

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2007年9月27日 (27.09.2007)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2007/108292 A1

(51) 国際特許分類:

A61K 31/4025 (2006.01) A61P 25/00 (2006.01)
 A61K 31/4525 (2006.01) A61P 25/28 (2006.01)
 A61K 38/22 (2006.01) C07D 405/06 (2006.01)
 A61P 9/10 (2006.01)

〒6750045 兵庫県加古川市西神吉町岸684-9
Hyogo (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP2007/053918

(22) 国際出願日: 2007年3月1日 (01.03.2007)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2006-077193 2006年3月20日 (20.03.2006) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式会社カネカ (KANEKA CORPORATION) [JP/JP]; 〒5308288 大阪府大阪市北区中之島3丁目2番4号 Osaka (JP). 学校法人日本大学 (NIHON UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒1028275 東京都千代田区九段南四丁目8番24号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 榎島誠 (MAKISHIMA, Makoto) [JP/JP]; 〒1028275 東京都千代田区九段南四丁目8番24号 学校法人日本大学内 Tokyo (JP). 高橋秀夫 (TAKAHASHI, Hideo) [JP/JP]; 〒1760012 東京都練馬区豊玉北3丁目8-8-606 Tokyo (JP). 小池朋子 (KOIKE, Tomoko) [JP/JP]; 〒1330051 東京都江戸川区北小岩5丁目31-14 Tokyo (JP). 横田真一 (YOKOTA, Shinichi) [JP/JP];

(74) 代理人: 安富康男, 外 (YASUTOMI, Yasuo et al.); 〒5320003 大阪府大阪市淀川区宮原3丁目5番36号 新大阪MT-2ビル Osaka (JP).

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

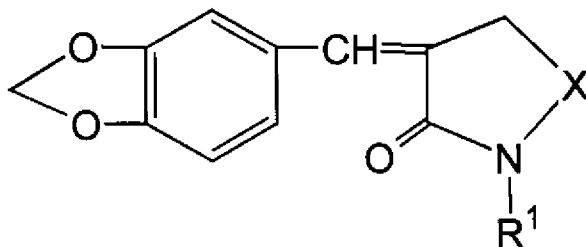
(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

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

(54) Title: NEURITE ELONGATION INDUCER

(54) 発明の名称: 神経突起伸長誘導剤



[1]

factor. [Chemical formula 1] wherein X represents $-\text{CH}_2-$ and R^1 represents an alkyl group having 1 or 2 carbon atoms, a formyl group, an acetyl group, a hydrogen atom or a halogen atom; or X represents $-(\text{CH}_2)_2-$ and R^1 represents an alkyl group having 1 to 3 carbon atoms, a formyl group, an acetyl group, a hydrogen atom or a halogen atom.

(57) Abstract: Disclosed is a compound having a neurite elongation-inducing activity and a neuroprotective activity. It is now found that a compound represented by the formula (I) such as KNK437 has a neurite elongation-inducing activity and a neuroprotective activity and that the compound can exert a synergistic effect when used in combination with a nerve growth

(57) 要約: 本発明の目的は、神経突起伸長誘導作用および神経保護作用を有する化合物を提供することである。本発明者らは、KNK437をはじめとする式(1) [化1] (式中、Xが $-\text{CH}_2-$ で、かつ R^1 が炭素数1または2のアルキル基、ホルミル基、アセチル基、水素原子又はハロゲン原子を表すか、あるいは、Xが $-(\text{CH}_2)_2-$ で、かつ R^1 が炭素数1~3のアルキル基、ホルミル基、アセチル基、水素原子又はハロゲン原子を表す)で表される化合物に神経突起伸長誘導作用、神経保護作用があること、さらに神経成長因子と組み合わせることで相乗効果を示すことを初めて見だし、本発明を完成するに至った。

WO 2007/108292 A1

明 細 書

神経突起伸長誘導剤

技術分野

[0001] 本発明は、神経細胞に対する神経突起伸長誘導剤および神経保護剤、またはその作用に基づく疾病予防並びに治療用の組成物に関する。

背景技術

[0002] 神経ネットワーク形成には、まず神経細胞からの神経突起伸長が必要である。認知症やアルツハイマー病を代表とする神経疾患は神経細胞の神経突起消失が認められ、神経突起伸長誘導による治療が有用と考えられている。神経突起伸長誘導による治療が有用と考えられる疾患および作用としては、糖尿病性神経障害、筋萎縮性側索硬化症等の末梢神経疾患に付随する運動障害や知覚障害、あるいはアルツハイマー病、脊髄損傷、パーキンソン病、ハンチントン病等の中枢神経障害、または認知症、脳機能改善、記憶障害改善等がある。

[0003] 神経突起伸長を誘導する物質として、神経成長因子(NGF)を代表とする神経栄養因子が知られている。しかし、神経栄養因子はタンパク質であるため、血液脳関門を通過できず、神経突起伸長誘導作用を持つ低分子化合物が求められている。神経栄養因子以外で神経突起伸長を誘導する方法は、成長ホルモン遊離ペプチドを用いる方法(特許文献1参照)や熱ショックタンパク質90を用いる方法(特許文献2参照)、ポリアルコキシフラボノイドを用いる方法(特許文献3参照)等が報告されており、また、エピガロカテキンガレート(EGCG)の神経突起伸長作用も報告されている(非特許文献1参照)。

[0004] 認知症やアルツハイマー病は記憶力の低下や認知機能障害を中心とした臨床症状を持ち、緩やかだが常に進行する進行性の神経細胞変性疾患である。アルツハイマー病を含む認知症患者数は全世界で2,500万人以上であり、その有病率は加齢に伴い増加する傾向を示す。その新しい治療および予防法は、高齢化が進む現在、特にその開発が望まれている。

