

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2000年12月7日 (07.12.2000)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 00/72844 A1

(51) 国際特許分類<sup>7</sup>: A61K 31/4015, 31/4439, A61P 25/28, 25/16, 43/00 // C07D 207/27, 207/273, 401/12

Mitsunobu [JP/JP]; 〒156-0054 東京都世田谷区桜丘 4-5-5-306 Tokyo (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP00/03484

(74) 代理人: 有賀三幸, 外(ARUGA, Mitsuyuki et al.); 〒103-0013 東京都中央区日本橋人形町1丁目3番6号 共同ビル Tokyo (JP).

(22) 国際出願日: 2000年5月31日 (31.05.2000)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:  
特願平11/151720 1999年5月31日 (31.05.1999) JP  
特願平11/159331 1999年6月7日 (07.06.1999) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 第一製薬株式会社 (DAIICHI PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒103-8234 東京都中央区日本橋3丁目14番10号 Tokyo (JP).

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 村島善也 (MURASHIMA, Yoshiya) [JP/JP]; 〒156-0057 東京都世田谷区上北沢5-12-2-202 Tokyo (JP). 渡部繁男 (WATABE, Shigeo) [JP/JP]; 〒134-8630 東京都江戸川区北葛西1丁目16-13 第一製薬株式会社 東京研究開発センター内 Tokyo (JP). 吉井光信 (YOSHII,

添付公開書類:  
— 国際調査報告書

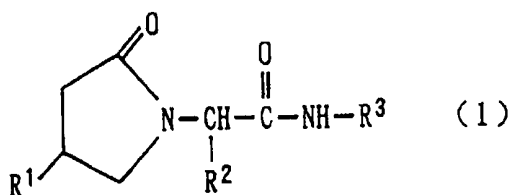
2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。



(54) Title: NEURONAL DEATH INHIBITORS

(54) 発明の名称: 神経細胞死抑制剤

WO 00/72844 A1

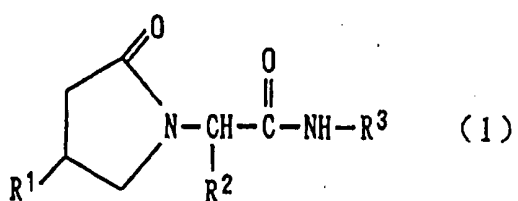


(57) Abstract: Neuronal death inhibitors containing as the active ingredient compounds of general formula (1) or acid addition salts thereof; wherein R<sup>1</sup> is hydrogen or hydroxyl; R<sup>2</sup> is hydrogen or methyl; and R<sup>3</sup> is pyridyl or phenyl having one to three substituents which may be the same or different from each other.



(57) 要約:

本発明は、一般式 (1) :



[式中、R<sup>1</sup>は水素原子又は水酸基を示し、

R<sup>2</sup>は水素原子又はメチル基を示し、

R<sup>3</sup>はピリジル基又は1～3個の同一若しくは異なる置換基を有するフェニル基を示す。]

で表される化合物又はその酸付加塩を有効成分とする神経細胞死抑制剤に関する。

## 明 細 書

## 神経細胞死抑制剤

## 技術分野

本発明は神経細胞死抑制剤、特にアポトーシスに起因する神経細胞死抑制剤、脳神経細胞死抑制剤に関する。

## 背景技術

1972年、Kerr, Wyllie and Currieらは、生理的細胞死について細胞壊死と区別して超微形態的検討（細胞膜の泡沫化、核の分解など）によりアポトーシスの概念を提唱した。その後細胞分裂を行う真核細胞では特に発達過程で正常組織の恒常性を保つ上でアポトーシスは、むしろ最も一般的な形態であることがわかってきた。

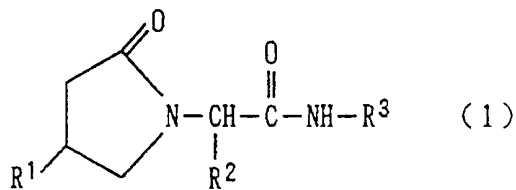
一方、細胞分裂を行わない神経細胞においては、通常の細胞と同様に考えることはできないが、アルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン舞踏病等の中枢神経変性疾患においては神経細胞のアポトーシスの増加が原因と考えられており、また虚血に基づく脳疾患及び脳出血後の脳障害等においては神経細胞死の促進現象アポトーシスが関与しているものと考えられている。従って神経細胞死の抑制剤、とりわけアポトーシスに起因する神経細胞死の抑制剤、特に脳領域の神経細胞死の抑制剤の開発が望まれると発明者らは考えた。

従って本発明の目的は、種々の神経疾患の予防及び治療に有用な神経細胞死抑制剤、特にアポトーシスに起因する神経細胞死、なかんずく脳領域の神経細胞死の抑制剤を提供することにある。

## 発明の開示

そこで、本発明者らは種々の化合物を用いて神経細胞死に対する抑制作用を検討してきたところ、下記一般式（１）で表される２－オキソ－１－ピロリジニルアルキルカルボン酸アミドが優れた神経細胞死抑制作用を有することを見出し、本発明を完成した。

