위해 시험할 수 있다. 본 연구는 뇌 순환 및 편두통의 치료를 위한 제제의 실험적 연구를 위한 방법론적 지침에 따라 수행한다 - A.N. Makarenko *et al.* (Method for modeling local hemorrhage in various brain structures in experimental animals. Zh. vyssh. nervn. deyat, 2002, 52(6):765-768)의 변형에서 "Handbook on the experimental (preclinical) study of new pharmacological substances," Meditsina, Moscow, 2005, pp. 332-338.
- [0398] 실험을 200-250 g의 무게가 나가는 이종교배 수컷 백색 래트로 수행하며, 음식(표준 펠렛 공급) 및 물에 자유로운 접근, 및 낮과 밤의 자연적인 변경으로 비바리움에 둔다. 특수한 장치(주사침심봉-칼) 및 항착성을 사용하여, 냄부탈(40 mg/kg, i/m)로 마취한 래트의 뇌 조직을 캡슐 내부의 영역에서, 이후에(2-3분 후) 래트의 허 밑으로부터 채취한 혈액(0.02-0.03 ml)의 손상 자리 안으로의 도입으로 파괴한다. 두개골의 스캘핑 및 트리패닝을 허위-수술 동물에서 수행한다.
- [0399] 동물을 4개의 군: 허위-수술, 출혈성 상해가 있는 동물의 군, 예를 들어, 0.1 mg/kg 용량의 본 발명의 치료제를 받은 출혈성 상해가 있는 동물, 및 0.1 mg/kg 용량의 니모디핀을 받은 출혈성 상해가 있는 동물로 나눈다. 본 발명의 신경보호 효과를 또한 0.01 mg/kg, 0.05 mg/kg, 0.10 mg/kg, 1 mg/kg, 및 5 mg/kg을 포함하는 더 낮은 용량의 이 프로토콜로, 또는 출혈성 상해의 다른 모델을 사용하여 시험할 수 있다. 물질의 효과를 수술 후 24 시간, 및 3, 7 및 14일에 기록한다.
- [0400] 본 발명의 치료제 및 니모디핀을, 예를 들어, 0.1 mg/kg의 동일한 용량으로 수술 후 3-3.5 시간 후, 그리고 수술 후 14일 동안 매일 복강 내로, 상해가 있는 동물에 투여한다. 생리 식염수를 대조군의 동물에 투여한다. 각

군은 실험의 시작시 9-18마리의 동물로 구성된다.

- [0401] 동물의 신경결합을 I.V. Gannushkina의 변형에서 McGraw Stroke-index(Functional angioarchitectonics of the brain, Moscow, Meditsina, 1977, 224 pp)를 사용하여 결정한다. 질환의 중증도를 대응하는 점수의 함으로부터 결정한다. 뇌졸중-지수 등급(둔한 움직임, 사지 약화, 눈꺼풀 처짐, 떨림, 안검하수증, 순환적 움직임)에서 2.5 포인트까지의 경증의 증상이 있는 래트의 수 및 신경 손상의 심각한 징후 - 사지 마비, 하지의 마비, 측위위가 있는 래트의 수를 기록한다. 관찰의 전체 기간(14일)에 걸쳐 래트 사망을 기록한다. 데이터를 모수적 및 비모수적 방법을 사용하여, Biostat 프로그램의 도움으로 통계적으로 처리한다. 니모디핀(0.1 mg/kg의 용량으로)을 상기 기술한 계획을 사용하여, 표준으로서 사용한다.
- [0402] 손상의 양, 증상의 중증도 또는 수, 또는 출혈성 손상에 의한 사망의 수를 감소시키는 치료제는 인간의 출혈성 손상을 치료하는데 유용할 것으로 예상된다.
- [0403] 실시예 23. MCI의 개시 및/또는 발생을 치료, 예방 및/또는 지연시키기 위한 치료제 (1)-(7) 중 어떤 것과 같은 본 발명의 치료제의 능력의 결정하기 위한 시험관내 모델의 사용.
- [0404] MCI의 생체 내 모델을 또한 인간과 같은 포유동물에서 MCI의 개시 및/또는 발생을 치료, 예방 및/또는 지연시키기 위한 본원에 기술되는 어떤 치료제의 능력을 결정하는데 사용할 수 있다. MCI의 몇몇 동물 모델은 다른 것에 의해 발생되었다.
- [0405] 예를 들어, 늑은 개의 인지 및 신경 병리를 MCI 및 AAMI에 대한 모델로서 다른것에 의해 사용하였다(Cotman *et al.*, *Neurobiol. Aging.*, 2002, 23(5):809-18). 또한, 뇌 관류 저하의 허혈성 재관류 상해 모델을 사용한다. 예를 들어, 2-V0 시스템과 같은 2-혈관 경동맥 폐색 래트 모델은 만성 뇌 관류 저하를 초래하며 MCI 및 AD 병리에서 혈관 변화를 모방한다(Obrenovich *et al.*, *Neurotox Res.*, 10(1):43-56, 2006). 유사하게, De la Torre *et al.* (*J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 2005, 25(6):663-7)은 MCI를 모방하는 만성 뇌 관류 저하(CBH)의 노인성 래트 모델을 기록하였다
- [0406] 실시예 24. AAMI의 개시 및/또는 발생을 치료, 예방 및/또는 지연시키기 위한 치료제 (1)-(7) 중 어떤 것과 같은 본 발명의 치료제의 능력의 결정하기 위한 시험관내 모델의 사용.
- [0407] AAMI의 생체내 모델은 또한 인간과 같은 포유동물에서 AAMI의 개시 및/또는 발생을 치료, 예방 및/또는 지연시키기 위한 본원에 기술되는 어떤 치료제의 능력을 결정하는데 사용할 수 있다. AAMI의 몇몇 동물 모델은 다른 것에 의해 발생되었다. 예를 들어, 앞의 실시예에서 기록한 바와 같이, 개는 인간 노화에서 관찰되는 AAMI 및 MCI를 포함하는 인지 연속선에서 가장 초기의 쇠퇴를 연구하기 위한 더 고차원의 동물 모델을 나타낸다(Cotman *et al.*, *Neurobiol Aging.*, 2002, 23(5):809-18).
- [0408] 실시예 25. 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 유리한 질병 또는 질환의 개시 및/또는 발생을 치료, 예방 및/또는 지연하기 위한 치료제 (1)-(7) 중 어떤 것과 같은 본 발명의 치료제의 능력의 결정하기 위한 인간의 임상적 시도의 사용.
- [0409] 원한다면, 본 발명의 어떤 치료제를 또한 본원에 기술되는 신경학적 징후와 같은 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 유리한 질병 또는 질환의 개시 및/또는 발생을 치료, 예방 및/또는 지연하기 위한 치료제의 능력을 결정하기 위해 인간에 시험할 수 있다. 표준 방법을 미국 특허 번호 5,527,814 또는 5,780,489에 기술되는 것과 같은 이들 임상적 시도에 대해 사용할 수 있다.
- [0410] 한 대표적인 방법에서, 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 유리한 질병 또는 질환을 가지는 피험자는 미국 특허 번호 5,780,489에 기술되는 것과 같은 표준 프로토콜을 사용하는 치료제의 내약성, 약물 동력학, 약력학 제 1 상 연구에 등록된다. 그 후에 제 2 상, 이중-맹검 무작위화 비교시험을 치료제의 효능을 결정하기 위해 수행한다(예를 들어, 미국 특허 번호 5,780,489 참조). 원한다면, 본 치료제의 활성을 질병 또는 질환에 대해 어떤 다른 임상적으로 사용한 치료의 활성과 비교할 수 있다. 피험자를 특이적 증상의 기능 평정 점수 또는 분석과 같은 표준 방법을 사용하여 질병 또는 질환의 진행에 대해 분석할 수 있다. 또한, 적절하다면, 생존의 길이를 처리군 사이에서 비교할 수 있다(예를 들어, 미국 특허 번호 5,780,489 참조).
- [0411] 실시예 26. 무작위, 이중맹검, 위약-통제된 알츠하이머병 연구
- [0412] 알츠하이머병에 대한 대표적인 인간 임상 시도는 2006년 10월 27일 출원된 U.S.S.N. 60/854,866(예를 들어, [0144]-[0149] 단락) 및 2006년 7월 4일 발행된 미국 특허 번호 7,071,206에서 개시된다. 간략하게, 경증 내지 중등증의 알츠하이머병이 있는 환자(예를 들어, 약 100 내지 200명의 환자 또는 어떤 표준 수의 환자)를 6개월

동안 본 발명의 치료제 또는 위약에 대해 무작위로 고른다. 환자를 12주 및 26주에 기준으로 ADAS-cog(주 결과 변수), CIBIC-plus, MMSE, NPI 및 ADL로 평가한다. Alzheimer's Disease Assessment Scale-cognitive subscale(ADAS-cog) 점수는 시간에 걸쳐 기억과 인지를 평가한다. Mini Mental State Exam (MMSE)은 또한 기억과 인지를 평가한다. Alzheimer's Disease Cooperative Study-Clinical Global Impression of Change (ADCS-CGIC, 또한 CIBIC-plus로 불림)는 시간에 따른 환자의 세계적 지위를 측정한다. 그것은 기억력, 인지, 행동 및 운동 장애를 고려한다. Neuropsychiatric Inventory (NPI)는 망상, 환상, 흥분/공격, 우울/불쾌, 불안, 의기양양/도취감, 무감정/냉담, 탈억제, 과민성/불안정, 운동장애, 야간 행동, 및 식욕/먹기를 포함하는 12가지의 도메인으로 환자의 행동 및 정신장애를 측정한다. ADAS-cog, CIBIC-plus, MMSE, NPI 및 ADL는 26주에 위약에 대하여 점수를 매긴다. 본 발명의 치료제를 평가하기 위해 사용한 스케일은 당업자에게 공지되어 있고, 예를 들어, Delegraza, V. W., 2003, *Am. Fam. Phys.*, 68:1365-1372, 및 Tariot, P.N. *et al.*, 2000, *Neurol.*, 54:2269-2276에서 기술된다.

- [0413] ADAS-cog, CIBIC-plus, MMSE, NPI 및/또는 ADL 점수를 개선시키는 본 발명의 치료제는 알츠하이머병의 개시 및/또는 발생을 치료, 예방 및/또는 지연시키는데 유용한 것으로 기대된다.
- [0414] 실시예 27. 척수 손상을 치료하기 위한 본 발명의 방법의 능력을 결정하기 위한 생체 내 모델의 사용.
- [0415] 척수 손상을 치료하기 위한 본 발명의 방법의 능력을 위스타 래트를 사용하여 생체 내에서 평가한다. 한 연구에서, 척수 손상을 치료하기 위한 다임본과 같은 치료 수소화된 페리도[4,3-b] 인돌 또는 그것의 약학적으로 허용 가능한 염의 효과를 평가한다.
- [0416] 2개월령이고 250-300 g의 무게가 나가는 8마리의 수컷 및 8마리의 암컷 래트를 각각 2마리의 수컷과 2마리의 암컷 동물을 함유하는 4개의 군으로 나눈다. 동물들을 실험실 실험의 동물의 사용에 대한 표준 지침 및 윤리적 프로토콜에 따라서 전반적으로 음식과 물을 자유롭게 이용하도록 하여 12시간 명/암 주기로 사육한다. 3일의 순응 기간 후, 동물에 예방적 용량의 항생 시프로플록사신을 투여한다. 2시간 후, 동물을 근육내 주사를 통해 투여한 20% 클로르프로마진/80% 케타민을 함유하는 용액으로 마취한다. 그 후 동물을 적절하게 위치시켜 소독하고, 외과적 척수 절개를 흉추 T-13과 요추 L-3 사이에서 수행한다. 회복시, 모든 동물은 아래 발과 꼬리의 자발적인 운동성의 완전한 상실과 함께, 척수 처리 수준 이하에서 운동성을 상실한 것으로 나타난다. 다임본을 멸균 식염수 중에서 적절한 농도로 희석한다. 군 1의 동물에게 8주 동안 매일 2회 10 mg/kg의 다임본을 제공한다. 군 2의 동물에게 8주 동안 매일 2회 30 mg/kg의 다임본을 제공한다. 군 3의 동물에게 8주 동안 매일 2회 60 mg/kg의 다임본을 제공한다. 군 4의 동물에게 8주 동안 매일 2회 동일 부피의 비히클(즉, 식염수 용액)을 제공한다. 아래 발 및 꼬리의 자발적인 운동성을 일주일마다 각 동물에서 시험한다.
- [0417] 제 2 연구에서, 척수 손상을 치료하기 위해 본 발명의 생체 밖 방법에 의해 만들어진 분화 뉴런의 투여 능력을 평가한다. 2개월령이며 250-300 g의 무게가 나가는 8마리의 수컷과 8마리 암컷 래트를 각각 4마리의 수컷과 4마리의 암컷 동물을 함유하는 2개의 군으로 나눈다. 동물들을 실험실 실험의 동물의 사용에 대한 표준 지침 및 윤리적 프로토콜에 따라서 전반적으로 음식과 물을 자유롭게 이용하도록 하여 12시간 명/암 주기로 사육한다.
- [0418] 3일의 순응 기간 후, 피부, 골수 및 혈장 샘플을 각 동물로부터 취하고, 다능성 줄기 세포(MSCs)를 표준 방법에 의해 각각으로부터 분리한다. 세포를 세척하고 가루로 만든 다음에, 2% B27 및 0.5 mM L-글루타민 (모두 GIBCO 제)으로 보충한 Neurobasal 배지의 적절한 부피에서 현탁한다. 세포를 폴리-L-리신-코팅 플레이트의 웰에서 적절한 밀도로 플레이팅하고, 5% CO<sub>2</sub>-95% 공기 분위기에서 37°C에서 인큐베이팅한다. MSC를 플레이트에 부착하고 정상적으로 성장시킨 후, 세포를 식염수 중의 10 nM 다임본의 유효한 양으로 매일 처리한다. MSC의 분화를 각 웰에서 관찰되는 70% 이상의 세포가 신경돌기를 발생시키거나 또는 분화의 다른 징조를 나타낼 때까지 매일 모니터링한다. 세포를 그 후 멸균 Neurobasal 배지로 세척하고, 항-NeuN 항체와 함께 인큐베이팅하여, 뉴런-특이적 항원에 결합시키고, 유세포분석기에서 분리한다. 뉴런을 수집하고, 항체를 분리하기 위해 세척하고, 상기 기술한 바와 같이 제조한 분리 래트에 투여를 위해 등장 완충제에서 다시 수집한다. 한 군의 동물을 분화 뉴런으로 처리하고, 한편 대조군을 동등한 부피의 등장 완충제로 처리한다. 분화 뉴런을 T-13과 L-3 사이의 척수 절개의 자리에 이식한다. 아래 발과 꼬리의 자발적인 운동성을 8주 동안 각 주마다 각 동물에 대해 시험한다. 어떤 본 방법 및 본원에 개시된 치료제의 조합은 이 실험 모델로 시험될 수 있다.
- [0419] 실시예 28. 실험적 자가면역성 뇌척수염("EAE")을 치료하기 위한 본 발명의 방법의 능력을 결정하기 위한 생체 내 모델의 사용
- [0420] 실험적 자가면역성 뇌척수염("EAE")은 인간의 다발성경화증 ("MS")에 대해 잘 확립된 동물 모델이다. EAE는 미

엘린, 뉴런을 둘러싸는 절연초를 구성하는 단백질 또는 다양한 단백질의 단백질 단편으로 주사하여 동물에서 획득한 급성 또는 만성-재발성, 후천성, 염증성, 탈수초성의 자가면역 질병이다. EAE를 유발하는데 흔히 사용되는 단백질은 미엘린 염기성 단백질(MBP), 단백질질 단백질(PLP), 및 미엘린 회돌기교세포 글리코단백질(MOG)을 포함한다. 이들 단백질은 동물에서의 자가면역 반응을 유발하며, 차례로 인간의 MS와 밀접하게 닮은 질병 과정을 생기기 하는 동물 자신의 미엘린 단백질과 관련된 면역 반응을 초래한다.

[0421] EAE는 마우스, 래트, 기니아 피크, 토끼, 짧은꼬리원숭이, 레서스원숭이 및 명주원숭이를 포함하는 다수의 다른 동물 중에서 유발되었다. 면역 도구의 수, 동물의 이용가능성, 수명 및 생식력 및 유발되는 질병과 MS와의 유사점을 포함하는 다양한 이유 때문에, 마우스와 래트는 가장 흔히 사용되는 종이다. EAE에 걸리기 쉬운 동물을 얻을 수 있도록 만들기 위해 동계교배(In-bred strain)를 사용한다. 인간에서의 MS와 같이, 모든 마우스 또는 래트가 EAE를 획득하는데 자연적인 성향을 가지는 것은 아니다.

[0422] 2개월령이며 250-300 g의 무게가 나가는 8마리의 수컷과 8마리의 암컷 래트를 각각 4마리의 수컷과 4마리의 암컷 동물을 함유하는 2개의 군으로 나눈다. 동물들을 실험실 실험의 동물의 사용에 대한 표준 지침 및 윤리적 프로토콜에 따라서 전반적으로 음식과 물을 자유롭게 이용하도록 하여 12시간 명/암 주기로 사육한다. 3일의 순응 기간 후, 피부, 골수 및 혈장 샘플을 각 동물로부터 취하고, 다능성 줄기세포(MSCs)를 각각 표준 방법에 의해 분리한다. MSC가 배양되고 분화를 겪는 동안, 각 동물에 EAE를 유발하는데 충분한 미엘린 염기성 단백질의 양을 주사한다.

[0423] 세포를 세척하고 가루로 만든 후, 2% B27 및 0.5 mM L-글루타민으로 보충한 Neurobasal 배지(모두 GIBCO제)의 적절한 부피에서 현탁한다. 세포를 폴리-L-리신-코팅 플레이트의 웰에서 적절한 밀도로 플레이팅하고, 5% CO<sub>2</sub>-95% 공기 분위기에서 37°C로 인큐베이팅한다. MSC를 플레이트에 부착하고 정상적으로 성장시킨 후, 세포를 식염수 중의 10 nM 다임본의 유효한 양으로 매일 처리한다. MSC의 분화를 각 웰에서 관찰되는 70% 이상의 세포가 신경돌기를 발생시키거나 또는 분화의 다른 징조를 나타낼 때까지 매일 모니터링한다. 원하는 공급원으로부터의 MSC(즉, 피부, 골수 또는 혈장으로부터 정제함)를 그 후 멸균 Neurobasal 배지로 세척하고, 항-NeuN 항체와 함께 인큐베이팅하고, 뉴런-특이적 항원에 결합시키고, 유세포분석기에서 분리한다. 뉴런을 수집하고, 항체를 분리하기 위해 세척하고, EAE를 가지는 래트에 투여를 위해 등장 완충제에서 다시 수집한다. 한 군은 적절한 크기의 분화 뉴런으로 주사하는 한편, 대조군은 군 I에서 사용한 동일 자리에서 동등한 부피의 등장 완충제로 주사한다. EAE 증상의 중증도를 표준 임상 진단 기준에 따라서 4주 동안 주마다 평가한다. 어떤 본 방법 및 본원에 개시된 치료제의 조합을 이 실험 모델로 시험할 수 있다.

[0424] 실시예 29. 이오노포어 이노마이신에 의한 칼슘 과부하에서 미토콘드리아를 안정화시키는 다임본

[0425] 1차 뉴런 배양물을 피질 (제17일), 해마(제19일) 또는 척수 (제15일)로부터 표시한 잉태 일에 래트 태아 조직으로부터 만들었다. 뉴런을 DNaseI의 존재하에서 트립신화 및 가루로 만들어 분리하였고, 2% B27 (Gibco), 0.5 mM L-글루타민으로 보충한 Neurobasal (Gibco) 배지에서 배양하였다. 세포를 폴리-L-리신-코팅 플레이트에서 플레이팅하였고, 5% CO<sub>2</sub>-95% 공기에서 37°C로 유지하였고, 시험 화합물을 3일의 기간 동안 첨가하였다. 배양물을 2.5% 글루타르알데히드를 사용하여 고정하였다. 대략 80개의 디지털 이미지를 조건마다 촬영하였다. 신경돌기 길이를 Image-Pro Plus를 사용하여 계산하였다. 각 분석을 2개의 별개의 배양물 연구로 수행하였다. 다임본을 0.01-500 nM의 농도로 50 ng/mL의 BDNF에서 시험하였다. 미토콘드리아 효과를 다임본 또는 비히클 및 0.25 μM 이오노마이신으로 처리한 1차 래트 해마 세포로 평가하였다. JC-1 미토콘드리아 염색에서 다임본의 효과를 또한 이오노마이신-처리 인간 신경모세포종 세포(SK-N-SH)에서 평가하였다. JC-1의 미토콘드리아 축적을 형광현미경으로 평가하였다.

[0426] 이오노마이신 다임본 (0.25 nM 및 2.5 nM)으로 처리한 1차 래트 해마 세포를 사용하여 미토콘드리아 JC-1 염색을 보존하고 비히클 처리와 비교하였다. 유사하게, 다임본 처리는 이오노마이신 처리한 SK-N-SH 세포에서 미토콘드리아 JC-1 염색을 보존하였다. 다임본은 화합물이 미토콘드리아 막 극성의 손실을 방지하도록 제안하는 이오노포어 이오노마이신에 의한 칼슘 과부하에 대해 미토콘드리아를 안정화한다.

[0427] 비록 앞서 언급한 발명이 명확한 이해를 목적으로 예시 및 실시예의 방법에 의해 일부 상세하게 기술되었지만, 어떤 부수적 변화 및 변형이 실행되는 것은 당업자에게 명백하다. 따라서, 본 설명 및 실시예는 본 발명의 범주를 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다.

[0428] 본원에 개시된 모든 참고문헌, 간행물, 특허 및 특허 출원은 그것 전체가 참고로써 본원에 포함된다.

**도면의 간단한 설명**

- [0021] 도 1은 뇌유래 항신경성인자(BDNF)의 비히클 대조군 및 양성 대조군에서 일차 래트 대뇌피질 뉴런의 신경돌기 성장에 대한 용량 반응 곡선이다.
- [0022] 도 2A-2C는 비히클 대조군(도 2A), 140 nM 다임본(도 2B), 또는 양성 대조군 뇌유래 항신경성인자(BDNF, brain-derived neurotrophic factor) (도 2C)로 처리한 대뇌피질 뉴런의 신경돌기 성장의 대표적인 이미지이다.
- [0023] 도 3은 뇌유래 항신경성인자(BDNF)의 비히클 대조군 및 양성 대조군에서 일차 래트 해마 뉴런의 신경돌기 성장에 대한 용량 반응 곡선이다.
- [0024] 도 4는 뇌유래 항신경성인자(BDNF)의 비히클 대조군 및 양성 대조군에서 일차 래트 척수 운동 뉴런의 신경돌기 성장에 대한 용량 반응 곡선이다.
- [0025] 도 5A 및 5B는 신경돌기 길이(대조군의 %로 표시, 도 5A) 및 뉴런 당 신경돌기의 수(도 5B)를 각각 측정함으로써 평가되는 일차 해마 뉴런을 사용하여, 신경돌기 성장에서 다임본(100 nM)의 효과를 예시한다.
- [0026] 도 6A 및 6B는 14일 후 BrdU로 염색한 해마 세포의 총 수(도 6A) 및 해마 뉴런의 수(도 6B)의 그래프이다. 도 6A는 10 mg/kg (A군), 30 mg/kg (B군), 60 mg/kg (C군)의 다임본 및 동일 부피의 비히클(식염수; D군)로 처리한 래트의 해마에서 BrdU IR 양성 세포의 수를 나타낸다. 도 6B는 10 mg/kg (A군), 30 mg/kg (B군), 60 mg/kg (C군)에서 다임본 및 동일 부피의 비히클(식염수; D군)로 처리한 래트의 해마에서 NeuN (뉴런 계통에 특이적인 마커)과 BrdU IR 둘 다에 양성인 세포의 수를 나타낸다. BrdU 양성 뉴런뿐 아니라 BrdU 양성 전구 세포의 상당한 증가가 60 mg/kg 다임본과 비히클-처리 군 사이에서 검출되었다. 데이터는 평균 + SEM으로써 나타낸다. \*...p = 0.05.
- [0027] 도 7A 및 7B는 14일 후 BrdU로 염색한 치아이랑 세포의 총 수(도 7A) 또는 뉴런의 수(도 7B)의 그래프이다. 도 7A는 10 mg/kg (A군), 30 mg/kg (B군), 60 mg/kg (C군)의 다임본 및 동일 부피의 비히클(식염수; D군)으로 처리한 래트의 치아이랑에서 BrdU IR 양성 세포의 수를 나타낸다. 도 7B는 10 mg/kg (A군), 30 mg/kg (B군), 60 mg/kg (C군)의 다임본, 및 동일 부피의 비히클(식염수; D군)으로 처리한 래트의 치아이랑에서 NeuN (뉴런 계통에 특이적인 마커)과 BrdU IR 둘 다에 양성인 세포의 수를 나타낸다. BrdU 양성 뉴런뿐만 아니라 BrdU 양성 전구 세포의 상당한 증가는 30 mg/kg 다임본 처리 후 전구체 대 비히클 처리 군뿐만 아니라 60 mg/kg 다임본과 비히클 처리 군 사이에서 검출되었다. 데이터를 평균 + SEM으로써 나타낸다. \*...p = 0.05.

**[0028] 발명의 상세한 설명**

[0029] 정의

[0030] 달리 명확하게 표시되지 않는다면, 단수 용어의 사용은 하나 이상을 말한다.

[0031] 본원에서 사용되는 용어 "약"은 이 기술 분야의 당업자에게 용이하게 알려진 각각의 값에 대한 보통의 오차 범위를 말한다. 본원에서 "약"에 대한 값 또는 변수는 본질적으로 값 또는 변수에 관련된 구체예를 포함한다(그리고 설명한다).

[0032] 달리 명확하게 표시되지 않는다면, 본원에서 사용되는 "개체"는, 제한되는 것은 아니지만, 인간, 소, 영장류, 말, 개, 고양이, 돼지, 및 양 동물을 포함하는 포유동물을 의도한다. 따라서, 본 발명은 농업 동물 및 가정용 애완동물에서의 사용을 포함하는, 인간 의약품 및 수의학 내용 둘 다에서의 사용을 발견한다. 개체는 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화 및/또는 증식이 유리한 질병 또는 질환을 가지는 것으로 진단되거나 또는 의심되는 인간일 수 있다. 질병 또는 질환은 뉴런 징후 또는 비-뉴런 징후일 수 있다. 질병 또는 질환은 신경퇴화 또는 비-뉴런 징후와 관련되는 퇴행성 질환 또는 외상을 수반할 수 있다. 개체는 뉴런 징후와 관련되는 하나 이상의 증상을 나타내는 인간일 수 있다. 개체는 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 유리한 질병 또는 질환과 관련된 돌연변이된 또는 비정상 유전자를 가지는 인간일 수 있다. 개체는 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 유리한 질병 또는 질환이 발병하는 것이 유전적으로 또 다른 방법으로 걸리기 쉬운 인간일 수 있다.

[0033] 본원에서 사용되는 "치료" 또는 "치료하는"은 임상적 결과를 포함하는 유리한 또는 원하는 결과를 얻기 위한 접근이다. 본 발명의 목적을 위해, 유리한 또는 원하는 결과는, 제한되는 것은 아니지만, 신경퇴행성 질병; 알츠하이머병, 노인성 모발 손실, 노인성 체중 감소, 노인성 시각장애, 헌팅턴 병 및 관련된 폴리글루타민 확장 질환

병, 정신분열증, 인지기능장애 증후군(CCDS), 뉴런 사멸 매개 안구질환, 황반변성, 근위축성측삭경화증(ALS), 다발성 경화증, 파킨슨병, 루이바디병, 멘케스 병, 윌슨 병, 크로이즈펠트-야콥병, 파르병(Fahr disease), 뇌졸중, 허혈성 뇌 손상 또는 뇌출혈 손상과 같은 뇌순환을 수반하는 급성 또는 만성 장애, 노인성 기억력 장애(AAMI) 또는 경도인지장애(MCI)를 포함하는, 제한되는 것은 아니지만, 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 유리한 질병 또는 질환과 관련된 증상의 완화 및/또는 증상 정도의 경감 및/또는 증상의 악화를 예방하는 것을 포함한다. 예를 들어, 알츠하이머병을 치료하는데 유리한 또는 요망되는 결과는, 제한되는 것은 아니지만, 아밀로이드 플라그의 형성을 억제 또는 저지, 아밀로이드 플라그를 감소, 제거 또는 처리, 인식을 개선 또는 인지 감퇴를 반전, 생체액에서 순환하는 용해성 A $\beta$  펩티드를 격리, 조직(예를 들어, 뇌)에서 A $\beta$  펩티드(용해성 및 침전을 포함)를 감소, 뇌에서 A $\beta$  펩티드의 축적을 억제 및/또는 감소, 조직(예를 들어, 뇌)에서 A $\beta$  펩티드의 독성 효과를 억제 및/또는 감소, 질병으로부터 초래되는 하나 이상의 증상을 감소(예를 들어, 기억, 문제 해결, 언어, 계산, 시공간적 지각, 판단 및/또는 행동의 이상), 삶의 질을 향상, 질병을 치료하는데 요구되는 하나 이상의 다른 약제의 용량을 감소, 질병의 진행을 지연, 및/또는 개체의 생존을 연장하는 것 중 하나 이상을 포함한다. 바람직하게는, 다임분과 같은 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염에 의한, 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화 및/또는 증식이 유리한 질병 또는 질환의 치료는 현재 이용가능한 치료제와 관련된 것보다 수반되는 부작용이 없거나 또는 거의 없으며, 및/또는 개체의 삶의 질을 개선한다. 본 발명은 세포사멸, 세포 손상, 세포 손실, 손상된 또는 감소된 세포 기능, 손상된 또는 감소된 세포 증식, 또는 손상된 또는 감소된 세포 분화를 수반하는 것으로 믿어지거나 수반하는 질병 또는 질환의 개시를 치료, 예방, 지연하고, 및/또는 발생을 지연하는 것을 포함하며, 세포는 비-뉴런 세포와 같은 본원에서 기술되는 어떤 특이적 세포 종류일 수 있다. 따라서, 본 발명의 한 양태는 비-뉴런 세포와 관련된 질병을 치료하는 것, 예로써, 퇴행성 질환 또는 비-뉴런 세포와 관련된 외상의 치료, 심장병의 치료를 위한 심근 세포, 당뇨병의 치료를 위한 췌장도세포, 식욕감퇴의 치료를 위한 지방세포 또는 AIDS, 암을 포함하는 다수의 질병과 관련된 체력저하, 및 화학요법을 포함하는 암치료, 혈관 이식 및 장 이식에 사용되는 평활근 세포, 연골 손상 및 연골의 퇴행성 질환 및 퇴행성 관절염을 치료하기 위해 사용되는 연골, 및 박테리아 또는 바이러스 감염으로 손상된 또는 손실된 대체 세포, 또는 화상, 골절 및 열상과 같은 외상성 손상으로 인한 그것의 손실의 치료이다.

[0034] 본원에서 사용되는, 질병 또는 질환의 발생을 "지연시키는 것"은 질병 또는 질환의 발생을 미루며, 저지하고, 늦추고, 방해하고, 안정시키고 및/또는 연기하는 것을 의미한다. 이 지연은 치료되는 질병 및/또는 개체의 이력에 따라서 시간의 길이가 다양할 수 있다. 당업자에게 명백한 바와 같이, 충분한 또는 상당한 지연은, 개체가 질병 또는 질환을 발생시키지 않는다는 점에서 실질적으로 예방을 포함할 수 있다. 예를 들어, 알츠하이머병의 발생을 "지연시키는" 방법은 본 방법을 사용하지 않는 것과 비교할 때, 주어진 시간 틀에서 질병 발생의 가능성을 감소시키고 및/또는 주어진 시간 틀에서 질병의 정도를 감소시키는 방법이다. 이러한 비교는 전형적으로 통계적으로 유의한 수의 피험자를 사용하는, 임상적 연구를 기초로 한다. 예를 들어, 알츠하이머병 발생은 통상적인 신경학적 검사, 환자 면담, 뇌영상, 혈청 또는 뇌척수액에서 특이적 단백질(예를 들어, 아밀로이드 펩티드 및 타우) 수준의 변화를 검출, 컴퓨터 단층촬영(CT) 또는 자기공명법(MRI)과 같은 표준 임상 기술을 사용하여 검출될 수 있다. 유사한 기술이 다른 질병 및 질환에 대해 당업계에 공지되어 있다. 발생은 또한 초기에 검출 불가능할 수 있는 질병의 진행을 말할 수 있으며, 발병, 재발 및 개시를 포함한다.

