PCT

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation [3] :
C07C103/52, 127/15, 127/17
C07C111/00

A1

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 83/ 00860

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 17. März 1983 (17.03.83)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP82/00191

(22) Internationales Anmeldedatum: 3. September 1982 (03.09.82)

(31) Prioritätsaktenzeichen: P 31 34 923.4

(32) Prioritätsdatum: 3. September 1981 (03.09.81)

(33) Prioritätsland: DE

(71) Anmelder *(für alle Bestimmungsstaaten ausser US):* STIFTUNG DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGS-ZENTRUM [DE/DE]; Im Neuenheimer Feld 280, D-6900 Heidelberg 1 (DE).

(72) Erfinder; und
(75) Erfinder/Anmelder *(nur für US) :* EISENBRAND, Gerhard [DE/DE]; Banngartenstr. 19, D-6902 Sandhausen (DE).

(74) Anwälte: DEUFEL, Paul usw.; Siebertstrasse 4, Postfach 860720, D-8000 München 86 (DE).

(81) Bestimmungsstaaten: AU, BR, DK, FI, HU, JP, MC, NO, SU, US.

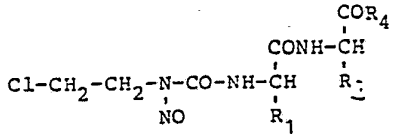
Veröffentlicht
Mit internationalem Recherchenbericht.

(54) Title: OLIGOPEPTIDIC ESTER AND AMIDE N-[N'-(2-CHLORETHYL)-N'-NITROSO-CARBOMOYL] AND PRODUCTION METHOD THEREOF

(54) Bezeichnung: N-[N'-(2-CHLORÄTHYL)-N'-NITROSO-CARBAMOYL]-OLIGOPEPTIDESTER UND -AMIDE UND VERFAHREN ZU IHRER HERSTELLUNG

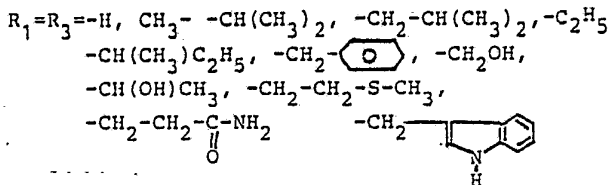
(57) Abstract

Compounds having the formula:



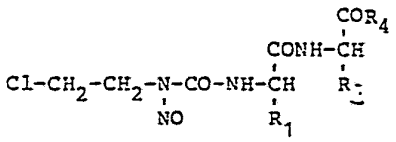
(III)

wherein:



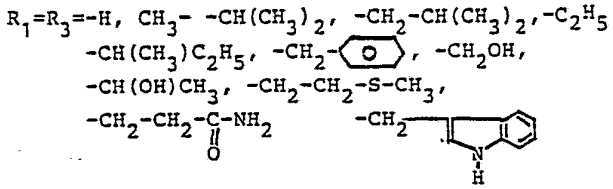
R_4 = $-OCH_3$, $-NH_2$, NH-R_4, R_4 being an oligopeptidic residue of which the terminal carboxyl group is blocked as a methyl ester or amide group. They are prepared by reacting the corresponding aminoacids or oligopeptides with an ester or an amide of a second aminoacid or of a second oligopeptide, in presence of an appropriate basic peptidic catalyst.

(57) Zusammenfassung N-[N'-(2-Chloräthyl)-N'-nitroso-carbamoylBD ligopeptidester und -amide der allgemeinen Formel



(III)

und worin



R_4 = $-OCH_3$, $-NH_2$, NH-R_4 wobei R_4 einen Oligopeptidrest darstellt, dessen endständige Carboxylgruppe ihrerseits als Methylester oder Amidgruppe verschlossen ist sowie das Verfahren zu ihrer Herstellung durch Umsetzung der entsprechenden Aminosäuren oder Oligopeptide mit einem Ester oder Amid einer zweiten Aminosäure oder eines Oligopeptids unter Einwirkung eines geeigneten basischen Peptidkatalysators.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	**KP**	Demokratische Volksrepublik Korea
AU	Australien	**LI**	Liechtenstein
BE	Belgien	**LK**	Sri Lanka
BR	Brasilien	**LU**	Luxemburg
CF	Zentrale Afrikanische Republik	**MC**	Monaco
CG	Kongo	**MG**	Madagaskar
CH	Schweiz	**MW**	Malawi
CM	Kamerun	**NL**	Niederlande
DE	Deutschland, Bundesrepublik	**NO**	Norwegen
DK	Dänemark	**RO**	Rumania
FI	Finnland	**SE**	Schweden
FR	Frankreich	**SN**	Senegal
GA	Gabun	**SU**	Soviet Union
GB	Vereinigtes Königreich	**TD**	Tschad
HU	Ungarn	**TG**	Togo
JP	Japan	**US**	Vereinigte Staaten von Amerika

