



NUMERO DE PUBLICATION : 1002982A4

NUMERO DE DEPOT : 8800898

MINISTERE DES AFFAIRES ECONOMIQUES

Classif. Internat.: C07H A61K

Date de délivrance : 15 Octobre 1991

Le Ministre des Affaires Economiques,

Vu la Convention de Paris du 20 Mars 1883 pour la Protection de la propriété industrielle;

Vu la loi du 28 Mars 1984 sur les brevets d' invention, notamment l' article 22;

Vu l' arrêté royal du 2 Décembre 1986 relatif à la demande, à la délivrance et au maintien en vigueur des brevets d' invention, notamment l' article 28;

Vu le procès verbal dressé le 03 Aout 1988 à 14h20
à l' Office de la Propriété Industrielle

ARRETE:

ARTICLE 1.- Il est délivré à : BRISTOL-MYERS SQUIBB CY
Park Avenue 345, NEW YORK N.Y. 10154(ETATS-UNIS D'AMERIQUE)

représenté(e)(s) par : OVERATH Philippe, CABINET BEDE, Avenue Antoine
Depage, 13 - B-1050 BRUXELLES.

un brevet d' invention d' une durée de 20 ans, sous réserve du paiement des taxes annuelles, pour : DERIVES DE 4'-PHOSPHATES DE GLUCOSIDES D'EPIPODOPHYLLOTOXINE.

INVENTEUR(S) : Saulnier Mark G., Randolph Road 1225, Middletown, Connecticut 06104 (US); Senter Peter D., Summit Ave East 211, Apt. 421, Seattle, Washington 98102 (US); Kadow John F., Meetinghouse Village 66-201, Meriden, Connecticut 06450 (US)

Priorité(s) 04.08.87 US USA 081493 27.05.88 US USA 199731

ARTICLE 2.- Ce brevet est délivré sans examen préalable de la brevetabilité de l' invention, sans garantie du mérite de l' invention ou de l' exactitude de la description de celle-ci et aux risques et périls du(des) demandeur(s).

Bruxelles, le 15 Octobre 1991
PAR DELEGATION SPECIALE :

WUYTS L
Directeur

DESCRIPTION

Dérivés de 4'-phosphates de glucosides d'épipodophyllotoxine.

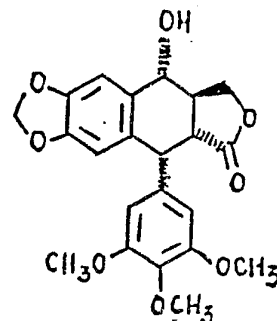
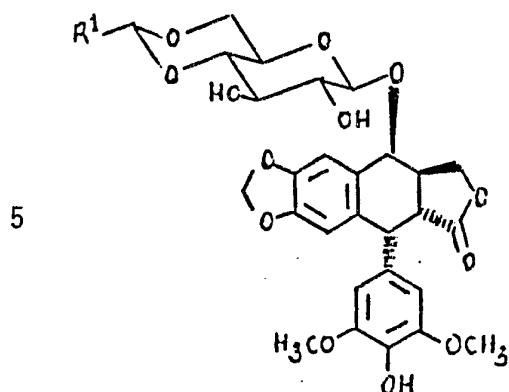
FONDEMENT DE L'INVENTIONI. Cadre de l'invention

La présente invention concerne des dérivés
4'-phosphates de glucosides d'épipodophyllotoxine, leur
5 emploi comme agents anti-tumeur, et des compositions
pharmaceutiques contenant ces nouveaux agents.

II. Description de la pratique antérieure

L'étoposide (VP-16, I) et le téniposide (VM-26,
II) sont des agents anticancéreux cliniquement utiles,
10 dérivés du lignan existant dans la nature, la podophyllo-
toxine (III); la classe des composés comprenant l'étopo-
side et le téniposide est parfois désignée par glucosides
de 4'-déméthylépipo-dophyllotoxine. L'étoposide et le
téniposide sont actifs dans le traitement de divers
15 cancers, tels que le cancer des testicules, des petites
alvéoles pulmonaires, des ovaires, du sein, de la thyroïde,
de la vessie, du cerveau, la leucémie non-lymphocytaire et
la maladie de Hodgkin.

Les composés I et II, ainsi que leur procédé de
20 production sont décrits dans le brevet des E.U.A. no.
3.408.441 de Wartburg et al et dans le brevet des E.U.A.
no. 3.524.844 de Keller-Juslen et al. Les composés décrits
dans ces brevets, en particulier l'étoposide et le ténipo-
side, servent de matière de départ pour la préparation des
25 4'-phosphates du glucoside d'épipodophyllotoxine de la
présente invention.

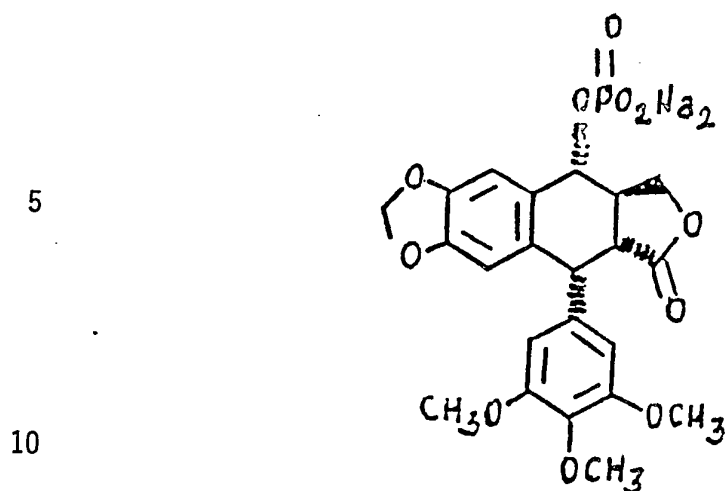


10
 I $R^1 = CH_3$
 II $R^1 = 2\text{-thiényl}$

III

La phosphorylation des agents thérapeutiques
 15 contenant un groupe hydroxyle a été utilisée comme moyen
 de latention des médicaments; les dérivés phosphorylés
 peuvent être ensuite clivés in vivo par un phosphatase
 pour libérer la molécule apparentée active. Un bref examen
 des phosphates en tant que pro-médicaments potentiels est
 20 inclus dans un article de revue intitulé "Rational for
 Design of Biologically Reversible Drug Derivatives :
 Prodrugs" (Sinkula et Yalkowsky, J. Pharm. Sci., 1975,
 64:181-210 à 189-191). Des exemples de phosphates d'agents
 anti-tumeurs connus comprennent la camptothécine (Japan
 25 Kokai 21-95, 394 et 21-95, 393, Derwent Abst. no.
 87-281016 et 87-281015, respectivement) et la daurorubi-
 cine (Brevet des E.U.A. 4.185.111).

Le sel de phosphate disodique de podophyllo-
 toxine IV a été préparé par Seligman et al. Cependant, le
 30 phosphate n'était pas hydrolysé par le phosphatase d'acide
 prostatique et ne présentait pas de toxicité réduite par
 rapport à la podophyllotoxine apparentée (Cancer
 Chemotherapy Reports Part I, 1975, 59:233-242).



IV

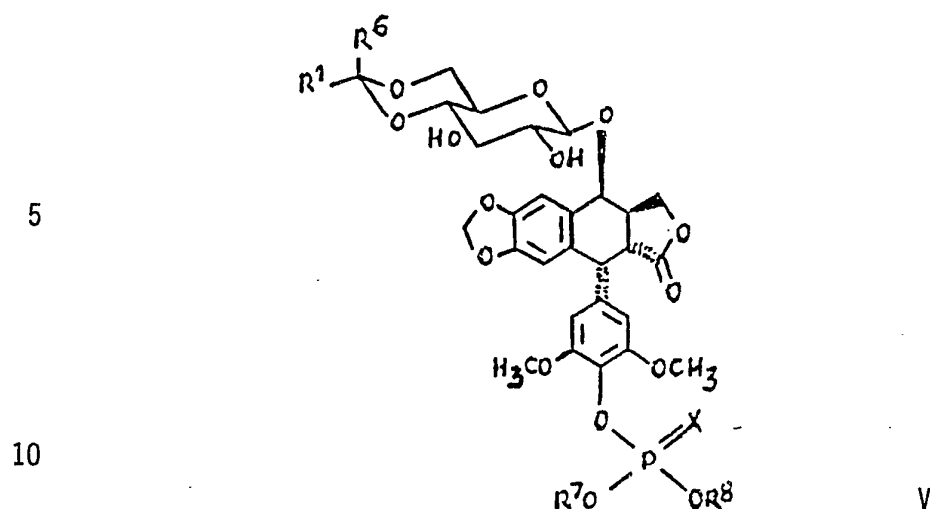
15 La présente invention fournit des esters de phosphates de glucosides de 4'-déméthylépipodophyllotoxine qui sont actifs en tant qu'agents anti-tumeurs. En particulier, le phosphate dihydrogéné des glucosides de 4'-déméthylépipodophyllotoxine et leurs sels sont très

20 solubles dans l'eau, fournissant ainsi un avantage pharmaceutique supérieur à celui des agents thérapeutiques courants de cette classe, à savoir l'étoposide et le téniposide, qui ont une solubilité dans l'eau minimale.

25

RESUME DE L'INVENTION

La présente invention fournit des dérivés 4'-phosphates des glucosides de 4'-déméthylépipodophyllotoxine de formule générale V, et leurs sels pharmaceutiquement acceptables, de formule :



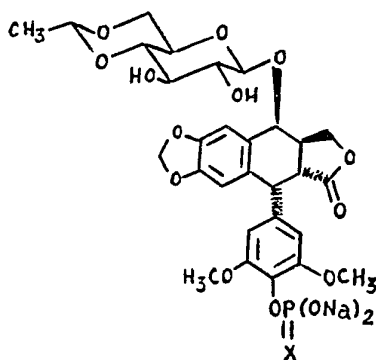
dans laquelle R^6 est H et R^1 est choisi parmi le groupe consistant en alkyle (C_{1-10}); alkényle (C_{2-10}); cycloalkyle (C_{5-6}); 2-furyle; 2-thiényle; aryle (C_{6-10}); aralkyle (C_{7-14}) et aralkényle (C_{8-14}) dans lesquels chacun des noyaux aromatiques peut être non-substitué ou substitué par un ou plusieurs groupes choisis parmi halo, alkyle (C_{1-8}), alkoxy (C_{1-8}), hydroxy, nitro et amino; ou R^1 et R^6 sont chacun alkyle (C_{1-8}); ou R^1 et R^6 et le carbone auquel ils sont fixés forment ensemble un groupe cycloalkyle (C_{5-6}); X est l'oxygène ou le soufre; R^7 et R^8 sont indépendamment choisis parmi le groupe consistant en H, alkyle (C_{1-5}), alkyle (C_{1-5}) substitué par A, cycloalkyle (C_{3-6}), cycloalkyle (C_{3-6}) substitué par A, aryle (C_{6-10}), aryle substitué par A, aryle substitué par alkyle, aralkyle (C_{7-14}), aralkyle substitué par A et aralkyle substitué par alkyle; dans lesquels les substituants A sont un ou plusieurs groupes choisis parmi hydroxy, alkoxy, alkanoyloxy, cyano, amino, alkylamino, dialkylamino, carboxy, alkylthio, mercapto, mercaptothio, disulfure de nitropyridyle, alkanoylamino, alkanoyle, carbamoyle, nitro et halo.

Les sels du composé V comprennent à la fois les sels monoanionique et dianionique. Le cation peut être un ion de métal tel qu'un ion de groupes de métaux alcalino-terreux ou de métaux alcalins, ou d'autres métaux usuels; ou un groupe contenant de l'azote organique tel que

ammonium, mono-, di- ou trialkylammonium, ou pyridinium. Le cation est de préférence choisi parmi le groupe consistant en sodium, potassium, lithium, césium, magnésium, calcium, aluminium, ammonium et mono-, di- et trialkyl-

5 ammonium. Une application préférée fournit des composés de formule V dans laquelle R^7 et R^8 sont tous deux H, et leurs sels pharmaceutiquement acceptables. Une application plus particulièrement préférée fournit un 4'-dihydrogène phosphate et thiophosphate d'étoposide, et leurs sels

10 disodiques respectifs VIa et VIb. Une autre application préférée fournit :



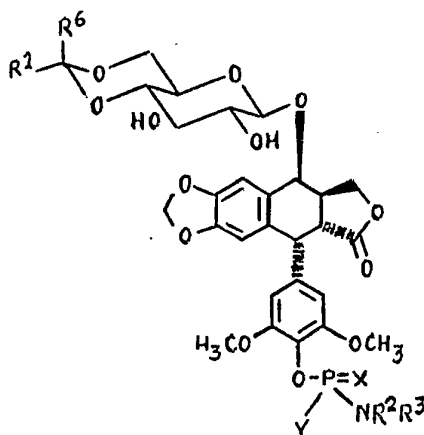
VI

a : X = O

b : X = S

15 des composés de formule V dans laquelle R^7 et R^8 sont identiques et sont choisis parmi le groupe consistant en 2,2,2-trihaloéthyle, 2-cyanoéthyle, alkyle (C_{1-5}), phényle et phénylalkyle, dans lesquels le noyau phényle est facultativement substitué par alkyle, halogène ou nitro.

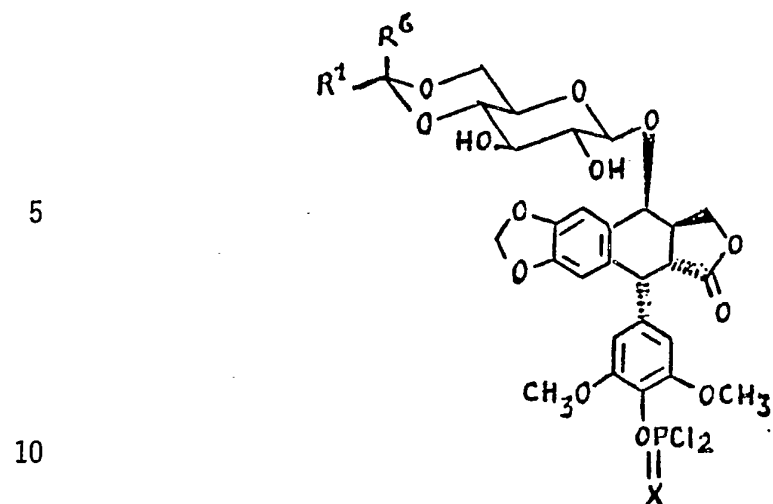
20 Un autre objet de l'invention est de fournir des dérivés de phosphoroamidates anti-tumeurs de formule VII et leurs sels pharmaceutiquement acceptables,



VII

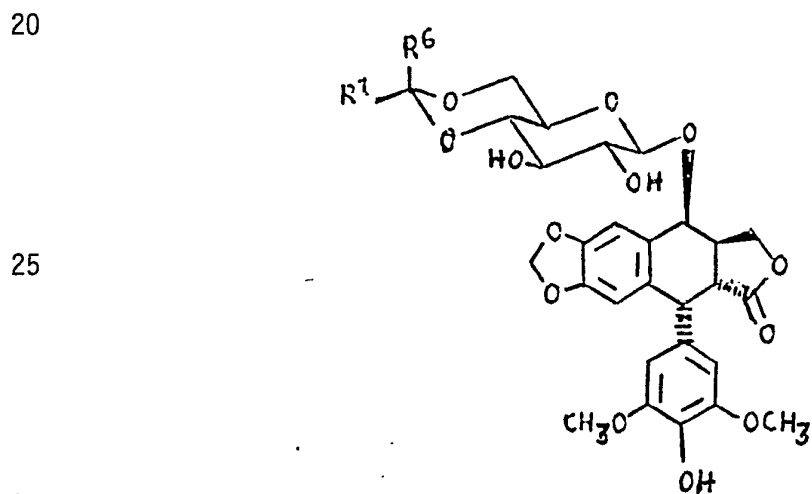
dans laquelle R^1 , R^6 et X sont comme définis précédemment;
 Y est Cl, OH ou NR^4R^5 ; R^2 , R^3 , R^4 et R^5 sont chacun,
 indépendamment, choisis parmi le groupe consistant en H,
 5 alkyle (C_{1-5}), alkényle (C_{2-5}), cycloalkyle (C_{3-6}), alkyle
 (C_{1-5}) substitué par A, alkényle (C_{2-5}) substitué par A,
 cycloalkyle (C_{3-6}) substitué par A; ou R^2 , R^3 et l'azote
 auquel ils sont fixés forment ensemble un noyau de 3 à 6
 membres; ou R^4 , R^5 et l'azote auquel ils sont fixés
 10 forment ensemble un noyau de 3 à 6 membres; dans lesquels
 les substituants A sont comme définis précédemment.

Un autre objet de la présente invention est de
 fournir des intermédiaires dichlorophosphates de formule
VIII dans laquelle R^1 , R^6 et X sont comme définis prédé-
 15 demment; ces agents sont utiles dans la préparation des
 composés de formule V.



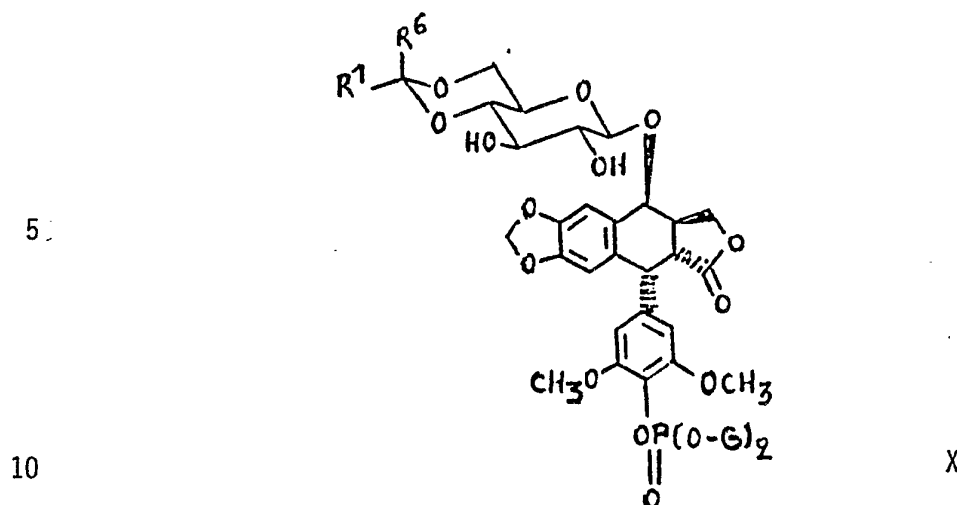
VIII

15 Un autre objet encore de la présente invention est de fournir un procédé pour la préparation d'un composé de formule V dans laquelle R^7 et R^8 sont tous deux H, et ses sels pharmaceutiquement acceptables, procédé comprenant les étapes de (a) conversion d'un composé de formule



IX

en un composé de formule X dans laquelle R^1 , R^6 et X sont comme définis précédemment et G est un groupe protecteur du phosphate; (b) élimination du groupe protecteur du phosphate; et (c)



facultativement, conversion du produit de l'étape (b) en un sel pharmaceutiquement acceptable. Les groupes protecteurs du phosphate comprennent, mais ne sont pas limités à, ceux répondant à la définition de R^7 donnée ci-dessus, sauf H.

DESCRIPTION DETAILLEE DE L'INVENTION

Comme utilisé ici, sauf indication contraire, le terme "alkyle" signifie des chaînes de carbone droites ou ramifiées; le terme "halo" inclus bromo, chloro, fluoro et iodo; "étopofos" est le composé sel disodique de 4'-phosphate d'étoposide (c.a.d. composé VIa).

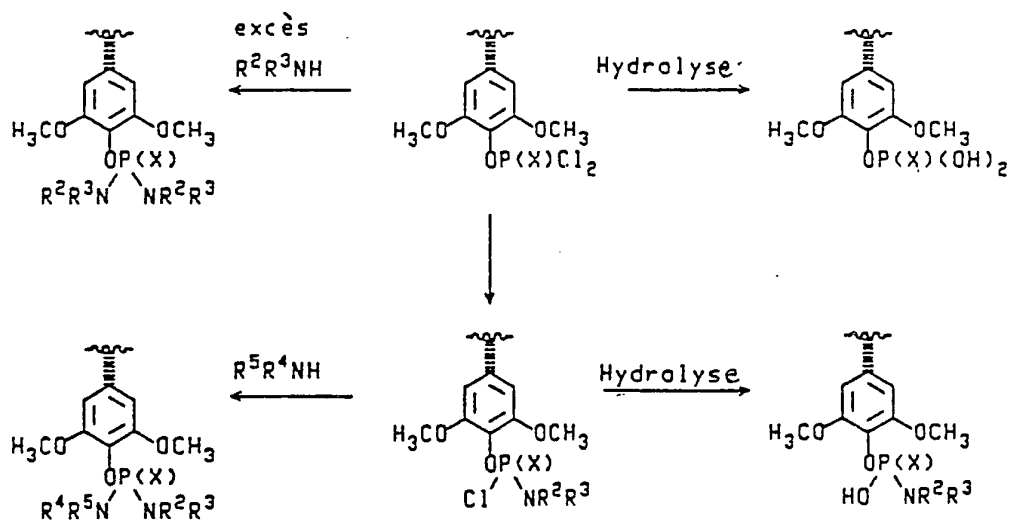
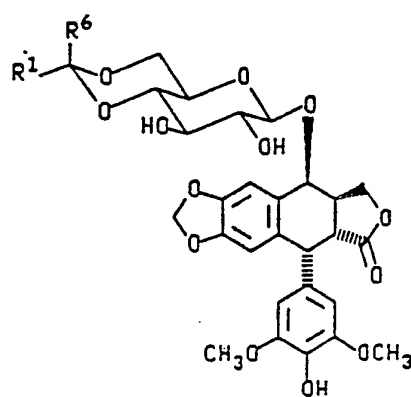
Le groupe phénol des glucosides de 4'-déméthyl-épipodophyllotoxine peut être phosphorylé avec de l'oxychlorure phosphoreux et du chlorure de thiophosphoryle pour donner respectivement le dichlorophosphate et le dichlorothiophosphate correspondants (formule VIII). La réaction de phosphorylation est effectuée dans un solvant organique anhydre approprié, comme par exemple l'acétonitrile, et de préférence en présence d'une base consistant en amine tertiaire, par exemple la N,N-diisopropyléthylamine. L'évolution de la réaction peut être contrôlée par une chromatographie en couche mince (CCM) grâce à laquelle la durée de réaction optimale peut être jugée par

l'apparition du produit ou la disparition de la matière de départ, ou les deux à la fois. Dans notre expérience, la durée de la réaction était d'environ 4 heures à environ 72 heures. La durée de réaction requise semble être en relation avec la qualité du réactif phosphoreux utilisé.

Les 4'-dichlorophosphates de formule VIII sont des intermédiaires polyvalents qui peuvent ultérieurement réagir avec des nucléophiles pour fournir divers dérivés de phosphate et de thiophosphate. Ainsi, les intermédiaires peuvent être hydrolysés pour fournir les phosphates, et en présence d'une base, les sels de phosphate sont obtenus. Par exemple, le composé VIII traité avec un excès d'une solution aqueuse de bicarbonate de sodium donne les sels disodiques de 4'-phosphate et de 4'-thiophosphate correspondants; des bicarbonates d'autres cations tels que potassium et ammonium peuvent aussi être utilisés pour fournir les sels respectifs. L'intermédiaire dichlorophosphate VIII peut réagir avec des amines pour fournir soit le phosphorodiamidate ou soit le chlorophosphoromonoamidate correspondants. Des exemples d'amines appropriées comprennent, mais non exclusivement, ammoniac, amines primaires, telles qu'éthylamine, chloroéthylamine, allylamine, diméthylaminopropylamine, hydroxyéthylamine, cyclohexylamine et aminocyclohexanol; et des amines secondaires telles que diéthylamine, pipéridine, éthylméthylamine, méthylaminoéthanol, éthylbutylamine, etc. La quantité d'amine utilisée par rapport à celle du dichlorophosphate d'épipodophyllotoxine peut être ajustée de manière à favoriser l'un ou l'autre des produits réactionnels. Par exemple, quand on utilise un grand excès de l'amine par rapport à l'épipodophyllotoxine, on obtient le phosphorodiamidate symétrique, c.a.d. des composés de formule VII dans laquelle Y est identique à NR^2R^3 ; le chlorophosphoromonoamidate, c.a.d. des composés de formule VII dans laquelle Y est Cl, peuvent être préparés quand on utilise une quantité plus contrôlée de

l'amine. Le chlorophosphoromonoamidate peut être hydrolysé pour fournir des composés de formule VII dans laquelle Y est OH ou ses sels, ou bien il peut être ultérieurement soumis à réaction avec une seconde amine pour fournir le
5 phosphorodiamidate non-symétrique, c.a.d. des composés de formule VII dans laquelle Y est NR^4R^5 et est différent de NR^2R^3 .

Le mode opératoire décrit ci-dessus est illustré par le schéma réactionnel suivant.



Les triesters de phosphate sont des composés de formule V dans laquelle R^7 et R^8 ne sont pas H, et ils peuvent être préparés en traitant le glucoside de 4'-déméthylépipo-dophyllotoxine avec du diester d'halophosphate [c.a.d. Hal-P(X)(OR⁷)(OR⁸)]. On a constaté que cette réaction est effectuée de manière plus efficace dans de l'acétonitrile en présence d'une base consistant en trialkylamine organique; la base préférée est la diisopropyléthylamine. On utilise au moins un équivalent de l'halophosphate et de la base amine, mais les deux réactifs sont de préférence employés en équivalents molaires en léger excès par rapport à celui du réactif glucoside d'épipodophyllotoxine. La réaction peut être effectuée à n'importe quelle température conduisant à la formation du produit; cependant, des températures légèrement élevées, p.ex. 30-40°C, semblent faciliter la réaction qui peut exiger plusieurs jours avant son achèvement. Les diesters d'halophosphate symétriques (c.a.d. $R^7=R^8$) peuvent être conventionnellement préparés à partir de l'alcool et p.ex., du chlorure de phosphoryle, et les non-symétriques (c.a.d. $R^7 \neq R^8$) peuvent être préparés à partir de l'alcool et de l'ester de dihalophosphate. Il est aussi possible de préparer des triesters de phosphate par d'autres méthodes, par exemple, en convertissant d'abord le phénol en un ester de phosphite, p.ex., en faisant réagir avec un réactif comme $(PhCH_2O)_2PN(i-pr)_2$, et en oxydant ultérieurement le phosphite en l'ester de phosphate, en utilisant p.ex. l'acide m-chloro perbenzoïque.

Les triesters de phosphate peuvent de plus servir en tant qu'intermédiaires dans la préparation des composés de formule V et de leurs sels. Ainsi, par exemple, le dihydroxy phosphate (V, $R^7=R^8=H$) est obtenu quand l'ester de diphenyle (V, $R^7=R^8=phényle$) est soumis à une hydrogénation catalytique. D'autres groupes protecteurs du phosphate appropriés comprennent, non exclusivement,

- 2,2,2-trichloroéthyle, benzyle, cyanoéthyle, phényle substitué par p-nitro, benzyle, phénéthyle et p-bromophényle. Les dihydroxy phosphates ($\underline{V}$, $R^7=R^8=H$) sont convertis en sels de base en effectuant une réaction avec
- 5 la base appropriée, p.ex. le bicarbonate de sodium, le bicarbonate d'ammonium ou des amines organiques. D'une autre manière, les sels peuvent aussi être générés en éluant le dihydroxy phosphate dans une colonne de résine pour échange contenant le cation désiré.
- 10 Bien que la présente invention utilise l'oxy-chlorure phosphoreux, des diesters d'halophosphate et leurs composés de soufre analogues comme réactif de phosphorylation, il est bien évident que d'autres réactifs
- 15 phosphoreux capables de phosphoryler des phénols peuvent aussi être utilisés, et les conditions et le milieu de réaction appropriés peuvent être choisis en fonction de l'agent de phosphorylation sélectionné. L'article de revue intitulé "Current Methods of Phosphorylation of Biological
- 20 exemples d'agents de phosphorylation et est indiqué ici à titre de référence.

PROPRIETES BIOLOGIQUES

- Les composés représentatifs de la présente invention ont été évalués en ce qui concerne leur activité
- 25 anti-tumeur vis-à-vis de la leucémie de murine P388 transplantable. Dans toutes les expériences on a utilisé des souris femelles CDF₁ ayant reçu un implant d'un inoculum de tumeur de 10^6 cellules ascites de leucémie de murine P388. Dans les expériences utilisant le 4'-
- 30 phosphate d'étoposide, son sel disodique et le sel disodique du 4'-thiophosphate d'étoposide, l'implantation de la tumeur et le traitement médicamenteux ont été tous deux effectués par voie iv. Dans toutes les autres expériences, l'implantation de la tumeur et le traitement médicamenteux
- 35 ont été faits par voie ip. Cependant, dans tous les cas,

le témoin positif, l'étoposide, a été administré par voie ip. Les expériences ont été poursuivies durant 28 à 46 jours, à la fin desquels le nombre de survivants a été relevé. L'activité anti-tumeur est exprimée en % T/C qui est le rapport entre le temps de survie médian (TSM) du groupe traité avec le médicament et le TSM du groupe de contrôle traité avec un salin. On considère généralement qu'un composé ayant une valeur en % T/C de 125 ou plus a une activité anti-tumeur significative dans le test avec P388. Le Tableau I présente les résultats de l'évaluation décrite ci-dessus; les valeurs maximum des % T/C et les doses donnant ces effets y sont rapportées.

Tableau I. Activité anti-tumeur vis-à-vis de la
 leucémie de murine P388

15		<u>Dose*</u>			
	<u>Composé de</u>	<u>(mg/kg/inj)</u>	<u>Voie</u>	<u>TSM(j)</u>	<u>%T/C</u>
	CELLULES TUMORALES IMPLANTEES PAR VOIE INTRAVEINEUSE				
	Exemple 1	140	IV	29,0	363
	(Etoposide)	50	IP	20,5	256
20	Exemple 4	200	IP	18,0	225
	(Etoposide)	100	IP	21,5	269
	Exemple 8	125	IV	24,5	306
	(Etoposide)	100	IP	29,5	369
	CELLULES TUMORALES IMPLANTEES PAR VOIE INTRAPERITONEALE				
25	Exemple 2	240	IP	16,5	165
	(Etoposide)	60	IP	25,0	250
	Exemple 3	200	IP	15,5	155
	(Etoposide)	100	IP	27,0	270

					Dose*
Composé de	(mg/kg/inj)	Voie	TSM(j)		%T/C
Exemple 7	240	IP	25,0		250
(Etoposide)	100	IP	26,0		260
5 Exemple 9	150	IP	19,5		217
(Etoposide)	100	IP	24,0		267

* Les médicaments ont été administrés le 5ème et le 8ème jour, sauf indication contraire (le premier jour étant le jour de l'implantation de la tumeur).

10 Les composés anti-tumeurs de la présente invention se sont révélés être actifs contre les tumeurs transplantées chez des animaux de laboratoire. Plus spécifiquement, le composé représenté par la formule VIa ("étopofos") présente une activité anti-tumeur significativement plus élevée que l'étoposide dans le test avec
 15 P388. Cet agent sélectif représente un pro-médicament d'étoposide très soluble dans l'eau, qui a une activité anti-tumeur réduite in vitro et est rapidement clivé par le phosphatase alcalin, avec pour résultat la libération
 20 de l'étoposide. L'étoposide qui est libéré présente une cytotoxicité identique à celle du médicament parent.

Par conséquent, la présente invention fournit un procédé pour inhiber les tumeurs chez les mammifères, comprenant l'administration, à un hôte porteur d'une
 25 tumeur, d'une dose active, inhibant la tumeur, d'un composé anti-tumeur de formule V ou VII. A cette fin, le médicament peut être administré par n'importe quelle voie conventionnelle comprenant, mais non exclusivement, la voie intraveineuse, intramusculaire, intratumorale,
 30 intraartérielle, intralymphatique et orale.

Un autre objet de la présente invention est de fournir une composition pharmaceutique qui comprend un

composé de formule V ou VII et un porteur pharmaceutiquement acceptable. La composition anti-tumeur peut être présentée sous n'importe quelle forme pharmaceutique appropriée, selon le mode d'administration désiré. Des
5 exemples de telles compositions comprennent des compositions solides pour administration par voie orale, telles que tablettes, capsules, pillules, poudres et granulés, des compositions liquides pour administration par voie orale telles que solutions, suspensions, sirops ou
10 élixirs et des préparations pour administration par voie parentérale telles que suspensions, émulsions ou solutions stériles. Elles peuvent aussi être présentées sous forme de compositions solides stériles qui peuvent être dissoutes immédiatement avant emploi dans de l'eau stérile, un
15 salin physiologique ou tout autre milieu injectable stérile.

Les doses et régimes optimaux pour un hôte mammifère donné peuvent être aisément déterminés par les experts en cette matière. Il faut évidemment remarquer que
20 la dose réelle utilisée peut varier en fonction de la composition particulière formulée, du composé particulier utilisé, du mode d'application et du site particulier, de l'hôte et de la maladie à traiter. Il faudra tenir compte de plusieurs facteurs qui modifient l'action du médicament,
25 tels que âge, poids, sexe, nourriture, durée de l'administration, voie d'administration, vitesse d'excrétion, condition du patient, combinaisons de médicaments, sensibilité de réaction et sévérité de la maladie.

Les exemples suivants sont uniquement donnés à
30 titre d'illustration et ils ne limitent en aucun cas le cadre de l'invention qui est défini uniquement par les Revendications en annexe à ce mémoire descriptif.

Dans les exemples suivants, le spectre de résonance magnétique nucléaire (RMN) avec proton et carbone
35 (utilisant CDCl_3 ou D_2O comme référence interne) et le

spectre RMN phosphoreux (utilisant une solution aqueuse à 85 % de H_3PO_4 comme référence externe) ont été enregistrés sur un spectromètre Bruker WM360. Les spectres infra-rouges (IR) ont été déterminés sur un spectrophotomètre à infra-rouge type Perkin-Elmer 1800 Fourier Transform.

15 "Chromatographie Flash" désigne une méthode décrite par Still (Still, W.C.; Kahn, M.; Mitra, A.; J. Org. Chem., 1978 43, 2923) et a été effectué en utilisant du silica gel E merck (230-400 mesh). Une chromatographie en phase

10 inverse a été effectuée sous une pression positive d'azote en utilisant du C18 (octadécylsilane) fixé à du silica gel (40 - μm de diamètre, fournisseur J.T. Baker).

Exemple 1

Sel disodique de 4'-phosphate d'étoposide (composé VIa)

15 Une suspension d'étoposide, agitée magnétiquement (2,30 g, 3,91 mmoles) dans de l'acétonitrile anhydre (210 ml) a été chauffée pour donner une solution presque complète. La solution a été laissée pour refroidir à température ambiante, et de la N,N-diisopropyléthylamine

20 (2,36 ml, 13,5 mmoles) a été ajoutée. Le mélange a été ensuite refroidi jusqu'à 0°C et du POCl_3 (666 mg, 4,34 mmoles) a été ajouté à l'aide d'une seringue en 30 secondes. On a laissé le mélange atteindre lentement la température ambiante, en un laps de temps de 2 à 3 heures,

25 et l'agitation a été poursuivie à température ambiante durant 63 heures. A la fin de cette période, 20 % en volume ont été enlevés et traités avec de la diéthylamine comme décrit dans l'Exemple 2. Le reste a été traité avec une solution de bicarbonate de sodium (6,0 g, 71,4 mmoles)

30 dans H_2O désionisée (110 ml), le mélange a été agité à température ambiante durant 80 minutes, et ensuite partagé avec une solution aqueuse saturée de bicarbonate de sodium (20 ml), H_2O désionisée (125 ml) et de l'acétate d'éthyle (350 ml). La couche organique a été ensuite

35 extraite avec H_2O désionisée (1 x 50 ml) et les couches

aqueuses combinées ont été lavées avec de l'acétate d'éthyle (250 ml) et puis soumises à un vide de 0,5 mm à température ambiante durant 1 heure pour éliminer les solvants dissous. La fraction aqueuse a été ensuite introduite dans une colonne de 4 cm de diamètre contenant 15 cm d'octadécylsilane fixé à du silica gel, qui a été placée dans du méthanol et équilibrée avec H₂O. Après introduction de toute la fraction aqueuse, la colonne a été éluée avec H₂O (175 ml) pour éliminer les sels inorganiques et ensuite avec 4:1 H₂O: CH₃OH pour éluer le produit. Une concentration du solvant à 0,5 torr a fourni 744 mg (36 %) du composé pur désiré sous forme d'un solide incolore. D'autre part, une lyophilisation fournit le composé pur désiré sous forme d'un solide duveteux de faible densité.

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

360 MHz ¹H RMN (D₂O) 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), 4,47-4,35 (m,2H), 4,24 (dd,1H,J=4,4 et 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 ¹³C RMN (D₂O) 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, 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 ³¹P RMN (D₂O) δ 3,79

Spectre de masse (FAB), m/e, 713 (M⁺ + H).

C₂₉H₃₁Na₂O₁₆P requiert M⁺, 712

Anal. Calculé pour $C_{29}H_{31}Na_2O_{16}P$: C 48,89; H 4,39

Na 6,45

Trouvé* : C 48,72; H 4,56

Na 6,56

- 5 * Ajusté pour 8,16 % H_2O déterminé par analyse de Karl Fischer.

Exemple 2

4'-(bis-[N,N-diéthyl]phosphonamide) d'étoposide (VII, X=O, R^1 =méthyle, R^6 =H, Y=N(Et)₂, R^2 = R^3 =Et)

- 10 Comme indiqué dans l'Exemple 1, 20 % en volume du mélange du produit réactionnel de l'étoposide et du $POCl_3$ ont été ajoutés à de la diéthylamine (4 ml) et on a agité à température ambiante durant 3 heures. Le solvant a été évaporé sous vide et le résidu légèrement orange a été
15 purifié par chromatographie flash sur du silica gel. Une élution avec 4 % de méthanol dans du chlorure de méthylène a fourni 271,3 mg (46,9 %) du composé pur désiré, sous forme d'un solide légèrement jaune.

- IR (KBr) 3408, 2974, 2936, 2877, 1774, 1598, 1508,
20 1486, 1467, 1421, 1383, 1339, 1234, 1191, 1162, 1130, 1098, 1079, 1037, 902, 858, 795, 713, 700, 544 cm^{-1} .

- 360 MHz 1H RMN ($CDCl_3$) 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 (q,1H,J=5,1Hz), 4,61 (d,1H,J=7,6Hz), 4,57 (d,1H,j=5,2Hz),
25 4,39 (dd,1H,J=9,1 et 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).

146 MHz ^{31}P RMN ($CDCl_3$) δ 16,49

- 30 Spectre de masse (FAB), m/e, 779 ($M^+ + H$), 573 ($M^+ -$ sucre). $C_{37}H_{51}N_2O_{14}P$ requiert M^+ , 778.

Exemple 3

4'-(N,N-[2-chloroéthyl]phosphoryl chlorure) d'étoposide
 (VII, R^1 =méthyle, R^6 =H, X=O, Y=Cl, $R^2=R^3=CH_2CH_2Cl$)

Une suspension, agitée magnétiquement, d'étoposide (2,00 g, 3,40 mmoles) dans de l'acétonitrile anhydre (220 ml) a été chauffée pour donner une solution presque complète. Le mélange a été refroidi à température ambiante et traité avec de la N,N-diisopropyléthylamine (2,05 ml, 11,8 mmoles). Le mélange a été ensuite refroidi à 0°C sous N₂ et de l'oxychlorure phosphoreux (624 mg, 4,07 mmoles) a été ajouté par une seringue en un laps de temps de 30 secondes. Le mélange a été magnétiquement agité à 0°C durant 2,5 heures et ensuite à température ambiante durant 1,5 heure supplémentaire. On a ensuite rapidement ajouté de l'hydrochlorure de bis-(2-chloroéthylamine) (1,82 g, 10,2 mmoles), puis immédiatement après de la N,N-diisopropyléthylamine additionnelle (2,10 ml, 12,0 mmoles). Le mélange a été agité à température ambiante durant 85 minutes, concentré sous vide jusqu'à un volume d'environ 5 ml et dissous dans de l'acétate d'éthyle (400 ml) et du méthanol (5 ml). La solution résultante a été lavée avec un agent tampon à pH 5 (2 x 200 ml), de l'eau (150 ml) et de la saumure (150 ml) et a été séchée sur Na₂SO₄/MgSO₄. L'évaporation du solvant a donné un solide jaune orange qui a été purifié par chromatographie flash sur du silica gel avec 3-4 % de méthanol dans du chlorure de méthylène pour fournir 1,25 g (45,4 %) du composé pur désiré, sous forme d'un solide incolore.

360 MHz ¹H RMN (CDCl₃) 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).

146 MHz ^{31}P RMN (CDCl_3) δ 11,16 et 10,96 (deux pics dus au phosphore chiral).

Spectre de masse (FAB), m/e, 812, 810, 808.
 $\text{C}_{33}\text{H}_{39}\text{Cl}_3\text{NO}_{14}$ requiert M^+ (^{35}Cl) 809.

5 Exemple 4

Sel disodique de 4'-thiophosphate d'étoposide (Composé VIb)

Une suspension, agitée magnétiquement, d'étoposide (2,04 g, 3,47 mmoles) dans de l'acétonitrile anhydre (175 ml) a été chauffée pour donner une solution presque
10 complète. La solution a été laissée pour refroidir jusqu'à température ambiante et on y a ajouté ensuite de la N,N-diisopropyléthylamine (2,00 ml, 11,5 mmoles). Le mélange a été ensuite refroidi jusqu'à 0°C et du chlorure de thiophosphoryle (0,720 g, 4,17 mmoles) a été ajouté par
15 une seringue en un laps de temps de 30 secondes. On a laissé le mélange se réchauffer lentement jusqu'à température ambiante durant 2-3 heures et l'agitation a été poursuivie à température ambiante durant 16 heures. Le mélange a été ensuite chauffé jusqu'à 30-35°C et maintenu
20 à cette température durant 4 heures supplémentaires. Une nouvelle tache majeure de Rf supérieur à l'étoposide a été observée par CCM (5 % CH_3OH dans CH_2Cl_2). Le mélange réactionnel a été traité avec du bicarbonate de sodium solide (7,4 g) et ensuite de l' H_2O désionisée (100 ml) a
25 été ajoutée. Le mélange a été agité à 28-25°C durant 1,5 heure et à température ambiante durant 1,5 heure. Le mélange a été partagé avec H_2O désionisée (200 ml), une solution aqueuse saturée de bicarbonate de sodium (30 ml) et de l'acétate d'éthyle (300 ml). Ensuite, un traitement
30 et une chromatographie en phase inverse ont été effectués suivant le mode opératoire décrit dans l'Exemple 1 pour fournir 1,03 g (40,8 %) du composé pur désiré sous forme d'un solide incolore.

360 MHz ^1H RMN (D_2O) δ 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, $J=4,3$ et $10,5\text{Hz}$), 3,64 (s, 6H), 3,67-3,52 (m, 3H), 3,47-3,29 (m, 3H), 3,17-3,07 (m, 1H), 1,31 (d, 3H, $J=5,0\text{Hz}$).

Spectre de masse (FAB), m/e 728 (M^+), 706 ($\text{M}^+ + \text{H} - \text{Na}$). $\text{C}_{29}\text{H}_{31}\text{Na}_2\text{O}_{15}\text{PS}$ requiert M^+ , 728.

Exemple 5

10 4'-[[N,N-bis(2-chloroéthyl)amino]-[N-(3-hydroxy-propyl)amino]]phosphate d'étoposide (VII, $\text{X}=\text{O}$, $\text{R}^1=\text{méthyle}$, $\text{R}^6=\text{H}$, $\text{R}^2=\text{R}^3=2\text{-chloroéthyle}$, $\text{Y}=\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{OH}$

Une solution, agitée magnétiquement, du composé de l'Exemple 3 (280 mg, 0,346 mmole) dans CH_2Cl_2 (3 ml) a été traitée avec une solution de 3-amino-1-propanol (33,5 mg, 0,446 mmole) dans CH_2Cl_2 (1 ml). Après 5 minutes, on a ajouté du 3-amino-1-propanol supplémentaire (31,0 mg, 0,413 mmole) dans du méthanol absolu (0,5 ml). Le mélange réactionnel a été purifié par application directe sur 4 plaques de préparation de CCM (1 mm, silica gel de E. Merck) qui ont été développées en utilisant 5-8 % de CH_3OH dans CH_2Cl_2 . Une élution de la bande du produit désiré en utilisant 5 % de CH_3OH dans de l'acétate d'éthyle, puis une évaporation sous vide et ensuite un séchage à 0,1 torr a fourni 185 mg (63 %) du composé pur désiré sous forme d'un solide incolore (mélange de diastéréomères au phosphore).

360 MHz ^1H RMN (CDCl_3) δ 7,20 (br s, 1H), 6,80 (s, 1H), 6,50 et 6,48 (2s, 1H), 6,26 et 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).

Spectre de masse (FAB), m/e, 849, 851 ($M^+ + H$, ^{35}Cl , ^{37}Cl). $C_{36}H_{47}Cl_2N_2O_{15}P$ requiert M^+ 848 (^{35}Cl) et 850 (^{37}Cl).

Exemple 6

- 5 4'-[N,N-bis(2-chloroéthyl)amino]-[N-[2-[(3-nitro-pyridyl-2-yl)disulfure]éthyl]amino]phosphate d'étoposide (VII.
X=O, R^1 =méthyle, R^6 =H, R^2 = R^3 =2-chloroéthyle, Y=NH(CH₂)₂-SS-
(3-nitropyridyl-2-yl).

Un mélange du composé de l'Exemple 3 (248 mg, 0,306 mmole) et d'hydrochlorure de 2-(3-nitropyridyl)-1-(2-aminoéthyl) disulfure (105 mg, 0,393 mmole) a été traité avec CH₂Cl₂ (7 ml) puis on a ajouté de la diisopropyléthylamine (100 µm, 0,570 mmole) et du méthanol anhydre (0,5 ml). La solution résultante a été agitée à température ambiante durant 1,5 heure et ensuite a été purifiée par application directe sur quatre plaques de préparation CCM (1 mm, silica gel de E. Merck) qui ont été développées en utilisant 4-5 % de CH₃OH dans de l'acétate d'éthyle. Une élution de la bande du produit désiré en utilisant 5 % de CH₃OH dans de l'acétate d'éthyle, puis une évaporation sous vide et ensuite un séchage à 0,1 torr a fourni 231,7 mg (75,3 %) du composé pur désiré sous forme d'un solide jaune brun (mélange de diastéréomères au phosphoreux).

25 IR (KBr) 1774, 1598, 1584, 1559, 1509, 1486, 1456, 1421, 1397, 1342, 1236, 1160, 1128, 1096, 1038, 1004, 926, 857, 747, 699 cm⁻¹

360 MHz ¹H RMN (CDCl₃) δ 8,81 et 8,77 (2m, 1H), 8,48 (m, 1H), 7,33 (m, 1H), 6,81 (s, 1H), 6,51 et 6,50 (2s, 1H), 30 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, 19H), 2,68 (br s, 1H, OH), 2,37 (br s, 1H, OH), 1,37 (d, 3H).

Spectre de masse (FAB), m/e, 1005, 1007 ($M^+ + H$, ^{35}Cl , ^{37}Cl). $\text{C}_{40}\text{H}_{47}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_{16}\text{PS}_2$ requiert M^+ , 1004 (^{35}Cl) et 1006 (^{37}Cl).

Exemple 7

- 5 4'-diphényl phosphate d'étoposide ($R^1=\text{CH}_3$, $R^6=\text{H}$, $R^7=R^8=\text{phényle}$)

Une suspension, agitée magnétiquement, d'étoposide (10,50 g, 17,84 mmoles, séché sur P_2O_5 à $80^\circ\text{C}/0,5$ torr) dans de l'acétonitrile anhydre (450 ml) a été
 10 traitée avec de la diisopropyléthylamine (4,20 ml, 24,1 mmoles) et ensuite du chlorophosphate de diphényle (2,00 ml, 9,65 mmoles) a été ajouté à l'aide d'une seringue. Le mélange a été agité sous N_2 durant deux heures à 50°C et à ce moment tout l'étoposide était dissous. Du chloro-
 15 phosphate de diphényle supplémentaire (1,80 ml, 8,68 mmoles) a été ajouté et le mélange réactionnel a été maintenu à 45°C durant 72 heures. Après addition supplémentaire de la base amine (0,75 ml, 4,3 mmoles) et de chlorophosphate de diphényle (0,80 ml, 3,86 mmoles), le
 20 mélange a été agité à $40-45^\circ\text{C}$ durant 27 heures, traité avec plus de chlorophosphate de diphényle (0,40 ml, 1,93 mmole), et maintenu à $40-45^\circ\text{C}$ durant 22 heures. De l'isopropanol (20 ml) a été ensuite ajouté, le solvant a été évaporé sous vide et le résidu solide a été dissous
 25 dans CH_2Cl_2 (500 ml), et partagé avec H_2O (400 ml). La couche aqueuse a été ensuite extraite avec CH_2Cl_2 (100 ml) et les extraits organiques combinés ont été lavés avec de la saumure (250 ml) et séchés ($\text{Na}_2\text{SO}_4/\text{MgSO}_4$). Une évaporation rotative, suivie d'une chromatographie flash sur du
 30 silica gel en utilisant 2-3 % de CH_3OH dans CH_2Cl_2 a fourni 12,50 g (85 %) du composé pur désiré sous forme d'un solide incolore.

FAB SM m/e (intensité relative) 820 ($M + H$) $^+$.

IR (KBr) 3460, 2925, 1775, 1601, 1490 cm^{-1} .

^1H RMN (CDCl_3) δ 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).

Anal. Calculé pour $\text{C}_{41}\text{H}_{41}\text{O}_{16}\text{P}$: C 60,00; H 5,04.
 Trouvé : C 60,20; H 5,16

10 Exemple 8

4'-phosphate d'étoposide (V ; $R^1=\text{CH}_3$; $R^6=\text{H}$; $R^7=R^8=\text{H}$)

De l'oxyde de platine (0,198 g, 0,87 mmole) provenant d'une bouteille fraîchement ouverte (Aldrich Chemical Co.) a été ajouté à une solution de 4'-diphényl-
 15 phosphate d'étoposide (produit de l'Exemple 7; 0,79 g, 0,962 mmole) dans 95 ml de méthanol absolu. La solution a été hydrogénée sur un appareil de Parr sous 310-315 kPa (45-50 PSI) durant 4 heures à température ambiante. Le mélange réactionnel a été filtré au travers d'un tampon
 20 de célite en utilisant de l'éthanol comme éluant. Une concentration sous vide et un séchage sur P_2O_5 durant 14 heures sous vide a fourni le produit désiré sous forme d'un solide blanc (0,627, 94 %).

FAB SM m/e (intensité relative) 669 ($M + H$) $^+$.

25 IR (KBr) 3440, 2930, 1778, 1604, 1498 cm^{-1}

^1H RMN ($\text{DMSO}-d_6$) δ 6,93 (s, 1H), 6,46 (s, 1H), 6,12 (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),
 30 3,51-2,75 (m, 7H), 2,83 (m, 1H), 1,16 (d, $J=5,1\text{Hz}$, 3H).

5 . Anal. Calculé pour $C_{29}H_{33}O_{16}P$ 0,85 % H_2O :
C 50,95; H 5,11
Trouvé : C 51,42; H 4,97.

10 4'-bis(2,2,2-trichloroéthyl)phosphate d'étoposide (VIII;
 $R^6=CH_3$, $R^1=H$, $R^7=R^8=CH_2CCl_3$)

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

Spectre de masse (FAB), $m/e = 928,9848$ ($M^+ + H$).

Exemple 10

Méthode A

30 Une résine échangeuse de cation du commerce,
Dowex 50 x 8-100, sous forme hydrogénée (20 g, Aldrich

Chemical Co.) a été traitée avec un excès de NaOH 1N. La résine résultante sous forme Na^+ a été introduite dans une colonne de 2 cm et équilibrée avec de l'eau. Le 4'-phosphate d'étoposide (produit de l'Exemple 8, 1,25 g, 5 1,87 mmole) dissous dans 25 ml d'eau désionisée a été introduit au sommet de la colonne garnie et la colonne a été éluée avec de l'eau. Des fractions contenant le composé désiré ont été rassemblées, filtrées et lyophilisées pour donner 1,15 g du composé désiré sous forme d'une 10 matière duveteuse et blanche.

Méthode B

A 2,90 g (4,34 mmoles) de 4'-phosphate d'étoposide brut (produit de l'Exemple 8), on a ajouté de l'eau désionisée (50 ml) et du bicarbonate de sodium (3,00 g, 15 35,7 mmoles). Le mélange a été agité à température ambiante durant 30 minutes, période durant laquelle le dégagement de CO_2 a cessé. Le mélange a été ensuite chromatographié comme décrit dans l'Exemple 1. Une élution avec de l'eau désionisée (300 ml) et ensuite avec 4:1 $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{OH}$ 20 a fourni 1,90 g (61 %) du composé pur désiré, sous forme d'un solide blanc duveteux, puis ensuite une lyophilisation a été effectuée.

Exemple 11

Le mode opératoire général décrit dans l'Exemple 25 2 a été répété sauf que la diéthylamine utilisée dans cet exemple a été remplacée par les amines énumérées ci-dessous, pour fournir les 4'-phosphorodiamidates d'étoposide correspondants.

<u>Amine</u>		Composé VII ($X=O$, R^1 =méthyle, $R^6=H$, $Y=NR^2R^3$)	
		<u>R^2</u>	<u>R^3</u>
	propylamine	H	$CH_2CH_2CH_3$
5	éthanolamine	H	CH_2CH_2OH
	méthoxyéthylamine	H	$CH_2CH_2OCH_3$
	N-acétyléthylènediamine	H	$CH_2CHNC(O)CH_3$
	2-méthylallylamine	H	$CH_2CH(CH_3)=CH_2$
	allylamine	H	$CH_2CH=CH_2$
10	diméthylaminopropylamine	H	$(CH_2)N(CH_3)_2$
	N-méthyléthylènediamine	H	$CH_2CH_2NCH_3$
	trifluoroéthylamine	H	CH_2CF_3
	2-aminoéthanethiol	H	CH_2CH_2SH
	cyclohexylamine	H	cyclohexyle
15	2-amino-1-méthoxypropane	H	$CH(CH_3)CH_2OCH_3$
	2-(éthylthio)-éthylamine	H	$CH_2CH_2SCH_2CH_3$
	chloroéthylamine	H	CH_2CH_2Cl
	4-aminocyclohexanol	H	
	éthylméthylamine	CH_3	CH_2CH_3
20	éthylbutylamine	CH_2CH_3	$(CH_2)_3CH_3$
	méthylaminoéthanol	CH_3	CH_2CH_2OH
	bis(2-chloroéthyl)amine	CH_2CH_2Cl	CH_2CH_2Cl
	2-propylaminoéthanol	$CH_2CH_2CH_3$	CH_2CH_2OH
	3-méthylaminopropionitrile	CH_3	CH_2CH_2CN
25	pipéridine	$R^2+R^3 =$	$-(CH_2)_5-$

Exemple 12

Le mode opératoire général décrit dans l'Exemple 3 a été répété sauf que la bis(2-chloroéthyl)amine utilisée dans cet exemple a été remplacée par les amines énumérées ci-dessous, afin de fournir les chlorophoroamidates d'étoposide correspondants.

<u>Amine</u>		Composé VII ($X=O$, R^1 =méthyle, $R^6=H$, $Y=Cl$)	
		<u>R^2</u>	<u>R^3</u>
	propylamine	H	$CH_2CH_2CH_3$
5	éthanolamine	H	CH_2CH_2OH
	méthoxyéthylamine	H	$CH_2CH_2OCH_3$
	N-acétyléthylènediamine	H	$CH_2CHNC(O)CH_3$
	2-méthylallylamine	H	$CH_2CH(CH_3)=CH_2$
	allylamine	H	$CH_2CH=CH_2$
10	diméthylaminopropylamine	H	$(CH_2)N(CH_3)_2$
	N-méthyléthylènediamine	H	$CH_2CH_2NCH_3$
	trifluoroéthylamine	H	CH_2CF_3
	2-aminoéthanethiol	H	CH_2CH_2SH
	cyclohexylamine	H	cyclohexyle
15	2-amino-1-méthoxypropane	H	$CH(CH_3)CH_2OCH_3$
	2-(éthylthio)-éthylamine	H	$CH_2CH_2SCH_2CH_3$
	chloroéthylamine	H	CH_2CH_2Cl
	4-aminocyclohexanol	H	4-OH cyclohexyle
	éthylméthylamine	CH_3	CH_2CH_3
20	éthylbutylamine	CH_2CH_3	$(CH_2)_3CH_3$
	méthylaminoéthanol	CH_3	CH_2CH_2OH
	diéthylamine	CH_2CH_3	CH_2CH_3
	2-propylaminoéthanol	$CH_2CH_2CH_3$	CH_2CH_2OH
	3-méthylaminopropionitrile	CH_3	CH_2CH_2CN
25	pipéridine	$R^2+R^3 =$	$-(CH_2)_5-$

Exemple 13

Le mode opératoire général décrit dans l'Exemple 5 a été répété sauf que le 3-aminopropanol utilisé dans cet exemple a été remplacé par les amines suivantes, afin de fournir les phosphorodiamidates d'étoposide non-symétriques correspondants.

<u>Amine</u>		Composé VII ($X=O$, R^1 =méthyle, $R^6=H$, $Y=NR^4R^5$, $R^2=R^3=CH_2CH_2Cl$)	
		<u>R^4</u>	<u>R^5</u>
	propylamine	H	$CH_2CH_2CH_3$
5	éthanolamine	H	CH_2CH_2OH
	méthoxyéthylamine	H	$CH_2CH_2OCH_3$
	N-acétyléthylènediamine	H	$CH_2CHNC(O)CH_3$
	2-méthylallylamine	H	$CH_2CH(CH_3)=CH_2$
	allylamine	H	$CH_2CH=CH_2$
10	diméthylaminopropylamine	H	$(CH_2)N(CH_3)_2$
	N-méthyléthylènediamine	H	$CH_2CH_2NCH_3$
	trifluoroéthylamine	H	CH_2CF_3
	2-aminoéthanethiol	H	CH_2CH_2SH
	cyclohexylamine	H	cyclohexyle
15	2-amino-1-méthoxypropane	H	$CH(CH_3)CH_2OCH_3$
	2-(éthylthio)-éthylamine	H	$CH_2CH_2SCH_2CH_3$
	chloroéthylamine	H	CH_2CH_2Cl
	4-aminocyclohexanol	H	4-OH cyclohexyle
	éthylméthylamine	CH_3	CH_2CH_3
20	éthylbutylamine	CH_2CH_3	$(CH_2)_3CH_3$
	méthylaminoéthanol	CH_3	CH_2CH_2OH
	bis(2-chloroéthyl)amine	CH_2CH_2Cl	CH_2CH_2Cl
	2-propylaminoéthanol	$CH_2CH_2CH_3$	CH_2CH_2OH
	3-méthylaminopropionitrile	CH_3	CH_2CH_2CN
25	pipéridine	$R^4+R^5 =$	$-(CH_2)_5-$

Exemple 14

Le mode opératoire général décrit dans l'Exemple 7 a été répété sauf que le chlorophosphate de diphenyle utilisé dans cet exemple a été remplacé par les chloro-

30 phosphates énumérés ci-dessous, pour fournir les diesters de 4'-phosphate d'étoposide correspondants ($X=O$, R^1 =méthyle, $R^6=H$, $R^7=R^8=R$ décrits ci-dessous).

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

R = méthyle

éthyle

benzyle

5 p-nitrobenzyle

p-nitrophényle

p-bromobenzyle

p-nitrophénéthyle

cyanoéthyle

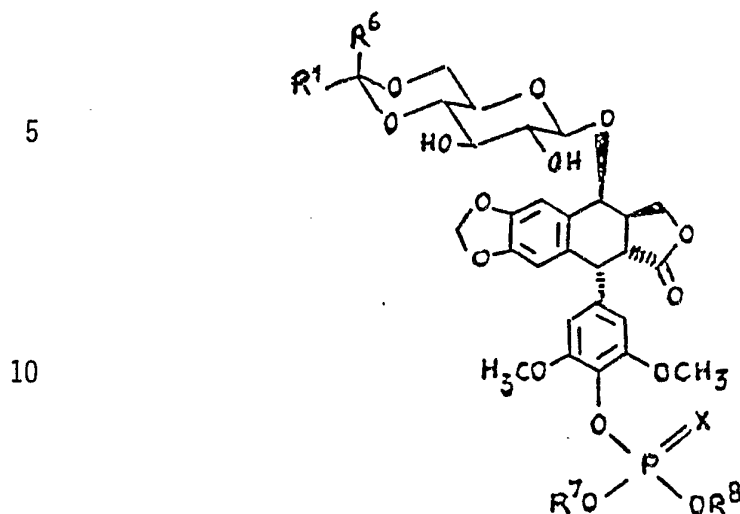
10 o-(t-butyl)phényle

Exemple 15

Les modes opératoires généraux décrits dans les Exemples 1 à 16 ont été répétés sauf que les matières de départ consistant en étoposides utilisées dans ces
15 exemples ont été remplacées par les composés téniposides correspondants, afin de fournir les produits téniposides correspondants.

REVENDEICATIONS

1. Composé de formule



dans laquelle

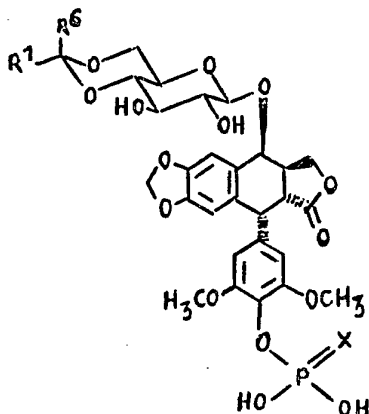
- 15 R^6 est H et R^1 est choisi parmi le groupe consistant en alkyle (C_{1-10}); alkényle (C_{2-10}); cycloalkyle (C_{5-6}); 2-furyle; 2-thiényle; aryle (C_{6-10}); aralkyle (C_{7-14}); et aralkényle (C_{8-14}) dans lesquels les noyaux aromatiques peuvent être non-substitués ou substitués par un
- 20 ou plusieurs groupes choisis parmi halo, alkyle (C_{1-8}), alkoxy (C_{1-8}), hydroxy, nitro et amino; ou R^1 et R^6 sont chacun alkyle (C_{1-8}); ou R^1 et R^6 et le carbone auquel ils sont fixés forment ensemble un groupe cycloalkyle (C_{5-6});
- 25 X est l'oxygène ou le soufre;
- R^7 et R^8 sont indépendamment choisis parmi le groupe consistant en H, alkyle (C_{1-5}), alkyle (C_{1-5}) substitué par A, cycloalkyle (C_{3-6}), cycloalkyle (C_{3-6}) substitué par A, aryle (C_{6-10}), aryle substitué par A, aryle
- 30 substitué par alkyle, aralkyle (C_{7-14}), aralkyle substitué par A et aralkyle substitué par alkyle; dans lesquels les substituants A sont un ou plusieurs groupes choisis parmi hydroxy, alkoxy, alkanoyloxy, cyano, amino, alkylamino, dialkylamino, carboxy,
- 35 alkylthio, mercapto, mercaptothio, disulfure de nitro-

pyridyle, alkanoylamino, alkanoyl, carbamoyl, nitro et halo;

ou un de ses sels pharmaceutiquement acceptable.

2. Composé suivant la revendication 1, de formule

5



dans laquelle R^1 , R^6 et X sont comme définis plus haut;
ou un de ses sels pharmaceutiquement acceptable.

3. Composé suivant la revendication 1, dans lequel R^6 est H et R^1 est méthyle ou 2-thiényne.

10 4. Composé suivant la revendication 2, dans lequel R^6 est H et R^1 est méthyle ou 2-thiényne.

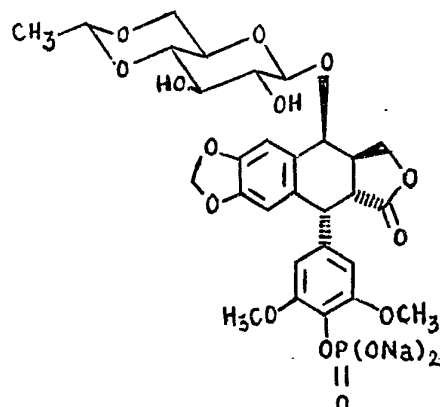
5. Composé suivant la revendication 2, dans lequel R^6 est H et R^1 est méthyle.

15 6. Composé suivant la revendication 5 dans lequel X est l'oxygène.

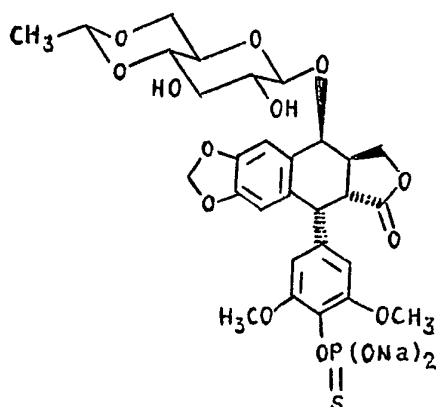
7. Composé suivant la revendication 5, dans lequel X est le soufre.

8. Composé suivant la revendication 1, dans lequel le sel pharmaceutiquement acceptable est le sel de sodium.

9. Composé sel disodique de 4'-phosphate d'étoposide :



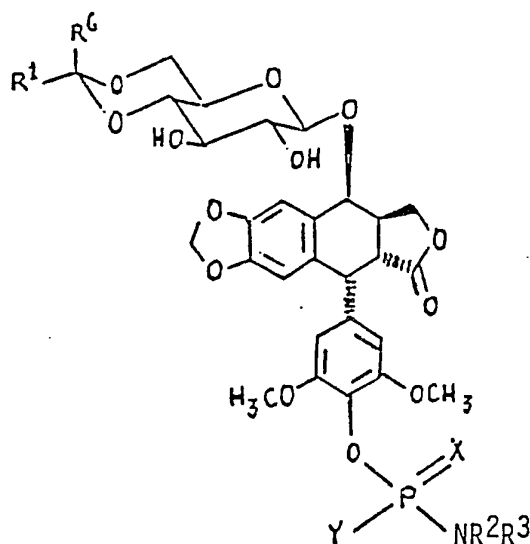
10. Composé sel disodique de 4'-thiophosphate d'étoposide :



11. Composé suivant la revendication 1, dans lequel R^7 est
 5 choisi parmi le groupe consistant en alkyle (C_{1-5});
 alkyle (C_{1-5}) substitué par A; cycloalkyle (C_{3-6});
 cycloalkyle (C_{3-6}) substitué par A; aryle (C_{6-10});
 aryle substitué par A, aryle substitué par alkyle;
 aralkyle (C_{1-14}); aralkyle substitué par A; et
 10 aralkyle substitué par alkyle et R^8 est H ou un groupe
 répondant à la définition de R^7 ; dans lesquels les
 substituants A sont comme définis précédemment; ou un
 de ses sels pharmaceutiquement acceptable.
12. Composé suivant la revendication 11, dans lequel R^6
 15 est H et R^1 est méthyle ou 2-thiényle.

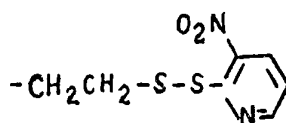
13. Composé suivant la revendication 12, dans lequel R^7 et R^8 sont indépendamment choisis parmi alkyle (C_{1-5}); alkyle (C_{1-5}) substitué par halo; alkyle (C_{1-5}) substitué par cyano; aryle (C_{6-10}); et aralkyle (C_{7-14}); dans lesquels la fraction noyau des groupes aryle et arylalkyle est facultativement substituée par un groupe choisi parmi alkyle, halo et nitro.
14. Composé suivant la revendication 13 dans lequel R^1 est méthyle.
15. Composé suivant la revendication 14, dans lequel X est l'oxygène.
16. Composé suivant la revendication 15, dans lequel R^7 et R^8 sont chacun phényle.
17. Composé suivant la revendication 15, dans lequel R^7 et R^8 sont chacun 2,2,2-trichloroéthyle.

18. Composé de formule :

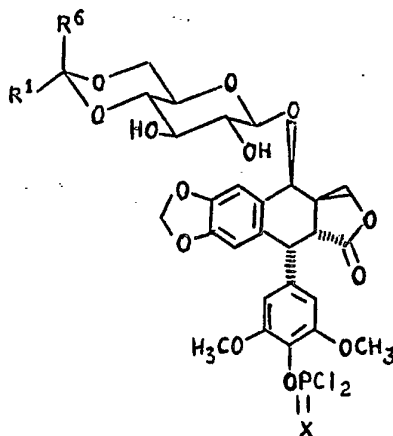


dans laquelle R^1 , R^6 et X sont comme définis précédemment, Y est Cl, OH ou NR^4R^5 ; R^2 , R^3 , R^4 et R^5 sont chacun indépendamment choisis parmi le groupe consistant en H, alkyle (C_{1-5}), alkényle (C_{2-5}), cycloalkyle (C_{3-6}), alkyle (C_{1-5}) substitué par A, alkényle (C_{2-5}) substitué par A, cycloalkyle (C_{3-6}) substitué par A; ou R^2 , R^3 et l'azote auquel ils sont fixés

- forment ensemble un noyau de 3 à 6 membres; ou R^4 , R^5 et l'azote auquel ils sont fixés forment ensemble un noyau de 3 à 6 membres; dans lesquels les substituants A sont comme définis précédemment; ou un de ses sels pharmaceutiquement acceptable
- 5
19. Composé suivant la revendication 18, dans lequel R^6 est H; R^1 est méthyle ou 2-thiényle; Y est Cl ou NR^4R^5 ; X est l'oxygène ou le soufre; et R^2 , R^3 , R^4 et R^5 sont indépendamment choisis parmi le groupe consistant en H, alkyle (C_{1-5}), alkyle (C_{1-5}) substitué par halo, alkyle (C_{1-5}) substitué par hydroxy, et alkyle (C_{1-5}) substitué par disulfure de nitropyridyle.
- 10
20. Composé suivant la revendication 19, dans lequel X est l'oxygène.
- 15
21. Composé suivant la revendication 20, dans lequel R^1 est méthyle.
22. Composé suivant la revendication 21, dans lequel R^2 et R^3 sont chacun 2-chloroéthyle; et Y est Cl.
23. Composé suivant la revendication 21, dans lequel Y est NR^4R^5 .
- 20
24. Composé suivant la revendication 23, dans lequel R^2 , R^3 , R^4 et R^5 sont chacun éthyle.
25. Composé suivant la revendication 23, dans lequel R^2 et R^3 sont chacun 2-chloroéthyle; R^4 est H et R^5 est 3-hydroxypropyle.
- 25
26. Composé suivant la revendication 23, dans lequel R^2 et R^3 sont chacun 2-chloroéthyle; R^4 est H et R^5 est



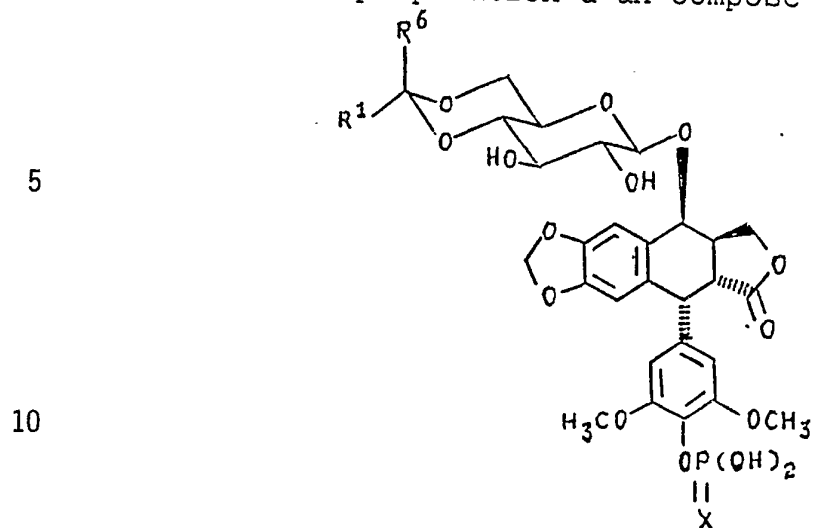
27. Intermédiaire de formule



dans laquelle R^1 , R^6 et X sont comme définis précédemment.

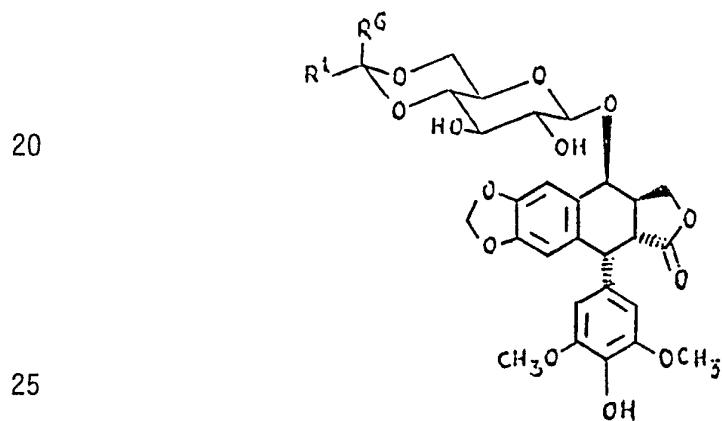
28. Composé suivant la revendication 27, dans lequel R^6 est H; R^1 est méthyle; et X est l'oxygène.
29. Composé suivant la revendication 27, dans lequel R^6 est H; R^1 est méthyle; et X est le soufre.
30. Composition pharmaceutique comprenant une quantité anti-tumeur active d'un composé suivant la revendication 1 ou la revendication 18, et un porteur pharmaceutiquement acceptable.
31. Composition suivant la revendication 30, dans laquelle le composé est le sel disodique de 4'-phosphate d'étoposide.
32. Procédé pour inhiber une tumeur chez les mammifères, comprenant l'administration à un hôte porteur d'une tumeur d'une quantité anti-tumeur active d'un composé suivant la revendication 1 ou la revendication 18.
33. Procédé suivant la revendication 32, dans lequel le composé est le sel disodique de 4'-phosphate d'étoposide.

34. Procédé de préparation d'un composé de formule



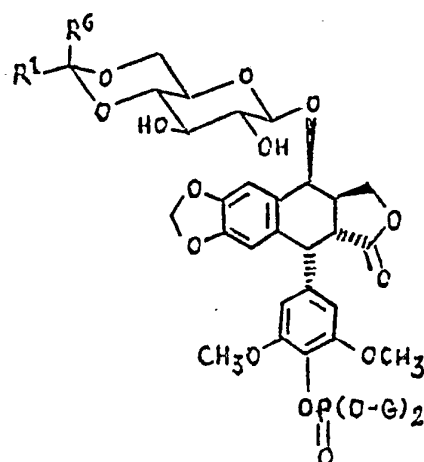
dans laquelle R^1 , R^6 et X sont comme définis précédem-
ment ou un de ses sels pharmaceutiquement acceptable,
comprenant les étapes suivantes :

(a) conversion d'un composé de formule IX



IX

en un composé de formule X



dans laquelle R^1 , R^6 et X sont comme définis précédemment, et G est un groupe protecteur du phosphate.

(b) élimination du groupe protecteur du phosphate; et

(c) facultativement conversion du produit de

l'étape (b) en un sel pharmaceutiquement acceptable.

35. Procédé suivant la revendication 34, dans lequel

l'étape de conversion comprend la réaction d'un

composé de formule IX avec un composé de formule

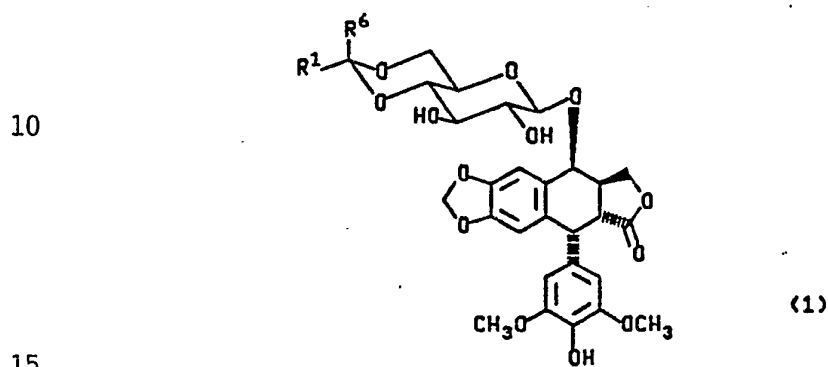
Hal-P(X)(O-G)_2 , dans laquelle Hal est un halogène, et

X et G sont comme définis précédemment, dans de

l'acétonitrile ou dans $\text{CN (C}_{2-5}\text{)}$, et en présence d'une trialkylamine.

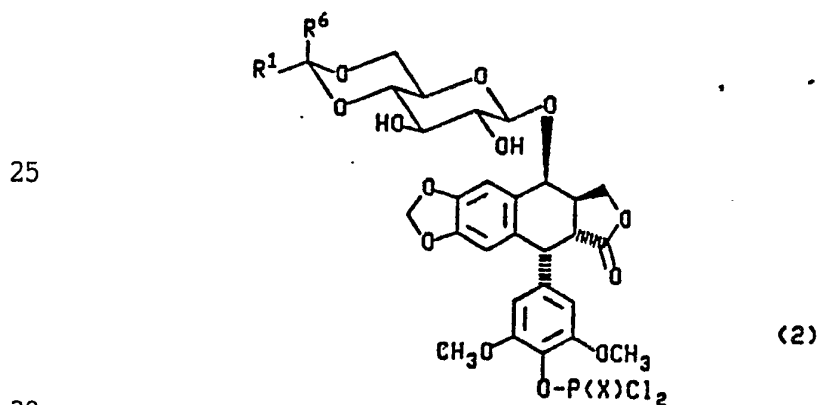
36. Procédé de préparation d'un composé tel que défini à la revendication 1 comprenant les étapes suivantes :

5 (a) réaction d'un composé de formule (1)



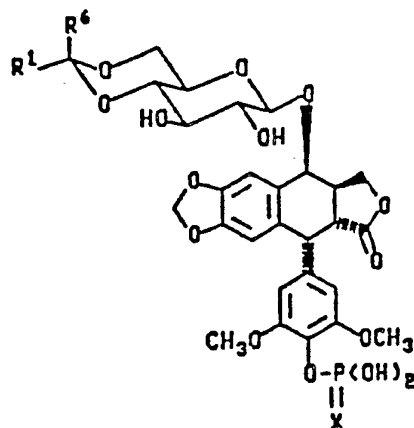
avec un composé de formule $P(X)Cl_3$ où R^1 , R^6 , et X sont tels que définis dans la revendication 1 et en présence d'un accepteur d'hydrogène pour former un

20 intermédiaire de formule (2); et



(b) hydrolyse d'un composé de formule (2) facultativement en présence d'une base pour former un composé de formule (3) ou un sel pharmaceutiquement acceptable de ce composé; ou

5



(3)

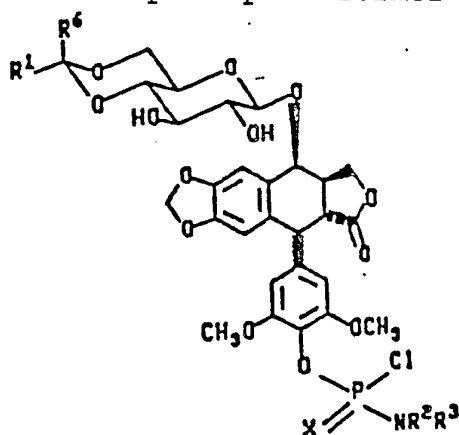
10

(c) réaction d'un composé de formule (2) avec au moins un équivalent de chacun des R^7 OH et R^8 OH, où R^7 et R^8 sont tels que définis dans la revendication à condition que R^7 et R^8 ne soient pas l'un et l'autre H, et en présence d'un accepteur d'hydrogène; et où l'un des R^7 et R^8 est H, le composé obtenu étant éventuellement transformé en un sel pharmaceutiquement acceptable en étant traité par une base.

37. Procédé de préparation d'un composé tel que défini à la revendication 18 comprenant les étapes suivantes :

(a) réaction d'un intermédiaire de formule (2) avec une amine de formule HNR^2R^3 où R^2 et R^3 sont tels que définis à la revendication 18, ou un sel d'addition d'acides de ce composé pour former un composé de formule (4); et

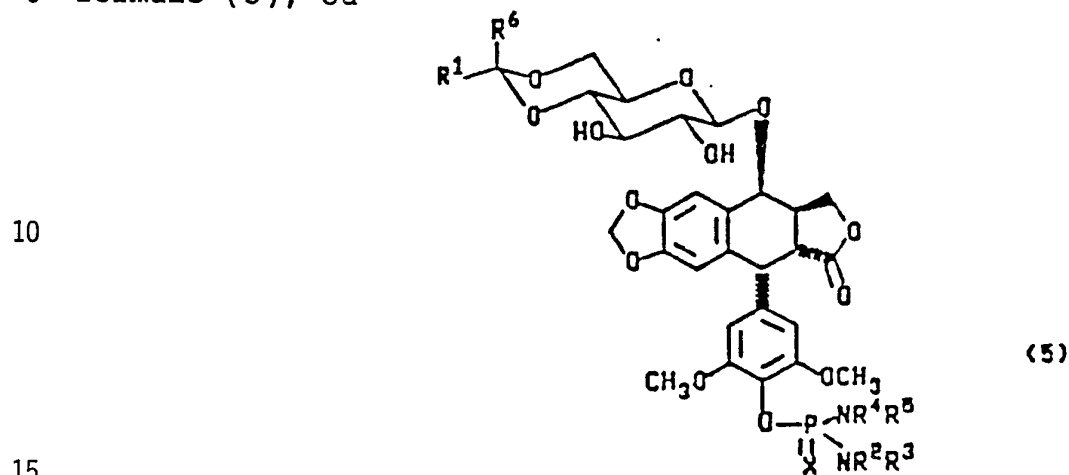
30



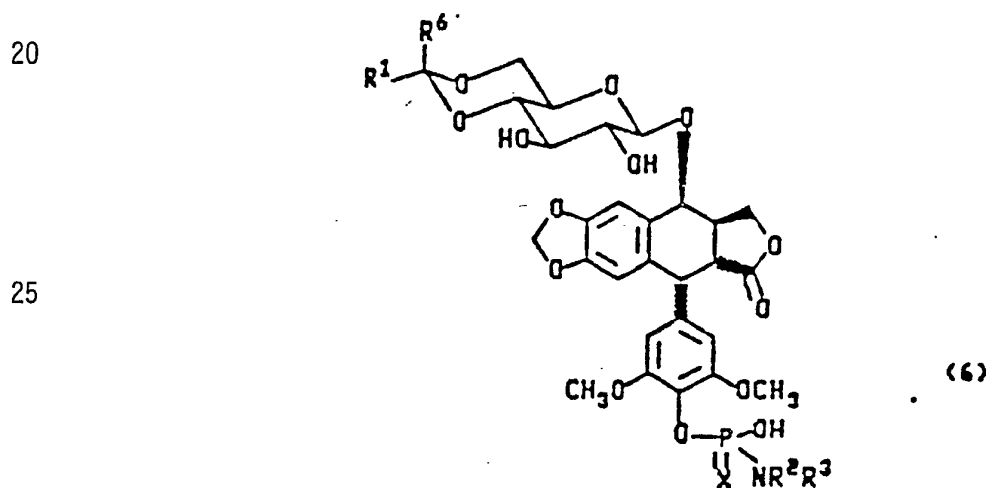
(4)

35

(b) réaction éventuelle d'un composé de formule (4) avec une seconde amine de formule HNR^4R^5 où R^4 et R^5 sont tels que définis dans la revendication 18, où un sel d'addition d'acides pour former un composé de formule (5); ou



(c) hydrolyse d'un composé de formule (4) éventuellement en présence d'une base pour former un composé de formule (6) ou un des sels pharmaceutiquement acceptables





Office européen
des brevets

RAPPORT DE RECHERCHE

établi en vertu de l'article 21 § 1 et 2
de la loi belge sur les brevets d'invention
du 28 mars 1984

Numero de la demande
nationale

BE 8800898
B0 1192

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (Int. Cl.5)
A	FR-A-1 171 314 (SANDOZ S.A.) * En entier * ---	1,30	C 07 H 17/04 A 61 K 31/70
P,X	PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE USA, vol. 85, no. 13, July 1988, pages 4842-4846; P.D. SENTER et al.: "Anti-tumor effects of antibody-alkaline phosphatase conjugates in combination with etoposide phosphate" * En entier * -----	1-6,8,9,30-33,36	
			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int. Cl.5)
			C 07 H 17/00 A 61 K 31/00
Date d'achèvement de la recherche 18-01-1991		Examineur WATCHORN P.W.	
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant	
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire			

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET BELGE NO.**

BE 8800898
BO 1192

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche visé ci-dessus.

Lesdits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du 19/02/91

Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets.

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
FR-A- 1171314		Aucun	