すなわち、本発明は、次の一般式（１）：



〔式中、 $\text{R}^1$ は水素原子又は水酸基を示し、

$\text{R}^2$ は水素原子又はメチル基を示し、

$\text{R}^3$ はピリジル基又は１～３個の同一若しくは異なる置換基を有するフェニル基を示す。ここでフェニル基上の置換基は、

ハロゲン原子、

トリフルオロメチル基、

ニトロ基、

アセチル基、

炭素数１～４のアルキル基、

炭素数１～４のアルコキシ基、

炭素数１～７のアルキルチオ基、

式- $\text{S}-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}(\text{R}^4)(\text{R}^5)$ 〔ここで $n$ は１又は２を示し、 $\text{R}^4$ は水素原子又はメチル基を示し、 $\text{R}^5$ は水酸基又は式- $\text{N}(\text{R}^9)(\text{R}^{10})$ （ここで $\text{R}^9$ は水素原子又はメチル基を示し、 $\text{R}^{10}$ はメチル基、ベンジル基又は置換ベンジル基を示し、あるいは $\text{R}^9$ 及び $\text{R}^{10}$ が一緒になって隣接する窒素原子と共に置換ピロリジン環を形成する）で表されるアミノ基を示す。〕

で表される置換アルキルチオ基、

式-SO<sub>2</sub>R<sup>6</sup>（ここでR<sup>6</sup>は、アミノ基又は炭素数1～3のアルキル基を示す。）で表される置換スルフォニル基、及び

式-COO(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-N(R<sup>7</sup>)(R<sup>8</sup>)（ここでR<sup>7</sup>及びR<sup>8</sup>はそれぞれ独立に水素原子、メチル基又はエチル基を示す。）で表される置換アミノエトキシカルボニル基からなる群から選ばれる基である。]

で表される2-オキソ-1-ピロリジニルアルキルカルボン酸アミド又はその製薬上許容される酸付加塩を有効成分とする神経細胞死抑制剤を提供するものである。

また本発明は上記一般式(1)で表される化合物の神経細胞死抑制剤製造のための使用を提供するものである。さらに本発明は上記一般式(1)で表される化合物を投与することを特徴とする神経細胞死抑制のための処置方法を提供するものである。

#### 図面の簡単な説明

図1は、ELマウス脳におけるネフィラセタム投与1日後のDNAフラグメンテーションを示す図である。図2は、ELマウス脳におけるネフィラセタム投与5日後のDNAフラグメンテーションを示す図である。

#### 発明を実施するための最良の形態

上記一般式(1)で表される化合物は、特開昭56-2960号公報、特開昭61-280470号公報、特開平4-160496号公報、特公平3-46466号公報等に記載されている公知化合物である。そして、その作用としては、脳機能改善作用（特公昭62-5404号公報）、アルツハイマー型痴呆改善作用（特開平5-163144号公報）、脳血管性痴呆改善作用（特開平5-163145号公報）、及びELマウスでの抗ケイレン作用（中本ら、第17

回日本神経学会大会（1993年、12月7日～9日、名古屋市）プログラム抄録集第84頁、演題番号P1A20）、ミトコンドリア膜安定化作用（特願平8-260649号公報）などが知られているが、これらの化合物の神経細胞死に対する作用については全く知られていない。

上記一般式（1）中、 $R^3$ で示されるフェニル基上の置換基について説明する。ハロゲン原子としては、塩素原子、フッ素原子等が挙げられる。炭素数1～4のアルキル基としては、メチル基、エチル基、*n*-プロピル基、*sec*-ブチル基、*n*-ブチル基などの直鎖又は分枝鎖のアルキル基が挙げられる。炭素数1～4のアルコキシ基としては、メトキシ基、エトキシ基、イソプロポキシ基等の直鎖又は分枝鎖のアルコキシ基が挙げられる。炭素数1～7のアルキルチオ基としては、メチルチオ基、*n*-プロピルチオ基、イソプロピルチオ基、*sec*-ブチルチオ基、*n*-ヘプチルチオ基等の直鎖又は分枝鎖のアルキルチオ基が挙げられる。

$R^{10}$ で示される置換ベンジル基としては、ジメトキシベンジル基等の1～3個の炭素数1～4のアルコキシ基が置換したベンジル基、ジメチルベンジル基等の1～3個の炭素数1～4のアルキル基が置換したベンジル基、メチル-メトキシベンジル基等の1～3個の炭素数1～4のアルキル基及びアルコキシ基が置換したベンジル基等が挙げられる。また、 $R^9$ と $R^{10}$ が一緒になって隣接する窒素原子と共に形成する置換ピロリジン環としては、2-オキソピロリジン環、3-オキソピロリジン環、2,5-ジオキソピロリジン環等が挙げられる。