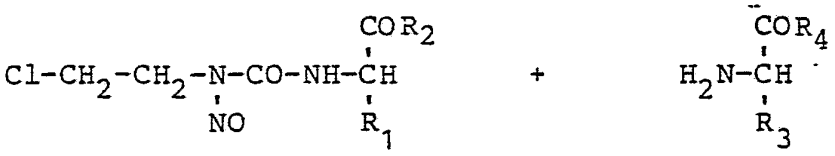
N-[N'-(2-Chloräthyl)-N'-nitroso-carbamoyl]-oligopeptidester und -amide und Verfahren zu ihrer Herstellung

Beschreibung

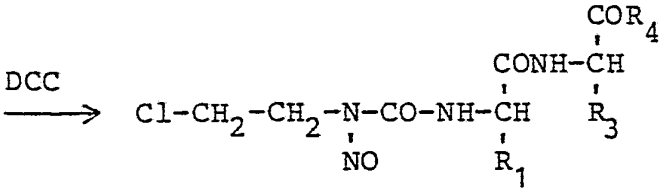
Unter den Alkylantien ist in den letzten Jahren eine neue Stoffklasse in die Krebschemotherapie eingeführt worden, nämlich die Nitrosoharnstoffe, z. B. 1,3-bis-(2-Chloräthyl)-1-nitrosoharnstoff (BCNU), 1-(2-Chloräthyl)-3-cyclohexyl-1-nitrosoharnstoff (CCNU) und 1-(2-Chloräthyl)-3-(4-methylcyclohexyl)-1-nitrosoharnstoff (MeCCNU) (Proceeding of the 7th new drug seminar on the nitrosoureas, (Washington, D.C., Dec. 15-16, 1975), Cancer Treat. Rep., 60, 645-811 (1976)). Um Substanzen mit besserem therapeutischen Index zu erhalten, hat man in der letzten Zeit eine Reihe neuer Nitrosoharnstoffe mit verschiedenen Substituenten, z.B. Zuckerderivate, synthetisiert und experimentell getestet. (Anderson et al., Cancer Res. 35, 761 (1976), Hayat et al., Cancer Chemother. Pharmacol. 3, 217 (1979).

Im Gegensatz zu den bisher synthetisierten Substanzen, handelt es sich im vorliegenden Fall um Oligopeptidester, die an der Aminogruppe eine N-(2-Chloräthyl)-N-nitroso-carbamoylgruppierung tragen. Als Ausgangsmaterial zur Synthese von N-[N'-(2-Chloräthyl)-N'-nitroso]carbamoyl-oligopeptidestern dienen N[N'-(2-Chloräthyl)N'-nitroso]carbamoylaminosäuren oder -oligopeptide, die ihrerseits zweckmäßig durch Reaktion von N-(2-Chloräthyl)-N-nitrosocarbamoylazid mit Aminosäuren bzw. Oligopeptiden zugänglich sind. Unter dem Einfluß von an sich bekannten Peptidkatalysatoren wie z.B. Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) reagieren die erwähnten N[N'-(2-Chloräthyl)N'-nitroso]carbamoylaminosäuren bzw. -oligopeptide zu Amiden, sodaß sie mit dem Ester oder Amid einer zweiten Aminosäure bzw. eines zweiten Oligopeptids eine Peptidbindung bilden. Die Reaktion kann schematisch wie folgt dargestellt werden:

BUREAU OMPI WIPO

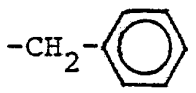


(I) (II)



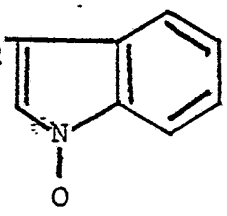
(III)

$R_1=R_3$= -H, CH_3, $-CH(CH_3)_2$, $-CH_2-CH(CH_3)_2$, $-CH(CH_3)C_2H_5$, $-C_2H_5$



, $-CH_2OH$, $-CH(OH)CH_3$, $-CH_2-CH_2-S-CH_3$,

$-CH_2-CH_2-CNH_2$, $-CH_2$



R_2= OH bzw. $-NH-R_2'$, wobei R_2' einen über die terminale Aminogruppe peptidisch gebundenen Oligopeptidrest mit freier Carboxylgruppe darstellt.

