PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(19) ČESKÁ REPUBLIKA

ÚŘAD PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **20.10.1998**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **20.10.1997**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **1997/974001**

(33) Země priority: **FI**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **13.09.2000**
(Věstník č. 9/2000)

(86) PCT číslo: **PCT/FI98/00814**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO99/20634**

(21) Číslo dokumentu:
2000 - 1245

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.[7]:

C 07 F 9/38 **A 61 P 19/00**
C 07 F 9/40
C 07 F 9/44
A 61 K 31/663
A 61 K 31/664
A 61 K 31/665
A 61 K 31/67
A 61 K 31/675

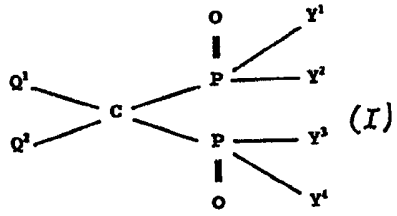
(71) Přihlašovatel:
LEIRAS OY, Turku, FI;

(72) Původce:
Pohjala Esko, Tampere, FI;
Vepsalainen Jouko, Kuopio, FI;
Nupponen Heikki, Kangasala, FI;
Kahkonen Jouni, Mikkeli, FI;
Lauren Leena, Turku, FI;
Hannuniemi Ritva, Kuusisto, FI;
Jarvinen Tomi, Kuopio, FI;
Ahlmark Marko, Kuopio, FI;

(74) Zástupce:
PATENTSERVIS PRAHA a.s., Jivenská 1, Praha 4, 14000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

Anhydridové deriváty kyseliny methylenbisfosfonové, způsob jejich přípravy a farmaceutický přípravek



(57) Anotace:

Sloučeniny obecného vzorce I, v němž Y^1, Y^2, Y^3 a Y^4 jsou skupiny OR^1, NR^2R^3, $OCOR^1$, $OCNR^2R^3$, $O(CO)OR^1$, $O(SO_2)R^1$, $O(SO_2)OR^1$ nebo $OP(O)R^2(OR^3)$, v nichž jsou R^1, R^2 a R^3 nezávisle na sobě vodík, libovolný nenasycený C_1 až C_{22} alkyl, C_3 až C_{10} cykloalkyl, heterocyklus, aryl, heteroaryl, aralkyl nebo silyl SiR_3, kde R představuje alkyl, případně substituovaný fenyl nebo kombinaci C_1 až C_4 alkylů nebo fenylů, nebo skupiny R^2 a R^3 společně s přilehlým atomem dusíku tvoří 3 až 10-členný kruh, kde vedle dusíkového atomu může být jeden nebo dva heteroatomy nebo skupiny R^2 a R^3 společně s přilehlou skupinou O-PO-O tvoří 5 nebo 6-ti členný kruh, za předpokladu, že v obecném vzorci I je alespoň jedna ze skupin Y^1, Y^2, Y^3 a Y^4 jiná než OR^1, nebo NR^2R^3; Q^1 a Q^2 jsou nezávisle na sobě vodík, atom fluoru, chloru, bromu nebo jodu. Je popsán způsob přípravy těchto derivátů a farmaceutický přípravek obsahující jako aktivní činidlo anhydridový derivát kyseliny methylenbisfosfonové.

CZ 2000 - 1245 A3

PV 2000-1295

14.06.00

ANHYDRIDOVÉ DERIVÁTY KYSELINY METHYLENBISFOSFONOVÉ, ZPŮSOB JEJICH PŘÍPRAVY A FARMACEUTICKÝ PŘÍPRAVEK

Oblast techniky

Předmětem vynálezu jsou nové deriváty anhydridu kyseliny methylenbisfosfonové, zejména nové deriváty anhydridu kyseliny methylenbisfosfonové substituované chlorem, esteranhydridy, amidanhydridy a esteramidandhydridy, procesy pro přípravu těchto nových sloučenin a farmaceutické prostředky obsahující tyto nové sloučeniny.

Podle předmětného vynálezu bylo zjištěno, že nové anhydridy kyseliny methylenbisfosfonové, esteranhydridy, amidanhydridy a esteramidandhydridy a částečné anhydridy a jejich soli v několika případech vykazují jasně lepší vlastnosti než odpovídající bisfosfonové kyseliny, jejich částečné estery, částečné amidy a částečné esteramidové deriváty, v důsledku lepší kinetiky a použitelnosti anhydridových derivátů, a proto mají více kontrolovaný účinek na metabolismus a tělní funkce.

Dosavadní stav techniky

Základním problémem všech známých methylenbisfosfonátů, které jsou běžně používány jako soli tetrakyseliny, je jejich slabá absorpce během perorálního podávání. Proto potřebná dávka musí být větší.

Resorpce a účinnost může být ovlivněna buď substituenty na centrálním uhlíku nebo změnou skupin připojených k fosforu. Několik příkladů zlepšení vlastností bisfosfonátů změnou substituentů na centrálním atomu uhlíku je popsáno v literatuře (Bisfosfonate on Bones, ed. Bijvoet, Fleisch and Russel, Elsevier, Amsterdam 1995). Zlepšení absorpce bisfosfonátů ve formě tetrakyseliny nebo soli nebo vhodnost pro pacienta byly testovány pomocí formulačních prostředků (CA 2120538, EP 407345, EP 550385, EP 566535, US 5462932, WO 9321307, WO 9412200, WO 9426310, WO 9508331, WO 9528145, WO 9529679, WO 9531203), ale zlepšení účinnosti bylo pouze okrajové v poměru k dávce. Fosforová část molekuly byla použita pro regulaci pouze v několika případech. Typickými regulátory ve fosforné části molekuly byly částečné estery, esteramidy a amidy. Anhydridové deriváty,

14.06.00

které jsou předmětem tohoto vynálezu, jsou charakteristické požadovanou selektivitou a kontrolním účinkem, což vede k lepšímu terapeutickému indexu.

Methylenbisfosfonové kyseliny, jejich soli, tetraestery, amidestery, částečné estery a částečné esteramidy byly popsány v několika publikacích, ale anhydridové deriváty, které jsou předmětem tohoto vynálezu, nebyly dosud ani zmíněny v literatuře ani nejsou známy jejich vlastnosti.

Příprava tetraesterů methylenbisfosfonové kyseliny byla popsána v publikacích US 4,447,256; DE 28 31 578; EP 337 706; EP 282 320; EP 356 866; J. Am. Chem. Soc. 78 (1956) 4450; J. Chem. Soc. 1959, 2272; ; J. Am. Chem. Soc. 84 (1962) 1876; J. Org. Chem. 35 (1970) 3149; J. Org. Chem. 36 (1971) 3843, Phosphorus, Sulfur and Silicon 42 (1989) 73; J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2, (1992) 835 and Phosphorus, Sulfur and Silicon 70 (1992) 182 (směsné tetraestery). Příprava tetraamidesterů byla pospána v publikaci J. Organomet. Chem. 304 (1986) 283; Tetrahedron Lett. 26 (1985) 4435 a Acta Chem. Scand. 51 (1997) 932.

Příprava částečných esterů byla popsána v publikacích WO 9015806, WO 9211267, WO 9221169, Tetrahedron Lett., 34 (1993) 4551, Tetrahedron 51 (1995) 6805 a Tetrahedron Lett. 37 (1996) 3533. Příprava částečných amidů a částečných esterů byla popsána v patentové publikaci WO 9211268.

Mono nebo bisfosfonátové podíly mohou být ke známé léčivé sloučenině přidány jako trvale připojené nebo jako neaktivní část, která se metabolizmem přemění na aktivní, čímž se ve druhém případě zvýší cílení na kost, je-li tato sloučenina použita pro léčení nemocí kostí nebo pro zvýšení rozpustnosti ve vodné fázi špatně rozpustného léčiva. Pro toto použití jsou rovněž známy některé směsné anhydridy hlavně fosforečné kyseliny a karboxylové kyseliny.

Nové molekuly podle předmětného vynálezu, které obsahují anhydridovou skupinu jako neaktivní část, která se metabolizmem přemění na aktivní, nebo jsou aktivní samy o sobě, jsou velmi vhodné pro léčení onemocnění spojených s metabolismem vápníku a dalších, hlavně dvojmocných kovů. Mohou být použity k léčbě jak onemocnění kostí, zvláště tvorby kostí, tak pro léčbu resorpčních onemocnění, jako je osteoporóza a Pagetova nemoc, a také onemocnění měkkých tkání, jako jsou depoziční a mineralizační stavy a poruchy osifikace.

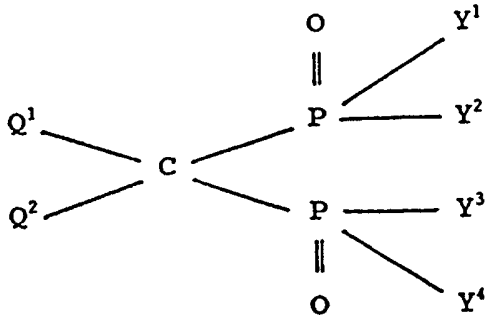
14.06.00

Na druhé straně jako analoga pyrofosforečnanu jsou nové anhydridové deriváty methylenbisfosfonové kyseliny vhodné pro léčbu onemocnění pyrofosforečnanové funkce organismu, včetně těch funkcí, kde aktivní, ale náchylné k poruchám nebo nesprávně fungující organické části jsou spojovány s pyrofosforečnanem nebo funguje jako kovový komplex nebo jako jejich kombinace.

