

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6165744号  
(P6165744)

(45) 発行日 平成29年7月19日 (2017.7.19)

(24) 登録日 平成29年6月30日 (2017.6.30)

|                              |             |   |
|------------------------------|-------------|---|
| (51) Int.Cl.                 | F I         |   |
| <b>CO7D 233/06 (2006.01)</b> | CO7D 233/06 |   |
| <b>CO7D 239/06 (2006.01)</b> | CO7D 239/06 |   |
| <b>CO7D 257/04 (2006.01)</b> | CO7D 257/04 | E |
| <b>CO7D 285/06 (2006.01)</b> | CO7D 285/06 |   |
| <b>CO7D 333/38 (2006.01)</b> | CO7D 333/38 |   |

請求項の数 25 (全 27 頁) 最終頁に続く

|               |                               |           |                     |
|---------------|-------------------------------|-----------|---------------------|
| (21) 出願番号     | 特願2014-534755 (P2014-534755)  | (73) 特許権者 | 514085470           |
| (86) (22) 出願日 | 平成24年10月5日 (2012.10.5)        |           | パイシーズ セラピューティックス エル |
| (65) 公表番号     | 特表2014-528453 (P2014-528453A) |           | エルシー                |
| (43) 公表日      | 平成26年10月27日 (2014.10.27)      |           | PISCES THERAPEUTICS |
| (86) 国際出願番号   | PCT/US2012/058900             |           | LLC                 |
| (87) 国際公開番号   | W02013/052765                 |           | アメリカ合衆国 メリーランド州 208 |
| (87) 国際公開日    | 平成25年4月11日 (2013.4.11)        |           | 52 ロックヴィル オールド ファーム |
| 審査請求日         | 平成27年10月1日 (2015.10.1)        |           | レイン 6515            |
| (31) 優先権主張番号  | 61/544,471                    | (74) 代理人  | 100073184           |
| (32) 優先日      | 平成23年10月7日 (2011.10.7)        |           | 弁理士 柳田 征史           |
| (33) 優先権主張国   | 米国 (US)                       | (74) 代理人  | 100090468           |
|               |                               |           | 弁理士 佐久間 剛           |

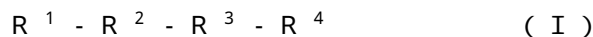
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 RASアンタゴニストによる悪性および非悪性疾患の治療

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

式(I) :



で表される R a s アンタゴニスト :

式中、

R<sup>3</sup> が、S、O、NHもしくは置換N、SO、SO<sub>2</sub>、またはSeであり、

R<sup>4</sup> が、フェルネシルまたはゲラニルゲラニルであり、

R<sup>2</sup> が、1個または2個のヘテロ原子を有する5員ヘテロ環であり、

R<sup>1</sup> が、CN、C(=O)R<sup>5</sup>、S(=O)(=O)R<sup>5</sup>、CO<sub>2</sub>M、SO<sub>3</sub>

M、またはN(R<sup>8</sup>)置換テトラゾールであり、

R<sup>5</sup> が、水素、ヒドロキシル、C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>アルキルオキシ、C<sub>2</sub>~C<sub>4</sub>アルケニルオキシ、C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>ヒドロキシアルキルオキシ、C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>アミノアルキルオキシ、またはNR<sup>6</sup>R<sup>7</sup>であり、

R<sup>6</sup> が、水素、ヒドロキシル、C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>アルキル、C<sub>2</sub>~C<sub>4</sub>アルケニル、C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>アミノアルキル、C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>ヒドロキシアルキル、C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>アルキルオキシ、もしくはC<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>アルキルアミノであり、およびR<sup>7</sup> が、水素、C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>アルキル、C<sub>2</sub>~C<sub>4</sub>アルケニル、C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>アミノアルキル、C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>ヒドロキシアルキル、C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>アルキルオキシ、もしくはC<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>アルキルアミノであるか、またはR<sup>6</sup> およびR<sup>7</sup> が、一緒に、モルホリン、ピペラジン、またはピペルジンを形成し、

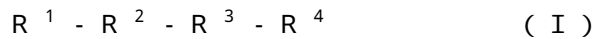
10

20

Mが、塩形成有機または無機対イオンであり、  
 $R^8$ が、水素またはC1～C4アルキルである、  
 Rasアンタゴニスト、その薬学的に許容可能な塩または溶媒和物。

## 【請求項2】

式(I)：



で表されるRasアンタゴニスト：

式中、

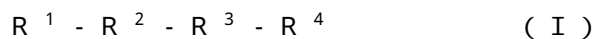
$R^3$ が、S、O、NHもしくは置換N、SO、SO<sub>2</sub>、またはSeであり、  
 $R^4$ が、ファルネシルまたはゲラニルゲラニルであり、  
 $R^1$ が、少なくとも1個のヘテロ原子を有する5または6員ヘテロ環であり、  
 $R^2$ が、置換または未置換のフェニル環である、

10

Rasアンタゴニスト、その薬学的に許容可能な塩または溶媒和物。

## 【請求項3】

式(I)：



で表されるRasアンタゴニスト：

式中、

$R^3$ が、S、O、NHもしくは置換N、SO、SO<sub>2</sub>、またはSeであり、  
 $R^4$ が、ファルネシルまたはゲラニルゲラニルであり、  
 $R^2$ が、少なくとも3個のヘテロ原子を有する5員ヘテロ環であり、  
 $R^1$ が、C(=O)R<sup>10</sup>であり、およびR<sup>10</sup>が、水素、ヒドロキシル、ま

20

たはC1～C4アルキルオキシである、

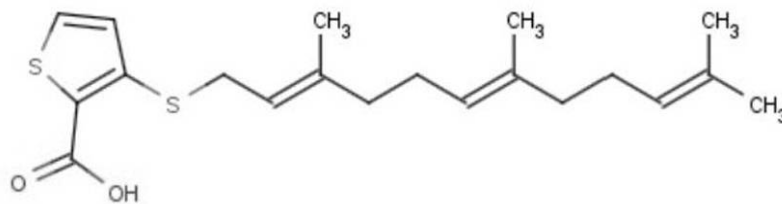
Rasアンタゴニスト、その薬学的に許容可能な塩または溶媒和物。

## 【請求項4】

$R^2$ または $R^1$ の前記ヘテロ原子が、O、N、Sからなる群より選択され、SはSOまたはSO<sub>2</sub>の形態で存在し得る、請求項1、2または3記載のRasアンタゴニスト。

## 【請求項5】

式(3)：



(3)

30

を有する請求項1記載のRasアンタゴニスト。

## 【請求項6】

$R^1$ が、イミダゾリン、イミダゾール、ピラゾール、ピロール、オキサゾール、チアゾール、1,4,5,6-テトラヒドロピリミジン、トリアゾール、またはN(R<sup>9</sup>)置換テトラゾールであり、さらに

40

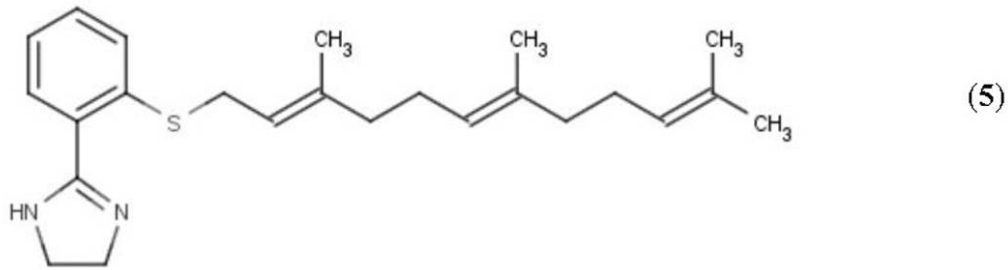
式中、

$R^9$ が、水素またはC1～C4アルキルであり、  
 前記置換フェニル環が、Cl、Br、F、I、C1～C4アルキル、またはC1～C4アルコキシ、アミノ、モノまたはジ置換アミノで置換されており、および  
 前記フェニル環の窒素置換基が、C1～C4アルキルである、

請求項2記載のRasアンタゴニスト。

## 【請求項7】

式(5)：

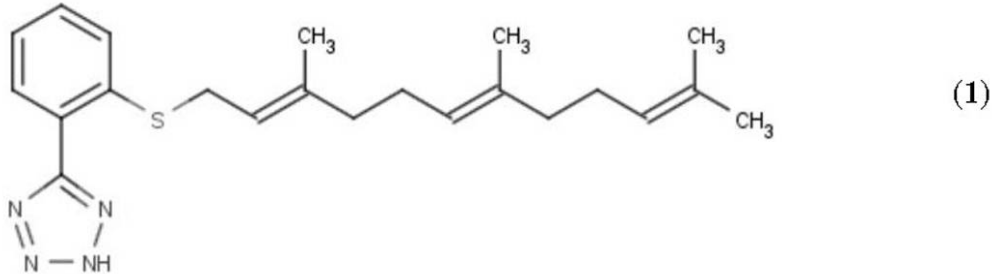


を有する請求項 2 記載の R a s アンタゴニスト。

【請求項 8】

10

式 ( 1 ) :

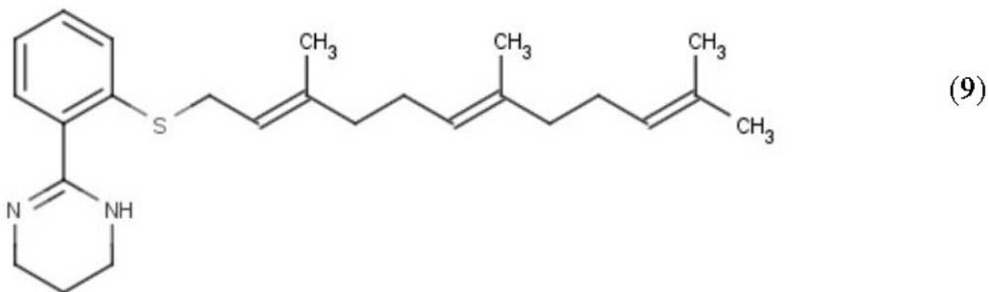


を有する請求項 2 記載の R a s アンタゴニスト。

20

【請求項 9】

式 ( 9 ) :



30

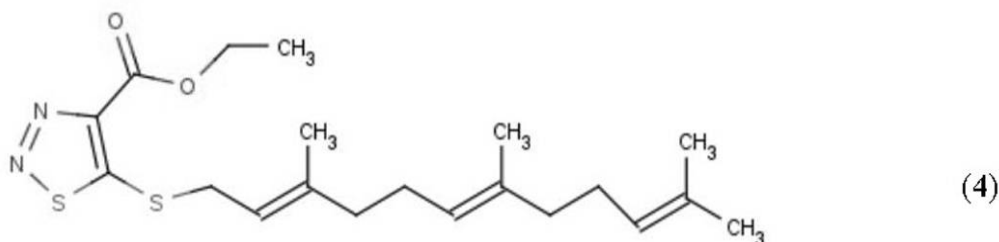
を有する請求項 2 記載の R a s アンタゴニスト。

【請求項 10】

R<sup>2</sup> が、チアジアゾール基またはオキサジアゾール基である、請求項 3 記載の R a s アンタゴニスト。

【請求項 11】

式 ( 4 ) :



40

を有する請求項 3 記載の R a s アンタゴニスト。

【請求項 12】

患者において悪性もしくは非悪性の疾患または病理学的状態に関連する R a s 誘導細胞増殖を抑制するための組成物であって、前記増殖を抑制するのに有効な量の請求項 1 から 11 いずれか 1 項記載の R a s アンタゴニストを含む組成物。

【請求項 13】

前記患者が、全身性のエリテマトーデス ( S L E )、多発性硬化症 ( M S )、抗リン脂

50

質抗体症候群（A P S）、関節リウマチ、1型糖尿病、臓器拒絶反応、および慢性移植片対宿主病の内の少なくとも1種に繋がる免疫系の調節障害を患っている請求項12記載の組成物。

【請求項14】

前記患者が、2型糖尿病に繋がる内分泌系および内分泌ホルモンの標的の内の少なくとも1つの調節障害を患っている請求項12記載の組成物。

【請求項15】

前記患者が、粥状動脈硬化症に繋がる組織傷害、組織損傷、および局所血管炎症の内の少なくとも1種を患っている請求項12記載の組成物。

【請求項16】

非経口、経口、局所、鼻腔内、経鼻、口腔または経皮投与される、請求項12記載の組成物。

【請求項17】

悪性もしくは非悪性の疾患または病理学的状態に関連するR a s誘導細胞増殖を抑制するための組成物であって、請求項1から11いずれか1項記載のR a sアンタゴニストを含み、該R a sアンタゴニストが、前記細胞増殖を抑制するのに有効な量で細胞に接触せられる、組成物。

【請求項18】

前記悪性疾患が、神経膠芽腫、腺癌、軟部肉腫、および白血病の内の少なくとも1種である請求項17記載の組成物。

【請求項19】

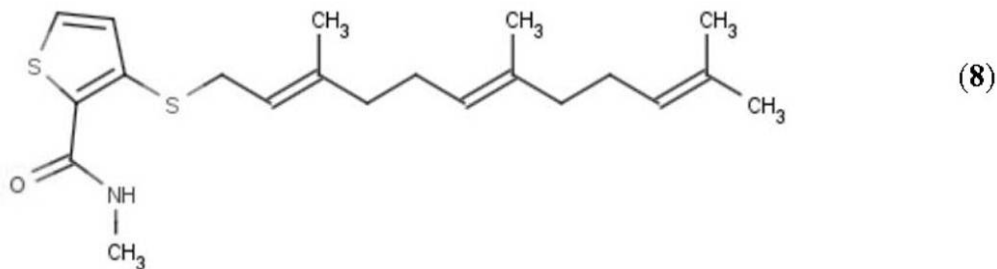
前記非悪性疾患が、乾癬、神経線維腫症1型（N F - 1）、N F - 1関連悪性腫瘍、多発性嚢胞腎疾患（P K D）、血管形成術後再狭窄、組織線維症、および筋ジストロフィーの内の少なくとも1種である請求項17記載の組成物。

