

(19)日本国特許庁(JP)

## (12)特許公報(B2)

(11)特許番号  
特許第7692002号  
(P7692002)

(45)発行日 令和7年6月12日(2025.6.12)

(24)登録日 令和7年6月4日(2025.6.4)

(51)国際特許分類

F I

C 0 7 D 277/56 (2006.01)

C 0 7 D 277/56

C S P

A 6 1 K 31/426(2006.01)

A 6 1 K 31/426

C 0 7 D 417/06 (2006.01)

C 0 7 D 417/06

A 6 1 K 31/551(2006.01)

A 6 1 K 31/551

A 6 1 K 31/5377(2006.01)

A 6 1 K 31/5377

請求項の数 12 (全40頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2022-564122(P2022-564122)

(86)(22)出願日 令和3年1月15日(2021.1.15)

(65)公表番号 特表2023-523417(P2023-523417  
A)

(43)公表日 令和5年6月5日(2023.6.5)

(86)国際出願番号 PCT/KR2021/000578

(87)国際公開番号 WO2021/215624

(87)国際公開日 令和3年10月28日(2021.10.28)

審査請求日 令和5年11月28日(2023.11.28)

(31)優先権主張番号 10-2020-0048262

(32)優先日 令和2年4月21日(2020.4.21)

(33)優先権主張国・地域又は機関  
韓国(KR)

(73)特許権者 515311291

ヘキサファーマテック カンパニー リミ  
テッド大韓民国 キョンギ - ド, アンサン - シ  
, タヌオン - グ, サンダン - ロ 278バンウォル ハイテク ヴィレッジ 315  
#301#301, 315, Banwol Hi  
tech Village, 278 Sa  
ndan-ro, Danwon-gu,  
Ansan-si, Gyeonggi-  
do, Republic of Korea

(74)代理人 100188499

弁理士 勝又 政徳

(74)代理人 100127568

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 新規な2 - アリールチアゾール誘導体またはその塩、その製造方法、及びそれを含む医薬組成物

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

化学式1の化合物またはその薬学的に許容可能な塩：

【化1】

&lt;化学式1&gt;



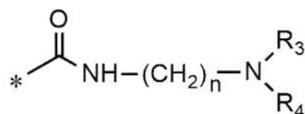
式中、

R<sub>1</sub>は、水素；C<sub>1</sub>～C<sub>4</sub>アルキル基；またはモノ - あるいはジ - C<sub>1</sub>～C<sub>5</sub>アルキルアミノで置換されているC<sub>1</sub>～C<sub>4</sub>アルキル基であり、R<sub>2</sub>は、C<sub>1</sub>～C<sub>4</sub>アルキル基であり、

Aは、下記化学式1 a～1 dの基からなる群から選択される基であり、

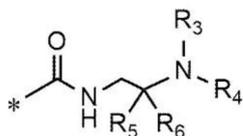
## 【化 2】

&lt;化学式 1 a &gt;



## 【化 3】

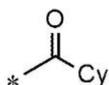
&lt;化学式 1 b &gt;



10

## 【化 4】

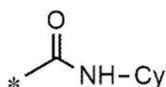
&lt;化学式 1 c &gt;



20

## 【化 5】

&lt;化学式 1 d &gt;



前記化学式 1 a ~ 1 d において、

30

\* は、化学式 1 の化合物に結合する位置を表し、

n は、1、2、または3であり、

R<sub>3</sub> および R<sub>4</sub> は、互いに独立して、水素；C<sub>1</sub> ~ C<sub>4</sub> アルキル基であるか、それらが結合している窒素原子と結合して、ピペリジンまたはピロリジンを形成し（前記ピペリジンまたはピロリジンは、C<sub>1</sub> ~ C<sub>4</sub> アルキルで任意選択的に置換されている）、

R<sub>5</sub> および R<sub>6</sub> は、C<sub>1</sub> ~ C<sub>4</sub> アルキル基であるか、あるいは R<sub>5</sub> および R<sub>6</sub> が環を形成して、シクロペンタン、シクロヘキサンまたはテトラヒドロピランを形成し、

Cy は、ホモピペラジン-1-イル、ピペリジン-1-イル、ピペリジン-4-イル、モルホリン-4-イル、およびピロリジン-3-イルからなる群から選択される含窒素複素環基であり、前記含窒素複素環基は、C<sub>1</sub> ~ C<sub>4</sub> アルキルまたはベンジルで任意選択的に置換されている。

40

## 【請求項 2】

R<sub>1</sub> が、水素；イソブチル基；またはジエチルアミノエチル基である、請求項 1 に記載の化合物またはその薬学的に許容可能な塩。

## 【請求項 3】

R<sub>2</sub> が、メチル基である、請求項 1 に記載の化合物またはその薬学的に許容可能な塩。

## 【請求項 4】

A が、化学式 1 a の基または化学式 1 b の基である、請求項 1 に記載の化合物またはその薬学的に許容可能な塩。

## 【請求項 5】

R<sub>3</sub> および R<sub>4</sub> が、それらが結合している窒素原子と結合して、ピペリジンまたはピロ

50

リジンを形成する、請求項 4 に記載の化合物またはその薬学的に許容可能な塩。

【請求項 6】

前記ピペリジンまたはピロリジンが、 $C_1 \sim C_4$ アルキルで置換されている、請求項 5 に記載の化合物またはその薬学的に許容可能な塩。

【請求項 7】

N-(2-(ジエチルアミノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-(2-(ジイソプロピルアミノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-(2-(ジメチルアミノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

10

N-(3-(ジエチルアミノ)プロピル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-(4-メチルホモピペラジノ)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-(4-(1-メチル)ピペリジニル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-(2-(4-モルホリノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-(2-(1-ピロリジノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

20

N-(2-(1-ピペリジノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-((4-(ジメチルアミノ)テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イル)メチル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-((1-(ジメチルアミノ)シクロペンチル)メチル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-((1-(ジメチルアミノ)シクロヘキシル)メチル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-(3-(1-ベンジル)ピロリジニル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

30

N-(2-(2-(1-メチル)ピロリジノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-((S)-2-(1-エチル)ピロリジノメチル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-(4-モルホリンアミノ)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-(1-ピペリジンアミノ)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-(2-(ジイソプロピルアミノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-ヒドロキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

40

N-(2-(ジエチルアミノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-ヒドロキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-(2-(ジメチルアミノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-ヒドロキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-(2-(4-モルホリノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-ヒドロキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-((S)-2-(1-エチル)ピロリジノメチル)-2-(3-シアノ-4-ヒドロキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-(2-(ジイソプロピルアミノ)エチル)-2-(4-(2-ジエチルアミノ)エトキシ-3-シアノフェ

50

ニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-(2-(ジエチルアミノ)エチル)-2-(4-(2-ジエチルアミノ)エトキシ-3-シアノフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-(2-(ジメチルアミノ)エチル)-2-(4-(2-ジエチルアミノ)エトキシ-3-シアノフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-(2-(4-モルホリノ)エチル)-2-(4-(2-ジエチルアミノ)エトキシ-3-シアノフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-((S)-2-(1-エチル)ピロリジノメチル)-2-(4-(2-ジエチルアミノ)エトキシ-3-シアノフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-((4-(ジメチルアミノ)テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イル)メチル)-2-(3-シアノ-4-ヒドロキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；及び

N-((4-(ジメチルアミノ)テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イル)メチル)-2-(4-(2-ジエチルアミノ)エトキシ-3-シアノフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩

からなる群から選択される化合物またはその薬学的に許容可能な塩。

【請求項 8】

N-(2-(ジイソプロピルアミノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-((4-(ジメチルアミノ)テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イル)メチル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-(2-(ジイソプロピルアミノ)エチル)-2-(4-(2-ジエチルアミノ)エトキシ-3-シアノフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-(2-(4-モルホリノ)エチル)-2-(4-(2-ジエチルアミノ)エトキシ-3-シアノフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-((4-(ジメチルアミノ)テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イル)メチル)-2-(3-シアノ-4-ヒドロキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；及び

N-((4-(ジメチルアミノ)テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イル)メチル)-2-(4-(2-ジエチルアミノ)エトキシ-3-シアノフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩

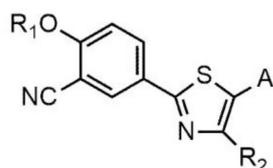
からなる群から選択される化合物またはその薬学的に許容可能な塩。

【請求項 9】

化学式 2 の化合物を、 $\text{NH}_2 - (\text{CH}_2)_n - \text{NR}_3\text{R}_4$ 、 $\text{NH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CR}_5\text{R}_6 - \text{NR}_3\text{R}_4$ 、 $\text{Cy}$ 、および  $\text{NH}_2 - \text{Cy}$  からなる群から選択される N 含有化合物（式中、 $n$ 、 $\text{R}_3$ 、 $\text{R}_4$ 、 $\text{R}_5$ 、及び  $\text{R}_6$  は、請求項 1 で定義されているものと同一であり； $\text{Cy}$  は、ホモピペラジンであり、ホモピペラジンは、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_4$  アルキルで任意選択的に置換され； $\text{NH}_2 - \text{Cy}$  は、ピペリジン-1-イルアミン、ピペリジン-4-イルアミン、モルホリン-4-イルアミン、および ピロリジン-3-イルアミン からなる群から選択される含窒素複素環式アミンであり、前記含窒素複素環式アミンは、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_4$  アルキルまたはベンジルで任意選択的に置換されている）を用いてアシル化する工程を含む、化学式 1 の化合物またはその薬学的に許容可能な塩の製造方法；

【化 6】

<化学式 1>



10

20

30

40

50

## 【化 7】

&lt;化学式 2&gt;



式中、 $R_1$ 、 $R_2$ 、及びAは、請求項1で定義されているものと同じである。

10

## 【請求項 10】

化学式3の化合物を、 $NH_2 - (CH_2)_n - NR_3R_4$ 、 $NH_2 - CH_2 - CR_5R_6 - NR_3R_4$ 、 $Cy$ 、および $NH_2 - Cy$ からなる群から選択されるN含有化合物(式中、 $n$ 、 $R_3$ 、 $R_4$ 、 $R_5$ 、及び $R_6$ は、請求項1で定義されているものと同じであり； $Cy$ は、ホモピペラジンであり、ホモピペラジンは、 $C_1 \sim C_4$ アルキルで任意選択的に置換され； $NH_2 - Cy$ は、ピペリジン-1-イルアミン、ピペリジン-4-イルアミン、モルホリン-4-イルアミン、およびピロリジン-3-イルアミンからなる群から選択される含窒素複素環式アミンであり、前記含窒素複素環式アミンは、 $C_1 \sim C_4$ アルキルまたはベンジルで任意選択的に置換されている)を用いてアシル化して、化学式4の化合物を調製する工程；ならびに

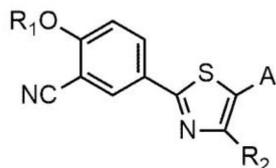
20

化学式4の化合物を化学式5の化合物でアルキル化して、化学式1の化合物を調製する工程

を含む、化学式1の化合物またはその薬学的に許容可能な塩の製造方法：

## 【化 8】

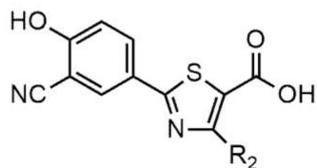
&lt;化学式 1&gt;



30

## 【化 9】

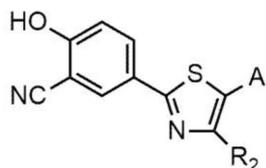
&lt;化学式 3&gt;



40

## 【化 10】

&lt;化学式 4&gt;



50

< 化学式 5 >

$R_1 X$

式中、 $R_1$  は、 $C_1 \sim C_4$  アルキル基；またはモノ - あるいはジ -  $C_1 \sim C_5$  アルキルアミノで置換されている  $C_1 \sim C_4$  アルキル基であり、 $R_2$  及び A は、請求項 1 で定義されているものと同一であり、X は、ハロゲンである。

【請求項 1 1】

治療有効量の請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の化合物またはその薬学的に許容可能な塩を有効成分として含む、オートファジー誘導用医薬組成物。

【請求項 1 2】

ハンチントン病、パーキンソン病、アルツハイマー病、プリオン病、多発性硬化症、およびルー・ゲーリック病からなる群から選択される神経変性疾患；肝線維症、肝硬変症、肝炎、および脂肪肝疾患からなる群から選択される肝疾患；糖尿病、高脂血症、肥満、および炎症からなる群から選択される代謝性疾患；または敗血症の予防用または治療用の請求項 1 1 に記載の医薬組成物。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、新規な 2-アリアルチアゾール誘導体またはその塩、その製造方法、およびそれを含む医薬組成物に関する。より具体的には、本発明は、特定のカルボキサミド部分、例えば、置換アミノアルキル-カルボキサミド部分、N 含有複素環-アルキル-カルボキサミド部分、または N 含有複素環-カルボキサミド部分を有する、新規な 2-アリアルチアゾール誘導体またはその薬学的に許容可能な塩、その製造方法、及びそれを含む医薬組成物に関する。本発明の 2-アリアルチアゾール誘導体またはその薬学的に許容可能な塩は、優れたオートファジー誘導活性を有する。

20

【背景技術】

【0002】

オートファジーは、オートファゴサイトーシスとも呼ばれ、不要な成分または機能不全を起こした成分を分解する天然の細胞内調節機構である。オートファジーによって、細胞成分の秩序だった分解と再利用が可能となる。オートファジーの過程では、オートファゴソームとして知られる二重膜小胞の内部に消費可能な細胞質成分が隔離されて、残りの細胞成分から分離される。次に、オートファゴソームは、利用可能なリソソームと融合し、小胞の内容物が最終的に分解されて再利用される。オートファジーには、マクロオートファジー、ミクロオートファジーおよびシャペロン介在性オートファジー (CMA) の 3 つの形態が一般に知られている。疾患を発症すると、オートファジーは、ストレスに対する適応反応として細胞の生存を促進すると見られているが、細胞死および病的状態を促進する場合もある。飢餓状態という極端な場合では、細胞成分の分解によって細胞のエネルギーレベルが維持されて、細胞の生存が促進される。

30

【0003】

一方、オートファジーが減少すると、ミスフォールディングタンパク質の蓄積などによって、様々な疾患が起こる場合がある。例えば、オートファジーの誘導によって、ハンチントン病 (HD)、パーキンソン病 (PD)、アルツハイマー病 (AD)、プリオン病、多発性硬化症、筋萎縮性側索硬化症 (ルー・ゲーリック病) などの神経変性疾患を治療できることが報告されている (例えば、韓国特許第 10 - 1731908 号)。また、オートファジーの誘導によって、肝線維症、肝硬変症、肝炎、脂肪肝疾患などの肝疾患を治療できることが報告されている (例えば、韓国特許公開第 10 - 2017 - 0022790 号)。さらに、オートファジーの誘導によって、糖尿病、高脂血症、肥満、炎症などの代謝性疾患を治療できることが報告されている (例えば、韓国特許公開第 10 - 2018 - 0007307 号)。さらに、オートファジーの誘導によって、敗血症に付随する過剰な免疫反応を抑制できることが報告されている (例えば、韓国特許公開第 10 - 2012 - 0131401 号)。

40

50

## 【0004】

したがって、オートファジーを誘発する物質は、神経変性疾患、肝疾患、代謝性疾患、敗血症などの様々なオートファジー関連疾患の予防または治療に有用に適用できることが期待される。

