

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2014-122171

(P2014-122171A)

(43) 公開日 平成26年7月3日(2014.7.3)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07D 295/04 (2006.01)	C07D 295/04 C S P A	4 C O 8 6
A61P 43/00 (2006.01)	A61P 43/00 I O 5	
A61P 9/10 (2006.01)	A61P 9/10 I O 1	
A61P 3/10 (2006.01)	A61P 9/10	
A61P 35/00 (2006.01)	A61P 3/10	

審査請求 未請求 請求項の数 11 O L (全 20 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2012-278397 (P2012-278397)	(71) 出願人	899000057 学校法人日本大学 東京都千代田区九段南四丁目8番24号
(22) 出願日	平成24年12月20日 (2012.12.20)	(74) 代理人	110000084 特許業務法人アルガ特許事務所
		(74) 代理人	100077562 弁理士 高野 登志雄
		(74) 代理人	100096736 弁理士 中嶋 俊夫
		(74) 代理人	100117156 弁理士 村田 正樹
		(74) 代理人	100111028 弁理士 山本 博人

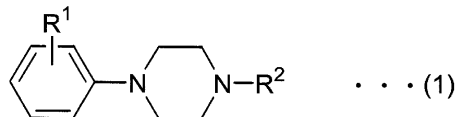
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 アポトーシス抑制剤

(57) 【要約】

【課題】 新たなアポトーシス抑制剤及び酸化ストレスに基づく疾患の治療薬の提供。

【解決手段】 次の一般式(1)



(式中、 R^1 は水素原子、炭素数1~6のアルキル基又は炭素数1~6のアルコキシ基を示し、 R^2 はレチノイル基又は $-(\text{CO})_m(\text{CH}_2)_n\text{-Ar-R}^3$ を示し、ここでArは2価の炭素数6~14の芳香族炭化水素基を示し、 R^3 はAr上の置換基であって、水素原子、炭素数1~6のアルキル基、炭素数1~6のアルコキシ基、フェニル基及びフェニルアゾ基から選ばれた1~3個の置換基を示し、mは0又は1の数を示し、nは0~6の数を示し、mとnが同時に0になることはない。)

で表されるピペラジン化合物又はその塩を有効成分とするアポトーシス抑制剤。

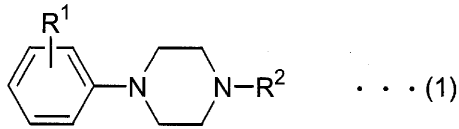
【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

次の一般式 (1)

【化 1】



(式中、 R^1 は水素原子、炭素数 1 ~ 6 のアルキル基又は炭素数 1 ~ 6 のアルコキシ基を示し、 R^2 はレチノイル基又は $-(CO)_m(CH_2)_n-Ar-R^3$ を示し、ここで Ar は 2 価の炭素数 6 ~ 14 の芳香族炭化水素基を示し、 R^3 は Ar 上の置換基であって、水素原子、炭素数 1 ~ 6 のアルキル基、炭素数 1 ~ 6 のアルコキシ基、フェニル基及びフェニルアゾ基から選ばれる 1 ~ 3 個の置換基を示し、 m は 0 又は 1 の数を示し、 n は 0 ~ 6 の数を示し、 m と n が同時に 0 になることはない。)

10

で表されるピペラジン化合物又はその塩を有効成分とするアポトーシス抑制剤。

【請求項 2】

R^2 が、 $-(CO)_m(CH_2)_n-Ar-R^3$ で示される基である請求項 1 記載のアポトーシス抑制剤。

【請求項 3】

Ar がフェニレン基、ナフチレン基又はアントラセニレン基である請求項 1 又は 2 記載のアポトーシス抑制剤。

20

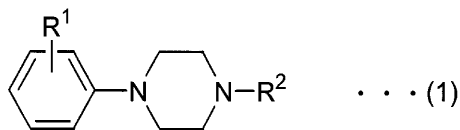
【請求項 4】

アポトーシスが、酸化ストレス誘発性アポトーシスである請求項 1 ~ 3 のいずれかに記載のアポトーシス抑制剤。

【請求項 5】

次の一般式 (1)

【化 2】



30

(式中、 R^1 は水素原子、炭素数 1 ~ 6 のアルキル基又は炭素数 1 ~ 6 のアルコキシ基を示し、 R^2 はレチノイル基又は $-(CO)_m(CH_2)_n-Ar-R^3$ を示し、ここで Ar は 2 価の炭素数 6 ~ 14 の芳香族炭化水素基を示し、 R^3 は Ar 上の置換基であって、水素原子、炭素数 1 ~ 6 のアルキル基、炭素数 1 ~ 6 のアルコキシ基、フェニル基及びフェニルアゾ基から選ばれる 1 ~ 3 個の置換基を示し、 m は 0 又は 1 の数を示し、 n は 0 ~ 6 の数を示し、 m と n が同時に 0 になることはない。)

で表されるピペラジン化合物又はその塩を有効成分とする酸化ストレス誘発性アポトーシスに起因する疾患の予防治療薬。

40

【請求項 6】

R^2 が、 $-(CO)_m(CH_2)_n-Ar-R^3$ で示される基である請求項 5 記載の酸化ストレス誘発性アポトーシスに起因する疾患の予防治療薬。

【請求項 7】

Ar がフェニレン基、ナフチレン基又はアントラセニレン基である請求項 5 又は 6 記載の酸化ストレス誘発性アポトーシスに起因する疾患の予防治療薬。

【請求項 8】

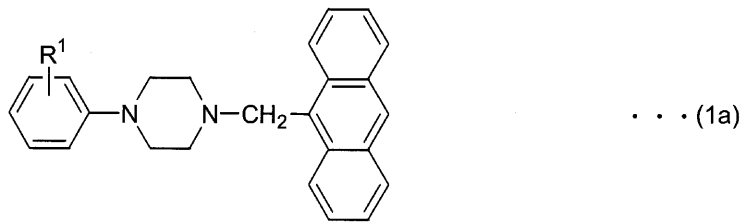
酸化ストレス誘発性アポトーシスに起因する疾患が、動脈硬化症、心筋梗塞、糖尿病、癌及び脳神経疾患から選ばれる疾患である請求項 5 ~ 7 のいずれかに記載の酸化ストレス誘発性アポトーシスに起因する疾患の予防治療薬。

50

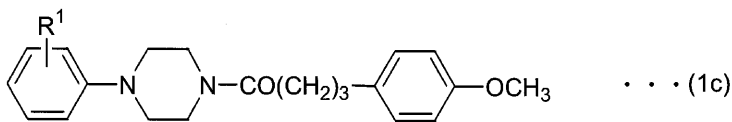
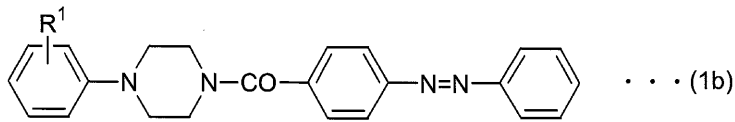
【請求項 9】

次の式(1a)～(1d)で表される化合物又はその塩。

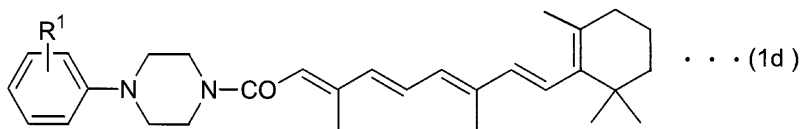
【化 3】



10



20



(式中、R¹は水素原子、炭素数1～6のアルキル基又は炭素数1～6のアルコキシ基を示す)

【請求項 10】

R¹が水素原子、炭素数1～6のアルコキシ基である請求項9記載の化合物又はその塩

。

【請求項 11】

請求項9又は10に記載の化合物又はその塩を含有する医薬。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、酸化ストレスによって誘発されるアポトーシスを抑制する医薬に関する。

【背景技術】

【0002】

活性酸素は、体内で脂質、蛋白質、糖、核酸等を酸化変性させ、細胞機能を障害することが知られている。体内で活性酸素が過剰に生成すると、体内の酸化ストレスが増加し、動脈硬化、心筋梗塞、糖尿病、癌などの疾患が発症すると考えられている。また、脳組織における神経細胞死は、活性化ミクログリアから産生される過剰量のNOによっても生じると考えられている。

