



[B] (11) **KUULUTUSJULKAISU** 69058  
**UTLÄGGNINGSSKRIFT**

C (45) Patenttihallitus 10.12.1985  
Patent meddelat

(51) Kv.lk.4/Int.Cl.4 C 07 C 127/15

**SUOMI—FINLAND**

**(FI)**

**Patentti- ja rekisterihallitus**  
**Patent- och registerstyrelsen**

(21) Patentihakemus — Patentansökning 782238  
(22) Hakemispäivä — Ansökningsdag 13.07.78  
(23) Alkuperä — Giltighetsdag 13.07.78  
(41) Tullut julkiseksi — Blivit offentlig 30.06.79  
(44) Nähtäväksipanon ja kuul.julkaisun pvm. —  
Ansökan utlagd och utl.skriften publicerad 30.08.85

(32)(33)(31) Pyydetty etuoikeus — Begärd prioritet 29.12.77  
Unkari-Ungern(HU) G0-1386

(71) Richter Gedeon Vegyészeti Gyar R.T., Gyömrői ut. 19-21, Budapest X,  
Unkari-Ungern(HU)

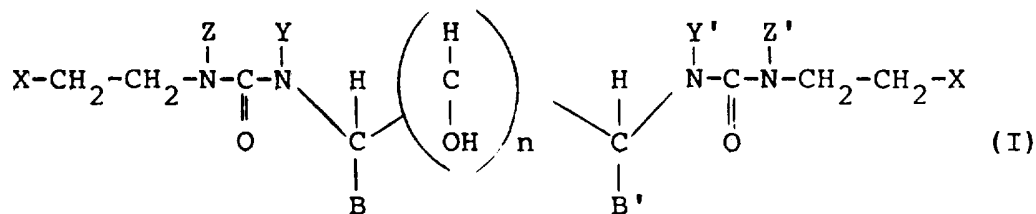
(72) Tibor Horvath, Budapest, Endre Csányi, Budapest,  
Sándor Eckhardt, Budapest, Emilia Király née Vida, Budapest,  
Unkari-Ungern(HU)

(74) Oy Kolster Ab

(54) Menetelmä terapeuttisesti käyttökelpoisten bis(nitrosoureido)polyoli-  
johdannaisten valmistamiseksi - Förfarande för framställning av tera-  
peutiskt användbara bis(nitrosoureido)polyolderivat

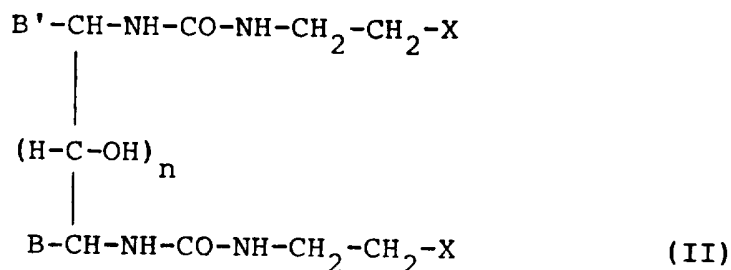
Keksintö koskee menetelmää uusien bis(nitrosoureido)polyoli-  
johdannaisten valmistamiseksi, joilla on kasvaintenvastaista aktii-  
visuutta.

Keksinnön mukaisten yhdisteiden yleinen kaava I on



jossa  $n = 2, 3$  tai  $4$ , B ja B' ovat vetyjä tai, kun  $n = 3$ , mahdolli-  
sesti muodostuvat yhdessä  $-\text{CH}_2-$  tai  $-\text{CH}(\text{OH})-$ ryhmän, X on kloori  
tai bromi, ja Y, Y', Z ja Z' tarkoittavat vetyä tai NO-ryhmää, jol-  
loin Y ja Z ovat erilaisia ja Y' ja Z' ovat erilaisia.

Keksinnön mukaiselle menetelmälle on tunnusomaista, että diureidijohdannainen, jonka yleinen kaava on



jossa B, B', n ja X merkitsevät samaa kuin edellä, tai sen ketaali, N-nitrosoidaan, jolloin kun nitrosoidaan O-ketaali, ketaaliryhmä poistetaan.

Jos yleisen kaavan II mukainen yhdiste on O-asetaalijohdannainen, se on tarkoituksenmukaisesti isopropylideeni- tai bentsyliideenijohdannainen.

Yleisen kaavan II mukaiset lähtöaineet ovat uusia. Niiden valmistus voi tapahtua sinänsä tunnetulla tavalla (T.P. Johnston et al, J. Med. Chem., 6, 669 (1963)) saattamalla yleisen kaavan III mukainen yhdiste



jossa B, B' ja n merkitsevät samaa kuin edellä, reagoimaan 2-halogeenietyyli-isosyanaatin tai 3-(2-halogeenietyyli)-1-metyyli-1-nitroso-virtsaa-aineen kanssa, tai saattamalla yleisen kaavan IV mukainen di-isosyanaattijohdannainen



jossa B, B' ja n merkitsevät samaa kuin edellä, reagoimaan, 2-halogenietyyliamiinin tai etyleeni-imiinin kanssa - jälkimmäisessä tapauksessa käsitellään lisäksi halogeenihapolla.

Keksinnön mukaisesti yleisen kaavan II mukainen yhdiste voidaan nitrosoida tunnetulla menetelmällä (E.H.White, J.Am. Chem. Soc. 77, 6008 (1966); T.P. Johnston et al, J.Med. Chem. 9, 892 (1966)) epäorgaanisen tai orgaanisen hapon läsnäollessa alkalinitriitillä  $N_2O_3$ :lla,  $N_2O_4$ :llä tai nitrosyylikloridilla. On edullista käyttää reaktiossa vedettämiä orgaanisia happoja, esimerkiksi trifluorietikkahappoa, muurahaishappoa tai etikkahappoa. Raaka N-nitrosojohdannainen puhdistetaan kiteyttämällä ja/tai kromatografian avulla.

Yleisen kaavan I mukaisilla yhdisteillä on edullisempia sytostaattisia ja myrkyllisyysomaisuuksia kuin tämän yhdistetyypin ennestään tunnetut edustajat - esim. 1,3-bis-(2-kloorietyyli)-1-nitrovirtsa-aine (BCNU) - (T.P. Johnston et al, J.Med. Chem., 6, 669 (1963); 9, 892 (1966); V. DeVita et al, Cancer Res., 31 223 (1971)).

Keksinnön mukaisten yhdisteiden biologinen vaikutus eräisiin kokeellisesti aiheutettuihin eläintuumoreihin osoitetaan seuraavien yhdisteiden avulla:

1. 1,4-bis-(3-(2-kloorietyyli)-N-nitrosoureido)-1,4-dideoksi-D,L-treitol,li,
2. 1,6-bis(3-2-kloorietyyli)-N-nitrosoureido)-1,6-dideoksi-D-mannitol,li,
3. 1,3-bis(3-(2-kloorietyyli)-3-nitrosoureido)-1,2,3-trideoksiskylloinositol,li,
4. 1-(2-kloorietyyli)-3-nitrosoureido)-4-(3-(2-kloorietyyli)-1-nitrosoureido)-1,4-dideoksi-D,L-treitol,li,
5. 1,4-bis(3-(2-kloorietyyli)-3-nitrosoureido)-1,4-dideoksi-D,L-treitol,li,
6. BCNU (1,3-bis(2-kloorietyyli)-1-nitrosovirtsa-aine; vertailuaineena).

#### I. Akuutti myrkyllisyys

Eläinkanta: BDF<sub>1</sub>-hiiri, molempia sukupuolia.

Käsittely: Tilavuusmäärä 0,2 millilitraa 10 grammaa kohti ruumiinpainoa tutkittavan aineen suspensiota 2-%:ssa Tween-80-liuoksessa.

Eläinten lukumäärä: 10/annos,  
 Annosten lukumäärä: 6  
 Havaitsemisaika: 21 vuorokautta.