## 【発明の概要】

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0005】

本発明者らは、特定のカルボキサミド部分、例えば、置換アミノアルキル-カルボキサミド部分、N含有複素環-アルキル-カルボキサミド部分、またはN含有複素環-カルボキサミド部分を有する、新規な2-アリアルチアゾール誘導体またはその薬学的に許容可能な塩が、優れたオートファジー誘導活性を有することから、様々なオートファジー関連疾患の予防または治療に有用に適用できることを見出した。

10

## 【0006】

したがって、本発明は、前記2-アリアルチアゾール誘導体またはその薬学的に許容可能な塩、その製造方法、それを含む医薬組成物、およびその使用を提供する。

## 【課題を解決するための手段】

## 【0007】

本発明の一態様によれば、新規な2-アリアルチアゾール誘導体またはその薬学的に許容可能な塩が提供される。

## 【0008】

本発明の別の態様によれば、前記2-アリアルチアゾール誘導体またはその薬学的に許容可能な塩の製造方法が提供される。

20

## 【0009】

本発明のさらに別の態様によれば、前記2-アリアルチアゾール誘導体またはその薬学的に許容可能な塩を有効成分として含む、医薬組成物が提供される。

## 【0010】

本発明のさらに別の態様によれば、オートファジー関連疾患を治療する方法であって、前記2-アリアルチアゾール誘導体またはその薬学的に許容可能な塩を投与することを含む方法が提供される。

## 【0011】

本発明のさらに別の態様によれば、オートファジー関連疾患の予防用または治療用の薬剤を製造するための、前記2-アリアルチアゾール誘導体またはその薬学的に許容可能な塩の使用が提供される。

30

## 【発明の効果】

## 【0012】

本発明の化合物、すなわち、特定のカルボキサミド部分、例えば、置換アミノアルキル-カルボキサミド部分、N含有複素環-アルキル-カルボキサミド部分、またはN含有複素環-カルボキサミド部分を有する、新規な2-アリアルチアゾール誘導体またはその薬学的に許容可能な塩は、優れたオートファジー誘導活性を有する。したがって、本発明の化合物またはその薬学的に許容可能な塩は、神経変性疾患、肝疾患、代謝性疾患、敗血症などの様々なオートファジー関連疾患の予防または治療に有用に適用することができる。

40

## 【図面の簡単な説明】

## 【0013】

【図1】 N2 a細胞において本発明による化合物のオートファジーフラックスを分析することによって得られた結果を示す。図1 aは、モザイク技術によって細胞全体を画像化することによって得られた結果であり、矢印はオートファジーを示す。図1 bは、実施例29の化合物で処理したN2 a細胞の電子顕微鏡イメージングの結果であり、黒い矢印はオートファゴソームを示し、白い矢印はオートリソソームを示す。

【図2】 肝障害モデルにおいて経口投与による肝機能改善活性を評価するための、試験例4による実験方法の概要を示す。

50

【図3】肝障害モデルにおいて経口投与による肝機能改善活性を評価するための、試験例5による実験方法の概要を示す。

【図4】試験例5で得られた組織標本にヘマトキシリン・エオジン（H&E）染色およびマッソントリクローム染色を行うことによって得られた結果を示す。スケールバー：左図の黒色の線 = 100 μm、右図の黒色の線 = 100 μm。

【発明を実施するための形態】

【0014】

本明細書において、「アルキル」は、直鎖状または分枝鎖状の脂肪族炭化水素基を指す。例えば、C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>アルキルは、メチル、エチル、プロピル、n-ブチル、n-ペンチル、n-ヘキシル、イソプロピル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ネオペンチル、イソペンチルなどの、1~6個の炭素原子を有する直鎖状または分枝鎖状の脂肪族炭化水素を意味する。

10

【0015】

「ヒドロキシ」は、-OH基を指す。「アルコキシ」は、ヒドロキシル基の水素原子をアルキルで置換することによって形成される基を指す。例えば、C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>アルコキシは、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、n-ブトキシ、n-ペンチルオキシ、イソプロポキシ、イソブトキシ、sec-ブトキシ、tert-ブトキシ、ネオペンチルオキシ、およびイソペンチルオキシを含む。

【0016】

「アミノ」は、-NH<sub>2</sub>基を指す。「アルキルアミノ」は、モノまたはジアルキルで置換されたアミノ基を指す。例えば、C<sub>1-6</sub>アルキルアミノは、モノ-またはジ-C<sub>1-6</sub>アルキルで置換されたアミノ基を含む。

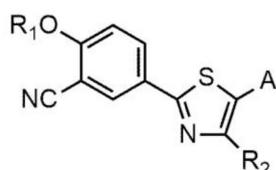
20

【0017】

本発明は、優れたオートファジー誘導活性を有する化合物またはその塩、すなわち、化学式1の化合物またはその薬学的に許容可能な塩を提供する：

【化1】

<化学式1>



30

式中、

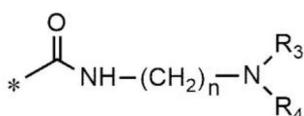
R<sub>1</sub>は、水素；C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>アルキル基；またはモノ-あるいはジ-C<sub>1</sub>~C<sub>5</sub>アルキルアミノで置換されているC<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>アルキル基であり、

R<sub>2</sub>は、C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>アルキル基であり、

Aは、下記化学式1a~1dの基からなる群から選択される基であり、

【化2】

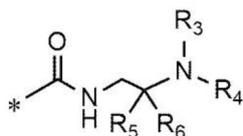
<化学式1a>



40

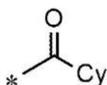
## 【化 3】

&lt;化学式 1 b &gt;



## 【化 4】

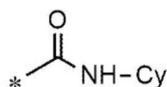
&lt;化学式 1 c &gt;



10

## 【化 5】

&lt;化学式 1 d &gt;



20

前記化学式 1 a ~ 1 d において、

\* は、化学式 1 の化合物に結合する位置を表し、

n は、1、2、または 3 であり、

R<sub>3</sub> および R<sub>4</sub> は、互いに独立して、水素；C<sub>1</sub> ~ C<sub>4</sub> アルキル基であるか、それらが結合している窒素原子と結合して、ピペリジン、モルホリン、またはピロリジンを形成し（前記ピペリジン、モルホリン、またはピロリジンは、C<sub>1</sub> ~ C<sub>4</sub> アルキルで任意選択的に置換されている）、

R<sub>5</sub> および R<sub>6</sub> は、C<sub>1</sub> ~ C<sub>4</sub> アルキル基であるか、あるいは R<sub>5</sub> および R<sub>6</sub> が環を形成して、シクロペンタン、シクロヘキサンまたはテトラヒドロピランを形成し、

30

Cy は、ホモピペラジニル、ピペリジニル、モルホリニル、およびピロリジニルからなる群から選択される含窒素複素環基であり、前記含窒素複素環基は、C<sub>1</sub> ~ C<sub>4</sub> アルキルまたはベンジルで任意選択的に置換されている。

## 【0018】

本発明の化合物またはその薬学的に許容可能な塩において、R<sub>1</sub> は、好ましくは水素；イソブチル基；またはジエチルアミノエチル基であってもよく、R<sub>2</sub> は、好ましくはメチル基であってもよい。

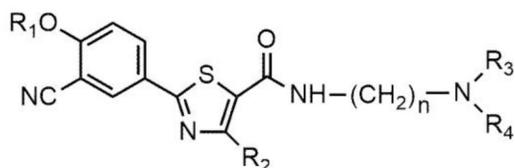
## 【0019】

本発明の化合物またはその薬学的に許容可能な塩において、A は、化学式 1 a ~ 1 d の基からなる群から選択される基である。本発明の一実施形態において、A は、化学式 1 a の基または化学式 1 b の基であってもよい。A が化学式 1 a の基または化学式 1 b の基である本発明の化合物は、以下の化学式 1 1 a および 1 1 b の構造を有する。

40

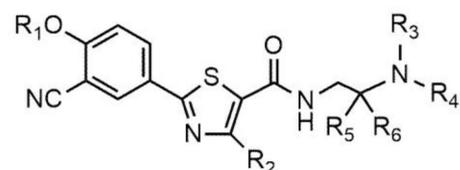
## 【化6】

&lt;化学式 1 1 a &gt;



## 【化7】

&lt;化学式 1 1 b &gt;



10

## 【0020】

化学式 1 1 a および 1 1 b の化合物において、 $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_4$ 、 $R_5$ 、および  $R_6$  は、前記で定義したものと同一である。

20

## 【0021】

化学式 1 1 a および 1 1 b の化合物において、 $R_3$  および  $R_4$  は、好ましくは、それらが結合している窒素原子と結合して、ピペリジン、モルホリン、またはピロリジンを形成してもよい。より好ましくは、前記ピペリジン、モルホリン、またはピロリジンは、 $C_1$  ~  $C_4$  アルキルで置換されていてもよい。

## 【0022】

より好ましくは、本発明の化合物またはその薬学的に許容可能な塩は、

N-(2-(ジエチルアミノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

30

N-(2-(ジイソプロピルアミノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-(2-(ジメチルアミノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-(3-(ジエチルアミノ)プロピル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-(4-メチルホモピペラジノ)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-(4-(1-メチル)ピペリジニル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

40

N-(2-(4-モルホリノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-(2-(1-ピロリジノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-(2-(1-ピペリジノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-((4-(ジメチルアミノ)テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イル)メチル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-((1-(ジメチルアミノ)シクロペンチル)メチル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

50

N-((1-(ジメチルアミノ)シクロヘキシル)メチル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-(3-(1-ベンジル)ピロリジニル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-(2-(2-(1-メチル)ピロリジノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-((S)-2-(1-エチル)ピロリジノメチル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-(4-モルホリンアミノ)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-(1-ペペリジンアミノ)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-(2-(ジイソプロピルアミノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-ヒドロキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-(2-(ジエチルアミノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-ヒドロキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-(2-(ジメチルアミノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-ヒドロキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-(2-(4-モルホリノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-ヒドロキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-((S)-2-(1-エチル)ピロリジノメチル)-2-(3-シアノ-4-ヒドロキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-(2-(ジイソプロピルアミノ)エチル)-2-(4-(2-ジエチルアミノ)エトキシ-3-シアノフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-(2-(ジエチルアミノ)エチル)-2-(4-(2-ジエチルアミノ)エトキシ-3-シアノフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-(2-(ジメチルアミノ)エチル)-2-(4-(2-ジエチルアミノ)エトキシ-3-シアノフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-(2-(4-モルホリノ)エチル)-2-(4-(2-ジエチルアミノ)エトキシ-3-シアノフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-((S)-2-(1-エチル)ピロリジノメチル)-2-(4-(2-ジエチルアミノ)エトキシ-3-シアノフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-((4-(ジメチルアミノ)テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イル)メチル)-2-(3-シアノ-4-ヒドロキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；及び

N-((4-(ジメチルアミノ)テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イル)メチル)-2-(4-(2-ジエチルアミノ)エトキシ-3-シアノフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩

からなる群から選択される1つ以上であってもよい。

#### 【0023】

特に好ましくは、本発明の化合物またはその薬学的に許容可能な塩は、

N-(2-(ジイソプロピルアミノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-((4-(ジメチルアミノ)テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イル)メチル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-(2-(ジイソプロピルアミノ)エチル)-2-(4-(2-ジエチルアミノ)エトキシ-3-シアノフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-(2-(4-モルホリノ)エチル)-2-(4-(2-ジエチルアミノ)エトキシ-3-シアノフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；

N-((4-(ジメチルアミノ)テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イル)メチル)-2-(3-シアノ-4-ヒドロキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩；及び

N-((4-(ジメチルアミノ)テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イル)メチル)-2-(4-(2-ジエチルア

10

20

30

40

50

ミノ)エトキシ-3-シアノフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩からなる群から選択される1つ以上であってもよい。

【0024】

化学式1の化合物は、薬学的に許容可能な塩の形態、例えば酸付加塩の形態であってもよい。前記酸付加塩は、塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、硝酸塩、硫酸塩、硫酸水素塩、リン酸塩、酢酸塩、乳酸塩、クエン酸塩、酒石酸塩、コハク酸塩、マレイン酸塩、マロン酸塩、シュウ酸塩、フマル酸塩、グルコン酸塩、サッカリン酸塩、安息香酸塩、メタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩、パモ酸塩などの、無機酸または有機酸から誘導された塩の形態であってもよいが、これらに限定されない。前記酸付加塩は、従来の溶媒、例えば、水、アルコール、テトラヒドロフラン、アセトン、またはそれらの混合物中で、化学式1の化合物を無機酸または有機酸と反応させることによって製造してもよい。

10

【0025】

本発明による化学式1の化合物またはその薬学的に許容可能な塩は、無水形態、水和形態または溶媒和形態であってもよい。さらに、本発明による化学式1の化合物またはその薬学的に許容可能な塩は、非晶質形態または結晶形態であってもよい。前記非晶質形態または結晶形態は、水和形態または溶媒和形態であってもよい。水和物または溶媒和物は、化学式1の化合物に対して化学量論的または非化学量論的の水または有機溶媒を含んでいてもよい。

【0026】

化学式1の化合物またはその薬学的に許容可能な塩は、不斉炭素を含む置換基を有していてもよく、したがって、ラセミ混合物(RS)の形態であってもよく、(R)異性体または(S)異性体などの光学異性体の形態であってもよい。したがって、特に明記しない限り、化学式1の化合物またはその薬学的に許容可能な塩は、ラセミ混合物(RS)と(R)異性体または(S)異性体などの光学異性体の両方を含む。

20

【0027】

また、本発明は、化学式1の化合物またはその薬学的に許容可能な塩の製造方法をその範囲内に含む。例えば、化学式1の化合物またはその薬学的に許容可能な塩は、以下の反応式1に示すように、化学式2の化合物をN含有化合物を用いてアシル化して、化学式1の化合物を調製する工程により製造してもよく、または化学式3の化合物をN含有化合物を用いてアシル化して、化学式4の化合物を調製する工程；および化学式4の化合物を化学式5のR<sub>1</sub>Xでアルキル化して、化学式1の化合物を調製する工程により製造してもよい。

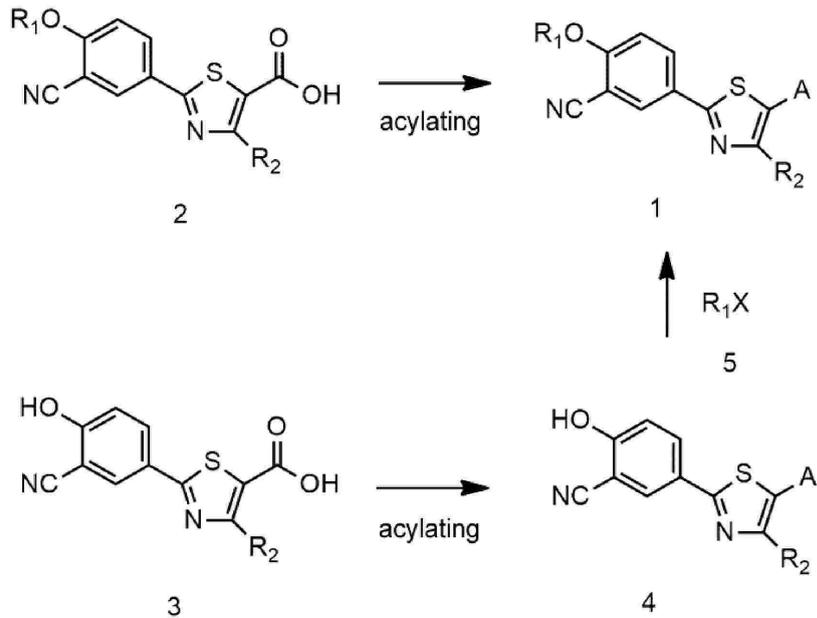
30

40

50

## 【化 8】

&lt;反応式 1 &gt;



