(19) **Bundesrepublik Deutschland**
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 694 34 618 T2** 2006.08.10

(12) # Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) **EP 0 697 872 B1**
(21) Deutsches Aktenzeichen: **694 34 618.7**
(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US94/05071**
(96) Europäisches Aktenzeichen: **94 916 043.6**
(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 1994/026276**
(86) PCT-Anmeldetag: **06.05.1994**
(87) Veröffentlichungstag der PCT-Anmeldung: **24.11.1994**
(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **28.02.1996**
(97) Veröffentlichungstag der Patenterteilung beim EPA: **25.01.2006**
(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **10.08.2006**

(51) Int Cl.[8]: ***A61K 31/44*** (2006.01)
A61K 31/675 (2006.01)
C07D 471/18 (2006.01)
C07D 471/22 (2006.01)
C07F 9/30 (2006.01)
C07F 9/38 (2006.01)
C07F 9/40 (2006.01)
G01N 24/08 (2006.01)
A61K 49/00 (2006.01)
A61K 51/00 (2006.01)

(30) Unionspriorität:
58622 **06.05.1993** **US**

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LI, LU, NL, SE

(73) Patentinhaber:
Dow Global Technologies, Inc., Midland, Mich., US

(72) Erfinder:
KIEFER, Garry E., Lake Jackson, TX 77566, US

(74) Vertreter:
Weickmann & Weickmann, 81679 München

(54) Bezeichnung: **TRICYCLOPOLYAZAMACROCYCLOPHOSPHONSÄUREN, IHRE KOMPLEXE UND DERIVATE, FÜR EINE VERWENDUNG ALS KONTRASTMITTEL**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

[0001] Diese Erfindung betrifft Liganden, welche Tricyclopolyazamacrocyclophosphonsäuren sind, Komplexe und Derivate davon, zur Verwendung als Kontrastmittel bei der Kernspintomographie (MRI, „Magnetic Resonance Imaging"). Um diese Erfindung besser zu verstehen, wird im folgenden Abschnitt ein kurzer Hintergrund zur MRI bereitgestellt.

[0002] Die MRI ist ein nicht invasives diagnostisches Verfahren, welches gut aufgelöste Querschnittsbilder eines weichen Gewebes innerhalb eines tierischen bzw. menschlichen Körpers, bevorzugt eines menschlichen Körpers, erzeugt. Dieses Verfahren basiert auf der Eigenschaft von bestimmten Atomkernen (z.B. Wasserprotonen), welche ein magnetisches Moment besitzen [welches durch mathematische Gleichungen definiert ist, siehe G. M. Barrow, Physical Chemistry, 3. Auflage, McGraw-Hill, NY (1973)), sich in einem angelegten Magnetfeld auszurichten. Wenn die Ausrichtung erfolgt ist, kann dieser Gleichgewichtszustand durch Anwenden eines externen Radiofrequenz (RF)-Impulses gestört werden, wodurch bewirkt wird, dass die Protonen aus der Ausrichtung mit dem Magnetfeld ausgeschwenkt werden. Wenn der RF-Impuls beendet ist, kehren die Kerne zu ihrem Gleichgewichtszustand zurück und die Zeit, welche erforderlich ist, damit dies auftritt, ist als Relaxationszeit bekannt. Die Relaxationszeit besteht aus zwei Parametern, bekannt als Spin-Gitter (T1)- und Spin-Spin (T2)-Relaxation, und es sind diese Relaxationsmessungen, welche eine Information über das Ausmaß der molekularen Organisation und der Interaktion von Protonen mit dem umgebenden Umfeld geben.

[0003] Da der Wassergehalt von lebendem Gewebe beträchtlich ist und zwischen den Gewebetypen Variationen im Gehalt und der Umgebung bestehen, werden diagnostische Bilder von biologischen Organismen erhalten, welche die Protonendichte und die Relaxationszeiten widerspiegeln. Je größer die Unterschiede in den Relaxationszeiten (T1 und T2) von Protonen sind, welche in dem zu untersuchenden Gewebe vorliegen, umso größer wird der Kontrast in dem beobachteten Bild [z.B. J. Magnetic Resonance 33, 83–106 (1979)].

[0004] Es ist bekannt, dass paramagnetische Chelate, welche einen symmetrischen elektronischen Grundzustand aufweisen, die T1- und T2-Relaxationszeiten von benachbarten Wasserprotonen dramatisch beeinflussen können, und dass die Wirksamkeit des Chelats in dieser Hinsicht teilweise mit der Zahl der ungepaarten Elektronen, welche das magnetische Moment erzeugen, verbunden ist [z.B. Magnetic Resonance Annual, 231–266, Raven Press, NY (1985)]. Es ist auch gezeigt worden, dass bei der Verabreichung eines paramagnetischen Chelats dieser Art an ein lebendes Tier bzw. einen Menschen die Wirkung auf T1 und T2 von verschiedenen Geweben direkt in den Magnetresonanz (MR)-Bildern beobachtet werden kann, wobei in den Bereichen der Chelatlokalisation ein erhöhter Kontrast beobachtet wird. Deshalb ist vorgeschlagen worden, dass stabile, nicht toxische paramagnetische Chelate Tieren bzw. Menschen verabreicht werden, um die durch die MRI erhaltene diagnostische Information zu verbessern [z.B. Frontiers of Biol. Energetics I, 752–759 (1978); J. Nucl. Med. 25, 506–513 (1984); Proc. of NMR Imaging Symp. (Oct 26–27, 1980); F. A. Cotton et al., Adv. Inorg. Chem. 634–639 (1966)]. Paramagnetische Metallchelate, welche auf diese Art und Weise verwendet werden, werden als Kontrastverstärkungsmittel oder Kontrastmittel bezeichnet.

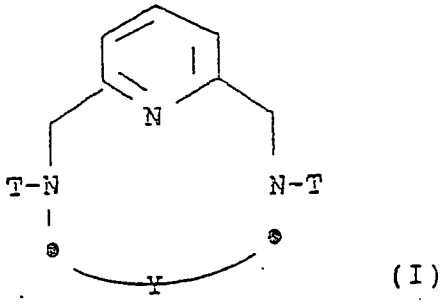
[0005] Es gibt eine Anzahl von paramagnetischen Metallionen, welche beim Durchführen des Designs eines MRI-Kontrastmittels in Betracht gezogen werden können. In der Praxis sind jedoch die am meisten verwendeten paramagnetischen Metallionen Gadolinium (Gd^{+3}), Eisen (Fe^{+3}), Mangan (Mn^{+2}) und (Mn^{+3}) und Chrom (Cr^{+3}), da diese Ionen die größte Wirkung auf Wasserprotonen ausüben, aufgrund ihrer großen magnetischen Momente. In einer nicht komplexierten Form (z.B. $GdCl_3$) sind diese Metallionen für ein Tier bzw. einen Menschen toxisch, wodurch ihre Verwendung in der einfachen Salzform ausgeschlossen ist. Deswegen ist es eine grundlegende Rolle des organischen Chelatbildners (welcher auch als ein Ligand bezeichnet wird), das paramagnetische Metall für das Tier bzw. den Menschen nicht toxisch zu machen, während der gewünschte Einfluss auf die T1- und T2-Relaxationsraten der umgebenden Wasserprotonen beibehalten wird.

[0006] Der Stand der Technik auf dem Gebiet der MRI ist ziemlich umfangreich, so dass die folgende Zusammenfassung, welche nicht vollständig sein soll, nur als eine Übersicht dieses Gebiets und von anderen Verbindungen, welche möglicherweise eine ähnliche Struktur aufweisen, bereitgestellt wird. Das US-Patent 4,899,755 offenbart ein Verfahren zum Alternieren der Protonen-NMR-Relaxationszeiten in der Leber oder dem Gallengang eines Tieres bzw. Menschen unter Verwendung von Fe^{+3}-Ethylen-bis(2-hydroxyphenylglycin)-Komplexen und deren Derivaten und schlägt unter verschiedenen anderen Verbindungen die mögliche Verwendung einer Pyridinmacrocyclomethylencarbonsäure vor. Das US-Patent 4,880,008 (eine CIP des US-Patents 4,899,755) offenbart zusätzliche Bilddaten für Lebergewebe von Ratten, wobei jedoch keine weiteren Komplexe gezeigt werden. Das US-Patent 4,980,148 offenbart Gadoliniumkomplexe für die MRI, welche nicht zyklische Verbindungen sind. C. J. Broan et al. [J. Chem. Soc., Chem. Commun., 1739–1741 (1990)] be-

schreiben einige bifunktionelle macrozyklische Phosphinsäure-Verbindungen. C. J. Broan et al. [J. Chem. Soc., Chem. Commun., 1738–1739 (1990)] beschreiben Verbindungen, welche Triazabicyclo-Verbindungen sind. I. K. Adzamli et al. [J. Med. Chem. 32, 139–144 (1989)] beschreibt azyklische Phosphonatderivate von Gadoliniumkomplexen für eine NMR-Bildgebung.

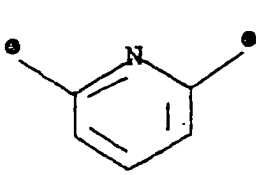
[0007] Zum gegenwärtigen Zeitpunkt sind die einzigen kommerziellen Kontrastmittel, welche in den Vereinigten Staaten erhältlich sind, der Komplex von Gadolinium mit Diethylentetraaminpentaessigsäure (DTPA-Gd^{+3}-Magnevist™ von Schering) und ein DO3A-Derivat [1,4,7-Tris(carboxymethyl)-10-(2-hydroxypropyl)-1,4,7-10-tetraazacyclododecanato]gadolinium (Prohance™ von Squibb). Magnevist™ und Prohance™ werden als nicht spezifisch/Perfusionsmittel betrachtet, da sie sich frei in der extrazellulären Flüssigkeit verteilen, gefolgt von einer wirksamen Eliminierung durch das Nierensystem. Magnevist™ hat sich als extrem wertvoll erwiesen bei der Diagnose von Gehirnerkrankungen, da der damit einhergehende Zusammenbruch der Blut-Hirn-Schranke eine Perfusion des Kontrastmittels in die betroffenen Regionen ermöglicht. Neben Magnevist™ vertreibt Guerbet kommerziell ein macrozyklisches Perfusionsmittel [1,4,7,10-Tetrakis(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecanato]gadolinium (Dotarem™), welches gegenwärtig nur in Europa erhältlich ist. Es wurde gezeigt, dass Prohance™ weniger Nebenwirkungen als Magnevist™ aufweist. Eine Anzahl von anderen möglichen Kontrastmitteln befinden sich in verschiedenen Stufen der Entwicklung.

