

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5060306号
(P5060306)

(45) 発行日 平成24年10月31日 (2012.10.31)

(24) 登録日 平成24年8月10日 (2012.8.10)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 F 9/24 (2006.01)

C O 7 F 9/24 C S P Z

A 6 1 K 31/664 (2006.01)

A 6 1 K 31/664

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/00

請求項の数 3 (全 21 頁)

(21) 出願番号 特願2007-548240 (P2007-548240)
 (86) (22) 出願日 平成17年11月23日 (2005.11.23)
 (65) 公表番号 特表2008-524327 (P2008-524327A)
 (43) 公表日 平成20年7月10日 (2008.7.10)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2005/042693
 (87) 国際公開番号 W02006/068769
 (87) 国際公開日 平成18年6月29日 (2006.6.29)
 審査請求日 平成20年10月28日 (2008.10.28)
 (31) 優先権主張番号 11/018,391
 (32) 優先日 平成16年12月21日 (2004.12.21)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 593182956
 テリック、インコーポレイテッド
 アメリカ合衆国94304カリフォルニア
 州パロ・アルト、ハンセン・ウェイ700
 番
 (74) 代理人 100068526
 弁理士 田村 恭生
 (74) 代理人 100100158
 弁理士 鮫島 睦
 (74) 代理人 100138900
 弁理士 新田 昌宏
 (74) 代理人 100162684
 弁理士 呉 英燦
 (74) 代理人 100126778
 弁理士 品川 永敏

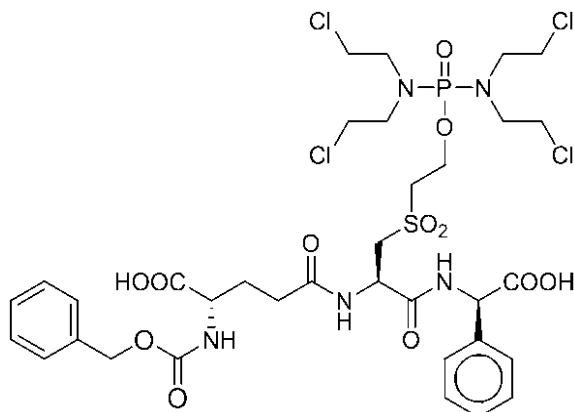
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 カンホスファミドおよびその塩の製造方法および製造中間体、中間体を含む医薬組成物ならびに抗ガン剤としてのその使用

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式：



で示される化合物またはその塩。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の化合物またはその塩を含む医薬組成物。

【請求項 3】

請求項 1 に記載の化合物またはその塩を含むガンの治療のための医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

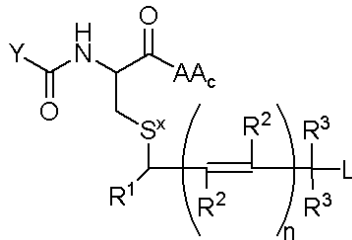
【0001】

本発明は、カンホスファミドおよびその塩、特にその製造および製造中間体、中間体を含む医薬組成物ならびに抗ガン剤としてのその使用に関する。

【背景技術】

【0002】

米国特許No. 5,556,942およびPCT国際公開公報WO 95/09866は、式：



10

[式中、Lは、電子吸引性脱離基である；

S^xは、-S(=O)-、-S(=O)₂-、-S(=NH)-、-S(=O)(=NH)-、-S⁺(C₁-C₆アルキル)-、-Se(=O)-、-Se(=O)₂-、-Se(=NH)-もしくは-Se(=O)(=NH)-であるか、または-O-C(=O)-もしくは-HN-C(=O)-である；

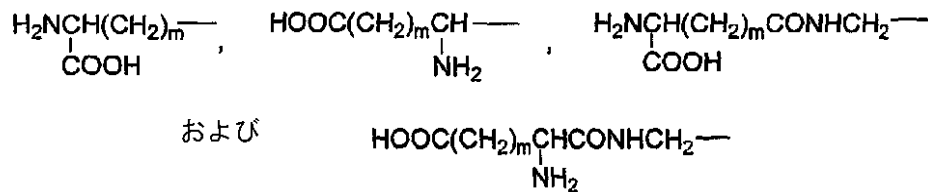
各R¹、R²およびR³は独立して、Hまたは非妨害性置換基である；

nは、0、1または2である；

20

Yは、

【化1】



(ここで、mは、1または2である)

から選ばれる；および

30

AA_cは、ペプチド結合を介して化合物の残りの部分に結合するアミノ酸である]

で示される化合物およびそのアミド、エステルおよび塩、ならびにその合成を開示する。

【0003】

この化合物は、適合性GSTイソ酵素を含む標的組織の選択的治療のための有用な医薬であり、同時に、骨髄におけるGM前駆細胞のレベルを上昇させると記載されている。Lについての開示された実施態様は、ホスホラミデートおよびホスホロジアミデート・マスタードなどの望ましくない細胞に対して細胞毒性である薬剤を精製するものを含む。

【0004】

これらの文献においてTER286として特定され、-グルタミル- -アミノ- -((2-エチル-N,N,N,N-テトラ(2'-クロロ)エチホスホラミデート)スルホニル)プロピオニル-(R)-(-)-フェニルグリシンと命名されているTLK286は、これらの化合物の1つである。TLK286は、式：

40



TLK286それ自体の提案されている国際一般名(pINN)は、カンホスファミドであり、塩酸塩としてのTLK286の米国一般名(USAN)は、カンホスファミド塩酸塩である。

LyttleらのJ. Med. Chem.、37:1501 - 1507(1994)は、カンホスファミドおよび2つの類縁体、それらの合成および3つのGSTイソ酵素とのそれらの相互作用を開示している。合成は、非保護トリペプチド[カンホスファミドの場合、L - - グルタミル - L - システイニル - 2(R) - フェニルグリシン]と2 - プロモエチルホスホロジアミデートカンホスファミドの場合、[2 - プロモエチル N,N,N',N' - テトラキス(2 - クロロエチル)ホスホロジアミデート]との反応、次いで、過酸化水素と過酢酸を用いる得られるチオエーテルの酸化を含む。

は、GST P1 - 1およびGST A1 - 1の作用によって活性化され、細胞毒性ホスホロジアミデート部分を放出する抗ガン化合物である。GST P1 - 1によるカンホスファミドの活性化に続いて、MKK4、JNK、p38 MAPキナーゼおよびカスパーゼ3の活性化によるストレス応答シグナル経路を介してアポトーシスが誘発される。インビトロでは、カンホスファミドは、ドキシソルピシンに対する耐性のために選択されたM6709ヒト結腸ガン細胞系およびシクロホスファミドに対する耐性のために選ばれたMCF - 7ヒト乳ガン細胞系において（両方が親細胞系と比べてGST P1 - 1を過剰発現する）、より強力であることが明らかにされており、高、中および低レベルのをGST P1 - 1有するように操作されたM7609のマウス異種移植片において、カンホスファミドの効力は、GST P1 - 1のレベルとの間に正の相関が見られた。

単剤として、および他の抗ガン剤と併用でのカンホスファミド塩酸塩は現在、卵巣、乳房、非小細胞肺および結腸直腸ガンについて複数の臨床試験において評価されている。非小細胞肺ガンと卵巣ガン患者における有意な単剤抗腫瘍活性および生存の改善ならびに結腸直腸ガンと乳ガンにおける単剤抗腫瘍活性が実証されている。インビトロ細胞培養および腫瘍生検からの証拠は、カンホスファミドがプラチナ、パクリタキセルおよびドキソルビシンならびにゲムシタピンに対して非交差耐性であることを示す(RosarioらのMol. Pharmacol., 58:167 - 174(2000))。カンホスファミド塩酸塩で処置された患者は、臨床的に有意な血液毒性の発生率が非常に低い。

HerrらのOrg. Proc. Res. Dev., 5:442 - 444(2001)は、非保護トリペプチドL - グルタミン - L - システイニル - 2(R) - フェニルグリシンおよび2 - (アリールスルホニルオキシ)エチル N,N,N',N' - テトラキス(2 - クロロエチル)ホスホロジアミデートからカンホスファミドへの逆合成的アプローチおよびPOCl₃から2 - ヒドロキシエチル N,N,N',N' - テトラキス(2 - クロロエチル)ホスホロジアミデートを経る三段階の2 - (アリールスルホニルオキシ)エチル N,N,N',N' - テトラキス(2 - クロロエチル)ホスホロジアミデートの合成を開示している。米国特許No. 6,506,739およびPCT国際公開公報WO 01/83496は、2 - ヒドロキシエチル N,N,N',N' - テトラキス(2 - クロロエチル)ホスホロジアミデートなどの2 -

(置換)エチル N,N,N',N' - テトラキス(2 - ハロエチル)ホスホロジアミデートおよび2 - (4 - ブロモベンゼンスルホニルオキシ)エチル N,N,N',N' - テトラキス(2 - クロロエチル)ホスホロジアミデートなどの2 - (アリールスルホニルオキシ)エチル N,N,N',N' - テトラキス(2 - クロロエチル)ホスホロジアミデートを開示している。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0009】