$-S-(CH_2)_n-CH(R^4)(R^5)$ で示される置換アルキルチオ基としては、2-ヒドロキシプロピルチオ基、2-(*N,N*-ジメチルアミノ)プロピルチオ基、2-(*N*-メチル-*N*-ベンジルアミノ)エチルチオ基、2-*N*-メチル-*N*-(3,4-ジメトキシベンジルアミノ)エチルチオ基、2-(2-オキソ-1-ピロリジン)エチルチオ基等が挙げられる。

$R^6$ で示される炭素数1～3のアルキル基としては、メチル基、エチル基、イ

ソプロピル基等の直鎖又は分枝鎖のアルキル基が挙げられる。 $-SO_2R^6$ で示される置換スルフォニル基としては、アミノスルフォニル基、メチルスルフォニル基等が挙げられる。

$-COO(CH_2)_2-N(R^7)(R^8)$ で示される置換アミノエトキシカルボニル基としては、2-(N,N-ジエチルアミノ)エトキシカルボニル基等が挙げられる。

$R^3$ で示されるピリジル基としては、3-ピリジル基、4-ピリジル基が挙げられる。

本発明の医薬の有効成分として好適な化合物の具体例は次の通りである。

- (1) 2-オキソ-1-ピロリジニル酢酸-2, 6-ジメチルアニリド;
- (2) 4-ヒドロキシ-2-オキソ-1-ピロリジニル酢酸-2, 6-ジエチルアニリド;
- (3) 4-ヒドロキシ-2-オキソ-1-ピロリジニル酢酸-2, 6-ジメチルアニリド;
- (4) 2-(2-オキソ-ピロリジニル)プロピオン酸-N-3-ピリジルアミド;
- (5) 2-オキソ-1-ピロリジニル酢酸-4-イソプロピルチオアニリド;
- (6) 2-(2-オキソ-1-ピロリジニル)-1-プロピオン酸-4-(2-ブチルチオ)アニリド;
- (7) 2-(2-オキソ-1-ピロリジニル)プロピオン酸-4-イソプロピルアニリド;
- (8) 2-(2-オキソ-1-ピロリジニル)プロピオン酸-2, 4-ジメチルアニリド;
- (9) 2-(2-オキソ-1-ピロリジニル)プロピオン酸-2, 4, 6-トリメチルアニリド;
- (10) 2-(2-オキソ-1-ピロリジニル)プロピオン酸-2-メトキシ-5-メチルアニリド;

- (11) 2 - (2 - オキソ - 1 - ピロリジニル) プロピオン酸 - 2, 6 - ジクロロアニリド ;
- (12) 2 - ピロリドンアセタミド ;
- (13) 1 - アニソイル - 2 - ピロリジノン ;
- (14) 4 - ヒドロキシ - 2 - オキソ - 1 - ピロリジンアセタミド。

上記化合物のほか、特公平 3 - 4 6 4 6 6 号公報の第 1 0 1 9 頁の表 3 に開示された化合物も好ましい。

上記の化合物のうち特に好適な化合物は、2 - オキソ - 1 - ピロリジニル酢酸 - 2, 6 - ジメチルアニリド [N - (2, 6 - ジメチルフェニル) - 2 - (2 - オキソ - 1 - ピロリジニル) - アセタミド、一般名ネフィラセタム] ; 2 - ピロリドンアセタミド ; 1 - アニソイル - 2 - ピロリジノン ; 及び 4 - ヒドロキシ - 2 - オキソ - 1 - ピロリジンアセタミドである。

上記化合物 (1) は、遊離形態の化合物又は製薬学的に許容される酸付加塩の形態の化合物のいずれを用いてもよい。また、その任意の水和物若しくは溶媒和物を用いることもできる。製薬学的に許容される酸付加塩としては、例えば、塩酸塩、臭化水素酸、ヨウ化水素酸塩、硫酸塩、硝酸塩、リン酸塩等の鉱酸、或いは酢酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、クエン酸塩、シュウ酸塩、コハク酸塩、酒石酸塩、リンゴ酸塩、マンデル酸塩、メタンスルホン酸塩、p - トルエンスルホン酸塩、1 0 - カンファースルホン酸塩等の有機酸塩を挙げることができる。

上記化合物 (1) が、不斉炭素を有する場合、その不斉炭素の立体配置は特に限定されず、任意の光学活性体、光学異性体の任意の混合物、又はラセミ体のいずれを用いてもよい。また、2 個以上の不斉炭素に基づくジアステレオ異性体の任意の混合物を用いてもよい。

上記化合物 (1) 及びその酸付加塩は、後記実施例に示すように、マウス脳における神経細胞死によって生ずる DNA フラグメンテーションを明確に抑制し、神経細胞死抑制剤として有用である。従って、上記化合物 (1) 又はその酸付加

塩は、神経細胞死の増加に基づく疾患、特にアポトーシスに起因する神経細胞死の増加に基づく疾患、とりわけ脳神経細胞死の増加に基づく疾患、例えばアルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン舞踏病等の中枢神経変性疾患、虚血に基づく脳疾患及び脳虚血後の脳障害等の予防及び治療薬として有用である。

