

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6357292号
(P6357292)

(45) 発行日 平成30年7月11日(2018.7.11)

(24) 登録日 平成30年6月22日(2018.6.22)

(51) Int.Cl.

F I

C O 7 D 417/06	(2006.01)	C O 7 D 417/06	C S P
A 6 1 K 31/501	(2006.01)	A 6 1 K 31/501	
C O 7 D 417/14	(2006.01)	C O 7 D 417/14	
A 6 1 K 31/5377	(2006.01)	A 6 1 K 31/5377	
C O 7 D 409/12	(2006.01)	C O 7 D 409/12	

請求項の数 35 (全 115 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2015-548050 (P2015-548050)
(86) (22) 出願日	平成25年12月16日 (2013.12.16)
(65) 公表番号	特表2016-508969 (P2016-508969A)
(43) 公表日	平成28年3月24日 (2016.3.24)
(86) 国際出願番号	PCT/US2013/075505
(87) 国際公開番号	W02014/093988
(87) 国際公開日	平成26年6月19日 (2014.6.19)
審査請求日	平成28年12月14日 (2016.12.14)
(31) 優先権主張番号	61/737, 658
(32) 優先日	平成24年12月14日 (2012.12.14)
(33) 優先権主張国	米国 (US)

(73) 特許権者	515162165 フューシス セラピューティクス、インク . アメリカ合衆国、92121 カリフォル ニア州、サン ディエゴ 3210 メリ ーフィールド ロウ
(74) 代理人	100104411 弁理士 矢口 太郎
(72) 発明者	カークパトリック、ディー.、リン アメリカ合衆国、92121 カリフォル ニア州、サン ディエゴ 3210 メリ ーフィールド ロウ

最終頁に続く

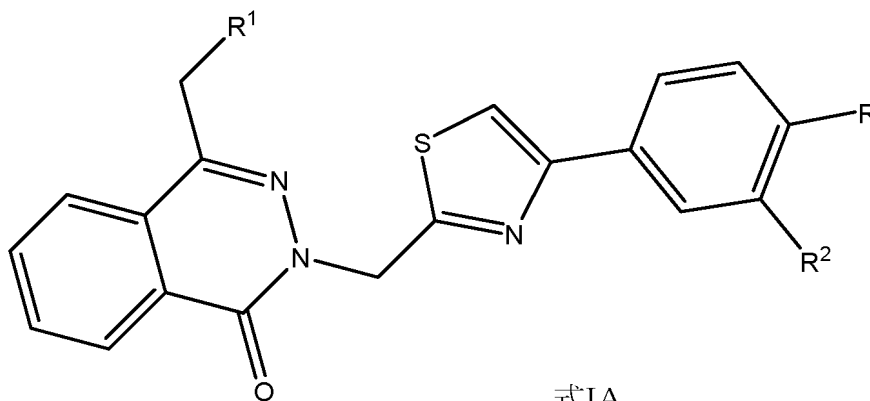
(54) 【発明の名称】 CNKSR1を阻害するための方法及び組成物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

式 I A の化合物、またはそれらの薬学的に許容可能な塩であって、

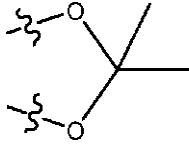
【化1】



式中、

R が、 $-C_1 - C_4$ アルキル、 $-NO_2$ 、 $-NH_2$ 、 $-NH SO_2 CH_3$ 、 $-C_3 - C$
5 シクロアルキル、もしくは $-CF_3$ であり、
R² が H であり、または R 及び R² が

【化2】

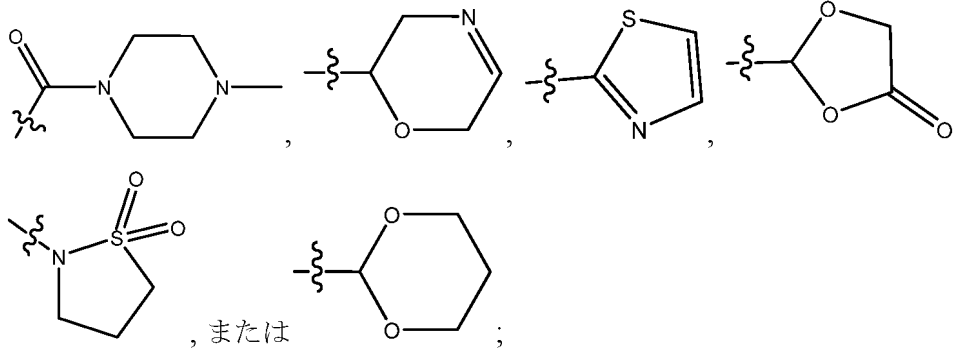


として組み合わせられて、それらに結合する炭素と共に二環式部位を形成し、

R^1 が、 $-C(O)O(C_1 - C_4 \text{ アルキル})$ 、 $-C(O)OH$ 、 $-C_1 - C_4 \text{ アルキル} - OH$ 、 $-CH(OH)(CH_2)_nNH_2$ 、 $-CH_2(OH)$ 、 $-CH(OH)CH_2NO_2$ 、 $-(CH_2)_nNO_2$ 、 $-CHO$ 、 $-C(O)NHR^3$ 、

10

【化3】



20

であり、

n は、1、2、3、もしくは4であり、

R^3 は、 $-C_1 - C_4 \text{ アルキル}$ 、 $-C_1 - C_2 \text{ アルキル} - C(O)NH_2$ 、もしくは $-S(O)_2CH_3$ であり、

R が NO_2 、 CF_3 、および Me から選択される場合は R^1 が $-C(O)OCH_2CH_3$ ではない、

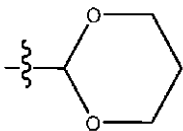
化合物、またはそれらの薬学的に許容可能な塩。

【請求項2】

請求項1記載の化合物において、 R^1 が

30

【化4】



である、化合物。

【請求項3】

請求項1記載の化合物において、 R^1 が $-C(O)O(C_1 - C_4 \text{ アルキル})$ である、化合物。

【請求項4】

請求項1記載の化合物において、 R^1 が $-C_1 - C_4 \text{ アルキル} - OH$ である、化合物。

40

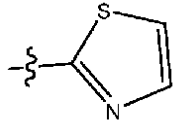
【請求項5】

請求項1記載の化合物において、 R^1 が $-C(O)NHR^3$ である、化合物。

【請求項6】

請求項1記載の化合物において、 R^1 が

【化 5】



である、化合物。

【請求項 7】

請求項 1 記載の化合物において、R がメチルである、化合物。

【請求項 8】

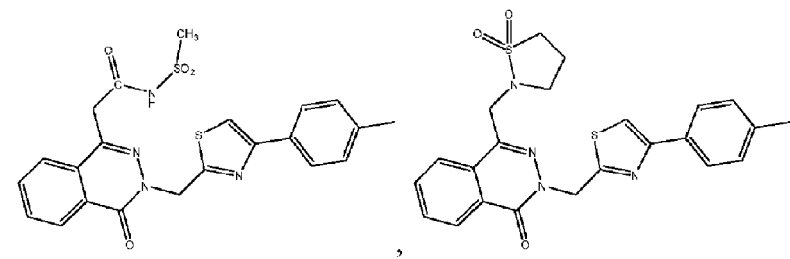
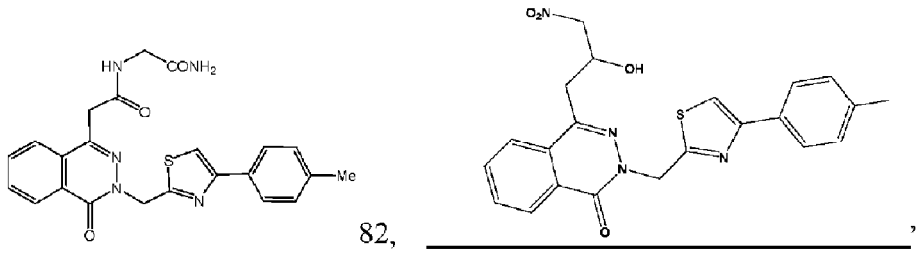
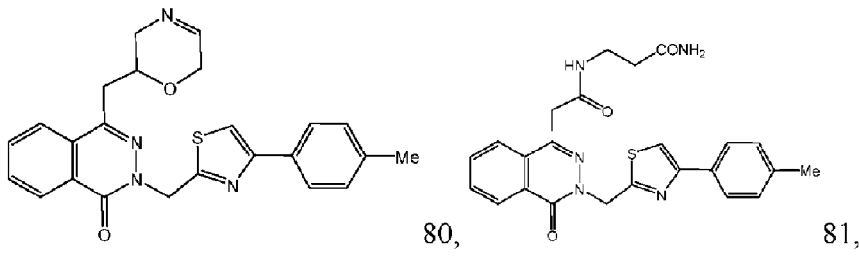
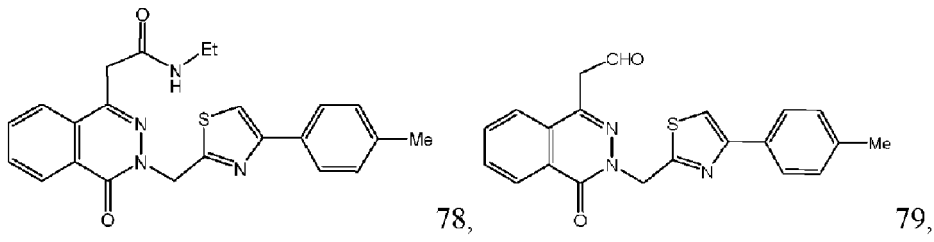
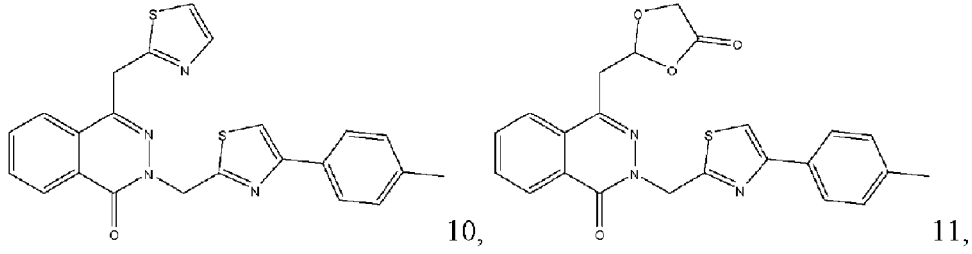
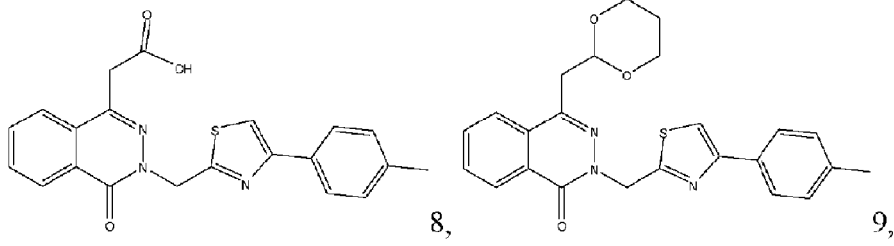
請求項 1 記載の化合物において、R が - C₃ - C₅ シクロアルキルである、化合物。

10

【請求項 9】

請求項 1 記載の化合物であって、

【化 6】

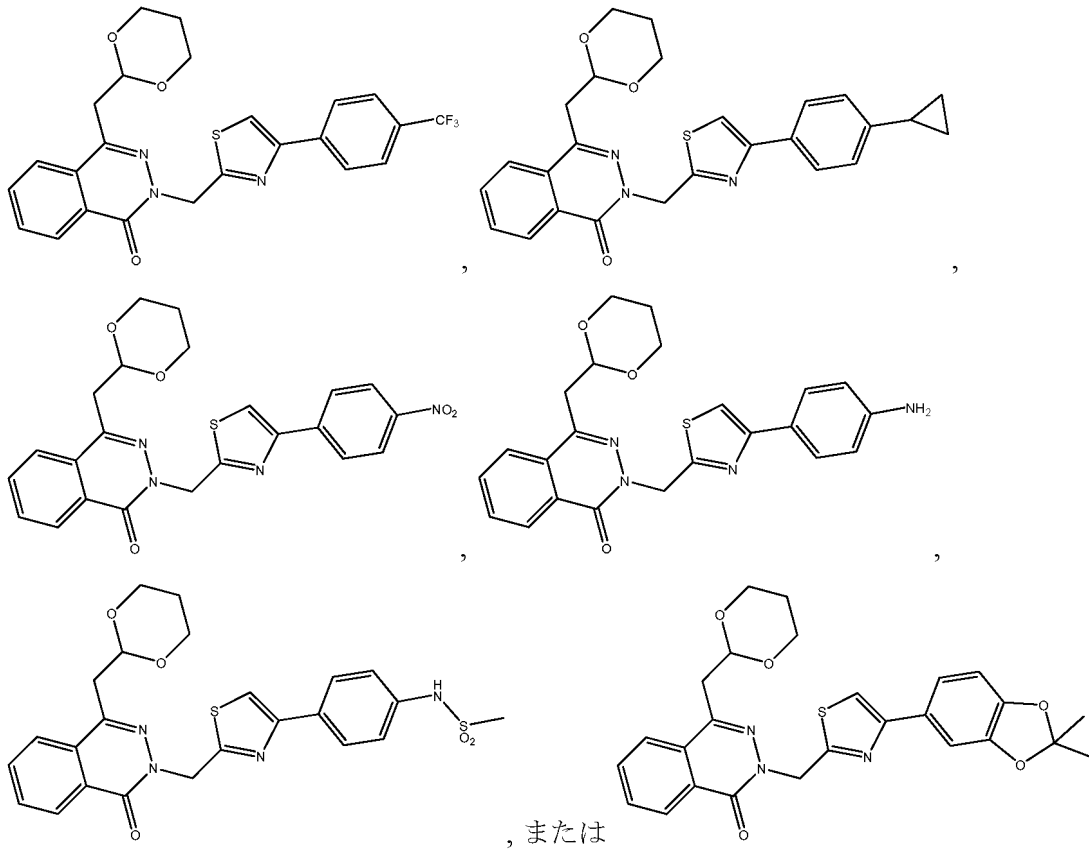


10

20

30

40

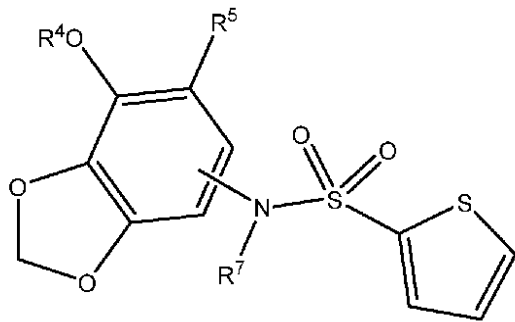


から選択される、化合物。

【請求項10】

式IIAの化合物、またはそれらの薬学的に許容可能な塩であって、

【化7】



式IIA

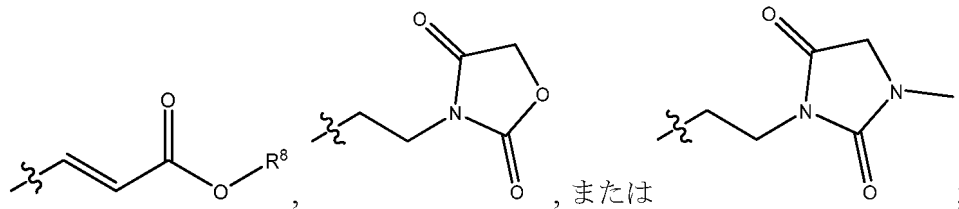
式中、

R^4 が - H もしくは - $C_1 - C_4$ アルキルであり、

R^5 が、 - $C_1 - C_4$ アルキル - OH、 - $C_2 - C_6$ アルケニル - OH、 - $C_1 - C_4$ アルキル - C(O) - $C_1 - C_4$ アルキル、 - $C_2 - C_6$ アルケニル - C(O) - $C_1 - C_4$ アルキル、 - $C_1 - C_4$ アルキル - C(O) - $C_3 - C_5$ シクロアルキル、 - $C_2 - C_6$ アルケニル - C(O) - $C_3 - C_5$ シクロアルキル、

40

【化 8】



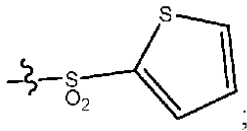
であり、

R^8 が $C_1 - C_4$ アルキルもしくは $-C_3 - C_5$ シクロアルキルであり、

R^7 が H もしくは

10

【化 9】



である、

化合物、またはそれらの薬学的に許容可能な塩。

【請求項 1 1】

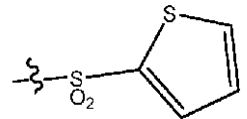
請求項 1 0 記載の化合物において、 R^4 がメチルである、化合物。

20

【請求項 1 2】

請求項 1 0 記載の化合物において、 R^7 が

【化 1 0】



である、化合物。

【請求項 1 3】

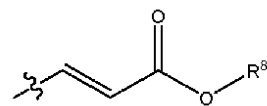
請求項 1 0 記載の化合物において、 R^5 が $-C_2 - C_6$ アルケニル - OH もしくは $-C_2 - C_6$ アルケニル - C(O) - $C_1 - C_4$ アルキルである、化合物。

30

【請求項 1 4】

請求項 1 0 記載の化合物において、 R^5 が

【化 1 1】



である、化合物。

【請求項 1 5】

請求項 1 4 記載の化合物において、 R^8 がシクロプロピルもしくはシクロブチルである、化合物。

40

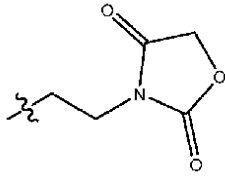
【請求項 1 6】

請求項 1 0 記載の化合物において、 R^7 が H である、化合物。

【請求項 1 7】

請求項 1 0 記載の化合物において、 R^5 が

【化 1 2】



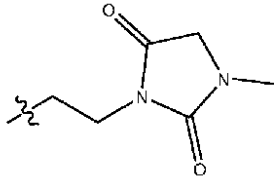
である、化合物。

【請求項 1 8】

請求項 1 0 記載の化合物において、R⁵が

10

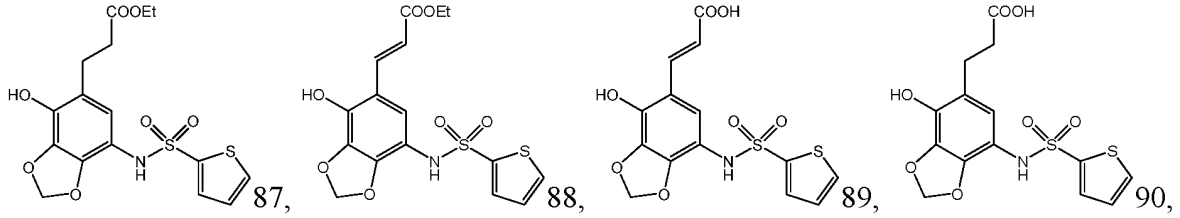
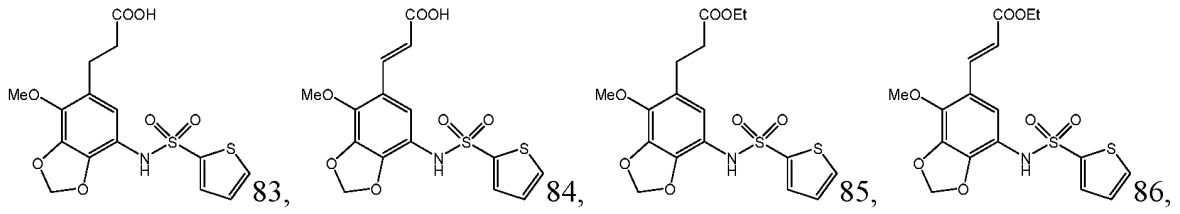
【化 1 3】



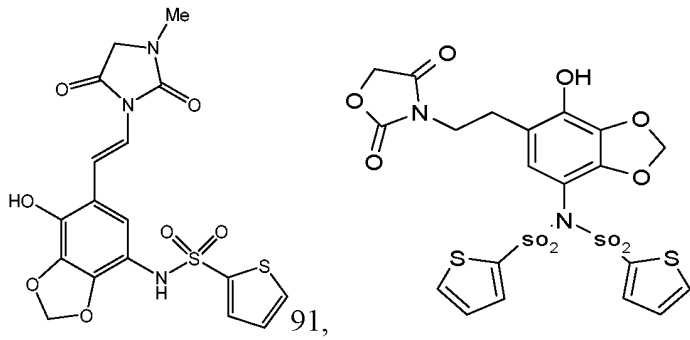
である、化合物。

【請求項 1 9】

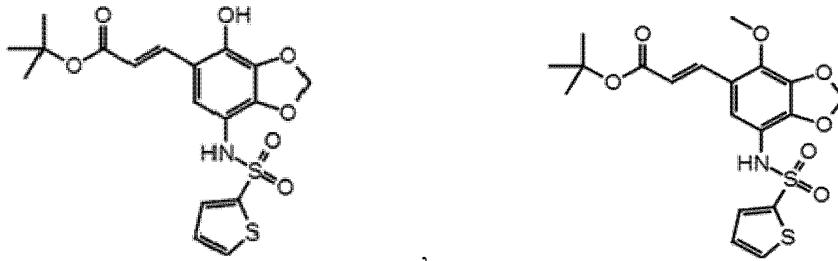
【化 1 4】



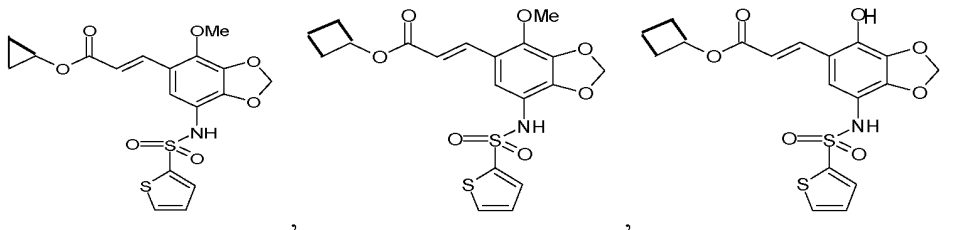
10

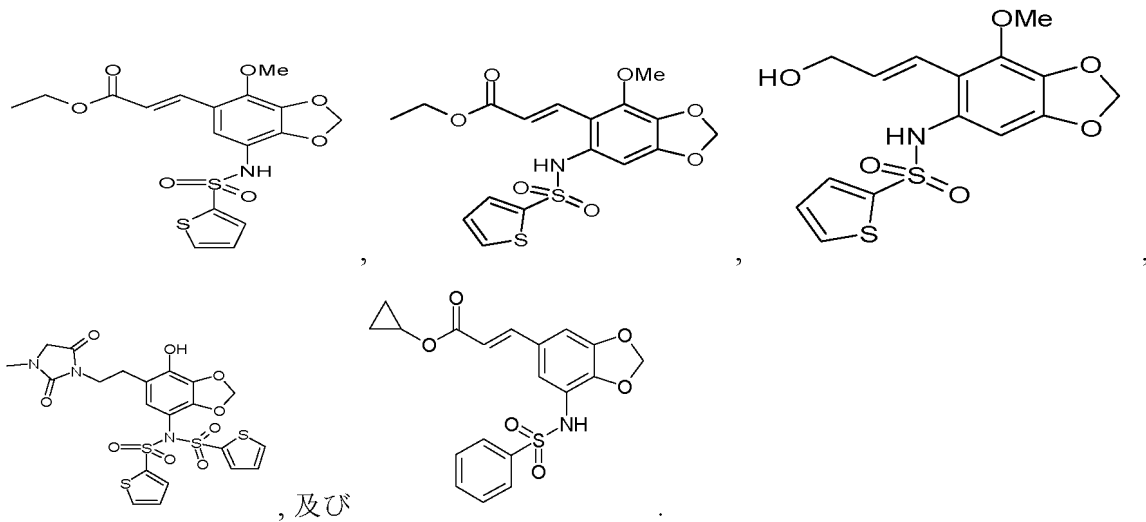


20



30





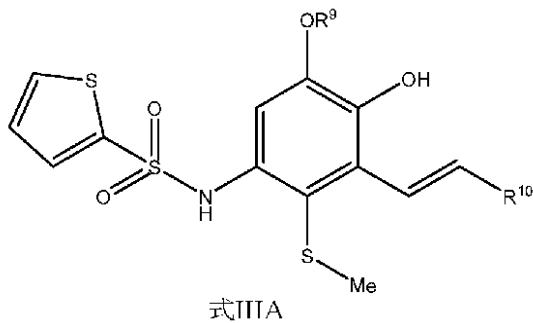
10

から選択される、化合物。

【請求項 20】

式 I I I A の化合物、またはそれらの薬学的に許容可能な塩であって、

【化 15】



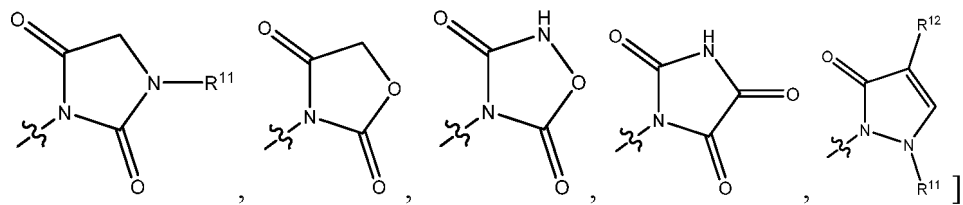
20

式中、

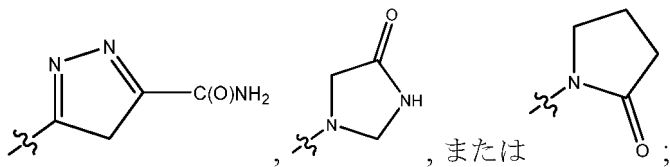
R⁹ が - H もしくは - C₁ - C₄ アルキルであり、

R¹⁰ が、 - C (O) O C₁ - C₄ アルキル、 - C (O) O H、

【化 16】



30



40

であり、

R¹¹ が H もしくは C₁ - C₄ アルキルであり、

R¹² が C₁ - C₄ アルキルである、

化合物、またはそれらの薬学的に許容可能な塩。

【請求項 21】

請求項 20 記載の化合物において、 R⁹ がメチルである、化合物。

【請求項 22】

50

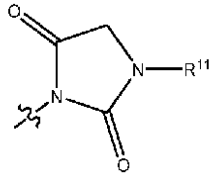
請求項 2 0 記載の化合物において、 R^{10} が $-C(O)OC_{1-4}$ アルキルである、化合物。

【請求項 2 3】

請求項 2 2 記載の化合物において、 C_{1-4} アルキルがエチルである、化合物。

【請求項 2 4】

請求項 2 0 記載の化合物において、 R^{10} が
【化 1 7】



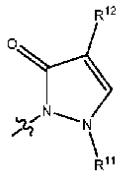
10

である、化合物。

【請求項 2 5】

請求項 2 0 記載の化合物において、 R^{10} が

【化 1 8】



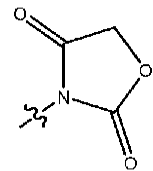
20

である、化合物。

【請求項 2 6】

請求項 2 0 記載の化合物において、 R^{10} が

【化 1 9】



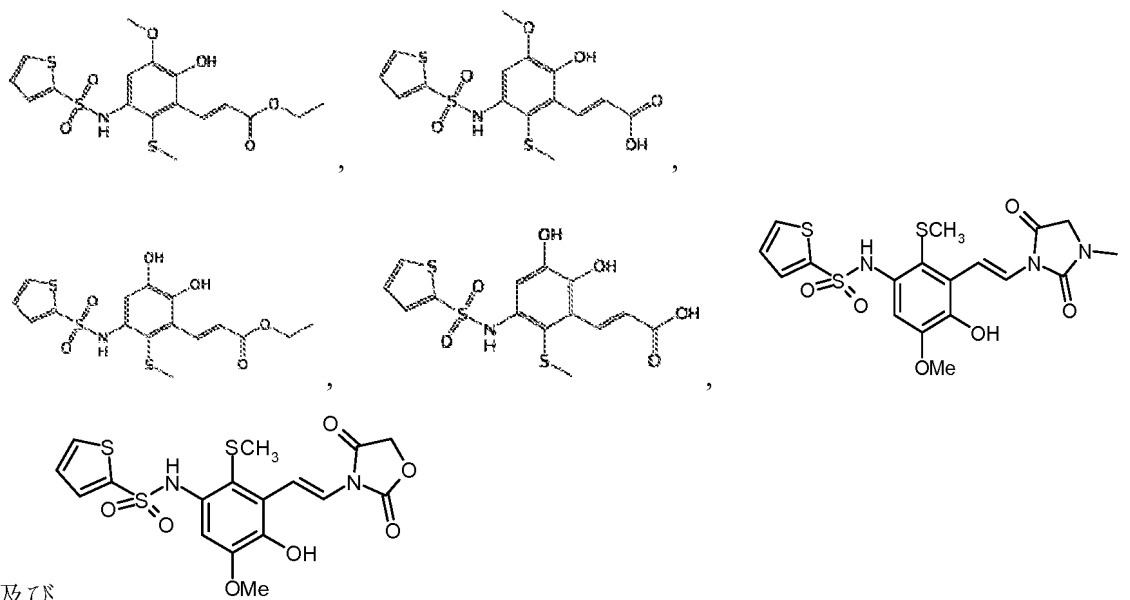
30

である、化合物。

【請求項 2 7】

請求項 2 0 記載の化合物であって、

【化20】



10

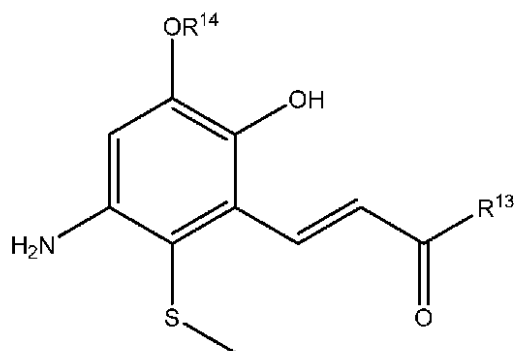
から選択される、化合物。

【請求項28】

20

式I V Aの化合物、またはそれらの薬学的に許容可能な塩であって、

【化21】



30

式I V A

式中、

R^{13} が -OH もしくは $-OC_1-C_4$ アルキル であり、

R^{14} が H もしくは C_1-C_4 アルキル である、

化合物、またはそれらの薬学的に許容可能な塩。

【請求項29】

請求項28記載の化合物において、 R^{13} がメチルである、化合物。

40

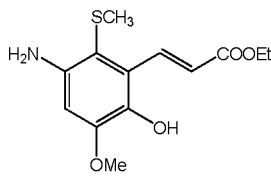
【請求項30】

請求項28記載の化合物において、 R^{14} が O-メチルである、化合物。

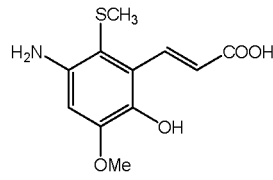
【請求項31】

請求項28記載の化合物であって、

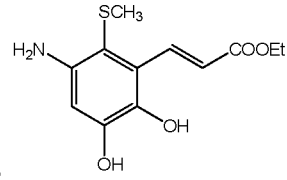
【化 2 2】



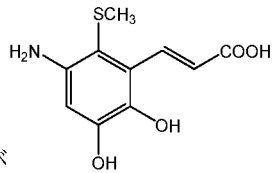
107,



108,



109,



110.

及び

から選択される、化合物。

【請求項 3 2】

癌を治療するための組成物であって、有効量の請求項 1 ~ 3 1 記載の化合物を有する、組成物。

【請求項 3 3】

請求項 3 2 記載の組成物において、前記癌が、副腎皮質癌腫、肛門癌、膀胱癌、脳腫瘍、乳癌、カルチノイド腫瘍、胃腸癌、原発腫瘍が不明の癌腫、子宮頸癌、結腸癌、子宮内膜癌、食道癌、肝外胆管癌、ユーイング腫瘍 (PNET)、頭蓋外胚細胞腫瘍、眼の癌、眼内黒色腫、胆嚢癌、胃癌 (胃)、胚細胞腫瘍、性腺外腫瘍、妊娠性絨毛腫瘍、頭頸部癌、下咽頭癌、島細胞癌腫、腎臓癌、喉頭癌、白血病、成人急性リンパ芽球性白血病、小児急性リンパ芽球性白血病、舌及び口腔癌、肝臓癌、肺癌、リンパ腫、AIDS 関連リンパ腫、中枢神経系 (原発) リンパ腫、皮膚 T 細胞リンパ腫、ホジキン病、成人リンパ腫、ホジキン病、小児リンパ腫、非ホジキン病、成人リンパ腫、非ホジキン病、小児、悪性中皮腫、黒色腫、メルケル細胞癌腫、原発腫瘍不明の転移性扁平頸部癌、多発性骨髄腫及び他の形質細胞腫瘍、菌状息肉症、骨髄異形成症候群、骨髄増殖性障害、上咽頭癌、神経芽細胞種、口腔癌、中咽頭癌、骨肉腫、上皮性卵巣癌、卵巣胚細胞腫瘍、膵臓癌、外分泌系膵臓癌、島細胞癌腫、副鼻腔及び鼻腔癌、副甲状腺癌、陰茎癌、脳下垂体癌、形質細胞腫瘍、前立腺癌、横紋筋肉腫、小児、直腸癌、腎細胞癌、腎盂尿管癌、移行上皮癌、唾液腺癌、セザリー症候群、皮膚癌、皮膚癌、皮膚 T 細胞リンパ腫、皮膚癌、カボジ肉腫、皮膚癌、黒色腫、小腸癌、軟部肉腫、成人軟部肉腫、小児、胃癌、精巣癌、胸腺腫、悪性、甲状腺癌、尿道癌、子宮癌、肉腫、稀な小児癌、陰癌、外陰癌、ウィルムス腫瘍、並びにこれらの組み合わせから選択されるものである、組成物。

【請求項 3 4】

CNKSR1 を阻害するための組成物であって、有効量の請求項 1 ~ 3 1 記載の化合物を有する、組成物。

【請求項 3 5】

請求項 1 0 記載の化合物において、 R^5 が $-C_1 - C_4$ アルキル - OH または $-C_1 - C_4$ アルキル - C(O) - $C_1 - C_4$ アルキルである、化合物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

相互参照

本出願は、2013年12月14日に出願された、Methods and Compositions for Inhibiting CNKSR1 と題する米国特許仮出願第 61 / 737 , 658 号に対する優先権を主張する。

【0002】

政府の利権

米国政府は、テキサス州 CPRIT の High Impact Grant [®] KRAS the elephant in the room of cancer chem

10

20

30

40

50

otherapy』第RP100686号に従う、本発明に対する一定の権利を有しうる。

【背景技術】

【0003】

RAS遺伝子(KRAS、HRAS、及びNRAS)のうちの少なくとも1つの単一点突然変異は、多くのヒトの癌において、とくに結腸、肺、及び膵臓癌において見られる。RAS突然変異は、KRASにおいて最も一般的に(約85%)、NRASにおいてはより低い頻度で(約12%)、またHRASにおいては稀に(3%)見られる。KRASは2つのスプライスパリアントA及びBをコードし、エクソン4の代替的利用に起因する異なるC末端配列を伴う。変異型KRAS(mut-KRAS)は、全てのヒト腫瘍の最大約25%に存在しうる。mut-KRASは、腫瘍の成長及び治療に対する耐性を推進するにあたり重要な役割を果たしうる。mut-KRAS活性に対して穏やかな効果しか有さない薬剤でさえ、またはmut-KRASのサブセットの選択的阻害を示す薬剤は、治療に重要な影響を有し、また苦しむ癌患者及び罹患率を低下させうる。従って、mut-KRAS腫瘍の成長を阻害する新しい薬剤の発見が望ましい。

この出願の発明に関連する先行技術文献情報としては、以下のものがある(国際出願日以降国際段階で引用された文献及び他国に国内移行した際に引用された文献を含む)。

(先行技術文献)

(特許文献)

(特許文献1)	国際公開第2003/076436号	20
(特許文献2)	国際公開第2003/084473号	
(特許文献3)	国際公開第2005/000862号	
(特許文献4)	国際公開第2005/005421号	
(特許文献5)	国際公開第2005/090461号	
(特許文献6)	国際公開第2005/097758号	
(特許文献7)	国際公開第2006/046914号	
(特許文献8)	国際公開第2007/039173号	
(特許文献9)	国際公開第2008/083158号	
(特許文献10)	国際公開第2009/129267号	
(特許文献11)	国際公開第2010/085968号	30
(特許文献12)	国際公開第2011/032169号	
(特許文献13)	国際公開第2014/093988号	
(特許文献14)	国際公開第2016/172191号	
(特許文献15)	米国特許第4,939,140号明細書	
(特許文献16)	米国特許第4,251,528号明細書	
(特許文献17)	米国特許第6,924,284号明細書	
(特許文献18)	米国特許出願公開第2011/0144066号明細書	
(特許文献19)	米国特許第6,066,311号明細書	
(特許文献20)	米国特許出願公開第2012/0189670号明細書	

(非特許文献)

(非特許文献1)	ANWAR et al. "Reactions of some 5-aryl-2-thiono-1,3,4-thiadiazoles" January 1, 1981, Romanian Journal of Chemistry 26(8): 1127-1134	40
(非特許文献2)	BANKER et al. "Modern Pharmaceutics" 1979, Marcel Dekker, Inc., New York (T.O.C.).	
(非特許文献3)	CARPTEN et al. "A Transforming Mutation in the Pleckstrin Homology Domain of AKT1 in Cancer" July 26, 2007, Natur	50

e 448 (7152) : 439 - 444

(非特許文献4) CASTILLO et al. "Preferential Inhibition of Akt and Killing of Akt-dependent Cancer Cells by Rationally Designed Phosphatidylinositol Ether Lipid Analogues" April 15, 2004, Cancer Res. 64(8) : 2782 - 92

(非特許文献5) CATLEY et al. "Alkyl Phospholipids Perifosine Induces Myeloid Hyperplasia in a Murin Myeloma Model" July 2007, Exp. Hematol. 35(7) : 1038 - 1046 (abstract)

(非特許文献6) Chemical Abstract Database compound (CAS RN 1022250-16-3) entering date May 25, 2008

(非特許文献7) Chemical Abstract Database compound (CAS RN 1022557-01-2) entering date May 26, 2008

(非特許文献8) Chemical Abstract Database : compound (CAS RN 477482-99-8), entering date December 12, 2002

(非特許文献9) Chemical Abstract Database : compound (CAS RN 477483-04-8), entering date December 12, 2002

(非特許文献10) Chemical Abstract Database : compound (CAS RN 919458-54-1), entering date February 6, 2007

(非特許文献11) Database Pubchem(Online)NCBI : September 11, 2005 Database accession no. CID3800302

(非特許文献12) Database Pubchem(Online)NCBI : September 7, 2005 Database accession no. CID3268165

(非特許文献13) Database Pubchem(Online)NCBI ; February 29, 2008 Database accession no. CID24283805

(非特許文献14) European Search Report and Written Opinion dated February 2, 2012 for EP 11181871

(非特許文献15) FELDMAN et al. "Novel Small Molecule Inhibitors of 3'-phosphoinositide-dependent Kinase1 (PKD-1)" September 30, 2004, Eur. J. Cancer Supp. 2(249) : 77

(非特許文献16) FENGL "Enteric Coating" October 22, 2002, Enerex.ca 5 pages

(非特許文献17) GILLS et al. "Spectrum of Activity and Molecular Correlates of Response to Phosphatidylinositol Ether Lipid Analogues, Novel Lipid-based Inhibitors of Akt" March 2006, Mol. Cancer Ther. 5(3) : 713 - 722

10

20

30

40

50

(非特許文献18) GIRANDA et al. "Novel ATP-competitive AKT Inhibitors Slow the Progression of Tumors in vivo" September 30, 2004, Eur. J. Cancer Supp. 2 (246): 76-77

(非特許文献19) GOODMAN et al. "The Pharmaceutical Basis of Therapeutics, 6th ed." 1980, MacMillan Publishing Co., New York (TOC)

(非特許文献20) HUMPHREYS et al. "Toxicity and antileukemic effectiveness of pyridine derivatives and 1,3,4-thiadiazole derivatives in mice. Relationship to nicotinamide antagonism" 1962, Cancer Res. 22: 483-550

10

(非特許文献21) International Search Report and Written Opinion dated June 3, 2014 for PCT/US2013/75505

(非特許文献22) International Search Report and Written Opinion dated May 26, 2011 for PCT/US2010/048813

20

(非特許文献23) International Search Report and Written Opinion dated October 19, 2009 for PCT/US2009/040575

(非特許文献24) International Search Report dated December 15, 2009 for PCT/US2009/040575

(非特許文献25) International Search Report dated July 29, 2016 for PCT/US2016/028414

(非特許文献26) KIM et al. "Targeting the Phosphatidylinositol-3 Kinase/Akt Pathway for the Treatment of Cancer" December 2005, Curr. Opin. Investig. Drugs 6(12): 1250-1258

30

(非特許文献27) KOMANDER et al. "Structural Insights into the Regulation of Pdk1 by Phosphoinositides and Inositol Phosphates" 2004, EMBO J. 23(20): 3918-3928

(非特許文献28) KUMAR et al. "AKT Crystal Structure and AKT-specific Inhibitors" November 2005, Oncogene 24(50): 7493-7501

40

(非特許文献29) LI "Recent Progress in the Discovery of Akt Inhibitors as Anticancer Agents" 2007, Expert Opin. Ther. Patents 17: 1077-1130

(非特許文献30) MAHADEVAN et al. "Discovery of a novel class of AKT pleckstrin homology domain inhibitors" September 2008, Mol. Cancer Ther. 7(9): 2621-2632

(非特許文献31) MAHIEU et al. "Synthesis of new thiosulfonates and disulfides from s

50

ulfonyl chlorides and thiols" January 1, 1986, Synthetic Communications 16(13):1709-1722

(非特許文献32) MEUILLET et al. "In Vivo Molecular Pharmacology and Antitumor Activity of the Targeted Akt Inhibitor PX-316" 2004, Oncol. Res. 14(10):513-527 (abstract)

(非特許文献33) MEUILLET et al. "Specific Inhibition of the Akt2 Pleckstrin Homology domain by D-3-deoxy-phosphatidyl-myo-inositol Analogues" April 2003, Mol. Cancer Ther. 2(4):390-399

10

(非特許文献34) MILBURN et al. "Binding of Phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate to the Pleckstrin Homology Domain of Protein Kinase B Induces a Conformational Change" 2003, Biochem. J. 375:531-538

(非特許文献35) MIYAHARA et al. "Antitumor activity of 2-Acylamino-1,3,4-thiadiazoles and related compounds" 1982, Chem. Pharm. Bull. 30(12):4402-4406

20

(非特許文献36) MOSES, et al., "In vitro and in vivo activity of novel small-molecule inhibitors targeting the pleckstrin homology domain of protein kinase B/AKT" June 15, 2009, Cancer Research 69(12):5073-5081

(非特許文献37) Office Action issued in Australian Application No. 2009236256, mailed May 2, 2013

30

(非特許文献38) Office Action issued in Australian Application No. 2009236256, mailed June 11, 2014

(非特許文献39) Office Action issued in European Application No. 11181871.2, mailed July 10, 2013

(非特許文献40) Office Action issued in European Application No. 11181871.2, mailed September 25, 2014

(非特許文献41) Office Action issued in U.S. Application No. 12/937,898, mailed August 30, 2012

40

(非特許文献42) Office Action issued in U.S. Application No. 12/937,898, mailed June 18, 2012

(非特許文献43) Office Action issued in U.S. Application No. 13/789,209 dated June 25, 2014

(非特許文献44) PENG et al. "Dwarfism, Impaired Skin Development, Skeletal Muscle Atrop

50

hy, Delayed Bone Development, and Impeded Adipogenesis in Mice Lacking Akt1 and Akt2" June 1, 2003, Genes Dev. 17(11): 1352 - 1365

(非特許文献45) POWELL et al. "Bile Acid Hydrophobicity is Correlated with Induction of Apoptosis and/or Growth Arrest in HCT 116 Cells" 2001, Biochem J. 356: 481 - 486

(非特許文献46) RUNGE et al. "Uber einige unsymmetrische heterocyclische Disulfide, II" July 1, 1963, J. Fuer Praktische Chemie 21(1-2): 39 - 49 (cited in German/ no translation available)

(非特許文献47) SASSIVER et al. "2-Sulfanilamido-5-methoxy-, 1,3,4-thiadiazole and related compounds" 1966, J. Med. Chem. 9(4): 541 - 545

(非特許文献48) STEIN et al. "Discovery and structure of activity relationships of sulfonamide ETA-selective antagonists" 1995, J. Med. Chem. 38: 1344 - 1354

(非特許文献49) Supplementary European Search Report and Written Opinion dated September 17, 2012 for EP 10816289

(非特許文献50) Supplementary European Search Report and Written Opinion dated April 14, 2016 for EP13863280

(非特許文献51) THOMAS et al. "High-resolution Structure of Pleckstrin Homology Domain of Protein Kinase B/Akt Bound to Phosphatidylinositol(3,4,5)-trisphosphate" July 2002, Curr. Biol. 12(14): 1256 - 1262

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0004】

実施形態は、PH-ドメイン結合によりCNKSR1を阻害しうる、かつwt-KRAS細胞に影響せずにmut-KRAS癌細胞の成長を選択的に遮断しうる、小分子薬剤を対象とする。実施形態においては、CNKSR1遺伝子の阻害は、wt-KRAS癌細胞の成長に影響せずにmut-KRAS癌細胞の成長を遮断しうる。実施形態においては、CNKSR1は、mut-KRASが腫瘍成長を合図することを可能にするのに重要でありうるPH-ドメインを有しうる。実施形態においては、PH-ドメイン阻害剤を同定するために、反復式分子モデリング及びSPR結合技法が用いられうる。

【0005】

いくらかの実施形態は、式IAの化合物、またはそれらの薬学的に許容可能な塩を提供する。

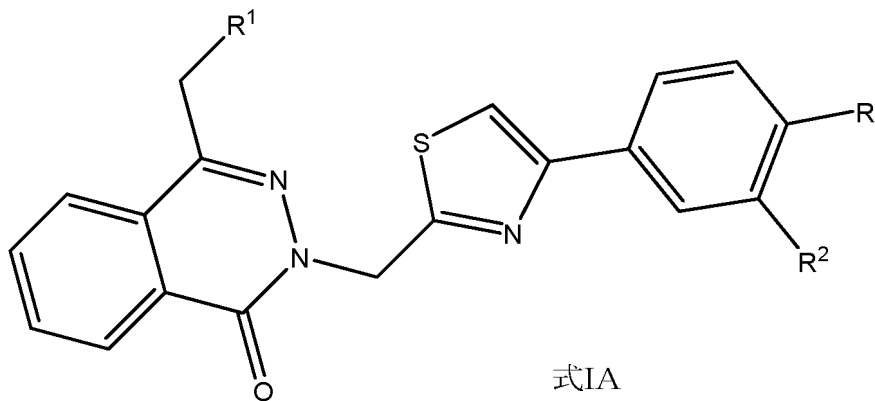
10

20

30

40

【化1】



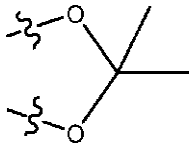
10

式中、

Rは、 $-C_1 - C_4$ アルキル、 $-NO_2$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHSO_2CH_3$ 、 $-C_1 - C_5$ シクロアルキル、もしくは $-CF_3$ であり、

R²はHであり、もしくはRとR²とがそれらに結合する炭素を伴う二環式部位を形成するために

【化2】

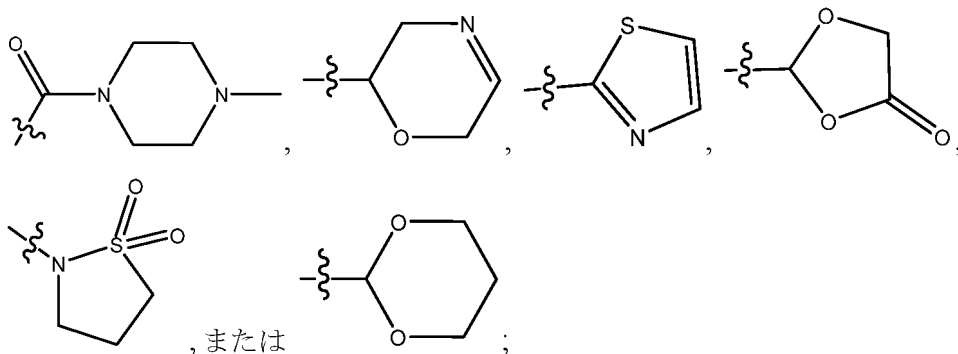


20

として組み合わせられ、

R¹は、 $-C(O)$ 、 $-C(O)O(C_1 - C_4$ アルキル)、 $-C(O)OH$ 、 $-C_1 - C_4$ アルキル $-OH$ 、 $-CH(OH)(CH_2)_nNH_2$ 、 $-CH(OH)$ 、 $-C(OH)CNO_2$ 、 $-(CH_2)_nNO_2$ 、 $-CHO$ 、 $-C(O)NHR^3$ 、

