

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS

PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 934225 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE
PUBLIC**

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application **934225**

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification
C07D221/14

(22) Tekemispäivä - Ingningsdag - Filing date **25.03.1992**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **27.09.1993**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **15.10.1993**

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date **13.06.2019**

(86) Kansainvälinen hakemus - **25.03.1992** **PCT/US1992/002134**
Internationell ansökan - International
application

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet - Priority

27.03.1991 US 676061 11.12.1991 US 805044

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • The Du Pont Merck Pharmaceutical Company, 1007 Market Street, Wilmington, Del. 19898, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • Sun, Jung-Hui, USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

Bis-naftaali-imideja, jotka sisältävät aminohapoista johdettuja kytken täaineita syöväntäsiteaineina
Bis-naftalimider innehållande ur aminosyror härledda kopplingsämnen so m anticancermedel

Menetelmä syövänvastaisten bis-naftalimidien valmistamiseksi, jotka sisältävät aminohapoista johdettuja kytkentäaineita syövänvastaisina aineina

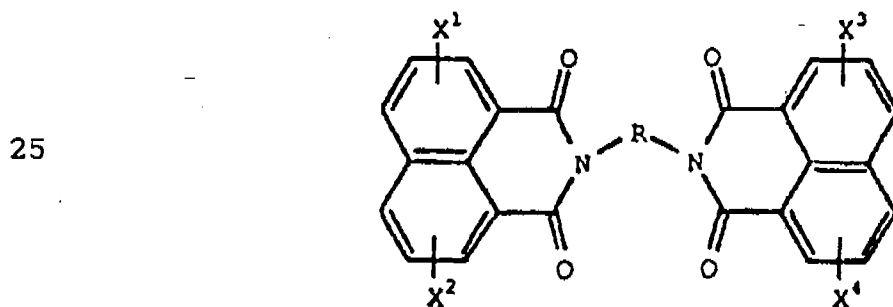
5 Keksinnön alue

Tämä keksintö koskee menetelmää bis-naftalimidien, kuten 2,2'-[1,2-etaanidiyylibis[imino-(1-metyyli-2,1-etaanidiyyl)]]-bis[5-nitro-1H-bents[de]isokinoliini-1,3(2H)-dionin] ja 2,2'-[1,2-etaanidiyylibis[imino-(2-metyyli-2,1-etaanidiyyl)]]-bis[5-nitro-1H-bents[de]isokinoliini-1,3(2H)-dionin] valmistamiseksi. Yhdisteet ovat käyttökelpoisia syövän, erityisesti kiinteiden syöpäkasvainten hoidossa nisäkkäissä.

Keksinnön tausta

15 Harnisch et al., US-patentti 4 841 052, joka on julkaistu 20. kesäkuuta 1989, kuvaa naftaaliyhdisteitä, jotka ovat käyttökelpoisia varausta säätelevinä aineina kserograafisissa säätöaineissa.

20 Brana et al., US-patentti 4 874 863, joka on julkaistu 17. lokakuuta 1989, tuo esille yhdisteitä, joiden kaava on:



30 jossa X^1 , X^2 , X^3 ja X^4 ovat samoja tai erilaisia ja kukin on H, NO_2 , NH_2 , C_{1-6} -alkyyliamino, di- C_{1-6} -alkyyliamino, OH, C_{1-6} -alkoksi, halogeeni, trihalogeenimetyyli, C_{1-6} -alkyyli, formyyl, C_{1-6} -alkyylikarbonyyli, ureyyli, C_{1-6} -alkyyliureyyli, ja R on suoraketjuinen tai haaroittunut C_{4-10} -alkeeni, jossa on yhdessä tai kahdessa kohtaa ketjua se-

35

kundaarinen tai tertiaarinen aminoryhmä, jossa kaksi typ-
piatomia voi lisäksi olla sitoutunut toinen toisiinsa al-
keeniryhmän välityksellä, tai suolan fysiologisesti sie-
dettävän hapon kanssa.

5 **Keksinnön yksityiskohtainen kuvaus**

Keksinnön kohteena on menetelmä syövänvastaisen
yhdisteen tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan
valmistamiseksi, joka yhdiste on valittu seuraavista:

(S,S)-2,2'-[1,2-etaanidiyylibis[imino-(1-metyyli-
10 2,1-etaanidiyyli)]]-bis[5-nitro-1H-bents[de]isokinoliini-
1,3(2H)-dioni];

(raseeminen + meso)-2,2'-[1,2-etaanidiyylibis[imi-
no-(1-metyyli-2,1-etaanidiyyli)]]-bis[5-nitro-1H-bents-
[de]isokinoliini-1,3(2H)-dioni];

15 (R,R)-2,2'-[1,2-etaanidiyylibis[imino-(1-metyyli-
2,1-etaanidiyyli)]]-bis[5-nitro-1H-bents[de]isokinoliini-
1,3(2H)-dioni];

(meso)-2,2'-[1,2-etaanidiyylibis[imino-(1-metyyli-
2,1-etaanidiyyli)]]-bis[5-nitro-1H-bents[de]isokinoliini-
20 1,3(2H)-dioni];

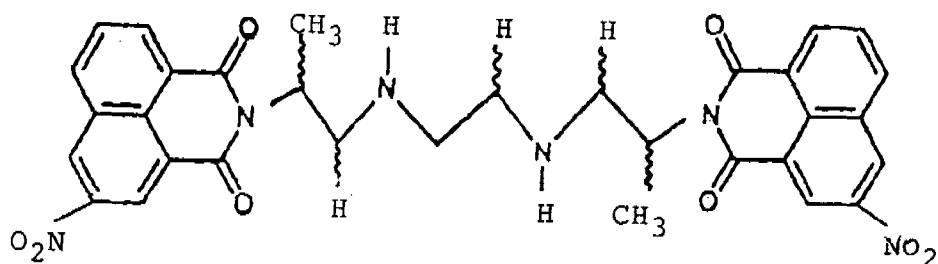
(S,S)-2,2'-[1,2-etaanidiyylibis[imino-(2-metyyli-
2,1-etaanidiyyli)]]-bis[5-nitro-1H-bents[de]isokinoliini-
1,3(2H)-dioni];

(raseeminen + meso)-2,2'-[1,2-etaanidiyylibis[imi-
25 no-(2-metyyli-2,1-etaanidiyyli)]]-bis[5-nitro-1H-bents-
[de]isokinoliini-1,3(2H)-dioni];

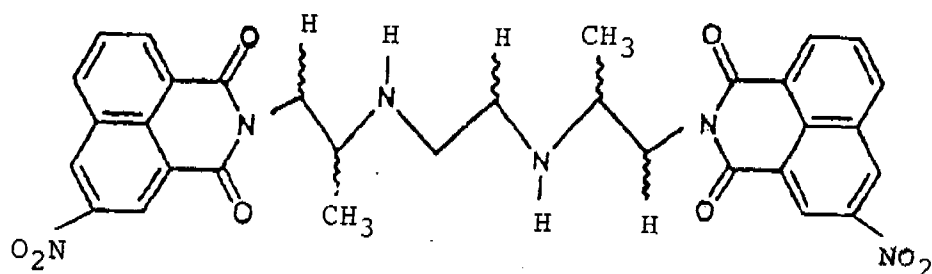
(R,R)-2,2'-[1,2-etaanidiyylibis[imino-(2-metyyli-
2,1-etaanidiyyli)]]-bis[5-nitro-1H-bents[de]isokinoliini-
1,3(2H)-dioni]; ja

30 (meso)-2,2'-[1,2-etaanidiyylibis[imino-(2-metyyli-
2,1-etaanidiyyli)]]-bis[5-nitro-1H-bents[de]isokinoliini-
1,3(2H)-dioni];

ja joilla yhdisteillä on kaava (Ia) tai (Ib),



(Ia)



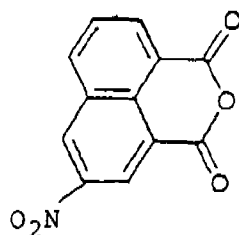
(Ib)

Yhdisteet (Ia) ja (Ib) ovat käyttökelpoisia syövän, erityisesti kiinteiden epiteelikudoksesta peräisin olevien syöpäkasvainten hoidossa nisäkkäissä.

Synteesi

Yhdisteet (Ia) ja (Ib) ovat bis-naftalimidejä, jotka ovat käyttökelpoisia syövän hoidossa ja jotka sisältävät sidoksia, jotka on johdettu modifioiduista peptideistä. Yhdisteet liukenevat paremmin vesipitoisiin väliaineisiin kuin sinänsä tunnetut yhdisteet, jotka eivät sisällä näitä modifioituja peptidisidoksia.

Yhdisteitä (Ia) ja (Ib) valmistetaan keksinnön mukaisesti siten, että kaksi ekvivalenttia kaavan (ii) mukaista anhydridiä

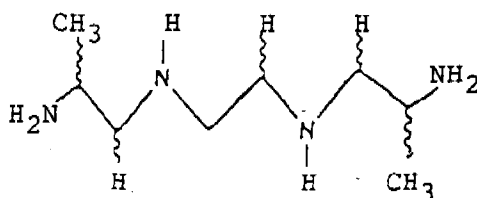


(ii)

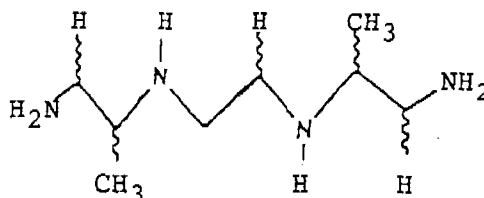
5

saatetaan reagoimaan yhden ekvivalentin kanssa kaavan (iiia) tai (iiib) mukaista polyamiinia,

10



15



(iiiia)

(iiiib)

20

minkä jälkeen näin saatu yhdiste muutetaan haluttaessa farmaseuttisesti hyväksyttäväksi suolaksi.

Kaksi ekvivalenttia anhydridiä, jonka kaava on (ii), saatetaan reagoimaan yhden ekvivalentin kanssa polyamiinia, jonka kaava on (iii), inertissä liuottimessa, kuten etanolissa tai dimetyyliformamidissa tai tetrahydrofuraanissa, esimerkiksi lämpötilassa, joka on ympäristön lämpötilasta liuottimen kiehumispisteeseen. Syntynyt suspensio voidaan sitten suodattaa, jolloin saadaan vapaa emäs, tai se voidaan tehdä happamaksi sopivalla mineraali- tai orgaanisella hapolla, jolloin saadaan farmaseuttisesti hyväksyttävä suola, joka voidaan ottaa talteen suodattamalla. Vapaan emäksen suoloja voidaan valmistaa myös siten, että tehdään suspensio, jossa vapaa emäs on etyyli-alkoholissa tai dikloorimetäänissa, happamaksi sopivalla