Nové bisfosfonáty regulují přímo nebo nepřímým mechanismem kvalitu a úroveň jak kationtů tak/nebo pyrofosforečnanových sloučenin, které jsou volně přítomné v tělních tekutinách nebo se vážou na tkáně, jsou aktivní v tkáních a jsou z nich uvolňovány, tj. tvorby, rozpouštění, spojování a eliminace. Jsou tak schopny regulovat buněčný metabolismus, růst a destrukci. Na výše uvedeném základě mohou být použity například při léčbě rakoviny kostí a jejích metastáz, ektopické kalcifikace, urolitiázy, revmatoidní artritidy, osteitidy a degenerace kostí.

Podstata vynálezu

Vynález se týká nových derivátů kyseliny methylenbisfosfonové obecného vzorce I:



(I)

kde Y^1, Y^2, Y^3 a Y^4 jsou skupiny OR^1, NR^2R^3, $OCOR^1$, $OCNR^2$ R^3, $O(CO)OR^1$, $O(SO_2)R^1$, $O(SO_2)OR^1$ nebo $OP(O)R^2$ (OR^3), kde R^1, R^2 a R^3 jsou nezávisle na sobě vodík, lineární nebo rozvětvený, libovolně substituovaný, libovolně nenasycený C_1-C_{22} alkyl, libovolně nenasycený C_3 až C_{10} cykloalkyl, heterocyclický substituent, aryl, heteroaryl, aralkyl nebo silyl SiR_3, kde R představuje alkyl, fenyl, substituovaný fenyl nebo kombinaci C_1 až C_4 alkylů a/nebo fenylů, nebo skupin R^2 a R^3 společně s přilehlým atomem dusíku tvoří 3 až 10 členný nasycený, částečně nasycený nebo aromatický kruh, kde vedle dusíkového atomu může být jeden nebo dva heteroatomy vybrané ze skupiny N, O a S, nebo skupiny R^2 a R^3 společně s přilehlou skupinou O-PO-O tvoří 5 nebo 6-ti členný kruh, za předpokladu, že v obecném vzorci I je alespoň jedna za skupin Y^1, Y^2, Y^3 a Y^4 jiná než OR^1 nebo NR^2R^3;

14.06.00

Q^1 a Q^2 jsou nezávisle na sobě vodík, atom fluoru, chloru, bromu nebo jodu, se zahrnutím stereoisomerů, jako jsou geometrické isomery a opticky aktivní isomery těchto sloučenin a farmaceuticky přijatelné soli těchto sloučenin.

Libovolně nenasycený C_1 až C_{22} alkyl jako skupina R^1, R^2 a R^3 představuje alkyl, alkenyl nebo alkynyl, které obsahují nezávisle na sobě 1 až 22, respektive 2 až 22 atomů uhlíku, výhodněji 1 až 8, respektive 2 až 8 atomů uhlíku, nejvýhodněji 1 až 5, respektive 2 až 5 atomů uhlíku.

Libovolně nenasycený C_3 až C_{10} cykloalkyl, jako skupina R^1, R^2 a R^3, představuje cykloalkyl nebo cykloalkenyl, který obsahuje 3 až 10 atomů uhlíku, výhodněji 5 až 6, nesubstituované nebo substituované například nižším alkylem (1 až 4 C). Výhodněji je to cyklo-propyl, -butyl, -pentyl nebo -heptyl nebo odpovídající cykloalkenylová skupina. Heterocyklická skupina obsahuje v kruhu jeden nebo více heteroatomů vybraných ze skupiny N, O a S.

Aryl nebo aralkyl jako skupina R^1, R^2 a R^3 představuje aryl nebo aryalkyl substituovaný libovolným C_1 až C_4-alkylem, -alkoxylem nebo halogenem, jako je fenyl, benzyl, nejvýhodněji však nesubstituovaný fenyl a benzyl.

Pokud je v sililové skupině SiR_3 skupina R nižší alkyl obsahující 1 až 4 uhlíkové atomy, je to zvláště methyl, ethyl, propyl, isopropyl, butyl nebo *terc.*-butyl. Pokud skupina R v sililové skupině představuje kombinace C_1 až C_4-alkylů nebo fenylů, je to například dimethyl-*terc.*-butyl, methyldiisopropyl, dimethylfenyl, diethylfenyl, methyl-*terc.*-butylfenyl nebo diisopropyl-(2,6-dimethylfenyl).

Pokud R^2 a R^3 společně s dusíkovým atomem tvoří heterocyklický nasycený kruh, tento kruh je typicky například morfolinyl, thiomorfolinyl, piperidinyl, piperazinyl, azetidinyl, aziridinyl nebo pyrrolidinyl, nebo je-li tento kruh tvořen částečně nasyceným aromatickým kruhem, tento kruh je například pyrrolyl, imidazolyl, triazolyl, tetrazolyl, oxazolyl, thiazolyl, pyridyl, pyrimidyl, pyrazinyl, pyridazinyl nebo azepinyl. Tato skupina může být substituována, jak je popsáno výše, cykloalkylem, výhodně je však nesubstituovaná jako například pyrrolidinyl, morfolinyl nebo piperazinyl.

14.06.00

Tvoří-li R^2 a R^3 společně s přilehlou O-PO-O skupinou 5 nebo 6 členný kruh, tento kruh je přednostně dioxyfosfolandioxid nebo dioxafosfanoxid.

Q^1 a Q^2 jsou nejvýhodněji atomy chloru.

Soli sloučenin obecného vzorce I jsou zvláště jejich soli s farmaceuticky akceptovatelnými zásadami, jako jsou soli kovů, například soli alkalických kovů, zvláště lithné, sodné a draselné soli, kovy alkalických zemin, jako jsou vápenaté nebo hořečnaté soli, měďné, hlinité nebo zinečnaté soli, amonné soli tvořené z amoniaku nebo primárních, sekundárních nebo terciárních, jak alifatických tak alicyklických, tak i aromatických aminů, alifatické nebo aromatické kvarterní amoniové soli, soli s aminoalkoholy, jako jsou ethanol-, diethanol- a triethanolaminy, tris(hydroxymethyl)aminometan, 1- a 2- methyl- a 1,1-, 1,2- a 2,2-dimethylaminoethanoly, N-mono a N,N-dialkylaminoethanoly, N-(hydroxymethyl a ethyl)-N,N-ethandiaminy, a aminocrownethery a kryptandy, heterocyklické amoniové soli, jako je azetidinium, pyrrolidinium, piperidinium, piperazinium, morfolinium, pyrrolium, imidazolium, pyridinium a chinolinové soli, různé tetraalkylamoniové soli, jako je tetramethylamonium, methyltributylamonium a benzyldimethylamoniové soli s vyššími alkyly.

Výhodné sloučeniny podle předmětného vynálezu jsou deriváty methylenbisfosfonové kyseliny obecného vzorce I, kde dvě ze skupin Y^1, Y^2, Y^3 a Y^4 jsou skupiny $OCOR^1$, kde R^1 je definováno výše. Zvláště výhodné jsou z těchto sloučenin ty sloučeniny, kde R^1 je lineární nebo rozvětvený C_1 až C_{22} alkyl nebo fenyl.

Výhodné sloučeniny podle předmětného vynálezu jsou deriváty methylenbisfosfonové kyseliny obecného vzorce I, kde dvě ze skupin Y^1, Y^2, Y^3 a Y^4 jsou skupiny OR^1, kde R^1 je definováno výše. Zvláště výhodné jsou z těchto sloučenin ty sloučeniny, kde R^1 je lineární nebo rozvětvený C_1-C_{22} alkyl nebo fenyl.

Dále jsou výhodné mezi sloučeninami obecného vzorce I, kde dvě ze skupin Y^1, Y^2, Y^3 a Y^4 jsou skupiny $OCOR^1$ nebo OR^1, sloučeniny, kde třetí skupina ze skupin Y^1, Y^2, Y^3 a Y^4 je vybrána ze skupiny zahrnující alkylsulfonyl, nižší alkylkarboxy, benzoyl, arylsulfonyl, mono- a di-nižší alkylfosforyl.

14.06.00

Příklady výhodných sloučenin podle předmětného vynálezu jsou například:
disodná sůl p,p'-diacetyl(dichlormethylen)bisfosfonátu a volná kyselina,
disodná sůl p,p'-dibutyroyl(dichlormethylen)bisfosfonátu a volná kyselina,
disodná sůl p,p'-di(pivaloyl)(dichlormethylen)bisfosfonátu a volná kyselina,
disodná sůl p,p'-di(benzoyl)(dichlormethylen)bisfosfonátu a volná kyselina,
disodná sůl p,p'-di(isobutyroyl)(dichlormethylen)bisfosfonátu a volná kyselina,
disodná sůl p,p'-di(tetradekanoyl)(dichlormethylen)bisfosfonátu a volná kyselina,
disodná sůl p,p'-di(oktadekanoyl)(dichlormethylen)bisfosfonátu a volná kyselina.