Taulukko 1

| Yhdisteen no | LD <sub>50</sub> -arvot | mg/kg |
|--------------|-------------------------|-------|
|              | i.p.                    | p.o.  |
| 1            | 80                      | 135   |
| 2            | 110                     | 250   |
| 3            | 40                      | 100   |
| 4            | 80                      | 130   |
| 5            | 40                      | 75    |
| 6            | 36                      | 40    |

## II. Tuumoria estävän vaikutuksen tutkiminen

Tuumorin muodostaminen (transplantaatio):

Leukemia- ja askiites-tuumorin tapauksessa suoritettiin transplantaatio  $10^5$ - $10^7$  solulla i.p., ja kiinteiden tuumorien tapauksessa toteutettiin siirto - trokeen avulla - subkutaanisesti tuumori-osalilla.

Käsittely: hiirille annosteltiin 0,1 millilitran tilavuusmäärä 10 grammaa kohti ruumiinpainoa 2-prosenttista Tween-80-suspensiota tutkittavaa ainetta, rottia käsiteltiin 0,1 millilitralla 100 grammaa kohti ruumiinpainoa koeaineen 5-prosenttista Tween-80-suspensiota.

Eläinten paino alussa: hiiret: 20-23 g  
 rotat: 140-160 g

Arviointi: askiites- ja leukemiatyyppisten tuumoorien (poisluettuna Rauscher-leukemia) arviointi tapahtui eliniän pidentymisen ja tervehtymisen perusteella

Eliniän pidennys =  $\frac{\text{Käsiteltyjen eläinten elinikä} \times 100}{\text{Käsittelemättömien vertailueläinten elinikä}} - 100$

Tervehtyminen = 90 vuorokautta tuumorivapaata elämistä siirron jälkeen. Kiinteillä tuumoreilla suoritetuissa kokeissa (Harding- assey

melanooma, S-180 ja Yoshida-Sarcoma) mitattiin poistettujen tuumorien paino ja esto määrättiin seuraavan kaavan avulla:

$$\text{Esto} = 100 - \frac{\text{Käsiteltyjen tuumorien paino} \times 100}{\text{vertailutuumoripaino}}$$

Vastaavasti meneteltiin Rauscher-leukemiassa: tällöin punnittiin tuumoria vastaava perna ja esto laskettiin edellä olevan kaavan avulla.

69058

Taulukko 2

| Tuumori                                                   | Yhdiste<br>no. | mg/kg annos<br>2. vuoro-<br>kaudesta läh-<br>tien | Elinajan<br>pidennys<br>% | Tervehtyminen<br>(90 vuorokau-<br>den elinaika) | TI= $\frac{LD_{50}}{ED_{50}}$ |      |
|-----------------------------------------------------------|----------------|---------------------------------------------------|---------------------------|-------------------------------------------------|-------------------------------|------|
| L-120<br>Leukemia<br>(kanta: BDF <sub>1</sub> -<br>hiiri) | 1.             | 7,5                                               | 1x ip.                    | 45                                              | 2/8                           | 4,9  |
|                                                           |                | 15,0                                              | 1x ip.                    | 29                                              | 3/8                           |      |
|                                                           |                | 30,0                                              | 1x ip.                    | 230                                             | 7/8                           |      |
|                                                           |                | 12,5                                              | 1x po.                    | 23                                              | 1/8                           | 3,19 |
|                                                           |                | 25,0                                              | 1x po.                    | 111                                             | 3/8                           |      |
|                                                           |                | 50,0                                              | 1x po.                    | 84                                              | 4/8                           |      |
|                                                           |                | 12,5                                              | 2x po.                    | 12                                              | 1/8                           | 3,7  |
|                                                           |                | 25,0                                              | 2x po.                    | 46                                              | 5/8                           |      |
|                                                           |                | 50,0                                              | 2x po.                    | -                                               | 7/8                           |      |
|                                                           |                | 12,5                                              | 3x po.                    | 30                                              | 3/8                           | 3,21 |
|                                                           |                | 25,0                                              | 3x po.                    | 58                                              | 6/8                           |      |
|                                                           | 2.             | 1,0                                               | 4x ip.                    | 58                                              | 0/10                          |      |
|                                                           |                | 3,0                                               | 4x ip.                    | 158                                             | 3/10                          |      |
|                                                           |                | 10,0                                              | 4x ip.                    | 140                                             | 8/10                          |      |
|                                                           | 3.             | 15,0                                              | 1x ip.                    | 180                                             | 5/8                           |      |
|                                                           |                | 10,0                                              | 4x po.                    | 61                                              | 1/7                           |      |
|                                                           | 6.             | 3,0                                               | 4x ip.                    | 40                                              | 0/8                           | 1,4  |
|                                                           |                | 10,0                                              | 4x ip.                    | 405                                             | 6/7                           |      |
|                                                           |                | 24,0                                              | 1x po.                    | 48                                              | 0/8                           | < 1  |
|                                                           |                | 10,0                                              | 4x po.                    | 106                                             | 1/8                           |      |
| P-388<br>Leukemia<br>(kanta: BDF <sub>1</sub> -<br>hiiri) | 1.             | 12,0                                              | 4x ip.                    | 161                                             | 7/8                           | 2,6  |
|                                                           |                | 5,0                                               | 4x ip.                    | 150                                             | 0/8                           |      |
|                                                           |                | 7,5                                               | 4x ip.                    | 240                                             | 4/8                           |      |
|                                                           |                | 15,0                                              | 4x ip.                    | -                                               | 7/8                           |      |
|                                                           |                | 10,0                                              | 4x po.                    | 77                                              | 0/8                           | 1,6  |
|                                                           |                | 15,0                                              | 4x po.                    | 120                                             | 2/8                           |      |
|                                                           |                | 20,0                                              | 4x po.                    | 141                                             | 4/8                           |      |
|                                                           | 2.             | 10,0                                              | 4x ip.                    | 131                                             | 0/8                           | 1,35 |
|                                                           | 3.             | 3,0                                               | 4x ip.                    | 101                                             | 0/8                           |      |
|                                                           | 6.             | 3,0                                               | 4x ip.                    | 51                                              | 0/8                           |      |
|                                                           |                | 4,0                                               | 4x ip.                    | 63                                              | 0/8                           |      |
|                                                           |                | 8,0                                               | 4x ip.                    | 100                                             | 5/8                           |      |
|                                                           |                | 16,0                                              | 4x ip.                    | myrkyllinen                                     | 0/8                           |      |
|                                                           |                | 4,0                                               | 4x po.                    | 52                                              | 0/8                           |      |
|                                                           |                | 8,0                                               | 4x po.                    | 219                                             | 2/8                           |      |
|                                                           |                | 16,0                                              | 4x po.                    | 137                                             | 4/7                           |      |

ED<sub>50</sub> = annos, jolla 50 % käsittelyistä eläimistä paranee jokseenkin täydellisesti.