35

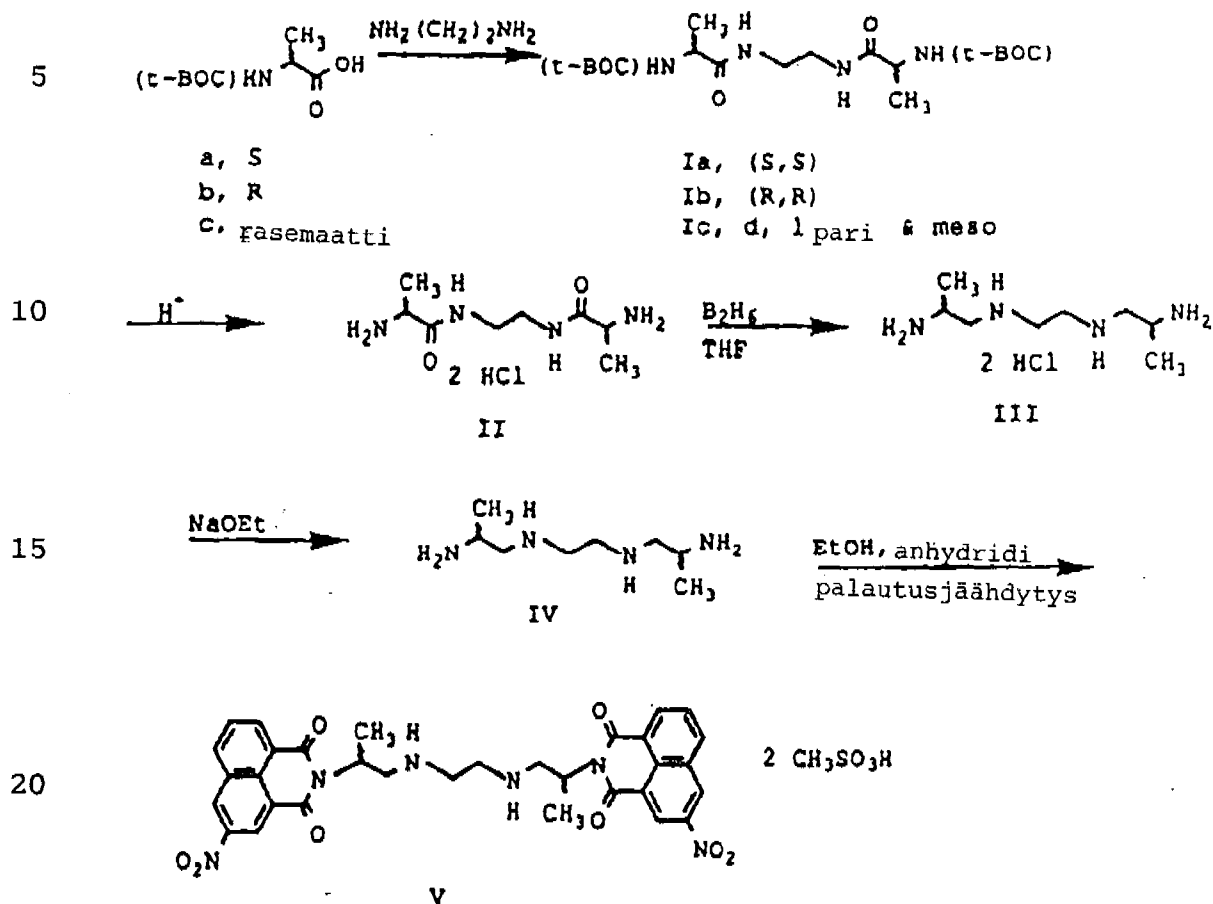
mineraali- tai orgaanisella hapolla ja otetaan muodostunut kiinteä aine talteen suodattamalla. Joissakin tapauksissa vapaa emäs täytyy puhdistaa pylväskromatografisesti ennenkuin sen suola voidaan valmistaa edellä kuvatulla tavalla.

5 Esillä olevaa anhydridiä (ii) on kaupallisesti saatavissa tai se voidaan valmistaa menetelmillä, jotka on kuvannut Hodgson et al., J. Chem. Soc., s. 90 (1945). Modifioidut peptidit, joiden kaava on (iii), voidaan valmistaa menetelmillä, jotka on kuvattu alla (kaaviot I - IV).

10 Kaavan Va mukaisten yhdisteiden synteesi (katso kaavio I alla) voidaan suorittaa reaktiolla, jossa t-BOC-(S)-alaniini (yhdiste a) saatetaan reagoimaan 1,1'-karbonyyli-diimidatsolin kanssa, sen jälkeen etyleenidiamiini saatetaan reagoimaan standardiolosuhteissa. Ia:ssa olevan
15 t-BOC- (N-tert-butoksikarbonyyli-) ryhmän suojaryhmän happohydrolyysi suoritettiin standardiolosuhteissa, ja näin saatiin IIa. Samaa menetelmää käytetään hyväksi yhdisteiden IIb tai IIc valmistamiseksi, aloittaen reaktiosarja vastaavalla (R)-alaniinilla (yhdiste b) tai raseemisella
20 alaniinilla (yhdiste c).

 Pelkistämällä IIa (dihydrokloridisuola) diboraanilla tetrahydrofuraanissa, palautusjäähdytyslämpötilassa, saatiin IIIa. IIIa neutraloitiin natriumetoksidilla ja puhdas vapaa emäs IVa saatiin Kugelrohr-tislauksella. IVa
25 saatettiin reagoimaan sopivan naftaalihappoanhydridin kanssa etanolissa tai tetrahydrofuraanissa, palautusjäähdytyslämpötilassa, jolloin saatiin Va. Yhdisteet Vb ja Vc valmistetaan samalla tavoin, käyttäen vastaavaa IVb:tä tai IVc:tä, tässä järjestyksessä.

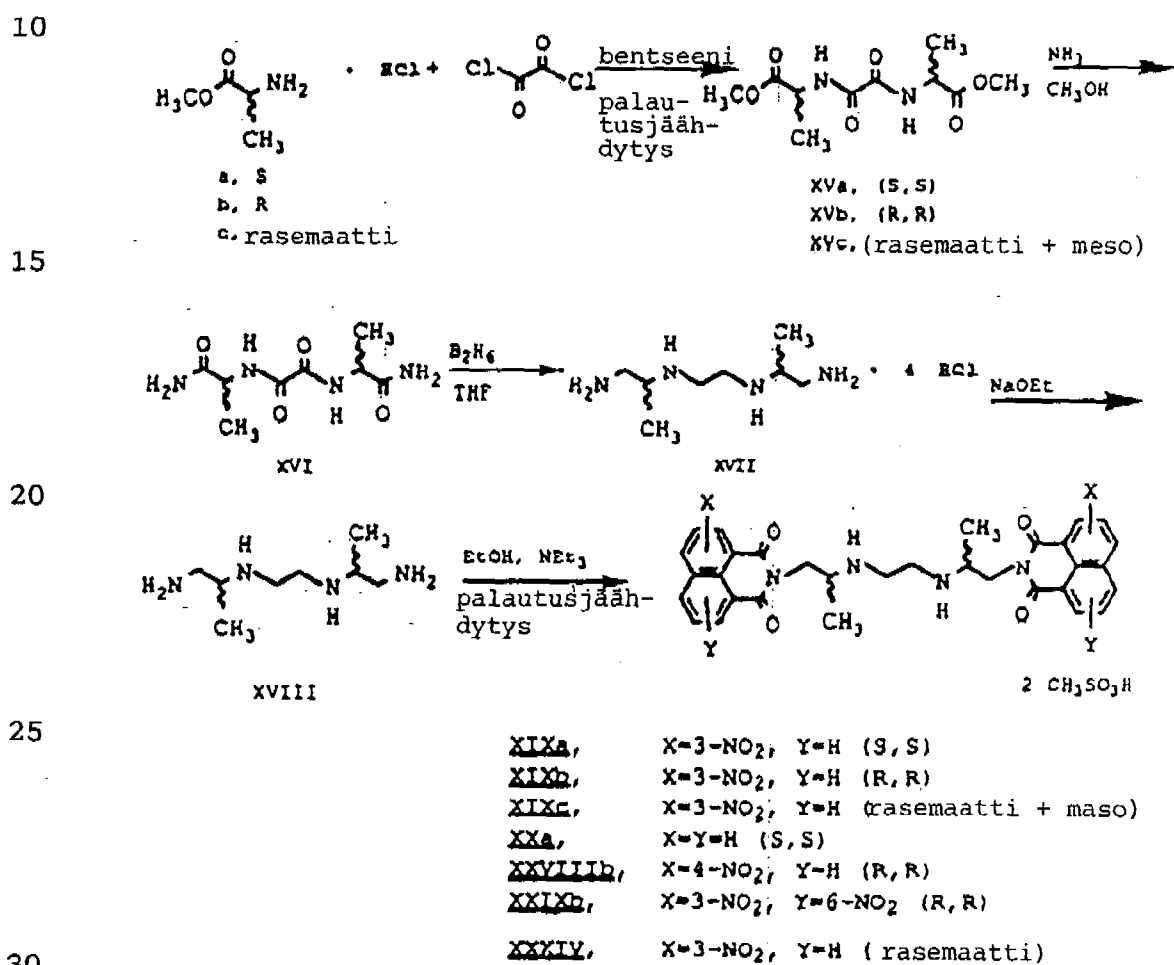
Kaavio I



Bis-naftalimidejä, joiden kaava on (XIX), joissa X ja Y ovat NO₂ tai H, voidaan valmistaa kaaviolla III. Saatamalla (S)-alaniinimetyyliesteri reagoimaan oksalyylidikloridin kanssa bentseenissä, palautusjäähdytyslämpötilassa, saatiin amidi XVa. Amidi XVa muutettiin amidiksi XVIa metanolissa olevalla ammoniakilla standardiolosuhteissa. Amidi XVIa pelkistettiin diboraanilla tetrahydrofuraanis-
sa, jolloin saatiin amiinia XVIIa tetrahydrokloridisuolana, joka tämän jälkeen neutraloitiin natriumetoksidilla, jolloin saatiin vapaa amiini XVIIIa. Amiini XVIIIa kondensoitiin sopivalla naftaalihappoanhydridillä, jolloin muo-

dostui yhdiste XIXa. Yhdisteitä XIXb jka XIXc voitiin valmistaa samalla tavoin, käyttäen vastaavia yhdisteitä XVIIIb ja XVIIIc, tässä järjestyksessä. Lisäksi yhdisteitä XXa, XXVIIIb ja XXIXb voitiin valmistaa kondensoimalla amiinia XVIIIb sopivien naftaalihiappoanhydridien kanssa.

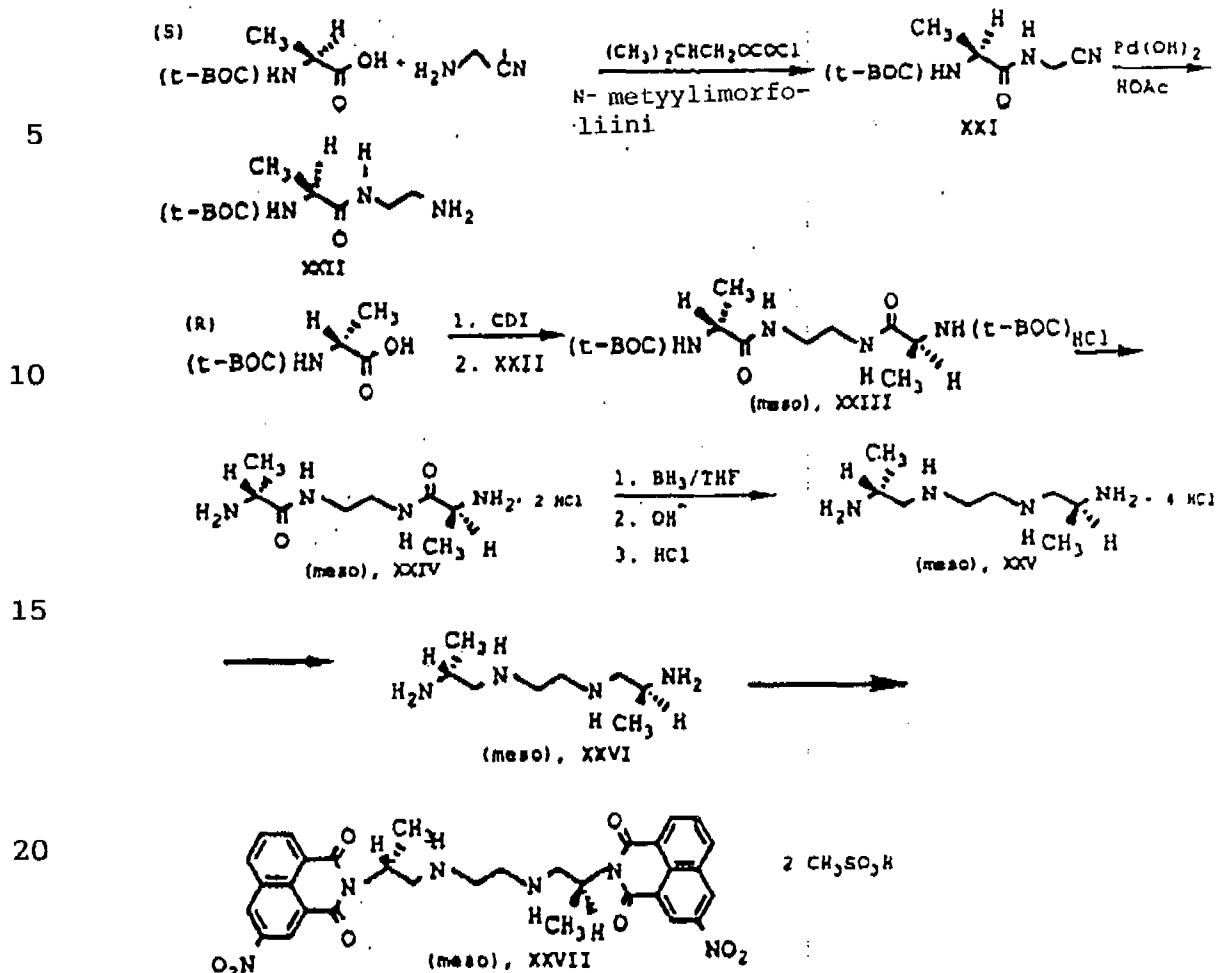
Kaavio III



Kaaviossa III X:n ja Y:n asema ilmoitetaan numeroimalla vastaavassa naftaalihappoanhydridissä oleva asema, ei 1H-bents[de]isokinoliini-1,3(2H)-dionin numeroinnilla.