本発明の医薬の投与形態は特に制限されず、経口的・非経口的に投与することができる。本発明の医薬は、有効成分である上記化合物（1）又はその塩をそのまま用いてもよいが、化合物（1）と製薬学的に許容しうる製剤用添加物とを含む医薬組成物の形態で提供されることが好ましい。製薬学的に許容しうる添加物としては、例えば賦形剤、崩壊剤、崩壊補助剤、結合剤、滑沢剤、コーティング剤、色素、希釈剤、基剤、溶解剤、溶解補助剤、等張化剤、pH調整剤、安定化剤、噴射剤及び粘着剤等を用いることができる。経口投与に適する製剤の例としては、例えば、錠剤、カプセル剤、散剤、細粒剤、顆粒剤、液剤又はシロップ剤等を挙げることができる。非経口投与に適する製剤としては、例えば、注射剤、点滴剤、坐剤、吸入剤又は貼付剤等を挙げることができる。なお、本発明の医薬には、1種又は2種以上の有効成分を配合することが可能である。

本発明の医薬の投与量は特に限定されず、治療又は予防の目的、疾患の種類、患者の年齢や症状、投与経路などの種々の条件に応じて適宜の投与量を選択することが可能である。一般的には、経口投与の場合に成人一日当たり約19mg～1,000mg程度、好ましくは、約60～900mg程度である。なお、本発明に特に好適に用いられる2-オキソ-1-ピロリジニル酢酸-2,6-ジメチルアニリド〔一般名：ネフィラセタム〕の急性毒性は2,005mg/kg（雄性マウス、経口）であり、安全性が高いことが証明されている（特開平5-163144号公報）。

## 実施例

次に実施例を挙げて本発明を詳細に説明するが、本発明はこれら実施例に何ら

限定されるものではない。

#### 実施例 1

30週齢週一回のてんかん発作誘発刺激を与え閾値の低いELマウス（EL〔s〕）、誘発刺激をあたえず観察する限りてんかん発作を起こしていないELマウス（EL〔ns〕）、コントロールとしてDDYマウス各6匹を用いた。老化の影響を除外するため各群とも40～50週齢のマウスと比較した。クライオスタットで10 $\mu$ mの切片をゼラチンコートしたスライドガラスに固定し、0.1%クエン酸ナトリウム、0.1%トリトンX-100中で4℃5分間浸透化した。DNAフラグメンテーションの検出についてはターミナルトランスフェラーゼ（TdT）を用いてDNA分解産物の3'OH末端へフルオレセインでラベルしたヌクレオチドを重合させた。光学顕微鏡で検出するため、ペルオキシダーゼ（POD）あるいはアルカリフォスファターゼ（AP）結合抗フルオレセイン抗体を反応させそれぞれ発色させた。陰性コントロールとしてTdT（-）を、陽性コントロールとしてDNAase Iで処理した試料を用いた。試験群（30週齢EL〔s〕）にはネフィラセタムを1日1回（10mg/kg）経口投与し、てんかん発作をコントロールした状態でネフィラセタム投与期間（1、3、5、7日）とDNAフラグメンテーションの発現の頻度を比較した。

その結果、陰性コントロールであるDDYマウスでは30週齢（adult）でも、40週齢（老化の影響を受けている）でもDNAフラグメンテーションは検出されなかった。一方、発作を起こしているELマウス（EL〔s〕）では、30週齢でも40週齢でも海馬及び頭頂皮質にDNAフラグメンテーションが認められた。また、発作を起こしていないELマウス（EL〔ns〕）では、30週齢でも40週齢でも、頭頂皮質においてはEL〔s〕よりも弱く、かつより狭い領域でのみDNAフラグメンテーションが認められたが、海馬においてはDNAフラグメンテーションは認められなかった。

ELマウスは局在関連性2次性全般化てんかん発作のモデルであり、組織障害

の程度は軽度であるが、焦点複合を形成する海馬、頭頂皮質でのフリーラジカルの亢進、NOの増大、最初期発現遺伝子（c-fos, zif）のてんかん原性獲得過程での部位特異的発現などが知られている。従って、海馬及び頭頂皮質におけるDNAフラグメンテーションの局在は、マウスの海馬及び頭頂皮質における神経細胞のアポトーシスであることが明らかである。

ネフィラセタムの1回投与では、海馬、頭頂皮質にDNAフラグメンテーションが認められた（図1）。

これに対し、ネフィラセタムの投与5日後には頭頂皮質に変化はなかったが、海馬でのDNAフラグメンテーションは消失した（図2）。従って、ネフィラセタムは神経細胞のアポトーシスを抑制することが判明した。

#### 産業上の利用可能性

化合物（1）又はその酸付加塩は、神経細胞死、特にアポトーシスを選択的に抑制し、神経細胞変性疾患、例えばアルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン舞踏病等、及び虚血に基づく脳疾患及び脳虚血後の脳障害の予防及び治療薬として有用である。