Beispiele für R_2':

-Glycyl-Glycin

-Glycyl-Glycyl-Glycin und Peptide anderer Aminosäuren bis zum Tripeptid, sowie gemischt Oligopeptide wie:

BUREAU OMPI WIPO INTE...AL

Glycyl-Alanin
Alanyl-Leucin
Leucyl-Alanin
Glycyl-Tyrosin
Leucyl-Glycyl-Tyrosin
Leucyl-Glycyl-Prolin

R_4=OCH_3, NH_2, $-NHR_4'$, wobei R_4' Alkyl oder Aryl bzw. einen über die terminale Aminogruppe peptidisch gebundenen Oligopeptidrest darstellt, dessen endständige Carboxylgruppe ihrerseits als Methylester oder Amid vorliegt.

Beispiele für R_4':
-Glycin-Methylester
-Glycyl-Glycyl-Methylester
-Glycyl-Glycyl-Glycylmethylester
Peptide anderer Aminosäuren bis Tripeptid sowie gemischte Oligopeptide wie:
Glycyl-Alanin-Methylester
Leucyl-Glycyl-Prolinmethylester
Leucyl-Alinin-Amid
Glycyl-Tyrosin-Amid

Die Umsetzung des Ausgangsmaterials I mit dem Ester bzw. Amid einer weiteren Aminsäure oder eines Oligopeptids II, die gleich oder verschieden von der ersten Aminosäure bzw. dem ersten Oligopeptid sein können, erfolgt vorzugsweise unter Kühlung (etwa 0°C), aber auch problemlos bei Raumtemperatur. Beispielsweise werden 1 mM N-(N'-(2-chloräthyl)-N'-nitrosocarbamoyl)-aminosäure und 1 mM Aminosäuremethylester zusammen in 20 ml Dichlormethan gelöst. In diese Lösung wird unter Rühren 1,1 mM (230 mg) Dicyclhexyl-carbodiimid, gelöst in 10 ml Dichlormethan langsam zugetropft. Das Reaktionsgemisch wird dann weiter eine Stunde gerührt und über Nacht bei Zimmertemperatur stehen ge-

BUREAU OMPI WIPO

lassen. Nach Abfiltrieren von N,N'-Dicyclohexylharnstoff wird das Filtrat unter Vakuum eingeengt. Man erhält das Rohprodukt, das man säulenchromatographisch mit Ether/Dichlormethan unterschiedlicher Mischungsverhältnisse an Kieselgel reinigt. Nach der Elution werden die Hauptfraktionen kombiniert und unter Vakuum eingeengt. Der Rückstand wird in Dichlormethan aufgenommen, wenn nötig mit n-Pentan versetzt, und im Kühlschrank zur Kristallisation gebracht.

BUREAU OMPI WIPO

Die folgenden Beispiele erläutern die Erfindung:

Beispiel 1

Herstellung von N-[N'-(2-Chloräthyl)-N'-nitroso-carbamoyl]-glycyl-L-valinmethylester (allgemeine Formel III)

R_1=-H R_2=-$CH(CH_3)_2$

N-[N'-(2-Chloräthyl)-N'-nitroso)-carbamoyl-glycin] (1 mM) und L-Valinmethylester (1 mM) werden zusammen in 20 ml Dichlormethan gelöst. In dieser Lösung wird unter Rühren Dicyclohexyl-carbodiimid (DCC; 1,1 mM), gelöst in 10 ml Dichlormethan, zugetropft. Das Reaktionsgemisch wird dann noch eine Stunde gerührt und bei Zimmertemperatur über Nacht stehengelassen. Nach Abfiltrieren von N,N'-Dicyclohexyl-harnstoff wird das Filtrat unter Vakuum eingeengt. Das Rohprodukt wird durch Säulenchromatographie gereinigt (Kieselgel, eluiert mit Äther/Dichlormethan 1:10). Aus den Hauptfraktionen wird das reine Produkt nach Entfernen von Lösungsmittel in Vakuum und durch Umkristallisation aus Dichlormethan/n-Pentan erhalten. Hellgelbe Nadeln, Ausbeute: ca. 70 %, F_p. 97 bis 98 °C (Zers.); Elementaranalyse: Ber.: C 40,94; H 5,93; N 17,36; Gef.: C 41,09; H 6,00; N 17,16. Die ^{1}H-NMR-spektroskopische Untersuchung ergab charakteristische Peaks bei δ= 0,95 ppm (m, -$C(CH_3)_2$); δ = 2,20 ppm (m, -CH=); δ = 3,50 ppm (t, Cl-CH_2-); δ = 3,75 ppm (s, -OCH_3); δ = 4,20 ppm (-N-CH_2-CO- und -CH_2-N-NO); δ = 4,60 ppm (m, -N-CH-C-); δ = 6,70 ppm (d, -NH-); δ = 7,70 ppm (t, -NH-). Das Massenspektrum zeigt kein Signal für ein Molekülion, aber charakteristische Fragmente bei M-107 und M-108, die der Abspaltung von $Cl(CH_2)_2$-NNO bzw. $Cl(CH_2)_2$-N=NOH zuzuschreiben sind.