【化3】



30

であり、

nは、1、2、3、もしくは4であり、

R³は、 $-C_1 - C_4$ アルキル、 $-C_1 - C_2$ アルキル $-C(O)NH_2$ 、 $-S(O)_2CH_3$ であり、かつ、

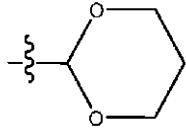
RがMeの場合はR¹が $-C(O)OCH_2CH_3$ ではない。

【0006】

いくつかの実施形態においては、R¹は

40

【化4】



である。

【0007】

いくらかの実施形態においては、 R^1 は $-C(O)O(C_1 - C_4 \text{ アルキル})$ である。

【0008】

いくらかの実施形態においては、 R^1 は $-C_1 - C_4 \text{ アルキル} - OH$ である。

10

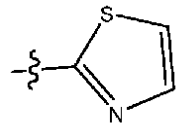
【0009】

いくらかの実施形態においては、 R^1 は $-C(O)NHR^3$ である。

【0010】

いくらかの実施形態においては、 R^1 は

【化5】



である。

20

【0011】

いくらかの実施形態においては、 R はメチルである。

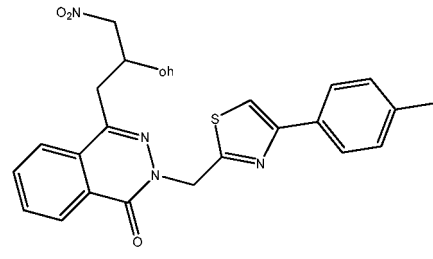
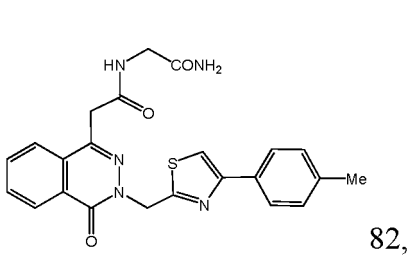
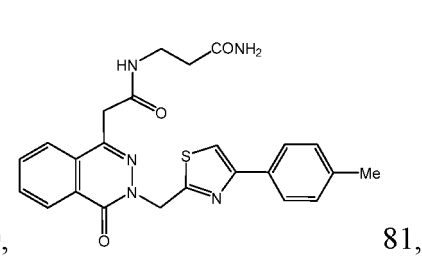
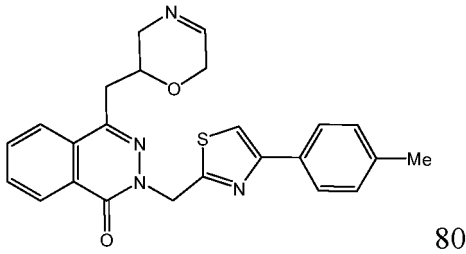
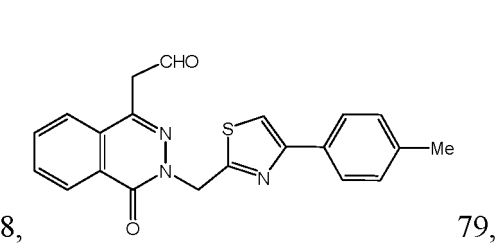
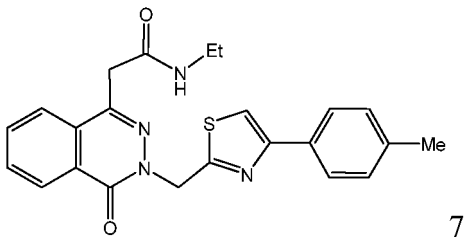
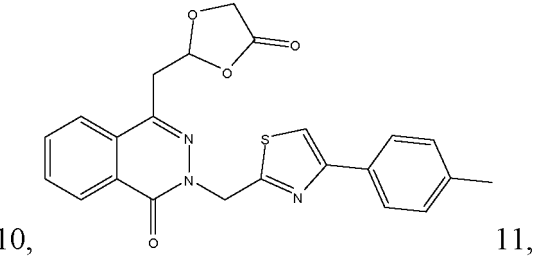
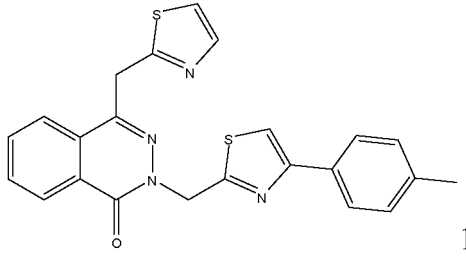
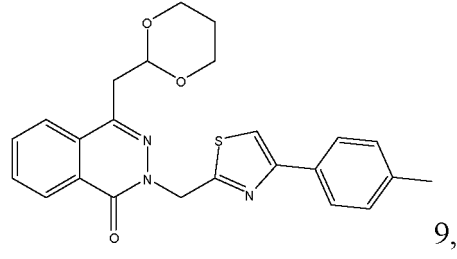
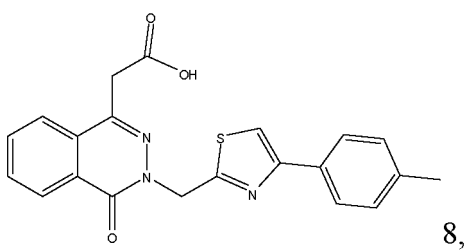
【0012】

いくらかの実施形態においては、 R は $-C_1 - C_5 \text{ シクロアルキル}$ である。

【0013】

いくらかの実施形態においては、その化合物は、

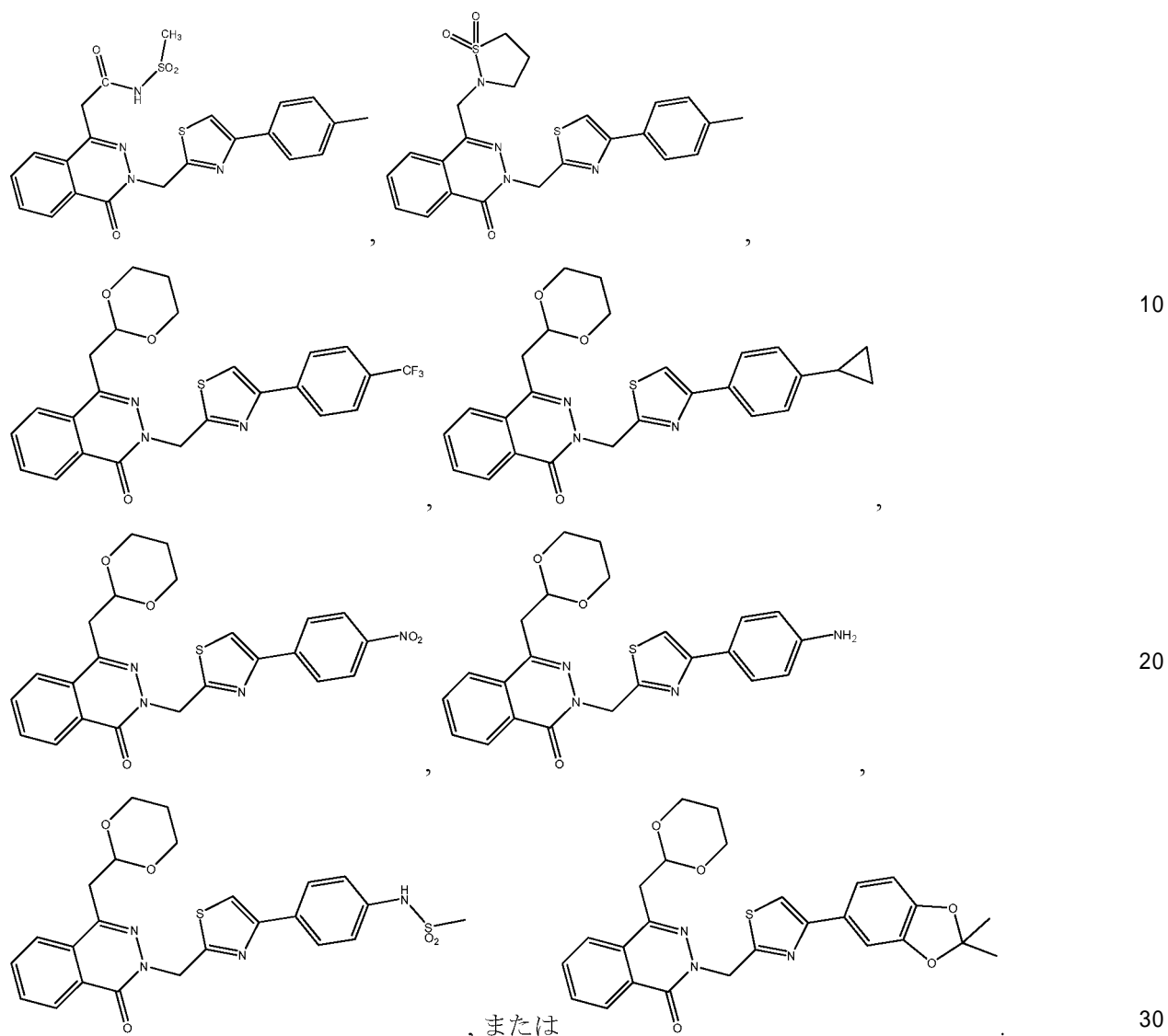
【化 6】



10

20

30

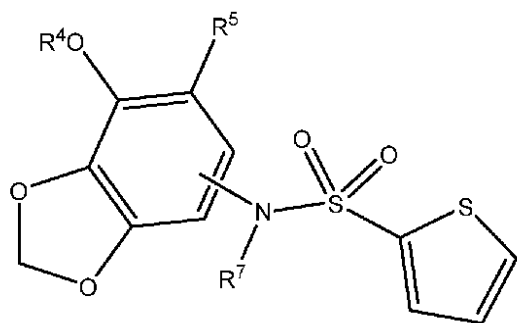


から選択される。

【0014】

いくつかの実施形態は、式IIAの化合物、またはそれらの薬学的に許容可能な塩を提供する。

【化7】



式IIA

式中、

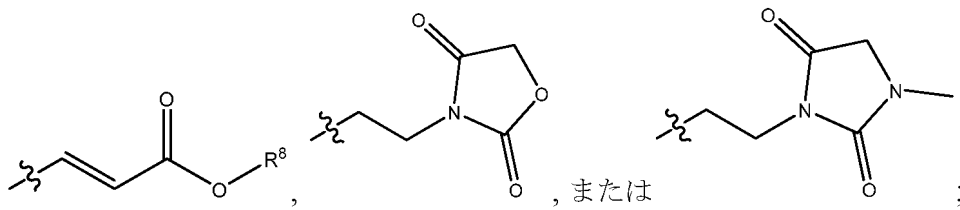
R^4 は - H もしくは - C_1 - C_4 アルキル であり、

R^5 は、 - C_1 - C_4 アルキル - OH、 - C_2 - C_6 アルケニル - OH、 - C_1 - C_4

40

50

アルキル - C (O) - C₁ - C₄ アルキル、 - C₂ - C₆ アルケニル - C (O) - C₁ - C₄ アルキル、 - C₁ - C₄ アルキル - C (O) - C₃ - C₅ シクロアルキル、 - C₂ - C₆ アルケニル - C (O) - C₃ - C₅ シクロアルキル、
 【化 8】



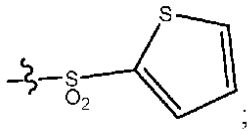
10

であり、

R⁸ は C₁ - C₄ アルキルもしくは - C₃ - C₅ シクロアルキルであり、かつ

R⁷ は H もしくは

【化 9】



である。

20

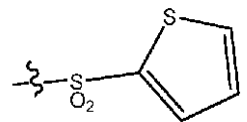
【0015】

いくらかの実施形態においては、R₄ はメチルである。

【0016】

いくらかの実施形態においては、R₇ は

【化 10】



である。

30

【0017】

いくらかの実施形態においては、R₅ は - C₂ - C₆ アルケニル - OH もしくは - C₂ - C₆ アルケニル - C (O) - C₁ - C₄ アルキルである。

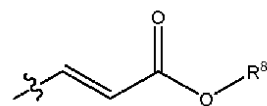
【0018】

いくらかの実施形態においては、R₅ は - C₁ - C₄ アルキル - OH もしくは - C₁ - C₄ アルキル - C (O) - C₁ - C₄ アルキルである。

【0019】

いくらかの実施形態においては、R₅ は

【化 11】



40

である。

【0020】

いくらかの実施形態においては、R₈ はシクロプロピルもしくはシクロブチルである。

【0021】

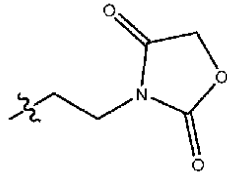
いくらかの実施形態においては、R₇ は H である。

【0022】

いくらかの実施形態においては、R₅ は

50

【化 1 2】



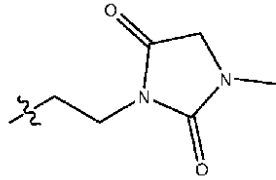
である。

【 0 0 2 3】

いくらかの実施形態においては、R 5 は

10

【化 1 3】



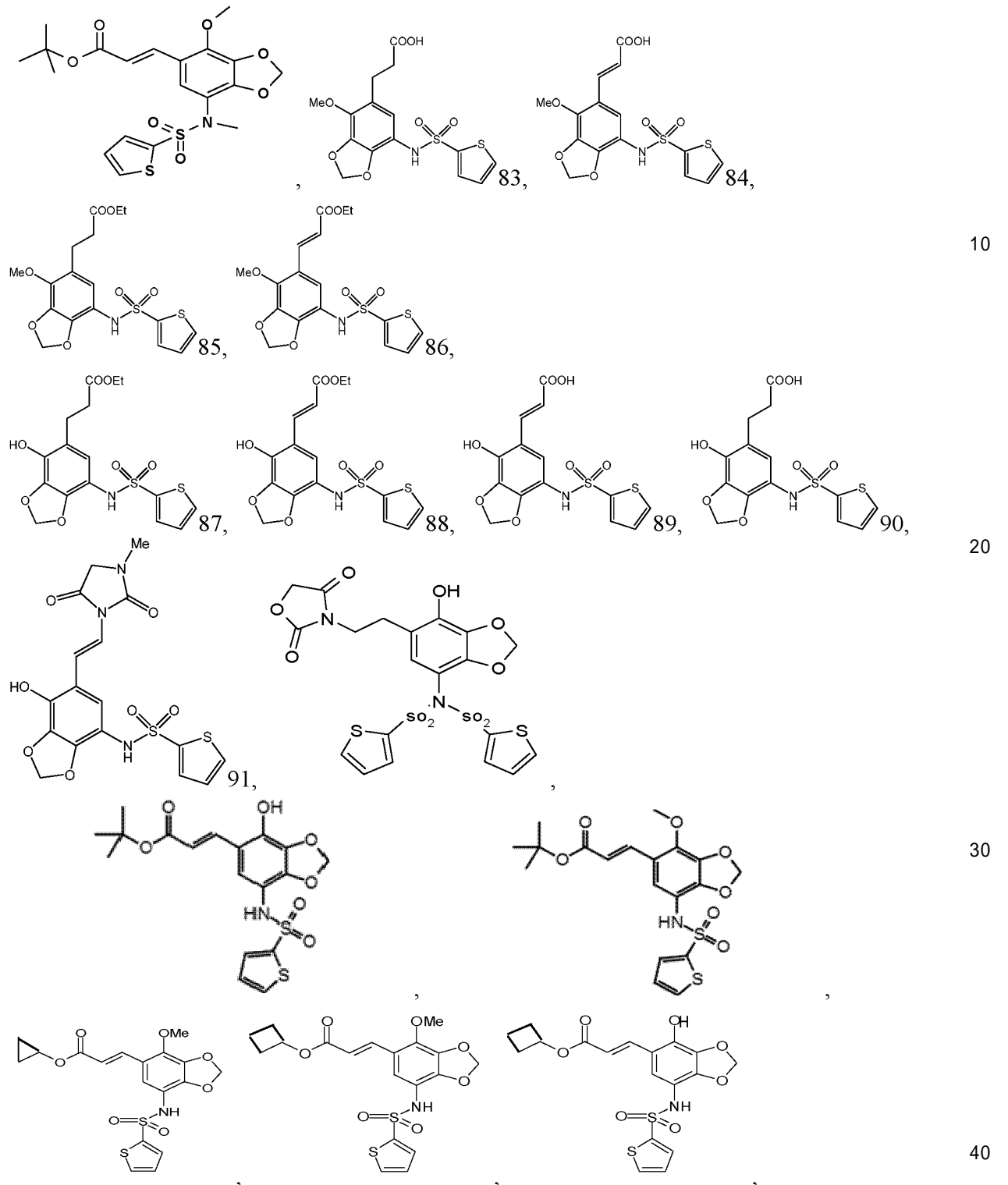
である。

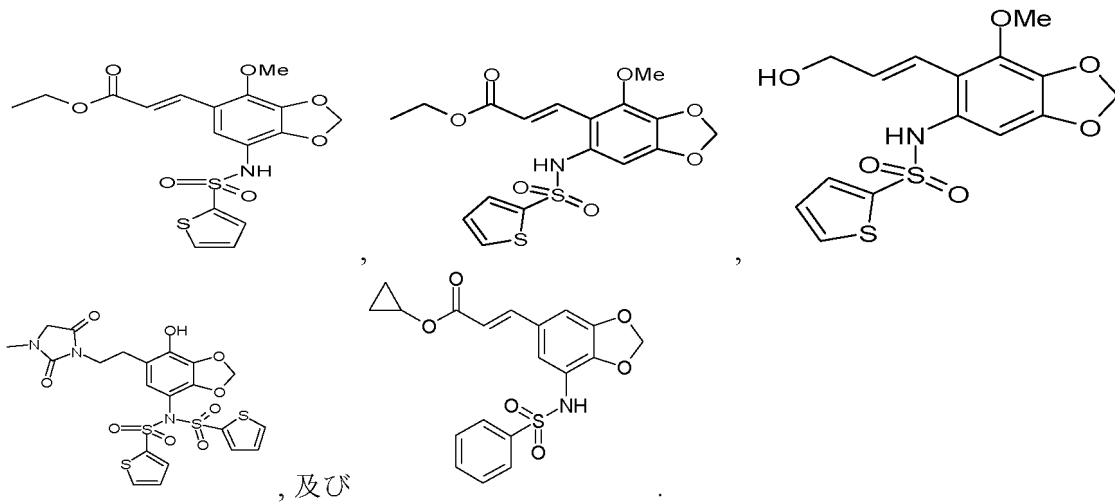
【 0 0 2 4】

いくらかの実施形態においては、その化合物は、

20

【化 1 4】





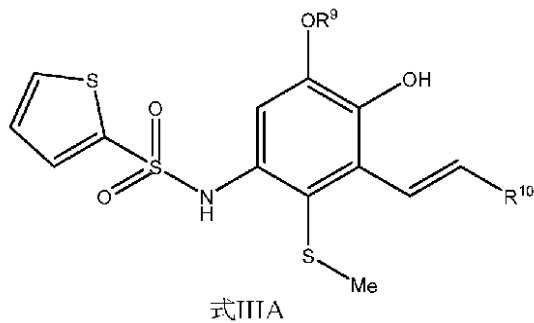
10

から選択される。

【0025】

いくつかの実施形態は、式III Aの化合物、またはそれらの薬学的に許容可能な塩を提供する。

【化15】



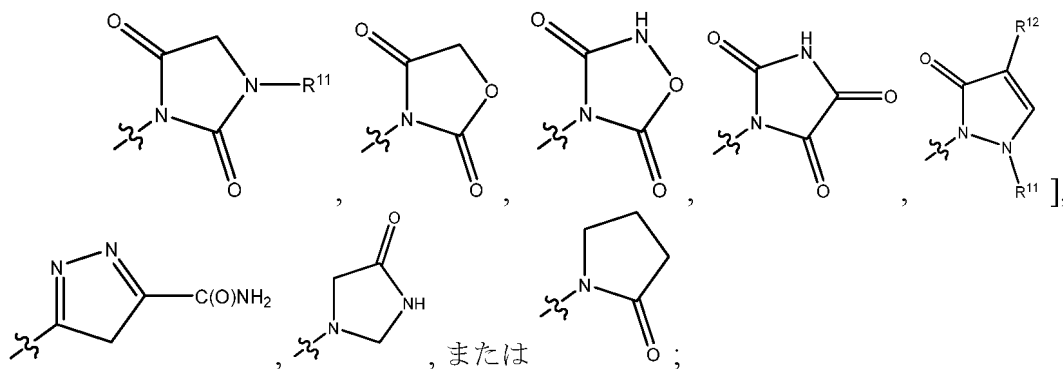
20

式中、

R^9 は - H もしくは - C_1 - C_4 アルキルであり、

R^{10} は、 - $C(O)OC_1 - C_4$ アルキル、 - $C(O)OH$ 、

【化16】



30

40

であり、

R^{11} は H もしくは C_1 - C_4 アルキルであり、

R^{12} は C_1 - C_4 アルキルである。

【0026】

いくつかの実施形態においては、 R^9 はメチルである。

【0027】

いくつかの実施形態においては、 R^{10} は - $C(O)OC_1 - C_4$ アルキルである。

50

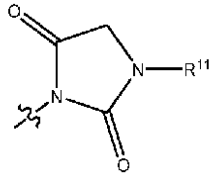
【0028】

いくらかの実施形態においては、C1 - C4アルキルはエチルである。

【0029】

いくらかの実施形態においては、R10は

【化17】



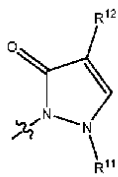
10

である。

【0030】

いくらかの実施形態においては、R10は

【化18】



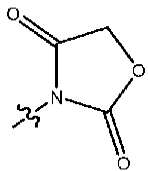
20

である。

【0031】

いくらかの実施形態においては、R10は

【化19】



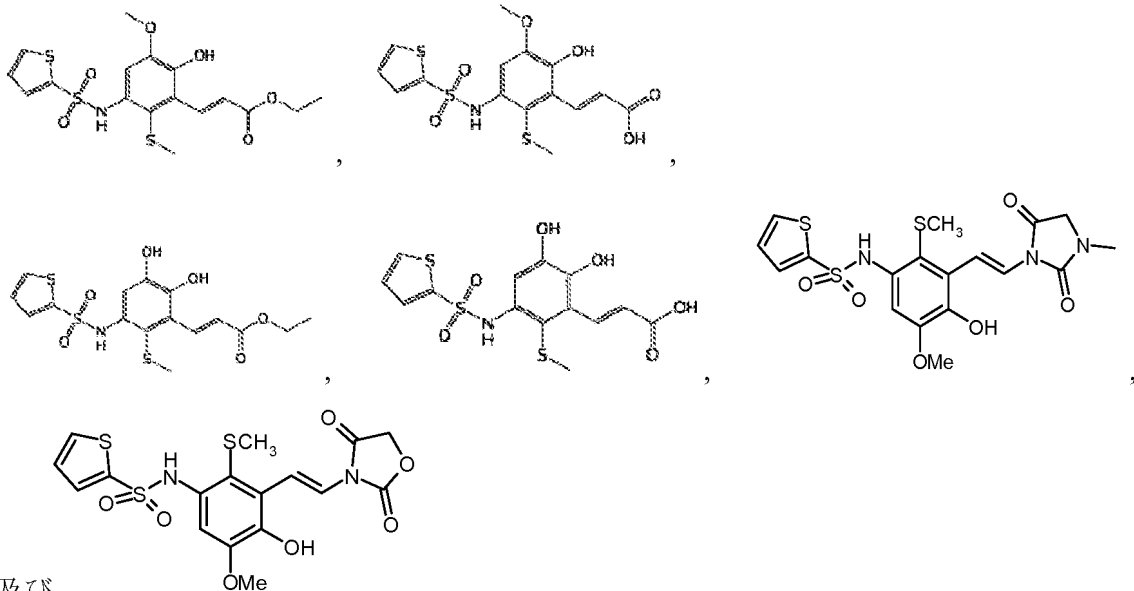
30

である。

【0032】

いくらかの実施形態においては、その化合物は、

【化20】



40

及び

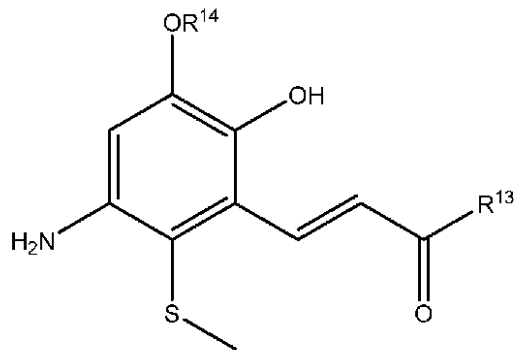
50

から選択される。

【0033】

いくつかの実施形態は、式IV Aの化合物、またはそれらの薬学的に許容可能な塩を提供する。

【化21】



式IV A

式中、 R^{13} は -OH もしくは $C_1 - C_4$ アルキルであり、
 R^{14} は H もしくは $C_1 - C_4$ アルキルである。

【0034】

いくつかの実施形態においては、 R^{13} はメチルである。

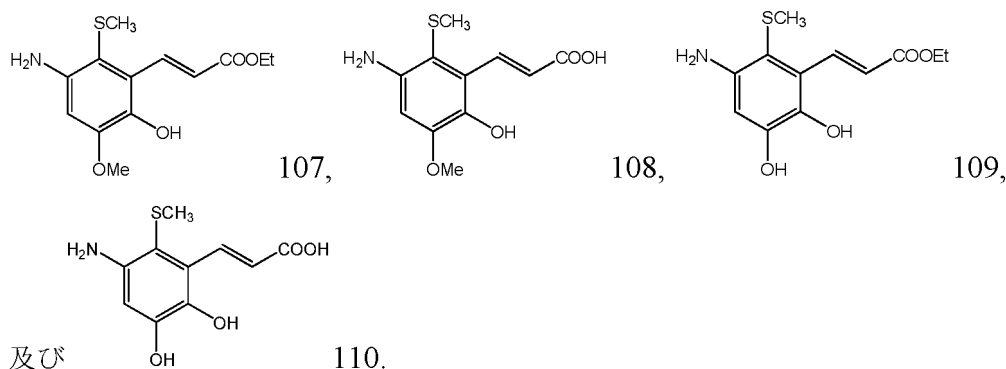
【0035】

いくつかの実施形態においては、 R^{14} はメチルである。

【0036】

いくつかの実施形態においては、その化合物は、

【化22】



及び

110.

から選択される。

【0037】

癌を処置し、かつ/または CNKSR1 を阻害する方法であって、有効量の上記開示の化合物もしくはそれらを含む医薬組成物を投与する工程を有する方法もまた、開示される。

【図面の簡単な説明】

【0038】

本特許のファイルは、カラーで作成された少なくとも1つの写真または図面を含む。カラー図面または写真付きの本特許の写しは、要請及び必要費用の支払いの上で、特許商標庁により提供される。

【0039】

本発明の性質及び長所のより十分な理解のためには、添付の図面と関連して理解される以下の詳細な開示への参照がなされるべきである。その図面において、

【図1】図1は、実施例に従う、RASタンパク質の翻訳修飾を例証する概略図である。

【図2】図2は、実施例に従う、mut-KRAS成長の阻害のための標的としてのCNKSR1の使用を例証するグラフの集合である。

【図3】図3は、実施例に従う、同定された化合物の表と、mut-KRAS成長の阻害におけるそれらの使用を例証するグラフの集合とを含有する。

【図4】図4は、実施例に従う、化合物#7の抗腫瘍活性及び薬物動態を例証するグラフの集合である。

【図5】図5は、実施例に従う、mut-KRAS成長の阻害における同定された化合物の使用を例証する、同定された化合物の表である。

【図6】図6は、実施例に従う、化合物#12及びイノシトールのx線構造のオーバーレイである。

【図7】図7は、実施例に従う、CNKR1モデルの例証である。

【図8】図8は、実施例に従う、BREEDプロセスの概略図である。

【図9】図9は、実施例に従う、siKRAs及びsiCNKSR1による3D成長の阻害の例証である。

【図10】図10は、実施例に従う、CNKSR1が形質膜において変異型KRAsと共同在することを描写する写真の集合である。

【図11】図11は、実施例に従う、CNKSR1が細胞内でwt-KRASには結合しないがmut-KRASには直接結合することを示す、蛍光寿命イメージング顕微鏡法(FILIM)の写真及び寿命ヒストグラムの集合である。

【図12】図12は、実施例に従う、化合物7及び9が形質膜におけるCNKSR1と変異型-KRAsとの膜共同在を遮断し、また細胞内の変異型KRAsタンパク質の合計を低下させることを示す写真の集合である。

【図13】図13は、実施例に従う、化合物7及び9が細胞内でCNKSR1のmut-KRASへの直接結合を阻害することを示す、それらの化合物についての蛍光寿命イメージング顕微鏡法の写真及び寿命ヒストグラムの集合である。

【図14】図14は、変異導入されたKRAsを有する肺癌細胞における成長阻害、及びKRAsシグナリングエフェクターの阻害を示す、グラフ及び概略図である。

【図15】図15は、KRAsシグナリングエフェクターの阻害についての、実施例に従う、化合物の活性上昇を示す。

【図16】図16は、実施例に従う、化合物を用いて観察された抗腫瘍活性を示すグラフである。

【図17】図17は、選ばれた化合物の結合を描写するグラフである。

【図18】図18は、選ばれた3つの化合物を比較するセンサーグラムである。

【図19】図19は、選ばれた3つの化合物を比較するセンサーグラムである。

【発明を実施するための形態】

【0040】

詳細な開示

本組成物及び方法が開示される前に、本発明は、開示される特定の工程、組成物、または技法に限定されないことが理解されるべきである。工程、組成物、または技法は変化しうるためである。本開示において用いられる用語は、特定のバージョンまたは実施形態を開示する目的のみのためであって、添付の特許請求の範囲によってのみ限定されることになる本発明の範囲を限定することを意図しないこともまた、理解されるべきである。別に定義されない限り、本明細書で用いられる全ての専門及び化学的用語は、当業者によって一般的に理解されるのと同じ意味を有する。本発明の実施形態の実践または試験においては、本明細書で開示されるのと類似したまたは同等のあらゆる方法及び材料が用いられるが、好まれる方法、装置、及び材料がここでは開示される。本明細書で言及される全ての刊行物は、その全体が本参照により組み込まれる。本明細書におけるいかなるものも、先の発明によって本発明がそのような開示に先行する権利を有しないと認められたものと解釈されるべきではない。

10

20

30

40

50

【 0 0 4 1 】

本明細書及び添付の特許請求の範囲において使用される単数形「a」、「an」、及び「the」は、文脈が明らかに別に規定しない限り複数形の参照対象を含むことが留意されなければならない。従って、例えば「細胞」への言及は、1つまたはそれより多い細胞、及び当業者に既知であるその同等物への言及である、等々である。

【 0 0 4 2 】

本明細書において用いられる用語「約」は、それと共に用いられる数字の数値のプラスまたはマイナス10%を意味する。従って、約50%は、45%~55%の範囲内であることを意味する。

【 0 0 4 3 】

治療薬と併せて用いられる場合の「投与する」は、治療薬を標的組織中または標的組織上へと直接投与すること、または治療薬を患者に投与しこれにより標的とする組織に治療薬が積極的に影響を与えることを意味する。従って、本明細書で用いられる用語「投与する」は、化合物と併せて用いられる場合、標的組織中もしくは標的組織上に化合物を提供すること、及び/または、患者に化合物を例えば静脈内注射もしくは経口投与により全身的に提供しこれにより治療薬が標的組織に到達することを含みうるが、これに限定されない。

【 0 0 4 4 】

本明細書で用いられる用語「動物」は、ヒト、並びに野生、飼育、及び家畜動物などの非ヒト脊椎動物を含むが、これに限定されない。

【 0 0 4 5 】

用語「阻害する」は、症状の発症を予防し、症状を緩和し、または疾患、疾病もしくは障害を除去するための本発明の化合物の投与を含む。

【 0 0 4 6 】

「薬学的に許容可能な」は、担体、希釈剤、もしくは賦形剤が、製剤の他の成分と適合し、かつその被投与者にとって非有毒でなければならぬことを意味する。

【 0 0 4 7 】

本明細書で用いられる用語「治療薬」は、患者の望まれない疾病または疾患を処置し、戦い、寛解させ、予防しまたは改善させるために利用される薬剤を意味する。部分的には、本発明の実施形態は、癌の処置または細胞増殖の低下を対象とする。

【 0 0 4 8 】

化合物の「治療上有効な量」または「有効量」は、望まれる効果を達成する、つまり細胞の活性化、遊走、または増殖を阻害し、遮断し、または逆行させるために計算された、既定の量である。本方法により意図される活性は、適宜、医学治療的、及び/または予防的処置の両者を含む。治療的及び/または予防的効果を得るために本発明に従って投与される化合物の特定の用量は、当然ながら、例えば投与される化合物、投与経路、及び処置される疾病を含む、事例を取り巻く特定の事情によって決定されることになる。化合物は幅広い用量範囲にわたり有効であり、例えば、1日あたりの用量は通常0.001から10mg/kgの範囲、より一般には0.01から1mg/kgの範囲となる。しかしながら、投与される有効量は、処置される疾病、投与される化合物の選択、及び選択される投与経路を含む適切な事情を考慮して医師により決定され、また従って、上記の用量範囲は本発明の範囲をいかようにも限定することを意図するものではないことが理解される。本発明の化合物の治療上有効な量は、通常、その化合物が生理学的に容認できる賦形剤組成物中で投与された場合に、有効な全身濃度または組織中の局所的濃度を達成するのに十分であるような量である。

【 0 0 4 9 】

本明細書において用いられる用語「処置する」、「処置される」、または「処置」は、治療的処置、及び予防的または防止的手段の両者を意味し、ここでの目的は、望まれない生理的疾患、障害、もしくは疾患を予防しまたは停滞させ（和らげ）、あるいは有益なもしくは望まれる臨床結果を獲得することである。本発明の目的のため、有益なもしくは望

10

20

30

40

50

まれる臨床結果は、症状の緩和、疾病、障害、もしくは疾患の程度の縮減、疾病、障害、もしくは疾患の状態の安定化（つまり悪化させないこと）、疾病、障害、もしくは疾患の発症の遅延または進行の停滞、疾病、障害、もしくは疾患状態の寛解、及び疾病、障害、もしくは疾患の、検出可能もしくは検出不可能によらない緩解（部分的であれ全体であれ）、または向上もしくは改善を含むが、これに限定されない。処置は、過剰レベルの副作用なしに臨床的に有意な反応を誘発することを含む。処置は、処置を受けない場合の予期される生存期間と比較して、生存期間を延長することもまた含む。

【0050】

RAS遺伝子（KRAS、HRAS、及びNRAS）のうちの少なくとも1つの単一点突然変異は、多くのヒトの癌において、とくに結腸、肺、及び膵臓癌において見られる。RAS突然変異は、KRASにおいて最も一般的に（約85%）、NRASにおいてはより低い頻度で（約12%）、またHRASにおいては稀に（3%）見られる。KRASは2つのスプライスバリエーションA及びBをコードし、エクソン4の代替的利用に起因する異なるC末端配列を伴う。変異型KRAS（mut-KRAS）は、全てのヒト腫瘍の最大約25%に存在する。mut-KRASは、腫瘍の成長及び治療に対する耐性を推進するに当たり重要な役割を果たす。mut-KRAS活性に対して穏やかな効果しか有さない薬剤でさえ、またはmut-KRASのサブセットの選択的阻害を示す薬剤は、治療に重要な影響を有し、また苦しむ癌患者及び罹患率を低下させうる。従って、mut-KRAS腫瘍の成長を阻害する新しい薬剤の発見は、今日の癌治療においてほぼ間違いなく最も重要な未だ満たされぬ需要である。

【0051】

タンパク質チロシンキナーゼのATP競合拮抗薬に類似する、RASタンパク質に対するGTP競合拮抗薬を開発する早期の試みは、GTPのRASに対するピコモル濃度結合ゆえ、非実用的と分かった。次の取り組み、そしてかなりのトラクションを得た取り組みは、細胞透過性CAAXペプチドミメティックまたは小分子ファルネシルトランスフェラーゼ（FT）阻害剤を使用して、RASファルネシル化を遮断することにより、RASの膜結合を防ぐことであった。HRAS細胞株及びマウス腫瘍モデルにおいて劇的な活性を示した、いくつかの強力な薬剤が開発された。しかしながら、その活性がヒトの腫瘍のごく一部にしか見られない腫瘍形成性HRASに限定されていること、また代替的ゲラニルゲラニル化ゆえ腫瘍形成性NRAS及びKRASはFT阻害には耐性であることが分かった。アンチセンスもしくはsiRNAのKRAS阻害剤、またはCAAXシグナルプロセシングの原因となるRce1及びIcmtの阻害剤を開発する他の試みは、これまで効果的なKRAS抗腫瘍薬を提供していない。現在好まれている取り組みは、PI-3-K、RAF、及びマイトージェン活性化タンパク質キナーゼキナーゼ（MEK）などのKRASにより活性化される下流のシグナリング標的を遮断することであり、これらの阻害剤の組み合わせを用いたいくつかの臨床試験が進行中である。しかしながら、この取り組みの限界は、異なるmut-KRASアミノ酸置換は異なる下流のシグナリングエフェクターと結合することであり、各経路に対して利用できるいくつかの阻害剤を有する必要があるかもしれない。全ての形のmut-KRASに対して機能する阻害剤を有することが好ましいかもしれず、我々が採用した取り組みは、選択的mut-KRAS阻害剤の開発のための分子標的を提供するために、mut-KRAS活性の活性化因子である遺伝子を同定することである。

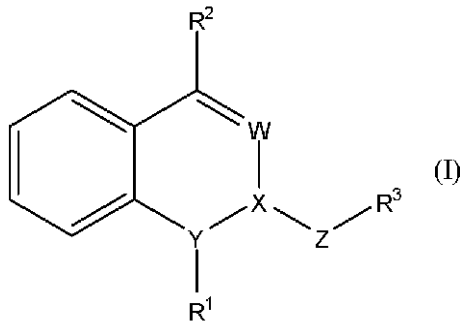
【0052】

mut-KRAS活性に対し正の制御をする遺伝子を同定する戦略に従い、CNKSR1（Connector enhancer of kinase suppressor of RAS 1）が同定された。CNKSR1タンパク質は膜シグナリングナノクラスターにおいてKRASと結合し、CNKSR1のノックダウンは、wt-KRAS細胞の成長を阻害することなくmut-KRAS腫瘍細胞の成長及びシグナリングの阻害を引き起こす。さらに、CNKSR1は潜在的に薬剤化可能なプレクストリン相同（PH）ドメインを有する。

【 0 0 5 3 】

本発明の実施形態は、式

【化 2 3】



10

の化合物を対象とする。

式中、

W及びXは、それぞれ独立に、炭素原子及び窒素原子から選択され、

Yは炭素原子であり、

Zは、メチレン、酸素原子、及び硫黄原子から選択され、

XとYと間の結合次数は、単結合または二重結合から選択され、

R¹は、ヒドロキシ、チオール、任意で置換されたアミン類、任意で置換されたエーテル類、任意で置換されたスルファン類、Yとともにケトンを形成する酸素原子、Yとともにイミンを形成する任意で置換された窒素原子、及びYとともにチオンを形成する硫黄原子から選択され、

20

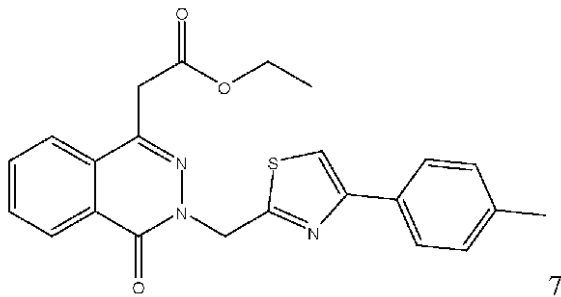
R²は、ヒドロキシ、チオール、任意で置換されたアミン類、任意で置換されたエーテル類、任意で置換されたスルファン類、1から3個の炭素原子を有する任意で置換されたアルキル鎖、任意で置換されたスルホンイミド酸類、任意で置換されたスルホンイミデートから選択され、かつ

R³は、酢酸、アセテート、酢酸アルキル、及び4 - p - トリルチアゾール - 2 - イルから選択され、

さらにその化合物は、

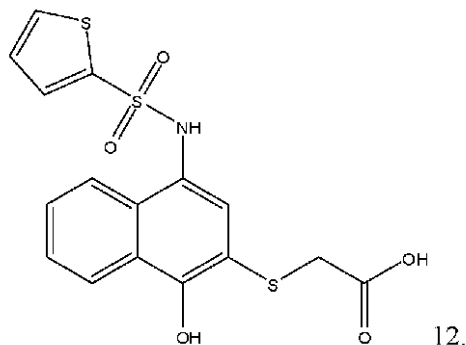
【化 2 4】

30



または

40



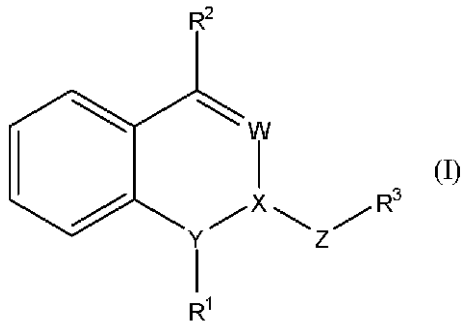
ではない。

50

【 0 0 5 4 】

本発明の実施形態は、式

【 化 2 5 】



10

の化合物を対象とする。

式中、

W及びXは、それぞれ独立に、炭素原子及び窒素原子から選択され、

Yは炭素原子であり、

Zは、メチレン、及び硫黄原子から選択され、

XとYと間の結合次数は、単結合または二重結合から選択され、

R¹は、ヒドロキシ、及びYとともにケトンを形成する酸素原子から選択され、

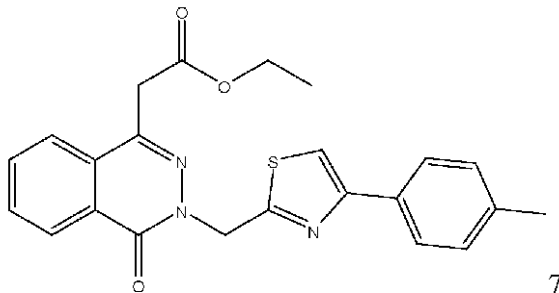
R²は、任意で置換された炭素原子、及び任意で置換されたスルホンイミデートから選択され、かつ

20

R³は、アセテート、及び4-p-トリルチアゾール-2-イルから選択され、

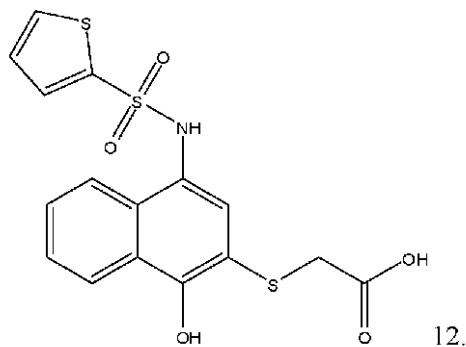
さらにその化合物は、

【 化 2 6 】



30

または



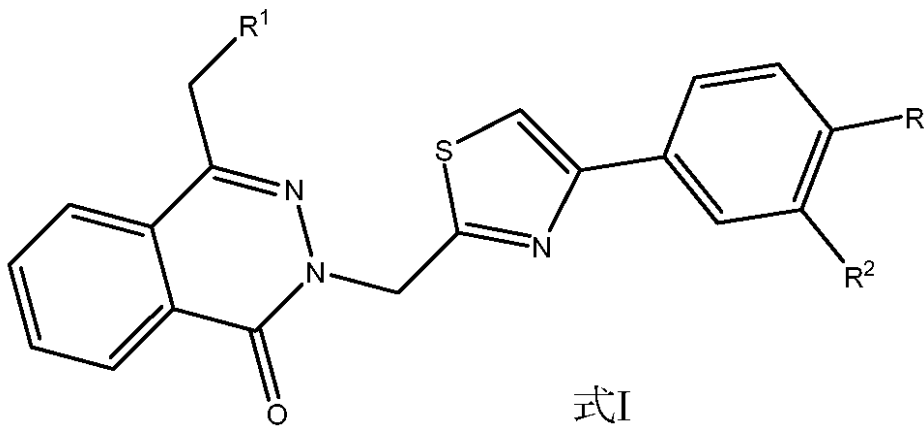
40

ではない。

【 0 0 5 5 】

いくつかの実施形態は、式 I A の化合物、またはそれらの薬学的に許容可能な塩についてである。

【化27】



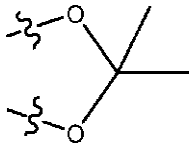
10

式中、

Rは、 $-C_1 - C_4$ アルキル、 $-NO_2$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHSO_2CH_3$ 、 $-C_1 - C_5$ シクロアルキル、もしくは $-CF_3$ であり、

R²はHである、もしくはRとR²とがそれらに結合する炭素を伴う二環式部位を形成するために

【化28】

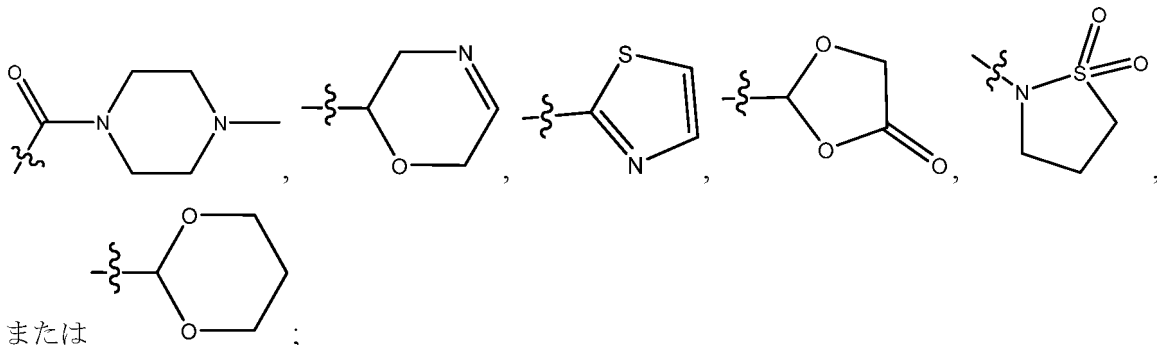


20

として組み合わせられ、

R¹は、 $-C(O)$ 、 $-C(O)O(C_1 - C_4$ アルキル)、 $-C(O)OH$ 、 $-CH_2OH$ 、 $-CH(OH)(CH_2)_nNH_2$ 、 $-CH(OH)$ 、 $-C(OH)CNO_2$ 、 $-(CH_2)_nNO_2$ 、 $-CHO$ 、 $-C(O)NHR^3$ 、

【化29】



30

であり、nは、1、2、3、もしくは4であり、

R³は、 $-C_1 - C_4$ アルキル、 $-C_1 - C_2$ アルキル $-C(O)NH_2$ 、 $-S(O)_2CH_3$ であり、かつ、

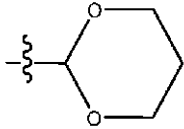
RがMeの場合はR¹が $-C(O)OCH_2CH_3$ ではない(化合物7)。

【0056】

いくつかの実施形態においては、R¹は

40

【化30】



である。

【0057】

いくつかの実施形態においては、 R^1 は $-C(O)O(C_1 - C_4 \text{ アルキル})$ である。
 いくつかの実施形態においては、その $C_1 - C_4$ アルキルはエチルである。

【0058】

いくつかの実施形態においては、 R^1 は $-C_1 - C_4 \text{ アルキル} - OH$ である。

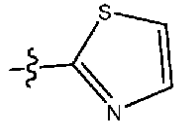
【0059】

いくつかの実施形態においては、 R^1 は $-C(O)NHR^3$ である。

【0060】

いくつかの実施形態においては、 R^1 は

【化31】



である。

【0061】

いくつかの実施形態においては、 R はメチルである。

【0062】

いくつかの実施形態においては、 R は $-C_1 - C_5$ シクロアルキルである。いくつかの実施形態においては、 $C_1 - C_5$ シクロアルキルはシクロプロピルである。いくつかの実施形態においては、 $C_1 - C_5$ シクロアルキルはシクロブチルである。