表される置換スルフォニル基、及び

式 $-\text{COO}(\text{CH}_2)_n-\text{N}(\text{R}^7)(\text{R}^8)$ （ここで $\text{R}^7$ 及び $\text{R}^8$ はそれぞれ独立に水素原子、メチル基又はエチル基を示す。）で表される置換アミノエトキシカルボニル基からなる群から選ばれる基である。]

で表される2-オキソ-1-ピロリジニルアルキルカルボン酸アミド又はその製薬上許容される酸付加塩を有効成分とする神経細胞死抑制剤。

2. 有効成分が、下記の化合物：

- (1) 2-オキソ-1-ピロリジニル酢酸-2, 6-ジメチルアニリド；
- (2) 4-ヒドロキシ-2-オキソ-1-ピロリジニル酢酸-2, 6-ジエチルアニリド；
- (3) 4-ヒドロキシ-2-オキソ-1-ピロリジニル酢酸-2, 6-ジメチルアニリド；
- (4) 2-(2-オキソ-ピロリジニル)プロピオン酸-N-3-ピリジルアミド；
- (5) 2-オキソ-1-ピロリジニル酢酸-4-イソプロピルチオアニリド；
- (6) 2-(2-オキソ-1-ピロリジニル)-1-プロピオン酸-4-(2-ブチルチオ)アニリド；
- (7) 2-(2-オキソ-1-ピロリジニル)プロピオン酸-4-イソプロピルアニリド；
- (8) 2-(2-オキソ-1-ピロリジニル)プロピオン酸-2, 4-ジメチルアニリド；
- (9) 2-(2-オキソ-1-ピロリジニル)プロピオン酸-2, 4, 6-トリメチルアニリド；
- (10) 2-(2-オキソ-1-ピロリジニル)プロピオン酸-2-メトキシ-5-メチルアニリド；
- (11) 2-(2-オキソ-1-ピロリジニル)プロピオン酸-2, 6-ジクロロ

アニリド；

(12) 2-ピロリドンアセタミド；

(13) 1-アニソイル-2-ピロリジノン；及び

(14) 4-ヒドロキシ-2-オキソ-1-ピロリジンアセタミド；

からなる群から選ばれる化合物である請求項1記載の神経細胞死抑制剤。

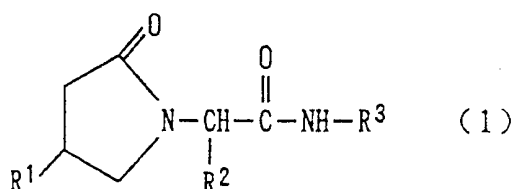
3. 有効成分が、2-オキソ-1-ピロリジニル酢酸-2, 6-ジメチルアニリド、2-ピロリドンアセタミド、1-アニソイル-2-ピロリジノン、及び4-ヒドロキシ-2-オキソ-1-ピロリジンアセタミドからなる群より選ばれる化合物である請求項1記載の神経細胞死抑制剤。

4. 有効成分が、2-オキソ-1-ピロリジニル酢酸-2, 6-ジメチルアニリドである請求項1記載の神経細胞死抑制剤。

5. 神経細胞死が、アポトーシスに起因する細胞死である請求項1記載の神経細胞死抑制剤。

6. 神経細胞が、脳神経細胞である請求項1記載の神経細胞死抑制剤。

7. 一般式(1)：



〔式中、R<sup>1</sup>は水素原子又は水酸基を示し、

R<sup>2</sup>は水素原子又はメチル基を示し、

R<sup>3</sup>はピリジル基又は1～3個の同一若しくは異なる置換基を有するフェニル基を示す。ここでフェニル基上の置換基は、

ハロゲン原子、

トリフルオロメチル基、

ニトロ基、

アセチル基、

炭素数 1～4 のアルキル基、

炭素数 1～4 のアルコキシ基、

炭素数 1～7 のアルキルチオ基、

式-S-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-CH(R<sup>4</sup>)(R<sup>5</sup>)〔ここでnは1又は2を示し、R<sup>4</sup>は水素原子又はメチル基を示し、R<sup>5</sup>は水酸基又は式-N(R<sup>9</sup>)(R<sup>10</sup>)（ここでR<sup>9</sup>は水素原子又はメチル基を示し、R<sup>10</sup>はメチル基、ベンジル基又は置換ベンジル基を示し、あるいはR<sup>9</sup>及びR<sup>10</sup>が一緒になって隣接する窒素原子と共に置換ピロリジン環を形成する）で表されるアミノ基を示す。〕

で表される置換アルキルチオ基、

式-SO<sub>2</sub>R<sup>6</sup>（ここでR<sup>6</sup>は、アミノ基又は炭素数 1～3 のアルキル基を示す。）で表される置換スルフォニル基、及び

