を行なえば目的の ester 類 (13, 15, 17, 19) を得た。

化合物 (15) の還元による Ethyl 2-(3-Trifluoromethyl-4-aminophenoxy)isobutyrate (17) の合成 化合物 (15) 2.3 g, EtOH 40 ml を Pd-C を用いて接触還元を行ない、汙過、濃縮、水を加えてエーテル抽出、乾燥、エーテル留去し減圧蒸留すれば淡黄色液体 (17) bp 128—130°/4 mmHg を 1.5 g (75%) を得た。沸点, IR, NMR により標品と同定した。

化合物 (16) の Ester 化による Ethyl 2-(3-Trifluoromethyl-4-aminophenoxy)isobutyrate (17) の合成 化合物 (16) 2.7 g, TsOH 1.0 g, 無水 EtOH 50 ml を 4 hr 加熱還流する。EtOH 留去、残留物に水を加えてエーテル抽出、乾燥、減圧蒸留すれば bp 128—130°/4 mmHg の淡黄色油状物 (17) 2.0 g (69%) を得た。沸点, IR, NMR により標品と同定した。

謝辞 本研究に終始御鞭撻賜わったフナイ薬品工業株式会社々主 松岡英宗博士、本研究所々長 榊原栄一博士、御指導いただいた徳島大学医学部 藤井節郎教授に感謝いたします。薬理試験、元素分析、NMR 測定を担当された本研究所の方々に感謝いたします。

〔薬 学 雑 誌〕
YAKUGAKU ZASSHI
94 (8) 1032—1037 (1974)

UDC 547.495.2.057.09 : 615.277.3.011.5.015.11

抗白血病薬の研究 (第 3 報¹⁾) N-(2-Chloroethyl)-N-nitrosourea 誘導体の合成および抗癌作用

中尾英雄, 福島正美, 清水総明, 荒川順生
三共株式会社, 中央研究所²⁾

Antileukemic Agents. III.¹⁾ Synthesis and Antitumor Activity of N-(2-Chloroethyl)-N-nitrosourea Derivatives

HIDEO NAKAO, MASAMI FUKUSHIMA, FUSAOKI SHIMIZU and MASAO ARAKAWA
Central Research Laboratories, Sankyo Co., Ltd.²⁾

(Received February 1, 1974)

Water-soluble derivatives of N-(2-chloroethyl)-N-nitrosourea were synthesized and their antitumor activity was tested against leukemia L-1210. Most of these compounds showed a high activity.

抗白血病薬のスクリーニングとしてマウス白血病 L-1210 を用いる方法は、現在では比較的すぐれた方法の 1 つである。この方法によってわれわれは先に aziridinylquinone 誘導体の中に強い抗癌作用を有する化合物を見出したことを報告した。¹⁾

一方, Montgomery ら³⁾ は N-ニトロソ尿素誘導体の中に L-1210 に対し強い作用を示す化合物があることを見出し、中でも 1,3-bis(2-chloroethyl)-1-nitrosourea (BCNU) および 1-(2-chloroethyl)-3-cyclohexyl-1-nitrosourea (CCNU) は抗癌剤としてすでに臨床試験が行なわれている。

われわれもこれらの化合物に興味をもち、合成および作用の追試をしたところ、合成が比較的容易で作用も極めて強いことを確認した。しかしながら、これらの化合物は水に難溶性のため注射剤の調製が容易でないことが

1) 第 2 報: H. Nakao, M. Arakawa, T. Nakamura, M. Fukushima, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **20**, 1968 (1972).

2) Location: Hiromachi, Shinagawa-ku, Tokyo, 140, Japan.

3) T.P. Johnston, G.S. McCaleb, P.S. Opliger, J.A. Montgomery, *J. Med. Chem.*, **9**, 892 (1966).

