

A1

**DEMANDE
DE BREVET D'INVENTION**

⑫

N° 82 04823

⑭ Acides oxazaphosphorin-4-thio-alcanesulfoniques, leurs sels neutres, procédé pour leur préparation et préparations pharmaceutiques qui les contiennent.

⑮ Classification internationale (Int. Cl.³). C 07 F 9/21; A 61 K 31/675.

⑯ Date de dépôt..... 22 mars 1982.

⑰ ⑱ ⑲ Priorité revendiquée : RFA, 24 mars 1981, n° P 31 11 428.8.

⑴ Date de la mise à la disposition du public de la demande..... B.O.P.I. — « Listes » n° 39 du 1^{er}-10-1982.

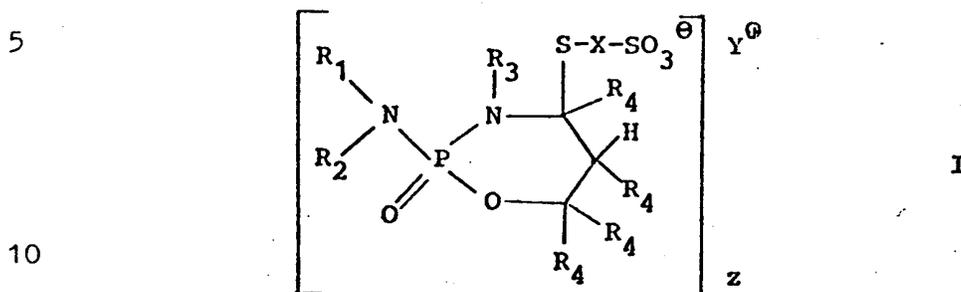
⑵ Déposant : ASTA-WERKE AKTIENGESELLSCHAFT FABRIK, résidant en RFA.

⑶ Invention de : Gerhard Scheffler, Ulf Niemeier, Norbert Brock et Jörg Pohl.

⑷ Titulaire : *Idem* ⑸

⑹ Mandataire : Cabinet Regimbeau, Corre, Martin et Schrimpf,
26, avenue Kléber, 75116 Paris.

La présente invention concerne les nouveaux acides oxazaphosphorin-4-thio-alcanesulfoniques et leurs sels neutres, de formule générale I



où

R_1 , R_2 et R_3 , qui peuvent être semblables ou différents l'un de l'autre, représentent un hydrogène, un méthyle, un éthyle, un 2-chloréthyle ou un 2-méthanesulfonyloxyéthyle et où au moins deux de ces radicaux sont un 2-chloréthyle et/ou un 2-méthanesulfonyloxyéthyle,

R_4 est un hydrogène ou un méthyle,

X est un alcoylène en C_2 à C_6 à chaîne droite ou ramifiée, qui peut avoir un groupe mercapto sur l'atome de carbone en position 1, 2, 3, 4 ou 5 de la chaîne alcoylène,

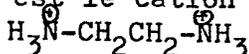
et

Y^{\oplus} est un cation hydrogène, un cation alcalin ou alcalino-terreux, le cation guanidinium, morpholinium ou cyclohexyl-ammonium ou le cation qui dérive d'une amine de formule $NR_5R_6R_7$, où les radicaux R_5 à R_7 sont semblables ou différents et représentent un hydrogène, des groupes alcoyle en C_1 à C_2 ou oxyéthyle, ou où Y^{\oplus} est le cation éthylènediammonium $H_3N^{\oplus}-CH_2CH_2-NH_3^{\oplus}$

ou le cation pipérazonium et z vaut 1 lorsque Y^{\oplus} est un cation monobasique, ou vaut 2 lorsque Y^{\oplus} est un cation dibasique, ou le cation d'un composé avec deux cations monobasiques.

Etant donné leur bonne compatibilité et leurs propriétés intéressantes on préfère les composés de formule I où Y^{\oplus} est le cation guanidinium, morpholinium ou cyclohexyl-

ammonium ou le cation qui dérive d'une amine de formule $NR_5R_6R_7$, où dans la chaîne R_5 à R_7 sont semblables ou différents et représentent un hydrogène, des groupes alcoyle en C_1 à C_2 ou des groupes oxyéthyle, ou bien où Y^{\oplus} est le cation éthylènediammonium



ou le cation pipérazonium et z vaut 1 lorsque Y^{\oplus} est un cation monobasique, ou vaut 2 lorsque Y^{\oplus} est un cation dibasique ou le cation d'un composé avec deux cations monobasiques.

Les sels de potassium et les sels alcalino-terreux des acides de formule I possèdent d'autres propriétés intéressantes et sont donc préférés.

Parmi les acides de formule I neutralisés avec des bases azotées on préfère tout particulièrement les sels d'ammonium où Y^{\oplus} est le cation NH_4^{\oplus} , les sels de cyclohexylammonium où Y^{\oplus} est la cation $C_6H_{11}NH_3^{\oplus}$ ou les sels de guanidinium où Y^{\oplus} est le cation $NH_2=C(NH_2)^{\oplus}$.

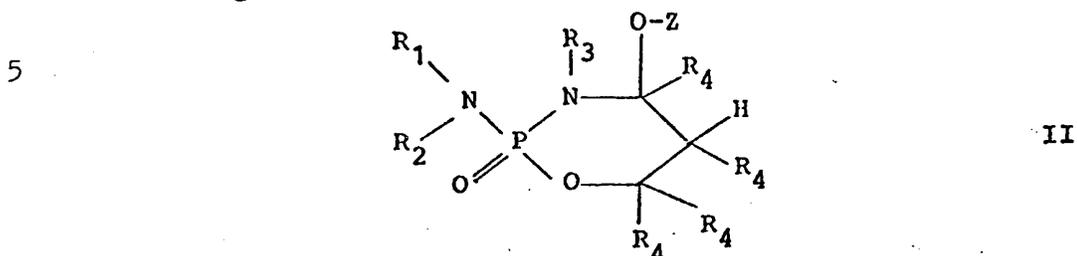
Parmi les sels selon l'invention, on peut se procurer particulièrement facilement, et donc on préfère, le cis-sodium-2-[2-(bis-(2-chloréthyl)-amino)-2-oxo-tétrahydro-2H-1,3,2-oxazaphosphorin-4-yl]-thioéthanesulfonate et les sels d'ammonium, de cyclohexylammonium et de potassium correspondants.

Le numérotage de la position du groupe mercapto dans la chaîne alcoylène X commence avec l'atome de carbone portant le groupe acide sulfonique.

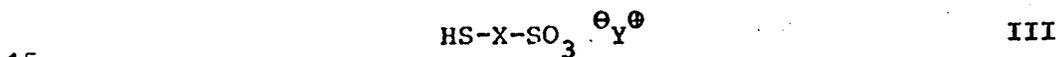
Sont particulièrement importants les composés de formule I où R_1 et R_2 représentent le groupe 2-chloréthyle, R_3 et R_4 représentent un hydrogène, X représente le groupe éthylène et où $z = 1$ et $Y^{\oplus} = NH_4^{\oplus}$, NH_3^{\oplus} - H ou $NH_2^{\oplus} = C(NH_2)_2$ ou $X = (CH_2)_3$, $z = 1$, et où $Y = NH_2 = C(NH_2)_2$

Les acides oxazaphosphorin-4-thio-alcanesulfoniques et leurs sels neutres de formule générale I selon l'in-

vention s'obtiennent selon l'invention en faisant réagir une 4-hydroxy- ou 4-alcoxy en C₁ à C₄-oxazaphosphorine de formule générale II



10 où R₁, R₂, R₃ et R₄ ont la même signification que dans la formule I et où Z est un hydrogène ou un alcoyle en C₁ à C₄, avec un composé de formule générale III



où X et Y[⊕] ont la même signification que dans la formule I et, si Y[⊕] est un hydrogène, en neutralisant l'acide oxazaphosphorin-4-thio-alcanesulfonique obtenu avec l'une des bases correspondant à l'autre signification de Y[⊕].

20 Comme solvants appropriés il faut mentionner l'eau, les alcools, en particulier les alcanols en C₁ à C₆ comme le méthanol, l'éthanol, le propanol ou l'isobutanol, les alcoylcétones avec à chaque fois de 1 à 4 atomes de carbone comme en particulier l'acétone, la méthyléthylcétone, 25 le diméthylformamide (DMF), le triamide de l'acide hexaméthylphosphorique, les hydrocarbures halogénés avec de 1 à 3 atomes de carbone comme le chloroforme, le dichlorure d'éthylène, le tétrahydrofurane, le diéthyléther ou les solvants analogues ou mélanges de plusieurs solvants de ce 30 genre. On conduit la réaction à des températures comprises dans un intervalle de -60°C à +80°C, de préférence -30°C à +60°C, en particulier -30°C à +40°C, c'est-à-dire éventuellement en refroidissant, à la température ambiante ou en chauffant. La réaction peut être conduite en présence d'un 335 catalyseur acide comme un acide inorganique ou organique,

comme en particulier l'acide trichloracétique ou un acide de Lewis comme AlCl_3 , ZnCl_2 ou TiCl_4 .