[0005] N-ホルミル-L-3,4-メチレンジオキシベンジリデン-L-γ-ブチロラクタム(KNK43

7) およびその類縁体は、転写因子である熱ショック因子(HSF)の活性化を阻害する化合物であり、HSF活性化により発現誘導される蛋白質、たとえば熱や化学物質等で誘導される熱ショック蛋白質(HSP)の発現誘導を抑制する(特許文献4、非特許文献2参照)。KNK437は、そのHSP発現抑制作用により、癌温熱療法時に細胞が温熱耐性を獲得するのを阻害するのに有効である(特許文献5、非特許文献2、3参照)。また、動物モデル試験により鬱病などのストレス性疾患においても有効であることがわかっている(特許文献6参照)。

[0006] しかしながら、一般的に、HSP発現誘導は細胞保護作用として働くことが知られている。このため、HSF活性化を阻害してHSP発現を抑制するKNK437は細胞保護作用を持たず、逆に細胞のストレス耐性を弱くすると通常考えられる。このように、熱ショックタンパク質誘導が虚血等による細胞保護に効果があることは周知の事実であるが、未分化PC12細胞が熱ショックでHSPを発現誘導しても、NGF前処理で分化させたPC12細胞は熱ショックでHSPを発現誘導しない(非特許文献4参照)、すなわち分化した神経細胞では熱ショックタンパク質は神経保護に寄与していないとの報告がある。また、脳虚血モデルにおいて虚血後のHSP誘導は神経保護に貢献せず、HSP70の発現は虚血耐性の発現に必要なないとの報告(非特許文献5参照)もある。

[0007] これまでの報告から、熱ショック因子活性阻害作用により熱ショックタンパク質誘導を阻害するKNK437は、通常では神経突起伸長や神経細胞保護にプラスに働くことはないと推測されるが、神経保護にHSPが関与しないという報告もあり、神経保護作用や神経突起伸長誘導作用については不明であった。

[0008] また、種々の脳損傷で神経保護に寄与する低体温療法は虚血障害から脳を守ることが知られており、低体温療法は虚血ストレスによるHSP70の誘導を抑制する。低体温療法において、熱ショックタンパク質誘導を阻害するKNK437が神経細胞保護に働くことは全く予想することができず、これまでに、KNK437の神経突起伸長誘導作用および神経保護作用に関する報告はない。

特許文献1:特開2005-239712号公報

特許文献2:特開平8-245413号公報

特許文献3:特開2002-60340号公報

特許文献4:米国特許6, 613, 780号明細書

特許文献5:米国特許6, 903, 116号明細書

特許文献6:米国特許6, 281, 229号明細書

非特許文献1:J. Neurochemistry, 93, 1157-1167, (2005)

非特許文献2:Cancer Res., 60, 2942-2948. (2000)

非特許文献3:Clin. Cancer Res. 7, 215-219, (2001)

非特許文献4:Neurochem. Res. 21, 659-666, (1996)

非特許文献5:Neurosci. Lett. 295, 54-58, (2000)

発明の開示

発明が解決しようとする課題

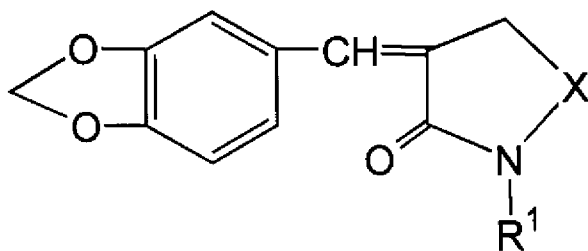
[0009] 本発明は、神経突起伸長誘導作用および神経保護作用を有する化合物を提供することを課題とする。

課題を解決するための手段

[0010] 本発明者らは、KNK437等の下記式(I)で表される化合物に神経突起伸長誘導作用、神経保護作用があること、さらに神経成長因子と組み合わせることで相乗効果を示すことを見だし、それを基に本発明を完成するに至った。これまで、KNK437に上記のような効果があることは全く知られていなかった。すなわち、本発明が提供するものは以下の通りである。

[1]式(I)

[0011] [化1]



[0012] (式中、Xが $-\text{CH}_2-$ で、かつR¹が炭素数1または2のアルキル基、ホルミル基、アセチル基、水素原子又はハロゲン原子を表すか、あるいは、Xが $-(\text{CH}_2)_2-$ で、かつR¹が炭素数1~3のアルキル基、ホルミル基、アセチル基、水素原子又はハロゲン原