カンホスファミドおよびその塩の効率的で経済的な合成を開発することが望ましい。

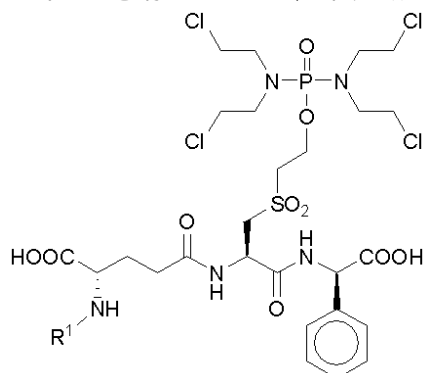
【課題を解決するための手段】

【0010】

10

(発明の開示)

第1の態様において、本発明は、式：

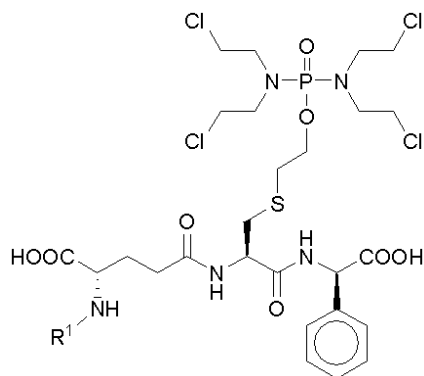


20

[式中、R¹は、アミン保護基である]
で示される化合物およびその塩である。

【0011】

第2の態様において、本発明は、式：

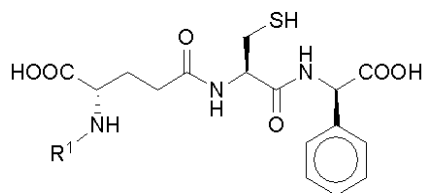


30

[式中、R¹は、アミン保護基である]
で示される化合物およびその塩である。

【0012】

第3の態様において、本発明は、式：



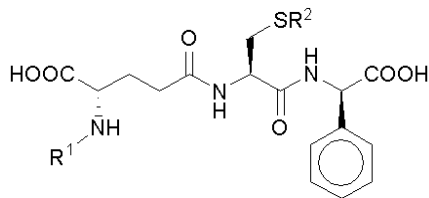
40

[式中、R¹は、アミン保護基である]
で示される化合物およびその塩である。

【0013】

第4の態様において、本発明は、式：

50



[式中、 R^1 は、アミン保護基であり、 R^2 は、イオウ保護基である]
 で示される化合物およびその塩である。

【 0 0 1 4 】

第5の態様において、本発明は、本発明の第1の態様の化合物を脱保護し、必要に応じて
 カンホスファミドの塩を形成することを含むカンホスファミドまたはその塩の製造方法で
 ある。

10

第6の態様において、本発明は、本発明の第2の化合物を酸化することを含む本発明の第
 1の態様の化合物の製造方法である。

第7の態様において、本発明は、本発明の第3の態様の化合物を塩基性条件下で2 - (A -
 スルホニルオキシ)エチル N,N,N',N' - テトラキス(2 - クロロエチル)ホスホロジアミデー
 トと反応させることを含む本発明の第2の態様の化合物の製造方法である。

【 0 0 1 5 】

第8の態様において、本発明は、本発明の第4の態様の化合物のイオウ原子を脱保護する
 ことを含む本発明の第3の態様の化合物の製造方法である。

20

第9の態様において、本発明は、本発明の第1の態様の化合物を含む医薬組成物、ガンの
 治療およびガンの治療のための医薬の製造における使用のための本発明の第1の態様の化
 合物および本発明の第1の態様の化合物を投与することによるガンの治療方法である。

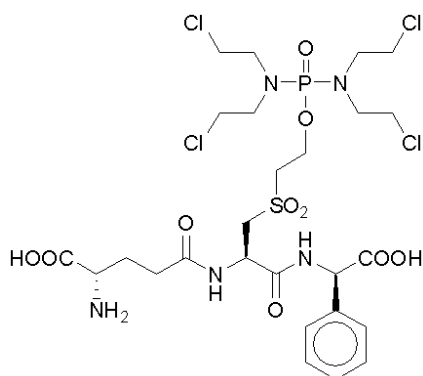
本発明の好ましい態様は、本明細書および請求項2 - 4、6 - 8、10 - 12、14 - 18、20、21
 、23 - 27、29 - 35、37 - 42および44 - 46によって特徴付けられる。

【 0 0 1 6 】

(発明の実施の態様)

定義

「カンホスファミド」は、式：



30

で示される化合物である。CAS名は、L - - グルタミル - 3 - [[2 - [[ビス[ビス(2 - クロ
 ロエチル)アミノ]ホスフィニル]オキシ]エチル]スルホニル] - L - アラニル - 2(R) - フェ
 ニルグリシンである。

40

カンホスファミドおよび本発明化合物の適当な塩(非排他的リストとして、BergeらのJ
 . Pharm. Sci., 66:1(1971)を参照)は、無機塩基(たとえば、水酸化ナトリウム、カリウ
 ムおよびカルシウム)または有機塩基(たとえば、エタノールアミン、ジエタノールアミン
 、トリエタノールアミン、エチレンジアミン、トロメタミン、N - メチルグルカミン)がカル
 ボキシル基と反応して形成されるもの、および無機酸(たとえば、塩酸、臭化水素酸、
 硫酸、硝酸およびクロロスルホン酸)または有機酸(たとえば、酢酸、プロピオン酸、シュ
 ウ酸、リンゴ酸、マレイン酸、マロン酸、フマル酸または酒石酸およびメタンスルホン酸
 、エタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、クロロベンゼンスルホン酸といったような置

50

換ベンゼンスルホン酸、およびトルエンスルホン酸、ナフタレンスルホン酸および置換ナフタレンスルホン酸、ナフタレンジスルホン酸および置換ナフタレンジスルホン酸ならびにカンファースルホン酸などのアルカンまたはアレンスルホン酸)が反応してカンホスファミドおよび本発明化合物のアミン基の酸付加塩を形成するように反応する場合に形成されるものである。これらの塩が、医薬的に許容しうる酸および塩基と形成されるのが好ましい。カンホスファミドのための適当な塩は、酸付加塩、特に塩酸塩である。

【0017】

「アミン保護基」は、アミン保護カンホスファミドの合成中にL - - グルタミル - L - システイニル - 2(R) - フェニルグリシンのグルタミル - アミン基を保護し、次いで、カンホスファミド分子の残りの部分に影響を及ぼすことなく除去しうる基である。「触媒的に除去しうるアミン保護基」は、触媒的還元または異性化によって除去しうるアミン保護基である。一般的なこのような基は、ベンジルまたはアリル炭素原子を含むウレタン形成基である。本発明に用いるのに適した触媒的に除去しうるアミン保護基の例は、触媒的水素化分解によって都合よく除去することができる(必要に応じて置換されたベンジル)オキシカルボニル基および触媒的異性化によって都合よく除去することができる(必要に応じて置換されたアリル)オキシカルボニル基である。特に適した触媒的に除去しうるアミン保護基は、ベンジルオキシカルボニルである。

【0018】

「(必要に応じて置換されたベンジル)オキシカルボニル」として、ベンジルオキシカルボニルおよびベンゼン環上で1つまたは2つ、典型的には1つのハロ(典型的にはクロロまたはブロモ)、ニトロ、シアノおよびトリフルオロメチルなどの電子吸引置換基で置換されたベンジルオキシカルボニルが挙げられる。(必要に応じて置換されたベンジル)オキシカルボニルの例として、ベンジルオキシカルボニル、2 - および4 - ブロモベンジルオキシカルボニル、2 - 、3 - および4 - クロロベンジルオキシカルボニルおよび2,4 - ジクロロベンジルオキシカルボニルなどのハロ - ベンジルオキシカルボニル、2 - 、3 - および4 - ニトロベンジルオキシカルボニル、4 - シアノベンジルオキシカルボニルなどが挙げられる。

【0019】

「(必要に応じて置換されたアリル)オキシカルボニル」として、アリルオキシカルボニルおよびアリル基の3位で電子吸引置換基(1つまたは2つ、典型的には1つのハロ(典型的にはクロロまたはブロモ)、ニトロ、シアノおよびトリフルオロメチルまたはピリジルで必要に応じて置換されたフェニルなど)で置換されたアリルオキシカルボニルならびに1 - イソプロピルアリルオキシカルボニルが挙げられる。(必要に応じて置換されたアリル)オキシカルボニルの例として、アリルオキシカルボニル、シンナミルオキシカルボニル、4 - ニトロシンナミルオキシカルボニル、3 - (3' - ピリジル)アリルオキシカルボニルおよび1 - イソプロピルアリルオキシカルボニルが挙げられる。

【0020】

「イオウ保護基」は、本発明の第4の態様の化合物の合成中にL - - グルタミル - L - システイニル - 2(R) - フェニルグリシンのイオウ原子を保護し、次いで、対応する本発明の第3の態様の化合物の分子の残りの部分に影響を及ぼすことなく除去しうる基である(アミン保護基を含む)。「酸分解的に(acidolytically)除去しうるイオウ保護基」は、酸分解によって除去しうるイオウ保護基である。一般的なこのような基は、(必要に応じて置換されたフェニル)置換メチル基である。本発明に用いるのに適した酸分解的に除去しうるイオウ保護基は、たとえば、トリフェニルメチル、(4 - メトキシフェニル)ジフェニルメチルおよびビス(4 - メトキシフェニル)フェニルメチルなどの1つ以上のベンゼン環が、1つ以上、典型的には1つのメトキシなどの電子供与置換基で必要に応じて置換されたトリフェニルメチル; ジフェニルメチル、(4 - メトキシフェニル)フェニルメチルおよびビス(4 - メトキシフェニル)メチルなどの1つ以上のベンゼン環が、1つ以上、典型的には1つのメトキシなどの電子供与置換基で必要に応じて置換されたジフェニルメチル; 9H - キサンテン - 9 - イル、2 - メトキシ - 9H - キサンテン - 9 - イル、5H - ジベンゾ[a,d]シクロヘ