Taulukko 2 (jatkoa)

| Tuumori                                                  | Yhdiste<br>no. | mg/kg annos<br>2. vuoro-<br>kaudesta läh-<br>tien | Elinajan<br>pidennys<br>% | Tervehtyminen<br>(90 vuorokau-<br>den elinaika) | $TI = \frac{LD_{50}}{ED_{50}}$ |
|----------------------------------------------------------|----------------|---------------------------------------------------|---------------------------|-------------------------------------------------|--------------------------------|
| NK/Ly-askii-<br>teslymfooma<br>(kanta: CFLP-<br>hiiri)   | 1.             | 1,5 4x ip.                                        | -                         | 6/8                                             | 11,7                           |
|                                                          |                | 3,0 4x ip.                                        | -                         | 8/8                                             |                                |
|                                                          |                | 30,0 4x po.                                       | 89                        | 1/7                                             |                                |
|                                                          | 2.             | 0,3 4x ip.                                        | -                         | 6/7                                             | 10                             |
|                                                          | 3.             | 0,1 4x ip.                                        | -                         | 7/7                                             |                                |
|                                                          |                | 10,0 4x po.                                       | 61                        | 1/7                                             |                                |
|                                                          | 6.             | 0,3 4x ip.                                        | -                         | 0/7                                             |                                |
|                                                          |                | 1,0 4x ip.                                        | -                         | 5/7                                             |                                |
|                                                          |                | 3,0 4x ip.                                        | -                         | 7/7                                             |                                |
| Erich-askii-<br>teskarsinooma<br>(kanta: CFLP-<br>hiiri) | 1.             | 0,75 4x ip.                                       | 80                        | 1/8                                             | 6,6                            |
|                                                          |                | 1,5 4x ip.                                        | 178                       | 5/8                                             |                                |
|                                                          |                | 6,0 4x ip.                                        | 185                       | 6/8                                             |                                |
|                                                          |                | 12,0 4x ip.                                       | 95                        | 5/7                                             |                                |
|                                                          |                | 10,0 4x po.                                       | 57,2                      | 3/7                                             |                                |
|                                                          | 2.             | 1,0 5x ip.                                        | 96                        | 4/7                                             | -                              |
|                                                          | 3.             | 1,0 5x ip.                                        | 46                        | 2/7                                             |                                |
|                                                          | 6.             | 3,0 5x ip.                                        | 60                        | 1/6                                             |                                |
|                                                          |                | 10,0 5x po.                                       | 83                        | 0/7                                             |                                |
|                                                          |                | 20,0 4x po.                                       | 52,9                      | 0/8                                             |                                |

69058

Taulukko 3

| Tuumori                                                                                               | Yhdiste<br>no. | Annos mg/kg<br>2. vuorokau-<br>desta lähtien |        | Esto % | $TI = \frac{LD_{50}}{ED_{50}}$ | Eläinten<br>luku/annos |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|----------------------------------------------|--------|--------|--------------------------------|------------------------|
| Rausher-<br>leukemia<br><br>(kanta:<br>CFLP-hiiri)                                                    | 1.             | 1,0                                          | 4x ip. | 57     | 20                             | 10                     |
|                                                                                                       |                | 3,0                                          | 4x ip. | 68     |                                | "                      |
|                                                                                                       |                | 10,0                                         | 4x ip. | 100    |                                | "                      |
|                                                                                                       |                | 1,0                                          | 4x po. | 10     | 17                             | "                      |
|                                                                                                       |                | 3,0                                          | 4x po. | 73     |                                | "                      |
|                                                                                                       |                | 10,0                                         | 4x po. | 100    |                                | "                      |
|                                                                                                       |                | 10,0                                         | 6x ip. | 78     |                                | "                      |
|                                                                                                       | 2.             | 10,0                                         | 4x ip. | 86     |                                | "                      |
|                                                                                                       | 3.             | 10,0                                         | 6x ip. | 100    |                                | "                      |
|                                                                                                       | 4.             | 10,0                                         | 4x ip. | 100    |                                | "                      |
|                                                                                                       |                | 10,0                                         | 4x po. | 100    |                                | "                      |
|                                                                                                       | 5.             | 3,0                                          | 4x ip. | 75     |                                | "                      |
|                                                                                                       |                | 10,0                                         | 4x po. | 100    |                                | "                      |
|                                                                                                       | 6.             | 1,5                                          | 4x ip. | 35     | 2,0                            | "                      |
|                                                                                                       |                | 3,0                                          | 4x ip. | 60     |                                | "                      |
|                                                                                                       |                | 6,0                                          | 4x ip. | 90     |                                | "                      |
|                                                                                                       |                | 1,5                                          | 4x ip. | 35     | 1,58                           | "                      |
|                                                                                                       |                | 3,0                                          | 4x po. | 45     |                                | "                      |
|                                                                                                       |                | 6,0                                          | 4x po. | 50     |                                | "                      |
|                                                                                                       |                | 12,0                                         | 4x po. | 91     |                                | "                      |
|                                                                                                       |                | 10,0                                         | 6x ip. | 97     |                                | "                      |
| Harding-<br>Passey-<br>melanooma<br><br>kanta:<br>CFLP hiiri<br><br>käsittely<br>transp.<br>4.päivänä | 1.             | 24,0                                         | 1x ip. | 81     |                                | "                      |
|                                                                                                       |                | 10,0                                         | 5x po. | 96     |                                | "                      |
|                                                                                                       | 2.             | 10,0                                         | 9x ip. | 42     |                                | "                      |
|                                                                                                       |                | 10,0                                         | 9x po. | 59     |                                | "                      |
|                                                                                                       | 3.             | 3,0                                          | 9x ip. | 54     |                                | "                      |
|                                                                                                       |                | 10,0                                         | 9x po. | 38     |                                | "                      |
|                                                                                                       | 6.             | 3,0                                          | 9x ip. | 64     |                                | "                      |
|                                                                                                       |                | 3,0                                          | 9x po. | 71     |                                | "                      |

69058

Taulukko 3 (jaktoa

| Tuumori                                                   | Yhdiste<br>no. | Annos mg/kg<br>2. vuorokau-<br>desta lähtien |         | Esto % | $TI = \frac{LD_{50}}{ED_{50}}$ | Eläinten<br>luku/annos |
|-----------------------------------------------------------|----------------|----------------------------------------------|---------|--------|--------------------------------|------------------------|
| S-180 s.c.<br>sarkooma<br><br>(kanta:<br>CELP-hiiri)      | 1.             | 3,0                                          | 4x ip.  | 10     | 3,1                            | 8                      |
|                                                           |                | 5,0                                          | 4x ip.  | 35     |                                | "                      |
|                                                           |                | 10,0                                         | 4x ip.  | 80     |                                | "                      |
|                                                           |                | 15,0                                         | 1x po.  | 44     | 5,4                            | "                      |
|                                                           |                | 30,0                                         | 1x po.  | 62     |                                | "                      |
|                                                           |                | 3,0                                          | 2x ip.  | 43     |                                | "                      |
|                                                           |                | 12,0                                         | 4x ip.  | 80     |                                | "                      |
|                                                           |                | 10,0                                         | 4x po.  | 42     |                                | "                      |
|                                                           | 2.             | 10,0                                         | 5x ip.  | 56     | 1,7                            | "                      |
|                                                           |                | 30,0                                         | 5x po.  | 51     |                                | "                      |
|                                                           | 6.             | 3,0                                          | 5x ip.  | 42     |                                | "                      |
|                                                           |                | 10,0                                         | 5x ip.  | 65     |                                | "                      |
|                                                           |                | 10,0                                         | 4x po.  | 37     |                                | "                      |
|                                                           |                | 15,0                                         | 15x po. | 80     |                                | "                      |
|                                                           |                | 10,0                                         | 5x po.  | 32     |                                | "                      |
| Yoshida s.c.<br>sarkooma<br><br><br>(kanta:<br>CFY-rotta) | 1.             | 24,0                                         | 1x ip.  | 76     | 11,25                          | 7                      |
|                                                           |                | 12,0                                         | 1x ip.  | 99     |                                | "                      |
|                                                           |                | 1,0                                          | 4x po.  | 10,0   |                                | "                      |
|                                                           |                | 3,0                                          | 4x po.  | 50,0   |                                | "                      |
|                                                           |                | 10,0                                         | 4x po.  | 73,0   |                                | "                      |
|                                                           | 2.             | 10,0                                         | 4x ip.  | 84     | 3,16                           | "                      |
|                                                           |                | 30,0                                         | 4x ip.  | 75     |                                | "                      |
|                                                           | 3.             | 10,0                                         | 4x ip.  | 86     |                                | "                      |
|                                                           |                | 10,0                                         | 4x ip.  | 82     |                                | "                      |
|                                                           | 4.             | 3,0                                          | 4x po.  | 50     |                                | "                      |
|                                                           |                | 10,0                                         | 2x po.  | 99     |                                | "                      |
|                                                           | 5.             | 3,0                                          | 4x po.  | 62     |                                | "                      |
|                                                           |                | 10,0                                         | 4x ip.  | 95,0   |                                | "                      |
|                                                           | 6.             | 1,0                                          | 4x ip.  | 38,0   |                                | "                      |
|                                                           |                | 3,0                                          | 4x ip.  | 45,0   |                                | "                      |
|                                                           |                | 10,0                                         | 4x ip.  | 100,0  |                                | "                      |

Taulukko 4

| Tuumori                 | Yhdiste<br>no. | Annos mg/kg<br>4 vuorokau-<br>tena | Tervehtyminen<br>(90 vuorokaut-<br>ta elinikää)                                                               |
|-------------------------|----------------|------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Hyvin kehittynyt<br>s.c | 1.             | 50 1x ip.                          | 5/7 Huom. kehittynee-                                                                                         |
| sarkooma                | 2.             | 30 1x ip.                          | 4/7 seen tuumoriin voi-                                                                                       |
|                         | 6.             | 30 1x ip.                          | 0/7 daan vaikuttaa erit-<br>tään vaikeasti kä-<br>sittelemättömät<br>eläimet kuolevat<br>7-10 päivän kuluessa |

### III Vaikutuksen laadun ja keston tutkimus

Ehrlich-askiites-karsinoomasta kärsiviä hiiriä käsiteltiin yhtä myrkyllisillä annoksilla yhdisteitä 1, 2 ja 6 kerran kuudentena vuorokautena i.p. transplantaation jälkeen. Vaikutuksen kesto tutkittiin määrittämällä askiites-solujen kokonaismäärä ja vaikutustapa määrittämällä mitoosi-indeksi ja tymidiini-indeksi<sup>++</sup> (mitoosi-indeksi = jakautuvien solujen lukumäärä 1000 tuumorisolua kohti; tymidiini-indeksi = <sup>3</sup>H-tymidiinin siirtymismassa tuumorisolujen deoksiribonukleinihappoon (DNS)). Voitiin todeta, että yhdisteet 1. ja 2. estävät noin 35 vuorokauden ajan solujen kokonaislukumäärän kasvua, sitä vastoin voitiin yhdisteen 6. estovaikutus todeta vain 17 vuorokauden aikana. Vaikutusvoimakkuuden suhteen alentavat yhdisteet 1. ja 2. mitoosi- ja tymidiini-indeksiä 24 tunnin kuluessa 90 %, sitä vastoin on lasku yhdistettä 6. annosteltaessa vain 40-50 % ja se saavuttaa maksimiarvonsa 4. vuorokautena.

IV. Biologisten tutkimusten tulokset voidaan yhteenvetona esittää seruaavaa:

1. Yleisen kaavan I mukaisten yhdisteiden vaikutus useimmissa tuumorikokeissa on edullisempi, useissa tapauksissa (esim. Ehrlich-askiites-karsinooma, leukemia P-388) suuruusluokkaa edullisempi kuin vertailuaineen BCNU.

2. Keksinnön mukaiset yhdisteet ovat myös leukemiassa L-1210 p.o. erittäin tehokkaita, sitä vastoin BCNU:n oraallinen vaikutus on merkityksetön.

3. Erittäin pahanlaatuisesta Yoshida-subkutaani-sarkoomasta, joka surmaa eläimet 7-8 vuorokauden kuluessa, paranee keksinnön mu-

kaisten yhdisteiden myöhäisen 6. vuorokautena suoritettun kertakäsittelyn vaikutuksesta suuri prosenttimäärä, sitä vastoin BCNU osoittautui tässä systeemissä tehottomaksi.

4. Keksinnön mukaisten yhdisteiden kerran suoritettun käsittelyn vaikutus on kestävämpi kuin BCNU:n.

5. Vaikutus tuman jakautumisen ja deoksiribonukleinihapon synteesiin on myös laadullisesti erilainen kuin BCNU:n; vaikutus on nopeampi ja paljon voimakkaampi kuin BCNU:n annostuksen jälkeen.

6. Keksinnön mukaisten yhdisteiden oraallinen ja parenteraalinen akuutti myrkyllisyys on edullisempi kuin BCNU:n.

Yleisen kaavan I mukaisia yhdisteitä voidaan annostella terapeuttisesti sekä oraalisesti että myös parenteraalisesti, erityisesti injektiona. Oraallinen annostus voi tapahtua tabletteina, kapsleina, suspensioina, siirappeina ja vastaavina, parentaalinen annostus suoritetaan fysiologisesti soveltuvan liuottimen avulla.

Yhdisteiden päiväannos aikuisille on välillä 20-200 mg. Käytetty annos riippuu luonnollisesti siitä, miten pitkälle tauti, kiinteä tuumori ta leukemia on edennyt, potilaan kehonpainosta, iästä ja yleisesti terveydellisestä tilasta. On otettava huomioon useita muitakin tekijöitä, kuten myrkyllisyys, sivuvaikutukset jne.

Keksintöä esitellään tarkemmin seuraavien esimerkkien avulla.

#### Esimerkki 1

#### 1,4-bis(3-(2-kloorietyyli)-N-nitrosoureido)-1,4-dideoksi-D,L-treitol

Sekoitettuun liuokseen, joka sisältää 16,55 g (0,05 moolia) 1,4-bis(3-(2-kloorietyyli)ureido)-1,4-dideoksi-D,L-treitolia 120 millilitrassa vedetöntä fluoretikkahappoa, lisätään 0-4°C:n lämpötilassa noin 2 tunnin aikana annoksittain 13,8 g (0,2 moolia) jauhamaista natriumnitriittiä. Seosta sekoitetaan edelleen 3 tuntia 0-4°C:ssa sitten lisätään 1200 millilitraa vettä ja sekoitetaan vielä tunnin ajan jäädyttäen. Saostunut kiteet eristetään, pestään vedellä ja eetterillä ja kuivataan tyhjiössä fosforipentoksidin yllä. Saanto: 9,2 g isomeerien seosta, sp. 117-119°C (haj.). Emäliuoksesta erottuu yön aikana vielä 4,4 g kiteitä.

Ohutkerroskromatografia (DC): silikageeli 60 HF<sub>254+366</sub> (Reanal Budapest) adsorbenssi; eluointi tapahtuu metyleenikloridin ja isopropanolin suhteessa 9,5;0,5 olevalla seoksella  $R_F = 0,30; 0,37; 0,43$ .

Raaka-N-nitrosojohdannainen lietetään lasisuodattimelle metyleenikloridin kanssa. ja pestään kerroksittain ja kitetytetään sitten tetrahydrofuraani-metyleenikloridista ja etikkaesteristä. Eristetty tuote on 1-(3-(2-kloorietyyli-1-nitrosoureido)-4-(3-(2-kloorietyyli)-3-nitrosoureido)-1,4-dideoksi-D,L-treitolii; sulamisp.  $136-136,5^{\circ}\text{C}$  (haj.);  $R_F = 0,37$ .

Emäliuokset pesukäsittelystä ja kiteytyksestä yhdistetään ja haihdutetaan kuiviin tyhjiössä huoneenlämpötilassa. Isomeeriseos erotetaan kromatografisesti. Siten saadaan 1,4-bis(3-(2-kloorietyyli)-3-nitrosoureido)- (sulamisp.  $96-97^{\circ}\text{C}$  (haj.),  $R_F = 0,3$ ) ja 1,4-bis(3-(2-kloorietyyli)-1-nitrosoureido)-1,4-dideoksi-D,L-treitolia (sulamisp.  $115-116^{\circ}\text{C}$  (haj.),  $R_F = 0,43$ ).

Raa'an isomeeriseoksen ja erotettujen isomeerien analyysit vastaavat laskettuja.

Lähtöaineena käytetty 1,4-bis(3-(2-kloorietyyli)-ureido)-1,4-dideoksi-D,L-treitolii valmistetaan seuraavasti:

Voimakkaasti sekoitettuun liuokseen, joka sisältää 6,0 g (0,05 moolia) 1,4-diamino-1,4-dideoksi-D,L-treitolia (H.R.Meyer et al, Helv. Chim. Acta, 46, 2685 (1963)) 70 millilitrassa vettä, tiputetaan  $0-2^{\circ}\text{C}$ :n lämpötilassa 11,0 g (0,015 moolia) 2-kloorietyyli-isosyanaattia. Sekoitetaan 3,5 tuntia ja jäädytetään ja erottuneet kiteet poistetaan imusuodatuksen avulla sekä pestään vedellä, etanolilla ja eetterillä. Saanto 14,9 g; sulamisp.  $149-150^{\circ}\text{C}$  DC: sili-kageeli G adsorbenssi (Reanal, Budapesti) suhteessa 15:2:2 olevalla etikkaeetteri-vesi-etikkahappo-seoksella,  $R_F = 0,52$ .

#### Esimerkki 2

1,4-bis(3-(2-kloorietyyli-N-nitrosoureido)-1,4-dideoksierytritoli

#### Menetelmä A

Sekoitettuun liuokseen, joka sisältää 6,62 g (0,02 moolia) 1,4-bis(3-(2-kloorietyyli)ureido)-1,4-dideoksi-erytritolia 99-100-%:sessa muurahaishapossa, lisätään  $0-4^{\circ}\text{C}$ :ssa 2 tunnin aikana 4,14 g (0,06 moolia) natriumnitriittiä. Reaktioseos laimennetaan 3,5-tuntisen sekoittamisen ja jäädyttämisen jälkeen 200 millilitralla jäävettä ja uutetaan metyleenikloridilla. Liuos pestään natriumvetykarbonaatin vesiliuoksella neutraaliksi, kuivataan natriumsulfaatin yllä ja haihdutetaan tyhjiössä  $30^{\circ}\text{C}$ :n alapuolella olevassa lämpöti-

lassa. Kuivaa jäännöstä (isomeerien seos) käsitellään useita kertoja eetterillä, dekantoidut liuokset yhdistetään ja haihdutetaan. Jäähdytettäessä erottuu vaalenakeltaisia kiteitä, jotka poistetaan imusuodatuksen avulla ja pestään eetterillä. Ne kuivataan fosforipentoksidin yllä. Saanto: 0,78 g 1,4-bis[3-(2-kloorimetyyli)-3-nitrosoureido]-1,4-dideoksierytritolia; sulamisp. = noin 117 - 118°C (haj.). Tuote kiteytetään uudestaan etikkaeetteristä tai etanolista. Sulamisp. noin 122°C (haj.).

$R_F = 0,50$  (silikageeli HF, kloroformi-metanoliseos 9:1)

Analyysi:  $C_{10}H_{18}N_6O_6Cl_2$  (389,22)

Laskettu: C 30,86 H 4,63 N 21,60 Cl 18,22

Havaittu: C 31,20 H 4,82 N 21,38 Cl 18,11

Lähtöaineena käytetty 1,4-bis(3-(2-kloorietyyli)-ureido)-1,4-dideoksierytritoli valmistetaan seuraavasti:

Voimakkaasti sekoitettuun liuokseen, joka sisältää 36,0 g (0,3 moolia) 1,4-diamino-1,4-dideoksi-erytritolia (H.R.Mayer et al, Helv.Chim.Acta, 46, 2685 (1943) 360 millilitrassa, vettä tiputetaan 0-2°C:ssa 65,4 g (0,62 moolia) 2-kloorietyyli-isosyanaattia. Sekoitetaan 4 tuntia, jäähdytetään ja erottuneet kiteet poistetaan imusuodatuksen avulla ja pestään vedellä, etanolilla ja eetterillä. Saanto: 96 g; sulamisp. 175-176°C. Tuote liuotetaan väkevään suolahappoon, suodatetaan lasisuodattimen lävitse ja kirkas liuos laimennetaan jäävedellä. Saadaan 82,3 g kiteitä: sulamisp. 177-178°C (haj.), DC: silikageeli G adsorbenssi etikkaesteri-vesi-etikkahapposeoksella suhteessa 15:2:2;  $R_F = 0,6$ .

#### Mentelmä B

Sekoitettuun liuokseen, joka sisältää 6,60 g (0,02 moolia) 1,4-bis(3-(2-kloorietyyli)-ureido)-1,4-dideoksi-erytritolia 63 millilitrassa vedetöntä trifluorietikkahappoa, lisätään 0-2°C:ssa noin 1,5 tunnin kuluessa 8,22 g (0,12 moolia) natriumnitriittiä. Reaktioseos laimennetaan 4 tunnin sekoittamisen jälkeen 350 millilitralla jäävettä ja erottunut aine uutetaan metyleenikloridilla. Liuos pestään natriumvetykarbonaatin vesiliuoksella neutraaliksi, kuivataan natriumsulfaatin yllä ja väkevöidään tyhjiössä. Seisotettaessa erottuneet kiteet otetaan talteen. Saadaan 1,58 g epäpuhdasta 1,4-bis[3-(2-kloorietyyli)-3-nitrosoureido]-1,4-dideoksierytritolia, sula-

69058

misp. noin  $116-118^{\circ}\text{C}$  (haj.). Emäliuos haihdutetaan tyhjiössä ja kuiva jäännös liuotetaan  $0^{\circ}\text{C}$ :ssa 40 millilitraan trifluorietikkahappoa. Kolmen tunnin jäähdyttämisen jälkeen laimennetaan liuos vedellä kuten edellä ja uutetaan. Liuos pestään neutraaliksi, kuivataan ja väkevöidään, jolloin saadaan 1,2 g tuotetta. Menettely toisetaan, jolloin saadaan kolmas eräs 0,84 g. Jakeet yhdistetään ja kiteytetään etyyliasetaatista taietanolista. Sulamisp. noin  $122^{\circ}\text{C}$  (haj.).

#### Menetelmä C

Sekoitettuun ja  $0-4^{\circ}\text{C}$ :n lämpötilaan jäähdytettyyn liuokseen, joka sisältää 6,60 g (0,02 moolia) 1,4-bis(3-(2-kloorietyyli)-ureido)-1,4-dideoksi-erytritolia 50 millilitrassa väkevää suolahappoa, johdetaan 3 tunnin ajan  $\text{N}_2\text{O}_3$ -kaasua. Seos laimennetaan sitten 150 millilitrassa jäävettä ja uutetaan kloroformilla. Liuos pestään natriumvetykarbonaatin vesiliuoksella neutraaliksi, kuivataan natriumsulfaatin yllä ja haihdutetaan tyhjiössä kuiviin. Jäännöksenä saatu isomeeriseos liuotetaan etyyliasetaattiin ja liuosta jäähdytetään yön ylitse. Erottuneet keltaiset kiteet erotetaan, pestään vedellä ja eetterillä. Täten saadaan 0,78 g 1,4-bis(3-(2-kloorietyyli)-3-nitrosoureido)-1,4-dideoksi-erytritolia. Sulamispiste  $118-119^{\circ}\text{C}$  (haj.). Emäliuoksen haihdutusjäännös liuotetaan  $0^{\circ}\text{C}$ :ssa muurahais-happoon ja menetelmän B mukaisesti saadaan vielä 0,74 g edellä mainittua isomeeria. Raakatuote kiteytetään uudestaan etyyliasetaattista, jolloin saadaan menetelmällä A valmistetun tuotteen kanssa identtistä tuotetta.

#### Menetelmä D

Liuokseen, joka sisältää 0,74 g (0,002 moolia) 1,4-bis(3-(2-kloorietyyli)ureido)-1,4-dideoksi-2,3-O-isopropylideeni-erytritolia 5 millilitrassa 99-100-%:sta muurahaishappoa, lisätään 2 tunnin aikana  $0-4^{\circ}\text{C}$ :ssa 0,89 g (0,012 moolia) natriumnitriittiä. Seos laimennetaan 3 tunnin sekoittamisen ja jäähdyttämisen jälkeen 5 millilitralla vettä, sitä jäähdytetään vielä tunnin ajan ja laimennetaan sitten vielä 25 millilitralla vettä. Seos uutetaan sen jälkeen kloroformilla. Kloroformiliuos neutraloidaan natriumvetykarbonaattiliuoksella, kuivataan natriumsulfaatilla ja väkevöidään tyhjiössä. Haihdutusjäännös kromatografoidaan silikageelillä 40 (Reanal, Budapest) täytetyn pylvään avulla. Eluointiin käytetään suhteessa 9:1 olevaa klorofomri-metanoli-seosta.

Saadaan 0,29 g menetelmällä A valmistetun tuotteen kanssa, identtistä tuotetta; sulamispiste  $122^{\circ}\text{C}$  (haj.).

Lähtöaineena käytetty 1,4-bis(3-(2-kloorietyyli)ureido)-1,4-dideoksi-2,3,0-isopropylideenierytritoli voidaan valmistaa seuraavasti:

Vaihe a)

1,4-diatsido-1,4-dideoksi-erytritoli:

Liuokseen, joka sisältää 17,2 g (0,2 moolia) 1,2:3,4-dianhydroerytritolia (P.W.Feit, Chem. Ber. 93,116 (1960)) 200 millilitras-  
sa 95-%:ista vesipitoista 2-metoksietanolia, lisätään 52,0 g (0,8 moolia) natriumatsidia ja 10,6 g (0,2 moolia) ammoniumkloridia. Seosta sekoitetaan tunnin ajan  $90^{\circ}\text{C}$ :ssa ja sitten kiehumislämpötilassa.

Jäähdytettyyn seokseen lisätään 200 millilitraa asetonia ja erottunut suolaseos poistetaan imusuodauksella. Emäliuos haihdutetaan kuiviin, jäännökseen lisätään asetonia ja erottunut suola eristetään. Emäliuoksen haihdutusjäännöstä eluoidaan 240 millilitralla bentseeniä. Dekantoinnin jälkeen kiteytyy tuote liuoksesta ja se eristetään. Saanto: 24,8 g, sulamispiste  $89-90^{\circ}\text{C}$ . DC: silikageelillä  $60\text{ HF}_{254+366}$  adsorbenssi etyyliasetaatin ja kloroformin seoksella suhteessa 8:2,  $R_F = 0,62$ .

Vaihe b

1,4-diatsido-1,4-dideoksi-2,3,0-isopropylideeni-erytritoli:

Liuotetaan 20,1 g (0,118 moolia) 1,4-diatsido-1,4-dideoksierytritolia seokseen, joka sisältää 460 millilitraa vedetöntä asetonia ja 16 millilitraa 100-%:ista rikkihappoa. Reaktioseosta sekoitetaan 3 tunnin kuluttua ( $20^{\circ}\text{C}$ ) 100 gramman kanssa vedetöntä natriumkarbonaattia neutraaliin reaktioon asti (noin 5 tuntia), seos suodatetaan ja haihdutetaan tyhjiössä. Jäännöksestä poistetaan jäljellä oleva asetoni haihduttamalla bentseenin kanssa. Jäljelle jäänyt öljy-kideseos huuhdotaan heksaanilla lasisintterisuodattimelle, ja siten eristetään 5,0 g muuttumatonta lähtöainetta. Emäliuoksen haihdutusjäännös liuotetaan kloroformiin, liuosta ravistellaan veden kanssa perusteellisesti, orgaaninen faasi kuivataan natriumsulfaatilla. Haihdutuksen jälkeen  $50^{\circ}\text{C}$ :ssa tyhjiössä saadaan 16,7 g öljyä.

DC: adsorbenssi: silikageeli G, eluointi tapahtuu etyyliasetaatin ja kloroformin seoksella suhteessa 8:2,  $R_F = 0,75$ .

Vaihe c

1,4-diamino-1,4-dideoksi-2,3-0-isopropylideeni-erytritoli:

Liuos, joka sisältää 20,7 g (0,091 moolia) 1,4-diatsido-1,4-dideoksi-2,3-0-isopropylideeni-erytritolia 125 millilitrassa eetteriä, lisätään vähitellen liuokseen, joka sisältää 22,5 g  $\text{LiAlH}_4$  450 millilitrassa tetrahydrofuraania. Reaktioseosta kuumennetaan 4 tuntia keittäen ja sekoitetaan sitten liuoksen kanssa, joka sisältää 22,0 g kaliumnatriumtartraattia 45 millilitrassa vettä. Sekoitetaan 30 minuuttia ja suodatetaan.

Jäljelle jäänyt suolaseos pestään tetrahydrofuraanilla ja suodos kuivataan natriumsulfaattilla. Liuos haihdutetaan kuiviin typen alla, jäännöksestä poistetaan bentseeni haihduttamalla kuiviin useita kertoja. Siten saatu jäännös (14,4 g) fraktioidaan tyhjiössä. Saadaan helposti juokseva väritön öljy.  $K_{p,0,4} \text{ Hgmm} = 79-81^\circ\text{C}$ ; saanto 11,9 g. Dipikraatti sulaa  $222^\circ\text{C}$ :ssa hajaantuen. Dihydrokloridi sulaa  $310^\circ\text{C}$ :ssa hajaantuen. DC: silikageelillä G adsorbenssi suhteessa 3:5:2:0,5 olevalla seoksella kloroformista, metanolista, ammoniakista ja etikkahaposta,  $R_F = 0,58$ .

Vaihde d

1,4-bis(3-(2-kloorietyyli)ureido)-1,4-dideoksi-2,3-0-isopropylideeni-erytritoli:

Liuokseen, joka sisältää 5,6 g (0,035 moolia) 1,4-diamino-1,4-dideoksi-2,3-0-isopropylideeni-erytritolia 80 millilitrassa eetteriä, lisätään 7,75 g (0,070 moolia) 2-kloorietyyli-isosyanaattia. Kolmen tunnin sekoittamisen jälkeen poistetaan saostunut kiteinen aine (12,5 g), joka kiteytetään uudestaan asetonista. Sulamisp.  $143,5 - 144,5^\circ\text{C}$ . DC: silikageelillä G adsorbenssi suhteessa 1:1 olevalla asetonin ja isopropanolin seokella,  $R_F = 0,81$ .

Esimerkki 3

1,6-bis(3-(2-kloorietyyli)-N-nitrosoureido)-1,6-dideoksi-D-mannitoli

Sekoitettuun liuokseen, joka sisältää 3,91 g (0,01 moolia) 1,6-bis-(3-(2-kloorietyyli)ureido)-1,6-dideoksi-D-mannitolia, 45 millilitrassa 99-100-%:ista muurahaishappoa, lisätään  $0-2^\circ\text{C}$ :ssa noin 2 tunnin aikana 5,52 g (0,08 moolia) natriumnitriittiä. Seosta jäähdytetään 4 tuntia ja laimennetaan sitten 220 millilitralla jäävettä. Tunnin sekoittamisen ja jäähdyttämisen jälkeen uutetaan metyleeni-

kloridilla (5 x 40 ml) ja sitten etyyliasetaatilla (3 x 80 ml). Et-yyliasetaattiuutteet yhdistettään, pestään vedellä ja natriumvetykarbonaattiliuoksella neutraaliksi, kuivataan natriumsulfaattilla ja haihdutetaan tyhjiössä. Useampituntisen jäähdyttämisen jälkeen eristetään saostunut kiteet. Saanto 0,1 g, sulamisp. 103-104°C.

Suodoksen haihdutusjäännöstä käsitellään metyleenikloridilla ja sen dekantoimisen jälkeen eetterillä. Tuote kiteytyy tällöin ja erotetaan suodattamalla imua käyttäen. Tällä tavalla saadaan vielä 0,56 g ainetta. Yhdistetyt jakeet kiteytetään uudestaan etyyliasetaatista tai isopropanolista, jolloin saadaan isomeerien seos, sp. 108-109°C (haj.)

$$[\alpha]_D^{24} = +17,8^{\circ} \quad (c = 1, \text{ etyyliasetaat})$$

Analyysi:  $C_{12}H_{22}N_6O_8Cl_2$  (449,23)

Laskettu: C 32,08 H 4,93 N 18,76 Cl 15,77

Havaittu: C 32,27 H 4,99 N 18,66 Cl 15,59

Isomeerit erotetaan pylväskromatografialla, jolloin saadaan 1,6-bis[3-(2-kloorietyyli)-3-nitrosoureido]-1,6-dideoksimannitolia, sp. 127-128°C (haj.),  $[\alpha]_D^{20} = +14,03^{\circ}$  (c = 1, DMSO). Erotettujen isomeerien analyysitulokset vastaavat laskettuja arvoja.

DC: silikageeli G, kloroformi-metanoliseos (9:1),  $R_F = 0,22$ .

Lähtöaineena käytetty 1,6-bis(3-(2-kloorietyyli)ureido)-1,6-dideoksi-D-mannitoli valmistetaan seuraavalla tavalla.

Voimakkaasti sekoittaen tiputetaan liuokseen, joka sisältää 6,7 g (0,037 moolia) 1,6-diamino-1,6-dideoksi-D-mannitolia (W.N. Haworth et al, J. Chem. Soc. 155 (1944)) 74 millilitrassa vettä, 4°C:ssa 8,28 g (0,078 moolia) 2-kloorietyyli-isosyanaattia. 3,5-tuntisen sekoittamisen ja jäähdyttämisen jälkeen erottuu kiteinen aine, jonka poistetaan imusuodatuksen avulla ja pestään vedellä, etanolilla ja eetterillä. Saanto 13,7 g, sulamisp. 175-176°C (haj.). Se kiteytetään uudestaan etikkahappo-vesiseoksesta, sulamisp. 177-177,5°C.  $[\alpha]_D^{24} = 2,93^{\circ}$  (c = 1, dimetyyliformamidi).

DC: silikageelillä G adsorbenssi suhteessa 10:2:2 olevalla etyyliasetaattivesi-etikkahappo-seoksella,  $R_F = 0,35$ .

Esimerkki 41,6-bis(3-(2-kloorietyyli)-N-nitrosoureido)-1,6-dideoksigalak-  
titoli

0-2°C:n lämpötilaan jäähdytettyyn liuokseen, joka sisältää 2,34 g (0,06 moolia) 1,6-bis(3-(2-kloorietyyli)-ureido)-1,6-dideoksi-galaktitolia 20 millilitrassa vedetöntä trifluorietikkahappoa, lisätään sekoittaen noin 2 tunnin aikana 2,07 g (0,03 moolia) natriumnitriittiä, 3,5 tunnin kuluttua lisätään rekatioseokseen 120 millilitraa jäävettä ja jäähdytetään edelleen 2 tuntia. Saostuneet kiiteet erotetaan ja pestään vedellä, asetonilla ja eetterillä. Saanto 2,31 g isomeerien seosta, sulamisp. 140-143°C (haj.). Uudelleenkiteytetään etanolista tai etyyliasetaatista, jolloin saadaan 1,6-bis[3-(2-kloorietyyli)-3-nitrosoureido]-1,6-dideoksigalaktitolia, sp. 146-148°C (haj.).

DC: silikageeli HF, asetoni-metanliseos (8:2),  $R_F = 0,70$ .

Analyysi:  $C_{12}H_{22}N_6O_8Cl_2$  (449,23)

Laskettu: C 32,08 H 4,93 N 18,71 Cl 15,79

Havaittu: C 31,92 H 4,97 N 18,66 Cl 15,62.

Lähtöaineena käytetty 1,6-bis(3-(2-kloorietyyli)ureido)-1,6-dideoksigalaktitoli valmistetaan seuraavasti:

Vaihe a

Sekoitettuun ja 0-2°C:n lämpötilaan jäähdytettyyn liuokseen, joka sisältää 13,0 g (0,05 moolia) 1,6-diamino-1,6-dideoksi-2,3-4,5-di-O-isopropylideeni-galaktitolia (J.W.W.Morgan et al, J.Am. Chem. Soc. 78, 2496 (1956) 130 millilitrassa vettä, tiputetaan 10,8 g (0,103 moolia) 2-kloorietyyli-isosyanaattia. 3,5-tuntisen sekoittamisen ja jäähdyttämisen jälkeen poistetaan saostuneet kiteet imusuodatuksen avulla ja pestään vedellä ja sitten eetterillä. Täten saadaan 21,3 g ainetta (sulamisp. 147-148°C), joka kiteytetään uudelleen asetonista, sulamisp. 185-186°C (haj.).

DC: silikageelillä G adsorbenssi suhteessa 1:1 olevalla asetoni-isopropanoliseoksella,  $R_F = 0,72$ .

Vaihe b1,6-bis(3-(2-kloorietyyli)ureido)-1,6-dideoksi-galaktitoli

7,4 g (0,0157 moolia) 1,6-bis(3-(2-kloorietyyli)ureido)-2,3-4,5-di-O-isopropylideeni-galaktitolia liuotetaan 25 millilitraan

85-%:sta trifluorietikkahapon vesiliuosta ja liuoksen annetaan seistä yön ylitse. Liuos laimennetaan sitten 360 millilitralla vettä ja jäädytetään. Saostunut tuote erotetaan ja pestään vedellä, etanolilla ja eetterillä. Saanto 5,7 g, sulamisp. 190-191,5°C (haj.). Se kiteytetään uudestaan veden ja muurahaishapon seoksesta. Sulamisp. 192°C (haj.).

DC: silikageelillä G adsorbenssi suhteessa 1:1 olevalla asetonin ja isopropanolin seoksella,  $R_F = 0,62$ .

#### Esimerkki 5

#### Menetelmä A

#### 1,3-bis(3-(2-kloorietyyli)-3-nitrosoureido)-1,2,3-trideoksi-skyllloinositoli

Sekoitettuun liuokseen, joka sisältää 1,86 g (0,005 moolia) 1,3-bis(3-(2-kloorietyyli)ureido)-1,2,3-trideoksi-skyllloinositolia 14 millilitrassa trifluorietikkahappoa, lisätään 0-2°C:ssa 2 tunnin aikana 1,7 g (0,025 moolia) natriumnitriittiä. Seosta sekoitetaan 4 tuntia, seos jäädytetään ja siihen lisätään 140 millilitraa vettä. Tunnin kuluttua poistetaan erottunut kiteinen tuote ja pestään vedellä ja eetterillä. Saatua tuote (1,98 g, sulamisp. 118-120°C) kiteytetään uudestaan etanolista, sulamisp. noin 120-122°C (haj.).

DC: silikageeli HF, kloroformi-metanoliseos (9:1),  $R_F = 0,26$ .

Analyysi:  $C_{12}H_{20}N_6O_7Cl_2$  (431,24)

Laskettu: C 33,42 H 4,67 N 19,48 Cl 16,44

Havaittu: C 33,44 H 4,81 N 19,14 Cl 16,31

#### Menetelmä B

Sekoitettuun, 0-2°C:n lämpötilaan jäädytetään seokseen, joka sisältää 2,2 g (0,006 moolia) 1,3-bis(3-(2-kloorietyyli)ureido)-1,2,2-trideoksi-skyllloinositolia 20 millilitrassa väkevää suolahappoa, johdetaan 4 tunnin ajan  $N_2O_3$ -kaasua. Reaktioseokseen sekoitetaan pieninä erinä 70 millilitraa jäävettä ja erottunut kiteinen tuote poistetaan 30 minuutin kuluttua imusuodatuksella ja pestään vedellä sekä eetterillä. Saadaan 2,3 g 1,3-bis(3-(2-kloorietyyli)-3-nitrosoureido)-1,2,3-trideoksi-skyllloinositolia, sulamisp. 114-116°C (haj.), joka kiteytetään uudestaan etanolista. Yhdiste on identtinen menetelmällä A saadun tuotteen kanssa.

Lähtöaineena käytetty 1,3-bis(3-(2-kloorietyyli)ureido)-1,2,3-trideoksi-skylloninositoli valmistetaan seuraavasti:

Voimakkaasti sekoitettuun 0-2°C:n lämpötilaan jäähdytettyyn liuokseen, joka sisältää 5,9 g (0,036 moolia) 1,3-diamino-1,2,3-trideoksiskylloninositolia 150 millilitrassa vettä, lisätään 7,9 g (0,075 moolia) 2-kloorietyyli-isosyanaattia. 3,5 tunnin sekoittamisen ja jäähdyttämisen jälkeen erottuu kiteinen aine, joka poistetaan ja pestään vedellä, etanolilla ja eetterillä. Saanto 11,7 g, sulamisp. 194-196°C. Se kiteytetään uudestaan muurahaishapon ja veden seoksesta. Sulamisp. 201-203°C (haj.).

DC: silikageelillä G adsorbenssi etikkaesteri-vesi-etikkahapposeoksella suhteessa 15:2:2,  $R_F = 0,25$ .

#### Esimerkki 6

#### 1,3-bis(3-(2-kloorietyyli)-3-nitrosoureido)-1,3-dideoksi-skylloninositoli

Voimakkaasti sekoitettuun liuokseen, joka sisältää 3,89 g (0,01 moolia) 1,3-bis(3-(2-kloorietyyli)ureido)-1,3-dideoksiskylloninositolia 46 millilitrassa vedetöntä trifluorietikkahappoa, lisätään 0-2°C:n lämpötilassa noin 2 tunnin aikana 4,8 g (0,07 moolia) natriumnitriittiä. Seokseen lisätään 3-tuntisen sekoituksen ja jäähdytyksen jälkeen 400 millilitraa jäävettä ja sekoitusta jatketaan vielä yksi tunti. Erottunut kiteinen aine poistetaan ja pestään vedellä, vähäisellä määrällä etanolia ja eetteriä. Saanto 4,35 g, sulamisp. 137-142°C (haj.). Raaka tuote kromatografoidaan silikageelillä 40 täytetyssä pylväässä asetonin ja eetterin suhteessa 8:2 olevala seoksella. Eristetään  $R_F$ -arvon 0,7 omaava tuote (3,5 g), joka kiteytetään asetonista. Sulamisp. noin 141-143°C (haj.).

DC: silikageeli HF, kloroformi-metanoli (8:2),  $R_F = 0,35$ .

Analyysi:  $C_{12}H_{20}N_6O_8Cl_2$  (447,24)

Laskettu: C 32,32 H 4,51 N 18,79 Cl 15,85

Havaittu: C 32,37 H 4,55 N 18,65 Cl 15,79

Lähtöaineena käytetty 1,3-bis(3-(2-kloorietyyli)-ureido)-1,3-dideoksiskylloninositoli valmistetaan seuraavasti:

Voimakkaasti sekoitettuun, 0-2°C:n lämpötilaan jäähdytettyyn liuokseen, joka sisältää 4,67 g (0,025 moolia) 1,3-diamino-1,3-dideoksi-skylloninositolia (0,5 moolin kanssa vettä) (R.L.Peck et al,

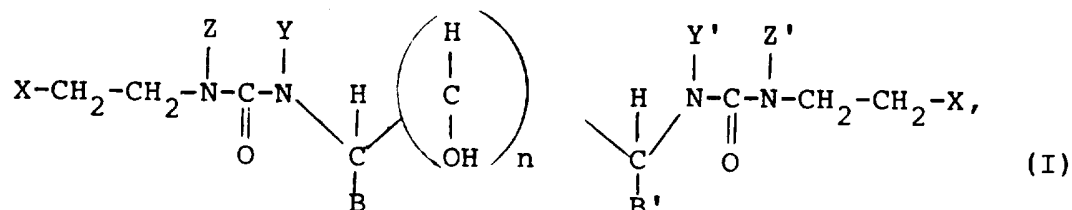
J. Am. Chem. Soc. 68, 776 (1946)) 55 millilitrassa vettä, tiputetaan 5,79 g (0,055 moolia) 2-kloorietyyli-isosyanaattia. Seosta sekoitetaan edelleen 3,5 tuntia ja jäähdytetään. Erottuneet kiteet poistetaan sitten imusuodatuksella ja pestään vedellä, etanolilla ja eetterillä. Saanto: 6,15 g, sulamisp. 189-190°C (haj.).

DC: silikageelillä G adsorbenssi etikkaesteri-vesi-etikkahappo-seoksessa suhteessa 15:4:4,  $R_F = 0,33$ .

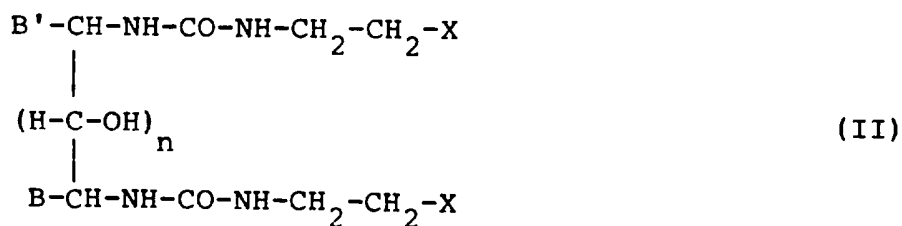
## Patenttivaatimus

69058

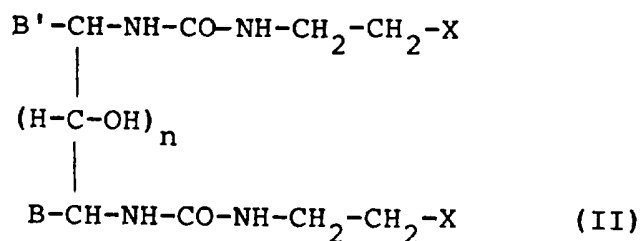
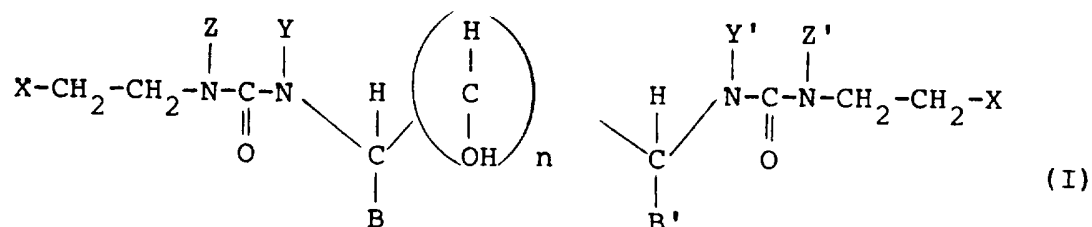
Menetelmä terapeuttisesti käyttökelpoisten bis(nitrosoureido)-polyolijohdannaisten valmistamiseksi, joiden yleinen kaava on



jossa  $n = 2, 3$  tai  $4$ , B ja B' ovat vetyjä tai, kun  $n = 3$ , mahdollisesti muodostuvat yhdessä  $\text{-CH}_2\text{-}$  tai  $\text{-CH(OH)-}$ ryhmän, X on kloori tai bromi, ja Y, Y', Z ja Z' tarkoittavat vetyä tai NO-ryhmää, jolloin Y ja Z ovat erilaisia ja Y' ja Z' ovat erilaisia, tunnetaan siitä, että diureidijohdannainen, jonka yleinen kaava on



jossa B, B', n ja X merkitsevät samaa kuin edellä, tai sen ketaali, N-nitrosoidaan, jolloin kun nitrosoidaan O-ketaali, ketaaliryhmä poistetaan.



Hakemusjulkaisuja:-Ansökningspublikationer: Saksan Liittotasavalta-Föbundsrepubliken Tyskland(DE) 2 535 048 (C 07 H 13/12), 2 709 497 (C 07 C 125/15).