

明 細 書

発明の名称：

化合物又はその塩及びその製造方法、化合物又はその塩を含む医薬品組成物及びその製造方法

技術分野

[0001] 本開示は、化合物又はその塩及びその製造方法、化合物又はその塩を含む医薬品組成物及びその製造方法に関する。

本願は、2023年9月5日に、日本に出願された特願2023-143583号に基づき優先権を主張し、その内容をここに援用する。

背景技術

[0002] ヒストン蛋白質のメチル化やアセチル化などのエピジェネティック修飾は、遺伝子発現を制御し、様々な生命現象を制御している。これらの修飾の異常は、がん、神経疾患、その他の疾患の原因となる。これらの異常やそれを引き起こす疾患に対抗するため、低分子によるエピジェネティック修飾が有望な治療戦略として浮上している。

[0003] リジン脱メチル化酵素5（KDM5）ファミリータンパク質（KDM5A-D）は、鉄（II）／ α -ケトグルタル酸依存性の酸化酵素であり、ヒストンH3（H3K4me3／2）のトリ又はジメチルリジン4からメチル基を酸化的に除去する。酵素活性に加えて、KDM5は足場タンパク質として働き、ヒストン脱アセチル化酵素1（HDAC1）やHDAC2などのいくつかの抑制性転写因子をリクルートする。言い換えれば、KDM5は単独ではなく、他のタンパク質と協力して遺伝子発現をエピジェネティックに制御する。さらに、KDM5は様々な癌、薬剤耐性、アルツハイマー病などの神経変性疾患の発症に関与していることが示唆されている。

[0004] 現在までにいくつかのKDM5阻害剤が同定されている。

非特許文献1には、KDM5阻害剤として下記式で表される化合物（KDM5-C49）が記載されている。

非特許文献2には、KDM5阻害剤として下記式で表される化合物（CPI-455）が記載されている。

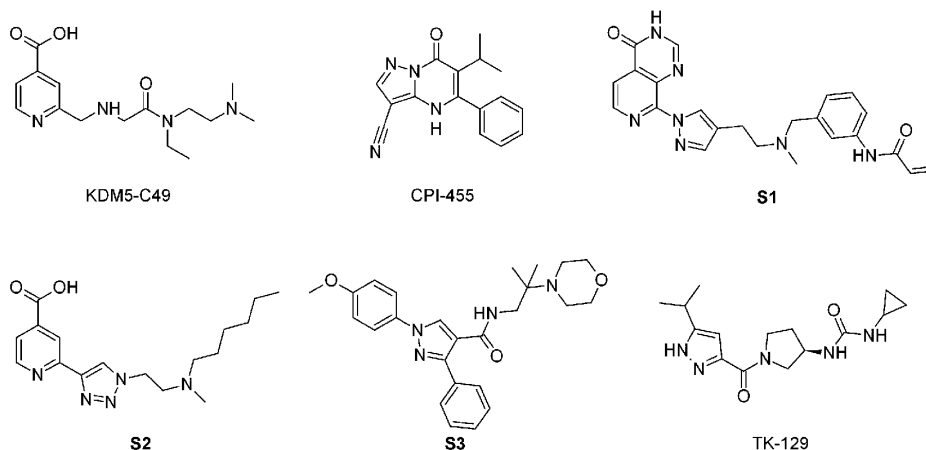
非特許文献3には、KDM5阻害剤として下記式で表される化合物（S1）が記載されている。

非特許文献4には、KDM5阻害剤として下記式で表される化合物（S2）が記載されている。

非特許文献5には、KDM5阻害剤として下記式で表される化合物（S3）が記載されている。

非特許文献6には、KDM5阻害剤として下記式で表される化合物（TK-129）が記載されている。

[0005] [化1]



[0006] しかし、これらのKDM5阻害剤は、細胞や動物実験において、抗がん作用などの顕著な薬理学的効果をもたらすことはできていない。

先行技術文献

非特許文献

[0007] 非特許文献1：JohanssonC., VelupillaiS., TumberA., SzykowskaA., HookwayE. S., NowakR. P., Strain-DamerellC., GileadiC., PhilpottM., Burgess-BrownN., Wu N., KopecJ., NuzziA., SteuberH., EgnerU., BadockV., MunroS., LaThangueN. B., WestawayS., BrownJ., AthanasouN., PrinjhaR., BrennanP. E., OppermannU., Nat. C

hem. Biol., 12, 539–545 (2016).

非特許文献2: Vinogradova M., Gehling V. S., Gustafson A., Arora S., Tindell C. A., Wilson C., Williamson K. E., Guler G. D., Gangurde P., Manieri W., Busby J., Flynn E. M., Lan F., Kim H. J., Odate S., Cochran A. G., Liu Y., Wongchenko M., Yang Y., Cheung T. K., Maile T. M., Lau T., Costa M., Hegde G. V., Jackson E., Pitti R., Arnott D., Bailey C., Bellon S., Cummings R. T., Albrecht B. K., Harmange J. C., Kiefer J. R., Trojer P., Classon M., Nat. Chem. Biol. 12, 531–538 (2016).

非特許文献3: Vazquez-Rodriguez S., Wright M., Rogers C. M., Cribbs A. P., Velupillai S., Philpott M., Lee H., Dunford J. E., Huber K. V. M., Robers M. B., Vasta J. D., Thezenas M. L., Bonham S., Kessler B., Bennett J., Fedorov O., Raynaud F., Donovan A., Blagg J., Bavetsias V., Oppermann U., Bountra C., Kawamura A., Brennan P. E., Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 58, 515–519 (2019).

非特許文献4: Miyake Y., Itoh Y., Suzuma Y., Kodama H., Uchida S., Suzuki T., ACSCatal., 10, 5383–5392 (2020).

非特許文献5: Zhao B., Liang Q., Ren H., Zhang X., Wu Y., Zhang K., Ma L. Y., Zheng Y. C., Liu H. M., Eur. J. Med. Chem., 192, 112161 (2020).

非特許文献6: Tang K., Jiao L. M., Qi Y. R., Wang T. C., Li Y. L., Xu J. L., Wang Z. W., Yu B., Liu H. M., Zhao W., J. Med. Chem., 65, 12979–13000 (2022).

発明の概要

発明が解決しようとする課題

- [0008] 本開示は上記の課題を解決するためになされたものであり、細胞や動物実験において、抗がん作用などの顕著な薬理学的効果をもたらす化合物又はその塩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

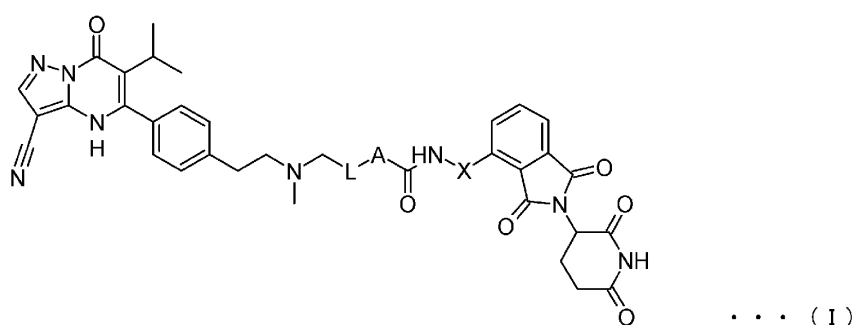
- [0009] 本発明者等は上記の課題を解決すべく鋭意検討し、より強力な薬理活性を示す化合物又はその塩を同定するために、標的タンパク質を分解しその機能全体を阻害する「タンパク質分解標的キメラ (proteolysis targeting chimeras; 以下、PROTACともいう。)」

に着目した。PROTACは、2つのリガンドが結合した小分子である。これまでに同定されたKDM5阻害剤を基に、新規のKDM5 PROTAC候補化合物を設計・合成した。細胞アッセイの結果、本開示の化合物又はその塩が、神経芽細胞腫ニューロ2a細胞において、KDM5Aの分解を介して有意な神経突起伸長促進活性を示すことが明らかになった。これらの結果は、KDM5 PROTACが神経疾患治療のための有望な薬剤候補であることを示唆している。本発明者等は本開示の化合物又はその塩を用いることにより上記課題を解決できることを見出し、本開示を完成するに至った。

[0010] 即ち本開示の要旨は、以下の[1]～[10]に存する。

[1] 下記式(1)で表される化合物又はその塩。

[化2]



式(1)中、Aは単結合若しくは置換又は無置換の2価の芳香族炭化水素基であり、Lは置換又は無置換の炭素数1～13の直鎖又は分岐鎖のアルキレン基であり、Xは $-(CH_2CH_2O)_s-$ 、 $-(CH_2CH_2CH_2O)_s-$ 、 $-(CH(CH_3)CH_2O)_s-$ 、又は $-(CH_2)_tO-$ で表される基であり、sは1～8の数であり、tは2～10の数である。

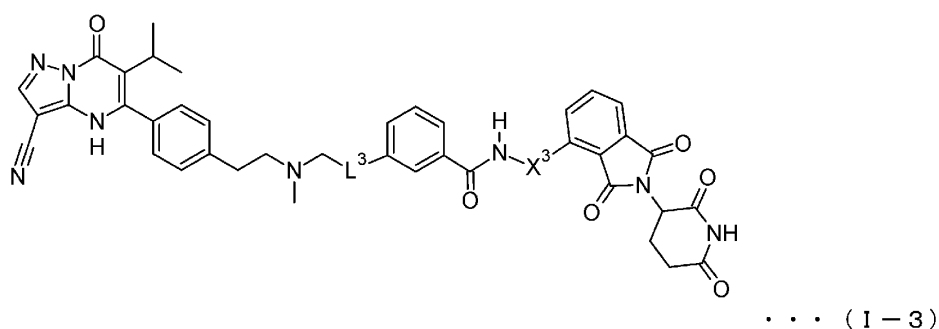
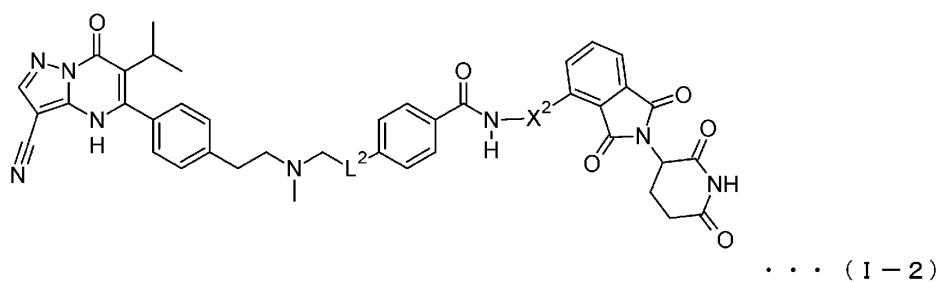
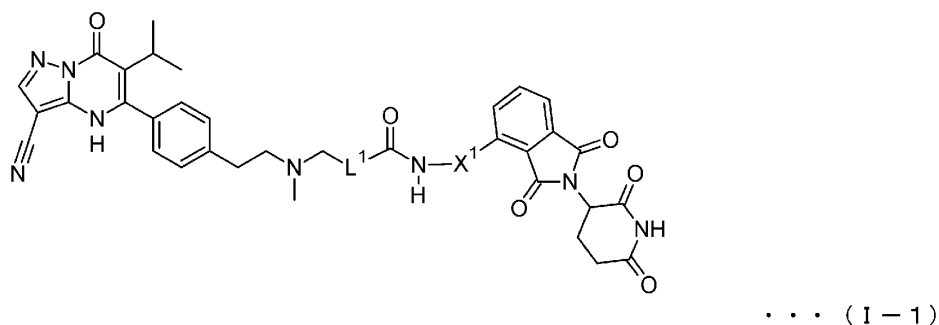
[2] 前記式(1)中、Aは単結合又はフェニレン基であり、Lは炭素数3～10の直鎖のアルキレン基であり、Xは $-(CH_2CH_2O)_s-$ 、 $-(CH_2CH_2CH_2O)_s-$ 、 $-(CH(CH_3)CH_2O)_s-$ 、又は $-(CH_2)_tO-$ で表される基であり、sは1～5の数であり、tは2～10の数である、[1]に記載の化合物又はその塩。

[3] 前記式(1)中、Aは単結合、p-フェニレン基、又はm-フェニ

レン基であり、Lは炭素数3～10の直鎖のアルキレン基であり、Xは－(CH₂CH₂O)_s－、－(CH₂CH₂CH₂O)_s－、又は－(CH₂)_tO－で表される基であり、sは1～5の数であり、tは2～10の数である、[1]又は[2]に記載の化合物又はその塩。

[4] 前記化合物が、下記式(1-1)で表される化合物、下記式(1-2)で表される化合物、又は下記式(1-3)で表される化合物である、[1]～[3]のいずれか一項に記載の化合物又はその塩。

[化3]



式(1-1)中、L¹は炭素数3～10の直鎖のアルキレン基であり、X¹は－(CH₂CH₂O)_s－で表される基であり、sは1～5の数であり、式(1-2)中、L²は炭素数3～10の直鎖のアルキレン基であり、X²は－

$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_s-$ 又は $-(\text{CH}_2)_t\text{O}-$ で表される基であり、 s は1～5の数であり、 t は2～10の数であり、式(1-3)中、 L^3 は炭素数3～10の直鎖のアルキレン基であり、 X^3 は $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_s-$ 又は $-(\text{CH}_2)_t\text{O}-$ で表される基であり、 s は1～5の数であり、 t は2～10の数である。

[5] 前記化合物が、

前記式(1-1)中、 L^1 が炭素数5の直鎖のアルキレン基であり、 X^1 が $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_s-$ で表される基であり、 s が3である化合物、

前記式(1-1)中、 L^1 が炭素数8の直鎖のアルキレン基であり、 X^1 が $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_s-$ で表される基であり、 s が3である化合物、

前記式(1-2)中、 L^2 が炭素数5の直鎖のアルキレン基であり、 X^2 が $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_s-$ で表される基であり、 s が3の数である化合物、

前記式(1-2)中、 L^2 が炭素数5の直鎖のアルキレン基であり、 X^2 が $-(\text{CH}_2)_t\text{O}-$ で表される基であり、 t が6の数である化合物、

前記式(1-3)中、 L^3 は炭素数5の直鎖のアルキレン基であり、 X^3 が $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_s-$ で表される基であり、 s は3の数である化合物、又は

前記式(1-3)中、 L^3 は炭素数5の直鎖のアルキレン基であり、 X^3 が $-(\text{CH}_2)_t\text{O}-$ で表される基であり、 t が6の数である化合物、

である、[1]～[4]のいずれか一項に記載の化合物又はその塩。

[6] [1]～[5]のいずれか一項に記載の化合物又はその塩を含む医薬品組成物。

[7] KDM5阻害剤及びKDM5分解剤である[6]に記載の医薬品組成物。

[8] KDM5関連疾患の予防及び／又は治療剤である、[6]又は[7]に記載の医薬品組成物。

[9] KDM5阻害作用及びKDM5分解作用が有効なKDM5関連疾患の予防及び／又は治療における使用のための、[1]～[5]のいずれか一項に記載の化合物又はその塩。

[10] KDM5阻害作用及びKDM5分解作用が有効なKDM5関連疾患の予防及び／又は治療における使用のための、[6]～[8]のいずれか一項に記載の医薬品組成物。