10

20

30

40

50

プテン - 5 - イルおよび10,11 - ジヒドロ - 5H - ジベンゾ[a,d]シクロヘプテン - 5 - イルなどのジフェニルメチル類縁体；および2,4 - ジメトキシベンジルおよび2,4,6 - トリメトキシベンジルなどの2つ以上のメトキシなどの電子供与置換基で置換されたベンジルである。特に適した酸分解的に除去しうるイオウ保護基は、トリフェニルメチルである。

【 0 0 2 1 】

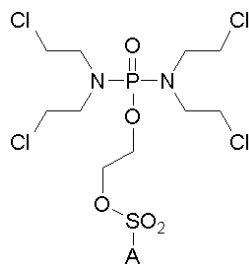
触媒的に除去しうるアミン保護基などのアミン保護基、酸分解的に除去しうるイオウ保護基などのイオウ保護基は、有機合成、特にペプチド合成の分野で周知である。このような基およびその除去条件は、Synthesis of Peptides and Peptidomimetics、Workbench edition、M.Goodman編、Georg Thieme Verlag、Stuttgart、Germany、2004ならびにProtective groups in organic synthesis、3版、T.W.GreeneおよびP.G.M.Wuts編、John Wiley & Sons、Inc.、New York、New York、U.S.A.、1999などの書籍に記載されており、当業者には周知である。

【 0 0 2 2 】

本発明の第4の態様の化合物は、アミン保護基、特に触媒的に除去しうるアミン保護基およびイオウ保護基、特に酸分解的に除去しうるイオウ保護基の両方を含み、本発明の第8の態様は、アミン保護基を定位置に残したままこれらの化合物のイオウ原子を脱保護することを含むので、当業者であれば当然のことながら、「アミン保護基」および「イオウ保護基」は、独立して選ばれず、それらの定義は本出願におけるそれらの記載および反応工程式1および2に示す反応シーケンスに照らして解釈されるべきであり、アミン保護基およびイオウ保護基は、アミン保護基がそのまま残る条件下でイオウ保護基が除去されるように選択されるべきである。当業者であれば、本出願および当業界における情報を考慮して適当なアミン保護基およびイオウ保護をならびに除去条件を選択するのに何の困難もないであろう。

【 0 0 2 3 】

「2 - (A - スルホニルオキシ)エチル N,N,N',N' - テトラキス(2 - クロロエチル)ホスホロジアミデート」は、式：



[式中、Aは、必要に応じて置換されたアルキル、必要に応じて置換されたアリール、必要に応じて置換されたヘテロアリール、必要に応じて置換されたアラルキルまたは必要に応じて置換されたヘテロアラルキルである]

で示される化合物である。したがって、Aとして、1～3個のハロゲン原子で必要に応じて置換され、さらにニトロまたはシアノで必要に応じて置換された C_{1-4} アルキル；ハロゲン、ニトロ、シアノおよび1～3個のハロゲン原子で必要に応じて置換された C_{1-2} アルキル(たとえば、トリフルオロメチル)から選択される1～3個の基で必要に応じて置換された、フェニルおよびナフチル、特にフェニルなどの C_{6-10} アリール；ハロゲン、ニトロ、シアノおよび1～3個のハロゲン原子で必要に応じて置換された C_{1-2} アルキルから選択される1～3個の基で必要に応じて置換された、フリル、チエニル、ピロリル、ピリジニル、ピラジニルおよびピリミジニルなどの C_{5-10} ヘテロアリール；およびそれぞれハロゲン、ニトロ、シアノおよび1～3個のハロゲン原子で必要に応じて置換された C_{1-2} アルキルから選択される1～3個の基で必要に応じてアリールまたはヘテロアリール基上で置換され、1～3個のハロゲン原子で必要に応じてアルキル基上で置換された、 C_{6-10} アリール - C_{1-2} アルキルおよび C_{5-10} ヘテロアリール - C_{1-2} アルキルが挙げられる。A基の例として、メチル、トリフルオロメチル、フェニル、4 - トルイル、4 - ニトロフェニルならびに4 - クロロフェニルおよび4 - ブロモフェニルなどの4 - ハロフェニルが挙げられる。

「プロシル」は、4 - プロモベンゼンスルホニルを意味する。

【 0 0 2 4 】

「治療有効量」は、ガンを治療するために、哺乳動物、特にヒトに投与された場合に、ガンの治療を成し遂げるのに十分である量を意味する。哺乳動物におけるガンを「治療する」またはガンの「治療」は、以下の1つ以上を含む：

- (1) ガンの成長を阻止する、すなわち、その進行を抑止すること；
- (2) ガンの拡散を防止する、すなわち、転移を防止すること；
- (3) ガンを軽減する、すなわち、ガンの退行を引き起こすこと；
- (4) ガンの再発を防止すること；および
- (5) ガンの症状を寛解すること。

10

【 0 0 2 5 】

1つ以上の他の抗ガン剤または放射線療法との併用療法の一部として本発明の第1の態様の化合物を投与するならば、「治療有効量」を、該化合物を単独で投与する場合に治療的に有効である量よりも低くすることができる。

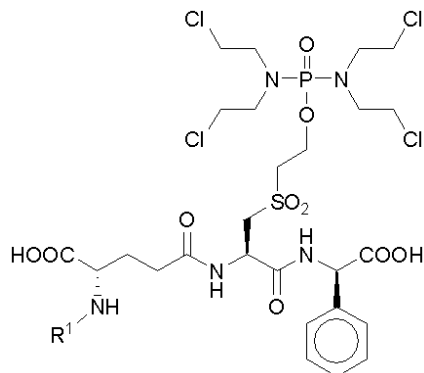
「含む」およびその文法的变化は、包含についての用語であり、限定を意味する物ではなく、述べられた特徴の存在を、他の特徴の存在または追加を排除することなく特定する。

【 0 0 2 6 】

本発明化合物およびその製造

本発明の第1の態様の化合物は、式：

20



30

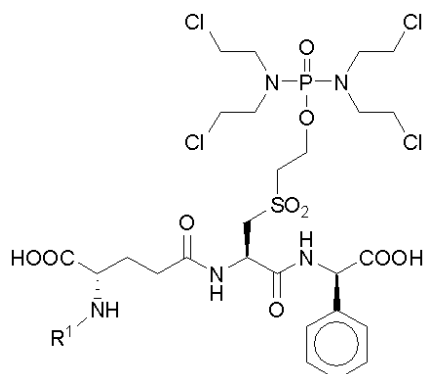
[式中、R¹は、アミン保護基、特に触媒的に除去しうるアミン保護基である]
で示される化合物およびその塩(化合物4)である。

特定の本発明の第1の態様の化合物は、R¹が(必要に応じて置換されたベンジル)オキシカルボニルまたは(必要に応じて置換されたアリル)オキシカルボニルである化合物である。さらなる特定の化合物は、R¹がベンジルオキシカルボニルである化合物、すなわち、N - (ベンジルオキシカルボニル) - L - グルタミル - 3 - [[2 - [[ビス[ビス(2 - クロロエチル)アミノ]ホスフィニル]オキシ]エチル]スルホニル] - L - アラニル - 2(R) - フェニルグリシンおよびその塩、特に医薬的に許容しうる塩である。

【 0 0 2 7 】

本発明の第2の態様の化合物は、式：

40



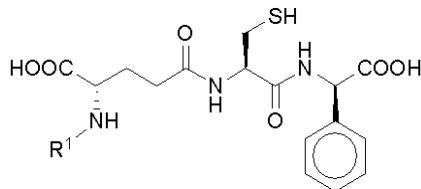
50

[式中、 R^1 は、アミン保護基、特に触媒的に除去しうるアミン保護基である]
 で示される化合物およびその塩(化合物3)である。

特定の本発明の第2の態様の化合物は、 R^1 が(必要に応じて置換されたベンジル)オキシカルボニルまたは(必要に応じて置換されたアリル)オキシカルボニルである化合物である。さらなる特定の化合物は、 R^1 がベンジルオキシカルボニルである化合物、すなわち、N - - (ベンジルオキシカルボニル) - L - - グルタミン - 3 - [[2 - [[ビス[ビス(2 - クロロエチル)アミノ]ホスフィニル]オキシ]エチル]チオ] - L - アラニル - 2(R) - フェニルグリシンおよびその塩である。