Deriváty podle předmětného vynálezu mohou být připraveny mnoha různými způsoby v závislosti na tom, který anhydrid methylenbisfofonové kyseliny má být připraven. Methylenfosfonové kyseliny použité jako výchozí materiály, jejich soli, tetraestery, tetraesteramidy, částečné estery a částečné amidestery mohou být připraveny známými metodami (např. WO 92/11267 a WO 92/11268). Tak mohou být částečné estery připraveny například selektivní hydrolýzou tetraesteru methylenfosfonové kyseliny, selektivní esterifikací bisfosfonové kyseliny nebo z dalších částečných esterů intramolekulárními nebo intermolekulárními reakcemi. Částečné amidestery mohou být na druhé straně připraveny například selektivní hydrolýzou tetra(amidester)bisfosfonové kyseliny nebo částečných esteramidů intramolekulárními nebo intermolekulárními reakcemi.

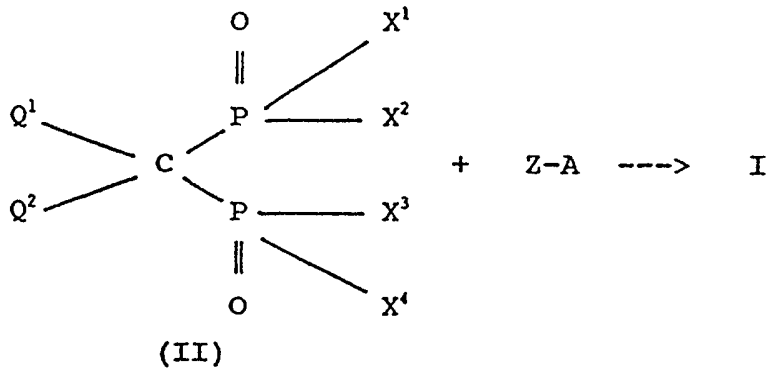
Sloučeniny podle předmětného vynálezu, kde skupiny Y^1, Y^2, Y^3 a Y^4 jsou buď částečně (1 až 3 skupiny) nebo všechny další substituenty definované výše pro tyto skupiny než skupiny OR^1 nebo NR^2R^3, mohou být připraveny alternativou a) schématu 1 postupnými substitučními reakcemi z odpovídajících methylebisfosfonových kyselin a jejich solí. Výchozí materiál (II), kde alespoň jedna skupina ze skupin X^1 až X^4 nebo všechny jsou nezávisle na sobě OH nebo OM, kde M může být kov nebo amoniová skupina, reaguje selektivně s odpovídajícím derivátem kyseliny (Z – A), například s chloridem kyseliny.

Stejná metoda může být aplikována podle alternativy b) schématu 1, když alespoň jedna skupina X^1 až X^4 nebo všechny jsou halogeny nebo analoga halogenů, jako je sulfonyloxy, reakcí této sloučeniny s vybranými kyselinami (A-OH) nebo kovovými solemi (A-OM) a konečně odstraněním extra skupin C a eventuálně extra skupin Y, například hydrolýzou vodou. V těchto sloučeninách jsou hlavně halogen obsahující skupiny modifikovány přidáním

14.06.00

alkoholu, thiolu nebo aminu ke směsi a jsou získány směsné esteramidy nebo amidesteranhydridy.

Schéma 1:



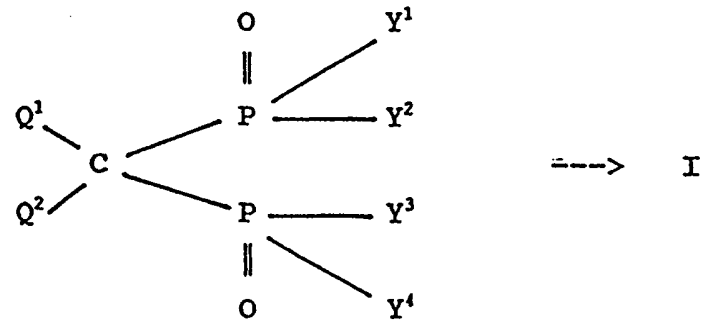
(II)

a) X^n (n = 1 až 4) = OH nebo OM, kde M je kov nebo amoniová skupina; X^n (n = 1 až 4) = má stejný význam jako výše; Q^1 a Q^2 má stejný význam jako výše; Z je halogen nebo analog; A představuje skupinu $OCOR^1$, $OCNR^2 R^3$, $O(CO)OR^1$, $O(SO_2)R^1$, $O(SO_2)OR^1$ nebo $OP(O)R^2 (OR^3)$, R^1, R^2, R^3 má stejný význam jako výše; nebo

b) X^n (n = 1 až 4) = halogen nebo analog; Z je OOH nebo OM, kde M je kov nebo amoniová skupina; A, Q^1 a Q^2 mají stejný význam jako výše

Z tetraderivátů obecného vzorce I připravených postupem popsaným výše mohou být připraveny c) selektivní hydrolýzou tri-, di- a mono částečné anhydridové deriváty obecného vzorce I podle schématu 2:

Schéma 2:



14.06.00

c) X^n (n = 4) = A -----> Y^n (n = 1 až 3) = A, kde A má stejný význam jako výše ve schématu 1.

Proces hydrolýzy může být sledován buď chromatograficky nebo pomocí ^{31}P-NMR spektroskopie. Reakce může být přerušena při nejvyšší koncentraci částečného anhydridu (alespoň jedna ze skupin Y = OH nebo OM) a produkt může být izolován z reakční směsi buď jako kyselina nebo sůl vysrážením, extrakcí nebo chromatograficky.

Směsné ester, esteramid nebo amidesteranhydridy mohou být zejména připraveny z molekuly obecného vzorce I, kde skupiny Y^1, Y^2, Y^3 nebo Y^4 reprezentují vybrané množství výše uvedených skupin X nebo skupin definovaných pro Y jiných než OR^1 nebo NR^2R^3. Tato látka může reagovat podle metody a) s vhodným halogenidem kyseliny nebo podle metody b) s kyselinou nebo jeho kovovou solí.

Nové sloučeniny podle předmětného vynálezu mohou být podávány enterálně nebo parenterálně. Do úvahy přichází všechny běžné formy podávání jako jsou tablety, kapsle, granule, sirupy, roztoky, implantáty a suspenze. Mohou být použity všechny farmaceuticky přijatelné formulace, rozpouštěcí a podávací adjuvans, tak i stabilizátory, regulátory viskozity, dispergátory a pufry.

Vhodná adjuvans zahrnují například vinné a citrátové pufry, alkoholy, EDTA a další netoxická komplexační činidla, tuhé a kapalné polymery a další sterilní substráty, škrob, laktózu, manitol, methylcelulózu, mastek, kyselinu křemičitou, mastné kyseliny, želatinu, agar - agar, fosforečnan vápenatý, stearát hořečnatý, živočišné a rostlinné tuky a, je-li to požadováno, sladidla a příchutě.

Dávkování závisí na různých faktorech, například na způsobu podávání, druhu, věku a individuální kondici. Denní dávky jsou přibližně od 1 od 1000 mg, obvykle od 10 od 200 mg na osobu a mohou být podávány v jediné dávce nebo mohou být rozděleny na několik dávek.

Složení typické kapsle a tablety je uvedeno níže:

Kapsle	mg/kapsli
Aktivní látka	100.0 mg

14.06.00

Škrob	20.0 mg
Stearát hořečnatý	1.0 mg

Tableta	mg/tabletu
Aktivní látka	400.0 mg
Mikrokrystalická celulóza	20.0 mg
Laktóza	67.0 mg
Škrob	10.0 mg
Mastek	4.0 mg
Stearát hořečnatý	1.0 mg

Sloučeniny podle předmětného vynálezu mohou být připraveny také do intramuskulárních nebo parenterálních prostředků, například infúzní koncentráty, kde mohou být jako adjuvans použity například sterilní voda, fosfátový pufr, chlorid sodný, hydroxid sodný, kyselina chlorovodíková nebo jiná farmaceuticky přijatelná adjuvans.

Účelem následujících příkladů je ilustrovat předmětný vynález, avšak bez jeho jakéhokoli omezení.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1. Methyltributylamoniová sůl P,P-dimethyl-P'-methansulfonyl(dichlormethylen)-bisfosfonátu a volná kyselina

12,2 g (1,025 mol) methyltributylamoniová sůl trimethyl(dichlormethylen)bisfosfonátu a 2,9 g (0,025 mol) mesylchloridu jsou rozpuštěny ve 150 ml bezvodého acetonitrilu a roztok je míchán přibližně 20 minut za refluxu. Průběh reakce je sledován ^{31}P-NMR. Rozpouštědlo je odpařeno za vakua a je získáno přibližně 13,2 g (96% teorie) žluté methyltributylamoniové sole P,P-dimethyl-P'-methansulfonyl(dichlormethylen)-bisfosfonátu olejové konzistence (^{31}P-NMR, $CDCl_3$): 13,12 ppm (P), -2,42 ppm (P'), $^2J_{PP'}$ = 20,3 Hz, $^3J_{PH}$ = 10,7 Hz) v koncentraci 99,5%; kyselina může být uvolněna okyselením.

14.06.00

Následující methylenbisfosfonát-P,P-diester-P'-monoanhydridy a jejich kvarterní amoniové soli mohou například být analogicky připraveny:

Methyltributylamoniová sůl P,P-dimethyl-P'-pivaloyl(dichlormethylen)bisfosfonátu , ^{31}P-NMR ($CDCl_3$): 15,13 ppm (P), -0,63 ppm (P´), $^2J_{PP'}$ = 18,9 Hz, $^3J_{PH}$ = 10,7 Hz.

