



(19) Republik
Österreich
Patentamt

(11) Nummer: AT 400 332 B

(12)

PATENTSCHRIFT

(21) Anmeldenummer: 311/89

(51) Int.Cl.⁶ : C07D 487/14

(22) Anmelddatum: 4. 9.1985

(42) Beginn der Patentdauer: 15. 4.1995

(45) Ausgabedatum: 27.12.1995

(62) Ausscheidung aus Anmeldung Nr.: 2589/85

(30) Priorität:

17. 6.1985 US 744570 beansprucht.

(56) Entgegenhaltungen:

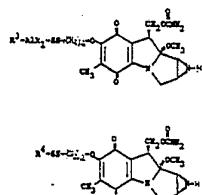
US 3214440A

(73) Patentinhaber:

BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY
10154 NEW YORK (US).

(54) VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON NEUEN SUBSTITUIERTEN 7-OXOMITOSANEN

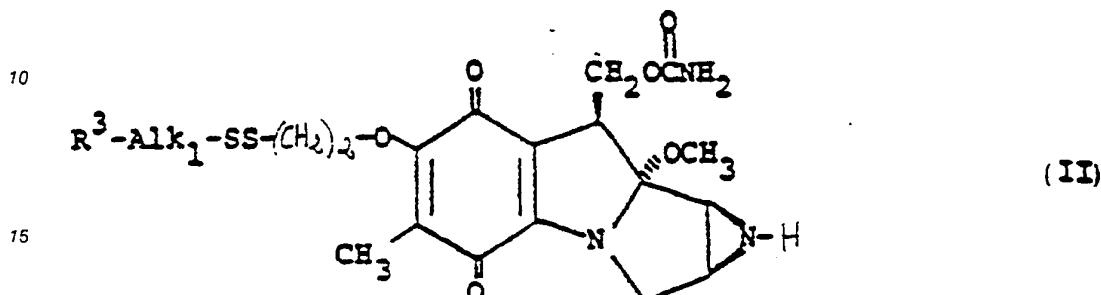
(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von neuen Mitosanen der allgemeinen Formel II oder III, worin Alk₁, R³ und R⁴ die im Anspruch 1 angegebene Bedeutung haben, durch Umsetzung des 9a-Methoxy-7-[2-(3-nitro-2-pyridylthio) ethoxy]-mitosans mit einem Thiol der Formel R³Alk₁ SH oder R⁴SH in Gegenwart einer Base.



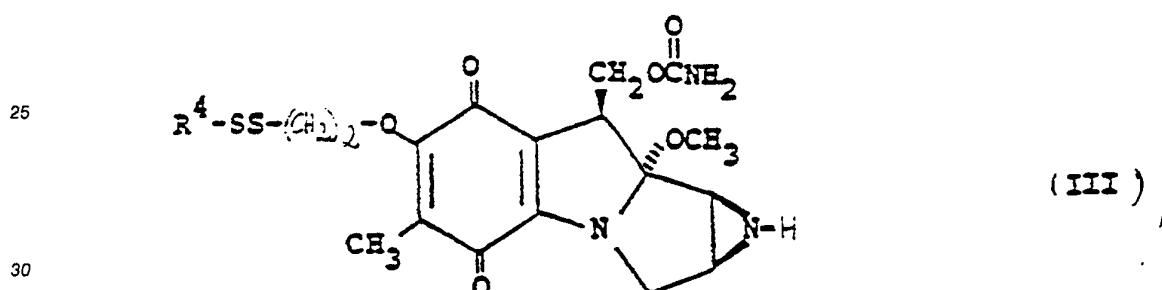
AT 400 332 B

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von neuen Mitomycin-Analoga, welche eine Disulfidgruppe enthalten. Diese Verbindungen sind Mitomycin A-Analoga, in welchen die 7-Alkoxygruppe einen organischen Substituenten trägt, welcher eine Disulfidgruppe umfaßt. Mitomycin A ist ein wertvolles Antibiotikum und die 7-O-substituierten Mitozan-Analoga hievon haben ähnliche Brauchbarkeit.

5 Die Erfindung betrifft daher ein Verfahren zur Herstellung von neuen Verbindungen der allgemeinen Formel



20 oder



in welchen Formeln

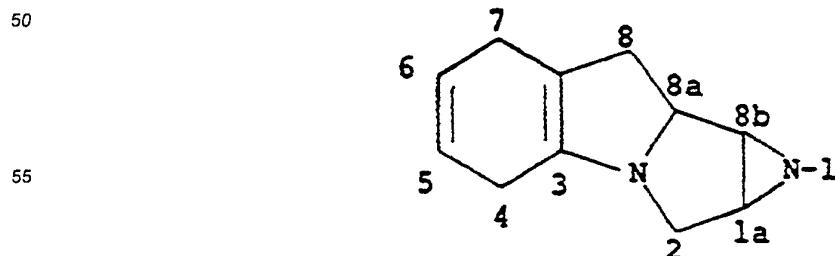
35 Alk₁ eine geradkettige Alkylengruppe darstellt, die 1 bis 3 Kohlenstoffatome enthält, wenn R^3 mit einem Kohlenstoffatom an sie gebunden ist, und die 2 Kohlenstoffatome enthält, wenn R^3 mit einem Sauerstoff- oder Stickstoffatom an sie gebunden ist und R^3 und -SS- in diesem Falle jeweils an verschiedene Kohlenstoffatome gebunden sind,

R^3 Carboxy, Alkanoyloxy mit 2 Kohlenstoffatomen, Alkylamino oder Dialkylamino mit 2 Kohlenstoffatomen, 1,2-Dihydroxyäthyl, 1-Carboxyaminomethyl oder 1-Methylimidazol-2-yl darstellt und

40 R^4 Phenyl oder mono- oder di-substituiertes Phenyl darstellt, wobei der (die) Substituent(en) eine oder zwei Niederalkoxy, Amino-, Carboxy- und Nitrogruppen bedeutet (bedeuten) oder R^4 den Pyridyl- oder den Glutathionylrest darstellt, oder eines nichttoxischen, pharmazeutisch zulässigen Salzes hievon.

Der systematische Name für Mitomycin A gemäß Chemical Abstracts auf der Basis einer neueren Korrektur [Shirhata et al., J. Am. Chem. Soc., 105, 7199 (1983)] ist:

45 [1aS-(1a β ,8 β ,8a α ,8b β)]-8-[(Aminocarbonyl)oxy)methyl]-6,8a-dimethoxy-1,1a,2,8,8a,8b-hexahydro-5-methylazirino[2',3',3,4,]pyrrolo[1,2-a]indol-4,7-dion
gemäß welchem das Azirinopyrroloindol-Ringsystem wie folgt beziffert wird:



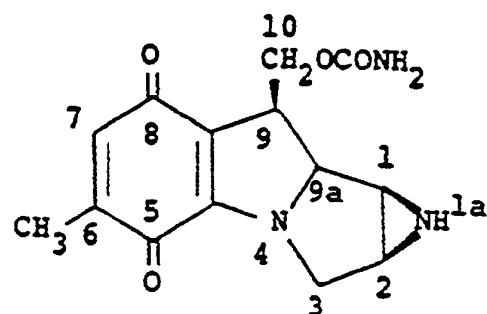
Ein Trivialsystem der Nomenklatur, welches in der Mitomycin-Literatur weitverbreitete Anwendung gefunden hat, identifiziert das vorhergehende Ringsystem einschließlich einiger charakteristischen Substituenten des Mitomycins als Mitosan.

5

10

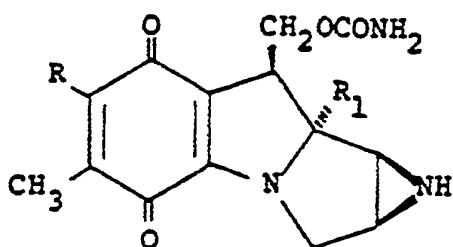
15

20



30

35



Mitomycin A $R=R_1=OCH_3$
 Mitomycin C $R=NH_2, R_1=OCH_3$

40

45

50

55

Mitomycin C ist ein Antibiotikum, welches durch Gärung erzeugt wird und welches derzeit unter Prüfung durch die Food and Drug Administration bei der Therapie von verbreiteten Adenocarcinomen des Magens oder der Bauchspeicheldrüse in erprobten Kombinationen mit anderen bewährten chemotherapeutischen Mitteln und zur lindernden Behandlung, wenn andere Heilmittel versagt haben, vertrieben wird (Mutamycin® Bristol Laboratories, Syracuse, New York 13221, Physicians' Desk Reference 37. Ausgabe, 1983, S. 747 und 748). Mitomycin C und seine Herstellung durch Gärung ist der Gegenstand der US-PS 3 660 578.

