

(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
2015 年 6 月 11 日(11.06.2015)



(10) 国際公開番号

WO 2015/083750 A1

(51) 国際特許分類:

A61K 45/00 (2006.01) A61P 25/20 (2006.01)
A61K 31/429 (2006.01) A61P 25/22 (2006.01)
A61K 31/437 (2006.01) A61P 25/24 (2006.01)
A61K 31/695 (2006.01) A61P 25/28 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01) A61P 25/30 (2006.01)
A61P 25/02 (2006.01) A61P 25/32 (2006.01)
A61P 25/14 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)
A61P 25/16 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2014/082035

(22) 国際出願日: 2014 年 12 月 3 日(03.12.2014)

(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 2013-252443 2013 年 12 月 5 日(05.12.2013) JP

(71) 出願人: 国立大学法人京都大学(KYOTO UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒6068501 京都府京都市左京区吉田本町 3 6 番地 1 Kyoto (JP).

(72) 発明者: 萩原正敏(HAGIWARA Masatoshi). 小林亜希子(KOBAYASHI Akiko).

(74) 代理人: 特許業務法人池内・佐藤アンドパートナーズ(IKEUCHI SATO & PARTNER PATENT ATTORNEYS); 〒5306026 大阪府大阪市北区天満橋

1 丁目 8 番 3 0 号 O A P タワー 2 6 階 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, 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.

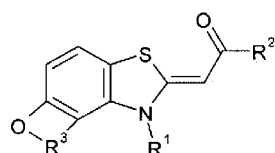
(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, 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:

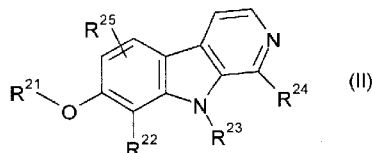
— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

(54) Title: COMPOUND PERTAINING TO NEUROPOIESIS AND DRUG COMPOSITION

(54) 発明の名称: 神経新生に関する化合物及び医薬組成物



(I)



(II)

(57) Abstract: Provided is a composition for activating neurogenesis or neuron proliferation. In one or more embodiments, the composition contains, as the active ingredient, a compound having a DYRK inhibiting ability, a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt thereof. Also, in one or more embodiments, the composition contains, as the active ingredient, a compound represented by general formula (I) and/or (II), a prodrug thereof, or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

(57) 要約: 神経新生又は神経細胞増殖を活性化するための組成物の提供。一又は複数の実施形態において、有効成分としてDYRK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩を含有する組成物。また、一又は複数の実施形態において、有効成分として下記一般式 (I) 及び/又は (II) で表される化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩を含有する組成物。

WO 2015/083750 A1

明 細 書

発明の名称：神経新生に関する化合物及び医薬組成物

技術分野

[0001] 本開示は、神経新生に関する化合物及び医薬組成物に関する。また、本開示は、神経新生を活性化させること、及び／又は、神経細胞の増殖を活性化させることに関する。

背景技術

[0002] 近年、中枢神経系で神経を新生又は再生させることの可能性があることが明らかとされつつある。それにともない、神経新生を制御できる薬剤の開発がすすめられている。特許文献1は、哺乳動物の脳の海馬において神経新生を促進しうるペプチドを含有する神経新生促進剤を開示する。また、特許文献2は、神経新生作用を有する低分子化合物を開示する。

先行技術文献

特許文献

[0003] 特許文献1：特開2010-105996号公報
特許文献2：特開2009-292782号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0004] 本開示は、一態様において、神経新生の活性化のための、神経細胞を増殖させるための、又は、神経細胞の分化を抑制するための組成物を提供する。

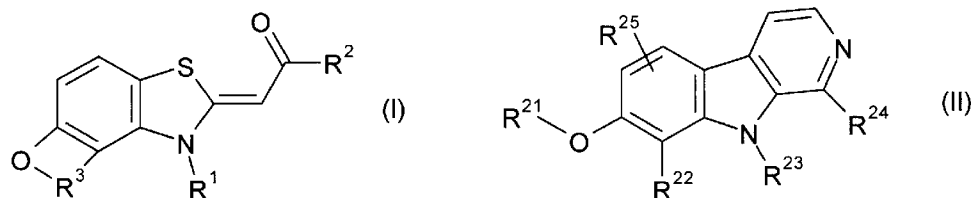
課題を解決するための手段

[0005] 本開示は、一又は複数の実施形態において、神経新生又は神経細胞増殖を活性化するための組成物であって、有効成分としてDYRK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩を含有する組成物に関する。

[0006] 本開示は、一又は複数の実施形態において、神経新生又は神経細胞増殖を活性化するための組成物であって、有効成分として下記一般式（I）及び／

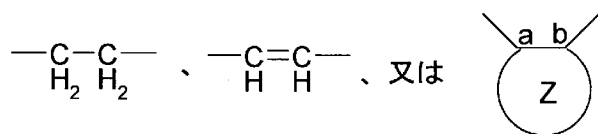
又は(ⅠⅠ)で表される化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩を含有する組成物に関する。

[化1]



[式(Ⅰ)において、 R^1 及び R^2 は、それぞれ独立して、水素原子又は C_{1-6} 炭化水素鎖であり、 R^3 は、

[化2]



であり、 Z は、 a 及び b で印をつけた原子と共に、1つのベンゼン環、1つの複素芳香族環、1つ以上のベンゼン環が縮合した芳香族環、1つ以上の複素芳香族環が縮合した複素芳香族環、1つ以上のベンゼン環と1つ以上の複素芳香族環とが縮合した混合縮合多環、及び、環状脂肪族からなる群から選択される環を形成し、前記環は水素原子、ハロゲン原子又は C_{1-6} アルキル基である置換基を1つ以上有してもよく、 R^4 は、水素原子、ハロゲン原子又は C_{1-6} アルキル基である。

式(ⅠⅠ)において、 R^{21} 及び R^{23} は、それぞれ独立して、水素原子、 C_{1-6} 直鎖若しくは分枝若しくは環状のアルキル基、ベンジル若しくはヘテロアリールメチル基、置換若しくは無置換のアリール基、又は置換若しくは無置換のヘテロアリール基であり、 R^{22} は、 $-R^{26}$ 、 $-C\equiv C-R^{26}$ 、 $-CH=CH-R^{26}$ 、及び $-O-(CH_2)_n-R^{26}$ からなる群から選択され、 n は1～6であり、 R^{26} は、水素原子、水酸基、 C_{1-8} アルキル基、 $-Si(R^{27})_3$ 、並びに、置換若しくは無置換のフェニル基、単環式複素芳香環基及び環状脂肪族基か

らなる群から選択され、或いは、 R^{21} と R^{22} は結合して環を形成し、 $-R^{21}-R^{22}-$ が、 $-(CH_2)_m-CH_2-$ 、 $-CH=CH-$ 、 $-(CH_2)_m-O-$ 、及び、ハロゲン原子で置換されたこれらのものからなる群から選択され、 m は1～6であり、 R^{27} は水素原子、 C_{1-6} アルキル基、トリハロメチル基、又は水酸基であり、 $-Si(R^{27})_3$ 中の3つの R^{27} はそれぞれ異なってもよい。 R^{24} 、 R^{25} は、水素原子又は C_{1-6} アルキル基である。]

[0007] 本開示は、一又は複数の実施形態において、本開示に係る組成物を対象に投与することを含む、神経新生の活性化方法に関する。また、本開示は、一又は複数の実施形態において、本開示に係る組成物を含有する培地で神経細胞を培養することを含む、神経細胞の調製方法に関する。

図面の簡単な説明

[0008] [図1]図1は、化合物2の動物個体（マウス）への経口連続投与により海馬歯状回での神経新生が活性化されることを示す図である。

[図2]図2は、神経幹細胞の増殖の活性化を実証する実験系を説明する図である。

[図3]図3は、化合物1～3を投与した培養神経幹細胞のBrdU陽性細胞の割合をアレイスキャンにより解析した結果のグラフの一例である。

[図4]図4は、化合物1～3を投与した培養幹細胞におけるサイクリンD1の発現をウェスタンブロッティングにより検出した結果の一例である。

[図5]図5は、DYRK1Aの発現抑制による神経新生活活性化効果を実証する実験系を説明する図である。

[図6]図6は、DYRK1Aの発現抑制するshRNAを投与した培養神経幹細胞のBrdU陽性細胞の割合をアレイスキャンにより解析した結果のグラフの一例である。

[図7]図7は、DYRK1Aの発現抑制するshRNAを培養幹細胞におけるサイクリンD1の発現をウェスタンブロッティングにより検出した結果の一例である。

[図8]図8は、DYRKファミリーの発現誘導及び化合物2の添加に対する神経細胞内におけるサイクリンD1の発現をウェスタンブロッティングにより検出

した結果の一例である。

発明を実施するための形態

[0009] [D Y R K阻害能／C L K阻害能を有する化合物]

本開示において「DYRK」とはDual-specificity tyrosine phosphorylation-regulated kinaseファミリーに属するリン酸化酵素をいう。本開示において「CLK」とはCDC-like kinaseファミリーに属するリン酸化酵素をいう。本開示において「阻害能」とは、一又は複数の実施形態において、リン酸化酵素活性に対する阻害能をいう。

[0010] DYRK阻害能を有するとは、一又は複数の実施形態において、DYRKファミリーに属するリン酸化酵素の少なくとも1つに対して阻害能を有することであり、その他の一又は複数の実施形態において、DYRKファミリーに属するリン酸化酵素の少なくとも1つのリン酸化活性を阻害する活性を有することである。DYRK阻害能を有する化合物は、一又は複数の実施形態において、DYRK1A、DYRK1B、及びDYRK2からなる群から選択される少なくとも1つに対して阻害能を有し、その他の一又は複数の実施形態において、少なくともDYRK1Aに対して阻害能を有する。

[0011] CLK阻害能を有するとは、一又は複数の実施形態において、CLKファミリーに属するリン酸化酵素の少なくとも1つに対して阻害能を有することであり、その他の一又は複数の実施形態において、CLKファミリーに属するリン酸化酵素の少なくとも1つのリン酸化活性を阻害する活性を有することである。CLK阻害能を有する化合物は、一又は複数の実施形態において、CLK1、CLK2、CLK3及びCLK4からなる群から選択される少なくとも1つに対して阻害能を有する。

[0012] 本開示においてリン酸化酵素に対して阻害能を有する化合物とは、一又は複数の実施形態において、インビトロ及びインビボの少なくとも一方における公知の蛋白質リン酸化活性阻害のアッセイ系において、前記化合物を加えた場合の蛋白質リン酸化活性を、前記化合物を加えないコントロールと比べて、例えば60%以下、好ましくは50%以下、より好ましくは40%以下

、さらに好ましくは30%以下、さらにより好ましくは20%以下、特に好ましくは10%以下にまで阻害できる化合物をいう。前記アッセイ系において、添加する化合物の量は、一又は複数の実施形態において、0.01~10 μ Mである。蛋白質リン酸化活性阻害アッセイとしては、一又は複数の実施形態において、WO2010010791に開示されるインビトロ及び／又はインビボにおけるアッセイが挙げられる。

[0013] 本開示は、一又は複数の実施形態において、DYRK阻害活性を有する化合物が、神経新生や神経細胞増殖を活性化し得るという知見に基づく。したがって、本開示は、一態様において、神経新生又は神経細胞増殖を活性化するための組成物であって、有効成分としてDYRK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩を含有する組成物に関する。

[0014] 本開示の組成物により神経新生又は神経細胞増殖が活性化されるメカニズムの詳細は明らかではないが、以下のように推測される。すなわち、DYRKは細胞増殖を正に制御するサイクリンD1をリン酸化することにより分解経路へ導くと考えられ、DYRK阻害活性を有する化合物が働くことで、サイクリンD1の分解が抑制されサイクリンD1の量が増加し、細胞増殖が促進される。但し、本開示はこのメカニズムに限定されて解釈されなくてもよい。

[0015] 本態様に係る組成物における有効成分は、一又は複数の実施形態において、DYRK阻害能に加えて、CLK阻害能を有する。

[0016] [神経新生の活性化]

本態様に係る組成物は、一又は複数の実施形態において、神経新生の活性化という効果を奏する。本開示において「神経新生」は、一又は複数の実施形態において、生体又は成体における神経幹細胞の分裂・増殖、神経前駆細胞の産生、産生された神経前駆細胞の神経細胞への分化・成熟又はこれらの組み合わせをいう。前記生体又は成体としては、哺乳類、ヒト、又は、ヒト以外の哺乳類等が挙げられる。本開示において「神経幹細胞」は、脳及び脊髄中に存在し、神経細胞やグリア細胞への分化能力をもつ前駆細胞を産生する細胞をいう。本開示において「神経新生の活性化」は、一又は複数の実施

形態において、生体又は成体における神経幹細胞の分裂・増殖、神経前駆細胞の産生、産生された神経前駆細胞の神経細胞への分化・成熟又はこれらの組み合わせの亢進をいう。本態様に係る組成物は、一又は複数の実施形態において、医薬組成物である。

[0017] 本態様の組成物又は医薬組成物によれば、一又は複数の実施形態において、神経新生を活性化できるから、対象に投与することによって、中枢及び／又は末梢神経系の疾患又は障害の予防、改善、進行抑制、及び／又は、治療に効果を示しうる。中枢及び／又は末梢神経系の疾患又は障害は、一又は複数の実施形態において、海馬の萎縮に起因する疾患又は障害であって、知的障害、学習能力障害、気分障害、PTSD及び不安障害、症状性を含む器質性精神障害、物質関連障害（特にアルコール関連障害、覚醒剤）などが挙げられる。器質性精神障害には、一又は複数の実施形態において、外傷、感染、血管障害、変性・代謝障害によって引き起こされるアルツハイマー病若しくはその他の認知症、パーキンソン病、ハンチントン病、神経外傷性疾患、軽度認知症（MCI:マイルドコグニティブインペアメント）、脳梗塞後の精神症状（うつ症状や記憶障害）、（短時間の心臓停止による）虚血性海馬障害、脊髄損傷、手術によって引き起こされる開口性または貫通性の頭部外傷、または例えば頭部領域への損傷によって引き起こされる閉鎖性頭部外傷障害等が挙げられる。

[0018] したがって、本開示は、一又は複数の実施形態において、中枢及び／又は末梢神経系の疾患又は障害の予防、改善、進行抑制、及び／又は、治療のための医薬組成物であって、有効成分としてDYRK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩、又は、DYRK阻害能及びCLK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩、を含有する医薬組成物に関する。

[0019] 本開示は、一又は複数の実施形態において、本開示に係る医薬組成物を対象に投与することを含む、神経新生の活性化方法に関する。対象としては、一又は複数の実施形態において、哺乳類、ヒト、又は、ヒト以外の哺乳類が

挙げられる。本開示は、その他の一又は複数の実施形態において、本開示に係る医薬組成物を対象に投与することを含む、中枢及び／又は末梢神経系の疾患又は障害の予防、改善、進行抑制、及び／又は、治療方法に関する。また、本開示は、一又は複数の実施形態において、本開示に係る神経新生の活性化方法における本開示に係る医薬組成物の使用に関する。本開示は、その他の一又は複数の実施形態において、本開示の中枢及び／又は末梢神経系の疾患又は障害の予防、改善、進行抑制、及び／又は、治療方法における本開示に係る医薬組成物の使用に関する。さらに、本開示は、一又は複数の実施形態において、本開示に係る神経新生の活性化のための医薬組成物を製造するためのDYRK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩、又は、DYRK阻害能及びCLK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩の使用に関する。本開示は、一又は複数の実施形態において、本開示に係る中枢及び／又は末梢神経系の疾患又は障害の予防、改善、進行抑制、及び／又は、治療のための医薬組成物を製造するためのDYRK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩、又は、DYRK阻害能及びCLK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩の使用に関する。

[0020] すなわち、本開示は以下の一又は複数の実施形態に關しうる；

〔a1〕 神経新生を活性化するための組成物であって、有効成分としてDYRK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩を含有する、組成物。

〔a2〕 有効成分である前記化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩が、さらにCLK阻害能を有する、〔a1〕記載の組成物。

〔a3〕 医薬組成物である、〔a1〕又は〔a2〕に記載の組成物。

〔a4〕 中枢及び／又は末梢神経系の疾患又は障害の予防、改善、進行抑制、及び／又は、治療のための医薬組成物であって、有効成分としてDYRK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩、又は、DYRK阻害能及びCLK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ

又はその製薬上許容される塩を含有する医薬組成物。

〔a5〕 有効成分としてDYRK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩、又は、DYRK阻害能及びCLK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩を含有する医薬組成物を対象に投与することを含む、対象の神経新生を活性化する方法。

〔a6〕 有効成分としてDYRK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩、又は、DYRK阻害能及びCLK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩を含有する医薬組成物を対象に投与することを含む、中枢及び／又は末梢神経系の疾患又は障害の予防、改善、進行抑制、及び／又は、治療方法。

〔a7〕 神経新生の活性化における、有効成分としてDYRK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩、又は、DYRK阻害能及びCLK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩を含有する医薬組成物の使用。

