



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT  
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

⑪ CH 674 366 A5

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein  
Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

⑤① Int. Cl.<sup>5</sup>: C 07 D 327/06  
C 07 D 339/08  
A 61 K 31/385  
A 61 K 31/39

⑫ PATENTSCHRIFT A5

⑳ Gesuchsnummer: 869/88

㉓ Anmelddatum: 08.03.1988

㉔ Priorität(en): 11.03.1987 US 024657  
21.01.1988 US 146512

㉖ Patent erteilt: 31.05.1990

㉙ Patentschrift  
veröffentlicht: 31.05.1990

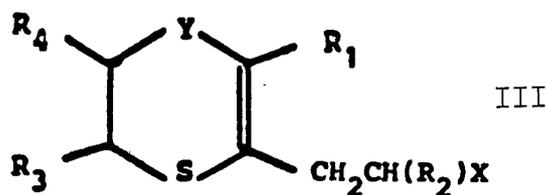
㉚ Inhaber:  
Uniroyal Chemical Ltd/Uniroyal Chemical Ltée,  
Elmira/Ontario (CA)

㉛ Erfinder:  
Brouwer, Walter G., Guelph/Ontario (CA)  
Felauer, Ethel E., Puslinch/Ontario (CA)  
Kulka, Marshal, Guelph/Ontario (CA)

㉜ Vertreter:  
A. Braun, Braun, Héritier, Eschmann AG,  
Patentanwälte, Basel

⑤④ 3-(2-Halogenalkyl)-1,4-oxathiine und 2-(2-Halogenalkyl)-1,4-dithiine.

⑤⑦ Neue 3-(2-Halogenalkyl)-1,4-oxathiine oder 2-(2-Halogenalkyl)-1,4-dithiine sind brauchbar zum Herbeiführen der Regression oder zum Hemmen des Wachstums von Leukämie und Tumoren bei Menschen und Säugtieren. Die Verbindungen entsprechen der Formel:



worin

R<sub>1</sub> eine Alkylgruppe, die bis zu 4 Kohlenstoffatome enthält, Cyclohexyl oder Phenyl bedeutet;

R<sub>2</sub> Wasserstoff oder Ethyl bedeutet;

R<sub>3</sub> und R<sub>4</sub> jeweils Wasserstoff, Methyl oder Ethyl bedeuten und, wenn eines der Symbole R<sub>3</sub> und R<sub>4</sub> Methyl oder Ethyl bedeutet, das andere Wasserstoff bedeutet;

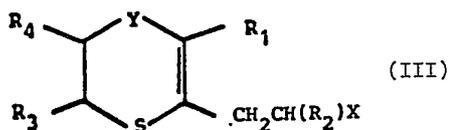
X Halogen bedeutet; und

Y Sauerstoff oder Schwefel bedeutet und, wenn Y Schwefel bedeutet, R<sub>3</sub> und R<sub>4</sub> beide Wasserstoff bedeuten.

Beschrieben werden auch pharmazeutische Präparate, die die genannten Verbindungen im Gemisch mit einem pharmazeutisch unbedenklichen, im wesentlichen nicht toxischen Träger enthalten.

## PATENTANSPRÜCHE

1. 3-(2-Halogenalkyl)-1,4-oxathiine und 2-(2-Halogenalkyl)-1,4-dithiine der Formel:



worin

R<sub>1</sub> eine Alkylgruppe, die bis zu 4 Kohlenstoffatome enthält, Cyclohexyl oder Phenyl bedeutet;

R<sub>2</sub> Wasserstoff oder Ethyl bedeutet;

R<sub>3</sub> und R<sub>4</sub> jeweils Wasserstoff, Methyl oder Ethyl bedeuten und, wenn eines der Symbole R<sub>3</sub> und R<sub>4</sub> Methyl oder Ethyl bedeutet, das andere Wasserstoff bedeutet;

X Halogen bedeutet und

Y Sauerstoff oder Schwefel bedeutet und, wenn Y Schwefel bedeutet, R<sub>3</sub> und R<sub>4</sub> beide Wasserstoff bedeuten.

2. 1,4-Oxathiine nach Anspruch 1, worin Y Sauerstoff bedeutet und X Chlor bedeutet.

3. 1,4-Dithiine nach Anspruch 1, worin Y Schwefel bedeutet und X Chlor bedeutet.

4. Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 3, worin R<sub>2</sub> Wasserstoff bedeutet.

5. Verbindungen nach Anspruch 1 oder 4, worin X Chlor bedeutet.

6. Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 5, worin R<sub>1</sub> Alkyl mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen oder Phenyl bedeutet;

R<sub>3</sub> Wasserstoff bedeutet;

R<sub>4</sub> Wasserstoff oder Methyl bedeutet und

X Chlor bedeutet.

7. 1,4-Oxathiin nach Anspruch 1, nämlich 3-(2-Chlorethyl)-5,6-dihydro-2-methyl-1,4-oxathiin.

8. 1,4-Oxathiin nach Anspruch 1, nämlich 2,6-Dimethyl-3-(2-chlorethyl)-5,6-dihydro-1,4-oxathiin.

9. 1,4-Oxathiin nach Anspruch 1, nämlich 2-Propyl-3-(2-chlorethyl)-5,6-dihydro-1,4-oxathiin.

10. 1,4-Oxathiin nach Anspruch 1, nämlich 2-Phenyl-3-(2-chlorethyl)-5,6-dihydro-1,4-oxathiin.

11. 1,4-Dithiin nach Anspruch 1, nämlich 2-(2-Chlorethyl)-3-methyl-5,6-dihydro-1,4-dithiin.

12. 1,4-Oxathiin nach Anspruch 1, nämlich 3-(2-Chlorbutyl)-5,6-dihydro-2-methyl-1,4-oxathiin.

13. Pharmazeutisches Präparat zum Herbeiführen der Regression von Leukämie oder Tumoren, dadurch gekennzeichnet, dass es eine wirksame Menge einer Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 12 im Gemisch mit einem pharmazeutisch unbedenklichen, im wesentlichen nicht toxischen Träger oder Exci-piens enthält.

14. Pharmazeutisches Präparat nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass es eine wirksame Menge einer Verbindung nach Anspruch 2 im Gemisch mit einem pharmazeutisch unbedenklichen, im wesentlichen nicht toxischen Träger oder Exci-piens enthält.

15. Pharmazeutisches Präparat nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass es eine wirksame Menge einer Verbindung nach Anspruch 3 im Gemisch mit einem pharmazeutisch unbedenklichen, im wesentlichen nicht toxischen Träger oder Exci-piens enthält.

16. Pharmazeutisches Präparat nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass es eine wirksame Menge einer Verbindung nach Anspruch 4 im Gemisch mit einem pharmazeutisch unbedenklichen, im wesentlichen nicht toxischen Träger oder Exci-piens enthält.

17. Pharmazeutisches Präparat nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass es eine wirksame Menge einer Verbindung

nach Anspruch 5 im Gemisch mit einem pharmazeutisch unbedenklichen, im wesentlichen nicht toxischen Träger oder Exci-piens enthält.

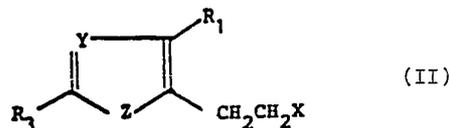
18. Pharmazeutisches Präparat nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass es eine wirksame Menge einer Verbindung nach Anspruch 6 im Gemisch mit einem pharmazeutisch unbedenklichen, im wesentlichen nicht toxischen Träger oder Exci-piens enthält.

10

## BESCHREIBUNG

Diese Erfindung bezieht sich auf neue 3-(2-Halogenalkyl)-1,4-oxathiine und 2-(2-Halogenalkyl)-1,4-dithiine. Insbesondere bezieht sich die Erfindung auf neue 3-(2-Halogenalkyl)-1,4-oxathiin- und 2-(2-Halogenalkyl)-1,4-dithiinanaloge, die Antileukämie- und Antitumoraktivität haben, und auf pharmazeutische Präparate, die derartige Analoga als therapeutisch wirksame Bestandteile enthalten und sich für das Herbeiführen der Regression von Tumoren bei Menschen und Säugetieren eignen.

2-Halogenalkylanaloga von Oxathiinen und Dithiinen wurden bisher in der chemischen Literatur nicht beschrieben. Einige Halogenethylanaloga von verschiedenen 5gliedrigen heterocyclischen Systemen sind bekannt, das heisst diejenigen des Typs:



worin

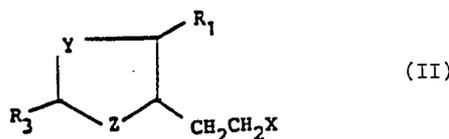
X = Halogen

Y = N

Z = O, S, NH, NR

R<sub>1</sub>, R<sub>3</sub> = Wasserstoff, Alkyl oder Aryl

oder



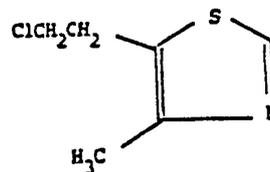
worin

X = Halogen

Y, Z = O, NH, NR, S, aber Y, Z sind nicht beide S

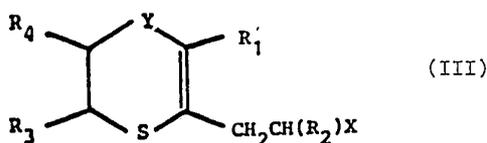
R<sub>1</sub>, R<sub>3</sub> = Wasserstoff, Alkyl oder Aryl

Eine derartige Verbindung ist Chlorethiazol, nämlich 5-(2-Chlorethyl)-4-methylthiazol der Formel:



Diese Verbindung wurde getestet, und es wurde gefunden, dass sie als Antikrebsmittel unwirksam ist. Auch im Zusammenhang mit den anderen in der Literatur angegebenen Verbindungen der Typen (I) und (II) wurde über keinerlei Antikrebswirkung berichtet.

Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf 3-(2-Halogenalkyl)-1,4-oxathiine und 2-(2-Halogenalkyl)-1,4-dithiine der Formel:



worin

R<sub>1</sub> eine Alkylgruppe, die bis zu 4 Kohlenstoffatome enthält, Cyclohexyl oder Phenyl bedeutet;

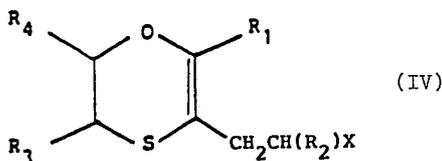
R<sub>2</sub> Wasserstoff oder Ethyl bedeutet;

R<sub>3</sub> und R<sub>4</sub> jeweils Wasserstoff, Methyl oder Ethyl bedeuten und, wenn eines der Symbole R<sub>3</sub> und R<sub>4</sub> Methyl oder Ethyl bedeutet, das andere Wasserstoff bedeutet;

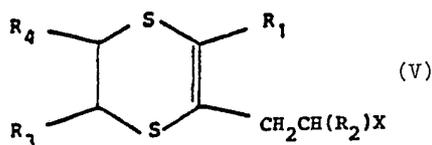
X Halogen (vorzugsweise Chlor) bedeutet und

Y Sauerstoff oder Schwefel bedeutet und, wenn Y Schwefel bedeutet, R<sub>3</sub> und R<sub>4</sub> beide Wasserstoff bedeuten.

Die erfindungsgemässen Verbindungen sind die 3-(2-Halogenoalkyl)-1,4-oxathiine der Formel:



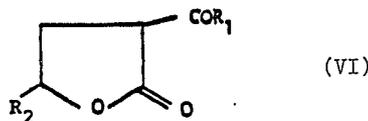
und die 2-(2-Halogenoalkyl)-1,4-dithiine der Formel:



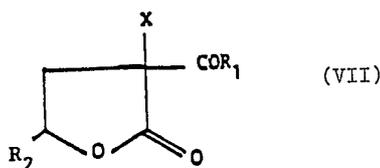
worin R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub> und X wie oben definiert sind.

In der folgenden Beschreibung wird die Herstellung und das Testen der erfindungsgemässen Verbindungen im Zusammenhang mit den bevorzugten chlosubstituierten Verbindungen (X = Cl) beschrieben. Es versteht sich jedoch, dass die Erfindung die analogen halogensubstituierten Oxathiine und Dithiine ebenfalls umfasst.

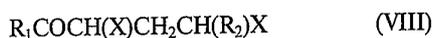
Die erfindungsgemässen Oxathiin- und Dithiinderivate können in drei aufeinanderfolgenden Stufen leicht hergestellt werden. In der ersten Stufe wird ein entsprechendes 2-Acylbutyrolacton oder 2-Acyl-4-ethylbutyrolacton der Formel:



in Gegenwart einer Base mit Halogen (z.B. Chlorgas) umgesetzt. Die Reaktion wird bei Temperaturen von etwa 5 bis 30 °C, vorzugsweise 10 bis 20 °C, ausgeführt. Das resultierende 2-Acyl-2-halogenbutyrolacton oder 2-Acyl-4-ethyl-2-halogenbutyrolacton der Formel:



wird mit Säure, z.B. HCl, umgesetzt, um den Ring zu öffnen, wobei ein Halogenketon der Formel:



gebildet wird.

Das letztere wird dann durch Wasserdampfdestillation, Extraktion und erneute Destillation gewonnen.

Die Endstufe in der Synthese ist die Umsetzung eines Gemisches des Halogenketons mit einem entsprechenden Mercaptoethanol der Formel:



10 gefolgt von Cyclisierung mit einem sauren Katalysator zu der Verbindung der Formel (III). Das Halogenketon und das Mercaptoethanol werden zweckmässig in annäherungsweise äquimolaren Verhältnissen und bei Temperaturen von 5 bis 60 °C umgesetzt. PTSA (p-Toluolsulfonsäure) kann als saurer Katalysator verwendet werden, wobei die Cyclisierung unter Rückfluss mit Entfernung von Wasser ausgeführt wird.

15 Die erfindungsgemässen Verbindungen sind cytotoxische Mittel, die brauchbar sind, um die Regression von bösartigen Tumoren, wie Lymphoidzellen- und Lymphozytenleukämie, herbeizuführen sowie das Wachstum von verschiedenen Krebsarten, z.B. Melanom, Sarkom und Mamma-Xenotransplantattumoren, zu hemmen. Sie können allein oder in Kombination mit anderen chemotherapeutischen Mitteln, die für diese Zwecke wirksam sind, verwendet werden. Die hierin verwendeten Ausdrücke 25 «Regression» und «Hemmung» umfassen das Aufhalten oder Verzögern des Wachstums des bösartigen Tumors oder einer anderen Manifestation der Krankheit, verglichen mit dem Verlauf der Krankheit in Abwesenheit einer Behandlung.

Es wurde gefunden, dass die Verabreichung der erfindungsgemässen Verbindungen an Mäuse in Mengen im Bereich von etwa 30 50 bis 800 mg/kg, vorzugsweise von 200 bis 400 mg/kg, des Körpergewichts wirksam ist, um die Regression von Leukämie herbeizuführen und das Wachstum von Tumoren zu hemmen. Die gegenseitige Beziehung der Dosierungen für Menschen und Säugtiere anderer Grössen und Spezies wird von Freidreich, E.J., et al.; Quantitative Comparison of Toxicity of Anti-Cancer Agents in 35 Mouse, Rat, Hamster, Dog, Monkey and Man, Cancer Chemotherapy, Reg. 50, No. 4, 219-244, Mai 1966, beschrieben.

Die Dosierung kann natürlich eingestellt werden, um eine 40 optimale Reaktion zu erzielen. Zum Beispiel können täglich mehrere unterteilte Dosen verabreicht werden, oder die Dosis kann proportional herabgesetzt werden, wie es durch die Erfordernisse der Situation angezeigt ist.

Die Wirkstoffe können zweckmässig parenteral, intraperitoneal, intravenös oder oral verabreicht werden. Lösungen oder 45 Dispersionen der Wirkstoffe in Wasser, das in geeigneter Weise mit einem oberflächenaktiven Mittel, wie Hydroxypropylcellulose, gemischt ist, können hergestellt werden. Auch Dispersionen in Glycerin, flüssigen Polyethylenglycolen und Gemischen davon 50 sowie in Ölen können hergestellt werden. Unter normalen Aufbewahrungs- und Anwendungsbedingungen enthalten diese Präparate ein Konservierungsmittel, um das Wachstum von Mikroorganismen zu verhindern.

Die für die Anwendung durch Injektion geeigneten Formen 55 umfassen sterile wässrige Lösungen oder Dispersionen und sterile Pulver für die improvisierte Herstellung von sterilen injizierbaren Lösungen oder Dispersionen. Für derartige Anwendungen muss die Form steril sein und muss in dem Grade flüssig sein, der erforderlich ist, um eine leichte Spritzbarkeit zu gewährleisten. Sie 60 muss unter den Bedingungen der Herstellung und Aufbewahrung beständig sein und muss gegen die verunreinigende Wirkung von Mikroorganismen, wie Bakterien und Pilze, konserviert sein.

Der Träger kann ein Lösungsmittel oder Dispersionsmedium sein, das z.B. Wasser, Ethanol, ein Polyol (z.B. Glycerin, Propylenglycol und flüssiges Polyethylenglycol oder dergleichen), geeignete Gemische davon und pflanzliche Öle enthält. Das erforderliche 65 Fließverhalten kann z.B. aufrechterhalten werden durch Verwendung einer Beschichtung, wie Lecithin, durch das Aufrechter-

halten der erforderlichen Partikelgröße im Falle einer Dispersion und durch die Verwendung von oberflächlich aktiven Mitteln. Die Verhinderung der Einwirkung von Mikroorganismen kann gewährleistet werden durch verschiedene antibakterielle und antifungale Mittel, z.B. Paraben, Chlorbutanol, Phenol, Sorbinsäure, Thimerosal oder dergleichen. In vielen Fällen kann es zu bevorzugt sein, isotonische Mittel, z.B. Zucker oder Natriumchlorid, in die Darreichungsform einzuschliessen. Eine verlängerte Resorption der injizierbaren Formulierungen kann herbeigeführt werden, indem man die Resorption verzögernde Mittel, z.B. Aluminiummonostearat und Gelatine, in diese einverleibt.

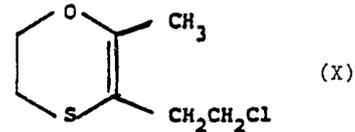
Sterile injizierbare Lösungen werden hergestellt, indem man den Wirkstoff, wie erforderlich im Gemisch mit verschiedenen der anderen oben aufgezählten Bestandteile, in das geeignete Lösungsmittel einarbeitet, gefolgt von Sterilfiltration. Im allgemeinen werden Dispersionen hergestellt, indem man den sterilisierten Wirkstoff in einen sterilen Arzneiträger einarbeitet, der das Dispersionsmedium und allfällige andere erforderliche Bestandteile enthält. Wenn andererseits sterile Pulver verwendet werden, um sterile injizierbare Lösungen herzustellen, wird es bevorzugt, eine sterile, filtrierte Lösung der gewünschten Bestandteile der Vakuumtrocknung oder Gefriertrocknung zu unterwerfen, wobei ein Pulver aus dem Wirkstoff plus allfälligen zusätzlichen gewünschten Bestandteilen erhalten wird.

Der hierin verwendete Ausdruck «pharmazeutisch unbedenkliche, im wesentlichen nicht toxische Träger oder Excipientien» umfasst Lösungsmittel, Dispersionsmedien, Beschichtungen, antibakterielle und antifungale Mittel, isotonische und die Resorption verzögernde Mittel und dergleichen. Die Verwendung derartiger Medien und Mittel als Träger oder Excipientien für pharmazeutische Wirkstoffe ist dem Fachmann wohlbekannt. Sofern irgendein herkömmliches Medium oder Mittel mit dem Wirkstoff nicht unverträglich oder im Gemisch damit nicht toxisch ist, wird seine Verwendung in den erfindungsgemässen Formulierungen in Betracht gezogen. Zusätzliche Wirkstoffe können ebenfalls in die therapeutischen Präparate einverleibt werden.

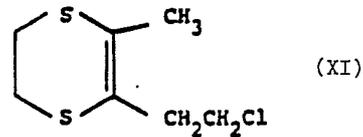
Es kann im Hinblick auf die Leichtigkeit der Verabreichung und die Gleichmässigkeit der Dosierung vorteilhaft sein, die erfindungsgemässen Präparate in Einheitsdosisformen zu formulieren. Eine Einheitsdosisform in dem Sinne, wie dieser Ausdruck hierin verwendet wird, bezieht sich auf eine physikalisch getrennte Einheit, die für die Verwendung als einheitliche Dosierung für die zu behandelnden menschlichen und Säugetierpatienten geeignet ist; jede Einheit enthält eine vorbestimmte Menge Wirkstoff, die so berechnet ist, dass sie die gewünschte therapeutische Wirkung erzeugt, in Kombination mit dem erforderlichen pharmazeutisch unbedenklichen Träger. Vorschriften für Einheitsdosisformen werden auferlegt durch und hängen direkt ab von a) den einzigartigen Eigenschaften des Wirkstoffes und der zu erzielenden speziellen therapeutischen Wirkung und b) den Beschränkungen, die von der Technik des Compoundierens eines solchen Wirkstoffes für die Behandlung von Krankheiten bei Lebewesen, die einen Krankheitszustand zeigen, ohne übermässige phytotoxische Nebenwirkungen unzertrennlich sind.

Die Regression von Leukämie und die Hemmung von Tumorstadium kann z.B. erreicht werden durch Anwendung einer täglichen Verabreichung während bis zu 5 oder 10 Tagen oder länger. Mehrfachdosierung oder Dosierung auf jeder beliebigen gewünschten periodischen Basis kann ebenfalls angewandt werden. Der therapeutisch wirksame Bestandteil wird somit in Mengen verabreicht, die genügen, um die Regression und Hemmung von weiterem Wachstum der Leukämie oder des Tumors in Abwesenheit von übermässigen schädlichen Nebenwirkungen einer cytotoxischen Natur zu unterstützen.

Unter den erfindungsgemässen Verbindungen werden 3-(2-Chlorethyl)-5,6-dihydro-2-methyl-1,4-oxathiin der Formel:



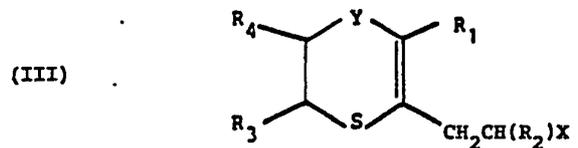
und das analoge 2-(2-Chlorethyl)-3-methyl-5,6-dihydro-1,4-dithiin der Formel:



besonders bevorzugt.

Die Erfindung wird mehr im einzelnen im Zusammenhang mit der Herstellung und dem pharmakologischen Testen der vorhergehenden und anderer bevorzugter Verbindungen beschrieben, die die folgenden chemischen Strukturen haben:

Tabelle I  
Beispiele von erfindungsgemässen Verbindungen



Beispiel	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	Y
1	CH <sub>3</sub>	H	H	H	O
2	CH <sub>3</sub>	H	H	CH <sub>3</sub>	O
3	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	H	H	H	O
4	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	H	H	O
5	CH <sub>3</sub>	H	H	H	S
6	CH <sub>3</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	H	O

Beispiel 1

Herstellung von 3-(2-Chlorethyl)-5,6-dihydro-2-methyl-1,4-oxathiin

2-Acetylbutyrolacton (256 g, 2 Mol) und wasserfreies Natriumacetat (170 g) in Essigsäure (600 ml) wurden gemischt und in einem Eisbad unter Rühren gekühlt. Man liess Chlorgas (144 g) in das Reaktionsgemisch perlen, während man die Reaktionstemperatur unter 35 °C hielt. Nach Beendigung der Reaktion wurde der resultierende Niederschlag entfernt, und Essigsäure wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Öl wurde in Toluol aufgenommen und mit Wasser und wässrigem Natriumbicarbonat gewaschen und vor Entfernung des Lösungsmittels getrocknet. Der Rückstand, 2-Acetyl-2-chlorbutyrolacton vom Siedepunkt 76 bis 78 °C/33 Pa, wurde in 81% Ausbeute isoliert.

Das 2-Acetyl-2-chlorbutyrolacton (234 g, 1,44 Mol) wurde mit Wasser (350 ml) und 12normaler Salzsäure (300 ml) gemischt und destilliert. Als 300 ml Destillat gesammelt worden waren, wurde zusätzliches Wasser (300 ml) zugesetzt und die Wasserdampfdestillation fortgesetzt, bis kein weiteres Produkt mehr erhalten wurde. Das Produkt wurde in Methylenchlorid extrahiert, und der Extrakt wurde getrocknet (Magnesiumsulfat) und das Lösungsmittel entfernt. Destillation des Rückstandes ergab 3,5-Dichlor-2-pentanon (Siedepunkt 70 bis 73 °C/1,6 × 10<sup>3</sup> Pa, 57%).

Ein Gemisch des 3,5-Dichlor-2-pentanons (39 g, 0,24 Mol) mit 2-Mercaptoethanol (20 g, 0,26 Mol) in Toluol (250 ml) wurde gerührt, und Triethylamin (27 g, 0,27 Mol) wurde tropfenweise zugesetzt. Nach Rühren über Nacht bei Umgebungstemperatur

wurde das Gemisch mit verdünnter Salzsäure gewaschen und anschliessend mit p-Toluolsulfonsäure (0,5 g) unter azeotroper Entfernung von Wasser 4 Stunden lang zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde das Reaktionsgemisch mit wässrigem Natriumbicarbonat gewaschen und getrocknet (Magnesiumsulfat), und das Toluol wurde entfernt, wobei das Produkt 3-(2-Chlor-ethyl)-5,6-dihydro-1,4-oxathiin (62 bis 70 °C/3,3 Pa) in 60% Ausbeute und 98% Reinheit (Gaschromatographie) zurückblieb.

N.M.R.-Spektrum (Deuteriochloroform), ppm-Werte: 1,85 (3H, s); 2,3–2,65 (2H, t); 2,9–3,5 (2H, t); 3,95–3,7 (2H, t); 4,1–4,25 (2H, t).

#### Beispiel 2

Herstellung von 2,6-Dimethyl-3-(2-chlorethyl)-5,6-dihydro-1,4-oxathiin

Ein Gemisch aus 0,1 Mol (15,4 g) 3,5-Dichlor-2-pentanon und 0,1 Mol (9,2 g) 1-Mercapto-2-propanol wurde in 100 ml Toluol gerührt; 0,1 Mol (10,4 g) Triethylamin wurde tropfenweise zugesetzt. Das Gemisch wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, dann mit verdünnter Salzsäure gewaschen und mit 0,5 g PTSA unter Verwendung einer Dean-Stark-Falle zur Entfernung von Wasser etwa 7 Stunden lang zum Rückfluss erhitzt. Die PTSA-Lösung wurde mit Natriumbicarbonat gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet, und das Lösungsmittel wurde entfernt. Das Produkt wurde destilliert; Siedepunkt 80 bis 82 °C/13 Pa. Ausbeute 47%.

#### Beispiel 3

Herstellung von 2-Propyl-3-(2-chlorethyl)-5,6-dihydro-1,4-oxathiin

Ein Gemisch aus 0,056 Mol (10 g) 1,2-Dichlor-4-heptanon und 0,06 Mol (5 g) 2-Mercaptoethanol wurde in 200 ml Toluol gerührt; 0,6 Mol (6 g) Triethylamin wurden tropfenweise zugesetzt. Das Gemisch wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, dann mit verdünnter Salzsäure gewaschen und mit 0,5 Mol PTSA unter Verwendung einer Dean-Stark-Falle, um Wasser zu entfernen, 7 Stunden lang zum Rückfluss erhitzt. Die PTSA-Lösung wurde mit 5%igem Natriumbicarbonat gewaschen, getrocknet und filtriert, und das Lösungsmittel wurde entfernt. Das Produkt wurde destilliert; Siedepunkt 80 bis 85 °C/6,7 Pa. Ausbeute 23%.

#### Beispiel 4

Herstellung von 2-Phenyl-3-(2-chlorethyl)-5,6-dihydro-1,4-oxathiin

4-Chlorbutyrophenon (36,4 g, 0,2 Mol) wurde bei Raumtemperatur in 100 ml Methylenchlorid gerührt. Brom (32 g, 0,2 Mol) wurde tropfenweise zugegeben. Nach beendeter Zugabe wurde die Lösung mit wässrigem Natriumbicarbonat gewaschen, mit Magnesiumsulfat getrocknet und filtriert, und das Lösungsmittel wurde entfernt. Der Rückstand wurde in 300 ml Toluol aufgenommen, und 2-Mercaptoethanol (18 g, 0,23 Mol) wurde zugesetzt. Triethylamin (22 ml) wurde langsam zugegeben, und das Gemisch wurde über Nacht bei Umgebungstemperaturen gerührt. Das Gemisch wurde dann mit verdünnter Salzsäure gewaschen und anschliessend mit PTSA (0,5 g) unter azeotroper Entfernung von Wasser 5 Stunden lang zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde das Reaktionsgemisch mit wässrigem Natriumbicarbonat und Wasser gewaschen, getrocknet (Magnesiumsulfat) und filtriert, und das Toluol wurde entfernt. Das Produkt wurde durch präparative Flüssigkeitschromatographie in 17% Ausbeute gereinigt.

N.M.R.-Spektrum (Deuteriochloroform), ppm-Werte: 2,50–2,75 (2H, t); 3,0–3,15 (2H, t); 3,45–3,72 (2H, t); 4,28–4,42 (2H, s); 7,33 (2H, s).

#### Beispiel 5

Herstellung von 2-(2-Chlorethyl)-3-methyl-5,6-dihydro-1,4-dithiin

Ein Gemisch von 0,1 Mol (15,4 g) 3,5-Dichlor-2-pentanon, 0,1 Mol (9,4 g) Ethandithiol und 0,3 Mol PTSA wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Produkt wurde in Toluol aufgenommen, mit 5%igem Natriumbicarbonat und Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und filtriert, und das Lösungsmittel wurde entfernt. Das Produkt wurde destilliert; Siedepunkt 114 bis 116 °C/93 Pa. Ausbeute 32%.

#### Beispiel 6

Herstellung von 3-(2-Chlorbutyl)-5,6-dihydro-2-methyl-1,4-oxathiin

2-Acetyl-4-ethylbutyrolacton wurde aus Ethylacetoacetat und 1,2-Epoxybutan gemäss dem in der US-PS Nr. 2 443 827 von Johnson beschriebenen Verfahren hergestellt. Ein Gemisch von 40 g Natriumhydroxid (1,0 Mol), 270 ml Wasser und 90 ml Ethanol wurde auf 0 °C abgekühlt und gerührt, und 130 g Ethylacetoacetat (1,0 Mol) sowie 72 g 1,2-Epoxybutan (1,0 Mol) wurden zugesetzt. Das Rühren wurde bei 0 °C fortgesetzt, und das Gemisch wurde danach bei 4 °C 48 Stunden lang stehen gelassen. Das Reaktionsgemisch wurde mit 80 ml Essigsäure neutralisiert und mit Toluol extrahiert, und der Extrakt wurde mit Wasser, Natriumbicarbonat und schliesslich mit Wasser gewaschen. Das Gemisch wurde dann getrocknet (Magnesiumsulfat) und filtriert, und das Lösungsmittel wurde entfernt, wobei ein Produkt vom Siedepunkt 86 bis 96 °C/13 Pa in 45% Ausbeute zurückblieb.

70 g des oben hergestellten 2-Acetyl-4-ethylbutyrolactons (0,45 Mol) wurden in 135 ml Essigsäure mit 38 g Natriumacetat gerührt. Unter Rühren in Eis liess man 32 g Cl<sub>2</sub> einperlen. Der Niederschlag wurde abfiltriert, die Essigsäure wurde entfernt, und das Produkt wurde destilliert; Siedepunkt 65 bis 77 °C/6,7 Pa. 2-Acetyl-2-chlor-4-ethylbutyrolacton wurde in 84% Ausbeute erhalten.

72 g des obigen Produktes (0,38 Mol) wurden zu 90 ml Salzsäure und 105 ml Wasser zugesetzt. Das Produkt wurde der Wasserdampfdestillation unterworfen, weitere 100 ml Wasser wurden zugesetzt, und die Destillation wurde fortgesetzt, bis 250 ml gesammelt worden waren. Das Destillat wurde mit Methylenchlorid extrahiert, getrocknet (Magnesiumsulfat) und filtriert, und das Lösungsmittel wurde entfernt. Das Produkt wurde bei etwa 1,3 × 10<sup>3</sup> Pa destilliert; es hatte einen Siedepunkt von 84 bis 97 °C und ergab 26 g (38% Ausbeute) 3,5-Dichlor-2-heptanon.

Ein Gemisch von 26 g (0,14 Mol) 3,5-Dichlor-2-heptanon, 12 g (0,15 Mol) 2-Mercaptoethanol und 15 g (0,15 Mol) Triethylamin in 200 ml Toluol wurde über Nacht bei Umgebungstemperatur gerührt. Das Gemisch wurde dann mit verdünnter Salzsäure gewaschen und anschliessend mit 0,1 g p-Toluolsulfonsäure unter azeotroper Entfernung von Wasser 6 Stunden lang zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde es mit wässrigem Natriumbicarbonat gewaschen und getrocknet (Magnesiumsulfat), und das Lösungsmittel wurde entfernt, wobei das Produkt zurückblieb.

3-(2-Chlorbutyl)-5,6-dihydro-2-methyl-1,4-oxathiin vom Siedepunkt 82 bis 85 °C/6,7 Pa wurde in 35% Ausbeute erhalten. Das N.M.R.-Spektrum des Produktes war zufriedenstellend.

Pharmakologisches Testen von erfindungsgemässen Verbindungen in vivo  
Test mit menschlichem Mammakarzinom-MX-1-Xenotransplantat unter die Nierenkapsel

Proben verschiedener Testverbindungen wurden gemäss dem National Cancer Institute Protocol (Cancer Chemotherapy Reports, Part 3, Band 3, Nr. 2, September 1972) getestet. Jeder Test (NCI 3MBG5) umfasste die Implantation eines Tumorfragmentes (chirurgisches Explantat aus dem Jahre 1974 aus dem primären Mammatumor einer 29 Jahre alten Frau ohne vorhergehende Chemotherapie; Referenz: Tumor-Bank-Information) unter die Membranhülle der Niere von entweder Swiss-Mäusen, deren Thymusdrüse chirurgisch entfernt worden war, oder ungerichtet gezüchteten Mäusen, deren Thymusdrüse chirurgisch entfernt

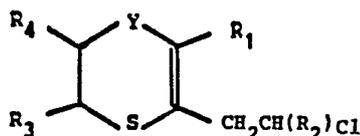
worben war, 6 Tiere pro Testgruppe und 12 pro Vergleichsgruppe, ein Geschlecht pro Experiment. Die männlichen Mäuse wogen mindestens 18 g, und die weiblichen Mäuse wogen mindestens 17 g, und alle Testtiere lagen innerhalb eines Gewichtsbereiches von 4 g. Die Testverbindung wurde durch intraperitoneale Injektion verabreicht, beginnend einen Tag nach der Tumorumplantation, und die Verabreichung wurde jeden vierten Tag bei insgesamt drei Injektionen wiederholt.

Die Testtiere wurden gewogen, und der implantierte Tumor wurde am Tag 0 und am Tag 11 – dem letzten Bewertungstag –

gemessen und der Wert aufgezeichnet. Der gemessene Parameter ist die Änderung des Tumorgewichtes für die behandelten Tiere (T) und die Vergleichstiere (C). Ein Anfangswert von  $T/C < 20\%$  wird als notwendig angesehen, um mässige Aktivität zu beweisen. Ein reproduzierbarer Wert von  $T/C < 10\%$  wird als signifikante Aktivität angesehen.

Die Resultate dieses Tests mit den Verbindungen jedes der obigen Beispiele und mit verschiedenen Vergleichsverbindungen sind in Tabelle II zusammengefasst.

Tabelle II  
Test mit menschlichem Mammakarzinom-MX-1-Xenotransplantat unter die Nierenkapsel  
Testverbindung



Beispiel	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	Y	Dosis (mg/kg)	T/C%	T/C% (Wiederholung)	T/C% (Wiederholung)	T/C% (Wiederholung)	T/C% (Wiederholung)
1	CH <sub>3</sub>	H	H	O	1200	Toxisch	Toxisch	Toxisch			
						600	3	84			
						300	47	59	Toxisch		
						150	35	68	-60(5) <sup>1</sup>		
									4(5) <sup>1</sup>		
Gekühlte Probe <sup>2</sup>						800			129	Toxisch	Toxisch
						600	Toxisch	Toxisch(1) <sup>1</sup>			
						300	-100(4) <sup>1</sup>	Toxisch			
						150	2(5) <sup>1</sup>	-87			
						75	23(2) <sup>1</sup>	-10			
2	CH <sub>3</sub>	H	H	CH <sub>3</sub>	O	1200	Toxisch				
						600	Toxisch				
						300	Toxisch				
						150	-40(4) <sup>1</sup>				
3	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	H	H	H	O	300	Toxisch(2) <sup>1</sup>	Toxisch			
						150	-44(3) <sup>1</sup>	1(1) <sup>1</sup>			
						75	2(1) <sup>1</sup>	2(1) <sup>1</sup>			
						37,5	32				
4	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	H	H	O	400		9(1) <sup>1</sup>			
						300	17	49			
						150	58	50			
						75	50				
						37,5	66				
5	CH <sub>3</sub>	H	H	H	S	1200	Toxisch				
						600	-50(4) <sup>1</sup>				
						300	32				
						150	71				
6	CH <sub>3</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	H	O	400	23	16			
						300	58	18	14		
						150	58	43	38		
						75			74		
						37,5			86		
Vergleich A	CH <sub>3</sub>	H	H	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	O	1200	Toxisch				
						600	Toxisch			Toxisch	
						300	51	79			

Beispiel	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	Y	Dosis (mg/kg)	T/C%	T/C% (Wiederholung)	T/C% (Wiederholung)	T/C% (Wiederholung)	T/C% (Wiederholung)
						150	62	81			
						75	89				
						37,5	98				
Vergleich B	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	O	600	Toxisch				
						300	Toxisch				
						150	Toxisch				
						75	101				
Vergleich C	CH <sub>3</sub>	H	H/CH <sub>3</sub>	H/CH <sub>3</sub>	S	300	68				
						150	76				
						75	93				
						37,5	113				
Vergleich D	CH <sub>3</sub>	H	H/C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> /H	O	300	106				
						150	73				
						75	99				
						37,5	92				

<sup>1</sup> Geheilte Tiere in Klammern angegeben.

<sup>2</sup> Eine zweite reinere, gekühlte Probe wurde getestet.

Aus den in Tabelle II erscheinenden Daten ist ersichtlich, dass die Verbindungen jedes der Beispiele 1 bis 4 bei der einen oder anderen Dosis eine signifikante Aktivität zeigten.

Die bevorzugte Verbindung von Beispiel 1 wurde einer Anzahl weiterer in vivo-Tests unterworfen. Die Resultate sind in Tabelle III zusammengefasst und im einzelnen in der obigen Tabelle II sowie in den Tabellen IV bis VII dargelegt:

Tabelle III  
Zusammenfassung der Tumortestresultate

Testsystem	Status	Resultate angegeben in
3MBG5 (Mamma-Xenotransplantat)	Aktiv (DN2-Niveau)	Tabelle II
3PS31 (P388-Lymphozytenleukämie)	Aktiv	Tabelle IV
2LE31 (L-1210-Lymphoidzellenleukämie)	Aktiv	Tabelle V
3B131 (B16-Melanom)	Aktiv (DN2-Niveau)	Tabelle VI
3M531 (M5076-Sarkom)	Aktiv	Tabelle VII
3C872 (Colon 38)	Inaktiv (1 Test)*	
3LE32 (L-1210-Lymphoidzellenleukämie)	Inaktiv (1 Test)*	
3CDJ2 (Mamma-Tumor)	Inaktiv (1 Tst)*	

\*Resultate bisher nicht beweiskräftig

Regression von intraperitoneal implantierter Lymphozytenleukämie P388

Die Verbindung von Beispiel 1 wurde mittels des Standard National Cancer Institute Lymphocytic Leukemia P388 Primary Screen (NCI Protocol 1.200, Cancer Chemotherapy Reports, Part 3, Band 3, Nr. 2, September 1972) getestet. Jeder Test (NCI 3PS 31) umfasste die Implantation der Leukämiezellen (American Journal of Pathology 33, Nr. 3, Seite 603, 1957) in sechs DBA/2-Mäuse, ein Geschlecht pro Experiment, wobei die männlichen Mäuse mindestens 18 g wogen und die weiblichen Mäuse minde-

25

stens 17 g wogen und alle Testtiere innerhalb eines Gewichtsbereiches von 3 g lagen. Die Testverbindung wurde durch intraperitoneale Injektionen in 0,1 ml-Dosen von verdünnter Aszites-Flüssigkeit (10<sup>6</sup> Zellen pro Dosis) verabreicht, beginnend einen Tag nach der Tumorumplantation und täglich 9 Tage lang fortgesetzt.

30

Die Testtiere wurden gewogen und die überlebenden Tiere auf einer regelmässigen Basis während eines Testzeitraums von 30 Tagen aufgezeichnet. Das Verhältnis der Überlebenszeit für die behandelten Tiere (T) und die Vergleichstiere (C) wurden bei verschiedenen Dosierungen bestimmt. Die Experimente wurden wiederholt, um die Reproduzierbarkeit zu beurteilen. Die Resultate sind in Tabelle IV zusammengefasst.

35

Tabelle IV  
Lymphozytenleukämie-P388-Test

Dosis (mg/kg)	T/C%	T/C% (Wiederholung)
400	—	117
200	138	130
100	107	114
50	88	107

40

In diesem Protokoll wird ein anfänglicher Wert von T/C, der gleich oder grösser als 125% ist, als erforderlich angesehen, um Aktivität zu beweisen, ein reproduzierbaren Wert von T/C, der gleich oder grösser als 125% ist, als weiterer Untersuchungswert angesehen und ein reproduzierbarer Wert von T/C, der gleich oder grösser als 175% ist, als signifikant angesehen. Aus den Daten, die in Tabelle IV gezeigt werden, ist ersichtlich, dass die Verbindung von Beispiel 1, wenn sie in einer Dosierung von 200 mg/kg verwendet wird, eine Aktivität zeigte, die weiterer Untersuchung wert war.

55

Regression von intraperitoneal implantierter Lymphoidzellenleukämie L1210

60

Proben der Testverbindung von Beispiel 1 wurden gemäss einem weiteren National Cancer Institute Protocol (NCI Protocol 1.100, Cancer Chemotherapy Reports, Part 3, Band 3, Nr. 2, September 1972) getestet, um die Wirkungen der Verbindung auf intraperitoneal implantierte L1210-Leukämie zu bestimmen (J. Nat'l. Cancer Inst. 13(5), 1328, 1953). Das Testprotokoll (NCI

65

3LE 31) war ähnlich wie das obige Protocol 1.200 mit der Ausnahme, dass  $10^5$  L1210-Leukämiezellen in die Testtiere implantiert wurden. Die Testverbindung wurde täglich während eines Zeitraums von 9 Tagen verabreicht. Die Tests wurden bei verschiedenen Dosierungen und mit verschiedenen Anzahlen von Wiederholungen ausgeführt. Es ist statistisch bestimmt worden, dass in diesem Test ein anfänglicher T/C-Wert, der mindestens gleich

125% ist, erforderlich ist, um Aktivität zu beweisen, während ein reproduzierbarer Wert von T/C, der gleich oder grösser als 125% ist, weitere Untersuchung rechtfertigt. Ein reproduzierbarer Wert von T/C von 150% oder mehr wird in diesem Test als signifikante 5 Aktivität angesehen.

Die Resultate sind in Tabelle V zusammengefasst:

Tabelle V  
Test mit intraperitoneal implantierter Lymphoidzellenleukämie L1210

Dosis (mg/kg)	T/C%	T/C% (Wiederholung)	T/C% (Wiederholung)	T/C% (Wiederholung)
800	147	Toxisch	155	151
400	Keine Todesfälle aufgezeichnet	162	130	133
200	114	120	113	127
100	107	106	111	111
50	111			102

Wie aus Tabelle V ersichtlich ist, zeigte die Verbindung von Beispiel 1 in dem Test mit intraperitoneal implantierter Lymphoidzellenleukämie bei Dosierungen von sowohl 800 mg/kg als auch 400 mg/kg eine signifikante Aktivität (reproduzierbarer Wert von T/C von 150% oder mehr).

#### Intraperitoneal implantiertes B16-Melanom

Die Verbindung von Beispiel 1 wurde ferner gegen ein intraperitoneal implantiertes B16-Melanom (Handbook on Genetically Standardized Jax Mice. Roscoe B. Jackson Memorial Laboratory, Bar Harbor, Maine, 1962. Siehe auch Ann. NY Acad. Sci., Band 100, Teile 1 und 2 [Conference on the Biology of Normal and Typical Pigment Cell Growth of 1961], 1963.) gemäss dem National Cancer Institute melanotic Melanoma B16 Protocol 1.300 (Cancer Chemotherapy Reports, Part 3, Band 3, Nr. 2, September 1972.) [NCI 3B131] getestet. Ein Tumorbrei 1:10 wurde intraperitoneal in B6C3F1-Mäuse implantiert, wobei Testgruppen verwendet wurden, die den oben im Zusammenhang mit dem NCI Protocol 1.200 beschriebenen Kriterien genügen mit der Ausnahme, dass 10 Tiere pro Testgruppe verwendet wurden. Die Testverbindung wurde bei verschiedenen Dosen intraperitoneal verabreicht. Die Tiere wurden gewogen und die überlebenden Tiere auf einer regelmässigen Basis 60 Tage lang aufgezeichnet. Dann wurden die T/C-Werte berechnet, wobei die erhaltenen Resultate in Tabelle VI wiedergegeben sind.

Tabelle VI  
Melanom-B16-Test

Dosis (mg/kg)	T/C%	T/C% (Wiederholung)	T/C% (Wiederholung)
800	150	Toxisch	Toxisch
400	155	176	120
200	137	140	157
100	129	115	134
50	124		106
25			111

35 In dem obigen Test wird ein T/C-Wert von über 125% als notwendig angesehen, um mässige Aktivität zu beweisen, und ein reproduzierbarer T/C-Wert, der gleich oder grösser als 150% ist, wird als signifikante Aktivität angesehen. Aus den in der obigen Tabelle VI angegebenen Daten ist ersichtlich, dass die Verbindung 40 von Beispiel 1 in dem Melanom-B16-Test bei so niedrigen Dosierungen wie 200 mg/kg eine signifikante Aktivität aufwies.

#### Intraperitoneal implantiertes M5076-Aszites-Sarkom

Die Verbindung von Beispiel 1 wurde zusätzlich gegen ein 45 intraperitoneal implantiertes M5076-Sarkom gemäss dem National Cancer Institute 3M531 Protocol getestet.

$1 \times 10^6$  Zellen von Aszites-Flüssigkeit wurden in die Testmäuse implantiert, wobei die Testverbindung, beginnend einen Tag nach der Implantation und danach an jedem vierten Tag bei 50 insgesamt vier Injektionen, verabreicht wurde. Die mittleren Überlebenszeiten als Prozentsätze der Vergleichsüberlebenszeit waren folgendermassen:

Tabelle VII  
M5076-Sarkom-Test

Dosis mg/kg	T/C	T/C (Wiederholung)	T/C (Wiederholung)	T/C (Wiederholung)
800	–	129	Toxisch	Toxisch
400	98	117	Toxisch	144
200	98	102	118	120
100	100	109	96	128
50	98	98	100	110
25	111	–	–	–
Arzneiträger <sup>1</sup>	99			

<sup>1</sup> Arzneiträger: 5% EtOH, 5% Cremophor, Kochsalzlösung

Die erfindungsgemässe Verbindung von Beispiel 1 wurde auch gemäss den folgenden National Cancer Institute-Testprotokollen in weiteren in vivo-Tests verwendet:

Protokoll	Test
3C872	Subkutan implantiertes Colon-38-Karzinom
3LE32	Subkutan implantiertes L1210-Leukämie
3CDJ2	Subkutan implantiertes, in pathologische Stadien eingeteiltes Mamma-Adenokarzinom CD8F1

Die folgenden Resultate wurden erhalten:

Tabelle VIII		
Protokoll	Dosis	T/C%
3C872 <sup>1</sup>	600	50
	300	46
	150	118
	75	109
	37,5	92
3LE32 <sup>2</sup>	800	Toxisch
	400	108
	200	104
	100	109
	50	94
3CDJ2 <sup>3</sup>	1000	22
	500	128
	250	81
	125	114
	62,5	101
	31,25	104

<sup>1</sup> In diesem Test wird ein Anfangs-T/C  $\geq 42$  als notwendig angesehen, um mässige Aktivität zu beweisen.

<sup>2</sup> Es gibt zurzeit keine spezifischen Normen für dieses Protokoll. Die Aktivität wird gemäss dem Protokoll 3LE31 gemessen, bei dem ein Anfangs-T/C  $\geq 125$  mässige Aktivität anzeigt.

<sup>3</sup> In diesem Test beweist eine mittlere Änderung des Tumorgewichts von  $\leq 20$  Aktivität.

<sup>40</sup> Die Verbindung von Beispiel 1 zeigt in den Suchtests 3C872, 3LE32 oder 3CDJ2 keine Aktivität.

<sup>45</sup> Die vorliegende Erfindung stellt eine neue Klasse von 3-(2-Halogenalkyl)-1,4-oxathiin- und 2-(2-Halogenalkyl)-1,4-dithiinderivaten zur Verfügung, die pharmakologische Aktivität bei der Regression und/oder Hemmung des Wachstums von Leukämie und einer Anzahl bösartiger Tumoren bei Menschen und Säugtieren zeigt.