

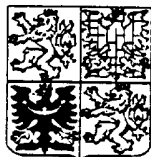
PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

281 882

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **1893-94**

(22) Přihlášeno: **05. 08. 94**

(40) Zveřejněno: **11. 09. 96**
(Věstník č. 9/96)

(47) Uděleno: **21. 01. 97**

(24) Oznámeno udělení ve Věstníku: **12. 03. 97**
(Věstník č. 3/97)

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.⁶:

C 07 F 9/38

A 61 K 51/00

C 07 C 211/10

C 07 C 209/68

(73) Majitel patentu:

Ústav jaderného výzkumu Řež a. s., Řež, CZ;

(72) Původce vynálezu:

Budský František Ing., Praha, CZ;

Angelis Bohumil Ing., Praha, CZ;

Hradílek Pavel Ing., Černošice, CZ;

Kopecký Petr Ing. CSc., Praha, CZ;

Kopíčka Karel Ing. CSc., Praha, CZ;

Lázníček Milan Prof. Ing. CSc., Hradec

Králové, CZ;

Prokop Jiří Ing., Kralupy nad Vltavou, CZ;

(74) Zástupce:

Janský Bedřich Ing., Květnická 674/2,
Praha 10, 10000;

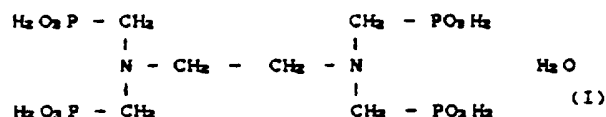
(54) Název vynálezu:

**Způsob přípravy monohydrátu kyseliny
1,2-diaminoethan-N,N,N',N'-tetrakis(methy-
lenfosfonové)**

(57) Anotace:

Monohydrát kyseliny 1,2-diaminoethan-N,N,N',N'-tetrakis (methylenfosfonové) strukturního vzorce I se připraví tak, že se nejprve vysráží 1,2-diaminoethan dihydrochlorid srážením 1,2-diaminoethanu suchým chlorovodíkem v diisopropyletheru vysušeným před použitím kovovým sodíkem, sraženina se odsaje, promyje diethyletherem a suší se 60 min. v evakuovaném exkátoru nad kyselinou sírovou, načež se k 1 mol čerstvě vysráženého 1,2-diaminoethan dihydrochloridu přidají 2 mol azeotropické kyseliny chlorovodíkové a 4,25 mol kyseliny orthofosforité, směs se zahřeje na 100 až 110 °C do rozpuštění sraženiny, a dále se za uvedené teploty po kapkách přidá 4,5 mol formaldehydu ve formě 34 až 36% roztoku a směs se po přidání veškerého formaldehydu dále míchá za uvedené teploty 60 min, poté se reakční směs zchladí na 50 °C a čistí se opakovanou extrakcí s pentanolem, a po vyčištění se produkt izoluje srážením reakční směsi v isopropanolu a po

oddělení sraženiny a jejím promytí methanolem se sraženina suší nad kyselinou sírovou za tlaku 3 kPa po dobu 3 až 5 dní.



Způsob přípravy monohydrátu kyseliny 1,2-diaminoethan-N,N,N',N'-tetrakis-(methylenfosfonové)

5 Oblast techniky

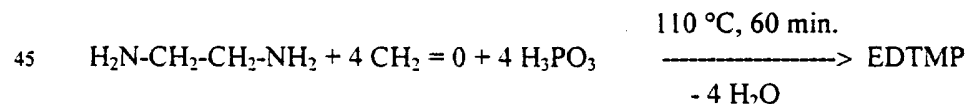
Vynález se týká technologického postupu pro přípravu monohydrátu kyseliny 1,2-diaminoethan-N,N,N',N'-tetrakis (methylen-fosfonové) [EDTMP.H₂O].

10

Dosavadní stav techniky

Komplexy difosfonových kyselin s techneciem-99m mají vysokou afinitu jak k hydroxyapatitu, tak i k amorfárnímu fosforečnanu vápenatému, které jsou hlavními složkami
 15 kostní struktury. Proto jsou tyto komplexy využívány v nukleární medicíně pro diagnostické studie kostního skeletu, a to zejména pro diagnostiku ložiskových procesů v kostní tkáni a sledování regionálních změn obrazu kostního minerálu při nádorových, metabolických a degenerativních procesech. Komplexy však nelze použít pro radioterapii, neboť žádný ze čtrnácti radioisotopů technecia nemá pro tyto účely vhodné vlastnosti. Nejbližší homolog technecia rhenium má radioisotop vhodných vlastností pro radioterapii, a to rhenium 186
 20 [¹⁸⁶Re-90.64 h, 1.07 MeV, β⁻(77%), 0.934 MeV β⁻(23%), 137 keV gama (9.2%)]. V podmínkách in vivo se však rhenium uvolňuje z komplexu oxidací na rhenistan, což vede k rychlému vymývání radioaktivního prvku z kostí a ke zvýšené exkreci z organismu. Vhodnější radionuklidy pro terapii mají prvky ze třetí podskupiny periodické soustavy, a to včetně kovů vzácných zemin. Zvláště výhodné vlastnosti a snadnou přípravu má radionuklid samaria 153 [¹⁵³Sm-46.27 h, 0.805 MeV β⁻(20%), 0.710 MeV β⁻(49%), 0.640 MeV β⁻(30%),
 25 103 keV gama (29.8%)]. Bohužel kovy III. podskupiny tvoří jako kationty M³⁺ s difosfonovými kyselinami natolik slabé komplexy, že v podmínkách in vivo dojde k vyvázání kationu M³⁺ z difosfonového komplexu a k jeho navázání na komplexotvorné složky krve, zejména na plasmatický transferrin. Radionuklid se pak nekumuluje v kostním skeletu, ale je vylučován převážně hepatobiliárním systémem. Tuto nevýhodu odstraňují ligandy aminopolyfosfonových kyselin, tvořící dostatečně pevné komplexy s trojmocnými kationty, které v podmínkách in vivo odolávají působení transferrinu. Tyto ligandy je nutné připravit ve vysoké čistotě, aby bylo dosaženo co nejvyšší kumulace komplexu radionuklidu
 30 v kostním skeletu a současně rychlá krevní clearance. S. Jurrison, D. Berning, Wei Jia, and Dangshe Ma: "Coordination Compounds in Nuclear Medicine", Chem. Rev. 93, 1148, (1993).

Nejjednodušším známým postupem pro přípravu této látky je přímá syntéza pomocí Mannichova typu reakce. Reakce se provádí v silně kyselém vodném prostředí podle
 40 schematu:



Moedritzer K., Irani R.: "The direct synthesis of alfa-aminomethylphosphonic acid. Mannich-type reaction with orthophosphorous acid." J. org. Chem. 31, 1603, (1966).
 50

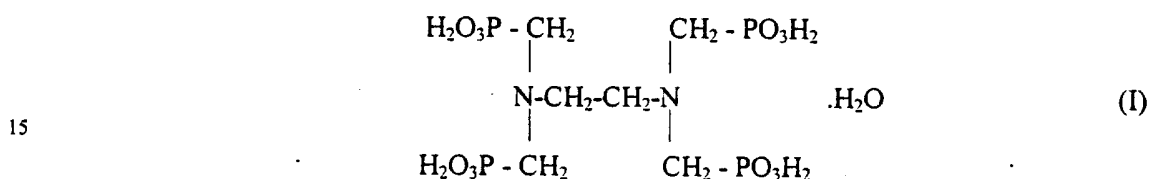
Na základě uvedené reakce byly popsány technologické postupy, které používají až 100% nadbytek formaldehydu a kyseliny orthofosforité, a přesto v reakční směsi vedle

polymerních produktů vzniká jako vedlejší produkt kyselina 1,2-diaminoethan-N-methyl-N,N',N'-tris(methylenfosfonová), která se běžnými postupy, např. krystalizací nedá od EDTMP oddělit a jejíž komplexy mají jiné farmakologické vlastnosti.

5

Podstata vynálezu

Nevýhody dosud užívaných technologických postupů odstraňuje způsob přípravy monohydrátu kyseliny 1,2 -diaminoethan-N,N,N',N'-tetrakis (methylenfosfonové) [EDTMP.H₂O] strukturního vzorce I



v čistotě pro radiofarmacii, spočívající v reakci směsi derivátu diaminoalkanu, kyseliny fosforité a kyseliny chlorovodíkové s formaldehydem, jehož podstatou podle vynálezu je, že nejprve se připraví čerstvá sraženina 1,2- diaminoethan dihydrochloridu srážením 1,2-diaminoethanu suchým chlorovodíkem v diisopropyletheru, který byl před použitím vysušen kovovým sodíkem, sraženina se odsaje, promyje diethyletherem a suší se 60 min v evakuovaném exikátoru nad kyselinou sírovou, a poté se k 1 molu čerstvě vysráženého 1,2-diaminoethan dihydrochloridu přidají 2 moly azeotropické kyseliny chlorovodíkové a 4,25 molu kyseliny orthofosforité, směs se zahřeje na 100 až 110 °C do rozpuštění sraženiny a dále se za uvedené teploty po kapkách přidá 4,5 molu formaldehydu ve formě 34 až 36% roztoku a směs se po přidání veškerého formaldehydu dále míchá za uvedené teploty 60 min, poté se reakční směs zchladí na 50 °C a čistí se opakovanou extrakcí s pentanolem a po vyčištění se produkt izoluje srážením reakční směsi v isopropanolu a po oddělení sraženiny a jejím promytí methanolem se sraženina suší nad kyselinou sírovou za tlaku 3 kPa po dobu 3 až 5 dní.

Technologický postup podle vynálezu používá přesně odstupňovaného nadbytku kyseliny orthofosforečné a formaldehydu k 1,2-diaminoethan dihydrochloridu čerstvě sraženému v diisopropyletheru. Molární poměr reakčních složek je udržován takto: 1,2-diaminoethan dihydrochlorid/kys. chlorovodíková/kyselina orthofosforitá/formaldehyd = 1/2/4,25/4,5. Nečistoty, které v reakční směsi vzniknou i přes uvedená opatření jsou nakonec odstraněny extrakcí s n-pentanolem za zvýšené teploty. Z vyčištěné reakční směsi je pak srážením v isopropylalkoholu izolován monohydrát - EDTMP.H₂O, který je stálý i při sušení ve vakuu nad kyselinou sírovou.

Komplexy takto připravené EDTMP.H₂O s radionuklidy samaria 153, technecia 99m a india 111 se rychle kumulují v kostním skeletu krys. A. Lázníčková, M. Lázníček, F. Budský, J. Prokop, K. Kopiczka: "Biodistribution of EDTMP Complexes with Tc-99m, In-111 and Sm-153", Plzeň. lék. Sborn., Suppl. 68, 1993:155-158.

Úplné farmakologické testování a předklinické zkoušení bylo provedeno s komplexem samaria 153, který má nejvýhodnější vlastnosti pro použití v radioterapii. Dosažené výsledky byly předloženy v říjnu 1993 Komisi pro nová radiofarmaka, která na r. 1994 povolila 1. fázi klinického zkoušení. Na základě výsledků 1. fáze Klinického zkoušení pak Komise v květnu 1994 schválila i provedení 2. fáze Klinického zkoušení.

Přehled obrázků na výkrese

Na přiloženém výkrese je znázorněna závislost kumulace komplexů EDTMP.H₂O s radionuklidy na čase v kostním skeletu krys.

Příklady provedení vynálezu10 **Příklad 1**

1 mol 1,2-diaminoethanu byl rozpuštěn v 600 ml diisopropyletheru vysušeného kovovým sodíkem a roztok byl probubláván suchým chlorovodíkem tak dlouho, až se přestala tvořit sraženina. Vzniklá objemná bílá sraženina byla odsáta a promyta suchým diethyletherem.

15 Sraženina 1,2-diaminoethan dihydrochloridu pak byla sušena 60 min v evakuovaném exikátoru nad kys. sírovou.

Do 500 ml trojhrdlé baňky (opatřené míchadlem, zpětným chladičem, teploměrem a děličkou) bylo naváženo 200 mmol 1,2-diaminoethan dihydrochloridu a přidáno 400 mmol azeotropické kyseliny chlorovodíkové, která byla připravena destilací v křemenné aparatuře.

20 Ke směsi bylo dále přidáno 850 mmol pevné kyseliny orthofosforité, jejíž obsah byl stanoven alkalimetrickou titrací. Směs byla pozvolna zahřáta za stálého míchání na 110 °C, až došlo k jejímu rozpuštění. Potom bylo za této teploty a po kapkách během 30 min přidáno 900 mmol formaldehydu ve formě 34 až 36% roztoku, přesná koncentrace roztoku

25 formaldehydu byla určena jodometrickou titrací. Po přidání veškerého formaldehydu byla směs míchána za výše uvedených podmínek ještě 60 min.

Reakční směs pak byla ochlazená na 50 °C a ke směsi bylo přidáno 80 ml n-pentylalkoholu a směs byla míchána 20 min. Po 20 min byla směs bez ochlazení převedena do děličky a fáze byly rozděleny. Tato operace pak byla zopakována. Takto extrakcí vyčištěná reakční směs se tenkým proudem nebo po kapkách vlije do 500 ml bezvodého isopropanolu zahřátého na 60 °C za stálého míchání. Vznikla bílá sraženina, která byla odsáta a promyta methanolem. Produkt byl sušen 72 h ve vakuovém exikátoru za tlaku 3 kPa nad 95% kyselinou sírovou. Výsledným produktem je monohydrát EDTMP.H₂O.

Příklad 2

40 Závislost kumulace komplexů EDTMP.H₂O s radionuklidy na čase v kostním skeletu krys je znázorněna na přiloženém výkrese, na kterém na ose X je čas v hodinách, na ose Y jsou procenta kumulace radioaktivity vztažená na celkově podanou radioaktivitu. Křivka 1 znázorňuje kumulaci komplexu samaria 153 (Sm-EDTMP), křivka 2 komplexu india 111 (In-EDTMP) a křivka 3 komplexu technecia 99m (Tc-EDTMP).

45 **Elementární analýza:**

Obsah prvku %	C	H	N	P
Vypočteno	15.86	4.88	6.17	27.30
Nalezeno	15.92	5.10	6.16	27.02

Infračervená spektra (KBr tableta):

2616,2297 cm^{-1} $\tilde{\nu}$ (PO-H), 1685 cm^{-1} σ (PO-H), 1437,1459 cm^{-1} σ (CH₂), 1207 cm^{-1} $\tilde{\nu}$ (C-N), 1119 cm^{-1} $\tilde{\nu}$ (P-O), 1015,957 cm^{-1} $\tilde{\nu}$ (C-P-O).

¹H-NMR spektra (sodná sůl D₂O):

3.776 bs, 4H(CH₂N), 3.488 bd, 8H (J=12.0 Hz, P-CH₂-N)

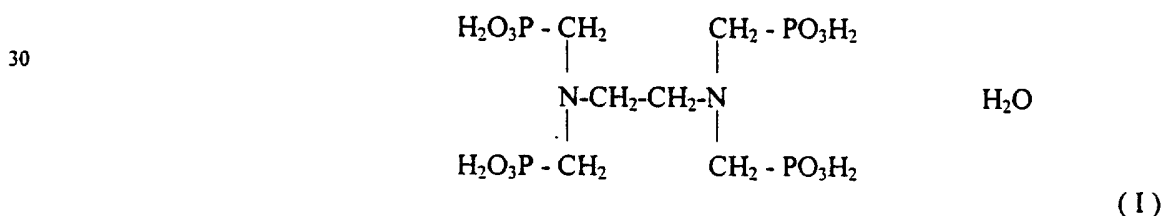
EDTMP.H₂O byla ztitrována jako šestisytá kyselina s dvěma inflexními body při pH=4,0 (3 ekvivalenty) a při pH=8,8 (6 ekvivalentů). Dva protony jsou koordinovány k dusíkovým atomům (zwitterion structure).

Průmyslová využitelnost

Monohydrát kyseliny 1,2-diaminoethan-N,N,N',N'-tetrakis (methylenfosfonové) [EDTMP.H₂O], připravený způsobem podle vynálezu, je použitelný k přípravě komplexů s vhodnými radionuklidy a tyto komplexy pak k paliativní analgetické léčbě disseminace zhoubných tumorů do kostního skeletu.

PATENTOVÉ NÁROKY

Způsob přípravy monohydrátu kyseliny 1,2-diaminoethan-N,N,N',N'-tetrakis(methylenfosfonové) [EDTMP.H₂O] strukturního vzorce I



v čistotě pro radiofarmacii, spočívající v reakci směsi derivátu diaminoalkanu, kyseliny fosforité a kyseliny chlorovodíkové s formaldehydem, vyznačující se tím, že se nejprve připraví čerstvá sraženina 1,2-diaminoethan dihydrochloridu srážením 1,2-diaminoethanu suchým chlorovodíkem v diisopropyletheru, který byl před použitím vysušen kovovým sodíkem, sraženina se odsaje, promyje diethyletherem a suší se 60 min v evakuovaném exikátoru nad kyselinou sírovou, načež se k 1 mol čerstvě vysráženého 1,2-diaminoethan dihydrochloridu přidají 2 mol azeotropické kyseliny chlorovodíkové a 4,25 mol kyseliny orthofosforité, směs se zahřeje na 100 až 110 °C do rozpuštění sraženiny a dále se za uvedené teploty po kapkách přidá 4,5 mol formaldehydu ve formě 34 až 36% roztoku a směs se po přidání veškerého formaldehydu dále míchá za uvedené teploty 60 min, poté se reakční směs zchladí na 50 °C a čistí se opakovanou extrakcí s pentanolem a po vyčištění se produkt izoluje srážením reakční směsi v isopropanolu a po oddělení sraženiny a jejím promytí methanolem se sraženina suší nad kyselinou sírovou za tlaku 3 kPa po dobu 3 až 5 dní.

Konec dokumentu