



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 공개특허공보(A)**

(11) 공개번호 10-2007-0089795  
 (43) 공개일자 2007년09월03일

(51) Int. Cl.

C07F 9/36 (2006.01) C07F 9/44 (2006.01)  
 C07F 9/26 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2007-7012351

(22) 출원일자 2007년05월31일

심사청구일자 없음

번역문제출일자 2007년05월31일

(86) 국제출원번호 PCT/US2005/042693

국제출원일자 2005년11월23일

(87) 국제공개번호 WO 2006/068769

국제공개일자 2006년06월29일

(30) 우선권주장

11/018,391 2004년12월21일 미국(US)

(71) 출원인

**텔리크 인코포레이티드**

미국 94304 캘리포니아 팔로 알토 포터 드라이브 3165

(72) 발명자

**블랑제 윌리엄 에이**

미국 61853 일리노이주 마호메트 사이프러스 푸앙트 코트 1805

**콜리어 스티븐 제이**

싱가포르 248474 탕글린 파크 리들리 파크 3씨 넘버02-04

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

**특허법인코리아나**

전체 청구항 수 : 총 49 항

(54) 칸포스파미드 및 그의 염의 제조 방법 및 중간체, 일부중간체를 함유하는 약제학적 조성물, 및 항암제로서의 그들의 용도

**(57) 요약**

일부 중간체를 함유하는 칸포스파미드 및 그의 염, 약제학적 성분의 제조에서 과정 및 중간체, 및 항암제로서의 그들의 용도

(72) 발명자

**이스트햄 스티븐 에이**

미국 12148 뉴욕주 렉스포드 블루 제이 웨이 54

**에디 데니스 엘**

미국 12054 뉴욕주 델마 웨이크필드 코트 48

**게벨 로날 와이**

프랑스 에프-69100 비위르반느 튀 플라슈 36

**헤르난데스 아바드 페드로 이**

미국 00714 아로요 파세오 팔마스 1300 박스  
넘버60

**헤르 제이슨 알**

미국 12186 뉴욕주 부히즈빌 사우스 뉴 세일럼 248

**키아에르스고르 한스 제이**

덴마크 디케이-3520 파룸 루그마르켄 28

**맥클러 해롤드**

미국 12054 뉴욕주 델마 프레스톤 로드 45

**폴롭스키 로버트 이**

미국 12061 뉴욕주 이스트 그린부쉬 스프루스 런 9

**쇼우 스티븐 알**

미국 94065 캘리포니아주 레드우드 시티 멘도시노  
웨이 204

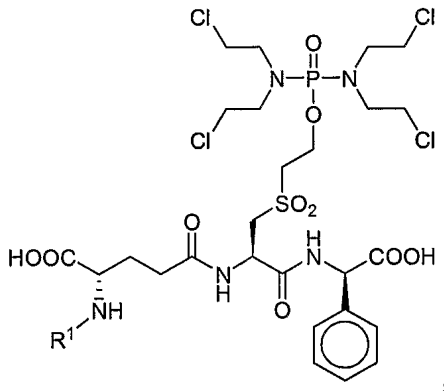
**지크킨 파벨 이**

미국 12110 뉴욕주 래섬 래섬 빌리지 21 아파트먼  
트6

**특허청구의 범위**

**청구항 1**

하기 화학식의 화합물:



[식 중,  $R^1$  은 아민-보호기임]

또는 그의 염.

**청구항 2**

제 1 항에 있어서,  $R^1$  이 촉매작용으로 제거가능한 아민-보호기인 화합물.

**청구항 3**

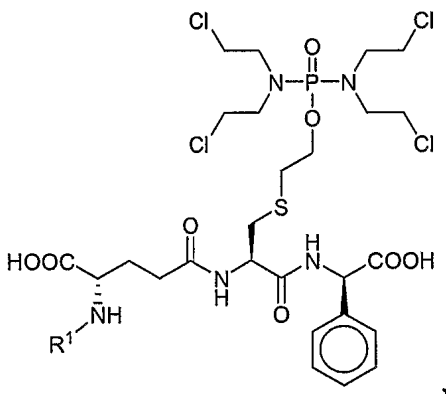
제 2 항에 있어서,  $R^1$  이 (임의 치환 벤질)옥시카르보닐 또는 (임의 치환 알릴)옥시카르보닐인 화합물.

**청구항 4**

제 3 항에 있어서,  $R^1$  이 벤질옥시카르보닐인 화합물.

**청구항 5**

하기 화학식의 화합물:



[식 중,  $R^1$  은 아민-보호기임]

또는 그의 염.

**청구항 6**

제 5 항에 있어서,  $R^1$  이 촉매작용으로 제거가능한 아민-보호기인 화합물.

**청구항 7**

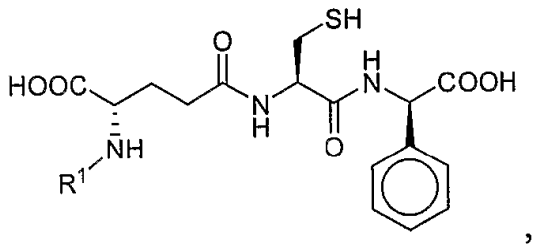
제 6 항에 있어서,  $R^1$  이 (임의 치환 벤질)옥시카르보닐 또는 (임의 치환 알릴)옥시카르보닐인 화합물.

**청구항 8**

제 7 항에 있어서,  $R^1$  이 벤질옥시카르보닐인 화합물.

**청구항 9**

하기 화학식의 화합물:



[식 중,  $R^1$  은 아민-보호기임]

또는 그의 염.

**청구항 10**

제 9 항에 있어서,  $R^1$  이 촉매작용으로 제거가능한 아민-보호기인 화합물.

**청구항 11**

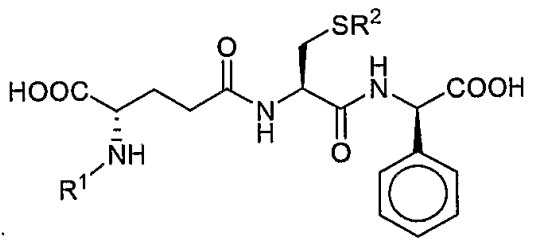
제 10 항에 있어서,  $R^1$  이 (임의 치환 벤질)옥시카르보닐 또는 (임의 치환 알릴)옥시카르보닐인 화합물.

**청구항 12**

제 11 항에 있어서,  $R^1$  이 벤질옥시카르보닐인 화합물.

**청구항 13**

하기 화학식의 화합물:



[식 중,  $R^1$  은 아민-보호기이고 및  $R^2$  은 황-보호기임]

또는 그의 염.

**청구항 14**

제 13 항에 있어서,  $R^1$  이 촉매작용으로 제거가능한 아민-보호기인 화합물.

**청구항 15**

제 14 항에 있어서,  $R^1$  이 (임의 치환 벤질)옥시카르보닐 또는 (임의 치환 알릴)옥시카르보닐인 화합물.

**청구항 16**

제 13 항에 있어서,  $R^2$  가 산분해작용으로 제거가능한 황-보호기인 화합물.

**청구항 17**

제 16 항에 있어서,  $R^2$  가 (임의 치환 페닐)-치환 메틸인 화합물.

**청구항 18**

제 13 항에 있어서,  $R^1$  이 벤질옥시카르보닐이고 및  $R^2$  가 트리페닐메틸인 화합물.

**청구항 19**

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항의 화합물의 탈보호, 임의적으로 이어서 칸포스파미드의 염의 형성을 포함하는 칸포스파미드 또는 그의 염의 제조 방법.

**청구항 20**

제 19 항에 있어서, 탈보호가 촉매적 환원 또는 이성질화를 포함하는 제조 방법.

**청구항 21**

제 20 항에 있어서, 탈보호가 탄소 상 팔라듐 존재 하에 수소와의 반응을 포함하는 제조 방법.

**청구항 22**

제 21 항에 있어서, 반응이 물의 존재 하에 이소프로필 아세테이트내에서 수행되는 제조 방법.

**청구항 23**

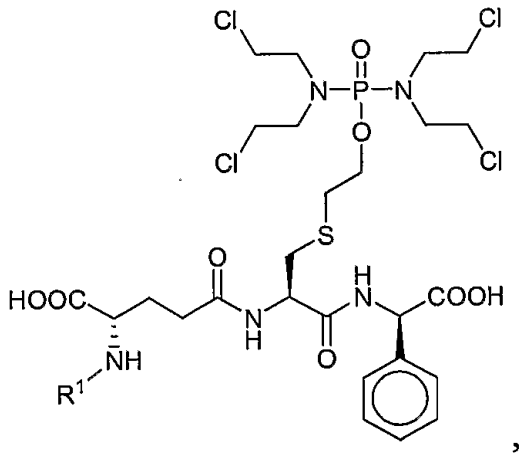
제 19 항에 있어서, 칸포스파미드의 히드로클로리드 염이 염화수소 가스의 첨가로 형성되는 제조 방법.

**청구항 24**

제 23 항에 있어서, 염화수소 가스의 첨가 후에 추가로 메틸 $tert$ -부틸 에테르의 첨가를 포함하는 제조 방법.

**청구항 25**

하기 화학식의 화합물의 산화를 포함하는, 제 1 항의 화합물의 제조 방법:



[식 중, R<sup>1</sup> 은 아민-보호기임].

**청구항 26**

제 25 항에 있어서, R<sup>1</sup> 이 촉매작용으로 제거가능한 아민-보호기인 제조 방법.

**청구항 27**

제 26 항에 있어서, R<sup>1</sup> 이 (임의 치환 벤질)옥시카르보닐 또는 (임의 치환 알틸)옥시카르보닐인 화합물.

**청구항 28**

제 27 항에 있어서, R<sup>1</sup> 이 벤질옥시카르보닐인 화합물.

**청구항 29**

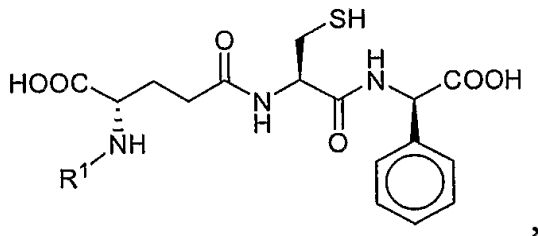
제 25 항 내지 제 28 항 중 어느 한 항에 있어서, 산화가 퍼슬페이트와의 반응을 포함하는 제조 방법.

**청구항 30**

제 29 항에 있어서, 퍼슬페이트가 2KHSO<sub>5</sub>.KHSO<sub>4</sub>.K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 인 제조 방법.

**청구항 31**

임기 조건 하에 하기 화학식의 화합물의 2-(A-술포닐옥시)에틸 N,N,N',N'-테트라키스(2-클로로에틸)포스포로디아미데이트와의 반응을 포함하는, 제 5 항의 화합물의 제조 방법:



[식 중, R<sup>1</sup> 은 아민-보호기임].

**청구항 32**

제 31 항에 있어서, R<sup>1</sup> 이 촉매작용으로 제거가능한 아민-보호기인 제조 방법.

**청구항 33**

제 32 항에 있어서, R<sup>1</sup> 이 (임의 치환 벤질)옥시카르보닐 또는 (임의 치환 알릴)옥시카르보닐인 제조 방법.

**청구항 34**

제 33 항에 있어서, R<sup>1</sup> 이 벤질옥시카르보닐인 제조 방법.

**청구항 35**

제 31 항에 있어서, 2-(A-술포닐옥시)에틸 N,N,N',N'-테트라키스(2-클로로에틸)포스포로디아미데이트가 2-((임의 치환)-벤젠술포닐옥시)에틸 N,N,N',N'-테트라키스(2-클로로에틸)포스포로디아미데이트인 제조 방법.

**청구항 36**

제 35 항에 있어서, 2-((임의 치환)-벤젠술포닐옥시)에틸 N,N,N',N'-테트라키스(2-클로로에틸)포스포로디아미데이트가 2-(4-브로모벤젠술포닐옥시)에틸 N,N,N',N'-테트라키스(2-클로로에틸)포스포로디아미데이트인 제조 방법.