[11] [1]～[5]及び[9]のいずれか一項に記載の化合物又はその塩を患者に投与することを含む、KDM5阻害作用及びKDM5分解作用が有効なKDM5関連疾患を予防及び／又は治療する方法。

[12] [6]～[8]のいずれか一項に記載の医薬品組成物を患者に投与することを含む、KDM5阻害作用及びKDM5分解作用が有効なKDM5関連疾患を予防及び／又は治療する方法。

[13] KDM5阻害作用及びKDM5分解作用が有効なKDM5関連疾患の予防及び／又は治療のための医薬品組成物の製造における、[1]～[5]及び[9]のいずれか一項に記載の化合物又はその塩の使用。

[14] [1]～[5]及び[9]のいずれか一項に記載の化合物又はその塩を有効成分として含むKDM5関連疾患の予防及び／又は治療剤。

発明の効果

[0011] 本開示によれば、細胞や動物実験において、抗がん作用などの顕著な薬理学的効果をもたらす化合物又はその塩を提供することができる。

図面の簡単な説明

[0012] [図1]化合物14aの¹H-NMRスペクトルを示す図である。

[図2]化合物14aの¹³C-NMRスペクトルを示す図である。

[図3]化合物14aのHPLCのUV吸収スペクトルを示す図である。

[図4]化合物14bの¹H-NMRスペクトルを示す図である。

[図5]化合物14bの¹³C-NMRスペクトルを示す図である。

[図6]化合物14bのHPLCのUV吸収スペクトルを示す図である。

[図7]化合物20aの¹H-NMRスペクトルを示す図である。

[図8]化合物20aの¹³C-NMRスペクトルを示す図である。

[図9]化合物20aのHPLCのUV吸収スペクトルを示す図である。

[図10]化合物20bの¹H-NMRスペクトルを示す図である。

[図11]化合物20bの ^{13}C -NMRスペクトルを示す図である。

[図12]化合物20bのHPLCのUV吸収スペクトルを示す図である。

[図13]化合物23aの ^1H -NMRスペクトルを示す図である。

[図14]化合物23aの ^{13}C -NMRスペクトルを示す図である。

[図15]化合物23aのHPLCのUV吸収スペクトルを示す図である。

[図16]化合物23bの ^1H -NMRスペクトルを示す図である。

[図17]化合物23bの ^{13}C -NMRスペクトルを示す図である。

[図18]化合物23bのHPLCのUV吸収スペクトルを示す図である。

[図19] (A)はKDM5阻害剤24とボリノスタット(25)との構造を示す図であり、(B)は24時間及び48時間処理後のN2a分化に対する化合物24及び25による単独処理の効果、並びに化合物24と25との共処理の効果を示す図である。

[図20]化合物24及び25による単独処理、並びに化合物24と25とによる共処理で、24時間及び48時間処理したN2a細胞を示す代表的な画像である。スケールバーは100 μm である。

[図21] (A)はKDM5 PROTACのデザインを示し、(B)は48時間処理後のN2a分化に対する0.2 μM の14a、14b、20a、20b、23a、及び23bの効果を示し、(C)は48時間処理後の化合物20b、23b、及び26の用量依存的N2a細胞神経突起伸長活性を示し、(D)は、0.02 μM における20b及び23bの時間依存的N2a細胞神経突起伸長活性を示す。棒グラフは3つの独立した実験からの平均値 $\pm$ SDを表す。

[図22]化合物14a、14b、20a、20b、23a、及び23bで48時間処理したN2a細胞を示す代表的な画像である。スケールバーは100 μm である。

[図23]化合物20b、23b、及び26で48時間処理したN2a細胞を示す代表的な画像である。スケールバーは100 μm である。

[図24]化合物20b及び23bで24時間、48時間、及び72時間処理し

た N 2 a 細胞を示す代表的な画像である。スケールバーは 1 0 0 μ m である。

[図25] N 2 a 細胞における K D M 5 A レベルのウェスタンブロット検出を示す図であり、(A) は、化合物 2 0 b 及び 2 3 b で 2 4 時間処理した後を示し、(B) は、化合物 2 3 b で 2 4 時間処理した後、並びに化合物 2 4 と 2 6 とで 2 4 時間共処理した後を示し、(C) は、化合物 2 0 b とプロテアソーム阻害剤 M G - 1 3 2 とで 2 4 時間共処理した後を示し、(D) は、プロテアソーム阻害剤 M G - 1 3 2 と化合物 2 3 b とで 2 4 時間共処理した後を示す。

[図26] 化合物 2 0 b 及び 2 3 b で 2 4 時間処理した N 2 a 細胞における H 3 K 4 m e 3 レベル及び H 3 K 2 7 A c レベルのウェスタンブロット検出を示す図である。

[図27] 化合物 2 0 b 及び 2 3 b の K D M 5 A 阻害活性及び H D A C 1 阻害活性を示す図である。

発明を実施するための形態

[0013] 以下、本開示を更に詳しく説明する。

本開示は、式 (1) で表される化合物及びその塩に加えて、これらの N - オキシド体、溶媒和物、異性体、複数の異性体の混合物、単一結晶形、複数の結晶形の混合物、共結晶、同位体標識された化合物を含む。以下、これらを総称して「本化合物」ともいう。

「アルキル基」は、特に断りがない限り、直鎖状、分岐鎖状及び環状の 1 価の飽和炭化水素基を包含するものとする。アルコキシ基中のアルキル基も同様である。

「アルキレン基」は、特に断りがない限り、直鎖状、分岐鎖状及び環状の 2 価の飽和炭化水素基を包含するものとする。

「アルケニレン基」は、特に断りがない限り、直鎖状、分岐鎖状及び環状の 2 価の不飽和炭化水素基を包含するものとする。

「ハロゲン原子」は、フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子が挙

げられる。

「置換若しくは無置換の」と記載する場合、水素原子 ($-H$) を 1 価の置換基で置換 (s u b s t i t u t e) する場合と、メチレン基 ($-CH_2-$) 又はメチン基 ($>CH-$ 、又は $=CH-$) を 2 価の置換基で置換 (r e p l a c e) する場合との両方を含む。

「1 価の置換基」とは、アルキル基、アルコキシ基、ハロゲン原子、ハロゲン化アルキル基、ヒドロキシ基、カルボキシ基、アミノ基、ニトロ基等が挙げられる。

置換基としてのアルキル基としては、炭素原子数 1 ～ 5 のアルキル基が好ましく、メチル基、エチル基、プロピル基、*n*-ブチル基、*tert*-ブチル基が最も好ましい。

置換基としてのアルコキシ基としては、炭素原子数 1 ～ 5 のアルコキシ基が好ましく、メトキシ基、エトキシ基、*n*-プロポキシ基、*iso*-プロポキシ基、*n*-ブトキシ基、*tert*-ブトキシ基がより好ましく、メトキシ基、エトキシ基が最も好ましい。

置換基としてのハロゲン原子としては、フッ素原子、ヨウ素原子が好ましい。

置換基としてのハロゲン化アルキル基としては、炭素原子数 1 ～ 5 のアルキル基、たとえばメチル基、エチル基、プロピル基、*n*-ブチル基、*tert*-ブチル基等の水素原子の一部又は全部が前記ハロゲン原子で置換された基が挙げられる。

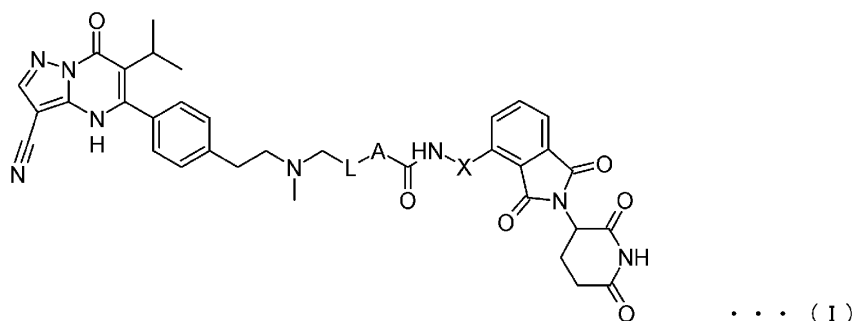
「2 価の置換基」とは、 $-O-$ 、 $-C(=O)-O-$ 、 $-O-C(=O)-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $-O-C(=O)-O-$ 、 $-C(=O)-NH-$ 、 $-C(=O)-NH-C(=O)-$ 、 $-N=$ 、 $-NH-$ 、 $-NH-C(=NH)-$ (H は炭化水素基、アシル基、アルコキシアルキル基等の置換基で置換されていてもよい。)、 $-S-$ 、 $-S(=O)_2-$ 、 $-S(=O)_2-O-$ 、一般式 $-Y^{21}-O-Y^{22}-$ 、 $-Y^{21}-O-$ 、 $-Y^{21}-C(=O)-O-$ 、 $-C(=O)-O-Y^{21}-$ 、 $-[Y^{21}-C(=O)-O]_m-Y^{22}-$ 、 $-Y^{21}$

—O—C(=O)—Y²²—又は—Y²¹—S(=O)₂—O—Y²²—で表される基〔式中、Y²¹及びY²²は、それぞれ独立して、置換若しくは無置換の2価の炭化水素基であり、Oは酸素原子であり、m''は0～3の整数である。〕等が挙げられる。

[0014] 《本化合物》

本開示の化合物又はその塩において、前記化合物は、式(1)で表される化合物である。

[0015] [化4]



[0016] 式(1)中、Aは単結合若しくは置換又は無置換の2価の芳香族炭化水素基であり、Lは置換又は無置換の炭素数1～13の直鎖又は分岐鎖のアルキレン基であり、Xは—(CH₂CH₂O)_s—、—(CH₂CH₂CH₂O)_s—、—(CH(CH₃)CH₂O)_s—、又は—(CH₂)_tO—で表される基であり、sは1～8の数であり、tは2～10の数である。

[0017] 前記Aとしては、単結合、フェニレン基、及びナフチレン基等が好ましく；単結合、1,2-フェニレン基、1,3-フェニレン基(m-フェニレン基)、1,4-フェニレン基(p-フェニレン基)、1,2-ナフチレン基、1,4-ナフチレン基、1,5-ナフチレン基、2,3-ナフチレン基、及び2,6-ナフチレン基等がより好ましく；単結合、1,3-フェニレン基(m-フェニレン基)、及び1,4-フェニレン基(p-フェニレン基)がさらに好ましい。

[0018] 前記Lとしては、炭素数3～10の直鎖のアルキレン基が好ましく、炭素数4～9の直鎖のアルキレン基がより好ましく、炭素数5～8の直鎖のアル

キレン基がさらに好ましい。

[0019] 前記Xとしては、 $-(CH_2CH_2O)_s-$ 、 $-(CH_2CH_2CH_2O)_s-$ 、 $-(CH(CH_3)CH_2O)_s-$ 、又は $-(CH_2)_tO-$ で表される基が好ましく； $-(CH_2CH_2O)_s-$ 、 $-(CH_2CH_2CH_2O)_s-$ 、又は $-(CH_2)_tO-$ で表される基がより好ましく、 $-(CH_2CH_2O)_s-$ 、又は $-(CH_2)_tO-$ で表される基がさらに好ましい。

前記sとしては、1～5の数が好ましく、2～4がより好ましく、2又は3がさらに好ましく、3が特に好ましい。

前記tとしては、2～10の数が好ましく、3～8がより好ましく、4～7がさらに好ましく、6が特に好ましい。

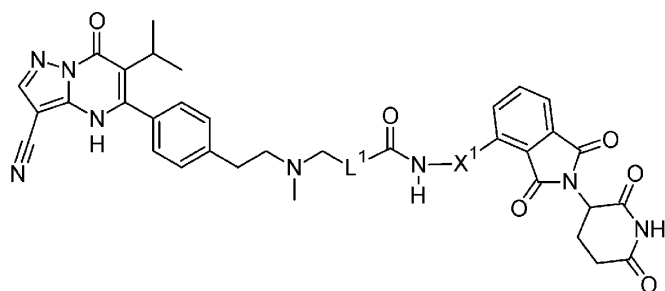
[0020] 前記式(1)中、Aは単結合又はフェニレン基であり、Lは炭素数3～10の直鎖のアルキレン基であり、Xは $-(CH_2CH_2O)_s-$ 、 $-(CH_2CH_2CH_2O)_s-$ 、 $-(CH(CH_3)CH_2O)_s-$ 、又は $-(CH_2)_tO-$ で表される基であり、sは1～5の数であり、tは2～10の数であることが好ましい。

前記式(1)中、Aは単結合、p-フェニレン基、又はm-フェニレン基であり、Lは炭素数3～10の直鎖のアルキレン基であり、Xは $-(CH_2CH_2O)_s-$ 、 $-(CH_2CH_2CH_2O)_s-$ 、又は $-(CH_2)_tO-$ で表される基であり、sは1～5の数であり、tは2～10の数であることがより好ましい。

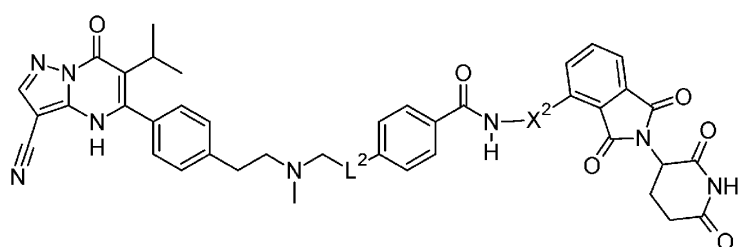
[0021] 前記化合物は、下記式(1-1)で表される化合物、下記式(1-2)で表される化合物、又は下記式(1-3)で表される化合物であることがさらに好ましい。

[0022]

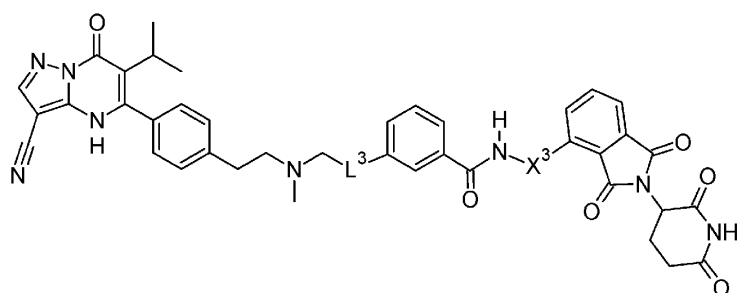
[化5]



... (I-1)



... (I-2)



... (I-3)

[0023] 式 (I-1) 中、 L^1 は炭素数 3～10 の直鎖のアルキレン基であり、 X^1 は $-(CH_2CH_2O)_s-$ で表される基であり、 s は 1～5 の数であり、式 (I-2) 中、 L^2 は炭素数 3～10 の直鎖のアルキレン基であり、 X^2 は $-(CH_2CH_2O)_s-$ 又は $-(CH_2)_tO-$ で表される基であり、 s は 1～5 の数であり、 t は 2～10 の数であり、式 (I-3) 中、 L^3 は炭素数 3～10 の直鎖のアルキレン基であり、 X^3 は $-(CH_2CH_2O)_s-$ 又は $-(CH_2)_tO-$ で表される基であり、 s は 1～5 の数であり、 t は 2～10 の数である。

[0024] 前記化合物は、前記式 (I-1) 中、 L^1 が炭素数 5 の直鎖のアルキレン基であり、 X^1 が $-(CH_2CH_2O)_s-$ で表される基であり、 s が 3 である化

合物(14a)、前記式(1-1)中、 L^1 が炭素数8の直鎖のアルキレン基であり、 X^1 が $-(CH_2CH_2O)_s-$ で表される基であり、 s が3である化合物(14b)、前記式(1-2)中、 L^2 が炭素数5の直鎖のアルキレン基であり、 X^2 が $-(CH_2CH_2O)_s-$ で表される基であり、 s が3の数である化合物(20a)、前記式(1-2)中、 L^2 が炭素数5の直鎖のアルキレン基であり、 X^2 が $-(CH_2)_tO-$ で表される基であり、 t が6の数である化合物(23a)、前記式(1-3)中、 L^3 は炭素数5の直鎖のアルキレン基であり、 X^3 が $-(CH_2CH_2O)_s-$ で表される基であり、 s は3の数である化合物(20b)、及び前記式(1-3)中、 L^3 は炭素数5の直鎖のアルキレン基であり、 X^3 が $-(CH_2)_tO-$ で表される基であり、 t が6の数である化合物(23b)、からなる群から選択される少なくとも1つであることが特に好ましい。

[0025] 前記化合物の塩としては、すべての薬理学的に許容される塩を包む。すべての薬理学的に許容される塩は、好ましくは、低毒性の水溶性塩である。適切な塩の例は酸付加塩(例えば、無機酸塩[例：塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、硫酸塩、リン酸塩、硝酸塩など]、有機酸塩[例：酢酸塩、トリフルオロ酢酸塩、乳酸塩、酒石酸塩、シュウ酸塩、フマル酸塩、マレイン酸塩、安息香酸塩、クエン酸塩、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、トルエンスルホン酸塩、イセチオン酸塩、グルクロン酸塩、グルコン酸塩など]、酸性の天然アミノ酸との塩[例：アスパラギン酸、グルタミン酸等]など)等を含む。

[0026] 本化合物は、N-オキシド体、及び溶媒和物に変換してもよい。

N-オキシド体とは、本化合物の窒素原子が酸化されたものを表す。本化合物は、公知の方法によりN-オキシド体に変換することができる。

溶媒和物とは、水及びエタノールのような薬学的に許容される溶媒との溶媒和した形態のものを表す。本化合物は、公知の方法により溶媒和物に変換することができる。

[0027] 本化合物は、適切な共結晶形成体との共結晶を形成していてもよい。共結

晶は、薬学上許容される共結晶形成体で形成される、薬学的に許容されるものであることが好ましい。共結晶は、通常、イオン結合ではない分子間相互作用によって、2つ以上の分子で形成される結晶と定義される。共結晶は中性分子と塩の錯体であってもよい。共結晶は、熔融結晶化、溶媒からの再結晶又は構成成分の物理的粉碎などの公知の方法に従って調製することができる。

[0028] 本開示には化合物の構造上生ずる総ての幾何異性体、不斉炭素に基づく光学異性体、立体異性体、互変異性体等の異性体及び異性体混合物を含み、便宜上の式の記載に限定されるものではなく、いずれか一方の異性体でも混合物でもよい。したがって、分子内に不斉炭素原子を有し光学活性体及びラセミ体が存在することがあり得るが、本開示においてはそれらに限定されず、いずれもが含まれる。さらに結晶多形が存在することもあるが同様に限定されず、いずれかの単一結晶形又はそれらの混合物であってもよく、無水物以外に水和物であってもよく、いずれも本開示の範囲に含まれる。

本開示には、本化合物の同位体標識された化合物も含まれる、これは1つ又はそれ以上の原子が自然界に通常見出される原子質量か質量数と異なった原子質量か質量数を有する原子で置き換えられていること以外、本化合物と同一である。本化合物に組み入れることができる同位元素は、例えば、水素、炭素、窒素、酸素、フッ素、リン、硫黄、ヨウ素及び塩素の同位元素であり、 ^2H 、 ^3H 、 ^{11}C 、 ^{14}C 、 ^{13}N 、 ^{15}O 、 ^{18}F 、 ^{35}S 、 ^{123}I 、及び ^{125}I 等が含まれる。

前述の同位元素及び／又は他の同位元素を含む本化合物とその薬学的に許容できる誘導体（例えば、塩）は本開示の範囲内にある。本開示の同位体標識化合物、例えば、 ^3H 及び／又は ^{14}C などの放射性同位元素が組み入れられた化合物、は医薬及び／又は基質の組織分布アッセイに有用である。 ^3H と ^{14}C はそれらの調製と検出の容易さのため有用と考えられている。同位元素 ^{11}C 及び ^{18}F はPET（陽電子放射断層撮影）で有用と考えられており、同位元素 ^{125}I はSPECT（単光子放出コンピュータ断層撮影）で有用と考えら

れており、脳イメージングですべて有用である。 ^2H などのより重い同位元素による置換は、より高い代謝的安定性による生体内半減期を増加又は必要用量の減少等のある種の治療上の利点を生じさせ、それ故に、ある状況下では有用と考えられている。本化合物の同位体標識化合物は容易に利用可能な同位体ラベルされた試薬を非同位体ラベルされた試薬の代わりに用いて、以下の図式及び／又は実施例に開示された手順を行うことによって、一様に調製することができる。

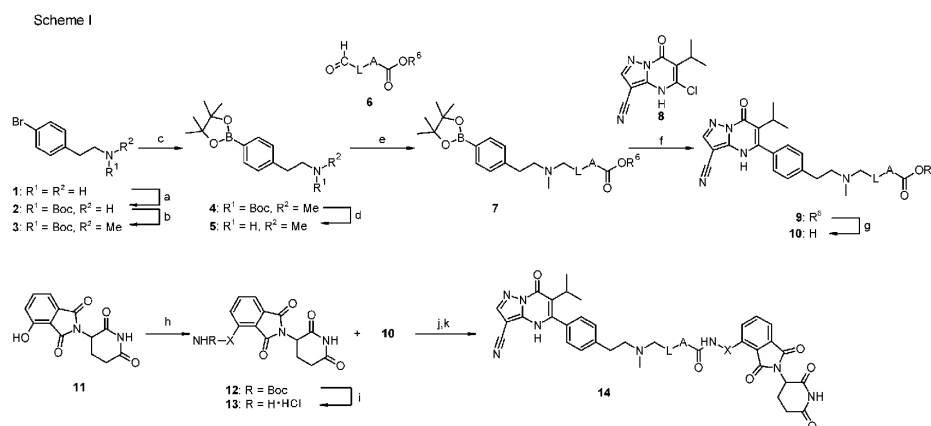
[0029] 本化合物のプロドラッグは、生体内での酵素や胃酸等との反応によって、本化合物に変化する化合物を意味する。本化合物のプロドラッグとしては、本化合物が、アミノ基を有するとき、アミノ基がアシル化、アルキル化、リン酸化された化合物（例えば、アミノ基が、エイコサノイル、アラニル、ペンチルアミノカルボニル、（5-メチル-2-オキソ-1,3-ジオキサレン-4-イル）メトキシカルボニル、テトラヒドロフラニル、ピロリジルメチル、ピバロイルオキシメチル、アセトキシメチル、tert-ブチル等に変換された本化合物）を挙げることができる；本化合物が、水酸基を有するとき、アシル化、アルキル化、リン酸化、又は、ホウ酸塩に変換された化合物（例えば、水酸基が、アセチル、パルミトイル、プロパノイル、ピバロイル、スクシニル、フマリル、アラニル、ジメチルアミノメチルカルボニル等に変換された本化合物等）等である。本化合物のプロドラッグとしては、「医薬品の開発」第7巻「分子設計」、1990年、株式会社廣川書店、163-198ページに開示されている生理的条件のもとで、本化合物に変換されるものを挙げることができる。本化合物のプロドラッグは、それ自体公知の方法で製造可能である。本化合物のプロドラッグは、本化合物と同様に、例えば、酸付加塩などの塩を形成してもよく、又は、水もしくは、アルコール性溶媒（エタノール等）との溶媒和物を形成してもよい。

[0030] 《本化合物の製造方法》

本化合物は、例えば、下記スキーム1で示される以下に記載の方法等により製造することができる。以下に記載する製造方法において、原料化合物は

、塩でもよい。塩としては、例えば、一般式（１）で表される化合物の塩として上記に記載されたものを含む。

[0031] [化6]



[0032] スキーム I 中、化合物 1、6、8 及び 11 は、市販品として入手できるほか、公知の方法により市販品から容易に合成することができる。化学式中、A、L、及び X は、式（１）で表される化合物の説明において上述した A、L、及び X と同じである。R⁶ は、炭素数 1～6 のアルキル基を表し、メチル基、及びエチル基等が好ましい。

[0033] 工程（a）において、化合物 2 は、化合物 1 の第一級アミノ基を Boc 基（*t*-ブトキシカルボニル基）で保護することにより製造できる。

Boc 基での第一級アミノ基の保護は公知である。例えば、塩化メチレン等の溶媒中、(Boc)₂O 等の Boc 基導入剤、トリエチルアミン等の塩基存在下に 0～80℃で行うことができる。

[0034] 工程（b）において、化合物 3 は、化合物 2 の窒素原子上の水素原子をメチル基に置換（replace）することにより製造できる。

窒素原子上の水素原子をメチル基に置換する反応は公知である。例えば、N,N-ジメチルホルムアミド（以下、DMF ともいう。）等の溶媒中、MeI 等のメチル化剤、及び NaH 等の塩基存在下に 0～80℃で行うことができる。

[0035] 工程（c）において、化合物 4 は、パラジウム触媒を用いた、化合物 3 と

有機ボロン酸化合物とのクロスカップリング反応により製造できる。

パラジウム触媒を用いたクロスカップリング反応は公知である。例えば、ジメチルスルホキシド（以下、DMSOともいう。）等の溶媒中、化合物3、ビス（ピナコラート）ジボロン等の有機ボロン酸化合物、Pd(dppf)Cl₂等のパラジウム触媒、及びKOAc等の塩基存在下に40～190℃で行うことができる。

[0036] 工程（d）において、化合物5は、化合物4のBoc基で保護されたアミノ基を脱保護することにより製造できる。

Boc基で保護されたアミノ基の脱保護は公知である。例えば、塩化メチレン等の溶媒中、トリフルオロ酢酸等の酸存在下に0～80℃で行うことができる。

[0037] 工程（e）において、化合物7は、化合物5の第2級アミノ基と、有機アルデヒド化合物6との還元的アミノ化により製造できる。

還元的アミノ化は公知である。例えば、1,2-ジクロロエタン等の溶媒中、トリアセトキシホウ素化水素ナトリウム等の還元剤存在下に0～80℃で行うことができる。

[0038] 工程（f）において、化合物9は、パラジウム触媒を用いた、化合物7と有機ハロゲン化合物8とのクロスカップリング反応により製造できる。

パラジウム触媒を用いたクロスカップリング反応は公知である。例えば、1,2-ジメトキシエタン（以下、DMEともいう。）等の溶媒中、化合物7、化合物8、Pd(dppf)Cl₂等のパラジウム触媒、及びNa₂CO₃等の塩基存在下に40～190℃で行うことができる。

[0039] 工程（g）において、化合物10は、化合物9のエステルを加水分解してカルボキシ基に変換することにより製造できる。

エステルをカルボキシ基へ変換する加水分解反応は公知である。例えば、テトラヒドロフラン（以下、THFともいう。）、メタノール、及び水等の溶媒中、水酸化ナトリウム等の塩基存在下に0～80℃で行うことができる。

[0040] 工程 (h) において、化合物 12 は、フェノール性水酸基を有する化合物 11 と、Boc 基で保護されたアミノ基を有するアルコールとのアリールエーテル合成反応により製造できる。

フェノール性水酸基を有する有機化合物と、アルコールとのアリールエーテル合成反応は公知である。例えば、THF 等の溶媒中、化合物 11、前記特定のアルコール、ジ-2-メトキシエチルアゾジカルボキシレート等の光延反応試薬、及びトリフェニルホスフィン等の有機リン化合物の存在下に 0 ~ 80℃で行うことができる。

[0041] あるいは、工程 (h) において、化合物 12 は、フェノール性水酸基を有する化合物 11 と、Boc 基で保護されたアミノ基を有するハロゲン化アルキルとの S_N2 反応により製造できる。

フェノール性水酸基を有する化合物 11 と、ハロゲン化アルキルとの S_N2 反応は公知である。例えば、DMF 等の溶媒中、化合物 11、前記特定のハロゲン化アルキル、 $KHCO_3$ 等の塩基、KI 等のヨウ素化剤の存在下に 0 ~ 150℃で行うことができる。

[0042] 工程 (i) において、化合物 13 は、化合物 12 の Boc 基で保護されたアミノ基を脱保護したのち、アミノ基を塩酸塩とすることにより製造できる。

Boc 基で保護されたアミノ基の脱保護は公知である。例えば、塩化メチレン等の溶媒中、トリフルオロ酢酸等の酸存在下に 0 ~ 80℃で行うことができる。

アミノ基を塩にする反応は公知である。例えば、脱保護したのち、酢酸エチル（以下、AcOEt ともいう。）中、塩酸等の酸の存在下に 0 ~ 80℃で行うことができる。

[0043] 工程 (j) において、塩酸塩とする前の化合物 14 は、化合物 10 のカルボキシ基と化合物 13 の第 2 級アミノ基との縮合反応により製造できる。

カルボキシ基とアミノ基との縮合反応は公知である。例えば DMF 中、化合物 10、化合物 13、1- [ビス (ジメチルアミノ) メチレン] -1H-

1, 2, 3-トリアゾロ [4, 5-b] ピリジニウム 3-オキシドヘキサフルオロホスファート（以下、H A T Uともいう。）等の縮合剤、及びジイソプロピルエチルアミン（以下、i - P r₂ N E tともいう。）等の塩基の存在下に 0 ~ 8 0 °Cで行うことができる。

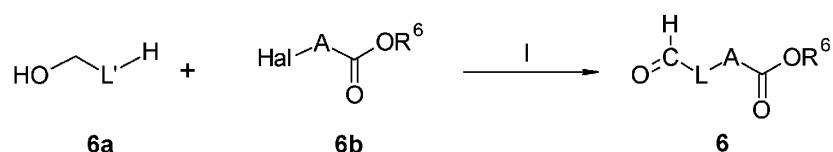
[0044] 工程 (k) において、化合物 1 4 の塩酸塩は、化合物 1 4 中の第 3 級アミノ基を塩酸塩とすることにより製造できる。

第 3 級アミノ基を塩にする反応は公知である。例えば、A c O E t 中、塩酸等の酸の存在下に 0 ~ 8 0 °Cで行うことができる。

[0045] 加えて、前記化合物 6 は、下記スキーム I I で示される以下に記載の方法等により製造することもできる。

[0046] [化7]

Scheme II



[0047] スキーム I I 中、化合物 6 a 及び 6 b は、市販品として入手できるほか、公知の方法により市販品から容易に合成することができる。

化学式中、L は、式 (I) で表される化合物の説明において上述した L と同じである。

A は、置換又は無置換の 2 価の芳香族炭化水素基であり；フェニレン基、及びナフチレン基等が好ましく；1, 2-フェニレン基、1, 3-フェニレン基（m-フェニレン基）、1, 4-フェニレン基（p-フェニレン基）、1, 2-ナフチレン基、1, 4-ナフチレン基、1, 5-ナフチレン基、2, 3-ナフチレン基、及び 2, 6-ナフチレン基等がより好ましく；1, 3-フェニレン基（m-フェニレン基）、及び 1, 4-フェニレン基（p-フェニレン基）がさらに好ましい。

L' は、置換又は無置換の炭素数 2 ~ 13 の直鎖又は分岐鎖のアルケニレ

ン基であり、炭素数3～10の直鎖のアルケニレン基が好ましく、炭素数4～9の直鎖のアルケニレン基がより好ましく、炭素数5～8の直鎖のアルケニレン基がさらに好ましい。

H a l は、ハロゲン原子を表し、塩素原子、臭素原子、及びヨウ素原子等が好ましい。

R⁶は、炭素数1～6のアルキル基を表し、メチル基、及びエチル基等が好ましい。

[0048] 工程（I（エル））において、化合物6は、パラジウム触媒を用いた、不飽和アルコール6 aとハロゲン化アリール6 bとのクロスカップリング反応により製造できる。

パラジウム触媒を用いたクロスカップリング反応は公知である。例えば、DMF等の溶媒中、化合物6 a、化合物6 b、Pd（OAc）₂等のパラジウム触媒、LiOAc及びテトラブチルアンモニウムクロリド（以下、n-Bu₄NClともいう。）等の塩基、並びにLiCl等の反応促進剤存在下に40～190℃で行うことができる。

[0049] <用途>

本化合物は、KDM5阻害活性とKDM5分解活性との両方を有することから、KDM5阻害剤及びKDM5分解剤として使用可能であり、哺乳動物、特にヒトにおけるKDM5関連疾患の予防及び／又は治療薬として使用可能である。

[0050] 本化合物は生理活性低分子化合物の標的タンパクを捕捉するためのケミカルプローブとすることができる。すなわち、本化合物は、当該化合物の活性発現に必須な構造部分とは異なる部分に、J. Mass Spectrum . Soc. Jpn. Vol. 51, No. 5, 2003, p492-498又はWO2007/139149等に記載の手法で標識基、リンカー等を導入することでアフィニティークロマトグラフィープローブ、フォトアフィニティープローブ等に変換することができる。

ケミカルプローブに用いる標識基、リンカー等は、例えば以下の（1）な

いし（５）からなる群に示される基が挙げられる。

（１）光親和性標識基（例えば、ベンゾイル基、ベンゾフェノン基、アジド基、カルボニルアジド基、ジアジリジン基、エノン基、ジアゾ基及びニトロ基等）及び化学親和性基（例えば、アルファー炭素原子がハロゲン原子で置換されたケトン基、カルバモイル基、エステル基、アルキルチオ基、 α 、 β －不飽和ケトン、エステル等のマイケル受容体、及びオキシラン基等）等のタンパク質標識基、

（２）－Ｓ－Ｓ－、－Ｏ－Ｓｉ－Ｏ－、単糖（グルコース基、ガラクトース基等）又は二糖（ラクトース等）等の開裂可能なリンカー、及び酵素反応で開裂可能なオリゴペプチドリンカー、

（３）ビオチン、３－（４，４－ジフルオロ－５，７－ジメチル－４Ｈ－３ａ，４ａ－ジアザ－４－ボラーｓ－インダセン－３－イル）プロピオニル基等のフィッシングタグ基、

（４） ^{125}I 、 ^{32}P 、 ^3H 、 ^{14}C などの放射性標識基；フルオレセイン、ローダミン、ダンシル、ウンベリフェロン、７－ニトロフラザニル、３－（４，４－ジフルオロ－５，７－ジメチル－４Ｈ－３ａ，４ａ－ジアザ－４－ボラーｓ－インダセン－３－イル）プロピオニル基等の蛍光標識基；ルミフェリン、ルミノール等の化学発光基；ランタノイド金属イオン、ラジウムイオン等の重金属イオン等の検出可能なマーカー、又は

（５）ガラスビーズ、ガラスベット、マイクロタイタープレート、アガロースビーズ、アガロースベット、ポリスチレンビーズ、ポリスチレンベット、ナイロンビーズ、ナイロンベット等の固相担体と結合させる基等。

上記の（１）ないし（５）からなる群より選択される標識基等を上記文献に記載の方法等に準じて本化合物に導入して調製されるプローブは、新たな創薬ターゲットの探索等に有用な標識タンパクの同定のためのケミカルプローブとして用いることができる。

[0051] 《医薬品組成物》

本開示の医薬品組成物（以下、本医薬組成物と総称する）は、本化合物を

含む。

本化合物を医薬用途に使用する場合、本化合物は、単剤で使用できることはもとより、例えば、（１）症状の予防、治療及び／又は改善のために本化合物の効果を補助及び／又は増強すること、（２）薬物動態及び吸収を改善すること、本化合物の投与量を減量すること、及び／又は（３）本化合物の副作用を軽減することを目的として、他の薬剤を追加した配合剤としても使用することができる。

本開示の医薬品組成物は、医薬品組成物の総質量に対し、０．０００００１～９９．５重量％、好ましくは０．０００００１～９０重量％等の本化合物を含むことができる。

[0052] 他の薬剤との併用において、本化合物と他の薬剤は、両成分を一剤に含有する配合薬として投与してもよいし、別々の製剤を同一又は異なる投与経路で投与してもよい。別々の製剤を同時に投与する必要はなく、時間差をもって順次投与してもよい。順次投与する場合には、投与順序又は投与方法は特に限定されず、期待する有効性が得られるように適宜調整することができる。

[0053] 本化合物と併用される他の薬剤の用量は、その臨床用量又は類似薬剤に応じて適宜増減することができる。なお、本化合物と他の薬剤との比率は、被験者の年齢、体重、投与方法、投与時間、対象疾患、病態等を考慮して適宜調整することができる。通常、１重量部の本化合物に対して他の薬剤を０．０１から１００重量部のまでの範囲で組み合わせることができる。他の薬剤は複数使用されてもよい。他の薬剤は、上記薬剤に加えて、上記薬剤と同様の作用機序を有するものでもよい。当該他の薬剤は、既知のものだけでなく、将来発見されるものも含む。

[0054] 本化合物の用量は、年齢、体重、病態、治療効果、投与方法、投与期間等によって異なる。本化合物は、成人に１回０．１ｍｇ～３００ｍｇの範囲で１日１回から数回経口投与してもよいし、成人に１回０．１ｍｇ～１５０ｍｇの範囲で１日１回から数回非経口投与又は１日１時間から２４時間かけて

静脈内に持続投与してもよい。

[0055] 本化合物を含む医薬組成物は、種々の剤型に製剤化することができる。剤形としては、例えば、経口投与剤（例えば、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、経口服液剤、シロップ剤、経口ゼリー剤等）、口腔用剤（例えば、口腔用錠剤、口腔用スプレー剤、口腔用半固形剤、口腔用含嗽剤等）、注射用製剤（例えば、注射剤等）、透析用製剤（例えば、透析用剤等）、吸入用剤（例えば、吸入剤等）、眼科用剤（例えば、点眼剤、眼軟膏剤等）、耳鼻科用剤（例えば、点耳剤等）、鼻科用剤（例えば、点鼻剤等）、直腸用剤（例えば、坐剤、直腸投与用半固形剤、浣腸剤等）、腔用剤（例えば、腔錠、腔坐剤等）、皮膚用剤（例えば、固形外用剤、液状外用剤、スプレー剤、軟膏剤、クリーム剤、ゲル剤、貼付剤等）等を挙げることができる。

[0056] 経口用固形製剤を製造する場合には、本化合物に、必要に応じて、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、着色剤等を添加し、常法により錠剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤を製造することができる。また、錠剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤等は、必要に応じて、皮膜コーティングを施してもよい。

賦形剤としては、例えば、乳糖、コーンスターチ、結晶セルロース等を、結合剤としては、例えば、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース等を、崩壊剤としては、例えば、カルボキシメチルセルロースカルシウム、クロスカルメロースナトリウム等を、滑沢剤としては、例えば、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム等を、着色剤としては、例えば、酸化チタン等を、皮膜コーティング剤としては、例えば、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、メチルセルロース等を挙げることができるが、もちろんこれらに限定される訳ではない。

これらの錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤等の固形製剤は、通常、前記固形製剤の総質量に対し、0.001～99.5重量%、好ましくは0.001～90重量%等の本化合物を含むことができる。

[0057] 注射剤（静脈内投与用、筋肉内投与用、皮下投与用、腹腔内投与用等）を

製造する場合には、本化合物に、必要に応じて、pH調整剤、緩衝剤、懸濁化剤、溶解補助剤、抗酸化剤、保存剤（防腐剤）、等張化剤等を添加し、常法により注射剤を製造することができる。また、凍結乾燥して、用時溶解型の凍結乾燥製剤としてもよい。

pH調整剤や緩衝剤としては、例えば、有機酸又は無機酸及び／又はその塩等を、懸濁化剤としては、例えば、メチルセルロース、ポリソルベート80、カルボキシメチルセルロースナトリウム等を、溶解補助剤としては、例えば、ポリソルベート80、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート等を、抗酸化剤としては、例えば、 α -トコフェロール等を、保存剤としては、例えば、パラオキシ安息香酸メチル、パラオキシ安息香酸エチル等を、等張化剤としては、例えば、ブドウ糖、塩化ナトリウム、マンニトール等を挙げることができるが、もちろんこれらに限定される訳ではない。

これらの注射剤は、通常、注射剤の総質量に対し、0.000001～99.5重量%、好ましくは0.000001～90重量%等の本化合物を含むことができる。

[0058] 外用剤を製造する場合には、本化合物に、基剤原料を添加し、必要に応じて、前記の例えば、保存剤、安定剤、pH調整剤、抗酸化剤、着色剤等を加えて、常法により、例えば、経皮吸収製剤（軟膏剤、貼付剤等）、点眼剤、点鼻剤、坐剤等を製造することができる。

使用する基剤原料としては、例えば、医薬品、医薬部外品、化粧品等に通常使用される各種原料を用いることが可能である。具体的には、例えば、動植物油、鉱物油、エステル油、ワックス類、乳化剤、高級アルコール類、脂肪酸類、シリコン油、界面活性剤、リン脂質類、アルコール類、多価アルコール類、水溶性高分子類、粘土鉱物類、精製水等の原料を挙げることができる。

これらの外用剤は、通常、外用剤の総質量に対し、0.000001～99.5重量%、好ましくは0.000001～90重量%等の本化合物を含むことができる。

本化合物の投与量は、症状の程度、年齢、性別、体重、投与形態・塩の種類、疾患の具体的な種類等に応じて異なるが、通常、成人の場合は1日あたり経口投与で約30 μ g～10g、好ましくは100 μ g～5g、さらに好ましくは100 μ g～1gを、注射投与で約30 μ g～1g、好ましくは100 μ g～500mg、さらに好ましくは100 μ g～300mgをそれぞれ1回又は数回に分けて投与する。

[0059] <用途>

本化合物及び本医薬組成物は、KDM5阻害活性とKDM5分解活性との両方を有することから、KDM5阻害剤及びKDM5分解剤として使用することができ、KDM5関連疾患（哺乳動物、とくにヒト）の予防及び／又は治療剤として使用することができる。

[0060] このような疾患の例として、過増殖症、がん、脳卒中、糖尿病、肝腫大、心血管疾患、多発性硬化症、ハンチントン病、アルツハイマー病、嚢胞性線維症、ウイルス性疾患、自己免疫疾患、アテローム性動脈硬化、再狭窄、乾癬、関節リウマチ、炎症性腸疾患、喘息、アレルギー疾患、炎症、神経障害、ホルモン関連疾患、臓器移植に伴う症状、免疫不全疾患、破壊性骨障害、増殖性疾患、感染症疾患、細胞死に伴う症状、トロンビン誘発血小板凝集、肝疾患、T細胞活性を伴う病的免疫状態、中枢神経系障害、骨髄増殖性疾患、パーキンソン病、レビー小体病、前頭側頭葉変性症、軽度認知機能障害、認知症、脳血管疾患、統合失調症、うつ病、不安障害、双極性障害、自閉症スペクトラム障害、注意欠陥／多動性障害、学習障害、運動障害、強迫性障害、人格障害、睡眠障害、せん妄、筋萎縮性側索硬化症、発達障害、知的障害、心的外傷後ストレス障害、肝炎等を含む。

[0061] 特に、本化合物及び本医薬組成物は、がん、ハンチントン病、アルツハイマー病、パーキンソン病、レビー小体病、前頭側頭葉変性症、軽度認知障害、認知症、脳血管疾患、統合失調症、うつ病、不安障害、双極性障害、自閉症スペクトラム障害、注意欠陥／多動性障害、学習障害、運動障害、強迫性障害、人格障害、睡眠障害、せん妄、筋萎縮性側索硬化症、発達障害、知的

障害、心的外傷後ストレス障害又は肝炎の予防及び／又は治療に有用である。本化合物又は本医薬組成物は、がん及びアルツハイマー病の予防及び／又は治療に特に適している。

- [0062] 本医薬組成物を上記疾患の予防及び／又は治療のために単剤又は他の薬剤との組み合わせとして使用する場合、有効成分である本化合物は、通常、種々の添加剤又は溶剤等の医薬上許容される担体を用いて製剤化され、得られた製剤は、全身又は局所、経口又は非経口投与される。ここで、医薬上許容される担体とは、医薬製剤に一般的に使用される有効成分以外の物質を意味している。医薬上許容される担体は、好ましくは製剤の用量において薬理活性を示さず、無害であり、有効成分の治療効果を妨げない。医薬上許容される担体は、有効成分及び製剤の有用性を高めたり、製剤化を容易にしたり、品質を安定化したり、使用性を向上させたりするために使用されてもよい。具体的には、「医薬品添加物辞典」2000年、薬事日報社（IPEC JAPAN版）に記載されている物質を必要に応じて適宜選択することができる。

- [0063] 《医薬品組成物の製造方法》

本化合物を含む医薬組成物は、本化合物に、必要に応じて、他の薬剤、担体、賦形剤等の添加剤等を混合することにより製造できる。

実施例

- [0064] 以下実施例により本開示を具体的に説明するが、本開示はこれらに限定されるものではない。

本実施例で使用した化学試薬及び溶媒は、入手可能な最高純度の市販品を使用した。試薬及び溶媒は、Sigma Aldrich、富士フイルム和光ケミカル株式会社、TCI東京化成工業株式会社、ナカライテスク株式会社、関東化学株式会社から購入し、精製せずに使用した。

空気及び湿気の影響を受けやすい反応はすべて、乾燥したガラス器具を用い、アルゴン（Ar）雰囲気下で行った。NMRスペクトルは、400 MHz (¹H) で動作するJEOL ECS 400 スペクトロメーター、及び700

MHz (^1H) 又は 175 MHz (^{13}C) で動作する Bruker AVANCE III 700 スペクトロメーターで記録した。 ^1H NMR 及び ^{13}C NMR の化学シフト値は、溶媒ピーク又はテトラメチルシラン (TMS) (DMSO- d_6 : ^1H NMR 2.50、 ^{13}C NMR 39.52) に対する δ (ppm) として報告され、カップリング定数は Hz で与えられる。

島津 UFLC (SPD-M20A UV 検出器、DGU-20A3R 脱気ユニット、LC-20AD ソルベントデリバリーユニット、CBM-20A システム) と COSMOSIL 充填カラム (5C18-AR-II, 4.6 ID $\times$ 150 mm, Nacal Tesque INC.) を用い、流速 1 mL/min、UV 検出 ($\lambda = 254$ nm) で HPLC により測定した結果、すべての試験化合物の純度は 95% 以上であった。

HPLC 条件:

溶離液 A: 0.1% TFA を含む H_2O ; 溶離液 B: 0.1% TFA を含む アセトニトリル。

溶離液 B: 0~20 分、10~90%; 20~30 分、90%; 30~40 分、90~10%。正/負 LRMS イオンマススペクトルは Bruker HCT-Plus で記録した。高分解能質量スペクトル (HRMS) は、LTQ Orbitrap XL (THERMO) 又は島津 LCMS-IT-TOF 質量分析計で記録した。

[0065] 略語

AcOEt: 酢酸エチル;

Boc₂O = ジ-*t*-ブチルジカーボネート;

n-Bu₄NCI: テトラブチルアンモニウムクロリド;

DME: 1, 2-ジメトキシエタン;

DMEAD = ジ-2-メトキシエチルアゾジカルボキシレート

DMF = N, N-ジメチルホルムアミド;

DMSO = ジメチルスルホキシド;

dppf = 1, 1'-フェロセンビス (ジフェニルホスフィン);

HATU = 1 - [ビス (ジメチルアミノ) メチレン] - 1 H - 1, 2, 3
- トリアゾロ [4, 5 - b] ピリジニウム 3 - オキシドヘキサフルオロホス
ファート ;

MeCN : アセトニトリル ;

Me I : ヨウ化メチル ;

MeOH : メタノール ;

i-Pr₂NEt : ジイソプロピルエチルアミン ;

TF A = トリフルオロ酢酸；

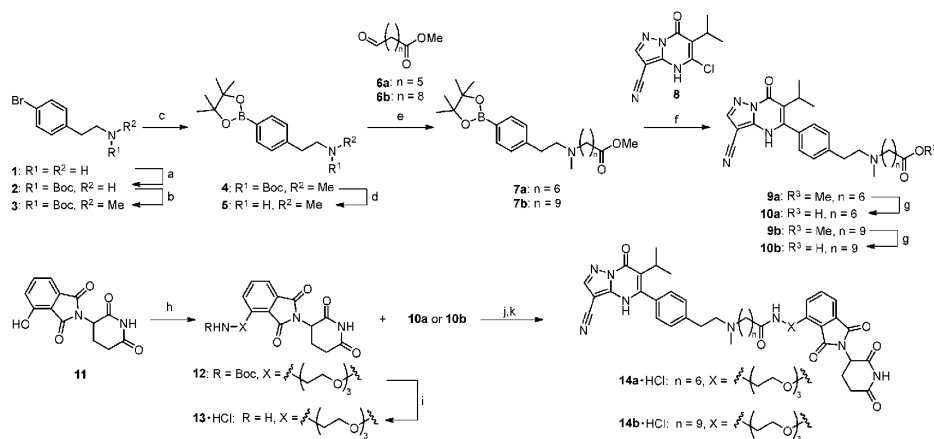
THF=テトラヒドロフラン。

[0066] (1) 化合物の合成

《例1：7- { [4- (3-シアノ-6-イソプロピル-7-オキソ-4, 7-ジヒドロピラゾロ [1, 5-a] ピリミジン-5-イル) フェネチル] (メチル) アミノ} -N- {2- [2- (2, 6-ジオキソピペリジン-3-イル) -1, 3-ジオキソインドリン-4-イル] オキシ} エトキシ} エチル} ヘプタンアミド塩酸塩 (14 a-塩酸塩) の合成》

化合物 14 a を以下の反応スキームに沿って合成した。

[0067] [化8]



[0068] <7- { [4- (3-シアノ-6-イソプロピル-7-オキソ-4, 7-ジ
ヒドロピラゾロ [1, 5-a] ピリミジン-5-イル) フェネチル] (メチ
ル) アミノ} ヘプタン酸 (10a) の合成>

ステップ1：tert-ブチル（4-ブロモフェネチル）カルバメート（2）の合成

2-（4-ブロモフェニル）エチルアミン（化合物1、5.00g、25.0mmol）とトリエチルアミン（4.20mL、30.1mmol）とのCH₂Cl₂（50mL）溶液を氷浴中で冷却しながら、これにBoc₂O（5.72g、26.2mmol）を加えた。得られた混合物を室温で5時間攪拌した。その後、反応を10%クエン酸でクエンチし、AcOEtで抽出した。有機層を分離し、食塩水で洗浄し、MgSO₄上で乾燥した。濾過、減圧下での濃縮、フラッシュカラムクロマトグラフィー（シリカゲル、n-ヘキサン/AcOEt=9/1~4/1）による精製後、化合物2を無色固体として得た（5.83g、78%）。

¹H NMR (DMSO-d₆, 400MHz, δ ppm) 7.46 (2H, d, J=8.3Hz), 7.15 (2H, d, J=8.3Hz), 6.86 (1H, t, J=5.2Hz), 3.12 (2H, td, J=6.8, 6.8Hz), 2.66 (2H, t, J=7.0Hz), 1.35 (9H, s)。

[0069] ステップ2：tert-ブチル（4-ブロモフェネチル）（メチル）カルバメート（3）の合成

化合物2（5.83g、19.4mmol）のDMF（50mL）溶液を、0℃にて60%NaH（0.820g、20.5mmol）の油中懸濁液に添加した。15分後、MeI（1.40mL、22.5mmol）を滴下し、得られた混合物を0℃にて5時間攪拌した。

反応混合物を水に注ぎ、AcOEtで抽出した。有機層をブラインで洗浄し、MgSO₄上で乾燥した。ろ過、減圧下での濃縮、フラッシュカラムクロマトグラフィー（シリカゲル、n-ヘキサン/AcOEt=9/1）による精製後、化合物3を無色オイルとして得た（6.08g、99%）。

¹H NMR (DMSO-d₆, 400MHz, δ ppm) 7.47 (2H, d, J=8.1Hz), 7.15 (2H, d, J=8.1Hz), 3.36 (2H, t, J=6.5Hz), 3.32 (3H, s), 2.72 (2H, t

, $J = 6.8 \text{ Hz}$), 1.25 (9 H , s).

[0070] ステップ3: *tert*-ブチルメチル [4-(4,4,5,5-テトラメチルー1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)フェネチル]カルバメート (4) の合成

化合物3 (6.08 g , 19.3 mmol)、ビス(ピナコラト)ジボロン (5.70 g , 22.4 mmol)、 KOAc (7.30 g , 74.4 mmol)、及び Pd(dppf)Cl_2 (670 mg , 0.916 mmol) の DMSO (60 mL) 溶液を 80°C で7時間加熱した。反応混合物をろ過した後、ろ液を AcOEt で抽出し、ブラインで洗浄した。

有機層を分離し、 MgSO_4 上で乾燥させた。ろ過、減圧下での濃縮、フラッシュカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、 n -ヘキサン/ $\text{AcOEt} = 4/1$)による精製後、化合物4を無色固体として得た (5.76 g , 82%)。

$^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz , $\delta \text{ ppm}$), 7.59 (2 H , d , $J = 7.9 \text{ Hz}$), 7.21 (2 H , d , $J = 7.4 \text{ Hz}$), 3.36 (2 H , t , $J = 7.2 \text{ Hz}$), 2.76 (2 H , t , $J = 7.2 \text{ Hz}$), 2.73 (3 H , s), 1.36 (9 H , s), 1.28 (12 H , s).

[0071] ステップ4: *N*-メチルー2-[4-(4,4,5,5-テトラメチルー1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)フェニル]エタン-1-アミン (5) の合成

化合物4 (5.76 g , 15.9 mmol) の CH_2Cl_2 (35 mL) 溶液にトリフルオロ酢酸 (TFA) (16 mL) を加え、氷浴で冷却した。得られた混合物を 0°C で2時間攪拌した。溶媒を減圧下で除去し、得られた残渣に飽和 NaHCO_3 水溶液、及び AcOEt を加え、分離した。

有機層をブラインで洗浄し、 MgSO_4 上で乾燥し、濾過し、溶媒を減圧下で除去した。残渣をフラッシュクロマトグラフィー(シリカゲル、 n -ヘキサン/ $\text{AcOEt} = 4/1$)で精製し、化合物5を無色固体として得た (3.50 g , 84%)。

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400MHz, δ ppm), 8.45 (1H, brs), 7.65 (2H, d, $J=8.1$ Hz), 7.28 (2H, d, $J=8.3$ Hz), 3.15 (2H, t, $J=9.2$ Hz), 2.94–2.89 (2H, m), 2.59 (3H, s), 1.28 (12H, s).

[0072] ステップ5: 7- {メチル [4- (4, 4, 5, 5-テトラメチル-1, 3, 2-ジオキサボロラン-2-イル) フェネチル] アミノ} ヘプタン酸メチル (7a) の合成

7-オキソヘプタン酸メチル (化合物6a, 401mg, 2.53mmol)、化合物5 (632mg, 2.42mmol)、及びNaBH(OAc)₃ (820mg, 3.87mmol) のClCH₂CH₂Cl (10mL) 溶液を室温で一晩攪拌した。反応を水でクエンチし、AcOEtで抽出した。有機層を分離し、ブラインで洗浄し、MgSO₄上で乾燥した。

濾過、減圧下での濃縮、及びフラッシュカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、CHCl₃/AcOEt=4/1からCHCl₃/MeOH=9/1) による精製後、化合物7aを無色オイルとして得た (253mg, 26%)。

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400MHz, δ ppm), 7.57 (2H, d, $J=8.8$ Hz), 7.22 (2H, d, $J=8.8$ Hz), 3.57 (3H, s), 2.74–2.64 (2H, m), 2.35–2.23 (4H, m), 2.17 (3H, brs), 1.55–1.43 (2H, m), 1.41–1.32 (2H, m), 1.28 (12H, s), 1.25–1.14 (6H, m).

[0073] ステップ6: メチル7- { [4- (3-シアノ-6-イソプロピル-7-オキソ-4, 7-ジヒドロピラゾロ [1, 5-a] ピリミジン-5-イル) フェネチル] (メチル) アミノ} ヘプタン酸 (9a) の合成

化合物7a (147mg, 0.364mmol)、化合物8 (78.3mg, 0.331mmol)、Na₂CO₃ (70.2mg, 0.662mmol)、及びPd(dppf)Cl₂ (24.2mg, 0.0331mmol)

のDME/H₂O (1.5 mL/0.5 mL) 溶液を110℃で3時間加熱した。反応混合物をろ過した後、ろ液をAcOEtで抽出し、ブラインで洗浄した。

有機層を分離し、MgSO₄上で乾燥させた。ろ過、減圧下での濃縮、フラッシュカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、CHCl₃/AcOEt = 4/1 からCHCl₃/MeOH = 9/1) による精製後、化合物9aを無色固体として得た (23.5 mg, 15%)。

¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz, δ ppm), 8.03 (1H, brs), 7.39 (2H, d, J = 7.9 Hz), 7.32 (2H, d, J = 7.9 Hz), 3.57 (3H, s), 2.88–2.76 (4H, m), 2.60–2.53 (3H, m), 2.38 (3H, s), 2.28 (2H, t, J = 7.2 Hz), 1.54–1.42 (4H, m), 1.30–1.23 (4H, m), 1.18 (6H, d, J = 8.2 Hz); MS (ESI) m/z 478 (MH⁺) .

[0074] ステップ7: 7- { [4- (3-シアノ-6-イソプロピル-7-オキソ-4, 7-ジヒドロピラゾロ [1, 5-a] ピリミジン-5-イル) フェネチル] (メチル) アミノ} ヘプタン酸 (10a) の合成

化合物9a (126 mg, 0.264 mmol) のMeOH (1.2 mL) 溶液にNaOH (4 N, 0.200 mL, 0.791 mmol) の水溶液を加え、混合物を室温で一晩攪拌した。10%クエン酸水溶液を部分的に加え、得られた混合物を室温で攪拌した。不溶物を濾過により収集し、水で洗浄して、化合物10aを無色固体として得た (66.0 mg, 54%)。

¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz, δ ppm), 11.9 (1H, brs), 9.24 (1H, brs), 8.02 (1H, s), 7.33 (4H, d, J = 9.6 Hz), 3.11–2.92 (2H, m), 2.90–2.78 (2H, m), 2.75–2.68 (1H, m), 2.52–2.50 (2H, m), 2.51 (3H, s), 2.21 (2H, t, J = 7.3 Hz), 1.68–1.60 (2H, m), 1.54–1.48 (2H

, m), 1.36–1.27 (4H, m), 1.23 (6H, d, J=6.9 Hz); MS (ESI) m/z 464 (MH⁺).

[0075] <7- { [4- (3-シアノ-6-イソプロピル-7-オキソ-4, 7-ジヒドロピラゾロ [1, 5-a] ピリミジン-5-イル) フェネチル] (メチル) アミノ} -N- {2- [2- (2, 6-ジオキソピペリジン-3-イル) -1, 3-ジオキソインドリン-4-イル] オキシ} エトキシ} エチル} ヘプタンアミド塩酸塩 (14a-塩酸塩) の合成>

ステップ1: {2- [2- (2- { [2- (2, 6-ジオキソピペリジン-3-イル) -1, 3-ジオキソインドリン-4-イル] オキシ} エトキシ) エトキシ] エチル} カルバメート (12) の合成

2- (2, 6-ジオキソピペリジン-3-イル) -4-ヒドロキシイソインドリン-1, 3-ジオン (化合物11、300mg、1.09mmol)、及びPPh₃ (430mg、1.64mmol) のTHF (3mL) 溶液に、2- [2- (2-tert-ブトキシアミノエトキシ) エトキシ] エタノール (300mg、1.20mmol)、及びDMEAD (383mg、1.64mmol) を室温で加えた。反応混合物を室温で一晩攪拌した。反応を水でクエンチし、AcOEtで抽出した。

有機層を分離し、MgSO₄上で乾燥させた。濾過、減圧下での濃縮、フラッシュカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、CHCl₃/AcOEt=4/1~1/1) による精製後、化合物12を無色オイルとして得た (226mg、41%)。

¹H NMR (DMSO-d₆, 400MHz, δ ppm), 11.10 (1H, brs), 7.85–7.78 (1H, m), 7.54 (1H, d, J=7.8 Hz), 7.46 (1H, d, J=7.4 Hz), 6.74 (1H, brs), 5.08 (1H, dd, J=12.8, 5.4 Hz), 4.35 (2H, t, J=4.5 Hz), 3.80 (2H, t, J=4.5 Hz), 3.64 (2H, t, J=4.7 Hz), 3.53–3.47 (2H, m), 3.40–3.36 (2H, m), 3.08–3.01 (2H, m), 2

. 94 – 2. 84 (1 H, m), 2. 62 – 2. 51 (2 H, m), 2. 05 – 2. 01 (1 H, m), 1. 36 (9 H, s).

[0076] ステップ2 : 4 – (2 – (2 – アミノエトキシ) エトキシ) – 2 – (2, 6 – ジオキソピペリジン – 3 – イル) イソインドリン – 1, 3 – ジオン塩酸塩 (13 – 塩酸塩) の合成

化合物12 (226 mg, 0. 448 mmol) の CH_2Cl_2 (2 mL) 溶液に、氷浴で冷却しながらトリフルオロ酢酸 (TFA) (0. 34 mL) を加えた。0℃で3時間攪拌した後、反応混合物を減圧下で濃縮した。残渣に AcOEt 中4 N塩酸を加え、溶媒を減圧下留去して化合物13 – 塩酸塩 (239 mg) を粗生成物として得、これをさらに精製することなく次の反応に使用した。

[0077] ステップ3 : 7 – { [4 – (3 – シアノ – 6 – イソプロピル – 7 – オキソ – 4, 7 – ジヒドロピラゾロ [1, 5 – a] ピリミジン – 5 – イル) フェネチル] (メチル) アミノ} – N – {2 – [2 – (2, 6 – ジオキソピペリジン – 3 – イル) – 1, 3 – ジオキソインドリン – 4 – イル] オキシ} エトキシ} エチル} ヘプタンアミド (14 a) の合成

化合物10a (19. 9 mg, 0. 0429 mmol)、 $i\text{-Pr}_2\text{NEt}$ (0. 0180 mL, 0. 104 mmol)、及び化合物13 – 塩酸塩の粗生成物 (19. 0 mg) の DMF (0. 2 mL) 溶液に、HATU (20. 0 mg, 0. 0526 mmol) を室温で加えた。反応混合物を室温で一晩攪拌した。この反応物に水を加え、続いて AcOEt で2回抽出した。合わせた有機層をブラインで洗浄し、 MgSO_4 上で乾燥し、濾過し、濃縮した。ろ液を濃縮し、逆相フラッシュクロマトグラフィー (MeCN / 0. 1% TFA) で精製して化合物14 aを得、次の工程で塩酸塩に変換した。

[0078] ステップ4 : 7 – { [4 – (3 – シアノ – 6 – イソプロピル – 7 – オキソ – 4, 7 – ジヒドロピラゾロ [1, 5 – a] ピリミジン – 5 – イル) フェネチル] (メチル) アミノ} – N – {2 – [2 – (2, 6 – ジオキソピペリジン – 3 – イル) – 1, 3 – ジオキソインドリン – 4 – イル] オキシ} エトキシ}

｝ エチル｝ ヘプタンアミド塩酸塩（14a-塩酸塩）の合成

化合物14aをAcOEt中にて4N塩酸で処理し、溶媒を減圧下留去して、化合物14a-塩酸塩（5.8mg、化合物10aから15%）を無色固体として得た。

^1H NMR (DMSO- d_6 , 700MHz, δ ppm), δ 13.44 (1H, s), 11.13 (1H, s), 8.41 (1H, s), 7.88 (1H, br s), 7.81 (1H, t, $J=8.4$ Hz), 7.54 (1H, d, $J=8.6$ Hz), 7.50–7.48 (4H, m), 7.47 (1H, d, $J=7.0$ Hz), 5.09 (1H, dd, $J=12.9, 5.6$ Hz), 4.34 (2H, t, $J=4.3$ Hz), 3.81–3.80 (2H, m), 3.66–3.64 (2H, m), 3.53–3.52 (2H, m), 3.41–3.39 (2H, m), 3.32–3.25 (1H, m), 3.19–2.99 (6H, m), 2.91–2.80 (1H, m), 2.82 (3H, s), 2.60–2.58 (2H, m), 2.55–2.49 (2H, m), 2.08–2.06 (2H, m), 2.04–2.00 (1H, m), 1.71–1.63 (2H, m), 1.51–1.46 (2H, m), 1.31–1.25 (4H, m), 1.23 (6H, d, $J=7.0$ Hz, 6H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 175MHz, δ ppm), 172.22, 171.48, 169.37, 166.20, 164.69, 155.18, 154.40, 147.27, 144.73, 142.85, 138.43, 136.42, 132.62, 130.91, 128.34, 128.25, 119.38, 115.65, 114.81, 113.38, 112.16, 73.37, 69.48, 68.99, 68.56, 68.23, 68.06, 54.83, 54.27, 48.11, 37.80, 34.47, 30.33, 28.60, 27.75, 27.53, 25.20, 24.35, 22.47, 21.37, 20.47, 19.34; HRMS calc'd for $\text{C}_{45}\text{H}_{55}\text{N}_8\text{O}_9^+$ 851.4092, found 851.4077; HPLC R_t 12.27 min, 97.84% purit

y.

[0079] ≪例2：10- { [4- (3-シアノ-6-イソプロピル-7-オキソ-4, 7-ジヒドロピラゾロ [1, 5-a] ピリミジン-5-イル) フェネチル] (メチル) アミノ} -N- {2- [2- (2, 6-ジオキソピペリジン-3-イル) -1, 3-ジオキソインドリン-4-イル] オキシ} エトキシ} エチル} デカナミド塩酸塩 (14b-塩酸塩) の合成≫

化合物14b-塩酸塩は、7-オキソヘプタン酸メチル (6a) の代わりに10-オキソデカン酸メチル (6b) を使用した以外は、化合物10a及び化合物14a-塩酸塩の合成に記載した手順と同様の手順で合成した；黄色固体 (5.9mg, 化合物10bから16%)。

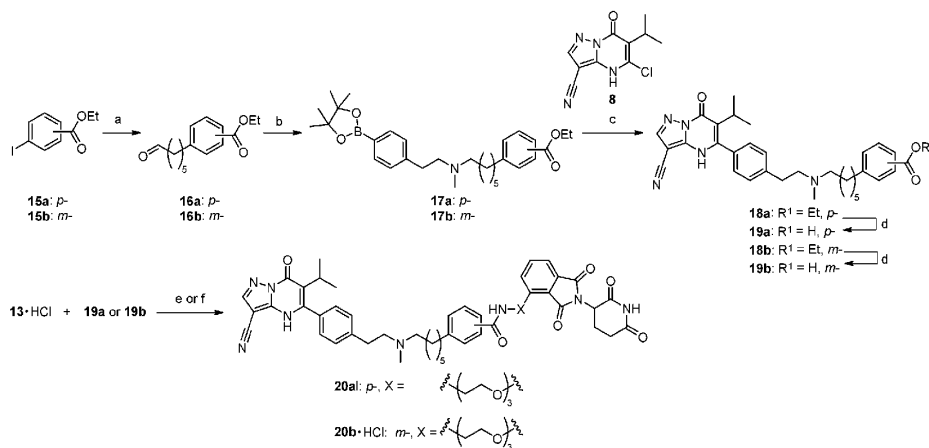
^1H NMR (DMSO- d_6 , 700MHz, δ ppm), 13.43 (1H, s), 11.14 (1H, s), 8.42 (1H, s), 7.84-7.81 (2H, m), 7.54 (1H, d, $J=8.6$ Hz), 7.50 (4H, s), 7.47 (1H, d, $J=7.3$ Hz), 5.10 (1H, dd, $J=12.9, 5.2$ Hz), 4.35 (2H, t, $J=4.3$ Hz), 3.81 (2H, t, $J=4.5$ Hz), 3.65 (2H, t, $J=4.7$ Hz), 3.53 (2H, t, $J=4.7$ Hz), 3.50-3.35 (2H, m), 3.32-3.29 (1H, m), 3.22-3.04 (6H, m), 2.94-2.86 (1H, m), 2.85 (3H, s), 2.61-2.57 (2H, m), 2.55-2.48 (2H, m), 2.06-2.02 (1H, m), 2.04 (2H, t, $J=7.0$ Hz), 1.72-1.60 (2H, m), 1.48-1.44 (2H, m), 1.29-1.23 (10H, m), 1.23 (6H, d, $J=7.0$ Hz); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 175MHz, δ ppm), 172.21, 171.54, 169.35, 166.19, 164.67, 157.35, 157.16, 155.18, 154.39, 147.23, 144.72, 142.84, 138.27, 136.41, 132.62, 130.94, 128.34, 128.25, 119.36, 115.64, 114.80, 11

3. 36, 112. 16, 73. 36, 69. 47, 68. 99, 68. 56, 68. 22, 68. 06, 54. 87, 54. 42, 52. 88, 48. 10, 41. 15, 37. 79, 34. 63, 30. 32, 28. 64, 28. 11, 28. 07, 28. 02, 27. 88, 27. 75, 25. 35, 24. 60, 22. 67, 21. 36, 20. 45, 19. 34, 17. 43, 16. 09, 11. 84; HRMS calcd for $C_{48}H_{61}N_8O_9^+$ 893. 4562, found 893. 4545; HPLC R_t 13. 26 min, 95. 59% purity.

[0080] ≪例3：4-（6-（[4-（3-シアノ-6-イソプロピル-7-オキソ-4, 7-ジヒドロピラゾロ[1, 5-a]ピリミジン-5-イル）フェネチル]（メチル）アミノ}ヘキシル）-N-（2-（2-（2, 6-ジオキソピペリジン-3-イル）-1, 3-ジオキソインドリン-4-イル）オキシ）エトキシ）エトキシ]エチル}ベンズアミド（20a）の合成≫

化合物20aを以下の反応スキームに沿って合成した。

[0081] [化9]



[0082] ステップ1：4-（6-オキソヘキシル）安息香酸エチル（16a）の合成

化合物15a（2. 42 g、8. 77 mmol）、5-ヘキセン-1-オール（1. 05 g、10. 5 mmol）、LiOAc（1. 44 g、21. 8 mmol）、LiCl（371 mg、8. 75 mmol）、テトラブチル

アンモニウムクロリド (1.22 g, 4.39 mmol)、及びPd(OAc)₂ (195 mg, 0.869 mmol) のDMF (10 mL) 溶液を、70℃で6.5時間加熱した。反応混合物をろ過した後、ろ液をAcOEtで抽出し、ブラインで洗浄した。

有機層を分離し、MgSO₄上で乾燥させた。ろ過、減圧下での濃縮、フラッシュカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、n-ヘキサン/AcOEt = 4/1) による精製後、化合物16aを無色オイルとして得た (1.96 g, 90%)。

¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz, δ ppm), 9.65 (1H, t, J = 1.5 Hz), 7.87 (2H, d, J = 8.4 Hz), 7.34 (2H, d, J = 8.4 Hz), 4.29 (2H, q, J = 7.1 Hz), 2.64 (2H, t, J = 7.6 Hz), 2.41 (2H, td, J = 7.0, 2.0 Hz), 1.63–1.51 (4H, m), 1.33–1.26 (2H, m), 1.31 (3H, t, J = 7.2 Hz)。

[0083] ステップ2-4: 4-(6-{[4-(3-シアノ-6-イソプロピル-7-オキソ-4,7-ジヒドロピラゾロ[1,5-a]ピリミジン-5-イル)フェネチル](メチル)アミノ}ヘキシル)安息香酸(19a)の合成

化合物19aは、化合物10aの合成(ステップ5-7)について記載した手順と同様の手順を使用して、化合物8と化合物16aとから合成した; 黄色固体 (25.0 mg、化合物16aから7%)。

¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz, δ ppm), 12.8 (1H, brs), 8.01 (1H, brs), 7.86 (2H, d, J = 7.8 Hz), 7.33–7.31 (6H, m), 3.33–3.24 (1H, m), 3.06–2.93 (4H, m), 2.80 (3H, brs), 2.68–2.64 (4H, m), 1.67–1.56 (4H, m), 1.37–1.29 (4H, m), 1.24 (6H, d, J = 9.8 Hz); MS (ESI) m/z 540 (MH⁺)。

[0084] ステップ5: 4-(6-{[4-(3-シアノ-6-イソプロピル-7-オ

キソー4, 7-ジヒドロピラゾロ [1, 5-a] ピリミジン-5-イル) フェネチル] (メチル) アミノ} ヘキシル) -N- {2- [2- (2, 6-ジオキソピペリジン-3-イル) -1, 3-ジオキソインドリン-4-イル] オキシ} エトキシ) エトキシ] エチル} ベンズアミド (20a) の合成

14a-塩酸塩の合成 (ステップ3) について記載した手順と同様の手順で、化合物13-塩酸塩と化合物19aとから化合物20aを合成した; 黄色固体 (9.1 mg、21%)。

^1H NMR (DMSO- d_6 , 700 MHz, δ ppm), 11.14 (1H, s), 8.44 (1H, t, $J=5.6$ Hz), 8.04 (1H, s), 7.82-7.76 (3H, m), 7.52 (1H, d, $J=7.0$ Hz), 7.47 (1H, d, $J=7.0$ Hz), 7.32-7.26 (6H, m), 5.10 (1H, dd, $J=12.9, 5.2$ Hz), 4.33-4.23 (2H, m), 3.84-3.80 (2H, m), 3.66 (2H, t, $J=4.7$ Hz), 3.57-3.53 (4H, m), 3.43-3.30 (6H, m), 2.92-2.87 (2H, m), 2.74 (1H t, $J=6.5$ Hz), 2.65-2.55 (5H, m), 2.54-2.48 (2H, m), 2.04-2.00 (1H, m), 1.63-1.46 (4H, m), 1.35-1.28 (4H, m), 1.30 (6H, d, $J=18.1$ Hz); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 175 MHz, δ ppm), 172.70, 169.85, 166.69, 166.00, 165.16, 156.73, 155.67, 145.54, 143.81, 136.87, 133.10, 131.75, 128.00, 127.94, 127.16, 127.07, 126.61, 124.80, 119.83, 116.14, 115.26, 110.56, 73.97, 69.95, 69.55, 68.81, 68.68, 68.54, 59.65, 48.59, 34.72, 34.27, 30.85, 30.82, 30.47, 30.28, 29.11, 28.72, 28.22, 21.96, 21.86, 20.66, 20.44, 13.87; HRMS calc for $\text{C}_{51}\text{H}_{59}\text{N}_8\text{O}_9^+ 92$

7.4405, found 927.4390; HPLC R_t 13.73 min, 95.89% purity.

[0085] 《例4：4-（6-（4-（3-シアノ-6-イソプロピル-7-オキソ-4,7-ジヒドロピラゾロ[1,5-a]ピリミジン-5-イル）フェネチル）（メチル）アミノ）ヘキシル）-N-（2-（2-（2,6-ジオキソピペリジン-3-イル）-1,3-ジオキソインドリン-4-イル）オキシ）エトキシ）エチル）ベンズアミド塩酸塩（20b-塩酸塩）の合成》

化合物20b-塩酸塩は、4-（6-オキソヘキシル）安息香酸エチル（16a）の代わりに3-（6-オキソヘキシル）安息香酸エチル（16b）を使用した以外は、化合物20a（ステップ1-5）及び化合物14a-塩酸塩（ステップ4）の合成について記載した手順と同様の手順を使用して合成した；黄色固体（16.6mg、化合物8から17%）。なお、化合物16bは、化合物15aの代わりに化合物15bを使用した以外は、化合物16a（ステップ1）の合成について記載した手順と同様の手順を使用して合成した。

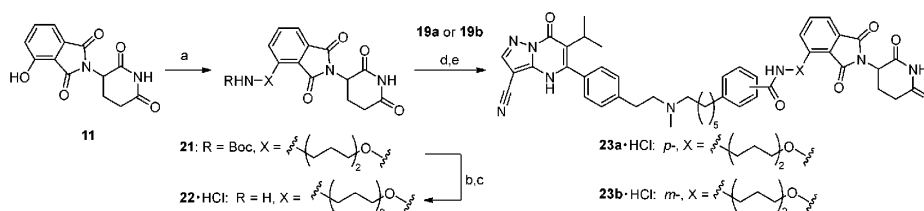
^1H NMR (DMSO- d_6 , 700MHz, δ ppm), 13.44 (1H, s), 11.15 (1H, d, $J=5.2$ Hz, 1H), 8.51 (1H, t, $J=5.6$ Hz), 8.43 (1H, s), 7.82 (2H, t, $J=8.0$ Hz), 7.74-7.67 (2H, m), 7.53-7.47 (6H, m), 7.39-7.36 (2H, m), 5.10 (1H, dd, $J=12.9, 5.2$ Hz), 4.33 (2H, t, $J=4.5$ Hz), 3.81 (2H, t, $J=4.5$ Hz), 3.67 (2H, t, $J=4.7$ Hz), 3.58 (2H, t, $J=4.7$ Hz), 3.53 (2H, t, $J=4.7$ Hz), 3.52-3.37 (6H, m), 3.35-3.27 (1H, m), 3.22-3.00 (4H, m), 2.92-2.87 (1H, m), 2.86 (3H, s), 2.65-2.59 (4H, m), 2.55-2.48 (2H, m), 2.04-2.01 (1H, m), 1.70-1.

