



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2008-0091354
(43) 공개일자 2008년10월10일

(51) Int. Cl.

A21D 2/06 (2006.01) C07C 49/24 (2006.01)

A61K 31/045 (2006.01) A61K 31/12 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2008-7018577

(22) 출원일자 2008년07월28일

심사청구일자 없음

번역문제출일자 2008년07월28일

(86) 국제출원번호 PCT/GB2006/004947

국제출원일자 2006년12월29일

(87) 국제공개번호 WO 2007/074344

국제공개일자 2007년07월05일

(30) 우선권주장

0526552.5 2005년12월29일 영국(GB)

(71) 출원인

모버스 테크놀로지 리미티드

영국 웨일스 에스에이32 8에이치제트 카마던 라나
덴 타이 미드파이

(72) 발명자

녹스 리차드 존

영국 웨일스 에스에이32 8에이치제트 카마던 라나
덴 타이미드파이

(74) 대리인

리엔목특허법인

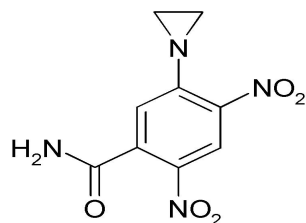
전체 청구항 수 : 총 72 항

(54) 알파-히드록시 카르보닐 화합물의 환원제로서의 용도

(57) 요약

시클릭 이합체를 형성할 수 있는 알파-히드록시카르보닐 화합물의 환원제로서의 용도가 제공된다. 또한 환원성 화합물, 특히 환원으로 활성화되는 전구 약물을 환원시키는 상응하는 방법이 제공된다. 사용된 알파-히드록시카르보닐 화합물의 예는 디히드록시아세톤, 글리콜알데히드, 글리세르알데히드, 에리트로스, 크실룰로스, 에리트리로스, 또는 3-히드록시-2-부타논이다.

대표도 - 도1



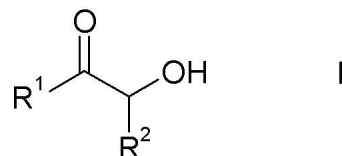
C₉H₈N₄O₅
252.18

C 42.9%; H 3.2%; N 22.2%; O 31.7%

특허청구의 범위

청구항 1

식 I의 화합물의, 하나 이상의 환원성 기(reducible group)를 포함하는 유기 화합물에서 환원성 기를 환원시키기 위한 작용제로서의 용도로서, 상기 식 I의 화합물은 하기 구조를 갖고



상기에서

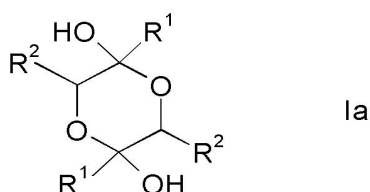
R^1 은 H, 아릴, Het 또는 C_{1-12} 알킬을 나타내고 상기 C_{1-12} 알킬은 OH, 할로 및 C_{1-3} 알콕시로부터 선택되는 하나 이상의 치환기에 의해 선택적으로 치환되고,

R^2 는 H 또는 C_{1-6} 알킬을 나타내고 상기 C_{1-6} 알킬은 하나 이상의 OH 기에 의해 선택적으로 치환되고,

아릴은 C_{6-10} 카보시클릭 방향족 기를 나타내고 상기 기는 할로, C_{1-6} 알킬 및 C_{1-6} 알콕시로부터 선택되는 하나 이상의 치환기에 의해 치환될 수 있고,

Het는 산소, 질소 및/또는 황으로부터 선택되는 하나 이상의 헤테로원자를 포함하는 4-원(membered) 내지 14-원 헤테로시클릭 기를 나타내고, 상기 헤테로시클릭 기는 한 개, 두 개 또는 세 개의 고리를 포함할 수 있고 할로, C_{1-6} 알킬 및 C_{1-6} 알콕시로부터 선택되는 하나 이상의 치환기에 의해 치환될 수 있고,

상기 화합물은 R^1 과 R^2 가 상기에서 정의된 바와 같은 것인 하기 식 Ia의 시클릭 이합체(cyclic dimer)를 형성할 수 있는 것을 특징으로 하는 용도.



청구항 2

제1항에 있어서, 상기 용도는 하나 이상의 환원성 기를 포함하는 유기 화합물에서 환원성 기를 환원시키기 위한 식 I의 화합물 및 염기의 용도인 것인 용도.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 사용되는 염기의 함량은 상기 식 I의 화합물에 대해 4 몰 당량 이하인 것인 용도.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 식 I의 화합물은 pH 7 내지 11에서 상기 환원성 기를 환원시키는 것인 용도.

청구항 5

제2항에 있어서, 상기 환원되는 기는 니트로, 옥소, 이미노, 아조, N-옥시드 또는 피리디늄 기인 것인 용도.

청구항 6

제1항에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물의, 환원으로 활성화되는(reduction-activated) 전구 약물(prodrug)의 상응하는 활성 물질로의 전환을 위한 활성화제(activating agent)로서의 용도.

청구항 7

- (a) 환원으로 활성화되는 전구 약물; 및
- (b) 제1항에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물을 포함하는 조성물.

청구항 8

환원으로 활성화되는 전구 약물을 함유하는 제1 부분과 제1항에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물을 함유하는 제2 부분을 포함하는 부분으로 된 키트(kit of parts).

청구항 9

환원으로 활성화되는 전구 약물과 제1항에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물을 포함하는 치료 시스템.

청구항 10

제7항의 조성물과 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 11

의약에서 사용하기 위한 제7항에 따른 조성물.

청구항 12

의약에서 사용하기 위한, 제1항에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물로서, 상기 화합물은 DHA 또는 글리세르알 데히드가 아닌 것인 화합물.

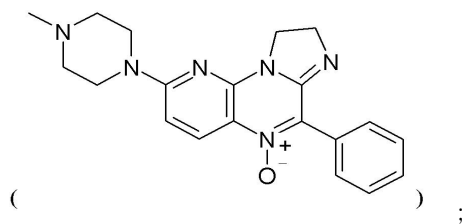
청구항 13

환원으로 활성화되는 전구 약물을 제1항에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물과 접촉시키는 단계를 포함하는, 환원으로 활성화되는 전구 약물을 환원시키는 방법.

청구항 14

제6항에서 청구된 용도, 제7항 또는 제11항에서 청구된 조성물, 제8항에서 청구된 부분으로 된 키트, 제9항에서 청구된 치료 시스템, 제10항에서 청구된 약제학적 조성물 또는 제13항에서 청구된 방법으로서, 상기 환원으로 활성화되는 전구 약물이 하기로부터 선택되는 하나 이상의 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염 및/또는 그의 용매화물인 것인 용도, 조성물, 부분으로 된 키트, 치료 시스템, 약제학적 조성물 또는 방법:

- (a) 메트로니다졸(2-메틸-5-니트로-1H-이미다졸-1-에탄올);
- (b) 클로람페니콜(2,2-디클로로-N-[(α R, β R)- β -히드록시- α -히드록시메틸-4-니트로페닐]아세트아미드);
- (c) 니트로푸라존(2-[(5-니트로-2-푸라닐)메틸렌]히드라진카르복사미드);
- (d) E09(3-[5-아지리디닐-4,7-디옥소-3-히드록시메틸-1-메틸-1H-인돌-2-일]-프로프- β -엔- α -올);
- (e) SR-4233(3-아미노-1,2,4-벤조트리아진-1,4-디옥시드);
- (f) RSU-1069(1-(1-아지리디닐)-3-(2-니트로-1-이미다졸릴)-2-프로판올);
- (g) RB-6145(1-[3-(2-브로모에틸아미노)-2-히드록시프로필]-2-니트로이미다졸);
- (h) AQ4N(1,4-비스([2-(디메틸아미노-N-옥시드)에틸]아미노)5,8-디히드록시-안트라센-9,10-디온);
- (i) RB90003X



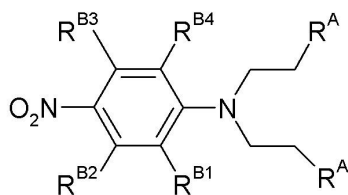
(j)미토마이신 C;

(k)미토센(Mitosene);

(l)시클로프로파미토센(cyclopropamitosene);

(m)디네마이신(dynemycin) A;

(n)하기 식을 가지며,



상기에서

R^A 각각은 독립적으로 클로로, 브로모, 요오도 또는 $-OS(O)_2R^C$ 를 나타내고,

R^C 는 C_{1-8} 알킬(하나 이상의 플루오로 원자에 의해 선택적으로 치환됨) 또는 페닐(할로, 니트로, C_{1-4} 알킬 및 C_{1-4} 알콕시로부터 선택되는 하나 이상의 치환기에 의해 선택적으로 치환됨)을 나타내고,

R^{B1} 내지 R^{B4} 는 독립적으로 H, CN, $C(O)N(R^D)R^E$, $C(S)N(R^D)R^E$, $C(O)OH$, $S(O)_2NHR^F$ 를 나타내거나,

또는 R^{B1} 은 추가로 NO_2 를 나타낼 수 있고,

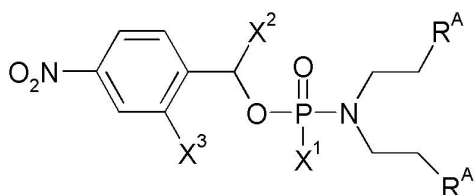
R^D 와 R^E 는 독립적으로 H 또는 C_{1-4} 알킬을 나타내거나(C_{1-4} 알킬기는 OH, $N(H)-C_{1-2}$ 알킬, $N(C_{1-2}$ 알킬) $_2$, 4-모르폴리닐 및 $C(O)OH$ 로부터 선택되는 하나 이상의 치환기에 의해 선택적으로 치환됨),

또는 R^D 와 R^E 는 이들이 결합된 N-원자와 함께 4-모르폴리닐을 나타내고, 및

R^F 는 H 또는 $S(O)_2CH_3$ 을 나타내고,

R^{B1} 이 H가 아닌 경우, R^{B2} 는 H인 화합물; 특히, SN 23862(5-{N,N-비스[2-클로로에틸]아민}-2,4-디니트로벤즈아미드);

o)하기 식을 가지며,



상기에서

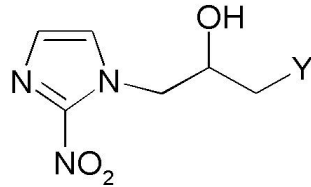
R^A 는 상기에서 정의된 바와 같고,

X^1 은 NH_2 를 나타내고 X^2 와 X^3 모두 H를 나타내거나,

$-X^1-X^2-$ 는 $-NH-CH_2CH_2-$ 를 나타내고 X^3 은 H를 나타내거나 또는

$-X^1-X^3-$ 은 $-NH-$ 를 나타내고 X^2 는 H를 나타내는 것인 화합물;

(p)하기 식을 가지며,



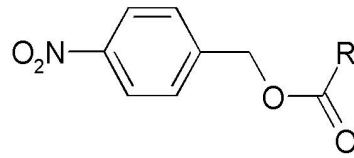
상기에서 Y는

1-아지리디닐(2번-위치에서 메틸로 선택적으로 치환됨),

메톡시(따라서 화합물 미소니다졸을 형성함) 또는

$N(H)CH_2CH_2Br$ (따라서 화합물 RB6145를 형성함)을 나타내는 것인 화합물;

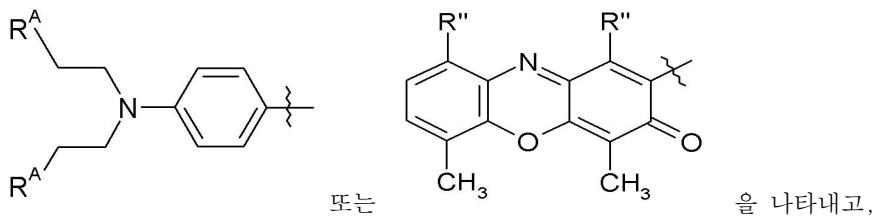
(q)하기 식을 가지며,



상기에서

R은 $-O-R'$ 또는 $-NH-R'$ 을 나타내고,

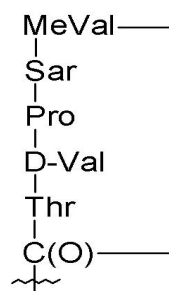
R'은



상기에서 물결선은 단편의 결합 위치를 나타내고,

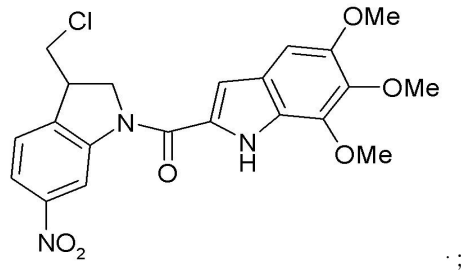
R^A 는 상기에서 정의된 바와 같고 및

R'' 은 하기 펩티드 락톤을 나타내고

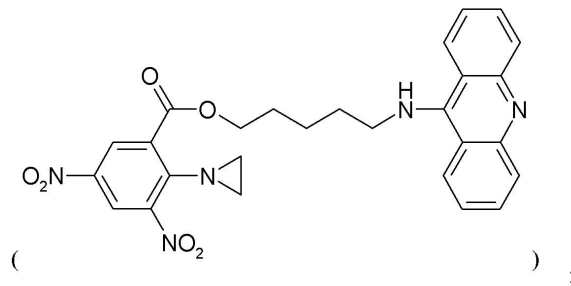


상기에서 물결선은 단편의 결합 위치를 나타내는 것인 자기 희생적(self-immolative) 전구 약물;

(r)하기 식의 니트로인돌린 화합물



(s)아크리딘(acridine)-CB 1954



(t)트레타지카르(tretazicar)(5-(아지리딘-1-일)-2,4-디니트로벤즈아미드);

(u)효능이 퀴논 작용기의 환원에 의존하는 항암 화학요법 또는 질병 치료에서 사용하기 위한 벤조퀴논, 나프토퀴논 또는 안트라퀴논;

(v)환원성 활성화(reductive activation) 후에 세포독성제(cytotoxic agent)를 방출하는 퀴논 잔기(quinonoid residue)를 포함하는 칸쥬게이트 전구 약물;

(w)퀴논이 약물 방출을 위한 트리거 요소(trigger component)로 작용하는 전구 약물 칸쥬게이트를 위한 비-세포독성 플랫폼(non-cytotoxic platform)으로 사용되는 환원성 벤조퀴논, 나프토퀴논, 안트라퀴논 또는 인돌로퀴논; 및

(w)약물-방출 시스템에서 환원성 활성화 후에 "자가 알킬화(self alkylation)"를 통해 전구 약물 트리거 플랫폼(trigger platform)으로 사용하기 위한 니트로방향족 또는 니트로헤테로시클릭 화합물.

청구항 15

제6항에서 청구된 용도, 제7항 또는 제11항에서 청구된 조성물, 제8항에서 청구된 부분으로 된 키트, 제9항에서 청구된 치료 시스템, 제10항에서 청구된 약제학적 조성물 또는 제13항에서 청구된 방법으로서, 상기 환원으로 활성화되는 전구 약물은 니트로기의 환원에 의해 상응하는 활성 물질로 전환되는 것인 용도, 조성물, 부분으로 된 키트, 치료 시스템, 약제학적 조성물 또는 방법.

청구항 16

제14항 또는 제15항에 있어서, 상기 환원으로 활성화되는 전구 약물은 트레타지카르인 것인 용도, 조성물, 부분으로 된 키트, 치료 시스템, 약제학적 조성물 또는 방법.

청구항 17

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에서 청구된 용도, 제7항 또는 제11항에서 청구된 조성물, 제8항에서 청구된 부분으로 된 키트, 제9항에서 청구된 치료 시스템, 제10항에서 청구된 약제학적 조성물, 제13항에서 청구된 방법 또는 제14항 내지 제16항 중 어느 한 항에서 청구된 용도, 조성물, 부분으로 된 키트, 치료 시스템, 약제학적 조성물 또는 방법으로서, 상기 식 I의 화합물은 디히드록시아세톤(DHA), 글리콜알데히드, 글리세르알데히드, 에리트로스(erythrose), 크실룰로스(xylulose), 에리트룰로스(erythrulose), 3-히드록시-2-부탄논 또는 그의 이합체인 것인 용도, 조성물, 부분으로 된 키트, 치료 시스템, 약제학적 조성물 또는 방법.

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 식 I의 화합물은 DHA, 또는 그의 이합체인 것인 용도, 조성물, 부분으로 된 키트, 치료 시스템, 약제학적 조성물 또는 방법.

청구항 19

제18항에 있어서, 상기 환원으로 활성화되는 전구 약물은 트레타지카르이고 상기 식 I의 화합물은 DHA, 또는 그의 이합체인 것인 용도, 조성물, 부분으로 된 키트, 치료 시스템, 약제학적 조성물 또는 방법.

청구항 20

제1항, 제17항 및 제18항 중 어느 한 항에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물, 및 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함하고, 상기 화합물은 DHA 또는 글리세르알데히드가 아닌 것인 약제학적 조성물.

청구항 21

제20항에 있어서, 주사를 위한 무균 비-발열성(non-pyrogenic) 수용액인 것인 약제학적 조성물.

청구항 22

제7항 및 제17항 내지 제19항 중 어느 한 항에 따른 조성물, 또는 제10항 및 제17항 내지 제19항 중 어느 한 항에 따른 약제학적 조성물로서, 상기 조성물이 약한 알칼리성인 것인 조성물 또는 약제학적 조성물.

청구항 23

제22항에 있어서, 상기 pH는 9 내지 10인 것인 조성물 또는 약제학적 조성물.

청구항 24

제7항, 제17항 내지 제19항, 제22항 및 제23항 중 어느 한 항에 따른 조성물, 또는 제10항, 제17항 내지 제19항, 제22항 및 제23항 중 어느 한 항에 따른 약제학적 조성물로서, 상기 환원으로 활성화되는 전구 약물에 대해 상기 식 I의 화합물이 몰 초과로 존재하는 것인 조성물 또는 약제학적 조성물.

청구항 25

제24항에 있어서, 상기 식 I의 화합물 대 상기 환원으로 활성화되는 전구 약물의 비는 5:1보다 큰 것인 조성물 또는 약제학적 조성물.

청구항 26

제7항, 제17항 내지 제19항 및 제22항 내지 제25항 중 어느 한 항에 따른 조성물, 또는 제10항, 제17항 내지 제19항 및 제22항 내지 제25항 중 어느 한 항에 따른 약제학적 조성물로서, 국소 투여를 위해 적절한 것인 조성물 또는 약제학적 조성물.

청구항 27

제26항에 있어서, 크림 또는 로션 또는 연고 또는 스프레이인 것인 조성물 또는 약제학적 조성물.

청구항 28

제7항, 제17항 내지 제19항 및 제22항 내지 제25항 중 어느 한 항에 따른 조성물, 또는 제10항, 제17항 내지 제19항 및 제22항 내지 제25항 중 어느 한 항에 따른 약제학적 조성물로서, 체강(cavity of the body)으로의 투여를 위해 적절한 것인 조성물 또는 약제학적 조성물.

청구항 29

제28항에 있어서, 무균 수용액 또는 현탁액인 것인 조성물 또는 약제학적 조성물.

청구항 30

제8항, 제17항 내지 제19항, 제24항 및 제25항 중 어느 한 항에 따른 부분으로 된 키트, 또는 제9항, 제17항 내지 제19항, 제24항 및 제25항 중 어느 한 항에 따른 치료 시스템으로서, 상기 환원으로 활성화되는 전구 약물을 함유하는 부분과 상기 식 I의 화합물을 함유하는 부분의 배합 후에, 약한 알칼리성인 조성물이 형성되는 것인 부분으로 된 키트 또는 치료 시스템.

청구항 31

제8항, 제17항 내지 제19항, 제24항, 제25항 및 제30항 중 어느 한 항에 따른 부분으로 된 키트로서, 상기 키트의 제1 부분과 제2 부분은 국소 투여를 위해 적절한 것인 부분으로 된 키트.

청구항 32

제31항에 있어서, 상기 키트의 제1 부분과 제2 부분이 배합될 때, 식 I의 화합물과 환원으로 활성화되는 전구 약물을 함유하는 크림 또는 로션 또는 연고 또는 스프레이가 되거나, 또는 상기 크림 또는 로션 또는 연고 또는 스프레이를 형성하는 것인 부분으로 된 키트.

청구항 33

제8항, 제17항 내지 제19항, 제24항, 제25항 및 제30항 중 어느 한 항에 따른 부분으로 된 키트로서, 상기 키트의 제1 부분과 제2 부분은 체강으로의 투여를 위해 적절한 것인 부분으로 된 키트.

청구항 34

제33항에 있어서, 상기 키트의 제1 부분과 제2 부분이 배합될 때, 식 I의 화합물과 환원으로 활성화되는 전구 약물을 함유하는 무균 수용액 또는 현탁액이 되거나, 또는 상기 무균 수용액 또는 현탁액을 형성하는 것인 부분으로 된 키트.

청구항 35

국소 투여용 트레타지카르를 포함하는 조성물.

청구항 36

제35항에 있어서, 상기 조성물은 크림 또는 로션 또는 연고 또는 스프레이인 것인 조성물.

청구항 37

5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드와 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 38

의약에서 사용하기 위한 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드.

청구항 39

트레타지카르를 제1항, 제17항 및 제18항 중 어느 한 항에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물과 접촉시키는 단계를 포함하는, 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드를 생성하는 방법.

청구항 40

개체에 있는 부위에서 세포의 바람직하지 않은 성장 또는 증식과 싸우는 방법으로서, 상기 방법은 항증식성 작용제의 환원으로 활성화되는 전구 약물과 제1항, 제17항 및 제18항 중 어느 한 항에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물을 상기 개체에 있는 상기 부위에 제공하는 단계를 포함하는 것인 방법.

청구항 41

개체에 있는 부위에서 세포의 바람직하지 않은 성장 또는 증식과 싸우는 방법으로서, 상기 방법은 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드를 상기 개체에 있는 상기 부위에 투여하는 단계를 포함하는 것인 방법.

청구항 42

개체에서 세포의 바람직하지 않은 성장 또는 증식과 싸우기 위한 의약의 제조에서, 항증식성 작용제의 환원으로 활성화되는 전구 약물과 제1항, 제17항 및 제18항 중 어느 한 항에서 정의된 바와 같은 화합물의 배합의 용도.

청구항 43

개체에서 세포의 바람직하지 않은 성장 또는 증식과 싸우기 위한 의약의 제조에서, 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드의 용도.

청구항 44

제40항 또는 제41항에 따른 방법 또는 제42항 또는 제43항에 따른 용도로서, 상기 개체에서 세포의 바람직하지 않은 성장 또는 증식은 양성인(benign) 것인 방법 또는 용도.

청구항 45

제44항에 있어서, 상기 바람직하지 않은 세포 성장 또는 증식은 사마귀 또는 건선 또는 전암성 과다증식(precancerous hyperplasia)인 것인 방법 또는 용도.

청구항 46

제40항 또는 제41항에 따른 방법 또는 제42항 또는 제43항에 따른 용도로서, 상기 개체에서 세포의 바람직하지 않은 성장 또는 증식은 종양성인(neoplastic) 것인 방법 또는 용도.

청구항 47

제46항에 있어서, 상기 세포의 바람직하지 않은 성장 또는 증식은 종양인 것인 방법 또는 용도.

청구항 48

DNA 가교제(cross-linking agent)의 환원으로 활성화되는 전구 약물과 제1항, 제17항 및 제18항 중 어느 한 항에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물의 배합을 세포에 투여하는 단계를 포함하는, 세포에서 DNA를 가교시키는 방법.

청구항 49

5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드를 포함하는 조성물을 세포에 투여하는 단계를 포함하는, 세포에서 DNA를 가교시키는 방법.

청구항 50

본 명세서에서 개시된 바와 같은 바람직하지 않은 세포 성장 또는 증식과 싸우는 신규한 방법.

청구항 51

유기 니트로 화합물을 상응하는 히드록실아민으로 선택적으로 환원시키는 방법으로서, 상기 방법은 상기 유기 니트로 화합물을 제1항, 제17항 및 제18항 중 어느 한 항에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물과 접촉시키는 단계를 포함하는 것인 방법.

청구항 52

제51항에 있어서, 상기 방법은 상기 유기 니트로 화합물을 식 I의 화합물 및 염기와 접촉시키는 단계를 포함하는 것인 방법.

청구항 53

환원성 화합물을 환원시키는 방법으로서, 상기 방법은 제1항, 제17항 및 제18항 중 어느 한 항에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물을 상기 환원성 화합물과 염기의 혼합물에 첨가하는 단계를 포함하는 것인 방법.

청구항 54

(a)트레타지카르와 염기의 혼합물을 제공하는 단계; 및

(b)제1항, 제17항 및 제18항 중 어느 한 항에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물 4몰 당량 이하 또는 상기 식 I의 화합물의 이합체 형태 2몰 당량 이하를 첨가하는 단계를 포함하는, 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드(또는 5-(아지리딘-1-일)-2-히드록실아미노-4-니트로벤즈아미드)를 제조하는 방법.

청구항 55

제55항에 있어서, 상기 식 I의 화합물은 DHA인 것인 방법.

청구항 56

제54항 또는 제55항에 있어서, 상기 방법은 부산물(co-product) 5-(아지리딘-1-일)-2-히드록실아미노-4-니트로벤즈아미드가 생성된다면, 상기 부산물로부터 생성물 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드를 분리하는 단계를 더 포함하는 것인 방법.