Die Strukturen der Mitomycine A, B und C und von Porfiromycin wurden zuerst durch J. S. Webb et al. der Lederle Laboratories Division American Cyanamid Company, *J. Am. Chem. Soc.*, 84, 3185-3187 (1962), veröffentlicht. Eine der bei dieser Strukturstudie verwendeten chemischen Umwandlungen zu dem verwandten Mitomycin A und Mitomycin C war die Überführung des ersten, 7,9a-Dimethoxymitosan, durch Umsetzung mit Ammoniak in das letztere, 7-Amino-9a-methoxymitosan. Die Verdrängung der 7-Methoxygruppe des Mitomycin A hat erwiesen, daß sie bei der Herstellung von Antitumor-wirksamen Derivaten von Mitomycin C eine Reaktion von beträchtlichem Interesse darstellt. Kürzlich wurde gezeigt, daß die stereochemischen Konfigurationen der Stellungen 1, 1a, 8a und 8b wie oben in Hinsicht auf die Chemical Abstracts-Nomenklatur sind [Shirhata et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 105, 7199-7200 (1983)]. Die ältere Literatur bezieht sich auf das Enantiomere.

Die folgenden Literaturstellen und Patentschriften handeln u.a. von der Umwandlung von Mitomycin A in ein 7-substituiertes Amino-Mitomycin C-Derivat mit Antitumor-Wirksamkeit. Das Ziel der Forschung bestand

darin, Derivate herzustellen, welche wirksamer, und insbesondere, welche weniger toxisch sind als Mitomycin C:

5 Matsui et al., J. Antibiotics, XXI, 189-198 (1968);
 Konishita et al., J. Med. Chem., 14, 103-109 (1971);
 Iyengar et al., J. Med. Chem., 24, 975-981 (1981);
 Iyengar, Sami, Remers and Bradner, Abstracts of Papers, 183rd Annual Meeting of the American Chemical Society, Las Vegas, Nevada, March 1982, Abstract No. MEDI 72;
 Cosulich et al., US-PS 3,332,944,
 Matsui et al., US-PS 3,420,846,
 10 Matsui et al., US-PS 3,450,705,
 Matsui et al., US-PS 3,514,452,
 Nakano et al., US-PS 4,231,936,
 Remers, US-PS 4,268,676
 Die folgenden Patentschriften behandeln die Herstellung von 7-substituierten Amino-mitomycin C-
 15 Derivaten, bei welchen der Substituent eine Disulfidbindung umfaßt.

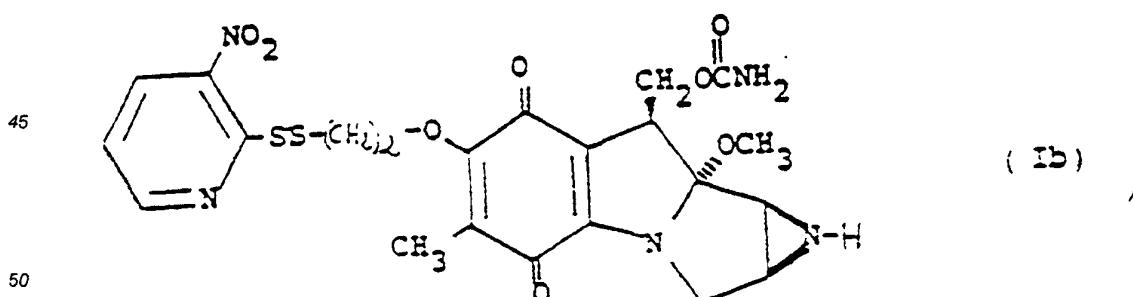
Kono et al., EU-PS 116.208 (1984),
 Vyas et al., GB-PS 2.140.799 (1984).
 7-Alkoxy-substituierte Mitosane, die strukturell mit Mitomycin A verwandt sind, werden als geeignete Antibiotika mit Wirksamkeit bei experimentellen Tertumoren in einem Artikel von Urakawa et al., J. Antibiotics, 33, 804-809 (1980), beschrieben.

Mitomycin C ist das hauptsächliche Mitomycin, das durch Gärung erzeugt wird, und liegt in im Handel erhältlicher Form vor. Die gegenwärtige Technologie für die Überführung von Mitomycin C in Mitomycin A leidet unter einer Anzahl von Mängeln. Die Hydrolyse von Mitomycin C in das entsprechende 7-Hydroxy-9a-methoxymitosan und sodann die Methylierung dieser Substanz benötigt Diazomethan, eine beim 25 Hantieren in industriellem Maßstab sehr gefährlichen Substanz, und das 7-Hydroxy-Zwischenprodukt ist sehr unstabil [Matsui et al., J. Antibiotics, XXI, 189-198 (1968)]. Ein Versuch, diese Schwierigkeiten zu vermeiden, umfaßt die Verwendung von 7-Acyloxymitosanen (Kyowa Hakko Kogyo KK Japanese Patent No. J5 6073-085, Farmdoc No. 56 227 D/31). Die Alkoholyse von Mitomycin C, wie sie von Urakawa et al. in J. Antibiotics, 33, 804-809 (1980) beschrieben wird, ist durch die Verfügbarkeit und Reaktivität der Alkohol-30 Ausgangsmaterialien auf die Herstellung von nur speziellen 7-Alkoxy-Strukturtypen begrenzt.

Die erfindungsgemäß hergestellten Verbindungen sind Hemmstoffe für experimentelle Tumore bei Tieren. Insbesondere sind die Verbindungen nach Vorschift 2 und den Beispielen 1 bis 14 neue Verbindungen. Sie werden in einer Weise, ähnlich wie Mitomycin C, angewendet. Die verwendeten Dosierungsmengen werden im Verhältnis zu ihrer Toxizität relativ zu der Toxizität von Mitomycin C abgestimmt. In Fällen, in welchen die neue Verbindung weniger toxisch ist, wird eine höhere Dosis verwendet.

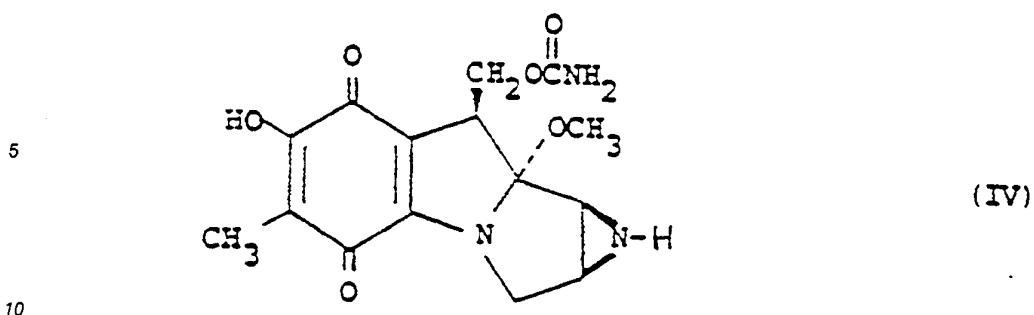
Das erfindungsgemäße Verfahren zur Herstellung der neuen Verbindungen der Formeln II und III ist dadurch gekennzeichnet, daß man zumindest 1 Äquivalent eines Thiols der allgemeinen Formel $R^3\text{Alk}_1\text{SH}$ oder $R^4\text{SH}$ mit 1 Äquivalent eines Mitosans der allgemeinen Formel:

40

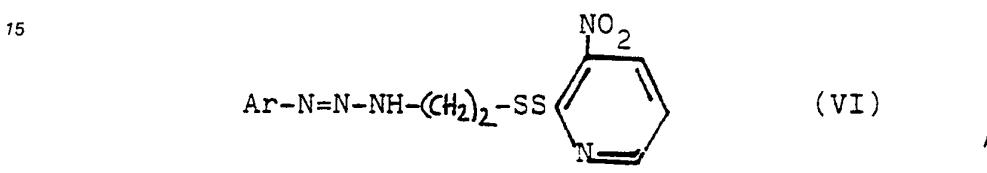


55 in welcher R^3 , R^4 und Alk_1 die oben angegebene Bedeutung haben, gegebenenfalls in Gegenwart von zumindest 1 Äquivalent einer Base in einem inerten Lösungsmittel bei einer Temperatur von 0 °C bis 60 °C umgesetzt.