TABLE I. N-(2-Chloroethyl)urea Derivatives
 $\text{RNHCONHCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$

Com- pound II	R	Reac- tion solvent	Re- crystn solvent	Yield (%)	mp (°C)	Formula	Calcd. (%) (Found (%))		
							C	H	N
a		ether	EtOH	60	139	$\text{C}_8\text{H}_{10}\text{ON}_3\text{Cl}$	48.13 (48.08)	5.05 (5.20)	21.05 (20.99)
b		ether	EtOH- H_2O	55	115	$\text{C}_9\text{H}_{12}\text{ON}_3\text{Cl}$	50.59 (50.40)	5.66 (5.41)	19.67 (19.56)
c		ether	CHCl_3 - ether	80	96	$\text{C}_9\text{H}_{12}\text{ON}_3\text{Cl}$	50.59 (50.35)	5.66 (5.84)	19.67 (19.68)
d		ether	CHCl_3 - ether	82	103	$\text{C}_9\text{H}_{12}\text{ON}_3\text{Cl}$	50.59 (51.00)	5.66 (5.52)	19.67 (19.38)
e		EtOH	EtOH- ether	40	143 (decomp.)	$\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_3\text{N}_3\text{Cl}$	48.26 (48.15)	5.89 (5.91)	15.35 (15.23)
f		H_2O	EtOH- ether	45	163	$\text{C}_9\text{H}_{14}\text{ON}_5\text{Cl}$	44.35 (44.25)	5.79 (5.87)	28.74 (28.68)
g		ether	CHCl_3 - ether	89	97	$\text{C}_7\text{H}_{10}\text{ON}_3\text{SCl}$	38.27 (38.23)	4.59 (4.57)	19.13 (19.25)
h		ether	CHCl_3 - ether	79	148 (decomp.)	$\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{ON}_3\text{Cl}$	59.21 (59.24)	5.36 (5.34)	15.94 (15.74)
i		CHCl_3	3% HCl - Na_2CO_3^a	70	169	$\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{ON}_4\text{Cl}$	54.03 (54.16)	5.67 (5.67)	21.01 (21.16)
j		H_2O	— ^b	55	syropy	—	—	—	—
k		CHCl_3	— ^b	75	syropy	—	—	—	—
l		H_2O	3% HCl - Na_2CO_3^a	65	170 (decomp.)	$\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{O}_2\text{N}_4\text{Cl}$	52.97 (52.75)	5.13 (5.20)	19.01 (19.05)
m		ether	benzene- CHCl_3	85	130 (decomp.)	$\text{C}_9\text{H}_{18}\text{ON}_3\text{Cl}$	49.20 (49.12)	8.26 (7.94)	19.13 (19.13)
n		ether	CHCl_3 - ether	85	106	$\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{ON}_3\text{Cl}$	55.05 (54.82)	9.24 (9.46)	16.05 (15.81)
o		ether	benzene	45	92	$\text{C}_8\text{H}_{16}\text{ON}_3\text{Cl}$	46.71 (46.51)	7.84 (7.81)	20.43 (20.41)