10

20

## 【 0 0 2 8】

反応式 1 において、 $R_1$ 、 $R_2$ 、および  $A$  は、前記で定義したものと同一であり、 $X$  は、ハロゲンである。

## 【 0 0 2 9】

一実施形態において、本発明は、化学式 2 の化合物を、 $NH_2 - (CH_2)_n - NR_3R_4$ 、 $NH_2 - CH_2 - CR_5R_6 - NR_3R_4$ 、 $Cy$ 、および  $NH_2 - Cy$  からなる群から選択される  $N$  含有化合物（式中、 $n$ 、 $R_3$ 、 $R_4$ 、 $R_5$ 、及び  $R_6$  は、前記で定義されているものと同じであり； $Cy$  は、ホモピペラジン、ピペリジン、モルホリン、およびピロリジンからなる群から選択される含窒素複素環基であり、前記含窒素複素環基は、 $C_1 \sim C_4$  アルキルまたはベンジルで任意選択的に置換され； $NH_2 - Cy$  は、ホモピペラジニルアミン、ピペリジニルアミン、モルホリニルアミン、およびピロリジニルアミンからなる群から選択される含窒素複素環式アミンであり、前記含窒素複素環式アミンは、 $C_1 \sim C_4$  アルキルまたはベンジルで任意選択的に置換されている）を用いてアシル化する工程を含む、化学式 1 の化合物またはその薬学的に許容可能な塩の製造方法を提供する：

30

## 【化 9】

&lt;化学式 1 &gt;

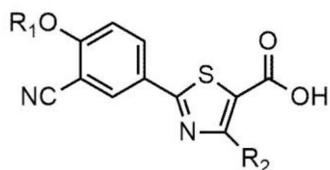


40

50

## 【化 1 0】

&lt;化学式 2&gt;



式中、 $R_1$ 、 $R_2$ 、及びAは、前記で定義されているものと同一である。

10

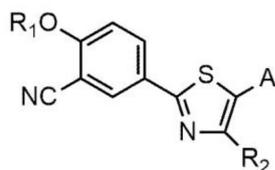
## 【0030】

別の実施形態において、本発明は、化学式3の化合物を、 $NH_2 - (CH_2)_n - NR_3R_4$ 、 $NH_2 - CH_2 - CR_5R_6 - NR_3R_4$ 、 $Cy$ 、および $NH_2 - Cy$ からなる群から選択されるN含有化合物(式中、 $n$ 、 $R_3$ 、 $R_4$ 、 $R_5$ 、及び $R_6$ は、前記で定義されているものと同一であり； $Cy$ は、ホモピペラジン、ピペリジン、モルホリン、およびピロリジンからなる群から選択される含窒素複素環基であり、前記含窒素複素環基は、 $C_1 \sim C_4$ アルキルまたはベンジルで任意選択的に置換され； $NH_2 - Cy$ は、ホモピペラジニルアミン、ピペリジニルアミン、モルホリニルアミン、およびピロリジニルアミンからなる群から選択される含窒素複素環式アミンであり、前記含窒素複素環式アミンは、 $C_1 \sim C_4$ アルキルまたはベンジルで任意選択的に置換されている)を用いてアシル化して、化学式4の化合物を調製する工程；ならびに化学式4の化合物を化学式5の化合物でアルキル化して、化学式1の化合物を調製する工程を含む、化学式1の化合物またはその薬学的に許容可能な塩の製造方法を提供する；

20

## 【化 1 1】

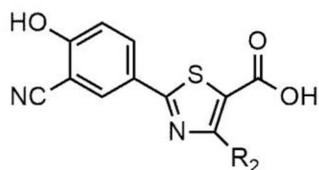
&lt;化学式 1&gt;



30

## 【化 1 2】

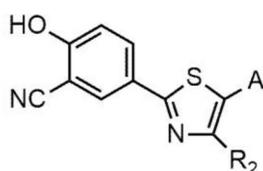
&lt;化学式 3&gt;



40

## 【化 1 3】

&lt;化学式 4&gt;



50

< 化学式 5 >

$R_1 X$

式中、 $R_1$ 、 $R_2$ 、及びAは、前記で定義されているものと同一であり、Xは、ハロゲンである。

【0031】

化学式2の化合物、化学式3の化合物、およびN含有化合物（すなわち、 $NH_2 - (CH_2)_n NR_3 R_4$ 、 $NH_2 - CH_2 - CR_5 R_6 - NR_3 R_4$ 、Cy、および $NH_2 - Cy$ ）は、公知の化合物であり、市販されている。アシル化は、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド(EDC)、ジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)、1,1'-カルボニルジイミダゾール(CDI)、N-エトキシカルボニル-2-エトキシ-1,2-ジヒドロキノリン(EEDQ)などのアシル化剤を使用して実施してもよい。また、アシル化は、化学式2の化合物または化学式3の化合物と、塩化チオニル、塩化オキサリル、塩化リンなどを反応させて塩化アシルを製造し、続いてN含有化合物とを反応させることによって実施してもよい。アシル化は、従来の有機溶媒、例えば、ジクロロメタン、ジメチルホルムアミドなどの溶媒中で実施してもよい。

10

【0032】

アルキル化は、水酸化ナトリウムまたは炭酸ナトリウムなどのアルカリ金属塩基の存在下で実施してもよい。化学式4の化合物と化学式5の $R_1 X$ との間の反応は、1:1~1:5のモル比、好ましくは約1:1のモル比で実施してもよい。アルキル化は、水、 $C_1 \sim C_4$ アルコール、アセトン、テトラヒドロフラン、トルエン、またはそれらの混合物中で実施してもよい。

20

【0033】

本発明の2-アリアルチアゾール誘導体、すなわち、化学式1の化合物またはその薬学的に許容可能な塩は、優れたオートファジー誘導活性を有する。したがって、本発明の化学式1の化合物またはその薬学的に許容可能な塩は、神経変性疾患、肝疾患、代謝性疾患、敗血症などの様々なオートファジー関連疾患の予防または治療に有用に適用することができる。

【0034】

したがって、本発明は、化学式1の化合物またはその薬学的に許容可能な塩の治療有効量を有効成分として含む、オートファジー誘導用医薬組成物をその範囲内に含む。

30

【0035】

オートファジー関連疾患には、オートファジーの誘導によって予防、改善または治療することができる様々な疾患が含まれるが、これらに限定されない。例えば、本発明の医薬組成物は、ハンチントン病、パーキンソン病、アルツハイマー病、プリオン病、多発性硬化症およびルー・ゲーリック病からなる群から選択される神経変性疾患；肝線維症、肝硬変症、肝炎および脂肪肝疾患からなる群から選択される肝疾患；糖尿病、高脂血症、肥満、および炎症からなる群から選択される代謝性疾患；または敗血症の予防用または治療用の医薬組成物であってもよい。

【0036】

本発明の医薬組成物は、希釈剤、崩解剤、甘味剤、滑沢剤、香味剤などの薬学的に許容可能な担体を含んでいてもよい。本発明の医薬組成物は、従来の方に従って、錠剤、カプセル剤、散剤、顆粒剤、懸濁剤、乳剤、シロップ剤などの経口剤形；または外用液剤、外用懸濁剤、外用乳剤、ゲル剤（例えば、軟膏）、吸入剤、スプレー剤、注射剤などの非経口剤形に製剤化してもよい。これらの剤形は様々な形態であってもよく、例えば、単回投与用の剤形であってもよく、複数回投与用の剤形であってもよい。

40

【0037】

本発明の医薬組成物は、例えば、乳糖やトウモロコシ澱粉などの希釈剤；ステアリン酸マグネシウムなどの滑沢剤；乳化剤；懸濁化剤；安定化剤；および/または等張化剤などを含んでいてもよい。必要に応じて、本発明の組成物は、甘味剤および/または香味剤をさらに含む。

50

## 【 0 0 3 8 】

本発明の組成物は、経口投与してもよく、吸入投与経路、静脈内投与経路、腹腔内投与経路、皮下投与経路、脳室内投与経路、直腸投与経路および局所投与経路などにより非経口投与してもよい。したがって、本発明の組成物は、錠剤、カプセル剤、水性液剤、懸濁剤などの様々な形態に製剤化することができる。経口投与用錠剤の場合、乳糖、トウモロコシ澱粉などの担体、およびステアリン酸マグネシウムなどの滑沢剤が従来使用される。経口投与用カプセル剤の場合には、乳糖および/または乾燥トウモロコシ澱粉を希釈剤として使用することができる。経口投与用の水性懸濁剤が必要とされる場合、前記有効成分に乳化剤および/または懸濁化剤を配合してもよい。必要に応じて、特定の甘味剤および/または香味剤を使用してもよい。筋肉内投与、腹腔内投与、皮下投与または静脈内投与の場合、通常、前記有効成分の滅菌溶液を調製し、該溶液に緩衝剤を加えてpHを適切に調節する必要がある。静脈内投与の場合は、溶質の総濃度を調整して製剤を等張化する必要がある。本発明の組成物は、pH 7.4の生理食塩水のような薬学的に許容される担体を含む水性液剤の形態であってもよい。この液剤は、局所ボラス注射により患者の筋肉内の血流に導入してもよい。

10

## 【 0 0 3 9 】

本発明の2-アリアルチアゾール誘導体、すなわち、化学式1の化合物またはその薬学的に許容可能な塩は、1日あたり約0.0001mg/kg~約100mg/kg、好ましくは1日あたり約0.001mg/kg~約100mg/kgの治療有効量で患者に投与してもよい。投与は、経口経路または非経口経路を介して、1日1回または1日数回実施してもよい。言うまでもないが、この投与量は、患者の年齢、状態、体重、感受性、疾患の程度、投与経路、投与期間などに応じて変更してもよい。本発明による医薬組成物は、投与方法に応じて、化学式1の化合物またはその薬学的に許容可能な塩を、0.001~99重量%、好ましくは0.01~60重量%の量で含んでいてもよい。

20

## 【 0 0 4 0 】

本発明は、オートファジーの誘導を必要とする哺乳動物においてオートファジーを誘導する方法であって、化学式1の化合物またはその薬学的に許容可能な塩の治療有効量を前記哺乳動物に投与する工程を含む方法とその範囲内に含む。例えば、本発明は、ハンチントン病、パーキンソン病、アルツハイマー病、プリオン病、多発性硬化症およびルー・ゲーリック病からなる群から選択される神経変性疾患；肝線維症、肝硬変症、肝炎および脂肪肝疾患からなる群から選択される肝疾患；糖尿病、高脂血症、肥満および炎症からなる群から選択される代謝性疾患；または敗血症を予防または治療する方法を含む。

30

## 【 0 0 4 1 】

また、本発明は、オートファジーの誘導を必要とする哺乳動物においてオートファジーを誘導するための薬剤を製造するための、化学式1の化合物またはその薬学的に許容可能な塩の使用をその範囲内に含む。例えば、本発明は、ハンチントン病、パーキンソン病、アルツハイマー病、プリオン病、多発性硬化症およびルー・ゲーリック病からなる群から選択される神経変性疾患；肝線維症、肝硬変症、肝炎および脂肪肝疾患からなる群から選択される肝疾患；糖尿病、高脂血症、肥満および炎症からなる群から選択される代謝性疾患；または敗血症の予防用または治療用の薬剤を製造するための、化学式1の化合物またはその薬学的に許容可能な塩の使用を含む。

40

## 【 0 0 4 2 】

以下の実施例および試験例は、本発明を例示する目的で提供されたものであり、本発明の範囲を何ら限定するものではない。

## 【 0 0 4 3 】

以下の実施例で製造した化合物の分析は、以下のようにして行った。核磁気共鳴(NMR)スペクトル分析は、Bruker分光計(400MHz)を使用して行い、化学シフトはppmの単位で分析した。カラムクロマトグラフィーは、シリカゲル(メルク社、70~230メッシュ)を使用して行った。特に明記しない限り、出発物質はいずれも市販品を購入し、さらに精製することなく使用した。すべての反応物およびクロマトグラフィ

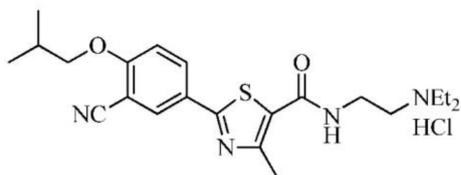
50

一分画は、250 nmのシリカゲルプレートを使用した薄層クロマトグラフィー（TLC）で分析し、紫外線またはヨウ素（ $I_2$ ）染色で可視化した。生成物および中間体は、フラッシュクロマトグラフィーまたは逆相HPLCによって精製した。

【0044】

実施例1：N-(2-(ジエチルアミノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩の製造

【化14】



10

2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボン酸(9.49 g)、ジクロロメタン(100 ml)、およびジメチルホルムアミド(0.25 ml)の混合物を10分間攪拌した。塩化チオニル(4.28 g)を混合物に加えた後、攪拌しながら3時間還流した。反応混合物を室温に冷却した後、減圧下で濃縮した。得られた濃縮物にジクロロメタン(90 ml)を加えた後、0~10℃に冷却した。K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(5.30 g)を反応混合物に加えた後、20分間攪拌した。2-(ジエチルアミノ)エチルアミン(3.49 g)を混合物に加えた。反応混合物を室温で2時間攪拌し、精製水(100 ml)で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した後、真空下で濃縮して、N-(2-(ジエチルアミノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミドを得た。得られた化合物をメタノール(70 ml)およびジクロロメタン(7 ml)の混合溶媒に溶解した後、1N塩酸のエーテル溶液(25 ml)を加えた。混合物を40℃に加熱した後、減圧濃縮した。得られた濃縮物にアセトン(70 ml)を添加した。混合物を1時間攪拌した後、濾過した。得られた固体をアセトン(10 ml)で洗浄した後、50~55℃で乾燥して、標題化合物6.50 gを得た。(収率：66.3%)

20

TLC R<sub>f</sub> = 0.24 in 10% MeOH in Chloroform

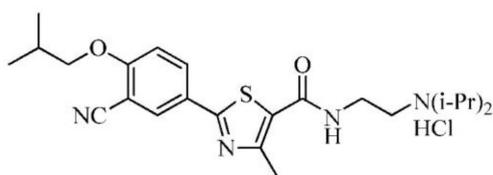
<sup>1</sup>H NMR (400MHz, MeOH-d<sub>4</sub>) 8.26 (d, 1H, J = 2.4 Hz)、8.22 (dd, 1H, J = 2.4 Hz, 8.8 Hz)、7.33 (d, 1H, J = 8.8 Hz)、4.03 (d, 2H, J = 6.4 Hz)、3.78 (t, 2H, J = 6.4 Hz)、3.42 (t, 2H, J = 6.4 Hz)、3.40 ~ 3.32 (m, 4H)、2.74 (s, 3H)、2.25 ~ 2.15 (m, 1H)、1.40 (t, 6H, J = 7.2 Hz)、1.12 (d, 6H, J = 6.8 Hz)