청구항 57

제52항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 염기는 카보네이트 또는 바이카보네이트 염인 것인 방법.

청구항 58

항증식성 작용제의 환원으로 활성화되는 전구 약물, 제1항, 제17항 및 제18항 중 어느 한 항에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물, 및 약제학적으로-허용가능한 아쥘반트(adjuvant), 희석제 또는 담체를 포함하는 용액 또는 현탁액.

청구항 59

제58항에 있어서, 상기 용액 또는 현탁액의 적용 후에 투여 부위에서 7 내지 11의 국소 pH(local pH)를 제공하는 염기 및/또는 pH 완충 시스템을 더 포함하는 것인 용액 또는 현탁액.

청구항 60

5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드와 약제학적으로 허용가능한 아쥘반트, 희석제 또는 담체를 포함하는 용액 또는 현탁액.

청구항 61

제58항 내지 제60항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 용액 또는 현탁액은 분무가능한 것인 용액 또는 현탁액.

청구항 62

(A)항증식성 작용제의 환원으로 활성화되는 전구 약물, 제1항, 제17항 및 제18항 중 어느 한 항에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물, 및 약제학적으로 허용가능한 아쥘반트, 희석제 또는 담체; 또는

(B)5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드와 약제학적으로허용가능한 아쥘반트, 희석제 또는 담체를 포함하는 용액 또는 현탁액을 분무에 의해 투여하는 단계를 포함하는, 구강, 비강, 인후, 인두, 후두, 기관 또는 폐의 암을 치료하는 방법.

청구항 63

항증식성 작용제의 환원으로 활성화되는 전구 약물, 제1항, 제17항 및 제18항 중 어느 한 항에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물, 및 약제학적으로 허용가능한 아쥘반트, 희석제 또는 담체, 또는

5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드와 약제학적으로 허용가능한 아쥘반트, 희석제 또는 담체를 포함하는 용액 또는 현탁액으로 충전된 레저버(reservoir)를 갖는 기계적 분무기.

청구항 64

하나 이상의 추진제 가스 및

항증식성 작용제의 환원으로 활성화되는 전구 약물, 제1항, 제17항 및 제18항 중 어느 한 항에서 정의된 바와

같은 식 I의 화합물, 및 약제학적으로 허용가능한 아류반트, 희석제 또는 담체, 또는

5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드와 약제학적으로 허용가능한 아류반트, 희석제 또는 담체를 포함하는 용액 또는 현탁액을 포함하는 에어로졸 장치.

청구항 65

제40항 또는 제62항에 따른 방법, 제42항에 따른 용도, 제58항에 따른 용액 또는 현탁액, 제63항에 따른 기계적 분무기 또는 제64항에 따른 에어로졸 장치로서, 상기 항증식성 작용제의 환원으로 활성화되는 전구 약물은 미토마이신 C, E09, RSU-1069, RB-6145 또는 트레타지카르인 것인 방법, 용도, 용액 또는 현탁액, 기계적 분무기 또는 에어로졸 장치.

청구항 66

5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드를 포함하는 건조 분말 에어로졸 조성물.

청구항 67

(i) 추진체 가스의 공급원(source)을 선택적으로 포함하는 건조 분말 흡입 장치; 및

(ii) 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드를 포함하는 건조 분말 에어로졸 조성물의 하나 이상의 별개의 투여량(discrete dose)을 포함하는 치료 시스템.

청구항 68

제1항, 제17항 및 제18항 중 어느 한 항에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물의, 실질적으로 비-수성인(non-aqueous) 용매 시스템에서 환원제로서의 용도.

청구항 69

제1항에 있어서, 상기 용도는 식 I의 화합물과 염기의, 실질적으로 비-수성인 용매 시스템에서 환원제로서의 용도인 것인 용도.

청구항 70

환원성 화합물을 환원시키는 방법으로서, 상기 방법은 상기 환원성 화합물을 제1항, 제17항 및 제18항 중 어느 한 항에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물 및 실질적으로 비-수성인 용매 시스템과 접촉시키는 단계를 포함하는 것인 방법.

청구항 71

제70항에 있어서, 상기 방법은 상기 환원성 화합물을 상기 식 I의 화합물 및 염기와 접촉시키는 단계를 포함하는 것인 방법.

청구항 72

제68항 또는 제69항에 따른 용도, 또는 제70항 또는 제71항에 따른 방법으로서, 상기 실질적으로 비-수성인 용매 시스템은 물을 80 중량% 이하로 포함하는 것인 용도 또는 방법.

명세서

기술분야

<1> 본 발명은 화합물의 환원제로서의 용도에 관한 것이다. 구체적으로, 본 발명은 질병과 싸울 때 사용될 수 있는 활성 물질을 생성하는 환원으로 활성화되는(reduction-activated) 전구 약물(prodrug)을 환원시키는 화합물의 용도에 관한 것이다. 상기 활성 물질은 구체적으로 세포의 바람직하지 않은 성장 또는 증식과 싸우는데 사용될 수 있는 DNA 가교제(cross-linking agent)가 될 수 있다.

배경기술

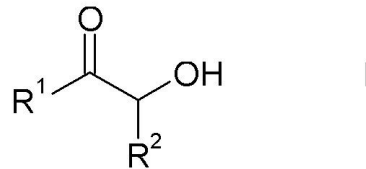
<2> 본 명세서에서 종래 공개된 문헌들의 목록 또는 이들의 검토가 반드시 상기 문헌들이 당업계 상태의 일부이거나

또는 통상의 일반적인 지식임을 인정하는 것은 아니다.

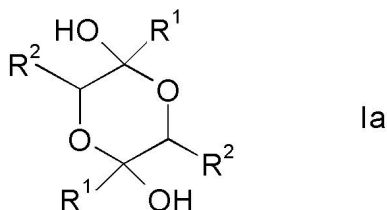
- <3> α-히드록시 카르보닐 화합물은 산화될 수 있는 분자이지만, 낮은 알칼리도(alkalinity)(pH <11) 조건 하에서는 환원제로 유용하다고 인식되지 않는다.
- <4> 염료 산업에서 환원제로 유용한 것으로 일부 α-히드록시 카르보닐 화합물(아실로인, acyloin)이 US 5,831,097 과 EP 0 364 752에서 언급되어 있다.
- <5> 그러나, EP 0 364 752에서 상술된 조건은 환원 효과의 달성을 위해 최소 pH 13을 필요로 한다. 마찬가지로, US 4,950,306는 어떤 화합물들(α-히드록시 카르보닐 화합물을 포함)이 염료 공정에서 환원제로 사용될 수 있음을 기술하고 있지만, 충분한 알칼리가 반응 매질에 첨가되어 최소 11의 pH를 만들어야만 한다.
- <6> 또한, 다른 문헌들(예를 들면, US 3,208,999와 *Textil-Praxis* 20(11), 916-20 (1965))은 어떤 화합물들(시아노 에틸화된 전분과 건염 염료(vat dye))을 위한 환원제로서 유용한 것으로 어떤 α-히드록시 카르보닐 화합물(예를 들면, 모노히드록시아세톤과 디히드록시아세톤)의 용도를 언급하고 있지만, 이러한 문헌들에서 언급된 반응 조건들은 매우 알칼리성이다(즉, 반응 pH 값이 13보다 크게 되도록, 암모늄 또는 소듐 히드록시드 중 어느 하나의 농축된 용액의 상당량의 사용을 필요로 한다).
- <7> 또한, 상기 언급된 문헌들 중 어떤 것도 (α-히드록시 카르보닐 화합물을 사용한 환원과 관련하여) 유기 용매를 10 중량%보다 많이 포함하는 용매 시스템의 사용을 언급하고 있지 않다.
- <8> 본 발명자는 예상외로 이제 어떤 α-히드록시 카르보닐 화합물이 비교적 낮은 pH 값에서 유용한 환원 능력(reducing ability)을 갖고 있고, 따라서 이들 화합물이 광범위한 유기 화합물을 포함하여, 다양한 모이어티(moiety)를 환원시키기 위하여 약한(mild) 조건(및/또는 비-수성(유기성)인 용매의 상당량 존재 하에서)에서 사용될 수 있음을 발견하였다.

발명의 상세한 설명

- <9> 따라서, 본 발명의 제1 실시 형태는 하나 이상의 환원성 기(reducible group)를 포함하는 유기 화합물에서 환원성 기를 환원시키기 위한 제제로서 식 I 화합물의 용도를 제공하고, 상기 식 I의 화합물은 하기의 구조를 갖고,



- <10>
- <11> 상기에서
- <12> R¹은 H, 아릴, Het 또는 C₁₋₁₂ 알킬을 나타내고 상기 C₁₋₁₂ 알킬기는 OH, 할로 및 C₁₋₃ 알콕시로부터 선택되는 하나 이상의 치환기에 의해 선택적으로 치환되고,
- <13> R²는 H 또는 C₁₋₆ 알킬을 나타내고 상기 C₁₋₆ 알킬 기는 하나 이상의 OH 기에 의해 선택적으로 치환되고,
- <14> 아릴은 C₆₋₁₀ 카보시클릭 방향족 기를 나타내고 상기 기는 할로, C₁₋₆ 알킬 및 C₁₋₆ 알콕시로부터 선택되는 하나 이상의 치환기에 의해 치환될 수 있고,
- <15> Het는 산소, 질소 및/또는 황으로부터 선택되는 하나 이상의 헤테로원자를 포함하는 4-원(14-membered) 내지 14-원 헤테로시클릭기를 나타내고, 상기 헤테로시클릭기는 한 개, 두 개 또는 세 개의 고리를 포함할 수 있고 할로, C₁₋₆ 알킬 및 C₁₋₆ 알콕시로부터 선택되는 하나 이상의 치환기에 의해 치환될 수 있고,
- <16> 상기 화합물은 R¹과 R²가 상기에서 정의한 바와 같은 하기 식 Ia의 시클릭 이합체(dimer)를 형성할 수 있는 것을 특징으로 한다.



<17>

<18> 본 명세서에서 정의된 알킬기와 알콕시기는 달리 특정되지 않는다면, 직쇄가 될 수 있고, 또는 충분한 개수의 탄소 원자(즉, 최소 3개)가 있을 때에는, 분지쇄 및/또는 환형(cyclic)이 될 수 있다. 또한, 충분한 개수의 탄소 원자(즉, 최소 4개)가 있을 때에는 상기 알킬기와 알콕시기는 또한 환형/비환형(acyclic) 일부가 될 수 있다. 또한, 상기 알킬기와 알콕시기는 포화될 수 있고 또는, 충분한 개수의 탄소 원자(즉, 최소 2개)가 있을 때에는 불포화될 수 있고 및/또는 하나 이상의 산소 원자 및/또는 황 원자가 끼어있을 수 있다. 또한, 알킬기와 알콕시기는 달리 특정되지 않는다면, 하나 이상의 할로 원자, 특히 플루오로 원자에 의해 치환될 수 있다.

<19> 언급될 수 있는 아틸기의 예는 페닐, 나프틸 및 그 등가물을 포함한다.

<20> 헤테로시클릭(Het) 기는 특성상 완전히 포화될 수 있고, 부분적으로 포화될 수 있고, 전부 방향족 또는 부분적으로 방향족이 될 수 있다. 언급될 수 있는 헤테로시클릭(Het) 기로는 1-아자비시클로[2.2.2]옥타닐, 벤즈이미다졸릴, 벤조[c]이소옥사졸리디닐, 벤즈이소옥사졸릴, 벤조디옥사닐, 벤조디옥세파닐(benzodioxepanyl), 벤조디옥솔릴, 벤조푸라닐(benzofuranyl), 벤조푸라자닐(benzofurazanyl), 벤조모르폴리닐, 2,1,3-벤즈옥사디아졸릴, 벤즈옥사졸리디닐, 벤즈옥사졸릴, 벤조피라졸릴, 벤조[e]피리미딘, 2,1,3-벤조티아디아졸릴, 벤조티아졸릴, 벤조티에닐, 벤조트리아졸릴, 크로마닐(chromanyl), 크로메닐(chromenyl), 시놀리닐(cinnoliny), 2,3-디히드로 벤즈이미다졸릴, 2,3-디히드로벤조[b]푸라닐, 1,3-디히드로벤조-[c]푸라닐, 1,3-디히드로-2,1-벤즈이소옥사졸릴, 2,3-디히드로피롤로[2,3-b]피리디닐, 디옥사닐, 푸라닐, 헥사히드로피리미디닐, 하이단토이닐(hydantoinyl), 이미다졸릴, 이미다조[1,2-a]피리디닐, 이미다조[2,3-b]티아졸릴, 인돌릴, 이소퀴놀리닐, 이소옥사졸리디닐, 이소옥사졸릴, 말레이미도, 모르폴리닐, 나프토[1,2-b]푸라닐, 옥사디아졸릴, 1,2- 또는 1,3-옥사지나닐, 옥사졸릴, 프탈라지닐, 피페라지닐, 피페리디닐, 퓨리닐(puriny), 피라닐, 피라지닐, 피라졸릴, 피리디닐, 피리미디닐, 피롤리디노닐(pyrrolidinonyl), 피롤리디닐, 피롤리닐, 피롤로[2,3-b]피리디닐, 피롤로[5,1-b]피리디닐, 피롤로[2,3-c]피리디닐, 피롤릴, 퀴나졸리닐, 퀴놀리닐, 술폴라닐(sulfolanyl), 3-술폴레닐(sulfolenyl), 4,5,6,7-테트라히드로벤즈이미다졸릴, 4,5,6,7-테트라히드로벤조피라졸릴, 5,6,7,8-테트라히드로-벤조[e]피리미딘, 테트라히드로푸라닐, 테트라히드로피라닐, 3,4,5,6-테트라히드로-피리디닐, 1,2,3,4-테트라히드로피리미디닐, 3,4,5,6-테트라히드로피리미디닐, 티아디아졸릴, 티아졸리디닐, 티아졸릴, 티에닐, 티에노[5,1-c]피리디닐, 티오크로마닐(thiochromanyl), 트리아졸릴, 1,3,4-트리아졸로[2,3-b]피리미디닐, 크산테닐(xanthy) 및 그 등가물을 포함한다.

<21> 헤테로시클릭(Het) 기에 있는 치환기는 헤테로원자를 포함하는 고리 시스템에 있는 소정의 원자에 적절한 곳에 위치될 수 있다. 헤테로시클릭(Het) 기의 결합 위치는 헤테로원자를 포함한(적절한 곳에서) 고리 시스템에 있는 소정의 원자를 통해, 또는 상기 고리 시스템의 일 부분으로서 존재할 수 있는 소정의 융합된(fused) 카보시클릭 고리에 있는 소정의 원자를 통해 될 수 있다.

<22> 용어 "할로"가 본 명세서에서 사용될 때, 플루오로, 클로로, 브로모 및 요오도를 포함한다.

<23> (본 발명의 모든 실시 형태와 관련하여) 언급될 수 있는 식 I의 화합물은 다음을 포함한다:

<24> (1) R¹은 H이 아니고;

<25> (2) R¹은 H 또는 특히, 하나 이상의 OH 기에 의해 치환된 C₁₋₂ 알킬(예를 들면, CH₂OH)을 나타내고;

<26> (3) R²는 하나 이상의 OH기에 의해 치환된 C₁₋₄ 알킬(예를 들면, CH₂OH 또는 CH(OH)CH₂OH), 또는 특히 H를 나타낸다.

<27> 추가로, (본 발명의 모든 실시 형태와 관련하여) 언급될 수 있는 특정 식 I의 화합물은 디히드록시아세톤(dihydroxyacetone)(DHA), 택일적으로는 1,3-디히드록시-2-프로판으로 명명됨), 글리콜알데히드, 글리세르알데히드, 에리트로스(erythrose), 크실룰로스(xylulose), 및 그의 이합체를 포함한다. 언급될 수 있는 식 I의 다른

특정 화합물은 에리트룰로스(erythrulose)와 3-히드록시-2-부타논을 포함한다. 본 발명(그의 모든 실시 형태)의 하나의 특정 구체예에서, 식 I의 화합물은 DHA 또는 그의 이합체이다.

- <28> 식 I의 화합물은 이합체와 단량체(monomer) 양 형태로 모두 존재할 수 있기 때문에, 의문을 회피하기 위하여, 식 I의 화합물에 대한 본 명세서에서의 언급은 (내용이 달리 지적하지 않는다면) 두 개 중 어느 한 형태로 상기 화합물을 언급하는 것을 포함한다. 추가로, 식 Ia의 시클릭 이합체의 형태로 존재하는 식 I의 화합물의 능력은 상기 화합물의 구조로부터 타고난 것이다. 따라서, 일반적으로 또는 명확하게 정의된 식 I의 화합물로서 상기 화합물 모두가 식 Ia의 시클릭 이합체를 형성할 수 있는 화합물에 대한 본 명세서에서의 언급은 그러한 화합물로서 상기 (일반적으로 또는 명확하게 정의된) 화합물에 대한 언급을 포함한다(즉, 시클릭 이합체의 형성과 관련하여 상기에서 기술된 특징이 없어도). 식 I의 화합물이 식 Ia의 시클릭 이합체를 형성할 수 있는지 없는지 여부는 예를 들면, 분리된 화합물이 고체 상태 또는 용액 상태(예를 들면, 수용액 또는 유기 용액)에서 상기 시클릭 이합체를 형성하는 경향을 연구함으로써 결정될 수 있다.
- <29> 본 발명의 다른 실시 형태는 환원성 무기 화합물을 환원시키기 위한 제제로서 본 명세서에서 상기 정의된 바와 같은 식 I의 화합물의 용도를 제공한다.
- <30> 본 발명의 상기 실시 형태의 한 구체예에서, 상기 무기 화합물은 요오드(iodine)가 아니거나 또는 구리 2가 이온(cupric ion) 또는 페리시안화합물(ferricyanide)을 포함하지 않는다.
- <31> 특정 구체예에서, 상기 무기 화합물은 란탄족 원소(예를 들면, 세륨)를 포함할 수 있고, 또는 특히 전이 금속(즉 IIIA 내지 IIB 족의 금속)을 포함할 수 있다. 상기 무기 화합물은 상기 란탄족 원소 또는 전이 금속의 배위 결합물(coordination complex)을 포함할 수 있다. 언급될 수 있는 특정 전이 금속은 코발트 및 백금과 같이, 코발트와 니켈 족에 있는 금속(즉, 중성(neutral) 상태에서 d^9 또는 d^{10} 전자 배치를 갖는 금속들)을 포함한다. 상기 금속들은 (배위 결합물 또는 다른 상태에서) 상기 금속들의 또 다른 안정한 산화 상태보다 높은 산화 상태에 있을 수 있다. 예를 들면; 코발트의 경우엔, III가 산화 상태는 환원되어 II가 산화 상태로 될 수 있고; 백금의 경우엔, IV가 산화 상태는 환원되어 II가 산화 상태로 될 수 있다. 본 발명의 상기 실시 형태의 어떤 구체예에서, 상기 전이 금속은 철 또는 구리를 제외한다.
- <32> 본 발명의 제1 실시 형태의 특정 구체예에서, 유기 화합물에 있는 환원성 기를 환원시키기 위한 제제로서 식 I의 화합물의 용도는 효소를 제외한 화합물을 위한 환원제로서 상기 식 I의 화합물의 용도를 포함한다.
- <33> 본 발명의 제1 실시 형태의 또 다른 구체예에서, 환원성 화합물(reductive compound)의 환원은 비-수성인(non-aqueous) 용매 시스템에서 일어난다. 용어 "비-수성인 용매 시스템"이 본 명세서에서 사용될 때, 이것은 염소화된(chlorinated) 탄화수소(예를 들면 디클로로메탄과 같은 것), 탄화수소(예를 들면 헥산), 방향족 탄화수소(예를 들면 톨루엔 또는 크실렌), 2극성 비양성자성 용매(예를 들면, N,N-디메틸포름아미드, N,N-디메틸아세트아미드, 디메틸술폰 또는 N-메틸피롤리디논), 아세토니트릴, 에스테르(예를 들면 에틸 아세테이트), 또는 특히 저급 (C_{1-4}) 알킬 알코올(이소프로판올, 에탄올 또는 메탄올과 같은 것)에 대한 언급을 포함한다. 또한, 용어 "비-수성인 용매 시스템"은 상기 용매의 혼합물에 대한 언급을 포함한다.
- <34> 식 I의 화합물에 의한 환원은 염기의 첨가에 의해 촉진될 수 있음이 밝혀졌다. 따라서, 본 발명 제1 실시 형태의 특정 구체예는 하나 이상의 환원성 기를 포함하는 유기 화합물에서 환원성 기를 환원시키기 위하여, 본 명세서에서 상기 정의된 바와 같은 식 I의 화합물 및 염기의 용도에 관한 것이다.
- <35> 이러한 구체예에서, 염기는 유기 염기 또는 무기 염기가 될 수 있다. 예를 들면, 염기는 아민(예를 들면, 1차, 2차, 또는 특히 트리에틸아민, 트리메틸아민 또는 디에틸이소프로필아민과 같은 3차 아민), 질소-기초한(nitrogen-based) 헤테로사이클(예를 들면, N-메틸모르폴린 또는 피리딘), 알콕시드(예를 들면, 소듐 에톡시드와 같은 알칼리 금속 알콕시드), 히드록시드 염(예를 들면, 암모늄 또는, 소듐 또는 포타슘 히드록시드와 같은 알칼리 금속 히드록시드), 또는 특히 카보네이트 또는 바이카보네이트 염(예를 들면, 알칼리 토금속 또는 특히 알칼리 금속 카보네이트 또는 바이카보네이트)가 될 수 있다.
- <36> 사용되는 염기의 함량은 선택된 식 I의 특정 화합물, 환원될 화합물의 종류, 목표로 하는 반응 속도 등과 같은 요소에 의존하여 변화시킬 수 있다. 그러나, 본 발명의 제1 실시 형태의 어떤 구체예에서, 사용되는 염기의 함량은 예를 들면, 촉매량의 염기와 같이(예를 들면, 0.1 단량 또는 그 미만), 식 I의 화합물에 대해 4(예를 들면 3, 2 또는 1) 또는 4 보다 더 적은 당량이 될 수 있다. N,N-디메틸포름아미드. 택일적으로, 염기는 어떤 pH 수준(level)을 갖는 반응 화합물을 제공할 수 있다. 따라서, 본 발명 제1 실시 형태의 다른 구체예에서, 식 I의

화합물은 7 내지 11의 pH(예를 들면, 7.1(7.2, 7.3, 7.4 또는 7.5와 같은 것) 내지 10.9(10.8, 10.7, 10.6, 10.5, 10.4, 10.3, 10.2, 10.1 또는 10.0과 같은 것))(예를 들면, 수용액(aqueous solution)에서)에서 환원을 일으키는 환원제로 사용된다.