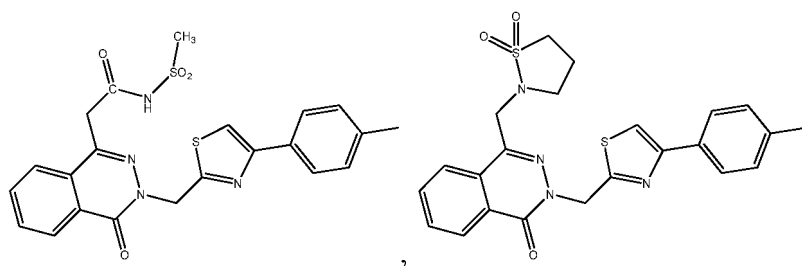
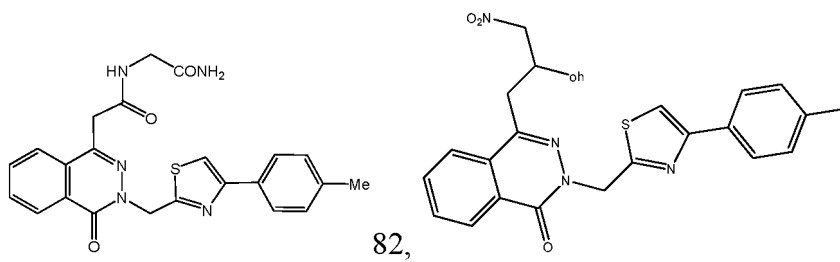
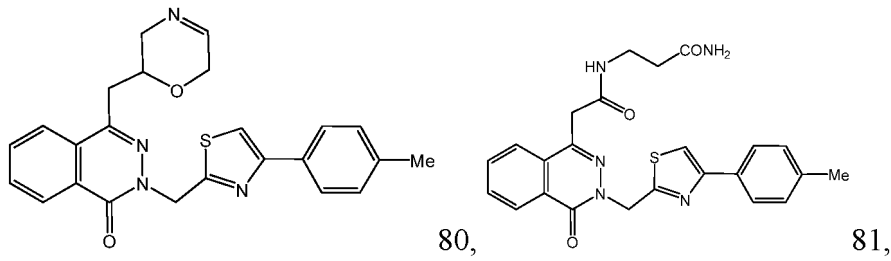
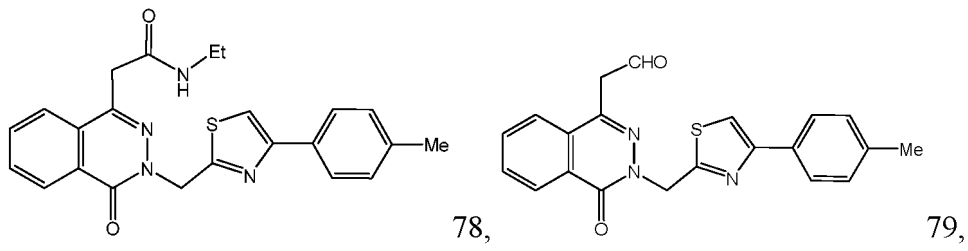
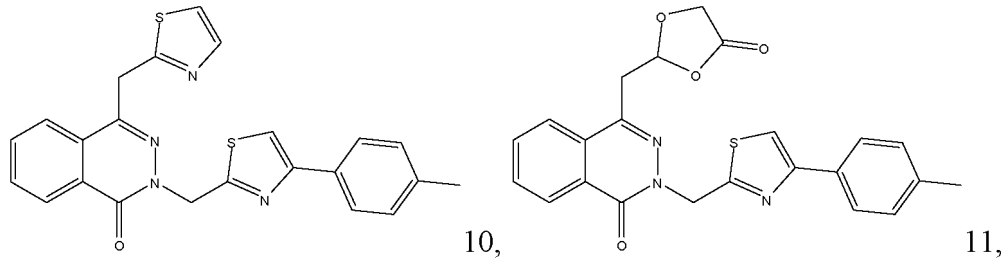
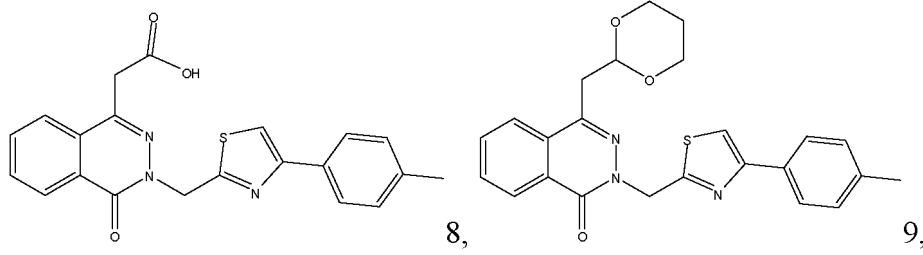
【0063】

いくつかの実施形態においては、式 I A の化合物は、

10

20

【化 3 2】

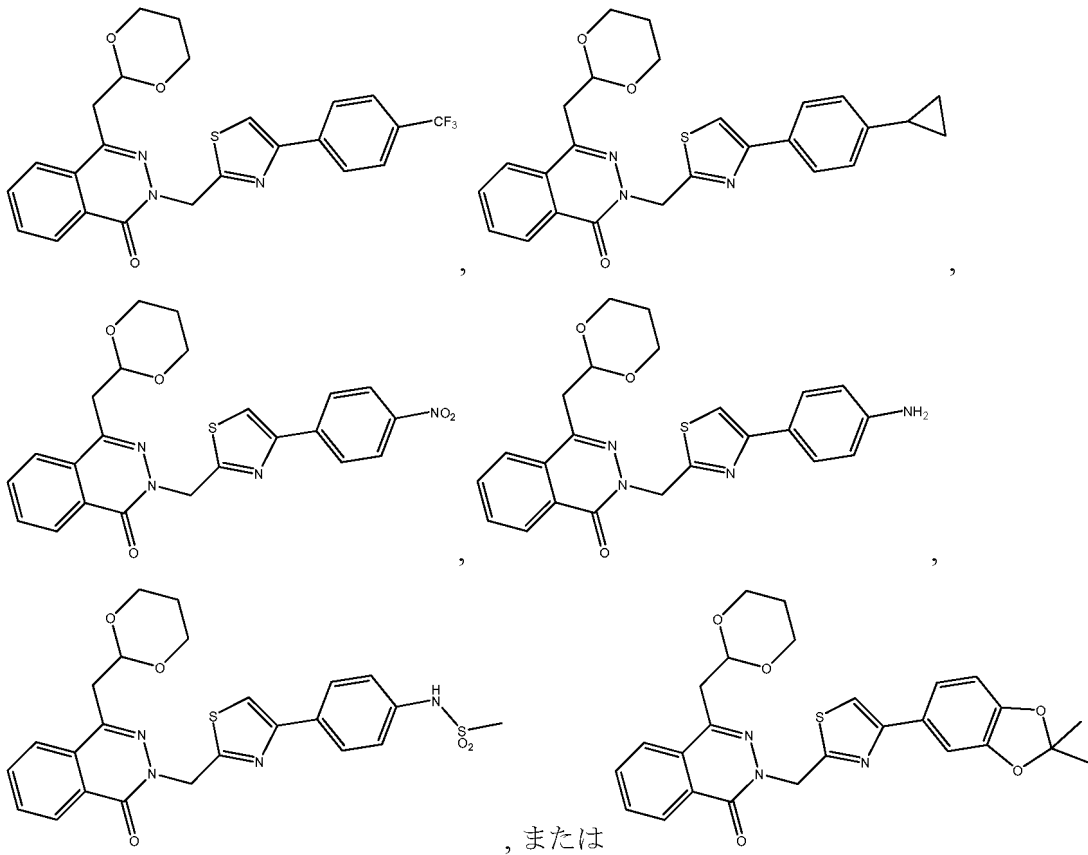


10

20

30

40

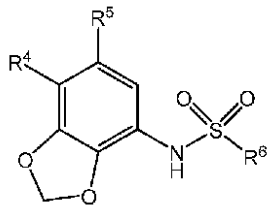


から選択される。

【0064】

本発明の実施形態は、式

【化33】



の化合物、及びその薬学的に許容可能な塩を対象とする。

式中、

R⁴ は、ヒドロキシ、チオール、任意で置換されたアミン類、及び任意で置換されたエーテルから選択され、

R⁵ は、ヒドロキシ、チオール、任意で置換されたアミン類、任意で置換されたエーテル類、任意で置換されたスルファン類、1から3個の炭素原子を有する任意で置換されたアルキル鎖、任意で置換されたスルホンイミド酸類、任意で置換されたスルホンイミデートから選択され、かつ

40

R³ は、酢酸、アセテート、酢酸アルキル、及び4-p-トリルチアゾール-2-イルから選択される。

【0065】

1つの好まれる実施形態は、ヒドロキシ、及び任意で置換されたエーテルから選択されるR⁴と、1から3個の炭素原子を有する任意で置換されたアルキル鎖としてR⁵と、4-p-トリルチアゾール-2-イルとしてR⁶とを有する。

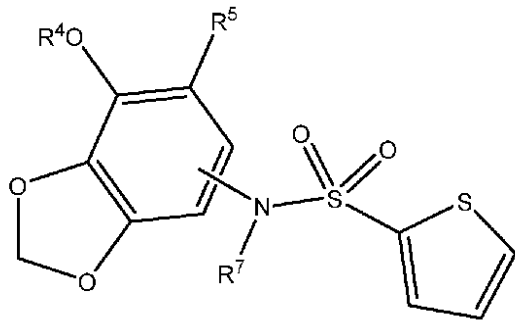
【0066】

いくらかの実施形態は、式IIAの化合物、またはそれらの薬学的に許容可能な塩を対

50

象とする。

【化34】



式II

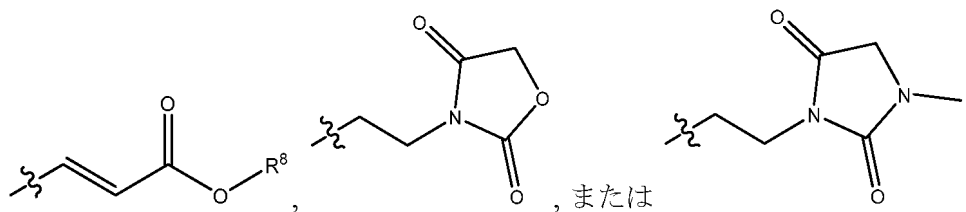
10

式中、

R⁴は - Hもしくは - C₁ - C₄ アルキルであり、

R⁵は、 - C₁ - C₄ アルキル - OH、 - C₂ - C₆ アルケニル - OH、 - C₁ - C₄ アルキル - C(O) - C₁ - C₄ アルキル、 - C₂ - C₆ アルケニル - C(O) - C₁ - C₄ アルキル、 - C₁ - C₄ アルキル - C(O) - C₃ - C₅ シクロアルキル、 - C₂ - C₆ アルケニル - C(O) - C₃ - C₅ シクロアルキル、

【化35】



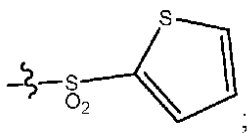
20

であり、

R⁸は C₁ - C₄ アルキルもしくは - C₃ - C₅ シクロアルキルであり、かつ

R⁷は Hもしくは

【化36】

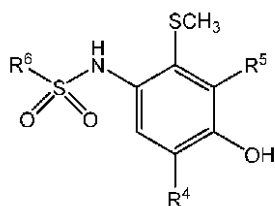


である。

【0067】

本発明の実施形態は、式

【化37】



40

の化合物、及びそれらの薬学的に許容可能な塩を対象とする。

式中、

R⁴は、ヒドロキシ、チオール、任意で置換されたアミン類、及び任意で置換されたエーテルから選択され、

R⁵は、ヒドロキシ、チオール、任意で置換されたアミン類、任意で置換されたエーテル

50

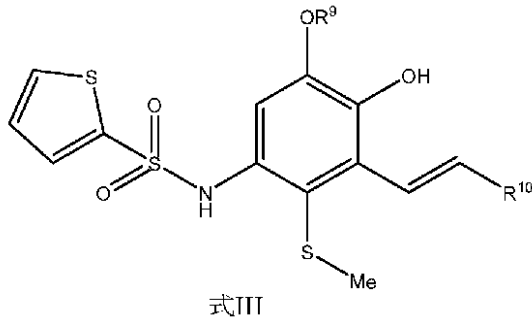
類、任意で置換されたスルファン類、1から3個の炭素原子を有する任意で置換されたアルキル鎖、任意で置換されたスルホンイミド酸類、任意で置換されたスルホンイミデートから選択され、かつ

R⁶は、酢酸、アセテート、酢酸アルキル、チアゾール-2-イル、及び4-p-トリルチアゾール-2-イルから選択される。1つの好まれる実施形態においては、R⁴は、ヒドロキシ、及び任意で置換されたエーテルから選択され、R⁵は1から3個の炭素原子を有する置換されたアルキル鎖であり、かつR⁶はチアゾール-2-イルである。

【0068】

いくらかの実施形態は、式III Aの化合物、またはそれらの薬学的に許容可能な塩についてである。

【化38】

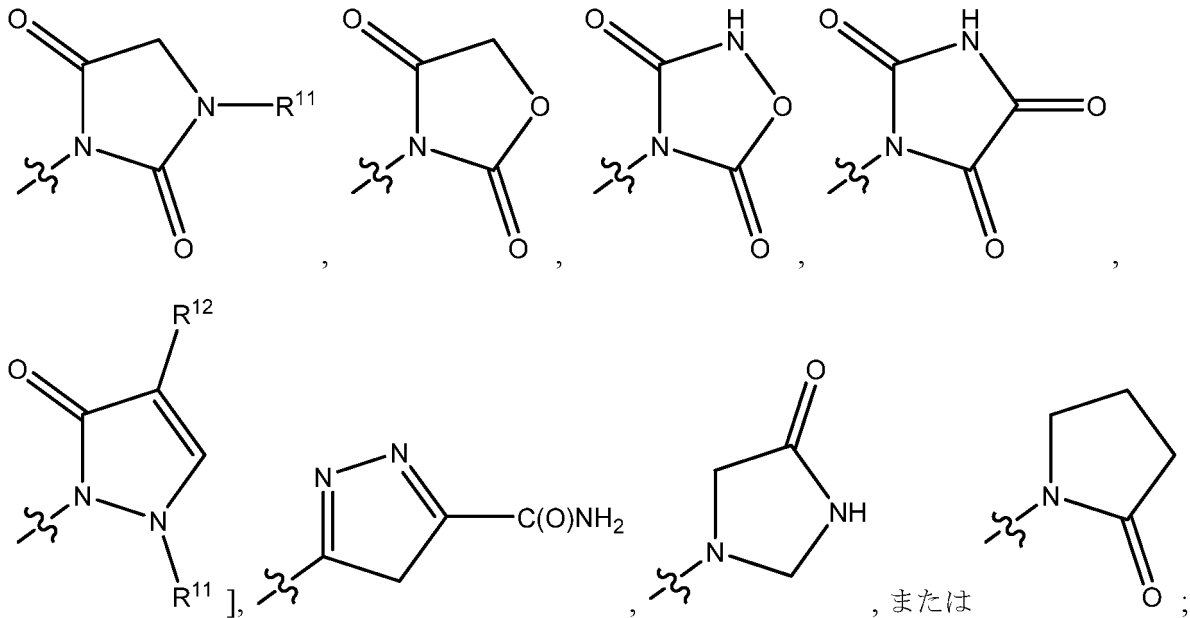


式中、

R⁹は -H もしくは -C₁ - C₄ アルキル - CH₃ であり、

R¹⁰は、-C(O)OC₁ - C₄ アルキル [エチル]、-C(O)OH、

【化39】



であり、

R¹¹はHもしくはC₁ - C₄ アルキルであり、

R¹²はC₁ - C₄ アルキルである。

【0069】

いくらかの実施形態の化合物は、

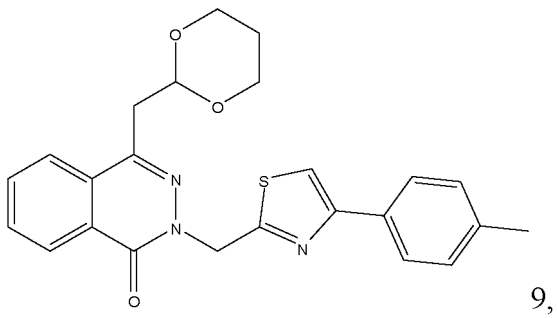
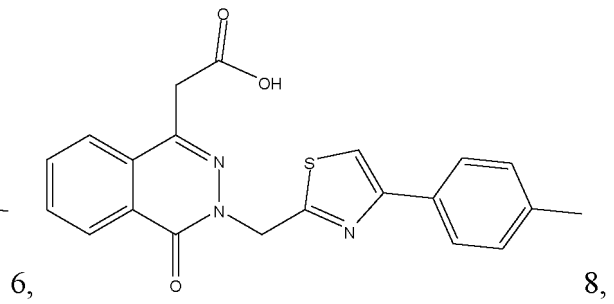
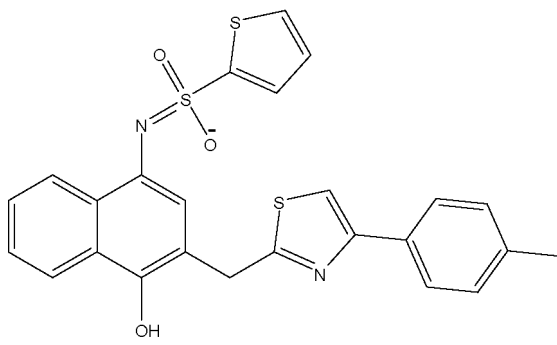
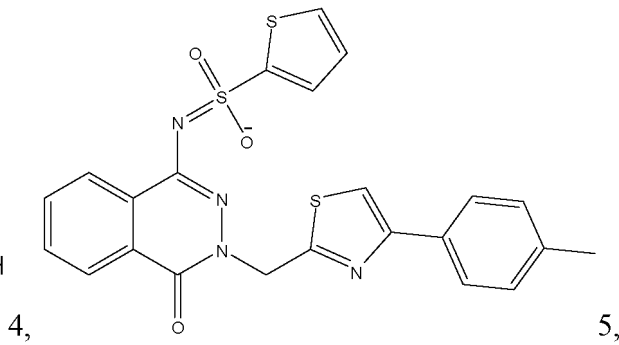
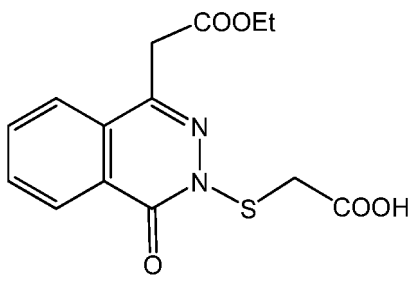
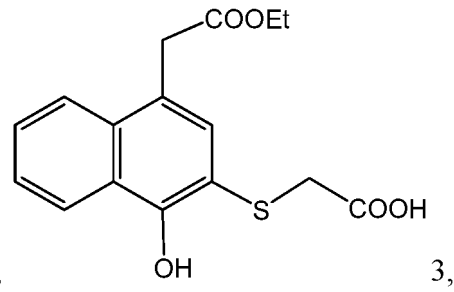
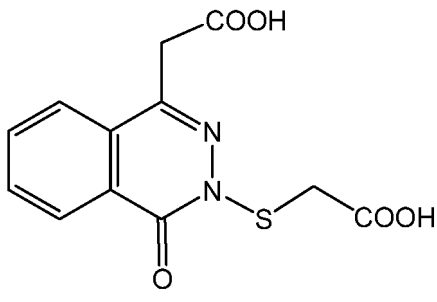
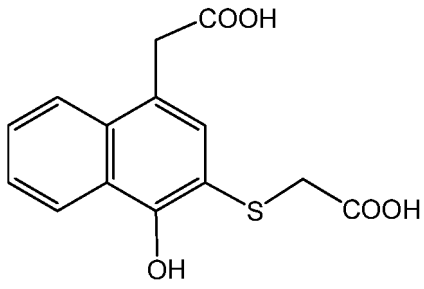
10

20

30

40

【化40】

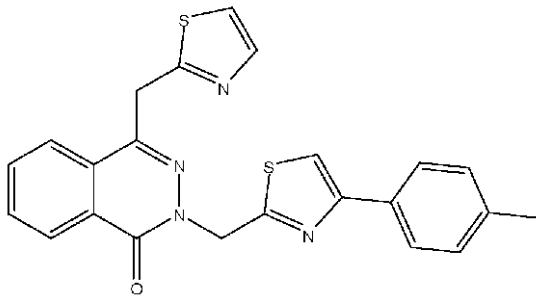


10

20

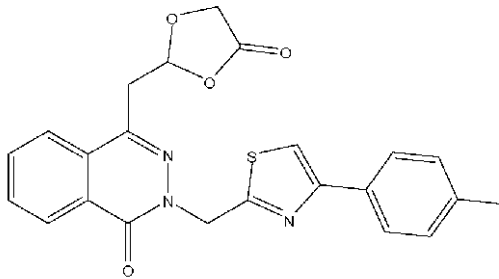
30

40



10, 及び

10



11.

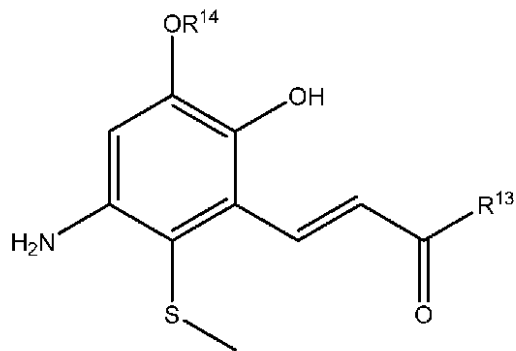
から選択される。

【0070】

いくらかの実施形態は、式I V Aの化合物を対象とする。

20

【化41】



式I V A

30

式中、

R^{13} は -OH もしくは $C_1 - C_4$ アルキルであり、かつ

R^{14} は H もしくは $C_1 - C_4$ アルキルである。

【0071】

いくらかの実施形態においては、 R^{13} はメチルである。

【0072】

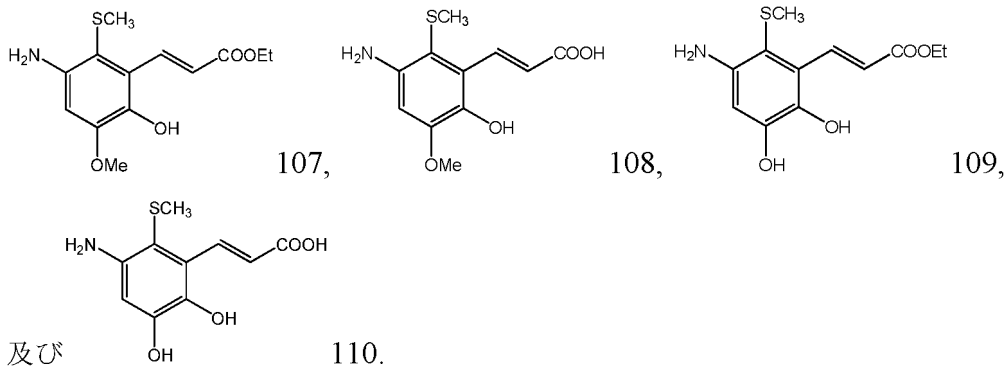
いくらかの実施形態においては、 R^{14} はメチルである。

40

【0073】

いくらかの実施形態においては、式I V Aの化合物は、

【化 4 2】



10

から選択される。

【0074】

実施形態は、式 I の化合物と薬学的に許容可能な賦形剤とを有する医薬組成物を対象とする。そのような実施形態においては、式 I の化合物は治療上有効な量で存在する。

【0075】

実施形態は、有効量の式 I の化合物を投与する工程を有する、癌を処置する方法を対象とする。

【0076】

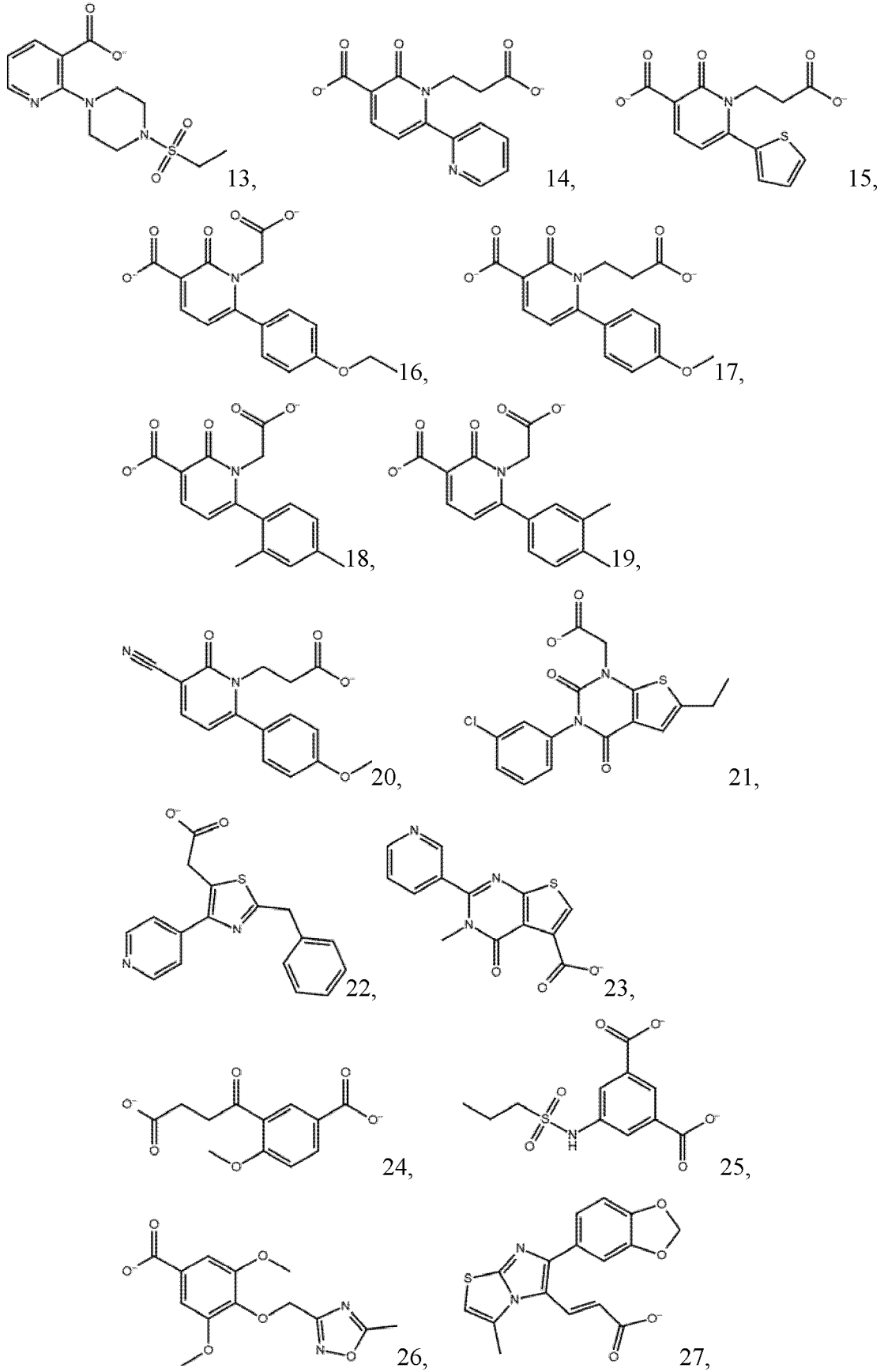
実施形態は、有効量の式 I の化合物を投与する工程を有する、CNKSR1 を阻害する方法を対象とする。

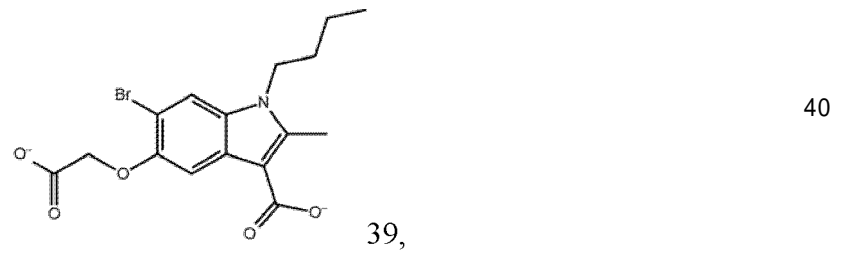
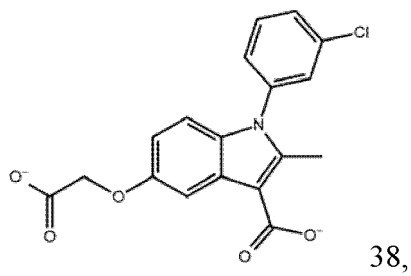
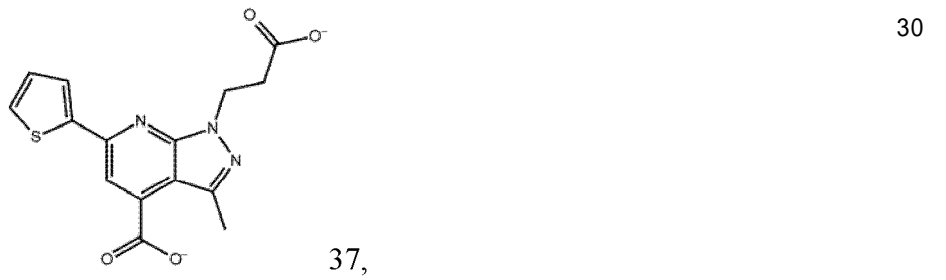
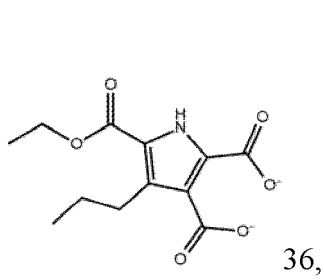
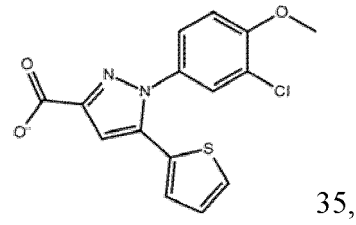
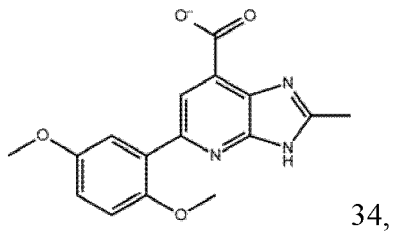
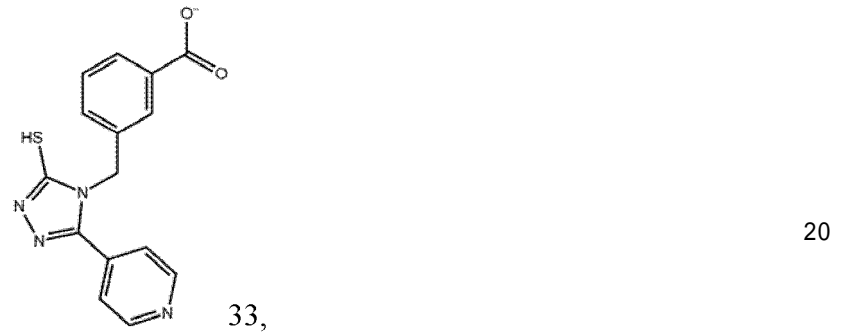
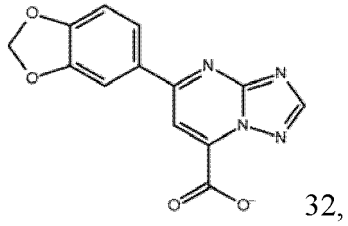
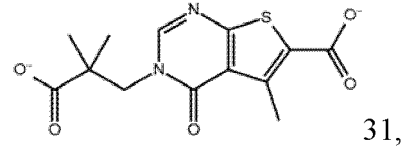
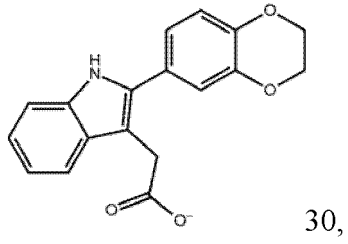
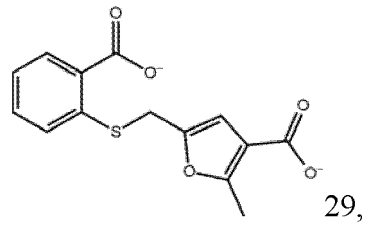
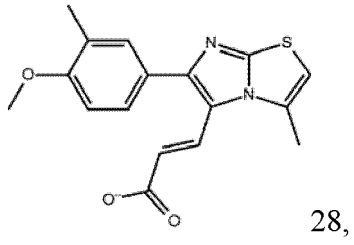
20

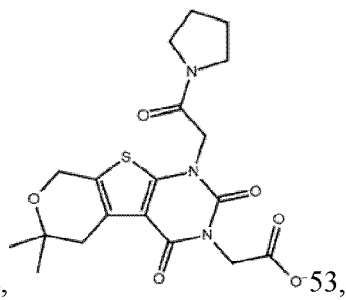
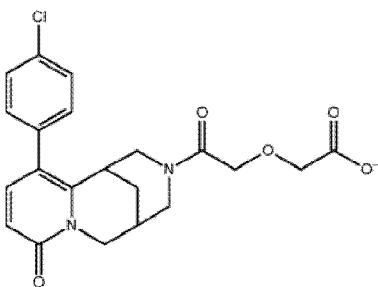
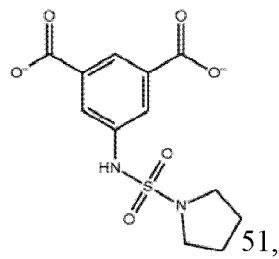
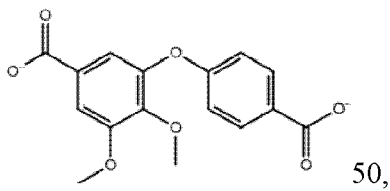
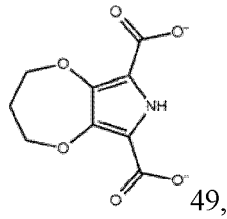
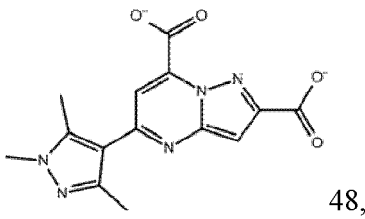
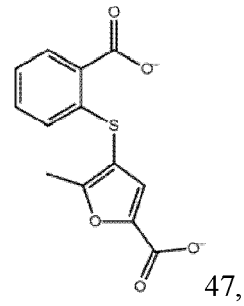
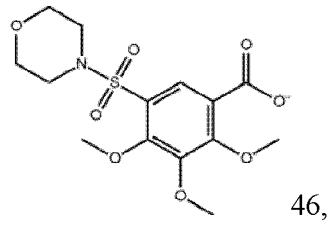
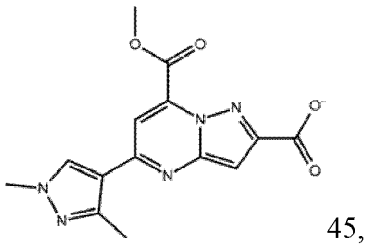
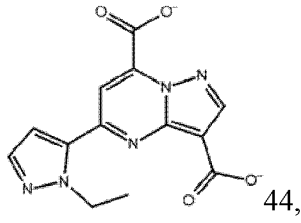
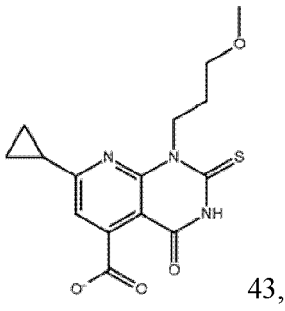
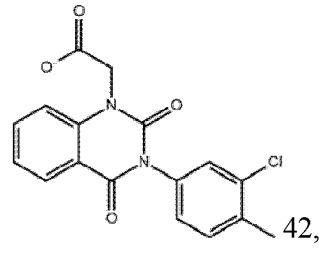
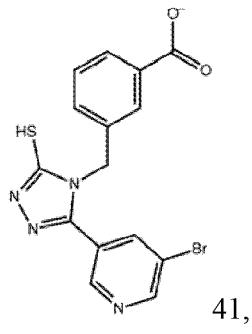
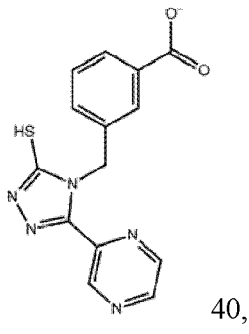
【0077】

実施形態は、有効量の、1 - 12、

【化 4 3】





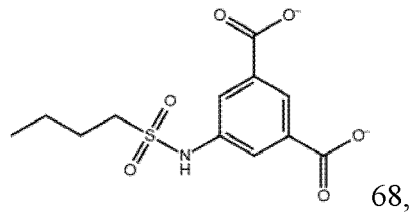
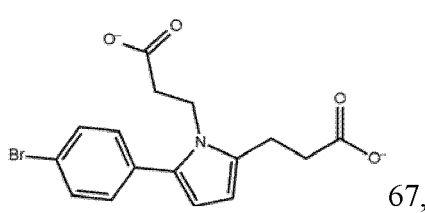
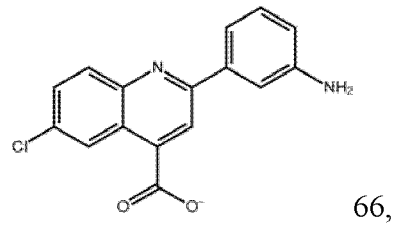
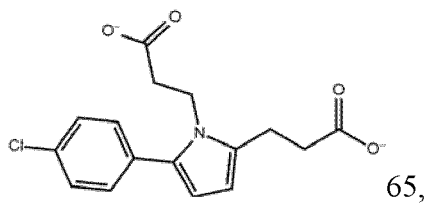
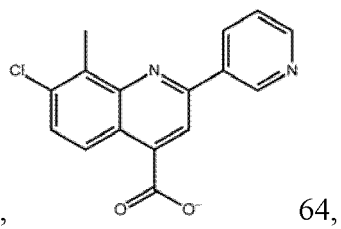
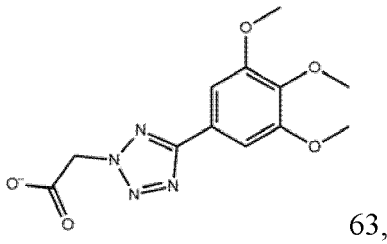
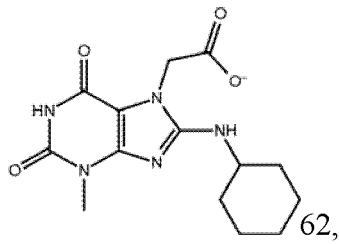
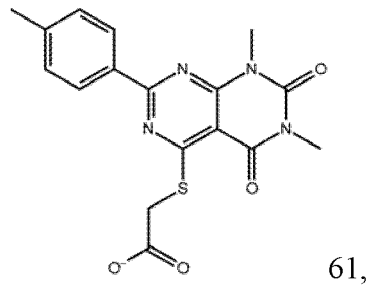
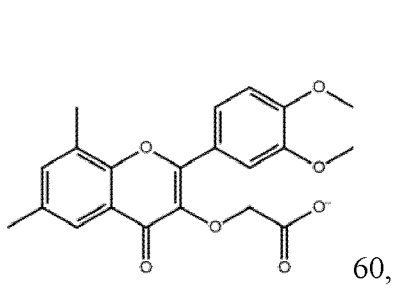
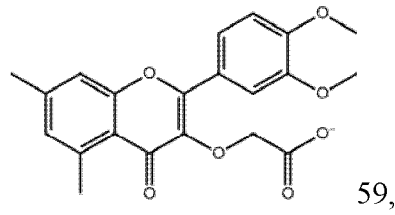
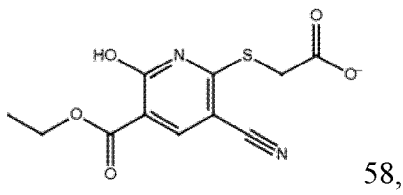
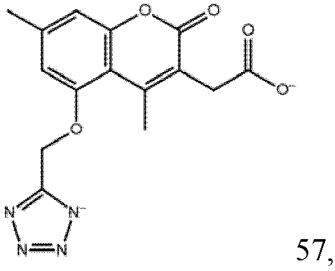
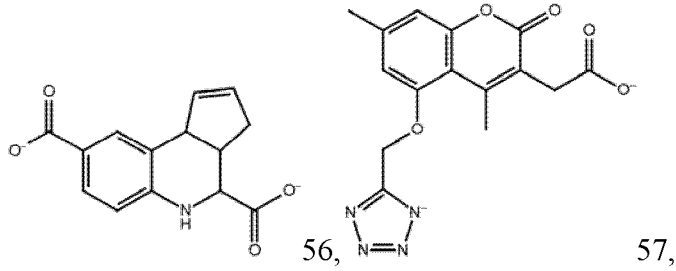
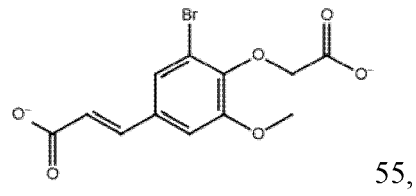
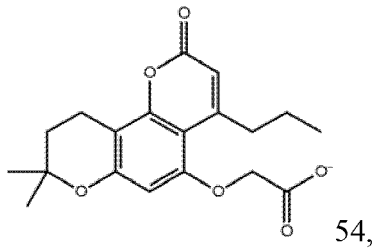


10

20

30

40

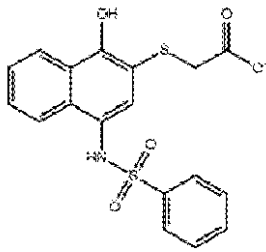


10

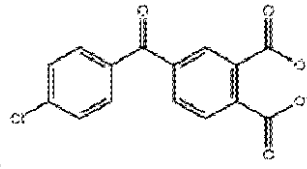
20

30

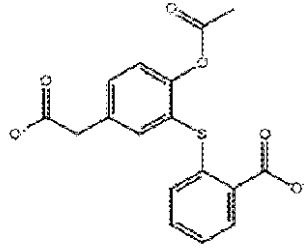
40



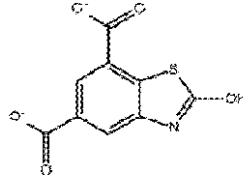
70,



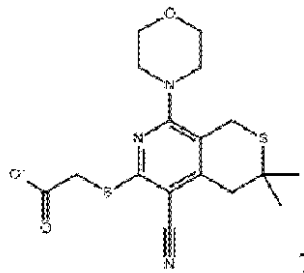
71,



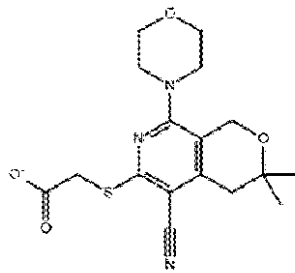
72,



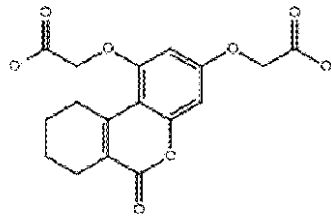
73,



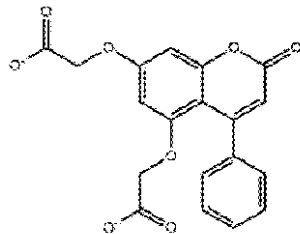
74,



75,



76,



77,

1, 2, 4 - トリヒドロキシアントラセン - 9, 10 - ジオン、ベンゾイミダゾール - 5, 6 - ジカルボン酸、4 - (アミノカルボニルアミノ)安息香酸、2 - (5 - メチル - 3 - ニトロピラゾリル) - N - (4 - スルファモイルフェニル)アセトアミド、N - (1 - アセチル - 4 - オキシ - 5 - ヒドロイミダゾ[5, 4 - d]ピリジン - 6 - イル)アセトアミド、N - [4 - (ヒドラジノスルホニル)フェニル]アセトアミド、3, 5 - ジ(アセチルアミノ) - 2 - メチル安息香酸、2 - [(2 - ヒドロキシ - tert - ブチル)アミノ] - N - (4 - スルファモイルフェニル)アセトアミド、2 - {[N - (3 - ピリジル)カルバモイル]メチル}シクロペンチル}酢酸、N - (3 - ヒドロキシ(2 - ピリジル))[4 - (モルホリン - 4 - イルスルホニル)(2 - チエニル)]カルボアミド、4 - (ベンゾ[d]フラン - 2 - イルカルボニルアミノ)安息香酸、2 - クロロ - 5 - {[N - (3 - クロロフェニル)カルバモイル]アミノ}安息香酸、4 - [(1 - メチルピラゾール - 3 - イル)カルボニルアミノ]安息香酸、4 - {[5 - (メトキシメチル) - 2 - フリル]カルボニルアミノ}安息香酸、ベンゾ[d]フラン - 2 - イル - N - (4 - スルファモイルフェニル)カルボアミド、3 - [N - (4 - {[2, 4 - ジメチルフェニル]アミノ}スルホニル)フェニル]カルバモイル]プロパン酸、3 - [N - (4 - {[4 - (3 - カルボキシプロパノイルアミノ) - 3 - ヒドロキシフェニル]メチル} - 2 - ヒドロキシフェニル)カルバモイル]プロパン酸、N - ベンゾチアゾール - 2 - イル - 3 - (フェニルスルホニル)プロパンアミド、2 - ベンゾイミダゾール - 2 - イルチオアセトヒドラジド、N - (4 - クロロフェニル)[(4 - スルファモイルフェニル)アミノ]カルボアミド、4 - {[N - (3 - クロロフェニル)カルバモイル]アミノ}ベンズアミド、3 - ((2E) - 3 - カルボキシプロ - 2 - エノイルアミノ)安息香酸、N - (