30

【0045】

実施例2：N-(2-(ジイソプロピルアミノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩の製造

【化15】



40

2-(ジエチルアミノ)エチルアミンの代わりに、2-(ジイソプロピルアミノ)エチルアミンを使用して、実施例1と同じ手順に従って標題化合物を製造した。(収率：55.5%)

TLC R<sub>f</sub> = 0.29 in 10% MeOH in Chloroform

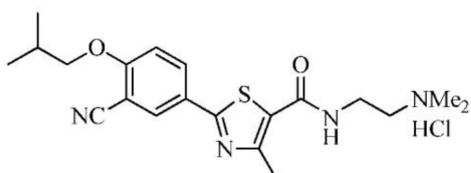
<sup>1</sup>H NMR (400MHz, MeOH-d<sub>4</sub>) 8.23 (d, 1H, J = 2.4 Hz)、8.20 (dd, 1H, J = 2.4 Hz, 8.8 Hz)、7.30 (d, 1H, J = 8.8 Hz)、4.01 (d, 2H, J = 6.4 Hz)、3.90 ~ 3.82 (m, 2H)、3.75 (t, 2H, J = 6.8 Hz)、3.38 (t, 2H, J = 6.8 Hz)、2.72 (s, 3

50

H)、2.25 ~ 2.15 (m、1H)、1.46 (d、12H、J = 6.8 Hz)、1.12 (d、6H、J = 6.8 Hz)  
【0046】

実施例3：N-(2-(ジメチルアミノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-イソプロトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩の製造

【化16】



10

2-(ジエチルアミノ)エチルアミンの代わりに、2-(ジメチルアミノ)エチルアミンを使用して、実施例1と同じ手順に従って標題化合物を製造した。(収率：90.6%)

TLC R<sub>f</sub> = 0.34 in 10% MeOH in Chloroform

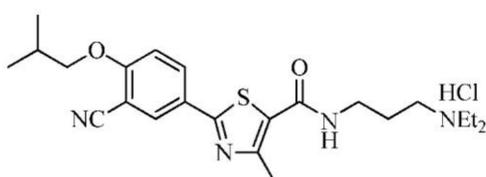
<sup>1</sup>H NMR (400MHz、MeOH-d<sub>4</sub>) 8.26 (d、1H、J = 2.4 Hz)、8.22 (dd、1H、J = 2.4 Hz、8.8 Hz)、7.34 (d、1H、J = 9.2 Hz)、4.03 (d、2H、J = 6.4 Hz)、3.77 (t、2H、J = 6.0 Hz)、3.42 (t、2H、J = 6.0 Hz)、3.02 (s、6H)、2.74 (s、3H)、2.25 ~ 2.15 (m、1H)、1.12 (d、6H、J = 6.8 Hz)

【0047】

実施例4：N-(3-(ジエチルアミノ)プロピル)-2-(3-シアノ-4-イソプロトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩の製造

20

【化17】



2-(ジエチルアミノ)エチルアミンの代わりに、3-(ジエチルアミノ)プロピルアミンを使用して、実施例1と同じ手順に従って標題化合物を製造した。(収率：44.4%)

30

TLC R<sub>f</sub> = 0.17 in 10% MeOH in Chloroform

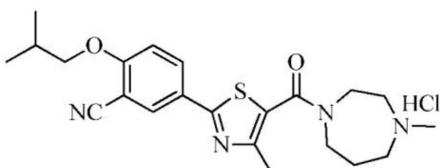
<sup>1</sup>H NMR (400MHz、MeOH-d<sub>4</sub>) 8.27 (d、1H、J = 2.4 Hz)、8.22 (dd、1H、J = 2.4 Hz、8.8 Hz)、7.35 (d、1H、J = 8.8 Hz)、4.03 (d、2H、J = 6.4 Hz)、3.51 (t、2H、J = 6.4 Hz)、3.34 ~ 3.22 (m、6H)、2.73 (s、3H)、2.25 ~ 2.15 (m、1H)、2.15 ~ 2.05 (m、2H)、1.37 (t、6H、J = 7.2 Hz)、1.12 (d、6H、J = 6.4 Hz)

【0048】

実施例5：N-(4-メチルホモピペラジノ)-2-(3-シアノ-4-イソプロトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩の製造

【化18】

40



2-(ジエチルアミノ)エチルアミンの代わりに、N-メチルホモピペラジンを使用して、実施例1と同じ手順に従って標題化合物を製造した。(収率：45.3%)

TLC R<sub>f</sub> = 0.39 in 10% MeOH in Chloroform

<sup>1</sup>H NMR (400MHz、MeOH-d<sub>4</sub>) 8.23 (d、1H、J = 2.4 Hz)、8.20 (dd、1H、J =

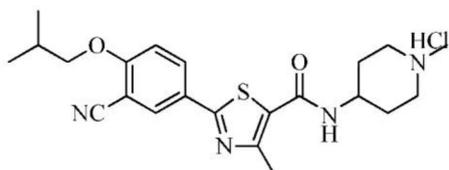
50

2.4 Hz、8.8 Hz)、7.33 (d、1H、J = 8.8 Hz)、4.32 ~ 4.18 (m、1H)、4.02 (d、2H、J = 6.4 Hz)、3.90 ~ 3.60 (m、5H)、3.45 ~ 3.35 (m、2H)、3.00 (s、3H)、2.52 (s、3H)、2.35 ~ 2.25 (m、2H)、2.25 ~ 2.15 (m、1H)、1.12 (d、6H、J = 6.8 Hz)

【0049】

実施例6：N-(4-(1-メチル)ピペリジニル)-2-(3-シアノ-4-イソプロトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩の製造

【化19】



10

2 - (ジエチルアミノ)エチルアミンの代わりに、4-アミノ-1-メチルピペリジンを使用して、実施例1と同じ手順に従って標題化合物を製造した。(収率：62.4%)

TLC R<sub>f</sub> = 0.29 in 10% MeOH in Chloroform

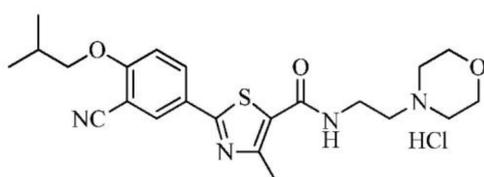
<sup>1</sup>H NMR (400MHz、MeOH-d<sub>4</sub>) 8.24 (d、1H、J = 2.4 Hz)、8.20 (dd、1H、J = 2.4 Hz、8.8 Hz)、7.33 (d、1H、J = 8.8 Hz)、4.20 ~ 4.10 (m、1H)、4.02 (d、2H、J = 6.4 Hz)、3.65 ~ 3.55 (m、2H)、3.25 ~ 3.15 (m、2H)、2.97 (s、3H)、2.68 (s、3H)、2.35 ~ 2.25 (m、2H)、2.25 ~ 2.15 (m、1H)、2.05 ~ 1.90 (m、2H)、1.12 (d、6H、J = 6.8 Hz)

20

【0050】

実施例7：N-(2-(4-モルホリノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-イソプロトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩の製造

【化20】



30

2 - (ジエチルアミノ)エチルアミンの代わりに、4-(2-アミノエチル)モルホリンを使用して、実施例1と同じ手順に従って標題化合物を製造した。(収率：64.9%)

TLC R<sub>f</sub> = 0.61 in 10% MeOH in Chloroform

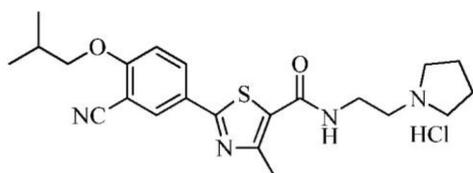
<sup>1</sup>H NMR (400MHz、MeOH-d<sub>4</sub>) 8.26 (d、1H、J = 2.4 Hz)、8.22 (dd、1H、J = 2.4 Hz、9.2 Hz)、7.34 (d、1H、J = 9.2 Hz)、4.12 (dd、2H、J = 3.2、12.8 Hz)、4.03 (d、2H、J = 6.4 Hz)、3.92 ~ 3.85 (m、2H)、3.85 ~ 3.78 (m、2H)、3.73 (d、2H、J = 12.8 Hz)、3.44 (t、2H、J = 6.0 Hz)、3.30 ~ 3.20 (m、2H)、2.74 (s、3H)、2.25 ~ 2.15 (m、1H)、1.12 (d、6H、J = 6.8 Hz)

40

【0051】

実施例8：N-(2-(1-ピロリジノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-イソプロトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩の製造

【化21】



50

2 - (ジエチルアミノ)エチルアミンの代わりに、1 - (2 - アミノエチル)ピロリジンを使用して、実施例 1 と同じ手順に従って標題化合物を製造した。(収率：59.5%)

TLC  $R_f$  = 0.14 in 10% MeOH in Chloroform

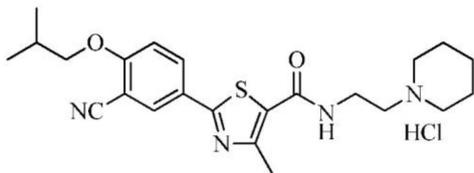
$^1\text{H NMR}$  (400MHz、MeOH- $d_4$ ) 8.26 (d, 1H,  $J$  = 2.4 Hz)、8.22 (dd, 1H,  $J$  = 2.4 Hz、9.2 Hz)、7.35 (d, 1H,  $J$  = 8.8 Hz)、4.03 (d, 2H,  $J$  = 6.4 Hz)、3.88 ~ 3.80 (m, 2H)、3.77 (t, 2H,  $J$  = 6.0 Hz)、3.48 (t, 2H,  $J$  = 6.0 Hz)、3.25 ~ 3.15 (m, 2H)、2.75 (s, 3H)、2.25 ~ 2.15 (m, 3H)、2.15 ~ 2.05 (m, 2H)、1.12 (d, 6H,  $J$  = 6.8 Hz)

【0052】

実施例 9 : N-(2-(1-ピペリジノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩の製造

10

【化22】



2 - (ジエチルアミノ)エチルアミンの代わりに、1 - (2 - アミノエチル)ピペリジンを使用して、実施例 1 と同じ手順に従って標題化合物を製造した。(収率：72.7%)

20

TLC  $R_f$  = 0.33 in 10% MeOH in Chloroform

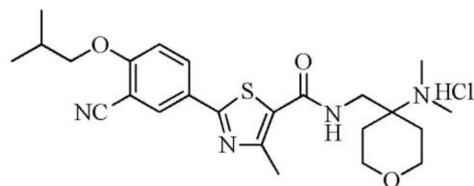
$^1\text{H NMR}$  (400MHz、MeOH- $d_4$ ) 8.25 (d, 1H,  $J$  = 2.4 Hz)、8.21 (dd, 1H,  $J$  = 2.4 Hz、8.8 Hz)、7.33 (d, 1H,  $J$  = 8.8 Hz)、4.03 (d, 2H,  $J$  = 6.4 Hz)、3.77 (t, 2H,  $J$  = 6.0 Hz)、3.73 (d, 2H,  $J$  = 11.6 Hz)、3.37 (t, 2H,  $J$  = 6.0 Hz)、3.10 ~ 3.00 (m, 2H)、2.73 (s, 3H)、2.25 ~ 2.15 (m, 1H)、2.05 ~ 1.95 (m, 2H)、1.93 ~ 1.83 (m, 3H)、1.62 ~ 1.53 (m, 1H)、1.12 (d, 6H,  $J$  = 6.8 Hz)

【0053】

実施例 10 : N-((4-(ジメチルアミノ)テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イル)メチル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩の製造

30

【化23】



2 - (ジエチルアミノ)エチルアミンの代わりに、4 - (アミノメチル) - N,N - ジメチルテトラヒドロ - 2 H - ピラン - 4 - アミンを使用して、実施例 1 と同じ手順に従って標題化合物を製造した。(収率：67.9%)

40

TLC  $R_f$  = 0.44 in 10% MeOH in Chloroform

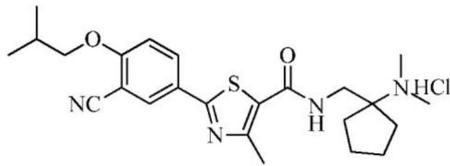
$^1\text{H NMR}$  (400MHz、DMSO- $d_6$ ) 10.31 (t, 1H,  $J$  = 4.8 Hz)、8.67 (t, 1H,  $J$  = 6.4 Hz)、8.26 (d, 1H,  $J$  = 2.4 Hz)、8.20 (dd, 1H,  $J$  = 2.4 Hz、8.8 Hz)、7.40 (d, 1H,  $J$  = 8.8 Hz)、4.02 (d, 2H,  $J$  = 6.4 Hz)、3.95 ~ 3.85 (m, 2H)、3.83 (d, 2H,  $J$  = 6.4 Hz)、3.65 ~ 3.55 (m, 2H)、2.80 (s, 3H)、2.79 (s, 3H)、2.64 (s, 3H)、2.15 ~ 2.05 (m, 1H)、1.95 ~ 1.85 (m, 4H)、1.03 (d, 6H,  $J$  = 6.4 Hz)

【0054】

実施例 11 : N-((1-(ジメチルアミノ)シクロペンチル)メチル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩の製造

50

## 【化 2 4】



2 - (ジエチルアミノ)エチルアミンの代わりに、1 - (アミノメチル) - N,N - ジメチルシクロペンチルアミンを使用して、実施例 1 と同じ手順に従って標題化合物を製造した。(収率：72.9%)

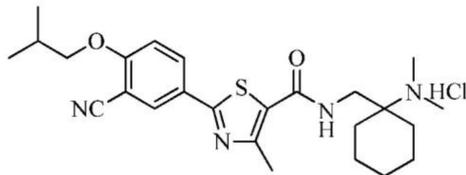
TLC  $R_f$  = 0.34 in 10% MeOH in Chloroform

$^1\text{H NMR}$  (400MHz, DMSO- $d_6$ ) 10.73 (t, 1H,  $J$  = 4.8 Hz)、8.73 (t, 1H,  $J$  = 6.4 Hz)、8.26 (d, 1H,  $J$  = 2.4 Hz)、8.20 (dd, 1H,  $J$  = 2.4 Hz, 8.8 Hz)、7.40 (d, 1H,  $J$  = 8.8 Hz)、4.02 (d, 2H,  $J$  = 6.4 Hz)、3.61 (d, 2H,  $J$  = 6.4 Hz)、2.81 (s, 3H)、2.80 (s, 3H)、2.64 (s, 3H)、2.15 ~ 2.05 (m, 1H)、2.00 ~ 1.90 (m, 4H)、1.80 ~ 1.70 (m, 4H)、1.02 (d, 6H,  $J$  = 6.8 Hz)

## 【0055】

実施例 12 : N-((1-(ジメチルアミノ)シクロヘキシル)メチル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩の製造

## 【化 2 5】



2 - (ジエチルアミノ)エチルアミンの代わりに、1 - (アミノメチル) - N,N - ジメチルシクロヘキシルアミンを使用して、実施例 1 と同じ手順に従って標題化合物を製造した。(収率：58.3%)

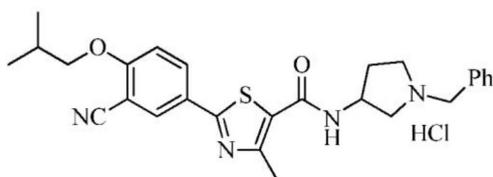
TLC  $R_f$  = 0.31 in 10% MeOH in Chloroform