〔a8〕 中枢及び／又は末梢神経系の疾患又は障害の予防、改善、進行抑制、及び／又は、治療における、有効成分としてDYRK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩、又は、DYRK阻害能及びCLK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩を含有する医薬組成物の使用。

〔a9〕 神経新生を活性化する医薬組成物の製造における、有効成分としてDYRK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩、又は、DYRK阻害能及びCLK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩の使用。

〔a10〕 中枢及び／又は末梢神経系の疾患又は障害の予防、改善、進行抑制、及び／又は、治療のための医薬組成物の製造における、有効成分としてDYRK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩、又は、DYRK阻害能及びCLK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩の使用。

[0021] [神経細胞増殖の活性化]

DYRK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩、又は、DYRK阻害能及びCLK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩は、一又は複数の実施形態において、神経細胞増殖の活性化という効果を奏する。本開示において「神経細胞」は、一又は複数の実施形態において、神経幹細胞を含む。本開示において「神経幹細胞」は、上述のとおり、脳及び脊髄中に存在し、神経細胞やグリア細胞への分化能力をもつ前駆細胞を産生する細胞をいう。本開示において「神経細胞増殖」は、一又は複数の実施形態において、神経細胞又は神経幹細胞（以下、「神経（幹）細胞」ともいう）の増殖をいう。本開示において「神経（幹）細胞の増殖」は、一又は複数の実施形態において、*in vitro*, *in vivo* 又は *ex vivo* での神経（幹）細胞の増殖であり、又は、一又は複数の実施形態において、培養神経幹細胞の増殖である。本開示において「培養神経幹細胞」は、一又は複数の実施形態において、生体より単離、培養した神経幹細胞塊をいう。本開示において「神経細胞増殖の活性化」は、一又は複数の実施形態において、神経（幹）細胞の増殖が活性化されることをいい、その他の一又は複数の実施形態において、さらに、神経前駆細胞の産生が促進されることをいう。「神経細胞増殖の活性化」は、一又は複数の実施形態において、*in vitro*, *in vivo* 又は *ex vivo* での神経（幹）細胞の増殖の活性化であり、その他の一又は複数の実施形態において、培養神経幹細胞の増殖の活性化である。

[0022] したがって、本開示は、一態様において、神経細胞増殖を活性化するための組成物であって、有効成分としてDYRK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩、又は、DYRK阻害能及びCLK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩を含有する組成物に関する。なお、本態様の組成物は、医薬組成物であってもよい。

[0023] 本態様の組成物によれば、一又は複数の実施形態において、培養神経幹細

胞の増殖を亢進することが可能であることから、生体においても脳及び脊髄に存在する神経幹細胞の増殖を促進することが期待される。

[0024] したがって、本開示は、一又は複数の実施形態において、培養神経幹細胞を活性化するための組成物であって、有効成分としてDYRK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩、又は、DYRK阻害能及びCLK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩を含有する組成物に関する。

[0025] 本開示は、一又は複数の実施形態において、本開示に係る組成物を含有する培地で神経（幹）細胞を培養することを含む、神経（幹）細胞の増殖方法に関する。本開示は、一又は複数の実施形態において、本開示に係る組成物を含有する培地で神経（幹）細胞を培養することを含む、神経（幹）細胞の調製方法に関する。また、本開示は、一又は複数の実施形態において、本開示に係る神経（幹）細胞の増殖方法における本開示に係る組成物の使用に関する。本開示は、一又は複数の実施形態において、本開示に係る神経（幹）細胞の調製方法における本開示に係る組成物の使用に関する。

[0026] すなわち、本開示は以下の一又は複数の実施形態に関しうる；

〔b1〕 神経細胞増殖を活性化するための組成物であって、有効成分としてDYRK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩を含有する、組成物。

〔b2〕 有効成分である前記化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩が、さらにCLK阻害能を有する、〔b1〕記載の組成物。

〔b3〕 神経（幹）細胞の増殖を活性化するための組成物であって、有効成分としてDYRK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩、又は、DYRK阻害能及びCLK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩を含有する組成物。

〔b4〕 医薬組成物である、〔b1〕から〔b3〕のいずれかに記載の組成物。

〔b5〕 有効成分としてDYRK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラ

ッグ又はその製薬上許容される塩、又は、DYRK阻害能及びCLK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩を含有する組成物を含む培地で神経（幹）細胞を培養することを含む、神経細胞増殖を活性化する方法。

〔b6〕 有効成分としてDYRK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩、又は、DYRK阻害能及びCLK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩を含有する組成物を含む培地で神経（幹）細胞を培養することを含む、神経（幹）細胞の調製方法。

〔b7〕 神経細胞増殖の活性化における、有効成分としてDYRK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩、又は、DYRK阻害能及びCLK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩を含有する組成物の使用。

〔b8〕 神経（幹）細胞の調製における、有効成分としてDYRK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩、又は、DYRK阻害能及びCLK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩を含有する組成物の使用。

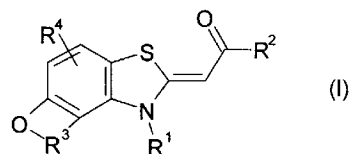
〔b9〕 神経細胞増殖を活性化する組成物の製造における、有効成分としてDYRK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩、又は、DYRK阻害能及びCLK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩の使用。

〔b10〕 神経（幹）細胞の調製のための組成物の製造における、有効成分としてDYRK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩、又は、DYRK阻害能及びCLK阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩の使用。

[0027] 〔一般式（I）で表される化合物〕

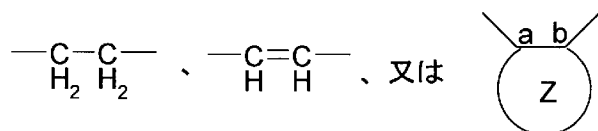
本開示は、一又は複数の実施形態において、下記一般式（I）で表される化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩に関する。

[化3]



[式 (I) において、 R^1 及び R^2 は、それぞれ独立して、水素原子又は C_{1-6} 炭化水素鎖であり、 R^3 は、

[化4]



であり、 Z は、 a 及び b で印をつけた原子と共に、1つのベンゼン環、1つの複素芳香族環、1つ以上のベンゼン環が縮合した芳香族環、1つ以上の複素芳香族環が縮合した複素芳香族環、1つ以上のベンゼン環と1つ以上の複素芳香族環とが縮合した混合縮合多環、及び、環状脂肪族からなる群から選択される環を形成し、前記環は水素原子、ハロゲン原子又は C_{1-6} アルキル基である置換基を1つ以上有してもよく、 R^4 は、水素原子、ハロゲン原子又は C_{1-6} アルキル基である。]

[0028] 本開示において「プロドラッグ」は、一又は複数の実施形態において、生体内で容易に加水分解され、式 (I) で表される化合物を再生するものが挙げられ、例えばカルボキシル基を有する化合物であればそのカルボキシル基がアルコキシカルボニル基となった化合物、アルキルチオカルボニル基となった化合物、又はアルキルアミノカルボニル基となった化合物が挙げられる。また、例えばアミノ基を有する化合物であれば、そのアミノ基がアルカノイル基で置換されアルカノイルアミノ基となった化合物、アルコキシカルボニル基により置換されアルコキシカルボニルアミノ基となった化合物、アシロキシメチルアミノ基となった化合物、又はヒドロキシルアミンとなった化合物が挙げられる。また例えば水酸基を有する化合物であれば、その水酸基

が前記アシル基により置換されてアシロキシ基となった化合物、リン酸エステルとなった化合物、又はアシロキシメチルオキシ基となった化合物が挙げられる。これらのプロドラッグ化に用いる基のアルキル部分としては後述するアルキル基が挙げられ、そのアルキル基は置換（例えば炭素原子数 1～6 のアルコキシ基等により）されていてもよい。一又は複数の実施形態において、例えばカルボキシル基がアルコキシカルボニル基となった化合物を例にとれば、メトキシカルボニル、エトキシカルボニルなどの低級（例えば炭素数 1～6）アルコキシカルボニル、メトキシメトキシカルボニル、エトキシメトキシカルボニル、2-メトキシエトキシカルボニル、2-メトキシエトキシメトキシカルボニル、ピバロイロキシメトキシカルボニルなどのアルコキシ基により置換された低級（例えば炭素数 1～6）アルコキシカルボニルが挙げられる。

[0029] 本開示において「C₁₋₆炭化水素鎖」とは、炭素数 1～6 個の脂肪族炭化水素から任意の水素原子を 1 個除いて誘導される一価の基をいう。炭化水素鎖は、一又は複数の実施形態において、直鎖構造でも分岐鎖構造でも環状構造でもよく、アルキル基、アルケニル基、フェニル基、又はシクロアルキル基が挙げられる。本開示において「C₁₋₆アルキル基」は、一又は複数の実施形態において、メチル基、エチル基、1-プロピル基、2-プロピル基、2-メチル-1-プロピル基、2-メチル-2-プロピル基、1-ブチル基、2-ブチル基、1-ペンチル基、2-ペンチル基、3-ペンチル基、2-メチル-1-ブチル基、3-メチル-1-ブチル基、2-メチル-2-ブチル基、3-メチル-2-ブチル基、2, 2-ジメチル-1-プロピル基、1-ヘキシル基、2-ヘキシル基、3-ヘキシル基、2-メチル-1-ペンチル基、3-メチル-1-ペンチル基、4-メチル-1-ペンチル基、2-メチル-2-ペンチル基、3-メチル-2-ペンチル基、4-メチル-2-ペンチル基、2-メチル-3-ペンチル基、3-メチル-3-ペンチル基、2, 3-ジメチル-1-ブチル基、3, 3-ジメチル-1-ブチル基、2, 2-ジメチル-1-ブチル基、2-エチル-1-ブチル基、3, 3-ジメチル-2-ブ

チル基、2, 3-ジメチルー2-ブチル基等が挙げられる。

[0030] 本開示において「複素環」とは、環を構成する原子中に1～2個のヘテロ原子を含有し、環中に二重結合を含んでいてもよく、非芳香族性の環又は芳香族性の環を意味する。本開示において「複素芳香環」とは、芳香族性の複素環を意味する。本開示において「ヘテロ原子」とは、硫黄原子、酸素原子又は窒素原子を意味する。

[0031] 本開示において「環状脂肪族」とは、環状構造を有する脂肪族を意味する。環状脂肪族の基としては、例えば、炭素数3～10個の環状脂肪族基が挙げられ、複数の環から構成される縮環構造を有する環状脂肪族基であってもよい。具体的には例えば、炭素数3～10のシクロアルキル基、環状エーテル基、デカヒドロナフチル基及びアダマンチル基等が挙げられる。炭素数3～10個の環状脂肪族基の具体例としては、シクロプロピル基、シクロブチル基、シクロペンチル基、シクロヘキシル基、シクロヘプチル基等が挙げられる。

[0032] 本開示において「製薬上許容される塩」とは、薬理上及び／又は医薬上許容される塩を含有し、例えば、無機酸塩、有機酸塩、無機塩基塩、有機塩基塩、酸性又は塩基性アミノ酸塩などが挙げられる。

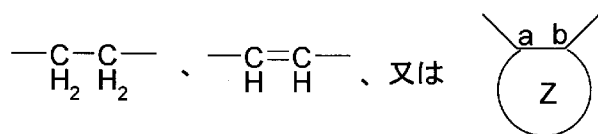
[0033] 前記無機酸塩の好ましい例としては、例えば塩酸塩、臭化水素酸塩、硫酸塩、硝酸塩、リン酸塩などが挙げられ、有機酸塩の好ましい例としては、例えば酢酸塩、コハク酸塩、フマル酸塩、マレイン酸塩、酒石酸塩、クエン酸塩、乳酸塩、ステアリン酸塩、安息香酸塩、メタンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩などが挙げられる。

[0034] 前記無機塩基塩の好ましい例としては、例えばナトリウム塩、カリウム塩などのアルカリ金属塩、カルシウム塩、マグネシウム塩などのアルカリ土類金属塩、アルミニウム塩、アンモニウム塩などが挙げられる。前記有機塩基塩の好ましい例としては、例えばジエチルアミン塩、ジエタノールアミン塩、メグルミン塩、N, N'-ジベンジルエチレンジアミン塩などが挙げられる。

[0035] 前記酸性アミノ酸塩の好ましい例としては、例えばアスパラギン酸塩、グルタミン酸塩などが挙げられる。前記塩基性アミノ酸塩の好ましい例としては、例えばアルギニン塩、リジン塩、オルニチン塩などが挙げられる。

[0036] 本開示において「化合物の塩」には、化合物が大気中に放置されることにより、水分を吸収して形成されうる水和物が包含され得る。また、本開示において「化合物の塩」には、化合物が他のある種の溶媒を吸収して形成されうる溶媒和物も包含され得る。

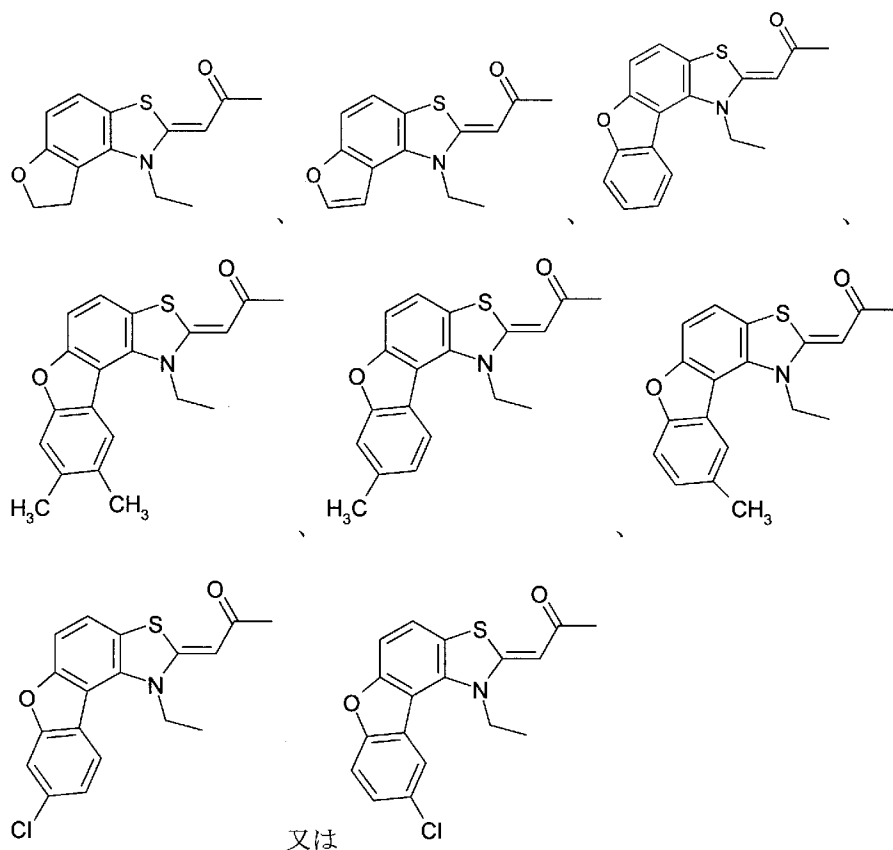
[0037] 一般式(1)中、 R^1 は、一又は複数の実施形態において、 C_{1-6} アルキル基であり、さらなる一又は複数の実施形態において、メチル基、エチル基、又はプロピル基である。一般式(1)中、 R^2 は、一又は複数の実施形態において、 C_{1-6} アルキル基であり、さらなる一又は複数の実施形態において、メチル基である。一般式(1)中、 R^3 は、一又は複数の実施形態において、
[化5]



である。 R^3 は、一又は複数の実施形態において、 $\text{---CH}_2\text{---CH}_2\text{---}$ 又は ---CH=CH--- である。 Z は、一又は複数の実施形態において、 a 及び b で印をつけた原子と共に、1つのベンゼン環を形成する。一般式(1)中、 R^4 は、一又は複数の実施形態において、水素原子である。

[0038] 前記一般式(1)で表される化合物は、一又は複数の実施形態において、

[化6]



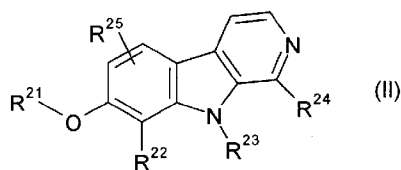
で表される化合物である。

[0039] 本開示の一又は複数の実施形態において、上記一般式（I）で表される化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩は、DYRK阻害能を有する。本開示の一又は複数の実施形態において、上記一般式（I）で表される化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩は、DYRK阻害能及びCLK阻害能を有する。

[0040] [一般式（II）で表される化合物]

本開示は、一又は複数の実施形態において、下記一般式（II）で表される化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩に関する。

[化7]