子を表す)で表される化合物を有効成分とする神経突起伸長誘導剤。

[2]Xが $-\text{CH}_2-$ 、 R^1 がホルミル基である[1]記載の神経突起伸長誘導剤。

[3]Xが $-\text{CH}_2-$ 、 R^1 が水素原子である[1]記載の神経突起伸長誘導剤。

[4]Xが $-\text{CH}_2-$ 、 R^1 がアセチル基である[1]記載の神経突起伸長誘導剤。

[5]Xが $-(\text{CH}_2)_2-$ 、 R^1 が水素原子である[1]記載の神経突起伸長誘導剤。

[6]Xが $-(\text{CH}_2)_2-$ 、 R^1 がホルミル基である[1]記載の神経突起伸長誘導剤。

[7]式(I)で表される化合物がE体である[1]記載の神経突起伸長誘導剤。

[8]式(I)で表される化合物がZ体である[1]記載の神経突起伸長誘導剤。

[9]さらに神経成長因子を含む[1]～[8]いずれか1項記載の神経突起伸長誘導剤

。

[10]神経成長因子の作用を相乗的に増加することができる量の式(I)で表される化合物を含有する[9]記載の神経突起伸長誘導剤。

[11][1]～[10]いずれか1項記載の神経突起伸長誘導剤からなる認知症、アルツハイマー病、あるいは神経学的障害の治療または予防薬。

[12][1]～[8]いずれか1項記載の式(I)で表される化合物を有効成分とする神経保護剤。

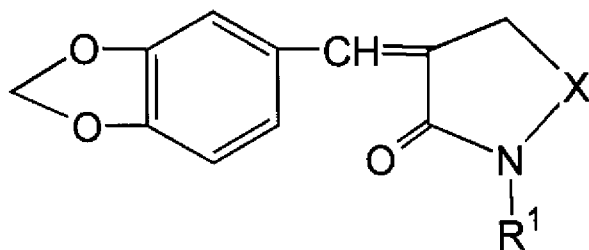
[13]さらに神経成長因子を含む[12]記載の神経保護剤。

[14][12]又は[13]記載の神経保護剤からなる、脳虚血時の神経保護を目的とした治療または予防薬。

[15][12]又は[13]記載の神経保護剤からなる、低体温療法時の神経保護を目的とした治療または予防薬。

[16]式(I)

[0013] [化2]



[0014] (式中、Xが $-\text{CH}_2-$ で、かつ R^1 が炭素数1または2のアルキル基、ホルミル基、アセ

チル基、水素原子又はハロゲン原子を表すか、あるいは、Xが $-(CH_2)_2-$ で、かつ R^1 が炭素数1～3のアルキル基、ホルミル基、アセチル基、水素原子又はハロゲン原子を表す)で表される化合物を用いて神経突起の伸長を誘導する方法。

[17][1]～[10]いずれか1項記載の神経突起伸長誘導剤を用いた認知症、アルツハイマー病、あるいは神経学的障害の治療または予防方法。

[18][1]～[8]いずれか1項記載の式(I)で表される化合物を用いて神経を保護する方法。

[19][12]又は[13]記載の神経保護剤を用いた、脳虚血時の神経保護を目的とした治療または予防方法。

[20][12]又は[13]記載の神経保護剤を用い、低体温療法時の神経保護を行う方法。

[0015] 以下に、本発明の実施の形態を詳しく説明する。

本発明は、上記式(I)で表される化合物(化合物(I))を含有する神経突起伸長誘導剤に関する。

上記式(I)の R^1 における炭素数1または2のアルキル基としては、メチル基、エチル基が挙げられる。

R^1 におけるハロゲン原子としては、フッ素原子、塩素原子等が挙げられる。

また、式(I)の R^1 における炭素数1～3のアルキル基としては、メチル基、エチル基、プロピル基等が挙げられる。

[0016] 好適な実施態様としては、Xが $-CH_2-$ で、 R^1 がホルミル基である化合物、Xが $-CH_2-$ で、 R^1 が水素原子である化合物、Xが $-CH_2-$ で、 R^1 がアセチル基である化合物、また別の好適な実施態様としては、Xが $-(CH_2)_2-$ で、 R^1 が水素原子である化合物、Xが $-(CH_2)_2-$ で、 R^1 がホルミル基である化合物が挙げられる。

また、上記式(I)で表される化合物は、E体であってもよいし、Z体であってもよい。

より好ましい実施態様としては、式(I)のXが $-CH_2-$ で R^1 がホルミル基か、Xが $-(CH_2)_2-$ で R^1 が水素原子か、あるいはXが $-(CH_2)_2-$ で R^1 がホルミル基であり、かつ、E体又はZ体の化合物である。

上記化合物(I)の一例として、N-ホルミル-3,4-メチレンジオキシベンジリデン-

γ -ブチロラクタム(KNK437)が挙げられる。

[0017] 式(I)で表される化合物の製造方法は、特に限定されないが、例えば、KNK437を具体例に挙げると、以下の方法で得ることができる。まず、N-アセチル-2-ピロリドン(70.0g, 0.55mol)とピペロナール(82.0g, 0.55mol)のテトラヒドロフラン(500ml)溶液を、水素化ナトリウム(60%鉱物油懸濁物、63.0g, 1.57mol)のテトラヒドロフラン(1000ml)懸濁液に、アルゴン雰囲気下、氷冷しながら滴下した後、反応液を室温にて一晩攪拌する。得られた反応液を希硫酸で中和、クロロホルムで抽出、飽和食塩水で洗浄、硫酸ナトリウムで乾燥したのち、濾過、減圧にて溶媒留去する。得られた反応物を2-プロパノールで再結晶することにより、N-ホルミル-3,4-メチレンジオキシベンジリデン- γ -ブチロラクタム(KNK437)(79.0g, 収率65%)を得ることができる。

[0018] 本発明の神経突起伸長誘導剤は、さらに神経成長因子(NGF)を含むことが好ましく、更にNGFの作用を相乗的に増加することができる量の化合物(I)を含有することが好ましい。

式(I)で表される化合物は、NGF処理あるいは熱ショック処理なしで、単独で神経突起伸長誘導作用を持ち、さらにNGFの作用を増強することができる。また、単独ではほとんど効果のない量の化合物(I)と、単独でほとんど効果のない量のNGFを組み合わせることで、神経突起伸長誘導作用で相乗的効果を得ることができる。上記「NGFの作用を相乗的に増加することができる量」とは、NGFに対する化合物(I)の量が100質量%以上である。

さらにNGFを含む場合、化合物(I)の好適な実施態様としては、Xが $-\text{CH}_2-$ で、 R^1 がホルミル基である化合物、また別の好適な実施態様としては、Xが $-(\text{CH}_2)_2-$ で、 R^1 が水素原子である化合物が挙げられる。