- <37> 용어 "수용액"이 본 명세서에서 사용될 때, 이것은 용매 시스템이 물을 포함하고 선택적으로는 물-혼화성인(water-miscible) 유기 용매(예를 들면, 에탄올, 이소프로판올 또는 특히 메탄올과 같은 저급(C₁₋₄과 같은 것) 알킬 알코올)와 같은 하나 이상의 다른 용매를 더 포함하는, 물질들의 용액을 나타낸다. 추가로, pH 값이 본 명세서에서 언급될 때, 상기 값은 예를 들면 실온(25℃와 같은 것)에서, 당해 분야의 당업자에게 공지된 방법(예를 들면, 작동 전극과 기준 전극을 사용하는 전위차 측정법에 의해)에 의해 결정될 수 있다.
- <38> 또한, 식 I의 화합물은 환원성 화합물을 환원시키는 방법에서 사용될 수 있다. 따라서, 본 발명의 제2 실시 형태에 따르면, 유기 화합물에 있는 환원성 기를 환원시키는 방법이 제공되고, 상기 방법은 상기 화합물을 본 명세서에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물과 접촉시키는 단계를 포함한다.
- <39> 본 발명 제2 실시 형태의 특정 구체예에서, 상기 방법은 효소를 제외한 화합물을 환원시키기 위한 것이다.
- <40> 본 발명 제2 실시 형태의 또 다른 구체예에서, 상기 방법은 본 명세서에서 상기 정의된 바와 같은 비-수성인 용매 시스템의 존재 하에서, 상기 환원성 화합물을 식 I의 화합물과 접촉시키는 단계를 포함한다. 특정 구체예에서, 환원은 상기 비-수성인 용매 시스템에서 일어난다.
- <41> 본 발명 제2 실시 형태의 또 다른 특정 구체예에서, 상기 방법은 본 발명의 제1 실시 형태에서 정의된 염기와 같은, 염기의 존재 하에서 수행된다. 사용되는 염기의 함량은 예를 들면, 촉매 량의 염기(예를 들면 0.1 당량 또는 그 미만)와 같이, 식 I의 화합물에 대해 1 또는 1보다 더 적은 당량이 될 수 있다.
- <42> 본 발명 제2 실시 형태의 또 다른 특정 구체예에서, 상기 방법은 7 내지 11의 pH(예를 들면, 7.1(7.2, 7.3, 7.4 또는 7.5와 같은 것) 내지 10.9(10.8, 10.7, 10.6, 10.5, 10.4, 10.3, 10.2, 10.1 또는 10.0과 같은 것)의 pH)를 갖는 용액(예를 들면, 수용액) 또는 현탁액 존재 하에서, 상기 본 명세서에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물을 상기 환원성 화합물과 접촉시키는 단계를 포함한다. 택일적으로, 상기 방법은 동량의 물에 용해되거나 또는 현탁된다면 7 내지 11의 pH(예를 들면, 7.1(7.2, 7.3, 7.4 또는 7.5와 같은 것) 내지 10.9(10.8, 10.7, 10.6, 10.5, 10.4, 10.3, 10.2, 10.1 또는 10.0과 같은 것)의 pH)를 생성할 염기 함량의 용액 또는 현탁액 존재 하에서(하기에서 정의된 바와 같은, 실질적으로 비-수성인 용매 시스템의 소정의 부피에서), 상기 본 명세서에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물과 상기 환원성 화합물을 접촉시키는 단계를 포함한다.
- <43> 본 발명 제1 실시 형태와 제2 실시 형태에서, 환원될 수 있는 기는 예를 들면, 니트로, 옥소(예를 들면, 퀴논 카르보닐과 같은 케토), 이미노, 아조, N-옥시드 또는 피리디늄기가 될 수 있다. 특히, 환원될 수 있는 기는 예를 들면, 니트로 또는 피리디늄 기가 될 수 있다.
- <44> 상기 본 명세서에서 언급된 바와 같이, 놀랍게도 α-히드록시 카르보닐 화합물을 사용하는 환원은 비-수성(유기성)인 용매의 실질적인 함량의 존재 하에서(또는 오로지 비-수성(유기성)인 용매 존재 하에서), 수행될 수 있음이 발견되었다.
- <45> 따라서, 본 발명의 택일적인 실시 형태는 실질적으로 비수성인 용매 시스템에서 상기 본 명세서에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물의 환원제로서의 용도에 관한 것이다.
- <46> 용어 "실질적으로 비-수성인 용매 시스템"이 본 명세서에서 사용될 때, 이것은 물 80 중량% 이하(예를 들면, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 5, 1 또는 0.1 중량%)를 포함하는 용매 시스템에 대한 언급을 포함한다. 이러한 용매 시스템에서, 용매 중 나머지(즉, 20 중량% 이상)는 유기 용매이다. 이와 관련하여 언급될 수 있는 유기 용매는 용어 "비-수성인 용매 시스템"과 관련하여 상기에서 언급된 것들을 포함한다. 또한, 용어 "실질적으로 비-수성인 용매 시스템"은 완전히 비-수성인 용매 시스템(예를 들면, 오로지 유기 용매만을 포함하는 용매 시스템)에 대한 언급을 포함한다.
- <47> 상기한 바와 같이, 본 발명의 상기 실시 형태의 특정 구체예는 실질적으로 비-수성인 용매 시스템에서 상기 본 명세서에서 정의한 바와 같은 식 I의 화합물 및 염기의 환원제로서의 용도에 관한 것이다.
- <48> 본 발명의 상기 실시 형태에서, 식 I의 화합물은 유기 화합물(예를 들면, 하기에서 기술된 바와 같은 유기 화합물) 또는 무기 화합물 중 어느 하나를 환원시키기 위해 사용될 수 있다.
- <49> 추가로, 본 발명은 식 I의 화합물과 실질적으로 비-수성인 용매 시스템을 사용하는, 상응하는 환원 방법을 제공

한다. 따라서, 본 발명의 추가적인 실시 형태는 환원성 화합물을 환원시키는 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 상기 환원성 화합물을 상기 본 명세서에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물 및 실질적으로 비-수성인 용매 시스템과 접촉시키는 단계를 포함한다. 본 발명의 상기 실시 형태의 특정 구체예에서, 상기 방법은 상기 환원성 화합물을 상기 본 명세서에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물 및 염기와 접촉시키는 단계를 포함한다.

- <50> 또한 본 발명의 상기 실시 형태에서, 상기 환원성 화합물은 유기 화합물(예를 들면, 하기에서 기술된 바와 같은 유기 화합물) 또는 무기 화합물 중 어느 하나가 될 수 있다.
- <51> 본 발명의 상기 실시 형태에서, 상기 환원성 화합물이 무기 화합물일 때, 상기 무기 화합물은 특정 구체예에서:
- <52> (i) 요오드가 아니거나 또는 구리 2가 이온 또는 페리시안화합물을 포함하지 않을 수 있고;
- <53> (ii) 란탄족 원소(예를 들면, 세륨) 또는, 특히, 전이 금속(즉, IIIA 내지 IIB 족의 금속)을 포함할 수 있고; 및/또는
- <54> (iii) 상기 란탄족 원소 또는 전이 금속의 배위 결합물을 포함할 수 있다.
- <55> 언급될 수 있는 특정 전이 금속은 코발트 및 백금과 같이, 코발트와 니켈족에 있는 금속(즉, 중성 상태에서 d^9 또는 d^{10} 전자 배치를 갖는 금속들)을 포함한다. 상기 금속들은 (배위 결합물 또는 다른 상태에서) 상기 금속들의 또 다른 안정한 산화 상태보다 높은 산화 상태에 있을 수 있다. 예를 들면; 코발트의 경우엔 III가 산화 상태는 환원되어 II가 산화 상태로 될 수 있고; 백금의 경우엔 IV가 산화 상태는 환원되어 II가 산화 상태로 될 수 있다. 본 발명의 상기 실시 형태의 어떤 구체예에서, 상기 전이 금속은 철 또는 구리를 제외한다.
- <56> 환원 생성물은 생물학적 활성 물질이 될 수 있다. 따라서, 본 발명의 제3 및 제4 실시 형태는 각각 다음을 제공한다:
- <57> (i) 환원으로 활성화되는 전구 약물을 상응하는 활성 물질로 변환시키기 위한 활성화제(activating agent)로서 상기 본 명세서에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물의 용도; 및
- <58> (i) 환원으로 활성화되는 전구 약물과 상기 본 명세서에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물을 접촉시키는 단계를 포함하는, 상기 환원으로 활성화되는 전구 약물을 환원시키는 방법.
- <59> 본 발명의 제3 실시 형태의 특정 구체예는 환원으로 활성화되는 전구 약물을 상응하는 활성 물질로 변환시키기 위한 활성화제로서, 상기 본 명세서에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물과 염기의 용도에 관한 것이다. 사용되는 염기의 종류 및 그 함량뿐만 아니라, 식 I의 화합물이 전구 약물의 활성화(환원에 의함)를 일으키는 pH는 본 발명 제1 실시 형태의 용도에서 정의된 바가 될 수 있다.
- <60> 이와 상응하게, 본 발명 제4 실시 형태의 특정 구체예에서, 상기 방법은 본 발명 제1 실시 형태에 대해 정의된 염기와 같은, 염기의 존재 하에서 수행된다. 사용되는 염기의 종류 및 그 함량은 본 발명 제1 실시 형태의 용도에서 정의된 바가 될 수 있다. 추가로, 본 발명 제4 실시 형태의 또 다른 특정 구체예에서, 상기 방법은 7 내지 11의 pH(예를 들면, 7.1(7.2, 7.3, 7.4 또는 7.5와 같은 것) 내지 10.9(10.8, 10.7, 10.6, 10.5, 10.4, 10.3, 10.2, 10.1 또는 10.0과 같은 것)의 pH)를 갖는 용액(예를 들면, 수용액) 또는 현탁액의 존재 하에서, 상기 본 명세서에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물과, 상기 환원으로 활성화되는 전구 약물을 접촉시키는 단계를 포함한다. 택일적으로, 상기 방법은 동량의 물에 용해되거나 또는 현탁된다면 7 내지 11의 pH(예를 들면, 7.1(7.2, 7.3, 7.4 또는 7.5와 같은 것) 내지 10.9(10.8, 10.7, 10.6, 10.5, 10.4, 10.3, 10.2, 10.1 또는 10.0과 같은 것)의 pH)를 생성할 염기 함량의 용액 또는 현탁액 존재 하에서(본 명세서에서 정의된 바와 같은, 실질적으로 비-수성인 용매 시스템의 소정의 부피에서), 상기 본 명세서에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물과 상기 환원으로 활성화되는 전구 약물을 접촉시키는 단계를 포함한다.
- <61> 용어 "전구 약물"은 당해 분야의 당업자들에 의해 잘 이해될 것이다. 그러나, 의문을 회피하기 위하여, 용어 "환원으로 활성화되는 전구 약물"은 본 명세서에서는 그 자체로 약리 활성을 포함하거나 또는 포함하지 않을 수 있지만, 환원 단계를 포함하는 방법에 의하여 약리 활성을 갖는 물질(즉, "상응하는 활성 물질") 또는 적어도 "전구 약물" 모이어티보다는 상당히 더 큰 약리 활성을 갖는 물질로 전환될 수 있는 화합물에 대한 언급을 포함하기 위해 사용된다.
- <62> 용어 "활성화제"가 본 명세서에서 사용될 때, 이것은 환원 과정에 의하여 상기 전구 약물을 상응하는 생물학적 활성 물질로 전환시키도록 활성화시키거나 또는 그러한 전환을 개시하도록 활성화시키는, 식 I의 화합물에 대한

언급을 포함한다.

<63> 이와 관련하여(및 본 발명의 모든 관련 실시 형태와 관련하여) 언급될 수 있는 환원으로 활성화되는 전구 약물은 다음을 포함한다:

<64> (a)메트로니다졸(Metronidazole)(2-메틸-5-니트로-1H-이미다졸-1-에탄올);

<65> (b)클로람페니콜(Chloramphenicol)(2,2-디클로로-N-[(α R, β R)- β -히드록시- α -히드록시메틸-4-니트로페네틸]아세트아미드);

<66> (c)니트로푸라존(Nitrofurazone)(2-[(5-니트로-2-푸라닐)메틸렌]히드라진카르복사미드);

<67> 메트로니다졸, 클로람페니콜 및 니트로푸라존은 활성화된다면 포유 동물 세포에 대해 세포독성이 있다(Bailey *et al* (1996)).

<68> (d)E09(3-[5-아지리디닐-4,7-디옥소-3-히드록시메틸-1-메틸-1H-인돌-2-일]-프로프- β -엔- α -올);

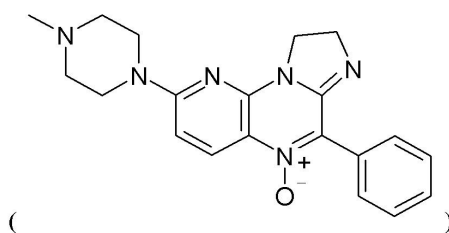
<69> (e)SR-4233("티라파자민(tirapazamine)", 3-아미노-1,2,4-벤조트리아진-1,4-디옥시드);

<70> (f)RSU-1069(1-(1-아지리디닐)-3-(2-니트로-1-이미다졸릴)-2-프로판올);

<71> (g)RB-6145(1-[3-(2-브로모에틸아미노)-2-히드록시프로필]-2-니트로이미다졸);

<72> (h)AQ4N(1,4-비스([2-(디메틸아미노-N-옥시드)에틸]아미노) 5,8-디히드록시-안트라센-9,10-디온);

<73> (i)RB90003X



<74>

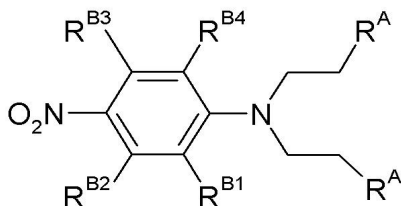
<75> (j)미오마이신(mitomycin) C;

<76> (k)미토센(mitosene);

<77> (l)시클로프로파미토센(Cyclopropamitosene);

<78> (m)디네마이신(Dynemycin) A;

<79> (n)하기 식을 가지며,



<80>

<81> 상기에서

<82> R^A 각각은 독립적으로 클로로, 브로모, 요오도 또는 $-OS(O)_2R^C$ 를 나타내고,

<83> R^C 는 C_{1-8} 알킬(하나 이상의 플루오로 원자에 의해 선택적으로 치환됨) 또는 페닐(할로, 니트로, C_{1-4} 알킬 및 C_{1-4} 알콕시로부터 선택되는 하나 이상의 치환기에 의해 선택적으로 치환됨)을 나타내고,

<84> R^{B1} 내지 R^{B4} 는 독립적으로 H, CN, $C(O)N(R^D)R^E$, $C(S)N(R^D)R^E$, $C(O)OH$, $S(O)_2NHR^F$ 를 나타내거나,

<85> 또는 R^{B1} 은 추가로 NO_2 를 나타낼 수 있고,

<86> R^D 와 R^E 는 각각 독립적으로 H 또는 C_{1-4} 알킬을 나타내거나(C_{1-4} 알킬은 OH, $N(H)-C_{1-2}$ 알킬, $N(C_{1-2} 알킬)_2$, 4-모르폴리닐 및 $C(O)OH$ 로부터 선택되는 하나 이상의 치환기에 의해 선택적으로 치환되고),

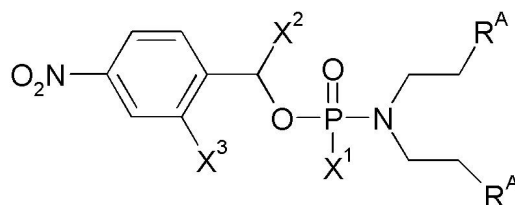
<87> 또는 R^D 와 R^E 는 이들이 결합된 N-원자와 함께 4-모르폴리닐을 나타내고, 및

<88> R^F 는 H 또는 $S(O)_2CH_3$ 을 나타내고,

<89> R^{B1} 이 H가 아닌 경우 R^{B2} 는 H인 화합물로서,

<90> 예를 들면, SN 23163, SN 23849, SN 23777, SN 23428, SN 23759, SN 24927, SN 24928, SN 24926, SN 25402, SN 25079, SN 24939, SN 24935, SN 25923, SN 25313, SN 23856, SN 25066, SN 23816, SN 25015, SN 24971, SN 25260, SN 25261, SN 25263, SN25084, SN 25188, SN 25507 또는, 특히, SN 23862 (5-{N,N-비스[2-클로로에틸]아민}-2,4-디니트로벤즈아미드)와 같이, Anlezark *et al.*, 1992 및 1995에서 기술된 상기 식의 화합물;

<91> o)하기 식을 가지며,



<92>

<93> 상기에서

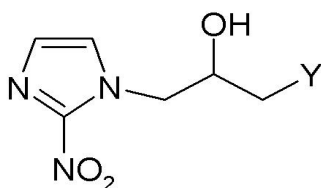
<94> R^A 는 상기에서 정의된 바와 같고(예를 들면, Cl) 및

<95> X^1 은 NH_2 를 나타내고 X^2 와 X^3 모두 H를 나타내거나,

<96> $-X^1-X^2-$ 는 $-NH-CH_2CH_2-$ 를 나타내고 X^3 은 H를 나타내거나 또는

<97> $-X^1-X^3-$ 은 $-NH-$ 를 나타내고 X^2 는 H를 나타내는 것인 화합물;

<98> (p) 하기 식을 가지며



<99>

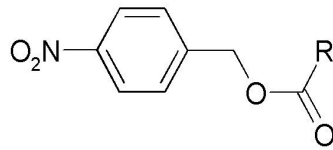
<100> 상기에서 Y는

<101> 1-아지리디닐(2번-위치에서 메틸로 선택적으로 치환됨),

<102> 메톡시(따라서 화합물 미소니다졸(misonidazole)을 형성함), 또는

<103> $N(H)CH_2CH_2Br$ (따라서 화합물 RB6145를 형성함)인 것인 화합물;

<104> (q)하기 식을 가지며,

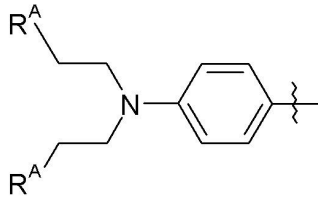


<105>

<106> 상기에서

<107> R은 -O-R' 또는 -NH-R'을 나타내고,

<108> R'은

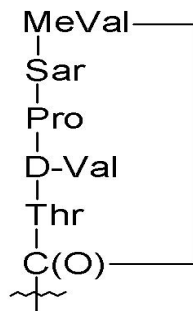


<109> 또는 를 나타내고,

<110> 상기에서 물결선은 단편의 결합 위치를 나타내고,

<111> R^A는 상기에서 정의된 바와 같고(예를 들면, Cl) 및

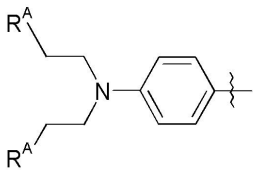
<112> R''은 하기 펩티드 락톤을 나타내고



<113>

<114> 상기에서 물결선은 단편의 결합 위치를 나타내고,

<115> 예를 들면, R은 -NH-R'을 나타내고, 또는 R은 -O-R'을 나타내고 R'은

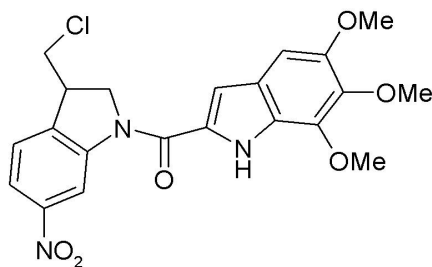


<116> 를 나타내고

<117> 상기 R^A는 상기에서 정의된 바와 같은(예를 들면, Cl) 자기-희생적(self-immolative) 전구 약물;

<118> 자기-희생적 전구 약물은 Hu *et al*, 2003; Li *et al*, 2003 및 Manger *et al*, 1994에 기술되어 있음.

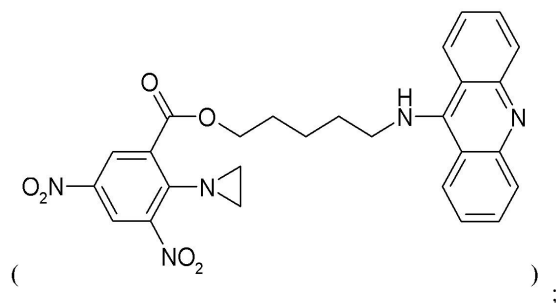
<119> (r)하기 식의 니트로인돌린 화합물



<120>

<121>

(s)아크리딘-CB 1954



<122>

<123>

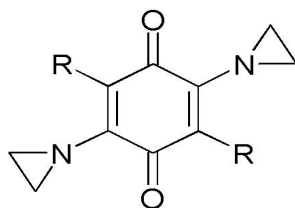
(t)트레타지카르(tretazicar)(5-(아지리딘-1-일)-2,4-디니트로벤즈아미드);

<124>

(u)그 효능(potency)이 퀴논 작용기의 환원에 의존하는 항암 화학요법(chemotherapy) 또는 질병 치료에서 사용하기 위한 벤조퀴논, 나프토퀴논 또는 안트라퀴논으로 하기과 같은 화합물:

<125>

하기 식의 2,5-비스(1-아지리디닐)-1,4-벤조퀴논



<126>

<127>

상기에서 R 각각은 독립적으로 H 또는 NR'C(O)OR"을 나타내고 상기 R'은 H 또는 C₁₋₄ 알킬을 나타내고 R"은 C₁₋₄ 알킬을 나타내고(예를 들면, R 각각은 NHC(O)OC₂H₅를 나타내고, 따라서 디아지쿠온(diaziquone)("AZQ")을 형성하고, 또는 R 각각은 H를 나타내고, 따라서 2,5-비스(1-아지리디닐)-1,4-벤조퀴논("DZQ")을 형성하고),

<128>

벤조퀴논 머스타드(benzoquinone mustard)(2-(N,N-비스[2-클로로에틸]아미노)-1,4-벤조퀴논),

<129>

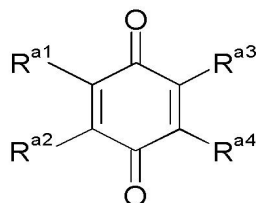
아드리아마이신, 또는

<130>

미토마이신;

<131>

(v)환원성 활성화(reductive activation) 후에 세포독성제(cytotoxic agent)를 방출하는 퀴논의 잔기(quinonoid residue)를 포함하는 칸쥬게이트 전구약물(conjugate prodrug)(예를 들면, 참조를 위해 본 명세서에서 통합된 개시물인 WO 99/61409에서 기술된 전구약물)로서, 하기 식을 가지며,



<132>

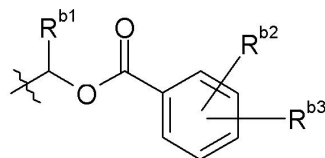
<133>

상기에서 R^{a1}은 메틸, N(C₁₋₂ 알킬)₂을 나타내고 또는 R^{a2}와 함께 융합된(fused) 피롤 또는 푸란 고리를 나타내고

(상기 고리는 메틸과 히드록시메틸로부터 선택되는 하나 이상의 치환기에 의해 선택적으로 치환되고)

<134> R^{a2} 는 메틸을 나타내고 또는 R^{a1} 과 함께 융합된 피롤 또는 푸란 고리를 나타내고(상기 고리는 메틸과 히드록시메틸로부터 선택되는 하나 이상의 치환기에 의해 선택적으로 치환되고),

<135> R^{a3} 은 하기 식의 구조 단편을 나타내고



<136>

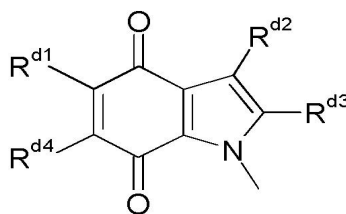
<137> 상기에서 물결선은 단편의 결합 위치를 나타내고,

<138> R^{b1} 은 H 또는 메틸을 나타내고,

<139> R^{b2} 는 (예를 들면, 3번 위치 또는 4번 위치에서) $N(CH_2CH_2Cl)_2$ 을 나타내고 및

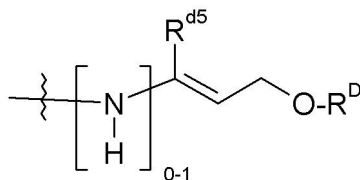
<140> R^{b3} 은 (예를 들면, 4번 위치에서) 메틸 또는 (예를 들면, 3번 위치에서) OR^{c1} 을 나타내고, 상기 R^{c1} 은 C_{1-6} 알킬 (n-부틸과 같은 것) 또는 C_{3-6} 시클로알킬메틸(시클로프로필메틸 또는 시클로부틸메틸과 같은 것)을 나타내는 것인 화합물;

<141> (w)퀴논이 약물 방출을 위한 트리거 요소(trigger component)로 작용하는 전구 약물 칸슈게이트를 위한 비-세포독성 플랫폼(non-cytotoxic platform)으로 사용되는 환원성 벤조퀴논, 나프토퀴논, 안트라퀴논 또는 인돌로퀴논으로(예를 들면, 참조를 위해 본 명세서에서 통합된 개시물인 WO 97/23456 또는 WO 98/35701에서 기술된 것들), 하기 식을 가지며,



<142>

<143> 상기에서 R^{d1} 은 C_{1-4} 알콕시, 아지리딘-1-일(한 개 또는 두 개의 메틸기에 의해 선택적으로 치환됨), $-N(H)CH_2C(CH_3)_2OH$ 또는 하기 식의 구조 단편을 나타내고



<144>

<145> 상기에서 물결선은 단편의 결합 위치를 나타내고,

<146> R^{d5} 는 H 또는 메틸을 나타내고 R^D 는 약물 모이어티(drug moiety)를 나타내고

<147> R^{d2} 는 메틸, $-C(O)O(C_{1-4}알킬)$ 또는 $-OCH_2OR^{e1}$ 을 나타내고,

<148> R^{e1} 은 약물 모이어티, H, $R^{e2}-C(O)OR^{e3}$ 또는 $-C(O)NH_2$ 를 나타내고,

<149> R^{e2} 와 R^{e3} 은 독립적으로, 페닐, 벤질 또는 시클로헥실을 나타내고 상기 페닐, 벤질 또는 시클로헥실은 할로, 니트

로, 아실옥시 및 -SH로부터 선택되는 하나 이상의 치환기에 의해 선택적으로 치환되고,

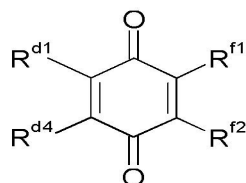
<150> R^{d3} 은 OH에 의해 선택적으로 치환된 C_{1-3} 알킬(예를 들면, 메틸, 이소프로필 또는 2-히드록시에틸) 또는 C_{3-6} 시클로알킬(예를 들면, 시클로프로필 또는 시클로헥실)을 나타내고,

<151> R^{d4} 는 H, C_{1-4} 알킬, $N(R^{e4})R^{e5}$ 또는 $N(R^{e6})C(O)OR^{e7}$ 을 나타내고,

<152> R^{e4} 내지 R^{e6} 은 독립적으로 H 또는 C_{1-4} 알킬을 나타내고

<153> R^{e7} 은 C_{1-4} 알킬을 나타내는 화합물,

<154> 또는 하기 식을 가지며,

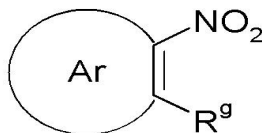


<155>

<156> 상기에서 R^{f1} 과 R^{f2} 는 독립적으로 H, C_{1-4} 알킬을 나타내고 또는 R^{f1} 과 R^{f2} 는 함께 융합된 벤젠 고리를 나타내고(상기 고리는 메틸과 메톡시로부터 선택되는 하나 이상의 치환기에 의해 선택적으로 치환되고),

<157> R^{d1} 과 R^{d4} 는 상기에서 정의한 바와 같은 화합물; 및

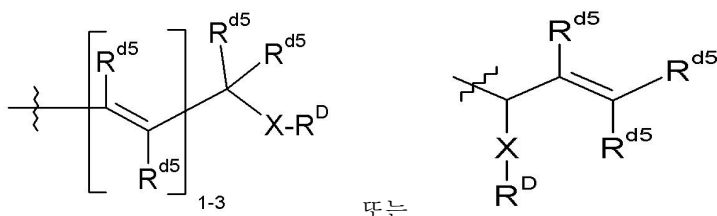
<158> (w)약물 방출 시스템에서 환원성 활성화 후에 "자가 알킬화(self alkylation)"를 통해 전구 약물 트리거 플랫폼(prodrug trigger platform)으로 사용하기 위한 니트로방향족 또는 니트로헤테로시클릭 화합물로(예를 들면, 참조로서 본 명세서에서 통합된 개시물인 WO 00/10611에서 기술된 화합물), 하기 식을 가지며,



<159>

<160> 상기에서 Ar은 방향족(예를 들면, 페닐, 나프틸, 또는 안트라세닐) 고리 또는 헤테로 방향족(예를 들면, 피롤릴, 이미다졸릴, (벤조)푸라닐, (벤조)티에닐, (벤조)옥사졸릴, (벤조)티아졸릴, 피리디닐, 피리미디닐, 피라지닐, 인돌릴 또는(이소)퀴놀리닐) 고리를 나타내고, 상기 고리는 C_{1-4} 알킬, C_{1-4} 알콕시, OH, 할로, $N(R^{e4})R^{e5}$ 및 $C(O)OR^{e6}$ 으로부터 선택되는 하나 이상의 치환기에 의해 선택적으로 치환되고(상기에서 R^{e4} 내지 R^{e6} 은 상기에서 정의한 바와 같음),

<161> R^g 는 하기 식의 구조 단편을 나타내고



<162>

<163> 상기에서 물결선은 단편의 결합 위치를 나타내고 R^{d5} 와 R^D 각각은 독립적으로 상기에서 정의한 바와 같은 화합물,

<164> 또는 그의(예를 들면, 상기 (a) 내지 (t)에서 정의된 화합물의) 약제학적으로 허용가능한 염 및/또는 용매화물(solvate).