6.6 (2H, m), 1.66–1.63 (2H, m), 1.40–1.32 (4H, m), 1.25 (6H, d, $J=7.0$ Hz); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 175 MHz, δ ppm), 172.71, 171.93, 169.86, 166.69, 166.20, 165.17, 155.66, 154.89, 147.74, 145.22, 143.34, 142.15, 138.82, 136.88, 134.24, 133.11, 131.42, 130.98, 128.83, 128.74, 128.04, 127.05, 124.40, 119.84, 116.14, 115.28, 113.86, 112.66, 73.86, 69.96, 69.53, 68.78, 68.69, 68.54, 55.33, 54.83, 48.59, 34.77, 30.82, 30.49, 29.12, 28.25, 28.00, 25.71, 23.07, 22.02, 21.85, 20.96, 19.84; HRMS calcd for $\text{C}_{51}\text{H}_{59}\text{N}_8\text{O}_9^+$ 927.4405, found 927.4388; HPLC t_R 13.80 min, 97.80% purity.

[0086] 《例5：4-（6-（[4-（3-シアノ-6-イソプロピル-7-オキソ-4,7-ジヒドロピラゾロ[1,5-a]ピリミジン-5-イル）フェネチル]（メチル）アミノ）ヘキシル）-N-（9-（[2-（2,6-ジオキソピペリジン-3-イル）-1,3-ジオキソインドリン-4-イル]オキシ）ノニル）ベンズアミド塩酸塩（23a-塩酸塩）の合成》

化合物 23 a-塩酸塩を以下の反応スキームに沿って合成した。

[0087] [化10]



[0088] ステップ1: t_{ert} -ブチル (6- { [2- (2, 6-ジオキソピペリジン-3-イル) -1, 3-ジオキソイソインドリン-4-イル] オキシ} ヘ

キシル) カルバメート (21) の合成

化合物11 (274 mg、1.00 mmol)、tert-ブチル (6-
ブromoヘキシル) カルバメート (280 mg、1.00 mmol)、KHC
O₃ (150 mg、1.50 mmol)、及びKI (17.0 mg、0.10
2 mmol) のDMF (3 mL) 溶液を80℃で14時間加熱した。

室温まで冷却後、水とAcOEtを加えて分離した。有機層を食塩水で洗
浄し、MgSO₄上で乾燥した。濾過し、減圧下濃縮し、フラッシュカラムク
ロマトグラフィー (CHCl₃/AcOEt = 10/1 → 1/1) で精製後、
化合物21を無色オイルとして得た (373 mg、79%)。

¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz, δ ppm), 11.08 (1H,
brs), 7.82–7.78 (1H, m), 7.51 (1H, d, J =
8.2 Hz), 7.44 (1H, d, J = 7.6 Hz), 6.75 (1H,
brs), 5.07 (1H, dd, J = 12.8, 5.4 Hz), 4.20
(2H, t, J = 6.5 Hz), 2.93–2.90 (1H, m), 2.9
3–2.83 (2H, m), 2.61–2.53 (2H, m), 2.04–
2.00 (1H, m), 1.78–1.71 (2H, m), 1.49–1.
26 (6H, m), 1.36 (9H, s)。

[0089] ステップ2: 4-[(6-アミノヘキシル) オキシ]-2-(2,6-ジオ
キソピペリジン-3-イル) イソインドリン-1,3-ジオン塩酸塩 (22
-塩酸塩) の合成

化合物14a-塩酸塩の合成 (ステップ2) について述べたのと同様の手
順で、化合物22-塩酸塩を粗生成物として合成した (404 mg)。これ
をさらに精製することなく、次の反応に直接使用した。

[0090] ステップ3: 4-(6-{[4-(3-シアノ-6-イソプロピル-7-オ
キソ-4,7-ジヒドロピラゾロ[1,5-a]ピリミジン-5-イル) フ
ェネチル] (メチル) アミノ} ヘキシル)-N-(6-{[2-(2,6-
ジオキソピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソインドリン-4-イル
] オキシ} ヘキシル) ベンズアミド塩酸塩 (23a-塩酸塩) の合成

化合物 23a-塩酸塩は、化合物 14a-塩酸塩の合成（ステップ 3 及び 4）について記載した手順と同様の手順を使用して、化合物 19a 及び化合物 22-塩酸塩から合成した；黄色固体（26.0 mg、52%）。

^1H NMR (DMSO- d_6 , 700 MHz, δ ppm), 13.43 (1H, s), 11.12 (1H, s), 8.42 (1H, s), 8.41–8.38 (1H, m), 7.81 (1H, dd, $J=7.0$, 7.0 Hz), 7.76 (2H, d, $J=8.2$ Hz), 7.52 (1H, d, $J=8.6$ Hz), 7.50–7.48 (4H, m), 7.44 (1H, d, $J=6.9$ Hz), 7.27 (2H, d, $J=8.2$ Hz), 5.08 (1H, dd, $J=12.9$, 5.6 Hz), 4.21 (2H, t, $J=6.5$ Hz), 3.32–3.28 (1H, m), 3.27–3.24 (2H, m), 3.20–2.99 (4H, m), 2.91–2.86 (1H, m), 2.83 (3H, s), 2.65–2.61 (2H, m), 2.60–2.56 (2H, m), 2.53–2.47 (2H, m), 2.03–2.00 (1H, m), 1.79–1.75 (2H, m), 1.73–1.65 (2H, m), 1.65–1.57 (2H, m), 1.57–1.52 (2H, m), 1.52–1.46 (2H, m), 1.41–1.36 (2H, m), 1.36–1.31 (4H, m), 1.24 (6H, d, $J=7.0$ Hz); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 175 MHz, δ ppm), 172.20, 169.37, 166.23, 165.28, 164.70, 155.35, 154.38, 147.23, 144.76, 144.71, 142.83, 136.42, 132.60, 131.60, 130.92, 128.32, 128.23, 127.47, 126.55, 126.08, 119.12, 115.54, 114.51, 113.35, 112.14, 73.35, 68.08, 54.82, 54.35, 48.06, 34.14, 30.31, 29.83, 28.62, 28.50, 27.74, 27.48, 25.53, 25.19, 24.45, 22.58, 21.35, 20.45, 19.33; HRMS calc for $\text{C}_{51}\text{H}_{59}\text{N}_8\text{O}_7^+$ 895.4507

, found 895.4490; HPLC R_t 15.16 min, 95.44 % purity.

[0091] 《例6：3-（6-（{[4-（3-シアノ-6-イソプロピル-7-オキソ-4,7-ジヒドロピラゾロ[1,5-a]ピリミジン-5-イル）フェネチル]（メチル）アミノ}ヘキシル）-N-（6-（{[2-（2,6-ジオキソピペリジン-3-イル）-1,3-ジオキソインドリン-4-イル]オキシ}ヘキシル）ベンズアミド塩酸塩（23b-塩酸塩）の合成》

化合物23b-塩酸塩は、化合物23a-塩酸塩の合成（ステップ1-3）について記載した手順と同様の手順を使用して合成した；黄色固体（10.4 mg、11%）。

^1H NMR (DMSO- d_6 , 700 MHz, δ ppm), 13.43 (1H, s), 11.12 (1H, s), 8.47-8.41 (2H, m), 7.80 (1H, dd, $J=8.0, 8.0$ Hz), 7.71-7.64 (2H, m), 7.52-7.43 (6H, m), 7.36-7.34 (2H, m), 5.08 (1H, dd, $J=12.9, 5.6$ Hz), 4.20 (2H, t, $J=6.5$ Hz), 3.33-3.30 (1H, m), 3.28-3.24 (2H, m), 3.17-3.00 (4H, m), 2.90-2.85 (1H, m), 2.82 (3H, s), 2.65-2.61 (2H, m), 2.61-2.56 (2H, m), 2.54-2.47 (2H, m), 2.04-2.00 (1H, m), 1.79-1.75 (2H, m), 1.73-1.66 (2H, m), 1.65-1.59 (2H, m), 1.57-1.52 (2H, m), 1.52-1.47 (2H, m), 1.41-1.37 (2H, m), 1.37-1.31 (4H, m), 1.23 (6H, d, $J=7.0$ Hz); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 175 MHz, δ ppm), 172.20, 169.37, 166.22, 165.51, 164.71, 155.35, 141.62, 136.42, 134.06, 132.60, 130.31, 128.30, 128.20, 127.49, 126.50, 123.87, 119.12, 115.54, 114.52, 7

3.35, 68.08, 54.80, 54.28, 48.06, 34.28, 30.31, 30.00, 28.59, 28.47, 27.74, 27.50, 25.55, 25.21, 24.45, 23.62, 22.52, 21.52, 21.45, 21.35, 20.45, 19.34, 13.36; HRMS calcd for $C_{51}H_{59}N_8O_7^+$ 895.4507, found 895.4494; HPLC R_t 15.26 min, 95.66% purity.

[0092] (2) 神経突起伸長アッセイ

マウス Neuro-2a (N2a) 細胞株は、Japanese Collection of Research Bioresources (JCRB) Cell Bank から入手した。N2a 細胞は、高グルコース、10% FBS、100 U/mL ペニシリン、100 μ g/mL ストレプトマイシンを含むダルベッコ改変イーグル培地（以下、DMEM と呼ぶ。）中、 1×10^4 cells/mL の濃度で、5% CO_2 の加湿雰囲気下、37°C でプレーティングした。

神経突起伸長アッセイでは、培地を 2% FBS 添加 DMEM に変更した。試験化合物とのインキュベーション後、顕微鏡（Olympus CKX41）を用いて細胞の形態を観察した。

分化した細胞は、細胞体の直径の 2 倍以上の長さの神経突起を少なくとも 1 つ持つ細胞と定義した。結果は、カウントした細胞のうち分化した細胞の割合で表した。これらの実験は 3 連で行った。

[0093] (3) ウェスタンブロッティング

N2a 細胞（ 5×10^5 細胞 / 2 mL / ディッシュ）を、10% FBS 添加細胞培養培地中で、指示された濃度の試験化合物で 24 時間処理し、細胞を回収し、SDS サンプリングバッファーで抽出した。ライセートのタンパク質濃度は、BCA タンパク質アッセイを用いて測定した。各ライセートから等量のタンパク質を 5%~20% SDS-ポリアクリルアミドゲルで分離し、バンドを PVDF 膜（Millipore、 β -actin 検出用 #IP

VH00010、H3、H3K4me3、H3K27Ac検出用#1SEQ10100)に転写した。5%脱脂乳を含むTBS-Tでブロッキングした後、トランスブロットした膜を一次抗体でプローブした。前記一次抗体としては、以下のものを用いた：ウサギモノクローナルKDM5A抗体(CST #3876、1:1000希釈)；マウスモノクローナル β -actin抗体(SantaCruz, #sc-47778, 1:2000希釈)；ウサギポリクローナルH3K4me3抗体(Abcam, #ab8580, 1:5000希釈)；ウサギポリクローナルH3K27Ac抗体(Abcam, #ab4729, 1:1000希釈)；又はウサギポリクローナルヒストンH3抗体(Abcam, #ab1791, 1:200000希釈)。プローブした膜をTBS-Tで3回洗浄し、ECLウサギIgGHRP結合全抗体(GEHealthcareLifeScience, #NA934, 1:2500希釈)、又はECLマウスIgGHRP結合全抗体(GEHealthcareLifeScience, #NA931, 1:2500希釈)とインキュベートし、再びTBS-Tで3回洗浄した。免疫プロットを化学発光HRP基質(Millipore, #P90718)を用いた増強化学発光で可視化した。

[0094] (4) 結果と考察

KDM5 PROTACを検討する前に、KDM5Aを阻害する化合物がアルツハイマーを含む神経変性疾患の治療候補となることが示唆されていることから、神経変性疾患の創薬の初期スクリーニングによく用いられる神経突起伸長アッセイで化合物24(図19(A))を試験した。図19(B)に示すように、マウス神経芽細胞腫N2a細胞を0.2 μ Mの化合物24とともに24時間又は48時間培養しても、神経突起伸長を強く誘導することはできなかった。このことは、KDM5Aの触媒機能のみを阻害する従来のKDM5阻害剤は、強い神経突起伸長活性を示さないことを示している。神経突起伸長には、HDAC1及び2と相互作用してヒストンの脱アセチル化を制御する足場を含むKDM5Aの機能全体が重要であるという仮定に基づき

、KDM5阻害剤とHDAC阻害剤ボリノスタット（vorinostat）（25）とを組み合わせた場合の神経突起伸長促進活性を調べた（図19（A））。注目すべきことに、この組み合わせは化合物24又は25単独と比較して、有意に神経突起伸長を誘導した（図19（B））。このことは、KDM5AとHDACとをそれぞれ阻害することで、ヒストンのメチル化とアセチル化との両方を誘導する2つのアプローチが、神経突起伸長を促進する有効な手段であることを示している。これらの結果から、TPD（target protein degradation；標的タンパク質の分解）によるKDM5Aの分解は、KDM5Aの触媒機能と足場機能の両方を破壊するため、N2a細胞の神経突起伸長を強く誘導することができると考えられた。この考えは、強力な神経突起伸長活性を示すKDM5 PROTAC候補の合成を促した。

[0095] なお、図19（A）はKDM5阻害剤24及びボリノスタット（25）の構造であり、図19（B）は24時間及び48時間処理後のN2a分化に対する化合物24及び25による単独処理の効果、並びに化合物24と25との共処理の効果を示す。棒グラフは3つの独立した実験からの平均値±SDを表す。p値はTukeyの多重比較検定を用いて決定した；* $p < 0.05$ である。化合物24及び25で単独処理したN2a細胞、並びに化合物24と25とで共処理したN2a細胞を示す代表的な画像については、図20に示す。

[0096] KDM5 PROTACを設計するために、化合物24をKDM5リガンドとして選択した。KDM5Aに結合した化合物24のシミュレーションを行った結果、ヘキシル鎖がタンパク質表面に向いていることが示唆された。このシミュレーションに基づき、ヘキシル基の末端にリンカーを導入した。

リンカー構造が分解活性に影響することが多いため、アミド結合ポリエチレングリコールリンカー（14）やベンゼン環含有リンカー（20及び23）など、さまざまなリンカーを試した（図21（A））。さらに、PROTAC研究に最も広く利用されているサリドマイド（26）をE3リガンドと

して選択した。

次に、新規KDM5 PROTAC候補として化合物14 a、14 b、20 a、20 b、23 a、及び23 bを合成し（図21（A））（上述の化学式を参照のこと。）、神経突起伸長活性アッセイで合成化合物をスクリーニングした。図21（B）に示すように、化合物14 a、14 b、20 a、20 b、23 a、及び23 bでN2 a細胞を処理すると、神経突起伸長が促進された。化合物14 bは化合物14 aよりも強い神経突起伸長促進作用を示した。このことは、KDM5阻害剤のヘキシル基とリンカーのアミド基の間にスペーサーを導入することが、神経突起伸長促進活性に重要であることを示している。さらに、スペーサーをベンゼン環に置き換えることで、リンカーの配向の剛性に寄与することが期待されるが、その効果は維持又は増大した。重要なことは、メタ置換化合物20 b及び23 bの活性が、パラ置換化合物20 a及び23 aの活性よりも優れていたことである。さらに、炭素リンカー化合物23 bの活性は、ポリエチレンリンカー化合物20 bの活性よりもわずかに優れていた。予備的な構造活性相関研究により、メタ置換ベンゼン環を含むリンカーを持つ化合物が強力な神経突起伸長促進活性を示すことが明らかになった。その結果、化合物20 b及び23 bが顕著な神経突起伸長促進活性を示した。

また、化合物20 b及び23 bを異なる濃度とインキュベーション時間で試験した（図21（C）及び21（D））。両化合物とも0.02–2 μ Mの範囲で神経突起伸長を促進し（図21（C））、0.02 μ Mで適用した場合、時間依存的に神経突起細胞数を増加させた（図21（D））。さらに、E3リガンドである化合物26の神経突起伸長活性への影響を調べた（図21（C））。重要なことは、化合物26は化合物20 b及び23 bと比較して強い神経突起伸長活性を示さなかったことである。これらの結果は、PROTAC化合物を介したKDM5の分解が、強い神経突起伸長をもたらすことを示唆した。

[0097] なお、図21（A）は、KDM5 PROTACのデザインを示し、図21

(B) は、48時間処理後のN2a分化に対する0.2 μ Mの化合物14a、14b、20a、20b、23a、及び23bの効果を示し、図21 (C) は、48時間処理後の化合物20b、23b、及び26の用量依存的N2a細胞神経突起伸長活性を示し、図21 (D) は、0.02 μ Mにおける化合物20b及び23bの時間依存的N2a細胞神経突起伸長活性を示す。棒グラフは3つの独立した実験からの平均値 $\pm$ SDを表す。試験化合物で処理したN2a細胞を示す代表的な画像については、図22～24に示す。

[0098] 続いて、化合物20b及び23bのKDM5A分解活性をウェスタンブロット分析で調べ、それらがKDM5 PROTACとして働くことを確認した。N2a細胞を化合物20b及び23bで処理すると、KDM5Aレベルは用量依存的に減少した(図25 (A))。化合物20b及び23bの親化合物である化合物24と26との組み合わせは、KDM5Aレベルを減少させなかった(図25 (B))。さらに、化合物20b及び23bによるKDM5Aレベルの減少は、プロテアソーム阻害剤MG-132によって妨害された(図25 (C) 及び25 (D))。これらの結果から、化合物20b及び23bはPROTACとして働き、N2a細胞のKDM5Aレベルを低下させることが示唆された。

[0099] なお、図25は、N2a細胞におけるKDM5Aレベルのウェスタンブロット検出を示しており、図25 (A) は、化合物20b及び23bで24時間処理した後を示し、図25 (B) は、化合物23bで24時間処理した後、並びに化合物24と26とで24時間共処理した後を示し、図25 (C) は、化合物20bとプロテアソーム阻害剤MG-132とで24時間共処理した後を示し、図25 (D) は、プロテアソーム阻害剤MG-132と化合物23bとで24時間共処理した後を示す。

[0100] 最後に、PROTAC化合物20b及び23bがヒストンのメチル化とアセチル化に及ぼす影響について調べた。H3K4me3はKDM5sの基質であるため、KDM5 PROTACで処理したN2a細胞のH3K4のメチル化レベルを解析した。図26に示すように、20b及び23bで処理する

と、用量依存的にH3K4me3レベルが蓄積した。このことは、20b及び23bがN2a細胞のKDM5sの触媒機能を阻害していることを示唆している。その後、化合物20b及び23bが、HDAC1と2との相互作用を通して、HDAC1と2との直接基質であり、KDM5sの間接基質でもあるヒストンH3のアセチル化リジン27（H3K27Ac）のレベルに影響を及ぼすかどうかを調べた。予想通り、20b及び23bはH3K27Acレベルも上昇させた（図26）。なお、化合物20b及び23bは*in vitro*アッセイにおいて、HDAC1に影響を与えることなくKDM5Aを強く阻害した（図27）。ここで、HDAC1への阻害活性を評価する際に、陽性対照としてHDAC阻害剤であるボリノスタット（25）を用い、その阻害活性は1 μ Mで99%阻害であった。これらの結果は、20b及び23bによるKDM5Aの分解が、N2a細胞において、H3K4me3を制御するKDM5sの触媒機能と、HDAC1と2との脱アセチル化活性を妨害するKDM5sの足場機能の両方を阻害したことを示している。

[0101] なお、図26は、化合物20b及び23bで24時間処理したN2a細胞におけるH3K4me3及びH3K27Acレベルのウェスタンブロット検出を示す。

[0102] （5）結論

KDM5sの阻害が神経変性疾患に有効である可能性が報告されているが、本研究では、従来のKDM5阻害剤24では、N2a細胞の強い神経突起伸長活性は得られなかった。一方、化合物24とHDAC阻害剤ボリノスタット（25）との併用は、N2a細胞の神経突起伸長を有意に誘導したことから、KDM5の触媒活性とHDACの足場となる結合との両方を阻害することが、神経突起伸長に影響を与えることが示唆された。そこで、これらの両方の機能を阻害できるKDM5 PROTACに注目し、KDM5 PROTAC候補として化合物14a、14b、20a、20b、23a、及び23bを合成した。その中で、化合物20b及び23bはN2a細胞の神経突起伸長を著しく促進した。さらに生物学的アッセイにより、N2a細胞を化合

物 2 0 b 及び 2 3 b で処理すると、P R O T A C を介したプロテアソーム分解により K D M 5 A が分解されることが示唆された。この分解は、従来の K D M 5 阻害剤とは対照的に、K D M 5 の機能全体に影響を及ぼしたため、K D M 5 P R O T A C は神経疾患の治療薬として有望であると考えている。

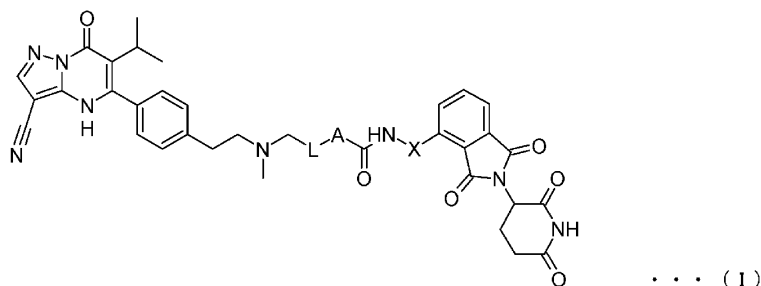
産業上の利用可能性

[0103] 本化合物は、細胞や動物実験において、抗がん作用などの顕著な薬理学的効果を奏する。

請求の範囲

[請求項1] 下記式（I）で表される化合物又はその塩。

[化1]



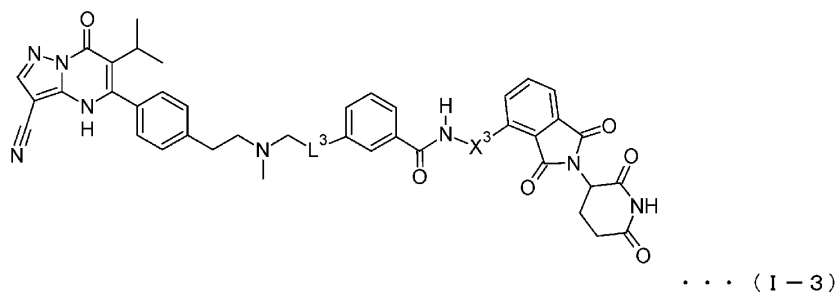
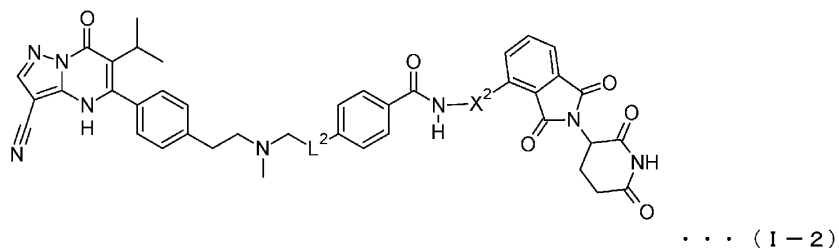
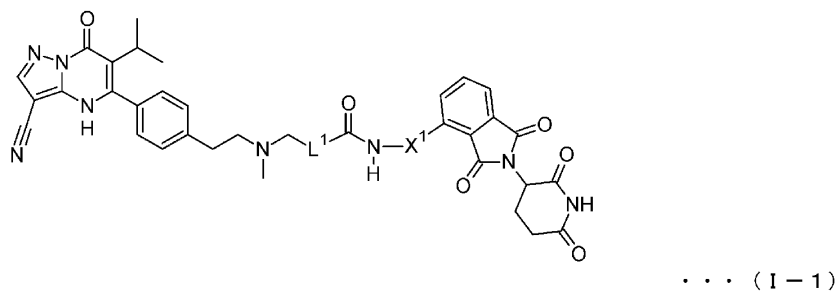
式（I）中、Aは単結合若しくは置換又は無置換の2価の芳香族炭化水素基であり、Lは置換又は無置換の炭素数1～13の直鎖又は分岐鎖のアルキレン基であり、Xは $-(CH_2CH_2O)_s-$ 、 $-(CH_2CH_2CH_2O)_s-$ 、 $-(CH(CH_3)CH_2O)_s-$ 、又は $-(CH_2)_tO-$ で表される基であり、sは1～8の数であり、tは2～10の数である。

[請求項2] 前記式（I）中、Aは単結合又はフェニレン基であり、Lは炭素数3～10の直鎖のアルキレン基であり、Xは $-(CH_2CH_2O)_s-$ 、 $-(CH_2CH_2CH_2O)_s-$ 、 $-(CH(CH_3)CH_2O)_s-$ 、又は $-(CH_2)_tO-$ で表される基であり、sは1～5の数であり、tは2～10の数である、請求項1に記載の化合物又はその塩。

[請求項3] 前記式（I）中、Aは単結合、p-フェニレン基、又はm-フェニレン基であり、Lは炭素数3～10の直鎖のアルキレン基であり、Xは $-(CH_2CH_2O)_s-$ 、 $-(CH_2CH_2CH_2O)_s-$ 、又は $-(CH_2)_tO-$ で表される基であり、sは1～5の数であり、tは2～10の数である、請求項1に記載の化合物又はその塩。

[請求項4] 前記化合物が、下記式（I-1）で表される化合物、下記式（I-2）で表される化合物、又は下記式（I-3）で表される化合物である、請求項1に記載の化合物又はその塩。

[化2]



式 (I-1) 中、 L^1 は炭素数 3～10 の直鎖のアルキレン基であり、 X^1 は $-(CH_2CH_2O)_s-$ で表される基であり、 s は 1～5 の数であり、式 (I-2) 中、 L^2 は炭素数 3～10 の直鎖のアルキレン基であり、 X^2 は $-(CH_2CH_2O)_s-$ 又は $-(CH_2)_tO-$ で表される基であり、 s は 1～5 の数であり、 t は 2～10 の数であり、式 (I-3) 中、 L^3 は炭素数 3～10 の直鎖のアルキレン基であり、 X^3 は $-(CH_2CH_2O)_s-$ 又は $-(CH_2)_tO-$ で表される基であり、 s は 1～5 の数であり、 t は 2～10 の数である。

[請求項5]

前記化合物が、

前記式 (I-1) 中、 L^1 が炭素数 5 の直鎖のアルキレン基であり、 X^1 が $-(CH_2CH_2O)_s-$ で表される基であり、 s が 3 である

化合物、

前記式 (I-1) 中、 L^1 が炭素数 8 の直鎖のアルキレン基であり、 X^1 が $-(CH_2CH_2O)_s-$ で表される基であり、 s が 3 である化合物、

前記式 (I-2) 中、 L^2 が炭素数 5 の直鎖のアルキレン基であり、 X^2 が $-(CH_2CH_2O)_s-$ で表される基であり、 s が 3 の数である化合物、

前記式 (I-2) 中、 L^2 が炭素数 5 の直鎖のアルキレン基であり、 X^2 が $-(CH_2)_tO-$ で表される基であり、 t が 6 の数である化合物、

前記式 (I-3) 中、 L^3 は炭素数 5 の直鎖のアルキレン基であり、 X^3 が $-(CH_2CH_2O)_s-$ で表される基であり、 s は 3 の数である化合物、又は

前記式 (I-3) 中、 L^3 は炭素数 5 の直鎖のアルキレン基であり、 X^3 が $-(CH_2)_tO-$ で表される基であり、 t が 6 の数である化合物、

である、請求項 4 に記載の化合物又はその塩。

- [請求項6] 請求項 1 ～ 5 のいずれか一項に記載の化合物又はその塩を含む医薬品組成物。
- [請求項7] KDM5 阻害剤及び KDM5 分解剤である請求項 6 に記載の医薬品組成物。
- [請求項8] KDM5 関連疾患の予防及び／又は治療剤である、請求項 6 に記載の医薬品組成物。
- [請求項9] KDM5 阻害作用及び KDM5 分解作用が有効な KDM5 関連疾患の予防及び／又は治療における使用のための、請求項 1 ～ 5 のいずれか一項に記載の化合物又はその塩。
- [請求項10] KDM5 阻害作用及び KDM5 分解作用が有効な KDM5 関連疾患の予防及び／又は治療における使用のための、請求項 6 に記載の医薬

品組成物。

- [請求項11] 請求項 1 ～ 5 のいずれか一項に記載の化合物又はその塩を患者に投与することを含む、K D M 5 阻害作用及びK D M 5 分解作用が有効な K D M 5 関連疾患を予防及び／又は治療する方法。
- [請求項12] 請求項 6 に記載の医薬品組成物を患者に投与することを含む、K D M 5 阻害作用及びK D M 5 分解作用が有効な K D M 5 関連疾患を予防及び／又は治療する方法。
- [請求項13] K D M 5 阻害作用及びK D M 5 分解作用が有効な K D M 5 関連疾患の予防及び／又は治療のための医薬品組成物の製造における、請求項 1 ～ 5 のいずれか一項に記載の化合物又はその塩の使用。
- [請求項14] 請求項 1 ～ 5 のいずれか一項に記載の化合物又はその塩を有効成分として含むK D M 5 関連疾患の予防及び／又は治療剤。