[0019] 本発明でいう神経突起とは、神経細胞から伸びる突起であり、樹状突起と軸索突起を指す。

本発明でいう神経突起伸長誘導作用は、神経突起伸長作用および神経突起伸展作用と同義である。また神経突起伸長誘導作用は、神経突起が神経細胞の発生過程で伸長することから神経細胞分化誘導作用も意味しており、さらに神経突起の数を増

やすことも神経突起伸長誘導作用に含まれる。

神経突起伸長誘導作用は、例えばラット褐色細胞由来のPC12細胞を用いて評価することができる。PC12細胞は、神経細胞分化と神経突起伸長のモデル系として広く用いられている。例えば、神経突起伸長誘導作用は、顕微鏡観察により神経突起を有する細胞数を算出する方法により総細胞数の中での神経突起を有する細胞数の割合で定量的に表すことができるが、顕微鏡観察以外の、他の方法を用いても良い。

[0020] ラット褐色細胞由来PC12細胞は、NGFのような神経性因子の解析に利用されてきた。PC12細胞はHSP70やHSP60のようなHSPの発現を増加させることにより熱ショックストレスに対して保護するが、NGFにより分化したPC12細胞は、熱ショックに対してHSPを発現しない特徴を持つ。すなわち、HSP抑制作用を持つKNK437をはじめとする式(I)で表される化合物は、神経突起伸長誘導作用が知られていないばかりか、神経細胞保護へは関与せず逆に死滅させてしまうと推測されていた。しかし、本発明によりKNK437等の式(I)で表される化合物は、単独でPC12細胞の神経突起伸長を効果的に誘導することが明らかとなり、また、低用量NGF処理の効果を神経突起伸長誘導において相乗的に増加させること、その結果、神経保護的に働くことが明らかとなった。

[0021] このように、神経突起伸長誘導作用を確認するためPC12細胞を用いることができるが、この細胞に限定するものではなく同様の試験が実施可能な他の神経細胞を用いても良い。その際、神経細胞を植え継ぐ回数により反応性が異なることがあり、用いるサンプルを同じ濃度で処理してもその神経細胞の神経突起伸長作用が異なることがある。この点を解決するためには、神経突起伸長誘導作用が明らかであるNGFなどの陽性対象と比較することで、その性質を相対的に示すことができる。

[0022] KNK437等の式(I)で表される化合物の神経突起伸長誘導メカニズムとしては、部分的にはMAPキナーゼ、p38、GSK3 β 等のシグナル伝達系の介在が考えられる。NGFとの相違点として、NGFはアセチルコリンエステラーゼ(AchE)活性の増加を示すが、KNK437等にその効果は無く、KNK437等を用いると、NGFがAchEを誘導するのとは別の細胞内メカニズムが働いていると推測される。

[0023] 本発明の神経突起伸長誘導剤は、神経細胞からの神経突起伸長を促進する効果を有するので、認知症、アルツハイマー病、あるいは神経学的障害の治療または予防薬の製造に用いることができる。

[0024] 本発明の神経保護剤は、上記式(I)で表される化合物を有効成分とするものである。化合物(I)の具体例や好適な実施態様は、上記と同様である。本発明の神経保護剤も、さらに神経成長因子(NGF)を含むことが好ましい。

脳虚血とは、脳の血行が不足し、脳組織に十分な酸素、栄養が供給されない状態であり、脳梗塞の原因ともなる。神経系は脳虚血など多くのストレスに感受性が強いことが知られている。通常、神経を保護するHSPの発現は、熱ショック、重金属、化学試薬、虚血を含む生理的、化学的反応により誘導され、神経細胞においてもHSP70の発現は虚血など病態生理学的な条件の下で誘導される。すなわちHSPは神経保護機能を持ち、HSP発現を抑制するKNK437等の化合物(I)は、神経保護作用ではなく逆に阻害することが予想されていた。しかしながら、化合物(I)は、HSPの発現を抑制した状態でも、神経細胞の分化誘導や障害から神経を保護する作用を有する。本発明の神経保護剤は、化合物(I)が優れた神経保護作用を有することから、脳虚血時の神経保護を目的とした治療または予防薬の製造に用いることができる。

[0025] 本発明の神経保護剤は、また、HSPが抑制された状態でも優れた神経保護作用を有することから、低体温療法時の神経保護を目的とした治療または予防薬の製造に用いることができる。

低体温療法は、重傷頭部外傷患者に対し体温を32～33度に下げる頭部外傷等の治療法であり、実験動物や心臓停止患者等の脳損傷で神経保護に寄与することが良く知られている。HSP発現と低体温処置の関係については動物モデルにおいて、虚血後、低体温処置はHSP70誘導なしでニューロンを保護することが知られている。さらに、虚血耐性モデルにおいて、短時間の虚血は引き続きおこる重大障害への耐性を誘導するが、HSP70発現は虚血耐性の誘導に必要ではない。このように、HSPは続いて起こるストレスに一致して発現するが、神経保護作用との関連は薄いと考えられる。低体温療法による神経保護作用の正確なメカニズムおよびストレス誘導型HSP発現抑制が有効であるかどうかは不明である。本発明により初めて、HSP阻

害作用を持つKNK437等の化合物(I)が、神経保護剤としての能力を持ち神経突起形成を誘導することが明らかとなった。

[0026] 本発明の神経突起伸長誘導剤、神経保護剤、治療、予防薬の投与方法としては経口、経腸または他の非経口的投与方法のいずれをも選ぶことができる。具体的な製剤形態としては特に限定されず、投与目的や投与経路等に応じて、たとえば錠剤、散剤、カプセル剤、顆粒剤、細粒剤、シロップ剤、懸濁剤、乳剤等の経口剤；坐剤、軟膏剤、注射剤、点滴剤、局所投与のクリーム若しくは点眼薬などの非経口剤を挙げることができる。

