

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2016年3月17日(17.03.2016)



(10) 国際公開番号
WO 2016/039398 A1

- (51) 国際特許分類:
A61K 31/4965 (2006.01) C07D 241/08 (2006.01)
A61K 31/498 (2006.01) C07D 405/12 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01) C07D 409/12 (2006.01)
A61P 25/16 (2006.01) C07D 487/04 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2015/075660
- (22) 国際出願日: 2015年9月9日(09.09.2015)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2014-183235 2014年9月9日(09.09.2014) JP
特願 2014-183239 2014年9月9日(09.09.2014) JP
- (71) 出願人: 国立大学法人大阪大学(OSAKA UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒5650871 大阪府吹田市山田丘1番1号 Osaka (JP). 学校法人関西大学(A SCHOOL CORPORATION KANSAI UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒5648680 大阪府吹田市山手町3丁目3番35号 Osaka (JP).
- (72) 発明者: 望月 秀樹(MOCHIZUKI, Hideki); 〒5650871 大阪府吹田市山田丘1番1号 国立大学法人大阪大学内 Osaka (JP). 佐々木 勉(SASAKI, Tsutomu); 〒5650871 大阪府吹田市山田丘1番1号 国立大学法人大阪大学内 Osaka (JP). 鐘其静(CHOONG, Chi Jing); 〒5650871 大阪府吹田市山田丘1番1号 国立大学法人大阪大学内 Osaka (JP). 上里 新一(UESATO, Shinichi); 〒5648680 大阪府吹田市山手町3丁目3番35号 学校法人関西大学化学生命工学部内 Osaka (JP). 平田 佳之(HIRATA, Yoshiyuki); 〒5648680 大阪府

吹田市山手町3丁目3番35号 学校法人関西大学大学院理工学研究科内 Osaka (JP). 住吉 孝明(SUMIYOSHI, Takaaki); 〒5648680 大阪府吹田市山手町3丁目3番35号 学校法人関西大学化学生命工学部内 Osaka (JP).

- (74) 代理人: 特許業務法人三枝国際特許事務所(SAEGUSA & PARTNERS); 〒5410045 大阪府大阪市中央区道修町1-7-1 北浜TNKビル Osaka (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 国際調査報告 (条約第21条(3))



WO 2016/039398 A1

(54) Title: NITROGEN-CONTAINING HETEROCYCLIC DERIVATIVE, NEUROPROTECTIVE AGENT, AND PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR CANCER TREATMENT

(54) 発明の名称: 含窒素複素環誘導体、神経保護剤及び癌治療用医薬組成物

(57) Abstract: The present invention relates to a neuroprotective agent and addresses the problem of providing a medicine for preventing and/or treating neurological disease. The problem is solved by using a compound, which has a 2-aminobenzamide structure having a substituent group at the para position of an amino group and has a dioxopiperazine structure, to protect nervous system cells and suppress cell death of the nervous system cells.

(57) 要約: 神経保護剤に関し、神経系疾患の予防及び/又は治療するための医薬を提供することを課題とする。アミノ基のパラ位に置換基を有する2-アミノベンズアミド構造と、ジオキソピペラジン構造とを有する化合物を使用することにより、神経系細胞を保護し、神経系細胞の細胞死を抑制することにより課題を解決する。

明 細 書

発明の名称：

含窒素複素環誘導体、神経保護剤及び癌治療用医薬組成物

技術分野

[0001] 本発明は、細胞周期を停止させるとともに細胞死を誘導させることなく静止状態にすることによって、異常な細胞の増殖および細胞死の誘導を共に抑制する含窒素複素環誘導体に関する。また、本発明は、これらを含む癌の治療及び／又は予防のために用いられる医薬組成物、及び細胞増殖抑制剤を提供する。さらに、本発明は、上記化合物を含む神経保護剤に関し、神経系疾患の予防及び／又は治療するための医薬を提供する。

背景技術

[0002] ヒストン脱アセチル化酵素（以下HDACともいう）には基質がドッキングするポケットがあるが、殆どの場合、その底部に2価の亜鉛を持つ。このポケットに結合し、亜鉛とキレートを形成して、HDACを阻害する化合物としてヒドロキサム酸型と2-アミノベンズアミド型HDAC阻害剤がある。最近、後者の2-アミノベンズアミド基のアミノ基のパラ位にフェニル基或いはチエニル基を導入したHDAC阻害剤が抗がん作用に深く関わるHDAC1、HDAC2を選択的に強く抑制することが報告されている（非特許文献1）。この型の化合物は、2-アミノベンズアミド基のアミノ基のパラ位のフェニル基或いはチエニル基が前述のポケットに隣接したinternal cavityにはまり込むために、HDAC1、HDAC2に対する選択性が向上したと推定されている。現在、同型のHDAC阻害剤に関し、抗がん剤を目指した創薬研究が精力的に行われており、チエニル基置換体を中心に数多くの化合物が検討されている（特許文献1～5）。

[0003] 上記化合物群は、担がんマウスを用いた抗腫瘍効果試験において、腫瘍縮小効果を示したが、比較的低用量で体重減少や死亡などの副作用が出現したことから、治療域は狭いものであった（非特許文献2）。またチエニル基に換えて、フェニルグリシンやフェニルアラニンなどのアミノ酸を導入したビ

アリール2-アミノベンズアミド型HDAC阻害剤が合成され、腹腔内投与による抗腫瘍効果試験が実施された（非特許文献3）。更に、リン酸エステル誘導体を導入したビアリール2-アミノベンズアミド型HDAC阻害剤も合成された（非特許文献4）。また、発明者らは、複数の2-アミノベンズアミド型HDAC阻害剤を合成し、HDACアイソフォーム阻害作用について報告した（非特許文献5）。文献中では、MS-275はclass I HDACs（HDAC1, HDAC2およびHDAC3）を幅広く阻害し、化合物2、8b等はHDAC3を阻害せずに、HDAC1およびHDAC2を選択的に阻害することを報告した。

[0004] 一方、pRb/E2Fなどの細胞周期蛋白の活性化は、動物モデル、パーキンソン病患者において細胞死をもたらすことが報告され（非特許文献6、非特許文献7）、神経細胞においても、細胞周期蛋白の活性化を抑制し、細胞周期を停止させることで細胞死を抑制することが示唆されている。

[0005] 脳においては、ヒストン脱アセチル化酵素（以下HDACともいう）class Iのなかでも特にHDAC1、HDAC 2が豊富に存在し、HDAC1阻害が神経細胞の生存を促進すること（非特許文献8、9）、HDAC2阻害が神経変性疾患における記憶機能を改善することなどが報告されてきた（非特許文献10）。中枢神経系においてはトリコスタチンA（TSA）、Valproic acidなどの汎HDAC阻害剤だけでなく、MS-275なども脳外傷モデルなどにおいて、その神経保護効果が報告されている（非特許文献11、12、13）。

[0006] また、特許文献6には、2-aminobenzamide型HDAC阻害剤が記載されているが、神経保護作用についての具体的な記載はない。

先行技術文献

特許文献

- [0007] 特許文献1：国際公開第2005/030704 A1号
特許文献2：国際公開第2005/030705 A1号
特許文献3：国際公開第2007/118137 A1号
特許文献4：国際公開第2008/010985 A2号
特許文献5：国際公開第2009/002495 A1号

特許文献6：特表平2010-531359号公報

非特許文献

- [0008] 非特許文献1：O. M. Moradei, et al., J. Med. Chem. 50 (2007) 5543-5546
- 非特許文献2：J. L. Methot, et al., Bioorg. Med. Chem. Lett. 18 (2008) 973-978
- 非特許文献3：K. J. Wilson, et al., Bioorg. Med. Chem. Lett. 18 (2008) 1859-1863
- 非特許文献4：R. W. Heidebrecht, et al., Bioorg. Med. Chem. Lett. 19 (2009) 2053-2058
- 非特許文献5：Hirata Y et al. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 22 (2012) 1926-1930
- 非特許文献6：Hoglinger GU et.al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007 Feb 27;104(9):3585-90
- 非特許文献7：Folch J.et.al. Neurotox Res. 2012 Oct;22(3):195-207
- 非特許文献8：Kim D et al. Neuron. 2008 Dec 10;60(5):803-17
- 非特許文献9：Bardai FH et al. J Biol Chem. 2012 Oct 12;287(42):35444-53
- 非特許文献10：Graff J et al. Nature. 2012 Feb 29;483(7388):222-6
- 非特許文献11：Simonini MV et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Jan 31;103(5):1587-92
- 非特許文献12：Murphy SP et al. J Neurochem. 2013 Oct 21. doi: 10.1111/jnc.12498.
- 非特許文献13：Summers AR et al. J Clin Invest. 2013 Jul 1;123(7):3112-23

発明の概要

発明が解決しようとする課題

- [0009] 上述のように、置換基を有さない2-アミノベンズアミド基を持つ化合物や、アミノ基のパラ位に、チエニル基などのアリール基の置換基を有する2-

アミノベンズアミド型化合物が報告されている。しかし、置換基を有さない2-アミノベンズアミド基を持つ化合物は、選択性が低くHDAC Class Iに分類されるHDAC1、2、3及び8に対して阻害活性を有することから、毒性が高く、抗がん剤等の医薬品への応用に問題があると考えられた。また、これまでチエニル基などのアリール基導入HDAC阻害剤は、HDAC1、2を選択的に阻害する化合物であるが満足すべき抗腫瘍効果を示すものが少なかった。

[0010] 満足する結果が得られない一因として、アリール基を導入したため、水溶性などの物性が悪くなり、生物学的利用率が低下したことが考えられる。

[0011] 本発明の目的は、水溶性等の物性が改善された含窒素複素環誘導体、又はその薬理的に許容される塩を提供することにある。

[0012] さらに、放射線や化学療法剤治療下でおこるがん細胞内アポトーシス関連タンパク質の活性化は、がんの再発や増悪につながりこれらの治療効果を低くさせる。このことから、本発明の目的は、がん細胞の細胞周期を停止して細胞増殖を抑制するが、細胞死を誘起しない医薬組成物、癌の治療及び／又は予防のための医薬組成物、及び細胞増殖抑制剤等を提供することにある。

[0013] また、上述のように、HDAC阻害剤が神経保護作用を示すという報告はあるものの、HDAC阻害効果を有する物質が必ず神経保護作用があるわけではない。さらに、TSAは汎HDAC阻害剤であり、Valproic acidはHDAC class I及びHDAC class IIaの双方を阻害する薬剤である。また、MS-275は、HDAC1、2及び3に作用する。つまり、これらの化合物は神経系以外の細胞にも作用すると考えられ、特にMS-275は、造血幹細胞等に毒性を示すことが懸念される。本発明の目的は、長期間にわたって薬剤を継続投与する必要がある神経系疾患、特に中枢神経系疾患においても副作用を示すことなく使用できる安全な神経保護剤を提供することにある。

課題を解決するための手段

[0014] 上記文献では、ピペリジン、ピペラジン、モルフォリン、等、ありとあらゆる複素環をもつ、チエニル置換2-アミノベンズアミド型HDAC阻害剤が記載されているが、ジオキソピペラジンのように、カルボニル基を有する複素

環をもつものは存在しない。

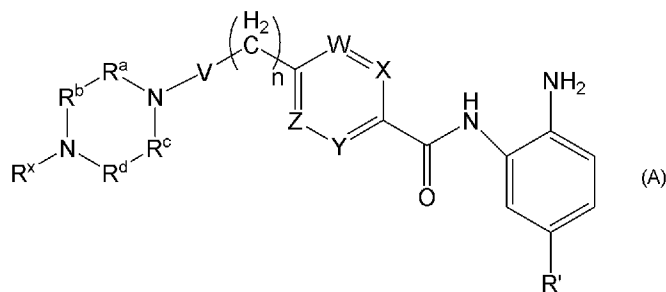
[0015] 本発明者等は、鋭意研究を重ねた結果、アミノ基のパラ位にアリール基、ハロゲン基等の置換基を有する2-アミノベンズアミド構造に、ペナム系抗生剤であるピペラシリンの水溶性官能基であるジオキソピペラジン基、及び2個のカルボニル基を含有するその他の複素環を導入することにより、水溶性などの物性の改善と抗腫瘍効果の向上が達成できると共に、これらの基をもつ化合物が癌細胞の細胞周期を停止して細胞増殖を抑制するが、細胞死を誘起しないことを見いだした。さらにはこれらの化合物は抗癌活性を有しつつも毒性が低く副作用が少ないことを見いだした。

[0016] さらに、HDAC1及び2に特異性の高いアミノ基のパラ位に置換基を有する2-アミノベンズアミド構造と、ジオキソピペラジン構造とを有する化合物が、神経系細胞の保護作用を示し、神経系細胞の細胞死を抑制することを新たに見いだした。

[0017] 本発明は、かかる知見に基づいて完成されたものであり、以下の態様が含まれる。

[0018] 項1. 下記一般式(A)で示される化合物、又はその薬学的に許容される塩を含む神経保護剤：

[0019] [化1]



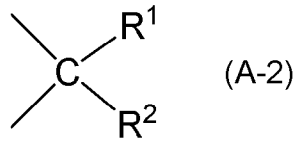
[0020] {式中、

R' は、チエニル基、フラニル基、フェニル基、又はハロゲン原子；

R^a、R^b、R^c、及びR^dのうち二つはカルボニル基であり、他の二つは同一又は異なって下記一般式(A-2)で示される基：

[0021]

[化2]



[0022] [R¹及びR²は、同一又は異なって、水素原子、炭素数1～4のアルキル基、置換されていてもよいアリール基、置換されていてもよいシクロヘキシル基、又は置換されていてもよいテトラヒドロピラニル基であり、R^b若しくはR^dが上記式(A-2)で示される基である時は、R¹若しくはR²がR^xと組み合わせさせて炭素数3～6の飽和環を形成してもよい]；

R^xは、置換されていてもよい炭素数1～6のアルキル基、又は水素原子；

nは、1～4のいずれかの整数；

Vは、-CO-NH-又は直結；

W、X、Y、及びZは、同一又は異なってCH又は窒素原子である}。

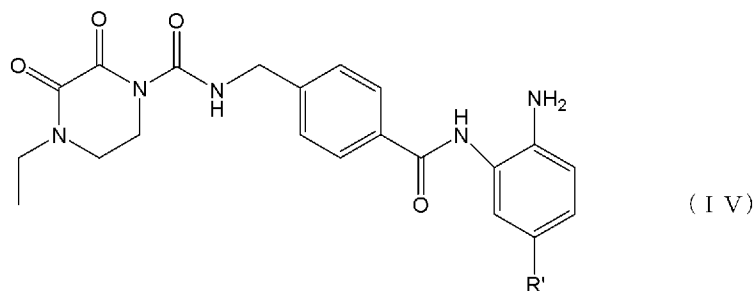
項2. R^aが、カルボニル基であり、R^cが、上記一般式(A-2)で示される基である、項1に記載の神経保護剤。

項3. nが1である項1又は2に記載の神経保護剤。

項4. R[']が、チエニル基、フラニル基、フェニル基、又は塩素原子である、項1～3のいずれか一項に記載の神経保護剤。

項5. 下記一般式(IV)で示される化合物、又はその薬理学的に許容される塩を含む、項1に記載の神経保護剤：

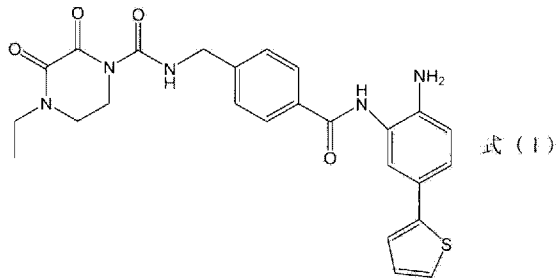
[0023] [化3]



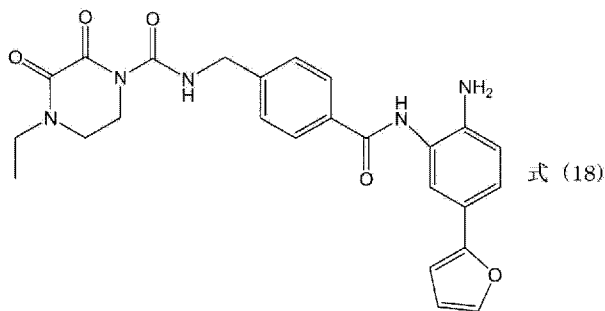
[0024] (式中、R[']は、チエニル基、フラニル基、フェニル基、又は塩素原子である。)

項6. 下記式(1)、(18)、(2)及び(5)のいずれかで示される化合物、又はその薬理的に許容される塩を含む、項1に記載の神経保護剤：

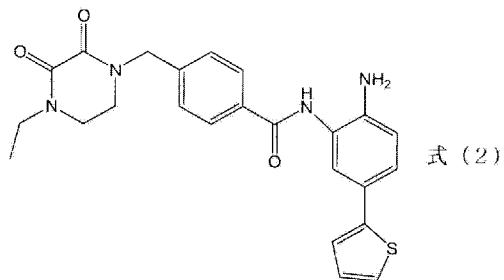
[0025] [化4]



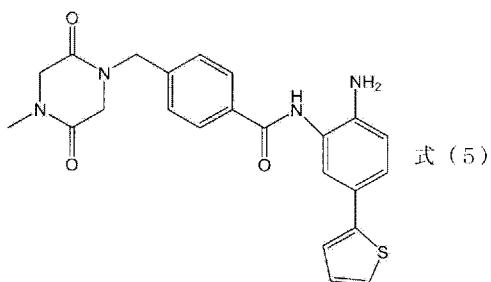
[0026] [化5]



[0027] [化6]



[0028] [化7]



[0029] 項7. 神経系疾患の予防または治療用である、項1～6のいずれか一項に記

載の神経保護剤。

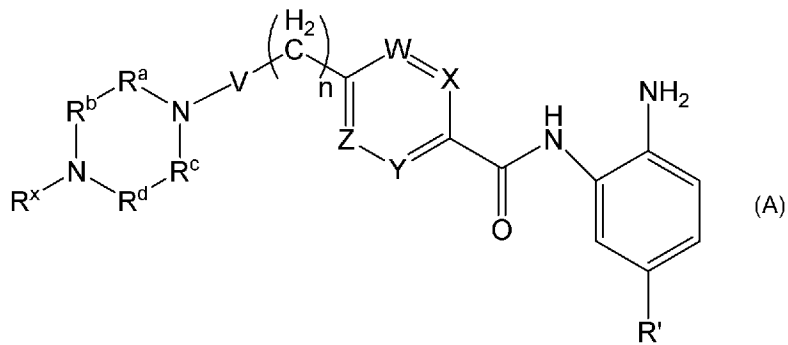
項 8. 神経系疾患が神経変性疾患である、項 7 に記載の神経保護剤。

項 9. 神経変性疾患がパーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、アルツハイマー型認知症、脳血管性認知症、ポリグルタミン病、多発性硬化症、ギラン・バレー症候群、慢性炎症性脱髄性多発神経炎、又は多巣性運動ニューロパチーである、項 8 に記載の神経保護剤。

項 10. 神経系疾患が虚血性脳疾患である、項 7 に記載の神経保護剤。

項 11. 下記一般式 (A) で示される化合物、又はその薬学的に許容される塩：

[0030] [化8]



[0031] {式中、

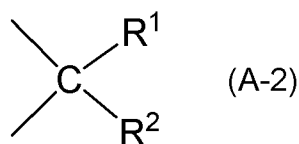
Vは、 $-CO-NH-$ 又は直結；

Vが $-CO-NH-$ のとき、R'は、フラニル基、フェニル基、又はハロゲン原子；

Vが直結のとき、R'は、チエニル基、フラニル基、フェニル基、又はハロゲン原子；

R^a、R^b、R^c、及びR^dのうち二つはカルボニル基であり、他の二つは同一又は異なって下記一般式 (A-2) で示される基：

[0032] [化9]



[0033] [R¹及びR²は、同一又は異なって、水素原子、炭素数1～4のアルキル基、置換されていてもよいアリール基、置換されていてもよいシクロヘキシル基、又は置換されていてもよいテトラヒドロピラニル基であり、R^b若しくはR^dが上記式(A-2)で示される基である時は、R¹若しくはR²がR^xと組み合わせさせて炭素数3～6の飽和環を形成してもよい]；

R^xは、水素原子、又は置換されていてもよい炭素数1～6のアルキル基；

nは、1～4のいずれかの整数；

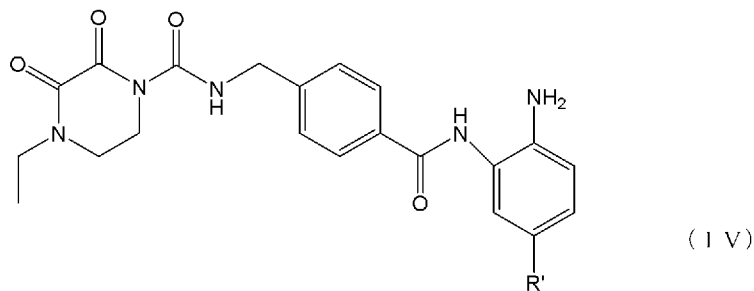
W、X、Y、及びZは、同一又は異なってCH又は窒素原子である}。

項12. R^aが、カルボニル基であり、R^cが、上記一般式(A-2)で示される基である、項11に記載の化合物、又はその薬理的に許容される塩。

項13. nが1である項11又は12に記載の化合物、又はその薬理的に許容される塩。

項14. 下記式(IV)で示される、項11に記載の化合物、又はその薬理的に許容される塩：

[0034] [化10]

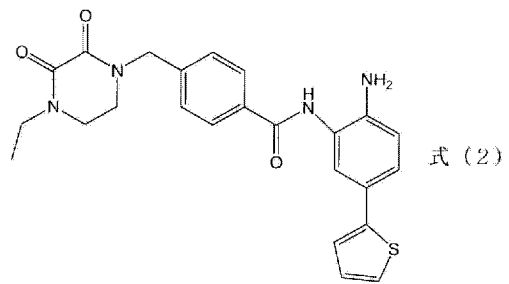


[0035] (式中、R'は、フラニル基またはフェニル基である。)

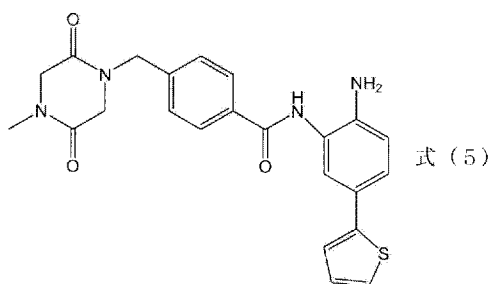
項15. 下記式(2)、(5)、(4)、(3)、(18)、(20)及び(19)のいずれかで示される、項11に記載の化合物、又はその薬理的に許容される塩：

[0036]

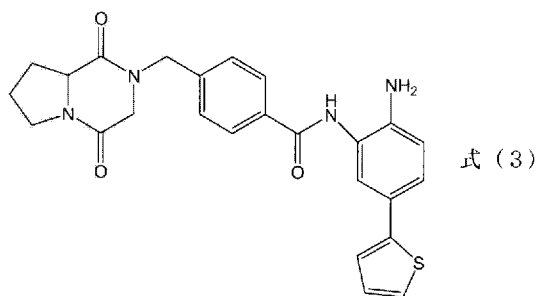
[化11]



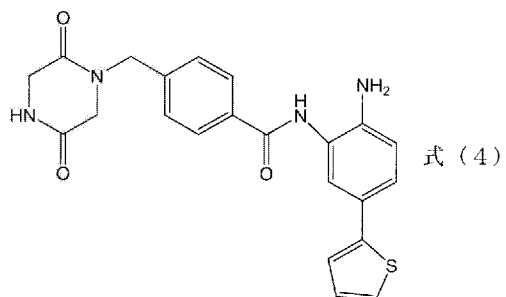
[0037] [化12]



[0038] [化13]

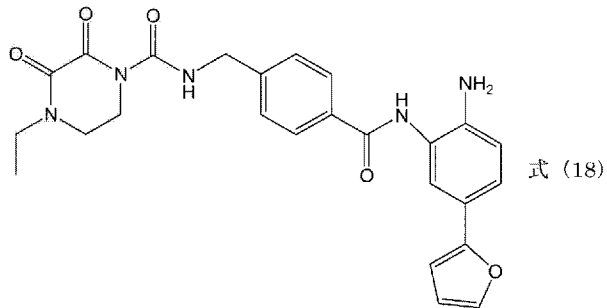


[0039] [化14]

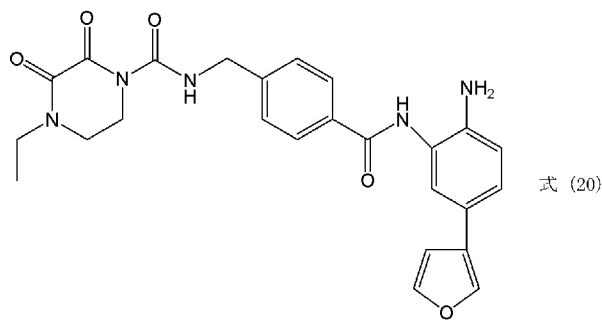


[0040]

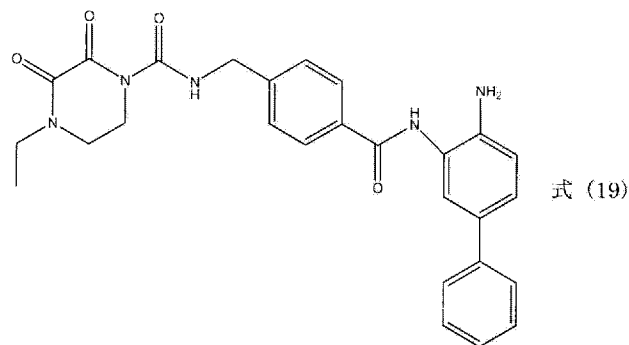
[化15]



[0041] [化16]



[0042] [化17]



[0043] 項16、項11～15のいずれか一項に記載の化合物またはその薬学的に許容される塩を含む癌の治療及び／又は予防のために用いられる医薬組成物。

発明の効果

[0044] 本発明によれば、細胞周期を停止させるとともに細胞死を誘導させることなく静止状態にすることによって、異常な細胞の増殖および細胞死の誘導を共に抑制する含窒素複素環誘導体を提供できる。また、本発明によれば、当該含窒素複素環誘導体を含有する癌の治療及び／又は予防のために用いられ

る医薬組成物、及び細胞増殖抑制剤を提供することができる。さらに、本発明によれば、上記含窒素複素環誘導体を含有する神経保護剤を提供することができ、また、神経系疾患の予防及び／又は治療するための医薬を提供することができる。

図面の簡単な説明

[0045] [図1]K-852、K-854、K-855、K-856の合成スキームを示す。

[図2]K-562、K-563、及びK-564の合成スキームを示す。(a) (Boc)₂O、トリエチルアミン (Et₃N)、及びTHF存在下で、室温で一晩反応させたことを示す (b) Pd(PPh₃)₄、2-チオフェンボロン酸、炭酸カリウム、テトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム、DME/H₂O存在下で80°Cで18時間反応させたことを示す。(c) トリエチルアミン、THF存在下で室温で4時間反応させたことを示す。(d) フタルイミドカリウム、ヨウ化カリウム、DMF存在下で50°Cで一晩反応させたことを示す。(e) ヒドラジン、エタノール存在下で3時間環流したことを示す。(f) トリエチルアミン、時クロルメタン存在下で室温で一晩反応させたことを示す。(g) THA / ジクロルメタン存在下で室温で1時間反応させたことを示す。

[図3]K-560、Merck化合物、Ethyl化合物及びMS-275の構造式を示す。

[図4]本発明の化合物であるK-852、K-853、K-854、K-856又はMS-275に大腸がん細胞株 (HCT116細胞) を48時間暴露した時の、細胞周期のヒストグラムを示す。縦軸は細胞数であり、横軸はDNA量を示す。

[図5]本発明の化合物であるK-852、K-853、K-854、K-856又はMS-275に乳癌細胞株 (SKBR3細胞) を24時間暴露した時の、細胞周期のヒストグラムを示す。縦軸は細胞数であり、横軸はDNA量を示す。

[図6]本発明の化合物であるK-852、K-853、K-854、K-856又はMS-275に神経芽細胞腫細胞株 (Neuro2a細胞) を48時間暴露した時の、細胞周期のヒストグラムを示す。縦軸は細胞数であり、横軸はDNA量を示す。

[図7]N-(2-アミノ-5-(フラン-2-イル)フェニル)-4-((4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-イル)メチル)ベンズアミド及びN-(2-アミノ-5-(ベンゼン-2-イ

ル)フェニル)-4-((4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-イル)メチル)ベンズアミドの合成例を示す。

[図8]N-((6-(2-1アミノ-5-(チオフェン-2-イル)フェニルカルバモイル)ピリジン-3-イル)メチル)-4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-カルボキサミドの合成例を示す。

[図9]K-560の脳虚血に対する神経細胞保護作用を死細胞の割合で評価した。Aは、OGD（低酸素無グルコース）負荷後24時間の死細胞の割合を示す。Bは、OGD負荷後72時間の死細胞の割合を示す。DMSOは、陰性対照を示す。縦軸は、死細胞の割合（%）を示す。

[図10]K-852、又はK-853の脳虚血に対する神経細胞保護的作用を、死細胞の割合で評価した結果を示す。DMSOは、陰性対照を示す。縦軸は、死細胞の割合（%）を示す。

[図11]興奮毒（カイニン酸）に対する種々のHDAC阻害剤の効果を示す。縦軸は、死細胞の割合（%）を示す。

[図12]1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine（MPTP）投与パーキンソン病動物モデルにおいてK-560が神経細胞保護作用を示すことを確認した結果を示す。Aは、黒質TH(チロシン水酸化酵素)の免疫染色像を示す（NS群：生理食塩水投与のみ、KS群：K-560投与のみ、NM群：MPTP及び生理食塩水投与、KM群：MPTP及びK-560投与）。Bは、MPTP投与後2日後の黒質のTH陽性細胞をカウントしたグラフを示す。Cは、MPTP投与後21日後の黒質のTH陽性細胞をカウントしたグラフを示す。縦軸は、TH染色陽性細胞の割合（%）を示す。

[図13]in vitro パーキンソン実験モデルにおいてK-852が神経細胞保護作用を示すことを確認した結果を示す。DMSOは、陰性対照を示す。縦軸は、死細胞の割合（%）を示す。

[図14]Ethyl化合物の毒性、神経保護作用を確認した結果を示す。縦軸は、死細胞の割合（%）を示す。

[図15]MS-275、K-560、及びK-852の細胞毒性試験の結果を示す。Aは、各被験薬を終濃度3 μ Mで添加したときの結果を示す。Bは、各被験薬を終濃度1

0 μMで添加したときの結果を示す。縦軸は、死細胞の割合（%）を示す。

[図16]K-852、K-853、及びK-854の脳虚血に対する神経細胞保護作用を死細胞の割合で評価した結果を示す。グラフ中の星印は $p < 0.05$ を示す。

[図17]K-562、K-563、K-564、K-560、及びK-856の神経細胞保護作用の脳虚血に対する神経細胞保護作用を死細胞の割合で評価した結果を示す。図中Aは、24時間OGD負荷を行ったときの結果であり、図中Bは48時間OGD負荷を行ったときの結果である。グラフ中の星印は $p < 0.05$ を示す。

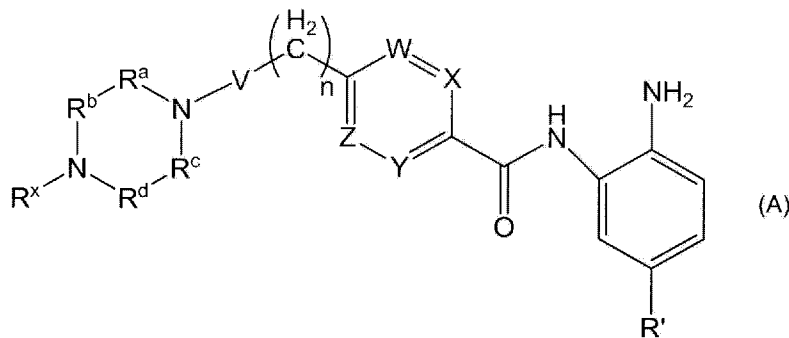
[図18]実施例22：in vitroパーキンソン病実験モデルにおけるK-562、K-563、K-564、K-560、及びK-856の神経細胞保護作用を示すことを確認した結果を示す。グラフ中の星印は $p < 0.05$ を示す。

発明を実施するための形態

[0046] 1. 含窒素複素環誘導体

本発明の含窒素複素環誘導体は、下記一般式（A）で示される化合物である：

[0047] [化18]

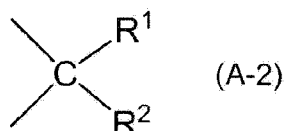


[0048] {式中、

R' は、チエニル基、フラニル基、フェニル基、又はハロゲン原子（ただし、Vが-CO-NH-のとき、R' は、好ましくは、フラニル基、フェニル基、又はハロゲン原子である。）；

R^a、R^b、R^c、及びR^dのうち二つはカルボニル基であり、他の二つは同一又は異なって下記一般式（A-2）で示される基：

[0049] [化19]



[0050] [R¹及びR²は、同一又は異なって、水素原子、炭素数1～4のアルキル基、置換されていてもよいアリール基、置換されていてもよいシクロヘキシル基、又は置換されていてもよいテトラヒドロピラニル基であり、R^b若しくはR^dが上記式(A-2)で示される基である時は、R¹若しくはR²がR^xと共に炭素数3～6の飽和環を形成してもよい] ;

R^xは、水素原子、又は置換されていてもよい炭素数1～6のアルキル基 ;

nは、1～4のいずれかの整数 ;

Vは、直結又は-CO-NH- ;

W、X、Y、及びZは、同一又は異なってCH又は窒素原子である} 。

[0051] R'として好ましくは、チエニル基、フラニル基、フェニル基又は塩素原子等であり、より好ましくは、チエニル基又はフラニル基であり、さらに好ましくは、チエニル基である。

[0052] R^a、R^b、R^c、及びR^dとして好ましくは、R^a、R^b、R^c、及びR^dのうち二つはカルボニル基であり、他の二つは同一又は異なって上記一般式(A-2)で示される基であり、かつ、R^a及びR^cが、同時にカルボニル基でなく ; さらに好ましくは、R^aが、カルボニル基であり、R^cが上記一般式(A-2)で示される基であり ; 最も好ましくは、R^a及びR^bがカルボニル基である。

[0053] R¹及びR²として好ましくは、同時に水素原子 ; 同時に炭素数1～4のアルキル基 (この場合の炭素数1～4のアルキル基として好ましくは、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基又はイソブチル基等であり、より好ましくはメチル基、エチル基又はプロピル基であり、最も好ましくはメチル基又はエチル基である) ; 又は一方が水素原子であり他方が炭素数1～4のアルキル基、置換されていてもよいアリール基、置換されて

いてもよいシクロヘキシル基、又は置換されていてもよいテトラヒドロピラニル基であり（この場合の炭素数1～4のアルキル基として好ましくはメチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、*sec*-ブチル基、イソブチル基又は*tert*-ブチル基等であり、より好ましくはメチル基、エチル基又はプロピル基であり、最も好ましくはメチル基又はエチル基であり；アリール基として好ましくは、フェニル基、モルフォリル基、又はピリジニル基等であり、より好ましくはフェニル基であり；アリール基、シクロヘキシル基及びテトラヒドロピラニル基の置換基として好ましくは、塩素原子、及びフッ素原子のいずれかのハロゲン原子、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、又は水酸基等であり、より好ましくは塩素原子、フッ素原子、メチル基、又はエチル基、最も好ましくは塩素原子、フッ素原子又はメチル基である）。

[0054] R^a 、 R^b 、 R^c 、および R^d のいずれか二つが上記一般式（A-2）で示される基である時の一態様としては、上記一般式（A-2）で示される基の二つが同一であり、かつ R^1 及び R^2 の両方が水素原子であることが好ましい。