Le cation Y^{\oplus} d'un sulfonate selon la formule I peut être échangé contre un autre cation, par exemple sur un échangeur d'ions chargé de façon correspondante. Cet échange est recommandé dans les cas où il est difficile de préparer selon le procédé de l'invention un sel avec un cation Y^{\oplus} déterminé. Le sel désiré peut ainsi être obtenu avec un rendement élevé à partir d'un autre sel facile à préparer.

On isole les nouveaux composés de formule I par les procédés de purification habituels pour les produits de ce genre, en particulier par cristallisation, précipitation ou purification chromatographique comme en particulier sur Sephadex. La détermination de la structure s'effectue grâce au point de fusion, à la chromatographie en couche mince, à l'analyse élémentaire ou à l'analyse spectrale IR et RMN.

Les composés utilisés comme produit de départ dans le procédé selon l'invention sont connus, peuvent être employés sous forme cristalline ou sous forme de produit brut et peuvent être synthétisés de façon classique comme suit :

On obtient les 4-hydroxy-oxazaphosphorines par réduction des dérivés 4-hydropéroxy (p. ex. A. Takamizawa et coll., J. Amer. Chem. Soc. 95, 589 (1973) et demande de brevet publiée en Allemagne sous le n° 2 317 178). Les 4-alcoxy-oxazaphosphorines se forment sous catalyse acide à partir des dérivés hydroxy dans l'alcool correspondant. Les thiols s'obtiennent par la réaction du bromalcanesulfonate de sodium correspondant avec de la thiourée pour donner le sel de thiuronium et par son clivage avec de l'ammoniac et sa transformation en le sel désiré du mercaptoalcanesulfonate.

Si Y^{\oplus} est un cation alcalin, il s'agit en parti-

culier du sel de sodium ou de potassium ; si Y^{\oplus} est un cation alcalino-terreux, il s'agit en particulier du sel neutre de calcium ou de magnésium ; si Y^{\oplus} est un cation cyclohexylammonium, il s'agit du cation suivant :



si Y^{\oplus} est le cation celui-ci dérive en particulier des amines suivantes :

méthylamine, éthylamine, diméthylamine, diéthylamine, triméthylamine, triéthylamine, méthyléthylamine, di-
10 méthyléthylamine, diéthylméthylamine, 2-hydroxy-éthyl-amine, bis-(2-hydroxy-éthyl)-amine, tris-(2-hydroxy-éthyl)-amine, (2-hydroxy-éthyl)-méthylamine, (2-hydroxy-éthyl)-diméthylamine, bis-(2-hydroxy-éthyl)-méthylamine, (2-
15 hydroxy-éthyl)-éthylamine, (2-hydroxy-éthyl)-diéthylamine, bis-(2-hydroxy-éthyl)-éthylamine, (2-hydroxy-éthyl)-méthyléthylamine.

Parmi les dérivés d'oxazaphosphorine de formule I selon l'invention on comprend tous les quatre stéréoisomères possibles, c'est-à-dire les deux isomères
20 cis racémiques (2rs, 4rs) et les deux isomères trans racémiques (2rs, 4rs), et les quatre isomères cis optiquement actifs séparés (2r, 4s et 2s, 4r) et les isomères trans (2r, 4r et 2s, 4s) ainsi que leurs mélanges. Les mélanges
25 cis/trans peuvent être dédoublés de façon classique, de préférence par cristallisation fractionnée. Les composés optiquement actifs peuvent être obtenus selon les procédés habituels du dédoublement des racémates, par exemple par cristallisation fractionnée des sels diastéréoisomériques
30 de l'acide sulfonique racémique de formule I avec des bases optiquement actives ou éventuellement en utilisant des produits de départ optiquement actifs selon la formule II dans la synthèse.

En général, des mélanges cis/trans apparaissent lors de la synthèse. A partir de cela on obtient avec les
35 composés qui cristallisent bien la forme cis ou la forme

trans, en particulier la forme cis, cristallisée. Cependant si l'on conduit la réaction dans un ou plusieurs solvants anhydres avec une faible fraction d'eau, on obtient exclusivement ou de façon totalement prédominante une forme unique, en particulier la forme cis. On peut ainsi préparer par exemple la forme cis pure d'un composé selon la formule I ne cristallisant pas, ou mal, en ajoutant une solution acétonique du composé selon la formule II à une solution aqueuse du composé selon la formule III à des températures comprises entre -30 et +20°C et en reprecipitant plusieurs fois après la fin de la réaction.

Les composés de départ selon la formule II peuvent être utilisés sous forme d'isomères cis et trans racémiques (voir ci-dessus la préparation), sous forme cis et trans optiquement active et comme mélanges de ces formes. On obtient les composés selon la forme optiquement actifs par exemple à partir des sels des acides sulfoniques optiquement actifs (préparation : voir ci-dessus), en les hydrolysant pour donner les 4-hydroxy-oxazaphosphorines de formule II optiquement actives correspondantes (dans l'eau par exemple entre 0 et 50°C, en particulier 5 et 30°C) et en oxydant le thiol de formule III qui se libère en disulfures (p. ex. au moyen d'iodes ou de peroxyde d'oxygène dans l'eau). Un autre procédé part par exemple d'un dérivé de cyclophosphamide optiquement actif séparé selon l'exemple 16 ou 33 de la demande de brevet français N° 84 16 999 et hydrolyse ce composé en 4-hydroxy-cyclophosphamide optiquement actif. Dans un autre procédé on transforme par exemple le cyclophosphamide optiquement actif (demande de brevet publiée en Allemagne sous le n° 29 44 106) dans un procédé connu (Peter et coll., Cancer Treatment Reports 60, 429 (1976)) pour donner le 4-hydroxy-cyclophosphamide optiquement actif.

Pour la séparation du racémate il faut mentionner par exemple comme bases optiquement actives la 1-phényl-

éthylamine, la brucine, la quinidine, la strychnine et la cinchonine ainsi que d'autres bases et procédés qui sont décrits dans "Optical Resolution Procedures for Chemicals Compounds", Vol. 2, Paul Newman, 1981, Ed. Optical Resolution Information Center à Riverdale, USA.

Ces bases optiquement actives peuvent également être utilisées dans la synthèse selon la réaction d'un composé de formule II avec un composé de formule III à la place des significations de Y déjà données. Dans ce cas il faut ensuite échanger cette base optiquement active de manière habituelle contre de l'hydrogène ou une autre base Y correspondant à la définition déjà donnée de Y.

Un autre procédé de préparation d'acides oxazophosphorin-4-thio-alcanesulfonique et de leurs sels neutres est caractérisé en ce qu'on fait réagir un composé de formule II où R_1 , R_2 , R_3 et R_4 ont la même signification que dans la formule I et où Z est un hydrogène ou un alcoyle en C_1 à C_4 , avec un composé de formule III où Y^{\oplus} dérive d'une base optiquement active qui ne correspond pas à la définition de Y déjà donnée et en ce que après la réaction on échange cette autre base optiquement active contre de l'hydrogène ou une base selon la définition déjà donnée de Y.

On peut utiliser les composés selon l'invention dans la lutte contre le cancer et pour l'immunosuppression. Ils possèdent une forte efficacité anti-tumorale. Ils se caractérisent par une activité élevée en cas d'application parentérale et orale ainsi que par la faiblesse des manifestations toxiques générales. Ils possèdent in vivo une sélectivité carcinotoxique élevée et in vitro une spécificité cytotoxique élevée.

Pour déterminer l'action carcinotoxique on teste les substances par des expériences chez l'animal sur une série de tumeurs de chimiorésistances différentes. Aux fins d'évaluation on estime à l'aide de l'analyse probit à par-

tir de la relation entre les logarithmes des doses et les fréquences d'animaux expérimentaux guéris et survivants les doses efficaces curatives moyennes (DC 50 [mg/kg]). Comme substance de comparaison proche dans sa constitution chimique des produits selon l'invention on utilise le composé commercial courant qu'est le cyclophosphamide.