5 Kaavan (XXVII) yhdisteiden synteesi esitetään kaaviossa IV. Saattamalla t-BOC-(S)-alaniini reagoimaan isobutyrylikloroformaatin kanssa N-metyylimorfoliinin läsnä ollessa, sen jälkeen saattamalla reagoimaan aminoasetonitriiliin (joka on johdettu neutraloimalla sen HCl-suola N-metyylimorfoliinilla) kanssa, saatiin XXI. Tämä hydrattiin
10 palladiumdioksidilla etikkahapossa, jolloin saatiin XXII. Saattamalla t-BOC-(R)-alaniini reagoimaan 1,1'-karbonyyli-di-imidatsolin kanssa, sen jälkeen lisäämällä XXII standardiolosuhteissa, saatiin XXIII. XXIII:n t-BOC-ryhmän suojarahmälle suoritettiin happohydrolyysi standardiolosuhteissa, ja näin saatiin XXIV. Pelkistämällä tämän jäl-
15 keen diboraanilla palautusjäähdytyslämpötilassa kiehuvässä tetrahydrofuraanissa, saatiin XXV, joka neutraloitiin natriumetoksidilla, jolloin saatiin XXVI. Amiini XXVI kondensoitiin sopivalla naftaalihappoanhydridillä, jolloin muodostui XXVII.
20

Kaavio IV



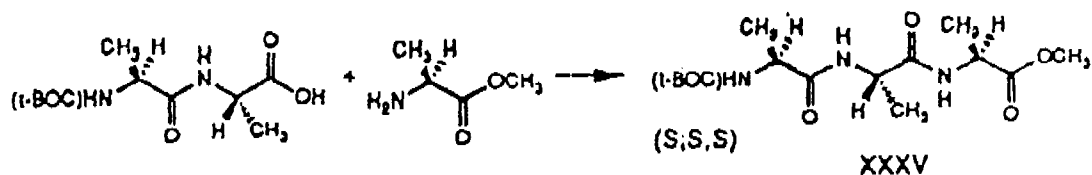
Kaavan (XXXX) mukaisten yhdisteiden synteesi esitetään kaaviossa V (alla). (t-BOC)-alaninyylialaniini saatettiin reagoimaan isobutyrylikloroformaatin kanssa metyleenikloridissa -10 - -15 °C:ssa N-metyylimorfoliinin läsnä ollessa, sen jälkeen lisättiin (S)-alaninimetyyliesteri-
 25 rihydrokloridia, jolloin saatiin XXXV. Esteri XXXV muutettiin sen amidiksi XXXVI antamalla ammoniakki kuplia metanoliiin. t-BOC-ryhmän suojaryhmä poistettiin happohydrolyysillä, jolloin saatiin XXXVII. Pelkistämällä tämän jälkeen tripeptidiamidi XXXVII diboraanilla palautusjäähdytyslämpötilassa kiehu-
 30 vassa tetrahydrofuraanissa, saatiin polyamiinitetrahydrokloridi XXXVIII, joka neutraloitiin natri-

umetoksidilla, jolloin saatiin XXXIX. Tämä amiini XXXIX kondensoitiin sopivalla naftaalihappoanhydridillä, jolloin muodostui XXXX.

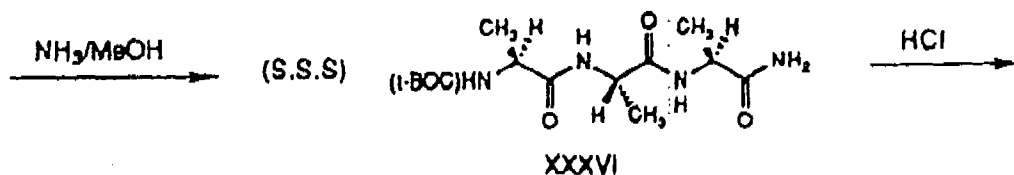
5

Kaavio V

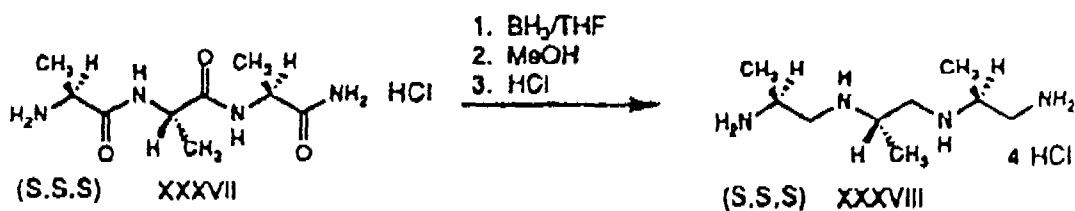
10



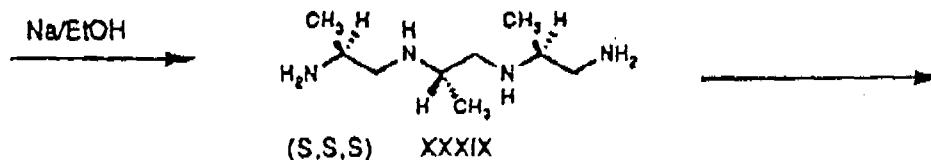
15



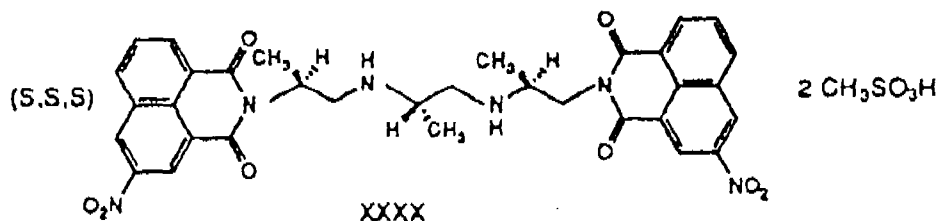
20



25



30

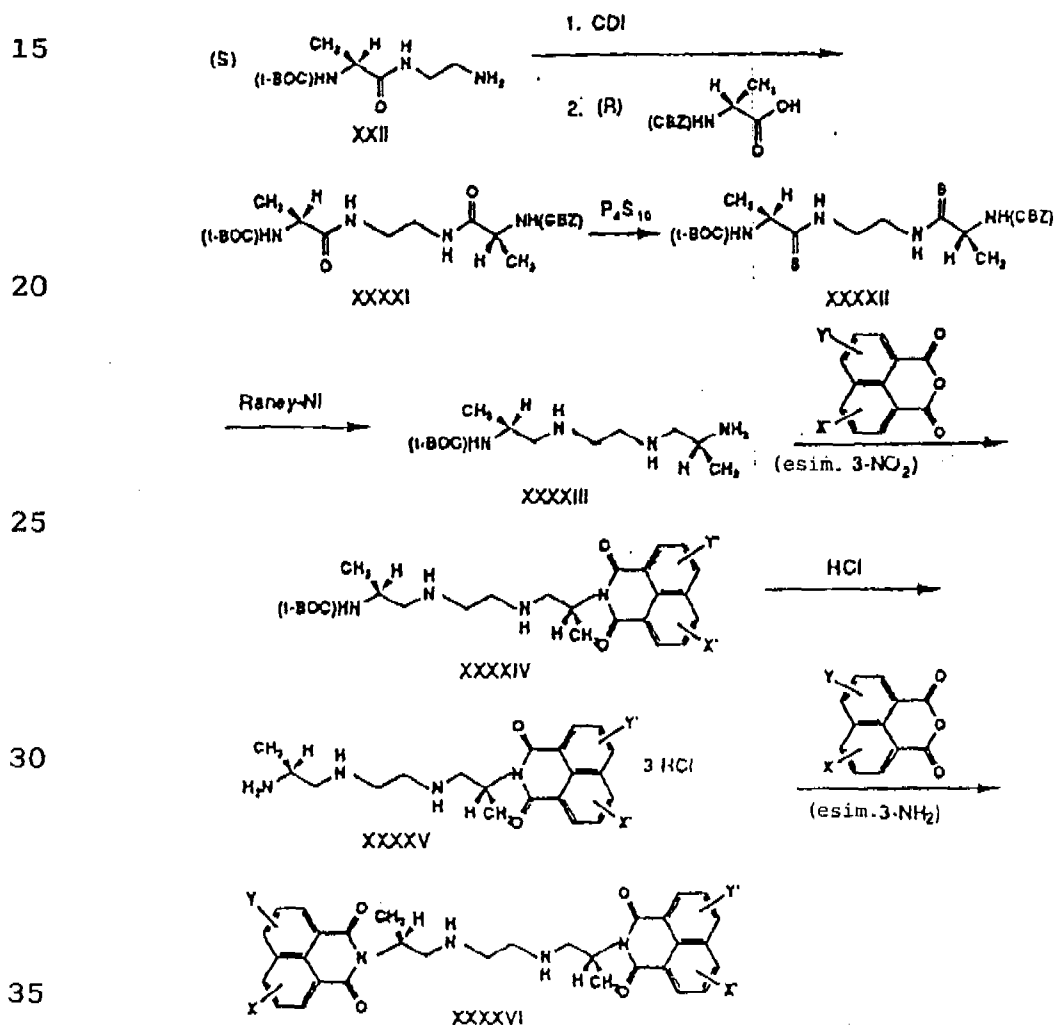


Asymmetrisiä bis-naftalimidejä, joiden kaava on (XXXXVI), voidaan syntetisoida kaaviossa VI kuvatulla tavalla (alla). Saattamalla XXII reagoimaan 1,1'-karbonyyli-

35

di-imidatsolin kanssa, sen jälkeen lisäämällä (R)-bentsyylikarboxyli-alaniinia, saatiin XXXXI. Saattamalla tämä sen jälkeen reagoimaan fosforipentasulfidin kanssa tetrahydrofuraanissa, saatiin vastaavatioamidi XXXXII. Käsittelmälä XXXXII:tä Raney-nikkelillä, saatiin amiini XXXXIII. Amiini XXXXIII kondensoitiin 3-nitro-1,8-naftaalihappoanhydridillä, jolloin saatiin naftalimidi XXXXIV. (t-BOC)-ryhmän suojaryhmä hydrolysoitiin standardiolosuhteissa, jolloin saatiin XXXXV, joka vuorostaan voidaan kondensoida toisella naftaalihappoanhydridillä, jolloin saadaan ei-symmetrisiä bis-naftalimidejä, joiden kaava on XXXXVI.

Kaavio VI



Keksintö tulee paremmin ymmärretyksi seuraavien esimerkkien ja taulukoiden avulla.

Esimerkki 1

(S,S)-2,2'-[1,2-etaanidiyylibis[imino-(1-metyyli-
2,1-etaanidiyyli)]]-bis[5-nitro-1H-bents[de]isoki-
noliini-1,3(2H)-dioni]metaanisulfonaatti (1:2) (Va)

Osa A: (IIIa) (S,S)-N¹, N^{1'}-1,2-etaanidiyylibis[1,2-propaanidiamiini]tetrahydrokloridi.

THF-suspensioon (80 ml), jossa oli IIa:ta (2,75 g,
10 mmol), lisättiin hitaasti 200 ml 1-M:ista BH₃·THF-komp-
leksia. Seosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa 1 1/2 tun-
tia ja sitten sitä kuumennettiin yön yli, jolloin saatiin
kirkas liuos. Kun liuos oli jäähdytetty huoneenlämpöti-
laan, se tukahdutettiin varovasti 100 ml:lla metanolia ja
sitten sitä kuumennettiin palautusjäähdytyslämpötilassa
yön yli. Liuotin haihdutettiin ja jäljelle jääneeseen nes-
teeseen lisättiin 20 ml metanolia ja 5 ml väkevää HCl:a.
Syntynyt valkoinen kiinteä aine kerättiin suodattimelle
typpi-atmosfaarissa, jolloin saatiin 1,92 g (60 %) IIIa:ta;
s.p. 210 - 215 °C. ¹H-NMR (D₂O) δ 3,60 (m, 2H, 2 CH), 3,40
(s, 4H, 2 CH₂), 3,27 (m, 4H, 2 CH₂) ja 1,30 (d, 6H, J = 6,9
Hz, 2 CH₃). MS (DCI) m/e 175 (M+1, vapaa emäs). [α]_D =
2,31° (c = 0,606, H₂O).