[0055] また、別の態様として R^a 、 R^b 、 R^c 、および R^d のいずれか二つが異なって上記一般式（A-2）で示される基である時は、一方の上記一般式（A-2）で示される基の R^1 及び R^2 の両方が水素原子であり、他方がもう一方と異なる上記一般式（A-2）で示される基〔この場合の R^1 及び R^2 として好ましくは、両方がメチル基；又は R^1 及び R^2 の一方が水素原子であり、他方が炭素数1～4のアルキル基、置換されていてもよいアリール基、置換されていてもよいシクロヘキシル基、又は置換されていてもよいテトラヒドロピラニル基（この場合の炭素数1～4のアルキル基として好ましくはメチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、*sec*-ブチル基、イソブチル基、又は*tert*-ブチル基等であり、より好ましくはメチル基、エチル基又はプロピル基であり、最も好ましくはメチル基又はエチル基であり；アリール基として好ましくは、フェニル基、モルフォリル基、又はピリジニル基等であり、より好ましくはフェニル基であり；アリール基、シクロヘキシル

基及びテトラヒドロピラニル基の置換基として好ましくは、塩素原子、及びフッ素原子のいずれかのハロゲン原子、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基又は水酸基等であり、より好ましくは塩素原子、フッ素原子、メチル基又はエチル基、最も好ましくは塩素原子、フッ素原子又はメチル基である)] であることが好ましい。

[0056] R^b 若しくは R^d が上記式(A-2)示される基である時は、 R^1 若しくは R^2 が R^x と組み合わさって炭素数3~6の飽和環を形成してもよく、飽和環として好ましくは飽和3員環、飽和4員環、又は飽和5員環であり、より好ましくは飽和5員環である。

[0057] R^x は、水素原子、又は置換されていてもよい炭素数1~6のアルキル基であり、炭素数1~6のアルキル基は、直鎖型又は分岐型のアルキル基であり、より好ましくは直鎖型である。直鎖型のアルキル基として好ましくはメチル基、エチル基、プロピル基、ブチル基、ペンチル基、又はヘキシル基であり、より好ましくはメチル基、エチル基、又はプロピル基であり、最も好ましくはメチル基又はエチル基である。分岐型のアルキル基として好ましくはイソプロピル基、sec-ブチル基、イソブチル基、tert-ブチル基、イソペンチル基、ネオペンチル基、イソヘキシル基、又はビイソプロピル基等が挙げられる。より好ましくはイソプロピル基、sec-ブチル基、イソブチル基、又はイソペンチル基であり、さらに好ましくはイソプロピル基である。炭素数1~6のアルキル基の置換基として好ましくは、塩素原子、及びフッ素原子のいずれかのハロゲン原子、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、又は水酸基等であり、より好ましくは塩素原子、フッ素原子、メチル基、又はエチル基、最も好ましくは塩素原子、フッ素原子又はメチル基である。

[0058] n は、1~4のいずれかの整数であり、より好ましくは1又は2であり、最も好ましくは1である。

Vは、直結又は $-CO-NH-$ であり；

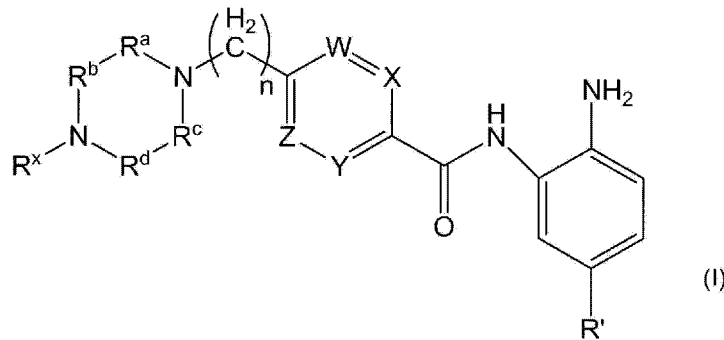
W、X、Y、及びZとして好ましくはW、X、Y、及びZの全てがCHで

あるか又はW、X、Y、及びZのいずれか1つ若しくは2つが窒素原子であり；より好ましくはW、X、Y、及びZの全てがCHであるか、又はW、X、Y、及びZのいずれか1つが窒素原子であり；最も好ましくはW、X、Y、及びZの全てがCHである。

[0059] (1) - 1. Vが直結である上記一般式 (A) で示される化合物

上記一般式 (A) で示される化合物のうち、Vが直結である化合物は、以下の一般式 (I) で示される化合物である。

[0060] [化20]

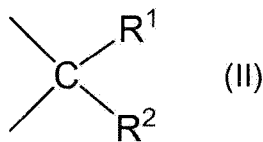


[0061] {式中、

R' は、チエニル基、フラニル基、フェニル基又はハロゲン原子；

R^a、R^b、R^c、及びR^dのうち二つはカルボニル基であり、他の二つは同一又は異なって下記一般式 (II) で示される基：

[0062] [化21]



[0063] [R¹及びR²は、同一又は異なって、水素原子、炭素数1～4のアルキル基、置換されていてもよいアリール基、置換されていてもよいシクロヘキシル基、又は置換されていてもよいテトラヒドロピラニル基であり、R^b若しくはR^dが上記式 (I) で示される基である時は、R¹若しくはR²がR^xと組み合わさって炭素数3～6の飽和環を形成してもよい]；

R^xは、水素原子、又は置換されていてもよい炭素数1～6のアルキル基；

n は、1～4のいずれかの整数；

W 、 X 、 Y 、及び Z は、同一又は異なってC H又は窒素原子である}

である。

[0064] R' として好ましくは、チエニル基、フラニル基、フェニル基又は塩素原子等であり、より好ましくは、チエニル基又はフラニル基であり、さらに好ましくは、チエニル基である。

[0065] R^a 、 R^b 、 R^c 、及び R^d として好ましくは、 R^a 、 R^b 、 R^c 、及び R^d のうち二つはカルボニル基であり、他の二つは同一又は異なって上記一般式(1)で示される基であり、かつ、 R^a 及び R^c が、同時にカルボニル基でなく；さらに好ましくは、 R^a が、カルボニル基であり、 R^c が上記一般式(1)で示される基であり；最も好ましくは、 R^a 及び R^b がカルボニル基である。

[0066] R^1 及び R^2 として好ましくは、同時に水素原子；同時に炭素数1～4のアルキル基（この場合の炭素数1～4のアルキル基として好ましくは、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基又はイソブチル基等であり、より好ましくはメチル基、エチル基又はプロピル基であり、最も好ましくはメチル基又はエチル基である）；又は一方が水素原子であり他方が炭素数1～4のアルキル基、置換されていてもよいアリール基、置換されていてもよいシクロヘキシル基、又は置換されていてもよいテトラヒドロピラニル基であり（この場合の炭素数1～4のアルキル基として好ましくはメチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、*sec*-ブチル基、イソブチル基又は*tert*-ブチル基等であり、より好ましくはメチル基、エチル基又はプロピル基であり、最も好ましくはメチル基又はエチル基であり；アリール基として好ましくは、フェニル基、モルフォリル基、又はピリジニル基等であり、より好ましくはフェニル基であり；アリール基、シクロヘキシル基及びテトラヒドロピラニル基の置換基として好ましくは、塩素原子、及びフッ素原子のいずれかのハロゲン原子、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、又は水酸基等であり、より好ましくは塩素原子、フッ素

原子、メチル基、又はエチル基、最も好ましくは塩素原子、フッ素原子又はメチル基である)。

[0067] R^a 、 R^b 、 R^c 、および R^d のいずれか二つが上記一般式(11)で示される基である時の一態様としては、上記一般式(11)で示される基の二つが同一であり、かつ R^1 及び R^2 の両方が水素原子であることが好ましい。

[0068] また、別の態様として R^a 、 R^b 、 R^c 、および R^d のいずれか二つが異なって上記一般式(11)で示される基である時は、一方の上記一般式(11)で示される基の R^1 及び R^2 の両方が水素原子であり、他方がもう一方と異なる上記一般式(11)で示される基[この場合の R^1 及び R^2 として好ましくは、両方がメチル基；又は R^1 及び R^2 の一方が水素原子であり、他方が炭素数1~4のアルキル基、置換されていてもよいアリール基、置換されていてもよいシクロヘキシル基、又は置換されていてもよいテトラヒドロピラニル基(この場合の炭素数1~4のアルキル基として好ましくはメチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、sec-ブチル基、イソブチル基、又はtert-ブチル基等であり、より好ましくはメチル基、エチル基又はプロピル基であり、最も好ましくはメチル基又はエチル基であり；アリール基として好ましくは、フェニル基、モルフォリル基、又はピリジニル基等であり、より好ましくはフェニル基であり；アリール基、シクロヘキシル基及びテトラヒドロピラニル基の置換基として好ましくは、塩素原子、及びフッ素原子のいずれかのハロゲン原子、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基又は水酸基等であり、より好ましくは塩素原子、フッ素原子、メチル基又はエチル基、最も好ましくは塩素原子、フッ素原子又はメチル基である)]であることが好ましい。

[0069] R^b 若しくは R^d が上記式(11)で示される基である時は、 R^1 若しくは R^2 が R^x と組み合わせさせて炭素数3~6の飽和環を形成してもよく、飽和環として好ましくは飽和3員環、飽和4員環、又は飽和5員環であり、より好ましくは飽和5員環である。

[0070] R^x は、水素原子、又は置換されていてもよい炭素数1~6のアルキル基で

あり、炭素数 1～6 のアルキル基は、直鎖型又は分岐型のアルキル基であり、より好ましくは直鎖型である。直鎖型のアルキル基として好ましくはメチル基、エチル基、プロピル基、ブチル基、ペンチル基、又はヘキシル基であり、より好ましくはメチル基、エチル基、又はプロピル基であり、最も好ましくはメチル基又はエチル基である。分岐型のアルキル基として好ましくはイソプロピル基、sec-ブチル基、イソブチル基、tert-ブチル基、イソペンチル基、ネオペンチル基、イソヘキシル基、又はビイソプロピル基等が挙げられる。より好ましくはイソプロピル基、sec-ブチル基、イソブチル基、又はイソペンチル基であり、さらに好ましくはイソプロピル基である。炭素数 1～6 のアルキル基の置換基として好ましくは、塩素原子、及びフッ素原子のいずれかのハロゲン原子、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、又は水酸基等であり、より好ましくは塩素原子、フッ素原子、メチル基、又はエチル基、最も好ましくは塩素原子、フッ素原子又はメチル基である。

[0071] n は、1～4 のいずれかの整数であり、より好ましくは 1 又は 2 であり、最も好ましくは 1 である。

[0072] W、X、Y、及び Z として好ましくは W、X、Y、及び Z の全てが CH であるか又は W、X、Y、及び Z のいずれか 1 つ若しくは 2 つが窒素原子であり；より好ましくは W、X、Y、及び Z の全てが CH であるか、又は W、X、Y、及び Z のいずれか 1 つが窒素原子であり；最も好ましくは W、X、Y、及び Z の全てが CH である。

[0073] 一般式 (I) で示される化合物の R' がチエニル基であるときの好ましい態様としては、R^a、R^b、R^c、および R^d のうち R^a 及び R^b がカルボニル基であり、他が同一又は異なって上記一般式 (I) で示される基である。この場合 R^c が上記一般式 (I) で示される基 (R¹ 及び R² は両方が水素原子) であり、かつカルボニル基でない R^b 又はカルボニル基でない R^d は、R^c と同一であるか；又は R^c と異なる上記一般式 (I) で示される基 [この場合の R¹ 及び R² は、両方がメチル基；又は R¹ 及び R² の一方が水素原子であり

、他方が炭素数1～4のアルキル基、置換されていてもよいアリール基、置換されていてもよいシクロヘキシル基、又は置換されていてもよいテトラヒドロピラニル基（この場合の炭素数1～4のアルキル基として好ましくはメチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、sec-ブチル基、イソブチル基、又はtert-ブチル基等であり、より好ましくはメチル基、エチル基又はプロピル基であり、最も好ましくはメチル基又はエチル基であり；アリール基として好ましくは、フェニル基、モルフォリル基、又はピリジニル基等であり、より好ましくはフェニル基であり；アリール基、シクロヘキシル基及びテトラヒドロピラニル基の置換基として好ましくは、塩素原子、及びフッ素原子のいずれかのハロゲン原子、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基又は水酸基等であり、より好ましくは塩素原子、フッ素原子、メチル基又はエチル基、最も好ましくは塩素原子、フッ素原子又はメチル基である）]であることが好ましい。

[0074] R^b若しくはR^dが上記式(11)示される基である時は、R¹若しくはR²がR^xと組み合わせさせて炭素数3～6の飽和環を形成してもよく、飽和環としてより好ましくは飽和5員環である。

[0075] R^xは、水素原子、又は置換されていてもよい直鎖型の炭素数1～6のアルキル基であり、好ましくは、メチル基、エチル基、プロピル基、ブチル基、ペンチル基、又はヘキシル基であり、より好ましくは、メチル基、エチル基、又はプロピル基であり、最も好ましくはメチル基又はエチル基である。炭素数1～6のアルキル基の置換基として好ましくは、塩素原子、及びフッ素原子のいずれかのハロゲン原子、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、又は水酸基等であり、より好ましくは塩素原子、フッ素原子、メチル基、又はエチル基、最も好ましくは塩素原子、フッ素原子又はメチル基である。

[0076] nは、より好ましくは1又は2であり、最も好ましくは1である。

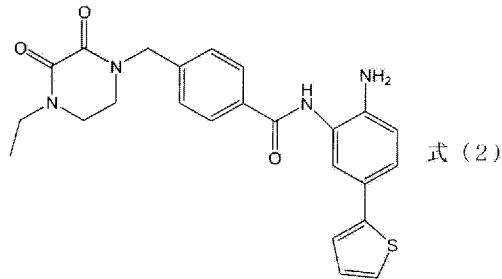
[0077] W、X、Y、及びZとして、好ましくはW、X、Y、及びZの全てがCHであるか、又はW、X、Y、及びZのいずれか1つが窒素原子であり；最も

好ましくはW、X、Y、及びZの全てがCHである。

[0078] さらに、一般式(1)で示される化合物のR'がチエニル基である化合物としては、下記式(2)~(10)で示される化合物が例示される：

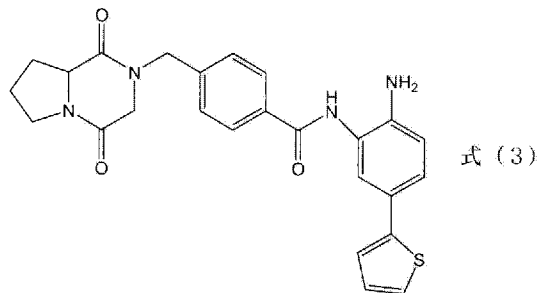
・N-(2-アミノ-5-(チオフェン-2-イル)フェニル)-4-((4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-イル)メチル)ベンズアミド

[0079] [化22]



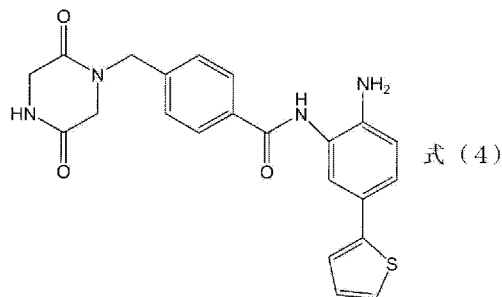
[0080] ・N-(2-アミノ-5-(チオフェン-2-イル)フェニル)-4-((1,4-ジオキソ-ヘキサヒドロピロロ[1,2-a]ピラジン-2-(1H)-イル)メチル)ベンズアミド

[0081] [化23]



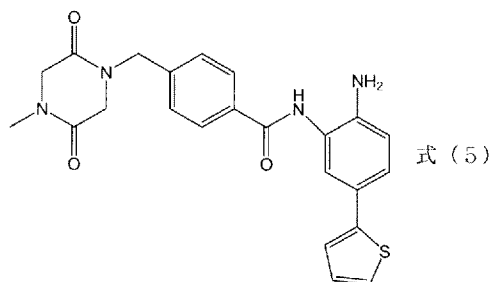
[0082] ・N-(2-アミノ-5-(チオフェン-2-イル)フェニル)-4-((2,5-ジオキソピペラジン-1-イル)メチル)ベンズアミド

[0083] [化24]



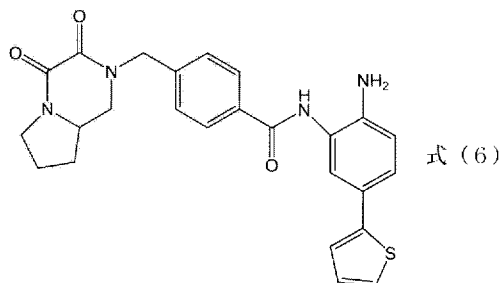
[0084] ・N-(2-アミノ-5-(チオフエン-2-イル)フェニル)-4-((4-メチル-2,5-ジオキソピペラジン-1-イル)メチル)ベンズアミド

[0085] [化25]



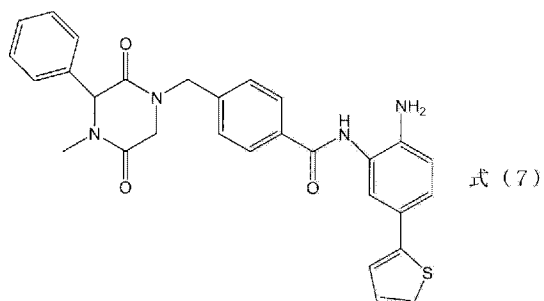
[0086] ・N-(2-アミノ-5-(チオフエン-2-イル)フェニル)-4-((3,4-ジオキソヘキサヒドロピロロ[1,2-a]ピラジン-2(1H)-イル)メチル)ベンズアミド

[0087] [化26]



[0088] ・N-(2-アミノ-5-(チオフエン-2-イル)フェニル)-4-((4-メチル-2,5-ジオキソ-3-フェニルピペラジン-1-イル)メチル)ベンズアミド

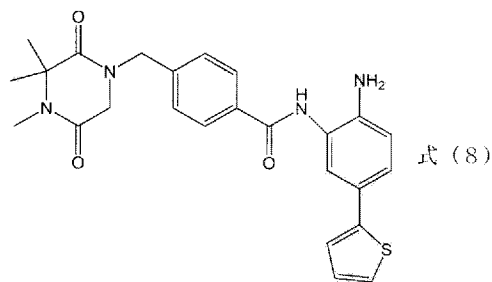
[0089] [化27]



[0090] ・N-(2-アミノ-5-(チオフエン-2-イル)フェニル)-4-((3,3,4-トリメチル-2,5-ジオキソピペラジン-1-イル)メチル)ベンズアミド

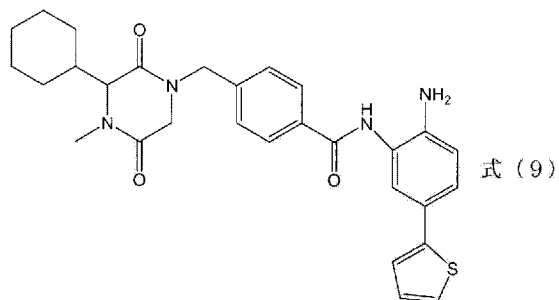
[0091]

[化28]



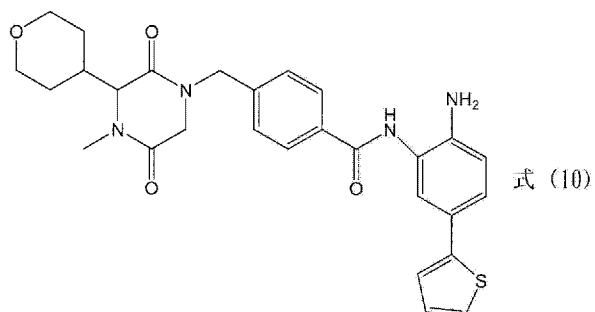
[0092] ・N-(2-アミノ-5-(チオフエン-2-イル)フェニル)-4-((3-シクロヘキシル-4-メチル-2,5-ジオキソピペラジン-1-イル)メチル)ベンズアミド

[0093] [化29]



[0094] ・N-(2-アミノ-5-(チオフエン-2-イル)フェニル)-4-((4-メチル-2,5-ジオキソ-3-(テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イル)ピペラジン-1-イル)メチル)ベンズアミド

[0095] [化30]



[0096] 一般式 (1) で示される化合物の R' が塩素原子であるときの好ましい態様としては、R^a、R^b、R^c、および R^d のうち R^a 及び R^b がカルボニル基であり、他が同一又は異なって上記一般式 (11) で示される基である。この場合 R^c が上記一般式 (11) で示される基 (R¹ 及び R² は両方が水素原子)

であり、かつ R^d は、 R^c と同一であるか、又は R^c と異なる上記一般式(11)で示される基[この場合の R^1 及び R^2 は、両方がメチル基；又は R^1 及び R^2 の一方が水素原子であり、他方が炭素数1~4のアルキル基、置換されていてもよいアリール基、置換されていてもよいシクロヘキシル基、又は置換されていてもよいテトラヒドロピラニル基(この場合の炭素数1~4のアルキル基として好ましくはメチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、sec-ブチル基、イソブチル基、又はtert-ブチル基等であり、より好ましくはメチル基、エチル基又はプロピル基であり、最も好ましくはメチル基又はエチル基であり；アリール基として好ましくは、フェニル基、モルフォリル基、又はピリジニル基等であり、より好ましくはフェニル基であり；アリール基、シクロヘキシル基及びテトラヒドロピラニル基の置換基として好ましくは、塩素原子、及びフッ素原子のいずれかのハロゲン原子、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基又は水酸基等であり、より好ましくは塩素原子、フッ素原子、メチル基又はエチル基、最も好ましくは塩素原子、フッ素原子又はメチル基である)]であることが好ましい。

[0097] R^x は、水素原子、又は置換されていてもよい直鎖型の炭素数1~6のアルキル基であり、好ましくは、メチル基、エチル基、プロピル基、ブチル基、ペンチル基、又はヘキシル基であり、より好ましくは、メチル基、エチル基、又はプロピル基であり、最も好ましくはメチル基又はエチル基である。炭素数1~6のアルキル基の置換基として好ましくは、塩素原子、及びフッ素原子のいずれかのハロゲン原子、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、又は水酸基等であり、より好ましくは塩素原子、フッ素原子、メチル基、又はエチル基、最も好ましくは塩素原子、フッ素原子又はメチル基である。

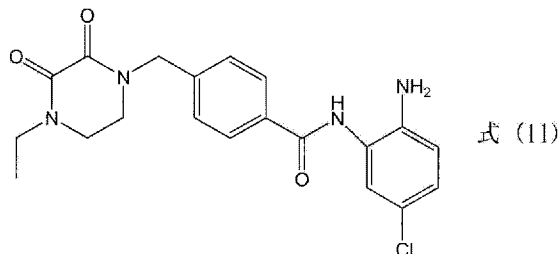
[0098] n は、より好ましくは1又は2であり、最も好ましくは1である。

[0099] W 、 X 、 Y 、及び Z として、好ましくは W 、 X 、 Y 、及び Z の全てが CH であるか W 、 X 、 Y 、及び Z のいずれか1つが窒素原子であり、最も好ましくは W 、 X 、 Y 、及び Z の全てが CH である。

[0100] 一般式(1)で示される化合物のR'が塩素原子である化合物としては、下記式(11)で示される化合物が例示される。

・N-(2-アミノ-5-クロロフェニル)-4-((4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-イル)メチル)ベンズアミド

[0101] [化31]



[0102] 一般式(1)で示される化合物のR'がフラニル基又はフェニル基であるときの好ましい態様としては、R^a、R^b、R^c、およびR^dのうちR^a及びR^bがカルボニル基であり、残りが同一又は異なって上記一般式(11)で示される基である。この場合R^cが上記一般式(11)で示される基(R¹及びR²は両方が水素原子)であり、かつR^dは、R^cと同一であるか、又はR^cと異なる上記一般式(11)で示される基[この場合のR¹及びR²は、両方がメチル基；又はR¹及びR²の一方が水素原子であり、他方が炭素数1~4のアルキル基、置換されていてもよいアリール基、置換されていてもよいシクロヘキシル基、又は置換されていてもよいテトラヒドロピラニル基(この場合の炭素数1~4のアルキル基として好ましくはメチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、sec-ブチル基、イソブチル基、又はtert-ブチル基等であり、より好ましくはメチル基、エチル基又はプロピル基であり、最も好ましくはメチル基又はエチル基であり；アリール基として好ましくは、フェニル基、モルフォリル基、又はピリジニル基等であり、より好ましくはフェニル基であり；アリール基、シクロヘキシル基及びテトラヒドロピラニル基の置換基として好ましくは、塩素原子、及びフッ素原子のいずれかのハロゲン原子、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基又は水酸基等であり、より好ましくは塩素原子、フッ素原子、メチル基又はエチル

基、最も好ましくは塩素原子、フッ素原子又はメチル基である)] であることが好ましい。

[0103] R^xは、水素原子、又は置換されていてもよい直鎖型の炭素数1～6のアルキル基であり、好ましくは、メチル基、エチル基、プロピル基、ブチル基、ペンチル基、又はヘキシル基であり、より好ましくは、メチル基、エチル基、又はプロピル基であり、最も好ましくはメチル基又はエチル基である。炭素数1～6のアルキル基の置換基として好ましくは、塩素原子、及びフッ素原子のいずれかのハロゲン原子、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、又は水酸基等であり、より好ましくは塩素原子、フッ素原子、メチル基、又はエチル基、最も好ましくは塩素原子、フッ素原子又はメチル基である。

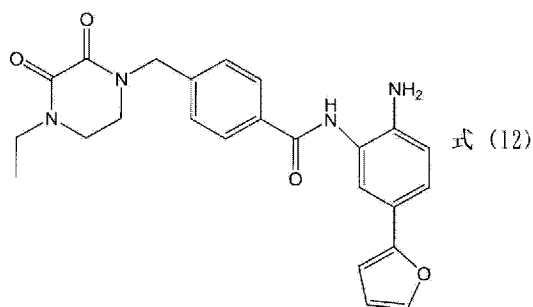
[0104] nは、より好ましくは1又は2であり、最も好ましくは1である。

[0105] W、X、Y、及びZとして好ましくはW、X、Y、及びZの全てがCHであるかW、X、Y、及びZのいずれか1つが窒素原子であり、最も好ましくはW、X、Y、及びZの全てがCHである。

[0106] 一般式(1)で示される化合物のR'がフラニル基又はフェニル基である化合物としては、下記式(12)又は(13)で示される化合物が例示される。

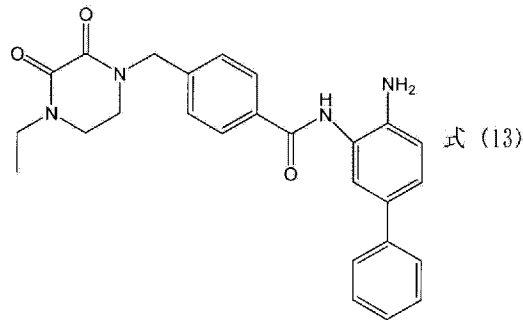
・N-(2-アミノ-5-(フラン-2-イル)フェニル)-4-((4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-イル)メチル)ベンズアミド

[0107] [化32]



[0108] ・N-(2-アミノ-5-(ベンゼン-2-イル)フェニル)-4-((4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-イル)メチル)ベンズアミド

[0109] [化33]

[0110] (1) - 2. 一般式 (1) で示される化合物の合成方法

上記一般式 (1) で示される化合物の合成方法は、特に制限されないが、スキーム 1-1 及び 1-2 に示す方法を例示することができる。スキーム 1-1 及び 1-2 において、 R' 、 R^a 、 R^b 、 R^c 、 R^d 、 R^1 、 R^2 、 R^x 、 n 、 W 、 X 、 Y 、及び Z は、上記 1-1. の項と同じである。

(i) 工程 (a) : 化合物 (1a) からの化合物 (1b) の合成 (スキーム 1-1)

化合物 (1a) のブロモ基のパラ位にあるアミノ基を、例えば tert-ブトキシカルボニル (以下 Boc) 基で保護するため、トリエチルアミン等の塩基及びテトラヒドロフラン (THF) の存在下で二炭酸ジ-tert-ブチル ((Boc)₂O) を常法にしたがって反応させ、精製し化合物 (1b) を得る。

(i i) 工程 (b) : 化合物 (1b) からの化合物 (1d) の合成 (スキーム 1-1) 工程 (a) で得られた化合物 (1b) に、水、炭酸カリウム、ジメチルエーテル、トリフェニルホスファン (Ph_3P) を添加し、化合物 (1c) を加え、例えばテトラキス (トリフェニルホスフィン) パラジウム ($Pd(PPh_3)_4$) を触媒として、例えば環流にて 18 時間、又はマイクロウェーブ装置 (Initiator+, biotage 社等) を使用して 120°C で 30 分反応させ、化合物 (1b) のブロモ基と化合物 (1c) の R' を置換し、化合物 (1d) を合成、精製する。

(i i i) 工程 (c) : 化合物 (1d) からの化合物 (1f) の合成 (スキーム 1-1) 工程 (b) で得られた化合物 (1d) にトリエチルアミン等

の塩基及びTHFを加え、さらに化合物(1e)を添加し、国際公開第2008/010985A2号、Bioorg. Med. Chem Lett., 18 (2008) 726-731、国際公開第2009/002495A1号、及びBioorg. Med. Chem Lett., 19 (2009) 1168-1172にしたがって化合物(1f)を得る。

(iv) 工程(d) : 化合物(1f)からの化合物(1h)の合成(スキーム1-2) 化合物(1g)を、例えばジメチルホルムアミド(DMF)等に溶解し、氷冷下で水素化ナトリウムを添加し、例えば1~3時間攪拌する。さらに化合物(1f)を添加し、例えば室温で16~24時間攪拌して化合物(1f)のクロロ基と化合物(1g)のNHを反応させ、化合物(1h)を合成することができる。反応液からの化合物(1h)の精製は、反応液に氷を添加した後、例えばクロロホルム等の有機溶媒によって抽出することができ、有機層を例えばbrine等で洗浄した後、硫酸ナトリウムで乾燥後減圧濃縮する。濃縮後の残渣を例えばクロロホルム・メタノール混合液(例えばクロロホルム:メタノール = 9:1、又はクロロホルム:メタノール = 9.5:0.5)、酢酸エチル・ヘキサン混合液(例えば酢酸エチル:ヘキサン = 1:4)を溶出溶媒としてシリカゲルクロマトグラフィーに付し、得られた化合物をクロロホルム-ヘキサン、又は酢酸エチル-ヘキサン等で再結晶し、化合物(1h)の結晶を得ることができる。

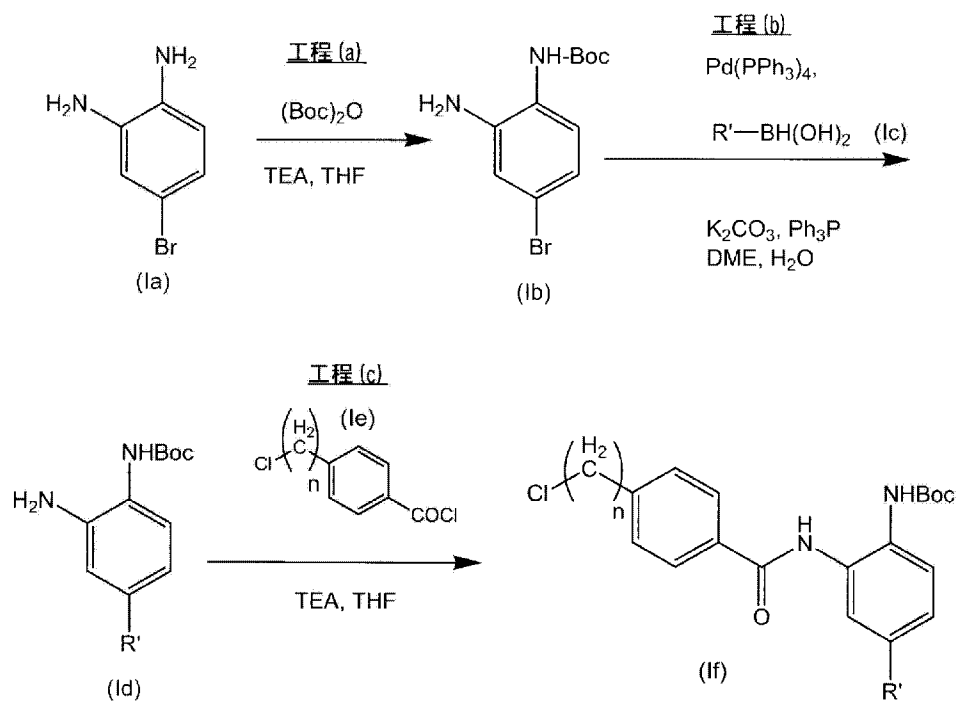
(v) 工程(e) : 化合物(1h)からの化合物(1)を合成する工程

化合物(1h)に、ジクロロメタン・トリフルオロ酢酸混液(例えばジクロロメタン:TFA = 4:1)を加え、室温で1~3時間攪拌する。この反応により、Boc基を除去し、化合物(1)を合成する。化合物(1)の精製は、反応液に例えば飽和炭酸水素ナトリウム水を加え、その後クロロホルム等の有機溶媒で抽出することができる。有機層をbrine等で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮し、得られた残渣を、クロロホルム・メタノール混合液(例えばクロロホルム:メタノール = 9:1)を溶出溶媒としてシリカゲルクロマトグラフィーで精製し、化合物(1)を得ることができる。

[0111]

[化34]

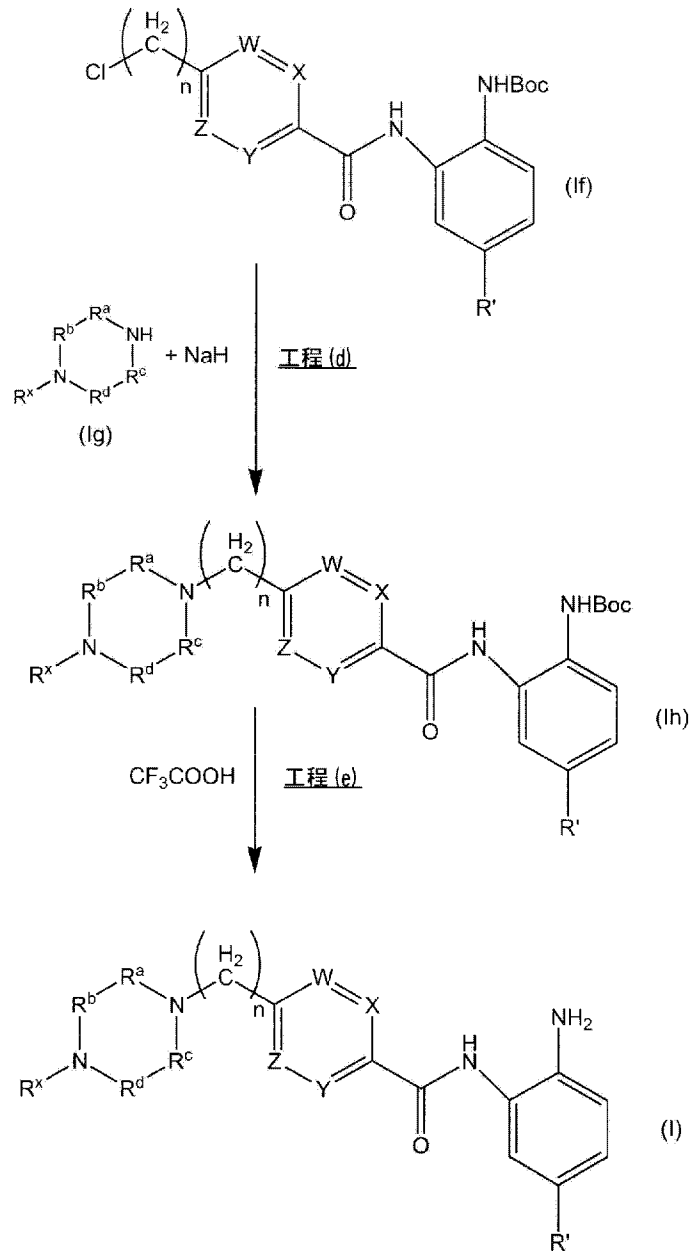
スキーム 1-1



[0112]

[化35]