Die als Ausgangsverbindungen verwendeten Disulfid-Mitosane der allgemeinen Formel (1b) werden auf folgende Weise hergestellt: ein Mitosan der allgemeinen Formel

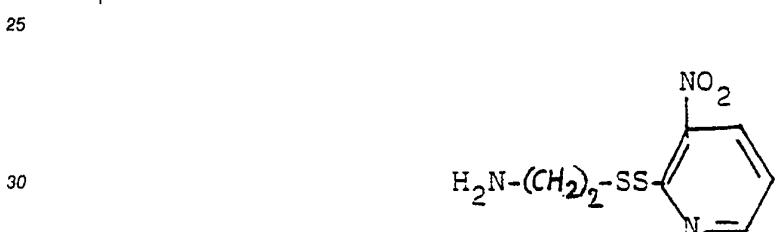


wird mit einem Triazen der allgemeinen Formel:



in welcher Ar der organische Rest eines diazotierbaren aromatischen Amins ist, umgesetzt.

Das oben genannte Triazen (VI) wird seinerseits durch Umsetzung eines Aryldiazoniumsalzes mit dem entsprechenden Aminodisulfid der Formel



gewonnen.

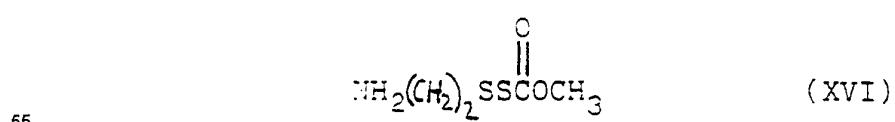
35 Das genannte Aminodisulfid kann nach verschiedenen Methoden hergestellt werden. Beispielsweise kann es durch Umsetzung des entsprechenden Thiols



mit einem Bunte-Salz der allgemeinen Formel:



oder mit einem Sulfenylthiocarbonat der allgemeinen Formel:



hergestellt werden.

Die Umsetzung des Thiols mit dem Sulfenylthiocarbonat ist die Methode von S.J.Brois et al., J.Am.Chem. Soc., 92, 7629-7631 (1970). Typischerweise umfaßt dieses präparative Verfahren die Zugabe des Thiols zu einer methanolischen Lösung des Amino-alkylsulfonylthiocarbonats der allgemeinen Formel (XVI), wobei man die Reaktion bei einer Temperatur im Bereich von 0° bis 25°C forschreiten läßt.

5 Als Beispiele für ein Triazen der Formel (VI) sind zu nennen:

1-[2-(3-Nitro-2-pyridyl)dithio]ethyl]-3-(4-methylphenyl)triazen ;

1-[2-(3-Nitro-2-pyridyl)dithio]ethyl]-3-(4-chlorophenyl)triazen ;

Das erfindungsgemäße Verfahren besteht in einem Thiolaustauschverfahren, das beispielhaft in dem folgenden Reaktionsschema dargestellt ist:

10

15

20

25

30

35

(Ib)

(XVIII)

Die treibende Kraft hinter der Bildung der Disulfide der allgemeinen Formel (Ia) ist die Stabilität des Nebenproduktes, nämlich von 3-Nitro-2-mercaptopypyridin, welches nur in Form des Thions der allgemeinen Formel (XVIII) existiert.

Es gibt zwei allgemeine hier beschriebene Syntheseverfahren zur Herstellung von sowohl lipophilen als auch hydrophilen Mitosanen der allgemeinen Formel II bzw. III. Das allgemeine Verfahren A wird zur Herstellung von entweder lipophilen oder mäßig löslichen Mitosanen verwendet, während das allgemeine Verfahren B für wasserlösliche Mitosane, welche vorzugsweise in Form von Natriumsalzen oder in zwitterionischer Form isoliert werden, verwendet wird. Vorzugsweise wird mindestens 1 Äquivalent des Merkaptans pro Ausgangsmitosan der allgemeinen Formel (Ib) verwendet, und die Reaktion kann in Gegenwart von etwa 1 Äquivalent Base pro Äquivalent Merkaptan durchgeführt werden. Bevorzugte Basen sind die tertiären Amine, z.B. Triethylamin, N-Methylmorpholin, N-Methylpiperidin, Pyridin, 2,6-Lutidin und die anorganischen Basen, z.B. Natriumbicarbonat, Kaliumcarbonat, Kaliumbicarbonat u.dgl. Geeignete inerte Lösungsmittel für die Reaktion des Ausgangsmitosans der allgemeinen Formel (Ib) mit dem Merkaptan sind die niedrigen Alkanole, Niederalkansäureniederalkylester, niedrige aliphatische Ketone, die cyclischen aliphatischen Äther, die niedrigen polyhalogenierten aliphatischen Kohlenwasserstoffe und Wasser. Die organischen Lösungsmittel enthalten bis zu 8 Kohlenstoffatome, jedoch werden jene, die bei Temperaturen unter 100°C sieden, bevorzugt. Speziell bevorzugte Lösungsmittel sind Methylenchlorid, Methanol, Aceton, Wasser und deren Mischungen. Die Reaktion kann bei der Rückflußtemperatur der Reaktionsmischung oder bis zu 60°C durchgeführt werden. Es wird bevorzugt, die Reaktion bei Zimmertemperatur oder darunter, beispielsweise im Bereich von 0°C bis 25°C, durchzuführen.

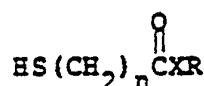
AT 400 332 B

Im folgenden wird eine Liste von repräsentativen Thiolen der allgemeinen Formel $R^3\text{Alk}_1\text{SH}$ oder $R^4\text{SH}$, welche erfahrungsgemäß verwendbar sind, angegeben:
 $\text{HS}(\text{CH}_2)_n\text{OR}^1$ n = 2 ; R^1 =

5



10



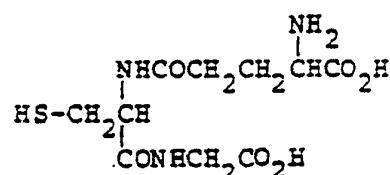
15

n = 1-3; X = O, NH, NR¹; R/R¹ = H, CH₃

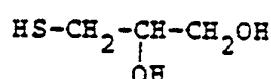
$\text{HS}(\text{CH}_2)_n\text{NHR}^1$ n = 2 ; R¹ = CH₃, CH₂CH₃

$\text{HS}(\text{CH}_2)_n\text{NR}^1\text{R}^2$ n = 2 ; R¹/R² = CH₃

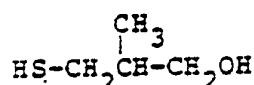
20



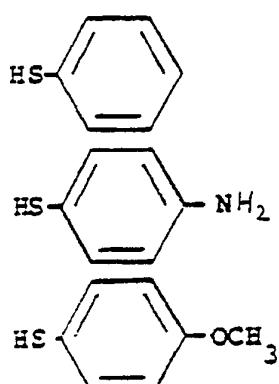
25



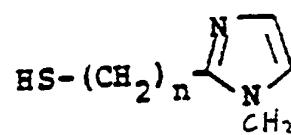
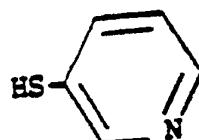
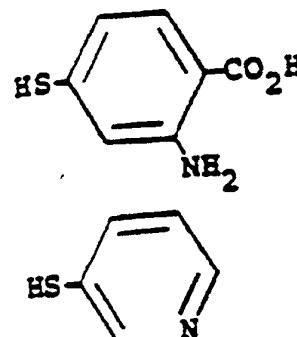
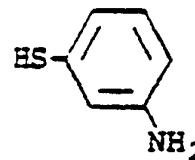
30



35



55



$n = 1, 2$

30 Die Brauchbarkeit der Verbindungen der allgemeinen Formel (II) und (III) bei den antineoplastischen therapeutischen Methoden wird durch die Ergebnisse der in vivo-Abschirmverfahren demonstriert, bei welchen die Verbindungen in variierenden Dosierungsmengen an Mäuse, in die ein P-388-leukämischer oder B16-melanomischer Zustand induziert wurde, verabreicht wurden.

35 Es wird angenommen, daß die erfindungsgemäß hergestellten Verbindungen antibakterielle Wirksamkeit gegen gram-positive und gram-negative Mikroorganismen in einer Weise besitzen, die jener ähnlich ist, die für die natürlich vorkommenden Mitomycine beobachtet wurden, und sie sind daher auch als therapeutische Mittel bei der Behandlung von bakteriellen Infektionen bei Mensch und Tier potentiell geeignet.