配合量に関しては特に規定するものではないが、所望の効果を奏する範囲内で適宜選択することができる。

[0027] 本発明による製剤の担体としては、経口、経腸、その他非経口的に投与するために適した有機または無機の固体または液体の任意成分を含有することができる。任意成分としては、一般に製剤に使用される結合剤、賦形剤、滑沢剤、崩壊剤、安定剤、乳化剤、緩衝剤等の添加物を含有させることができる。結合剤の好適な例としてはデンプン、トレハロース、デキストリン、アラビアゴムなどが挙げられる。賦形剤の好適な例としては、しよ糖、乳糖、ブドウ糖、コーンスターチ、マンニトール、結晶セルロース、ゼラチン、リン酸カルシウム、硫酸カルシウム、植物性および動物性脂肪ならびに油、ペクチンなどが挙げられる。滑沢剤の好適な例としてはステアリン酸、タルク、ロウ、ポリエチレングリコールなどが挙げられる。崩壊剤の好適な例としてはデンプン、カルボキシメチルセルロース、コーンスターチなどが挙げられる。安定剤の好適な例としては油脂、プロピレングリコールなどが挙げられる。乳化剤の好適な例としては、アニオン性界面活性剤、非イオン性界面活性剤、ポリビニルアルコールなどが挙げられる。緩衝剤の好適な例としてはリン酸塩、炭酸塩、クエン酸塩などの緩衝液が挙げられる。本発明の神経突起伸長誘導剤及び神経保護剤を医薬部外品として製剤化して用いる場合は、必要に応じて他の添加剤などを添加して、例えば、軟膏、リニメント剤、エアゾール剤、クリーム、石鹸、洗顔料、全身洗剤、化粧水、ローション、入浴剤などに使用することができ、局所的に用いることができる。

[0028] 本発明の化合物(I)は、製剤中に0.001~100重量%含ませることができる。含有

量は、好ましくは0.01～100重量%、より好ましくは0.1～90重量%である。

これら製剤の投与量としては、当該化合物(I)換算で成人一人一日当たり、好ましくは0.001～1000mg/kg体重、より好ましくは0.01～200mg/kg体重を1回ないし数回に分けて投与する。

また本発明の神経突起伸長誘導剤及び神経保護剤は、その他の医薬を含むことができる。この場合、本発明化合物(I)は必ずしもその製剤中の主成分でなくてもよい。

発明の効果

- [0029] 本発明によれば、神経突起伸長誘導剤および神経保護剤を得ることが出来る。これらは、認知症あるいはアルツハイマー病、神経学的障害の治療または予防、脳虚血時や低体温療法時の神経保護に有効であり、医薬品又は医薬部外品などとして利用できる。

発明を実施するための最良の形態

- [0030] 以下に実施例を記載して、本発明をさらに具体的に説明する。ただし、これらの実施例によって、本発明の範囲は限定的に解釈されるものではない。

(実施例1)

PC12細胞を用いたKNK437とNGFの神経突起伸長誘導効果

PC12細胞(独立行政法人理化学研究所 バイオリソースセンター(RIKEN CELL BANK)から入手可能)を、5%牛胎児血清、5%馬血清、100unit/ml ペニシリン、100mg/ml ストレプトマイシン含有のDMEM培地を用い、5%炭酸ガスを含む湿度100%の条件にて培養した。NGF(Alomone Labs Ltd., Jerusalem, Israel)やKNK437処理前に、培地を2%牛胎児血清を含む培地に置き換えた。PC12細胞は、溶媒対照であるDMSOのみの培地、NGF(50ng/ml)を含む培地、またはKNK437(5、25、50、100、150、200 μ M)を含む培地で5日間培養し、神経突起を伸ばした細胞数を毎日カウントした。値は平均値 $\pm$ SDで示す。結果を図1に示す。KNK437は濃度依存的に神経突起伸長誘導作用を示した。

(実施例2)

PC12細胞を用いたKNK437とNGFの相乗的神経突起伸長誘導効果

PC12細胞を5%牛胎児血清、5%馬血清、100unit/ml ペニシリン、100mg/m

1 ストレプトマイシン含有のDMEM培地を用い、5%炭酸ガスを含む湿度100%の条件にて培養し、NGFやKNGK437処理前に、培地を2%牛胎児血清を含む培地に置き換えた。NGF (10ng/ml) 単独、KNGK437 (50 μ M) 単独またはNGF (10ng/ml) とKNGK437 (50 μ M) を両方添加した培地で5日間培養し、神経突起を伸ばした細胞数をカウントした。値は平均値 $\pm$ SDで示す。***: $P < 0.001$ 。結果を図2に示す。KNGK437とNGFを両方含む培地では、個々では神経突起伸長を示さない濃度で相乗的に神経突起伸長誘導作用を示した。

産業上の利用可能性

[0031] 本発明によれば、神経突起伸長誘導剤および神経保護剤を得ることが出来る。これらは、認知症あるいはアルツハイマー病、神経学的障害の治療または予防、脳虚血時や低体温療法時の神経保護に有効であり、医薬品又は医薬部外品などとして利用できる。

図面の簡単な説明

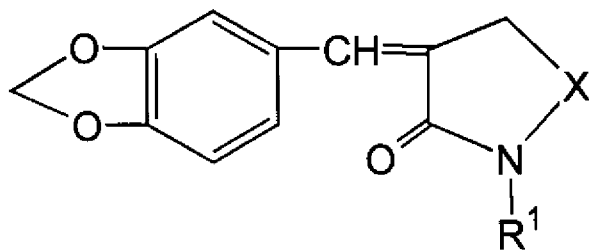
[0032] [図1]図1は、PC12細胞を用いた神経突起伸長に対するKNGK437及びNGFの効果を示す。値は平均値 $\pm$ SDで示す。