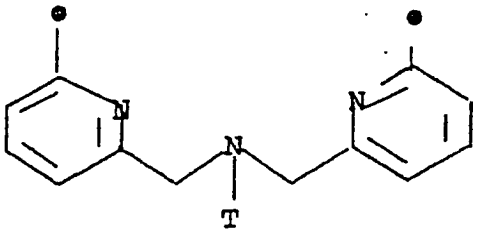
[0008] Die vorliegende Erfindung ist auf neue Liganden gerichtet, welche Tri- und Tetracyclopolyazamacrocyclo-Verbindungen sind, und Derivate davon, mit der Fomel:



(I)

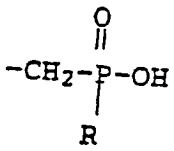
worin Y entweder





(A) oder (B) ist,

T



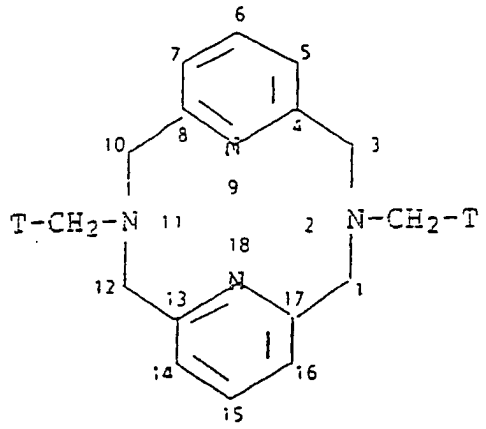
ist, worin R OH, C_1-C_5-Alkyl oder -O-(C_1-C_5-Alkyl) ist, oder pharmazeutisch akzeptable Salze davon

[0009] Wenn die obigen Liganden die Formel (I) aufweisen:
wenn R gleich OH ist, oder die pharmazeutische akzeptablen Salze davon, werden die Liganden hierin als BP2P für (A) und TP3P für (B) bezeichnet;
wenn R gleich -O-(C_1-C_5-Alkyl) ist, oder die pharmazeutisch akzeptablen Salze davon, werden die Liganden hierin als BP2(O-Alk)P für (A) und TP3(O-Alk)P für (B) bezeichnet; und
wenn R gleich C_1-C_5-Alkyl ist, oder die pharmazeutisch akzeptablen Salze davon, werden die Liganden hierin als BP2(Alk)P für (A) und TP3(Alk)P für (B) bezeichnet.

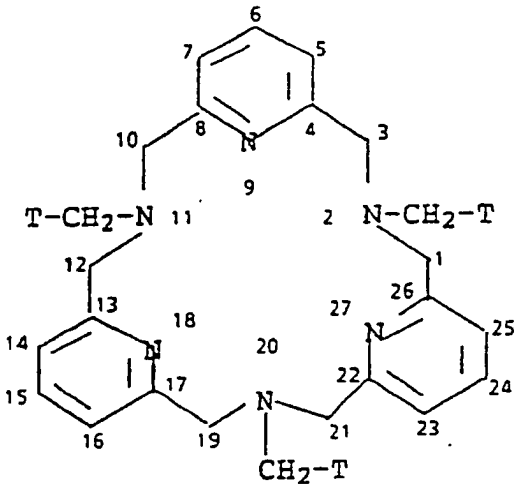
[0010] Die Komplexe dieser Erfindung können so gestaltet werden, dass eine spezifische Gesamtladung bereitgestellt wird, welche die in vivo-Biolokalisierung und den Bildkontrast in vorteilhafter Weise beeinflusst. Wenn beispielsweise das Metallion +3 ist, kann Folgendes erhalten werden:
eine Gesamtladung von –3 – wenn die Formel (I) TP3P ist, welche als Kontrastmittel für Calciumgewebe verwendbar sind;
eine Gesamtladung von –1 – wenn die Formel (I) BP2P ist, welche als Kontrastmittel für Calciumgewebe verwendbar sind;
eine Gesamtladung von 0 – wenn die Formel (I) TP3(O-Alk)P oder TP3(Alk)P ist, welche als allgemeine Perfusionskontrastmittel verwendbar sind, und
eine Gesamtladung von +1 – wenn die Formel (I) BP2(O-Alk)P oder BP2(Alk)P ist, welche als Kontrastmittel für Calciumgewebe verwendbar sind.

[0011] Die Komplexe können so formuliert werden, dass sie in pharmazeutisch akzeptabler Form für die Verabreichung an ein Tier bzw. einen Menschen vorliegen.

[0012] Die Verbindungen mit der Formel (I) sind zu Zwecken der Nomenklatur wie folgt nummeriert:



(IA)



(IB)

[0013] Ein Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft die Entwicklung von Kontrastmitteln mit synthetischen Modifikationen des paramagnetischen Chelats, welche eine ortsspezifische Lieferung des Kontrastmittels in ein gewünschtes Gewebe ermöglichen. Der Vorteil ist ein auf der Gewebeaffinität basierender verstärkter Kontrast in den Bereichen von Interesse im Gegensatz zu einem Kontrast, welcher durch eine nicht spezifische Perfusion entsteht, welcher bei einem extrazellulären Mittel sichtbar sein kann oder nicht sichtbar sein kann. Die Spezifität des Liganden mit der Formel (I) kann kontrolliert bzw. gesteuert werden durch Anpassung der

Gesamtladung und des lipophilen Charakters des Komplexes. Der Gesamtbereich der Ladung des Komplexes beträgt –3 bis +1, wie oben angegeben. Für einen Komplex mit 2 oder 3 PO_3H_2-Gruppen (BP2P und TP3P) ist beispielsweise die Gesamtladung stark negativ und es wird eine Aufnahme in Knochen erwartet, wohingegen bei einer Gesamtladung des Komplexes von 0 (folglich neutral, TP3(O-Alk)P und TP3 (Alk)P) der Komplex die Fähigkeit aufweisen kann, die Blut-Hirn-Schranke zu durchqueren und eine normale Aufnahme ins Gehirn möglich sein kann. Für einen Komplex mit einer Gesamtladung von +1 [BP2(O-Alk)P und BP2(Alk)P], zeigt der Komplex unerwarteterweise eine Aufnahme in Knochen.

[0014] Obwohl keine Bindung an eine Theorie gewünscht wird, wird angenommen, dass bei der Herstellung eines erfindungsgemäßen geladenen Komplexes (z.B. möglicherweise –3 für Knochen, –1 für Leber oder +1 für Herz) die Variationen in dieser Chelationenladung die Biolokalisierung beeinflussen können.

[0015] Eine Gewebespezifität kann auch durch eine ionische oder kovalente Anfügung des Chelats an ein natürlich vorkommendes oder synthetisches Molekül realisiert werden, welches eine Spezifität für ein gewünschtes Zielgewebe aufweist. Eine mögliche Anwendung dieses Ansatzes ist durch die Verwendung von mit Chelat konjugierten monoklonalen Antikörpern, welche das paramagnetische Chelat in ein erkranktes Gewebe transportieren, wobei eine Visualisierung durch MRI ermöglicht wird. Außerdem kann die Anfügung eines paramagnetischen Chelats an ein Macromolekül die Wirksamkeit des Kontrastmittels weiter steigern, wodurch im Vergleich zu dem nicht gebundenen Chelat ein verbesserter Kontrast erreicht wird. Eine neuere Arbeit von Lauffer (US-Patente 4,880,008 und 4,899,755) hat gezeigt, dass Variationen in der Lipophilie gewebespezifische Mittel ergeben können und dass der verstärkte lipophile Charakter nicht kovalente Wechselwirkungen mit Blutproteinen begünstigt, was in der Verbesserung der Relaxivität resultiert.

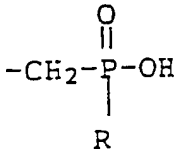
[0016] Die in Formel (I) und für diese Erfindung verwendeten Begriffe werden weiterhin wie folgt definiert:
"C_1-C_5-Alkyl" umfasst sowohl gerade als auch verzweigtkettige Alkylgruppen.
"Tier bzw. Mensch" umfasst einen warmblütigen Säuger, bevorzugt einen Menschen.
"Komplex" bezieht sich auf einen Komplex der erfindungsgemäßen Verbindung, z.B. mit der Formel (I), komplexiert mit einem Metallion, wobei mindestens ein Metallatom cheliert oder maskiert ist.
"Biologisch aktives Material" bezieht sich auf ein Dextran, ein Peptid oder auf Moleküle, welche eine spezifische Affinität für einen Rezeptor aufweisen, oder bevorzugt auf Antikörper oder Antikörperfragmente.
"Antikörper" bezieht sich auf einen beliebigen polyklonalen, monoklonalen, chimären Antikörper oder Heteroantikörper, bevorzugt einen monoklonalen Antikörper; "Antikörperfragment" umfasst Fab-Fragmente und $F(ab)'_2$-Fragmente und einen beliebigen Teil eines Antikörpers mit einer Spezifität gegenüber einem gewünschten Epitop oder Epitopen. Wenn der Begriff "radioaktives Metallchelat/Antikörperkonjugat" oder "Konjugat" verwendet wird, soll der "Antikörper" ganze Antikörper und/oder Antikörperfragmente umfassen, einschließlich halbsynthetischer oder genetisch veränderter Varianten von diesen. Mögliche Antikörper sind 1116-NS-19-9 (Antikörper gegen kolorektales Karzinom), 1116-NS-3d (anti-CEA), 703D4 (Antikörper gegen humanen Lungenkrebs), 704A1 (Antikörper gegen humanen Lungenkrebs), CC49, CC83 und B72.3. Die Hybridomzelllinien 1116-NS-19-9, 1116-NS-3d, 703D4, 704A1, CC49, CC83 und B72.3 sind bei der "American Type Culture Collection" hinterlegt, wobei sie Kennnummern ATCC HB 8059, ATCC CRL 8019, ATCC HB 8301, ATCC HB 8302, ATCC HB 9459, ATCC HB 9453 bzw. ATCC HB 8108 aufweisen.

[0017] Die hierin beschriebenen bifunktionellen Chelatbildner [dargestellt durch die Formel (I)] können verwendet werden, um die Metallionen zu chelieren oder zu maskieren, um so Metallionenchelate (welche hierin auch als "Komplexe" bezeichnet werden) zu bilden.