[0035] 본원에서 사용되는 "위험에 있는" 개체는 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화 및/또는 증식이 유리한 질병 또는 질환이 발생할 위험에 있는 개체이다. "위험에 있는" 개체는 검출가능한 질병 또는 질환을 가질 수도 또는 가지지 않을 수도 있으며, 본원에서 기술되는 치료 방법 전 검출가능한 질병을 나타낼 수도 나타내지 않을 수도 있다. "위험에 있는"은 개체가 질병 또는 질환의 발생과 관련이 있고 당업계에 공지된 측정가능한 변수인 하나 이상의 소위 위험 인자를 가지는 것을 의미한다. 하나 이상의 이들 위험 인자를 가지는 개체는 이들 위험 인자(들)가 없는 개체보다 질병 또는 질환이 발생할 가능성이 더 높다. 이들 위험 인자는, 제한되는 것은 아니지만, 연령, 성별, 혈통, 식이요법, 이전의 병력, 전구 질병의 존재, 유전적(즉, 유전성) 고려, 및 환경적 노출을 포함한다. 예를 들어, 알츠하이머 병에 대한 위험에 있는 개체는, 예를 들어, 이런 질병을 경험한 혈족이 있는 것, 및 유전적 또는 생화학적 마커의 분석에 의해 결정된 위험이 있는 것을 포함한다. 알츠하이머병에 대한 위험의 유전적 마커는 APP 유전자, 구체적으로 각각 하디(Hardy) 및 스웨덴(Swedish) 돌연변이로서 언급되는 위치 717 및 위치 670 및 671에서의 돌연변이를 포함한다(Hardy, *Trends Neurosci.*, 20:154-9, 1997). 위험의 다른 마커는 프리세닐린 유전자(예를 들어, PS1 또는 PS2)에서의 돌연변이, ApoE4 대립 유전자, 알츠하이머병, 과다콜레스테롤 및/또는 죽상동맥경화증의 가족력이다. 다른 이러한 인자는 다른 질병 및 질환에 대해 당업계에 알려져 있다.

[0036] 본원에서 사용되는, 용어 "비-뉴런 징후"는 비-뉴런 세포사멸 및/또는 손상된 비-뉴런 기능 또는 감소된 비-뉴

런 기능을 수반하거나 관련되는 것으로 믿어지는 질병 또는 질환 또는 비-뉴런 세포와 관련되는 퇴행성 장애 또는 외상을 수반하는 질병 또는 질환을 말하고 의도한다. 비-뉴런 세포의 예는, 이에 제한되는 것은 아니지만, 피부 세포, 조혈모 세포, 평활근 세포, 심장 세포, 골격근 세포, 골세포, 연골세포, 혈장 세포 또는 지방세포를 포함한다.

[0037] 본원에서 사용되는, 용어 "뉴런 징후"는 뉴런 세포사멸 및/또는 손상된 뉴런 기능 또는 감소된 뉴런 기능을 수반하거나 또는 관련되는 것으로 믿어지는 질병 또는 질환을 말하며 의도한다.

[0038] 본원에 사용되는 용어 "뉴런"은 동물의 신경계의 어떤 부분으로부터 유래된 외배엽 배아 기원의 세포를 나타낸다. 뉴런은 신경미세섬유 단백질, NeuN(Neuronal Nuclei marker), MAP2, 및 클래스 III 튜블린을 포함하는 잘 특징지어진 뉴런-특이적 마커를 발현한다. 뉴런으로서, 예를 들어, 해마, 대뇌피질, 중뇌 도파민성, 척수 운동, 감각, 교감, 중격 콜린, 및 소뇌 뉴런이 포함된다.

[0039] 본원에서 사용되는 용어 "신경돌기 성장" 또는 "신경돌기 활성화"는 존재하는 뉴런의 처리(즉, 축색돌기와 수상돌기)의 연장 및 새로운 뉴런의 처리(즉, 축색돌기와 수상돌기)의 성장 또는 돌음을 말한다. 신경돌기 성장 또는 신경돌기 활성화는 신경 연결성을 변화시켜, 새로운 시냅스의 확립 또는 존재하는 시냅스의 리모델링을 초래할 수 있다.

[0040] 본원에서 사용되는, 용어 "신경 발생"은 또한 다능성 뉴런 줄기 세포로서 알려진 미분화된 뉴런 전구 세포로부터 새로운 신경 세포의 발생을 말한다. 신경발생 활성은 새로운 뉴런, 성상세포, 신경교세포, 슈만 세포, 희돌기교세포 및 기타 신경 계통을 만든다. 많은 신경 발생은, 그것이 수명의 후기에 계속되에도 불구하고 인간 발생의 초기에, 구체적으로 성인 뇌의 어떤 국소화된 영역에서 일어난다. 신경계의 주요 표현형을 발생시키는 자기혁신의, 다능성 세포인 다능성 뉴런 줄기 세포는 해마, 치아아랑, 및 뇌실하층을 포함하는 성인 뇌의 다양한 영역으로부터 분리되었고, 또한 척수와 같이 신경 발생과 통상적으로 연관되어 있지 않은 영역으로부터 분리되었다.

[0041] 본원에서 사용되는 용어 "신경 연결성"은 유기체의 뉴런 사이에서 연결의 수, 종류 및 질을 말한다. 시냅스는 뉴런 사이, 뉴런과 근육 사이("신경근접합부"), 및 뉴런과 내부 기관, 내분비선 등을 포함하는 다른 생물학적 구조 사이에서 형성된다. 시냅스는 뉴런이 서로에게 및 비-뉴런 세포, 근육, 조직 및 기관에 화학적 또는 전기적 신호로써 전달하는 특수화된 구조이다. 신경 연결성에 영향을 미치는 화합물은 새로운 시냅스를 정함으로써(예를 들어, 신경돌기 성장 또는 신경돌기 활성화에 의함) 또는 존재하는 시냅스를 변경 또는 리모델링함으로써 그렇게 할 수 있다. 시냅스의 리모델링은 특정 시냅스에 전달되는 신호의 질, 강도 또는 종류의 변화를 말한다.

[0042] 본원에 사용되는 용어 "신경병증"는 신경계의 1차 병소 또는 다른 기능 장애에 의해 개시되고 또는 야기되는 신경계의 운동성, 감각성 및 자율 뉴런의 변형된 기능 및 구조를 특징으로 하는 장애를 말한다. 말초 신경병증의 4가지 기본적인 형태는 다발 신경병증, 단일 신경병증, 다발성 홀신경염 및 자율 신경병증이 있다. 가장 흔한 형태는 (대칭의) 말초 다발 신경병증이며, 이것은 주로 발 및 다리에 영향을 미친다. 신경근병증은 척수 신경근을 포함하는데, 그러나 만약 말초 신경이 또한 포함된다면, 용어 신경근신경병증이 사용된다. 신경병증의 형성은 상세한 섬유 침범의 원인, 또는 크기, 즉, 큰 섬유 또는 작은 섬유 말초 신경병증에 의해 추가로 파괴될 수 있다. 중추 신경병증 통증은 척수 손상, 다발성 경화증, 및 일부 뇌졸중뿐 아니라 섬유근육통에서 생길 수 있다. 신경병증은 약함, 자율적 변화 및 감각의 변화의 다양한 조합과 관련될 수 있다. 근육크기의 손실 또는 속상수축, 특히 근육의 미세한 경련이 보일 수도 있다. 감각 증상은 감각의 손실 및 통증을 포함하는 "양성적" 현상을 포함한다. 신경병증은 척수 손상 및 다른 종류의 신경 손상뿐 아니라 당뇨병(즉, 당뇨병성 신경병증), 섬유근육통, 다발성경화증, 및 대상포진 감염을 포함하는 다양한 장애와 관련된다.

[0043] 본원에 사용되는 용어 "정신분열증"은, 제한되는 것은 아니지만, 긴장형, 파괴형, 혼란형, 망상형, 잔류형 또는 미분화형 정신분열증 및 결핍 증후군 및/또는 미국 정신의학회(American Psychiatric Association): *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition*, Washington D.C., 2000 또는 국제 질병분류체계(International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems), 또는 다른 당업자에게 알려진 것에서 기술되는 것을 포함하여, 당업계에 알려진 정신분열증의 모든 형태 및 분류를 포함한다.

[0044] 본원에 사용되는 "항노화 활성" 또는 "항노화제"는 생명을 위협하지는 않지만 노화 과정과 관련되며, 노인들에게 전형적인 병리 또는 질환의 강도의 양 및/또는 수준의 감소를 통해 노화를 늦추고 및/또는 수명을 연장시키고 및/또는 삶의 질을 향상 또는 개선시키는 생물학적 활성을 의미한다. 생명을 위협하지는 않지만 노화 과정과

관련되는 병리 또는 질환은 시력의 상실(백내장), 피부털 외피의 악화(탈모증), 및 근육 및/또는 지방세포의 사멸에 기인하는 노인성 체중 감소를 포함한다.

- [0045] 달리 명확하게 나타내지 않는다면, 본원에 사용되는 용어 "CCDS의 치료" 또는 "CCDS를 치료하는"은 CCDS와 관련된 하나 이상의 임상적 징후(의 악화를 개선 또는 예방하는 것)를 조절하는 것, 반응의 지속 및 크기가 개체 개 (canine)에서 다양할 수 있음을 인식하는 것을 의미한다.
- [0046] "뉴런 사멸 매개 안구질환"은 뉴런의 사멸이 전체 또는 부분적으로 관련되는 안구질환을 의도한다. 본 질병은 광수용체의 사멸을 수반할 수 있다. 본 질병은 레티날 세포사멸을 수반할 수 있다. 본 질병은 아포토시스에 의한 안구 신경 사멸을 수반할 수 있다. 특히 뉴런 사멸 매개 안구질환은, 제한되는 것은 아니지만, 황반변성, 녹내장, 색소성망막염, 선천성 정지형 야맹증(오구치병), 유년기 개시형 중증 망막형성장애, 레버 선천성 흑암시, 바드-비들 증후군, 어서 증후군, 시신경병증으로부터의 시력상실, 레버 유전성 시신경병증, 색맹 및 한센-라르센-베르그 증후군을 포함한다.
- [0047] 본원에서 사용되는 용어 "황반변성"은, 제한되는 것은 아니지만, 브루크막(Bruch's membrane), 맥락막, 신경망막 및/또는 망막색소내피의 이상과 관련된 중심시의 진행성 손실을 특징으로 하는 질병을 포함하여 당업계에서 공지된 황반변성의 모든 형태 및 분류를 포함한다. 따라서 본 용어는 노인성 황반변성(ARMD) 뿐만 아니라 일부 경우에 수명의 처음 10년에 발견될 수 있는 초기-개시형 영양실조와 같은 장애를 포함한다. 다른 황반병증은 노스 캐롤라이나 황반이영양증, 소르스비 안저 이영양증(Sorsby's fundus dystrophy), 스타르가르트병(Stargardt's disease), 무늬 이영양증, 베스트병 및 말라티아 레벤티네스(Malattia Leventinese)를 포함한다.
- [0048] "근위축성 측삭경화증" 또는 "ALS"는 상부 운동 뉴런(뇌의 운동 뉴런) 및/ 하부 운동 뉴런(척수의 운동 뉴런)에 영향을 미치며 운동 뉴런 사멸을 초래하는 진행성 신경퇴행성 질병을 의미하는 것으로 당업계에서 이해되며 본원에서 사용되는 용어이다. 본원에 사용되는 용어 "ALS"는, 제한되는 것은 아니지만, 고전적인 ALS(전형적으로 하부와 상부 운동 뉴런 둘 다에 영향을 미침), 원발성측삭경화증(PLS, 전형적으로 단지 상부 운동 뉴런에 영향을 미침), 진행성연수마비(BBP 또는 연수형, 전형적으로 연하, 저작 및 말하기에 어려움을 가지고 시작하는 ALS의 버전), 진행성 근 위축증(PMA, 전형적으로 단지 하부 운동 뉴런에 영향을 미침) 및 가족성 ALS(ALS의 유전적 버전)를 포함하는 당업계에서 공지된 모든 분류의 ALS를 포함한다.
- [0049] 용어 "파킨슨병"은, 개체가 제한 없이, 하나 이상의 하기 증상: 휴식진전, 톱니바퀴 경직, 서동(bradykinesi), 자세 반사 이상, 1-도파 치료에 대한 양호한 반응, 현저한 동안신경 마비의 부재, 소뇌 또는 추체로 징후, 근위축증, 실행 장애 및/또는 부진 실어증과 같은 파킨슨병과 관련된 하나 이상의 증상을 경험하는 어떤 의학적 질병을 말하는 것으로 당업계에서 이해되고 본원에서 사용된다. 특정 구체예에서, 본 발명은 도파민성 기능 장애-관련 장애의 치료에 이용된다. 특정 구체예에서, 파킨슨병이 있는 개체는 파킨슨병과 관련된 시누클레인, 파킨 또는 NURR1 핵산에서 돌연변이 또는 다형성을 가진다. 한 구체예에서, 파킨슨병이 있는 개체는 도파민성 뉴런의 발생 및/또는 생존을 조절하는 핵산에서 핵산의 결함 또는 감소된 발현 또는 돌연변이를 가진다.
- [0050] 본원에서 사용되는 용어 "경도인지장애" 또는 "MCI" 는 전형적인 통상의 노인-관련 감퇴보다 인지 기능에서 더욱 명백한 악화를 특징으로 하는 인지 장애의 종류를 말한다. 그 결과, MCI가 있는 노인 또는 늙은 환자는, 중국적으로 치매를 야기하는 알츠하이머병 또는 다른 유사한 신경퇴행성 장애가 있는 환자의 특징인 보통의 사고적이고, 일상적인 및/또는 직업상의 역할을 수행하는 것에 대한 무력함은 없지만, 복잡한 일상 작업 및 학습을 수행하는데 보통보다 더 큰 어려움을 가진다. MCI는 인지, 기억, 및 다른 손상들 사이의 작용에서 민감하고, 임상적으로 명백한 결함을 특징으로 하는데, 이것은 알츠하이머병 또는 다른 치매의 진단에 대한 기준을 충족시키기에는 충분한 정도는 아니다. MCI는 또한 신경 손상(즉, 뇌진탕 후 증후군 등을 포함하는 전장손상), 신경 독성 치료(즉, "케모 브레인(chemo brain)" 등을 야기하는 보조화학요법), 및 신체 손상 또는 다른 신경퇴화로부터 초래되는 조직 손상과 같은 일정한 종류의 손상으로부터 초래되는 인지 장애로서 본원에 정의되는 상해-관련 MCI를 포함하는데, 이것은 뇌졸중, 허혈, 출혈성 상해, 무딘 외상(blunt force trauma) 등으로부터 초래되는 경도 인지장애와 분리되며 별개이다.
- [0051] 본원에서 사용되는 용어 "노인성 기억 손상" 또는 "AAMI"는 7개의 주요 단계에서 노화 과정과 진행성 퇴행성 치매를 구별 짓는 전반적 퇴화척도(GDS)의 GDS 단계 2로서 확인될 수 있는 질환을 말한다(Reisberg, *et al.* (1982) *Am. J. Psychiatry* 139: 1136-1139). GDS의 제 1 단계는 어떤 연령에서 개체가 인지 손상의 주관적인 증상호소도 없고 손상의 객관적 증거도 가지지 않는 단계이다. 이들 GDS 단계 1 개체들은 정상으로 생각된다. GDS의 제 2 단계는 일반적으로 기억 및 인지 기능의 어려움을 호소하는 노인들에게, 예로써 그들이 5년 또는 10년 전과 마찬가지로 이름을 생각해내지 못하고 또는 그들이 5년 또는 10년 전과 마찬가지로 물건이 있는 곳을

생각해내지 못하는 단계에 적용한다. 이 주관적 증상은 다르게는 통상의 늙은 개체들에서 매우 흔한 것으로 나타난다. AAMI는, 정상이며 주관적 증상이 없는, 즉, GDS 단계 1인 노인과 신경생리학적으로 다를 수 있는, GDS 단계 2의 사람을 말한다. 예를 들어, AAMI 피험자는 GDS 단계 1 노인보다 컴퓨터 분석된 EEG에서 더 전기생리적(electrophysiologic) 지연을 가지는 것을 확인하였다(Prichep, John, Ferris, Reisberg, et al.(1994) *Neurobiol. Aging* 15:85-90).

- [0052] 본원에서 사용되는 용어 "자폐증"은 사회적 상호작용 및 소통을 손상시키며, 유아 또는 초기 유년기 동안 전형적으로 나타나는 제한되고 반복적인 행동의 원인이 되는 뇌 발달 장애를 말한다. 인지 및 행동 결함은 변형된 신경 연결성으로부터 부분적으로 초래되는 것으로 생각된다. 자폐증은 아스페르거 증후군 및 레트 증후군뿐만 아니라 "자폐 스펙트럼 장애"로서 때때로 언급되는 관련 장애를 포함한다.
- [0053] 본원에서 사용되는 용어 "신경 손상" 또는 "신경 상해"는 견열 손상(즉, 찢어지고 헤어져 신경 또는 신경들) 또는 척수 손상(즉, 뇌에 대한 및 뇌로부터의 감각 및 운동 신호를 옮기는 백색질 또는 유수섬유로에 대한 상해)을 말한다. 척수 손상은 신체 외상(즉, 교통사고, 운동 상해 등), 척수에 침범하는 종양, 이분 척추증과 같은 발달 장애 등을 포함하는 다양한 원인으로부터 야기될 수 있다.
- [0054] 본원에서 사용되는 용어 "중증 근무력증"은 골격근의 신경근접합부에서 아세틸콜린 수용체의 면역-매개성 손실에 의해 야기된 비-인지 신경근육 장애를 말한다. 임상적으로, MG는 전형적으로 처음에는 환자의 대략 3분의 2에서, 가장 흔하게는 외안근에서 가급적의 근육약화로 나타난다. 이런 초기 증상은 결국 악화되어, 눈꺼풀 처짐(안검하수증) 및/또는 이중시(복시)를 생기게하고, 종종 환자가 의사의 치료를 찾으려 하는 원인이 된다. 결국, 많은 환자들은 매주, 매일 또는 훨씬 더 빈번하게 변할 수 있는 일반적인 근육약화가 발생한다. 일반적인 MG는 종종 얼굴의 표정, 저작, 말하기, 연하 및 호흡을 조절하는 근육에 영향을 미치며; 최근의 치료에서의 진보 전에 호흡 장애는 사망의 가장 흔한 원인이었다.
- [0055] 본원에서 사용되는 용어 "길랑-바레 증후군(Guillain-Barre Syndrome)"은 신체 면역 시스템이 말초 신경계의 부분을 공격하는 비-인지 장애를 말한다. 이 장애의 첫 번째 증상은 다리의 쇠약 또는 손발저림증의 변화하는 단계들을 포함한다. 많은 예에서, 쇠약 및 비정상적 감각은 팔 및 상체에 퍼져있다. 이 증상들은 특정 근육들이 전혀 사용될 수 없을 때까지, 심하게는 환자가 거의 완전히 마비될 때까지 강도가 증가할 수 있다. 이런 경우에, 장애는 생명을 위협하며 -잠재적으로 호흡, 때때로 혈압 또는 심장박동을 방해한다- 긴급의료상황으로 생각된다. 비록 일부는 일정한 정도의 쇠약함을 계속해서 갖지만, 그러나, 대부분의 환자는 길랑-바레 증후군의 가장 중증의 경우조차도 회복한다.
- [0056] 본원에서 사용되는 용어 "다발성경화증" 또는 "MS"는 면역 시스템이 중추신경계(CNS)를 공격하여 뉴런의 탈수초화를 유발하는 자가면역 질환을 말한다. 그것은 수많은 증상들의 원인이 될 수 있는데, 이것들 중 다수는 비-인지성이며, 종종 신체적 무력으로 진행된다. MS는 백질로서 알려진 뇌 및 척수의 영역에 영향을 미친다. 백질 세포는 처리가 행해진 회백질 영역과 신체의 나머지 사이에서 신호를 전달한다. 더 구체적으로는, MS는, 뉴런이 전기적 신호를 전달하는 것을 돕는, 수초로서 알려진 지방층을 만들고 유지하도록 하는 세포인 희돌기교세포를 파괴한다. MS는 미엘린의 박화(thinning) 또는 완전한 손실을 초래하며, 덜 빈번하게는, 뉴런의 신장 또는 축삭돌기의 절단(절개)을 야기한다. 미엘린이 손실되었을 때, 뉴런은 그것의 전기적 신호를 더 이상 효과적으로 처리할 수 없다. 대부분의 어떤 신경학적 증상은 질병을 수반할 수 있다. MS는 별개의 공격(재발형) 또는 시간에 걸친 느린 축적(진행형) 중 하나로 생기는 새로운 증상을 가지는 몇몇 형태를 취한다. 대부분의 사람들은 처음에는 재발완화형 MS로 진단되지만, 몇 년 후에 2차-진행형 MS(SPMS)가 발생된다. 공격들 사이에, 증상들은 완전히 사라질 수 있지만, 영구적인 신경 문제는 종종 특히 질병이 진척되는 것으로서 지속된다.
- [0057] 본원에서 사용되는 "성장 인자"는 세포 증식, 세포 분화, 및/또는 세포 생존을 자극하는 화합물을 의미한다. 성장 인자의 예는 혈관내피성장인자, 영양 성장인자, NT-3, NT-4/5, 간세포 성장인자(HGF), 섬유아 세포 성장인자(CNTF), 전환성장인자 알파(TGF-알파), TGF-베타 패밀리의 멤버, 미오스타틴(GDF-8), 뉴로트로핀-3, 혈소판유래 성장인자(PDGF), GDNF (신경교-유래 항신경성 인자), 표피 성장 인자 (EGF) 패밀리의 멤버, 인슐린-유사 성장 인자(IGF), 인슐린, 골형성단백질(BMPs), 에리트로포이에틴, 트롬보포이에틴, Wnt, 헤지호그, 헤레굴린, 그것의 단편, 및 그것의 모방체를 포함한다. 다른 성장 인자의 예는 본원에서 기술된다.
- [0058] 본원에서 사용되는 "혈관 내피 성장인자(VEGF)"는 VEGF 단백질, 그것의 단편 또는 모방체, 예로써, 단일, 8 엑손, VEGF 유전자 또는 그것의 상동기관으로부터 mRNA의 또 다른 스플라이싱으로부터 초래되는 어떤 단백질을 의미한다. 다른 VEGF 스플라이스 변이체는 그것들이 함유하는 아미노산의 수로써 언급된다. 인간에서, 이소폼은 VEGF121, VEGF145, VEGF165, VEGF189 및 VEGF206이며; 이 단백질들의 설치류 ortholog는 한 개 미만

의 아미노산을 함유한다. 이 단백질들은 VEGF 유전자의 엑손 6a, 6b 및 7에 의해 코딩되는 짧은 C-말단 도메인의 존재 또는 부재에 의해 다르다. 이 도메인들은 그것들이 세포 표면에서 헤파린 술페이트 프로테오글리칸 및 뉴로필린 공동-수용체와 상호작용을 매개함으로써 VEGF 스플라이스 변이체에 대한 중요한 작용 결과를 가지며, VEGF 신호 수용체를 결합하고 활성화하는 그것의 능력을 향상시킨다. VEGF는 그것의 세포 표면 수용체 Flk-1을 통해 신경보호 효과를 발휘한다. Flk-1은 신경보호 효과를 발휘하기 위해 PI3 키나아제/AKT 및 ERK를 활성화한다(Matsuzaki *et al.*, "Vascular endothelial growth factor rescues hippocampal neurons from glutamate-induced toxicity: signal transduction cascades," *FASEB J.*, 2001 May; 15(7): 1218-20). 다양한 구체예에서, VEGF 단백질 또는 단백질 단편의 아미노산 서열은 인간 VEGF 단백질의 대응하는 영역의 것과 적어도 또는 약 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 또는 100% 동일하다. 일부 구체예에서, VEGF 단편은 전장 VEGF 단백질로부터 적어도 25, 50, 75, 100, 150 또는 200개의 연속 아미노산을 함유하며, 대응하는 전장 VEGF 단백질 활성의 적어도 또는 약 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 100%를 가진다.

[0059] 본원에서 사용되는 "영양 성장 인자"는 세포사멸을 억제 또는 방지하고, 세포 생존을 촉진하고, 및/또는 세포 기능(예를 들어, 신경돌기 성장 또는 신경 발생)을 향상시키는 성장 인자를 의미한다. 대표적인 영양 성장 인자는 IGF-1, 섬유아세포 성장인자(FGF), 신경 성장인자(NGF), 뇌-유래 신경영양인자(BDNF), 과립구 집락 자극인자(G-CSF), 과립구 대식세포 집락 자극인자(GM-CSF), 뉴로트로핀-3, 신경교-유래 항신경성 인자(GDNF), 표피 재생인자(EGF) 또는 TGF $\alpha$  및 그것의 모방체 및 단편을 포함한다. 다양한 구체예에서, 영양 성장 인자 또는 그것의 단편의 아미노산 서열은 인간 성장 인자의 대응하는 영역의 것과 적어도 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 또는 100% 동일하다. 일부 구체예에서, 성장 인자 단편은 전장 성장 인자로부터 적어도 25, 50, 75, 100, 150 또는 200개의 인접하는 아미노산을 함유하며, 대응하는 전장 성장인자 활성의 적어도 또는 약 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 100%를 가진다. 다른 영양 성장 인자의 예는 본원에 기술된다.

[0060] 본원에서 사용되는 "항-세포사멸 화합물"은 세포사멸을 감소 또는 제거하는 화합물을 의미한다. 일부 구체예에서, 본 화합물은 치료 전의 동일 피험자에서 대응하는 세포사멸과 비교하여 또는 조합 치료제를 받지 않은 다른 피험자에서 대응하는 세포사멸과 비교하여 적어도 또는 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 또는 100%로써 세포사멸(예를 들어, 뇌 또는 뇌의 영역에서 신경세포사 또는 비-신경세포사)을 감소시킨다. 대표적인 항-세포사멸 화합물은 IAP 단백질, Bcl-2 단백질, Bcl-X<sub>L</sub>, Trk 수용체, Akt, PI3 키나아제, Gab, Mek, E1B55K, Raf, Ras, PKC, PLC, FRS2, rAPs/SH2B, Np73, 그것의 단편, 및 그것의 모방체와 같은 항-사멸 화합물을 포함한다.

[0061] 본원에서 사용되는 "항-사멸 화합물"은 세포예정사를 감소 또는 제거하는 화합물을 의미한다. 일부 구체예에서, 본 화합물은 치료 전의 동일 피험자에서 대응하는 세포예정사와 비교하여 또는 본 화합물을 받지 않은 다른 피험자에서 대응하는 세포예정사와 비교하여 적어도 또는 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 또는 100%로써 세포예정사(예를 들어, 뇌 또는 뇌 영역의 뉴런 세포사멸 또는 비-뉴런 세포사멸)를 감소시킨다. 대표적인 항-사멸 화합물은 IAP 단백질, Bcl-2 단백질, Bcl-X<sub>L</sub>, Trk 수용체, Akt, PI3 키나아제, Gab, Mek, E1B55K, Raf, Ras, PKC, PLC, FRS2, rAPs/SH2B, Np73, 그것의 분획, 및 그것의 모방체를 포함한다.

[0062] 본원에서 사용되는 "치료 화합물"은 "치료 화합물" 표제 하에서 그것의 어떤 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는, 본원에 개시되는 어떤 화합물을 의미한다. 한 변형에서, 치료 화합물은 다임본이다.

[0063] 본원에 사용되는 "조합 치료제"는 두 가지 이상의 다른 약학적으로 활성인 화합물 또는 세포를 포함하는 치료법을 의미한다. 대표적인 조합 치료제는 (1) (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염 및 (ii) 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물의 조합, (2) (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염 및 (ii) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅한 세포의 조합, (3) (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염, (ii) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅한 세포, 및 (iii) 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물의 조합, (4) (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염 및 (ii) 세포 (예로써, 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅되지 않은 세포)의 조합, 및 (5) (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염, (ii) 세포 (예로써, 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅되지 않은 세포), 및 (iii) 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물의 조합을 포함한다. 일부 구체예에서, 성장 인자와 항-세포사멸 화합물은 둘 다 조합 치료제에 포함된다. 일부 변형에서, 치료 화합물은 다임본이다. 일부 변형에서, 조합 치료제는 선택적으로 하나 이상의 약학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제, 비-약학적으로 활성인 화합물, 및/또는 비활성 물질을 포함한다.