Methyltributylamoniová sůl P,P-dimethyl-P'-pentyl(dichlormethylen)bisfosfonátu , ^{31}P- NMR ($CDCl_3$): 15,12 ppm (P), -1,04 ppm (P´), $^2J_{PP'}$ = 18,6 Hz, $^3J_{PH}$ = 10,6 Hz.

Methyltributylamoniová sůl P,P-dimethyl-P'-benzoyl(dichlormethylen)bisfosfonátu , ^{31}P-NMR ($CDCl_3$):14,87 ppm (P), -0,79 ppm (P´), $^2J_{PP'}$ = 23,0 Hz, $^3J_{PH}$ = 10,7 Hz.

Methyltributylamoniová sůl P,P-dimethyl-P'-trichloroacetyl(dichlormethylen)bisfosfonátu , ^{31}P- NMR ($CDCl_3$): 15,13 ppm (P), -0,63 ppm (P´), $^2J_{PP'}$ = 18,9 Hz, $^3J_{PH}$ = 10,7 Hz.

N-Isopropylpyridiniová sůl P,P-diisopropyl-P'-pivaloyl(dichlormethylen)bisfosfonátu , ^{31}P-NMR ($CDCl_3$): 8,99 ppm (P), 0,24 ppm (P´), $^2J_{PP'}$ = 24,5 Hz, $^3J_{PH}$ = 6,6 Hz.

Ethyltributylamoniová sůl P,P-diethyl-P'-methansulfonyl(dichlormethylen)bisfosfonátu , ^{31}P-NMR ($CDCl_3$): 9,90 ppm (P), -1,29 ppm (P´), $^2J_{PP'}$ = 22,8 Hz, $^3J_{PH}$ = 7,9 Hz.

N-Isopropylpyridiniová sůl P,P-diisopropyl -P'-methansulfonyl(dichlormethylen)bisfosfo-nátu , ^{31}P- NMR ($CDCl_3$): 7,79 ppm (P), -1,45 ppm (P´), $^2J_{PP'}$ = 23,3 Hz, $^3J_{PH}$ = 6,4 Hz.

Methyltributylamoniová sůl P-methyl-P-isopropyl-P'-methansulfonyl(dichlormethylen)-bisfosfonátu , ^{31}P- NMR ($CDCl_3$): 10,80 ppm (P), -2,21 ppm (P´), $^2J_{PP'}$ = 21,2 Hz, $^3J_{PH}$ = 10,5 Hz.

Methyltributylamoniová sůl P,P-dimethyl-P'-benzensulfonyl(dichlormethylen)bisfosfonátu , ^{31}P- NMR ($CDCl_3$): 13,07 ppm (P), -2,28 ppm (P´), $^2J_{PP'}$ = 21,0 Hz, $^3J_{PH}$ = 10,7 Hz.

Methyltributylamoniová sůl P,P-dimethyl-P'-toluensulfonyl(dichlormethylen)bisfosfonátu , ^{31}P- NMR ($CDCl_3$): 13,27 ppm (P), -2,54 ppm (P´), $^2J_{PP'}$ = 20,2 Hz, $^3J_{PH}$ = 10,3 Hz.

Methyltributylamoniová sůl P,P-dimethyl-P'-2,4,6-trimethylbenzensulfonyl(dichlor-methylen)bisfosfonátu , ^{31}P- NMR ($CDCl_3$): 13,53 ppm (P), -2,81 ppm (P´), $^2J_{PP'}$ = 22,0 Hz, $^3J_{PH}$ = 10,8 Hz.

Methyltributylamoniová sůl P,P-dimethyl-P'-2,4,6-triisopropylbenzensulfonyl(dichlor-methylen)bisfosfonátu , ^{31}P- NMR ($CDCl_3$): 13,54 ppm (P), -2,83 ppm (P´), $^2J_{PP'}$ = 21,9 Hz, $^3J_{PH}$ = 10,8 Hz.

Methyltributylamoniová sůl P,P-dimethyl-P'-d-10-camphorsulfonyl(dichlormethylen)-bisfosfonátu , ^{31}P- NMR ($CDCl_3$): 13,06 ppm (P), -2,82 ppm (P´), $^2J_{PP'}$ = 20,7 Hz, $^3J_{PH}$ = 10,7 Hz.

Methyltributylamoniová sůl P,P-dimethyl-P'-pivaloyl(dibrommethylen)bisfosfonátu , ^{31}P-NMR ($CDCl_3$): 15,16 ppm (P), -0,90 ppm (P´), $^2J_{PP'}$ = 14,5 Hz, $^3J_{PH}$ = 10,9 Hz.

Methyltributylamoniová sůl P,P-dimethyl-P'-methansulfonyl(dibrommethylen)bisfosfonátu , ^{31}P-NMR ($CDCl_3$): 12,99 ppm (P), -2,83 ppm (P´), $^2J_{PP'}$ = 15,7 Hz, $^3J_{PH}$ = 10,6 Hz.

Methyltributylamoniová sůl P,P-dimethyl-P'-methansulfonyl(dibrommethylen)bisfosfonátu , ^{31}P-NMR ($CDCl_3$): 12,99 ppm (P), -2,83 ppm (P´), $^2J_{PP'}$ = 15,7 Hz, $^3J_{PH}$ = 10,6 Hz.

Methyltributylamoniová sůl P,P-dimethyl-P'-trichlormethansulfonyl(dibrommethylen)-bisfosfonátu , ^{31}P-NMR ($CDCl_3$): 13,12 ppm (P), -2,98 ppm (P´), $^2J_{PP'}$ = 15,4 Hz, $^3J_{PH}$ = 10,6 Hz.

Methyltributylamoniová sůl P,P-dimethyl-P'-p-toluensulfonyl(dichlormethylen)bisfosfonátu , ^{31}P-NMR ($CDCl_3$): 13,13 ppm (P), -2,95 ppm (P´), $^2J_{PP'}$ = 15,1 Hz, $^3J_{PH}$ = 10,8 Hz.

Methyltributylamoniová sůl P,P-dimethyl-P'-pivaloyl(monobromethylen)bisfosfonátu , ^{31}P-NMR ($CDCl_3$): 20,51 ppm (P), 0,95 ppm (P´), $^2J_{PP}$ = 6,0 Hz, $^2J_{PH}$ = 16,5 Hz, $^3J_{PH}$ = 10,9 Hz.

Methyltributylamoniová sůl P,P-dimethyl-P'-methansulfonyl(monobromethylen)bisfosfonátu , ^{31}P-NMR ($CDCl_3$): 17,46 ppm (P), 1,19 ppm (P´), $^2J_{PP}$ = 7,3 Hz, $^2J_{PH}$ = 17,3 Hz, $^3J_{PH}$ = 11,0 Hz.

Methyltributylamoniová sůl P,P-dimethyl-P'-acetyl(dichlormethylen)bisfosfonátu , ^{31}P-NMR ($CDCl_3$): 13,71 ppm (P), -4,10 ppm (P´), $^2J_{PP'}$ = 18,9 Hz.

Methyltributylamoniová sůl P,P-dimethyl-P'-propyonyl(dichlormethylen)bisfosfonátu , ^{31}P-NMR ($CDCl_3$): 14,57 ppm (P), -1,61 ppm (P´), $^2J_{PP'}$ = 19,1 Hz., $^3J_{PH}$ = 10,7 Hz.

Methyltributylamoniová sůl P,P-dimethyl-P'-isovaleroyl(dichlormethylen)bisfosfonátu , ^{31}P-NMR ($CDCl_3$): 14,17 ppm (P), -1,18 ppm (P´), $^2J_{PP'}$ = 19,1 Hz., $^3J_{PH}$ = 10,7 Hz.

Methyltributylamoniová sůl P,P-dimethyl-P'-dimethylkarbamoyl(dichlormethylen)-bisfosfonátu , ^{31}P-NMR ($CDCl_3$): 14,80 ppm (P), -1,62 ppm (P´), $^2J_{PP'}$ = 18,2 Hz., $^3J_{PH}$ = 10,6 Hz.

Methyltributylamoniová sůl P,P-dimethyl-P'-acetyl(dibromethylen)bisfosfonátu , ^{31}P-NMR ($CDCl_3$): 14,73 ppm (P), -2,00 ppm (P´), $^2J_{PP'}$ = 13,7 Hz., $^3J_{PH}$ = 10,8 Hz.

Methyltributylamoniová sůl P,P-dimethyl-P'-propionyl(dibromethylen)bisfosfonátu , ^{31}P-NMR ($CDCl_3$): 14,17 ppm (P), -1,40 ppm (P´), $^2J_{PP'}$ = 14,0 Hz., $^3J_{PH}$ = 10,7 Hz.

Methyltributylamoniová sůl P,P-dimethyl-P'-dimethylkarbamoyl(dibromethylen)-bisfosfonátu, ^{31}P-NMR ($CDCl_3$): 14,92 ppm (P), -1,92 ppm (P´), $^2J_{PP'}$ = 14,0 Hz.

N-isopropylpyridiniová sůl P,P-di-isopropyl-P'-acetyl(monochlormethylen)bisfosfonátu, ^{31}P-NMR ($CDCl_3$): 14,49 ppm (P), 3,07 ppm (P´), $^2J_{PP}$ = 8,4 Hz., $^2J_{PH}$ = 17,1 Hz, $^3J_{PH}$ = 7,7 Hz.