[式 (I I) において、 R^{21} 及び R^{23} は、それぞれ独立して、水素原子、 C_{1-6} 直鎖若しくは分枝若しくは環状のアルキル基、ベンジル若しくはヘテロアリールメチル基、置換若しくは無置換のアリール基、又は置換若しくは無置換のヘテロアリール基であり、 R^{22} は、 $-R^{26}$ 、 $-C \equiv C-R^{26}$ 、 $-CH=CH-R^{26}$ 、及び $-O-(CH_2)_n-R^{26}$ からなる群から選択され、 n は 1～6 であり、 R^{26} は、水素原子、水酸基、 C_{1-8} アルキル基、 $-Si(R^{27})_3$ 、並びに、置換若しくは無置換のフェニル基、単環式複素芳香環基及び環状脂肪族基からなる群から選択され、或いは、 R^{21} と R^{22} は結合して環を形成し、 $-R^{21}-R^{22}-$ が、 $-(CH_2)_m-CH_2-$ 、 $-CH=CH-$ 、 $-(CH_2)_m-O-$ 、及び、ハロゲン原子で置換されたこれらのものからなる群から選択され、 m は 1～6 であり、 R^{27} は水素原子、 C_{1-6} アルキル基、トリハロメチル基、又は水酸基であり、 $-Si(R^{27})_3$ 中の 3 つの R^{27} はそれぞれ異なってもよい。 R^{24} 、 R^{25} は、水素原子又は C_{1-6} アルキル基である。]

[0041] 式 (I I) において、ヘテロアリール（ヘテロアリールメチル基におけるヘテロアリールを含む）としては、一又は複数の実施形態において、窒素原子を 1～2 個含む 5～6 員単環式の基、窒素原子を 1～2 個と酸素原子を 1 個若しくは硫黄原子を 1 個とを含む 5～6 員単環式の基、酸素原子を 1 個若しくは硫黄原子を 1 個含む 5 員単環式の基、窒素原子 1～4 個を含み、6 員環と 5 又は 6 員環が縮合した二環式の基などが挙げられる。また、そのたの一又は複数の実施形態において、2-ピリジル、3-ピリジル、4-ピリジル、2-チエニル、3-チエニル、3-オキサジアゾリル、2-イミダゾリル、2-チアゾリル、3-イソチアゾリル、2-オキサゾリル、3-イソオキサゾリル、2-フリル、3-フリル、3-ピロリル、2-キノリル、8-

キノリル、2-キナゾリニル、8-プリニルが挙げられる。アリール基としては、フェニル基、ナフチル基等の炭素原子数10個以下のアリール基が挙げられる。

[0042] 式(11)において、フェニル基、単環式複素芳香環基及び環状脂肪族基、並びに、アリール基及びヘテロアリール（ヘテロアリールメチル基におけるヘテロアリールを含む）基の置換基としては、一個又は同一若しくは異なって複数個あってもよく、一又は複数の実施形態において、ハロゲン原子、シアノ基、トリフルオロメチル基、ニトロ基、水酸基、メチレンジオキシ基、低級アルキル基、低級アルコキシ基、ベンジルオキシ基、低級アルカノイルオキシ基、アミノ基、モノ低級アルキルアミノ基、ジ低級アルキルアミノ基、カルバモイル基、低級アルキルアミノカルボニル基、ジ低級アルキルアミノカルボニル基、カルボキシル基、低級アルコキシカルボニル基、低級アルキルチオ基、低級アルキルスルフィニル基、低級アルキルスルホニル基、低級アルカノイルアミノ基、又は低級アルキルスルホンアミド基が挙げられる。ハロゲン原子は、一又は複数の実施形態において、フッ素、塩素、臭素、又はヨウ素の原子が挙げられる。低級アルキルは、一又は複数の実施形態において、前記定義の「C₁₋₆アルキル基」が挙げられる。

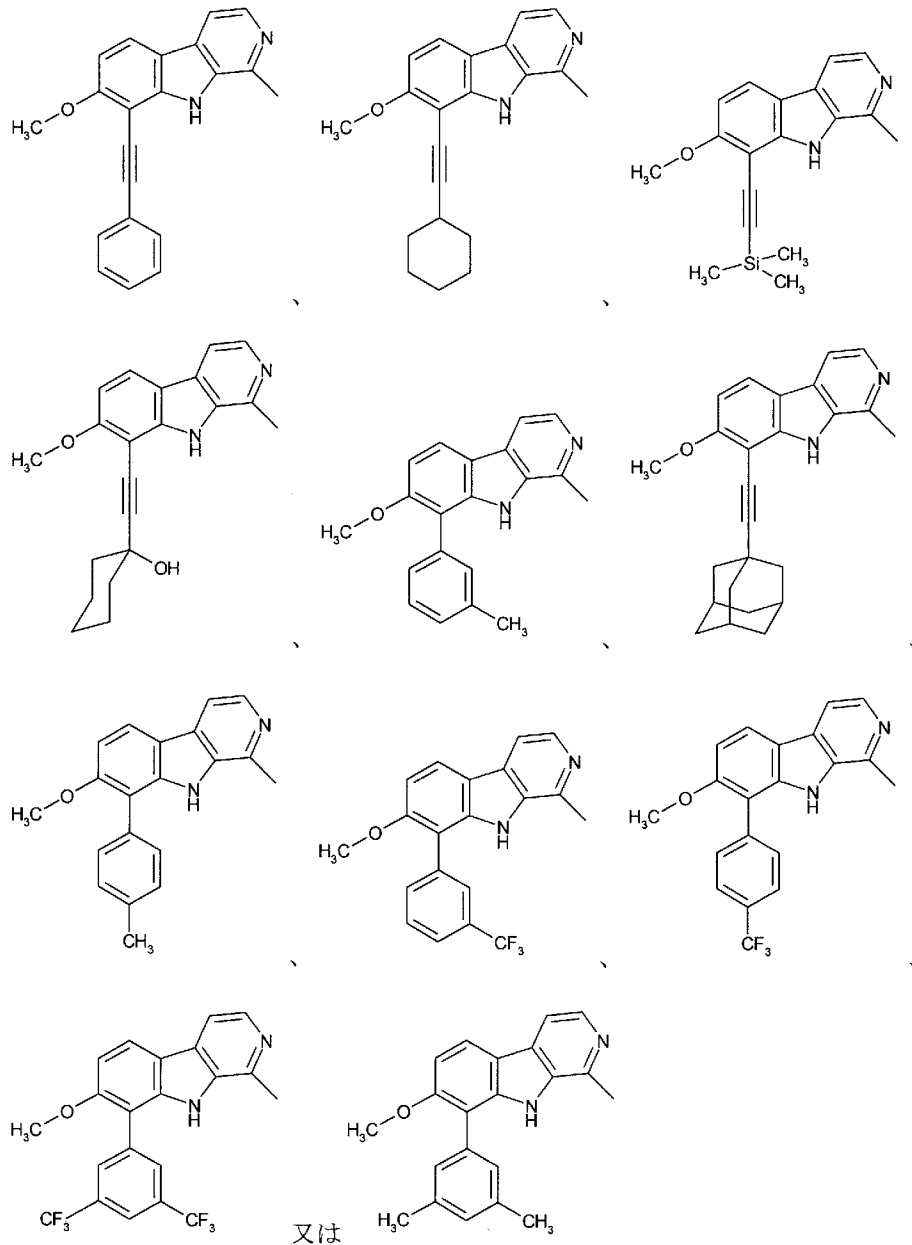
[0043] 前記一般式(11)中、R²¹は、一又は複数の実施形態において、水素原子、C₁₋₃アルキル基である。R²²は、一又は複数の実施形態において、-R²⁶又は-C≡C-R²⁶であり、R²⁶は、一又は複数の実施形態において、-Si(R²⁷)₃、或いは、置換若しくは無置換のフェニル基、単環式複素芳香環基及び環状脂肪族基からなる群から選択され、R²⁷は、一又は複数の実施形態においてC₁₋₃アルキル基である。R²³は、一又は複数の実施形態において、水素原子、C₁₋₆アルキル基である。R²⁴及びR²⁵、一又は複数の実施形態において、水素原子、C₁₋₃アルキル基である。

[0044] また、式(11)で表される化合物は、一又は複数の実施形態において、Harminineを含まず、また、一又は複数の実施形態において、式(111)におけるR²¹、R²²、R²³、R²⁴、R²⁵がHarminineとなる組み合わせ（

R²¹がメチル基、R²²及びR²³が水素原子、R²⁴がメチル基、かつ、R²⁵が水素原子の組み合わせ)ではない。

[0045] 前記一般式(11)で表される化合物又はその製薬上許容される塩は、一又は複数の実施形態において、

[化8]



で表される化合物又はその製薬上許容される塩である。

[0046] 本開示の一又は複数の実施形態において、上記一般式(11)で表される

化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩は、D Y R K阻害能を有する。本開示の一又は複数の実施形態において、上記一般式（Ⅰ）で表される化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩は、D Y R K阻害能及びC L K阻害能を有する。

[0047] 〔神経新生の活性化〕

一般式（Ⅰ）又は（ⅠⅠ）で表される化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩は、一又は複数の実施形態において、神経新生の活性化という効果を奏する。本開示において「神経新生の活性化」は、上述のとおり、一又は複数の実施形態において、生体又は成体における神経幹細胞の分裂・増殖、神経前駆細胞の産生、産生された神経前駆細胞の神経細胞への分化・成熟又はこれらの組み合わせの亢進をいう。本態様に係る組成物は、一又は複数の実施形態において、医薬組成物である。

[0048] したがって、本開示は、一態様において、神経新生を活性化するための医薬組成物であって、有効成分として一般式（Ⅰ）又は（ⅠⅠ）で表される化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩を含有する医薬組成物に関する。一般式（Ⅰ）又は（ⅠⅠ）で表される化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩は、一又は複数の実施形態において、脳内移行性及び経口吸収性を発揮する。それにより、より効果的に神経新生を活性化しうる。

[0049] 本態様の組成物又は医薬組成物によれば、一又は複数の実施形態において、神経新生を活性化できるから、対象に投与することによって、中枢及び／又は末梢神経系の疾患又は障害の予防、改善、進行抑制、及び／又は、治療に効果を示しうる。中枢及び／又は末梢神経系の疾患又は障害は、一又は複数の実施形態において、海馬の萎縮に起因する疾患又は障害であって、知的障害、学習能力障害、気分障害、PTSD及び不安障害、症状性を含む器質性精神障害、物質関連障害（特にアルコール関連障害、覚醒剤）などが挙げられる。器質性精神障害には、一又は複数の実施形態において、外傷、感染、血管障害、変性・代謝障害によって引き起こされるアルツハイマー病若しくはそ

の他の認知症、パーキンソン病、ハンチントン病、神経外傷性疾患、軽度認知症（MCI:マイルドコグニティブインペアメント）、脳梗塞後の精神症状（うつ症状や記憶障害）、（短時間の心臓停止による）虚血性海馬障害、脊髓損傷、手術によって引き起こされる開口性または貫通性の頭部外傷、または例えば頭部領域への損傷によって引き起こされる閉鎖性頭部外傷障害等が挙げられる。

[0050] したがって、本開示は、一又は複数の実施形態において、中枢及び／又は末梢神経系の疾患又は障害の予防、改善、進行抑制、及び／又は、治療のための医薬組成物であって、有効成分として一般式（I）又は（II）で表される化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩を含有する医薬組成物に関する。

[0051] 本開示は、一又は複数の実施形態において、本開示に係る医薬組成物を対象に投与することを含む、神経新生の活性化方法に関する。対象としては、一又は複数の実施形態において、哺乳類、ヒト、又は、ヒト以外の哺乳類が挙げられる。本開示は、その他の一又は複数の実施形態において、本開示に係る医薬組成物を対象に投与することを含む、中枢及び／又は末梢神経系の疾患又は障害の予防、改善、進行抑制、及び／又は、治療方法に関する。また、本開示は、一又は複数の実施形態において、本開示に係る神経新生の活性化方法における本開示に係る医薬組成物の使用に関する。本開示は、その他の一又は複数の実施形態において、本開示の中枢及び／又は末梢神経系の疾患又は障害の予防、改善、進行抑制、及び／又は、治療方法における本開示に係る医薬組成物の使用に関する。さらに、本開示は、一又は複数の実施形態において、本開示に係る神経新生の活性化のための医薬組成物を製造するための一般式（I）又は（II）で表される化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩の使用に関する。本開示は、一又は複数の実施形態において、本開示に係る中枢及び／又は末梢神経系の疾患又は障害の予防、改善、進行抑制、及び／又は、治療のための医薬組成物を製造するための一般式（I）又は（II）で表される化合物若しくはそのプロドラッグ

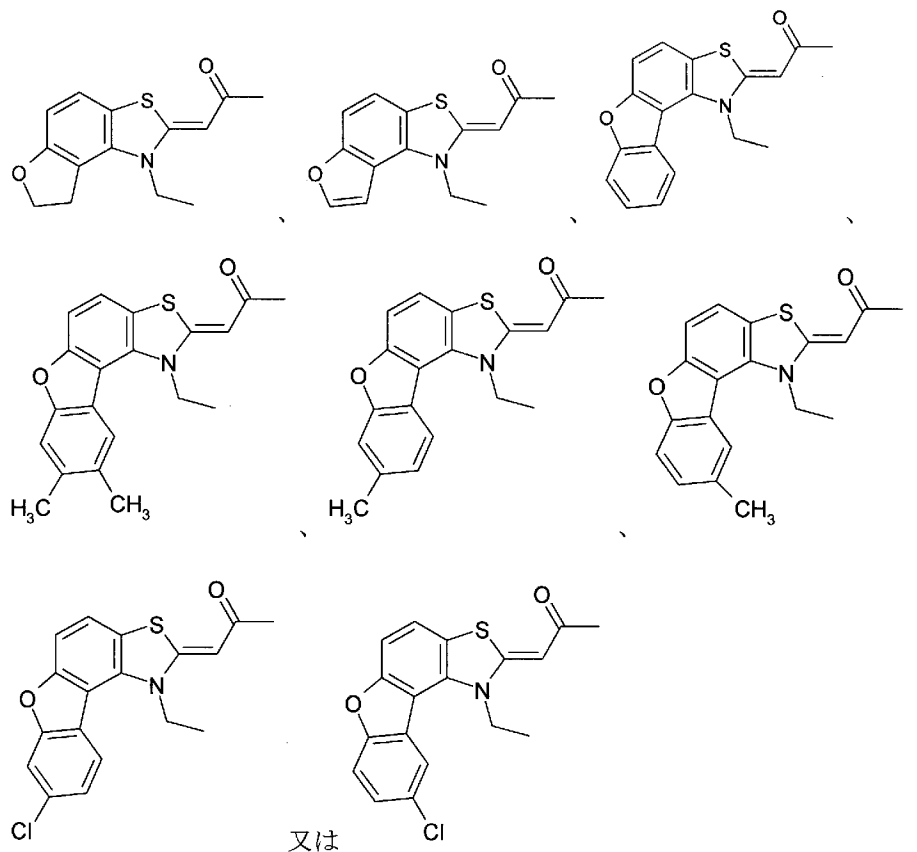
グ又はその製薬上許容される塩の使用に関する。

[0052] すなわち、本開示は以下の一又は複数の実施形態に関しうる；

〔c1〕 神経新生を活性化するための組成物であって、有効成分として一般式（Ⅰ）又は（ⅠⅠ）で表される化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩を含有する、組成物。

〔c2〕 前記一般式（Ⅰ）で表される化合物は、

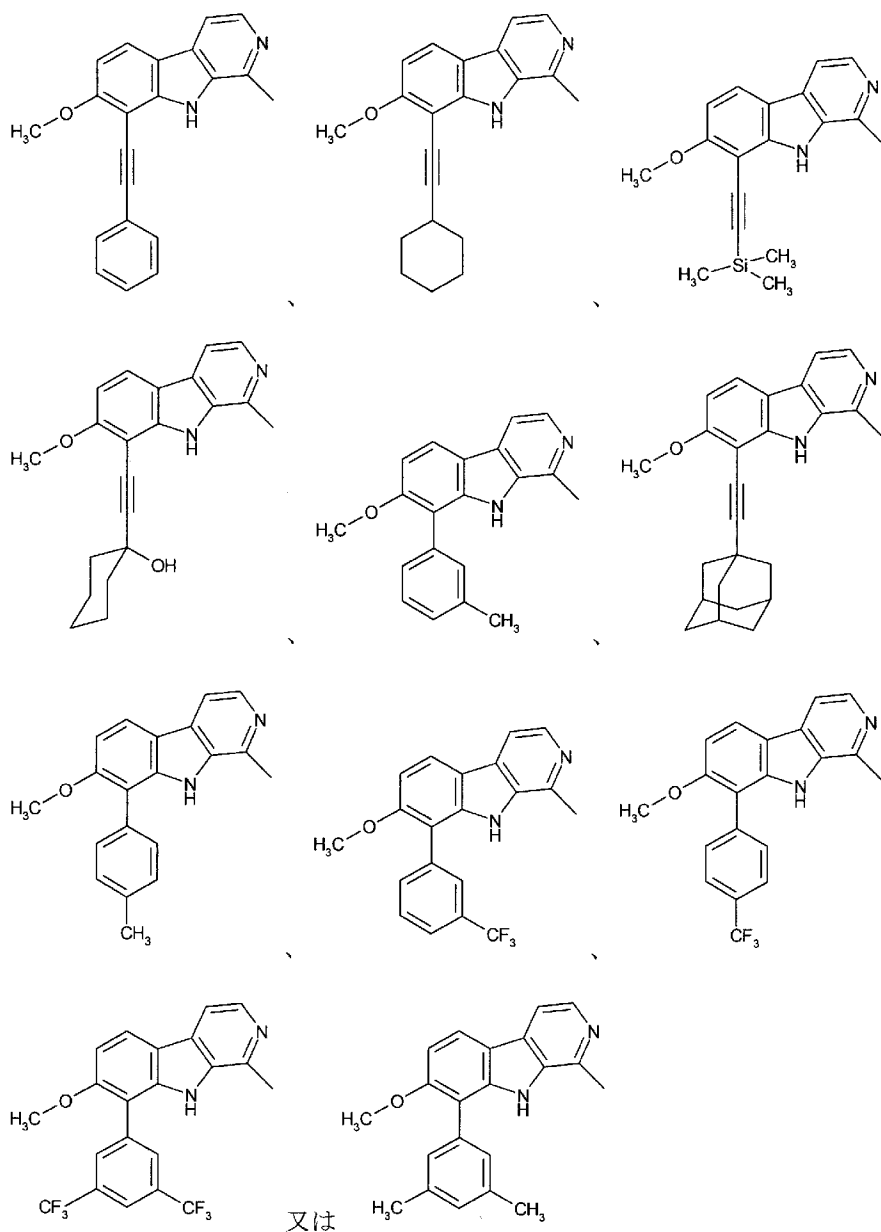
[化9]