- <165> 본 발명의 상기 실시 형태에서, 언급될 수 있는 구체에는 환원으로 활성화되는 전구 약물이 니트로기의 환원에 의해 상응하는 활성 물질로 변환되는 것을 포함한다.
- <166> 실제로, 특정 구체에서, 식 I의 화합물은 전구 약물 트레타지카르(5-(아지리딘-1-일)-2,4-디니트로벤즈아미드; 또한 CB 1954로 알려져 있음; 그 구조를 위해서는 도 1을 참조함)를 활성화시키는데 사용된다.
- <167> 트레타지카르는 증식성 장애(proliferative disorder)와 싸우기 위해 사용될 수 있는 작용제의 한 예이다. 세포 성장 또는 증식을 예방하거나 또는 줄이는 것이 바람직한 다수의 장애가 있다. 암과 같은 이러한 질환 중 일부는 생명을-위협하고, 그 나머지가 비록 생명을-위협하지 않는 것이라도 쇠약하게 하거나(건선과 같은 것), 또는 염증을 일으키고(irritating) 불편한(uncomfortable) 것(사마귀와 같은 것)이다. 이러한 질환들 특히 암과 싸우는 한 가지 방법은 DNA의 가교(cross-linking)에 영향을 줄 수 있고 세포의 성장 또는 증식을 예방하거나 또는 줄일 수 있는 화학 작용제를 사용하는 것이다. 트레타지카르는 이러한 가교를 수행하지만, 이것은 상응하는 히드록시아민으로(니트로기에서) 환원된 후에(그런 다음 하기에서 논의되는 바와 같이 추가로 활성화되고) 이러한 가교를 수행한다.
- <168> 트레타지카르는 35년 이상 동안 계속해서 관심을 받고 있는 대상이 되고 있다. 트레타지카르는 1950년대 초 이래로 연구되어 왔던 잠재적인 항암 약물 시리즈의 일 부분으로서 1960년대 후반에 최초로 합성되었다. 트레타지카르가 합성되어 테스트되었을 때, 이것은 암 화학요법의 비전을 나타내는 것 같았다-최소한의 독성 부작용으로 종양을 치료할 수 있는 소규모의 저 분자량 화합물. 항암제로서, 트레타지카르는 실질적인 항-종양 선택성을 보여주는 화합물의 소수의 예들 중 하나를 나타낸다. 인간의 암 치료를 위해서는 불행하게도, 이러한 항-종양 선택성은 몇 개의 래트(rat) 종양에서만 나타났다. 트레타지카르의 항-종양 선택성에 대한 기초는 트레타지카르가 효소에 의해 활성화되어 DNA-DNA 사슬간 가교(interstrand crosslink)를 형성할 수 있는 이작용기성 작용제(difunctional agent)를 생성하는 전구 약물이라는 것이다. 래트 세포에서 트레타지카르의 생물학적 활성화(bioactivation)는 효소 NQO1(DT-디아포라아제(diaphorase))(도 2)에 의하여 트레타지카르의 4-니트로기가 호기성 환원(aerobic reduction)되어 4-히드록시아민으로 되는 것을 포함한다. 인간의 NQO1 형태는 래트의 NQO1보다는 훨씬 덜 효율적으로 트레타지카르를 대사시킨다. 따라서, 인간 세포와 종양은 트레타지카르에 영향을 받지 않는다.
- <169> 인간 종양 세포에는 트레타지카르를-환원시키는 추가적인 내생(endogenous) 효소가 있고 그 활성은 NQO1으로 인한 것보다 훨씬 더 크다(Knox et al, 2000) (Wu et al, 1997). 그러나, 이 활성은 잠재적이어서 디히드로니코틴아미드 리보사이드(dihyronicotinamide riboside, NRH) 존재 하에서(Knox et al, 2000)만 검출가능하고, NADH 또는 NADPH 중 어느 하나 존재 하에서는 검출가능하지 않다. 이 활성의 원인이 되는 효소는 인간 NAD(P)H 퀸온 산화 환원 효소 2(NAD(P)H quinone oxidoreductase2)(NQO2)이다(Knox et al, 2000) (Wu et al, 1991). NRH 존재 하에서, NQO2는 퀸논의 두 개-전자 환원과 트레타지카르의 네 개-전자 니트로환원을 촉매할 수 있다(Wu et al, 1997). NQO2는 인간 NRH-의존성 니트로환원효소(nitroreductase)로 간주될 수 있다.
- <170> 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드는 매우 세포독성이 있고 심지어 트레타지카르에 내성인 세포들에 대해서도 매우 세포독성이 있으며, 세포 DNA에서 사슬간 가교를 형성할 수 있다. 이 화합물의 형성은 세포들이 트레타지카르를 활성화시킬 수 있을 때 세포들의 민감도를 설명하는 것이다. 트레타지카르를 생물학적 활성화시키는 능력에 관계없이, 모든 형태의 세포 출현은 환원된 4-히드록실아미노 유도체에 대해 비슷한 민감도를 갖는다(Boland et al, 1991). 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드가 세포 안에서 DNA-DNA 사슬간 가교를 생성시킬 수 있는 반면에, 이것은 네이키드 DNA(naked DNA)에서는 이러한 손상(lesion)을 형성할 수 없다(Knox et al, 1991a). 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드를 인접한 DNA를 가교시키는 세포독성이 있는 종류로 전환시키는 추가적인 활성화 단계가 있다. 4-니트로퀴놀린-N-옥시드와 N-아세틸아미노플루오렌의 대사과정에 의해 생성되는 것과 유사한, 히드록실아민의 효소에 의한 에스테르화와 활성화가 제안되었다(Knox et al, 1991a). 실제로, 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드는 아세틸-코엔자임 A와 다른 티오에스테르와의 직접적인 화학 반응에 의하여, 네이키드 DNA와 반응하여 사슬간 가교를 형성할 수 있는 형태로 비-효소적으로(non-enzymatically) 활성화될 수 있다(Knox et al, 1991a)(도 2). 최종 형태인 DNA와 반응하는 트레타지카르의 유도체는 아마도 4-(N-아세톡시)-5-(아지리딘-1-일)-2-니트로벤즈아미드이다.
- <171> 트레타지카르의 생물학적 활성화는 그 세포 독성을 상당히 증가시키고, 그 결과 투여량 조절은 100,000 배까지 가 될 수 있다. 이것은 심지어 일작용기성 작용제를 이작용기성 작용제로 전환한 것에 의해 예상된 것보다 더

크다. 이작용기성 작용제의 일작용기성 이성체(congener)가 절반의 머스타드와 일작용기성 백금 화합물과 함께 사용가능한데, 동등한 독성을 위한 투여 조절량은 단지 약 50-200배에서 나타난다(Knox et al, 1991b; Knox et al, 1987). 그러나, DNA 사슬간 가교의 형성과 그 특성에 관한 관찰은 트레타지카르의 활성화 다음에 트레타지카르의 세포 독성의 상당한 증가가 있는 이유를 설명한다.

- <172> (i)트레타지카르로 유도된 사슬간 가교는 매우 높은 빈도수로 형성되고 전체 손상(lesion)의 70%까지 기여할 수 있다(Friedlos et al, 1992). 이 빈도수는 대부분의 다른 작용제에 대해 보고된 것보다 훨씬 더 높다. 예를 들면, 사슬간 가교는 시스플라틴 또는 카보플라틴의 전체 DNA 반응 중 2% 또는 그 미만을 나타낸다(Knox et al, 1986). 몰 효율(molar efficacy)에 의하면, 사슬간 가교는 단일-사슬 두 개의-부가물(di-adduct)과 일작용기성 손상(lesion)보다 더 본질적으로 독성이 있는 손상이다. 매우 높은 비율의 가교를 생성한 작용제는 단지 낮은 빈도수를 생성하는 작용제보다 더 독성이 있을 것으로 예상된다.
- <173> (ii)가교는 잘 복원되지 못하여, 가교로 하여금 다른 이작용기성 작용제에 의해 유도된 가교보다 훨씬 더 본질적으로 세포독성이 있도록 만들 수 있다(Friedlos et al, 1992).
- <174> (iii)트레타지카르의 생물학적 활성화의 결과로, 트레타지카르를 환원시킬 수 없는 세포와 비교할 때, 워커 세포(Walker cell)에서 DNA-결합된 약물의 함량에 10-배 증가가 있었다(Friedlos et al, 1992).
- <175> 트레타지카르로-유도된 사슬간 가교의 이러한 드문 특징들은 상기 가교가 다른 작용제에 의해 형성된 가교와 동일하지 않음을 제한한다. 트레타지카르에 의해 유도된 사슬간 가교 손상(들)은 아직 완전히 규명되지 않았다. 그러나, (상기에서 상술한 바와 같이 활성화 후에) 4-히드록실아민은 데옥시구아노신의 C8 위치와 주로 반응한다. DNA에서, 이것은 아지리딘 작용기가 반대쪽 사슬에서 반응하기 위해 유지되도록 할 것이고, 관찰된 가교를 형성할 것이다. 분자 모델링 연구는 이러한 제2 가지 반응(second arm reaction)이 DNA의 반대쪽 사슬에서 데옥시구아노신의 O6 위치에서 우선적으로 있을 것임을 나타낸다(Knox et al, 2003; Knox et al, 1991a). 이러한 C8-O6 DNA 사슬간 가교는 다른 형태의 알킬화제(alkylating agent) 또는 플레티네이팅 작용제(platinating agent)에 의해서는 생성되지 않기 때문에 특이한 것일 것이며, 트레타지카르의 독특한 성질을 설명할 수 있다.
- <176> 생물학적 활성화 단계의 선택성과 연결되어 이러한 특징들은 트레타지카르가 래트에서 항-종양제로서 매우 예외적으로 효과적이었던 이유를 설명하고 G(V)DEPT에서 및 인간에서 NQ02에 의한 활성화에서 사용하기 위한 근거를 제공한다(Burke & Knox, 1998).
- <177> 또한, 트레타지카르는 이식 유전자성 동물(transgenic animal)에서 선택적인 세포 절제(cell ablation)를 위해 사용될 수 있다. 살아있는 이식 유전자성 동물에서 특정 세포 집단의 조건부 표적화된 절제(targeted ablation)는 인 비보(in vivo)에서 세포 기능을 결정하는 매우 강력한 방법이다. 표적화된 절제는 트레타지카르를 호기성으로 활성화시킬 수 있는 박테리아의 니트로 환원 효소(NTR)와 적절한 조직 특이성 프로모터를 통합하는 이식 유전자를 작제하고(Anlezark et al, 1992; Knox et al, 1992), 이것을 연구 대상인 동물-보통 마우스의 수정란에 주입함으로써 수행될 수 있다. 분만 후에, 상기 이식 유전자의 게놈상 통합(genomic integration)이 확인되고 파운더 마우스(founder mice)를 길러 이식 유전자 주를 만들었다. 상기 동물을 그의 다양한 발달 단계에서 트레타지카르로 처리하여 연구하고자 하는 세포 집단의 특정 절제의 영향을 받도록 한다. 세포 절제는 전구약물의 투여 후 7시간으로 빨리 시작하여 매우 빨리 일어나고 기능성 p53에 독립적인 것 같다(Cui et al, 1999). 이러한 시스템의 사용 예는 이식 유전자성 마우스 젖샘의 관강 세포(luminal cell)를 포함한다. NTR을 발현하는 동물의 처리는 이러한 세포 집단을 빠르고 선택적으로 사멸시킨 반면에, 가깝게 결합되어 있는 근상피세포는 영향을 받지 않았다. 이러한 시스템을 사용하는 선택적 절제의 다른 예들이 지방 세포(Felmer et al, 2002), 성상 세포(Cui et al, 2001) 및 뉴런(Isles et al, 2001; Ma et al, 2002)에서 관찰되었다.
- <178> 인접한 세포 집단에서 영향이 없었음이 중요하다. 히드록실아민은 짧은 거리를 이동할 수 있는 것으로 알려져 있어서 인접한 세포들에 영향을 줄 것으로 기대된다(Bridgewater et al, 1997; Friedlos et al, 1998). 상기 실험에서 기본적인 차이점은 표적 세포 집단은 분열하는 것인 반면에 인접한 조직은 아마도 분열하지 않는다는 것이다. 트레타지카르의 활성화는 분열하지-않는(non-dividing)(비-주기성, non-cycling) 세포에 대해 효과적임이 알려져 있다(Bridgewater et al, 1995). 그러나, 이러한 영향은 상기 세포들을 분열에 들어가도록 함으로써만 측정될 수 있다. 따라서, 일어날 것 같은 것은 트레타지카르로 유도된 DNA 손상(즉, DNA 사슬간 가교)이 분열하는 세포와 분열하지 않는-세포 모두에서 유도되지만, 세포의 DNA가 여전히 손상되어 있는 동안 세포가 분열을 시도하려고 할 때 이것은 세포 독성을 나타낸다. 대조적으로, 항엽산제(anti-folate)와 같은 S-기 특정 작용제는 상기 작용제가 존재하는 동안 분열을 하는 세포에만 영향을 준다.

- <179> 절제 실험에서, 절제될 조직은 분열하지만 인접한 조직은 아마도 분열하지 않을 것이다-따라서 매우 깨끗한 결과. DNA 손상은 영구적이지 않고 이것은 천천히 복원된다(Friedlos et al, 1992). 그 결과는 분열하지-않는 조직은 그 손상을 복원할 수 있지만 분열에 들어간 세포들은 죽게 될 시간 영역(window)이 된다. 이러한 시간 영역의 길이는 유도된 최초 DNA 손상량에 의존할 것이다. 세포주에서 트레타지카르로 유도된 가교는 약 55시간의 반감기로 복원된다(Friedlos et al, 1992). 이것은 다른 DNA 가교제보다 훨씬 더 길고(Friedlos et al, 1992), 및 이것을 인 비보 상태로 외삽하면 약 3 주의 시간 영역(10 x 반감기)을 제공한다.
- <180> 암 치료에서 유사한 조건이 존재할 것이고, 증식하지-않는 조직이 상기 시간 영역 내에 세포 분열에 들어가지 않는다면 활성화된 트레타지카르의 영향에 대해 내성이 있어야 한다.
- <181> 유사한 논의를 다른 이작용기성 알킬화제와 플레티네이팅 작용제에 대해 할 수 있다. 그러나, 이들은 전신적으로 투여되고, 그 결과 골수, 장 점막(gut mucosa) 및 림프 시스템과 같이 가장 빨리 분열하는 정상 숙주 조직에 독성 효과를 미치게 된다. 트레타지카르는 전구 약물이므로, 이것은 활성화시키는 효소(NQO2)의 바람직한 분포 또는 바이러스(G(V)DEPT)의 바람직한 투여 경로(G(V)DEPT)에 의해 회피된다. 활성화된 4-히드록실아민 유도체는 매우 짧은-반감기를 갖고 있고, 활성화 위치로부터 매우 멀리 이동할 수 없어서, 저장 효과(depot effect)는 없다. 또한, 대부분의 인간 고형암은 한 번에 증식하는 세포들을 높은 비율로 갖고 있지 않고, 트레타지카르로-유도된 가교의 상대적으로 좋지 못한 복원으로 인한 더 넓은 사멸 시간 영역(killing window)은 도움이 될 수 있다.
- <182> 트레타지카르의 임상 I 단계 연구와 약동력학 연구는 이미 완료되었고(Chung-Faye et al, 2001), 이로부터 트레타지카르는 어떠한 유효한 독성 없이 인간에게 24 mg/m²까지 안전하게 투여될 수 있다고 결론내려질 수 있다 (MTD는 37.5 mg/m²인 것으로 밝혀졌다).
- <183> 인간에서 트레타지카르의 사용은 G(V)DEPT 기술의 실용성 또는 NQO2의 분포 중 어느 하나에 의해 제한된다. 그러나, 트레타지카르는 다른 암의 인접 부분에서 활성화될 수 있다면, 다른 암(또는 세포의 바람직하지 않은 성장 또는 증식으로 인한 다른 질병)을 치료하기 위해 치료상으로 도움이 될 수 있다. 따라서, 예를 들면, 자궁 경부(cervix), 방광, 뇌, 흉부(thorax)에서 또는 국소적으로 트레타지카르를 활성화시키기 위한 시스템은 체순환으로부터 상기 활성화 시스템을 분리시킬 것이고 이것이 일어나는 것을 가능하게 할 것이다. 이론상, 이것은 실질적으로 어려움은 있지만, 효소와 조효소(co-substrate)를 사용함으로써 수행될 수 있다. 그러나, 니트로기를 환원시키기 위한 대안이 있다. 전해 환원(electrolytic reduction)이 인 비보에서는 실재하지 않지만, 니트로기는 화학적으로 환원될 수 있다.
- <184> 아세톤에서 아연 분말(zinc dust)과 암모늄 카보네이트를 사용하여 13% 수득률로(Knox et al, 1988), 또는 테트라히드로푸란에서 히드라진 수화물/Pd-C를 사용하여 28% 수득률로(Knox et al, 1993), 트레타지카르를 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드로 화학적으로 환원시키는 것이 보고되었다. 상기 합성 경로 중 어떤 것도 인 비보에서 사용하도록 고려될 수 없다.
- <185> 유사한 고려 사항이 환원으로 활성화되는 다른 전구 약물에 적용된다.
- <186> 이제 본 발명자는 환원으로 활성화되는 전구 약물이 예를 들면 수용액과 크림 모두에서 상응하는 활성 물질로 환원되는 것을 가능하게 하는 신규한 화학적 환원 시스템을 예상외로 발견하였다. 상기 발견은 (예를 들면 어떤 암, 전암 상태(pre-cancerous condition)(예를 들면, 악성 흑자 흑색종(lentigo maligna), 또는 특히 광선 각화증(actinic keratose)) 및 기본적으로 피부 세포의 과증식인 건선과 같은 피부 질환의 치료를 위하여) 상기 활성 작용제를 환자에게 직접적으로 적용하는 것인 바람직한 강력한 새로운 치료법을 가능하게 한다
- <187> 실시예에서 상세하게 기술되는 바와 같이, 본 발명자는 DHA와 같은 식 I의 화합물이 사용되어 환원으로 활성화되는 전구 약물(트레타지카르와 같은 것)을 상응하는 활성 물질(예를 들면, 트레타지카르의 경우에는 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드)로 전환시킬 수 있음을 밝혀내었다.
- <188> 따라서, 본 발명 제5 실시 형태는
- <189> (a) 본 명세서에서 정의된 바와 같은 환원으로 활성화되는 전구 약물; 및
- <190> (b) 본 명세서에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물을 포함하는 조성물을 제공한다.
- <191> 예를 들면, 상기 전구 약물이 트레타지카르일 때, 하기에서 논의될 적절한 조건하에서 상기 조성물은 상기에서 기술된 바와 같이 세포에서 DNA의 가교에 영향을 줄 수 있는 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈

아미드를 초과 시간으로 생성할 것이다.

- <192> 환원으로 활성화되는 전구 약물과 식 I의 화합물을 포함하는 상기 언급된 조성물은 환원으로 활성화되는 전구 약물을 포함하는 조성물과, 식 I의 화합물을 포함하는 조성물을 혼합함으로써 편리하게 생성된다는 것은 이해될 것이다. 따라서, 본 발명 제6 실시 형태는 본 명세서에서 정의된 바와 같은 환원으로 활성화되는 전구 약물을 함유하는 제1 부분과, 본 명세서에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물을 함유하는 제2 부분으로 포함하는 부분으로 된 키트(kit of parts)를 제공한다.
- <193> 통상적으로, 키트의 상기 두 부분들은 서로 양립가능한 조성물이고(예를 들면 상기 두 부분들 모두 크림, 수용액 및 겔과 같은 동일한 물리적 제형을 갖고 있음), 혼합되었을 때, 적절한 조건 하에서 환원으로 활성화되는 전구 약물과 식 I의 화합물(예를 들면, DHA)의 반응으로부터 상응하는 활성 작용제(예를 들면, 트레타지카르의 경우에는, 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드)를 생성할 수 있다.
- <194> 또한, 이러한 부분으로 된 키트는 하기에서 상세하게 논의되는 바와 같이 세포의 바람직하지 않은 성장 또는 증식과 싸울 때의 용도가 존재하는 치료 시스템으로 간주될 수 있다.
- <195> 편리하게는, 상기 부분으로 된 키트 또는 치료 시스템은 환원으로 활성화되는 전구 약물과 식 I의 화합물의 사용에 관한 지시사항을 포함하고, 구체적으로, 이들은 치료를 위하여(예를 들면, 세포의 바람직하지 않은 성장과 증식과 싸울 때) 그 결과 생성되는 환원으로 활성화되는 전구 약물과 식 I의 화합물을 포함하는 조성물을 사용하기 전에 이들이 혼합되는 시간을 포함하여, 환원으로 활성화되는 전구 약물과 식 I의 화합물을 포함하는 부분들을 배합할 때의 지시사항을 포함한다.
- <196> 통상적으로, 환원으로 활성화되는 전구 약물과 식 I의 화합물을 포함하는 본 발명 제5 실시 형태의 조성물, 및 본 발명 제6 실시 형태의 부분으로 된 키트 중 각각의 부분들은 환원으로 활성화되는 전구 약물과 식 I의 화합물의 배합, 및 상기 부분으로 된 키트에서 분리된 상태인 환원으로 활성화되는 전구 약물과 식 I의 화합물은 약제학적으로 허용가능한 담체와 배합되는 약제학적 조성물이다.
- <197> 마찬가지로, 본 발명은 또한 본 명세서에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물과 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 조성물, 및 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드와 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약제학적 조성물을 포함한다.
- <198> 상기 약제학적 조성물의 성질은 이들이 환자를 치료할 때 사용되는 방식에 의존할 것이고, 특히, 환자에 대한 투여 경로에 의존할 것이다.
- <199> 통상적으로, 지상 분열(digitation)에 의해 영향을 받기 쉬운 피부 또는 막(구강, 질, 자궁 경부(cervix), 항문 및 직장의 막과 같은 것)의 질환의 치료를 위하여, 본 발명 제5 실시 형태에 따른 조성물 또는 약제학적 조성물, 또는 본 발명 제6 실시 형태에 따른 부분으로 된 키트 또는 치료 시스템은 국소 투여를 위해 적절한 것들이다. 이러한 약제학적 조성물은 크림, 연고, 로션, 스프레이 및 겔을 포함한다.
- <200> 통상적으로, 체 내에서(및, 특히 신체의 강(cavity)에서) 질환의 치료를 위하여, 약제학적 조성물은 무균, 비발열성(pyrogen-free) 수용액 또는 현탁액의 제형으로 된다. 통상적으로, 식 I의 화합물은 용액 상태로 될 수 있다. 통상적으로, 환원으로 활성화되는 전구 약물은 현탁액으로 제제화될 수 있다.
- <201> 크림, 연고, 로션, 스프레이 및 무균, 비발열성인 수용액 또는 현탁액과 같은 약제학적 조성물을 생성하는 방법은 당해 분야에서 잘 알려져 있다. 예를 들면, 연고는 상기 조성물, 부분으로 된 키트 또는 치료 시스템의 구성 성분들을 예를 들면, 광유(mineral oil), 액체 페트롤레이텀(petrolatum), 백색 페트롤레이텀, 프로필렌 글리콜, 폴리옥시에틸렌 폴리옥시-프로필렌 화합물, 유화용 왁스 및 물 중 하나 이상을 갖는 혼합물에서 현탁시키거나 또는 용해시킴으로써 제제화될 수 있다. 또한, 로션 또는 크림을 위해서는, 상기 조성물, 부분으로 된 키트 또는 치료 시스템의 구성 성분들은 예를 들면, 광유, 소르비탄 모노스테아레이트, 폴리에틸렌 글리콜, 라놀린(lanolin), 액체 파라핀, 백색 소프트 파라핀(soft paraffin), 폴리소르베이트 60, 세틸 에스테르 왁스, 스테아릴 알코올, 2-옥틸도데칸올, 벤질 알코올 및 물 중 하나 이상의 혼합물에서 현탁되거나 또는 용해될 수 있다.
- <202> 본원 경우에는서는, 본 발명 제5 실시 형태에 따른 조성물 또는 약제학적 조성물이 약한 알칼리성(mildly alkaline)이라면 바람직하다. 트레타지카르와 식 I의 화합물의 배합을 포함하는 조성물과 관련하여, 상기 조성물이 약한 알칼리성이라면 특히 바람직한데, 왜냐하면 약한 알칼리성은 트레타지카르와 식 I의 화합물로부터 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드의 생성을 좋게 하고, 트레타지카르와 식 I의 화합물의

배합은 중성 또는 산성 pH에서는 반응성이 없을 것이기 때문이다.

- <203> 본 발명 제6 실시 형태에 따른 부분으로 된 키트 또는 치료 시스템의 구성 성분들을 나타내는 조성물 또는 약제학적 조성물(즉, 환원으로 활성화되는 전구 약물과 식 I의 화합물을 분리된 상태로 포함하는 조성물)과 관련하여, 이들이 배합될 때, 그 결과 생성되는 배합은 약한 알칼리성인 것이 특히 바람직하다.
- <204> 분리된 상태의 식 I 화합물 성분이 약한 산성이라면 바람직하다. 환원으로 활성화되는 전구 약물 성분이 약한 알칼리성이라면 바람직하다(특히, 산성 pH에서 불안정한 트레타지카르와 같은 화합물의 경우에는). 배합된 생성물은 약한 알칼리성인 것이 바람직하다.
- <205> "약한 알칼리성"은 상기 조성물이 8 내지 10.5의 pH, 더 바람직하게는 9 내지 10의 pH를 갖는 것을 의미한다.
- <206> 상기 약제학적 조성물이 수용액일 때, 그의 알칼리도(pH)는 예를 들면 pH 지시용 시험지(pH indicator paper) 또는 pH 지시용 용액을 사용함으로써 또는, pH 전극을 사용함으로써 바로 측정될 수 있다. 크림과 같은 다른 조성물의 알칼리도(pH)를 평가하는 것과 관련하여, 상기 조성물은 물과 혼합되거나 물로 추출될 수 있고 상기 혼합 또는 추출로부터 생성되는 수용액의 pH가 측정될 수 있다.
- <207> 예를 들면, 크림과 관련하여, 크림의 pH는 크림 0.2 mg을 물 1 mL와 10초 동안 볼텍싱(vortexing)함으로써 쉽게 측정된다. 얻은 현탁액은 원심분리에 의해 제거되고, 그 물의 pH가 측정된다.
- <208> 상기 조성물의 알칼리도는 당해 분야에서 잘 알려져 있는 바와 같이 버퍼의 사용에 의해 조절될 수 있다. 생리적으로 허용가능하고 의약에서 사용하도록 인가된 버퍼가 또한 당해 분야에 잘 알려져 있다.
- <209> 바람직한 버퍼 시스템은 소듐 바이카보네이트(NaHCO_3)와 소듐 카보네이트(Na_2CO_3)의 배합이다. 이 버퍼는 특히 크림에서 사용하기에 적절하다.
- <210> 본 발명자는 최초 사용할 버퍼 농도를 변화시킴으로써, 환원으로 활성화되는 전구 약물(예를 들면, 트레타지카르)과 식 I의 화합물(예를 들면, DHA) 간의 반응 지속 시간과 반응 정도가 조절될 수 있음을 밝혀내었다. pH는 반응 속도에 영향을 미치고, 따라서 주어진 시간 동안 반응 정도에 영향을 미친다. 반응 지속 시간은 버퍼의 세기(strength)에 의해 조절될 수 있다. 프로톤(proton)이 반응에 의해 생성되는 것 같고, 이것은 버퍼를 소거(deplete)시킬 것이다. 버퍼가 소거될 때, pH는 떨어질 것이고, 반응은 유효하게 멈출 것이다. 버퍼 세기(농도)를 변화시킴으로써, 이것이 일어나는 시간이 변경될 수 있다. 바람직하게는, 버퍼 시스템은 환원으로 활성화되는 전구 약물과 식 I의 화합물이 혼합될 때, 반응의 50%가 60분 이내에 완료되도록 선택된다.
- <211> 환원으로 활성화되는 전구 약물과 식 I의 화합물을 포함하는 본 발명 제5 실시 형태의 조성물은 상기 환원으로 활성화되는 전구 약물에 비하여 상기 식 I의 화합물을 초과량의 물로 포함한다면 바람직하다. 마찬가지로, 부분으로 된 키트 또는 치료 시스템에서, 상기 부분들이 배합될 때 상기 환원으로 활성화되는 전구 약물에 비하여 식 I의 화합물이 초과량의 물로 있다면 바람직하다. 바람직하게는, 상기 환원으로 활성화되는 전구 약물에 비하여 상기 식 I의 화합물의 물 초과량(식 I의 화합물: 환원으로 활성화되는 전구약물, 예를 들면 DHA: 트레타지카르)은 5:1보다 크고 같이 4:1보다 크고, 보다 더 바람직하게는 10:1보다 크다.
- <212> 본 발명 제5 실시 형태에 따른 조성물 또는 약제학적 조성물, 또는 본 발명 제6 실시 형태에 따른 부분으로 된 키트 또는 치료 시스템에서, 다음이 바람직하다:
- <213> (a) 상기 성분을 포함하는 조성물에서 환원으로 활성화되는 전구약물(예를 들면, 트레타지카르)의 농도는 조성물 중 0.5 내지 5% w/w 범위(예를 들면, 0.5 내지 1% w/w)에 있고(예를 들면, 조성물 1 그램당 5 내지 10 mg); 및
- <214> (b) 상기 성분을 포함하는 조성물에서 식 I의 화합물(예를 들면, DHA)의 농도는 조성물 중 2.5 내지 10% w/w(예를 들면, 5 내지 10% w/w) 범위에 있다(예를 들면, 조성물 1 그램당 50 내지 100 mg).
- <215> 발명자가 인식하는 한도에서, 이전에 어떤 사람도 국소 투여를 위하여 예를 들면 크림 또는 로션 또는 연고로의 투여를 위하여, 트레타지카르를 사용하는 것을 제안하지 않았다. 따라서, 본 발명의 추가적인 실시 형태는 트레타지카르를 포함하는 국소 투여를 위한 조성물; 바람직하게는 약제학적 조성물을 제공한다. 상기 조성물은 크림 또는 로션 또는 연고 제형으로 될 수 있다.
- <216> 의학적 치료(미생물 감염의 치료 또는 암세포를 죽이기 위함)를 위한 식 I의 화합물(DHA와 글리세르알데히드) 중 일부의 용도는 WO 2006/003492, *Naturwissenschaften* 51, 217-218 (1964) 및 *Cancer Chemother. Rep.* (Part 1) 52(7), 687-696 (1968)에서 개시되어 있다. 그러나, 발명자가 인식하는 한도에서, 이전에 어떤 사람도

DHA 또는 글리세르알데히드를 제외한 식 I의 화합물이 의약에서 사용될 수 있다고 제안하지 않았다. 따라서, 본 발명의 추가적인 실시 형태는 본 명세서에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물이 DHA 또는 글리세르알데히드가 아니라면, 의약에서 사용하기 위한 상기 화합물의 용도를 제공한다. 상기 식 I의 화합물은 포장되어 의약으로의 사용을 위해 제공될 수 있다.

<217> 또한, 본 발명은 본 명세서에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물이 DHA 또는 글리세르알데히드가 아니라면, 상기 화합물과 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약제학적 조성물을 포함한다. 하나의 구체예에서, 약제학적 조성물은 크림 또는 로션 또는 연고 또는 스프레이가 아니다. 식 I의 화합물을 포함하는 약제학적 조성물이 무균, 비발열성인, 주사가능한 수용액이라면 바람직하다.

<218> 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드가 트레타지카르의 니트로-환원 생성물로 알려져 있지만, 본 발명자가 인식하는 한도에서는, 어떤 사람도 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드를 포함하는 상기 기술된 바와 같은 약제학적 조성물과 같은 조성물이 의약에서 사용될 수 있다고 제안하지 않았다. 따라서, 본 발명의 추가적인 실시 형태는 의약에서 사용하기 위한 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드를 제공한다.

<219> 상기에서 상술한 바와 같이, 본 발명 제4 실시 형태는 환원으로 활성화되는 전구 약물을 환원시키는 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 본 명세서에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물을 상기 환원으로 활성화되는 전구 약물과 접촉시키는 단계를 포함한다. 통상적으로, 환원으로 활성화되는 전구 약물과 식 I의 화합물은 적절한 수용액에서 접촉된다. 바람직하게는, 상기 용액은 상기에서 기술한 바와 같이 약한 알칼리성이다.

<220> 본 발명자는 상기 방법이 트레타지카르와 DHA를 가지고 수행될 때, pH 9에서 반응을 수행하는 것이 pH 10에서보다 더 빠른 환원 속도를 제공하고, (2-히드록실아민 생성물과 비교할 때) 바람직한 4-히드록실아민 생성물을 매우 높은 수득률로 대부분 제공하였음을 밝혀내었다. 또한, 상기 방법에서는 바람직하게는, 환원으로 활성화되는 전구 약물에 비하여 식 I의 화합물의 몰 초과량이 존재하고 및 그 범위 및 바람직한 몰 초과량은 상기에서 기술된 바와 같다. 식 I의 화합물과 트레타지카르의 반응에 상기 방법이 적용될 때, 상기 방법은 또한 예를 들면, HPLC와 같은 소정의 적절한 분리 방법을 사용함으로써, 반응 혼합물로부터 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드 생성물을 정제하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

<221> 트레타지카르와 같은 화합물에 있는 니트로기는 유일하게 히드록실아민기로만 환원된다는 것이 주목할 만하다 (니트로소 또는 아민기와 같은 다른 기로 환원되지 않는다).

<222> 따라서, 본 발명의 추가적인 실시 형태에 따르면, 유기 니트로 화합물을 상응하는 히드록실아민으로 선택적으로 환원시키기 위하여, 본 명세서에서 기술된 바와 같은 식 I의 화합물의 용도가 제공된다. 본 발명의 상기 실시 형태의 특정 구체예에서, 상기 용도는 식 I의 화합물과 염기에 관한 것이다. 사용되는 염기의 종류와 함량뿐만 아니라, 식 I의 화합물이 니트로 화합물의 환원에 영향을 미치는 pH는 본 발명 제1 실시 형태 중 용도에서 정의된 바와 같을 수 있다.

<223> 마찬가지로, 또한 본 발명은 유기 니트로 화합물을 상응하는 히드록실아민으로 선택적으로 환원시키기 위한 방법을 제공하고, 상기 방법은 본 명세서에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물을 상기 유기 니트로 화합물과 접촉시키는 단계를 포함한다. 특정 구체예에서, 상기 방법은 상기 유기 니트로 화합물을 식 I의 화합물 및 염기와 접촉시키는 단계를 포함한다. 사용되는 염기의 종류와 함량은 본 발명 제1 실시 형태 중 용도에 대해서 정의된 바와 같을 수 있다. 추가적으로, 또 다른 특정 구체예에서, 상기 방법은 7 내지 11의 pH(예를 들면, 7.1(7.2, 7.3, 7.4 또는 7.5와 같은 것) 내지 10.9(10.8, 10.7, 10.6, 10.5, 10.4, 10.3, 10.2, 10.1 또는 10.0과 같은 것)의 pH)를 갖는 용액(예를 들면, 수용액) 또는 현탁액의 존재 하에서, 본 명세서에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물과 상기 유기 니트로 화합물을 접촉시키는 단계를 포함한다.

<224> 상기 유기 니트로 화합물은 예를 들면, 본 명세서에서 기술된 니트로 화합물 중 어느 하나가 될 수 있다. 그러나, 특히 상기 유기 니트로 화합물은 방향족 니트로 화합물 또는 헤테로방향족 니트로 화합물이다.

<225> 용어 "방향족 니트로 화합물"이 본 명세서에서 사용될 때, 이것은 방향족 기가 니트로 치환기를 갖는, C₆₋₁₄ 카보시클릭 방향족기(예를 들면, 페닐, 나프틸, 안트라세닐 또는 펜안트레닐(phenanthrenyl) 기)를 포함하는 화합물에 대한 언급을 포함한다. 상기 방향족 기는 니트로 치환기를 가질 뿐만 아니라, C₁₋₆ 알킬, C₁₋₆ 알콕시(C₁₋₆ 알킬와 C₁₋₆ 알콕시 기는 할로, OH, C₁₋₄ 알콕시, Het 및 아릴로부터 선택되는 하나 이상의 치환기에 의해 선택적으로 치환됨), OH, 할로(플루오로, 클로로, 브로모 또는 요오드와 같은 것), 시아노, 니트로, CO₂R^a, C(O)NR^bR^c,

$S(O)_{1-2}R^d$, $S(O)_2NR^bR^c$, $N(R^b)R^c$, Het, 아지리디닐 및 아릴로부터 선택되는 하나 이상의 치환기에 의해 선택적으로 더 치환되고, 상기 R^a 내지 R^d 는 독립적으로 C_{1-6} 알킬(할로, OH, C_{1-4} 알콕시, Het 및 아릴로부터 선택되는 하나 이상의 치환기에 의해 선택적으로 치환됨), Het 또는 아릴을 나타내고, 또는 R^a 내지 R^c 는 택일적으로는(및 독립적으로) H를 나타낼 수 있고, 상기 Het과 아릴은 본 명세서에서 정의된 바와 같다.

<226> 특정 구체예에서, 상기 카보시클릭 방향족 기는 하나 이상의 추가적인 전자-끄는(electron-withdrawing) 치환기, 예를 들면 할로(플루오로, 클로로, 브로모 또는 요오드와 같은 것), 시아노, 니트로, CO_2R^a , $C(O)NR^bR^c$, $S(O)_{1-2}R^d$ 및 $S(O)_2NR^bR^c$ 로부터 선택되는 하나 이상의 치환기(예를 들면, 한 개 또는 두 개의 치환기)를 더 포함하고, 상기 R^a 내지 R^d 는 본 명세서에서 정의된 바와 같다. 당해 분야의 당업자들에게 이해되는 바와 같이, 카보시클릭 방향족 기에서의 치환 패턴이 상기 방향족 기에 결합된 니트로 모이어티의 환원 포텐셜을 좌우할 것이다. 일반적으로, 상기 방향족 기에 전자-끄는 치환기의 첨가는 환원 포텐셜(예를 들면, 폴라로그래피로 측정되었을 때 E^2 또는 E^0)을 증가시킬(즉, 덜 네가티브(negative) 상태로 만들) 것으로 기대될 것이다. 또 다른 특정 구체예에서, 상기 카보시클릭 방향족 기는 하나 이상의 니트로 치환기를 더 포함한다.

<227> 용어 "헤테로방향족 니트로 화합물"이 본 명세서에서 사용될 때, 이것은 산소, 질소 및/또는 황으로부터 선택되는 하나 이상의 헤테로원자를 포함하는 5-원 또는 14-원 헤테로방향족 기를 포함하는 화합물에 대한 언급을 포함하고, 상기 헤테로방향족 기는 한 개, 두 개 또는 세 개의 고리를 포함할 수 있고, 상기 헤테로방향족 기는 니트로 치환기를 포함한다. 헤테로방향족 기는 C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 알콕시(C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 알콕시 기는 할로, OH, C_{1-4} 알콕시, Het 및 아릴로부터 선택되는 하나 이상의 치환기에 의해 선택적으로 치환됨), OH, 옥소, 할로(플루오로, 클로로, 브로모 또는 요오드와 같은 것), 시아노, 니트로, CO_2R^a , $C(O)NR^bR^c$, $S(O)_{1-2}R^d$, $S(O)_2NR^bR^c$, $N(R^b)R^c$, Het, 아지리디닐 및 아릴로부터 선택되는 하나 이상의 치환기를 선택적으로 포함하고, 상기 R^a 내지 R^d 는 본 명세서에서 정의한 바와 같다. 의문을 피하기 위하여, 용어 "헤테로방향족 니트로 화합물"은 두 개 또는 세 개의 고리를 포함하는 일부-방향족(part-aromatic) 헤테로시클릭 기에 대한 언급을 포함하고, 이때 한 개 이상의 고리는 방향족이다(그러나 모든 고리가 방향족은 아니다). 이러한 고리 시스템에서, 니트로기는 방향족 기에 붙어 있는 것이 바람직하다.

<228> 용어 "헤테로방향족 니트로 화합물"과 관련하여 언급될 수 있는 특정 헤테로방향족 고리 시스템은 벤즈이미다졸릴, 벤조[c]이소옥사졸리디닐, 벤즈이소옥사졸릴, 벤조푸라닐, 벤조푸라자닐(benzofurazanyl), 2,1,3-벤즈옥사디아졸릴, 벤즈옥사졸릴, 벤조피라졸릴, 벤조[e]피리미딘, 2,1,3-벤조티아디아졸릴, 벤조티아졸릴, 벤조티에닐, 벤조트리아졸릴, 시놀리닐(cinnoliny), 푸라닐, 이미다졸릴, 이미다조[1,2- α]피리디닐, 이미다조[2,3- b]티아졸릴, 인돌릴, 이소퀴놀리닐, 이소옥사졸릴, 나프토[1,2- b]푸라닐, 옥사디아졸릴, 옥사졸릴, 프탈라지닐, 퓨리닐(puriny), 피라지닐, 피라졸릴, 피리디닐, 피리미디닐, 피롤로[2,3- b]피리디닐, 피롤로[5,1- b]피리디닐, 피롤로[2,3- c]피리디닐, 피롤릴, 퀴나졸리닐, 퀴놀리닐, 티아디아졸릴, 티아졸릴, 티에닐, 티에노[5,1- c]피리디닐, 트리아졸릴, 1,3,4-트리아졸로[2,3- b]피리미디닐, 크산테닐(xanthy), 벤조디옥사닐, 벤조디옥세파닐, 벤조디옥솔릴, 벤조모르폴리닐, 벤즈옥사졸리디닐, 크로마닐, 크로메닐, 2,3-디히드로벤즈이미다졸릴, 2,3-디히드로벤조[b]푸라닐, 1,3-디히드로벤조[c]푸라닐, 1,3-디히드로-2,1-벤즈이소옥사졸릴 2,3-디히드로피롤로-[2,3- b]피리디닐, 4,5,6,7-테트라히드로벤즈이미다졸릴, 4,5,6,7-테트라히드로벤조피라졸릴, 5,6,7,8-테트라히드로벤조[e]피리미딘, 티오크로마닐 및 그 등가물을 포함한다.

<229> 놀랍게도, 본 발명자는 본 명세서에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물에 의한 환원성 화합물(예를 들면, 유기 니트로 화합물 또는 환원으로 활성화되는 전구약물과 같은, 환원성 유기 화합물)의 환원은 상기 환원성 화합물과 염기의 미리-형성된(pre-formed) 혼합물(예를 들면, 용액 또는 현탁액)에 상기 식 I의 화합물을 첨가함으로써 효과적으로 수행될 수 있음을 밝혀내었다.

<230> 따라서, 본 발명의 추가적인 실시 형태에 따르면, 환원성 화합물을 환원시키는 방법이 제공되고, 상기 방법은 상기 환원성 화합물과 염기의 혼합물에, 본 명세서에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물을 첨가하는 단계를 포함하고, 상기 염기는 본 발명 제1 실시 형태에 대하여 본 명세서에서 정의된 바와 같다.

<231> 상기 환원성 화합물은 본 명세서에서 정의된 바와 같은 유기 니트로 화합물 또는 환원으로 활성화되는 전구 약

물과 같은, 환원성 유기 화합물(예를 들면, 트레타지카르)이 될 수 있다. 본 발명의 이 실시 형태에서, 식 I의 화합물은 특히 DHA가 될 수 있다.

- <232> 환원성 화합물과 염기의 혼합물은 예를 들면 수성 또는 특히 유기 용매 시스템에서 용액 또는 현탁액이 될 수 있다. 이와 관련하여 언급될 수 있는 특정 용매 시스템은 저급(C₁₋₄) 알킬 알코올(이소프로판올, 에탄올 또는 메탄올과 같은 것), 염소화된 탄화수소(디클로로메탄과 같은 것), 물 및 이들의 혼합물(단일상(mono-phasic) 혼합물 또는 이상(bi-phasic) 혼합물)을 포함한다. 언급될 수 있는 특정 염기는 알칼리(예를 들면, 소듐 또는 포타슘) 금속 바이카보네이트 또는 특히, 카보네이트(예를 들면, 무수 포타슘 카보네이트와 같은 포타슘 카보네이트)를 포함한다.
- <233> 환원은 예를 들면 실온에서 또는 그보다 높은 온도에서 수행될 수 있다. 본 발명의 특정 구체예에서, 반응은 30 내지 100℃(예를 들면, 약 60℃와 같은 40 내지 70℃)와 같은 높여진 온도(예를 들면, 25℃보다 높은 온도)에서 수행된다. 환원은 또한 대기중 산소와 같은 산화제의 실질적인 부재 상태에서 수행될 수 있다. 따라서, 본 발명의 특정 구체예에서, 반응은 비활성 분위기(예를 들면, 질소 또는 아르곤 분위기) 하에서 및/또는 산소가 제거된(또는 가스가 제거된) 용매 및/또는 반응물을 사용하여 수행된다.
- <234> 본 발명의 특정 구체예에서, 환원성 화합물은 목표로 하는 환원을 달성하기 위하여 요구되는 식 I의 화합물의 계산된 몰수와 비교할 때 화학양론적으로 초과량으로 유지된다. 이와 관련하여, 및 이론에 구속됨이 없이, 식 I의 화합물은 식 Ia의 이합체 1 몰당 1 몰 당량의 수소화물(hydride)을 제공한다고 여겨진다(즉, 식 I의 화합물 2 몰당 1 몰 당량의 수소화물). 따라서, 예를 들면, 니트로의 히드록실아민으로의 환원(두 개의 수소화물 당량의 공급을 필요로 하는 2개-전자 환원)을 위해서는, 목표로 하는 환원을 달성하기 위해 요구되는 식 I의 화합물의 몰 수는 니트로 화합물 1 몰당 4 몰이다.
- <235> 식 I의 화합물은 환원성 화합물과 염기의 혼합물에 어떤 속도로든지 첨가될 수 있다. 그러나, 본 발명의 일 구체예에서, 식 I의 화합물은 상기 혼합물에 1 분당 (환원성 화합물에 비해) 2 몰 당량 이하와 같이(예를 들면, 1 분당 최대 1.75, 1.5, 1.25, 1.0, 0.9, 0.8, 0.7, 0.6, 0.5, 0.4, 0.3 또는 특히, 0.2 또는 0.15 몰 당량), 천천히 첨가된다.
- <236> 상기 언급된 바와 같이, 환원성 화합물은 트레타지카르가 될 수 있다. 따라서, 본 발명의 상기 실시 형태의 특정 구체예는 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드(또는 5-(아지리딘-1-일)-2-히드록실아미노-4-니트로벤즈아미드)를 제조하는 방법에 관한 것이고, 상기 방법은
- <237> (a) 트레타지카르와 염기의 혼합물을 제공하는 단계; 및
- <238> (b) 식 I의 화합물의 4몰 당량 이하(또는, 택일적으로는 식 I의 화합물의 이합체 형태(즉, 식 Ia의 화합물)의 2 몰 당량 이하)를 첨가하는 단계를 포함한다
- <239> 특정 구체예에서, 식 I의 화합물은 DHA가 될 수 있다.
- <240> 상기 반응은 환원성 화합물을 환원시키는 방법에 관하여 상기에서 기술된 조건 하에서(및 염기 및/또는 용매를 사용하여) 수행될 수 있다. 본 발명의 상기 실시 형태의 추가적인 구체예는 상기 방법이 만약 부산물(co-product)인 5-(아지리딘-1-일)-2-히드록실아미노-4-니트로벤즈아미드가 생성된다면, 상기 부산물로부터 생성물인 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드를 분리하는 단계를 더 포함한다. 분리는 당해 분야의 당업자에게 알려져 있는 방법(예를 들면, 분별 결정화, 재결정, 크로마토그래피, 용매 추출, 및 진공 승화(vacuum sublimation) 등)에 의해 수행될 수 있다.
- <241> 본 발명의 추가적인 실시 형태는 개체(individual)에 있는 어떤 부위에서 세포의 바람직하지 않은 성장 또는 증식과 싸우는 방법을 제공하고, 상기 방법은 항증식성 작용제(antiproliferative agent)의 환원으로 활성화되는 전구약물(예를 들면, 트레타지카르)와 본 명세서에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물을 상기 개체에 있는 상기 부위에 제공하는 단계를 포함한다.
- <242> 용어 "항증식성 작용제의 환원으로 활성화되는 전구약물"이 본 명세서에서 사용될 때, 이것은 구체적으로, 미토마이신 C, E09, RSU-1069, RB-6145 및 특히 트레타지카르와 같이, 본 명세서에서 규명된 환원으로 활성화되는 전구 약물에 대한 언급을 포함한다.
- <243> 환원으로 활성화되는 전구약물과 식 I의 화합물은 상기 개체에게 투여되기 전에 혼합될 수 있고, 또는 이들은 연속적으로 투여될 수 있다.