$^1\text{H NMR}$  (400MHz, DMSO- $d_6$ ) 9.90 (s, 1H)、8.56 (t, 1H,  $J$  = 6.0 Hz)、8.26 (d, 1H,  $J$  = 2.4 Hz)、8.20 (dd, 1H,  $J$  = 2.4 Hz, 8.8 Hz)、7.40 (d, 1H,  $J$  = 8.8 Hz)、4.02 (d, 2H,  $J$  = 6.4 Hz)、3.74 (d, 2H,  $J$  = 6.4 Hz)、2.81 (s, 3H)、2.79 (s, 3H)、2.64 (s, 3H)、2.15 ~ 2.05 (m, 1H)、1.95 ~ 1.88 (m, 2H)、1.75 ~ 1.52 (m, 7H)、1.22 ~ 1.13 (m, 1H)、1.02 (d, 6H,  $J$  = 6.8 Hz)

## 【0056】

実施例 13 : N-(3-(1-ベンジル)ピロリジニル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩の製造

## 【化 2 6】



2 - (ジエチルアミノ)エチルアミンの代わりに、1 - ベンジル - 3 - アミノピロリジンを使用して、実施例 1 と同じ手順に従って標題化合物を製造した。(収率：43.4%)

TLC  $R_f$  = 0.41 in 10% MeOH in Chloroform

$^1\text{H NMR}$  (400MHz, DMSO- $d_6$ ) 11.20 (s, 1H)、8.73 (dd, 1H,  $J$  = 6.4, 26 Hz)、8.25 ~ 8.15 (m, 2H)、7.65 ~ 7.60 (m, 2H)、7.50 ~ 7.40 (m, 4H)、4.73 ~

10

20

30

40

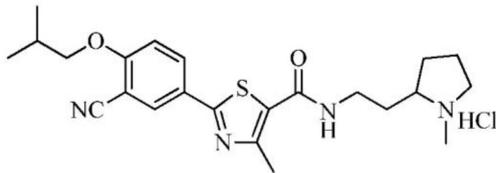
50

4.45 (m, 1H)、4.42 (dd, 2H, J = 6.0、14 Hz)、4.02 (dd, 2H, J = 2.8、6.4 Hz)、3.60 ~ 3.40 (m, 2H)、3.40 ~ 3.30 (m, 1H)、3.22 ~ 3.10 (m, 1H)、2.62 (d, 3H, J = 4.0 Hz)、2.15 ~ 2.05 (m, 1H)、1.02 (dd, 6H, J = 1.6、6.8 Hz)

【0057】

実施例14：N-(2-(2-(1-メチル)ピロリジン)エチル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩の製造

【化27】



10

2-(ジエチルアミノ)エチルアミンの代わりに、2-(2-アミノエチル)-1-メチル-ピロリジンを使用して、実施例1と同じ手順に従って標題化合物を製造した。(収率：85.3%)

TLC R<sub>f</sub> = 0.14 in 10% MeOH in Chloroform

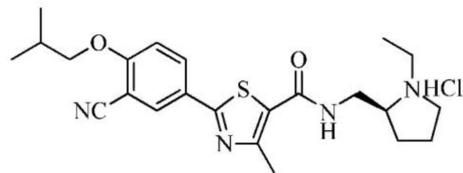
<sup>1</sup>H NMR (400MHz, D<sub>2</sub>O) 7.58 (dd, 1H, J = 2.4、8.8 Hz)、7.51 (d, 1H, J = 2.4 Hz)、6.88 (d, 1H, J = 8.8 Hz)、3.72 (d, 2H, J = 6.8 Hz)、3.68 ~ 3.60 (m, 1H)、3.37 (t, 2H, J = 6.8 Hz)、3.32 ~ 3.25 (m, 1H)、3.27 (s, 2H)、3.15 ~ 3.05 (m, 1H)、2.87 (s, 3H)、2.35 ~ 2.25 (m, 1H)、2.25 ~ 2.15 (m, 1H)、2.15 ~ 1.92 (m, 3H)、1.85 ~ 1.70 (m, 2H)、0.92 (d, 6H, J = 6.8 Hz)

20

【0058】

実施例15：N-((S)-2-(1-エチル)ピロリジノメチル)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩の製造

【化28】



30

2-(ジエチルアミノ)エチルアミンの代わりに、(S)-2-(アミノメチル)-1-エチル-ピロリジンを使用して、実施例1と同じ手順に従って標題化合物を製造した。(収率：63.6%)

TLC R<sub>f</sub> = 0.24 in 10% MeOH in Chloroform

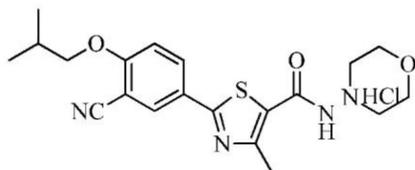
<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 10.39 (s, 1H)、8.74 (t, 1H, J = 5.6 Hz)、8.25 (d, 1H, J = 2.0 Hz)、8.19 (dd, 1H, J = 2.0 Hz、9.2 Hz)、7.40 (d, 1H, J = 9.2 Hz)、4.01 (d, 2H, J = 6.4 Hz)、3.75 ~ 3.52 (m, 4H)、3.45 ~ 3.35 (m, 1H)、3.13 ~ 3.03 (m, 2H)、2.65 (s, 3H)、2.20 ~ 1.80 (m, 5H)、1.29 (t, 3H, J = 7.2 Hz)、1.02 (d, 6H, J = 6.8 Hz)

40

【0059】

実施例16：N-(4-モルホリンアミノ)-2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩の製造

【化29】



50

2 - (ジエチルアミノ)エチルアミンの代わりに、4 - アミノモルホリンを使用して、実施例 1 と同じ手順に従って標題化合物を製造した。(収率：59.9%)

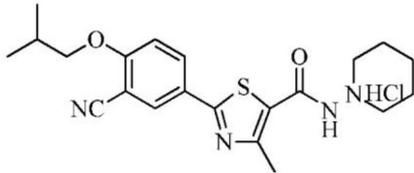
TLC  $R_f$  = 0.69 in 10% MeOH in Chloroform

$^1\text{H NMR}$  (400MHz, DMSO- $d_6$ ) 9.10 (s, 1H)、8.35 (s, 1H)、8.30 ~ 8.20 (m, 1H)、7.35 ~ 7.40 (m, 1H)、4.01 (d, 2H,  $J$  = 6.4 Hz)、3.85 ~ 3.65 (m, 4H)、2.95 ~ 2.70 (m, 4H)、2.67 (s, 3H)、2.15 ~ 2.05 (m, 1H)、1.29 (t, 3H,  $J$  = 7.2 Hz)、1.03 (d, 6H,  $J$  = 6.8 Hz)

【0060】

実施例 17 : N-(1-ピペリジンアミノ)-2-(3-シアノ-4-イソプロキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩の製造

【化30】



2 - (ジエチルアミノ)エチルアミンの代わりに、1 - アミノピペリジンを使用して、実施例 1 と同じ手順に従って標題化合物を製造した。(収率：45.8%)

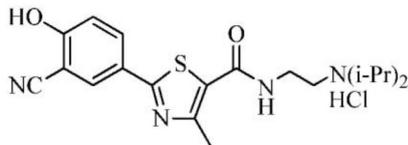
TLC  $R_f$  = 0.39 in 10% MeOH in Chloroform

$^1\text{H NMR}$  (400MHz, DMSO- $d_6$ ) 9.01 (s, 1H)、8.28 (d, 1H,  $J$  = 2.4 Hz)、8.23 (dd, 1H,  $J$  = 2.0, 8.8 Hz)、7.38 (d, 1H,  $J$  = 8.8 Hz)、4.01 (d, 2H,  $J$  = 6.4 Hz)、3.25 ~ 3.20 (m, 1H)、3.05 ~ 2.95 (m, 2H)、2.72 (s, 3H)、2.70 ~ 2.65 (m, 1H)、2.15 ~ 2.05 (m, 1H)、1.82 ~ 1.65 (m, 6H)、1.03 (d, 6H,  $J$  = 6.4 Hz)

【0061】

実施例 18 : N-(2-(ジイソプロピルアミノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-ヒドロキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩の製造

【化31】



2 - (3 - シアノ - 4 - ヒドロキシフェニル) - 4 - メチルチアゾール - 5 - カルボン酸 (3.00 g)、ヒドロキシベンゾトリアゾール (1.71 g)、ジシクロヘキシルカルボジイミド (2.62 g) およびジメチルホルムアミド (30 ml) の混合物を 10 分間攪拌した。N - メチルモルホリン (1.28 g) および 2 - (ジイソプロピルアミノ)エチルアミン (1.83 g) を混合物に加え、50 に昇温した後、3 時間攪拌した。反応混合物を 0 ~ 5 に冷却し、得られた固体を濾過によって除去した。濾液を減圧濃縮した。得られた油状濃縮物を、0.5 N 塩酸溶液 (60 ml) および精製水 (60 ml) に溶解した後、酢酸エチルで洗浄した (60 ml x 2 回)。水層を水酸化ナトリウム (1.2 g) で pH 7 ~ 8 に調整し、ジクロロメタンで抽出した (60 ml x 2 回)。合わせた抽出物を無水硫酸ナトリウムで乾燥した後、真空濃縮して、N - (2 - (ジイソプロピルアミノ)エチル) - 2 - (3 - シアノ - 4 - ヒドロキシフェニル) - 4 - メチルチアゾール - 5 - カルボキサミドを得た。この化合物をメタノール (10 ml) に溶解した後、1 N 塩酸のエーテル溶液 (20 ml) を加えた。混合物を 40 に加熱した後、アセトン (30 ml) を加えた。混合物を 1 時間攪拌した後、濾過した。得られた固体をアセトン (10 ml) で洗浄した後、50 ~ 55 で乾燥して、標題化合物 4.17 g を得た。(収率：85.5%)

TLC  $R_f$  = 0.20 in 20% MeOH in Chloroform

10

20

30

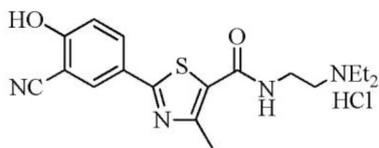
40

50

$^1\text{H NMR}$  (400MHz、MeOH- $d_4$ ) 8.18 (d、1H、 $J = 2.4$  Hz)、8.09 (dd、1H、 $J = 2.4$  Hz、8.8 Hz)、7.11 (d、1H、 $J = 8.8$  Hz)、3.90 ~ 3.82 (m、2H)、3.74 (t、2H、 $J = 6.8$  Hz)、3.38 (t、2H、 $J = 6.8$  Hz)、2.73 (s、3H)、1.46 (d、12H、 $J = 6.8$  Hz)  
【0062】

実施例19：N-(2-(ジエチルアミノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-ヒドロキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩の製造

【化32】



10

2-(ジイソプロピルアミノ)エチルアミンの代わりに、2-(ジエチルアミノ)エチルアミンを使用して、実施例18と同じ手順に従って標題化合物を製造した。(収率：40.0%)

TLC  $R_f = 0.39$  in 40% MeOH in Chloroform

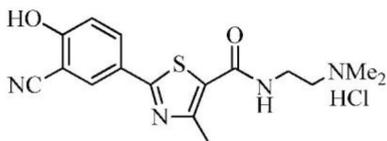
$^1\text{H NMR}$  (400MHz、DMSO- $d_6$ ) 11.99 (s、1H)、10.40 (s、1H)、8.61 (t、1H、 $J = 6.0$  Hz)、8.13 (d、1H、 $J = 2.4$  Hz)、7.95 (dd、1H、 $J = 2.4$  Hz、8.8 Hz)、7.23 (d、1H、 $J = 8.8$  Hz)、3.64 (q、2H、 $J = 6.4$  Hz)、3.22 (q、2H、 $J = 6.4$  Hz)、3.20 ~ 3.12 (m、4H)、2.64 (s、3H)、1.25 (t、6H、 $J = 7.2$  Hz)

20

【0063】

実施例20：N-(2-(ジメチルアミノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-ヒドロキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩の製造

【化33】



30

2-(ジイソプロピルアミノ)エチルアミンの代わりに、2-(ジメチルアミノ)エチルアミンを使用して、実施例18と同じ手順に従って標題化合物を製造した。(収率：83.7%)

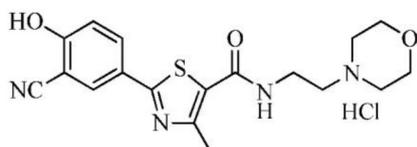
TLC  $R_f = 0.18$  in 40% MeOH in Chloroform

$^1\text{H NMR}$  (400MHz、DMSO- $d_6$ ) 11.97 (s、1H)、10.19 (s、1H)、8.52 (t、1H、 $J = 6.0$  Hz)、8.13 (d、1H、 $J = 2.4$  Hz)、8.05 (dd、1H、 $J = 2.4$  Hz、8.8 Hz)、7.22 (d、1H、 $J = 8.8$  Hz)、3.62 (q、2H、 $J = 6.0$  Hz)、3.25 (q、2H、 $J = 6.0$  Hz)、2.83 (s、3H)、2.82 (s、3H)、2.64 (s、3H)

【0064】

実施例21：N-(2-(4-モルホリノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-ヒドロキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩の製造

【化34】



40

2-(ジイソプロピルアミノ)エチルアミンの代わりに、4-(2-アミノエチル)モ

50

ルホリンを使用して、実施例 18 と同じ手順に従って標題化合物を製造した。(収率: 73.2%)

TLC  $R_f$  = 0.67 in 20% MeOH in Chloroform

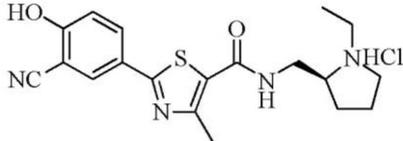
$^1\text{H NMR}$  (400MHz, DMSO- $d_6$ ) 12.03 (s, 1H), 11.24 (s, 1H), 8.64 (t, 1H,  $J$  = 5.6 Hz), 8.13 (d, 1H,  $J$  = 2.4 Hz), 8.05 (dd, 1H,  $J$  = 2.4 Hz, 8.8 Hz), 7.24 (d, 1H,  $J$  = 8.8 Hz), 4.00 ~ 3.80 (m, 4H), 3.68 (q, 2H,  $J$  = 6.0 Hz), 3.58 ~ 3.48 (m, 2H), 3.45 ~ 3.35 (m, 2H), 3.25 ~ 3.15 (m, 2H), 2.64 (s, 3H)

【0065】

実施例 22: N-((S)-2-(1-エチル)ピロリジノメチル)-2-(3-シアノ-4-ヒドロキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩の製造

10

【化35】



2-(ジイソプロピルアミノ)エチルアミンの代わりに、(S)-2-(アミノメチル)-1-エチル-ピロリジンを使用して、実施例 18 と同じ手順に従って標題化合物を製造した。(収率: 23.5%)

20

TLC  $R_f$  = 0.47 in 40% MeOH in Chloroform

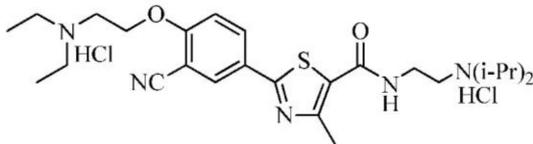
$^1\text{H NMR}$  (400MHz, DMSO- $d_6$ ) 11.96 (s, 1H), 10.43 (s, 1H), 8.71 (t, 1H,  $J$  = 5.6 Hz), 8.14 (d, 1H,  $J$  = 2.4 Hz), 8.06 (dd, 1H,  $J$  = 2.4 Hz, 8.8 Hz), 7.21 (d, 1H,  $J$  = 8.8 Hz), 3.75 ~ 3.52 (m, 4H), 3.45 ~ 3.35 (m, 1H), 3.13 ~ 3.03 (m, 2H), 2.64 (s, 3H), 2.20 ~ 2.10 (m, 1H), 2.05 ~ 1.80 (m, 3H), 1.29 (t, 3H,  $J$  = 7.2 Hz)