40 Wirksamkeit gegen P-388-Murin-Leukämie:

Tabelle I enthält die Ergebnisse von Laboratoriumstests mit CDF₁-Mäusen, welchen intraperitoneal ein Tumor-Impfstoff von 10^6 Ascites-Zellen von P-388-Murin-Leukämie implantiert wurde und die mit verschiedenen Dosen von entweder einer Testverbindung der allgemeinen Formel (II) oder (III) oder mit Mitomycin C behandelt wurden. Die Verbindungen wurden durch intraperitoneale Injektion verabreicht. Es wurden Gruppen zu sechs Mäusen für jede Dosierungsmenge verwendet, und sie wurden mit einer einzigen Dosis der Verbindung am Tag nach der Beimpfung behandelt. Eine Gruppe von zehn mit Salzlösung behandelten Kontrollmäusen wurde in jede Versuchsreihe einbezogen; die mit Mitomycin C behandelten Gruppen wurden als positive Kontrollgruppen einbezogen. Es wurde ein 30 Tage-Protokoll verwendet, wobei die mittlere Überlebenszeit in Tagen für jede Gruppe von Mäusen bestimmt wurde und die Anzahl der Überlebenden am Ende der 30 Tage-Periode notiert wurde. Die Mäuse wurden vor der Behandlung und wiederum am Tag 6 gewogen. Die Massenänderung wurde als Maß für die Drogen-Toxizität genommen. Es wurden Mäuse mit einer Masse von je 20 Gramm verwendet, und ein Massenverlust bis zu etwa 2 Gramm wurde als nicht übermäßig angesehen. Die Ergebnisse wurden in Werten % T/C, welches das Verhältnis der mittleren Überlebenszeit der behandelten Gruppe zu der mittleren Überlebenszeit der mit Salzlösung behandelten Kontrollgruppe mal 100 ist, bestimmt. Die mit Salzlösung behandelten Kontrolltiere starben im allgemeinen innerhalb von neun Tagen. Die "maximale Wirkung" in der folgenden Tabelle wird als % T/C ausgedrückt, und die Dosis, die diese Wirkung ergibt, wird angegeben. Die Werte in Klammern sind die Werte, die mit Mitomycin C als positive Kontrollprobe in dem gleichen Versuch erhalten wurden. Es kann so ein Maß der relativen Wirksamkeit der erfindungsgemäß hergestellten Verbindungen zu Mitomycin C geschätzt werden. Eine minimale Wirkung in Werten von % T/C wird mit 125 angenommen. Die minimale

AT 400 332 B

wirksame Dosis, die in der folgenden Tabelle angegeben wird, ist jene Dosis, die einen Wert % T/C von etwa 125 ergibt. Die beiden Werte, die in jedem Fall in der Kolonne mit der "durchschnittlichen Massenänderung" angegeben werden, sind die durchschnittliche Massenänderung pro Maus bei der maximalen wirksamen Dosis, bzw. bei der minimalen wirksamen Dosis.

5

10

15

20

25

30

35

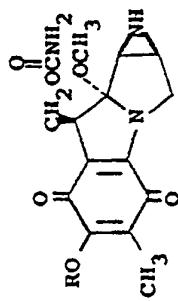
40

45

50

55

TABELLE I
Hemmung der P-388 Murin Leukämie



| Verbindung nach | R | Maximale Wirkung | | Minimale Wirkung | | Durchschnittliche Massenänderung ² |
|-----------------|--|--------------------|------------|------------------|------------|---|
| | | % T/C ¹ | Dosis 1 | Dosis 1 | Dosis 1 | |
| Beispiel 6 | -CH ₂ CH ₂ SS- <i>o</i> -NO ₂ | 178 (>333) | 12.8 (4.8) | 0.2 | +0.4; +2.1 | |
| Beispiel 8 | -CH ₂ CH ₂ SS- <i>o</i> -NH ₂ | 194 (>333) | 3.2 (4.8) | <0.1 | -3.1; +1.8 | |

1. mg/kg Körpermasse
2. Durchschnittliche Gramm pro Tag für jede maximale und minimale wirksame Dosis

3. Urakawa et al., J. Antibiotics, 33, 804-809 (1980)

4. Die Werte in Klammer gelten für Mitomycin C, das im selben Ver-
such untersucht wurde.

Wirksamkeit gegen B16-Melanom

5 Tabelle II enthält die Ergebnisse von Antitumor-Tests unter Verwendung des in Mäusen gezüchteten B16-Melanoms. Es wurden BDF₁-Mäuse verwendet und subkutan mit dem Tumor-Implantat beimpft. Es wurde ein 60-Tage Protokoll verwendet. Für jede untersuchte Dosierungsmenge wurden Gruppen zu zehn Mäusen verwendet, und es wurde die mittlere Überlebenszeit für jede Gruppe bestimmt. Kontrolltiere, die in der gleichen Weise wie die Versuchstiere beimpft und mit dem Injektionsträger und ohne Dose behandelt wurden, zeigten eine mittlere Überlebenszeit von 24 Tagen. Die Überlebenszeit relativ zu jener der Kontrolltiere (% T/C) wurde als Maß der Wirksamkeit verwendet, und es wurde die maximale wirksame Dosis und die minimale wirksame Dosis für jede Testverbindung bestimmt. Die minimale wirksame Dosis 10 wurde als jene Dosis definiert, die einen Wert % T/C von 125 aufwies. Für jede Dosierungsmenge wurden die Versuchstiere mit der Testverbindung an den Tagen 1, 5 und 9 intravenös behandelt.

TABELLE II

| B16 Melanom | | | | |
|-----------------|-----------------------|---------------------|--------------------|--|
| Verbindung nach | Maximal wirksame | | Minimal wirksame | Durchschnitt Massenänderung ² |
| | % T/C | Dosis ¹ | Dosis ¹ | |
| Beispiel 8 | 167(112) ³ | 1.6(3) ³ | <0.4 | -0.9; +1.4 |
| | >214(145) | 2.4(3) | <1.6 | -2.4; -1.9 |
| Beispiel 6 | 152(145) | 1.6(3) | <1.6 | -0.6; -0.6 |

1. mg/kg Körpermasse

25 2. Durchschnittliche Gramm pro Tag für jede maximale und minimale wirksame Dosis

3. Werte in Klammer gelten für im gleichen Versuch untersuchtes Mitomycin C.

30 Zur Hemmung von Tumoren bei Säugetieren werden die erfindungsgemäß hergestellten Verbindungen an ein Säugetier, das einen Tumor aufweist, in einer im wesentlichen nicht-toxischen Antitumor-wirksamen Dosis systemisch verabreicht.

35 Die erfindungsgemäß hergestellten Verbindungen sind hauptsächlich zur Verwendung durch Injektion in der gleichen Weise für einige der gleichen Zwecke wie Mitomycin C bestimmt. Es können etwas größere oder kleinere Dosen je nach der jeweiligen Tumor-Empfindlichkeit verwendet werden. Sie werden leicht in Form von trockenen pharmazeutischen Mitteln, die Verdünnungsmittel, Puffer, Stabilisatoren, Solubilisatoren und Bestandteile, die zur pharmazeutischen Geprägtheit beitragen, verteilt. Diese Mittel werden sodann mit einem injizierbaren flüssigen Medium unvorbereitet knapp vor Gebrauch rekonstituiert. Geeignete injizierbare Flüssigkeiten umfassen Wasser, isotonische Salzlösung u.dgl.

40 Die Erfindung wird durch die später angegebenen Beispiele näher erläutert. In diesen Beispielen und den vorstehend beschriebenen Verfahren zur Herstellung der Ausgangsverbindungen werden alle Temperaturen in °C angegeben, und die Schmelzpunkte sind nicht korrigiert. Die kernmagnetischen Protonen-Resonanzspektren wurden auf einem Varian XL100, Joel FX-90~ oder Bruker WM 360 Spektrometer in entweder Pyridin-d₅ oder D₂O wie angegeben bestimmt. Wenn Pyridin-d₅ als Lösungsmittel verwendet wird, wird die Pyridin-Resonanz bei δ = 8,57 als inneres Bezugssystem verwendet, während mit D₂O als Lösungsmittel TSP als inneres Bezugssystem verwendet wird. Chemische Verschiebungen werden in δ-Einheiten und Kupplungskonstanten in Hertz angegeben. Aufspaltungsbilder werden wie folgt bezeichnet: s, Singlett; d, Dublett; t, Triplet; q, Quartett; m, Multiplett; bs, breiten Signal; dd, Dublett von Dublett; dt, Dublet von Triplet. Infrarot-Spektren werden entweder auf einem Beckman Model 4240 Spektrometer oder einen Nicolet 5DX FT-IR Spektrometer bestimmt und in reziproken Centimetern angegeben. Ultraviolet (UV)-Spektren werden entweder auf einem Cary Model 290-Spektrometer oder einen Hewlett Packard 8450-Spektrometer, das mit einem Multidioden-Felddetektor ausgestattet ist, bestimmt. Dünnschichtchromatographie (TLC) wird auf 0,25mm Analtech Silikagel GF Platte durchgeführt. Flash-Chromatographie wird mit entweder Woelm-neutralem Aluminiumoxyd (DCC-Grad) oder Woelm-Silikagel (32-63 μm) und den angegebenen Lösungsmitteln durchgeführt. Alle Eindampfvorgänge wurden unter verminderter Druck und unterhalb von 40 °C durchgeführt.