a) reprecipitation

b) not purified

TABLE II. N-(2-Chloroethyl)-N-nitrosourea Derivatives

Com- pound III	R	Recrystn. solvent	Yield ^{a)} (%)	mp (°C)	Formula	Calcd. (%) (Found (%))		
						C H N		
a		ether- cyclohexane	20	85 (decomp.)	C ₈ H ₉ O ₂ N ₄ Cl	42.02 (42.03)	3.97 (4.16)	24.51 (24.02)
b		CHCl ₃ - cyclohexane	55	70	C ₉ H ₁₁ O ₂ N ₄ Cl	44.54 (44.25)	4.57 (4.59)	23.09 (23.28)
c		EtOH	70	138 (decomp.)	C ₉ H ₁₁ O ₂ N ₄ Cl· HCl	38.72 (38.29)	4.33 (4.19)	20.07 (20.01)
d		EtOH	73	145 (decomp.)	C ₉ H ₁₁ O ₂ N ₄ Cl· HCl	38.72 (38.48)	4.33 (4.18)	20.07 (19.96)
e		EtOH	20	170 (decomp.)	C ₁₁ H ₁₅ O ₄ N ₄ Cl· HCl	38.95 (39.19)	4.76 (4.88)	16.52 (16.38)
f		EtOH- acetone	55	171 (decomp.)	C ₉ H ₁₃ O ₂ N ₆ Cl· HCl	34.96 (35.21)	4.56 (4.69)	27.19 (27.13)
g		EtOH	70	123 (decomp.)	C ₇ H ₉ O ₂ N ₄ SCl· HCl	29.48 (29.85)	3.54 (3.63)	19.65 (19.60)
h		EtOH	60	140 (decomp.)	C ₁₃ H ₁₃ ON ₄ Cl· HCl·H ₂ O	47.17 (47.29)	4.26 (4.29)	16.93 (17.03)
i		EtOH	65	132 (decomp.)	C ₁₂ H ₁₄ O ₂ N ₅ Cl· HCl·H ₂ O	41.16 (40.90)	4.90 (4.83)	20.00 (20.04)
j		MeOH	35	174 (decomp.)	C ₁₂ H ₁₄ O ₂ N ₅ Cl· HCl	43.38 (43.53)	4.55 (4.65)	21.08 (20.84)
k		EtOH-H ₂ O	65	174 (decomp.)	C ₁₃ H ₁₆ O ₂ N ₅ Cl· HCl	45.09 (45.23)	4.95 (4.98)	20.23 (20.28)
l		EtOH-H ₂ O	55	186 (decomp.)	C ₁₃ H ₁₄ O ₃ N ₅ Cl· HCl	43.35 (43.58)	4.20 (3.86)	19.44 (19.45)
m		EtOH	25	128 (decomp.)	C ₉ H ₁₇ O ₂ N ₄ Cl· HCl	37.91 (37.67)	6.36 (6.51)	19.65 (19.44)
n		MeOH-H ₂ O	40	163 (decomp.)	C ₁₂ H ₂₃ O ₂ N ₄ Cl· HCl·H ₂ O	41.74 (42.09)	7.59 (7.68)	16.23 (16.29)
o		Al ₂ O ₃ chromato.	25	syrupey	C ₈ H ₁₅ O ₂ N ₄ Cl	40.94 (41.18)	6.44 (6.67)	23.87 (24.04)

a) by method A

問題であり、例えば BCNU はアルコール溶液を水で希釈して投与⁴⁾ されているが必ずしも適当な方法とは考えられない。そこで著者らはこの問題を解決するとともに、制癌作用その他の面で変化が認められるかどうかというところにも興味があるので、水溶性の誘導体を合成することを企図し本研究を行なった。

Montgomery らの報告³⁾ から BCNU, CCNU が制癌作用を示すための必須部分構造は 3-(2-chloroethyl)-3-nitrosoureido 基であると考えられるので、この基を有する水溶性化合物を合成することを計画した。水溶性をもたせるために、塩酸塩のような塩を生成する塩基性化合物を合成することとし、CCNU の合成法に従って Chart 1 に示すごとく、該当するアミン (I) に 2-chloroethylisocyanate を作用させて 2-chloroethylurea 誘導体 (II) とし、これをニトロソ化して目的の化合物 (III) を合成した (Table I および II)。

なお、ニトロソ化の際にニトロソ基の位置異性体の生成が考えられるが、クロロエチル基の結合している窒素原子がニトロソ化されたことは別の経路によってニトロソ化合物 (III) を合成し確認した。すなわち Chart 2 に示すごとく、*p*-nitrophenol のエステルがアミノリシスされやすいことに着目し、*p*-nitrophenyl 1-aziridinecarboxylate (IV) に塩酸を作用させて得た *p*-nitrophenyl N-(2-chloroethyl)carbamate (V) をニトロソ化して N-ニトロソ体 (VI) とし、これと該当するアミンとの反応によってニトロソ尿素誘導体 (III) を合成し、Chart 1 の方法で得た化合物と同一とした。

合成したニトロソ尿素誘導体 (IIIa—o) の L-1210 に対する制癌作用を試験した結果、Table III に示すごとく、アミノピリジンおよびピペラジンの誘導体 (IIIa, IIIo) は活性が弱いまたは不活性であったが、その他の

TABLE III. Antitumor Activity against Leukemia L-1210^{a)}

Compound	Optimal dose ^{b)} (mg/kg)	Effectiveness ^{c)} (%)	Survivors ^{d)} at optimal dose	Note
IIIa	20	167	0/5	
IIIb	70	>729	8/10	
IIIc	50	>820	8/10	
IIId	50	>800	8/10	
IIIe				300 mg (toxic) 3 mg (>241%)
IIIf	46	>800	9/10	
IIIg	100	>380	3/10	
IIIh	100	>487	2/10	
IIIi	70	>434	4/10	
IIIj	100	>623	7/10	
IIIk	100	>525	7/10	
IIIl	140	>779	5/5	
IIIm	10	>208	1/5	
IIIn	70	>857	9/10	
IIIo				300 mg (toxic) 30 mg (110%)
CCNU	50	>790	5/5	
MitomycinC	4	154	0/5	

a) L-1210 cells(10⁶) were intraperitoneally inoculated, and single intraperitoneal therapy was made 24 hr after leukemia inoculation.

b) dose providing maximum increase in life span

c) increase in life span at optimal dose (T-C/C×100)

d) Numerator shows number of 60-day survivors and denominator, number of animal used.

4) J.P. Davignon, K.W. Yang, H.B. Wood, J.C. Cradock, *Cancer Chemother. Rep. Part 3*, 4, 7 (1973).

化合物はいずれも強い作用を示し、中には CCNU に匹敵する化合物もいくつか見出された。それらについてはさらに詳細な試験を行なっているが、その結果については別に報告する。

実 験 の 部

N-(2-Chloroethyl)-N'-substituted-urea (IIa—o) の合成

合成原料のアミノ化合物は 1-(2-aminoethyl)cycloheptimidazol-2(1H)-one 以外は市販品または文献記載の化合物である。

一般合成法 アミノ化合物が遊離塩基の場合 1—2 g を約 10 倍量のエーテル、 CHCl_3 または EtOH (Table I 参照) に溶かし、氷冷攪拌下、当量の 2-chloroethylisocyanate⁵⁾ を滴加し、1 hr 攪拌、結晶が析出した場合 (化合物 IIa, IIb, IIc, IIId, IIg, IIh, IIf, IIIm, IIIn, IIo) は濾取し、再結晶。結晶が析出しない場合は溶媒を留去し、残渣を精製 (化合物 IIe)。残渣が結晶化しない場合 (化合物 IIk) は dil. HCl に溶かし、エーテルで洗浄後、5% NaOH 水溶液でアルカリ性とし、析出物をエーテルまたは CHCl_3 で抽出。

アミノ化合物が塩酸塩の場合は 1—2 g を約 10 倍量の水に溶かし、氷冷攪拌下、当量の 10% NaOH 水溶液を加え、ついで 2-chloroethylisocyanate を加え 1—2 hr 攪拌、析出結晶を濾取、精製 (Table I)。

1-(2-Aminoethyl)cycloheptimidazol-2(1H)-one Dihydrochloride

本品は文献の方法⁶⁾ に準じて合成した。市販のカルシウムシアナミド 100 g を水 600 ml と 50—55° で 30 min 攪拌後、不溶物を濾去し、濾液に 2-methoxytropone 35 g を加え、80° の水浴で 1 hr 攪拌、析出した 2-cyanaminotropone のカルシウム塩を冷後濾取、水洗、乾燥 (収量約 40 g)。このカルシウム塩 16 g を CHCl_3 400 ml に懸濁させ、N-(2-aminoethyl)acetamide 11 g を加え、攪拌しながら AcOH 5.8 g を滴加。室温で 2 hr 攪拌後、不溶物を濾去し濾液を減圧で濃縮、残留物にアセトンを加えて濾取すると 1-(2-acetylaminoethyl)cycloheptimidazol-2(1H)-one の粗結晶 (mp 180—205°) 約 12 g が得られる。これを conc. HCl 100 ml 中に加え、13 hr 還流、反応液を脱色炭処理後、減圧で塩酸を留去し、残留物に EtOH を加えて濾取、80% EtOH から再結晶、収量 10 g, mp 246° (decomp.)。Anal. Calcd. $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{ON}_3 \cdot 2\text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$: C, 42.87; H, 5.35; N, 15.00; Cl, 25.31. Found: C, 43.10; H, 5.45; N, 15.05; Cl, 25.90.

N-(2-Chloroethyl)-N-nitroso-N'-substituted-urea (IIIa—o) の合成

Method A 化合物 II のニトロソ化による合成。

一般合成法—該当する化合物 II 1—2 g を 5—10% HCl 10—20 ml に溶かし、氷冷攪拌下、当量の NaNO_2 を少しずつ加える。加えてから 1—2 hr 冷却攪拌、結晶が析出した場合 (化合物 IIIe, IIIi, IIIj, IIIk, IIIIn) は濾取し、冷水で洗浄後、精製。結晶が析出しない場合は反応液を 10% NaCO_3 水溶液でアルカリ性とし、結晶が析出すれば濾取し精製 (化合物 IIIa, IIIb) または EtOH-HCl によって塩酸塩 (化合物 IIIf, IIIl) とした。析出しない場合は CHCl_3 で抽出し、抽出液を芒硝で乾燥後、溶媒を留去し、残留物をクロマト (化合物 IIIo) または EtOH-HCl で塩酸塩 (化合物 IIIc, IIIId, IIIg, IIIh, IIIm) として精製。

反応例: IIIf 1.2 g を 5% HCl 20 ml に溶かし、氷冷攪拌下 NaNO_2 400 mg を少しずつ加える。1 hr 攪拌後、反応液を 5% Na_2CO_3 水溶液で pH 約 8 とし、析出結晶を濾取、水洗後、約 30 ml の水に懸濁させ 10% HCl を加えて溶かし、脱色炭処理後 Na_2CO_3 水溶液で pH 約 8 とし、析出結晶を濾取、塩化水素約 20% 含有の EtOH から再結晶し、得られた結晶をアセトンで洗浄すると IIIf 0.85 g を得。

Method B アミノ化合物 (I) と VI の反応による合成

一般合成法—VI 1.4 g を tetrahydrofuran (THF) 10 ml に溶かした液に該当するアミノ化合物 5 mmole を THF または EtOH 5—10 ml に溶かした液を加え、室温で 30 min 攪拌後結晶が析出する場合は濾取し精製。結晶が析出しない場合は反応液を室温で濃縮し、残留物を CHCl_3 に溶かし 10% HCl で抽出、抽出液を Na_2CO_3

5) W. Siefken, *Ann.*, **562**, 103 (1949).

6) M. Watatani, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **16**, 1513 (1968).

水溶液で pH 8—9 とし析出物を濾取または CHCl_3 で抽出し、これを精製する。

反応例：VI 1.4 g を THF 10 ml に溶かした液に 3-aminomethylpyridine 0.5 g を THF 2 ml に溶かした液を滴加，室温で 30 min 攪拌後 THF を室温で留去，残液に CHCl_3 12 ml を加えて溶かし，3% HCl 10 ml で抽出，抽出液を Na_2CO_3 水溶液で pH 8 とし CHCl_3 で抽出，抽出液を濃縮すると残留物は固化，これを CHCl_3 4 ml に溶かし，エーテル約 6 ml を加えて放置し，析出結晶を濾取すると 1-(2-chloroethyl)-1-nitroso-3-(3-pyridyl)methylurea を得。mp 87° ，収量 440 mg. *Anal.* Calcd. $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{O}_2\text{N}_4\text{Cl}$: C, 44.54; H, 4.57; N, 23.09. Found: C, 44.89; H, 4.61; N, 22.60. 本品は A 法によって得られた化合物と混融して融点降下を示さず，赤外吸収スペクトルも一致。また本品を EtOH 15 ml に溶かし塩化水素約 25% 含有 EtOH 2 ml を加えて放置，析出結晶を濾取，EtOH で洗浄すると mp 138° (decomp.) の IIIc が得られる。

p-Nitrophenyl N-(2-Chloroethyl)carbamate (V)

p-Nitrophenyl 1-aziridinecarboxylate⁷⁾ (IV) 30 g を EtOH 100 ml に懸濁させた液に conc. HCl 20 ml と EtOH 80 ml の混液を加える。発熱して結晶は大体溶けるが更に水浴上加温して全部溶かしてから水約 100 ml を加えて冷却，析出結晶を濾取，水洗，収量 30 g. ベンゼン—シクロヘキサン (1:1) 混液から再結晶，mp 95° . *Anal.* Calcd. $\text{C}_9\text{H}_9\text{O}_4\text{N}_2\text{Cl}$: C, 44.18; H, 3.71; N, 11.45. Found: C, 44.49; H, 3.72; N, 11.53.

p-Nitrophenyl N-(2-Chloroethyl)-N-nitrosocarbamate (VI)

HNO_3 140 ml に V 20 g を溶かし $5-10^\circ$ で NaNO_2 7 g を少しずつ加える。途中から結晶が析出することがあるが全部加えてから更に 40 min 氷冷攪拌後，氷水約 300 ml を加え結晶を濾取，水洗後約 300 ml の EtOH から再結晶，mp 116° (decomp.) の淡黄色針状晶，収量 16 g. *Anal.* Calcd. $\text{C}_9\text{H}_9\text{O}_5\text{N}_3\text{Cl}$: C, 39.50; H, 2.95; N, 15.36. Found: C, 39.80; H, 3.07; N, 15.54.

謝辞 本研究に際し，終始ご鞭撻ご指導を賜った当研究所の砂川玄俊所長，飯田 毅ならびに小此木丘所次長に対し深謝いたします。

7) Y. Iwakura, A. Nabeya, *J. Org. Chem.*, **25**, 1118 (1960).

薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
94 (8) 1037—1039 (1974)

UDC 615.243.076.9

抗ペプシン薬，Sulfated Glyptide (GLPS)，および制酸薬，重炭酸
ナトリウムの抗 Shay 潰瘍作用，抗ペプシン作用，
制酸作用に関する研究

岡部 進，竹内孝治，本田一男，高木敬次郎
東京大学薬学部¹⁾

Antipeptic and Antiulcer Activity of Sulfated Glyptide (GLPS) and
Sodium Bicarbonate in Pylorus-Ligated Rats

SUSUMU OKABE, KOJI TAKEUCHI, KAZUO HONDA, and KEIJIRO TAKAGI
*Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Tokyo*¹⁾

(Received February 23, 1974)

Sulfated glyptide strongly inhibited gastric ulceration caused by pylorus-ligation with increasing dose, even though the anti-peptic activity was lessened at higher doses. Reduction of gastric acidity was observed with the increasing dose of sulfated glyptide. Sodium bicarbonate markedly reduced the gastric acidity but did not exert any appreciable influence on the development of gastric ulcer and peptic activity.

伊国の Prino ら^{2,3)} により新たに開発された抗ペプシン薬 sulfated glyptide (以下 GLPS と略す) は，著

1) Location: Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo.

2) G. Prino, A. Lietti, S. Paglialunga, *Arzneim.-Forsch.*, **21**, 918 (1971).

3) G. Prino, A. Lietti, G. Allegra, *Am. J. Dig. Dis.*, **17**, 863 (1972).