40

【0003】

従って、体内の酸化ストレスに起因する体内の細胞死(アポトーシス)は、種々の疾患の発生、進展に深く関与しており、当該アポトーシスを抑制する成分が求められている。このような体内の活性酸素の過剰な生成を抑制する医薬としては、フリーラジカルを消去することによる脳保護剤であるエダラボンが開発され、エダラボンは抗脳浮腫作用、脳神経保護作用を有する脳保護剤として用いられている(非特許文献1)。

【先行技術文献】

【非特許文献】

50

【 0 0 0 4 】

【 非特許文献 1 】 YAKUGAKU ZASSHI 124(3)99-111(2004)

【 発明の概要 】

【 発明が解決しようとする課題 】

【 0 0 0 5 】

しかしながら、エダラボンのアポトーシス抑制作用は十分なものではなく、より優れたアポトーシス抑制剤の開発が望まれている。

従って、本発明の課題は、新たなアポトーシス抑制剤及び酸化ストレスに基づく疾患の治療薬を提供することにある。

【 課題を解決するための手段 】

10

【 0 0 0 6 】

そこで、本発明者は、種々の化合物を合成し、酸化ストレス誘発性のアポトーシス抑制作用を検討してきたところ、下記一般式(1)で表されるピペラジン化合物がエダラボンよりも強力なアポトーシス抑制作用を有し、酸化ストレス誘発性アポトーシスが起因する疾患の予防及び治療薬として有用であることを見出し、本発明を完成した。

【 0 0 0 7 】

すなわち、本発明は次の[1]～[11]を提供するものである。

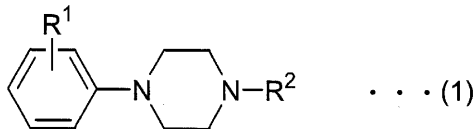
【 0 0 0 8 】

[1] 次の一般式(1)

【 0 0 0 9 】

20

【 化 1 】



【 0 0 1 0 】

(式中、 R^1 は水素原子、炭素数1～6のアルキル基又は炭素数1～6のアルコキシ基を示し、 R^2 はレチノイル基又は $-(CO)_m(CH_2)_n-Ar-R^3$ を示し、ここでArは2価の炭素数6～14の芳香族炭化水素基を示し、 R^3 はAr上の置換基であって、水素原子、炭素数1～6のアルキル基、炭素数1～6のアルコキシ基、フェニル基及びフェニルアゾ基から選ばれる1～3個の置換基を示し、mは0又は1の数を示し、nは0～6の数を示し、mとnが同時に0になることはない。)

30

で表されるピペラジン化合物又はその塩を有効成分とするアポトーシス抑制剤。

[2] R^2 が、 $-(CO)_m(CH_2)_n-Ar-R^3$ で示される基である[1]記載のアポトーシス抑制剤

[3] Arがフェニレン基、ナフチレン基又はアントラセニレン基である[1]又は[2]記載のアポトーシス抑制剤。

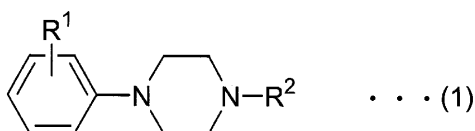
[4] アポトーシスが、酸化ストレス誘発性アポトーシスである[1]～[3]のいずれかに記載のアポトーシス抑制剤。

40

[5] 次の一般式(1)

【 0 0 1 1 】

【 化 2 】



【 0 0 1 2 】

(式中、 R^1 は水素原子、炭素数1～6のアルキル基又は炭素数1～6のアルコキシ基を

50

示し、 R^2 はレチノイル基又は $-(CO)_m(CH_2)_n-Ar-R^3$ を示し、ここでArは2価の炭素数6～14の芳香族炭化水素基を示し、 R^3 はAr上の置換基であって、水素原子、炭素数1～6のアルキル基、炭素数1～6のアルコキシ基、フェニル基及びフェニルアゾ基から選ばれる1～3個の置換基を示し、mは0又は1の数を示し、nは0～6の数を示し、mとnが同時に0になることはない。))

で表されるピペラジン化合物又はその塩を有効成分とする酸化ストレス誘発性アポトーシスに起因する疾患の予防治療薬。

[6] R^2 が、 $-(CO)_m(CH_2)_n-Ar-R^3$ で示される基である [5] 記載の酸化ストレス誘発性アポトーシスに起因する疾患の予防治療薬。

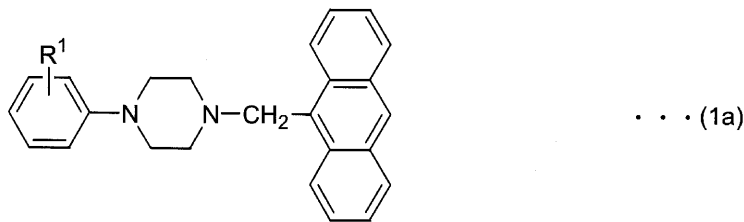
[7] Arがフェニレン基、ナフチレン基又はアントラセニレン基である [5] 又は [6] 記載の酸化ストレス誘発性アポトーシスに起因する疾患の予防治療薬。

[8] 酸化ストレス誘発性アポトーシスに起因する疾患が、動脈硬化症、心筋梗塞、糖尿病、癌及び脳神経疾患から選ばれる疾患である [5] ～ [7] のいずれかに記載の酸化ストレス誘発性アポトーシスに起因する疾患の予防治療薬。

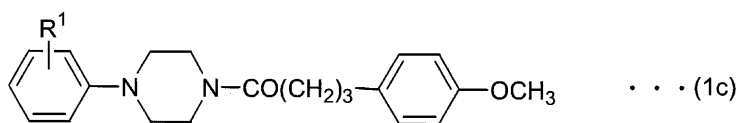
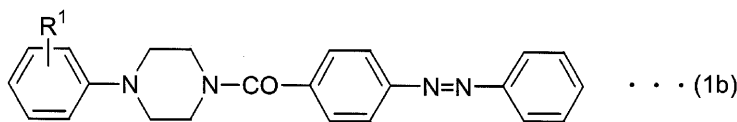
[9] 次の式 (1 a) ～ (1 d) で表される化合物又はその塩。

【 0 0 1 3 】

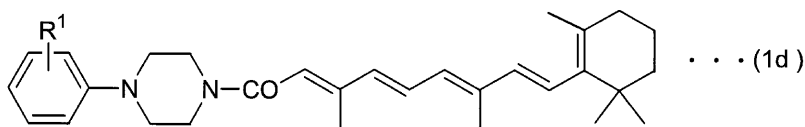
【 化 3 】



20



30



【 0 0 1 4 】

(式中、 R^1 は前記と同じ)

[10] R^1 が水素原子又は炭素数1～6のアルコキシ基である [9] 記載の化合物又はその塩。

[11] [9] 又は [10] に記載の化合物又はその塩を含有する医薬。

【 発明の効果 】

【 0 0 1 5 】

一般式 (1) で表される化合物又はその塩は、酸化ストレス誘発性アポトーシスを強く抑制することから、当該アポトーシスに起因する種々の疾患、例えば動脈硬化症、心筋梗塞、糖尿病、癌、脳神経疾患等の脳疾患の予防治療薬として有用である。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 1 6 】