55 55 Im folgenden werden Herstellungsverfahren für die Ausgangsverbindungen bzw. eines Triazens zur Herstellung derselben angegeben:

Vorschrift 1:

1-[2-(3-Nitro-2-pyridylthio)ethyl]-3-(4-methylphenyl)-triazen

5 50,2 g (0,47 Mol) p-Toluidin werden in einen 2 Liter-Kolben, der mit einem Tropftrichter von 200 ml und einem wirksamen Rührer ausgestattet ist, gegeben, und der Kolben wird in ein Eis-Salz-Bad bei etwa -10 °C eingetaucht. Eine Lösung von 46,8 g (0,55 Mol) Kaliumnitrit in 150 ml Wasser wird in den Tropftrichter gegeben, und eine Mischung von 250 g zerkleinertem Eis und 140 ml konz. Salzsäure wird unter Rühren zu dem p-Toluidin gegeben. Die Kaliumnitritlösung wird unter ständigem Rühren innerhalb von 1 bis 2

10 10 Stunden langsam zugesetzt, bis ein positiver Stärke-Kaliumjodid-Test erhalten wird. Die einzelnen Tests mit Stärke-Kaliumjodid-Papier sollen 1 - 2 min, nachdem die Zugabe von Kaliumnitrit beendet wurde, durchgeführt werden.

Die Mischung wird eine weitere Stunde gerührt, um die Reaktion des gesamten Toluidins zu gewährleisten.

15 Sodann wird die Lösung von p-Toluol-diazoniumchlorid mit kaltem, konz. wässrigem Natriumcarbonat auf einen pH-Wert von 6,8 - 7,2 bei 0 °C gebracht, worauf die Lösung eine rote bis orange Farbe annimmt und eine kleine Menge von rotem Material sich absetzt.

20 21,15 mMol des Diazoniumsalzes in 45 ml Lösung werden in einen Tropftrichter eingebracht, der mit einem Dreihalsrundkolben mit 250 ml Inhalt verbunden ist, in welchen 5,34 g (20,0 mMol) 2-(3-Nitro-2-pyridylthio)-ethylamin, 7 g Natriumcarbonat und 150 ml Dioxan in der angegebenen Reihenfolge eingegeben worden waren. Es werden 6 ml gesättigte wässrige Natriumcarbonatlösung und 10 g Eis in den Kolben gegeben. Der Kolben wird in einem Eisbad abgeschreckt und der Inhalt wird mechanisch gerührt. Sodann wird die Diazoniumsalzlösung innerhalb einer Stunde tropfenweise aus dem Tropftrichter hinzugefügt. Wenn die Zugabe beendet ist, wird das Reaktionsgemisch auf Zimmertemperatur anwärmen gelassen

25 25 und sodann dreimal mit je 400 ml Äther extrahiert. Trocknen und Eindampfen der Extrakte ergibt das gewünschte Produkt, welches durch Chromatographie unter Verwendung einer mit Aluminiumoxid gefüllten Säule mit einem Durchmesser von 2,54 cm und einer Länge von 25,4 cm und unter Verwendung von Hexan:Methylenchlorid (4:1); Hexan:Methylenchlorid (3:2); Hexan:Methylenchlorid (1:4); und schließlich Methylenchlorid, das 1% Methanol enthält, zur Entwicklung und Eluierung der Säule gereinigt wird. Die entsprechenden Fraktionen (identifiziert durch TLC) werden vereinigt und eingedampft, wobei 2,5 g der Titelverbindung erhalten werden, die ohne weitere Aufarbeitung in der nächsten Verfahrensstufe eingesetzt werden.

Vorschrift 2:

35 9a-Methoxy-7-[2-(3-nitro-2-pyridylthio)ethoxy]mitosan

500 mg (1,73 mMol) 7-Hydroxy-9a-methoxymitosan, werden in einen Rundkolben gegeben und in 60 ml Methylenchlorid gelöst. Das vorstehend genannte Triazen, etwa 2,5 g (5,7 mMol) wird zu der Lösung in dem Kolben gegeben, und die Mischung wird 14 Stunden bei 5 °C und sodann 8 Stunden bei Zimmertemperatur gerührt. Das Fortschreiten der Reaktion wird durch Silikagel- TLC unter Verwendung von Methylenchlorid:Methanol (9:1) überwacht. Die Reaktion wird weitere 26 Stunden bei Zimmertemperatur gehalten und sodann durch Säulenchromatographie auf einer Säule von 0,85 cm Breite und 30,58 cm Länge, die mit Aluminiumoxid gefüllt ist, aufgearbeitet. Die zur Entwicklung und zur Eluierung nacheinander verwendeten Lösungsmittel sind jeweils 200 ml Anteile von Methylenchlorid; 0,5% Methanol in Methylenchlorid; 1,0% Methanol in Methylenchlorid; 1,5% Methanol in Methylenchlorid; 2% Methanol in Methylenchlorid; und 4% Methanol in Methylenchlorid. Die entsprechenden Fraktionen werden vereinigt und eingedampft, wobei die Titelverbindung, 470 mg, erhalten wird.

Anal. Ber. für: $C_{22}H_{23}N_5O_8S_2$: C, 45.65; H, 4.09; N, 11.82 korrigiert für: 0.5 Mol % von CH_2Cl_2):
50 gefunden: C, 45.74; H, 4.14; N, 11.61.
IR (KBr), "max, cm^{-1} : 3440-3200, 3060, 2930, 1720, 1570, 1510, 1395, 1335, 1210, 1055.
 1H NMR (Pyridin - d_5 , δ): 1.81(s, 3H), 2.00(bs, 1H), 2.61(bs, 1H), 2.98(bs, 1H), 3.08(s, 3H), 3.20(m, 2H), 3.39(d, 1H), 3.83(dd, 1H), 4.07(d, 1H), 4.59-4.89(m, 3H), 5.21(dd, 1H), 7.16(dd, 1H), 8.31(dd, 1H), 8.71(dd, 1H).

55 Beispiele 1-14:

Die 7-Alkoxydithio-9a-methoxymitosane 1-14 der folgenden Tabelle III werden gemäß den unten beschriebenen allgemeinen Verfahren A oder B hergestellt. Die physikalischen Daten für die Mitosanverbin-

dungen 1-14 werden in der Tabelle IV angegeben.

Verfahren A : Zu einer von Sauerstoff befreiten Lösung von 9a-Methoxy-7-[2-(3-nitro-2-pyridyldithio)-ethoxy]mitosan (~0,1 mMol) in 3 bis 5 ml Aceton gibt man unter Rühren unter Argon ~1,1 Äquivalente Triäthylamin und daraufhin tropfenweise oder portionenweise ein Merkaptan^a(1 Äquivalent) in 1 bis 2 ml

5 Aceton. Bei den meisten Reaktionen^b wird das Fortschreiten der Reaktion durch Dünnschichtchromatographie auf Silikagel überwacht (10% CH₃OH in CH₂Cl₂).

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55 a) In Fällen, in welchen das Ausgangs-Merkaptan unrein ist, ist > 1 Äquivalent Thiol erforderlich.

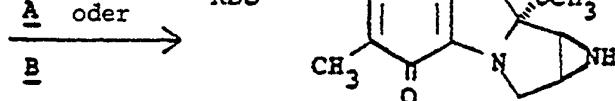
b) In Fällen, in welchen das Ausgangsmitosan und das Produkt sehr nahe R_f-Werte auf TLC aufweisen, wird eine Überwachung durch Hochdruck-Flüssigchromatographie (HPLC) (μ Bondapak-C₁₈-Säule) vorgenommen.