Beispiel 2

Herstellung von N-[N'-2-Chloräthyl)-N'-nitroso-carbamoyl]-L-valyl-L-valinmethylester (allgemeine Formel III)
$R_1=R_2= -CH(CH_3)_2$)

N-[N'-(2-Chloräthyl)-N'-nitroso-carbamoyl]-L-valin (1 mM) und L-Valinmethylester (1 mM) werden analog wie unter Beispiel 1 behandelt. Das Produkt kristallisiert aus Dichlormethan/n-Pentan als hellgelbe Nadeln, Ausbeute 65%, F_p.125 bis 126°C (Zers.); Elementaranalyse; Ber.: C 46,09; H 6,91; N 15,36; Gef.: C 46,31; H 7,10, N 15,23. Die ^{1}H-NMR-spektroskopische Untersuchung ergab folgende charakteristische Peaks bei: δ=0,9-1,1ppm (m, $-C(CH_3)_2$); δ=2,20ppm (m, -CH=); δ = 3,50ppm (t, $Cl-CH_2-$); δ=3,75ppm (s, $-OCH_3$); δ=4,20ppm (t, $-CH_2-N-NO$); δ =4,50ppm (m, -N-CH-CO); δ =6,60ppm (d, -NH-); δ =7,50ppm (d, -NH-). Das Massenspektrum zeigt einen Molekülpeak bei 364 und Peaks bei m/e = 258 und 257 (M-107 und M-108). Die letzten beiden Peaks entstehen durch Abspaltung von $Cl-CH_2-CH_2-N-NO$ oder $Cl-CH_2-CH_2-N-NOH$, entweder durch einfache Aufspaltung der N-C-Bindung oder durch eine McLafferty Umlagerung.

Beispiel 3

Herstellung von N-[N'-(2-Chloräthyl)-N'-nitroso-carbamoyl]-L-valyl-L-methioninmethylester (allgemeine Formel III)
$R_1=-CH(CH_3)_2$; $R_2=-CH_2-CH_2-SCH_3$)

N-[N'-(2-Chloräthyl)-N'-nitroso-carbamoyl]-L-Valin (1mM) und L-Methioninmethylester (1mM) werden analog wie unter

Beispiel 1 behandelt. Gelbliche Nadeln (Dichlormethan/n-Pentan), Ausbeute ca. 70%, F_p.81 bis 82°C (Zers.). Elementaranalyse: Ber. C 42,37; H 6,35; N 14,12; Gef.: C 42,65; H 6,50; N 14,14. Die ^{1}H-NMR-spektroskopische Untersuchung ergab folgende charakteristische Peaks bei: δ =1,00ppm (m, $-C(CH_3)_2$); δ =2,10ppm ($-CH_2-S-CH_3$; -CH=); δ =2,55ppm (t, $-CH_2-$); δ =3,50ppm (t, $Cl-CH_2-$); δ =3,80ppm (s, $-OCH_3$); δ =4,20ppm ($-CH_2-N-NO$); δ =4,40ppm (m, -N-CH-CO); δ =4,80ppm (m, -N-CH-CO δ =6,80ppm (d, -NH-); δ =7,50ppm (d, -NH-).
Das Massenspektrum zeigt ein Molekülpeak bei 396 und Peaks bei m/e = 289 und 288 (M-107 und M-108).