で表される化合物である、〔c1〕記載の組成物。

〔c3〕 前記一般式（ⅠⅠ）で表される化合物は、

[化10]



で表される化合物である、〔c1〕記載の組成物。

〔c4〕 一般式（Ⅰ）又は（ⅠⅠ）で表される化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩が、DYRK阻害能を有する、〔c1〕から〔c3〕のいずれかに記載の組成物。

〔c5〕 前記一般式（Ⅰ）又は（ⅠⅠ）で表される化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩が、さらにCLK阻害能を有する、

〔c1〕 から 〔c4〕 のいずれかに記載の組成物。

〔c6〕 医薬組成物である、〔c1〕 から 〔c5〕 のいずれかに記載の組成物。

〔c7〕 中枢及び／又は末梢神経系の疾患又は障害の予防、改善、進行抑制、及び／又は、治療のための医薬組成物であって、有効成分として 〔c1〕 から 〔c5〕 のいずれかに記載の一般式（Ⅰ）又は（ⅠⅠ）で表される化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩を含有する医薬組成物。

〔c8〕 有効成分として 〔c1〕 から 〔c5〕 のいずれかに記載の一般式（Ⅰ）又は（ⅠⅠ）で表される化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩を含有する医薬組成物を対象に投与することを含む、対象の神経新生を活性化する方法。

〔c9〕 有効成分として 〔c1〕 から 〔c5〕 のいずれかに記載の一般式（Ⅰ）又は（ⅠⅠ）で表される化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩を含有する医薬組成物を対象に投与することを含む、中枢及び／又は末梢神経系の疾患又は障害の予防、改善、進行抑制、及び／又は、治療方法。

〔c10〕 神経新生の活性化における、有効成分として 〔c1〕 から 〔c5〕 のいずれかに記載の一般式（Ⅰ）又は（ⅠⅠ）で表される化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩を含有する医薬組成物の使用。

〔c11〕 中枢及び／又は末梢神経系の疾患又は障害の予防、改善、進行抑制、及び／又は、治療における、有効成分として 〔c1〕 から 〔c5〕 のいずれかに記載の一般式（Ⅰ）又は（ⅠⅠ）で表される化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩を含有する医薬組成物の使用。

〔c12〕 神経新生を活性化する医薬組成物の製造における、有効成分として 〔c1〕 から 〔c5〕 のいずれかに記載の一般式（Ⅰ）又は（ⅠⅠ）で表される化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩の使用。

〔c13〕 中枢及び／又は末梢神経系の疾患又は障害の予防、改善、進行抑

制、及び／又は、治療のための医薬組成物の製造における、有効成分として〔c1〕から〔c5〕のいずれかに記載の一般式（Ⅰ）又は（ⅠⅠ）で表される化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩の使用。

[0053] 本開示において「医薬組成物」は、一又は複数の実施形態において、周知の製剤技術を適用し、投与形態に適した剤形とすることができる。その投与形態としては、これらに限定されないが、例えば、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、丸剤、トローチ剤、シロップ剤、液剤等の剤形による経口投与が挙げられる。或いは、注射剤、液剤、エアゾール剤、座剤、貼布剤、パップ剤、ローション剤、リニメント剤、軟膏剤、点眼剤等の剤形による非経口投与を挙げることができる。これらの製剤は、これらに限定されないが、賦形剤、滑沢剤、結合剤、崩壊剤、安定化剤、矯味矯臭剤、希釈剤などの添加剤を用いて周知の方法で製造されうる。

[0054] 前記賦形剤としては、これらに限定されないがデンプン、バレイショデンプン、トウモロコシデンプン等のデンプン、乳糖、結晶セルロース、リン酸水素カルシウム等を挙げることができる。前記コーティング剤としては、これらに限定されないが、エチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、セラック、タルク、カルナウバロウ、パラフィン等を挙げることができる。前記結合剤としては、これらに限定されないが、ポリビニルピロリドン、マクロゴール及び前記賦形剤と同様の化合物を挙げることができる。前記崩壊剤としては、これらに限定されないが、前記賦形剤と同様の化合物及びクロスカルメロースナトリウム、カルボキシメチルスターチナトリウム、架橋ポリビニルピロリドンのような化学修飾されたデンプン・セルロース類を挙げることができる。前記安定化剤としては、これらに限定されないが、メチルパラベン、プロピルパラベンのようなパラオキシ安息香酸エステル類；クロロブタノール、ベンジルアルコール、フェニルエチルアルコールのようなアルコール類；塩化ベンザルコニウム；フェノール、クレゾールのようなフェエノール類；チメロサール；デヒドロ酢酸；及びソルビン酸を挙げることができる。前記矯味矯臭剤としては

、これらに限定されないが、通常使用される、甘味料、酸味料、香料等を挙げることができる。

[0055] また、液剤の製造には、溶媒として、これらに限定されないが、エタノール、フェノール、クロロクレゾール、精製水、蒸留水等を使用することができる。必要に応じて界面活性剤又は乳化剤等も使用できる。前記界面活性剤又は乳化剤としては、これらに限定されないが、ポリソルベート80、ステアリン酸ポリオキシシル40、ラウロマクロゴール等を挙げることができる。

[0056] 本開示にかかる医薬組成物の使用方法は、症状、年齢、投与方法等により異なりうる。使用方法は、これらに限定されないが、有効成分である前記一般式(1)又は(11)で表される化合物の体内濃度が100 nM~1 mMの間のいずれかになるように、間欠的若しくは持続的に、経口、経皮、粘膜下、皮下、筋肉内、血管内、脳内、又は腹腔内に投与することができる。限定されない実施形態として、経口投与の場合、対象（ヒトであれば成人）に対して1日あたり、前記一般式(1)又は(11)で表される化合物に換算して、下限として0.01 mg（好ましくは0.1 mg）、上限として、2000 mg（好ましくは500 mg、より好ましくは100 mg）を1回又は数回に分けて、症状に応じて投与することが挙げられる。限定されない実施形態として、静脈内投与の場合には、対象（ヒトであれば成人）に対して1日当たり、下限として0.001 mg（好ましくは0.01 mg）、上限として、500 mg（好ましくは50 mg）を1回又は数回に分けて、症状に応じて投与することが挙げられる。

[0057] [神経細胞増殖の活性化]

一般式(1)又は(11)で表される化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩は、一又は複数の実施形態において、神経細胞増殖の活性化という効果を奏する。本開示において「神経細胞増殖の活性化」は、上述のとおり、一又は複数の実施形態において、神経（幹）細胞の増殖が活性化されることをいい、その他の一又は複数の実施形態において、さらに、神経前駆細胞の産生が促進されることをいう。「神経細胞増殖の活性化

」は、上述のとおり、一又は複数の実施形態において、in vitro, in vivo 又はex vivoでの神経（幹）細胞の増殖の活性化であり、その他の一又は複数の実施形態において、培養神経幹細胞の増殖の活性化である。

[0058] したがって、本開示は、一態様において、神経細胞増殖を活性化するための組成物であって、有効成分として一般式（I）又は（I'）で表される化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩を含有する組成物に関する。なお、本態様の組成物は、医薬組成物であってもよい。

[0059] 本態様の組成物によれば、一又は複数の実施形態において、培養神経幹細胞の増殖を亢進することが可能であることから、生体においても脳及び脊髄に存在する神経幹細胞の増殖を促進することが期待される。

[0060] したがって、本開示は、一又は複数の実施形態において、培養神経幹細胞を活性化するための組成物であって、有効成分として一般式（I）又は（I'）で表される化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩を含有する組成物に関する。

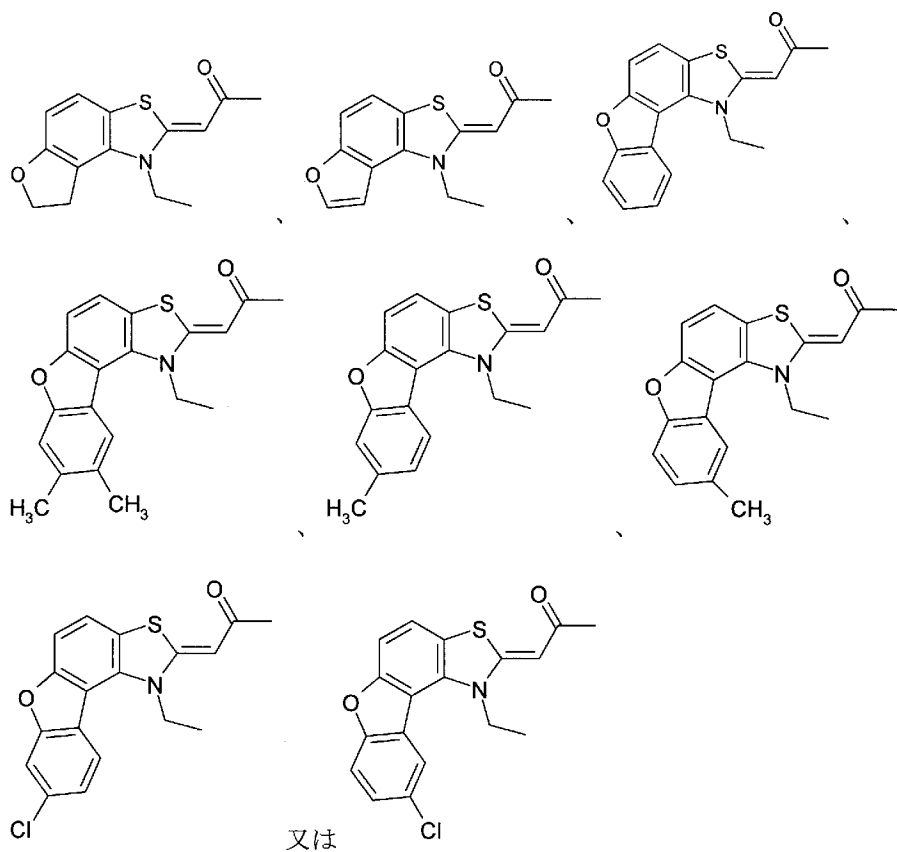
[0061] 本開示は、一又は複数の実施形態において、本開示に係る組成物を含有する培地で神経（幹）細胞を培養することを含む、神経（幹）細胞の増殖方法に関する。本開示は、一又は複数の実施形態において、本開示に係る組成物を含有する培地で神経（幹）細胞を培養することを含む、神経（幹）細胞の調製方法に関する。また、本開示は、一又は複数の実施形態において、本開示に係る神経（幹）細胞の増殖方法における本開示に係る組成物の使用に関する。本開示は、一又は複数の実施形態において、本開示に係る神経（幹）細胞の調製方法における本開示に係る組成物の使用に関する。

[0062] すなわち、本開示は以下の一又は複数の実施形態に關しうる；

[d1] 神経細胞増殖を活性化するための組成物であって、有効成分として一般式（I）又は（I'）で表される化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩を含有する、組成物。

[d2] 前記一般式（I）で表される化合物は、

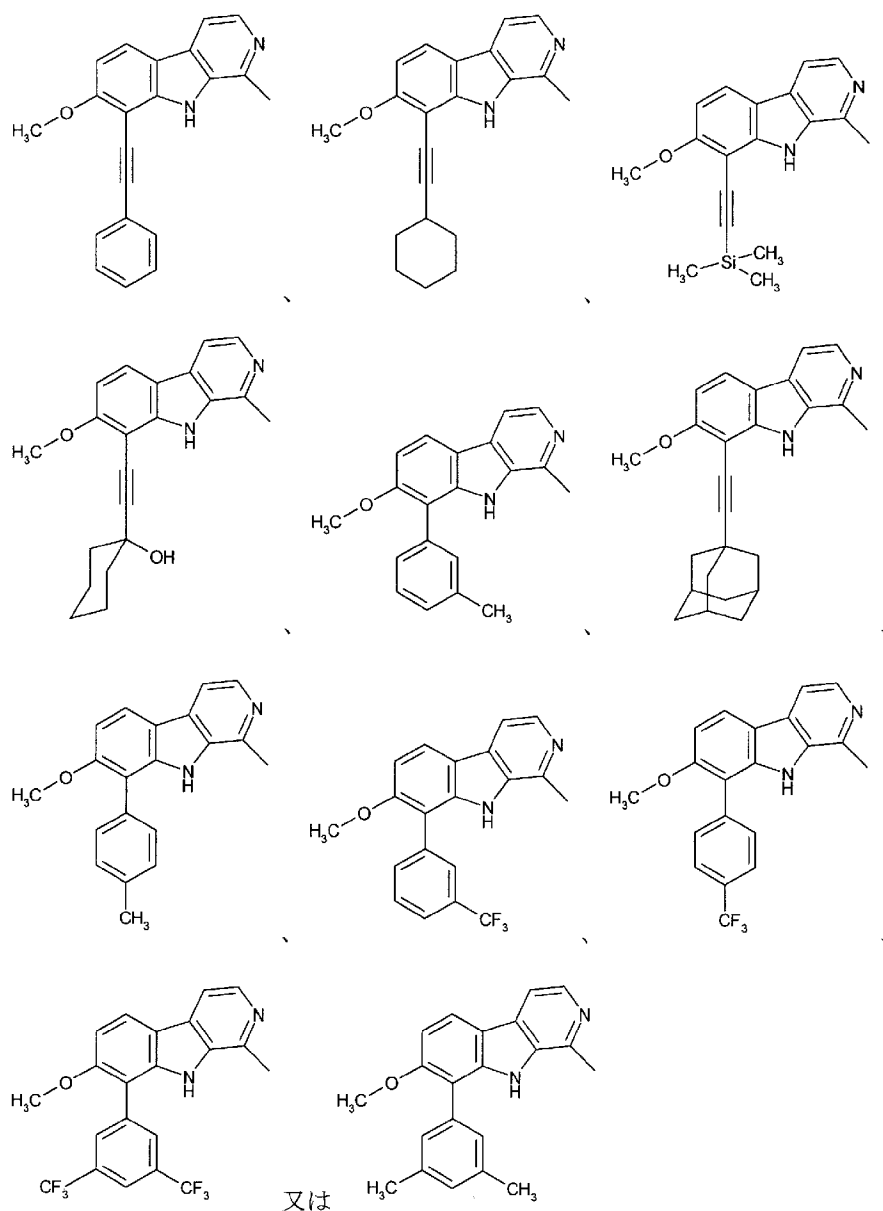
[化11]



で表される化合物である、〔d1〕記載の組成物。

〔d3〕 前記一般式（ⅠⅠ）で表される化合物は、

[化12]



で表される化合物である、〔d1〕記載の組成物。

〔d4〕 一般式（Ⅰ）又は（ⅠⅠ）で表される化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩が、DYRK阻害能を有する、〔d1〕から〔d3〕のいずれかに記載の組成物。

〔d5〕 前記一般式（Ⅰ）又は（ⅠⅠ）で表される化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩が、さらにCLK阻害能を有する、

〔d1〕 から 〔d4〕 のいずれかに記載の組成物。

〔d6〕 医薬組成物である、〔d1〕 から 〔d5〕 のいずれかに記載の組成物。

〔d7〕 神経（幹）細胞の増殖を活性化するための組成物であって、有効成分として 〔d1〕 から 〔d5〕 のいずれかに記載の一般式（Ⅰ）又は（ⅠⅠ）で表される化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩を含有する組成物。

〔d8〕 有効成分として 〔d1〕 から 〔d5〕 のいずれかに記載の一般式（Ⅰ）又は（ⅠⅠ）で表される化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩を含有する組成物を含む培地で神経（幹）細胞を培養することを含む、神経細胞増殖を活性化する方法。

〔d9〕 有効成分として 〔d1〕 から 〔d5〕 のいずれかに記載の一般式（Ⅰ）又は（ⅠⅠ）で表される化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩を含有する組成物を含む培地で神経（幹）細胞を培養することを含む、神経（幹）細胞の調製方法。

〔d10〕 神経細胞増殖の活性化における、有効成分として 〔d1〕 から 〔d5〕 のいずれかに記載の一般式（Ⅰ）又は（ⅠⅠ）で表される化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩を含有する医薬組成物の使用。