10

20

30

40

50

3, 4 - ジクロロフェニル) { [4 - (N - メチルカルバモイル) フェニル] アミノ } カ
 ルボアミド、 2 - フリル - N - (4 - スルファモイルフェニル) カルボアミド、 2 - ナフ
 チル - N - (4 - スルファモイルフェニル) カルボアミド、 [1 - (メチルスルホニル)
 インドリン - 5 - イル] - N - (2 - ピリジル) カルボアミド、 N - (3 - クロロフェニ
 ル) [(6 - メトキシ (3 - ピリジル)) アミノ] カルボアミド、 2 - (7 H - 1 , 2 ,
 4 - トリアゾロ [4 , 5 - d] 1 , 2 , 4 - トリアゾリン - 3 - イルチオ) - N - (2 -
 ピリジル) アセトアミド、 2 - (2 - メトキシフェノキシ) - N - (4 - スルファモイル
 フェニル) アセトアミド、 N - [5 - (アセチルアミノ) - 2 - ヒドロキシ - 3 - メチル
 フェニル] アセトアミド、 2 - (3 - イオド (1 , 2 , 4 - トリアゾリル)) - N - (3
 , 4 , 5 - トリメトキシフェニル) アセトアミド、 2 - モルホリン - 4 - イル - N - (4
 - スルファモイルフェニル) アセトアミド、 N - (ベンゾイミダゾール - 2 - イルメチル
) - 2 - (4 - ヒドロキシキナゾリン - 2 - イルチオ) アセトアミド、 N - (3 - メチル
 フェニル) - 2 - [9 - (4 - メチルフェニル) - 6 - オキソヒドロプリン - 8 - イルチ
 オ] アセトアミド、 N - { 4 - [(ナフチルアミノ) スルホニル] フェニル } (フェニル
 アミノ) カルボアミド、 2 - ヒドロキシ - 6 - メトキシキノリン - 4 - カルボン酸、 4 -
 [N - (4 - { N - [(1 E) - 2 - (4 - メトキシフェニル) - 1 - アザビニル] カル
 バモイル } フェニル) カルバモイル] ブタン酸、 6 H , 7 H - 1 , 4 - ジオキシノ [5 ,
 6 - f] ベンゾイミダゾール - 2 - イルメタン - 1 - オール、 N - [(2 - フルオロフェ
 ニル) メチル] { [3 - ({ N - [(2 - フルオロフェニル) メチル] カルバモイル } ア
 ミノ) フェニル] アミノ } カルボアミド、 ベンゾ [d] フラン - 2 - イル - N - (3 - エ
 チル - 4 - オキソ (3 - ヒドロキナゾリン - 7 - イル)) カルボアミド、 2 - (2 - オキ
 ソ (3 - ヒドロベンゾキサゾール - 3 - イル)) - N - (1 , 3 - チアゾール - 2 - イル
) アセトアミド、 N - (2 H - ベンゾ [3 , 4 - d] 1 , 3 - ジオキソラン - 5 - イル)
 - N - (2 H - ベンゾ [3 , 4 - d] 1 , 3 - ジオキソレン - 5 - イル) エタン - 1 ,
 2 - ジアミド、 2 H , 3 H - フラノ [3 , 4 - e] 1 , 4 - ジオキサン - 5 , 7 - ジカル
 ボン酸、 エチル 1 1 - アミノ - 1 2 - シアノ - 8 - (メトキシメチル) スピロ [2 H - 3
 , 4 , 5 , 6 - テトラヒドロピラン - 4 , 7 ' - 4 , 7 - ジヒドロイミダゾ [5 , 4 - b
] ピリジン] - 1 0 - カルボキシラート、 2 - (1 , 3 - ジメチル - 2 , 6 - ジオキソ (1 , 3 , 7 - トリ
 ヒドロプリン - 7 - イル)) - N - [5 - (トリフルオロメチル) (1 , 3 , 4 - チアジ
 アゾール - 2 - イル)] アセトアミド、 N - ベンゾチアゾール - 2 - イ
 ル (3 - メチル - 4 - オキソ (3 - ヒドロフタラジニル)) カルボアミド、 (4 - フル
 オロフェニル) - N - (1 - オキソ (3 - ヒドロイソベンゾフラン - 5 - イル)) カルボ
 アミド、 N - (3 - フルオロ - 4 - メチルフェニル) - 2 - (6 - オキソ - 9 - フェニルヒ
 ドロプリン - 8 - イルチオ) アセトアミド、 2 H - ベンゾ [3 , 4 - d] 1 , 3 - ジオキ
 ソレン - 5 - イル - N - (5 - エチルチオ (1 , 3 , 4 - チアジアゾール - 2 - イル))
 カルボアミド、 6 - (ヒドラジンカルボニル) - 4 - オキソ - 3 , 4 - ジヒドロフタラジ
 ン - 1 - オラート、 2 - (7 - アミノ (1 , 2 , 4 - トリアゾロ [4 , 5 - d] 1 , 2 ,
 4 - トリアゾリン - 3 - イルチオ)) - N - (5 - エチル (1 , 3 , 4 - チアジアゾール
 - 2 - イル)) アセトアミド、 2 - アミノ - 5 - メチル - 4 - オキソ - 5 - ヒドロ - 1 ,
 3 - チアゾロ [5 , 4 - d] ピリダジン - 7 - カルボニトリル、 ヒドロ - 5 H - 1 , 2 ,
 3 - トリアゾロ [4 , 5 - f] ベンゾトリアゾール - 4 , 8 - ジオン、 N - (2 - ヒドロ
 キシフェニル) { 3 - [N - (2 - ヒドロキシフェニル) カルバモイル] - 5 - (フェ
 ニルカルボニルアミノ) フェニル } カルボアミド、 N - (2 H , 3 H - ベンゾ [3 , 4 - e
] 1 , 4 - ジオキサン - 6 - イル) - 8 - ヒドロ - 1 , 2 , 4 - トリアオゾロ [1 , 5 -
 a] ピリミジン - 2 - イルカルボアミド、 4 - ヒドラジンカルボニル - 3 - メチルベン
 ゾ [4 , 5 - d] ピリド [1 , 2 - a] イミダゾール - 1 - オラート、 N - メチル - 2 - オ
 キソ - 1 , 2 - ジヒドロベンゾ [c d] インドール - 6 - スルホンアミド、 N - (2 H ,
 3 H - ベンゾ [3 , 4 - e] 1 , 4 - ジオキシン - 6 - イル) - 2 - [1 - (2 - メトキ
 シフェニル) - 5 , 7 - ジメチル - 2 , 4 - ジオキソ (1 , 3 - ジヒドロピリジノ [2 ,
 3 - d] ピリミジン - 3 - イル)] アセトアミド、 2 - アミノ - 5 - (2 , 6 - ジアミノ

10

20

30

40

50

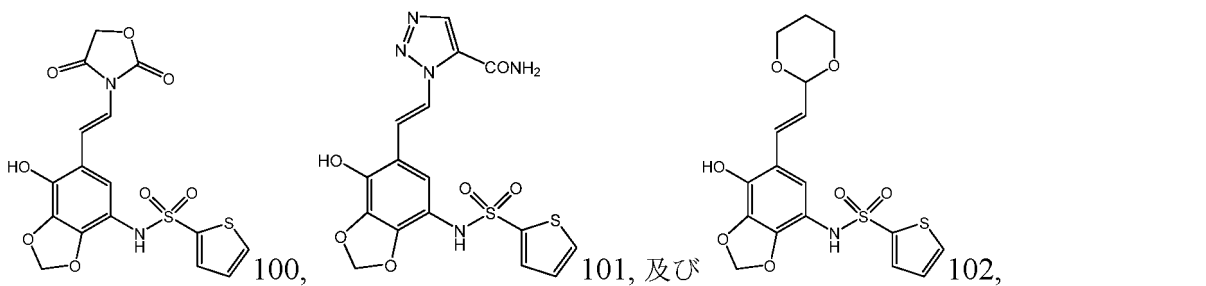
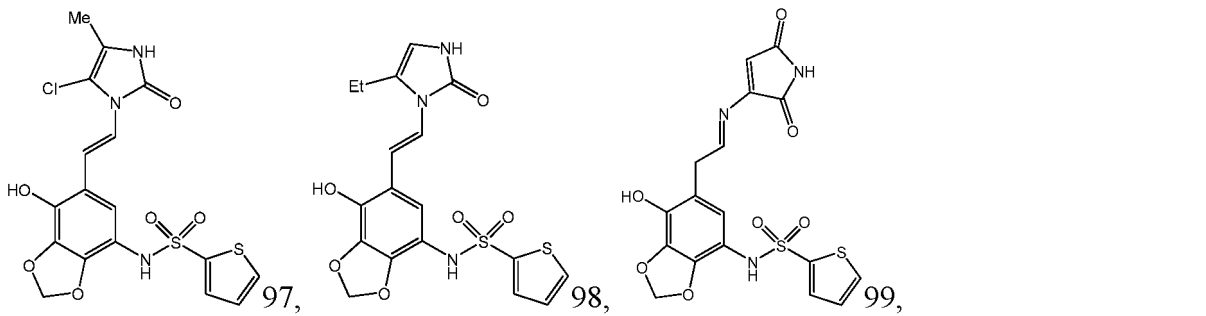
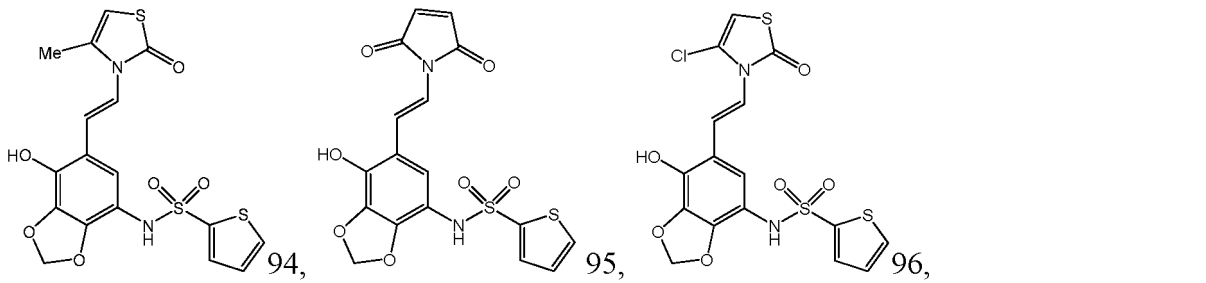
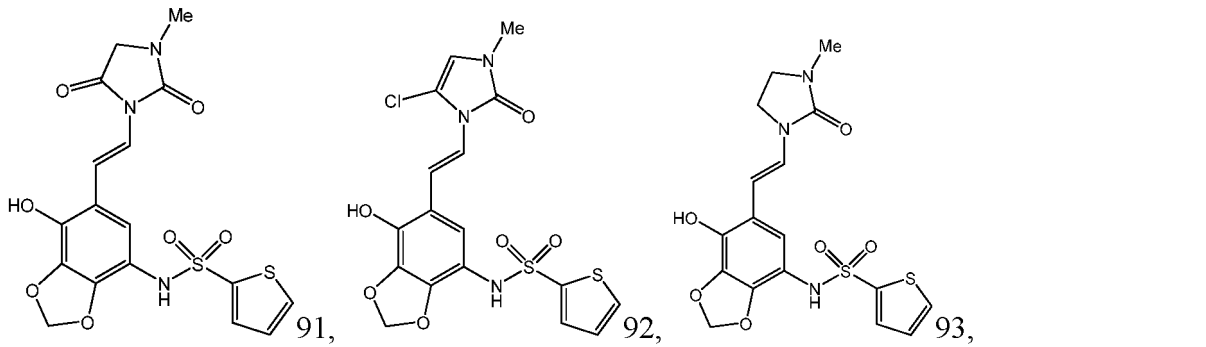
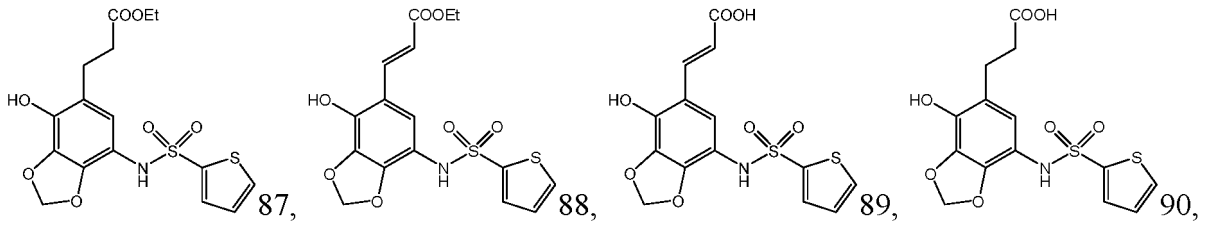
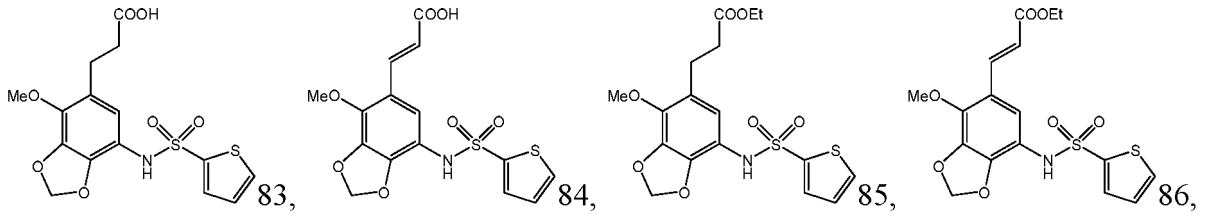
- 4 - オキソ (3 - ヒドロピリミジン - 5 - イル)) - 6 - (5 - クロロ (2 - チエニル)) - 3 - ヒドロピロロ [2 , 3 - d] ピリミジン - 4 - オン、 5 - ヒドロキシ - 1 , 3 - ジメチル - 1 , 3 , 8 - トリヒドロピリジノ [2 , 3 - d] ピリミジン - 2 , 4 , 7 - トリオン、 6 - ヒドロキシ - 5 - [(6 - ヒドロキシ - 4 - オキソ - 2 - チオキソ (1 , 3 - ジヒドロピリミジン - 5 - イル)) メチル] - 2 - チオキソ - 1 , 3 - ジヒドロピリミジン - 4 - オン、 メチル 5 - (2 - フリルカルボニルアミノ) - 3 - (メトキシカルボニル) 安息香酸、 2 - { [N - (9 , 10 - ジオキソアントリル) カルバモイル] メチルチオ } 酢酸、 2 - (2 , 4 - ジブプロモフェノキシ) - N - (4 - { [(4 - スルファモイルフェニル) アミノ] スルホニル } フェニル) アセトアミド、 1 , 3 - ビス (ヒドロキシメチル) - 5 - メトキシ - 3 - ヒドロベンゾイミダゾール - 2 - オン、 10 - [(3 - クロロフェニル) アミノ] - 2 , 3 - ジメトキシ - 5 , 6 , 7 - トリヒドロピリジノ [6 , 1 - a] イソキノリン - 8 - オン、 2 , 4 - ビス (4 - ヒドロキシフェニル) シクロブタン - 1 , 3 - 及びジカルボン酸、並びにこれらの組み合わせ、から選択される化合物を投与する工程を有する、癌を処置する方法を対象とする。

10

【 0 0 7 8 】

いくらかの実施形態の化合物は、

【化 4 4】

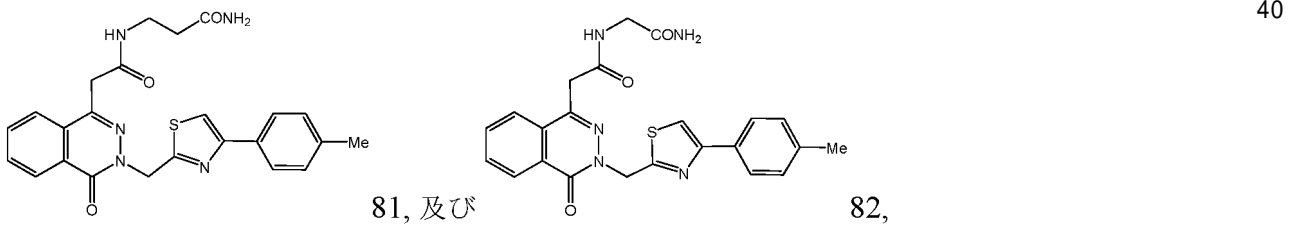
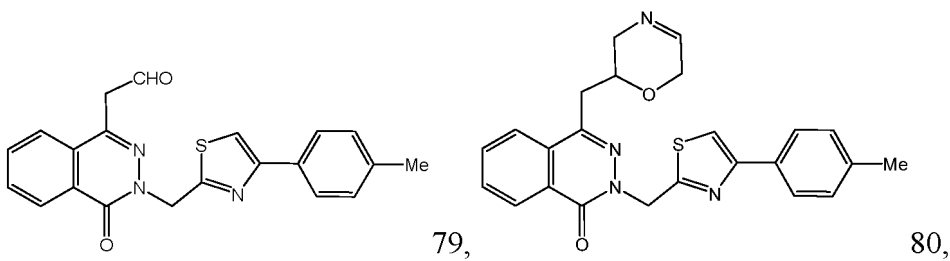
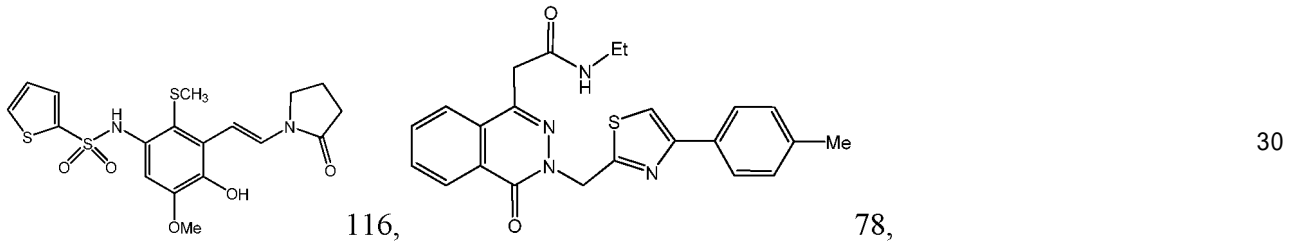
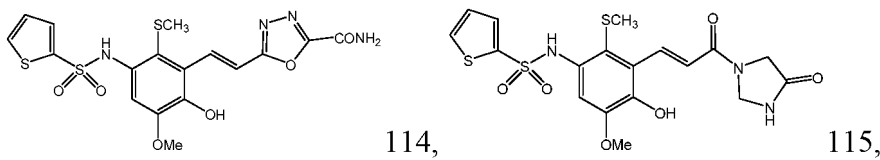
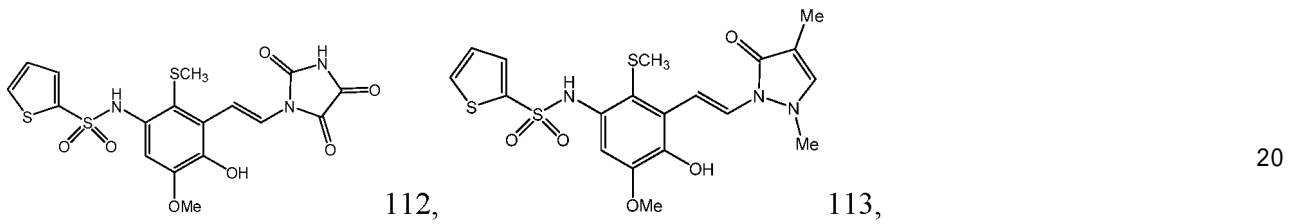
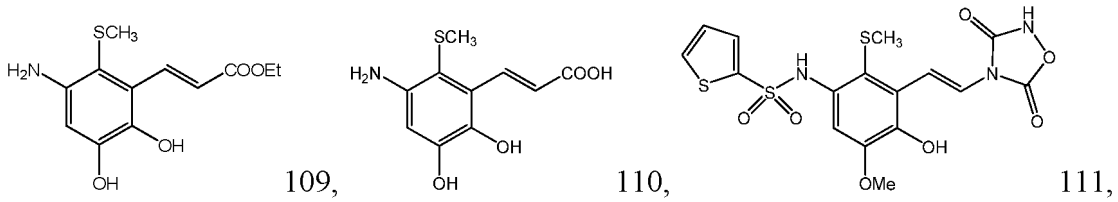
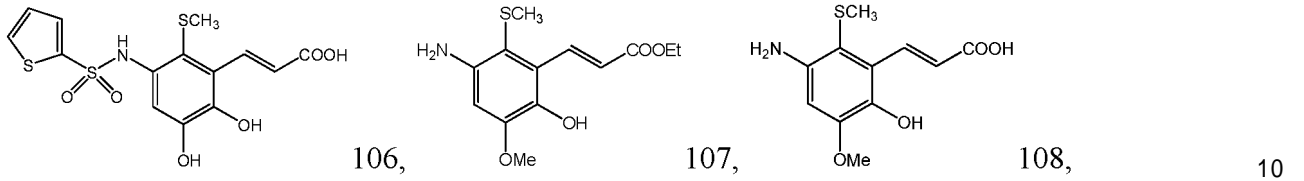
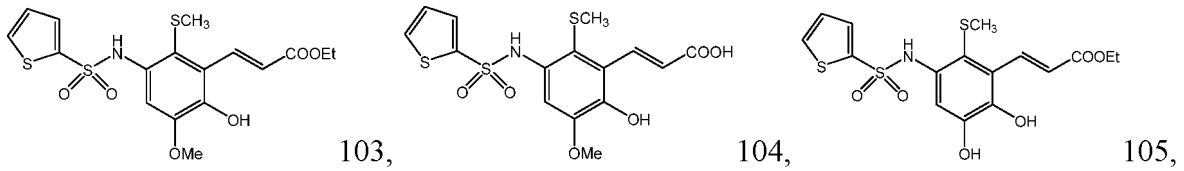


10

20

30

40

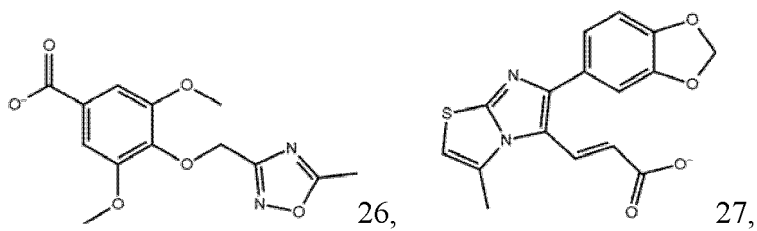
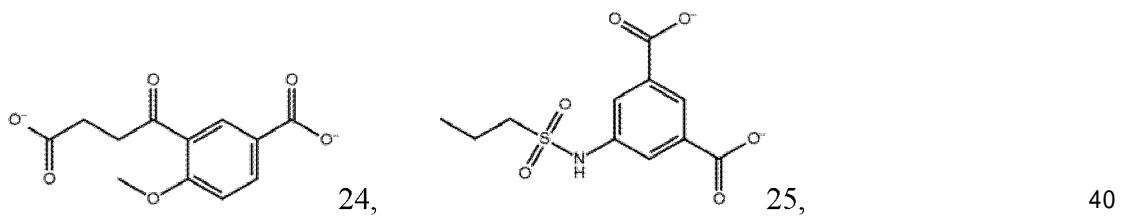
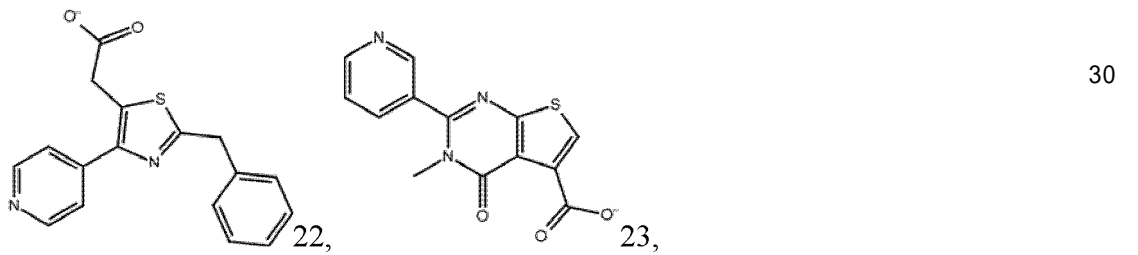
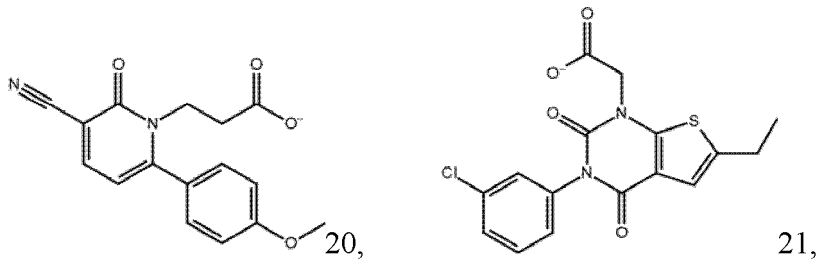
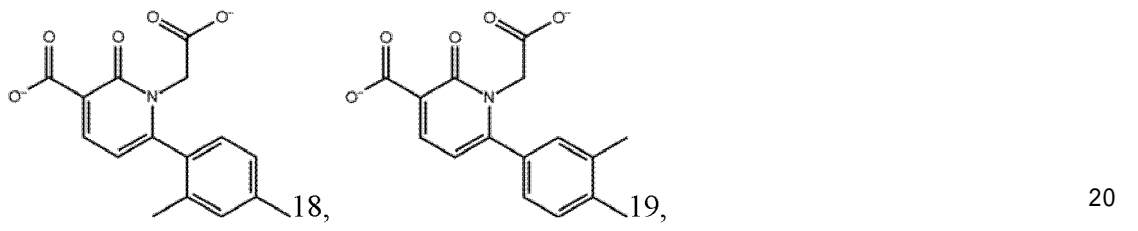
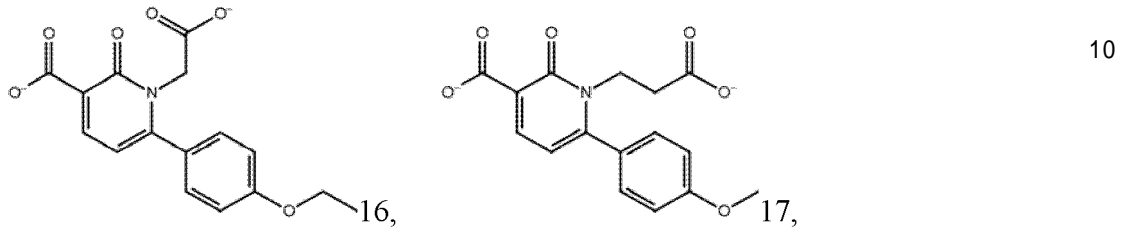
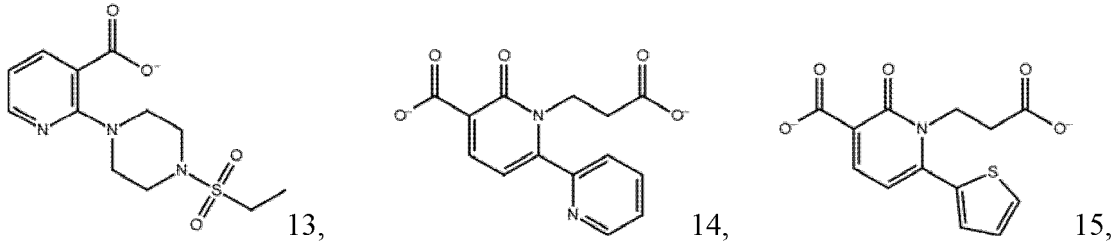


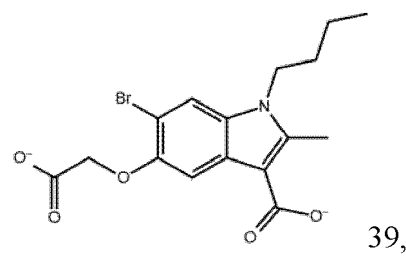
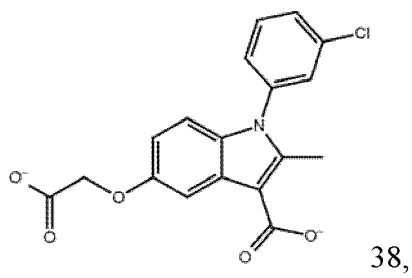
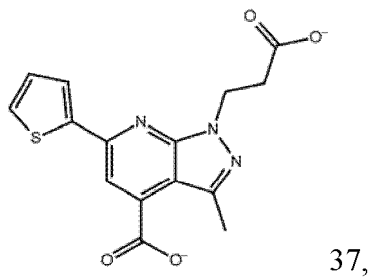
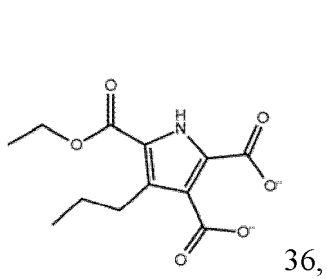
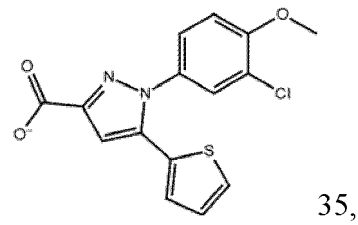
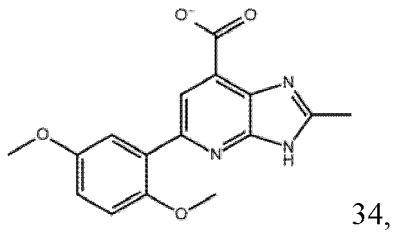
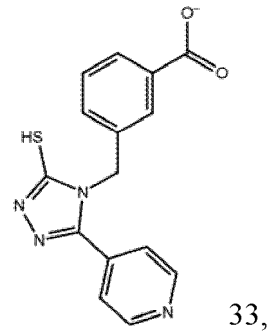
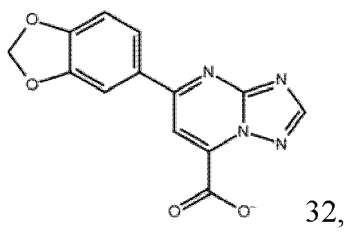
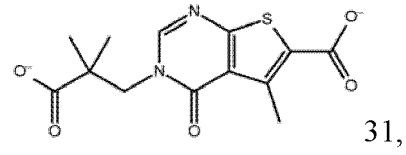
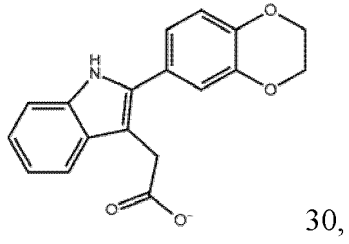
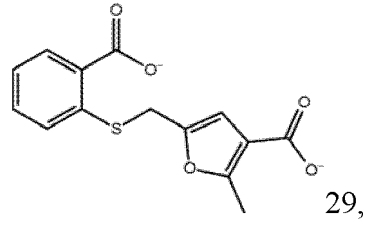
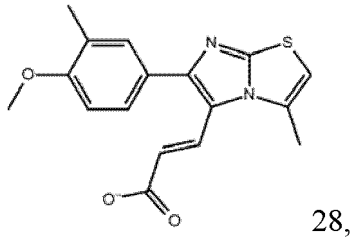
並びにそれらの薬学的に許容可能な塩から選択される。

【 0 0 7 9 】

実施形態は、有効量の、 1 - 1 2、

【化 4 5】



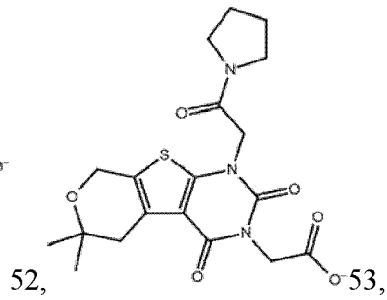
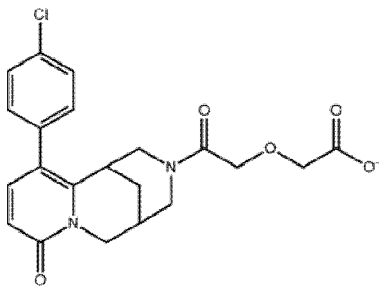
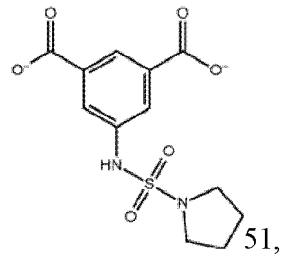
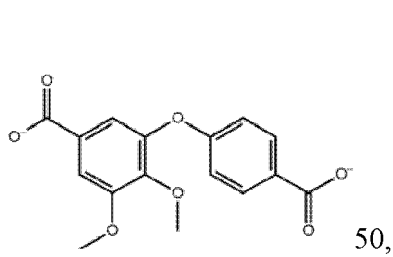
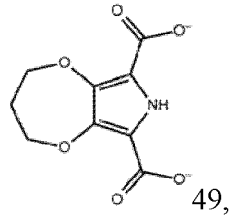
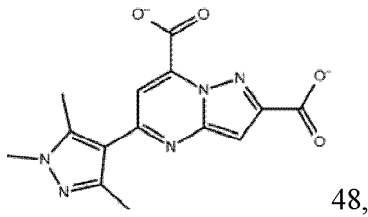
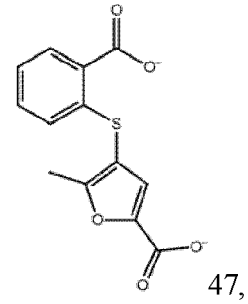
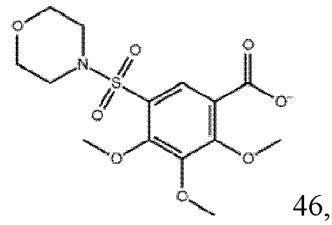
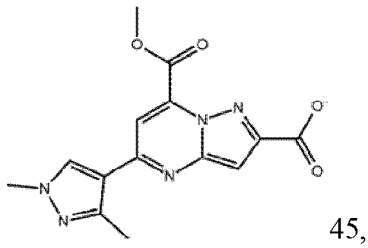
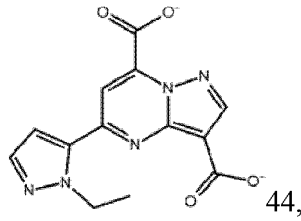
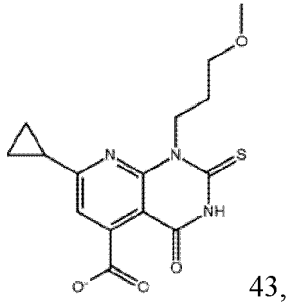
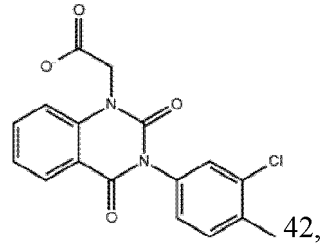
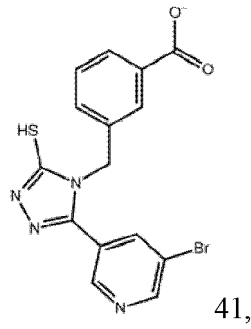
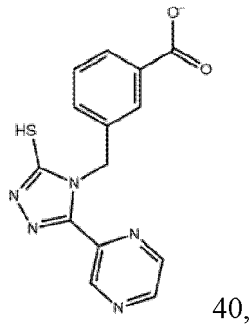


10

20

30

40

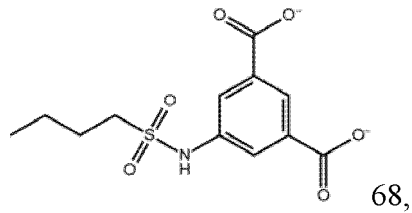
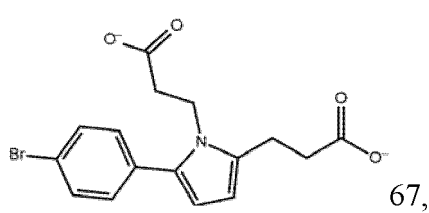
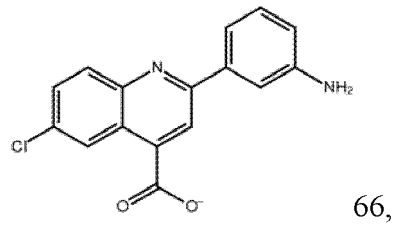
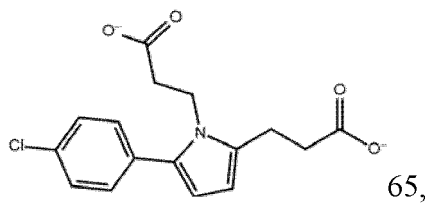
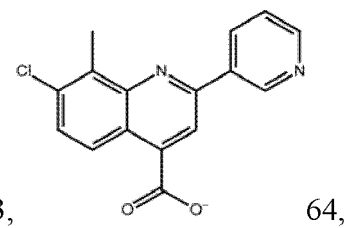
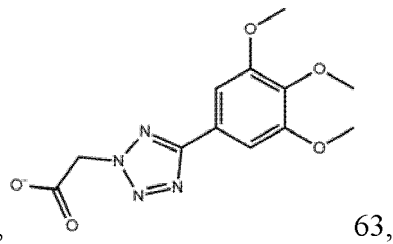
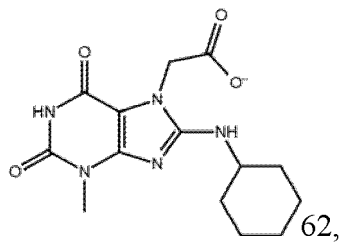
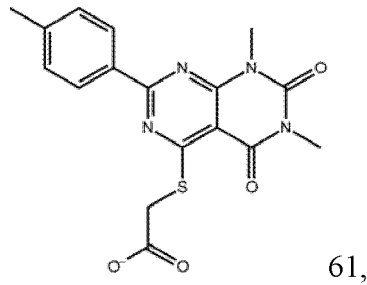
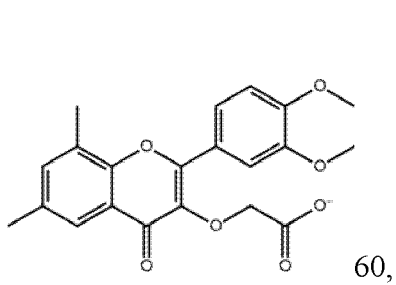
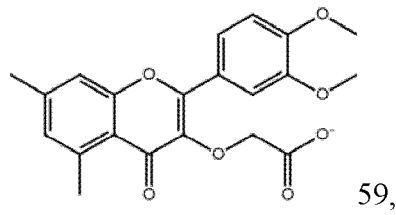
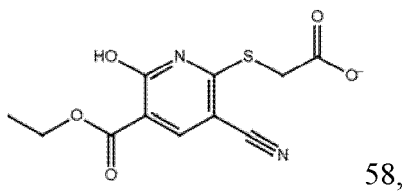
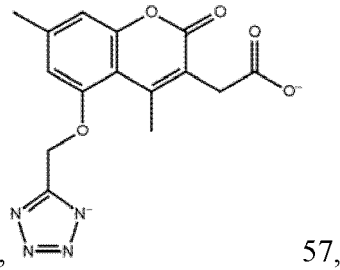
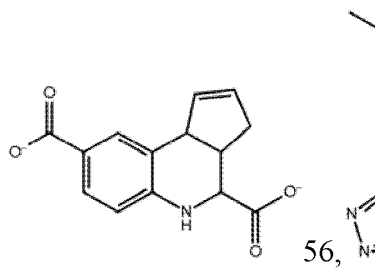
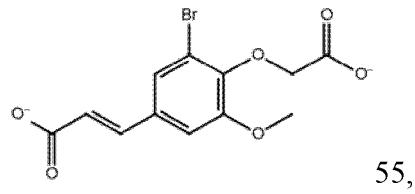
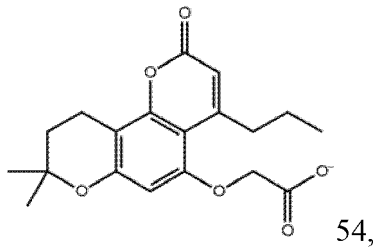


10

20

30

40

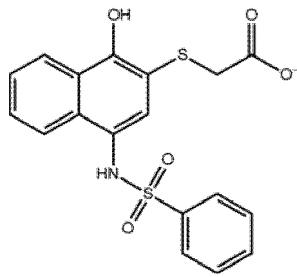


10

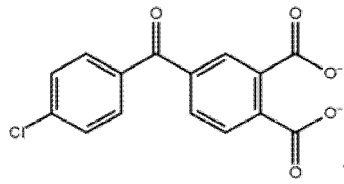
20

30

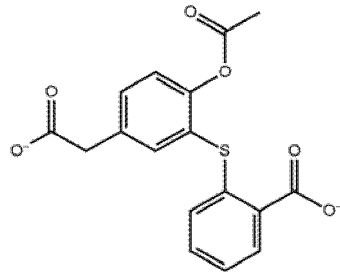
40



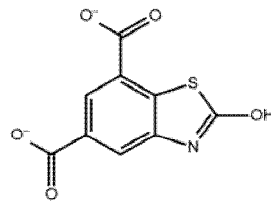
70,



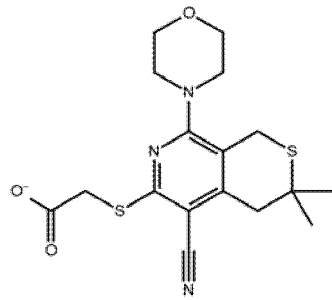
71,



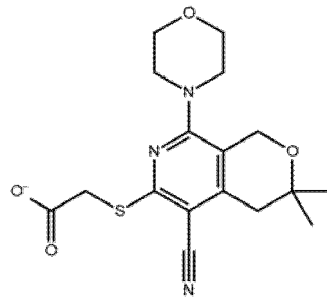
72,



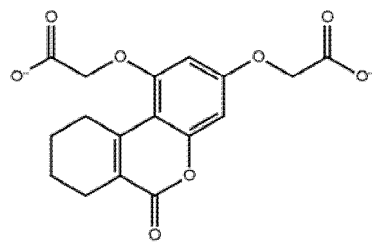
73,



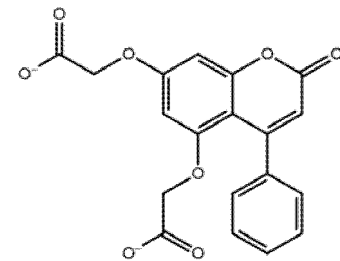
74,



75,



76,



77,

1, 2, 4 - トリヒドロキシアントラセン - 9, 10 - ジオン、ベンゾイミダゾール - 5, 6 - ジカルボン酸、4 - (アミノカルボニルアミノ)安息香酸、2 - (5 - メチル - 3 - ニトロピラゾリル) - N - (4 - スルファモイルフェニル)アセトアミド、N - (1 - アセチル - 4 - オキシ - 5 - ヒドロイミダゾ[5, 4 - d]ピリジン - 6 - イル)アセトアミド、N - [4 - (ヒドラジノスルホニル)フェニル]アセトアミド、3, 5 - ジ(アセチルアミノ) - 2 - メチル安息香酸、2 - [(2 - ヒドロキシ - tert - ブチル)アミノ] - N - (4 - スルファモイルフェニル)アセトアミド、2 - {[(N - (3 - ピリジル)カルバモイル)メチル]シクロペンチル}酢酸、N - (3 - ヒドロキシ(2 - ピリジル))[4 - (モルホリン - 4 - イルスルホニル)(2 - チエニル)]カルボアミド、4 - (ベンゾ[d]フラン - 2 - イルカルボニルアミノ)安息香酸、2 - クロロ - 5 - {[N - (3 - クロロフェニル)カルバモイル]アミノ}安息香酸、4 - [(1 - メチルピラゾール - 3 - イル)カルボニルアミノ]安息香酸、4 - {[5 - (メトキシメチル) - 2 - フリル]カルボニルアミノ}安息香酸、ベンゾ[d]フラン - 2 - イル - N - (4 - スルファモイルフェニル)カルボアミド、3 - [N - (4 - {[(2, 4 - ジメチルフェニル)アミノ]スルホニル}フェニル)カルバモイル]プロパン酸、3 - [N - (4 - {[4 - (3 - カルボキシプロパノイルアミノ) - 3 - ヒドロキシフェニル]メチル} - 2 - ヒドロキシフェニル)カルバモイル]プロパン酸、N - ベンゾチアゾール - 2 - イル - 3 - (フェニルスルホニル)プロパンアミド、2 - ベンゾイミダゾール - 2 - イルチオアセトヒドラジド、N - (4 - クロロフェニル)[(4 - スルファモイルフェニル)アミノ

10

20

30

40

50

]カルボアミド、4 - { [N - (3 - クロロフェニル) カルバモイル] アミノ } ベンズア
 ミド、3 - ((2 E) - 3 - カルボキシプロブ - 2 - エノイルアミノ) 安息香酸、N - (
 3 , 4 - ジクロロフェニル) { [4 - (N - メチルカルバモイル) フェニル] アミノ } カ
 ルボアミド、2 - フリル - N - (4 - スルファモイルフェニル) カルボアミド、2 - ナフ
 チル - N - (4 - スルファモイルフェニル) カルボアミド、[1 - (メチルスルホニル)
 インドリン - 5 - イル] - N - (2 - ピリジル) カルボアミド、N - (3 - クロロフェニ
 ル) [(6 - メトキシ (3 - ピリジル)) アミノ] カルボアミド、2 - (7 H - 1 , 2 ,
 4 - トリアゾロ [4 , 5 - d] 1 , 2 , 4 - トリアゾリン - 3 - イルチオ) - N - (2 -
 ピリジル) アセトアミド、2 - (2 - メトキシフェノキシ) - N - (4 - スルファモイル
 フェニル) アセトアミド、N - [5 - (アセチルアミノ) - 2 - ヒドロキシ - 3 - メチル
 フェニル] アセトアミド、2 - (3 - イオド (1 , 2 , 4 - トリアゾリル)) - N - (3
 , 4 , 5 - トリメトキシフェニル) アセトアミド、2 - モルホリン - 4 - イル - N - (4
 - スルファモイルフェニル) アセトアミド、N - (ベンゾイミダゾール - 2 - イルメチル
) - 2 - (4 - ヒドロキシキナゾリン - 2 - イルチオ) アセトアミド、N - (3 - メチル
 フェニル) - 2 - [9 - (4 - メチルフェニル) - 6 - オキソヒドロプリン - 8 - イルチ
 オ] アセトアミド、N - { 4 - [(ナフチルアミノ) スルホニル] フェニル } (フェニル
 アミノ) カルボアミド、2 - ヒドロキシ - 6 - メトキシキノリン - 4 - カルボン酸、4 -
 [N - (4 - { N - [(1 E) - 2 - (4 - メトキシフェニル) - 1 - アザビニル] カル
 バモイル } フェニル) カルバモイル] ブタン酸、6 H , 7 H - 1 , 4 - ジオキシノ [5 ,
 6 - f] ベンゾイミダゾール - 2 - イルメタン - 1 - オール、N - [(2 - フルオロフェ
 ニル) メチル] { [3 - ({ N - [(2 - フルオロフェニル) メチル] カルバモイル } ア
 ミノ) フェニル] アミノ } カルボアミド、ベンゾ [d] フラン - 2 - イル - N - (3 - エ
 チル - 4 - オキソ (3 - ヒドロキナゾリン - 7 - イル)) カルボアミド、2 - (2 - オキ
 ソ (3 - ヒドロベンゾキサゾール - 3 - イル)) - N - (1 , 3 - チアゾール - 2 - イル)
) アセトアミド、N - (2 H - ベンゾ [3 , 4 - d] 1 , 3 - ジオキソラン - 5 - イル)
 - N - (2 H - ベンゾ [3 , 4 - d] 1 , 3 - ジオキソレン - 5 - イル) エタン - 1 ,
 2 - ジアミド、2 H , 3 H - フラノ [3 , 4 - e] 1 , 4 - ジオキサン - 5 , 7 - ジカル
 ボン酸、エチル 1 1 - アミノ - 1 2 - シアノ - 8 - (メトキシメチル) スピロ [2 H - 3
 , 4 , 5 , 6 - テトラヒドロピラン - 4 , 7 ' - 4 , 7 - ジヒドロイミダゾ [5 , 4 - b
] ピリジン] - 1 0 - カルボキシラート、2 - (1 , 3 - ジメチル - 2 , 6 - ジオキソ (
 1 , 3 , 7 - トリヒドロプリン - 7 - イル)) - N - [5 - (トリフルオロメチル) (1
 , 3 , 4 - チアジアゾール - 2 - イル)] アセトアミド、N - ベンゾチアゾール - 2 - イ
 ル (3 - メチル - 4 - オキソ (3 - ヒドロフタラジニル)) カルボアミド、(4 - フルオ
 ロフェニル) - N - (1 - オキソ (3 - ヒドロイソベンゾフラン - 5 - イル)) カルボア
 ミド、N - (3 - フルオロ - 4 - メチルフェニル) - 2 - (6 - オキソ - 9 - フェニルヒ
 ドロプリン - 8 - イルチオ) アセトアミド、2 H - ベンゾ [3 , 4 - d] 1 , 3 - ジオキ
 ソレン - 5 - イル - N - (5 - エチルチオ (1 , 3 , 4 - チアジアゾール - 2 - イル))
 カルボアミド、6 - (ヒドラジンカルボニル) - 4 - オキソ - 3 , 4 - ジヒドロフタラジ
 ン - 1 - オラート、2 - (7 - アミノ (1 , 2 , 4 - トリアゾロ [4 , 5 - d] 1 , 2 ,
 4 - トリアゾリン - 3 - イルチオ)) - N - (5 - エチル (1 , 3 , 4 - チアジアゾール
 - 2 - イル)) アセトアミド、2 - アミノ - 5 - メチル - 4 - オキソ - 5 - ヒドロ - 1 ,
 3 - チアゾロ [5 , 4 - d] ピリダジン - 7 - カルボニトリル、ヒドロ - 5 H - 1 , 2 ,
 3 - トリアゾロ [4 , 5 - f] ベンゾトリアゾール - 4 , 8 - ジオン、N - (2 - ヒドロ
 キシフェニル) { 3 - [N - (2 - ヒドロキシフェニル) カルバモイル] - 5 - (フェニ
 ルカルボニルアミノ) フェニル } カルボアミド、N - (2 H , 3 H - ベンゾ [3 , 4 - e
] 1 , 4 - ジオキサン - 6 - イル) - 8 - ヒドロ - 1 , 2 , 4 - トリアオゾロ [1 , 5 -
 a] ピリミジン - 2 - イルカルボアミド、4 - ヒドラジンカルボニル - 3 - メチルベンゾ
 [4 , 5 - d] ピリド [1 , 2 - a] イミダゾール - 1 - オラート、N - メチル - 2 - オ
 キソ - 1 , 2 - ジヒドロベンゾ [c d] インドール - 6 - スルホンアミド、N - (2 H ,
 3 H - ベンゾ [3 , 4 - e] 1 , 4 - ジオキシ - 6 - イル) - 2 - [1 - (2 - メトキ

