



NORGE

(12) **UTLEGNINGSSKRIFT**

(19) NO

(11) **176144**

(13) B

(51) Int Cl⁵ C 07 F 9/59

Styret for det industrielle rettsvern

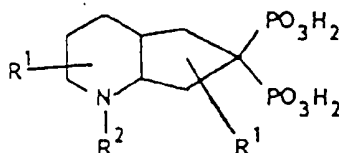
(21) Søknadsnr	922565	(86) Int. inng. dag og søknadsnummer	
(22) Inng. dag	29.06.92	(85) Videreføringsdag	
(24) Løpedag	18.12.87	(30) Prioritet	19.12.86, US, 945069
(41) Alm. tilgj.	20.06.88		
(44) Utlegningsdato	31.10.94		
(62) Avdelt fra	875305		

(71) Patentsøker	Norwich Eaton Pharmaceuticals Inc, 17 Eaton Avenue, Norwich, NY 13815, US
(72) Oppfinner	Frank Hallock Ebetino, Norwich, NY, US Kent Warren Buckingham, Norwich, NY, US Jocelyn Elaine McOsker, Norwich, NY, US
(74) Fullmektig	J.K. Thorsens Patentbureau AS, Oslo

(54) Benevnelse **Nye difosfonsyreforbindelser**

(56) Anførte publikasjoner Ingen

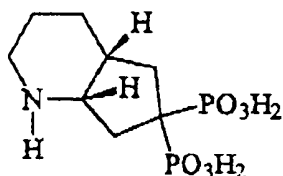
(57) Sammendrag Nye difosfonatforbindelser med nitrogenholdige mettede bicykliske cyklopentankondenserte ringer som på samme karbonatom er disubstituert med fosfonatgrupper. De mest foretrukne forbindelser har den generelle formel:



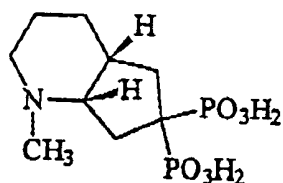
hvor i hver R^1 uavhengig er valgt fra gruppen bestående av hydrogen, alkyl med fra 1 til 6 karbonatomer, $-OR^3$, $-CO_2R^3$, $-O_2CR^3$, $-NR^3_2$, $-N(R^3)C(O)R^3$, $-C(O)N(R^3)_2$, halogen, $-C(O)R^3$, fenyl, benzyl, nitro og kombinasjoner derav; R^2 er hydrogen, alkyl med fra 1 til 6 karbonatomer, $R^3C(O)-$, fenyl og benzyl, og hver R^3 er uavhengig valgt fra gruppen bestående av hydrogen og alkyl med fra 1 til 3 karbonatomer.

Deres fremstilling er beskrevet.

Foreliggende oppfinnelse vedrører nye nitrogenholdige, mettede bisykliske syklopentanholdige difosfonsyreforbindelser og deres salter og estere derav som er kjennetegnet ved at de er valgt fra cis-oktahydro-1-pyrindin-6,6-difosfonsyre med formel:



og fra N-metyloktahydro-1-pyrindin-6,6-difosfonsyre med formel:



En rekke polyfosfonsyrederivater har blitt foreslått i forbindelse med unormal kalsium- og fosfatmetabolisme. US patentskrift nr. 3.683.080 omfatter f.eks. preparater inneholdende polyfosfonater, særlig difosfonater, og deres anvendelse for å inhibere avvikende avleiring og mobilisering av kalsiumfosfat i dyrevev. US patentskrift nr. 4.230.700 omfatter et preparat inneholdende bestemte fosfonatforbindelser (f.eks. sykloalkylsubstituerte hydroksyetan-difosfonater) i kombinasjon med vitamin D-lignende forbindelser som kan anvendes for å inhibere mobilisering av kalsiumfosfat i dyrevev. US patentskrift 3.988.443 omfatter azasykloalkan-2,2-difosfonatforbindelser som sies å være nyttige som sekvestrerende midler og i forbindelse med unormal avleiring eller oppløsning av vanskelig oppløsbare kalsiumsalter i dyrelegemet og EPO patentsøknad med publikasjonsnummer 189.662 vedrører forskjellige spesifikke sykliske difosfonatforbindelser som sies å være nyttige som sekvestrerende midler eller i forbindelse med unormal kalsium- og fosfatmetabolisme.