式-COO(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-N(R<sup>7</sup>)(R<sup>8</sup>)（ここでR<sup>7</sup>及びR<sup>8</sup>はそれぞれ独立に水素原子、メチル基又はエチル基を示す。）で表される置換アミノエトキシカルボニル基からなる群から選ばれる基である。〕

で表される 2-オキソ-1-ピロリジニルアルキルカルボン酸アミド又はその製薬上許容される酸付加塩の神経細胞死抑制剤製造のための使用。

8. 一般式 (1) で表される化合物が、下記の化合物：

- (1) 2-オキソ-1-ピロリジニル酢酸-2, 6-ジメチルアニリド；
- (2) 4-ヒドロキシ-2-オキソ-1-ピロリジニル酢酸-2, 6-ジエチルアニリド；
- (3) 4-ヒドロキシ-2-オキソ-1-ピロリジニル酢酸-2, 6-ジメチルアニリド；
- (4) 2-(2-オキソ-ピロリジニル)プロピオン酸-N-3-ピリジルアミド；

- (5) 2-オキソ-1-ピロリジニル酢酸-4-イソプロピルチオアニリド；
- (6) 2-(2-オキソ-1-ピロリジニル)-1-プロピオン酸-4-(2-ブチルチオ)アニリド；
- (7) 2-(2-オキソ-1-ピロリジニル)プロピオン酸-4-イソプロピルアニリド；
- (8) 2-(2-オキソ-1-ピロリジニル)プロピオン酸-2,4-ジメチルアニリド；
- (9) 2-(2-オキソ-1-ピロリジニル)プロピオン酸-2,4,6-トリメチルアニリド；
- (10) 2-(2-オキソ-1-ピロリジニル)プロピオン酸-2-メトキシ-5-メチルアニリド；
- (11) 2-(2-オキソ-1-ピロリジニル)プロピオン酸-2,6-ジクロロアニリド；
- (12) 2-ピロリドンアセタミド；
- (13) 1-アニソイル-2-ピロリジノン；及び
- (14) 4-ヒドロキシ-2-オキソ-1-ピロリジンアセタミド；

からなる群から選ばれる化合物である請求項7記載の使用。

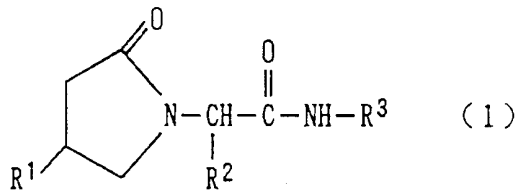
9. 一般式(1)で表される化合物が、2-オキソ-1-ピロリジニル酢酸-2,6-ジメチルアニリド、2-ピロリドンアセタミド、1-アニソイル-2-ピロリジノン、及び4-ヒドロキシ-2-オキソ-1-ピロリジンアセタミドからなる群より選ばれる化合物である請求項7記載の使用。

10. 一般式(1)で表される化合物が、2-オキソ-1-ピロリジニル酢酸-2,6-ジメチルアニリドである請求項7記載の使用。

11. 神経細胞死が、アポトーシスに起因する細胞死である請求項7記載の使用。

12. 神経細胞が、脳神経細胞である請求項7記載の使用。

13. 一般式(1) :



[式中、 $R^1$ は水素原子又は水酸基を示し、

$R^2$ は水素原子又はメチル基を示し、

$R^3$ はピリジル基又は1～3個の同一若しくは異なる置換基を有するフェニル基を示す。ここでフェニル基上の置換基は、

ハロゲン原子、

トリフルオロメチル基、

ニトロ基、

アセチル基、

炭素数1～4のアルキル基、

炭素数1～4のアルコキシ基、

炭素数1～7のアルキルチオ基、

式 $-S-(CH_2)_n-CH(R^4)(R^5)$ 〔ここで $n$ は1又は2を示し、 $R^4$ は水素原子又はメチル基を示し、 $R^5$ は水酸基又は式 $-N(R^9)(R^{10})$ （ここで $R^9$ は水素原子又はメチル基を示し、 $R^{10}$ はメチル基、ベンジル基又は置換ベンジル基を示し、あるいは $R^9$ 及び $R^{10}$ が一緒になって隣接する窒素原子と共に置換ピロリジン環を形成する）で表されるアミノ基を示す。〕

で表される置換アルキルチオ基、

式 $-SO_2R^6$ （ここで $R^6$ は、アミノ基又は炭素数1～3のアルキル基を示す。）で表される置換スルフォニル基、及び

式 $-COO(CH_2)_n-N(R^7)(R^8)$ （ここで $R^7$ 及び $R^8$ はそれぞれ独立に水素原子、メチル

基又はエチル基を示す。)で表される置換アミノエトキシカルボニル基からなる群から選ばれる基である。]

で表される2-オキソ-1-ピロリジニルアルキルカルボン酸アミド又はその製薬上許容される酸付加塩を投与することを特徴とする神経細胞死抑制のための処置方法。

14. 一般式(1)で表される化合物が、下記の化合物:

- (1) 2-オキソ-1-ピロリジニル酢酸-2, 6-ジメチルアニリド;
- (2) 4-ヒドロキシ-2-オキソ-1-ピロリジニル酢酸-2, 6-ジエチルアニリド;
- (3) 4-ヒドロキシ-2-オキソ-1-ピロリジニル酢酸-2, 6-ジメチルアニリド;
- (4) 2-(2-オキソ-ピロリジニル)プロピオン酸-N-3-ピリジルアミド;
- (5) 2-オキソ-1-ピロリジニル酢酸-4-イソプロピルチオアニリド;
- (6) 2-(2-オキソ-1-ピロリジニル)-1-プロピオン酸-4-(2-ブチルチオ)アニリド;
- (7) 2-(2-オキソ-1-ピロリジニル)プロピオン酸-4-イソプロピルアニリド;
- (8) 2-(2-オキソ-1-ピロリジニル)プロピオン酸-2, 4-ジメチルアニリド;
- (9) 2-(2-オキソ-1-ピロリジニル)プロピオン酸-2, 4, 6-トリメチルアニリド;
- (10) 2-(2-オキソ-1-ピロリジニル)プロピオン酸-2-メトキシ-5-メチルアニリド;
- (11) 2-(2-オキソ-1-ピロリジニル)プロピオン酸-2, 6-ジクロロアニリド;

(12) 2-ピロリドンアセタミド；

(13) 1-アニソイル-2-ピロリジノン；及び

(14) 4-ヒドロキシ-2-オキソ-1-ピロリジンアセタミド；

からなる群から選ばれる化合物である請求項1-3記載の方法。

15. 一般式(1)で表される化合物が、2-オキソ-1-ピロリジニル酢酸-2, 6-ジメチルアニリド、2-ピロリドンアセタミド、1-アニソイル-2-ピロリジノン、及び4-ヒドロキシ-2-オキソ-1-ピロリジンアセタミドからなる群より選ばれる化合物である請求項1-3記載の方法。

16. 一般式(1)で表される化合物が、2-オキソ-1-ピロリジニル酢酸-2, 6-ジメチルアニリドである請求項1-3記載の方法。

17. 神経細胞死が、アポトーシスに起因する細胞死である請求項1-3記載の方法。

18. 神経細胞が、脳神経細胞である請求項1-3記載の方法。

図 1

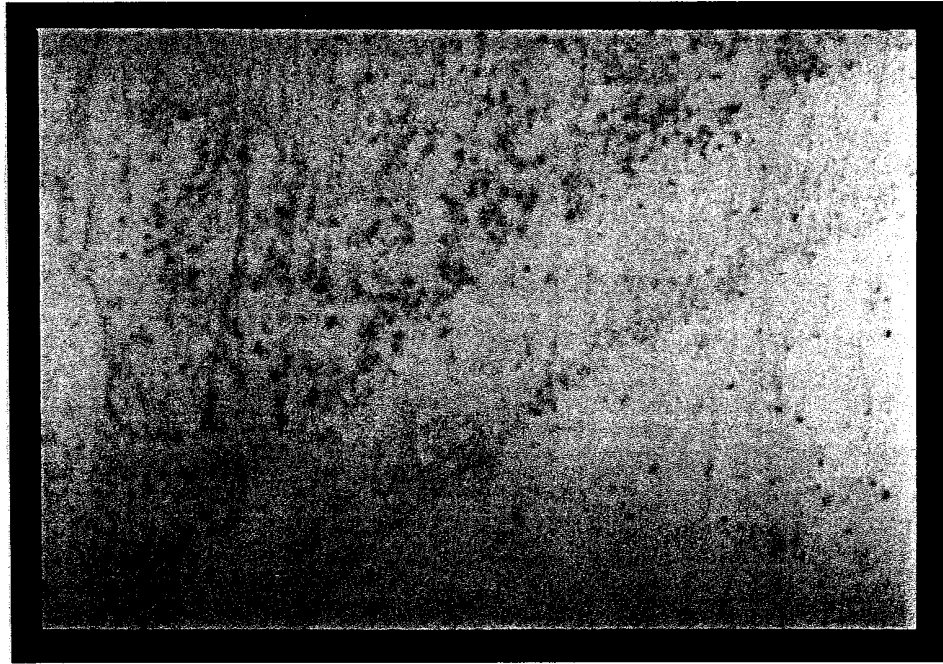
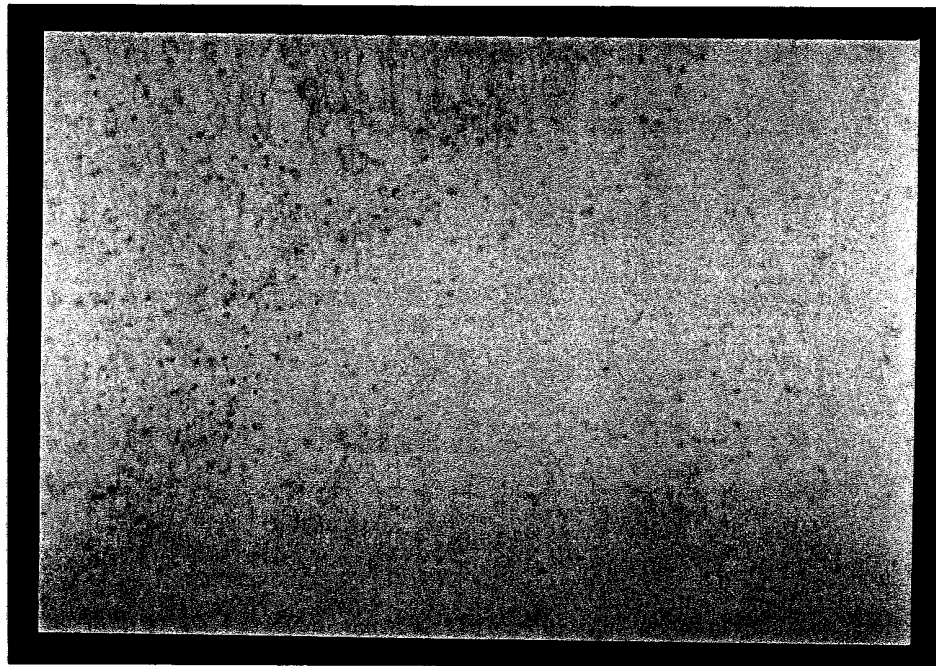