Beispiel 4

Herstellung von N-[N'-(2-Chloräthyl)-N'-nitroso-carbamoyl]-L-isoleucyl-L-leucinmethylester (allgemeine Formel III) R_1=$-CH(CH_3)CH_2CH_3$; R_2=$-CH_2-CH(CH_3)_2$)

N-[N'-(2-Chloräthyl)-N'-nitroso-carbamoyl]-L-isoleucin (1 mM) und L-Leucinmethylester (1 mM) werden analog wie unter Beispiel 1 behandelt. Hellgelbe Nadeln (Dichlormethan/n-Pentan), Ausbeute ca. 60%, F_p.128 bis 129°C (Zers.). Elementaranalyse: Ber.: C48,91; H 7,44; N 14,26; Gef.: C 49,03; H 49,03; H 7,70; N 13,96. Die ^{1}H-NMR-spektroskopische Unterschung ergab folgende Peaks bei: δ =1,00ppm ($-CH_3$); δ = 1,25-2,00ppm (-CH=; $-CH_2-$); δ =3,50ppm (t, $Cl-CH_2-$); δ =3,80ppm (s, $-OCH_3$); δ =4,20 ppm (t, CH_2-N-NO); δ = 4,40ppm (m, -N-CH-CO); δ =4,70ppm (m, -N-CH-CO); δ = 6,30ppm (d, -NH-); δ =7,45ppm (d, -NH-). Das Massenspektrum zeigt ein Molekül-Peak bei 392 und Peaks von m/e = 286, 285 (M-107, M-108).

Beispiel 5

Herstellung von N-[N'-(2-Chloräthyl)-N'-nitroso-carbamoyl]-L-phenylalanyl-L-valinmethylester (III, R_1= $-CH_2-C_6H_5$; R_2= $-CH(CH_3)_2$)

BUREAU OMPI WIPO

N-(N'-(2-Chloräthyl)-N'-nitroso)-carbamoyl-L-phenylalanin (1 mM) und L-Valinmethylester (1 mM) werden analog wie unter Beispiel 1 behandelt. Gelbe Nadeln (Dichlormethan/n-Pentan), Ausbeute ca. 60%, F_p. 107 bis 108°C.
Elementaranalyse: Ber. C 52,36; H 6,10; N 13,57; Gef.: C 52,54; H 6,21; N 13,28.
Die ^{1}H-NMR-spektroskopische Untersuchung ergab folgende Peaks bei: δ =0,85ppm (m, $-C(CH_3)_2$); δ = 2,10ppm (m, -CH=); δ =3,15ppm (d, $-CH_2$-ph); δ =3,40ppm (t, Cl-CH_2-); δ = 3,70ppm (s, $-OCH_3$); δ =4,10ppm (t, $-CH_2$-N-NO); δ =4,45 und 4,80ppm (m, -N-CH-CO); δ =6,35ppm (d, -NH-); δ =7,25ppm ($-C_6H_5$); δ =7,55ppm (d, -NH-). Das Massenspektrum zeigt einen Molekül-Peak bei 412 und Peaks bei m/e = 305, 304 (M-107, M-108).

Beispiel 6

Herstellung von N-[N'-(2-Chloräthyl)-N'-nitroso-carbamoyl]-L-phenylalanyl-L-leucinmethylester (allgemeine Formel III) R_1=$-CH_2-C_6H_5$; R_2=$-CH_2-CH(CH_3)_2$)

N-[N'-(2-Chloräthyl)-N'-nitroso-carbamoyl]-L-phenylalanin (1 mM) und L-Leucinmethylester (1 mM) werden analog wie unter Beispiel 1 behandelt. Hellgelbe Nadeln (Dichlormethan/n-Pentan), Ausbeute ca. 60%, F_p.96 bis 96,5°C.
Elementaranalyse: Ber.: C 53,46; H 6,38; N 13,12; Gef.: C 53,29; H 6,34; N 12,92.
Die ^{1}H-NMR-spektroskopische Untersuchung ergab charakteristische Peaks bei: δ =0,90ppm ($-C(CH_3)_2$); δ =1,50ppm (m, $-CH_2$-CH=); δ =3,15ppm (d, $-CH_2$-ph); δ =3,45ppm (t, Cl-CH_2-); δ =3,75ppm (s, $-OCH_3$); δ =4,10ppm (t, $-CH_2$-N-NO); δ =4,55ppm (m, -N-CH-CO); δ =4,80ppm (m, -N-CH-CO); δ =6,20ppm (d, -NH-); δ =7,30ppm ($-C_6H_5$); δ =7,50ppm (d, -NH-).
Das Massenspektrum zeigt Molekül-Peaks bei 426 und Peaks bei m/e = 319,318 (M-107, M-108).

Beispiel 7

Herstellung von N-[N'-(2-Chloräthyl)-N'-nitroso-carbamoyl]-L-phenylalanyl-L-phenylalaninmethylester (allgemeine Formel III) $R_1 = R_2 = -CH_2-C_6H_5$).

N-[N'-(2-Chloräthyl)-N'-nitroso-carbamoyl]-L-phenylalanin (1 mM) und L-Phenylalaninmethylester (1 mM) werden analog wie unter Beispiel 1 behandelt. Hellgelbe Nadeln (Dichlormethan/n-Pentan), Ausbeute ca. 60%, F_p.116 bis 117°C.
Elementaranalyse: Ber.: C 57,33; H 5,47; N 12,16; Gef.: C 57,22; H 5,23; N 12,12.
Die ^{1}H-NMR-spektroskopische Untersuchung ergab folgende Peaks bei: δ =3,10ppm (CH_2-ph); δ =3,40ppm (t, Cl-CH_2-); δ =3,70ppm (s, $-OCH_3$); δ =4,10ppm (t, $-CH_2$-N-NO); δ =4,75 ppm (-N-CH-CO); δ =6,10ppm (d, -NH-); δ =7,20ppm ($-C_6H_5$); δ =7,40ppm (d, -NH-).
Das Massenspektrum zeigt Molekül-Peaks bei 460 und Peaks bei m/e = 353, 352 (M-107, M-108).

Beispiel 8

Herstellung von N-[N'-(2-Chloräthyl)-N'-nitroso-carbamoyl]-L-phenylalanyl-L-methioninmethylester (allgemeine Formel III) $R_1 = -CH_2-C_6H_5$; $R_2 = CH_2-CH_2-SCH_3$)

N-[N'-(2-Chloräthyl)-N'-nitroso-carbamoyl]-L-phenylalanin (1 mM) und L-Methioninmethylester (1 mM) werden analog wie unter Beispiel 1 behandelt. Hellgelbe Nadeln (Dichlormethan/n-Pentan), Ausbeute ca. 70%, F_p.74 bis 75°C.
Elementaranalyse: Ber.: C 48,59; H 5,66; N 12,59; Gef.: C 48,69; H 5,67; N 12,41.
Die ^{1}H-NMR-spektroskopische Untersuchung ergab folgende charakteristische Peaks bei: δ =2,05ppm ($-CH_2-S-CH_3$); δ =2,45ppm ($-CH_2$-); δ =3,20ppm (d, $-CH_2$-ph); δ =3,45ppm (t, Cl-CH_2-); δ =3,75ppm (s, $-OCH_3$); δ =4,10ppm (t, $-CH_2$-N-NO); δ =4,65ppm (m, -N-CH-CO); δ =4,80ppm (m, -N-CH-CO)

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

δ=6,50ppm (d, -NH-); δ=7,25ppm ($-C_6H_5$); δ=7,50ppm (d, -NH-).
Das Massenspektrum zeigt einen Molekül-Peak bei 444 und Peaks bei m/e = 337,336 (M-107, M-108).

Beispiel 9

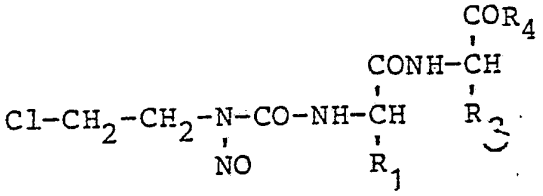
Herstellung von N-[N'-(2-Chloräthyl)-N'-nitroso-carbamoyl]-L-methionyl-L-phenylalaninmethylester (allgemeine Formel III) R_1=$-CH_2-CH_2-SCH_3$; R_2=$CH_2-C_6H_5$).

N-[N'-(2-Chloräthyl)-N'-nitroso-carbamoyl]-L-methionin (1 mM) und L-Phenylalaninmethylester (1 mM) werden analog wie unter Beispiel 1 behandelt. Hellgelbe Nadeln (Dichlormethan/n-Pentan), Ausbeute ca. 70% , F_p.70 bis 71°C.
Elementaranalyse: Ber.: C 48,59; H 5,66; N12,59; Gef.: C 48,64; H 5,68; N 12,36.
Die ^{1}H-NMR-spektroskopische Untersuchung ergab folgende Peaks bei: δ=2,05-2,2oppm ($-CH_2-S-CH_3$); δ=2,65ppm (t, $-CH_2-$); δ=3,10ppm (d, $-CH_2$-ph); δ=3,45ppm (t, $Cl-CH_2-$); δ=3,75ppm (s, $-OCH_3$); δ=4,10ppm (t, $-CH_2-$N-NO); δ=4,70-4,90ppm (m, -N-CH-CO); δ=6,80ppm (d, -NH-); δ=7,20ppm (m, $-C_6H_5$); δ=7,65ppm (d, -NH-). Das Massenspektrum zeigt einen Molekül-Peak bei 444 und Peaks bei m/e = 337, 336 (M-107, M-198).