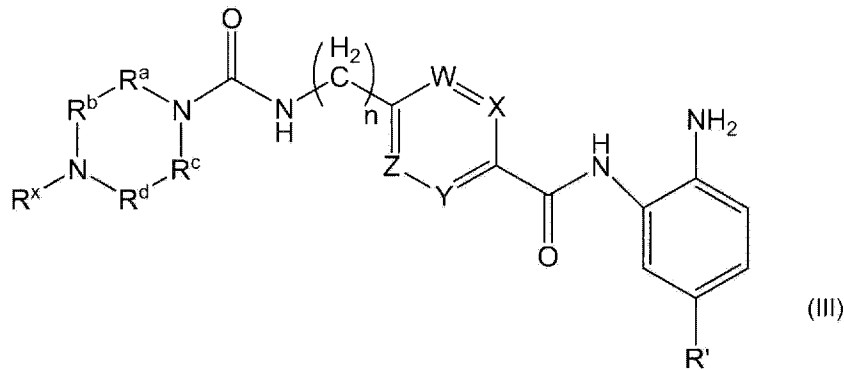
スキーム 1-2



[0113] (2) - 1. Vが-CO-NH-である上記一般式 (A) で示される化合物
 上記一般式 (A) で示される化合物のうち、Vが-CO-NH-である化合物は、以下の一般式 (111) で示される化合物である。

[0114]

[化36]



[0115] (R' は、好ましくは、フラニル基、フェニル基、又はハロゲン原子である。R^a、R^b、R^c、R^d、R¹、R²、R^x、n、W、X、Y、及びZは、一般式(1)と同じ)

である。

[0116] 一般式(111)のR'として好ましくは、フラニル基、フェニル基、又は塩素原子等であり、より好ましくは、フラニル基又フェニル基はであり、さらに好ましくは、フラニル基である。

[0117] 一般式(111)のR^a、R^b、R^c、及びR^dとして好ましくは、一般式(1)と同じであるが、最も好ましくは、R^a及びR^d、若しくはR^c、及びR^dが同時にカルボニル基である。

[0118] 一般式(111)のR¹、R²、R^x、及びnとして好ましくは、一般式(1)と同じである。

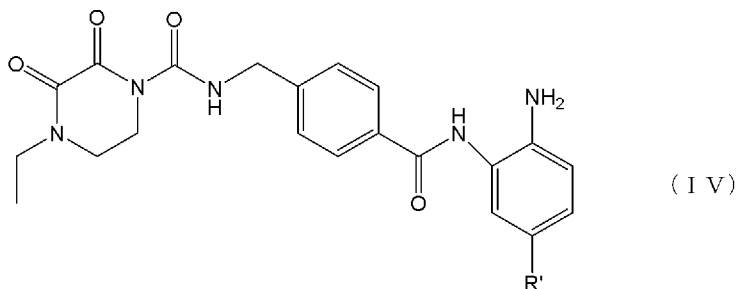
[0119] 一般式(111)のW、X、Y、及びZとして好ましくは、一般式(1)と同じであるが、最も好ましくは、W、X、Y、及びZが同時にCHであるか；W、X、Y、及びZのうちW又はYのいずれか一方が窒素原子であり、それ以外はCHである。

[0120] 一般式(111)で示される化合物のR'がチエニル基であるとき、塩素原子であるとき、又はフラニル基若しくはフェニル基である場合のR^a、R^b、R^c、R^d、R¹、R²、R^x、n、W、X、Y、及びZの好ましい態様は、一般式(1)と同じである。

[0121] 上記一般式(111)で示される化合物のうち、特に好ましい態様は、下

記一般式 (I V) で示される化合物である :

[0122] [化37]

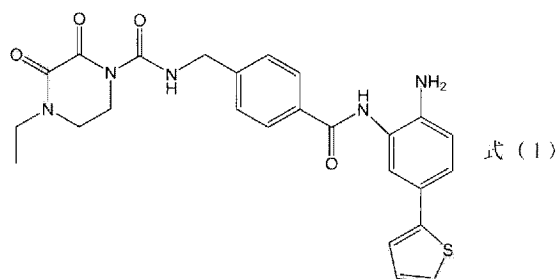


[0123] (式中、R' は、フラニル基、フェニル基、又は塩素原子である。)

さらに、一般式 (I I I) で示される化合物としては、下記式 (1)、(14) ~ (20) で示される化合物が例示できる。

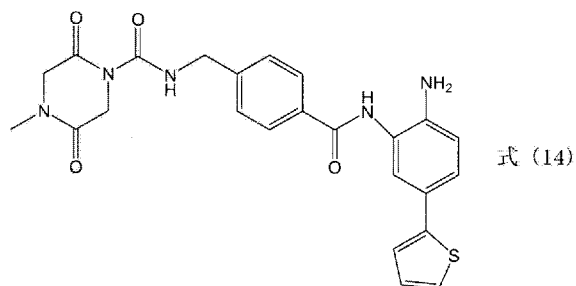
・N-(4-((2-アミノ-5-(チオフェン-2-イル)フェニル)カルバモイル)ベンジル)-4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-カルボキサミド

[0124] [化38]



[0125] ・N-(4-(2-アミノ-5-(チオフェン-2-イル)フェニルカルバモイル)ベンジル)-4-メチル-2,5-ジオキソピペラジン-1-カルボキサミド

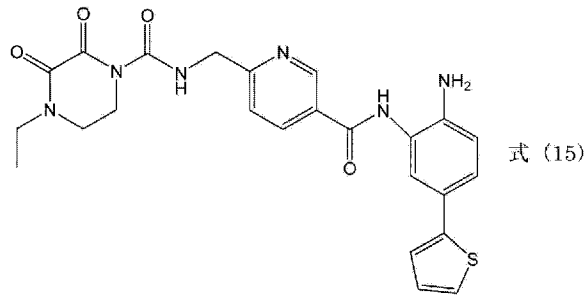
[0126] [化39]



[0127] ・N-((5-(2-アミノ-5-(チオフェン-2-イル)フェニルカルバモイル)ピリジン

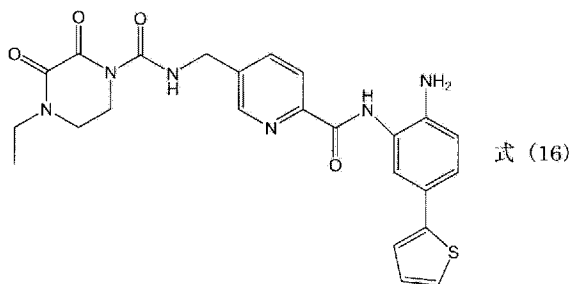
-2-イル)メチル)-4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-カルボキサミド

[0128] [化40]



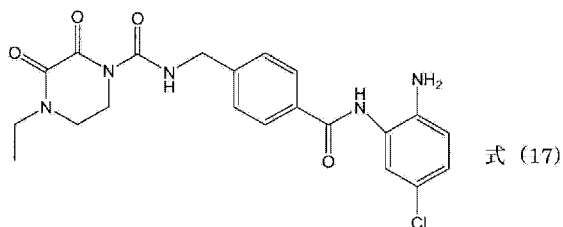
[0129] ・N-((6-(2-アミノ-5-(チオフェン-2-イル)フェニルカルバモイル)ピリジン-3-イル)メチル)-4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-カルボキサミド

[0130] [化41]



[0131] ・N-(4-(2-アミノ-5-クロロフェニルカルバモイル)ベンジル)-4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-カルボキサミド

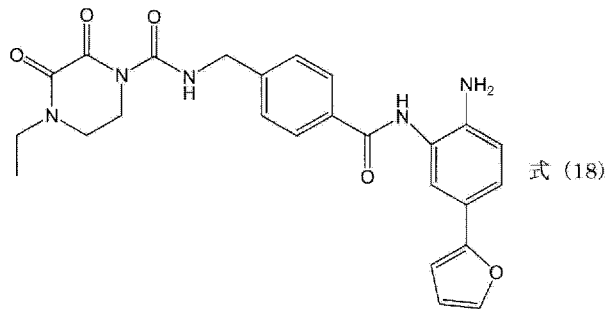
[0132] [化42]



[0133] ・N-(4-(2-アミノ-5-(フラン-2-イル)フェニルカルバモイル)ベンジル)-4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-カルボキサミド

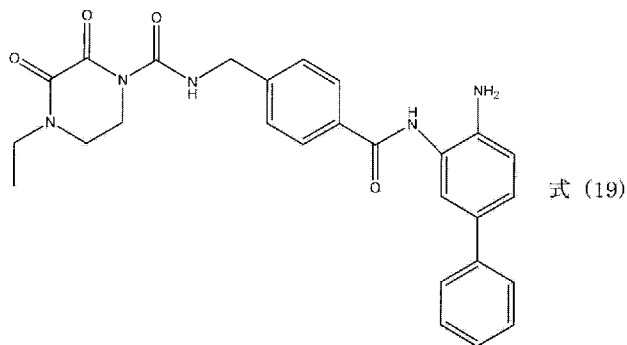
[0134]

[化43]



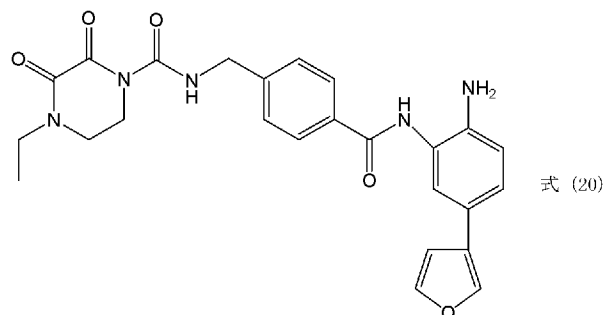
[0135] ・N-(4-(2-アミノ-5-(ベンゼン-2-イル) フェニルカルバモイル)ベンジル)-4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-カルボキサミド

[0136] [化44]



[0137] ・N-(4-(2-アミノ-5-(フラン-3-イル) フェニルカルバモイル)ベンジル)-4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-カルボキサミド

[0138] [化45]



[0139] (2) - 2. 一般式 (111) で示される化合物の合成方法

上記一般式 (111) で示される化合物の合成方法は、特に制限されないが、例えば上記 (1) - 2. の工程 (a) から (c) によって得られた化合物 (1f) から、スキーム 111 に例示する方法によって合成することがで

きる。スキーム 111 において、 R' 、 R^a 、 R^b 、 R^c 、 R^d 、 R^1 、 R^2 、 R^x 、 n 、 W 、 X 、 Y 、及び Z は、上記 1-1. の項と同じである。

(i) 工程 (d) : 化合物 (1f) からの化合物 (111a) の合成

例えば、国際公開第 2008/010985A2 号、Bioorg. Med. Chem Lett., 18 (2008) 726-731、国際公開第 2009/002495A1 号、及び Bioorg. Med. Chem Lett., 19 (2009) 1168-1172 にしたがって、化合物 (1f) からの化合物 (111a) を合成、精製する。

(ii) 工程 (e) : 化合物 (111a) からの化合物 (111c) の合成

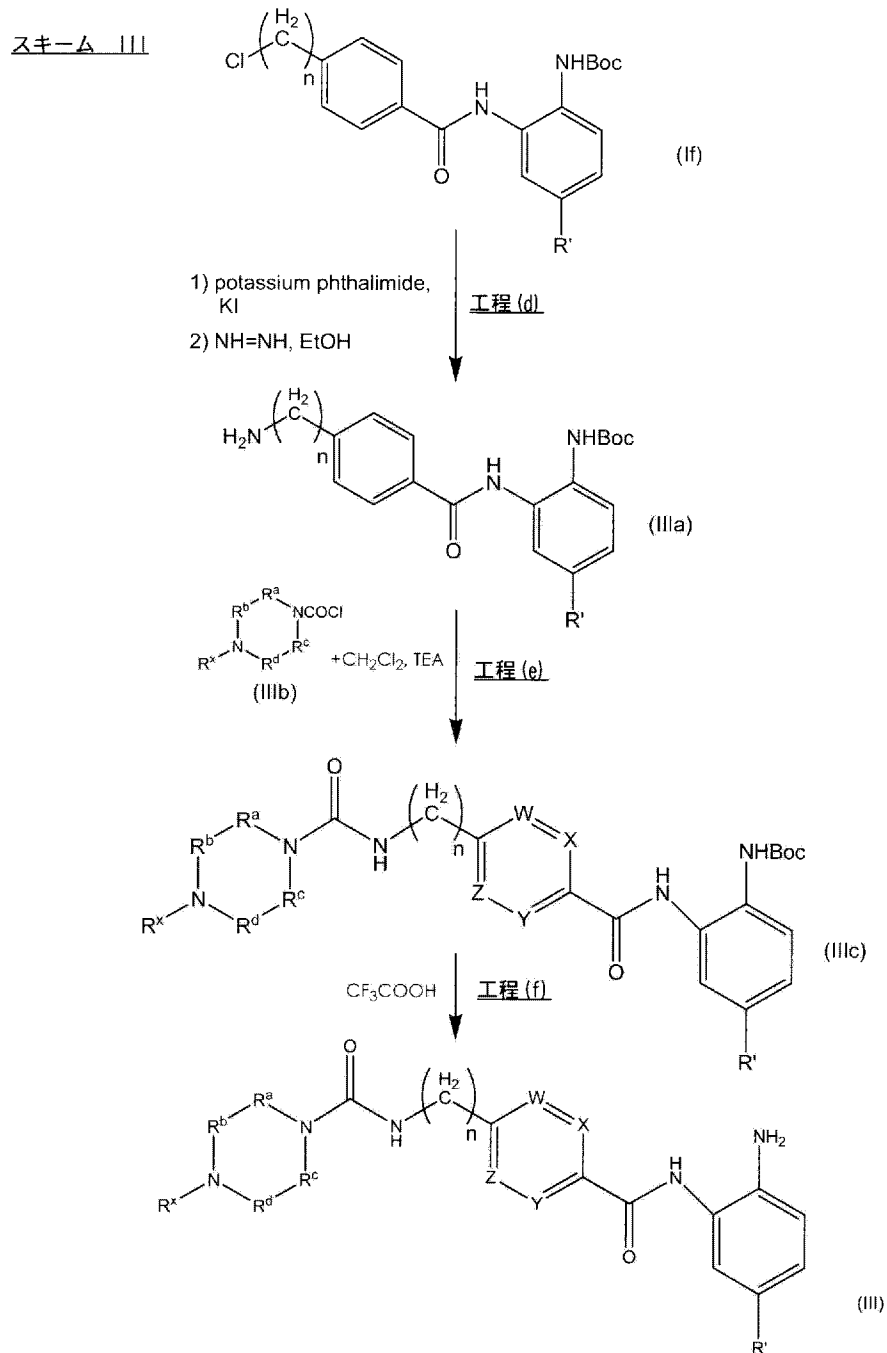
化合物 (111b) を、例えばジクロロメタン (CH_2Cl_2) 等に溶解し、トリエチルアミン等の塩基存在下で化合物 (111a) を添加し、例えば室温で 1~24 時間攪拌して、化合物 (111c) を合成することができる。反応液からの化合物 (111c) の精製は、反応液に氷を添加した後、例えばクロロホルム等の有機溶媒によって抽出することができ、有機層を例えば brine 等で洗浄した後、硫酸ナトリウムで乾燥後減圧濃縮する。濃縮後の残渣を例えばクロロホルム・メタノール混合液 (例えばクロロホルム:メタノール = 9:1、又はクロロホルム:メタノール = 9.5:0.5)、酢酸エチル・ヘキサン混合液 (例えば酢酸エチル:hexane = 1:4) を溶出溶媒としてシリカゲルクロマトグラフィに付し、得られた化合物をクロロホルム-ヘキサン、又は酢酸エチル-ヘキサン等で再結晶し、化合物 (111c) の結晶を得ることができる。

(iii) 工程 (f) : 化合物 (111c) から化合物 (111) を合成する工程

上記 (ii) で合成された化合物 (111c) に、ジクロロメタン・トリフルオロ酢酸混液 (例えば CH_2Cl_2 : TFA = 4:1) を加え、室温で 1~3 時間攪拌する。この反応により、Boc 基を除去し、化合物 (111) を合成する。化合物 (111) の精製は、反応液に例えば飽和炭酸ナトリウム水素水を加え、その後クロロホルム等の有機溶媒で抽出することができる。有機層を brine 等で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮し、得られた残渣を、クロロホルム・メタノール混合液 (例えばクロロホルム:メタノール = 9:1) を溶出

溶媒としてシリカゲルクロマトグラフィーで精製し、化合物 (III) を得ることができる。

[0140] [化46]



[0141] 上記一般式 (A) で示される化合物の薬学的に許容される塩は、特に限定されないが、塩酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸等の無機酸、ギ酸、酢酸、プロピオン酸、シュウ酸、マロン酸、コハク酸、フマル

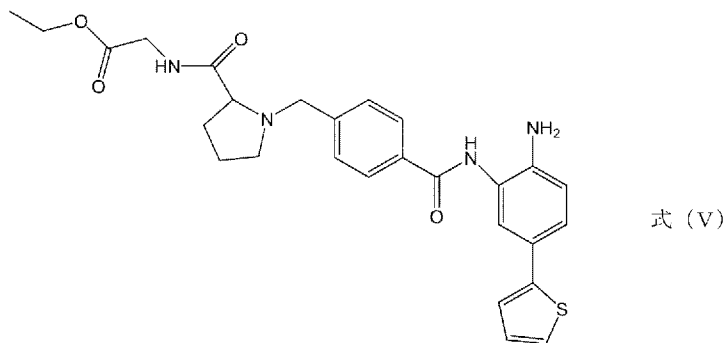
酸、マイレン酸、乳酸、リンゴ酸、酒石酸、クエン酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、アスパラギン酸、グルタミン酸、スルホン酸、p-トールエンスルホン酸、トリフルオロ酢酸等の有機酸との酸付加塩；ナトリウム、カリウム、マグネシウム、カルシウム、アルミニウム等の無機塩；メチルアミン、エチルアミン、エタノールアミン、リジン、オルニチン等の有機塩基との塩；及びアンモニウム塩等が挙げられる。好ましくは、スルホン酸、p-トールエンスルホン酸、又はトリフルオロ酢酸との有機酸付加塩である。

[0142] 2. 下記式 (V) で示される化合物、又はその薬理的に許容される塩

2-1. 下記式 (V) で示される化合物

本発明の化合物の別の態様は、下記式 (V) で示される化合物：

[0143] [化47]



[0144] である。

[0145] 2-2. 式 (V) で示される化合物の薬学的に許容される塩

一般式 (V) で示される化合物の薬学的に許容される塩は、特に制限されないが、上記 1. 含窒素複素環誘導体の項に記載の塩を例示することができる。

[0146] 2-3. 一般式 (V) で示される化合物の合成方法

一般式 (V) で示される化合物は、後述する実施例 2 の方法にしたがって、合成することができる。

[0147] 3. 癌の治療及び／又は予防のための医薬組成物

本発明の医薬組成物は、上記一般式 (I) で示される化合物、上記一般式

(I I I) で示される化合物若しくは上記式 (V) で示される化合物、又はそれらの薬学的に許容される塩を含み、より好ましくは上記一般式 (I) で示される化合物若しくは上記一般式 (I I I) で示される化合物、又はそれらの薬学的に許容される塩、さらに好ましくは上記一般式 (I) で示される化合物、又はその薬学的に許容される塩を含む。

[0148] 医薬組成物は、上記一般式 (I) で示される化合物、上記一般式 (I I I) で示される化合物若しくは上記式 (V) で示される化合物、又はそれらの薬学的に許容される塩の他、薬学的担体と組み合わせて調製することができる。当該医薬組成物調製の際用いられる担体としては、通常の薬剤に汎用される各種のもの、例えば賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、着色剤、矯味剤、矯臭剤、界面活性剤等を例示できる。

[0149] 上記医薬組成物が経口投与されるものである場合の剤形は、特に制限されないが、錠剤、被覆錠剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤、液剤、丸剤、懸濁剤、乳剤等を例示できる。また上記医薬組成物が、非経口投与されるものである場合には、注射剤、液体製剤、点滴剤等を例示できる。

[0150] 上記医薬組成物が、錠剤、散剤、顆粒剤等の経口用固形医薬組成物である場合の調製に際しては、担体として例えば乳糖、白糖、塩化ナトリウム、ブドウ糖、尿素、デンプン、炭酸カルシウム、カオリン、結晶セルロース、ケイ酸、メチルセルロース、グリセリン、アルギン酸ナトリウム、アラビアゴム等の賦形剤、単シロップ、ブドウ糖液、デンプン液、ゼラチン溶液、ポリビニルアルコール、ポリビニルエーテル、ポリビニルピロリドン、カルボキシメチルセルロース、セラック、メチルセルロース、エチルセルロース、水、エタノール、リン酸カリウム等の結合剤、乾燥デンプン、アルギン酸ナトリウム、カンテン末、ラミナラン末、炭酸水素ナトリウム、炭酸カルシウム、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル類、ラウリル硫酸ナトリウム、ステアリン酸モノグリセリド、デンプン、乳糖等の崩壊剤、白糖、ステアリン酸、カカオバター、水素添加油等の崩壊抑制剤、ラウリル硫酸ナトリウム等の吸収促進剤、グリセリン、デンプン等の保湿剤、デンプン、乳糖、

カオリン、ベントナイト、コロイド状ケイ酸等の吸着剤、精製タルク、ステアリン酸塩、ホウ酸末、ポリエチレングリコール等の滑沢剤等を使用できる。更に錠剤は必要に応じ通常の削皮を施した錠剤、例えば糖衣錠、ゼラチン被包錠、腸溶被錠、フィルムコーティング錠、二重錠、多層錠等とすることができる。

[0151] 上記医薬組成物が、丸剤の経口用固形医薬組成物である場合の調製に際しては、担体として、例えばブドウ糖、乳糖、デンプン、カカオ脂、硬化植物油、カオリン、タルク等の賦形剤、アラビアゴム末、トラガント末、ゼラチン等の結合剤、ラミナラン、カンテン等の崩壊剤等を使用できる。

[0152] 上記医薬組成物が錠剤、丸剤の場合には、必要に応じて、白糖、ヒドロキシプロピルセルロース（HPC）、セラック、ゼラチン、グリセリン、ソルビトール、ヒドロキシプロピルメチルセルロース（HPMC）、エチルセルロース、ポリビニルピロリドン（PVP）、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート（HPMCP）、セルロースアセテートフタレート（CAP）、又はメチルメタアクリレート-メタアクリル酸共重合体等でコーティングすることもできる。

[0153] 上記医薬組成物が、カプセル剤の経口用固形医薬組成物である場合の調製に際しては、カプセル剤は有効成分を上記で例示した各種の担体と混合し、硬質ゼラチンカプセル、軟質カプセル等に充填して調製される。

[0154] 上記医薬組成物が液体医薬組成物の場合には、水性又は油性の懸濁液、溶液、シロップ、エリキシル剤であってもよく、通常の添加剤を用いて常法に従い、調製される。

[0155] 上記医薬組成物が注射剤の場合の調製に際しては、担体として例えば水、エチルアルコール、マクロゴール、プロピレングリコール、エトキシ化イソステアリルアルコール、ポリオキシ化イソステアリルアルコール、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル類等の希釈剤、クエン酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、リン酸ナトリウム等のpH調整剤、リン酸二カリウム、リン酸三ナトリウム、リン酸水素ナトリウム、クエン酸ナトリウム等の緩衝剤

、ピロ亜硫酸ナトリウム、EDTA、チオグリコール酸、チオ乳酸等の安定化剤、凍結乾燥した際の成形剤として例えばマンニトール、イノシトール、マルトース、シュクロース、ラクトース等の糖類を使用できる。なお、この場合等張性の溶液を調整するに十分な量のブドウ糖或いはグリセリンを医薬製剤中に含有せしめてもよく、また通常の溶解補助剤、無痛化剤、局所麻酔剤等を添加しても良い。これらの担体を添加して、常法により皮下、筋肉内、静脈内用注射剤を製造することができる。

[0156] 上記医薬組成物が点滴剤の場合には、投与化合物を生理食塩水、リンゲル液等を基本とした等張電解質輸液製剤に溶解して調製することができる。

[0157] 本発明の医薬組成物の投与量としては、本発明の効果が奏される限り特に限定されず、剤型、患者の年齢、性別、病状の程度等によって適宜設定され得るが、例えば、経口投与の場合、上記一般式(Ⅰ)で示される化合物、上記一般式(ⅠⅠⅠ)で示される化合物又は上記式(V)で示される化合物の量に換算して成人(15才以上)(体重約60kgとして計算する)1日量あたり0.1~1,000mg/kg程度、好ましくは0.5~500mg/kg程度である。また、経口投与以外の方法で当該医薬組成物を投与する場合には、有効血中濃度が、上記一般式(Ⅰ)で示される化合物、上記一般式(ⅠⅠⅠ)で示される化合物又は上記式(ⅠⅤ)で示される化合物の量0.2~100µg/ml、より好ましくは0.5~50µg/mlとなるように投与することができる。

[0158] 本発明の医薬組成物は、癌の治療及び/又は予防のために使用することができる。本発明において癌とは、特に制限されないが、非上皮性及び上皮性の悪性腫瘍の両方が含まれる。具体的には、気管、気管支または肺等から発生する呼吸器系悪性腫瘍；上咽頭、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、虫垂、上行結腸、横行結腸、S状結腸、直腸または肛門部等から発生する消化管系良性又は悪性腫瘍；肝臓癌又は胆管癌；膵臓癌；膀胱、尿管又は腎臓から発生する泌尿器系悪性腫瘍；卵巣、卵管及び子宮等のから発生する女性生殖器系悪性腫瘍；乳癌：前立腺癌；皮膚癌；視床下部、下垂体、甲状腺、

副甲状腺、副腎皮質等の内分泌系悪性腫瘍；中枢神経系、末梢神経系、副腎髄質等の神経系悪性腫瘍；骨軟部組織から発生する悪性腫瘍等の固形がん、及び骨髓異形成症候群、急性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病、慢性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病、急性骨髄単球性白血病、慢性骨髄単球性白血病、急性単球性白血病、慢性単球性白血病、急性全骨髄性白血病、急性巨核球性白血病、赤白血病、好酸球性白血病、慢性好中球性白血病、成人T細胞白血病、ヘアリー細胞白血病、形質細胞性白血病、多発性骨髄腫、悪性リンパ腫等の造血系悪性腫瘍；リンパ系悪性腫瘍等の造血器がんが挙げられる。より好ましくは消化管系悪性腫瘍、女性生殖器系悪性腫瘍、乳癌、及び神経系悪性腫瘍から選択される少なくとも一種であり。さらに好ましくは神経芽細胞腫、乳癌、大腸癌等である。

[0159] 4. 細胞増殖抑制剤

本発明の細胞増殖抑制剤は、上記一般式（I）で示される化合物、上記一般式（I I I）で示される化合物若しくは上記式（I V）で示される化合物、又はそれらの薬学的に許容される塩を含み、より好ましくは上記一般式（I）で示される化合物若しくは上記一般式（I I I）で示される化合物、又はそれらの薬学的に許容される塩、さらに好ましくは上記一般式（I）で示される化合物、又はその薬学的に許容される塩を含む。

[0160] ここで、本発明における「細胞増殖抑制」とは、細胞死を誘起せずに、細胞周期をG0/G1期で停止させることをいう。細胞増殖抑制された状態とは、例えばフローサイトメトリー等の常法にしたがった細胞のDNA含有量を指標とする細胞周期解析において、例えば大腸がん細胞であるHCT116細胞において、アポトーシス細胞を示すsubG1に画分される細胞の割合が例えば10~15%以下、より好ましくは5~10%以下であり、及び／又は静止期を示すG0/G1期に画分される細胞の割合が60~70%以上、より好ましくは65~75%以上、さらに好ましくは70~80%以上の状態をいう。

[0161] 本発明の細胞増殖抑制剤は、上記一般式（I）で示される化合物、上記一般式（I I I）で示される化合物若しくは上記式（I V）で示される化合物

、又はそれらの薬学的に許容される塩の他、薬学的担体と組み合わせて調製することができる。当該医薬組成物調製の際用いられる担体としては、上記3.の項で記載した賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、着色剤、矯味剤、矯臭剤、界面活性剤等を例示できる。

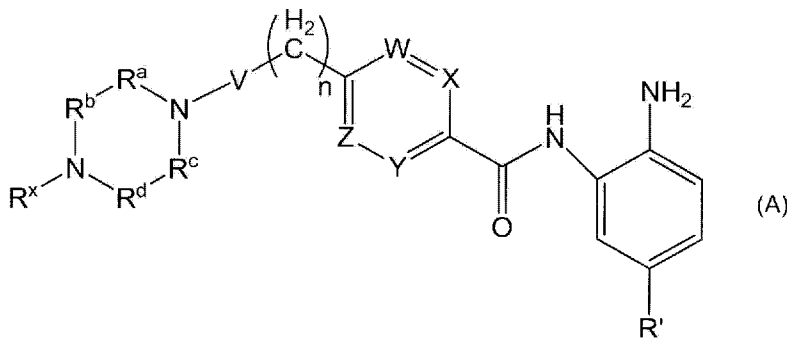
[0162] 上記細胞増殖抑制剤が経口投与されるものである場合の剤形は、錠剤、被覆錠剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤、液剤、丸剤、懸濁剤、乳剤等を例示できる。各剤形の調製は、上記3.の癌の治療及び／又は予防のための医薬組成物の調製方法に準じて行うことができる。

[0163] また、本発明の細胞増殖抑制剤の投与量、投与対照疾患は、上記3.の癌の治療及び／又は予防のための医薬組成物と同様である。

[0164] 5. 神経保護剤

本発明の神経保護剤は、下記一般式(A)で示される化合物、又はその薬学的に許容される塩を含む：

[0165] [化48]

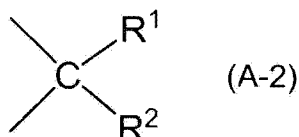


[0166] {式中、

R' は、チエニル基、フラニル基、フェニル基、又はハロゲン原子；

R^a、R^b、R^c、及びR^dのうち二つはカルボニル基であり、他の二つは同一又は異なって下記一般式(A-2)で示される基：

[0167] [化49]



[0168] [R¹及びR²は、同一又は異なって、水素原子、炭素数1～4のアルキル基、置換されていてもよいアリール基、置換されていてもよいシクロヘキシル基、又は置換されていてもよいテトラヒドロピラニル基であり、R^b若しくはR^dが上記式(A-2)で示される基である時は、R¹若しくはR²がR^xと共に炭素数3～6の飽和環を形成してもよい] ;

R^xは、水素原子、又は置換されていてもよい炭素数1～6のアルキル基 ;

nは、1～4のいずれかの整数 ;

Vは、直結又は-CO-NH- ;

W、X、Y、及びZは、同一又は異なってCH又は窒素原子である} 。

[0169] R'として好ましくは、チエニル基、フラニル基、フェニル基又は塩素原子等であり、より好ましくは、チエニル基又はフラニル基であり、さらに好ましくは、チエニル基である。

[0170] R^a、R^b、R^c、及びR^dとして好ましくは、R^a、R^b、R^c、及びR^dのうち二つはカルボニル基であり、他の二つは同一又は異なって上記一般式(A-2)で示される基であり、かつ、R^a及びR^cが、同時にカルボニル基でなく ; さらに好ましくは、R^aが、カルボニル基であり、R^cが上記一般式(A-2)で示される基であり ; 最も好ましくは、R^a及びR^bがカルボニル基である。

[0171] R¹及びR²として好ましくは、同時に水素原子 ; 同時に炭素数1～4のアルキル基 (この場合の炭素数1～4のアルキル基として好ましくは、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基又はイソブチル基等であり、より好ましくはメチル基、エチル基又はプロピル基であり、最も好ましくはメチル基又はエチル基である) ; 又は一方が水素原子であり他方が炭素数1～4のアルキル基、置換されていてもよいアリール基、置換されていてもよいシクロヘキシル基、又は置換されていてもよいテトラヒドロピラニル基であり (この場合の炭素数1～4のアルキル基として好ましくはメチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、sec-ブチル基、イソブチル基又はtert-ブチル基等であり、より好ましくはメチル

基、エチル基又はプロピル基であり、最も好ましくはメチル基又はエチル基であり；アリール基として好ましくは、フェニル基、モルフォリル基、又はピリジニル基等であり、より好ましくはフェニル基であり；アリール基、シクロヘキシル基及びテトラヒドロピラニル基の置換基として好ましくは、塩素原子、及びフッ素原子のいずれかのハロゲン原子、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、又は水酸基等であり、より好ましくは塩素原子、フッ素原子、メチル基、又はエチル基、最も好ましくは塩素原子、フッ素原子又はメチル基である）。

[0172] R^a 、 R^b 、 R^c 、および R^d のいずれか二つが上記一般式（A-2）で示される基である時の一態様としては、上記一般式（A-2）で示される基の二つが同一であり、かつ R^1 及び R^2 の両方が水素原子であることが好ましい。

[0173] また、別の態様として R^a 、 R^b 、 R^c 、および R^d のいずれか二つが異なって上記一般式（A-2）で示される基である時は、一方の上記一般式（A-2）で示される基の R^1 及び R^2 の両方が水素原子であり、他方がもう一方と異なる上記一般式（A-2）で示される基〔この場合の R^1 及び R^2 として好ましくは、両方がメチル基；又は R^1 及び R^2 の一方が水素原子であり、他方が炭素数1～4のアルキル基、置換されていてもよいアリール基、置換されていてもよいシクロヘキシル基、又は置換されていてもよいテトラヒドロピラニル基（この場合の炭素数1～4のアルキル基として好ましくはメチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、*sec*-ブチル基、イソブチル基、又は*tert*-ブチル基等であり、より好ましくはメチル基、エチル基又はプロピル基であり、最も好ましくはメチル基又はエチル基であり；アリール基として好ましくは、フェニル基、モルフォリル基、又はピリジニル基等であり、より好ましくはフェニル基であり；アリール基、シクロヘキシル基及びテトラヒドロピラニル基の置換基として好ましくは、塩素原子、及びフッ素原子のいずれかのハロゲン原子、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基又は水酸基等であり、より好ましくは塩素原子、フッ素原子、メチル基又はエチル基、最も好ましくは塩素原子、フッ素原子

又はメチル基である)] であることが好ましい。

[0174] R^b 若しくは R^d が上記式 (A-2) 示される基である時は、 R^1 若しくは R^2 が R^x と組み合わせさせて炭素数3~6の飽和環を形成してもよく、飽和環として好ましくは飽和3員環、飽和4員環、又は飽和5員環であり、より好ましくは飽和5員環である。

[0175] R^x は、水素原子、又は置換されていてもよい炭素数1~6のアルキル基であり、炭素数1~6のアルキル基は、直鎖型又は分岐型のアルキル基であり、より好ましくは直鎖型である。直鎖型のアルキル基として好ましくはメチル基、エチル基、プロピル基、ブチル基、ペンチル基、又はヘキシル基であり、より好ましくはメチル基、エチル基、又はプロピル基であり、最も好ましくはメチル基又はエチル基である。分岐型のアルキル基として好ましくはイソプロピル基、*sec*-ブチル基、イソブチル基、*tert*-ブチル基、イソペンチル基、ネオペンチル基、イソヘキシル基、又はビイソプロピル基等が挙げられる。より好ましくはイソプロピル基、*sec*-ブチル基、イソブチル基、又はイソペンチル基であり、さらに好ましくはイソプロピル基である。炭素数1~6のアルキル基の置換基として好ましくは、塩素原子、及びフッ素原子のいずれかのハロゲン原子、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、又は水酸基等であり、より好ましくは塩素原子、フッ素原子、メチル基、又はエチル基、最も好ましくは塩素原子、フッ素原子又はメチル基である。

[0176] n は、1~4のいずれかの整数であり、より好ましくは1又は2であり、最も好ましくは1である。

V は、直結又は $-CO-NH-$ であり；

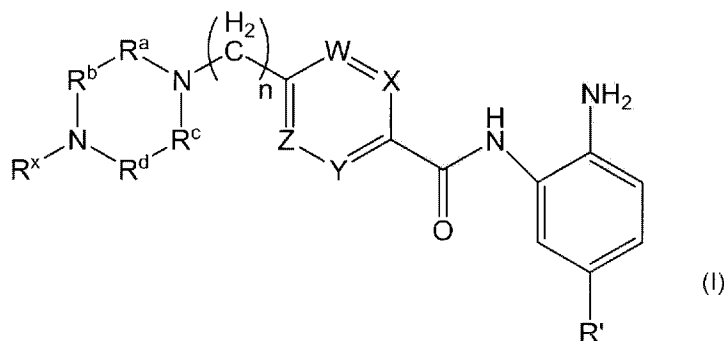
W 、 X 、 Y 、及び Z として好ましくは W 、 X 、 Y 、及び Z の全てが CH であるか又は W 、 X 、 Y 、及び Z のいずれか1つ若しくは2つが窒素原子であり；より好ましくは W 、 X 、 Y 、及び Z の全てが CH であるか、又は W 、 X 、 Y 、及び Z のいずれか1つが窒素原子であり；最も好ましくは W 、 X 、 Y 、及び Z の全てが CH である。