【 0 0 2 8 】

本発明の第3の態様の化合物は、式：

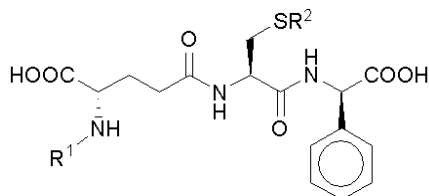


[式中、 R^1 は、アミン保護基、特に触媒的に除去しうるアミン保護基である]
 で示される化合物およびその塩(化合物2)である。

特定の本発明の第3の態様の化合物は、 R^1 が(必要に応じて置換されたベンジル)オキシカルボニルまたは(必要に応じて置換されたアリル)オキシカルボニルである化合物である。さらなる特定の化合物は、 R^1 がベンジルオキシカルボニルである化合物、すなわち、N - - (ベンジルオキシカルボニル) - L - - グルタミン - L - システイニル - 2(R) - フェニルグリシンおよびその塩である。

【 0 0 2 9 】

本発明の第4の態様の化合物は、式：



[式中、 R^1 は、アミン保護基、特に触媒的に除去しうるアミン保護基、および R^2 は、イオウ保護基、特に酸分解的に除去しうるイオウ保護基である]
 で示される化合物およびその塩(化合物1)である。

特定の本発明の第4の態様の化合物は、 R^1 が(必要に応じて置換されたベンジル)オキシカルボニルまたは(必要に応じて置換されたアリル)オキシカルボニルである化合物である。さらなる特定の化合物は、 R^1 がベンジルオキシカルボニルである化合物である。

さらなる特定の本発明の第4の態様の化合物は、 R^2 が(必要に応じて置換されたフェニル)置換メチルである化合物である。さらなる特定の化合物は、 R^2 がトリフェニルメチルである化合物である。

別の特定の発明の第4の態様の化合物は、 R^1 がベンジルオキシカルボニルおよび R^2 がトリフェニルメチルである化合物、すなわち、N - - (ベンジルオキシカルボニル) - L - - グルタミン - S - トリフェニルメチル - L - システイニル - 2(R) - フェニルグリシンおよびその塩である。

【 0 0 3 0 】

本発明方法による本発明化合物およびカンホスファミドおよびその塩の製造を反応工程式 1 に示す。

本明細書および請求の範囲に記載の製造において、製造ステップ中の溶媒の指定は、溶媒を必ず単独で用いることを意味するのを意図するものではない：溶媒は、1つ以上の共溶媒とともに用いてもよいが、ただし、溶媒混合物の特性は主として、指定された溶媒に

10

20

30

40

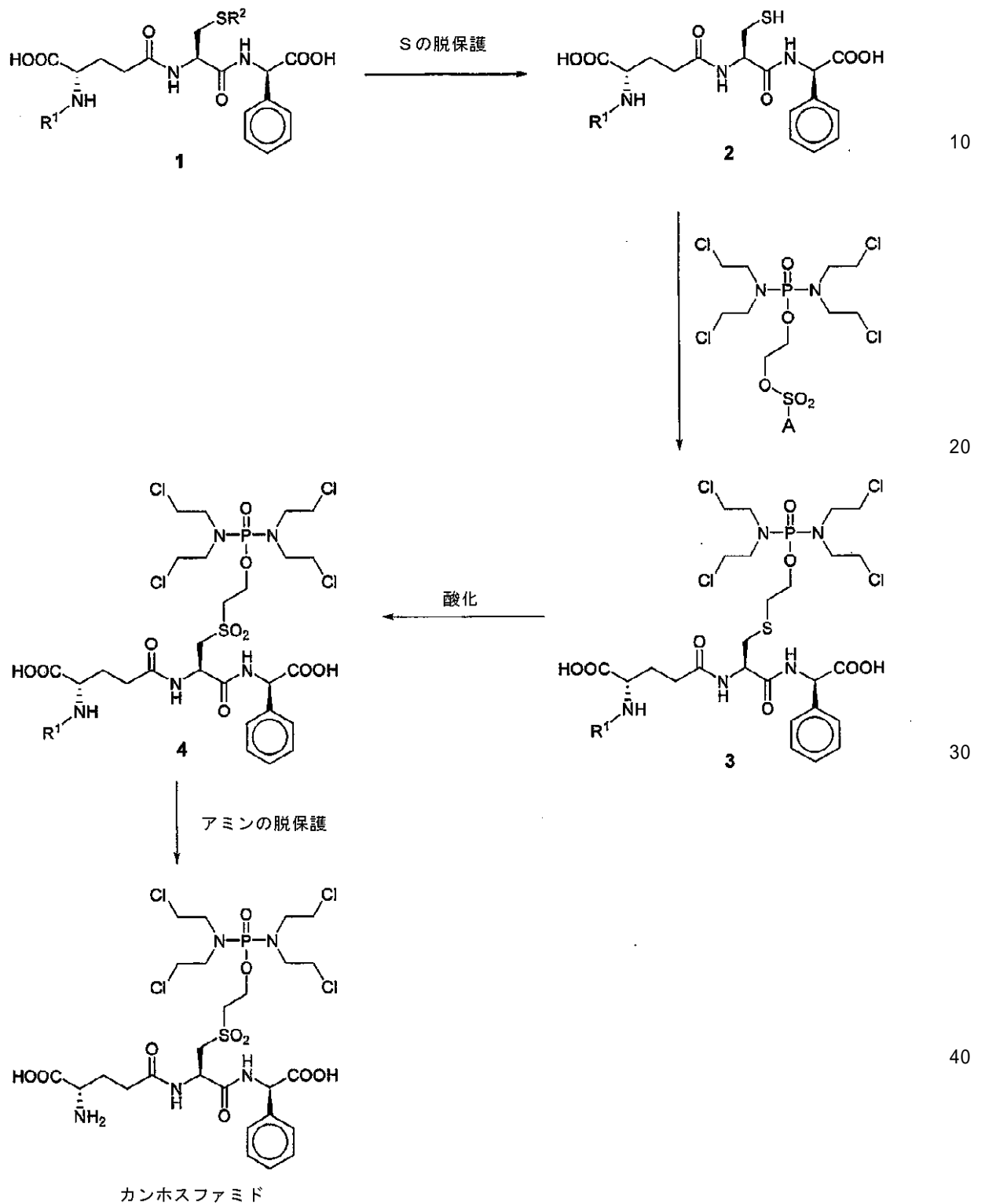
50

によって決定される。

【 0 0 3 1 】

反応工程式 1

【 化 2 】



【 0 0 3 2 】

最初のステップにおいて、化合物1のイオウ原子を脱保護して、化合物2を得る。

アミン保護基を除去することなくイオウ保護基を除去するのに適した方法のいずれかによって、化合物1を脱保護する。イオウ保護基が酸分解的に除去しうるイオウ保護基であ

る場合、化合物1は酸分解によって都合よく脱保護される。

典型的には、必要に応じてスカベンジャーの存在下で、酸分解的に除去しうるイオウ保護基を除去するには十分に強いが、触媒的に除去しうるアミン保護基を除去するには十分に強くない酸に化合物1を溶解する。適当な酸として、必要に応じてジクロロメタンなどの共溶媒の存在下で、トリフルオロ酢酸およびトリフルオロメタンスルホン酸などの他の強酸が挙げられる；適当なスカベンジャーとして、アニソールまたはチオアニソールなどの芳香族エーテルおよび硫化物、クレゾールなどのフェノール、および最も効率的には、トリエチルシランおよびトリイソプロピルシランなどのトリアルキルシランおよびポリ(メチルヒドロシロキサン)などのシランポリマーといったようなシランが挙げられる；および特に適当な脱保護試薬は、ポリ(メチルヒドロシロキサン)の存在下でのトリフルオロ酢酸である。たとえば、炭化水素またはエーテルなどの非プロトン性非極性溶媒などのアンチソルベントの添加によって、反応混合物から化合物2を単離することができる；特に適当なアンチソルベントは、ヘプタンとメチルtert-ブチルエーテルの混合物である。

【0033】

第2のステップにおいて、化合物2のチオレートアニオンを2-(A-スルホニルオキシ)エチル N,N,N',N'-テトラキス(2-クロロエチル)ホスホロジアミデートでアルキル化して、化合物3を調製する。

典型的には、適当な溶媒(たとえば、 $C_1 - 6$ アルカノール、1,2-エタンジオールまたは1,3-プロパンジオールなどのジオール、2-メトキシエタノール、1,2-ジメトキシエタンまたはテトラヒドロフランなどのエーテル；特にメタノールなどの $C_1 - 3$ アルカノール)中の強塩基(たとえば、アルカリ金属またはアルカリ土類金属水酸化物、炭酸塩、リン酸塩またはアルコキシドもしくは水酸化アンモニウム；またはテトラメチルグアニジン、DBU(1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデク-7-エンなどの有機アミン塩基；特にアルカリ金属水酸化物)などの溶液に、化合物2を溶解して、チオレートアニオンを形成し、ホスホロジアミデートを加え(典型的に過剰で、化合物2に対して、たとえば、少なくとも1.5倍、特に少なくとも2倍、たとえば、約2.5倍)、次いで、完了までの時間、反応混合物を適当な温度で保持する。非極性非プロトン性溶媒(たとえば、トルエンなどの芳香族炭化水素)中の溶液でホスホロジアミデートを用いる場合、化合物3を形成する反応が完了すれば、反応混合物を中和し、水性および非水性層を分離して、未反応のホスホロジアミデート出発物質を除去する。次いで、溶媒(たとえば、 $C_1 - 6$ アルカノール)を水性相から除去し、水性相を非極性非プロトン性溶媒(たとえば、酢酸イソプロピルなどのエステル)で抽出して、さらなる未反応のホスホロジアミデート出発物質を除去する。次いで、水性相のpHをさらに下げ、非極性非プロトン性溶媒に化合物3を抽出する。溶媒を除去することによって化合物3を単離することができるが、溶媒がプロセスの第3のステップに適当な溶媒である場合、次いで、化合物3を溶液中の第3ステップに付すことができる。

【0034】

第3のステップにおいて、化合物3のイオウ原子を酸化して、化合物4を調製する。

典型的には、化合物3を適当な溶媒に溶解し、酸化剤を加え、反応混合物を、酸化を完了させるために十分な時間、十分な温度に保持する。適当な溶媒/酸化剤の組み合わせとして、酢酸/ペルオキシ酢酸および酢酸/過酸化水素/ペルオキシ酢酸などの $C_2 - 3$ アルカン酸/過酸化水素/ペルオキシアルカン酸の組み合わせ、溶媒および酸化剤の両方としての $C_2 - 3$ ペルオキシアルカン酸またはペルオキシトリフルオロ酢酸の使用が挙げられる。ジメチルスルフィドなどの試薬を加えて過剰の酸化剤の反応を停止した後、要すれば、単純に濃縮することによって、化合物4を単離する。特に適当な溶媒/酸化剤の組み合わせとして、エステル(たとえば、酢酸イソプロピル)などの非極性非プロトン性溶媒に溶解した化合物3と水溶液にある酸化剤といったような酸化が二相系で起こる組み合わせが挙げられる。これらの二相酸化剤に適当な酸化剤として、たとえば、過硫酸アンモニウム、ナトリウムまたはカリウムなどの過ホウ酸塩および過硫酸塩といったようなホウ酸塩およびペルオキシ化合物が挙げられ、特に適当な酸化剤は、OXONE(登録商標)($2KHSO_5 \cdot KHSO_4 \cdot K_2SO_4$)などのモノ過硫酸カリウムである。水相および非水相を分離し、酸化剤を完全に除去する

ための非水相の任意の洗浄を行った後、濃縮によって非水相から化合物4を単離する。

【0035】

第4のステップにおいて、化合物4のアミン基を脱保護して、カンホスファミドを調製し、必要に応じて、カンホスファミドの酸付加塩を形成させる。

カンホスファミド分子の残りの部分に影響を及ぼさないアミン保護基の適当な除去方法のいずれかによって化合物4を脱保護する。アミン保護基が触媒的に除去しうるアミン保護基である場合、触媒的還元または異性化によって化合物4は都合よく保護される。

【0036】

触媒的還元のために、典型的には、たとえば、水の存在下での酢酸イソプロピルなどの、特に水の存在下での $C_1 - 4$ アルカノールなどの適当な溶媒または極性プロトン性溶媒または非極性非プロトン性溶媒に化合物4を溶解し、典型的には、パラジウムブラック、パラジウム/硫酸バリウムおよびパラジウム/炭素などのパラジウム触媒などの還元触媒の存在下、水素またはシクロヘキセンもしくは1,4-シクロヘキサジエンなどの水素供与体と接触させる。触媒を除去した後、たとえば、炭化水素またはジクロロメタンなどのハロゲン化炭化水素などの非プロトン性溶媒などの塩のためのアンチソルベントになる溶媒を添加し、次いで、特に、たとえば、塩化水素ガスなどの無水酸の形態または非プロトン性溶媒中で塩を形成するために選ばれた酸を添加することにより、カンホスファミドは酸付加塩として都合よく単離される。たとえば、ジエチルエーテル、メチル tert - ブチルエーテルおよびテトラヒドロフラン、特にメチル tert - ブチルエーテルなどのエーテルなどの塩のためのさらなるアンチソルベントを必要に応じて加えてもよい。触媒的異性化のために、典型的には、第2級アミンなどの求核性アリル基スカベンジャーの存在下で、テトラキス(トリフェニルホスフィン)パラニウム(0)などのゼロ価のパラジウム錯体を用いる。典型的には、適当な方法で、酸付加塩としてカンホスファミドを単離する。

【0037】

化合物および方法の使用

本発明の第1、第2、第3および第4の態様の化合物(それぞれ、式4、3、2および1で示される化合物)および本発明の第5、第6、第7および第8の態様のプロセスステップは、公知の抗ガン剤カンホスファミドおよびその塩の製造において有用である。

さらに、本発明の第1の態様の化合物は、有効な細胞毒性剤でもある。したがって、それらは、ガン、特にカンホスファミドおよびその塩で治療可能なタイプのガンの治療に有用である。これらのガンとして、乳ガン、特にヒトのガンが挙げられる。特に治療可能なガンは、アポトーシス誘導物質に感受性のあるガンであり、さらに詳しくは、GST P1 - 1を発現または特に過剰発現するガンである。他の抗ガン療法(すなわち、本発明の第1の態様の化合物ではない)で治療した場合にGST P1 - 1を発現または過剰発現するガンもまた、該他の抗ガン療法と組み合わせて用いる場合に本発明の第1の態様の化合物で特に治療可能である。このタイプの組み合わせ化学療法が、カンホスファミドおよびその類縁体について、米国特許出願公開公報 US 2004/0138140およびPCT国際公開公報WO 2004/045593に記載されている。このようなガンとして、脳、乳房、膀胱、子宮頸部、結腸および直腸、食道、頭部および頸部、腎臓、肺、肝臓、卵巣、脾臓、前立腺および胃のガン；ALL、AML、AMML、CLL、CML、CMMLおよび有毛細胞白血病などの白血病；ホジキン病および非ホジキンリンパ腫；中皮種、多発性骨髄腫；ならびに骨および軟部組織の肉腫が挙げられる。本発明の第1の態様の化合物で特に治療可能なガンとして、乳房、卵巣、結腸直腸および非小細胞肺癌が挙げられる。

【0038】

本発明の第9の態様は、本発明の第1の態様の化合物を含む医薬組成物、ガンの治療のためおよびガンの治療のための医薬の製造のためのこれらの化合物の使用、ならびに典型的には治療有効量でこれらの化合物を投与することによるガンの治療方法である。

【0039】

化合物は、治療される患者および患者の病気の性質に適当な経路のいずれかによって投与することができる。投与経路として、静脈内、腹腔内、筋肉内および皮下注射などの注

10

20

30

40

50

射による投与、局所適用を介する経粘膜または経皮デリバリーによる投与、点鼻スプレー、座薬などが挙げられるが、これらに限定されるものではなく、あるいは経口投与してもよい。これらの化合物を含む医薬組成物は、必要に応じて、リポソーム製剤、乳剤、粘膜を通して薬剤を投与するように設計された製剤または経皮製剤であってもよい。これらの投与方法のそれぞれのための適当な製剤は、たとえば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy、20 ed.、A. Gennaroら、Lippincott Williams & Wilkins、Philadelphia、Pennsylvania、U.S.A.、2003に見出すことができる。典型的な組成物は、経口剤または静脈内注入のための液剤のいずれかであり、該化合物を含み、典型的には1つ以上の医薬的に許容しうる賦形剤も含む。典型的な投与剤形は、錠剤、静脈内注入のための液剤および静脈内注入のための溶液に戻して用いる凍結乾燥粉末である。

10

【0040】

本発明の第1の態様の化合物の治療有効量は、約50～3000 mg/m²体表面積、特に500～1500 mg/m²である。投与は、1～35日間隔；たとえば、1～5週間隔、特に1、2、3または4週間隔、あるいは数日(たとえば、5または7日)に1回などのより多い頻度で、2、3または4週間毎に投与を繰り返して、もしくは6～72時間の持続注入で、2、3または4週間毎に投与を繰り返して、約500～1000 mg/m²の投与を行うことができる；このような投与の柔軟性は他の抗ガン療法との併用療法を容易に行うことができる。

【実施例】

【0041】

次の実施例は、本発明方法による本発明化合物およびカンホスファミド塩酸塩の製造ならびに抗ガン剤としての本発明の第1の態様の化合物の有用性を明らかにする。

20

反応工程式2は、本発明方法による本発明の好ましい化合物およびカンホスファミド塩酸塩の製造を示す。N- (ベンジルオキシカルボニル)-L- -グルタミル-S-トリフェニルメチル-L-システニル-2(R)-フェニルグリシン、化合物1Aの製造は、その先駆体化合物の保護の性質に従属するので、反応工程式2に示されないが、O- -ベンジル-N- (ベンジルオキシカルボニル)-L- -グルタミル-S-トリフェニルメチル-L-システニル-2(R)-フェニルグリシンからのプロセスは、後記実施例1に記載される。

【0042】

O- -ベンジル-N- (ベンジルオキシカルボニル)-L- -グルタミル-S-トリフェニルメチル-L-システニル-2(R)-フェニルグリシンは、ペプチド合成の標準的方法によって製造することができる。容易に入手しうる出発物質であるN- (ベンジルオキシカルボニル)-L- -グルタミン酸 -ベンジルエステル、S-トリフェニルメチル-L-システインおよびD-フェニルグリシンは、以下の通りである。N- (ベンジルオキシカルボニル)-L- -グルタミン酸 -ベンジルエステルは、無水1,4-ジオキササン中のN-ヒドロキシスクシンイミドとジシクロヘキシルカルボジイミドとの反応により、N-ヒドロキシスクシンイミドエステルとして活性化される。N- (ベンジルオキシカルボニル)-L- -グルタミン酸 -ベンジルエステル -N-ヒドロキシスクシンイミドエステルを無水テトラヒドロフランに溶解し、次いで、S-トリフェニルメチル-L-システインとトリエチルアミンの水溶液を加えて、O- -ベンジル-N- (ベンジルオキシカルボニル)-L- -グルタミル-S-トリフェニルメチル-L-システインを得る。これをN-ヒドロキシスクシンイミドエステルとして活性化し、 -グルタミンとシステインとのカップリングと同じ方法でD-フェニルグリシンとカップリングさせて、所望のO- -ベンジル-N- (ベンジルオキシカルボニル)-L- -グルタミル-S-トリフェニルメチル-L-システニル-2(R)-フェニルグリシンを得る。

30

40

【0043】

カップリングのためにグルタミン酸の -カルボキシル基および/またはシステインカルボキシル基を活性化させる異なる活性化基および方法を用いる以外は同様の方法を用いることもできる；たとえば、まずシステイン-フェニルグリシンカップリング、次いで、得られるS-トリフェニルメチル-L-システニル-2(R)-フェニルグリシンとN-

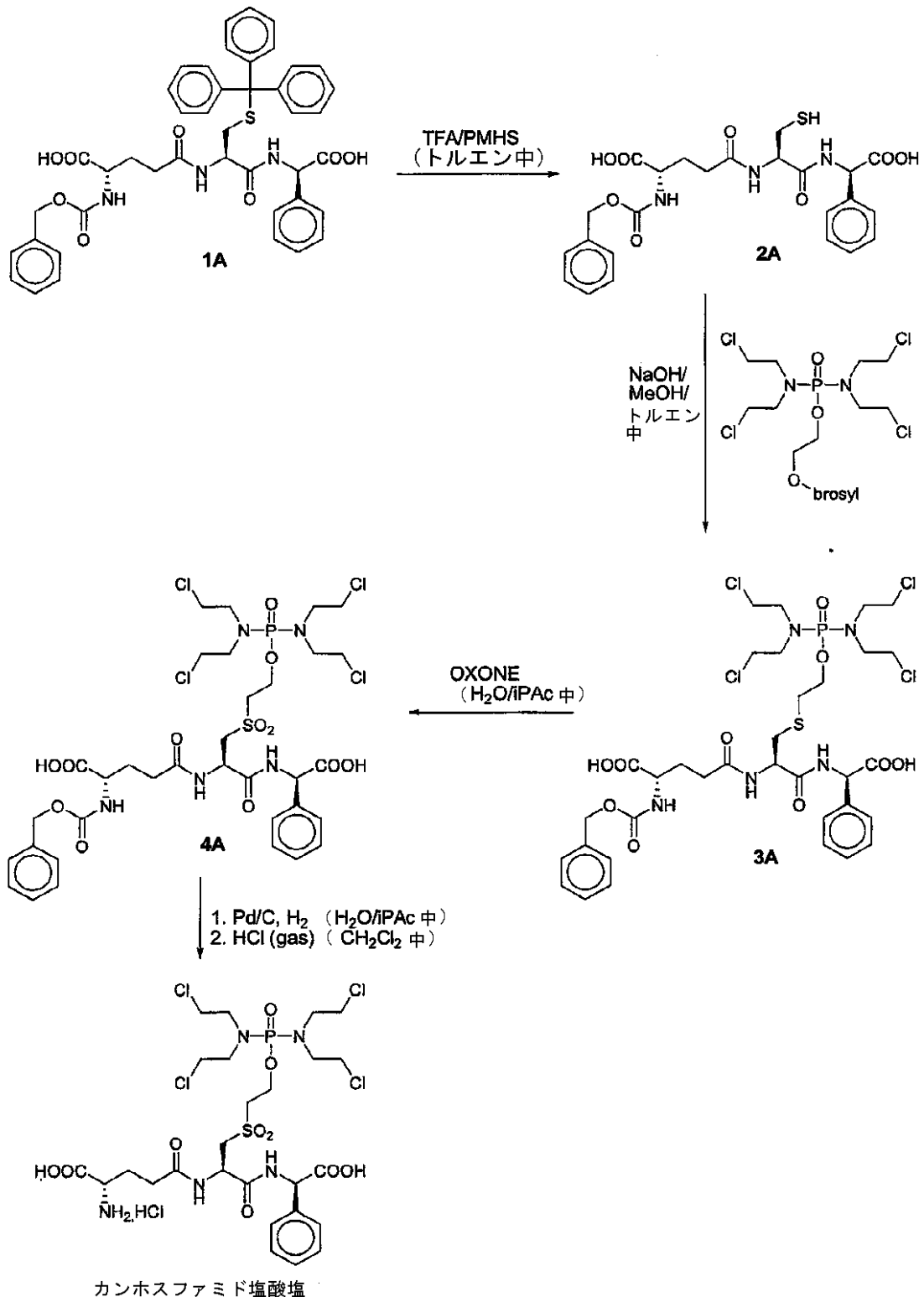
50

- (ベンジルオキシカルボニル) - L - - グルタミン酸 - ベンジルエステルとのカップリングを行う。N - - (ベンジルオキシカルボニル) - L - - グルタミル - S - トリフェニルメチル - L - システイニル - 2(R) - フェニルグリシン分子の残りの部分に影響を及ぼすことなく最後に - カルボキシル基を脱保護することができるという条件で、N - - (ベンジルオキシカルボニル) - L - - グルタミン酸の - カルボキシル基の他の保護もまた用いることができる。

【 0 0 4 4 】

反応工程式 2

【化 3】



10

20

30

40

【 0 0 4 5 】

実施例 1

カンホスファミド塩酸塩の製造

N - (ベンジルオキシカルボニル) - L - グルタミン - S - トリフェニルメチル - L - システイニル - 2(R) - フェニルグリシン、1A

オーバーヘッドメカニカルスターラー、温度計および2 Lの均圧滴下ロートを備えた5 Lの三首丸底フラスコに、0 - ベンジル - N - (ベンジルオキシカルボニル) - L -

50

- グルタミル - S - トリフェニルメチル - L - システイニル - 2(R) - フェニルグリシン (500 g、590 mmol) およびメタノール (1 L) を入れる。スターラーを中速で撹拌するようにセットして、透明褐色溶液を得、水酸化ナトリウム水溶液を20分間かけて加える。この間に添加により反応混合物から発熱が起こり、内部反応温度が35 に上昇し、添加の間中この温度が維持される。固体の沈澱が始まるが、添加の終了までに再溶解する。次いで、反応混合物を室温まで冷却し、90分間撹拌し、次いで、回転蒸発器 (40 mbar、最終浴温35) でメタノールを減圧除去して、N - - (ベンジルオキシカルボニル) - L - - グルタミル - S - トリフェニルメチル - L - システイニル - 2(R) - フェニルグリシンのジナトリウム塩の水溶液を得る。混合物をオーバーヘッドメカニカルスターラー、温度計および2 Lの均圧滴下ロートを備えた5 Lの三首丸底フラスコに入れ、次いで、水 (1 L) で希釈する。氷 / 水浴を用いて混合物を0 に冷却し、塩酸水溶液 (1.3 L、1 M、1.3 mol) を20分間かけて加える。この間に、添加が固体の沈澱を引き起こし、混合物の最終pH4に達する。得られるスラリーを0 にて30分間撹拌し、吸引濾過により沈澱を集め、水 (1 L) で洗浄する。沈澱をジクロロメタン (3 L) に溶解し、得られる溶液を5 Lのの分液ロートに移す。水性画分を除去し、有機相を水 (2 x 1 L) および飽和塩化ナトリウム水溶液 (1 L) で洗浄し、無水硫酸ナトリウム (100 g) で乾燥する。清澄化した後、溶媒を回転蒸発器で減圧除去 (40 mbar、35) して、褐色泡状物を得る。固体生成物をさらに一夜乾燥 (40 mbar、40) して、N - - (ベンジルオキシカルボニル) - L - - グルタミル - S - トリフェニルメチル - L - システイニル - 2(R) - フェニルグリシン、1Aをオフホワイト粉末で得る (400 g、89%収率)。TL C分析は、1つのスポット ($R_f = 0.50$ 、シリカゲル、1:4 メタノール/クロロホルム) を示す。プロトンNMRスペクトル (DMSO - d_6) は、予定の構造に一致する。HPLC分析は、1つの主要ピークを示す (RT = 22.1分間; 20:80 アセトニトリル/0.1 M 水性 $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ~ 80:20 アセトニトリル/0.1 M 水性 $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 、30分間かけて; 流速 = 1.0 mL/分; 220 nmにて検出; 25)。

【 0 0 4 6 】

N - - (ベンジルオキシカルボニル) - L - - グルタミル - L - システイニル - 2(R) - フェニルグリシン、2A。

窒素パージ装置、オーバーヘッドメカニカルスターラー、温度計および均圧滴下ロートを備えた12 Lの三首被覆丸底フラスコに、N - - (ベンジルオキシカルボニル) - L - - グルタミル - S - トリフェニルメチル - L - システイニル - 2(R) - フェニルグリシン (900 g x 93.7%純度、843.3 g、1.11 mol) およびトルエン (3.6 L) を入れる。窒素パージ後、これを撹拌し、トリフルオロ酢酸 (TFA、824 mL、11.1 mol) を加える。温度を25 に維持しながらポリ (メチルヒドロシロキサン) (PMHS、270 g) を1時間かけて加え、反応混合物をさらに17時間撹拌する。反応物に1:1 ヘプタン/メチル tert - ブチルエーテル (5.4 L) を1.5時間かけて加えて反応を停止するとN - - (ベンジルオキシカルボニル) - L - - グルタミル - L - システイニル - 2(R) - フェニルグリシンが沈澱する。さらに2時間撹拌した後、混合物を濾過し、沈澱をヘプタン (3.6 L) で洗浄し、40 にて減圧乾燥する。

N - - (ベンジルオキシカルボニル) - L - - グルタミル - L - システイニル - 2(R) - フェニルグリシン。正確な質量: 517.15; MS (API - ES+): m/z 518 (M+H+); ^1H NMR (400 MHz, DMSO - d_6): 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)。

【 0 0 4 7 】

N - - (ベンジルオキシカルボニル) - L - - グルタミル - 3 - [[2 - [[ビス[ビス(2 - クロロエチル)アミノ]ホスフィニル]オキシ]エチル]チオ] - L - アラニル - 2(R) - フェニルグリシン、3A

窒素パージ装置、オーバーヘッドメカニカルスターラー、温度計および均圧滴下ロートを備えた12 Lの三首被覆丸底フラスコに、水酸化ナトリウム (49.46 g、1.24 mol) およびメタノール (1.99 L) を入れ、窒素下で溶解するまで撹拌し、次いで、約5 に冷却する。N

N - (ベンジルオキシカルボニル) - L - グルタミル - L - システイニル - 2(R) - フェニルグリシン(398.5 g × 80.3%純度、320 g、0.62 mol)を加え、次いで、を2 - (4 - プロモベンゼンスルホニルオキシ)エチル N,N,N',N' - テトラキス(2 - クロロエチル)ホスホロジアミデート(1487.5 g × 63.3%純度、941.6 g、1.55 mol)の約1 Mトルエン溶液で加える。窒素下、反応混合物の温度を5 に維持しながら、メタノール(1.99 L)中の水酸化ナトリウム(56.88 g、1.42 mol)の溶液を5時間かけて加え、次いで、反応混合物をその温度でさらに17時間攪拌する。冷却しながら水(1.12 L)を加え、反応混合物のpHを1 Mリン酸で6.9に調節し、トルエン(1.92 L)を加え、水(2.72 L)を加える。反応混合物を攪拌し、次いで、相を分離し、トルエン層(過剰の2 - (4 - プロモベンゼンスルホニルオキシ)エチル N,N,N',N' - テトラキス(2 - クロロエチル)ホスホロジアミデートを含む)を除去する。水性層をトルエン(1.92 L)で洗浄し、トルエン相を分離し、相を除去する。次いで、バッチ温度を35 以下に維持しながら水性層を減圧蒸留して、メタノールを除去する。次いで、酢酸イソプロピル(iPAc、1.6 L)を加え、pHを6.9に調節し、相を分離し、酢酸イソプロピル相(2 - (4 - プロモベンゼンスルホニルオキシ)エチル N,N,N',N' - テトラキス(2 - クロロエチル)ホスホロジアミデートを含む)を除去する。酢酸イソプロピル(3.2 L)を加え、pHを4.8 - 4.85に調節し、相を分離し、酢酸イソプロピル相(N - (ベンジルオキシカルボニル) - L - グルタミル - 3 - [[2 - [[ビス[ビス(2 - クロロエチル)アミノ]ホスフィニル]オキシ]エチル]チオ] - L - アラニル - 2(R) - フェニルグリシンを含む)を保持する。水性相に酢酸イソプロピル(0.64 L)を加え、pHを4.8 - 4.85に調節し、相を分離し、酢酸イソプロピル相を先のpH 4.8 - 4.85 酢酸イソプロピル相と合わせる。合わせた酢酸イソプロピル相に水(1.6 L)を加え、pHを5.25 - 5.3に調節し、相を分離し、水性相を除去する。水洗浄を繰り返し、水性相を分離した後、酢酸イソプロピル相を減圧蒸留して、バッチの体積約3.15 Lをに引き下げた後、次の処理を行う。溶媒を除去することにより、N - (ベンジルオキシカルボニル) - L - グルタミル - 3 - [[2 - [[ビス[ビス(2 - クロロエチル)アミノ]ホスフィニル]オキシ]エチル]チオ] - L - アラニル - 2(R) - フェニルグリシンを溶液から単離することができる。

N - (ベンジルオキシカルボニル) - L - グルタミル - 3 - [[2 - [[ビス[ビス(2 - クロロエチル)アミノ]ホスフィニル]オキシ]エチル]チオ] - L - アラニル - 2(R) - フェニルグリシン。正確な質量: 887.15 ; MS(API - ES+): m/z 890、888(M+H+); 1H NMR(400 MHz、DMSO - d₆): 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)。

【0048】

N - (ベンジルオキシカルボニル) - L - グルタミル - 3 - [[2 - [[ビス[ビス(2 - クロロエチル)アミノ]ホスフィニル]オキシ]エチル]スルホニル] - L - アラニル - 2(R) - フェニルグリシン、4A。

窒素パージ装置、オーバーヘッドメカニカルスターラー、温度計および均圧滴下ロートを備えた12 Lの三首被覆丸底フラスコに、酢酸イソプロピル(2.65 L)中の先のステップからのN - (ベンジルオキシカルボニル) - L - グルタミル - 3 - [[2 - [[ビス[ビス(2 - クロロエチル)アミノ]ホスフィニル]オキシ]エチル]チオ] - L - アラニル - 2(R) - フェニルグリシン(442.6 g、0.50 mol)の溶液を入れる。温度を20 - 30 に維持して窒素下で攪拌しながら、水(2.66 L)中の2KHSO₅・KHSO₄・K₂SO₄(OXONE (登録商標))(663.9 g、1.08 mol)の溶液を加える。水性相を分離し、除去し、酢酸イソプロピル相を水(885 mL)で3回洗浄し、各洗浄後にその水をデンプン/KI紙で過硫酸塩の存在について試験する。酢酸イソプロピル相に酢酸イソプロピル(2.65 L)を加え、次いで、合わせた溶液を減圧蒸留して、体積を約1.77 Lに引き下げる。次いで、酢酸イソプロピル(1.77 L)を加え、溶液をカルフィッシャー滴定によって試験して、水分含量が0.2%以下であることを確認する。混合物を一夜攪拌し、沈澱したN - (ベンジルオキシカルボニル) - L - グルタミル - 3 - [[2 - [[ビス[ビス(2 - クロロエチル)アミノ]ホスフィニル]オキシ]エチル]スルホニル]

- L - アラニル - 2(R) - フェニルグリシンを濾過し、35 にて乾燥する。

N - - (ベンジルオキシカルボニル) - L - - グルタミル - 3 - [[2 - [[ビス[ビス(2 - クロロエチル)アミノ]ホスフィニル]オキシ]エチル]スルホニル] - L - アラニル - 2(R) - フェニルグリシン。正確な質量: 919.14 ; MS(API - ES+): m/z 924、922、920(M+H+) ; ¹H NMR(400 MHz、DMSO - d₆): 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)。

【 0 0 4 9 】

カンホスファミド塩酸塩。

2 Lのオートクレーブ中で、酢酸イソプロピル(350 mL)中のパラジウム/炭素(5%、26.25 g)を窒素パージ(吸引、窒素、放出)の3サイクル、次いで、水素添加(3.4 bar)および放出の3サイクルによって予備還元し、最後の水素添加後、30分間混合物を撹拌し、次いでもう一度窒素パージする。N - - (ベンジルオキシカルボニル) - L - - グルタミル - 3 - [[2 - [[ビス[ビス(2 - クロロエチル)アミノ]ホスフィニル]オキシ]エチル]スルホニル] - L - アラニル - 2(R) - フェニルグリシン(190.6 g × 91.89%純度、175 g、190 mmol)を酢酸イソプロピル(700 mL)および水(53.9 mL)に溶解し、溶液をオートクレーブに入れる。窒素パージを3回繰り返し、次いで、水素添加と放出を2サイクル繰り返し、次いで、オートクレーブを水素で3.4 barまで加圧し、30 に加熱し、その温度で7.7時間維持し、反応の完了を HPLCでモニターする。反応混合物を珪藻土(セライト(登録商標))で濾過して、触媒を除去し、濾液を酢酸イソプロピル(2 × 175 mL)で洗浄する。合わせた濾液および洗液を減圧蒸留して脱水し、酢酸イソプロピルを再添加し、次いで、濃縮して溶液の最終量485.7 gをにする。溶液にジクロロメタン(350 mL)を加え、次いで、塩酸ガス(8.37 g)を添加し、メチル tert - ブチルエーテル(858 mL)で希釈する。2.5時間撹拌した後、反応混合物を濾過し、カンホスファミド塩酸塩残渣をメチル tert - ブチルエーテル(2 × 576 mL)で洗浄し、55 にて減圧乾燥する。

カンホスファミド塩酸塩。正確な質量 785.10 ; MS(API - ES+): m/z 800、788、786(M+H+) ; ¹H NMR(300 MHz、DMSO - d₆): 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)。

【 0 0 5 0 】

実施例2

N - - (ベンジルオキシカルボニル) - L - - グルタミル - 3 - [[2 - [[ビス[ビス(2 - クロロエチル)アミノ]ホスフィニル]オキシ]エチル]スルホニル] - L - アラニル - 2(R) - フェニルグリシン、4Aの細胞毒性活性

この実施例は、ヒトのガン細胞系に対するN - - (ベンジルオキシカルボニル) - L - - グルタミル - 3 - [[2 - [[ビス[ビス(2 - クロロエチル)アミノ]ホスフィニル]オキシ]エチル]スルホニル] - L - アラニル - 2 - フェニル - (2R) - グリシン、化合物4Aの有利な効果をインビトロで説明する。これらのアッセイにおいて試験したカンホスファミドなどの他の抗ガン剤が、ヒトにおける抗ガン活性を示しているため、これらの結果は、ヒトにガン化学療法における効力の予測であるとみなされる。ヒトガン細胞系HL - 60(前骨髄骨髄性白血病)およびMX - 1(乳ガン)をNational Cancer Institute、ベセスダ、メリーランド、U.S.A. から入手した。CellTiter - GloアッセイキットをPromega Corporation、マジソン、ウィスコンシン、U.S.A. から入手し、使用説明書にしたがって用いた。ジメチルスルホキシド(DMSO)溶媒コントロールを用い、すべてのアッセイを3重繰り返しウエルで行った。細胞成長の程度を溶媒コントロールウエルからのシグナルに対するパーセンテージとして表した。

【 0 0 5 1 】

対数期細胞をトリプシン処理し、遠心分離によって集め、少量の新鮮な培地に再懸濁し

10

20

30

40

50

、トリパン・ブルー染色後に生存細胞の密度を決定した。新鮮な培地(HL - 60細胞には 5×10^3 細胞/mLおよびMX - 1細胞には 3×10^3 細胞/mL)で細胞を希釈し、希釈後すぐに化合物4A(DMSOに溶解して0.1 ~ 200 μ Mの濃度、50 μ L)を加えて、最終DMSO濃度0.5%を達成し、次いで、懸濁液を96ウエルプレートに150 μ L/ウエルで加え、数時間インキュベートして接着細胞の場合に付着させる。細胞を3倍加期間培養した(3日間)。次いで、細胞を遠心分離によって集め、100 μ Lの培養上清をCellTiter - Glo試薬と交換した。室温にて15分間インキュベートした後、プレートを照度計で読み取った。細胞系に対する IC_{50} で表した化合物4Aの活性は、HL - 60が2.2 μ MおよびMX - 1が34.6 μ Mであった。このアッセイにおいて、化合物は、カンホスファミドとほぼ同程度に効力がある。

【0052】

10

実施例3

製剤例および治療例

以下を合わせ、混合物を打錠して錠剤を形成するか、または硬ゼラチンカプセルに充填して、250 mgの化合物4Aを含む経口投与用固形製剤を製造する：

化合物4A	25.0% w/w
ステアリン酸マグネシウム	0.5% w/w
デンプン	2.0% w/w
ヒドロキシプロピルメチルセルロース	1.0% w/w
微結晶セルロース	71.5% w/w

錠剤は、要すれば、フィルム形成剤(たとえば、ヒドロキシプロピルメチルセルロース)、色素(たとえば、二酸化チタン)および可塑剤(たとえば、ジエチルフタレート)の懸濁液を適用し、溶媒を蒸発させてフィルムを乾燥することによってコーティングしてもよい。

20

【0053】

化合物4Aをたとえば、医薬的に許容しうる塩として濃度1% w/vのリン酸緩衝生理食塩水に溶解し、溶液を滅菌濾過し、次いで、滅菌容器に封入することによって、たとえば、250 mgの本発明化合物を含む静脈内投与用製剤を製造する。

あるいは、化合物4Aを医薬的に許容しうる塩として、たとえば、上記リン酸緩衝生理食塩水のリン酸緩衝液などの適当な緩衝液に溶解し、この溶液を滅菌し、適当な滅菌バイアルに分配し、溶液を凍結乾燥して水を除去し、バイアルを密封することによって、凍結乾燥製剤を製造することができる。凍結乾燥製剤を、滅菌水を加えることによって戻し、戻した溶液を0.9%塩化ナトリウム静脈内注入液または5%デキストロース静脈内注入液などの溶液で、投与用にさらに希釈することができる。

30

【0054】

5%デキストロース静脈内注入液で希釈した化合物4Aは、初期用量100 mg/m²で転移性卵巣ガンを患う患者に30分間かけて静脈内投与し、この用量を250 mg/m²、500 mg/m²、750 mg/m²および1000 mg/m²に増加させる。化合物は、1週間隔で投与する。同じガンを患う患者に、2および3週間隔で同じ用量漸増で投与する。

【0055】

本発明は、特定の態様および実施例とともに記載されているが、当業者には、専門技術および本発明の開示から、特別に開示された物質および方法の等価物もまた、本発明に適用することができること；およびこのような等価物が特許請求の範囲に包含されることが意図されることは明らかである。

40

フロントページの続き

- (74)代理人 100087114
弁理士 齋藤 みの里
- (72)発明者 ウィリアム・エイ・ブーランジャー
アメリカ合衆国 6 1 8 5 3 イリノイ州マホメット、サイプレス・ポイント・コート 1 8 0 5 番
- (72)発明者 スティーブン・ジェイ・コリアー
シンガポール 2 4 8 4 7 4 シンガポール、タングリム・パーク、ナンバー 0 2 - 0 4、リドレイ・パーク 3 シー番
- (72)発明者 スティーブン・エイ・イースタム
アメリカ合衆国 1 2 1 4 8 ニューヨーク州レックスフォード、ブルー・ジェイ・ウェイ 5 4 番
- (72)発明者 デニス・エル・エディー
アメリカ合衆国 1 2 0 5 4 ニューヨーク州デルマー、ウェイクフィールド・コート 4 8 番
- (72)発明者 ロナン・イグレク・ゲヴェル
フランス、エフ - 6 9 1 0 0 ヴィルルバンヌ、リュ・フラシェ 3 6 番
- (72)発明者 ペドロ・イー・ヘルナンデス・アバド
プエルトリコ 0 0 7 1 4 アロヨ、ボックス・ヌメロ 6 0、パセオ・パルマス 1 3 0 0 番
- (72)発明者 アール・ジェイソン・ハー
アメリカ合衆国 1 2 1 8 6 ニューヨーク州ブーアヒースビル、ニュー・セイレム・サウス・ロード 2 4 8 番
- (72)発明者 ハンス・ヨズ・ケールスゴー
デンマーク、デーコー - 3 5 2 0 ファルム、ルマルケン 2 8 番
- (72)発明者 ハロルド・メックラー
アメリカ合衆国 1 2 0 5 4 ニューヨーク州デルマー、プレストン・ロード 4 5 番
- (72)発明者 ロバート・イー・ポロムスキー
アメリカ合衆国 1 2 0 6 1 ニューヨーク州イースト・グリーンブッシュ、スブルース・ラン 9 番
- (72)発明者 スティーブン・アール・ショウ
アメリカ合衆国 9 4 0 6 5 カリフォルニア州レッドウッド・シティ、メンドシノ・ウェイ 2 0 4 番
- (72)発明者 ペイベル・イー・ジックキン
アメリカ合衆国 1 2 1 1 0 ニューヨーク州レイサム、アパートメント 6、レイサム・ビレッジ 2 1 番

審査官 上村 直子

- (56)参考文献 CIACCIO, P.J. et al., Modulation of detoxification gene expression in human colon HT29 cells by glutathione-S-transferase inhibitors, MOLECULAR PHARMACOLOGY, 米国, 1 9 9 5 年 1 0 月 1 日, Vol.48, No.4, p.639-647
- LYTTLE, M.H. et al., Glutathione-S-transferase Activates Novel Alkylating Agents, Journal of Medicinal Chemistry, JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, 米国, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, 1 9 9 4 年, Vol.37, No.10, p.1501-1507
- MCINTYRE, J.A. and CASTANER, J., Canfosfamide hydrochloride: Oncolytic DNA alkylating drug, Drugs of the Future, DRUGS OF THE FUTURE, 2 0 0 4 年 1 0 月, Vol.29, No.10, p.985-991
- TOWNSEND, D.M. et al., Efficacy of a glutathione S-transferase -activated prodrug in platinum-resistant ovarian cancer cells, Molecular Cancer Therapeutics, 2 0 0 2 年, Vol.1, No.12, p.1089-1095
- HOEOEG, J.O. et al., Glutathione derivatives as inhibitors of glutaredoxin and ribonucleotide reductase from Escherichia coli, FEBS Letters, 1 9 8 2 年, Vol.138, No.1, p.59-61
- YANG, K. et al., Explaining the inhibition of glyoxalase II by 9-fluorenylmethoxycarbon

yl-protected glutathione derivatives , Archives of Biochemistry and Biophysics , 2 0 0
3 年 , Vol.414, No.2 , p.271-278

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

CAplus(STN)

REGISTRY(STN)