〔d11〕 神経（幹）細胞の調製における、有効成分として 〔d1〕 から 〔d5〕 のいずれかに記載の一般式（Ⅰ）又は（ⅠⅠ）で表される化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩を含有する医薬組成物の使用。

〔d12〕 神経細胞増殖を活性化する医薬組成物の製造における、有効成分として 〔d1〕 から 〔d5〕 のいずれかに記載の一般式（Ⅰ）又は（ⅠⅠ）で表される化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩の使用。

〔d13〕 神経（幹）細胞の調製のための医薬組成物の製造における、有効

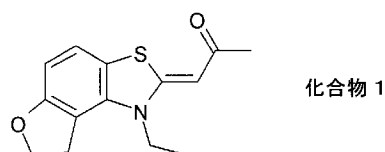
成分として〔d1〕から〔d5〕のいずれかに記載の一般式（I）又は（I'）で表される化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩の使用。

実施例

[0063] 以下、実施例により本開示をさらに詳細に説明するが、これらは例示的なものであって、本開示はこれら実施例に制限されるものではない。なお、本開示中に引用された文献は、すべて本開示の一部として組み入れられる。

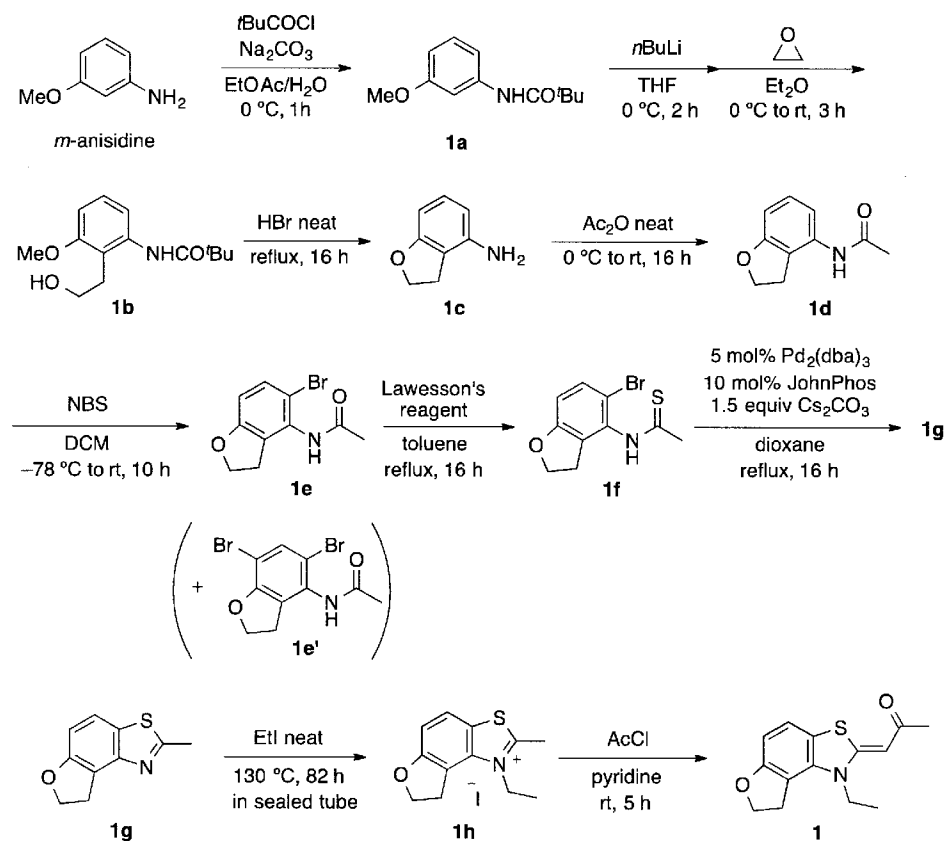
[0064] 製造例 1：化合物 1 の製造

[化13]



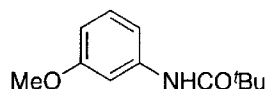
化合物 1 を以下のように製造した。

[化14]



[0065] N-(3-メトキシフェニル)ピバラミド (1a)の合成

[化15]

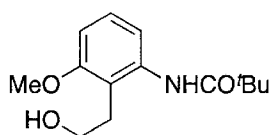


アルゴン雰囲気下、*m*-アニシジン (*m*-anisidine) (21.9 mL, 195 mmol, 商用品) と炭酸ナトリウム一水和物 (sodium carbonate monohydrate) (62.0 g, 500 mmol, 商用品) の酢酸エチル (EtOAc) (300 mL) と精製水 (860 mL) の混合溶液に対して、0 °C下、塩化ピバロイル (pivaloyl chloride) (25.0 mL, 205 mmol, 商用品) をゆっくりと滴下した。0 °Cで1時間攪拌した後、有機層を分離し、水層を酢酸エチル (EtOAc) で抽出した。合わせた有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、濾過後、濾液を減圧濃縮した。得られた残渣を、酢酸エチル (EtOAc) を用いて再結晶することで、N-(3-メトキシフェニル)ピバラミド (N-(3-methoxyphenyl)pivalamide) (化合物1a) (40.2 g, 194 mmol, 99.5%) を無色の固体として得た。

TLC R_f = 0.50 (n-hexane/EtOAc = 6/1)

[0066] N-[2-(2-ヒドロキシエチル)-3-メトキシフェニル]ピバラミド(1b)の合成

[化16]



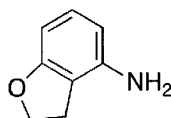
アルゴン雰囲気下、化合物1a (30.0 g, 145 mmol) のテトラヒドロフラン (THF) (400mL, 脱水, 商用品) 溶液に対して、0 °C下、*n*-ブチルリチウム (nBuLi) (2.6 M in THF, 111 mL, 289mmol, 商用品) をゆっくりと滴下した。0 °Cに保ちながら2時間攪拌した後、エチレンオキシド (ethylene oxide) (1.3 M エーテル溶液, 175 mL, 228 mmol, 商用品) をゆっくりと加え、0 °Cで1時間攪拌した。室温まで昇温した後、さらに2時間攪拌した。減圧濃縮し、飽和塩化アンモニウム水溶液 (sat. NH_4Cl aq.) を加え、混合物を酢酸エ

チル (EtOAc) (100 mL × 4) で抽出した。合わせた有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、濾過後、濾液を減圧濃縮した。得られた残渣を、酢酸エチル (EtOAc) を用いて再結晶することで、N-[2-(2-ヒドロキシエチル)-3-メトキシフェニル]ピバラミド (N-[2-(2-hydroxyethyl)-3-methoxyphenyl]pivalamide) (化合物1b) (28.1 g, 112 mmol, 77.1%) を無色の固体として得た。

TLC R_f = 0.40 (n-hexane/EtOAc = 3/1)

[0067] 4-アミノ-2,3-ジヒドロベンソフラン (1c) の合成

[化17]



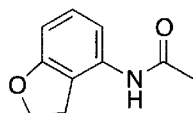
化合物1b (4.10 g, 16.3 mmol) を臭化水素酸 (HBr) (48% aqueous, 20.0 mL, 商用品) に溶解し、混合溶液を110 °Cで16時間加熱攪拌した。室温まで放冷した後、0 °C下、水酸化ナトリウムの顆粒を少量ずつ加え、pHを9付近に調節した。混合物を酢酸エチル (EtOAc) (50 mL × 4) で抽出し、合わせた有機層を硫酸ナトリウムで乾燥した。濾過後、濾液を減圧濃縮し、得られた残渣を中圧カラムクロマトグラフィー (Smart Flash EPCLC W-Prep 2XY system) (n-hexane/EtOAc = 1/1) により精製し、4-アミノ-2,3-ジヒドロベンソフラン (4-amino-2,3-dihydrobenzofuran) (化合物1c) (1.49 g, 11.0 mmol, 67.6%) を無色の固体として得た。

TLC R_f = 0.30 (n-hexane/EtOAc = 1/1)

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (6.94 (dd, J = 8.4, 8.4 Hz, 1H), 6.28 (dd, J = 0.4, 7.6 Hz, 1H), 6.23 (dd, J = 0.4, 7.6 Hz, 1H), 4.59 (t, J = 8.4 Hz, 2H), 3.60 (brs, 2H), 3.02 (t, J = 8.4 Hz, 2H)。

[0068] 4-アセチルアミノ-2,3-ジヒドロベンソフラン (1d) の合成

[化18]

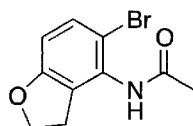


化合物1c (2.00 g, 14.8 mmol) を無水酢酸 (acetic anhydride) (15.0 mL, 商用品) に溶解し、混合溶液を室温で16時間攪拌した。反応終了後、混合物を減圧濃縮し、得られた茶色の固体を酢酸エチル (EtOAc) を用いて再結晶を行い、4-アセチルアミノ-2,3-ジヒドロベンソフラン (4-acetylamino-2,3-dihydrobenzofuran) (化合物1d) (2.10 g, 11.9 mmol, 80.1%) を無色の固体として得た。

TLC R_f = 0.15 (n-hexane/EtOAc = 1/1)

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.18 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 7.09 (t, J = 6.4 Hz, 1H), 7.04 (brs, 1H), 6.62 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 4.59 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 3.13 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.18 (s, 3H)。

[0069] 4-アセチルアミノ-5-ブromo-2,3-ジヒドロベンソフラン (1e) の合成
[化19]



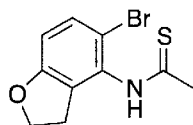
化合物1d (2.10 g, 11.9 mmol) のジクロロメタン (dichloromethane) (50 mL, 脱水, 商用品) 溶液に対して、N-ブromosuccinimide (N-bromosuccinimide) (2.31 g, 13.0 mmol, 商用品) を -78°C 下、少量ずつ加え、10時間かけて室温まで昇温した。反応終了後、混合物を減圧濃縮し、得られた残渣を中圧カラムクロマトグラフィー (Smart Flash EPCLC W-Prep 2XY system) (n-hexane/EtOAc = 1/1) により精製し、4-アセチルアミノ-5-ブromo-2,3-ジヒドロベンソフラン (4-acetylamino-5-bromo-2,3-dihydrobenzofuran) (化合物1e) (1.76 g, 6.87 mmol, 57.8%) を無色の固体として得た。なお、この際、 ^1H NMRの解析から、ジブromo体1e' と考えられる生成物 (TLC R_f = 0.15 (n-hexane/EtOAc = 1/1)) の副成が確認された。

TLC R_f = 0.25 (n-hexane/EtOAc = 1/1)

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.29 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.11 (brs, 1H), 6.58 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 4.60 (t, J = 8.8 Hz, 2H), 3.22 (t, J = 8.8 Hz, 2H)。

z, 2H), 2.23 (s, 3H)

[0070] 5-ブロモ-4-チオアセチルアミノ-2,3-ジヒドロベンソフラン (1f)の合成
[化20]

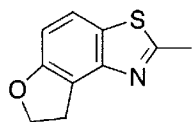


化合物1e (1.76 g, 6.87 mmol) とローソン試薬 (Lawesson's reagent) (1.01 g, 2.50 mmol, 商用品) をトルエン (toluene) (25 mL, 脱水, 商用品) に溶解し、16時間加熱還流した。室温まで放冷した後、混合物を減圧濃縮し、中圧カラムクロマトグラフィー (Smart Flash EPCLC W-Prep 2XY system) (n-hexane/EtOAc = 1/1) により精製し、5-ブロモ-4-チオアセチルアミノ-2,3-ジヒドロベンソフラン (5-bromo-4-thioacetylamino-2,3-dihydrobenzofuran) (化合物1f) (1.86 g, 6.83 mmol, 99.5%) を薄茶色の固体として得た。

TLC R_f = 0.35 (n-hexane/EtOAc = 1/1)

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) for a mixture of two rotamers (70 : 30) δ 8.85 (brs, 0.3H), 8.33 (brs, 0.7H), 7.41 (d, J = 8.8 Hz, 0.3H), 7.36 (d, J = 8.4 Hz, 0.7H), 6.73 (d, J = 8.8 Hz, 0.3H), 6.69 (d, J = 8.4 Hz, 0.7H), 4.69–4.59 (m, 2H), 3.19–3.27 (m, 2H), 2.76 (s, 2.1H), 2.36 (s, 0.9H)。

[0071] 2-メチル-7,8-ジヒドロベンゾフロ[4,5-d]チアゾール (1g)の合成
[化21]



アルゴン雰囲気下、トリスジベンジリデンアセトン ($\text{Pd}_2(\text{dba})_3$) (237 mg, 0.259 mmol, 商用品)、(2-ビフェニル)-ジ-tert-ブチルホスフィン (2-biphenyl)-di-tert-butylphosphine (JohnPhos, 154mg, 0.516 mmol, 商用品)、

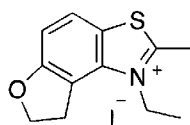
炭酸セシウム (Cs_2CO_3) (2.50 g, 7.67 mmol, 商用品) にジオキサン (dioxane) (30 mL, 脱水, 商用品) を加え、10分間攪拌した。この懸濁液に対して、化合物1f (1.40 g, 5.14 mmol) のジオキサン溶液 (20 mL, 脱水, 商用品) を加えた後、16時間加熱還流した。室温まで放冷した後、混合物を減圧濃縮し、得られた残渣を中圧カラムクロマトグラフィー (Smart Flash EPCLC W-Prep 2XY system) により精製し、2-メチル-7,8-ジヒドロベンゾフロ[4,5-d]チアゾール (2-methyl-7,8-dihydrobenzofuro[4,5-d]thiazole) (化合物1g) (780 mg, 4.08 mmol, 79.2%) を薄黄色の固体として得た。

TLC R_f = 0.25 (n-hexane/EtOAc = 1/1)

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.45 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.82 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 4.63 (t, J = 8.8 Hz, 2H), 3.51 (t, J = 8.8 Hz, 2H), 2.75 (s, 3H)。

[0072] 1-エチル-2-メチル-7,8-ジヒドロベンゾフロ[4,5-d]チアゾ-1-リウム ヨー
ジド (1h) の合成

[化22]



化合物1g (182 mg, 0.952 mmol) をヨードエタン (EtI) (3.0 mL, 商用品) に溶解し、混合溶液を130 °C (アルミヒートブロック温度) で82時間加熱攪拌した。室温まで放冷した後、ヨードエタンを減圧留去し、析出した固体を桐山ロートを用いて濾取した。ロート上で固体を酢酸エチル (3 mL $\times$ 4) を用いて洗浄した後、減圧下で乾燥し、1-エチル-2-メチル-7,8-ジヒドロベンゾフロ[4,5-d]チアゾ-1-リウム ヨー
ジド (1-ethyl-2-methyl-7,8-dihydrobenzofuro[4,5-d]thiazol-1-ium iodide) (化合物1h) (327 mg, 0.942 mmol, 98.9%) を薄黄色の固体として得た。

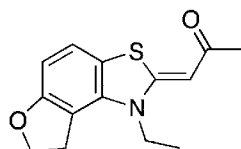
TLC a tailing spot R_f = 0.25 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ = 5/1)

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8.00 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 3.17 (s, 3H), 7.2

7 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 4.82 (t, $J = 8.8$ Hz, 2H), 4.76 (q, $J = 7.2$ Hz, 2H), 3.86 (t, $J = 8.8$ Hz, 2H), 1.59 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H)。

[0073] (Z)-1-[1-エチル-7,8-ジヒドロベンゾフロ[4,5-d]チアゾル-2(1H)-イリデン]プロパン-2-オン (化合物1) の合成

[化23]



アルゴン雰囲気下、化合物1h (150 mg, 0.432 mmol) のピリジン (pyridine) (4.0 mL, 商用品) 溶液に対して、0 °C下、塩化アセチル (61 μ L, 0.86 mmol, 商用品) を加えた。室温に昇温した後、混合物を5時間攪拌した。反応終了後、塩酸 (0.25 M, 25 mL) を加え、酢酸エチル (EtOAc) (3 mL $\times$ 4) で抽出した。合わせた有機層を硫酸ナトリウムで乾燥、濾過し、濾液を減圧濃縮した。得られた残渣を中圧カラムクロマトグラフィー (Smart Flash E PCLC W-Prep 2XY system) (n-hexane/EtOAc = 1/1) により精製し、(Z)-1-[1-エチル-7,8-ジヒドロベンゾフロ[4,5-d]チアゾル-2(1H)-イリデン]プロパン-2-オン ((Z)-1-[1-ethyl-7,8-dihydrobenzofuro[4,5-d]thiazol-2(1H)-ylidene]propan-2-one) (化合物1) (57.9 mg, 0.222 mmol, 51.3%) を薄黄色の固体として得た。この固体をアセトニトリル (acetonitrile) による再結晶を行うことによって、薄黄色の結晶が得られた。

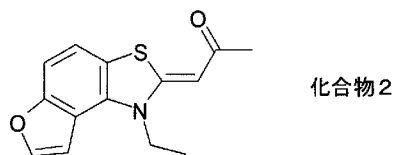
TLC R_f = 0.25 (n-hexane/EtOAc = 1/1)

mp 226-227 °C

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.29 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 6.67 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 5.84 (s, 1H), 4.65 (t, $J = 8.5$ Hz, 2H), 4.12 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H), 3.55 (t, $J = 8.5$ Hz, 2H), 2.23 (s, 3H), 1.40 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H)。