- <244> 예를 들면, 국소 투여와 관련하여, 환원으로 활성화되는 전구약물을 포함하는 조성물과, 식 I의 화합물을 포함하는 조성물을 상기 개체에게 투여하기 전에 배합하는 것이 편리하다(상기 양 경우에서 조성물은 국소 투여를 위해 적절한 조성물임). 상기 구체에는 국소-투여를 위한 조성물이 하기 실시예 2와 3에서 크림인 경우에서 보다 상세하게 기술되어 있다(트레타지카르와 DHA의 배합을 참조하여).
- <245> 마찬가지로, 체강으로의 투여와 관련하여, 환원으로 활성화되는 전구약물을 포함하는 조성물과, 식 I의 화합물을 포함하는 조성물은 편리하게는 투여되기 전에 혼합된다(상기 양 경우에서 조성물은 체강으로의 투여를 위해 적절한 조성물임). 그러나, 체강 내에서 상기 혼합이 일어나는 것도 또한 가능하다(예를 들면, 환원으로 활성화되는 전구약물과 식 I의 화합물의 분리된 상태의 무균, 비발열성인 용액 또는 현탁액이 체강으로 투여될 수 있고, 상기 환원으로 활성화되는 전구약물과 식 I의 화합물의 최초의 접촉이 체강 내에서 일어날 것이다). 한 구체예에서, 환원으로 활성화되는 전구 약물과 식 I의 화합물은 예를 들면 중성 조건 하에서 동시에-투여될 수 있고, 작용제(버퍼와 같은 것)의 추가적인 투여가 체강 내에서의 환경을 약한 알칼리성으로 만들 수 있다. 그러나, 통상적으로 환원으로 활성화되는 전구 약물(또는 식 I의 화합물과의 배합)은 알칼리성 매질에서 존재한다.
- <246> 환원으로 활성화되는 전구약물과 식 I의 화합물이 개체에게 투여되기 전에 적절한 조건 하에서 배합될 때, 그에 상응하는 활성 물질(예를 들면, 트레타지카르의 경우에는, 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드)이 생성되고 그런 다음 상기 개체에게 투여된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 실시 형태는 개체에 있는 어떤 부위에서 세포의 바람직하지 않은 성장 또는 증식과 싸우는 방법을 제공하고, 상기 방법은 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드를 포함하는 조성물을 상기 개체에 있는 상기 부위에 투여하거나 또는 제공하는 단계를 포함한다.
- <247> 본 발명의 추가적인 실시 형태는
- <248> (i) 개체에서 세포의 바람직하지 않은 성장 또는 증식과 싸우기 위한 의약의 제조에서, 본 명세서에서 정의된 바와 같은 항증식성 작용제의 환원으로 활성화되는 전구 약물과 본 명세서에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물의 배합물의 용도; 및
- <249> (ii) 개체에서 세포의 바람직하지 않은 성장 또는 증식과 싸우기 위한 의약의 제조에서, 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드의 용도를 제공한다.
- <250> 본 발명의 상응하는 실시 형태는 바람직하지 않은 세포의 성장 또는 증식을 치료하는 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 그러한 치료를 필요로 하는 환자에게
- <251> (i) 항증식성 작용제의 환원으로 활성화되는 전구약물, 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염 및/또는 그의 용매화물과 식 I의 화합물을 포함하는 배합 생성물; 또는
- <252> (ii) 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드의 유효량을 투여하는 단계를 포함한다.
- <253> 상기 배합 생성물은 부분으로-된-키트 또는 배합된 조제물 중 어느 하나가 될 수 있다. 따라서, 본 발명의 이 실시 형태는
- <254> (a) (I) 항증식성 작용제의 환원으로 활성화되는 전구약물, 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염 및/또는 그의 용매화물,
- <255> (II) 본 명세서에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물 및, 선택적으로는
- <256> (III) 약제학적으로 허용가능한 아쥘반트(adjuvant), 희석제 또는 담체를 포함하는 조성물; 또는
- <257> (b) (I) 항증식성 작용제의 환원으로 활성화되는 전구약물, 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염 및/또는 그의 용매화물을 함유하는 제1 부분, 및
- <258> (II) 본 명세서에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물을 함유하는 제2 부분을 포함하는 부분으로-된 키트를 환자에게 투여하는 단계를 포함한다.
- <259> 본 발명의 추가적인 실시 형태는 배합 생성물(즉, 조성물 또는 부분으로-된 키트) 그 자체에 관한 것이다. 본 발명의 상기 실시 형태에서, 항증식성 작용제의 환원으로 활성화되는 전구 약물은 본 명세서에서 정의된 바와 같다.
- <260> 통상적으로, 부분으로-된-키트의 두 개의 부분들은 서로 양립가능한 조성물이고(예를 들면, 이들 모두 크림, 수

용액, 및 겔과 같은 동일한 물리적 제형을 갖는다), 이들이 혼합될 때, 적절한 조건 하에서 환원으로 활성화되는 전구약물과 식 I의 화합물(예를 들면, DHA)의 반응으로부터 상응하는 활성 작용제(예를 들면, 트레타지카르의 경우에는, 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드)를 생성할 수 있다.

- <261> 또한, 그러한 부분으로 된 키트는 세포의 바람직하지 않은 성장 또는 증식과 싸울 때의 용도를 갖는 치료 시스템으로 간주될 수 있다.
- <262> 편리하게는, 부분으로-된-키트 또는 치료 시스템은 항증식성 작용제의 환원으로 활성화되는 전구 약물과 식 I의 화합물의 사용에 관한 지시 사항을 포함하고, 특히 이들은 그 결과 생성되는 환원으로 활성화되는 전구 약물과 식 I의 화합물을 포함하는 조성물을 치료(예를 들면, 세포의 바람직하지 않은 성장 및 증식과 싸울 때)에서 사용하기 전에 이들을 배합하는 시간을 포함하여, 항증식성 작용제의 환원으로 활성화되는 전구약물과 식 I의 화합물을 포함하는 부분들을 배합할 때 지시 사항을 포함한다.
- <263> 통상적으로, 항증식성 작용제의 환원으로 활성화되는 전구 약물과 식 I의 화합물을 포함하는 조성물, 및 부분으로-된-키트의 각각의 부분들의 조성물은 항증식성 작용제의 환원으로 활성화되는 전구약물과 식 I의 화합물의 배합물, 및 부분으로-된 키트에서 분리된 상태의 항증식성 작용제의 환원으로 활성화되는 전구약물과 식 I의 화합물은 약제학적으로 허용가능한 담체와 배합된 약제학적 조성물이다.
- <264> 세포의 바람직하지 않은 성장 또는 증식을 치료할 때, 배합 생성물(배합된 조성물 또는 부분으로-된-키트) 또는 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드는 치료 시스템 또는 치료제 단독으로 투여될 수 있고, 또는 택일적으로는, 하나 이상의 추가적인 활성 작용제(예를 들면, 문제가 되는 특정 질환의 치료용으로 알려진 활성 작용제)와 함께(즉, 동시에 또는 연속적으로) 투여될 수 있다.
- <265> 싸움이 대상이 되는 세포의 바람직하지 않은 성장 또는 증식은 바람직하지 않은 성장 또는 증식이 될 수 있고, 특히 이들은 세포 DNA의 가교에 민감하다.
- <266> 세포의 바람직하지 않은 성장 또는 증식은 통상적인 사마귀 또는 건선 또는 세포의 바람직하지 않은 성장 또는 증식을 포함하는 기타 피부 상태의 경우와 같이 양성일 수 있고, 또는 종양 또는 그의 전이와 같이 종양성(neoplastic)이 있을 수 있다.
- <267> 따라서, 본 발명의 방법과 의약(즉, 항증식성 작용제의 환원으로 활성화되는 전구약물, 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드, 또는 그의 용도를 포함함)은 사마귀 또는 건선과 같은 기타 피부 질환, 기타 양성인 성장, 전암 상태의 조건 및, 자궁 경부(cervix), 방광, 뇌, 흉부 및 자궁의 암을 포함하는 암의 치료에 사용될 수 있다.
- <268> 상기 방법과 의약이 질병과 싸우기 위해 국소적으로 사용된다면 특히 바람직하다.
- <269> 상기 방법과 의약이 방광 또는 복막 또는 흉부와 같은 체강으로의 투여에 의해 질병과 싸우기 위해 사용된다면 특히 적절하다. 트레타지카르와 관련하여, 그의 활성이 있는 4-히드록실아민 유도체는 적용 또는 전달 후에 매우 짧은 반감기를 갖고 있고 활성화 부위로부터 매우 멀리 이동할 수 없어서, 저장 효과(depot effect)가 없으며 활성 약물은 순환계로 들어가지 않고 전신 효과를 일으키지 않는다.
- <270> 따라서, 언급될 수 있는 본 발명의 특정 구체에는 다음을 포함한다:
- <271> (a) 항증식성 작용제의 환원으로 활성화되는 전구약물(예를 들면, RSU-1069, 미토마이신 C, 또는 특히 트레타지카르 또는 E09), 식 I의 화합물(예를 들면, DHA) 및 국소적으로-허용가능한 아쥬반트, 희석제 또는 담체(예를 들면, 로션, 크림 또는 연고 기제)를 포함하는 국소 조성물(예를 들면, 크림, 로션 또는 연고);
- <272> (b) 항증식성 작용제의 환원으로 활성화되는 전구약물(예를 들면, RSU-1069, 미토마이신 C, 또는 특히 트레타지카르 또는 E09), 식 I의 화합물(예를 들면, DHA) 및 약제학적으로-허용가능한 아쥬반트, 희석제 또는 담체를 포함하는 펠렛 또는 유사한 고형 전달 비히클(vehicle); 및
- <273> (c) 항증식성 작용제의 환원으로 활성화되는 전구약물(예를 들면, RSU-1069, 미토마이신 C, 또는 특히 트레타지카르 또는 E09), 식 I의 화합물(예를 들면, DHA) 및 약제학적으로-허용가능한 아쥬반트, 희석제 또는 담체(예를 들면, 무균 수성 용매 시스템과 같은 무균 용매 시스템)를 포함하는 용액 또는 현탁액.
- <274> 상기 (a) 및 (b)와 관련하여, 특정 조성물은 염기(예를 들면, 본 발명 제1 실시 형태와 관련하여 상기에서 정의된 바와 같은 염기) 및/또는 조성물에 적용된 후 투여 부위에서 7 내지 11의 국소적인 pH(예를 들면: 트레타지카르를 포함하는 제제에 대해서는, pH 7.5, 8.0, 8.5 또는 9.0 내지 10.5의 pH, 또는 특히 10; 또는 약 pH 7.5

와 같은 7.1 내지 8.0의 pH를 갖는 E09를 포함하는 제제를 형성)를 제공하는 pH 완충 시스템을 또한 포함할 수 있다.

- <275> 상기 (a)의 국소 조성물(또는 크림, 로션 또는 연고)는 예를 들면, 피부암, 피부의 비-흑색종(non-melanoma), 전립선 암, 전암 상태(예를 들면, 악성 흑자 흑색종, 또는 특히 광선 각화증), 사마귀 또는 건선의 치료에 사용될 수 있다. 이러한 조성물은 또한 장암(bowel cancer)과 같은 상태의 치료에서 직장 크림(rectal cream)으로 사용될 수 있다.
- <276> 상기 (b)의 고형 전달 비히클은 E09를 포함할 때 전립선 암의 치료에서 사용하는데 특히 적절하다. 이것은 전립선은 높은 pH 수준에 특히 민감하다고 알려져 있기 때문이고, 본 발명자들에 의하면 E09는 비교적 낮은 pH(예를 들면, 약 pH 7.5)에서 트레타지카르와 같은 화합물보다 보다 더 빨리 환원되는 것으로 밝혀졌다.
- <277> 상기 (c)의 용액 또는 현탁액은 세포의 바람직하지 않은 성장 또는 증식이 존재하는 체강 또는 체내 공간으로 주사, 트랜스 카테터 삽입술(transcatheterisation) 또는 다른 주입 방법에 의해 배치될 수 있다. 예를 들면, 상기 용액은 방광암과 같은 상태를 치료하기 위해 방광 내로 주입될 수 있고, 자궁 경부암을 치료하기 위하여 자궁 경부(cervix)와 접촉될 수 있고, 예를 들면 난소암을 치료하기 위하여 복막에 주사될 수 있고, 또는 뇌 종양(brain cancer)을 치료하기 위해 뇌 안으로 주사될 수 있다.
- <278> 특정 구체예에서, 식 I의 화합물(예를 들면, DHA)과 항증식성 작용제의 환원으로 활성화되는 전구약물(예를 들면, 트레타지카르 또는 E09)을 포함하는 용액 또는 현탁액은 방광암을 치료하기 위하여 방광내 비뇨 카테터 주입법(intravesical urinary catheter infusion)에 의해 투여될 수 있다.
- <279> 따라서, 본 발명의 추가적인 실시 형태는 방광암을 치료하는 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 식 I의 화합물(예를 들면 DHA)과 항증식성 작용제의 환원으로 활성화되는 전구약물(예를 들면, 트레타지카르 또는 E09)을 포함하는 용액 또는 현탁액의 유효량을 방광내 비뇨 카테터 주입법에 의해 주입하는 단계를 포함한다.
- <280> 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드를 포함하는 상기 기술된 조성물은 또한
- <281> (i)5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드와 국소적으로-허용가능한 아쥬반트, 희석제 또는 담체(예를 들면, 로션, 크림 또는 연고 기제)를 포함하는 국소용 조성물(예를 들면, 크림, 로션 또는 연고); 및
- <282> (ii)5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드와 약제학적으로 허용가능한 아쥬반트, 희석제 또는 담체(예를 들면, 무균 수성 용매 시스템과 같은 무균 용매 시스템)를 포함하는 용액 또는 현탁액과 같은 특정 약제학적 제형으로 될 수 있다.
- <283> 상기 조성물 (i)과 (ii)는 각각 상기 조성물 (a)와 (c)와 관련하여 기술된 바와 같이 동일한 최종 용도를 가질 수 있다.
- <284> 택일적으로, 상기 (ii)의 용액 또는 현탁액(뿐만 아니라 상기 (c)의 용액 또는 현탁액)은 구강, 비강, 인후, 인두, 기관 또는 폐로 분무 방법에 의해 투여되어, 상기 부위 중 어느 하나에서 세포의 바람직하지 않은 증식(예를 들면 암)을 치료할 수 있다. 따라서, 본 발명의 추가적인 실시 형태는
- <285> (A)항증식성 작용제의 환원으로 활성화된 전구 약물, 본 명세서에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물, 및 약제학적으로-허용가능한 아쥬반트, 희석제 또는 담체; 또는
- <286> (B)5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드 및 약제학적으로 허용가능한 아쥬반트, 희석제 또는 담체를 포함하는 분무가능한 용액 또는 현탁액에 관한 것이다.
- <287> 분무 방법에 의하여 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드(또는 이 화합물을 제공하는 혼합물)를 구강, 비강, 인후, 인두, 후두, 기관 또는 폐로 직접으로 투여하는 것은 혈청 단백질에 의한 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드의 비활성화를 회피하게 한다. 또한, 동일한 비활성화 메커니즘은 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드가 전신 효과를 갖지 않을 것임을 보증할 것이다.
- <288> 따라서, 본 발명의 추가적인 실시 형태는 구강, 비강, 인후, 인두, 후두, 기관 또는 폐의 암을 치료하는 방법에 관한 것으로, 상기 방법은
- <289> (A)항증식성 작용제의 환원으로 활성화되는 전구 약물, 본 명세서에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물, 및 약제학적으로-허용가능한 아쥬반트, 희석제 또는 담체; 또는
- <290> (B)5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드 및 약제학적으로-허용가능한 아쥬반트, 희석제 또는 담체

는 담체를 포함하는 용액 또는 현탁액을 분무 방법에 의해 투여하는 단계를 포함한다.

- <291> 분무 제형으로 용액 또는 현탁액을 전달하기 위해 적절한 장치는 당해 분야의 당업자들에게 잘 알려져 있다. 적절한 장치(레저버(reservoir)로부터 용액 또는 현탁액을 펌프로 퍼올리는 기계적 분무기; 및 가압된 추진체 가스를 사용하여 노즐을 통해 분무를 생성하는 에어로졸 장치를 포함)는 예를 들면 WO 2006/005845에서 기술된 것들을 포함한다.
- <292> 따라서, 본 발명의 추가적인 실시 형태는
- <293> (a)항증식성 작용제의 환원으로 활성화되는 전구 약물, 본 명세서에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물, 및 약제학적으로-허용가능한 아쥬반트, 희석제 또는 담체, 또는
- <294> 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드 및 약제학적으로-허용가능한 아쥬반트, 희석제 또는 담체를 포함하는
- <295> 용액 또는 현탁액으로 채워진 레저버를 갖는 기계적 분무기; 및
- <296> (b) 하나 이상의 추진체 가스 및
- <297> 항증식성 작용제의 환원으로 활성화되는 전구 약물, 본 명세서에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물, 및 약제학적으로-허용가능한 아쥬반트, 희석제 또는 담체, 또는
- <298> 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드 및 약제학적으로-허용가능한 아쥬반트, 희석제 또는 담체를 포함하는 용액 또는 현탁액을 포함하는 에어로졸 장치에 관한 것이다.
- <299> 하나의 구체예에서, 상기 (b)에서 기술된 장치는 정량 흡입계 장치가 될 수 있다.
- <300> 액체 분무에 대한 대안으로서, 건조 분말이 에어로졸화되어 폐와 같은 부위에 약물을 전달할 수 있다. 따라서, 본 발명의 추가적인 실시 형태에 따르면, 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드를 포함하는 건조 분말 에어로졸 조성물이 제공된다.
- <301> 용어 "건조 분말 에어로졸 조성물"에 대하여, 우리는 흡입 장치에 의하여 구강, 비강, 인후, 인두, 후두, 기관 또는 폐로 전달될 수 있는 건조 분말 제제에 대한 언급을 포함한다. 상기과 같이, 상기 용어는 평균 입자 크기가 100 μm 또는 그 미만(예를 들면, 50 또는 10 μm)을 갖는 건조 분말에 대한 언급을 포함한다. 이와 관련하여, 입자 크기는 당해 분야의 당업자에게 알려진 방법에 의해 결정될 수 있다(예를 들면, MastersizerTM과 같은 입자 크기 분석 장치를 사용하는 방법과 같은, 레이저 광 산란 방법에 의함).
- <302> 건조 분말 에어로졸의 전달을 위한 장치(예를 들면, 건조 분말 흡입기)는 당해 분야의 당업자에게 잘 알려져 있고, 예를 들면 WO 2004/110536에서 기술되어 있다. 따라서, 본 발명의 추가적인 실시 형태에 따르면,
- <303> (i)선택적으로 추진체 가스의 공급원(source)을 포함하는 건조 분말 흡입 장치; 및
- <304> (ii)5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드를 포함하는 건조 분말 에어로졸 조성물의 하나 이상의 별개의 투여량(discrete dose)을 포함하는 치료 시스템에 제공된다.
- <305> 상기 치료 시스템은 물리적으로 분리된 독립체로서 상기 장치와 조성물의 투여 단위(들)를 포함할 수 있다(예를 들면, 효과적으로는 부분으로-된-키트로서). 택일적으로, 흡입 장치는 하나 이상의 조성물의 투여 단위로 먼저-충진될 수 있다.
- <306> 세포의 바람직하지 않은 성장 또는 증식을 치료할 때, 상기-언급된 조성물(국소 조성물, 고형 전달 비히클, 용액 또는 현탁액, 건조 분말 에어로졸 등을 포함)은 특정 상태(방광암, 자궁 경부암, 복막암(peritoneum cancer) 또는 뇌종양, 또는 구강, 비강, 인후, 인두, 후두, 기관 또는 폐의 암과 같은 세포의 바람직하지 않은 성장 또는 증식)의 치료를 위해 단독으로 사용될 수 있다, 즉 단독의 치료 시스템 또는 치료제로 투여될 수 있다. 그러나, 택일적으로는, 상기 조성물은 하나 이상의 추가적인 활성 작용제(예를 들면, 문제가 되는 특정 질환을 치료하기 위해 알려져 있는 활성 작용제)와 함께(즉, 동시에 또는 연속적으로) 투여될 수 있다.
- <307> 이와 관련하여, 방광암의 치료에서 사용을 위해 알려진 활성 작용제는 시스플라틴, 독소루비신 및 미토마이신 C를 포함한다.
- <308> 인간 사용을 위해 환원으로 활성화되는 전구 약물(예를 들면, 트레타지카르)의 적절한 투여량은 10 내지 30

mg/m^2 , 통상적으로 15 내지 25 mg/m^2 예를 들면 24 mg/m^2 을 포함한다.

<309> 본 발명의 방법과 의약은 동물(인간을 제외한 동물, 특히 말, 소, 양 및 그 등가물, 및 고양이 및 개와 같은 것)과 인간을 치료하기 위해 사용될 수 있다. 상기 방법과 의약이 인간을 치료하기 위해 사용된다면 바람직하다.

<310> 본 발명의 추가적인 실시 형태는 세포에서 DNA를 가교시키는 방법을 제공하고, 상기 방법은 DNA 가교제의 환원으로 활성화되는 전구약물(예를 들면, 트레타지카르)과 본 명세서에서 정의된 바와 같은 식 I의 화합물(예를 들면, DHA)의 배합을 상기 세포에 투여하는 단계를 포함하고, 또는 세포에서 DNA를 가교시키는 방법을 제공하고, 상기 방법은 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드를 포함하는 조성물을 상기 세포에 투여하는 단계를 포함한다. 통상적으로, 상기 세포는 배양 중인 세포이고, 상기 방법은 인 비트로(in vitro) 방법이다.

<311> 용어 "DNA 가교제의 환원으로 활성화되는 전구약물"이 본 명세서에서 사용될 때, 이것은 특히

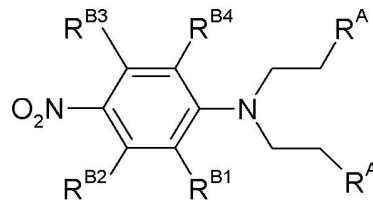
<312> (1)E09 (3-[5-아지리딘-4,7-디옥소-3-히드록시메틸-1-메틸-1H-인돌-2-일]-프로프-β-엔-α-올);

<313> (2) RSU-1069 (1-(1-아지리딘)-3-(2-니트로-1-이미다졸릴)-2-프로판올);

<314> (3)RB-6145(1-[3-(2-브로모에틸아미노)-2-히드록시프로필]-2-니트로이미다졸);

<315> (4) 미토마이신 C;

<316> (5) 하기 식을 가지며,



<317>

<318> 상기에서 R^A 각각은 독립적으로 클로로, 브로모, 요오도 또는 $-\text{OS}(O)_2R^C$ 를 나타내고,

<319> R^C 는 C_{1-8} 알킬(하나 이상의 플루오로 원자에 의해 선택적으로 치환됨) 또는 페닐(할로, 니트로, C_{1-4} 알킬 및 C_{1-4} 알콕시로부터 선택되는 하나 이상의 치환기에 의해 선택적으로 치환됨)을 나타내고,

<320> R^{B1} 내지 R^{B4} 는 독립적으로 H, CN, $C(O)N(R^D)R^E$, $C(S)N(R^D)R^E$, $C(O)OH$, $S(O)_2NHR^F$ 를 나타내고,

<321> 또는 R^{B1} 은 추가로 NO_2 를 나타낼 수 있고,

<322> R^D 와 R^E 는 독립적으로 H 또는 C_{1-4} 알킬을 나타내고(C_{1-4} 알킬기는 OH, $N(H)-C_{1-2}$ 알킬, $N(C_{1-2}$ 알킬) $_2$, 4-모르폴리닐 및 $C(O)OH$ 로부터 선택되는 하나 이상의 치환기에 의해 선택적으로 치환됨),

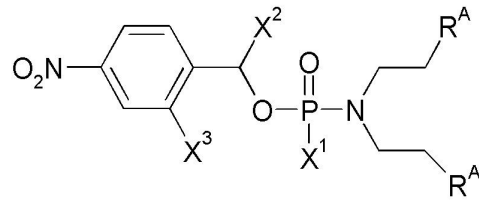
<323> 또는 R^D 와 R^E 는 이들이 결합된 N-원자와 함께 4-모르폴리닐을 나타내고, 및

<324> R^F 는 H 또는 $S(O)_2CH_3$ 을 나타내고,

<325> R^{B1} 이 H가 아닌 경우 R^{B2} 는 H인 화합물로,

<326> 예를 들면, Anlezark et al, 1992 및 1995에서 기술된 상기 식의 화합물 중 어느 하나로서, SN 23163, SN 23849, SN 23777, SN 23428, SN 23759, SN 24927, SN 24928, SN 24926, SN 25402, SN 25079, SN 24939, SN 24935, SN 25923, SN 25313, SN 23856, SN 25066, SN 23816, SN 25015, SN 24971, SN 25260, SN 25261, SN 25263, SN 25084, SN 25188, SN 25507 또는 특히 SN 23862(5-{N,N-비스[2-클로로에틸]아민}-2,4-디니트로벤즈아미드);

<327> (6) 하기 식을 가지며



<328>

<329> 상기에서

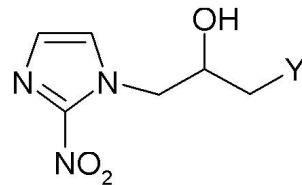
<330> RA는 상기에서 정의된 바와 같고(예를 들면, Cl) 및

<331> X1은 NH2를 나타내고, X2와 X3 모두 H를 나타내거나,

<332> -X1-X2-는 -NH-CH2CH2-를 나타내고, X3은 H를 나타내거나 또는

<333> -X1-X3-은 -NH-를 나타내고 X2는 H를 나타내는 것인 화합물;

<334> (7) 하기 식을 가지며,



<335>

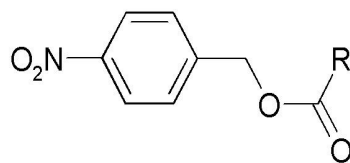
<336> 상기에서 Y는

<337> 1-아지리디닐(2번-위치에서 메틸로 선택적으로 치환됨),

<338> 메톡시 또는

<339> N(H)CH2CH2Br인 것인 화합물

<340> (8) 하기 식을 가지며,

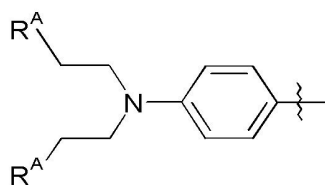


<341>

<342> 상기에서

<343> R은 -O-R' 또는 -NH-R'을 나타내고

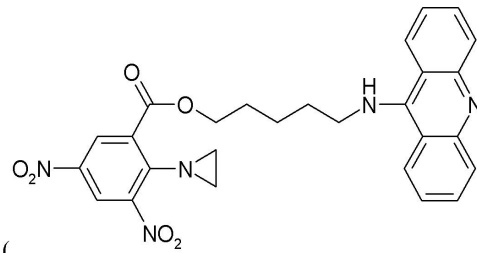
<344> R'은



<345> 를 나타내고

<346> 상기 물결선은 단편의 결합 위치를 나타내고 RA는 상기에서 정의된 바와 같은(예를 들면 Cl) 것인 화합물;

<347> (9) 아크리딘-CB 1954



<348> () ; 및

<349> (10) 트레타지카르(5-(아지리딘-1-일)-2,4-디니트로벤즈아미드), 및 그의 약학적으로 허용가능한 염 및/또는 그의 용매화물과 같은 화합물에 대한 언급을 포함한다.