**청구항 37**

제 31 항에 있어서, 2-(A-술포닐옥시)에틸 N,N,N',N'-테트라키스(2-클로로에틸)포스포로디아미데이트가 초과량으로 사용되는 제조 방법.

**청구항 38**

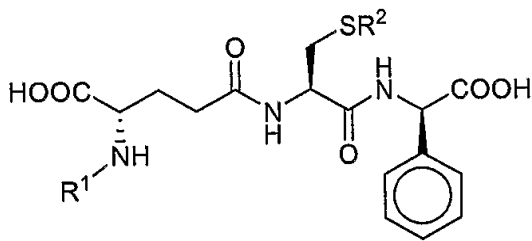
제 37 항에 있어서, 2-(A-술포닐옥시)에틸 N,N,N',N'-테트라키스(2-클로로에틸)포스포로디아미데이트가 2배 초과량 이상으로 사용되는 제조 방법.

**청구항 39**

제 31 항 내지 제 38 항 중 어느 한 항에 있어서, 염기 조건이 C<sub>1-6</sub> 알칸올 내의 알칼리 금속 히드록시드를 포함하는 제조 방법.

**청구항 40**

하기 화학식의 화합물의 황원자의 탈보호를 포함하는, 제 9 항의 화합물의 제조 방법:



[식 중, R<sup>1</sup> 은 아민-보호기이고, 및 R<sup>2</sup> 은 황-보호기임].

**청구항 41**

제 40 항에 있어서, R<sup>1</sup> 이 촉매작용으로 제거가능한 아민-보호기이고, 및 R<sup>2</sup> 가 산분해작용으로 제거가능한 황-보호기인 제조 방법.

**청구항 42**

제 41 항에 있어서, R<sup>1</sup> 이 (임의 치환 벤질)옥시카르보닐 또는 (임의 치환 알릴)옥시카르보닐인 화합물.

**청구항 43**

제 40 항에 있어서, R<sup>2</sup> 가 (임의 치환 페닐)-치환 메틸인 화합물.

**청구항 44**

제 40 항에 있어서, R<sup>1</sup> 이 벤질옥시카르보닐이고 및 R<sup>2</sup> 가 트리페닐메틸인 화합물.

**청구항 45**

제 40 항 내지 제 44 항 중 어느 한 항에 있어서, 탈보호가 산 및 실란과의 반응을 포함하는 제조 방법.

**청구항 46**

제 45 항에 있어서, 탈보호가 트리플루오로아세트산 및 폴리(메틸히드로실록산)과의 반응을 포함하는 제조 방법.

**청구항 47**

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항의 화합물을 포함하는 약제학적 조성물.

**청구항 48**

암의 치료용 의약품의 제조를 위한 제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항의 화합물의 용도.

**청구항 49**

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항의 화합물을 포유류에 투여하는 것을 포함하는 포유류에서의 암 치료 방법.

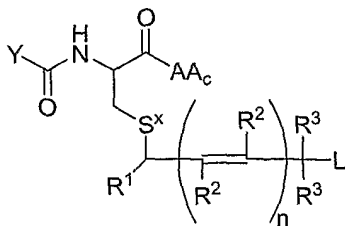
**명세서**

**기술분야**

<1> 본 발명은 칸포스파미드 및 그의 염, 및 특히 그들의 제조 및 그들의 제조에서의 중간체, 일부 중간체를 함유하는 약제학적 조성물, 및 항암제로서의 그들의 용도에 관한 것이다.

**배경기술**

<2> 미국 특허 등록 제 5,556,942 호 및 PCT 국제 공개 번호 W0 95/09866 은 하기 화학식의 화합물:



<3>

<4> [식 중 :

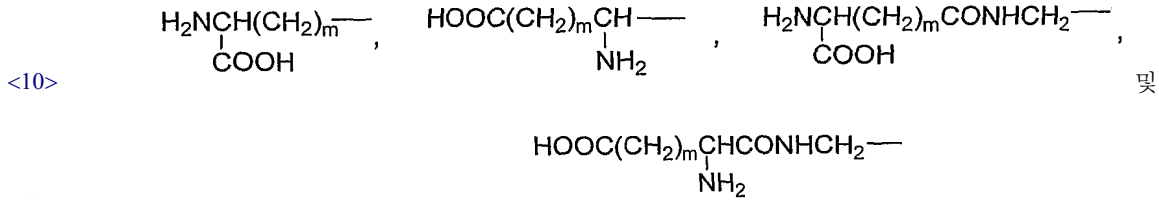
<5> L 은 전자를 끄는 이탈기이고 ;

<6> S<sup>x</sup> 는 -S(=O)-, -S(=O)<sub>2</sub>-, -S(=NH)-, -S(=O)(=NH)-, -S<sup>+</sup>(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬)-, -Se(=O)-, -Se(=O)<sub>2</sub>-, -Se(=NH)-, 또는 -Se(=O)(=NH)- 이거나, 또는 -O-C(=O)-, 또는 -HN-C(=O)- 이고 ;

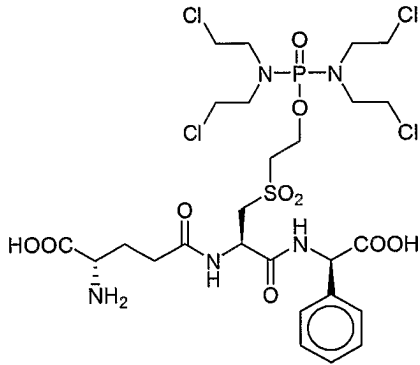
<7> R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> 및 R<sup>3</sup> 은 각각 독립적으로 H 또는 비-간섭 치환기이고 ;

<8> n 은 0, 1 또는 2 이고 ;

<9> Y 는



- <12> 로 이루어진 군으로부터 선택되고 (여기서, m 은 1 또는 2 임) ; 및
- <13> AA<sub>c</sub> 는 화합물의 잔여 부분에 펩티드 결합을 통해 연결된 아미노산임]
- <14> 및 그들의 아마이드, 에스테르, 및 염 및 그들의 합성을 개시한다.
- <15> 본 화합물은 호환성 있는 GST 동종효소를 함유하는 표적 조직의 선택적인 치료를 위해 유용한 약물이며 동시에 골수에서 GM 전구세포의 수준을 높인다고 언급된다. L 로 개시된 구현에는 포스포르아미데이트 및 포스포로디아미데이트 머스타드를 포함하는, 결합있는 세포에 대해 세포독성인 약물을 발생시키는 것들을 포함한다.
- <16> 상기 공개 공보에서 TER 286 이라고 나와있고 γ-글루타밀-α-아미노-β-((2-에틸-N,N,N,N-테트라(2'-클로로)에틸포스포르아미데이트)술포닐)프로피오닐-(R)-(-)-페닐글리신으로 명명된 TLK286 은 이러한 화합물 중 하나이다. TLK286 은 하기 화학식의 화합물이다:



- <17> .
- <18> TLK286 자체의 명시된 국제일반명 (proposed International Nonproprietary Name, pINN)는 칸포스파미드이고, 히드로클로리드 염으로서 TLK286의 미국채택명 (United States Adopted Name, USAN) 은 칸포스파미드 히드로클로리드이다.
- <19> Lyttle 등은 문헌 (*J. Med. Chem.*, **37**:1501-1507 (1994)) 에서 칸포스파미드 및 2개의 유사체, 그들의 합성, 및 그들의 세 GST 동종효소와의 상호작용을 개시한다. 합성은 비보호된 트리펩티드 [칸포스파미드의 경우에 L-γ-글루타밀-L-시스테인-2(R)-페닐글리신] 의 2-브로모에틸 포스포로디아미데이트 [칸포스파미드의 경우에 2-브로모에틸 N,N,N',N'-테트라키스(2-클로로에틸)포스포로디아미데이트]와의 반응, 이어서 생성된 티오에테르의 과산화수소 및 과아세트산과의 산화를 포함한다.
- <20> 칸포스파미드는 GST P1-1, 및 GST A1-1에 의해 활성화되어 세포독성인 포스포로디아미데이트 잔기를 방출하는 항암 화합물이다. 하기 GST P1-1에 의한 칸포스파미드의 활성화에 이어서, 세포사멸은 MKK4, JNK, p38 MAP 키나아제, 및 카스파아제 3의 활성화와의 스트레스 반응 신호 경로를 통해 유도된다. 인 비트로에서, 양자 모두 그들의 모세포주에서보다 GST P1-1 을 과발현시키는, 독소루비신에 대한 내성을 위해 선택된 M6709 인간 결장암 세포주 및 시클로포스파미드에 대한 내성을 위해 선택된 MCF-7 인간 유방암 세포주에서 보다 효력이 있는 것으로 보여지고; 높은, 중간의, 및 낮은 수준의 GST P1-1 로 설계된 M7609 마우스 이종이식에서, 칸포스파미드의 효력은 GST P1-1 의 수준과 양성적으로 서로 관련된다 (Morgan 등, *Cancer Res.*, 58:2568-2575 (1998) 참조).
- <21> 하나의 제제로서, 및 다른 항암제와의 조합으로 칸포스파미드 히드로클로리드는 난소암, 유방암, 비소세포 폐암, 및 직장결장암의 치료를 위한 복합적인 임상 시도에서 현재 평가되고 있다. 비소세포 폐암 및 난소암 환자에게서 현저한 단독 제제 항종양 활성 및 생존율 개선, 및 직장결장암 및 유방암에서 단독 제제 항종양 활성을 나타낸다. 인 비트로 세포 배양 및 종양 생김으로부터의 증거는 칸포스파미드가 플라티늄,

파클리탁셀, 및 독소루비신 (Rosario 등, *Mol. Rharmacol.*, **58**:167-174 (2000) 참조), 및 또한 켈시타빈에 대해 비-교차-내성이라는 것을 시사한다. 칸포스파미드 히드로클로리드로 처리된 환자들은 매우 낮은 임상적으로 현저한 혈액학적 독성 징후를 나타낸다.

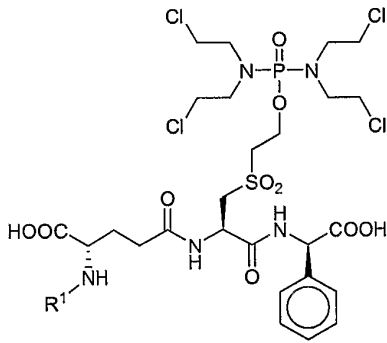
<22> Herr 등은 문헌 (*Org. Proc. Res. Dev.*, **5**:442-444 (2001))에서 비보호 트리펩티드 L-γ-글루타밀-L-시스테인-2(R)-페닐글리신 및 2-(아릴술폰닐옥시)에틸 N,N,N',N'-테트라키스(2-클로로에틸)포스포로디아미데이트로부터 칸포스파미드의 역합성 접근; 및 2-히드록시에틸 N,N,N',N'-테트라키스(2-클로로에틸)포스포로디아미데이트를 통하는, POCl<sub>3</sub>로부터의 3 단계에서의 2-(아릴술폰닐옥시)에틸 N,N,N',N'-테트라키스(2-클로로에틸)포스포로디아미데이트의 합성을 개시한다. 미국 특허 등록 제 6,506,739 호 및 PCT 국제 공개 번호 WO 01/83496 은 2-(4-브로모벤젠술폰닐옥시)에틸 N,N,N',N'-테트라키스(2-클로로에틸)포스포로디아미데이트와 같은 2-히드록시에틸 N,N,N',N'-테트라키스(2-클로로에틸)포스포로디아미데이트 및 2-(아릴술폰닐옥시)에틸 N,N,N',N'-테트라키스(2-클로로에틸)포스포로디아미데이트를 포함하는 2-(치환된)에틸 N,N,N',N'-테트라키스(2-할로에틸)포스포로디아미데이트를 개시한다.

<23> 칸포스파미드 및 그의 염의 유효하고 경제적인 합성을 개발하는 것은 바람직하다.

**발명의 상세한 설명**

<24> 발명의 개시

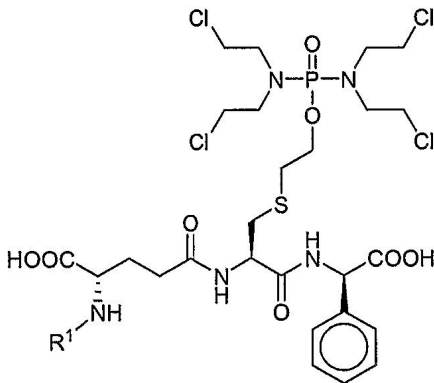
<25> 제 1 양태에서, 본 발명은 하기 화학식의 화합물:



<26> ,  
 <27> [식 중, R<sub>1</sub>은 아민-보호기임]

<28> 및 그의 염이다.

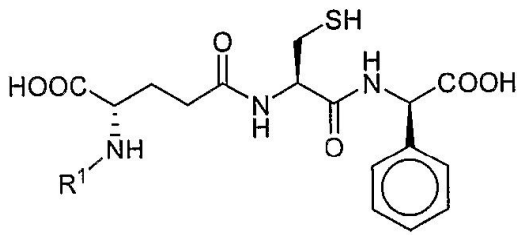
<29> 제 2 양태에서, 본 발명은 하기 화학식의 화합물:



<30> ,  
 <31> [식 중, R<sup>1</sup>은 아민-보호기임]

<32> 및 그의 염이다.

<33> 제 3 양태에서, 본 발명은 하기 화학식의 화합물:

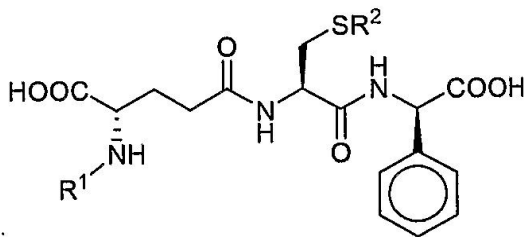


<34>

<35> [식 중, R<sup>1</sup> 은 아민-보호기임]

<36> 및 그의 염이다.

<37> 제 4 양태에서, 본 발명은 하기 화학식의 화합물:



<38>

<39> [식 중, R<sup>1</sup> 은 아민-보호기이고, 및 R<sup>2</sup> 은 황-보호기임]

<40> 및 그의 염이다.

<41> 제 5 양태에서, 본 발명은 본 발명의 제 1 양태의 화합물의 탈보호, 이어서 임의적으로 칸포스파미드의 염의 형성을 포함하는, 칸포스파미드 또는 그의 염의 제조 방법이다.

<42> 제 6 양태에서, 본 발명은 본 발명의 제 2 양태의 화합물의 산화를 포함하는, 본 발명의 제 1 양태의 화합물의 제조 방법이다.

<43> 제 7 양태에서, 본 발명은 염기 조건 하에서 본 발명의 제 3 양태의 화합물과 2-(A-술폰닐옥시)에틸 N,N,N',N'-테트라키스(2-클로로에틸)포스포로디아미데이트의 반응을 포함하는, 본 발명의 제 2 양태의 화합물의 제조 방법이다.

<44> 제 8 양태에서, 본 발명은 본 발명의 제 4 양태의 화합물의 황 원자의 탈보호를 포함하는, 본 발명의 제 3 양태의 화합물의 제조 방법이다.

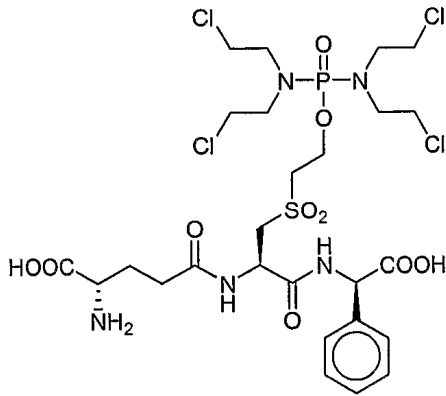
<45> 제 9 양태에서, 본 발명은 본 발명의 제 1 양태의 화합물을 포함하는 약제학적 조성물, 암 치료를 위한 및 암 치료를 위한 의약의 제조에서의 용도를 위한 본 발명의 제 1 양태에서의 화합물, 및 본 발명의 제 1 양태의 화합물을 투여하여 암을 치료하는 방법이다.

<46> 본 발명의 바람직한 구현예는 제출된 본 출원의 명세서 및 청구항 2-4, 6-8, 10-12, 14-18, 20, 21, 23-27, 29-35, 37-42, 및 44-46 의 특징에 의해 특징지워진다.

<47> 본 발명을 수행하기 위한 형태

<48> 정의

<49> "칸포스파미드"는 하기 화합물이다:



<50>

<51> 상기는 화학물 발취 서비스 (CAS) 명명이  
 L-γ-글루타밀-3-[[2-[[비스[비스(2-클로로에틸)아미노]포스포닐]옥시]에틸]-술포닐]-L-알라닌-2(R)-페닐글리신이다.

<52> 칸포스파미드의 적절한 염 [비배타적 열거를 위하여 Berge 등의 *J. Pharm. Sci.*, 66:1 (1971) 참조] 및 본 발명의 화합물은 무기 염기 (즉 나트륨, 칼륨, 및 칼슘 히드록시드) 또는 유기 염기 (즉 에탄올아민, 디에탄올아민, 트리에탄올아민, 에틸렌디아민, 트로메타민, N-메틸클루카민) 가 칸포스파미드 및 화합물의 카르복실기여, 및 무기 산 (즉 염산, 브롬화수소산, 황산, 질산, 및 클로로술포산) 또는 유기 산 (즉 아세트산, 프로피온산, 옥살산, 말산, 말레산, 말론산, 푸마르산, 또는 타르타르산, 및 알칸-또는 아렌술포산, 예를 들어 메탄술포산, 에탄술포산, 벤젠술포산, 치환된 벤젠술포산, 예를 들어 클로로벤젠술포산 및 톨루엔술포산, 나프탈렌술포산 및 치환된 나프탈렌술포산, 나프탈렌디술포산 및 치환된 나프탈렌디술포산, 및 캄포르술포산) 가 칸포스파미드 및 그 화합물의 아민기와 반응하여 산부가염을 형성할 때 형성되는 것들이다. 상기 염은 약제학적으로 허용가능한 산 및 염기와 바람직하게 형성된다. 칸포스파미드에 적절한 염은 산부가 염이고, 특히 히드로클로리드 염이다.

<53> "아민-보호기"는 아민-보호된 칸포스파미드의 합성 동안 L-γ-글루타밀-L-시스테인-2(R)-페닐글리신의 글루타밀 α-아민기를 보호하는것이 가능하고, 이어서 칸포스파미드 분자의 잔여물에 영향을 끼치지 않고 제거가능한 기이다. "촉매작용으로 제거가능한 아민-보호기"는 촉매적 환원 또는 이성질체화에 의해 제거가능한 아민-보호기이다. 통상의 이러한 기는 벤질 또는 알릴 탄소 원자를 함유하는 우레탄-형성기이다. 본 발명에서의 용도에 적절한 촉매작용으로 제거가능한 아민-보호기의 예는 촉매적 수소화 분해에 의해 편리하게 제거가능한 (임의 치환 벤질)옥시카르보닐기, 및 촉매적 이성질체화에 의해 편리하게 제거가능한 (임의 치환 알릴)옥시카르보닐기이다. 특히 적절한 촉매작용으로 제거가능한 아민-보호기는 벤질옥시카르보닐이다.

<54> "(임의 치환 벤질)옥시카르보닐" 은 벤질옥시카르보닐 및 벤젠 고리가 하나 또는 둘, 통상적으로 하나의 전자 끄는 치환체, 예를 들어 할로 (통상적으로 클로로 또는 브로모), 니트로, 시아노, 및 트리플루오로메틸로 치환된 벤질옥시카르보닐을 포함한다. (임의 치환 벤질)옥시카르보닐의 예는 벤질옥시카르보닐, 할로-벤질옥시카르보닐, 예를 들어 2- 및 4-브로모벤질옥시카르보닐, 2-, 3-, 및 4-클로로벤질옥시카르보닐, 및 2,4-디클로로벤질옥시카르보닐, 2-, 3-, 및 4-니트로벤질옥시카르보닐, 4-시아노벤질옥시카르보닐, 등을 포함한다.

<55> "(임의 치환 알릴)옥시카르보닐" 은 알릴옥시카르보닐 및 알릴기의 3- 위치 위에 전자 끄는 치환체 (예를 들어, 하나 또는 둘, 통상적으로 하나의 전자 끄는 치환체 예를 들어 할로 (통상적으로 클로로 또는 브로모), 니트로, 시아노, 및 트리플루오로메틸, 또는 피리딜로 임의 치환 페닐)로 치환된 알릴옥시카르보닐, 및 1-이소프로필알릴옥시카르보닐을 포함한다. (임의 치환 알릴)옥시카르보닐의 예는 알릴옥시카르보닐, 시나밀옥시카르보닐, 4-니트로시나밀옥시카르보닐, 3-(3'-피리딜)알릴옥시카르보닐, 및 1-이소프로필알릴옥시카르보닐을 포함한다.

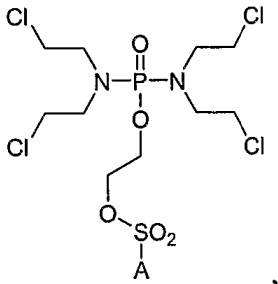
<56> "황-보호기"는 본 발명의 제 4 양태의 화합물의 합성 동안 L-γ-글루타밀-L-시스테인-2(R)-페닐글리신의 황 원자를 보호하는것이 가능하고, 이어서 본 발명의 제 3 양태의 대응 화합물(아민-보호기를 포함하는)의 분자의 잔여물에 영향을 끼치지 않고 제거가능한 기이다. "산분해작용으로 제거가능한 황-보호기"는 산분해작용에 의해 제거가능한 황-보호기이다. 통상의 이러한 기는 (임의 치환 페닐)-치환된 메틸기이다. 본 발명에서의 용도에 적절한 산분해작용으로 제거가능한 황-보호기의 예는 하나 이상의 벤젠 고리가 하나 또는 둘, 통상

적으로 하나의 전자 내는 치환체, 예를 들어 메톡시로 임의 치환된 트리페닐메틸 예를 들어 트리페닐메틸, (4-메톡시페닐)디페닐-메틸, 및 비스(4-메톡시페닐)페닐메틸; 하나 이상의 벤젠 고리가 하나 또는 둘, 통상적으로 하나의 전자 내는 치환체, 예를 들어 메톡시로 임의 치환된 디페닐메틸 예를 들어 디페닐메틸, (4-메톡시페닐)페닐메틸 및 비스(4-메톡시페닐)메틸; 디페닐메틸 유사체, 예를 들어 9H-크산텐-9-일, 2-메톡시-9H-크산텐-9-일, 5H-디벤조[a,d]시클로헥텐-5-일, 및 10,11-디히드로-5H-디벤조[a,d]시클로헥텐-5-일; 및 둘 이상의 전자 내는 치환체, 예를 들어 메톡시로 치환된 벤질 예를 들어 2,4-디메톡시벤질 및 2,4,6-트리메톡시벤질이다. 특히 적절한 산분해작용으로 제거가능한 황-보호기는 트리페닐메틸이다.

<57> 촉매작용으로 제거가능한 아민-보호기를 포함하는, 아민-보호기 및 산분해작용으로 제거가능한 황-보호기를 포함하는 황-보호기는 유기 합성 분야 및 특히 펩티드 합성 분야에서 잘 알려져 있다. 적절한 이러한 기, 및 그들의 제거 조건은 예를 들어 펩티드 및 펩티드유사체의 합성 (Synthesis of Peptides and Peptidomimetics, Workbench 편집, M. Goodman, ed., Georg Thieme Verlag, 슈트트가르트, 독일, 2004) 및 유기 합성에서의 보호기 (Protective groups in organic synthesis, 3 ed., T. W. Greene 및 P.G.M. Wuts, eds., John Wiley & Sons, Inc., 뉴욕, 뉴욕, 미국, 1999) 와 같은 책에 기재되어 있고, 기술분야의 당업자에게 공지되어 있다.

<58> 본 발명의 제 4 양태의 화합물이 아민-보호기, 특히 촉매작용으로 제거가능한 아민-보호기, 및 황-보호기, 특히 산분해작용으로 제거가능한 황-보호기를 함유하고 있고, 본 발명의 제 8 양태는 아민-보호기를 그 자리에 두면서 이러한 화합물의 황 원자의 탈보호를 포함하고 있기 때문에, 당업자는 "아민-보호기" 및 "황-보호기"가 독립적으로 선택되지 않고 그들의 정의가 출원의 명세서 문맥 및 반응 도해 1 및 2에 보이는 반응 시퀀스에서 해석되며; 아민-보호기 및 황-보호기는 아민-보호기를 손상되지 않은 채로 두는 조건 하에서 황-보호기가 제거될 수 있도록 선택될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 상기 당업자는 본 출원 및 기술 분야에서의 정보를 고려하고, 적절한 아민-보호기 및 황-보호기 및 제거 조건을 선택하는데 아무런 어려움이 없을 것이다.

<59> "2-(A-술포닐옥시)에틸N,N,N',N'-테트라키스(2-클로로에틸)포스포로디아미데이트는 하기 화학식의 화합물이다:



<60> ,

<61> [식 중, A 는 임의로 치환된 알킬, 임의로 치환된 아릴, 임의로 치환된 헤테로아릴, 임의로 치환된 아르알킬, 또는 임의로 치환된 헤테로아르알킬이다. 따라서, A는 1 내지 3 할로젠 원자로 임의로 치환된 및 추가로 임의로 니트로 또는 시아노로 치환된 C<sub>1-4</sub> 알킬; C<sub>6-10</sub> 아릴, 예를 들어 페닐 및 나프틸, 특히 할로젠, 니트로, 시아노, 및 1 내지 3 할로젠 원자로 임의로 치환된 C<sub>1-2</sub> 알킬 (예를 들어, 트리플루오로메틸)로부터 선택된 1 내지 3 기로 임의로 치환된 페닐; 할로젠, 니트로, 시아노, 및 1 내지 3 할로젠 원자로 임의로 치환된 C<sub>1-2</sub> 알킬로부터 선택된 1 내지 3 기로 임의로 치환된 C<sub>5-10</sub> 헤테로아릴, 예를 들어 푸릴, 티에닐, 피롤릴, 피리디닐, 피라지닐, 및 피리미디닐; 및 각각 아릴 또는 헤테로아릴기가 할로젠, 니트로, 시아노, 및 1 내지 3 할로젠 원자로 임의로 치환된 C<sub>1-2</sub> 알킬로부터 선택된 1 내지 3 기로 임의로 치환된, 및 알킬 기가 1 내지 3 할로젠 원자로 임의로 치환된 C<sub>6-10</sub> 아릴-C<sub>1-2</sub> 알킬 및 C<sub>5-10</sub> 헤테로아릴-C<sub>1-2</sub> 알킬을 포함한다. A기의 예는 메틸, 트리플루오로메틸, 페닐, 4-톨릴, 4-니트로페닐, 및 4-할로페닐, 예를 들어 4-클로로페닐 및 4-브로모페닐을 포함한다].

<62> "브로실"은 4-브로모벤젠술포닐을 의미한다.

<63> "치료적으로 유효량"은 암 치료를 위한 포유류, 특히 인간에 투여시, 암 치료를 위해 효과가 충분한 양을 의미한다. 포유류의 암의 "치료하는것" 또는 "치료"는 하기의 하나 이상을 포함한다:

- <64> (1) 암의 성장을 억제, 즉 그것의 발육을 정지시키는 것,
- <65> (2) 암의 확산을 방지하는 것, 즉 전이 방지,

<66> (3) 암을 경감시키는 것, 즉 암의 퇴행 유도,

<67> (4) 암의 재발 방지, 및

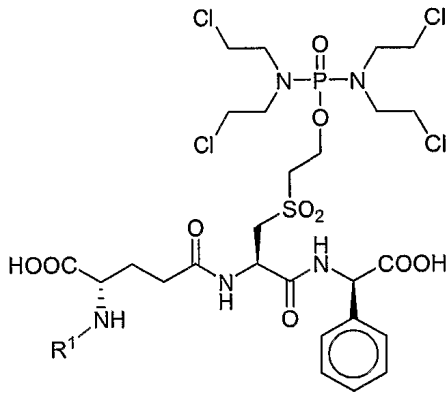
<68> (5) 암의 증상을 완화시키는 것.

<69> 본 발명의 제 1 양태의 화합물이 하나 이상의 기타 항암제 또는 방사선치료와 조합 치료의 일부분으로 투여된다면, "치료적 유효량"은 화합물이 단독으로 투여되는 경우의 치료적으로 유효한 양보다 적어질 것이다.

<70> "포함하는" 및 그것의 문법적인 변형은 제한이 아니라 포함의 용어이고, 기타 특징의 존재 또는 부가를 배제하지 않으면서 언급된 특징의 존재를 특화한다.

<71> 본 발명의 화합물 및 그의 제조

<72> 본 발명의 제 1 양태의 화합물은 하기 화학식의 화합물:



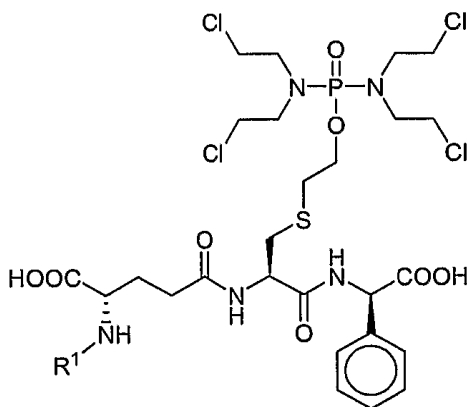
<73>

<74> [식 중, R<sup>1</sup>은 아민-보호기, 특히 촉매작용으로 제거가능한 아민-보호기임]

<75> 및 그의 염 (화합물 4) 이다.

<76> 본 발명의 제 1 양태의 특이적인 화합물은 R<sup>1</sup>이 (임의 치환 벤질)옥시카르보닐 또는 (임의 치환 알릴)옥시카르보닐인 화합물이다. 특히 관심있는 화합물은 R<sup>1</sup>이 벤질옥시카르보닐인 화합물, 즉 N-α-(벤질옥시카르보닐)-L-γ-글루타미드-3-[[2-[[비스[비스(2-클로로에틸)아미노]포스포닐]옥시]에틸]술포닐]-L-알라닌-2(R)-페닐글리신, 및 그의 염, 특히 약제학적으로 허용가능한 염이다.

<77> 본 발명의 제 2 양태의 화합물은 하기 화학식의 화합물:



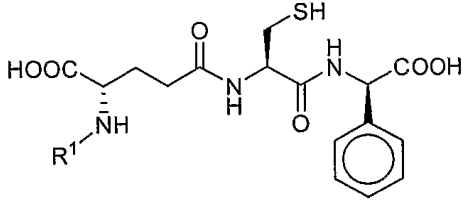
<78>

<79> [식 중, R<sup>1</sup>은 아민-보호기, 특히 촉매작용으로 제거가능한 아민-보호기임]

<80> 및 그의 염 (화합물 3)이다.

<81> 본 발명의 제 2 양태의 특이적인 화합물은 R<sup>1</sup>이 (임의 치환 벤질)옥시카르보닐 또는 (임의 치환 알릴)옥시카르보닐인 화합물이다. 특히 관심있는 화합물은 R<sup>1</sup>이 벤질옥시카르보닐인 화합물, 즉 N-α-(벤질옥시카르보닐)-L-γ-글루타미드-3-[[2-[[비스[비스(2-클로로에틸)아미노]포스포닐]옥시]에틸]티오]-L-알라닐-2(R)-페닐글리신, 및 그의 염이다.

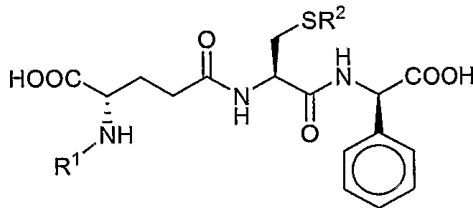
<82> 본 발명의 제 3 양태의 화합물은 하기 화학식의 화합물:



<83> [식 중, R<sup>1</sup>은 아민-보호기, 특히 촉매작용으로 제거가능한 아민-보호기임]  
 <84> 및 그의 염 (화합물 2)이다.

<86> 본 발명의 제 3 양태의 특이적인 화합물은 R<sup>1</sup>이 (임의 치환 벤질)옥시카르보닐 또는 (임의 치환 알릴)옥시카르보닐인 화합물이다. 특히 관심있는 화합물은 R<sup>1</sup>이 벤질옥시카르보닐인 화합물, 즉 N-α-(벤질옥시카르보닐)-L-γ-글루타미드-L-시스테인-2(R)-페닐글리신, 및 그의 염이다.

<87> 본 발명의 제 4 양태의 화합물은 하기 화학식의 화합물:



<88> [식 중, R<sup>1</sup>은 아민-보호기, 특히 촉매작용으로 제거가능한 아민-보호기이고, 및 R<sup>2</sup>는 황-보호기, 특히 산분해작용으로 제거가능한 황-보호기임]  
 <90> 및 그의 염 (화합물 1)이다.

<91> 본 발명의 제 4 양태의 특이적인 화합물은 R<sup>1</sup>이 (임의 치환 벤질)옥시카르보닐 또는 (임의 치환 알릴)옥시카르보닐인 화합물이다. 특히 관심있는 화합물은 R<sup>1</sup>이 벤질옥시카르보닐인 화합물이다.

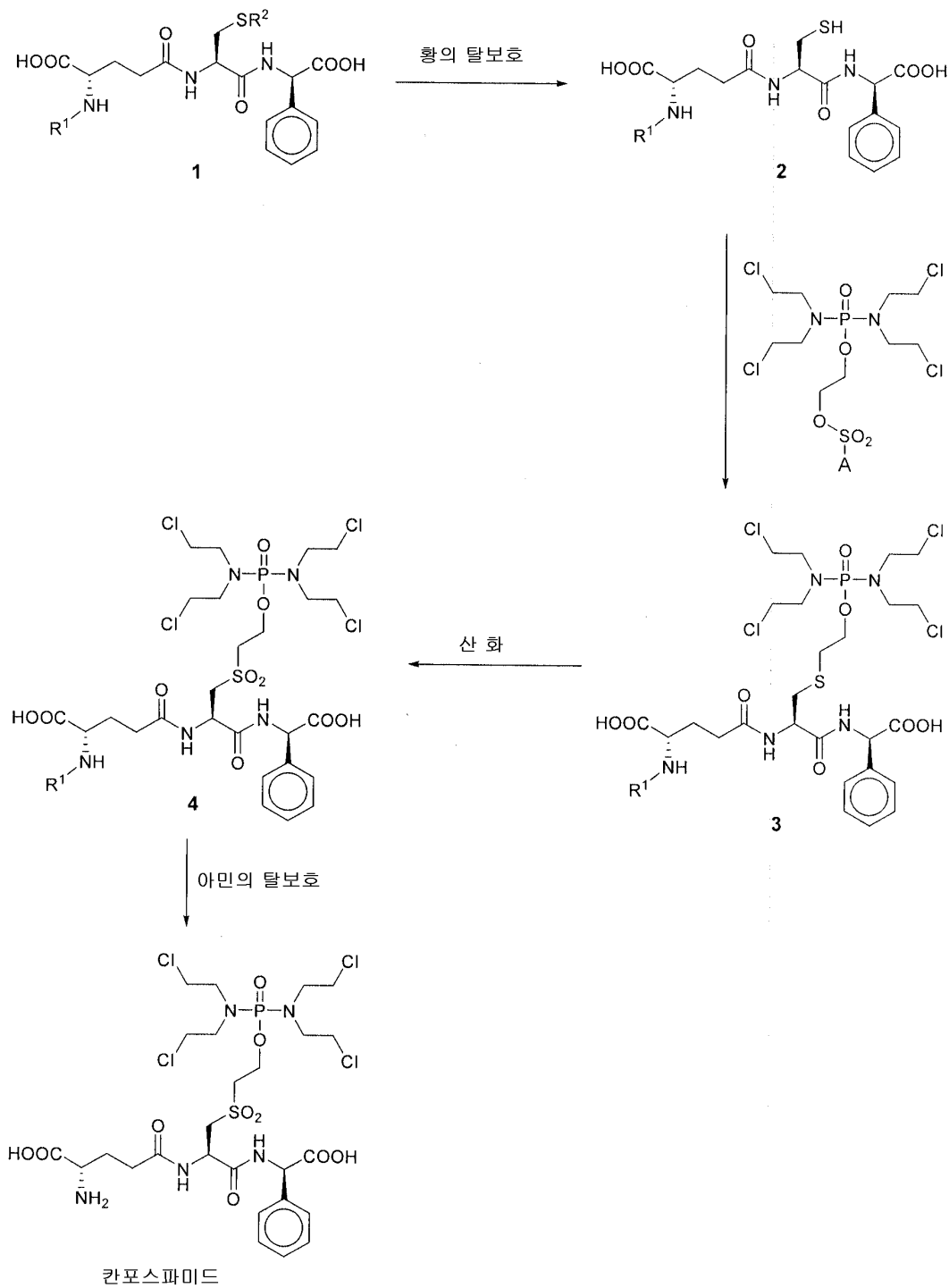
<92> 본 발명의 제 4 양태의 추가로 특이적인 화합물은 R<sup>2</sup>가 (임의 치환 페닐)-치환된 메틸인 화합물이다. 특히 관심있는 화합물은 R<sup>2</sup>가 트리페닐메틸인 화합물이다.

<93> 특히 관심있는 본 발명의 제 4 양태의 화합물은 R<sup>1</sup>이 벤질옥시카르보닐 및 R<sup>2</sup>가 트리페닐메틸인 화합물, 즉 N-α-(벤질옥시카르보닐)-L-γ-글루타미드-S-트리페닐메틸-L-시스테인-2(R)-페닐글리신, 및 그의 염이다.

<94> 본 발명의 방법에 의한 본 발명의 화합물 및 칸포스파미드 및 그의 염의 제조는 반응 도해 1에 설명되어 있다.

<95> 본 출원에서 기재되고 청구된 제조에서, 반응 과정 중의 용매의 지명은 그 용매가 필수적으로 단독으로 사용되는 것을 의미하지 않는다: 용매는 임의의 용매 혼합물의 특징이 그 지명된 용매에 의해 우선적으로 결정되는 하나 이상의 공-용매와 함께 사용될 수 있다.

<96> 반응 도해 1



<97>  
 <98> 첫번째 단계에서, 화합물 1의 황 원자는 탈보호되어 화합물 2를 제공한다.

<99> 화합물 1은 황-보호기의 제거에는 적절하지만 또한 아민-보호기를 제거하지 않는 임의의 방법에 의해 탈보호될 수 있다. 황-보호기가 산분해작용으로 제거될수 있는 황-보호기일때, 화합물 1은 편리하게 산분해반응으로 탈보호된다.

<100> 통상적으로, 화합물 1은 임의로 제거제 (scavanger)의 존재하에 산분해작용으로 제거가능한 황-보호기를 제거하기에 충분히 강하지만 촉매작용으로 제거가능한 아민-보호기를 제거하기에는 충분히 강하지 않은 산에서 용해된

다. 적절한 이러한 산은 트리플루오로아세트산 및 기타 강산, 예를 들어 임의로 예를 들어 디클로로메탄과 같은 공용매의 존재 하 트리플루오로메탄술포산; 적절한 제거제는 방향족 에테르 및 술폰드, 예를 들어 아니솔 및 티오아니솔, 페놀 예를 들어 크레솔, 및, 가장 효율적으로, 트리알킬실란 예를 들어 트리에틸실란 및 트리아소프로필실란 및 실란 폴리머 예를 들어 폴리(메틸히드로실록산)을 포함하는 실란; 및 특히 적절한 탈보호제는 폴리(메틸히드로실록산)의 존재 하에 트리플루오로아세트산이다. 화합물 2는 역용매, 예를 들어 비양자성 비-극성 용매 예를 들어 탄화수소 또는 에테르의 부가로 인해 반응 혼합물로부터 단리된다; 및 특히 적절한 역용매는 헵탄 및 메틸 tert-부틸 에테르의 혼합물이다.

<101> 두번째 단계에서, 화합물 2의 티올레이트 음이온은 2-(A-술포닐옥시)에틸 N,N,N',N'-테트라키스(2-클로로에틸)포스포로디아미데이트로 알킬화하여 화합물 3을 제조한다.

<102> 통상적으로, 화합물 2는 적절한 용매 (예를 들어, C<sub>1-6</sub> 알카놀, 디올 예를 들어 1,2-에탄디올 또는 1,3-프로판디올, 에테르 예를 들어 2-메톡시에탄올, 1,2-디메톡시에탄, 또는 테트라히드로퓨란, 등; 특히 C<sub>1-3</sub> 알카놀 예를 들어 메탄올) 내의 강염기 (예를 들어, 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 히드록사이드, 카르보네이트, 포스페이트, 또는 알콕사이드, 또는 암모늄 히드록사이드; 또는 유기 아민 염기 예를 들어 테트라메틸구아니딘, DBU (1,8-디아자비시클로[5.4.0]운데크-7-엔), 등; 특히 알칼리 금속 히드록사이드) 용액에 용해되어 티올레이트 음이온을 형성하고, 포스포로디아미데이트가 첨가되며 (통상적으로 화합물 2보다 과량, 예를 들어 1.5배 이상, 특히 2배 이상, 예를 들어 약 2.5배), 반응 혼합물은 완성까지 적당한 온도 및 시간이 유지된다. 포스포로디아미데이트가 비-극성 비양자성 용매 (즉, 톨루엔 같은 방향족 히드로카본)내의 용해에 사용되고, 이어서 화합물 3을 형성하는 반응이 일단 완료되면, 반응 혼합물은 중화되고 수성 및 비-수성상은 분리되어 비반응 포스포로디아미데이트 출발 물질을 제거한다. 이어서 용매 (예를 들어 C<sub>1-6</sub> 알카놀)은 수성상으로부터 제거되고 수성상은 비-극성 비양자성 용매 (예를 들어, 이소프로필 아세테이트와 같은 에스테르)로 추출되어 비반응된 포스포로디아미데이트 출발 물질을 더욱 제거한다. 이어서 수성상의 PH는 추가로 낮아지고, 화합물 3은 비-극성 비양자성 용매로 추출된다. 화합물 3은 용매의 제거로 인해 용액으로부터 단리될 수 있지만; 용매가 과정의 세번째 단계에 적절한 용매라면, 이어서 화합물 3은 용액으로 세번째 단계가 수행될 수 있다.

<103> 세번째 단계에서, 화합물 3의 황원자는 산화되어 화합물 4를 제조한다.

<104> 통상적으로, 화합물 3은 적절한 용매에 용해되어, 산화제가 부가되고, 반응 혼합물은 충분한 시간 및 충분한 온도에서 유지되어 산화가 완료된다. 적절한 용매/ 산화제 조합은 C<sub>2-3</sub> 알카노산/ 과산화수소/ 과산화알카노산 조합 예를 들어 아세트산/ 과산화아세트산 및 아세트산/ 과산화수소/ 과산화아세트산, 및 용매 및 산화제 모두로의 C<sub>2-3</sub> 과산화알카노산 또는 과산화트리플루오로아세트산의 용도를 포함한다. 필요하다면 디메틸 술폰드와 같은 시약으로 과량의 산화제를 킨칭한 후, 화합물 4는 농축에 의해 간단히 단리된다. 특히 적절한 용매/ 산화제 조합은 비-극성 비양자성 용매 예를 들어 에스테르 (예를 들어, 이소프로필 아세테이트)에 용해된 화합물 3 및 수성 용액에 존재하는 산화제를 갖춘, 이상 (biphasic) 시스템에서 산화가 일어나는 조합을 포함한다.

상기 이상 시스템에 적절한 산화제는 보레이트 및 퍼옥시 화합물 예를 들어 퍼보레이트 및 퍼술폰레이트, 예를 들어 암모늄, 나트륨, 또는 칼륨 퍼술폰레이트를 포함하고 특히 적절한 산화제는 칼륨 모노퍼술폰레이트, 예를 들어 OXONE™ (2KHSO<sub>5</sub>.KMSO<sub>4</sub>.K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)이다. 수성 및 비-수성상의 분리 및 임의의 산화제의 완전한 제거를 확실히 하기 위한 비-수성상의 임의의 세정 후에 화합물 4는 농축에 의해 비-수성상으로부터 단리된다.

<105> 네번째 단계에서, 화합물 4의 아민기는 탈보호되어 칸포스파미드를 제조하고, 임의적으로 이어서 칸포스파미드의 산부가 염이 형성된다.

<106> 화합물 4는 아민-보호기의 제거에는 적절하고 또한 칸포스파미드 분자의 잔여물에는 영향을 끼치지 않는 임의의 방법에 의해 탈보호될 수 있다. 아민-보호기가 촉매작용으로 제거가능한 아민-보호기일 때, 화합물 4는 촉매적 환원 및 이성질화에 의해 편리하게 탈보호된다.

<107> 촉매적 환원을 위해, 통상적으로, 화합물 4는 적절한 용매, 예를 들어 C<sub>1-4</sub> 알카놀, 또는 극성 양자성 용매, 또는 비-극성 비양자성 용매, 특히 물의 존재하에, 예를 들어 물 존재 하의 이소프로필 아세테이트에 용해되고, 및 수소 또는 수소 공급자 예를 들어 환원 촉매, 통상적으로 팔라듐 촉매 예를 들어 팔라듐 블랙, 황산 바륨 상의 팔라듐, 및 탄소 상의 팔라듐 존재 하에서의 시클로헥센 또는 1,4-시클로헥사디엔과 접촉한다. 촉매의 제거 후, 칸포스파미드는 염을 위한 역용매가 될 용매, 예를 들어 비양자성 용매, 예를 들어 탄화수소 또는 할로젠화 탄화수소 예를 들어 디클로로메탄의 추가에 의해 산부가 염으로 편리하게 단리되고, 이어서 염을 형성하기 위해

선택된 산이, 특히 무수산 단독 또는 비양자성 용매, 예를 들어 염화수소 가스의 형태로 추가된다. 추가의 염을 위한 역용매, 예를 들어 에테르 예를 들어 디에틸 에테르, 메틸 tert-부틸 에테르, 및 테트라히드로퓨란, 특히 메틸 tert-부틸 에테르가 필요하거나 요구된다면 추가될 수 있다. 촉매적 이성질화를 위해, 통상적으로 2차 아민과 같은 전자친화적 알릴기 제거제의 존재 하에, 영가 팔라듐 복합체 예를 들어 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐(0)이 사용된다. 칸포스파미드는 적절한 방법으로, 통상적으로 산부가 염으로 단리된다.

<108> 화합물의 용도 및 과정

<109> 본 발명의 제 1, 제 2, 제 3, 및 제 4 양태의 화합물 (각각 화학식 4, 3, 2, 1의 화합물) 및 본 발명의 제 5의, 제 6의, 제 7의, 및 제 8의 양태의 과정 단계는 공지된 항암제 칸포스파미드 및 그의 염의 제조에 유용하다.

<110> 추가로, 본 발명의 제 1 양태의 화합물은 또한 활성있는 세포독성 제제이다. 그러므로 그들은 암의 치료, 특히 칸포스파미드 및 그의 염으로 치료가 가능한 유형의 암에 유용하다. 이러한 암은 포유류의 암, 특히 인간 암을 포함한다. 특히 치료가 가능한 암은 세포소멸의 유도에 민감한 암, 및 보다 특이적으로 GST P1-1을 발현, 특히, 과발현시키는 암이다. 기타 항암 치료 (즉, 본 발명의 제 1 양태의 화합물이 아님)로 치료될 때 GST P1-1을 발현 또는 과발현시키는 암은 또한 특히 기타 항암 치료와 조합으로 사용될 때 본 발명의 제 1 양태 화합물로 치료될 수 있다. 상기 유형의 조합 화학치료는 칸포스파미드 및 그의 유사체에 대해 미국 특허 출원 번호 제 2004/0138140 호 및 국제 공개 공보 번호 제 WO 2004/045593 호에 기재되어 있다. 이러한 암은 뇌, 유방, 방광, 자궁경부, 결장 및 직장, 식도, 머리 및 목, 신장, 폐, 간, 난소, 췌장, 전립선, 및 위암; 백혈병 예를 들어 ALL, AML, AMML, CLL, CML, CMML, 및 털세포백혈병; 호지킨 및 비-호지킨 림프종; 중피종, 다발 골수종; 및 뼈 및 연조직의 육종을 포함한다. 특히 본 발명의 제 1 구현예의 화합물로 치료가 가능한 암은 유방, 난소, 직장결장, 및 비-소세포 폐암을 포함한다.

<111> 본 발명의 제 9 양태는 본 발명의 제 1 양태의 화합물을 포함하는 약제학적 조성물, 암 치료 및 암 치료용 의약의 제조를 위한 상기 화합물의 용도, 및 상기 화합물의 통상적인 치료적 유효량의 투여에 의한 암의 치료 방법이다.

<112> 화합물은 치료 대상 및 대상의 상태의 성질에 적절한 임의의 경로로 투여될 수 있다. 투여 경로는, 이에 한정되는 것은 아니나, 정맥내, 복강내, 근육내, 및 피하 주사를 포함하는 주사에 의한, 점막 관통의 또는 경피 전달에 의한, 국소 처리, 네이잘 스프레이, 좌약 등을 통한 투여를 포함하고 또는 경구로 투여될 수도 있다. 상기 화합물을 함유하는 약제학적 조성물은 임의로 리포솜 제형, 에멀전, 점막을 통과하여 투여하도록 고안된 제형 또는 경피 제형일 수 있다. 상기 투여방법의 각각을 위한 적절한 제형을 예를 들어, 문헌 [레밍턴 (Remington) : 과학 및 약학 실습 (The Science and Practice of Pharmacy), 20 ed., A. Gennaro, ed., Lippincott Williams 및 Wilkins, 필라델피아, 펜실베이니아, 미국, 2003.]에서 찾을 수 있다. 통상적인 화합물은 경구 또는 정맥내 주입을 위한 용액일 수 있고 화합물을 함유할 수 있으며 통상적으로 또한 하나 이상의 약제학적으로 허용가능한 부형제를 함유할 것이다. 통상적인 투여량 형태는 정제, 정맥내 주입을 위한 용액, 및 정맥내 주입을 위한 용액으로의 재구성을 위한 동결건조된 분말일 수 있다.

<113> 본 발명의 제 1 양태의 화합물의 치료적으로 유효량은 약 50 - 3000 mg/m<sup>2</sup> 체표면적, 특히 500 - 1500 mg/m<sup>2</sup> 이다. 투여는 1-35 일 간격; 예를 들어 약 500 - 1000 mg/m<sup>2</sup> 를 1 내지 5 주 간격, 특히 1, 2, 3, 또는 4 주 간격 또는 며칠 (예를 들어 5 또는 7일) 동안 1회/일 정도로 주사를 포함하는 보다 높은 빈도로 매 2, 3, 또는 4주에 투여를 반복하면서, 또는 6-72 시간의 기간 동안 일정한 주입으로 역시 매 2, 3, 또는 4 주에 투여를 반복할 수 있고; 및 상기의 투여의 유동성은 기타 항암 치료와 조합 치료를 가능하게 할 것이다.

### 실시예

<114> 하기 실시예는 본 발명 및 본 발명의 과정에 의한 칸포스파미드 히드로클로리드의 제조, 및 본 발명의 제 1 양태의 화합물의 항암제로서의 활용을 보인다.

<115> 반응 도해 2는 본 발명의 과정에 의한 본 발명의 바람직한 혼합물 및 칸포스파미드 히드로클로리드의 제조를 보인다. N-α-(벤질옥시카르보닐)-L-γ-글루타미드-S-트리페닐메틸-L-시스테인일-2(R)-페닐글리신 화합물 1A의 제조는 그것이 그것의 전구체 화합물의 보호의 성질에 의존하기 때문에 반응 도해 2에 보이지 않으나, O-α-벤질-N-α-(벤질옥시카르보닐)-L-γ-글루타미드-S-트리페닐메틸-L-시스테인일-2(R)-페닐글리신은 하기 실시예 1에 기재된다.

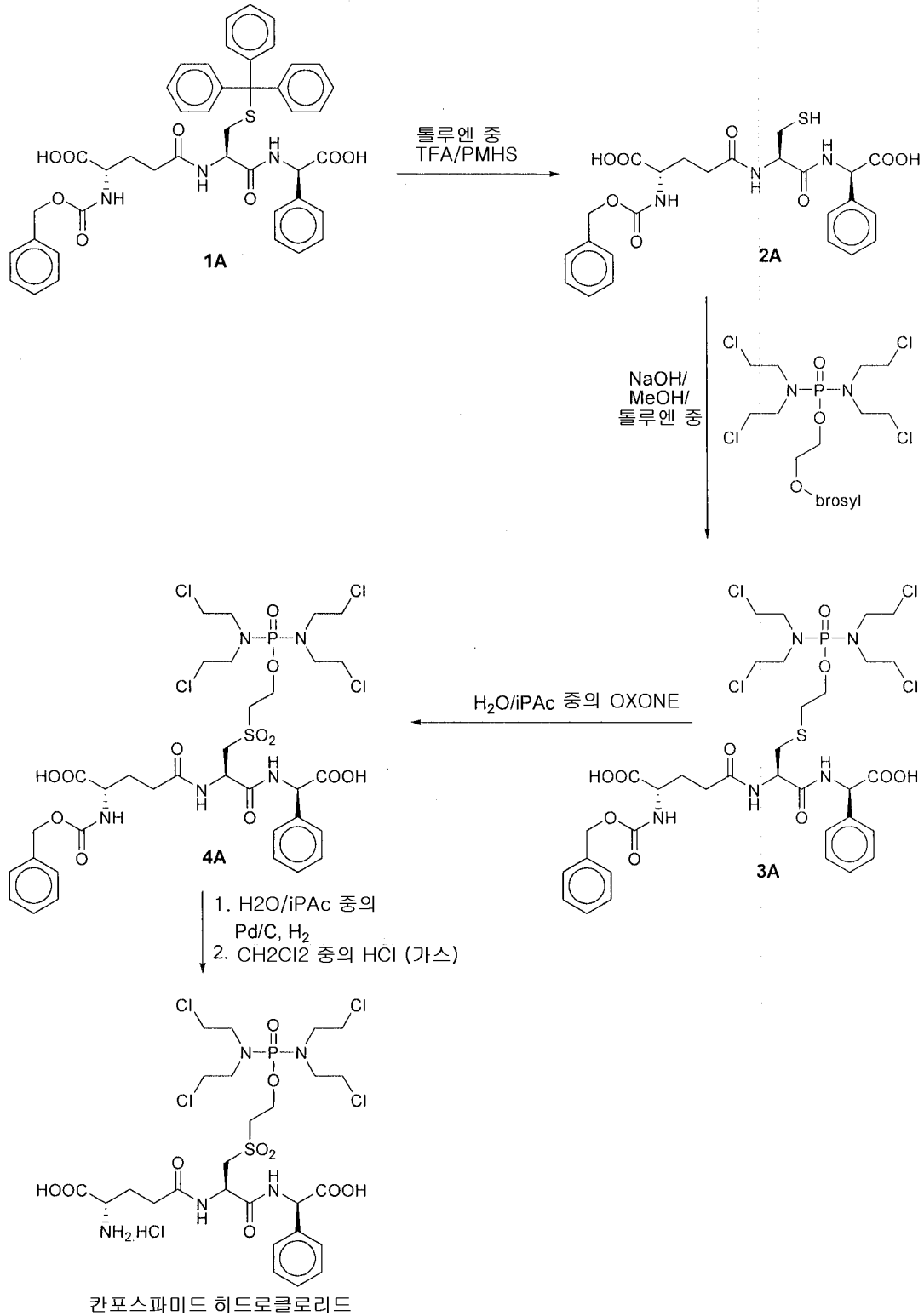
<116> O-α-벤질-N-α-(벤질옥시카르보닐)-L-γ-글루타미드-S-트리페닐메틸-L-시스테인일-2(R)-페닐글리신은 펩티드 합

성의 표준 방법에 의해 제조될 수 있다. 쉽게 적용가능한 출발물질 N- $\alpha$ -(벤질옥시카르보닐)-L- $\gamma$ -글루탐산  $\alpha$ -벤질 에스테르, S-트리페닐메틸-L-시스테인, 및 D-페닐글리신을 사용한, 편리한 합성을 하기한다. N- $\alpha$ -(벤질옥시카르보닐)-L- $\gamma$ -글루탐산  $\alpha$ -벤질 에스테르는 무수 1,4-디옥산에서의 N-히드록시숙신이미드 및 디시클로헥실-카르보디이미드의 반응에 의한 N-히드록시숙신이미드로서 활성화된다. N- $\alpha$ -(벤질옥시카르보닐)-L- $\gamma$ -글루탐산  $\alpha$ -벤질 에스테르  $\gamma$ -N-히드록시숙신이미드 에스테르는 무수 테트라히드로퓨란에 용해되고, 및 물 중의 S-트리페닐메틸-L-시스테인 및 트리에틸아민의 용액에 부가되어 O- $\alpha$ -벤질-N- $\alpha$ -(벤질옥시카르보닐)-L- $\gamma$ -글루타밀-S-트리페닐메틸-L-시스테인을 제공한다. 이것은 N-히드록시숙신이미드 에스테르로서 활성화되고  $\gamma$ -글루타민 및 시스테인 사이의 커플링에서와 동일한 방식으로 D-페닐글리신과 커플화되어 목적하는 O- $\alpha$ -벤질-N- $\alpha$ -(벤질옥시카르보닐)-L- $\gamma$ -글루타밀-S-트리페닐메틸-L-시스테인-2(R)-페닐글리신을 제공한다.

<117>

시스테인-페닐글리신 커플링이 첫번째로 수행되고 이어서 생성된 S-트리페닐메틸-L-시스테인-2(R)-페닐글리신과 N- $\alpha$ -(벤질옥시카르보닐)-L- $\gamma$ -글루탐산  $\alpha$ -벤질 에스테르의 커플링이 이어질 수 있으므로; 유사하나 상이한 활성화기를 사용하는 방법 또는 커플링을 위하여 글루탐산의  $\gamma$ -카르복실기 및/또는 시스테인 카르복실기를 활성화시키는 방법이 사용될 수 있다. 만약 N- $\alpha$ -(벤질옥시카르보닐)-L- $\gamma$ -글루타밀-S-트리페닐메틸-L-시스테인-2(R)-페닐글리신 분자의 잔여물을 그대로 두면서  $\alpha$ -카르복실기가 극단적으로 탈보호될 수 있다면 N- $\alpha$ -(벤질옥시카르보닐)-L- $\gamma$ -글루탐산의  $\alpha$ -카르복실기의 기타 보호가 또한 사용될 것이다.

<118> 반응 도해 2



<119>

<120> 실시예 1. 캠포스파미드 히드로클로리드의 제조.

<121> N-α-(벤질옥시카르보닐)-L-γ-글루탐일-S-트리페닐메틸-L-시스테인일-2(R)-페닐글리신, 1A.

<122> 오버헤드 기계식 교반기, 온도계, 및 2-L 균압 부가 깔대기를 장비한 5-L 3목 둥근-바닥 플라스크에 O-α-벤질-N-α-(벤질옥시카르보닐)-L-γ-글루탐일-S-트리페닐메틸-L-시스테인일-2(R)-페닐글리신(500g, 590 mmol) 및 메탄올 (1L) 을 채웠다. 교반기를 중간 속도로 교반하도록 설정하여, 선명한 황색 용액을 얻었고, 수성 수산

화 나트륨 용액 (1.2 L, 1 M, 1.2 mol)을 20분간 부가하였다. 이 시간 동안, 부가는 내부 반응 온도를 35℃로 증가시키는, 반응 혼합물의 발열가열을 유발하고 이러한 온도는 부가 동안 유지되었다. 고체가 침전되기 시작하였으나 부가의 마지막에 재용해되었다. 반응 혼합물을 이어서 실온으로 냉각시키고 90분간 교반하고, 이어서 메탄올을 회전 증발기 (40 mbar, 최종 수조 온도 35℃)로 감압 하에 제거하여 N- $\alpha$ -(벤질옥시카르보닐)-L- $\gamma$ -글루타미드-S-트리페닐메틸-L-시스테인-2(R)-페닐글리신의 중나트륨염의 수성 용액을 제공하였다. 혼합물을 오버헤드 기계식 교반기, 온도계, 및 2-L 균압 부가 깔대기를 장비한 5-L 3 목 둥근-바닥 플라스크에 채우고, 이어서 물 (1L)로 희석시켰다. 혼합물을 얼음/물 베스를 사용하여 0℃까지 냉각시키고, 수성 염산 용액 (1.3 L, 1 M, 1.3 mol)을 20분간 부가하였다. 이 시간 동안, 부가는 고체의 침전을 야기하였고, 혼합물의 최종 PH가 4에 도달하였다. 생성된 현탁액을 30 분간 0℃에서 교반하였고 침전을 진공 여과로 수집하였으며 물 (1L)로 세정하였다. 침전을 디클로로메탄 (3L)에 용해시켰고 생성된 용액을 5-L 분리 깔대기로 이동시켰다. 수성 분획을 제거하고 유기상을 물 (2 X 1L)로 세정하고 수성 염화 나트륨 (1 L)으로 포화시키고, 무수 황산 나트륨 (100 g) 상에서 건조시켰다. 정화 후에, 용매를 감압 (40 mbar, 35℃)하에 회전 증발로 제거하여 황색 형태로 수득하였다. 고체 수득물을 추가로 밤새 (40 mbar, 40℃) 건조시켜 회색을 띠는 백색 분말 (400 g, 89% 수득율)로 N- $\alpha$ -(벤질옥시카르보닐)-L- $\gamma$ -글루타미드-S-트리페닐메틸-L-시스테인-2(R)-페닐글리신, 1A를 수득하였다. TLC 분석은 하나의 점 ( $R_f$ =0.50, 실리카겔, 1:4 메탄올/클로로포름)을 보였다. 양자 NMR 스펙트럼 (DMSO- $d_6$ )은 제안된 구조와 일치되었다. HPLC 분석은 하나의 주요한 피크 (RT=22.1 분; 30분에 걸쳐 20:80 아세트니트릴/0.1 M 수성  $NH_4H_2PO_4$  내지 80:20 아세트니트릴/0.1 M 수성  $NH_4H_2PO_4$ ; 흐름=1.0 mL/분; 220 nm 에서 검출; 25℃)를 보였다.

<123> N- $\alpha$ -(벤질옥시카르보닐)-1- $\gamma$ -글루타미드-L-시스테인-2(R)-페닐글리신, 2A.

<124> 질소 퍼지, 오버헤드 기계식 교반기, 온도계, 및 균압 부가 깔대기를 장비한 12-L, 3목의 덮개가 있는 둥근-바닥 플라스크로 N- $\alpha$ -(벤질옥시카르보닐)-L- $\gamma$ -글루타미드-S-트리페닐메틸-L-시스테인-2(R)-페닐글리신(900g X 93.7% 순도, 843.3 g, 1.11 mol) 및 톨루엔 (3.6L)을 채웠다. 질소 퍼지 후에, 상기를 교반시키고, 및 트리플루오로아세트산 (TFA, 824 mL, 11.1 mol)을 부가했다. 25℃을 유지하면서, 폴리(메틸히드로실록산) (PMHS, 270 g)을 1 시간 동안 부가하고, 반응 혼합물을 추가의 17 시간 동안 교반시켰다. 이어서 반응을 1.5 시간에 걸쳐, N- $\alpha$ -(벤질옥시카르보닐)-L- $\gamma$ -글루타미드-L-시스테인-2(R)-페닐글리신을 침전시키는, 1:1 헵탄/ 메틸 tert-부틸 에테르 (5.4 L)의 부가로 권장했다. 추가의 2 시간 교반 후에, 혼합물을 여과시키고, 침전물을 헵탄 (3.6 L)으로 세정하고 40℃에서 진공 하에 건조시켰다.

<125> N- $\alpha$ -(벤질옥시카르보닐)-L- $\gamma$ -글루타미드-L-시스테인-2(R)-페닐글리신. 정확한 질량: 517.15; MS (API-ES<sup>+</sup>): m/z 518 (M+H<sup>+</sup>); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8.78 (1H, d, J = 7.2 Hz, NH), 8.09 (1H, d, J = 8.0 Hz, NH), 7.62 (1H, d, J = 8.0 Hz, NH), 7.36 (8H, m), 7.21 (2H, m), 5.35 (1H, d, J = 7.6 Hz), 5.03 (2H, s), 4.56 (1H, m), 3.98 (1H, m), 2.68 (1H, m), 2.61 (1H, m), 2.26 (2H, m), 2.02 (1H, m), 1.78 (1H, m).

<126> N- $\alpha$ -(벤질옥시카르보닐)-L- $\gamma$ -글루타미드-3-[[[2-[[비스[비스(2-클로로에틸)아미노]포스포닐]옥시]에틸]티오]-L-알라닌-2(R)-페닐글리신, 3A.

<127> 질소 퍼지, 기계식 교반기, 온도계, 및 균압 부가 깔대기를 장비한 12-L, 3목의 덮개가 있는 둥근-바닥 플라스크로 수산화 나트륨 (49.46 g, 1.24 mol) 및 메탄올 (1.99L)을 채우고, 용해될때까지 질소 하에서 교반시킨 후, 이어서 5℃ 근처까지 냉각시켰다. N- $\alpha$ -(벤질옥시카르보닐)-L- $\gamma$ -글루타미드-L-시스테인-2(R)-페닐글리신 (398.5 g X 80.3% 순도, 320 g, 0.62 mol)을 부가하였고, 이어서 톨루엔 중 거의 1M 용액으로 2-(4-브로모벤젠술포닐옥시)에틸 N,N,N',N'-테트라키스(2-클로로에틸)포스포로디아미데이트(1487.5 g X 63.3% 순도, 941.6 g, 1.55 mol)를 부가했다. 질소 하에, 메탄올(1.99 L) 중 수산화 나트륨 (56.88 g, 1.42 mol)을 반응 혼합물의 온도를 5℃로 유지하면서 5 시간동안 부가하였고, 이어서 반응 혼합물을 그 온도에서 추가의 17 시간 동안 교반시켰다. 냉각을 유지시키면서, 물 (1.12 L)을 부가하였고, 반응 혼합물의 pH를 1 M 인산으로 6.9로 맞추고, 톨루엔 (1.92 L)을 부가하고, 물 (2.72 L)을 부가했다. 반응 혼합물을 교반시키고, 이어서 상을 분리하고, 톨루엔 상 (과량의 2-(4-브로모벤젠술포닐옥시)에틸 N,N,N',N'-테트라키스(2-클로로에틸)포스포로디아미데이트를 함유하는)을 제거했다. 수성상층을 톨루엔 (1.92 L)으로 세정하고, 상을 분리하고, 톨루엔 상을 제거했다. 이어서 배치 온도를 35℃ 아래로 유지하면서 진공 하에 수성상을 증류시켜 메탄올을 제거했다. 이어서 이소프로필 아세테이트 (iPAC, 1.6 L)를 부가하였고, pH를 6.9로 맞추고, 상을 분리하고, 이소프로필 아세테이트 상 (2-(4-브로모벤젠술포닐옥시)에틸 N,N,N',N'-테트라키스(2-클로로에틸)포

스포로디아미데이트를 함유하는) 을 제거했다. 이소프로필 아세테이트 (3.2 L) 를 부가하고, pH 를 4.8-4.85로 맞추고, 상을 분리하고 이소프로필 아세테이트 상 (N- $\alpha$ -(벤질옥시카르보닐)-L- $\gamma$ -글루타미드-3-[[2-[[비스[비스(2-클로로에틸)아미노]포스포닐]옥시]-에틸]티오]-L-알라닌-2(R)-페닐글리신을 함유하는) 을 잔류시켰다. 이소프로필 아세테이트 (0.64 L) 를 수성상에 부가하고, pH 를 4.8-4.85로 맞추고, 상을 분리하고 이소프로필 아세테이트 상을 이전의 pH 4.8-4.85 이소프로필 아세테이트 상과 결합시켰다. 물 (1.6 L)을 결합된 이소프로필 아세테이트 상에 부가하고, pH 를 5.25-5.3 으로 맞추고, 상을 분리하고 수성상을 제거했다. 물 세정을 반복하고, 수성상을 분리 후에, 이소프로필 아세테이트 상을 진공 하에서 증류시켜 추가의 과정 전에 배치의 부피를 약 3.15 L 로 감소시켰다. N- $\alpha$ -(벤질옥시카르보닐)-L- $\gamma$ -글루타미드-3-[[2-[[비스[비스(2-클로로에틸)아미노]포스포닐]옥시]-에틸]티오]-L-알라닌-2(R)-페닐글리신은 용매의 제거에 의해 용액으로부터 분리될 수 있다.

<128> N- $\alpha$ -(벤질옥시카르보닐)-L- $\gamma$ -글루타미드-3-[[2-[[비스[비스(2-클로로에틸)아미노]포스포닐]옥시]-에틸]티오]-L-알라닌-2(R)-페닐글리신. 정확한 질량: 887.15; MS (API-ES<sup>+</sup>): m/z 890, 888 (M+H<sup>+</sup>); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  8.93 (1H, d, J = 7.8 Hz, NH), 8.13 (1H, d, J = 8.6 Hz, NH), 7.60 (1H, d, J = 8.2 Hz, NH), 7.36 (10H, m), 5.35 (1H, d, J = 7.8 Hz), 5.03 (2H, s), 4.66 (1H, m), 3.97 (3H, m), 3.68 (8H, m), 3.30 (8H, m), 2.76 (3H, m), 2.57 (1H, m), 2.25 (2H, m), 1.99 (1H, m), 1.76 (1H, m).

<129> N- $\alpha$ -(벤질옥시카르보닐)-L- $\gamma$ -글루타미드-3-[[2-[[비스[비스(2-클로로에틸)아미노]포스포닐]옥시]에틸]술포닐]-L-알라닌-2(R)-페닐글리신, 4A.

<130> 질소 퍼지, 오버헤드 기계식 교반기, 온도계, 및 균압 부가 깔대기를 장비한 12-L, 3목의 덮개가 있는 둥근-바닥 플라스크로 전 단계로부터의 이소프로필 아세테이트 (2.65 L) 중 N- $\alpha$ -(벤질옥시카르보닐)-L- $\gamma$ -글루타미드-3-[[2-[[비스[비스(2-클로로에틸)아미노]포스포닐]옥시]에틸]티오]-L-알라닌-2(R)-페닐글리신 (442.6 g, 0.50 mol) 으로 채웠다. 온도를 20-30°C 로 유지시키면서 물 (2.66 L) 중 2KHSO<sub>5</sub>.KHSO<sub>4</sub>.K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (OXONE<sup>TM</sup>) (663.9 g, 1.08 mol) 을 질소 하에 교반시키면서 부가하였고, 반응 혼합물을 밤새 교반하여 산화를 완료하였다. 수성상을 분리하고 제거하였고, 이소프로필 아세테이트 상을 물 (885 mL) 로 3 회 세정하였으며, 각 세정 후에 녹말/KI 종이로 과황산의 존재 여부를 위해 물을 검사했다. 이소프로필 아세테이트 (2.65 L) 를 이소프로필 아세테이트 상에 부가하였고, 이어서 결합된 용액을 증류시켜 부피를 1.77 L 근처까지 감소시켰다. 이어서 이소프로필 아세테이트 (1.77 L) 을 부가하였고, 칼 퍼셔 적정 (Karl Fischer titration) 으로 용액을 검사하여 물 내용물을 0.2% 이하로 하였다. 혼합물을 밤새 교반하고, 침전된 N- $\alpha$ -(벤질옥시카르보닐)-L- $\gamma$ -글루타미드-3-[[2-[[비스[비스(2-클로로에틸)아미노]포스포닐]옥시]에틸]술포닐]-L-알라닌-2(R)-페닐글리신에 과하여 35 °C 에서 건조시켰다.

<131> N- $\alpha$ -(벤질옥시카르보닐)-L- $\gamma$ -글루타미드-3-[[2-[[비스[비스(2-클로로에틸)아미노]포스포닐]옥시]에틸]술포닐]-L-알라닌-2(R)-페닐글리신. 정확한 질량: 919.14; MS (API-ES<sup>+</sup>): m/z 924, 922, 920 (M+H<sup>+</sup>); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  8.81 (1H, d, J = 7.4 Hz, NH), 8.41 (1H, d, J = 8.2 Hz, NH), 7.61 (1H, d, J = 8.2 Hz, NH), 7.36 (10H, m), 5.30 (1H, d, J = 7.4 Hz), 5.03 (2H, s), 4.94 (1H, m), 4.25 (2H, m), 3.98 (1H, m), 3.68 (8H, m), 3.54 (3H, m), 3.33 (9H, m), 2.25 (2H, m), 1.99 (1H, m), 1.78 (1H, m).

<132> 칸포스파미드 히드로클로리드.

<133> 2-L 고압멸균기에서, 이소프로필 아세테이트 (350 mL) 중의 탄소 상 팔라듐 (5%, 26.25 g) 을 질소 퍼징 (진공, 질소, 방출) 의 3 순환에 이어서 수소 부가 (3.4 bar) 및 방출의 3 순환, 마지막 수소 부가 후 30 분간 혼합물을 교반하면서, 또다른 질소 퍼지에 의해 예비환원시켰다. N- $\alpha$ -(벤질옥시카르보닐)-L- $\gamma$ -글루타미드-3-[[2-[[비스[비스(2-클로로에틸)아미노]포스포닐]옥시]에틸]술포닐]-L-알라닌-2(R)-페닐글리신 (190.6 g X 91.89% 순도, 175 g, 190 mmol) 을 이소프로필 아세테이트 (700 mL) 및 물 (53.9 mL) 에 용해시키고, 용액을 고압멸균기에 부가했다. 3-순환 질소 퍼지가 반복되고, 2 순환의 수소 부가 및 방출이 이어졌으며, 이 후 고압멸균기에 수소로 3.4 bar 압력을 가하고, 30°C 로 가열하여 완성까지 HPLC로 모니터링하면서 그 온도에서 7.7 시간 동안 유지시켰다. 반응 혼합물을 규조토 (CELITE<sup>TM</sup>)를 통해 여과하여 촉매를 제거하고, 필터를 이소프로필 아세테이트 (2 x 175 mL) 로 세정하였다. 결합된 여과물 및 세정물을 진공 증류 및 이소프로필 아세테이트의 재-부가에 의해 탈수시키고, 이어서 485.7 g 질량의 최종 용액으로 재농축하였다. 디클로로메탄 (350 mL) 을 용액에 부가하고, 염화수소 가스 (8.37 g) 의 부가, 및 메틸 tert-부틸 에테르 (858 mL) 로 희석

으로 이어졌다. 2.5 시간 동안의 교반 후에, 반응 혼합물을 여과시키고; 칸포스파미드 히드로클로리드 잔여물을 메틸 tert-부틸 에테르 (2 X 576 mL) 로 세정하고 진공 하에서 55°C로 건조시켰다.

<134> 칸포스파미드 히드로클로리드. 정확한 질량: 785.10; MS (API-ES<sup>+</sup>): m/z 800, 788, 786 (M+H<sup>+</sup>); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 8.81 (1H, d, J = 7 Hz, NH), 8.62 (1H, d, J = 7 Hz, NH), 8.4 (2H, bs), 7.35 (5H, m), 5.31 (1H, d, J = 7 Hz), 4.95 (1H, m), 4.36 (2H, J = 6Hz, q), 3.87 (1H, J = 6Hz, t), 3.66 (8H, m), 3.57 (3H, m), 3.31 (9H, m), 2.50 (1H, s), 2.35 (1H, m), 2.02 (2H, m).

<135> 실시예 2.  
N-α-(벤질옥시카르보닐)-L-γ-글루타미드-3-[[2-[[비스[비스(2-클로로에틸)아미노]포스포닐]옥시]에틸]술포닐]-L-알라닌-2(R)-페닐글리신, 4A 의 세포독성 활성.

<136> 본 실시예는 N-α-(벤질옥시카르보닐)-L-γ-글루타미드-3-[[2-[[비스[비스(2-클로로에틸)아미노]포스포닐]옥시]에틸]술포닐]-L-알라닌-2(R)-페닐-2(R)-글리신, 화합물 4A의 인 비트로에서 인간 암세포주에 대항하는 이로운 효과를 설명한다. 이러한 조사로 테스트된 기타 항암제, 예를 들어 칸포스파미드가 인간에서 항암 활성을 보였기 때문에 이러한 결과는 인간의 암 화학치료에서 효능을 예측한 것으로 인정된다.

<137> 국립 암기구 (National Cancer Institute, 베테스다 (Bethesda), 메릴랜드, 미국)에서 인간 암 세포주 HL-60 (전골수 골수구성 백혈병) 및 MX-1 (유방암)을 수득하였다. 프로메가사 (Promega Corporation, 메디슨, 위스콘신, 미국)에서 셀티터-글로 (CellTiter-Glo) 조사 키트를 수득하였고 제조자 지시에 따라 사용하였다. 모든 조사는 3중 웰에서 디메틸 술포사이드 (DMSO) 용매 조건으로 수행하였다. 세포 성장의 정도를 용매 조절 웰로부터 시그널의 퍼센트로 표현했다.

<138> 대수기 (Log-phase) 세포를 트립신화하고, 원심분리로 모아서 신선한 배지의 작은 부피에서 재현탁시켜, 트리판 블루 염색 후 살아있는 세포의 밀도를 측정하였다. 세포를 신선한 배지 (HL-60 를 위하여 5 X 10<sup>3</sup> 세포/mL 및 MX-1 세포를 위하여 3 X 10<sup>3</sup> 세포/mL)에서 희석시키고, 화합물 4A (0.1 내지 200 μM 이 농도, DMSO, 50 μL 에 용해됨) 을 희석 후 즉시 부가하여 최종 0.5% 농도의 DMSO 를 얻고, 이어서 현탁액을 96-웰 플레이트에 150 μL /웰 로 부가하고, 수 시간 동안 배양하여 부착성 세포의 경우 부착을 가능하게 하였다. 세포를 거의 3 배증기 (3일) 동안 배양하였다. 이어서 원심분리로 세포를 분리하였고 배양 상청액 100 μL 를 셀티터-글로 시약으로 대체하였다. 실온에서의 15 분간의 배양 후에, 플레이트를 발광분석기로 읽었다. IC<sub>50</sub> 로 표현되는 세포주에 대한 화합물 4A의 활성은: HL-60, 2.2 μM, 및 MX-1: 34.6 μM 였다. 화합물은 이러한 조사에서 거의 칸포스파미드만큼 효력이 있었다.

<139> 실시예 3. 제형 및 치료예

<140> 경구 투여를 위한 고체 제형을 하기의 조합으로 제조하였고:

<141>	화합물 4A	25.0% w/w
<142>	마그네슘 스테아레이트	0.5% w/w
<143>	녹말	2.0% w/w
<144>	히드록시프로필메틸셀룰로오즈	1.0% w/w
<145>	미세결정 셀룰로오즈	71.5% w/w

<146> 혼합물을 압축하여 정제를 형성하고 또는 예를 들어, 250 mg 의 화합물 4A를 함유하는 견고한 젤라틴 캡슐에 충전하였다. 정제는, 필요한 경우, 필름-형성제 (예를 들어, 히드록시프로필메틸셀룰로오즈), 안료 (예를 들어, 티타늄 디옥사이드), 및 플라스틱화제 (예를 들어, 디에틸 프탈레이트)의 현탁액의 적용 및 용매의 증발에 의한 필름의 건조에 의하여 코팅을 할 수 있다.

<147> IV 투여를 위한 제형을 화합물 4A, 예를 들어 약제학적으로 허용가능한 염으로서 인산-완충 살린에 1% w/v 의 농도로 용해하여 제조하고; 및 용액을, 예를 들어 살균 여과에 의해 살균하여 예를 들어, 250 mg 의 본 발명의 화합물을 함유하는 살균 컨테이너에 밀봉하였다.

<148> 대안적으로, 화합물 4A를 다시 예를 들어 약제학적으로 허용가능한 염으로서 적절한 버퍼, 예를 들어 상기 언급된 인산-완충 살린의 인산 버퍼에 용해하여, 동결건조분말 제형을 제조하고, 용액을 살균하고 그것을 적절한 살

균 바이얼에 분배하고, 물을 제거하여 용액을 동결건조시켜, 바이얼을 밀봉하였다. 동결건조된 제형은 살균수의 부가로 재형성되고, 재형성된 용액을 예를 들어 0.9% 염화나트륨 정맥내 주사 또는 5% 텍스트로즈 정맥내 주사 용액으로의 투여를 위해 추가로 희석시킬 수 있다.

<149> 5% 텍스트로즈 정맥내 주사로 희석된 화합물 4A는 30분간 전이성 난소암으로 고생하는 환자에게 초기 용량 100 mg/m<sup>2</sup> 로 정맥내로 투여하였고; 상기 용량은 250 mg/m<sup>2</sup>, 500 mg/m<sup>2</sup>, 750 mg/m<sup>2</sup>, 및 1000 mg/m<sup>2</sup> 으로 증가시켰다.

화합물을 1-주 간격으로 투여하였다. 동일한 용량 상승을 2-및 3-주 간격으로 동일한 암으로 고생하는 다른 환자에게 투여하였다.

<150> 본 발명을 구체적인 구현예 및 실시예와 관련하여 기재하였으나, 당해 기술분야 및 상기 명세서와 관련하여 당업자에게 특히 개시된 물질 및 방법의 균등물은 본 발명에 적용가능하고; 상기 균등물은 하기 청구항에 포함된다는 것이 명백할 것이다.

### 산업상 이용 가능성

<151> 본 발명은 암의 치료, 특히 칸포스파미드 및 그의 염으로 치료가능한 유형의 암에 유용하다. 이러한 암은 포유류의 암, 특히 인간 암을 포함한다. 특히 치료가능한 암은 세포소멸의 유도에 민감한 암, 및 보다 특이적으로 GST P1-1을 발현, 특히, 과발현시키는 암이다. 기타 항암 치료 (즉, 본 발명의 제 1 양태의 화합물이 아님)로 치료될 때 GST P1-1을 발현 또는 과발현시키는 암은 또한 특히 기타 항암 치료와 조합으로 사용될 때 본 발명의 제 1 양태 화합물로 치료될 수 있다.