Tabelle III
7-Alkoxydithio-9a-methoxymitosane

5

$\text{RSH} + 9\text{a}$ -Methoxy-7-[2-(3-nitro-2-pyridylidithio)-ethoxy]mitosan

10



15

20

25

30

35

40

45

50

| Beispiel | Thiol (RSH) | Verfahren | Produkt |
|----------|--------------------------------|-----------|---|
| 1 | Ethyl-2-mercaptopo- acetat | A | $\text{R}=-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC(=O)CH}_3$ |
| 2 | 3-Mercapto-1,2- propanediol | A | $\text{R}=-\text{CH}_2\text{CH(OH)CH}_2\text{OH}$ |
| 3 | 3-Mercaptopropion- säure | B | $\text{R}=-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}^-\text{Na}^+$ |
| 4 | Cystein | B | $\text{R}=-\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_3^+)\text{COO}^-$ |
| 5 | Thiophenol | A | $\text{R} = \text{C}_6\text{H}_5$ |
| 6 | p-Nitrothiophenol | A | $\text{R} = \text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$ |
| 7 | p-Methoxythiophenol | A | $\text{R} = \text{C}_6\text{H}_4\text{OCH}_3$ |
| 8 | p-Aminothiophenol | A | $\text{R} = \text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2$ |

55

TABELLE III(Fortsetzung)

| 5 | Beispiel | Thiol (RSH) | Verfahren | Produkt |
|----|----------|-----------------------------------|-----------|---|
| 10 | 9 | 2-Mercaptobenzoesäure | B | $R = -\text{C}_6\text{H}_4\text{COO}^-\text{Na}^+$ |
| 15 | 10 | 2-Nitro-5-mercaptopbenzoësäure | B | $R = -\text{C}_6\text{H}_3(\text{NO}_2)\text{COO}^-\text{Na}^+$ |
| 20 | 11 | 4-Mercaptopyridin | A | $R = -\text{C}_5\text{H}_4\text{N}$ |
| 25 | 12 | 2-Mercaptomethyl-1-methylimidazol | A | $R = -\text{CH}_2-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{N}-\text{C}_3\text{H}_5$ |
| 30 | 13 | Glutathion | B | $\text{R} = -\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NHCOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}^-\text{Na}^+)-\text{CH}_2-\text{CONHCH}_2\text{COO}^-\text{Na}^+$ |
| 35 | 14 | Dimethylaminethanethiol | B | $\text{R} = -\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ |

Die Vollständigkeit der Reaktion wird durch das Verschwinden des dem Ausgangsmaterial entsprechenden Flecks und das Auftreten des Flecks des Produkts angezeigt. An dieser Stelle wird das Reaktionsgemisch unter verminderter Druck (bei $\sim 30^\circ\text{C}$) eingeengt und der Rückstand wird auf einer mit einer Woelm-neutralen Aluminiumoxid-Aufschämmung gefüllten Säule (1/4 Zoll x 10 Zoll) mit 2-5 % CH_3OH in CH_2Cl_2 chromatographiert. Dieses verfahren trennt das gewünschte Mitosan-Produkt von dem Pyridylthion-Nebenprodukt, welches auf der Säule zurückgehalten wird. Das so unter Verwendung von 2-5 % CH_3OH in CH_2Cl_2 eluierte Produkt wird durch Flash-Silikagel-Chromatographie unter Verwendung von 5 - 7 % CH_3OH in CH_2Cl_2 als Eluierungslösungsmittel weiter sorgfältig gereinigt. Das Hauptband, das dem Produkt entspricht, wird isoliert, und das amorphe 7-Alkoxydithio-9a-methoxy-mitosan wird charakterisiert.

Verfahren B: Zu einer Lösung von etwa 0,1 mMol des 9a-Methoxy-7-[2-(3-nitro-2-pyridylthio)ethoxy]-mitosans in 2-5 % Aceton^a in 10 ml Methanol gibt man etwa 6 Tropfen einer gesättigten wässrigen NaHCO_3 -Lösung^b und daraufhin 1 Äquivalent Merkaptan 1 ml Methanol^c. Das Fortschreiten der Reaktion wird durch TLC (Silikagel, 10 % CH_3OH in CH_2Cl_2) überwacht. Nach Vervollständigung der Reaktion wird das Reaktionsgemisch mit 15 ml Wasser verdünnt und unter verminderter Druck bei etwa 30°C auf etwa 10 ml eingeengt. Die erhaltene Lösung wird auf einer Umkehrphasen-6-18-Säule unter stufenweise ansteigender Eluierung (100 % H_2O bis 80 % CH_3OH in H_2O) chromatographiert. Das Produkt, das als

AT 400 332 B

hauptsächliches rotes Band eluiert wird, wird gesammelt und eingeengt, wobei das 7-Alkoxydithio-9a-methoxymitosan in Form eines amorphen Feststoffes erhalten wird. Wenn weitere Reinigung erforderlich ist, wird die obige Chromatographiestufe wiederholt.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50 a) Es kann auch Methylchlorid verwendet werden, jedoch wird Aceton bevorzugt.

b) In dem Falle, in welchen das Mercaptan L-Cystein ist, wird diese Base nicht verwendet.

55 c) Es wird Wasser verwendet, wenn das Ausgangs-Thiol wasserlöslich ist.

d) Die Eluierung mit Wasser trennt das gelbe Pyridyl-thion-Nebenprodukt von dem Produkt, welches in der Säule zurückbleibt.

5

10

15

20

25

30

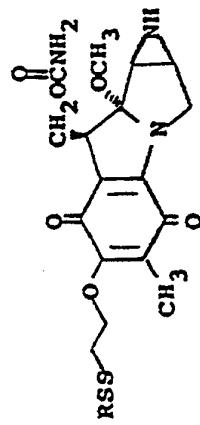
40

45

50

55

TABLE II
7-Alkoxydithio-9a-methoxymitosane



| Beispiel | Formel | ^1H NMR Daten (Pyridin- d_5) ^a (δ , ppm) | UV (CH ₃ OH) (λ_{max} , nm) | IR (KBr) (ν_{max} , cm ⁻¹) |
|----------|---|--|---|---|
| 1 | $\text{R}^{\text{a}}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCCN}_3$ | 1.76 (s, 3H), 1.84 (s, 3H), 1.97 (t, 1H, 7.9 Hz), 2.59 (bs, 1H), 2.87 (t, 2H, 6.7 Hz), 2.96 (t, 2H, 6.2 Hz), 2.99 (bs, 1H), 3.07 (s, 3H), 3.37 (d, 1H, 12.1 Hz), 3.84 (dd, 1H, 11.2, 4.3 Hz), 4.05 (d, 1H, 12.1 Hz), 4.27 (t, 2H, 6.7 Hz), 4.56 (m, 2H), 4.92 (t, 1H, 10.8 Hz), 5.25 (dd, 1H, 11.2, 4.3 Hz). | 520, 324, 216 | 3370, 3310, 2930, 1740, 1720, 1640, 1560, 1520, 1335, 1220, 1200, 1065, 1030. |

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55

TABELLE IV (Fortsetzung)

| Beispiel | Formel | ^1H NMR Daten (Pyridin- d_5) ^a (δ , ppm) | UV (CH ₃ OH) (λ_{max} , nm) | IR (KBr) (ν_{max} , cm ⁻¹) |
|----------|--|--|---|---|
| 2 | $\text{R}=\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{OH})\text{OH}$ | 1.77 (s, 3H), 1.99 (bs, 1H), 2.60 (bs, 1H), 3.03 (t, 2H, 6.3Hz), 3.00 (m, 1H), 3.07 (s, 3H), 3.15 (m, 1H), 3.28 (dd, 1H, 4.5, 13.2Hz), 3.37 (d, 1H, 12.4Hz), 3.84 (dd, 1H, 4.5, 11.2Hz), 3.94 (bs, 2H), 4.06 (d, 1H, 12.4Hz), 4.28 (bs, 1H), 4.57 (m, 1H), 4.64 (m, 1H), 4.92 (1H, t, 10.6Hz), 5.25 (dd, 1H), 6.29 (bs, 1H), 6.69 (bs, 1H), 7.5 (m, 2H). | 215, 324, 520 | 3440, 2965, 1720, 1655, 1635, 1560, 1455, 1410, 1340, 1305, 1215, 1070, 1020. |
| 3 | $\text{R}=\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}^-\text{Na}^+$ | 1.77 (s, 3H), 2.60 (bs, 1H), 2.78 (t, 2H, 7.4Hz), 2.94 (m, 3H), 3.00 (s, 3H), 3.17 (t, 2H, 7.4Hz), 3.38 (d, 1H, 12.4Hz), 3.83 (dd, 1H, 4.0, 11.0Hz), 4.06 (d, 1H, 12.5Hz), 4.58 (m, 2H), 4.84 (m, 1H), 5.20 (dd, 1H, 4.1, 10.6Hz), 7.64 (m, 2H). | 215, 323, 510 | 3430, 2920, 1715, 1650, 1620, 1575, 1450, 1405, 1340, 1300, 1210, 1110, 1065. |