【0066】

実施例 23: N-(2-(ジイソプロピルアミノ)エチル)-2-(4-(2-ジエチルアミノ)エトキシ-3-シアノフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩の製造

【化36】

30



実施例 18 で調製した N-(2-(ジイソプロピルアミノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-ヒドロキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩 (3.17 g) を、水酸化ナトリウム (1.26 g) を精製水 (8 ml) およびテトラヒドロフラン (35 ml) に溶解した溶液に加えた。混合物に、2-ジエチルアミノエチルクロリド塩酸塩 (1.30 g) を加えた。混合物を約 70 °C で 4 時間攪拌した。反応混合物を室温に冷却した後、層分離により水層を除去した。有機層を減圧濃縮し、ジクロロメタン (50 ml) に溶解した後、層分離により水層を除去した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、真空濃縮した後、ジイソプロピルエーテル (50 ml) で結晶化した。得られた結晶を濾過した後、50 ~ 55 °C で乾燥して、N-(2-(ジイソプロピルアミノ)エチル)-2-(4-(2-ジエチルアミノ)エトキシ-3-シアノフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミドを得た。この化合物をメタノール (5 ml) に溶解した後、1 N 塩酸のエーテル溶液 (15 ml) を加えた。混合物を 40 °C に加熱した後、アセトン (30 ml) を加えた。混合物を 1 時間攪拌した後、濾過した。得られた固体をアセトン (10 ml) で洗浄した後、50 ~ 55 °C で乾燥して、標題化合物 2.50 g を得

40

50

た。(収率：60.0%)

TLC  $R_f$  = 0.33 in 20% MeOH in Chloroform

$^1\text{H NMR}$  (400MHz, MeOH- $d_4$ ) 8.34 (d, 1H,  $J$  = 2.4 Hz)、8.30 (dd, 1H,  $J$  = 2.4 Hz、8.8 Hz)、7.43 (d, 1H,  $J$  = 8.8 Hz)、4.65 (t, 2H,  $J$  = 4.8 Hz)、3.90 ~ 3.80 (m, 2H)、3.80 ~ 3.70 (m, 4H)、3.52 ~ 3.43 (m, 4H)、3.38 (t, 2H,  $J$  = 6.8 Hz)、2.73 (s, 3H)、1.50 ~ 1.46 (m, 18H)

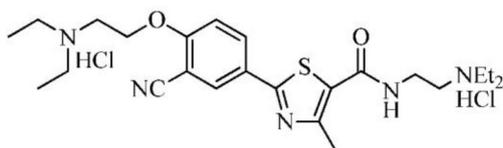
$^1\text{H NMR}$  (400MHz, DMSO- $d_6$ ) 10.90 (s, 1H)、10.14 (s, 1H)、8.77 (t, 1H,  $J$  = 5.6 Hz)、8.30 (d, 1H,  $J$  = 2.4 Hz)、8.24 (dd, 1H,  $J$  = 2.4 Hz、8.8 Hz)、7.44 (d, 1H,  $J$  = 9.2 Hz)、4.67 (t, 2H,  $J$  = 4.4 Hz)、3.70 ~ 3.60 (m, 6H)、3.30 ~ 3.15 (m, 6H)、2.68 (s, 3H)、1.40 ~ 1.40 (m, 18H)

10

【0067】

実施例24：N-(2-(ジエチルアミノ)エチル)-2-(4-(2-ジエチルアミノ)エトキシ-3-シアノフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩の製造

【化37】



実施例1で調製したN-(2-(ジエチルアミノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-ヒドロキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩を使用して、実施例23と同じ手順に従って標題化合物を製造した。(収率：46.3%)

20

TLC  $R_f$  = 0.30 in 20% MeOH in Chloroform

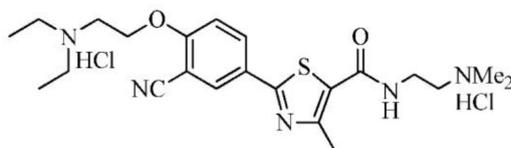
$^1\text{H NMR}$  (400MHz, DMSO- $d_6$ ) 10.54 (s, 1H)、10.31 (s, 1H)、8.65 (t, 1H,  $J$  = 5.2 Hz)、8.30 (d, 1H,  $J$  = 2.4 Hz)、8.25 (dd, 1H,  $J$  = 2.4 Hz、8.8 Hz)、7.44 (d, 1H,  $J$  = 8.8 Hz)、4.64 (s, 2H)、3.70 ~ 3.60 (m, 4H)、3.40 ~ 3.15 (m, 10H)、1.35 ~ 1.20 (m, 12H)

【0068】

実施例25：N-(2-(ジメチルアミノ)エチル)-2-(4-(2-ジエチルアミノ)エトキシ-3-シアノフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩の製造

30

【化38】



実施例20で調製したN-(2-(ジメチルアミノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-ヒドロキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩を使用して、実施例23と同じ手順に従って標題化合物を製造した。(収率：55.5%)

40

TLC  $R_f$  = 0.25 in 20% MeOH in Chloroform

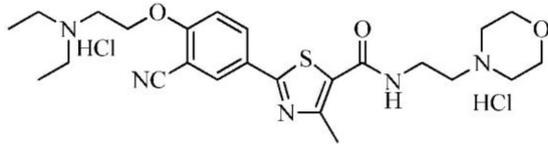
$^1\text{H NMR}$  (400MHz, DMSO- $d_6$ ) 10.80 (s, 1H)、10.45 (s, 1H)、8.89 (t, 1H,  $J$  = 5.2 Hz)、8.30 (d, 1H,  $J$  = 2.4 Hz)、8.25 (dd, 1H,  $J$  = 2.4 Hz、8.8 Hz)、7.44 (d, 1H,  $J$  = 8.8 Hz)、4.66 (t, 2H,  $J$  = 4.8 Hz)、3.65 ~ 3.55 (m, 4H)、3.30 ~ 3.20 (m, 6H)、2.83 (s, 3H)、2.82 (s, 3H)、2.66 (s, 3H)、1.35 ~ 1.28 (m, 6H)

【0069】

実施例26：N-(2-(4-モルホリノ)エチル)-2-(4-(2-ジエチルアミノ)エトキシ-3-シアノフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩の製造

50

## 【化39】



実施例21で調製したN-(2-(4-(2-モルホリノ)エチル)-2-(3-シアノ-4-ヒドロキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩を使用して、実施例23と同じ手順に従って標題化合物を製造した。(収率: 52.1%)

10

TLC  $R_f$  = 0.40 in 20% MeOH in Chloroform

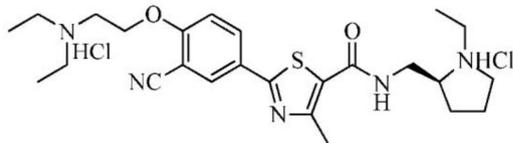
$^1\text{H NMR}$  (400MHz, DMSO- $d_6$ ) 11.24 (s, 1H), 10.86 (s, 1H), 8.70 (t, 1H,  $J$  = 5.6 Hz), 8.30 (d, 1H,  $J$  = 2.4 Hz), 8.24 (dd, 1H,  $J$  = 2.4 Hz, 8.8 Hz), 7.44 (d, 1H,  $J$  = 8.8 Hz), 4.66 (t, 2H,  $J$  = 4.8 Hz), 4.05 ~ 3.95 (m, 2H), 3.90 ~ 3.80 (m, 4H), 3.75 ~ 3.65 (m, 2H), 3.65 ~ 3.60 (m, 2H), 3.60 ~ 3.50 (m, 2H), 3.45 ~ 3.25 (m, 6H), 3.20 ~ 3.10 (m, 2H), 2.66 (s, 3H), 1.30 (t, 6H,  $J$  = 7.2Hz)

## 【0070】

実施例27: N-((S)-2-(1-エチル)ピロリジノメチル)-2-(4-(2-ジエチルアミノ)エトキシ-3-シアノフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩の製造

20

## 【化40】



実施例22で調製したN-((S)-2-(1-エチル)ピロリジノメチル)-2-(3-シアノ-4-ヒドロキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩を使用して、実施例23と同じ手順に従って標題化合物を製造した。(収率: 28.8%)

30

TLC  $R_f$  = 0.08 in 20% MeOH in Chloroform

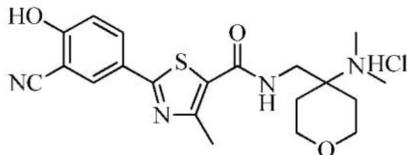
$^1\text{H NMR}$  (400MHz, DMSO- $d_6$ ) 10.70 (s, 1H), 10.66 (s, 1H), 8.80 (t, 1H,  $J$  = 5.6 Hz), 8.31 (d, 1H,  $J$  = 2.4 Hz), 8.25 (dd, 1H,  $J$  = 2.4 Hz, 8.8 Hz), 7.45 (d, 1H,  $J$  = 8.8 Hz), 4.65 (t, 2H,  $J$  = 4.4 Hz), 3.80 ~ 3.50 (m, 6H), 3.45 ~ 3.35 (m, 5H), 3.15 ~ 3.05 (m, 2H), 2.67 (s, 3H), 2.20 ~ 2.10 (m, 1H), 2.05 ~ 1.80 (m, 3H), 1.35 ~ 1.25 (m, 9H)

## 【0071】

実施例28: N-((4-(ジメチルアミノ)テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イル)メチル)-2-(3-シアノ-4-ヒドロキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボキサミド塩酸塩の製造

40

## 【化41】



2-(3-シアノ-4-ヒドロキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボン酸(5.00g)、ヒドロキシベンゾトリアゾール(2.86g)、ジシクロヘキシルカルボジイミド(4.36g)およびジメチルホルムアミド(45ml)の混合物を10分間攪拌した。N-メチルモルホリン(2.14g)および4-(アミノメチル)-N,N-

50

ジメチルテトラヒドロ - 2 H - ピラン - 4 - アミン ( 3 . 5 0 g ) を混合物に加え、 5 0 に昇温した後、 4 時間攪拌した。反応混合物を 0 ~ 5 に冷却し、得られた固体を濾過によって除去した。濾液を減圧濃縮して、N - ( ( 4 - ( ジメチルアミノ ) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 4 - イル ) メチル ) - 2 - ( 3 - シアノ - 4 - ヒドロキシフェニル ) - 4 - メチルチアゾール - 5 - カルボキサミドを得た。この化合物を 2 N 塩酸溶液 ( 2 5 m l ) および精製水 ( 1 0 0 m l ) に溶解し、酢酸エチル ( 1 0 0 m l ) で洗浄した後、濾過した。得られた濾液を 1 時間攪拌した後、濾過した。得られた固体を冷精製水 ( 1 0 m l ) で洗浄した後、アセトン ( 5 0 m l ) を加えた。混合物を 3 0 分間攪拌した後、濾過した。得られた固体をアセトン ( 2 0 m l ) で洗浄後、 5 0 ~ 5 5 で乾燥して、標題化合物 7 . 1 0 g を得た。 ( 収率 : 8 4 . 6 % )

10

TLC  $R_f = 0.48$  in 20% MeOH in Chloroform

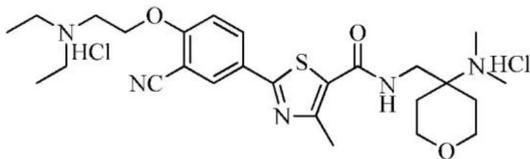
$^1\text{H NMR}$  (400MHz、DMSO- $d_6$ ) 11.98 (s、1H)、10.48 (s、1H)、8.67 (t、1H、 $J = 6.4$  Hz)、8.15 (d、1H、 $J = 2.4$  Hz)、8.06 (dd、1H、 $J = 6.4$  Hz、8.8 Hz)、7.21 (d、1H、 $J = 8.8$  Hz)、3.92 ~ 3.85 (m、2H)、3.83 (d、2H、 $J = 6.4$  Hz)、3.68 ~ 3.58 (m、2H)、2.79 (s、6H)、2.63 (s、3H)、2.00 ~ 1.88 (m、4H)

【 0 0 7 2 】

実施例 2 9 : N - ( ( 4 - ( ジメチルアミノ ) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 4 - イル ) メチル ) - 2 - ( 4 - ( 2 - ジエチルアミノ ) エトキシ - 3 - シアノフェニル ) - 4 - メチルチアゾール - 5 - カルボキサミド塩酸塩の製造

【 化 4 2 】

20



実施例 2 8 で調製した N - ( ( 4 - ( ジメチルアミノ ) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 4 - イル ) メチル ) - 2 - ( 3 - シアノ - 4 - ヒドロキシフェニル ) - 4 - メチルチアゾール - 5 - カルボキサミド塩酸塩を使用して、実施例 2 3 と同じ手順に従って標題化合物を製造した。 ( 収率 : 7 4 . 0 % )

30

TLC  $R_f = 0.38$  in 20% MeOH in Chloroform

$^1\text{H NMR}$  (400MHz、DMSO- $d_6$ ) 10.45 ~ 10.35 (m、2H)、8.72 (t、1H、 $J = 6.4$  Hz)、8.33 (d、1H、 $J = 2.4$  Hz)、8.27 (dd、1H、 $J = 6.4$  Hz、8.8 Hz)、7.45 (d、1H、 $J = 8.8$  Hz)、4.64 (t、2H、 $J = 4.4$  Hz)、3.98 ~ 3.85 (m、2H)、3.84 (d、2H、 $J = 6.4$  Hz)、3.70 ~ 3.60 (m、4H)、3.35 ~ 3.25 (m、4H)、2.80 (d、6H、 $J = 4.8$  Hz)、2.65 (s、3H)、1.95 ~ 1.88 (m、4H)、1.30 (t、6H、 $J = 7.2$  Hz)

【 0 0 7 3 】

試験例 1 : オートファジー誘導活性

オートファジー検出キット ( D A P G r e e n A u t o p h a g y d e t e c t i o n 、 D o j i n d o 、 D 6 7 6 - 1 0 ) を製造業者の説明書に従って使用することにより、H e l a 細胞 ( 韓国細胞株バンク ) において本発明の化合物のオートファジー誘導活性を測定した。具体的には、H e l a 細胞 (  $8 \times 10^4$  細胞 ) を、1 0 % ウシ胎児血清 ( F B S ) を含む F l u r o B r i t e D M E M と共に、9 6 ウェルプレートの各ウェルに播種した後、 $\text{CO}_2$  インキュベーター内で 3 7 で一晩インキュベートして細胞を安定化した。D A P G r e e n ( C a t . D 6 7 6 - 1 0 、 D o j i n d o ) 溶液 ( 0 . 1 m M の D M S O 溶液 ) を培地 ( 1 0 % F B S を含む F l u r o B r i t e D M E M ) で 1 / 1 0 0 0 に希釈して、D A P G r e e n 0 . 1  $\mu$  M を含む培地 ( D A P G r e e n / F B S 含有培地 ) を調製した。細胞が単層状に付着した各ウェルから上清を除去した後、各ウェルを F l u r o B r i t e D M E M で洗浄した。上記で調製した D A P G r e e n / F B S 含有培地 ( 1 0 0  $\mu$  l ) を各ウェルに加え、 $\text{CO}_2$  インキュベーターで 3 0 分間インキュベ