10

20

30

40

50

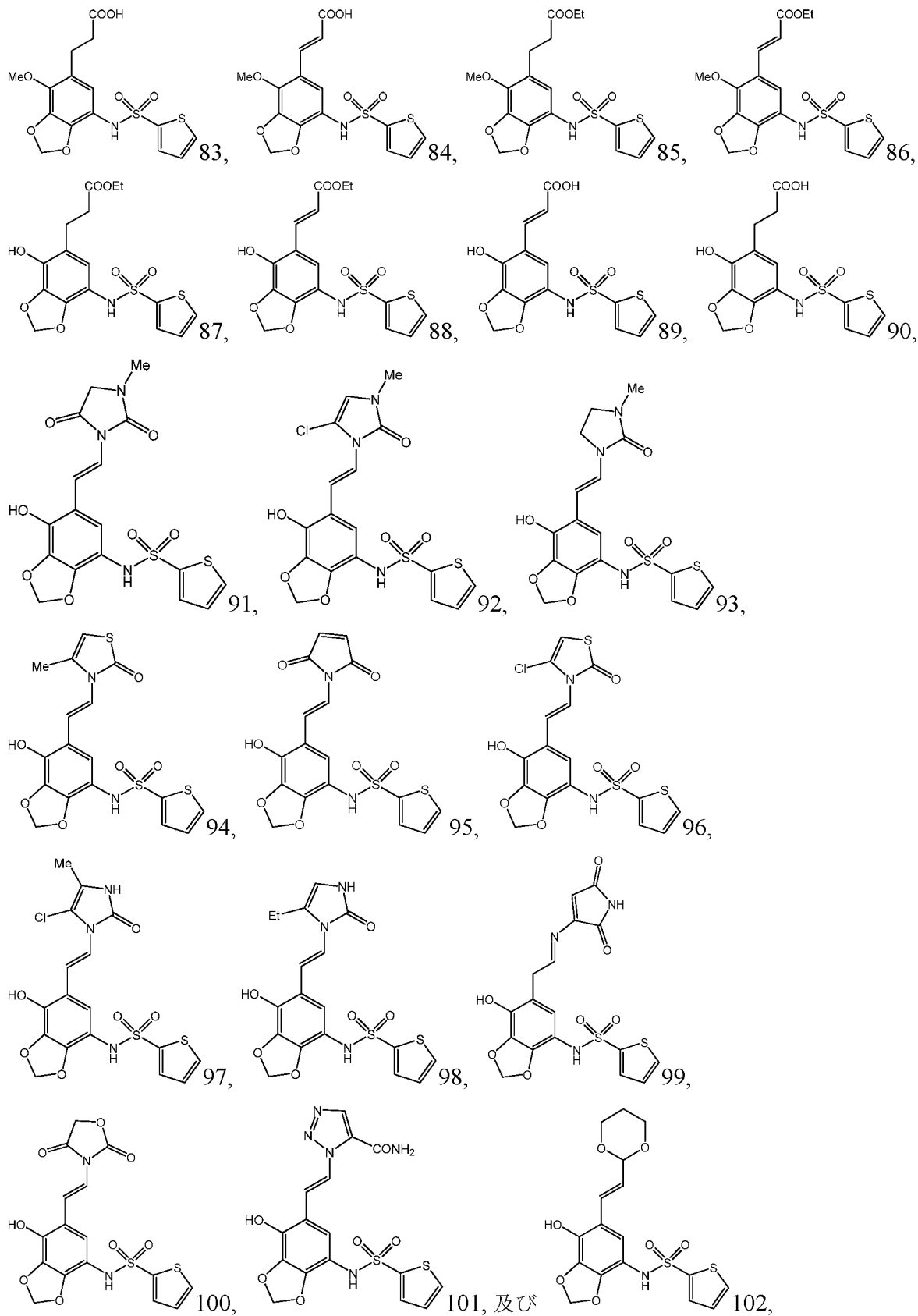
シフェニル) - 5, 7 - ジメチル - 2, 4 - ジオキソ (1, 3 - ジヒドロピリジノ [2, 3 - d] ピリミジン - 3 - イル)] アセトアミド、 2 - アミノ - 5 - (2, 6 - ジアミノ - 4 - オキソ (3 - ヒドロピリミジン - 5 - イル)) - 6 - (5 - クロロ (2 - チエニル)) - 3 - ヒドロピロロ [2, 3 - d] ピリミジン - 4 - オン、 5 - ヒドロキシ - 1, 3 - ジメチル - 1, 3, 8 - トリヒドロピリジノ [2, 3 - d] ピリミジン - 2, 4, 7 - トリオン、 6 - ヒドロキシ - 5 - [(6 - ヒドロキシ - 4 - オキソ - 2 - チオキソ (1, 3 - ジヒドロピリミジン - 5 - イル)) メチル] - 2 - チオキソ - 1, 3 - ジヒドロピリミジン - 4 - オン、 メチル 5 - (2 - フリルカルボニルアミノ) - 3 - (メトキシカルボニル) 安息香酸、 2 - { [N - (9, 10 - ジオキソアントリル) カルバモイル] メチルチオ } 酢酸、 2 - (2, 4 - ジブプロモフェノキシ) - N - (4 - { [(4 - スルファモイルフェニル) アミノ] スルホニル } フェニル) アセトアミド、 1, 3 - ビス (ヒドロキシメチル) - 5 - メトキシ - 3 - ヒドロベンゾイミダゾール - 2 - オン、 10 - [(3 - クロロフェニル) アミノ] - 2, 3 - ジメトキシ - 5, 6, 7 - トリヒドロピリミジノ [6, 1 - a] イソキノリン - 8 - オン、 2, 4 - ビス (4 - ヒドロキシフェニル) シクロブタン - 1, 3 - 及びジカルボン酸、並びにこれらの組み合わせ、から選択される化合物を投与する工程を有する、CNKSR1を阻害する方法を対象とする。

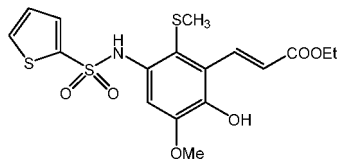
10

【 0 0 8 0 】

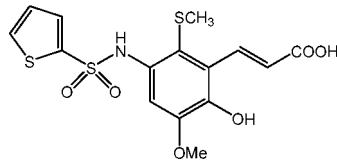
実施形態は、有効量の、

【化 4 6】

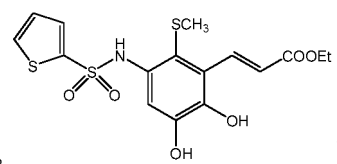




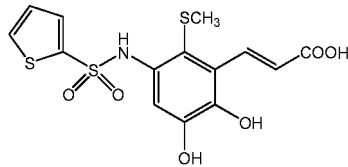
103,



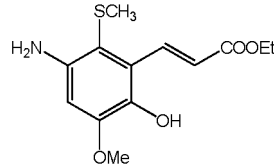
104,



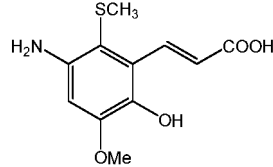
105,



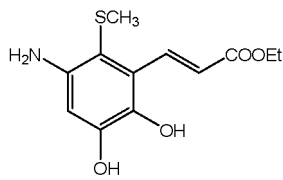
106,



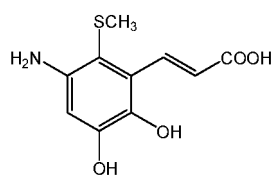
107,



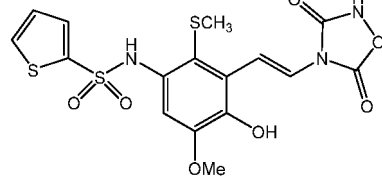
108,



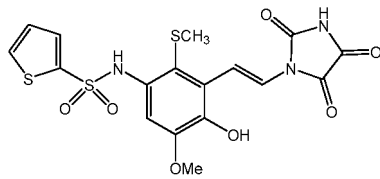
109,



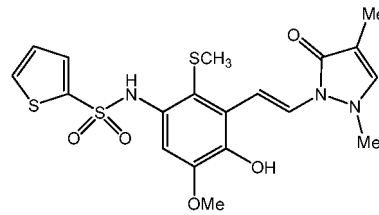
110,



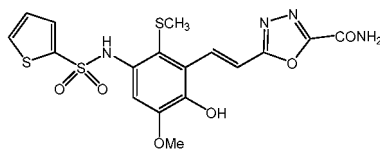
111,



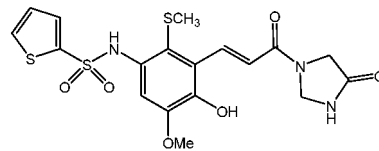
112,



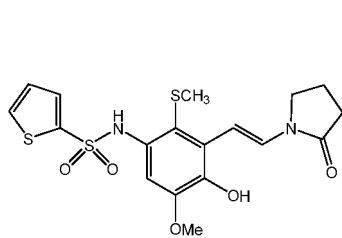
113,



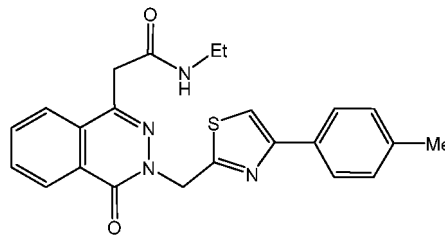
114,



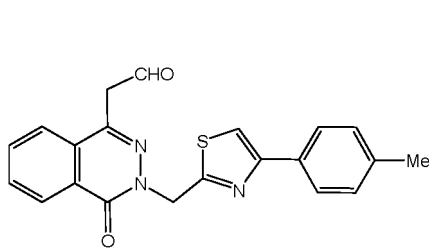
115,



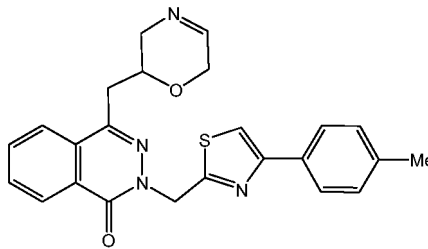
116,



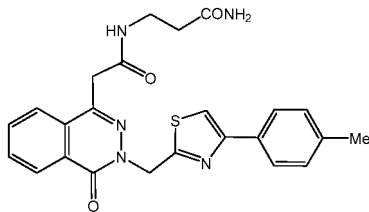
78,



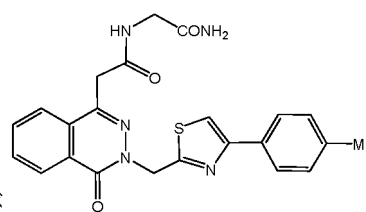
79,



80,



81, 及び



82,

並びにそれらの薬学的に許容可能な塩から選択される化合物を投与する工程を有する、C N K S R 1を阻害する方法を対象とする。

【 0 0 8 1 】

実施形態においては、癌の処置またはC N K S R 1の阻害は、野生型K R A S 癌細胞の

10

20

30

40

50

成長を阻害しない。

【0082】

実施形態においては、癌の処置またはCNKSR1の阻害は、抗癌剤、放射線、光線療法、またはそれらの組み合わせを投与する工程をさらに有しうる。抗癌剤は、アルキル化剤、代謝拮抗薬、アントラサイクリン類、植物アルカロイド、トポイソメラーゼ阻害剤、モノクローナル抗体、チロシンキナーゼ阻害剤、及びホルモン処置から選択されうる。

【0083】

実施形態は、CNKSR1を試験化合物と接触させる工程、試験化合物の存在下におけるCNKSR1の活性を測定する工程、及び試験化合物の存在下においてCNKSR1の活性が低下する場合に、その試験化合物をCNKSR1の活性を阻害する化合物として同定する工程を有する、CNKSR1の活性を阻害する化合物を同定する方法を対象とする。そのような実施形態は、試験化合物の非存在下においてCNKSR1の活性を測定する工程をさらに有してもよい。試験化合物をCNKSR1の活性を阻害する化合物として同定する工程は、その試験化合物の存在下及び非存在下におけるCNKSR1の活性を比較する工程をさらに有してもよい。ここで、その試験化合物の存在下においてCNKSR1の活性が、その試験化合物の非存在下におけるCNKSR1の活性と比較して低下する場合、その化合物はCNKSR1の活性を阻害する化合物として同定される。

【0084】

本発明の実施形態において、癌は、副腎皮質癌腫、肛門癌、膀胱癌、脳腫瘍、乳癌、カルチノイド腫瘍、胃腸癌、原発腫瘍が不明の癌腫、子宮頸癌、結腸癌、子宮内膜癌、食道癌、肝外胆管癌、ユーイング腫瘍(PNET)、頭蓋外胚細胞腫瘍、眼の癌、眼内黒色腫、胆嚢癌、胃癌(胃)、胚細胞腫瘍、性腺外腫瘍、妊娠性絨毛腫瘍、頭頸部癌、下咽頭癌、島細胞癌腫、腎臓癌、喉頭癌、白血病、成人急性リンパ芽球性白血病、小児急性リンパ芽球性白血病、舌及び口腔癌、肝臓癌、肺癌、リンパ腫、AIDS関連リンパ腫、中枢神経系(原発)リンパ腫、皮膚T細胞リンパ腫、ホジキン病、成人リンパ腫、ホジキン病、小児リンパ腫、非ホジキン病、成人リンパ腫、非ホジキン病、小児、悪性中皮腫、黒色腫、メルケル細胞癌腫、原発腫瘍不明の転移性扁平頸部癌、多発性骨髄腫及び他の形質細胞腫瘍、菌状息肉症、骨髄異形成症候群、骨髄増殖性障害、上咽頭癌、神経芽細胞種、口腔癌、中咽頭癌、骨肉腫、上皮性卵巣癌、卵巣胚細胞腫瘍、膵臓癌、外分泌系膵臓癌、島細胞癌腫、副鼻腔及び鼻腔癌、副甲状腺癌、陰茎癌、脳下垂体癌、形質細胞腫瘍、前立腺癌、横紋筋肉腫、小児、直腸癌、腎細胞癌、腎盂尿管癌、移行上皮癌、唾液腺癌、セザリー症候群、皮膚癌、皮膚癌、皮膚T細胞リンパ腫、皮膚癌、カポジ肉腫、皮膚癌、黒色腫、小腸癌、軟部肉腫、成人軟部肉腫、小児、胃癌、精巣癌、胸腺腫、悪性、甲状腺癌、尿道癌、子宮癌、肉腫、稀な小児癌、膣癌、外陰癌、ウィルムス腫瘍、並びにこれらの組み合わせを含むがこれに限定されない。一定の実施形態においては、癌は、結腸、肺、膵臓、またはこれらの組み合わせから選択される。

【0085】

例えば、いくらかの局面においては、本発明は、上で定義された化合物を有する医薬組成物、及び薬学的に許容可能な担体もしくは希釈剤、または有効量の上で定義された化合物を有する医薬組成物を対象とする。

【0086】

本発明の化合物は、それが活性を有するようなあらゆる経路による従来型の方法で投与されうる。投与は、全身的、局所的、または経口であってもよい。例えば、投与は、腸管外、皮下、静脈内、筋肉内、腹腔内、経皮、経口、口腔内、もしくは眼経路、または膣内、吸入により、デポ注射により、または移植によってもよいが、これらに限定されない。従って、本発明の化合物に対する投与(単独で、または他の医薬品との組み合わせで)の形態は、舌下、注射剤(皮下または筋肉内注射される、短時間作用型、デポ型、移植型、及びペレット型を含む)、または、膣クリーム、坐剤、膣坐剤、膣リング、肛門坐剤、子宮内装置、並びにパッチ及びクリームなどの経皮形態の使用によってもよいが、これらに限定されない。

10

20

30

40

50

【0087】

投与の特定の形態は、適応症に依存するだろう。特定の投与経路及び用量レジメンの選択は、最適な臨床反応を得るために、臨床医に既知の方法に従って、臨床医により調節または設定されるべきものである。投与される化合物の量は、治療上有効な量である。投与される適用量は、例えば、処置される特定の動物、年齢、重量、健康状態、もしあれば現在の処置の種類、及び処置の頻度などの、処置される対象の特徴に依存することになり、また当業者により（例えば臨床医により）容易に決定されうる。

【0088】

本発明の化合物及び適切な担体を含有する医薬製剤は、有効量の本発明のポリマーまたは共重合体を有する、錠剤、カプセル剤、カシェ剤、ペレット剤、丸剤、散剤、及び粒剤を含むがこれらに限定されない固体剤形と、溶液剤、散剤、流体乳剤、流体懸濁剤、半固形剤、軟膏剤、ペースト剤、クリーム剤、ゲル剤及びゼリー剤、並びにフォーム剤を含むがこれらに限定されない局所剤形と、溶液剤、懸濁剤、乳剤、及び乾燥粉末剤、を含むがこれらに限定されない腸管外剤形とでありうる。有効成分は、薬学的に許容可能な希釈剤、充填剤、崩壊剤、結合剤、潤滑剤、界面活性剤、疎水性媒体、水溶性媒体、乳化剤、緩衝剤、湿潤剤、保湿剤、可溶化剤、防腐剤、及びそれらの類似物と共に、そのような製剤中に含有されうることもまた、当技術分野においては既知である。投与のための手段及び方法は当技術分野で既知であり、手引きのため、当業者は様々な薬理学の参考文献を参照することができる。例えば、Modern Pharmaceuticals, Banker & Rhodes, Marcel Dekker, Inc. (1979)、及び Goodman & Gilman's The Pharmaceutical Basis of Therapeutics, 6th Edition, MacMillan Publishing Co., New York (1980)が参考にされうる。

【0089】

本発明の化合物は、例えばボラス注射または持続注入などの、注射による腸管外投与のために製剤化されうる。化合物は、約15分から約24時間の期間にわたり、皮下に持続注入により投与されうる。注射のための製剤は、例えばアンプル中または複数用量容器の中などの単位剤形中に、防腐剤の添加を伴って提供されうる。組成物は、懸濁剤、溶液剤、または油性もしくは水性媒体中の乳剤、などの形をとってもよく、また懸濁、安定化、及び/または分散剤などの製剤化剤を含有してもよい。

【0090】

経口投与に対しては、これらの化合物を当技術分野で公知の薬学的に許容可能な担体と組み合わせることにより、化合物は容易に製剤化されうる。そのような担体は、処置される患者による経口摂取のために、本発明の化合物が、錠剤、丸剤、糖衣剤、カプセル剤、液剤、ゲル剤、シロップ剤、スラリー剤、懸濁剤、及びそれらの類似物として製剤化されることを可能にする。経口使用のための医薬調剤は、固形賦形剤を添加し、結果生じる混合物を任意で粉碎し、望まれれば適切な補助剤を加えた後に錠剤または糖衣剤コアを得るために小粒の混合物を加工することにより得られうる。適切な賦形剤は、ラクトース、スクロース、マンニトール、及びソルビトールを含むがこれらに限定されない糖類などの充填剤と、トウモロコシデンプン、小麦デンプン、米デンプン、ジャガイモデンプン、ゼラチン、トラガカントガム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、及びポリビニルピロリドン(PVP)などだがこれに限定されないセルロース調剤とを含むが、これに限定されない。望まれれば、架橋ポリビニルピロリドン、寒天、またはアルギン酸、もしくはアルギン酸ナトリウムなどのその塩などだがこれらに限定されない、崩壊剤が添加されうる。

【0091】

糖衣剤コアは、適切な被覆とともに提供されうる。この目的のためには濃縮された糖溶液が用いられてもよく、それは任意で、アラビアガム、タルク、ポリビニルピロリドン、カルボポールゲル、ポリエチレングリコール、及び/または二酸化チタン、ラッカー溶液

10

20

30

40

50

、及び適切な有機溶剤または溶剤混合物を含有しうる。識別のため、または活性化合物用量の異なる組み合わせを示すため、錠剤または糖衣剤被覆に染料または色素が添加されてもよい。

【0092】

経口で使用されうる医薬調製剤は、ゼラチンでできたプッシュフィットカプセル剤、並びに、ゼラチンと、グリセロールまたはソルビトールなどの可塑剤とでできたソフトシールドカプセル剤を含むが、これらに限定されない。プッシュフィットカプセル剤は、例えばラクトースなどの充填剤、例えばデンプンなどの結合剤、及び/または例えばタルクもしくはステアリン酸マグネシウムなどの潤滑剤、並びに任意で安定剤との混合で、有効成分を含有してもよい。ソフトカプセル剤においては、有効成分が、脂肪油、液体パラフィン、または液体ポリエチレングリコール類などの適切な液体中に溶解または懸濁させられてもよい。さらに、安定剤が添加されてもよい。経口投与のためのすべての製剤は、そのような投与に適した適用量であるべきである。

10

【0093】

口腔内投与については、組成物は、例えば従来型錠剤の方法で製剤化された錠剤またはトローチ剤の形をとりうる。

【0094】

吸入による投与については、本発明に従う使用のための化合物は、例えばジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、二酸化炭素、または他の適切な気体などの適切な噴霧剤の使用を伴って、加圧パックまたは噴霧器からのエアゾール噴霧の提供の形で便利に送達される。加圧エアゾールの場合、計量された量を送達する弁を提供することにより、適用量単位が測定されうる。吸入器または注入器中での使用のための、例えばゼラチンなどのカプセル剤及びカートリッジは、化合物とラクトースまたはデンプンなどの適切な粉末ベースとの粉末混合物を含有して、製剤化されうる。

20

【0095】

本発明の化合物は、カカオバターまたは他のグリセリドなどの従来型坐剤ベースを例えば含有する、坐剤または停留浣腸剤などの直腸組成物の形でも製剤化されうる。

【0096】

前に開示した製剤に加え、本発明の化合物は、デポ調製剤としても製剤化されうる。そのような長時間作用型製剤は、移植（例えば皮下もしくは筋肉内）により、または筋肉内注射により投与されうる。

30

【0097】

デポ注射は、約1から約6ヶ月、またはより長い間隔で投与されうる。従って例えば、化合物は、適切なポリマーもしくは疎水性物質（例えば許容可能な油中の乳剤として）またはイオン交換樹脂と共に、あるいは例えばわずかに可溶性塩としてなどわずかに可溶性誘導体として製剤化されうる。

【0098】

経皮投与においては、本発明の化合物は、例えばプラスターに適用されてもよく、または、結果として生物に供給される経皮治療システムにより適用されてもよい。

40

【0099】

化合物の医薬組成物はまた、適切な固体もしくはゲル相の担体または賦形剤を有してもよい。そのような担体または賦形剤の例は、炭酸カルシウム、リン酸カルシウム、様々な糖類、デンプン類、セルロース誘導体、ゼラチン、及びポリエチレングリコール類などのポリマーを含むがこれらに限定されない。

【0100】

本発明の化合物はまた、例えばアジュバント、タンパク質分解酵素阻害剤、または他の適合可能な薬剤などの他の有効成分との組み合わせが、本明細書において開示される方法の望まれる効果を達成するのに望ましいまたは有利であると考えられる場合、そのような他の有効成分と組み合わせ投与されてもよい。

50

【0101】

いくらかの実施形態においては、崩壊剤成分は、クロスカルメロースナトリウム、カルメロースカルシウム、クロスポビドン、アルギン酸、アルギン酸ナトリウム、アルギン酸カリウム、アルギン酸カルシウム、イオン交換樹脂、食物酸及びアルカリ炭酸塩成分ベースの発砲性システム、クレイ、タルク、デンプン、アルファデンプン、デンプングリコール酸ナトリウム、セルロースフロック、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ケイ酸カルシウム、金属炭酸塩、炭酸水素ナトリウム、クエン酸カルシウム、またはリン酸カルシウムのうち1つまたはそれより多くを有する。

【0102】

いくらかの実施形態においては、希釈剤成分は、マンニトール、ラクトース、スクロース、マルトデキストリン、ソルビトール、キシリトール、粉末セルロース、微結晶セルロース、カルボキシメチルセルロース、カルボキシエチルセルロース、メチルセルロース、エチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、メチルヒドロキシエチルセルロース、デンプン、デンプングリコール酸ナトリウム、アルファデンプン、リン酸カルシウム、金属炭酸塩、金属酸化物、または金属アルミノケイ酸塩のうちの1つまたはそれより多くを有する。

10

【0103】

いくらかの実施形態においては、任意の潤滑剤が存在する場合は、その潤滑剤は、ステアリン酸、金属ステアリン酸塩、フマル酸ステアリルナトリウム、脂肪酸、脂肪アルコール、脂肪酸エステル、ベヘン酸グリセリル、鉱物油、植物油、パラフィン、ロイシン、シリカ、ケイ酸、タルク、プロピレングリコール脂肪酸エステル、ポリエトキシ化ヒマシ油、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、ポリアルキレングリコール、ポリオキシエチレングリセロール脂肪酸エステル、ポリオキシエチレン脂肪アルコールエーテル、ポリエトキシ化ステロール、ポリエトキシ化ヒマシ油、ポリエトキシ化植物油、または塩化ナトリウムのうちの1つまたはそれより多くを有する。

20

【0104】

本明細書で用いられる用語「アルギン酸」は、様々な種の海藻から得られる天然起源の親水性コロイド状多糖、または合成的に改変されたそれらの多糖類を意味する。

【0105】

本明細書で用いられる用語「アルギン酸ナトリウム」は、アルギン酸のナトリウム塩を意味し、アルギン酸の、水酸化ナトリウムまたは炭酸ナトリウムなどのナトリウム含有性塩基との反応により形成されうる。本明細書で用いられる用語「アルギン酸カリウム」は、アルギン酸のカリウム塩を意味し、アルギン酸の、水酸化カリウムまたは炭酸カリウムなどのカリウム含有性塩基との反応により形成されうる。本明細書で用いられる用語「アルギン酸カルシウム」は、アルギン酸のカルシウム塩を意味し、アルギン酸の、水酸化カルシウムまたは炭酸カルシウムなどのカルシウム含有性塩基との反応により形成されうる。適切なアルギン酸ナトリウム類、アルギン酸カルシウム類、及びアルギン酸カリウム類は、R. C. Rowe and P. J. Shesky, Handbook of pharmaceutical excipients, (2006), 5th ed.において開示されるものを含むが、それらに限定されない。当文献は、その全体が本参照により本明細書に組み込まれる。適切なアルギン酸ナトリウム類は、Kelcosol (ISPから入手可能)、Kelfone LVCR及びHVCR (ISPから入手可能)、Manucol (ISPから入手可能)、並びにProtanol (FMC Biopolymerから入手可能)を含むが、これらに限定されない。

30

40

【0106】

本明細書で用いられる用語「ケイ酸カルシウム」は、カルシウムのケイ酸塩を意味する。

【0107】

本明細書で用いられる用語「リン酸カルシウム」は、一塩基のリン酸カルシウム、二塩基のリン酸カルシウム、または三塩基のリン酸カルシウム、を意味する。

50

【0108】

セルロース、セルロースフロック、粉末セルロース、微結晶セルロース、ケイ酸化微結晶セルロース、カルボキシエチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、メチルヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、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、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、エチルセルロース、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、及びカルボキシメチルセルロースカルシウムは、R. C. Rowe and P. J. Shesky, Handbook of pharmaceutical excipients, (2006), 5th ed.において開示されるものを含むが、それらに限定されない。当文献は、その全体が本参照により本明細書に組み込まれる。本明細書で用いられるセルロースは、天然のセルロースを意味する。用語「セルロース」はまた、分子量、及び/または分岐に関して、特に低分子量へと改変されたセルロースをも意味する。用語「セルロース」は、カルボキシ、ヒドロキシ、ヒドロキシアルキレン、またはカルボキシアルキレン基などの化学的官能性を加えるために化学的に改変されたセルロースさらに意味する。本明細書で用いられる用語「カルボキシアルキレン」は、式 - アルキレン - C(O)OHの基、またはその塩を意味する。本明細書で用いられる用語「ヒドロキシアルキレン」は、式 - アルキレン - OHの基を意味する。

10

【0109】

本発明における使用のための適切な粉末セルロース類は、Arbocel (JRS Pharmaから入手可能)、Sanacel (CFF GmbHから入手可能)、及びSolkafloc (International Fiber Corp.から入手可能)を含むが、それらに限定されない。

20

【0110】

適切な微結晶セルロース類は、Avicel pHシリーズ (FMC Biopolymerから入手可能)、Calex (ISPから入手可能)、Celphere (Asahi Kaseiから入手可能)、Ceolus KG (Asahi Kaseiから入手可能)、及びVivapur (JRS Pharmaから入手可能)を含むが、それらに限定されない。

30

【0111】

本明細書で用いられる用語「ケイ酸化微結晶セルロース」は、二酸化ケイ酸と微結晶セルロースとの、相乗的で密な物理的混合物を意味する。適切なケイ酸化微結晶セルロース類は、ProSolv (JRS Pharmaから入手可能)を含むが、これに限定されない。

【0112】

本明細書で用いられる用語「カルボキシメチルセルロースナトリウム」は、エーテル結合を介してセルロースと結合する式 $\text{Na}^+ \cdot \text{O} - \text{C}(\text{O})\text{CH}_2 -$ のペンダント基を有する、セルロースエーテル意味する。適切なカルボキシメチルセルロースナトリウムポリマー類は、Akucell (Akzo Nobelから入手可能)、Aquasorb (Herculesから入手可能)、Blanose (Herculesから入手可能)、Finnfix (Noviantから入手可能)、Nymel (Noviantから入手可能)、及びTylose CB (Clariantから入手可能)を含むが、これらに限定されない。

40

【0113】

本明細書で用いられる用語「カルボキシメチルセルロースカルシウム」は、エーテル結合を介してセルロースと結合する式 $-\text{CH}_2 - \text{O} - \text{C}(\text{O}) - \text{O} \cdot 1/2 \text{Ca}^{2+}$ のペンダント基を有する、セルロースエーテルを意味する。

【0114】

本明細書で用いられる用語「カルボキシメチルセルロース」は、エーテル結合を介してセルロースと結合する式 $\text{HO} - \text{C}(\text{O}) - \text{CH}_2 -$ のペンダントカルボキシメチル基を有

50

する、セルロースエーテルを意味する。適切なカルボキシメチルセルロースカルシウムポリマー類は、Nymel ZSC (Noviantから入手可能)を含むが、これに限定されない。

【0115】

本明細書で用いられる用語「カルボキシエチルセルロース」は、エーテル結合を介してセルロースと結合する式 $\text{HO}-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ のペンダントカルボキシメチル基を有する、セルロースエーテルを意味する。

【0116】

本明細書で用いられる用語「ヒドロキシエチルセルロース」は、エーテル結合を介してセルロースと結合する式 $\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ のペンダントヒドロキシエチル基を有する、セルロースエーテルを意味する。適切なヒドロキシエチルセルロース類は、Cellulose HEC (DOWから入手可能)、Natrosol (Herculesから入手可能)、及びTylose PHA (Clariantから入手可能)を含むが、これらに限定されない。

10

【0117】

本明細書で用いられる用語「メチルヒドロキシエチルセルロース」は、エーテル結合を介してセルロースと結合する式 $\text{CH}_3-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ のペンダントメチルオキシエチル基を有する、セルロースエーテルを意味する。適切なメチルヒドロキシエチルセルロース類は、Culminal MHECシリーズ (Herculesから入手可能)、及びTyloseシリーズ (Shin Etsuから入手可能)を含むが、これらに限定

20

【0118】

本明細書で用いられる用語「ヒドロキシプロピルセルロース」または「ハイプロメロス」は、ペンダントヒドロキシプロポキシ基を有するセルロースを意味し、高及び低置換ヒドロキシプロピルセルロースを含む。いくらかの実施形態においては、ヒドロキシプロピルセルロースは、約5%から約25%ヒドロキシプロピル基を有する。適切なヒドロキシプロピルセルロース類は、Klucelシリーズ (Herculesから入手可能)、Methocelシリーズ (Dowから入手可能)、Nisso HPCシリーズ (Nissoから入手可能)、Metoloseシリーズ (Shin Etsuから入手可能)、並びに、LHR-11、LH-21、LH-31、LH-20、LH-30、LH-22、及びLH-32を含むLHシリーズ (Shin Etsuから入手可能)を含むが、これらに限定されない。

30

【0119】

本明細書で用いられる用語「メチルセルロース」は、ペンダントメトキシ基を有する、セルロースを意味する。適切なメチルセルロース類は、Culminal MC (Herculesから入手可能)を含むが、これらに限定されない。

【0120】

本明細書で用いられる用語「エチルセルロース」は、ペンダントエトキシ基を有する、セルロースを意味する。適切なエチルセルロース類は、Aqualon (Herculesから入手可能)を含むが、これらに限定されない。

40

【0121】

本明細書で用いられる用語「カルメロースカルシウム」は、カルボキシメチルセルロースカルシウムの架橋ポリマーを意味する。

【0122】

本明細書で用いられる用語「クロスカルメロースナトリウム」は、カルボキシメチルセルロースナトリウムの架橋ポリマーを意味する。

【0123】

本明細書で用いられる用語「クロスポビドン」は、ポリビニルピロリドンの架橋ポリマーを意味する。適切なクロスポビドンポリマー類は、Polyp lasdone XL-10 (ISPから入手可能)、並びにKollidon CL及びCL-M (BASFか

50

ら入手可能)を含むが、それらに限定されない。

【0124】

本明細書で用いられる用語「架橋ポリ(アクリル酸)」は、架橋されたアクリル酸のポリマーを意味する。架橋ポリマーは、アクリル酸に加えて他のモノマーを含有してもよい。さらに、架橋ポリマー上のペンダントカルボキシ基は、ポリマーの薬学的に許容可能な塩を形成するため、部分的または完全に中和されてもよい。いくらかの実施形態においては、架橋ポリ(アクリル酸)は、アンモニアまたは水酸化ナトリウムにより中和されてもよい。適切な架橋ポリ(アクリル酸)ポリマー類は、Carbopolシリーズ(Noveonから入手可能)を含むが、これに限定されない。

【0125】

本明細書で用いられる用語「食物酸及びアルカリ炭酸塩成分ベースの発砲性システム、」は、投与されたときに二酸化炭素ガスを放出する、食物酸とアルカリ炭酸塩との賦形剤の組み合わせを意味する。適切な発砲性システムは、食物酸(クエン酸、酒石酸、リンゴ酸、フマル酸、乳酸、アジピン酸、アスコルビン酸、アスパラギン酸、エリソルビン酸、グルタミン酸、及びコハク酸など)と、アルカリ炭酸塩成分(炭酸水素ナトリウム、炭酸カルシウム、炭酸マグネシウム、炭酸カリウム、炭酸アンモニウムなど)とを利用するものである。

【0126】

本明細書で用いられる用語「脂肪酸」は、単独でまたは他の用語と組み合わせて用いられ、飽和または不飽和の脂肪族酸を意味する。いくらかの実施形態においては、脂肪酸は異なる脂肪酸類の混合物である。いくらかの実施形態においては、脂肪酸は平均で約8から約30の炭素を有する。いくらかの実施形態においては、脂肪酸は平均で約8から約24の炭素を有する。いくらかの実施形態においては、脂肪酸は平均で約12から約18の炭素を有する。適切な脂肪酸類は、ステアリン酸、ラウリン酸、ミリスチン酸、エルカ酸、パルミチン酸、パルミトオレイン酸、カプリン酸、カプリル酸、オレイン酸、リノール酸、リノレン酸、ヒドロキシステアリン酸、12-ヒドロキシステアリン酸、セトステアリン酸、イソステアリン酸、セスキオレイン酸、セスキ-9-オクタデカン酸、セスキイソオクタデカン酸、ベヘン酸、イソベヘン酸、及びアラキドン酸、並びにこれらの混合物を含むが、これらに限定されない。

【0127】

本明細書で用いられる用語「脂肪酸エステル」は、脂肪酸とヒドロキシ含有性化合物との間で形成される化合物を意味する。いくらかの実施形態においては、脂肪酸エステルは脂肪酸の糖エステルである。いくらかの実施形態においては、脂肪酸エステルは脂肪酸のグリセリドである。いくらかの実施形態においては、脂肪酸エステルはエトキシ化された脂肪酸エステルである。

【0128】

本明細書で用いられる用語「脂肪アルコール」は、単独でまたは他の用語と組み合わせて用いられ、飽和または不飽和の脂肪族アルコールを意味する。いくらかの実施形態においては、脂肪アルコールは異なる脂肪アルコール類の混合物である。いくらかの実施形態においては、脂肪アルコールは平均で約8から約30の炭素を有する。いくらかの実施形態においては、脂肪アルコールは平均で約8から約24の炭素を有する。いくらかの実施形態においては、脂肪アルコールは平均で約12から約18の炭素を有する。適切な脂肪アルコール類は、ステアリルアルコール、ラウリルアルコール、パルミチルアルコール、パルミトイル酸、セチルアルコール、カプリルアルコール、カプリリルアルコール、オレイルアルコール、リノレニルアルコール、アラキドニックアルコール、ベヘニルアルコール、イソベヘニルアルコール、セラキルアルコール、キミルアルコール、及びリノレイルアルコール、並びにこれらの混合物を含むが、これらに限定されない。

【0129】

本明細書で用いられる用語「イオン交換樹脂」は、薬学的に許容可能であり、かつ、弱酸性、弱塩基性、強酸性、または強塩基性でありうるイオン交換樹脂を意味する。適切な

10

20

30

40

50

イオン交換樹脂は、Amberlite (商標) IRP 64、IRP 88、及び IRP 69 (Rohm and Haas から入手可能)、及び Duolite (商標) AP 143 (Rohm and Haas から入手可能) を含むが、これらに限定されない。いくつかの実施形態においては、イオン交換樹脂は、アクリル酸、メタクリル酸、もしくはスルホン酸ポリスチレン、またはこれらの塩を有する架橋ポリマー樹脂である。いくつかの実施形態においては、イオン交換樹脂は、ポラクリレックス樹脂、ポラクリリンカリウム樹脂、またはコレスチラミン樹脂である。

【0130】

適切なマンニトールは、PharmMannidex (Cargill から入手可能)、Pearlitol (Roquette から入手可能)、及び Mannogem (SPI Polyols から入手可能) を含むが、これらに限定されない。

10

【0131】

本明細書で用いられる用語「金属アルミノケイ酸塩」は、アルミノケイ酸マグネシウムを含むがこれに限定されない、アルミノケイ酸塩のあらゆる金属塩を意味する。適切なアルミノケイ酸マグネシウム類は、Neusilin (Fuji Chemical から入手可能)、Pharmsorb (Engelhard から入手可能)、及び Veegum (R.T. Vanderbilt Co., Inc. から入手可能) を含むが、これらに限定されない。いくつかの実施形態においては、金属アルミノケイ酸塩はベントナイトである。

【0132】

20

本明細書で用いられる用語「金属炭酸塩」は、炭酸ナトリウム、炭酸カルシウム、及び炭酸マグネシウム、及び炭酸亜鉛を含むがこれらに限定されない、あらゆる金属の炭酸塩を意味する。

【0133】

本明細書で用いられる用語「金属酸化物」は、酸化カルシウム、または酸化マグネシウムを含むがこれらに限定されない、あらゆる金属の酸化物を意味する。

【0134】

本明細書で用いられる用語「金属ステアリン酸塩」は、ステアリン酸の金属塩を意味する。いくつかの実施形態においては、金属ステアリン酸塩は、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸亜鉛、またはステアリン酸マグネシウムである。いくつかの実施形態においては、金属ステアリン酸塩は、ステアリン酸マグネシウムである。

30

【0135】

本明細書で用いられる用語「鉱物油」は、精製済み及び未精製 (軽) の両方の鉱物油を意味する。適切な鉱物油は、Avatech (商標) グレード (Avatar Corp. から入手可能)、Drakeol (商標) グレード (Penreco から入手可能)、Sirius (商標) グレード (Shell から入手可能)、及び Citation (商標) グレード (Avater Corp. から入手可能) を含むが、これらに限定されない。

【0136】

本明細書で用いられる用語「ポリエトキシ化ヒマシ油」は、ヒマシ油のエトキシ化から形成される化合物を意味し、ポリエチレングリコールの少なくとも1つの鎖はヒマシ油に共有結合により結合している。ヒマシ油は、水素化されていてもよく、水素化されていなくてもよい。ポリエトキシ化ヒマシ油の同意語は、ポリオキシヒマシ油、水素化ポリオキシヒマシ油、マクロゴールグリセロールリシノーレート、マクロゴールグリセロールヒドロキシステアレート、ポリオキシ35ヒマシ油、及びポリオキシ40水素化ヒマシ油を含むが、これらに限定されない。適切なポリエトキシ化ヒマシ油は、Nikkol (商標) HCO-30、HC-40、HC-50、及びHC-60 (ポリエチレングリコール-30水素化ヒマシ油、ポリエチレングリコール-40水素化ヒマシ油、ポリエチレングリコール-50水素化ヒマシ油、及びポリエチレングリコール-60水素化ヒマシ油) などの Nikkol HCO シリーズ (Nikko Chemicals Co.

40

50

Ltd. から入手可能)、Emulphor (商標) EL-719 (ヒマシ油40モルエトキシレート、Stephan Products から入手可能)、Cremophore (商標) RH40、RH60、及びEL35 (それぞれ、ポリエチレングリコール-40水素化ヒマシ油、ポリエチレングリコール-60水素化ヒマシ油、及びポリエチレングリコール-35水素化ヒマシ油)を含むCremophoreシリーズ (BASFから入手可能)、並びにEmulgine (登録商標) RO及びHREシリーズ (Cognis Pharma Line から入手可能) を含むが、これらに限定されない。他の適切なポリオキシエチレンヒマシ油誘導体は、R. C. Rowe and P. J. Shesky, Handbook of pharmaceutical excipients, (2006), 5th ed. において開示されるものを含む。当文献は、

10

【0137】

本明細書で用いられる用語「ポリエトキシル化ステロール」は、ステロール分子のエトキシル化に由来する、化合物または化合物の混合物を意味する。適切なポリエトキシル化ステロールは、PEG-24コレステロールエーテルはSolulan (商標) C-24 (Amerchol から入手可能)、PEG-30コレスタノールはNikkol (商標) DHC (Nikko から入手可能)、植物ステロールはGENEROL (商標) シリーズ (Henkel から入手可能)、PEG-25植物ステロールはNikkol (商標) BPSH-25 (Nikko から入手可能)、PEG-5大豆ステロールはNikkol (商標) BPS-5 (Nikko から入手可能)、PEG-10大豆ステロールはNikkol (商標) BPS-10 (Nikko から入手可能)、PEG-20大豆ステロールはNikkol (商標) BPS-20 (Nikko から入手可能)、及びPEG-30大豆ステロールはNikkol (商標) BPS-30 (Nikko から入手可能) を含むが、これらに限定されない。本明細書で用いられる用語「PEG」は、ポリエチレングリコールを意味する。

20

【0138】

本明細書で用いられる用語「ポリエトキシル化植物油」は、植物油のエトキシル化から形成される、化合物または化合物の混合物を意味し、ポリエチレングリコールの少なくとも1つの鎖は植物油に共有結合により結合している。いくらかの実施形態においては、脂肪酸類は約12から約18個の炭素を有する。いくらかの実施形態においては、エトキシル化の量は、エチレングリコール繰り返し単位が約2から約200、約5から100、約10から約80、約20から約60、または約12から約18の間で変化しうる。植物油は、水素化されていても、あるいは水素化されていなくてもよい。適切なポリエトキシル化植物油は、Cremaphor (商標) ELまたはRHシリーズ (BASFから入手可能)、Emulphor (商標) EL-719 (Stephan products から入手可能)、及びEmulphor (商標) EL-620P (GAFから入手可能) を含むが、これらに限定されない。

30

【0139】

本明細書で用いられる用語「ポリエチレングリコール」は、式 -O-CH₂-CH₂- のエチレングリコールモノマー単位を含有するポリマーを意味する。適切なポリエチレングリコール類は、ポリマー分子の各端に遊離ヒドロキシ基を有してもよく、または例えばメチル基などの低アルキル基でエーテル化された1つもしくはそれより多いヒドロキシ基を有してもよい。エステル化可能なカルボキシ基を有するポリエチレングリコール類の誘導体もまた適切である。本発明において有用なポリエチレングリコール類は、いかなる鎖長または分子量のポリマーでもよく、また分岐を含んでもよい。いくらかの実施形態においては、ポリエチレングリコールの平均分子量は約200から約9000である。いくらかの実施形態においては、ポリエチレングリコールの平均分子量は約200から約5000である。いくらかの実施形態においては、ポリエチレングリコールの平均分子量は約200から約900である。いくらかの実施形態においては、ポリエチレングリコールの平均分子量は約400である。適切なポリエチレングリコール類は、ポリエチレングリコー

40

50

ル - 200、ポリエチレングリコール - 300、ポリエチレングリコール - 400、ポリエチレングリコール - 600、及びポリエチレングリコール - 900を含むが、これらに限定されない。その名称中のダッシュに続く数字は、ポリマーの平均分子量を意味する。いくつかの実施形態においては、ポリエチレングリコールはポリエチレングリコール - 400である。適切なポリエチレングリコール類は、Carbowax (商標) 及び Carbowax (商標) Sentry シリーズ (Dow から入手可能)、Lipoxol (商標) シリーズ (Brenntag から入手可能)、Lutrol (商標) シリーズ (BASF から入手可能)、並びに Pluriol (商標) シリーズ (BASF から入手可能) を含むが、これらに限定されない。

【0140】

本明細書で用いられる用語「ポリオキシエチレン - アルキルエーテル」は、ポリオキシエチレンのモノアルキルもしくはジアルキルエーテル、またはそれらの混合物を意味する。いくつかの実施形態においては、ポリオキシエチレン - アルキルエーテルは、ポリオキシエチレン脂肪アルコールエーテルである。

【0141】

本明細書で用いられる用語「ポリオキシエチレン脂肪アルコールエーテル」は、ポリエチレングリコールと脂肪アルコールとの間で形成される、モノエーテルもしくはジエーテル、またはそれらの混合物を意味する。ポリオキシエチレン脂肪アルコールエーテル類を生成するのに有用な脂肪アルコール類は、本明細書において定義されるものを含むが、これらに限定されない。いくつかの実施形態においては、分子のポリオキシエチレン部分は、約2から約200のオキシエチレン単位を有する。いくつかの実施形態においては、分子のポリオキシエチレン部分は、約2から約100のオキシエチレン単位を有する。いくつかの実施形態においては、分子のポリオキシエチレン部分は、約4から約50のオキシエチレン単位を有する。いくつかの実施形態においては、分子のポリオキシエチレン部分は、約4から約30のオキシエチレン単位を有する。いくつかの実施形態においては、ポリオキシエチレン脂肪アルコールエーテルは、エトキシル化ステアリルアルコール類、セチルアルコール類、及びセチルステアリルアルコール類 (セテアリルアルコール類) を有する。適切なポリオキシエチレン脂肪アルコールエーテル類は、Brij (商標) 30、35、52、56、58、72、76、78、93 Veg、97、98、及び721を含む界面活性剤の Brij シリーズ (Uniqema から入手可能)、Cremophor (商標) A6、A20、及びA25を含む Cremophor A シリーズ (BASF から入手可能)、Emulgen (商標) 104P、123P、210P、220、320P、及び409Pを含む Emulgen シリーズ (Kao Corp. から入手可能)、Ethosperser (商標) 1A4、1A12、TDAa6、S120、及びG26を含む Ethosperser (Lonza から入手可能)、Ethylan (商標) D252、253、254、256、257、2512、及び2560を含む Ethylan シリーズ (Brenntag から入手可能)、Plurafac (商標) RA20、RA30、RA40、RA43、及びRA340を含む Plurafac シリーズ (BASF から入手可能)、Ritoleth (商標) 及び Ritox (商標) シリーズ (Rita Corp. から入手可能)、Volpo (商標) N10、N20、S2、S10、C2、C20、CS10、CS20、L4、及びL23を含む Volpo シリーズ (Croda から入手可能)、並びに、Texafor (商標) A1P、AP、A6、A10、A14、A30、A45、及びA60を含む Texafor シリーズを含む。他の適切なポリオキシエチレン脂肪アルコールエーテル類は、ポリエチレングリコール (13) ステアリルエーテル (steareth - 13)、ポリエチレングリコール (14) ステアリルエーテル (steareth - 14)、ポリエチレングリコール (15) ステアリルエーテル (steareth - 15)、ポリエチレングリコール (16) ステアリルエーテル (steareth - 16)、ポリエチレングリコール (17) ステアリルエーテル (steareth - 17)、ポリエチレングリコール (18) ステアリルエーテル (steareth - 18)、ポリエチレングリコール (19) ステアリルエーテル (steareth - 19) を含む。

10

20

30

40

50

eth - 19)、ポリエチレングリコール(20)ステアリルエーテル(steareth - 20)、ポリエチレングリコール(12)イソステアリルエーテル(isosteareth - 12)、ポリエチレングリコール(13)イソステアリルエーテル(isosteareth - 13)、ポリエチレングリコール(14)イソステアリルエーテル(isosteareth - 14)、ポリエチレングリコール(15)イソステアリルエーテル(isosteareth - 15)、ポリエチレングリコール(16)イソステアリルエーテル(isosteareth - 16)、ポリエチレングリコール(17)イソステアリルエーテル(isosteareth - 17)、ポリエチレングリコール(18)イソステアリルエーテル(isosteareth - 18)、ポリエチレングリコール(19)イソステアリルエーテル(isosteareth - 19)、ポリエチレングリコール(20)イソステアリルエーテル(isosteareth - 20)、ポリエチレングリコール(13)セチルエーテル(ceteth - 13)、ポリエチレングリコール(14)セチルエーテル(ceteth - 14)、ポリエチレングリコール(15)セチルエーテル(ceteth - 15)、ポリエチレングリコール(16)セチルエーテル(ceteth - 16)、ポリエチレングリコール(17)セチルエーテル(ceteth - 17)、ポリエチレングリコール(18)セチルエーテル(ceteth - 18)、ポリエチレングリコール(19)セチルエーテル(ceteth - 19)、ポリエチレングリコール(20)セチルエーテル(ceteth - 20)、ポリエチレングリコール(13)イソセチルエーテル(isoceteth - 13)、ポリエチレングリコール(14)イソセチルエーテル(isoceteth - 14)、ポリエチレングリコール(15)イソセチルエーテル(isoceteth - 15)、ポリエチレングリコール(16)イソセチルエーテル(isoceteth - 16)、ポリエチレングリコール(17)イソセチルエーテル(isoceteth - 17)、ポリエチレングリコール(18)イソセチルエーテル(isoceteth - 18)、ポリエチレングリコール(19)イソセチルエーテル(isoceteth - 19)、ポリエチレングリコール(20)イソセチルエーテル(isoceteth - 20)、ポリエチレングリコール(12)オレイルエーテル(oleth - 12)、ポリエチレングリコール(13)オレイルエーテル(oleth - 13)、ポリエチレングリコール(14)オレイルエーテル(oleth - 14)、ポリエチレングリコール(15)オレイルエーテル(oleth - 15)、ポリエチレングリコール(12)ラウリルエーテル(laureth - 12)、ポリエチレングリコール(12)イソラウリルエーテル(isolaureth - 12)、ポリエチレングリコール(13)セチルステアリルエーテル(ceteareth - 13)、ポリエチレングリコール(14)セチルステアリルエーテル(ceteareth - 14)、ポリエチレングリコール(15)セチルステアリルエーテル(ceteareth - 15)、ポリエチレングリコール(16)セチルステアリルエーテル(ceteareth - 16)、ポリエチレングリコール(17)セチルステアリルエーテル(ceteareth - 17)、ポリエチレングリコール(18)セチルステアリルエーテル(ceteareth - 18)、ポリエチレングリコール(19)セチルステアリルエーテル(ceteareth - 19)、ポリエチレングリコール(20)セチルステアリルエーテル(ceteareth - 20)を含むが、これらに限定されない。用語ポリエチレングリコールに続く数字は、化合物中のオキシエチレン繰り返し単位の数を意味する。ポリオキシエチレン脂肪アルコールエーテル類の他の物質との混合物もまた、本発明においては有用である。適切な混合物の非限定的な例は、グリセロールモノステアレートのパリエチレングリコール - 100ステアレートとの混合物である、Arlacel(商標)165または165 VEG(Uniqemaから入手可能)である。適切なポリオキシエチレン脂肪アルコールエーテル類の他の例は、R. C. Rowe and P. J. Shesky, Handbook of pharmaceutical excipients, (2006), 5th ed.に掲載されるものを含み、当文献は、その全体が本参照により本明細書に組み込まれる。

【0142】

10

20

30

40

50

本明細書で用いられる用語「ポリオキシエチレン - グリセロール脂肪酸エステル」は、グリセリンのエトキシ化された脂肪酸エステル、またはその混合物を意味する。いくつかの実施形態においては、その分子のポリオキシエチレン部分は約2から約200のオキシエチレン単位を有する。いくつかの実施形態においては、その分子のポリオキシエチレン部分は約2から約100のオキシエチレン単位を有する。いくつかの実施形態においては、その分子のポリオキシエチレン部分は約4から約50のオキシエチレン単位を有する。いくつかの実施形態においては、その分子のポリオキシエチレン部分は約4から約30のオキシエチレン単位を有する。適切なポリオキシエチレン - グリセロール脂肪酸エステルは、PEG - 20ラウリン酸グリセリルはTagat (商標) L (Goldschmidt)、PEG - 30ラウリン酸グリセリルはTagat (商標) L2 (Goldschmidt)、PEG - 15ラウリン酸グリセリルはGlycerox (商標) Lシリーズ (Croda)、PEG - 40ラウリン酸グリセリルはGlycerox (商標) Lシリーズ (Croda)、PEG - 20ステアリン酸グリセリルはCapmul (商標) EMG (ABITEC)、Aldo MS - 20 KFG (Lonza)、PEG - 20オレイン酸グリセリルはTagat (商標) 0 (Goldschmidt)、PEG - 30オレイン酸グリセリルはTagat (商標) 02 (Goldschmidt)を含むが、これらに限定されない。

【0143】

本明細書で用いられる用語「プロピレングリコール脂肪酸エステル」は、プロピレングリコールまたはポリプロピレングリコールと脂肪酸との間で形成されるモノエーテルもしくはジエステル、またはそれらの混合物を意味する。プロピレングリコール脂肪アルコールエーテル類を生成するのに有用な脂肪酸は、本明細書において定義されるものを含むが、これらに限定されない。いくつかの実施形態においては、モノエステルまたはジエステルは、プロピレングリコールに由来する。いくつかの実施形態においては、モノエステルまたはジエステルは、約1から約200のオキシプロピレン単位を有する。いくつかの実施形態においては、分子のポリプロピレングリコール部分は、約2から約100のオキシプロピレン単位を有する。いくつかの実施形態においては、分子のポリプロピレングリコール部分は、約4から約50のオキシプロピレン単位を有する。いくつかの実施形態においては、分子のポリプロピレングリコール部分は、約4から約30のオキシプロピレン単位を有する。適切なプロピレングリコール脂肪酸エステルは、ラウリン酸プロピレングリコールはLauroglycol (商標) FCC及び90 (Gattefosseから入手可能)、カプリル酸プロピレングリコールはCapryol (商標) PGM C及び90 (Gattefosseから入手可能)、並びにジカプリロカプリル酸プロピレングリコールはLabrafac (商標) PG (Gattefosseから入手可能)を含むが、これらに限定されない。

【0144】

適切なソルビトール類は、PharmSorbidex E420 (Cargillから入手可能)、Liponic 70 - NC及び76 - NC (Lipo Chemicalから入手可能)、Neosorb (Roquetteから入手可能)、Partech SI (Merckから入手可能)、並びにSorbogem (SPI Polyolsから入手可能)を含むが、これらに限定されない。

【0145】

デンプン、デンプングリコール酸ナトリウム、及びアルファデンプンは、R. C. Rowe and P. J. Shesky, Handbook of pharmaceutical excipients, (2006), 5th ed.において開示されるものを含むが、これらに限定されない。当文献は、その全体が本参照により本明細書に組み込まれる。

【0146】

本明細書で用いられる用語「デンプン」は、トウモロコシデンプン (コーンスターチ、もしくはmaydis amyllumとしても知られる)、ジャガイモデンプン (sol

10

20

30

40

50

ani amyllumとしても知られる)、米デンプン(oryzae amyllumとしても知られる)、小麦デンプン(tritici amyllumとしても知られる)、及びタピオカデンプンを含むがこれらに限定されない、あらゆる種類の天然または改変デンプンを意味する。用語「デンプン」はまた、分子量及び分岐に関して改変されたデンプンをも意味する。用語「デンプン」は、カルボキシ、ヒドロキシ、ヒドロキシアルキレン、またはカルボキシアルキレン基などの化学的官能性を加えるために化学的に改変されたデンプンをさらに意味する。本明細書で用いられる用語「カルボキシアルキレン」は、式 - アルキレン - C(O)OHの基、またはその塩を意味する。本明細書で用いられる用語「ヒドロキシアルキレン」は、式 - アルキレン - OHの基を意味する。適切なデンプングリコール酸ナトリウム類は、ExploTab(JRS Pharmaから入手可能)、Glycolys(Roquetteから入手可能)、Primojel(DMV Internationalから入手可能)、及びVivastar(JRS Pharmaから入手可能)を含むが、これらに限定されない。

10

【0147】

適切なアルファデンプン類は、Lycatab C及びPGS(Roquetteから入手可能)、Merigel(Brenntagから入手可能)、National 78-1551(National Starchから入手可能)、Spress B820(GPCから入手可能)、並びにStarch 1500(Colorconから入手可能)を含むが、これらに限定されない。

【0148】

本明細書で用いられる用語「ステアロイルマクロゴールグリセリド」は、ステアリン酸から、または主にステアリン酸に由来する化合物から主に合成される、ポリグリコール化グリセリドを意味するが、他の脂肪酸、または他の脂肪酸に由来する化合物もまた、合成に使用されてもよい。適切なステアロイルマクロゴールグリセリド類は、Gelucire(登録商標)50/13(Gattefosseから入手可能)を含むが、これに限定されない。

20

【0149】

本明細書で用いられる用語「植物油」は、天然起源または合成油類を意味し、精製、分画化、または水素化されていてもよく、トリグリセリド類を含む。適切な植物油は、ヒマシ油、水素化ヒマシ油、ゴマ油、コーン油、ピーナッツ油、オリーブ油、ヒマワリ油、サフラワー油、ダイズ油、安息香酸ベンジル、ゴマ油、綿実油、及びパーム油を含むが、これらに限定されない。他の適切な植物油は、Miglyol(商標)810及び812(Dynamit Nobel Chicals、スウェーデンから入手可能)、Neobee(商標)M5(Drew Chemical Corp.から入手可能)、Alofine(商標)(Jarchem Industriesから入手可能)、Lubritab(商標)シリーズ(JRS Pharmaから入手可能)、Sterotex(商標)(Abitec Corp.から入手可能)、Softisan(商標)154(Sasolから入手可能)、Croduret(商標)(Crodaから入手可能)、Fancol(商標)(Fanning Corp.から入手可能)、Cutina(商標)HR(Cognisから入手可能)、Simulsol(商標)(CJ Petrovから入手可能)、EmCon(商標)CO(Amisol Co,から入手可能)、Lipvol(商標)CO、SES、及びHS-K(Lipoから入手可能)、並びにSterotex(商標)HM(Abitec Corp.から入手可能)などの市販の合成油類を含む。ゴマ、ヒマシ、コーン、及び綿実オイルを含む他の適切な植物油は、R. C. Rowe and P. J. Shesky, Handbook of pharmaceutical excipients, (2006), 5th ed.に掲載されるものを含む。当文献は、その全体が本参照により本明細書に組み込まれる。

30

40

【0150】

光学異性体 - ジアステレオマー - 幾何異性体 - 互変異性体 - 塩。本明細書において開示される化合物は、不斉中心を有するかもしれず、ゆえにエナンチオマーとして存在しうる

50

。本発明に従う化合物が、2つまたはそれより多い不斉中心を有する場合、それらの化合物はジアステレオマーとしてさらに存在しうる。本発明は、実質的に純粋な分割されたエナンチオマー、それらのラセミ混合物、並びにジアステレオマーの混合物などの、全ての可能な立体異性体を含む。式は、一定の位置における明確な立体化学無しで示される。本発明は、そのような式の全ての立体異性体、及びそれらの薬学的に許容可能な塩を含む。エナンチオマーのジアステレオ異性体ペアは、例えば適切な溶剤からの分別晶出により分離されてもよく、そうして得られるエナンチオマーのペアは、例えば、分割剤としての光学活性酸もしくは塩基の使用により、またはキラルHPLCカラム上でなど、従来型の手段により個々の立体異性体へと分離されうる。さらに、一般式の化合物のあらゆるエナンチオマーまたはジアステレオマーが、既知の構造の光学的に純粋な出発物質または試薬を使用した立体特異的合成により得られうる。化合物は、その天然型または薬学的に許容可能な塩であってもよい。カルボン酸類及びスルホンアミドに対する式は、酸もしくはアミド、イオン、または塩として、プロトン化または非プロトン化された形で描写されうるが、与えられる式によりそれらの全てが網羅される。

10

【0151】

本明細書で用いられる用語「アルキル」は、別に特定されない限り、一般にC1からC10の飽和もしくは不飽和の直鎖もしくは分岐の炭化水素鎖を意味し、特に、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、t-ブチル、ペンチル、イソペンチル、ネオペンチル、ヘキシル、イソヘキシル、シクロヘキシル、シクロヘキシルメチル、3-メチルペンチル、2,2-ジメチルブチル、2,3-ジメチルブチル、エテニル、2-プロペニル、1-ブテニル、2-ブテニル、3-ブテニル、1-ペンテニル、2-ペンテニル、3-ペンテニル、1-ヘキセニル、2-ヘキセニル、及び3-ヘキセニル、並びにそれらの類似物を含む。適切である限り、不飽和アルキル類は、EまたはZ立体化学の、少なくとも1つの二重結合を有する。本用語は、置換及び未置換の両方のアルキル基を含む。

20

【0152】

本明細書において部分または官能基に言及して用いられる用語「置換(された)」は、各部分における1つまたはそれより多い水素原子、具体的には最大5つ、より具体的には1、2、または3つの水素原子が、お互い独立に、対応する数の開示の置換基により置き換えられていることを意味する。アルキル基は、ヒドロキシ、アミノ、アルキルアミノ、アリールアミノ、アルコキシ、アリールオキシ、ニトロ、シアノ、スルホン酸、硫酸、ホスホン酸、リン酸、ホスホン酸エステル類、任意で置換されたヘテロ環類、または任意で置換されたアリール類から構成される群から選択される1つまたはそれより多い部分で、任意に置換されうる。アルキル上の炭素原子に結合した1つまたはそれより多い水素原子は、例えばフッ素もしくは塩素、またはその両方など、1つまたはそれより多いハロゲン原子により置き換えられてもよい。トリフルオロメチル、ジフルオロメチル、フルオロクロロメチル、及びそれらの類似物などである。炭化水素鎖もまた、N、O、またはSなどのヘテロ原子によって割り込まれてもよい。

30

【0153】

本明細書で用いられる用語「アリール」は、6から10個の環原子の一価の単環式または二環式の芳香族炭化水素ラジカルを意味し、任意で、アルキル、ハロアルキル、シクロアルキル、ハロ、ニトロ、シアノ、任意で置換されたフェニル、-OR(ここでRは水素、アルキル、ハロアルキル、シクロアルキル、任意で置換されたフェニル)、アシル、-COOR(ここでRは水素またはアルキル)から選択される1、2、または3つの置換基で独立に置換されている。より具体的には、用語アリールは、フェニル、1-ナフチル、2-ナフチル、及びこれらの誘導体を含むが、これらに限定されない。

40

【0154】

「ヘテロ環」は、飽和、不飽和、もしくは芳香族の、3から8個の環原子の一価の環を意味し、ここで、1、2、3、または4個の環原子は、N、O、またはSから選択されるヘテロ原子であり、残りの環原子はCである。そのヘテロ環は、任意でベンゼン環に融合

50

してもよい。そのヘテロ環は、任意で、アルキル、ハロアルキル、シクロアルキル、シクロアルキルアルキル、アリアル、アラルキル、ハロ、シアノ、アシル、一置換アミノ、二置換アミノ、カルボキシ、ヒドロキシ、またはアルコキシカルボニルから選択される、1つまたはそれより多い置換基、好ましくは1、2、または3個の置換基で、独立に置換されてもよい。ヘテロ環は、1、2、または3個のオキソ置換を有してもよい。ケトまたはエノール互変異性体においては、ヒドロキシ基が存在しうる。より具体的には、用語ヘテロ環は、ジオキサニル、イミダゾリジニル、イミダゾリル、モルホリニル、オキサゾリジニル、オキサジニル、オキサジアゾリジニル、オキサジアゾリル、ピペリジニル、ピペラジニル、ピロリジニル、ピロリル、ジヒドロピラゾリル、ピラゾリル、テトラヒドロピラニル、チアゾリル、チオモルホリニル、トリアゾリル、及び誘導体を含むが、これらに限定されない。

10

【0155】

本発明、並びに使用される方法及び物質を例証する実施形態は、以下の非限定性の実施例への参照により、さらに理解されうる。

【0156】

本発明は、その一定の好まれる実施形態への参照と共にかなり詳細に開示されてきたが、他のバリエーションも可能である。従って、添付の特許請求の範囲の真髄及び範囲は、本明細書内に含有される、開示内容及び好まれるバージョンに限定されるべきではない。

【0157】

RASタンパク質は、他の膜結合型タンパク質、エフェクター、及び足場タンパク質と共に、ナノクラスターとして知られる形質膜係留型マイクロドメインへと自己集合しうる。そのナノクラスターは、小さく（直径約6 - 20 nm）一過性の（約0.4秒より短い $t_{1/2}$ ）シグナリングプラットフォームであるかもしれない、6つまたはそれより多いタンパク質を含有しうる。ナノクラスターは、個々のRASアイソフォームのC末端超可変（ $h\nu$ ）領域の電荷及び共有結合性脂質修飾により異なりうる。下流のシグナリングエフェクターは、ナノクラスター中で結合する約40%のRASにより活性化されうる。一方で、残りのRASは、細胞表面じゅうにわたりランダムに配列されている。

20

【0158】

RASタンパク質は、その膜局在化を決定しうる、翻訳修飾のいくつかのステップを経る（図1）。RASは、システイン残基のプレニル化（C15ファルネシル化またはC20ゲラニルゲラニル化）、並びにそれに続く小胞体（ER）Rce1（RAS及びa因子変換酵素-1）によるAAX残基の除去、及びIcmt（イソプレニルシステインカルボキシルメチルトランスフェラーゼ）によるカルボキシル化を受けうる、C末端CAAXモチーフを共有する。これらのCAAX修飾は、それ単独ではRASの形質膜結合には十分でないかもしれない、第二のシグナルが必要となりうる。HRAS、NRAS、及びKRAS4Aは、ER PAT（タンパク質アシルトランスフェラーゼ）により触媒されて、その $h\nu$ 領域中のシステイン残基がC16パルミトイル化を受けうる。KRAS4Bにおいては、形質膜の内部表面上のホスファチジルイノシトール（PI）の負に帯電した頭部との相互作用を促進しうる、その $h\nu$ 領域中の高リシン型多塩基性アミノ酸配列により、第二の膜局在化シグナルが提供されうる。PIP3は、高濃度のPI3Kタンパク質と共に脂質ラフトのナノドメイン中にクラスターを形成することができ、高いシグナリング活性の領域を与える。CNKSR1 PHドメインのPIP3への結合は、KRASナノクラスターをPI3Kシグナリングナノドメインのすぐ近くに配置させるのに役立つかもしれない、これはKRASに対する下流シグナリングエフェクターであるPI3Kの活性化をもたらす。mut-KRASのいくつかの形は、wt-KRASよりも、PIK3への結合に対してより高い親和性を有しうる。それは、アロステリック活性化を引き起こすPI-3-K触媒ドメインとの直接的接触を形成する、KRASスイッチ1及び2結合領域の構造における突然変異誘発性の変化に起因する。このことは、mut-KRASの、CNKSR1のsiRNAノックダウンによる阻害またはPHドメイン阻害に対する感受性が、wt-KRASよりも高いことを説明できうる。

30

40

50

【0159】

PHドメインは、500を超えるヒトタンパク質中に見られる、約100から約120アミノ酸の三次元スーパーフォールドである。各PHドメインのコアは、ストランド7つ、及びC末端ヘリックスから成る。PHドメインは非常によく保存された三次元機構を示しうるが、異なるタンパク質間での配列同一性は約7%から約23%でしかない。この配列多様性ゆえに各タンパク質に対して特異的となる選択的薬剤が同定されうるため、このことは重要である。PHドメインは、ホスホチロシン及びポリプロリン配列、ヘテロ三量体Gタンパク質のGサブユニット、並びにホスホイノシチド(PI)類に結合することができる。大半のPHドメインタンパク質についてPI結合は弱く非特異的であるものの、癌細胞の成長及び生存を制御するシグナル伝達経路の成分である多くのタンパク質のPHドメインは、PIP3そして時折PIP2に対して高い親和性を示す。CNKSRは、PIP3に対して高親和性結合を有する、そのようなタンパク質の1つである。実施形態においては、小分子のPHドメインに対する結合は、タンパク質機能を阻害しうる。

10

【0160】

他の実施形態においては、計算型プラットフォームを使用した小分子PHドメイン阻害剤の同定は、潜在的阻害剤の同定を加速し、薬剤リードの最適化コストを低下させうる。そのような実施形態においては、対象タンパク質のPHドメインの既知の結晶または相同性モデル構造を使用した、数百万の化学構造のライブラリーのin silico分子ドッキングは、CNKSR1阻害剤を同定するのに用いられうる。表面プラズモン共鳴(SPR)分光法は、タンパク質のPHドメインに対する化合物の結合の度合いを測定することができ、in vitro細胞分析は、生物学的有効性を決定することができる。活性部分が一度同定されると、リード化合物が得られるまで、in silicoドッキングと結合のSPR分光測定との繰り返しによる、モデルの帰納的改良が起こりうる。そのような実施形態は、CNKSR1の非常に特異的かつ強力なPHドメイン阻害剤を発見するのに使用されうる。

20

【0161】

薬剤開発のための分子標的としてのCNKSR1の役割が、表2Aに示される。この表において、CNKSR1に対するsiRNA(sicnkSR1)を用いたトランスフェクションは、mut-KRAS MiaPaCa-2膵臓細胞の成長を阻害しうるが、mut-KRASの対立遺伝子が相同組換えにより崩壊させられたMiaPaCa-2細胞の成長は阻害しない。sicnkSR1はまた、mut-KRAS HCT116結腸癌細胞の成長も阻害しうるが、mut-KRASが相同組換えにより崩壊させられたHKE2 HCT116細胞の成長は阻害しない。表1は、別の製造者からの別の4つの個別sicnkSR1のセットを用いて、mut-KRAS細胞の成長の選択的阻害が確認されうることを示す。

30

【表 1】

表1 mut-KRASアイソジェニック株において個別 siRNAを用いて確認されたヒット					
		MiaPaCa-2膵臓		HCT-116結腸	
遺伝子記号	名称	%生存率 mut-RAS/wt-KRAS	siRNA A*陽性	%生存率 mut-RAS/wt-KRAS	siRNA A*陽性
CNKSR1	connector of kinase suppressor of Ras 1	43.4	3/4	52.6	3/4

10

*別の製造者の個別 siRNA

siCNKSR1の効果は、図28においてさらに示される。この図において、siCNKSR1を用いたトランスフェクションは、10つの非小細胞肺癌(NSCLC)細胞株のパネルの成長を阻害しうるが、wt-KRASを有する4つのNSCLC細胞株のそれは阻害しない。

20

【0162】

CNKSR1のプレクストリン相同(PH)ドメインがCNKSR1のmut-KRAS活性に対する効果を促進する役割を果たすかどうかを立証するために、我々はH1373 mut-KRAS NSCLC細胞中でPHドメインを過剰発現させ、それがドミナントネガティブとして振る舞い、細胞成長を阻害することを見いだした。我々は、PHドメイン断片は細胞内で完全長のCNKSR1と競合すると提案する(図2C)。

【0163】

実施形態においては、既知のPHドメイン結晶構造に基づく、CNKSR1のPHドメインについての相同モデルが開発されうる。CNKSR1の潜在的な阻害剤を同定するためには、ドッキングプログラムPHuDock(登録商標)が使用されうる。三百万を超える化合物のin silicoライブラリーを使用して、7つの化合物が、CNKSR1の、ゆえにmut-KRAS細胞株の、潜在的阻害剤として同定された(図3A)。発現されたCNKSR1 PHドメインに対する化合物の結合(KDobs)は、表面プラズモン共鳴(SPR)分光法により測定されうる。7つの同定された化合物のうち2つ(化合物#4及び#7)は、mut-KRAS細胞成長の低マイクロモル濃度阻害を示す(図3B)。最も活性の高い化合物は#7で、それは、KRASまたはCNKSR1に対するsiRNAと同程度効果的にmut-KRAS細胞の成長を阻害した(図3C)。

30

【0164】

実施形態においては、他のPHドメインシグナリングタンパク質であるAKT、PDPK1、Btk、及びTiam1の結晶構造に対する同定された化合物の結合が、予測されうる。そのような実施形態においては、Kdは約100µMを超える。他の実施形態においては、SPRは、AKT、PDPK1、及びTiam1の発現されたPHドメインに対する同定された化合物の結合を測定しうる。#4及び#7については、測定可能な結合は見られなかった。ゆえに、同定された化合物は、少なくとも、研究された他のPHドメインと比較して、CNKSR1に対しては約50から約100倍の感受性を有するようである。

40

【0165】

実施形態においては、相同モデルは、CNKSR1のPHドメインに結合する小分子を予測し、mut-KRAS細胞の増殖の選択的阻害を示す化合物を同定することができる。K-RASシグナリングのCNKSR1阻害は、KRASにより特異的にリン酸化され

50

る下流標的ホスホ - c - R A F (S e r 3 3 8) のウエスタンブロットにより測定される (図 3 D) 。

【 0 1 6 6 】

実施形態においては、同定された化合物は、約 2 0 日間にわたり約 2 0 0 m g / 日にて、体重減少も動物に対する観察可能な有毒効果もなく無毒であるかもしれず、かつ抗腫瘍活性を有しうる (図 4 A) 。化合物 # 7 は、s c i d マウスにおいて、m u t - K R A S H 2 1 2 2 N S C L C 腫瘍異種移植片に対し、抗腫瘍効果を有しうる。ここで、媒体で処置された腫瘍 (グループあたり n = 1 0 マウス) の成長速度は約 5 5 m m ³ / 日であってもよく、化合物 7 で処置された腫瘍のそれは約 3 0 m m ³ / 日であってもよく、これは約 4 5 % の腫瘍成長速度阻害を与える。

10

【 0 1 6 7 】

化合物 # 7 の抗腫瘍活性の理由をより良く理解するため、薬物動態実験が実施された。2 0 0 m g / k g の用量で経口投与されたエチルエステルである化合物 # 7 は、i n v i v o で (図 4 B) 、またマウス血漿によっても (表 1) 、迅速に酸代謝物へと脱エステル化されることが分かった。経口投与後、親化合物の i n v i v o 血漿濃度は約 3 μ g / m l (7 μ M) と低く、一方で脱エステル化された酸型 (化合物 8) は高ピーク濃度およそ 5 0 μ g / m l (1 2 8 μ M) で存在していた。化合物 8 が同じ用量でマウスに経口投与されると、さらにより高いピーク濃度 9 0 μ g / m l (2 3 0 μ M) が達成された。化合物 # 7 は半減期 6 時間で排除され、化合物 7 は半減期 1 3 時間で排除された。化合物 # 8 は培養細胞中では不活性であるため (図 5 参照) 、おそらく、化合物 # 7 のその不活性な代謝物である化合物 8 への迅速な変換はその i n v i v o 活性を制限するであろう。

20

【 0 1 6 8 】

化合物 # 7 がイヌ及びウシ血漿においてはより安定で、さらにヒト血漿中では完全に安定であったことは注目に値する。このことは、ヒトにおいてより少ない代謝をもたらすかもしれないが、化合物 # 7 は、ヒトの腸、肝臓、及び腫瘍において見られるヒトカルボキシエステラーゼ 1 及び 2 により分解された (表 2) 。

【 表 2 】

表 2 生物学的培養液における化合物 7 の安定性*		半減期 (分)
マウス血漿		6. 3
イヌ血漿 (ビーグル)		5 5 8
ヒト血漿		安定
1 0 % ウシ胎児血清		7 9 0
組換えヒトカルボキシエステラーゼ 1	2 4 U / m l #	1 9
組換えヒトカルボキシエステラーゼ 2	2 4 U / m l #	9 9

30

* 化合物 7 濃度 5 0 μ g / m l 、温度 3 7 ° C 、 # p H 7 . 4 、1 U = 1 n m o l / 分

化合物 7 のより安定な類似体を開発するために、我々は、そのエステル官能性の代わりに強固で加水分解不可能な官能基を有する化合物群を、さらにモデル化し合成した (図 5 、化合物 9 、1 0 、1 1) 。3 つの化合物全てが m u t - K R A S N S C L C 細胞株の成長を阻害したが、w t - K R A S 細胞の成長もまた阻害した。化合物 # 1 0 は最も強力で、w t - K R A S 細胞と比較して m u t - K R A S 細胞に対しておよそ 2 倍の選択性を示した。

40

【 0 1 6 9 】

最適 C N K R 1 モデルを用いたさらなるモデル化及びスクリーニングにより (図 7) 、新規のファルマコフォアが図 5 の # 1 2 として同定された (表 3 化合物 3 5) 。その化合物は、化合物 7 またはその類似体より強力に、w t - K R A S 及び m u t - K R A S 細胞の成長を阻害する。本研究においては、クエリー分子の分子形状と、その官能基のファルマコフォア特色 (アクセプター、ドナー、疎水性、芳香族など) とを考慮した、リガンドベースの方法が立ち上げられた。その基礎となる仮説は、イノシトール X リン酸などの分

50

子実体がPHドメインのポケット内に結合しうることである。従って、その部位に対する競合分子を提供することは、顕著にその活性を縮小しうる。

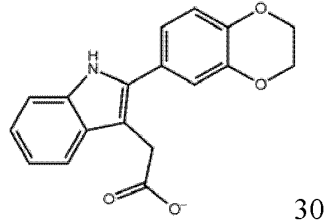
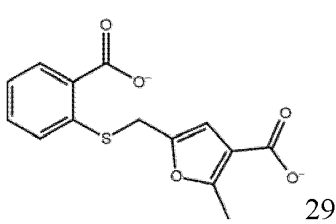
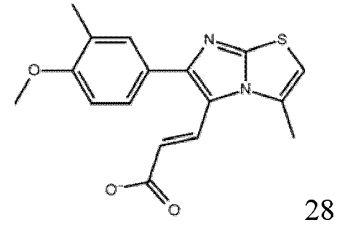
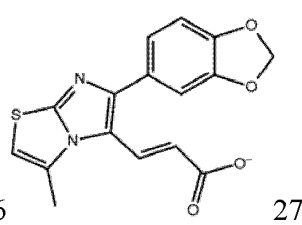
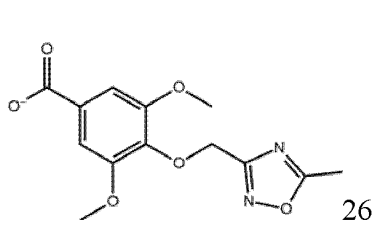
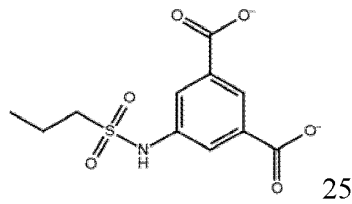
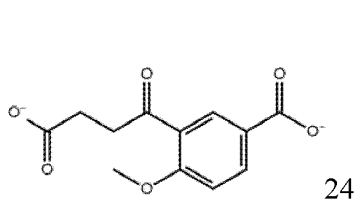
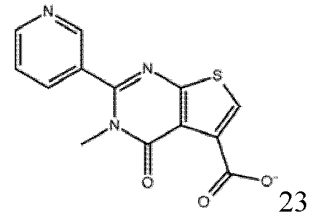
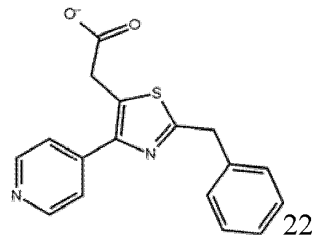
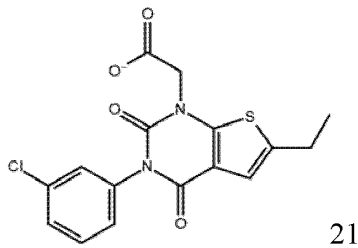
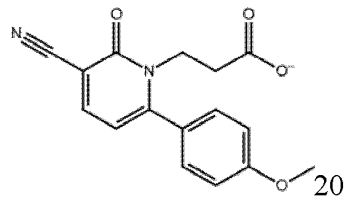
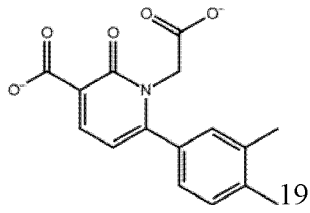
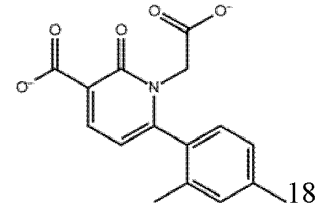
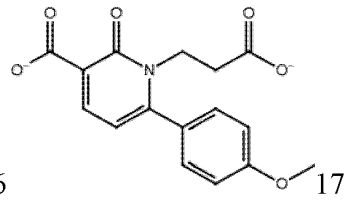
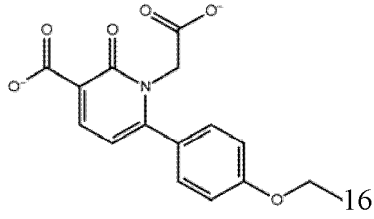
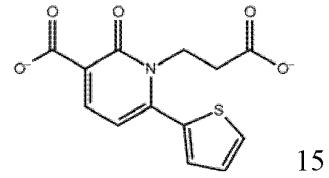
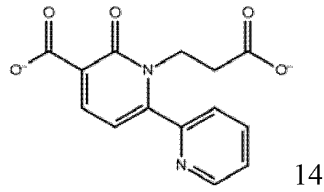
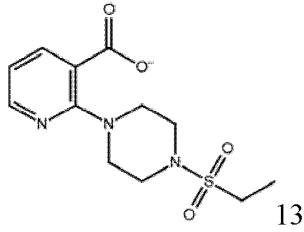
【0170】

イノシトール四リン酸 (IP4) に結合したPHドメイン標的のX線構造が、RCSB (コード: 1UNQ) から取得され、Protein Preparation Wizardモジュールを利用してMAESTROで調製された。リガンドが抽出され、前述のソフトウェアの形状スクリーニングモジュールを使用して、バーチャルスクリーニングのためのクエリーとして使用された。商業販売業者のデータベースがSDFファイルとしてダウンロードされ、pH7でLigprepを用いて、またEPIKを使用してプロモーター及び互換異性体を計算して、3D構造へと変換された。drug-likenessの基本的なりピンスキーの法則が、法則に反する化合物を排除するのに用いられた。前述のデータベースをスクリーニングするには、MAESTRO内のphase shapeプログラムが用いられた。簡潔には、配座異性体が「即座に」作成され、市販のデータベース中の各エントリーあたり最大1000の低エネルギー構造が残されてスクリーニングされた。使用された原子タイプは、以前の事例において見られたその顕著に優れた形状スクリーニング能力ゆえ、Phase QSAR Modelであった。0.7より低い類似度を有する配座異性体は破棄され、結果は形状類似度を基にランク付けされた。およそ3000化合物の大きいデータベースが本方法で取得され、水素結合パターン、官能基の最大の重複、並びに分子の全体的な形状及び幾何学を最大化するため、ありとあらゆる化合物が視覚的に調べられた。これらの化合物の一部が試験され、その化合物は以下の通りである。

10

20

【化 47】

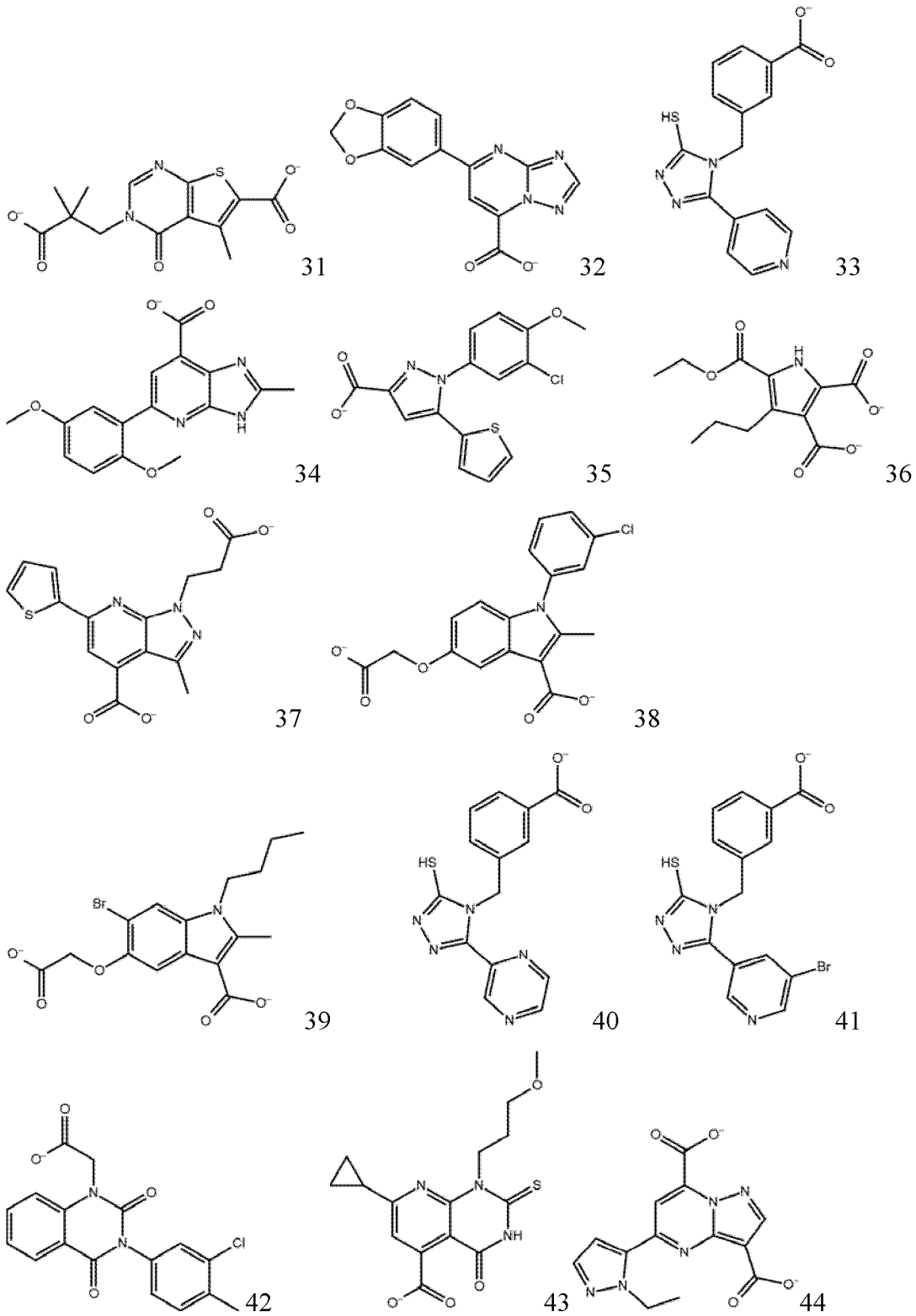


10

20

30

40

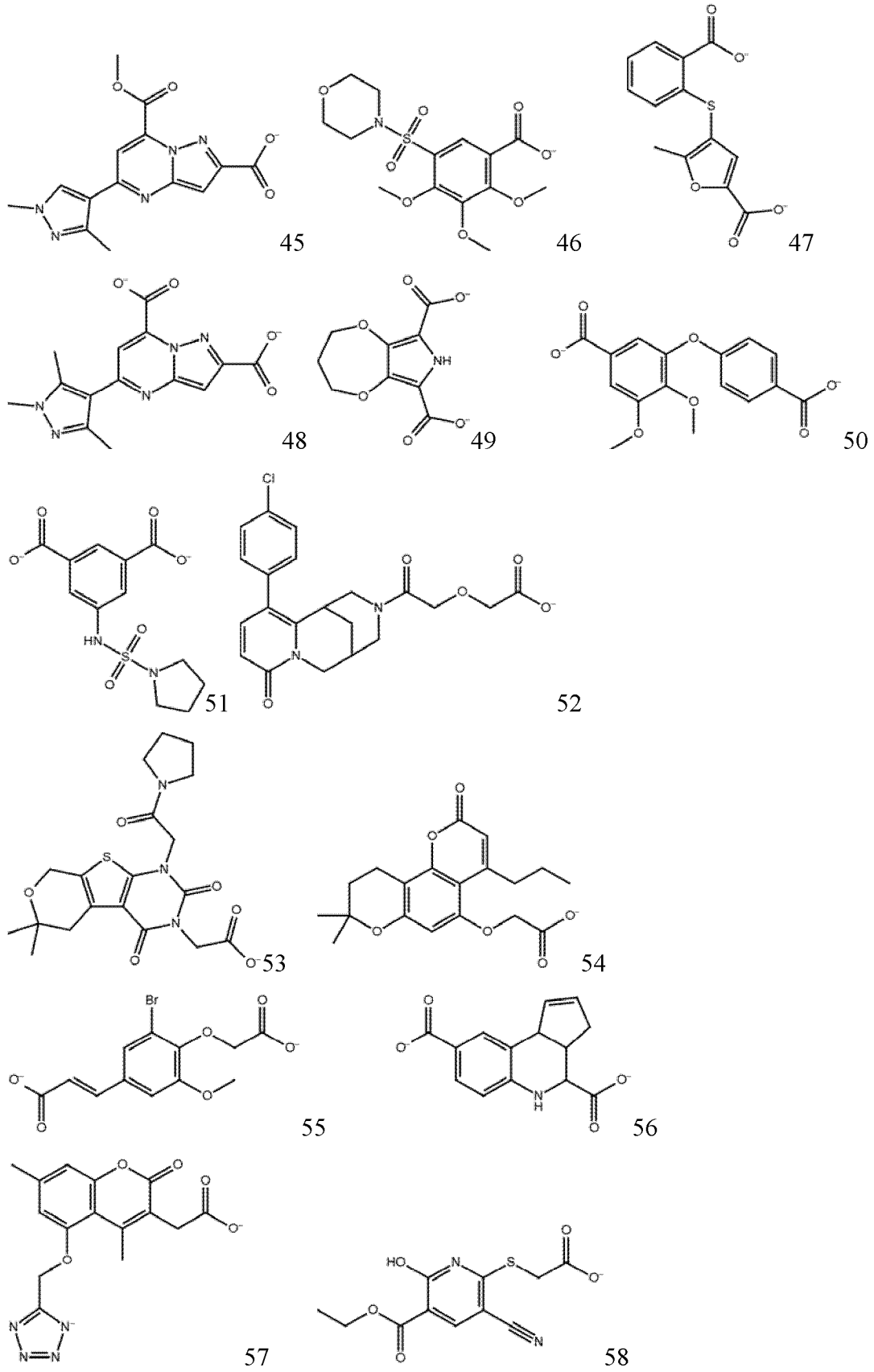


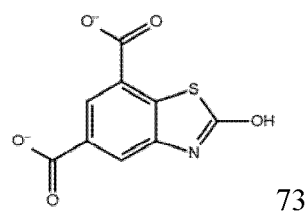
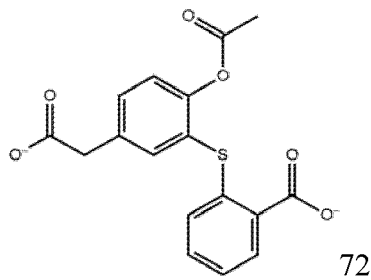
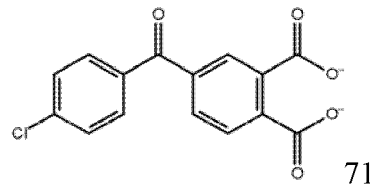
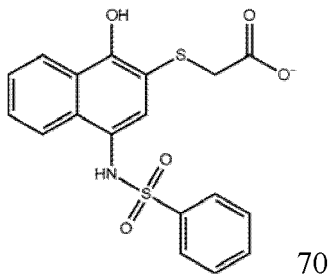
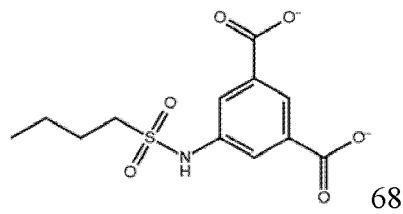
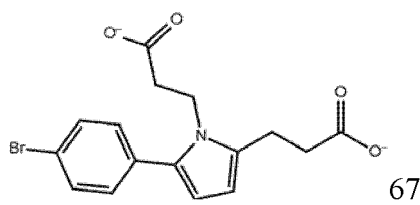
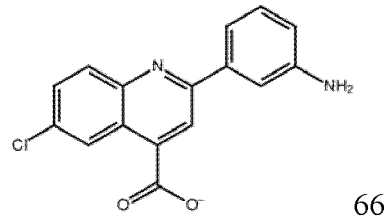
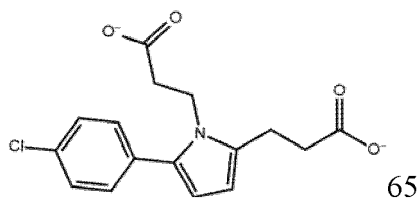
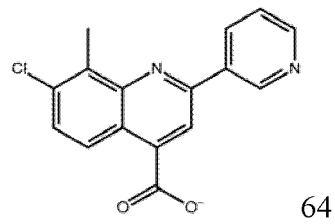
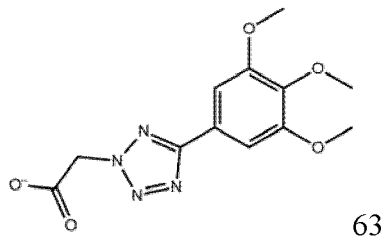
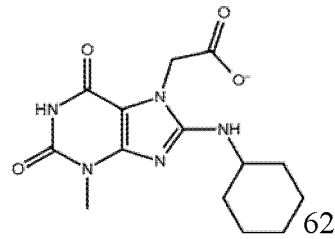
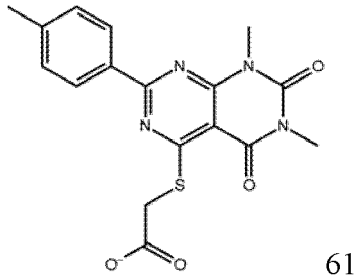
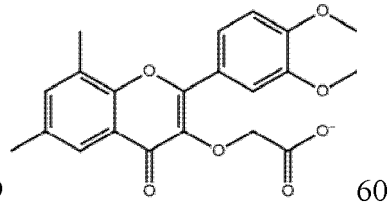
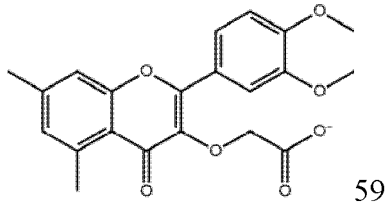
10

20

30

40



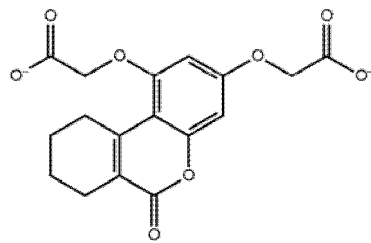
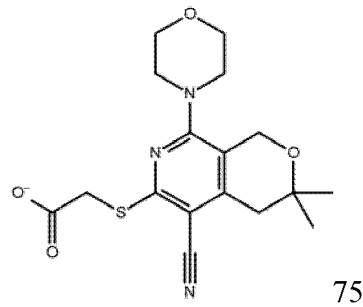
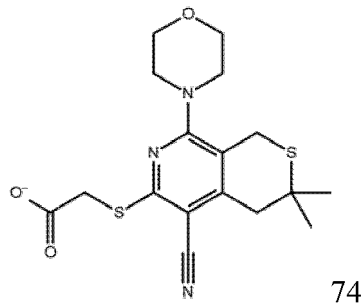


10

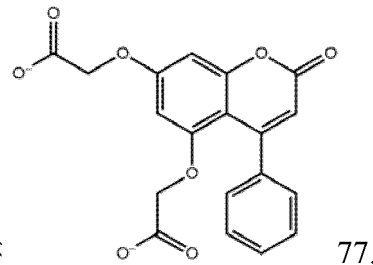
20

30

40



及び



【 0 1 7 1 】

特に活性の高い化合物が発見された(図5化合物12)。これらの化合物のさらなる一部分は、購入されて試験された。それは、1, 2, 4-トリヒドロキシアントラセン-9, 10-ジオン、ベンゾイミダゾール-5, 6-ジカルボン酸、4-(アミノカルボニルアミノ)安息香酸、2-(5-メチル-3-ニトロピラゾリル)-N-(4-スルファモイルフェニル)アセトアミド、N-(1-アセチル-4-オキソ-5-ヒドロイミダゾ[5, 4-d]ピリジン-6-イル)アセトアミド、N-[4-(ヒドラジノスルホニル)フェニル]アセトアミド、3, 5-ジ(アセチルアミノ)-2-メチル安息香酸、2-[(2-ヒドロキシ-tert-ブチル)アミノ]-N-(4-スルファモイルフェニル)アセトアミド、2-{[(N-(3-ピリジル)カルバモイル)メチル]シクロペンチル}酢酸、N-(3-ヒドロキシ(2-ピリジル))[4-(モルホリン-4-イルスルホニル)(2-チエニル)]カルボアミド、4-(ベンゾ[d]フラン-2-イルカルボニルアミノ)安息香酸、2-クロロ-5-{[N-(3-クロロフェニル)カルバモイル]アミノ}安息香酸、4-[(1-メチルピラゾール-3-イル)カルボニルアミノ]安息香酸、4-{[5-(メトキシメチル)-2-フリル]カルボニルアミノ}安息香酸、ベンゾ[d]フラン-2-イル-N-(4-スルファモイルフェニル)カルボアミド、3-[N-(4-{[(2, 4-ジメチルフェニル)アミノ]スルホニル}フェニル)カルバモイル]プロパン酸、3-[N-(4-{[4-(3-カルボキシプロパノイルアミノ)-3-ヒドロキシフェニル]メチル}-2-ヒドロキシフェニル)カルバモイル]プロパン酸、N-ベンゾチアゾール-2-イル-3-(フェニルスルホニル)プロパンアミド、2-ベンゾイミダゾール-2-イルチオアセトヒドラジド、N-(4-クロロフェニル)[(4-スルファモイルフェニル)アミノ]カルボアミド、4-{[N-(3-クロロフェニル)カルバモイル]アミノ}ベンズアミド、3-((2E)-3-カルボキシプロプ-2-エノイルアミノ)安息香酸、N-(3, 4-ジクロロフェニル){[4-(N-メチルカルバモイル)フェニル]アミノ}カルボアミド、2-フリル-N-(4-スルファモイルフェニル)カルボアミド、2-ナフチル-N-(4-スルファモイルフェニル)カルボアミド、[1-(メチルスルホニル)インドリン-5-イル]-N-(2-ピリジル)カルボアミド、N-(3-クロロフェニル)[(6-メトキシ(3-ピリジル)アミノ]カルボアミド、2-(7H-1, 2, 4-トリアゾロ[4, 5-d]1, 2, 4-トリアゾリン-3-イルチオ)-N-(2-ピリジル)アセトアミド、2-(2-メトキシフェノキシ)-N-(4-スルファモイルフェニル)アセトアミド、N-[5-(アセチルアミノ)-2-ヒドロキシ-3-メチルフェニル]アセトアミド、2-(3-イオド(1, 2, 4-トリアゾリル))-N-(3, 4, 5-トリメトキシフェニル)アセトアミド、2-モルホリン-4-イル-N-(4-スルファモイルフェニル)アセトアミド、N

10

20

30

40

50

- (ベンゾイミダゾール - 2 - イルメチル) - 2 - (4 - ヒドロキシキナゾリン - 2 - イルチオ)アセトアミド、N - (3 - メチルフェニル) - 2 - [9 - (4 - メチルフェニル) - 6 - オキソヒドロプリン - 8 - イルチオ]アセトアミド、N - {4 - [(ナフチルアミノ)スルホニル]フェニル} (フェニルアミノ)カルボアミド、2 - ヒドロキシ - 6 - メトキシキノリン - 4 - カルボン酸、4 - [N - (4 - {N - [(1E) - 2 - (4 - メトキシフェニル) - 1 - アザビニル]カルバモイル}フェニル)カルバモイル]ブタン酸、6H, 7H - 1, 4 - ジオキシノ[5, 6 - f]ベンゾイミダゾール - 2 - イルメタン - 1 - オール、N - [(2 - フルオロフェニル)メチル]{[3 - ({N - [(2 - フルオロフェニル)メチル]カルバモイル}アミノ)フェニル]アミノ}カルボアミド、ベンゾ[d]フラン - 2 - イル - N - (3 - エチル - 4 - オキソ(3 - ヒドロキナゾリン - 7 - イル))カルボアミド、2 - (2 - オキソ(3 - ヒドロベンゾキサゾール - 3 - イル)) - N - (1, 3 - チアゾール - 2 - イル)アセトアミド、N - (2H - ベンゾ[3, 4 - d]1, 3 - ジオキソラン - 5 - イル) - N' - (2H - ベンゾ[3, 4 - d]1, 3 - ジオキソレン - 5 - イル)エタン - 1, 2 - ジアミド、2H, 3H - フラノ[3, 4 - e]1, 4 - ジオキサソ - 5, 7 - ジカルボン酸、エチル11 - アミノ - 12 - シアノ - 8 - (メトキシメチル)スピロ[2H - 3, 4, 5, 6 - テトラヒドロピラン - 4, 7' - 4, 7 - ジヒドロイミダゾ[5, 4 - b]ピリジン] - 10 - カルボキシラート、2 - (1, 3 - ジメチル - 2, 6 - ジオキソ(1, 3, 7 - トリヒドロプリン - 7 - イル)) - N - [5 - (トリフルオロメチル)(1, 3, 4 - チアジアゾール - 2 - イル)]アセトアミド、N - ベンゾチアゾール - 2 - イル(3 - メチル - 4 - オキソ(3 - ヒドロフタラジニル))カルボアミド、(4 - フルオロフェニル) - N - (1 - オキソ(3 - ヒドロイソベンゾフラン - 5 - イル))カルボアミド、N - (3 - フルオロ - 4 - メチルフェニル) - 2 - (6 - オキソ - 9 - フェニルヒドロプリン - 8 - イルチオ)アセトアミド、2H - ベンゾ[3, 4 - d]1, 3 - ジオキソレン - 5 - イル - N - (5 - エチルチオ(1, 3, 4 - チアジアゾール - 2 - イル))カルボアミド、6 - (ヒドラジンカルボニル) - 4 - オキソ - 3, 4 - ジヒドロフタラジン - 1 - オラート、2 - (7 - アミノ(1, 2, 4 - トリアゾロ[4, 5 - d]1, 2, 4 - トリアゾリン - 3 - イルチオ)) - N - (5 - エチル(1, 3, 4 - チアジアゾール - 2 - イル))アセトアミド、2 - アミノ - 5 - メチル - 4 - オキソ - 5 - ヒドロ - 1, 3 - チアゾロ[5, 4 - d]ピリダジン - 7 - カルボニトリル、ヒドロ - 5H - 1, 2, 3 - トリアゾロ[4, 5 - f]ベンゾトリアゾール - 4, 8 - ジオン、N - (2 - ヒドロキシフェニル){3 - [N - (2 - ヒドロキシフェニル)カルバモイル] - 5 - (フェニルカルボニルアミノ)フェニル}カルボアミド、N - (2H, 3H - ベンゾ[3, 4 - e]1, 4 - ジオキサソ - 6 - イル) - 8 - ヒドロ - 1, 2, 4 - トリアオゾロ[1, 5 - a]ピリミジン - 2 - イルカルボアミド、4 - ヒドラジンカルボニル - 3 - メチルベンゾ[4, 5 - d]ピリド[1, 2 - a]イミダゾール - 1 - オラート、N - メチル - 2 - オキソ - 1, 2 - ジヒドロベンゾ[cd]インドール - 6 - スルホンアミド、N - (2H, 3H - ベンゾ[3, 4 - e]1, 4 - ジオキシソ - 6 - イル) - 2 - [1 - (2 - メトキシフェニル) - 5, 7 - ジメチル - 2, 4 - ジオキソ(1, 3 - ジヒドロピリジノ[2, 3 - d]ピリミジン - 3 - イル)]アセトアミド、2 - アミノ - 5 - (2, 6 - ジアミノ - 4 - オキソ(3 - ヒドロピリミジン - 5 - イル)) - 6 - (5 - クロロ(2 - チエニル)) - 3 - ヒドロピロロ[2, 3 - d]ピリミジン - 4 - オン、5 - ヒドロキシ - 1, 3 - ジメチル - 1, 3, 8 - トリヒドロピリジノ[2, 3 - d]ピリミジン - 2, 4, 7 - トリオン、6 - ヒドロキシ - 5 - [(6 - ヒドロキシ - 4 - オキソ - 2 - チオキソ(1, 3 - ジヒドロピリミジン - 5 - イル))メチル] - 2 - チオキソ - 1, 3 - ジヒドロピリミジン - 4 - オン、メチル5 - (2 - フリルカルボニルアミノ) - 3 - (メトキシカルボニル)安息香酸、2 - {[N - (9, 10 - ジオキソアントリル)カルバモイル]メチルチオ}酢酸、2 - (2, 4 - ジブプロモフェノキシ) - N - (4 - {[(4 - スルファモイルフェニル)アミノ]スルホニル}フェニル)アセトアミド、1, 3 - ビス(ヒドロキシメチル) - 5 - メトキシ - 3 - ヒドロベンゾイミダゾール - 2 - オン、10 - [(3 - クロロフェニル)アミノ] - 2, 3 - ジメトキシ

10

20

30

40

50

- 5, 6, 7 - トリヒドロピリミジノ [6, 1 - a] イソキノリン - 8 - オン、2, 4 - ビス (4 - ヒドロキシフェニル) シクロブタン - 1, 3 - 及びジカルボン酸を含む。

【 0 1 7 2 】

活性化化合物のさらなる探究は、化合物 # 7 及び # 1 2 ベースのハイブリッド分子がより選択的な新規化合物を提供しうることを提案した。表 4 は、優れた逆合成スコアを有する 6 つのハイブリッド化合物を同定する。分子の Log P 、 Log S 、及び MW などのパラメータを含む、化合物の PKD 特性が計算された。ハイブリッド化に着手するため、既知の構造情報に基づく 2 つの活性リガンド断片の組換えにより、新規リガンドを生成した (図 8)。新規分子は、2 つの骨格のハイブリッド、または 1 つの骨格から別の骨格へ置換基を転移させたものである。入力幾何学的形状は重要であると思われ、ゆえに新規の構造は分子内の位置方向を可能な限り厳密に維持する。

10

【 0 1 7 3 】

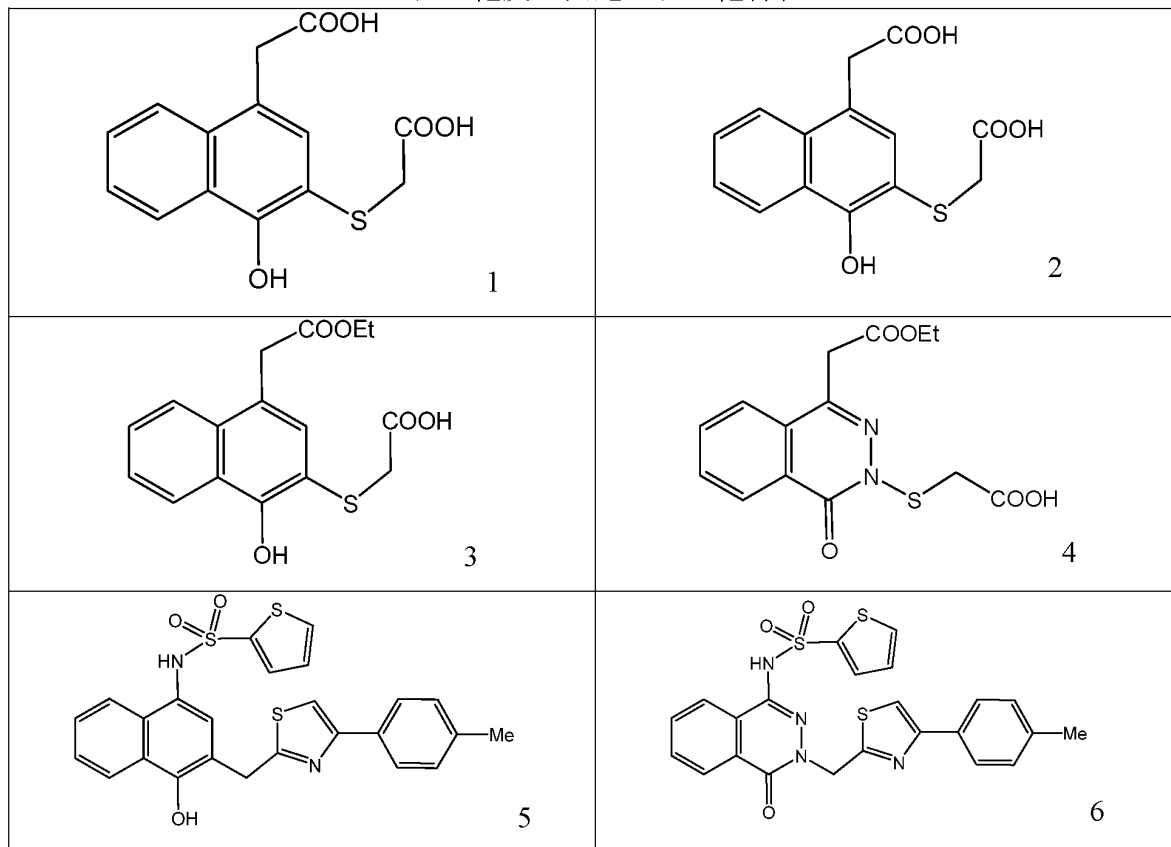
実験結果は、化合物 # 7 及び # 1 2 が CNKSR1 を阻害することを示した。化合物 # 7 の 4 - オキソフタラジン骨格の化合物 # 1 2 の 2 - ヒドロキシナフタレンとの顕著な類似性は、# 7 の酢酸エステル部分及び # 1 2 のスルファニル酢酸エステルと相まって、共通の結合様式を示唆する。従って、ハイブリッド化された分子は、改善された薬物動態特色を提供しうる。化合物 # 7 及び # 1 2 は 3 D の SD ファイルとして MAESTRO へと読み込まれ、 BREED パイソンスクリプトが実行された。簡潔には、結合重複基準が最大原子 - 原子間距離 1.0 に設定され、最大角度 15 度が生じることが許容される、デフォルトモードが使用された。ジェネレーション数は 1 に設定された。表 4 に示される 6

20

【 0 1 7 4 】

【 表 3 】

表 4 - 化合物 7 及び 1 2 のハイブリッド化に基づき
モデル化及び同定された化合物



【 実施例 1 】

【 0 1 7 5 】

50

実験に関する開示

アイソジェニック変異型KRAS株に対する化合物のスクリーニング(図2)。

【0176】

G12D、G12C、及びG12Vを有するアイソジェニックKRAS株は、Horizon Discovery labsから1年リースで得られた。これらの細胞はMcCoy's培養液中で10%FBSとともに培養密度80%まで培養された。細胞はそれから、トリプシン化によりフラスコから遊離させられ、ウェルあたり2000細胞の初期密度範囲にて96ウェルプレートへと蒔かれた。細胞は接着するのに24時間与えられ、それから薬剤が0-100µMの濃度範囲で培養液へと加えられた。細胞は薬剤と共に72時間培養され、それからMTS生存率解析法を用いて生存率が評価された。細胞は、PBS(Hyclone)に溶解されたMTS試薬(Promega)に200µL試薬/mL培養液の濃度で2時間さらされた。それから490nmにおける吸光度が測定され、生存率が、ネガティブコントロール(細胞播種なし)と、生存率の最上限として標準化された薬剤添加なしの細胞条件(生存率100%)との間で標準化された、パーセンテージとして表現された。

10

【0177】

NSCLC細胞株パネルに対する化合物のスクリーニング(図2及び3B)。

【0178】

我々の30細胞株のパネル、及び大規模な性質決定は、John Minna博士(UTSW)から得られた。全ての細胞株は、10%FBSを有するRPMI 1640中で培養された。細胞は、濃度0.01から50µMの様々な濃度の薬剤で処理され、上で開示されたように評価された。Excelfitを使用してIC₅₀が決定された。

20

【0179】

siRNAスクリーニング

MiaPaCa-2及びM27は、マイコプラズマ確認がなされ、10%FBSを有するDMEM中で維持された。最適化は、社内において、社内の最適化法を使用して行われた。それから、ゲノムワイドのsiRNAライブラリー(Dharmacon)を用いて並列スクリーニングが行われた。

【0180】

個別siRNA、及びプラスミドトランスフェクション(図3C)。

30

【0181】

6ウェルプレート中でのトランスフェクションのため、細胞はウェルあたり培養液2ml中100,000細胞で蒔かれ、一晩かけて接着させた。ウェルあたりDharmafect 2(Dharmacon)5µlがOptiMEM(Gibco)200µlに加えられ、siCNKSR1 smartpool Dharmacon(M-012217-01-0020)または個別のsiCNKSR1 siRNA(Qiagen SI02665411)4µlがOptiMEM200µlに並列に加えられ、5分間休ませた。これらのチューブは混合され、室温にて20分間放置された。それから1.6の適切な培養液が混合物に加えられ、それからウェル中の培養液が除去された。それから混合物が細胞に滴下により加えられ、細胞を48-72時間培養した。GFPコントロール及びCNK1 PHドメインプラスミドに対しては、ウェルあたり175,000細胞が6ウェルプレートに蒔かれた。ウェルあたり、リポフェクタミン2000(Gibco)2.5µlとOptiMEM125µlとが併せられ、また適切なプラスミド2.5µgとOptiMEM125µlとが別のチューブ中に併せられ、室温にて5分間放置した。それからこれら2つのチューブを混合し、室温にて20分間放置した。次に、この混合物200µlを、適切なウェルに既に入れられた新しい培養液1mlに加え、5分間放置した。トランスフェクション効率は24時間後のGFPの発現により決定され、72時間後、生存率を決定するため血球計算板を用いて細胞が数えられた。

40

【0182】

スフェロイド形成(図9)

50

プレートが最善の細胞密度に最適化され、それはmLあたり20,000細胞と分かった。96ウェルGreinerプレートから蓋を取り除き、逆さまにした。次に、mLあたり20,000細胞の懸濁液20 μ Lが、小さな液滴を形成しながら、96ウェルプレートの蓋上の円の中心へと直接加えられた。培養液100 μ Lが対応するウェル中に加えて液滴の温度を維持するのに用いられ、液滴を乱すことなく注意深く蓋をひっくり返してプレート上へと戻した。それからプレートをインキュベーターに3日間入れ、重力により細胞を液滴の底へと移動させた。3日後、培養液400 μ LがSCIVAX96ウェルプレートの対応するウェルに加えられた。Greiner96ウェルプレートの蓋を取り除いてSCIVAXプレート上に乗せ、液滴が培養液に接触するようにし、インキュベーターへ戻した。1時間後、スフェロイドを乱さずに注意深く対応するウェルから培養液200 μ Lを取り除き、画像化した。

10

【0183】

共焦点イメージング(図10及び12)

HEK293T細胞をCNKと野生型またはG12D変異型KRASのいずれかとのトランスフェクションした。トランスフェクションから24時間後、細胞をカバーガラス上に播種し、さらに24時間成長させ、それから一晚血清を欠乏させた。細胞を4(w/v)パラホルムアルデヒドpH8.0で20分かけて室温にて固定させた。PBS(pH8.0)で6-7回濯いだ後、カバーガラスを封入剤(pH7.5-8.0、PBS中0.1%p-フェニレンジアミン/75%グリセロール)を用いてスライドガラス上にマウントした。LeicaSP5共焦点顕微鏡システムを用いて、63X油浸対物レンズ(開口数NA=1.4)、ライン走査速度600Hz、画像サイズ1024x1024ピクセルで、共焦点レーザー走査顕微鏡法が行われた。GFPは488nmに調節されたアルゴン可視光レーザーで励起し、mRFPは543nmに調節されたクリプトンレーザーで励起した。GFP及びRFP蛍光放出は、それぞれ510/10nm及び595/10nmバンド選択により、光電子倍增管を用いて収集された。

20

【0184】

蛍光寿命イメージング顕微鏡法(FLIM)(図11及び13)

TCSPC(時間相関単一光子計数法)のための内蔵型光電子倍增管(PMT)検出器を有するLeicaTCPSP5倒立型高解像度共焦点顕微鏡システムを用いて、FLIM実験を行った。調節可能なフェムト秒(fs)チタンサファイアレーザーを用いて、80MHzの繰り返し速度及び80fsより小さいパルス幅(Spectral Physics、Mai Tai BB)で、試料を励起した。二光子励起に用いられた波長は930nmで、525 \pm 25nm干渉フィルタにより蛍光を検出した。油浸対物レンズ(開口数NA=1.4)を用いて、ライン走査速度400Hz、画像サイズ512x512ピクセルで、画像を獲得した。FLIM解析に対しては、ピクセル数を256x256へと減少させた。TCSPC用のBecker&HicklSPC830データ及び画像獲得カードを用いて、FLIMデータを収集した。蛍光減衰をBecker and HicklのSPCImageソフトウェアを用いて単一指数減衰モデルに当てはめ、GFP蛍光寿命を疑似彩色マップに表示させた。

30

【0185】

表面プラズモン共鳴分光法結合分析(全ての薬剤に対する結合スコア)

全ての相互作用解析は、BiacoreT100ControlSoftwarev3.2、及びBIAevaluationv4.1解析ソフトウェア(Biacore)を用いて行われた。PHドメインHis融合タンパク質(CNK1及びAKT1)を発現させ、10,000応答単位またはそれより低いレベルでNTAチップ上に固定させた。濃度範囲50 μ Mから0.010 μ Mの小分子分析物を、高流速(30 μ L/分)で注入した。全ての試料及びランニング緩衝液におけるDMSO濃度は、1-5%(v/v)(30 μ L/分)であった。全ての試料及びランニング緩衝液におけるDMSO濃度は、1-5%(v/v)であった。

40

【0186】

50

免疫プロット、及び免疫沈降 (図 3 D、14、及び 15)

細胞を、氷冷 PBS と、50 mmol / L HEPES (pH 7 . 5)、50 mmol / L NaCl、0 . 2 mmol / L NaF、0 . 2 mmol / L オルトバナジウム酸ナトリウム、1 mmol / L フェニルメチルスルホニルフロリド、20 µg / mL アプロチニン、20 µg / mL ロイペプチン、1 % NP 40、及び 0 . 25 % デオキシコール酸ナトリウムを含有する溶解バッファーとを用いて、2 回洗った。タンパク質濃度をピシニコニン酸分析 (Pierce Biotechnology) により決定し、細胞溶解タンパク質 50 µg を、0 . 25 mol / L Tris (pH 6 . 8)、35 % グリセロール、8 % SDS、及び 10 % 2 -メルカプトエタノールを含有する変性バッファーを用いて 5 分間煮て、10 % アクリルアミド / ビスアクリルアミドゲル上にロードし、電気泳動により 150 V にて 40 分かけて分離した。タンパク質を電気泳動によりニトロセルロース膜に転写し、137 mmol / L NaCl、2 . 7 mmol / L KCl、897 mmol / L CaCl₂、491 mmol / L MgCl₂、3 . 4 mmol / L Na₂HPO₄、593 mmol / L KH₂PO₄、及び 5 % ウシ血清アルブミンのプロッキングバッファーと共に予め放置しておき、それから、抗リン酸化 Thr 308 - Akt、Ser 473 Akt、抗 CRAf Ser 338 Mapk Thr 202 / Tyr 204、p70 S6K Thr 389、または抗 Akt (Cell Signaling 1 : 1000)、抗 CNKSR1 (Signal Transduction Labs) 抗ラミン A / C、及び抗 - アクチンと共に一晩放置した (検出には、Santa Cruz Biotechnology 1 : 2000 ロバ抗ウサキ IgG ペルオキシダーゼ共役型二次抗体 (GE Healthcare) を使用した)。活性 Ra1A 及び Ra1B の測定には、Ra1 及び Ra1B 活性化キットを使用した (Biorad)。Kodak X - Omat Blue ML フィルム (Eastman Kodak) 上で Renaissance 化学発光システムを使用して、バンド密度を測定した。

【 0187 】

市販のドッキングパッケージ GOLD (GOLD [3 . 2]、CCDC、Cambridge、UK、2007) を使用して、化合物 1 - 7 の結合ポケット内へのドッキングが評価された。例えば、表 5 参照。他のドッキングは、最高技術水準の市販の創薬ソフトウェア (Schrodinger suite) を使用してモデル化アルゴリズムを用いて行われた。化合物を選択及び最適化するのに用いられるドッキングアルゴリズムとして GLIDE が選択され、最善の化合物をランク付けし選択するのに使用される結合親和性の大まかな推定値として、Glide Score を提供した。さらに、リガンドに基づく手法は、構造に基づく創薬に対する代替法を提供した。リガンドに基づく仮想的スクリーニングの方法は、形状及び静電状態 (例えば ROCS)、並びにその官能基のファルマコフォア特色 (アクセプター、ドナー、疎水性、芳香性など) を考慮することができる。CNKSR1 の PH ドメインに対するイノシトール四リン酸 (IP4) 結合は、形状スクリーニングのための優れた出発点を提供した。新規化合物を見つけ (表 7)、またリード化合物を洗練かつ改善させる (表 8 及び 9) ために、構造に基づく手法、及びリガンドに基づく手法の両方が用いられた。化合物 1 から 7 についての SPR 相互作用解析は、Mol Cancer Ther 7 : 2621 (2008) で開示されるように、Biacore 2000 Control Software v3 . 2、及び BIA Evaluation v4 . 1 解析ソフトウェア (Biacore) を使用して、Biacore 2000 を用いて行われた。他の全ての化合物の SPR 相互作用解析は、Control and Evaluation ソフトウェアキットと共に Biacore T100 を用いて行われた。

【 0188 】

10

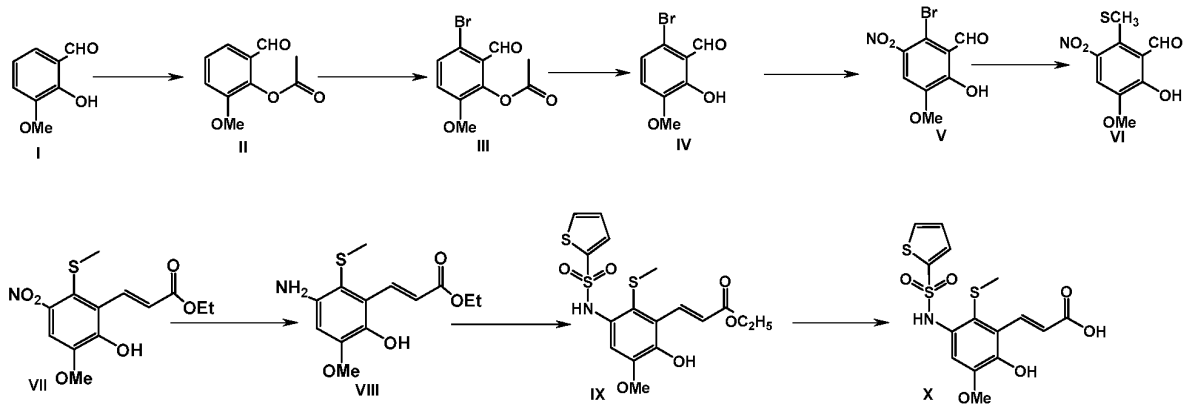
20

30

40

【化48】

合成機構 I



10

【0189】

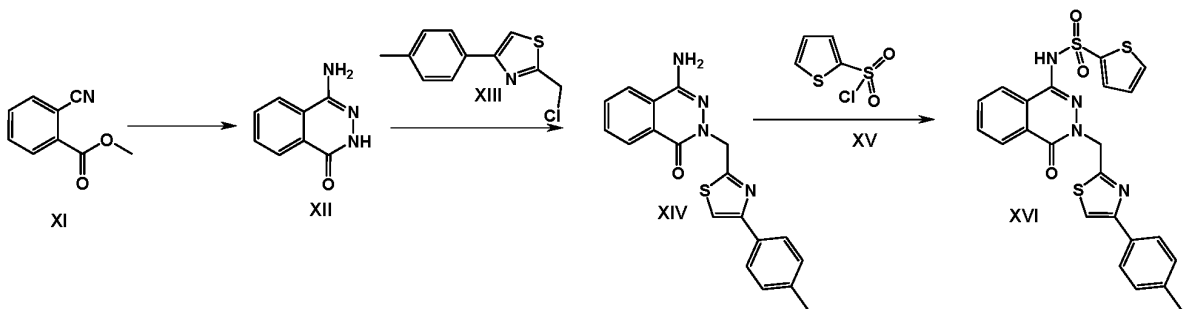
実施形態に従う化合物は、合成機構 I に示されるように生成されうる。2 - ヒドロキシ - 3 - メトキシベンズアルデヒド I はアシル化により保護されて化合物 II が生成され、次いで臭素化されて化合物 III が生成され、それから脱保護されて化合物 IV が生成された。化合物 IV のニトロ化はニトロベンゼン V を生成し、これが硫化アルキルと反応してチオールエーテル VI を生成した。アルデヒドの Wittig 反応から不飽和エステル VII を生成し、それに続く還元がアニリンエステル VIII (化合物 107) を生成した。そのアニリンはスルホニル化されてチオアミド IX (化合物 103) を生成し、そのエステルが加水分解されて酸 X (化合物 104) が生成された。類似体 103 - 110 の合成は、有機合成の当業者により容易に調製されうる。

20

【0190】

【化49】

合成機構 I I



30

【0191】

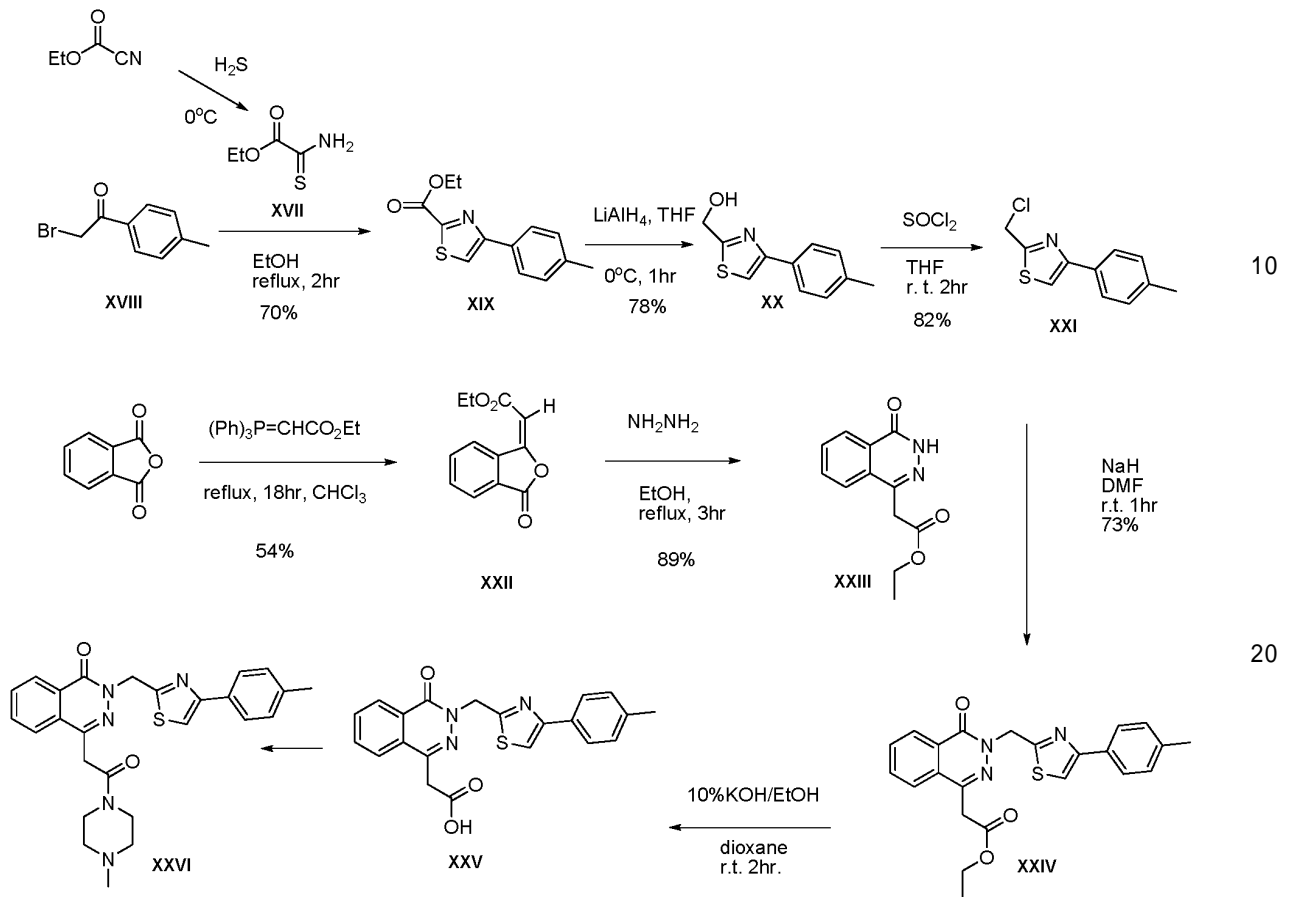
実施形態に従う化合物は、合成機構 I I に示されるように生成されうる。2 - シアノ安息香酸メチル XI がヒドラジン同等物と反応させられ、アザイソキノロン XII が生成された。アザイソキノロンは塩化物 XIII でアルキル化され、連結化合物 XIV を生成した。連結化合物 XIV の遊離アミンが酸塩化物 XV を用いてスルホニル化され、チオアミド XVI (化合物 5) が生成された。類似体の合成は、有機合成の当業者により容易に調製されうる。

40

【0192】

【化50】

合成機構 I I I



【0193】

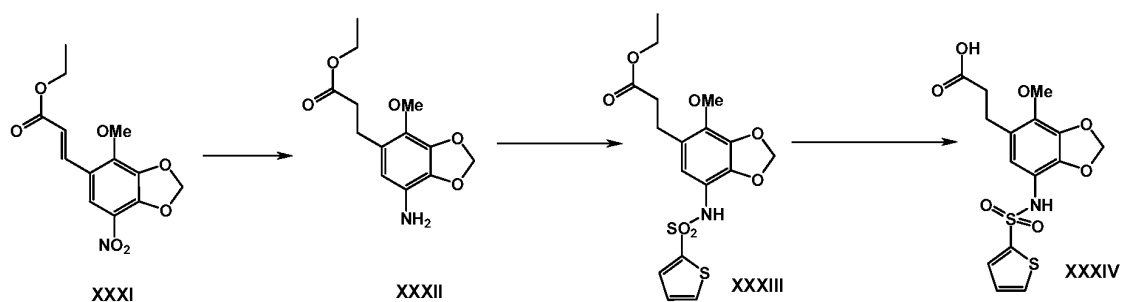
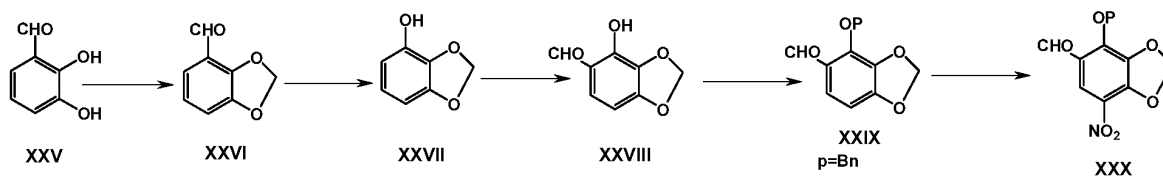
実施形態に従う化合物は、合成機構 I I I に示されるように生成されうる。プロモケトン X V I I I は還流エタノール中でチオアミド X V I I I と 2 時間かけて反応させられ、チアゾールエステル X I X を 7 0 % の収率で生成した。チアゾールエステルは水素化アルミニウムリチウムを用いて、0 にてテトラヒドロフラン中で 1 時間かけて還元され、ベンジル型アルコール X X を 7 8 % の収率で生成した。ベンジル型アルコールは、室温におけるテトラヒドロフラン中での塩化チオニルとの 2 時間の反応により置換され、ベンジル型塩化物 X X I を 8 2 % の収率で生成した。還流クロホルム中における 1 8 時間の無水フタル酸の W i t t i g 反応は、5 4 % の収率で不飽和ラクトン X X I I を提供した。不飽和ラクトンのヒドラジンとの還流エタノール中における 3 時間の反応は、オキソイソキナザリン X X I I I を提供した。オキソイソキナザリン X X I I I のベンジル型塩化物 X X I とのカップリングが、7 3 % の収率で、室温での 1 時間のジメチルホルムアミド中における水素化ナトリウムの作用により行われ、N - アルキル化イソキナザリン X X I V を生成した。室温での 2 時間のエタノール及びジオキサン中における 1 0 % 水酸化カリウムを用いた鹼化により、カルボン酸 X X V (化合物 8) を生成した。N - メチルピペラジンのアミド形成は、アミド X X V I (化合物 1 2 3) を生成した。化合物 1 2 3 は、分子式 $\text{C}_{26}\text{H}_{27}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$ 、融点 135.8、NMR 解析は、 ^1H NMR (600 MHz、 CDCl_3) 8.54 (d, $J = 7.8$, 1H)、8.07 (d, $J = 7.9$, 1H)、7.91 (t, $J = 7.6$, 1H)、7.86 (t, $J = 7.5$, 1H)、7.70 (d, $J = 7.7$, 2H)、7.46 (s, 1H)、7.22 (d, $J = 7.7$, 2H)、5.81 (s, 1H)、5.68 (s, 1H)、4.65 (d, $J = 12.1$, 1H)、4.32 (d, $J = 12.0$, 1H)、4.08 (s, 2H)、3.63 (s, 1H)、3.40 (d, $J = 10.7$, 1

H)、3.20 (s, 1H)、3.12 (s, 1H)、2.50 (s, 1H)、2.38 (d, J = 14.8, 4H)、2.30 (s, 3H)。

【0194】

【化51】

合成機構 I V



【0195】

実施形態に従う化合物は、合成機構 I V に示されるように生成されうる。2,3-ジヒドロキシベンズアルデヒド XXV がホルムアルデヒドでケタール化され、アリールジオキソール XXVI が生成され、そのアルデヒドは酸化してフェノール XXVII が生成された。ギ酸エステル（フォルメート）同等物を用いたベンジル保護されたフェノールのアシル化により、ベンズアルデヒド XXVIII が生成され、それはニトロ化されてニトロベンズアルデヒド XXIX が生成された。そのアルデヒドは、結合されて不飽和エステル XXXI を生成し、アニリノエステル XXXII へと還元された。スルホニル化は、チオアミド XXXIII（化合物 85）を生成し、これが鹼化されてカルボン酸 XXXIV（化合物 83）となった。同様に、類似体 80 - 90 は有機合成の当業者により調製されうる。有機合成の当業者は、機構 I - IV 中の工程と類似の工程により、特許請求の範囲の他の化合物を、容易に調製することができる。

【0196】

【表4】

表5-初期スクリーニングヒット

化合物	Gold フィット 値	Log P	構造	Bia core KD (μ M)	平均 IC ₅₀ mut- KRAS (μ M)	IC ₅₀ mut- KRAS /wtK RAS
117	51.97	3.89		0.7 ± 0.2	21.9 ± 5.7	0.9
118	56.06	4.28		30.3 ± 1.2	49.3 ± 0.6	1.0
119	52.68	5.21		0.3 ± 0.1	> 50	1.0
120	52.33	2.26		3.3 ± 1.2	47.0 ± 5.2	0.9
121	51.98	3.43		5.2 ± 2.6	46.7 ± 3.3	0.9
122	50.16	3.92		20.2 ± 0.8	> 50	1.0
7	51.72	4.57		1.8 ± 0.6	23.9 ± 2.5	0.5

10

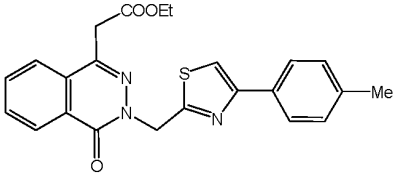
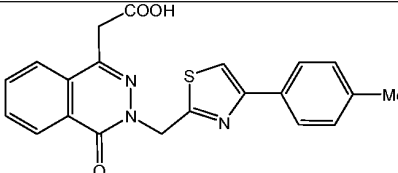
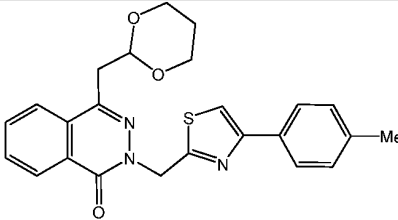
20

30

40

【表 5】

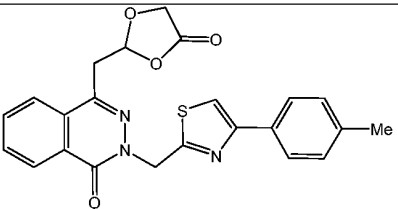
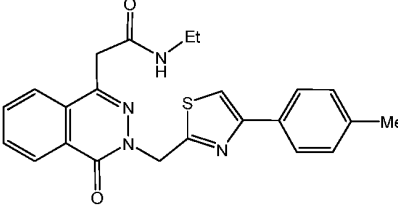
表 6-化合物 7 の類似体

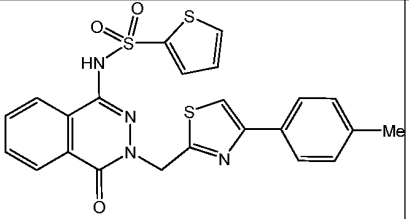
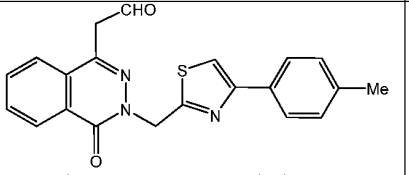
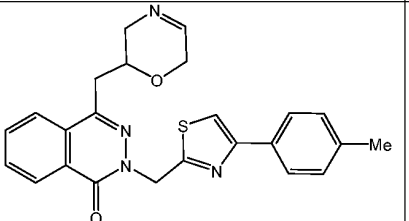
化合物	構造	CNKS R1 K _D (μ M)	AKT K _D (μ M)	NSCL細胞株 細胞毒性* I C ₅₀ (μ M)		マウス薬物動態 (I v)	
				wt- KR AS	mut -KR AS	t _{1/2} β	C l
						分	ml/分 /Kg
7	 <p>エチル 2-(4-オキソ-3-((4-p-トリルチアゾール-2-イル)メチル) -3, 4-ジヒドロフタラジン-1-イル) アセタート</p>	3.2	17.3	>100	49	3	
						UN	
8	 <p>2-(4-オキソ-3-((4-p-トリルチアゾール-2-イル)メチル) -3, 4-ジヒドロフタラジン-1-イル) 酢酸</p>	>100	51.6	>100	>100	72	4745
9	 <p>4-((1, 3-ジオキサン-2-イル)メチル) -2-((4-p-トリルチアゾール-2-イル)メチル) フタラジン-1 (2H) -オン</p>	0.026	66.3	55	25	260	133

10

20

30

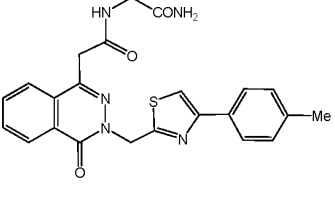
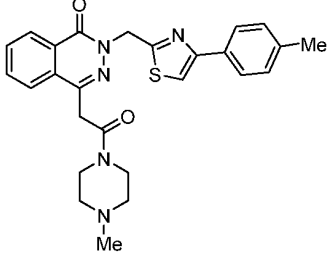
化合物	構造	CNKSR1 K _D (μ M)	AKT K _D (μ M)	NSCL細胞株 細胞毒性* IC ₅₀ (μ M)		マウス薬物動態 (Iv)		
				wt-KRAS	mut-KRAS	t _{1/2} β 分	Cl ml/分 /Kg	
								10
11		0.27	2.53	56	45	ND	ND	20
78		0.65	2.53	na	na	28	34	30

化合物	構造	CNKSR1 K _D (μ M)	AKT K _D (μ M)	NSCL細胞株 細胞毒性* IC ₅₀ (μ M)		マウス薬物動態 (Iv)	
				wt-KRAS	mut-KRAS	t _{1/2β} 分	Cl ml/分 /Kg
5	 <p>N-(4-オキソ-3-((4-p-トリルチアゾール-2-イル)メチル)-3,4-ジヒドロフタラジン-1-イル)チオフェン-2-スルホンアミド</p>	51.3	34.2	na	Na	na	na
79	 <p>2-(4-オキソ-3-((4-p-トリルチアゾール-2-イル)メチル)-3,4-ジヒドロフタラジン-1-イル)アセトアルデヒド</p>	4.2	ND	na	na	35	30
80	 <p>4-((3,6-ジヒドロ-2H-1,4-オキサジン-2-イル)メチル)-2-((4-p-トリルチアゾール-2-イル)メチル)フタラジン-1(2H)-オン</p>	>100	ND	na	na	ND	ND

10

20

30

化合物	構造	CNKSR1 K _D (μ M)	AKT K _D (μ M)	NSCL細胞株 細胞毒性* I C ₅₀ (μ M)		マウス薬物動態 (I v)	
				wt-KRAS	mut-KRAS	t _{1/2} β 分	Cl ml/分 /Kg
82		ND	ND	na	na	na	na
123		ND	ND	na	na	327	31

ND、結合は測定されなかった。i v、静脈内。UN、血漿中では不安定。

* 3つのwt-KRAS及び3つのmut-KRASの平均。na、解析されなかった。

【 0 1 9 7 】

10

20

30

40

【表 6】

表 7-精選されたダイバーシティセット

化合物	CNK KD μM	U値	AKT KD μM	U値	IC ₅₀ mut- KRAS	IC ₅₀ WT- KRAS
61	1.01×10^{-6}	12	1.28×10^{-6}	43	>100	>100
34	ND	95	結合	結合		
67	1.96×10^{-4}	43	結合	結合		
64	ND	95	結合	結合		
66	ND	73	結合	結合		
76	1.13×10^{-6}	20	結合	結合	>100	>100
12	3.64×10^{-6}	4	結合	結合	17	12
56	5.34×10^{-6}	2	4.74×10^{-4}	2	>100	>100

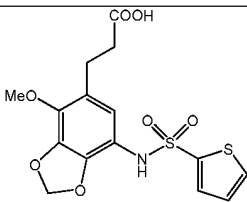
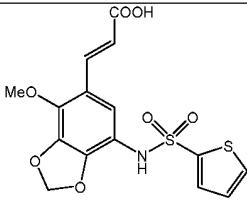
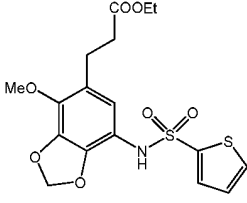
ND=結合は測定されなかった。

【0198】

【表 7】

表 8-第二シリーズヒットからモデル化された類似体

na=解析されなかった。ND=結合は測定されなかった。

構造	CV No	Mol WT	CNK K _D (μM)	PLE K K _D (μM)	AKT K _D (μM)	IUPAC名
	83	385	na	na	na	3-(4-メトキシ-7-(チオフェン-2-スルホンアミド)ベンゾ[d][1,3]ジオキサソール-5-イル)プロパン酸
	84	383	結合なし	na	結合なし	(E)-3-(4-メトキシ-7-(チオフェン-2-スルホンアミド)ベンゾ[d][1,3]ジオキサソール-5-イル)アクリル酸
	85	413	>500	na	>500	エチル-3-(4-メトキシ-7-(チオフェン-2-スルホンアミド)ベンゾ[d][1,3]ジオキサソール-5-イル)プロパノアート

10

20

30

40

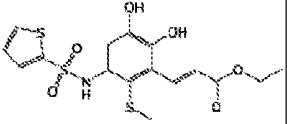
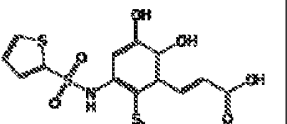
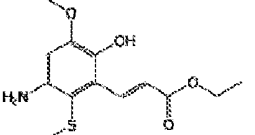
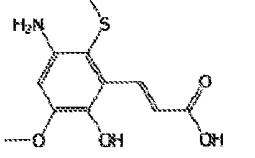
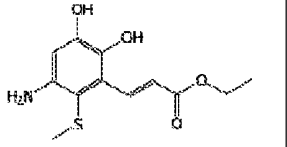
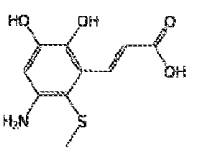
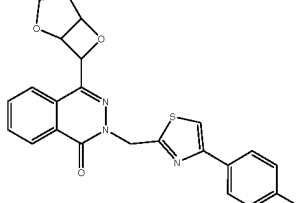
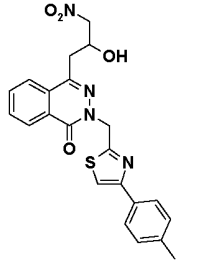
構造	CV No	Mol WT	CNK K _D (μ M)	PLE K K _D (μ M)	AKT K _D (μ M)	IUPAC名
	86	411	123	na	>500	(E)-エチル-3-(4-メトキシ-7-(チオフェン-2-スルホンアミド)ベンゾ[d][1,3]ジオキソール-5-イル)アクリラート
	87	399	na	na	na	エチル 3-(4-ヒドロキシ-7-(チオフェン-2-スルホンアミド)ベンゾ[d][1,3]ジオキソール-5-イル)プロパノアート
	88	397	0.186	261.3	75.2	(E)-エチル 3-(4-ヒドロキシ-7-(チオフェン-2-スルホンアミド)ベンゾ[d][1,3]ジオキソール-5-イル)アクリラート
	89	369	3.37	na	ND	(E)-3-(4-ヒドロキシ-7-(チオフェン-2-スルホンアミド)ベンゾ[d][1,3]ジオキソール-5-イル)アクリル酸
	90	371	ND	na	ND	3-(4-ヒドロキシ-7-(チオフェン-2-スルホンアミド)ベンゾ[d][1,3]ジオキソール-5-イル)プロパン酸
	103	429.53	0.157	300	330	エチル (2E)-3-[2-ヒドロキシ-3-メトキシ-6-(メチルスルファニル)-5-(チオフェン-2-スルホンアミド)フェニル]プロプ-2-エノアート
	104	401.48	1.56	na	4.8	(2E)-3-[2-ヒドロキシ-3-メトキシ-6-(メチルスルファニル)-5-(チオフェン-2-スルホンアミド)フェニル]プロプ-2-エン酸

10

20

30

40

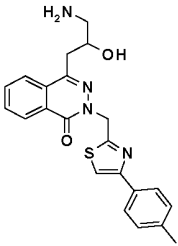
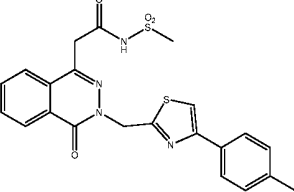
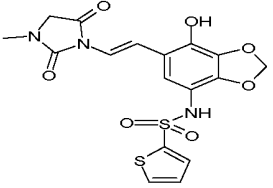
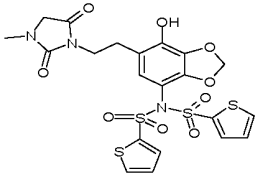
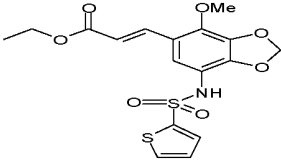
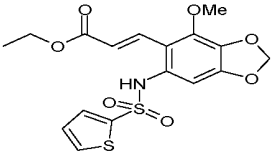
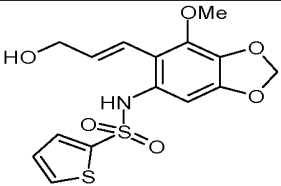
構造	CV No	Mol WT	CNK K _D (μM)	PLE K K _D (μM)	AKT K _D (μM)	IUPAC名
	105	415.51	2.86	na	6.22	エチル (2E)-3-[2, 3-ジヒドロキシ-6-(メチルスルファニル)-5-(チオフェン-2-スルホンアミド)フェニル]プロプ-2-エノアート
	106	387.45	0.614	na	13.5	(2E)-3-[2, 3-ジヒドロキシ-6-(メチルスルファニル)-5-(チオフェン-2-スルホンアミド)フェニル]プロプ-2-エン酸
	107	283.34	125	na	286	エチル (E)-3-(5-アミノ-2-ヒドロキシ-3-メトキシ-6-メチルスルファニルフェニル)プロプ-2-エノアート
	108	255.29	72.5	na	133	(2E)-3-[3-アミノ-6-ヒドロキシ-5-メトキシ-2-(メチルスルファニル)フェニル]プロプ-2-エン酸
	109	269.32	19.2	na	140	エチル (2E)-3-[3-アミノ-5, 6-ジヒドロキシ-2-(メチルスルファニル)フェニル]プロプ-2-エノアート
	110	241.26	ND	na	178	(2E)-3-[3-アミノ-5, 6-ジヒドロキシ-2-(メチルスルファニル)フェニル]プロプ-2-エン酸
	124	431				
	125	436				

10

20

30

40

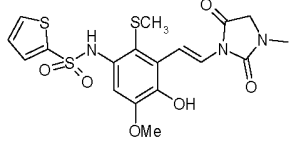
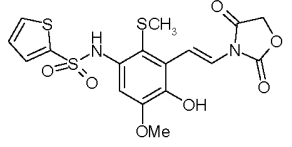
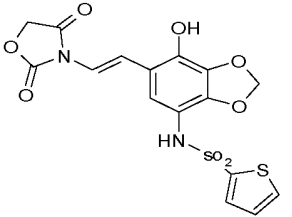
構造	CV No	Mol WT	CNK K _D (μM)	PLE K K _D (μM)	AKT K _D (μM)	IUPAC名
	126	406				
	127	469				
	91	437				
	128	568				
	129	411				
	130	411				
	131	369				

10

20

30

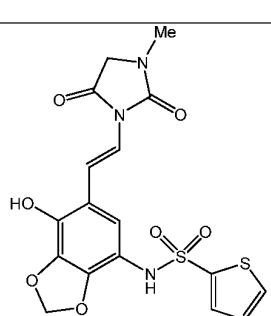
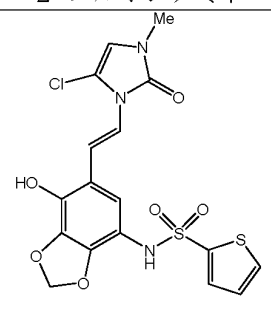
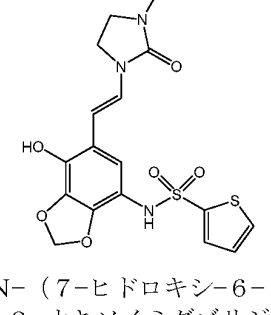
40

構造	CV No	Mol WT	CNK K _D (μ M)	PLE K K _D (μ M)	AKT K _D (μ M)	IUPAC名
	132	470				
	133	457				
	100	424				

10

20

【表 8】

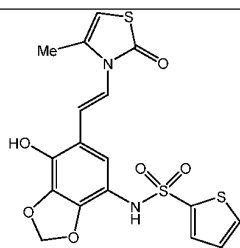
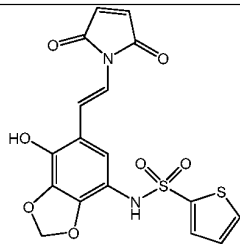
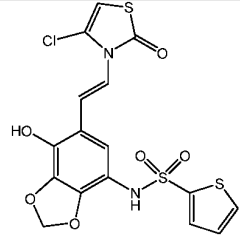
化合物		Mol WT	Log P	r _{qp} _Q P log HE RG	r _{qp} _QP PCaco	r _{qp} _% Human Oral Absorp tion
91	 <p>(E)-N-(7-ヒドロキシ-6-(2-(3-メチル-2,5-ジオキソイミダゾリジン-1-イル)ビニル)ベンゾ[d][1,3]ジオキソール-4-イル)チオフエン-2-スルホンアミド</p>	436.45	0.85	-5.26	74.60	66.54
92	 <p>(E)-N-(6-(2-(5-クロロ-3-メチル-2-オキソ-2,3-ジヒドロ-1H-イミダゾール-1-イル)ビニル)-7-ヒドロキシベンゾ[d][1,3]ジオキソール-4-イル)チオフエン-2-スルホンアミド</p>	454.89	2.44	-5.48	203.24	81.64
93	 <p>(E)-N-(7-ヒドロキシ-6-(2-(3-メチル-2-オキソイミダゾリジン-1-イル)ビニル)ベンゾ[d][1,3]ジオキソール-4-イル)チオフエン-2-スルホンアミド</p>	422.46	1.02	-5.19	242.80	80.98

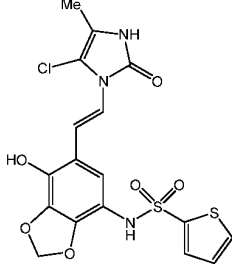
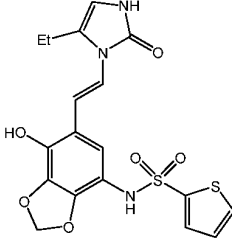
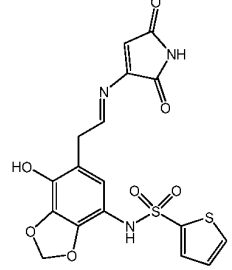
10

20

30

40

化合物		Mol WT	Log P	r _{qp} —Q P log HE RG	r _{qp} — QP PCaco	r _{qp} —% Human Oral Absorp tion	
94	 <p>(E)-N-(7-ヒドロキシ-6-(2-(4-メチル-2-オキソチアゾール-3(2H)-イル)ビニル)ベンゾ[d][1,3]ジオキサール-4-イル)チオフェン-2-スルホンアミド</p>	437.5	2.44	-5.07	222.80	80.30	10
95	 <p>(E)-N-(6-(2-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)ビニル)-7-ヒドロキシベンゾ[d][1,3]ジオキサール-4-イル)チオフェン-2-スルホンアミド</p>	419.41	1.53	-5.30	62.10	64.54	20
96	 <p>(E)-N-(6-(2-(4-クロロ-2-オキソチアゾール-3(2H)-イル)ビニル)-7-ヒドロキシベンゾ[d][1,3]ジオキサール-4-イル)チオフェン-2-スルホンアミド</p>	457.92	3.19	-5.16	219.25	81.09	30

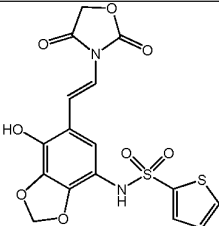
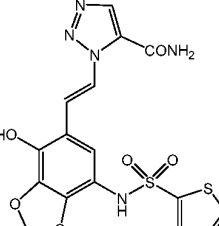
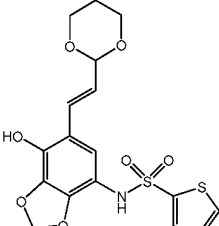
化合物		Mol WT	Log P	r _{qp} —Q P log HE RG	r _{qp} — QP P Caco	r _{qp} — Human Oral Absorption
97	 <p>(E)-N-(6-(2-(5-クロロ-4-メチル-2-オキソ-2,3-ジヒドロ-1H-イミダゾール-1-イル)ビニル)-7-ヒドロキシベンゾ[d][1,3]ジオキソール-4-イル)チオフェン-2-スルホンアミド</p>	454.89	2.52	-5.19	134.92	76.65
98	 <p>(E)-N-(6-(2-(5-エチル-2-オキソ-2,3-ジヒドロ-1H-イミダゾール-1-イル)ビニル)-7-ヒドロキシベンゾ[d][1,3]ジオキソール-4-イル)チオフェン-2-スルホンアミド</p>	434.47	1.88	-5.44	97.28	72.29
99	 <p>(E)-N-(6-(2-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-3-イルイミノ)エチル)-7-ヒドロキシベンゾ[d][1,3]ジオキソール-4-イル)チオフェン-2-スルホンアミド</p>	434.43	0.56	-4.34	21.39	51.02

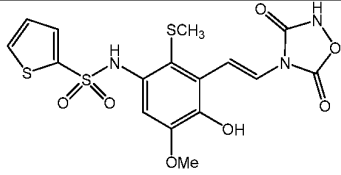
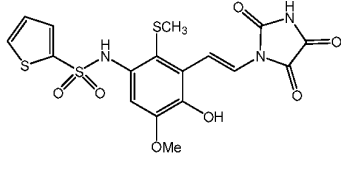
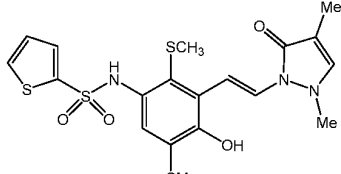
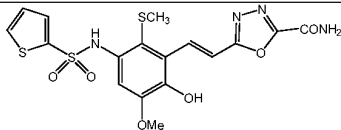
10

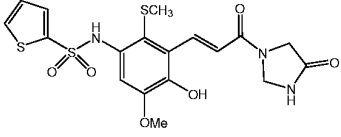
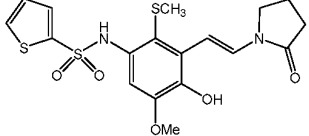
20

30

40

化合物		Mol WT	Log P	r _{qp} _Q P log HE RG	r _{qp} _QP PCaco	r _{qp} _% Human Oral Absorp tion	
100	 <p>(E)-N-(6-(2,4-ジオキソオキサゾリジン-3-イル)ビニル)-7-ヒドロキシベンゾ[d][1,3]ジオキソール-4-イル)チオフェン-2-スルホンアミド</p>	423.4	1.1	-4.64	60.93	59.71	10
101	 <p>(E)-1-(2-(4-ヒドロキシ-7-(チオフェン-2-スルホンアミド)ベンゾ[d][1,3]ジオキソール-5-イル)ビニル)-1H-1,2,3-トリアゾール-5-カルボアミド</p>	434.43	0.17	-5.46	14.91	34.24	20
102	 <p>(E)-N-(6-(2-(1,3-ジオキサン-2-イル)ビニル)-7-ヒドロキシベンゾ[d][1,3]ジオキソール-4-イル)チオフェン-2-スルホンアミド</p>	410.44					30

化合物		Mol WT	Log P	r _{qp} -Q Pl og HE RG	r _{qp} - QP PCaco	r _{qp} -% Human Oral Absorp tion
111	 <p>(E)-N-(3-(2-(3,5-ジオキソ-1,2,4-オキサジアゾリジン-4-イル)ビニル)-4-ヒドロキシ-5-メトキシ-2-(メチルチオ)フェニル)チオフェン-2-スルホンアミド</p>	456.5	1.41	-5.28	24.63	10
112	 <p>(E)-N-(4-ヒドロキシ-5-メトキシ-2-(メチルチオ)-3-(2-(2,4,5-トリオキソイミダゾリジン-1-イル)ビニル)フェニル)チオフェン-2-スルホンアミド</p>	467.5	1.19	-5.18	17.43	20
113	 <p>(E)-N-(3-(2-(2,4-ジメチル-5-オキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)ビニル)-4-ヒドロキシ-5-メトキシ-2-(メチルチオ)フェニル)チオフェン-2-スルホンアミド</p>	466.6	2.73	-5.264	245.69	30
114	 <p>(E)-5-(2-ヒドロキシ-3-メトキシ-6-(メチルチオ)-5-(チオフェン-2-スルホンアミド)スチリル)-1,3,4-オキサジアゾール-2-カルボアミド</p>	467.5	1.96	-5.412	16.29	40

化合物		Mol WT	Log P	r _{qp} _Q P log HE RG	r _{qp} _QP P Caco	r _{qp} _% Human Oral Absorption
115	 <p>(E)-N-(4-ヒドロキシ-5-メトキシ-2-(メチルチオ)-3-(3-オキソ-3-(4-オキソイミダゾリジン-1-イル)プロプ-1-エニル)フェニル)チオフェン-2-スルホンアミド</p>	468.6	1.56	-4.21	23.28	
116	 <p>(E)-N-(4-ヒドロキシ-5-メトキシ-2-(メチルチオ)-3-(2-(2-オキソピロリジン-1-イル)ビニル)フェニル)チオフェン-2-スルホンアミド</p>	439.6	2.25	-5.22	242.52	

10

20

以下の表は、選択された化合物に対する、増殖分析からの結果、及び表面プラズモン共鳴データを示す。

【 0 1 9 9 】

【表 9】

CNKSR1阻害剤についての要約表10

化合物	増殖分析 (IC50) μ M					表面プラズモン共鳴RU*100/Da			
	KRAS変異型細胞株			KRAS野生型細胞株		CNKSR1 11 26 13		CNKSR1 12 09 13	
	A549	H1373	H2122	H1975	H226	結合	安定性	結合	安定性
DMSO	>100	>100		>100	>100	°		-0.845	-0.305
5	90	>100		80	>100			-0.695	-0.158
7	15	>100		45	>100	5.019	0.761	0.205	0.798
9	42	>100		100	>100	3.979	1.960	0.936	1.183
78	25	45		60	60			0.224	-0.065
81	100	95		80	>100			0.316	0.154
82	51	65		70	>100			1.304	0.544
84	>100	>100		>100	>100			-1.473	-0.196
85	>100	>100		>100	>100			1.026	1.515
86	>100	>100		>100	>100			-0.807	-0.197
88	>100	>100		>100	>100			0.817	1.138
89	>100	>100		>100	>100			1.350	1.401
90	>100	>100		>100	>100			-7.809	-3.766
91	>100	>100		>100	>100	-1.867	0.288		
100	>100	>100		>100	>100	-1.240	-0.026		
103	75	>100		>100	>100			2.635	3.148
104	60	82		>100	75			2.132	2.049
105	100	42		>100	70			-0.676	-0.197
106	55	58		>100	70			-0.928	0.511
107	45	45		95	60			-0.174	-0.083
108	30	38		100	55			-0.024	0.056
109	>100	>100		>100	>100			1.527	0.168
110	27	28		>100	65			0.217	0.032
124	50	50		>100	95			-0.369	-0.053
125	38	60		40	65			-0.380	-0.127
126	27	16		27	19			-0.166	-0.031
127	>100	>100		>100	>100			3.050	2.868
128	>100	>100		>100	>100	1.409	0.456	-0.541	-0.304
129	>100	>100		>100	>100	-0.133	-0.041		
130	3	>100		>100	>100	-0.251	-0.180		
131	2	>100		>100	>100	-0.789	-0.044		
132	72	60		>100	60	0.457	0.906		
133	>100	>100		>100	95	-1.537	-0.123		
134	>100	>100		>100	>100	0.383	0.152		
135	>100	>100		>100	>100	-0.005	0.046		
136	45	>100		>100	>100	-2.252	-0.079	0.072	0.065
137	100	>100		>100	>100	-0.712	0.076		
138	>100	>100		>100	>100	1.874	-0.085		
139	>100	>100		>100	>100	3.026	0.151		
140	>100	>100		>100	>100	4.572	0.065		
141	>100	>100		>100	>100	4.246	0.239		
142	>100	>100		23	>100	2.690	0.124		

10

20

30

40

化合物	増殖分析 (IC50) μ M					表面プラズモン共鳴RU*100/Da			
	KRAS変異型細胞株			KRAS野生型細胞株		CNKSR1 112613		CNKSR1 120913	
	A549	H1373	H2122	H1975	H226	結合	安定性	結合	安定性
143	>100	>100		>100	>100	2.620	0.013		
144	>100	>100		75	>100	0.205	0.122		
145	>100	>100		>100	>100	2.973	0.108		
146	>100	>100		>100	>100	2.842	0.017		
147	75	>100		>100	>100	3.085	-0.087		
148	47	77		>100	75	2.304	0.167		
149	80	40		>100	>100	4.228	1.520		
150	>100	100		>100	>100	3.695	0.236		
151	>100	>100		>100	>100	0.585	0.485		
152	>100	>100		19	>100	4.808	0.458		
153	20	45		11	72	11.460	0.245		

増殖：細胞株あたりの実験数N=2（例外としてH226及びH1975は現在n=1）

結合=RU max、安定性=注入後のRU max

*各日、異なる条件下でSPR RUデータが獲得された。

^a空白のセルは、その日には評価されなかったことを意味する。

10

【図1】

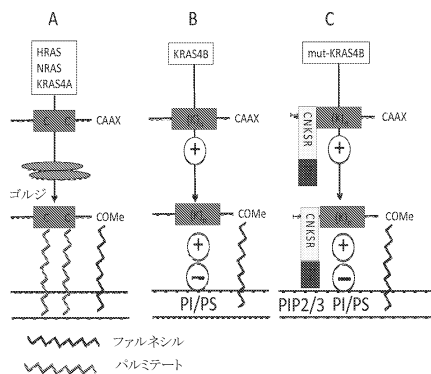


図1

mut-KRASシグナリングにおけるCNKSR1の役割。RASは、C末端CAAXファルネシル化（またはゲラニルゲラニル化）を、続いてRce1/ICMTプロセッシングを受ける。A HRAS、NRAS、及びKRAS4Aは、超可変(hv)領域パルミチル化、及びゴルジプロセッシングを受け、これがその脂質ラフト膜局在化につながる。B KRAS4Bはゴルジプロセッシングを受けず、その多塩基性hv領域が特定の脂質ラフト中の膜PI及びPSに結合する。C 我々は、mut-KRASが、特殊なシグナリングナックラスターにおいて、PHドメインを含有するタンパク質CNKSR1に結合し、これによりmut-KRASシグナリングに必要なPIP2/3リッチな膜脂質ラフトに結合するが、wt-KRASではこれが起こらないことを提案する。

【図2】

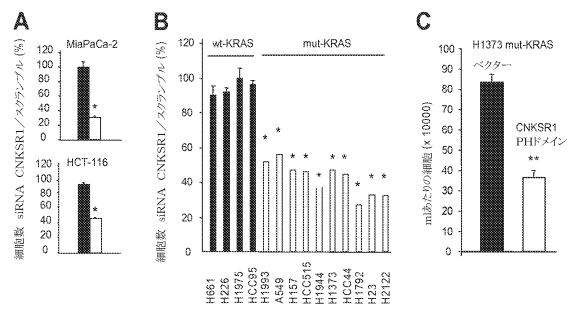


図2

mut-KRAS細胞成長の阻害のための標的としてのCNKSR1。A MiaPaCa-2及びHCT-116アイソジェニックwt-及びmut-KRAS細胞株におけるCNKSR1 siRNAを用いた確認。黒塗りはwt-KRAS、白塗りはmut-KRASである。値は3つの測定の平均であり、バーはSE。
*p<0.05。B NSCLC細胞株のパネルにおけるCNKSR1 siRNA。黒塗りはwt-KRAS、白塗りはmut-KRAS細胞を示す。値はスクランブルsiRNAコントロールと比較した%として表わされる。バーはSE。*スクランブルsiRNAとの比較でp<0.05。C (黒塗り)ベクター単独で、または(白塗り)細胞成長のドミナントネガティブ阻害剤として作用するCNKSR1 PHドメインコンストラクトで安定的にトランスフェクションされた、H1373 mut-KRAS NSCLC細胞株の成長。バーはSE。* *p<0.01。

【図3】

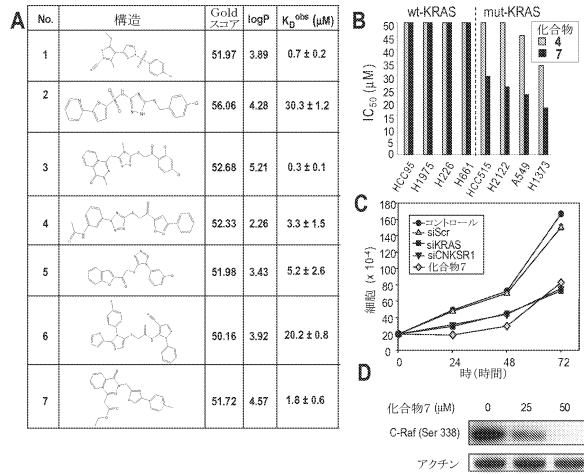


図3
CNKSR1のPHDメインの阻害剤は、mut-KRAS細胞成長を阻害するが、wt-KRAS細胞成長は阻害しない。A PHuDock(登録商標)プログラムにより予測されたCNKSR1 PHDメインの阻害剤は、発見されたCNKSR1のPHDメインに結合するプラズモンスピ共鳴により測定されたK_dで、発見されたCNKSR1のPHDメインに結合する。計算されたGoldスコア及びlog Pもまた示される。B IC₅₀として表わされる。化合物4及び7による野生型及びmut-KRAS NSCLC細胞における細胞成長阻害。C KRAS、CNKSR1に対するsiRNA、及び25 μMの化合物7による、A-549 NSCLC細胞成長の阻害。D p-C-Raf (Ser338)により測定される、化合物7による下流KRASシグナリングの阻害を示す、ウェスタンブロット。

【図4】

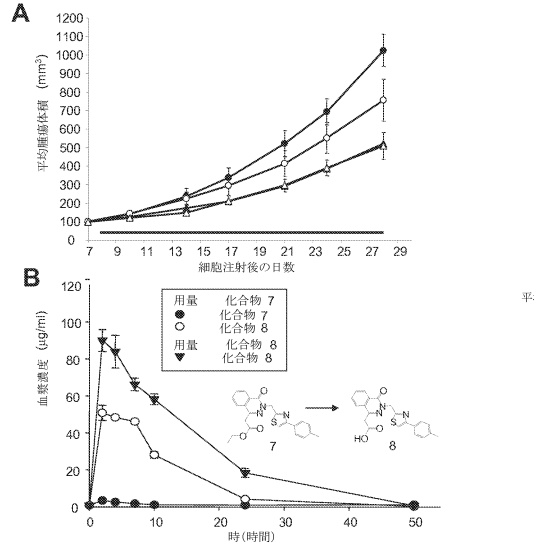


図4
化合物7の、抗腫瘍活性及び薬物動態。A 皮下H12122mut-KRAS腫瘍を有するヌスCidマウスに対し、0.1ml Labrafil(登録商標):Labrasol(登録商標)(8:2)(Gattefosse)中200mg/kgにて毎日20日間(横線により示される)経管投与された化合物7、及び0.1ml 0.2% Tween20中10mg/kgにて毎日20日間経管投与されたエルロチニブの、抗腫瘍活性。処置は、(●)が媒体単独、(○)化合物7、(▲)エルロチニブ、並びに(△)エルロチニブ及び化合物7であった。グループあたりマウス10匹、バーはSE。B 0.2ml Labrafil(登録商標):Labrasol(登録商標)(8:2)中250mg/kgにて、単一用量の化合物7が経管投与された、ヌスC57B16マウスにおける、化合物7及び化合物8(化合物7が脱エステル化された酸の形の薬物動態)。(●)は親化合物、(○)は酸代謝物。酸代謝物化合物8もまた、0.2ml Labrafil(登録商標):Labrasol(登録商標)(8:2)中250mg/kgにて経管投与され、その血漿レベルが(▼)で示される。各グループあたりマウス3匹、バーはSE。内挿図は、化合物7、及びその酸代謝物化合物8の構造を示す。

【図5】

Cpd	構造	野生型KRAS細胞株			変異型KRAS細胞株		
		H1975	H226	HCC95	H1373	H2122	HCC515
7		> 100 μM	> 100 μM	> 100 μM	51 μM	27 μM	70 μM
9		67 μM	52 μM	45 μM	38 μM	> 100 μM	37 μM
10		76 μM	> 100 μM	46 μM	49 μM	26 μM	28 μM
11		48 μM	44 μM	40 μM	56 μM	> 100 μM	34 μM
8		> 100 μM	> 100 μM	> 100 μM	> 100 μM	> 100 μM	> 100 μM
12		10 μM	13 μM	13 μM	7 μM	34 μM	11 μM

図5
wt-KRAS及びmut-KRAS NSCLC細胞株に対する化合物7の類似体の活性。値は、細胞成長阻害(3日間の分析)についてのIC₅₀である。化合物12は、異なるファルマコフォアである。

【図6】

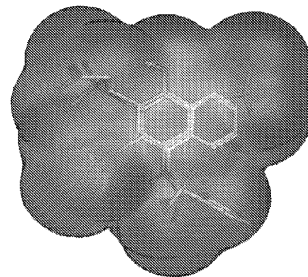


図6
化合物12(緑棒)とオーバーレイされたイソステリック置換体(白棒)のX線構造。官能基、その向き、及び全体的な形状の類似性が見られる。類似する化合物を保持するのに用いられる分子表面は、静電性及び疎水性に基づき原子色色されている。

【 図 7 】

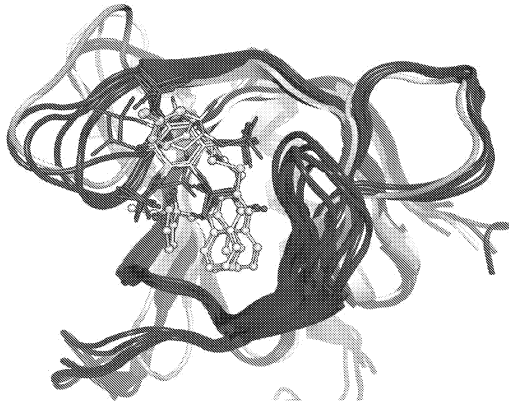


図7:
仮想的スクリーニングのために使用するのに最善のCNKR1モデルの選択。最も高い類似性を有するPHドメインX線構造(青リボン)が、化合物7(白球及び棒)、8(緑球及び棒)、並びに12(黄球及び棒)に対して最善のスコアを有する、CNKR1モデル(緑リボン)及びそのテンプレートX線(1U 5F, 白リボン)に重ねられる。X線構造の共結晶基質は、白棒で表わされ、対応する結合部位において描写される。

【 図 8 】

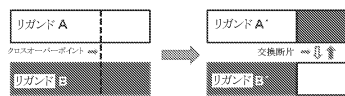


図8:
BREEDプロセスの概略図。活性リガンドは後に置換えられる小部分に切断され、活性官能基及び骨格を有する新規リガンドを誕生させる。

【 図 10 】

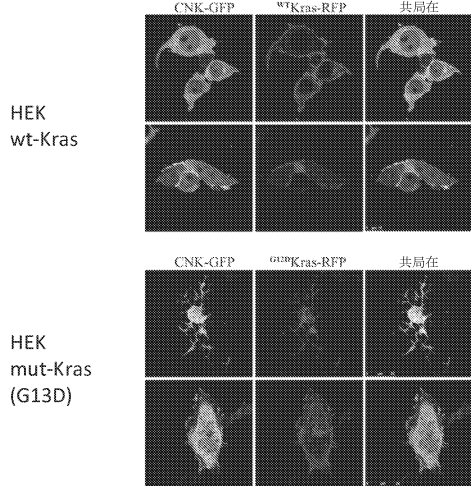


図10
CNKSR1(緑)は変異型KRas(赤)と形質膜において共局在する。
HEK-293細胞が、CNKSR1-GFP及びmut-KRas(G13D)で、16時間かけてトランスフェクションされた。二光子共焦点顕微鏡法は、wt-KRas及びmut-KRas細胞の両方において、CNKSR1が形質膜及び細胞質に位置することを示す。KRasは、より膜結合型で存在する傾向にある。細胞画像をマージすると、黄/オレンジ色により示されるように、CNKSR1及びwt-KRasが共局在(500nm以内)するのが見える。mut-KRas共局在も見られるが、より拡散している。mut-KRas細胞の変換された表現型に留意せよ。

【 図 9 】

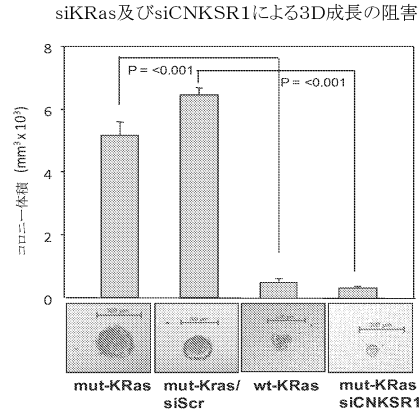


図9:
CNKSR1はmut-KRAS足場非依存的成長に必要である。
本実験では、HCT-116結腸がん細胞(変異型-KRAS G12D)(Mut-KRAS)、及び相同組換えにより変異型-KRASが除去されて野生型-KRAS対立遺伝子が残された同細胞(wt-KRAS)が使用された。siCNKSR1またはコントロールとしてのsiスクランブルsiRNAを、播種24時間前に細胞にリバーストランスフェクションした。細胞数は最善の細胞濃度のための播種に対して最適化され、mlあたり20,000細胞であることが分かった。96ウェルGreinerプレートから蓋を外し、逆さまにした。それからmLあたり20,000細胞の懸濁液20µlが、小さな液滴を形成しながら、96ウェルプレートの蓋上の円の中心へと直接加えられた。培養液100µlが対応するウェル中に加えられて液滴の温度を維持するのに用いられ、液滴を乱すことなく注意深く蓋をひっくり返してプレート上へと戻した。それからプレートをインキュベータに3日間入れ、重力により細胞を液滴の底へと移動させた。3日後、培養液400µlがSCIVAX96ウェルプレートの対応するウェルに加えられた。Greiner96ウェルプレートの蓋を取り除いてSCIVAX22プレート上に乗せ、液滴が培養液に接するようにし、インキュベータへ戻した。1時間後、スフェロイドを乱さずに注意深く対応するウェルから培養液200µlを取り除き、高性能レーザー共焦点イメージャーであるIN Cell Analyzer 6000(GE Healthcare)を使用して画像化した。コロニー体積は式:体積=(直径x幅²)により計算された。バーは3つの測定値の平均、バーはS. E.。

【 図 11 】

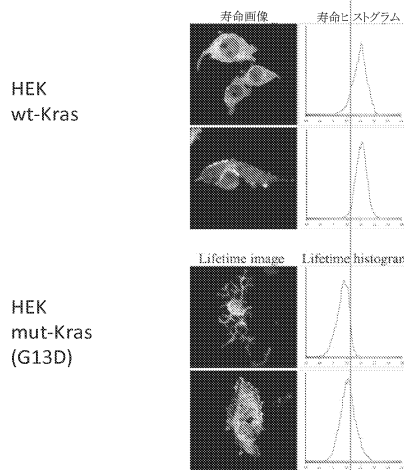


図11
CNKSR1が細胞中でmut-KRasに直接結合するがwt-KRasには結合しないことを示す。蛍光寿命イメージング顕微鏡法(FILM)。HEK-293細胞が、CNKSR1-GFP及びmut-KRas(G13D)でトランスフェクションされた。16時間後、TCSPC(時間相関単一光子計数法)のための内蔵型光子増倍管(PMT)検出器を有するLeica TCP SP5倒立型高解像度共焦点顕微鏡システムを用いて、FLIM実験を行った。調節可能なフェムト秒(fs)チタンサファイアレーザーを用いて、80MHzの繰り返し速度及び80fsより小さいパルス幅(Spectral Physics, Mai Tai BB)で、試料を励起した。二光子励起に用いられた波長は930nmで、525±25nm干渉フィルタにより蛍光を検出した。油浸対物レンズ(開口数NA=1.4)を用いて、ライン走査速度400Hz、画像サイズ512x512ピクセルで、画像を獲得した。FLIM解析に対しては、ピクセル数を256x256へと減少させた。TCSPC用のBecker&Hickl SPC830データ及び画像獲得カードを用いて、FLIMデータを収集した。蛍光減衰をBecker and 24 HicklのSPCImageソフトウェアを用いて単一指数減衰モデルに当てはめ、GFP蛍光寿命を計算した。左のパネル中の細胞画像は、wt-KRas及びmut-KRas細胞に対して疑似彩色された2つの代表的な画像であり、右に示す蛍光寿命は、FLIMにより測定された細胞全体に対するものである。この結果は、右のパネルにおいて、CNKSR1がwt-KRasには結合しないがmut-KRasには直接結合する(つまり、<100nmの局在で)際起こる蛍光寿命の減少を示す。

【 図 1 2 】

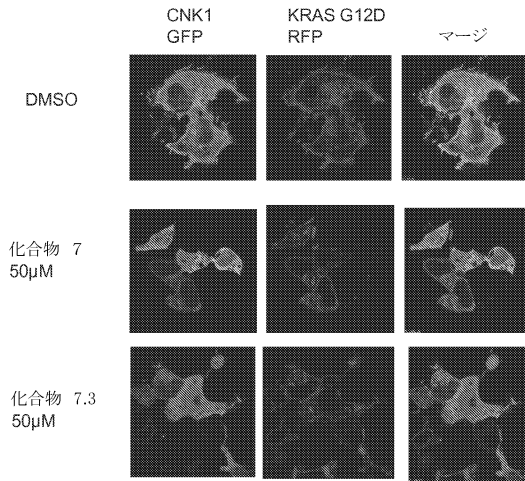


図12
化合物7及び9(7, 3とも呼ばれる)は、形質膜におけるCNKSR1(緑)と変異型KRas(赤)との膜共局在を遮断し、細胞中の変異型KRasタンパク質の合計を低下させる。HEK細胞が、CNKSR1-GFP及びmut-KRas(G13D)でトランスフェクションされ、媒体(DMSO)、50 μM化合物7、または50 μM化合物9で4時間処理された。この結果は、未処理の細胞中においては、形質膜におけるCNKSR1及びmut-KRasの共局在(黄/オレンジ、つまり500nm以内)を、化合物7及び9で処理された細胞においては、この共局在の欠如を示す。また、mut-KRasタンパク質合計の低下が化合物7及び9により引き起こされたことも明らかである。図は、3回の測定の代表例である。

【 図 1 3 】

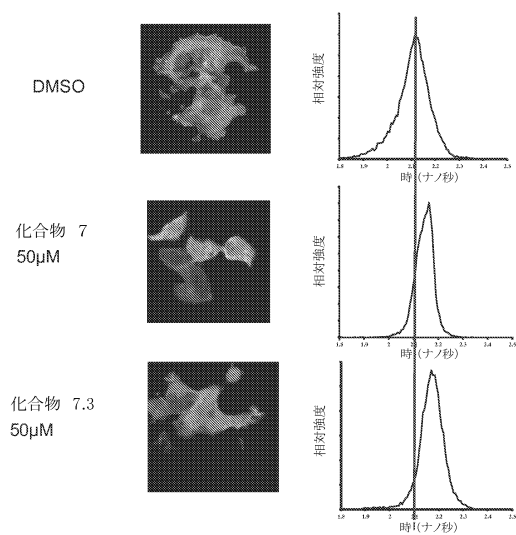


図13
化合物7及び9(7, 3とも呼ばれる)がCNKSR1のmut-KRasへの直接結合を細胞中で阻害することを示す、FLM実験。HEK-2993細胞が、CNKSR1-GFP及びmut-KRas(G13D)で16時間かけてトランスフェクションされ、それから、媒体(DMSO)、50 μM化合物7、または50 μM化合物9で4時間処理された。細胞画像は疑似彩色された画像であり、右に示される蛍光寿命は、FLMIにより測定された細胞全体に対するものである。結果は、化合物7及び9が、CNKSR1とmut-KRasとの直接結合(つまり、<100nm)を遮断し、蛍光寿命の右方向へのシフトを伴うことを示す。これはCNKSR1がwt-KRasに結合しないwt-KRas細胞において見られるものに類似する。

【 図 1 4 】

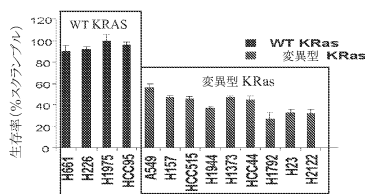


図14A
CNKSR1 siRNAは、変異導入されたKrasを有する肺がん細胞の成長を阻害する。NSCLC細胞のパネルにおけるCNKSR1 siRNA。細胞は、非標的型コントロールsiRNAまたはsiCNKSR1で処理された。結果は、siCNKSR1で処理された細胞を非標的型コントロールで処理された細胞で割ったもの(x100)として表示される。

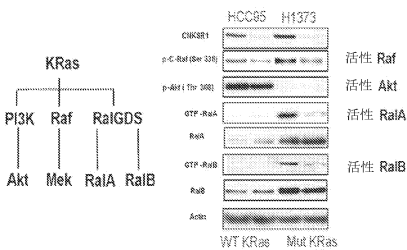


図14B
CNKSR1 siRNAは、KRasシグナリングエフェクターを阻害する。siCNKSR1処理後のKRasエフェクターの解析。Raf及びAkt活性化は、リン酸化特異的抗体を使用して測定された。Ral活性化は、GTP結合型タンパク質に対するプルダウンにより測定された。

【 図 1 5 】

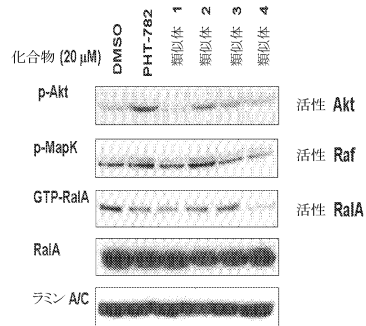


図15
高い活性を有するPHT-782類似体。PHT-782(化合物7)、及び化合物8(類似体1)、9(類似体2)、10(類似体3)、11(類似体4)の活性。

【 図 1 6 A 】

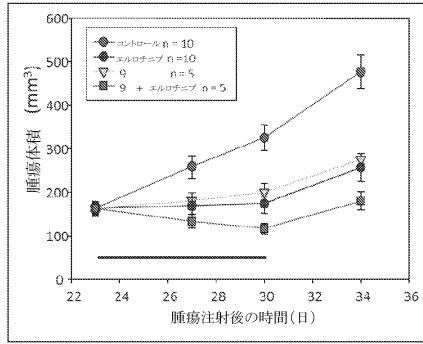


図16A

初期CNK1阻害剤リードは、A549 mut-KRASヒト非小細胞肺癌(NSCLC)異種移植片における、in vivoでの化合物9の抗腫瘍効果を示す。A549ヒトNSCLC異種移植片を有するマウスに、媒体、化合物9が200mg/kgにて腹腔内に、エルロチニブが75mg/kgにて経口で、または化合物9とエルロチニブとの両方が、8日間毎日投薬された(バーにより示される)。値は平均±S. E.。

【 図 1 6 B 】

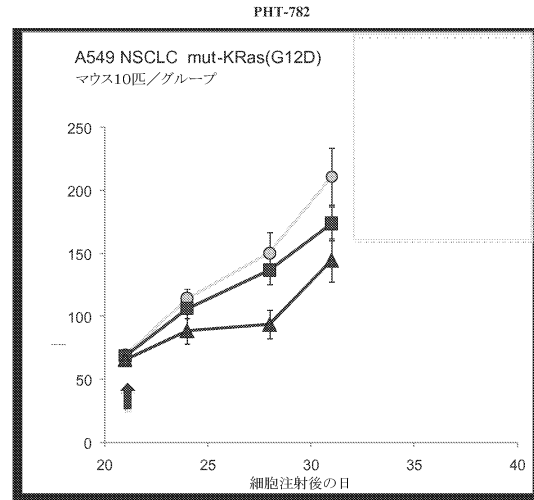


図16B

CNK1結合を示した初期阻害剤を用いて、穏やかな抗腫瘍活性が観察された。化合物9(7.3とも呼ばれる)及び化合物78(7.10とも呼ばれる)が、mut-KRAS(G12D)腫瘍を有するA549非小細胞肺癌異種移植片を有するnu/nuマウスに、200mg/kgにて腹腔内に投与された。

【 図 1 7 】

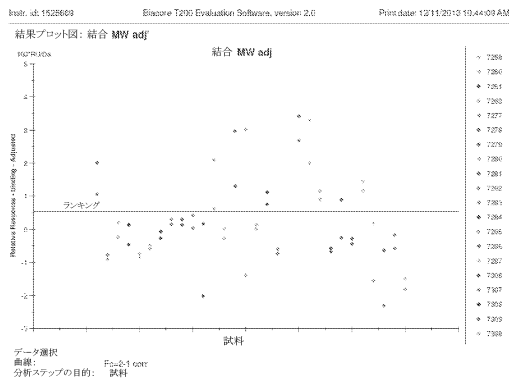


FIG. 17

【 図 1 8 】

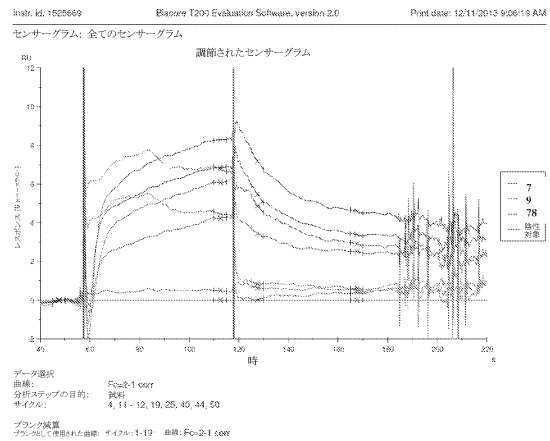


Fig. 18

【 図 19 】

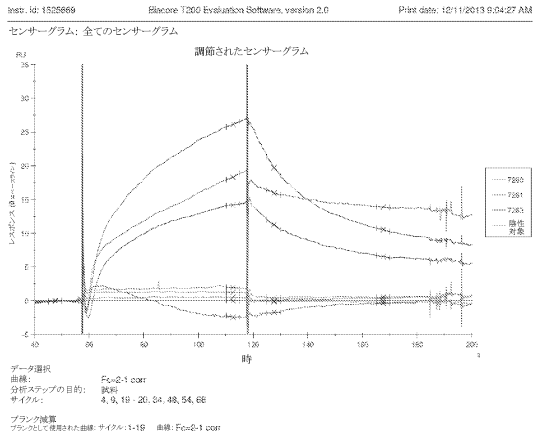


FIG. 19

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 K 31/381	(2006.01)	A 6 1 K 31/381
A 6 1 K 31/4166	(2006.01)	A 6 1 K 31/4166
C 0 7 D 413/14	(2006.01)	C 0 7 D 413/14
A 6 1 K 31/422	(2006.01)	A 6 1 K 31/422
C 0 7 D 333/34	(2006.01)	C 0 7 D 333/34
A 6 1 K 31/216	(2006.01)	A 6 1 K 31/216
A 6 1 K 31/195	(2006.01)	A 6 1 K 31/195
A 6 1 P 35/00	(2006.01)	A 6 1 P 35/00
A 6 1 P 35/02	(2006.01)	A 6 1 P 35/02
C 0 7 D 317/66	(2006.01)	C 0 7 D 317/66
A 6 1 K 31/36	(2006.01)	A 6 1 K 31/36
C 0 7 D 413/12	(2006.01)	C 0 7 D 413/12
C 0 7 C 323/63	(2006.01)	C 0 7 C 323/63

(72)発明者 インダーテ、マーティン
 アメリカ合衆国、9 2 1 2 1 カリフォルニア州、サン ディエゴ 3 2 1 0 メリーフィールド
 ロウ

(72)発明者 イーレ、ネイサン、ティーン
 アメリカ合衆国、9 2 1 2 1 カリフォルニア州、サン ディエゴ 3 2 1 0 メリーフィールド
 ロウ

審査官 黒川 美陶

(56)参考文献 米国特許第0 4 9 3 9 1 4 0 (U S , A)
 特表2 0 0 8 - 5 3 3 0 6 0 (J P , A)
 特表2 0 0 5 - 5 0 1 8 4 8 (J P , A)
 国際公開第2 0 1 2 / 1 3 8 9 3 8 (W O , A 1)
 特開昭5 4 - 0 9 5 5 8 2 (J P , A)
 米国特許出願公開第2 0 1 1 / 0 1 4 4 0 6 6 (U S , A 1)
 特表2 0 1 2 - 5 1 4 0 1 9 (J P , A)
 特表2 0 1 2 - 5 2 2 8 4 7 (J P , A)
 特表2 0 0 6 - 5 0 1 1 8 5 (J P , A)
 特表平1 0 - 5 0 1 2 1 6 (J P , A)
 RN 883052-65-1 , DATABASE REGISTRY[ONLINE] , 2 0 0 6 年 5 月 5 日 , Retrieved from STN
 RN 883050-71-3 , DATABASE REGISTRY[ONLINE] , 2 0 0 6 年 5 月 5 日 , Retrieved from STN

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)
 C 0 7 D
 C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)