[図2]図2は、PC12細胞を用いたKNGK437とNGFの相乗効果を示す。値は平均値 $\pm$ SDで示す。***: $P < 0.001$ 。

請求の範囲

[1] 式(I)

[化1]



(式中、Xが $-\text{CH}_2-$ で、かつ R^1 が炭素数1または2のアルキル基、ホルミル基、アセチル基、水素原子又はハロゲン原子を表すか、あるいは、Xが $-(\text{CH}_2)_2-$ で、かつ R^1 が炭素数1～3のアルキル基、ホルミル基、アセチル基、水素原子又はハロゲン原子を表す)で表される化合物を有効成分とする神経突起伸長誘導剤。

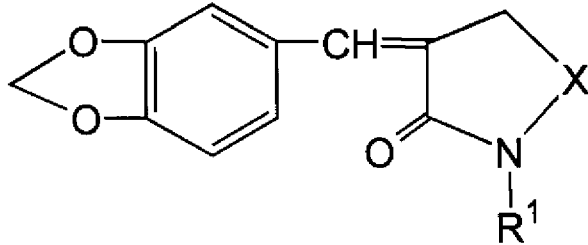
- [2] Xが $-\text{CH}_2-$ 、 R^1 がホルミル基である請求項1記載の神経突起伸長誘導剤。
- [3] Xが $-\text{CH}_2-$ 、 R^1 が水素原子である請求項1記載の神経突起伸長誘導剤。
- [4] Xが $-\text{CH}_2-$ 、 R^1 がアセチル基である請求項1記載の神経突起伸長誘導剤。
- [5] Xが $-(\text{CH}_2)_2-$ 、 R^1 が水素原子である請求項1記載の神経突起伸長誘導剤。
- [6] Xが $-(\text{CH}_2)_2-$ 、 R^1 がホルミル基である請求項1記載の神経突起伸長誘導剤。
- [7] 式(I)で表される化合物がE体である請求項1記載の神経突起伸長誘導剤。
- [8] 式(I)で表される化合物がZ体である請求項1記載の神経突起伸長誘導剤。
- [9] さらに神経成長因子を含む請求項1～8いずれか1項記載の神経突起伸長誘導剤。
- [10] 神経成長因子の作用を相乗的に増加することができる量の式(I)で表される化合物を含有する請求項9記載の神経突起伸長誘導剤。
- [11] 請求項1～10いずれか1項記載の神経突起伸長誘導剤からなる認知症、アルツハイマー病、あるいは神経学的障害の治療または予防薬。
- [12] 請求項1～8いずれか1項記載の式(I)で表される化合物を有効成分とする神経保護剤。
- [13] さらに神経成長因子を含む請求項12記載の神経保護剤。
- [14] 請求項12又は13記載の神経保護剤からなる、脳虚血時の神経保護を目的とした治

療または予防薬。

[15] 請求項12又は13記載の神経保護剤からなる、低体温療法時の神経保護を目的とした治療または予防薬。

[16] 式(I)

[化2]



(式中、Xが-CH₂-で、かつR¹が炭素数1または2のアルキル基、ホルミル基、アセチル基、水素原子又はハロゲン原子を表すか、あるいは、Xが-(CH₂)₂-で、かつR¹が炭素数1～3のアルキル基、ホルミル基、アセチル基、水素原子又はハロゲン原子を表す)で表される化合物を用いて神経突起の伸長を誘導する方法。

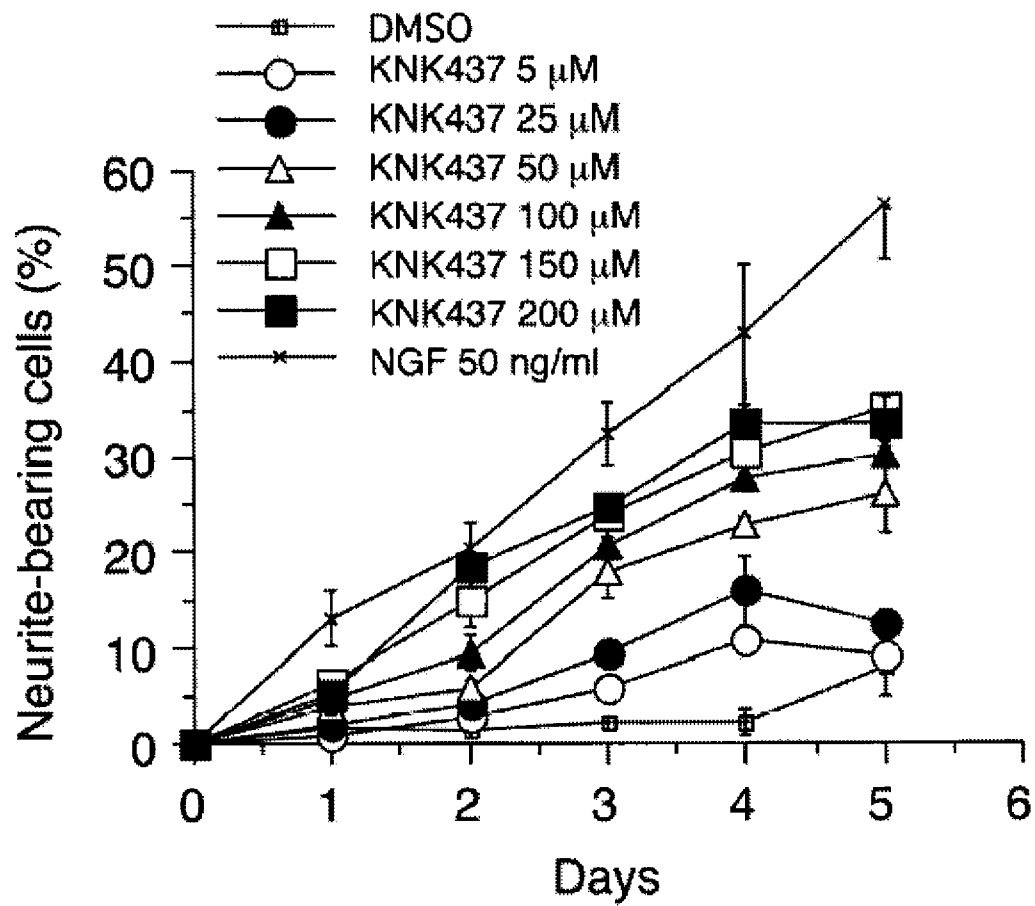
[17] 請求項1～10いずれか1項記載の神経突起伸長誘導剤を用いた認知症、アルツハイマー病、あるいは神経学的障害の治療または予防方法。