40

50

【図 1】エダラボンの低酸素 - 再酸素化 (H₂O₂) 後の LDH 遊離量に及ぼす作用を示す。

【図 2】化合物 (1) の低酸素 - 再酸素化 (H₂O₂) 後の LDH 遊離量に及ぼす作用を示す。

【図 3】化合物 (2) の低酸素 - 再酸素化 (H₂O₂) 後の LDH 遊離量に及ぼす作用を示す。

【図 4】化合物 (3) の低酸素 - 再酸素化 (H₂O₂) 後の LDH 遊離量に及ぼす作用を示す。

【図 5】化合物 (4) の低酸素 - 再酸素化 (H₂O₂) 後の LDH 遊離量に及ぼす作用を示す。

10

【図 6】化合物 (5) の低酸素 - 再酸素化 (H₂O₂) 後の LDH 遊離量に及ぼす作用を示す。

【図 7】化合物 (6) の低酸素 - 再酸素化 (H₂O₂) 後の LDH 遊離量に及ぼす作用を示す。

【図 8】化合物 (7) の低酸素 - 再酸素化 (H₂O₂) 後の LDH 遊離量に及ぼす作用を示す。

【図 9】化合物 (8) の低酸素 - 再酸素化 (H₂O₂) 後の LDH 遊離量に及ぼす作用を示す。

【図 10】化合物 (9) の低酸素 - 再酸素化 (H₂O₂) 後の LDH 遊離量に及ぼす作用を示す。

20

【発明を実施するための形態】

【0017】

本発明のアポトーシス抑制剤の有効成分は、一般式 (1) で表されるピペラジン化合物又はその塩である。

【0018】

一般式 (1) 中、R¹は水素原子、炭素数 1 ~ 6 のアルキル基又は炭素数 1 ~ 6 のアルコキシ基を示す。ここで、炭素数 1 ~ 6 のアルキル基としては、直鎖でも分岐鎖でもよく、例えばメチル基、エチル基、n-プロピル基、イソプロピル基、n-ブチル基、イソブチル基、tert-ブチル基、n-ペンチル基、n-ヘキシル基等が挙げられる。このうち、炭素数 1 ~ 4 のアルキル基がより好ましく、メチル基、エチル基がさらに好ましい。

30

【0019】

炭素数 1 ~ 6 のアルコキシ基としては、直鎖でも分岐鎖でもよく、例えばメトキシ基、エトキシ基、n-プロピルオキシ基、イソプロピルオキシ基、n-ブチルオキシ基、イソブチルオキシ基、tert-ブチルオキシ基、n-ペンチルオキシ基、n-ヘキシルオキシ基等が挙げられる。このうち、炭素数 1 ~ 4 のアルコキシ基がより好ましく、メトキシ基、エトキシ基がさらに好ましく、メトキシ基が特に好ましい。

【0020】

R¹としては水素原子、炭素数 1 ~ 6 のアルコキシ基がより好ましく、炭素数 1 ~ 6 のアルコキシ基がさらに好ましく、メトキシ基が特に好ましい。また、R¹の置換位置としては、ピペリジニル基の置換位置を 1 位としたとき、2 位又は 4 位が好ましく、特に 2 位が好ましい。R¹としては 2-C₁₋₆-アルコキシ基が好ましく、特に 2-メトキシ基が好ましい。

40

【0021】

R²はレチノイル基又は-(CO)_m(CH₂)_n-Ar-R³を示す。ここで Ar は 2 価の炭素数 6 ~ 14 の芳香族炭化水素基を示す。R³は Ar 上の置換基であって、水素原子、炭素数 1 ~ 6 のアルキル基、炭素数 1 ~ 6 のアルコキシ基、フェニル基及びフェニルアゾ基から選ばれる 1 ~ 3 個の置換基を示す。m は 0 又は 1 の数を示し、n は 0 ~ 6 の数を示し、m と n が同時に 0 になることはない。

【0022】

Ar で示される 2 価の炭素数 6 ~ 14 の芳香族炭化水素基としては、フェニレン基、イ

50

ンデニレン基、ナフチレン基、フェナントレニレン基、アントラセニレン基が挙げられ、フェニレン基、ナフチレン基、アントラセニレン基がより好ましい。

【0023】

R^3 で示される炭素数1～6のアルキル基としては、直鎖でも分岐鎖でもよく、例えばメチル基、エチル基、*n*-プロピル基、イソプロピル基、*n*-ブチル基、イソブチル基、*tert*-ブチル基、*n*-ペンチル基、*n*-ヘキシル基等が挙げられる。このうち、炭素数1～4のアルキル基がより好ましく、メチル基、エチル基がさらに好ましい。

【0024】

R^3 で示される炭素数1～6のアルコキシ基としては、直鎖でも分岐鎖でもよく、例えば、メトキシ基、エトキシ基、*n*-プロピルオキシ基、イソプロピルオキシ基、*n*-ブチルオキシ基、イソブチルオキシ基、*tert*-ブチルオキシ基、*n*-ペンチルオキシ基、*n*-ヘキシルオキシ基等が挙げられる。このうち、炭素数1～4のアルコキシ基がより好ましく、メトキシ基、エトキシ基がさらに好ましく、メトキシ基が特に好ましい。

10

【0025】

R^3 で示される置換基としては水素原子、1～3個の炭素数1～6のアルコキシ基、フェニル基、フェニルアゾ基がより好ましく、水素原子、1～3個のメトキシ基、フェニル基、フェニルアゾ基が特に好ましい。

【0026】

*m*は0又は1の数を示し、*n*は0～6の数であるが、*m*は0又は1が好ましく、*n*は0～4がより好ましい。 $-(CO)_m-(CH_2)_n-$ の例としては、 $-CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2-$ 、 $-(CH_2)_3-$ 、 $-(CH_2)_4-$ 、 $-CO-$ 、 $-COCH_2-$ 、 $-COCH_2CH_2-$ が挙げられる。

20

【0027】

一般式(1)においては、 R^1 が水素原子又は炭素数1～6のアルコキシ基であり； R^2 がレチノイル基又は $-(CO)_m(CH_2)_n-Ar-R^3$ であって、*Ar*がフェニレン基、ナフチレン基又はアントラセニレン基であり、 R^3 が水素原子、1～3個の炭素数1～6のアルコキシ基、フェニル基又はフェニルアゾ基であり、*m*が0又は1であって、*n*が0～4であり、(*m*と*n*が同時に0になることはない)のが好ましい。

【0028】

一般式(1)においては、 R^1 が水素原子又は炭素数1～6のアルコキシ基であり； R^2 が $-(CO)_m(CH_2)_n-Ar-R^3$ であって、*Ar*がフェニレン基、ナフチレン基又はアントラセニレン基であり、 R^3 が水素原子、1～3個の炭素数1～6のアルコキシ基、フェニル基又はフェニルアゾ基であり、 $-(CO)_m-(CH_2)_n-$ が $-CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2-$ 、 $-(CH_2)_3-$ 、 $-(CH_2)_4-$ 、 $-CO-$ 、 $-COCH_2-$ 又は $-COCH_2CH_2-$ であるのが好ましい。

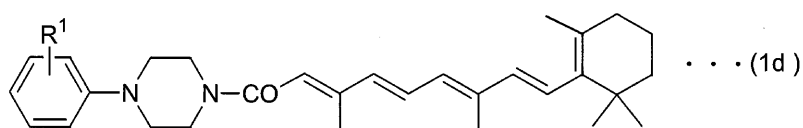
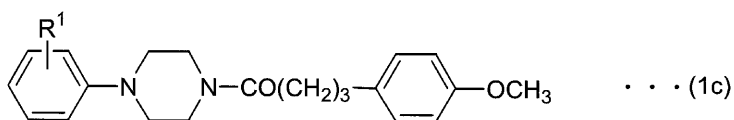
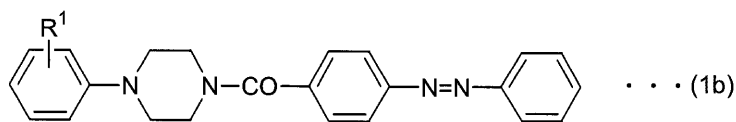
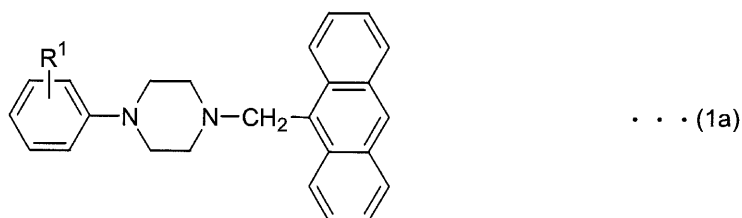
30

【0029】

一般式(1)で表される化合物又はその塩中、下記(1a)～(1d)の化合物又はその塩は、新規化合物である。

【0030】

【化4】



10

20

【0031】

(式中、R¹は前記と同じ)