Forbindelsene i henhold til den foreliggende oppfinnelse faller innenfor gruppen av mettede syklopentanforbindelser som er parvis disubstituert med fosfonsyrer, salter eller estere, og som er kondensert med en nitrogenholdig, mettet ring for dermed å danne en bisyklisk ringstruktur.

Med salter og estere som anvendt heri menes ikke-toksiske hydrolyserbare estere og salter av difosfonsyreforbindelsene og med samme generelle egenskaper som syreformen hvorfra de er avledet. Saltene omfatter dem av alkalimetall (f.eks. natrium og kalium), jordalkalimetall (f.eks. kalsium og magnesium), ikke-toksiske tungmetaller (f.eks. tinn og indium) og ammonium og substituert ammonium med lav molekylvekt, (f.eks. mono-, di- og tri-etanolamin). Foretrukne salter er natrium-, kalium- og ammoniumsalter.

Forbindelsene i henhold til den foreliggende oppfinnelse er nyttige som bescanningmidler etter merking med ^{99m}Tc . I tillegg er forbindelsene i henhold til oppfinnelsen nyttige som sekvestrerende midler for polyvalente metallioner, særlig di- og trivalente metallioner (f.eks. kalium og magnesium). Forbindelsene i henhold til oppfinnelsen er nyttige som tilsetningsstoff til detergenter og rensemidler eller for behandling av vann. De er også nyttige som stabilisatorer for per-forbindelser. Endelig, kan forbindelsene i henhold til den foreliggende oppfinnelse være nyttige som herbicider som er ikketoksiske for dyr.

Difosfonsyreforbindelsene i henhold til oppfinnelsen kan som nevnt anvendes som bl.a. bescanningmidler, sekvestrerende midler osv., og dette har sammenheng med deres såkalte relative benaktivitet eller antiresorptive aktivitet. Denne aktivitet er generelt relatert til difosfonaters evne til å chelatere til kaliumkomponenten i ben (dvs. forbindelsers "benaffinitet"). Da anvendbarheten av forbindelsene ifølge oppfinnelsen også er relatert til deres evne til å chelatere til kalsium (eller andre metaller), vil man følgelig forvente at forbindelser med betydelig antiresorptiv aktivitet vil være

anvendbare som bl.a. bescanningmidler eller sekvestrerende midler.

Følgende forsøk ble gjennomført med forbindelsene ifølge oppfinnelsen og med sammenligningsforbindelser.

Eksempel A

Thyroparathyroidektomisert (TPTX) rottemodell

Forbindelsene evalueres for in vivo ben-antiresorptiv aktivitet (eller benresorpsjonsinhiberende evne) ved hjelp av et dyremodellsystem som er kjent som thyroparathyroidektomisert (TPTX) rottemodellen. De generelle prinsipper for dette modellsystem er gitt av Russell et al., Calcif. Tissue Research, 6, 183-196 (1970), og i Muhlbauer and Fleisch, Mineral Electrolyte Metab., 5, 296-303 (1981). Den grunnleggende biokjemi i forbindelse med dette TPTX-systemet er inhibering av parathyroidhormon (PTH)-indusert økning av totale og ioniserte kalsiumnivåer i serum ved hjelp av de respektive benaktive polyfosfonater.

(a) Materialer

Dietter med lavt kalsium- og lavt fosforinnhold som anvendes er fremstilt ved Teklad Test Diets (Harlan Industries, Madison, Wisconsin 53711) i en pelletform med omtrent 0,18% kalsium og 0,22% fosfor. Diettene inneholder alle de viktigste vitaminer og mineraler som er nødvendig for rotten, med unntak av kalsium og fosfor.

Kalsium- og fosfornivåene i pelletene er bekreftet analytisk.

PTH fåes som et bovint ekstrakt i pulverform (Sigma Chemical Co., P.O. Box 14508, St. Louis, Missouri, nr. P-4410). PTH fremstilles i 0,9% saltvann slik at sluttkonsentrasjonen er 100 µg PTH/ml, eller omtrent 200 U.S.P. enheter/ml. Alle løsninger filtreres gjennom et nr. 4 Whatman filterpapir og filtreres på nytt gjennom et 0,45 µg Metrice filter.

(b) Doseløsninger og doseringsprosedyre

Alle løsninger av forbindelsene som skal testes fremstilles for subkutan injeksjon i 0,9% normalt saltvann og pH innstilles til 7,4 ved anvendelse av NaOH og/eller HCl. Beregning av doseløsning gjennomføres ved vurdering av pulvermassen (basert på molekylvekt, hydratisering) av det aktive material i mg/kg (kroppsvekt) som tilsvarende mg P/kg. Konsentrasjoner er basert på en dosering av 0,2 ml/100 g kroppsvekt. Alle forbindelser ble typisk tilført i 0,01, 0,1 og 1,0 mg P/kg/døgn i 4 døgn for å bestemme den lavest effektive dose ("LED"). Om nødvendig, gjentas testen hvorved dyrene tilføres 0,5 LED for å forbedre bestemmelsen av LED. Justeringer i dosering basert på forandringer i kroppsvekt gjennomføres daglig.

(c) Dyr

I denne undersøkelsen ble 50 hannrotter av typen Wistar som veide omtrent 150-160 g, thyroparathyroidektomisert operativt av oppdretteren (Charles River Breeding Laboratories). Alle rottene ble ved ankomst satt parvis i opphengte bur med Purina Laboratory Rodent Chow og vann fra springen ad libitum. Etter akklimatisering til laboratorieomgivelser i 3-5 døgn, ble rottene satt på en diett med lavt kalsium og lavt fosfor (0,18%/0,22%) (Teklad) og rottene fikk tilført deionisert vann som var tilsatt 2% (vekt/volum) kalsiumglukonat via vannflasker.

(d) Metode

Etter 3 dager på en diett med lavt kalsium ble alle rottene veid. På den 4. dag, ble alle rottene bedøvet med Ketaset (Ketaminhydroklorid, 100 mg/ml, Bristol Myers), 0,10 ml/rotte, og deretter ble blod tatt ut fra retro-orbitale vener for analyser av total kalsium i serum ved anvendelse av flammeatomabsorpsjon (FAA) eller Nova 7+7 automatisert kalsiumanalysator. Alle rotter som veide mindre enn 150 g ble tatt ut av undersøkelsen. Dyrene ble deretter statistisk tilfeldig fordelt slik at gjennomsnittlig totalt kalsiuminnhold i serum for hver gruppe er det samme. Bare rotter med hypokalsemi

(totalt serumkalsium $\leq 8,0$ mg/dl) plasseres i undersøkelsesgrupper som omfatter seks dyr pr. gruppe.

Behandling med forbindelsene startet på den 6. dag og varte gjennom dag 9 av undersøkelsen. Doseløsninger fremstilles for å tilføres subkutan i en konstant mengde på 0,2 ml/100 g kroppsvekt i den ventrale hudlapp hvor bakleggen møter torso. Alle rotter veies og doseres daglig. En 25 dimensjons 5/8" nål anvendes for å tilføre forbindelsene ved daglig alternering av høyre og venstre doseringssteder. På den 8. dag fikk alle dyrene tilført deionisert destillert vann via vannflaskene. På dag 9 ble alle dyrene fastet fra omtrent kl. 4:00 om ettermiddagen. På den 10. dag i undersøkelsen ble ingen behandling gitt. Om morgenen tas en 800 μ l prøve med fullblod fra hver rotte i Microtainer (B-D nr. 5060) serumseparerende rør for bestemmelse av totalt og ionisert kalsium i serum (FAA eller Nova 7+7). Umiddelbart etter blodprøvetagning veies alle rottene og bovin parathyroidhormon ble injisert subkutan i en mengde på 35 μ g PTH pr. 100 g kroppsvekt. Blodprøvetagning for bestemmelse av innhold av totalt og ionisert kalsium gjentas 3½ time etter PTH-injeksjon.

Alle verdier for totalt og ionisert kalsium før og etter PTH fra behandlingsgruppene analyseres for statistisk signifikans sammenlignet med PTH alene (kontroll) ved anvendelse av Student's t-test, variansanalyser og deres ikke-parametriske ekvivalenter. Forandring av kalsiumnivå etter minus før PTH og % forandring bestemmes også samt kroppsvekter før og etter.

Den fysiologiske virkning av PTH-tilførsel er en økning i kalsiumnivået i serum, med maksimal aktivitet observert etter 3 til 4 timer. Da de hormonelle kontroller og diettkontroller av kalsiummetabolisme er minimalisert i TPTX-modellen, er en observert økning av kalsiumnivået i serum antagelig resultatet av resorpsjon av benmaterial. Da polyfosfonater er tilbøyelige til å inhibere resorpsjon av benmaterialer, viser dyr som er forbehandlet med polyfosfonater en økning av kalsiumnivået i serum etter PTH-behandling som er mindre enn den som er funnet

hos kontrolldyrene som i stedet er behandlet med saltløsning. Den laveste dose hvorved polyfosfonatet er i stand til å inhibere benresorpsjon, som vist ved en nedsatt økning i serumkalsium ved PTH-tilførsel, er et mål på polyfosfonatets benresorpsjonsinhiberende styrke. LED-verdier for representative forbindelser med hensyn til inhiberende styrke som bestemt ved TPTX-rottemodellen er vist i tabell 1. Dataene i tabell 1 viser at mens fosfonsyreforbindelsene i henhold til oppfinnelsen er sterke benresorpsjonsinhiberende midler, har man nær beslektede sykliske difosfonsyreforbindelser som kjemisk er svært like og som enten ikke inhiberer benresorpsjon eller er mye svakere inhibitorer av benresorpsjon.

Tabell 1

Laveste effektive (antiresorptive) dose

<u>Difosfonatforbindelser</u>	<u>TPTX (mg P/kg)</u>
Cis-oktahydro-1-pyrindin-6,6-DP*	0,01
N-metyl-oktahydro-1-pyrindin-6,6-DP*	1,0
Dihydro-1-pyrindin-6,6-DP ⁵⁾	N
Heksahydroindan-2,2-DP ⁵⁾	1,0
Indan-2,2-DP ⁵⁾	0,5
EHDP ¹⁾	1,0
APD ²⁾	0,1
Cl ₂ MDP ³⁾	1,0
Azasyklopentan-2,2-DP ⁴⁾	N

N = ingen aktivitet ved største undersøkte dosenivå

* = forbindelse i henhold til oppfinnelsen

1) etan-1-hydroksy-1,1-DP

2) 3-amino-propan-1-hydroksy-1,1-DP

3) diklormetan-DP

4) forbindelse angitt i US patentskrift 3,988,443.

5) forbindelser angitt i eks V og VI i EPO patentsøknad med publikasjonsnummer 189,662.

Eksempel B**Schenk-modell**

Forbindelsene er evaluert for in vivo benresorpsjonsinhibering og mineraliseringsinhibering i et dyremodellsystem som er kjent innen området for benmetabolisme som Schenk-modellen. De generelle prinsipper for dette modellsystemet er gitt hos Shinoda et al., Calcif. Tissue Int., 35, 87-99 (1983); og Schenk et al., Calcif. Tissue Res. 11, 196-214 (1973).

Materialer og metoder:**Dyr**

Pre-avvendte 17 døgn gamle (30 g) hannrotter av typen Sprague Dawley (Charles River Breeding Laboratories) transporteres sammen med deres mødre og plasseres ved ankomst i plastbur sammen med mødrene. I en alder av 19 døgn ble unger som fikk Rat Chow og vann ad libitum tilfeldig fordelt i behandlings- eller kontrollgrupper omfattende 7 dyr pr. gruppe. På dag 1 og igjen på dag 7 fikk alle dyrene en intraperitoneal ("IP") injeksjon av calcein (1% løsning i 0,9% saltløsning dosert i 0,2 ml/100 g kroppsvekt). På dag 4 fikk alle dyrene en IP-injeksjon av tetrasyklinhydroklorid (1% løsning i 0,9% saltløsning dosert i 0,2 ml/100 g kroppsvekt). Disse forbindelser merker aktivt mineralisering av ben og brusk.

Doseløsninger og doseringsprosedyre

Alle løsninger er fremstilt for subkutan injeksjon i 0,9% normalt saltvann og innstilt til pH 7,4 ved anvendelse av NaOH og/eller HCl. Beregning av doseløsning gjennomføres ved vurdering av pulvermassen (basert på molekylvekt, hydratisering) av det aktive material i mg/kg (kroppsvekt) som tilsvarer mg P/kg. Konsentrasjoner baseres på en dosering av 0,2 ml/100 g kroppsvekt. Alle forbindelser ble typisk tilført i 0,01, 0,1, 1,0 og 10,0 mg P/kg/døgn i 7 døgn. Forbindelser som viste aktivitet ved 0,1 mg P/kg/døgn undersøkes deretter ved logaritmisk dekrement ned til 0,001 mg P/kg/døgn. Justeringer i dosering basert på forandringer i kroppsvekt gjennomføres daglig.

Nekropsi, vevsbehandling og histomorfometri

På dag 8 etter doseringsstart ble alle dyrene avlivet ved hjelp av en IP overdose pentobarbitol. Tibias dissekeres frie og plasseres i 70% etylalkohol. Et tibia dehydratiseres i graderte etanolløsninger og nedlegges i metylmetakrylat som beskrevet av Schenk, Methods of Calcified Tissue Preparation (G.R. Dickson, Editor; Elsevier Science Publ., The Netherlands; 1984). Tibia oppdeles på langs gjennom metafyseområdet. Prøver farges på en overflate med sølvnitrat og legges på mikroskopobjektglass for evaluering med en Quantimet Image Analyzer (Cambridge Instruments, Inc.) ved anvendelse av både glødelys og ultrafiolett lys. Metafyse-trabekel beninnhold måles i området mellom det fluorescerende merke og vekstplaten: uttrykt som % av totalt område (ben + marg). Epifysevekstplatebredde oppnås som den gjennomsnittelige verdi av 10 målinger med lik innbyrdes avstand tvers over snittet.

Statistisk evaluering av dataene gjennomføres ved anvendelse av parametriske og ikke-parametriske variansanalyser og Wilcoxon's rekkesumtest for å bestemme en statistisk signifikant virkning sammenlignet med kontrolldyrene.

Schenk-modellen tilveiebringer data for benresorpsjonsinhibering. Den laveste effektive (antiresorptive) dose ("LED") for representative undersøkte forbindelser som bestemt ved Schenk-modellen er gitt i tabell 2.

Tabell 2**Laveste effektive (antiresorptive) dose - Schenk**

<u>Difosfonatforbindelse</u>	<u>Schenk LED (mg P/kg)</u>
EHDP ¹⁾	1,0
APD ²⁾	0,1
Cl ₂ MDP ³⁾	1,0
Cis-oktahydro-1-pyrindin-6,6-DP*	0,01
Heksahydroindan-2,2-DP ⁴⁾	1,0
Indan-2,2-DP ⁴⁾	1,0

* = forbindelse i henhold til oppfinnelsen.

- 1) etan-1-hydroksy-1,1-DP
- 2) 3-amino-propan-1-hydroksy-1,1-DP
- 3) diklormetan-DP
- 4) forbindelser angitt i eks. V og VI i EPO patentsøknad med publikasjonsnummer 189,662.

Forbindelsene i henhold til den foreliggende oppfinnelse kan fremstilles fra kommersielt tilgjengelige materialer. Synteseteknikker som kan anvendes for fremstilling av forbindelsene er f.eks. beskrevet i EPO patentsøknad med publikasjonsnr. 189662. Generelt kan syntesereaksjonen gjennomføres på følgende måte: I et første trinn omdannes en metandifosfonatester i løsning til det tilsvarende karbanion. I et andre trinn tilsettes det til denne reaksjonsblanding en løsning av en hydrokarbonforbindelse som passende er aktivert for dobbel nukleofil substitusjon. Til slutt gjennomføres om nødvendig et tredje trinn hvor eventuell umettethet i forbindelsene mettes, vanligvis ved hydrogenering.

Det typiske er at en løsning av metandifosfonatester tilsettes til en kald suspensjon av kaliumhydrid i et inert organisk løsningsmiddel, og løsningen omrøres ved romtemperatur. Det passende aktiverte hydrokarbon tilsettes deretter som en løsning til reaksjonsblandingen, og hele blandingen oppvarmes til omtrent 80°C inntil reaksjonen er ferdig. Etter at blandingen er avkjølt, filtrert og konsentert, kromatograferes konsentratet på silikagel for å oppnå den ønskede ester. Denne ester hydrolyseres ved oppvarming med tilbakeløp i HCl og det oppnådde material konsentreres under vakuum. Resten oppløses i H₂O og behandles med aktivt kull. Etter filtrering konsentreres løsningen og produktet tørkes under vakuum. Til slutt hydrogeneres materialet om nødvendig i løsning over en passende katalysator og renses deretter. Representative prosedyrer for syntetisering av forbindelsene i henhold til den foreliggende oppfinnelse er gitt i de etterfølgende eksempler.

SYNTESE AV SYKLISKE DIFOSFONSYREFORBINDELSER

Syntesereaksjonen gjennomføres på følgende måte:

I et første trinn omdannes en metandisfosfonatester, i løsning til det tilsvarende karbanion ved anvendelse av standard teknikker innen organisk kjemi. I et andre trinn tilsettes en løsning av en hydrokarbonforbindelse som passende er aktivert for en dobbel nukleofil substitusjon til den oppnådde reaksjonsblanding.

Typisk tilsettes en løsning av metandifosfonatester til en kald suspensjon av kaliumhydrid i et inert organisk løsningsmiddel, og løsningen omrøres ved romtemperatur en stund. Det passende aktiverte hydrokarbon tilsettes deretter som en løsning til reaksjonsblandingen, og hele blandingen oppvarmes deretter til omtrent 80°C til endt reaksjon. Etter at blandingen er avkjølt, filtrert og konsentrert, kromatograferes konsentratet på silikagel for å oppnå den ønskede ester. Esteren hydrolyseres ved oppvarming med tilbakeløp i HCl og det oppnådde material konsentreres under vakuum. Resten oppløses i H₂O og behandles med aktivt kull. Etter filtrering, konsentreres løsningen og produktet tørkes til slutt under vakuum. Syntese av salter og estere av disse forbindelser oppnås ved anvendelse av standard teknikker innen organisk kjemi som er kjent for den fagkyndige på området.

Eksempel 1Syntese av oktahydro-1-pyrindin-6,6-difosfonsyrehydrat

(a) Syntese av dihydro-1-pyrindin-6,6-difosfonsyre:

Til en isavkjølt løsning av 35 % kaliumhydrid i mineralolje (5,2 g, 0,045 mol) som omrøres under argon i 70 ml DMSO (tørr) tilsettes en løsning av tetraisopropylmetandifosfonat (7,82 g, 0,045 mol) i 30 ml DMSO. Etter at den dråpevis tilsetning er

ferdig omrøres den oppnådde løsning ved romtemperatur i 1 time. En løsning av 2,3-bis(klormetyl)pyrindin (4,0 g, 0,023 mol) (råprodukt isolert av K. Tsuda et al., Chem Pharm Bull, 1, (1953), 142) i 15 ml DMSO tilsettes sakte og reaksjonsblandingen oppvarmes deretter ved 90°C i 1 time. Etter avkjøling, fjernes DMSO under vakuum. 2,1 g (21 %) av det ønskede produkt renses ved hurtig kromatografering ved anvendelse av 5 til 15 % etanol i en metylenkloridgradient på silikagel. Den oppnådde gulbrune olje har følgende spektral-egenskaper: ^1H

NMR (CDCl_3) 8.34 (d, 1H), 7.45 (d, 1H), 7.02 (dd, 1H), 4.77 (m, 4H), 3.58 (dt, 4H), 1.35 (d, 24 H); ^{31}P NMR (CDCl_3) 23.97 ppm (s).

Esteren (1,92 g, 0,0043 mol) tilsettes til 38 ml 6N HCl, og behandles med tilbakeløp med omrøring under en argonatmosfære i 18 timer. Det oppnådde presipitat filtreres, vaskes med vann (2 x 5 ml) og tørkes til å gi 0,8 g (66,5 %) av et gråhvitt krystallinsk faststoff:

Smp. 300°C (spalting). ^1H NMR ($\text{D}_2\text{O}/\text{NaOD}$) 8.19 (d, 1H, $J = 3.4$ Hz), 7.62 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz), 7.13 (dd, 1H, $J = 3.4$ and 7.5 Hz), 3.46 (t, 4H, $J = 15.8$ Hz); ^{31}P NMR ($\text{D}_2\text{O}/\text{NaOD}$) 24.84 ppm (s).

(b) Hydrogenering til oktahydro-1-pyrindin-6,6-difosfonsyre-hydrat:

Dihydro-1-pyrindin-6,6-difosfonsyre (0,86 g, som er fremstilt som i foregående del (a)) 70 ml destillert H_2O og PtO_2 (0,30 g) plasseres i en 500 ml Parr hydrogeneringskolbe. Blandingen hydrogeneres ved romtemperatur (40 psi) i 2 døgn. Løsningen filtreres og vaskes med varmt destillert H_2O . Filtratet konsentreres deretter på en roterende evaporator. Det oppnådde faststoff tørkes deretter over natten under vakuum til å gi 0,75 g hvite krystaller. Smp. 365°C (spalting).

^{31}P NMR (D_2O ; pH 7): P_1 : 25.13 ppm (d, $J=66$ Hz); P_2 : 25.06 ppm (d, $J=67$ Hz). ^{13}C NMR (D_2O ; pH 12): 61.79 (d, $\text{N}-\underline{\text{CH}}$), 48.6 (t, $\text{P}-\text{C}-\text{P}$), 45.43 (s, $\text{N}-\underline{\text{CH}_2}$), 40.62, 39.91, 36.43, 24.71, 19.47 ppm. ^1H NMR (D_2O ; pH=7): 3.53 (1H, t, $J=5.0$ Hz), 3.27 (1H, d, $J=14.3$ Hz), 2.79 (1H, q), 2.47 (2H, m), 2.19 (3H, m), 1.27 ppm (4H, m). Anal. beregn. for $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{NO}_6\text{P}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$: C, 31.69; H, 6.32; N, 4.62; Funnet: C, 31.85; H, 6.55; N, 4.80.

Eksempel 2

Syntese av N-metyl-oktahydro-1-pyrindin-6,6-difosfonsyre

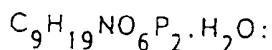
Til en løsning av tetraisopropyl-dihydro-1-pyrindin-6,6-difosfonat (0,9 g, som er fremstilt som i eksempel 1(a)) i 15 ml etanol, tilsettes metyljodid (2 ml). Løsningen oppvarmes deretter ved 80-90°C over natten. Det oppnådde salt krystalliseres med eter/heksan til å gi 0,9 g av det ønskede metjodidsalt. (^{31}P NMR 21.1.) Metjodidet (600 mg) opptas deretter i 20 ml 6N HCl og behandles med tilbakeløp over natten til å gi 400 mg av den ønskede metjodidsyre.

^{31}P NMR (D_2O ; pH 11) 22.96. ^1H NMR (D_2O ; pH 11) 8.40(1H, d), 8.20 (1H, d), 7.66 (1H, t), 4.25(3H, s), 3.75(4H, dd).

Metjodidsyren (240 mg) opptas i 20 ml H_2O og denne løsning hydrogeneres over PtO_2 (130 mg) ved 50°C over natten ved 50 psi på et Parr hydrogeneringsapparat. Blandingen filtreres deretter og avdampes til å gi 200 mg av det ønskede produkt.

^{31}P NMR (D_2O) 24.8, 24.1. ^{13}C NMR (D_2O) 70.969, 70.045 (HCNH), 56.796, 43.927, 41.115, 36.022, 34.133, 23.903, 20.450 (kvarternært ikke påvist)

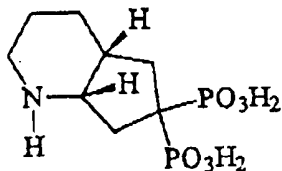
En analytisk prøve av produktet fremstilles ved
rekrySTALLISERING fra etanol/vann. Analytisk beregnet for



C, 34.07; H, 6.67; N, 4.41. Funnet: C, 33.61; H, 6.53; N,
4.34.

PATENTKRAV

Nitrogenholdige, mettede bisykliske syklopentanholdige
difosfonsyreforbindelser og deres salter og estere derav,
k a r a k t e r i s e r t v e d a t d e e r v a l g t f r a c i s -
oktahydro-1-pyrindin-6,6-difosfonsyre med formel:



og fra N-metyloktahydro-1-pyrindin-6,6-difosfonsyre med
formel:

