



添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

## 明 細 書

発明の名称：

4-ヒドロパーオキシトランス-2-デセン酸誘導体及びこれを含有する医薬

### 技術分野

[0001] 本発明は、新規な4-ヒドロパーオキシトランス-2-デセン酸誘導体及びこれを含有する医薬に関する。具体的には、神経成長因子（NGF）、脳由来神経栄養因子（BDNF）などの神経栄養因子様の作用を有する4-ヒドロパーオキシトランス-2-デセン酸誘導体及びこれを含有する医薬に関する。

### 背景技術

[0002] 神経細胞は情報伝達機能を有する細胞であり、その損傷は重大な脳神経機能の喪失となって現れる。脳、脊髄の中枢神経では軸索の再生はほとんど期待できず、神経細胞に損傷、変性がある場合、神経細胞を保護し、活性化する必要がある。そのような生態防御機構として、神経細胞の分化、生存維持、シナプスの機能亢進及び損傷した神経軸索の再生、修復を担う神経栄養因子の役割が不可欠である。

[0003] 神経栄養因子の中でも、神経成長因子（NGF）、脳由来神経栄養因子（BDNF）、ニューロトロフィン-3（NT-3）及びニューロトロフィン-4/5（NT-4/5）などは神経成長因子（NGF）をプロトタイプとして50%以上の配列ホモロジーをもつニューロトロフィンファミリーを構成する。細胞外に分泌されたニューロトロフィンが神経細胞膜上の高親和性受容体（Trks）と結合すると、神経細胞内で3つの方向にシグナルが伝達されるが、その一つであるMAPキナーゼ（mitogen-activated protein (MAP) kinases/extracellular signal-regulated protein kinases 1/2 (ERK1/2))の活性化（リン酸化）を含むMAPキナーゼ情報伝達経路の活性化を介して転写因子のCREB（cAMP-response element binding protein）が活性化され、数多くの遺伝子発現が制御される。

したがって、MAPキナーゼ情報伝達経路を介するシグナル伝達を活性化できれば、神経細胞の変性や細胞死が成因となる神経障害への臨床応用に活用できる可能性がある。また、脳由来神経栄養因子（BDNF）といくつかの疾患との関連についての報告がある。

[0004] 脳由来神経栄養因子（BDNF）の遺伝子多型に関する研究により、特定の多型が、パーキンソン病と関連するとの報告（非特許文献1参照）、アルツハイマー病と関連するとの報告（非特許文献2参照）、うつ病と関連するとの報告（非特許文献3参照）、双極性うつ病と関連するとの報告（非特許文献4参照）、不安症と関連するとの報告（非特許文献5参照）がある。ハンチントン病の遺伝子変異マウスのシナプス機能低下が脳由来神経栄養因子（BDNF）の投与で回復するとの報告（非特許文献6参照）やMAPキナーゼリン酸化阻害剤の投与により抑うつ状態を惹起するとの報告（非特許文献7参照）がある。

[0005] 神経栄養因子は、上記の脳由来神経栄養因子（BDNF）の例でもわかるように、特定の神経疾患に対する治療効果を示し、軸索を発芽させ、伸長させる作用を有する。しかし、神経栄養因子は高分子量のタンパク質であるため、末梢から投与をしても血液脳関門を通過できず、脳に到達するのが困難という問題がある。そこで、低分子量で神経栄養因子様の作用を有する医薬や神経栄養因子の産生・分泌を促進する医薬を開発する試みがなされている。

[0006] 従来、所定の一般式を有する化合物を含有する神経栄養因子様作用剤についての提案（特許文献1、特許文献2）がある。所定の一般式を有する化合物を含有する神経栄養因子の産生・分泌促進剤の提案（特許文献3～特許文献5参照）や脂肪酸化合物、その塩またはそれらのプロドラッグを含有する神経再生促進剤の提案（特許文献6参照）がある。

[0007] また、所定の一般式を有する化合物を含有し、アストロサイトのGABA A受容体応答の低下を改善して神経変性疾患などを予防・治療する薬剤の提案（特許文献7参照）がある。

[0008] また、炭素数6～10の中鎖脂肪酸、又は炭素数6～10の中鎖脂肪酸の

メチルエステル、エチルエステル、プロピルエステルおよびn-ブチルエステル化合物を有効成分とする神経細胞分化誘導剤の提案がある（特許文献8参照）。

[0009] また、脂肪酸又は脂肪酸エステルが神経栄養因子様の作用を有することが報告されている（特許文献9参照）。

[0010] また、界面活性物質の前駆体として三級アミノ基を有する脂肪酸アミドが報告されている（特許文献10参照）。

[0011] さらに、トランス-2-デセン酸誘導体又はその薬学的に許容される塩が、神経栄養因子様の作用や抗がん剤投与による副作用軽減作用を有することが報告されている（特許文献11参照）。

## 先行技術文献

### 特許文献

- [0012] 特許文献1：特開2000-7568号公報  
特許文献2：特開2003-113085号公報  
特許文献3：特開2002-80467号公報  
特許文献4：特開2003-261545号公報  
特許文献5：国際公開第2003/084542号パンフレット  
特許文献6：国際公開第2005/032535号パンフレット  
特許文献7：特開平7-316092号公報  
特許文献8：特開2007-217311号公報  
特許文献9：国際公開第2009/038110号パンフレット  
特許文献10：特開2010-505893号公報  
特許文献11：国際公開第2012/060396号パンフレット

### 非特許文献

- [0013] 非特許文献1：Ann Neurol.2002 Jan; 51(1):133-6  
非特許文献2：J Neural Transm.2005 May;112(5):703-11.Epub 2004 Sep14  
非特許文献3：Neuropsychopharmacology.2003 Feb; 28(2):397-401.Epub 2002 Aug29

非特許文献4 : Br J Psychiatry. 2006 Oct; 189:317-23

非特許文献5 : Psychopharmacology(Berl).2005 Jun; 180(1):95-9. Epub 2005 Jan 26

非特許文献6 : J Neurosci. 2007 Apr 18; 27(16): 4424-34

非特許文献7 : BIOL PSYCHIATRY 2007 ; 61: 661-670

## 発明の概要

### 発明が解決しようとする課題

[0014] 本発明は、優れた神経栄養因子様の作用を有する化合物を提供することを目的とする。本発明は、当該化合物を有効成分として含む医薬を提供することを目的とする。

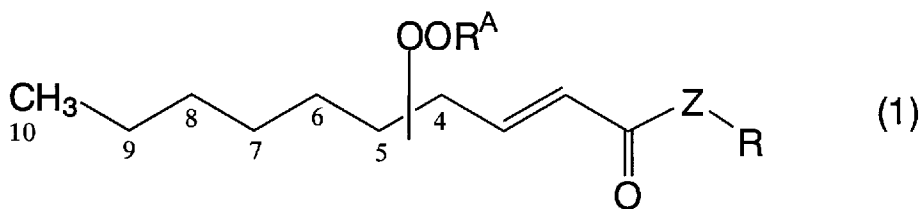
### 課題を解決するための手段

[0015] 本発明者等が上記の課題を解決するために鋭意研究を行った結果、4-ハイドロパーオキシトランス-2-デセン酸エステル等が、優れた神経栄養因子様の作用を有することを見出した。かかる知見に基づき更に研究を行うことにより、本発明を完成するに至った。

[0016] 即ち、本発明は以下の化合物及び当該化合物を含有する医薬を提供する。

[0017] 項1 一般式(1) :

[0018] [化1]



[0019] (式中、Zは-O-、-S-又は-NR'-を示し、R'は水素原子、置換若しくは非置換アルキル基、又は置換若しくは非置換シクロアルキル基を示し、Rは水素原子、置換若しくは非置換アルキル基、又は置換若しくは非置換シクロアルキル基を示し、或いは、R'及びRは隣接する窒素原子と共に環を形成していてもよく、当該環は置換基を有していてもよく、基：-OOR<sup>A</sup>はデセン酸骨格の4~10位のいずれか1個の炭素原子と結合しており、

R<sup>A</sup>は水素原子、アルキル基、アルケニル基、アラルキル基、アシル基、又はシリル基を示す。）

で表される化合物又はその薬学的に許容される塩。

- [0020] 項2 一般式(1)において、基：-OOR<sup>A</sup>がデセン酸骨格の4位の炭素原子と結合している項1に記載の化合物又はその薬学的に許容される塩。
- [0021] 項3 一般式(1)において、R<sup>A</sup>が水素原子である項1又は2に記載の化合物又はその薬学的に許容される塩。
- [0022] 項4 一般式(1)において、Zが-O-である項1~3のいずれかに記載の化合物又はその薬学的に許容される塩。
- [0023] 項5 項1~4のいずれかに記載の化合物又はその薬学的に許容される塩を有効成分として含有する医薬。
- [0024] 項6 神経栄養因子様作用剤である項5に記載の医薬。
- [0025] 項7 神経障害の予防又は治療剤である項5に記載の医薬。
- [0026] 項8 神経障害が神経変性疾患である項5に記載の医薬。
- [0027] 項9 神経変性疾患が、認知症、アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症(ALS)、ハンチントン病、進行性核上性麻痺(PSP)、糖尿病性ニューロパシー、又は視神経疾患の緑内障である項8に記載の医薬。
- [0028] 項10 神経障害が精神疾患である項7に記載の医薬。
- [0029] 項11 精神疾患がうつ病である項10に記載の医薬。
- [0030] 項12 精神疾患が不安障害(神経症)である項10に記載の医薬。
- [0031] 項13 脊髄損傷の治療剤又は修復剤である項5に記載の医薬。
- [0032] 項14 項7~13のいずれかに記載の疾患又は病態の患者に、項1~4のいずれかに記載の化合物又はその薬学的に許容される塩(或いは、項5に記載の医薬)の有効量を投与することを特徴とする項7~13のいずれかに記載の疾患の治療方法。
- [0033] 項15 項7~13のいずれかに記載の疾患を治療するための医薬の製造における項1~4のいずれかに記載の化合物又はその薬学的に許容される塩(或いは、項5に記載の医薬)の使用。

## 発明の効果

- [0034] 本発明の化合物は、優れた神経栄養因子様作用を有しているため、神経栄養因子様作用剤として用いられる。この神経栄養因子様作用剤は、神経栄養因子様の作用でMAPキナーゼ情報伝達経路を介するシグナル伝達を活性化し、安全性の高い神経障害の予防又は治療剤として有用である。
- [0035] 神経障害の中で、特にアルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症 (ALS)、ハンチントン病、進行性核上性麻痺 (PSP)、糖尿病性ニューロパシー又は視神経疾患の緑内障等の神経変性疾患の予防又は治療剤 (改善剤) として有用である。
- [0036] また、神経障害の中で、特に精神疾患の予防又は治療剤 (改善剤) として有用である。精神疾患の中でうつ病や不安障害 (神経症) の予防又は改善剤として有用である。特にうつ病や不安障害 (神経症) の予防又は治療剤 (改善剤) として、即効性の抗うつ効果及び抗不安効果が発揮される。
- [0037] また、本発明の神経栄養因子様作用剤は、脊髄損傷の治療剤 (修復剤) として有用であり、特に、損傷部位以外の体内部位への投与による脊髄損傷の修復に用いることができる。

## 図面の簡単な説明

- [0038] [図1]試験例1における、2-デセン酸エチルエステル (DAEE) と4-ヒドロパーオキシ-2-デセン酸エチルエステル (po-DAEE) (化合物1 a) による培養した神経細胞のリン酸化ERK1/2レベルの上昇の程度を示すグラフである。
- [図2]試験例1における、培養した神経細胞のERK1/2のリン酸化に及ぼす、2-デセン酸プロピルエステル、2-デセン酸イソプロピルエステル、それらの4-ヒドロパーオキシ化合物 (化合物1 b 及び 1 c) の効果を示すグラフである。
- [図3]試験例1における、培養した神経細胞のERK1/2のリン酸化に及ぼす、4-ヒドロパーオキシ-2-デセン酸 1-メチルシクロプロピルエステル (化合物1 f)、及び4-ヒドロパーオキシ-2-デセン酸 2-エトキシエチルエステル (化合物1 e) の効果を示すグラフである。



[図4]試験例1における、4-ヒドロパーオキシ-2-デセン酸エチルエステル (po-DAEE) (化合物1 a) による培養した神経細胞のリン酸化CREBレベルとリン酸化Aktレベルの上昇の程度を示すグラフである。

[図5]試験例2における、ストレス負荷によるうつ病モデルの模式図である。オスマウス (ddy、7週齢) に対して図5に示すストレス (強制水泳、傾斜飼育、湿床飼育及び回転飼育) を負荷する。傾斜飼育、湿床飼育及び回転飼育は「慢性マイルドストレス」とよび、それぞれ1日ずつ正常飼育を挟むので、1クールは1週間を要する。これを3回繰り返す。

[図6]試験例2における、抑うつ症状に及ぼす2-デセン酸エチルエステル (DAEE) の効果を示すグラフである。

[図7]試験例2における、抑うつ症状に及ぼす4-ヒドロパーオキシ-2-デセン酸エチルエステル (po-DAEE) (化合物1 a) の効果を示すグラフである。

[図8]試験例2における、不安症状に及ぼす2-デセン酸エチルエステル (DAEE) の効果を示すグラフである。

[図9]試験例2における、不安症状に及ぼす4-ヒドロパーオキシ-2-デセン酸エチルエステル (po-DAEE) (化合物1 a) の効果を示すグラフである。

[図10]試験例2における、海馬のERK1/2リン酸化レベルに及ぼす2-デセン酸エチルエステル (DAEE) の効果を示すグラフである。

[図11]試験例2における、海馬のERK1/2リン酸化レベルに及ぼす4-ヒドロパーオキシ-2-デセン酸エチルエステル (po-DAEE) (化合物1 a) の効果を示すグラフである。

[図12]試験例3における、アミロイドペプチドの脳室内注入とY字型迷路試験の模式図である。

[図13]試験例3における、Y字型迷路試験による2-デセン酸エチルエステル (DAEE) と4-ヒドロパーオキシ-2-デセン酸エチルエステル (po-DAEE) (化合物1 a) の薬効を比較したグラフである。

[図14]試験例3における、新規対象物試験による2-デセン酸エチルエステル (DAEE) と4-ヒドロパーオキシ-2-デセン酸エチルエステル (po-DAEE) (

化合物 1 a) の薬効を比較したグラフである。

[図15]試験例4における、脊髄損傷モデル動物に対する4-ヒドロパーオキシ-2-デセン酸エチルエステル (po-DAEE) の運動機能改善効果を示すグラフである。

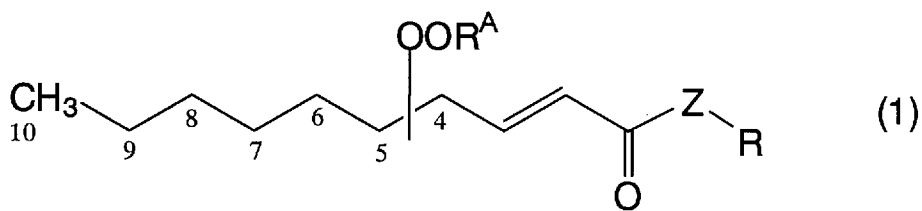
### 発明を実施するための形態

[0039] 以下に本発明について詳細に説明する。

#### [0040] 1. 本発明化合物

本発明化合物は、4-ヒドロパーオキシトランス-2-デセン酸誘導体に関する。具体的には、一般式(1)：

[0041] [化2]



[0042] (式中、Zは-O-、-S-又は-NR'-を示し、R'は水素原子、置換若しくは非置換アルキル基、又は置換若しくは非置換シクロアルキル基を示し、Rは水素原子、置換若しくは非置換アルキル基、又は置換若しくは非置換シクロアルキル基を示し、或いは、R'及びRは隣接する窒素原子と共に環を形成していてもよく、当該環は置換基を有していてもよく、基：-OOR<sup>A</sup>はデセン酸骨格の4～10位のいずれか1個の炭素原子と結合しており、R<sup>A</sup>は水素原子、アルキル基、アルケニル基、アラルキル基、アシル基、又はシリル基を示す。)

で表される化合物又はその薬学的に許容される塩である。

[0043] Rで示される置換若しくは非置換アルキル基における「アルキル基」としては、例えば、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル、ペンチル、ヘキシル、ヘプチル、オクチル基等の直鎖状又は分岐状の炭素数1～15のアルキル基が挙げられ、好ましくは炭素数1～6の鎖状又は分岐状のアルキル基、より好ましくは炭素数1～3の鎖状又は分

岐状のアルキル基（特に、エチル、プロピル基）が挙げられる。

[0044] 当該「アルキル基」の置換基としては、例えば、ハロゲン原子、アルコキシ基、水酸基、アリール基、カルボキシ基、アシル基、アシルオキシ基、アミノ基、アミド基、アルキルアミノ基、ジアルキルアミノ基、アリールアミノ基、アルコキシ基、アリールオキシ基、ニトロ基、シアノ基、メルカプト基、イミノ基等が挙げられる。これらのうち、ハロゲン原子、アルコキシ基、水酸基、アリール基等が好ましい。当該「アルキル基」は上記からなる群より選ばれる少なくとも1個（好ましくは1～3個）の置換基で置換されていてもよい。

[0045] Rで示される置換若しくは非置換シクロアルキル基における「シクロアルキル基」としては、例えば、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル基等の炭素数3～8のシクロアルキル基が挙げられ、好ましくは炭素数3～6のシクロアルキル基が挙げられる。

[0046] 当該「シクロアルキル基」の置換基としては、例えば、ハロゲン原子、アルキル基、アルコキシ基、水酸基、カルボキシ基、アシル基、アシルオキシ基、アミノ基、アミド基、アルキルアミノ基、ジアルキルアミノ基、アリールアミノ基、アルコキシ基、アリールオキシ基、ニトロ基、シアノ基、メルカプト基、イミノ基等が挙げられる。これらのうち、ハロゲン原子、アルキル基、アルコキシ基、水酸基、アリール基等が好ましい。当該「シクロアルキル基」は上記からなる群より選ばれる少なくとも1個（好ましくは1～3個）の置換基で置換されていてもよい。

[0047] Zが-NR'-の場合、R'で示される置換若しくは非置換アルキル基、及び置換若しくは非置換シクロアルキル基は、上記Rで示されるそれぞれの基と同義である。なお、R及びR'は同一又は異なってもよい。

[0048] R'及びRは隣接する窒素原子と共に環を形成していてもよく、形成される「環」としては含窒素ヘテロ環が挙げられ、例えば、アジリジン、アゼチジン、ピロリジン、ピペリジン、ピロール等が挙げられる。

[0049] 当該「環」の置換基としては、例えば、ハロゲン原子、アルキル基、アル

コキシ基、水酸基、カルボキシル基、アシル基、アシルオキシ基、アミノ基、アミド基、アルキルアミノ基、ジアルキルアミノ基、アリールアミノ基、アルコキシ基、アリールオキシ基、ニトロ基、シアノ基、メルカプト基、イミノ基等が挙げられる。これらのうち、ハロゲン原子、アルキル基、アルコキシ基、水酸基、アリール基等が好ましい。当該「環」は上記からなる群より選ばれる少なくとも1個（好ましくは1～3個）の置換基で置換されていてもよい。

[0050] 上記で特筆した以外の「アルキル基」としては、例えば、メチル、エチル、*n*-プロピル、イソプロピル、*n*-ブチル、イソブチル、*t*-ブチル基等の炭素数1～4の鎖状又は分岐状のアルキル基が挙げられる。

[0051] 本明細書において「アルケニル基」としては、例えば、ビニル、アリル、クロチル、2-ペンテニル等の炭素数2～6の鎖状又は分岐状のアルケニル基が挙げられる。

[0052] 本明細書において「ハロゲン原子」としては、フッ素原子、塩素原子、臭素原子等が挙げられる。

[0053] 本明細書において「アルコキシ基」としては、例えば、メトキシ、エトキシ、*n*-プロポキシ、イソプロポキシ基等の鎖状又は分岐状の炭素数1～6のアルコキシ基が挙げられ、好ましくは炭素数1～3の鎖状又は分岐状のアルコキシ基である。

[0054] 本明細書において「アシル基」としては、例えば、アセチル、プロパノイル基等の炭素数2～6のアルカノイル基が挙げられる。

[0055] 本明細書において「アリール基」としては、例えば、フェニル、トルイル、ナフチル、フェナンスリル基等が挙げられる。

[0056] 本明細書において「アラルキル基」としては、例えば、ベンジル、フェネチル、フェニルプロピル等のアリール基で置換された炭素数1～4の鎖状又は分岐状のアルキル基が挙げられる。

[0057] 本明細書において「シリル基」としては、例えば、トリアルキルシリル基（例えば、トリメチルシリル基、トリエチルシリル基、トリーソプロピルシ

リル基、tert-ブチルジメチルシリル基等のトリ（炭素数1～4アルキル）シリル基等）；トリアリールシリル基（例えば、トリフェニルシリル基等）；アルキルジアリールシリル基（例えば、tert-ブチルジフェニルシリル基等）等が挙げられる。

[0058] 一般式（1）における炭素-炭素二重結合はトランス体を意味する。

[0059] 基：-OOR<sup>A</sup>の置換位置として好ましくはデセン酸骨格の4位の炭素原子である。

[0060] 基：-OOR<sup>A</sup>がデセン酸骨格の4～9位の炭素原子に結合する場合、当該炭素原子は不斉炭素となりうるが、その立体配置はS体、R体又はその混合物（等量混合物を含む）のいずれをも包含する。

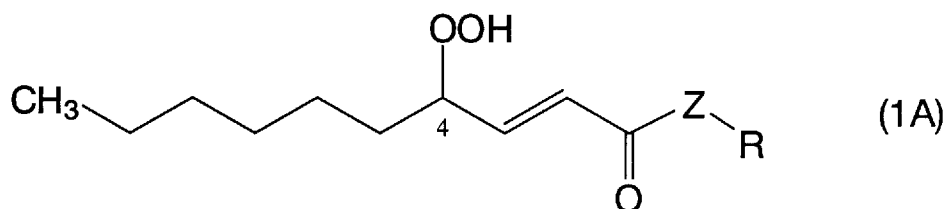
[0061] R<sup>A</sup>として好ましくは水素原子である。

[0062] Zとして好ましくは、-O-である。

[0063] Rとして好ましくは、水素原子；アリール基（特に、フェニル基）、アルコキシ基（特に、炭素数1～3のアルコキシ基）等で置換されていてもよい鎖状又は分岐状の炭素数1～4のアルキル基；アルキル基（特に、炭素数1～3のアルキル基）等で置換されていてもよいシクロアルキル基等が挙げられる。

[0064] 一般式（1）で表される化合物のうち好ましいものとして、一般式（1A）：

[0065] [化3]



[0066] （式中、R及びZは前記に同じ。）

で表される化合物が挙げられる。

[0067] 一般式（1）で表される化合物は、上述した遊離の形態はもちろん、塩、溶媒和物、プロドラッグの形態をも取り得る。塩を形成する場合、医薬とし

て用いる場合には、薬学的に許容される塩の形態が好適である。塩の例としては、無機酸塩（例えば、リン酸、塩酸、硫酸、硝酸等の塩）、有機酸塩（例えば、クエン酸、酒石酸、乳酸、グリコール酸等の塩）；又は、アルカリ金属塩（例えば、ナリチウム、ナトリウム、カリウム等の塩）、アンモニウム塩（例えば、 $\text{NH}_4^+$ との塩、第4級アンモニウム塩等）等が挙げられる。

[0068] 溶媒和物としては、水和物、アルコール和物などが挙げられる。

[0069] 一般式（1）で表される化合物が不斉炭素を含む場合には、光学活性体、ラセミ体、ジアステレオマー等の各種の異性体も包含する。当該化合物が結晶となる場合には、形成しうる各種の結晶形（結晶多形）をも包含する。

## [0070] 2. 本発明化合物の製法

本発明化合物である一般式（1）で表される化合物又はその薬学的に許容される塩は、例えば次のようにして製造することができる。

[0071] 一般式（1A）で表される化合物は、一般式（2）で表されるデカ-2,4-ジエン酸誘導体を、酸化反応に付すことにより製造することができる。当該酸化反応は、例えば、Chemistry Letters, pp. 2165-2168, 1992 の記載に従い又は準じて製造することができる。

[0072] [化4]



[0073] (式中、Z及びRは前記に同じ。)

具体的には、一般式（2）で表される化合物に、酸素雰囲気下、コバルト化合物及びシラン化合物を反応させて、一般式（1A）で表される化合物を製造することができる。

[0074] 本反応は、通常、溶媒中で実施することができ、当該溶媒としては、例えば、アルコール類（例えば、メタノール、エタノール、n-プロパノール、イソプロパノール等）、ハロゲン化炭化水素類（例えば、ジクロロメタン、クロロホルム、1,2-ジクロロエタン等）、酢酸エステル類（例えば、酢

酸メチル、酢酸エチル、酢酸プロピル等)、エーテル類(例えば、ジエチルエーテル、*t*-ブチルメチルエーテル、テトラヒドロフラン、ジオキサン等)、アセトニトリル、芳香族炭化水素類(例えば、トルエン、キシレン等)等が挙げられる。このうち、1種単独又は2種以上の混合溶媒を用いることができる。

[0075] コバルト化合物は本酸化反応において触媒として働く。コバルト化合物としては、例えば、コバルト(II)とポルフィリン系化合物とを含むコバルト錯体が挙げられ、具体的には、[5, 10, 15, 20-テトラ(2, 6-ジクロロフェニル)ポルフィリナト]コバルト(II)(C<sub>o</sub>TDCPP)、(5, 10, 15, 20-テトラフェニルポルフィリナト)コバルト(II)(C<sub>o</sub>TPP)、[5, 10, 15, 20-テトラ(4-カルボエトキシフェニル)ポルフィリナト]コバルト(II)(C<sub>o</sub>TCMP)、(2, 3, 7, 8, 12, 12, 17, 18-オクタエチルポルフィリナト)コバルト(II)(C<sub>o</sub>OEP)等が挙げられる。

[0076] コバルト化合物の使用量は触媒量とすることができ、一般式(2)で表される化合物1モルに対し、通常、0.0001~0.5モル、好ましくは0.0005~0.3モル、より好ましくは0.001~0.2モルである。

[0077] シラン化合物としては、例えば、トリアルキルシラン(例えば、トリメチルシラン、トリエチルシラン、トリプロピルシラン等)、トリフェニルシラン、ジアルキルシラン(例えば、クロロジメチルシラン等)、ジフェニルシラン等が挙げられる。好ましくは、トリアルキルシラン(特に、トリエチルシラン)である。

[0078] シラン化合物の使用量は、一般式(2)で表される化合物1モルに対し、通常、1~10モル、好ましくは1.01~3モル、より好ましくは1.1~1.5モルである。

[0079] 反応温度は、通常、0~100℃程度(好ましくは0~30℃程度)であり、反応時間は、通常、1~10時間程度である。

[0080] 反応終了後は、公知の単離及び精製方法を用いて、一般式(1A)で表さ

れる化合物を得る。また、必要に応じ、公知の方法を用いて塩の形態に変換することもできる。

[0081] 一般式(1)で表される化合物のうち $R^A$ が水素原子であるヒドロパーオキシ基(-OOH)含有化合物は、上記の反応に従い又は準じて、必要ならば更にJournal of Organic Chemistry, 70(1), 251-260; 2005等の記載を参照して、対応するジエン化合物を酸化反応に付することにより製造することができる。

[0082] 更に、一般式(1B)で表される化合物は、公知の反応を用いて、一般式(1A)で表されるヒドロパーオキシ基含有化合物に基: $R^B$ を導入することにより製造することができる。

[0083] [化5]



[0084] (式中、 $R^B$ はアルキル基、アルケニル基、アラルキル基、アシル基、又はシリル基を示し、Z及びRは前記に同じ。)

一般式(1B)で表される化合物のうち、 $R^B$ がアルキル基、アルケニル基、又はアラルキル基である化合物は、例えば、Journal of Medicinal Chemistry, 45(6), 1374-1378; 2002、Organic & Biomolecular Chemistry, 1(9), 1522-1527; 2003、Science of Synthesis, 38, 205-229; 2009等の記載に従い又は準じて製造することができる。

[0085] 一般式(1B)で表される化合物のうち、 $R^B$ がアシル基である化合物は、例えば、Journal of Organic Chemistry, 77(3), 1233-1243; 2012等の記載に従い又は準じて製造することができる。

[0086] 一般式(1B)で表される化合物のうち、 $R^B$ がシリル基である化合物は、例えば、Journal of the Chemical Society, Chemical Communications, (6), 448-9; 1990、Journal of Organic Chemistry, 77(3), 1233-1243; 2012等の記載に従い又は準じて製造することができる。



[0087] 一般式(1)で表される化合物のうち $R^A$ がアルキル基、アルケニル基、アラルキル基、アシル基、又はシリル基である化合物は、上記の反応に従い又は準じて、対応するヒドロパーオキシ基含有化合物(一般式(1)で表される化合物のうち $R^A$ が水素原子である化合物)に基: $R^B$ を導入することにより製造することができる。

[0088] 3. 本発明化合物の医薬用途

本発明の化合物は、神経栄養因子様作用を有するため神経栄養因子様作用剤として有用である。

[0089] 本発明の化合物は、神経細胞に対して、神経栄養因子ファミリーであるニューロトロフィン(代表的なものはBDNF)に類似する細胞内シグナルを生成することから、BDNFとの関連性が指摘される多くの神経障害の予防又は治療に有用である。神経障害とは、神経細胞の変性又は細胞死に起因しその機能が損なわれる病態をいい、神経変性疾患、精神疾患を含む。神経変性疾患は、アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症(ALS)、ハンチントン病、進行性核上性麻痺(PSP)、糖尿病性ニューロパシー、視神経疾患の緑内障などをいう。精神疾患は、うつ病(双極性うつ病を含む)、不安障害(神経症)、総合失調症等をいう。

[0090] 本発明の化合物は、脊髄損傷の修復剤として有用である。交通事故、スポーツ事故、高齢者の圧迫骨折等で脊髄が物理的損害を受ける脊髄損傷は、有効な治療法がなく、再生医療による治療法が種々検討されている。本発明の化合物を有効成分とし、体内へ投与することで脊髄損傷を修復することができる。

[0091] 本発明の化合物の医薬としての投与形態は特に限定されず、経口又は非経口のいずれの投与形態でもよい。また、投与形態に応じて適当な剤形とすることができ、例えば注射剤、あるいはカプセル剤、錠剤、顆粒剤、散剤、丸剤、細粒剤などの経口剤、直腸投与剤、油脂性坐剤、水性坐剤などの各種製剤に調製することができる。

[0092] 各種製剤は、薬理的に許容され通常用いられる賦形剤、結合剤、滑沢剤、

崩壊剤、界面活性剤、流動性促進剤などを添加して調製できる。賦形剤として、例えば、乳糖、果糖、ブドウ糖、コーンスターチ、ソルビット、結晶セルロースなどが、結合剤として、例えば、メチルセルロース、エチルセルロース、アラビアゴム、ゼラチン、ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルピロリドンなどが、滑沢剤として、例えば、タルク、ステアリン酸マグネシウム、ポリエチレングリコール、硬化植物油などが、崩壊剤として、例えば、澱粉、アルギン酸ナトリウム、ゼラチン、炭酸カルシウム、クエン酸カルシウム、デキストリン、炭酸マグネシウム、合成ケイ酸マグネシウムなどが、界面活性剤として、例えば、ラウリル硫酸ナトリウム、大豆レシチン、シヨ糖脂肪酸エステル、ポリソルベート80などが、流動性促進剤として、例えば、軽質無水ケイ酸、乾燥水酸化アルミニウムゲル、合成ケイ酸アルミニウム、ケイ酸マグネシウムなどが、その他の添加剤としては、シロップ、ワセリン、グリセリン、エタノール、プロピレングリコール、クエン酸、塩化ナトリウム、亜硝酸ソーダ、リン酸ナトリウムなどが挙げられる。

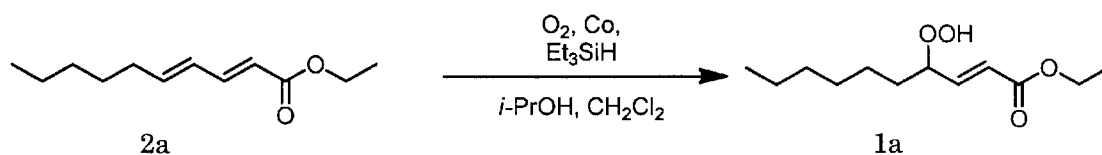
[0093] 本発明化合物の投与量は、用法、患者の年齢、性別、症状の程度などを考慮して適宜増減できるが、通常成人1日当り1~1000mg、好ましくは5~300mgで、これを1日1回又は数回に分けて投与できる。

### 実施例

[0094] 次いで、本発明について実施例を挙げて説明するが、本発明は以下の実施例に限定されるものではない。

[0095] 実施例 1

[0096] [化6]



[0097] 基質 (0.3mmol)、[5, 10, 15, 20-テトラ(2, 6-ジクロロフェニル)ポルフィリナト]コバルト(II) (1 mg)を枝付きナスフラスコに入れ、溶媒*i*-PrOH (1 mL)とCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1 mL)を加え酸素雰囲気中室温で攪拌した。その後、Et<sub>3</sub>SiH (1.4

eq)をシリンジでゆっくりと加え、5時間攪拌した。反応後、水とbrineで洗浄し、ジエチルエーテルで抽出した。有機層をMgSO<sub>4</sub>で乾燥させ、溶媒流去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hexane:AcOEt=12:1) によって単離精製して、無色油状物の化合物 1 a 16.6 mg(収率:24%)を得た。(例えば、Chemistry Letters, pp.2165-2168, 1992を参照。)

化合物 1 a :

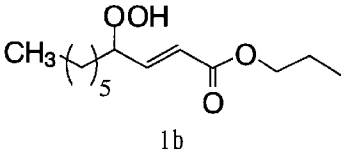
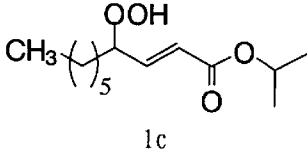
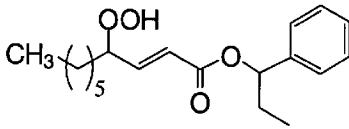
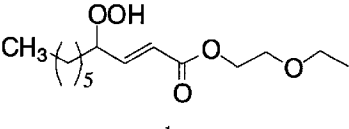
<sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 8.32 (s, 1H); 6.87 (dd, J = 16.1, 6.9 Hz, 1H); 6.03 (d, J = 16.7 Hz, 1H); 4.49 (m, 1H); 4.21 (m, 1H); 1.68-1.26 (m, 13H); 0.86 (t, J = 6.6 Hz, 3H); <sup>13</sup>C NMR (120 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 166.4, 146.7, 123.4, 84.8, 60.8, 32.2, 31.7, 29.2, 25.2, 22.6, 14.3, 14.1  
Anal; Calcd. for C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>4</sub>: C, 62.58, H, 9.63, N, 0. Found: C, 62.58, H, 9.77, N, 0.

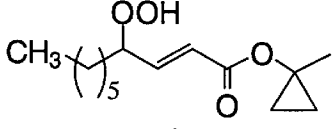
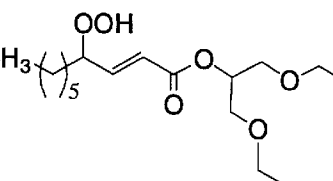
#### 実施例 2～7

適切な原料化合物を使用して、実施例 1 に記載された製造方法に従い又は準じて 4-ヒドロパーオキシデセン酸誘導体 (化合物 1 b～1 g) を製造した。

[0098]

[表1]

実施例	生成物	物性、スペクトルデータ等
2	 <p style="text-align: center;">1b</p>	<p>無色油状物, <math>^1\text{H NMR}</math> (400MHz, <math>\text{CDCl}_3</math>): <math>\delta</math> 8.89 (s, 1H); 6.90 (dd, <math>J = 15.9, 6.8</math> Hz, 1H); 6.05 (dd, <math>J = 15.9, 1.0</math> Hz, 1H); 4.51 (m, 1H); 4.12 (t, <math>J = 6.8</math> Hz, 2H); 1.72-1.63 (m, 3H); 1.53-1.49 (m, 1H); 1.40-1.27 (m, 8H); 0.97 (t, <math>J = 7.2</math> Hz, 3H); 0.88 (t, <math>J = 6.8</math> Hz, 3H); <math>^{13}\text{C NMR}</math> (100 MHz, <math>\text{CDCl}_3</math>) <math>\delta</math> 166.5, 146.8, 123.0, 84.6, 66.3, 32.1, 31.5, 29.1, 25.9, 22.5, 21.9, 14.0, 10.3</p> <p>Anal; Calcd. for <math>\text{C}_{13}\text{H}_{24}\text{O}_4</math>: C, 63.91, H, 9.90, N, 0. Found: C, 63.63, H, 9.95, N, 0.</p>
3	 <p style="text-align: center;">1c</p>	<p>無色油状物, <math>^1\text{H NMR}</math> (400MHz, <math>\text{CDCl}_3</math>): <math>\delta</math> 8.30 (s, 1H); 6.86 (dd, <math>J = 15.9, 6.8</math> Hz, 1H); 6.02 (d, <math>J = 15.9</math> Hz, 1H); 5.09 (m, 1H); 4.51 (m, 1H); 1.71-1.21 (m, 16H); 0.88 (t, <math>J = 6.8</math> Hz, 3H); <math>^{13}\text{C NMR}</math> (100 MHz, <math>\text{CDCl}_3</math>): <math>\delta</math> 165.5, 146.1, 123.8, 84.7, 68.1, 32.1, 31.6, 29.1, 25.1, 22.5, 21.9, 14.0</p>
4	 <p style="text-align: center;">1d</p>	<p>無色油状物, <math>^1\text{H NMR}</math> (400MHz, <math>\text{CDCl}_3</math>): <math>\delta</math> 8.59 (d, <math>J = 9.2</math> Hz, 1H); 7.34-7.25 (m, 5H); 6.89 (dd, <math>J = 15.9, 6.8</math> Hz, 1H); 6.02 (d, <math>J = 15.0</math> Hz, 1H); 5.74 (t, <math>J = 6.8</math>, 1H); 4.49 (m, 1H); 2.00-1.83 (m, 2H); 1.65-1.50 (m, 2H); 1.39-1.27 (m, 8H); 0.88 (m, 6H); <math>^{13}\text{C NMR}</math> (100 MHz, <math>\text{CDCl}_3</math>): <math>\delta</math> 165.7, 146.9, 140.2, 128.4, 127.9, 126.6, 123.2, 84.6, 77.7, 32.1, 31.5, 29.3, 29.1, 25.0, 22.5, 14.0, 9.9</p>
5	 <p style="text-align: center;">1e</p>	<p>無色油状物, <math>^1\text{H NMR}</math> (400MHz, <math>\text{CDCl}_3</math>): <math>\delta</math> 9.07 (brs, 1H); 6.92 (dd, <math>J = 15.9, 6.8</math> Hz, 1H); 6.09 (d, <math>J = 15.5</math> Hz, 1H); 4.50 (m, 1H); 4.31 (t, <math>J = 4.6</math> Hz, 2H); 3.69 (t, <math>J = 4.8</math> Hz, 2H); 3.56 (q, <math>J = 7.2</math> Hz, 2H); 1.66-1.49 (m, 2H); 1.49-1.20 (m, 11H); 0.88 (t, <math>J = 6.8</math> Hz, 3H); <math>^{13}\text{C NMR}</math> (100 MHz, <math>\text{CDCl}_3</math>): <math>\delta</math> 166.2, 147.4, 122.7, 84.5, 68.2, 66.6, 63.8, 32.0, 31.5, 29.1, 25.0, 22.5, 15.0, 14.0</p>

6	 <p style="text-align: center;">1f</p>	無色油状物
7	 <p style="text-align: center;">1g</p>	無色油状物, $^1\text{H}$ NMR (500MHz, $\text{CDCl}_3$ ): $\delta$ 9.15 (brs, 1H); 6.88 (dd, $J = 16.0, 6.9$ Hz, 1H); 6.04 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H); 5.13 (m, 1H); 4.44 (m, 1H); 3.61-3.45 (m, 8H); 1.63-1.13 (m, 16H); 0.83 (t, $J = 7.7$ Hz, 3H); $^{13}\text{C}$ NMR (120 MHz, $\text{CDCl}_3$ ): $\delta$ 165.8, 147.5, 122.9, 84.5, 71.9, 68.9, 66.9, 32.2, 31.7, 29.2, 25.1, 22.6, 15.1, 14.1

[0099] 試験例 1 (培養中枢神経細胞のシグナル伝達に及ぼす効果)

(1) ラット胎仔大脳皮質神経細胞の培養

ddyY妊娠マウス (妊娠17日) から胎仔を取り出し、氷冷したPBS中においた。実体顕微鏡下で摘出した胎仔の脳から嗅球と髄膜を除いて終脳 (大脳皮質) を分離した。終脳は氷冷PBSの入った遠沈管に入れ、洗浄した。1 mLほどPBSを残し、そこへ0.25 %トリプシン、0.5 %グルコース、0.01 % DNaseを含むPBSを5 mL加え、15分間振とうした。3 mLの牛胎仔血清 (FBS) を加えて、転倒混和し、消化反応を停止した。氷冷した5 %FBS、亜セレン酸ナトリウム (2  $\mu\text{M}$ )、抗生物質 (ペニシリン (10 U/mL) ・ストレプトマイシン (10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )) 入りのDMEMを加え、泡立てないように10 mLピペットで撹拌した。セルストレーナーにより、細胞塊を取り除いた後、細胞数をカウントした。細胞は $1.0 \times 10^6$  cells/dishの密度で3.5 cmシャーレに播種した。DMEMで24時間インキュベートした後、2 % B27サプリメント、1 mMピルビン酸ナトリウム、抗生物質及び2 mMグルタミンを含むNeurobasalメEDIUMに交換し、各化合物を添加して培養した。

[0100] (2) 4-ヒドロパーオキシ-2-デセン酸エチルエステル (以下、po-DAEEとも表記する) (化合物 1 a) の評価

上記ラット胎仔大脳皮質から培養した神経細胞に、種々の濃度のトランス-2-デセン酸エチルエステル (以下、DAEEとも表記する) 又は4-ヒドロパー

オキシ-2-デセン酸エチルエステル (po-DAEE) (化合物 1 a) を添加し、30 分後に細胞を回収し、細胞内のリン酸化ERK1/2レベルを以下のウエスタンイムノブロットで比較した。なお、トランス-2-デセン酸エチルエステル (DAEE) は、特許文献 9 (国際公開第 2009/038110号パンフレット) に記載される代表的な化合物である。

[0101] 培養した神経細胞をPBSで2回洗浄後、抽出用緩衝液 [1% Nonider P-40、1%デオキシコール酸ナトリウム、2 mM EDTA、0.1% sodium dodecyl sulfate (SDS)、0.15 M NaCl、10 mg/mL aprotinin、10 mg/mL leupeptin、50 mM NaF、1 mM オルトバナジン酸ナトリウム、1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF) を含む20 mMトリス塩酸緩衝液 (pH 7.4) : 以後RIPAバッファー] を培養皿に添加して細胞を溶解させた。溶解液をマイクロチューブ (1.5 mL) に回収し、超音波で破碎した (ULTRASONIC CONVERTOR, Farmingdale, NY, U.S.A)。破碎後、遠心分離 (4 °C、15000×g、15分) し、上清を回収して培養した神経細胞のタンパク質抽出液とし、-20 °Cで保存した。

[0102] また、サンプルの一部を用いてBCA法によるタンパク質定量を行った。タンパク質溶液に、1/3量の電気泳動用サンプルバッファー [0.2 M トリス塩酸緩衝液 (pH 7.2)、8% SDS、40% glycerol、bromophenol blue (BPB)]、1/10量の2-mercaptoethanolを加え、95 °C、5分間熱処理し、10%ポリアクリルアミドゲルでSDS電気泳動を行った。ERK1/2、Akt及びCREBの各タンパク質とそのリン酸化についてそれぞれウエスタンブロット解析を行うこととし、適量のタンパク質を含む細胞溶液を電気泳動した。その後、セミドライブロットティング法によりゲルからPVDF膜へタンパク質を転写した (陽極の溶液には0.3 Mトリス-20%メタノール溶液、陰極の溶液には25 mMトリス-40 mM ノルロイシン-20%メタノール溶液を用い、0.8 mA/cm<sup>2</sup>、90分間通電した)。

[0103] 転写後のPVDF膜は、ERK1/2及びpERK1/2に関してはブロック液 (5%スキムミルクを含むトリス緩衝化生理食塩水 : TBS [0.15 M NaClを含む10 mMトリス塩酸緩衝液 (pH 7.4)])、Akt及びpAkt、CREB及びpCREBに関してはCan Get Signal Solution 1 で1時間反応させた後洗浄し、各抗体 (ERK1/2、pERK1/2

: 1000倍希釈、Akt、pAkt : 2000倍希釈、CREB、pCREB : 2000倍希釈) と一晩4℃で反応させた。

[0104] メンブランを洗浄した後、二次抗体 [アルカリホスファターゼ標識抗ラビットIgG抗体 (Promega) 、ERK1/2、pERK1/2 : 5000倍希釈、Akt、pAkt : 10000倍希釈、CREB、pCREB : 10000倍希釈] と反応させた。最後に100 mM塩化ナトリウム、5 mM 塩化マグネシウムを含む100 mMトリス塩酸緩衝液 (pH 9.5) (DIG3バッファー) にアルカリホスファターゼの基質としてnitroblue tetrazolium (NBT ; 225 mg/mL) と5-ブromo-4-クロロ-3-インドリル-フォスフェート p-トリイジン塩 (BCIP ; 263 mg/mL) を加えた液につけて室温で発色させた。各バンドの染色強度はImage Jソフトを用いて数値化した。

[0105] (3) 結果

DAEEは125又は250  $\mu\text{g/ml}$  で最大反応を引き出したが、po-DAEE (化合物 1 a) は、6.25から12.5  $\mu\text{g/ml}$  で同等かそれ以上の反応を引き出した (図1)。

[0106] また、4-ヒドロパーオキシ-2-デセン酸プロピルエステル (po-DAPE) (化合物 1 b) 、及び4-ヒドロパーオキシ-2-デセン酸イソプロピルエステル (po-DAIE) (化合物 1 c) はもとの非ヒドロパーオキシ型に比べ、約1/20の低濃度で同等の作用を示した (図2) 。すなわち、4-ヒドロパーオキシ-2-デセン酸誘導体は非ヒドロパーオキシ-2-デセン酸誘導体の1/20の低濃度で活性を示すことがわかる。

[0107] また、図3より、4-ヒドロパーオキシ-2-デセン酸 1-メチルシクロプロピルエステル (化合物 1 f) 、及び4-ヒドロパーオキシ-2-デセン酸 2-エトキシエチルエステル (化合物 1 e) など、エステルのアルコール部分の構造が異なる化合物についても、化合物 1 bや化合物 1 cと同等の低濃度で活性を示すことがわかる。

[0108] これまでのDAEEを用いた研究により、DAEEは代表的な神経栄養因子であるニューロトロフィンファミリーの脳由来神経栄養因子 (brain-derived neurotrophic factor: BDNF) に類似の細胞内シグナルを発生させることが明らかになっており、ERK1/2のリン酸化のほか、その下流の転写因子であるcAMP-re

sponse element binding protein (CREB)や、PI3キナーゼの下流にあるAktのリン酸化を促進する作用がある (Makino et al., Biomed Res, 31, 379-386, 2010)。

[0109] そこで、CREBやAktのリン酸化に対する4-ヒドロパーオキシ体の作用を調べたところ、po-DAEEは、上記文献に記載されたDAEEに比べはるかに低濃度で作用を示した (図4)。以上の結果より、4-ヒドロパーオキシ体デセン酸誘導体は非ヒドロパーオキシ体に比べきわめて低濃度で作用し、ERK1/2のリン酸化だけでなく、他のシグナル関連分子の活性化を含めて、BDNF様の細胞内シグナル伝達経路を活性化すると考えられる。

[0110] 試験例2 (うつ病モデル動物に対する効果)

(1) ストレス負荷によるうつ病モデル動物の作製

マウス (7週齢雌ddY) は室温 $24 \pm 1$  °C、湿度60 %、午前8時から午後8時までは明るい環境で、午後8時から午前8時までは暗い環境で飼育した。食餌や飲水は自由に行えるようにした。実験前に少なくとも3日間、事前飼育を行い、マウスを環境に慣れさせた。ストレス負荷はすでに確立された方法 (Ito et al., Phytomedicine, 2006, 13, 658-667) を一部改良して用いた。

[0111] すなわち、5 Lビーカー (直径18 cm) に $20 \pm 1$  °Cの水を2 L入れ、その中でマウスを15分間強制的に泳がせた。2日間通常飼育した後に、ケージ (サイズ:  $20 \times 30 \times 13.5$  cm) を $20^\circ$  傾けて (傾斜ケージ) 2日間、床敷きのチップを200 mLの水で湿らせたケージ (湿床ケージ) で1日間、1分間に180回転させたケージ (回転ケージ) で1日間飼育した。各ストレス施行の間は正常に1日飼育し、この3種類のストレス (chronic mild stress : CMS) を1クールとして、3クール実施 (3週間継続) した (図5)。マウスをストレス負荷群と非負荷群に分け、さらにそれぞれの群をPBS投与 (po-DAEE無投与) 群、po-DAEE投与群に分けた。

[0112] (2) 動物への薬物投与

ストレス負荷に並行して4-ヒドロパーオキシ-2-デセン酸エチルエステル (po-DAEE) (化合物1 a) を1日1回、3週間にわたって経口投与した。すな



わち、4-ヒドロパーオキシ-2-デセン酸エチルエステルの必要量を10  $\mu$ lのDMSOに溶解し、290  $\mu$ lのPBSで希釈した全量をゾンデを使ってマウスの胃に注入した。対照群には10  $\mu$ lのDMSOを290  $\mu$ lのPBSで希釈して全量を投与した。

[0113] (3) 尾懸垂試験

最終投与から1日後に尾懸垂試験を実施した。尾懸垂試験はSteru et al. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 1987, 11, 659-671 によって確立された方法を用いた。図5に示す強制水泳と3週間のストレスを負荷し、負荷終了1日後にこの試験を行った。マウスの尾の先端から1 cmの部位を床から10 cmの高さに保つように固定し、6分間支え、その間の無動時間を計測した。尾懸垂状態では通常マウスは足をバタつかせて、この状況から逃げようとするが、抑うつ状態に陥るとこの行動が減少することを、無動時間の長さとして評価する方法である。

[0114] (4) 高架式十字型迷路試験

高架式十字型迷路試験はストレス負荷終了1日後に行った。装置は、床より50 cmの高さについたてのないオープンアーム (30 cm $\times$ 5 cm) と高さ10 cmのついたてのあるクローズドアーム (30 cm $\times$ 5 cm) を直交させた構造を持つ。マウスを2つのアームが交差する場所 (ニュートラル) に置き、5分間の行動を観察した。すなわち、オープンアームに滞在した時間およびオープンアームとクローズドアームに入った回数を計測した。高所という恐怖条件下ではマウスはついたてのないオープンアームに行かなくなる。このことを利用して、マウスの不安レベルを評価する方法である (Vale et al., *J Psychopharmacol*, 1998, 12, 268-272)。

[0115] (5) 結果

抑うつ症状の抑制

尾懸垂試験における無動時間を指標として抑うつ症状を評価したところ、ストレス負荷によって無動時間が約3倍に延長した。しかし、DAEEは100又は500  $\mu$ g/kgの用量で腹腔内投与した群で無動時間の短縮が認められた (図6

）。また、po-DAEEを5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ で経口投与した群では、無動時間延長が有意に抑制された。25  $\mu\text{g}/\text{kg}$ の用量で投与した群では、統計学的な有意差は認められなかったが、無動時間減少傾向を認めた。すなわち、po-DAEEは、DAEEの1/20以下の用量で抑うつ症状を予防できることが明らかとなった（図7）。腹腔内投与に比べ、経口投与の作用効率の悪さを考えると、この数字以上にハイドロパーオキシ型デセン酸の活性は強いと考えられる。

[0116] 不安症状の抑制

次いで、高架式十字迷路試験によって不安症状に対する効果を検討した。ストレス負荷終了後に、ストレス負荷群と非ストレス負荷群との間で不安症状を比較すると、ストレス負荷群では非負荷群に比べ開放アームに留まる時間は有意に短縮した。すなわち、ストレス負荷によって不安症状が増強されることが分かる。

[0117] そこで、ストレス負荷と並行してpo-DAEEを5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 又は25  $\mu\text{g}/\text{kg}$ で経口投与すると、開放アームに留まる時間がやや延長し、非ストレス負荷対照群との間に統計学的な有意差が認められなくなった。しかし、積極的にpo-DAEEの効果を実証するのに必要な、ストレス負荷対照群とストレス負荷po-DAEE投与群との間の有意差は認めることができなかった。

[0118] すなわち、po-DAEEは、DAEEが効果を示す用量（図8）の1/20以下の用量で抑うつ症状を予防できることが明らかとなった（図9左）。なお、ストレス負荷の有無、po-DAEEの投与の有無は、マウスの運動量に影響を与えなかった（図9右）。そのため、本実験の結果は不安症状の予防効果を反映していると考えられた。

[0119] 海馬内リン酸化ERK1/2レベルの低下の抑制

これまでの検討により、ストレス負荷したマウスの海馬ではリン酸化されたERK1/2レベルが有意に低下することを見出している。そしてこの低下と抑うつ症状が負に相関することも明らかにしている。そこで、ストレス負荷に並行して、1日1回、3週間にわたってpo-DAEEを経口投与すると、このストレス誘導性のリン酸化ERK1/2レベルの低下は5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ の投与で抑制される傾向

がみられ、25  $\mu\text{g}/\text{kg}$ の投与で有意に抑制された（図11）。po-DAEEは、DAEE（図10）より大幅に少ない用量で効果が確認された。

[0120] 以上、po-DAEEは、これまでのDAEEの腹腔内投与の結果（図6、8及び10を参照）に比較して約20分の1の投与用量でしかも経口投与で、抑うつ症状や不安症状を予防することが明らかとなった（図7、9及び11を参照）。

[0121] 試験例3（アルツハイマー病モデル動物に対する効果）

（1）アルツハイマー病について

アルツハイマー病は近年の高齢化社会の出現とともに急速に増加しており、認知症の第一の原因となってきた。その原因はアミロイド前駆体タンパク質（APP）の一部（アミロイド $\beta$ ペプチド： $A\beta$ ）が不溶化し老人斑として蓄積することとされているが、近年、 $A\beta$ の蓄積量と認知症状が直接相関しない症例が多く報告されるようになってきた。 $A\beta$ は神経毒性をもち、多く蓄積すると神経細胞死を起こすが、それ以下の蓄積量であっても神経細胞の機能低下を促進することが認識されている。しかもBDNF機能の低下が主要な部分を占めるものと考えられている。

[0122] そこで $A\beta$ による神経機能の低下をデセン酸誘導体が抑制するかどうかを検証した。

（2）アミロイド $\beta$ ペプチド（ $A\beta$ ）の脳室注入モデルの作成

アルツハイマー病の動物モデルは数多く知られているが、動物の脳室内に $A\beta$ を単回投与したモデルは、簡便さ、原因物質である $A\beta$ の毒性を反映するなどの利点を持つ。そこでアミノ酸42個から成る $A\beta_{1-42}$ ペプチドの脳室内投与モデルマウスを作成し、デセン酸誘導体の有効性を検証した。

[0123] 障害性の $A\beta$ の調製法はすでに確立された方法（Maurice, Neuroscience, 83, 413-428, 1998）を一部改良して用いた。 $A\beta_{1-42}$ （Sigma社、和光純薬）は、そのままでは障害性が弱い凝集させることによって障害性となる。そこで、滅菌PBSで1 mg/mLに調製後、ピペットマン（P10、GILSON）を用いて100回ピペッティングした後10  $\mu\text{L}$ ずつ分注し、 $-20^\circ\text{C}$ で保存した。使用する際は氷中で溶解させた後、ピペットマン（P10）により100回ピペッティング

し、37 °Cで4日間インキュベートした。尚、操作は全てクリーンベンチ内で行い、凍結融解は1度しか行わなかった。

[0124] 8週齢雄性ddY マウスにソムノペンチルを腹腔内投与し麻酔した。マウス頭部を固定し、ブレグマより横へ0.7 mm、ラムダ方向へ0.5 mm の位置に骨に孔を開けた。孔を開けた後、脳実質より2 mm 下部に、100  $\mu$ Lマイクロシリンジを用いて障害性A $\beta$ を注入した（各側脳室に3  $\mu$ L、0.5  $\mu$ L/min）。A $\beta$ は注入直前にピペットマン（P10）を用いて100回ピペッティングした。注入後、頭皮を縫合し、麻酔が覚めるまでは個別ゲージで飼育した。注入2週後に記憶・学習能を評価するためのY字型迷路試験を、3週後に新規対象物認識試験を実施して記憶・学習能を評価した。

[0125] (3) Y字型迷路試験

本試験は、図12に示す装置内にてマウスを探索行動させ、その際に認められる自発的交替行動を短期記憶として評価する方法である。まず動物をY字迷路のいずれかのアームの先端に置き、一定時間、迷路内を自由に探索させ、進入したアームを順に記録した。動物が測定時間内に各アームに進入した回数（総アーム進入回数）および連続して異なる3本のアームに進入した組み合わせの数（交替行動数）を調べ、下記の式より交替行動率（%）を算出し、短期記憶の指標とした。

[0126] 交替行動率（%）＝交替行動数 ÷（総アーム進入回数－2）× 100

[0127] (4) 新規対象物探索試験

本試験は、マウスの新奇性を好む特性を利用したものである。人為的な強化因子を用いない点に特徴がある。まず対象物を設置していない実験装置に3日間（10分間/日）慣らしたのち、2つの対象物を置き、装置内で10分間自由に探索させる（訓練試行）。訓練後（1、24時間など）、片方を新奇対象物に置換した装置内で5分間自由に探索させる（保持試行）。訓練試行および保持試行では、2つの対象物に対するそれぞれの探索時間ならびに総探索時間を測定する。訓練試行時においては、総探索時間に対するいずれかの対象物への探索時間の割合（%）を、保持試行においては総探索時間に対する新奇対象

物に対する探索時間の割合 (%) を探索嗜好性として算出し、後者を視覚的認知記憶の指標とする方法である。

[0128] (5) Y字迷路試験によるpo-DAEEの評価

マウスの両側脳室へのA $\beta$ の注入により、Y字迷路試験における自発的交替行動率の減少が認められる。A $\beta$ の注入後、2-デセン酸エチルエステル (DAEE) を100 又は500  $\mu\text{g}/\text{kg}$ の用量で1日1回、4週間にわたり腹腔内投与したところ、自発的交替行動率の低下が認められ、非ストレス負荷対照群との間の有意差が消失した (図13A)。しかし、ストレス負荷対照群との間には有意差は見出せなかった。

[0129] 一方、4-ヒドロパーオキシ-2-デセン酸エチルエステル (po-DAEE) を25  $\mu\text{g}/\text{kg}$ の用量で1日1回、4週間にわたり腹腔内投与したところ、自発的交替行動率の低下が有意に抑制された (図13B)。すなわち、ストレス負荷対照群との間に有意差が認められた。また、po-DAEEを5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ の用量で投与した場合は、有意差はないものの抑制傾向が認められた (図13B)。Y字迷路のアームへの進入回数には差がないことから、運動量の差でないことは明らかである (結果は示さず)。すなわち、po-DAEEはA $\beta$ によって起こる短期記憶の抑制を有意に改善した。DAEEの効果と比較すると、po-DAEEは、DAEEの20分の1の投与容量で同等以上の効果を示したことから、その優位性は明らかである。

[0130] (6) 新規対象物探索試験による評価

A $\beta$ ペプチド非注入群は新規対象物に対して有意に高い関心を示したのに対して、A $\beta$ 注入群は有意な興味行動を示さなかった。すなわち、A $\beta$ ペプチド注入モデルでは、視覚的認知記憶が障害されることが示された。そこで、A $\beta$ の注入直後から2-デセン酸エチルエステル (DAEE) を100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ の用量で1日1回腹腔内投与すると、探索時間が有意に延長した (図14A)。統計学的には有意ではないが、500  $\mu\text{g}/\text{kg}$ で腹腔内投与した群でもその傾向が認められた (図14A)。次に、4-ヒドロパーオキシ-2-デセン酸エチルエステル (po-DAEE) について検討したところ、25  $\mu\text{g}/\text{kg}$ で腹腔内投与した群では有意

に新規対象物の探索時間が延長した（図14B）。5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群では有意差は認められなかった。以上の結果より、少なくともpo-DAEEはDAEEより4分の1の低用量で同様な活性を示すことが判明した。

[0131] 試験例4（脊髄損傷モデル動物に対する効果）

（1）脊髄損傷

外的損傷によって脊髄が傷害を受けると、末梢組織と脳との間の知覚、運動神経情報の伝導が途絶し、運動麻痺や知覚障害に陥る。この病態を脊髄損傷という。有効な治療法はなく、完治はおろか部分的な機能再建も望めない。機能再建できない理由は、軸索に傷害を受けても軸索の再生が起こらないという中枢神経系の特性による。しかし中枢の神経細胞にはもともとは軸索を再生する能力があるにもかかわらず、中枢固有の環境要因がこれを妨害している。その要因の一つとして、軸索を再生する活性を持つ神経栄養因子の欠乏が挙げられ、本発明はこの点に焦点を置いて検討した。

[0132] （2）脊髄損傷モデルラットの作成

7週齢の雌性Wistar系ラットにペントバルビタールナトリウムを40 mg/kgの用量で腹腔内投与して麻酔した。その後、第10胸椎周辺の背部を正中線に沿って1~2 cm切開し、脂肪および筋組織を切除して胸椎を露出させた。第10胸椎の椎弓を剥離し、鋭利な刃物で第10胸髄（T10）を横断的に完全切断した。止血した後、背筋、皮膚を縫合し、4週間通常飼育した。術後、両後肢の麻痺を完全切断の指標として確認できたラットを実験に用いた。また、脊髄を完全切断するとラットは排尿能力を失うため、1日2回12時間周期で膀胱を刺激し、排尿させた。

[0133] （3）薬物の投与

脊髄損傷モデルラットに対して損傷直後から1日1回、ジメチルスルホキシド（DMSO）に溶解した4-ヒドロパーオキシ-2-デセン酸エチルエステルを、100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ となるようにリン酸緩衝食塩水（PBS）に溶解し、ゾンデを使って胃内へ経口投与した。投与は125  $\mu\text{g}/\text{kg}$ の用量で行った。

[0134] （4）運動機能評価

後肢の運動機能は、BBB locomotor rating scale (Basso et al., J Neuro trauma 12, 1-21, 1995) により、損傷手術の翌日より毎日、42日間にわたり評価した。BBB scale とはラットを用いた脊髄損傷実験で広く使用されている運動機能評価基準であり、完全な麻痺状態を0、健常な状態を21とし、対象の後肢の挙動を0~21段階で点数化したものである。本研究では両後肢が対象のため、BBB scoreは両後肢の平均値を用いた。

[0135] (5) 運動機能の改善

溶媒投与群に対してP0-DAEE投与群は、損傷／投与後25日以降にBBBスコアが高くなる傾向を示し、33日以降は有意に高い運動機能を示した(図15)。最終的に、P0-DAEE投与群では、最高で7点の機能回復が認められた。つまり、後肢の3つの関節が良く動く状況まで回復したが、溶媒投与群では最高で4点であり、3つの関節がかすかに動く程度であった。このことから、125  $\mu\text{g}/\text{kg}$  の用量で経口投与されたP0-DAEEに脊髄損傷後の運動機能の改善を促進する作用があると考えられる。

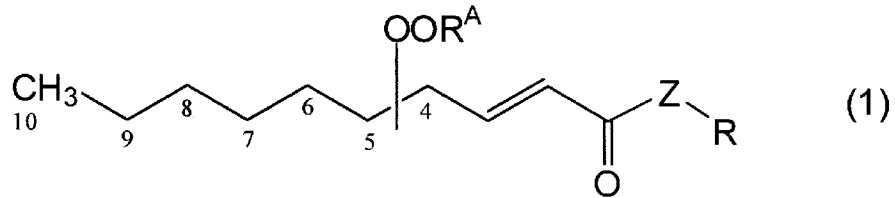
**産業上の利用可能性**

[0136] 本発明の化合物は、優れた神経栄養因子様の作用を有するため、アルツハイマー病、パーキンソン病、うつ病等の予防又は治療剤、脊髄損傷の修復剤等の医薬品として有用である。

## 請求の範囲

[請求項1] 一般式 (1) :

[化1]



(式中、Zは-O-、-S-又は-NR'-を示し、R'は水素原子、置換若しくは非置換アルキル基、又は置換若しくは非置換シクロアルキル基を示し、Rは水素原子、置換若しくは非置換アルキル基、又は置換若しくは非置換シクロアルキル基を示し、或いは、R'及びRは隣接する窒素原子と共に環を形成していてもよく、当該環は置換基を有していてもよく、基：-OOR<sup>A</sup>はデセン酸骨格の4～10位のいずれか1個の炭素原子と結合しており、R<sup>A</sup>は水素原子、アルキル基、アルケニル基、アラルキル基、アシル基、又はシリル基を示す。)

で表される化合物又はその薬学的に許容される塩。

[請求項2] 一般式 (1) において、基：-OOR<sup>A</sup>がデセン酸骨格の4位の炭素原子と結合している請求項1に記載の化合物又はその薬学的に許容される塩。

[請求項3] 一般式 (1) において、R<sup>A</sup>が水素原子である請求項1又は2に記載の化合物又はその薬学的に許容される塩。

[請求項4] 一般式 (1) において、Zが-O-である請求項1～3のいずれかに記載の化合物又はその薬学的に許容される塩。

[請求項5] 請求項1～4のいずれかに記載の化合物又はその薬学的に許容される塩を有効成分として含有する医薬。

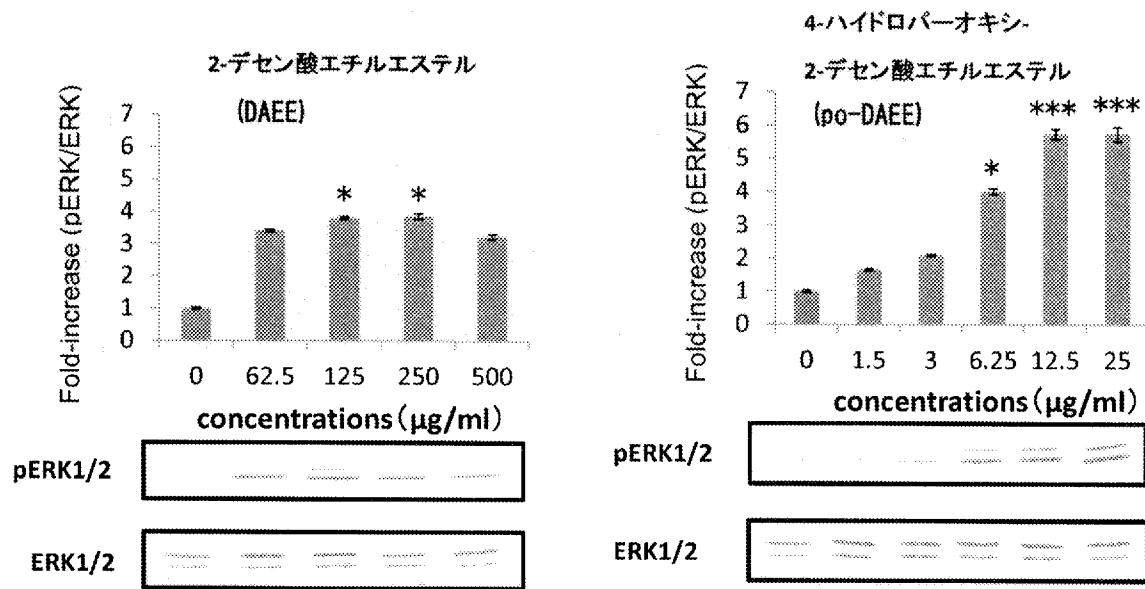
[請求項6] 神経栄養因子様作用剤である請求項5に記載の医薬。

[請求項7] 神経障害の予防又は治療剤である請求項5に記載の医薬。



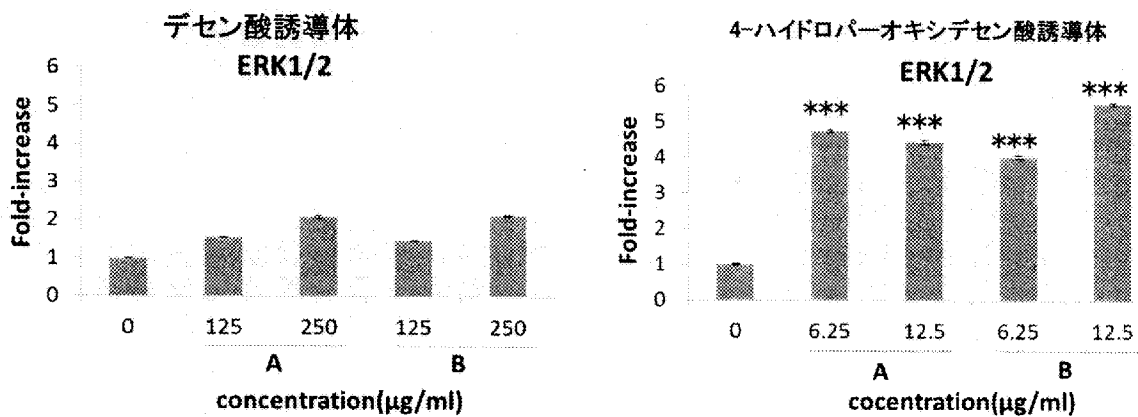
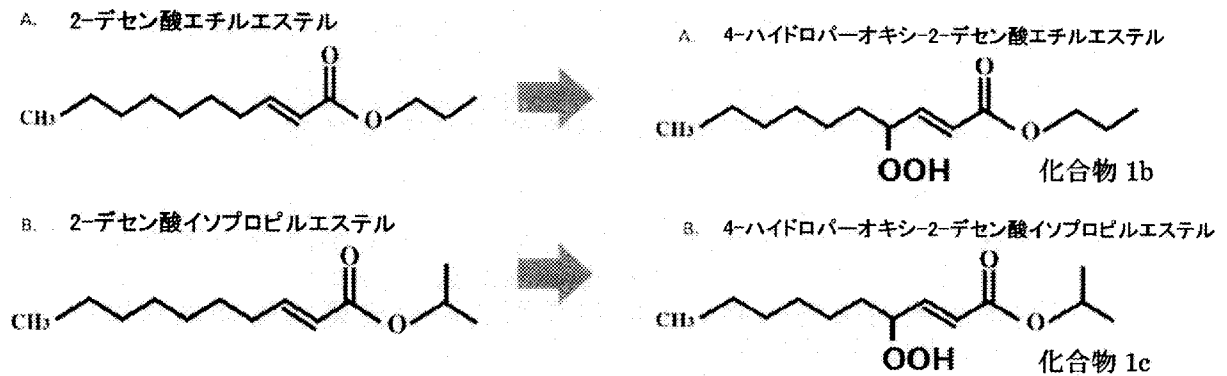
- [請求項8] 神経障害が神経変性疾患である請求項5に記載の医薬。
- [請求項9] 神経変性疾患が、認知症、アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、ハンチントン病、進行性核上性麻痺（PSP）、糖尿病性ニューロパシー、又は視神経疾患の緑内障である請求項8に記載の医薬。
- [請求項10] 神経障害が精神疾患である請求項7に記載の医薬。
- [請求項11] 精神疾患がうつ病である請求項10に記載の医薬。
- [請求項12] 精神疾患が不安障害（神経症）である請求項10に記載の医薬。
- [請求項13] 脊髄損傷の治療剤又は修復剤である項5に記載の医薬。
- [請求項14] 神経障害又は脊髄損傷を治療するための医薬の製造における請求項1～4のいずれかに記載の化合物又はその薬学的に許容される塩の使用。

[図1]



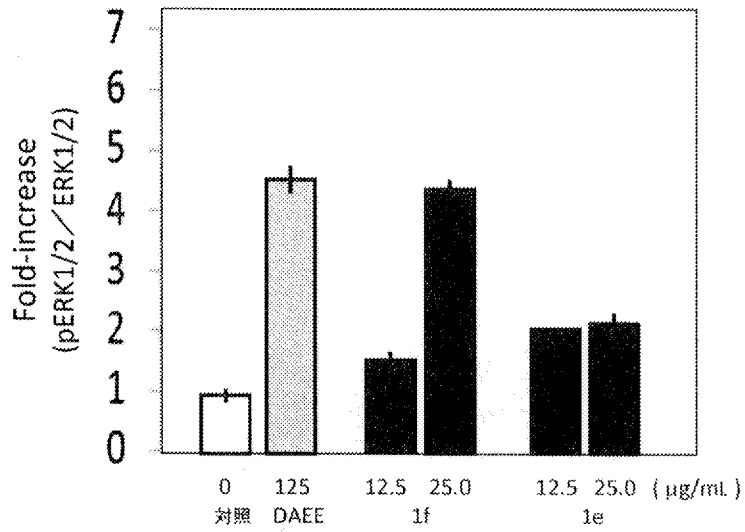
Significant differences of the value from the value of vehicle-treated control neurons were determined by one-way ANOVA with Tukey's test as \* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.001$ .

[図2]

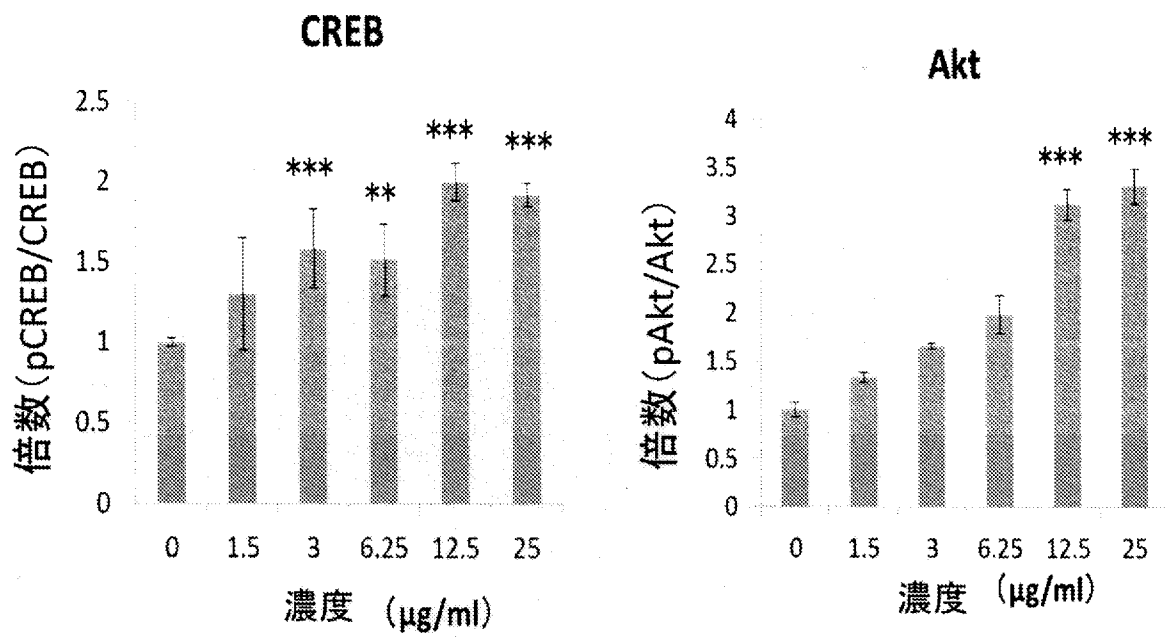


Significant differences of the value from the value of vehicle-treated control neurons were determined by one-way ANOVA with Tukey's test as \*\*\* $p < 0.001$ .

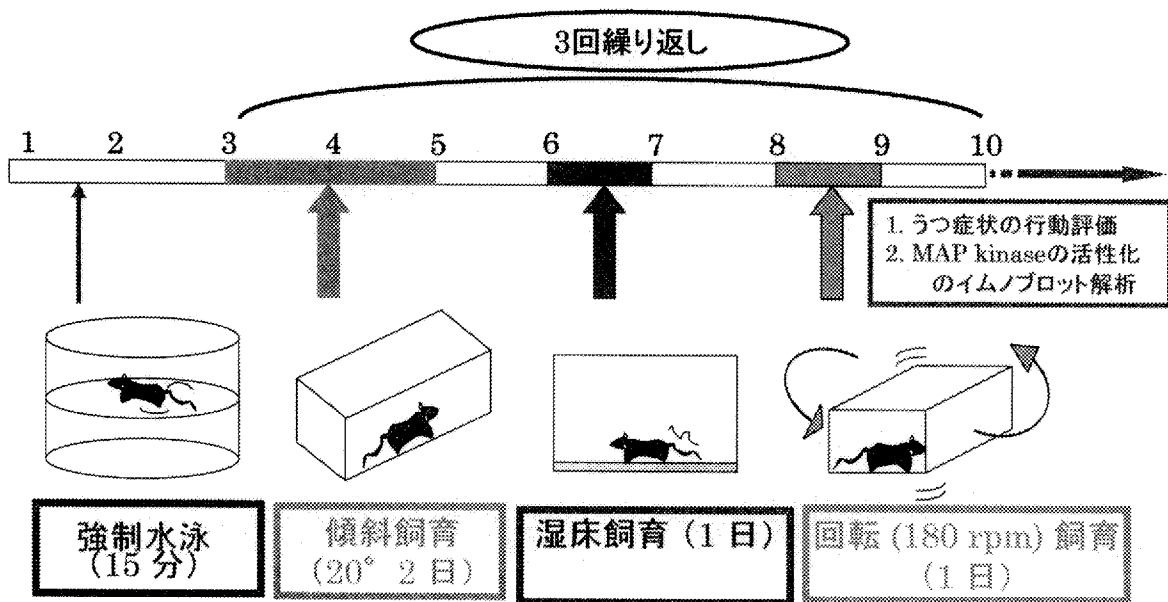
[図3]



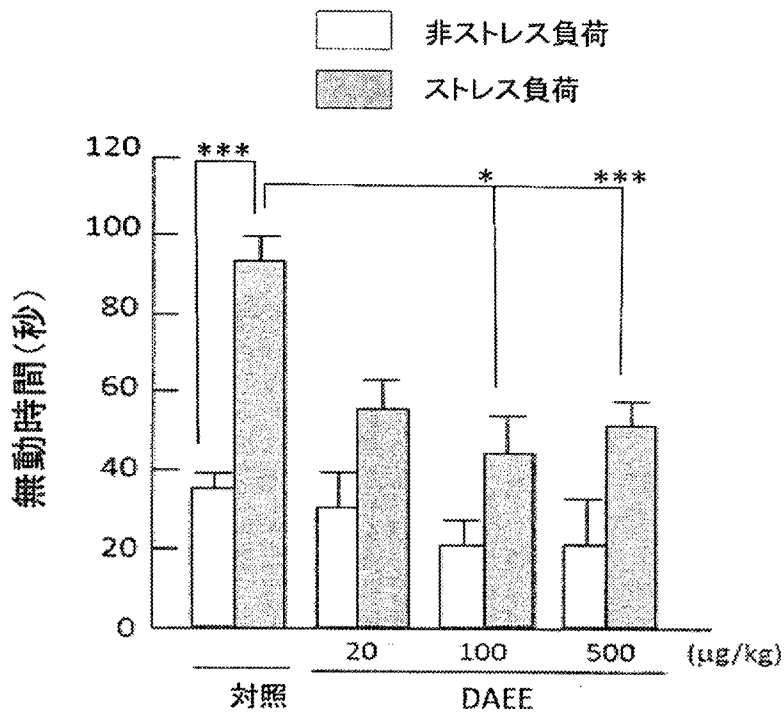
[図4]



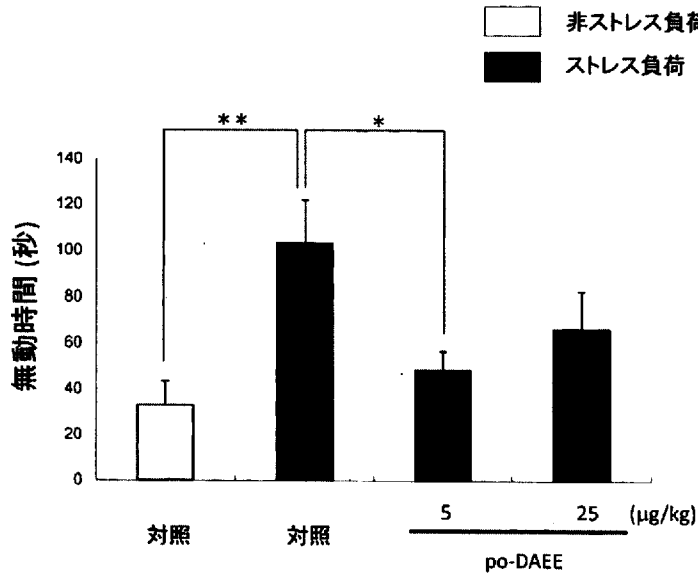
[図5]



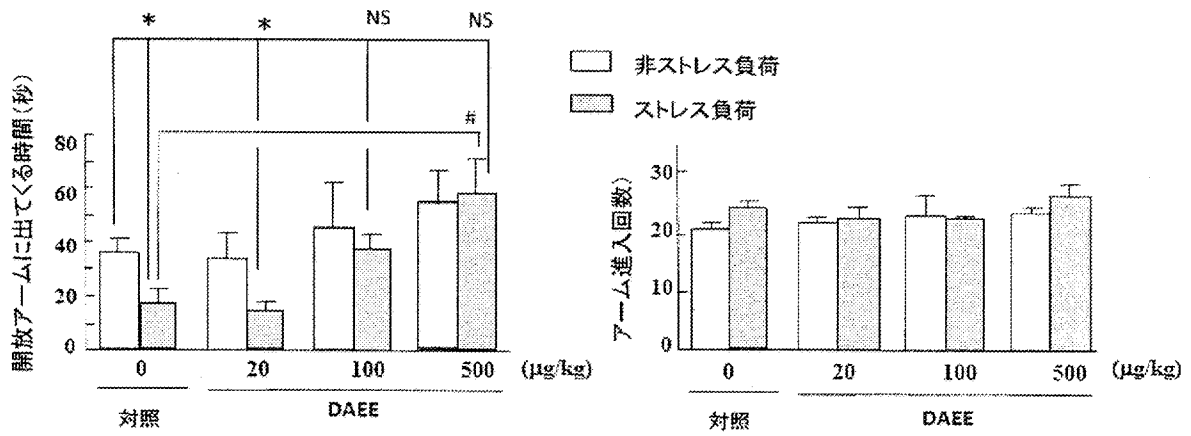
[図6]



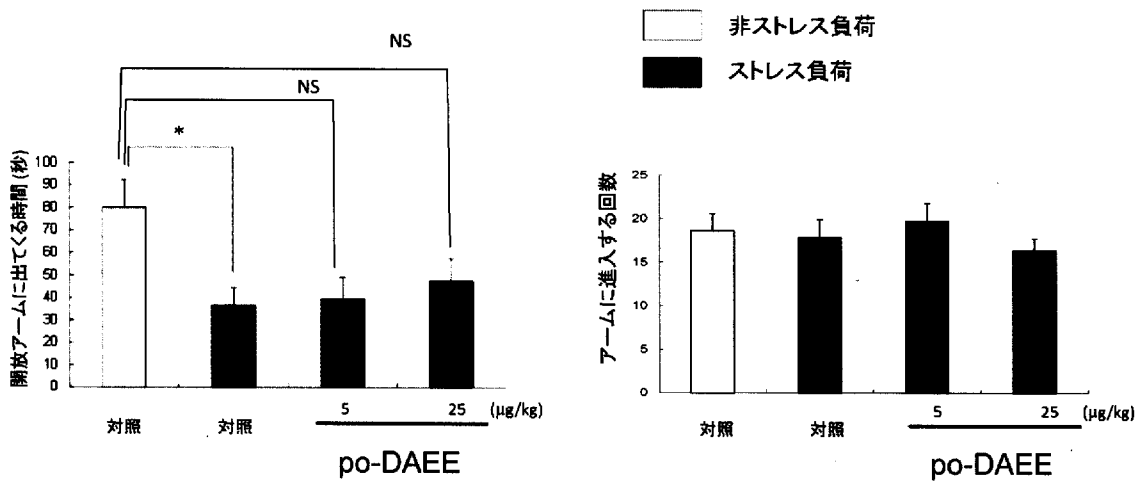
[図7]



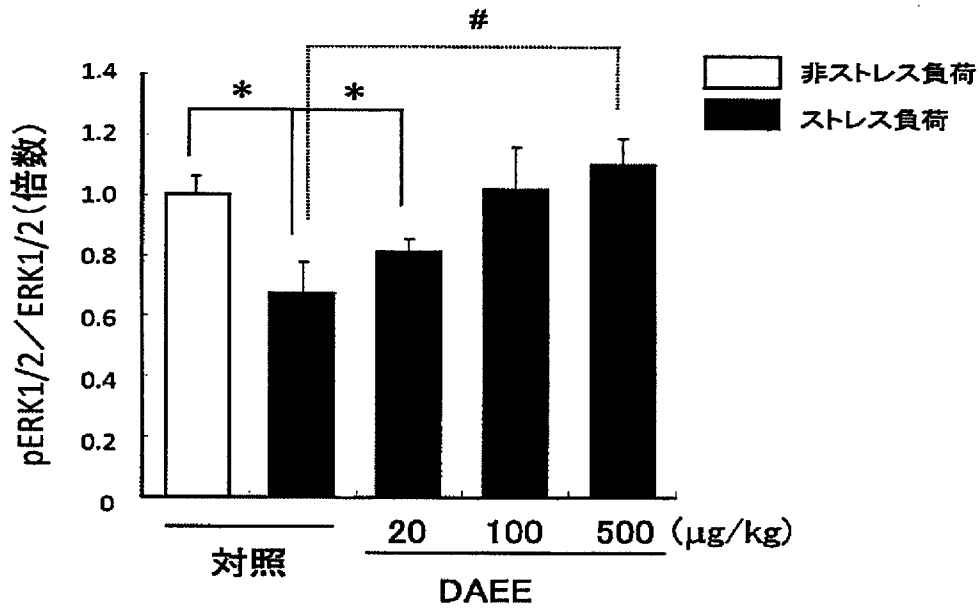
[図8]



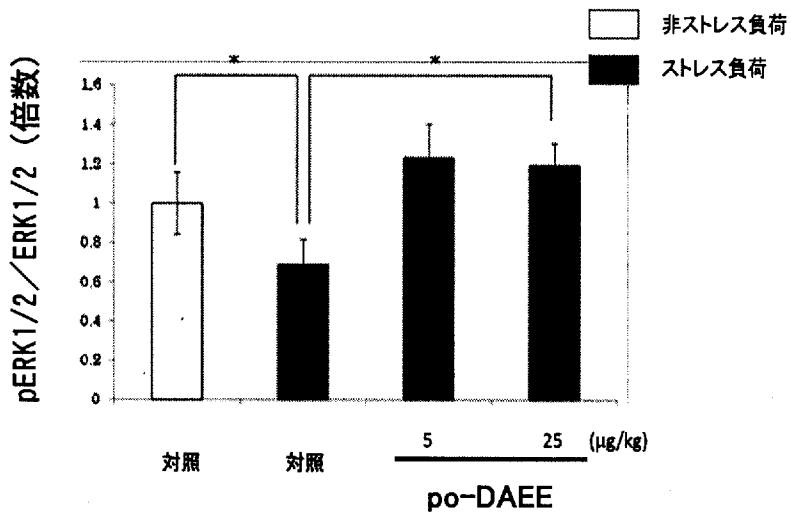
[図9]



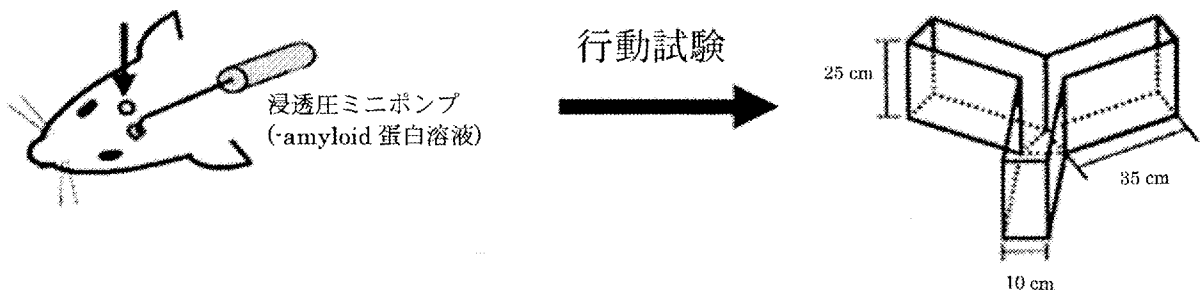
[図10]



[図11]

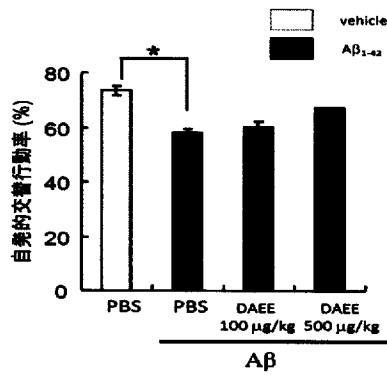


[図12]

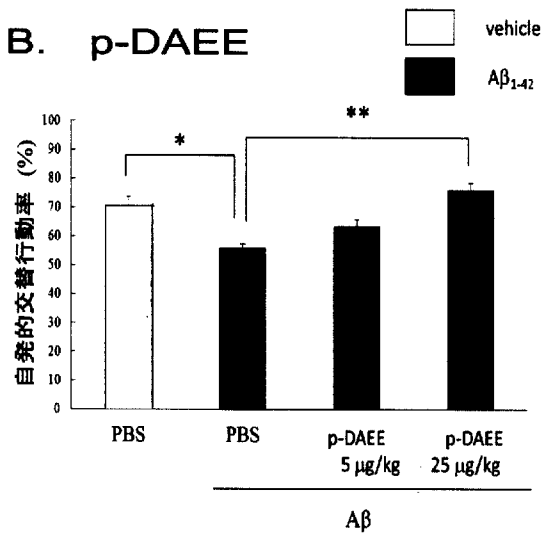


[圖13]

## A. DAEE

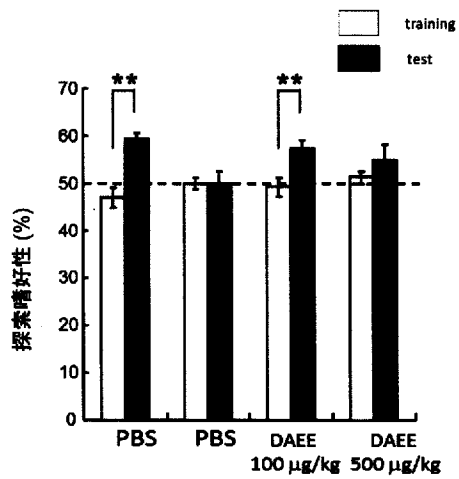


## B. p-DAEE

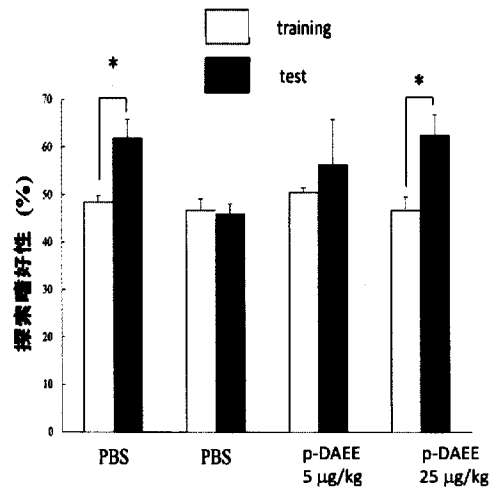


[圖14]

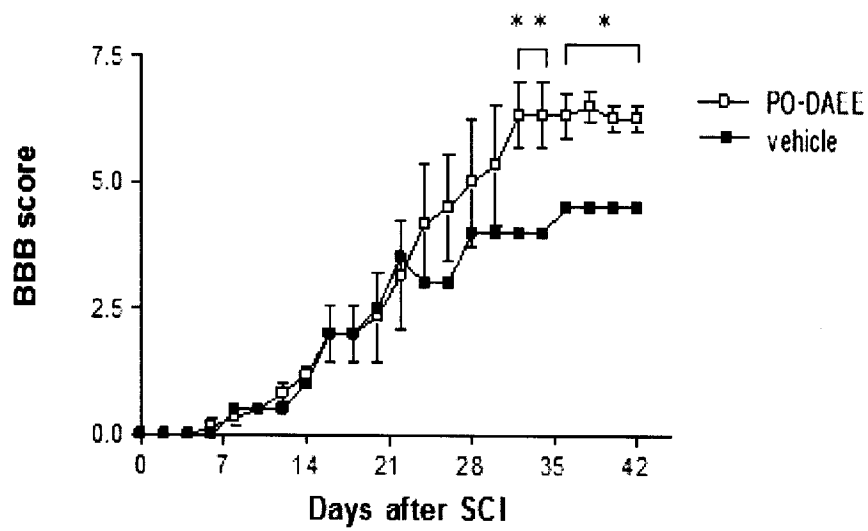
## A. DAEE



## B. po-DAEE



[図15]



実験個体数(n)は、vehicle群が7、PO-DAEE 群が8頭。有意差 \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$



**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.  
PCT/JP2014/056785

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
C07C409/04(2006.01)i, A61K31/327(2006.01)i, A61P21/02(2006.01)i,  
A61P25/00(2006.01)i, A61P25/14(2006.01)i, A61P25/16(2006.01)i, A61P25/28  
(2006.01)i  
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)  
C07C409/04, A61K31/327, A61P21/02, A61P25/00, A61P25/14, A61P25/16,  
A61P25/28

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched  
Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2014  
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2014 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2014

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
CAPLUS (STN), REGISTRY (STN), JSTPLUS (JDreamIII), JMEDPLUS (JDreamIII),  
JST7580 (JDreamIII)

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2012/105476 A1 (Nippon Zoki Pharmaceutical Co., Ltd.), 09 August 2012 (09.08.2012), & US 2013/0296425 A1 & EP 2671578 A1	1-14
A	WO 2012/105477 A1 (Nippon Zoki Pharmaceutical Co., Ltd.), 09 August 2012 (09.08.2012), & US 2013/0296426 A1 & EP 2695613 A1	1-14
A	WO 2012/060396 A1 (Nagoya Industrial Science Research Institute), 10 May 2012 (10.05.2012), & US 2013/0225837 A1 & EP 2636666 A1	1-14

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 May, 2014 (23.05.14)	Date of mailing of the international search report 03 June, 2014 (03.06.14)
--	--

Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2014/056785

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2009/038110 A1 (Nagoya Industrial Science Research Institute), 26 March 2009 (26.03.2009), & US 2010/0204498 A1 & EP 2204172 A1	1-14
A	WO 1999/04783 A1 (DUKE UNIVERSITY), 04 February 1999 (04.02.1999), & AU 8588398 A	1-14

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. C07C409/04(2006.01)i, A61K31/327(2006.01)i, A61P21/02(2006.01)i, A61P25/00(2006.01)i, A61P25/14(2006.01)i, A61P25/16(2006.01)i, A61P25/28(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. C07C409/04, A61K31/327, A61P21/02, A61P25/00, A61P25/14, A61P25/16, A61P25/28

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	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2014年
日本国実用新案登録公報	1996-2014年
日本国登録実用新案公報	1994-2014年

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

CAplus(STN), REGISTRY(STN), JSTPlus(JDreamIII), JMEDPlus(JDreamIII), JST7580(JDreamIII)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	WO 2012/105476 A1 (日本臓器製薬株式会社) 2012.08.09, & US 2013/0296425 A1 & EP 2671578 A1	1-14
A	WO 2012/105477 A1 (日本臓器製薬株式会社) 2012.08.09, & US 2013/0296426 A1 & EP 2695613 A1	1-14
A	WO 2012/060396 A1 (財団法人名古屋産業科学研究所) 2012.05.10, & US 2013/0225837 A1 & EP 2636666 A1	1-14

C欄の続きにも文献が列挙されている。

パテントファミリーに関する別紙を参照。

\* 引用文献のカテゴリー

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

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

国際調査を完了した日

23.05.2014

国際調査報告の発送日

03.06.2014

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)  
 郵便番号100-8915  
 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

上村 直子

4H

4508

電話番号 03-3581-1101 内線 3443

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	WO 2009/038110 A1 (財団法人名古屋産業科学研究所) 2009. 03. 26, & US 2010/0204498 A1 & EP 2204172 A1	1-14
A	WO 1999/04783 A1 (DUKE UNIVERSITY) 1999. 02. 04, & AU 8588398 A	1-14