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

Patentansprüche

1. N-[N'-(2-Chloräthyl)-N'-nitroso-carbamoyl]-oligopeptid-ester und -amide der allgemeinen Formel



(III) und

worin

R_1=R_3=-H, CH_3- $-CH(CH_3)_2$, $-CH_2-CH(CH_3)_2$, $-C_2H_5$, $-CH(CH_3)C_2H_5$, $-CH_2-C_6H_5$, $-CH_2OH$, $-CH(OH)CH_3$, $-CH_2-CH_2-S-CH_3$, $-CH_2-CH_2-C(=O)-NH_2$, $-CH_2$-(3-indolyl)

R_4= $-OCH_3$, $-NH_2$, NH-R_4' wobei R_4' einen Oligopeptidrest darstellt, dessen endständige Carboxylgruppe ihrerseits als Methylester oder Amidgruppe verschlossen ist.

BUREAU OMPI WIPO

2. N-[N'-(2-Chloräthyl)-N'-nitroso)-carbamoyl]-glycyl-L-valinmethylester.

3. N-[N'-(2-Chloräthyl)-N'-nitroso)-carbamoyl]-L-valyl-L-valinmethylester.

4. N-[N'-(2-Chloräthyl)-N'-nitroso)-carbamoyl]-L-valyl-L-methioninmethylester.

5. N-[N'-(2-Chloräthyl)-N'-nitroso)-carbamoyl]-L-isoleucyl-L-leucinmethylester.

6. N-[N'-(2-Chloräthyl)-N'-nitroso)-carbamoyl]-L-phenylalanyl-L-valinmethylester.

7. N-[N'-(2-Chloräthyl)-N'-nitroso)-carbamoyl]-L-phenylalanyl-L-leucinmethylester.

8. N-[N'-(2-Chloräthyl)-N'-nitroso)-carbamoyl]-L-phenylalanyl-L-phenylalaninmethylester.

9. N-[N'-(2-Chloräthyl)-N'-nitroso)-carbamoyl]-L-phenylalanyl-L-methioninmethylester.

10. N-[N'-(2-Chloräthyl)-N'-nitroso)-carbamoyl]-L-methionyl-L-phenylalaninmethylester.

11. Verfahren zur Herstellung von N-[N'-(2-Chloräthyl)-N'-nitroso-carbamoyl]-oligopeptidestem oder -amiden nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß N-[N'-(2-Chloräthyl)-N'-nitroso-carbamoyl-]aminosäuren oder -oligopeptide mit einem Ester oder Amid einer zweiten Aminosäure oder eines Oligopeptids die gleich den ersten oder verschieden sein können unter Einwirkung eines geeigneten basischen Peptidkatalysators in der

BUREAU OMPI INTERNATIONAL WIPO

Kälte zu N-[N'-(2-Chloräthyl)-N'-nitroso-carbamoyl]-oligopeptidestern oder -amiden umgesetzt werden.

12. Verfahren nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß die als Ausgangsmaterial verwendeten N-[N'(2-Chloräthyl)-N'-nitroso-carbamoyl]aminosäuren oder -oligopeptide aus N-(2-Chloräthyl)-N-nitroso-carbamoylazid und Aminosäure bzw. Oligopeptid in an sich bekannter Weise in einem geeigneten Lösungsmittel, insbesondere Dichlormethan hergestellt werden und diese Reaktionslösung ohne Isolierung für die Umsetzung mit dem Aminosäureester oder -amid oder entsprechenden Oligopeptid eingesetzt wird.

13. Verfahren nach Anspruch 11 oder 12, dadurch gekennzeichnet, daß als basischer Peptidkatalysator Dicyclohexylcarbodiimid verwendet wird.