【0032】

一般式(1)の化合物の塩としては、酸付加塩が挙げられ、塩酸塩、硫酸塩、硝酸塩等の無機酸塩、酢酸塩等の有機酸塩が好ましい。

また、一般式(1)の化合物には、置換基の種類により光学異性体が存在することがあり、本発明にはそれらの光学活性体及び混合物のいずれも含まれる。

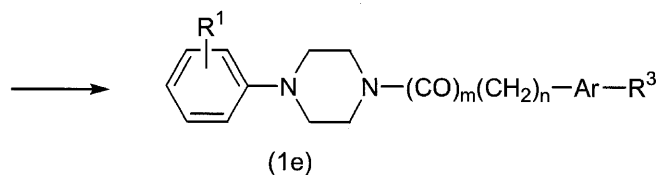
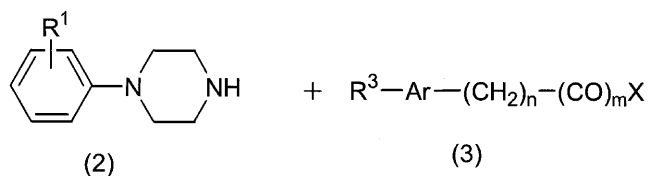
【0033】

一般式(1)の化合物は、例えば次の反応式に示す方法により製造することができる。

【0034】

【化5】

(方法1)



40

【0035】

(式中、Xはハロゲン原子を示し、R¹、R³、Ar、m及びnは前記と同じ)

【0036】

すなわち、式(2)のフェニルピペラジン類は式(3)のハロゲン化物を反応させるこ

50

とにより、式(1e)で表される化合物が得られる。

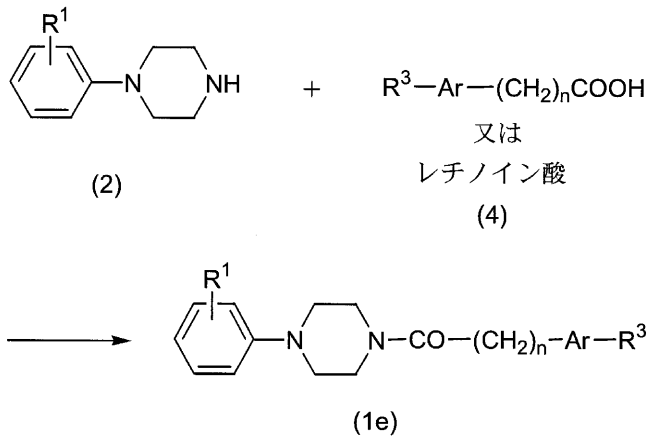
【0037】

この(方法1)の反応は、ジメチルホルムアミド、ジメチルアセトアミド等の極性溶媒中0~80の温度で5分~5時間、式(2)の化合物と式(3)の化合物を反応させることにより容易に行うことができる。

【0038】

【化6】

(方法2)



10

20

【0039】

(式中、R¹、R³、Ar、m及びnは前記と同じ)

【0040】

すなわち、式(2)のフェニルピペラジン類と式(4)のカルボン酸を縮合剤の存在下に反応させることにより式(1e)で表される化合物が得られる。

【0041】

この(方法2)の反応は、縮合剤の存在下、ジクロロメタン、クロロホルム等のハロゲン化アルキル、ジメチルホルムアミド、ジメチルアセトアミド等の極性溶媒中0~80の温度で5分~5時間、式(2)の化合物と式(4)の化合物を反応させることにより行うことができる。縮合剤としては、ジシクロヘキシルカルボジイミド、ジイソプロピルカルボジイミド、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩等のカルボジイミドを用いるのが好ましい。

30

【0042】

一般式(1)の化合物又はその塩は、後記実施例に示すように、酸化ストレス誘発性細胞死である低酸素-再酸素化誘発細胞死に対し強い抑制作用を示した。その作用は、脳保護剤として市販されているエダラボンよりも強力であった。

従って、一般式(1)の化合物又はその塩はアポトーシス抑制剤として有用であり、かつ、酸化ストレス誘発性アポトーシスに起因する種々の疾患、例えば、動脈硬化症、心筋梗塞、癌、アルツハイマー症、血液再灌流障害(脳梗塞再灌流障害等)、皮膚血管炎等の予防治療薬として有用である。

40

【0043】

医薬品、医薬部外品として使用する場合、一般式(1)の化合物又はその塩は、任意の投与形態で投与することができる。投与形態としては、例えば、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、糖衣錠、丸剤、細粒剤、散剤、粉剤、徐放性製剤、懸濁液、エマルジョン剤、シロップ剤、液剤及びエリキシル剤等の経口剤；静脈内注射用、筋肉内注射用、皮下注射用若しくは点滴注射用等の注射剤、塗布剤若しくは貼付剤等の外用剤、坐剤、輸液、経皮、経粘膜、経鼻、吸入及びポース等の非経口剤が挙げられる。

【0044】

50

また、医薬品又は医薬部外品として使用する場合の製剤は、常法によって製造でき、一般式(1)の化合物又はその塩を単独で使用してもよく、薬学的に許容される担体と組み合わせて使用してもよい。当該薬学的に許容される担体としては、例えば、賦形剤、結合剤、崩壊剤、界面活性剤、滑沢剤、流動性促進剤、矯味剤、着色剤、香料、希釈剤、殺菌剤、浸透圧調整剤、pH調整剤、乳化剤、防腐剤、安定化剤、吸収助剤、酸化防止剤、紫外線吸収剤、保湿剤、増粘剤、光沢剤、活性増強剤、抗炎症剤、殺菌剤、等張化剤、無痛化剤、矯味剤、矯臭剤等が挙げられる。

【0045】

結合剤としては、例えば、デンプン、デキストリン、アラビアゴム末、ゼラチン、ヒドロキシプロピルスターチ、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ヒドロキシプロピルセルロース、結晶セルロース、エチルセルロース、ポリビニルピロリドン、マクロゴールが挙げられる。

10

【0046】

崩壊剤としては、例えば、デンプン、ヒドロキシプロピルスターチ、カルボキシメチルセルロースナトリウム、カルボキシメチルセルロースカルシウム、カルボキシメチルセルロース、低置換ヒドロキシプロピルセルロースが挙げられる。

【0047】

界面活性剤としては、例えば、ラウリル硫酸ナトリウム、大豆レシチン、シヨ糖脂肪酸エステル、ポリソルベ-ト80が挙げられる。

滑沢剤としては、例えば、タルク、ロウ類、水素添加植物油、シヨ糖脂肪酸エステル、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸アルミニウム、ポリエチレングリコールが挙げられる。

20

流動性促進剤としては、例えば、軽質無水ケイ酸、乾燥水酸化アルミニウムゲル、合成ケイ酸アルミニウム、ケイ酸マグネシウムが挙げられる。

【0048】

希釈剤としては、例えば、注射用蒸留水、生理食塩水、ブドウ糖水溶液、オリブ油、ゴマ油、ラッカセイ油、ダイズ油、トウモロコシ油、プロピレングリコール、ポリエチレングリコールが挙げられる。

【0049】

また、剤形が経口剤の場合の製造法の好適な具体例としては、デンプン、乳糖、白糖、マンニット、カルボキシメチルセルロース、コーンスターチ、無機塩類等を用いて常法に従って製造する方法が挙げられる。剤形が注射剤の場合の製造法の好適な具体例としては、希釈剤を組み合わせ、殺菌剤、防腐剤、安定化剤を加え、バイアル等に充填後冷凍し、通常の凍結乾燥技術により水分を除去し、使用直前に凍結乾燥物から液剤を再調製する方法が挙げられる。

30

【0050】

上記製剤中の一般式(1)の化合物又はその塩の含有量は、0.1~100質量%とするのが好ましい。

また、経口剤として使用する場合、患者の年齢、体重、疾患の程度により異なるが、成人1人当たりの1日の投与量は、一般式(1)の化合物又はその塩として、例えば1~500mgとすればよく、1日数回に分けての服用が適当である。