【請求項20】

R a s誘導細胞増殖を抑制するための組成物であって、前記増殖を抑制するのに有効な量の請求項1から11いずれか1項記載のR a sアンタゴニストを含み、前記増殖が、組織傷害または組織損傷により開始される、組成物。

【請求項21】

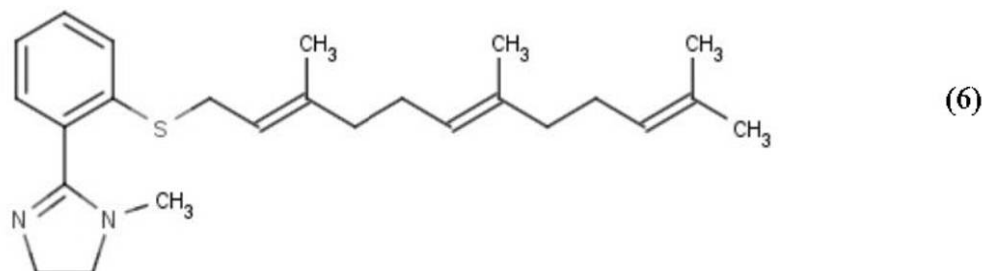
式（8）：



を有する請求項1記載のR a sアンタゴニスト。

【請求項22】

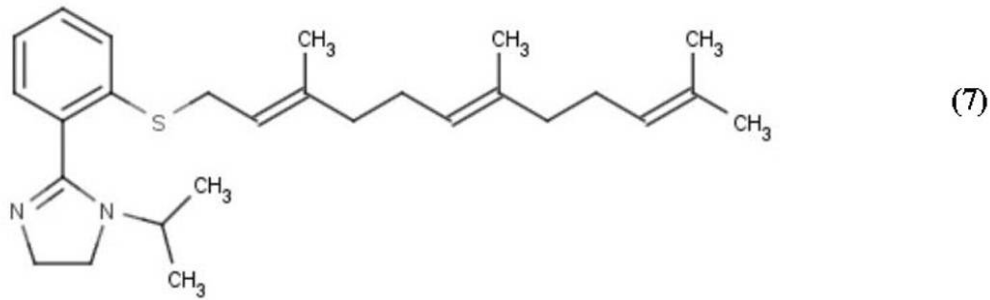
式（6）：



を有するR a sアンタゴニスト。

## 【請求項 23】

式(7)：

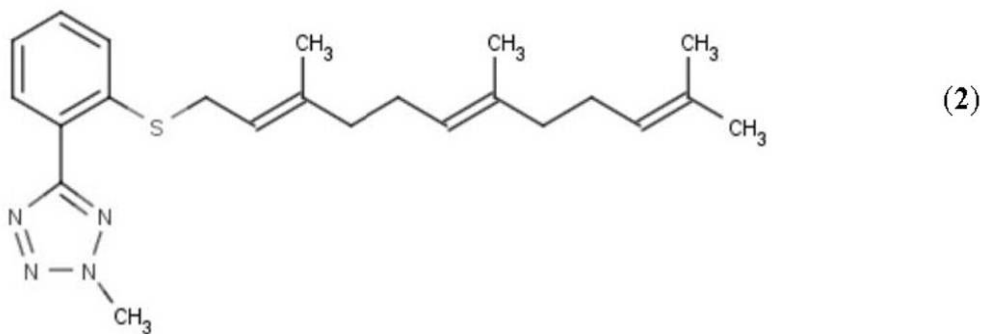


10

を有する R a s アンタゴニスト。

## 【請求項 24】

式(2)：

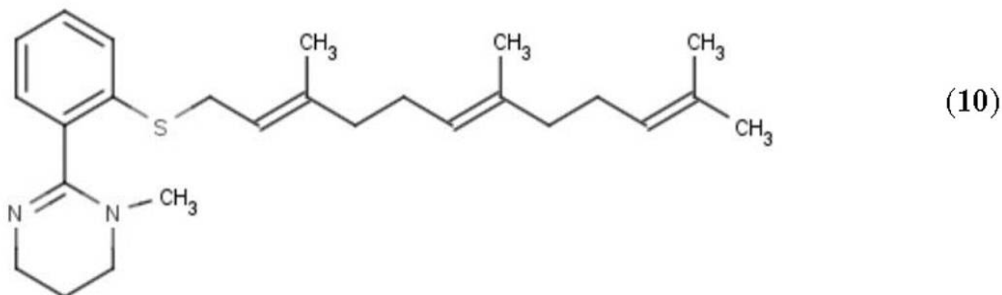


20

を有する R a s アンタゴニスト。

## 【請求項 25】

式(10)：



30

を有する R a s アンタゴニスト。

## 【発明の詳細な説明】

## 【関連出願への相互参照】

## 【0001】

本出願は、2011年10月7日出願の米国特許仮出願第61/544,471号の優先権を主張する。この特許出願の開示内容は、参照によってその全体が明示的に本明細書に組み込まれる。

40

## 【技術分野】

## 【0002】

本開示は、悪性および非悪性（すなわち、良性）疾患、障害、または病理学的状態の R a s アンタゴニストによる治療に関する。

## 【背景技術】

## 【0003】

R a s は、細胞増殖、アポトーシス、分化、老化、および生存を含む多くの細胞プロセスで重要な役割を果たす膜結合性グアニンヌクレオチド結合タンパク質である。R a s は、このような細胞プロセスに対する O N - O F F スイッチである。通常、それは休止状態

50

(OFF)で、グアノシン三リン酸(GDP)ヌクレオチドと結合しているが、種々の標的に作用する細胞外の信号伝達分子の作用によりグアノシン三リン酸(GTP)ヌクレオチドに結合すると、Rasは、活性化(ON)する。

【0004】

Rasタンパク質は、チロシンキナーゼ増殖因子受容体信号伝達に関し重要な役割を果たす(非特許文献1;非特許文献2)。GTP結合型として活性化すると、Rasタンパク質は、増殖因子の信号をマップキナーゼカスケードに伝達する。Rasタンパク質は、細胞膜と結合し、そこで、直接Ras/Raf相互作用を介してRafキナーゼの活性化が起こる(非特許文献3;非特許文献4)。

【0005】

増殖因子信号伝達の終止は、活性な、GTP結合型Rasの不活性なGDP結合型Rasへの加水分解を伴う。しかし、変異または発癌性Rasタンパク質は、GTPを加水分解せず、従って、持続的(ON)状態になる。GTPを加水分解できないことにより、種々の無制御細胞性機能に影響を与える可能性がある。

【0006】

活性化Rasは、活性化Rasタンパク質を発現する腫瘍細胞を含む腫瘍細胞の悪性細胞増殖を開始し、進行させることができる。変異Rasタンパク質は、ヒト癌中で高頻度に見つかっている(非特許文献5;非特許文献6)。結腸および膵癌などの一部の腫瘍のタイプでは、活性化Rasの発生率は、50%を越える。変異または発癌性Rasの制御不能の作用から生ずる腫瘍に加えて、Rasを活性(ON)位置に保持する常時活性型の増殖因子受容体(例えば、上皮増殖因子受容体、繊維芽細胞増殖因子受容体、および血小板由来増殖因子受容体)が原因の腫瘍も存在する。従って、特定のタイプのヒト癌の治療に対し、Ras活性に影響を与える薬理学的方法が、有用である可能性がある。

【0007】

悪性癌に加えて、活性化Rasは、非悪性(すなわち、良性の)細胞増殖を開始し、進行させることができる。Ras誘導、非悪性細胞増殖の一例は、乾癬病巣である。患者の乾癬病巣中で、活性化Rasレベルの増加が認められた(非特許文献7)。さらに、Ras/MAPKカスケードを介した受容体信号伝達は、乾癬病巣で重要な役割を果たしていることが特定された(非特許文献8)。

【0008】

Ras誘導、非悪性細胞増殖の他の例は、種々の遺伝性疾患(例えば、神経線維腫症1型(NF-1)および多発性嚢胞腎疾患(PKD))ならびに肝臓、腎臓、および心臓線維症、などの多岐にわたる散発的な問題において認められる。例えば、ニューロフィブロミンは、RasをOFFにするタンパク質であり、従って、腫瘍抑制因子である。ニューロフィブロミンの非存在または減少の原因となる遺伝子変異は、神経組織で腫瘍が成長する状態であるNF-1を引き起こす。これらの腫瘍は、非悪性(すなわち、良性)である場合もあるが、それらの部位によっては、周辺の組織に重大な損傷を生ずる可能性がある。さらに、これらの腫瘍は、神経線維肉腫または白血病などの悪性状態に変化する場合がある。別の例として、常染色体優性PKDでは、腎臓上皮細胞の増殖およびその後の嚢腫形成が起こる。Rasの抑制は、これらの細胞の異常増殖を止める(非特許文献9)。

【0009】

Ras誘導、非悪性細胞増殖のさらに別の例は、動脈中へのステントの留置後の血管形成術後再狭窄の病理学的状態において認められ、これは、血管内皮細胞の増殖に起因する。このような細胞増殖は、例えば、組織傷害もしくは損傷(例えば、ステントの挿入が原因の損傷)または局所的血管炎症により開始される場合がある。

【0010】

細胞増殖および腫瘍形成の進行に加えて、Ras活性化は、自己免疫疾患で見られるものなどのいくつかの免疫現象および免疫機能異常を媒介する。これらの自己免疫疾患は、Ras依存性である場合がある。自己免疫疾患は、自らが加えた組織損傷を特徴とする。免疫複合体の沈積、細胞性免疫、またはサイトカインなどの炎症促進性の免疫ホルモンの

10

20

30

40

50

不適切な生成もしくは作用を介したプロセスによって、どの臓器でも罹患する可能性がある。自己免疫疾患は、これに罹患する多くの患者数と、これが原因となる罹患率および死亡率の理由から、大きな公衆衛生問題である。このグループでよくある慢性の全身性疾患には、1型糖尿病、橋本甲状腺炎、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス（SLE）、原発性抗リン脂質抗体症候群（APS）、および重症筋無力症、ランバート・イートン筋無力症症候群、ギラン・バレー症候群、多発性筋炎、ならびに多発性硬化症、などの中枢および末梢神経系を冒す種々の疾患が含まれる。さらに、全身性の自己免疫疾患の神経学的合併症がある。1型糖尿病に関連する感覚性ニューロパチーは、一例である。自己免疫疾患に関与する因子には、遺伝性素因および環境要因（例えば、特定の感染および医薬品）が含まれる。臓器移植後の細胞および組織の拒絶反応は、Rasに結び付けられているもう一つの免疫系媒介現象（非特許文献10）であり、例えば、慢性移植片対宿主病（非特許文献11）がそうである。

10

## 【0011】

Ras信号伝達の異常が病理学的免疫応答を進行させるのと全く同じように、活性化Rasは、内分泌系および血管系などの他の体組織の調節障害に対しても関与する可能性がある。一例は、末梢組織のインスリン感受性の制御不良であり、最終的には、2型糖尿病で膵不全に至る。この疾患の動物モデルでは、Rasアンタゴニストは、インスリン抵抗性を逆転させることができる（非特許文献12）。別の例は、糖尿病および粥状動脈硬化症の病理学に関与する炎症促進性アディポカインにより促進される血管炎症である（非特許文献13）。

20

## 【先行技術文献】

## 【非特許文献】

## 【0012】

【非特許文献1】Egan, S. E. and Weinberg, R. A. Nature 365, 781 - 782 (1993)

【非特許文献2】McCormick, F., Nature, 363, 15 - 16 (1993)

【非特許文献3】Zheng, X. F. et al., Nature, 364, 308 - 313 (1993)

【非特許文献4】Warne, P. H., Nature, 364, 352 - 353 (1993)

30

【非特許文献5】Bos, J. L. Cancer Res., 49, 682 - 4689 (1989)

【非特許文献6】Barbacid, M., An. Rev. Biochem., 56, 779 - 829 (1987)

【非特許文献7】Lin F., Baldassare, J. J., Voorhees, J. J., Fisher, G. J. 「乾癬病巣中のRasの活性化の増加 (Increased activation of Ras in psoriatic lesions)」, Skin Pharmacol Appl Skin Physiol 1999 Jan - Apr; 12 (1 - 2): 90 - 7

40

【非特許文献8】Mark, E. B., Jonsson, M., Asp, J., Wennberg, A. M., Molne, L., Lindahl, A. 「乾癬のある皮膚のp16の調節に関与する遺伝子の発現 (Expression of genes involved in the regulation of p16 in psoriatic involved skin)」, Arch Dermatol Res 2006 Apr; 297 (10): 459 - 67. Epub 2006 Mar 22

【非特許文献9】Parker, E., Newby, L. J., Shaprpe, C. C., Rossetti, S., Streets, A. J., Harris, P. C., O'Hare, M. J., Ong, A. C. 「PKD-1嚢胞性細胞の過剰増殖は、Ras/Raf信号伝達系のインスリン様増殖因子I活性化により誘導される (Hyperpr