[0177] 神経保護剤に使用される上記一般式 (A) で示される化合物の塩は、上記 1 . 含窒素複素間誘導体の項に記載の塩を例示することができる。

(1) . V が直結である上記一般式 (A) で示される化合物

上記一般式 (A) で示される化合物のうち、V が直結である化合物は、以下の一般式 (I) で示される化合物である。

[0178] [化50]

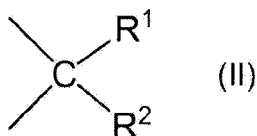


[0179] {式中、

R' は、チエニル基、フラニル基、フェニル基又はハロゲン原子；

R^a、R^b、R^c、及びR^dのうち二つはカルボニル基であり、他の二つは同一又は異なって下記一般式 (II) で示される基：

[0180] [化51]



[0181] [R¹及びR²は、同一又は異なって、水素原子、炭素数 1 ~ 4 のアルキル基、置換されていてもよいアリール基、置換されていてもよいシクロヘキシル基、又は置換されていてもよいテトラヒドロピラニル基であり、R^b若しくはR^dが上記式 (I) 示される基である時は、R¹若しくはR²がR^xと組み合わさって炭素数 3 ~ 6 の飽和環を形成してもよい]；

R^xは、水素原子、又は置換されていてもよい炭素数 1 ~ 6 のアルキル基；

n は、1 ~ 4 のいずれかの整数；

W、X、Y、及びZは、同一又は異なってCH又は窒素原子である}

である。

- [0182] R' として好ましくは、チエニル基、フラニル基、フェニル基又は塩素原子等であり、より好ましくは、チエニル基又はフラニル基であり、さらに好ましくは、チエニル基である。
- [0183] R^a、R^b、R^c、及びR^dとして好ましくは、R^a、R^b、R^c、及びR^dのうち二つはカルボニル基であり、他の二つは同一又は異なって上記一般式(11)で示される基であり、かつ、R^a及びR^cが、同時にカルボニル基でなく；さらに好ましくは、R^aが、カルボニル基であり、R^cが上記一般式(11)で示される基であり；最も好ましくは、R^a及びR^bがカルボニル基である。
- [0184] R¹及びR²として好ましくは、同時に水素原子；同時に炭素数1～4のアルキル基（この場合の炭素数1～4のアルキル基として好ましくは、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基又はイソブチル基等であり、より好ましくはメチル基、エチル基又はプロピル基であり、最も好ましくはメチル基又はエチル基である）；又は一方が水素原子であり他方が炭素数1～4のアルキル基、置換されていてもよいアリール基、置換されていてもよいシクロヘキシル基、又は置換されていてもよいテトラヒドロピラニル基であり（この場合の炭素数1～4のアルキル基として好ましくはメチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、sec-ブチル基、イソブチル基又はtert-ブチル基等であり、より好ましくはメチル基、エチル基又はプロピル基であり、最も好ましくはメチル基又はエチル基であり；アリール基として好ましくは、フェニル基、モルフォリル基、又はピリジニル基等であり、より好ましくはフェニル基であり；アリール基、シクロヘキシル基及びテトラヒドロピラニル基の置換基として好ましくは、塩素原子、及びフッ素原子のいずれかのハロゲン原子、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、又は水酸基等であり、より好ましくは塩素原子、フッ素原子、メチル基、又はエチル基、最も好ましくは塩素原子、フッ素原子又はメチル基である）。

- [0185] R^a 、 R^b 、 R^c 、および R^d のいずれか二つが上記一般式(11)で示される基である時の一態様としては、上記一般式(11)で示される基の二つが同一であり、かつ R^1 及び R^2 の両方が水素原子であることが好ましい。
- [0186] また、別の態様として R^a 、 R^b 、 R^c 、および R^d のいずれか二つが異なって上記一般式(11)で示される基である時は、一方の上記一般式(11)で示される基の R^1 及び R^2 の両方が水素原子であり、他方がもう一方と異なる上記一般式(11)で示される基〔この場合の R^1 及び R^2 として好ましくは、両方がメチル基；又は R^1 及び R^2 の一方が水素原子であり、他方が炭素数1～4のアルキル基、置換されていてもよいアリール基、置換されていてもよいシクロヘキシル基、又は置換されていてもよいテトラヒドロピラニル基（この場合の炭素数1～4のアルキル基として好ましくはメチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、sec-ブチル基、イソブチル基、又はtert-ブチル基等であり、より好ましくはメチル基、エチル基又はプロピル基であり、最も好ましくはメチル基又はエチル基であり；アリール基として好ましくは、フェニル基、モルフォリル基、又はピリジニル基等であり、より好ましくはフェニル基であり；アリール基、シクロヘキシル基及びテトラヒドロピラニル基の置換基として好ましくは、塩素原子、及びフッ素原子のいずれかのハロゲン原子、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基又は水酸基等であり、より好ましくは塩素原子、フッ素原子、メチル基又はエチル基、最も好ましくは塩素原子、フッ素原子又はメチル基である）〕であることが好ましい。
- [0187] R^b 若しくは R^d が上記式(11)で示される基である時は、 R^1 若しくは R^2 が R^x と組み合わせさせて炭素数3～6の飽和環を形成してもよく、飽和環として好ましくは飽和3員環、飽和4員環、又は飽和5員環であり、より好ましくは飽和5員環である。
- [0188] R^x は、水素原子、又は置換されていてもよい炭素数1～6のアルキル基であり、炭素数1～6のアルキル基は、直鎖型又は分岐型のアルキル基であり、より好ましくは直鎖型である。直鎖型のアルキル基として好ましくはメチ

ル基、エチル基、プロピル基、ブチル基、ペンチル基、又はヘキシル基であり、より好ましくはメチル基、エチル基、又はプロピル基であり、最も好ましくはメチル基又はエチル基である。分岐型のアルキル基として好ましくはイソプロピル基、sec-ブチル基、イソブチル基、tert-ブチル基、イソペンチル基、ネオペンチル基、イソヘキシル基、又はビイソプロピル基等が挙げられる。より好ましくはイソプロピル基、sec-ブチル基、イソブチル基、又はイソペンチル基であり、さらに好ましくはイソプロピル基である。炭素数1～6のアルキル基の置換基として好ましくは、塩素原子、及びフッ素原子のいずれかのハロゲン原子、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、又は水酸基等であり、より好ましくは塩素原子、フッ素原子、メチル基、又はエチル基、最も好ましくは塩素原子、フッ素原子又はメチル基である。

[0189] nは、1～4のいずれかの整数であり、より好ましくは1又は2であり、最も好ましくは1である。

[0190] W、X、Y、及びZとして好ましくはW、X、Y、及びZの全てがCHであるか又はW、X、Y、及びZのいずれか1つ若しくは2つが窒素原子であり；より好ましくはW、X、Y、及びZの全てがCHであるか、又はW、X、Y、及びZのいずれか1つが窒素原子であり；最も好ましくはW、X、Y、及びZの全てがCHである。

[0191] 一般式(1)で示される化合物のR'がチエニル基であるときの好ましい態様としては、R^a、R^b、R^c、およびR^dのうちR^a及びR^bがカルボニル基であり、他が同一又は異なって上記一般式(11)で示される基である。この場合R^cが上記一般式(11)で示される基(R¹及びR²は両方が水素原子)であり、かつカルボニル基でないR^b又はカルボニル基でないR^dは、R^cと同一であるか；又はR^cと異なる上記一般式(11)で示される基[この場合のR¹及びR²は、両方がメチル基；又はR¹及びR²の一方が水素原子であり、他方が炭素数1～4のアルキル基、置換されていてもよいアリール基、置換されていてもよいシクロヘキシル基、又は置換されていてもよいテトラヒ

ドロピラニル基（この場合の炭素数1～4のアルキル基として好ましくはメチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、sec-ブチル基、イソブチル基、又はtert-ブチル基等であり、より好ましくはメチル基、エチル基又はプロピル基であり、最も好ましくはメチル基又はエチル基であり；アリール基として好ましくは、フェニル基、モルフォリル基、又はピリジニル基等であり、より好ましくはフェニル基であり；アリール基、シクロヘキシル基及びテトラヒドロピラニル基の置換基として好ましくは、塩素原子、及びフッ素原子のいずれかのハロゲン原子、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基又は水酸基等であり、より好ましくは塩素原子、フッ素原子、メチル基又はエチル基、最も好ましくは塩素原子、フッ素原子又はメチル基である）]であることが好ましい。

[0192] R^b若しくはR^dが上記式(11)示される基である時は、R¹若しくはR²がR^xと組み合わせさせて炭素数3～6の飽和環を形成してもよく、飽和環としてより好ましくは飽和5員環である。

[0193] R^xは、水素原子、又は置換されていてもよい直鎖型の炭素数1～6のアルキル基であり、好ましくは、メチル基、エチル基、プロピル基、ブチル基、ペンチル基、又はヘキシル基であり、より好ましくは、メチル基、エチル基、又はプロピル基であり、最も好ましくはメチル基又はエチル基である。炭素数1～6のアルキル基の置換基として好ましくは、塩素原子、及びフッ素原子のいずれかのハロゲン原子、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、又は水酸基等であり、より好ましくは塩素原子、フッ素原子、メチル基、又はエチル基、最も好ましくは塩素原子、フッ素原子又はメチル基である。

[0194] nは、より好ましくは1又は2であり、最も好ましくは1である。

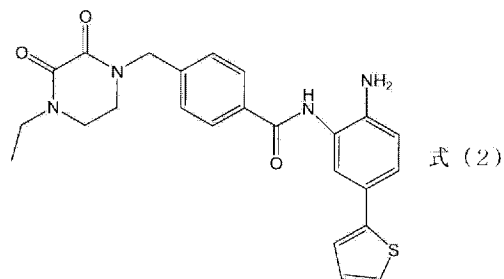
[0195] W、X、Y、及びZとして、好ましくはW、X、Y、及びZの全てがCHであるか、又はW、X、Y、及びZのいずれか1つが窒素原子であり；最も好ましくはW、X、Y、及びZの全てがCHである。

[0196] さらに、一般式(1)で示される化合物のR'がチエニル基である化合物

としては、下記式(2)～(10)で示される化合物が例示される：

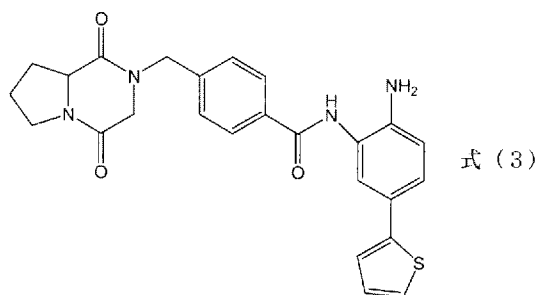
・N-(2-アミノ-5-(チオフェン-2-イル)フェニル)-4-((4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-イル)メチル)ベンズアミド

[0197] [化52]



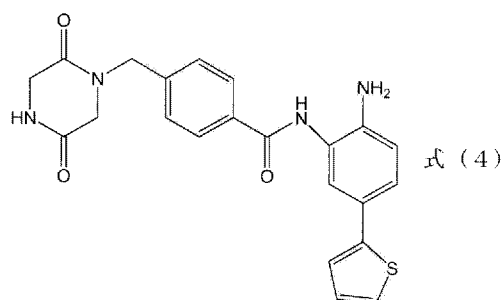
[0198] ・N-(2-アミノ-5-(チオフェン-2-イル)フェニル)-4-((1,4-ジオキソヘキサヒドロピロロ[1,2-a]ピラジン-2-(1H)-イル)メチル)ベンズアミド

[0199] [化53]



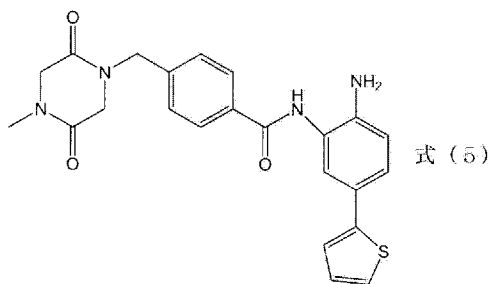
[0200] ・N-(2-アミノ-5-(チオフェン-2-イル)フェニル)-4-((2,5-ジオキソピペラジン-1-イル)メチル)ベンズアミド

[0201] [化54]



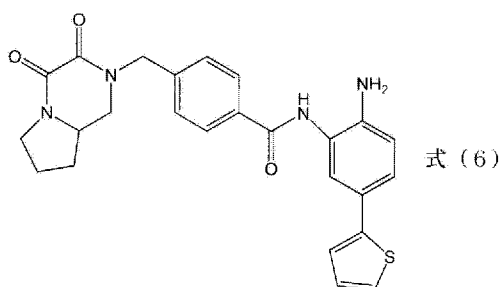
[0202] ・N-(2-アミノ-5-(チオフェン-2-イル)フェニル)-4-((4-メチル-2,5-ジオキソピペラジン-1-イル)メチル)ベンズアミド

[0203] [化55]



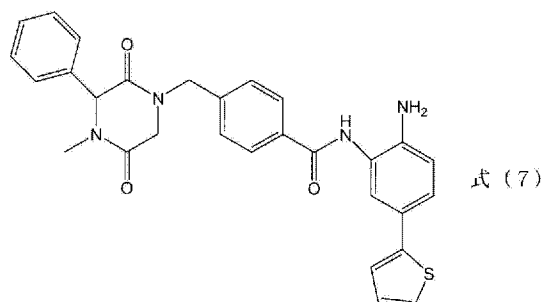
[0204] · N-(2-アミノ-5-(チオフェン-2-イル)フェニル)-4-((3,4-ジオキソ-ヘキサヒドロピロロ[1,2-a]ピラジン-2(1H)-イル)メチル)ベンズアミド

[0205] [化56]



[0206] · N-(2-アミノ-5-(チオフェン-2-イル)フェニル)-4-((4-メチル-2,5-ジオキソ-3-フェニルピペラジン-1-イル)メチル)ベンズアミド

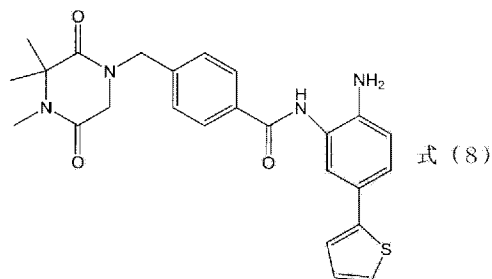
[0207] [化57]



[0208] · N-(2-アミノ-5-(チオフェン-2-イル)フェニル)-4-((3,3,4-トリメチル-2,5-ジオキソピペラジン-1-イル)メチル)ベンズアミド

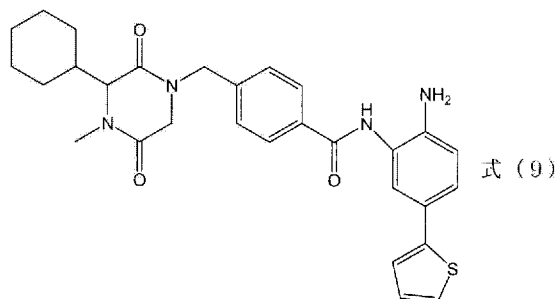
[0209]

[化58]



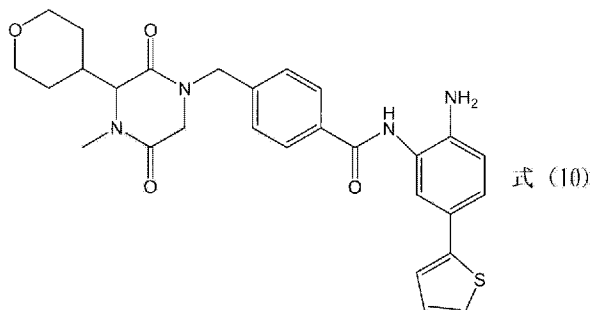
[0210] ・N-(2-アミノ-5-(チオフェン-2-イル)フェニル)-4-((3-シクロヘキシル-4-メチル-2,5-ジオキソピペラジン-1-イル)メチル)ベンズアミド

[0211] [化59]



[0212] ・N-(2-アミノ-5-(チオフェン-2-イル)フェニル)-4-((4-メチル-2,5-ジオキソ-3-(テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イル)ピペラジン-1-イル)メチル)ベンズアミド

[0213] [化60]



[0214] 一般式 (1) で示される化合物の R' が塩素原子であるときの好ましい態様としては、R^a、R^b、R^c、および R^d のうち R^a 及び R^b がカルボニル基であり、他が同一又は異なって上記一般式 (11) で示される基である。この場合 R^c が上記一般式 (11) で示される基 (R¹ 及び R² は両方が水素原子)

であり、かつR^dは、R^cと同一であるか、又はR^cと異なる上記一般式(11)で示される基[この場合のR¹及びR²は、両方がメチル基；又はR¹及びR²の一方が水素原子であり、他方が炭素数1~4のアルキル基、置換されていてもよいアリール基、置換されていてもよいシクロヘキシル基、又は置換されていてもよいテトラヒドロピラニル基(この場合の炭素数1~4のアルキル基として好ましくはメチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、sec-ブチル基、イソブチル基、又はtert-ブチル基等であり、より好ましくはメチル基、エチル基又はプロピル基であり、最も好ましくはメチル基又はエチル基であり；アリール基として好ましくは、フェニル基、モルフォリル基、又はピリジニル基等であり、より好ましくはフェニル基であり；アリール基、シクロヘキシル基及びテトラヒドロピラニル基の置換基として好ましくは、塩素原子、及びフッ素原子のいずれかのハロゲン原子、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基又は水酸基等であり、より好ましくは塩素原子、フッ素原子、メチル基又はエチル基、最も好ましくは塩素原子、フッ素原子又はメチル基である)]であることが好ましい。

[0215] R^xは、水素原子、又は置換されていてもよい直鎖型の炭素数1~6のアルキル基であり、好ましくは、メチル基、エチル基、プロピル基、ブチル基、ペンチル基、又はヘキシル基であり、より好ましくは、メチル基、エチル基、又はプロピル基であり、最も好ましくはメチル基又はエチル基である。炭素数1~6のアルキル基の置換基として好ましくは、塩素原子、及びフッ素原子のいずれかのハロゲン原子、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、又は水酸基等であり、より好ましくは塩素原子、フッ素原子、メチル基、又はエチル基、最も好ましくは塩素原子、フッ素原子又はメチル基である。

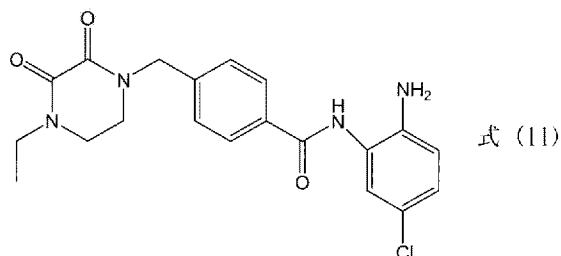
[0216] nは、より好ましくは1又は2であり、最も好ましくは1である。

[0217] W、X、Y、及びZとして、好ましくはW、X、Y、及びZの全てがCHであるかW、X、Y、及びZのいずれか1つが窒素原子であり、最も好ましくはW、X、Y、及びZの全てがCHである。

[0218] 一般式(1)で示される化合物のR'が塩素原子である化合物としては、下記式(11)で示される化合物が例示される。

・N-(2-アミノ-5-クロロフェニル)-4-((4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-イル)メチル)ベンズアミド

[0219] [化61]



[0220] 一般式(1)で示される化合物のR'がフラニル基又はフェニル基であるときの好ましい態様としては、R^a、R^b、R^c、およびR^dのうちR^a及びR^bがカルボニル基であり、残りが同一又は異なって上記一般式(11)で示される基である。この場合R^cが上記一般式(11)で示される基(R¹及びR²は両方が水素原子)であり、かつR^dは、R^cと同一であるか、又はR^cと異なる上記一般式(11)で示される基[この場合のR¹及びR²は、両方がメチル基；又はR¹及びR²の一方が水素原子であり、他方が炭素数1~4のアルキル基、置換されていてもよいアリール基、置換されていてもよいシクロヘキシル基、又は置換されていてもよいテトラヒドロピラニル基(この場合の炭素数1~4のアルキル基として好ましくはメチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、sec-ブチル基、イソブチル基、又はtert-ブチル基等であり、より好ましくはメチル基、エチル基又はプロピル基であり、最も好ましくはメチル基又はエチル基であり；アリール基として好ましくは、フェニル基、モルフォリル基、又はピリジニル基等であり、より好ましくはフェニル基であり；アリール基、シクロヘキシル基及びテトラヒドロピラニル基の置換基として好ましくは、塩素原子、及びフッ素原子のいずれかのハロゲン原子、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基又は水酸基等であり、より好ましくは塩素原子、フッ素原子、メチル基又はエチル

基、最も好ましくは塩素原子、フッ素原子又はメチル基である)] であることが好ましい。

[0221] R^xは、水素原子、又は置換されていてもよい直鎖型の炭素数1～6のアルキル基であり、好ましくは、メチル基、エチル基、プロピル基、ブチル基、ペンチル基、又はヘキシル基であり、より好ましくは、メチル基、エチル基、又はプロピル基であり、最も好ましくはメチル基又はエチル基である。炭素数1～6のアルキル基の置換基として好ましくは、塩素原子、及びフッ素原子のいずれかのハロゲン原子、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、又は水酸基等であり、より好ましくは塩素原子、フッ素原子、メチル基、又はエチル基、最も好ましくは塩素原子、フッ素原子又はメチル基である。

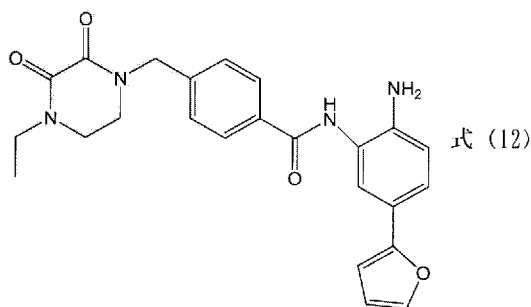
[0222] nは、より好ましくは1又は2であり、最も好ましくは1である。

[0223] W、X、Y、及びZとして好ましくはW、X、Y、及びZの全てがCHであるかW、X、Y、及びZのいずれか1つが窒素原子であり、最も好ましくはW、X、Y、及びZの全てがCHである。

[0224] 一般式(1)で示される化合物のR'がフラニル基又はフェニル基である化合物としては、下記式(12)又は(13)で示される化合物が例示される。

・N-(2-アミノ-5-(フラン-2-イル)フェニル)-4-((4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-イル)メチル)ベンズアミド

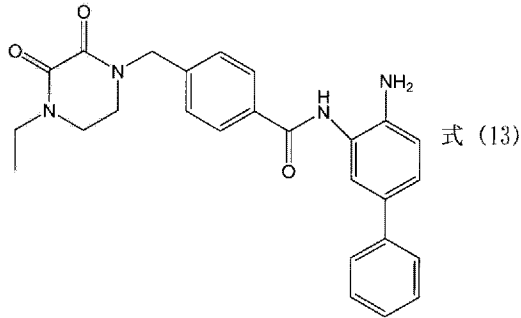
[0225] [化62]



[0226] ・N-(2-アミノ-5-(ベンゼン-2-イル)フェニル)-4-((4-エチル-2,3-ジオキソ

ピペラジン-1-イル)メチル)ベンズアミド

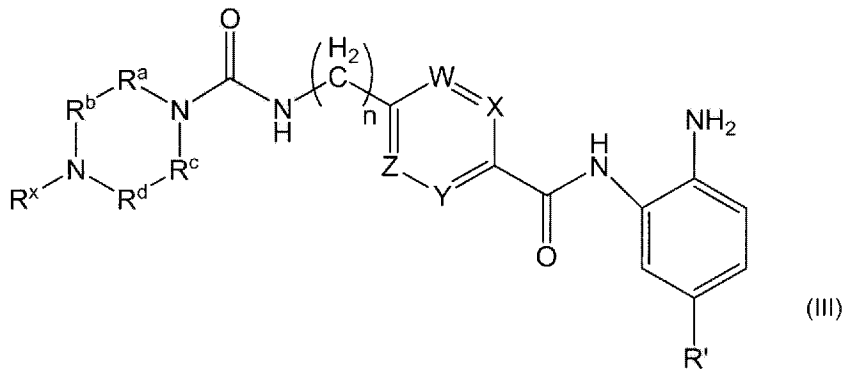
[0227] [化63]



[0228] (2) . Vが-CO-NH-である上記一般式 (A) で示される化合物

上記一般式 (A) で示される化合物のうち、Vが-CO-NH-である化合物は、以下の一般式 (III) で示される化合物である。

[0229] [化64]



[0230] (R'、Ra、Rb、Rc、Rd、R¹、R²、Rx、n、W、X、Y、及びZは、一般式 (I) と同じ) である。

[0231] 一般式 (III) のR'として好ましくは、チエニル基、フラニル基、フェニル基、又は塩素原子等であり、より好ましくは、チエニル基、フラニル基又フェニル基はであり、さらに好ましくは、チエニル基である。

[0232] 一般式 (III) のRa、Rb、Rc、及びRdとして好ましくは、一般式 (I) と同じであるが、最も好ましくは、Ra及びRd、若しくはRc、及びRdが同時にカルボニル基である。

[0233] 一般式 (III) のR¹、R²、Rx、及びnとして好ましくは、一般式 (I)

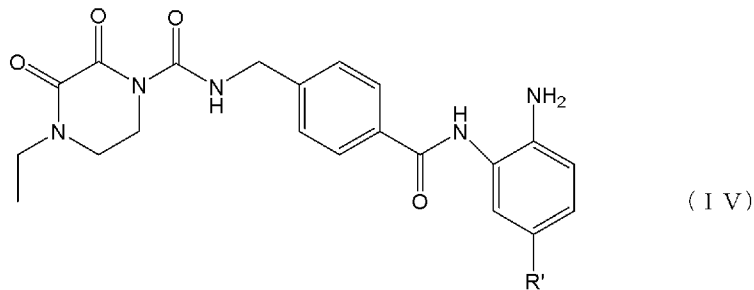
)と同じである。

[0234] 一般式(111)のW、X、Y、及びZとして好ましくは、一般式(1)と同じであるが、最も好ましくは、W、X、Y、及びZが同時にCHであるか；W、X、Y、及びZのうちW又はYのいずれか一方が窒素原子であり、それ以外はCHである。

一般式(111)で示される化合物のR'がチエニル基であるとき、塩素原子であるとき、又はフラニル基若しくはフェニル基である場合のR^a、R^b、R^c、R^d、R¹、R²、R^x、n、W、X、Y、及びZの好ましい態様は、一般式(1)と同じである。

[0235] 上記一般式(111)で示される化合物のうち、特に好ましい態様は、下記一般式(IV)で示される化合物である：

[0236] [化65]

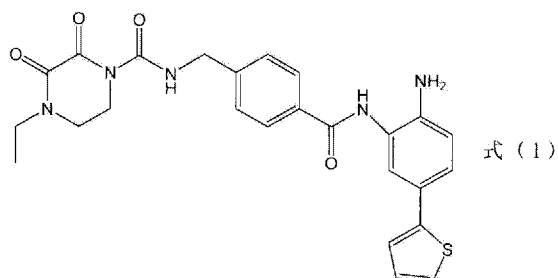


[0237] (式中、R'は、チエニル基、フラニル基、フェニル基、又は塩素原子である。)

さらに、一般式(111)で示される化合物としては、下記式(1)、(14)～(20)で示される化合物が例示できる。

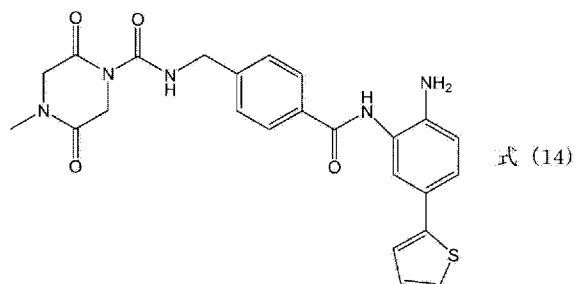
・N-(4-((2-アミノ-5-(チオフェン-2-イル)フェニル)カルバモイル)ベンジル)-4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-カルボキサミド

[0238] [化66]



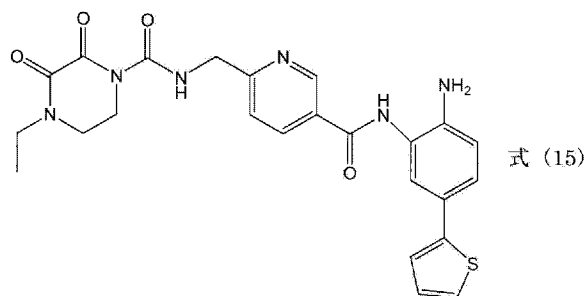
[0239] ・N-(4-(2-アミノ-5-(チオフェン-2-イル)フェニルカルバモイル)ベンジル)-
4-メチル-2,5-ジオキソピペラジン-1-カルボキサミド

[0240] [化67]



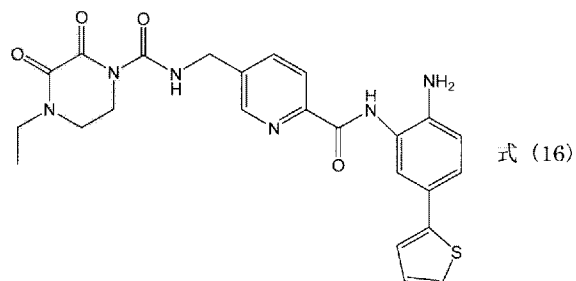
[0241] ・N-((5-(2-アミノ-5-(チオフェン-2-イル)フェニルカルバモイル)ピリジン
-2-イル)メチル)-4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-カルボキサミド

[0242] [化68]



[0243] ・N-((6-(2-アミノ-5-(チオフェン-2-イル)フェニルカルバモイル)ピリジン
-3-イル)メチル)-4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-カルボキサミド

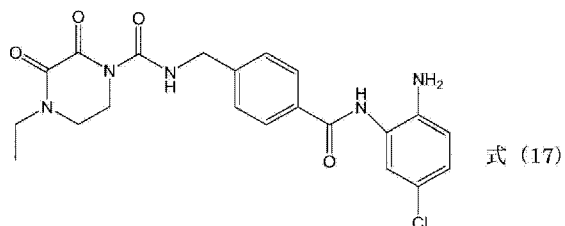
[0244] [化69]



[0245] ・N-(4-(2-アミノ-5-クロロフェニルカルバモイル)ベンジル)-4-エチル-2,3-
ジオキソピペラジン-1-カルボキサミド

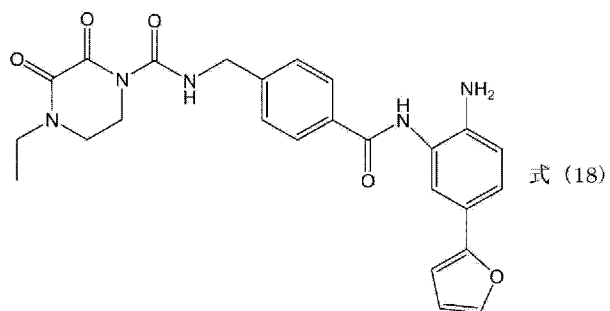
[0246]

[化70]



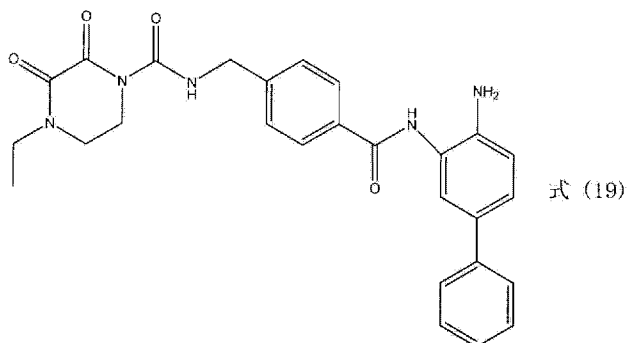
[0247] ・N-(4-(2-アミノ-5-(フラン-2-イル) フェニルカルバモイル)ベンジル)-4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-カルボキサミド

[0248] [化71]



[0249] ・N-(4-(2-アミノ-5-(ベンゼン-2-イル) フェニルカルバモイル)ベンジル)-4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-カルボキサミド

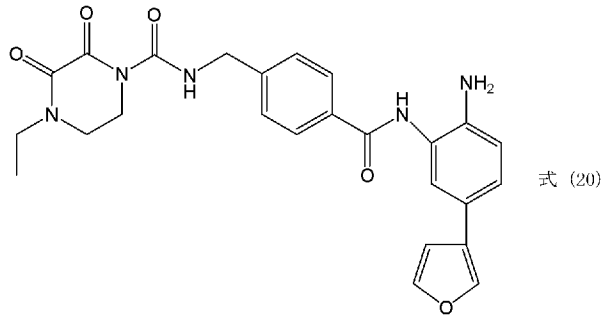
[0250] [化72]



[0251] ・N-(4-(2-アミノ-5-(フラン-3-イル) フェニルカルバモイル)ベンジル)-4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-カルボキサミド

[0252]

[化73]



[0253] 本発明の神経保護剤は、上記一般式（A）で示される化合物、又はその薬学的に許容される塩を含む。

[0254] 神経保護剤は、上記一般式（A）で示される化合物、又はそれらの薬学的に許容される塩の他、薬学的担体と組み合わせて調製することができる。当該神経保護剤調製の際用いられる担体としては、通常の薬剤に汎用される各種のもの、例えば上記3. の癌の治療及び／又は予防のための医薬組成物と同じ賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、着色剤、矯味剤、矯臭剤、界面活性剤等を例示できる。

[0255] 上記神経保護剤が経口投与されるものである場合の剤形は、特に制限されないが、錠剤、被覆錠剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤、液剤、丸剤、懸濁剤、乳剤等を例示できる。また上記神経保護剤が、非経口投与されるものである場合には、注射剤、液体製剤、点滴剤等を例示できる。

[0256] 上記神経保護剤各剤形の調製は、上記3. の医薬組成物の調製方法に準じて行うことができる。

[0257] 本発明の神経保護剤の投与量としては、本発明の効果が奏される限り特に限定されず、剤型、患者の年齢、性別、病状の程度等によって適宜設定され得るが、例えば、上記一般式（A）上記式（IV）で示される化合物の量に換算して成人（15才以上）（体重約60kgとして計算する）1日量あたり0.1～1,000mg/kg程度、好ましくは0.5～500mg/kg程度である。また、経口投与以外の方法で当該神経保護剤を投与する場合には、有効血中濃度が、上記一般式（A）上記式（IV）で示される化合物

の量で示される化合物の量0.2~100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、より好ましくは0.5~50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ となるように投与することができる。

[0258] 本発明において「神経保護剤」とは、神経系細胞の細胞死を抑制する作用を示す薬剤をいう。また、「細胞死」とは細胞が死滅することを意味し、その機序は、アポトーシス、ネクローシス、オートファジー経路等全ての機序が含まれ、特に限定されるものではない。さらに「細胞死の抑制」とは、死滅する細胞の数又は割合を減少させることをいう。

[0259] 本発明において、神経系細胞には、神経細胞、グリア細胞、アストロサイト、ミクログリア、オリゴデンドロサイト、及びシュワン細胞等が含まれる。

[0260] また、本発明の神経保護剤はHDAC1およびHDAC2を選択的に阻害するが、アポトーシス等の細胞死を誘導せずむしろ抑制し、オートファジー等の生存シグナルを誘導し、神経系細胞の細胞死を抑制すると考えられる。本発明の神経保護剤は、神経細胞、グリア細胞、アストロサイト、ミクログリア、オリゴデンドロサイト、及びシュワン細胞等の神経系細胞の細胞死を抑制するものであり、好適には、神経細胞、グリア細胞、及びオリゴデンドロサイトの細胞死を抑制し、さらに好適には、神経細胞死を抑制する。

[0261] 本発明の神経保護剤は、神経系疾患の予防及び／又は治療に用いることができる。本発明において、「神経系疾患」には、神経変性疾患及び虚血性脳疾患、外傷性脳障害等が含まれる。

[0262] 本発明において「神経変性疾患」とは、虚血以外を原因として神経系細胞が死滅する疾患を意味し、本発明の神経保護剤は神経変性疾患を予防及び／又は治療することができる。神経変性疾患としては、例えば、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、アルツハイマー病、ポリグルタミン病、プリオン病、多発性硬化症、重症筋無力症、ギラン・バレー症候群、フィッシャー症候群、慢性炎症性脱髄性多発神経炎、多巣性運動ニューロパチー、クロウ・フカセ症候群、HTLV-1関連脊髄症（HAM）、中枢・末梢連合脱髄症が挙げられる。本発明の神経保護剤は特に、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、ア