[0018] Wie hierin verwendet, bedeuten "pharmazeutisch akzeptable Salze" ein beliebiges Salz oder Gemische von Salzen einer Verbindung mit der Formel (I), welche in ausreichendem Maße nicht toxisch ist, um bei der Diagnose von Tieren bzw. Menschen, bevorzugt Säugern, nützlich zu sein. Folglich sind die Salze in Zusammenhang mit dieser Erfindung verwendbar. Repräsentative Beispiele dieser Salze, welche durch Standardreaktionen sowohl aus organischen als auch anorganischen Quellen gebildet werden, umfassen beispielsweise Schwefelsäure, Salzsäure, Phosphorsäure, Essigsäure, Bernsteinsäure, Zitronensäure, Milchsäure, Maleinsäure, Fumarsäure, Palmitinsäure, Cholinsäure, Palmoinsäure, Schleimsäure, Glutaminsäure, Glukonsäure, d-Camphersäure, Glutarsäure, Glykolsäure, Phthalsäure, Tartarsäure, Ameisensäure, Laurinsäure, Stearinsäure, Salicylsäure, Methansulfonsäure, Benzolsulfonsäure, Sorbinsäure, Pikrinsäure, Benzoesäure, Zimtsäuren und andere geeignete Säuren. Ebenso sind Salze umfasst, welche durch Standardreaktionen sowohl aus organischen als auch anorganischen Quellen gebildet werden wie etwa Ammonium oder 1-Desoxy-1-(methylamino)-D-glucitol, Alkalimetallionen, Erdalkalimetallionen und andere ähnliche Ionen. Besonders bevorzugt sind die Salze der Verbindungen mit der Formel (I), wobei das Salz Kalium, Natrium oder Ammonium ist. Ebenso sind Gemische der obigen Salze umfasst.

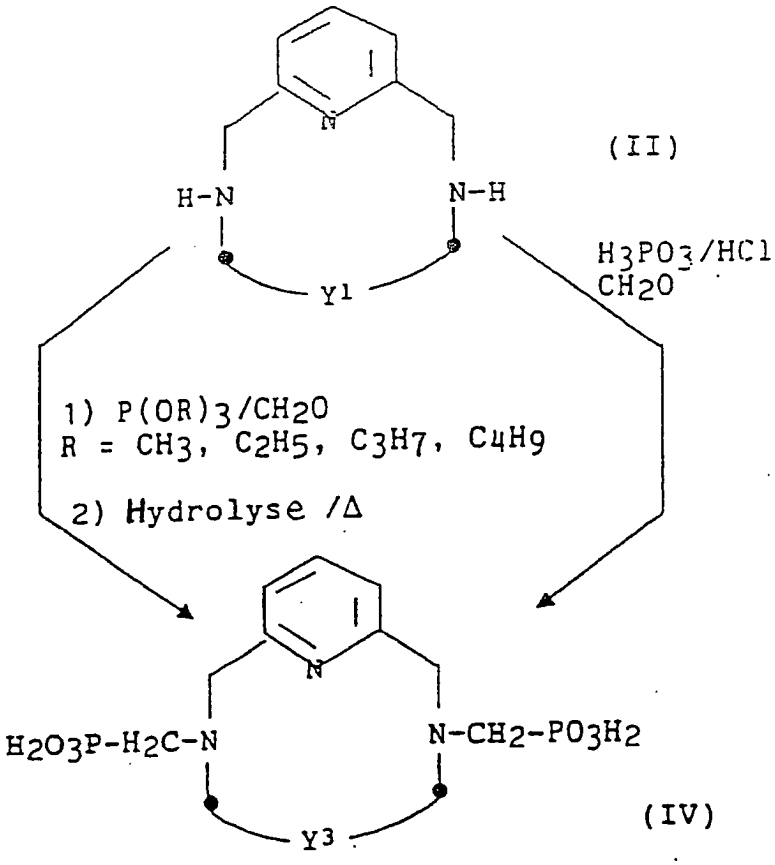
[0019] Die Verbindungen mit der Formel (I) werden durch verschiedene Verfahren hergestellt. Typische allgemeine synthetische Vorgehensweisen bei solchen Verfahren werden durch die unten angegebenen Reaktionschemata bereitgestellt.

[0020] In Schema 2 (ein Schema 1 ist nicht vorhanden) werden die Verbindungen mit der Formel (I) hergestellt, worin Y (A) oder (B) ist, und alle T-Anteile



darstellen, worin: R OH ist.

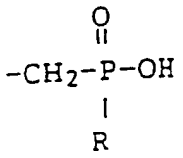
Schema 2



worin: Y^1 wie zuvor für Y definiert ist, wenn bei (A) und wenn bei (B) das Stickstoffatom mit Wasserstoff substituiert ist; Y^3 wie zuvor für Y definiert ist, wenn bei (A) und wenn bei (B) das Stickstoffatom mit CH_2-PO_3H_2 substituiert ist.

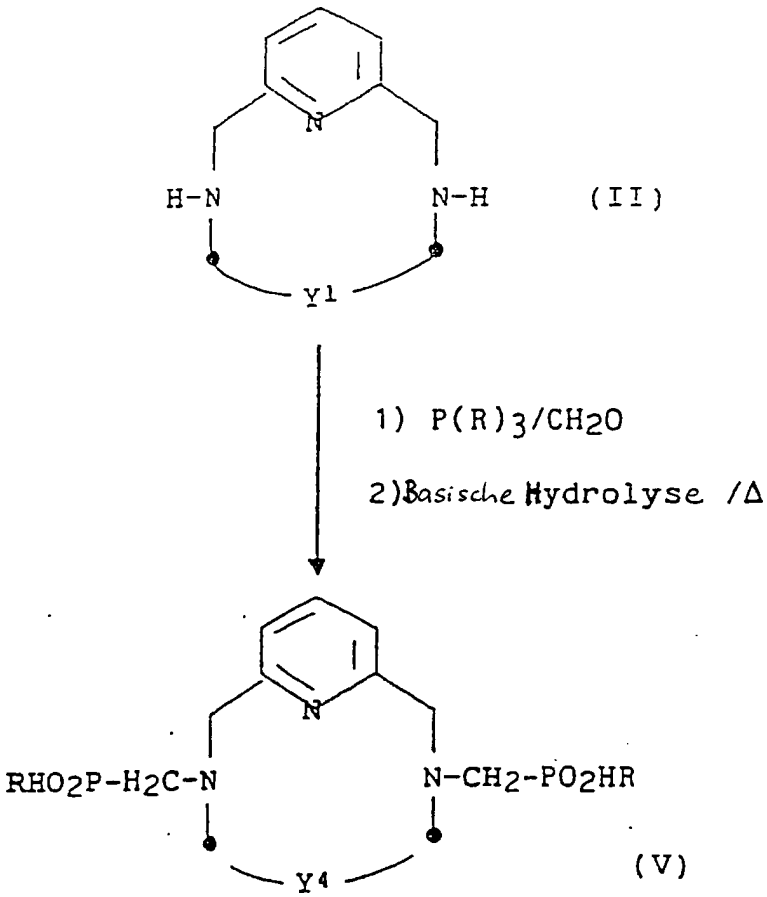
[0021] Die Hydrolyse in Schema 2 wird durchgeführt mittels bekannter wässriger saurer Bedingungen, wie etwa die Verwendung von 3–12 M Salzsäure. Der pH der Reaktion wird unterhalb von 3 gehalten. Die Temperatur ist bei Rückflusstemperatur. Der Druck ist nicht kritisch, so dass Umgebungsdruck verwendet wird. Wenn die Reaktion in einem Schritt läuft, werden alternativ Phosphorsäure, Salzsäure und Formaldehyd im Überschuss verwendet. Der pH der Reaktion ist unter 2. Die Temperatur ist bei Rückfluss. Der Druck ist nicht kritisch, so dass Umgebungsdruck verwendet wird.

[0022] In Schema 3 werden die Verbindungen mit der Formel (I) hergestellt, worin Y (A) oder (B) ist, alle T-Anteile



darstellen, worin R -O-(C_1-C_5-Alkyl) ist.

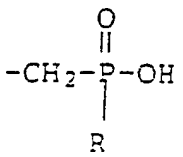
Schema 3



worin Y^1 wie zuvor für Y definiert ist, wenn bei (A) und wenn bei (B) das Stickstoffatom mit Wasserstoff substituiert ist, Y^4 wie zuvor für Y definiert ist, wenn bei (A) und wenn bei (B) das Stickstoffatom mit -CH_2-PO_2HR substituiert ist; und R -O-(C_1-C_5-Alkyl) ist.

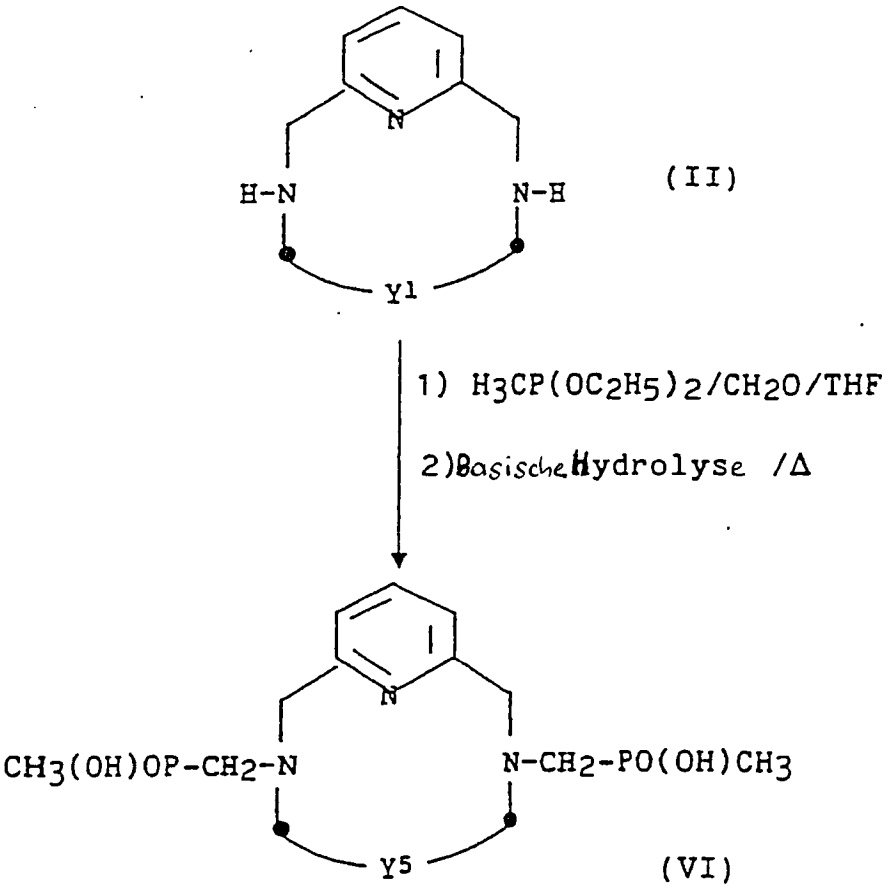
[0023] Die Hydrolyse im Schema 3 wird unter bekannten wässrigen basischen Bedingungen durchgeführt, wie etwa die Verwendung eines Alkalimetallhydroxids im Überschuss, wie etwa Natrium- oder Kaliumhydroxid. Der pH der Reaktion ist oberhalb von 9. Die Temperatur ist bei Rückfluss. Der Druck ist nicht kritisch, so dass Umgebungsdruck verwendet wird.