40

また、非経口剤として使用する場合、患者の年齢、体重、疾患の程度により異なるが、成人1人当たりの1日の投与量は、一般式(1)の化合物又はその塩として、例えば1~100mgとすればよい。

【実施例】

【0051】

次に実施例を挙げて、本発明をさらに詳細に説明するが、本発明はこれら実施例に何ら限定されるものではない。

【0052】

実施例1

50

(E) - [4 - (2 - メトキシフェニル) ピペラジン - 1 - イル] [4 - (フェニルジアゼニル) フェニル] メタノン (化合物 1)

1 - (2 - メトキシフェニル) ピペラジン (0 . 8 3 g , 4 . 3 m m o l) を脱水 DMF (2 5 m L) に溶解し、4 - フェニルアゾベンゾイルクロリド (1 . 0 5 g , 4 . 3 m m o l) を加え、室温にて 1 5 分間攪拌した。反応液をジエチルエーテルと飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で 2 回分液し、得られた有機層を飽和食塩水で洗浄した。有機層に n - ヘキサンを加え、一晚放置した。結晶を吸引ろ過により回収し、化合物 1 を得た (橙色針状晶 0 . 8 0 g , 収率 4 7 %) 。

mp 131-132 (Et₂O/n-hexane)

¹H NMR 3.03 (2H, s), 3.17 (2H, s), 3.65 (2H, s), 3.88 (3H, s), 4.01 (2H, s), 6.90 (1H, d, J = 8.6 Hz), 6.93-6.95 (2H, m), 7.03-7.06 (1H, m), 7.50-7.56 (1H, m), 7.53 (2H, d, J = 7.5 Hz), 7.61 (2H, d, J = 8.8 Hz), 7.94 (2H, d, J = 6.8 Hz), 7.97 (2H, d, J = 8.3 Hz).

LRMS (EI) m/z 400 (M⁺).

HRMS (EI) calcd for C₂₄H₂₄N₄O₂ (M⁺) 400.1899, found 400.1896.

【 0 0 5 3 】

実施例 2

4 - (4 - メトキシフェニル) - 1 - [4 - (2 - メトキシフェニル) ピペラジン - 1 - イル] ブタン - 1 - オン (化合物 2)

1 - (2 - メトキシフェニル) ピペラジン (2 . 0 0 g , 1 0 . 4 m m o l) および 4 - (4 - メトキシフェニル) 酪酸 (2 . 0 2 g , 1 0 . 4 m m o l) を脱水 DMF (2 5 m L) に溶解し、1 - エチル - 3 - (3 - ジメチルアミノプロピル) カルボジイミド塩酸塩 (=WSC) (2 . 1 1 g , 1 1 . 0 m m o l) を加え、室温で 1 5 分間攪拌した。反応液をジエチルエーテルと飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で 2 回分液し、得られた有機層を飽和食塩水で洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで脱水乾燥し、減圧下にて溶媒を留去した。得られた固体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶出溶媒 : クロロホルム / メタノール = 2 0 : 1) にて精製し、化合物 2 を得た (淡褐色針状晶 1 . 1 0 g , 収率 2 9 %) 。

¹H NMR 1.97 (2H, quint, J = 7.5 Hz), 2.36 (2H, t, J = 7.8 Hz), 2.64 (2H, t, J = 7.4 Hz), 3.01 (4H, t, J = 4.9 Hz), 3.57 (2H, t, J = 4.9 Hz), 3.79 (3H, s), 3.80 (2H, t, J = 4.6 Hz), 3.88 (3H, s), 6.83 (2H, d, J = 8.9 Hz), 6.88-6.91 (2H, m), 7.11 (2H, d, J = 8.6 Hz).

LRMS (EI) m/z 368 (M⁺).

HRMS (EI) calcd for C₂₂H₂₈N₂O₃ (M⁺) 368.2100, found 368.2101.

【 0 0 5 4 】

実施例 3

(2 E , 4 E , 6 E , 8 E) - 1 - [4 - (2 - メトキシフェニル) ピペラジン - 1 - イル] - 3 , 7 - ジメチル - 9 - (2 , 6 , 6 - トリメチルシクロヘキサン - 1 - エニル) ノナ - 2 , 4 , 6 , 8 - テトラエン - 1 - オン (化合物 3)

1 - (2 - メトキシフェニル) ピペラジン (0 . 3 0 g , 1 . 6 6 m m o l) および レチノイン酸 (0 . 5 0 g , 1 . 6 6 m m o l) を CH₂Cl₂ (2 5 m L) に溶解し、1 - エチル - 3 - (3 - ジメチルアミノプロピル) カルボジイミド塩酸塩 (=WSC) (0 . 3 6 g , 1 . 8 3 m m o l) を加え、室温で 1 5 分間攪拌した。反応液をジエチルエーテルと飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で 2 回分液し、得られた有機層を飽和食塩水で洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで脱水乾燥し、減圧下にて溶媒を留去した。得られた固体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶出溶媒 : n - ヘキサン / 酢酸エチル = 1 : 1) にて精製し、化合物 3 を得た (黄色針状晶 0 . 4 8 g , 収率 6 1 %) 。

LRMS (EI) m/z 474 (M⁺)

HRMS (EI) calcd for C₃₁H₄₂N₂O₂ (M⁺) 474.3246, found 474.3248.

【 0 0 5 5 】

10

20

30

40

50

実施例 4

2 - (2 , 4 - ジメトキシフェニル) - 1 - (4 - (2 - メトキシフェニル) ピペラジン - 1 - イル) エタノン (化合物 4)

1 - (2 - メトキシフェニル) ピペラジン (1 . 9 2 g , 1 0 . 0 m m o l) および 2 , 4 - ジメトキシフェニル酢酸 (1 . 9 6 g , 1 0 . 0 m m o l) を CH_2Cl_2 (2 5 m L) に溶解し、1 - エチル - 3 - (3 - ジメチルアミノプロピル) カルボジイミド塩酸塩 (= W S C) (2 . 1 1 g , 1 1 . 0 m m o l) を加え、室温で 1 5 分間攪拌した。反応液をジクロロメタンと飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で分液し、得られた有機層を飽和食塩水で洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで脱水乾燥し、減圧下にて溶媒を留去した。得られた固体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶出溶媒 : n - ヘキサン / 酢酸エチル = 3 : 1) にて精製し、化合物 4 を得た (3 . 0 0 g , 収率 8 1 %) 。

【 0 0 5 6 】

実施例 5

2 - (3 , 4 - ジメトキシフェニル) - 1 - (4 - (2 - メトキシフェニル) ピペラジン - 1 - イル) エタノン (化合物 5)

1 - (2 - メトキシフェニル) ピペラジン (1 . 9 2 g , 1 0 . 0 m m o l) およびホモベラトル酸 (1 . 9 6 g , 1 0 . 0 m m o l) を DMF (2 5 m L) に溶解し、1 - エチル - 3 - (3 - ジメチルアミノプロピル) カルボジイミド塩酸塩 (= W S C) (2 . 1 1 g , 1 1 . 0 m m o l) を加え、室温にて 1 5 分間攪拌した。反応液を酢酸エチルと水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で分液した。得られた有機層を飽和食塩水で洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで脱水乾燥し、減圧下にて溶媒を留去した。得られた固体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶出溶媒 : クロロホルム / メタノール = 4 0 : 1) にて精製し、化合物 5 を得た (1 . 3 5 g , 収率 3 6 %) 。

【 0 0 5 7 】

実施例 6

1 - (2 - メトキシフェニル) - 4 - (4 - フェニルブチル) ピペラジン (化合物 6)

1 - (2 - メトキシフェニル) ピペラジン (1 . 0 0 g , 5 . 2 m m o l) を脱水 DMF (2 5 m L) に溶解し、4 - フェニルブチルプロミド (2 . 2 2 g , 1 0 . 4 m m o l) を加え、室温で 1 5 分間攪拌した。反応液をジエチルエーテルと水で分液し、得られた有機層を飽和食塩水で洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで脱水乾燥し、減圧下にて溶媒を留去した。得られた油状物質をカラムクロマトグラフィー (溶出溶媒 : クロロホルム / メタノール = 3 0 : 1) にて精製し、化合物 6 を得た (無色油状物質 0 . 5 4 g , 収率 3 2 %) 。

$^1\text{H NMR}$ 1.57 (2H, quint, $J = 7.2$ Hz), 1.66 (2H, quint, $J = 7.2$ Hz), 2.46 (2H, t, $J = 7.5$ Hz), 2.65 (6H, t, $J = 7.7$ Hz), 3.09 (4H, s), 3.86 (3H, s), 6.85 (1H, dd, $J = 1.2, 8.0$ Hz), 6.70-6.99 (2H, m), 6.86 (1H, dt, $J = 2.0, 7.8$ Hz), 7.25-7.29 (2H, m) .