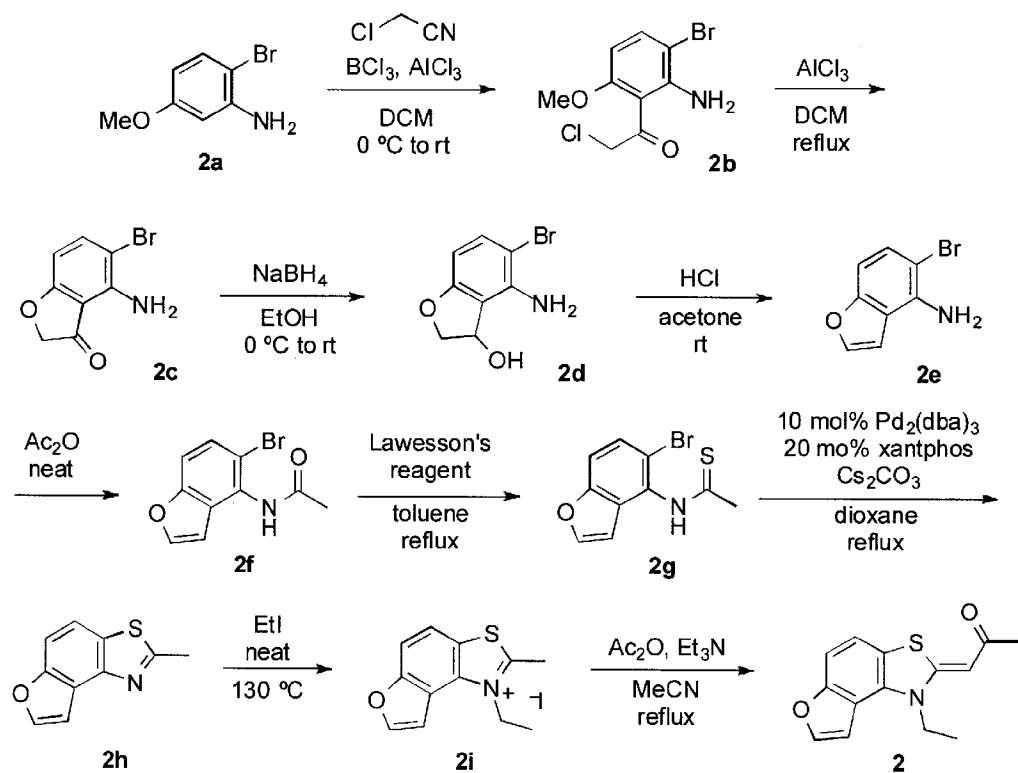
[0074] 製造例2：化合物2の製造

[化24]



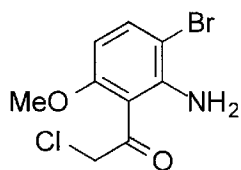
化合物 2 を以下のように製造した。

[化25]



[0075] 1-(2-アミノ-3-ブromo-6-メトキシフェニル)-2-クロロエタノン（化合物2b）の合成

[化26]



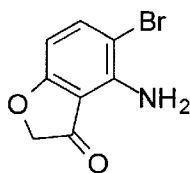
三塩化ホウ素 (BCl_3) (1 M ヘキサン溶液, 540 mL, 0.540 mol) のジクロ

ロメタン (dichloromethane) (540 mL) 溶液に対して、2-ブロモ-5-メトキシフェニルアミン (化合物2a) (2-bromo-5-methoxyphenylamine) (100 g, 0.495 mol) のジクロロメタン (500 mL) 溶液を0 °C下、ゆっくりと滴下した。得られた黒色の反応溶液を0 °C下、30分間攪拌し、クロロアセトニトリル (chloroacetonitrile) (76 mL, 1.2 mol) と塩化アルミニウム (AlCl₃) (72 g, 0.54 mol) を加え、室温で1時間攪拌した後、一晩加熱環流した。反応終了後、0 °C下に氷冷し、塩酸 (2 M, 100 mL) を加え、さらに塩酸 (5 M, 200 mL) を加えた後、室温で1時間攪拌した。有機層を集めた後、水層をジクロロメタンで抽出した。合わせた有機層を水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥、濾過し、濾液を減圧濃縮することで、1-(2-アミノ-3-ブロモ-6-メトキシフェニル)-2-クロロ-エタノン (1-(2-amino-3-bromo-6-methoxyphenyl)-2-chloroethanone) (化合物2b) (138 g, 0.495 mol, 100%) を暗緑色の固体として得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.46 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 6.74 (brs, 2H), 6.11 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 4.75 (s, 2H), 3.88 (s, 3H)。

[0076] 4-アミノ-5-ブロモ-ベンゾフラン-3-オン (化合物2c) の合成

[化27]



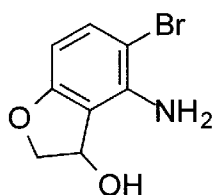
塩化アルミニウム (AlCl₃) (100 g, 0.75 mol) のジクロロメタン (dichloromethane) (400 mL, 脱水) の懸濁液に対して、化合物2b (70 g, 0.25 mol) のジクロロメタン (dichloromethane) (300 mL) 溶液をゆっくりと滴下した後、12時間加熱環流した。反応終了後、0 °Cに氷冷し、塩酸 (2 M) をゆっくりと滴下した後、メタノールとジクロロメタンを加え、有機層を集めた。水層をジクロロメタンで抽出し、合わせた有機層を硫酸ナトリウムで乾燥、濾過し、濾液を減圧濃縮した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーによ

り精製し、4-アミノ-5-ブロモ-ベンゾフラン-3-オン (4-amino-5-bromo-benzofuran-3-one) (化合物2c) (30 g, 0.13 mol, 53%) を緑褐色の固体として得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.49 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 6.28 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 5.78 (brs, 2H), 4.63 (s, 2H)。

[0077] 4-アミノ-5-ブロモ-2,3-ジヒドロベンゾフラン-3-オール (化合物2d) の合成

[化28]

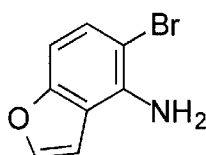


化合物2c (140 g, 0.614 mol) のエタノール (EtOH) (3 L) 溶液に対して、0 °C下、水素化ホウ素ナトリウム (NaBH_4) (47 g, 1.2 mol) を加え、室温に昇温した後、一晩攪拌した。反応終了後、アセトン (acetone) を加え、室温で30分間攪拌し、減圧濃縮した後、水を加え、ジクロロメタンで抽出 (100 mL $\times$ 2) した。合わせた有機層を硫酸ナトリウムで乾燥、濾過し、濾液を減圧濃縮することで、4-アミノ-5-ブロモ-2,3-ジヒドロベンゾフラン-3-オール (4-amino-5-bromo-2,3-dihydrobenzofuran-3-ol) (化合物2d) を無色の固体として得た後、未精製のまま、次の反応に用いた。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.28 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.18 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 5.42 (brs, 1H), 4.64–4.60 (m, 1H), 4.42–4.39 (m, 3H), 1.81 (brs, 1H)。

[0078] 4-アミノ-5-ブロモベンゾフラン (化合物2e) の合成

[化29]

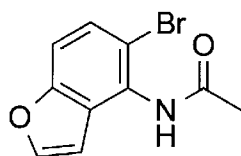


化合物2d (<0.614 mol) のアセトン (acetone) 溶液に対して、塩酸 (1 M, 100 mL) を加え、室温で30分間攪拌した後、減圧濃縮し、ジクロロメタンと水を加え希釈した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥、濾過し、濾液を減圧濃縮することで、4-アミノ-5-ブロモベンゾフラン (4-amino-5-bromobenzofuran) (化合物2e) を黄色の固体として得た後、未精製のまま、次の反応に用いた。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.52 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 7.30 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 6.84 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 6.67 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 4.33-4.29 (brs, 2H)。

[0079] 4-アセトアミノ-5-ブロモベンゾフラン (化合物2f) の合成

[化30]

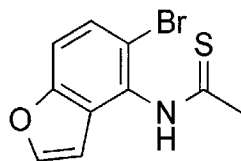


化合物2e (<0.614 mol) の無水酢酸 (acetic anhydride) (1.5L) 溶液を室温で2時間攪拌した。析出した無色の固体を濾過し、濾液を減圧濃縮した後、残渣を再結晶により精製した。濾過によって得られた固体と再結晶によって得られた固体を合わせて乾燥することで、4-アセトアミノ-5-ブロモベンゾフラン (4-acetamino-5-bromobenzofuran) (化合物2f) (120 g, 0.47 mol, 77%, for 3steps) を得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.56 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.49 (brs, 1H), 7.42 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.23 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 6.73 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 2.27 (s, 3H)。

[0080] 4-(チオアセチル)アミノ-5-ブロモベンゾフラン (化合物2g) の合成

[化31]

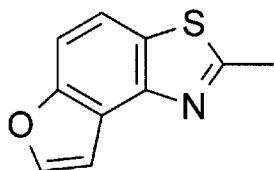


化合物2f (120 g, 0.472 mol) とローソン試薬 (lawesson's reagent) (76 g, 0.19 mol) のトルエン (toluene) (2 L) 溶液を、16時間加熱環流した。室温まで放冷後、減圧濃縮し、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製することで、4-(チオアセチル)アミノ-5-ブロモベンゾフラン (4-(thioacetyl)amino-5-bromobenzofuran) (化合物2g) (98 g, 0.36 mol, 77%) を薄黄色の固体として得た。

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 11.60 (brs, 1H), 8.01 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 7.56 (s, 2H), 6.77 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 2.66 (s, 3H)。

[0081] 2-メチル-7,8-ベンゾフロ[4,5-d]チアゾール (化合物2h) の合成

[化32]



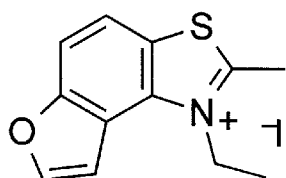
窒素雰囲気下、トリス(ジベンジリデンアセトン)ジパラジウム ($\text{Pd}_2(\text{dba})_3$) (33 g, 36 mmol)、XantPhos (9,9-dimethyl-4,5-bis(diphenylphosphino)xanthene) (41 g, 71 mmol)、炭酸セシウム (cesium carbonate) (234 g, 0.72 mol) のジオキサン (dioxane) (1.5 L) の懸濁液に対して、化合物2g (98 g, 0.36 mol) を加え、16時間加熱環流した。室温まで放冷後、減圧濃縮し、得られた残渣をフロリジル (florisil) による粗精製 (EtOAc) を行った。得られた溶液を減圧濃縮した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製し、2-メチル-7,8-ベンゾフロ[4,5-d]チアゾール (2-methyl-7,8-benzofuro[4,5-d]thiazole) (化合物2h) (60 g, 0.32 mol, 88%) を黄色の

固体として得た。

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.73 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.67 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.53 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.28 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 2.90 (s, 3H)。

[0082] 1-エチル-2-メチル-7,8-ベンゾフロ[4,5-d]チアゾ-1-リウム ヨーゾド (化合物2i) の合成

[化33]

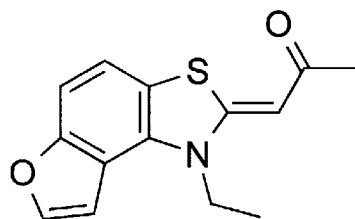


化合物2h (50 g, 0.26 mol) のヨードエタン (iodoethane) (400 mL) 溶液を、密栓し、オートクレーブ中、130 °Cで50時間加熱攪拌した。室温まで放冷した後、減圧濃縮することでヨードエタンを除き、得られた残渣を酢酸エチルで懸濁させた。この懸濁液を濾過し、酢酸エチルで洗浄することで、1-エチル-2-メチル-7,8-ベンゾフロ[4,5-d]チアゾ-1-リウム ヨーゾド (1-ethyl-2-methyl-7,8-benzofuro[4,5-d]thiazol-1-ium iodide) (化合物2i) (66 g, 0.19 mol, 74%) を緑色の固体として得た。

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.49 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 8.36 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 8.16 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.77 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 4.90 (q, $J = 7.2$ Hz, 2H), 3.26 (s, 3H), 1.53 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H)。

[0083] (Z)-1-[1-エチル-7,8-ベンゾフロ[4,5-d]チアゾル-2(1H)-イリデン]プロパン-2-オン (化合物2) の合成

[化34]

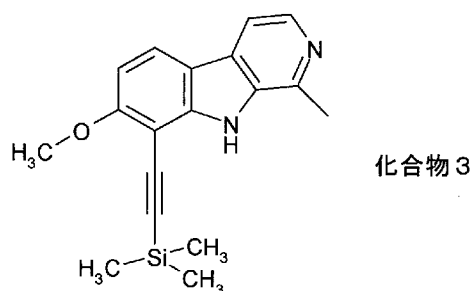


化合物2i (66 g, 0.19 mol) のアセトニトリル (acetonitrile) (250 mL) の懸濁液に対して、無水酢酸 (acetic anhydride) (43 mL, 0.46 mol)、トリエチルアミン (triethylamine) (80 mL, 0.57 mol) を加え、3時間加熱環流した。室温まで放冷後、減圧濃縮し、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (petroleum ether/EtOAc = 1/1) により精製し、(Z)-1-[1-エチル-7,8-ベンゾフロ[4,5-d]チアゾル-2(1H)-イリデン]プロパン-2-オン ((Z)-1-[1-ethyl-7,8-benzofuro[4,5-d]thiazol-2(1H)-ylidene]propan-2-one) (化合物2) (42 g, 0.16 mol, 84%) を黄色の固体として得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.71 (t, $J = 1.2$ Hz, 1H), 7.44 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.33 (dd, $J = 8.8, 0.9$ Hz, 1H), 6.94 (dd, $J = 2.1, 0.9$ Hz, 1H), 5.92 (s, 1H), 4.27 (q, $J = 7.2$ Hz, 2H), 2.24 (s, 3H), 1.47 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H)。

[0084] 製造例3：化合物3の製造

[化35]



化合物3を以下のように製造した。

[0085] [化合物3の合成]

アルゴン雰囲気下、8-ヨードハルミン (8-iodoharmine) (67.6 mg, 0.200 mmol、合成品 (US2007027199A1))、ジクロロビストリフェニルホスフィンパラジウム ((PPh_3) $_2\text{PdCl}_2$) (7.0 mg, 10 μmol 、商用品)、ヨウ化銅 (CuI) (3.8 mg, 20 μmol 、商用品)、トリフェニルホスフィン (PPh_3) (5.2 mg, 20 μmol 、商用品) のトルエン (toluene) (脱水、2.0 mL)、トリエチルアミン (Et_3N) (2.0 mL) 溶液に、トリメチルシリルアセチレン (trimethylsil

ylacetylene) (55 μ L, 0.40 mmol, 商用品) を室温にて添加し、混合物を 60 °C で 4 時間加熱攪拌した。室温まで放冷した後、これに飽和塩化アンモニウム水溶液を添加し、混合物を酢酸エチルで抽出した ($\times 3$)。得られた有機層を無水硫酸ナトリウムを用いて乾燥し、濾過後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル) にて精製し、(8-[2-(トリメチルシリル)エチニル]ハルミン (8-[2-(trimethylsilyl)ethynyl]harmine) (化合物 3) (35.8 mg, 0.116 mmol, 58.0%) を無色の固体として得た。

TLC R_f 0.40 (ethyl acetate)。

mp 185–186 °C

^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ 0.37 (s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 2.83 (s, 3H, CH_3), 4.02 (s, 3H, OCH_3), 6.87 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, aromatic), 7.70 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H, aromatic), 7.98 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, aromatic), 8.12 (brs, 1H, NH), 8.35 (brs, 1H, aromatic)

^{13}C NMR (CDCl_3 , 126 MHz) δ 0.3(3C), 20.2, 56.6, 94.8, 96.9, 104.3, 104.7, 112.4, 115.8, 123.2, 128.9, 134.4, 139.5, 141.3, 142.9, 161.0 IR (cm^{-1}) 775, 945, 1099, 1339, 1450, 1614, 2146, 2767, 2861, 2977

[0086] [実験例 1 : マウスの海馬歯状回における神経新生]

動物個体 (齧歯類) における神経新生に対する化合物 2 の効果を検討した。海馬歯状回顆粒細胞層下層は神経新生が起こる領域である。そこで、細胞増殖の指標となる 5-ブロモ-2'-デオキシウリジン (5-bromo-2'-deoxyuridine; BrdU) を用いて、増殖している細胞を特異的に検出し、その細胞数を定量的に比較した。具体的には、以下のように行った。

[0087] C57BL/6J マウスオス 9 週齢 体重 25 g にカルボキシメチルセルロース溶媒で調製した化合物 2 を 30 mg/kg 及び 100 mg/kg で 10 日間あるいは 30 日間経口連続投与した。投与最終日に 150 mg/kg の BrdU を腹腔内注射し、24 時間後に灌流固定によるサンプル回収を行った。