[0024] In Schema 4 werden die Verbindungen mit der Formel (I) hergestellt, worin Y (A) oder (B) ist, alle T-Anteile



darstellen, worin R C_1-C_5-Alkyl ist.

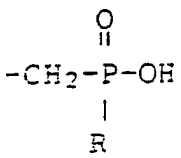
[0025] Das Schema 4 zeigt die Herstellung der Verbindungen mit der Formel (I), wenn R Methyl ist.



worin: Y^1 wie zuvor für Y definiert ist, wenn bei (A) und wenn bei (B) das Stickstoffatom mit Wasserstoff substituiert ist; Y^5 wie zuvor für Y definiert ist, wenn bei (A) und wenn bei (B) das Stickstoffatom mit $-CH_2-PO(OH)CH_3$ substituiert ist.

[0026] Die Hydrolyse in Schema 4 wird unter bekannten wässrigen basischen Bedingungen durchgeführt, wie etwa unter Verwendung eines Alkalimetallhydroxids im Überschuss, wie etwa Natrium- oder Kaliumhydroxid. Der pH der Reaktion ist oberhalb von 9. Die Temperatur ist bei Rückfluss. Der Druck ist nicht kritisch, so dass Umgebungsdruck verwendet wird.

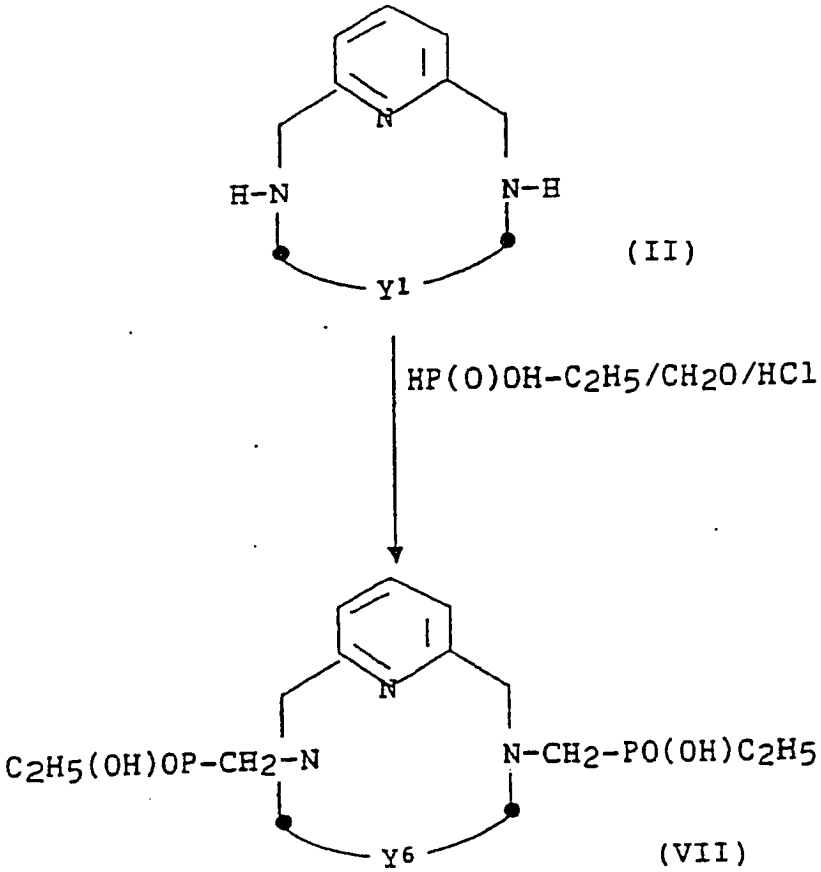
[0027] In Schema 5 werden die Verbindungen mit der Formel (I) hergestellt, worin Y (A) oder (B) ist, alle T-Anteile



darstellen, worin: R C_1-C_5-Alkyl ist.

[0028] Schema 5 zeigt die Herstellung der Verbindungen mit der Formel (I), wenn R Ethyl ist.

Schema 5

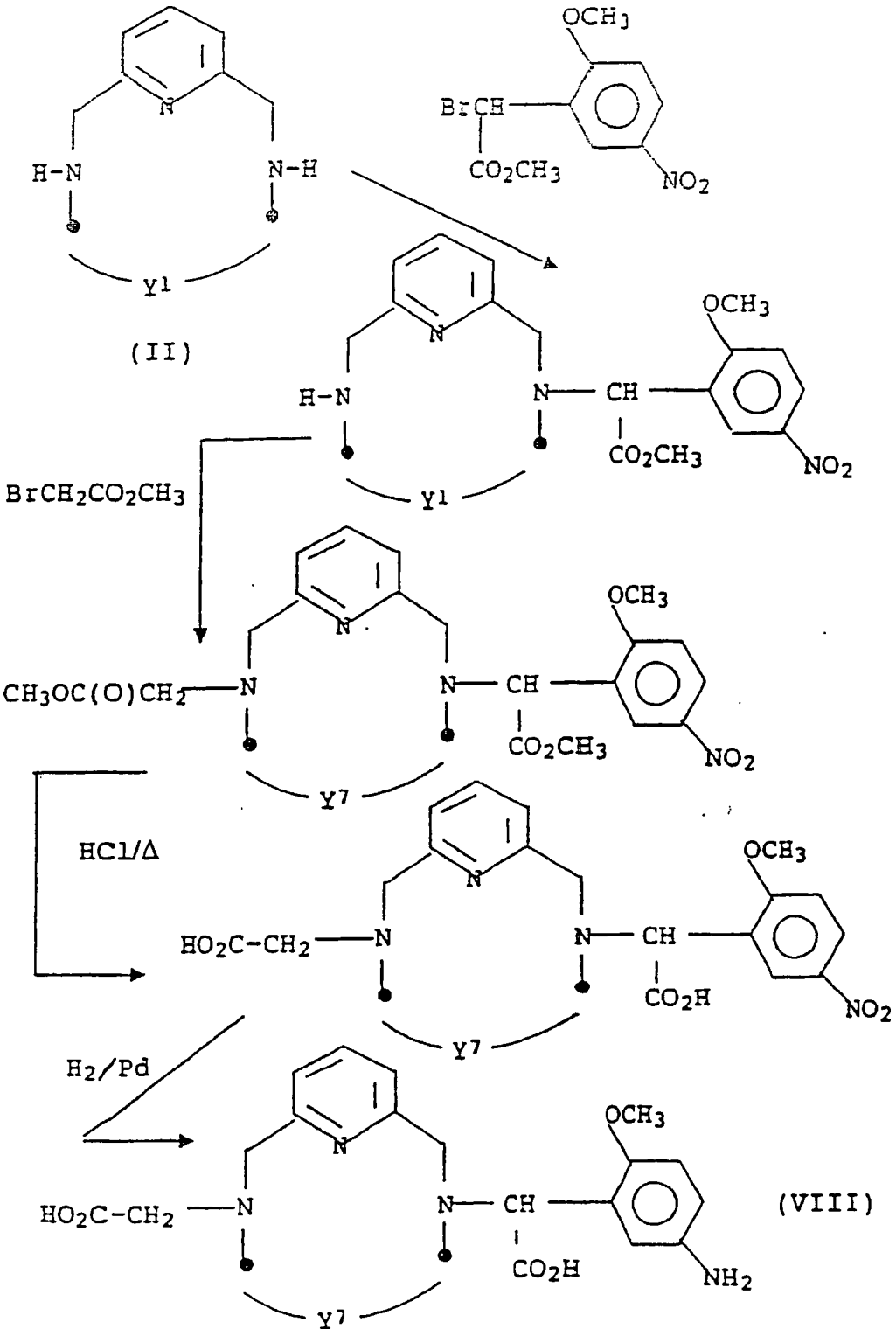


worin: Y^1 wie zuvor für Y definiert ist, wenn bei (A) und wenn bei (B) das Stickstoffatom mit Wasserstoff substituiert ist, Y^6 wie zuvor für Y definiert ist, wenn bei (A) und wenn bei (B) das Stickstoffatom mit $-CH_2-PO(OH)C_2H_5$ substituiert ist.

[0029] Das Reaktionsschema von 5 ist unter sauren Bedingungen mit einer Salzsäure. Der pH der Reaktion ist unterhalb von 3. Die Temperatur ist bei Rückfluss. Der Druck ist nicht kritisch, so dass Umgebungsdruck verwendet wird.

[0030] Schema 6 zeigt die Herstellung der Verbindungen mit der Formel (I), wenn ein T ein bifunktioneller Anteil ist und das andere T wie zuvor für die Formel (I) definiert ist.

Schema 6



worin Y^1 wie zuvor für Y definiert ist, wenn bei (A) und wenn bei (B) das Stickstoffatom mit Wasserstoff substituiert ist, Y^7 wie zuvor für Y definiert ist und wenn bei (A) und wenn bei (B) das Stickstoffatom mit $-CH_2-CO_2H$ substituiert ist.

[0031] Bei den obigen Schemata veranschaulicht die allgemeine Verfahrensbeschreibung spezifische Schritte, welche verwendet werden können, um einen gewünschten Reaktionsschritt durchzuführen. Die allgemeine Beschreibung dieser Verfahrensschritte folgt.

[0032] Die allgemeine Synthesemethodik zur Herstellung von macrocyclischen 2:2 und 3:3 Vorläufern, welche in den Schemata 2–6 skizziert ist, wird von Pappalerdo et al., J. Org. Chem. 53, 3521–3529 (1988) be-

schrieben. Die in Schema 1 beschriebenen Carboxylatderivate werden durch konventionelle Alkylierungsverfahren unter Verwendung von Chlor- oder Bromessigsäure unter basischen wässrigen Bedingungen und unter Verwendung des geeigneten macrocyclischen Sekundäramin-Ausgangsmaterials hergestellt.

[0033] Die in Schema 2 skizzierten Phosphonsäurederivate können hergestellt werden durch einen anfängliche Alkylierung des Amins mit einem Trialkylphosphit und Paraformaldehyd, was einen organischen löslichen Perester ergibt. Dieser Ester wird dann unter refluxierenden sauren Bedingungen hydrolysiert und ergibt die gewünschten Aminosphosphonsäuren. Alternativ kann die Phosphonsäure unter sauren Bedingungen hergestellt werden durch Verwendung von Phosphorsäure in Kombination mit Formaldehyd und Salzsäure.

[0034] Phosphonathalbester werden hergestellt, wie in Schema 3 gezeigt, durch anfängliche Bildung des Dialkylphosphonatesters, gefolgt von einer Hydrolyse unter basischen Bedingungen. Die basische Hydrolyse ergibt ausschließlich eine Umwandlung in den Halbester.