Dans le cas de la leucémie lymphatique L5222 du rat (souche BD IX) cette dose curative moyenne se situe -pour une application intraveineuse unique au 5e jour après inoculation de la leucémie - pour les produits selon l'invention ainsi que pour le cyclophosphamide à 1,5 mg/kg.

Dans le carcinosarcome de l'ascite de Yoshida chimiosensible (ligne AH 13° du rat (souche : Sprague-Dawley) cette DC 50 se situe pour les produits selon l'invention ainsi que pour la substance de comparaison qu'est le cyclophosphamide, à 1 mg/kg.

De manière analogue on teste l'action toxique, en déterminant à partir du rapport entre les logarithmes des doses et la fréquence de léthalité la dose létale moyenne (DL 50 [mg/kg]).

Pour les produits selon l'invention, cette DL 50 se situe pour une application intraveineuse unique, aux environs de 300 mg/kg. La dose létale moyenne déterminée de façon comparative pour le cyclophosphamide avec une administration intraveineuse unique se situe à 244 mg/kg. Les produits selon l'invention possèdent donc une toxicité aiguë plus faible d'environ 20% ou pour une efficacité curative égale un spectre thérapeutique d'autant plus élevé.

Pour la recherche de la spécificité cytotoxique in vitro on fait incuber pendant 2 heures à 37°C à chaque fois environ 3×10^7 cellules, obtenues de façon stérile, de carcinosarcome d'ascite de Yoshida chimiorésistant (ligne AH13, souche ASTA) avec des concentrations croissantes des produits selon l'invention et après plusieurs lavages on les implante dans la cavité abdominale d'animaux hôtes

non traités. A partir de la relation entre les logarithmes des concentrations et les fréquences des tumeurs qui se développent, on détermine à l'aide de l'analyse probit les doses cytotoxiques moyennes (CE50 [$\mu\text{g/ml}$]). Dans ces conditions expérimentales, la CE50 des produits selon l'invention se situe entre 3 et 5 $\mu\text{g/ml}$.

Etant donné que le cyclophosphamide comme composé sous forme de transport tout d'abord inactive ne présente pas d'activité cytotoxique, on utilise dans ces recherches comme substance expérimentale le métabolite primaire actif qu'est le 4-hydroxy-cyclophosphamide, qui est formé dans le corps par activation enzymatique, surtout dans le foie. Pour cette substance de comparaison, la concentration cytotoxique moyenne se situe de même à 5 $\mu\text{g/ml}$.

Les composés selon l'invention conviennent pour préparer des compositions et préparations pharmaceutiques. Les compositions pharmaceutiques ou médicaments contiennent comme substance active un ou plusieurs des composés selon l'invention, éventuellement mélangé(s) à d'autres corps pharmacologiquement ou pharmaceutiquement actifs. La préparation des médicaments s'effectue de façon classique, et l'on peut utiliser les additifs pharmaceutiques connus et habituels, ainsi que les autres supports et diluants habituels.

Comme supports et additifs de ce genre il faut mentionner par exemple les produits qui sont recommandés ou cités dans les sources bibliographiques suivantes comme additifs pour la pharmacie, la cosmétologie et les domaines voisins : Ullmanns Encyklopädie der technischen Chemie, Vol. 4 (1953), pp. 1 à 39 ; Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol. 52 (1963), pp. 918 sq., H.v.Czetsch-Lindenwald, Hilfsstoffe für Pharmazie und angrenzende Gebiete ; Pharm. Ind., Cahier 2, 1961, pp. 72 sq. ; Dr. H. P. Fiedler, Lexikon der Hilfsstoffe für Pharmazie, Kosmetik und angrenzende Gebiete Cantor KG. Aulendorf in Württemberg 1971.

Comme exemples de ces corps on peut citer les gélatines, les sucres naturels comme le sucre de canne ou le lactose, la lécithine, la pectine, l'amidon (par exemple l'amidon de maïs), l'acide alginique, le tylose, 5 le talc, le lycopode, l'acide silicique (par exemple colloïdale), la cellulose, les dérivés cellulosiques (par exemple les éthers cellulosiques, dans lesquels les groupes hydroxy de la cellulose sont partiellement étherifiés avec des alcools aliphatiques inférieurs saturés et/ou des 10 oxyalcools aliphatiques inférieurs saturés, par exemple la méthoxypropylcellulose), les stéarates, les sels de magnésium et de calcium d'acides gras en C_{12} à C_{22} , en particulier des acides saturés (par exemple les stéarates), les émulsifiants, les huiles et les graisses, en particulier 15 les huiles végétales (par exemple l'huile d'arachide, l'huile de ricin, l'huile d'olive, l'huile de sésame, l'huile de graine de coton, l'huile de maïs, l'huile de germe de blé, l'huile de graine de tournesol, l'huile de foie de morue, les mono-, di- et triglycérides d'acides gras saturés 20 $C_{12}H_{24}O_2$ à $C_{18}H_{36}O_2$ et leurs mélanges), les alcools et polyglycols mono- ou polyvalents pharmaceutiquement compatibles comme les polyéthylèneglycols ainsi que leurs dérivés, les esters d'acides gras aliphatiques saturés ou insaturés (en C_2 à C_{22} , en particulier en C_{10} à C_{18}) avec 25 des alcools aliphatiques monovalents (en C_1 à C_{20}) ou des alcools monovalents comme les glycols, la glycérine, le diéthylèneglycol, le pentaérythritol, le sorbitol, le mannitol, etc, qui peuvent également être étherifiés, le benzoate de benzyle, les dioxolans, les glycérimformals, 30 le tétrahydrofurfurylalcool, les polyglycoléthers avec des alcools en C_1 à C_{12} , le diméthylacétamide, les lactamides, les lactates, les carbonates d'éthyle, les silicones (en particulier le diméthylpolysiloxane à viscosité moyenne), le carbonate de magnésium et les corps analogues.

35 Pour préparer des solutions il faut mentionner

par exemple l'eau ou les solvants organiques physiologiquement compatibles, comme par exemple l'éthanol, le 1,2-propylèneglycol, les polyglycols et leurs dérivés, le diméthylsulfoxyde, les alcools gras, les triglycérides, les esters partiels de la glycérine, les paraffines et les corps analogues.

Dans la préparation des formulations on peut utiliser des tiers solvants connus et habituels, ou selon les cas des émulsifiants. Comme tiers solvants et émulsifiants il faut mentionner par exemple : la polyvinylpyrrolidone, les esters d'acides gras de sorbitan comme le trioléate de sorbitan, la lécithine, l'acacia, la gomme adragante, le monooléate de sorbitan polyoxyéthylé, les graisses polyoxyéthylées, les oléotriglycérides polyoxyéthylés, les oléotriglycérides linolisés, les produits de condensation de polyéthylèneoxyde d'alcools gras, d'alcoylphénols ou d'acides gras ou encore de 1-méthyl-3-(2-hydroxyéthyl)-imidazolidone (2).

"Polyoxyéthylé" signifie ici que les corps intéressés contiennent des chaînes polyoxyéthylènes dont le degré de polymérisation se situe généralement entre 2 et 40 et en particulier entre 10 et 20.

On peut obtenir des corps polyoxyéthylés de ce genre par exemple par réaction de composés contenant des groupes hydroxy (par exemple les mono- ou diglycérides ou des composés insaturés comme par exemple ceux qui contiennent des radicaux acide oléique) avec de l'éthylèneoxyde (par exemple 40 Moles d'éthylèneoxyde par Mole de glycéride).

Comme exemples d'oléotriglycérides on peut citer l'huile d'olive, l'huile d'arachide, l'huile de ricin, l'huile de sésame, l'huile de graine de coton, l'huile de maïs (voir également Dr. H.P. Fiedler "Lexikon der Hilfsstoffe für Pharmazie, Kosmetik und angrenzende Gebiete 1971, pp. 191 à 195).

En outre il est possible d'ajouter des agents de

conservation, des stabilisateurs, des substances tampon, par exemple du phosphate acide de calcium, de l'hydroxyde d'aluminium colloïdal, des agents destinés à corriger le goût, des antioxydants et des formateurs de complexes (par exemple l'acide éthylènediaminotétraacétique), etc. Le cas échéant pour stabiliser la molécule de substance active, il faut la mettre avec des acides ou des tampons physiologiquement acceptables à un pH compris entre environ 3 et 7. En général on préfère un pH si possible neutre à faiblement acide (jusqu'à pH 5).

Comme antioxydants on utilise par exemple le métabisulfite de sodium, l'acide ascorbique, l'acide gallique, les alcoylesters de l'acide gallique, le butylhydroxyanisol, l'acide nordihydrogallarétique, les tocophérols, ainsi que les tocophérols + agents synergiques (corps qui lient les métaux lourds par formation de complexe, par exemple la lécithine, l'acide ascorbique, l'acide phosphorique). L'addition des agents synergiques accroît notablement l'action anti-oxygène des tocophérols.

Comme agents de conservation il faut mentionner par exemple l'acide sorbique, les esters de l'acide p-hydroxybenzoïque (par exemple les alcoyle inférieur-esters), l'acide benzoïque, le benzoate de sodium, l'alcool trichlorisobutylique, le phénol, le crésol, le chlorure de benzéthonium et les dérivés du formol.

La manipulation pharmaceutique et galénique des composés selon l'invention s'effectue selon les procédés standard habituels. Ainsi on mélange avec soin la ou les substance(s) active(s) et les additifs ou supports par agitation ou homogénéisation (par exemple au moyen d'appareils de mélange habituels), en travaillant généralement à des températures comprises entre 20 et 80°C, de préférence 20 à 50°C, en particulier à la température ambiante. Par ailleurs on se reportera à l'ouvrage standard suivant : Sucker, Fuchs, Speiser, Pharmazeutische Technologie, Thieme-

Verlag Stuttgart, 1978.

L'application des substances actives ou des médicaments peut s'effectuer sur la peau ou la muqueuse ou à l'intérieur du corps, par exemple par voie orale, 5 entérale, pulmonaire, rectale, nasale, vaginale, linguale, intraveineuse, intraartérielle, intracardiaque, intramusculaire, intrapéritonéale, intracutanée, sous-cutanée, intrapleurale, intratrachéale, intracavitaire.

Il est en particulier possible ou selon les cas 10 intéressant d'ajouter également d'autres substances actives médicamenteuses, surtout des uroprotecteurs comme le sel de sodium de l'acide 2-mercaptoéthanesulfonique ou le sel disodique du disulfure correspondant de formule $\text{HO}_3\text{S}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SSCH}_2\text{CH}_2-\text{SO}_3\text{H}$, mais aussi d'autres substances actives 15 détoxifiantes générales ou régionales.

Les composés selon l'invention présentent par application intraveineuse, intrapéritonéale ou orale à diverses tumeurs expérimentales du rat et de la souris une bonne efficacité cytostatique et curative.

20 Comme exemples d'indications de ce genre on peut citer :

Les leucémies, la lymphogranulomatose, le lymphosarcome, le réticulosarcome, le plasmocytome, la maladie de Waldenström ; les tumeurs à croissance dispersée, 25 en particulier le carcinome ovarien, le carcinome mammaire, le carcinome bronchial, le neuroblastome, les tumeurs du testicule, les carcinomes des reins, les carcinomes du pancréas, le séminome, le sarcome d'Ewing ; le traitement complémentaire post-opératoire, en particulier dans 30 les tumeurs chimiosensibles, dont on pense qu'elles dépassent déjà les limites locales et qui ont un pronostic défavorable en dépit d'une opération radicale.

En outre les composés selon l'invention, par opposition aux agents connus que sont le "cyclophosphamide" 35 et l'"ifosfamide" peuvent en particulier s'envisager pour les

applications suivantes :

1) Pour une perfusion régionale dans les extrémités et les grandes cavités corporelles,

5 2) Pour un traitement in vitro de la moëlle osseuse dans la thérapeutique extra-corporelle de la moëlle osseuse des malades atteints de leucémie ;

3) Pour les essais de sensibilité pré-thérapeutique de tumeurs in vitro.

10 On applique par exemple les composés selon l'invention chez le rat 5 jours après implantation intrapéritonéale de 10^5 cellules de la leucémie L5222 avec différentes doses par voie intraveineuse, intra-péritonéale ou orale et on obtient une action curative en fonction de la dose. On définit comme guérison la survie sans récurrence ni
15 métastases des animaux portant une tumeur au bout de 90 jours. A partir de la fréquence des guérisons obtenues avec les différentes doses on calcule au moyen de l'analyse probit selon R. Fischer comme dose curative moyenne (CD50) la dose avec laquelle on peut guérir 50% des animaux portant
20 une tumeur.

Par exemple les composés selon l'invention s'administrent également un jour après l'implantation intrapéritonéale de 10^6 cellules du sarcome de l'ascite de Yoshida AH13 avec différentes doses par voie intraveineuse, intra-
25 péritonéale ou orale et obtiennent un effet curatif en fonction de la dose.

Là encore on définit l'action curative comme la survie dépourvue de récurrence et de métastase des animaux portant une tumeur au bout de 90 jours.

30 De façon correspondante on calcule au moyen de l'analyse probit selon R. Fisher comme dose curative moyenne (DC50) la dose pour laquelle on peut guérir 50% des animaux portant une tumeur.

35 En outre on administre par exemple les composés selon l'invention en une fois ou en plusieurs fois (4 fois)

sur plusieurs jours successifs après implantation intrapéritonéale de 10^6 cellules de la leucémie L1210 de la souris avec différentes doses par voie intraveineuse, intrapéritonéale ou orale et on obtient un effet cytostatique.

5 L'efficacité cytostatique doit être comprise comme allongement de la durée moyenne de survie des animaux atteints de tumeur et s'exprime sous la forme d'un allongement en pourcentage, dépendant de la dose, de la durée de survie par rapport à un groupe témoin non traité.

10 La dose curative moyenne se situe pour les tumeurs du rat indépendamment de la forme d'administration dans un intervalle de 0,1 à 10 mg/kg. Avec les mêmes doses on peut obtenir un allongement de 100% de la durée moyenne de survie dans la leucémie L1210 de la souris N. Brock :
15 Pharmakologische Grundlagen der Krebs-Chemotherapie
In: A. GEORGII (Dir. publ.), Verhandlungen der Deutschen Krebsgesellschaft Vol. 1, pp. 15 - 42, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart (1978)).

20 Cette action curative et cytostatique est comparable à l'action des médicaments connus cyclophosphamide (Endoxan^R) et ifosfamide (Holoxan^R). La dose efficace la plus faible déjà curative ou cytostatique dans les expériences chez l'animal citées ci-dessus est par exemple

0,01 mg/kg par voie orale
25 0,01 mg/kg par voie intra-péritonéale
0,01 mg/kg par voie intraveineuse.

Comme intervalle posologique général pour l'action curative et cytostatique (expérience chez l'animal comme ci-dessus) il faut citer par exemple :
30 0,01-100 mg/kg par voie orale, en particulier 0,1-10,0 mg/kg
0,01-100 mg/kg par voie intrapéritonéale, en particulier
0,1-10,0 mg/kg
0,01-100 mg/kg par voie intraveineuse, en particulier 0,1-10,0 mg/kg.

35 Les indications envisagées pour les composés se-

lon l'invention peuvent être les maladies malignes chez l'homme et l'animal.

Les préparations pharmaceutiques contiennent généralement entre 1 mg et 1 g, de préférence 10 à 300 mg du ou des composant(s) actifs selon l'invention.

L'administration peut par exemple s'effectuer sous forme de comprimés, de capsules, de pillules, de dragées, de suppositoires, d'onguents, de gelées, de crèmes ou sous forme liquide. Comme formes d'applications liquides il faut mentionner par exemple : les solutions ainsi que les suspensions et émulsions huileuses, alcooliques ou, selon les cas, aqueuses.

Les formes d'application préférées sont les comprimés qui contiennent entre 10 et 200 mg ou les solutions qui contiennent entre 0,1 et 5% de substance active.

La dose unitaire du composant actif selon l'invention peut se situer par exemple

a) dans les formes médicamenteuses orales entre 1 et 100 mg/kg, de préférence 10 et 60 mg/kg

b) dans les formes médicamenteuses parentérales (par exemple intraveineuses, intramusculaires) entre 1 et 100 mg/kg, de préférence 10 et 60 mg/kg

c) dans les formes médicamenteuses pour l'application rectale ou vaginale, entre 1 et 100 mg/kg, de préférence 10 et 60 mg/kg

d) dans les formes médicamenteuses pour l'application locale sur la peau et les muqueuses (par exemple sous forme de solutions, de lotions, d'émulsions, d'onguents, etc) entre 1 et 100 mg/kg, de préférence 10 et 60 mg.kg.

- (Les doses se rapportent à chaque fois à la base libre)-

Par exemple on peut recommander de 1 à 3 fois par jour 1 à 10 comprimés contenant de 10 à 300 mg de substance active ou par exemple en cas d'injection intra-

veineuse de 1 à 2 fois par jour une ou plusieurs ampoules contenant de 1 à 10 ml avec de 10 à 250 mg de substance. En cas d'administration orale, la dose quotidienne minimale est par exemple de 200 ; la dose quotidienne maximale
5 en cas d'administration orale ne doit pas dépasser 5000. On peut également recommander une transfusion de longue durée correspondant à des doses supérieures à 12 heures et plus dans certains cas.

10 Pour le traitement des chiens et des chats, la dose unitaire orale se situe généralement entre environ 10 et 60 mg/kg de poids corporel ; la dose parentérale environ entre 10 et 60 mg/kg de poids corporel.

15 Pour le traitement des chevaux et des vaches, la dose unitaire orale se situe généralement entre environ 10 et 60 mg/kg ; la dose unitaire parentérale environ 10 et 60 mg/kg de poids corporel.

Les posologies indiquées dans cette page et dans les pages précédentes concernent également l'application des composés selon l'invention aux fins d'immuno-suppression.

20 La toxicité aiguë des composés selon l'invention chez la souris (exprimée par la DL 50 en mg/kg ; procédé selon Miller et Tainter: Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 57 (1944) 261) se situe par exemple en cas d'application orale entre 100 et 1000 mg/kg ou selon les cas au-
25 dessus de 1000 mg/kg.

Les médicaments peuvent être appliqués en médecine humaine, en médecine vétérinaire ainsi qu'en agriculture, seuls ou mélangés avec d'autres corps pharmacologiquement actifs.

30 Les exemples suivants servent à préciser l'invention sans que celle-ci ne s'y limite.

Exemple 1

Sel de cyclohexylammonium de l'acide 2- [2-(Bis-(2-chloréthyl)-amino)-2-oxo-tétrahydro-2H-1,3,2-oxazaphosphorin-4-yl-thio] -éthansulfonique.

On dissout 5,6 g (20 mMoles) de 4-hydroxy-cyclophosphamide (c'est-à-dire 2-(Bis-(2-chloréthyl)-amino)-4-hydroxy-tétrahydro-2H-1,3,2-oxazaphosphorin-2-oxyde et 4,8 g (20 mMoles) de 2-mercaptoéthanesulfonate de cyclohexylammonium dans 100 ml d'eau distillée, on mélange avec un peu d'acide trichloracétique et on laisse reposer 3 jours à 0°C au réfrigérateur. On retire alors le solvant sous un vide poussé, on absorbe le résidu dans l'acétone, on concentre à nouveau, on cristallise à partir de l'acétone et on recristallise à partir de l'isopropanol.

Rendement : 7,2 g (72 % de la quantité théorique) ; P_f 1496151°C (forme cis).

Exemple 2

Sel de cyclohexylammonium de l'acide 2- [2-(Bis-(2-chloréthyl)-amino)-2-oxo-tétrahydro-2H-1,3,2-oxazaphosphorin-4-yl-thio] -éthansulfonique.

On dissout 2,9 g (10 mMoles) de 2-(Bis-(2-chloréthyl)-amino)-4-méthoxy-tétrahydro-2H-1,3,2-oxazaphosphorin-2-oxyde et 2,4 g (10 mMoles) de 2-mercaptoéthanesulfonate de cyclohexylammonium avec un peu d'acide trichloracétique dans 10 ml de diméthylformamide et on garde pendant 20 h à -25°C. Après avoir laissé reposer pendant encore 3 h à 0°C on mélange avec de l'éther jusqu'à l'apparition d'un trouble, on triture, on filtre par succion le produit de cristallisation après l'avoir laissé reposer pendant 20 h à 0°C, on lave et on sèche.

Rendement : 4,7 g (94 % de la quantité théorique), P_f : 145°C (déc.).

Recristallisation à partir de l'alcool/éther,
P_f : 149-151°C (forme cis).

Exemple 3

Sel de cyclohexylammonium de l'acide 2- [2-(Bis-
5 (2-chloréthyl)-amino)-2-oxo-tétrahydro-2H-1,3,2-oxaza-
phosphorin-4-yl-thio] -éthansulfonique.

On dissout 1,4 g (5 mMoles) de 4-hydroxycyclo-
phosphamide et 1,2 g (5 mMoles) de 2-mercaptoéthane-
sulfonate de cyclohexylammonium avec une trace d'acide
10 trichloracétique dans 25 ml de méthanol et on laisse reposer
pendant la nuit à -25°C au réfrigérateur. On concentre
ensuite la solution réactionnelle à environ 5 ml, on ajoute
de l'éther jusqu'à l'apparition d'un trouble et on triture.
On filtre par succion le produit de cristallisation après
15 l'avoir laissé reposer pendant 20 h à 0°C, on lave et on
sèche.

Rendement : 2,1 g (84 % de la quantité théo-
rique), P_f : 143-145°C (forme cis).

Exemple 4

Sel de sodium de l'acide 2- [2-(Bis-(2-chloréthyl)
20 -amino)-2-oxo-tétrahydro-2H-1,3,2-oxazaphosphorin-4-yl-
thio] -éthansulfonique.

On dissout 2,5 g (5 mMoles) de cyclohexyl-
ammonium-2- [2-(Bis-(2-chloréthyl)-amino)-2-oxo-tétrahydro-
25 2H-1,3,2-oxazaphosphorin-4-yl] -thio-éthane sulfonate dans
25 ml d'eau désoxygénée et on l'introduit dans une colonne
d'échangeur de cations chargée avec des ions sodium, de
la Société Merck. On recueille l'éluat sur de l'azote,
on le lyophilise et on sèche le résidu solide sous vide sur
30 pentoxyde de phosphore.

Rendement : 1,9 g (91 % de la quantité théorique), P_f : 78-83°C (déc.), Rf : 0,61 (éluant : acétate d'éthyle/isopropanol/acide acétique 1 N (5:3:2)).

Exemple 5

5 Sel d'ammonium de l'acide 2- [2-(Bis-(2-chloréthyl)-amino)-2-oxo-tétrahydro-2H-1,3,2-oxazaphosphorin-4-yl-thio] -éthansulfonique.

On dissout 2,8 g (10 mMoles) de 4-hydroxycyclophosphamide et 1,6 g (10 mMoles) d'ammonium-2-mercapto-
10 éthane sulfonate avec une quantité catalytique d'acide trichloracétique dans 50 ml d'eau et on laisse reposer pendant 3 jours à 0°C au réfrigérateur. On distille ensuite l'eau sous un vide poussé, on absorbe 2 fois le résidu dans l'acétone et on le concentre sous vide. On
15 recristallise à partir de l'acétone/éther.

Rendement : 3,9 g (93 % de la quantité théorique) ; P_f : 131-133°C (forme cis).

Exemple 6

20 Sel d'ammonium de l'acide 2- [2-(Bis-(2-chloréthyl)-amino)-2-oxo-tétrahydro-2H-1,3,2-oxazaphosphorin-4-yl-thio] -éthansulfonique.

On dissout 2,8 g (10 mMoles) de 4-hydroxycyclophosphamide et 1,6 g (10 mMoles) d'ammonium-2-mercapto-
éthane sulfonate avec une quantité catalytique
25 d'acide trichloracétique dans 10 ml de diméthylformamide et on garde pendant 20 h au réfrigérateur à -25°C. Au bout d'encore 5 h à 0°C on mélange avec de l'éther jusqu'à l'apparition d'un trouble et on triture. On filtre par
succion le produit de cristallisation à 0°C au bout d'un
30 jour, on le lave, on le sèche et on le recristallise à partir du n-propanol.

Rendement : 3,2 g (77 % de la quantité théorique) de la forme cis, P_f : 132°C.

Exemple 7

Sel de sodium de l'acide 3- [2-(Bis-(2-chloréthyl)-amino)-2-oxo-tétrahydro-2H-1,3,2-oxazaphosphorin-4-yl-thio] -propane sulfonique.

5 On dissout 5,4 g (20 mMoles) de 4-hydroxycyclophosphamide et 5,2 g (20 mMoles) de cyclohexylammonium-3-mercaptopropane sulfonate dans 100 ml d'eau, on mélange avec un peu d'acide trichloracétique et on laisse reposer pendant 1 jour à 0°. On concentre ensuite
10 le mélange réactionnel sous vide, on introduit le résidu concentré dans une colonne d'échangeur de cations chargée avec des ions sodium, on concentre l'éluat sous vide, on dissout le résidu dans l'éthanol sec, on filtre et on précipite avec de l'éther.

15 Rendement : 5,5 g (63 % de la quantité théorique), P_f : 75-79°C, Rf 0,64 (éluant : acétate d'éthyle/isopropanol/acide acétique 1 N (5:3:2)).

