



(B) (11) KUULUTUSJULKAISU
UTLAGGNINGSSKRIFT

84817

C (15) *Patent*
Patent bilagor 87 01 1988

(51) Kv.1k.5 - Int.cl.5

C 07C 211/15

SUOMI-FINLAND

(FI)

Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen

(21) Patentihakemus - Patentansökning	863353
(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag	19.08.86
(24) Alkupäivä - Löpdag	19.08.86
(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig	22.02.87
(44) Nähtäväsipanon ja kuul.julkaisun pvm. - Ansökan utlagd och utl.skriften publicerad	15.10.91
(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet	
21.08.85 US 767934 P	

(71) Hakija - Sökande

1. Merrell Dow Pharmaceuticals Inc., 2110 East Galbraith Road, Cincinnati, Ohio, USA, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1. Gerhart, Fritz, 14 Rheinauer Strasse, Kehl Leutesheim, BRD, (DE)
2. Mamont, Pierre, 21 Rue d'Oslo, Strasbourg, France, (FR)

(74) Asiamies - Ombud: Oy Kolster Ab

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

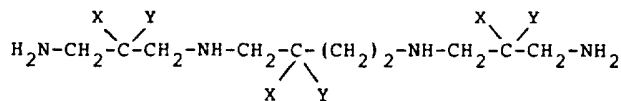
Menetelmä terapeuttisesti aktiivisen gem-6,6-difluori-1,12-diamino-4,9-diatsadodekaanin valmistamiseksi
Förfarande för framställning av en terapeutiskt aktiv gem-6,6-difluor-1,12-diamino-4,9-diazadodekan

(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

EP A 46712 (C 07C 87/18), US A 4004996 (C 07C 87/22)

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

Keksintö koskee menetelmää gem-dihalogeeni- ja gem-tetrahalogeeni-1,12-diamino-4,9-diatsadodekaanijohdannaisien valmistamiseksi, joilla on kaava



jossa X ja Y edustavat vetyä tai halogeenia sillä ehdolla, että kun on kysymys dihalogeenijohdannaisista, molemmat halogeenit ovat liittyneet yhteen ja vain yhteen hiiliatomiin, ja kun on kysymys tetrahalogeenijohdannaisista, yhdisteet ovat 2,2,11,11-halogeenisubstituoituja, ja niiden farmaseuttisesti hyväksyttävien suolojen valmistamiseksi. Nämä yhdisteet ovat hyödyllisiä solujen lisääntymistä vastustavina tai kasvaimia vastustavina aineina.

Keksintö koskee myös menetelmässä välituotteena käyttökelpoista 2,2-dihalogeeni-1,4-diaminobutaania.

Menetelmä terapeuttisesti aktiivisen gem-6,6-difluori-1,12-diamino-4,9-diatsadodekaanin valmistamiseksi

5 On hyvin tunnettu havainto, että sellaista luonnon polyamiinien kuin putreskiinin, spermidiinin ja spermiinin biosynteesi lisääntyy nopeasti jakautuvissa soluissa verrattuna normaaleihin lepotilassa oleviin soluihin. Tiedetään myös, että putreskiinin ja spermidiinin poistaminen
10 johtaa solujen jakautumisen vähenemiseen.

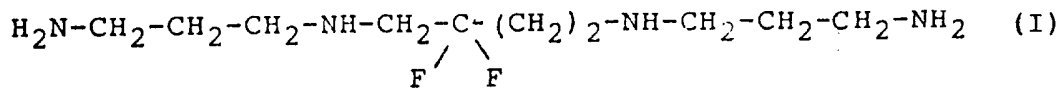
 Ornitiini on aineenvaihdunnassa putreskiinin edeltäjä, ja jälkimmäinen on puolestaan spermidiiniä edeltävä aineenvaihduntatuote, ja tämä puolestaan on spermiiniä edeltävä aineenvaihduntatuote. Näitä biokemiallisia muutoksia katalysoivat aineenvaihdunnassa vastaavasti entsyymit
15 ornitiinidekarboksylaasi, spermidiinisyntaasi ja spermiinisyntaasi. Lisäksi spermidiini- ja spermiinisyntaasi-entsyymi käyttävät kosubstraattina dekarboksyloitua S-adenosyyli-L-metioniiniä, joka on S-adenosyyli-L-metioniinidekarboksylaasientsyymien reaktiotuote. Näiden entsyymien
20 inhibiittoreiden, mukaan luettuna S-adenosyyli-L-metioninidekarboksylaasin inhibiittorit, pitäisi siten toimia putreskiinin ja siitä saatavien korkeampien polyamiinien, nimittäin spermidiinin ja spermiinin, biosynteesin estäjinä ja niiden pitäisi teoriassa olla tehokkaita solujen
25 lisääntymistä vastustavia aineita ja/tai kasvaimia vastustavia aineita.

 Kuitenkaan aikaisemmin ornitiinidekarboksylaasin irreversiibelien inhibiittoreiden eikä S-adenosyyli-L-metioninidekarboksylaasin, spermidiinisyntaasin ja spermiinisyntaasin inhibiittoreiden käyttö ei ole osoittautunut täysin tehokkaaksi. Niinpä esimerkiksi putreskiini ja spermidiini eivät ole välttämättömiä solujen elinkykyisyyden säilymiselle niin kauan kuin jo olemassa oleva spermiinivarasto pysyy suuruudeltaan määrätyn kriittisen
35

tason yläpuolella. Sitä paitsi dekarboksylaasientsyymien täydellinen in vivo -inhiboiminen on vaikeaa niiden suuren vaihtumisnopeuden vuoksi.

Patentinhakijat ovat löytäneet yhdisteitä, jotka vaikuttavat solussa spermiinin toimintoja vastaan. Nämä yhdisteet ovat erittäin tehokkaita solun kasvun estäjiä nopeasti jakautuvissa soluissa. Siten tämän keksinnön mukaisesti valmistetut yhdisteet ovat hyödyllisiä solujen lisääntymistä vastustavina ja kasvaimia vastustavina aineina.

Tämä keksintö koskee menetelmää selektiivisten spermiinin gem-difluorijohdannaisten valmistamiseksi. Tarkemmin sanottuna tämä keksintö koskee menetelmää gem-6,6-difluori-1,12-diamino-4,9-diatsadodekaanin valmistamiseksi, jolla on kaava I



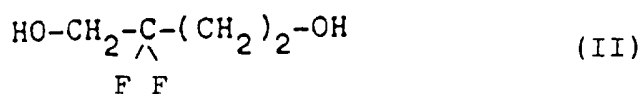
ja sen farmaseuttisesti hyväksyttävien suolojen valmistamiseksi.

Kuten yllä olevasta yleisestä kaavasta (I) ilmenee, muodostaa tämän keksinnön mukaisesti valmistettu yhdiste erityisen gem-difluorispermiinien luokan yhdessä farmaseuttisesti hyväksyttävien suolojensa kanssa. Kuitenkin käytetään koko ajan täsmällisempää nimistöä ja yhdistettä nimitetään gem-difluori-1,12-diamino-4,9-diatsadodekaaniksi.

Farmaseuttisesti hyväksyttäviin suoloihin sisältyvät sellaiset yllä olevan kaavan (I) mukaisen emäsyhdisteen happoadditiosuolat orgaanisten tai epäorgaanisten happojen kanssa, jotka eivät ole myrkyllisiä. Esimerkkejä epäorgaanisista hapoista ovat kloorivety- bromivety-, rikki- ja fosforihappo samoin kuin sellaiset metallisuolat kuin dinatriumortofosfaatti ja kaliumvetysulfaatti. Esi-

merkkejä orgaanisista hapoista, jotka muodostavat sopivia suoloja, ovat sellaiset mono-, di- ja trikarboksyylihapot kuten etikka-, glykoli-, maito-, palorypäle-, maloni-, meringi-, glutaari-, fumaari-, omena-, viini-, sitruuna-, askorbiini-, maleiini-, hydroksimaleiini-, bentsoe-, p-hydroksibentsoe-, fenyylietikka-, kaneli-, salisyyli-, 2-fenoksibentsoehappo ja sellaiset sulfonihapot kuin metaanisulfonihappo ja 2-hydroksietaanisulfonihappo. Tällaiset suolat voivat esiintyä joko hydratoituina tai käytännöllisesti katsoen vedettöminä. Keksinnön mukaiselle menetelmälle kaavan (I) mukaisen yhdisteen valmistamiseksi on tunnusomaista se, mitä patenttivaatimuksessa 1 esitetään.

Kaavan (I) mukainen yhdiste valmistetaan johdonmukaisessa järjestyksessä lähtien vastaavasta 2,2-difluori-1,4-butaanidiolista, jolla on kaava (II)

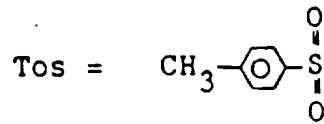
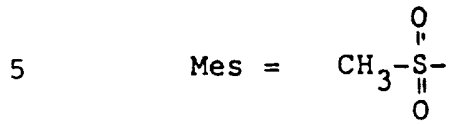
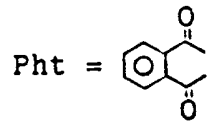


20

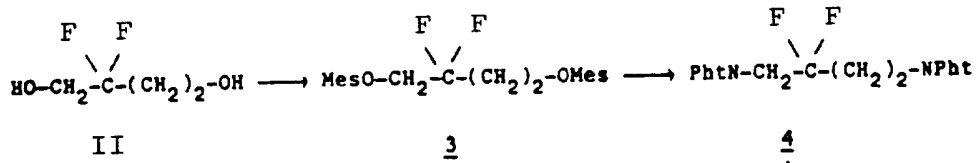
Tämä yhdiste valmistetaan helposti antamalla 2,2-difluorimeripihkahapon reagoida trifluorietikkahapon kanssa, jolloin muodostuu vastaava 2,2-difluorimeripihkahappoanhydridi. Anhydridin lohkaiseminen metanolilla johtaa vastaavan metyyli-2,2-difluorisukkinaatin muodostumiseen. Vastaavan vapaan happoryhmän pelkistäminen boraanimetyylisulfidikompleksin avulla johtaa vastaavan alkoholin, so. metyyli-2,2-difluori-4-hydroksibutanoaatin muodostumiseen. Esteriryhmän pelkistäminen, esimerkiksi käyttämällä natriumboorihydridiä, johtaa halutun lähtöaineen, so. 2,2-difluori-1,4-butaanidiolin (II) muodostumiseen.

30

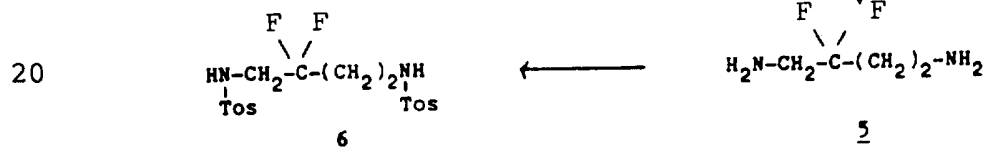
Kaavan (I) mukainen 6,6-difluori-1,12-diamino-4,9-diatsadodekaani voidaan valmistaa seuraavan synteesisarjan mukaisesti:



10



15



20

25

30

35

I

Yhdistettä 2,2-difluori-1,4-butaanidioli (II) käsitellään kahdella ekvivalentilla metaanisulfonyylikloridia pyridiinin läsnäollessa, jolloin muodostuu 1,4-bis-metaanisulfonyylioksi-2,2-difluoributaani (3). (3):n reaktio kahden ekvivalentin kanssa kaliumftaali-imidiä sellaisessa liuottimessa kuin dimetyyliformamidi johtaa vastaavan 2,2-difluori-1,4-diftaali-imidobutaanin (4) muodostumiseen. (4):n kuumentaminen hydratsiin kanssa sellaisessa liuottimessa kuin etanoli poistaa suojaavat ftaloyyliryhmät, jolloin saadaan tärkeä välituote, 2,2-difluori-1,4-diaminobutaani (5), joka voidaan helposti eristää dihydrohalogenidisuoloinaan. Yhdiste 2,2-difluori-1,4-diaminobutaani on tärkeä välituote, joka on hyödyllinen valmistettaessa 6,6-difluori-1,12-diamino-4,9-diatsadodekaaneja. Koska tämä 2,2-difluori-1,4-diaminobutaani on tällainen hyödyllinen ja uusi yhdiste, sisällytetään se tässä erityisesti patenttivaatimukseen osana tätä keksintöä.

Jotta vältettäisiin runsaammin alkyloitujen tuotteiden muodostuminen, suojataan primaarinen amiini (5) normaalilla tavalla p-tolueenisulfonyylikloridilla, jolloin saadaan vastaava 2,2-difluori-1,4-di-p-tolueenisulfonyyliaminobutaani (6). Alkyloimalla suojattu amiini (6) kahdella ekvivalentilla 3-bromipropyyliftaali-imidiä vedettömissä olosuhteissa sopivassa aproottisessa liuottimessa, kuten esimerkiksi dimetyyliformamidissa, natriumjodidin ja kalium-tert-butoksidin läsnäollessa saadaan vastaava 6,6-difluori-1,12-diftaali-imido-4,9-di-p-tolueenisulfonyyli-4,9-diatsadodekaani (7).

Tästä 4,9-diatsadodekaanijohdannaisesta (7) poistetaan suojaus kahdessa vaiheessa, kuumentamalla ensimmäisessä vaiheessa hydratsiin kanssa sellaisessa liuottimessa kuin etanoli ftaloyyliryhmien poistamiseksi. Näin saatuja tuotteita kuumennetaan sitten HBr:n vesiliuoksen kanssa suojaavien tosyyliryhmien poistamiseksi. Tällä tavoin saatu lopputuote on vastaava 6,6-difluori-1,12-diamino-4,9-

diatsadodekaani (I), joka voidaan helposti eristää vastaavina tetrahalogenidisuoloinaan, mieluummin tetrahydrobromidisuoloinaan.

5 Tämän keksinnön mukaisesti valmistetut yhdisteet ovat hyödyllisiä solujen lisääntymistä vastustavina ja kasvaimia vastustavina aineina. Näiden yhdisteiden vaikutusmekanismia ei tunneta. Kuitenkin tiedetään, että kun tämän keksinnön mukaisia yhdisteitä lisätään kasvavien rotan hepatoomakudosviljelmän (HTC) solujen viljelyaineeseen, vähenee solujen lisääntyminen selvästi. Käytettäessä 10 yhdisteitä yhdessä tunnettujen ornitiinidekarboksylaasin inhibiittoreiden, kuten esimerkiksi 2-difluorimetyyli-2,5-diaminopentaanihapon (DFMO) tai [2R,5R]-6-heptyyni-2,5-diamiinin (R,R-MAP) kanssa, estyy solujen lisääntyminen 15 vielä enemmän.

Keksinnön mukaisesti valmistettujen yhdisteiden on myös todettu kykenevän hidastamaan kasvainsolujen jakautumista, kun niitä on testattu normaaleissa eläinten kasvaintyypeissä. Hyvänä pidetty näiden yhdisteiden käyttöta- 20 pa on käyttää niitä yhdessä DFMO:n tai [R,R]-MAP:in kanssa tai yhdessä muiden hoitomenetelmien tai -aineiden kanssa, joiden tiedetään vaikuttavan polyamiinien aineenvaihduntaan hoidettaessa eläinten kasvaimia. Tässä yhteydessä tarkoitetaan termillä eläimet lämminverisiä eläimiä, kuten 25 esimerkiksi hiiriä, rottia, koiria, kissoja, marsuja, lemmiä, hevosia ja ihmisiä.

Tämän keksinnön mukaisesti valmistettuja yhdisteitä voidaan käyttää sekä ennaltaehkäisyyn että hoitoon. Hoitotarkoituksessa annettavan aktiivisen aineen määrä voi 30 vaihdella laajojen rajojen sisällä ja määräytyy sellaisten seikkojen kuin hoidettavan eläinlajin, sen iän, terveyden, sukupuolen, painon, luonteen ja hoidettavan tilan vakavuuden perusteella. Yleensä annettava hoidollisesti tehokas määrä aktiivista ainetta on noin 0,2-5 grammaa ja mieluummin 35 0,5-3 grammaa päivässä. Ennaltaehkäisyä varten voi-

daan antaa vastaavia pienempiä annoksia, jotka ovat 0,05-2 grammaa päivässä.

5 Kun antaminen tapahtuu yhdessä muiden ornitiinidekarboksylaasin inhibiittoreiden, kuten esimerkiksi DFMO:n tai [R,R]-MAP:in kanssa, annetaan ko. gem-6,6-difluori-1,12-diamino-4,9-diatsadodekaania 0,1-4 grammaa ja ornitiinidekarboksylaasin inhibiittoria 0,5-10 grammaa päivässä.

10 Tämän keksinnön mukaisesti valmistettu yhdiste voidaan antaa suun kautta. Suun kautta annettaessa ovat esimerkiksi sopivat annostustasot 2-50 mg kiloa kohti ruumiin painoa. Mieluimmin annetaan 10-20 mg gem-6,6-difluori-tetrahalogeeni-1,12-diamino-4,9-diatsadodekaania kiloa kohti suun kautta päivässä jaettuina annoksina. Silloin
15 kun lääke annetaan ruoansulatuskanavan ulkopuolisesti, käytetään vastaavia pienempiä annoksia. Kun antaminen tapahtuu yhdessä ornitiinidekarboksylaasin inhibiittoreiden kanssa, voidaan yhdisteet antaa standardiannostus+ yksikkömuodoissa, kuten esimerkiksi tabletteina, kaps-
20 leina, rakeina, pastilleina, eliksiireinä, emulsioina, suspensioina ja erilaisina laskimon sisään, lihakseen tai ihon sisään tarkoitettuina suspensioina.

Suun kautta annettaessa on parhaana pidetty annostusmuoto tabletti tai kapseli. Kussakin annostusyksikössä
25 oleva aktiivisen aineosan määrä vaihtelee luonnollisesti riippuen kysymyksessä olevasta annostusmuodosta. Yleensä yksi annostusyksikkö sisältää 10-500 mg aktiivista aineosaa siinä olevien erilaisten farmaseuttisten kantaja-
30 aineiden lisäksi. Tabletit, jotka sisältävät 100-400 mg aktiivista aineosaa, ovat parhaana pidetty annostusyksikkö ja voidaan antaa kaksi tai kolme tai neljä kertaa päivässä.

35 Valmistettaessa kiinteitä annostusmuotoja, kuten esimerkiksi tabletteja, sekoitetaan aktiivinen aineosa yleensä tavanomaisten farmaseuttisten kantaja- tai täyte-

aineiden, kuten esimerkiksi gelatiinin, erilaisten tärkkelysten, laktoosin, kalsiumfosfaatin tai jauhemaisen soke-
rin, kanssa. Termi farmaseuttinen kantaja-aine tarkoittaa
5 tässä myös liukastavia aineita, joita käytetään paranta-
maan tablettimäärien solumista ja jotka estävät tabletti-
materiaalin tarttumisen tablettimuottien ja lävistimien
pintoihin. Sopivia liukastavia aineita ovat esimerkiksi
talkki, steariinihappo, kalsiumstearaatti, magnesiumstea-
raatti ja sinkkistearaatti. Farmaseuttisen kantaja-aineen
10 määritelmään sisältyvät tässä myös hajottavat aineet, joi-
ta lisätään edistämään tablettien rikkoutumista ja liuke-
nemista antamisen jälkeen, samoin kuin väriaineet ja/tai
makua parantavat aineet, joita käytetään parantamaan tab-
lettien esteettisiä ominaisuuksia ja tekemään ne potilaal-
15 le miellyttävämmiksi.

Valmistettaessa nestemäisiä annostusyksikkömuotoja
ovat sopivia nestemäisiä kantaja-aineita vesi ja sellaiset
alkoholit kuten etanoli, bentsyylialkoholi ja polyetyleen-
niglykolit, joko lisäten pinta-aktiivista ainetta tai il-
20 man tällaista. Yleensä ovat parhaina pidettyjä nestemäisiä
kantaja-aineita, erityisesti ruiskevalmisteisiin, vesi,
fysiologinen suolaliuos, dekstroosi- ja glykoliliuokset,
kuten esimerkiksi propyleeniglykolin vesiliuos tai poly-
etyleeniglykolin vesiliuos.

25 Steriileinä ruiskeliuksina käytettävät nestemäiset
valmisteet sisältävät yleensä noin 0,5-25 paino-%, ja mie-
luimmin noin 1-10 paino-% aktiivista aineosaa liuoksessa.
Eräissä ulkonaisesti käytettävissä ja ruoansulatuskanavan
ulkopuolisesti käytettävissä valmisteissa voidaan käyttää
30 erilaisia öljyjä kantaja- tai täyteaineina. Esimerkkejä
tällaisista öljyistä ovat mineraaliöljyt, glyseridiöljyt,
kuten esimerkiksi laardiöljy, turskanmaksäöljy, maapähki-
näöljy, seesamiöljy, maissiöljy ja soijaöljy. Liukenemat-
tomia yhdisteitä varten voidaan lisätä suspendoivia ainei-
35 ta samoin kuin aineita, joiden avulla säädetään viskosi-

teettä, kuten esimerkiksi magnesiumalumiinisilikaattia tai karboksimeetyyliselluloosaa. Näiden täyteaineiden lisäksi voidaan myös lisätä puskureita, antiseptisiä aineita ja emulgoivia aineita.

5 Ruoansulatuskanavan ulkopuolisesti käytettävissä annostusyksikkömuodoissa sopii aktiivisen aineen osuuden olla 0,05 - noin 20 paino-%, mieluummin noin 0,1-10 paino-% nesteen koko koostumuksesta, jolloin toinen komponentti tai toiset komponentit ovat mitä tahansa edellä
10 mainittuja farmaseuttisia kantaja-aineita. Jotta ärsytys ruiskutuskohtassa saataisiin mahdollisimman vähäiseksi tai poistetuksi, voivat tällaiset valmisteet sisältää ionoitumaton pinta-aktiivista ainetta, jonka hydrofiili-lipofiili-tasapaino (HLB) on noin 12-17. Pinta-aktiivisen aineen määrä on tällaisissa valmisteissa noin 5-15 paino-%.
15 Pinta-aktiivinen aine voi olla yksi ainoa komponentti, jolla on yllä mainittu HLB, tai kahden tai useamman sellaisen komponentin seos, joilla on haluttu HLB. Esimerkkejä pintaaktiivisista aineista, jotka sopivat ruoansulatuskanavan ulkopuolisesti käytettäviin valmisteisiin, ovat
20 polyoksietyleenisorbitaanirasvahappestereiden luokka, kuten esimerkiksi sorbitaanimonooleaatit, ja suuren molekyyllipainon omaavat etyleenioksidin adduktit hydrofobisen emäksen kanssa, jotka on muodostettu antamalla propyleenioksidin kondensoitua propyleeniglykolin kanssa.
25

Tässä kuvattua keksintöä valaisevat yksityiskohtaisemmin seuraavat erityiset valmistusesimerkit.

6,6-difluori-1,12-diamino-4,9-diatsadodekaaninvalmistus

30 2,2-difluori-1,4-butaanidioli

2,2-difluorimeripihkahappoa (120 g, 0,78 moolia) ja trifluorietikkahapponanhydridiä (540 ml) kuumennetaan paltausjäähdyttäen (hauteen lämpötila 80 °C) 2 tunnin ajan. Suurin osa trifluorietikkahaposta tislataan pois käyttäen
35 lyhyttä Vigreux-kolonnia, viimeiset jäänteet poistetaan

vakuumissa (12 mmHg, 50 °C) ja lopuksi puhdistamalla kaksi kertaa hiilitetrakloridilla. Öljymäinen jäännös jähmettyy raaputettaessa sitä petrolieetterin kanssa. Suodattamalla ja pesemällä petrolieetterillä saadaan 2,2-difluorimeripihkahappoanhydridi heikosti violetteina kiteinä: 98 g (92 %).

2,2-difluorimeripihkahappoanhydridi (98 g, 0,72 moolia) liuotetaan dikloorimetaaniin ja liuos lisätään hitaasti, sekoittaen metanoliin, joka on jäähdytetty jäähauteessa. Seosta pidetään huoneen lämpötilassa yli yön, haihdutetaan ja puhdistetaan kaksi kertaa hiilitetrakloridilla, jolloin saadaan metyyli-2,2-difluorisukkinaatti hiukan ruskehtavana öljynä: 121 g (100 %).

4 l:n pullossa, joka on varustettu palautusjäähdyttäjällä ja 1 l:n tiputussuppilolla, lisätään liuos, jossa on $BH_3 \cdot Me_2S$ -kompleksia (10 M, 88 ml) kuivassa dikloorimetaanissa (1 l) hitaasti 2 tunnin aikana sekoitettuun liuokseen, jossa on metyyli-2,2-difluorisukkinaattia (120 g, 0,714 moolia) kuivassa tetrahydrofuraanissa 20 °C:ssa. Sen jälkeen kun on kuumennettu (hauteen lämpötila 80 °C) palautusjäähdyttäen noin 15 tunnin ajan, annetaan seoksen jäähtyä huoneen lämpötilaan ja lisätään hitaasti metanolia (1 l). Haihdutettaessa saadaan metyyli-2,2-difluori-4-hydroksibutyyraatti öljynä, jota puhdistetaan metanolilla (1 l) ja lopuksi käyttäen CCl_4 :a, jolloin saadaan keltainen öljy: 100 g (92 %).

Kylmään (0 °C) liuokseen, jossa on natriumboorihydridiä (10,3 g, 0,272 moolia) etanolissa, lisätään hitaasti liuos, jossa on metyyli-2,2-difluori-4-hydroksibutyyraattia (55 g, 0,36 moolia) etanolissa, pitäen reaktioseoksen sisäinen lämpötila välillä -5 °C - 0 °C. Seosta sekoitetaan 1 tunnin ajan 0 °C:ssa, minkä jälkeen lisätään varovasti noin 4 N HCl-kaasun metanoliliuos (200 ml). Natriumkloridi suodatetaan, metanoli poistetaan vakuumissa ja jäännös liuotetaan etanoliin. Lisää NaCl poistetaan taas

suodattamalla (kalvosuodatin) ja haihduttamalla suodos saadaan yhdiste 2,2-difluori-1,4-butaanidioli värittömänä öljynä, kun tislataan Kugelrohr-laitteessa olosuhteissa 150 °C/ 0,05 mmHg; 41 g (90 %).

5 2,2-difluori-1,4-diaminobutaani

Sekoitettuun seokseen, jossa on 2,2-difluori-1,4-butaanidiolia (12,97 g, 103 mM), kuivaa pyridiiniä (65 ml) ja dikloorimetaania (200 ml), lisätään hitaasti liuos, jossa on metaanisulfonyylikloridia (23,6 g) dikloorimetaanissa (50 ml). Sekoittamista jatketaan yli yön ja seos pestään 2 N HCl-liuoksella (kaksi kertaa), 10 % NaHCO₃:n vesiliuoksella, kunnes se on neutraali, ja lopuksi vedellä. Orgaaninen liuos kuivataan (MgSO₄) ja haihdutetaan, jolloin saadaan 1,4-bis-metaanisulfonyylioksi-2,2-difluoributaani kellertävänä öljynä (25,4 g, 87,5 %), joka kiteytyy raaputettaessa kuivan eetterin kanssa: valkeita kiteitä, 22,3 g (77 %).

Yhdistettä 1,4-bis-metaanisulfonyylioksi-2,2-difluoributaani (66 g, 234 mM), kaliumftaali-imidiä (97 g, 10 %:n ylimäärä) ja kuivaa DMF:a (700 ml) sekoitetaan ja kuumennetaan (hauteen lämpötila 110 °C) typpikaasun alla 110 tunnin ajan. Suurin osa DMF:stä poistetaan vakuumissa (öljypumppu) ja jäännökseen lisätään vettä. Saostunut materiaali suodatetaan, pestään kolme kertaa vedellä, liuotetaan kloroformiin ja pestään 1 N NaOH-liuoksella (kaksi kertaa) ja suolavedellä (kaksi kertaa). Kun orgaaninen liuos on kuivattu (Na₂SO₄) ja konsentroitunut, alkaa yhdiste 2,2-difluori-1,4-diftaali-imidobutaani kiteytyä. Lisätään heksaania, muodostuva kiinteä aine otetaan talteen ja pestään eetterillä, jolloin saadaan valkeita kiteitä: 69,55 g (77 %).

35 Typpikaasun alla olevaa seosta, jossa on 2,2-difluori-1,4-diftaali-imidobutaania (69,55 g, 180,6 mM), tetrahydrofuraania (361 ml) ja 361 ml 1 N hydratsiinihydraatin etanoliliuosta, kuumennetaan tehokkaasti sekoittaen

5 yli yön 90 °C:ssa (hauteen lämpötila). Sen jälkeen kun on
lisätty 6 N HCl (700 ml), jatketaan sekoittamista ja kuu-
mentamista 1,5 tunnin ajan. Reaktioseos jäädytetään (jää-
haude) ja saostuma suodatetaan (etanolipesu). Suodos haih-
10 dutetaan, jäännös otetaan veteen, suodatetaan ja haih-
dutetaan jälleen. Menettely toistetaan vielä kerran käyt-
tämällä kalvosuodatinta (Millipore). Jäännös puhdistetaan
isopropanolilla (kaksi kertaa) ja etanolilla (kaksi ker-
taa) jäljellä olevan veden poistamiseksi. Uuttamalla läm-
15 mittäen etanolilla ja suodattamalla sitten näin saatu tuo-
te saadaan valkeita kiteitä, jotka pestään peräkkäin eta-
nolilla, asetonilla ja eetterillä: 30,9 g (87 %). Tämä
materiaali uudelleenkiteytetään liuottamalla se mahdolti-
simman pieneen määrään kuumaa vettä (noin 50 ml), suodat-
15 tamalla ja lisäämällä etanolia, jolloin muodostuu puhdasta
2,2-difluori-1,4-diaminobutaania dihydrokloridisuolana: 22
g (61,8 %).

Laskettu yhdisteelle $C_4H_{12}Cl_2F_2N_2$: C 24,38; H 6,14; N 14,22

Saatu: C 24,33; H 5,19; N 14,24

20 6,6-difluori-1,12-diftaali-imido-4,9-di-p-tolueeni-
sulfonyyli-4,9-diatsadodekaani

Seokseen, jossa on 2,2-difluori-1,4-diaminobutaani-
dihydrokloridia (1,57 g, 8 mM), trietyyliamiinia (3,23 g,
4 ekvivalenttia) ja kuivaa dikloorimetaania, lisätään hi-
25 taasti sekoittaen liuos, jossa on tolueenisulfonyyliklori-
dia (3,04 g, 2 ekvivalenttia) dikloorimetaanissa. Sen jäl-
keen kun on sekoitettu huoneen lämpötilassa yön ajan, li-
sätään vielä dikloorimetaania. Reaktioseos pestään 1 N
HCl-liuoksella (kaksi kertaa), suolavedellä (kaksi kertaa),
30 kuivataan (Na_2SO_4) ja haihdutetaan, jolloin saadaan val-
keita kiteitä: 3 g. Saatua materiaalia uutetaan lämmittäen
eetterillä ja pestään huolellisesti eetterillä, jolloin
saadaan puhdasta 2,2-difluori-1,4-di-p-tolueenisulfonyyli-
aminobutaania: 2,45 g (71 %).

35 Typpikaasun alla lisätään kalium-tert.-butoksidia

(1,3 g, 2 ekvivalenttia) sekoitettuun liuokseen, jossa on 2,2-difluori-1,4-di-p-tolueenisulfonyyliaminobutaania (2,45 g, 5,67 mM) kuivassa dimetyyliformamidissa (5 ml). 30 minuutin kuluttua huoneen lämpötilassa lisätään vielä
5 dimetyyliformamidia (5 ml), N-3-bromipropyylifitaali-imidiä (3,04 g, 2 ekvivalenttia) ja natriumjodidia (170 mg). Seosta sekoitetaan yli yön, minkä jälkeen dimetyyliformamidi poistetaan vakuuissa (öljypumppu). Jäännökseen lisätään vettä (250 ml) ja saostuma suodatetaan, pestään
10 vedellä ja kuivataan P₂O₅:n avulla: 4,57 g. Raaka materiaali uudelleenkiteytetään kloroformi/eetteristä, jolloin saadaan puhdasta 6,6-difluori-1,12-difitaali-imido-4,9-di-p-tolueenisulfonyyli-4,9-diatsadodekaania valkeina kiteinä: 3,45 g (75 %).

15 6,6-difluori-1,12-diamino-4,9-diatsadodekaani

Seosta, jossa on 6,6-difluori-1,12-difitaali-imido-4,9-di-p-tolueenisulfonyyli-4,9-diatsadodekaania (3,4 g, 4,22 mM), etanolia (8,5 ml) ja 8,5 ml 1 N hydratsiinihydraatin etanoliliuosta, sekoitetaan ja kuumennetaan (hauteen lämpötila: 90 °C) yli yön. Haihduttamalla ja puhdistamalla kahdesti metanolilla saadaan jäännös, joka liuotetaan liuotinseokseen, jossa on vettä (20 ml), metanolia (20 ml) ja väkevää HCl (40 ml), ja kuumennetaan (hauteen lämpötila: 90 °C) palautusjäähdyttään 3 tunnin ajan. Reaktioseos jäähdytetään, suodatetaan ja haihdutetaan ja jäännös liuotetaan kuumaan 1 N HCl-liuokseen. Liuos suodatetaan, suodos haihdutetaan ja jäännös puhdistetaan isopropanolilla (kaksi kertaa) ja etanolilla (kaksi kertaa). Jäännös liuotetaan etanoliin, lisätään eetteriä ja haihduttamalla liuotin saadaan 1,12-diamino-6,6-difluori-4,9-di-p-tolueenisulfonyyli-4,9-diatsadodekaania valkeana kiteisenä vaahtona: 2,7 g (kvantitatiivinen saanto).

30 Yhdistettä 1,12-diamino-6,6-difluori-4,9-di-p-tolueenisulfonyyli-4,9-diatsadodekaani (2,7 g, 4,36 mM) ja
35 47 % HBr:n vesiliuosta kuumennetaan (hauteen lämpötila:

110 °C) palautusjäähdyttään 17 tunnin ajan. Kun liuos on jäähdytetty huoneen lämpötilaan, se uutetaan huolellisesti eetterillä (kolme kertaa) ja lopuksi kloroformilla. Haihduttamalla vesifaasi ja puhdistamalla sen jälkeen isopropanolilla (kaksi kertaa) ja etanolilla (kaksi kertaa) saadaan kiinteä jäännös, jota uutetaan lämmittäen asetonilla, otetaan talteen ja pestään asetonilla (kolme kertaa), etanolilla (kolme kertaa) ja lopuksi eetterillä: valkeita kiteitä, 1,8 g (74 %). Tämä materiaali kiteytetään uudelleen liuottamalla kuumaan (80 °C) vettä sisältävään etanoliin (100 ml, H₂O:etanoli 1:9), suodattamalla paperin lävitse ja lisäämällä vielä etanolia (10-20 ml), jolloin saadaan haluttua 6,6-difluori-1,12-diamino-4,9-diatsadodekaania tetrahydrobromidisuolana: valkeita kiteitä 1,2 g (49 %).

Laskettu yhdisteelle C₁₀H₂₈Br₄F₂N₄: C 21,37; H 5,02; N 9,97

Saatu: C 20,97; H 4,75; N 10,01

6,6-difluori-1,12-diamino-4,9-diatsadodekaanin solujen lisääntymistä vastustavan vaikutuksen osoittaminen

Morris-rotan hepatooma 7288C (HTC) -soluja kasvatetaan rutiininomaisesti suspensioviljelmänä Swim'in 77 -viljelyaineessa, johon on lisätty 10 % (tilavuus/tilavuus) dialysoitua hevosen seerumia, 11,0 mM glukoosia, 2 mM glutamiinia, 0,057 mM kystiiniä, 5,9 mM NaHCO₃ ja 50 mM N-tris-(hydroksimetyyli)metyyliglysiiniä. HTC-soluviljelmiä inkuboidaan siten, että läsnä on 1µm tai 10µm yhdistettä 6,6-difluori-1,12-diamino-4,9-diatsadodekaani, tai ilman tätä yhdistettä ja havainnoidaan 11 päivän ajan. Soluviljelyalusta vaihdetaan päivänä 2, jotta solut saataisiin pidettyä logaritmisen kasvun vaiheessa. Solujen lukumäärä määritetään kulloinkin laskemalla solut ja suhteellinen solunkasvu lasketaan ottaen huomioon käytetyt laimennuskertoimet. Solunkasvun inhiboitumisprosentti lasketaan seuraavan lausekkeen mukaan:

$$100 - 100 \left[\frac{N_t n - N_t 0}{N_c n - N_c 0} \right]$$

5

jossa

$N_c 0$ on kontrolliviljelmien suhteellinen kasvu,
kun aika = 0

10 $N_c n$ on kontrolliviljelmien suhteellinen kasvu,
kun aika = n

$N_t 0$ on testiviljelmien suhteellinen kasvu,
kun aika = 0

$N_t n$ on testiviljelmien suhteellinen kasvu,
kun aika = n.

15

Taulukosta I ilmenee, että kun viljelyalustaan on lisätty $1\mu\text{m}$ 6,6-difluori-1,12-diamino-4,9-diatsadodekaania, on solujen lisääntyminen inhiboitunut 54 %:lla 4 päivän kuluttua, kun taas solun kasvu on saman ajanjakson kuluttua inhiboitunut 77 %:lla, kun lääkettä on lisätty $10\mu\text{m}$.

20

Taulukko I

6,6-difluori-1,12-diamino-4,9-diaatsadodekaanin vaikutukset HTC-solujen lisääntymiseen

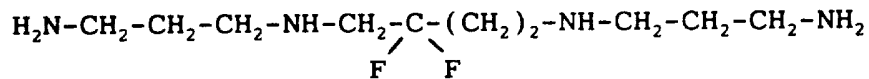
Aika (päiviä)	Suhteellinen kasvu		Solunkasvun inhiboitumis- prosentti
	Kontrolli 1 μm yhdistettä	10 μm yhdistettä	
0	1,00	1,00	0
1	1,89	1,24	60
2	3,63	1,94	43
3	6,66	3,56	25
4	14,11	4,07	54

Keksinnön mukaisesti valmistettua fluorattua yhdistettä voidaan käyttää ydinmagneettisen resonanssin (NMR) kuvausaineina, jotka soveltuvat käytettäviksi kasvainkudoksen löytämiseen ja diagnosointiin F^{19} -NMR in vivo-spektroskopian avulla ja kasvaimen kuvaamiseen F^{19} -NMR-kerroskuvauksen avulla.

Toinen hyvänä pidetty ryhmä NMR-kuvausaineita, jotka ovat hyödyllisiä minkä tahansa imettäväisten kasvainten löytämisessä ja paikallistamisessa, ovat difluorivälituotteet, joita käytetään kaavan I mukaisen fluoratun yhdisteen valmistukseen, erityisesti 2,2-difluori-1,4-butaanidiamiini. Tätä käyttötarkoitusta varten yhdisteitä voidaan antaa määrä, joka on 0,2-5 g.

Patenttivaatimukset

1. Menetelmä terapeuttisesti aktiivisen gem-6,6-
difluori-1,12-diamino-4,9-diatsadodekaanin valmistamiseksi,
5 si, jolla on kaava

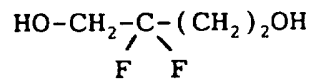


10

ja sen farmaseuttisesti hyväksyttävien suolojen valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että

a) 2,2-difluori-1,4-butaanidioli, jolla on kaava

15



20

saatetaan reagoimaan metaanisulfonyylikloridin kanssa, jolloin muodostuu vastaava 1,4-bis-metaanisulfonyylioksi-2,2-difluoributaani;

b) saatetaan 1,4-bis-metaanisulfonyylioksi-2,2-difluoributaani reagoimaan kaliumftaali-imidin kanssa, jolloin saadaan vastaava 2,2-difluori-1,4-diftaali-imidobutaani;

25

c) kuumennetaan 1,4-diftaali-imidobutaanijohdannaisista hydratsiinin kanssa, jolloin muodostuu vastaava 2,2-difluori-1,4-diaminobutaani;

30

d) suojataan vapaa amiini p-tolueenisulfonyylikloridilla, jolloin muodostuu vastaava 2,2-difluori-4,9-di-p-tolueenisulfonyyliaminobutaani;

35

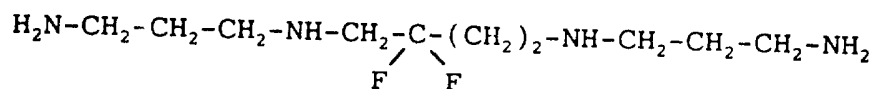
e) alkyloidaan 4,9-di-p-tolueenisulfonyyliaminobutaani kahdella ekvivalentilla 3-bromipropyyliftaaliimidiä, jolloin muodostuu vastaava 6,6-difluori-1,12-diftaali-imido-4,9-di-p-tolueenisulfonyyli-4,9-diatsadodekaani;

f) kuumennetaan 4,9-diatsadodekaania hydratsiinin kanssa suojaavien ftaloyyliryhmien poistamiseksi, minkä jälkeen kuumennetaan Hbr:n vesiliuoksen kanssa suojaavien p-tolueenisulfonyyliryhmien poistamiseksi; ja eristetään
5 tästä haluttu 6,6-difluori-1,12-diamino-4,9-diatsadodekaani.

2. Yhdiste 2,2-difluori-1,4-diaminobutaani ja sen hydrokloridisuola.

Patentkrav

1. Förfarande för framställning av en terapeutiskt
aktiv gem-6,6-difluor-1,12,-diamino-4,9-diazadodekan med
5 formeln

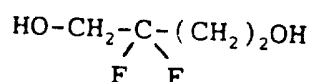


10

och för framställning av farmaceutiskt godtagbara salter
därav, k ä n n e t e c k n a t därav, att

(a) butandiol med formeln

15



fås att reagera med metansulfonylchlorid, varvid motsvarande
1,4-bis-metansulfonyloxi-2,2-difluorbutan bildas;

20

(b) 1,4-bis-metansulfonyloxi-2,2-difluorbutan fås
att reagera med kaliumftalimid, varvid motsvarande 2,2-
difluor-1,4-diftalimidobutan erhålls;

(c) ett 1,4-diftalimido-butanderivat upphettas med
hydrazin, varvid motsvarande 2,2-difluor-1,4-diaminobutan
25 bildas;

(d) en fri amin skyddas med p-toluensulfonylchlorid,
varvid motsvarande 2,2-difluor-4,9-di-p-toluensulfonyl-
aminobutan bildas;

30

(e) 4,9-di-p-toluensulfonylaminobutan alkyleras med
två ekvivalenter av 3-brompropylftalimid, varvid motsva-
rande 6,6-difluor-1,12,-diftalimido-4,9-di-p-toluensulfo-
nyl-4,9-diazadodekan bildas;

35

(f) 4,9-diazadodekan upphettas med hydrazin för att
avlägsna skyddande ftaloylgrupper, varefter det upphettas
med en vattenlösning av HBr för att avlägsna skyddande p-

toluensulfonylgrupper; och härifrån isoleras den önskade 6,6-difluor-1,12-diamino-4,9-diazadodekanen.

2. Föreningen 2,2-difluor-1,4-diaminobutan och dess hydrokloridsalt.