50

oliferation of PKD-1 cystic cells is induced by insulin-like growth factor-1 activation of the Ras/Raf signaling system)」、Kidney Int 2007 Jul;72(2):157-65. Epub 2007 Mar 28

【非特許文献10】Trujillo, J. I., Expert Opin Ther Pat. 21, 1045-1069 (2011)

【非特許文献11】Svegliati S, Olivieri A, Campelli N, Luchetti M, Poloni A, Trappolini S, Moroncini G, Bacigalupo A, Leoni P, Avvedimento EV, and Gabrielli A. Blood 110, 237-241 (2007)

10

【非特許文献12】Mor, A., Aizman, E., George, J., Kloog, Y. 「Ras抑制は、インスリン感受性およびグルコース取り込みを誘導する (Ras Inhibition induces insulin sensitivity and glucose uptake)」, PLoS One 2011 6(6): e21712. Epub 2011 Jun 29

【非特許文献13】George, J., Afek, A., Keren, P., Herz, I., Goldberg, I., Haklai, R., Kloog, Y., Keren, G. 「RasアンタゴニストによるRasの機能抑制により、アポリポタンパク質Eノックアウトマウスの粥状動脈硬化症が緩和される」、Circulation 2002、105(20):2416-2422

20

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0013】

本開示は、細胞増殖、分化、アポトーシス、老化、および生存、などのRas誘導または媒介細胞プロセスに起因する状態の治療に有用な、Rasの新規阻害剤またはアンタゴニストについて記載する。これらの細胞プロセスは、非悪性もしくは悪性疾患、障害、または病理学的状態に関連するものであってよい。

【0014】

30

また、本開示は、このようなRas誘導または媒介細胞プロセスを抑制する方法を記載する。この方法は、このような細胞プロセスを抑制するのに有効な量のRasアンタゴニストを投与することを伴う。

【0015】

Ras癌遺伝子ファミリーは、多くの細胞信号伝達ネットワーク中の重要な要素である。このような細胞信号伝達阻害剤は、このような細胞プロセスの機能制御を提供する上流信号伝達および下流エフェクター経路の両方をもたらすであろう。

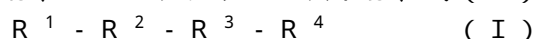
【0016】

膵臓癌、白血病、メルケル細胞癌、および神経膠芽細胞腫、などの悪性癌に加えて、本開示は、特に、肝臓の肝硬変、ステント留置後の血管の再狭窄、PKD、および乾癬、などの多様な細胞増殖を特徴とする非悪性疾患に適用可能である。Ras活性化は、免疫系の機能障害を進行させるので、本開示のアンタゴニストは、1型糖尿病、ループス、関節リウマチ、および多発性硬化症、ならびに疾患状態（例えば、腎不全）にตอบสนองして外部抗原（例えば、移植片）の提示により誘導された移植片拒絶反応のような病理学的状態、などの自己免疫疾患の治療にも使用可能である。同様に、本開示のアンタゴニストを用いて、内分泌器官のRas媒介異常（例えば、2型糖尿病）および血管のRas媒介異常（例えば、動脈硬化症）を治療できる。

40

【0017】

本開示の代表的実施形態では、Rasアンタゴニストは、式(I)：



50

により提供され、  
式中、

$R^3$  は、S、O、N、SO、 $SO_2$ 、またはSeであり、 $R^4$  は、ファルネシルまたはゲラニルゲラニルであり、さらに、 $R^2$  は、少なくとも1個のヘテロ原子を有する5員ヘテロ環であり、および/または、 $R^1$  は、少なくとも1個のヘテロ原子を有する5または6員ヘテロ環である。 $R^2$  または $R^1$  のヘテロ原子は、O、N、S、SO、および $SO_2$  からなる群より選択できる。

【0018】

$R^2$  が1個または2個のヘテロ原子を有する5員ヘテロ環である場合の実施形態では、 $R^1$  は、CN、 $C(=O)R^5$ 、 $S(=O)(=O)R^5$ 、 $CO_2M$ 、 $SO_3M$ 、または  
N( $R^8$ )-置換テトラゾールであってもよく、この場合、 $R^5$  は、水素、ヒドロキシル、  
C1~C4アルキルオキシ、C2~C4アルケニルオキシ、C1~C4ヒドロキシアル  
キルオキシ、C1~C4アミノアルキルオキシ、または $NR^6R^7$ であり； $R^6$  は、水素  
、ヒドロキシル、C1~C4アルキル、C2~C4アルケニル、C1~C4アミノアルキ  
ル、C1~C4ヒドロキシアルキル、C1~C4アルキルオキシ、またはC1~C4アル  
キルアミノであり；および $R^7$  は、水素、C1~C4アルキル、C2~C4アルケニル、  
C1~C4アミノアルキル、C1~C4ヒドロキシアルキル、C1~C4アルキルオキシ  
、またはC1~C4アルキルアミノであり；または $R^6$  および $R^7$  は、一緒に、モルホリ  
ン、ピペラジン、またはピベルジンなどの環を形成し；Mは、塩形成有機もしくは無機対  
イオンであり；さらに $R^8$  は、水素またはC1~C4アルキルである。代表的Rasアン  
タゴニストは、下記の化合物(3)およびその類似体を含む。

【0019】

$R^1$  が少なくとも1個のヘテロ原子を有する5または6員ヘテロ環である実施形態では  
、 $R^2$  は、フェニル環でも、または任意に置換されてもよいフェニル環であってもよい。  
 $R^1$  は、イミダゾリン、イミダゾール、ピラゾール、ピロール、オキサゾール、チアゾー  
ル、1,4,5,6-テトラヒドロピリミジン、トリアゾール、またはN( $R^9$ )-置換  
テトラゾールであってもよく、この場合、 $R^9$  は、水素またはC1~C4アルキルであり  
；任意に置換されてもよいフェニル環は、Cl、Br、F、I、C1~C4アルキル、ま  
たはC1~C4アルコキシ、アミノ、モノもしくはジ置換アミノで置換され；さらにフェ  
ニル環の窒素置換基は、C1~C4アルキルである。代表的Rasアンタゴニストは、下  
記の化合物(1)、(5)、および(9)、ならびにそれらの類似体を含む。

【0020】

$R^2$  が少なくとも3個のヘテロ原子を有する5員ヘテロ環である実施形態では、 $R^1$  は  
、 $C(=O)R^{10}$ であってもよく、この場合、 $R^{10}$  は、水素、ヒドロキシル、または  
C1~C4アルキルオキシである。 $R^2$  は、例えば、チアジアゾール基またはオキサジア  
ゾール基であってもよい。代表的Rasアンタゴニストは、下記化合物(4)およびその  
類似体を含む。

【0021】

本開示の別の代表的実施形態では、悪性もしくは非悪性疾患または病理学的状態に関連  
するRas誘導細胞増殖を抑制する方法が提供される。方法は、患者に増殖を抑制するの  
に有効な量の式(I)のRasアンタゴニストを投与することを含む。投与ステップは、  
非経口、経口、局所、鼻腔内、経鼻、パッカル、または経皮経由で行ってもよい。一実施  
形態では、患者は、全身性のエリテマトーデス(SLE)、多発性硬化症(MS)、抗リ  
ン脂質抗体症候群(APS)、関節リウマチ、1型糖尿病、臓器拒絶反応、および慢性移  
植片対宿主病、の内の少なくとも1種に繋がる免疫系の調節障害を患っている。別の実施  
形態では、患者は、2型糖尿病に繋がる、内分泌ホルモンの内分泌系および標的の内の少  
なくとも1つの調節障害を患っている。別の実施形態では、患者は、粥状動脈硬化症を生  
ずる組織傷害、組織損傷、および局部血管炎症の内の少なくとも1種を患っている。

【0022】

本開示のさらに別の代表的実施形態では、悪性疾患または病理学的状態に関連するRas

10

20

30

40

50

s 誘導細胞増殖を抑制する方法が提供される。この方法は、細胞を、増殖を抑制するのに有効な量の式 ( I ) の R a s アンタゴニストと接触させることを含む。悪性疾患は、神経膠芽腫、腺癌、軟部肉腫、および / または白血病、を含んでもよい。

【 0 0 2 3 】

本開示のさらに別の代表的実施形態では、非悪性疾患または病理学的状態に関連する R a s 誘導細胞増殖を抑制する方法が提供される。この方法は、細胞を、増殖を抑制するのに有効な量の式 ( I ) の R a s アンタゴニストと接触させることを含む。非悪性疾患には、乾癬、神経線維腫症 1 型 ( N F - 1 )、N F - 1 関連悪性腫瘍、多発性嚢胞腎疾患 ( P K D )、血管形成術後再狭窄、組織線維症、および / または筋ジストロフィー、を含んでもよい。

10

【 0 0 2 4 】

本開示のまたさらに別の代表的実施形態では、R a s 誘導細胞増殖を抑制する方法が提供される。この方法は、細胞を、増殖を抑制するのに有効な量の式 ( I ) の R a s アンタゴニストを接触させることを含み、増殖は、組織傷害または組織損傷により開始される。

【 0 0 2 5 】

付随する図と併せて行われる次の本発明の実施形態の説明を参照することにより、上述および他の特徴、ならびに本開示の利点、ならびに、それらを得る方法が、より明らかになり、また、本発明それ自体も、より良く理解されるであろう。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 2 6 】

【 図 1 】 特定の本開示の発明化合物に種々の用量で暴露した場合に、対照試料と比較して、U 8 7 M G 細胞増殖の抑制を示す図である。

20

【 図 2 】 特定の発明化合物に種々の図 1 より少ない用量で暴露した場合に、対照試料と比較して、U 8 7 M G 細胞増殖の抑制を示す図である。

【 図 3 】 特定の本開示の発明化合物に種々の用量で暴露した場合に、対照試料と比較して、P A N C - 1 細胞増殖を抑制することを示す図である。

【 図 4 A 】 本開示の発明化合物に種々の用量で暴露した場合に、対照試料と比較して、マスト細胞での活性化 R a s の抑制を示すウェスタンプロットの結果である。

【 図 4 B 】 本開示の発明化合物に種々の用量で暴露した場合に、対照試料と比較して、マスト細胞増殖の抑制を示す図である。

30

【 図 5 A 】 本開示の発明化合物に種々の用量で暴露した場合に、対照試料と比較して、シユワン細胞での活性化 R a s の抑制を示すウェスタンプロットの結果である。

【 図 5 B 】 本開示の発明化合物に種々の用量で暴露した場合に、対照試料と比較して、シユワン細胞増殖の抑制を示す図である。

【 0 0 2 7 】

いくつかの図を通して、対応する参照記号は、対応する部分を示している。本明細書で記載された例示は、本発明の代表的実施形態を示し、このような例示は、本発明の範囲を何ら限定するものと解釈されるべきではない。

【 発明を実施するための形態 】

【 0 0 2 8 】

記載された式中で使用される一般的化学用語は、通常使われる意味を持つ。例えば、用語の「C 1 ~ C 4 アルキル」は、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec - ブチル、および tert - ブチルを含む。用語の「C 1 ~ C 4 アルキルオキシ」は、酸素原子を介して親分子結合した C 1 ~ C 4 アルキル基を意味し、メトキシ基、エトキシ基、イソプロポキシ基、などが含まれる。用語の「C 2 ~ C 4 アルケニル」は、ビニル、アリル、およびクロチルを含む。用語の「C 1 ~ C 4 アミノアルキル」は、1つの炭素原子を介して親分子に結合し、窒素原子が1つの遠位の炭素原子に結合している C 1 ~ C 4 アルキル基を意味し、これには、アミノメチレン、アミノエチレン、アミノプロピレン、アルファ - アミノエチレン、ベータ - アミノエチレン、などの基が含まれる。用語の「C 1 ~ C 4 ヒドロキシアルキル」は、1つの炭素原子を介して親分子に結合

40

50

し、酸素原子が1つの遠位の炭素原子に結合しているC1～C4アルキル基を意味し、これには、ヒドロキシメチレン、ヒドロキシエチレン、ヒドロキシプロピレン、アルファ-ヒドロキシエチレン、ベータ-ヒドロキシエチレン、などの基が含まれる。用語の「アミノ」は、親構造に結合し、1つの（用語の「モノ-」で指定される）または2つの（用語の「ジ-」で指定される）追加の化学的成分、または、一緒にすると、モルホリンもしくはピペルジン、またはピペラジン、などの環を形成できる成分で任意に置換されてもよい窒素原子を意味する。用語の「C1～C4アルキルアミノ」は、窒素原子を介して親分子に結合したC1～C4アルキル基を意味し、これには、メチルアミン、エチルアミン、イソプロピルアミン、ブチルアミン、イソブチルアミン、sec-ブチルアミン、およびtert-ブチルアミンなどの基が含まれる。用語の「C2～C4アルケニルオキシ」は、酸素原子を介して親分子に結合したC2～C4アルケニル基を意味し、これには、ビニルオキシ、アリルオキシ、およびクロチルオキシ基が含まれる。用語の「C1～C4ヒドロキシアルキルオキシ」は、酸素原子を介して親分子に結合し、酸素原子が1つの遠位の炭素原子に結合しているC1～C4アルキル基を意味し、これには、ヒドロキシメトキシ、ヒドロキシエトキシ、ヒドロキシプロポキシ、ベータ-ヒドロキシエトキシ、などの基が含まれる。用語の「C1～C4アミノアルキルオキシ」は、酸素原子を介して親分子に結合し、窒素原子が1つの遠位の炭素原子に結合しているC1～C4アルキル基を意味し、これには、アルファ-ヒドロキシメチルアミン、ベータ-ヒドロキシエチルアミン、ガンマ-ヒドロキシプロピルアミン、ベータ-ヒドロキシエチルアミン、などの基が含まれる。

**【0029】**

当業者なら、特定の式Iの化合物は、幾何学的なシスおよびトランス異性体として存在しうることを理解するであろう。本開示は、全ての個別異性体、ならびに前記化合物の幾何異性体の混合物を意図している。式Iの化合物が単一の幾何異性体として存在することが好ましい。当業者なら、個別異性体が、例えば、既知の方法により選択的に調製できること、または、異性体の混合物が標準的クロマトグラフィーまたは結晶化技術により分離できることを認識しているであろう。

**【0030】**

当業者なら、少なくとも1個のキラル中心を含む特定の式Iの化合物が存在可能であることを理解するであろう。本発明は、すべての個別鏡像異性体またはジアステレオマー、ならびにラセミ化合物を含む前記化合物の鏡像異性体とジアステレオマーの混合物を意図している。少なくとも1個のキラル中心を含む式Iの化合物が、単一の鏡像異性体またはジアステレオマーとして存在することが好ましい。単一の鏡像異性体またはジアステレオマーは、キラル試薬から出発して、または立体選択的もしくは立体特異的合成技術により調製できる。あるいは、単一の鏡像異性体またはジアステレオマーは、標準的クロマトグラフィー、または結晶化技術により混合物から単離できる。

**【0031】**

当業者なら、特定の式Iの化合物は、互変異性体として存在できることを理解するであろう。本開示は、全ての互変異性型を意図している。

**【0032】**

当業者なら、特定の式Iの化合物が、塩を形成できることを理解するであろう。全てのケースで、全ての化合物の薬学的に許容可能な塩が意図されている。例えば、本開示の化合物がアミンを含む場合には、その化合物は、多くの無機または有機酸と反応し、薬学的に許容可能な付加塩を形成できる。

**【0033】**

当業者なら、式Iの化合物の薬学的に許容可能な溶媒和物が本開示の一部として意図され、従来の方法、例えば、式Iの化合物を適切な溶媒（例えば、水、メタノール、エタノール、など）中に溶解し、別の結晶化技術を使って溶質を再結晶化することにより調製できることを理解するであろう。あるいは、過剰溶媒を蒸発させて除去し、溶媒和物を得ることができる。

**【0034】**

用語の「R a s」は、タンパク質のR a sスーパーファミリー中のh R a s、k R a s、およびn R a sと呼ばれる3つの遺伝子産物を意味する。

【0035】

用語の「R a sアンタゴニスト」は、細胞増殖、分化、アポトーシス、老化、および生存、などの1つまたは複数の細胞プロセスを標的とし、このような細胞プロセスを縮小、抑制、または阻害する化合物または薬剤を意味する(S a t o h T a n d K a z i r o Y . ( 1 9 9 2 ) . C a n c e r B i o l . , 3 , 1 6 9 ± 1 7 7 ; K h o s r a v i - F a r R a n d D e r C J . ( 1 9 9 4 ) . C a n c e r M e t a s t a s i s R e v . 1 3 , 6 7 - 8 9 ) 。 R a s タンパク質は、ホルモン/増殖因子受容体および細胞分裂を刺激する調節カスケードの間のON/OFFスイッチの作用をする。R a s が活性化される(O N)ためには、細胞膜の内側に付着しなければならない。従って、一実施形態では、本開示のR a s アンタゴニストは、R a s の細胞膜との会合を妨害し、それにより、R a s の活性化を遮断するか、または活性化R a s を阻害する(K l o o g , e t a l . , E x p . O p i n . I n v e s t . D r u g s 8 ( 1 2 ) : 2 1 2 1 - 2 1 4 0 ( 1 9 9 9 ) ) 。

10

【0036】

本開示は、R a s 誘導細胞機能の特徴とするか、あるいは、これを含む悪性疾患、障害、または病理学的状態、の治療に関する。R a s 遺伝子の変異が、全ヒト腫瘍の内の約30%で特定されている。これらの悪性状態の例には、例えば、膵臓、子宮頸部、結腸、前立腺、および胃を含む腺癌；膀胱、乳房、肝臓、肺、皮膚(例えば、メルケル細胞癌)、および甲状腺を含む癌腫；急性骨髄性白血病(A M L)、慢性骨髄性白血病(C M L)、慢性骨髄単球性白血病(C M M L)、および若年性骨髄単球性白血病(J M M L)を含む白血病；血管肉腫、平滑筋肉腫、脂肪肉腫、横紋筋肉腫、および粘液腫を含む軟部肉腫；ならびに腎臓、肝臓、および脳を含む芽細胞腫(例えば、神経膠芽細胞腫)、が含まれる。

20

【0037】

さらに、本開示は、非悪性疾患、障害、またはR a s 誘導細胞機能の特徴とするか、あるいはこれを含む病理学的状態、の治療に関する。活性化R a s は、例えば、乾癬に見られるように、非悪性細胞増殖を開始し、進行させることができる。活性化R a s は、N F - 1 などの種々の遺伝性疾患中に認められ、R a s のP K D 阻害剤はまた、変異がR a s 信号伝達経路で発生する種々の家族性発生症候群の治療に有用である可能性がある。これらの障害の追加の例には、例えば、レオパード症候群、ヌーナン症候群、レギウス症候群、ステロ症候群、心顔皮膚症候群、遺伝性歯肉増殖症1型、自己免疫性リンパ増殖症候群、および毛細血管奇形-動静脈奇形、を含むこともできる。血管形成術後再狭窄では、動脈内ステント挿入が損傷、増殖因子の放出、および正常な平滑筋細胞の増殖を引き起こす。追加の例には、肝臓の肝硬変が含まれ、これは、正常な肝細胞、星状細胞および結合組織細胞、の増殖を伴う。R a s 活性化細胞増殖の追加の例には、例えば、末期の腎疾患、肝臓の肝硬変、および筋ジストロフィーで見られる肝臓、腎臓、および心臓線維症(例えば、心筋線維症)を含む組織線維症などの多様な散発的な問題が含まれる。

30

【0038】

さらに、本開示は、自己免疫疾患で見られるものなどのR a s 活性化または媒介免疫現象および免疫機能異常の治療に関する。このグループでよくある慢性全身性疾患には、1型糖尿病、橋本甲状腺炎、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス(S L E)、原発性抗リン脂質抗体症候群(A P S)、および、重症筋無力症、ランバート・イートン筋無力症候群、ギラン・バレー症候群、多発性筋炎、および多発性硬化症(M S)などの中枢および末梢神経系を冒す種々の疾患が含まれる。さらに、全身性の自己免疫疾患の神経学的合併症がある。1型糖尿病に関連する感覚性ニューロパチーは、この一例である。自己免疫疾患に関与する因子には、遺伝性素因および環境要因(例えば、特定の感染および医薬品)が含まれる。臓器移植後の細胞および組織の慢性拒絶反応は、もう一つの免疫系媒介現象である。移植片拒絶反応は、レシピエント(「宿主」)の免疫系による外部細胞の認

40

50

識を伴う障害であり、移植片対宿主病としても知られている。このような細胞を攻撃することは、適切な免疫応答であるが、臓器移植後では、これは、宿主にとって実に有害である。

【0039】

さらに、本開示は、Ras活性化または媒介現象、および2型糖尿病で見られるような内分泌機能の調節障害の治療に関する。2型糖尿病では、末梢組織でのインスリン感受性の制御不良が存在し、最終的には膵不全になる。

【0040】

さらに、本開示は、局所的血管炎症および損傷などのRas媒介組織炎症および損傷、により開始される疾患カテゴリーの治療に関する。肥満動物およびヒトの炎症促進性のアディポカインにより促進される血管炎症は、糖尿病および粥状動脈硬化症の病態に關与する。

10

【0041】

本開示のRasアンタゴニストは、下記の式(I)：



で表され、

式中、

R<sup>3</sup>は、S、O、N、SO、SO<sub>2</sub>、またはSeであり、および

R<sup>4</sup>は、ファルネシルまたはゲラニルゲラニルである。

【0042】

20

式(I)は、カルボン酸のプレニル誘導体として記載でき、また、分子構造は、発癌性Rasタンパク質に共通のカルボキシル末端ファルネシルシステインに似ている。このような薬剤は、Rasカスケードを介した細胞内の信号伝達を競合的に遮断し、従って、例えば、癌の治療に有用である。本開示は、特に、一般式(I)のファルネシル、ゲラニルゲラニルアールおよびゲラニルゲラニルヘテロアール類似体の使用と調製について記載する。これらのタイプの薬剤は、Rasカスケードを介した細胞内の信号伝達を競合的に遮断することが知られており、従って、例えば、癌の治療に有用である。

【0043】

本開示の第1の代表的実施形態では、式(I)は、さらに下記のように定義される：

R<sup>2</sup>は、O、N、S、SO、およびSO<sub>2</sub>などの1個または2個のヘテロ原子を有する5員ヘテロ環であり、さらに

30

R<sup>1</sup>は、CNまたはC(=O)R<sup>5</sup>、S(=O)(=O)R<sup>5</sup>、CO<sub>2</sub>M、SO<sub>3</sub>M、およびN(R<sup>8</sup>)置換テトラゾールの内の1個の基であり、

式中、

R<sup>5</sup>は、水素、ヒドロキシル、C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>アルキルオキシ、C<sub>2</sub>~C<sub>4</sub>アルケニルオキシ、C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>ヒドロキシアルキルオキシ、C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>アミノアルキルオキシ、またはNR<sup>6</sup>R<sup>7</sup>であり、

R<sup>6</sup>は、水素、ヒドロキシル、C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>アルキル、C<sub>2</sub>~C<sub>4</sub>アルケニル、C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>アミノアルキル、C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>ヒドロキシアルキル、C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>アルキルオキシ、またはC<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>アルキルアミノであり、および

40

R<sup>7</sup>は、水素、C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>アルキル、C<sub>2</sub>~C<sub>4</sub>アルケニル、C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>アミノアルキル、C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>ヒドロキシアルキル、C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>アルキルオキシ、またはC<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>アルキルアミノであり、

または、R<sup>6</sup>およびR<sup>7</sup>は、一緒に、モルホリン、ピペラジン、もしくはピベルジンなどの環を形成し、

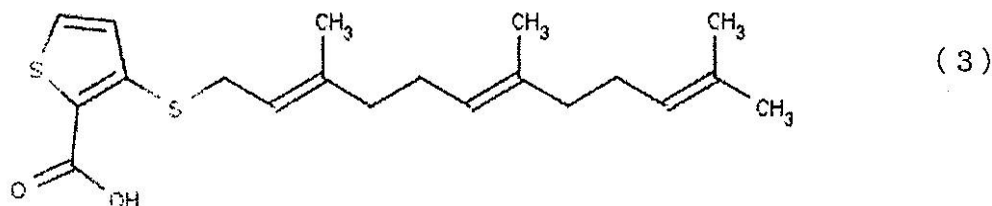
Mは、塩形成有機または無機の対イオン、例えば、限定されないが、ナトリウム、カリウム、有機アミンまたはグルコースおよびアルキルアミンから調製されたN-アルキル化グルカミン(例えば、アルキルアミンがC<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>であるN-メチルグルカミン)としての可溶化有機物質であり、さらに

R<sup>8</sup>は、水素またはC<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>アルキルである。

50

## 【0044】

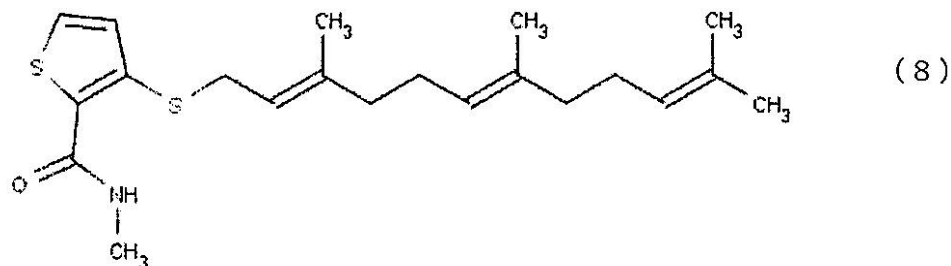
この第1の代表的実施形態に基づくと、式(I)は、例えば、3 - { [(2E, 6E) - 3, 7, 11 - トリメチルドデカ - 2, 6, 10 - トリエン - 1 - イル] スルファニル } チオフェン - 2 - カルボン酸 (3) (下記) およびその類似体を含むことができ、この場合、R<sup>1</sup> はカルボン酸、R<sup>2</sup> はチオフェン環、R<sup>3</sup> はS、およびR<sup>4</sup> はファルネシルである。



10

## 【0045】

このクラスの好ましい類似体は、N - メチル - 3 - { [(2E, 6E) - 3, 7, 11 - トリメチルドデカ - 2, 6, 10 - トリエン - 1 - イル] スルファニル } チオフェン - 2 - カルボキサミド (8) (下記) で表され、これは、R<sup>1</sup> がカルボン酸N - メチルアミドであることを除いて、上記(3)と類似である。



20

## 【0046】

本開示の第2の代表的実施形態では、式(I)が下記のようにさらに定義される：

R<sup>2</sup> は、フェニル環または任意に置換されてもよいフェニル環であり、および

R<sup>1</sup> は、少なくとも1個のヘテロ原子を有する5または6員ヘテロ環、例えば、イミダゾリン、イミダゾール、ピラゾール、ピロール、オキサゾール、チアゾール、もしくは、1, 4, 5, 6 - テトラヒドロピリミジン、または複数の窒素原子を有する、5員ヘテロ環、例えば、トリアゾールもしくは、N(R<sup>9</sup>)置換テトラゾールであり、

30

式中、

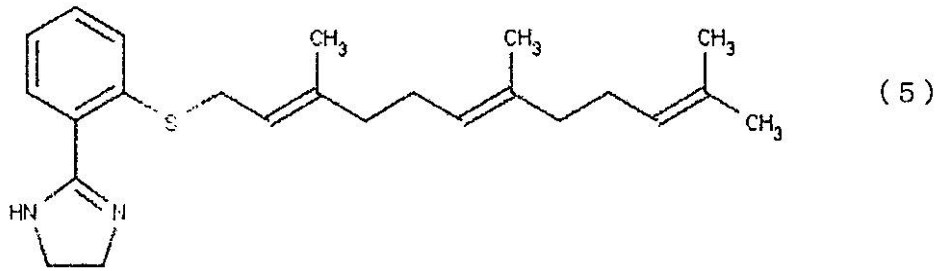
R<sup>9</sup> は、水素またはC1 ~ C4アルキルであり、任意に置換されてもよいフェニル環は、Cl、Br、F、I、C1 ~ C4アルキル、またはC1 ~ C4アルコキシ、アミノ、モノもしくはジ置換アミノで置換されてもよく、さらに

フェニル環の窒素置換基は、C1 ~ C4アルキルである。

## 【0047】

この第2の代表的実施形態に基づくと、式(I)は、例えば、2 - (2 - { [(2E, 6E) - 3, 7, 11 - トリメチルドデカ - 2, 6, 10 - トリエン - 1 - イル] スルファニル } フェニル) - 4, 5 - ジヒドロ - 1H - イミダゾール (5) (下記) およびその類似体を含むことができ、この場合、R<sup>1</sup> は4, 5 - ジヒドロ - 1H - イミダゾール基、R<sup>2</sup> はフェニル環、R<sup>3</sup> はS、およびR<sup>4</sup> はファルネシルである。

40

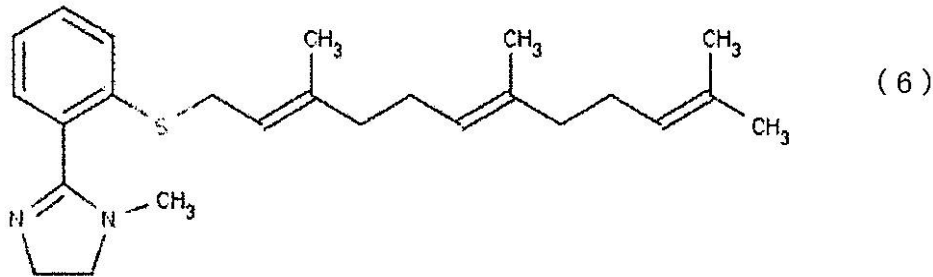


## 【0048】

10

このクラスの2個の好ましい類似体の構造は、下記の通りである：

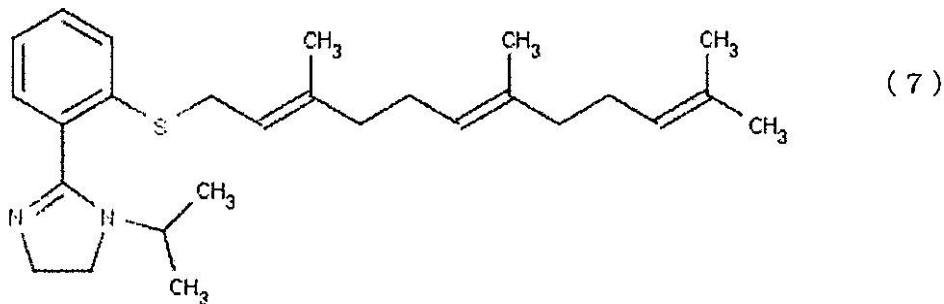
(i) 1-メチル-2-(2-{[(2E,6E)-3,7,11-トリメチルドデカ-2,6,10-トリエン-1-イル]スルファニル}フェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-イミダゾール(6)(下記)。これは、R<sup>1</sup>の4,5-ジヒドロ-1H-イミダゾール基がメチル基で置換されていることを除いて、上記(5)と類似である。



20

(ii) 1-(プロパン-2-イル)-2-(2-{[(2E,6E)-3,7,11-トリメチルドデカ-2,6,10-トリエン-1-イル]スルファニル}フェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-イミダゾール(7)(下記)、これは、R<sup>1</sup>の4,5-ジヒドロ-1H-イミダゾール基がイソプロピル基で置換されていることを除いて、上記(5)と類似である。

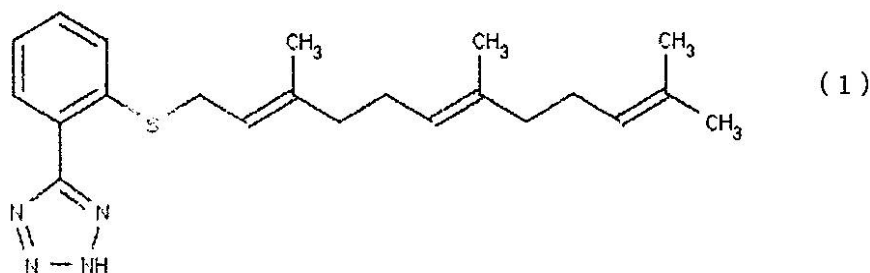
30



## 【0049】

40

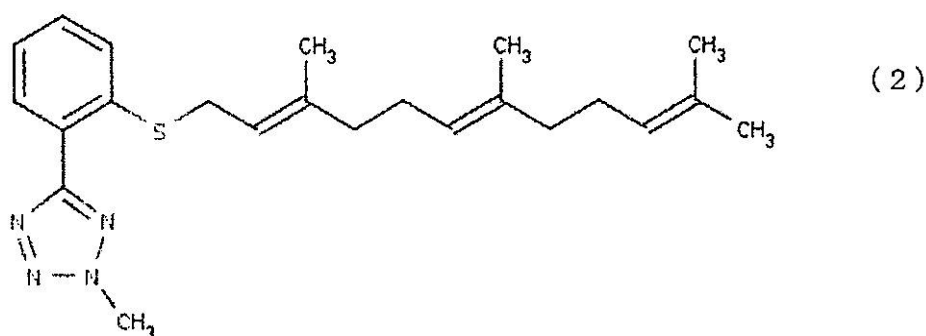
また、この第2の代表的実施形態に基づくと、式(I)は、例えば、5-(2-{[(2E,6E)-3,7,11-トリメチルドデカ-2,6,10-トリエン-1-イル]スルファニル}フェニル)-2H-1,2,3,4-テトラゾール(1)(下記)および類似体を含むことが基で、この場合、R<sup>1</sup>はテトラゾール基、R<sup>2</sup>はフェニル環、R<sup>3</sup>はS、およびR<sup>4</sup>はファルネシルである。



## 【0050】

10

このクラスの好ましい類似体は、2-メチル-5-(2-{[(2E,6E)-3,7,11-トリメチルドデカ-2,6,10-トリエン-1-イル]スルファニル}フェニル)-2H-1,2,3,4-テトラゾールおよび1-メチル-5-(2-{[(2E,6E)-3,7,11-トリメチルドデカ-2,6,10-トリエン-1-イル]スルファニル}フェニル)-1H-1,2,3,4-テトラゾール(2)(下記)で表され、これは、R<sup>1</sup>がメチル置換テトラゾール基であることを除いて、上記(1)と類似である。

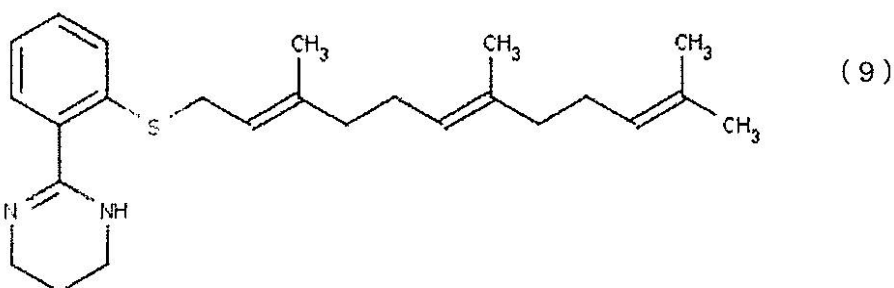


20

## 【0051】

また、この第2の代表的実施形態に基づくと、式(I)は、例えば、2-(2-{[(2E,6E)-3,7,11-トリメチルドデカ-2,6,10-トリエン-1-イル]スルファニル}フェニル)-1,4,5,6-テトラヒドロピリミジン(9)(下記)およびその類似体を含むことができ、この場合、R<sup>1</sup>は1,4,5,6-テトラヒドロピリミジン、R<sup>2</sup>はフェニル環、R<sup>3</sup>はS、およびR<sup>4</sup>はファルネシルである。

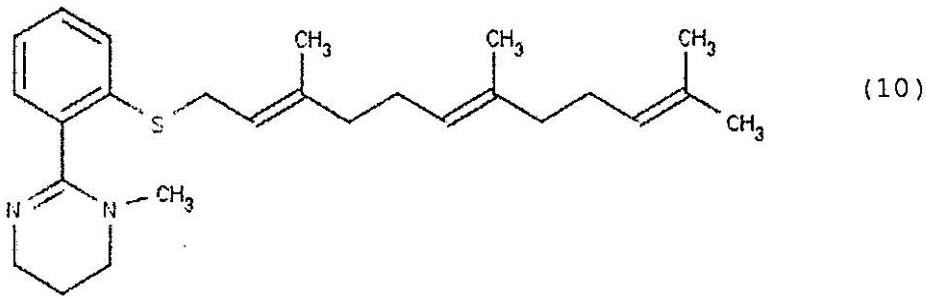
30



40

## 【0052】

このクラスの好ましい類似体は、1-メチル-2-(2-{[(2E,6E)-3,7,11-トリメチルドデカ-2,6,10-トリエン-1-イル]スルファニル}フェニル)-1,4,5,6-テトラヒドロピリミジン(10)(下記)で表され、これは、R<sup>1</sup>の1,4,5,6-テトラヒドロピリミジンがメチル基で置換されていることを除いて、上記(9)と類似である。



## 【0053】

10

本開示の第3の代表的実施形態では、式(I)は、さらに下記のように定義される：

$R^2$  は、O、N、およびSから選択される少なくとも3個のヘテロ原子を有する5員ヘテロ環、例えば、チアジアゾール基またはオキサジアゾール基であり、さらに

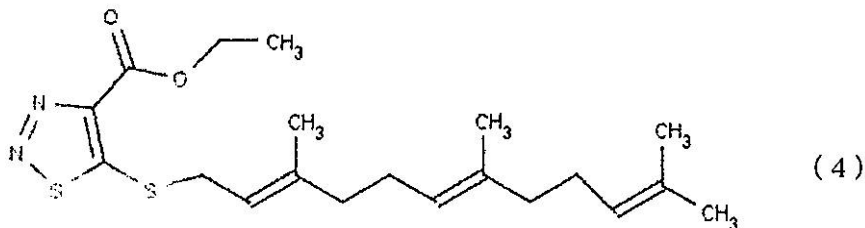
$R^1$  は、 $C(=O)R^{10}$  であり、

式中、 $R^{10}$  は、水素、ヒドロキシル、またはC1～C4アルキルオキシである。

## 【0054】

この第3の代表的実施形態に基づくと、式(I)は、例えば、エチル5-{[(2E, 6E)-3, 7, 11-トリメチルドデカ-2, 6, 10-トリエン-1-イル]スルファニル}-1, 2, 3-チアジアゾール-4-カルボキシラート(4)(下記)およびその類似体を含むことができ、この場合、 $R^1$  はエチル置換カルボキシラート基、 $R^2$  は1, 2, 3-チアジアゾール、 $R^3$  はS、および $R^4$  はファルネシルである。

20



30

## 【0055】

この第3の代表的実施形態に基づくと、例えば、式(I)の $R^1$  は、カルボン酸を含んでもよく、式(I)の $R^2$  は、1, 2, 3-オキサジアゾールまたは1, 2, 5-オキサジアゾールを含んでもよい。

## 【0056】

本開示の第4の代表的実施形態では、 $R^1$  および $R^2$  の両方が、少なくとも1個のヘテロ原子を有するヘテロ環である。例えば、 $R^1$  は、少なくとも1個のヘテロ原子を有する5または6員ヘテロ環であってもよく、 $R^2$  は、少なくとも1個のヘテロ原子を有する5員ヘテロ環であってもよい。

## 【0057】

40

当業者なら、特定の本開示の化合物は、 $Ras$  阻害剤として有用であるのみでなく、追加の本開示の化合物の調製用の有用な中間体でもあることを理解するであろう。1つの化学成分をもう一つの成分に変換する方法は、当業者には明確に理解されている。当業者なら式(I)の化合物の全ての置換基が化合物合成に採用された特定の反応条件に耐えられるわけではないことを理解するであろう。これらの成分は、合成中の都合の良い時点で導入するか、または保護して、その後、必要に応じ、または目的に応じ、脱保護することができる。当業者なら、保護基は、本開示の化合物合成中のいずれかの都合の良い時点で除去できることを理解するであろう。これらの成分を導入または除去するこのような方法は、当技術分野でよく知られている。当業者なら多くの環境下で、成分が導入される順番は、重大ではないことを理解するであろう。式(I)の化合物を生成するのに必要な特定の

50

ステップの順番は、合成される特定の化合物、出発化合物、および置換成分の相対的不安の性または安定性に依存する。

【0058】

本開示化合物の経口投与が意図されている。しかし、経口投与は、唯一の経路でも、好ましい経路でもない。例えば、疾患様乾癬を患っている患者に対しては、経皮パッチ経由などの経皮投与が望ましい。また、患者が経口製剤の摂取を怠りがちな、またはそれができない場合には、経皮は、好ましい投与経路となりうる。病院での都合上、または経口剤形に関連する起こりうる合併症を避けるために、静脈内経路が好ましい場合がある。本開示で記載の化合物は、特定の環境下では、経皮、筋肉内、鼻腔内、経鼻、パッカル、または直腸内経路により投与できる。投与経路は、化合物の物理学的性質、患者や介護者の都合、および他の関連する環境により限定されるどれかの方法の内でもよい(レミントンの薬学(Remington's Pharmaceutical Science): 18<sup>th</sup>版、Mack Publishing Co.(1990))。

10

【0059】

本開示の医薬組成物は、医薬品技術分野でよく知られた方法で調製される。キャリアまたは賦形剤は、有効成分に対するビークルまたは溶媒として機能できる固体、半固形、または液体材料であってよい。適切なキャリアまたは賦形剤は、当技術分野でよく知られている。医薬組成物は、経口、吸入、非経口、または局所使用のために適合されてもよく、また、錠剤、カプセル剤、噴霧剤、吸入剤、坐剤、液剤、懸濁剤、などの形で患者に投与されてもよい。

20

【0060】

本開示の化合物は、例えば、不活性の希釈剤と一緒に、もしくはカプセル剤で、または錠剤に圧縮して、経口投与できる。経口投与のために、化合物は、賦形剤と一緒に混合され、錠剤、トローチ、カプセル剤、エリキシル剤、懸濁剤、シロップ剤、ウエハ、チューインガム、などの形で使用できる。製剤は、特定の剤形に応じて種々の量の有効成分を含み、通常は、4%~約70重量%であってよい。組成物中に存在する有効成分の量は、適切な投与量が得られるような量である。本発明の好ましい組成物および製剤は、当業者によく知られた方法により決定できる。

【0061】

また、錠剤、-pill、カプセル剤、トローチ、などは、次記のアジュバントの内の1種または複数を含むことができる: ポビドン、ヒドロキシプロピルセルロース、結晶セルロース、またはゼラチンなどの結合剤; デンプン、ラクトース、結晶セルロースもしくはジリン酸カルシウムなどの賦形剤または希釈剤、クロスカルメロース、クロスポビドン、デンプングリコール酸ナトリウム、コーンスターチ、などの崩壊剤; ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、滑石または水素添加植物油などの潤滑剤; コロイド状二酸化ケイ素などの滑剤; ラウリル硫酸ナトリウムおよびポリソルベート80などの湿潤剤。また、ショ糖、アスパルテームまたはサッカリンなどの甘味料、またはペパーミント、メチルサリシクラートもしくはオレンジ調味料などの香味料を加えてもよい。投与ユニット形態がカプセルの場合には、上記タイプの材料に加えて、ポリエチレングリコールまたは脂肪油などの液体キャリアを含んでもよい。他の投与ユニット形態は、投与ユニットの物理的性質を変える他の種々の材料を、例えば、コーティングとして含んでもよい。従って、錠剤またはオイルが、糖、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリメタクリレート、またはその他のコーティング剤でコートされてもよい。シロップ剤は、本発明の化合物に加えて、甘味料としてのショ糖および特定の防腐剤、染料、顔料および着香料を含んでもよい。これらの種々の組成物の調製に使用する材料は、薬学的に純粋で、使用される量で非毒性であるべきである。

30

40

【0062】

本開示の化合物は、通常、広い投与量範囲にわたり有効である。例えば、1日当たりの投与量は、通常、約0.0001~約30mg/kg体重の範囲内である。一部の例では、前述の範囲の下限値未満の投与量レベルで充分であり、一方、他の例では、さらに多く

50

の用量を何ら有害副作用なしに採用できる。従って、上記の投与量範囲は、本発明の範囲を何ら限定する意図はない。実際に投与される化合物の量は、治療される状態、選択投与経路、実際の化合物または投与される化合物、個別患者の年齢、重量、および反応、ならびに患者の症状の重症度、などの当該の環境を考慮して、医師により決定されることは理解されよう。

【0063】

当業者なら、本開示に包含される疾患の治療に対し、多くの治療オプションが存在することを理解するであろう。例えば、抗癌療法には、化学療法、放射線療法、免疫療法または遺伝子療法、およびこれらの組み合わせが含まれる。化学療法は、特定の疾患の患者に投与される既存薬物療法を意味する。当業者なら、既存の治療オプションに対し、本開示に記載の化合物を加える価値を認識するであろう。既存治療オプションおよび本開示に記載の化合物の組み合わせは、本明細書記載の R a s 推進疾患において特別な価値を有するであろう。化学療法剤の例には、限定されないが、パクリタキセル（タキソール（登録商標））、ドセタキセル（タキソテール（登録商標））、シスプラチン、カルボプラチン（パラプラチン（登録商標））、ゲムシタピン塩酸塩（ジェムザール（登録商標））、ドキソルピシン塩酸塩、エトポシド（E t o p o p h o s（登録商標））、ペプシド（登録商標）、ペメトレキセド（アリムタ（登録商標））、トポテカン（ハイカムチン（登録商標））、ビンブラスチン（ベルベ（登録商標））、ビンデシン（エルディシン（登録商標））、ピノレルピン（ナベルピン（登録商標））、イホスファミド（ミトキサナ（登録商標））、およびマイトマイシンが含まれる。本明細書記載の非悪性疾患に対する化学療法剤の例には、限定されないが、酢酸グラチラマー（コパクソン）、メトホルミン（グルコファージ）、クロロキン、2 - デオキシグルコース、バルプロ酸ナトリウム、コレステロール、スタチン、およびクロピドグレル（プラビックス（登録商標））が含まれる。

【実施例】

【0064】

次の実施例は、本開示の R a s アンタゴニストの作製および使用方法を説明する。

【0065】

1. 実施例 1 : 5 - ( 2 - { [ ( 2 E , 6 E ) - 3 , 7 , 1 1 - トリメチルドデカ - 2 , 6 , 1 0 - トリエン - 1 - イル ] スルファニル } フェニル ) - 2 H - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラゾール ( 1 ) の調製

A . ステップ 1 ( A ) : 2 - ( ベンジルチオ ) ベンゾニトリルの調製

30 mL の無水ジメチルホルムアミド ( DMF ) 中に、2 - ニトロベンゼンニトリル ( 5 . 0 g , 3 3 . 7 5 m m o l ) を含む混合物を、氷水浴 ( 0 ) 中で冷却し、N<sub>2</sub> 雰囲気下に置いた。ベンジルメルカプタン ( 4 . 0 mL , 3 3 . 7 5 m m o l ) を加えて、続けて、水酸化カリウム水溶液 ( 3 . 4 0 g , 1 0 mL の水中の 6 0 . 7 5 m m o l ) を滴下した。反応混合物を 0 で 3 0 分間攪拌した後、室温に暖めた。4 時間後、薄層クロマトグラフィー ( T L C ) により反応が完了したと思われた。反応混合物に、氷水 ( 1 0 0 mL ) を加えた。溶液をジクロロメタン ( 2 0 0 mL ) で抽出し、ブライン ( 1 0 0 mL ) で洗浄した。有機層を硫酸ナトリウム ( Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ) 上で乾燥し、その後、減圧下で濃縮して、赤色オイルを得た。生成物をフラッシュシリカカラムクロマトグラフィーで精製した。ヘプタン中の 5 % 酢酸エチルを使って 8 0 g S i l i c y c l e ( 登録商標 ) フラッシュシリカカートリッジを通して溶出し、鮮黄色固体として標記化合物を得た ( 6 . 0 8 g , 8 0 % ) R<sub>f</sub> : 0 . 2 4 ( 9 5 : 5 v / v ヘプタン : 酢酸エチル ) ; <sup>1</sup>H - NMR ( 4 0 0 M H z ; C D C l<sub>3</sub> ) 7 . 6 2 ( d d , 1 H ) , 7 . 4 7 - 7 . 4 2 ( d t , 1 H ) , 7 . 3 8 ( d d , 1 H ) , 7 . 3 2 - 7 . 2 5 ( m , 6 H ) ; M S ( E S I - ) m / z : 2 2 4 . 1 ( M z - 1 ) .

【0066】

B . ステップ 1 ( B ) : 2 - メルカプトベンゾニトリルの調製

滴下ロートを備えた三ツ口丸底フラスコ中に、ベンゼン ( 4 0 mL ) を加えた。フラスコを N<sub>2</sub> 雰囲気下に置き、氷水浴 ( 0 ) 中で冷却した。このベンゼン溶液に塩化アルミ

10

20

30

40

50

ニウム (4.88 g、36.61 mmol) を加えた。ステップ 1 (A) からの 2 - (ベンジルチオ)ベンゾニトリル (5.0 g、22.19 mmol) のベンゼン (40 mL) 中溶液を滴下ポートに加えた。溶液を 40 分かけて滴下し、反応混合物を 0 で 1 時間攪拌後、室温で 4 8 時間攪拌した。粗製混合物を氷水 (200 mL) 中に注ぎ込み、30 分間攪拌することにより、反応の後処理を行った。10% NaOH (100 mL) 溶液を加え、混合物を 10 分間攪拌した。溶液に 6 N 塩酸 (HCl) を添加することにより酸性化した (pH = 2)。溶液を分液漏斗中に入れ、ジクロロメタン (3 x 100 mL) で抽出した。合わせた有機成分を Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 上で乾燥後、減圧下濃縮して、褐色オイルを得た。生成物をフラッシュシリカカラムクロマトグラフィーで精製した。ヘプタン中 5% 酢酸エチルを使って、80 g Silicycle (登録商標) フラッシュシリカカートリッジを通して溶出し、褐色オイルとして標記化合物を得た (2.55 g、85%) ; R<sub>f</sub> : 0.56 (70 : 30 v/v ヘプタン : 酢酸エチル) ; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz ; CDCl<sub>3</sub>) 7.52 (d、1H)、7.39 - 7.32 (m、2H)、7.19 - 7.14 (m、1H)、4.01 (s、1H) ; MS (ESI-) m/z : 134.05 (Mz - 1)。

【0067】

C. ステップ 1 (C) : 2 - (2H - テトラゾール - 5 - イル) ベンゼンチオールの調製

250 mL 丸底フラスコ中に、ステップ 1 (B) からの 2 -メルカプトベンゾニトリル (2.0 g、14.8 mmol)、続けて、無水 DMF (30 mL) を加えた。塩化アンモニウム (1.42 g、26.64 mmol) およびアジ化ナトリウム (1.73 g、26.64 mmol) を反応フラスコに加え、続けて、追加の 10 mL の DMF を加えた。反応混合物を N<sub>2</sub> 流中、105 に加熱し、一晚攪拌した。最初に室温に冷却することにより反応の後処理を行った。次に、溶液に 50 mL の 1 N HCl を加えて酸性化した。この溶液を酢酸エチル (2 x 100 mL) で抽出した後、ブライン (100 mL) で洗浄した。合わせた有機成分を Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 上で乾燥し、減圧下濃縮して、白色固形物を得た。ヘプタン/酢酸エチル (7 : 3、10 mL) 処理物を濾過して固形物を集め、白色固体として標記化合物を得た (1.21 g、46%) ; R<sub>f</sub> : 0.05 (95 : 5 v/v ジクロロメタン : メタノール) ; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz ; DMSO-d<sub>6</sub>) 7.91 (d、1H)、7.78 (d、1H)、7.64 - 7.50 (m、2H)、2.90 (s、1H)、2.78 (s、1H) ; MS (ESI-) m/z : 177.1 (Mz - 1)。

【0068】

D. ステップ 1 (D) : 5 - (2 - { [(2E, 6E) - 3, 7, 11 - トリメチルドデカ - 2, 6, 10 - トリエン - 1 - イル] スルファニル } フェニル) - 2H - 1, 2, 3, 4 - テトラゾール (1) の最終調製

シンレーションバイアル中に、ステップ 1 (C) からの 2 - (2H - テトラゾール - 5 - イル) ベンゼンチオール (0.150 g、0.842 mmol) を秤量して加えた。固体を 10 mL のアセトンと 1 mL の無水 DMF に溶解した。炭酸グアニジン (0.379 g、2.105 mmol) およびトランス、トランス - ファルネシルプロミド (0.24 mL、0.884 mmol) を反応フラスコに加えた。反応混合物を N<sub>2</sub> 流中で 40 に加熱し、一晚攪拌した。最初に室温に冷却することにより、反応の後処理を行った。反応混合物をジクロロメタン (100 mL) で希釈後、1 N HCl (50 mL) で洗浄した。次に、有機成分をブライン (100 mL) で洗浄し、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 上で乾燥後、減圧下濃縮して、粗製オイルを得た。生成物をフラッシュシリカカラムクロマトグラフィーで精製した。ヘプタン中の (5 ~ 15%) 酢酸エチルを使って 12 g Silicycle (登録商標) フラッシュシリカカートリッジを通して溶出し、オイルとして標記化合物を得た (32.5 mg、10%) ; R<sub>f</sub> : 0.64 (50 : 50 v/v ヘプタン : 酢酸エチル) ; C<sub>22</sub>H<sub>30</sub>N<sub>4</sub>S<sub>1</sub> 分子量 : 382.57 g/mol、<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz ; CDCl<sub>3</sub>) 7.72 (d、1H)、7.55 (t、1H)、7.40 (t

10

20

30

40

50

、 1 H)、 7.30 (d、 1 H)、 5.20 (t、 1 H)、 5.10 (t、 1 H)、 5.05 (t、 1 H)、 4.81 (d、 2 H)、 2.10 - 1.95 (m、 8 H)、 1.71 (s、 3 H)、 1.62 - 1.55 (m、 6 H)、 1.43 (s、 3 H); MS (APCI+) m/z : 383.2、 765、 4 (Mz + 1、 2Mz + 1)。

【0069】

2. 実施例 2 : 2 - メチル - 5 - ( 2 - { [ ( 2 E , 6 E ) - 3 , 7 , 1 1 - トリメチルドデカ - 2 , 6 , 1 0 - トリエン - 1 - イル ] スルファニル } フェニル ) - 2 H - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラゾールおよび 1 - メチル - 5 - ( 2 - { [ ( 2 E , 6 E ) - 3 , 7 , 1 1 - トリメチルドデカ - 2 , 6 , 1 0 - trien - 1 - イル ] スルファニル } フェニル) - 1 H - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラゾール ( 2 ) の調製

シンチレーションバイアル中に、水素化ナトリウム (ミネラルオイル中 60% 分散液、5.0 mg) を量り取った。無水 DMF (1 mL)、続けて、ヨードメタン (0.01 mL) を加えた。反応混合物を 5 分攪拌後、ステップ 1 (D) からの化合物 (1) (0.040 g、0.105 mmol) を DMF (2 mL) 中溶液として滴下した。反応混合物を室温で 1 時間攪拌し、この時点で、TLC により反応が完了していると判断した。水 (6 mL) の添加により反応の終了処理をした。この溶液を酢酸エチル (50 mL) で抽出後、硫酸マグネシウム (MgSO<sub>4</sub>) 上で乾燥し、濃縮して粗製オイルを得た。生成物をフラッシュシリカカラムクロマトグラフィーで精製した。ヘプタン中 (2 ~ 20%) 酢酸エチル勾配を使って 12 g Silicycle (登録商標) フラッシュシリカカートリッジを通して溶出し、無色オイルとして標記化合物を得た (15.6 mg、38%)。C<sub>23</sub>H<sub>33</sub>N<sub>4</sub>S<sub>1</sub> 分子量 : 397.60 g/mol、R<sub>f</sub> : 0.68 (50 : 50 v/v ヘプタン : 酢酸エチル); MS (APCI+) m/z : 397.1 (Mz)。<sup>1</sup>H NMR は、生成物の形成 (N-CH<sub>3</sub>) が認められた混合画分について測定した。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 3.85 (s、3 H)。

【0070】

3. 実施例 3 : 3 - { [ ( 2 E , 6 E ) - 3 , 7 , 1 1 - トリメチルドデカ - 2 , 6 , 1 0 - トリエン - 1 - イル ] スルファニル } チオフェン - 2 - カルボン酸 ( 3 ) の調製

3 - スルフェニル - 2 - チオフェンカルボン酸 (50 mg、0.31 mmol) をアセトン (5 mL) 中に溶解した。室温で炭酸グアニジン (66 mg、0.38 mmol) を加え、続けて、トランス、トランス - ファルネシルプロミド (88.5 mg、0.31 mmol) を滴下し、混合物を一晩攪拌した。反応混合物を留去し、クロロホルム (20 mL) 中に懸濁させた後、2 N HCl で酸性化した。反応混合物を水 (10 mL)、続けて、ブラインで洗浄した。反応混合物を 5 g の飽和 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 上で乾燥し、濾過後、濾液を減圧下留去した。粗製反応混合物を 30 : 70 の酢酸エチル : ヘキサンを使って、順相シリカゲルカラム (2 cm x 31 cm) で精製した。最初に 100 mL の画分をエルレンマイヤーフラスコに集め、その後、7 mL の画分を集めた。全ての画分を TLC で調べた。純粋な生成物を含む画分を合わせて、留去した。収率 : 58 mg (50.9%)、R<sub>f</sub> : 0.47 (40 : 60 酢酸エチル : ヘキサン); C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub>、分子量 : 364.6 g/mol、ES/M-H<sup>+</sup> : 363、UV m<sub>ax</sub> : 268、314 nm。

【0071】

4. 実施例 4 : エチル 5 - { [ ( 2 E , 6 E ) - 3 , 7 , 1 1 - トリメチルドデカ - 2 , 6 , 1 0 - トリエン - 1 - イル ] スルファニル } - 1 , 2 , 3 - チアジアゾール - 4 - カルボキシラート ( 4 ) の調製

エチル - 5 - メルカプト - 1 , 2 , 3 - チアジアゾール - 4 - カルボキシラート (50 mg、0.26 mmol) をアセトン (5 mL) に溶解した。室温で炭酸グアニジン (56 mg、0.31 mmol) を加え、続けて、トランス、トランス - ファルネシルプロミド (71 mg、0.31 mmol) を滴下し、混合物を一晩攪拌した。反応混合物を留去し、クロロホルム (20 mL) 中に懸濁した後、2 N HCl で酸性化した。反応混合物を

水 ( 1 0 m L )、続けて、ブライン ( 2 0 m L ) で洗浄した。反応混合物を 5 g の飽和  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  上で乾燥後、濾過し、濾液を減圧下留去した。粗製反応混合物を 5 : 9 5 アセトン : ヘキサンを使って、順相シリカゲルカラム ( 2 c m x 3 5 c m ) で精製した。最初の 1 0 0 m L の画分をエルレンマイヤーフラスコに集め、その後、7 m L の画分を集めた。全画分を T L C で調べた。純粋な生成物の画分を合わせて、留去した。収率 : 4 1 m g ( 3 9 . 4 % )、 $R_f$  : 0 . 5 1 ( 1 0 : 9 0 酢酸エチル : ヘキサン ) ;  $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2$  分子量 : 3 9 4 . 6 g / m o l、A P C / M H + : 3 9 4 . 9、U V m a x : 3 0 3 n m。

【 0 0 7 2 】

5 . 実施例 5 : 2 - ( 2 - { [ ( 2 E , 6 E ) - 3 , 7 , 1 1 - トリメチルドデカ - 2 , 6 , 1 0 - トリエン - 1 - イル ] スルファニル } フェニル ) - 4 , 5 - ジヒドロ - 1 H - イミダゾール ( 5 ) の調製

2 - ( 4 , 5 - ジヒドロ - 1 H - イミダゾール - 2 - イル ) ベンゼンチオール ( 5 0 m g、0 . 2 8 m m o l ) をアセトン ( 6 m L ) に溶解した。室温で炭酸グアニジン ( 5 8 . 6 m g、0 . 3 2 m m o l ) を加え、続けて、トランス、トランス - ファルネシルプロミド ( 7 5 . 6 m g、0 . 2 8 m m o l ) を滴下し、混合物を一晩攪拌した。反応混合物を留去し、クロロホルム ( 2 0 m L ) 中に懸濁して、2 N H C l で酸性化した。反応混合物を水 ( 1 0 m L )、続けて、ブライン ( 2 0 m L ) で洗浄した。反応混合物を 5 g の飽和  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  上で乾燥し、濾過して、濾液を減圧下留去した。粗製反応混合物を 1 0 : 9 0 エタノール : 酢酸エチルを使って、順相シリカゲルカラム ( 2 c m x 3 1 c m ) で精製した。最初の 1 0 0 m L の画分をエルレンマイヤーフラスコに集め、続けて、7 m L の画分を集めた。溶媒勾配を徐々に 5 0 : 5 0 エタノール : 酢酸エチルにまで増加させた。全画分を T L C で調べた。純粋な生成物を有する画分を合わせて、留去した。収率 : 4 0 m g ( 3 7 . 2 % )、 $R_f$  : 0 . 4 ( 8 5 : 1 5 : 2 クロロホルム : メタノール : 水 )。

【 0 0 7 3 】

6 . 実施例 6 : U 8 7 M G および P A N C - 1 細胞増殖の抑制

本発明の化合物の細胞増殖を抑制する能力が、当業者に既知の標準的アッセイで実証され、簡単に次の段落で記載される。

【 0 0 7 4 】

A . ステップ 6 ( A ) : 細胞培養

成体神経膠芽細胞腫細胞株 U 8 7 M G を市販ソース ( A T C C ) から入手した。膵臓癌細胞株 P A N C - 1 を近くの研究室 ( I n d i a n a U n i v e r s i t y ) から入手した。両細胞株を 1 0 % 胎仔ウシ血清 ( F B S ) を含むイスコフ改変ダルベッコ培地中、3 7 °C および 5 %  $\text{CO}_2$  下で成長させた。

【 0 0 7 5 】

B . ステップ 6 ( B ) : 試料調製

上記で示し説明した化合物の ( 1 )、( 2 )、( 3 )、( 4 )、および ( 5 ) のそれぞれをエタノール中に 1 0 m g / m L の濃度で溶解した。測定用の溶液の一部をピペットで微量遠心機チューブに採取した。その後、S p e e d V a c ( 登録商標 ) を使って各チューブからエタノールを留去し、チューブ中に化合物のみを残した。適切な量のクロロホルムをチューブに加えて 0 . 1 M 濃度とした。この溶液を暗所で氷上に置き、1 0 - および 2 0 -  $\mu\text{L}$  の一定分量を 1 . 5 m L 微量遠心機チューブ中にピペットで採取した。この溶液を、蓋を密閉し、チューブをアルミ箔で覆って、8 0 °C で凍結した。

【 0 0 7 6 】

細胞の処理の前に、試験化合物のチューブをフリーザーから取り出し、バイオセーフティフード内に入れ、チューブ中のクロロホルムを留去した。その後、ジメチルスルホキシド ( D M S O ) をチューブに加え、実験に使用する正確な濃度にした ( 0 . 1 M ストック )。チューブをボルテックスし、1 0 % F B S を含む温かい培地を徐々に加えて、実験で使う正確な作業濃度にした。処理のために、化合物を各ウェルに直接加えた。

10

20

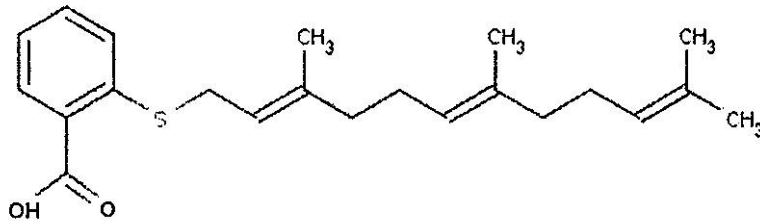
30

40

50

## 【0077】

参照用として、類似のファルネシル - チオサリチル酸 (F T S) (下記) の試料を調製した。F T S は、K l o o g の米国特許第 5 , 7 0 5 , 5 2 8 号の主題である。



10

## 【0078】

## C. ステップ 6 (C) : U 8 7 M G 細胞に対する細胞増殖アッセイ

U 8 7 M G 細胞を 5 0 0 0 細胞 / ウエルで 2 4 ウエルプレートに播種し、無血清培地中、37 °C で一晩インキュベートした。翌日、それらを、5 0 および 1 0 0 μ M の各試験化合物 ( 1 )、( 2 )、( 3 )、( 4 )、および ( 5 ) ならびに参照化合物 F T S で 3 回ずつ処理した。5 日後、細胞をトリプシン処理し ( 0 . 5 % )、トリパンブルーで染色して計数し、細胞数 / ウエルを求めた。I C <sub>50</sub> 値を、MiraiBio Group、Hitachi Solutions America、Ltd. 製の Multiplex Reader - Fit ソフトウェアを使って計算した。典型的な実験では、対照ウエルは、平均 1 3 8 , 0 0 0 細胞であった。結果を図 1 に示す。5 0 μ M の試験化合物は、対象に比べて、次記の U 8 7 M G 細胞増殖を許容した : 化合物 ( 1 ) 3 7 %、化合物 ( 2 ) 1 8 %、化合物 ( 3 ) 1 0 %、化合物 ( 4 ) 4 0 %、および化合物 ( 5 ) 0 %。5 0 μ M の参照化合物 F T S は、対象に比べ、7 % の細胞増殖を許容した。

20

## 【0079】

図 1 で細胞増殖を最も抑制した化合物の ( 3 ) および ( 5 ) をさらに評価するために、より多くの U 8 7 M G 細胞を 5 0 0 0 細胞 / ウエルで 2 4 ウエルプレートに播種し、無血清培地中、37 °C で一晩インキュベートした。翌朝、細胞を 5 % の血清を含む培地中、標準的濃度の 6 . 2 5、1 2 . 5、2 5、および 5 0 μ M の各試験化合物 ( 3 ) および ( 5 ) ならびに参照化合物 F T S で 3 回ずつ処理した。処理の 5 日後、細胞をトリプシン処理 ( 0 . 5 % ) し、トリパンブルーで染色した。細胞数 / ウエルを測定するために細胞を計数した。MiraiBio Group、Hitachi Solutions America、Ltd. 製の Multiplex Reader - Fit ソフトウェアを使って、再度、I C <sub>50</sub> 値を計算した。典型的な実験では、対照ウエルは、平均 5 6 , 0 0 0 細胞であった。結果を図 2 に示す。2 5 μ M の試験化合物は、対照と比較して、次記の U 8 7 M G 細胞増殖を許容した : 化合物 ( 3 ) 6 9 % および化合物 ( 5 ) 0 %。2 5 μ M の参照化合物 F T S は、対照と比較して、5 0 % を越える細胞増殖を許容した。

30

## 【0080】

上記で使った化合物 ( 5 ) の用量は、全ての細胞を死滅させたので、化合物 ( 5 ) のさらに低い用量を使って、再度、用量曲線を作成した。U 8 7 M G 細胞を 5 0 0 0 細胞 / ウエルで 2 4 ウエルプレートに播種し、無血清培地中、37 °C で一晩インキュベートした。細胞を、6 . 2 5、1 2 . 5、2 5、および 5 0 μ M の参照化合物 F T S ならびに 0 . 3 1 2 5、0 . 6 2 5、1 . 2 5、2 . 5、および 5 . 0 μ M の試験化合物 ( 5 ) で 3 回ずつ、5 % 血清を含む培地中で 5 日間処理した。次に、細胞をトリプシン処理し ( 0 . 5 % )、トリパンブルーで染色して、細胞数 / 各ウエルを測定した。MiraiBio Group、Hitachi Solutions America、Ltd. 製の Multiplex Reader - Fit ソフトウェアを使って、再度、I C <sub>50</sub> 値を計算した。典型的な実験では、対照のウエルは、平均 5 8 , 0 0 0 細胞であった。結果を図 2 に示す。2 . 5 μ M の試験化合物 ( 5 ) は、対照と比較して、5 6 % の U 8 7 M G 細胞増殖を許容した。6 . 2 5 μ M のより高い用量であっても、参照化合物 F T S は、対照と比較して

40

50

、80%を越える細胞増殖を許容した。

【0081】

D. ステップ6(D): PANC-1細胞に対する細胞増殖アッセイ

細胞を7500細胞/ウエルで24ウエルプレートに播種し、無血清培地中、37で一晩インキュベートして、PANC-1細胞に対するIC<sub>50</sub>値を測定した。細胞を標準的濃度の6.25、12.5、25、50、および100μM、ならびに、必要に応じ、5%血清を含む培地中で0.625、1.25、2.5および5.0μMの各試験化合物(3)および(5)ならびに参照化合物FTSで3回ずつ、5日間処理した。その後、細胞をトリパンブルーで染色し、細胞数/各ウエルを測定した。MiraiBio Group、Hitachi Solutions America, Ltd.製のMultiplex Reader-Fitソフトウェアを使って、再度、IC<sub>50</sub>値を計算した。典型的な実験では、対照のウエルは、平均32,500細胞であった。結果を図3に示す。12.5μMでの試験化合物(3)は、対照と比較して、41%のPANC-1細胞増殖を許容し、1.25μMの試験化合物(5)は、対照と比較して、56%のPANC-1細胞増殖を許容した。12.5μMであっても、参照化合物FTSは、対照と比較して、80%を越える細胞増殖を許容した。

10

【0082】

7. 実施例7: ヒト造血性前駆細胞毒性

臍帯血低密度細胞を1mLの完全メチルセルロース培地中、各試験化合物(3)および(5)の存在下、1×10<sup>5</sup>細胞/プレートで播種し、CO<sub>2</sub>インキュベーター中で12日間インキュベートした。コロニー形成単位-顆粒球(CFU-GM)、バースト形成単位-赤血球の(BFU-E)、および混合コロニーを倒立顕微鏡下で計数した。試験化合物を、前にU87MG細胞で測定したIC<sub>50</sub>およびIC<sub>0.5</sub>値、すなわち、化合物(3)では25および2.5μM、ならびに化合物(5)では2.5および0.25μMを使用した。試験化合物は、造血性前駆細胞に対し毒性ではなかった。

20

【0083】

8. 実施例8: マスト細胞でのRas活性化および細胞増殖

精製NF-1+/マスト細胞集団を、10~15μMの濃度の対照または化合物(5)の存在下、最大刺激濃度の幹細胞因子(SCF)で刺激した。ウェスタンブロット分析を使って、3分後に活性化GTP結合型Ras(Ras-GTP)を測定した。結果を図4Aに示す。この図は、対照と比較して、化合物(5)が顕著にRas-GTPのレベルを減らすことを示す。平行して行った実験で、0~12.5μMの濃度の対照または化合物(5)の存在下、3Hチミジン取り込みを使って、SCF刺激24時間後にマスト細胞増殖を測定した。結果を図4Bに示す。この図は、対照と比較して、化合物(5)がマスト細胞増殖を低減したことを示す。図4B中の各アスタリスクは、対照に対し分散分析による統計的差異があることを表す(Yang, Feng-Chun, et al. J Clin Invest 2003, 112(12), 1851-1861; Yang, Feng-Chun, et al. Hum Mol Genet 2006, 15(11), 1921-1930)。

30

【0084】

9. 実施例9: シュワン細胞でのRas活性化および細胞増殖

遺伝子操作マウス中の蔓状神経線維腫(Zhu, Y. et al., Science, May 2002, 3; 296(5569): 920-922)から単離された精製NF-1-/S100+シュワン細胞集団を、2.5~5μMの濃度の対照または化合物(3)の存在下、最大刺激濃度の血小板由来増殖因子(PDGF)で刺激した。3分後、ウェスタンブロット分析を使って、Ras-GTPを測定した。結果を図5Aに示す。この図は、対照と比較して、化合物(3)が、Ras-GTPのレベルを顕著に低減したことを示す。平行して行った実験で、25~50μMの濃度の対照または化合物(3)の存在下でのPDGF刺激の24時間後に、シュワン細胞増殖を可視分光法を使って測定した。結果を図5Bに示す。この図は、対照と比較して、化合物(3)が、シュワン細胞増殖

40

50

を低減したことを示す。図5B中の各アスタリスクは、対照に対し分散分析による統計的差異があることを表す(Yang、Feng - Chun、et . al . J Clin Invest 2003、112(12)、1851 - 1861; Yang、Feng - Chun、et . al . Hum Mol Genet 2006、15(11)、1921 - 1930)。

【0085】

本明細書で開示の化合物が、複数のNF - 1続発症の病因の中核をなすRas活性化、および腫瘍化細胞の増殖を制限することを示してきた。腫瘍化細胞の増殖を制限することにより、本明細書で開示の化合物は、このようなNF - 1続発症を制限できる。

【0086】

本開示の好ましいRasアンタゴニストは、化合物(3)および(5)を含む。特に好ましいRasアンタゴニストは、化合物(5)である。本開示で有用な他のRasアンタゴニストは、国際公開第98/38509号パンフレットに記載の無細胞膜アッセイおよび細胞アッセイを使って特定できる。この特許の開示は、参照によりその全体が明示的に本明細書に組み込まれる。この特許公告は、候補薬剤の、活性化Rasをその膜から取り外す能力を判定するように設計されたいくつかのアッセイ系を記載している。一般的には、既知の、検出可能な量の膜に係留されたRasを有する特定の膜を含むアッセイ材料が、候補薬剤に暴露される。次に、アッセイ材料は、膜を含む膜画分および特定の膜が除去された後に残されている材料のバランス分のサイトゾル画分に分離される。膜およびサイトゾル画分中に含まれる既知の量の標識Rasの画分が、Rasの膜会合を破壊する候補薬剤の能力の尺度として測定される。活性化Ras係留膜の特に使いやすいソースは、PANC - 1細胞などのRas形質転換癌細胞から単離された膜である。

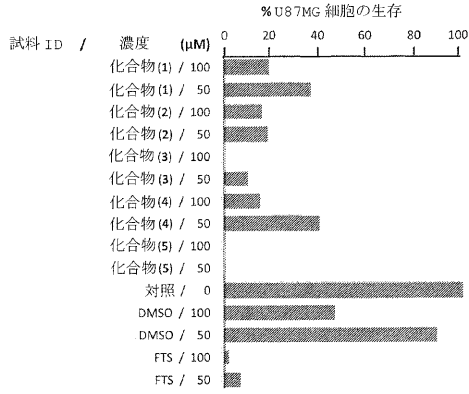
【0087】

本発明は、代表的なデザインを持つものとして記載されてきたが、本発明は、本開示の趣旨および範囲内でさらに修正可能である。従って、本出願は、その一般的原理を使った全ての本発明の変化、使用、または適応を包含することが意図されている。さらに、本出願では、本発明が関係し、添付請求項の制限内に入る当技術分野における既知のまたは通常の実施範囲内に入るような本開示からの乖離を包含することも意図されている。

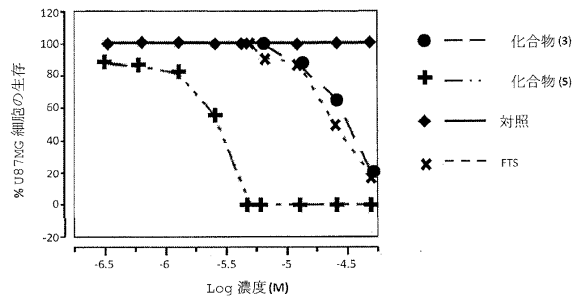
10

20

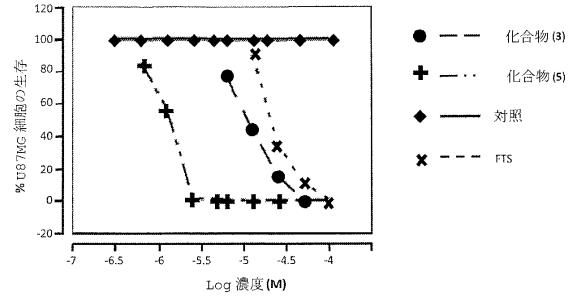
【 図 1 】



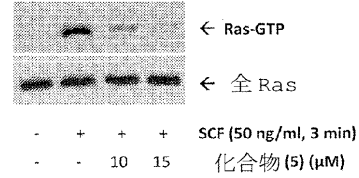
【 図 2 】



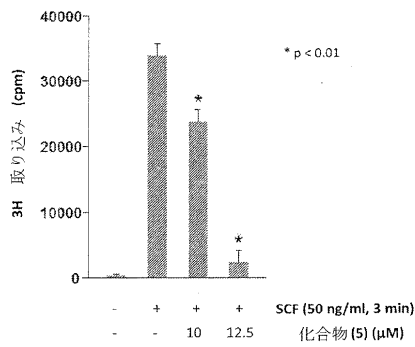
【 図 3 】



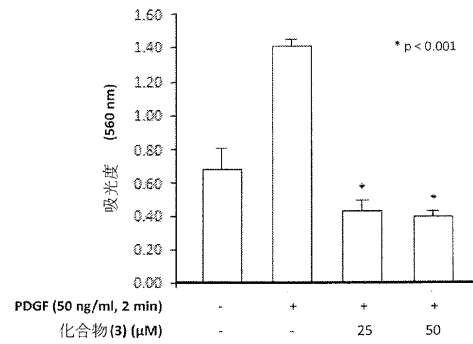
【 図 4 A 】



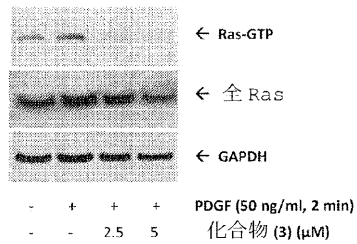
【 図 4 B 】



【 図 5 B 】



【 図 5 A 】



## フロントページの続き

| (51)Int.Cl. |                   | F I     |             |
|-------------|-------------------|---------|-------------|
| C 0 7 D     | 333/40 (2006.01)  | C 0 7 D | 333/40      |
| A 6 1 K     | 31/381 (2006.01)  | A 6 1 K | 31/381      |
| A 6 1 K     | 31/41 (2006.01)   | A 6 1 K | 31/41       |
| A 6 1 K     | 31/4164 (2006.01) | A 6 1 K | 31/4164     |
| A 6 1 K     | 31/433 (2006.01)  | A 6 1 K | 31/433      |
| A 6 1 K     | 31/505 (2006.01)  | A 6 1 K | 31/505      |
| A 6 1 P     | 3/10 (2006.01)    | A 6 1 P | 3/10        |
| A 6 1 P     | 9/10 (2006.01)    | A 6 1 P | 9/10 1 0 1  |
| A 6 1 P     | 19/04 (2006.01)   | A 6 1 P | 19/04       |
| 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       |
| A 6 1 P     | 37/06 (2006.01)   | A 6 1 P | 37/06       |
| A 6 1 P     | 43/00 (2006.01)   | A 6 1 P | 43/00 1 1 1 |

(72)発明者 ウィケル, ジェームズ エイチ ジュニア  
 アメリカ合衆国 インディアナ州 4 6 1 4 3 グリーンウッド ウォーターズ エッジ ウェイ  
 4 6 2 6

(72)発明者 ブラウンスタイン, マイケル ジェイ  
 アメリカ合衆国 メリーランド州 2 0 8 5 2 ロックヴィル オールド ファーム レイン 6  
 5 1 5

審査官 小堀 麻子

(56)参考文献 国際公開第 2 0 0 9 / 0 4 8 5 4 1 (WO, A 1)  
 国際公開第 2 0 0 6 / 0 2 3 6 3 9 (WO, A 1)  
 国際公開第 9 8 / 0 1 7 6 2 9 (WO, A 1)  
 Biochemical Pharmacology, 2 0 0 5 年, Vol.70, p.1735-1743  
 J Clin Invest, 2 0 0 7 年, Vol.117, No.5, p.1223-1225  
 Tetrahedron, 1 9 9 7 年, Vol.53, No.29, p.10041-10050  
 Mol Cell Biol, 2 0 0 1 年, Vol.21, No.8, p.2650-2658

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)  
 A 6 1 K 3 1 / 0 0  
 C A p l u s / R E G I S T R Y ( S T N )