LRMS (EI) m/z 324 (M^+)

HRMS (EI) calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}$ (M^+) 324.2202, found 324.2201.

【 0 0 5 8 】

実施例 7

1 - (2 - メトキシフェニル) - 4 - (ナフタレン - 1 - イルメチル) ピペラジン (化合物 7)

1 - (2 - メトキシフェニル) ピペラジン (1 . 0 0 g , 5 . 2 m m o l) を脱水 DMF (2 5 m L) に溶解し、2 - (プロモメチル) ナフタレン (2 . 3 0 g , 1 0 . 4 m m o l) を加え、室温にて 1 5 分間攪拌した。反応液をジエチルエーテルと水で分液し、得られた有機層を飽和食塩水で洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで脱水乾燥し、減圧下にて溶媒を留去した。得られた白色固体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶出溶媒 : n - ヘキサン / 酢酸エチル = 4 : 1) にて精製し、化合物 7 を得た (無色針状晶 0 . 2 8 g , 収率 1 6 %) 。

10

20

30

40

50

mp 144-145

$^1\text{H NMR}$ 2.71 (4H, s), 3.11 (4H, s), 3.75 (2H, s), 3.85 (3H, s), 6.85 (1H, dd, $J = 2.0, 9.6$ Hz), 6.89-6.95 (2H, m), 6.99 (1H, dt, $J = 2.0, 7.8$ Hz), 7.44-7.49 (2H, m), 7.54 (1H, dd, $J = 1.1, 7.2$ Hz), 7.81-7.83 (3H, m).

LRMS (EI) m/z 332 (M^+).

HRMS (EI) calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}$ (M^+) 332.1889, found 332.1888.

【 0 0 5 9 】

実施例 8

1 - (ピフェニル - 4 - イルメチル) - 4 - (2 - メトキシフェニル) ピペラジン (化合物 8)

1 - (2 - メトキシフェニルピペラジン) とピフェニル - 4 - メチルクロリドとを用い、実施例 1 と同様にして化合物 8 を得た。

無色油状物質

収率 7%

$^1\text{H NMR}$ 2.70 (4H, s), 3.12 (4H, s), 3.64 (2H, s), 3.86 (3H, s), 6.86 (1H, dd, $J = 1.5, 8.0$ Hz), 6.90-6.96 (2H, m), 6.99 (1H, ddd, $J = 2.0, 7.2, 8.9$ Hz), 7.34 (1H, tt, $J = 1.2, 7.5$ Hz), 7.43 (4H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.56 (2H, d, $J = 8.1$ Hz), 7.60 (2H, dd, $J = 1.2, 8.3$ Hz).

LRMS (EI) m/z 358 (M^+).

HRMS (EI) calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}$ (M^+) 358.2045, found 358.2045.

【 0 0 6 0 】

実施例 9

1 - (アントラセン - 9 - イルメチル) - 4 - (2 - メトキシフェニル) ピペラジン (化合物 9)

1 - (2 - メトキシフェニル) ピペラジン (1.00 g, 5.2 mmol) を脱水 DMF (25 mL) に溶解し、9 - クロロメチルアントラセン (2.48 g, 10.4 mmol) を加え、室温にて 15 分間攪拌した。反応液をクロロホルムと水で分液し、得られた有機層を飽和食塩水で洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで脱水乾燥し、減圧下にて溶媒を留去した。得られた黄色固体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶出溶媒: n -ヘキサン/酢酸エチル = 4:1) にて精製した。溶出物をクロロホルム/メタノールから再結晶し、化合物 9 を得た (淡黄色針状晶 0.31 g, 収率 16%)。

mp 164-165 ($\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$)

$^1\text{H NMR}$ 2.83 (4H, t, $J = 4.3$ Hz), 3.02 (4H, s), 3.86 (3H, s), 4.52 (2H, s), 6.84 (1H, d, $J = 7.7$ Hz), 6.87-6.88 (2H, m), 6.95-6.98 (1H, m), 7.47 (2H, dt, $J = 0.9, 6.7$ Hz), 7.53 (2H, ddd, $J = 1.5, 6.0, 7.8$ Hz), 8.01 (2H, d, $J = 8.4$ Hz), 8.54 (2H, d, $J = 9.2$ Hz).

LRMS (EI) m/z 382 (M^+).

HRMS (EI) calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}$ (M^+) 382.2045, found 382.2045.

【 0 0 6 1 】

試験例 1

(方法)

(1) 細胞培養

HT 22 細胞は、10% FBS を含む DMEM 中で、 37°C 、10% CO_2 インキュベータ内で培養した。

【 0 0 6 2 】

(2) 低酸素 - 再酸素化負荷

低酸素負荷には、酸素吸収・炭酸ガス発生剤であるアネロバックケンキ force 11TMを用い、正常酸素状態に戻すことで再酸素化とした。

【 0 0 6 3 】

(3) Lactate dehydrogenase (LDH) アッセイ

10

20

30

40

50

LDHアッセイは、目的の処置をした細胞のmediumの上清を試料として、測定キット(LDH cytotoxic test)を用いて行った。

すなわち、96well assay plateで細胞を培養し、目的の処置後、mediumのみを50 μ L採取し、新たに準備したplateに移し、各wellに発色試薬を添加した。20分間インキュベートした後、反応停止液100 μ Lを加え、マイクロプレートリーダーを用い、570nmで測定した。結果は、ポジティブコントロールの吸光度を100%として表した。ここで、LDHは、死細胞から逸脱してくる酵素でmedium中のLDH量の増加は、細胞死が起きていることを示す。

【0064】

(結果)

10

(1) 低酸素 - 再酸素化誘発細胞死に及ぼす各化合物の影響を図1 ~ 図10に示す。

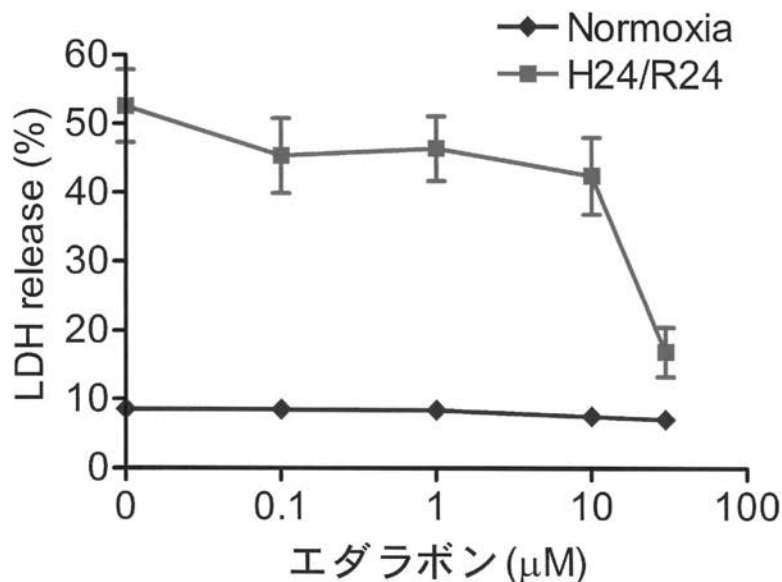
24時間、低酸素(H24)後に24時間、再酸素化(R24)し、LDH遊離量を測定した。コントロールとして48(24+24)時間通常酸素状態下(N48)においた細胞を用いた。各化合物は、低再酸素化処置直前(コントロールにはLDH測定の48時間前)に添加した。