[0035] Schema 4 veranschaulicht die Methodik für die Synthese der Methylphosphinatderivate unter Verwendung von Diethoxymethylphosphin als das Nukleophil und Paraformaldehyd. Die Kondensation kann in Lösungsmitteln durchgeführt werden wie etwa Tetrahydrofuran (THF), Dimethylformamid (DMF), Dioxan, Acetonitril oder alkoholischen Medien. Der resultierende Phosphinatester wird dann unter sauren Bedingungen (z.B. 6N HCl, 80–100°C) oder basischen Bedingungen (Basenüberschuss, 40–100°C) hydrolysiert und ergibt die entsprechende Methylphosphonsäure. Wie in Schema 5 skizziert, kann alternativ das von A. D. Sherry et al. (Inorg. Chem., eingereicht 1991) entwickelte Verfahren unter Verwendung in situ erzeugter Ethylphosphonsäure verwendet werden, um Phosphinatderivate mit verstärktem lipophilen Charakter zu erhalten.

[0036] Schema 6 veranschaulicht die Herstellung von bifunktionellen Verbindungen mit der Formel (I), welche dann an ein biologisch aktives Material angefügt werden können.

[0037] Die Metallionen, welche zur Bildung der Komplexe dieser Erfindung verwendet werden, sind Gd^{+3}, Mn^{+2}, Fe^{+3}, und sind kommerziell erhältlich, z.B. von der Aldrich Chemical Company. Das vorliegende Anion ist ein Halogenid, bevorzugt Chlorid, oder salzfrei (Metalloxid).

[0038] Ein "paramagnetisches Nuklid" dieser Erfindung bedeutet ein Metallion, welches einen Spin-Drehimpuls und/oder einen Bahndrehimpuls zeigt. Eine Kombination der zwei Arten von Impulsen ergibt das beobachtete paramagnetische Moment auf eine Art und Weise, welche in hohem Maße von den Atomen abhängt, welche das ungepaarte Elektron tragen, und in einem geringeren Ausmaß von der Umgebung solcher Atome. Die paramagnetischen Nuklide, welche sich in der Praxis der Erfindung als nützlich erwiesen haben, sind Gadolinium (Gd^{+3}), Eisen (Fe^{+3}) und Mangan (Mn^{+2}), wobei Gd^{+3} bevorzugt ist.

[0039] Die Komplexe werden durch im Fachgebiet gut bekannte Verfahren hergestellt. Siehe folglich beispielsweise "Chelating Agents and Metal Chelates", Dwyer & Meilor, Academic Press (1964), Kapitel 7. Siehe auch Verfahren zur Herstellung von Aminosäuren in "Synthetic Production and Utilization of Amino Acids", (editiert von Kameko et al.), John Wiley & Sons (1974). Ein Beispiel für die Herstellung eines Komplexes umfasst die Umsetzung einer Bicyclopolyazamacrocyclophosphonsäure mit dem Metallion unter wässrigen Bedingungen bei einem pH von 5–7. Der Komplex wird durch eine chemische Bindung gebildet und ergibt eine stabile paramagnetische Nuklidzusammensetzung, z.B. stabil gegenüber der Trennung des paramagnetischen Nuklids von dem Liganden.

[0040] Die erfindungsgemäßen Komplexe werden in einem molaren Ligand zu Metall-Verhältnis von mindestens etwa 1:1, bevorzugt von 1:1 bis 3:1, mehr bevorzugt von 1:1 bis 1,5:1 verabreicht. Ein großer Überschuss an Ligand ist nicht erwünscht, da der nicht komplexierte Ligand für das Tier bzw. den Menschen toxisch sein kann und in einem Herzstillstand oder hypokalzämischen Krämpfen resultieren kann.

[0041] Diese Erfindung wird verwendet mit einem physiologisch akzeptablen Träger, Hilfsstoff oder Vehikel dafür. Die Verfahren zur Herstellung solcher Formulierungen sind gut bekannt. Die Formulierungen können in Form einer Suspension, einer injizierbaren Lösung oder in Form von anderen geeigneten Formulierungen vorliegen. Es können physiologisch akzeptable Suspensionsmedien mit oder ohne Hilfsstoffe verwendet werden.

[0042] Für die Diagnose wird eine "wirksame Menge" der Formulierung verwendet. Die Dosis variiert in Abhängigkeit von der Erkrankung und den physikalischen Parametern des Tieres bzw. Menschen, wie etwa dem Gewicht. Es ist auch eine in vivo-Diagnostik unter Verwendung von Formulierungen dieser Erfindung vorgesehen.

[0043] Andere Verwendungen von einigen dieser Chelatbildner der vorliegenden Erfindung können die Entfernung von unerwünschten Metallen (z.B. Eisen) aus dem Körper, die Anfügung an polymere Träger für verschiedene Zwecke, z.B. als diagnostische Mittel, und die Entfernung von Metallionen durch selektive Extraktion umfassen. Die Liganden mit der Formel (I), welche an mindestens zwei R-Bezeichnungen T gleich P(O)R'OH aufweisen, können für eine Metallionenkontrolle zur Kesselsteinverhütung („scale inhibition") verwendet werden. Einige dieser Liganden können in geringeren als stöchiometrischen Menge verwendet werden. Ähnliche Verwendungen sind bekannt für die Verbindungen, welche in den US-Patenten 2,609,390, 3,331,773, 3,336,221 und 3,434,969 beschrieben werden.

[0044] Die Erfindung wird weiterhin durch eine Betrachtung der folgenden Beispiele erklärt, welche lediglich Beispiele der vorliegenden Erfindung darstellen sollen.

[0045] Einige Begriffe, welche in den folgenden Beispielen verwendet werden, werden wie folgt definiert:

LC = Flüssigchromatographie, die Reinigungen wurden durchgeführt bei einem geringen Druck unter Verwendung eines Dionex 2010i-Systems, ausgestattet mit einer handgepackten Q-Sepharose™-Anionenaustauschsäule (23 × 2 cm).
DMF = Dimethylformamid
AcOH = Essigsäure
g = Gramm
kg = Kilogramm
ml = Milliliter
µl = Mikroliter

Allgemeines Verfahren zur pH-Stabilität

[0046] Es wurde eine $^{159}GdCl_3$ (oder $^{153}SmCl_3$)-Stammlösung hergestellt durch Zugabe von 2 µl 3 × 10^{-4} M $^{159}GdCl_3$ in 0,1 N HCl zu 2 ml einer 3 × 10^{-4} M $GdCl_3$-Trägerlösung. Dann wurden geeignete Ligandenlösungen in deionisiertem Wasser hergestellt. Die 1:1-Ligand/Metall-Komplexe wurden dann hergestellt durch Kombination der Liganden (gelöst in 100–500 µl deionisiertem Wasser) mit 2 ml der $^{158}GdCl_3$-Stammlösung, gefolgt von einem gründlichen Mischen, um eine saure Lösung (pH = 2) zu erhalten. Der pH der Lösung wurde dann unter Verwendung von 0,1 N NaOH auf 7,0 angehoben. Der Prozentanteil Metall als ein Komplex wurde dann bestimmt durch Leiten einer Probe der Komplexlösung durch eine Sephadex™ G-50-Säule, Eluieren mit 4:1 Saline (85% NaCl/NH_4OH) und Sammeln von 2 × 3 ml-Fraktionen. Die Menge der Radioaktivität in den vereinigten Elutionen wurde dann verglichen mit der Radioaktivität, welche auf dem Harz verblieben ist (nicht komplexiertes Metall wird auf dem Harz festgehalten). Das pH-Stabilitätsprofil wurde erzeugt durch Anpassen des pHs eines Aliquots der Komplexlösung unter Verwendung von 1 M NaOH oder 1 M HCl und Bestimmen des Prozentanteils des Metalls, welches als ein Komplex vorliegt, unter Verwendung des oben beschriebenen Ionenaustauschverfahrens. Durch experimentellen Vergleich ist bekannt, dass die Sm-Ergebnisse für die Komplexierung und Bioverteilung der Liganen dieser Erfindung identisch sind.

Synthese der Liganden

Allgemeine Materialien und Verfahren

[0047] Alle Reagenzien wurden von kommerziellen Anbietern erhalten und wie erhalten ohne weitere Reinigung verwendet. Solange nichts anderes angegeben ist, wurden die NMR-Spektren auf einem Broker AC-250 MHz-Spektrometer aufgezeichnet, welcher mit einer multinuklearen Vierfachsonde (^1H, ^{13}C, ^{31}P und ^{19}F) ausgestattet war, bei 297°K. ^1H-Spektren in D_2O wurden aufgezeichnet durch Anwenden einer Lösungsmittelunterdrückungs-Impulssequenz ("PRESAT", homonukleare Vorsättigung). ^1H-Spektren werden auf zurückbleibendes Chloroform (in $CdCl_3$) bei δ 7.26 oder externes Dioxan (in D_2O) bei δ 3.55 bezogen. Die beschriebenen ^{13}C- und 31P-Spektren sind protonenentkoppelt (Breitband). Zuordnungen von ^{13}C {^1H} chemischen Verschiebungen wurden unterstützt durch DEPT („Distortionless Enhancement by Polarization Transfer")-Experimente. ^{13}C {^1H}-Spektren werden auf den Zentralpeak von $CdCl_3$ bei δ 77.00 (in $CdCl_3$) und externem Dioxan bei δ 66.66 (in D_2O) bezogen. ^{31}P {^1H}-Spektren wurden bezogen auf extern 85% H_3PO_4 bei δ 0.00. Die Schmelzpunkte wurden bestimmt durch Kapillarschmelzverfahren und wurden nicht korrigiert. Halbpräparative Ionenaustauschchromatographieauftrennungen wurden bei geringem Druck (< 600 psi) durchgeführt unter Verwendung einer Standardglassäule, ausgestattet mit einer Glassäule mit handgepackter Q-Sepharose™ (Anionenaustausch) oder SP-Sepharose™ (Kationenaustausch), und mit einem Online-UV-Detektor bei 263 nm für die Überwachung des Eluats.

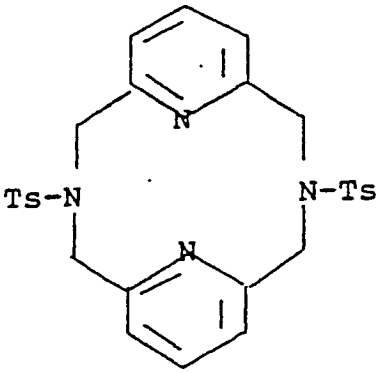
[0048] GC/MS-Spektren wurden durchgeführt auf einem Hewlett Packard 5890A Gaschromatograph/5970 massenselektiven Detektor.

Ausgangsmaterialien

Beispiel A

Herstellung von N,N'-Ditosyl-2,11-diaza[3.3](2,6)pydinophan.