ミクロトームを用いて 50 μm 冠状切片を作製し、1.5 規定塩酸による DNA 変性後

、抗BrdU抗体により増殖している神経幹細胞にとりこまれたBrdUを検出した。顕微鏡下で切片を観察し、海馬あたりのBrdU陽性細胞数を定量して各投与群で比較した（図1）。

[0088] 図1に示すとおり、化合物2投与群マウスは、溶媒コントロール投与群マウスに比べ、投与量依存的に海馬歯状回の顆粒細胞下層における増殖細胞数が有意に高いことが確認された。よって、化合物2は、動物個体（げっ歯類）において海馬歯状回に存在する神経幹細胞に作用し、神経新生を有意に促進しているといえる。

[0089] [実験例2：培養神経幹細胞への効果]

化合物1～3が、生体から単離した培養神経幹細胞においても増殖を促進するかどうかを検討した。具体的には以下の通り行った。

[0090] マウス胎児脳より分離した細胞を増殖因子EGF、bFGFを含む無血清培地で浮遊培養して神経幹細胞塊を単離した。単離した神経幹細胞を化合物1～3及び細胞増殖の指標となるBrdU存在下で培養し、増殖細胞を標識した。細胞を固定後、抗BrdU抗体による検出を行い、Arrayscan (Thermo Scientific) によりBrdUを取り込んだ増殖細胞の割合を定量的に解析した（図2、3）。また、神経幹細胞を化合物1～3存在下で培養し、細胞増殖を正に制御するタンパク質であるサイクリンD1の発現量をウェスタンブロッティング法により検出した。（図4）

[0091] 図3に示すように、化合物1～3処理により、細胞増殖の指標となるBrdUの取り込み量が増大した。また、図4に示すように化合物1～3処理により細胞増殖を正に制御するタンパク質であるサイクリンD1の発現量が増加していることが確認された。以上の結果より、化合物1～3は培養神経幹細胞の増殖を活性化するといえる。

[0092] [実験例3：DYRKファミリー及びCLKファミリーに対する阻害効果]

化合物1～3がインビトロ及びインビボでDYRK活性及びCLK活性を阻害するかどうか検討した。具体的には以下の通り行った。

[0093] 化合物1がDYRK及びCLKファミリーの活性阻害能を有するかどうかを検討す

るためインビトロ蛋白質リン酸化活性阻害アッセイを行った。その結果、化合物1はDYRK1A活性を98%、DYRK1B活性を99%、さらにDYRK2及びDYRK3活性を100%阻害し、CLK1活性を99%、CLK2を98%、CLK3を80%阻害することが明らかとなった。

[0094] また化合物3が細胞内インビボでDYRK活性を阻害するかを基質であるタウタンパク質のリン酸化を指標にして検討した。まずDYRK1Aおよびタウタンパク質を薬剤で発現誘導できる細胞株を樹立し、この細胞株を用いて薬剤処理によりDYRK1Aおよびタウを発現誘導した。その後化合物3（10 μ M）で4時間処理し、細胞を回収しウェスタンブロッティングによりタウタンパク質のリン酸化を検出した。その結果、化合物3の処理によりタウのリン酸化が抑制されることが確認された。

[0095] さらに化合物1-2が動物個体内インビボでDYRK活性を阻害するかを急性冷水ストレスによるタウタンパク質のリン酸化を指標にして検討した。動物に冷水ストレスを10分間与え、5分後に脳を回収した。脳内のタウタンパク質のリン酸化をウェスタンブロッティングにより確認した結果、急性冷水ストレスによりタウタンパク質のリン酸化が亢進した。化合物1あるいは化合物2を冷水ストレス30分前に動物個体に投与すると、冷水ストレスによるタウのリン酸化が抑制されることが確認された。

[0096] インビトロ蛋白質リン酸化活性阻害アッセイにより化合物1はDYRKおよびCLKの活性阻害能を有することが示された。細胞内タウリン酸化アッセイにより化合物3はDYRKによるタウのリン酸化を抑制することが示された。さらに、動物個体内インビボ急性冷水ストレスモデル実験により化合物1および2はタウのリン酸化を抑制することが示された。以上の結果から化合物1～3はインビトロ/インビボにおいてDYRKファミリーあるいはCLKファミリーのリン酸化活性阻害能を有するといえる。

[0097] [実験例4：DYRK1A発現抑制による神経新生への効果]

DYRKファミリーに属するDYRK1Aの発現を特異的に抑制し、神経新生への効果を培養神経幹細胞を用いて検討した。具体的には以下の通り行った。

[0098] マウス胎児脳より分離した細胞を増殖因子EGF, bFGFを含む無血清培地で浮遊培養して神経幹細胞塊を単離した。単離・培養した培養神経幹細胞にDYRK1AのmRNAの分解を誘導するshort-hairpin RNA(shRNA)を発現するレンチウィルスに感染させた(図5)。DYRK1Aの発現を抑制した培養神経幹細胞を細胞増殖の指標となるBrdU存在下で培養し、増殖細胞を標識した。細胞を固定後、抗BrdU抗体による染色によりBrdUを取り込んだ増殖細胞の割合を定量的に解析した(図5, 6)。さらに、DYRK1Aの発現を抑制した培養神経幹細胞において、細胞増殖を正に制御するタンパク質であるD1の発現量をウェスタンブロッティング法により検出した(図5, 7)。

[0099] 図6に示すように、DYRK1Aの発現を抑制した培養神経幹細胞において、増殖の指標であるBrdUのとりこみが増加していた。また、図7に示すようにDYRK1Aの発現を抑制した培養神経幹細胞において、正の増殖因子であるサイクリンD1の発現量が増加していた。以上の結果は、DYRK1Aの発現抑制により培養神経幹細胞の増殖が活性化されることを示しており、すなわちDYRK活性を抑制することにより神経新生を活性化できるといえる。

[0100] [実験例5：DYRKの発現誘導及び活性阻害による細胞増殖への効果]

薬剤添加によりDYRK1A, DYRK1B 及びDYRK2の発現を誘導することができる細胞株を用いてDYRKを過剰発現したときのサイクリンD1の発現量を確認した(図8)。具体的には以下の通り行った。

[0101] HEK293FLIP-IN細胞システムを用い、薬剤添加によりDYRKファミリーに属するDYRK1A, DYRK1B, DYRK2の発現を誘導できる細胞株をそれぞれ作製した。この細胞を薬剤で16時間処理しDYRKの発現を誘導した後、化合物2 (5 μ M) 存在下で4時間培養した。その後細胞を回収し、サイクリンD1の発現量をウェスタンブロット法で解析した(図8)。

[0102] 図8のレーン2, 6, 10 で示されるように化合物2処理によりDYRK活性を阻害することで、正の細胞増殖因子であるサイクリンD1の発現量の増大が認められた。また、レーン3, 7, 11 (破線□) で示されるようにDYRKの発現誘導により、サイクリンD1の発現量が減少した。さらに、レーン4, 8, 12で示される

ように、DYRK発現誘導によるサイクリンD1減少は化合物2処理によってDYRK活性を阻害することにより補正された。以上の結果より、DYRKの発現誘導によりサイクリンD1の発現量が減少し、DYRKの活性阻害によりサイクリンD1の発現量が増加することが示された。すなわち、DYRKはサイクリンD1の発現量を制御することにより細胞増殖を活性化するといえる。

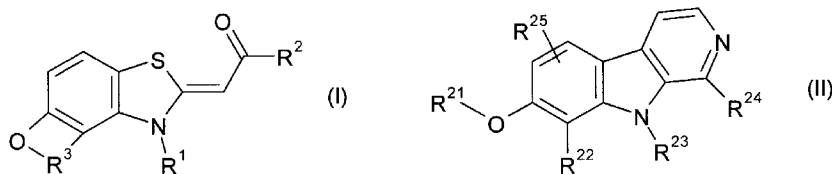
請求の範囲

【請求項1】 神経新生又は神経細胞増殖を活性化するための組成物であって、有効成分としてD Y R K阻害能を有する化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩を含有する、組成物。

【請求項2】 有効成分である前記化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩が、さらにC L K阻害能を有する、請求項1記載の組成物。

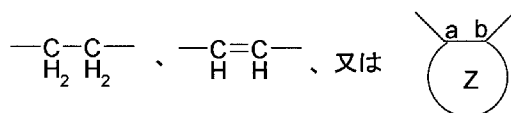
【請求項3】 神経新生又は神経細胞増殖を活性化するための組成物であって、有効成分として下記一般式（I）及び／又は（II）で表される化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩を含有する、組成物。

【化1】



【式（I）において、 R^1 及び R^2 は、それぞれ独立して、水素原子又は C_{1-6} 炭化水素鎖であり、 R^3 は、

【化2】



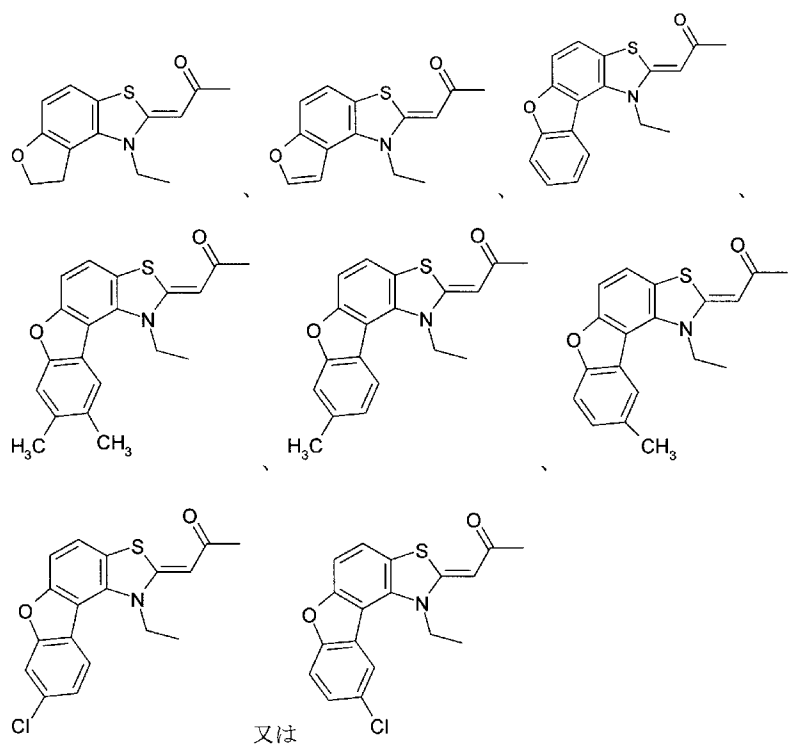
であり、Zは、a及びbで印をつけた原子と共に、1つのベンゼン環、1つの複素芳香族環、1つ以上のベンゼン環が縮合した芳香族環、1つ以上の複素芳香族環が縮合した複素芳香族環、1つ以上のベンゼン環と1つ以上の複素芳香族環とが縮合した混合縮合多環、及び、環状脂肪族からなる群から選択される環を形成し、前記環は水素原子、ハロゲン原子又は C_{1-6} アルキル基である置換基を1つ以上有してもよ

く、 R^4 は、水素原子、ハロゲン原子又は C_{1-6} アルキル基である。

式 (11) において、 R^{21} 及び R^{23} は、それぞれ独立して、水素原子、 C_{1-6} 直鎖若しくは分枝若しくは環状のアルキル基、ベンジル若しくはヘテロアリールメチル基、置換若しくは無置換のアリール基、又は置換若しくは無置換のヘテロアリール基であり、 R^{22} は、 $-R^{26}$ 、 $-C\equiv C-R^{26}$ 、 $-CH=CH-R^{26}$ 、及び $-O-(CH_2)_n-R^{26}$ からなる群から選択され、 n は1～6であり、 R^{26} は、水素原子、水酸基、 C_{1-8} アルキル基、 $-Si(R^{27})_3$ 、並びに、置換若しくは無置換のフェニル基、単環式複素芳香環基及び環状脂肪族基からなる群から選択され、或いは、 R^{21} と R^{22} は結合して環を形成し、 $-R^{21}-R^{22}-$ が、 $-(CH_2)_m-CH_2-$ 、 $-CH=CH-$ 、 $-(CH_2)_m-O-$ 、及び、ハロゲン原子で置換されたこれらのものからなる群から選択され、 m は1～6であり、 R^{27} は水素原子、 C_{1-6} アルキル基、トリハロメチル基、又は水酸基であり、 $-Si(R^{27})_3$ 中の3つの R^{27} はそれぞれ異なってもよい。 R^{24} 、 R^{25} は、水素原子又は C_{1-6} アルキル基である]

[請求項4] 神経新生又は神経細胞増殖の活性化のための組成物であって、有効成分として

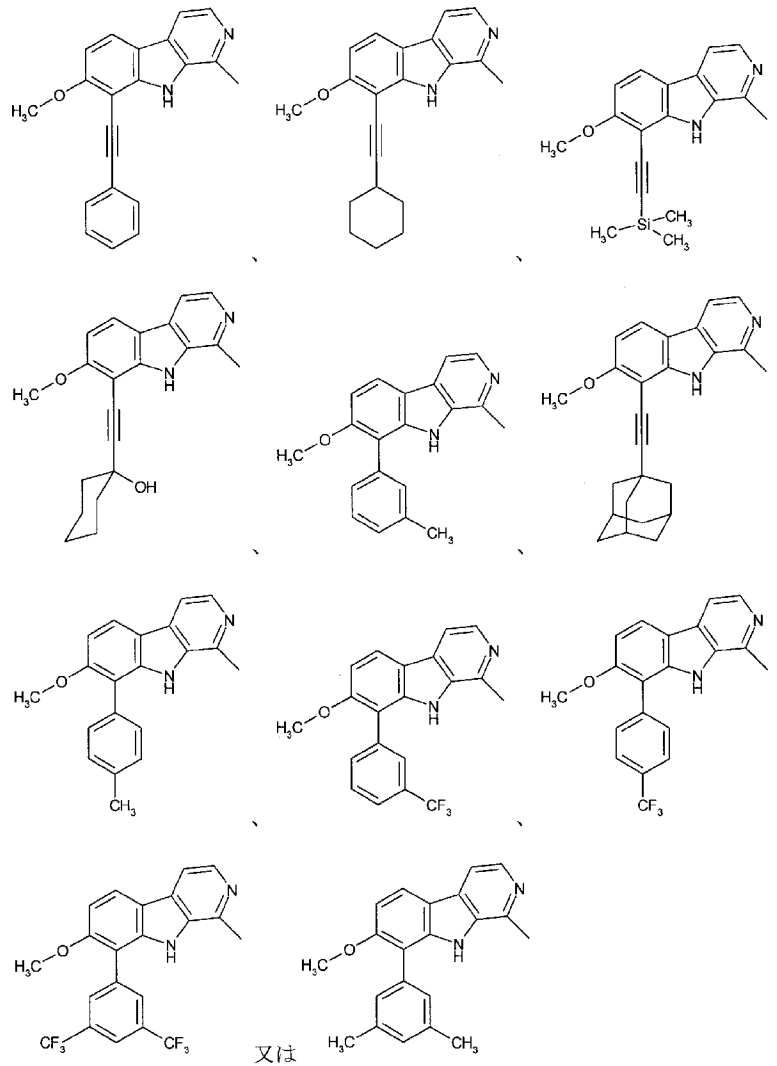
[化3]



で表される化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩を含有する、組成物。

[請求項5] 神経新生又は神経細胞増殖の活性化のための組成物であって、有効成分として

[化4]



で表される化合物若しくはそのプロドラッグ又はその製薬上許容される塩を含有する、組成物。

[請求項6] 前記有効成分が、D Y R K 阻害能を有する、請求項 3 から 5 のいずれかに記載の組成物。

[請求項7] 前記有効成分が、さらに C L K 阻害能を有する、請求項 3 から 6 のいずれかに記載の組成物。

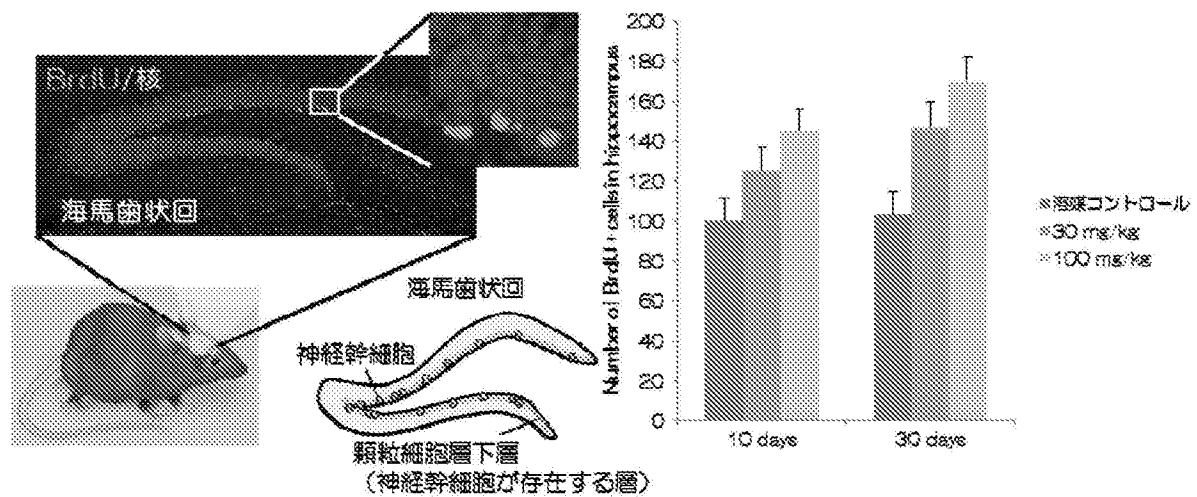
[請求項8] 医薬組成物である、請求項 1 から 7 のいずれかに記載の組成物。

[請求項9] 中枢及び／又は末梢神経系の疾患又は障害の予防、改善、進行抑制、及び／又は、治療のための請求項 1 から 8 のいずれかに記載の組成

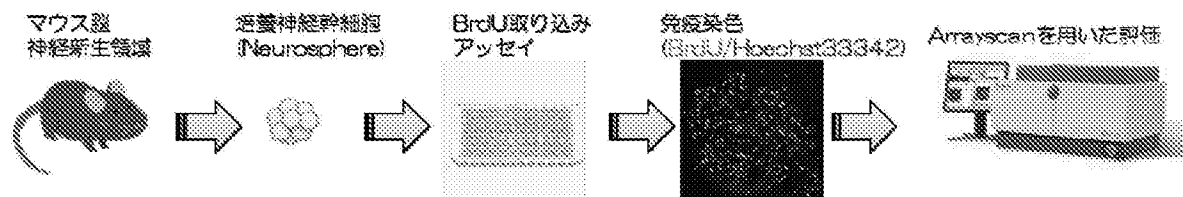
物。

- [請求項10] 神経細胞又は神経幹細胞を調製するための請求項1から8のいずれかに記載の組成物。
- [請求項11] 神経新生を活性化する方法であって、請求項1から9のいずれかに記載の組成物を対象に投与することを含む、活性化方法。
- [請求項12] 神経細胞増殖を活性化する方法であって、請求項1から8のいずれかに記載の組成物を含有する培地で神経細胞を培養することを含む、方法。
- [請求項13] 神経細胞又は神経幹細胞を調製する方法であって、請求項1から8のいずれかに記載の組成物を含有する培地で神経細胞を培養することを含む、調製方法。

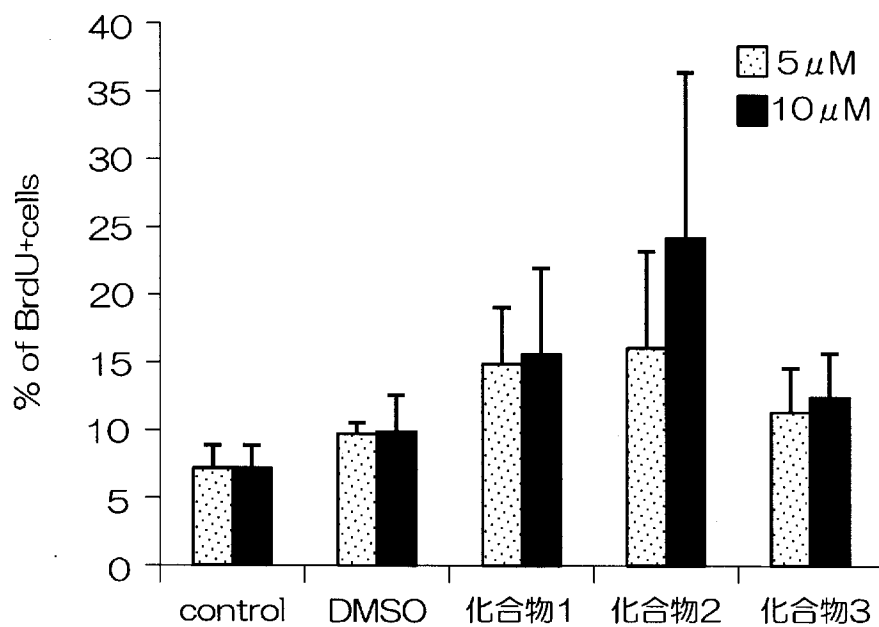
[図1]



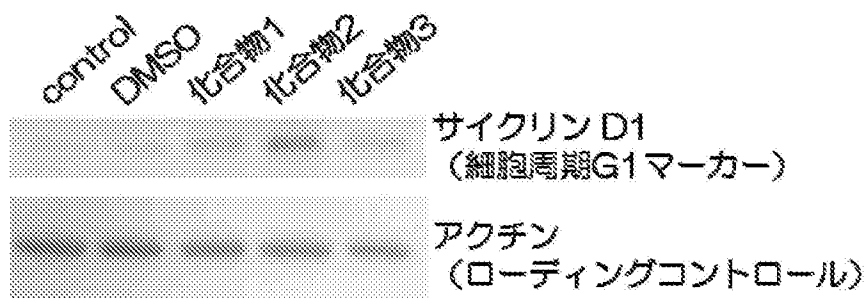
[図2]



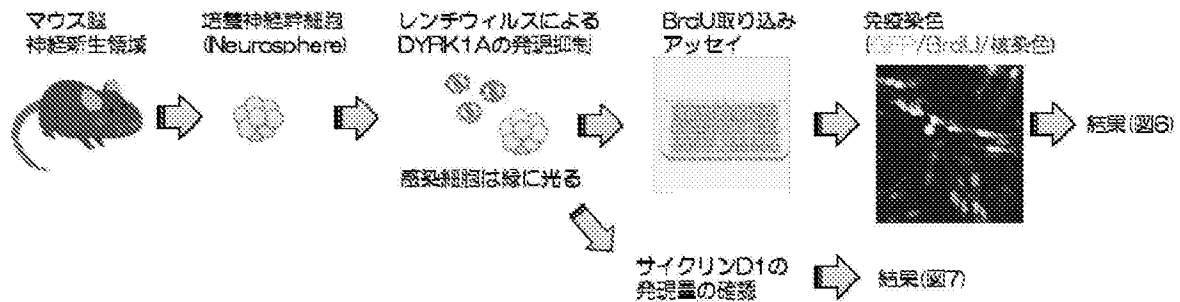
[図3]



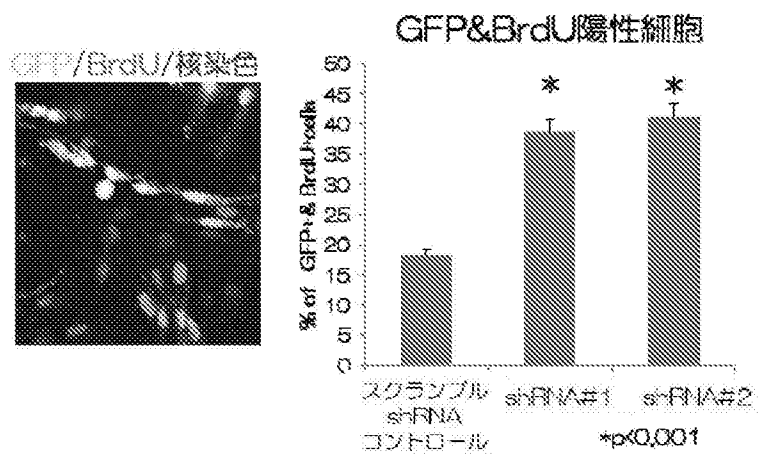
[図4]



[図5]



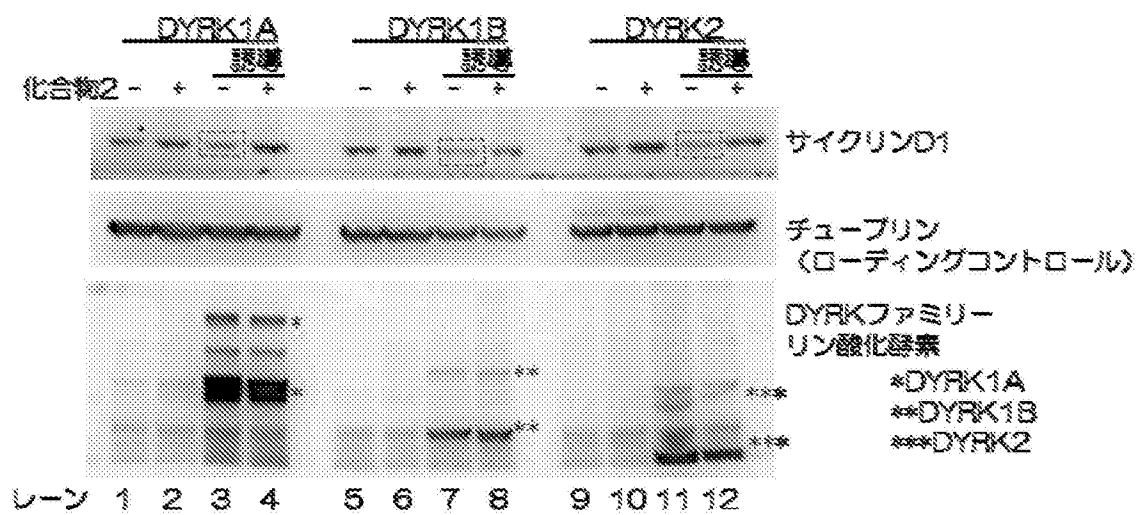
[図6]



[図7]



[図8]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2014/082035

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See extra sheet.

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K45/00, A61K31/429, A61K31/437, A61K31/695, A61P25/00, A61P25/02, A61P25/14, A61P25/16, A61P25/20, A61P25/22, A61P25/24, A61P25/28, A61P25/30, A61P25/32, A61P43/00

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	1996-2014
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2014	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2014

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	WO 2010/010797 A1 (KinoPharma, Inc.), 28 January 2010 (28.01.2010), claims; paragraphs [0019], [0095] to [0103]; fig. 6	1, 2, 8-10, 12, 13
Y		3, 6-10, 12, 13
A	& KR 10-2010-0010894 A	4, 5
X	JP 2013-505299 A (Neuronascent, Inc.), 14 February 2013 (14.02.2013), claims; paragraphs [0003], [0005], [0111]; example 2	1, 8-10, 12, 13
Y		3, 6-10, 12, 13
A	& US 2012/0277218 A1 & EP 2480233 A & WO 2011/037962 A1 & CA 2774558 A & IL 218726 D & AU 2010298440 A & CN 102665716 A & KR 10-2012-0099215 A & RU 2012112424 A	4, 5

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
19 December 2014 (19.12.14)

Date of mailing of the international search report
13 January 2015 (13.01.15)

Name and mailing address of the ISA/
Japan Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2014/082035

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y A	WO 2013/026806 A1 (Exonhit SA), 28 February 2013 (28.02.2013), claims & US 2014/0275064 A & EP 2744797 A & AU 2012298510 A & CA 2848896 A & CN 103797002 A & KR 10-2014-0057614 A & EA 201400245 A & IL 230917 D	1,8-10 3,6-10 4,5
X Y A	WO 2011/068990 A1 (Medipropharma, Inc.), 09 June 2011 (09.06.2011), claims & JP 2010-502606 A & US 2011/0021776 A1 & US 2011/0136844 A1 & US 2008/0051426 A1 & EP 2063891 A & WO 2008/027182 A2 & CA 2662185 A & KR 10-2009-0043007 A & AU 2007290758 A & CN 101528230 A	1,8-10 3,6-10 4,5
X A	Yoo K.Y. et al., (-)-Epigallocatechin-3-gallate increases cell proliferation and neuroblasts in the subgranular zone of the dentate gyrus in adult mice, Phytother Res., 2010, Vol.24, No.7, pp.1065-1070 Abstract, Discussion	1,8-10,12,13 4,5
Y A	Becker, W., Activation, regulation, and inhibition of DYRK1A, FEBS Journal, 2011, Vol. 278, pp.246-256, page 250, right column, 2nd paragraph to page 252, left column, 1st paragraph	3,6-13 4,5
Y A	Bozena, M-K. et al., Effect of Dyrk1A Activity Inhibition on Development of Neuronal Progenitors Isolated From Ts65Dn Mice, Journal of Neuroscience Research, 2012, Vol.90, pp.999- 1010 Abstract	3,6-13 4,5
P,X	WO 2013/183718 A1 (Kyoto University), 12 December 2013 (12.12.2013), claims 37 to 47 (Family: none)	1,2,8-10,12, 13
P,X	WO 2014/021337 A1 (Kyoto University), 06 February 2014 (06.02.2014), claims (Family: none)	1,2,8-10,12, 13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2014/082035

Continuation of A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

(International Patent Classification (IPC))

A61K45/00(2006.01)i, A61K31/429(2006.01)i, A61K31/437(2006.01)i,
A61K31/695(2006.01)i, A61P25/00(2006.01)i, A61P25/02(2006.01)i,
A61P25/14(2006.01)i, A61P25/16(2006.01)i, A61P25/20(2006.01)i,
A61P25/22(2006.01)i, A61P25/24(2006.01)i, A61P25/28(2006.01)i,
A61P25/30(2006.01)i, A61P25/32(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2014/082035

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 11
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
The invention of claim 11 involves a therapeutic method for a human being.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（I P C））

Int.Cl. 特別ページ参照

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（I P C））

Int.Cl. A61K45/00, A61K31/429, A61K31/437, A61K31/695, A61P25/00, A61P25/02, A61P25/14, A61P25/16, A61P25/20, A61P25/22, A61P25/24, A61P25/28, A61P25/30, A61P25/32, A61P43/00

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	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 1 4 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 4 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 4 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	WO 2010/010797 A1（株式会社キノファーマ）2010.01.28, 特許請求の範囲, [0019], [0095]-[0103], 図 6 & KR 10-2010-0010894 A	1, 2, 8-10, 12, 13
Y		3, 6-10, 12, 13
A		4, 5

☒ 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

1 9 . 1 2 . 2 0 1 4

国際調査報告の発送日

1 3 . 0 1 . 2 0 1 5

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁（I S A / J P）
郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5
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）

安居 拓哉

4 U

3 4 3 7

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 3 9

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
X	JP 2013-505299 A (ニューロナセント インコーポレイテッド) 2013.02.14,	1, 8-10, 12, 13
Y	特許請求の範囲, [0003], [0005], [0111], 実施例 2	3, 6-10, 12, 13
A	& US 2012/0277218 A1 & EP 2480233 A & WO 2011/037962 A1 & CA 2774558 A & IL 218726 D & AU 2010298440 A & CN 102665716 A & KR 10-2012-0099215 A & RU 2012112424 A	4, 5
X	WO 2013/026806 A1 (Exonhit SA) 2013.02.28, Claims	1, 8-10
Y	& US 2014/0275064 A & EP 2744797 A & AU 2012298510 A & CA 2848896 A & CN 103797002 A & KR 10-2014-0057614 A	3, 6-10
A	& EA 201400245 A & IL 230917 D	4, 5
X	WO 2011/068990 A1 (Medipropharma, Inc.) 2011.06.09, Claims	1, 8-10
Y	& JP 2010-502606 A & US 2011/0021776 A1 & US 2011/0136844 A1 & US 2008/0051426 A1 & EP 2063891 A & WO 2008/027182 A2	3, 6-10
A	& CA 2662185 A & KR 10-2009-0043007 A & AU 2007290758 A & CN 101528230 A	4, 5
X	Yoo K.Y. et al., (-)-Epigallocatechin-3-gallate increases cell proliferation and neuroblasts in the subgranular zone of the dentate gyrus in adult mice, Phytother Res., 2010, Vol.24, No.7, pp.1065-1070	1, 8-10, 12, 13
A	Abstract, Discussion	4, 5
Y	Becker, W., Activation, regulation, and inhibition of DYRK1A, FEBS Journal, 2011, Vol.278, pp.246-256	3, 6-13
A	250 頁右欄 2 段落-252 頁左欄 1 段落	4, 5
Y	Bozena, M-K. et al., Effect of DyrklA Activity Inhibition on Development of Neuronal Progenitors Isolated From Ts65Dn Mice, Journal of Neuroscience Research, 2012, Vol.90, pp.999-1010	3, 6-13
A	Abstract	4, 5
PX	WO 2013/183718 A1 (国立大学法人京都大学) 2013.12.12, 請求項 37-47 (ファミリーなし)	1, 2, 8-10, 12, 13
PX	WO 2014/021337 A1 (国立大学法人京都大学) 2014.02.06, 請求の範囲 (ファミリーなし)	1, 2, 8-10, 12, 13

発明の属する分野の分類

A61K45/00(2006.01)i, A61K31/429(2006.01)i, A61K31/437(2006.01)i,
A61K31/695(2006.01)i, A61P25/00(2006.01)i, A61P25/02(2006.01)i, A61P25/14(2006.01)i,
A61P25/16(2006.01)i, A61P25/20(2006.01)i, A61P25/22(2006.01)i, A61P25/24(2006.01)i,
A61P25/28(2006.01)i, A61P25/30(2006.01)i, A61P25/32(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i

第Ⅱ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（P C T 17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求項 11 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
つまり、
請求項11に係る発明は、人間を治療する方法を包含するものである。
2. ☐ 請求項 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求項 は、従属請求の範囲であってP C T 規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅲ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

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

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

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

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