



Patent dodatkowy
do patentu nr _____

Zgłoszono: 12.08.80 (P. 226196)

Pierwszeństwo: 25.09.79 Wielka Brytania

Zgłoszenie ogłoszono: 08.05.81

Opis patentowy opublikowano: 25.09.1984

Int. Cl.³ C07F 9/38

Twórcy wynalazku: Craig Leigh Bentzen, Ian Nguyen Mong, Eric Niesor

Uprawniony z patentu: Symphar S.A., Genewa (Szwajcaria)

Sposób wytwarzania nowych pochodnych dwufosfonianowych

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania nowych pochodnych dwufosfonianowych, zwłaszcza hydroksydwufosfonianów i fosfonofosforanów, które można stosować w środkach przeciwmiażdżycowych do leczenia chorób wieńcowo-naczyniowych u ludzi.

W okresie ostatnich lat prowadzone były badania nad zapobieganiem chorobom naczyń wieńcowych przy zastosowaniu zwykłych środków obniżających poziom tłuszczów we krwi, takich jak kłofibrat. Jednak najnowsze wyniki tych badań doprowadziły do zakwestionowania terapeutycznej skuteczności tych związków co podaje na przykład (New Engl.J.Med. 296, 1185—1190, 1970; Atherosclerotic Rev. 2, 113—153, 1977; The Lancet, 8100, 1131—1132, 1978; oraz Brit.Med.J. 6152, 1585, 1978).

Obecnie stało się pożądane zastosowanie związków, które wywierają szybkie i skuteczne działanie obniżenia zawartości cholesterolu bezpośrednio w tkankach, a nie tylko we krwi, jak to ma miejsce w przypadku większości zwykłych środków hipolipidemicznych.

W tej sytuacji podjęto badania nad związkami dwufosfonowymi i stwierdzono, że dwufosfoniany o ogólnym wzorze 1, w którym X oznacza atom wodoru lub grupę hydroksylową R i R' jednakowe lub różne oznaczają atom wodoru, rodnik metylowy lub etylowy, m oznacza liczbę 0 lub 1; zaś A oznacza grupę t-butylową lub rodniki o wzorach 2, 3, 4, 5, 6 i 7, w których n oznacza liczbę całkowitą o wartości 1—6 a Y oznacza atom wodoru, rodnik metylowy, metoksylo-

2

wy lub atom chlorowca, zwłaszcza atom chloru lub fluoru. Związki te wykazują znaczne działanie jako środki przeciwmiażdżycowe, a także posiadają zdolność zmieniania profilów lipoprotein na korzyść lipoprotein o wysokiej gęstości i bezpośredniego usuwania cholesterolu z różnych tkanek.

Zdolność usuwania cholesterolu z tkanek przez związki o wzorze 1 wytwarzane sposobem według wynalazku umożliwia zastosowanie ich przeciw chorobom wywoływanym przez, albo wynikającym z nie-normalnej syntezy, metabolizmu i depozycji cholesterolu. Są to na przykład choroby naczyń wieńcowych, które na ogół towarzyszą odkładaniu się cholesterolu w ściankach naczyń tzn. miażdżycą, dziedziczna skłonność do występowania nadmiaru cholesterolu we krwi, a także depozycja cholesterolu w tkankach podskórnych (kępki żółte rozsiane), kamienie żółciowe (wytrącony cholesterol), tkanki rakowate, w których zakłócony jest metabolizm cholesterolu oraz zakrzepy wywoływane przez superczułe płytki o wysokiej zawartości cholesterolu (S.J.Shattil i wspo., The Journal of Clinical Investigation 55, 636—643, 1975), itd.

Ze względu na to, że cholesterol jest prekursorem hormonów sterydowych, to znaczy męskich i żeńskich hormonów płciowych, oraz kortykosterydów, można nieprawidłową syntezę tych hormonów regulować przez zastosowanie takich związków. Możliwości stosowania fosfonianów w opisanych wyżej dziedzinach są przedmiotem badań.

Niektóre spośród związków o wzorze 1, wytwarza-

nych sposobem według wynalazku, wykazują ponadto działanie jako środki powodujące obniżenie poziomu cukru we krwi.

Wytwarzane sposobem według wynalazku pochodne dwufosfonianowe o wzorze 1 mogą być podzielone na hydroksydwufosfoniany o wzorze 1a i fosfonofosforany o wzorze 1b, przy czym w powyższych wzorach A, R i R' mają podane znaczenie.

Sposobem według wynalazku związki o wzorze ogólnym 1, odpowiadające związkom o wzorze 1a i 1b w których X, A, R, R' i m mają wyżej podane znaczenie, wytwarzają się z tego samego związku wyjściowego tj. przez reakcję dwualkiloacylofosfonianu o wzorze 8, w którym A i R mają podane znaczenie z dwualkilofosforynem o wzorze 9, w którym R' ma podane znaczenie, w obecności zasady, korzystnie aminy.

Przebieg tej reakcji może być kontrolowany przez zmianę ilości użytej zasady, oznacza to, że katalityczna ilość, około 5% molowych, zasady, na przykład dwu-n-butyloaminy, prowadzi do otrzymania związków hydroksydwufosfonianowych (1a), natomiast przy zastosowaniu około 80—100% molowych tej samej zasady otrzymuje się fosfonofosforany (1b), zgodnie ze schematem 1 reakcji.

Materiał wyjściowy, to znaczy dwualkiloacylofosfoniany o wzorze 8 są znanymi związkami i mogą być syntetyzowane znanym sposobem, to znaczy przez reakcję halogenku kwasowego z trójkilofosforynem według schematu 2.

Główną zaletą tego sposobu jest to, że materiały wyjściowe, to znaczy acylofosfoniany, dwualkilofosforany i zasada, są rozpuszczalne w żymnym eterze i że otrzymane związki o wzorze 1a i 1b nie są rozpuszczalne i mogą być w dogodny sposób usuwane z mieszaniny reakcyjnej przez odsączenie. Stwarza to możliwość jednoetapowego oczyszczania otrzymanych związków przez krystalizację, z osiąganiem czystości analitycznej.

Proces prowadzony sposobem według wynalazku korzystnie jest więc prowadzić w eterze jako rozpuszczalniku, w temperaturze około 0°C. W niektórych przypadkach można do eteru dodawać niewielką ilość chlorku metylenu.

Struktura związków o wzorze 1a i 1b została określona jednoznacznie za pomocą badania widma w podczerwieni i metodą spektroskopii MRJ. Dla wszystkich związków hydroksydwufosfonianowych (1a) obserwowano pochłanianie promieniowania w pasmach 3260—3300 cm⁻¹ (OH), piku tego nie obserwowano w żadnym z widm fosfonofosforanów (1b).

Obydwie serie związków (1a i 1b) wykazują intensywne fosfonianowe pasma absorpcyjne wokół 1260 cm⁻¹ (grupa P=O) i 1060 cm⁻¹ (P-O-C).

Jak podano, związki o wzorze 1 wykazują znaczną aktywność farmakologiczną. Badanie oddziaływania dwufosfonianów o wzorze 1 na metabolizm lipidów przeprowadzono na szczurach następującym sposobem:

Grupom po 4 lub 5 normalnych samców szczurów Wistar, ważących około 200 g podawano doustnie dwufosfoniany w ilości 200 mg na kg/dzień, w ciągu 4—21 dni. Rozpuszczalne w wodzie związki podawano w roztworze wodnym lub roztworze w 24 mM buforze z kwaśnego węglanu. Związki rozpuszczalne w lipidach podawano w oleju kukurydzianym. Szczu-

ry ważono, zabijano przez dekapitację pod lekkim znieczuleniem eterowym, przy czym w okresie ostatniej doby zwierzętom nie podawano pokarmu. Krew zbierano i surowicę poddano analizie. Rejestrowano następujące parametry krwi, odzwierciedlające zmiany w metabolizmie lipidów:

— wolne kwasy tłuszczowe — mierzone metodą W.G.Duncombe'a (Clin, Acta 9, 122, 1964),

— trójglicerydy — metodą enzymatyczną (Boehringer Mannheim Kit 126012),

— fosfolipidy: reakcja molibdenianowo-wanadanowa (Boehringer Mannheim Kit 124974),

— β — lipoproteiny: cholesterol mierzone w oparciu o heparynę, wytrącanie CaCl₂ według M.Bursteina i wsp. (La Presse Medicale 43, 97, 1958) oraz D. Watsona (Clin, Chim.Acta 5, 637, 1960).

W przeprowadzonych tym sposobem próbach uzyskano następujące wyniki. Wszystkie poddane badaniu dwufosfoniany o wzorze 1 (zdefiniowane w tabelicy 3), z wyjątkiem związków 1 i 3, obniżały zawartość wolnych kwasów tłuszczowych w surowicy, w przypadku pomiarów u normalnych szczurów lub u szczurów karmionych cholesterolem. Właściwość ta wydaje się być raczej ogólną właściwością dwufosfonianów, które posiadają część p-chlorofenyłową i demonstruje ich udział w metabolizmie lipidów.

Podobne właściwości zostały opisane dla szeregu środków hipolipidemicznych („Hypolipidemic Agents”, wyd. David Kritchevsky, tom 41, Handbook of Experimental Pharmacology, Springer-Verlag, 349—408, 1975). Znaczne obniżenie poziomu trójglicerydów w surowicy zmierzono dla związków 2, 4, 7, 8 i 10 oraz kwasowej postaci związku 4.

W szeregu przypadkach stwierdzono dla związków 2, 4, 7 i 8, 11, 12, 15 i 16 wzrost fosfolipidu w surowicy. Stwierdzono zwłaszcza, że aktywność związku 4 była co najmniej dwukrotnie większa od wartości maksymalnej. Zawartość cholesterolu występującego we frakcji β-lipoproteinowej (lipoproteiny o bardzo małej gęstości — VIDL oraz lipoproteiny o niskiej gęstości — LDL) ulegała obniżeniu, natomiast zawartość cholesterolu w α-lipoproteinach (lipoproteiny o wysokiej gęstości — HDL) ulegała podwyższeniu, prowadząc do korzystnego zwiększenia wartości stosunku α-cholesterol/β-cholesterol. Efektowi temu towarzyszyło w terapii długookresowej obniżanie zawartości cholesterolu w wątrobie i aorcie. Klofibrat poddawany był próbom dla celów porównawczych i w przeprowadzonych badaniach powodował obniżenie zawartości fosfolipidów o 33,6% oraz stosunku α/β o 52,2%. Wyniki zgodne są z opublikowanymi przez C.E.Daya i wsp. (Artery 5, 90—109, 1979) oraz K.R. Müllera i G.G. Cortesi (Artery 4, 564—577, 1978), wykazując, że klofibrat obniża zawartość cholesterolu HDL u szczurów.

Omówione wyżej wyniki świadczą o tym, że dwufosfoniany te posiadają zdolność zwiększenia ilości lipidu, głównie cholesterolu, przenoszonego przez α-lipoproteiny oraz zmniejszania ilości lipidów przenoszonych przez β-lipoproteiny, głównie trójglicerydów. Z uwagi na to, że jak stwierdzono ilość cholesterolu HDL jest odwrotnie proporcjonalna do ryzyka choroby naczyń wieńcowych (N.E. Miller, Lipids 13, 914—919, 1978), dwufosfoniany posiadające właściwość podwyższania poziomów HDL mogą być po-

tencjalnie przydatne w terapii sklerozy na tle miażdżycowym. Należy zauważyć, że postać kwasowa lub sól związku 4 oraz raczej prosty dwufosfonianowy związek 1, nie posiadają tej właściwości.

Ważnym jest również stwierdzenie, że dwufosfoniany, które są strukturalnie różne od związków 2, 4, 7, 8 i zostały poddane badaniom przez innych badaczy, nie posiadają zdolności oddziaływania na metabolizm lipidów (W. Hollander i wsp. *Atherosclerosis* 31, 307—325, 1978 oraz Mellies i wsp., *Artery* 6, 38, 1979).

Badanie oddziaływania dwufosfonianów o wzorze 1 wytwarzanych sposobem według wynalazku na szczury karmione cholesterolem prowadzono następującą metodą.

W celu zwiększenia zawartości cholesterolu w tkankach, zwłaszcza wątroby, szczury karmiono przy zastosowaniu tłuszczowej diety wysokocholesterolowej w ciągu od 10 dni do 3 miesięcy, przy czym skład diety był następujący: kazeina 20%, masło 37%, celuloza 9,1%, dekstroza 18,9%, sól sodowa kwasu cholowego 1,8%, mineralne składniki 7,3%, witaminy 1%, cholina 0,4%.

Szczury następnie karmiono normalnym pokarmem i w ciągu od 10 dni do 3 miesięcy podawano różne związki wytwarzane sposobem według wynalazku, w dawkach 200 mg/kg/dzień. Mierzono określone wyżej parametry surowicy. Lipidy z wątroby i aorty ekstrahowano sposobem według J. Folcha i wsp. *J. Biochem.* 226, 497, 1957. Całkowitą zawartość lipidów oznaczano za pomocą reakcji z sulfofosfowaniliną (N. Zölner i K. Kirsch, *Z. Ges. exp. Med.* 135, 545, 1962), a cholesterolu oznaczano za pomocą reakcji Liebermanna-Burcharda.

Wyniki przeprowadzonych prób były następujące. Opisana wyżej dieta zwiększała całkowitą zawartość lipidów w wątrobie, zwłaszcza trójglicerydów i cholesterolu, ośmio- do dziesięciokrotnie. Podawanie wytwarzanego sposobem według wynalazku związku 2, 4, 7, 8, 11, 12 i 16 obniżało w znacznym stopniu całkowitą zawartość lipidów w wątrobie i/lub cholesterolu w wątrobie. Świadczy to o tym, że te specyficzne, poddane próbom dwufosfoniany wytwarzane sposobem według wynalazku posiadają zdolność usuwania cholesterolu z tkanek, bowiem bez wątplenia stwierdzono, że depozycja cholesterolu stanowi ważny etap w inicjowaniu i/lub rozwoju miażdżycy na tle sklerotycznym.

Związki wytwarzane sposobem według wynalazku mogą być przydatne w zapobieganiu lub leczeniu miażdżycowych zmian chorobowych przez zapobieganie

depozycji cholesterolu w tkankach takich, jak aorta.

Oddziaływanie wytwarzanych sposobem według wynalazku dwufosfonianów o wzorze 1 w postaci soli lub kwasu, na szczury, posiadające nadmiar wapnia we krwi, badano następującą metodą.

W ciągu ostatnich lat stwierdzono, że kwasy dwufosfonowe wykazują aktywność w zwierzęcym modelu występowania nadmiaru wapnia we krwi, polegającą na inhibitowaniu zwępnienia aorty i nerek (M. Potokar i M. Schmidt-Dunker, *Atherosclerosis* 30, 313—320, 1978). Wykazano również, że zapobiegają one wzrostowi stężenia wapnia wywołanemu działaniem witaminy D. Działanie to może być przydatne, do cofania zaawansowanej miażdżycy na tle sklerotycznym (I.Y. Rosenblum i wsp., *Atherosclerosis* 22, 411—424, 1975). Z uwagi na to, że dwufosfoniany wykazują te działania przy podawaniu w postaci kwasów lub soli sodowych, związek 4 w postaci soli jednosodowych i kwasu poddawany był również próbom przy zastosowaniu postępowania podobnego do opisanego przez Potokara.

Reasumując grupy po 4 samce szczurów Wistar otrzymywały związek 4 w postaci kwasu lub soli w roztworze 0,05% w wodzie pitnej, w ilości odpowiadającej około 50 mg/kg/dzień. Między 5 a 10 dniem doprowadzano do pojawienia się nadmiaru wapnia we krwi, przez podawanie kontrolnym i badanym szczurom 75 000 J. witaminy D₃/kg/dzień. Podawanie dwufosfonianu kontynuowano od 10 do 15 dnia. Zwierzęta były następnie zabijane pod lekkim znieczuleniem eterowym i oznaczano stężenie wapnia w surowicy metodą B.C. Ray Sarkars i U.P.S. Chanchana (*Anal. Biochem.* 20, 155, 1967).

Stwierdzono, że depozycja wapnia odgrywa rolę w późnych stadiach rozwoju płytek miażdżycowych na tle sklerotycznym i wykazano, że pewne dwufosfonianowe kwasy lub sole wywierają wpływ na metabolizm wapnia oraz, że właściwość ta może sama w sobie być przydatna przy leczeniu późnych stadiów miażdżycy na tle sklerotycznym. Fakt, że żadna ze zestryfikowanych postaci, a tylko postać kwasowa i sole związku 4 obniżają zawartość wapnia w surowicy odpowiednio o 20 i 14%, wskazuje na to, że niezestryfikowane dwufosfoniany wytwarzane sposobem według wynalazku działają na metabolizm wapnia i mogą zmniejszać zwapnianie na tle miażdżycy.

Niektóre wyniki powyżej opisanych prób farmakologicznego działania dwufosfonianów o wzorze 1 wytwarzanych sposobem według wynalazku zestawiono w tablicy 1.

T a b l i c a 1

Działanie farmakologiczne dwufosfonianów o wzorze 1

Związki Nr	Wolne kwasy tłuszczowe surowicy N CF	Trójglicerydy w surowicy N CF	Fosfolipidy w surowicy N CF	Cholesterol surow. α/β N CF	Całkowite lipidy wątroby CF	Cholesterol wątroby CF	Całkowite lipidy w aorcie CF	Cholesterol aorty CF	Wapń w surowicy
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
2	NS 56	—21 —15	+25 NS	+88	—24	—50	—30	NS	NS
4	—48 —67	—24 —21	+43 +21	+220	—31	—56	—47	NS	NS
7	+28 —40	—33 NS	+26 NS	+27	NS	—25	—27	—19	NS
8	—38 —52	—16 —17	NS +36	+51	—25	NS	NS	—39	NS

tablica 1 (ciąg dalszy)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
5	—	+27 —	—	+64	—	—	—	—	—
3	NS	NS	NS	NS	—	—	—	—	NS
1	NS	+24	—43	NS	NS	—	—	—	NS
4 (kwas)	—17	—29	NS	NS	NS	NS	NS	NS	—20
10	—27	—17	NS	NS	NS	NS	NS	NS	—14
klofibrat	NS	+19	—34	NS	—	NS	—	—	—
12	—50	NS	+26	+169	—32	—57	—37	—30	NS
11	—21	+32	+21	+25	—18	—51	—	—	—
15	—	+36	+15	+25	—	—	—	—	—
16	—	— +28	— +24	—32	—36	—46	—	—	—
13	—	NS	NS	+81	—	—	—	—	—
14	—	NS	NS	+15	—	—	—	—	—

Uwaga:

— w tablicy 1 wyniki podano w % od wartości kontrolnych. Za wyjątkiem danych dla wapnia w surowicy, wartości które odbiegają od wartości kontrolnych o mniej niż 15% rozpatrywane są jako nieznaczące (NS),

— wolne kwasy tłuszczowe, trójglicerydy i fosfolipidy w surowicy mierzone były tylko u normalnych szczurów (N) oraz u szczurów karmionych cholesterolem przez 10 dni (C.F.),

— α/β cholesterol w surowicy, całkowita zawartość lipidów i cholesterolu w wątrobie i aorcie oznaczone były u szczurów normalnych oraz karmionych uprzednio dietą wysokocholesterolową,

— wapń w surowicy mierzony był u szczurów wykazujących nadmiar wapnia we krwi.

Farmakologiczna segregacja dwufosfonianowych pochodnych o wzorze 1 wytwarzanych sposobem według wynalazku wykazuje, że związki te posiadają specyficzne właściwości i oddziaływania na lipidy i metabolizm lipidów, i że mogą być stosowane do leczenia chorób naczyń wieńcowych, z następujących powodów. Oddziałują one na metabolizm lipidów u normalnych szczurów, przez obniżanie poziomu zawartości wolnych kwasów tłuszczowych w surowicy, obniżając zawartość trójglicerydów a podwyższając — fosfolipidów. To ostatnie działanie może być powiązane ze zwiększeniem zawartości lipidów HDL, zwłaszcza cholesterolu HDL, obserwowanym najbardziej dramatycznie w przypadku związków 2, 4, 5, 12 i 13. Posiadają one ważną właściwość obniżania i znacznego usuwania lipidów wątroby i aorty, zwłaszcza cholesterolu, u szczurów karmionych dietą o wysokiej zawartości tłuszczu i wysokiej zawartości cholesterolu. Nie omówione tutaj doświadczenia wykazały również, że związki takie, jak 2 i 4 zwiększają wydzielanie cholesterolu z żółcią i kałem, prowadząc w ostatecznym wyniku do utraty cholesterolu w tkance.

Należy więc zauważyć, że pierwotne oddziaływanie dwufosfonianów o wzorze 1 są różne i nowe w zestawieniu z oddziaływaniami znanych związków hipolipidemicznych. Specyficzność tych oddziaływań tj. zwiększenie zawartości HDL i uwalnianie tkanki z cholesterolu stanowi przesłankę do przypuszczenia o poważnym potencjalnym farmaceutycznym zastosowaniu w leczeniu miażdżycy na tle sklerotycznym.

20 Doświadczenia przeprowadzane na królikach, u których wywołana została na drodze doświadczalnej miażdżycy przez karmienie cholesterolem, potwierdziły poprzednie obserwacje, że związek 4, który posiada część p-Cl jest najbardziej aktywny.

25 Ponadto fakt, że związek 4 w postaci kwasowej i soli oddziałuje na metabolizm wapnia, daje podstawę do przypuszczenia, że wszystkie nieestryfikowane postacie tych opisanych dwufosfonianów według wynalazku, stwarzają możliwość stosowania również do leczenia zaawansowanych stadiów miażdżycy na tle sklerotycznym.

Działanie dwufosfonianów o wzorze 1 powodujące obniżenie poziomu cukru we krwi, badano następującą metodą. Samcom szczurów Wistar, w grupach po 5 sztuk, ważących od 150—200 g podawano w ciągu 4 dni wyselekcjonowane fosfoniany. Szczury, nie karmione ostatniego dnia, zabijano w 5 dniu przez dekapitację, pod lekkim znieczuleniem eterowym. Próbkę krwi były zbierane, z zastosowaniem EDTA jako antykoagulantu. Wartości podano jako wartości średniej $\pm$ sem (średni błąd kwadratowy). Wyniki zestawione w tablicy 2 świadczą o tym, że dwufosfonian p-chloro-fenylowy był środkiem najsilniejszym, zwłaszcza przy podawaniu śródtrzewnym.

Tablica 2

Działanie powodujące obniżenie poziomu cukru we krwi

Sposób podawania, dawkowanie i nośnik	Próby kontrolne	Glikoza w plazmie (mg/100 ml)	
		podawano związki	
		4	2
i.p. 50 mg/kg bufor wodny	87 $\pm$ 3	36 $\pm$ 1	
p.o. 50 mg/kg bufor wodny	132 $\pm$ 8	100 $\pm$ 12	
p.o. 50 mg/kg olej kukurydziany	125 $\pm$ 10	90 $\pm$ 5	
p.o. 100 mg/kg bufor wodny	111 $\pm$ 7	93 $\pm$ 12	
p.o. 30 mg/kg olej kukurydziany	125 $\pm$ 10		110 $\pm$ 10

Stężenie glikozy oznaczano metodą enzymatyczną W. Wernera i H.G. Wielingera (Z. Analyt. Chem. 252, 224, 1970) (uzyskanej z Boehringer Mannheim Kit. No. 124036).

Zakresem wynalazku objęte są ponadto środki obniżające poziom cukru we krwi oraz środki przeciwmiażdżycowe, zawierające w charakterze substancji czynnej farmaceutycznie skuteczną ilość jednej lub większej liczby dwufosfonianowych pochodnych o wzorze 1, wytwarzanych sposobem według wynalazku.

Bezpieczne i wywierające skuteczne działanie ilości związku fosfonianowego wytwarzanego sposobem według wynalazku dobierane są w sposób odpowiedni dla osiągnięcia pożądanego działania, przy racjonalnej wartości stosunku między korzyścią i ryzykiem, jaki związany jest z każdym zabiegiem leczniczym.

W ramach możliwej do przyjęcia i rozsądnej oceny medycznej dawkowanie związku fosfonianowego wytwarzanego sposobem według wynalazku podlega zmianom, w zależności od stanu leczonego, ostrości stanu, czasu trwania zabiegów oraz od rodzaju użytego związku fosfonianowego.

Fosfoniany preparowane są w postaci produktów akceptowalnych pod względem farmaceutycznym, zawierających wszystkie składniki stosowane w używanych środkach i nadających się do użytku w kontakcie z tkankami ludzkimi i zwierzęcymi, bez nieodpowiedniej toksyczności, podrażnienia, reakcji alergicznej, proporcjonalnie do racjonalnej wartości korzyści i ryzyka.

Środek farmaceutyczny zawierający związki otrzymane sposobem według wynalazku przeznaczony do podawania doustnego w postaci dawki jednostkowej może stanowić mieszaninę ze stałym nośnikiem zawierającą laktozę, sacharozę, sorbit, mannit, skrobię, amylopektynę, pochodne celulozy, i/lub żelatynę, która może być zmieszana ze środkami smarnymi, takimi jak stearynian magnezu, stearynian wapnia, preparatów „Carbowax” i/lub glikolu polietylenowego, w niektórych przypadkach korzystne mogą być kapsułki, które mogą składać się z mieszaniny zawierającej załężony cukier, gumę arabiką, talk i/lub dwutlenek tytanu.

W niektórych przypadkach poszczególne fosfoniany mogą być zmieszane w roztworze buforowym, oleju kukurydzianym, oliwie z oliwek, handlowych wypełniaczach gliceryny i podawane w zamkniętej twardej kapsułce żelatynowej, w postaci dropsów lub syropu.

Oprócz tego, fosfoniany wytwarzane sposobem według wynalazku mogą być przerabiane z preparatem o nazwie „Imhausen H” dla uzyskania odpowiednich czopków. Przykładowo, związki 4 i 9 sprasowuje się w postaci tabletek z 10% stearynianu magnezu i 25% skrobi, otrzymując końcowe stężenie około 100 do 300 mg składnika czynnego. Ponadto, związki o wzorze 1 można stosować w roztworze z wody pitnej lub oleju kukurydzianym o stężeniach w zakresie około 2–100 mg/ml.

Bliższe szczegóły dotyczące istoty wynalazku objaśnione są w przykładach I–V, dotyczących wytwarzania niektórych z pośród pochodnych dwufosfonianowych o ogólnym wzorze 1.

Przykład I. 1-hydroksy-1-(p-chlorofenyl)-metano-1, 1-dwufosfonian czterometylowy (związek 4)

wytwarzane sposobem adaptowanym według D.A. Nicholsona i H. Vaughna, Journal of Organic Chemistry 36, 3843, 1971.

4,40 g (40 mmoli) fosforynu dwumetylowego i 0,24 g (2 mmole) dwu-(n-butylo)aminy rozpuszczono w 90 ml eteru i powstający roztwór schładzano do temperatury 0°C. Do roztworu wkręplono mieszając energicznie 9,96 g (40 mmoli) p-chlorobenzoziofosfonianu dwumetylowego, wytworzonego sposobem opisanym w Journal of American Chemical Society 86, 3862, 1964. Prawie natychmiast nastąpiło wydzielenie stałej substancji o białym zabarwieniu. Mieszaninę mieszano przez 1 godzinę w temperaturze 0°C i po odsączeniu otrzymano 13,0 g (36 mmoli) związku wymienionego w tytule.

Oczyszczanie przeprowadzano przez rozpuszczenie surowego związku w acetonie w temperaturze pokojowej i dodanie eteru w celu spowodowania jego krystalizacji, w proporcji aceton:eter=3:1. Otrzymano 7,9 g (22 mmoli) kryształków o białym zabarwieniu, przy czym wydajność czystego produktu wyniosła 55%, przy wydajności surowego produktu 90%. Temperatura topnienia = 119–123°C.

IR (KBr):

3260 cm ⁻¹	— OH
2880	— alifatyczny C-H
1300	— aromatyczny C-C
1280+1240	— P=O
1060	— P-O-C

MS (m/e):

360 (M+2) ⁺	— 17%
358 (M) ⁺	— 52%
251 (M+2-PO ₃ Me ₂) ⁺	— 33%
249 (M-PO ₃ Me ₂) ⁺	— 100%

MRJ (CDCl₃):

δ = 7,90–7,20 (multiplet, 4H): grupa fenyłowa
δ = 4,50–4,20 (triplet, 1H, J=7Hz): H z grupy hydroksy, usunięty przez wymianę z tlenkiem deuteru

δ = 3,90–3,50 (multiplet, 1,2H): H z grup metylowych.

Analiza elementarna C₁₁H₁₇ClO₄P:

obliczono: C 36,84, H 4,78, P 17,27%

oznaczono: C 36,81, H 4,78, P 17,26%

W celu sprawdzania struktury związek 4 przetworzono w odpowiednią sól jednosodową kwasu hydroksydwufosfonowego (związek 10), w następujący sposób. Mieszaninę 3,59 g (10 mmoli) związku 4 i 15 g 37% kwasu solnego ogrzewano w temperaturze wrzenia pod chłodnicą zwrotną w ciągu 3 godzin. Po odparowaniu HCl i H₂O pozostało 3,2 g (10 mmoli) stałej substancji o białym zabarwieniu, o temperaturze topnienia 192–194°C (bez oczyszczania) i wydajności 100% (nieoczyszczonej substancji).

W celu oczyszczenia przeprowadzono kwas hydroksy-(p-chlorofenyl)metylenodwufosfonowy w jego sól jednosodową, metodą oczyszczania według P.P. Pflaumera i J.P. Filcika, Chemical Abstracts 72, 55656K, 1970.

Wytworzoną wyżej opisanym sposobem stałą substancję rozpuszczono w mieszaninie 4,8 g (80 mmoli) kwasu octowego i 0,7 g (39 mmoli) wody o temperaturze 95°. Następnie dodano stopniowo 1,36 g (10 mmoli) trójwodnego octanu sodowego. Prawie natychmiast wytrącał się objętościowy osad. Osad ten prze-

sączono i starannie przemyto eterem aż do zaniku woni kwasu octowego. Przemyty osad przekrystalizowano z mieszaniny etanolu i wody (20:80), otrzymując 1,94 g (6 mmoli) białego proszku soli sodowej kwasu 1-hydroksy-1-(p-chlorofenyl)metano-1,1-dwufosfonowego (związek 10), z wydajnością 60%.

Przykład II. 1-hydroksy-2,2-dwumetylo-2-(p-chlorofenoksy) etano-1,1-dwufosfonian czterometylowy (związek 7), wytwarzano sposobem według K.D. Berlina i wsp. Journal of Organic Chemistry 30, 1265, 1965, oraz D.A. Nicholsona i H. Vaughna, Journal of Organic Chemistry 36, 3843, 1971.

Najpierw wytwarzano znanym sposobem chlorek p-chlorofenoksyizobutyrylowy przez hydrolizę w alkalicznym środowisku p-chlorofenoksyizomaślanu etylu i ogrzewano otrzymany kwas w chlorku tionylu w temperaturze wrzenia pod chłodnicą zwrotną.

Do 20,0 g (86 mmoli) chlorku p-chlorofenoksyizobutyrylu oziębionego do temperatury 0°C wdroplono 10,6 g (86 mmoli) fosforynu trójmetylowego. Wywiązywanie się chlorku metylu świadczyło o zachodzeniu reakcji w wyniku destylacji pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymano 19,0 g (62 mmoli) p-chlorofenoksyizobutyrylofosfonianu dwumetylowego, w postaci prawie bezbarwnego oleju o temperaturze wrzenia 115–118° (6,7 Pa z wydajnością 72%).

Widmo IR (błona):

3000 cm ⁻¹	— alifatyczny C-H
1740	— C=O
1500	— aromatyczny C-C
1250	— P=O
1050	— P-O-C
830	— fenyl podstawiony na pozycjach 1,4

Roztwór 2,86 g (26 mmoli) fosforynu dwumetylowego i 0,18 g (1,4 mmoli) dwu-(n-butylo)-aminy w 65 ml eteru schłodzone następnie do temperatury 0°C i energicznie mieszając wprowadzono powoli 7,97 g (26 mmoli) p-chlorofenoksyizobutyrylofosfonianu dwumetylowego. Prawie natychmiast zaczęła tworzyć się stała substancja o białym zabarwieniu. Reakcję prowadzono mieszając w temperaturze 0°C w ciągu 1 godziny, a następnie oddzielono stałą substancję przez odsączenie. Przekrystalizowanie z mieszaniny 60 części benzenu i 40 części heksanu prowadziło do otrzymania 7,18 g (17,2 mmoli) pierzastych kryształów o białym zabarwieniu 1-hydroksy-2,2-dwumetylo-2-(p-chlorofenoksy) etano-1,1-dwufosfonianu czterometylowego, o temperaturze topnienia 137–139°C, z wydajnością 66%.

Widmo IR (KBr):

3360 cm ⁻¹	— OH
3000	— alifatyczny C-H
1500	— aromatyczny C-C
1250 + 1220	— P=O
1070	— P-O-C
860	— fenyl podstawiony na pozycjach 1,4

MRJ (CDCl₃):

δ = 7,4–7,0 (multiplet, 4): grupa fenyłowa
 δ = 4,0–3,70 (multiplet, 12H):H z rodników metylowych przyłączonych do części fosfonianowych
 δ = 3,5–3,4 (ostry pik, 1H):H z grupy hydroksy usunięty przez wymianę z D₂O

δ = 1,58 (singlet, 6H):H z rozgałęzionych grup metylowych

Analiza elementarna C₁₄H₂₃ClO₈P₂:

obliczono: C 40,45 H 5,58 P 14,90%

5 oznaczono: C 40,29 H 5,94 P 14,93%

Przykład III. 1-hydroksy-1-[4-(4'-chlorobenzoilo)-fenyl] metano-1,1-dwufosfonian czterometylowy (związek 8) wytwarzano sposobem według D.A. Nicholsona i H. Vaughna, Journal of Organic Chemistry 36, 3843, 1971.

Chlorek 4-(4'-chlorobenzoilo)-benzoilowy stanowiący produkt wyjściowy wytwarzano sposobem opisanym przez G.E. Robinsona i J.M. Vernona, Journal of Chemical Society (C), 2586, 1970 oraz E. Wertheima, Journal of American Chemical Society 55, 2540, 1933.

10,9 g (88 mmoli, nadmiar 10%) fosforynu trójmetylowego wdroplono do 22,4 g (80 mmoli) chlorku kwasowego ogrzanego do temperatury zbliżonej do temperatury topnienia (około 100°C). Reakcja była egzotermiczna i białe kryształy chlorku kwasowego w znacznym stopniu spieniały się ulegając przemianom w olej o brązowym zabarwieniu. Mieszaninę reakcyjną mieszano w temperaturze 100°C przez 30 minut. Po odstaniu się i schłodzeniu substancja oleista uległa przemianom na ciało stałe o pomarańczowym zabarwieniu. Przekrystalizowanie z mieszaniny 60 części chlorku i 40 części eteru naftowego prowadziło do otrzymania 20 g (56,7 mmoli) czystego 4-(4'-chlorobenzoilo)benzoilofosfonianu dwumetylowego, w postaci żółtego proszku o temperaturze topnienia 95–97°C, z wydajnością 71%.

IR (KBr):

2960 cm ⁻¹	— alifatyczny C-H
1665 + 1650	— C=O (przynależny do części benzoilofosfonianowych i benzofenonowych)
1590	— aromatyczny C-C
1250 + 1260	— P=O
1050 + 1030	— P-O-C

Mieszaninę 2,20 g (20 mmoli) fosforynu dwumetylowego i 0,144 g (1,10 mmoli) dwu-(n-butylo)-aminy w 40 ml eteru oziębioną do temperatury 0°C zadano następnie po kropli przesączonym roztworem 7,04 g (20 mmoli) 4-(4'-chlorobenzoilo)-benzoilofosfonianu dwumetylowego w 40 ml dwuchlorometanu. Z zabarwionego na żółto ługu macierzystego wkrótce nastąpiło wydzielenie białego osadu. Mieszaninę reakcyjną mieszano w ciągu 1 godziny w temperaturze 0°C, osad odsączono i przemyto wodą. Przekrystalizowanie z acetonu prowadziło do otrzymania 2,4 g (5,2 mmoli) 1-hydroksy-1-[4-(4'-chlorobenzoilo)-fenyl] metano-1,1-dwufosfonianu czterometylowego w postaci kryształów o białym zabarwieniu, o temperaturze topnienia 150–153°C z wydajnością 26%.

IR/KRr:

3280 cm ⁻¹	— OH
1670	— C=O
1600	— aromatyczny C-C
1260–1240	— P=O
1050 + 1030	— P-O-C

MS (m/e):

464 (M+2) ⁺	— 14%
462 (M) ⁺	— 42%

355 (M+2 — PO₃Me₂)⁺ — 32%
 353 (M-PO₃Me₂)⁺ — 100%

MRJ (CDCl₃):

δ = 8,10—7,30 (multiplet, 8H):H z dwóch grup fenylowych

δ = 4,5—4,3 (triplet, 1H, J=7Hz):H z grup hydroksy usunięty przez wymianę z D₂O

δ = 3,95—3,60 (multiplet, 12H):H z grup metylo- wych.

Przykład IV. 1-(dwumetoksyfosfinylo)-p-chlorobenzoylofosforan dwumetylowy (związek 12) wytwarzano następującym sposobem: 9,96 g (40 mmoli) p-chlorobenzoylofosfonianu dwumetylowego wkropiono do roztworu równomolowych ilości fosforu dwumetylowego (4,40 g, 40 mmoli) oraz dwu-(n-butylo)-aminy (5,17 g, 40 mmoli), oziębionego uprzednio do temperatury 0°C. Prawie natychmiast zaczynała tworzyć się stała substancja o białym zabarwieniu. Mieszanie kontynuowano przez 1 godzinę w temperaturze 0°C i stałą substancję oddzielono przez odsączenie. Po przekrystalizowaniu w temperaturze pokojowej z mieszaniny składającej się z 1 części dwuchlorometanu i 3 części eteru otrzymano 12,0 g (33 mmola) kryształów o białym zabarwieniu o temperaturze topnienia 81—82°C, z wydajnością 82%.

IR (KBr):

2980 cm⁻¹ — alifatyczny C-H
 1500 — aromatyczny C-C
 1290+1260 — P=O
 1050 — P-O-C

MRJ (CDCl₃):

δ = 7,5—7,3 (multiplet, 4H):grupa fenyłowa
 δ = 5,85—5,40 (podwójny dublet, J~11 i 13 Hz, 1H):H z grupy metynowej (nie usuwalny przez wymianę z tlenkiem deuteru)
 δ = 3,95—3,50 (multiplet, 12H): z grup metylo- wych.

Analiza elementarna C₁₁H₇ClO₂P₂:

obliczono: C 36,84 H 4,78 P 12,27%

oznaczono: C 36,71 H 4,86 P 17,33%

Przykład V. [1-(dwumetoksyfosfinylo)-2,2-dwumetylo-2) p-chlorofenylo] etylofosforan dwumetylowy (związek 16) wytwarzano następującym sposobem.

Przez dwumetylowanie p-chlorofenyloacetonitrylu za pomocą amidku sodowego i jodku metylu w eterze otrzymano dwumetylo-p-chlorofenyloacetonitryl. Hydroliza tego nitylu i następne ogrzewanie otrzymanego kwasu w obecności chlorku tionylu w temperaturze wrzenia pod chłodnicą zwrotną prowadziło do otrzymania chlorku p-chlorofenyloizobutyrylu.

Przez dodanie równomolowej ilości fosforynu trójmetylowego do powyżej opisanego chlorku kwasowego oziębionego do temperatury 0° otrzymano fosfonian p-chlorofenyloizobutyrylu, z wydajnością 90%. W postaci oleju o białym zabarwieniu o temperaturze wrzenia=108—110° (6,7 Pa IR (błona):1690 cm⁻¹:C=O:1270:P=C; 1070+1040: P-O-C.

Następnie do oziębionego do temperatury 0°C roztworu 3,30 g (30 mmoli) fosforynu dwumetylowego i 3,1 g (24 mmoli) dwu-(n-butylo)-aminy wprowadzono, szybko mieszając 8,72 g (30 mmoli) p-chlorofenyloizobutyrylofosfonianu dwumetylowego. W ciągu krótkiego czasu nastąpiło wydzielenie stałej substancji o białym zabarwieniu. Mieszanie kontynuowano w ciągu 1 godziny w temperaturze 0°C i następnie oddzielono stałą substancję przez odsączenie.

Po przekrystalizowaniu z eteru otrzymano 9,0 g (75%) [1-(dwumetoksyfosfinylo)-2,2-dwumetylo-2-(p-chlorofenylo] etylofosforanu dwumetylowego, w postaci kryształów o białym zabarwieniu, o temperaturze topnienia 62—63°C.

IR (KBr):

2980 cm⁻¹ — alifatyczny C-H
 1500 — aromatyczny C-C
 1280+1260 — P=O
 1080+1030 — P-O-C

MS (m/e):

402 (M+2)+ — 0,5%
 400 (M)+ — 1,5%
 248 (wzór 16) — 100%

MRJ (CDCl₃):

δ = 7,5—7,25 (multiplet, 4H): grupa fenyłowa
 δ = 5,05—4,80 (podwójny dublet, J=9 i 12 Hz, 1H): H z grupy metynowej, (nie usuwalny przez wymianę z D₂O)

δ = 3,85—3,50 (multiplet, 12H): H z czterech grup metylo- wych przyłączonych do części fosforano- wych i fosfonianowych

δ = 1,58 i 1,54 (dwa częściowo nakładające się singlety, 6H): H z dwóch rozgałęzionych grup metylo- wych.

Inne związki o wzorze 1 wytwarzano sposobami analogicznymi do zilustrowanych powyżej, a fizyczne właściwości wytworzonych związków o wzorze 1 zestawiono w tablicach 3 i 4.

Wszystkie widma MRJ hydroksydwufosfonianowych związków estrowych o wzorze 1a (związki 1—8) wykazują absorpcję charakterystyczną dla grupy hydroksy: estry pik (dla związków 1 i 7), albo triplet (związki 2, 3, 4, 5, 6 i 8), która we wszystkich przypadkach zostaje wyeliminowana przez wymianę z tlenkiem deuteru.

Absorpcja atomów wodoru metynu stanowi podwójny dublet (J~10 i 12 Hz), charakterystyczny dla protonu sprzężonego z dwoma różnymi atomami fosforu P₁ i P₂:P₁-O-CH-P₂.

Strukturę hydroksydwufosfonianowych związków estrowych o wzorze 1a potwierdzono ponadto przez kwasową hydrolizę związków 2 i 4. Otrzymano odpowiednie kwasy hydroksydwufosfonowe, które następnie dla łatwości oczyszczenia wyodrębniono w postaciach soli jednosodowej (związki 9 i 10).

Widma MRJ fosfonofosforanowych związków o wzorze 1b wykazują również linie charakterystyczne: δ = 7,5—7,3 multiplet, grupa fenyłowa

δ = 5,8—5,4 (związki 11, 12, 13 i 14)

δ = 5,1—4,8 (związki 15, 16 i 17), podwójny dublet, 1~10 i 12 Hz, odpowiadający absorpcji nieparzystego atomu wodoru, nie usuwalny przez wymianę z tlenkiem deuteru.

δ = 3,9—3,5 multiplet, metylowe grupy estrowe

δ = 1,60—1,55 (tylko dla związków 15, 16 i 17) dwa

||
singlety, rozgałęziona grupa metylowa CH₃-C-CH₃.

Widma masowe wszystkich dwufosfonianowych związków estrowych wykazują charakterystyczne linie: jon cząsteczkowy (M⁺) o znacznym natężeniu (10—30%) oraz pik podstawowy (100%) odpowiadający stracie fosfonianowej grupy estrowej (M-PO₃R₂)⁺.

Jednym wyjątkiem jest widmo masowe związku 7, które nie wykazuje obecności jonu cząsteczkowego,

Tablica 3

Właściwości fizyczne hydroksyfosfonianów o wzorze 1a

Związek Nr	Wzór 1a		Temperatura topnienia °C	Absorpcja w podczerwieni (cm ⁻¹)
	A	R, R'		
1	(CH ₃) ₃ C-	CH ₃	110—112	3250:OH 2980 alifatyczny C-H
2	C ₆ H ₅ -	CH ₃	129—131	
3	p-CH ₃ -C ₆ H ₄ -	CH ₃	110—123	1260+1240 : P=O 1050 : P-O-C
4	p-Cl-C ₆ H ₄ -	CH ₃	119—123	
5	p-F-C ₆ H ₄ -	CH ₃	118—122	3340, 1500, 1260, 1240, 1070 3280, 1670 (C=O) 1600, 1260+1240 1050+1030 3460 300 (szerokie) P-O-H 1200—1080—950
6	wzór 10	CH ₃	120—123	
7	wzór 11	CH ₃	137—138	
8	wzór 12	CH ₃	150—153	
9	C ₆ H ₅ -	3/4 H 1/4 Na	<300	
10	p-Cl-C ₆ H ₄ -	3/4 H 1/4 Na	<300	

Tablica 4

Właściwości fizyczne fosfonofosforanów o wzorze 1b

Związek Nr	Wzór 1b		Temperatura topnienia °C	Absorpcja w podczerwieni, (cm ⁻¹)
	A	R, R'		
11	C ₆ H ₅ -	CH ₃	olej*	2980:alifatyczny C-H 1500:aromatyczny C-C 1290+1260: P=O 1050: P-O-C
12	p-Cl-C ₆ H ₄	CH ₃	81—82	
13	p-F-C ₆ H ₄ -	CH ₃	48—19	2980:alifatyczny C-C 1500:aromatyczny C-C 1280+1260:P=O CH ₃ 1200+1180: -C- grupa CH ₃ 1050:P-O-C
14	wzór 13	CH ₃	olej	
15	wzór 14	CH ₃	47—48	
16	wzór 117	CH ₃	62—63	
17	wzór 15	CH ₃		

* Temperatura wrzenia = 152—155°/6,7 Pa

ale piki odpowiadające rozkładowi cząsteczki. Struktura związku została ustalona jednoznacznie za pomocą mikroanalizy.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania pochodnych dwufosfonianowych o wzorze ogólnym 1, w którym X oznacza grupę hydroksylową lub atom wodoru, R i R' jednakowe lub różne oznaczają atom wodoru, grupę metylową lub etylową, m oznacza liczbę 0—1 zaś A oznacza grupę t-butyłową, grupę o wzorach 2, 3, 4, 5, 6 lub 7, w których n oznacza liczbę 1—6 a Y oznacza atom wodoru lub co najmniej jedną grupę metylową,

55 lub fluoru, z tym, że gdy X oznacza atom wodoru m nie oznacza liczby 1, **znamienny tym**, że poddaje się reakcji acylofosfonian dwualkilo o wzorze ogólnym 8, w którym A i R mają wyżej podane znaczenie z równomolową ilością fosforynu dwualkilo o wzorze ogólnym 9, w którym R' ma wyżej podane znaczenie, w obecności katalitycznej ilości zasady.

2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że zasadę stosuje się w 5% molowej ilości reagentów.

3. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że jako zasadę stosuje się aminę.

17

4. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że reakcję prowadzi się w eterze etylowym jako rozpuszczalniku, w temperaturze około 0°C.

5. Sposób wytwarzania pochodnych dwufosfonianowych o wzorze ogólnym 1, w którym X oznacza atom wodoru, R i R' jednakowe lub różne oznaczają atom wodoru, grupę metylową lub etylową, m jest równe 1 zaś A oznacza grupę t-butyłową, grupę o wzorach 2, 3, 4, 5, 6 lub 7, w których n oznacza liczbę 1—6 a Y oznacza atom wodoru lub co najmniej jedną grupę metylową, metoksyłową lub atom chlorowca, zwłaszcza chloru lub fluoru, **znamienny tym**, że pod-

18

daje się reakcji acylofosfonian dwualkilo o wzorze ogólnym 8 w którym A i R mają wyżej podane znaczenie z równomolową ilością fosforynu dwualkilo o wzorze ogólnym 9, w którym R' ma wyżej podane znaczenie, w obecności zasady odpowiadającej 80—100% molowej ilości każdego z reagentów o wzorach 8 i 9.

6. Sposób według zastrz. 5, **znamienny tym**, że jako zasadę stosuje się aminę.

10 7. Sposób według zastrz. 5, **znamienny tym**, że reakcję prowadzi się w eterze etylowym jako rozpuszczalniku, w temperaturze około 0°C.