[0049] Zu einer gerührten Lösung von Tosylamid, Natriumsalz (TsNHNa), (13,52 g, 70 mmol) in wasserfreiem DMF (1,3 l) bei 80°C wurde tropfenweise (1,5 h) unter einer N_2-Atmosphäre eine Lösung von 2,6-Bis(chlormethyl)pyridin (12,32 g, 70 mmol) in DMF (200 ml) zugegeben. Nach 1 h wurde festes TsNHNa (13,52 g, 70 mmol) auf einmal zugegeben und das Gemisch wurde bei 80°C für weitere 16 h gerührt. Dann wurde das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur abgekühlt und abgeschüttet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der resultierende Rückstand wurde mit Aceton vereinigt und filtriert und ergab einen wachsförmigen Feststoff, welcher kontinuierlich mit Aceton (300 ml) für 48 h extrahiert wurde (Soxlet). Das Produkt wurde als das Präzipität am Boden des Heizkolbens isoliert. Nach dem Trocknen wurde das Produkt als ein weißes Pulver isoliert (5,24 g, 27%): mp = 246–248°C, und wird weiter charakterisiert durch:
^{1}H NMR (DMSO-d6)
δ 2,42, (s, 6H), 4,38 (s, 8H), 6,99 (d, 4H), 7,40–7,49 (m, 6H), 7,88 (d, 4H); und
^{13}C {^{1}H} NMR (DMSO-d6)
δ 20,91, 55,55, 122,12, 126,92, 129,88, 135,99, 137,03, 143,30, 154,71; und wird die Formel

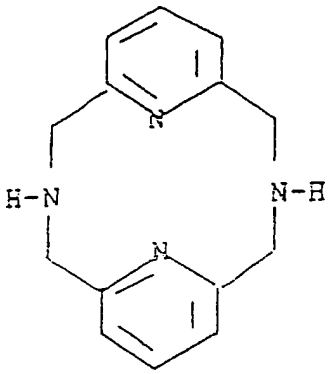


veranschaulicht.

Beispiel B

Herstellung von 2,11-Diaza[3.3](2,6)pydinophan.

[0050] N,N'-Ditosyl-2,11-diaza[3,3](2,6)pydinophan (5,24 g, 9,5 mmol), hergestellt in Beispiel A, wurde in 90% H_2SO_4 (48 ml) gelöst und bei 110°C unter Rühren für 2 h erwärmt. Nachdem die Lösung auf Raumtemperatur abgekühlt war, wurde sie langsam mit deionisiertem Wasser (50 ml) verdünnt, während sie in einem Eisbad gekühlt wurde. Die resultierende Lösung wurde dann in eine 25%-ige NaOH-Lösung (200 ml) geschüttet, welche in einem Eisbad gekühlt wurde. Der resultierende weiße Feststoff wurde mit $CHCl_3$ (3 × 100 ml) extrahiert, über wasserfreiem $MgSO_4$ getrocknet, filtriert und im Vakuum zur Trockne aufkonzentriert und ergab das Titelprodukt als einen wachsförmigen weißen Feststoff (1,69 g, 74%), und wird weiterhin charakterisiert durch:
^{1}H NMR ($CDCl_3$)
δ 3,91 (s, 8H), 6,47 (d, 4H), 7,06 (t, 2H); und
^{13}C {^{1}H} NMR ($CDCl_3$)
δ 55,89, 119,73, 135,71, 159,36;
CG/Massenspektrum m/z M + 240; und wird durch die Formel

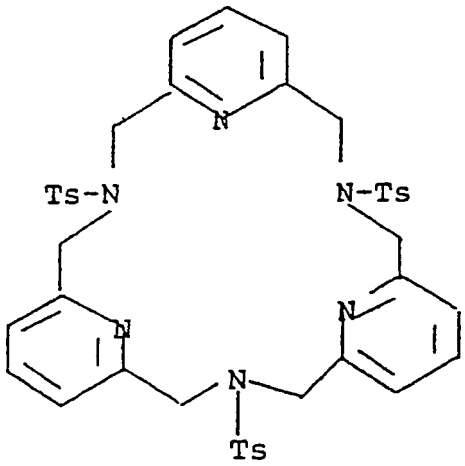


veranschaulicht.

Beispiel C

Herstellung von N,N',N''-Tritosyl-2,11,20-triaza[3.3.3](2,6)pydinophan.

[0051] Isoliert als ein Nebenprodukt aus der Reaktion, welche für die Herstellung von N,N'-Ditosyl-2,11-diaza[3.3](2,6)pydinophan verwendet wurde, welches in Beispiel A hergestellt wurde (verbleibender Teil des Extraktionshülse nach der Soxlet-Extraktion), Schmelzpunkt 260–262°C, und wird weiter charakterisiert durch:
^{1}H NMR (DMSO-d6)
δ 2,31 (s, 9H), 4,08 (s, 12H), 7,01 (d, 4H), 7,30 (d, 6H), 7,52 (t, 3H), 7,67 (d, 6H); und
^{13}C {^{1}H} NMR (DMSO-d6)
δ 20,92, 54,03, 120,55, 127,13, 129,83, 135,12, 136,83, 143,45, 155,47; und wird durch die Formel

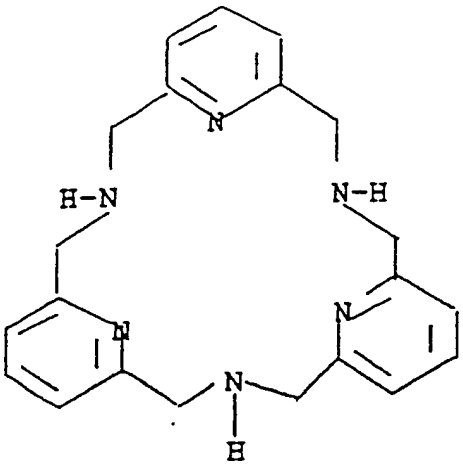


veranschaulicht.

Beispiel D

Herstellung von 2,11,20-Triaza[3.3](2,6)pydinophan.

[0052] N,N,N''-Tritosyl-2,11,20-triaza[3.3](2,6)pydinophan (0,5 g, 0,61 mmol), hergestellt in Beispiel C, wurde in 90% H_2SO_4 (6 ml) gelöst und bei 110°C unter Rühren für 2 h erwärmt. Dann wurde die Lösung auf Raumtemperatur abgekühlt und langsam mit deionisiertem Wasser (6 ml) verdünnt, während in einem Eisbad gekühlt wurde. Die resultierende Lösung wurde dann in eine 25%-ige NaOH-Lösung (22 ml) geschüttet, welche in einem Eisbad gekühlt wurde. Der resultierende weiße Feststoff wurde mit $CHCl_3$ (2 × 30 ml) extrahiert, über wasserfreiem $MgSO_4$ getrocknet, filtriert und im Vakuum zur Trockene aufkonzentriert und ergab das Titelprodukt als einen wachsförmigen weißen Feststoff (0,167 g, 76%), und wurde weiter charakterisiert durch:
^{1}H NMR ($CDCl_3$)
δ 3,03 (s, 3H), 3,93 (s, 12H), 7,08 (d, 6H), 7,54 (t, 3H); und
^{13}C {^{1}H} NMR ($CDCl_3$)
δ 54,58, 120,72, 136,50, 158,64;
GC/Massenspektren m/z M + 360; und wird durch die Formel

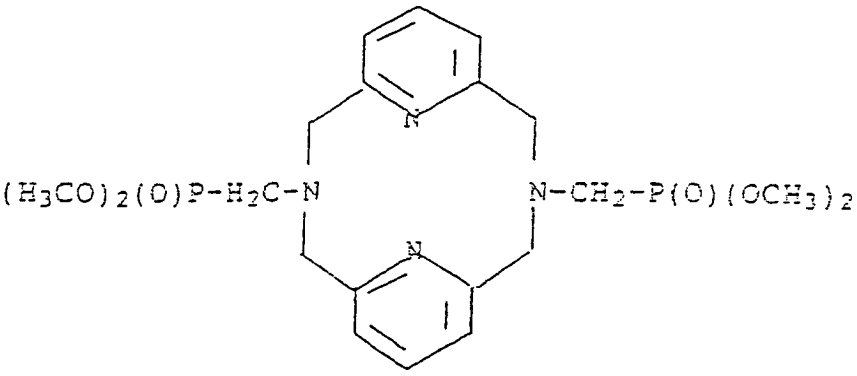


veranschaulicht.

Beispiel E

[0053] Herstellung von N,N-bis(Methylendimethylphosphonat)-2,11-diaza[3.3](2,6) pydinophan.

[0054] Das in Beispiel 2 hergestellte Produkt, 2,11-Diaza[3:3](2,6)pydinophan (276,4 mg, 1,15 mmol) wurde mit Paraformaldehyd (138 mg, 4,60 mmol, Überschuss) und Trimethylphosphit (0,814 ml, 855 mg, 4,60 mmol, Überschuss) vereinigt. Nachdem das Gemisch sanft für 10 min gerührt wurde, um eine gut gemischte Aufschlämmung zu erhalten, wurde es auf 85°C erwärmt und so für 1 h gehalten. Nachdem die überschüssigen Reagenzien und Nebenprodukte im Vakuum entfernt worden waren (1 h bei 110°C/0,01 mm Quecksilber), wurde der braune Rückstand in $CHCl_3$ (10 ml) gelöst und mit deionisiertem Wasser gewaschen (5 × 15 ml). Die organische Schicht wurde über wasserfreiem $MgSO_4$ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, um das Produkt als einen gelben wachsförmigen Feststoff (363 mg, 65%) zu erhalten, und wurde weiter charakterisiert durch:
^1H NMR ($CDCl_3$)
δ 3,39 (d, 4H), 3,88 (d, 12H), 4,08 (s, 8H), 6,84 (d, 4H), 7,13 (t, 2H); und
^{13}C {^1H} NMR ($CDCl_3$)
δ 52,75 (d), 54,88 (d), 65,21 (d), 122,71, 135,69, 157,14; und
^{31}P NMR ($CDCl_3$)
δ 27,22; und wird durch die Formel



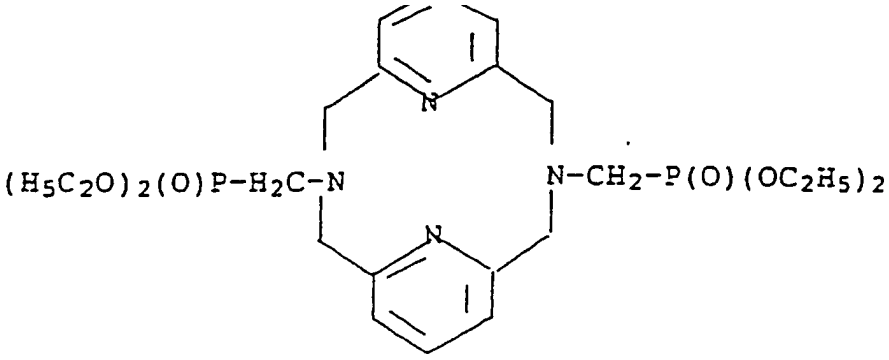
veranschaulicht.

