



(12) Ausschließungspatent

(11) DD 294 947 A5

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1
Patentgesetz der DDR
vom 27.10.1983
in Übereinstimmung mit den entsprechenden
Festlegungen im Einigungsvertrag

5(51) C 07 H 17/04
A 61 K 31/70
C 07 D 493/04

DEUTSCHES PATENTAMT

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21)	DD C 07 H / 341 368 0	(22)	06.06.90	(44)	17.10.91
(31)	362,555	(32)	07.06.89	(33)	US

(71)	siehe (73)
(72)	Ohnuma, Takeshi; Obata, Rika; Kamei, Hideo; Naito, Takayuki, JP
(73)	Bristol-Myers Squibb Company, New York, US
(74)	Reitstötter, Kinzebach und Partner, Patentanwälte, PF 860649, W - 8000 München 86, DE

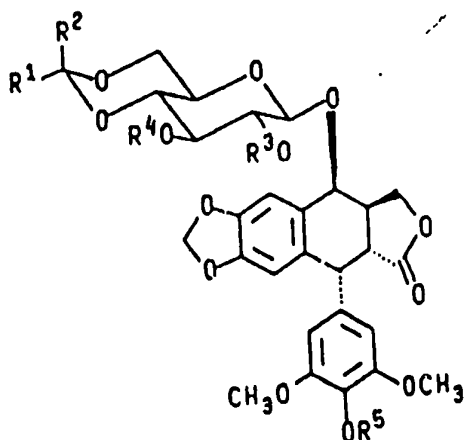
(54) Verfahren zur Herstellung von acylierten Epipodophyllotoxin-Derivaten

(55) Verfahren; Herstellung; Acylderivate; Etoposid; Teniposid; Phenolschutzgruppe; pharmazeutisches Mittel; Antitumormittel

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von acylierten Epipodophyllotoxin-Derivaten, welche an einer oder an beiden Zucker-Hydroxylgruppen acyliert sind. Diese Verbindungen zeigen eine hohe Aktivität gegenüber Mäuse-P388-Leukämie.

Patentansprüche:

1. Verfahren zur Herstellung von acylierten Epipodophyllotoxin-Derivaten der allgemeinen Formel:



(VIII),

worin

R² ein Wasserstoffatom bedeutet und

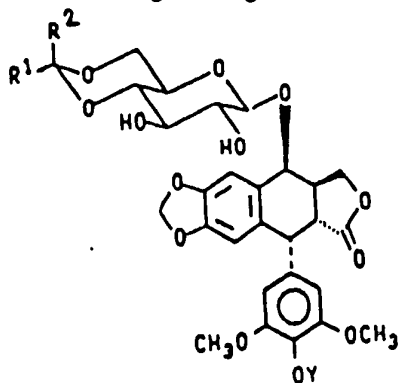
R¹ ausgewählt ist unter einem (C₁₋₁₀)-Alkyl-, (C₂₋₂₀)-Alkenyl-, (C₅₋₆)-Cycloalkyl-, 2-Furyl-, 2-Thienyl-, (C₈₋₁₀)-Aryl- und (C₇₋₁₄)-Aralkylrest; oder R¹ und R² jeweils eine (C₁₋₁₀)-Alkylgruppe bedeuten; oder

zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (C₅₋₆)-Cycloalkylgruppe bedeuten;

einer der Reste R³ und R⁴ ein Wasserstoffatom bedeutet und der andere Rest eine (C₁₋₅)-Alkanoyl- oder Benzoylgruppe bedeutet; oder

R³ und R⁴ gleich oder verschieden sind und ausgewählt sind unter einem (C₁₋₅)-Alkanoyl- und Benzoylrest; und R⁵ ein Wasserstoffatom oder ein Phosphatgruppe bedeutet, dadurch gekennzeichnet, daß man

- a) eine Phenolschutzgruppe in eine Verbindung der allgemeinen Formel IXb einführt, wobei man eine Verbindung der allgemeinen Formel IXa erhält



IXa: Y = Schutzgruppe

IXb: Y = H

- b) die 4'-phenolgeschützte Verbindung der allgemeinen Formel IXa mit einer geeigneten Carbonsäure oder einem acylierenden Derivat davon umsetzt, wobei man ein acyliertes Derivat der Verbindung der allgemeinen Formel IXa erhält;
- c) die Schutzgruppe aus dem in Stufe b) erhaltenen Produkt entfernt, wobei man eine Verbindung der allgemeinen Formel VIII erhält, worin R⁵ ein Wasserstoffatom bedeutet; und gegebenenfalls
- d) das in Stufe c) erzeugte Produkt in das entsprechende 4'-Phosphat überführt.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung erhält, worin R² ein Wasserstoffatom bedeutet und R¹ ausgewählt ist unter einem Methyl-, 2-Thienyl- und einem Phenylrest.

3. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung erhält, worin R^1 eine Methylgruppe bedeutet.
4. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung erhält, worin R^3 und R^4 jeweils eine (C_{1-6}) -Alkanoylgruppe bedeuten.
5. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung erhält, worin einer der Reste R^3 und R^4 ein Wasserstoffatom bedeutet und der andere Rest eine (C_{1-6}) -Alkanoyl- oder Benzoylgruppe bedeutet.
6. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung erhält, worin R^2 ein Wasserstoffatom bedeutet und R^1 ausgewählt ist unter einem Methyl- und einem 2-Thienylrest.
7. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung erhält, worin R^1 eine Methylgruppe bedeutet, R^3 und R^4 jeweils eine Formylgruppe bedeuten und R^5 ein Wasserstoffatom bedeutet.
8. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung erhält, worin R^1 ein Methylgruppe bedeutet, R^3 und R^4 jeweils eine Acetylgruppe bedeuten und R^5 ein Wasserstoffatom bedeutet.
9. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung erhält, worin R^3 und R^4 jeweils eine Benzoylgruppe bedeuten und R^5 ein Wasserstoffatom bedeutet.
10. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung erhält, worin R^5 ein Wasserstoffatom bedeutet, einer der Reste R^3 und R^4 ein Wasserstoffatom bedeutet und der andere Rest eine (C_{2-6}) -Alkanoylgruppe bedeutet.
11. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung erhält, worin R^5 ein Wasserstoffatom bedeutet, einer der Reste R^3 und R^4 ein Wasserstoffatom bedeutet und der andere Rest eine Benzoylgruppe bedeutet.
12. Verfahren zur Herstellung eines pharmazeutischen Mittels, dadurch gekennzeichnet, daß man eine antitumorwirksame Menge einer Verbindung gemäß der Definition in Anspruch 1 und einem pharmazeutisch verträglichen Träger miteinander kombiniert.

Anwendungsgebiet der Erfindung

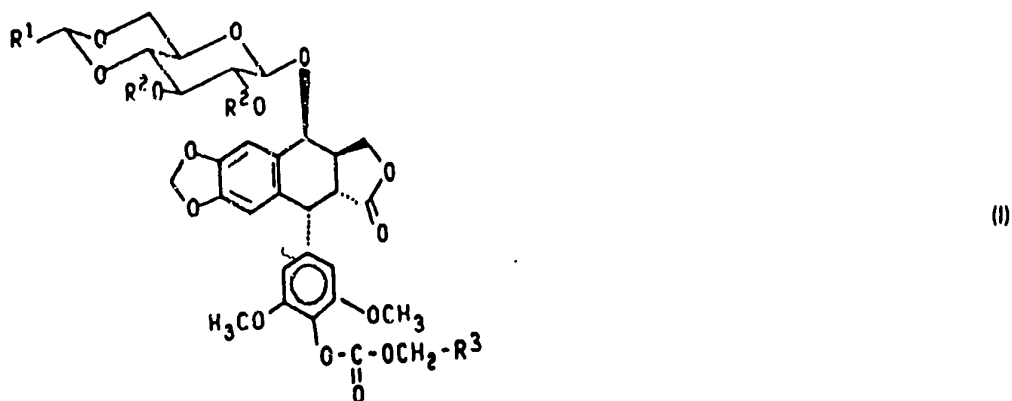
Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von acylierten Epipodophyllotoxin-Derivaten sowie pharmazeutische Mittel, welche diese Verbindungen enthalten. Diese Verbindungen sind als Antitumormittel anwendbar. Die erfindungsgemäß hergestellten Verbindungen sind insbesondere Acylderivate von 4'-Demethylepipodophyllotoxinglucosiden.

Charakteristik des bekannten Standes der Technik

Etoposid und Teniposid sind klinisch einsetzbare Antitumormittel, welche von natürlich vorkommendem Lignan, dem Podophyllotoxin, abgeleitet sind. Derzeit wird Etoposid in den Vereinigten Staaten unter der Handelsbezeichnung „Vepesid“ zur Behandlung von kleinzelligem Lungenkarzinom und Hodenkrebs vertrieben. Die vorteilhaften pharmakologischen Eigenschaften von Etoposid und Teniposid waren Anlaß zu weiteren Aktivitäten bei der Suche nach anderen aktiven Analoga innerhalb der gleichen Verbindungsklasse.

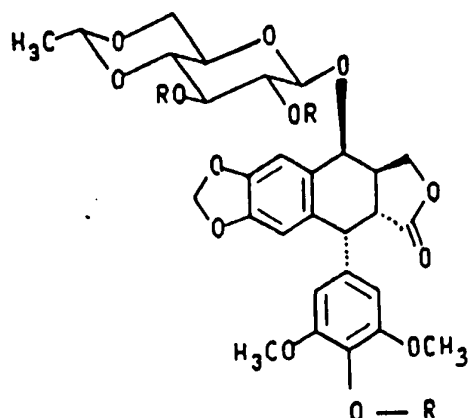
4'-O-Demethylepipodophyllotoxinglucoside, in denen die Hydroxylgruppen des Zuckerrestes acyliert sind, werden in der Literatur als Zwischenstufen zur Herstellung der entsprechenden 4'-Demethylepipodophyllotoxinglucoside genannt; die Phenolgruppen dieser Verbindungen sind jedoch ebenfalls geschützt.

Das kanadische Patent 956939 beschreibt Verbindungen der allgemeinen Formel (I),



worin R^1 für einen C_{1-6} -Alkylrest steht; R^2 für einen Acetyl- oder Formylrest steht; und R^3 eine Phenyl- oder substituierte Phenylgruppe bedeutet. Als mögliche substituierte Phenylreste erwähnt, jedoch nicht durch Beispiele belegt, sind der p-Nitrophenyl- und der p-Methoxyphenylrest.

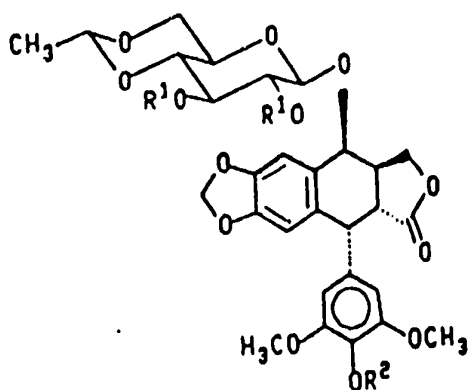
Das US-Patent 4564675 beschreibt Verbindungen der allgemeinen Formel (II)



(II),

worin R für $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{X}$ steht und X ein Halogenatom bedeutet.

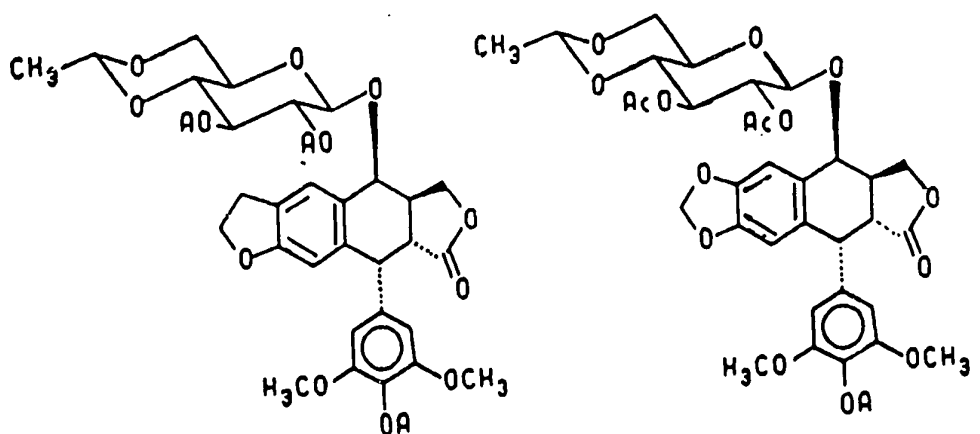
Die europäische Patentanmeldung 162701 beschreibt Verbindungen der allgemeinen Formel (III)



(III),

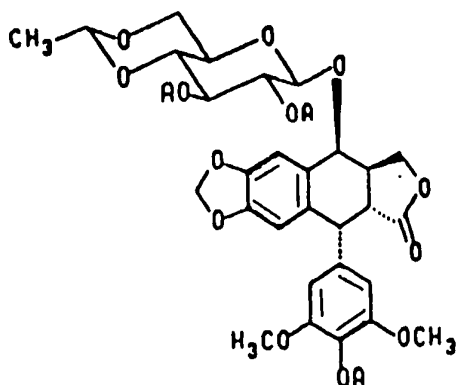
worin R^1 und R^2 gleich oder verschieden sind und jeweils für $-\text{C}(\text{O})\text{CHX}_2$ oder $-\text{C}(\text{O})\text{CX}_3$ stehen, worin X ein Halogenatom bedeutet.

Die japanischen Kokai 58/225096 (Derwent Abst. No. 84-034268/06) und 58/219 196 (Dersent Abs. No. 84-027495/05) beschreiben Verbindungen der allgemeinen Formeln (IV) bzw. (V).



worin A für $-\text{CO}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{H})_m(\text{X})_n$ steht, worin X ein Halogenatom bedeutet und m für 0 bis 2 steht und n für 1 bis 3 steht, die Summe aus m + n gleich 3 ist und Ac für einen Acylrest steht.

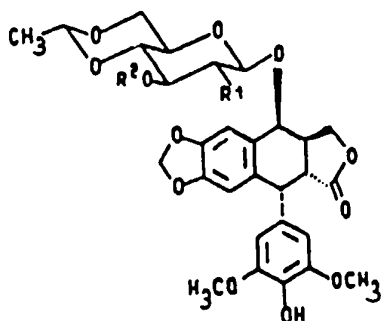
Die europäische Patentanmeldung 226202 beschreibt Zwischenprodukte zur Etopsidsynthese, welche die allgemeine Formel (VI) aufweisen



(VI),

worin A eine Acetylgruppe bedeutet.

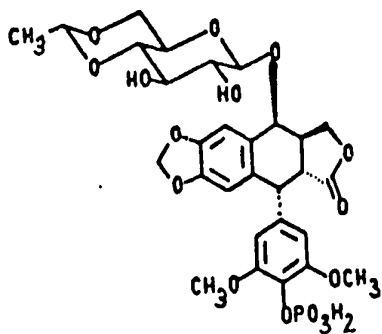
Mono-hemlsuccinatderivate von Etopsid der allgemeinen Formel (VII) werden in J. Pharm. Biomed. Anal., 1987, 5(1): 11-20 beschrieben:



(VII),

worin einer der Reste R¹ und R² ein Wasserstoffatom bedeutet und der andere Rest für -CO(CH₂)₂CO₂H steht. Diese Verbindungen verwendet man, um Etopsid an Rinderserumalbumin anzubinden.

4'-Phosphate von Etopsid und die Dinatriumsalze davon werden in der japanischen Kokai 63/192793 beschrieben:

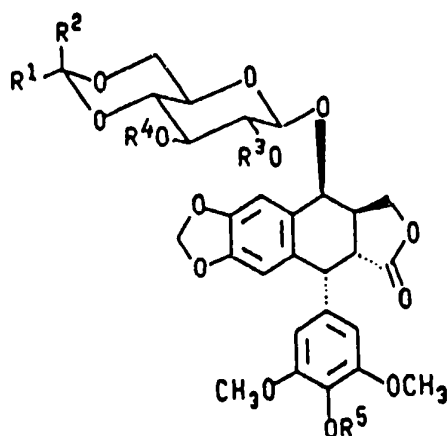


Ziel der Erfindung

Ziel der Erfindung ist die Bereitstellung von acylierten Epipodophyllotoxinderivaten, welche als Antitumormittel therapeutisch anwendbar sind.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der allgemeinen Formel (VIII) bereitzustellen:



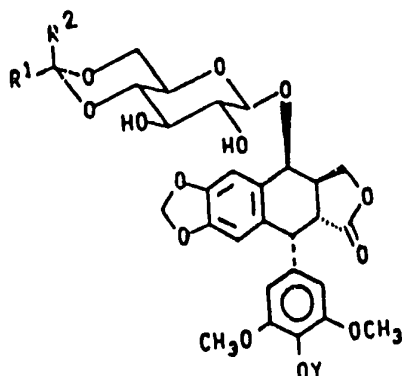
(VIII)

worin R² ein Wasserstoffatom bedeutet und R¹ ausgewählt ist unter einem C₁₋₁₀-Alkyl-, C₂₋₁₀-Alkenyl-, C₆₋₆-Cycloalkyl-, 2-Furyl-, 2-Thienyl-, C₆₋₁₀-Aryl- und einem C₇₋₁₄-Aralkylrest; oder R¹ und R² jeweils einen C₁₋₁₀-Alkylrest bedeuten; oder R¹, R² und das Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, zusammen einen C₆₋₆-Cycloalkylrest bilden; einer der Reste R³ und R⁴ ein Wasserstoffatom bedeutet und der andere ausgewählt ist unter einem C₁₋₅-Alkanoyl- oder Benzoylrest; oder R³ und R⁴ gleich oder verschieden sind und ausgewählt sind unter einem C₁₋₅-Alkanoyl- oder Benzoylrest; R⁵ ein Wasserstoffatom oder eine Phosphatgruppe bedeutet.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind außerdem pharmazeutische Mittel, welche eine tumorinhibierende Menge einer Verbindung der allgemeinen Formel (VIII) und einen pharmazeutisch verträglichen Träger enthalten.

Diese Mittel werden erfindungsgemäß in einem Verfahren zur Inhibition des Tumorwachstums in einem tumortragenden Wirt (Säugetier) eingesetzt, wobei man dem Wirt eine Antitumormenge einer Verbindung der allgemeinen Formel (VIII) verabreicht. Eine bevorzugte Ausführungsform betrifft Verbindungen der allgemeinen Formel (VIII), worin R² ein Wasserstoffatom bedeutet und R¹ ausgewählt ist unter einem Methyl-, 2-Thienyl- und einem Phenylrest, wobei der Methylrest der am meisten bevorzugte Substituent ist.

Eine weitere bevorzugte Ausführungsform betrifft Verbindungen der allgemeinen Formel (VIII), worin R³ und R⁴ jeweils unabhängig voneinander eine C₁₋₅-Alkanoylgruppe bedeuten; besonders bevorzugt ist die Ausführungsform, in der Verbindungen der allgemeinen Formel (VIII) bereitgestellt werden, worin R³ und R⁴ jeweils eine Formylgruppe bedeuten. Gemäß einer weiteren bevorzugten Ausführungsform werden Verbindungen der allgemeinen Formel (VIII) bereitgestellt, worin einer der Reste R³ und R⁴ ein Wasserstoffatom und der andere Rest eine C₁₋₅-Alkanoyl- oder Benzoylgruppe bedeutet. Der hierin verwendete Ausdruck „Phosphat“ umfaßt die Gruppe -PO₃H₂ sowie die pharmazeutisch verträglichen Salze davon. Pharmazeutisch verträgliche Salze sind sowohl monobasische als auch dibasische Salze, worin die Kationen Alkalimetalle, z. B. Natrium, Kalium und Lithium, Erdalkalimetalle, wie z. B. Magnesium, Calcium und Barium, oder organische Aminsalze, wie z. B. Ammonium, sind. Die Salze sind jedoch nicht auf die erwähnten Beispiele beschränkt. Die neuen Verbindungen werden hergestellt durch Umsetzung eines 4'-Phenol-geschützten 4'-Demethylepipodophyllotoxinglucosids der allgemeinen Formel (IXa) mit der gewünschten Carbonsäure oder einem acylierenden Äquivalent davon, gefolgt von der Entfernung der Phenolschutzgruppe:



IXa: Y = Schutzgruppe

IXb: Y = H

Die Phenolschutzgruppe ist nicht auf bestimmte Typen beschränkt. Es kann jegliche Art verwendet werden, die mit geringem oder keinem negativen Effekt auf andere Teile des Moleküls eingefügt und wieder entfernt werden kann. Insbesondere sollte die

Phenolschutzgruppe mit Hilfe solcher Verfahren entfernt werden können, welche die funktionellen Acyloxygruppen am Zuckerrest des Endproduktes nicht beeinflussen. Verfahren zum Schutz einer Phenolgruppe sind im Stand der Technik wohl bekannt und als Beispiele für allgemeine Klassen von Phenolschutzgruppen können Ether, Acetale, Ester und Carbonate genannt werden. Für den erfindungsgemäßen Zweck werden üblicherweise Benzyloxycarbonylreste verwendet. Somit erhält man durch Umsetzung eines 4'-Demethylepipodophyllotoxinglucosids der allgemeinen Formel (IXb) mit Benzylchlorformiat bei niedriger Temperatur, beispielsweise -15°C , in einem inerten organischen Lösungsmittel, wie Methylenchlorid, und in Gegenwart einer tertiären organischen Base, wie Pyridin, das entsprechende 4'-O-Benzoyloxycarbonyl-4'-demethylepipodophyllotoxinglucosid. Verbindungen der allgemeinen Formel (IXb) und deren Synthese sind in dem US-Patent 3524844 beschrieben.

Die Acylierung der Hydroxylgruppen am Zuckerrest von Verbindungen der allgemeinen Formel (IXa) kann unter Verwendung der gewünschten Carbonsäure oder eines davon abgeleiteten acylierenden Mittels, beispielsweise eines Säurehalogenids, wie einem Säurechlorid, eines aktiven Esters, abgeleitet von N-Hydroxysuccinimid oder 1-Hydroxytriazol, und symmetrischen oder gemischten Anhydriden, erfolgen. Wird eine Carbonsäure als Acylierungsmittel verwendet, so erfolgt die Umsetzung vorzugsweise in Kombination mit einem Kondensierungsmittel, z. B. einem Carbodiimid, wie z. B. Dicyclohexylcarbodiimid (DCC). Acylierungsmittel sind C_{1-6} -Alkancarbonsäuren und Benzoesäure sowie die oben beschriebenen acylierenden Derivate davon. Alkancarbonsäuren sind beispielsweise Ameisensäure, Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure, Pentancarbonsäure und verzweigte Alkancarbonsäuren, wie z. B. 2-Methylpropionsäure und 3-Methylbuttersäure.

Die Acylierungsreaktion kann in einem inerten organischen Lösungsmittel, wie z. B. Pyridin, durchgeführt werden. Vorzugsweise ist im Reaktionsgemisch ein Säureakzeptor enthalten, wenn als Nebenprodukt eine Säure erwartet wird. Geeignete Säureakzeptoren sind beispielsweise tertiäre Aminbasen, wie z. B. Pyridin, Triethylamin, Diisopropylethylamin usw. oder anorganische Basen, wie Natrium- und Kaliumcarbonat. Die Reaktion wird bei Temperaturen durchgeführt, die zur Bildung des gewünschten Produktes dienlich sind und liegen im Bereich von etwa -15°C bis etwa 50°C . Die Reaktion kann in Abhängigkeit von der Natur der Reaktanden und der Wahl der Reaktionsbedingungen, wie z. B. der Temperatur, bis zur Beendigung mehrere Minuten bis mehrere Tage dauern.

Die Acylierungsreaktion ist nicht regioselektiv und kann zu einem Gemisch aus 2''-monoacyliertem Produkt, 3''-monoacyliertem Produkt und 2'',3''-bisacyliertem Produkt führen. Wenn jedoch wenigstens zwei Äquivalente des Acylierungsmittels je Äquivalent des Epipodophyllotoxinreaktanden verwendet werden, so überwiegt das bisacylierte Derivat. Der Anteil an monoacyliertem Produkt und bisacyliertem Produkt kann in gewissem Umfang durch Veränderung der Reaktionsparameter kontrolliert werden. Gemäß allgemein bekannter Prinzipien können z. B. die reaktiven Mengen der Reaktanden oder die Reaktionsbedingungen, wie z. B. die Temperatur und die Dauer der Reaktion verändert werden. Werden äquimolare Mengen der Reaktanden eingesetzt, so wird im allgemeinen durch eine verringerte Reaktionstemperatur und eine kürzere Reaktionszeit die Menge des gebildeten monoacylierten Produktes erhöht. Monoacylierte Produkte können auch dadurch erhalten werden, daß man zunächst eine der Hydroxylgruppen am Zuckerrest des 4'-phenolgeschützten Epipodophyllotoxinglucosid-Ausgangsmaterials schützt. Die Schutzgruppe für den Zucker-Hydroxylrest ist vorzugsweise eine sperrige Schutzgruppe, wie z. B. eine t-Butyldimethylsilylgruppe, um eine Derivatisierung beider Hydroxylgruppen zu minimieren. Der Schutz der Zucker-Hydroxylgruppen ist wiederum nicht regioselektiv. Gewünschtenfalls können jedoch die 2''-geschützten oder 3''-geschützten Verbindungen in einfacher Weise auf chromatographischem Weg getrennt werden. Es wurden Formylierungsreaktionen mit Etoposid durchgeführt. Hierbei konnte jedoch keines der erwarteten Monoformylderivate von Etoposid isoliert werden.

Das Produktgemisch aus phenolgeschützten, acylierten Derivaten kann mit Hilfe herkömmlicher Trennverfahren, wie z. B. der Säulenchromatographie, in die einzelnen Komponenten zerlegt werden. Durch Abspaltung der Schutzgruppen von den phenolischen Hydroxylresten und gegebenenfalls von den Zucker-Hydroxylresten erhält man die erfindungsgemäßen Verbindungen. Die Abspaltung der Schutzgruppen kann vor oder nach der Isolierung der einzelnen Komponenten erfolgen. Die Reihenfolge ist nicht ausschlaggebend. Die Schutzgruppe wird mit Hilfe geeigneter, für die jeweilige Schutzgruppe ausgewählter Methoden, welche im allgemeinen aus dem Stand der Technik bekannt sind, entfernt. Wird beispielsweise Benzyloxycarbonyl als Schutzgruppe verwendet, so kann diese durch katalytische Hydrierung unter Atmosphärendruck mit Hilfe von Palladium-auf-Kohle als Katalysator entfernt werden. Die t-Butyldimethylsilylgruppe kann durch Erwärmen in einer wäßrigen alkoholischen Lösung oder durch Behandlung mit einem Fluoranion oder mit wäßriger Essigsäure entfernt werden.

Im Anschluß an die Entfernung der Phenolschutzgruppe kann die 4'-Phenolgruppe zusätzlich derivatisiert werden, wobei man die 4'-Phosphate der allgemeinen Formel (VIII) erhält. Die Phosphorylierung des 4'-Phenols kann unter Verwendung herkömmlicher Verfahren durchgeführt werden. Beispielsweise kann eine Verbindung der allgemeinen Formel (VIII), worin R^5 ein Wasserstoffatom bedeutet, mit einem Phosphorylierungsmittel, wie z. B. Phosphoroxchlorid, umgesetzt werden. Das Phosphorylchlorid-Zwischenprodukt wird in situ hydrolysiert, wobei man das 4'-Phosphat erhält. Nach Hydrolyse in Gegenwart einer Base, wie z. B. Natriumbicarbonat, erhält man das entsprechende Salz. Dieses Verfahren sowie andere potentiell einsetzbare Phosphorylierungsverfahren sind in der Patentanmeldung GB 2207674 beschrieben, auf welche hiermit bezug genommen wird.

Die Synthese der erfindungsgemäß beschriebenen Verbindungen ist nicht auf die hierin beschriebenen Verfahren und Reagentien beschränkt, sondern kann mit Hilfe anderer Verfahren erfolgen, welche eine Acylierung der Hydroxylgruppen am Zuckerrest von 4'-Demethylepipodophyllotoxinglucosiden ermöglichen. Die Reaktionsbedingungen können in Abhängigkeit von der Auswahl der Ausgangsmaterialien ohne übermäßigen experimentellen Aufwand vom Durchschnittsfachmann variiert werden.

Biologische Aktivität:

Repräsentative Verbindungen der vorliegenden Erfindung wurden auf ihre Antitumoraktivität gegenüber transplantierbarer Mäuse-P388-Leukämie getestet. Weibliche CDF₁-Mäuse wurden mit 0,4 ml einer verdünnten Ascitesflüssigkeit, die 10^6 lymphozytische Leukämie-P388-Zellen enthielten, intraperitoneal inokuliert. Die Testverbindungen wurden: intraperitoneal als Einzeldosis am Tag 1 verabreicht und die Tiere wurden 50 Tage beobachtet. Die prozentuale Steigerung der mittleren Überlebenszeit (MST) der behandelten Tiere im Vergleich zu unbehandelten Kontrolltieren wurde bestimmt und in % T/C-Werten ausgedrückt. Verbindungen mit % T/C-Werten von 125 oder darüber werden als Verbindungen mit signifikanter Antitumoraktivität eingestuft. Tabelle I zeigt die Ergebnisse von In-vivo-Untersuchungen. Es sind jeweils die maximalen % T/C-Werte und die Dosen angegeben, welche maximale Effekte bewirkten.

Tabelle I: Antitumoraktivität gegenüber P388-Leukämie

Verbindung	Dosis (mg/kg/Tag)	% T/C MST
Beispiel 1	30	165
Beispiel 3	30	240
Beispiel 4	30	210
Etoposid	30	182
Beispiel 6	120	> 500 (3/4)*
Beispiel 8	120	145
Beispiel 9	60	420 (1/4)
Beispiel 10	120	125
Etoposid	120	> 390 (6/12)

* Anzahl der überlebenden Tiere/getesteten Tiere am Tag 50

Die In-vitro-Zytotoxizität der erfindungsgemäßen Verbindungen wurde für B16-F10-Mäuse-melanom- und Moser-Humancolankarzinom-Zelllinien bestimmt. Im exponentiellen Stadium wachsende B16-F10- und Moserzellen werden geerntet, gezählt und im Kulturmedium in Konzentrationen von $1,5 \times 10^4$ bzw. 3×10^4 Zellen/ml suspendiert. 24 Stunden nach Überführung der Zellsuspension (180 µl) in die Näpfe einer Mikrotiterplatte (96 Näpfe) wurden die Testverbindungen (20 µl) zu den Näpfen hinzugegeben. Die Platten wurden 72 h inkubiert. Die zytotoxischen Aktivitäten gegenüber Tumorzellen wurden bei 540 nm nach Abfärbung der lebensfähigen Zellen mit einer Neutralrot-Lösung kolorimetrisch bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle II zusammengefaßt:

Tabelle II: In-vitro-Zytotoxizität gegenüber Mäuse- und Humantumorzellen

Verbindung	IC ₅₀ (µg/ml)	
	B16-F10	Moser
Beispiel 3	1,6	1,1
Beispiel 4	1,4	ND*
Beispiel 1	1,3	< 0,8
Beispiel 8	0,92	ND
Beispiel 9	0,17	0,83
Beispiel 10	4,4	ND
Beispiel 6	2,0	0,84
Etoposid	0,45	ND

* ND: nicht bestimmt

Die vorliegende Erfindung stellt somit ein Verfahren zur Inhibition von Säugetiertumoren bereit, welches die Verabreichung einer wirksamen Tumor-inhibierenden Dosis einer Antitumorverbindung der allgemeinen Formel (VIII) an den tumortragenden Wirt umfaßt. Hierzu kann der Wirkstoff auf konventionellen Wegen, wie beispielsweise intravenös, intramuskulär, intratumoral, intraarteriell, intralymphatisch oder oral verabreicht werden.

Die Erfindung betrifft außerdem pharmazeutische Mittel, welche eine Verbindung der allgemeinen Formel (VIII) und einen pharmazeutisch verträglichen Träger umfassen. Die Antitumormittel können in jeder pharmazeutischen Form hergestellt werden, die für den gewünschten Verabreichungsweg geeignet ist. Beispiele für derartige Mittel sind feste Mittel zur oralen Verabreichung, wie z. B. Tabletten, Kapseln, Pillen, Pulver und Granula, flüssige Mittel zur oralen Verabreichung, wie z. B. Lösungen, Suspensionen, Sirups oder Elixiere und Präparationen zur parenteralen Verabreichung, wie sterile Lösungen, Suspensionen oder Emulsionen. Sie können auch in Form steriler fester Mittel hergestellt werden, die man in sterilem Wasser, physiologischer Saline oder einem anderen sterilen, injizierbaren Medium unmittelbar vor deren Verwendung auflöst. Optimale Dosierungen und Kuren für einen bestimmten Säugetier-Wirt können in einfacher Weise vom Fachmann bestimmt werden. Die tatsächliche Dosis ist natürlich abhängig von dem jeweiligen formulierten Mittel, der jeweils verwendeten Verbindung, der Verabreichungsart und der jeweiligen Verabreichungsstelle, dem Wirt und der zu behandelnden Erkrankung. Eine Vielzahl von Faktoren, welche die Wirkung des Wirkstoffes modifizieren, wie z. B. Alter, Gewicht, Geschlecht, Ernährungszustand, Verabreichungszeit, Verabreichungsweg, Exkretionsrate, Zustand des Patienten, Wirkstoffkombinationen, Reaktionsempfindlichkeiten und Schwere der Erkrankung sind hierbei zu berücksichtigen. Die folgenden Beispiele dienen ausschließlich der Veranschaulichung der vorliegenden Erfindung und beschränken nicht den Schutzzumfang der Erfindung.

Ausführungsbeispiele

Herstellung von 4'-O-Benzoyloxycarbonyl-etoposid (4'-CBZ-Etoposid)

Benzylchlorformiat (1,98 ml, 15 mmol) gibt man innerhalb von 30 min zu einem Gemisch aus Etoposid (5,88 g, 10 mmol) und Pyridin (10 ml) in Methylenchlorid (100 ml), bei -15°C hinzu. Das Gemisch rührt man bei -15°C eine weitere Stunde, wäscht nacheinander mit 5%iger Salzsäure, wässrigem Natriumbicarbonat und Wasser und trocknet anschließend über wasserfreiem Natriumsulfat. Das Lösungsmittel dampft man ab, wobei man 8,05 g des Rohproduktes erhält, das man über eine Silikagelsäule (5% Methanol-Methylenchlorid) reinigt, wobei man 6,93 g (96%) 4'-O-Benzoyloxycarbonyl-etoposid als farblosen Halbfeststoff erhält. SMP $152-155^{\circ}\text{C}$.

IR ν_{max} (Nujol) cm^{-1} : 3200–3600 (OH), 1760 (Lacton und 4'-O-Benzoyloxycarbonyl), 1600 (aromatisch).

^1H NMR (60 MHz, CDCl_3) δ 7,36 (5H, s, $\text{OCO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$), 6,81 (1H, s, 5-H), 6,50 (1H, s, 8-H), 6,25 (2H, s, 2'- und 6'-H), 5,94 (2H, br. s, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}$), 5,23 (2H, s, $-\text{OCO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$), 4,89 (1H, d, $J = 4\text{ Hz}$, 4-H), 3,66 (6H, s, 3',5'- OCH_3), 2,8–3,0 (2H, m, 2'',3''-OH, D_2O ausgetauscht), 1,38 (3H, d, $J = 5\text{ Hz}$, 7''- CH_3).

Beispiel 1

Herstellung von 2'',3''-Di-O-acetyletoposid (VIII, $\text{R}^1 = \text{CH}_3$, $\text{R}^2 = \text{H}$, $\text{R}^3 = \text{R}^4 = \text{CH}_3\text{CO}-$)

(a) Herstellung von 4'-O-Benzoyloxycarbonyl-etoposid-2'',3''-di-O-acetat

Essigsäureanhydrid (1 ml) gibt man zu einer Lösung von 4'-CBZ-etoposid (500 mg, 0,69 mmol) in Pyridin (10 ml) und rührt das Gemisch 4 h bei Zimmertemperatur. Das Reaktionsgemisch wird mit Methanol (2 ml) gequenchet mit Dichlormethan verdünnt und nacheinander mit Wasser, 5%iger HCl und Wasser gewaschen. Die organische Schicht trocknet man über Natriumsulfat, filtriert und konzentriert das Filtrat im Vakuum, wobei man einen farblosen Feststoff (551 mg, 99%) erhält. Nach Umkristallisation des ungereinigten Feststoffes in Methanol erhält man 4'-O-Benzoyloxycarbonyl-etoposid-2'',3''-di-O-acetat in Form von farblosen Kristallen (1.: 395 mg, 2.: 60 mg).

SMP 236–238°C.

IR ν_{max} (KPr) cm^{-1} 3 500 (br), 1 770, 1 610

UV λ_{max} (MeOH) nm (ϵ) 290 (3 950)

Analyse berechnet für $\text{C}_{41}\text{H}_{42}\text{O}_{17}$: C 61,04; H 5,25

Gefunden: C 60,64; H 5,36

(b) Herstellung von 2'',3''-Di-O-acetyl-etoposid

Eine gerührte Lösung des Produktes aus Schritt (a) (405 mg, 0,5 mmol) in Ethanol/Aceton (4:1, 15 ml) wird 1,5 h in Gegenwart von 10% Pd-C (400 mg) bei 1 atm hydriert. Anschließend filtriert man den Katalysator ab. Das Filtrat konzentriert man im Vakuum auf, wobei man einen farblosen Feststoff (360 mg, ca. 100%) erhält, den man Ethylacetat-Methanol umkristallisiert, wobei man die Titelverbindung (204 mg) in Form farbloser Kristalle erhält. Geschätzte Reinheit: 90% (durch HPLC).

SMP 287–289°C

IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} 3 500 (br), 1 760, 1 610

UV λ_{max} (MeOH) nm (ϵ) 240 (sh, 12 780), 285 (4 060)

Analyse berechnet für $\text{C}_{33}\text{H}_{36}\text{O}_{16}$: C 58,93; H 5,39

Gefunden: C 58,56; H 5,41

Beispiel 2

Herstellung von 4'-O-Benzoyloxycarbonyl-etoposid-2''-O-acetat und -3''-O-acetat

Essigsäureanhydrid (20 μl , 0,18 mmol) und 4-Dimethylaminopyridin (5 mg) gibt man zu einer Lösung von 4'-CBZ-etoposid (142 mg, 0,2 mmol) in Pyridin (8 ml) bei -10°C . Das Gemisch rührt man 30 min bei -10°C und gibt anschließend eine weitere Portion Essigsäureanhydrid (20 μl , 0,18 mmol) hinzu. Das Reaktionsgemisch rührt man weitere 30 min bei -10°C und verdünnt anschließend mit Dichlormethan, wäscht nacheinander mit Wasser, 5%iger HCl, wässrigem Natriumbicarbonat und Wasser. Die organische Phase trocknet man über Na_2SO_4 , filtriert und konzentriert das Filtrat im Vakuum, wobei man ein farbloses Pulver (117 mg) erhält, das vier Komponenten enthält (Silikagel, TLC: Rf 0,56, 0,46, 0,34 und 0,24; Hexan/Aceton = 1/1). Das Gemisch trennt man durch Silikagelsäulenchromatographie (2,5% Methanol-Dichlormethan). Fraktionen, die einen Peak bei Rf 0,56 zeigen, werden vereinigt und im Vakuum eingedampft, wobei man 1 mg (1%) 2'',3''-Di-O-acetyl-4'-O-benzoyloxycarbonyl-etoposid (4) erhält. In ähnlicher Weise liefern Fraktionen mit Rf 0,46, 0,34 und 0,24 die Verbindungen 3''-O-Acetyl-4'-benzoyloxycarbonyl-etoposid (3), 2''-O-Acetyl-4'-O-benzoyloxycarbonyl-etoposid (2) und 4'-CBZ-etoposid (1, 60 mg, 42%) in Form farbloser Pulver. Gemische von 3 und 4 (18 mg), 2 und 3 (15 mg) und 1 und 2 (6 mg) erhält man außerdem aus den Zwischenfraktionen.

2''-O-Acetyl-4'-O-benzoyloxycarbonyl-etoposid

SMP 224–227°C

IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} 3 400 (br), 1 740, 1 600

UV λ_{max} (MeOH) nm (ϵ) 291 (4 200)

Analyse berechnet für $\text{C}_{37}\text{H}_{40}\text{O}_{16} \cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$: C 61,25; H 5,27

Gefunden: C 60,84; H 5,25

3''-O-Acetyl-4'-O-benzoyloxycarbonyl-etoposid

SMP 139–145°C

IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} 3 500 (br), 1 770, 1 600

UV λ_{max} (MeOH) nm (ϵ) 291 (3 920)

Analyse berechnet für $\text{C}_{39}\text{H}_{40}\text{O}_{16} \cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$: C 60,54; H 5,34

Gefunden: C 60,27; H 5,26

Beispiel 3

Herstellung von 2''-O-Acetyl-etoposid (VIII, $\text{R}^1 = \text{CH}_3$, $\text{R}^2 = \text{H}$, $\text{R}^3 = \text{CH}_3\text{CO}-$, $\text{R}^4 = \text{H}$)

Man befolgt das Verfahren gemäß Beispiel 1, Schritt (b), wobei man 2''-O-Acetyl-4'-O-benzoyloxycarbonyl-etoposid (25 mg, 0,03 mmol) verwendet, um zur Titelverbindung (21 mg, etwa 100%) in Form eines farblosen Pulvers zu gelangen. Geschätzte Reinheit 90% (durch HPLC).

SMP 144–147°C

IR $\nu_{\max}$ (KBr) cm^{-1} 3450 (br), 1770, 1740, 1610UV $\lambda_{\max}$ (MeOH) nm (ϵ) 240 (sh 12900), 284 (4030)Analyse berechnet für $\text{C}_{31}\text{H}_{34}\text{O}_{14}$: C 59,04; H 5,43

Gefunden: C 58,65; H 5,46

Beispiel 4Herstellung von 3"-O-Acetyl-etoposid (VIII, $\text{R}^1 = \text{CH}_3$, $\text{R}^2 = \text{H}$, $\text{R}^3 = \text{H}$, $\text{R}^4 = \text{CH}_3\text{CO}$)

Man befolgt das Verfahren gemäß Beispiel 1, Schritt (b) unter Verwendung von 3"-O-Acetyl-4'-O-benzyloxycarbonyl-etoposid (10 mg, 0,01 mMol), wobei man die Titelverbindung (9 mg, etwa 100%) in Form eines farblosen Pulvers erhält. Geschätzte Reinheit: 85% (durch HPLC).

SMP 226–228°C

IR $\nu_{\max}$ (KBr) cm^{-1} 3450 (br), 1760, 1610UV $\lambda_{\max}$ (MeOH) nm (ϵ) 240 (sh, 12610), 285 (3960)Analyse berechnet für $\text{C}_{31}\text{H}_{34}\text{O}_{14} \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$: C 58,21; H 5,52

Gefunden: C 58,22; H 5,42

Beispiel 5

Herstellung von 2"-O-Acetyl-etoposid und 3"-O-Acetyl-etoposid aus einem Gemisch aus 2 und 3

Eine gerührte Lösung eines Gemisches aus 2 und 3 (60 mg, 0,08 mMol) in Ethanol/Aceton (4:1, 5 ml) hydriert man 1,5 h in Gegenwart von 10% Pd-C (30 mg) bei 1 atm und filtriert anschließend den Katalysator ab. Das Filtrat konzentriert man auf, wobei man ein Gemisch der regio-isomeren Verbindungen (50 mg, etwa 100%) erhält, welches man mit Hilfe einer Silikagelsäule trennt, wobei man 2"-O-Acetyl-etoposid (10 mg, 20%), 3"-O-Acetyl-etoposid (4 mg, 8%) und ein Gemisch davon (30 mg, 61%) in Form eines farblosen Pulvers erhält.

Beispiel 6Herstellung von 2",3"-Di-O-formyl-etoposid (VIII; $\text{R}^1 = \text{CH}_3$, $\text{R}^2 = \text{H}$, $\text{R}^3 = \text{R}^4 = \text{HCC}-$)**(a) Herstellung von 4'-O-Benzoyloxycarbonyl-etoposid-2",3"-di-O-formiat**

Zu einer Lösung von 4'-CBZ-etoposid (100 mg, 0,14 mMol) in Pyridin (0,7 ml) gibt man tropfenweise ein Gemisch aus 99%iger Ameisensäure (1,4 ml) und Essigsäureanhydrid (0,56 ml) bei 0°C hinzu. Das Reaktionsgemisch rührt man 4 h bei Zimmertemperatur und verdünnt anschließend mit Dichlormethan und wäscht mit Wasser. Die organische Phase trocknet man über Na_2SO_4 , filtriert anschließend ab und konzentriert das Filtrat im Vakuum auf, wobei man einen farblosen Feststoff (122 mg) erhält, den man mit einer Silikagelsäule ($\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2 = 1:50$) reinigt, wobei man 4'-O-Benzoyloxycarbonyl-etoposid-2",3"-di-O-formiat (91 mg, 84%) in Form eines amorphen Pulvers erhält.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 8,04 & 7,80 (jeweils 1H, s, CHO), 7,36 (5H, s, PhCH_2CO), 6,72 (1H, s, H-5), 6,53 (1H, s, H-8), 6,23 (2H, s, 2',6'-H), 5,97 (2H, s, OCH_2O), 5,23 (2H, s, PhCH_2CO), 5,4–4,0 (9H, m), 3,66 (6H, s, 3',5'- OCH_3), 3,6–2,6 (6H, m), 1,35 (3H, d, $J = 5\text{ Hz}$, 8"- CH_3).

(b) Herstellung von 2",3"-Di-O-formyl-etoposid

Eine gerührte Lösung des Produktes aus Stufe (a) (71 mg, 0,009 mMol) in Ethanol/Aceton (4:1, 2,5 ml) hydriert man 1,5 h in Gegenwart von 10% Pd-C (50 mg) bei 1 atm. Den Katalysator filtriert man ab und konzentriert das Filtrat im Vakuum auf, wobei man die Titelverbindung in Form eines farblosen Pulvers (59 mg, etwa 100%) erhält. Geschätzte Reinheit 80% (durch HPLC).

SMP 278–280°C

IR $\nu_{\max}$ (KBr) cm^{-1} 3400, 1760, 1740, 1610UV $\lambda_{\max}$ (MeOH) nm (ϵ) 236 (sh, 14,000), 285 (4,230)

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 8,04 & 7,83 (jeweils 1H, s, CHO), 6,72 (1H, s, H-5), 6,53 (1H, s, H-8), 6,23 (2H, s, 2',6'-H), 5,98 (2H, s, OCH_2O), 5,6–4,1 (9H, m), 3,76 (6H, s, 3',5'- OCH_3), 3,7–2,6 (6H, m), 1,35 (3H, d, $J = 5\text{ Hz}$, 8"- CH_3).

Analyse berechnet für $\text{C}_{31}\text{H}_{32}\text{O}_{15}$: C 57,26; H 5,00

Gefunden: C 57,09; H 5,00

Beispiel 7

Herstellung von 4'-Benzoyloxycarbonyl-etoposid-2"-O-benzoat, -3"-benzoat und -2",3"-di-O-benzoat

Benzoylchlorid (100 μl , 0,86 mMol) gibt man zu einer Lösung von 4'-O-CBZ-etoposid (500 mg, 0,7 mMol) in Pyridin (5 ml). Das Reaktionsgemisch rührt man 3 Tage bei Zimmertemperatur, verdünnt mit Dichlormethan und wäscht nacheinander mit Wasser, 5%iger HCl und Wasser. Die organische Phase trocknet man über Na_2SO_4 , filtriert und konzentriert das Filtrat im Vakuum, wobei man ein blaßgelbes Öl erhält, welches drei neue Komponenten enthält (Silikagel-TLC: R_f 0,50, 0,38 und 0,21; Dichlormethan/Methanol = 100/1). Das Gemisch wird durch Silikagel-Säulenchromatographie (40% Hexan-Aceton) aufgetrennt, wobei man 2",3"-Di-O-benzoat 7 (R_f 0,50, 30 mg, 5%), 3"-O-Benzoat 6 (R_f 0,38, 227 mg, 40%), 2"-O-Benzoat 5 (R_f 0,21, 70 mg, 12%) und verbleibendes 4'-CBZ-etoposid 1 (215 mg, 43%) erhält.

4'-Benzyloxycarbonyl-etoposid-2"-O-benzoat (5)IR $\nu_{\max}$ (KBr) cm^{-1} 3400 (br), 1700, 1720, 1600UV $\lambda_{\max}$ (MeOH) nm (ϵ) 281 (4,050) ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,3–7,9 (10H, m, $2 \times \text{C}_6\text{H}_5$), 5,17 (1H, t, $J = 8\text{ Hz}$, 2"-HO), 5,01 (1H, d, $J = 8\text{ Hz}$, 1"-H), 4,77 (1H, q, $J = 5\text{ Hz}$, 7"-H), 3,2–3,8 (1H, m, 3"-H), 2,75 (1H, br, 3"-OH), 1,31 (3H, d, $J = 5\text{ Hz}$, 7"-CH₃).Analyse berechnet für $\text{C}_{44}\text{H}_{42}\text{O}_{16}$: C 63,92; H 5,12

Gefunden: C 63,80; H 5,17

4'-O-Benzyloxycarbonyl-etoposid-3"-O-benzoat (6)IR $\nu_{\max}$ (KBr) cm^{-1} 3500 (br), 1770, 1600UV $\lambda_{\max}$ (MeOH) nm (ϵ) 225 (sh, 30,890), 281 (4,300) ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,4–8,0 (10H, m, $2 \times \text{C}_6\text{H}_5$), 5,34 (1H, t, $J = 9\text{ Hz}$, 3"-H), 4,74 (1H, d, $J = 8\text{ Hz}$, 1"-H), 4,68 (1H, q, $J = 5\text{ Hz}$, 7"-H), 3,60 (1H, m, 2"-H), 1,28 (3H, d, $J = 5\text{ Hz}$, 7"-CH₃).Analyse berechnet für $\text{C}_{44}\text{H}_{42}\text{O}_{16}$: C 62,55; H 5,25

Gefunden: C 62,73; H 5,29

4'-O-Benzyloxycarbonyl-etoposid-2",3"-di-O-benzoat (7)IR $\nu_{\max}$ (KBr) cm^{-1} 1770, 1730, 1600UV $\lambda_{\max}$ (MeOH) nm (ϵ) 227 (sh, 40,270), 282 (4,550) ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,3–7,9 (10H, m, $2 \times \text{C}_6\text{H}_5$), 5,55 (1H, t, $J = 8\text{ Hz}$, 3"-H), 5,32 (1H, t, $J = 8\text{ Hz}$, 2"-H), 4,93 (1H, d, $J = 8\text{ Hz}$, 1"-H), 4,50 (1H, q, $J = 5\text{ Hz}$, 7"-H), 1,31 (3H, d, $J = 5\text{ Hz}$, 7"-CH₃).Analyse berechnet für $\text{C}_{51}\text{H}_{46}\text{O}_{17}$: C 65,80; H 4,55

Gefunden: C 65,28; H 4,98

Beispiel 8Herstellung von 2"-O-Benzoyl-etoposid (VIII, $\text{R}^1 = \text{CH}_3$, $\text{R}^2 = \text{H}$, $\text{R}^3 = \text{PhCO}$ -, $\text{R}^4 = \text{H}$)

Eine gerührte Lösung von 4'-Benzyloxycarbonyl-etoposid-2"-O-benzoat (54 mg, 0,07 mmol) in Ethanol/Aceton (2:1, 3 ml) hydriert man 2 h in Gegenwart von 10% Palladium-auf-Kohle (50 mg) bei 1 atm. Den Katalysator filtriert man ab und konzentriert das Filtrat auf, wobei man die Titelverbindung (40 mg, 88%) in Form eines farblosen Pulvers erhält. Geschätzte Reinheit: 95% (durch HPLC).

SMP 289–292°C.

IR $\nu_{\max}$ (KBr) cm^{-1} 3450, 1760, 1730UV $\lambda_{\max}$ (MeOH) nm (ϵ) 283 (4,470) ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,4–7,8 (5H, m, COC_6H_5), 5,07 (1H, dd, $J = 7,7$ & $9,2\text{ Hz}$, 2"-H), 4,89 (1H, d, $J = 7,7\text{ Hz}$, 1"-H), 4,80 (1H, q, $J = 5,1\text{ Hz}$, 7"-H), 4,23 (1H, dd, $J = 4,8$ & $10,3\text{ Hz}$, 6"-Heq), 3,98 (1H, dt, $J = 3,3$ & $9,2\text{ Hz}$, 3"-H), 3,64 (1H, t, $J = 10,3\text{ Hz}$, 6"-Hax), 3,47 (1H, t, $J = 9,2\text{ Hz}$, 4"-H), 3,40 (1H, dt, $J = 4,8$ & 10 Hz , 5"-H), 2,74 (1H, d, $J = 3,3\text{ Hz}$, 3"-OH), 1,41 (3H, d, $J = 5,1\text{ Hz}$, 7"-CH₃).Analyse berechnet für $\text{C}_{36}\text{H}_{36}\text{O}_{14} \cdot \text{H}_2\text{O}$: C 60,84; H 5,11

Gefunden: C 61,10; H 5,40

Beispiel 9Herstellung von 3"-O-Benzoyl-etoposid (VIII, $\text{R}^1 = \text{CH}_3$, $\text{R}^2 = \text{H}$, $\text{R}^3 = \text{H}$, $\text{R}^4 = \text{PhCO}$)

Gemäß dem Verfahren von Beispiel 8 werden 34 mg (0,04 mmol) 4'-O-Benzyloxycarbonyl-etoposid-3"-O-benzoat hydriert, wobei man die Titelverbindung (27 mg, 95%) in Form eines farblosen Feststoffes erhält, den man durch Säulenchromatographie reinigt, wobei man farblose Kristalle erhält. Geschätzte Reinheit 95% (durch HPLC).

SMP 188–191°C.

IR $\nu_{\max}$ (KBr) cm^{-1} 3400 (br), 1730UV $\lambda_{\max}$ (MeOH) nm (ϵ) 223 (35,900), 280 (4,030) ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,4–7,8 (5H, m, COPh), 5,38 (1H, t, $J = 9,2\text{ Hz}$, 3"-H), 4,79 (1H, d, $J = 7,7\text{ Hz}$, 1"-H), 4,72 (1H, q, $J = 5,1\text{ Hz}$, 7"-H), 4,22 (1H, dd, $J = 5$ & 10 Hz , 6"-Heq), 3,67 (1H, br, $J = 8\text{ Hz}$, 2"-H), 3,61 (1H, t, $J = 10\text{ Hz}$, 6"-Hax), 3,59 (1H, t, $J = 9,4\text{ Hz}$, 4"-H), 3,47 (1H, m, 5"-H), 2,58 (1H, br, 2"-OH), 1,31 (3H, d, $J = 5,1\text{ Hz}$, 7"-CH₃).Analyse berechnet für $\text{C}_{36}\text{H}_{36}\text{O}_{14} \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}$: C 59,31; H 4,98

Gefunden: C 59,14; H 5,10

Beispiel 10

Herstellung von 2'',3''-O-Di-benzoyl-etoposid (VIII, R¹ = CH₃, R² = H, R³ = R⁴ = PhCO-)

Eine gerührte Lösung von 4'-O-Benzoyloxycarbonyl-etoposid-2'',3''-di-O-benzoat (130 mg, 0,14 mmol) in Ethylacetat/Ethanol/Aceton (4:4:1; 4,5 ml) wird gemäß dem Verfahren von Beispiel 8 hydriert, wobei man die Titelverbindung (112 mg, etwa 100%) in Form eines farblosen Pulvers erhält. Geschätzte Reinheit: 90% (durch HPLC).

SMP > 295°C

IR $\nu_{\max}$ (KBr) cm⁻¹ 1770, 1730

UV $\lambda_{\max}$ (MeOH) nm (ε) 226 (sh, 24,200), 281, (3,470)

¹H NMR (CDCl₃) δ 7,3–8,0 (10H, m, 2 × COC₆H₅), 5,67 (1H, t, J = 9,5 Hz, 3''-H), 5,35 (1H, dd, J = 8,1 & 9,7 Hz, 2''-H), 4,98 (1H, d, J = 8,1 Hz, 1''-H), 4,73 (1H, q, J = 4,8 Hz, 7''-H), 4,28 (1H, dd, J = 4,4 & 10,3 Hz, 6''-Heq), 3,69 (1H, t, J = 9,5 Hz, 4''-H), 3,67 (1H, t, J = 10 Hz, 6''-Hax), 3,56 (1H, dt, J = 9,5 & 10 Hz, 5''-H), 1,33 (3H, d, J = 4,8 Hz, 7''-CH₃).

Analyse berechnet für C₄₃H₄₀O₁₅ · H₂O: C 63,39; H 5,20

Gefunden: C 62,99; H 4,99

Beispiel 11

Unter Befolgung des in Beispiel 1 angegebenen allgemeinen Verfahrens und bei Verwendung von 4'-CBZ-teniposid anstelle von 4'-CBZ-etoposid erhält man 2'',3''-Di-O-acetyl-teniposid.

Beispiel 12

Bei Wiederholung der allgemeinen Verfahren gemäß den Beispielen 2 bis 4 und Verwendung von 4'-CBZ-teniposid anstelle von 4'-CBZ-etoposid erhält man 2''-O-Acetyl-teniposid und 3''-O-Acetyl-teniposid.

Beispiel 13

Bei Befolgung des allgemeinen Verfahrens gemäß Beispiel 6 und Verwendung von 4'-CBZ-teniposid anstelle von 4'-CBZ-etoposid erhält man 2'',3''-Di-O-formyl-teniposid.

Beispiel 14

Bei Befolgung der allgemeinen Verfahren gemäß den Beispielen 7 bis 10 und Verwendung von 4'-CBZ-teniposid anstelle von 4'-CBZ-etoposid erhält man 2''-O-Benzoyl-teniposid, 3''-O-Benzoyl-teniposid und 2'',3''-Di-O-benzoyl-teniposid.