40

50

ートした。DAPGreen処理開始時と30分後に、蛍光値（EX：450nm/EM：535nm）をそれぞれ測定した。その差分値を細胞の基底吸収値とした。

【0074】

基底吸収値の測定と同様に、細胞が単層状に付着した各ウェルから上清を除去した後、FluroBrite DMEMで各ウェルを洗浄した。実施例の化合物、対照物質（2-（3-シアノ-4-イソプトキシフェニル）-4-メチルチアゾール-5-カルボン酸）、陽性対照物質（ラパマイシン）はそれぞれDMSOに溶解した。各溶液を、DAPGreen/FBS含有培地（100μl）で500nMおよび1000nMの濃度に希釈して、細胞に添加した。各濃度につき3つのウェルでテストした（n=3）。37℃で4時間インキュベートした後、蛍光値（EX：450nm/EM：535nm）を測定した。基底吸収値を各ウェルの蛍光値から差し引いた後、得られた各値をDMSO処理群の平均吸収値に基づいて補正（normalization）した。

10

【0075】

試験物質（1000nMおよび500nM）および対照物質（2-（3-シアノ-4-イソプトキシフェニル）-4-メチルチアゾール-5-カルボン酸：1000nMおよび500nM）の処理による相対蛍光値を、陽性対照物質（ラパマイシン：1000nM及び500nM）の処理による蛍光値に基づいて計算した。その結果を下記表1に示す。表1において、実施例で調製した試験物質のオートファジー誘導活性が陽性対照物質と同等である場合、相対蛍光値は1である。実施例で調製した試験物質が陽性対照物質より高いオートファジー誘導活性を示す場合、相対蛍光値は1を超え、実施例で調製した試験物質が陽性対照物質より低いオートファジー誘導活性を示す場合、相対蛍光値は1未満である。

20

30

40

50

【表 1】

相対蛍光値（4時間インキュベーション）

試験物質／濃度	1 0 0 0 nM	5 0 0 nM
実施例 1	0.951	1.022
実施例 2	0.929	0.902
実施例 3	0.963	0.918
実施例 4	0.941	0.975
実施例 5	0.713	0.766
実施例 6	0.841	1.069
実施例 7	0.873	1.035
実施例 8	0.813	0.965
実施例 9	0.949	0.994
実施例 1 0	1.242	0.976
実施例 1 1	0.921	0.991
実施例 1 2	1.001	0.752
実施例 1 3	0.836	0.854
実施例 1 4	1.079	0.925
実施例 1 5	0.924	0.847
実施例 1 6	1.177	1.663
実施例 1 7	1.046	1.674
実施例 1 8	0.731	0.838
実施例 1 9	1.229	0.869
実施例 2 0	1.240	0.758
実施例 2 1	0.916	2.286
実施例 2 2	1.064	2.018
実施例 2 3	0.878	0.958

10

20

30

40

50

実施例 2 4	1.167	0.969
実施例 2 5	1.076	1.415
実施例 2 6	1.343	1.718
実施例 2 7	1.004	1.370
実施例 2 8	1.715	2.133
実施例 2 9	1.306	1.896
2-(3-シアノ-4-イソプトキシフェニル)-4-メチルチアゾール-5-カルボン酸	0.590	0.697
ラパマイシン	1.000	1.000

10

## 【0076】

上記の表 1 に示した結果から、各試験物質で処理後 4 時間インキュベートした場合、本発明による化合物は、陽性対照物質（すなわち、ラパマイシン）と同等またはこれよりも高いオートファジー誘導活性を示し、またカルボン酸部分を有する 2 - ( 3 - シアノ - 4 - イソプトキシフェニル ) - 4 - メチルチアゾール - 5 - カルボン酸よりも著しく優れたオートファジー誘導活性を示したことが分かる。したがって、本発明による化合物は、優れたオートファジー誘導活性を示すことから、神経変性疾患、肝疾患、代謝性疾患、敗血症などの様々なオートファジー関連疾患の予防及び治療に有用に適用することができる。

20

## 【0077】

試験例 2 : オートファジー小胞形成の分析

CYTO-ID<sup>TM</sup> Autophagy Detection Kit (ENZ-51031-K200、Enzo Life Sciences、Inc.) を用いて、神経細胞におけるオートファジー小胞形成の程度を測定することにより、本発明の化合物によるオートファジーリソソーム経路 ( autophagy lysosomal pathway、ALP ) 活性化を検証した。神経細胞 ( すなわち、primary mouse cortical neuron cells ) は、酵素消化法を使用してマウスから分離した。具体的には、16日齢の C57BL/6 マウス胚由来の皮質組織を 20 U/ml のパパイン ( Worthington Biochemical Corporation、LK003176 ) および 0.005% の DNase I ( Worthington Biochemical Corporation、LK003170 ) と共に、37 °C で 30 分間インキュベートして、初代マウス皮質神経細胞を分離した。

30

## 【0078】

初代マウス皮質神経細胞 (  $8 \times 10^4$  細胞 ) および培地 ( 2 mM L-グルタミン ( Gibco、25030-081 )、N2 サプリメント ( Gibco、17502-048 )、B27 サプリメント ( Gibco、17504-044 )、および 50  $\mu$ g/ml ペニシリン-ストレプトマイシン ( Gibco、15140-122 ) ) を 96 ウェルプレートの各ウェルに添加し、37 °C、CO<sub>2</sub> インキュベーターで一晩インキュベートした。実施例 10 の化合物 ( 5  $\mu$ M )、実施例 29 の化合物 ( 5  $\mu$ M )、ラパマイシン ( 10  $\mu$ M ) をそれぞれ細胞に添加し、37 °C、CO<sub>2</sub> インキュベーターで 24 時間インキュベートした。各ウェルを 1 x Assay Buffer ( Enzo Life Science、ENZ-51031-K200 ) で洗浄した後、0.2  $\mu$ l の Cyto-ID オートファジー検出色素と 0.1  $\mu$ l の Hoechst 33342 を細胞に添加し、37 °C、CO<sub>2</sub> インキュ

40

50

ベーターで30分間インキュベートした。各ウェルを1×Assay Buffer (Enzo Life Science、ENZ-51031-K200)で洗浄した後、Cyt o - I D (EX: 480 nm、EM: 530 nm) およびHoechst 33342 (EX: 340 nm、EM: 480 nm) の蛍光値をそれぞれ蛍光光度計で測定した。各群につき3つのウェルでテストした。各ウェルのCyt o - I D 蛍光値をHoechst 33342 蛍光値で割って補正 (normalization) した後、未処理の対照群を1として相対強度を算出した。その結果を下記表2に示す。

【表2】

Cyt o - I D 蛍光値 (相対強度)

試験物質	相対強度
実施例10 (5 μM)	1.813
実施例29 (5 μM)	2.171
ラパマイシン (10 μM)	1.668

10

## 【0079】

上記の表2の結果から、実施例10および29の化合物は、陽性対照物質 (すなわち、ラパマイシン) と比較して、1/2の濃度であっても、オートファジー小胞形成を有意に増加させることが分かる。したがって、本発明による化合物は、優れたオートファジー誘導活性を示すことから、神経変性疾患、肝疾患、代謝性疾患、敗血症などの様々なオートファジー関連疾患の予防及び治療に有用に適用することができる。

20

## 【0080】

試験例3：オートファジーフラックス分析

N2a細胞 (ATCC、CCL-131、マウス神経芽細胞腫細胞株) (3×10<sup>4</sup>細胞) 及び培地 (5%熱不活化ウシ胎児血清 (FBS、Gibco、16000-044) および50 μg/mlペニシリン-ストレプトマイシン (Gibco、15140-122) を補充したDMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium、Gibco、11995-065) を6ウェルプレートの各ウェルに加え、37℃、CO<sub>2</sub>インキュベーターで一晩インキュベートした。実施例29の化合物 (5 μM) 及びラパマイシン (10 μM) をそれぞれ添加し、37℃、CO<sub>2</sub>インキュベーターで24時間インキュベートした。各群につき3ウェルで電子顕微鏡用のブロックを作製し、平板包埋法により前固定、後固定、脱水、置換、包埋を行った。厚さ70 nmの超薄切片を作製し、各切片に対して重金属染色 (酢酸ウラニル、クエン酸鉛) を行った後、細胞全体を画像化するモザイク画像法で撮影した。電子顕微鏡イメージングの結果を図1に示す。また、処理群別に細胞当たりの総オートファジー (オートファジー小胞)、オートファゴソーム、オートリソソームの数を測定して得られた結果を下記表3に示す。下記表3において、対照群は未処理の対照群を意味する。

30

40

50

【表 3】

細胞当たりのオートファジー数

試験物質	オートファジー 小胞	オートファゴソーム	オートリソソーム
対照群	8.3	4.6	4.7
実施例 29 (5 $\mu$ M)	22.3	6.9	14.9
ラパマイシン(10 $\mu$ M)	13.3	4.1	7.6

10

## 【0081】

上記の表3の結果から、実施例29の化合物は、陽性対照物質（すなわち、ラパマイシン）と比較して、1/2の濃度であっても、オートファジー小胞形成、特にオートリソソーム形成を有意に増加させることが分かる。したがって、本発明による化合物は、優れたオートファジー誘導活性を示すことから、神経変性疾患、肝疾患、代謝性疾患、敗血症などの様々なオートファジー関連疾患の予防及び治療に有用に適用することができる。

## 【0082】

試験例4：肝障害モデルにおける経口投与による肝機能改善活性の評価（1）

20

ジメチルニトロソアミン（DMN）により肝障害を誘発した雄性SDラットに、本発明による化合物を3週間にわたり経口投与して、肝機能改善活性を評価した。具体的には、7週齢の雄性SDラット（Orient Bio社、韓国）を室温で7日間かけて実験室環境に適応させた。全体的な症状を観察し、健康なラットのみを実験に使用した。ラットを、4群（各群n=5）、すなわち、正常対照群、DMNのみを投与する群、および本発明の化合物（実施例2または実施例23の化合物）とDMNの両方を投与する群に分けた。DMNを精製水に溶解し、10mg/kgの用量で各週3日連続して腹腔内投与した（週3回、4週間）。第1週の肝障害の誘発完了後3日目に血液サンプルを採取し、血清ALT（アラントランスアミナーゼ）値と血清AST（アスパラギン酸トランスアミナーゼ）値を測定して肝障害を確認した。本発明の化合物は、3週間にわたり投与し、すなわち、第1週の肝障害の誘発完了後4日目からDMN投与期間中にかけて投与した。本発明の化合物をそれぞれ精製水に溶解し、経口ゾンデを使用して、25mg/kgの用量で1日1回、3週間にわたり経口投与した。血液サンプルは、0日目（第1週の肝障害誘発が完了した3日後）および試験物質の投与後7日目、14日目および21日目に採取した。採取した血液を凝固促進剤の入ったバキュテナチューブに注入し、室温で約20分間放置して各血液サンプルを凝固させた。10分間遠心分離した後、得られた血清を使用して血液生化学的検査を行った。実験方法の概要を図2に示す。測定から得られた結果は、SPSSを用いてパラメトリック多重比較または非パラメトリック多重比較によって、群間比較を行った。P<0.05の場合、統計的に有意であると判断した。

30

## 【0083】

40

上記のように血液生化学的検査を行って得られた血清ALT値および血清AST値を以下の表4および表5に示す。

50

【表 4】

群	A L T 値 (単位 : U/L、平均値)			
	0 週	1 週	2 週	3 週
正常対照群	45.64	54.04	53.68	55.00
DMN投与群	72.58	107.52	124.82	156.26
実施例 2 の化合物と DMN を投与した群	70.76	93.68	107.06	117.02
実施例 2 3 の化合物と DMN を投与した群	67.64	94.40	97.64	101.04

10

【表 5】

群	A S T 値 (単位 : U/L、平均値)			
	0 週	1 週	2 週	3 週
正常対照群	109.64	142.88	137.60	142.74
DMN投与群	140.16	207.10	250.84	301.04
実施例 2 の化合物と DMN を投与した群	138.50	180.72	218.90	231.54
実施例 2 3 の化合物と DMN を投与した群	145.10	208.56	221.58	203.44

20

## 【 0 0 8 4 】

表 4 および表 5 に示した結果から分かるように、3 週間後の DMN 投与群の血清 A L T 値は約 3 倍となり、血清 A S T 値は約 2 倍となった。しかし、本発明の化合物と DMN の両方を投与した群では、投与の 3 週間後における A L T 値は 1 0 1 . 0 4 および 1 1 7 . 0 2 U / L となり (すなわち、DMN 投与群と比較して 3 5 % 及び 2 5 % 減少し) ; 投与の 3 週間後における A S T 値は 2 0 3 . 4 4 及び 2 3 1 . 5 4 U / L となった (すなわち、DMN 投与群と比較して 3 2 % 及び 2 3 % 減少した)。したがって、本発明の化合物は、肝線維症に対して優れた阻害活性を有することが確認できる。

30

## 【 0 0 8 5 】

試験例 5 : 肝障害モデルにおける経口投与による肝機能改善活性の評価 ( 2 )

ジメチルニトロソアミン ( DMN ) により肝障害を誘発した雄性 S D ラットに、本発明による化合物を 4 週間にわたり経口投与して、肝機能改善活性を評価した。具体的には、7 週齢の雄性 S D ラット ( O r i e n t B i o 社、韓国 ) を室温で 7 日間かけて実験室環境に適應させた。全体的な症状を観察し、健康なラットのみを実験に使用した。ラットを、5 群 ( 各群 n = 1 0 ) 、すなわち、正常対照群、DMN のみを投与する群、本発明の化合物 ( 実施例 2 3 、 2 6 、または 2 9 の化合物 ) と DMN の両方を投与する群に分けた。DMN を精製水に溶解し、1 0 m g / k g の用量で各週 3 日連続して腹腔内投与した ( 週 3 回、4 週間 ) 。第 4 週の肝障害の誘発完了後に血液サンプルを採取し、血清 A L T ( アラニントランスアミナーゼ ) 値と血清 A S T ( アスパラギン酸トランスアミナーゼ ) 値を測定して肝障害を確認した。本発明の化合物は、第 4 週の肝障害の誘発完了後 1 日目から 4 週間投与した。本発明の化合物を精製水に溶解し、経口ゾンデを使用して、2 5 m g / k g の用量で 1 日 1 回、4 週間にわたり経口投与した。血液サンプルは、0 日目 ( 第 4 週の肝障害の誘発が完了した 1 日後 ) および試験物質の投与後 7 日目、1 4 日目、2 1 日目および 2 8 日目に採取した。採取した血液を凝固促進剤の入ったバキュテイナチューブに注入し、室温で約 2 0 分間放置して各血液サンプルを凝固させた。1 0 分間遠心分離した後、得られた血清を使用して血液生化学的検査を行った。また、最後の投与から 2 4 時間

40

50

後に、剖検して摘出した肝臓を固定して組織標本を作製した。組織標本からスライドを調製し、ヘマトキシリン・エオシン（H & E）染色を行って、肝臓組織への損傷および肝臓組織における炎症性細胞の浸潤を顕微鏡で観察した。また、マッソントリクローム染色を行って、肝臓組織におけるコラーゲン線維の沈着を顕微鏡で観察した。実験方法の概要を図3に示す。測定から得られた結果は、SPSSを用いてパラメトリック多重比較または非パラメトリック多重比較によって、群間比較を行った。P < 0.05の場合、統計的に有意であると判断した。上記のように血液生化学的検査を行って得られた血清ALT値および血清AST値を以下の表6および表7に示す。

【表6】

群	ALT値（単位：U/L、平均値）				
	0週	1週	2週	3週	4週
正常対照群	50.90	51.15	50.09	48.38	48.79
DMN投与群	254.33	111.02	64.26	63.65	65.60
実施例23の化合物とDMNを投与した群	198.30	104.22	65.66	60.95	52.93
実施例26の化合物とDMNを投与した群	199.51	134.97	70.09	62.81	59.12
実施例29の化合物とDMNを投与した群	219.29	99.31	66.57	53.03	52.97

10

20

【表7】

群	AST値（単位：U/L、平均値）				
	0週	1週	2週	3週	4週
正常対照群	103.83	99.78	93.96	117.32	117.91
DMN投与群	339.76	182.01	132.13	143.45	158.68
実施例23の化合物とDMNを投与した群	395.34	169.11	140.57	128.30	125.15
実施例26の化合物とDMNを投与した群	322.72	153.48	145.71	138.76	114.45
実施例29の化合物とDMNを投与した群	376.67	164.60	143.87	127.65	123.33

30

## 【0086】

表6および表7に示した結果から分かるように、4週間後のDMN投与群の血清ALT値は約4～5倍となり、血清AST値は約3～4倍となった。しかし、本発明の化合物とDMNの両方を投与した群では、投与の4週間後におけるALT値は、52.93～59.12 U/Lとなり（すなわち、DMN投与群と比較して9.9～19%減少）；投与の4週間後におけるAST値は、114.45～125.59 U/Lとなった（すなわち、DMN投与群と比較して21～28%減少した）。特に、実施例26の化合物投与群は、投与の4週間後で正常対照群と同等のAST値を示した。したがって、本発明の化合物は、肝線維症に対して優れた治療活性を有することが確認できる。また、上記のように、正常対照群、DMN投与群（4週）、本発明の化合物（実施例23または26の化合物）とDMNの両方を投与する群の剖検を実施して肝組織標本を作製し、ヘマトキシリン・エオシン（H & E）染色およびマッソントリクローム染色を実施することによって得られた結果を図4に示す。図4に示した結果から、肝臓組織への損傷の程度および肝臓組織における炎症性細胞の浸潤の程度を測定した。また、図4に示した結果から、肝臓組織におけ

40

50

るコラーゲン線維の沈着の程度を測定した。これらの結果を以下の表 8 に示す。

【表 8】

群	変性した肝細胞の数	炎症性細胞の数	コラーゲン繊維が占める領域
	細胞 1 0 0 0 個あたりの個数	個/mm <sup>2</sup>	%/mm <sup>2</sup>
正常対照群	33.14±3.23	40.29±6.71	2.37±0.37
DMN投与群	559.88±44.30	188.50±9.90	28.68±1.83
実施例 2 3 の化合物と DMN を投与した群	319.14±44.66	101.43±16.53	12.44±2.03
実施例 2 6 の化合物と DMN を投与した群	259.14±42.56	90.00±20.67	10.75±2.17

【0087】

H & E 染色の結果 (図 4) 及び表 8 から分かるように、正常対照群と比較して、4 週間後の DMN 投与群における肝臓組織への損傷および肝臓組織における炎症性細胞の浸潤は、それぞれ約 17 倍および約 5 倍に増加した。しかし、本発明の化合物 (実施例 2 3 または 2 6 の化合物) と DMN の両方を投与した群では、肝臓組織への損傷および肝臓組織における炎症性細胞の浸潤は、それぞれ細胞 1 0 0 0 個あたり 2 5 9 . 1 4 ~ 3 1 9 . 1 4 個および 9 0 . 0 0 ~ 1 0 1 . 4 3 個/mm<sup>2</sup> となった (すなわち、DMN 投与群と比較してそれぞれ約 4 3 ~ 5 4 % および約 4 6 ~ 5 2 % 改善した)。また、マッソントリクローム染色の結果 (図 4) 及び表 8 から分かるように、正常対照群と比較して、4 週間後の DMN 投与群の肝臓組織におけるコラーゲン線維の沈着は約 12 倍に増加した。しかし、本発明の化合物 (実施例 2 3 または 2 6 の化合物) と DMN の両方を投与した群では、肝臓組織におけるコラーゲン線維の沈着は 1 0 . 7 5 ~ 1 2 . 4 4 % / m m <sup>2</sup> となった (すなわち、DMN 投与群と比較して約 5 7 ~ 6 3 % 減少した)。したがって、本発明の化合物 (実施例 2 3 及び 2 6 の化合物) は、肝線維症に対して優れた阻害活性を有することが確認できる。

【0088】

試験例 6 : ベータアミロイドによる神経細胞死の阻害活性の分析

神経変性疾患における主要な細胞毒性物質として知られているベータアミロイドによる神経細胞死に対する、本発明の化合物の阻害活性を、N 2 a 細胞 (ATCC、CCL-131、mouse neuroblastoma cell line) および試験例 2 と同様の方法で単離した神経細胞 (primary mouse cortical neurons) において分析した。N 2 a 細胞用の培地としては試験例 3 で使用した培地を、神経細胞用の培地としては試験例 2 で使用した培地をそれぞれ使用した。具体的には、N 2 a 細胞 (3 × 1 0 <sup>4</sup> 細胞) と神経細胞 (8 × 1 0 <sup>4</sup> 細胞) を、それぞれの培地と共に、96 ウェルプレートの各ウェルに加え、37 °C、CO<sub>2</sub> インキュベーターで一晩インキュベートした。細胞を実施例 1 0 の化合物および実施例 2 9 の化合物でそれぞれ 5 μM および 5 0 0 nM の濃度で処理し、30 分後に 2 0 μM のベータアミロイドで処理し、37 °C、CO<sub>2</sub> インキュベーターで 7 2 時間培養した。細胞を 1 0 μL の CCK-8 試薬 (Enzo Life Science、ALX-850-039-KI02) で処理した後、37 °C、CO<sub>2</sub> インキュベーターで 2 時間インキュベートした。各群につき 3 つのウェルでテストし、各吸光度を 4 5 0 nm で測定した。未処理の対照群の吸光度値を、細胞生存率 1 0 0 % に設定した。各群の細胞生存率は、それぞれの吸光度値から計算した。結果を

下記表 9 に示す。表 9 において、対照群は、20  $\mu$ M のベータアミロイドのみで処理した群を示す。

【表 9】

試験物質	細胞生存率 (%) (N2a細胞)
対照群	44.68
実施例 10 (5 $\mu$ M)	68.86
実施例 29 (5 $\mu$ M)	68.45
試験物質	細胞生存率 (%) (神経細胞)
対照群	45.10
実施例 10 (500 nM)	52.16
実施例 29 (500 nM)	53.33

10

【0089】

20

表 9 の結果から、実施例 10 の化合物及び実施例 29 の化合物は、いずれもベータアミロイド処理による細胞毒性を有意に抑制することが確認できる。したがって、本発明による化合物は、ベータアミロイドに関連する様々な神経変性疾患の予防および治療に有用に適用することができる。

【0090】

試験例 7：ロテノンによるミトコンドリア損傷抑制活性の分析

神経変性疾患における主要な細胞傷害物質として知られるロテノンによるミトコンドリア損傷に対する、本発明の化合物の阻害活性を、N2a細胞(ATCC、CCL-131、mouse neuroblastoma cell line)において分析した。具体的には、N2a細胞( $3 \times 10^4$ 細胞)及び培地(5%熱不活化ウシ胎児血清(FBS、Gibco、16000-044)および50  $\mu$ g/mlペニシリン-ストレプトマイシン(Gibco、15140-122)を補充したDMEM(Dulbecco's modified Eagle's medium、Gibco、11995-065)をXF24ウェル培養プレートの各ウェルに加え、37 $^{\circ}$ C、CO<sub>2</sub>インキュベーターで一晩インキュベートした。細胞を実施例 10 の化合物(5  $\mu$ M)で処理し、30分後に10  $\mu$ Mのロテノンで処理した後、37 $^{\circ}$ C、CO<sub>2</sub>インキュベーターで24時間インキュベートした。製造業者の説明書に従ってXF Cell Mito Stress Test Kit(Seahorse Bioscience、103015-100)で処理した後、XF24 Extracellular Flux Analyzer(Seahorse Bioscience)を使用して、ミトコンドリア呼吸のレベルを測定した。各群につき4つのウェルでテストし、基礎呼吸、ATP産生、最大呼吸、および予備呼吸能を測定した。各ミトコンドリア呼吸のレベルは、タンパク質量値によって補正(normalization)した。未処理の対照群の基礎呼吸を100%に設定し、残りの値を示した。これらの結果を下記表 10 に示す。表 10 において、対照群は、10  $\mu$ M のロテノンのみで処理した群を表す。

30

40

50

【表 10】

試験物質	ミトコンドリア呼吸 (%)			
	基礎呼吸	A T P 産生	最大呼吸	予備呼吸能
対照群	100	65.32	112.21	19.59
ロテノン	34.76	20.33	47.67	17.00
実施例 10 + ロテノン	51.69	31.65	62.28	16.33

10

## 【0091】

表 10 の結果から、実施例 10 の化合物は、ロテノン処理によるミトコンドリア損傷を統計学的に有意なレベルに回復することが確認できる。したがって、本発明による化合物は、ミトコンドリアの損傷に関連する様々な神経変性疾患の予防および治療に有用に適用することができる。

20

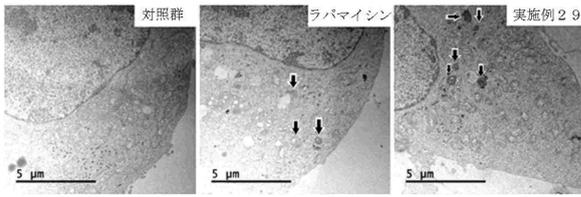
30

40

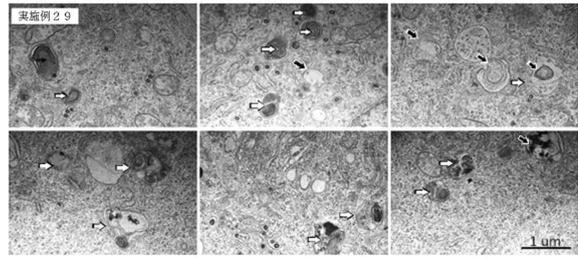
50

【図面】

【図 1 a】

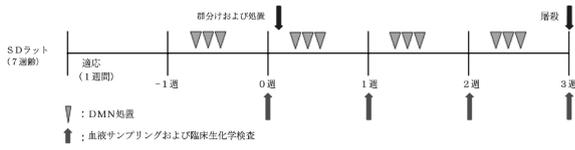


【図 1 b】

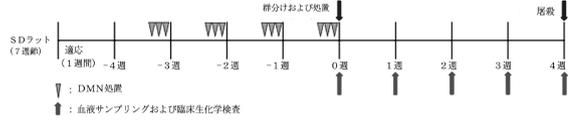


10

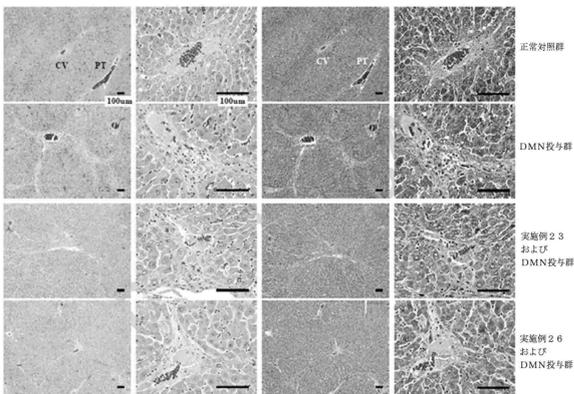
【図 2】



【図 3】



【図 4】



20

30

40

50

## フロントページの続き

## (51)国際特許分類

F I

A 6 1 P	25/00	(2006.01)	A 6 1 P	25/00
A 6 1 P	25/16	(2006.01)	A 6 1 P	25/16
A 6 1 P	25/28	(2006.01)	A 6 1 P	25/28
A 6 1 P	1/16	(2006.01)	A 6 1 P	1/16
A 6 1 P	3/06	(2006.01)	A 6 1 P	3/06
A 6 1 P	3/10	(2006.01)	A 6 1 P	3/10
A 6 1 P	3/04	(2006.01)	A 6 1 P	3/04
A 6 1 P	29/00	(2006.01)	A 6 1 P	29/00
A 6 1 K	31/4468	(2006.01)	A 6 1 K	31/4468

弁理士 酒井 善典

(74)代理人 100171402

弁理士 上田 茂

(74)代理人 100213779

弁理士 小川 有佳子

(74)代理人 100077012

弁理士 岩谷 龍

(72)発明者 ハン, シン

大韓民国 1 5 6 2 3 キョンギ - ド, アンサン - シ, サンノク - グ, カンゴル - ロ 8 3 6 0 1  
- 1 4 0 2

(72)発明者 イ, ジェヒョン

大韓民国 1 5 3 5 0 キョンギ - ド, アンサン - シ, タヌオン - グ, コジャン - ロ 1 1 5 1 0  
7 - 3 4 0 3

審査官 高森 ひとみ

## (56)参考文献

中国特許出願公開第 1 1 0 0 6 6 2 5 8 ( C N , A )

国際公開第 2 0 1 0 / 1 2 8 1 6 3 ( W O , A 2 )

特開 2 0 1 0 - 0 3 7 3 3 7 ( J P , A )

特開 2 0 0 2 - 1 0 5 0 6 7 ( J P , A )

特表 2 0 1 8 - 5 2 9 6 5 3 ( J P , A )

特表 2 0 0 8 - 5 3 4 5 4 2 ( J P , A )

米国特許出願公開第 2 0 1 9 / 0 3 3 6 4 8 3 ( U S , A 1 )

国際公開第 2 0 1 2 / 0 7 3 2 5 9 ( W O , A 1 )

国際公開第 2 0 2 0 / 0 1 7 8 7 8 ( W O , A 1 )

国際公開第 2 0 0 6 / 0 8 9 0 7 6 ( W O , A 2 )

Registry(STN)[online], 2018年11月18日, p.1, [検索日 2024.10.09], CAS登録番号: 2  
248935-86-4KILARU, R. B. et al., Design, synthesis, in silico and in vitro studies of novel 4-methylthiazol  
e-5-carboxylic acid derivatives as potent anti-cancer agents, Bioorganic & Medicinal Chemi  
stry Letters, 2014年, Vol.24, No.18, pp.4580-4585, DOI: 10.1016/j.bmcl.2014.07.058Augmenting the Xanthine Oxidase Inhibitory Activity of Febuxostat by its Structural Modifi  
cation, KURUVA, C. S. et al., 2014年, Vol.11, No.2, pp.207-210, DOI: 10.2174/15701  
808113109990056ZHU, Youquan, Design, Synthesis and Bioactivity of Novel 2-Aryl-4-alkylthiazole-5-carboxy  
lic Acid Derivatives, Chinese Journal of Organic Chemistry, 2012年, Vol.32, No.11, pp.  
2115 ~ 2121, DOI: 10.6023/cjoc201207004

(58)調査した分野 (Int.Cl., D B 名)

C 0 7 D

A 6 1 K

A 6 1 P

C A p l u s / R E G I S T R Y ( S T N )