Beispiel F

Herstellung von N,N'-Bis(methylendiethylphosphonat)-2,11-diaza[3.3](2,6) pydinophan.

[0055] Das in Beispiel B hergestellte Produkt, 2,11-Diaza[3.3](2,6)pydinophan (0,47 g, 1,96 mmol) wurde mit Paraformaldehyd (235 mg, 7,84 mmol, Überschuss) und Triethylphosphit (1,34 ml, 1,30 g, 7,84 mmol, Überschuss) vereinigt. Nachdem das Gemisch für 10 min sanft gerührt worden war, um eine gut gemischte Aufschlämmung zu erhalten, wurde es für 1 h auf 90°C erwärmt. Nachdem die überschüssigen Reagenzien und Nebenprodukte im Vakuum entfernt worden waren (1 h bei 125°C/0,01 mm Quecksilber), wurde der resultie-

rende dunkelbraune Rückstand in $CHCl_3$ (20 ml) gelöst und mit deionisiertem Wasser (5 × 15 ml) gewaschen. Die organische Schicht wurde über wasserfreiem $MgSO_4$ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, um das Produkt als einen gelben wachsförmigen Feststoff (957 mg, 91%) zu erhalten, und wurde weiterhin charakterisiert durch:
^{1}H NMR ($CDCl_3$)
δ 1,24 (t, 12H), 3,20 (d, 4H), 3,94 (s, 8H), 4,07 (q, 8H), 6,71 (d, 4H), 6,98 (t, 2H); und
^{13}C {^{1}H} NMR ($CDCl_3$)
δ 16,48, 55,36 (d), 61,75 (d), 65,14 (d), 122,52, 135,41, 157,04; und
^{31}P {^{1}H} NMR ($CDCl_3$)
δ 24,60; und wird durch die Formel



veranschaulicht.

Endprodukte

Liganden: Herstellung von Dimethylenphosphonsäuren, wie in Schema 2 gezeigt.

Beispiel 3

Herstellung von N,N'-Bis(methylenphosphonsäure)-2,11-diaza[3.3](2,6) pydinophan (BP2P).

[0056] Eine konzentrierte HCl-Lösung (37%, 4 ml) von N,N'-Bis(methylendimethylphosphonat)-2,11-diaza[3.3](2,6)pydinophan, hergestellt in Beispiel E (255 mg, 0,53 mmol) wurde bei Rückfluss für 2,5 h erwärmt. Nach dem Abkühlen wurde die Lösung zur Trockene verdampft, gefolgt von einer Co-Verdampfung mit frischem deionisierten Wasser (3 × 2 ml), um überschüssiges HCl zu eliminieren. Das Endprodukt wurde beim Gefriertrocknen der konzentrierten wässrigen Lösung als ein hygroskopischer brauner Feststoff isoliert und charakterisiert durch:
^{1}H NMR (D_2O)
δ 3,55 (d, 4H), 4,46 (br, s, 8H), 6,90 (d, 4H), 7,37 (t, 2H); und
^{13}C {^{1}H} NMR (D_2O)
δ 7,80 (d), 63,74 (d), 127,02, 144,18, 152,96; und
^{31}P {^{1}H} NMR (D_2O)
δ 11,71.

Liganden: Herstellung von Dimethylenphosphonathalbestern, wie in Schema 3 gezeigt.

Beispiel 4

Herstellung von N,N'-Bis(methylenphosphonsäureethylester)-2,11- diaza[3.3](2,6)pydinophan (BP2EP).

[0057] Das in Beispiel F hergestellte Produkt N,N'-Bis(methylendiethylphosphonat)-2,11-diaza[3.3](2,6)pydinophan (957 mg, 1,77 mmol) wurde mit 0,1 M KOH (7,2 ml) vereinigt und bei 60°C für 16 h erwärmt. Die Lösung wurde dann abgekühlt und gefriergetrocknet und ergab einen Rückstand, welcher in $CHCl_3/C_2H_5OH$ (95/5) gelöst und filtriert wurde. Nach Verdampfen des Lösungsmittels und Aufkonzentration in Vakuum wurde das Produkt als ein schwach gelbes Pulver isoliert (657 mg, 66%) und charakterisiert durch:
^{1}H NMR (D_2O)
δ 1,10 (t, 6H), 2,97 (d, 4H), 3,81 (q, 4H), 3,84 (s, 8H), 6,73 (d, 4H), 7,09 (t, 2H); und
^{13}C {^{1}H} NMR (D_2O)
δ 18,98, 58,76 (d), 63,69 (d), 66,53 (d), 126,35, 140,09 159,37; und

^{31}P {^{1}H} NMR (D_2O)
δ 20,65.

Komplexe: Herstellung von Metall/Liganden-Komplexen für Untersuchungen der Bioverteilung.

Allgemeines Verfahren

[0058] Metall-Liganden-Komplexe wurden durch verschiedene Verfahren hergestellt. Die Verfahren umfassen Mischen des Metalls und des Liganden in wässriger Lösung und Anpassen des pH auf den gewünschten Wert. Die Komplexierung wurde durchgeführt in Lösungen, welche Salze und/oder Puffer ebenso wie Wasser enthielten. Es gefunden, dass mehrmals erwärmte Lösungen höhere Komplexausbeuten ergaben, als wenn die Komplexierung bei Umgebungstemperaturen durchgeführt wurde.

[0059] Eine Lösung des Liganden wird beispielsweise hergestellt durch Lösen des Liganden in deionisiertem Wasser (etwa pH = 2). Dann wurde ein Ligand/Metall-Komplex hergestellt durch Kombinieren der Ligandenlösung mit wässrigem $SmCl_3 \cdot H_2O$ (3×10^{-4} M in 0,01 N HCl), enthaltend den Tracer $^{153}SmCl_3$. Nach gründlichem Mischen wurde der Prozentanteil Metall als Komplex bestimmt durch Leiten einer Probe der Komplexlösung durch eine Sephadex™-Säule, Eluieren mit 4:1 Saline (0,85% NaCl/NH_3OH) und Sammeln von 2 × 3 ml-Fraktionen. Die Menge an Radioaktivität in den vereinigten Elutionen wurde dann verglichen mit der Radioaktivität, welche auf der Säule verblieben ist. Unter diesen Bedingungen wurde der Komplex mit dem Eluat entfernt und nicht komplexiertes Metall wird auf der Säule gehalten. Durch dieses Verfahren wurde eine Komplexierung von normalerweise ungefähr 95% oder mehr bestimmt.

[0060] Unter Verwendung des obigen Verfahrens wurden Komplexe von Samarium mit
N,N'-Diessigsäure-2,11-diaza[3.3](2,6)pydinophan (BP2A), Ligand:Metall-Verhältnis von 4:1, 99%;
N,N',N''-Triessigsäure-2,11,20-diaza[3.3.3](2,6)pydinophan (TP3A), Ligand:Metall-Verhältnis von 3:1, 98,6%;
N,N'-Bis(methylenphosphonsäure)-2,11-diaza[3.3](2,6)pydinophan (BP2P), Ligand:Metall-Verhältnis von 3:1, 95%; und
N,N'-Bis(methylenphosphonsäureethylester)-2,11-diaza[3.3](2,6) pydinophan (BP2EP), Ligand:Metall-Verhältnis von 4:1, 98%;
hergestellt. Jedoch können auf analoge Art und Weise die entsprechenden Gadoliniumkomplexe hergestellt werden.

Bioverteilung

Allgemeines Verfahren

[0061] Sprague Dawley-Ratten wurden für 5 Tage akklimatisiert, dann mit 100 µl der Komplexlösung über eine Schwanzvene injiziert. Die Ratten wogen zum Zeitpunkt der Injektion zwischen 150 und 250 g. Nach 30 min wurden die Ratten durch zervikale Dislokation getötet und präpariert. Die Menge an Radioaktivität in jedem Gewebe wurde bestimmt durch Zählen in einem Nal-Szintiallationszähler, gekoppelt mit einem Mehrkanal-Analysegerät. Die Zählungen wurden verglichen mit den Zählungen in 100 µl Standards, um den Prozentgehalt der Dosis in jedem Gewebe oder Organ zu bestimmen.

[0062] Der Prozentgehalt der Dosis im Blut wurde geschätzt durch die Annahme, dass das Blut 6,5% des Gesamtkörpergewichts ausmacht. Der Prozentgehalt der Dosis in Knochen wurde geschätzt durch Multiplikation des Prozentgehalts der Dosis im Femur mal 25. Der Prozentgehalt der Dosis im Muskel wurde geschätzt durch die Annahme, dass die Muskeln 43% des Gesamtkörpergewichts ausmachen.

[0063] Außer der Organbioverteilung wurden Chelate der Verbindungen mit der Formel (I) bewertet im Hinblick auf die Effizienz der Knochenlokalisierung, da Phosphonate für ihre Fähigkeit bekannt sind, an Hydroxyapatit zu binden. Die Ergebnisse dieser Tests sind unten angegeben.

Beispiel

Beispiel 1

[0064] Bei der Bewertung des Komplexes ^{153}Sm[N,N'-Bis(methylenphosphonsäure)-2,11-diaza-[3.3](2,6)pydinophan] (^{153}Sm-BP2P) sind die Ergebnisse in Tabelle III unten angegeben. Die Zahlen repräsentieren 3 Ratten pro Datenpunkt 2 h nach der Injektion.

Tabelle III

Bioverteilung von ^{153}Sm-BP2P

% der injizierten Dosis

Organ	Durchschnitt
Knochen	60,08
Leber	3,71
Niere	1,21
Milz	0,05
Muskel	1,53
Blut	0,87
Herz	0,07
Lunge	0,17
Gehirn	0,01
Magen	0,20
Dünndarm	0,39
Dickdarm	0,13

Tabelle III

Verhältnisse für ^{153}Sm-BP2P

Durchschnitt % injizierte Dosis

Knochen/Blut	Knochen/Muskel	Knochen/Leber	Knochen/Milz
69	39	16	1,201

BEISPIEL II

[0065] Bei der Bewertung des Komplexes ^{153}Sm[N,N'-Bis(methylenphosphonsäureethylester)-2,11-diaza-[3.3](2,6)pydinophan] (^{153}Sm-BP2EP) sind die Ergebnisse in Tabelle VI unten angegeben. Die Zahlen repräsentieren 3 Ratten pro Datenpunkt 2 h nach der Injektion.

