



NORGE

(19) [NO]

[B] (12) UTLEGNINGSSKRIFT (11) Nr. 163692

STYRET FOR DET
INDUSTRIELLE RETTSVERN

(51) Int. Cl.⁵ C 07 F 9/6533, 9/24.

(21) Patentsøknad nr. 820957
(22) Inngivelsesdag 23.03.82
(24) Løpedag 23.03.82
(62) Avdelt/utskilt fra søknad nr.

(86) Internasjonal søknad nr. -
(86) Internasjonal inngivelsesdag -
(85) Videreføringsdag -
(41) Alment tilgjengelig fra 27.09.82
(44) Utlegningsdag 26.03.90

(71)(73) Søker/Patenthaver ASTA-PHARMA AKTIENGESELLSCHAFT,
Weismüller-Strasse 45,
D-6000 Frankfurt am Main 1,
DE.

(72) Oppfinner GERHARD SCHEFFLER, Bielefeld,
ULF NIEMEYER, Bielefeld,
NORBERT BROCK, Bielefeld,
JÖRG POHL, Halle,
DE.

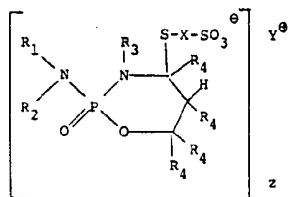
(74) Fullmektig Siv.ing. Jan E. Helgerud,
Bryns Patentkontor A/S, Oslo.

(30) Prioritet begjært 24.03.81, DE, nr. 3111428.

(54) Oppfinnelsens benevnelse ANALOGIFREMANGSMÅTE FOR FREMSTILLING AV TERAPEUTISK
AKTIVE OKSAZAFOSFORIN-4-TIO-ALKANSULFONSYRER OG
SALTER DERAV.

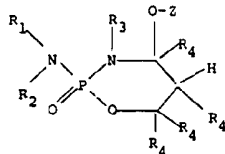
(57) Sammendrag

Fremgangsmåte for fremstilling av oksazafosforin-4-tio-alkansulfonsyrer og nøytrale salter derav med den generelle formel I

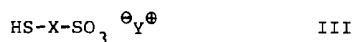


hvor R_1 , R_2 og R_3 , som kan være like eller forskjellige, er hydrogen, metyl, etyl, 2-kloretyl eller 2-metansulfonyloksyetyl, hvorved minst to av disse rester er 2-klormetyl og/eller 2-metansulfonyloksyetyl, R_4 er hydrogen eller metyl, X er et rettkjedet eller forgrenet C_{2-6} -alkylen som kan ha en merkaptogruppe på det 1-, 2-, 3-, 4- eller 5-stående karbonatom i alkylenkjeden, og Y^{\oplus} betyr hydrogenkationet, et alkali- eller jordalkalikation, et guanidinium-, morfolinium- eller cykloheksylammoniumkation eller et kation som avleder seg

fra et amin med formelen $NR_5R_6R_7$, hvorved restene R_5-R_7 kan være like eller forskjellige og betyr hydrogen, C_1-C_2 -alkylgrupper eller oksyetylgrupper, eller hvor Y^{\oplus} er etylendiammoniumkationet $H_3N-CH_2CH_2-NH_3$ eller piperazoniumkationet, og z er 1 når Y^{\oplus} er et enbasig kation, eller 2 når Y^{\oplus} er et tobasig kation, eller kationet av en forbindelse med to enbasiske kationer, idet et 4-hydroksy- eller 4- C_{1-4} -alkoksyoksozafosforin med den generelle formel II



hvor R_1 , R_2 , R_3 og R_4 har den samme betydning som i formel I og 2 er hydrogen eller C_{1-4} -alkyl, omsettes med en forbindelse med den generelle formel III

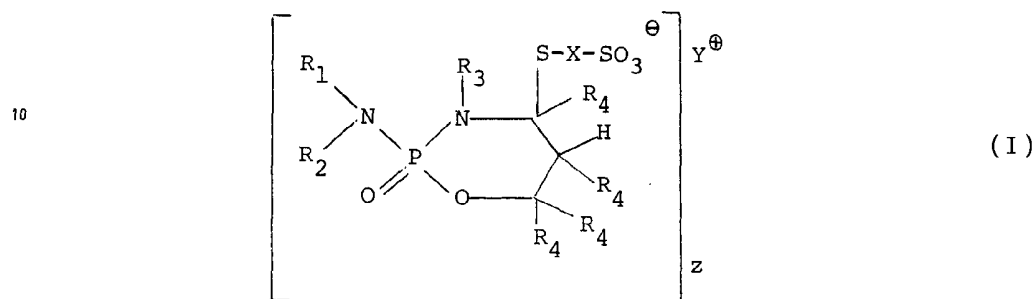


hvor X og Y^{\oplus} har den samme betydning som i formel I, og, hvis Y^{\oplus} er hydrogen, den oppnådde oksazafosforin-4-tio-alkansulfonsyre nøytraliseres med en base som tilsvarer en av de andre betydninger av Y^{\oplus} .

(56) Anførte publikasjoner BRD (DE) utl.skrift nr. 2107936,
USA (US) patent nr. 4239709,
H. Takasni et al, Tetrahedron Letters, No 10, 1979, pp 883-886,
N. Brock et al, Arzneim.-Forsch./Drug Res., 29 (I), Nr. 4 (1979), pp 659-661,
Chemical Abstracts, Vol 94 (1981), 208918 d,
Carter et al, Chemotherapy of Cancer, First Ed., John Wiley & Sons,
New York (1977), pp 21-36.

Foreliggende oppfinnelse angår fremstilling av nye farmakologisk aktive, fortrinnsvis anti-tumorvirksomme oksazafosforin-4-tio-alkansulfonsyrer og deres nøytrale salter.

Disse oksazafosforin-4-tio-alkansulfonsyrer har den generelle formel I:



der

R₁, R₂ og R₃ som kan være like eller forskjellige, er hydrogen, metyl, etyl, 2-kloretyl eller 2-metansulfonyloksyetyl, og minst to av disse rester er 2-kloretyl og/eller 2-metansulfonyloksyetyl,

R₄ er hydrogen eller metyl,

X er en rett eller forgrenet C₂₋₆-alkylengruppe som kan inneholde en merkaptogruppe ved alkylenkjedens karbonatom i 1-, 2-, 3-, 4- eller 5-posisjon, og

Y[⊕] er et hydrogenkation, alkali- eller jordalkalimetallkation, et guanidinium-, morfolinium- eller cykloheksylammoniumkation eller et kation som stammer fra en amin med formelen NR₅R₆R₇, der restene R₅ til R₇ kan være like eller forskjellige og betyr hydrogen, C₁₋₂-alkylgrupper eller oksyetylgrupper, eller Y[⊕] er et etylendiammoniumkation

H₃N[⊕]-CH₂CH₂-N[⊕]H₃ eller et piperazoniumkation, og z er 1, når Y[⊕] er et enverdig kation, eller 2, når Y[⊕] er et toverdig kation, eller et kation i en forbindelse som inneholder to enverdige kationer.

35

163692

2


På grunn av den gode tilgjengelighet og de gode egenskaper er derved de forbindelser med formel I foretrukket der Y^{\oplus} er guanidinium-, morfolinium- eller cykloheksylammoniumkationet, eller kationet avledes fra et amin med formel $NR_5R_6R_7$, hvorvidt restene R_5 til R_7 kan være like eller forskjellige og bety hydrogen, C_{1-2} -alkylgrupper eller oksyetylgrupper, eller der Y^{\oplus} er etylendiammoniumkationet $H_3N^{\oplus}-CH_2CH_2-N^{\oplus}H_3$ eller piperazoniumkationet, og z er 1, når Y^{\oplus} er et enverdig kation, eller 2, når Y^{\oplus} er et toverdig kation, eller kationet av en forbindelse som inneholder to enverdige kationer.

Andre gunstige egenskaper har kalium- og jordalkalisaltene av syrene med formel I og disse er hermed foretrukket.

Blant de med nitrogenbaser nøytraliserte syrer med formel I er spesielt ammoniumsaltene der Y^{\oplus} er NH_4^{\oplus} -kationet, cykloheksylammoniumsaltene, der Y^{\oplus} er $C_6H_{11}NH_3^{\oplus}$ -kationet, henholdsvis guanidiniumsaltene, der Y^{\oplus} er $N^{\oplus}H_2=C(NH_2)$ -kationet, foretrukket.

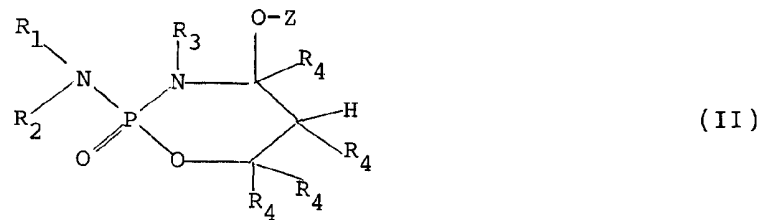
Blant saltene ifølge oppfinnelsen er cis-natrium-2-[2-(bis-(2-kloretyl)-amino)-2-okso-tetrahydro-2H-1,3,2-oksazafosforin-4-yl]-tioetansulfonatet og det tilsvarende ammonium-, cykloheksylammonium- og kaliumsaltet spesielt lett tilgjengelig og derfor foretrukket.

Tellingen av stillingen for merkaptogruppen i alkylengruppen X begynner med C-atomet som bærer sulfonsyregruppen.

Av spesiell betydning er de forbindelser med formel I der R_1 og R_2 er 2-kloretyl, R_3 og R_4 er hydrogen, X er etylen og samtidig $z = 1$ og $Y^{\oplus} = NH_4^{\oplus}$, $N^{\oplus}H_3$ - eller $N^{\oplus}H_2=C(NH_2)_2$ eller $X = (CH_2)_3$, $z = 1$ og samtidig $Y = N^{\oplus}H_2=C(NH_2)_2$.

Oksazafosforin-4-tio-alkansulfonsyrer ifølge oppfinnelsen og disses nøytrale salter med den generelle formel I oppnås i

henhold til oppfinnelsen ved at 4-hydroksy- eller 4-C₁₋₄-alkoksy-oksazafosforin med den generelle formel II



10 der R₁, R₂, R₃ og R₄ har den samme betydning som i formel I og Z er hydrogen eller C₁₋₄-alkyl, omsettes med en forbindelse med formel III



20 der X og Y[⊕] har den samme betydning som i formel I, og hvis Y[⊕] er hydrogen, nøytraliserer den oppnådde oksazafosforin-4-tio-alkansulfonsyre med en base som tilsvarer den andre betydning av Y[⊕].

25 Som egnede oppløsningsmidler kommer vann, alkoholer, spesielt C₁₋₆-alkanoler som metanol, etanol, propanol eller isobutanol; C₁₋₄-alkylketoner som spesielt aceton, metyletylketon; dimetylformamid (DMF); heksametylfosforsyretriamid; halogenerte C₁₋₃-hydrokarboner som kloroform, etylendiklorid, tetrahydrofuran, dietyleter eller lignende oppløsningsmidler henholdsvis blandinger av flere slike oppløsningsmidler, i

30 betraktning. Reaksjonen gjennomføres ved temperaturer innen området -60 og +80°C, fortrinnsvis -30 til +60°C og helst -30 til +40°C, det vil si eventuelt under avkjøling, ved romtemperatur eller under oppvarming. Omsetningen kan skje i

35 nærvær av en sur katalysator som en uorganisk eller organisk syre, spesielt trikloreddiksyre eller en Lewis-syre som AlCl₃, ZnCl₂ eller TiCl₄.

163692

4

Kationet, Y^{\oplus} av et sulfonat i henhold til formel I kan byttes ut med et annet kation, for eksempel på en tilsvarende beladet ionebytter. Denne utbytting anbefales i de tilfeller der et salt med et spesielt kation Y^{\oplus} vanskelig kan fremstilles i henhold til fremgangsmåtene ifølge oppfinnelsen. Det ønskede salt kan således oppnås i høyt utbytte fra et annet salt som er lett å fremstille.

De nye forbindelser med formel I isoleres ved vanlige opparbeidingsmetoder for denslags produkter, spesielt ved krystallisering, utfelling eller kromatografisk rensing, spesielt på "Sephadex". Strukturbestemmelser skjer ved smeltepunkt, tynnsjikt-kromatografi, elementanalyse eller IR- og NMR-spektralanalyse.

De i fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen som utgangsstoffer anvendte forbindelser er kjente og kan anvendes i krystallinsk form eller som råprodukter og kan syntetiseres på i og for seg kjent måte som angitt nedenfor:

4-hydroksy-oksazafosforin fremstilles ved reduksjon av 4-hydroperoksyderivater (for eksempel A. Takamizawa et al., "J. Amer. Chem. Soc.", 95, 589 (1973) og DE-OS 2 317 178). 4-alkoksy-oksazafosforin dannes under sur katalyse fra hydroksyderivatene i den tilsvarende alkohol. Tiolene oppnås ved omsetning av det tilsvarende natriumbromalkansulfonat med tiourinstoff til tiuroniumsaltet og dettes spalting med ammoniakk og overføring i det ønskede salt av merkaptalkan-sulfonatet.

Hvis Y^{\oplus} er et alkalikation dreier det seg spesielt om natrium- eller kaliumsaltet; hvis Y^{\oplus} er et jordalkalikation, dreier det seg spesielt om det nøytrale kalsium- eller magnesiumsalt; hvis Y^{\oplus} er et cykloheksylammoniumkation, dreier det seg om kationet $C_6H_{11}NH_3^{\oplus}$; hvis Y^{\oplus} er kationet $R_5R_6R_7N^{\oplus}$, avledes dette spesielt fra metyl-, etyl-, dimetyl-, dietyl-, trimetyl-, trietyl-, metyletyl-, dimetyletyl-,

dietylmetyl-, 2-hydroksyetyl-, bis-(2-hydroksyetyl)-, tris-(2-hydroksyetyl)-, (2-hydroksyetyl)-metyl-, (2-hydroksyetyl)-dimetyl-, bis-(2-hydroksyetyl)-metyl-, (2-hydroksyetyl)-etyl-, (2-hydroksyetyl)-dietyl-, bis-(2-hydroksyetyl)-etyl-, (2-hydroksyetyl)-metyletylamin.

Med oksazafosforinderivater ifølge oppfinnelsen med formel I menes alle de fire mulige stereoisomerer, det vil si de to racemiske cis-isomerer (2rs, 4rs) og de to racemiske trans-isomerer (2rs, 4rs), og de fire adskilte optisk aktive cis-isomerer (2r, 4s og 2s, 4r) og trans-isomerer (2r, 4r og 2s, 4s) og blandinger derav. Cis/trans-blandingene kan separeres på i og for seg kjent måte, fortrinnsvis ved fraksjonert krystallisering. Optisk aktive forbindelser kan oppnås i henhold til de vanlige metoder for racematspalting, for eksempel ved fraksjonert krystallisering av de diastereomere salter av den racemiske sulfonsyre med formel I med optisk aktive baser eller eventuelt ved anvendelse av optisk aktive utgangsprodukter i henhold til formel II ved syntese.

Generelt oppstår det cis/trans-blandinger ved syntesen. Derved oppnår man ved godt krystalliserende forbindelser cis-henholdsvis trans-formen, spesielt cis-formen i krystallisert tilstand. Hvis man imidlertid gjennomfører omsetningen i et vannfritt oppløsningsmiddel eller i oppløsningsmidler med liten vannandel, oppnår man utelukkende eller meget overveiende en enkelt form, spesielt cis-formen. Således kan man for eksempel fremstille den rene cis-form av en ikke- eller dårlig-krystalliserende forbindelse i henhold til formel I ved at en acetonisk oppløsning av forbindelsen i henhold til formel II settes til en vandig oppløsning av forbindelsen i henhold til formel II ved temperaturer mellom -30 og +20°C og feller om flere ganger etter avsluttet omsetning.

Utgangsforbindelsene i henhold til formel II kan benyttes som racemiske cis- og trans-isomerer (fremstilling se ovenfor), som optisk aktiv cis- og trans-form og som blandinger derav.

163692

6

Optisk aktive forbindelser ifølge formel II oppnår man for eksempel fra saltene av optisk aktive sulfonsyrer (fremstilling se ovenfor) ide de hydrolyseres til de tilsvarende optisk aktive 4-hydroksy-oksazafosforiner med formel II (i 5 vann for eksempel mellom 0 og 50°C, spesielt 5 til 30°C) og det frittblivende tiol med formel III oksyderes til disulfidet (for eksempel ved hjelp av jod eller hydrogenperoksyd i vann). En ytterligere fremgangsmåte går for eksempel ut fra et separert optisk aktivt syklofosfamidderivat i henhold til 10 eksempel 16 henholdsvis 33 i NO-PS 161 261 og hydrolyserer denne forbindelse til optisk aktivt 4-hydroksy-cyklofosfamid. Ved en annen fremgangsmåte omsettes for eksempel optisk aktivt syklofosfamid (DE-OS 29 44 106) i en beskrevet fremgangsmåte (Peter et al., "Cancer Treatment Reports", 60, 15 429 (1976))k til optisk aktivt 4-hydroksy-cyklofosfamid.

For racematspalting kommer for eksempel optisk aktive baser 1-fenyletylamin, brucin, kinidin, stryknin og kikonin samt ytterligere baser og metoder slik det er beskrevet i "Optical 20 Resolution Proseures for Chemical Compounds", vol. 2, Paul Newman, 1981, forlagt av Optical Resolution Information Center i Riverdale, USA, i betraktning. Disse optisk aktive baser kan også anvendes ved syntese i forbindelse med omsetningen av en forbindelse med formel II med en forbindelse med formel III i stedet for den der allerede angitte 25 betydning av Y. I dette tilfelle må til slutt denne optisk aktive base på vanlig måte byttes ut mot hydrogen eller en annen base Y i henhold til den allerede angitte definisjon av Y.

30 En ytterligere fremgangsmåte for fremstilling av oksazafosforin-4-tio-alkansulfonsyrer og disses nøytrale salter er karakterisert ved at man omsetter en forbindelse med formel II der R_1 , R_2 , R_3 og R_4 har den samme betydning som i formel I og Z er hydrogen eller C_{1-4} -alkyl, med en forbindelse med 35 formel III der Y^{\oplus} avledes fra en optisk aktiv base som ikke tilsvarer den allerede angitte definisjon av Y, og denne

andre optisk aktive base etter omsetningen byttes ut mot hydrogen eller en base i henhold til den allerede angitte definisjon av Y.

5 Forbindelsene som fremstilles ifølge oppfinnelsen kan anvendes ved bekjempelse av kreft og for immunsuppresjon. De har en sterk anti-tumorvirkning. De utmerker seg ved en høy aktivitet ved parenteral og ved oral applikasjon, samt ved
10 lave generelle toksiske fenomener. De har en høy karsinotoksisk selektivitet in vivo og en høy cytotoxisk spesifisitet in vitro.

For å fastslå den karsinotoksiske virkning ble stoffene prøvet eksperimentelt på dyr mot en rekke tumorer med
15 forskjellig kjemoresistens. For bedømmelse ble de midlere helbredende virksomme doser (DC_{50} (mg/kg)) bestemt og bedømmelsen skjedde ved hjelp av Probit-analysen fra forbindelsen mellom dosens logaritme og hyppigheten av
20 helbredede og overlevende forsøksdyr. Som sammenligningssubstans benyttet man den kommersielt tilgjengelige forbindelse cyklofosamid som, hva kjemisk konstitusjon angår, står produktene som fremstilles ifølge oppfinnelsen nær.

Når det gjelder den lymfatiske leukemi L5222 hos rotter
25 (stamme: BD, IX), lå den midlere kurerende dose - ved engangs intravenøs administrering 5. dag etter inokulering av leukemien - for produktene som fremstilles ifølge oppfinnelsen på samme måte som for cyklofosamid ved 1,5 mg/kg.

30 Ved kjemosensitiv Yoshida-Aszites-karsinosarkom (linje AH 13) hos rotter (stamme: Sprague-Dawley) lå denne DC_{50} -verdi for produktene som fremstilles ifølge oppfinnelsen på samme måte som for sammenligningssubstansen cyklofosamid ved 1 mg/kg.

35 På analog måte prøvde man den toksiske virkning hvorved den midlere letale dose (DL_{50} (mg/kg)) ble bestemt fra forholdet mellom logaritmen til dosen og letaliteten.

163692

8

For produktene som fremstilles ifølge oppfinnelsen lå denne DL₅₀ ved engangs intravenøs administrering ved 300 mg/kg. Den sammenligningsvis bestemte midlere letale dose for cyklofosfamid ved engangs intravenøs administrering lå på 244 mg/kg. Produktene som fremstilles ifølge oppfinnelsen har i henhold til dette en ca. 20% lavere akutt giftighet henholdsvis en tilsvarende høyere terapeutisk bredde ved samme kurerende virkning.

For undersøkelse av den cytotoksiske spesifisitet in vitro ble i hvert tilfelle ca. 3×10^7 sterilt oppnådde celler av kjemoresistent Yoshida-Aszites-karsinosarkom (linje AH 13, stamme Asta) inkubert med stigende konsentrasjon for produktene som fremstilles ifølge oppfinnelsen i 2 timer ved 37°C og implantert i bukhulen til ubehandlede vertsdyr etter flere gangers utvasking. Fra sammenhengen mellom konsentrasjonens logaritme og hyppigheten av utviklede tumorer bestemte man ved hjelp av Probit-analysen den midlere cytotoksiske dose (CE₅₀ (µg/ml)). Under disse forsøksbetingelser lå CE₅₀-verdien for produktene som fremstilles ifølge oppfinnelsen mellom 3 og 5 µg/ml.

Da cyklofosfamid ikke oppviser noen cytotoksiske aktivitet som i første omgang inaktiv transportformforbindelse, benyttet man i disse undersøkelser som sammenligningssubstans den aktive primærmetabolitt 4-hydroksy-cyklofosfamid som dannes i legemet ved enzymatisk aktivering, fortrinnsvis i leveren. For denne sammenligningssubstans ligger den midlere cytotoksiske konsentrasjon likeledes ved 5 µg/ml.

De følgende eksempler skal belyse oppfinnelsen nærmere uten at den er begrenset til disse.

Eksempel 1

2-[2-(bis-(2-kloretyl)-amino)-2-okso-tetrahydro-2H-1,3,2-oks-
azafosforin-4-yl-tio]-etansulfonsyre-cykloheksylammoniumsalt

5 5,6 g eller 20 mmol (4-hydroksycyklofosfamid (det vil si 2-
(bis-(2-kloretyl)-amino)-4-hydroksy-tetrahydro-2H-1,3,2-
okszakafosforin-2-oksyd) og 4,8 g eller 20 mmol cykloheksyl-
ammonium-2-merkptoetansulfonat ble oppløst i 100 ml
destillert vann, det ble tilsatt noe trikloreddiksyre og det
10 hele ble satt hen i 3 dager ved 0°C i kjøleskap. Derefter
ble oppløsningsmidlet fjernet under høyt vakuum, resten tatt
opp i aceton, dampet inn igjen, krystallisert fra aceton og
omkrystallisert fra isopropanol.

Utbytte: 7,2 g eller 75% av det teoretiske,
15 smeltepunkt: 149-151°C (cis-form).

Eksempel 2

2-[2-(bis-(2-kloretyl)-amino)-2-okso-tetrahydro-2H-1,3,2-
okszakafosforin-4-yl-tio]-etansulfonsyre-cykloheksylammonium-
salt

20 2,9 g eller 10 mmol 2-(bis-(2-kloretyl)-amino)-4-metoksy-
tetrahydro-2H-1,3,2-oksazafosforin-2-oksyd og 2,4 g eller 10
mmol cykloheksylammonium-2-merkptoetansulfonat ble sammen
med noe trikloreddiksyre oppløst i 10 ml dimetylformamid og
25 satt hen i 20 timer ved -25°C. Etter ytterligere 3 timers
henstand ved 0°C ble det tilsatt eter til begynnende
uklarhet, det hele revet og krystallisatet sugd av etter 20
timers henstand ved 0°C, hvorefter krystallisatet ble vasket
og tørket.

30 Utbytte: 4,7 g eller 94% av det teoretiske,
smeltepunkt: 145°C (under spalting).

Omkrystallisering fra alkohol/eter,
35 smeltepunkt: 149-151°C (cis-form).

163692

10

Eksempel 3

2-[2-(bis-(2-kloretyl)-amino)-2-okso-tetrahydro-2H-1,3,2-oks-
azafosforin-4-yl-tio]-etansulfonsyre-cykloheksylammoniumsalt

1,4 g eller 5 mmol 4-hydroksycyklofosfamid og 1,2 g eller 5
5 mmol cykloheksylammonium-2-merkaptotansulfonat ble sammen
med et spor trikloreddiksyre oppløst i 25 ml metanol og satt
hen over natt ved -25°C. Derefter ble reaksjonsoppløsningen
inndampet til ca. 5 ml, eter ble tilsatt til begynnende
uklarhet og oppløsningen ble revet. Krystallisatet ble sugd
10 av etter 20 timers henstand, vasket og tørket.

Utbytte: 2,1 g eller 84% av det teoretiske,
smeltepunkt: 143-145°C (cis-form).

Eksempel 4

2-[2-(bis-(2-kloretyl)-amino)-2-okso-tetrahydro-2H-1,3,2-oks-
azafosforin-4-yl-tio]-etansulfonsyre-natriumsalt

2,5 g eller 5 mmol cykloheksylammonium-2-[2-(bis-(2-klor-
etyl)-amino)-2-okso-tetrahydro-2H-1,3,2-oksazafosforin-4-yl]-
20 tio-etansulfonat ble oppløst i 25 ml oksygenfritt vann og
gitt på en med natriumioner fylt kationbyttesøyle fra firma
Merck. Eluatet ble fanget opp over nitrogen, frysetørket og
den faste rest tørket over fosforpentoksyd i vakuum.

25 Utbytte: 1,9 g eller 91% av det teoretiske,
smeltepunkt: 78-83°C (under spalting), Rf-verdi: 0,61
(elueringsmiddel: eddikester:isopropanol:1N eddiksyre 5:3:2).

Eksempel 5

2-[2-(bis-(2-kloretyl)-amino)-2-okso-tetrahydro-2H-1,3,2-oks-
azafosforin-4-yl-tio]-etansulfonsyre-ammoniumsalt

2,8 g eller 10 mmol 4-hydroksycyklofosfamid og 1,6 g eller 10
mmol ammonium-2-merkaptotansulfonat ble sammen med en
katalytisk mengde trikloreddiksyre oppløst i 50 ml vann og
35 satt hen i 3 dager ved 0°C i kjøleskap. Derefter ble vannet
destillert av under høyt vakuum, resten tatt opp to ganger i

acetone og dampet inn i vakuum. Omkrystallisering fra acetone/eter.

Utbytte: 3,9 g eller 93% av det teoretiske,
smeltepunkt: 131-133°C (cis-form).

5

Eksempel 6

2-[2-(bis-(2-kloretyl)-amino)-2-okso-tetrahydro-2H-1,3,2-oks-
azafosforin-4-yl-tio]-etansulfonsyre-ammoniumsalt

2,8 g eller 10 mmol 4-hydroksykyklofosfamid og 1,6 g eller 10
mmol ammonium-2-merkaptotansulfonat ble oppløst sammen med
en katalytisk mengde trikloreddiksyre i 10 ml dimetylformamid
og oppbevart 20 timer i kjøleskap ved -25°C. Etter ytter-
ligere 5 timer ved 0°C ble det tilsatt eter til begynnende
uklarhet og det hele ble revet. Krystallisatet ble sugd av
etter 1 dag ved 0°C, vasket, tørket og omkrystallisert fra
n--propanol.

15

Utbytte: 3,2 g eller 77% av det teoretiske av cis-formen,
smeltepunkt: 132°C.

20

Eksempel 7

3-[2-(bis-(2-kloretyl)-amino)-2-okso-tetrahydro-2H-1,3,2-oks-
azafosforin-4-yl-tio]-propansulfonsyre-natriumsalt

5,4 g eller 20 mmol 4-hydroksykyklofosfamid og 5,2 g eller 20
mmol sykloheksylammonium-3-merkaptopropansulfonat ble oppløst
i 100 ml vann, tilsatt noe trikloreddiksyre og satt hen 1 dag
ved 0°C. Derefter ble reaksjonsblandingen dampet inn i
vakuum, den konsentrerte rest helt på en med natriumioner
fylt kationbyttesøyle, eluatet dampet inn i vakuum, resten
oppløst i tørr etanol, filtrert og utfelt med eter.

30

Utbytte: 5,5 g eller 63% av det teoretiske,
smeltepunkt: 75-79°C, Rf-verdi: 0,64 (elueringsmiddel:
eddikester:isopropanol:1N eddiksyre 5:3:2).

35

163692

12

Eksempel 8

2-[2-(bis-(2-kloretyl)-amino)-2-okso-tetrahydro-2H-1,3,2-oks-azafosforin-4-yl-tio]-etansulfonsyre-natriumsalt

1,6 g eller 5 mmol 2-(bis-(2-kloretyl)-amino)-4-etoksy-
5 tetrahydro-2H-1,3,2-oksazafosforin-2-oksyd og 0,8 g eller 5
mmol natrium-2-merkaptotansulfonat i 10 ml dimetylformamid
ble tilsatt et spor av trikloreddiksyre og oppbevart over
natt ved -25°C. Derefter ble det til reaksjonsoppløsningen
satt 20 ml eter. Resten ble sugd av etter 20 timers henstand
10 ved 0°C, vasket og tørket.

Utbytte: 1,5 g eller 71% av det teoretiske,
smeltepunkt: 145-150°C (under spalting), Rf-verdi: 0,56.

Eksempel 9

2-[2-(bis-(2-kloretyl)-amino)-2-okso-tetrahydro-2H-1,3,2-oks-azafosforin-4-yl-tio]-etansulfonsyre

0,8 g eller 3,0 mmol 4-hydroksycyklofosfamid i 3 ml vann ble
under isvannavkjøling tilsatt 420 mg eller 3,0 mmol 2-mer-
15 kaptotansulfonsyre. Etter 1 time ble det hele dampet inn i
20 høyt vakuum og krystallisert.

Utbytte: 1,1 g eller 92% av det teoretiske,
smeltepunkt: 75-78°C.

Eksempel 10

2-[2-(bis-(2-kloretyl)-amino)-2-okso-tetrahydro-2H-1,3,2-oks-azafosforin-4-yl-tio]-etansulfonsyre

2,0 g eller 4 mmol cykloheksylammonium-2-[2-(bis-(2-klor-
30 etyl)-amino)-2-okso-tetrahydro-2H-1,3,2-oksazafosforin-4-yl]-
tio-etansulfonat ble oppløst i litt vann og helt over i en
med hydrogenioner fylt kationbyttesøyle under avkjøling til
4°C. Eluatet ble derefter frysetørket og omkrystallisert fra
dimetylformamid/kloroform.

35 Utbytte: 1,2 g eller 75% av det teoretiske,

163692

13

smeltepunkt: 75-78°C, Rf-verdi: 0,58 (elueringsmiddel: eddikester:isopropanol:1N eddiksyre 5:3:2).

Eksempel 11

5 2-[2-(bis-(2-kloretyl)-amino)-2-okso-tetrahydro-2H-1,3,2-oks-azafosforin-4-yl-tio]-etansulfonsyre-ammoniumsalt

720 mg eller 1,8 mmol 2-[2-(bis-(2-kloretyl)-amino)-2-okso-tetrahydro-2H-1,3,2-oksazafosforin-4-yl]-tio-etansulfonsyre ble oppløst i lite vann, nøytralisert med ammoniakk og
10 tilsatt 4 ml aceton. Reaksjonsoppløsningen stod over natt ved -25°C. Krystalliset ble sugd av og omkrystallisert fra metanol/aceton.

Utbytte: 530 mg eller 71% av det teoretiske,
15 smeltepunkt: 133-134°C (cis-form).

Eksempel 12

2-[2-(bis-(2-kloretyl)-amino)-2-okso-tetrahydro-2H-1,3,2-oks-azafosforin-4-yl-tio]-etansulfonsyre-litiumsalt

20 540 mg eller 2 mmol 4-hydroksycyklofosfamid og 300 mg eller 2 mmol litium-2-merkapttoetansulfonat ble sammen med et spor trikloreddiksyre oppløst i 7 ml vann og satt hen i 20 timer ved 0°C. Reaksjonsblandingen ble dampet inn i vakuum, resten ble tatt opp i aceton og filtrert. Deretter ble oppløsningen
25 dampet inn, resten oppløst i etanol, dampet inn, tatt opp i etanol nok en gang, felt med eter og fellingen sugd av, vasket og tørket.

Utbytte: 500 mg eller 61% av det teoretiske, Rf-verdi: 0,56
30 (elueringsmiddel: eddikester:isopropanol:1N eddiksyre 5:3:2).

Eksempel 13

Nøytralt

2-[2-(bis-(2-kloretyl)-amino)-2-okso-tetrahydro-2H-1,3,2-oks-azafosforin-4-yl-tio]-etansulfonsyre-kalsiumsalt

35 1,4 g eller 5 mmol 4-hydroksycyklofosfamid og 800 mg eller 2,5 mmol kalsium-di-2-merkapttoetansulfonat ble sammen med

163692

14

noe trikloreddiksyre oppløst i 15 ml vann, dampet inn etter 3 dager ved 0°C i vakuum, tilsatt etanol to ganger, dampet inn, oppløst i etanol og felt med eter, sugd av, vasket og tørket.

5 Utbytte: 1,3 g eller 62% av det teoretiske,
smeltepunkt: 110-115°C (under spalting), Rf-verdi: 0,56.

Eksempel 15

10 2-[2-(bis-(2-kloretyl)-amino)-6-metyl-2-okso-tetrahydro-2H-1,3,2-oksazafosforin-4-yl-tio]-etansulfonsyre-cykloheksyl-ammoniumsalt

1,45 g eller 5 mmol 2-(bis-(2-kloretyl)-amino)-4-hydroksy-6-metyl-tetrahydro-2H-1,3,2-oksazafosforin-2-oksyd og 1,2 g eller 5 mmol cykloheksylammonium-2-merkaptotansulfonat ble
15 oppløst i 5 ml vann og 5 ml aceton, surgjort med trikloreddiksyre og satt hen i 20 timer ved 0°C. Derefter ble det hele filtrert, filtratet dampet inn på skrånende måte under vakuum, resten tatt opp to ganger i aceton og fordampet. Derefter ble resten oppløst i aceton, felt med eter, vasket
20 med eter og tørket.

Utbytte: 1,4 g eller 56% av det teoretiske,
smeltepunkt: 120-125°C (under spalting), Rf-verdi: 0,61.

25 Eksempel 16

3-[2-(bis-(2-kloretyl)-amino)-2-okso-tetrahydro-2H-1,3,2-oksazafosforin-4-yl-tio]-2-metyl-propansulfonsyre-natriumsalt
277 mg eller 1 mmol 4-hydroksycyklofosfamid og 192 mg eller 1 mmol natrium-3-merkaptotansulfonat ble oppløst
30 i 4 ml vann, tilsatt et spor trikloreddiksyre og satt hen i 20 timer ved 0°C. Etter inndamping i vakuum ble resten oppløst to ganger i tørr etanol og derefter dampet inn og felt i alkohol/eter.

35 Utbytte: 420 mg eller 86% av det teoretiske,
Rf-verdi: 0,61.

Eksempel 176-[2-(bis-(2-kloretyl)-amino)-2-okso-tetrahydro-2H-1,3,2-oks-azafosforin-4-yl-tio]-heksansulfonsyre-natriumsalt

277 mg eller 1 mmol 4-hydroksycyklofosfamid og 220 mg eller
5 1 mmol natrium-6-merkaptiheksansulfonat ble sammen med et
spor trikloreddiksyre oppløst i 4 ml vann og satt hen i 20
timer ved 0°C. Derefter ble reaksjonsblandingen dampet inn på
skrånende måte i vakuum, resten oppløst to ganger i tørr
etanol og derefter dampet inn igjen. Resten ble tatt opp i
10 alkohol og felt med eter.

Utbytte: 350 mg eller 70% av det teoretiske, Rf-verdi: 0,58.

Eksempel 18

15 2-[3-(2-kloretyl)-2-(2-kloretylamino)-2-okso-tetrahydro-2H-1,3,2-oksazafosforin-4-yl-tio]-etansulfonsyre-cykloheksylammoniumsalt

277 mg eller 1 mmol 3-(2-kloretyl)-2-(2-kloretylamino)-
hydroksy-tetrahydro-2H-1,3,2-oksazafosforin-2-oksyd og 240 mg
20 eller 1 mmol cykloheksylammonium-2-merkaptietansulfonat ble
oppløst i 4 ml vann, tilsatt et spor trikloreddiksyre og
oppbevart 20 timer ved 0°C. Den i vakuum inndampede reaksjonsoppløsning ble oppløst to ganger i etanol og derefter dampet inn igjen. Derefter ble det tatt opp i etanol og eter.

25 Utbytte: 340 mg eller 68% av det teoretiske,
smeltepunkt: 115-120°C (under spalting), Rf-verdi: 0,56.

Eksempel 19

30 2-[3-(2-kloretyl)-2-(bis-(2-kloretyl)-amino)-2-okso-tetrahydro-2H-1,3,2-oksazafosforin-4-yl-tio]-etansulfonsyre-cykloheksylammoniumsalt

340 mg eller 1 mmol 3-(2-kloretyl)-2-(bis-(2-kloretyl)-amino)-
4-hydroksy-tetrahydro-2H-1,3,2-oksazafosforin-2-oksyd og 240
35 mg eller 1 mmol cykloheksylammonium-2-merkaptietansulfonat i
2 ml dimetylformamid ble tilsatt et spor trikloreddiksyre og
oppbevart 2 dager ved -25°C. Derefter ble reaksjonsblandingen

163692

16

felt med den 20-dobbelte mængde eter. Resten ble vasket og tørket.

Utbytte: 400 mg eller 71% av det teoretiske,
5 smeltepunkt: 102-107°C (under spalting), Rf-verdi: 0,63.

Tilsvarende de foran angitte eksempler ble videre følgende forbindelser fremstilt:

10

15

20

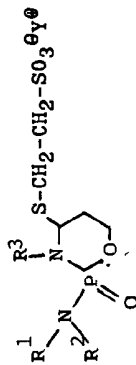
25

30

35

Eksempler 20 - 30

Oksazafosforin-4-tio-alkansulfonater med den generelle formel:



Eks. nr.	R ¹	R ²	R ³	Y [⊖]	Smeltepunkt henholdsvis Rf-verdi 1)
20	C1-CH ₂ -CH ₂	CH ₃	C1-CH ₂ -CH ₂	N [⊖] H ₄	121-125°C (under spalting)
21	C1-CH ₂ -CH ₂	CH ₂ -CH ₃	C1-CH ₂ -CH ₂ -N [⊖] H ₄		95-97°C (under spalting)
22	CH ₃ -SO ₃ -CH ₂ -CH ₂	CH ₃	C1-CH ₂ -CH ₂		0,64
23	C1-CH ₂ -CH ₂	C1-CH ₂ -CH ₂	H	K [⊖]	120-123°C (under spalting)
24	C1-CH ₂ -CH ₂	C1-CH ₂ -CH ₂	H		70-75°C (under spalting)
25	C1-CH ₂ -CH ₂	C1-CH ₂ -CH ₂	H	(CH ₃ -CH ₂) ₂ N [⊖] H ₂	0,61
26	C1-CH ₂ -CH ₂	C1-CH ₂ -CH ₂	H	HO-CH ₂ -CH ₂ -N [⊖] H ₃	0,59
27	C1-CH ₂ -CH ₂	C1-CH ₂ -CH ₂	H	(HO-CH ₂ -CH ₂) ₂ N [⊖] H ₂	0,59
28	C1-CH ₂ -CH ₂	C1-CH ₂ -CH ₂	H	NH ₂ -C=NH ₂ [⊖] NH ₂	132-134°C
29	C1-CH ₂ -CH ₂	C1-CH ₂ -CH ₂	H	(H ₃ N [⊖] -CH ₂ -CH ₂ -N [⊖] H ₃) _{1/2}	0,62
30	C1-CH ₂ -CH ₂	C1-CH ₂ -CH ₂	H		0,61

1) Elueringsmiddel: Eddikester:isopropanol:1N eddiksyre 5:3:2. Farving blant annet med jod.

163692

18

Eksempel 31

3-[2-(bis-(2-kloretyl)-amino-2-okso-tetrahydro-2H-1,3,2-oks-azafosforin-4-yl-tio]-2-merkaptopropansulfonsyre-cykloheksylaminsalt

5 1,39 g eller 5 mmol 4-hydroksycyklofosfamid og 1,44 g eller 5 mmol 2,3-dimerkaptopropansulfonsyre-cykloheksylaminsalt ble oppløst i 10 ml etanol, surgjort med trikloreddiksyre og satt hen 2 dager ved 0°C. Derefter ble det hele felt med eter, dekantert etter 20 timer, hvorefter den tilbakeblivende olje
10 ble tørket under høyt vakuum. Oljen stivnet.

Utbytte: 1,8 g eller 77% av det teoretiske,
smeltepunkt: fra 70°C (under spalting).

Eksempel 32

2-[2-(bis-(2-kloretyl)-amino-2-okso-tetrahydro-2H-1,3,2-oks-azafosforin-4-yl-tio]-etansulfonsyre-cis-natriumsalt

15 2,8 g eller 10 mmol 4-hydroksycyklofosfamid i 10 ml aceton ble tilsatt 1,3 g eller 8 mmol natrium-2-merkapttoetansulfonat i 2 ml vann og hensatt i 3 timer ved 0°C. Derefter ble
20 reaksjonsblandingen dampet inn i vakuum ved 25°C, resten tatt oppi tørr aceton og tilsatt tørr eter i kald tilstand inntil begynnende uklarhet. Ved inndamping av oppløsningen dannet det seg et bunnfall.

25 Utbytte: 1,8 g eller 44% av det teoretiske av cis-isomeren,
smeltepunkt: 83-85°C.

Ved omkrystallisering i aceton oppnådde man et i aceton tungt
30 oppløselig produkt.

Eksempel 33

3-[2-(bis-(2-kloretyl)-amino-2-okso-tetrahydro-2H-1,3,2-oks-azafosforin-4-yl-tio]-propansulfonsyre-guanidiniumsalt

35 14 g eller 50 mmol 4-hydroksycyklofosfamid og 11 g eller 50 mmol 3-merkaptopropansulfonsyre-guanidinsalt ble oppløst i 100 ml etanol, surgjort med trikloreddiksyre og oppbevart ved

163692

19

0°C. Efter 20 timer ble det tilsatt 50 ml eter. Krystallisetet ble sugd av efter ytterligere 20 timer, vasket og tørket.

5 Utbytte: 18,5 g eller 78% av det teoretiske, smeltepunkt: 128-132°C (under spalting).

10

15

20

25

30

35

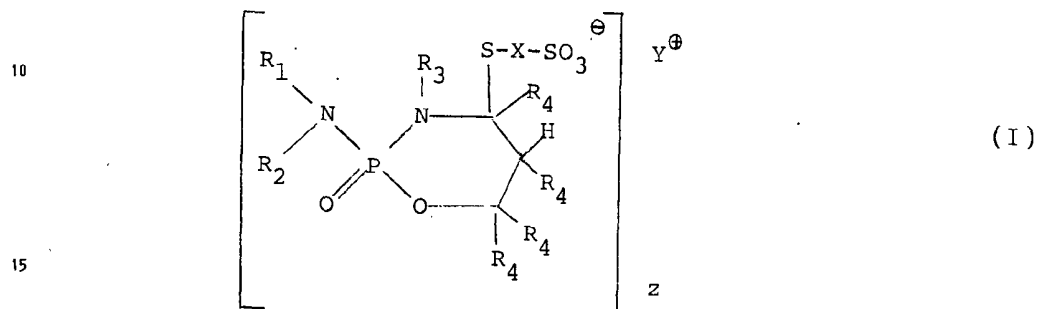
163692

20

P a t e n t k r a v

1.

Analogifremgangsmåte for fremstilling av farmakologisk aktive, fortrinnsvis anti-tumorvirksomme oksazafosforin-4-tio-alkansulfonsyrer og deres nøytrale salter, med den generelle formel (I):



der

20 R_1 , R_2 og R_3 som kan være like eller forskjellige, er hydrogen, metyl, etyl, 2-kloretyl eller 2-metansulfonyloksyetyl, og minst to av disse rester er 2-kloretyl og/eller 2-metansulfonyloksyetyl,

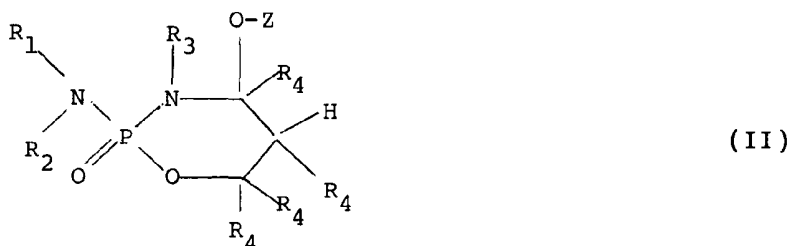
R_4 er hydrogen eller metyl,

25 X er en rett eller forgrenet C_{2-6} -alkylengruppe som kan inneholde en merkaptogruppe ved alkylenkjedens karbonatom i 1-, 2-, 3-, 4- eller 5-posisjon, og

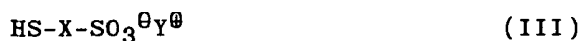
Y^{\oplus} er et hydrogenkation, alkali- eller jordalkalimetallkation, et guanidinium-, morfolinium- eller cykloheksylammoniumkation eller et kation som stammer fra en amin med formelen $NR_5R_6R_7$, der restene R_5 til R_7 kan være like eller forskjellige og bety hydrogen, C_{1-2} -alkylgrupper eller oksyetylgrupper, eller Y^{\oplus} er et etylendiammoniumkation

30 $H_3N^{\oplus}-CH_2CH_2-N^{\oplus}H_3$ eller et piperazoniumkation, og z er 1, når Y^{\oplus} er et enverdig kation, eller 2, når Y^{\oplus} er et toverdig kation, eller et kation i en forbindelse som inneholder to enverdige kationer, k a r a k t e r i s e r t v e d a t

4-hydroksy- eller 4-C₁₋₄-alkoksy-oksazafosforin med den generelle formel II



der R₁, R₂, R₃ og R₄ har den samme betydning som i formel I og Z er hydrogen eller C₁₋₄-alkyl, omsettes med en forbindelse med formel III



der X og Y[⊕] har den samme betydning som i formel I, og hvis Y[⊕] er hydrogen, nøytraliserer den oppnådde oksazafosforin-4-tio-alkansulfonsyre med en base som tilsvarer den andre betydning av Y[⊕].

20

2.

Analogifremgangsmåte ifølge krav 1, karakterisert ved at hvis Y[⊕] er hydrogen, så utføres nøytraliseringen med slike baser tilsvarende den andre betydning av Y[⊕] at Y[⊕] i formel (I) betyr et guanidinium-, morfolinium- eller cykloheksylammoniumkation, eller et kation som stammer fra et amin med formel NR₅R₆R₇, der R₅ til R₇ er like eller forskjellige og betyr hydrogen, C₁₋₂-alkylgrupper eller oksyetylgrupper, eller der Y[⊕] er et etylendiammoniumkation H₃N[⊕]-CH₂CH₂-N[⊕]H₃ eller et piperazoniumkation, og z er 1, når Y[⊕] er et enverdig kation, eller 2, når Y[⊕] er et toverdig kation, eller et kation til en forbindelse som har to enverdige kationer.

25

30

35

163692

22

3.

Analogifremgangsmåte ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at hvis Y^{\ominus} er hydrogen, utføres nøytraliseringsen ved slike baser av kalium eller jordalkali at Y^{\ominus} i formel (I) er et kaliumkation eller et jordalkalikation.

4.

Analogifremgangsmåte ifølge krav 1 eller 2, k a r a k t e r i s e r t v e d at nøytraliseringsen i det tilfellet Y^{\ominus} er hydrogen, utføres med cykloheksylamin.

5.

Analogifremgangsmåte ifølge krav 1 eller 2, k a r a k t e r i s e r t v e d at nøytraliseringsen når Y^{\ominus} er hydrogen utføres med guanidin.

6.

Analogifremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 5, k a r a k t e r i s e r t v e d at oksazafosforin-4-tio-alkansulfonatets kation Y^{\ominus} utbyttes i en ionebytter med et annet kation Y^{\ominus} .

25

30

35