ルツハイマー型認知症、脳血管性認知症、ポリグルタミン病多発性硬化症、ギラン・バレー症候群、慢性炎症性脱髄性多発神経炎、又は多巣性運動ニューロパチーを予防及び／又は治療することができる。本発明の神経保護剤は、これら疾患の中で、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、アルツハイマー型認知症、又は脳血管性認知症の予防／治療に好適に用いられ、さらに好適には、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症の予防／治療に好適に用いられる。

[0263] 本発明において「虚血性脳疾患」とは、脳の虚血が原因で発症する疾患を意味し、例えば、アテローム血栓性脳梗塞、心原性脳塞栓症、ラクナ梗塞等の脳梗塞等である。脳梗塞の急性期は、虚血により神経細胞が死滅するが、現在のところ発症から数時間経過すると神経細胞の死滅を抑制することができない。

[0264] 本発明の神経保護剤は脳梗塞の急性期に特に有用であり、発症から好ましくは72時間、より好ましくは、48時間、さらに好ましくは24時間以内に投与することができる。

[0265] 6. 神経系疾患の予防及び／又は治療剤

本発明の一態様として、上記一般式(A)で示される化合物、又はその塩を含む神経系疾患の予防及び／又は治療剤が含まれる。

[0266] 本発明の予防及び／又は治療剤は、上記一般式(A)で示される化合物、又はその塩の他、薬学的担体と組み合わせて調製することができる。当該予防及び／又は治療剤の調製の際用いられる担体、剤形、及びその調製方法は、上記「神経保護剤」と同様である。また、本発明の予防及び／又は治療剤の投与量、投与対象疾患は、上記「神経保護剤」と同様である。

[0267] 7. 神経系疾患の予防及び／又は治療のための医薬組成物

本発明の一態様として、上記一般式(A)で示される化合物、又はその塩を含む神経系疾患の予防及び／又は治療のための医薬組成物が含まれる。

[0268] 本発明の医薬組成物は、上記一般式(A)で示される化合物、又はその塩の他、薬学的担体と組み合わせて調製することができる。当該医薬組成物調

製の際用いられる担体としては、上記「神経保護剤」で記載した賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、着色剤、矯味剤、矯臭剤、界面活性剤等を例示できる。

[0269] 上記医薬組成物が経口投与されるものである場合の剤形は、錠剤、被覆錠剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤、液剤、丸剤、懸濁剤、乳剤等を例示できる。また上記医薬組成物が、非経口投与されるものである場合には、注射剤、液体製剤、点滴剤等を例示できる。各剤形の調製方法は、上記「神経保護剤」の調製方法に準じて行うことができる。

[0270] また、本発明の医薬組成物の投与量、投与対象疾患は、上記「神経保護剤」と同様である。

[0271] 8. 神経系疾患の予防及び／又は治療方法

本発明の一態様として、上述の「上記一般式（A）で示される化合物、又はその塩」を使用した神経系疾患の予防及び／又は治療方法が含まれる。神経系疾患の具体例及び神経保護剤の投与方法は、上述の通りである。

実施例

[0272] 以下、実施例を示して本発明をさらに詳細に説明するが、本発明は実施例の態様に限定されるものではない。

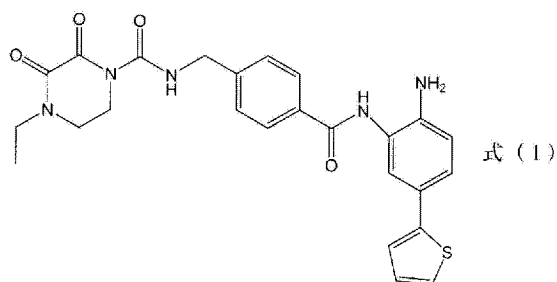
[0273] なお、以下に示す動物実験は、大阪大学動物実験規程に基づき大阪大学医学系研究科動物実験委員会の承認の元、大阪大学医学部附属動物実験施設において行った。また1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) 及び1-methyl-4-phenylpyridinium (MPP+) の使用及び廃棄は、安全性データシート (MSDS) にしたがって行った。

[0274] また、下記実施例において、融点測定は、MP-500P (Yanaco) を使用した。HR-ESI-MSには、LCMS-IT-TOF (SIMADZU) を使用した。核磁気共鳴装置 (NMR) は、JEOL-EX-400 (400 MHz) を使用した。薄層クロマトグラフィー (TLC) は、Silica gel 60 F₂₅₄ (Merck) を使用した。中圧分取クロマトグラフは、W-Prep 2XY-10VW (山善) を使用し、フラッシュカラムクロマトグラフィーカートリッジには、Biotage ZIP™ (Biotage) を用いた。

[0275] 参考合成例 1 : N-(4-((2-アミノ-5-(チオフェン-2-イル)フェニル)カルバモイル)ベンジル)-4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-カルボキサミド[N-(4-((2-amino-5-(thiophen-2-yl)phenyl)carbamoyl)benzyl)-4-ethyl-2,3-dioxopiperazine-1-carboxamide:K-560 (式1)]の合成

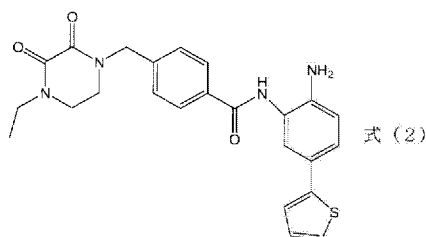
K-560は、Hirata Y et al (Bioorg Med Chem Lett, 2012 Mar 1;22(5):192 6-30)に記載の化合物8bである。

[0276] [化74]



[0277] 実施例 1 : N-(2-アミノ-5-(チオフェン-2-イル)フェニル)-4-((4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-イル)メチル)ベンズアミド[N-(2-amino-5-(thiophen-2-yl)phenyl)-4-((4-ethyl-2,3-dioxopiperazin-1-yl)methyl)benzamide:K-852 (式2)]の合成

[0278] [化75]



[0279] (1) tert-ブチル2-(4-((4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-イル)メチル)ベンズアミド)-4-(チオフェン-2-イル)フェニルカルバメート[tert-butyl 2-(4-((4-ethyl-2,3-dioxopiperazin-1-yl)methyl)benzamido)-4-(thiophen-2-yl)phenylcarbamate] (K-852a)の合成

エチル2,3-ジオキソピペラジン(0.30 g, 2.1 mmol)を無水DMF (5 ml)に溶解し、氷冷下で水素化ナトリウム (0.10 g, 4.2 mmol)を加えて2時間攪拌した。続いて、反応液にtert-ブチル2-(4-(クロロメチル)ベンズアミド)-4-

- (チオフェン-2-イル)フェニルカルバメート(0.33 g, 0.74 mmol)を加え、室温に戻し、一晩中攪拌した。得られた反応液に氷を加え、クロロホルムで抽出した。有機層をbrineで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた残渣を、クロロホルム・メタノール混合液(CHCl_3 : MeOH = 9 : 1)を溶出溶媒としてシリカゲルクロマトグラフィーで精製し、白色粉末状結晶の化合物K-852a (0.17 g, 収率41.9%)を得た。

[0280] 化合物K-852aの物性は以下の通りであった：m. p. 119-121°C ; ^1H NMR (399.65 MHz, CDCl_3) : 1.15 (3H, t, $J = 6.4$ Hz, $-\text{CH}_3$), 1.48 (9H, s, $-\text{Boc}$), 3.41-3.50 (6H, m), 4.66 (2H, d, $J = 6.4$ Hz), 7.00-8.01 (10H, m), 9.71 (1H, brs, $-\text{CONH}-$) ; HR-ESI-MS m/z: (M + H)⁺ calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{33}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$, 549.2171; found, 549.2173。

[0281] (2) 化合物K-852aからN-(2-アミノ-5-(チオフェン-2-イル)フェニル)-4-((4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-イル)メチル)ベンズアミド[N-(2-amino-5-(thiophen-2-yl)phenyl)-4-((4-ethyl-2,3-dioxopiperazin-1-yl)methyl)-Benzamide] (K-852)の合成

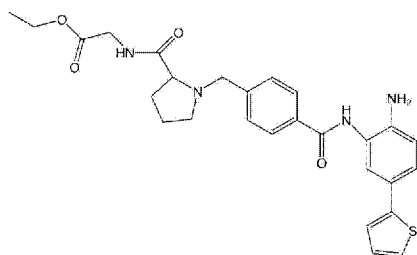
化合物K-852a (0.05 g, 0.091 mmol)にジクロロメタン・トリフルオロ酢酸混液 (CH_2Cl_2 : TFA = 4 : 1)を3 ml加え、室温で1時間攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水を加え、クロロホルムで抽出した。有機層をbrineで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた結晶を酢酸エチル-ヘキサンで再結晶し、白色粉末状結晶のK-852 (0.02 g, 収率35.3%)を得た。

[0282] K-852の物性は、以下の通りであった：m. p. 130-131°C ; ^1H NMR (399.65 MHz, CDCl_3) : 1.14 (3H, t, $J = 6.4$ Hz, $-\text{CH}_3$), 3.41-3.50 (6H, m), 4.66 (2H, d, $J = 6.4$ Hz), 7.00-7.61 (10H, m), 7.94 (1H, brs, $-\text{CONH}-$) ; HR-ESI-MS m/z: (M + H)⁺ calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$, 449.1647; found, 449.1660。

[0283] 実施例2 : エチル2-(1-(4-(2-アミノ-5-(チオフェン-2-イル)フェニルカルバモイル)ベンジル)ピロリドン-2-カルボキサミド)酢酸塩 [ethyl 2-(1-(4-(2-amino-5-(thiophen-2-yl)phenylcarbamoil)benzyl)pyrrolidine-2-carboxa

mido)acetate:K-853] の合成

[0284] [化76]



式 (V)

[0285] (1) 2-(1-(4-(2-(tert-ブトキシカルボニルアミノ)-5-(チオフェン-2-イル)フェニルカルバモイル)ベンジル)ピロリジン-2-カルボキサミド)アセテート[ethyl 2-(1-(4-(2-(tert-butoxycarbonylamino)-5-(thiophen-2-yl)phenyl)carbamoyl)benzyl)pyrrolidine-2-carboxamido)acetate] (K-853a) の合成

2-(ピロリジン-2-カルボキサミド)アセテート(0.30 g, 1.00 mmol)を無水DMF (5 ml)に溶解し、氷冷下で水素化ナトリウム (0.10 g, 4.2 mmol)を加えて2時間攪拌した。続いて、反応液にtert-ブチル2-(4-(クロロメチル)ベンズアミド)-4-(チオフェン-2-イル)フェニルカルバメート(0.33 g, 0.70 mmol)を加え、室温に戻し、一晩中攪拌した。得られた反応液に氷を加え、クロロホルムで抽出した。有機層をbrineで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた残渣を、クロロホルム・メタノール混合液(CHCl₃:MeOH = 9:1)を溶出溶媒としてシリカゲルクロマトグラフィーで精製し、白色粉末状結晶の化合物K-853a (0.15 g, 収率35.3%)を得た。

[0286] 化合物K-853aの物性は、以下の通りであった：m. p. 75-79°C；HR-ESI-MS m/z: (M + H)⁺ calcd for C₃₂H₃₉N₄O₆S, 607.2590；found, 607.2581。

[0287] (2) 化合物K-853aからのエチル 2-(1-(4-(2-アミノ-5-(チオフェン-2-イル)フェニルカルバモイル)ベンジル)ピロリドン-2-カルボキサミド)酢酸塩 [ethyl 2-(1-(4-(2-amino-5-(thiophen-2-yl)phenyl)carbamoyl)benzyl)pyrrolidine-2-carboxamido)acetate] (K-853)の合成

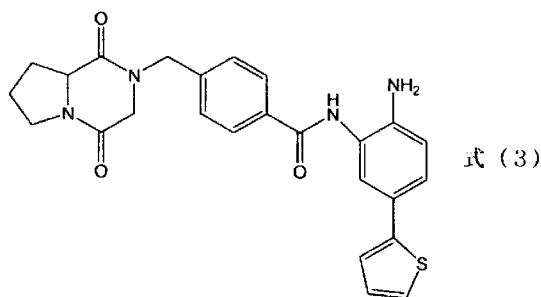
化合物K-853a (0.1 g, 0.09 mmol)にジクロロメタン・トリフルオロ酢酸混液 (CH₂Cl₂:TFA = 4:1)を3 ml加え、室温で1時間攪拌した。反応液に飽和炭

酸水素ナトリウム水を加え、クロロホルムで抽出した。有機層をbrineで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた結晶を酢酸エチル・ヘキサンで再結晶し、白色粉末状結晶のK-853(0.017 g, 収率37.3%)を得た。

[0288] K-853の物性は、以下の通りであった：m. p. 69-72°C；HR-ESI-MS m/z: (M + H)⁺ calcd for C₂₇H₃₁N₄O₄S, 507.2066; found, 507.2053。

実施例3：N-(2-アミノ-5-(チオフェン-2-イル)フェニル)-4-((1,4-ジオキソ-ヘキサヒドロピロロ[1,2-a]ピラジン-2-(1H)-イル)メチル)ベンズアミド[N-(2-amino-5-(thiophen-2-yl)phenyl)-4-((1,4-dioxo-hexahydropyrrolo[1,2-a]pyrazin-2-(1H)-yl)methyl)benzamide:K-854 (式3)]の合成

[0289] [化77]



[0290] (1) tert-ブチル2-(4-((1,4-ジオキソ-ヘキサヒドロピロロ[1,2-a]ピラジン-2(1H)-イル)メチル)-ベンズアミド)-4-(チオフェン-2-イル)フェニルカルバメート[tert-butyl 2-(4-((1,4-dioxo-hexahydropyrrolo[1,2-a]pyrazin-2(1H)-yl)methyl)-benzamido)-4-(thiophen-2-yl)phenylcarbamate] (K-854a)の合成 ヘキサヒドロピロロ[1,2-a]ピラジン-1,4-ジオン(0.30 g, 2.11 mmol；光学活性体S体)を無水DMF (5 ml)に溶解し、氷冷下で水素化ナトリウム (0.10 g, 4.2 mmol)を加えて2時間攪拌した。続いて、反応液にtert-ブチル2-(4-(クロロメチル)ベンズアミド)-4-(チオフェン-2-イル)フェニルカルバメート(0.31 g, 0.70 mmol)を加え、室温に戻し一晩中攪拌した。得られた反応液に氷を加え、クロロホルムで抽出した。有機層をbrineで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた残渣を、酢酸エチル・ヘキサン混合液及びクロロホルム・メタノール混合液(EtOAc : hexan

e = 1:4、次いで、 CHCl_3 : MeOH = 95:5)を溶出溶媒としてシリカゲルクロマトグラフィーに付し、白色粉末状結晶の化合物K-854a (0.12 g, 収率32.9%)を得た。

[0291] 化合物K-854a の物性は、以下の通りであった : m. p. 113–116°C ; ^1H NMR (399.65 MHz, CDCl_3): 1.49, 1.50, 1.52 (9H, each s, -Boc), 1.87–2.48 (4H, m, $-\text{CH}_2-\times 2$), 3.52–3.78 (3H, m, $-\text{CH}-\times 3$), 4.00 (1H, d, $J = 16.4$ Hz, $-\text{CH}-$), 4.15 (1H, t, $J = 7.2$ Hz, $-\text{CH}-$), 4.49 (1H, d, $J = 14.8$ Hz, $-\text{CH}-$) 4.80 (1H, d, $J = 14.8$ Hz, $-\text{CH}-$), 7.14–7.41 (6H, m, Ar- H_6), 7.89–7.97 (3H, m, Ar- H_3), 9.40 (1H, brs, NH) ; HR-ESI-MS m/z: (M + H)⁺ calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{33}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$, 561.2171; found, 561.2178。

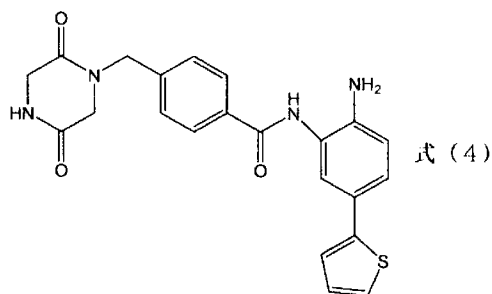
[0292] (2) 化合物K-854a からのN-(2-アミノ-5-(チオフェン-2-イル)フェニル)-4-((1,4-ジオキソ-ヘキサヒドロピロロ[1,2-a]ピラジン-2-(1H)-イル)メチル)ベンズアミド[N-(2-amino-5-(thiophen-2-yl)phenyl)-4-((1,4-dioxo-hexahydropyrrolo[1,2-a]pyrazin-2(1H)-yl)methyl)benzamide] (K-854)の合成

化合物K-854a (0.10 g, 0.17 mmol)に、ジクロロメタン・トリフルオロ酢酸混液 (CH_2Cl_2 : TFA = 4 : 1)を3 ml加え、室温で3時間攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水を加え、 CHCl_3 で抽出した。有機層をbrineで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた残渣を、クロロホルム・メタノール混合液(CHCl_3 :MeOH = 9:1)を溶出溶媒としてシリカゲルクロマトグラフィーに付し、得られた化合物をクロロホルム-ヘキサンで再結晶し、白色粉末状結晶のK-852 (0.03 g, 収率38.2%)を得た。

[0293] K-854の物性は、以下の通りであった : m. p. 187–190°C ; ^1H NMR (399.65 MHz, CDCl_3): 1.90, 2.23 (4H, each m, $-\text{CH}_2-\times 2$), 3.69 (1H, d, $J = 16.4$ Hz, $-\text{CH}-$), 4.17 (1H, d, $J = 16.8$ Hz, $-\text{CH}-$), 4.31 (1H, t, $J = 7.2$ Hz, $-\text{CH}-$), 4.63 (2H, s, $-\text{NH}_2$), 5.17 (2H, s, $-\text{CH}_2-$) 6.74–7.50 (7H, m, Ar- H_7), 7.96 (2H, m, Ar- H_2), 9.68 (1H, m, NH) ; HR-ESI-MS m/z: (M + H)⁺ calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{25}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$, 461.1647; found, 461.01630。

実施例4 : N-(2-アミノ-5-(チオフェン-2-イル)フェニル)-4-((2,5-ジオキソピペラジン-1-イル)メチル)ベンズアミド [N-(2-amino-5-(thiophen-2-yl)phenyl)-4-((2,5-dioxopiperazin-1-yl)methyl)benzamide :K-855 (式4)] の合成

[0294] [化78]



[0295] (1) tert-ブチル2-(4-(2,5-ジオキソピペラジン-1-イル)メチル)ベンズアミド)-4-(チオフェン-2-イル)-フェニルカルバメート [tert-butyl 2-(4-((2,5-dioxopiperazin-1-yl)methyl)benzamido)-4-(thiophen-2-yl)-phenylcarbamate] (K-855a) の合成 グリシン無水物 (1.00 g, 8.76 mmol) を無水DMF (20 ml) に懸濁させ、氷冷下で水素化ナトリウム (0.42 g, 17.52 mmol) を加え、室温にて1時間攪拌した。反応容器外温を室温から徐々に100度まで上げながら、6時間にわたり加熱攪拌した。反応液を室温に戻し、tert-ブチル2-(4-(クロロメチル)ベンズアミド)-4-(チオフェン-2-イル)フェニルカルバメート (0.49 g, 1.10 mmol) を加え、室温で一晩中攪拌した。反応液に氷を加え、クロロホルムで抽出した。有機層をbrineで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた残渣を、クロロホルム・メタノール混合液 (CHCl₃ : MeOH = 9 : 1) を溶出溶媒としてシリカゲルクロマトグラフィーで精製し、白色固形物の化合物K-855a (0.07 g, 収率12.2%) を得た。

[0296] 化合物K-855aの物性は、以下の通りであった : m. p. 139-142°C ; ¹HNMR (399.65 MHz, CDCl₃): 1.14 (3H, t, J = 6.4 Hz, -CH₃), 3.41-3.50 (6H, m), 4.66 (2H, d, J = 6.4 Hz), 7.00-7.61 (10H, m), 7.94 (1H, bs, -CONH-); HR-ESI-MS m/z: (M + H)⁺ calcd for C₂₇H₂₉N₄O₅S, 521.1858; found, 521.1849.

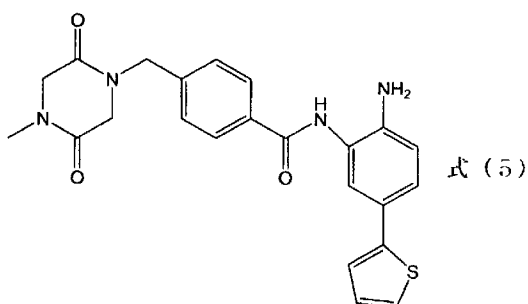
[0297] (2) 化合物K-855aからのN-(2-アミノ-5-(チオフェン-2-イル)フェニル)-

4-((2,5-ジオキソピペラジン-1-イル)メチル)ベンズアミド[N-(2-amino-5-(thiophen-2-yl)phenyl)-4-((2,5-dioxopiperazin-1-yl)methyl)benzamide](K-855)の合成 化合物K-855a (0.05 g, 0.09 mmol)にジクロロメタン・トリフルオロ酢酸混液 (CH₂Cl₂ : TFA = 4:1)を3 ml加え、室温で3時間攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水を加え、クロロホルムで抽出した。有機層をbrineで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた残渣を、クロロホルム・メタノール混合液(CHCl₃ : MeOH = 9 : 1)を溶出溶媒としてシリカゲルクロマトグラフィーで精製し、白色粉末状結晶のK-855 (0.03 g, 収率64%)を得た。

[0298] 化合物K-855の物性は、以下の通りであった：m. p. 147-149°C ; HR-ESI-MS m/z: (M + H)⁺ calcd for C₂₂H₂₁N₄O₃S, 421.1334; found, 421.1340。

実施例5 : N-(2-アミノ-5-(チオフェン-2-イル)フェニル)-4-((4-メチル-2,5-ジオキソピペラジン-1-イル)メチル)ベンズアミド[N-(2-amino-5-(thiophen-2-yl)phenyl)-4-((4-methyl-2,5-dioxopiperazin-1-yl)methyl)benzamide:K-856 (式5)]の合成

[0299] [化79]



[0300] (1) 1-メチルピペラジン-2,5-ジオン[1-methylpiperazine-2,5-dione] (K-856a)の合成

グリシルサルコシン(1.00 g, 6.80 mmol)にエチレングリコール(10 ml)と脱水剤として硫酸マグネシウム (2 g)を加え、200°Cで4時間加熱還流した。反応液を吸引濾過し、得られた濾液を減圧濃縮した。得られた残渣を、クロロホルム・メタノール混合液(CHCl₃ : MeOH : H₂O = 12 : 5 : 1)を溶出溶媒としてシリカゲルクロマトグラフィーに付し、得られた化合物をイソプロパノール

から再結晶し、白色粉末状の結晶の化合物K-856a (0.32 g, 収率36.8%)を得た。

[0301] 化合物K-856aの物性は、以下の通りであった：m. p. 138-139°C；¹H NMR ((CD₃)₂SO) δ：2.80 (3H, s, -CH₃), 3.76 (2H, s, -COCH₂-), 3.86 (2H, s, -COCH₂-), 8.09 (1H, s, -NH-)；

HR-ESI-MS m/z: (M + H)⁺ calcd for C₅H₉N₂O₂, 129.0665; found, 129.0658。

[0302] (2) 化合物K-856aからのtert-ブチル2-(4-((4-メチル-2,5-ジオキソピペラジン1-イル)メチル)ベンズアミド)-4-(チオフェン-2-イル)フェニルカルバメート[tert-butyl 2-(4-((4-methyl-2,5-dioxopiperazin-1-yl)methyl)benzamido)-4-(thiophen-2-yl)phenylcarbamate] (K-856b)の合成

化合物K-856a (0.10 g, 0.78 mmol)を無水DMF (5 ml)に溶解し、氷冷下で水素化ナトリウム (0.075 g, 1.87 mmol)を加えて2時間攪拌した。反応液にtert-ブチル2-(4-(クロロメチル)-ベンズアミド)-4-(チオフェン-2-イル)フェニルカルバメート(0.35 g, 0.78 mmol)を加え、室温に戻し、3時間攪拌した。反応液に氷を加えた後、クロロホルムを加えて振盪した。有機層をbrineで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた残渣を、クロロホルム・メタノール混合液(CHCl₃:MeOH = 9:1)を溶出溶媒としてシリカゲルクロマトグラフィーに付し、淡黄色無定形晶の化合物K-856b (178.0 mg, 収率42.7%)を得た。

[0303] 化合物K-856bの物性は、以下の通りであった：m. p. 110-112°C；¹H NMR (399.65 MHz, CDCl₃): 1.51 (9H, brs, -Boc), 2.99 (3H, s, -CH₃), 3.88 (2H, s, -COCH₂-), 4.07 (2H, s, -COCH₂-), 4.64 (2H, brs, -CH₂-), 7.00-7.98 (10H, m, Ar-H), 9.38 (1H, s, -NH-)；

HR-ESI-MS m/z: (M + H)⁺ calcd for C₂₈H₃₁N₄O₅S, 535.2016; found, 535.2013。

[0304] (3) 化合物K-856bからのN-(2-アミノ-5-(チオフェン-2-イル)フェニル)-4-((4-メチル-2,5-ジオキソピペラジン1-イル)メチル)ベンズアミド[N-(2-amino-5-(thiophen-2-yl)phenyl)-4-((4-methyl-2,5-dioxopiperazin-1-yl)me

thyl)- benzamide trifluoroacetate] (K-856)の合成

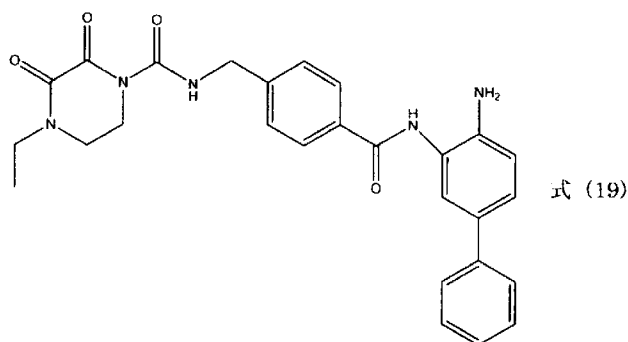
化合物K-856b (30 mg, 0.056 mmol)にジクロロメタン・トリフルオロ酢酸混液 (CH₂Cl₂: TFA = 4 : 1)を 0.3 ml加え、室温で3時間攪拌した。反応液を減圧濃縮し、得られた残渣をクロロホルム、エタノールで3回ずつ洗浄し、さらに減圧濃縮した。そこで得られた残渣をエタノールで再結晶し、淡緑色の結晶のK-856 (13.5 mg, 55 %)を得た。

[0305] K-856の物性は、以下の通りであった：m. p. 214-216°C ; ¹H NMR ((CD₃)₂SO) δ : 2.84 (3H, brs, -CH₃), 3.87 (2H, s, -COCH₂-), 4.06 (2H, s, -COCH₂-), 4.61 (2H, s, -CH₂-), 5.17 (3H, s, NH₃⁺), 6.72-8.00 (10H, m, ArH), 9.74 (1H, brs, -NH-); HR-ESI-MS m/z: (M + H)⁺ calcd for C₂₃H₂₃N₄O₃S, 435.1492; found, 435.1479。

[0306] 実施例1及び3～5の合成スキームは、図1示した。

[0307] 実施例6 : N-(4-(2-アミノ-5-(ベンゼン-2-イル)フェニルカルバモイル)ベンジル)-4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-カルボキサミド [N-(4-(4-aminobiphenyl-3-ylcarbamoyl)benzyl)-4-ethyl-2,3-dioxopiperazine-1-carboxamide (K-562)]の合成

[0308] [化80]



[0309] (1) tert-ブチル 2-アミノ-4-ブロモフェニルカルバメート (図2の化合物9)の合成

4-ブロモ-o-フェニレンジアミン (化合物8 : 25 g, 133.7 mmol)をTHF (150 ml)、トリエチルアミン (Et₃N) (150 ml)に溶解させ、(Boc)₂O (35 g, 160.4 mmol)を加え、室温で一晩攪拌した。反応後、減圧濃縮を行い、酢

酸エチルに溶解させてbrineで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥した。溶液をろ過、減圧濃縮後、得られた生成物を酢酸エチルで再結晶し、無色結晶の化合物9 (22.2g, 58%) を得た。

m. p. 141.6–142.7° C.

¹HNMR (CDCl₃) δ: 1.50 (9H, s, CH₃ ×3), 3.81 (2H, brs, NH₂), 6.17 (1H, brs, NH), 6.89 – 6.91 (2H, m, Ar-H₂), 7.14 (1H, d, J = 8.0 Hz, Ar-H).

HR-ESI-MS m/z: 285.0224 (M-H)⁻ calcd for C₁₁H₁₄BrN₂O₂ 285.0239.

[0310] (2) tert-ブチル3-アミノビフェニル-4-イルカルバメート (図2の化合物10a) の合成

化合物9 (3.0 g, 10.5 mmol) とフェニルボロン酸(2.15 g, 17.6 mmol) とトリ-*o*-トリルホスフィン(1.35 g, 4.4 mmol) をDME (30 ml) に溶解し、水(18 ml) に溶解させた炭酸カリウム(5.55 g, 40.16 mmol) とテトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(0.9 g, 0.78 mmol) を加え、超音波破碎して懸濁させた溶液を90 ° Cで18時間加熱還流を行った。反応後、懸濁液にクロロホルムを加え、水で洗浄、硫酸ナトリウムで乾燥させた。溶液をろ過、減圧濃縮後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し淡黄色結晶の化合物10a (2.1 g, 70%) を得た。

m. p. 153.0– 154.2° C.

¹HNMR (CDCl₃) δ: 1.48 (9H, s, CH₃ ×3), 3.81 (2H, brs, NH₂), 6.28 (1H, brs, NH), 6.98–7.23 (2H, m, Ar-H₂), 7.29–7.42 (4H, m, Ar-H₄), 7.52–7.54 (2H, m, Ar-H₂).

HR-ESI-MS m/z: 285.1582 (M+H)⁺ calcd for C₁₇H₂₁BN₂O₂ 285.1603.

[0311] (3) tert-ブチル 3-(4-(クロロメチル)ベンズアミド)ビフェニル-4-イルカルバメート (図2の化合物11a) の合成

化合物10a (1.0 g) をTHF (14 ml)、トリエチルアミン(0.566 ml) に溶解させ、氷冷下にて

-

(クロロメチル)ベンゾイルクロライド (798.4 mg, 4.2 mmol) を加え、室温で4時間攪拌させた。反応液を減圧濃縮し、クロロホルムに溶解後、飽和炭酸水素ナトリウム、brineで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥

させた。溶液をろ過、減圧濃縮させた後得られた生成物をフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、無色の結晶の化合物11a (1.1 g, 70 %) を得た。

m. p. 140.2-141.3° C.

¹HNMR (CDCl₃) δ: 1.45 (9H, s, CH₃ ×3), 4.61 (2H, s, CH₂), 6.95 (1H, brs, NH), 7.26-7.61 (9H, m, Ar-H₉), 7.96-7.98 (3H, m, Ar-H₃), 9.37 (1H, brs, NH).

HR-ESI-MS m/z: 435.1448 (M-H)⁻ calcd for C₂₅H₂₄ClN₂O₃ 435.1476.

[0312] (4) tert-ブチル 3-(4-((1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)メチル)ベンズアミド)ピフェニル-4-イルカルバメート (図2の化合物12a) の合成

化合物11a (500 mg, 1.1 mmol) をDMF (5 ml) に溶解させ、フタルイミドカリウム(233.6 mg, 1.3 mmol) とヨウ化カリウム (38.0 mg, 0.23 mmol) を加え、50 ° Cで一晩攪拌した。反応後、反応液にトルエンを加えて減圧濃縮した。水を加えて酢酸エチルで抽出し、有機層をbrineで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥した。有機層をろ過後、減圧濃縮し、シリカゲルクロマトグラフィーで精製し、淡黄色結晶の化合物12a (595 mg, 95 %) を得た。

m. p. 104.4-106.0° C.

¹HNMR (CDCl₃) δ: 1.46 (9H, s, CH₃ ×3), 5.40 (2H, s, CH₂), 6.85 (1H, brs, NH), 7.26-7.39 (5H, m, Ar-H₅), 7.49-7.56 (4H, m, Ar-H₄), 7.72-7.75 (2H, m, Ar-H₂), 7.86-7.88 (2H, m, Ar-H₂), 7.92-7.97 (3H, m, Ar-H₃), 9.18 (1H, brs, NH).

HR-ESI-MS m/z: 546.2037 (M-H)⁻ calcd for C₃₃H₂₈N₃O₅ 546.2029.

[0313] (5) tert-ブチル3-(4-(アミノメチル)ベンズアミド)ピフェニル-4-イルカルバメート (図2の化合物13a) の合成

化合物12a (500 mg, 0.91 mmol) をEtOH (6 ml) に懸濁させ、hydrazine monohydrate (0.1 ml, 2.699 mmol) を加え、3時間加熱還流を行った。反応後、反応液を減圧濃縮し、クロロホルムで溶解し、飽和炭酸水素ナトリウムとbrineで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥した。有機層をろ過後、減圧濃縮し、

シリカゲルクロマトグラフィーで精製し、淡黄色結晶の化合物13a (431 mg, 45 %) を得た。

m. p. 105.8-107.7° C.

^1H NMR (CDCl_3) δ : 1.46 (9H, s, $\text{CH}_3 \times 3$), 3.94 (2H, s, CH_2), 6.91-8.06 (13H, m, Ar- H_{12} , NH), 9.31 (1H, brs, NH).

HR-ESI-MS m/z : 418.2120 ($\text{M}+\text{H}$)⁺ calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_3$ 418.2130.

[0314] (6) tert-ブチル 3-(4-((4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-カルボキサミド)メチル)ベンズアミド)ピフェニル-4-イルカルバメート (図2の化合物14a) の合成

化合物13a (150 mg, 0.36 mmol) をジクロロメタン(2 ml) とトリエチルアミン (0.6 ml) に溶解させ、1,4-ジオキソピペラジニルクロライド (88.3 mg, 0.43 mmol) を加え、室温で一晩攪拌した。反応液を減圧濃縮し、クロロホルムで溶解し、飽和炭酸水素ナトリウムとbrineで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥した。有機層をろ過後、減圧濃縮し、シリカゲルクロマトグラフィーで精製し、淡黄色結晶14a (112.5 mg, 54 %) を得た。

m. p. 217.3-218.3° C.

^1H NMR (CDCl_3) δ : 1.21 (3H, t, $J = 7.0$ Hz, CH_3), 1.51 (9H, s, $\text{CH}_3 \times 3$), 3.53-3.67 (4H, m, $\text{CH}_2 \times 2$), 4.08-4.10 (2H, m, CH_2), 4.56-4.58 (2H, m, CH_2), 7.07-7.97 (13H, m, Ar- H_{12} , NH), 9.31 (1H, brs, NH), 9.39 (1H, brs, NH).

HR-ESI-MS m/z : 584.2477 ($\text{M}-\text{H}$)⁻ calcd for $\text{C}_{32}\text{H}_{34}\text{N}_5\text{O}_6$ 584.2509.

[0315] (7) N-(4-(4-アミノジフェニル-3-イルカルバモイル)ベンジル)-4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-カルボキサミド (K-562) の合成

化合物14a (100 mg, 0.21 mmol) をジクロロメタン(1 ml) とTFA (1 ml) に溶解させ、室温で1時間攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウムを加えてpH 9に調製し、1時間攪拌した。反応液を減圧濃縮し、クロロホルムで溶解し、飽和炭酸水素ナトリウムとbrineで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥した。有機層をろ過後、減圧濃縮し、エタノールで再結晶させ、吸引ろ過により、

淡黄色結晶のK-562 (95.8 mg, 100 %) を得た。

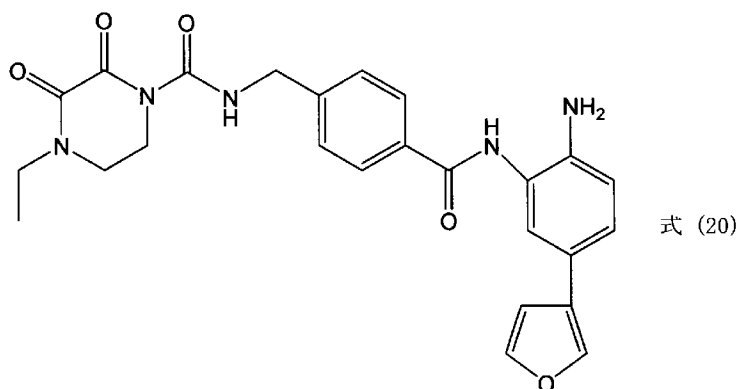
m. p. 125-128° C.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 1.13-1.16 (3H, m, CH_3), 3.43-3.50 (4H, m, $\text{CH}_2 \times 2$), 3.97-4.00 (2H, m, CH_2), 4.03 (2H, brs, NH_2), 6.82-7.87 (12H, m, Ar-H_{12}), 8.45 (1H, brs, NH), 9.35 (1H, brs, NH).

HR-ESI-MS m/z : 486.2137 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{N}_5\text{O}_4$ 486.2141.

[0316] 実施例7 : N-(4-(2-アミノ-5-(フラン-3-イル) フェニルカルバモイル)ベンジル)-4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-カルボキサミドN-(4-(2-アミノ-5-(フラン-3-イル)フェニルカルバモイル)ベンジル)-4-ethyl-2,3-dioxopiperazine-1-carboxamide (K-563)の合成

[0317] [化81]



[0318] (1) tert-ブチル 2-アミノ-4-(フラン-3-イル)フェニルカルバメート (図2の化合物10b)

化合物9 (3g, 10.4 mmol)と3-フランボロン酸(1.51g, 13.5 mmol) とトリ-*o*-トリルホスフィン(1.35g, 4.4 mmol)をDME (30 ml) に溶解し、水(18 ml) に溶解させた炭酸カリウム (5.55 g, 40.16 mmol) とテトラキス (トリフェニルホスフィン) パラジウム(0.9 g, 0.78 mmol) を加え、超音波破碎して懸濁させた溶液を90° Cで18時間加熱還流を行った。反応後、懸濁液にクロロホルムを加え、水で洗浄、硫酸ナトリウムで乾燥させた。溶液をろ過、減圧濃縮後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸愛エチル-ヘキサン 3:7) で精製し淡黄色色結晶の化合物10b (2.4 g, 82%)を得た。

m. p. 140.4–143.1° C.

^1H NMR (CDCl_3) δ : 1.52 (9H, s), 3.78 (2H, s), 6.25 (1H, s), 6.62 (1H, s), 6.88 – 6.90 (2H, m), 7.26 – 7.28 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.44 (1H, s), 7.66 (1H, s).

HR-ESI-MS m/z : 275.1355 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_3$ 275.1395.

[0319] (2) tert-ブチル2-(4-(クロロメチル)ベンズアミド)-4-(フラン-3-イル)フェニルカルバメート (図2の化合物11b)

化合物10b (500 mg, 1.8 mmol) をTHF (10 ml)、ピリジン (0.3 ml) に溶解させ、氷冷下にてp-(クロロメチル)ベンゾールクロライド (411 mg, 2.2 mmol) を加え、室温で4時間攪拌させた。反応液を減圧濃縮し、クロロホルムに溶解後、飽和炭酸水素ナトリウム、brineで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させた。溶液をろ過、減圧濃縮させた後得られた生成物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(酢酸エチル-ヘキサン= 1:2) で精製し、淡黄色結晶の化合物11b (715 mg, 92%) を得た。

m. p. 67.5–70.0° C. ^1H NMR (CDCl_3) δ : 1.50 (9H, s), 4.63 (2H, s), 6.64 – 6.65 (1H, m), 6.86 (1H, s), 7.20 – 7.28 (2H, m), 7.42–7.49 (3H, m), 7.68 (1H, s), 7.92 (1H, s), 7.96 – 7.98 (2H, d, $J = 8.0$ Hz), 9.35 (1H, s). ESI-MS m/z : 425.1273 ($\text{M}-\text{H}$) $^+$ calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{ClN}_2\text{O}_4$ 425.1268.

[0320] (3) tert-ブチル2-(4-((1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)メチル)ベンズアミド)-4-(フラン-3-イル)フェニルカルバメートの合成

化合物11b (500 mg, 1.173 mmol) をDMF (5 ml) に溶解させ、フタルイミドカリウム (239.12 mg, 1.291 mmol) とヨウ化カリウム (39.01 mg, 0.235 mmol) を加え、50° Cで一晩攪拌した。反応後、反応液にトルエンを加えて減圧濃縮した。水を加えて酢酸エチルで抽出し、有機層をbrineで洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥した。有機層をろ過後、減圧濃縮し、シリカゲルクロマトグラフィー(酢酸エチル-ヘキサン=1:2)で精製し、淡黄色結晶の化合物12b (271mg, 43%) を得た。

m. p. 97.4–100.1° C. ¹HNMR (CDCl₃) δ: 1.49 (1H, s), 4.91 (2H, s), 6.64 (1H, s), 6.83 (1H, s), 7.24–7.26 (3H, d, J = 8.0 Hz), 7.41–7.45 (1H, m), 7.49–7.51 (2H, d, J = 8.0 Hz), 7.66–7.68 (1H, d, J = 8.0 Hz), 7.73–7.75 (2H, d, J = 8.0 Hz), 7.87 (2H, s), 7.91–7.93 (2H, d, J = 8.0 Hz), 9.19 (1H, s).

HR-ESI-MS m/z: 536.1819 (M-H)⁺ calcd for C₃₁H₂₆N₃O₆ 536.1822.

[0321] (4) tert-ブチル2-(4-(アミノメチル)ベンズアミド)-4-(フラン-3-イル)フェニルカルバメート (図2の化合物13b) の合成

化合物12b (500 mg, 0.931 mmol)をエタノール (6 ml)に懸濁させ、ジナー水和物(0.09 ml, 2.699 mmol)を加え、95° Cで3時間加熱還流を行った。反応後、反応液を減圧濃縮し、クロロホルムで溶解し、飽和炭酸水素ナトリウムとbrineで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥した。有機層をろ過後、減圧濃縮し、シリカゲルクロマトグラフィー(クロロホルム-メタノール=9:1)で精製し、淡黄色結晶の化合物13b (341 mg, 90%)を得た。

m. p. 118.7–120.0° C.

¹HNMR (CDCl₃) δ: 1.50 (9H, s), 3.96 (2H, s), 6.64 (1H, s), 7.01 (1H, s), 7.22 (1H, s), 7.26 (1H, s), 7.38–7.42 (3H, m), 7.64 (1H, s), 7.88 (2H, s), 7.91–7.93 (2H, d, J = 8.0 Hz), 9.28 (1H, s).

HR-ESI-MS m/z: 408.19081 (M+H)⁺ calcd for C₂₃H₂₆N₃O₄ 408.1923.

[0322] (5) tert-ブチル2-(4-((4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-カルボキサミド)メチル)ベンズアミド)-4-(フラン-3-イル)フェニルカルバメート(14b) の合成

化合物13b (337.8 mg, 0.832 mmol)をジクロロメタン (5 ml)とトリエチルアミン (1.5 ml)に溶解させ、1,4-ジオキソピペラジニルクロライド (204.2 mg, 0.998 mmol)を加え、室温で一晩攪拌した。反応液を減圧濃縮し、クロロホルムで溶解し、飽和炭酸水素ナトリウムとbrineで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥した。有機層をろ過後、減圧濃縮し、シリカゲルクロマトグラフィー(クロロホルム-メタノール(98:2) + トリエチルアミン 0.35%)で精製し、淡黄

色結晶の化合物14b (259 mg, 54%)を得た。

m. p. 103.6-105.4° C.

^1H NMR (CDCl_3) δ : 1.23-1.28 (4H, m), 1.50 (9H, s), 3.53 - 3.58 (4H, m), 4.09 - 4.12 (2H, m), 4.57 - 4.59 (2H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.65 (1H, s), 6.95 (1H, s), 7.23 - 7.25 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.37 - 7.39 (2H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.44 (1H, s), 7.67 (1H, s), 7.89 (1H, s), 7.93 - 7.95 (2H, d, $J = 8.0$ Hz), 9.39 (1H, s), 9.40 (1H, s).

HR-ESI-MS m/z : 574.2299 (M-H)⁺ calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{32}\text{N}_5\text{O}_7$ 574.2302.

[0323] (6) N-(4-(2-アミノ-5-(フラン-3-イル)フェニルカルバモイル)ベンジル)-4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-カルボキサミド (K-563) の合成
化合物14b (200 mg, 0.348 mmol)をジクロロメタン(2 ml)とTFA (2 ml)に溶解させ、室温で1時間攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウムを加えてpH 9に調製し、1時間攪拌した。反応液を減圧濃縮し、クロロホルムで溶解し、飽和炭酸水素ナトリウムとbrineで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥した。有機層をろ過後、減圧濃縮し、エタノールで再結晶させ、吸引ろ過により淡黄色結晶の化合物K-563 (94.2 mg, 57%)を得た。

m. p. 176-178° C.

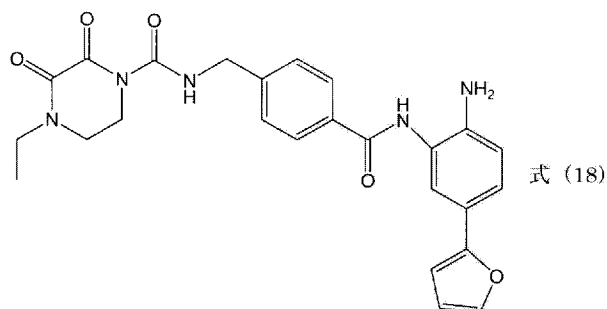
^1H NMR (CDCl_3) δ : 1.19 - 1.24 (3H, m), 3.48 - 3.56 (4H, m), 3.74 (2H, s), 4.06 - 4.08 (2H, m), 4.57 - 4.58 (2H, d, $J = 5.6$ Hz), 6.62 (1H, s), 6.83 - 6.85 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.26 (1H, s), 7.39 - 7.43 (3H, m), 7.49 (1H, s), 7.63 (1H, s), 7.87 - 7.89 (2H, d, $J = 8.0$ Hz), 8.08 (1H, s), 9.40 (1H, s).

HR-ESI-MS m/z : 476.1916(M+H)⁺ calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{N}_5\text{O}_5$ 476.1934.

[0324] 実施例8 : N-(4-(2-アミノ-5-(フラン-2-イル)フェニルカルバモイル)ベンジル)-4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-カルボキサミド [N-(4-(2-amino-5-(furan-2-yl)phenylcarbamoyl)benzyl)-4-ethyl-2,3-dioxopiperazine-1-carboxamide (K-564)]の合成

[0325]

[化82]



[0326] (1) tert-ブチル2-アミノ-4-(フラン-2-イル)フェニルカルバメート (図2の化合物10c) の合成

化合物9 (3 g, 10.4 mmol) と2-フランボロン酸(1.51 g, 13.5 mmol) とトリ-*o*-トリルホスフィン(1.35 g, 4.4 mmol)をDME (30 ml) に溶解し、水(18 ml) に溶解させた炭酸カリウム(5.55 g, 40.16 mmol) とテトラキス(トリフェニルホスフィン) パラジウム(0.9 g, 0.78 mmol) を加え、超音波破碎して懸濁させた溶液を90 ° Cで18時間加熱還流を行った。反応後、懸濁液にクロロホルムを加え、水で洗浄、硫酸ナトリウムで乾燥させた。溶液をろ過、減圧濃縮後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (エタノール: ヘキサン = 3 : 7) で精製し淡黄色結晶の化合物10c (2.3 g, 80 %)を得た。

m. p. : 142.4-143.2 ° C;

¹H NMR (CDCl₃) δ : 1.48 (9H, s), 6.43-6.44 (1H, m), 6.51 (1H, s), 6.55 (1H, d, J = 3.2 Hz), 7.10-7.11 (3H, m), 7.28-7.31 (2H, m), 7.42 (1H, s); HR-ESI-MS m/z: 273.1251 (M-H)⁺ calcd. for C₁₅H₁₇N₂O₃ 273.1239

[0327] (2) tert-ブチル2-(4-(クロロメチル) ベンズアミド)-4-(フラン-2-イル) フェニルカルバメート (図2の化合物11c) の合成

化合物10c (500 mg, 1.8 mol) をTHF (10 ml)、トリエチルアミン (1.5 ml) に溶解させ、氷冷下にて

-

(クロロメチル)ベンゾイルクロライド(413.8 mg, 2.2 mmol) を加え、室温で4時間攪拌させた。反応液を減圧濃縮し、クロロホルムに溶解後、飽和炭酸水素ナトリウム、brineで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させた。溶液をろ過、減圧濃縮させた後得られた生成物をフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、無色結晶の化合物11c (1.0 g, 65 %)

を得た。

m. p. 171.0–172.0° C.

¹HNMR (CDCl₃) δ: 1.44 (9H, s, CH₃ ×3), 4.62 (2H, s, CH₂), 6.41–7.98 (11H, m, Ar-H₁₀, NH), 9.51 (1H, brs, NH).

HR-ESI-MS m/z: 425.1278 (M-H)⁻ calcd for C₂₃H₂₂N₂O₄ 425.1268.

[0328] (3) tert-butyl 2-(4-((1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)メチル)ベンズアミド)-4-(フラン-2-イル)フェニルカルバメート (図2の化合物12c)の合成

化合物11c (500 mg, 1.2 mol) をDMF (5 ml) に溶解させ、フタルイミドカリウム(239.1 mg, 1.30 mol) とヨウ化カリウム(39.0 mg, 0.23 mol) を加え、50 ° Cで一晩攪拌した。反応後、反応液にトルエンを加えて減圧濃縮した。水を加えて酢酸エチルで抽出し、有機層をbrineで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥した。有機層をろ過後、減圧濃縮し、シリカゲルクロマトグラフィーで精製し、無職結晶の化合物12c (433 mg, 69 %) を得た。

m. p. 101.6–102.6° C.

¹HNMR (CDCl₃) δ: 1.45 (9H, s, CH₃ ×3), 4.89 (2H, s, CH₂), 6.36–7.92 (15H, m, Ar-H₁₄, NH), 9.48 (1H, brs, NH).

HR-ESI-MS m/z: 536.1817 (M-H)⁻ calcd for C₃₁H₂₆N₃O₆ 536.1822..

[0329] (4) tert-ブチル 2-(4-(アミノメチル)ベンズアミド)-4-(フラン-2-イル)フェニルカルバメート (図2の化合物13c)の合成

化合物12c (430 mg, 0.80 mol) をエタノール (5 ml) に懸濁させ、ヒドラジン-水和物(0.1 ml, 2.7 mmol) を加え、3時間加熱還流を行った。反応後、反応液を減圧濃縮し、クロロホルムで溶解し、飽和炭酸水素ナトリウムとbrineで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥した。有機層をろ過後、減圧濃縮し、シリカゲルクロマトグラフィーで精製し、淡黄色結晶の化合物13c (241 mg, 74 %) を得た。

m. p. 171.1–172.4° C.

¹HNMR (CDCl₃) δ: 1.50 (9H, s, CH₃ ×3), 3.94 (2H, s, CH₂), 6.43–8.15 (

11H, m, Ar-H₁₀, NH), 9.38 (1H, brs, NH).

HR-ESI-MS m/z: 408.1923 (M+H)⁺ calcd for C₂₃H₂₆N₃O₄ 408.1923.

[0330] (5) tert-ブチル 2-(4-((4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-カルボキサミド)メチル)ベンズアミド)-4-(フラン-2-イル) フェニルカルバメート (図2の化合物14c)

化合物13c (400 mg, 0.98 mmol) をジクロロメタン (5 ml) とトリエチルアミン (1.5 ml) に溶解させ、1,4-ジオキソピペラジニルクロライド (241.2 mg, 1.2 mmol) を加え、室温で一晩攪拌した。反応液を減圧濃縮し、クロロホルムで溶解し、飽和炭酸水素ナトリウムとbrineで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥した。有機層をろ過後、減圧濃縮し、シリカゲルクロマトグラフィーで精製し、淡黄色結晶の化合物14c (588 mg, 100 %) を得た。

m. p. 196.3-198.0° C.

¹HNMR (CDCl₃) δ: 1.22 (3H, t, J = 7.0 Hz, CH₃), 1.49 (9H, s, CH₃ ×3), 3.46-3.57 (4H, m, CH₂ ×2), 4.09-4.12 (2H, m, CH₂), 4.58-4.59 (2H, m, CH₂), 6.43-8.14 (11H, m, Ar-H₁₀, NH), 9.27 (1H, brs, NH), 9.42 (1H, brs, NH).

HR-ESI-MS m/z: 574.2301 (M-H)⁻ calcd for C₃₀H₃₂N₅O₇ 574.2302.

[0331] (6) N-(4-(2-アミノ-5-(フラン-2-イル)フェニルカルバモイル)ベンジル)-4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-カルボキサミド (K-564)

化合物14c (100 mg) をジクロロメタン (1 ml) とTFA (1 ml) に溶解させ、室温で1時間攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウムを加えてpH 9に調製し、1時間攪拌した。反応液を減圧濃縮し、クロロホルムで溶解し、飽和炭酸水素ナトリウムとbrineで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥した。有機層をろ過後、減圧濃縮し、エタノールで再結晶させ、吸引ろ過により、淡黄色結晶のK-564 (73 mg, 88 %) を得た。

m. p. 122-125° C.

¹HNMR (CDCl₃) δ: 1.19 (3H, t, J = 7.2 Hz), 3.51 (2H, q, J = 7.2 Hz), 3.63-3.66 (2H, m), 4.05-4.08 (2H, m), 4.59 (2H, d, J = 6.0 Hz), 6.45-

6.46 (1H, m), 6.59 (1H, d, J = 3.2 Hz), 7.00 (1H, d, J = 8.0 Hz), 7.45-7.51 (4H, m), 7.58 (1H, s), 7.98 (2H, d, J = 8.4 Hz), 9.49 (1H, s).
HR-ESI-MS m/z: 476.1937 (M+H)⁺ calcd for C₂₅H₂₆N₅O₅ 476.1934.

[0332] 実施例9：WST-8を用いたがん細胞株増殖抑制活性試験

本発明の化合物のIC₅₀を求めるため、以下の実験を行った。

(1) 実験方法

ヒト大腸がん細胞株HCT116細胞を10% ウシ胎児血清(FBS)、50 μg/mlペニシリンG及び50 μg/ml硫酸ストレプトマイシンを含むMcCoy's 5A培地 (GIBCO)で5% CO₂存在下、37°Cで培養した。70-80%コンフルエントまで細胞が増殖したら、0.25%トリプシン溶液(1 ml)で処理し、剥離した細胞を回収後、1,000 rpmで5分間遠心を行った。遠心終了後、上清を取り除き、上記培地で10,000 cells/mlになるように細胞を再懸濁後、96ウェルプレートに播種した。24時間後に各濃度に調整した被験化合物 (K-852、K-853、K-854、K-855、K-856、K-560、Merck化合物及びEthyl化合物 (K-560、Merck化合物及びEthyl化合物の構造を図3に示す)) を添加し、5% CO₂存在下、37°Cで72時間培養した。培養後、WST-8 (Dojindo)を添加し、37°Cで2時間培養した。培養後、オートプレートリーダーを用いて吸光度 (主波 450 nm、副波630 nm)を測定し、各化合物の細胞増殖抑制活性 (IC₅₀)を算出した。実験の詳細は、メーカー提供のプロトコールにしたがった。K-560は、Hirata Y et al (Bioorg Med Chem Lett. 2012 Mar 1;22(5):1926-30)に記載の化合物8bである。本発明の化合物 (例えばK-852) は、ジオキソピペラジン基とN-(4-(2-amino-5-(thiophen-2-yl)phenylcarbonyl)benzyl)とが結合している点において、両者がCONH (carboxamide)を介して結合しているK-560と異なる。またEthyl化合物は、特表2010-531359号の実施例37の化合物である。

[0333] (2) 結果

結果を、表1に示す。被験化合物は、K-855を除いて、典型的なチエニル基導入型2-ベンズアミド型のMerck化合物 (IC₅₀: 0.84 μM) と比べて、同様かそれより低いIC₅₀値を示した。

[0334] [表1]

化合物	IC ₅₀ (μM)	水溶解性 (mg/ml)
K-560	0.39	0.5
K-852	4.11	0.6
K-853	0.72	1.0
K-854	0.80	0.8
K-855	>10	1.0
K-856	0.44	0.6
Merck 化合物	0.84	0.5
Ethyl 化合物	NT	0.5

NT: not Tasted

[0335] 実施例 10 : 溶解性試験

本発明に係る化合物の水溶解性を調べるため、以下の実験を行った。

[0336] 被験化合物を100% DMSOに溶かし、1~10 mg/mlの濃度になるよう100% DMSOで調整した。

これら100% DMSOサンプル溶液を蒸留水で10倍希釈し、それぞれ0.1~1 mg/mlの10% DMSO/H₂Oサンプル溶液を調整した。このサンプル溶液を25℃で15分間超音波処理、続いて、Vortex振盪30秒処理後、5分間静置した。処理後の溶液をルーペ（倍率10倍）で観察し、微粒子がわずかに浮遊しているが、沈殿物は生成していない濃度を、被験化合物の溶解度とした。その結果、表1に示すように、本発明に係る化合物K-852、K-853、K-854、K-855、K-856の水溶解性は、同系統化合物であるMerck 化合物やEthyl化合物（それぞれ、0.5 mg/ml）と比べて向上した。

[0337] このことから、本発明に係る前記一般式 (I) で示される化合物は、公知のチエニル基導入型2-ベンズアミド型化合物よりも、水溶解性の点で優れていることが明らかとなった。

[0338] 実施例 11 : 細胞周期解析

本発明の化合物が、細胞のアポトーシスを誘導させることなく、細胞を静止状態にすることを証明するため、各被験化合物に暴露したがん細胞で細胞周期の各ステージの割合を観察した。

(1) 方法

ヒト大腸がん細胞株HCT116細胞、乳癌細胞株SKBR3細胞、神経芽細胞腫細胞株Neuro2a細胞を、それぞれ10%ウシ胎児血清(FBS)、50 $\mu\text{g/ml}$ ペニシリンG及び50 $\mu\text{g/ml}$ 硫酸ストレプトマイシンを含むMcCoy's 5A培地 (HCT116細胞)、RPMI1640培地 (SKBR細胞)、EMEM培地(Neuro2a細胞)で5%CO₂存在下、37°Cで培養した。70-80%コンフルエントまで細胞を増殖させ、0.25%トリプシン溶液 (1 ml) (Invitrogen Life Technologies, U.S.A.)で処理し、剥離した細胞を回収後、1000 rpmで5分間遠心を行った。遠心終了後、上清を取り除き、上記培地で 1.0×10^6 cells/mlになるように細胞を再懸濁後、60 mmディッシュに播種した。24時間培養後、上記培地の無血清培地に交換し24時間培養した。培地を取り除いた後、上記無血清培地1 mlで3回洗浄し、被験化合物含無血清培地(各被験薬は終濃度で10 μM となるように添加)を加え、24時間または48時間培養した。MS-275 (S. Baltan, et al., The Journal of Neuroscience, 2011 31(11):3990 -3999 ; 図3) を対照化合物として使用した。また、コントロール (Control) は、0.1%DMSOとした。培養後浮遊細胞を回収し、さらにディッシュに接着した細胞を0.25%トリプシン溶液で剥がし、浮遊細胞と合わせて実験に使用した。これらすべての細胞を、メーカー提供プロトコールにしたがってCycle Test Plus DNA reagent Kitで処理をし、フローサイトメトリーによって細胞周期の各ステージの割合を解析し、アポトーシス細胞を含有するSubG1細胞の、全細胞に対する割合を求めた。

[0339] (2) 結果

図4に、HCT116細胞を、被験化合物に48時間暴露して得たDNAヒストグラムを示す。本発明の化合物であるK-852、K-853、K-854、K-856処理細胞は、MS-275暴露細胞(SubG1 15.8%、G0/G1 77.9%)と比べ、明らかにSubG1細胞が少なく、特にK-852、K-853暴露細胞のSubG1細胞の割合はそれぞれ、4.4%、2.5%であり、コントロール細胞 (3.6%) とほぼ同レベルであった。またこれらの値は、K-560暴露細胞の6.7%と比較しても低いものであった。さらにK-856暴露細胞のSubG1細胞も6.3%と、MS-275又はK-560暴露細胞よりも低い値を示し

た。K-854暴露細胞のSubG1細胞の割合は10.8%であり、K-852、K-853暴露細胞ほど顕著ではないものの、MS-275暴露細胞と比較してSubG1細胞の割合は減少していた。さらに、G0/G1の割合を比較すると、コントロール細胞の78.3%と比較して、MS-275暴露細胞は77.9%とコントロール細胞よりも低い値を示した。これに対して、K-852、K-853、K-854、K-856暴露細胞では、G0/G1の割合はそれぞれ84.9%、89.1%、79.6%、79.2%であり、コントロール細胞、MS-275暴露細胞よりも高い値を示した。このことから、本発明の化合物に暴露された細胞において静止期（G0/G1）の細胞が増加していることが明らかとなった。

[0340] 図5に、SKBR3細胞を、被験化合物に24時間暴露して得られたDNAヒストグラムを示す。MS-275暴露細胞は高いSubG1細胞率（31.4%）を示したが、K-852、K-853、K-854、K-856暴露細胞のSubG1細胞の割合は、それぞれ4.9%、6.8%、15.5%、5.4%であり、いずれもコントロール細胞（3.2%）の当該割合を上回るもののMS-275暴露細胞よりは著しく低い割合を示した。また、K-560暴露細胞のSubG1細胞の割合は8.7%であり、K-852、K-853、K-856暴露細胞の方が低い値を示した。さらに、G0/G1の割合を比較すると、コントロール細胞の61.0%と比較して、MS-275暴露細胞は57.4%とコントロール細胞よりも低い値を示した。これに対して、K-852、K-853、K-854、K-856暴露細胞では、G0/G1の割合はそれぞれ68.9%、65.3%、53.3%、67.7%であり、K-560暴露細胞の58.6%よりも高い値を示した。

[0341] 図6に、Neuro2a細胞を、被験化合物に48時間暴露して得られたDNAヒストグラムを示す。本発明の化合物であるK-853、K-854、K-856暴露細胞は、MS-275暴露細胞(SubG1 16.7%)と比べ、明らかにSubG1細胞が少なく、SubG1細胞の割合はそれぞれ、6.9%、11.4%、5.5%であった。K-560暴露細胞のSubG1細胞の割合は、16.7%であり、K-852、K-853、K-854、K-856暴露細胞と比較して著しく高く、アポトーシスの誘導作用が強いことが示唆された。また、G0/G1の割合を比較すると、MS-275暴露細胞の60.0%及びK-560暴露細胞の60.8%と比較してK-852、K-856暴露細胞では65.9%、79.3%と高い値を示した。

[0342] これらのデータから、本発明の化合物は、がん細胞においてアポトーシス

を惹起しないことが示された。さらに、本発明の化合物であるK-852、K-853、K-854、K-856で細胞を処理することにより、静止期であるG0/G1期の細胞が増え、一方で、アポトーシス細胞（SubG1細胞）が増えることが示された。そして、公知化合物であるMS-275には、このような作用がないことが明らかとなった。さらに、公知化合物であるK-560と比較しても、本発明の化合物はアポトーシス誘導作用が低いことが示された。

[0343] 以上の結果から、公知のチエニル基を持たない化合物、及びジオキソピペラジン基に隣接してアミド基を有すしかつアミノ基のパラ位に置換基を有する2-ベンズアミド型化合物よりも、本発明の化合物の方がアポトーシス抑制作用が強いと考えられた。

[0344] 実施例 1 2 : K-562、K-563、K-564の細胞増殖抑制活性試験、溶解性試験

(1) 方法

被験化合物の細胞増殖抑制活性を調べるため、ヒト大腸がん細胞株HCT116及び丹生がん細胞株SKBR3 (1×10^4 cells/ml) を96ウェルプレートに播種し、24時間プレインキュベート後、DMSOに溶解した各薬剤をそれぞれ終濃度が100、50、10、1、0.1 μM となるように添加した。この時DMSOの終濃度は0.25%となるように調整した。3日間培養後、WST-1試薬 (Cell counting Kit, DOJINDO) あるいはWST-8試薬 (Cell counting Kit-8, DOJINDO) を各wellに添加し、4時間後 (WST-1) または1時間後 (WST-8) に、micro plate reader (AUTOREADER III, 三光純薬社) を用いて、吸光度 (測定波長: 450 nm、参照波長: 630 nm) を測定し、 IC_{50} 値を求めた。

[0345] また、被験化合物の水への溶解性を調べるため、各被験化合物をDMSOに溶解して10 mg/mlに調整した後、水を加え、10% DMSO/H₂O 懸濁液 (1 mg/ml) を作成した。ソニケーションを15分間おこない、30秒間ボルテックスで攪拌して、5分間静置した後、溶解度を目視で確認した。また、サンプルのDMSO溶液 (100 mg/ml) をDMSOで段階希釈し、それぞれ上記と同様の方法で処理し、溶解度の評価を行った。

[0346] また、被験化合物のHDAC1とHDAC3の選択を調べるため、HDAC1およびHDAC 3

の阻害活性を測定した。HDAC1、3阻害活性は、Enzo Life Sciences社のFluorimetric Drug Discover Kit (Catalog No.はそれぞれ#AK-511, #AK-531)を用い、カタログ記載の方法に従って測定して、IC₅₀値を求めた。

(2) 結果

IC₅₀値及び溶解性を表2に示す。

[0347] [表2]

化合物	IC ₅₀ (μM)		水溶解性 (mg/ml)	IC ₅₀ (μM)	
	HCT116	SKBR3		HDAC1	HDAC3
K-562	0.77	0.80	0.4	0.063	>25
K-563	0.81	0.71	0.8	0.038	>25
K-564	3.81	0.92	0.6	0.049	>25
K-560	0.57	0.43	0.6	0.041	>25

Tricostatin A:TSA IC₅₀ of HDAC1:0.020 μM, IC₅₀ of HDAC3:0.163 μM

[0348] K-563は、高い水溶解性を示した。また、K-562、K-563及びK-564はHDAC1に対して高い選択性を示した。

[0349] 参考合成例2 : N-(2-アミノ-5-(フラン-2-イル)フェニル)-4-((4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-イル)メチル)ベンズアミド及びN-(2-アミノ-5-(ベンゼン-2-イル)フェニル)-4-((4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-イル)メチル)ベンズアミドの合成例

N-(2-アミノ-5-(フラン-2-イル)フェニル)-4-((4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-イル)メチル)ベンズアミド又はN-(2-アミノ-5-(ベンゼン-2-イル)フェニル)-4-((4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-イル)メチル)ベンズアミドは、図7に示す合成例にしたがって合成する。

[0350] 参考合成例3 : N-((6-(2-アミノ-5-(チオフェン-2-イル)フェニルカルバモイル)ピリジン-3-イル)メチル)-4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-カルボキサミドの合成例

N-((6-(2-アミノ-5-(チオフェン-2-イル)フェニルカルバモイル)ピリジン-3-イル)メチル)-4-エチル-2,3-ジオキソピペラジン-1-カルボキサミドは、図8に示す合成例にしたがって合成する。

[0351] 実施例13 : 化合物の構造、物性、及びHDACアイソフォーム阻害活性

表3に以下の実施例で使用した化合物の構造と、物性を示す。

[0352] 各化合物のIC₅₀を求めるための方法は、以下の通りである。

[0353] ヒト大腸がん細胞株HCT116細胞を10% ウシ胎児血清(FBS)、50 μ g/mlペニシリンG及び50 μ g/ml硫酸ストレプトマイシンを含むMcCoy's 5A培地 (GIBCO)で5% CO₂存在下、37°Cで培養した。70-80%コンフルエントまで細胞が増殖したら、0.25%トリプシン溶液(1 ml)で処理し、剥離した細胞を回収後、1,000 rpmで5分間遠心を行った。遠心終了後、上清を取り除き、上記培地で10,000 cells/mlになるように細胞を再懸濁後、96ウェルプレートに播種した。24時間後に各濃度に調整した被験化合物を添加し、5% CO₂存在下、37°Cで72時間培養した。培養後、WST-8 (Dojindo)を添加し、37°Cで2時間培養した。培養後、オートプレートリーダーを用いて吸光度 (主波 450 nm、副波630 nm)を測定し、各化合物の細胞増殖抑制活性 (IC₅₀)を算出した。実験の詳細は、メーカー提供のプロトコールにしたがった。K-560 およびEthyl化合物は、Hirata Y et al (Bioorg Med Chem Lett, 2012 Mar 1;22(5):1926-30)に記載の化合物8bおよび化合物2である。またEthyl化合物は、特表2010-531359号の実施例37の化合物でもある。

[0354] また、各化合物の水溶解性は、以下の方法により測定した。

[0355] 被験化合物を100% DMSOに溶かし、1~10 mg/mlの濃度になるよう100% DMSOで調整した。

これら100% DMSOサンプル溶液を蒸留水で10倍希釈し、それぞれ0.1~1 mg/mlの10% DMSO/H₂Oサンプル溶液を調整した。このサンプル溶液を25°Cで15分間超音波処理、続いて、Vortex振盪30秒処理後、5分間静置した。処理後の溶液をルーペ (倍率10倍) で観察し、微粒子がわずかに浮遊しているが、沈殿物は生成していない濃度を、被験化合物の溶解度とした。その結果、表3に示すように、本発明に係る化合物K-852、K-853の水溶解性は、同系統化合物であるEthyl化合物 (それぞれ、0.5 mg/ml) と比べて向上した。

[0356] K-560、及びK-852は、チエニル基を有する2-アミノベンズアミド構造とジオキソピペラジン構造を有するHDAC阻害化合物である。MS-275は、チエニ

ル基を有さず、またジオキソピペラジン構造も有さない。Ethyl化合物は、チエニル基を有する2-アミノベンズアミド構造を有するがジオキソピペラジン構造は有さない。

[0357] [表3]

名称	物性	
	IC ₅₀ (μM)	水溶解性 (mg/ml)
K-560	0.39	0.5
K-852	4.1	0.6
K-853	0.72	1.0
MS-275	0.52	
Ethyl 化合物		0.5

[0358] また、表4に各化合物のHDACアイソフォームの阻害活性IC₅₀を示す。K-560は、HDAC1及びHDAC2を特異的に阻害したがHDAC3は全く阻害しなかった。他の化合物は、HDAC1及びHDAC2だけでなくHDAC3も阻害した。

[0359] [表4]

化合物	IC ₅₀ (μM)		
	HDAC1	HDAC2	HDAC3
MS-275	0.95	6.61	1.07
K-560	0.05	0.67	>100
TSA	0.006	0.018	0.0063

TSA: Tricostatin A

[0360] 実施例14：K-560の脳虚血に対する神経細胞保護作用

上述の通りK-560はHDAC1及びHDAC2を選択的に阻害し、HDAC3を阻害しない。K-560が虚血による細胞死から神経細胞を保護する作用があるか否かを検討するため、以下の実験を行った。

[0361] (1) 方法

常法にしたがって、胎生16日目 (E16) のラット大脳皮質より初代神経細胞培養系を樹立し、培養後10~12日目の細胞を実験に供した。培地として、Neu

robasal (登録商標) 培地 (Life Technologies) にB-27 (登録商標) Supplement (Life Technologies) 及び抗生物質 (ペニシリン-ストレプトマイシン-アンピシリン) を添加したもの (以下、Neurobasal+B27+P/S/Amp培地と略記する) を使用した。in vitro ischemiaとして、3.5時間のOxygen Glucose Deprivation (OGD: 低酸素無グルコース負荷) を施行した。具体的には、OGD施行30分前に培地に終濃度で10 μ MとなるようにK-560、K-350又はDMSOを添加し、初代神経細胞培養系の培地をグルコース無添加培地 (OGD用培地ともいう) に交換し、当該細胞を95% N₂、5% CO₂、1% O₂環境下で3.5時間インキュベーションした。インキュベーション終了後OGD培地をNeurobasal+B27+P/S/Amp培地 (終濃度で10 μ MのK-560、K-350又はDMSOを含む) に置換し通常条件で培養し、OGD負荷から24時間後、48時間後、72時間後に、培養培地を採取し、従来法に従ってLDH assay (Roche社のCytotoxicity Detection Kit) を施行し、死細胞の割合を測定した。100%の細胞死を示すコントロールとして、終濃度2 mMのN-methyl-D-aspartic acid (NMDA) を添加したものをを用い、コントロールの吸光度 (LDH活性) に対する、各被験物質を添加した細胞の吸光度 (LDH活性) の相対値から死細胞の割合を求めた。

[0362] ここで、K-350は、チエニル基及びジケトピペラジン基を有さない化合物である。

[0363] (2) 結果

図9Aに、OGD負荷後24時間後の各被験物質を添加した細胞の死細胞の割合を比較したグラフを示す。K-350の添加は、陰性対照であるDMSOを添加した細胞と比較して死細胞の割合を減少させた。さらにK-560の添加では、DMSOの添加と比較して著しく死細胞の割合が減少した。

[0364] また、図9Bは、OGD負荷後72時間後の結果である。K-560の添加では、陰性対照と比較して、有意に死細胞の割合が減少した。

[0365] このことから、チエニル基を有する2-アミノベンズアミド構造とジケトピペラジン構造を有するK-560等は脳虚血に対して保護作用を示し、神経細胞への毒性も少ない可能性が示唆された。

[0366] 実施例 15 : チェニル基を有する 2-アミノベンズアミド構造とジオキソピペラジン構造を有する新規HDAC阻害化合物の神経細胞保護作用

実施例 14 と同様にラット大脳皮質より樹立した初代神経細胞培養系を用いて、OGD負荷を施行しOGD負荷24時間後における、終濃度で10 μ Mの K-560以外のK-852、及びK-853の神経細胞保護作用についても検討した。ここで、K-852は、チェニル基を有する 2-アミノベンズアミド構造とジオキソピペラジン構造を有する化合物であり、K-853は、チェニル基を有する 2-アミノベンズアミド構造を有するが、ジオキソピペラジン構造は有さない化合物である。

[0367] 図 10 に示すように、K-852は、K-560と同様に虚血によって引き起こされる細胞死を抑制した。

[0368] このことから、チェニル基を有する 2-アミノベンズアミド構造とジケトピペラジン構造を有する新規HDAC阻害化合物は脳虚血に対して保護作用を示し、神経細胞への毒性も少ないことが明らかとなった。

[0369] 実施例 16 : K-560の興奮毒性に対する神経細胞保護作用

K-560に興奮毒性によってもたらされる細胞死から神経細胞を保護する作用があるか否かを検討するため、以下の実験を行った。

[0370] (1) 方法

上記同様にE16ラット大脳皮質より初代神経細胞培養系を樹立し、培養後10~12日後の細胞を実験に供した。カイニン酸添加の72時間前にTSA(Trichostatin A:終濃度50 nM)、SAHA(Vorinostat:終濃度150 nM)、VPA(バルプロ酸:終濃度0.5 mM)、K-560(終濃度10 μ M)、又はMS-275(終濃度1 μ M)を前添加し、各被験物質存在下で培養後、終濃度で1 mMとなるようにカイニン酸を培地に添加し、カイニン酸による興奮毒負荷を行った。カイニン酸の添加から24時間後に実施例 14 と同様にLDH assayを施行し、死細胞の割合を測定した。

[0371] ここで、TSA及びSAHAは、汎HDAC阻害剤であり、VPAは、HDAC 1、2、3、8、4、5、7、及び9の阻害剤であり、MS-275は、HDAC1、2及び3の阻害剤である。

[0372] (2) 結果

図 1 1 に示すように、K-560以外の被験物質で前処理した細胞と比べて、K-560で前処理した細胞では、カイニン酸を添加による細胞死が有意に抑制された。

[0373] このことから、チエニル基を有する 2-アミノベンズアミド構造とジケトピペラジン構造を有する新規HDAC阻害化合物は興奮毒性に対して保護作用を示すことが明らかとなった。

[0374] 実施例 1 7 : パーキンソン病動物モデルにおけるK-560の神経細胞保護作用
1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) 投与パーキンソン病の病態モデルにおいて、K-560が黒質ドーパミン細胞に対して保護作用を示すかどうか検討するため、以下の実験を行った。

[0375] (1) 方法

C57BL6/Jマウスに1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) (Fluka Biochem) を30 mg/kgの用量で24時間毎に計5回腹腔内に投与した。K-560 (45 mg/kg)投与は、MPTP投与2日前から1日おき(隔日)で計7回、経口投与にて行った。投与群は、以下の通りである：

NS群 (生理食塩水投与のみ)

KS群 (K-560投与のみ)

NM群 (MPTP及び生理食塩水投与)

KM群 (MPTP及びK-560投与)。

[0376] 生理食塩水の投与は、各被験物質の投与に準じて行った。

[0377] MPTP 投与の2日後、及び21日後に、マウスを麻酔下で4%パラホルムアルデヒド/PBで灌流固定し、組織を摘出後4%パラホルムアルデヒド/PBで後固定し、凍結切片を作成した。浮遊法により黒質のTH(チロシン水酸化酵素)を免疫染色し、顕微鏡下で陽性細胞数をカウントした。免疫染色は、一次抗体として抗TH抗体 (CALBIOCHEM) を用い、常法にしたがって、ペルオキシダーゼとDABによって可視化した。

[0378] TH陽性細胞のカウントは、黒質全体のCoronal section(厚さ20 μ m)を作成し、4枚おきに計15枚の切片のTH染色を行い、各切片におけるTH陽性細胞数を

カウントし、総計15枚のTH陽性細胞の総和をグラフ化した。

[0379] (2) 結果

図12Aには、各群のTHの免疫染色像を示した。写真からも明らかなように、NM群では、TH陽性細胞の減少が認められた。

[0380] 図12BにはMPTP投与後2日後のTH陽性細胞数を、図12CにはMPTP投与後21日後のTH陽性細胞数をグラフ化して示した。図12Bに示すように、MPTP投与後2日後NM群では、NS群又はKS群と比較して半分程度までTH陽性細胞数が減少していたが、KM群では、NM群と比較して有意にTH陽性細胞数が回復していた。同様にMPTP投与後21日後においても、KM群では、NM群と比較して有意にTH陽性細胞数が回復していた(図12C)。

[0381] これらの結果から、パーキンソン病動物モデルにおいて、K-560が神経細胞保護作用を示すことが明らかとなった。

[0382] 実施例18: in vitro パーキンソン病実験モデルにおける神経保護作用

次に、K-560以外のチエニル基を有する2-アミノベンズアミド構造とジケトピペラジン構造を有する新規HDAC阻害化合物の神経細胞保護作用を確認するため、以下の実験を行った。

(1) 方法

ヒト神経芽細胞腫培養細胞であるSH-SY5Y細胞を、10%FBS及びペニシリン/ストレプトマイシン加DMEM培地で培養した。1-methyl-4-phenylpyridinium (MPP+) で処理する前に、10 μ Mのレチノイン酸及び3%FBS加DMEMに培地を置換し、8日間培養してSH-SY5Y細胞を分化させた。

[0383] 分化したSH-SY5Y細胞に終濃度1 mM又は2 mMとなるようにMPP+を添加した。K-852、又はK-853は、終濃度1 μ Mとした。MPP+添加と同時に、K-852、又はK-853を添加した。MPP+添加後48時間で細胞を回収し、LDH assayにより、死細胞の割合を求めた。DMSOは、陰性対照を示す。

[0384] (2) 結果

図13に示すように、MPP+が終濃度1 mM又は2 mMで存在する場合において、K-852は、陰性対照と比較して、死細胞の割合が減少していた。

[0385] このことから、チエニル基を有する2-アミノベンズアミド構造とジケトピペラジン構造を有する新規HDAC阻害化合物は、パーキンソン病実験モデルにおいて、神経細胞の保護作用を示すことが確認された。

[0386] 参考実施例：Ethyl化合物のin vitro パーキンソン病実験モデルにおける効果

チエニル-2-アミノベンズアミド構造を有する公知化合物である表1および図3に示すEthyl化合物について、実施例18と同様の実験を行いin vitro パーキンソン病実験モデルにおいて神経保護作用を示すか否か確認した。

(1) 方法

実験方法は、実施例5のK-852、K-853に換えて終濃度100 nM、1 μ M、5 μ M、10 μ MのEthyl化合物を用いた点、及びMPP+が終濃度0 mM又は3 mMである以外は、実施例5と同様である。

(2) 結果

図14右に示すように、MPP+非存在下 (MPP-) において、Ethyl化合物を添加された細胞は、Ethyl化合物の濃度依存的に死細胞が増加した。このことから、高濃度のEthyl化合物は、細胞毒性を示すこと明らかとなった。

[0387] また、3 mMのMPP+存在下 (MPP+ (3 mM)) でEthyl化合物を添加しても、死細胞数の割合は変化せず、Ethyl化合物には神経保護作用がないことが確認された。

[0388] 実施例19：被験化合物の毒性の比較

本発明の化合物が、公知化合物であるMS-275よりも毒性が低いことを実証するため、上記実施例15で使用した初代神経細胞培養系に、DMSO (陰性対照)、MS-275、K-560、又はK-852を投与して経時的にLDH活性を測定した。MS-275、K-560、及びK-852は、それぞれ終濃度で3 μ M及び10 μ Mとなるように培地に添加した。

[0389] その結果、図15に示すように、被験薬を添加後24、48及び96時間後において3 μ M又は10 μ MのK-560、及びK-852で処理した細胞のLDH活性は、MS-275を添加細胞よりも低い値を示した。このことから、本発明の化合物はMS-275

よりも毒性が低いことが示された。

[0390] 実施例 20 : OGD負荷におけるK-852、K-853、及びK-854の神経細胞保護作用

実施例 15 と同様の実験系を用いてK-852、K-853及びK-854の神経細胞保護作用について確認した。

[0391] その結果、図 15 に示すように、K-852及びK-854では神経細胞死が抑制され、特にK-852では、コントロールと比較してStudentの t 検定において有意差（星印： $p < 0.05$ ）が認められた。

[0392] 実施例 21 : OGD負荷におけるK-562、K-563、K-564、K-560、及びK-856の神経細胞保護作用

実施例 15 と同様の実験系を用いてK-562、K-563、K-564、K-560、及びK-856の神経細胞保護作用について確認した。

[0393] その結果、図 16 に示すように、OGD負荷後24時間ではコントロールと比較して有意差は認められなかったが、OGD負荷後48時間では、K-564及びK-856は神経細胞死を抑制し、Studentの t 検定において有意差（星印： $p < 0.05$ ）が認められた。

[0394] 実施例 22 : in vitroパーキンソン病実験モデルにおけるK-562、K-563、K-564、K-560、及びK-856の神経細胞保護作用

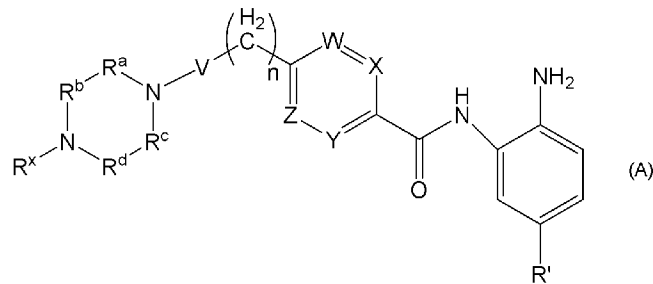
実施例 18 と同様の実験系を用いてK-562、K-563、K-564、K-560、及びK-856の神経細胞保護作用について確認した。

[0395] その結果、図 17 に示すように、K-856は神経細胞死を抑制し、Studentの t 検定において有意差（星印： $p < 0.05$ ）が認められた。

請求の範囲

[請求項1] 下記一般式 (A) で示される化合物、又はその薬学的に許容される塩を含む神経保護剤：

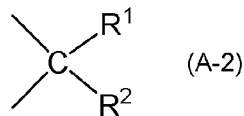
[化1]



{式中、

R¹ は、チエニル基、フラニル基、フェニル基、又はハロゲン原子；
R^a、R^b、R^c、及びR^dのうち二つはカルボニル基であり、他の二つは同一又は異なって下記一般式 (A-2) で示される基：

[化2]



[R¹及びR²は、同一又は異なって、水素原子、炭素数1～4のアルキル基、置換されていてもよいアリール基、置換されていてもよいシクロヘキシル基、又は置換されていてもよいテトラヒドロピラニル基であり、R^b若しくはR^dが上記式 (A-2) で示される基である時は、R¹若しくはR²がR^xと組み合わせさせて炭素数3～6の飽和環を形成してもよい]；

R^xは、置換されていてもよい炭素数1～6のアルキル基、又は水素原子；

nは、1～4のいずれかの整数；

Vは、-CO-NH-又は直結；

W、X、Y、及びZは、同一又は異なってCH又は窒素原子である}

。

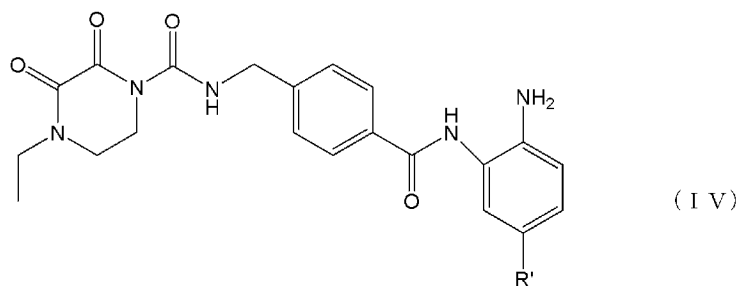
[請求項2] R^aが、カルボニル基であり、R^oが、上記一般式（A-2）で示される基である、請求項1に記載の神経保護剤。

[請求項3] nが1である請求項1又は2に記載の神経保護剤。

[請求項4] R'が、チエニル基、フラニル基、フェニル基、又は塩素原子である、請求項1～3のいずれか一項に記載の神経保護剤。

[請求項5] 下記一般式（IV）で示される化合物、又はその薬学的に許容される塩を含む、請求項1に記載の神経保護剤：

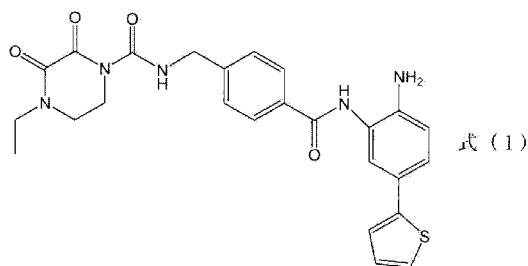
[化3]



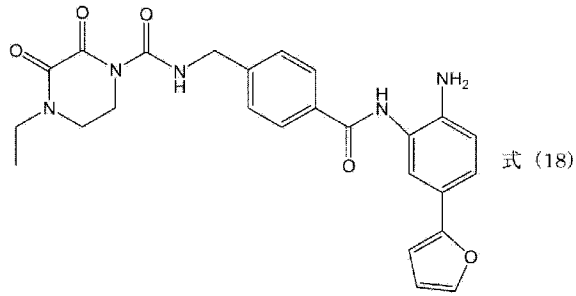
（式中、R'は、チエニル基、フラニル基、フェニル基、又は塩素原子である。）

[請求項6] 下記式（1）、（18）、（2）及び（5）のいずれかで示される化合物、又はその薬学的に許容される塩を含む、請求項1に記載の神経保護剤：

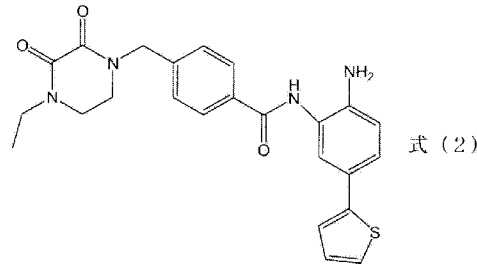
[化4]



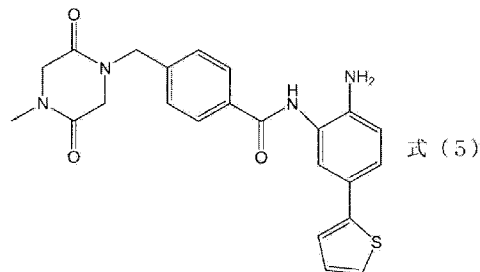
[化5]



[化6]



[化7]



[請求項7] 神経系疾患の予防または治療用である、請求項 1～6 のいずれか一項に記載の神経保護剤。

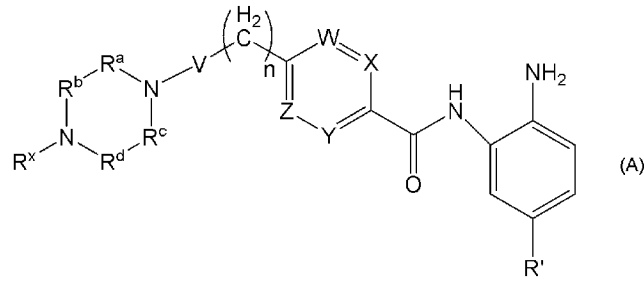
[請求項8] 神経系疾患が神経変性疾患である、請求項 7 に記載の神経保護剤。

[請求項9] 神経変性疾患がパーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、アルツハイマー型認知症、脳血管性認知症、ポリグルタミン病、多発性硬化症、ギラン・バレー症候群、慢性炎症性脱髄性多発神経炎、又は多巣性運動ニューロパチーである、請求項 8 に記載の神経保護剤。

[請求項10] 神経系疾患が虚血性脳疾患である、請求項 7 に記載の神経保護剤。

[請求項11] 下記一般式 (A) で示される化合物、又はその薬学的に許容される塩：

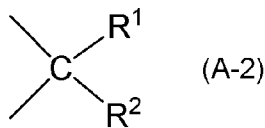
[化8]



{式中、

Vは、 $-\text{CO}-\text{NH}-$ 又は直結；Vが $-\text{CO}-\text{NH}-$ のとき、 R' は、フラニル基、フェニル基、又はハロゲン原子；Vが直結のとき、 R' は、チエニル基、フラニル基、フェニル基、又はハロゲン原子； R^a 、 R^b 、 R^c 、及び R^d のうち二つはカルボニル基であり、他の二つは同一又は異なって下記一般式(A-2)で示される基：

[化9]



[R^1 及び R^2 は、同一又は異なって、水素原子、炭素数1～4のアルキル基、置換されていてもよいアリール基、置換されていてもよいシクロヘキシル基、又は置換されていてもよいテトラヒドロピラニル基であり、 R^b 若しくは R^d が上記式(A-2)で示される基である時は、 R^1 若しくは R^2 が R^x と組み合わせさせて炭素数3～6の飽和環を形成してもよい]；

 R^x は、水素原子、又は置換されていてもよい炭素数1～6のアルキル基； n は、1～4のいずれかの整数；

W、X、Y、及びZは、同一又は異なってCH又は窒素原子である}

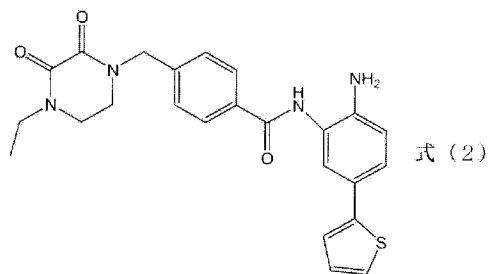
。

[請求項12] R^a が、カルボニル基であり、 R^o が、上記一般式(A-2)で示される基である、請求項11に記載の化合物、又はその薬理的に許容される塩。

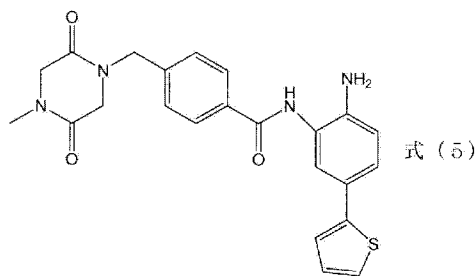
[請求項13] n が1である請求項11又は12に記載の化合物、又はその薬理的に許容される塩。

[請求項14] 下記式(2)、(5)、(3)、(4)及び下記式(IV)のいずれかで示される、請求項11に記載の化合物、又はその薬理的に許容される塩：

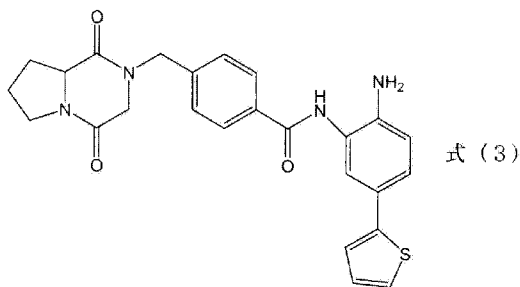
[化10]



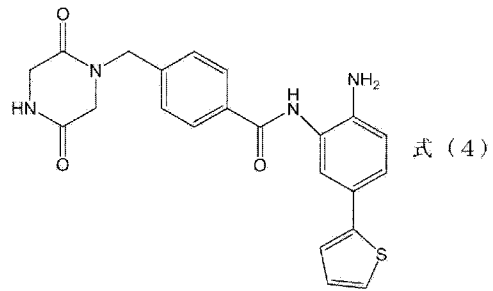
[化11]



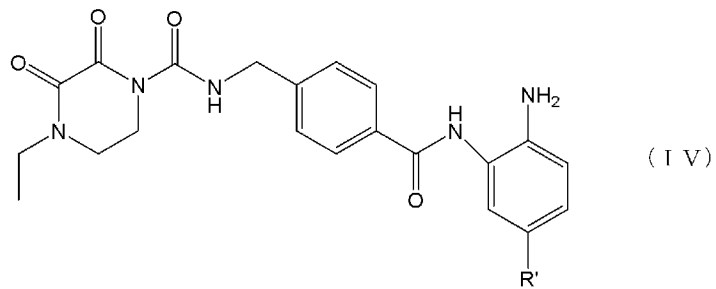
[化12]



[化13]



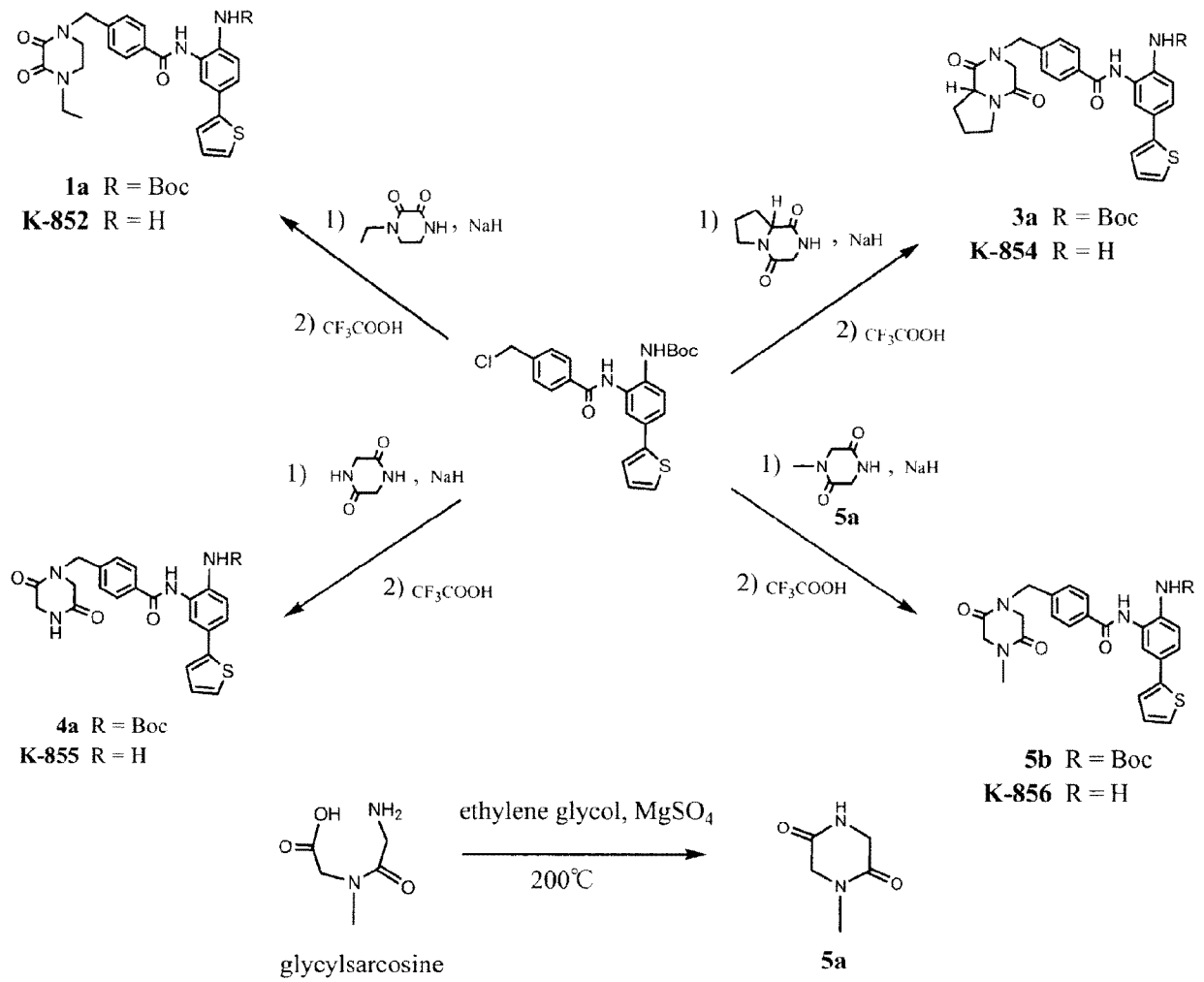
[化14]



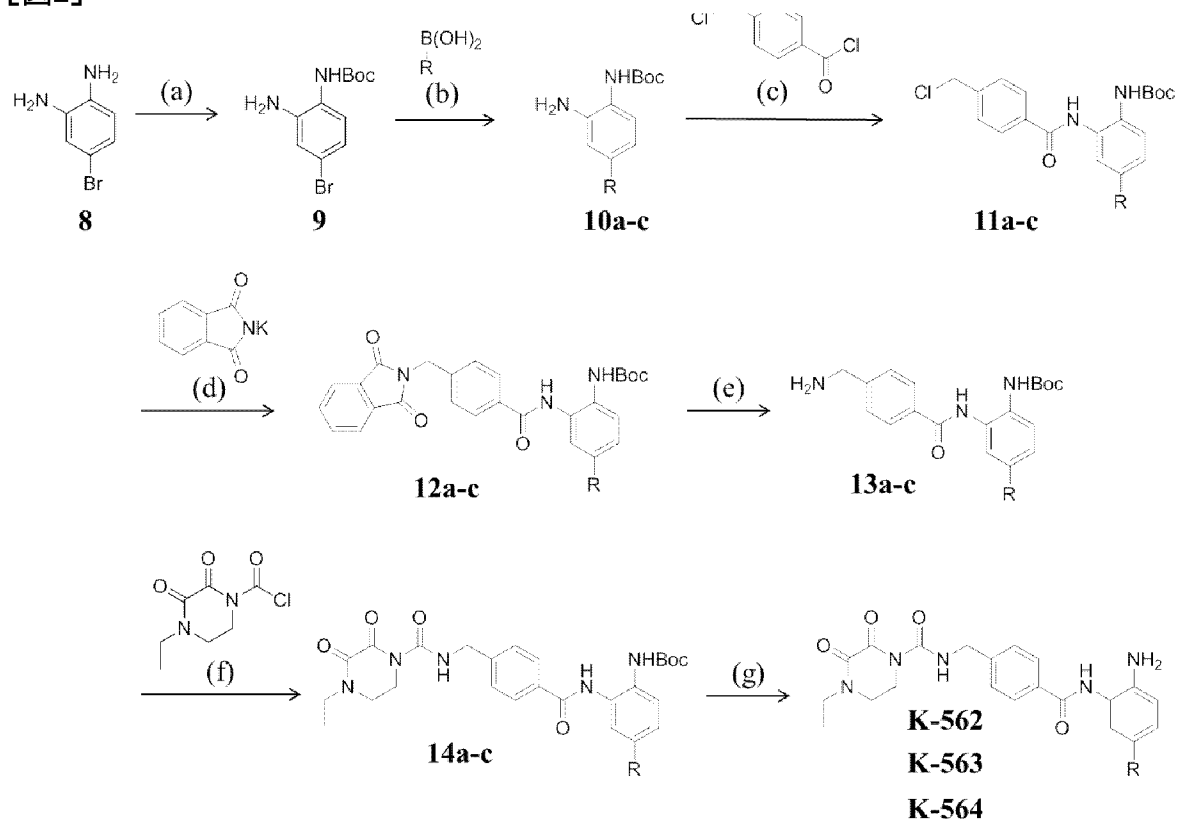
(式中、R' は、フラニル基またはフェニル基である。)




[請求項15] 請求項11～14のいずれか一項に記載の化合物またはその薬学的に許容される塩を含む癌の治療及び／又は予防のために用いられる医薬組成物。

[図1]

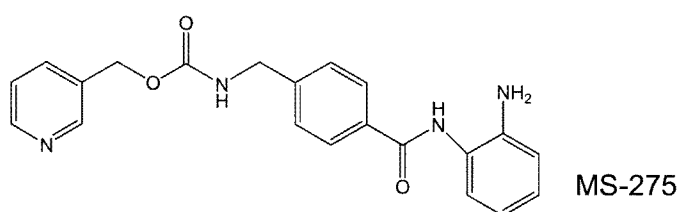
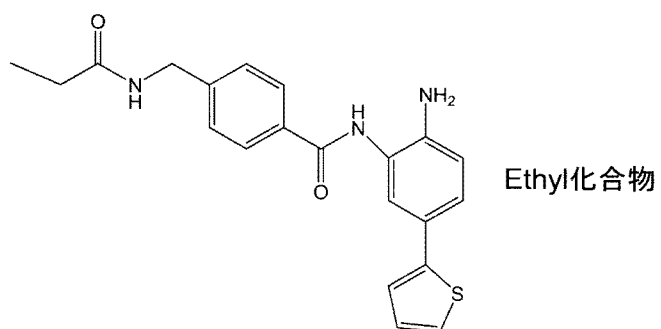
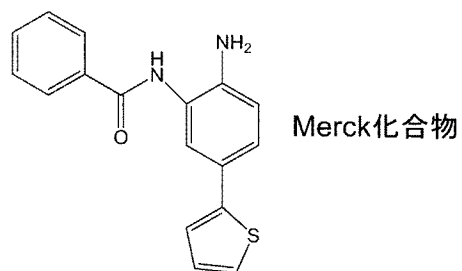
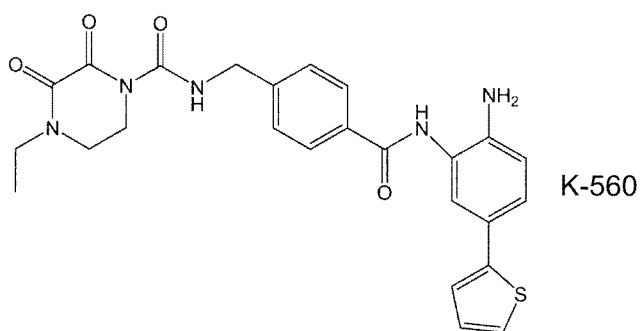


[図2]

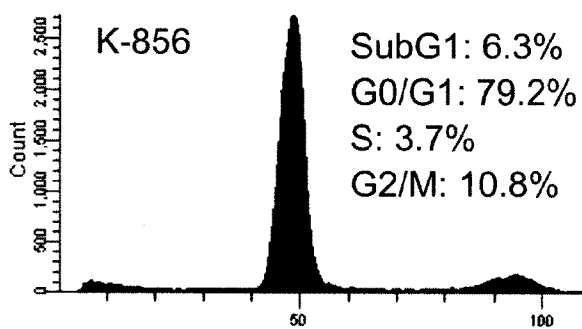
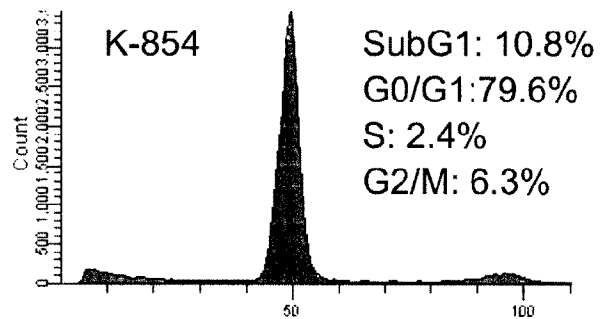
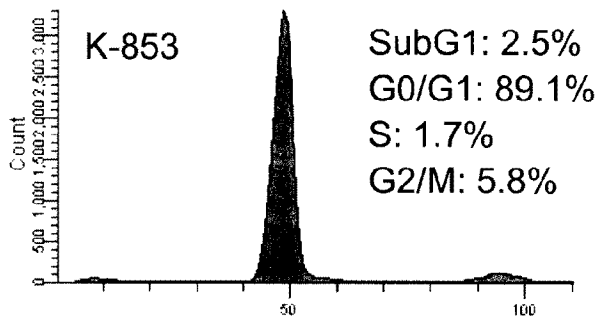
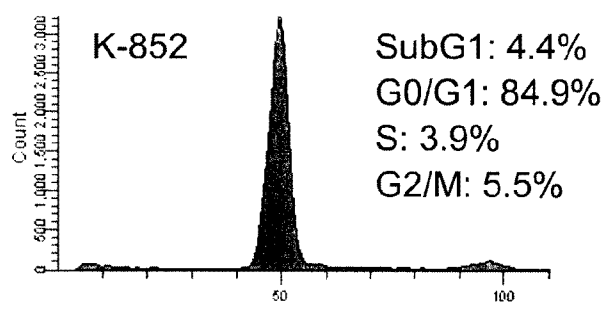
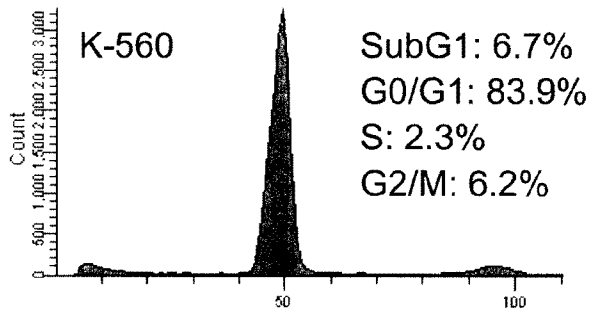
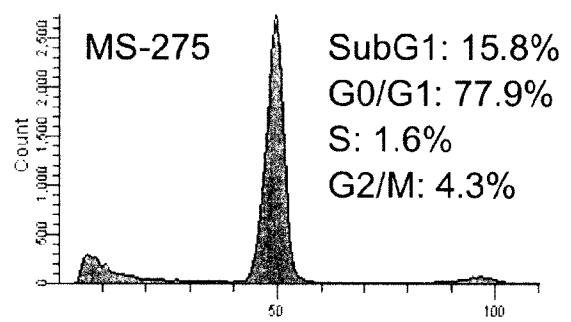
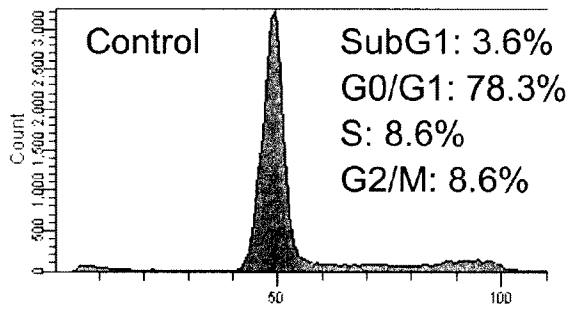


R:  10-14a, K-562 R:  10-14b, K-563 R:  10-14c, K564

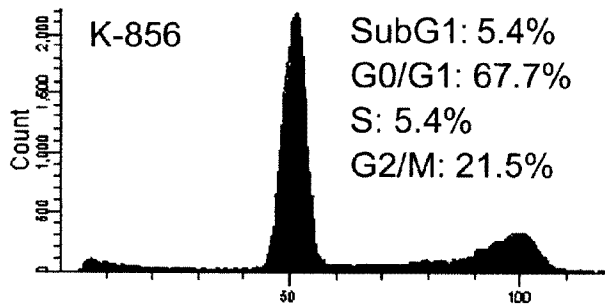
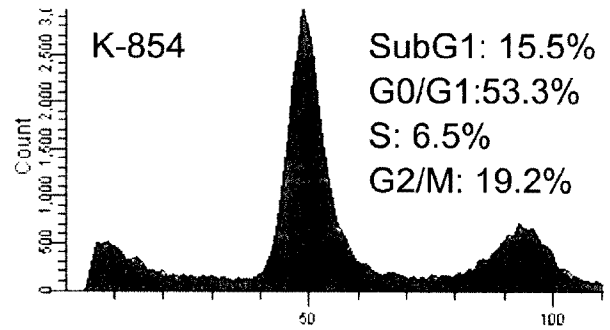
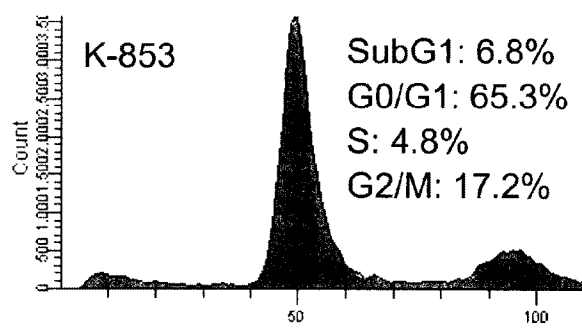
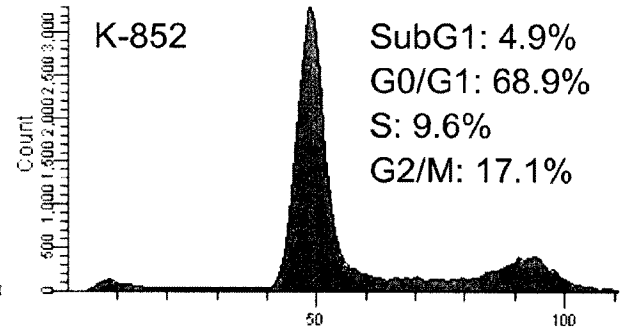
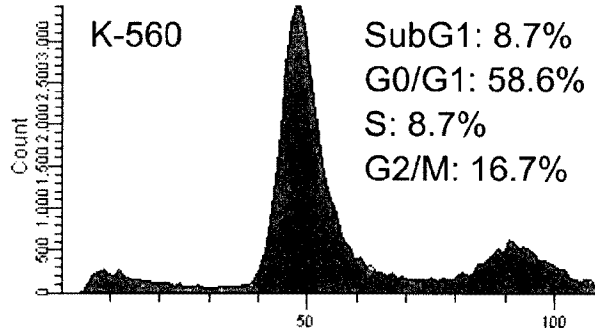
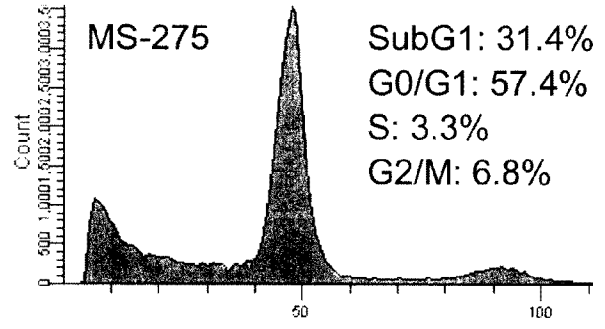
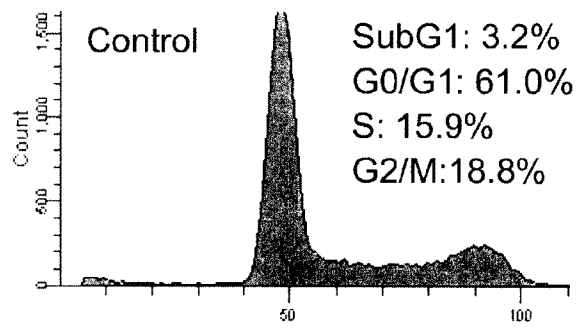
[図3]



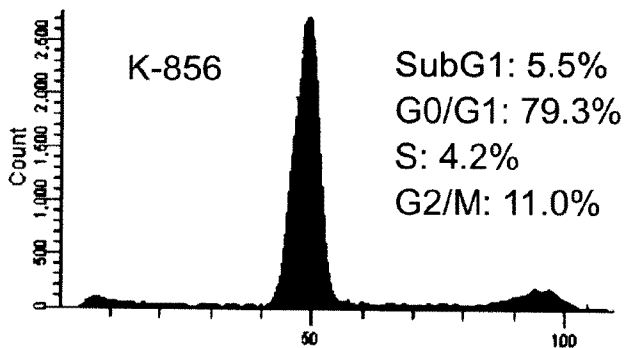
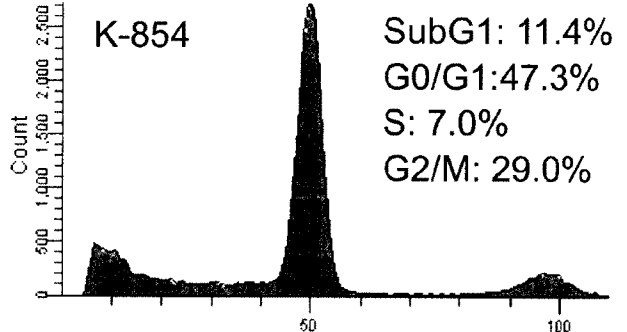
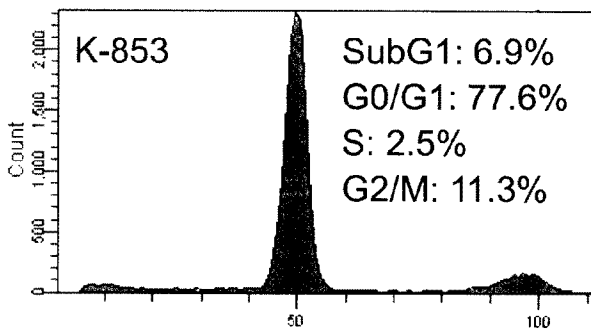
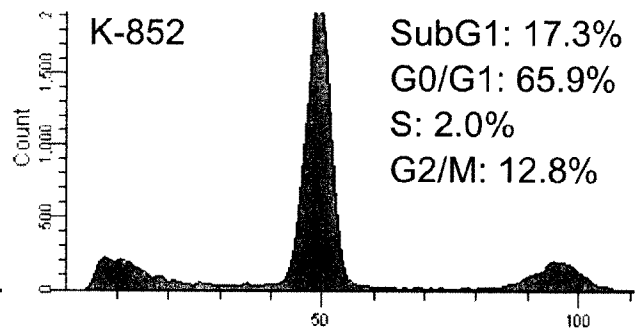
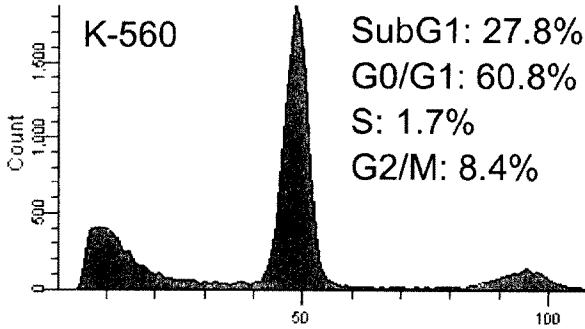
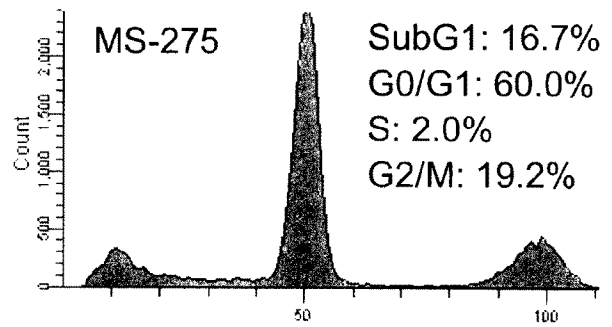
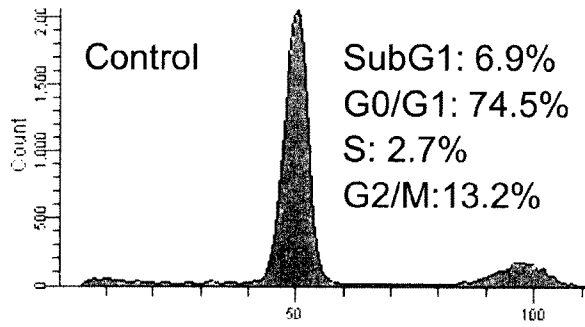
[4]



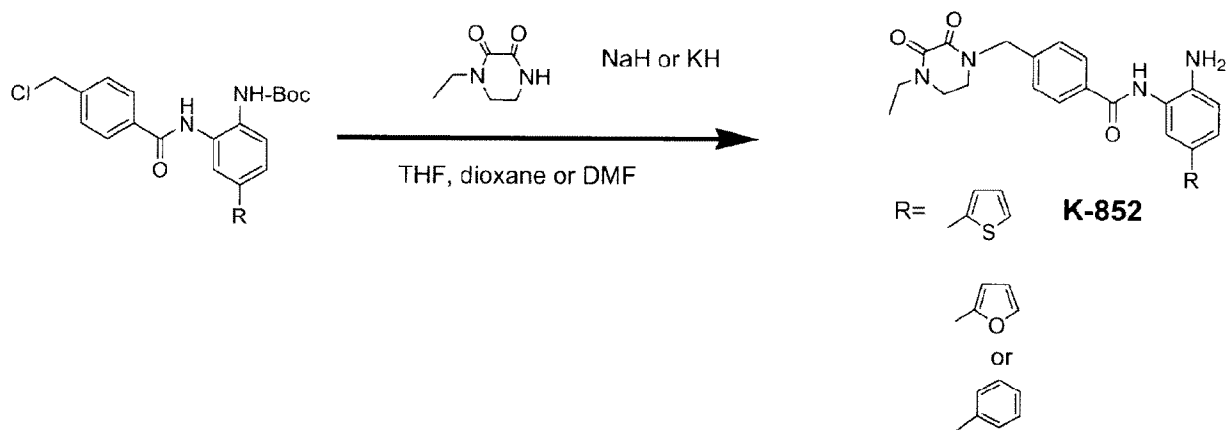
[5]



[6]

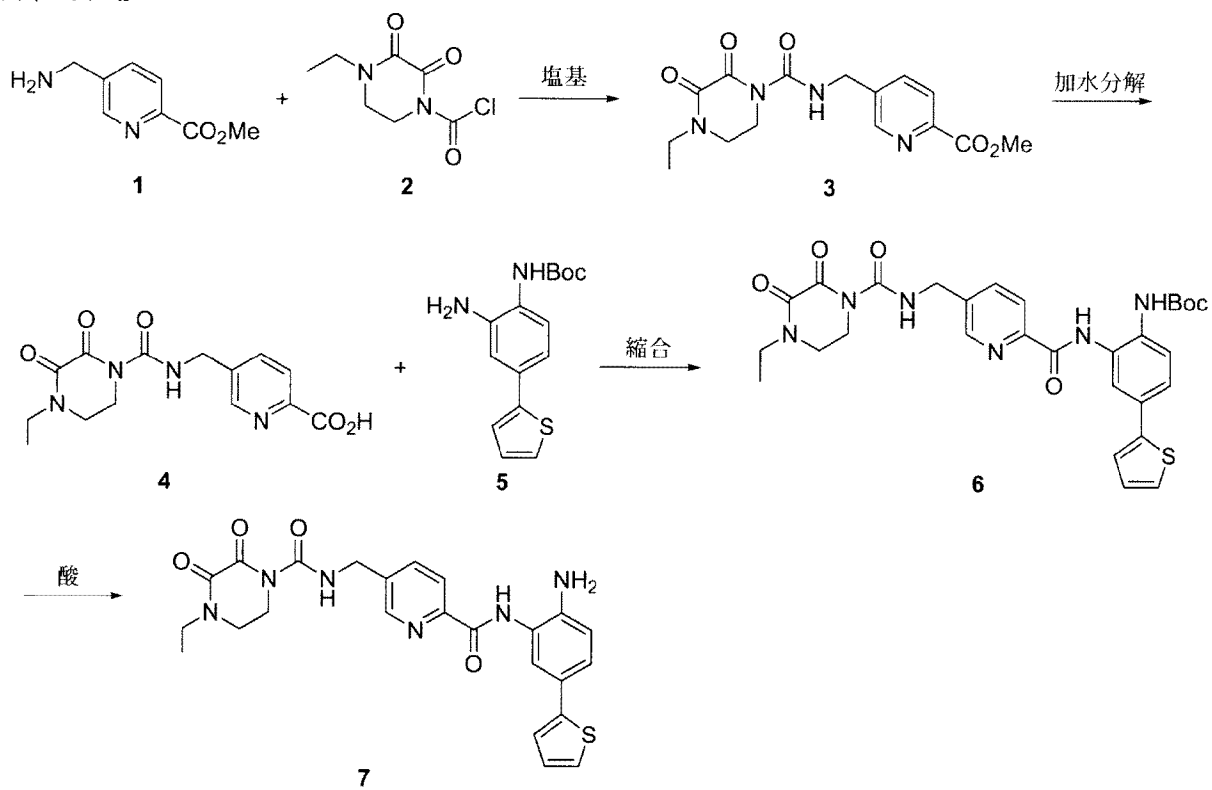


[図7]

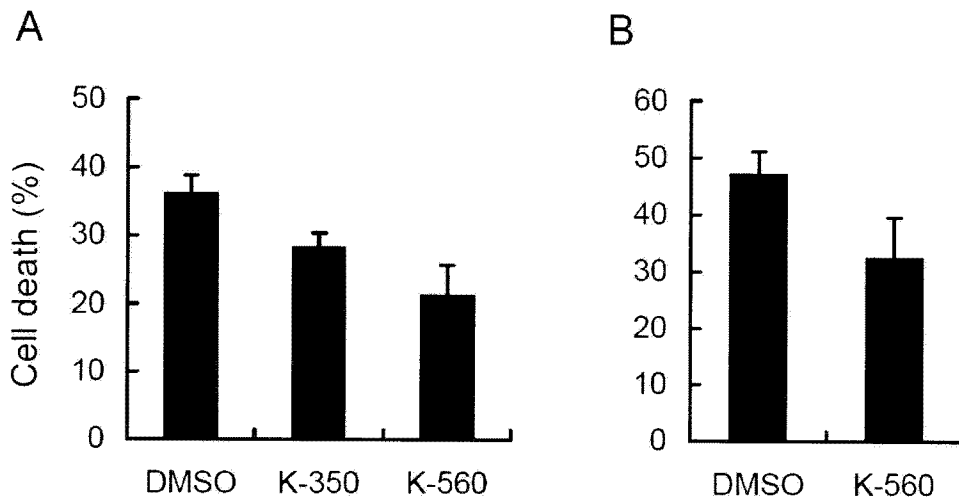


[図8]

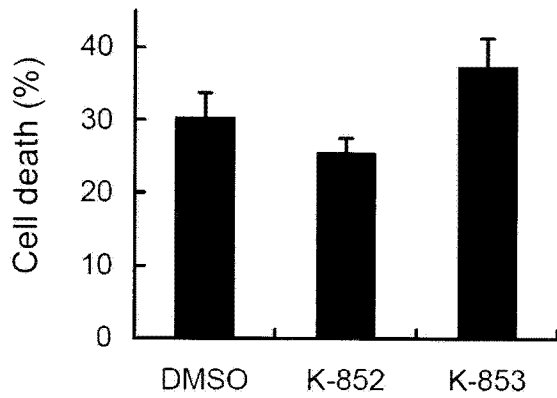
スキーム X



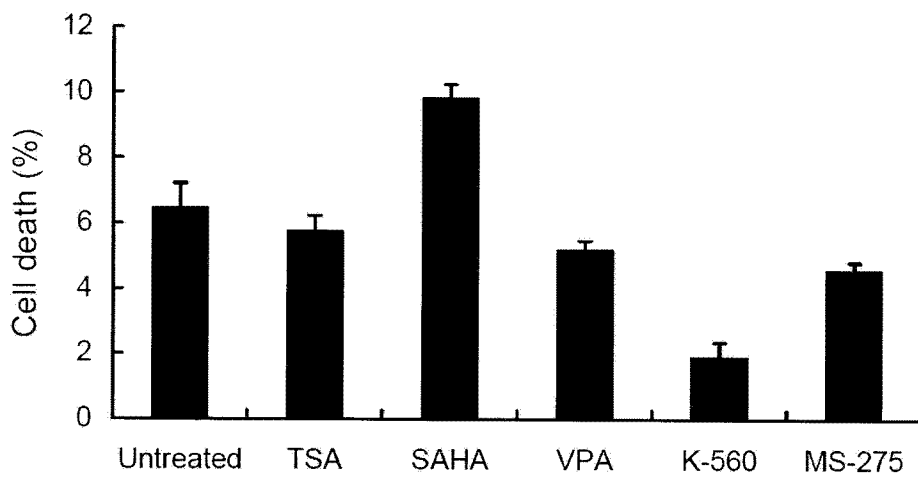
[図9]



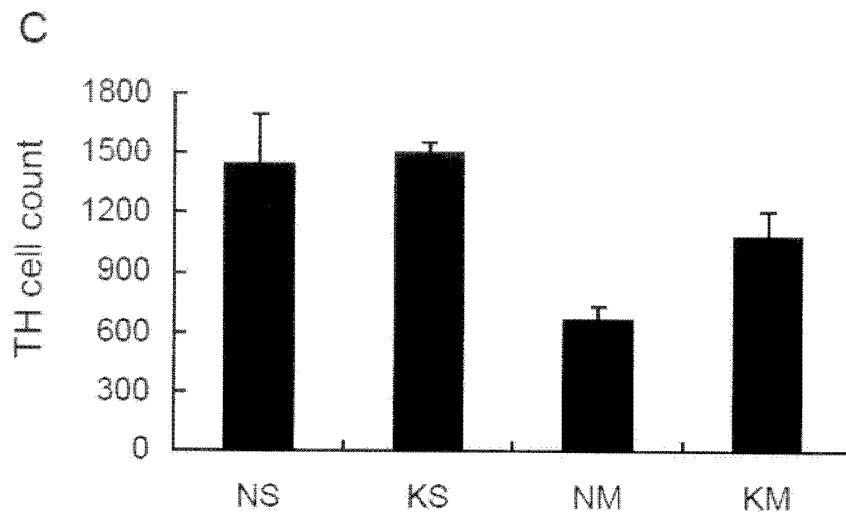
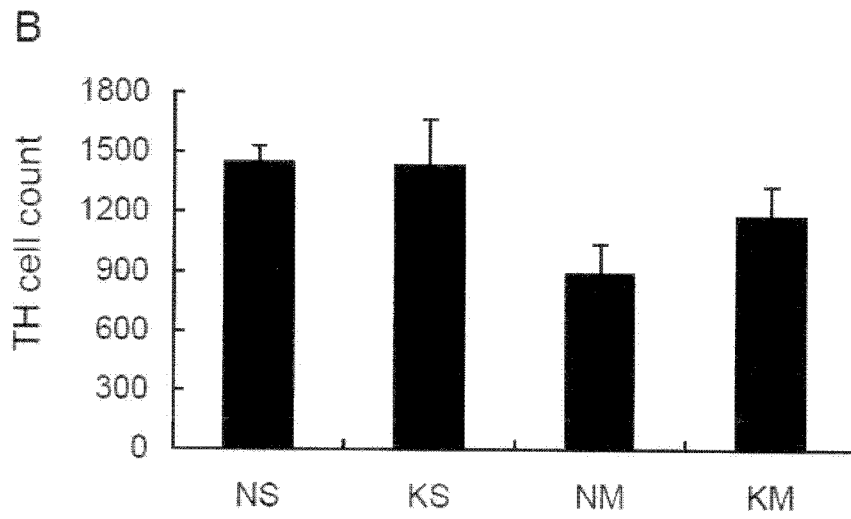
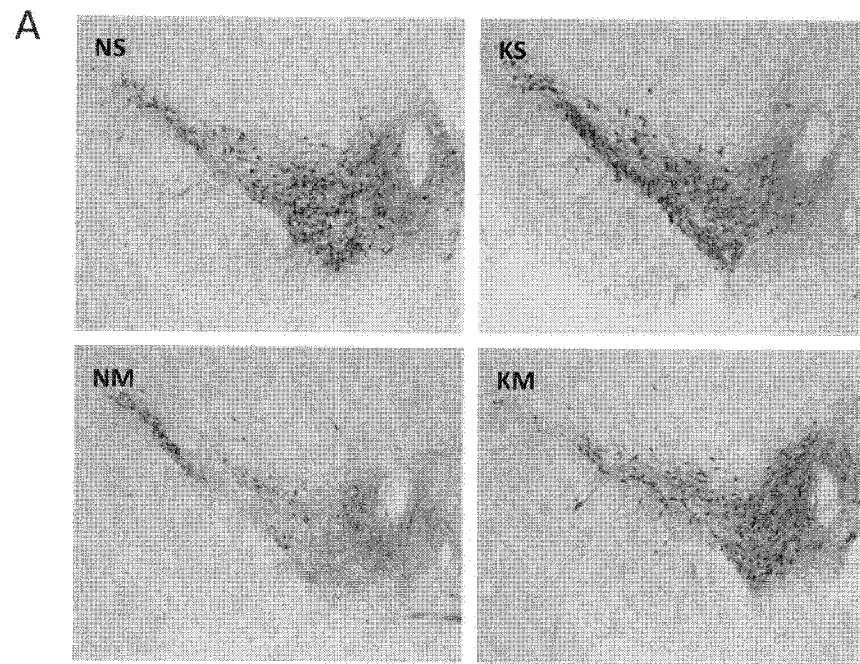
[図10]



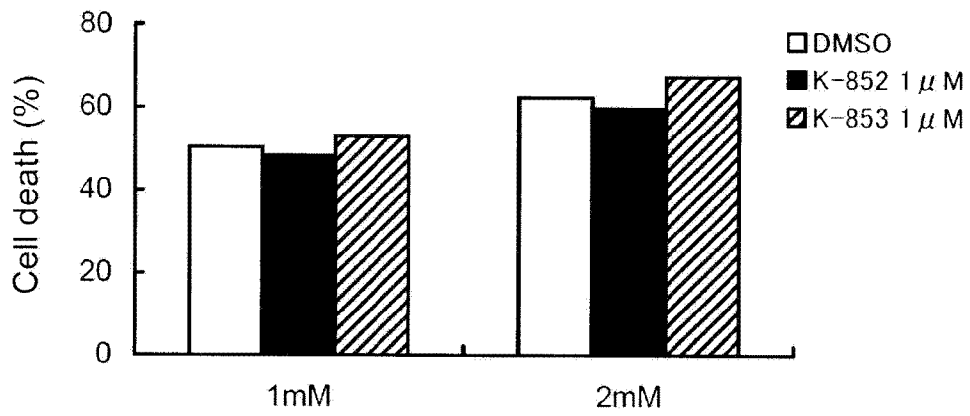
[図11]



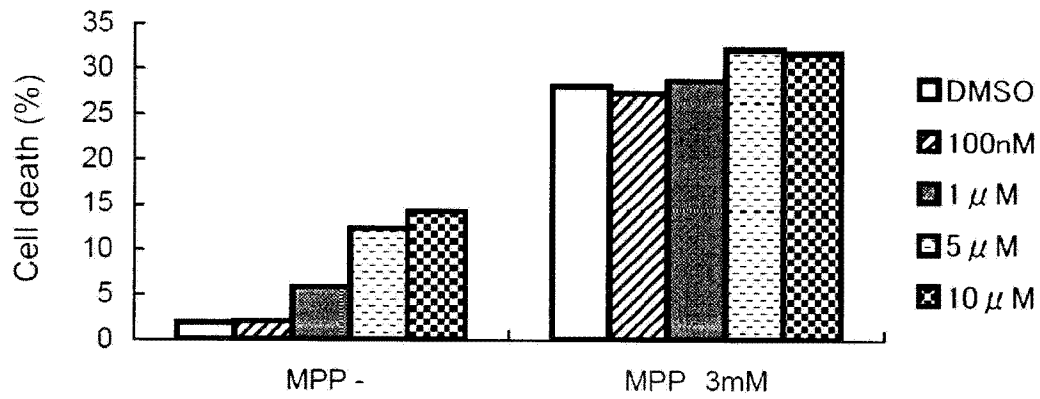
[図12]



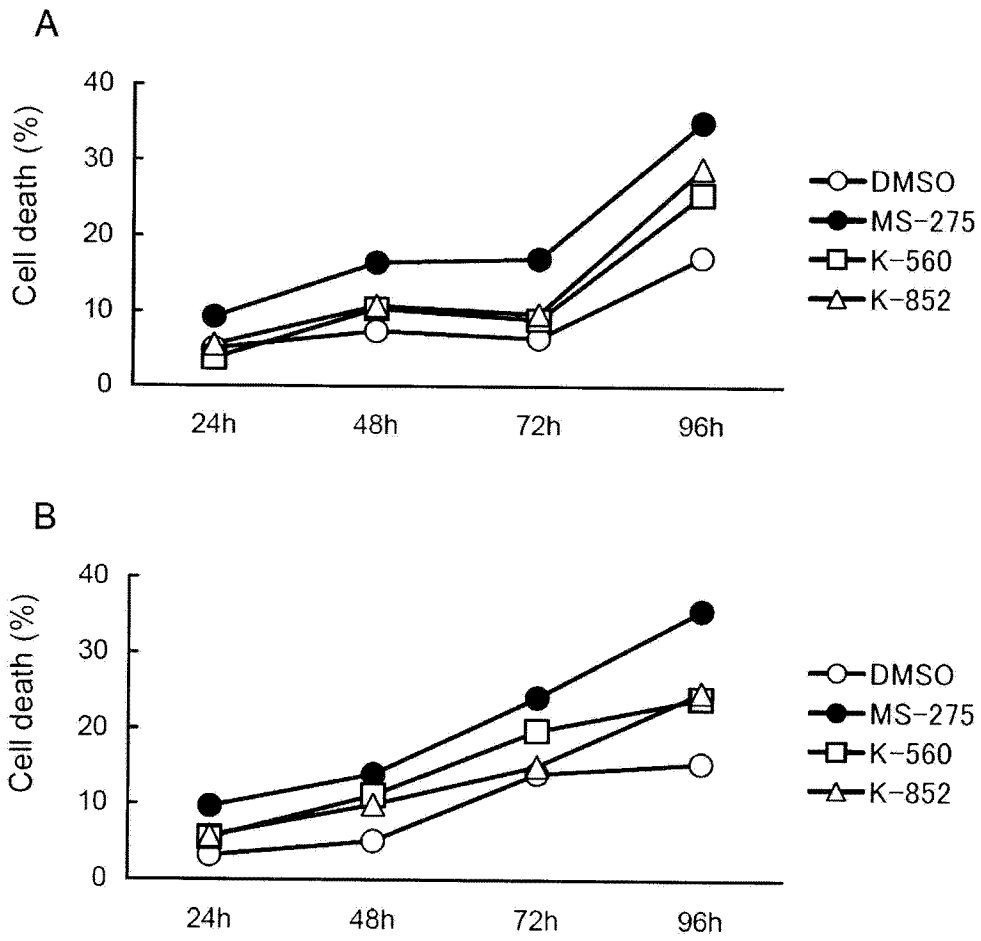
[圖13]



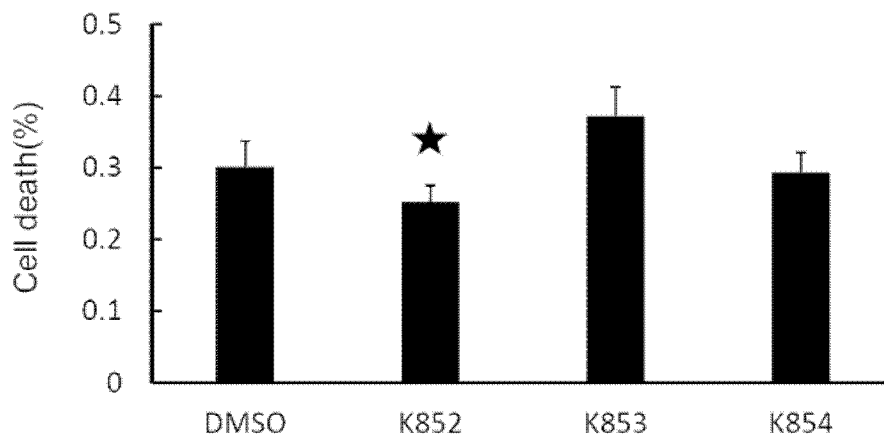
[圖14]



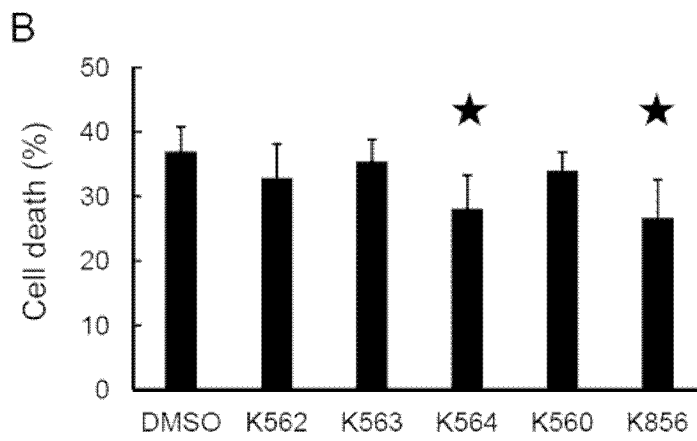
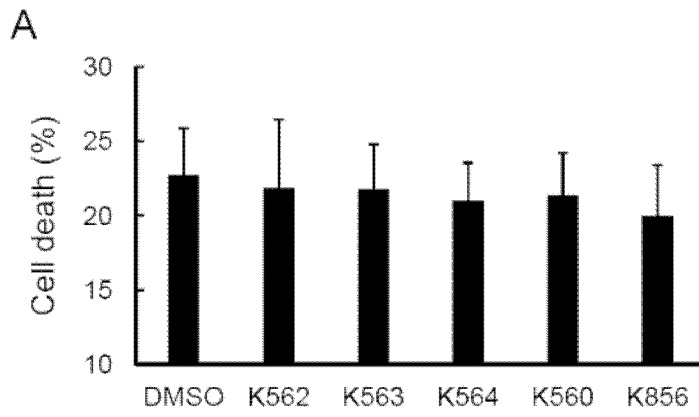
[圖15]



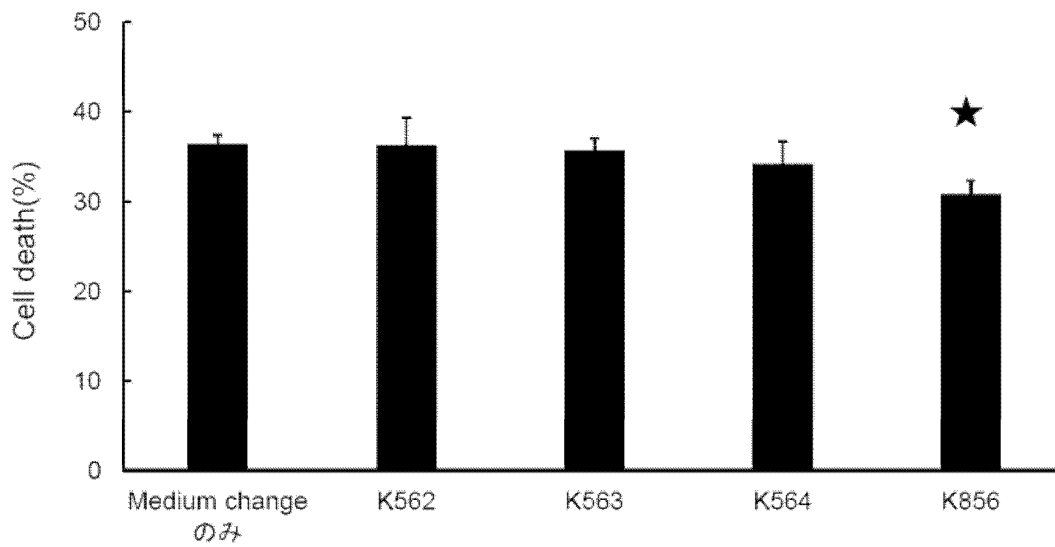
[圖16]



[図17]



[図18]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2015/075660

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A61K31/4965(2006.01)i, A61K31/498(2006.01)i, A61P25/00(2006.01)i, A61P25/16(2006.01)i, A61P25/28(2006.01)i, C07D241/08(2006.01)i, C07D405/12(2006.01)i, C07D409/12(2006.01)i, C07D487/04(2006.01)i According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K31/4965, A61K31/498, C07D241/08, C07D405/12, C07D409/12, C07D487/04		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2015 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2015 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2015		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CAPLUS/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), JSTPLUS/JMEDPLUS/JST7580 (JDreamIII)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	HIRATA, Y., et al., "Anti-tumor activity of new orally bioavailable 2-amino-5-(thiophen-2-yl) benzamide-series histone deacetylase inhibitors, possessing an aqueous soluble functional group as a surface recognition domain", Bioorg. Med. Chem. Lett., 2012.03.01, Vol.22, No.5, p.1926-1930, ISSN 0960-894X ABSTRACT, Table 1, 2, Figure 2, Scheme 1, 8b	11-15 1-10
Y	GIBSON, C.L., et al., "Benefits of histone deacetylase inhibitors for acute brain injury: a systematic review of animal studies", J. Neurochem., 2010.11.01, Vol.115, No.4, p.806-813, ISSN 0022-3042 Abstract	1-10
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 11 December 2015 (11.12.15)		Date of mailing of the international search report 22 December 2015 (22.12.15)
Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2015/075660

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	HASAN, M.R., et al., "Effect of HDAC Inhibitors on Neuroprotection and Neurite Outgrowth in Primary Rat Cortical Neurons Following Ischemic Insult", <i>Neurochem. Res.</i> , 2013.09., Vol.38, No.9, p.1921-1934, ISSN 1573-6903 Abstract, Fig. 1	1-10
Y	JP 2012-533623 A (The Board of Trustees of the University of Illinois), 27 December 2012 (27.12.2012), claims 1, 15, 26; paragraphs [0003], [0004], [0262] to [0269] & WO 2011/011186 A2 claims 1, 15, 26; paragraphs [0003], [0004], [0335] to [0342] & US 2012/0252740 A1 & US 2013/0281484 A1 & EP 2456757 A2 & CA 2768466 A	1-10

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. A61K31/4965(2006.01)i, A61K31/498(2006.01)i, A61P25/00(2006.01)i, A61P25/16(2006.01)i, A61P25/28(2006.01)i, C07D241/08(2006.01)i, C07D405/12(2006.01)i, C07D409/12(2006.01)i, C07D487/04(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. A61K31/4965, A61K31/498, C07D241/08, C07D405/12, C07D409/12, C07D487/04

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2015年
日本国実用新案登録公報	1996-2015年
日本国登録実用新案公報	1994-2015年

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

CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), JSTplus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X Y	HIRATA, Y., et al., "Anti-tumor activity of new orally bioavailable 2-amino-5-(thiophen-2-yl)benzamide-series histone deacetylase inhibitors, possessing an aqueous soluble functional group as a surface recognition domain", Bioorg. Med. Chem. Lett., 2012.03.01, Vol.22, No.5, p.1926-1930, ISSN 0960-894X ABSTRACT、Table 1, 2、Figure 2、Scheme 1 の 8b	11-15 1-10

C欄の続きにも文献が列挙されている。

パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献
 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
 「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

11.12.2015

国際調査報告の発送日

22.12.2015

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)
 郵便番号100-8915
 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

中尾 忍

4U

3955

電話番号 03-3581-1101 内線 3439

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	GIBSON, C. L., et al., "Benefits of histone deacetylase inhibitors for acute brain injury: a systematic review of animal studies", J. Neurochem., 2010.11.01, Vol.115, No.4, p.806-813, ISSN 0022-3042 Abstract	1-10
Y	HASAN, M. R., et al., "Effect of HDAC Inhibitors on Neuroprotection and Neurite Outgrowth in Primary Rat Cortical Neurons Following Ischemic Insult", Neurochem. Res., 2013.09., Vol.38, No.9, p.1921-1934, ISSN 1573-6903 Abstract, Fig. 1	1-10
Y	JP2012-533623 A (ザ・ボード・オブ・トラスティーズ・オブ・ザ・ユニバーシティ・オブ・イリノイ) 2012.12.27, 請求項1, 15, 26、段落 [0003], [0004], [0262] - [0269] & WO2011/011186 A2, claim 1, 15, 26、paragraph [0003], [0004], [0335]-[0342] & US 2012/0252740 A1 & US 2013/0281484 A1 & EP 2456757 A2 & CA 2768466 A	1-10