図 2



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/03484

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.<sup>7</sup> A61K31/4015, 31/4439, A61P25/28, 25/16, 43/00 //  
C07D207/27, 207/273, 401/12

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)

Int.Cl.<sup>7</sup> A61K31/4015, 31/4439, A61P25/28, 25/16, 43/00 //  
C07D207/27, 207/273, 401/12

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
REGISTRY (STN), CA (STN), CAOLD (STN), CAPLUS (STN)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO, 99/13911, A1 (Daiichi Pharmaceutical Co., Ltd.), 25 March, 1999 (25.03.99) & JP, 11-080027, A & EP, 1022029, A1 & AU, 9890035, A & NO, 2000001196, A	1-12
X	EP, 515866, A1 (DAIICHI PHARMACEUTICAL CO., LTD.), 02 December, 1992 (02.12.92) & JP, 05-163144, A & JP, 05-163145, A & US, 5886023, A & AU, 9215954, A & NO, 9201724, A & CA, 2067614, A & ZA, 9203134, A & CS, 9201306, A & TW, 199096, A & RU, 2070042, C & SG, 49650, A & SK, 279285, A & IL, 101738, A & MX, 188845, B	1-12
X	Sugawara, T. et al., "Single dose toxicity study of the new cognition-enhancing agent nefiracetam in mice, rats, and dogs", <i>Arzneim. -Forsch.</i> (1994), 44(2A), 211-13	1-12

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

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

Date of the actual completion of the international search 10 August, 2000 (10.08.00)	Date of mailing of the international search report 22 August, 2000 (22.08.00)
-----------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/03484

## Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 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.: 13-18  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
  
Claims 13 to 18 pertain to methods for treatment of the human body by surgery or therapy and thus relate to subject matters which this International Searching Authority is not required to search.
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 II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

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

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

- Remark on Protest**
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- 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 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> A61K31/4015, 31/4439, A61P25/28, 25/16, 43/00 //  
C07D207/27, 207/273, 401/12

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<sup>7</sup> A61K31/4015, 31/4439, A61P25/28, 25/16, 43/00 //  
C07D207/27, 207/273, 401/12

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

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)

REGISTRY (STN), CA (STN), CAOLD (STN), CAPLUS (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	WO, 99/13911, A1 (第一製薬株式会社) 25. 3月. 1999 (25. 03. 99) &JP, 11-080027, A &EP, 1022029, A1 &AU, 9890035, A &NO, 2000001196, A	1-12
X	EP, 515866, A1 (DAIICHI PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 2. 12. 1992 (02. 12. 92) &JP, 05-163144, A &JP, 05-163145, A &US, 5886023, A &AU, 9215954, A &NO, 9201724, A &CA, 2067614, A &ZA, 9203134, A &CS, 9201306, A &TW, 199096, A &RU, 2070042, C &SG, 49650, A &SK, 279285, A &IL, 101738, A MX, 188845, B	1-12

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

10. 08. 00

国際調査報告の発送日

22.08.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)  
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)

榎本 佳予子 印

4P 9638

電話番号 03-3581-1101 内線 3492

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	Sugawara, T. et al., " Single dose toxicity study of the new cognition-enhancing agent nefiracetam in mice, rats, and dogs", <i>Arzneim.-Forsch.</i> (1994), 44(2A), 211-13	1-12

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

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

1.  請求の範囲 13-18 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、  
請求の範囲13-18は、手術又は治療による人体の処置方法に関するものであり、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。
2.  請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3.  請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

## 第II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の国際調査機関は認めた。

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

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- 追加調査手数料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なかった。