Exemple 8

20 Sel de sodium de l'acide 2- [2-(Bis-(2-chloréthyl)-amino)-2-oxo-tétrahydro-2H,1,3,2-oxazaphosphorin-4-yl-thio] -éthansulfonique.

On mélange 1,6 g (5 mMoles) de 2-(Bis-(2-chloréthyl)-amino)-4-éthoxy-tétrahydro-2H-1,3,2-oxazaphosphorin-2-oxyde et 0,8 g (5 mMoles) de 2-mercaptoéthanesulfonate de sodium dans 10 ml de diméthylformamide avec
25 une trace d'acide trichloracétique et on garde pendant la nuit à -25°C. On ajoute ensuite à la solution réactionnelle 20 ml d'éther. On filtre le résidu par succion à 0°C après l'avoir laissé reposer pendant 20 h, on lave et on
30 sèche.

Rendement : 1,5 g (71 % de la quantité théorique), P_f 145-150°C (déc.). Rf 0,56.

Exemple 9

Acide 2- [2-(Bis-(2-chloréthyl)-amino)-2-oxo-tétrahydro-2H-1,3,2-oxazaphosphorin-4-yl-thio] -éthan-sulfonique.

5 On mélange 0,8 g (3,0 mMoles) de 4-hydroxy-cyclophosphamide dans 3 ml d'eau, en refroidissant avec de l'eau glacée, avec 420 mg (3,0 mMoles) d'acide 2-mercaptoéthanesulfonique. Au bout d'1 h on concentre sous un vide poussé et on cristallise.

10 Rendement : 1,1 g (92 % de la quantité théorique) ; P_f : 75-78°C.

Exemple 10

Acide 2- [2-(Bis-(2-chloréthyl)-amino)-2-oxo-tétrahydro-2H-1,3,2-oxazaphosphorin-4-yl-thio] -éthan-
15 sulfonique.

On dissout 2,0 g (4 mMoles) de cyclohexyl-ammonium-2- [2-(Bis-(2-chloréthyl)-amino)-2-oxo-tétrahydro-2H-1,3,2-oxazaphosphorin-4-yl] -thioéthane sulfonate dans un peu d'eau et on introduit, en refroidissant à 4°C, dans
20 une colonne échangeuse de cations chargée d'ions hydrogène. On lyophilise ensuite l'éluat et on le recristallise à partir du diméthylformamide/chloroforme.

Rendement : 1,2 g (75 % de la quantité théorique) ; P_f 75-78°C, R_f 0,58 (éluant : acétate d'éthyle/
25 isopropanol/acide acétique 1N (5:3:2)).

Exemple 11

Sel d'ammonium de l'acide 2- [2-(Bis-(2-chloréthyl)-amino)-2-oxo-tétrahydro-2H-1,3,2-oxazaphosphorin-4-yl-thio] -éthane sulfonique.

- 5 On dissout 720 mg (1,8 mMoles) d'acide
2- [2-(Bis-(2-chloréthyl)-amino)-2-oxo-tétrahydro-2H-1,3,2-oxazaphosphorin-4-yl] -thioéthane sulfonique dans un peu d'eau, on neutralise avec de l'ammoniac et on mélange avec 4 ml d'acétone. On laisse reposer la solution
10 réactionnelle pendant la nuit à -25°C. On filtre par succion le produit de cristallisation et on le recristallise à partir du méthanol/acétate.

Rendement : 530 mg (71 % de la quantité théorique) ; P_f 133-134°C (forme cis).

15 Exemple 12

Sel de lithium de l'acide 2- [2-(Bis-(2-chloréthyl)-amino)-2-oxo-tétrahydro-2H-1,3,2-oxazaphosphorin-4-yl-thio] -éthane sulfonique.

- 20 On dissout 540 mg (2 mMoles) de 4-hydroxycyclophosphamide et 300 mg (2 mMoles) de 2-mercaptoéthanesulfonate de lithium avec une trace d'acide trichloracétique dans 7 ml d'eau et on laisse reposer

pendant 20 h à 0°C. On concentre le mélange réactionnel sous vide, on absorbe le résidu dans l'acétone et on filtre. On concentre ensuite la solution, on dissout le résidu dans l'éthanol, on concentre, on absorbe à nouveau dans l'éthanol, on précipite avec de l'éther et on

5 filtre le précipité par succion, on lave et on sèche.

Rendement : 500 mg (61 % de la quantité théorique) ; R_f : 0,56 (éluant : acétate d'éthyle/isopropanol/acide acétique 1 N (5:3:2)).

10 Exemple 13

Sel neutre de magnésium de l'acide 2- [2-(Bis-(2-chloréthyl)-amino)-2-oxo-tétrahydro-2H-1,3,2-oxazaphosphorin-4-yl-thio] -éthane sulfonique.

On dissout 1,4 g (5 mMoles) de 4-hydroxy-

15 cyclophosphamide et 750 mg (2,5 mMoles) de di-2-mercaptopéthanesulfonate de magnésium avec un peu d'acide trichloracétique dans 15 ml d'eau et on concentre sous vide au bout de 3 jours à 0°C. On dissout le résidu dans l'éthanol, on concentre, on absorbe à nouveau dans l'éthanol, on

20 précipite avec de l'éther, on filtre par succion, on lave et on sèche.

Rendement : 1,3 g (63 % de la quantité théorique) ; P_f 110-115°C (déc.). R_f : 0,56.

Exemple 14

25 Sel neutre de calcium de l'acide 2- [2-(Bis-(2-chloréthyl)-amino)-2-oxo-tétrahydro-2H-1,3,2-oxaza-

phosphorin-4-yl-thio] -éthane sulfonique.

On dissout 1,4 g (5 mMoles) de 4-hydroxy-cyclophosphamide et 800 mg (2,5 mMoles) de di-2-mercapto-éthanesulfonate de calcium avec un peu d'acide trichloracétique dans 15 ml d'eau, on concentre sous vide au bout
5 de 3 jours à 0°C, on mélange deux fois avec de l'éthanol, on concentre, on dissout dans l'éthanol et on précipite avec de l'éther, on filtre par succion, on lave et on sèche.

10 Rendement : 1,3 g (62 % de la quantité théorique) ; P_f 110-115°C (déc.) ; R_f : 0,56.

Exemple 15

Sel de cyclohexylammonium de l'acide 2- [2-(Bis-(2-chloréthyl)-amino)-6-méthyl-2-oxo-tétrahydro-2H-1,3,2-oxa-
15 phosphorin-4-yl-thio] -éthane sulfonique.

On dissout 1,45 g (5mMoles) de 2-(Bis-(2-chloréthyl)-amino)-4-hydroxy-6-méthyl-tétrahydro-2H-1,3,2-oxazaphosphorin-2-oxyde et 1,2 g (5 mMoles) de 2-mercapto-éthanesulfonate de cyclohexylammonium dans 5 ml d'eau et
20 5 ml d'acétone, on acidifie avec de l'acide trichloracétique et on laisse reposer pendant 20 h à 0°C. Ensuite on filtre, on concentre avec précaution le filtrat sous vide, on absorbe le résidu 2 fois dans l'acétone et on concentre. On dissout alors le résidu dans l'acétone, on précipite avec
25 de l'éther, on lave à l'éther et on sèche.

Rendement : 1,4 g (56 % de la quantité théorique), P_f : 120-125°C (déc.) ; R_f : 0,61.

Exemple 16

Sel de sodium de l'acide 3- [2-(Bis-(2-chloréthyl)-amino)-2-oxo-tétrahydro-2H-1,3,2-oxazaphosphorin-4-yl-thio] -2-méthyl-propane sulfonique.
30

On dissout 277 mg (1 mMole) de 4-hydroxy-cyclophosphamide et 192 mg (1 mMole) de 3-mercapto-2-méthyl-propanesulfonate de sodium dans 4 ml d'eau, on mélange avec une trace d'acide trichloracétique et on
5 laisse reposer pendant 20 h à 0°C. Après concentration sous vide on dissout 2 fois le résidu dans l'éthanol sec et on concentre à nouveau et on précipite dans l'alcool/éther.

Rendement : 420 mg (86 % de la quantité
10 théorique) ; Rf : 0,61.

Exemple 17

Sel de sodium de l'acide 6- [2-(Bis-(2-chloréthyl)-amino)-2-oxo-tétrahydro-2H-1,3,2-oxazaphosphorin-4-yl-thio] -hexane sulfonique.