14.06.00

N-isopropylpyridiniová sůl P,P-di-isopropyl-P'-pivaloyl(monochlormethylen)bisfosfonátu , ^{31}P-NMR ($CDCl_3$): 15,02 ppm (P), 3,02 ppm (P´), $^2J_{PP}$ = 9,8 Hz, $^2J_{PH}$ = 17,4 Hz, $^3J_{PH}$ = 7,1 Hz.

N-isopropylpyridiniová sůl P,P-di-isopropyl-P'-pivaloyl(bromchlormethylen)bisfosfonátu a N-isopropylpyridiniová sůl P,P-di-isopropyl-P'-methansulfonyl(bromchlormethylen)-bisfosfonátu.

Příprava výchozích sloučenin:

Kvarterní monoamoniové soli monochlor-, dichlor-, monobrom- nebo (dibrommethylen)bisfosfonátové triestery používané jako výchozí sloučenina mohou být připraveny například reakcí odpovídajícího tetraesteru s jedním ekvivalentem terciálního aminu suchém, inertním rozpouštědle při teplotě přibližně 25 až 100° C, při sledování průběhu reakce pomocí ^{31}P-NMR.

Následující příklad ilustruje přípravu výchozích sloučenin:
30,1 g (0,1 mol) tetramethyl(dichlormethylen)bisfosfonátu bylo rozpuštěno v 60 ml bezvodného chloroformu a přidáno 18,6 g (0,1 mol) bezvodého tributylaminu. Roztok byl míchán za refluxu 4 hodiny a rozpouštědlo je vypařeno za vakua. Bylo získáno přibližně 50 g (100% teorie) téměř bezbarvé olejovité methyltributylamoniové soli trimethyl(dichlormethylen)bisfosfonátu s koncentrací přibližně 98 %. (^{31}P-NMR ($CDCl_3$): 15,50 ppm (P), 4,25 ppm (P´), $^2JP_{P'P}$ = 16,6 Hz).

Příklad 2: Methyltributylamoniová sůl a volná kyselina P,P-dimethyl-P´-dimethylfosforyl-(dichlormethylen)bisfosfonátu

4,86 g (0.01 mol) Methyltributylamoniová sůle trimethyl(dichlormethylen)bisfosfonátu bylo rozpuštěno v 50 ml bezvodého acetonitrilu a přidáno 1,45 g (0,01 mol) dimethylchlorfosfitu a roztok míchán za refluxu přibližně 1 hodinu (průběh reakce byl sledován pomocí ^{31}P-NMR). Rozpouštědlo bylo odpařeno za vakua a bylo získáno 5,6 g (96 % teorie) nahnědlé olejovité methyltributylamoniové soli P,P-dimethyl-P´-dimethylfosforyl-(dichlormethylen)bisfosfonátu (^{31}P-NMR ($CDCl_3$): 13,90 ppm (P), -4,84 ppm (P´), -10,23 ppm (P´´), $^2J_{P'P}$ = 20,3 Hz, $^2J_{P'P''}$ = 27,7 Hz , $^3J_{PH}$ = 10,7 Hz, $^3J_{P''H}$ = 11,7Hz, $^2J_{P'P}$ = 20,3 Hz,

14.06.00

$^2J_{P'P''}$ = 27,7 Hz o koncentraci 90 % a odpovídající kyselina byla uvolněna zpracováním s kyselinou.

Následující fosforyl-(dichlormethylen)bisfosfonáty a jejich kvarterní amoniové soli mohou být například připraveny analogicky:

Methyltributylamoniová sůl P,P-dimethyl-P′-di-isopropylfosforyl-(dichlormethylen)-bisfosfonátu, ^{31}P-NMR ($CDCl_3$): 14,95 ppm (P), -4,84 ppm (P′), -13,98 ppm (P′′), $^2J_{P'P}$ = 20,6 Hz, $^2J_{P'P''}$ = 26,1 Hz , $^3J_{PH}$ = 10,6 Hz, $^3J_{P''H}$ = 7,8, Hz.

N-isopropylpyridiniová sůl P,P-di-isopropyl-P′-methylfosforyl-(dichlormethylen)-bisfosfonátu, ^{31}P-NMR ($CDCl_3$): 9,22 ppm (P), -3,74 ppm (P′), -9,25 ppm (P′′), $^2J_{P'P}$ = 22,3 Hz, $^2J_{P'P''}$ = 27,4 Hz.

Methyltributylamoniová sůl P,P-di(trimethylsilyl)-P′-di(trimethylsilyl)fosforyl(dichlor-methylen)bisfosfonátu (^{31}P-NMR ($CDCl_3$): 14,95 ppm (P), -4,84 ppm (P′), -13,98 ppm (P′′), $^2J_{P'P}$ = 20,6 Hz, $^2J_{P'P''}$ = 26,1 Hz , $^3J_{PH}$ = 10,6 Hz, $^3J_{P''H}$ = 7,8, Hz.

Příklad 3: P,P,P′-Trimethyl-P′-pivaloyl(dichlormethylen)bisfosfonát

2,9 g (0,01 mol) P,P,P′-trimethyl(dichlormethylen)bisfosfonátu a 1,7 g (0,014 mol) pivaloylchloridu je rozpuštěno v 50 mol bezvodného acetonitrilu a roztok je míchán za refluxu po 1,5 h (průběh reakce je sledován pomocí ^{31}P-NMR). Rozpouštědlo a přebytek reagencií je odpařen za vakua a je získáno přibližně 3,3 g (90 % teorie) nahnědlého P,P,P′-trimethyl-P′-pivaloyl(dichlormethylen)bisfosfonátu (^{31}P-NMR ($CDCl_3$): 10,41 ppm (P), 9,17 ppm (P′), $^2J_{P'P}$ = 23,7 Hz, $^3J_{PH}$ = 10,9 Hz, $^3J_{P'H}$ = 10,9 Hz).

Následující P,P,P′-triester-P-monoanhydridy (dichlormethylen)bisfosfonové kyseliny mohou být například připraveny analogicky:

P,P,P′-Tris-isopropyl-P′-pivaloyl(dichlormethylen)bisfosfonát (^{31}P-NMR ($CDCl_3$): 6,40 ppm (P), 4,71 ppm (P′), $^2J_{P'P}$ = 26,2 Hz, $^3J_{PH}$ = 6,5 Hz, $^3J_{P'H}$ = 6,7 Hz).

14.06.00

P,P,P′-Tris-isopropyl-P′-methansulfonyl(dichlormethylen)bisfosfonát (^{31}P-NMR ($CDCl_3$): 5,32 ppm (P), 0,39 ppm (P′), $^2J_{P'P}$ = 24,8 Hz, $^3J_{PH}$ = 6,4 Hz, $^3J_{P'H}$ = 6,8 Hz).

P,P-Dimethyl-P′-Trimethylsilyl-P′-pivaloyl(dichlormethylen)bisfosfonát (^{31}P-NMR ($CDCl_3$): 12,59 ppm (P), -2,10 ppm (P′), $^2J_{P'P}$ = 22,7 Hz, $^3J_{PH}$ = 11,0 Hz).

Příklad 4: Dipiperidiniummethyltributylamoniová sůl a volná kyselina P-methyl-P′-monomethylfosforyl(dichlormethylen)bisfosfonátu.

2,9 g (0,005 mol) methyltributyl amoniové sole P,P-dimethyl-P′-monomethylfosforyl(dichlormethylen)bisfosfonátu a 12 ml bezvodého piperidinu jsou míchány přibližně 1 hodinu při přibližně 80°C (průběh reakce je sledován pomocí ^{31}P-NMR) a přebytek piperidinu je odpařen za vakua a získáno 3,5 g (97 % teorie) nahnědlé dipiperidiniummethyltributylamoniové soli P-methyl-P′-monomethylfosforyl(dichlormethylen)bisfosfonátu (^{31}P-NMR ($CDCl_3$): 7,00 ppm (P), -0,89 ppm (P′), -7,51 ppm (P′′), $^2J_{P'P}$ = 16,7 Hz, $^2J_{P'P''}$ = 28,9 Hz, $^3J_{PH}$ = 10,0 Hz, $^3J_{P''H}$ = 11,5 Hz,) s koncentrací 90 %, ze které může být odpovídající kyselina uvolněna zpracováním s kyselinou.

Příklad 5: P,P-Dimethyl-P′,P′-bis(trichloracetyl)(dichlormethylen)bisfosfonát

4,86 g (0,01 mol) methyltributylamoniová sůl P,P,P-trimethyl(dichlormethylen)bisfosfonátu a 3,64 g (0,02 mol) trichloroacetylchloridu v 50 ml bezvodého acetonitrilu je mícháno za refluxu 2 hodiny a rozpouštědlo je odpařeno za vakua a je získáno 8 g olejovitého zbytku, který obsahuje přibližně 1:1 P,P-dimethyl-P′,P′-bis(trichloracetyl)(dichlormethylen)bisfosfonát (^{31}P-NMR ($CDCl_3$): 14,25 ppm (P), 0,11 ppm (P′), $^2J_{P'P}$ = 20,3 Hz, $^3J_{PH}$ = 10,6 Hz) a P,P-dimethyl-P′-trichloracetyl(dichlormethylen)bisfosfonát (Příklad 1).

Příklad 6: Disodná sůl a volná kyselina P-methly-P′-acetyl(dichlormethylen)bisfosonátu

3,9 g (0,01 mol) Piperidinium-disodné soli P-methyl(dichlormethylen)bisfosfonátu a 40 ml acetanhydridu bylo mícháno při laboratorní teplotě asi 2 dny. Směs byla ochlazena ledovou vodou a sraženina byla odfiltrována, promyta acetonem a sušena a bylo získáno přibližně 3,3

14.06.00

g (96 % teorie) bezbarvé krystalické disodné soli P-methyl-P´-acetyl(dichlormethylen)bisfosonátu ^{31}P-NMR (D_2O): 9,03 ppm (P), 4,01 ppm (P´), $^{2}J_{P'P}$ = 16,5 Hz, $^{3}J_{PH}$ = 10,4 Hz) v koncentraci přibližně 100 % a odpovídající kyselina může být uvolněna okyselením.

Následující symetrické esteranhydridy (dichlordimethylen)bisfosfonátu a jejich soli mohou být například připraveny analogicky:

Bis(diethylamonium)-P-methyl-P´-pivaloyl(dichlormethylen)bisfosfonát, ^{31}P-NMR ($CDCl_3$): 5,68 ppm (P), 1,78 ppm (P´), $^{2}J_{P'P}$ = 25,1 Hz, $^{3}J_{PH}$ = 9,9 Hz.

Příklad 7: Disodná sůl a volná kyselina P,P´-diacetyl(dichlormethylen)bisfosfonátu

6,7 g (0,02 mol) tetrasodné soli (dichlormethylen)bisfosfonové kyseliny a 220 ml acetanhydridu je míchání 60 hodin při přibližně 60° C (průběh reakce je monitorován pomocí ^{31}P-NMR) a reakční směs ochlazena. Sraženina je filtrována, promyta acetonem a rekrystalizována ze směsi ethanol – voda. Po vysušení bylo získáno přibližně 7,1 g (95 % teorie) bezbarvé krystalické disodné soli P,P´-diacetyl(dichlormethylen)bisfosfonátu (^{31}P-NMR (D_2O): 2,84 ppm (P a P´)) s koncentrací přibližně 100 %. Odpovídající kyselina může být získána okyselením.

Následující symetrické dianhydridy(dichlordimethylen)bisfosfonátu a jejich soli mohou být například připraveny analogicky:

Disodná sůl P,P´-dibutyroyl(dichlormethylen)bisfosfonátu, ^{31}P-NMR (D_2O) 2,90 ppm (P a P´).

Disodná sůl P,P´-divaleroyl(dichlormethylen)bisfosfonátu, ^{31}P-NMR (D_2O) 3,13 ppm (P a P´).

Disodná sůl P,P´-di(pivaloyl)(dichlormethylen)bisfosfonátu, ^{31}P-NMR (D_2O) 3,74 ppm (P a P´).

Disodná sůl P,P´-di(benzoyl)(dichlormethylen)bisfosfonátu, ^{31}P-NMR (D_2O) 3,85 ppm (P a P´).

Disodná sůl P,P´-di(isobutyroyl)(dichlormethylen)bisfosfonátu, ^{31}P-NMR (D_2O) 2,75 ppm (P a P´).

14.06.00

Disodná sůl P,P′-dihexanoyl(dichlormethylen)bisfosfonátu, ^{31}P-NMR (D_2O) 3,03 ppm (P a P′).

Příklad 8: Methyltributylamoniová sůl a volná kyselina P,P-bis(diethylamido)-P′-ethoxykarbonyl)(dichlorethylen)bisfosfonátu

1,895 g (0,003 mol) methyltributylamoniové soli P,P-bis(diethylamido)-P′-bis(diethylamido)-P′-methyl(dichlormethylen)bisfosfonátu bylo rozpuštěno v 11 ml suchého acetonitrilu. Směs byla zahřívána pod chladičem a míchána, dokud teplota nedosáhla 80° C. Ke směsi bylo při 80° C po kapkách během 15 minut přidán roztok 355 mg (0,003 mol) ethylchlorformiátu v 11 ml suchého acetonitrilu. Směs byla míchána při 80 až 82° C po 3 h 45 min a odpařena do sucha. Směs byla ponechána krystalizovat přes noc. Bylo získáno 2,1 g methyltributylamoniové soli P,P-bis(diethylamido)-P′-ethoxykarbonyl)(dichlorethylen)bisfosfonátu (^{31}P-NMR (D_2O): 27,11 ppm (P), 0,73 ppm (P′), $^2J_{P'P}$ = 22,3 Hz) o koncentraci přibližně 90 %. Odpovídající kyselina může být získána okyselením.

Příklad 9: Di(methyltributylamonium)-P,P-di(ethoxykarbonyl)dichlormethylen)bisfosfonát a jeho volná kyselina

3,36 g (0.005 mol) di(methyltributylamonium)-P,P-dimethyl(dichlormethylen)bisfosfonátu bylo rozpuštěno ve 20 ml bezvodného acetonitrilu a k roztoku přidáno 2,17 (0,02 mol) ethylchlorformiátu a směs byla míchána při 75° C 30 minut. Rozpouštědlo bylo odpařeno za vakua a bylo získáno 5,03 g (95 % teorie) olejovitého di(methyltributylamonium)-P,P-di(ethoxykarbonyl)dichlormethylen)bisfosfonátu, ^{31}P-NMR ($CDCl_3$): 0,40 ppm (P a P′), o koncentraci přibližně 85 %. Volná kyselina může být připravena okyselením.

Následující symetrické dianhydridy(dichlordimethylen)bisfosfonátu a jejich soli mohou být například připraveny analogicky:
Disodná sůl P,P′-Bis(dimethylkarbamoyl)(dichlormethylen)bisfosfonátu (^{31}P-NMR D_2O): 2,53 ppm (P a P′)).

Příklad 10: P,P-Dimethyl-P′-pivaloyl-P-trimethylsilyl(dichlormethylen)bisfosfonát

14.06.00

2,2 g (0,004 mol) methyltributylamoniové soli P,P-dimethyl-P′-pivaloyl(dichlormethylen)bisfosfonátu je rozpouštěno ve 20 ml bezvodého acetonitrilu a roztok je ochlazen na 0° C a 0,45 g (0,0042 mol) chlortrimethylsilanu v 5 ml bezvodého acetonitrilu je přidáno za míchání při teplotě 0 až 5° C. Po přidání je směs míchána 10 min při 0 až 5° C a 1 h bez chlazení a rozpouštědlo je odpařeno za vakua a získán hnědý olej s čistotou přibližně 80 %. (^{31}P-NMR ($CDCl_3$): 12,59 ppm (P), -2,10 ppm (P′), $^2J_{P'P}$ = 22,7 Hz, $^3J_{PH}$ = 11,0 Hz.

Příklad 11: Dipyridiniová sůl P,P′-di(tetradekanoyl)(dichlormethylen)bisfosfonátu

1,0 g (4,04 mmol) (dichlormethylen)bisfosfonové kyseliny a 10 ml suchého tetrahydrofuranu je mícháno a 2,0 g (8,16 mmol) tetradekanoylchloridu a 1,3 g (16,32 mmol) suchého pyridinu je přidáno při přibližně 23° C. Šedivá suspenze je míchána při 23° C 3 h a odpařena do sucha za vakua. Odparek, 4,3 g (100 % teorie), obsahuje 3,4 g dipyridiniové soli P,P′-di(tetradekanoyl)(dichlormethylen)bisfosfonátu (^{31}P-NMR (D_2O) 3,85 ppm (P a P′)), s koncentrací 100 % (^{31}P-NMR) a 0,9 g pyridiniumhydrochloridu.

Analogicky byla připravena také:
Dipyridiniová sůl P,P′-di(oktadekanoyl)(dichlormethylen)bisfosfonátu, ^{31}P-NMR ($CDCl_3$): 1,60 ppm (P a P′).

Příklad 12: Trisodná sůl monohexanoyloxy(dichlormethylen)difosfonátu

5,0 g (15,0 mmol) tetrasodné soli (dichlormethylen)bisfosfonátu a 23,1 g (108,2 mmol) anhydridu hexanové kyseliny je mícháno při přibližně 85° C po 7 h a při laboratorní teplotě po dobu přibližně 18 h (průběh reakce je sledován pomocí ^{31}P-NMR). Směs je filtrována a promyta 2 ml acetonu a sušena za vakua a je získáno přibližně 5,4 g (88 % teorie) krystalické trisodné soli monohexanoyloxy(dichlormethylen)difosfonátu (^{31}P-NMR (D_2O): 7,57 ppm (P), 4,59 ppm (P), $^2J_{PP}$ = 17,6 Hz) o koncentraci 81 %. Koncentrace výchozí sloučeniny je 16 % a koncentrace disodné soli P,P′-dihexanoyloxy(dichlormethylen)bisfosfonátu je 3 % (^{31}P-NMR).

Příklad 13: In vitro testy molekul léčiv, kde neaktivní látka se metabolizmem mění na účinnou

14.06.00

HPLC metoda použitá při in vitro testech léčiv, kde neaktivní látka se metabolizmem mění na účinnou

Klodronát (dichlormethylendifosfonát) a klodronátové molekuly léčiva, kde neaktivní látka se metabolizmem mění na účinnou, byly analyzovány pomocí reverzní metody HPLC iontového páru (isokratický program pro klodronát; gradientový program pro simultánní analýzu klodronátu a molekuly léčiva, kde neaktivní látka se metabolizmem mění na účinnou) s detekcí sloučenin založenou na měření rozptylu světla způsobeného nevypařenou sloučeninou.

Zařízení: Merck LaChrom HPLC (Merck Hitachi Ltd., Japan) Kromasil 100 RP-C8 (250 x 4,6 i.d., 5 μm)
(Higgins Analytical Inc., USA)

Eluent:
Isokratický program: methanol/amoniumacetátový pufr (3:97, pH 4,6), který obsahoval 2,25 % butylaminu jako iontově párového činidla, průtok 1,2 ml/min.
Gradientový program: methanol (3% ----> 40 až 60 % během 1 min – 6 min)/amoniumacetát (pH 4,6), který obsahoval 2,25 % butylaminu jako iontově párového činidla, průtok 1,2 ml/min.

Detektor: Sedex 55 detektor rozptylu světla (Sedere, Francie)
Uspořádání: teplota detektoru 70° C, tlak odpařujícího plynu (filtrovaný plyn) 2,2 bar.

Rozpustnost ve vodě molekul léčiva, kde neaktivní látka se metabolizmem mění na účinnou

Rozpustnost molekul léčiva, kde neaktivní látka se metabolizmem mění na účinnou, ve vodě byla stanovena ve fosfátovém pufru (50 mM, pH 7,4) při teplotě laboratoře.

Přebytek testované sloučeniny byl rozpouštěn v přibližně 5 ml fosfátového pufru. Suspenze byla míchána 2 hod, filtrována a koncentrace léčiva, kde neaktivní látka se metabolizmem mění na účinnou, ve filtrátu byla stanovena pomocí HPLC. Rozpustnost klodronátu ve vodě byla stanovena stejnou metodou. Rozpustnosti testovaných sloučenin ve vodě jsou uvedeny v tabulce 1.

14.06.00

Tabulka 1. Rozpustnosti klodronátu a jeho léčiv, ve kterých se neaktivní látka metabolizmem mění na účinnou, ve vodě při pH 7,4

Léčivo, kde neaktivní látka se metabolizmem mění na účinnou	Rozpustnost ve vodě (mg/ml)
Klodronát	397
Dianhydrid kyseliny octové	190
Dianhydrid kyseliny butanové	172
Dianhydrid kyseliny pivalové	23,5
Dianhydrid kyseliny benzoové	6,0

Distribuční koeficient léčiv, kde neaktivní látka se metabolizmem mění na účinnou

Rozpustnost testovaných sloučenin v tucích byla studována určením distribučních koeficientů (P) při pH 7,4 a 2,0. Analýza byla provedena ve směsi oktanol a pufr.

Při použití metody oktanolového pufru byly 1-oktanol a fosfátový pufr (50 mM, pH 7,40, μ = 0,15) nasyceny navzájem mícháním směsi přes noc. Fáze byly separovány a standardní roztok léčiva, kde neaktivní látka se metabolizmem mění na účinnou, s požadovanou koncentrací byl připraven ve fázi pufru. Odpovídající objemy 1-oktanolu a standardní roztok fosfátového pufru byly smíchány a směs byla intenzivně třepána 60 min. Po třepání byly fáze separovány a koncentrace studované sloučeniny byly analyzovány ve fázi pufru před a po distribuci výše popsanou HPLC metodou. Distribuční koeficient P byl vypočten podle následujícího vzorce:

$$P = \left(\frac{C_i - C_a}{C_a}\right)\left(\frac{V_a}{V_o}\right)$$

kde

C_i = koncentrace studované sloučeniny před distribucí

C_a= koncentrace studované sloučeniny po distribuci

V_a= objem pufrové fáze

V_o= objem oktanolové fáze

14.06.00

Hodnoty distribučních koeficientů (log P) studovaných léčiv, kde neaktivní látka se metabolizmem mění na účinnou, jsou uvedeny v tabulce 2.

Tabulka 2. Distribuční koeficienty studovaných léčiv, kde neaktivní látka se metabolizmem mění na účinnou

Léčivo, kde neaktivní látka se metabolizmem mění na účinnou	Log P (pH 7,4)	Log P (pH 2,0)
Dianhydrid kyseliny octové (Př. 7)	- 2,2	- 1,4
Dianhydrid kyseliny butanové (Př. 7)	- 2,4	- 1,9
Dianhydrid kyseliny pivalové (Př. 7)	- 2,3	- 2,0
Dianhydrid kyseliny benzoové (Př. 7)	- 2,4	- 1,5

Poznámka: Distribuční koeficient klodronátu nemůže být určen touto metodou, protože je extrémně rozpustný ve vodě (log P monoethylestru klodronátu je – 5,4 (J. Med. Chem. 34, 2338 – 2343, 1991)).

Chemická hydrolýza léčiv, kde neaktivní látka se metabolizmem mění na účinnou

Chemická hydrolýza léčiv, kde neaktivní látka se metabolizmem mění na účinnou, byla analyzována ve fosfátovém pufru (50 mM, μ = 0,15) při pH 2,0 a 7,4 při teplotě 37° C. Studovaná sloučenina byla rozpuštěna v 10,0 ml fosfátového pufru.
Studovaná sloučenina byla rozpuštěna v 10 ml fosfátového pufru. Roztok byl míchán 24 až 1000 hodin ve vodní lázni magnetickou míchačkou, v pravidelných intervalech byly odebírány vzorky a analyzovány pomocí HPLC. Z výsledků byl získána grafická závislost pseudoprvního řádu, kde množství zbývající sloučeniny je uvedeno jako funkce času. Ze stoupání (kk) takto získaného grafu byla vypočtena disociační konstanta k (k = 2,303 x – kk), ze které byl vypočten poločas $T_{1/2}$ ($T_{1/2}$ = 0,693/k) léčiva, kde neaktivní látka se metabolizmem mění na účinnou, za daných podmínek. Poločasy testovaných sloučenin jsou uvedeny v tabulce 3.

Enzymatická hydrolýza léčiva, kde neaktivní látka se metabolizmem mění na účinnou (v plazmě)

14.08.00

Rychlost enzymatické hydrolýzy léčiva, kde neaktivní látka se metabolizmem mění na účinnou, byla určena ve směsi plazmy a pufru (80 % až 20 %) při 37° C.

Testovaná sloučenina byla rozpuštěna v pufru a po rozpuštění byla přidána plazma o teplotě 37° C. Roztok byl míchán magnetickým míchadlem a byly odebírány vzorky 0,25 ml směsi v intervalech 1 až 360 minut (v závislosti na testované molekule) a ke vzorku přidáno 0,25 ml methanolu (denaturuje proteiny). Vzorek byl centrifugován, čirý supernatant odpařen do sucha, zbytek byl rozpuštěn v eluentu pro HPLC analýzu a zbytková koncentrace léčiva, kde neaktivní látka se metabolizmem mění na účinnou, a množství vzniklého klodronátu bylo analyzováno pomocí HPLC. Ze získaných koncentrací byl nakreslen graf prvního řádu (zbývající léčivo, kde neaktivní látka se metabolizmem mění na účinnou, jako funkce času), ze kterého byla určena disociační konstanta a poločas ($T_{1/2}$). Poločasy testovaných sloučenin jsou uvedeny v tabulce 3.

Tabulka 3: Poločasy léčiv, kde neaktivní látka se metabolizmem mění na účinnou, v pufrovacím roztoku (pH 2,0 a 7,4) a v 80 %-ní plazmě při 37°C

Léčivo, kde neaktivní látka se metabolizmem mění na účinnou	$T_{1/2}$ pH 2,0	$T_{1/2}$ pH 7,4	$T_{1/2}$ Plazma
Dianhydrid kyseliny octové (Př. 7)	0,7 h	15,2 h	1)
Dianhydrid kyseliny butanové (Př. 7)	0,8 h	31,3 h	2)
Dianhydrid kyseliny pivalové (Př. 7)	8,6 h	790 h	3,3±0,6 h
Dianhydrid kyseliny benzoové (Př. 7)	286 h	235 h	3)

1) V prvním příkladě (1 min), 101,6±1,2 % (průměr ±SE, n = 3) klodronátu bylo uvolněno.
2) V prvním příkladě (1 min), 98,0±6,9 % (průměr ±SE, n = 3) klodronátu bylo uvolněno.
3) V prvním příkladě (1 min), 91,4±8,6 % (průměr ±SE, n = 3) klodronátu bylo uvolněno.

Příklad 14: Účinek na PTH-indukovanou resorpci kostí in vitro a resorpci a hydrolýzu sloučenin in vivo

Účinek na PTH-indukovanou resorpci kostí v myších lebkách

14.06.00

Čerstvě narozené myši byly označeny subkutánní injekcí ^{45}Ca čtyři dny před usmrcením. Fragmenty lebečních kostí byly odděleny od parietálních kostí, inkubovány v kultivačním médiu s indomethacinem, promyty a poté kultivovány po tři dny s bisfosfonátovým léčivem, kde neaktivní látka se metabolizmem mění na účinnou, a bez něho. Resorpce kostí byla stimulována parathyroidním hormonem (PTD, 10 nM) a byl měřen účinek na tuto stimulovanou resorpci. Jak je ukázáno v tabulce 4, byla prokázána inhibice resorpce pomocí uvedených sloučenin. Inhibice bisfosfonátovými léčivy, kde neaktivní látka se metabolizmem mění na účinnou, byla dokonce vyšší než s matečným léčivem.

Tabulka 4. Inhibice PTH-indukované resorpce kostí

Sloučenina	Koncentrace µmol/l	Inhibice resorpce 100 (PHT-x)/PTH, %
1	100	48,7
2	100	64,8
3	100	50,5
4	100	53,9
Klodronát (matečné léčivo)	100	43,2

Sloučenina 1 = Dianhydrid kyseliny octové (disodná sůl P,P'-diacetyl(dichlormethylen)-bisfosfonátu)

Sloučenina 2 = Disodná sůl P,P'-di(isobutyroyl)-(dichlormethylen)bisfosfonátu)

Sloučenina 3 = Disodná sůl P,P'-di(tetradekanoyl)(dichlormethylen)bisfosfonátu

Sloučenina 4 = Disodná sůl P,P'-di(oktadekanoyl)(dichlormethylen)bisfosfonátu

Klodronát = Disodná sůl dichlormethylenbisfosfonové kyseliny

Resorpce a hydrolýza in vivo

Resorpce a hydrolýza sloučenin in vivo byla testována na krysách nalačno. Resorpce byla určena z celkového množství vyloučeného do moče během 72 hodin po podání. Pro určení perorální bio-dostupnosti bylo vyloučené množství po perorálním podání srovnáno s

14.06.00

intravenózním podáváním. Vzorky moči byly analyzovány na matečnou sloučeninu hmotnostně selektivní plynovou chromatografií nebo plynovou chromatografií s detekcí dusíku a fosforu. Výsledky prezentované v tabulce 5 ukazují zvýšenou bio-dostupnost bisfosfonátových léčiv, kde neaktivní látka se metabolizmem mění na účinnou, ve srovnání s bio-dostupností matečné sloučeniny.

Tabulka 5: Resorpce bisfosfonátových léčiv, kde neaktivní látka se metabolizmem mění na účinnou

Sloučenina, dávka 100 μmol/kg	Bio-dostupnost
1	4,5
2	8,78
3	4,18
4	23,37
Klodronát (matečná sloučenina)	2,17

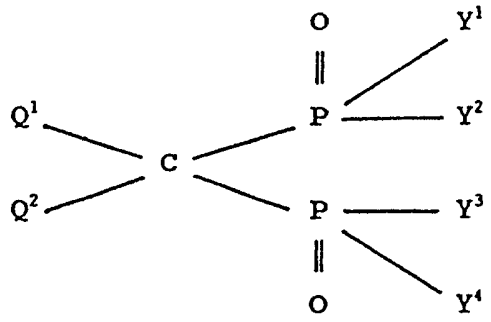
Sloučeniny jsou shodné se sloučeninami uvedenými v tabulce 4.

PV 2000-1245

14.06.00

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Anhydridové deriváty kyseliny methylenbisfosfonové, v y z n a č u j í c í s e tím, že mají obecný vzorec I:



(I)

kde Y^1, Y^2, Y^3 a Y^4 jsou skupiny OR^1, NR^2R^3, $OCOR^1$, $OCNR^2\ R^3$, $O(CO)OR^1$, $O(SO_2)R^1$, $O(SO_2)OR^1$ nebo $OP(O)R^2\ (OR^3)$, kde R^1, R^2 a R^3 jsou nezávisle na sobě vodík, lineární nebo rozvětvený, libovolně substituovaný, libovolně nenasycený C_1 až C_{22} alkyl, libovolně nenasycený C_3 až C_{10} cykloalkyl, heterocyclický substituent, aryl, heteroaryl, aralkyl nebo silyl SiR_3, kde R představuje alkyl, fenyl, substituovaný fenyl nebo kombinaci C_1 až C_4 alkylů a/nebo fenylů, nebo skupin R^2 a R^3 společně s přilehlým atomem dusíku tvoří 3 až 10-členný nasycený, částečně nasycený nebo aromatický kruh, kde vedle dusíkového atomu může být jeden nebo dva heteroatomy vybrané ze skupiny N, O a S, nebo skupin R^2 a R^3 společně s přilehlou skupinou O-PO-O tvoří 5 nebo 6-ti členný kruh, za předpokladu, že v obecném vzorci I je alespoň jedna za skupin Y^1, Y^2, Y^3 a Y^4 jiná než OR^1 nebo NR^2R^3;
Q^1 a Q^2 are nezávisle na sobě vodík, atom fluoru, chloru, bromu nebo jodu, při zahrnutí stereoisomerů, jako jsou geometrické isomery a opticky aktivní isomery těchto sloučenin a farmaceuticky přijatelné soli těchto sloučenin.

2. Anhydridové deriváty kyseliny methylenbisfosfonové podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e tím, že Q^1 a Q^2 v obecném vzorci I označuje atomy chloru.

3. Anhydridové deriváty kyseliny methylenbisfosfonové podle nároků 1 a 2, v y z n a č u j í c í s e tím, že Y^1, Y^2, Y^3 a Y^4 v obecném vzorci I jsou $OCOR^1$, kde R^1 je definováno v nároku 1.

14.06.00

4. Anhydridové deriváty kyseliny methylenbisfosfonové podle nároku 3, v y z n a č u j í c í s e tím, že R^1 lineární nebo rozvětvený C_1-C_{22} alkyl nebo fenyl.

5. Anhydridové deriváty kyseliny methylenbisfosfonové podle nároků 1 a 2, v y z n a č u j í c í s e tím, že Y^1, Y^2, Y^3 a Y^4 v obecném vzorci I je skupina OR^1, kde R^1 je definováno v nároku 1.

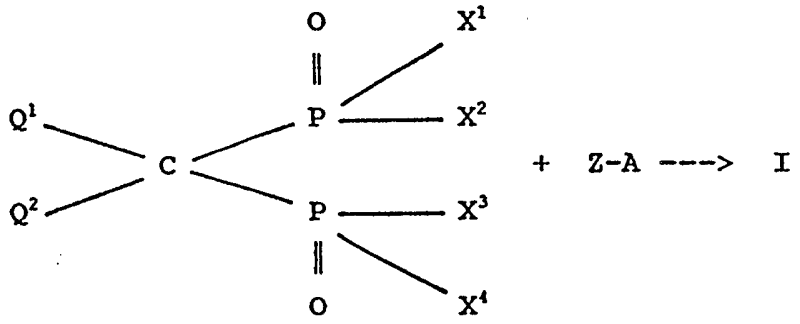
6. Anhydridové deriváty kyseliny methylenbisfosfonové podle nároku 5, v y z n a č u j í c í s e tím, že R^1 je lineární nebo rozvětvený C_1-C_{22} alkyl nebo fenyl.

7. Anhydridové deriváty kyseliny methylenbisfosfonové podle nároku 3 nebo 5, v y z n a č u j í c í s e tím, že třetí ze skupiny Y^1, Y^2, Y^3 a Y^4 v obecném vzorci I je vybrán ze skupiny obsahující alkylsulfonyl, nižší alkylkarboxy, benzoyl, arylsulfonyl, mono- a di-nižší alkylfosfonyl.

8. Anhydridové deriváty kyseliny methylenbisfosfonové podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e tím, že jsou
Disodná sůl p,p'-diacetyl(dichlormethylen)bisfosfonátu a volná kyselina,
Disodná sůl p,p'-dibutyroyl(dichlormethylen)bisfosfonátu a volná kyselina,
Disodná sůl p,p'-di(pivaloyl)(dichlormethylen)bisfosfonátu a volná kyselina,
Disodná sůl p,p'-di(benzoyl)(dichlormethylen)bisfosfonátu a volná kyselina,
Disodná sůl p,p'-di(isobutyroyl)(dichlormethylen)bisfosfonátu a volná kyselina,
Disodná sůl p,p'-di(tetradekanoyl)(dichlormethylen)bisfosfonátu a volná kyselina,
Disodná sůl p,p'-di(oktadekanoyl)(dichlormethylen)bisfosfonátu a volná kyselina.

9. Způsob přípravy anhydridových derivátů kyseliny methylenbisfosfonové podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e tím, že
a) výchozí sloučenina podle obecného vzorce II, kde alespoň jedna ze skupin X^1 až X^4 nebo všechny jsou nezávisle na sobě OH nebo OM, kde M může být kov nebo amoniová skupina a Q^1 a Q^2 jsou vodík nebo halogen, reaguje selektivně s odpovídajícím derivátem kyseliny A – Z, kde A představuje skupinu $OCOR^1$, NR^2R^3, $O(CO)OR^1$, $O(SO_2)R^1$, $O(SO_2)OR^1$ nebo $OP(O)R^2(OR^3)$ a Z je halogen nebo analog; nebo

14.06.00



(II)

b) výchozí materiál podle obecného vzorce II, kde alespoň jedna ze skupin X^1 až X^4 nebo všechny jsou nezávisle na sobě halogen nebo analog halogenu, reaguje s vybranou kyselinou nebo vybranými kyselinami A-OH, Z=OH nebo jeho kovovou solí A-OM, Z=OM, kde A a M mají stejný význam jako v odstavci a), a konečně extra skupiny X a podle volby skupiny Y jsou odstraněny například hydrolýzou vodou; nebo

c) pro přípravu tri-, di- a mono-částečných anhydridových derivátů I, podle odstavců a) nebo b), jsou výše uvedené tetraanhydridy selektivně hydrolyzovány.

10. Farmaceutický přípravek, v y z n a č u j í c í s e tím, že obsahuje jako aktivní činidlo anhydridový derivát methylenbisfosfonové kyseliny obecného vzorce I podle nároku 1.