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50

TABELLE IV (Fortsetzung)

| Beispiel | Formel | ^1H NMR Daten (Pyridin- d_5) ^a (δ , ppm) | UV (CH ₃ OH) (λ_{max} , nm) | IR (KBr) (ν_{max} , cm ⁻¹) |
|----------|---|--|---|---|
| 4 | $\text{R}=\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)_2\text{COOH}$ | 1.92 (s, 3H), 2.95-3.15 (m, 5H), 3.29 (s, 3H), 3.36 (dd, 1H, 4.0, 15.0 Hz), 4.02 (d, 1H, 13 Hz), 4.10 (dd, 1H, 4.0, 8.7 Hz), 4.30 (t, 1H, 10.5 Hz), 4.48 (m, 2H), 4.66 (dd, 1H, 4.8, 10.8 Hz). | 216, 324, 381, 526 | 3430, 2920, 1715, 1635, 1575, 1495, 1450, 1340, 1300, 1210, 1060. |
| 5 | $\text{R}=\text{C}_6\text{H}_5$ | 1.75 (s, 3H), 1.99 (bs, 1H), 2.61 (bs, 1H), 2.98 (m, 3H), 3.08 (s, 3H), 3.39 (d, 1H), 3.82 (dd, 1H, 4.3, 11.0 Hz), 4.06 (d, 1H, 12.4 Hz), 4.49 (m, 1H), 4.57 (m, 1H), 4.92 (m, 1H), 5.23 (dd, 1H, 4.3, 11.0 Hz), 7.11 (d, 1H, 7.2 Hz), 7.19 (dd, 2H, 7.2, 7.2 Hz), 7.50 (d, 2H, 7.2 Hz). | 206, 324, 524 | 3440, 2920, 1715, 1650, 1630, 1575, 1450, 1335, 1300, 1210, 1105, 1055. |

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55

TABLELL IV (Fortsetzung)

| Beispiel | Formel | ^1H NMR Daten (Pyridin- d_5) ^a | | UV (CH ₃ OH) (λ_{max} , nm) | IR (KBr) (ν_{max} , cm ⁻¹) |
|----------|--|---|-----------------|--|---|
| | | (δ , ppm) | (τ , ppm) | | |
| 6 |  | 1.73 (s, 3H), 1.94 (m, 1H), 2.57 (bs, 1H), 2.95 (bs, 1H), 3.00 (t, 2H), 3.04 (s, 3H), 3.35 (d, 1H, 12.1Hz), 3.79 (dd, 1H, 4.2, 11.0Hz), 4.02 (d, 1H, 12.1Hz), 4.53 (m, 2H), 4.86 (t, 1H, 11.0Hz), 5.20 (dd, 1H, 4.2, 11.0Hz), 7.55 (d, 2H, 8.8Hz), 8.02 (d, 2H, 8.8Hz). | 3.22, 215 | 3460, 3290, 2940, 1715, 1645, 1620, 1570, 1505, 1445, 1400, 1335, 1295, 1210, 1105, 1055. | |
| 7 |  | 1.73 (s, 3H), 2.00 (m, 1H), 2.69 (bs, 1H), 3.00 (bs, 1H), 3.02 (t, 2H), 3.08 (s, 3H), 3.37 (d, 1H, 12.0Hz), 3.51 (s, 3H), 3.84 (dd, 1H, 4.2, 11.0Hz), 4.06 (d, 1H, 12.5Hz), 4.59 (m, 2H), 4.93 (t, 1H, 10.6Hz), 5.27 (dd, 1H, 4.2, 11.0Hz), 6.84 (d, 2H, 8.7Hz), 7.50 (d, 2H, 8.7Hz). | 3.21, 236 | 3460, 3300, 2930, 1715, 1625, 1570, 1490, 1440, 1400, 1330, 1295, 1245, 1210, 1170, 1100, 1055, 1020. | |

5

10

15

20

25

30

35

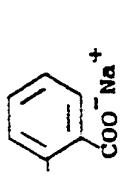
40

45

50

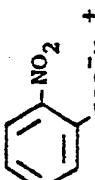
55

TABELLE IV (Fortsetzung)

| Beispiel | Formel | ^1H NMR Daten (Pyridin, $-\text{d}_5$) ^a | | UV (CH ₃ OH) (λ_{max} , nm) | IR (KBr) (ν_{max} , cm ⁻¹) |
|----------|--|--|-----------------------|---|---|
| | | (δ , ppm) | (τ ppm) | | |
| 8 |  | 1.74 (s, 3H), 2.05 (t, 1H, 6.6Hz), 2.60 (bs, 1H), 2.96-3.11 (m, 3H), 3.07 (s, 3H), 3.37 (d, 1H, 12.5Hz), 3.84 (dd, 1H, 4.2, 11.0Hz), 4.09 (d, 1H, 12.5Hz), 4.53 (m, 2H), 4.96 (t, 1H, 10.6Hz), 5.41 (dd, 1H, 4.2, 11.0Hz), 5.84 (bs, 1H), 6.72 (d, 2H, 8.2Hz), 7.37 (d, 2H, 8.2Hz). | 318, 252 | 3450, 3370, 2920, 1720, 1630, 1575, 1495, 1450, 1410, 1335, 1300, 1210, 1105, 1065. | |
| 9 |  | 1.76 (s, 3H), 1.95 (m, 1H), 2.59 (bs, 1H), 2.90 (t, 2H, 6.2Hz), 2.95 (bs, 1H), 3.06 (s, 3H), 3.38 (d, 1H, 12.8Hz), 3.80 (dd, 1H, 4.2, 11.0Hz), 4.05 (d, 1H, 12.4Hz), 4.55 (m, 2H), 4.87 (m, 1H), 5.18 (dd, 1H, 4.2, 10.4Hz), 7.08 (t, 1H, 7.4Hz), 7.23 (dd, 1H, 7.8, 7.4Hz), 7.5 (bs, 2H), 8.25 (d, 1H, 8.1Hz), 8.47 (d, 1H, 7.7Hz). | 214, 246, 320, 524 | 3390, 3300, 2930, 1720, 1665, 1580, 1555, 1455, 1390, 1340, 1305, 1215, 1110, 1070, 1025. | |

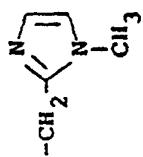
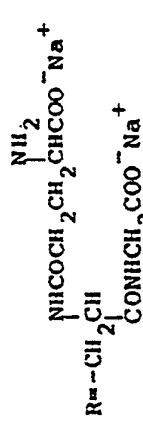
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55

TABELLE IV (Fortsetzung)

| Beispiel | Formel | ^1H NMR Daten (Pyridin- d_5) ^a (δ , ppm) | UV (CH ₃ OH) (λ_{max} , nm) | IR (KBr) (ν_{max} , cm ⁻¹) |
|----------|--|--|---|---|
| 10 |  | 1.75 (s, 3H), 2.58 (bs, 1H), 2.93 (t, 2H, 6.3Hz), 2.90 (m, 1H), 3.38 (d, 1H, 5.20, 12.8Hz), 3.82 (dd, 1H, 4.3, 10.9Hz), 4.06 (d, 1H, 12.1Hz), 4.53 (m, 2H), 4.86 (t, 1H, 10.5Hz), 5.21 (dd, 1H, 4.2, 10.7Hz), 7.45 (d, 1H, 8.5Hz), 7.65 (d, 1H, 8.3Hz), 8.14 (bs, 1H). | 215, 321, 520 | 3440, 2930, 1720, 1620, 1580, 1520, 1450, 1400, 1340, 1215, 1070 |
| 11 |  | 1.76 (3H, s), 1.95 (bs, 1H), 2.60 (bs, 1H), 3.01 (t, 2H, 6.1Hz), 3.00 (m, 1H), 3.08 (s, 3H), 3.39 (d, 1H, 11.5Hz), 3.83 (dd, 1H, 4.2, 11.0Hz), 4.07 (d, 1H, 12.4Hz), 4.52 (m, 2H), 4.90 (bs, 1H), 5.25 (dd, 1H, 4.3, 10.5Hz), 7.39 (dd, 2H, 1.5, 4.5Hz), 7.6 (m, 2H), 8.48 (dd, 2H, 1.5, 4.5Hz). | 215, 241, 323, 522 | 3430, 2920, 1720, 1650, 1630, 1575, 1450, 1405, 1335, 1300, 1210, 1065. |

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55

TABELLE IV (Fortsetzung)

| Beispiel | Formel | ^1H NMR Daten (Pyridin -d ₅) ^a (δ , ppm) | UV (CH ₃ OH) (λ_{max} , nm) | IR (KBr) (ν_{max} , cm ⁻¹) |
|----------|--|--|---|---|
| 12 |  | 1.74 (s, 3H), 2.59 (bs, 1H), 2.73 (t, 2H, 6.4 Hz), 2.98 (d, 1H, 4.2 Hz), 3.08 (s, 3H), 3.40 (m, 1H), 3.43 (s, 3H), 3.84 (dd, 1H, 4.4, 11.0 Hz), 4.06 (d, 1H, 12.5 Hz), 4.11 (s, 2H), 4.46 (m, 2H), 4.89 (m, 1H), 5.25 (dd, 1H, 4.4, 10.5 Hz), 6.95 (q, 2H). | 218, 323, 520 | 3430, 2960, 1720, 1650, 1630, 1580, 1490, 1450, 1335, 1300, 1210, 1105, 1065. |
| 13 |  | 1.91 (s, 3H), 2.16 (dd, 2H, 7.4, 14.2 Hz), 2.55 (dt, 2H, 2.3, 8.2 Hz), 2.95-3.10 (m, 5H), 3.28 (s, 3H), 3.28 (dd, 1H, 4.6, 14.1 Hz), 3.61 (d, 1H, 13.1 Hz), 3.70 (dd, 1H, 4.4, 10.5 Hz), 3.70-3.90 (m, 4H), 4.02 (d, 2H, 13.1 Hz), 4.30 (t, 1H, 10.5 Hz), 4.46 (m, 2H), 4.65 (dd, 1H, 4.5 Hz). | 326, 366, 524 | 3380, 3290, 2920, 1715, 1650, 1635, 1580, 1455, 1405, 1340, 1300, 1210, 1105, 1065, 1030. |

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

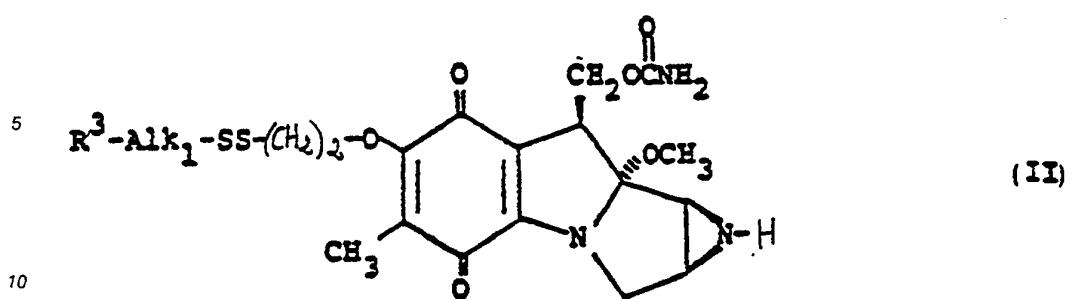
TABELLE IV (Fortsetzung)

| Beispiel | Formel | ^1H NMR Daten (Pyridin- -d_5) ^a (δ , T _P M) | UV (CH ₃ OH) (λ_{max} , nm) | IR (KBr) (ν_{max} , cm ⁻¹) |
|----------|--|--|---|---|
| 4 | R ₂ -CH ₂ CH ₂ N(CH ₃) ₂ | 1.77 (s, 3H), 1.93 (bs, 1H), 2.14 (s, 6H), 2.61 (m, 3H), 2.80-3.05 (m, 5H), 3.08 (s, 3H), 3.40 (m, 1H), 3.84 (dd, 1H, 4.3, 10.3Hz), 4.06 (d, 1H, 12.5Hz), 4.57 (m, 2H), 5.26 (dd, 1H, 4.3, 10.3Hz) | - | - |

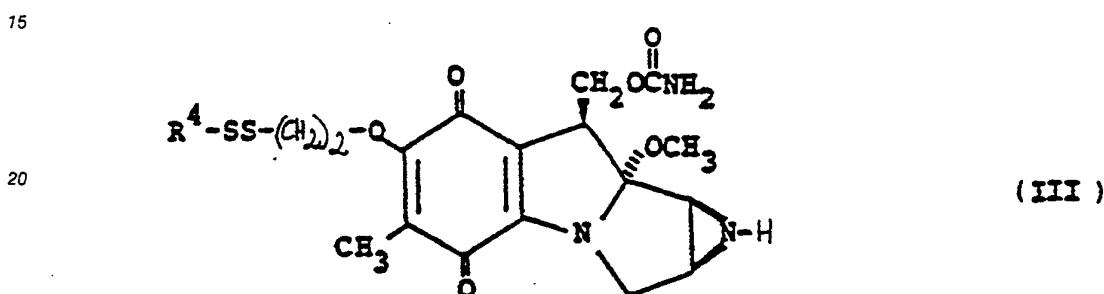
a) D₂O wurde verwendet für Mitosane der Beispiele 4. und 13

55 Patentansprüche

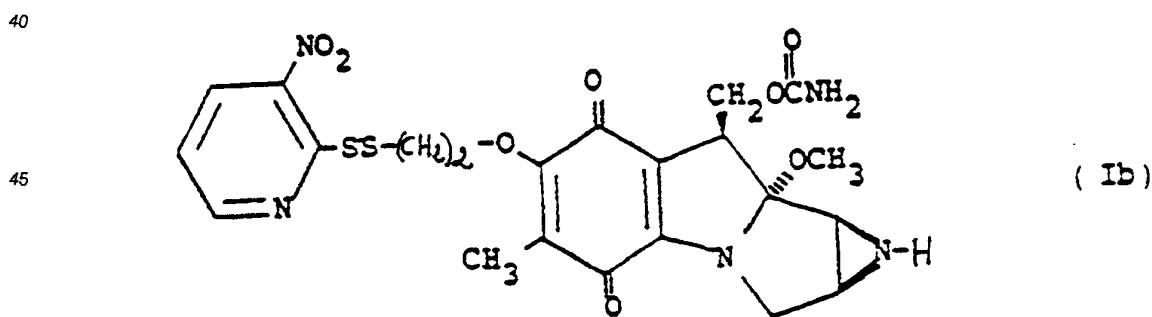
1. Verfahren zur Herstellung einer neuen Verbindung der allgemeinen Formel:



oder



25 in welchen Formeln
 Alk₁ eine geradkettige Alkylengruppe darstellt, die 1 bis 3 Kohlenstoffatome enthält, wenn R^3 mit einem Kohlenstoffatom an sie gebunden ist, und die 2 Kohlenstoffatome enthält, wenn R^3 mit einem Sauerstoff- oder Stickstoffatom an sie gebunden ist und R^3 und -SS- in diesem Falle jeweils an verschiedene Kohlenstoffatome gebunden sind,
 30 R^3 Carboxy, Alkanoyloxy mit 2 Kohlenstoffatomen, Alkylamino oder Dialkylamino mit 2 Kohlenstoffatomen, 1,2-Dihydroxyäthyl, 1-Carboxyaminomethyl oder 1-Methylimidazol-2-yl darstellt und
 35 R^4 Phenyl oder mono- oder di-substituiertes Phenyl darstellt, wobei der (die) Substituent(en) eine oder zwei Niederalkoxy, Amino-, Carboxy- und Nitrogruppen bedeutet (bedeuten), oder R^4 den Pyridyl- oder den Glutathionylrest darstellt,
 oder eines nichttoxischen, pharmazeutisch zulässigen Salzes hiervon, **dadurch gekennzeichnet**, daß man zumindest 1 Äquivalent eines Thiols der allgemeinen Formel R^3 Alk₁SH oder R^4 SH mit 1 Äquivalent eines Mitosans der allgemeinen Formel:



50 in welcher R^3 , R^4 und Alk₁ die oben angegebene Bedeutung haben, gegebenenfalls in Gegenwart von zumindest 1 Äquivalent einer Base in einem inerten Lösungsmittel bei einer Temperatur von 0 °C bis 60 °C umsetzt.
 55 2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß man 1 Äquivalent der Base bei der Reaktion einsetzt.

AT 400 332 B

3. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß man als Reaktionsmedium ein Niederalkanol, einen Niederalkansäure-niederalkylester, ein niedriges aliphatisches Keton, einen cyclischen aliphatischen Äther oder einen niedrigen polyhalogenierten aliphatischen Kohlenwasserstoff mit bis zu 8 Kohlenstoffatomen oder Wasser einsetzt.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55