

(12) Ausschließungspatent

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1 Patentgesetz

(19) **DD** (11) **274 423 A5**4(51) C 07 H 17/04  
A 61 K 31/70

## AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21)	AP C 07 H / 318 652 3	(22)	03.08.88	(44)	20.12.89
(31)	USSN081,493	(32)	04.08.87	(33)	US
	USSN199,731		27.05.87		

(71) siehe (73)  
 (72) Saulnier, Mark G.; Senter, Peter D.; Kadow, John F., US  
 (73) Bristol-Myers Company New York, N. Y. 10154, US  
 (74) Internationales Patentbüro Berlin, Wallstraße 23/24, Berlin, 1020, DD

(54) Verfahren zur Herstellung von Epipodophyllotoxinglucosid-4'-phosphat-Derivaten

(55) Herstellung, Prodrug, Epipodophyllotoxinglucosid-Derivate, 4'-Phosphatderivate, Etoposid, Teniposid, Antitumormittel therapeutische Verwendung

(57) Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von neuartigen 4'-Phosphatderivaten von Epipodophyllotoxinglucosiden. Die über das erfindungsgemäße Verfahren hergestellten Verbindungen sind als Antitumormittel therapeutisch anwendbar.

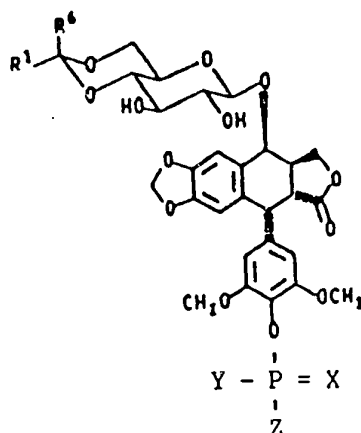
1 15/29195

5

Patentansprüche:

1. Verfahren zur Herstellung von Epipodophyllotoxinglucosid-4'-phosphat-Derivaten der allgemeinen Formel:

10



15

20

worin Y für  $OR^7$  und Z für  $OR^8$  steht; oder Y für Chlor, OH oder  $NR^4R^5$  steht und Z für  $NR^2R^3$  steht;

worin  $R^6$  für Wasserstoff steht und  $R^1$  ausgewählt ist

25

unter  $(C_{1-10})$ -Alkyl,  $(C_{2-10})$ -Alkenyl,  $(C_{5-6})$ -Cycloalkyl, 2-Furyl, 2-Thienyl,  $(C_{6-10})$ -Aryl,  $(C_{7-14})$ -Aralkyl und  $(C_{8-14})$ -Aralkenyl, wobei jeder aromatische Ring unsub-

stituiert oder mit einer oder mehreren Gruppen substituiert

sein kann, die ausgewählt sind unter Halo,  $(C_{1-8})$ -Alkyl,

30

$(C_{1-8})$ -Alkoxy, Hydroxy, Nitro und Amino; oder

$R^1$  und  $R^6$  jeweils einen  $(C_{1-8})$ -Alkylrest bedeuten; oder

$R^1$  und  $R^6$  und das Kohlenstoffatom, an welches sie gebunden sind, eine  $(C_{5-6})$ -Cycloalkylgruppe bilden;

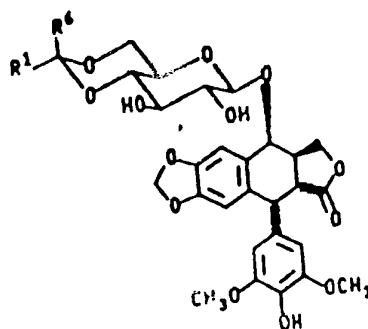
X für Sauerstoff oder Schwefel steht;

35

$R^7$  und  $R^8$  unabhängig voneinander aus der Gruppe folgender

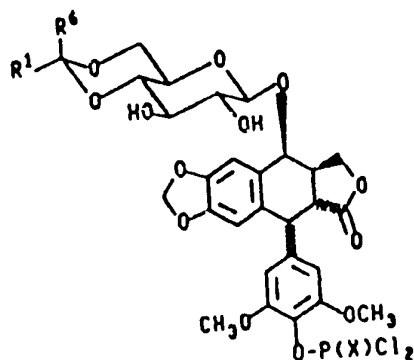
- 1 Reste ausgewählt sind: einem Wasserstoffatom, einem  
 (C<sub>1-5</sub>)-Alkyl-, A-substituierten (C<sub>1-5</sub>)-Alkyl-, (C<sub>3-6</sub>)-  
 Cycloalkyl-, A-substituierten (C<sub>3-6</sub>)-Cycloalkyl-,  
 (C<sub>6-10</sub>)-Aryl-, A-substituierten Aryl-, alkylsubstituier-  
 5 ten Aryl-, (C<sub>7-14</sub>)-Aralkyl-, A-substituierten Aralkyl-  
 und alkylsubstituierten Aralkylrest;  
 R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> und R<sup>5</sup> jeweils unabhängig voneinander aus  
 der Gruppe folgender Reste ausgewählt sind: einem  
 Wasserstoffatom, einem (C<sub>1-5</sub>)-Alkyl-, (C<sub>2-5</sub>)-Alkenyl-,  
 10 (C<sub>3-6</sub>)-Cycloalkyl-, A-substituierten (C<sub>1-5</sub>)-Alkyl-,  
 A-substituierten (C<sub>2-5</sub>)-Alkenyl- und A-substituierten  
 (C<sub>3-6</sub>)-Cycloalkylrest; oder  
 R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> und das Stickstoffatom, an welches sie gebunden  
 sind, zusammen einen 3- bis 6-gliedrigen Ring bilden;  
 15 oder  
 R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup> und das Stickstoffatom, an welches sie gebunden  
 sind, zusammen einen 3- bis 6-gliedrigen Ring bilden;  
 wobei die A-Substituenten eine oder mehrere Gruppen  
 ausgewählt unter einem Hydroxy-, Alkoxy-, Alkanoyloxy-,  
 20 Cyano-, Amino-, Alkylamino-, Dialkylamino-, Carboxy-,  
 Alkylthio-, Mercapto-, Mercaptothio-, Nitropyridyl-  
 disulfid-, Alkanoylamino-, Alkanoyl-, Carbamoyl-, Nitro-  
 und Halorest bedeuten,  
 d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , d a ß  
 25 man

(a) eine Verbindung der allgemeinen Formel IX



IX

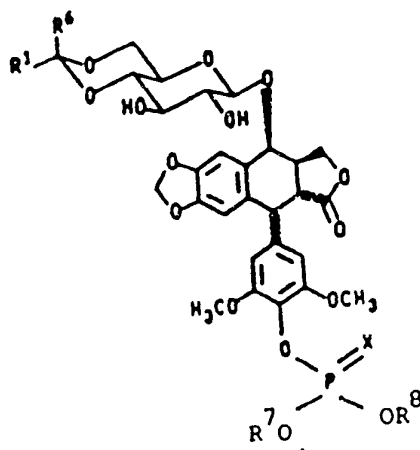
mit einer Verbindung der allgemeinen Formel  $P(X)Cl_2$ ,  
in Gegenwart eines Wasserstoffakzeptors zu einem  
Zwischenprodukt der allgemeinen Formel VIII



VIII

worin  $R^1$ ,  $R^6$  und  $X$  der oben angegebenen Definition entsprechen,  
umsetzt; oder

eine Verbindung der allgemeinen Formel IX mit einer  
Verbindung der allgemeinen Formel  $Hal-P(X)(OR^7)(OR^8)$ ,  
worin  $R^7$ ,  $R^8$  und  $X$  der oben gegebenen Definition ent-  
sprechen, zu einer Verbindung der allgemeinen Formel V

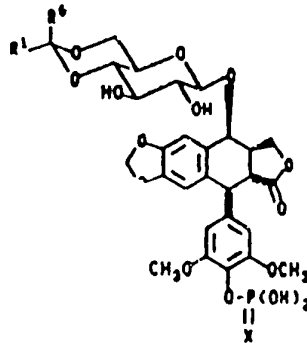


V

umsetzt; und

(b) eine Verbindung der allgemeinen Formel VIII gegebenen-

falls in Gegenwart einer Base hydrolysiert oder eine Verbindung der allgemeinen Formel V, in der  $R^7$  und/oder  $R^8$  nicht für ein Wasserstoffatom stehen, in Gegenwart eines Katalysators hydrogeniert, wobei man eine Verbindung der allgemeinen Formel VI



VI

oder ein pharmazeutisch verträgliches Salz davon erhält; oder

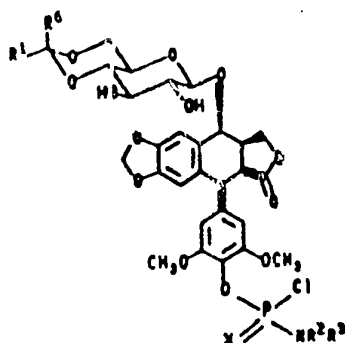
(c) eine Verbindung der allgemeinen Formel VIII jeweils mit mindestens einem Äquivalent  $R^7OH$  und  $R^8OH$  in Gegenwart eines Wasserstoffakzeptors umgesetzt, worin  $R^7$  und  $R^8$  der oben gegebenen Definition entsprechen, mit der Maßgabe, daß  $R^7$  und  $R^8$  nicht gleichzeitig für ein Wasserstoffatom stehen; und wenn  $R^7$  oder  $R^8$  ein Wasserstoffatom bedeutet, die Verbindung gegebenenfalls durch Behandlung mit einer Base in ein pharmazeutisch verträgliches Salz überführt; oder

(d) eine Verbindung der allgemeinen Formel VIII mit einem Amin der allgemeinen Formel  $HNR^2R^3$  oder einem Säureadditionssalz davon, worin  $R^2$  und  $R^3$  der oben gegebenen Definition entsprechen, zu einer Verbindung der allgemeinen Formel VII a

1

5

10



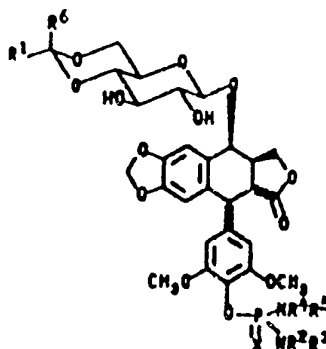
VIIa

umsetzt und

15

- (e) gegebenenfalls eine Verbindung der allgemeinen Formel VIIa mit einem zweiten Amin der allgemeinen Formel  $\text{HNR}^4\text{R}^5$  oder einem Säureadditionssalz davon, worin  $\text{R}^4$  und  $\text{R}^5$  der oben gegebenen Definition entsprechen, zu einer Verbindung der allgemeinen Formel VIIb

20



VIIb

25

30

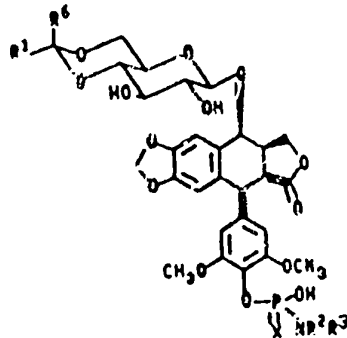
umsetzt; oder

- (f) eine Verbindung der allgemeinen Formel VIIa gegebenenfalls in Gegenwart einer Base zu einer Verbindung der allgemeinen Formel VIIc

35

1

E



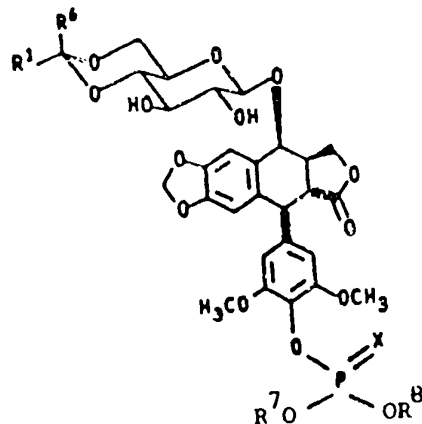
VII c

10

oder einem pharmazeutisch verträglichen Salz davon,  
hydrolysiert.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß  
man eine Verbindung der allgemeinen Formel

15



20

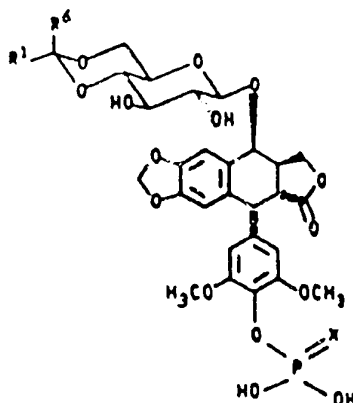
25

oder ein pharmazeutisch verträgliches Salz davon  
erhält, worin  $R^1$ ,  $R^6$ ,  $R^7$ ,  $R^8$  und  $X$  der oben gegebenen  
Definition entsprechen.

30

3. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß  
man eine Verbindung der allgemeinen Formel

35



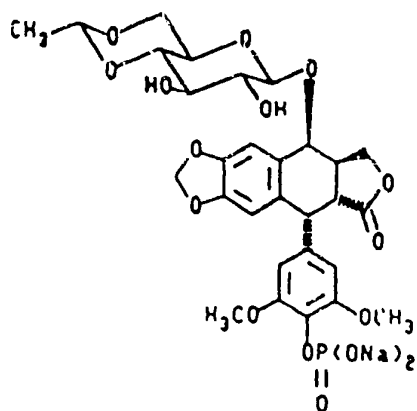
oder ein pharmazeutisch verträgliches Salz davon erhält, worin  $R^1$ ,  $R^6$  und  $X$  der oben gegebenen Definition entsprechen.

4. Verfahren nach Anspruch 2 oder 3, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung erhält, worin  $R^6$  ein Wasserstoffatom und  $R^1$  eine Methyl- oder 2-Thienylgruppe bedeutet.
5. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung erhält, worin  $R^6$  ein Wasserstoffatom und  $R^1$  eine Methylgruppe bedeutet.
6. Verfahren nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung erhält, worin  $X$  ein Sauerstoffatom bedeutet.
7. Verfahren nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung erhält, worin  $X$  ein Schwefelatom bedeutet.
8. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß man als pharmazeutisch verträgliches Salz das Natrium-salz der Verbindungen erhält.
9. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß

1 man Etoposid-4'-phosphat-dinatriumsalz der Formel

5

10

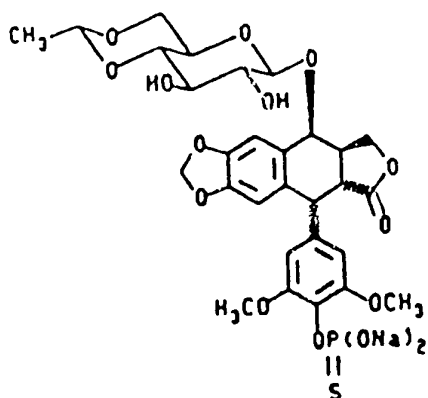


erhält.

15 10. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß  
man Etoposid-4'-thiophosphat-dinatriumsalz der Formel

20

25



erhält.

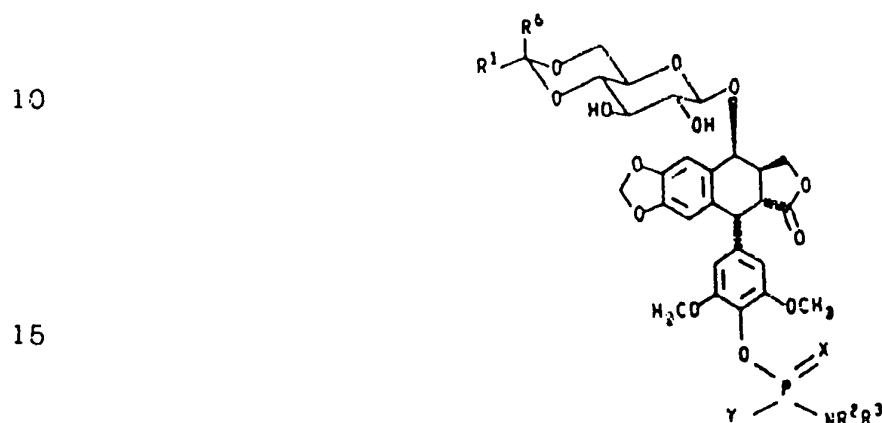
30

35

11. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß  
man eine Verbindung erhält, worin  $R^7$  aus der Gruppe  
folgender Reste ausgewählt ist:  $(C_{1-5})$ -Alkyl-, A-  
substituierter  $(C_{1-5})$ -Alkyl-,  $(C_{3-6})$ -Cycloalkyl-,  
A-substituierter  $(C_{3-6})$ -Cycloalkyl-,  $(C_{6-10})$ -Aryl-,

- 1 A-substituierter Aryl-, alkylsubstituierter Aryl-,  
(C<sub>7-14</sub>)-Aralkyl-, A-substituierter Aralkyl- und alkyl-  
substituierter Aralkylrest; und R<sup>8</sup> für ein Wasserstoff-  
atom oder für eine Gruppe entsprechend der Definition  
5 von R<sup>7</sup> steht; worin die A-Substituenten der oben ge-  
gebenen Definition entsprechen; oder ein pharmazeutisch  
verträgliches Salz davon erhält.
12. Verfahren nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet,  
10 daß man eine Verbindung erhält, worin R<sup>6</sup> ein Wasser-  
stoffatom und R<sup>1</sup> eine Methyl- oder 2-Thienylgruppe be-  
deutet.
13. Verfahren nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet,  
15 daß man eine Verbindung erhält, worin R<sup>7</sup> und R<sup>8</sup> jeweils  
unabhängig voneinander aus der Gruppe folgender Reste  
ausgewählt sind: (C<sub>1-5</sub>)-Alkyl-, halosubstituierter  
(C<sub>1-5</sub>)-Alkyl-, cyanosubstituierter (C<sub>1-5</sub>)-Alkyl-,  
(C<sub>6-10</sub>)-Aryl- und (C<sub>7-14</sub>)-Aralkylrest; worin der  
20 Ring der Aryl- und Arylalkylgruppen gegebenenfalls  
mit einer oder mehreren Gruppen ausgewählt unter einem  
Alkyl-, Halo- und Nitrorest substituiert ist.
14. Verfahren nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß  
25 man eine Verbindung erhält, worin R<sup>1</sup> eine Methylgruppe  
bedeutet.
15. Verfahren nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, daß  
30 man eine Verbindung erhält, worin X für ein Sauerstoff-  
atom steht.
16. Verfahren nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, daß  
man eine Verbindung erhält, worin R<sup>7</sup> und R<sup>8</sup> jeweils eine  
Phenylgruppe bedeuten.

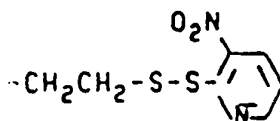
- 1 17. Verfahren nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, daß  
man eine Verbindung erhält, worin  $R^7$  und  $R^8$  jeweils eine  
2,2,2-Trichlorethylgruppe bedeuten.
- 5 18. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß  
man eine Verbindung der allgemeinen Formel



oder ein pharmazeutisch verträgliches Salz davon er-  
hält, worin  $R^1$  bis  $R^6$ , X und Y der oben gegebenen  
Definition entsprechen.

19. Verfahren nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, daß  
man eine Verbindung erhält, worin  $R^6$  für ein Wasserstoff-  
atom steht,  $R^1$  eine Methyl- oder 2-Thienylgruppe bedeutet;  
Y für Chlor oder  $NR^4R^5$  steht; X für Sauerstoff oder  
Schwefel steht; und  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  und  $R^5$  jeweils unabhängig  
voneinander aus der Gruppe folgender Reste ausgewählt  
sind: Wasserstoffatom,  $(C_{1-5})$ -Alkyl-, halosubstituierter  
 $(C_{1-5})$ -Alkyl-, hydroxysubstituierter  $(C_{1-5})$ -Alkyl- und  
nitropyridyldisulfidsubstituierter  $(C_{1-5})$ -Alkylrest.
20. Verfahren nach Anspruch 19, dadurch gekennzeichnet, daß  
man eine Verbindung erhält, worin X für Sauerstoff steht.

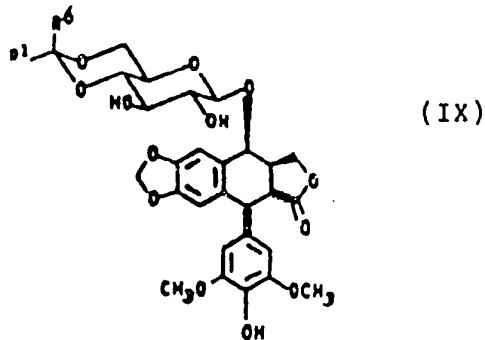
- 1 21. Verfahren nach Anspruch 20, dadurch gekennzeichnet, daß  
man eine Verbindung erhält, worin  $R^1$  für eine Methyl-  
gruppe steht.
- 5 22. Verfahren nach Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, daß  
man eine Verbindung erhält, worin  $R^2$  und  $R^3$  jeweils eine  
2-Chlorethylgruppe bedeuten und Y für Chlor steht.
- 10 23. Verfahren nach Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, daß  
man eine Verbindung erhält, worin Y für  $NR^4R^5$  steht.
- 15 24. Verfahren nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, daß  
man eine Verbindung erhält, worin  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  und  $R^5$  je-  
weils eine Ethylgruppe bedeuten.
- 20 25. Verfahren nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, daß  
man eine Verbindung erhält, worin  $R^2$  und  $R^3$  jeweils  
eine 2-Chlorethylgruppe bedeuten;  $R^4$  für Wasserstoff  
steht; und  $R^5$  eine 3-Hydroxypropylgruppe bedeutet.
26. Verfahren nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, daß  
man eine Verbindung erhält, worin  $R^2$  und  $R^3$  jeweils  
eine 2-Chlorethylgruppe bedeuten;  $R^4$  für ein Wasser-  
stoffatom steht und  $R^5$  für



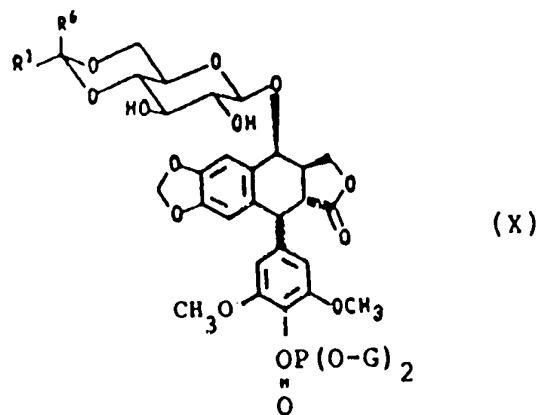
steht.

- 30 27. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung nach An-  
spruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß man
- (a) eine Verbindung der allgemeinen Formel (IX)

42



10 in eine Verbindung der allgemeinen Formel(X)



20 überführt, worin  $R^1$ ,  $R^6$  und X der oben gegebenen Definition entsprechen und G eine Phosphatschutzgruppe bedeutet,

- 25 (b) die Phosphatschutzgruppe entfernt und
- (c) das aus Stufe (b) erhaltene Produkt gegebenenfalls in ein pharmazeutisch verträgliches Salz überführt.

30 28. Verfahren nach Anspruch 27, dadurch gekennzeichnet, daß die Umsetzung einer Verbindung der allgemeinen Formel IX mit einer Verbindung der allgemeinen Formel  $\text{Hal-P(X)(O-G)}_2$  in Acetonitril oder  $(\text{C}_{2-5})\text{CN}$  sowie in Gegenwart eines Trialkylamins erfolgt, wobei Hal für Halogen steht, und X und G der oben gegebenen Definition entsprechen.

35

1

5 Anwendungsgebiet der Erfindung

Die vorliegende Erfindung betrifft Verfahren zur Herstellung von neuartigen 4'-Phosphatderivaten von Epipodophyllotoxinglucosiden.

10

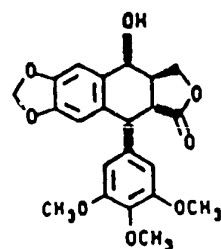
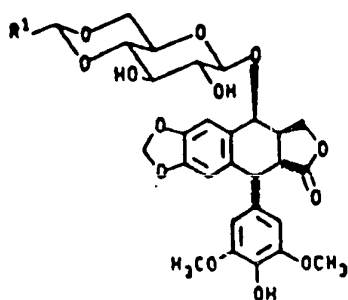
Charakteristik des bekannten Standes der Technik

Etoposid (VP-16, I) und Teniposid (VM-26, II) sind klinisch anwendbare Antikrebsmittel, welche von natürlich vorkommendem Lignan, Podophyllotoxin (III), abgeleitet sind. Etoposid und  
15 Teniposid werden zu einer Verbindungsklasse gerechnet, welche auch als 4'-Demethylepipodophyllotoxinglucoside bezeichnet wird. Etoposid und Teniposid eignen sich zur Behandlung einer Vielzahl von Krebsarten einschließlich des Hoden-, kleinzelligen Lungen-, Eierstock-, Brust-, Schilddrüsen-, Harn-  
20 blasen-, Gehirnkrebses sowie der nicht-lymphatischen Leukämie und der Hodgkin'schen Krankheit.

Verbindungen I und II und deren Herstellungsverfahren sind im US-Patent 3 408 441 sowie im US-Patent 3 524 844 beschrieben. Die darin beschriebenen Verbindungen, insbesondere  
25 Etoposid und Teniposid, dienen als Ausgangsmaterial zur Herstellung der erfindungsgemäßen Epipodophyllotoxinglucosid-4'-phosphatderivate.

30

35



- I  $R^1 = CH_2$   
 II  $R^1 = 2\text{-Thienyl}$

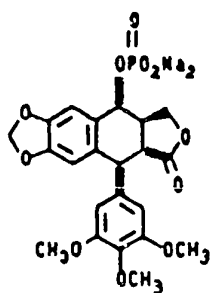
III

Die Phosphorylierung therapeutischer Verbindungen, welche eine Hydroxygruppe enthalten, ist ein geeignetes Hilfsmittel zur Maskierung der pharmakologischen Wirkung. Die phosphorylierten Derivate werden dabei in vivo durch eine Phosphatase gespalten, wodurch das aktive Ausgangsmolekül freigesetzt wird. Eine kurze Diskussion über die Verwendung von Phosphaten als potentielle Prodrugs ist in folgendem Übersichtsartikel enthalten: "Rational for Design of Biologically Reversible Drug Derivatives: Prodrugs" (Sinkula und Yalkowsky, J. Pharm. Sci., 1975, 64:181-210 bei 189-191. Beispiele für Phosphate bekannter Antitumormittel sind Camptothecin (Japan Kokai 21-95,394 und 21-95,393, Dersent Abst. No. 87-281016 und 87-281015) und Daurorubicin (US-Patent 4 185 111).

Das Podophyllotoxinphosphat-dinatriumsalz IV wurde von Seligman et al. hergestellt. Dieses Phosphat wurde jedoch nicht von prostaticher saurer Phosphatase hydrolysiert und zeigte außerdem gegenüber nicht-derivatisiertem Podophyllotoxin keine verminderte Toxizität (Cancer Chemotherapy Reports Teil I, 1975, 59:233-242).

1

5



IV

10 Die vorliegende Erfindung beschreibt Verfahren zur Herstel-  
 lung von Phosphatestern der 4'-Demethylepipodophyllotoxin-  
 glucoside, welche aktive Antitumormittel darstellen. Ins-  
 besondere die Dihydrogenphosphate von 4'-Demethylepipodo-  
 phyllotoxinglucosiden und deren Salze sind stark wasser-  
 15 löslich und besitzen somit einen überlegenen pharmazeuti-  
 schen Vorteil gegenüber anderen therapeutischen Mitteln  
 dieser Klasse, wie Etoposid und Teniposid, welche nur ger-  
 ringfügig wasserlöslich sind.

20

#### Ziel der Erfindung

Ziel der Erfindung ist die Bereitstellung von Epipodo-  
 phyllotoxinglucosid-4'-phosphatderivaten, welche als  
 Antitumormittel therapeutisch anwendbar sind.

25

#### Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zur  
 Herstellung von Epipodophyllotoxinglucosid-4'-phosphat-  
 30 derivaten zur Verfügung zu stellen.

Die vorliegende Erfindung beschreibt somit 4'-Phosphat-  
 derivate von 4'-Demethylepipodophyllotoxinglucosiden der  
 allgemeinen Formel V sowie deren pharmazeutisch verträgliche  
 35 Salze:

1

5

10

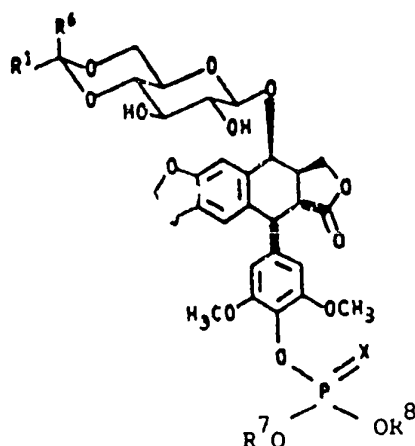
15

20

25

30

35



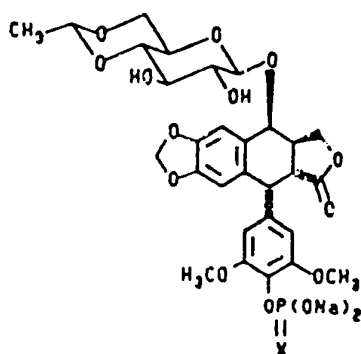
worin  $R^6$  für Wasserstoff steht und  $R^1$  ausgewählt ist unter  $(C_{1-10})$ -Alkyl,  $(C_{2-10})$ -Alkenyl,  $(C_{5-6})$ -Cycloalkyl, 2-Furyl, 2-Thienyl,  $(C_{6-10})$ -Aryl,  $(C_{7-14})$ -Aralkyl und  $(C_{8-14})$ -Aralkenyl, worin jeder aromatische Ring unsubstituiert oder mit einer oder mehreren Gruppen ausgewählt unter Halo,  $(C_{1-8})$ -Alkyl,  $(C_{1-8})$ -Alkoxy, Hydroxy, Nitro und Amino, substituiert sein kann; oder  $R^1$  und  $R^6$  jeweils für einen  $(C_{1-8})$ -Alkylrest stehen; oder  $R^1$  und  $R^6$  zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an welches sie gebunden sind, eine  $(C_{5-6})$ -Cycloalkylgruppe bilden; X für Sauerstoff oder Schwefel steht;  $R^7$  und  $R^8$  jeweils unabhängig voneinander ausgewählt sind unter Wasserstoff,  $(C_{1-5})$ -Alkyl, A-substituiertes  $(C_{1-5})$ -Alkyl,  $(C_{3-6})$ -Cycloalkyl, A-substituiertes  $(C_{3-6})$ -Cycloalkyl,  $(C_{6-10})$ -Aryl, A-substituiertes Aryl, alkylsubstituiertes Aryl,  $(C_{7-14})$ -Aralkyl, A-substituiertes Aralkyl und alkylsubstituiertes Aralkyl; worin die A-Substituenten eine oder mehrere Gruppen, ausgewählt unter Hydroxy, Alkoxy, Alkanoyloxy, Cyano, Amino, Alkylamino, Dialkylamin, Carboxy, Alkylthio, Mercapto, Mercaptothio, Nitropyridyl-disulfid, Alkanoylamino, Alkanoyl, Carbamoyl, Nitro und Halo, darstellen.

Die Salze der Verbindungen V beinhalten sowohl monoanionische als auch dianionische Salze. Das Kation kann ein Metallion der Alkalimetall- oder Erdalkalimetallgruppe

- 1 oder ein anderes herkömmliches Metallion oder eine organische stickstoffhaltige Gruppe, wie eine Ammonium-, Mono-, Di- oder Trialkylammoniumgruppe oder eine Pyridiniumgruppe sein. Das Kation wird vorzugsweise ausgewählt unter Natrium,
- 5 Kalium, Lithium, Cäsium, Magnesium, Calcium, Aluminium, Ammonium und Mono-, Di- und Trialkylammonium. In einer bevorzugten Ausführungsform werden Verbindungen der allgemeinen Formel V, worin  $R^7$  und  $R^8$  jeweils für Wasserstoff stehen, sowie deren pharmazeutisch verträgliche Salze hergestellt.
- 10 Die am meisten bevorzugte Ausführungsform stellen Etoposid-4'-dihydrogenphosphat und -thiophosphat sowie deren jeweilige Dinatriumsalze VIA und VIB dar.

15

20



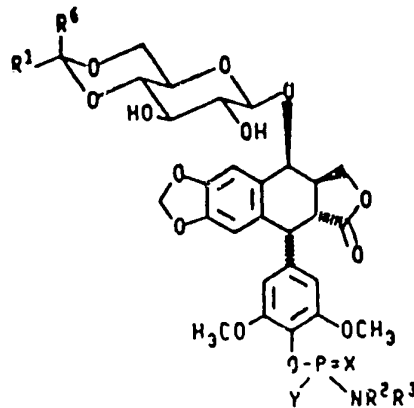
VI

a: X = O  
b: X = S

- Eine weitere bevorzugte Ausführungsform beinhaltet Verbindungen der allgemeinen Formel V, worin  $R^7$  und  $R^8$  identisch sind und aus der Gruppe folgender Reste ausgewählt sind:
- 25 2,2,2-Trifluoroethyl-, 2-Cyanoethyl-,  $(C_{1-5})$ -Alkyl-, Phenyl- und Phenylalkyl-Rest, worin der Phenylring gegebenenfalls alkyl-, halogen- oder nitro-substituiert ist.

- 30 Die vorliegende Erfindung betrifft außerdem Antitumor-phosphoramidatderivate der allgemeinen Formel VII sowie deren pharmazeutisch verträgliche Salze:

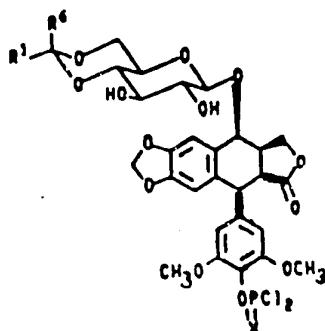
35



VII

worin  $R^1$ ,  $R^6$  und  $X$  der oben gegebenen Definition entsprechen,  $Y$  für Chlor, OH oder  $NR^4R^5$  steht;  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  und  $R^5$  jeweils unabhängig voneinander ausgewählt sind unter Wasserstoff,  $(C_{1-5})$ -Alkyl,  $(C_{2-5})$ -Alkenyl,  $(C_{3-6})$ -Cycloalkyl, A-substituiertes  $(C_{1-5})$ -Alkyl, A-substituiertes  $(C_{2-5})$ -Alkenyl, A-substituiertes  $(C_{3-6})$ -Cycloalkyl; oder worin  $R^2$ ,  $R^3$  und das Stickstoffatom, an welches sie gebunden sind, einen 3- bis 6-gliedrigen Ring darstellen; oder worin  $R^4$  und  $R^5$  und das Stickstoffatom, an welches sie gebunden sind, einen 3- bis 6-gliedrigen Ring darstellen; worin die A-Substituenten der oben gegebenen Definition entsprechen.

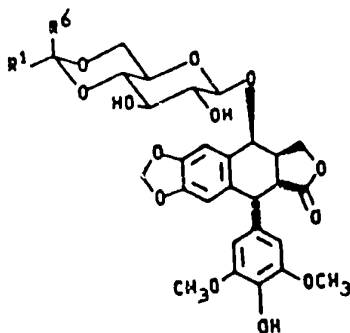
Die vorliegende Erfindung betrifft außerdem Dichlorphosphat-Zwischenprodukte der allgemeinen Formel VIII, worin  $R^1$ ,  $R^6$  und  $X$  der oben gegebenen Definition entsprechen. Diese Verbindungen eignen sich zur Herstellung von Verbindungen der allgemeinen Formel V.



VIII

Die Erfindung betrifft außerdem ein Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der allgemeinen Formel V, worin  $R^7$  und  $R^8$  jeweils ein Wasserstoffatom bedeuten sowie die Herstellung der pharmazeutisch verträglichen Salze davon, umfassend

(a) die Umsetzung einer Verbindung der allgemeinen Formel IX



IX

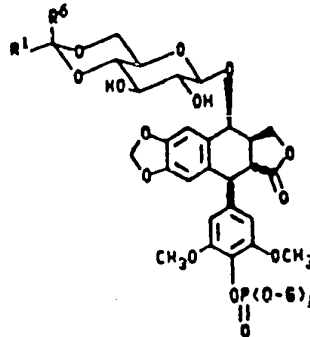
zu einer Verbindung der allgemeinen Formel X, worin  $R^1$ ,  $R^6$  und X der oben gegebenen Definition entsprechen und G eine Phosphatschutzgruppe bedeutet;

(b) Entfernung der Phosphatschutzgruppe; und

- 1 (c) gegebenenfalls eine weitere Umsetzung des Produktes aus  
 Stufe (b, zu einem pharmazeutisch verträglichen Salz.

5

10



x

15 Nicht beschränkende Beispiele für Phosphatschutzgruppen sind  
 Reste entsprechend der oben gegebenen Definition für  $R^7$  mit  
 Ausnahme von Wasserstoff.

20 Sofern nicht anders angegeben, steht "Alkyl" für gerade oder  
 verzweigte Kohlenstoffketten mit vorzugsweise 1 bis 6, insbe-  
 sondere 1 bis 4 Kohlenstoffatomen; "Halo" beinhaltet Brom,  
 Chlor, Fluor und Jod; "Etopofos" steht für die Verbindung  
 Etoposid-4'-phosphatdinatriumsalz (d.h. Verbindung VIa).  
 Aryl steht vorzugsweise für Phenyl.

25 Die Phenolgruppe von 4'-Demethylepipodophyllotoxinglucosiden  
 kann mit Phosphoroxchlorid und Thiophosphorylchlorid unter  
 Bildung des entsprechenden Dichlorphosphates bzw. Dichlor-  
 thiophosphates (Formel VIII) phosphoryliert werden. Die  
 Phosphorylierungsreaktion wird in einem geeigneten wasser-  
 freien organischen Lösungsmittel, beispielsweise Acetonitril  
 30 und vorzugsweise in Gegenwart einer tertiären Aminbase, z.B.  
 N,N-Diisopropylethylamin, durchgeführt. Der Reaktionsverlauf  
 kann durch Dünnschichtchromatographie (TLC) verfolgt werden,  
 wobei die optimale Reaktionszeit über die Entstehung des  
 Produktes oder über das Abreagieren des Ausgangsmaterials,  
 35 oder über beide Bestimmungen, abgeschätzt werden kann. Er-  
 fahrungsgemäß beträgt die Reaktionszeit zwischen 4 und 72 h.

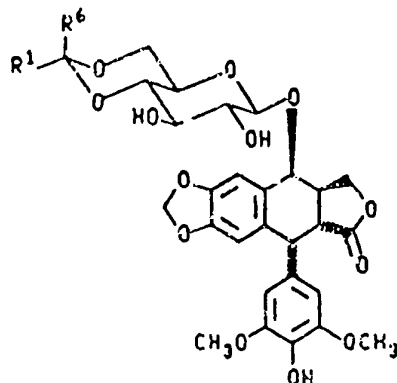
- 1 Die Länge der erforderlichen Reaktionszeit scheint in erster Linie von der Qualität des eingesetzten Phosphorylierungsmittels abhängig zu sein.
- 5 Die 4'-Dichlorophosphate der allgemeinen Formel VIII stellen vielseitige Zwischenprodukte dar, welche mit Nukleophilen zu einer Vielzahl von Phosphat- und Thiophosphatderivaten weiter umgesetzt werden können. Die Zwischenprodukte kann man somit zu den Phosphaten hydrolysieren, wobei man in Gegenwart einer Base die Phosphatsalze erhält. Behandelt man z.B. VIII mit überschüssiger wäßriger Natriumbicarbonatlösung, so erhält man das entsprechende 4'-Phosphat-dinatriumsalz bzw. das 4'-Thiophosphat-dinatriumsalz. Bicarbonate anderer Kationen, wie Kalium und Ammonium, kann man ebenso zur Herstellung der entsprechenden Salze verwenden. Die Dichlorphosphat-Zwischenstufe VIII kann mit Aminen unter Bildung der entsprechenden Phosphordiamidate oder Chlorphosphormonoamidate umgesetzt werden. Nicht beschränkende Beispiele für geeignete Amine sind Ammoniak, primäre Amine, wie Ethylamin, Chlorethylamin, Allylamin, Dimethylaminopropylamin, Hydroxyethylamin, Cyclohexylamin und Aminocyclohexanol; sowie sekundäre Amine, wie Diethylamin, Piperidin, Ethylmethylamin, Methylaminoethanol, Ethylbutylamin und ähnliche. Die Menge des eingesetzten Amins, bezogen auf Epipodophyllotoxin-dichlorphosphat kann so gewählt werden, daß das eine oder das andere Reaktionsprodukt bevorzugt entsteht. Wenn z.B. ein großer Überschuß an Amin bezüglich Epipodophyllotoxin verwendet wird, erhält man das symmetrische Phosphordiamidat, d.h. Verbindungen der allgemeinen Formel VII, worin Y für  $\text{NR}^2\text{R}^3$  steht; das Chlorphosphormonoamidat, d.h. Verbindungen der allgemeinen Formel VII, worin Y für Chlor steht, können dadurch hergestellt werden, daß man die Menge des eingesetzten Amins kontrolliert. Das Chlorphosphormonoamidat kann unter Bildung von Verbindungen der allgemeinen Formel VII oder deren Salzen, sowie

- 1 Y für OH steht, hydrolysiert werden, oder man setzt es mit  
 einem anderen Amin um, wobei das unsymmetrische Phosphor-  
 diamidat, d.h. Verbindungen der allgemeinen Formel VII,  
 worin Y für  $\text{NR}^4\text{R}^5$  steht, und ungleich  $\text{NR}^2\text{R}^3$  ist, entsteht.

5

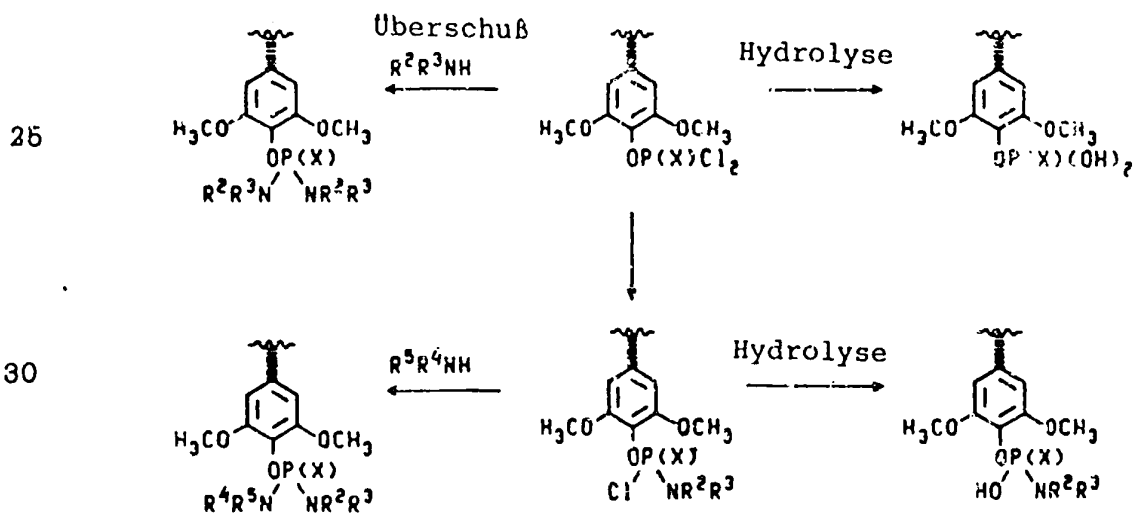
Das oben beschriebene Verfahren ist im folgenden Reaktions-  
 schema beschrieben.

10



15

20



30

35

1 Phosphattriester sind Verbindungen der allgemeinen Formel V,  
worin  $R^7$  und  $R^8$  kein Wasserstoffatom bedeuten und können  
durch Umsetzung von 4'-Demethylepipodophyllotoxinglucosid  
mit einem Halophosphat-diester (d.h.  $\text{Hal-P(X)(OR}^7\text{)(OR}^8\text{)}$ )  
5 gebildet werden. Es wurde gefunden, daß diese Reaktion am  
günstigsten in Acetonitril sowie in Gegenwart einer organi-  
schen Trialkylaminbase durchgeführt wird. Die bevorzugte  
Base ist Diisopropylethylamin. Es wird mindestens ein  
Äquivalent des Halophosphates und der Aminbase eingesetzt,  
10 bei den Verbindungen werden aber vorzugsweise in molaren Äqui-  
valenten und in geringem Überschuß bezüglich des Epipodo-  
phyllotoxinglucosides verwendet. Die Reaktion kann bei  
jeder beliebigen Temperatur, welche zur Produktbildung  
führt erfolgen; jedoch scheinen geringfügig erhöhte  
15 Temperaturen (d.h. 30 - 40°C) die Reaktion zu begünstigen,  
deren Ende erst nach mehreren Tagen erreicht werden kann.  
Symmetrische Halophosphatdiester (d.h.  $R^7 = R^8$ ) können  
auf herkömmliche Weise aus dem Alkohol und z.B. Phosphoryl-  
chlorid hergestellt werden, während unsymmetrische Diester  
20 (d.h.  $R^7 \neq R^8$ ) aus dem Alkohol und dem Dihalophosphatester  
hergestellt werden. Es ist außerdem möglich, Phosphattri-  
ester auf anderen Wegen herzustellen, z.B. indem man das  
Phenol in den entsprechenden Phosphitester, z.B. durch  
Umsetzung mit einem Reagens, wie  $(\text{PhCH}_2\text{O})_2\text{PN(i-pr)}_2$ , über-  
26 führt und anschließend das Phosphat unter Verwendung von  
z.B. m-Chlorperbenzoesäure, zum Phosphatester oxidiert.

Phosphattriester können auch als Zwischenstufen zur Her-  
stellung von Verbindungen der allgemeinen Formel V sowie  
30 deren Salzen dienen. So erhält man z.B. das Dihydroxyphosphat  
(V,  $R^7 = R^8 = \text{H}$ ), wenn der Diphenylester (V,  $R^7 = R^8 = \text{Phenyl}$ )  
katalytisch hydrogeniert wird. Nicht begrenzende Beispiele  
für andere geeignete Schutzgruppen sind 2,2,2-Trichlorethyl,  
Benzyl, Cyanoethyl, p-nitrosubstituiertes Phenyl, Benzyl,  
35 Phenethyl und p-Bromphenyl. Die Dihydroxyphosphate (V,

1  $R^7 = R^8 = H$ ) werden durch Umsetzung mit einer geeigneten  
Base, z.B. Natriumbicarbonat, Ammoniumbicarbonat oder  
organischen Aminen in die entsprechenden basischen Salze  
übergeführt. Die Salze können auch dadurch hergestellt  
5 werden, daß man das Hydroxyphosphat über eine Säule mit  
einem Austauschharz, welches das gewünschte Kation ent-  
hält, eluiert.

Obwohl erfindungsgemäß Phosphoroxychlorid, Halophosphatdi-  
10 ester und die entsprechenden schwefelanalogen Verbindungen  
als Phosphorylierungsmittel verwendet werden, ist es offen-  
sichtlich, daß auch andere zur Phosphorylierung des Phenols  
geeignete Phosphorylierungsmittel eingesetzt werden können,  
wobei geeignete Reaktionsbedingungen sowie ein geeignetes  
15 Medium entsprechend dem jeweiligen Phosphorylierungsmittel,  
ausgewählt werden. Der Übersichtsartikel "Current Methods  
of Phosphorylation of Biological Molecules" (Synthesis,  
1977, 737-52) beschreibt weitere Beispiele für Phosphorylie-  
rungsmittel.

20

#### Biologische Eigenschaften

Repräsentative Verbindungen der vorliegenden Erfindung wurden  
auf ihre Antitumoraktivität gegen transplantierbare Mäuse-  
25 P388-Leukämie getestet. In allen Experimenten wurden weib-  
liche CDF<sub>1</sub>-Mäuse verwendet, welchen ein Tumorinokulum von  
10<sup>6</sup> P388-Mäuseleukämie-Asciteszellen implantiert wurde. In  
Experimenten mit Etoposid-4'-phosphat, dessen Dinatriumsalz  
und Etoposid-4'-thiophosphat-dinatriumsalz erfolgte Tumor-  
30 implantation und Medikamentenbehandlung jeweils intravenös.  
Bei allen anderen Experimenten erfolgte Tumorimplantation  
und Medikamentenbehandlung intraperitoneal. Die positive  
Kontrolle, nämlich Etoposid, wurde jeweils intraperitoneal  
verabreicht. Die Versuchsdauer betrug 28 - 46 Tage, wobei  
35 am Ende dieser Zeit die Anzahl der lebenden Tiere notiert

1 wurde. Die Antitumoraktivität wird in % T/C-Werten ausgedrückt, welche das Verhältnis von mittlerer Überlebensdauer (MST) der medikamentenbehandelten Gruppe zur MST der  
 5 saline-behandelten Kontrollgruppe darstellt. Einer Verbindung mit einem % T/C-Wert größer als 125 wird im allgemeinen eine signifikante Antitumoraktivität im P388-Test zugeordnet. Tabelle I zeigt die Ergebnisse der oben beschriebenen Untersuchung; es sind jeweils die maximalen % T/C-Werte und die jeweils wirksame Dosis angegeben.

10

TABELLE I  
Antitumoraktivität gegen Mäuse-P388-Leukämie

15	Verbindung aus	Dosis* (mg/kg/inj)	Verabreichung	MST(d)	% T/C
	Intravenös implantierte Tumorzellen				
	Beispiel 1	140	IV	29,0	363
	(Etoposid)	50	IP	20,5	256
20	Beispiel 4	200	IP	18,0	225
	(Etoposid)	100	IP	21,5	269
	Beispiel 8	125	IV	24,5	306
	(Etoposid)	100	IP	29,5	369
	Intraperitoneal implantierte Tumorzellen				
25	Beispiel 2	240	IP	16,5	165
	(Etoposid)	60	IP	25,0	250
	Beispiel 3	200	IP	15,5	155
	(Etoposid)	100	IP	27,0	270
	Beispiel 7	240	IP	25,0	250
	(Etoposid)	100	IP	26,0	260
30	Beispiel 9	150	IP	19,5	217
	(Etoposid)	100	IP	24,0	267

\*Das Medikament wurde im Falle fehlender zusätzlicher Angaben am Tag 5 und 8 verabreicht (Tag 1 ist der Tag der Tumorimplantation).

35

1 Für die erfindungsgemäßen Antitumorverbindungen konnte eine  
Aktivität gegen transplantierte Tumore in Versuchstieren ge-  
zeigt werden. Insbesondere die Verbindung der allgemeinen  
Formel VIa ("Etopofos") zeigte im P388-Test eine deutlich  
5 höhere Antitumoraktivität als Etoposid. Dieses selektive  
Mittel ist ein stark wasserlösliches Prodrug, zeigt  
in vitro verminderte Antitumoraktivität und wird durch  
alkalische Phosphatase rasch gespalten, wobei Etoposid  
freigesetzt wird. Das freigesetzte Etoposid besitzt im  
10 Vergleich zu normalem Etoposid identische Cytotoxizitäts-  
werte.

Die vorliegende Erfindung beschreibt dementsprechend ein  
Verfahren zur Inhibierung von Tumoren bei Säugern ein-  
15 schließlich des Menschen, unter Verabreichung einer  
wirksamen tumorinhibierenden Menge einer Antitumorverbin-  
dung der allgemeinen Formel V oder VII an den tumor-  
erkrankten Patienten. Hierzu kann das Medikament auf her-  
kömmliche Weise verabreicht werden. Nicht limitierende  
20 Beispiele hierfür sind eine intravenöse, intramuskuläre,  
intratumorale, intraarterielle, intralymphatische und  
orale Verabreichung.

Die vorliegende Erfindung betrifft außerdem ein pharmazeu-  
25 tisches Mittel, welches mindestens eine Verbindung der all-  
gemeinen Formel V oder VII sowie einen pharmazeutisch ver-  
träglichen Träger umfaßt. Das Antitumormittel kann in jeder  
pharmazeutischen Form vorliegen, welche sich für die ge-  
wünschte Verabreichungsmethode eignet. Beispiele für solche  
30 Mittel beinhalten feste Mittel für eine orale Verabreichung,  
wie Tabletten, Kapseln, Pillen, Pulver und Granula, flüssige  
Mittel zur oralen Verabreichung, wie Lösungen, Suspensionen,  
Sirups oder Elixiere, und Präparate zur parenteralen Verab-  
reichung, wie sterile Lösungen, Suspensionen oder Emulsionen.  
35 Diese Mittel können auch in Form steriler Feststoffe herge-

- 1 stellt werden, welche in sterilem Wasser, physiologischer  
Saline oder irgendeinem anderen sterilen injizierbaren  
Medium unmittelbar vor Gebrauch gelöst werden.
- 5 Optimale Dosierungs- und Verabreichungsbedingungen für  
einen bestimmten Patienten können vom Fachmann ohne  
Schwierigkeiten bestimmt werden. In diesem Zusammenhang  
ist darauf hinzuweisen, daß die wirklich eingesetzte Dosis  
abhängig ist von der jeweiligen Formulierung des Mittels,  
10 von der verwendeten Verbindung, von der Art der Verabrei-  
chung sowie vom behandelten Organ, vom Patienten und von  
der Krankheit. Eine Vielzahl von Faktoren, welche die  
Wirkung des Medikaments beeinflussen, wie Alter, Gewicht,  
Geschlecht, Ernährung, Verabreichungszeit, Verabreichungs-  
15 art, Ausscheidungsrate, Zustand des Patienten, Medikamenten-  
kombinationen, Reaktionsempfindlichkeiten und Schwere der  
Erkrankung, sind zu berücksichtigen.

Die folgenden nicht limitierenden Beispiele dienen der  
20 Veranschaulichung der vorliegenden Erfindung.

#### Ausführungsbeispiele

25 In den folgenden Beispielen wurden die Protonen und  
kohlenstoffkernmagnetischen Resonanz (NMR)-Spektren (Ver-  
wendung von  $\text{CDCl}_3$  oder  $\text{D}_2\text{O}$  als interner Standard) und  
Phosphor (NMR)-Spektren (unter Verwendung von 85%iger  
wäßriger  $\text{H}_3\text{PO}_4$  als externe Referenz) auf einem Bruker-  
WM360-Spektrometer aufgenommen. Infrarotspektren (IR)  
30 wurde auf einem Perkin-Elmer 1800-Fourier-Transform-  
Infrarotspektrometer bestimmt. "Flash Chromatographie"  
bezeichnet das Verfahren beschrieben von W.C. Still; M. Kahn;  
A. Mitra; "J. Org. Chem.", 1978, 43, 2923, und wurde unter  
Verwendung von E. Merck Silikagel (230-400 mesh) durchge-  
35 führt. Reverse phase-Chromatographie wurde bei Stickstoff-

- 1 druck unter Verwendung einer C18 (Octadecylsilan)-Silikagel-Säule (40 -  $\mu$ m Diameter, J.T. Baker supplier) durchgeführt.

5 B e i s p i e l 1

Etoposid-4'-phosphat-dinatriumsalz (Verbindung VIa)

- Eine magnetisch gerührte Suspension von Etoposid (2,30 g, 3,91 mmol) in trockenem Acetonitril (210 ml) wird unter  
10 nahezu vollständiger Lösung gerührt. Die Lösung wird auf Raumtemperatur abgekühlt und mit N,N-Diisopropylethylamin (2,36 ml, 13,5 mmol) versetzt. Das Gemisch wird anschließend auf 0°C abgekühlt und über eine Spritze innerhalb von 30 Sek. mit POCl<sub>3</sub> (666 mg, 4,34 mmol) versetzt. Die  
15 Temperatur des Gemischs läßt man innerhalb von 2 - 3 h langsam auf Raumtemperatur steigen und rührt weitere 63 h bei Raumtemperatur. Anschließend werden 20 Vol.-% des Ansatzes entnommen und mit Diethylamin gemäß Beispiel 2 behandelt. Der übrige Ansatz wird mit einer  
20 Natriumbicarbonatlösung (6,0 g, 71,4 mmol) in deionisiertem Wasser (110 ml) umgesetzt, das Gemisch wird bei Raumtemperatur 80 min lang gerührt und anschließend zwischen gesättigtem wäßrigen Natriumbicarbonat (20 ml) deionisiertem Wasser (125 ml) und Ethylacetat (350 ml) partitioniert.  
25 Die organische Phase wird nochmals mit deionisiertem Wasser (1 x 50 ml) extrahiert und anschließend werden die vereinigten wäßrigen Phasen nochmals mit Ethylacetat (250 ml) gewaschen. Anschließend wird bei Raumtemperatur 1 h lang ein Vakuum angelegt (0,5 mm Hg), um die Lösungsmittel zu  
30 entfernen. Der wäßrige Teil wird auf eine Silikagel-gebundene Octadecylsilan-Säule ( $\varnothing$ =4 cm, Höhe=15 cm), gepackt in Methanol und äquilibriert mit H<sub>2</sub>O, aufgetragen.

- Nachdem die gesamte wäßrige Phase —————  
überführt wurde, wird die Säule mit Wasser (175 ml) zur  
35 Entfernung der anorganischen Salze gewaschen. Anschließend

1 wird das Produkt mit 4:1 H<sub>2</sub>O:CH<sub>3</sub>OH eluiert. Durch Auf-  
konzentrieren der Lösung bei 0,5 Torr erhält man 744 mg (36 %) der reinen Titelverbindung in Form eines farblosen Fest-  
stoffs. Eine alternativ dazu durchgeführte Lyophilisierung  
5 ergibt die Titelverbindung in Form eines flockigen Fest-  
stoffes niedriger Dichte.

IR (KBr) 3426, 1775, 1593, 1505, 1486, 1337, 1239,  
1191, 1122, 1078, 1034, 983, 927, 888, 876, 851, 840, 697,  
10 684, 664, 547 cm<sup>-1</sup>.

360 MHz <sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O) δ 6.93 (s, 1H), 6.59 (s, 1H), 6.27  
(s, 2H), 5.93 (d, 2H), 5.09 (d, 1H, J=2.8Hz), 4.83  
(q, 1H, J=5.0Hz), 4.68 (d, 1H, J=7.9Hz), 4.62 (d, 1H, J=5.7Hz),  
15 4.47-4.35 (m, 2H), 4.24 (dd, 1H, J=4.4 and 10.4Hz), 3.64  
(s, 6H), 3.68-3.52 (m, 3H), 3.44-3.30 (m, 3H), 3.17-3.07  
(m, 1H), 1.31 (d, 3H, J=5.0Hz).

90 MHz <sup>13</sup>C NMR (D<sub>2</sub>O) δ 178.5, 151.8, 148.1, 146.1,  
135.0, 132.6, 130.9, 127.4, 109.9, 109.5, 107.4, 101.3,  
20 100.4, 99.6, 79.2, 73.7, 72.7, 72.2, 69.1, 67.1, 65.4, 55.6,  
42.8, 40.3, 37.5, 18.8.

146 MHz <sup>31</sup>P NMR (D<sub>2</sub>O) δ 3.79.

25 Massenspektrum (FAB), m/e, 713 (M<sup>+</sup> + H). C<sub>29</sub>H<sub>31</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>16</sub>P  
erfordert M<sup>+</sup>, 712.

Analyse für C<sub>29</sub>H<sub>31</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>16</sub>P:

	C	H	Na
30 berechnet:	48,89	4,39	6,45
gefunden*:	48,72	4,56	6,56

\* korrigiert auf 8,16% H<sub>2</sub>O, bestimmt nach Karl Fischer.

1 Beispiel 2

Etoposid-4'-(Bis-[N,N-diethyl]-phosphonamid)  
 (VII, X=O, R<sup>1</sup>=Methyl, R<sup>6</sup>=H, Y=N(Et)<sub>2</sub>, R<sup>2</sup>=R<sup>3</sup>=Et)

5 Wie in Beispiel 1 angegeben, werden 20 Vol.-% des Reaktionsgemisches von Etoposid und POCl<sub>3</sub> mit Diethylamin (4 ml) versetzt und bei Raumtemperatur 3 h lang gerührt. Das Lösungsmittel wird im Vakuum abgedampft und der hell-orange Rückstand durch Flash-Chromatographie über  
 10 Silikagel gereinigt. Die Elution mit 4% Methanol in Methylenchlorid ergibt 271,3 mg (46,9%) der reinen Titelverbindung in Form eines hellgelben Feststoffs.

IR (KBr) 3408, 2974, 2936, 2877, 1774, 1598, 1508,  
 15 1486, 1467, 1421, 1383, 1339, 1234, 1191, 1162, 1130, 1098, 1079, 1037, 902, 858, 795, 713, 700, 544 cm<sup>-1</sup>.

360 MHz <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 6.79, (s, 1H), 6.50 (s, 1H),  
 6.20 (s, 2H), 5.96 (ABq, 2H), 4.87 (d, 1H, J=3.2Hz), 4.71  
 20 (q, 1H, J=5.1Hz), 4.61 (d, 1H, J=7.6Hz), 4.57 (d, 1H, J=5.2Hz), 4.39 (dd, 1H, J=9.1 and 10.2Hz), 4.22-4.13 (m, 2H), 3.74 (m, 1H), 3.65 (s, 6H), 3.55 (m, 1H), 3.40 (m, 1H), 3.32-3.10 (m, 11H), 2.94-2.83 (m, 1H), 1.37 (d, 3H, J=5.1Hz), 1.10 (m, 12H).

25 146 MHz <sup>31</sup>P NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 16.49.

Massenspektrum (FAB), m/e 779 (M<sup>+</sup> + H), 573 (M<sup>+</sup> - Zucker).  
 C<sub>37</sub>H<sub>51</sub>N<sub>2</sub>O<sub>14</sub>P erfordert M<sup>+</sup>, 778.

30

35

1 B e i s p i e l 3

Etoposid-4'-(N,N-[2-chlorethyl]-phosphoryl-chlorid)  
 (VII,  $R^1$ =Methyl,  $R^6$ =H, X=O, Y=Cl,  $R^2=R^3$ =CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Cl)

- 5 Eine magnetisch gerührte Suspension von Etoposid (2,00 g, 3,40 mmol) in getrocknetem Acetonitril (220 ml) wird unter annähernd vollständigem Lösen erwärmt. Das Gemisch wird auf Raumtemperatur abgekühlt und mit N,N-Diisopropyl-ethylamin (2,05 ml, 11,8 mmol) versetzt. Das Gemisch wird  
 10 anschließend unter Stickstoff auf 0°C abgekühlt und innerhalb von 30 Sek. mit Phosphorylchlorid (624 mg, 4,07 mmol) versetzt. Das Gemisch wird bei 0°C 2,5 h und bei Raumtemperatur weitere 1,5 h magnetisch gerührt. Bis-(2-chlorethylamin)-hydrochlorid (1,82 g, 10,2 mmol) wird  
 15 anschließend rasch hinzugefügt, unmittelbar gefolgt von zusätzlichem N,N-Diisopropylethylamin (2,10 ml, 12,0 mmol). Das Gemisch wird bei Raumtemperatur 85 min lang gerührt, im Vakuum auf ein Volumen von etwa 5 ml aufkonzentriert und in Ethylacetat (400 ml) und Methanol (5 ml) gelöst.  
 20 Die dabei erhaltene Lösung wird mit einem Puffer (pH 5) (2 x 200 ml), Wasser (150 ml) und Brine (150 ml) gewaschen und mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Nach Abdampfen des Lösungsmittels erhält man einen gelb-organen Feststoff, welcher durch Flash-Chromatographie über Silikagel und  
 25 Elution mit 3 - 4% Methanol in Methylenchlorid gereinigt wird. Man erhält 1,25 g (45,4%) der reinen Titelverbindung als farblosen Feststoff.

- 30 <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 6.82 (s, 1H), 6.52 (s, 1H), 6.27 (s, 2H), 5.99 (d, 2H), 4.90 (d, 1H, J=3.4Hz), 4.73 (q, 1H, J=5.0Hz), 4.65-4.60 (m, 2H), 4.41 (m, 1H), 4.25-4.15 (m, 2H), 3.75-3.65 (m, 5H), 3.72 (s, 6H), 3.60-3.23 (m, 9H), 2.91-2.80 (m, 1H), 1.38 (d, 3H, J=5.0Hz).

35

- 1 146 MHz  $^{31}\text{P}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  11.16 und 10.96 (zwei Peaks wegen chiralem Phosphor).

Massenspektrum (FAB), m/e, 812, 810, 808.

- 5  $\text{C}_{33}\text{H}_{39}\text{Cl}_3\text{NO}_{14}\text{P}$  erfordert  $\text{M}^+$  ( $^{35}\text{Cl}$ ) 809.

#### B e i s p i e l 4

##### Etoposid-4'-thiophosphat-dinatriumsalz (Verbindung VIb)

- 10 Eine magnetisch gerührte Suspension von Etoposid (2,04 g, 3,47 mmol) in trockenem Acetonitril (175 ml) wird unter nahezu vollständigem Lösen erwärmt. Die Lösung wird auf Raumtemperatur abgekühlt und mit N,N-Diisopropylethylamin  
15 (2,00 ml, 11,5 mmol) versetzt. Das Gemisch wird anschließend auf 0°C abgekühlt und mit Thiophosphorylchlorid (0,720 g, 4,17 mmol) über eine Spritze innerhalb von 30 Sek. versetzt. Man läßt das Gemisch innerhalb von 2 - 3 h langsam auf Raumtemperatur erwärmen und es wird 16 h lang bei Raum-  
20 temperatur weitergerührt. Das Gemisch wird anschließend auf 30 - 35°C erwärmt und weitere 4 h bei dieser Temperatur gehalten. Bei Durchführung einer TLC (5%  $\text{CH}_3\text{OH}$  in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) beobachtet man ein neues Hauptprodukt mit einem höheren  $R_f$ -Wert als Etoposid. Das Reaktionsgemisch wird mit festem  
25 Natriumbicarbonat (7,4 g) behandelt und anschließend mit deionisiertem Wasser (100 ml) versetzt. Das Gemisch wird bei 28 - 25°C 1,5 h und bei Raumtemperatur weitere 1,5 h gerührt. Das Gemisch wird zwischen deionisiertem Wasser (200 ml), gesättigtem wäßrigem Natriumbicarbonat (30 ml)  
30 und Ethylacetat (300 ml) partitioniert. Die weitere Aufarbeitung sowie die reverse phase-Chromatographie wird entsprechend Beispiel 1 durchgeführt. Man erhält dabei 1,03 g (40,8%) der reinen Titelverbindung in Form eines farblosen Feststoffs.

1            360 MHz  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  6.93 (s, 1H), 6.60 (s, 1H), 6.27  
 (s, 2H), 5.93 (d, 2H), 5.09 (d, 1H,  $J=2.8\text{Hz}$ ), 4.83  
 (q, 1H,  $J=5.0\text{Hz}$ ), 4.68 (d, 1H,  $J=7.8\text{Hz}$ ), 4.63 (d, 1H,  $J=5.7\text{Hz}$ ),  
 4.47-4.35 (m, 2H), 4.24 (dd, 1H,  $J=4.3$  and  $10.5\text{Hz}$ ), 3.64  
 5    (s, 6H), 3.67-3.52 (m, 3H), 3.47-3.29 (m, 3H), 3.17-3.07  
 (m, 1H), 1.31 (d, 3H,  $J=5.0\text{Hz}$ ).

Massenspektrum (FAB),  $m/e$  728 ( $\text{M}^+$ ), 706 ( $\text{M}^+ + \text{H} - \text{Na}$ ).

$\text{C}_{29}\text{H}_{31}\text{Na}_2\text{O}_{15}\text{PS}$  erfordert  $\text{M}^+$ , 728.

10

### B e i s p i e l    5

15    Etoposid-4'-[[N,N-Bis-(2-chlorethyl)-amino]-[N-(3-  
 hydroxypropyl)-amino]]-phosphat  
 (VII,  $\text{X}=\text{O}$ ,  $\text{R}^1=\text{Methyl}$ ,  $\text{R}^6=\text{H}$ ,  $\text{R}^2=\text{R}^3=2\text{-Chlorethyl}$ ,  
 $\text{Y}=-\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{OH}$

---

20    Eine magnetisch gerührte Lösung der Verbindung aus Bei-  
 spiel 3 (280 mg, 0,346 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 ml) wird mit  
 einer Lösung von 3-Amino-1-propanol (33,5 mg, 0,446 mmol)  
 in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1 ml) behandelt. Nach 5 min wird nochmals  
 3-Amino-1-propanol (31,0 mg, 0,413 mmol) in absolutem  
 Methanol (0,5 ml) hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wird  
 25    direkt auf vier präparative TLC-Platten (1 mm, E. Merck-  
 Silikagel) aufgetragen und unter Entwicklung in 5-8%  $\text{CH}_3\text{OH}$   
 in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  gereinigt. Nach Elution der gewünschten Produkt-  
 bande mit 5%  $\text{CH}_3\text{OH}$  in Ethylacetat, gefolgt von Eindampfen  
 im Vakuum und weiterem Trocknen bei 0,1 Torr erhält man  
 30    farblosen Feststoffes (Gemisch der Diastereomeren am  
 Phosphor).

35            360 MHz  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.20 (br s, 1H), 6.80 (s, 1H),  
 6.50 and 6.48 (2s, 1H), 6.26 and 6.25 (2s, 2H), 5.97 (d,  
 2H), 4.88 (m, 1H), 4.73 (q, 1H), 4.64-4.57 (m, 2H), 4.40 (m,  
 1H), 4.21-4.13 (m, 2H), 3.71, 3.70 (2s, 6H), 3.71-3.06 (m,  
 18H), 2.90-2.80 (m, 1H), 1.37 (d, 3H).

1 Massenspektrum (FAB), m/e, 849, 851 ( $M^+ + H$ ,  $^{35}\text{Cl}$ ,  $^{37}\text{Cl}$ ).  
 $\text{C}_{36}\text{H}_{47}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_{15}\text{P}$  erfordert  $M^+$  848 ( $^{35}\text{Cl}$ ) und 850 ( $^{37}\text{Cl}$ ).

# 5 Beispiel 6

Etoposid-4'-[[N-Bis-(2-chlorethyl)-amino]-[N-[2-[(3-nitropyridyl-2-yl)-disulfid]-ethyl]]-amino]-phosphat  
 (VII, X=O,  $R^1$ =Methyl,  $R^6$ =H,  $R^2$ = $R^3$ =2-Chlorethyl,  
 $Y$ =NH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-SS-(3-Nitropyridyl-2-yl)

---

10 Ein Gemisch der Verbindung aus Beispiel 3 (248 mg,  
 0,306 mmol) und 2-(3-Nitropyridyl)-1-(2-aminoethyl)-  
 disulfid-hydrochlorid (105 mg, 0,393 mmol) wird mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>  
 (7 ml) behandelt und anschließend mit Diisopropylethylamin  
 15 (100 µl, 0,570 mmol) und trockenem Methanol (0,5 ml) ver-  
 setzt. Die daraus resultierende Lösung wird bei Raumtempera-  
 tur 1,5 h gerührt und anschließend direkt auf vier präpara-  
 tive TLC-Platten (1 mm, E.Merck-Silikagel) aufgetragen und  
 durch Entwicklung mit 4-5% CH<sub>3</sub>OH in Ethylacetat gereinigt.  
 20 Nach Elution der gewünschten Produktbande mit 5% CH<sub>3</sub>OH in  
 Ethylacetat, anschließendem Eindampfen im Vakuum und zu-  
 sätzlichem Trocknen bei 0,1 Torr erhält man 231,7 mg  
 (75,3%) der reinen Titelverbindung in Form eines gelb-  
 braunen Feststoffes (Diastereomergemisch am Phosphor).

25

IR (KBr) 1774, 1598, 1584, 1559, 1509, 1486, 1456,  
 1421, 1397, 1342, 1236, 1160, 1128, 1096, 1038, 1004, 926,  
 857, 747, 699 cm<sup>-1</sup>.

30

360 MHz <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 8.81 and 8.77 (2m, 1H), 8.48  
 (m, 1H), 7.33 (m, 1H), 6.81 (s, 1H), 6.51 and 6.50 (2s, 1H),  
 6.26 (br s, 2H), 5.97 (d, 2H), 4.89 (m, 1H), 4.73 (q, 1H),  
 4.65-4.52 (m, 3H), 4.41 (m, 1H), 4.24-4.14 (m, 2H), 3.71,  
 3.70 (2s, 6H), 3.71-2.85 (m, 19 H), 2.68 (br s, 1H, OH),  
 35 2.37 (br s, 1H, OH), 1.37 (d, 3H).

- 1 Massenspektrum (FAB), m/e, 1005, 1007 ( $M^+ + H$ ,  $^{35}\text{Cl}$ ,  $^{37}\text{Cl}$ ).  
 $\text{C}_{40}\text{H}_{47}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_{16}\text{PS}_2$  erfordert  $M^+$ , 1004 ( $^{35}\text{Cl}$ ) und 1006 ( $^{37}\text{Cl}$ ).

5 B e i s p i e l     7

Etoposid-4'-diphenylphosphat  
 ( $R^1=\text{CH}_3$ ,  $R^6=\text{H}$ ,  $R^7=R^8=\text{Phenyl}$ )

10 Eine magnetisch gerührte Suspension von Etoposid (10,50 g, 17,84 mmol, getrocknet über  $\text{P}_2\text{O}_5$  bei  $80^\circ\text{C}/0,5$  Torr) in trockenem Acetonitril (450 ml) wird mit Diisopropylethylamin (4,20 ml, 24,1 mmol) behandelt und anschließend mit Diphenylchlorophosphat (2,00 ml, 9,65 mmol) in unverdünnter Form über eine Spritze versetzt. Das Gemisch wird unter  
 15 Stickstoff 2 h lang bei  $50^\circ\text{C}$  gerührt, wobei sich das gesamte Etoposid löst. Weiteres Diphenylchlorophosphat (1,80 ml, 8,68 mmol) wird hinzugefügt und das Reaktionsgemisch 72 h lang auf  $45^\circ\text{C}$  gehalten. Nachdem eine zusätzliche Menge der Aminbase (0,75 ml, 4,3 mmol) und Diphenylchlorophosphat (0,80 ml, 3,86 mmol) hinzugegeben wurden,  
 20 rührt man das Gemisch 27 h lang bei  $40 - 45^\circ\text{C}$ , versetzt nochmals mit Diphenylchlorophosphat (0,40 ml, 1,93 mmol) und hält 22 h auf  $40 - 45^\circ\text{C}$ . Isopropanol (20 ml) wird anschließend hinzugefügt, das Lösungsmittel wird im Vakuum  
 25 abgedampft und der feste Rückstand in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (500 ml) gelöst und mit  $\text{H}_2\text{O}$  (400 ml) partitioniert. Die wäßrige Phase wird nochmals mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (100 ml) extrahiert und die vereinigten organischen Extrakte werden mit Brine (250 ml) gewaschen und getrocknet ( $\text{Na}_2\text{SO}_4/\text{MgSO}_4$ ). Nach Einengen im Rotationsverdampfer und Flash-Chromatographie über Silikagel unter  
 30 Verwendung von 2-3%  $\text{CH}_3\text{OH}$  in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  erhält man 12,50 g (85%) der reinen Titelverbindung in Form eines farblosen Feststoffes.

- 35 FAB MS m/e (relative Intensität) 820 ( $M+H$ ) $^+$ .

1 IR (KBr) 3460, 2925, 1775, 1601, 1490  $\text{cm}^{-1}$ .  
 $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.28 (m, 8H), 7.15 (m, 2H), 6.78 (s, 1H),  
 6.47 (s, 1H), 5.95 (m, 2H), 4.85 (d,  $J=3.5\text{Hz}$ , 1H), 4.71 (m, 1H),  
 4.60 (d,  $J=7.6\text{Hz}$ , 1H), 4.56 (d,  $J=5.1\text{Hz}$ , 1H), 4.38 (m, 1H),  
 5 4.22-4.13 (m, 2H), 3.72-3.60 (m, 1H), 3.48 (s, 6H), 3.54-3.28  
 (m, 3H), 3.23 (dd,  $J=14.2, 5.3\text{Hz}$ , 1H), 2.78 (m, 1H), 1.35  
 (d,  $J=5.1\text{Hz}$ , 3H).

Analyse für  $\text{C}_{41}\text{H}_{41}\text{O}_{16}\text{P}$ :

	C	H
10 ber.:	60,00	5,04
gef.:	60,20	5,16

# 15 Beispiel 8

Etoposid-4'-phosphat ( $V$ ;  $R^1=\text{CH}_3$ ,  $R^6=\text{H}$ ,  $R^7=R^8=\text{H}$ )

Platinoxid (0,198 g, 0,87 mmol) aus einer frischgeöffneten  
 20 Flasche (Aldrich Chemical Co.) wird zu einer Lösung von  
 Etoposid-4'-diphenylphosphat (Produkt aus Beispiel 7;  
 0,79 g, 0,962 mmol) in 95 ml absolutem Ethanol hinzuge-  
 geben. Die Lösung wird in einer Parr-Apparatur bei  
 45-50 PSI 4 h lang bei Raumtemperatur hydriert. Das  
 25 Reaktionsgemisch wird über ein Celite-Bett unter Verwen-  
 dung von Ethanol als Eluenten filtriert. Nach Aufkon-  
 zentrieren in Vakuum und 14-stündigem Trocknen über  $\text{P}_2\text{O}_5$   
 im Vakuum erhält man das gewünschte Produkt als weißen  
 Feststoff (0,627g, 94%).

30 FAB MS m/e (relative Intensität) 669 ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ .

IR (KBr) 3440, 2930, 1778, 1604, 1498  $\text{cm}^{-1}$ .  
 $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  6.93 (s, 1H), 6.46 (s, 1H), 6.12  
 35 (s, 2H), 5.94 (m, 2H), 5.17 (bs, 1H), 4.86 (d,  $J=3.93\text{Hz}$ , 1H),  
 4.64 (q,  $J=7.5, 5.8\text{Hz}$ , 1H), 4.51-4.42 (m, 2H), 4.20  
 (d,  $J=10.7\text{Hz}$ , 1H), 4.01 (dd,  $J=12.1, 5.3\text{Hz}$ , 1H), 3.51 (s, 6H),  
 3.51-2.75 (m, 7H), 2.83 (m, 1H), 1.16 (d,  $J=5.1\text{Hz}$ , 3H).

1  $^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  174.5, 151.2, 151.1, 147.7, 146.2,  
126.1, 132.3, 128.8, 109.8, 109.7, 107.9, 101.5, 101.2,  
98.5, 80.0, 74.3, 72.7, 71.7, 67.6, 67.2, 65.7, 55.8, 43.0,  
37.1, 20.2, 18.5.

5

Analyse für  $\text{C}_{29}\text{H}_{33}\text{O}_{16}\text{P}$ , 0,85%  $\text{H}_2\text{O}$ :

	C	H
ber.:	50,95	5,11
gef.:	51,42	4,97

10

### B e i s p i e l 9

Etoposid-4'-Bis-(2,2,2-trichlorethyl)-phosphat  
(VIII;  $\text{R}^6=\text{CH}_3$ ,  $\text{R}^1=\text{H}$ ,  $\text{R}^7=\text{R}^8=\text{CH}_2\text{CCl}_3$ )

15

Das Verfahren nach Beispiel 7 wird unter Verwendung von  
Bis-(2,2,2-trichlorethyl)-chlorophosphat wiederholt. Man  
erhält die Titelverbindung im Anschluß an eine Flash-  
Chromatographie über Silikagel in 100%iger Ausbeute in  
20 Form eines farblosen Feststoffes.

IR (KBr) 1780, 1610, 1490, 1415, 1345, 1240, 1040, 960,  
725  $\text{cm}^{-1}$ .

25

300 MHz  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.81 (s, 1H), 6.49 (s, 1H), 6.27  
(s, 2H), 5.98 (dd, 2H), 4.88 (d, 1H,  $J=3.4\text{Hz}$ ), 4.82-4.70 (m, 5H),  
4.64 (d, 1H,  $J=7.6\text{Hz}$ ), 4.61 (d, 1H,  $J=5.3\text{Hz}$ ), 4.41 (dd, 1H),  
4.25-4.13 (m, 2H), 3.75 (m, 1H), 3.73 (s, 6H), 3.56 (m, 1H),  
3.43 (dd, 1H), 3.34-3.24 (m, 3H), 2.91-2.82 (m, 1H), 1.38  
30 (d, 3H,  $J=4.9\text{Hz}$ ).

Massenspektrum (FAB),  $m/e = 928.9848$  ( $\text{M}^+ + \text{H}$ ).

$\text{C}_{33}\text{H}_{36}\text{Cl}_6\text{O}_{16}\text{P}$  erfordert 928.9872.

35

1     B e i s p i e l     10

Etoposid-4'-phosphat, Dinatriumsalz von Etoposid  
4'-Phosphat

---

5     Methode A

Handelsübliches Dowex 50 x 8-100 Kationenaustauscherharz  
in der  $H^+$ -Form (20 g, Aldrich Chemical Co.) wird mit  
überschüssiger 1N NaOH behandelt. Der dadurch erhaltene  
Austauscher in  $Na^+$ -Form wird in eine 2 cm-Säule ge-  
füllt und mit Wasser äquilibriert. Etoposid-4'-phosphat  
10 (Produkt von Beispiel 8, 1,25 g, 1,87 mmol), welches in  
25 ml deionisiertem Wasser gelöst ist, wird auf die ge-  
packte Säule aufgetragen und anschließend wird die Säule  
mit Wasser eluiert. Fraktionen, welche die Titelverbin-  
15 dung enthalten, werden vereinigt, filtriert und lyophilisiert,  
wonach man 1,15 g der Titelverbindung in Form eines  
weißen flockigen Materials erhält.

Methode B

20 Zu 2,90 g (4,34 mmol) des ungereinigten Etoposid-  
4'-phosphates (Produkt aus Beispiel 8) gibt man deionisiertes  
Wasser (50 ml) und Natriumbicarbonat (3,00 g, 35,7 mmol).  
Das Gemisch wird bei Raumtemperatur 30 min lang gerührt,  
wobei die  $CO_2$ -Entwicklung zum Stillstand kommt. Das Gemisch  
25 wird anschließend entsprechend Beispiel 1 chromatographiert.  
Nach Elution mit deionisiertem Wasser (300 ml) und 4:1  
 $H_2O:CH_3OH$  ergibt nach Lyophilisierung 1,90 g (61%) der  
reinen Titelverbindung in Form eines flockigen weißen  
Feststoffs.

30

B e i s p i e l     11

Die allgemeine Versuchsvorschrift von Beispiel 2 wird wie-  
derholt, wobei das darin verwendete Diethylamin durch eines  
35 der unten angegebenen Amine ersetzt wird und man das ent-

1 sprechende Etoposid-4'-phosphordiamidat erhält.

		Amin	Verbindung VII (X=O, R <sup>1</sup> =Methyl, R <sup>6</sup> =H, Y=NH <sup>2</sup> R <sup>3</sup> )	
			R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>
5		Propylamin	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
		Ethanolamin	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH
		Methoxyethylamin	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>
	10	N-Acetylethylendiamin	H	CH <sub>2</sub> CHNC(O)CH <sub>3</sub>
		2-Methylallylamin	H	CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> )=CH <sub>2</sub>
		Allylamin	H	CH <sub>2</sub> CH=CH <sub>2</sub>
15		Dimethylaminopropylamin	H	(CH <sub>2</sub> )N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
		N-Methylethylendiamin	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> NCH <sub>3</sub>
		Trifluorethylamin	H	CH <sub>2</sub> CF <sub>3</sub>
		2-Aminoethanthiol	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> SH
		Cyclohexylamin	H	Cyclohexyl
		2-Amino-1-methoxypropan	H	CH(CH <sub>3</sub> )CH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>
20		2-(Ethylthio)-ethylamin	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> SCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
		Chlorethylamin	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> Cl
		4-Aminocyclohexanol	H	4-OH-Cyclohexyl
		Ethylmethylamin	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
		Ethylbutylamin	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>
		Methylaminoethanol	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH
25		Bis-(2-chloroethyl)-amin	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> Cl	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> Cl
		2-Propylaminoethanol	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH
		3-Methylaminopropionitril	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CN
		Piperidin	R <sup>2</sup> +R <sup>3</sup> =	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -

30

### Beispiel 12

Die allgemeine Versuchsvorschrift von Beispiel 3 wird wiederholt, wobei das darin verwendete Bis-(2-chlorethyl)-amin durch eines der unten angegebenen Amine ersetzt wird, wodurch das entsprechende Etoposid-chlorphosphoroamidat entsteht.

35

1	<u>Amin</u>	Verbindung VII, (X=O, R <sup>1</sup> =Methyl, R <sup>6</sup> =H, Y=Cl)	
		<u>R<sup>2</sup></u>	<u>R<sup>3</sup></u>
5	Propylamin	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
	Ethanolamin	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH
	Methoxyethylamin	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>
	N-Acetylethylendiamin	H	CH <sub>2</sub> CHNC(O)CH <sub>3</sub>
10	2-Methylallylamin	H	CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> )=CH <sub>2</sub>
	Allylamin	H	CH <sub>2</sub> CH=CH <sub>2</sub>
	Dimethylaminopropylamin	H	(CH <sub>2</sub> )N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
	N-Methylethylendiamin	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> NCH <sub>3</sub>
	Trifluorethylamin	H	CH <sub>2</sub> CF <sub>3</sub>
15	2-Aminoethanthiol	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> SH
	Cyclohexylamin	H	Cyclohexyl
	2-Amino-1-methoxypropan	H	CH(CH <sub>3</sub> )CH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>
	2-(Ethylthio)-ethylamin	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> SCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
	Chlorethylamin	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> Cl
20	4-Aminocyclohexanol	H	4-OH-Cyclohexyl
	Ethylmethylamin	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
	Ethylbutylamin	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>
	Methylaminoethanol	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH
	Diethylamin	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
25	2-Propylaminoethanol	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH
	3-Methylaminopropionitril	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CN
	Piperidin	R <sup>2</sup> +R <sup>3</sup> =	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -

30 B e i s p i e l 13

Die allgemeine Versuchsvorschrift von Beispiel 5 wird wiederholt, wobei das darin verwendete 3-Aminopropanol durch eines der folgenden Amine ersetzt wird und man das entsprechende unsymmetrische Etoposid-phosphordiamidat:

35 erhält.

1                    Amin                    Verbindung VII ( $X=O$ ,  $R^1$ =Methyl,  
 $R^6=H$ ,  $Y=NR^4R^5$ ,  $R^2=R^3=CH_2CH_2Cl$ )

		<u><math>R^4</math></u>	<u><math>R^5</math></u>
5	Propylamin	H	$CH_2CH_2CH_3$
	Ethanolamin	H	$CH_2CH_2OH$
	Methoxyethylamin	H	$CH_2CH_2OCH_3$
	N-Acetylethylenediamin	H	$CH_2CHNC(O)CH_3$
10	2-Methylallylamin	H	$CH_2CH(CH_3)=CH_2$
	Allylamin	H	$CH_2CH=CH_2$
	Dimethylaminopropylamin	H	$(CH_2)N(CH_3)_2$
	N-Methylethylenediamin	H	$CH_2CH_2NCH_3$
	Trifluorethylamin	H	$CH_2CF_3$
15	2-Aminoethanthiol	H	$CH_2CH_2SH$
	Cyclohexylamin	H	Cyclohexyl
	2-Amino-1-methoxypropan	H	$CH(CH_3)CH_2OCH_3$
	2-(Ethylthio)-ethylamin	H	$CH_2CH_2SCH_2CH_3$
	Chlorethylamin	H	$CH_2CH_2Cl$
20	4-Aminocyclohexanol	H	4-OH-Cyclohexyl
	Ethylmethylamin	$CH_3$	$CH_2CH_3$
	Ethylbutylamin	$CH_2CH_3$	$(CH_2)_3CH_3$
	Methylaminoethanol	$CH_3$	$CH_2CH_2OH$
	Bis-(2-chloroethyl)-amin	$CH_2CH_2Cl$	$CH_2CH_2Cl$
25	2-Propylaminoethanol	$CH_2CH_2CH_3$	$CH_2CH_2OH$
	3-Methylaminopropionitril	$CH_3$	$CH_2CH_2CN$
	Piperidin	$R^4 + R^5$	$-(CH_2)_5$

### 30                    B e i s p i e l    14

Die allgemeine Versuchsvorschrift von Beispiel 7 wird wiederholt, wobei man das darin verwendete Diphenylchlorphosphat durch eines der folgenden Chlorophosphate ersetzt und man die entsprechenden Etoposid-4'-phosphatdiester ( $X=O$ ,  $R^1$  = Methyl,  $R^6$  = H,  $R^7$  =  $R^8$  = R unten be-

35

1 geschrieben) erhält.

Chlorphosphate  $[(RO)_2P(O)Cl]$

---

5

R = Methyl

Ethyl

Benzyl

p-Nitrobenzyl

p-Nitrophenyl

10

p-Brombenzyl,

p-Nitrophenethyl

Cyanoethyl

o-(t-Butyl)-phenyl.

15

B e i s p i e l 15

Die allgemeinen Versuchsvorschriften der Beispiele 1 bis 16  
werden wiederholt, wobei die darin verwendeten Etoposid-  
Ausgangsprodukte durch die entsprechenden Teniposid-Verbin-  
20 dungen ersetzt werden, wodurch man die korrespondierenden  
Teniposid-Produkte erhält.

25

---

30

35