15 On dissout 277 mg (1 mMole) de 4-hydroxy-cyclophosphamide et 220 mg (1 mMole) de 6-mercapto-hexanesulfonate de sodium avec une trace d'acide trichloracétique dans 4 ml d'eau et on laisse reposer pendant 20 h à 0°C. On concentre ensuite avec précaution
20 le mélange réactionnel sous vide, on dissout 2 fois le résidu dans l'éthanol sec et on concentre à nouveau. On absorbe le résidu dans l'alcool et on précipite avec de l'éther.

Rendement : 350 mg (70 % de la quantité théo-
25 rique), Rf : 0,58.

Exemple 18

Sel de cyclohexylammonium de l'acide 2- [3-(2-chloréthyl)-2-(2-chloréthylamino)-2-oxo-tétrahydro-2H-1,3,2-oxazaphosphorin-4-yl-thio] -éthane sulfonique.

30 On dissout 277 mg (1 mMole) de 3-(2-chloréthyl)-

2-(2-chloréthylamino)-hydroxy-tétrahydro-2H-1,3,2-oxazaphosphorin-2-oxyde et 240 mg (1 mMole) de 2-mercaptoéthanesulfonate de cyclohexylammonium dans 4 ml d'eau, on mélange avec une trace d'acide trichloracétique et on conserve pendant 20 h à 0°C. On dissout 2 fois dans l'éthanol la solution réactionnelle concentrée sous vide et on concentre à nouveau. On absorbe ensuite dans l'éthanol et on précipite avec de l'éther.

Rendement : 340 mg (68 % de la quantité théorique) ; P_f : 115-120°C (déc.). Rf : 0,56.

Exemple 19

Sel de cyclohexylammonium de l'acide 2- [3-(2-chloréthyl)-2-(Bis-(2-chloréthyl)-amino)-2-oxo-tétrahydro-2H-1,3,2-oxazaphosphorin-4-yl-thio] -éthane sulfonique.

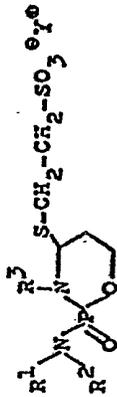
On mélange 340 mg (1 mMole) de 3-(2-chloréthyl)-2-(Bis-(2-chloréthyl)-amino)-4-hydroxy-tétrahydro-2H-1,3,2-oxazaphosphorin-2-oxyde et 240 mg (1 mMole) de 2-mercaptoéthanesulfonate de cyclohexylammonium dans 2 ml de diméthylformamide avec une trace d'acide trichloracétique et on garde pendant 2 jours à -25°C. On précipite ensuite le mélange réactionnel avec une quantité 20 fois supérieure d'éther. On lave le résidu et on sèche.

Rendement : 400 mg (71 % de la quantité théorique) ; P_f 102-107°C (déc.) ; Rf 0,63.

De façon correspondant aux exemples précédents on prépare encore les composés suivants :

Exemples 20 - 30

Oxazaphosphorine-4-thio-alcanesulfonates de formule générale



Exemple N°	R ¹	R ²	R ³	Y ^o	P _f ou R _f
20	Cl-CH ₂ -CH ₂	CH ₃	Cl-CH ₂ -CH ₂	^o NH ₄	121 - 125° C (déc.)
21	Cl-CH ₂ -CH ₂	CH ₂ -CH ₃	Cl-CH ₂ -CH ₂	^o NH ₄	95 - 97° C (déc.)
22	CH ₃ -SO ₃ -CH ₂ -CH ₂	CH ₃	Cl-CH ₂ -CH ₂		0,64
23	Cl-CH ₂ -CH ₂	Cl-CH ₂ -CH ₂	H	K ^o	120 - 123° C (déc.)
24	Cl-CH ₂ -CH ₂	Cl-CH ₂ -CH ₂	H		70 - 75° C (déc.)
25	Cl-CH ₂ -CH ₂	Cl-CH ₂ -CH ₂	H	(CH ₃ -CH ₂) ₂ NH ₂ ^o	0,61
26	Cl-CH ₂ -CH ₂	Cl-CH ₂ -CH ₂	H	HO-CH ₂ -CH ₂ -NH ₂ ^o	0,59
27	Cl-CH ₂ -CH ₂	Cl-CH ₂ -CH ₂	H	(HO-CH ₂ -CH ₂) ₂ NH ₂ ^o	0,59
28	Cl-CH ₂ -CH ₂	Cl-CH ₂ -CH ₂	H	NH ₂ -C(=NH ₂) ^o NH ₂	132 - 134° C

Exemple n°	R ¹	R ²	R ³	Y	P _f ou R _f
29	Cl-CH ₂ -CH ₂	Cl-CH ₂ -CH ₂	H	(H ₃ N ⁺ -CH ₂ -CH ₂ -NH ₃ ⁺) ⁺ 1/2	0,62
30	Cl-CH ₂ -CH ₂	Cl-CH ₂ -CH ₂	H	() ⁺ 1/2	0,61

1) Eluant : acétate d'éthyle/iso-propanol/acide acétique IN (5:3:2)

Exemple 31

Sel de cyclohexylamine de l'acide 3- [2-(Bis-(2-chloréthyl)-amino-2-oxo-tétrahydro-2H-1,3,2-oxazaphosphorin-4-yl-thio] -2-mercaptopropane sulfonique.

On dissout 1,39 g (5 mMoles) de 4-hydroxycyclophosphamide et 1,44 g (5 mMoles) de sel de cyclohexylamine de l'acide 2,3-dimercaptopropanesulfonique dans 10 ml d'éthanol, on acidifie avec de l'acide trichloracétique et on laisse reposer pendant 2 jours à 0°C. On précipite ensuite avec de l'éther, on décante au bout de 20 h et on sèche l'huile restante dans un vide poussé. L'huile se fige.

Rendement : 1,8 g (77 % de la quantité théorique) ; P_f : à partir de 70°C (déc.).

Exemple 32

Sel cis de sodium de l'acide 2- [2-(Bis-(2-chloréthyl)-amino)-2-oxo-tétrahydro-2H-1,3,2-oxazaphosphorin-4-yl-thio] éthane sulfonique.

On mélange 2,8 g (10 mMoles) de 4-hydroxycyclophosphamide dans 10 ml d'acétone avec 1,3 g (8 mMoles) de 2-mercaptoéthane sulfonate de sodium dans 2 ml d'eau et on garde pendant 3 h à 0°C. On concentre ensuite le mélange réactionnel sous vide à 25°C, on absorbe le résidu dans l'acétone sec et on mélange à froid avec de l'éther sec jusqu'à l'apparition d'un trouble. Lorsqu'on concentre la solution sous vide il se forme un précipité.

Rendement : 1,5 g (44 % de la quantité théorique) de l'isomère cis, P_f : 83-85°C. Par recristallisation dans l'acétone on obtient un produit difficilement soluble dans l'acétone.

Exemple 33

Sel de guanidinium de l'acide 3- [2-(Bis-(2-chloréthyl)-amino-2-oxo-tétrahydro-2H-1,3,2-oxazaphosphorin-4-yl-thio] -propane sulfonique.

On dissout 14 g (50 mMoles) de 4-hydroxycyclophosphamide et 11 g (50 mMoles) de sel de guanidine de l'acide 3-mercaptopropanesulfonique dans 100 ml d'éthanol, on acidifie avec de l'acide trichloracétique et on garde à 0°C. Au bout de 20 h on ajoute 50 ml d'éther. On filtre par succion après encore 20 h le produit de cristallisation, on le lave et on sèche.

Rendement : 18,5 g (78 % de la quantité théorique) ; P_f : 128-132°C (déc.).

Exemple 34

Préparations contenant comme substance active

15	50 mg ou 200 mg de substance 23 selon le tableau suivant :		
	Substance de l'exemple 23	50 mg	200 mg
	Mannitol	230 mg	380 mg
	Eau injectable q.s.p.	2 ml	q.s.p. 4 ml

On dissout la substance de l'exemple 23 et le mannitol à chaque fois en faisant passer de l'azote et en protégeant de la lumière dans une quantité suffisante d'eau pour obtenir une solution d'un volume de 2 ml ou de 4 ml. Dans la préparation et le traitement on procède de manière que la température de la solution ne dépasse pas 5°C. On soumet les solutions de façon connue à une filtration stérile dans des conditions aseptiques dans des ampoules injectables brunes de 10 ml dosées à 2 ml ou à 4 ml, on munit les ampoules de bouchons de lyophilisation et on lyophilise dans une installation appropriée. On fait ensuite passer de l'azote sec dans

l'installation et on scelle les flacons-ampoules dans l'installation.

La teneur en eau résiduelle du contenu des flacons ne doit pas dépasser 0,5 %.