- [0064] 본원에서 사용되는 "약학적으로 활성인 화합물", "약리학적으로 활성인 화합물" 또는 "활성 성분"은, 예를 들어, 알츠하이머병의 개시 및/또는 발생을 치료 및/또는 예방 및/또는 지연시키는 원하는 효과를 유발하는 화합물을 의미한다.
- [0065] 본원에서 사용되는, 용어 "유효한 양"은 실시하는 전문가의 지식을 기초로 할 뿐만 아니라 효능 및 독성의 변수와 조합하여 주어진 치료 형태에서 유효해야 하는 화합물 또는 치료제(예를 들어, 치료 화합물, 성장 인자, 항-세포사멸 화합물 또는 세포)의 양을 의도한다. 당업계에서 이해되는 바와 같이, 유효한 양은 원하는 치료 종말점을 달성하기 위해 요구될 수 있는 한 번 이상의 용량, 즉, 1회 용량 또는 다회 용량일 수 있다. 유효한 양은 한 가지 이상의 치료 약제를 투여하는 것에 대해 고려될 수 있고, 하나 이상의 다른 약제와 함께 바람직한 또는 유리한 결과가 있거나 또는 달성될 수 있다면, 단일 약제는 유효한 양으로 주어지도록 생각될 수 있다. 본 발명의 조합 치료제의 화합물 및/또는 치료제는 동일한 또는 다른 각 화합물의 투여 경로를 사용하여 순차적으로, 동시에 또는 연속적으로 투여될 수 있다. 따라서, 조합 치료제의 유효한 양은 순차적으로, 동시에 또는 지속적으로 투여될 때, 원하는 결과를 만드는 제 1 치료제의 양 및 제 2 또는 이후의 치료제의 양을 포함한다. 공동 투여되는 화합물의 어떤 적당한 용량은 화합물들의 합쳐진 작용(예를 들어, 상승 또는 상승 효과)에 기인하여 선택적으로 저하될 수도 있다.
- [0066] 다양한 구체예에서, 제 1 및 제 2 또는 이후의 치료제의 조합에 의한 치료는 치료제 둘 중 하나의 단독 투여와 비교하여 상승 또는 심지어 상승(예를 들어, 상승보다 더 큼) 결과를 야기할 수 있다. 일부 구체예에서, 개개 치료제에 대해 일반적으로 사용된 양과 비교하여, 더 적은 양의 각 화합물이 조합 치료제의 부분으로서 사용된다. 바람직하게는, 개개 화합물 중 어떤 것을 단독으로 사용하는 것보다 조합 치료제를 사용함으로써 동일 또는 더 큰 치료적 이점이 달성된다. 일부 구체예에서, 개개 치료제에 대해 일반적으로 사용되는 양보다 조합 치료제에서 더 적은 양(예를 들어, 더 적은 1회 투여량 또는 덜 빈번한 투약 스케줄)의 화합물을 사용함으로써 동일 또는 더 큰 치료적 이점이 달성된다. 바람직하게는, 소량의 화합물의 사용은 화합물과 관련된 한 가지 이상의 부작용의 수, 중증도, 빈도 또는 지속성에서의 감소를 야기한다.
- [0067] 본원에 사용되는 용어 "동시 투여"는 조합 치료제에서 제 1 치료제와 제 2 또는 이후의 치료제가 약 15분 이하, 예로써, 약 10, 5 또는 1분 중 어떤 것 이하의 시간 간격으로 투여되는 것을 의미한다. 치료제가 동시에 투여될 때, 제 1 및 제 2 치료제는 동일한 조성물(예를 들어, 치료 화합물과 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물을 둘 다 포함하는 조성물) 또는 별개의 조성물(예를 들어, 치료 화합물은 하나의 조성물에 함유되고 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물은 다른 조성물에 함유된다)에 함유될 수 있다. 본 발명은 (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염 및 (ii) 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물의 조합의 동시 투여 방법을 포함한다. 또한 (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염 및 (ii) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅한 세포의 동시 투여 방법이 포함된다. 또한 (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염, (ii) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅한 세포, 및 (iii) 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물의 동시 투여 방법이 포함된다. 또한 (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염 및 (ii) 세포 (예로써, 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅하지 않은 세포)의 동시 투여 방법이 포함된다. 또한 (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염, (ii) 세포 (예로써, 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅하지 않은 세포), 및 (iii) 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물의 동시 투여 방법이 포함된다.
- [0068] 본원에서 사용되는 용어 "순차적 투여"는 조합 치료제에서 제 1 치료제와 제 2 치료제가 약 15분 이상, 예로써, 약 20, 30, 40, 50, 또는 60분 중 어떤 것 이상, 또는 약 1시간 내지 약 24 시간, 약 1시간 내지 약 48 시간, 약 1일 내지 약 7일, 약 1주일 내지 약 4주일, 약 1주일 내지 약 8주일, 약 1주일 내지 약 12주일, 약 1개월 내지 약 3개월, 또는 약 1개월 내지 약 6개월 이상의 시간 간격으로 투여되는 것을 의미한다. 제 1 치료제 또는 제 2 치료제 중 하나가 우선 투여될 수 있다. 제 1 치료제와 제 2 치료제는 별개의 조성물이 함유되는데, 이것은 동일 또는 다른 포장 또는 키트에 함유될 수 있다. 본 발명은 앞 단락에서 기술한 것과 같은 본원에 기술된 모든 조합의 순차적 투여를 포함한다.
- [0069] 본원에서 사용되는 "단위 투약 형태"는 단위 투약에 적당한 물리적으로 분리된 단위를 말하며, 각 단위는 요구되는 약학 담체와 함께 원하는 치료적 효과를 만들도록 계산된 활성 성분의 미리 결정된 양을 함유한다.
- [0070] 본원에서 사용되는 용어 "제어된 방출"은 약물의 방출이 즉시가 아닌 조제물 또는 그것의 부분을 함유하는 약물을 말하며, 즉, "제어된 방출" 조제물로 투여는 흡수 풀 안으로 약물의 즉시 방출을 야기하지 않는다. 용어는 확장된 시간 기간에 걸쳐 약물 화합물을 점진적으로 방출하는 것으로 설계된 데포 조제물을 포함한다. 제어된

방출 조제물은 다방면에 걸친 약물 전달 시스템을 포함할 수 있으며, 일반적으로 약물 혼합물을 담체, 원하는 방출 특성(즉, pH-의존적 또는 비-pH-의존적 용해도, 다른 정도의 물 용해도 등)을 가지는 폴리머 또는 다른 화합물과 혼합하는 단계 및 원하는 전달 경로에 따르는 혼합물(즉, 코팅 캡슐, 이식가능한 저장소, 생체분해가능한 캡슐을 함유하는 주사액 등)을 조제하는 단계를 수반한다.

[0071] 달리 명확하게 나타내지 않는다면, 본원에서 사용되는 용어 "서방출 시스템"(또한 "시스템"으로서 언급됨)은 연장된 지속일 수 있는 원하는 지속 기간을 위해 개체에서 화합물의 전달 속도를 지속시킬 수 있는 약물 전달 시스템을 말한다. 원하는 지속은 동일한 양(예를 들어, 중량 또는 몰)의 화합물을 방출하기 위해 대응하는 즉시-방출 투약 형태에 요구되는 시간 이상의 어떤 지속 기간일 수 있으며, 시간 또는 일 수 일수 있다. 원하는 지속 기간은 최소한 투여 화합물의 약물 제거 반감기일 수 있고, 예를 들어, 적어도 약 6시간, 또는 적어도 약 12시간, 또는 적어도 약 24시간, 또는 적어도 약 30 시간 또는 적어도 약 48 시간, 또는 적어도 약 72 시간, 또는 적어도 약 96 시간, 또는 적어도 약 120 시간, 또는 적어도 약 144 시간 또는 그 이상 중 어떤 것 일 수 있고, 적어도 약 1주일, 적어도 약 2주일, 적어도 약 3주일, 적어도 약 4주일, 적어도 약 8주일, 적어도 약 16주일 또는 그 이상일 수 있다.

[0072] 본원에서 사용되는 "약학적으로 허용가능한" 또는 "약리학적으로 허용가능한"은 생물학적으로 또는 달리 원치않는 것이 아닌 재료를 말하며, 예를 들어, 재료는 어떤 상당한 원치않는 생물학적 효과를 야기함이 없이 또는 그것이 함유된 조성물의 다른 성분 중 어떤 것을 해로운 방식으로 방해함이 없이 환자에게 투여되는 약학 조성물에 포함될 수 있다. 약학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제는 바람직하게는 독성 및 제조 시험의 요구되는 기준을 충족시키고 및/또는 미국식품의약국에 의해 마련된 비활성첨가제지침(Inactive Ingredient Guide)에 포함된다.

[0073] 본원에 사용되는 용어 "정제 세포"는 세포가 생성될 때 존재하는 하나 이상의 성분으로부터 분리된 세포를 의미한다. 일부 구체예에서, 세포는 세포가 생성될 때 존재하는 다른 성분 없이 적어도 약 60중량%이다. 다양한 구체예에서, 세포는 적어도 약 75중량%, 90중량%, 또는 99중량%으로 순수하다. 순수한 세포는, 예를 들어, 천연 원료로부터 정제(예를 들어, 추출), 형광 활성화 세포분류(fluorescence-activated cell sorting, FACS) 또는 당업자에게 공지된 다른 기술에 의해 획득될 수 있다. 순도는 형광 활성화 세포분류와 같은 어떤 적당한 방법에 의해 분석될 수 있다. 일부 구체예에서, 정제 세포는 본 발명의 약학 조성물에 포함되거나 또는 본 발명의 방법에 사용된다. 본 발명의 약학 조성물은 정제 세포에 더하여 첨가제, 담체 또는 다른 성분을 가질 수 있다.

[0074] "다능성 줄기 세포" 또는 "MSC"는 (i) 적어도 두 개의 세포 종류로 분화되는 잠재력을 가지며 (ii) 두 개의 딸 세포 중 적어도 하나가 또한 줄기 세포가 되는 세포 분열을 의미하는 자기 재생을 나타내는 세포를 의미한다. 단일 MSC의 비-줄기 세포 자손은 다양한 세포 종류로 분화될 수 있다. 예를 들어, 뉴런 줄기 세포의 비-줄기 세포 자손은 뉴런, 성상 세포, 슈반 세포, 및 희돌기교세포로 분화될 수 있다. 유사하게, 비-뉴런 줄기 세포의 비-줄기 세포 자손은 비-뉴런 세포 종류를 포함하는 다른 세포 종류(예를 들어, 피부 세포, 조혈모 세포, 평활근 세포, 심근 세포, 골격근 세포, 골세포, 연골세포, 췌장 세포 또는 지방세포)로 분화하는 잠재력을 가진다. 따라서, 줄기 세포는 그것의 자손이 다양한 분화 경로를 가지기 때문에 "다능성"이다.

[0075] *방법의 개요*

[0076] 본 발명은 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화 및/또는 증식이 유리한 질병 또는 질환의 개시를 치료, 예방, 지연시키고, 및/또는 발생을 지연시키는 방법을 제공한다. 대표적인 질병 및 질환은 세포사멸, 세포 상해, 세포 손실, 손상된 또는 감소된 세포 분화 중 하나 이상을 수반하거나 또는 관련되는 것으로 믿어지거나, 또는 수반하거나 관련되는 질병 및 질환을 포함하며, 세포는 본원에 기술되는 구체적 세포 종류를 포함하는 어떤 세포 종류일 수 있다. 질병 또는 질환은 뉴런 줄기 세포 또는 뉴런 또는 비-뉴런 세포와 같은 세포의 활성화, 분화 및/또는 증식이 유리한 것으로 예상되거나 또는 유리한 것 일 수 있다. 일부 대표적인 세포 종류는 어떤 줄기 세포(예로써, 어떤 자기-혁신의, 다능성 세포)를 포함한다. 예로써 표제 "대표적인 세포 및 방법" 하에서 기술되는 것에 제한되는 것은 아니지만, 다른 대표적인 세포 종류는 본원에 기술되는 본 발명의 치료제 및 방법을 사용하여 조절될 수 있다. 따라서, 본 발명은 세포사멸, 세포 손상, 세포 손실, 손상된 또는 감소된 세포 기능, 손상된 또는 감소된 세포 증식, 또는 손상된 또는 감소된 세포 분화를 수반하는 것으로 믿어지거나 또는 수반하는 질병 또는 질환의 개시를 치료, 예방, 지연하고, 및/또는 발생을 지연시키는 것을 포함하며, 세포는 본원에 기술된 어떤 구체적 세포 종류일 수 있다.

[0077] 본 발명은 또한 세포를 하나 이상의 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이션함으로써 세포를 활성화하고, 세포의 분화를 촉진하고, 및/또는 세포의 증식을 촉진하는 방법을 제공한다. 일부 구

체에서, 세포는 또한 하나 이상의 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물과 함께 인큐베이션된다.

[0078] 본 발명은 다임본(대표적인 수소화된 피리도[4,3-b]인돌)이 소분자 성장 인자로서 작용한다는 인상적인 발견을 부분적으로 기초로 한다. 하기에 추가로 기술할 바와 같이, 다임본은 신경 성장 및 신경 발생을 자극한다(실시예 1 및 2 참조). 생체 밖 또는 생체 내에서 뉴런 세포의 활성화, 분화 및/또는 증식을 자극하는 것은 신경 질환의 치료에 유용하다. 게다가, 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 및 그것의 약학적으로 허용가능한 염은 또한 비-뉴런 세포의 활성화, 분화 및/또는 증식을 촉진하는데 유용한 것으로 예상된다. 따라서, 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 (또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염) 또는 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 (또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염)과 함께 인큐베이션된 세포는 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화 및/또는 증식이 유리한 어떤 질병 또는 질환을 치료하는데 사용될 수 있다.

[0079] *세포를 활성화하기 위한 방법*

[0080] 따라서, 본 발명은 세포를 활성화하기에 충분한 조건하에서 하나 이상의 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 세포를 인큐베이션함으로써 세포를 활성화하는 방법을 제공한다. 예를 들어, 치료 화합물은 신경돌기 성장을 자극함으로써 뉴런을 활성화하는데 사용될 수 있다. 실시예 1에서 예시하는 바와 같이, 다임본과 함께 뉴런의 인큐베이션은 대뇌피질 뉴런, 해마 뉴런, 및 척수 운동 뉴런으로부터 축색돌기의 길이를 증가시켰다. 다임본과 함께 뉴런 세포의 활성화에 기초하여, 다임본은 또한 비-뉴런 세포를 포함하는 본원에 기술되는 어떤 세포 종류와 같은 다른 세포 종류를 활성화하는 것으로 예상된다. 일부 대표적인 세포 종류는 어떤 줄기 세포(예로써, 어떤 자기-혁신의, 다능성 세포)를 포함한다.

[0081] 치료 화합물과 함께 세포의 생체 밖 인큐베이션을 위한 다양한 구체예에서, 식염수 중의 다임본과 같은 치료 화합물은 약 1 pM 내지 약 5 mM, 약 10 pM 내지 약 500 μM, 약 50 pM 내지 약 100 μM, 약 0.25 nM 내지 약 20 μM, 약 1 nM 내지 약 5 μM, 약 6 nM 내지 약 800 nM, 약 30 nM 내지 약 160 nM의 범위의 농도에서 세포에 첨가된다. 치료 화합물과 함께 세포의 생체 밖 인큐베이션을 위한 다양한 구체예에서, 식염수 중의 다임본과 같은 치료 화합물은 약 0.01 nM, 0.05 nM, 0.25 nM, 1.25 nM, 6.25 nM, 31.25 nM, 156.25 nM, 781 nM, 3.905 μM, 19.530 μM, 97.660 μM, 또는 488.280 μM의 농도에서 세포에 첨가된다.

[0082] 일부 구체예에서, 세포는 또한 성장 인자(예를 들어, VEGF 단백질 또는 영양 성장 인자) 및/또는 항-세포사멸 화합물과 함께 인큐베이션된다. 세포는 그것이 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물과 함께 인큐베이션되기 전, 동안 또는 후에 치료 화합물과 함께 인큐베이션될 수 있다. 일부 구체예에서, 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물과 함께 인큐베이션은 치료 화합물 단독 인큐베이션과 비교하여 상가 또는 상승 효과를 만든다. 일부 구체예에서, 세포는 성장 인자와 항-세포사멸 화합물 둘 다와 함께 인큐베이션된다.

[0083] 다양한 구체예에서, 인큐베이션은 생체 밖 또는 생체 내에서 일어난다. 일부 구체예에서, 치료 화합물은 생체 내 세포(예를 들어, 뉴런 줄기 세포 또는 뉴런 세포 또는 비-뉴런 세포)를 활성화하기 위해 개체(예로써, 하나 이상의 세포 종류를 필요로 하는 개체)에 투여된다. 일부 구체예에서, 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물은 생체 내 세포(예를 들어, 뉴런 줄기 세포 또는 뉴런 세포 또는 비-뉴런 세포)의 활성화를 향상시키기 위해 개체에 투여된다. 일부 구체예에서, 치료 화합물의 투여는 경구, 정맥내, 복강내, 피하, 경막내, 근육내, 안구내, 경피, 또는 국소적으로(즉, 점안약 또는 귀물약으로서) 투여된다. 일부 구체예에서, 치료 화합물의 투여는 1일에 1회, 1일에 2회, 1일에 3회, 또는 더 높은 빈도로 투여된다. 일부 구체예에서, 치료 조성물의 투여는 1주일에 1회, 1주일에 2회, 1주일에 3회, 1주일에 4회, 또는 더 높은 빈도로 투여된다. 일부 구체예에서, 치료 조성물의 투여는 1주일마다, 2주일마다, 3주일마다, 4주일마다, 5주일마다, 6주일마다, 또는 훨씬 더 긴 간격으로 제어된 방출 조절물로서 투여된다. 일부 구체예에서, 치료 화합물의 약 1 ng/일, 10 ng/일, 100 ng/일, 250 ng/일, 500 ng/일, 1 μg/일, 5 μg/일, 10 μg/일, 20 μg/일, 40 μg/일, 80 μg/일, 160 μg/일, 320 μg/일, 또는 120 mg/일의 용량(예를 들어, 경구 투여를 위한 용량)이 투여된다. 일부 구체예에서, 치료 화합물은 약 1 ng/일, 10 ng/일, 100 ng/일, 250 ng/일, 500 ng/일, 1 μg/일, 5 μg/일, 10 μg/일, 20 μg/일, 25 μg/일, 40 μg/일, 80 μg/일, 125 μg/일, 160 μg/일, 320 μg/일, 또는 120 mg/일의 용량으로 뇌에 주사에 의해(예를 들어, 경막 내 또는 뇌실 내 투여) 직접 투여된다. 일부 구체예에서, 뇌에서 서방출 펌프 또는 다른 장치는 본원에 기술되는 어떤 용량을 투여하도록 분출한다. 일부 변형에서, 치료적 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염은 다임본이다.

[0084] 치료 화합물과 함께(및 선택적으로 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물과 함께) 인큐베이션에 의해 활성화된 세포는 본 발명의 어떤 방법, 조성물 및 키트에 유용하다. 일부 구체예에서, 세포는 (i) 세포 인큐베이션 이전의 축색돌기보다 또는 (ii) 치료 화합물, 성장 인자, 또는 항-세포사멸 화합물 없이 동일한 조건하에서 인큐베

이팅한 대응하는 대조군 세포의 축색돌기보다 적어도 약 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% 더 긴 축색돌기를 가지는 뉴런이다.

[0085]

세포의 분화 및/또는 증식을 촉진하는 방법

[0086]

본 발명은 또한 세포의 분화 및/또는 증식을 촉진하기에 충분한 조건하에서 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 세포를 인큐베이팅함으로써 세포의 분화 및/또는 증식을 촉진하는 방법을 특징으로 한다. 실시예 2에서 예시하는 바와 같이, 다임본은 래트 해마에서 분열되는 뉴런의 수를 증가시켰다. 따라서, 다임본은 뉴런 줄기 세포의 분화된 뉴런 세포로의 분화를 자극하고 및/또는 뉴런 줄기 세포 또는 뉴런 세포의 증식을 자극할 수 있다. 다임본의 투여에 기인하는 뉴런 세포 수의 증가에 기초하여, 다임본은 또한 본원에 기술되는 어떤 세포 종류와 같은 다른 세포 종류의 분화 및/또는 증식을 촉진하는 것으로 예상된다. 일부 대표적인 세포 종류는 어떤 다능성 줄기 세포를 포함한다(예로써, 어떤 자기-혁신의, 다능성 세포).

[0087]

치료 화합물과 함께 세포의 생체 밖 인큐베이팅을 위한 다양한 구체예에서, 식염수 중의 다임본과 같은 치료 화합물은 약 1 pM 내지 약 5 mM, 약 10 pM 내지 약 500 μM, 약 50 pM 내지 약 100 μM, 약 0.25 nM 내지 약 20 μM, 약 1 nM 내지 약 5 μM, 약 6 nM 내지 약 800 nM, 약 30 nM 내지 약 160 nM의 범위의 농도에서 세포에 첨가된다. 치료 화합물과 함께 세포의 생체 밖 인큐베이팅을 위한 다양한 구체예에서, 식염수 중의 다임본과 같은 치료 화합물은 약 0.01 nM, 0.05 nM, 0.25 nM, 1.25 nM, 6.25 nM, 31.25 nM, 156.25 nM, 781 nM, 3.905 μM, 19.530 μM, 97.660 μM, 또는 488.280 μM의 농도로 세포에 첨가된다.

[0088]

일부 구체예에서, 세포는 또한 성장 인자(예를 들어, VEGF 단백질 또는 영양 성장 인자) 및/또는 항-세포사멸 화합물과 함께 인큐베이팅된다. 세포는 그것이 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물과 함께 인큐베이팅되진, 동안 또는 후에 치료 화합물과 함께 인큐베이팅될 수 있다. 일부 구체예에서, 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물과 함께 인큐베이팅은 치료 화합물 단독의 인큐베이팅과 비교하여 상가 또는 상승 효과를 만든다.

[0089]

다양한 구체예에서, 인큐베이팅은 생체 밖 또는 생체 내에서 일어난다. 일부 구체예에서, 치료 화합물은 생체 내 세포(예를 들어, 뉴런 줄기 세포 또는 뉴런 세포 또는 비-뉴런 세포)의 분화 및/또는 증식을 촉진시키기 위해 개체(예로써, 하나 이상의 세포 종류를 필요로 하는 개체)에 투여된다. 일부 구체예에서, 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물은 생체 내 세포(예를 들어, 뉴런 줄기 세포 또는 뉴런 세포 또는 비-뉴런 세포)의 분화 및/또는 증식을 향상시키기 위해 개체에 투여된다. 일부 구체예에서, 치료 화합물의 투여는 경구, 정맥내, 복강내, 피하, 경막내, 근육내, 안구내, 경피, 또는 국소적으로(즉, 점안약 또는 귀물약으로서) 투여된다. 일반 구체예에서, 치료 화합물의 투여는 1일에 1회, 1일에 2회, 1일에 3회, 또는 더 높은 빈도로 투여된다. 일부 구체예에서, 치료 조성물의 투여는 1주일에 1회, 1주일에 2회, 1주일에 3회, 1주일에 4회, 또는 더 높은 빈도로 투여된다. 일부 구체예에서, 치료 조성물의 투여는 1주일마다, 2주일마다, 3주일마다, 4주일마다, 5주일마다, 6주일마다, 또는 훨씬 더 긴 간격으로 제어된 방출 조제물로서 투여된다. 일부 구체예에서, 치료 화합물의 약 1 ng/일, 10 ng/일, 100 ng/일, 250 ng/일, 500 ng/일, 1 μg/일, 5 μg/일, 10 μg/일, 20 μg/일, 25 μg/일, 40 μg/일, 80 μg/일, 125 μg/일, 160 μg/일, 320 μg/일, 또는 120 mg/일의 용량(예를 들어, 경구 투여를 위한 용량)이 투여된다. 일부 구체예에서, 치료 화합물은 약 1 ng/일, 10 ng/일, 100 ng/일, 250 ng/일, 500 ng/일, 1 μg/일, 5 μg/일, 10 μg/일, 20 μg/일, 25 μg/일, 40 μg/일, 80 μg/일, 125 μg/일, 160 μg/일, 320 μg/일, 또는 120 mg/일의 용량으로 뇌에 주사에 의해(예를 들어, 경막 내 또는 뇌실 내 투여) 직접 투여된다. 일부 구체예에서, 뇌에서 서방출 펌프 또는 다른 장치는 본원에 기술되는 어떤 용량을 투여하도록 분출한다. 일부 변형에서, 치료적 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염은 다임본이다.

[0090]

따라서, 한 양태에서, 본 발명은 세포의 분화 및/또는 증식을 촉진시키기 위해 충분한 조건하에서, 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 분화 및/또는 증식을 촉진하는 방법을 제공한다. 한 구체예에서, 분화 및/또는 증식은 세포의 신경돌기 성장 및/또는 신경 발생을 포함한다. 구체예에서, 분화 및/또는 증식은 신경돌기 성장을 포함한다. 한 구체예에서, 분화 및/또는 증식은 신경 발생을 포함한다. 한 구체예에서, 수소화된 피리도 [4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염은 다임본이다. 한 구체예에서, 본 방법은 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물과 함께 세포를 인큐베이팅하는 단계를 추가로 포함한다. 한 구체예에서, 세포 종류는 다능성 줄기 세포, 뉴런 줄기 세포, 비-뉴런 세포 및 뉴런으로 구성되는 군으로부터 선택된다. 한 구체예에서, 세포 종류는 뉴런이고, 본 방법은 뉴런의 하나 이상의 축색돌기의 길이를 증가시킨다. 한 구체예에서, 세포 종류는 뉴런 줄기 세포이고, 본 방법은 뉴런 줄기 세포의 뉴런으로의 분화를 촉진시킨다. 한 구체예에서, 뉴런 줄기 세포는 해마 뉴런, 대뇌피질 뉴런, 척수 운동 뉴런으로 분화한다. 일부 구체예에서, 비-뉴런 줄기 세포는 피부 세포, 심근 세포, 골격근 세포, 간 세포, 신장 세포 또는 연골 세포로

분화한다. 한 구체예에서, 인큐베이션은 생체 밖에서 일어난다. 한 구체예에서, 인큐베이션은 생체 내에서 일어난다.

[0091] 다른 양태에서, 본 발명은 세포의 신경돌기 성장을 자극하고 및/또는 신경 발생을 향상시키는데 충분한 조건하에서, 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 세포를 인큐베이션하는 단계를 포함하는 세포의 신경돌기 성장을 자극하고 및/또는 신경 발생을 향상시키는 방법을 제공한다. 한 구체예에서, 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염은 다임본이다. 한 구체예에서, 본 방법은 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물과 함께 세포를 인큐베이션하는 단계를 포함한다. 한 구체예에서, 세포 종류는 다능성 줄기 세포, 뉴런 줄기 세포, 비-뉴런 세포 및 뉴런으로 구성되는 군으로부터 선택된다. 한 구체예에서, 세포 종류는 뉴런이고, 본 방법은 뉴런의 하나 이상의 축삭돌기의 길이를 증가시킨다. 한 구체예에서, 세포 종류는 뉴런 줄기 세포이고, 본 방법은 뉴런 줄기 세포의 뉴런으로의 분화를 촉진한다. 한 구체예에서, 뉴런 줄기 세포는 해마 뉴런, 대뇌피질 뉴런, 또는 척수 운동 뉴런으로 분화한다. 한 구체예에서, 인큐베이션은 생체 밖에서 일어난다. 한 구체예에서, 인큐베이션은 생체 내에서 일어난다.

[0092] 세포의 분화 및/또는 증식을 촉진하기 위해 치료 화합물과 함께 (및 선택적으로 성장인자 및/또는 항-세포사멸 화합물과 함께) 인큐베이션된 세포는 본 발명의 어떤 방법, 조성물, 및 키트에서 유용하다. 일부 구체예에서, 세포의 수는 (i) 인큐베이션 이전의 세포(들)의 수 또는 (ii) 치료 화합물, 성장 인자 또는 항-세포사멸 화합물 없이 동일한 조건하에서 인큐베이션된 동일한 수의 출발 대조군 세포(들)로부터 산출된 세포의 수와 비교하여, 적어도 약 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 150%, 200% 증가한다.

[0093] 다능성 줄기 세포를 분화하기 위한 방법

[0094] 특정 양태에서, 본 발명은 개체로부터 MSC를 분리하는 단계, 시험관 내에서 분리된 MSC를 배양하는 단계, 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염의 유효한 양과 함께 배양한 MSC를 인큐베이션하여 다능성 줄기 세포가 분화하도록 유발하는 단계, 및 배양물로부터 원하는 분화 세포 종류를 선택하는 단계에 의하는 다능성 줄기 세포(MSC)를 분화하기 위한 방법을 특징으로 한다. 한 구체예에서, 본 방법은 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염의 유효한 양과 함께 개체로부터 분리한 다능성 줄기 세포를 인큐베이션하여 다능성 줄기 세포가 분화하도록 유발하는 단계를 포함한다. 어떤 구체예에서, MSC는 대뇌피질 뉴런, 해마 뉴런, 또는 척수 운동 뉴런으로 분화한다. 어떤 구체예에서, 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염은 다임본이다. MSC는 적어도 두 가지의 다른 세포 종류로 분화하는 잠재력을 가지며, 비대칭적으로 분열하고, 각 세포 분열에서, 생성된 두 개의 자손 세포 중 적어도 하나는 다능성 줄기 세포일 것임을 의미한다.

[0095] 특정 구체예에서, MSC는 성인 인간 또는 태줄을 포함하는 태아 조직으로부터 분리된다. MSC는 해마, 치아이랑 및 뇌실하층 영역을 포함하는 다양한 뇌의 영역으로부터 분리될 수 있다. MSC는 또한 피부, 골수 또는 혈장의 깊은 층으로부터 분리될 수 있다. MSC가 골수, 혈장, 또는 다른 조직 샘플과 같은 복잡한 생물학적 혼합물의 부분으로서 분리되면, 추가 정제 단계가 필요할 수도 있다. MSC는 유세포 분석기, 밀도구배 원심분리법 등과 같은 당업자에게 공지된 어떤 표준 방법에 의해 분화된 세포 및 다른 생물학적 재료로부터 분리될 수 있다.

[0096] 성인 인간 또는 태아 조직으로부터 분리 후, MSC를 세척하고 필요하다면 가루로 만든 후, 적절한 배양 배지(즉, Neurobasal 배지(GIBCO))에서 원하는 농도로 현탁하고 적당한 배양 배지를 함유하는 적절한 배양 용기에 두었다. 배양 배지를, 예를 들어, B27(GIBCO), L-글루타민(GIBCO), 성장 인자 등과 같은 무혈청 배양 보충물을 포함하여, 원하는 대로 세포 성장을 촉진하는 인자로 보충할 수 있다. 특정 구체예에서, MSC를 다른 세포 종류의 부재하에서 보충 또는 보충되지 않은 배지에서 배양할 수 있다. 특정 구체예에서, MSC는 동일 또는 다른 발생 내용으로부터 분화된 세포 종류와 함께 공동-배양될 수 있다. 예를 들어, 해마로부터 얻은 뉴런 MSC는 분화된 뉴런, 희돌기교세포, 신경교세포 또는 수반 세포와 함께 배양될 수 있다. 세포를 5% CO<sub>2</sub>-95% 공기 대기에서 37°C와 같은 표준 조건하에서, 폴리-L-리신-코팅 플레이트에서 플라스크 또는 웰을 포함하여 원하는 양 및 용도에 따라서 다양한 배양 용기에서 성장시킬 수 있다. 일단 MSC가 플레이트에 부착되면 정상적으로 성장하며, 그것들을 식염수 중의 다임본과 같은 치료적 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 분화를 유발하기에 충분한 농도에서 처리할 수 있다. 한 변형에서, 세포는 또한 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물과 함께 처리될 수 있다.

[0097] 특정 구체예에서, MSC는 약 1 pM 내지 약 5 mM, 약 10 pM 내지 약 500 μM, 약 50 pM 내지 약 100 μM, 약 0.25 nM 내지 약 20 μM, 약 1 nM 내지 약 5 μM, 약 6 nM 내지 약 800 nM, 약 30 nM 내지 약 160 nM의 범위의 농도에서 치료적 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염으로 처리에 의해 뉴런, 성

상 세포, 슈반 세포, 또는 희돌기교세포와 같은 특정 세포 종류로 분화하는 것을 유발한다. 일부 구체예에서, 치료적 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염은 식염수 중의 다임분이다. 어떤 구체예에서, MSC는 대뇌피질 뉴런, 해마 뉴런, 또는 척수 운동 뉴런으로 분화한다. 어떤 구체예에서, MSC는 약 0.01 nM, 0.05 nM, 0.25 nM, 1.25 nM, 6.25 nM, 31.25 nM, 156.25 nM, 781 nM, 3.905 μM, 19.530 μM, 97.660 μM, 또는 488.280 μM의 농도에서 치료적 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염으로 처리에 의해 뉴런, 성상 세포, 슈반 세포 또는 희돌기세포와 같은 특정 세포 종류로 분화하는 것을 유발한다. 일부 구체예에서, 치료적 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염은 식염수 중의 다임분이다. 특정 구체예에서, MSC는 대뇌피질 뉴런, 해마 뉴런, 또는 척수 운동 뉴런으로 분화된다. 일부 구체예에서, MSC는 다임분과 같은 치료 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 및 성장 인자 또는 항-세포사멸 화합물과 같은 제 2 화합물로 처리된다. MSC가 이러한 화합물의 조합으로 처리된다면, 화합물은 동시에 또는 어떤 순서로 순차적으로 투여될 수 있다.

[0098] 특정 구체예에서, MSC는 뉴런, 성상 세포, 슈반 세포, 및 희돌기교세포로부터 선택되는 적어도 2가지의 세포 종류로 분화하는 잠재력을 가지고 자기-혁신을 나타내는 신경-계통-특이적 줄기 세포(즉, 뉴런 줄기 세포)이다. 어떤 구체예에서, MSC는 다른 계통의 다능성 줄기 세포이다. 어떤 구체예에서, 뉴런 줄기 세포는 해마 뉴런, 대뇌피질 뉴런, 또는 척수 운동 뉴런으로 분화한다. 특정 구체예에서, 비-뉴런 줄기 세포는 피부 세포, 심근세포, 골격근 세포, 간 세포, 신장 세포, 또는 연골 세포로 분화한다. MSC는 식염수 중의 다임분과 같은 치료적 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염으로 처리에 의해 분리, 배양 및 분화된 후, 원하는 종류의 세포는 그 후 배양물로부터 선택하고 정제된다. 원하는 세포 종류의 분화된 세포는, 예를 들어, 특정 세포-종류-비표면 마커(즉, 뉴런-특이적 마커 NeuN 등)에 양성인 세포를 확인하고, 배양 세포의 혼합된 모집단으로부터 원하는 마커에 대해 양성 또는 음성인 세포를 분류함으로써 시험관 내 세포 배양물로부터 정제될 수 있다. 이러한 분류는, 예를 들어, 유세포 분석기 또는 당업자에게 공지된 다른 확립된 방법에 의해 수행될 수 있다.

[0099] 한 양태에서, 본 발명은 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염의 유효한 양과 함께 개체로부터 분리한 배양된 다능성 줄기 세포를 인큐베이팅하여 다능성 줄기 세포가 분화하도록 유발하는 단계를 포함하는 다능성 줄기 세포를 분화하는 방법을 제공한다. 한 구체예에서, 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염은 다임분이다. 한 구체예에서, 다능성 줄기 세포는 뉴런 줄기 세포 또는 비-뉴런 줄기 세포이다. 한 구체예에서, 뉴런 줄기 세포는 해마 뉴런, 대뇌피질 뉴런, 또는 척수 운동 뉴런으로 분화한다. 한 구체예에서, 비-뉴런 줄기 세포는 피부 세포, 심근 세포, 골격근 세포, 간 세포, 신장 세포, 또는 연골 세포로 분화한다. 한 구체예에서, 본 방법은 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물과 함께 다능성 줄기 세포를 인큐베이팅하는 단계를 더 포함한다. 한 구체예에서, 본 방법은 배양물로부터 분화된 세포 종류를 선택하는 단계를 포함한다. 한 구체예에서, 선택된 분화 세포 종류는 해마 뉴런, 대뇌피질 뉴런, 또는 척수 운동 뉴런이다. 한 구체예에서, 선택된 분화 세포 종류는 피부 세포, 심근 세포, 골격근 세포, 간 세포, 신장 세포, 또는 연골 세포이다.

[0100] *하나 이상의 세포를 수반하는 치료 방법*

[0101] 본 발명의 방법에 의해 생성된 분화된 세포(즉, 뉴런 또는 비-뉴런 세포)는 본원에 기술되는 바와 같은 다양한 뉴런 및 비-뉴런 징후의 치료를 개선하는데 유용하다. 따라서, 어떤 양태에서, 본 발명은 본 발명의 방법에 의해 생성되는 분화 세포(즉, 뉴런)의 유효한 양을 투여하는 것에 의해 다양한 뉴런 또는 비-뉴런 징후 중 어떤 하나로 고통받는 개체의 치료를 개선시키는 방법을 특징으로 한다. 분화 세포의 유효한 양은 관류, 주사 및 외과적 이식을 포함하여 당업자에게 공지된 어떤 통상적인 투여 방법에 의해 개체에 투여될 수 있다. 투여는 전신성, 예를 들어, 정맥 투여, 또는 국소, 예를 들어, 예를 들어, 특정 자리에 직접 주사 또는 외과적 이식에 의할 수 있다. 투여의 대표적인 자리는, 예를 들어, 벗겨진 상처 자리 또는 척수 상해 자리, 특히 신경퇴화와 관련된 병변 또는 다른 결함을 가지는 뇌의 영역, 또는 중증근무력증을 가지는 개체의 안면 근육과 같은 뉴런 징후의 증상과 관련된 근육 군을 포함한다. 일부 구체예에서, 분화 세포는 치료되는 개체와 같은 동일한 종으로부터 나온다. 일부 구체예에서, 분화 세포는 치료되는 개체 또는 치료되는 개체의 혈중으로부터 나온다. 한 구체예에서, 비-뉴런 징후의 치료는, 제한되는 것은 아니지만, 퇴행성 장애 또는 외상의 치료를 포함하며, 치료는 비-뉴런 세포의 투여, 예로써 심장병의 치료를 위한 심근세포, 당뇨병의 치료를 위한 췌장도세포, 식욕감퇴의 치료를 위한 지방세포 또는 AIDS, 암을 포함하는 다수의 질병과 관련된 체력저하, 및 암치료, 혈관 이식 및 장 이식에 사용되는 평활근 세포, 연골 손상 및 연골의 퇴행성 질환 및 퇴행성 관절염을 치료하기 위해 사용되는 연골, 및 박테리아 또는 바이러스 감염으로 손상된 또는 손실된 대체 세포, 또는 화상, 골절 및 열상과 같은

의상성 손상으로 인한 그것의 손실의 치료를 포함한다.

- [0102] 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅한 세포는 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 인간과 같은 개체에서 유리한 질환의 개시 및/또는 발생을 치료 및/또는 예방 및/또는 지연시키는데 유용하다. 일부 구체예에서, 하나 이상의 세포(예를 들어, 뉴런 줄기 세포 및/또는 뉴런 세포 또는 비-뉴런 세포)는 세포(들)을 활성화하기에 충분한 조건하에서 치료 화합물과 함께 인큐베이팅되고, 세포(들)의 분화를 촉진하고, 세포(들)의 증식, 또는 이것의 두 가지 이상의 어떤 조합을 촉진한다. 일부 구체예에서, 세포(들)는 또한 성장 인자(예를 들어, VEGF 단백질 또는 영양 성장 인자) 및/또는 항-세포사멸 화합물과 함께 인큐베이팅된다. 다양한 구체예에서, 세포(들)은 그것들이 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물과 함께 인큐베이팅 전, 동안, 또는 후에 치료 화합물과 함께 인큐베이팅된다. 인큐베이팅된 세포(들)의 유효한 양이 개체에 투여된다. 일부 구체예에서, 치료 화합물, 성장 인자, 항-세포사멸 화합물, 또는 이것의 두 가지 이상의 어떤 조합이 또한 개체에게 투여된다. 치료 화합물, 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물은 세포(들)의 투여와 순차적으로 또는 동시에 투여될 수 있다.
- [0103] 따라서, 한 양태에서, 본 발명은 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 유리한 질환의 개시를 치료, 예방, 지연시키고, 및/또는 발생을 지연시키는 방법을 제공하며, 본 방법은 세포를 활성화하고, 세포의 분화를 촉진하고, 세포의 증식을 촉진하기에 충분한 조건하에서, 수소화된 피리도[4,3-b] 인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅한 세포, 또는 이것의 두 가지 이상의 조합을 포함하는 제 1 치료제의 유효한 양을 그것을 필요로 하는 개체에게 투여하는 단계를 포함한다. 한 구체예에서, 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염은 다임본이다. 한 구체예에서, 본 방법은 개체에 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물을 포함하는 제 2 치료제를 투여하는 단계를 포함한다. 한 구체예에서, 세포 종류는 다능성 줄기 세포, 뉴런 줄기 세포, 비-뉴런 세포 및 뉴런으로 구성되는 군으로부터 선택된다. 한 구체예에서, 다능성 줄기 세포는 비-뉴런 줄기 세포이다. 한 구체예에서, 세포 종류는 뉴런이며, 본 방법은 뉴런의 하나 이상의 축색돌기의 길이를 증가시킨다. 한 구체예에서, 세포 종류는 뉴런 줄기 세포이며, 본 방법은 뉴런 줄기 세포의 뉴런으로 분화를 촉진한다. 한 구체예에서, 뉴런 줄기 세포는 해마 뉴런, 대뇌피질 뉴런, 또는 척수 운동 뉴런으로 분화한다. 한 구체예에서, 세포 종류는 비-뉴런 줄기 세포이며, 본 방법은 비-뉴런 줄기 세포의 피부 세포, 심근 세포, 골격근 세포, 간 세포, 신장 세포, 또는 연골 세포로의 분화를 촉진한다.
- [0104] 또 다르게는, 이전에 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅하지 않은 세포는 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 유리한 질환의 개시 및/또는 발생을 치료 및/또는 예방 및/또는 지연시키기 위해 개체(예를 들어, 인간)에 투여될 수 있다. 일부 구체예에서, 세포는 개체에 치료 화합물과 조합하여 투여된다. 일부 구체예에서, 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물이 또한 개체에 투여된다. 일부 구체예에서, 성장 인자와 항-세포사멸 화합물은 둘 다 개체에 투여된다. 다양한 구체예에서, 치료 화합물, 성장 인자, 및/또는 항-세포사멸 화합물은 생체 내에서 투여되는 세포의 활성화, 분화, 및/또는 증식을 촉진한다. 일부 구체예에서, 치료 화합물, 성장 인자, 및/또는 항-세포사멸 화합물은 개체에 이식되지 않는 내인성 세포의 활성화, 분화, 및/또는 증식을 촉진한다. 일부 구체예에서, 이식된 세포는 치료되는 개체와 같은 동일한 종으로부터 나온다. 일부 구체예에서, 이식된 세포는 치료되는 개체 또는 치료되는 개체의 혈족으로부터 나온다. 치료 화합물, 성장 인자, 및/또는 항-세포사멸 화합물은 세포(들)의 투여와 순차적으로 또는 동시에 투여된다.
- [0105] 따라서, 한 양태에서, 본 발명은 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 유리한 질환의 개시를 치료, 예방, 지연시키고, 및/또는 발생을 지연시키는 방법을 제공하며, 본 방법은 (i) 세포를 포함하는 제 1 치료제 및 (ii) 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 제 2 치료제의 조합의 유효한 양을 그것을 필요로 하는 개체에게 투여하는 단계를 포함한다. 한 구체예에서, 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염은 다임본이다. 한 구체예에서, 본 방법은 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물을 포함하는 제 2 치료제를 개체에 투여하는 단계를 더 포함한다. 한 구체예에서, 세포 종류는 다능성 줄기 세포, 뉴런 줄기 세포, 비-뉴런 세포 및 뉴런으로 구성되는 군으로부터 선택된다. 한 구체예에서, 세포 종류는 뉴런이며, 본 방법은 뉴런의 하나 이상의 축색돌기의 길이를 증가시킨다. 한 구체예에서, 세포 종류는 뉴런 줄기 세포이며, 본 방법은 뉴런 줄기 세포의 뉴런으로 분화를 촉진한다. 한 구체예에서, 뉴런 줄기 세포는 해마 뉴런, 대뇌피질 뉴런, 또는 척수 운동 뉴런으로 분화한다. 한 구체예에서, 다능성 줄기 세포는 비-뉴런 줄기 세포이다. 한 구체예에서, 비-뉴런 줄기 세포는 피부 세포, 심근 세포, 골격근 세포, 간 세포, 신장 세포, 또는 연골 세포로 분화한다. 한 구체예에서, 제 1 및 제 2 치료제는 순차적으로 투여된다. 한 구체예에서, 제 1 및 제 2 치료제는 동시에 투여된다. 한 구체예에서, 제 1 및 제 2 치료제는 동일한 약학 조성물에

함유된다. 한 구체예에서, 제 1 및 제 2 치료제는 별개의 약학 조성물에 함유된다. 한 구체예에서, 제 1 및 제 2 치료제는 적어도 상가 효과를 가진다. 한 구체예에서, 제 1 및 제 2 치료제는 상승 효과를 가진다.

[0106] 다른 양태에서, 본 발명은 개체의 치료에 도움이 되는 방법을 제공하며, 다능성 줄기 세포를 포함하는 제 1 치료제 및 다능성 줄기 세포가 분화하도록 유발하기 위해 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염의 유효한 양을 포함하는 제 2 치료제를 개체에 투여하는 단계를 포함한다. 한 구체예에서, 수소화된 피리도[4,3-b] 인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염은 다임본이다. 한 구체예에서, 본 방법은 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물을 포함하는 제 2 치료제를 개체에 투여하는 단계를 더 포함한다. 한 구체예에서, 다능성 줄기 세포는 뉴런 줄기 세포 또는 비-뉴런 줄기 세포이다. 한 구체예에서, 뉴런 줄기 세포는 해마 뉴런, 대뇌피질 뉴런, 또는 척수 뉴런으로 분화한다. 한 구체예에서, 비-뉴런 줄기 세포는 피부 세포, 심근 세포, 골격근 세포, 간 세포, 신장 세포, 또는 연골 세포로 분화한다. 한 구체예에서, 제 1 및 제 2 치료제는 순차적으로 투여된다. 한 구체예에서, 제 1 및 제 2 치료제는 동시에 투여된다. 한 구체예에서, 제 1 및 제 2 치료제는 동일한 약학 조성물에 함유된다. 한 구체예에서, 제 1 및 제 2 치료제는 별개의 약학 조성물에 함유된다. 한 구체예에서, 제 1 및 제 2 치료제는 적어도 상가 효과를 가진다. 한 구체예에서, 제 1 및 제 2 치료제는 상승 효과를 가진다.

[0107] 다른 양태에서, 본 발명은 본원에 기술되는 어떤 방법에 의해 생성된 분화된 세포를 개체에 투여하는 단계를 포함하는 뉴런 징후 또는 비-뉴런 징후를 가지는 개체의 치료를 돕는 방법을 제공한다. 한 구체예에서, 분화된 세포는 해마 뉴런, 대뇌피질 뉴런, 또는 척수 운동 뉴런이다. 한 구체예에서, 분화된 세포는 비-뉴런 세포이다. 어떤 구체예에서, 분화 세포는 피부 세포, 심근 세포, 골격근 세포, 간 세포 또는 신장 세포이다. 한 구체예에서, 비-뉴런 세포는 피부 세포이다. 구체예에서, 분화 세포는 정맥 주사에 의해 전신에 투여된다. 한 구체예에서, 분화 세포는 직접 주사 또는 외과적 이식에 의해 국소적으로 투여된다.

[0108] 일부 구체예에서, 치료 화합물의 투여는 경구, 정맥내, 복강내, 피하, 경막내, 근육내, 안구내, 경피, 또는 국소적으로(즉, 점안약 또는 귀물약으로서) 투여된다. 일부 구체예에서, 치료 화합물의 투여는 1일에 1회, 1일에 2회, 1일에 3회, 또는 더 높은 빈도로 투여된다. 일부 구체예에서, 치료 조성물의 투여는 1주일에 1회, 1주일에 2회, 1주일에 3회, 1주일에 4회, 또는 더 높은 빈도로 투여된다. 일부 구체예에서, 치료 화합물의 투여는 1주일마다, 2주일마다, 3주일마다, 4주일마다, 5주일마다, 6주일마다, 또는 훨씬 더 긴 간격으로 제어된 방출 조제물로서 투여된다. 일부 구체예에서, 치료 화합물의 약 1 ng/일, 10 ng/일, 100 ng/일, 250 ng/일, 500 ng/일, 1 µg/일, 5 µg/일, 10 µg/일, 20 µg/일, 25 µg/일, 40 µg/일, 80 µg/일, 120 µg/일, 160 µg/일, 320 µg/일, 또는 120 mg/일의 용량(예를 들어, 경구 투여를 위한 용량)이 투여된다. 일부 구체예에서, 치료 화합물은 약 1 ng/일, 10 ng/일, 100 ng/일, 250 ng/일, 500 ng/일, 1 µg/일, 5 µg/일, 10 µg/일, 20 µg/일, 25 µg/일, 40 µg/일, 80 µg/일, 125 µg/일, 160 µg/일, 320 µg/일, 또는 120 mg/일의 용량으로 뇌에 주사에 의해(예를 들어, 경막 내 또는 뇌실 내 투여) 직접 투여된다. 일부 구체예에서, 뇌에서 서방출 펌프 또는 다른 장치는 본원에 기술되는 어떤 용량을 투여하도록 분출한다. 일부 변형에서, 치료적 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염은 다임본이다.

[0109] 본 발명의 추가적인 방법

[0110] 한 양태에서, 본 발명은 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 유리한 질환의 개시를 치료, 예방, 지연시키고, 및/또는 발생을 지연시키는 방법을 제공하며, 본 방법은 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 제 1 치료제의 유효한 양을 그것을 필요로 하는 개체에게 투여하는 단계를 포함한다. 한 구체예에서, 세포 종류는 줄기 세포, 뉴런 줄기 세포, 비-뉴런 세포 및 뉴런으로 구성되는 군으로부터 선택된다. 한 구체예에서, 세포 종류는 뉴런 줄기 세포 또는 뉴런 세포이며, 제 1 치료제는 세포의 하나 이상의 축색돌기의 길이를 증가시킨다. 한 구체예에서, 세포 종류는 뉴런 줄기 세포이며, 제 1 치료제는 뉴런 줄기 세포의 뉴런 세포로의 분화를 촉진한다. 한 구체예에서, 뉴런 줄기 세포는 해마 뉴런, 대뇌피질 뉴런, 또는 척수 운동 뉴런으로 분화된다.

[0111] 한 양태에서, 본 발명은 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 유리한 질환의 개시를 치료, 예방, 지연시키고, 및/또는 발생을 지연시키는 방법을 제공하며, 본 방법은 (i) 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 이것의 어떤 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 제 1 치료제 및 (ii) 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물을 포함하는 제 2 치료제의 조합의 유효한 양을 그것을 필요로 하는 개체에게 투여하는 단계를 포함한다. 한 구체예에서, 세포 종류는 줄기 세포, 뉴런 줄기 세포, 비-뉴런 세포 및 뉴런으로 구성되는 군으로부터 선택된다. 한 구체예에서, 세포 종류는 뉴런 줄기 세포 또는 뉴런 세포이며, 본 방법은 세포의 하나 이상의 축색돌

기의 길이를 증가시킨다. 한 구체예에서, 세포 종류는 뉴런 줄기 세포이며, 본 방법은 뉴런 줄기 세포의 뉴런 세포로의 분화를 촉진한다. 한 구체예에서, 뉴런 줄기 세포는 해마 뉴런, 대뇌피질 뉴런, 또는 척수 운동 뉴런으로 분화한다.

[0112] 한 양태에서, 본 발명은 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 유리한 질환의 개시를 치료, 예방, 지연하고, 및/또는 발생을 지연시키는 방법을 제공하며, 본 방법은 세포를 활성화하고, 세포의 분화를 촉진하고, 세포의 증식을 촉진하는 조건하에서, 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염, 또는 이것의 두 가지 이상의 조합과 함께 인큐베이팅한 세포를 포함하는 제 1 치료제의 유효한 양을 그것을 필요로 하는 개체에게 투여하는 단계를 포함한다. 한 구체예에서, 본 방법은 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 제 2 치료제를 개체에 투여하는 단계를 포함한다. 한 구체예에서, 본 방법은 더 나아가 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물을 포함하는 제 2 치료제를 개체에 투여하는 단계를 포함한다. 한 구체예에서, 본 방법은 더 나아가 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 제 2 치료제를 투여하는 단계 및 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물을 포함하는 제 3 치료제를 개체에 투여하는 단계를 포함한다. 한 구체예에서, 세포 종류는 줄기 세포, 뉴런 줄기 세포, 비-뉴런 세포 및 뉴런으로 구성되는 군으로부터 선택된다. 한 구체예에서, 세포 종류는 뉴런 줄기 세포 또는 뉴런 세포이고, 본 방법은 세포의 하나 이상의 축색돌기의 길이를 증가시킨다. 한 구체예에서, 세포 종류는 뉴런 줄기 세포이고, 본 방법은 뉴런 줄기 세포의 뉴런 세포로 분화를 촉진한다. 한 구체예에서, 뉴런 줄기 세포는 해마 뉴런, 대뇌피질 뉴런, 또는 척수 운동 뉴런으로 분화한다.

[0113] 한 양태에서, 본 발명은 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 유리한 질환의 개시를 치료, 예방, 지연시키고, 및/또는 발생을 지연시키는 방법을 제공하며, 본 방법은 (i) 세포를 포함하는 제 1 치료제 및 (ii) 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 제 2 치료제의 조합의 유효한 양을 그것을 필요로 하는 개체에게 투여하는 것을 포함한다. 한 구체예에서, 본 방법은 더 나아가 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물을 포함하는 제 3 치료제를 개체에게 투여하는 것을 포함한다. 한 구체예에서, 세포 종류는 줄기 세포, 뉴런 줄기 세포, 비-뉴런 세포 및 뉴런으로 구성되는 군으로부터 선택된다. 한 구체예에서, 세포 종류는 뉴런 줄기 세포 또는 뉴런 세포이며, 본 방법은 세포의 하나 이상의 축색돌기의 길이를 증가시킨다. 한 구체예에서, 세포 종류는 뉴런 줄기 세포이며, 본 방법은 뉴런 줄기 세포의 뉴런 세포로 분화를 촉진한다. 한 구체예에서, 뉴런 줄기 세포는 해마 뉴런, 대뇌피질 뉴런, 또는 척수 운동 뉴런으로 분화한다. 한 구체예에서, 세포는 개체에 투여 전에 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅되지 않았다.

[0114] 어떤 상기 구체예에서, 제 1 및 제 2 치료제는 순차적으로 투여된다. 어떤 상기 구체예에서, 제 1 및 제 2 치료제는 동시에 투여된다. 어떤 상기 구체예에서, 제 1 및 제 2 치료제는 동일한 약학 조성물에 함유된다. 어떤 상기 구체예에서, 제 1 및 제 2 치료제는 별개의 약학 조성물에 함유된다. 어떤 상기 구체예에서, 제 1 및 제 2 치료제는 적어도 상가 효과를 가진다. 어떤 상기 구체예에서, 제 1 및 제 2 치료제는 상승 효과를 가진다.

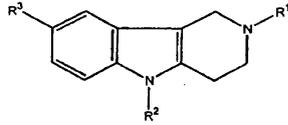
[0115] 한 양태에서, 본 발명은 세포를 활성화하기에 충분한 조건하에서 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 세포를 인큐베이팅하는 단계를 포함한다. 한 구체예에서, 본 방법은 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물과 함께 세포를 인큐베이팅하는 단계를 포함한다. 한 구체예에서, 세포는 줄기 세포, 뉴런 줄기 세포, 비-뉴런 세포 및 뉴런으로 구성되는 군으로부터 선택된다. 한 구체예에서, 세포는 뉴런 줄기 세포 또는 뉴런 세포이며, 인큐베이팅은 세포의 하나 이상의 축색돌기의 길이를 증가시킨다. 한 구체예에서, 인큐베이팅은 생체 밖에서 일어난다. 한 구체예에서, 인큐베이팅은 생체 내에서 일어난다.

[0116] 한 양태에서, 본 방법은 세포의 분화 및/또는 증식을 촉진하기에 충분한 조건하에서, 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 세포를 인큐베이팅하는 단계를 포함하는 세포의 분화 및/또는 증식을 촉진하는 방법을 제공한다. 한 구체예에서, 본 방법은 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물과 함께 세포를 인큐베이팅하는 단계를 포함한다. 한 구체예에서, 세포는 줄기 세포, 뉴런 줄기 세포, 비-뉴런 세포 및 뉴런으로 구성되는 군으로부터 선택된다. 한 구체예에서, 세포는 뉴런 세포로 분화하는 뉴런 줄기 세포이다. 한 구체예에서, 세포는 해마 뉴런, 대뇌피질 뉴런, 또는 척수 운동 뉴런으로 분화하는 뉴런 줄기 세포이다. 한 구체예에서, 인큐베이팅은 생체 밖에서 발생한다. 한 구체예에서, 인큐베이팅은 생체 내에서 발생한다. 한 양태에서, 본 발명은 본원에서 제공되는 어떤 방법에 의해 만들어진 정제된 세포를 제공한다.

[0117] 어떤 상기 구체예에서, 수소화된 피리도[4,3-b]인돌은 테트라히드로 피리도[4,3-b]인돌이다. 어떤 상기 구체예에서, 수소화된 피리도[4,3-b]인돌은 헥사히드로 피리도[4,3-b]인돌이다. 어떤 상기 구체예에서, 수소화된 피리

도[4,3-b]인들은 하기 화학식을 갖는다:

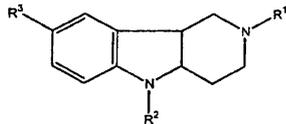
**화학식 A**



[0118]

또는

**화학식 B**



[0119]

[0120]

상기식에서, R<sup>1</sup>은 저급 알킬 또는 아랄킬로부터 선택되고; R<sup>2</sup>는 수소, 알킬 또는 치환된 헤테로아랄킬로부터 선택되고; R<sup>3</sup>은 수소, 저급 알킬 또는 할로로부터 선택된다. 어떤 상기 구체예에서, 아랄킬은 PhCH<sub>2</sub>-이고 치환된 헤테로아랄킬은 6-CH<sub>3</sub>-3-Py-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-이다. 어떤 상기 구체예에서, R<sup>1</sup>은 CH<sub>3</sub>-, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>-, 또는 PhCH<sub>2</sub>-로부터 선택되고; R<sup>2</sup>는 H-, PhCH<sub>2</sub>-, 또는 6-CH<sub>3</sub>-3-Py-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-으로부터 선택되고; R<sup>3</sup>은 H-, CH<sub>3</sub>- 또는 Br-로부터 선택된다. 어떤 상기 구체예에서, 수소화된 피리도[4,3-b]인들은 시스(±) 2,8-디메틸-2,3,4,4a,5,9b-헥사히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌; 2-에틸-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌; 2-벤질-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌; 2,8-디메틸-5-벤질-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌; 2-메틸-5-(2-메틸-3-피리딜)에틸-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌; 2,8-디메틸-5-(2-(6-메틸-3-피리딜)에틸)-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌; 2-메틸-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌; 2,8-디메틸-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌; 2-메틸-8-브로모-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌로 구성되는 군으로부터 선택된다. 어떤 상기 구체예에서, 수소화된 피리도[4,3-b]인돌은 2,8-디메틸-5-(2-(6-메틸-3-피리딜)에틸)-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌이다. 어떤 상기 구체예에서, 약학적으로 허용가능한 염은 약학적으로 허용가능한 산의 염이다. 어떤 상기 구체예에서, 약학적으로 허용가능한 염은 염산염이다. 어떤 상기 구체예에서, 수소화된 피리도[4,3-b]인돌은 2,8-디메틸-5-(2-(6-메틸-3-피리딜)에틸)-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌 2염산염이다.

[0121]

어떤 상기 구체예에서, R<sup>1</sup>은 CH<sub>3</sub>-이고, R<sup>2</sup>는 H이고 R<sup>3</sup>은 CH<sub>3</sub>-이다. 어떤 상기 구체예에서, R<sup>1</sup>은 CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>- 또는 PhCH<sub>2</sub>-이고, R<sup>2</sup>는 H-이고, R<sup>3</sup>은 CH<sub>3</sub>-이다. 어떤 상기 구체예에서, R<sup>1</sup>은 CH<sub>3</sub>-이고, R<sup>2</sup>는 PhCH<sub>2</sub>-이고, R<sup>3</sup>은 CH<sub>3</sub>-이다. 어떤 상기 구체예에서, R<sup>1</sup>은 CH<sub>3</sub>-이고, R<sup>2</sup>는 6-CH<sub>3</sub>-3-Py-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-이고, R<sup>3</sup>은 H-이다. 어떤 상기 구체예에서, R<sup>2</sup>는 6-CH<sub>3</sub>-3-Py-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-이다. 어떤 상기 구체예에서, R<sup>1</sup>은 CH<sub>3</sub>-이고, R<sup>2</sup>는 H-이고, R<sup>3</sup>은 H- 또는 CH<sub>3</sub>-이다. 어떤 상기 구체예에서, R<sup>1</sup>은 CH<sub>3</sub>-이고, R<sup>2</sup>는 H-이고, R<sup>3</sup>은 Br-이다. 어떤 상기 구체예에서, 성장 인자는 VEGF, IGF-1, FGF, NGF, BDNF, GCS-F, GMCS-F, 또는 이것의 두 가지 이상의 어떤 조합을 포함한다.

[0122]

어떤 상기 양태 또는 구체예에서, 질병 또는 징후는 뉴런 또는 비-뉴런 징후, 예로서, 알츠하이머병, 노인성 인지 손상, 노인성 모발 손실, 노인성 체중 감소, 노인성 시각장애, 헌팅턴 병, 정신분열증, 인지기능장애 증후군 (CCDS), 근위축성측삭경화증(ALS), 파킨슨병, 루이타디병, 멘케스 병, 윌슨 병, 크로이즈펠트-야콥병, 파르병, 뇌졸중, 또는 뇌출혈 손상과 같은 뇌순환을 수반하는 급성 또는 만성 장애, 노인성 기억력 장애(AAMI) 또는 경도인지장애(MCI), 상해-관련 경도인지장애(MCI), 전장 상해, 뇌진탕 후 증후군 및 보조화확요법으로부터 초래되는 상해-관련 경도인지장애(MCI), 뉴런 사멸 매개 안구질환, 황반변성, 노인성 황반변성, 자폐 스펙트럼 장애, 아스페르거 증후군 및 레트 증후군을 포함하는 자폐증, 견열 손상, 척수 손상, 중증 근무력증, 길랑-바레 증후군, 다발성경화증, 당뇨병 신경병증, 섬유근육통, 척수 손상 관련 신경병증, 심장병, 당뇨병, 식욕 감퇴, AIDS-

또는 화학요법-관련 체력저하, 혈관 손상, 장 손상, 연골 손상, 퇴행성 관절염, 박테리아 감염, 바이러스 감염, 제 1-, 제 2- 또는 제 3-도 화상, 뼈의 단순, 복합, 스트레스, 또는 압박골절, 또는 열상이다.

[0123] 어떤 상기 양태 또는 구체예에서, 질병 또는 질환은 알츠하이머병, 노인성 인지 손상, 노인성 모발 손실, 노인성 체중 감소, 노인성 시각장애, 헌팅턴 병, 정신분열증, 인지기능장애 증후군(CCDS), 근위축성 측삭경화증(ALS), 파킨슨병, 루이바디병, 멘케스 병, 윌슨 병, 크로이츠펠트-야콥병, 파르병, 뇌졸중, 또는 뇌출혈 손상과 같은 뇌순환을 수반하는 급성 또는 만성 장애, 노인성 기억력 장애(AAMI) 또는 경도인지장애(MCI), 상해-관련 경도인지장애(MCI), 전장 상해, 뇌진탕 후 증후군 및 보조화학요법으로부터 초래되는 상해-관련 경도인지장애(MCI), 뉴런 사멸 매개 안구질환, 황반변성, 노인성 황반변성, 자폐 스펙트럼 장애, 아스페르거 증후군 및 레트 증후군을 포함하는 자폐증, 견열 손상, 척수 손상, 중증 근무력증, 길랑-바레 증후군, 다발성경화증, 당뇨병 신경병증, 섬유근육통, 척수 손상 관련 신경병증과 같은 뉴런 징후이다.

[0124] 어떤 상기 양태 또는 구체예에서, 질병 또는 질환은 알츠하이머병, 노인성 인지 손상, 노인성 모발 손실, 노인성 체중 감소, 노인성 시각장애, 헌팅턴 병, 정신분열증, 인지기능장애 증후군(CCDS), 근위축성 측삭경화증(ALS), 파킨슨병, 루이바디병, 멘케스 병, 윌슨 병, 크로이츠펠트-야콥병, 파르병, 뇌졸중, 또는 뇌출혈 손상과 같은 뇌순환을 수반하는 급성 또는 만성 장애, 노인성 기억력 장애(AAMI) 또는 경도인지장애(MCI)와 같은 뉴런 징후이다. 어떤 상기 양태 또는 구체예에서, 질병 또는 질환은 알츠하이머병이 아니다. 어떤 상기 양태 또는 구체예에서, 질병 또는 질환은 근위축성 측삭경화증(ALS)이 아니다. 어떤 상기 양태 또는 구체예에서, 질병 또는 질환은 헌팅턴병이 아니다. 어떤 상기 양태 또는 구체예에서, 질병 또는 질환은 정신분열증이 아니다. 어떤 상기 양태 또는 구체예에서, 질병 또는 질환은 MCI가 아니다. 한 변형에서, 개체는 알츠하이머병, 헌팅턴병, 근위축성 측삭경화증, 또는 정신분열증으로 진단되지 않은 및/또는 발생할 위험에 있는 것으로 생각되지 않는 인간이다. 한 변형에서, 개체는 노화와 관련된 인지 손상을 가지지 않고 또는 노화 과정과 관련된 생명을 위협하지 않는 질환(예로써, 시력 상실(백내장), 피부털 외피의 약화(탈모증), 또는 근육 및 지방세포의 사멸에 기인하는 노인성 체중 감소) 또는 그것의 조합을 가지지 않는 인간이다. 어떤 상기 양태 또는 구체예에서, 질병 또는 질환은 상해-관련 경도인지장애(MCI), 전장 상해, 뇌진탕 후 증후군으로 및 보조화학요법부터 초래되는 상해-관련 경도인지장애(MCI), 뉴런 사멸 매개 안구질환, 황반변성, 노인성 황반변성, 자폐 스펙트럼 장애, 아스페르거 증후군 및 레트 증후군을 포함하는 자폐증, 견열 손상, 척수 손상, 중증 근무력증, 길랑-바레 증후군, 다발성경화증, 당뇨병 신경병증, 섬유근육통, 척수 손상 관련 신경병증과 같은 뉴런 징후이다. 어떤 상기 양태 또는 구체예에서, 질병 또는 질환은 심장병, 당뇨병, 식욕 감퇴, AIDS- 또는 화학요법-관련 체력저하, 혈관 손상, 장 손상, 연골 손상, 퇴행성 관절염, 박테리아 감염, 바이러스 감염, 제 1-, 제 2- 또는 제 3-도 화상, 뼈의 단순, 복합, 스트레스, 또는 압박골절, 또는 열상과 같은 비-뉴런 징후이다.

[0125] 대표적인 질환

[0126] 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 유리한 어떤 질병 또는 질환은 본 발명의 방법을 사용하여 예방, 치료, 억제 및/또는 지연될 수 있다. 또한 본 발명에는 본원에서 기술되는 질병 또는 질환과 관련된 세포사멸(예를 들어, 뉴런 세포사멸 또는 비-뉴런 세포사멸)을 억제하는 방법이 포함된다. 다른 구체예에서, 본 발명은 질병 또는 질환과 관련된 돌연변이 또는 비정상 유전자를 가지는 개체(예를 들어, 치료되어야 하는 질병 또는 질환이 알츠하이머병이라면, 알츠하이머병과 관련된 APP 돌연변이, 프리세닐린 돌연변이 및/또는 ApoE4 대립유전자를 가지는 개체)에서 질병 또는 질환의 개시 및/또는 발생을 예방 또는 늦추는 방법을 제공한다. 다른 구체예에서, 본 발명은 질병 또는 질환으로 진단된 개체에서 질병 또는 질환의 진행을 늦추는 방법을 제공한다. 다른 구체예에서, 본 발명은 질병 또는 질환을 발생시킬 위험에 있는 개체에서 질병 또는 질환의 개시 및/또는 발생을 예방하고 또는 늦추는 방법을 제공한다(예를 들어, 치료되어야 하는 질병 또는 질환이 알츠하이머병이라면, 알츠하이머병과 관련된 APP 돌연변이, 프리세닐린 돌연변이 및/또는 ApoE4 대립유전자를 가지는 개체).

[0127] 질병 또는 질환의 개시 및/또는 발생을 치료, 예방, 지연시키는 것으로 본원에 기술되며 또는 다르게는 질병 또는 질환과 관련된 개체에 본 발명의 화합물의 투여에 관한 어떤 방법은 단일 치료제(예로써, 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염을 투여)로서 또는 조합 치료제(예로써, 치료 화합물 및 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물 및/또는 본원에 기술되는 바와 같이 인큐베이팅한 세포를 투여)로서 본 발명의 화합물을 개체에 투여하는 단계를 수반할 수 있다. 다양한 구체예에서, 본 발명은 하기 중 어떤 것의 유효한 양을 개체에 투여하는 단계를 포함한다: (1) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염, (2) (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염 및 (ii) 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물의 조합, (3) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅한 세포 (4) (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로

허용가능한 염 및 (ii) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅한 세포의 조합, (5) (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염, (ii) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅한 세포, 및 (iii) 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물의 조합, (6) (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염 및 (ii) 세포 (예로써, 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅하지 않은 세포)의 조합, 또는 (7) (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염, (ii) 세포 (예로써, 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅하지 않은 세포), 및 (iii) 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물의 조합.

[0128] 본 발명의 방법을 사용하여 예방, 치료, 억제 및/또는 지연될 수 있는 대표적인 질환은 알츠하이머병; 헌팅턴병; 광수용체 세포의 사멸을 수반하고 또는 레티날 세포사멸을 수반하거나 또는 아포토시스에 의한 뉴런 사멸을 수반하는 뉴런 사멸 매개 안구질환을 포함하는 뉴런 사멸 매개 안구질환(황반변성 (건성 황반변성 또는 스타르가르트 황반변성 (STGD)), 녹내장, 색소성망막염, 선천성 정지형 야맹증 (오구치병), 유년기 개시형 중증 망막형성장애, 레버 선천성 흑암시, 바드-비들 증후군, 어서 증후군, 시신경병증으로부터의 시력상실, 레버 유전성 시신경병증, 색맹 및 환센-라르센-베르그 증후군); 근위축성 측삭경화증 (ALS); 파킨슨병; 루이바디병; 멘 케스 병; 윌슨 병; 크로이즈펠트-야콥병; 파르병; 정신분열증; 인지기능장애 증후군; 뇌졸중, 또는 뇌출혈 손상과 같은 뇌순환을 수반하는 급성 또는 만성 장애(본 발명의 방법이 사용될 수 있는 징후의 예는, 제한되는 것은 아니지만, 머리에 대한 외상을 포함하는 외상 시 일어날 수 있는 것과 같은, 뇌졸중, 뇌 혈류(허혈)의 감소, 및 손상된 뇌 순환 또는 뇌 출혈 손상을 수반하는 다른 사건을 포함한다)가 포함되며, 뇌 순환 및/또는 허혈성 또는 출혈성 손상의 급성 또는 만성 장애와 관련된 신경학적 결손(예를 들어, 불완전마비 또는 마비)에 기인하는 장애의 중증도를 그것을 필요로 하는 개체에서 경감하는 방법이 포함된다. 또한 뇌 순환 및/또는 허혈성 또는 출혈성 손상의 급성 장애에 기인하는 신경 세포사멸을 겪고 있는 개체의 인지 작용을 향상시키는 방법이 포함된다. 한 변형에서, 본 방법은 뇌 순환 및/또는 허혈성 또는 출혈성 손상의 급성 장애; 노인성 기억력 장애 (AAMI), 경도인지장애(MCI), 상해-관련 경도인지장애(MCI), 전장 상해, 뇌진탕 후 증후군 및 보조화학요법으로부터 초래되는 상해-관련 경도인지장애(MCI)를 경험하거나 가지는 개체에서 동맥의 개방성(조직 활성체)을 악화시키는 것을 회복 또는 예방하고 및/또는 트롬빈 형성(섬유소 용해제, 항응고제, 항응집제)의 발생 또는 악화를 예방하고 및/또는 생존 뉴런의 사멸의 개시 및/또는 진행을 예방하고; 예를 들어, 제한되는 것은 아니지만, 피부 및/또는 외피의 악화(예로써, 대머리 또는 탈모증), 시각 장애(예로써, 백내장의 발병), 및 체중 감소(근육 및/또는 지방 세포의 사멸에 기인하는 체중 감소)를 포함하는 노인성 또는 노화-관련 징후 및/또는 병리 또는 질환의 개시를 지연시키고 및/또는 진행을 늦춤으로써 개체에서 노화를 늦추는 것을 포함한다. 대표적인 질병 또는 질환은 또한 자폐 스펙트럼 장애, 아스페르거 증후군 및 레트 증후군을 포함하는 자폐증, 견열 손상, 척수 손상, 중증 근무력증, 길랑-바레 증후군, 다발성경화증, 당뇨병성 신경병증, 섬유근육통, 대상포진 감염과 관련된 신경병증, 척수 손상과 관련된 신경병증으로부터 초래되는 신경 손상을 포함한다. 대표적인 질병 또는 질환은 또한 심장병, 당뇨병, 식욕 감퇴, AIDS- 또는 화학요법-관련 체력저하, 혈관 손상, 장 손상, 연골 손상, 퇴행성 관절염, 박테리아 감염, 바이러스 감염, 제 1-, 제 2- 또는 제 3-도 화상, 뼈의 단순, 복합, 스트레스, 또는 압박골절, 또는 열상과 같은 수많은 비-뉴런 징후를 포함한다. 대표적인 질환은 추가로, 특히 질병 및 질환에 대해 전체가 본원에 참고로써 포함되는, 미국 특허 번호 7,071,206 ("Agents for Treating Neurodegenerative Disorders" 미국 출원 번호 11/004,001, 2004년 12월 2일에 출원됨); 미국 출원 번호 11/644,698 ("Methods and Compositions for Slowing Aging", 2006년 12월 22일 출원됨); 미국 특허 출원 번호 11/543,529 및 11/543,341("Methods and Compositions for Treating Huntington's Disease", 2006년 10월 4일 출원됨); 미국 특허 출원 번호 11/698,318 ("Methods and Compositions for Treating Schizophrenia", 2007년 1월 25일 출원됨); PCT 출원 번호 PCT/US07/20483 (2007년 9월 20일 출원됨) ("Hydrogenated pyrido [4,3-b] indoles such as Dimebon for Treating Canine Cognitive Dysfunction Syndrome"); 미국 가특허 출원 번호 60/846,184 (2006년 9월 20일 출원됨), PCT 출원 번호 PCT/US07/20516 (2007년 9월 20일 출원됨)("Methods and Compositions for Treating Amyotrophic Lateral Sclerosis"); 및 PCT 출원 번호 PCT/US07/22645 (2008년 10월 26일 출원됨) ("Methods and Combination Therapies for Treating Alzheimer's Disease")에서 기술되는 어떤 질병 또는 질환을 포함한다.

[0129] 뉴런 징후에서 사용을 위한 방법

[0130] 일부 구체예에서, 본 발명의 방법은 신경 질환의 개시를 치료, 예방, 지연시키고, 및/또는 발생을 지연시키기 위해 사용된다. 신경퇴행성 장애와 같은 신경 질환의 치료에 대해, 뉴런 사멸을 억제하고, 뉴런 표현형을 유지하고, 뉴런 손상을 보수하고, 뉴런의 증식을 촉진하고, 뉴런의 분화를 촉진하고, 뉴런의 활성화(예로써, 신경돌기 성장)를 촉진하는 조성물 또는 이것의 두 가지 이상의 어떤 조합이 바람직하다. 신경영양 인자 및 대응하는

수용체의 손상-유발 발현은 신경 재생 능력에서 중요한 역할을 할 수 있다. GDNF (Hiwasa *et al*, *Neurosci. Letts.* 238:115-118, 1997; Nakajima *et al*, *Brain Res.* 916:76-84, 2001), BDNF, 및 NGF (Wozniak, 1993)와 같은 뉴로트로핀은 시험관 내 도파민성 뉴런의 생존 및 작용을 유지하고 신경돌기의 수 및 길이로서 측정된 신경돌기 성장을 증가시키는 것으로 나타났다(Hiwasa *et al.*, *Neurosci. Letts.* 238:115-118, 1997; Nakajima *et al*, *Brain Res.* 916:76-84, 2001; Wozniak, *Folia Morphol (Warsz).* 1993;52(4):173-81). 신경돌기 성장은 뉴런이 연결성을 획득함으로써 진행하며, 뉴런 성장 인자, 신경 전달 물질, 및 전기적 활성화에 의해 자극된다. 이 과정은 D2 도파민과 대뇌피질 뉴런, 세로토닌-1B 수용체와 시상 뉴런, 다양한 뉴런에서 Neuro2A 세포의 CB1 칸나비노이드 수용체, 섬모 신경영양 인자(CNTF), 뉴로트로핀-3, 및 FGF (산성/염기성)와 같은 G-단백질 연결 수용체의 리간드-의존 활성을 수반한다.

[0131] 추가적으로, 몇몇의 발견점들은 신경 발생이 뇌의 자연적 복구 경로라는 것을 나타낸다(Crespel *et al.*, *Rev. Neurol.* (Paris). 2004, 160(12):1150-8). 해마 신경 발생은 직접적으로 인지 능력에 기여하는 것으로 보이는데, 이는 신경 발생을 억제하는 것이 기억 손상을 야기한다는 것을 발견함으로써 지지된다(Shors *et al*, *Nature*, 2001, 410(6826):372-6. Erratum in: *Nature* 2001 414(6866):938). 추가적으로, 인지 훈련은 이 영역에서 새로운 뉴런의 형성을 증가시킨다(Gomez-Pinilla *et al*, *Brain Res.* 2001 Jun 15;904(1):13-9). 이 현상은 또한 신체 운동(Van Praag *et al.*, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 1999, 96(23): 13427-31), 성장 인자 또는 리튬, 벨프로에이트 또는 항울제(Bauer *et al.*, 2003)와 같은 다른 화합물의 적용에 의해 유발될 수 있다.

[0132] 뉴런 생존을 연장하고 및/또는 뉴런 기능을 향상시키고 및/또는 세포사멸을 억제하는 방법과 같은 다양한 방법이 본원에 개시되는데, 이는 뉴런 사멸의 양 및/또는 정도를 감소시키고 또는 신경 사멸의 개시를 지연시키는 것을 포함할 수 있다. 본 방법은 또한, 제한되는 것은 아니지만, 본원에서 더욱 상세하게 기술되는 징후 및 질환을 포함하는 신경퇴행성 질병 또는 다른 징후 또는 질환과 같은 뉴런 세포 사멸과 관련된 징후의 개시 및/또는 발생을 치료 및/또는 예방 및/또는 지연시키는 방법에서 사용될 수 있다. 특정 징후에 대해 기술된 모든 방법을 포함하는 본원에서 기술되는 어떤 방법에 대해, 한 변형에서, 본 방법은 하기 중 어떤 것의 유효한 양을 개체에 투여하는 단계를 포함한다: (1) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염, (2) (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염 및 (ii) 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물의 조합, (3) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅한 세포 (4) (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염 및 (ii) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅한 세포의 조합, (5) (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염, (ii) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅한 세포, 및 (iii) 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물의 조합, (6) (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염 및 (ii) 세포(예로써, 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅하지 않은 세포)의 조합, 또는 (7) (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염, (ii) 세포 (예로써, 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅하지 않은 세포), 및 (iii) 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물의 조합.

[0133] 한 양태에서, 본 발명은 질환의 개시를 치료, 예방, 지연시키고, 발생을 지연시키는 방법을 제공하며, 본 방법은 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 제 1 치료제의 유효한 양을 그것을 필요로 하는 개체에 투여하는 것을 포함하며, 개체는 상해-관련 경도인지장애(MCI), 뉴런 사멸 매개 안구질환, 황반변성, 자폐증, 자폐 스펙트럼 장애, 아스페르거 증후군, 레트 증후군, 견열 손상, 척수 손상, 중증 근무력증, 길랑-바레 증후군, 다발성경화증, 신경병증, 및 비-뉴런 징후를 가진다. 어떤 구체예에서, 개체는 전장 상해, 뇌진탕 후 증후군, 또는 보조화학요법으로부터 초래되는 상해-관련 경도인지장애(MCI)를 가진다. 한 구체예에서, 개체는 질환의 개시를 치료, 예방, 지연시키고, 및/또는 발생을 지연시키는 것에 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 유리한 장애를 가진다. 한 구체예에서, 본 발명은 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 유리한 질환을 치료하는 방법을 제공한다. 한 구체예에서, 본 발명은 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 유리한 질환을 예방하는 방법을 제공한다. 한 구체예에서, 본 발명은 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 유리한 질환의 개시를 지연시키는 방법을 제공한다. 한 구체예에서, 본 발명은 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 유리한 질환의 발생을 지연시키는 방법을 제공한다. 특정 구체예에서, 수소화된 피리도[4,3-b]인돌은 다임본이다. 어떤 구체예에서, 신경병증은 당뇨병성 신경병증, 섬유근육통, 척수 손상 관련 신경병증이다. 한 구체예에서, 신경병증은 당뇨병성 신경병증이다. 한 구체예에서, 신경병증은 섬유근육통이다. 한 구체예에서, 신경병증은 척수 손상 관련 신경병증이다. 어떤 구체예에서, 비-뉴런 징후는 심장병, 당뇨병, 식욕 감퇴, AIDS- 또는 화학요법-관련 체력저하, 혈관 손상, 장 손상, 연골 손상, 퇴행성 관절염, 박테리아 감염, 바이러스 감염, 제 1-, 제 2- 또는 제 3-도 화상,

뼈의 단순, 복합, 스트레스, 또는 압박골절, 또는 열상이다.

[0134] 한 양태에서, 본 발명은 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 유리한 질환의 개시를 치료, 예방, 지연시키고, 및/또는 발생을 지연시키는 방법을 제공하며, 본 방법은 (i) 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 이것의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 제 1 치료제 및 (ii) 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물을 포함하는 제 2 치료제의 조합의 유효한 양을 그것을 필요로 하는 개체에게 투여하는 단계를 포함한다. 한 구체예에서, 수소화된 피리도[4,3-b]인돌은 다임본이다. 한 구체예에서, 세포 종류는 다능성 줄기 세포, 뉴런 줄기 세포, 비-뉴런 세포 및 뉴런으로 구성되는 군으로부터 선택된다. 한 구체예에서, 세포 종류는 뉴런이고, 본 방법은 뉴런의 하나 이상의 축색돌기의 길이를 증가시킨다. 한 구체예에서, 세포 종류는 뉴런 줄기 세포이며, 본 방법은 뉴런 줄기 세포의 뉴런으로 분화를 촉진한다. 한 구체예에서, 뉴런 줄기 세포는 해마 뉴런, 대뇌피질 뉴런, 또는 척수 운동 뉴런으로 분화한다. 한 구체예에서, 다능성 줄기 세포는 비-뉴런 줄기 세포이고, 본 방법은 비-뉴런 줄기 세포의 분화를 촉진한다. 어떤 구체예에서, 비-뉴런 줄기 세포는 피부 세포, 심근 세포, 골격근 세포, 간 세포, 신장 세포, 또는 연골 세포로 분화한다. 한 구체예에서, 제 1 및 제 2 치료제는 순차적으로 투여된다. 한 구체예에서, 제 1 및 제 2 치료제는 동시에 투여된다. 한 구체예에서, 제 1 및 제 2 치료제는 동일한 약학 조성물에 함유된다. 한 구체예에서, 제 1 및 제 2 치료제는 별개의 약학 조성물에 함유된다. 한 구체예에서, 제 1 및 제 2 치료제는 적어도 상가 효과를 가진다. 한 구체예에서, 제 1 및 제 2 치료제는 상승 효과를 가진다.

[0135] 한 양태에서, 본 발명은 신경돌기 성장을 자극하는데 유효한 양의 치료적 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염으로 개체를 치료하는 것을 포함하는 개체에서 신경돌기 성장을 자극하는 방법을 제공한다. 어떤 구체예에서, 개체는 상해-관련 경도인지장애(MCI), 뉴런 사멸 매개 안구질환, 황반변성, 자폐증, 자폐 스펙트럼 장애, 아스페르거 증후군, 레트 증후군, 견열 손상, 척수 손상, 중증 근무력증, 길랑-바레 증후군, 다발성경화증, 신경병증, 및 비-뉴런 징후를 가진다. 어떤 구체예에서, 개체는 전장 상해, 뇌진탕 후 증후군, 또는 보조화학요법으로부터 초래되는 상해-관련 경도인지장애(MCI)를 가진다. 어떤 구체예에서, 신경병증은 당뇨병성 신경병증, 섬유근육통, 척수 손상 관련 신경병증이다. 한 구체예에서, 신경병증은 당뇨병성 신경병증이다. 한 구체예에서, 신경병증은 섬유근육통이다. 한 구체예에서, 신경병증은 척수 손상 관련 신경병증이다. 어떤 구체예에서, 비-뉴런 징후는 심장병, 당뇨병, 식욕 감퇴, AIDS- 또는 화학요법-관련 체력저하, 혈관 손상, 장 손상, 연골 손상, 퇴행성 관절염, 박테리아 감염, 바이러스 감염, 제 1-, 제 2- 또는 제 3-도 화상, 뼈의 단순, 복합, 스트레스, 또는 압박골절, 또는 열상이다. 어떤 구체예에서, 치료적 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염은 다임본이다. 한 변형에서, 본 방법은 더 나아가 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물의 투여를 포함한다. 일부 구체예에서, 치료 화합물의 투여는 경구, 정맥내, 복강내, 피하, 경막내, 근육내, 안구내, 경피, 또는 국소적으로(즉, 점안약 또는 귀물약으로서) 투여된다. 일부 구체예에서, 치료 화합물의 투여는 1일에 1회, 1일에 2회, 1일에 3회, 또는 더 높은 빈도로 투여된다. 일부 구체예에서, 치료 조성물의 투여는 1주일에 1회, 1주일에 2회, 1주일에 3회, 1주일에 4회, 또는 더 높은 빈도로 투여된다. 일부 구체예에서, 치료 화합물의 투여는 1주일마다, 2주일마다, 3주일마다, 4주일마다, 5주일마다, 6주일마다, 또는 훨씬 더 긴 간격으로 제어된 방출 조절물로서 투여된다. 일부 구체예에서, 치료적 수소화된 피리도 [4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염의 약 1 ng/일, 10 ng/일, 100 ng/일, 250 ng/일, 500 ng/일, 1 µg/일, 5 µg/일, 10 µg/일, 20 µg/일, 25 µg/일, 40 µg/일, 80 µg/일, 125 µg/일, 160 µg/일, 320 µg/일, 또는 120 mg/일의 용량(예를 들어, 경구 투여를 위한 용량)이 투여된다. 일부 구체예에서, 치료 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염은 1 ng/일, 10 ng/일, 100 ng/일, 250 ng/일, 500 ng/일, 1 µg/일, 5 µg/일, 10 µg/일, 20 µg/일, 25 µg/일, 40 µg/일, 80 µg/일, 125 µg/일, 160 µg/일, 320 µg/일, 또는 120 mg/일의 양으로 뇌에 주사에 의해(예를 들어, 경막 내 또는 뇌실 내 투여) 직접 투여된다. 일부 구체예에서, 뇌에서 서방출 펌프 또는 다른 장치는 본원에 기술되는 어떤 용량을 투여하도록 분출한다. 일부 변형에서, 치료적 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염은 다임본이다.

[0136] 다른 양태에서, 본 발명은 신경 발생을 향상시키기에 유효한 양의 치료적 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염으로 개체를 치료하는 것을 포함하는 개체에서 신경 발생을 향상시키는 방법을 제공한다. 어떤 구체예에서, 개체는 상해-관련 경도인지장애(MCI), 뉴런 사멸 매개 안구질환, 황반변성, 자폐증, 자폐 스펙트럼 장애, 아스페르거 증후군, 레트 증후군, 견열 손상, 척수 손상, 중증 근무력증, 길랑-바레 증후군, 다발성경화증, 신경병증, 및 비-뉴런 징후를 가진다. 어떤 구체예에서, 개체는 전장 상해, 뇌진탕 후 증후군, 또는 보조화학요법으로부터 초래되는 상해-관련 경도인지장애(MCI)를 가진다. 어떤 구체예에서, 신경병증은 당뇨병성 신경병증, 섬유근육통, 척수 손상 관련 신경병증이다. 한 구체예에서, 신경병증은 당뇨병성 신경병증이다. 한 구체예에서, 신경병증은 섬유근육통이다. 한 구체예에서, 신경병증은 척수 손상 관련 신경병증이다.

다. 어떤 구체예에서, 비-뉴런 징후는 심장병, 당뇨병, 식욕 감퇴, AIDS- 또는 화학요법-관련 체력저하, 혈관 손상, 장 손상, 연골 손상, 퇴행성 관절염, 박테리아 감염, 바이러스 감염, 제 1-, 제 2- 또는 제 3-도 화상, 뼈의 단순, 복합, 스트레스, 또는 압박골절, 또는 열상이다. 어떤 구체예에서, 치료적 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염은 다임본이다. 한 변형에서, 본 방법은 더 나아가 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물의 투여를 포함한다. 일부 구체예에서, 치료 화합물의 투여는 경구, 정맥내, 복강내, 피하, 경막내, 근육내, 안구내, 경피, 또는 국소적으로(즉, 점안약 또는 귀물약으로서) 투여된다. 일부 구체예에서, 치료 화합물의 투여는 1일에 1회, 1일에 2회, 1일에 3회, 또는 더 높은 빈도로 투여된다. 일부 구체예에서, 치료 조성물의 투여는 1주일에 1회, 1주일에 2회, 1주일에 3회, 1주일에 4회, 또는 더 높은 빈도로 투여된다. 일부 구체예에서, 치료 화합물의 투여는 1주일마다, 2주일마다, 3주일마다, 4주일마다, 5주일마다, 6주일마다, 또는 훨씬 더 긴 간격으로 제어된 방출 조제물로서 투여된다. 일부 구체예에서, 치료적 수소화된 피리도 [4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염의 약 1 ng/일, 10 ng/일, 100 ng/일, 250 ng/일, 500 ng/일, 1 µg/일, 5 µg/일, 10 µg/일, 20 µg/일, 25 µg/일, 40 µg/일, 80 µg/일, 125 µg/일, 160 µg/일, 320 µg/일, 또는 120 mg/일의 용량(예를 들어, 경구 투여를 위한 용량)이 투여된다. 일부 구체예에서, 치료적 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염은 약 1 ng/일, 10 ng/일, 100 ng/일, 250 ng/일, 500 ng/일, 1 µg/일, 5 µg/일, 10 µg/일, 20 µg/일, 40 µg/일, 80 µg/일, 160 µg/일, 320 µg/일, 또는 120 mg/일의 양으로 뇌에 주사에 의해(예를 들어, 경막 내 또는 뇌실 내 투여) 직접 투여된다. 일부 구체예에서, 뇌에서 서방출 펌프 또는 다른 장치는 본원에 기술되는 어떤 용량을 투여하도록 분출한다. 일부 변형에서, 치료적 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염은 다임본이다.

[0137] 또 다른 양태에서, 본 발명은 신경돌기 성장을 자극하고 신경발생을 향상시키는 것에 유효한 양의 치료적 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염으로 개체를 치료하는 것을 포함하는, 개체에서 신경돌기 성장을 자극하고 신경 발생을 향상시키는 방법을 제공한다. 어떤 구체예에서, 개체는 상해-관련 경도 인지장애(MCI), 뉴런 사멸 매개 안구질환, 황반변성, 자폐증, 자폐 스펙트럼 장애, 아스페르거 증후군, 레드 증후군, 견열 손상, 척수 손상, 중증 근무력증, 길랑-바레 증후군, 다발성경화증, 신경병증, 및 비-뉴런 징후를 가진다. 어떤 구체예에서, 개체는 전장 상해, 뇌진탕 후 증후군, 또는 보조화학요법으로부터 초래되는 상해-관련 경도인지장애(MCI)를 가진다. 어떤 구체예에서, 신경병증은 당뇨병성 신경병증, 섬유근육통, 척수 손상 관련 신경병증이다. 한 구체예에서, 신경병증은 당뇨병성 신경병증이다. 한 구체예에서, 신경병증은 섬유근육통이다. 한 구체예에서, 신경병증은 척수 손상 관련 신경병증이다. 어떤 구체예에서, 비-뉴런 징후는 심장병, 당뇨병, 식욕 감퇴, AIDS- 또는 화학요법-관련 체력저하, 혈관 손상, 장 손상, 연골 손상, 퇴행성 관절염, 박테리아 감염, 바이러스 감염, 제 1-, 제 2- 또는 제 3-도 화상, 뼈의 단순, 복합, 스트레스, 또는 압박골절, 또는 열상이다. 어떤 구체예에서, 치료적 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염은 다임본이다. 한 변형에서, 본 방법은 더 나아가 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물의 투여를 포함한다. 일부 구체예에서, 치료 화합물의 투여는 경구, 정맥내, 복강내, 피하, 경막내, 근육내, 안구내, 경피, 또는 국소적으로(즉, 점안약 또는 귀물약으로서) 투여된다. 일부 구체예에서, 치료 화합물의 투여는 1일에 1회, 1일에 2회, 1일에 3회, 또는 더 높은 빈도로 투여된다. 일부 구체예에서, 치료 조성물의 투여는 1주일에 1회, 1주일에 2회, 1주일에 3회, 1주일에 4회, 또는 더 높은 빈도로 투여된다. 일부 구체예에서, 치료 화합물의 투여는 1주일마다, 2주일마다, 3주일마다, 4주일마다, 5주일마다, 6주일마다, 또는 훨씬 더 긴 간격으로 제어된 방출 조제물로서 투여된다. 일부 구체예에서, 치료적 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염의 약 1 ng/일, 10 ng/일, 100 ng/일, 250 ng/일, 500 ng/일, 1 µg/일, 5 µg/일, 10 µg/일, 20 µg/일, 25 µg/일, 40 µg/일, 80 µg/일, 125 µg/일, 160 µg/일, 320 µg/일, 또는 120 mg/일의 용량(예를 들어, 경구 투여를 위한 용량)이 투여된다. 일부 구체예에서, 치료적 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염은 약 1 ng/일, 10 ng/일, 100 ng/일, 250 ng/일, 500 ng/일, 1 µg/일, 5 µg/일, 10 µg/일, 20 µg/일, 25 µg/일, 40 µg/일, 80 µg/일, 125 µg/일, 160 µg/일, 320 µg/일, 또는 120 mg/일의 양으로 뇌에 주사에 의해(예를 들어, 경막 내 또는 뇌실 내 투여) 직접 투여된다. 일부 구체예에서, 뇌에서 서방출 펌프 또는 다른 장치는 본원에 기술되는 어떤 용량을 투여하도록 분출한다. 일부 변형에서, 치료적 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염은 다임본이다.

[0138] 어떤 상기 양태 또는 구체예에서, 질병 또는 징후는 신경 또는 비-뉴런 징후이다. 알츠하이머병, 노인성 인지 손상, 노인성 모발 손실, 노인성 체중 감소, 노인성 시각장애, 헌팅턴 병, 정신분열증, 인지기능장애 증후군 (CCDS), 근위축성 측삭경화증(ALS), 파킨슨병, 루이바디병, 맨케스 병, 윌슨 병, 크로이즈펠트-야콥병, 파르병, 뇌졸중, 또는 뇌출혈 손상과 같은 뇌순환을 수반하는 급성 또는 만성 장애, 노인성 기억력 장애(AAMI) 또는 경도인지장애(MCI), 상해-관련 경도인지장애(MCI), 전장 상해, 뇌진탕 후 증후군 및 보조화학요법으로부터 초래되

는 상해-관련 경도인지장애(MCI), 뉴런 사멸 매개 안구질환, 황반변성, 노인성 황반변성, 자폐 스펙트럼 장애, 아스페르거 증후군 및 레트 증후군을 포함하는 자폐증, 견열 손상, 척수 손상, 중증 근무력증, 길랑-바레 증후군, 다발성경화증, 당뇨병 신경병증, 섬유근육통, 척수 손상 관련 신경병증, 심장병, 당뇨병, 식욕 감퇴, AIDS- 또는 화학요법-관련 체력저하, 혈관 손상, 장 손상, 연골 손상, 퇴행성 관절염, 박테리아 감염, 바이러스 감염, 제 1-, 제 2- 또는 제 3-도 화상, 뼈의 단순, 복합, 스트레스, 또는 압박골절, 또는 열상과 같은 뉴런 또는 비-뉴런 징후이다.

[0139] 어떤 상기 양태 또는 구체예에서, 질병 또는 질환은 알츠하이머병, 노인성 인지 손상, 노인성 모발 손실, 노인성 체중 감소, 노인성 시각장애, 헌팅턴 병, 정신분열증, 인지기능장애 증후군(CDDS), 근위축성 측삭경화증(ALS), 파킨슨병, 루이바디병, 멘케스 병, 윌슨 병, 크로이츠펠트-야콥병, 파르병, 뇌졸중, 또는 뇌출혈 손상과 같은 뇌순환을 수반하는 급성 또는 만성 장애, 노인성 기억력 장애(AAMI) 또는 경도인지장애(MCI), 상해-관련 경도인지장애(MCI), 전장 상해, 뇌진탕 후 증후군 및 보조화학요법으로부터 초래되는 상해-관련 경도인지장애(MCI), 뉴런 사멸 매개 안구질환, 황반변성, 노인성 황반변성, 자폐 스펙트럼 장애, 아스페르거 증후군 및 레트 증후군을 포함하는 자폐증, 견열 손상, 척수 손상, 중증 근무력증, 길랑-바레 증후군, 다발성경화증, 당뇨병 신경병증, 섬유근육통, 척수 손상 관련 신경병증과 같은 뉴런 징후이다.

[0140] 어떤 상기 양태 또는 구체예에서, 질병 또는 질환은 알츠하이머병, 노인성 인지 손상, 노인성 모발 손실, 노인성 체중 감소, 노인성 시각장애, 헌팅턴 병, 정신분열증, 인지기능장애 증후군(CDDS), 근위축성 측삭경화증(ALS), 파킨슨병, 루이바디병, 멘케스 병, 윌슨 병, 크로이츠펠트-야콥병, 파르병, 뇌졸중, 또는 뇌출혈 손상과 같은 뇌순환을 수반하는 급성 또는 만성 장애, 노인성 기억력 장애(AAMI) 또는 경도인지장애(MCI)와 같은 뉴런 징후이다. 어떤 상기 양태 또는 구체예에서, 질병 또는 질환은 알츠하이머병이 아니다. 어떤 상기 양태 또는 구체예에서, 질병 또는 질환은 근위축성 측삭경화증(ALS)이 아니다. 어떤 상기 양태 또는 구체예에서, 질병 또는 질환은 헌팅턴병이 아니다. 어떤 상기 양태 또는 구체예에서, 질병 또는 질환은 정신분열증이 아니다. 어떤 상기 양태 또는 구체예에서, 질병 또는 질환은 MCI가 아니다. 한 변형에서, 개체는 알츠하이머병, 헌팅턴병, 근위축성 측삭경화증, 또는 정신분열증으로 진단되지 않은 및/또는 발생하는 위험에 있는 것으로 생각되지 않는 인간이다. 한 변형에서, 개체는 노화와 관련된 인지 손상을 가지지 않고 또는 노화 과정과 관련된 생명을 위협하지 않는 질환(예로써, 시력 상실(백내장), 피부털 외피의 악화(탈모증), 또는 근육 및 지방세포의 사멸에 기인하는 노인성 체중 감소) 또는 그것의 조합을 가지지 않는 인간이다. 어떤 상기 양태 또는 구체예에서, 질병 또는 질환은 상해-관련 경도인지장애(MCI), 전장 상해, 뇌진탕 후 증후군으로 및 보조화학요법으로부터 초래되는 상해-관련 경도인지장애(MCI), 뉴런 사멸 매개 안구질환, 황반변성, 노인성 황반변성, 자폐 스펙트럼 장애, 아스페르거 증후군 및 레트 증후군을 포함하는 자폐증, 견열 손상, 척수 손상, 중증 근무력증, 길랑-바레 증후군, 다발성경화증, 당뇨병 신경병증, 섬유근육통, 척수 손상 관련 신경병증과 같은 뉴런 징후이다. 어떤 상기 양태 또는 구체예에서, 질병 또는 질환은 심장병, 당뇨병, 식욕 감퇴, AIDS- 또는 화학요법-관련 체력저하, 혈관 손상, 장 손상, 연골 손상, 퇴행성 관절염, 박테리아 감염, 바이러스 감염, 제 1-, 제 2- 또는 제 3-도 화상, 뼈의 단순, 복합, 스트레스, 또는 압박골절, 또는 열상과 같은 비-뉴런 징후이다.

[0141] *대표적인 세포 및 방법*

[0142] 한 변형에서, 본 방법은 다임본과 같은 치료화합물, 및 세포를 함유하는 치료제의 투여를 수반하며, 세포는 전체가 본원에 참고로써 포함되는 미국 공개 번호 2007/0110730에서 기술되는 바와 같은 대표적인 세포 종류이다. 일부 구체예에서, 본 방법은 치료 화합물과 함께 세포를 인큐베이팅하는 단계를 수반하며, 세포는 미국 공개 번호 2007/0110730에서 기술되는 바와 같은 대표적인 세포 종류이다. 일부 구체예에서, 치료 화합물과 함께 인큐베이팅한 세포는 뉴런 또는 비-뉴런 징후를 가지거나 또는 가지는 것으로 의심되는 개체와 같이 그것을 필요로 하는 개체에 투여된다. 본원에서 기술되는 어떤 방법은 상해 또는 질병을 치료하기 위해 새로운 세포가 생기도록 사용될 수 있다. 일부 구체예에서, 세포는 상피 또는 혈액 세포와 같이, 높은 대사회전율을 가지거나 또는 상해 또는 질병이 생기기 쉬운 조직으로부터 나온다.

[0143] 일부 구체예에서, 줄기 세포는 포유동물의 수명에 걸쳐 장기간의 자기-혁신이 가능한 다능성 세포이다. 일부 구체예에서, 줄기 세포는 자체로 이식될 수도 있고, 또 다르게는, 그것들은 이식을 위해 분화된 세포(예를 들어, 뉴런, 희돌기교세포, 슈만 세포, 또는 성상 세포)를 만들도록 유도될 수도 있다. 이식된 줄기 세포는 또한 성장 인자, 시토킨, 항-사멸 단백질 등과 같은 치료 분자를 발현시키는 데 사용될 수 있다. 따라서, 줄기 세포는 세포 또는 조직의 손실을 수반하는 질병의 또 다른 치료를 위한 세포의 잠재적 공급원이다.

- [0144] 어떤 구체예에서, 세포는 도파민성 뉴런으로서 분화할 수 있고, 따라서, 파킨슨병 환자에 동형이식을 위한 도파민성 뉴런의 유용한 공급원이다. 다른 대표적인 세포는 평활근 세포, 지방세포, 연골, 뼈, 골격근, 및 심근을 포함하는 수많은 중배엽 유도체로서 분화할 수 있고, 신장 및 조혈모 세포를 포함하는 다른 중배엽 유도체를 만들 수 있는 것으로 예상된다. 일부 구체예에서, 이 세포는 내배엽 분화의 마커를 발현시키며, 췌장도세포(예를 들어,  $\alpha$ (알파),  $\beta$ (베타),  $\psi$ (싸이),  $\delta$ (델타) 세포), 간세포 등을 포함하는 세포 종류로 분화하는 것으로 예상된다. 일부 구체예에서, 이 세포는 모든 3 배엽으로부터 유래된 세포로 분화하는 것이 가능하다. 일부 구체예에서, 이 세포들은, 예를 들어, 다른 신경퇴행성 질병, 장애 또는 비정상적 신체 상태를 치료하기 위한 자가 조직 또는 이종조직의 이식에 유용하다.
- [0145] 일부 구체예에서, 세포(들)는 생후 포유동물의 말초 조직으로부터 정제된 다능성 줄기 세포의 자손이다. 일부 구체예에서, 세포(들)는 유사분열 세포 또는 분화된 세포이다(예를 들어, 뉴런, 성상 세포, 희돌기교세포, 슈반 세포, 또는 비-신경 세포). 대표적인 뉴런은 신경 전달 물질인, 도파민, GABA, 글리신, 아세틸콜린, 글루타메이트 및 세로토닌 중 하나 이상을 발현시키는 뉴런을 포함한다. 대표적인 비-신경 세포는 심근 세포, 췌장 세포(예를 들어, 도세포 ( $\alpha$ (알파),  $\beta$ (베타),  $\psi$ (싸이),  $\delta$ (델타) 세포), 외분비 세포, 내분비 세포, 연골 세포, 골세포. 골격근 세포, 평활근 세포, 간세포, 조혈모 세포 및 지방세포를 포함한다. 이들 비-신경 세포 종류는 중배엽과 내배엽 유도체 둘 다를 포함한다. 대표적인 구체예에서, 분화된 세포는 정제된다.
- [0146] 한 양태에서, 본 발명은 세포 손실과 관련된 질병을 가지는 개체를 치료하는 방법이다. 한 구체예에서, 본 방법은 세포 손실이 있는 개체의 영역에 다능성 줄기 세포와 같은 세포를 이식하는 단계를 포함한다. 한 구체예에서, 이식 단계 전에, 본 방법은 말초 조직의 배양을 제공하는 단계 및 말초 조직으로부터 다능성 줄기 세포와 같은 세포를 분리하는 단계를 포함한다. 조직은 동일한 환자로부터(자가 조직) 또는 유전적으로 관련된 또는 관련되지 않은 개체 중 하나로부터 유래될 수 있다. 이식 후, 본 발명은 더 나아가 손실된 세포를 대신하기 위해 본 세포가 원하는 세포 종류로 분화하는(또는 세포의 분화를 허용하는) 단계를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 영역은 CNS 또는 PNS의 영역이지만, 또한 심장 조직, 췌장 조직, 또는 세포 이식 치료법이 가능한 어떤 다른 조직일 수 있다. 다른 구체예에서, 본 방법은, 세포가 세포 손상 자리를 향해 가는, 혈류를 통해 세포를 세포 손상 자리에 전달하는 단계를 포함한다. 한 구체예에서, 개체를 치료하는 방법은 줄기세포의 자손인 분화된 세포의 이식을 포함한다.
- [0147] 다능성 줄기 세포는 신경 및 비-신경 세포 종류의 범위로 분화하는 엄청난 능력을 가진다. 비-신경 세포 종류는 중배엽과 내배엽 유도체 둘 다를 포함한다. 일부 구체예에서, 세포는 모든 3 배엽의 유도체로 분화하는 것이 가능하다. 이 능력은 더 나아가 세포의 증식, 분화, 및 생존에 영향을 미치는 배양 조건을 조절함으로써 영향을 받을 수 있다. 한 구체예에서, 배양 조건을 조절하는 것은 혈청 농도를 증가 또는 감소시키는 것을 포함한다. 다른 구체예에서, 배양 조건을 조절하는 것은 플레이팅 밀도를 증가 또는 감소시키는 것을 포함한다. 또 다른 구체예에서, 배양 조건을 조절하는 것은 배양 배지에 하나 이상의 약리학적 약제의 첨가를 포함한다. 다른 구체예에서, 배양 조건을 조절하는 것은 배양 배지에 하나 이상의 치료 단백질(예를 들어, 성장 인자 또는 항-사멸 단백질)의 첨가를 포함한다. 각각의 앞서 언급한 구체예에서, 약리학적 약제, 치료 단백질, 및 소분자는 개개로 또는 어떤 조합으로 투여될 수 있으며, 어떤 약학적 약제, 치료 단백질, 및 소분자의 조합은 공동-투여되거나 또는 다른 시간에 투여될 수 있다.
- [0148] 일부 구체예에서, 세포는 피부, 후각 상피 및 혀를 포함하는 포유동물의 말단 조직으로부터의 정제된 다능성 줄기 세포이다. 이들 세포는 배양물에서 증식하고, 따라서 많은 수의 줄기 세포가 만들어질 수 있다. 이들 세포는 배양물 조건을 변경함으로써, 예를 들어, 뉴런, 성상 세포, 및/또는 희돌기교세포로 분화하도록 유도될 수 있다. 그것들은 또한 평활근 세포, 연골, 뼈, 골격근, 심근, 및 지방세포와 같은 비-신경 세포로 분화하도록 유도될 수 있다. 실질적으로 정제된 신경 줄기 세포는 따라서, 예를 들어, 퇴행성 장애 또는 외상(예를 들어, 척수 손상)의 치료를 위한 자가조직 이식에서 사용을 위한 세포를 만드는데 유용하다. 한 가지 예에서, 다능성 줄기 세포는 도파민성 뉴런으로 분화되고 파킨슨병 환자의 흑색질 또는 선조체에 이식된다. 다른 예에서, 세포는 다발성경화증의 치료를 위한 자가조직 이식에서 사용을 위한 희돌기교세포를 만드는데 사용될 수 있다. 다른 예에서, 다능성 줄기 세포는 척수 손상의 치료를 위한 슈반 세포, 심장병의 치료를 위한 심장 세포, 또는 당뇨병의 치료를 위한 췌장 도세포를 만드는데 사용될 수 있다. 일부 구체예에서, 다능성 줄기 세포는 식욕 감퇴 또는 AIDS, 암을 포함하는 많은 질병과 관련된 체력저하, 및 암 치료를 위한 지방세포를 만드는데 사용될 수 있다. 다른 예에서, 다능성 줄기 세포는 혈관 이식에 사용되는 평활근 세포를 만드는데 사용될 수 있다. 다른 예에서, 다능성 줄기 세포는 연골 손상 및 연골의 퇴행성 질환을 치료하기 위해 사용되는 연골조직을 만드는데 사용될 수 있다. 또 다른 예에서, 다능성 줄기 세포는 손상되거나, 또는 박테리아 또는 바이러스 감염에 대한 손실된

세포, 또는 화상, 골절 및 열상과 같은 외상성 손상에 대해 손실된 세포를 대신하기 위해 사용될 수 있다.

- [0149] 바람직하게는, 본 세포는, 예를 들어, 성장 인자 또는 항-사멸성 단백질을 발현시키기 위해 유전적으로 변형될 수 있다. 유사하게, 세포의 증식, 분화, 또는 생존은 배양 배지에서 혈청의 농도를 증가 또는 감소시키는 것과 플레이팅 밀도를 증가 또는 감소시키는 것을 포함하여 세포 배양 조건을 변화시키는 것에 의해 영향을 받을 수 있다. 한 구체예에서, 오직 세포의 하위-집단이 분화 조건을 받도록 세포는 플레이팅 및 분화 이전에 사전분류된다. 세포의 사전분류는 유전자 또는 단백질의 발현(또는 발현의 결여)에 기초하여, 또는 부착 및 조직을 포함하는 다른 세포의 특성에 기초하여 행해질 수 있다.
- [0150] 본 발명은 또한 병든고, 손상된 또는 물리적으로 비정상인 CNS, PNS, 또는 다른 조직에 치료 화합물을 도입하기 위한 본 발명의 세포의 사용을 특징으로 한다. 따라서, 본 발명은 다임본과 같은 치료 화합물, 및 CNS, PNS 또는 다른 조직과 관련된 세포와 같은 세포를 함유하는 치료제를 개체에 투여하는 방법을 포함한다. 본 발명은 또한 다임본과 같은 치료 화합물과 함께 인큐베이팅된 CNS, PNS 또는 다른 조직과 관련된 세포와 같은 세포를 개체에 투여하는 방법을 포함한다. 따라서, 세포는 본 화합물을 수송하기 위한 벡터로서 작용한다. 치료 화합물의 발현을 위해, 적당한 조절 요소가 다양한 공급원으로부터 유래될 수 있고, 당업자에 의해 용이하게 선택될 수 있다. 조절 요소의 예는 전사 프로모터 및 인핸서 또는 RNA 중합효소 결합 서열, 및 번역 개시 신호를 포함하는 리보솜 결합 서열을 포함한다. 추가적으로, 사용된 벡터에 따라서, 선택가능한 마커와 같은 다른 유전 요소가 재조합 분자에 포함될 수 있다. 재조합 분자는 레트로바이러스 벡터, 아데노바이러스 벡터, DNA 바이러스 벡터, 및 리포솜과 같은 시험관 내 전달 비히클을 사용하여 줄기 세포 또는 줄기 세포로부터 분화된 세포에 도입될 수 있다. 그것들은 또한 미량주사법 및 전기 천공법과 같은 물리적 기술 또는 리포솜에 DNA의 포함과 같은 화학적 방법을 사용하여 생체 내에서 이러한 세포에 포함될 수 있다. 이러한 표준 방법은 세포에 일시적으로 또는 안정하게 이중 재조합 분자를 도입하기 위해 사용될 수 있다. 유전적으로 변형된 세포는 마이크로스피어로 캡슐화되고 병든 또는 손상된 세포에 또는 근접하여 이식될 수 있다.
- [0151] 한 구체예에서, 세포는 신경학적 징후의 치료를 위해 사용된다. 다른 양태에서, 다능성 줄기 세포와 같은 세포는 비-신경 세포, 예를 들어, 지방세포, 뼈, 연골, 및 평활근 세포의 공급원으로서 사용된다. 예로서, PCT 공개 번호 W099/16863는 생체 내에서 전능성 줄기 세포의 조절모 세포 계통의 세포로 분화를 기술한다. 따라서, 본 발명은, 다능성 줄기 세포 또는 이들 세포로부터 유래된 세포를 환자에게 투여하고, 질병 또는 장애에서 손실된 세포를 대신하도록 세포가 분화되는 것에 의해, 세포 손실을 특징으로 하는 어떤 질병 또는 장애를 가지는 개체를 치료하는 방법을 특징으로 한다. 예를 들어, 다능성 줄기 세포 및 그것의 자손의 이식은 혈액-관련 장애를 치료하기 위한 골수 및 조절모 줄기 세포 이식에 대한 대안을 제공한다. 다능성 줄기 세포의 다른 사용은 전체가 본원에 참고로써 포함되는 Ourednik *et al.* (*Clin. Genet.* 56:267-278, 1999)에서 기술된다. 다능성 줄기 세포 및 그것의 자손은, 예를 들어, 시험관 내 연구 및 이식을 위한 지방세포 및 평활근 세포의 배양물을 제공한다. 지방세포는 약액질, 근육 감퇴, 및 섭식 장애를 치료하는데 바람직할 수 있는 다양한 성장 인자를 분비한다. 평활근 세포는, 예를 들어, 혈관 이식, 장 이식 등에 포함될 수 있다. 연골 세포는 퇴행성 질병 및 퇴행성 관절염뿐 아니라 연골 손상(예를 들어, 운동 손상)을 치료하기 위한 수많은 정형 외과적 용도를 가진다. 연골 세포는 단독으로, 또는 당업계에 공지된 매트릭스와 조합하여 사용될 수 있다. 이러한 매트릭스는 연골 세포를 필수적인 모양으로 성형하는데 사용된다.
- [0152] 치료 화합물
- [0153] 특정 수의 탄소를 가지는 유기 잔기 또는 부분에 대한 기준이 만들어질 때, 달리 명확하게 언급되지 않는다면, 이는 그것의 모든 기하 이성질체를 의도한다. 예를 들어, "부틸"은 n-부틸, sec-부틸, iso부틸 및 t-부틸을 포함하며; "프로필"은 n-프로필 및 이소프로필을 포함한다.
- [0154] 용어 "알킬"은 선형, 분지형 또는 고리형 탄화수소 구조 및 그것의 조합을 의도하고 포함한다. 바람직한 알킬기는 20개 이하의 탄소 원자(C20)를 가지는 것이다. 더 바람직한 알킬기는 15개 이하 또는 10개 이하 또는 8개 이하의 탄소 원자를 가지는 것이다.
- [0155] 용어 "저급 알킬"은 1 내지 5개의 탄소 원자의 알킬 기를 말한다.
- [0156] 저급 알킬 기의 예는, 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, s- 및 t- 부틸 등을 포함한다. 저급 알킬은 알킬의 하위부류이다.
- [0157] 용어 "아릴"은 단일 환(예를 들어, 페닐) 또는 축합환이 방향족(예를 들어, 2-벤젠사졸리논, 2H-1,4-벤젠사진-3(4H)-온-7-일) 동일 수도 있고 아닐 수도 있는 다중 축합 환(예를 들어, 나프틸 또는 안트릴)을 가지는 6 내지

14개의 탄소 원자의 불포화 방향족 탄소고리 기를 말한다. 바람직한 아틸은 페닐 및 나프틸을 포함한다.

[0158] 용어 "헤테로아틸"은 2 내지 10개의 탄소 원자 및 환 내에 산소, 질소 및 황으로부터 선택되는 1 내지 4개의 헤테로원자의 방향족 탄소고리 기를 말한다. 이러한 헤테로아틸 기는 단일 환(예를 들어, 피리딜 또는 푸릴) 또는 다중 축합 환(예를 들어, 인돌리지닐 또는 벤조티에닐)을 가질 수 있다. 헤테로아틸 잔기의 예는, 예를 들어, 이미다졸릴, 피리디닐, 인돌릴, 티오펜릴, 티아졸릴, 푸라닐, 벤즈이미다졸릴, 퀴놀리닐, 이소퀴놀리닐, 피리미디닐, 피라지닐, 테트라졸릴 및 피라졸릴을 포함한다.

[0159] 용어 "아랄킬"은 아틸 부분이 알킬 잔기를 통해 모 구조에 부착되는 잔기를 말한다. 예는 벤질, 페닐에틸 등이 있다.

[0160] 용어 "헤테로아랄킬"은 헤테로아틸 부분이 알킬 잔기를 통해 모 구조에 부착되는 잔기를 말한다. 예는 푸라닐메틸, 피리디닐메틸, 피리미디닐메틸 등을 포함한다.

[0161] 용어 "치환된 헤테로아랄킬"은 히드록시, 알킬, 알콕시, 알케닐, 알키닐, 아미노, 아틸, 카르복실, 할로, 니트로 및 아미노로 구성되는 군으로부터 선택되는 잔기와 같은 1 내지 3개의 치환기로 치환되는 헤테로아랄킬기를 말한다.

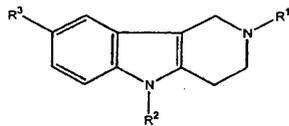
[0162] 용어 "치환된 아랄킬"은 히드록시, 알킬, 알콕시, 알케닐, 알키닐, 아미노, 아틸, 카르복실, 할로, 니트로 및 아미노로 구성되는 군으로부터 선택되는 잔기와 같은 1 내지 3개의 치환기로 치환되는 아랄킬 기를 말한다.

[0163] 용어 "할로" 또는 "할로젠"은 플루오로, 클로로, 브로모 및 요오도를 말한다.

[0164] 본원에 기술되는 방법, 조성물, 및 키트에서 사용을 위한 치료 화합물은 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 산 또는 염기성염과 같은 그것의 약학적으로 허용가능한 염을 포함한다. 수소화된 피리도[4,3-b]인돌은 테트라히드로 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염일 수 있다. 수소화된 피리도[4,3-b]인돌은 또한 헥사히드로 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염일 수 있다. 비록 3개 이상의 치환기를 가지는 비치환 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 화합물 또는 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 화합물이 또한 생각된다 할지라도, 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 화합물은 1 내지 3개의 치환기로 치환될 수 있다. 적당한 치환기는, 제한되는 것은 아니지만, 알킬, 저급 알킬, 아랄킬, 헤테로아랄킬, 치환된 헤테로아랄킬, 치환된 아랄킬 및 할로를 포함한다.

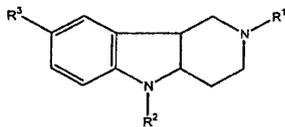
[0165] 특정의 수소화된 피리도[4,3-b]인돌은 화학식 A 및 B에 의해 예시된다:

[0166] (화학식 A)



또는

[0168] (화학식 B)



[0170] 상기식에서, R<sup>1</sup>은 알킬, 저급 알킬 및 아랄킬로 구성되는 군으로부터 선택되고, R<sup>2</sup>는 수소, 아랄킬 및 치환된 헤테로아랄킬로 구성되는 군으로부터 선택되고; R<sup>3</sup>은 수소, 알킬, 저급 알킬 및 할로로 구성되는 군으로부터 선택된다.

[0171] 한 변형에서, R<sup>1</sup>은 알킬, 예로써, C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub>알킬, C<sub>10</sub>-C<sub>15</sub>알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알킬, C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub>알킬, C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>알킬, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>알킬, C<sub>4</sub>-C<sub>8</sub>알킬, C<sub>6</sub>-C<sub>8</sub>알킬, C<sub>6</sub>-C<sub>15</sub>알킬, C<sub>15</sub>-C<sub>20</sub>알킬; C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>알킬 및 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬로 구성되는 군으로부터 선택되는 알킬이다. 한 변형에서, R<sup>1</sup>은 아랄킬이다. 한 변형에서, R<sup>1</sup>은 저급 알킬, 예로써, C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>알킬, C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>알킬,

C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>알킬, 및 C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>알킬로 구성되는 군으로부터 선택되는 저급 알킬이다.

- [0172] 한 변형에서, R<sup>1</sup>은 직쇄 알킬기이다. 한 변형에서, R<sup>1</sup>은 분지된 알킬기이다. 한 변형에서, R<sup>1</sup>은 고리 알킬기이다.
- [0173] 한 변형에서, R<sup>1</sup>은 메틸이다. 한 변형에서, R<sup>1</sup>은 에틸이다. 한 변형에서, R<sup>1</sup>은 메틸 또는 에틸이다. 한 변형에서, R<sup>1</sup>은 메틸 또는 벤질과 같은 아랄킬 기이다. 한 변형에서, R<sup>1</sup>은 에틸 또는 벤질과 같은 아랄킬 기이다.
- [0174] 한 변형에서, R<sup>1</sup>은 아랄킬 기이다. 한 변형에서, R<sup>1</sup>은 앞 단락에 열거한 알킬 또는 저급 알킬 치환기 중 어떤 하나가 아릴 기로 추가로 치환되는 아랄킬 기이다(예를 들어, Ar-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬, Ar-C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>알킬 또는 Ar-C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub>알킬). 한 변형에서, R<sup>1</sup>은 앞 단락에 열거한 알킬 또는 저급 알킬 치환기 중 어떤 하나가 단일 환 아릴 잔기로 치환되는 아랄킬 기이다. 한 변형에서, R<sup>1</sup>은 앞 단락에 열거한 알킬 또는 저급 알킬 치환기 중 어떤 하나가 페닐 기로 추가로 치환되는 아랄킬 기이다(예를 들어, Ph-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬 또는 Ph-C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>알킬, Ph-C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub>알킬). 한 변형에서, R<sup>1</sup>은 벤질이다.
- [0175] R<sup>1</sup>에 대한 모든 변형은 의도되며, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> 및 R<sup>3</sup>의 각각 및 모든 조합이 구체적이고 개별적으로 열거되는 것과 동일하게 R<sup>2</sup> 및 R<sup>3</sup>에 대해 하기 언급되는 어떤 변환과 조합되어 본원에서 명확하게 기술된다.
- [0176] 한 변형에서, R<sup>2</sup>는 H이다. 한 변형에서, R<sup>2</sup>는 아랄킬 기이다. 한 변형에서, R<sup>2</sup>는 치환된 헤테로아랄킬 기이다. 한 변형에서, R<sup>2</sup>는 수소 또는 아랄킬 기이다. 한 변형에서, R<sup>2</sup>는 수소 또는 치환된 헤테로아랄킬 기이다. 한 변형에서, R<sup>2</sup>는 아랄킬 기 또는 치환된 헤테로아랄킬 기이다. 한 변형에서, R<sup>2</sup>는 수소, 아랄킬 기 및 치환된 헤테로아랄킬 기로 구성되는 군으로부터 선택된다.
- [0177] 한 변형에서, R<sup>2</sup>는 아랄킬 기이며, R<sup>2</sup>는 상기 R<sup>1</sup>에 대해 언급된 아랄킬 기 중 어떤 하나일 수 있고, R<sup>1</sup>에 대해 열거한 각각의 및 모든 아랄킬 변형과 동일하게 R<sup>2</sup>에 대해 개별적이고 개개로 열거된다.
- [0178] 한 변형에서, R<sup>2</sup>는 치환된 헤테로아랄킬 기이며, 헤테로아랄킬의 알킬 부분은 상기 R<sup>1</sup>에 대해 열거한 것과 같은 어떤 알킬 또는 저급 알킬 기일 수 있다. 한 변형에서, R<sup>2</sup>는 헤테로아릴 기가 1 내지 3개의 C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 알킬 치환기로 치환된 치환된 헤테로아랄킬이다(예를 들어, 6-메틸-3-피리디에틸). 한 변형에서, R<sup>2</sup>는 치환된 헤테로아랄킬 기이며, 헤테로아릴 기는 1 내지 3개의 메틸 기로 치환된다. 한 변형에서, R<sup>2</sup>는 치환된 헤테로아랄킬 기이며, 헤테로아릴 기는 하나의 저급 알킬 치환기로 치환된다. 한 변형에서, R<sup>2</sup>는 치환된 헤테로아랄킬 기이며, 헤테로아릴 기는 하나의 C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 알킬 치환기로 치환된다. 한 변형에서, R<sup>2</sup>는 치환된 헤테로아랄킬 기이며, 헤테로아릴 기는 하나 또는 두 개의 메틸 기로 치환된다. 한 변형에서, R<sup>2</sup>는 치환된 헤테로아랄킬 기이며, 헤테로아릴 기는 하나의 메틸 기로 치환된다.
- [0179] 다른 변형에서, R<sup>2</sup>는 바로 앞 단락의 치환된 헤테로아랄킬 기 중 어떤 하나이며, 헤테로아랄킬 기의 헤테로아릴 부분은 단일 환 헤테로아릴 기이다. 다른 변형에서, R<sup>2</sup>는 바로 앞 단락의 치환된 헤테로아랄킬 기 중 어떤 하나이며, 헤테로아랄킬 기의 헤테로아릴 부분은 다중 축합 환 헤테로아릴 기이다. 다른 변형에서, R<sup>2</sup>는 바로 앞 단락의 치환된 헤테로아랄킬 기 중 어떤 하나이며, 헤테로아랄킬 부분은 피리딜 기(Py)이다.
- [0180] 한 변형에서, R<sup>2</sup>는 6-CH<sub>3</sub>-3-Py-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-이다. 이 부분을 함유하는 화합물의 예는 다임본이다.
- [0181] 한 변형에서, R<sup>3</sup>은 수소이다. 다른 변형에서, R<sup>3</sup>은 상기 R<sup>1</sup>에 대해 언급한 알킬 기 중 어떤 하나이며, R<sup>1</sup>에 대해 열거한 각각의 및 모든 알킬 변형과 동일하게 R<sup>3</sup>에 대해 개별적으로 및 개개로 열거된다. 다른 변형에서, R<sup>3</sup>은

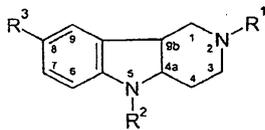
할로 기이다. 한 변형에서, R<sup>3</sup>은 수소 또는 알킬 기이다. 한 변형에서, R<sup>3</sup>은 할로 또는 알킬 기이다. 한 변형에서, R<sup>3</sup>은 수소 또는 할로 기이다. 한 변형에서, R<sup>3</sup>은 수소, 알킬 및 할로로 구성되는 군으로부터 선택된다. 한 변형에서, R<sup>3</sup>은 Br이다. 한 변형에서, R<sup>3</sup>은 I이다. 한 변형에서, R<sup>3</sup>은 F이다. 한 변형에서, R<sup>3</sup>은 Cl이다.

[0182] 특정 변형에서, 수소화된 피리도[4,3-b]인들은 2,8-디메틸-5-(2-(6-메틸-3-피리딜)에틸)-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인들 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염이다.

[0183] 수소화된 피리도[4,3-b]인들은 당업자에게 용이하게 알려진 그것의 약학적으로 허용가능한 염의 형태로 있을 수 있다. 약학적으로 허용가능한 염은 약학적으로 허용가능한 산의 염을 포함한다. 특정의 약학적으로 허용가능한 염의 예는 염산염 또는 2염산염을 포함한다. 특정 변형에서, 수소화된 피리도[4,3-b]인들은 2,8-디메틸-5-(2-(6-메틸-3-피리딜)에틸)-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b] 인들의 약학적으로 허용가능한 염, 예로써, 2,8-디메틸-5-(2-(6-메틸-3-피리딜)에틸)-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인들 2염산염(다임본)이다.

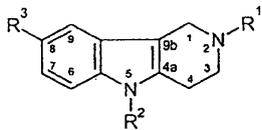
[0184] 특정의 수소화된 피리도[4,3-b]인들은 또한 화학식 1 또는 화학식 2에 의해 기술될 수 있다:

**화학식 1**



[0185] 또는

**화학식 2**



[0186]

[0187] 화학식 1 또는 2에 대해, 상기 치환기의 어떤 조합에서,

[0188] R<sup>1</sup>은 CH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>-, 또는 PhCH<sub>2</sub>-(벤질)을 나타내고;

[0189] R<sup>2</sup>는 -H, PhCH<sub>2</sub>-, 또는 6CH<sub>3</sub>-3-Py-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-이고;

[0190] R<sup>3</sup>은 -H, -CH<sub>3</sub>, 또는 -Br이다.

[0191] 화학식 1 및 2의 치환기의 모든 가능한 조합은 각각의 단일 및 개개 화합물이 화학명으로써 열거되는 것과 동일하게 구체적 및 개개의 화합물로서 생각된다. 또한 상기 열거한 치환기로부터 하나 이상의 가능한 부분의 어떤 결실이 있는 화학식 1 또는 2의 화합물이 생각된다: 예를 들어, R<sup>1</sup>은 -CH<sub>3</sub>를 나타낸다. 한 변형에서, R<sup>2</sup>는 -H, PhCH<sub>2</sub>-, 또는 6CH<sub>3</sub>-3-Py-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-이고; R<sup>3</sup>은 -H, -CH<sub>3</sub>, 또는 -Br이고, 또는 R<sup>1</sup>은 -CH<sub>3</sub>를 나타내고; R<sup>2</sup>는 6CH<sub>3</sub>-3-Py-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-를 나타내고; R<sup>3</sup>은 -H, -CH<sub>3</sub>, 또는 -Br을 나타낸다.

[0192] 본원에서 상기 및 어떤 치료 화합물은 약학적으로 허용가능한 산의 염 형태 및 4차화된 유도체의 형태로 있을 수 있다. 약학적으로 허용가능한 염은 생물학적 유효성 및 화합물의 특성을 보유하며, 생물학적으로 또는 달리 바람직하지 못한 것이 아닌 염을 말한다. 많은 경우에, 본 화합물은 아미노 또는 다른 유사한 기에 의해서 산의 염을 형성할 수 있다. 약학적으로 허용가능한 염기 부가 염은 구조 및 작용기가 허용하는 무기 및/또는 유기 염기로부터 제조될 수 있다. 약학적으로 허용가능한 산 부가 염은 무기 및/또는 유기 산으로부터 제조될 수 있다. 예를 들어, 무기 산은 염산, 2염산, 브롬화수소산, 황산, 질산, 인산 등을 포함한다. 유기산은 아세트산, 프로피온산, 글리콜산, 피루브산, 옥살산, 말산, 말론산, 숙신산, 말레산, 푸마르산, 타르타르산, 시트르산, 벤조산, 신남산, 만델산, 메탄술폰산, 에탄술폰산, p-톨루엔-술폰산, 살리실산 등을 포함한다. 한 변형에서, 기

술되는 방법은 염산염 또는 2염산 염으로서 화합물 I을 사용한다.

[0193] 화합물은 화학식 1일 수 있고,  $R^1$ 은  $-CH_3$ 이고,  $R^2$ 는  $-H$ 이고,  $R^3$ 은  $-CH_3$ 이다. 화합물은 화학식 2일 수 있는데,  $R^1$ 은  $-CH_3$ ,  $CH_3CH_2-$ , 또는  $PhCH_2-$ 로써 나타내고;  $R^2$ 는  $-H$ ,  $PhCH_2-$ , 또는  $6-CH_3-3-Py-(CH_2)_2-$ 이고;  $R^3$ 은  $-H$ ,  $-CH_3$ , 또는  $-Br$ 이다. 화합물은,  $R^1$ 이  $CH_3CH_2-$  또는  $PhCH_2-$ 이고,  $R^2$ 는  $-H$ 이고,  $R^3$ 은  $-H$ 인 화학식 2; 또는  $R^1$ 은  $-CH_3$ 이고,  $R^2$ 는  $PhCH_2-$ 이고,  $R^3$ 은  $-CH_3$ 인 화합물; 또는  $R^1$ 이  $-CH_3$ 이고,  $R^2$ 는  $6-CH_3-3-Py-(CH_2)_2-$ 이고,  $R^3$ 은  $-CH_3$ 인 화합물; 또는  $R^1$ 은  $-CH_3$ 이고,  $R^2$ 는  $-H$ 이고,  $R^3$ 은  $-H$  또는  $-CH_3$ 인 화합물; 또는  $R^1$ 은  $-CH_3$ 이고,  $R^2$ 는  $-H$ 이고,  $R^3$ 은  $-Br$ 인 화합물일 수 있다.

[0194] 본원에 개시된 방법에 사용될 수 있는 문헌으로부터 공지된 화합물은 하기의 구체적 화합물을 포함한다:

- [0195] 1. 시스(±) 2,8-디메틸-2,3,4,4a,5,9b-헥사히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌 및 그것의 2염산염;
- [0196] 2. 2-에틸-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b] 인돌;
- [0197] 3. 2-벤질-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b] 인돌;
- [0198] 4. 2,8-디메틸-5-벤질-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌 및 그것의 2염산염;
- [0199] 5. 2-메틸-5-(2-메틸-3-피리딜)에틸-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b] 인돌 및 그것의 세스퀴실레이트;
- [0200] 6. 2,8-디메틸-5-(2-(6-메틸-3-피리딜)에틸)-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌 및 그것의 2염산염 (다임분);
- [0201] 7. 2-메틸-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌;
- [0202] 8. 2,8-디메틸-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌 및 그것의 요오드화 메틸;
- [0203] 9. 2-메틸-8-브로모-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌 및 그것의 염산염.

[0204] 한 변형에서, 본 화합물은 화학식 A 또는 B( $R^1$ 은 저급 알킬 또는 벤질로부터 선택되고;  $R^2$ 는 수소, 벤질 또는  $6-CH_3-3-Py-(CH_2)_2-$ 으로부터 선택되고  $R^3$ 은 수소, 저급 알킬 또는 할로로부터 선택된다), 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염을 가진다. 다른 변형에서,  $R^1$ 은  $-CH_3$ ,  $CH_3CH_2-$ , 또는 벤질로부터 선택되고;  $R^2$ 는  $-H$ , 벤질, 또는  $6-CH_3-3-Py-(CH_2)_2-$ 로부터 선택되고;  $R^3$ 은  $-H$ ,  $-CH_3$  또는  $-Br$ 로부터 선택되는 화합물, 또는 그것의 어떤 약학적으로 허용가능한 염을 가진다. 다른 변형에서, 화합물은 라세미 혼합물 또는 실질적으로 순수한 (+) 또는 실질적으로 순수한 (-) 형태로서 시스(±) 2,8-디메틸-2,3,4,4a,5,9b-헥사히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌; 2-에틸-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌; 2-벤질-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌; 2,8-디메틸-5-벤질-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌; 2-메틸-5-(2-메틸-3-피리딜)에틸-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌; 2,8-디메틸-5-(2-(6-메틸-3-피리딜)에틸)-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌; 2-메틸-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌; 2,8-디메틸-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌; 또는 2-메틸-8-브로모-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌, 또는 이것의 어떤 약학적으로 허용가능한 염으로 구성되는 군으로부터 선택된다. 한 변형에서, 화합물은 화학식 A 또는 B( $R^1$ 은  $-CH_3$ 이고,  $R^2$ 는  $-H$ 이고  $R^3$ 은  $-CH_3$ 이다) 또는 그것의 어떤 약학적으로 허용가능한 염을 가진다. 화합물은 화학식 A 또는 B( $R^1$ 은  $CH_3CH_2-$  또는 벤질이고,  $R^2$ 는  $-H$ 이고,  $R^3$ 은  $-CH_3$ 이다) 또는 그것의 어떤 약학적으로 허용가능한 염을 가질 수 있다. 화합물은 화학식 A 또는 B( $R^1$ 은  $-CH_3$ 이고,  $R^2$ 는 벤질이고,  $R^3$ 은  $-CH_3$ 이다) 또는 그것의 어떤 약학적으로 허용가능한 염을 가질 수 있다. 화합물은 화학식 A 또는 B( $R^1$ 은  $-CH_3$ 이고,  $R^2$ 는  $6-CH_3-3-Py-(CH_2)_2-$ 이고,  $R^3$ 은  $-H$ 이다) 또는 그것의 어떤 약학적으로 허용가능한 염을 가질 수 있다. 화합물은 화학식 A 또는 B( $R^1$ 은  $-CH_3$ 이고,  $R^2$ 는  $-H$

이고, R<sup>3</sup>은 -H 또는 -CH<sub>3</sub>이다) 또는 그것의 어떤 약학적으로 허용가능한 염을 가질 수 있다. 화합물은 화학식 A 또는 B(R<sup>1</sup>은 -CH<sub>3</sub>이고, R<sup>2</sup>는 -H이고, R<sup>3</sup>은 -Br이다) 또는 그것의 어떤 약학적으로 허용가능한 염을 가질 수 있다. 화합물은 화학식 A 또는 B를 가질 수 있으며, R<sup>1</sup>은 저급 알킬 또는 아랄킬로부터 선택되고, R<sup>2</sup>는 수소, 아랄킬 또는 치환된 헤테로아랄킬로부터 선택되고 R<sup>3</sup>은 수소, 저급 알킬 또는 할로로부터 선택된다.

[0205] 시스템 및 방법에서 사용을 위한 화합물은 2,8-디메틸-5-(2-(6-메틸-3-피리딜)에틸)-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 산의 염, 염산염 또는 2염산염과 같은 그것의 어떤 약학적으로 허용가능한 염일 수 있다.

[0206] 피리도[4,3-b]인돌 환 구조(예를 들어, 화합물 1의 탄소 4a 및 9a)에서 2개의 입체중심을 가지는 본원에 개시된 어떤 화합물은 입체중심이 시스 또는 트랜스 형태인 화합물을 포함한다. 조성물은 실질적으로 순수한 S,S 또는 R,R 또는 S,R 또는 R,S 화합물의 조합과 같은 실질적으로 순수한 형태의 화합물을 포함할 수 있다. 실질적으로 순수한 화합물의 조성은, 조성물이 15% 이하 또는 10% 이하 또는 5% 이하 또는 3% 이하 또는 1% 이하의 다른 입체화학 형태인 화합물의 불순물을 함유한다는 것을 의미한다. 예를 들어, 실질적으로 순수한 S,S 화합물의 조성은, 조성물이 화합물의 R,R 또는 S,R 또는 R,S 형태의 15% 이하 또는 10% 이하 또는 5% 이하 또는 3% 이하 또는 1% 이하를 함유한다는 것을 의미한다. 조성물은 이러한 입체이성질체의 혼합물로서 화합물을 함유하며, 혼합물은 동일 또는 동일하지 않은 양의 거울상 이성질체(예를 들어, S,S 및 R,R) 또는 부분입체 이성질체(예를 들어, S,S 및 R,S 또는 S,R)일 수 있다. 조성물은 입체이성질체의 어떤 비율로 2 또는 3 또는 4가지의 이러한 입체이성질체의 혼합물로서 화합물을 함유할 수 있다. 피리도[4,3-b]인돌 환 구조 이외의 입체중심을 가지는 본원에 개시된 화합물은 제한되는 것은 아니지만, 어떤 비율의 거울상 이성질체 및 부분입체이성질체를 포함하는 이러한 화합물의 모든 입체화학적 변형을 의도하며, 라세미 및 거울상 이성질체 및 다른 가능한 혼합물을 포함한다. 입체화학이 구조에서 명확하게 나타나지 않는다면, 구조는 설명한 화합물의 모든 가능한 입체이성질체를 포함하는 것으로 의도된다.

[0207] 문헌으로부터 화합물 1-9로서 상기 열거된 화합물은 하기 간행물에서 상세하게 설명된다. 시스(±) 2,8-디메틸-2,3,4,4a,5,9b-헥사하이드로-1H-피리도[4,3-b]인돌 및 그것의 2염산염에 대한 신경 이완제 특성의 합성 및 연구는, 예를 들어, 하기 간행물에 기록된다: Yakhontov, L.N., Glushkov, R.G., *Synthetic therapeutic drugs*. A.G. Natradze, Ed., Moscow Medicina, 1983, p. 234-237. 상기 화합물 2, 8, 및 9의 합성, 및 세로토닌 길항제로서 그것의 특성에 대한 데이터는, 예를 들어, C.J. Cattanaach, A. Cohen & B.H. Brown, *J. Chem. Soc. (Ser. C)* 1968, p. 1235-1243에 기록된다. 상기 화합물 3의 합성은, 예를 들어, 논문 N.P. Buu-Hoi, O. Roussel, P. Jacquignon, *J. Chem. Soc.*, 1964, N 2, p. 708-711에 기록된다. N.F. Kucherova and N.K. Kochetkov (*General chemistry (Russ.)*), 1956, 26:3149-3154)는 상기 화합물 4의 합성을 기술한다. 상기 화합물 5 및 6의 합성은 A.N. Kost, M.A. Yurovskaya, T.V. Mel'nikova, in *Chemistry of heterocyclic compounds*, 1973, N 2, p. 207-212에서 기술된다. 상기 화합물 7의 합성은 U. Horlein in *Chem. Ber.*, 1954, Bd. 87, hft 4, 463-p. 472. M. Yurovskaya and I.L. Rodionov in *Chemistry of heterocyclic compounds* (1981, N 8, p. 1072-10)에 의해 기술된다.

[0208] 본 발명의 추가적인 조성물

[0209] 한 양태에서, 본 발명은 (a) 세포를 활성화하고, 세포의 분화를 촉진하고, 세포의 증식을 촉진하기에 충분한 양으로 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 약학적으로 허용가능한 염, 또는 두 가지 이상의 이것의 어떤 조합을 포함하는 제 1 치료제, 및 (b) 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 다른 양태에서, 본 발명은 (a) 세포를 활성화하고, 세포의 분화를 촉진하고, 세포의 증식을 촉진하기에 충분한 양으로 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염, 또는 두 가지 이상의 이것의 어떤 조합과 함께 인큐베이팅한 세포를 포함하는 제 1 치료제, 및 (b) 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학 조성물을 제공한다.

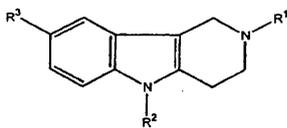
[0210] 어떤 상기 구체예에서, 약학 조성물은 더 나아가 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 제 2 치료제를 포함한다. 어떤 상기 구체예에서, 약학 조성물은 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물을 포함하는 제 2 치료제를 포함한다. 어떤 상기 구체예에서, 약학 조성물은 더 나아가 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 제 2 치료제를 포함하고, 더 나아가 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물을 포함하는 제 3 치료제를 포함한다.

[0211] 한 양태에서, 본 발명은 (a) 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 제 1 치료제, (b) 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물을 포함하는 제 2 치료제, 및 (c) 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 한 양태에서, 본 발명은 (a) 세포를 포함하는 제 1 치료제, (b) 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 제 2 치료제, 및 (c) 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학 조성물을 제공한다.

[0212] 어떤 상기 구체예에서, 약학 조성물은 더 나아가 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물을 포함하는 제 3 치료제를 포함한다. 어떤 상기 구체예에서, 약학 조성물은 줄기 세포, 뉴런 줄기 세포, 비-뉴런 세포 및 뉴런으로 구성되는 군으로부터 선택되는 세포 종류를 포함한다. 어떤 상기 구체예에서, 세포 종류는 뉴런 줄기 세포 또는 뉴런 세포이며, 약학 조성물은 세포의 하나 이상의 축색돌기의 길이를 증가시킨다. 어떤 상기 구체예에서, 세포 종류는 뉴런 줄기 세포이고, 약학 조성물은 뉴런 줄기 세포의 뉴런 세포로 분화를 촉진한다. 어떤 상기 구체예에서, 뉴런 줄기 세포는 해마 뉴런, 대뇌피질 뉴런, 또는 척수 운동 뉴런으로 분화한다. 어떤 상기 구체예에서, 세포는 개체에 투여 전에 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이션되지 않았다.

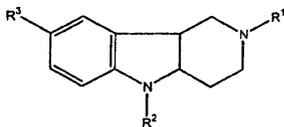
[0213] 어떤 상기 구체예에서, 수소화된 피리도[4,3-b]인돌은 테트라히드로 피리도[4,3-b]인돌이다. 어떤 상기 구체예에서, 수소화된 피리도[4,3-b]인돌은 헥사히드로 피리도[4,3-b]인돌이다. 어떤 상기 구체예에서, 수소화된 피리도[4,3-b]인돌은 하기의 화학식을 가진다:

[0214] (화학식 A)



[0215] 또는

[0216] (화학식 B)



[0217]

[0218] 상기식에서, R<sup>1</sup>은 저급 알킬 또는 아랄킬로부터 선택되고; R<sup>2</sup>는 수소, 알킬 또는 치환된 헤테로아랄킬로부터 선택되고; R<sup>3</sup>은 수소, 저급 알킬 또는 할로로부터 선택된다. 어떤 상기 구체예에서, 아랄킬은 PhCH<sub>2</sub>-이고, 치환된 헤테로아랄킬은 6-CH<sub>3</sub>-3-Py-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-이다. 어떤 상기 구체예에서, R<sup>1</sup>은 CH<sub>3</sub>-, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>-, 또는 PhCH<sub>2</sub>-로부터 선택되며; R<sup>2</sup>는 H-, PhCH<sub>2</sub>-, 또는 6-CH<sub>3</sub>-3-Py-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-로부터 선택되고; R<sup>3</sup>은 H-, CH<sub>3</sub>- 또는 Br-로부터 선택된다. 어떤 상기 구체예에서, 수소화된 피리도[4,3-b]인돌은 시스(±) 2,8-디메틸-2,3,4,4a,5,9b-헥사히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌; 2-에틸-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌; 2-벤질-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌; 2,8-디메틸-5-벤질-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌; 2-메틸-5-(2-메틸-3-피리딜)에틸-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌; 2,8-디메틸-5-(2-(6-메틸-3-피리딜)에틸)-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌; 2-메틸-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌; 2,8-디메틸-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌; 2-메틸-8-브로모-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌로 구성되는 군으로부터 선택된다. 어떤 상기 구체예에서, 수소화된 피리도[4,3-b]인돌은 2,8-디메틸-5-(2-(6-메틸-3-피리딜)에틸)-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌이다. 어떤 상기 구체예에서, 약학적으로 허용가능한 염은 약학적으로 허용가능한 산의 염이다. 어떤 상기 구체예에서, 약학적으로 허용가능한 염은 염산염이다. 어떤 상기 구체예에서, 수소화된 피리도[4,3-b]인돌은 2,8-디메틸-5-(2-(6-메틸-3-피리딜)에틸)-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌 2염산염이다.

[0219] 어떤 상기 구체예에서, R<sup>1</sup>은 CH<sub>3</sub>-이고, R<sup>2</sup>는 H이고 R<sup>3</sup>은 CH<sub>3</sub>-이다. 어떤 상기 구체예에서, R<sup>1</sup>은 CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>- 또는

PhCH<sub>2</sub>-이고, R<sup>2</sup>는 H-이고, R<sup>3</sup>은 CH<sub>3</sub>-이다. 어떤 상기 구체예에서, R<sup>1</sup>은 CH<sub>3</sub>-이고, R<sup>2</sup>는 PhCH<sub>2</sub>-이고, R<sup>3</sup>은 CH<sub>3</sub>-이다. 어떤 상기 구체예에서, R<sup>1</sup>은 CH<sub>3</sub>-이고, R<sup>2</sup>는 6-CH<sub>3</sub>-3-Py-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-이고, R<sup>3</sup>은 H-이다. 어떤 상기 구체예에서, R<sup>2</sup>는 6-CH<sub>3</sub>-3-Py-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-이다. 어떤 상기 구체예에서, R<sup>1</sup>는 CH<sub>3</sub>-이고, R<sup>2</sup>는 H-이고, R<sup>3</sup>은 H- 또는 CH<sub>3</sub>-이다. 어떤 상기 구체예에서, R<sup>1</sup>은 CH<sub>3</sub>-이고, R<sup>2</sup>는 H-이고, R<sup>3</sup>은 Br-이다. 어떤 상기 구체예에서, 성장 인자는 VEGF, IGF-1, FGF, NGF, BDNF, GCS-F, GMCS-F, 또는 이것의 둘 이상의 어떤 조합을 포함한다. 어떤 상기 구체예에서, 제 1 및 제 2 치료제는 순차적으로 투여된다. 어떤 상기 구체예에서, 제 1 및 제 2 치료제는 동시에 투여된다. 어떤 상기 구체예에서, 제 1 및 제 2 치료제는 동일한 용기에 함유된다. 어떤 상기 구체예에서, 제 1 및 제 2 치료제는 별개의 용기에 함유된다. 어떤 상기 구체예에서, 제 1 및 제 2 치료제는 적어도 상가 효과를 가진다. 어떤 상기 구체예에서, 제 1 및 제 2 치료제는 상승 효과를 가진다.

[0220]

제 2 또는 추가 치료제에서 사용을 위한 화합물

[0221]

적용 가능하다면, 본 방법은 (i) 치료 화합물 및/또는 세포 (ii) 하나 이상의 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물인 하나 이상의 제 2 또는 추가의/이후의 치료제를 사용할 수 있다.

[0222]

성장 인자

[0223]

본원에서 기술되는 방법, 조성물, 및 키트에서 사용을 위한 화합물은 성장 인자(예를 들어, 혈관내피성장인자 및/또는 영양 성장인자), 그것의 단편, 및 그것의 효과를 모방하는 화합물을 포함할 수 있다. 성장 인자의 예는 NT-3, NT-4/5, HGF, CNTF, TGF-알파, TGF-베타 패밀리 멤버, 뉴로트로핀-3, PDGF, GDNF (신경교-유래 항신경성 인자), EGF 패밀리 멤버, IGF, 인슐린, BMPs, Wnt, 헤지호그, 헤레굴린, 그것의 단편, 및 그것의 모방체를 포함한다.

[0224]

혈관내피세포성장인자

[0225]

본원에서 기술되는 방법, 조성물, 및 키트에서 사용을 위한 화합물은 혈관내피성장인자(VEGF), 그것의 단편, 및 /또는 그것의 효과를 모방하는 화합물을 포함할 수 있다. 대표적인 VEGF 분자는 VEGF121, VEGF145, VEGF165, VEGF189, VEGF206, 다른 유전자 이소형 및 그것의 단편을 포함한다(Sun F.Y., Guo X., "Molecular and cellular mechanisms of neuroprotection by vascular endothelial growth factor," *J Neurosci. Res.*, 2005, 79(1-2): 180-4). 일부 구체예에서, VEGF 단편은 전장 VEGF 단백질로부터 적어도 25, 50, 75, 100, 150 또는 200개의 연속 아미노산을 함유하고, 대응하는 전장 VEGF 단백질의 활성의 적어도 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 100%의 활성을 가진다.

[0226]

영양 성장 인자

[0227]

본원에서 기술되는 방법, 조성물, 및 키트에서 사용을 위한 화합물은 영양 성장 인자(예를 들어, IGF-1, FGF (산성 및 염기성), NGF, BDNF, GCS-F 및/또는 GMCS-F), 그것의 단편, 및 그것의 효과를 모방하는 화합물을 포함할 수 있다. GCS-F 및 GMCS-F는 새로운 뉴런 성장을 자극한다. 영양 성장 인자는 세포 성장을 자극할 수 있기 때문에, 그것들은 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 유리한 질병 또는 질환을 개선, 안정화, 제거, 지연 또는 예방하는 것으로 예상된다. 다임본과 같은 수소화된 피리도[4,3-b]인돌과 영양 성장 인자의 조합은 새로운 세포 성장 자극과 함께 보여진 아포토시스 속도를 감소시킬 수 있다. 신경 성장 인자의 효과를 모방하는 대표적인 화합물은 Xaliproden (Sanofi-Aventis) [SR 57746A, xaliproden; Xapрила]이다.

[0228]

항-세포사멸 화합물

[0229]

본원에서 기술되는 방법, 조성물 및 키트에서 사용을 위한 화합물은 항-세포사멸 화합물을 포함할 수 있다(예를 들어, 항-아포토시스 화합물). 대표적인 항-세포사멸 화합물은 항-아포토시스 화합물, 예로써, IAP 단백질, Bcl-2 p단백질, Bcl-X<sub>L</sub>, Trk 수용체, Akt, PI3 키나아제, Gab, Mek, E1B55K, Raf, Ras, PKC, PLC, FRS2, rAPs/SH2B, Np73, 그것의 단편, 및 모방체를 포함한다.

[0230]

치료제의 투여, 조제물, 및 용량

[0231]

달리 명확하게 나타나지 않는다면, 단독- 또는 조합 치료제 중 하나로서 본원에 사용되는 바와 같은 치료제(예를 들어: (1) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염, (2) (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염 및 (ii) 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물의 조합, (3) 치료 화합물 또는 그것의 약학적

으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅한 세포 (4) (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염 및 (ii) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅한 세포의 조합, (5) (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염, (ii) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅한 세포, 및 (iii) 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물의 조합, (6) (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염 및 (ii) 세포 (예로써, 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅되지 않은 세포)의 조합, 또는 (7) (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염, (ii) 세포 (예로써, 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이팅되지 않은 세포), 및 (iii) 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물의 조합 중 어떤 것)은 어떤 이용가능한 투약 경로 및 어떤 적당한 투약 형태에 의해 개체에 투여될 수 있다. 한 변형에서, 치료제는 통상적인 즉시 방출 투약 형태로서 개체에 투여된다. 치료제가 조합 치료제라면, 본 발명은 또한 조합의 적어도 한 성분이 통상적인 즉시 방출 투약 형태로서 개체에 투여되는 치료제의 투여를 포함한다. 한 변형에서, 치료제는 서방출 형태 또는 서방출 시스템의 부분으로서, 또는 제어된 방출 형태로서 개체에 투여된다. 치료제가 조합 치료제라면, 본 발명은 또한 조합의 적어도 한 성분이 서방출 형태 또는 서방출 시스템의 부분으로서, 또는 제어된 방출 형태로서 개체에 투여되는 치료제의 투여를 포함한다.

[0232] 치료제 (1)-(7) 중 어떤 것과 같이 본원에서 사용을 위한 상기 기술한 바와 같은 치료제는 즉시 또는 서방출로, 대응하는 경로에 의한 전달을 위해 경구, 점막(예를 들어, 비강, 혀밀, 질, 구강 또는 직장), 비경구(예를 들어, 근육내, 복강내, 피하 또는 정맥내), 경막내, 안구내, 국소 또는 경피 전달 형태를 포함하는 어떤 이용가능한 전달 경로에 대해 조제될 수 있다. 치료제는 적당한 담체와 함께 조제되어 전달 형태를 제공할 수 있는데, 제한되는 것은 아니지만, 서방출 형태일 수 있으며, 제한되는 것은 아니지만: 정제, 캡슐, 캡슐(예로써, 경질 캡슐 및 연질 캡슐), 교각, 트로키, 로젠지, 검, 분산액, 좌약, 연고, 스폰지(점질약), 고약, 분말, 드레싱, 크림, 용액, 패치, 에어로졸(예를 들어, 비강 스프레이 또는 흡입기), 겔, 현탁액(예를 들어, 수성 또는 비-수성 액체 현탁액, 수중유 액체 에멀전 또는 유중수 액체 에멀전), 용액 및 엘릭시르를 포함한다. 투여 및 전달의 동일 또는 다른 경로가 조합 치료제의 성분에 대해 사용될 수 있다.

[0233] 일부 구체예에서, 치료법의 투여는 1일에 1회, 1일에 2회, 1일에 3회, 또는 더 높은 빈도로 투여된다. 일부 구체예에서, 치료 조성물의 투여는 1주일에 1회, 1주일에 2회, 1주일에 3회, 1주일에 4회, 또는 더 높은 빈도로 투여된다. 일부 구체예에서, 치료 조성물의 투여는 1주일마다, 2주일마다, 3주일마다, 4주일마다, 5주일마다, 6주일마다, 또는 훨씬 더 긴 간격으로 제어된 방출 조제물로서 투여된다. 일부 구체예에서, 치료 화합물의 약 1 ng/일, 10 ng/일, 100 ng/일, 250 ng/일, 500 ng/일, 1 µg/일, 5 µg/일, 10 µg/일, 20 µg/일, 40 µg/일, 80 µg/일, 160 µg/일, 320 µg/일, 또는 120 mg/일의 용량(예를 들어, 경구 투여를 위한 용량)이 투여된다. 일부 구체예에서, 치료 화합물은 약 1 ng/일, 10 ng/일, 100 ng/일, 250 ng/일, 500 ng/일, 1 µg/일, 5 µg/일, 10 µg/일, 20 µg/일, 25 µg/일, 40 µg/일, 80 µg/일, 125 µg/일, 160 µg/일, 320 µg/일, 또는 120 mg/일의 용량으로 뇌에 주사에 의해(예를 들어, 경막 내 또는 뇌실 내 투여) 직접 투여된다. 일부 구체예에서, 뇌에서 서방출 펌프 또는 다른 장치는 본원에 기술되는 어떤 용량을 투여하도록 분출한다.

[0234] 적용가능하다면, 조합 치료제의 하나 이상의 성분의 조합된 투여는 별개의 조제물 또는 단일 약학 조제물을 사용하는 조합 성분의 공동-투여 또는 동시 투여 또는 어떤 순서의 연속 투여를 포함할 수 있다. 동시 투여의 일부 구체예에 대해, 조합 치료제의 한 성분의 투여는 조합 치료제의 다른 성분의 투여와 중복된다. 다른 구체예에서, 조합 치료제의 성분의 투여는 동시가 아니다. 예를 들어, 일부 구체예에서, 조합 치료제의 치료 화합물의 투여는 치료제의 다른 성분(예로써, 본원에 기술되는 세포 및/또는 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물)이 투여되기 전에 종결된다. 일부 구체예에서, 치료제의 다른 성분의 투여는 치료 화합물이 투여되기 전에 종결된다. 순차적 투여에 있어서, 조합 성분 둘 다(또는 모두)가 동시에 그것들의 생물학적 활성을 발휘하는 동안의 시간 기간이 바람직하다. 따라서, 치료 화합물은 치료제의 다른 성분의 투여 전, 동안 또는 후에 투여될 수 있다. 다양한 구체예에서, 조합 치료제의 치료 화합물의 적어도 한 투여와 다른 성분의 적어도 한 투여 사이의 시간은 약 15분 이상, 예로써, 약 20, 30, 40, 50, 또는 60 분 중 어떤 것 이상, 또는 1시간 내지 약 24시간, 약 1시간 내지 약 48시간, 약 1일 내지 약 7일, 약 1주일 내지 약 4주일, 약 1주일 내지 약 8주일, 약 1주일 내지 약 12주일, 약 1개월 내지 약 3개월, 또는 약 1개월 내지 약 6개월 중 어떤 것 이상이다. 다른 구체예에서, 조합 치료제의 치료 화합물 및 다른 성분은 단일 조제물 또는 별개의 조제물로 개체에게 동시에 투여된다.

[0235] 전달 형태에서 각 치료제의 양은 어떤 유효한 양일 수 있다. 치료제 전달 형태에 함유되는 각 치료 화합물의 양은, 제한되는 것은 아니지만, 치료 화합물의 약 10 ng 내지 약 1,500 mg 또는 그 이상일 수 있다.

[0236] 한 변형에서, 전달 형태는 치료 화합물의 1일 용량이 약 30 mg 미만의 화합물인 치료 화합물의 양을 포함한다.

일부 구체예에서, 전달 형태는 치료 화합물의 약 1 ng/일, 10 ng/일, 100 ng/일, 250 ng/일, 500 ng/일, 1 µg/일, 5 µg/일, 10 µg/일, 20 µg/일, 25 µg/일, 40 µg/일, 80 µg/일, 125 µg/일, 160 µg/일, 320 µg/일, 또는 120 mg/일의 용량(예를 들어, 경구 투여를 위한 용량)을 포함한다. 단독 또는 조합 치료제에서 치료 화합물의 투약 형태를 수반하는 치료 섭생은, 즉시 방출이든 서방출 시스템이든, 치료 화합물을 체중의 약 0.1 내지 약 10 mg/kg의 용량의 용량으로 적어도 1일에 1회 및 치료 효과를 이루는데 요구되는 시간의 기간 동안 개체에 투여하는 것을 수반할 수 있다. 다른 변형에서, 본원에 기술되는 치료 화합물의 1일 용량(또는 다른 투약 빈도)는 약 0.1 내지 약 8 mg/kg; 또는 약 0.1 내지 약 6 mg/kg; 또는 약 0.1 내지 약 4 mg/kg; 또는 약 0.1 내지 약 2 mg/kg; 또는 약 0.1 내지 약 1 mg/kg; 또는 약 0.5 내지 약 10 mg/kg; 또는 약 1 내지 약 10 mg/kg; 또는 약 2 내지 약 10 mg/kg; 또는 약 4 내지 약 10 mg/kg; 또는 약 6 내지 약 10 mg/kg; 또는 약 8 내지 약 10 mg/kg; 또는 약 0.1 내지 약 5 mg/kg; 또는 약 0.1 내지 약 4 mg/kg; 또는 약 0.5 내지 약 5 mg/kg; 또는 약 1 내지 약 5 mg/kg; 또는 약 1 내지 약 4 mg/kg; 또는 약 2 내지 약 4 mg/kg; 또는 약 1 내지 약 3 mg/kg; 또는 약 1.5 내지 약 3 mg/kg; 또는 약 2 내지 약 3 mg/kg; 또는 약 0.001 내지 약 10 mg/kg; 또는 약 0.001 내지 약 4 mg/kg; 또는 약 0.001 내지 약 2 mg/kg; 또는 약 0.01 내지 약 10 mg/kg; 또는 약 0.01 내지 약 4 mg/kg; 또는 약 0.01 mg/kg 내지 2 mg/kg; 또는 약 0.005 내지 약 10 mg/kg; 또는 약 0.005 내지 약 4 mg/kg; 또는 약 0.005 내지 약 3 mg/kg; 또는 약 0.005 내지 약 2 mg/kg; 또는 약 0.05 내지 10 mg/kg; 또는 약 0.05 내지 8 mg/kg; 또는 약 0.05 내지 4 mg/kg; 또는 약 0.05 내지 3 mg/kg; 또는 약 0.05 내지 약 2 mg/kg; 또는 약 10 kg 내지 약 50 kg; 또는 약 10 내지 약 100 mg/kg 또는 약 10 내지 약 250 mg/kg; 또는 약 50 내지 약 100 mg/kg 또는 약 50 내지 200 mg/kg; 또는 약 100 내지 약 200 mg/kg 또는 약 200 내지 약 500 mg/kg; 또는 약 100 mg/kg 이상의 투약; 또는 약 500 mg/kg 이상의 투약이다. 일부 구체예에서, 다임본과 같은 치료 화합물의 1일 투약은, 예로써, 각각의 투여되는 치료제의 1일 투약이, 제한되는 것은 아니지만, 약 0.05 mg/kg, 약 0.005 mg/kg, 또는 약 0.001 mg/kg의 1일 투약을 포함할 수 있는 약 0.1 mg/kg 미만으로, 성장 인자 또는 항-세포사멸 화합물인 제 2 성분과 함께 조합 치료제로서 투여된다. 치료제가 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물을 함유하면, 상기 투약은 치료 화합물 뿐 아니라 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물을 적용할 수 있다.

[0237] 조합 치료제(동시 및 순차적 투여 둘 다)를 수반하는 일부 구체예에서, 제 1 치료제(예를 들어, 다임본과 같은 치료 화합물) 및 제 2 치료제(예를 들어, 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물 및/또는 세포)는 미리 결정된 비율로 투여된다. 예를 들어, 일부 구체예에서, 제 1 치료제(예를 들어, 다임본과 같은 치료 화합물) 대 제 2 치료제의 중량 비는 약 1 대 1이다. 일부 구체예에서, 중량비는 약 0.001 대 약 1 및 약 100 대 약 1, 또는 약 0.01 대 약 1 및 100 대 약 1일 수 있다. 일부 구체예에서, 제 1 치료제(예를 들어, 다임본과 같은 치료 화합물) 대 제 2 치료제의 중량비는 약 100:1, 50:1, 30:1, 10:1, 9:1, 8:1, 7:1, 6:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2:1, 및 1:1 중 어떤 것 미만이다. 일부 구체예에서, 제 1 치료제 대 제 2 치료제의 중량비는 약 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1, 30:1, 50:1, 100:1 중 어떤 것 이상이다. 다른 비율이 또한 생각된다.

[0238] 본원에서 상기 기술된 치료제 (1)-(7)과 같은 치료제는 적어도 약 1개월, 적어도 약 2개월, 적어도 약 3개월, 적어도 약 6개월, 또는 적어도 약 12개월 또는 그 이상과 같은 원하는 시간 또는 지속의 기간 동안 유효한 투여 섭생에 따라서 개체에 투여될 수 있다. 한 변형에서, 치료제는 개체의 수명의 지속 동안 매일 또는 간헐적인 스케줄로 투여된다. 조합 치료제의 성분은 동일 또는 다른 지속기간 동안 투여될 수 있다.

[0239] 본원에 개시되는 어떤 조합을 포함하는 본원에서 기술되는 치료제 (1)-(7)과 같은 치료제에 대한 투여 빈도는 약 1주일에 1회 투여일 수 있다. 투여 빈도는 약 1일 1회 투여일 수 있다. 투여 빈도는 약 1주일에 1회 이상의 투여일 수 있다. 투여 빈도는 1일에 3회 미만의 투여일 수 있다. 투여 빈도는 약 1일 3회 미만의 투여일 수 있다. 투여 빈도는 약 1주일에 3회의 투여일 수 있다. 투여 빈도는 약 1주일에 4회의 투여일 수 있다. 투여 빈도는 약 1주일에 2회의 투여일 수 있다. 투여 빈도는 약 1주일에 1회 이상이지만 매일의 투여 보다는 적을 수 있다. 투여 빈도는 대략 1개월에 1회의 투여일 수 있다. 투여 빈도는 대략 1주일에 2회의 투여일 수 있다. 투여 빈도는 대략 1개월에 1회 이상이지만 대략 1주일에 1회 미만의 투여일 수 있다. 투여 빈도는 간헐적일 수 있다 (예를 들어, 7일 동안 1일에 1회 투여 후 7일 동안 투여 없음, 어떤 14일의 시간 기간 동안 반복, 예로써, 약 2개월, 약 4개월, 약 6개월 이상). 투여 빈도는 연속적일 수 있다(예를 들어, 연속적인 몇 주 동안 1주일에 1회 투여). 어떤 투여 빈도는 본원에 기술되는 어떤 투약과 함께 본원에 기술되는 어떤 치료법을 사용할 수 있으며, 예를 들어, 투여 빈도는 치료 화합물 및 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물 및/또는 세포인 제 2 또는 이후의 치료제 각각에서 0.1 mg/kg미만 또는 약 0.05 mg/kg 미만의 1일 1회 투약일 수 있다.

[0240] 동일 또는 다른 투여 빈도는 조합 치료제의 성분들에 대해 사용될 수 있다. 개별적으로 투여될 때, 치료 화합물 및 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물 및/또는 세포는 다른 투여 빈도 또는 간격으로 투여될 수 있다. 예를

들어, 치료 화합물은 주마다 투여될 수 있으며, 한편, 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물 및/또는 세포가 더 또는 덜 빈번하게 투여될 수 있다

[0241] 약학 조제물

[0242] 본원에 기술되는 치료제 (1)-(7)과 같은 본원에 기술되는 치료제는 약리학적으로 허용가능한 담체와 함께 활성 성분으로서 치료제의 성분을 조합함으로써 약학 조제물과 같은 조제물의 제조에 사용될 수 있으며, 이것은 당업계에 공지되어 있다. 시스템의 치료 형태에 따라서(예를 들어, 경피 패치 vs. 경구 정제), 담체는 다양한 형태일 수 있다. 게다가, 약학 제제는 보존제, 가용화제, 안정화제, 재-습윤제, 유화제, 감미제, 염료, 조절제, 삼투압의 조절을 위한 염, 완충제, 코팅제 또는 항산화제를 함유할 수 있다. 일부 구체예에서, 약학 조성물(예를 들어, 세포를 함유하는 조성물)은 식염수(예로써, pH=7.0으로 완충된 식염수), 탈이온수(예로써, pH=7.0으로 완충된 탈이온수), 또는 HEPES 완충제(예로써, pH=7.0의 HEPES 완충제)를 포함한다. 조합 치료제를 포함하는 제제는 또한 가치있는 치료적 특성을 가지는 다른 물질을 함유할 수 있다. 조합 치료제의 성분은 함께 또는 개별적으로 투여되는 동일 또는 다른 조제물의 부분으로서 제조될 수 있다. 치료 형태는 통상의 표준 용량에 의해 나타날 수 있고, 공지된 약학적 방법에 의해 제조될 수 있다. 조합 치료제의 어떤 공동-투여된 성분의 적당한 양은 성분의 조합된 작용(예를 들어, 상가 또는 상승 효과)에 기인하여 선택적으로 낮춰질 수 있다. 적당한 조제물은, 예를 들어, 본원에 참고로써 포함되는 *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Company, Philadelphia, PA, 20<sup>th</sup> ed. (2000)에서 확인할 수 있다.

[0243] 한 변형에서, 치료제(단독- 또는 조합)는 단위 투약 형태로서 제공된다. 본 발명은 치료제 (1)-(7) 중 어떤 것의 단위 투약 형태를 포함한다. 치료제가 세포 및 치료 화합물을 필요로 하는 일부 구체예에서, 하나 이상의 세포는 약 1 pM 내지 약 5 mM, 약 10 pM 내지 약 500 μM, 약 50 pM 내지 약 100 μM, 약 0.25 nM 내지 약 20 μM, 약 1 nM 내지 약 5 μM, 약 6 nM 내지 약 800 nM, 약 30 nM 내지 약 160 nM의 범위의 농도에서 치료 화합물(예로써, 식염수 중의 다이본)과 조합될 수 있다. 치료 화합물과 함께 세포의 생체 밖 인큐베이션에 대한 다양한 구체예에서, 식염수 중의 다이본과 같은 치료 화합물은 약 0.01 nM, 0.05 nM, 0.25 nM, 1.25 nM, 6.25 nM, 31.25 nM, 156.25 nM, 781 nM, 3.905 μM, 19.530 μM, 97.660 μM, 또는 488.280 μM의 농도로 세포에 첨가된다.

[0244] 키트

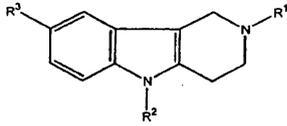
[0245] 본 발명은 (a) 하기 중 어떤 것과 같은 본원에 기술되는 바와 같은 치료제: (1) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염, (2) (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염 및 (ii) 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물의 조합, (3) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이션한 세포 (4) (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염 및 (ii) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이션한 세포의 조합, (5) (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염, (ii) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이션한 세포, 및 (iii) 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물의 조합, (6) (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염 및 (ii) 세포(예로써, 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이션하지 않은 세포)의 조합, 또는 (7) (i) 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염, (ii) 세포(예로써, 치료 화합물 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이션하지 않은 세포), 및 (iii) 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물의 조합; 및 (b) 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 유리한 질병 또는 질환의 개시를 치료, 예방, 지연시키고, 및/또는 발생을 지연시키는 사용을 위한 설명서를 포함하는 키트를 제공한다. 키트는 치료제 (1)-(7)과 같은 본원에 개시된 치료제 중 어떤 것 및 사용을 위한 설명서를 사용할 수 있다. 한 변형에서, 키트는 다이본과 같은 하나 이상의 치료 화합물을 사용한다. 키트는 본원에 기술되는 어떤 하나 이상의 사용을 위해 사용될 수 있고, 따라서, 제한되는 것은 아니지만, 뉴런 징후, 신경퇴행성 질병, 알츠하이머병, 노인성 모발 손실, 노인성 체중 감소, 노인성 시각장애, 헌팅턴 병, 정신분열증, 인지기능장애 증후군(CDDS), 뉴런 사멸 매개 안구질환, 황반변성, 근위축성 측삭경화증(ALS), 파킨슨병, 루이바디병, 멘케스 병, 윌슨 병, 크로이즈펠트-야콥병, 파르병, 뇌졸중, 또는 뇌출혈 손상과 같은 뇌순환을 수반하는 급성 또는 만성 장애, 노인성 기억력 장애(AAMI) 또는 경도인지장애(MCI)를 포함하는 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 유리한 질병 또는 질환의 개시를 치료, 예방, 지연시키고, 및/또는 발생을 지연시키기 위한 설명서를 함유할 수 있다. 한 변형에서, 키트는 다이본을 사용한다. 키트의 치료제는 어떤 허용가능한 형태로 조제될 수 있다. 예를 들어, 키트에 포함되는 화합물은 완충 용액, 동결건조된 분말, 1회용 앰플 등으로 공급될 수 있다. 일부 구체예에서, 키트는 조합 치료제의 성분인, 예로써, 개별 용기, 바이알 등에 함께 또는 개별적으로 포장되는 조합 치료제를 함

유할 수 있다.

- [0246] 다양한 구체예에서, 키트는 성장 인자 (예를 들어, VEGF 단백질 또는 영양 성장 인자) 및/또는 항-세포사멸 화합물의 양 또는 활성을 증가시키는 화합물을 포함한다. 일부 구체예에서, 하나 이상의 이들 활성은 치료 전의 동일 피험자에서 대응하는 활성과 비교하여 또는 조합 치료제를 받지 않은 다른 피험자에서 대응하는 활성과 비교하여 적어도 또는 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 또는 100%로써 변화한다.
- [0247] 키트는 일반적으로 적당한 포장을 포함한다. 키트는 본원에 기술되는 어떤 화합물을 포함하는 하나 이상의 용기를 포함할 수 있다. 적당한 포장은, 제한되는 것은 아니지만, 바이알, 병, 단지, 유연포장(예를 들어, 비닐 봉지) 등을 포함한다. 각 성분(하나 이상의 성분이 있다면)은 개별 용기로 포장될 수 있고 또는 일부 성분은 교차-반응성 및 저장 수명이 허용하는 하나의 용기에서 조합될 수 있다. 키트는 선택적으로 완충제와 같은 추가 성분을 제공할 수 있다.
- [0248] 키트는 본 발명의 방법의 성분(들)의 사용(예를 들어, 뉴런 징후의 개시 및/또는 발생을 치료, 예방 및/또는 지연시킴)에 대하여 선택적으로, 비록 설명서를 함유하는 전자 저장 매체(예를 들어, 자기 디스크 또는 광학 디스크)가 또한 허용될 수 있음에도 불구하고, 일반적으로 찍여진 설명서인, 설명서의 세트를 포함할 수 있다. 키트에 포함되는 설명서는 일반적으로 투약에 대한 정보, 투약 스케줄, 및 투여 경로와 같이 성분 및 개체에 대한 그것의 투여와 같은 정보를 포함한다.
- [0249] 용기는 단일 용량, 대용량 포장(예를 들어, 다회-용량 포장) 또는 하위 단위 용량일 수 있다. 예를 들어, 키트는 치료 약제 및/또는 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물 및/또는 세포인 제 2 화합물의 충분한 투약을 함유하여 연장된 기간, 예로써, 1주, 2주, 3주, 4주, 6주, 8주, 3개월, 4개월, 5개월, 7개월, 8개월, 9개월 또는 그 이상 동안 개체의 효과적인 치료를 제공하도록 제공될 수 있다. 키트는 또한 치료제의 다중 단위 용량 및 사용을 위한 설명서를 포함하며, 저장에 충분한 양으로 포장되고, 약국(예를 들어, 병원 약국 및 조제 약국)에서 사용될 수 있다.
- [0250] *본 발명의 추가적인 키트*
- [0251] 한 양태에서, 본 발명은 (a) 세포를 활성화하고, 세포의 분화를 촉진하고, 세포의 증식을 촉진하기에 충분한 양으로 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 약학적으로 허용가능한 염, 또는 이것의 두 가지 이상의 어떤 조합을 포함하는 제 1 치료제, 및 (b) 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 유리한 질환의 진행을 치료, 예방, 늦추고, 개시를 지연시키고, 및/또는 발생을 지연시키는데 사용을 위한 설명서를 포함하는 키트를 제공한다. 다른 양태에서, 본 발명은 (a) 세포를 활성화하고, 세포의 분화를 촉진하고, 세포의 증식을 촉진하기에 충분한 조건하에서 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염, 또는 이것의 두 가지 이상의 어떤 조합과 함께 인큐베이팅한 세포를 포함하는 제 1 치료제, 및 (b) 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 유리한 질환의 진행을 치료, 예방, 늦추고, 개시를 지연시키고, 및/또는 발생을 지연시키는 것에 사용을 위한 설명서를 포함하는 키트를 제공한다. 한 구체예에서, 키트는 더 나아가 수소화된 피리도 [4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 제 2 치료제를 포함한다. 한 구체예에서, 키트는 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물을 포함하는 제 2 치료제를 포함한다. 한 구체예에서, 키트는 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 제 2 치료제를 포함하고, 더 나아가 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물을 포함하는 제 3 치료제를 포함한다.
- [0252] 한 양태에서, 본 발명은 (a) 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 제 1 치료제, (b) 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물을 포함하는 제 2 치료제, 및 (c) 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 유리한 질병의 진행을 치료, 예방, 늦추고, 개시를 지연시키고, 및/또는 발생을 지연시키는데 사용을 위한 설명서를 포함한다. 한 양태에서, 본 발명은 (a) 세포를 포함하는 제 1 치료제, (b) 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 제 2 치료제, 및 (c) 하나 이상의 세포 종류의 활성화, 분화, 및/또는 증식이 유리한 질환의 진행을 치료, 예방, 늦추고, 개시를 지연시키고, 및/또는 발생을 지연시키는데 사용을 위한 설명서를 포함한다. 한 구체예에서, 키트는 성장 인자 및/또는 항-세포사멸 화합물을 포함하는 제 3 치료제를 포함한다.
- [0253] 어떤 상기 구체예에서, 세포 종류는 줄기 세포, 뉴런 줄기 세포, 비-뉴런 세포 및 뉴런으로 구성되는 군으로부터 선택된다. 어떤 상기 구체예에서, 세포 종류는 뉴런 줄기 세포 또는 뉴런 세포이며, 제 1 치료제 및/또는 제 2 치료제는 세포의 하나 이상의 축삭돌기의 길이를 증가시킨다. 어떤 상기 구체예에서, 세포 종류는 뉴런 줄기 세포이며, 제 1 치료제 및/또는 제 2 치료제는 뉴런 줄기 세포의 뉴런 세포로의 분화를 촉진한다. 어떤 상기 구

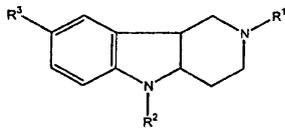
체에서, 뉴런 줄기 세포는 해마 뉴런, 대뇌피질 뉴런, 또는 척수 운동 뉴런으로 분화한다. 어떤 상기 구체에서, 세포는 개체에 투여 전 수소화된 피리도[4,3-b]인돌 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 염과 함께 인큐베이션되지 않는다. 어떤 상기 구체에서, 수소화된 피리도[4,3-b]인돌은 테트라히드로 피리도[4,3-b]인돌이다. 어떤 상기 구체에서, 수소화된 피리도[4,3-b]인돌은 하기의 화학식을 가진다:

[0254] (화학식 A)



[0255] 또는

[0256] (화학식 B)



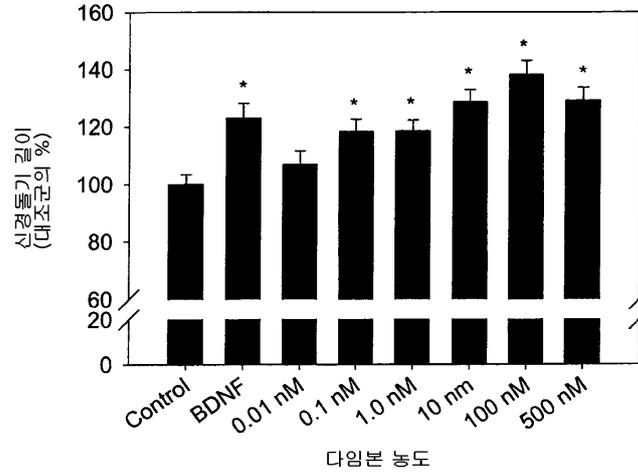
[0257] 상기식에서 R<sup>1</sup>은 저급 알킬 또는 아랄킬로부터 선택되고; R<sup>2</sup>는 수소, 알킬 또는 치환된 헤테로아랄킬로부터 선택되고; R<sup>3</sup>은 수소, 저급 알킬 또는 할로로부터 선택된다. 어떤 상기 구체에서, 아랄킬은 PhCH<sub>2</sub>-이고 치환된 헤테로아랄킬은 6-CH<sub>3</sub>-3-Py-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-이다. 어떤 상기 구체에서, R<sup>1</sup>은 CH<sub>3</sub>-, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>-, 또는 PhCH<sub>2</sub>-로부터 선택되고; R<sup>2</sup>는 H-, PhCH<sub>2</sub>-, 또는 6-CH<sub>3</sub>-3-Py-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-로부터 선택되고; R<sup>3</sup>은 H-, CH<sub>3</sub>- 또는 Br-로부터 선택된다. 어떤 상기 구체에서, 수소화된 피리도[4,3-b]인돌은 시스(±) 2,8-디메틸-2,3,4,4a,5,9b-헥사히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌; 2-에틸-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌; 2-벤질-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌; 2,8-디메틸-5-벤질-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌; 2-메틸-5-(2-메틸-3-피리딜)에틸-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌; 2,8-디메틸-5-(2-(6-메틸-3-피리딜)에틸)-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌; 2-메틸-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌; 2,8-디메틸-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌; 및 2-메틸-8-브로모-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌로 구성되는 군으로부터 선택된다.

[0259] 어떤 상기 구체에서, 수소화된 피리도[4,3-b]인돌은 2,8-디메틸-5-(2-(6-메틸-3-피리딜)에틸)-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌이다. 어떤 상기 구체에서, 약학적으로 허용가능한 염은 약학적으로 허용가능한 산의 염이다. 어떤 상기 구체에서, 약학적으로 허용가능한 염은 염산염이다. 어떤 상기 구체에서, 수소화된 피리도[4,3-b]인돌은 2,8-디메틸-5-(2-(6-메틸-3-피리딜)에틸)-2,3,4,5-테트라히드로-1H-피리도[4,3-b]인돌 2 염산염이다. 어떤 상기 구체에서, R<sup>1</sup>은 CH<sub>3</sub>-이고, R<sup>2</sup>는 H이고 R<sup>3</sup>은 CH<sub>3</sub>-이다. 어떤 상기 구체에서, R<sup>1</sup>은 CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>- 또는 PhCH<sub>2</sub>-이고, R<sup>2</sup>는 H-이고, R<sup>3</sup>은 CH<sub>3</sub>-이다. 어떤 상기 구체에서, R<sup>1</sup>은 CH<sub>3</sub>-이고, R<sup>2</sup>는 PhCH<sub>2</sub>-이고, R<sup>3</sup>은 CH<sub>3</sub>-이다. 어떤 상기 구체에서, R<sup>1</sup>은 CH<sub>3</sub>-이고, R<sup>2</sup>는 6-CH<sub>3</sub>-3-Py-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-이고, R<sup>3</sup>은 H-이다. 어떤 상기 구체에서, R<sup>2</sup>는 6-CH<sub>3</sub>-3-Py-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-이다. 어떤 상기 구체에서, R<sup>1</sup>은 CH<sub>3</sub>-이고, R<sup>2</sup>는 H-이고, R<sup>3</sup>은 H- 또는 CH<sub>3</sub>-이다. 어떤 상기 구체에서, R<sup>1</sup>은 CH<sub>3</sub>-이고, R<sup>2</sup>는 H-이고, R<sup>3</sup>은 Br-이다. 어떤 상기 구체에서, 성장 인자는 VEGF, IGF-1, FGF, NGF, BDNF, GCS-F, GMCS-F, 또는 이것의 둘 이상의 어떤 조합을 포함한다. 어떤 상기 구체에서, 제 1 및 제 2 치료제는 순차적으로 투여된다. 어떤 상기 구체에서, 제 1 및 제 2 치료제는 동시에 투여된다. 어떤 상기 구체에서, 제 1 및 제 2 치료제는 동일한 약학 조성물에 함유된다. 어떤 상기 구체에서, 제 1 및 제 2 치료제는 별개의 약학 조성물에 함유된다. 어떤 상기 구체에서, 제 1 및 제 2 치료제는 적어도 상가 효과를 가진다. 어떤 상기 구체에서, 제 1 및 제 2 치료제는 상승 효과를 가진다.

[0260] 하기 실시예는 예시를 위해 제공되며 본 발명을 제한하는 것은 아니다.

도면

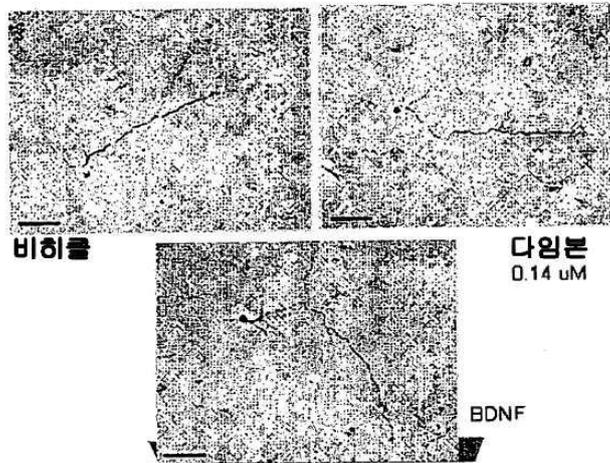
도면1



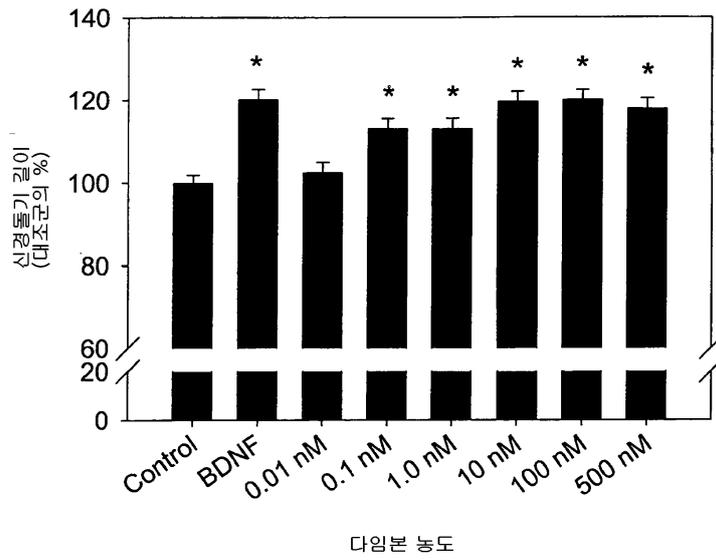
평균값 +/- 평균의 표준오차

\* p < 0.01 vs 대조군

도면2

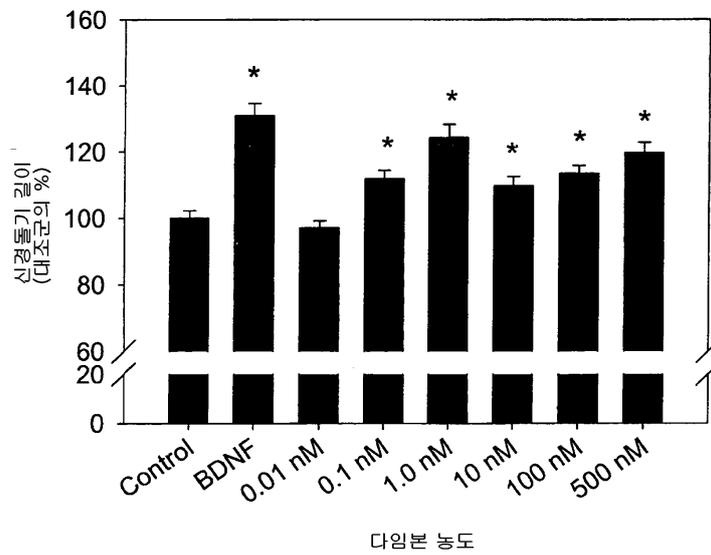


도면3



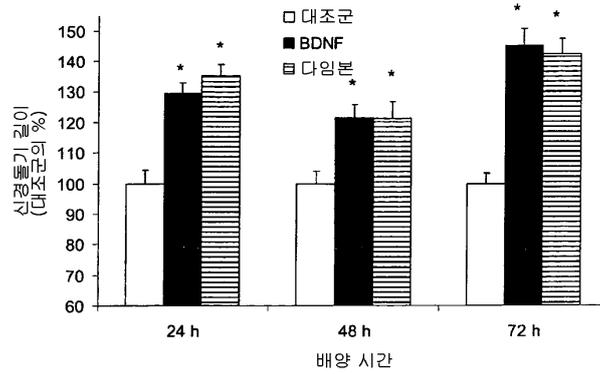
평균값 +/- 평균의 표준오차  
 \* p < 0.01 vs 대조군

도면4



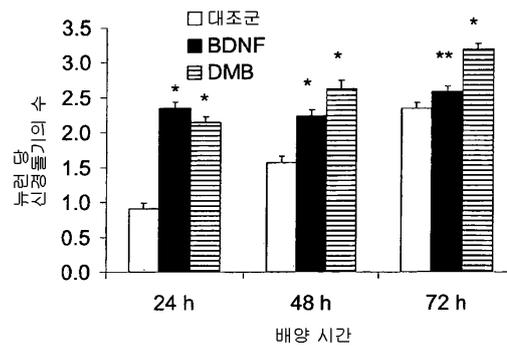
평균값 +/- 평균의 표준오차  
 \* p < 0.01 vs 대조군

도면5A



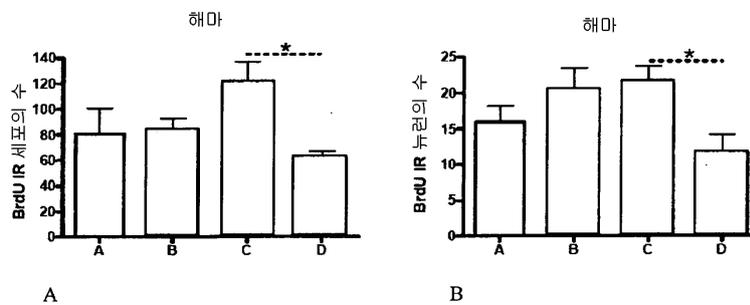
결과를 평균 ± sem으로 나타낸다.  
일원 ANOVA로 분석한 데이터를 대조군(비히클)과 비교하였다 (\*p<0.001)

도면5B



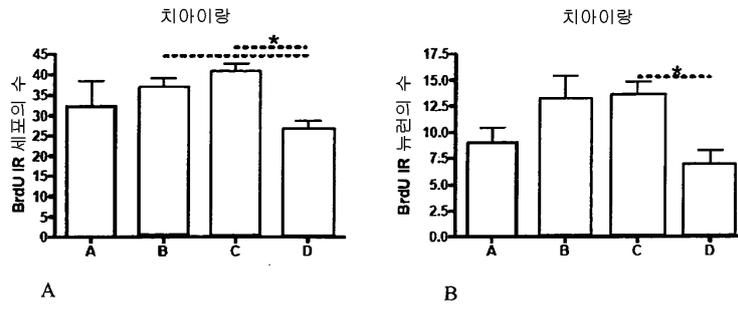
결과를 평균 ± sem으로 나타낸다.  
일원 ANOVA로 분석한 데이터를 대조군(비히클)과 비교하였다 (\*p<0.001 \*\* p<0.05)

도면6



데이터를 평균 + SEM으로 나타낸다. \*...p = 0.05  
 군 A - 10 mg/kg의 다임본  
 군 B - 30 mg/kg의 다임본  
 군 C - 60 mg/kg의 다임본  
 군 D - 동일 부피의 비히클(식염수)

도면7



데이터를 평균 + SEM으로 나타낸다. \*...p = 0.05  
 군 A - 10 mg/kg의 다임본  
 군 B - 30 mg/kg의 다임본  
 군 C - 60 mg/kg의 다임본  
 군 D - 동일 부피의 비히클(식염수)