Osa B: (IVa) (S,S)-N¹, N^{1'}-1,2-etaanidiyylibis[1,2-propaanidiamiini].

Natriumia (1,03 g, 45 mmol) lisättiin 50 ml:aan
vedetöntä etanolia ja seosta sekoitettiin 1,5 tuntia, kun-
nes kaikki natrium oli liennut. Tähän lisättiin 3,2 g
(10 mmol) IIIa:ta. Kun oli sekoitettu kaksi tuntia, natri-
umkloridisaostuma poistettiin suodattamalla ja suodoksessa
oleva liuotin haihdutettiin. Kugelrohr-tislauksella (120 -
140 °C, 1,4 mmHg) saatiin 1,29 g (74 %) IVa:ta kirkkaana
nesteenä. ¹H-NMR (CDCl₃) δ 2,96 (m, 2H, 2 CH), 2,71 (m, 4H,
2 CH₂), 2,60 (m, 2H, CH₂), 2,40 (m, 2H, CH₂), 1,46 (leveä,

6H, 2 NH₂ ja 2 NH) ja 1,06 (d, 6H, J = 6,2 Hz, 2 CH₃). MS (DCI) m/e 175 (M+1).

Osa C: (Va) (S,S)-2,2'-[1,2-etaanidiyylibis[imino-(1-metyyli-2,1-etaanidiyyli)]]-bis[5-nitro-1H-bents[de]-
5 isokinoliini-1,3(2H)-dioni]metaanisulfonaatti (1:2).

Seosta, jossa oli 3-nitro-1,8-naftaalihappoanhydri-
diä (2,43 g, 10 mmol) ja IVa:ta (0,87 g, 5 mmol), sekoi-
tettiin huoneenlämpötilassa neljä tuntia, kuumennettiin
palautusjäähdytyslämpötilassa kaksi tuntia ja sitten jääh-
dytettiin huoneenlämpötilaan yön yli. Seoksessa oleva liu-
10 otin haihdutettiin ja jäännös puhdistettiin pylväskroma-
tografoimalla, jolloin saatiin 0,87 g (27,9 %) ruskeaa
kiinteää ainetta. Vapaaseen emäkseen (0,84 g, 1,3 mmol),
joka oli 70 ml:ssa metyleenikloridia, lisättiin 0,26 g
15 metaanisulfonihappoa. Kun oli sekoitettu huoneenlämpöti-
lassa yön yli, seoksessa oleva liuotin haihdutettiin ja
jäännökseen lisättiin 34 ml metanolia. Kun oli kuumennettu
palautusjäähdytyslämpötilassa kaksi tuntia, keltainen
kiinteä aine otettiin talteen suodattamalla, sitä kuivat-
20 tiin tyhjiössä 78 °C:ssa kaksi tuntia, jolloin saatiin
0,86 g (81 %) Va:ta, s.p. 212 - 213 °C (hajoaa). ¹H-NMR
(DMSO-d₆) δ 9,53 (d, 2H, J = 2,2 Hz, aromaattisia protone-
ja), 8,96 (d, 2H, J = 2,2 Hz, aromaattisia protoneja),
8,83 (d, 2H, J = 7,7 Hz, aromaattisia protoneja), 8,69 (d,
25 2H, J = 7,3 Hz, aromaattisia protoneja), 8,7 - 8,8 (leveä,
4H, 2 NH₂), 8,09 (t, 2H, J = 7,9 Hz, aromaattisia protone-
ja), 5,46 (m, 2H, 2 CH), 3,86 (m, 2H), 3,2 - 3,5 (m, 6H),
2,20 (s, 6H, 2 CH₃) ja 1,57 (d, 6H, J = 6,9 Hz, 2 CH₃). MS
(DCI) m/e 625 (M+1). Anal. lasketut arvot yhdisteelle
30 C₃₂H₂₈N₆O₆ · 2 CH₃SO₃H (MP 816,81): C, 50,00; H, 4,44; N,
10,29; S, 7,85. Saadut arvot: C, 49,88; H, 4,39; N, 10,14;
S, 7,86.

Vastaavalla tavalla voidaan valmistaa ja karakterisoida esimerkit 2 ja 3.

Esimerkki 2

(Rasemaatti + meso)-2,2'-[1,2-etaanidiyylibis[imino-(1-metyyli-2,1-etaanidiyyli)]]-bis[5-nitro-1H-bents[de]isokinoliini-1,3(2H)-dioni]metaanisulfonaatti (1:2) (Vc)

5

Vaalean keltainen kiinteä aine (18 % saanto); sp. 220 - 221 °C (hajoaa). Vc:n ¹H-NMR on lähes identtinen Va:n spektrin kanssa, paitsi että Vc:ssä näkyy d:n d δ 1,59 ppm:ssä, mikä johtuu dl-parin ja meson läsnäolosta. MS (DCI) m/e 625 (M+1). Anal. lasketut arvot yhdisteelle C₃₂H₂₈N₆O₈ · 2 CH₃SO₃H · H₂O (MP 834,83): C, 48,92; H, 4,59; N, 10,07; S, 7,68. Saadut arvot: C, 49,10, 49,01; H, 4,45; N, 10,02, 9,96; S, 7,39, 7,45.

10

Esimerkki 3

15

(R,R)-2,2'-[1,2-etaanidiyylibis[imino-(1-metyyli-2,1-etaanidiyyli)]]-bis[5-nitro-1H-bents[de]isokinoliini-1,3(2H)-dioni]metaanisulfonaatti (1:2) (Vb)

20

Vaalean keltainen kiinteä aine (25 % saanto); sp. 210 - 211 °C (hajoaa). Vb:n ¹H-NMR oli identtinen Va:n spektrin kanssa. MS (DCI) m/e 625 (M+1). Anal. lasketut arvot yhdisteelle C₃₂H₂₈N₆O₈ · 2 CH₃O₃H (MP 816,81): C, 50,00; H, 4,44; N, 10,29; S, 7,85. Saadut arvot: C, 49,98; H, 4,41; N, 10,14; S, 7,81.

Esimerkki 4

25

(Meso)-2,2'-[1,2-etaanidiyylibis[imino-(1-metyyli-2,1-etaanidiyyli)]]-bis[5-nitro-1H-bents[de]isokinoliini-1,3(2H)-dioni]metaanisulfonaatti (1:2) (XXVII)

30

Osa A: (XXI) 1,1-dimetyylietyyli-(S)-[2-[(syanomeetyyli)amino]-1-metyyli-2-oksoetyyli]karbamaatti.

35

Seosta, jossa oli aminoasetonitriilihydrokloridia (9,25 g, 100 mmol) ja N-metyylimorfoliinia (10,1 g, 100 mmol) 100 ml:ssa THF:a, sekoitettiin 15 minuuttia. N-t-BOC-(S)-alaniinia (18,9 g, 100 ml) ja N-metyylimorfoliinia (10,1 g, 100 mmol), jotka olivat 100 ml:ssa THF:a, sekoit-

tettiin jää-suolahauteessa. Isobutyylidikloroformaattia (12,97 ml, 100 mmol) lisättiin sellaisella nopeudella, että seoksen lämpötila ei ylittänyt 10 °C:sta, ja nitriili-N-metyylimorfoliinisuspensioseos lisättiin kahden minuutin kuluttua. Seosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa yön yli. N-metyylimorfoliinihydrokloridi poistettiin suodattamalla ja suodoksessa oleva liuotin haihdutettiin. Jäljelle jäänyt neste laimennettiin metyleenikloridilla (500 ml), pestiin pestiin K₂CO₃:n vesiliuoksella (2 x 100 ml), H₂O:lla (1 x 100 ml). Kerrokset erotettiin ja orgaaninen kerros kuivattiin vedettömällä MgSO₄:lla, suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin 15,85 g (69,7 %) käsittelemätöntä tuotetta. Tämä puhdistettiin pylväskromatografoimalla, jolloin saatiin puhdasta XXI:tä (14,88 g, 65,5 %), sp. 99 - 100 °C. ¹H-NMR (CDCl₃) δ 7,32 (leveä, 1H, NH), 5,12 (d, 1H, J = 5,8 Hz, NH), 4,15 (m, 3H, CH ja CH₂), 1,46 (s, 9H, 3 CH₃) ja 1,39 (d, 3H, J = 7,0 Hz, CH₃). MS (CI) m/e 228 (M+1).

Osa B: (XXII) 1,1-dimetyylietyyli-(S)-[2-[(2-aminoetyyli)amino]-1-metyyli-2-oksoetyyli]karbamaatti.

Seosta, jossa oli XXI:tä (2,0 g, 8,8 mmol) ja palladiumhydroksidia (0,5 g) 15 ml:ssa etikkahappoa, hydrattiin (50 psi) Parr-ravistuslaitteessa 1 1/2 tunnin ajan. Katalyytti poistettiin seoksesta suodattamalla. Suodoksessa oleva etikkahappo poistettiin tislaamalla tyhjässä, jolloin saatiin vaalean keltaista viskoosia nestettä, joka lisättiin 15 ml:aan metanolia ja 1 g:aan natriumbikarbonaattia. Seosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa useita tunteja. Natriumasetaatti poistettiin suodattamalla ja suodoksessa oleva liuotin haihdutettiin, jolloin saatiin käsittelemätön tuote. Tämä puhdistettiin pylväskromatografoimalla, jolloin saatiin puhdasta XXII:ta (0,92 g, 45,2 %) viskoosina nesteenä. ¹H-NMR (CDCl₃) δ 7,08 (leveä, 1H, NH), 5,28 (leveä, 1H, NH), 3,28 - 3,26 (m, 2H, CH₂), 2,84

(t, 2H, $J = 5,9$ Hz, CH_2), 1,41 (s, 9H, 3 CH_3) ja 1,34 (d, 3H, $J = 6,9$ Hz, CH_3). MS (CI) m/e 232 (M+1).

Osa C: (XXIII) 1,1-dimetyylietyyli-(meso)-[1,2-etaanidiyylibis[imino-(1-metyyli-2-okso-2,1-etaanidiyy-
5 li)]]-bis(karbamaatti).

Seosta, jossa oli N-t-BOC-(R)-alaniinia (0,74 g, 3,9 mmol) ja 1,1'-karbonyylidi-imidatsolia (0,64 g, 3,9 mmol) 20 ml:ssa metyleenikloridia, sekoitettiin jäähau-
teella jäähdyttäen 1 1/2 tuntia. Tähän lisättiin XXII:ta
10 (0,91 g, 3,9 mmol) 10 ml:ssa metyleenikloridia, jäähau-
teessa jäähdyttäen. Seosta sekoitettiin ympäristön lämpö-
tilassa yön yli. Tuote otettiin talteen suodattamalla,
jolloin saatiin XXIII:a (1,22 g, 77,9 %) valkoisena kiin-
teänä aineena. $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) δ 7,83 (leveä, 2H, 2 NH),
15 6,85 (m, 2H, 2 NH), 3,90 (m, 2H, 2 CH), 3,13 (m, 4H, 2
 CH_2), 1,50 (s, 10H, 6 CH_3) ja 1,18 (d, 6H, 2 CH_3). MS (CI)
m/e 403 (M+1).

Osa D: (XXIV) (Meso)-N,N'-1,2-etaanidiyylibis[2-aminopropanamidi]dihydrokloridi.

20 Seosta, jossa oli XXIII:a (1,18 g, 2,9 mmol) ja
2,7 ml 4,4-N:ista HCl:a 40 ml:ssa dioksaania, kuumennet-
tiin palautusjäähdytyslämpötilassa viisi tuntia ja jäähdy-
tettiin sitten huoneenlämpötilaan yön yli. Seoksen liuotin
haihdutettiin, jolloin saatiin XXIV:ää (0,75 g, 94 %) val-
25 koisena kiinteänä aineena. $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) δ 8,81 (leveä,
2H, 2 NH), 8,33 (leveä, 4H, 2 NH_2), 3,83 (q, 2H, $J = 6,9$
Hz, 2 CH), 3,21 (leveä s, 4H, 2 CH_2) ja 1,37 (d, 6H, $J =$
6,9 Hz, 2 CH_3).