- 5 Pour préparer la solution injectable applicable on dissout le contenu des flacons avec 50 mg de substance active dans 5 ml d'eau injectable, et lorsque le flacon contient 200 mg de substance active, dans 10 ml d'eau injectable.

10 Exemple 35

Préparations contenant comme substance active 50 mg ou 200 mg de substance 33 selon le tableau suivant :

Substance de l'exemple 33	50 mg	200 mg
Mannitol	245 mg	430 mg

- 15 Eau injectable q.s.p. 2 ml q.s.p. 4 ml

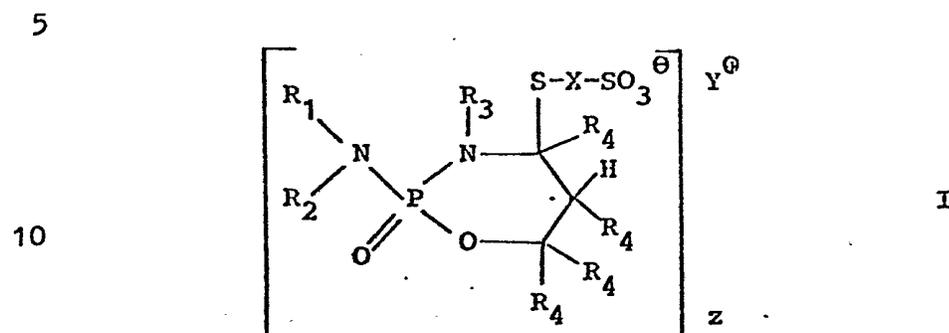
- On dissout la substance de l'exemple 33 et le mannitol en faisant chaque fois passer de l'azote et en protégeant de la lumière, dans une quantité d'eau suffisante pour qu'apparaisse une solution de 2 ml ou de 4 ml de volume. Dans la préparation et le traitement on procède de manière que la température de la solution ne dépasse pas 5°C. On soumet les solutions de façon classique à une filtration stérile, on les répartit dans des conditions aseptiques dans des flacons injectables
25 bruns de 10 ml dosés à 2 ml ou à 4 ml, que l'on munit de bouchons de lyophilisation et on lyophilise dans une installation appropriée. On fait ensuite passer de l'azote sec dans l'installation et on scelle les flacons-ampoules dans l'installation.

- 30 La teneur en eau résiduelle du contenu du flacon ne doit pas dépasser 0,5 %.

Pour préparer la solution injectable applicable on dissout le contenu des flacons ayant 50 mg de substance active dans 5 ml d'eau injectable, et lorsqu'ils ont 200 mg de substance active, dans 10 ml d'eau injectable.

REVENDEICATIONS

1. Acides oxazaphosphorin-4-thio-alcane-sulfoniques et leurs sels neutres, de formule générale I :



15

où

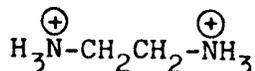
20 R_1 , R_2 et R_3 , qui peuvent être semblables ou différents l'un de l'autre, représentent un hydrogène, un méthyle, un éthyle, un 2-chloréthyle ou un 2-méthanesulfonyloxyéthyle et où au moins deux de ces radicaux sont un 2-chloréthyle et/ou un 2-méthanesulfonyloxyéthyle,

25 R_4 est un hydrogène ou un méthyle,

X est un alcoylène en C_2 à C_6 à chaîne droite ou ramifiée, qui peut avoir un groupe mercapto sur l'atome de carbone en position 1, 2, 3, 4 ou 5 de la chaîne alcoylène, et

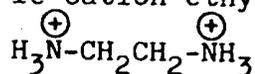
30 Y^{\oplus} est un cation hydrogène, un cation alcalin ou alcalino-terreux, le cation guanidinium, morpholinium ou cyclohexylammonium ou le cation qui dérive d'une amine de formule $NR_5R_6R_7$, où les radicaux R_5 à R_7 sont semblables ou différents et représentent un hydrogène, des groupes

alcoyle en C₁ à C₂ ou oxyéthyle, ou où Y[⊕] est le cation éthylènediammonium



ou le cation pipérazonium et z vaut 1 lorsque Y[⊕] est un cation monobasique, ou vaut 2 lorsque Y[⊕] est un cation dibasique, ou le cation d'un composé avec deux cations monobasiques.

2. Composés selon la revendication 1, caractérisés en ce que dans la formule I Y[⊕] est le cation hydrogène, le cation guanidinium, morpholinium ou cyclohexylammonium ou le cation qui dérive d'une amine de formule NR₅R₆R₇, ou dans la chaîne R₅ à R₇ sont semblables ou différents et représentent un hydrogène, des groupes alcoyle en C₁ à C₂ ou des groupes oxyéthyle, ou bien où Y[⊕] est le cation éthylènediammonium



ou le cation pipérazonium et z vaut 1 lorsque Y[⊕] est un cation monobasique, ou vaut 2 lorsque Y[⊕] est un cation dibasique ou le cation d'un composé avec deux cations monobasiques.

3. Composés selon la revendication 1, caractérisés en ce que dans la formule I Y[⊕] est un cation potassium ou un cation alcalino-terreux.

4. Composés selon la revendication 1 ou la revendication 2, caractérisés en ce que dans la formule I Y[⊕] est le cation cyclohexylammonium.

5. Composés selon la revendication 1 ou la revendication 2, caractérisés en ce que dans la formule I Y[⊕] est le cation guanidinium.

6. Sel cis de sodium de l'acide 2-[2-(Bis-(2-chloréthyle)-amino)-2-oxo-tétrahydro-2H-1,3,2-oxazaphosphorin-4-yl]-thioéthanesulfonique.

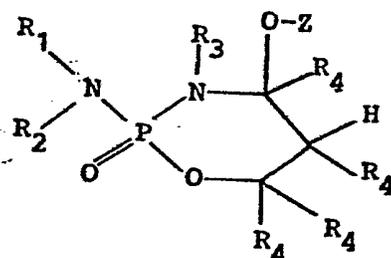
7. Sel d'ammonium de l'acide 2-[2-(Bis-(2-chloréthyl)-amino)-2-oxo-tétrahydro-2H-1,3,2-

oxazaphosphorin-4-yl]-thioéthanesulfonique.

8. Sel de cyclohexylammonium de l'acide 2-[2-(Bis-(2-chloréthyl)-amino)-2-oxo-tétrahydro-2H-1,3,2-oxazaphosphorin-4-yl]-thioéthanesulfonique.

5 9. Sel de potassium de l'acide 2-[2-(Bis-(2-chloréthyl)-amino)-2-oxo-tétrahydro-2H-1,3,2-oxazaphosphorin-4-yl]-thioéthanesulfonique.

10 10. Procédé de préparation des acides oxazaphosphorin-4-thio-alcanesulfoniques et de leurs sels neutres selon une ou plusieurs des revendications 1 à 9, caractérisé en ce qu'on fait réagir une 4-hydroxy- ou 4-alcoxy en C₁ à C₄-oxazaphosphorine de formule générale II :



II

20 où R₁, R₂, R₃ et R₄ ont la même signification que dans la formule I et où Z est un hydrogène ou un alcoyle en C₁ à C₄,

avec un composé de formule générale III



où X et Y[⊕] ont la même signification que dans la formule I et, si Y[⊕] est un hydrogène, on neutralise l'acide oxazaphosphorin-4-thio-alcanesulfonique obtenu avec l'une des bases correspondant à l'autre signification de Y[⊕].

30 11. Procédé de préparation d'acides oxazaphosphorin-4-thio-alcanesulfoniques et de leurs sels neutres selon une ou plusieurs des revendications 1 à 10, caractérisé en ce qu'on fait réagir un composé de formule II où R₁, R₂, R₃ et R₄ ont la même signification que dans

la formule I et où Z est un hydrogène ou un alcoyle en C_1 à C_4 , avec un composé de formule générale III où Y^{\oplus} dérive d'une base optiquement active qui ne correspond pas à la définition déjà donnée de Y et en ce que, après

5 la réaction, on échange cette autre base optiquement active contre de l'hydrogène ou une base selon la définition déjà donnée de Y.

12. Procédé selon la revendication 10 et/ou la revendication 11, caractérisé en ce qu'on échange le

10 cation Y^{\oplus} d'un oxazaphosphorin-4-thio-alcanesulfonate sur un échangeur d'ions contre un autre cation Y^{\oplus} .

13. Préparations pharmaceutiques contenant comme substance active un composé selon les revendications 1 à 9 à côté de supports et/ou de diluants physiologiquement compatibles habituels.

15