【0065】

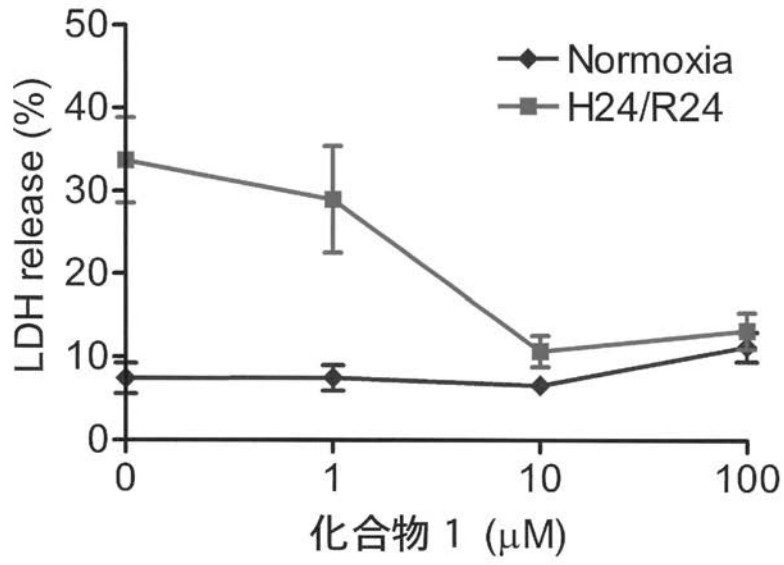
低酸素 - 再酸素化(H24R24)後のLDH遊離量は、コントロール(N48)に比べ有意な上昇、すなわち、細胞死が認められる。低再酸素化処置直前に本発明化合物を添加すると、濃度依存的にH24/R24のLDH遊離量を低下させ、1 μ M ~ 10 μ Mの低下は有意なものであった。一方、エダラボンは30 μ Mではじめて有意なLDH遊離量の低下を示した。なお、コントロール細胞のLDH遊離量は、各化合物により影響を受けなかった。また、24時間の低酸素負荷のみではLDHの増加は認められず、再酸素化に伴ってLDHが増加し、再酸素化24時間後(H24/R24)に有意な上昇となった。