<350> 실제로, 용어 "DNA 가교제의 환원으로 활성화되는 전구약물"은 E09, RSU-1069, RB-6145, 미토마이신 C 및 특히, 트레타지카르와 같은 화합물에 대한 언급을 특히 포함한다.

<351> 이제 본 발명은 하기 도면과 실시예를 참고로 하여 보다 상세히 기술될 것이다.

<352> 도 1은 트레타지카르(5-(아지리딘-1-일)-2,4-디니트로벤즈아미드)의 구조를 보여준다.

<353> 도 2는 트레타지카르의 생물학적 활성화를 보여준다.

<354> 도 3은 디히드록시아세톤(DHA; CAS No: 62147-49-3, Beil. 8, 266, Merck Index 13, 3166)의 구조를 보여준다. 보통 형태는 이합체이지만, 이것은 용액에서는 그 단량체로 빨리 되돌아간다.

<355> 도 4는 DHA에 의한 트레타지카르의 환원을 보여준다.

<356> 도 5는 E45 기체의(based) 크림(하기 실시예 2에서 기술된 바와 같음)에서 DHA에 의한 트레타지카르의 환원을 보여준다. 도 5의 A, B 및 C 각각에서, 두 개의 자취(trace) 중 위에 것은 325 nm에서 측정된 것인 반면에, 아래에 있는 것은 260 nm에서 측정된 것이다.

<357> 도 6은 도 5B에서 5.0 분의 머무름 시간(retention time)을 갖는 피크와, 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드의 합성 기준 물질로 얻어진 피크가 스펙트럼 상으로 일치함을 보여준다. 연속선은 기준 물질이고, 점선은 시료이다. 스펙트럼은 260 nm에서 흡광도를 위해 표준화되었다.

<358> 도 7은 140 mM NaCl과 하기

<359> A: 대조군(즉, 첨가 물질이 없음);

<360> B: 10 mM DHA;

<361> C: 10 μ M E09

<362> B+C: 10 mM DHA와 10 μ M E09의 배합

<363> D: 100 μ M E09; 및

<364> B+D: 10 mM DHA와 100 μ M E09의 배합을 포함하는 10 mM 포스페이트 버퍼에서 pH 7.5 및 37°C에서 2 시간에 걸쳐, 중국 햄스터 V79 세포(Chinese Hamster V79 cell)의 생존 퍼센트를 보여준다.

<365> 상기 V79 세포의 생존은 하기 방법을 사용하여 결정되었다:

<366> 140 mM NaCl을 포함하는 10 mM 포스페이트 버퍼(pH 7.5)에서 V79 세포 용량(1 mL, 2×10^5 세포/mL)을 37°C에서 배양하였고, 그런 다음 반응물질(상기에서 기술된 바와 같음, 약정된 농도에서)을 첨가하였다(대조군 실험은 제외함). 2 시간 배양 후에, 세포를 원심 분리에 의해 수확하였고, 계대로 희석하였고(4×10^{-6} -배), 얻은 세포들을 성장 배지(growth medium)에 플레이트하였고, 습윤한 5% CO₂ 대기 하에서 1 주일 동안 성장시킨 후에 세포들의 콜로니 형성 능력을 평가하였다.

<367> 도 7의 차트에서 입증되는 바와 같이, E09의 세포독성 효과는 E09의 활성화 형태의 형성을 촉진하는 DHA의 첨가에 의해 월등히 향상되었다.

<368> 하기 실시예와 관련하여, 트레타지카르는 Morvus Technology Limited와 Sigma Chemical Company로부터 연구 목적을 위해 상업적으로 입수 가능하다.

실시예

실시예 1: 트레타지카르의 화학적 활성화

트레타지카르로부터 활성이 있는 4-히드록실아미노 유도체를 생성하기 위한 보고된 화학적 방법은 30% 미만의 수득률로, 유기 용매 내에서의 강렬한(harsh) 환원 조건을 사용한다(Knox et al, 1993; Knox et al, 1988). 본 발명자는 디히드록시아세톤(DHA)이 수용액에서 약한 알칼리성 조건 하에서 트레타지카르를 필요로 하는 히드록실아민으로 환원시킬 수 있음을 밝혀내었다. pH 9에서, 수득률은 >85%이고, 검출된 트레타지카르 환원의 유일한 기타 생성물은 5-(아지리딘-1-일)-2-히드록실아미노-4-니트로벤즈아미드이다.

디히드록시아세톤(DHA; 1,3-디히드록시-2-프로판논; CAS No: 62147-49-3, Beil. 8, 266, Merck Index 13, 3166; 도 3)은 선레스(sunless) 또는 셀프-탠닝(self-tanning) 로션에서 활성 성분이고, FDA에 의한 승인을 받았다. DHA는 염색(staining)에 의해 피부를 검게 만드는 무색의 설탕이다. DHA는 색깔 변화를 생성하며 표피에서 발견되는 죽은 표면 세포(surface cell)와 상호작용한다. 상기 죽은 피부 세포들은 자연적으로 벗겨지므로, 상기 색깔은 점차적으로, 통상적으로는 사용하고 5일 내지 7일 이내에 사라진다. 선레스 탠닝 제품들은 5% 이하의 농도로 디히드록시아세톤을 포함한다. 그 농도가 높을수록, 잇따라 일어나는 탠닝은 더 검어질 것이다. 탠닝제로서, 이것은 4 내지 6의 pH 조건에서 안정하다. 너무 알칼리성이거나 또는 너무 산성인 것은 탠닝제로서의 용액의 효율을 감소시키면서, 갈색의 화합물을 형성하게 한다. 에리트룰로스(1,3,4-트리히드록시-2-부타논)는 DHA와 작용 면에서 유사하지만, 진하고 또는 빠른 탠닝을 생성하지 못한다. DHA는 글리세린의 발효를 통해 생성되고, 단순한 3탄당으로, 무-독성이고, 백색 분말의 형태로 나타난다. 보통 형태는 이합체(C₆H₁₂O₆)이지만, 이것은 용액에서 단량체로 빨리 되돌아간다. FDA는 DHA를 외부 용도로만 인정하였고, 사용자들은 눈, 코 및 점막과의 접촉을 피하기 위한 보호 수단을 취해야만 할 것을 추천하고 있다.

보고된 유일한 부작용은 알레르기성 접촉 피부염이다. 이것은 드물게 보고되고 있고, 탠닝 크림에서 민감도의 대부분의 원인은 제품에 있는 방부제와 같은 기타 성분에 기인한다. 위험화물수송규칙(Code of Federal Regulation) 376 페이지를 참고한다:

제목 21 -- 식품과 약물

I 장 -- 식품과 약물 투여, 미국 보건 복지부

73 파트 -- 검정(certification)으로부터 면제된 색소 첨가제(color additive)의 목록 -- 목차(table of contents)

서브파트 C -- 화장품

섹션 73.2150 디히드록시아세톤

DHA는 환원제로 결코 보고된 적이 없다. 환원당이 알려져 있지만, 이들은 알도스(aldose)이고 한 쪽 말단에 알데히드를 갖고 있다. 알데히드는 환원제로서 작용하고, Cu²⁺ 또는 Fe³⁺와 같은 약한 산화제 존재 하에서, 알데히드의 카르복시산으로의 산화가 일어난다. 케톤(ketol)로서 DHA와의 동일한 반응은 가능하지 않다. 그러나, 디히드록시아세톤은 철(III) 킬레이트 존재 하에서 히드록시 라디칼의 형성을 촉진하는 것으로 나타났다(Malisza & Hasinoff, 1995). 이러한 형태의 반응은 환원 능력, 및 갈색 화합물을 형성하게 하는 알칼리 불안정성과 관련될 수 있다.

알칼리 조건 하에서 및 초과량의 DHA를 사용할 때, 시간과 트레타지카르의 환원은 선형 속도 관계가 있다(도 4).

pH 9 또는 pH 10의 0.1M 소듐 바이카보네이트 버퍼에서의 트레타지카르(100 μM)의 혼합물에, 물에 넣은 100 mM DHA 100 μl를 첨가하여 최종 부피 1 ml를 만듦으로써, 분석을 시작하였다. 얻은 혼합물을 37°C에서 배양하였고, 분취액(10 μl)을 6분 마다 채취하였고, 0.13 M 소듐 포스페이트(pH 5)로 동일한 농도로 1.5 ml/분에서 용리되는 HPLC [Partisil 10 SCX (4.2 x 150 mm) (Whatman, Maidstone, Kent, U.K.)에 의해 즉시 분석하였다. 각각의 시료에 있는 트레타지카르의 농도는 325 nm에서의 흡광도에 의해 정량화된 외부 표준 물질과의 상응하는 피크를 참조로 하여 결정되었다. 초기의 속도(initial rate)는 곡선 맞춤(curve fitting)(FigP, Biosoft, Cambridge, U.K.)에 의해 계산되었다. 환원 생성물은 실제 표준 물질과의 머무름 시간에 의해 확인되었다.

트레타지카르 환원의 유일한 2개의 생성물은 2-히드록실아미노 유도체와 4-히드록실아미노 유도체로

관찰되었다. 트레타지카르 환원 속도와 히드록실아민 생성물의 비율은 pH에 의존하였다. pH 10에서의 환원(0.69 nmol/분)은 pH 9에서의 환원(0.92 nmol/분)보다 더 느렸다. 30분 후에, 4-히드록실아민 대 2-히드록실아민의 비율은 pH 10에서 2.7: 1이었고, pH 9에서 9.7:1이었다. 따라서, pH 9에서, 환원이 더 빨랐고, 대부분 바람직한 4-히드록실아민 생성물을 매우 높은 수득률로 제공한다(도 4).

<382> 상기 반응으로부터 DHA 또는 DHA-관련된 생성물은 상기 HPLC 방법으로 검출되지 않았다.

<383> **실시예 2: 국소 적용을 위해 제제화된 크림에서 트레타지카르의 활성화**

<384> A와 B로 표시되는 두 개의 크림을 만들었다. 사용하기 위해, 동일한 함량으로 섞는다. 크림 A는 1 그램 당 10 mg 트레타지카르, 10 mg NaHCO₃ 및 90 mg Na₂CO₃를 포함하는 E45 기제(백색 소프트 파라핀 BP 14.5% w/w, 비중이 적은 액체 파라핀(light liquid paraffin) Ph Eur 12.6% w/w, 저자극성인 무수 라놀린(Medilan) 1.0% w/w, Crookes Healthcare Ltd, Nottingham, UK)로 구성된다. 크림 B는 1 그램 당 100 mg DHA 이합체와 함께 E45를 포함한다. 두 개의 성분, A와 B를 혼합하여 옅은 노란색 크림을 생성하였다. 이것은 몇 시간 지나 갈색으로 변했고 약 24시간 동안 계속해서 어두운 색깔이 되었다. 물 1 ml에서 격렬하게 교반된 크림 200 μ g의 현탁액은 pH 지시용 시험지에 의해 나타나는 바와 같이 약 10의 pH를 갖는 용액을 생성하였다. 상기 함량의 버퍼 염 중 10%를 포함하는 크림으로 한 예비 실험은 동일한 최종 pH를 갖는 용액을 제공하였다. 그러나, 4시간 후에, 상기와 같이 제조된 용액은 중성이 되었고, 크림은 더 이상 어두운 색깔로 되지 않았다. 이것은 최초의 버퍼 농도를 변화시킴으로써, 반응의 지속 시간과 반응 정도 모두가 조절될 수 있음을 제안할 것이다.

<385> 혼합한 후에, 다양한 시간에서 크림 200 μ g을 DMSO 1 ml에 추출하였다. 그런 다음, 얻은 추출액을 50 mM 암모늄 바이카보네이트 버퍼(pH 10)로 1/100 희석하였고, 역상 HPLC로 분석하였다. 시작 시간에, 325 nm에서 추출액의 분석은 한 개의 주된(major) 피크만을 보여주었고 이것은 동일한 머무름 시간, 및 진짜 표준 물질에 대한 UV 흡광도 스펙트럼과의 스펙트럼 일치에 의해 보여지는 바와 같이 트레타지카르와 일치한다. 4시간 후에, 추출액의 분석은 260 nm와 325 nm 모두에서 다수의 많은 피크들을 보여주었다(도 5).

<386> 크림 A(1 그램 당 10 mg 트레타지카르, 10 mg NaHCO₃ & 90mg Na₂CO₃를 포함하는 E45 기제(백색 소프트 파라핀 BP 14.5% w/w, 비중이 적은 액체 파라핀 Ph Eur 12.6% w/w, 저자극성인 무수 라놀린 (Medilan) 1.0% w/w, Crookes Healthcare Ltd, Nottingham, UK)로 구성됨)와, 크림 B(1 그램 당 100 mg DHA 이합체와 E45를 포함)를 혼합하였고, 다양한 시간에서 200 μ g이 격렬한 교반과 함께 DMSO 1 mL로 추출되었다. 얻은 추출액은 원심분리에 의해 투명하게 되었고, 그런 다음 50 mM 암모늄 바이카보네이트 버퍼(pH 10)를 가지고 1/100으로 희석하였고 HPLC로 분석하였다. 시료(10 μ l)를 Waters Symmetry Shield RP18 컬럼 (150 x 3.9 mm)에 주입하였고, 10 mM 암모늄 포르메이트에서의 아세트오니트릴(pH 4.5)로 선형 농도 구배(30분에 걸쳐 1-40%)로 용리시켰다. 얻은 용리액을 TSP UV3000 스캐닝 검출기(scanning detector)를 사용하여 230 내지 400 nm에서 UV 흡광도로 계속해서 모니터링하였다. A.) 크림을 혼합한 후 즉시 제조된 추출액. B.) 혼합하고 4시간 후 크림으로부터의 추출액. C.) 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드의 합성 표준 물질. 푸른색 선(각각의 자취의 쌍에서 아래 쪽에 있는 선)은 260 nm에서 얻은 자취이고, 붉은색 선(각각의 자취의 쌍에서 위 쪽에 있는 선)은 325 nm에서 얻은 자취이다. ~13 분에 있는 피크는 CB 1954이고, ~19 분에서 260 nm에 있는 큰 피크는 E45로부터 나온 것이다. 추출 방법의 효율을 측정하는 것은 가능하지 않다.

<387> 트레타지카르는 여전히 검출되었고, ~ 5.0 분의 머무름 시간을 갖는 피크는 동일한 머무름 시간, 및 진짜 표준 물질과의 UV 흡광도 스펙트럼의 스펙트럼상 일치에 의해 나타난 바와 같이, 트레타지카르의 4-히드록실아민으로 확인되었다(도 6). 나머지 피크는 공지된 트레타지카르 환원 생성물과 일치하지 않았고, 이것은 DHA의 산화, 또는 환원된 트레타지카르 생성물과 크림 또는 DHA의 반응으로부터 생성될 수 있다.

<388> 트레타지카르의 활성화 형태(5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드)는 E45 기제 크림에서 형성된다.

<389> **실시예 3: 트레타지카르 크림의 국소 적용**

<390> 상기에서 제제화된 크림이 혼합되었고, 약 0.1g을 건강한 사람 지원자의 손가락에 있는 사마귀(자라고 있으며, 1.5 mm 높이의 반구형)에 적용하였고, 고약(plaster)으로 덮었다. 적용된 크림으로부터 최초로 온기(warmth)가 보고되었다. 약 4시간 후에, 고약을 제거하였고, 사마귀는 벗겨진 상태로 발견되었고, ~ 1 mm 깊이의 움푹 들어간 곳으로 되었다. 인접한 주변 조직은 노란색의 발색을 가졌다. 이것은 수 일에 걸쳐 점차적으로 백색으로 변하였고, 6주 후에 상기 사마귀의 어떠한 재-성장도 보고되지 않았다. 어떤 부작용도 보여지지 않았고 또는 보고

되지 않았다.

<391> 크림 A(1 그램 당 10 mg 트레타지카르, 10 mg NaHCO_3 & 90 mg Na_2CO_3 을 포함하는 E45 기제(백색 소프트 파라핀 bp 14.5% w/w, 비중이 적은 액체 파라핀 Ph Eur 12.6% w/w, 저자극성인 무수 라놀린 (Medilan) 1.0% w/w, Crookes Healthcare Ltd, Nottingham, UK))로 구성됨)와, 크림 B(1 그램 당 100 mg DHA 이합체와 함께 E45를 포함)를 혼합하였고, 건강한 사람 지원자의 손가락에 있는 사마귀(자라고 있으며, 1.5 mm 높이의 반구형)에 적용(100 μg)하였고, 고약으로 덮었다. 약 4시간 후에, 고약을 제거하였고, 사마귀는 벗겨진 상태로 발견되었고, ~ 1 mm 깊이의 움푹 들어간 곳으로 되었다. 인접한 주변 조직은 노란색의 발색을 가졌다. 이것은 수 일에 걸쳐 점차적으로 백색으로 변하였고, 6주 후에 상기 사마귀의 어떠한 재-성장도 보고되지 않았다. 어떤 부작용도 보이지 않았고 또는 보고되지 않았다. 1 주일 후에 사진을 찍었다.

<392> 국소 적용에서 트레타지카르의 활성화는 정상인 주변 조직에 대한 최소한의 작용과 함께, 사마귀에서 현저한 효과를 갖는다.

<393> 실시예 4: 방광암의 치료

<394> 표재성 방광암(superficial bladder cancer)을 갖는 사람들에게 방광을 약물로 채워 암 세포를 죽이도록 함으로써, 방광 화학요법 점적 주입(instillation) 또는 방광내 화학 요법을 제공하였다. 비록 표재성 방광암이 암의 초기 형태이긴 하지만, 최초 제거 이후에 많은 것들이 재발할 것이다. 그러나, 방광벽과 접촉하도록 약물을 직접적으로 넣는 치료를 사용함으로써, 재발을 방지하거나 또는 재발할 때까지의 시간을 연장하는 것이 가능할 것이다. 방광내 화학 요법은 간단한 절차이다. 카테터는 요도를 통해 방광 안으로 넣어진다. 바이카보네이트 버퍼(pH 9)에 있는 트레타지카르는 2분 내지 3분에 걸쳐 서서히 주입되고, 뒤이어 유사한 시간에 걸쳐 물에 넣은 DHA의 주입이 일어난다. 카테터가 제거되고, 2 시간 후에 약물은 배뇨에 의해 제거된다.

<395> 실시예 5: 거의 중성 pH에서 전구약물의 DHA 환원

<396> 분석 : HPLC

<397> 분석 혼합물은 (요구되는 pH의) 소듐 포스페이트 버퍼 1 ml의 최종 반응 용량에서 테스트 화합물(100 μM)과 DHA(10 mM)을 포함하였다. DHA를 첨가함으로써 반응이 개시되었고, 얻은 혼합물은 37°C에서 배양된다. 20분마다 분취액(10 μl)을 취하였고, 물에 넣은 아세토니트릴의 농도 구배(10분에 걸쳐 1-95%)로 1 분당 2.0 ml로 용리되며 Partisphere 5 C18 (4.2 x 150mm) 컬럼 (Whatman, Maidstone, Kent, U.K.)에서의 HPLC로 즉시 분석하였다. 얻은 용리액은 광 다이오드 어레이(photodiode array) UV-VIS 검출기를 사용하여 흡광도를 연속적으로 모니터링하였다. 각각의 시료에 있는 약물의 농도는 외부 표준 물질과의 상응하는 피크 면적을 참조하여 결정되었고, PDA 스캔으로부터 결정된 적절한 파장에서 흡광도에 의해 정량하였다. 곡선 맞춤에 의해 초기의 속도를 계산하였다(FigP software).

화합물	구조	초기 속도 (nmoles/min/mL)	
		0.1 M PO ₄ , pH7.5	0.1 M PO ₄ , pH8
트레타지카르		<0.01	0.158
메트로니다졸		0.131	0.369
미소니다졸		0.221	1.922
니트로푸라존		0.177	0.203
RSU-1069 /RB-1645		<0.01	2.57
티라파자민		0.523	0.512
미토마이신 C		1.524 (PBS)	0.052 ^a

<398>

E09		0.272	0.605
-----	--	-------	-------

<399>

<400>

주석

<401>

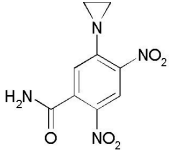
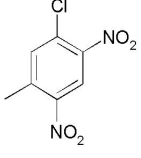
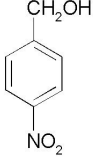
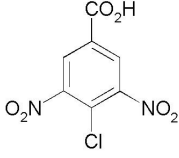
^a 1 mM DHA가 사용됨(10 mM DHA 대신에)

<402>

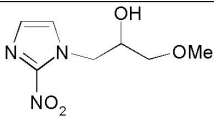
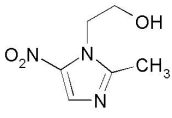
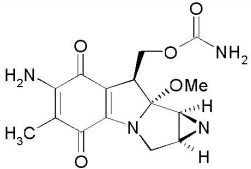
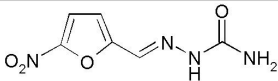
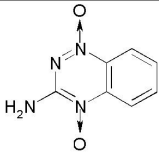
실시예 6: 다양한 pH 값에서 니트로 화합물과 전구약물의 DHA 환원

<403>

실시예 5를 위해 상기에서 기술된 바와 같이 시료를 분석하였다.

명칭	구조	pH	초기 속도 (nmoles/min/mL)
트레타지카르		8	0.158
		9	0.933
		10	1.248
		10.6	5.801
5-클로로-2,4-디니트로톨루엔		8	0.132
		9	0.499
		10	0.690
		10.6	1.703
4-니트로벤질알코올		8	<0.01
		9	<0.01
		10	0.105
		10.6	0.087
4-클로로-3,5-디니트로벤조산		8	0.195
		9	1.293
		10	1.727
		10.6	2.442

<404>

미소니다졸		8	1.922
		9	1.851
		10	3.180
		10.6	-
메트로니다졸		8	0.369
		9	0.890
		10	1.239
		10.6	0.807
미토마이신 C		7	1.019
		8	0.052 ^a
		8.5	0.103 ^a
		9	너무 빨라서 측정할 수 없음
니트로푸라존		7.5	0.177
		8	0.203
		8.5	0.260
		9	2.390
		10	3.789
티라파자민		7.5	0.523
		8	0.512
		8.5	0.639
		9	3.503
		10	4.209

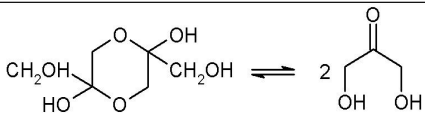
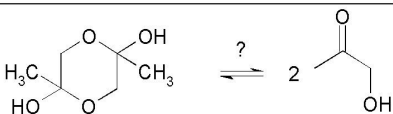
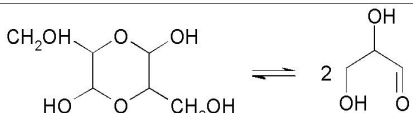
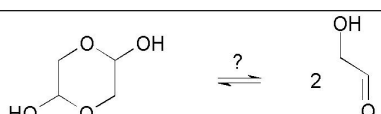
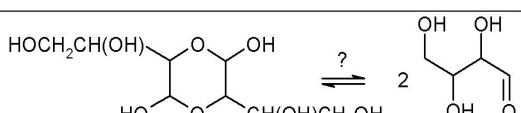
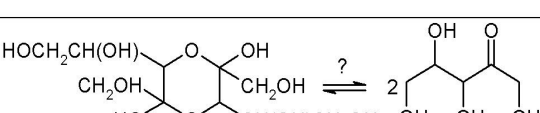
<405>

<406> 주석

<407> ^a 1 mM DHA가 사용됨(10 mM DHA 대신에)

<408> 실시예 7: α-히드록시카르보닐 화합물에 의한 NADP⁺의 환원

<409> 테스트 화합물(물에서 100 mM의 농도)의 10 μl 분취액을 pH 10까지 완충된(1 mM NaHCO₃ 버퍼) 200 μM NADP⁺ 수 용액에 첨가하였다(대략 990 μl). 분석 용액에서 테스트 화합물의 최종 농도는 1 mM 이었다. 그런 다음, NADP⁺의 환원은 2분 기간에 걸쳐 분광 광도계에서 350 nm에서의 흡광도의 증가를 측정함으로써 모니터되었다. 1분당 A350에서 변화로서 초기 속도를 기록하였다.

화합물	구조	속도
디히드록시아세톤 (이합체) ¹		0.063
히드록시아세톤 (아세톨) ²		0.003
D,L-글리세르알데히드 ³		0.015
글리콜알데히드 이합체 ⁴		0.029
D(-)-에리트로스 ⁵		0.004
L-크실룰로스		0.003

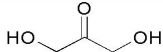
주석

- 용액에서 단량체를 형성할 것으로 추측됨.
 - 공업용 등급(>90%)이 사용됨. 350 nm에서 흡광도의 증가 전에 약 60초의 지체(lag)가 관찰됨.
 - 농도가 단량체에 대해 계산됨.
 - 입체이성질체의 혼합. 상기 반응 혼합물에 1 mM EDTA를 첨가한 후에 속도에서의 어떤 영향도 관찰되지 않음.
 - 유일하게 ~50% 순도. 350 nm에서 흡광도의 증가 전에 약 90 초의 지체(lag)가 관찰됨.
- 이론에 구속됨이 없이, 상기 분석에서 환원시키는 활성을 보여준 화합물은 식 1a에서 도시된 형태의 시클릭 이합체를 형성할 수 있는 α-히드록시카르보닐 화합물이라고 생각된다.
- 대조적으로, 상기 분석에서 속도가 0.001 미만이라고 결정된 화합물(즉, 환원시키는 활성이 검출되지 않은 화합물)은
- 글리세롤;
- 글리옥살;
- D- 글루코스;
- 디글리콜릭 무수물;
- (±)-테트라히드로피루릴 알코올;
- 1,4-디옥산-2,3-디올; 및
- 2-(히드록시메틸)테트라히드로피란을 포함한다.

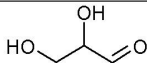
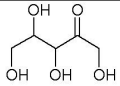
실시예 8: α-히드록시카르보닐 화합물에 의한 트레타지카르의 환원

pH 9 또는 pH 10의 0.1 M 소듐 바이카보네이트 버퍼에 넣은 트레타지카르(100 μM)의 혼합물에, 물에 넣은 100

mM 테스트 화합물(식 I의 화합물) 100 μ l를 첨가하여, 1 ml의 최종 부피를 제공함으로써, 분석을 시작하였다. 얻은 혼합물을 37°C에서 배양하였고, 매 6분마다 분취액(10 μ l)을 취하였고, 1.5 mL/분에서 0.13 M 소듐 포스페이트(pH 5)로 동일 농도로 용리되는 HPLC [Partial 10 SCX (4.2 x 150 mm) (Whatman, Maidstone, Kent, U.K.)에 의해 즉시 분석하였다. 각각의 시료에서 트레타지카르의 농도는 외부 표준 물질과의 상응하는 피크 면적에 의해 결정되었고, 325 nm에서 흡광도에 의해 정량하였다. 곡선 맞춤(FigP, Biosoft, Cambridge, U.K.)에 의하여, 초기 속도를 계산하였다. 환원 생성물을 실제 표준 물질과의 머무름 시간으로 확인하였다.

화합물	구조	pH	초기 속도 (nmoles/min/mL)
디히드록시아세톤 (이합체 형태로 사용됨)		9	0.92
		10	0.69

<428>

D,L-글리세르알데히드 ³		9	0.53
		10	0.62
글리콜알데히드 (이합체 형태로 사용됨) ⁴		9	0.18
		10	0.14
D(-)-에리트로스 ⁵		9	< 0.01
		10	0.28
L- 크실룰로스		9	< 0.01
		10	0.28
3-히드록시-2-부타논		9	0.034
		10	0.184

<429>

<430> 대조적으로, 상기 분석에서 속도가 0.001 미만으로 결정된 화합물(즉, 환원시키는 활성이 검출되지 않은 화합물)은

<431> 글리세롤;

<432> 글리옥살;

<433> D-글루코스;

<434> 디글리콜릭 무수물;

<435> (±)-테트라히드로퍼퓨릴 알코올;

<436> 2-(히드록시메틸)테트라히드로피란;

<437> 4-히드록시-2-부타논;

<438> 디클로로아세톤;

<439> 1,4-디옥산-2,3-디올; 및

<440> 디클로로아세틸 클로라이드를 포함한다.

<441> 실시예 9: 트레타지카르를 상응하는 히드록실아민으로 대량(large-scale) 환원

<442> 메탄올('AnalaR'-grade, 40 mL)에 넣은 5-(아지리딘-1-일)-2,4-디니트로벤즈아미드("CB 1954", 1.00 g, 3.97 mmol) 용액을 초과량의 분말로 된 무수 K₂CO₃ (10.0 g, 72 mmol; 대략 18 당량)으로 처리하였고, 얻은 혼합물을 교반시키면서 60°C까지 가열하였다. 얻은 현탁액을 N₂ 블랭킷 흐름(blanket stream) 분위기 하에서 60°C에서 교반시켰다. 그런 다음, N₂ 가스 플러싱(flushing)에 의해 미리 공기를 제거한, 메탄올('AnalaR'-grade, 40 mL)에 넣은 1,3-디히드록시아세톤(DHA 이합체로서 1.50 g, 8.33 mmol; 2.1 mol 당량) 용액을 온도를 60°C로 유지하면

서, 급속 교반시키면서, 상기 반응 혼합물에 15분 동안 첨가하였다. 열은 노란-오렌지색에서 갈색으로의 색깔 변화와 함께, 고속 반응이 관찰되었다. 옅은-막 크로마토그래피(TLC; 알루미늄 시트에서 Merck 실리카 겔 60 GF254, 9:1 v/v CH₂Cl₂ : MeOH)는 CB 1954 출발 물질(Rf 0.73)의 정량적인 제거와, Rf 0.53 및 Rf 0.47에서 두 개의 극성인 생성물의 형성을 보여주었다. 상기 두 개의 생성물은 공개된 방법[Knox, RJ., Friedlos, F., Jarman, M., Roberts, JJ. Biochemical Pharmacology 37, 4661- 4669 (1988); Knox, RJ., Friedlos, F., Biggs, PJ., Flitter, W.D. Gaskell, M., Goddard, P., Davies, L., Jarman, M. Biochemical Pharmacology 46, 797-803 (1993)]에 의해 각각 제조된 실제 5-(아지리딘-1-일)-2-히드록실아미노-4-니트로벤즈아미드와 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드 시료와 동일한 TLC 행동을 보여주었다.

<443>

반응 혼합물을 뜨거운 동안에 여과하였고, 얻은 불용성 물질을 냉각시킨 메탄올(10 mL)로 수세하였다. 합한 여과액을 냉각시켰고, 회전식으로 용매증발시켜(30℃, 높은-진공), 점액성인 노란-갈색의 오일(1.02 g, >100%)을 얻었다. TLC 실험은 두 개의 주요 생성물이 존재하고 있음을 확인시켜 주었다. 다루는 동안 및 워크-업(work-up)하는 동안 알칼리성 조건 하에서 O₂ 산화로부터 생성되는 2-니트로소 산화 생성물 및 4-니트로소 산화 생성물에 해당하는 작은 스팟(전체적으로<1- 2% , Rf 0.62, 0.66)들이 또한 나타났다(주의: 히드록실아민의 니트로소 생성물로의 산화를 방지하고 원하지 않는 유색의 부산물을 방지하기 위하여, N₂ 가스로 모든 장치를 플러싱함으로써, 공기에 대한 노출은 최소화시켜야 한다.). 2-히드록실아민(Rf 0.53)과 4-히드록실아민(Rf 0.47) 반응 생성물은 ~40:60 비율로 형성된 것으로 판단되었다. 이용가능한 용매 시스템을 사용함으로써, 이성질체를 크로마토그래피로 분리하는 것은 이들의 가까운 용리 특성에 의해 제한되었다. 그러나, 정제되지 않은 상태의 혼합물 시료(100 mg)의 플래쉬 크로마토그래피(flash chromatography)(Merck 실리카 겔, 60-200 메쉬, 9:1 v/v CH₂Cl₂-MeOH) 분리는 분획으로부터 용매 제거 후에 5-(아지리딘-1-일)-2-히드록실아미노-4-니트로벤즈아미드(31 mg)와 5-(아지리딘-1-일)-4-히드록실아미노-2-니트로벤즈아미드(49 mg)를 제공하였다. 두 개의 생성물은 이성질체형 히드록실아민을 위해 기록된 특징 일치하는 NMR 스펙트럼 및 실제 화합물과 구별할 수 없는 TLC 동향을 제공하였다[Knox, RJ., Friedlos, F., Jarman, M., Roberts, JJ. Biochemical Pharmacology 37, 4661-4669 (1988)].

<444>

주석:

<445>

(1)바람직한 반응 용매는 메탄올이다. 1,3-디히드록시아세톤(DHA) 이합체는 아세톤과 고급 알코올(higher alcohol)을 포함하는, 다수의 통상의 용매에서 제한된 용해도를 갖는다.

<446>

(2)반응은 60℃에서 거의 순간적으로 일어나지만, 더 낮은 온도에서는 더 느리게 일어난다. 온도가 더 높은 반응 시스템의 사용은 관련된 생성물 수득물에 부정적인 영향을 미칠 수 있다.

<447>

생성물인 히드록실아민은 알칼리 존재 하에서는 공기 산화에 의해 더 큰 민감도를 보여준다, 따라서 가능한 빨리 반응 혼합물로부터 K₂CO₃ 반응 시약을 제거하는 것이 추천된다. 2-히드록실아민과 4-히드록실아민을 포함하는 혼합물의 크로마토그래피에 의한 분리는 취급하는 동안 용해된 물질의 O₂ (공기)에 대한 노출을 최소화할 것이 요구된다.

<448>

참조문헌

References

- Anlezark, G.M., Melton, R.G., Sherwood, R.F., Coles, B., Friedlos, F. & Knox, R.J. (1992). The bioactivation of 5-(aziridin-1-yl)-2,4-dinitrobenzamide (CB1954) - I. Purification and properties of a nitroreductase enzyme from *Escherichia coli*- a potential enzyme for antibody-directed enzyme prodrug therapy (ADEPT). *Biochem Pharmacol*, **44**, 2289-95.
- Anlezark, G.M., Melton, R.G., Sherwood, R.F., Wilson, W.R., Denny, W.A., Palmer, B.D., Knox, R.J., Friedlos, F. & Williams, A. (1995). Bioactivation of dinitrobenzamide mustards by an *E. coli* B nitroreductase. *Biochem Pharmacol*, **50**, 609-18.
- Bailey, S.M., Knox, R.J., Hobbs, S.M., Jenkins, T.C., Mauger, A.B., Melton, R.G., Burke, P.J., Connors, T.A. & Hart, I.R. (1996). Investigation of alternative prodrugs for use with *E. coli* nitroreductase in 'suicide gene' approaches to cancer therapy. *Gene Ther*, **3**, 1143-50.
- Boland, M.P., Knox, R.J. & Roberts, J.J. (1991). The differences in kinetics of rat and human DT diaphorase result in a differential sensitivity of derived cell lines to CB 1954 (5-(aziridin-1-yl)-2,4-dinitrobenzamide). *Biochem Pharmacol*, **41**, 867-75.
- Bridgewater, J.A., Knox, R.J., Pitts, J.D., Collins, M.K. & Springer, C.J. (1997). The bystander effect of the nitroreductase/CB1954 enzyme/prodrug system is due to a cell-permeable metabolite. *Hum Gene Ther*, **8**, 709-17.
- Bridgewater, J.A., Springer, C.J., Knox, R.J., Minton, N.P., Michael, N.P. & Collins, M.K. (1995). Expression of the bacterial nitroreductase enzyme in mammalian cells renders them selectively sensitive to killing by the prodrug CB1954. *Eur J Cancer*, **31a**, 2362-70.
- Burke, P.J. & Knox, R.J. (1998). Therapeutic systems PCT/GB98/01731); WO 98/57662.
- Chung-Faye, G., Palmer, D., Anderson, D., Clark, J., Downes, M., Baddeley, J., Hussain, S., Murray, P.I., Searle, P., Seymour, L., Harris, P.A., Ferry, D. & Kerr, D.J. (2001). Virus-directed, enzyme prodrug therapy with nitroimidazole reductase: a phase I and pharmacokinetic study of its prodrug, CB1954. *Clin Cancer Res*, **7**, 2662-8.
- Cobb, L.M. (1970). Toxicity of the selective antitumor agent 5-aziridino-2,4-dinitrobenzamide in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol*, **17**, 231-238.

<449>

- Connors, T.A. & Melzack, D.H. (1971). Studies on the mechanism of action of 5-aziridinyl-2,4-dinitrobenzamide (CB 1954), a selective inhibitor of the Walker tumour. *Int J Cancer*, **7**, 86-92.
- Cui, W., Allen, N.D., Skynner, M., Gusterson, B. & Clark, A.J. (2001). Inducible ablation of astrocytes shows that these cells are required for neuronal survival in the adult brain. *Glia*, **34**, 272-82.
- Cui, W., Gusterson, B. & Clark, A.J. (1999). Nitroreductase-mediated cell ablation is very rapid and mediated by a p53-independent apoptotic pathway. *Gene Ther*, **6**, 764-70.
- Felmer, R., Cui, W. & Clark, A.J. (2002). Inducible ablation of adipocytes in adult transgenic mice expressing the e. Coli nitroreductase gene. *J Endocrinol*, **175**, 487-98.
- Friedlos, F., Court, S., Ford, M., Denny, W.A. & Springer, C. (1998). Gene-directed enzyme prodrug therapy - quantitative bystander cytotoxicity and DNA damage induced by CB 1954 in cells expressing bacterial nitroreductase. *Gene Therapy*, **5**, 105-112.
- Friedlos, F., Quinn, J., Knox, R.J. & Roberts, J.J. (1992). The properties of total adducts and interstrand crosslinks in the DNA of cells treated with CB 1954. Exceptional frequency and stability of the crosslink. *Biochem Pharmacol*, **43**, 1249-54.
- Hu, L., Yu, C., Jiang, Y., Han, J., Li, Z., Browne, P., Race, P.R., Knox, R.J., Searle, P.F. & Hyde, E.I. (2003). Nitroaryl phosphoramides as novel prodrugs for E. coli nitroreductase activation in enzyme prodrug therapy. *J Med Chem*, **46**, 4818-21.
- Isles, A.R., Ma, D., Milsom, C., Skynner, M.J., Cui, W., Clark, J., Keverne, E.B. & Allen, N.D. (2001). Conditional ablation of neurones in transgenic mice. *J Neurobiol*, **47**, 183-93.
- Knox, R.J., Burke, P.J., Chen, S. & Kerr, D.J. (2003). CB 1954: from the Walker tumor to NQO2 and VDEPT. *Curr Pharm Des*, **9**, 2091-104.
- Knox, R.J., Friedlos, F., Biggs, P.J., Flitter, W.D., Gaskell, M., Goddard, P., Davies, L. & Jarman, M. (1993). Identification, synthesis and properties of 5-(aziridin-1-yl)-2-nitro-4-nitrosobenzamide, a novel DNA crosslinking agent derived from CB1954. *Biochem Pharmacol*, **46**, 797-803.
- Knox, R.J., Friedlos, F., Jarman, M. & Roberts, J.J. (1988). A new cytotoxic, DNA interstrand crosslinking agent, 5-(aziridin-1-yl)-4-hydroxylamino-2-nitrobenzamide, is formed from 5-(aziridin-1-yl)-2,4-dinitrobenzamide (CB 1954) by a nitroreductase enzyme in Walker carcinoma cells. *Biochem Pharmacol*, **37**, 4661-9.

- Knox, R.J., Friedlos, F., Lydall, D.A. & Roberts, J.J. (1986). Mechanism of cytotoxicity of anticancer platinum drugs: evidence that cis-diamminedichloroplatinum(II) and cis-diammine-(1,1-cyclobutanedicarboxylato)platinum(II) differ only in the kinetics of their interaction with DNA. *Cancer Res*, **46**, 1972-9.
- Knox, R.J., Friedlos, F., Marchbank, T. & Roberts, J.J. (1991a). Bioactivation of CB 1954: reaction of the active 4-hydroxylamino derivative with thioesters to form the ultimate DNA-DNA interstrand crosslinking species. *Biochem Pharmacol*, **42**, 1691-7.
- Knox, R.J., Friedlos, F., Sherwood, R.F., Melton, R.G. & Anlezark, G.M. (1992). The bioactivation of 5-(aziridin-1-yl)-2,4-dinitrobenzamide (CB1954) - II. A comparison of an *Escherichia coli* nitroreductase and Walker DT diaphorase. *Biochem Pharmacol*, **44**, 2297-301.
- Knox, R.J., Jenkins, T.C., Hobbs, S.M., Chen, S., Melton, R.G. & Burke, P.J. (2000). Bioactivation of 5-(aziridin-1-yl)-2,4-dinitrobenzamide (CB 1954) by human NAD(P)H quinone oxidoreductase 2: a novel co-substrate-mediated antitumor prodrug therapy. *Cancer Res*, **60**, 4179-86.
- Knox, R.J., Lydall, D.A., Friedlos, F., Basham, C., Rawlings, C.J. & Roberts, J.J. (1991b). The Walker 256 carcinoma: a cell type inherently sensitive only to those difunctional agents that can form DNA interstrand crosslinks. *Mutat Res*, **255**, 227-40.
- Knox, R.J., Lydall, D.A., Friedlos, F., Basham, C. & Roberts, J.J. (1987). The effect of monofunctional or difunctional platinum adducts and of various other associated DNA damage on the expression of transfected DNA in mammalian cell lines sensitive or resistant to difunctional agents. *Biochim Biophys Acta*, **908**, 214-23.
- Li, Z., Han, J., Jiang, Y., Browne, P., Knox, R.J. & Hu, L. (2003). Nitrobenzocyclophosphamides as potential prodrugs for bioreductive activation: synthesis, stability, enzymatic reduction, and antiproliferative activity in cell culture. *Bioorg Med Chem*, **11**, 4171-8.
- Ma, D., Allen, N.D., Van Bergen, Y.C., Jones, C.M., Baum, M.J., Keverne, E.B. & Brennan, P.A. (2002). Selective ablation of olfactory receptor neurons without functional impairment of vomeronasal receptor neurons in OMP-ntr transgenic mice. *Eur J Neurosci*, **16**, 2317-23.
- Malisza, K.L. & Hasinoff, B.B. (1995). Doxorubicin reduces the iron(III) complexes of the hydrolysis products of the antioxidant cardioprotective agent dexrazoxane (ICRF-187) and produces hydroxyl radicals. *Arch Biochem Biophys*, **316**, 680-8.

Mauger, A.B., Burke, P.J., Somani, H.H., Friedlos, F. & Knox, R.J. (1994). Self-immolative prodrugs: candidates for antibody-directed enzyme prodrug therapy in conjunction with a nitroreductase enzyme. *J Med Chem*, **37**, 3452-8.

Sheard, C.E., Double, J.A. & Berenbaum, M.C. (1971). The sensitivity to chemotherapeutic agents of a rat tumour grown in immunosuppressed mice. *Br J Cancer*, **25**, 838-844.

Workman, P., Morgan, J.E., Talbot, K., Wright, K.A., Donaldson, J. & Twentyman, P.R. (1986a). CB 1954 revisited. II. Toxicity and antitumour activity. *Cancer Chemother Pharmacol*, **16**, 9-14.

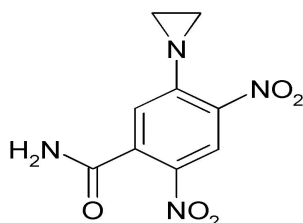
Workman, P., White, R.A. & Talbot, K. (1986b). CB 1954 revisited. I. Disposition kinetics and metabolism. *Cancer Chemother Pharmacol*, **16**, 1-8.

Wu, K., Knox, R., Sun, X.Z., Joseph, P., Jaiswal, A.K., Zhang, D., Deng, P.S. & Chen, S. (1997). Catalytic properties of NAD(P)H:quinone oxidoreductase-2 (NQO2), a dihydronicotinamide riboside dependent oxidoreductase. *Arch Biochem Biophys*, **347**, 221-8.

본 명세서에서 언급된 모든 참조문헌은 참조로서 본 명세서에서 통합되어 있다.

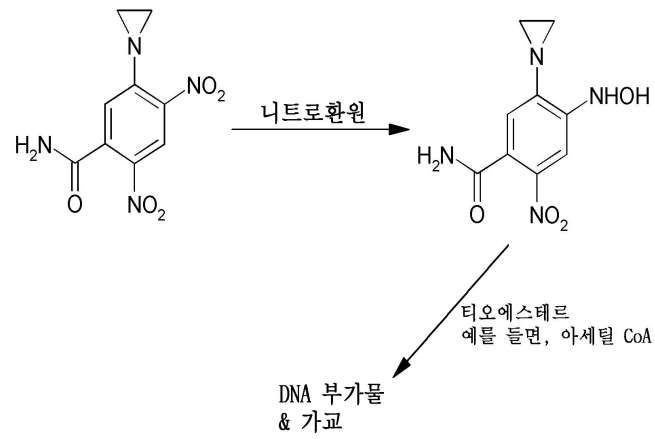
도면

도면1

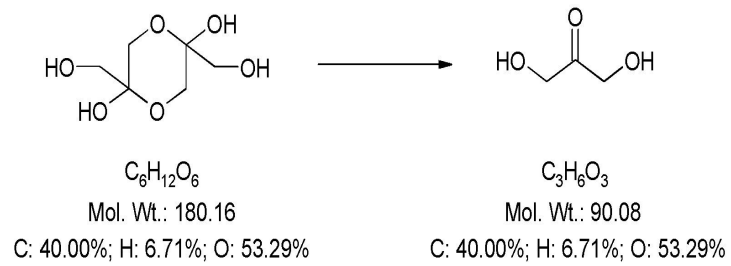


$C_9H_8N_4O_5$
252.18
C 42.9%; H 3.2%; N 22.2%; O 31.7%

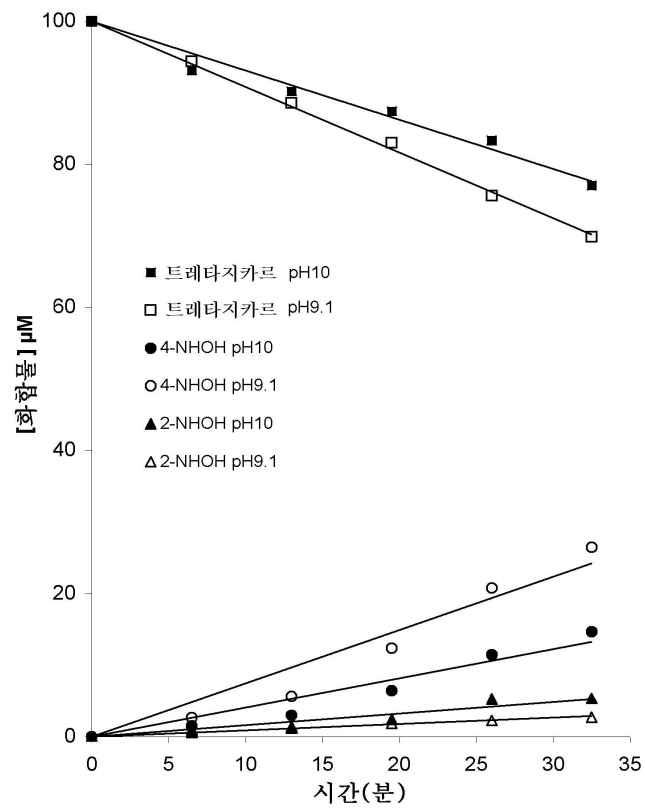
도면2



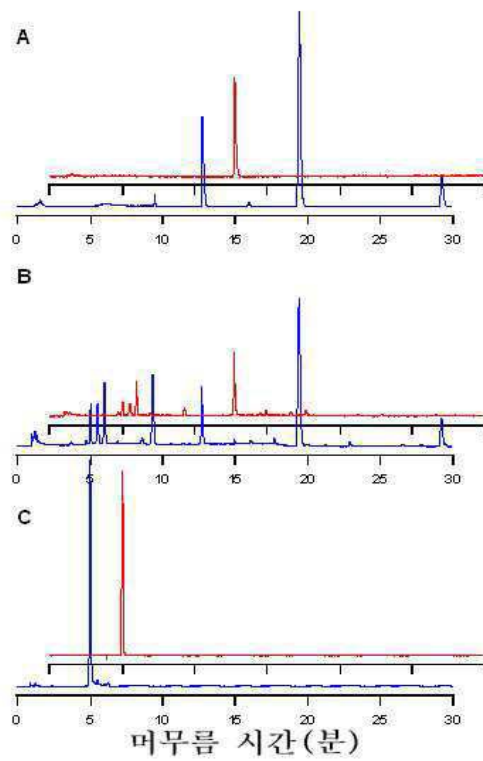
도면3



도면4



도면5



도면6



도면7