BUREAU OMPI WIPO INTERNATIONAL

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/ EP82/00191

I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (if several classification symbols apply, indicate all) [3]

According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC

Int.Cl.[3]: C 07 C 103/52; C 07 C 127/15; C 07 C 127/17 ; C 07 C 111/00

II. FIELDS SEARCHED

Minimum Documentation Searched [4]

Classification System	Classification Symbols
Int.Cl.[3]	C 07 C 103/00; C 07 C 127/00; C 07 C 111/00

Documentation Searched other than Minimum Documentation to the Extent that such Documents are Included in the Fields Searched [5]

III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT [14]

Category *	Citation of Document, [16] with indication, where appropriate, of the relevant passages [17]	Relevant to Claim No. [18]
P,X	Arzneimittel Forschung / Drug Research, vol. 32(I) , no. 5, May 1982 (Aulendorf, DE) W.J. Zeller u.a: "Chemotherapeutic Activity of 2-Chloroethylnitrosocarbamoyl Derivatives of Amino Acids in a Transplanted Rat Leukemia (L '5222) pages 484-486, see page 485 ; combination 2	1-10
A	Chemical Abstracts , vol. 92, no. 3, 21 January 1980 (Columbus, Ohio, US) W.J. Zeller u.a.: "Examination of four newly synthesized 2-chloroethylnitrosoureas in comparison with BCNU , CCNU, MeCCNU, chlorozotocin and hydroxyethyl-CNU in preterminal rat leukemia L 5222, see page 54, abstract 15507 u , J. Canc. Res. Clin. Oncol. 1979 (1) 43-9	1
A	Chemical Abstracts, vol. 85, no. 1, 5 July 1976, (Columbus, Ohio, US) see pages 491-492, abstract 6050t, JP, A, 7613722, 3 February 1976,	

* Special categories of cited documents: [15]

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

IV. CERTIFICATION

Date of the Actual Completion of the International Search [2]	Date of Mailing of this International Search Report [2]
25 October 1982 (25.10.82)	08 November 1982 (08.11.82)
International Searching Authority [1]	**Signature of Authorized Officer [20]**
European Patent Office	-

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP 82/00191

I. KLASSIFIKATION DES ANMELDUNGSGEGENSTANDS (bei mehreren Klassifikationssymbolen sind alle anzugeben)[3]

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC

Int.Kl.[3]: C 07 C 103/52; C 07 C 127/15; C 07 C 127/17; C 07 C 111/00

II. RECHERCHIERTE SACHGEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff[4]

Klassifikationssystem	Klassifikationssymbole
Int.Kl.[3]	C 07 C 103/00; C 07 C 127/00; C 07 C 111/00

Recherchierte nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Sachgebiete fallen[5]

III. EINSCHLAGIGE VEROFFENTLICHUNGEN[14]

Art*	Kennzeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der Maßgeblichen Teile[17]	Betr. Anspruch Nr.[18]
P,X	Arzneimittel Forschung/Drug Research, Band 32(I), Nummer 5, Mai 1982 (Aulendorf, DE) W.J. Zeller u.a.: "Chemotherapeutic Activity of 2-Chloroethylnitrosocarbamoyl Derivatives of Amino Acids in a Transplanted Rat Leukemia (L 5222) Seiten 484-486, siehe Seite 485; Verbindung 2 --	1-10
A	Chemical Abstracts, Band 92, Nummer 3, 21. Januar 1980 (Columbus, Ohio, US) W.J. Zeller u.a.: "Examination of four newly synthesized 2-chloroethylnitrosoureas in comparison with BCNU, CCNU, MeCCNU, chlorozotocin and hydroxyethyl-CNU in preterminal rat leukemia L 5222, siehe Seite 54, Zusammenfassung 15507u,J.Canc.Res. Clin.Oncol.1979,95(1)43-9 -- ./.	1

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen[15]:

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

IV. BESCHEINIGUNG

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche[6]	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts[2]
25. Oktober 1982	8. November 1982
Internationale Recherchenbehörde[1]	**Unterschrift des bevollmächtigten Bediensteten**
Europäisches Patentamt	G.L.M.KRUYDENBERG

III. EINSCHLAGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN (FORTSETZUNG VON BLATT 2)*		
Art*	Kennzeichnung der Veroffentlichung, [16] soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile [17]	Betr. Anspruch Nr. [18]
A	Chemical Abstracts, Band 85, Nr. 1, 5. Juli 1976 (Columbus, Ohio, US) siehe Seiten 491-492, Zusammenfassung 6050t, JP, A, 7613722, 3. Februar 1976	