20

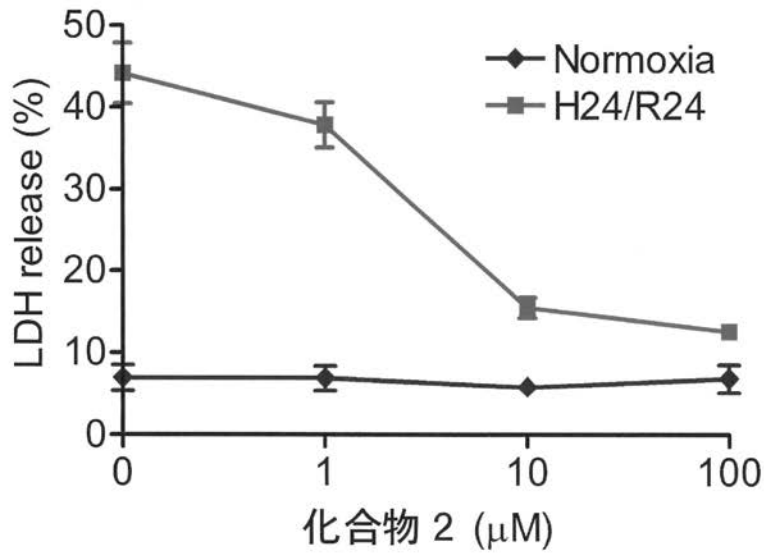
【図1】



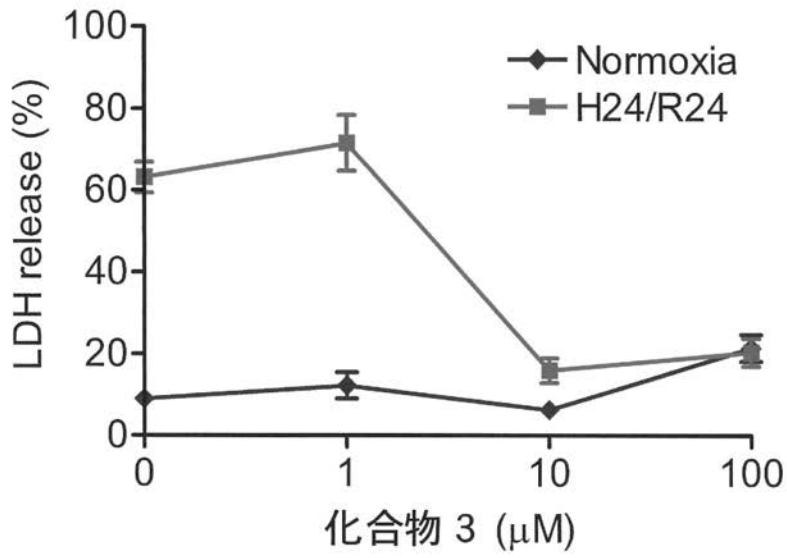
【 図 2 】



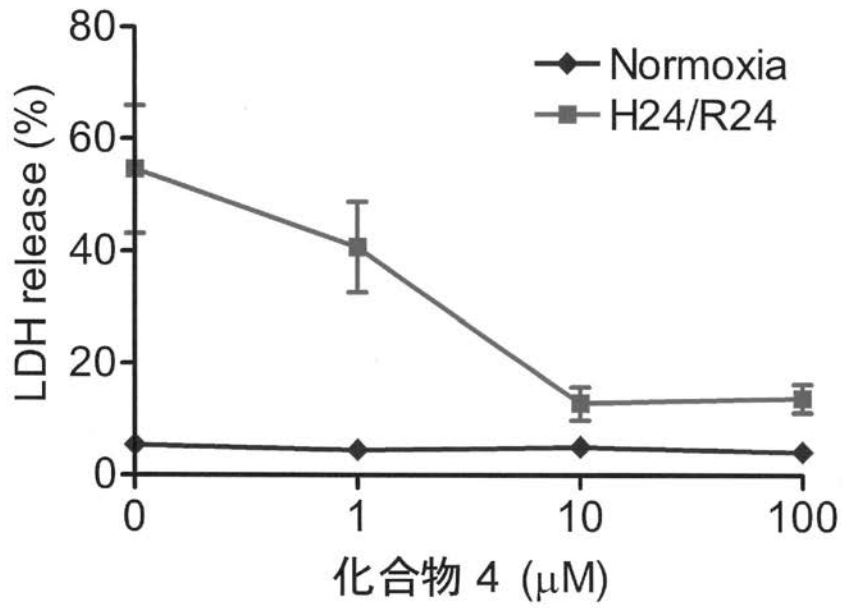
【 図 3 】



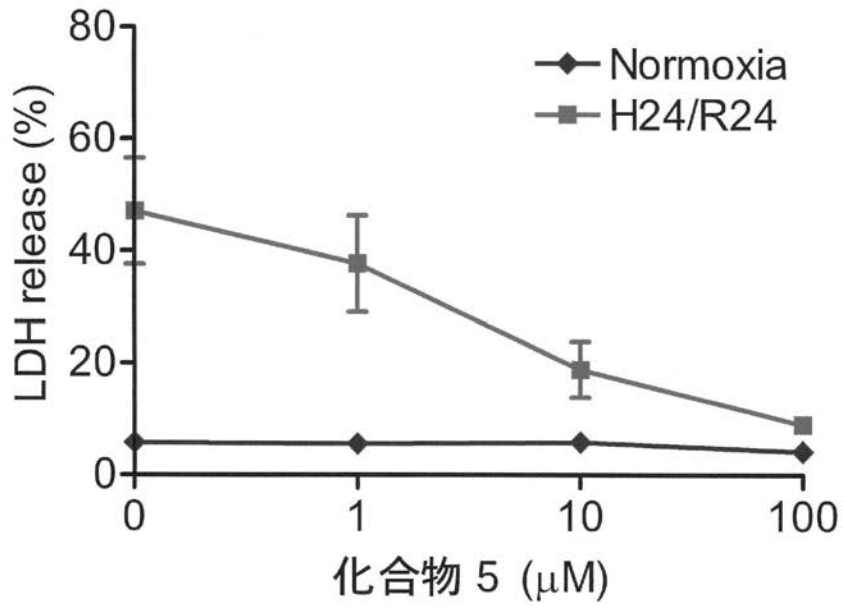
【 図 4 】



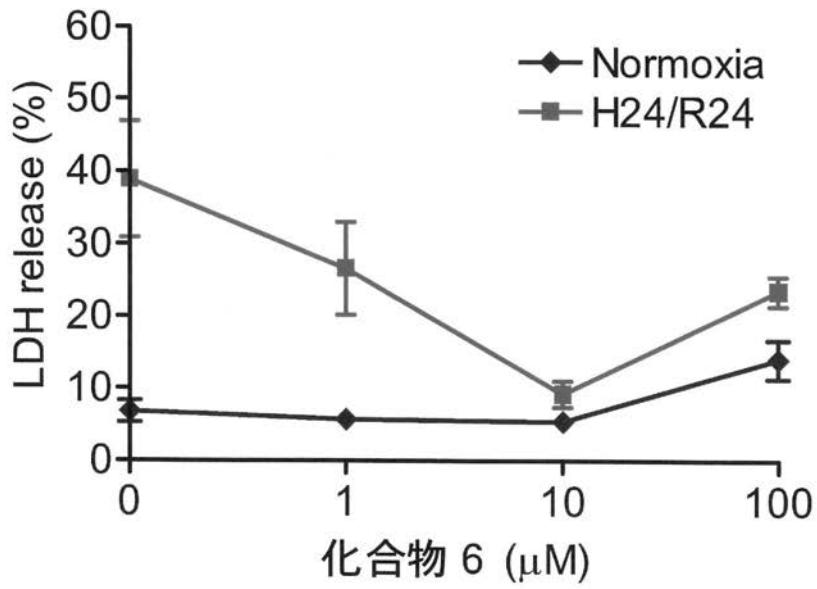
【 図 5 】



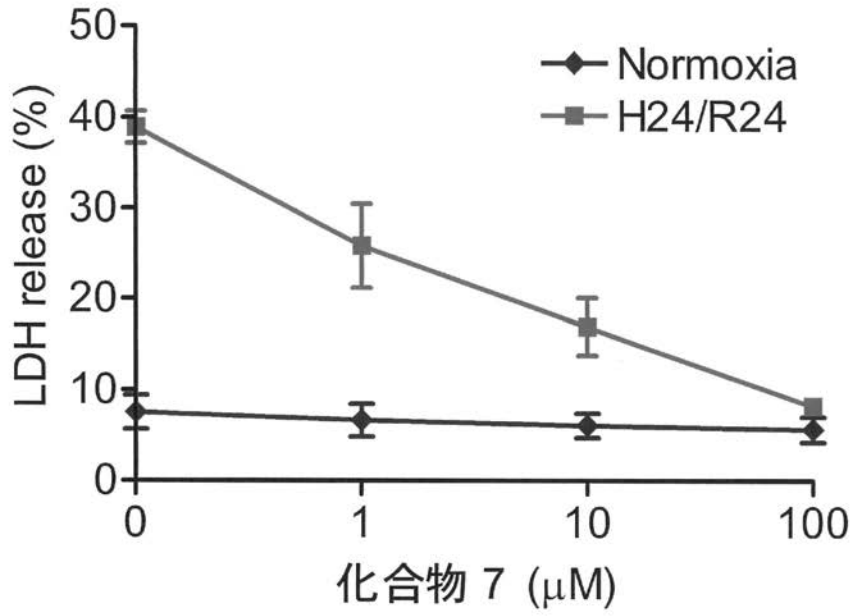
【 図 6 】



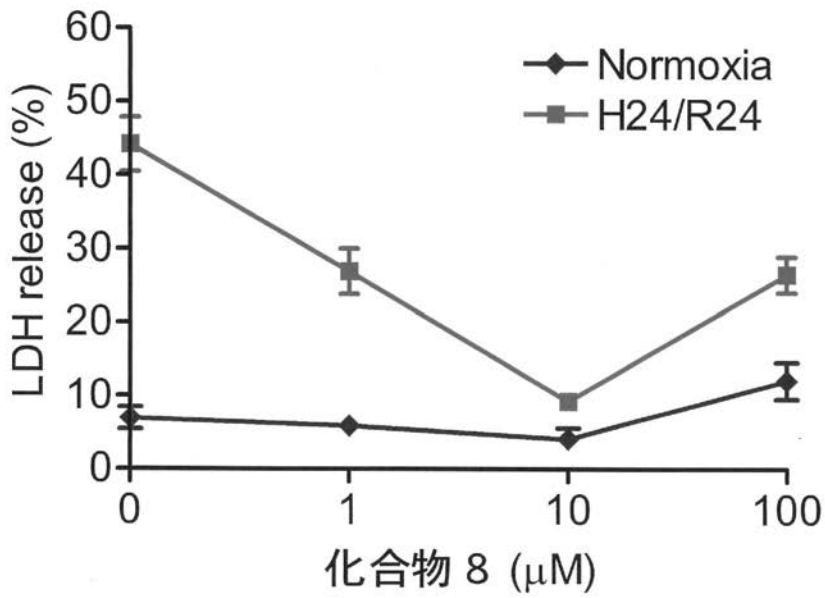
【 図 7 】



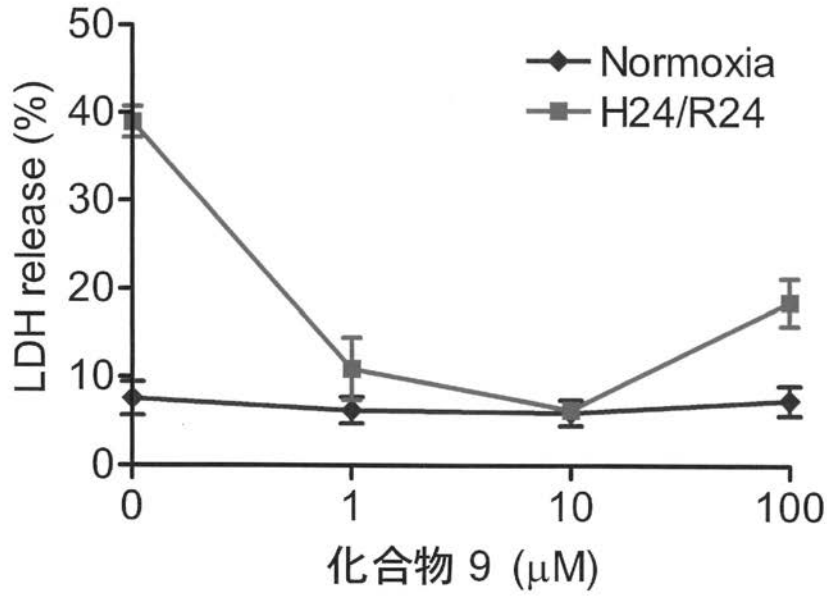
【 図 8 】



【 図 9 】



【 図 1 0 】



フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 25/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 K 31/495 (2006.01)	A 6 1 P 25/00	
C 0 7 D 295/18 (2006.01)	A 6 1 K 31/495	
	C 0 7 D 295/18	A

(72)発明者 石毛 久美子
東京都千代田区九段南4丁目8番24号 学校法人日本大学内

(72)発明者 伊藤 芳久
東京都千代田区九段南4丁目8番24号 学校法人日本大学内

(72)発明者 宮入 伸一
東京都千代田区九段南4丁目8番24号 学校法人日本大学内

(72)発明者 齋藤 弘明
東京都千代田区九段南4丁目8番24号 学校法人日本大学内

(72)発明者 小菅 康弘
東京都千代田区九段南4丁目8番24号 学校法人日本大学内

Fターム(参考) 4C086 AA01 AA02 BC50 MA01 MA04 MA16 MA22 MA23 MA31 MA35
MA37 MA41 MA43 MA52 MA66 NA14 ZA02 ZA36 ZA45 ZB21
ZB26 ZC35