30 Osa E: (XXV) (Meso)-N¹,N^{1'}-1,2-etaanidiyylibis[1,2-
propanidiamiini]tetrahydrokloridi.

30 ml:aan tai 1-M:seen booraani-THF-kompleksiin
lisättiin 0,75 g (2,7 mmol) XXIV:ää. Seosta kuumennettiin
palautusjäähdytyslämpötilassa yön yli. Kun reaktioseos oli
jäähdytetty huoneenlämpötilaan, siihen lisättiin hitaasti
35 metanolia (15 ml). Seosta kuumennettiin sitten palautus-

jäähdytyslämpötilassa kolme päivää. Liuottimet haihdutettiin seoksesta. Jäännökseen lisättiin 20 ml metanolia ja 1,5 ml väkevää HCl:a. Seosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa neljä tuntia ja sitten liuotin ja ylimääräinen HCl
 5 haihdutettiin, jolloin saatiin XXV:tä (0,81 g, 93,7 %) valkoisena kiinteänä aineena. $^1\text{H-NMR}(\text{D}_2\text{O})$ δ 3,66 (m, 2H), 3,37 (2, 4H), 3,24 (m, 4H) ja 1,29 (d, 6H, $J = 7,0$ Hz, 2 CH_3). MS (CDI) m/e 175 ($M+1$).

Osa F: (XXVI) (Meso)- $\text{N}^1, \text{N}^{1'}$ -1,2-etaanidiyylibis[1,2-propaanidiamiini].
 10

Juuri valmistettuun liuokseen, jossa oli natriumetoksidia etanolissa (0,26 g natriumia 40 ml:ssa etanolia), lisättiin 0,81 g XXV:tä. Seosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa yksi tunti. Natriumkloridi poistettiin suodattamalla ja liuotin haihdutettiin suodoksesta. Tuote eristettiin jäännöksestä Kugelrohr-tislauksella (88 - 89 °C 0,4 mmHg), jolloin saatiin XXVI:ta 0,32 g, 73,4 %) kirkkaana nesteenä. $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ 2,88 (m, 2H, 2 CH), 2,63 (m, 4H, 2 CH_2), 2,48 (m, 2H, CH_2), 2,29 (m, 2H, CH_2),
 15 1,54 (leveä s, 6H, 2 NH_2 ja 2 NH) ja 0,96 (d, 6H, $J = 6,2$ Hz, 2 CH_3). MS (CI) m/e 175 ($M+1$).
 20

Osa G: (XXVII) (Meso)-2,2'-[1,2-etaanidiyylibis[imino-(1-metyyli-2,1-etaanidyyli)]]-bis[5-nitro-1H-bents[de]isokinoliini-1,3(2H)-dioni]metaanisulfonaatti (1:2).
 25

Seosta, jossa oli 3-nitro-1,8-naftaalihappoanhydridiä (0,78 g, 3,2 mmol) ja XXVI:ta (0,28 g, 1,6 mmol) 25 ml:ssa etanolia, sekoitettiin huoneenlämpötilassa yön yli ja kuumennettiin sitten palautusjäähdytyslämpötilassa 2 2/3 tuntia. Liuotin haihdutettiin seoksesta, jolloin
 30 saatiin käsittelemättömiä tuotteita. Tämä puhdistettiin pylväskromatografoimalla, jolloin saatiin puhdasta tuotetta (0,39 g, 39 %) sen vapaana emäksenä. Tämä muutettiin sen metaanisulfonaattisuolaksi, XXVII, (0,33 g, 25,3 %); sp. 243 - 244,5 °C (hajoaa). $^1\text{H-NMR}(\text{DMSO}-d_6)$ δ 9,53 (s, 2H, aromaattisia protoneja), 8,96 (s, 2H, aromaattisia
 35

protoneja), 8,82 (d, 2H, $J = 8,0$ Hz, aromaattisia protoneja), 8,77, 8,74 (leveä, 4H, 2 NH_2^+), 8,70 (d, 2H, $J = 6,9$ Hz, aromaattisia protoneja), 8,09 (t, 2H, $J = 7,7$ Hz, aromaattisia protoneja), 5,47 (m, 2H, 2 CH), 3,87 (m, 2H), 3,43 (m, 2H), 3,27 (leveä, 4H), 2,20 (s, 6H, 2 $\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$) ja 1,58 (d, 6H, $J = 6,6$ Hz, 2 CH_3). IR (KBr) 3445 (NH), 1770. 1668 (C=O) cm^{-1} . MS (DCI) m/e 625 ($\text{M}+1$). Anal. lasketut arvot yhdisteelle $\text{C}_{32}\text{H}_{28}\text{N}_6\text{O}_8$ 2 $\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$ 1/2 H_2O (MP 826,53): C, 49,41; H, 4,60; N, 10,17; S, 7,76. Saadut arvot: C, 49,45, 49,41; H, 4,33, 4,29; N, 10,11, 10,21; S, 7,50, 7,58.

Esimerkki 5

(S,S)-2,2'-[1,2-etaanidiyylibis[imino-(2-metyyli-2,1-etaanidiyyli)]]-bis[5-nitro-1H-bents[de]isokinoliini-1,3(2H)-dioni]metaanisulfonaatti (1:2) (XIXa)

Osa A: (XVa) Dimetyyli-N,N'-1,2-diokso-1,2-etaanidiyyli)bis[S-alaniini].

Seosta, jossa oli (S)-alaniinimetyyliesterihydrokloridia (14 g, 100 mmol) ja oksalyylidikloridia (4,9 ml, 55 mmol) 150 ml:ssa bentseeniä, kuumennettiin palautusjäähdytyslämpötilassa yön yli. Kun oli jäähdytetty huoneenlämpötilaan, valkoinen kiinteä aine otettiin talteen suodattamalla, jolloin saatiin 12,36 g (95 %) XVa:ta; sp. 167 - 170 °C. $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) δ 9,15 (d, 2H, 2 NH), 4,40 (kvintetti, 2H, 2 CH), 3,67 (s, 6H, 2 OCH_3) ja 1,40 (d, 6H, 2 CH_3). MS (DCI) m/e 261 ($\text{M}+1$). $[\alpha]_D -65,32^\circ$ ($c = 1,012$, AcOH).

Osa B: (XVIa) (S,S)-N,N'-bis[2-amino-1-metyyli-2-oksoetyyli)etaanidiamiini.

Yhdiste XVa (5,21 g, 20 mmol) lisättiin metanoliliuokseen, joka oli kyllästetty ammoniakilla, jäähauteessa jäähdyttäen. Seokseen annettiin edelleen kuplia ammoniakia tunnin ajan ja sitten sitä sekoitettiin huoneenlämpötilassa yön yli. Valkoinen kiinteä aine otettiin talteen

suodattamalla, jolloin saatiin 3,65 g (79 %) XVIa:ta. ^1H -NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 8,50 (d, 2H, $J = 7,7$ Hz, 2 NH), 7,50 (s, 2H, NH_2), 7,21 (s, 2H, NH_2), 4,25 (kvintetti, 2H, $J = 7,3$ Hz, 2 CH) ja 1,31 (d, 6H, $J = 7,3$ Hz, 2 CH_3). MS (DCI) m/e 231 (M+1), $[\alpha]_d +69,14^\circ$ ($C = 0,418$, DMF).

Osa C: (XVIIa) (S,S)- $\text{N}^2, \text{N}^{2'}$ -1,2-etaanidiyylibis[1,2-propaanidiamiini]tetrahydrokloridi.

Seokseen, jossa oli XVIa:ta (3,5 g, 15,2 mmol) 100 ml:ssa THF:a, lisättiin 150 ml 1-M:Ista $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ -kompleksia. Kun oli kuumennettu palautusjäähdytyslämpötilassa yön yli, reaktioseos jäähdytettiin huoneenlämpötilaan ja lisättiin 80 ml metanolia hitaasti. Seosta kuumennettiin palautusjäähdytyslämpötilassa yön yli ja pieni määrä mukana olevaa saostumaa poistettiin suodattamalla. Liuot-

timet haihdutettiin suodoksesta ja jäljelle jääneeseen nesteeseen lisättiin 30 ml metanolia ja 7,5 ml väkevää HCl:a, jäähauteessa jäähdyttäen. Kun oli sekoitettu 1,5 tuntia, seos jauhettiin kuivaksi etyylietterillä ja tuote otettiin talteen suodattamalla, jolloin saatiin 3,92 g (81 %) XVIIa:ta; ^1H -NMR (D_2O) δ 3,54 (m, 2H, 2 CH), 3,31 (m, 6H), 3,06 (m, 2H) ja 1,28 (d, 6H, $J = 6,6$ Hz, 2 CH_3). MS (DCI) m/e 175 (M+1, vapaa emäs). $[\alpha]_D +8,39^\circ$ ($c = 0,632$, H_2O).

Osa D: (XVIIIa) (S,S)- $\text{N}^2, \text{N}^{2'}$ -1,2-etaanidiyylibis[1,2-propaanidiamiini].

Yhdiste XVIIa (3,2 g, 10 mmol) lisättiin juuri valmistettuun natriumetoksidiliuokseen, joka oli etanolissa (1,03 g natriumia 50 ml:ssa etanolia). Kun oli sekoitettuu huoneenlämpötilassa yön yli, seoksessa oleva natriumkloridi poistettiin suodattamalla ja liuotin haihdutettiin suodoksesta. Jäljelle jäänyt seos puhdistettiin Kugelrohrtilauksella (110 - 124 $^\circ\text{C}$, 0,7 mmHg), jolloin saatiin 1,43 g (82 %) XVIIIa:ta kirkkaana nesteenä. ^1H -NMR (CDCl_3) δ 2,8 - 2,4 (m, 10H, 4 CH_2 ja 2 CH), 1,57 (leveä, 6H, 2 NH_2 ja 2

NH) ja 0,91 (d, 6H, $J = 5,9$ Hz, 2 CH₃). $[\alpha]_D +120^\circ$ ($c = 0,310$, bentseeni).

Osa E: (XIXa) (S,S)-2,2'-[1,2-etaanidiyylibis[imino-(2-metyyli-2,1-etaanidiyyli)]]-bis[5-nitro-1H-bents[de]isokinoliini-1,3(2H)-dioni]metaanisulfonaatti (1:2).

Seosta, jossa oli 3-nitro-1,8-naftaalihappoanhydridiä (1,46 g, 6,0 mmol) ja XVIIIa:ta (0,52 gm 3 mmol) 30 ml:ssa etanolia, sekoitettiin huoneenlämpötilassa yön yli. Tähän lisättiin 0,63 g metaanisulfonihappoa. Kun oli sekoitettu yön yli, tuote eristettiin suodattamalla ja puhdistettiin kuumentamalla 50 ml:ssa metanolia yön yli, ja näin saatiin 1,37 g (55 %) XIXa:ta; sp. 254 - 255 °C (hajoaa). ¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 9,55 (d, 2H, $J = 1,9$ Hz, aromaattisia protoneja), 9,0 (d, 2H, $J = 1,9$ Hz, aromaattisia protoneja), 8,85 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz, aromaattisia protoneja), 8,73 (d, 2H, $J = 7,0$ Hz, aromaattisia protoneja), 8,11 (t, 2H, $J = 7,9$ Hz, aromaattisia protoneja), 4,39 - 4,27 (m, 4H, 2 CH₂), 3,75 (m, 2H, 2 CH), 2,26 (s, 6H, 2 CH₃) ja 1,35 (d, 6H, $J = 6,9$ Hz, 2 CH₃). MS (DCI) m/e 625 (M+1). Anal. lasketut arvot yhdisteelle C₃₂H₂₈N₆O₈ · 2 CH₃SO₃H · H₂O (MP 834,83): C, 48,92; H, 4,59; N, 10,07; S, 7,68. Saadut arvot: C, 48,97, 48,84; H, 4,43, 4,46; N, 10,16, 10,13; S, 7,83, 7,84.

Esimerkki 6 (ei keksinnön mukainen yhdiste)

(S,S)-2,2'-[1,2-etaanidiyylibis[imino-(2-metyyli-2,1-etaanidiyyli)]]-bis[1H-bents[de]isokinoliini-1,3(2H)-dioni]metaanisulfonaatti (1:2) (XXa)

Korvaamalla 3-nitro-1,8-naftaalihappoanhydridi 1,8-naftaalihappoanhydridillä, valmistettiin yhdiste XXa.

Valkoista kiinteää ainetta (78 % saanto); sp. 289 - 290 °C (hajoaa). ¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 8,96 (leveä, 2H, NH₂⁺), 8,80 (leveä, 2H, NH₂⁺), 8,57 - 8,53 (m, 8H, aromaattisia protoneja), 7,94 (t, 4H, $J = 7,7$ Hz, aromaattisia protoneja), 4,45 - 4,23 (m, 4H, 2 CH₂), 3,81 (m, 2H, 2 CH), 2,28 (s, 6H, 2 CH₃) ja 1,36 (d, 6H, $J = 6,6$ Hz, 2 CH₃). MS (DCI)

m/e 535 (M+1, vapaa emäs). Anal. lasketut arvot yhdisteelle $C_{32}H_{30}N_4O_4 \cdot 2 CH_3SO_3H \cdot H_2O$ (MP 744,83): C, 54,83; H, 5,41; N, 7,42; S, 8,61. Saadut arvot: C, 55,18, 55,29; H, 5,17, 5,24; N, 7,42, 7,47; S, 8,66, 8,64.

5

Esimerkki 7

(R,R)-2,2'-[1,2-etaanidiyylibis[imino-(2-metyyli)-2,1-etaanidiyyli]]-bis[5-nitro-1H-bents[de]isokinoliini-1,3(2H)-dioni]metaanisulfonaatti (1:2) (XIXb)

Vaalean ruskea kiinteä aine (34,5 % saanto); sp.

10 248 - 251 °C (hajoaa). 1H -NMR (DMSO- d_6) δ 9,54 (d, 2H, J = 2,2 Hz, aromaattisia protoneja), 8,99 (d, 2H, J = 1,9 Hz, aromaattisia protoneja), 8,83 (d, 2H, J = 8,0 Hz, aromaattisia protoneja), 8,72 (d, 2H, J = 6,9 Hz, aromaattisia protoneja), 8,10 (t, 2H, J = 7,9 Hz, aromaattisia protoneja),
15 4,33 - 4,18 (m, 4H, 2 CH_2), 3,46 (m, 6H), 2,28 (s, 6H, 2 CH_3) ja 1,28 (m, 6H, 2 CH_3). MS (CI) m/e 625 (M+1). Anal. lasketut arvot yhdisteelle $C_{32}H_{28}N_6O_8 \cdot 2 CH_3SO_3H$ (MP 816,81) C, 50,00; H, 4,44; N, 10,09; S, 7,85. Saadut arvot: C, 50,16; H, 4,34; N, 10,19; S, 7,62.

20

Esimerkki 8

(Raseeminen + meso)-2,2'-[1,2-etaanidiyylibis[imino-(2-metyyli-2,1-etaanidiyyli)]-bis[5-nitro-1H-bents[de]isokinoliini-1,3(2H)-dioni]metaanisulfonaatti (1:2) XIXc)

25

Keltainen kiinteä aine (18,9% saanto); sp. 278 - 281 °C (hajoaa). 1H -NMR (DMSO- d_6) δ 9,58 (d, 2H, aromaattisia protoneja), 9,0 (d, 2H, aromaattisia protoneja), 8,85 (d, 2H, aromaattisia protoneja), 8,75 (d, 2H, aromaattisia protoneja), 8,13 (t, 2H, aromaattisia protoneja), 4,50 -
30 4,25 (m, 4H, 2 CH_2), 3,80 (m, 2H, 2 CH), 3,40 (m, 4H, 2 CH_2), 2,30 (s, 6H, 2 CH_3) ja 1,38 (d, 6H, 2 CH_3). MS (CI) m/e 625 (M+1). Anal. lasketut arvot yhdisteelle $C_{32}H_{28}N_6O_8 \cdot 2 CH_3SO_3H$ (MP 816,81) C, 50,00; H, 4,44; N, 10,09; S, 7,85. Saadut arvot: C, 49,62; H, 4,42; N, 10,07; S, 7,80.

Esimerkki 9 (ei keksinnön mukainen yhdiste)

(R,R)-2,2'-[1,2-etaanidiyylibis[imino-[2-metyyli-2,1-etaanidiyyli]-bis[6-nitro-1H-bents[de]isokino-
liini-1,3(2H)-dioni]metaanisulfonaatti (1:2)
(XXVIIb)

5

Keltainen kiinteä aine (17,0 % saanto); sp. 230 -
233 °C (hajoaa). ¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 9,03 (leveä, 2H, NH₂⁺),
8,93 (leveä, 2H, NH₂⁺), 8,76 (d, 2H, J = 8,8 Hz, aromaattisia
protoneja), 8,68 - 8,57 (m, 6H, aromaattisia protoneja),
10 8,13 (t, 2H, J = 7,7 Hz, aromaattisia protoneja),
4,37 - 4,26 (m, 4H, 2 CH₂), 3,77 (m, 2H, 2 CH), 3,36 (s,
4H, 2 CH₂), 2,25 (s, 5,4H, 1,8 CH₃SO₃H) ja 1,35 (d, 6H, 2
CH₃). MS (CI) m/e 625 (M+1). Anal. lasketut arvot yhdis-
teelle C₃₂H₂₈N₆O₈ · 1,8 CH₃SO₃H (MP 797,59) C, 50,90; H, 4,45;
15 N, 10,54; S, 7,24. Saadut arvot: C, 50,65, 50,56; H, 4,36,
4,36; N, 10,22, 10,18; S, 6,96, 6,96.

Esimerkki 10 (ei keksinnön mukainen yhdiste)

(R,R)-2,2'-[1,2-etaanidiyylibis[imino-[2-metyyli-2,1-etaanidiyyli]-bis[5,8-dinitro-1H-bents[de]iso-
kinoliini-1,3(2H)-dioni]metaanisulfonaatti (1:2)
(XXIXb)

20

Vaalean ruskea kiinteä aine (21,1 % saanto); s.p.
227 - 230 °C (hajoaa). ¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 9,84 (d, 4H, J =
1,5 Hz, 4 aromaattista protonia), 9,13 (d, 4H, J = 1,4 Hz,
25 aromaattisia protoneja), 9,02 (leveä, 2H, NH₂⁺), 8,86 (le-
veä, 2H, NH₂⁺), 4,50 - 4,25 (m, 4H, 2 CH₂), 3,81 (m, 2H, 2
CH), 3,34 (leveä, 4H, 2 CH₂), 2,24 (s, 6H, 2 CH₃) ja 1,39
(d, 6H, J = 4,7 Hz, 2 CH₃). Anal. lasketut arvot yhdisteel-
le C₃₂H₂₈N₆O₁₂ · 2 CH₃SO₃H (MP 906,80) C, 45,03; H, 3,75; N,
30 12,36; S, 7,06. Saadut arvot: C, 44,75; H, 3,69; N, 12,21;
S, 6,87.

Esimerkki 11

(Raseeminen)-2,2'-[1,2-etaanidiyylibis[imino-[2-metyyli-2,1-etaanidiyyli]-bis[5-nitro-1H-bents[de]-isokinoliini-1,3(2H)-dioni]metaanisulfonaatti(1:2)
(XXXIV)

5

Yhdiste valmistettiin sekoittamalla yhtä suuret määrät vastaavia (S,S)- ja (R,R)-enantiomeerejä (se on XIXa ja XIXb, tässä järjestyksessä). Vaalean ruskea kiinteä aine (90 % saanto), sp. 254 - 255 °C (hajoaa). NMR-spektri on identtinen XIXa:n ja XIXb:n spektrin kanssa. Anal. lasketut arvot yhdisteelle $C_{32}H_{28}N_6O_8 \cdot 2 CH_3SO_3H$ (MP 816,81) C, 50,00; H, 4,44; N, 10,29; S, 7,85. Saadut arvot: C, 49,69; H, 4,21; N, 10,19; S, 7,66.

10

Esimerkki 12 (ei keksinnön mukainen yhdiste)

15

(S,S,S)-5-nitro-2-[2-[[2-(5-nitro-1,3-diokso-1H-bents[de]isokinoliini-2(3H)-yyli)-1-metyylietyyli]-amino]-1-metyylietyyli]amino]-1-metyylietyyli]-1H-bents[de]isokinoliini-1,3(2H)-dioni]metaanisulfonaatti (1:2) (XXXX)

20

Osa A: (XXXV) Metyyli-N-[N-[N-[(1,1-dimetyylietoksi)karbonyyli]-L-alanyyli]-L-alanyyli]-L-alaniini.

THF-liuokseen (50 ml), jossa oli (t-BOC)-Ala-Ala-OH:ta (5,0 g, 19,2 mmol) ja N-metyylimorfoliinia (3,88 g, 38,4 mmol), lisättiin isobutyrylikloroformaattia (2,62 g, 19,2 mmol) tipoittain, pitäen lämpötila 10 - 15 °C:n välillä. Kun lisäys oli suoritettu, reaktioseosta sekoitettiin vielä 15 minuuttia. Tähän lisättiin 2,68 g (19,2 mmol) (s)-alaniinimetyyliesterihydrokloridia. Kun oli sekoitettu ympäristön lämpötilassa yön yli, valkoinen N-metyylimorfoliinihydrokloridi poistettiin suodattamalla ja liuotin haihdutettiin suodoksesta. Jäljelle jäänyt neste laimennettiin metyleenikloridilla (350 ml), pestiin 5 % natriumbikarbonaatilla (2 x 150 ml), vedellä (1 x 150 ml), 0,1 N HCl:llä (1 x 150 ml), vedellä (1 x 150 ml), suolaliuoksella (1 x 100 ml), kuivattiin vedettömällä magnesium-

25

30

35

sulfaatilla, suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin 4,32 g valkoista kiinteää ainetta, XXXV (65,1 % saanto), sp. 168 - 172 °C. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 6,70 (m, 2H, 2 NH), 4,98 (leveä, 1H), 4,48 (m, 2H, 2 CH), 3,70 (s, 3H, CH_3), 1,38 (s, 18H, 6 CH_3) ja 1,30 (m, 6H, 2 CH_3). MS (CI) m/e 346 (M+1). IR (KBr) 3391, 3319, 3275 (NH), 1742, 1710, 1674, 1638 (C=O) cm^{-1} . $[\alpha]_D^{25}$ -50,33° (c = 0,600, CH_2Cl_2).

Osa B: (XXXVI) N-[(1,1-dimetyylietoksi)karbonyyli]-L-alanyyli-L-alanyyli-L-alaniiniamidi.

80 ml:aan metanolia, joka oli kyllästetty ammoniakilla, lisättiin 2,75 g (7,96 mmol) XXXV:tä. Reaktioseos jäädytettiin jäähauteella ja saatettiin sitten edelleen reagoimaan ammoniakkin kanssa 10 minuutiksi. Reaktiota sekoitettiin ympäristön lämpötilassa yön yli. Liuoksessa oleva liuotin haihdutettiin, jolloin saatiin keltaista kiinteää ainetta, XXXVI (2,45 g, 93 % saanto); sp. 202 - 208 °C. $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) δ 7,83 - 7,95 (m, 2H, 2 NH), 7,25 (leveä, 1H, NH), 7,01 (leveä, 2H, NH_2), 4,2 (m, 2H, 2 CH), 3,83 (m, 1H, CH), 1,38 (s, 9H, 3 CH_3) ja 1,20 (m, 9H, 3 CH_3). MS (DCI) m/e 331 (M+1). $[\alpha]_D^{25}$ -6,00° (c = 0,0600, DMSO).

Osa C: (XXXVII) L-alanyyli-L-alanyyli-L-alaniiniamidihydrokloridi.

Seos, jossa oli XXXVI:ta (1,95 g, 5,9 mmol) ja 4,4 M HCl:a (2,68 ml) dioksaanissa, lisättiin 40 ml:aan dioksaania 0 °C:ssa kahden tunnin aikana ja sitten sitä lämmitettiin huoneenlämpötilaan yön yli. Seoksessa oleva liuotin haihdutettiin kuiviin, jolloin saatiin 1,77 g XXXVII:ää harmahtavan valkoisena kiinteänä aineena; sp. 237 - 240 °C (hajoaa). $^1\text{H-NMR}$ (D_2O) δ 4,2 - 4,05 (m, 2H, 2 CH), 2,95 - 3,85 (m, 1H, CH) ja 1,25 (m, 9H, 3 CH_3). MS (CI) m/e 231 (M+1). IR (KBr) 3438, 3294, (NH_2), 1676, 1639 (C=O) cm^{-1} . $[\alpha]_D^{25}$ -19,96° (c = 0,606, CH_3OH).

Osa D: (XXXVIII) (S,S,S)-N¹-(2-amino-1-metyylietyyli)-N²-(2-aminopropyyli)-1,2-propaanidiamiinitetrahydrokloridi

Seokseen, jossa oli XXXVII:ää (1,70 g, 6,37 mmol) 150 ml:ssa THF:a, lisättiin 58 ml 1 M BH₃·THF -kompleksia. Seosta kuumennettiin palautusjäähdytyslämpötilassa yön yli. Liuos jäähdytettiin jäähauteessa ja tukahdutettiin lisäämällä tiipoittain 50 ml metanolia. Liuosta kuumennettiin palautusjäähdytyslämpötilassa yön yli. Reaktioliuok-
 10 sessa olevat liuottimet poistettiin pyöröhaihduksessa. Jäljelle jääneeseen nesteeseen lisättiin metanolia (50 ml) ja se haihdutettiin jälleen trimetyylliboraatin poistamiseksi. Neste laimennettiin metanolilla (25 ml), sen jälkeen lisättiin 4,0 ml väkevää HCl:a. Kun oli sekoitettu
 15 kaksi tuntia, tämä jauhettiin kuivaksi etyylietterin kanssa, suodatettiin, jolloin saatiin 1,10 g (51,7 % saanto) XXXVIII:aa valkoisena kiinteänä aineena; sp. 277 - 278 °C (hajoaa). MS (DCI) m/e 189 (M+1); IR (KBr) 3436 (NH, NH₂) cm⁻¹.

20 Osa E: (XXXIX) (S,S,S)-N¹-(2-amino-1-metyylietyyli)-N²-(2-aminopropyyli)-1,2-propaanidiamiini.

Juuri valmistettuun natriumetoksidiliuokseen (0,32 g natriumia 20 ml:ssa etanolia) lisättiin 1,05 g (3,1 mmol) XXXVIII:aa. Seosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa yön yli. Natriumkloridi poistettiin suodattamalla ja suodoksen liuotin haihdutettiin. Jäljelle jäänyt neste puhdistettiin Kugelrohr-tislauksella (0,4 mmHg, 94 - 104 °C), jolloin saatiin 0,41 g XXXIX:ää vaalean keltaisena nesteena (70,2 % saanto). ¹H-NMR (CDCl₃) δ 2,90 (m, 1H, CH), 2,80 (m, 2H, 2 CH), 2,53 - 2,30 (m, 6H, 3 CH₂), 1,58 (leveä, 6H, 2 NH₂ ja 2 NH) ja 0,98 (m, 9H, 3 CH₃).
 30

Osa F: (XXXX) (S,S,S)-5-nitro-2-[2-[[2-(5-nitro-1,3-diokso-1H-bents[de]isokinoliini-2(3H)-1-metyylietyyliamino]-1-metyylietyyliamino]-1-metyylietyyli]-1H-

bents[de]isokinoliini-1,3(2H)-dioni]metaanisulfonaatti (1:2).

Seosta, jossa oli 3-nitro-1,8-naftaalihappoanhydridiä (1,06 g, 4,4 mmol) ja XXXIX:ää (0,41 g, 2,2 mmol) 25 ml:ssa etanolia, sekoitettiin huoneenlämpötilassa yön yli ja kuumennettiin sitten palautusjäähdytyslämpötilassa 1 1/4 tuntia. Seoksen liuotin haihdutettiin ja jäljelle jäänyt tumma jäännös puhdistettiin pylväskromatografoimalla, jolloin saatiin 0,83 g vapaata emästä vaalean ruskeana kiinteänä aineena (59,1 % saanto), joka muutettiin sitten sen metaanisulfonaatiksi, XXXX (0,65 g; 35,6 % saanto); s.p. 189 - 192 °C (kutistuu). ¹H-NMR (CDCl₃) δ 9,28 (d, 1H, J = 1,9 Hz, aromaattinen protoni), 9,25 (d, 1H, J = 2,2 Hz, aromaattinen protoni), 9,15 (d, 1H, J = 2,2 Hz, aromaattinen protoni), 9,12 (d, 1H, J = 2,2 Hz, aromaattinen protoni), 8,81 (d, 1H, J = 7,3 Hz, aromaattinen protoni), 8,76 (d, 1H, J = 7,3 Hz, aromaattinen protoni), 8,46 (d, 1H, J = 8,1 Hz, aromaattinen protoni), 8,42 (d, 1H, J = 8,4 Hz, aromaattinen protoni), 7,98 (t, 1H, J = 7,7 Hz, aromaattinen protoni), 7,94 (t, 1H, J = 7,92 Hz, aromaattinen protoni), 5,76 (m, 1H, CH), 4,59 (m, 1H), 4,36 (m, 2H), 4,04 (m, 1H), 3,91 (m, 1H), 3,96 (m, 1H), 3,39 (m, 2H), 1,99 (s, 6H, 2 CH₃), 1,64 (d, 3H, J = 7,0 Hz, CH₃), 1,54 (d, 3H, J = 6,6 Hz, CH₃) fja 1,48 (d, 3H, J = 6,6 Hz, CH₃). MS (DCI) m/e 639 (M+1). Anal. lasketut arvot yhdisteelle C₃₃H₃₀N₆O₈·2CH₃SO₃H (MP 830,44) C, 50,60; H, 4,61; N, 10,12; S, 7,72. Saadut arvot: C, 50,70; H, 4,61; N, 9,98; S, 7,69.

Käyttökelpoisuus

30

Kasvua estävä vaikutus in vitro

L1210-soluja pidettiin RPMI-1640-väliaineessa, johon oli lisätty 10-%:ista lämmöllä aktivoitua naudan sikiön seerumia ja 50 ml merkaptetanolia/litra väliainetta (RPMI-L). B16-soluja pidettiin RPMI-1640-väliaineessa,

johon oli lisätty 15-%:ista lämmöllä aktivoitua naudan sikion seerumia ja antibiootteja (RPMI-C).

EkspONENTIAALISESTI kasvavia hiirten ja rottien L1210-leukemiasoluja (1×10^3 solua), jotka olivat
 5 0,1 ml:ssa väliainetta, istutettiin 0. päivänä 96-koloiselle mikrotiitterilevyille. Päivänä 1 lisättiin alkutilavuuteen 0,1 µl:n tasamäärä väliainetta, joka sisälsi asteittaisia koeanalogien konsentraatioita. Kun oli inkuboitu 37 °C:ssa kosteutetussa inkubaattorissa kolme päi-
 10 vää, levyt sentrifugoitiin nopeasti ja 100 ml kasvatusväliainetta poistettiin. Soluviljelmiä inkuboitiin 50 µl:n kanssa 3-(4,5-dimetyylitiatsol-2-yyli)-2,5-difenyylitetratsoliumbromidia (MTT; 1 mg/ml Dulbeccon fosfaattipuskurisuolaliuoksessa) neljä tuntia 37 °C:ssa. Syntynyt
 15 purppuranpunainen formatsaanisaostuma solubilisoitiin 200 µl:lla 0,04-N:ista isopropyylialkoholissa olevaa HCl:a. Absorbanssi luettiin Titertek Multiskan MCC -kolospektrometrillä (Flow Laboratories) koeaallonpituudella 570 nm ja vertailuaallonpituudella 630 nm.

20 ID₅₀-arvot määritettiin tietokoneohjelmalla, joka sovittaa kaikki tiedot (8 määritystä konsentraatiota kohden ja 12 konsentraatiota koeanalogia kohden) seuraavaan yhtälöön:

$$25 \quad Y = ((A_m - A_o) / (1 + (X / ID_{50})^n)) + A_o$$

jossa: A_m = vertailusolujen ~~absorbanssi~~ absorbanssi; A_o = suurimmassa lääkeainekonsentraatiossa mukana olevien solujen absorbanssi; Y = havaittu absorbanssi; X = lääkeainekonsentraatio; ID₅₀ = lääkeaineannos, joka estää solujen kasvun puoleen vertailusolujen kasvusta.

Tulokset L1210-kasvun estokokeesta *in vitro* esitetään taulukossa 1.

Taulukko 1

	Esim. nro	ID ₅₀ (µg/ml)
	1	0,047
	2	0,062
5	3	0,051
	4	0,074
	5	0,0025
	6	0,21
	7	< 0,01
10	8	< 0,01
	9	0,19
	10	0,057
	11	< 0,001
	12	0,04

15

In vivo -kasvainmallit

Esillä olevaa keksintöä edustavia yhdisteitä on testattu laajasti erilaisilla prekliinisillä kokeilla, jotka mittaavat syövänvastaista vaikutusta ja jotka kokeet
 20 ovat osoituksena kliinisestä käyttökelpoisuudesta. Esimerkiksi juuri patenttivaatimuksissa esitetyillä yhdisteillä ilmenee yllättävää tehokkuutta in vivo kolmen tyyppistä ihmisen kasvainta vastaan, jotka kasvaimet on siirretty kateenkorvattomiin, karvattomiin hiiriin, nimittäin DLD-
 25 2-ihmisen paksunsuolensyöpää, MX-1-ihmisen rintasyöpää ja LX-1-ihmisen keuhkosyöpää vastaan.

Lisäksi esillä olevaa keksintöä edustavat yhdisteet ovat aktiivisia useita hiirten ja rottien kasvaimia vastaan, mukaan lukien hiirten ja rottien M16c -rauhaskudoksesta lähtöisin oleva rintasyöpä ja hiirten ja rottien C51-
 30 -rauhaskudoksesta lähtöisin oleva paksunsuolensyöpä. Lisäksi keksintöä edustava yhdiste on aktiivinen hiirten ja rottien rintasyöpiä vastaan transgeenisissä hiirissä, joissa on v-Ha-ras-onkogeeni.

0,1 ml:ssa väliainetta, istutettiin 0. päivänä 96-koloiselle mikrotiitterilevyille. Päivänä 1 lisättiin alku-tilavuuteen 0,1 µl:n tasamäärä väliainetta, joka sisälsi asteittaisia koeanalogien konsentraatioita. Kun oli inkuboitu 37 °C:ssa kosteutetussa inkubaattorissa kolme päivää, levyt sentrifugoitiin nopeasti ja 100 ml kasvatusväliainetta poistettiin. Soluviljelmiä inkuboitiin 50 µl:n kanssa 3-(4,5-dimetyylitiatsol-2-yyli)-2,5-difenyylitetratsoliumbromidia (MTT; 1 mg/ml Dulbeccan fosfaattipuskurisuolaliuoksessa) neljä tuntia 37 °C:ssa. Syntynyt purppuranpunainen formatsaanisaostuma solubilisoitiin 200 µl:lla 0,04-N:ista isopropyylialkoholissa olevaa HCl:a. Absorbanssi luettiin Titertek Multiskan MCC -kolo-spektrometrillä (Flow Laboratories) koeaallonpituudella 570 nm ja vertailuaallonpituudella 630 nm.

ID₅₀-arvot määritettiin tietokoneohjelmalla, joka sovittaa kaikki tiedot (8 määritystä konsentraatiota kohden ja 12 konsentraatiota koeanalogia kohden) seuraavaan yhtälöön:

$$Y = ((A_m - A_o) / (1 + (X / ID_{50})^n)) + A_o$$

jossa: A_m = vertailusolujen absorbanssi; A_o = suurimmassa lääkeainekonsentraatiossa mukana olevien solujen absorbanssi; Y = havaittu absorbanssi; X = lääkeainekonsentraatio; ID₅₀ = lääkeaineannos, joka estää solujen kasvun puoleen vertailusolujen kasvusta.

Tulokset L1210-kasvun estokokeesta *in vitro* esitetään taulukossa 3.

- lasketaan kasvaimen halkaisijasta (mm), mitattuna mikrometrillä, käyttäen pidennetyn ellipsoidin kaavaa (kasvaimen paino $mg = (pituus \times leveys^2)/2$). Kasvainten nettopainot lasketaan kullekin ryhmälle siten, että vähennetään alkuperäinen kasvaimen paino lopullisesta kasvaimen painosta, joka saadaan päivänä 15. Tulokset ilmoitetaan prosentuaalisena lisäyksenä suhteessa kasvaimen keskipainoon vehiikkelillä käsitellyssä kontrolliryhmässä.

$$10 \quad \% \text{ Kasvaimen kasvun esto} = \left[1 - \frac{\text{Kasvaimen painon keskiarvo käsitellyissä eläimissä}}{\text{Kasvaimen painon keskiarvo kontrolliryhmässä}} \right] \times 100$$

Vaikutuskriteerit

- 15 Käytettiin Kansallisen Syöpäinstituutin (NCI) kriteereitä vaikutukselle *in vivo* -syöpämalleissa. Kasvaimen kasvun esto, joka on 58 - 89 % DLD-2-kokeessa, katsotaan keksinkertaiseksi vaikutukseksi, ja esto, joka on ≥ 90 %, katsotaan hyväksi - erinomaiseksi vaikutukseksi. Todelliset kasvainpalautumat (IR = epätäydellinen palautuma; FR = täydellinen palautuma) ovat osoituksena erinomaisesta - huomattavasta vaikutuksesta. Yhdisteet, joilla ilmenee < 58 % kasvun esto, katsotaan inaktiivisiksi.

- 20 Esimerkkien 1, 2, 3, 4, 5 ja 8 yhdisteillä ilmeni erinomainen - huomattava vaikutus DLD-2 -ihmisen paksunsuolensyöpiä vastaan. Esimerkki 7 osoitti hyvää - erinomaista vaikutusta DLD-2 -ihmisen paksunsuolensyöpiä vastaan.

- 25 Lisäksi esimerkkien 2, 3, 5, 7 ja 8 yhdisteillä ilmeni erinomaista - huomattavaa vaikutusta MX-1 -ihmisen rintasyöpäkavainmallia vastaan. Esimerkissä 1 ilmeni hyvä - erinomainen vaikutus MS-1 -ihmisen rintasyöpää vastaan.

Esimerkeissä 2, 3, 5 ja 8 ilmeni hyvä - erinomainen vaikutus LX-1 -ihmisen keuhkosyöpiä vastaan.

Patenttivaatimukset

1. Menetelmä syövänvastaisen yhdisteen tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan valmistamiseksi, joka yhdiste on valittu seuraavista:

(S,S)-2,2'-[1,2-etaanidiyylibis[imino-(1-metyyli-2,1-etaanidiyyli)]]-bis[5-nitro-1H-bents[de]isokinoliini-1,3(2H)-dioni];

(raseeminen + meso)-2,2'-[1,2-etaanidiyylibis[imino-(1-metyyli-2,1-etaanidiyyli)]]-bis[5-nitro-1H-bents[de]isokinoliini-1,3(2H)-dioni];

(R,R)-2,2'-[1,2-etaanidiyylibis[imino-(1-metyyli-2,1-etaanidiyyli)]]-bis[5-nitro-1H-bents[de]isokinoliini-1,3(2H)-dioni];

(meso)-2,2'-[1,2-etaanidiyylibis[imino-(1-metyyli-2,1-etaanidiyyli)]]-bis[5-nitro-1H-bents[de]isokinoliini-1,3(2H)-dioni];

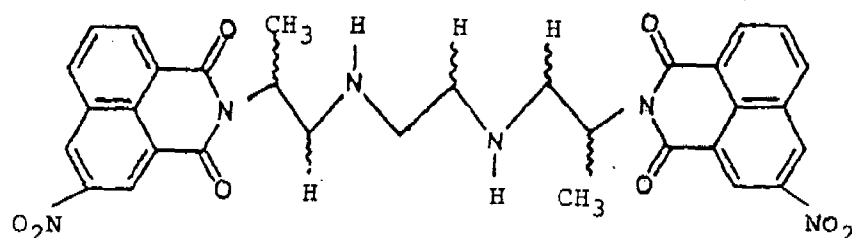
(S,S)-2,2'-[1,2-etaanidiyylibis[imino-(2-metyyli-2,1-etaanidiyyli)]]-bis[5-nitro-1H-bents[de]isokinoliini-1,3(2H)-dioni];

(raseeminen + meso)-2,2'-[1,2-etaanidiyylibis[imino-(2-metyyli-2,1-etaanidiyyli)]]-bis[5-nitro-1H-bents[de]isokinoliini-1,3(2H)-dioni];

(R,R)-2,2'-[1,2-etaanidiyylibis[imino-(2-metyyli-2,1-etaanidiyyli)]]-bis[5-nitro-1H-bents[de]isokinoliini-1,3(2H)-dioni]; ja

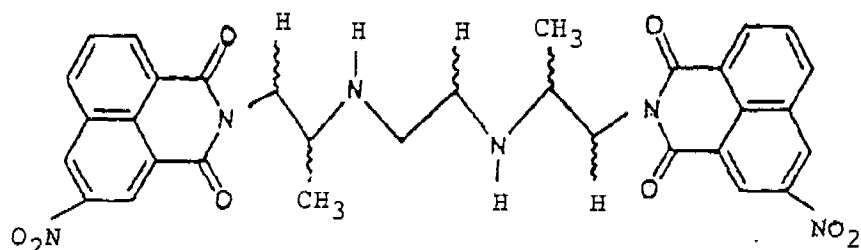
(meso)-2,2'-[1,2-etaanidiyylibis[imino-(2-metyyli-2,1-etaanidiyyli)]]-bis[5-nitro-1H-bents[de]isokinoliini-1,3(2H)-dioni];

ja joilla yhdisteillä on kaava (Ia) tai (Ib),



(Ia)

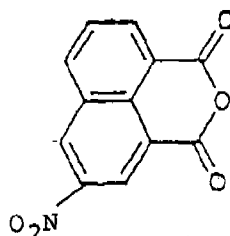
5



(Ib)

10 tunnettu siitä, että kaksi ekvivalenttia kaavan (ii) mukaista anhydridiä

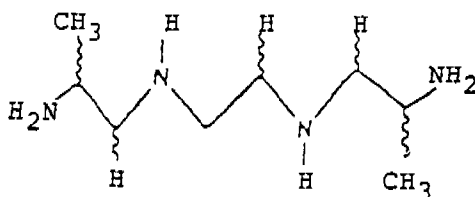
15



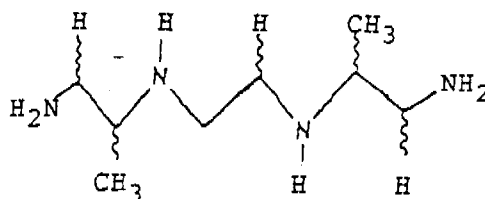
(ii)

20 saatetaan reagoimaan yhden ekvivalentin kanssa kaavan (iiia) tai (iiib) mukaista polyamiinia,

25



(iiia)



(iiib)

30

minkä jälkeen näin saatu yhdiste muutetaan haluttaessa farmaseuttisesti hyväksyttäväksi suolaksi.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että valmistetaan (R,R)-2,2'-[1,2-etaanidiylibis[imino-(1-metyyli-2,1-etaanidiyyli)]]-bis[5-nitro-1H-bents[de]isokinoliini-1,3(2H)-dioni] tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävä suola.

Patentkrav

1. Förfarande för framställning av en anticancer-
förening eller ett farmaceutiskt godtagbart salt därav,

5 vilken förening valts ur gruppen bestående av:

(S,S)-2,2'-[1,2-etandiylbis[imino-(1-metyl-2,1-
etandiyl)]]-bis[5-nitro-1H-bens[de]isokinolin-1,3(2H)-
dion];

(racemisk + meso)-2,2'-[1,2-etandiylbis[imino-(1-
10 metyl-2,1-etandiyl)]]-bis[5-nitro-1H-bens[de]isokinolin-
1,3(2H)-dion];

(R,R)-2,2'-[1,2-etandiylbis[imino-(1-metyl-2,1-
etandiyl)]]-bis[5-nitro-1H-bens[de]isokinolin-1,3(2H)-
dion];

(meso)-2,2'-[1,2-etandiylbis[imino-(1-metyl-2,1-
15 etandiyl)]]-bis[5-nitro-1H-bens[de]isokinolin-1,3(2H)-di-
on];

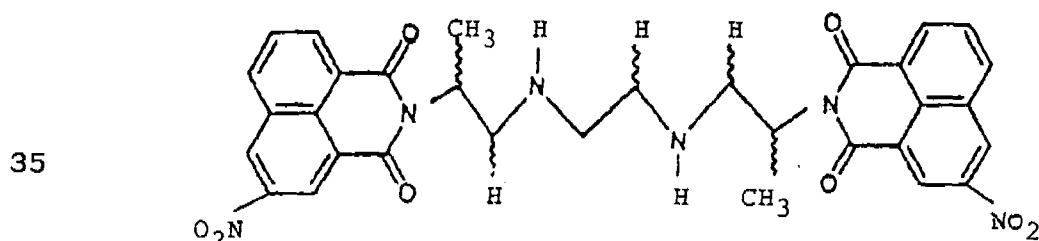
(S,S)-2,2'-[1,2-etandiylbis[imino-(2-metyl-2,1-
etandiyl)]]-bis[5-nitro-1H-bens[de]isokinolin-1,3(2H)-
20 dion];

(racemisk + meso)-2,2'-[1,2-etandiylbis[imino-(2-
metyl-2,1-etandiyl)]]-bis[5-nitro-1H-bens[de]isokinolin-
1,3(2H)-dion];

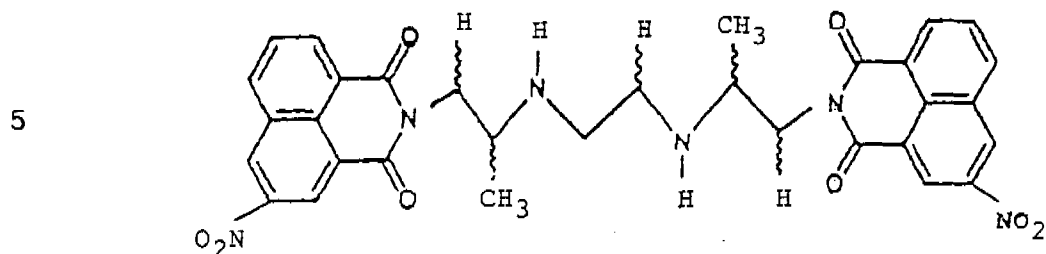
(R,R)-2,2'-[1,2-etandiylbis[imino-(2-metyl-2,1-
25 etandiyl)]]-bis[5-nitro-1H-bens[de]isokinolin-1,3(2H)-
dion]; och

(meso)-2,2'-[1,2-etandiylbis[imino-(2-metyl-2,1-
etandiyl)]]-bis[5-nitro-1H-bens[de]isokinolin-1,3(2H)-
dion];

30 och vilka föreningar har formeln (Ia) eller (Ib),



(Ia)

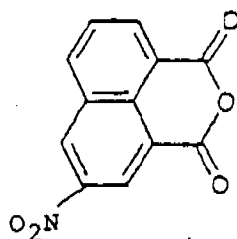


(Ib)

10

k ä n n e t e c k n a t därav att två ekvivalenter av en anhydrid med formeln (ii)

15

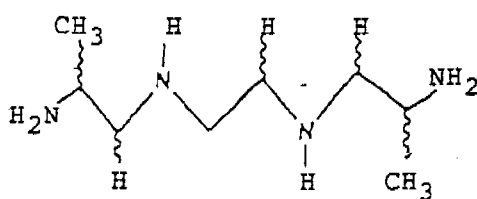


(ii)

20

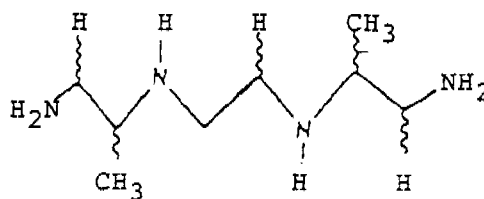
omsätts med en ekvivalent av en polyamin med formeln (iia) eller (iib),

25



30

(iia)



(iib)

varefter, om så önskas, omvandlas den så erhållna föreningen till ett farmaceutiskt godtagbart salt.

35

2. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -
t e c k n a t därav att man framställer (R,R)-2,2'-[1,2-
etandiylbis[imino-(1-metyl-2,1-etandiyl)]]-bis[5-nitro-
1H-bents[de]isokinolin-1,3(2H)-dion] eller ett farmaceu-
5 tiskt godtagbart salt därav.

PATENTTI-JA REKISTERIHALLITUS
PATENTTIOSASTO

TUTKIMUSRAPORTTI[illegible]