[18] 請求項1～8いずれか1項記載の式(I)で表される化合物を用いて神経を保護する方法。

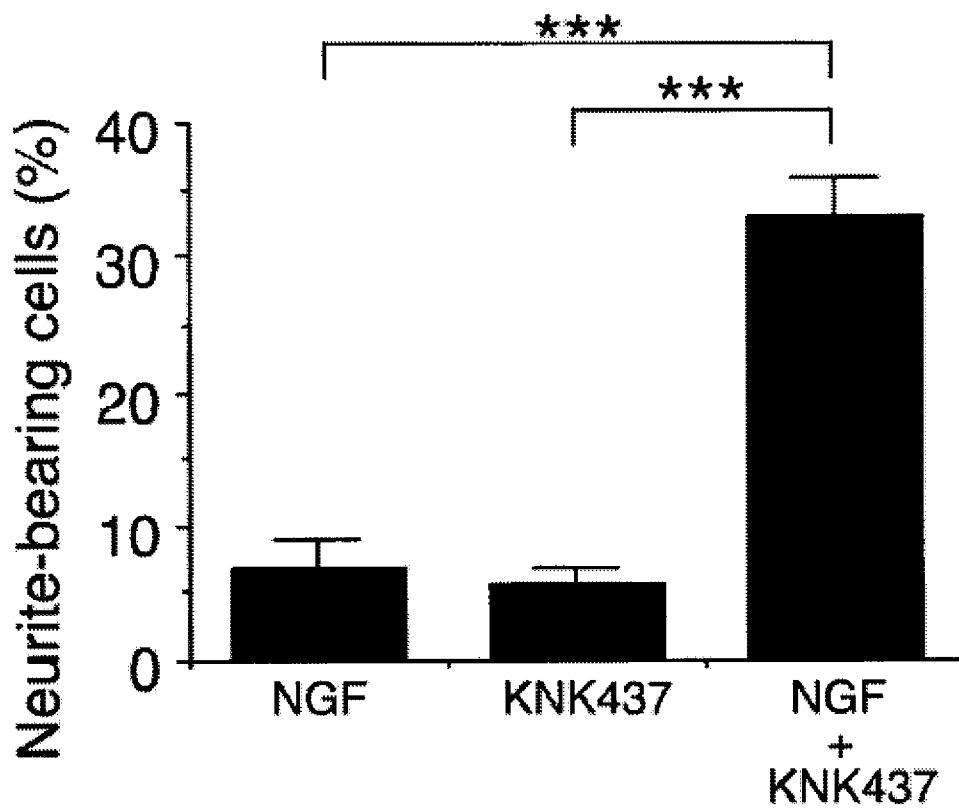
[19] 請求項12又は13記載の神経保護剤を用いた、脳虚血時の神経保護を目的とした治療または予防方法。

[20] 請求項12又は13記載の神経保護剤を用い、低体温療法時の神経保護を行う方法。

[図1]



[図2]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/053918

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K31/4025(2006.01)i, A61K31/4525(2006.01)i, A61K38/22(2006.01)i, A61P9/10(2006.01)i, A61P25/00(2006.01)i, A61P25/28(2006.01)i, C07D405/06(2006.01)n

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K31/4025, A61K31/4525, A61K38/22, A61P9/10, A61P25/00, A61P25/28, C07D405/06

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

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2007
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2007	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2007

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

BIOSIS (STN), CAPLUS (STN), EMBASE (STN), MEDLINE (STN), REGISTRY (STN), JMEDPLUS (JDream2), JSTPLUS (JDream2), Igaku·Yakugaku Yokoshu Zenbun Database

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2005/105023 A1 (THE GILLETTE CO.), 10 November, 2005 (10.11.05), Abstract; Claims; page 6	1-15
Y	WO 99/000382 A1 (Kaneka Corp.), 07 January, 1999 (07.01.99), Abstract; Claims	1-15
Y	GUO, F. et al, Abrogation of heat shock protein 70 induction as a strategy to increase antileukemia activity of heat shock protein 90 inhibitor 17-allylamino-demethoxy geldanamycin, Cancer Res, 2005, Vol.65, No.22, Pp.10536-44 Abstract	1-15

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

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
23 March, 2007 (23.03.07)

Date of mailing of the international search report
10 April, 2007 (10.04.07)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/053918

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	YOKOTA, S. et al, Benzylidene lactam compound, KNK437, a novel inhibitor of acquisition of thermotolerance and heat shock protein induction in human colon carcinoma cells, Cancer Res, 2000, Vol.60, No.11, p.2942-8 Abstract	1-15
Y	SANO, M. [Reprint Author] et al., Neurite outgrowth of NG108-15 cells induced by heat shock protein 90 inhibitors., Journal of Neurochemistry, AUG 2005, Vol. 94, No. Suppl.2, p.265.	1-15
Y	GREENE, L.A. et al, Establishment of a noradrenergic clonal line of rat adrenal pheochromocytoma cells which respond to nerve growth factor, Proc Natl Acad Sci U S A, 1976, Vol.73, No.7, p.2424-8 Abstract; page 2428, left column, lines 20 to 27	13-15
A	SACHANA, M. et al, Inhibition of neurite outgrowth in N2a cells by leptophos and carbaryl: effects on neurofilament heavy chain, GAP-43 and HSP-70, Toxicol In Vitro, 2003, Vol.17, No.1, p.115-20 Abstract	1-15
P,X	KOIKE, T. et al, The heat shock protein inhibitor KNK437 induces neurite outgrowth in PC12 cells, Neurosci Lett, Dec. 2006, Vol.410, No.3, pp.212-7	1-15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2007/053918

WO 2005/105023 A1	2005.11.10	US 2005/249685 A1	2005.11.10
WO 1999/000382 A1	1999.01.07	US 6281229 B1	2001.08.28
		US 2002/058679 A1	2002.05.16
		US 2003/149077 A1	2003.08.07
		US 6613780 B2	2003.09.02
		US 6903116 B2	2005.06.07
		EP 995745 A1	2000.04.26
		EP 995745 B1	2005.10.19
		AU 9879332 A	1999.01.19
		DE 69831950 E	2006.03.02
		DE 69831950 T2	2006.07.20

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/053918

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

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

1. ☒ Claims Nos.: 16-20
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 16 to 20 pertain to "methods for treatment of the human body by therapy" and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of the PCT Rule 39.1(iv), to search.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

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

Remark on Protest
the

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, payment of a protest fee..
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. A61K31/4025(2006.01)i, A61K31/4525(2006.01)i, A61K38/22(2006.01)i, A61P9/10(2006.01)i, A61P25/00(2006.01)i, A61P25/28(2006.01)i, C07D405/06(2006.01)n

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. A61K31/4025, A61K31/4525, A61K38/22, A61P9/10, A61P25/00, A61P25/28, C07D405/06

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 0 7 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 0 7 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 0 7 年

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

BIOSIS(STN), C Aplus(STN), EMBASE(STN), MEDLINE(STN), REGISTRY(STN), JMEDPlus(JDream2), JSTPlus(JDream2), 医学・薬学予稿集全文データベース

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	WO 2005/105023 A1 (THE GILLETTE COMPANY) 2005.11.10, Abatract, CLAIMS, 第 6 ページ	1 - 1 5
Y	WO 99/000382 A1 (鐘淵化学工業株式会社) 1999.01.07, Abstract, 請求の範囲	1 - 1 5

☒ C 欄の続きにも文献が列挙されている。

☒ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

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

の日の後に公表された文献

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

国際調査を完了した日

2 3 . 0 3 . 2 0 0 7

国際調査報告の発送日

1 0 . 0 4 . 2 0 0 7

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (I S A / J P)
郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5
東京都千代田区霞が関三丁目 4 番 3 号

特許庁審査官 (権限のある職員)

瀬下 浩一

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 5 2

4 C

9 2 8 4

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	GUO,F. et al, Abrogation of heat shock protein 70 induction as a strategy to increase antileukemia activity of heat shock protein 90 inhibitor 17-allylamino-demethoxy geldanamycin, Cancer Res, 2005, Vol.65, No.22, Pp.10536-44 Abstract	1 - 1 5
Y	YOKOTA,S. et al, Benzylidene lactam compound, KNK437, a novel inhibitor of acquisition of thermotolerance and heat shock protein induction in human colon carcinoma cells, Cancer Res, 2000, Vol.60, No.11, p.2942-8 Abstract	1 - 1 5
Y	SANO, M. [Reprint Author] et al., Neurite outgrowth of NG108-15 cells induced by heat shock protein 90 inhibitors. , Journal of Neurochemistry, AUG 2005, Vol. 94, No. Suppl. 2, p. 265.	1 - 1 5
Y	GREENE,L.A. et al, Establishment of a noradrenergic clonal line of rat adrenal pheochromocytoma cells which respond to nerve growth factor, Proc Natl Acad Sci U S A, 1976, Vol.73, No.7, p.2424-8 Abstract, 第 2428 ページ 左欄第 20-27 行	1 3 - 1 5
A	SACHANA,M. et al, Inhibition of neurite outgrowth in N2a cells by leptophos and carbaryl: effects on neurofilament heavy chain, GAP-43 and HSP-70, Toxicol In Vitro, 2003, Vol.17, No.1, p.115-20 Abstract	1 - 1 5
P X	KOIKE,T. et al, The heat shock protein inhibitor KNK437 induces neurite outgrowth in PC12 cells, Neurosci Lett, Dec. 2006, Vol.410, No.3, pp.212-7	1 - 1 5

WO 2005/105023 A1	2005.11.10	US 2005/249685 A1	2005.11.10
WO 1999/000382 A1	1999.01.07	US 6281229 B1	2001.08.28
		US 2002/058679 A1	2002.05.16
		US 2003/149077 A1	2003.08.07
		US 6613780 B2	2003.09.02
		US 6903116 B2	2005.06.07
		EP 995745 A1	2000.04.26
		EP 995745 B1	2005.10.19
		AU 9879332 A	1999.01.19
		DE 69831950 E	2006.03.02
		DE 69831950 T2	2006.07.20

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

- 第Ⅲ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとの国際調査機関は認めた。

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

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

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