Tabelle VI

Bioverteilung von ^{153}Sm-BP2EP

% der injizierten Dosis

Organ	Durchschnitt
Knochen	39,82
Leber	5,97
Niere	0,74
Milz	0,32
Muskel	1,21
Blut	0,45
Herz	0,04
Lunge	0,19
Gehirn	0,01
Magen	0,36
Dünndarm	0,33
Dickdarm	0,25

Tabelle VI

Verhältnisse für ^{153}Sm-BP2E

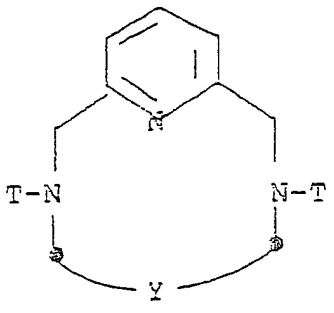
Durchschnitt % injizierte Dosis

Knochen/Blut	Knochen/Muskel	Knochen/Leber	Knochen/Milz
88	33	7	124

[0066] Andere Ausführungsformen der Erfindung sind für Fachleute durch eine Betrachtung dieser Beschreibung oder der hierin offenbarten Praxis der Erfindung offensichtlich. Es ist beabsichtigt, dass die Beschreibung und die Beispiele nur als Beispiele betrachtet werden, wobei der wahre Umfang und Geist der Erfindung durch die folgenden Ansprüche angegeben sind.

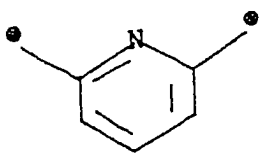
Patentansprüche

1. Tri- und Tetracyclopolyazamacrocyclo-Verbindungen mit der Formel



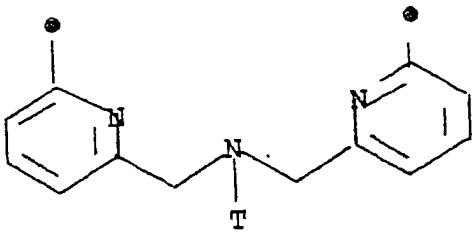
(I)

worin Y entweder

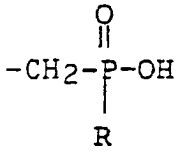


(A)

oder



(B) ist,

T 

ist, worin R OH, C_1-C_5-Alkyl oder -O-(C_1-C_5-Alkyl) ist,
mit der Maßgabe, dass beide T-Anteile gleich sind, oder ein pharmazeutisch akzeptables Salz davon.

2. Verbindung nach Anspruch 1, worin jedes T -CH_2-P(O)ROH ist, worin R OH ist.

3. Verbindung nach Anspruch 2, worin die Verbindung die Formel (IA) aufweist, worin R OH ist (N,N'-Bis(methylenphosphonsäure)-2,11-diaza[3.3](2,6)pydinophan), oder ein pharmazeutisch akzeptables Salz davon.

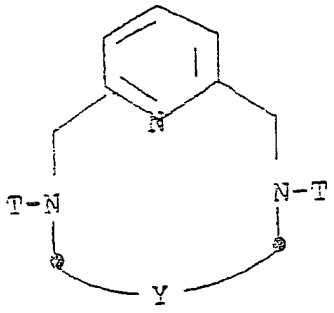
4. Verbindung nach Anspruch 1, worin R -O-(C_1-C_5-Alkyl) ist.

5. Verbindung nach Anspruch 4, worin die Verbindung die Formel (IA) aufweist, worin T -CH_2-P(O)ROH ist und R -O-(C_1-C_5-Alkyl) ist, oder pharmazeutisch akzeptable Salze davon.

6. Verbindung nach Anspruch 5, worin R Ethoxy ist, oder pharmazeutisch akzeptable Salze davon (N,N'-Bis(methylenphosphonsäureethylester)-2,11-diaza-[3.3](2,6)pydinophan).

7. Verbindung nach Anspruch 1, worin jedes T -CH_2-P(O)ROH ist, worin R C_1-C_5-Alkyl ist.

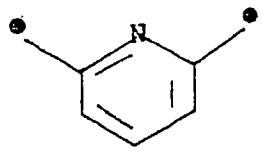
8. Komplex, welcher eine Tri- und Tetracyclopolyazamarocyclo-Verbindung mit der Formel

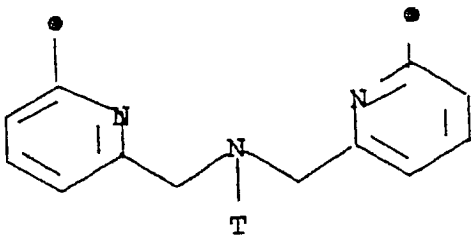


(I)

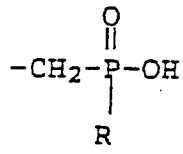
umfasst, worin Y entweder

umfasst, worin Y entweder





(A) oder (B) ist,

T 

ist, worin R OH, C_1-C_5-Alkyl oder -O-(C_1-C_5-Alkyl) ist,
mit der Maßgabe, dass beide T-Anteile gleich sind, oder pharmazeutisch akzeptable Salze davon, komplexiert mit einem Metallion, welches ausgewählt ist aus Gd^{+3} Mn^{+2} oder Fe^{+3}.

9. Komplex nach Anspruch 8, worin das Metall Gd^{+3} ist.

10. Komplex nach Anspruch 8, worin jedes T $-CH_2-P(O)ROH$ ist, worin R OH und das Metall Gd^{+3} ist.

11. Komplex nach Anspruch 10, worin die Verbindung die Formel (IA) aufweist, worin R OH ist (N,N'-Bis(methylenphosphonsäure)-2,11-diaza[3.3](2,6)pydinophan), oder ein pharmazeutisch akzeptables Salz davon.

12. Komplex nach Anspruch 8, worin R -O-(C_1-C_5-Alkyl) ist und das Metall Gd^{+3} ist.

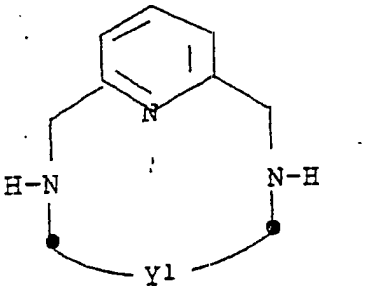
13. Komplex nach Anspruch 12, worin die Verbindung die Formel (IA) aufweist, worin R -O-(C_1-C_5-Alkyl) ist, oder ein pharmazeutisch akzeptables Salz davon.

14. Komplex nach Anspruch 13, worin R Ethoxy ist, oder ein pharmazeutisch akzeptables Salz davon.

15. Komplex nach Anspruch 8, worin R C_1-C_5-Alkyl und das Metall Gd^{+3} ist.

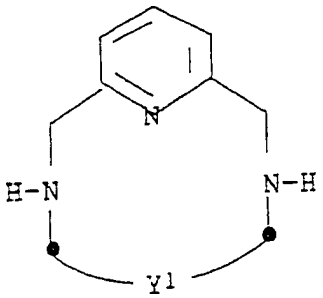
16. Pharmazeutische Formulierung, umfassend einen Komplex nach einem der Ansprüche 8 bis 15 mit einem pharmazeutisch akzeptablen Träger.

17. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung nach Anspruch 1, welches eines der Folgenden umfasst:
(A) Umsetzen einer Verbindung mit der Formel



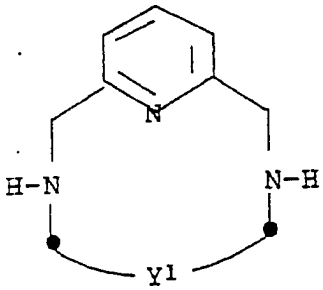
(II)

worin Y^1 wie in Formel (I) für Y definiert ist, wenn bei (A) und (B) das Stickstoffatom mit Wasserstoff substituiert ist; und
mit Phosphonsäure in Salzsäure und Formaldehydüberschuss, bei einem pH unterhalb von etwa 2, bei Rückflusstemperatur;
um eine Verbindung mit der obigen Formel (I) zu erhalten, worin (A) zwei T aufweist, welche gleich $-CH_2-PO_3H_2$ sind, und worin (B) drei T aufweist, welche gleich $-CH_2-PO_3H_2$ sind; oder
(B) Umsetzen einer Verbindung mit der Formel



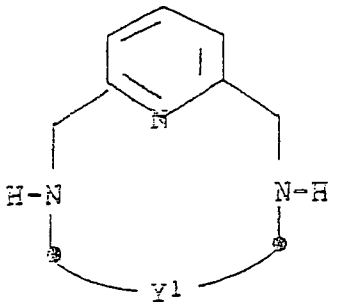
(II)

worin Y^1 wie in Formel (I) für Y definiert ist, wenn bei (A) und (B) das Stickstoffatom mit Wasserstoff substituiert ist; und
mit $P(OR)_3$, worin R C_1-C_4-Alkyl ist, in Formaldehyd, gefolgt von einer Hydrolyse unter Verwendung von 3 bis 12 M Salzsäure, bei einem pH unterhalb von etwa 3, bei Rückflusstemperatur;
um eine Verbindung mit der obigen Formel (I) zu erhalten, worin (A) zwei T aufweist, welche gleich $-CH_2-PO_3H_2$ sind, und worin (B) drei T aufweist, welche gleich $-CH_2-PO_3H_2$ sind; oder
(C) Umsetzen einer Verbindung mit der Formel



(II)

worin Y^1 wie in Formel (I) für Y definiert ist, wenn bei (A) und (B) das Stickstoffatom mit Wasserstoff substituiert ist; und
mit $P(OR)_3$, worin R C_1-C_4-Alkyl ist, in Formaldehyd, gefolgt von einer Hydrolyse unter Verwendung eines Alkalimetallhydroxidüberschusses, bei einem pH oberhalb von etwa 12, bei Rückflusstemperatur;
um eine Verbindung mit der obigen Formel (I) zu erhalten, worin (A) zwei T aufweist, welche gleich $-CH_2-PO_2HR$ sind, worin R -O-(C_1-C_5-Alkyl) ist, und worin (B) drei T aufweist, welche gleich $-CH_2-PO_2HR$ sind, worin R worin R -O-(C_1-C_5-Alkyl) ist; oder
(D) Umsetzen einer Verbindung mit der Formel



(II)

worin Y^1 wie in Formel (I) für Y definiert ist, wenn bei (A) und (B) das Stickstoffatom mit Wasserstoff substituiert ist; und
mit H_3C-$P(OEt)_2$ in Formaldehyd und Tetrahydrofuran, gefolgt von einer Hydrolyse unter Verwendung eines Alkalimetallhydroxidüberschusses, bei einem pH oberhalb von etwa 12, bei Rückflusstemperatur oder mit $HP(O)OH$-C_2H_5 in Formaldehyd und Salzsäure, bei einem pH unterhalb von etwa 3, bei Rückflusstemperatur;
um eine Verbindung mit der obigen Formel (I) zu erhalten, worin (A) zwei T aufweist, welche gleich $-CH_2-PO(OH)R$ sind, worin R C_1-C_5-Alkyl ist, und worin (B) drei T aufweist, welche gleich $-CH_2-PO(OH)R$ sind, worin R C_1-C_5-Alkyl ist.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen