



Benzidronát szintézisének vizsgálata

OTDK dolgozat

Készítette: Nagy Dávid Illés

II. évf. MSc Gyógyszervegyész-mérnök hallgató

Témavezetők:

Dr. Keglevich György

tanszékvezető egyetemi tanár

Dr. Grün Alajos

egyetemi docens

Konzulens:

Kovács Rita

doktorjelölt

Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem

Szerves Kémia és Technológia Tanszék

2014

Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretném köszönetemet kifejezni témavezetőimnek, *Dr. Keglevich György* egyetemi tanárnak és *Dr. Grün Alajos* egyetemi docensnek, valamint konzulensemnek *Kovács Rita* doktorjelöltnek a munkám során nyújtott hasznos tanácsaikért és állandó segítségükért.

Köszönettel tartozom *Garadnay Sándor* osztályvezetőnek a potenciometriás titrálások elvégzéséért.

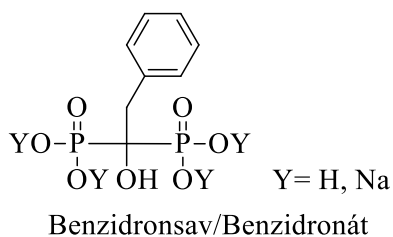
Köszönöm továbbá *Csuka Anita* technikusnak és a kutatócsoportban dolgozóknak a laboratóriumi munkám során nyújtott segítségüket.

Tartalomjegyzék

TARTALOMJEGYZÉK.....	3
1. BEVEZETÉS.....	4
2. IRODALMI RÉSZ.....	5
2.1 BISZFOSZFONÁTOK TÖRTÉNETE, ALKALMAZÁSA.....	5
2.2. BISZFOSZFONÁTOK BIOLÓGIAI HATÁSA.....	8
2.3. α -HIDROXI-METILÉNBISZFOSZFONSAVAK ELŐÁLLÍTÁSA.....	13
2.3.1. <i>Biszfoszfónatok általános előállítási lehetőségei.....</i>	<i>13</i>
2.3.2. <i>Benzidronsav előállítási lehetőségei.....</i>	<i>15</i>
2.4. TANSZÉKI ELŐZMÉNYEK.....	19
3. SAJÁT MUNKA.....	22
3.1. CÉLKITŰZÉS.....	22
3.2. AZ ALKALMAZOTT ANALITIKAI MÓDSZEREK RÖVID ISMERTETÉSE.....	22
3.3. BENZIDRONSAV/BENZIDRONÁT SZINTÉZISÉNEK VIZSGÁLATA.....	23
3.3.1. <i>Benzidronsav előállítása Arbuzov-reakcióval.....</i>	<i>23</i>
3.3.2. <i>Benzidronsav/benzidronát titrálási görbéje, kristályvíztartalma.....</i>	<i>23</i>
3.3.3. <i>Benzidronát szintézise fenilecetsavból kiindulva.....</i>	<i>24</i>
3.3.4. <i>Benzidronát szintézise fenilecetsav-kloridból, -etilészterből kiindulva..</i>	<i>29</i>
4. KÍSÉRLETEK RÉSZLETES LEÍRÁSA.....	31
4.1. KÉSZÜLÉKEK.....	31
4.2. RECEPTEK.....	31
5. ÖSSZEFOGLALÁS.....	35
6. IRODALOMJEGYZÉK.....	37

1. Bevezetés

Kutatómunkámat 2011 szeptemberében kezdtem el a Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem Szerves Kémia és Technológia Tanszékének környezetbarát szintézisekkel és foszfortartalmú vegyületekkel foglalkozó kutatócsoportjában. Egy évek óta folyó kutatómunkába kapcsolódtam be, melyet a Tanszék a Richter Gedeon Nyrt.-vel, illetve annak Dorogi Gyáregységével együttműködve, *Garadnay Sándor* segítségével folytat. A kutatómunka célja biszfoszfónátok előállításának tanulmányozása, pontosabban a reakciók optimalizálása, a körülmények racionalizálása és a lejátszódás értelmezése. Szakdolgozatomban is ilyen típusú, első generációs vegyületek - név szerint az etidronát és a fenidronát - szintéziseivel foglalkoztam. Feladatom egy a tanszéken eddig még nem vizsgált α -szubsztituált- α -hidroxi-metilénbiszfoszfonsav, pontosabban az 1-hidroxi-2-feniletilidén-1,1-bisz(foszfonsav), illetve a nátrium sójának (továbbiakban benzidronsav, illetve benzidronát) előállításának vizsgálata volt, melyek szerkezetét az 1. ábrán tüntettem fel.

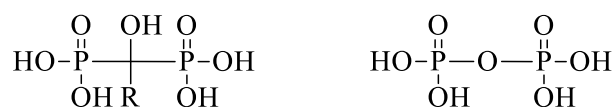


1. ábra

2. Irodalmi rész

2.1. Biszfoszfónátok története, alkalmazása

A biszfoszfonsavak két foszfonát-csoportot tartalmazó vegyületek, melyek szerkezete hasonlít a pirofoszforsav szerkezetére (2. ábra).



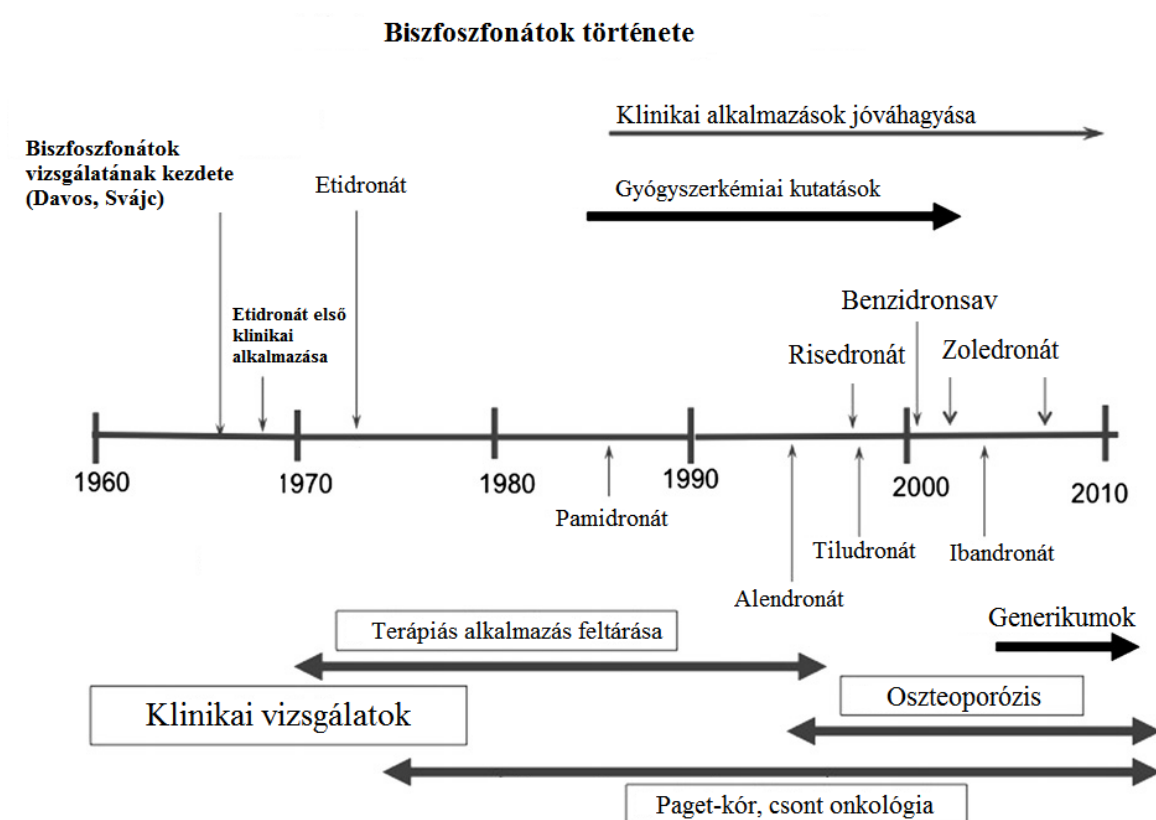
Biszfoszfonsavak

Pirofoszforsav

R= -H, -alkil, -aril, -heteroaril.

2. ábra

Biszfoszfónátok előállításával már a 19. század második felében foglalkoztak [1, 2], melyeket először korróziógátlóként, vagy komplexképző ágensként használtak, de a műtrágya-, textil-, kozmetikai és olajipar is hasznosította. Biológiai hatásukra az 1960-as években derült fény (3. ábra) [3-8].



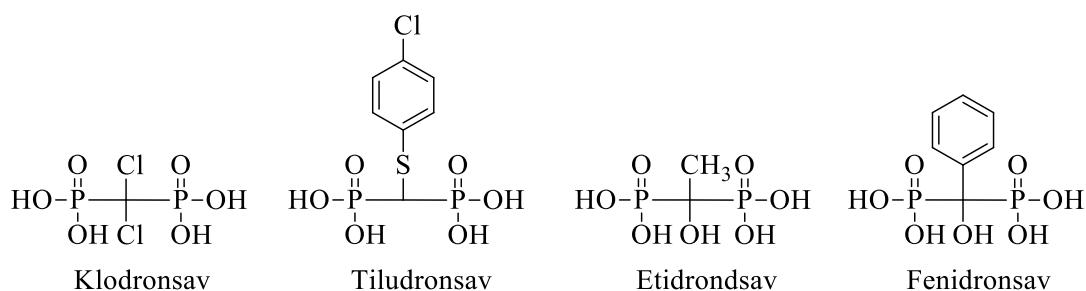
3. ábra

Biszfoszfonátokat posztmenopauzás oszteoporózis (csonttritkulás), Paget-kór, emlőkarcinóma és tumorindukált hypercalcaemia kezelésére alkalmazzák, de újabban egyre több adat szól a direkt daganatellenes (mell, prosztata) hatásukról is. Ezek a krónikus kórképek, napjaink súlyos betegségei, melyekben a csontok ásványi anyag sűrűsége csökken, így törékennyé válnak, már csekély erőhatásra is eltörhetnek. Az oszteoporózis világszerte összesen 200 millió embert érint, Magyarországon kb. 900 ezerre tehető a betegek száma. A 4. ábrán egy egészséges személy, illetve egy oszteoporózisban szenvedő beteg csontszöveve látható.



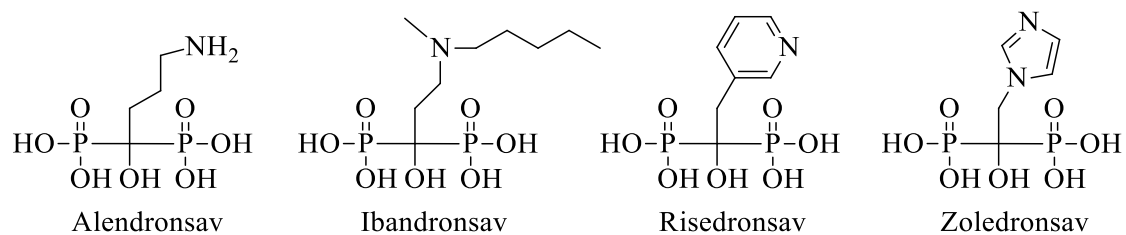
4. ábra

A legújabb kutatások szerint, parazitaellenes aktivitást is mutatnak, továbbá csökkentik a HIV-vírus reverz-transzkriptáz enzimgátló gyógyszerek elleni rezisztenciáját [9-11]. A biszfoszfonátok/biszfoszfonsavak abban különböznek, hogy a középen lévő szénatomhoz (metilénsoport) más-más oldallánc kapcsolódik. A biológiai hatást ezen oldalláncok befolyásolják. Néhány tipikus példát az első generációs készítmények közül az alábbiakban mutatok be (5. ábra).



5. ábra

Második és harmadik generációs képviselők az oldalláncban *N*-atomot tartalmazó származékok (6. ábra).

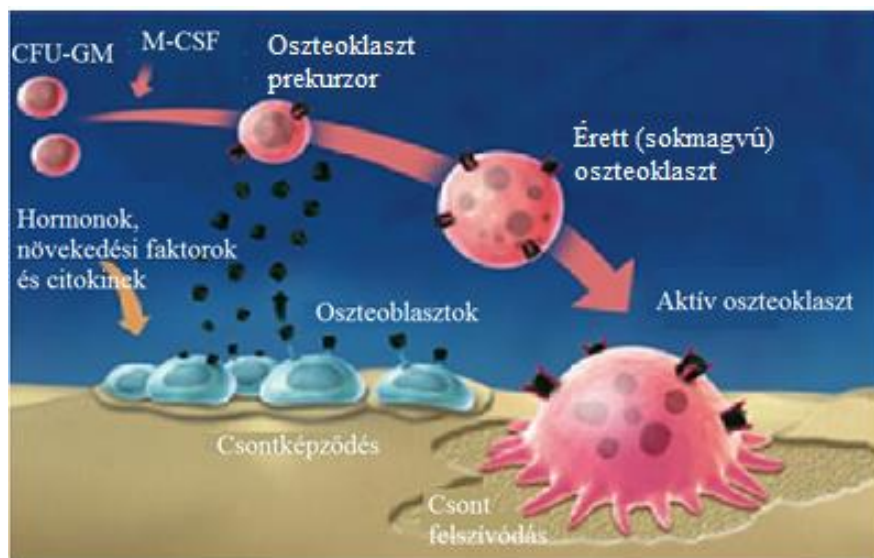


6. ábra

Az alendronsav, risedronsav és ibandronsav nátrium sójuk formájában, míg a zoledronsav savként kerül forgalomba.

2.2. Biszfoszfónátok biológiai hatása

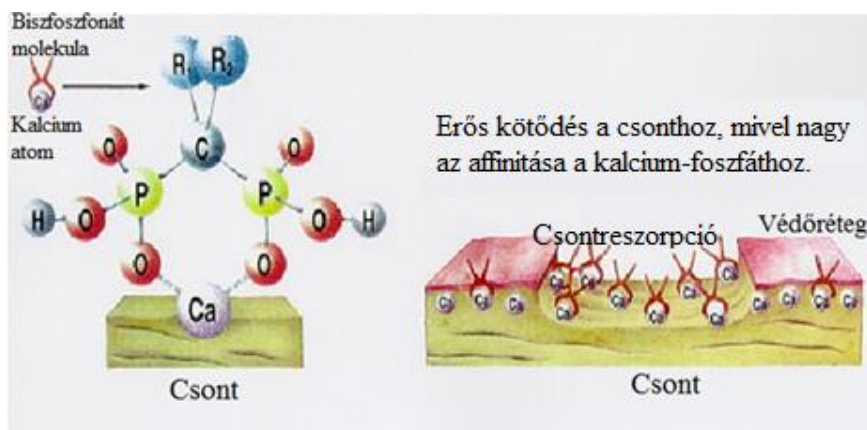
A csontokat csontszövet építi fel, mely sejtekből és sejtközötti alapállományból áll. A csontszövetet alkotó sejtek az oszteoblasztok (csontépítő sejtek), oszteociták (oszteoblasztok inaktív formái) és az oszteoklasztok (csontfaló sejtek). Az oszteoblasztok a csontállomány felszínén helyezkednek el, melyek a csontmátrix szerves alkotóelemeit termelik, de fokozatosan elvesztik aktivitásukat és inaktív sejtekké, oszteocitákká alakulnak. Az oszteoklasztok szintén a csontállomány felszínén helyezkednek el, az előregedett csontszövet lebontását segítő óriássejtek [12]. A 7. ábrán a csontképződés és a csontfelszívódás folyamata látható.



CFU-GM: granulocita/makrofág kólonia képző egység
M-CSF: makrofág kolónia stimuláló faktor

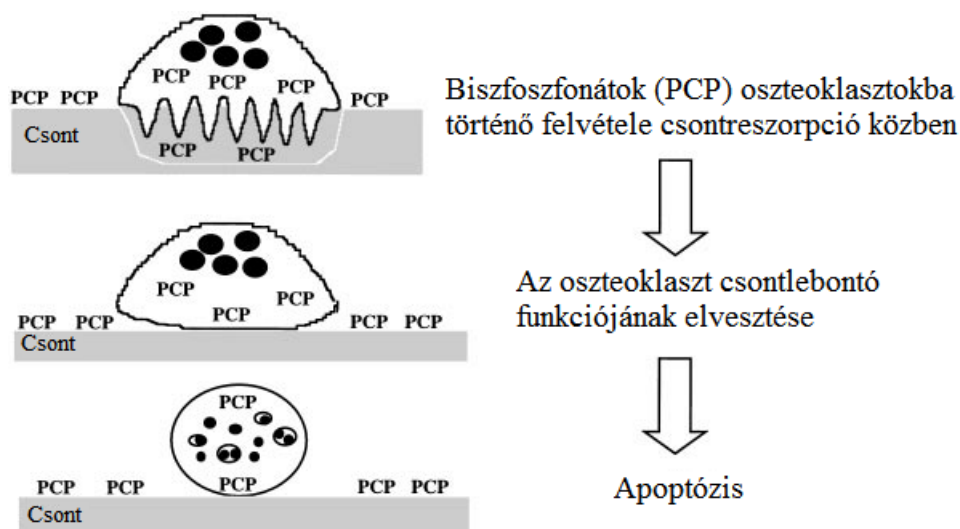
7. ábra

A biszfoszfónátok - foszfonát csoportjaik révén - képesek komplexálni a Ca^{2+} ionokat, melyek így megkötődnek a csont felszínén (8. ábra).

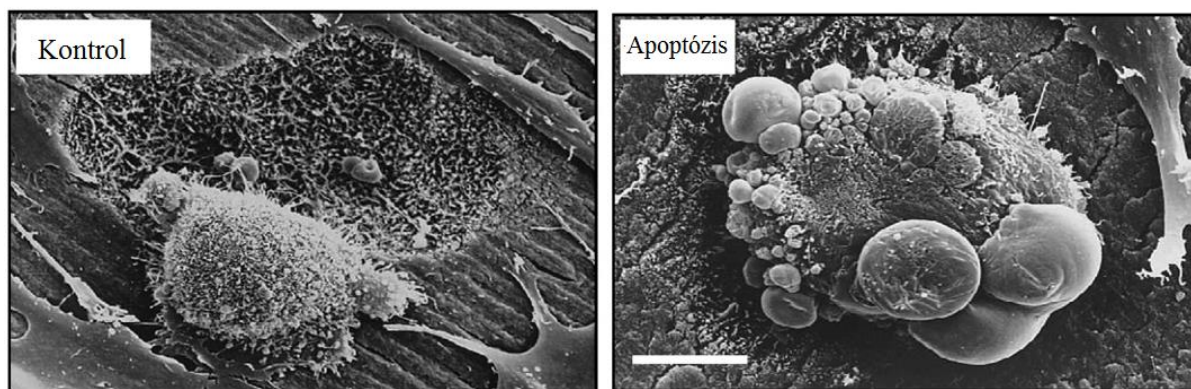


8. ábra

A biszfoszfonátok közös tulajdonsága, hogy "in vivo" gátolják az oszteoklasztok hatását [3, 8, 13-15]. A vegyületek a kalcium-foszfát-kristályokhoz gyorsan és erősen hozzákötődnek, így meggátolják növekedésüket, aggregációjukat és oldódásukat, tehát beavatkoznak a csontmineralizáció (csont ásványi anyag felvétele) folyamatába, ami előnytelen is lehet, például etidronát esetén. Ez a hatás az oldalláncban nitrogént tartalmazó vegyületeknél elenyésző. A csontreszorpciót (csontfelszívódást) közvetlenül az oszteoklasztokra hatva is gátolják. A biszfoszfonátok az oszteoklasztokba jutva annak apoptózist (sejtelhalás) indukálják (9. és 10. ábra) [15, 16].



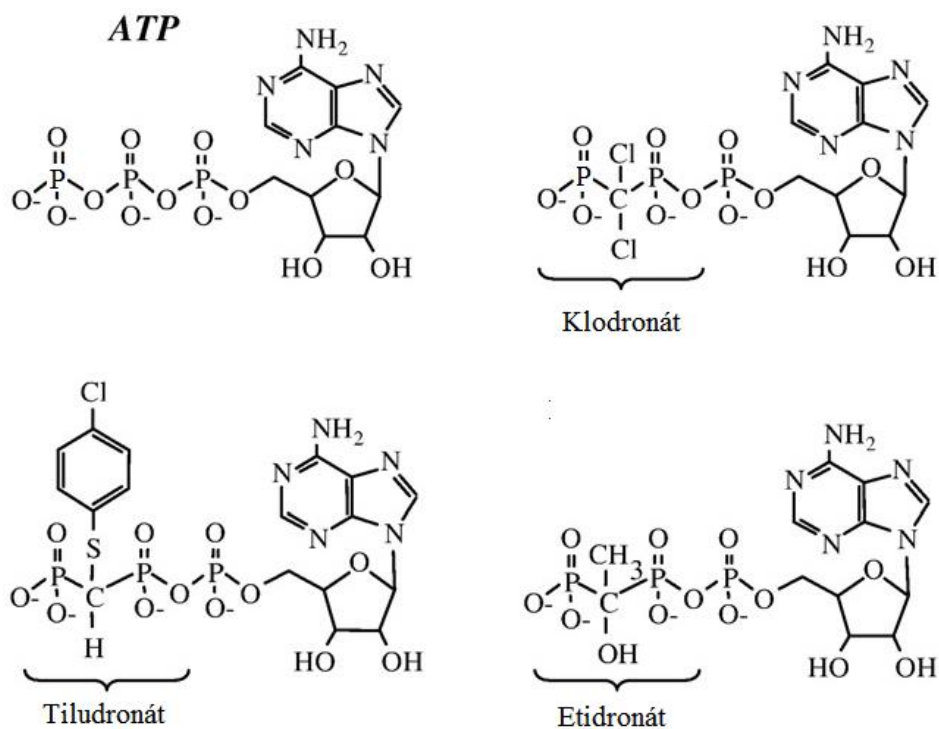
9. ábra



10. ábra

Az oldalláncban nitrogént nem tartalmazó vegyületek (első generációs készítmények) alkalmazása során nem hidrolizálható adenzin-trifoszfát-analógok (ATP-analógok) keletkeznek (11. ábra), melyek gátolják a sejtanyagcseréhez szükséges enzimek működését,

így citotoxikus hatásúak (például: etidronát, klodronát, tiludronát) [17]. Az oldalláncban *N*-atomot tartalmazó biszfoszfonátoknál (*N*-alifás oldalláncú: második generációs biszfoszfonátok, *N*-heterociklusos oldalláncú: harmadik generációs biszfoszfonátok) ez a hatás elhanyagolható.



11. ábra

A régebbi és az újabb vegyületek nagymértékben eltérnek egymástól a reszorpciót gátló hatásukban, ezért az alkalmazott terápiás dózis is különböző (1. táblázat).

1. táblázat Biszfoszfonátok adagolása [13, 18-21]

Biszfoszfonát	Adagolás	Kezelés időtartama	Csontreszorpció gátló hatás
Etidronát	Mineralizációs zavar elkerülése miatt kis adagokban. Negyedévente 2 hétig 400 mg	3-4 év	1
Klodronát	a, 300 mg/nap (hypercalcaemia kezelés) b, 1600 mg/nap (osteoporózis)	a, Maximum 7 nap b, Optimális időtartamot nem állapítottak meg	10-szeres
Tiludronát	400 mg/nap (Paget-kór)	12 nap-12 hét	10-szeres
Alendronát	Napi 10 mg (vagy heti egyszeri 70 mg)	Akár 10 év lényeges mellékhatások nélkül	5000-szeres
Risedronát	Napi 5 mg (vagy heti egyszeri 35 mg)	Optimális időtartamot nem állapítottak meg	-
Ibandronát	Havi egyszeri 150 mg vagy 3 havonta 3 mg intravénásan	Optimális időtartamot nem állapítottak meg	több 10000-szeres
Zoledronát	évi 1-szer intravénásan 4 mg	-	több 10000-szeres

Biszfoszfonátok *"per os"* rosszul szívódnak fel, csak 1-10%-a az alkalmazott adagnak, és emellett irritálják a gyomornyálkahártyát és a nyelőcsőben fekélyt is okozhatnak. A biológiai hasznosulás nagymértékben függ a bevétel étkezéshez viszonyított idejétől, mivel a többértékű kationokat, mint például kalciumot, magnéziumot, vasat és alumíniumot tartalmazó ételek és italok befolyásolják a biszfoszfonátok felszívódását [18-22].

A szervezetben nem metabolizálódnak, a felszívódott vagy intravénásan beadott gyógyszer kb. 60%-a pár órán belül a csontszövethez kötődik, a többi a vesén keresztül kiválasztódik. A megkötődött biszfoszfonátok felezési ideje 10-25 év, de ennek negatív toxikológiai hatását még nem észlelték. Az antireszorptív hatás az adagolás abbahagyása után még 1-2 évvel is kimutatható.

Az első forgalomba került szer az etidronát (Didronel[®]) volt. Nemkívánatos hatása, hogy a csontmineralizációt erősen gátolja. Az újabban kifejlesztett származékok lényegesen hatékonyabb csontreszorpció-gátlók, de mineralizációs zavart nem okoznak. Az etidronát egyedülként növeli a vesetubulusokban történő foszfát visszaszívást, míg a többi vegyület csökkenti.

2. táblázat Néhány biszfoszfonát ED₅₀ (hatásos dózis) értéke [23]

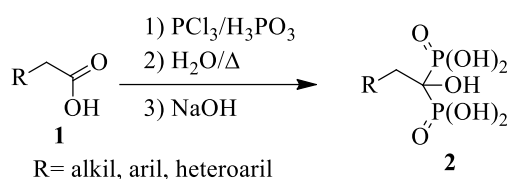
Biszfoszfonsav	ED₅₀ (µg/kg)
Zoledronát	0,07
Ibandronát	1,1
Risedronát	1,4
Alendronát	8
Pamidronát	61
Klodronát	1260
Etidronát	19950

Látható, hogy az oldalláncban *N*-atomot tartalmazó származékokat kis dózisban kell alkalmazni, ezért az iparban csak kis mennyiségben gyártják őket. Forgalomban lévő néhány készítmény: klodronsav (Bonefos[®]), tiludronát (Skelid[®]), alendronát (Fosamax[®], Sedron[®]), ibandronát (Bonviva[®], Bonoste[®]), risedronát (Actonel[®], Nurrid[®]), zoledronát (Zometa[®], Reclast[®]).

2.3. α -Hidroxi-metilénbiszfonsavak előállítása

2.3.1. Biszfoszfónátok általános előállítási lehetőségei

Az α -hidroxi-metilénbiszfoszfónátokat (2) legtöbbször karbonsavakból (1), vagy karbonsav-származékokból (savklorid, savanhidrid vagy észter) állítanak elő különböző reagensekkel, mint például foszfor-triklorid, foszforosav, foszfor-oxiklorid, foszfor-trioxid stb. A szintézisek több mint felében foszfor-trikloridot, és foszforosavat használnak reagensként (3. táblázat). Az általában alkalmazott reakcióhőmérséklet 70-75 °C. Hidrolízis és pH beállítást követően kapják a kívánt terméket (12. ábra) [8, 24].



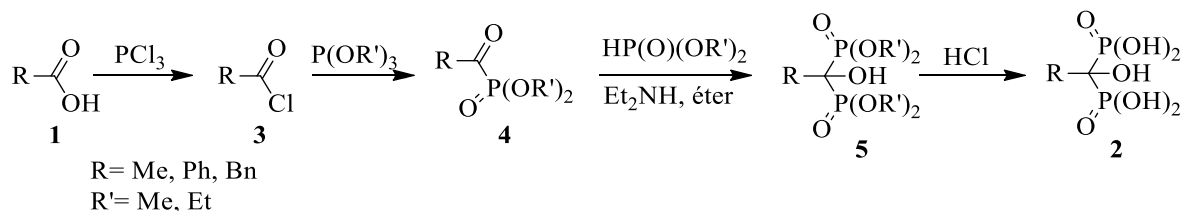
12. ábra

Az alkalmazott oldószerek ugyanúgy, mint a reaktánsok arányai széles skálán mozognak az irodalomban. Laboratóriumi körülmények között a leggyakrabban használt oldószerek a klórbenzol, 1,4-dioxán, 1,2-dimetoxietán, n-oktán, míg az iparban a metánszulfonsav. Jellemző, hogy a P-reagenseket nagy feleslegben alkalmazzák. A könnyen hozzáférhető, olcsó reagensek ugyan preparatív szempontból vonzóvá teszik ezt az eljárást, azonban hátrány a reakcióelegy extrém heterogenitása és a nagy mennyiségű sósavgáz fejlődése, melyek nagyon megnehezítik a reakció biztonságos végrehajtását. A kezdetben általában két fázisú keverék, a reakció előrehaladtával ragacsossá, majd keverhetetlenné válik, melyet tovább bonyolít az ezt követő hidrolízis hevessége. Ez kis mennyiségek előállításánál kezelhető, azonban ipari méretben a problémák egy részének kiküszöbölésére inkább metánszulfonsav oldószert alkalmaznak. A termelések 24-86% közöttiek, azonban sok leírásban nem szerepel tisztaság adat és pontos jellemzés, így feltételezhető, hogy a termékek a dronsavak és azok mono vagy dinátrium sóinak keverékei. A valódi termelések 30-40% körüliek lehetnek a tiszta termékre nézve. A P-reagensek szerepe, a reakciómechanizmus, az optimális körülmények az irodalomban nem tisztázottak, sokszor egymásnak ellentmondóak, a reakció egyfajta „fekete doboznak” volt tekinthető egészen a közelmúltig [8, 24].

3. táblázat

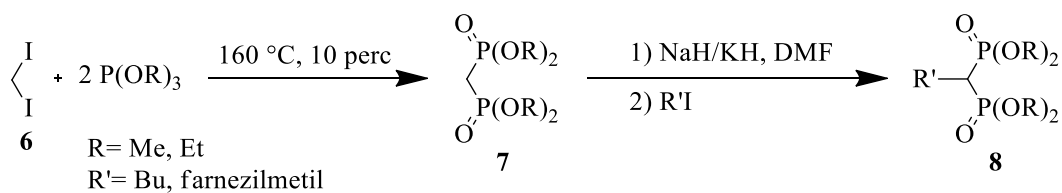
Reagens	Előállítható dronátok	Hivatkozások (db)
$\text{PCl}_3, \text{H}_3\text{PO}_3$	alendronát, benzidronát, ibandronát, risedronát, zoledronsav	28
PCl_3	alendronát, etidronsav, zoledronsav	8
H_3PO_3	alendronát	1
$\text{PCl}_3, \text{H}_3\text{PO}_4$	zoledronsav	3
$\text{P}_2\text{O}_5, \text{H}_3\text{PO}_3$	alendronát, risedronát	1
P_4O_6	etidronsav	2
$\text{POCl}_3, \text{H}_3\text{PO}_3$	benzidronát, ibandronát, risedronát, zoledronsav	6
$\text{POCl}_3, \text{H}_3\text{PO}_3, \text{H}_3\text{PO}_4$	risedronát,	1
$\text{P}(\text{OSiMe}_3)_3$	alendronát, benzidronsav, etidronsav	3

Más, eltérő úton történő előállítási lehetőségek is vannak. Az első ilyen lehetőség, savklorid (3) és trialkil-foszfít reakciójával indul (Arbuzov-reakció), majd a képződő α -ketofoszfónát (4) és dialkil-foszfít reakciója szolgáltatja a tetraalkil-biszfoszfónátot (5) (13. ábra) [25, 26].



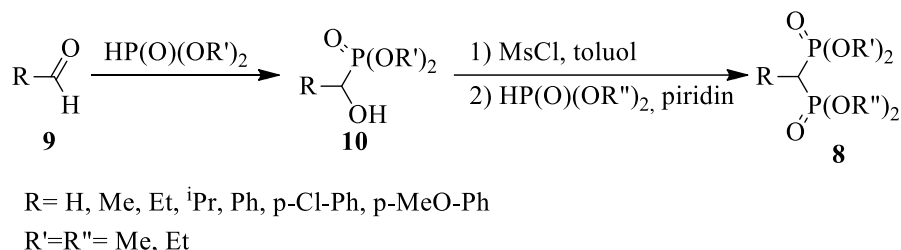
13. ábra

Egy másik előállítási mód, diiodometán (6) reagáltatása foszfítokkal kétszer (Arbuzov-reakció), majd a keletkező foszfonometil-foszfonsav (7) alkilezése. Ebben az esetben azonban a központi szénatomon nincs hidroxilcsoport, a termék a rokon szerkezetű α -szubsztituált-metilénbiszfoszfonsav észter (8) (14. ábra) [27, 28].



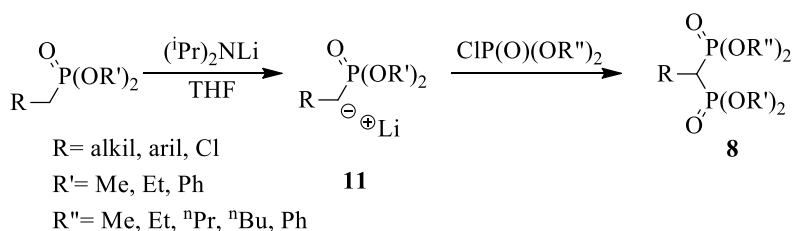
14. ábra

Aldehidekből **(9)** kiindulva is van lehetőség biszfoszfónátokat előállítani addíciós-szubsztitúciós reakcióval. Első lépésben az aldehid és dialkil-foszfít reakciójával α -hidroxifoszfónát **(10)** keletkezik, melyet először metánsulfonil-kloriddal, majd szintén dialkil-foszfittal reagáltatva juthatunk a tetraalkil-biszfoszfónáthoz **(8)** (15. ábra) [29].



15. ábra

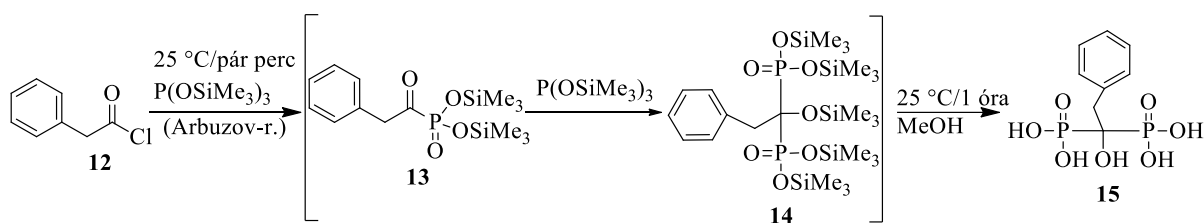
Az α -szubsztituált-metilénbiszfoszfonsav észter **(8)** egy különleges előállítási lehetősége, litiált dialkil-foszfónát **(11)** reagáltatása dialkil-klorofoszfónáttal (16. ábra) [30].



16. ábra

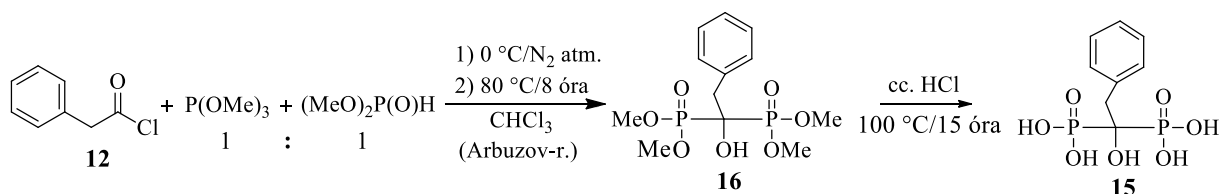
2.3.2. Benzidronsav előállítási lehetőségei

Benzidronsavat **(15)** először 2001-ben állítottak elő Lecouvey és munkatársai [31]. Fenilecetsav-kloridot **(12)** reagáltattak trisz(trimetilszilil)-foszfittal, amiből szobahőmérsékleten az 1-trimetilsziloxi-2-feniletildén-1,1-biszfoszfonsav tetrakis(trimetilszilil)-észtere **(14)** keletkezett (17. ábra). A tetrakis-észter szintézisének első lépése Arbuzov-reakción alapul, mely a bis(trimetilszilil) α -ketofoszfónátot **(13)** adja, melyből a második ekvivalens trisz(trimetilszilil)-foszfít addíciójával a tetrakis(trimetilszilil)-észter **(14)** képződik. Az észtert hidrolizálták, majd bepárlás után a tiszta terméket 90%-os termeléssel kapták. A reakcióhoz oldószert nem használtak.



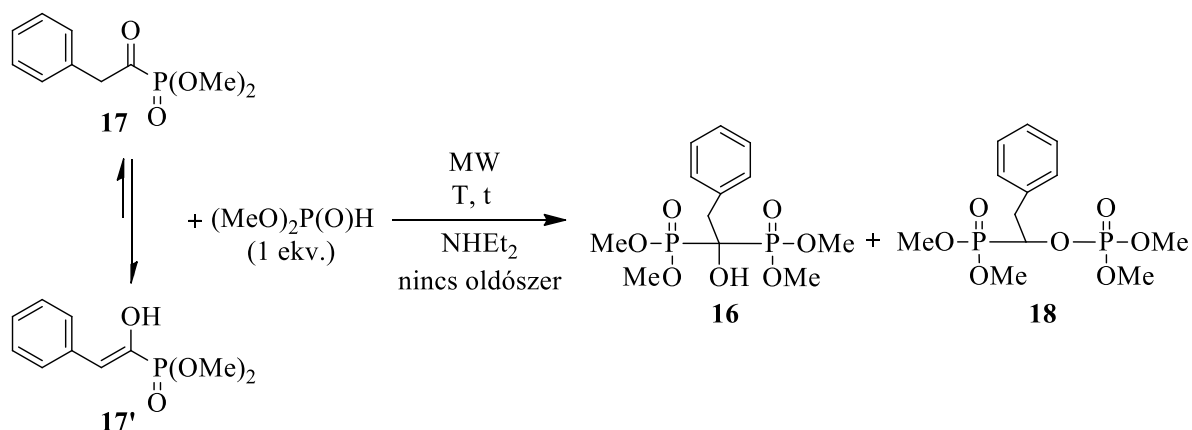
17. ábra

Egy másik előállítási utat is vizsgáltak, szintén fenilecetsav-kloridból (**12**) indultak ki, de eltérő P-reagensekkel állítottak elő a benzidronsavat (**15**) [32, 33]. Trimetil-foszfít és dimetil-foszfít keverékének kloroformos oldatát adagolták a fenilecetsav-klorid (**12**) kloroformos oldatához. Az elegyet ezután 80 °C-on kevertették (18. ábra). Hűtés után dietil-étert adtak az oldathoz, és a fehér kiválást szűrték. A benzidronsav-tetrametil-észtert (**16**) 97%-os termeléssel kapták, melyet hidrolizáltak, majd bepárolták az elegyet, és a maradékot benzol/dietil-éter keverékével tisztították, és így jutottak a tiszta benzidronsavhoz (**15**) 98%-os termeléssel.



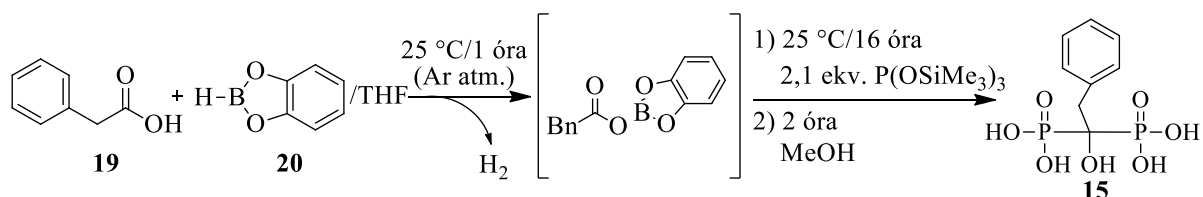
18. ábra

A kutatócsoportunkban egy korábbi munka keretén belül, benzidronsav-tetrametil-észterének (**16**) előállítását már megvalósították mikrohullámú körülmények között (19. ábra) [34]. Dimetil-fenilacetil-foszfónátot (**17**) reagáltattak dimetil-foszfittal különböző hőmérsékleteken (80-120 °C) és eltérő mennyiségű dietil-amin (DEA) katalizátor hozzáadásával. 80 °C-on, 3 órás besugárzási idővel, katalizátor alkalmazása nélkül, tisztán, 56%-os konverzióval kapták a benzidronsav-tetrametil-észtert (**16**), míg 120 °C-on, 10 perc alatt, 20% DEA jelenlétében 100%-os konverzióval egyedül az átrendeződött (**18**) termékhez jutottak. Jónéhány egyéb esetben a biszfoszfonsav-észter (**16**) és az átrendeződött termék (**18**) keverékét kapták, melyek elválasztása oszlopkromatográfiával történt. Figyelemreméltó, hogy a ketofoszfónát egyensúlyban van az enolformájával (**17**, **17'**).



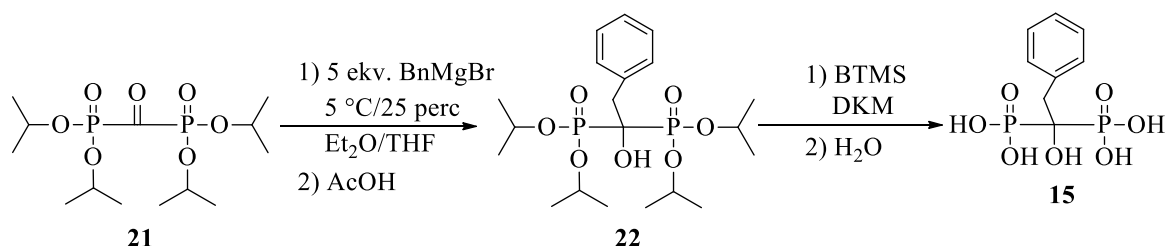
19. ábra

Egy 2011-es közlemény szerint Egorov, Aoun és munkatársaik [35] fenilecetsavból (19) állítottak elő a benzidronsavat (15) (20. ábra). A karbonsavhoz 1,1 ekvivalens katekolborán (20) 1 M-os tetrahidrofurános oldatát adták, és szobahőmérsékleten kevertették. A következő lépésben trisz(trimetilszilil)-foszfítot adtak a reakcióelegyhez, majd ismét kevertették. Metanolízis, majd az oldószer eltávolítása után a maradékot tisztították. A terméket olajként 70%-os termeléssel izolálták.



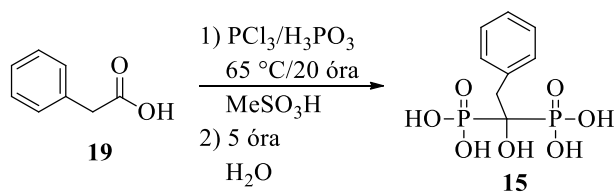
20. ábra

Egy 2008-as amerikai szabadalomban [36, 37] Grignard-reagens nukleofil addíciójával állítottak elő benzidronsavat (15) (21. ábra). A reakció során az α -keto-tetraizopropil-metilénbiszfoszfónát (21) toluolos oldatát lassan, keverés közben adagolták a benzil-magnézium-bromid dietil-éteres/THF-os oldatához. 25 perc keverés után ecetsavat adtak az elegyhez, majd a vizes fázist dietil-éterrel extrahálták. Az éteres fázisokat bepárolták és a maradékot oszlopkromatográfiás módszerrel tisztították. A benzidronsav-tetraizopropil-észtert (22) sárga olajként, 20%-os termeléssel kapták. A direkt dealkilezést bróm-trimetilszilán (BTMS) segítségével végezték.



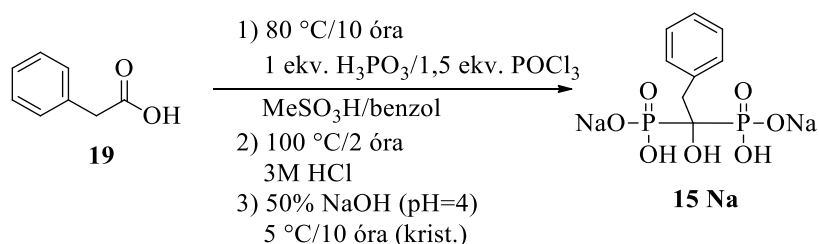
21. ábra

2001-ben, egy parazitológiával foglalkozó kutatócsoport (biszfoszfonátok parazitaellenes hatását vizsgálták), számos biszfoszfonátot előállított kutatásaihoz, köztük benzidronsavat (**15**) is (22. ábra) [9, 10]. Munkájuk során más dronátokra leírt Merck eljárást [24] adaptálták a számukra szükséges vegyületek szintéziséhez, így nem volt céljuk a reakciók optimalizálása, termelés javítása, így az ezzel kapcsolatos részleteket nem adták meg. Az előállításához alkalmazott Merck eljárás szerint a reakciók oldószereként metánszulfonsavat használtak, a kiindulási karbonsavhoz 1 ekvivalens foszforossavat adtak, majd a reakcióelegyet 65°C -ra melegítették. 20 perc alatt becsepegtettek 2,1 ekvivalens foszfor-trikloridot és az elegyet 16-20 órán keresztül kevertették. A tiszta, színtelen oldatot 25°C -ra hűtötték, majd gyors keverés közben vizet (~ 60 ekv.) adagoltak az elegyhez, és 5 órán át forralták. Hidrolízis után az elegyet hűtötték, beállították a megfelelő pH-t, és végül szűrték a terméket.



22. ábra

2014-ben a biszfoszfonátok HIV-vírus ellenes hatását vizsgáló kutatócsoport, foszforossav és foszfor-oxiklorid felhasználásával állított elő benzidronsavat (**15**) (23. ábra) [11]. Fenilecetsav (**19**) és foszforossav metánszulfonsavas-benzolos elegyét forralták, míg homogén nem lett az elegy, majd hűtötték és foszfor-oxiklorid benzolos oldatát csepegtették a reakcióelegyhez. A becsepegtetés végeztével tovább forralták a viszkózus, sárgás keveréket, majd sósav oldatot adtak hozzá, amit újabb forralás követett. A vizes fázist elválasztották, pH-ját 4-re állították. Kristályosítás után fehér porként kapták a benzidronsav-dinátrium sót, 75%-os termeléssel.

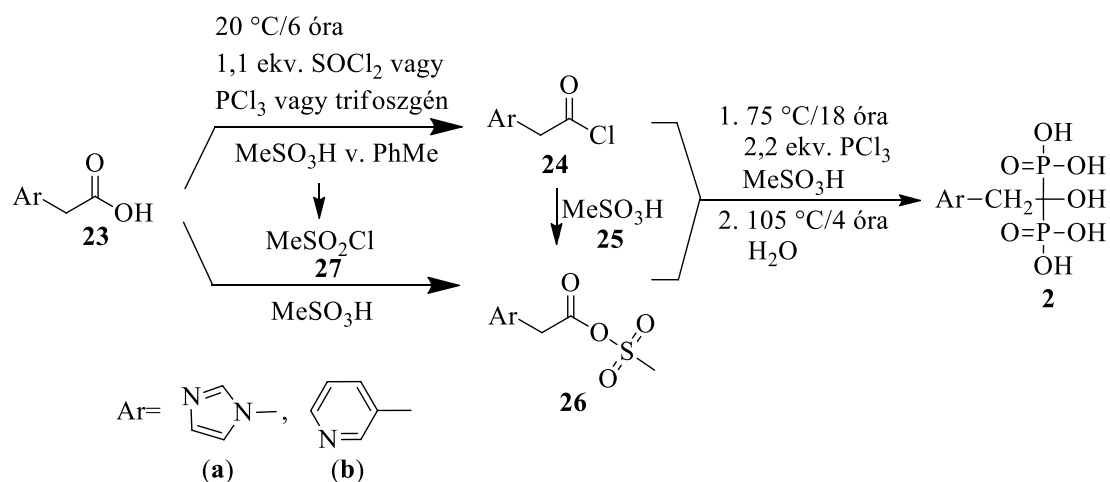


23. ábra

2.4. Tanszéki előzmények

A tanszéken már évek óta foglalkoznak biszfoszfonsavak/biszfoszfonátok szintézisének vizsgálatával. Kezdetben a zoledronsav és risedronsav szintézisét vizsgálták, s az irodalomban található ellentmondások tisztázása, optimalizálás és az alkalmas molarányok és körülmények feltárása volt a fő cél. Megállapították, hogy a foszforosav nem vesz részt a reakcióban, így felesleges a reakcióelegyhez adagolni. Továbbá kiderült, hogy elegendő a heteroaril-ecetsavat és a foszfor-trikloridot 1:3.1 molarányban alkalmazni és feltételezték, hogy - egy lehetőség szerint - a megfelelő savklorid lehet az első intermediér [38-40].

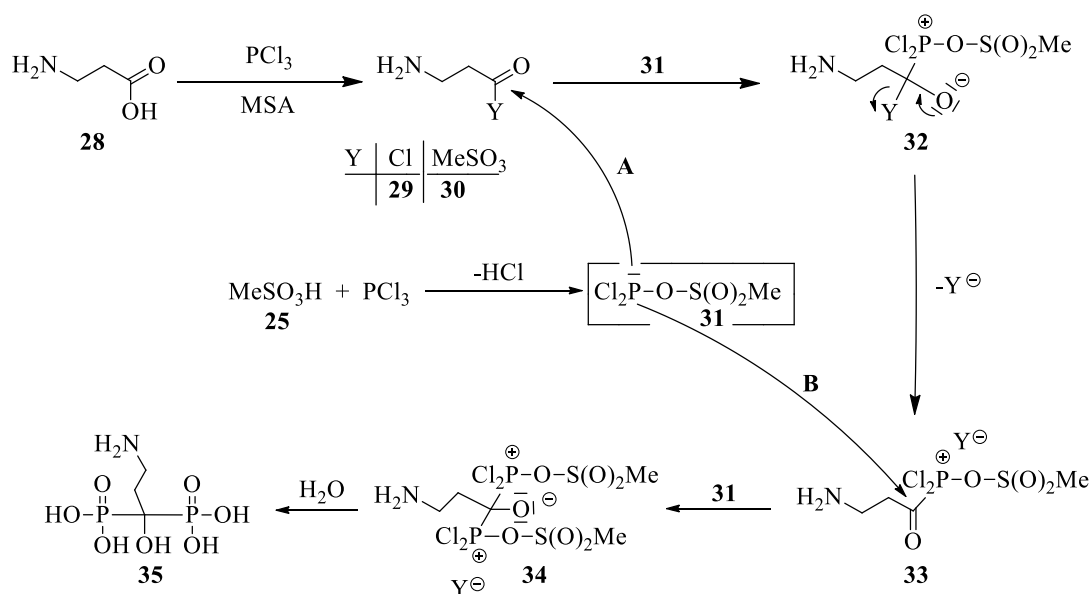
Későbbiekben ezen köztitermék jelenlétét kívánták bizonyítani. Ehhez a reakciót toluolban végezték, majd a savkloridokat észtereik és amidjaik előállításával azonosították. Metánszulfonsav oldószerben végezve a reakciót lehetséges, hogy intermediéreként főleg vegyes-anhidrid (**26**) alakul ki, amely létrejöhet a heteroarilacetil-klorid (**24**) és metánszulfonsav (**25**) reakciójával, vagy a kiindulási heteroaril-ecetsav (**23**) reagál a reakcióelegyben "in situ" képződő metánszulfonil-kloriddal (**27**) (24. ábra) [41].



24. ábra

A kifejlesztett eljárást adaptálták ibandronát és alendronát előállítására, továbbá korábbi munkám során elsőként kiterjesztettük az eljárást etidronát és fenidronát szintézisére is [42-45]. Etidronát előállítását acetil-kloridból, fenidronát szintézisét benzoil-kloridból és etil-benzoátból közvetlenül kiindulva is megvalósítottuk.

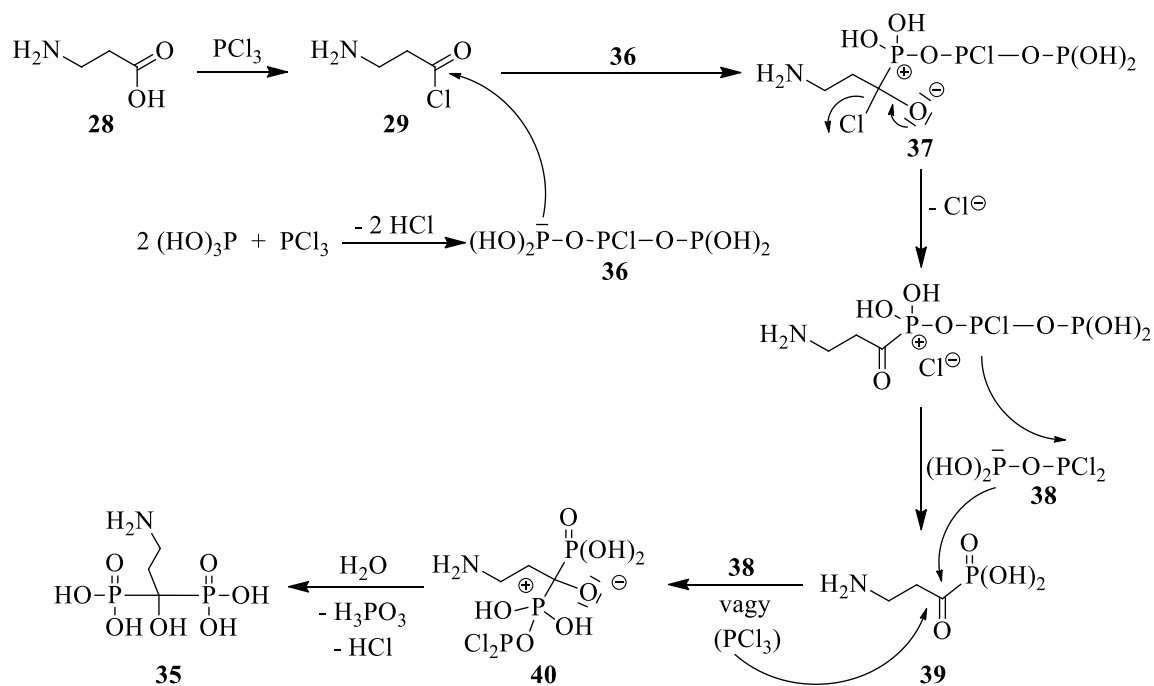
Pamidronsav (35) szintézisére is kibővítették a módszert, továbbá az eddigi mechanizmust tovább fejlesztették (25. ábra). E szerint a β -alaninból (28) kialakuló karbonsav-klorid (29), illetve vegyes-anhidrid (30) karbonilcsoportjának szénatomjára támad a metánszulfonsavból (25) és foszfor-trikloridból kialakuló species (31) foszforatomja (A nyíl). A keletkező addukt (32) $\text{Cl}^\ominus/\text{MeSO}_3^\ominus$ kilépéssel stabilizálódik, és α -keto-intermedier (33) képződik. A közbenső termék (33) karbonilcsoportján támad a vegyes-anhidrid (31) (B nyíl), majd a létrejövő köztitermék (34) hidrolízise szolgáltatja a hidroxi-biszfoszonsavat, ami adott esetben a pamidronsav (35) [46].



25. ábra

Pamidronsav szintézisének vizsgálata során, az előállítást szulfolánban végezve a foszfor-triklorid és foszforossav optimális molaránya - meglepő módon - 2:2. Reagensként egyedül foszfor-trikloridot vagy egyedül foszforossavat alkalmazva nem történt reakció. Mind a foszforossav, mind a foszfor-triklorid mennyiségét csökkentve vagy növelve romlott a termelés. Ennek az ésszerű magyarázata a 26. ábrán felírt lehetséges mechanizmus. A foszfor-trikloridból és foszforossavból kialakuló anhidrid típusú intermedier (36) reagálhat a savkloriddal (29), majd a képződő köztitermék (37) - két lépésben - ketofoszonsavvá (39)

alakul, melynek karbonilcsoportjára támadhat szintén egy anhidrid-típusú species (**38**), esetleg egy foszfor-triklorid molekula, és a képződő intermedier (**40**) hidrolízise szolgáltatja a terméket (**35**). Ez az első eset, amikor kiderült, hogy az oldószernek is szerepe van abban, hogy milyen P-reagensek vesznek részt a reakcióban [46].



26. ábra

3. Saját munka

3.1. Célkitűzés

Benzidronsav/benzidronát (15) esetén az irodalomban leírt eljárások döntő része az Arbuzov-reakción alapul (α -ketofoszfónát előállítása, majd egy P-species addíciója az oxocsoportra), és nem vizsgálták a többi dronát előállításánál leggyakoribb szintézis utat, a megfelelő karbonsavból foszfor-trikloriddal és foszforossavval történő előállítást. Célunk volt a tanszéken kifejlesztett módszer kiterjesztése [47, 48], hatékony, magas termelést biztosító szintézis kifejlesztése a reagensok optimális arányának felderítésével. A korábbi tanszéki tapasztalatok alapján a dronsavak/dronátok előállítására a foszfor-triklorid tűnik a legalkalmasabb reagensnek, ezt kívántuk vizsgálni benzidronát esetén is. A közleményekben nem található utalás a benzidronát kristályvíztartalmára sem, ami azonban több dronsav/dronát esetén is jellemző ezért ezt is megvizsgáltuk. Tanulmányoztuk a fenilecetsav-kloridból (12) és fenilecetsav-etilészterből (42) történő előállítás lehetőségeit is.

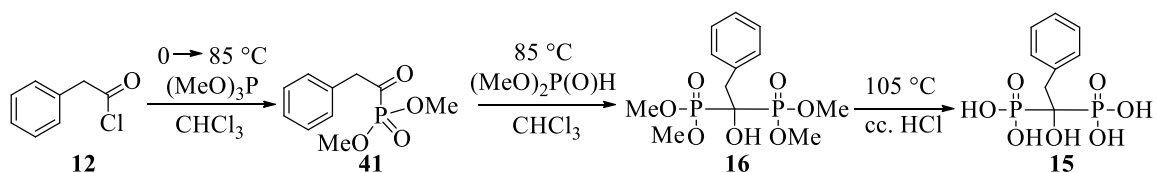
3.2. Az alkalmazott analitikai módszerek rövid ismertetése

„A biszfoszfónátok, a gyógyszerkészítmények egy olyan csoportja, amely általában ”fejfájást” okoz az analitikusoknak”. A két foszfónát csoport erős ionos karaktert és fokozott polaritást kölcsönöz a vegyületeknek. További probléma, hogy a biszfoszfónátok számos tagja nem tartalmaz kromofor csoportot, így nem lehetséges a kényelmes UV detektálás [49]. A minták tisztaságát potenciometriás titrálással, ^{31}P NMR, illetve néhány esetben ^{13}C NMR spektrumának a felvételével vizsgáltuk. A ^{31}P NMR spektrumokban láthatjuk a várt termék (dronát), és a foszforossav jelét, amely származhat a feleslegben adott foszfor-triklorid hidrolíziséből, vagy a bizonyos esetekben reagensként használt foszforossav maradéka is lehet. Ezen kívül a vizsgálattal kimutathatók az esetlegesen jelen lévő egyéb foszfortartalmú szennyezők is. A ^{13}C NMR spektrumokban pedig a várt biszfoszfónát és a nátrium-mezilát jelei láthatók. A titrálás alapján a minták benzidronát tartalmát kaphatjuk meg százalékosan kifejezve. A mérések Mettler DL77 típusú titrátorral készültek. A titrálást 0,1 mol/l koncentrációjú nátrium-hidroxid mérőoldattal végezték. A készülék a bemért minta tömegéből és a nátrium-hidroxid mérőoldat fogyásából számolja a minta tisztaságát. Minimum három párhuzamos mérést végeztek minden esetben.

3.3. Benzidronsav/benzidronát szintézisének vizsgálata

3.3.1. Benzidronsav előállítása Arbuzov-reakcióval

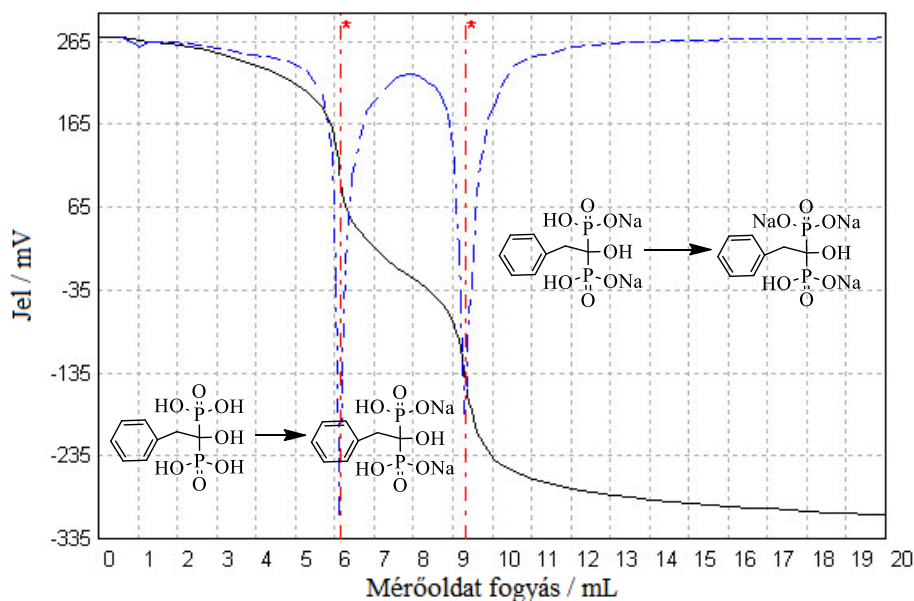
A munkát a mintáink azonosításához szükséges analitikai tisztaságú benzidronsav standard előállításával kezdtük. Egy az irodalomban már leírt eljárást követtünk [32, 33]. Fenilecetsav-kloridot (**12**) trimetil-, és dimetil-foszfittal reagáltattunk, amikor is a fenilecetsav-klorid (**12**) és trimetil-foszfít reakciójából első intermediereként α -ketofoszfónát (**41**) képződik, amiből azután a jelenlévő dimetil-foszfít hatására „one-pot” reakcióban benzidronsav-tetrametil-észter alakul ki (**16**), melynek savas hidrolízisével kaptuk a tiszta benzidronsavat (**15**) (27. ábra).



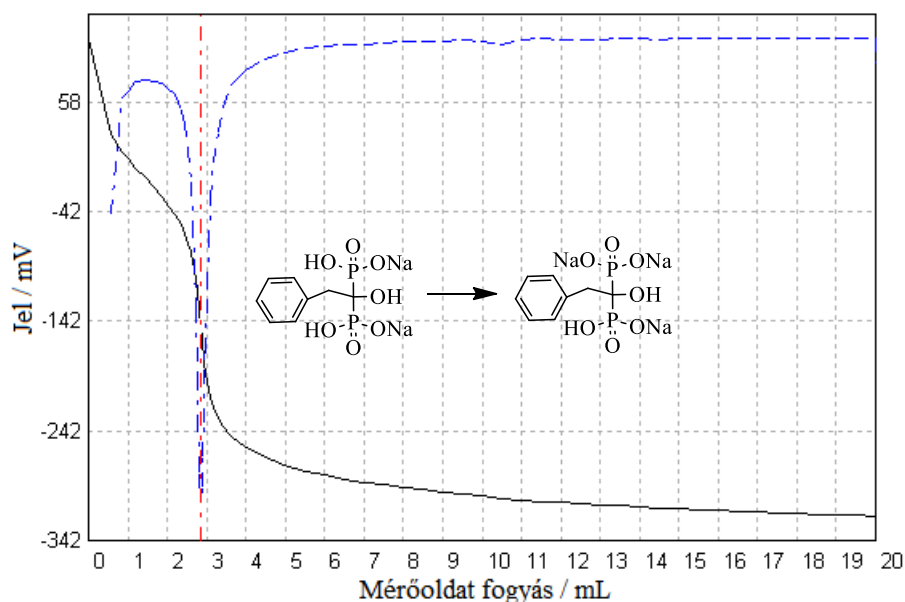
27. ábra

3.3.2. Benzidronsav/benzidronát titrálási görbéje, kristályvíztartalma

A 28. ábrán a szabad benzidronsav (**15**) titrálási görbéje látható. A bemért minta és a titrálás során fogyott NaOH mérőoldat (0,1 mol/l) mennyiségéből kiszámolható, hogy az első ekvivalenciapont megfelel a szabad sav és a benzidronsav-dinátrium só átmenetének, míg a második a di és trinátrium só közötti átmenetnek.



A 29. ábrán a 4. táblázat, 9. sorában feltüntetett kísérlet termékének titrálási görbéje látható. Megállapítható, hogy az első cseppek hatására a mintában lévő minimális mennyiségű szabad sav dinátrium sóvá alakul, majd további mérőoldat hatására a benzidronsav-trinátrium só képződik.

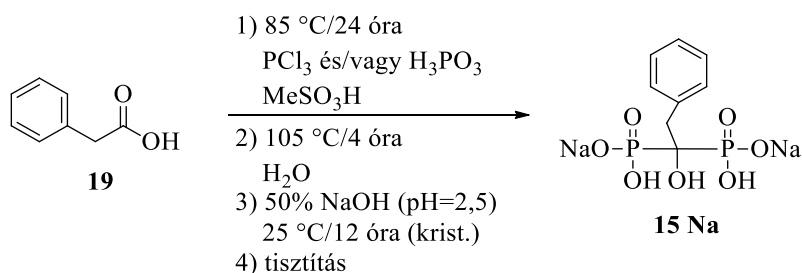


29. ábra

Mivel a feldolgozási folyamat során a reakcióelegy pH-ját 50%-os NaOH oldattal 2,5-re állítjuk, termékként a benzidronsav-dinátrium sóját kapjuk. Termikus vizsgálatok (DSC és TG) során kiderült, hogy a termék nem tartalmaz kristályvizet.

3.3.3. Benzidronát szintézise fenilecetsavból kiindulva

A kutatómunkám következő lépéseként fenilecetsav (**19**), foszfor-triklorid és foszforosav reakcióját vizsgáltuk metánszulfonsavban (30. ábra).



30. ábra

A reakciók során a P-reagenseket különböző molarányokban használtuk, a reakcióidő minden esetben 24 óra, a reakcióhőmérséklet pedig 85 °C volt. Hidrolízist követően (105 °C-on 4 óra keverés) az elegy pH-ját 50%-os NaOH oldattal 2,5-re állítottuk, majd 12 órás keverés után a kiválást szűrtük. A nyersterméket ezután vizes oldatából metanollal kicsaptuk, és metanol:víz 94:6 keverékoldószerben digeráltuk. A kísérleti eredmények potenciometriás titrálással, illetve ^{31}P NMR spektrum alapján kapott értékeit a 4. táblázat tartalmazza.

4. táblázat

Sorszám	Reaktáns		Tisztaság (%) (Potenciometriás titrálás alapján ^a)	Termelés ^a (%)
	PCl_3 (ekv.)	H_3PO_3 (ekv.)		
1	0	3	0	0
2	1	0	68	2
3	1	1	66	15
4	1	2	77 (97) ^b	44
5	2	0	89 (99) ^b	36
6	2	1	92 (100) ^b	74
7	2	2	92 (100) ^b	72
8	3,2	0	95 (100) ^b	46
9	3	1	95 (100) ^b	81
10	3	2	96 (100) ^b	79

^a Az eredményt legalább két párhuzamos reakció átlagaként kaptuk.

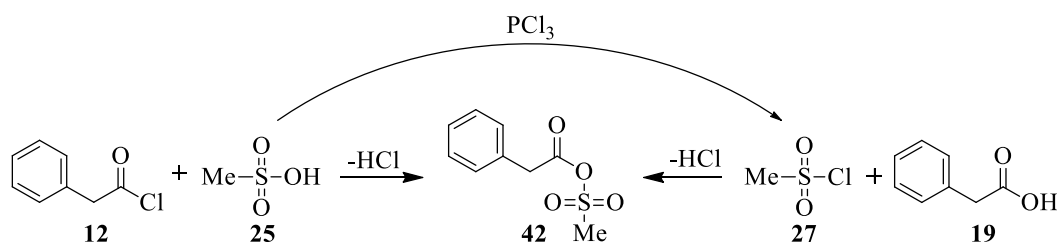
^b ^{31}P NMR spektrum alapján.

Azokban az esetekben, amikor 3 ekvivalens foszforossavat vagy 1 ekvivalens foszfor-trikloridot használtunk reagensként gyakorlatilag nem keletkezett termék (4. táblázat, 1. és 2. sor). Mikor mindkét P-reagensből 1 ekvivalens mennyiséget alkalmaztunk csak szerény, 15%-os termeléssel, és csupán 66%-os tisztasággal kaptuk a benzidronátot (4. táblázat, 3. sor). Növelve a foszforossav mennyiségét 2 ekvivalensre jelentős javulást eredményezett, a kihozatal 44%, de a tisztaság mindössze 77% (4. táblázat, 4. sor). Egyedül 2 ekvivalens foszfor-triklorid használata reagensként 36%-os termeléssel és 89%-os tisztaságban tette lehetővé a benzidronát szintézisét (4. táblázat, 5. sor). Figyelemreméltó, hogy a 2 ekvivalens foszfor-triklorid mellett 1 vagy 2 ekvivalens foszforossavat adva a reakcióelegyhez a kihozatal számottevően növekedett, rendre 74% és 72%, tisztaságuk pedig

92% (4. táblázat, 6. és 7. sor). A következő kísérletben, amikor 3,2 ekvivalens foszfor-triklorid volt a reagens, szerényebb, 46%-os termeléssel, 95%-os tisztaságban sikerült izolálni a benzidronátot (4. táblázat, 8. sor). A 3,2 ekvivalens foszfor-triklorid mellett 1 vagy 2 ekvivalens foszforosavat alkalmazva, jelentős termelésnövekedést tapasztaltunk (81% és 79%), míg a tisztaság elérte a 95% illetve 96%-ot (4. táblázat, 9. és 10. sor).

A korábbi tapasztalatainkkal [38-40, 42-46] (a foszforosav nem vesz részt a reakcióban, és a foszfor-triklorid a valódi reagens) összhangban a 4-es táblázat 1, 2, 5 és 8. sorában feltüntetett termelésértékek (rendre 0%, 2%, 36% és 46%) teljes mértékben megfelelnek a várakozásainknak. A 2 vagy 3 ekvivalens foszfor-triklorid mellett az 1 vagy 2 ekvivalens foszforosav pozitív hatása meglepő (4. táblázat, 6, 7, 9 és 10. sor), mivel a többi dronsav/dronát esetén ezt nem tapasztaltuk. A megfelelő karbonsav, 2 ekvivalens foszfor-triklorid és 1 ekvivalens foszforosav reagáltatásakor risedronsav [38], zoledronsav [38], ibandronát [40], alendronát [40] és pamidronát [46] esetén alacsonyabb termelésadatokat, míg az etidronát [42] és fenidronát [43] esetén hasonló eredményeket kaptunk, mint amikor 3,2 ekvivalens foszfor-trikloridot alkalmaztunk az adott dronát előállításánál. Fontos megjegyezni, hogy ezek az észrevételek azokra az esetekre vonatkoznak, amikor metánszulfonsav volt az oldószer. Csak egy alkalommal, mégpedig a pamidronát szulfolánban végrehajtott szintézisében tapasztaltuk, hogy a foszforosav is részt vett a reakcióban, melyet azzal magyaráztunk, hogy a foszforosavból és foszfor-trikloridból egy reaktívabb $(\text{HO})_2\text{P-O-PCl}_2$, anhidrid-típusú intermedier jön létre.

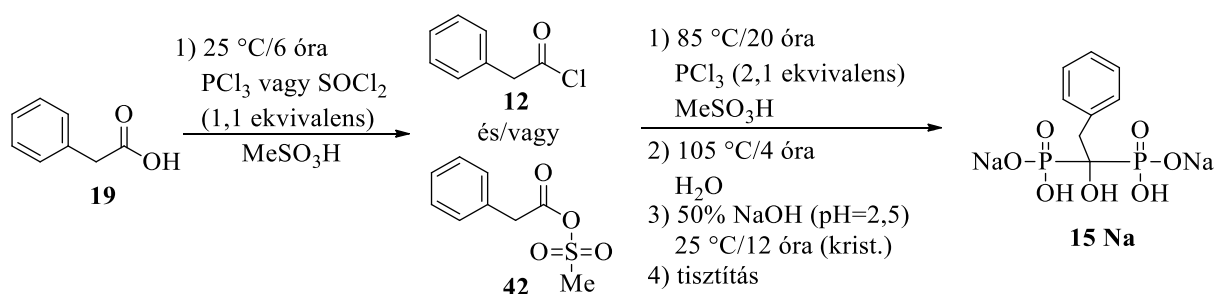
A benzidronátnál is azt feltételezzük, hogy ugyanez a species képződik, és támad az intermedierként létrejövő fenilecetsav származékok karbonilcsoportjának szénatomjára. Az egyik ilyen intermedier lehet a fenilecetsav-klorid (**12**), melyet a fenilecetsav (**19**) és 1 ekvivalens foszfor-triklorid kölcsönhatása eredményez. Egy másik elképzelhető köztitermék a fenilecetsavból és metánszulfonsavból létrejövő vegyes-anhidrid (**42**), amely két úton is létrejöhet. Az egyik lehetőség, hogy a fenilecetsav-klorid (**12**) és metánszulfonsav (**25**) reakciójában keletkezik, másik út pedig, hogy a fenilecetsav (**19**) reagál a metánszulfonsav-kloriddal (**27**), amely a foszfor-triklorid és metánszulfonsav (**25**) reakciója során képződhet (31. ábra).



31. ábra

Metánszulfonsavban azonban kevés az esély arra, hogy a foszfor-triklorid reagál a foszforossavval és (HO)₂P-O-PCl₂ képződik, mivel nagyobb mennyiségben van jelen az oldószer (25) így nagyobb a valószínűsége a metánszulfonsav-klorid létrejöttének. Ugyanakkor a fenilecetsav származékok (12 és 42) talán reaktívabbak, mint az analóg helyettesített karbonsav-származékok (acetil-, benzoil-, piridil-ecetsav-klorid, illetve észterek stb.), így képesek lehetnek reagálni az alacsony koncentrációban jelen lévő (HO)₂P-O-PCl₂ speciessel.

Annak igazolására, hogy a dronsavképzés első intermediere a savklorid (12) és a vegyes-anhidrid (42), két lépésben is végrehajtottuk a benzidronát szintézisét. Először fenilecetsavat reagáltattunk 1,1 ekvivalens foszfor-trikloriddal vagy tionil-kloriddal metánszulfonsavban, szobahőmérsékleten, 4 órán keresztül. Második lépésben a képződött savklorid (12) és vegyes anhidrid (42) keverékét reagáltattuk további 2,1 ekvivalens foszfor-trikloriddal, az előzőek szerint (32. ábra).



32. ábra

A kísérleti adatokat az 5. táblázat tartalmazza. Látható, hogy amikor a reakció mindkét lépését foszfor-trikloriddal végeztük ugyanazt az eredményt kaptuk, mint az egy lépéses kísérletben. A kihozatal 46% mindkét esetben, míg a tisztaság 94-95% (5. táblázat, 1. sor és 4. táblázat, 8. sor). Ugyanakkor, ha tionil-kloridot használtunk az első lépésben, a benzidronátot csak 24%-os termeléssel és alacsonyabb tisztaságban (86%) kaptuk (5. táblázat,

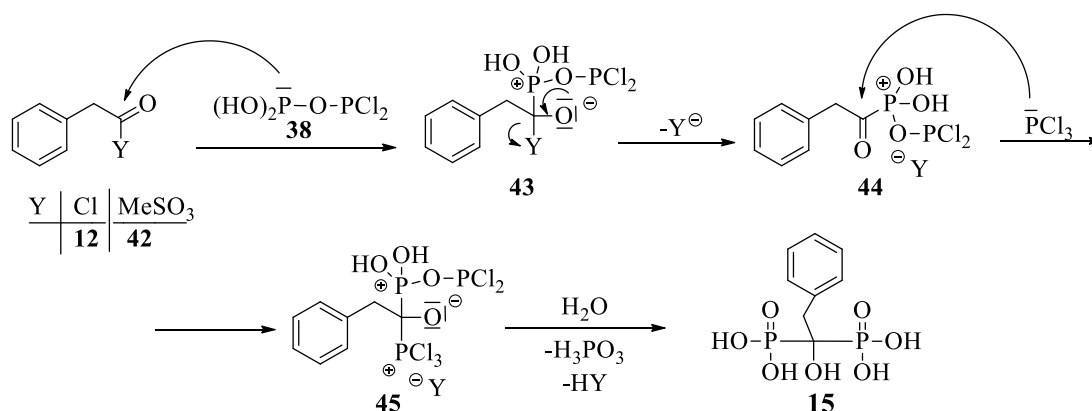
2. sor). Ahogy a korábbi két lépéses kísérletek [40-47], a jelenlegiek is igazolják a savklorid és/vagy vegyes-anhidrid intermedierek részvételét a reakcióban.

5. táblázat

Sorszám	Szervetlen halogénezőszer (1,1 ekv.)	P-reagens (2,1 ekv.)	Tisztaság (%) (Potenciometriás titrálás alapján ^a)	Termelés ^a (%)
1	PCl ₃	PCl ₃	94	46
2	SOCl ₂	PCl ₃	86	24

^a Az eredményt legalább két párhuzamos reakció átlagaként kaptuk.

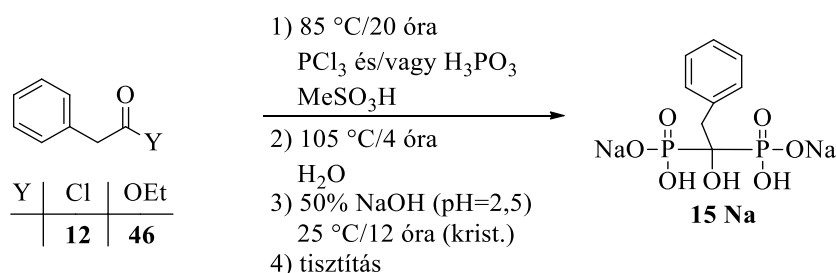
Úgy gondoljuk, hogy a vegyes-anhidrid (**42**) vagy fenilecetsav-klorid (**12**) reagál a (HO)₂P(O)PCl₂ (**38**) speciessel, és a létrejövő köztitermék (**43**) mezilát vagy klorid ion kilépéssel α-keto (**44**) származékká alakul. Az intermedier (**44**) karbonilcsoportjára támad a foszfor-triklorid molekula foszforatomja, majd a képződő addukt (**45**) hidrolízisével jutunk a benzidronsavhoz (**15**) (33. ábra). A felírt reakciómechanizmus magyarázatot ad arra, hogy miért 3 ekvivalens foszfor-triklorid és 1 ekvivalens foszforossav alkalmazásakor kaptuk a legjobb eredményeket. A vegyes-anhidrid vagy savklorid képződéséhez 1 ekvivalens foszfor-trikloridra (31. és 32. ábra), az aktívabb species (**38**) létrejöttéhez szintén 1 ekvivalens foszfor-trikloridra és 1 ekvivalens foszforossavra van szükség. A reakció során még 1 ekvivalens foszfor-triklorid reagál az α-keto intermedierrel (**44**). Látható tehát, hogy az optimális mólarány 3:1 foszfor-triklorid:foszforossav.



33. ábra

3.3.4. Benzidronát szintézise fenilecetsav-kloridból, -etilészterből kiindulva

A következő kísérletek során megpróbáltunk fenilecetsav-kloridot (**12**), illetve fenilecetsav-etilésztert (**46**) használni kiindulási ágensként. P-reagensként foszfor-trikloridot és foszforossavat használtunk különböző molarányokban, és a reakciót az előzőek szerint végeztük (34. ábra). A kísérleti adatokat a 6. táblázat tartalmazza.



34. ábra

6. táblázat

Sorszám	Kiindulási anyag	Reaktáns		Tisztaság (%) (Potenciometriás titrálás alapján ^a)	Termelés ^a (%)
		PCl ₃ (ekv.)	H ₃ PO ₃ (ekv.)		
1	Fenilecetsav-klorid	0	2	-	0
2		1	1	76	50
3		2	0	93	27
4		2	1	95	55
5	Fenilecetsav-etilészter	1	1	62	44
6		2	0	88	55
7		2	1	82	47

^a Az eredményt legalább két párhuzamos reakció átlagaként kaptuk.

Amikor fenilecetsav-kloridot (**12**) reagáltattunk foszforossavval nem történt reakció (6. táblázat, 1. sor). Ez a kísérlet is megerősíti, hogy a foszforossav önmagában nem reakcióképes, azonban foszfor-triklorid hatására aktiválódhat. Egy ekvivalens foszfor-trikloridot és azonos mennyiségű foszforossavat használva 50%-os termeléssel és 76%-os tisztaságban kaptuk a terméket (6. táblázat, 2. sor), míg egyedül 2 ekvivalens foszfor-trikloriddal 93%-os tisztasággal és csupán 27%-os kihozattal jutottunk a benzidronáthoz (6. táblázat, 3. sor). Az utóbbi kísérlet „egyenértékű” azzal az egylépéses reakcióval, amikor fenilecetsav (**19**) volt a kiindulási anyag és a P-reagens pedig 3 ekvivalens

foszfor-triklorid. Ez a megvalósítás (4. táblázat, 8. sor) hatékonyabbnak bizonyult (termelés: 46%, tisztaság: 95%), mely arra enged következtetni, hogy valójában a domináns intermedier a vegyes-anhidrid (**42**) nem pedig a fenilecetsav-klorid (**12**). A következő reakció során 2 ekvivalens foszfor-trikloridot együtt használtunk 1 ekvivalens foszforossavval, mely ismét a legmagasabb termelést és tisztaságot szolgáltatva a sorozatban, rendre 55% és 95% (6. táblázat, 4. sor). Ez a kísérlet ekvivalens a 4. táblázat 9. sorában feltüntetett reakcióval (fenilecetsav és 3 ekvivalens foszfor-triklorid és 1 ekvivalens foszforossav). A fenilecetsavból (**19**) kiinduló reakció szintén hatékonyabbnak bizonyult (termelés: 81%, tisztaság: 95%), mely ugyanúgy alátámasztja, hogy a túlsúlyban lévő köztitermék a vegyes-anhidrid (**42**).

Végül fenilecetsav-etilésztert (**46**) használtunk kiindulási vegyületként. A foszfor-trikloridot és foszforossavat 1:1, 2:0, és 2:1 molarányokban használtuk. A kihozatal benzidronátra nézve rendre 44%, 55% és 47%, illetve a tisztaság 82%, 88% és 82% volt (6. táblázat, 5-7. sor). Ezen kísérletek alapján megállapítható, hogy a fenilecetsav (**19**) mellett a fenilecetsav-etilészter (**46**) is jobb kiindulási-anyag, mint a savklorid (**12**). Azokban a kísérletekben, amikor 2 ekvivalens foszfor-trikloridot használtunk, azt tapasztaltuk, hogy fenilecetsav-etilészterből (**46**) kiindulva számottevően nagyobb termeléssel jutottunk a benzidronáthoz (**15**) mint savkloridból (**12**) kiindulva (55% és 27%) (6. táblázat, 6. és 3. sor). Ezek a reakciók megerősítik, hogy a benzidronsav (**15**) szintéziséhez szükséges egy aktívabb karbonsav-származék jelenléte, vagyis hogy a $\text{PhCH}_2\text{C}(\text{O})\text{OSO}_2\text{Me}$ vegyes-anhidrid lehet a domináns. Az észterből kiinduló reakció környezetvédelmi szempontból kedvezőbb, mert csökkenthető a melléktermékként képződő sósavgáz mennyisége.

4. Kísérletek részletes leírása

4.1. Készülékek

NMR: A ^{31}P (121,50 MHz), ^{13}C (75,0 MHz) és ^1H NMR (300 MHz) spektrumokat Bruker AV-300 típusú készülék segítségével vették fel. A ^{31}P NMR kémiai eltolódás értékeit a 85%-os H_3PO_4 jeléhez, a ^{13}C és ^1H NMR kémiai eltolódás értékeit pedig az oldószer jeléhez viszonyítva adtuk meg. A csatolások Hz-ben értendők.

Potenciometriás titrátor: A minták tisztaságát Mettler DL77 típusú potenciometriás titrátor segítségével, különbségi potenciometrikus titrálás módszerét alkalmazva határozták meg. A kapott eredményeket három független mérés átlagaként adtuk meg.

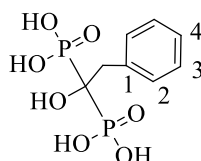
4.2. Receptek

Benzidronsav standard szintézise

40 ml kloroformba bemértünk 11 ml (0,08 mol) fenilecetsav-kloridot (**12**), majd cseppenként 9,8 ml (0,08 mol) trimetil-foszfít és 7,6 ml (0,08 mol) dimetil-foszfít kloroformos (40 ml) oldatát adtuk hozzá 0 °C-on, intenzív keverés közben. Miután becsepegtettük a reagenseket, a hőmérsékletet 85 °C-ra emeltük és 18 órán keresztül kevertettük az elegyet. Ezután az oldószert vákuumban eltávolítottuk és a nyersterméket sárga olaj formájában kaptuk (20,0 g). A tisztítás oszlopkromatográfiával történt (szilika gél, CH_2Cl_2 :MeOH 97:3), mely 7,5 g (termelés: 25%) tiszta benzidronsav-tetrametil-észtert (**16**) eredményezett (világossárga olaj). ^{31}P NMR (CDCl_3) δ 21,0; δ [32] (CDCl_3) 20,5; ^1H NMR (CDCl_3) δ 3,36 (t, $J=13,7$, 2H, CH_2); 3,79-3,72 (m, 12H, OCH_3); 7,31-7,24 (m, 3H, ArH); 7,39 (d, $J=6,6$, 2H, ArH); δ [32] (CDCl_3) 3,4 (t, $J=13,5$, CH_2); 3,8 (CH_3); 7,3 (m, ArH); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 39,1 (s, CH_2); 54,3 (t, $J=10,4$, $J=3,5$, OCH_3); 54,2 (t, $J=10,4$, $J=3,5$, OCH_3); 75,7 (t, $J=151,7$, P-C-P); 127,2 (s, C_4); 127,9 (s, C_2^*); 131,3 (s, C_3^*); 134,4 (t, $J=8,6$, C_1) *felcserélhető; δ [34] (CDCl_3) 39,2 (CH_2); 54,2 (t, $J=8,0$, $J=3,5$, OCH_3); 75,8 (t, $J=151,9$, P-C-P); 127,2 (Ar); 128,0 (Ar); 131,4 (Ar); 134,5 (t, $J=8,6$, Ar).

1,3 g (4,0 mmol) tetrametil-észtert (**16**) hidrolizáltunk, 4 órán keresztül 15 ml tömény sósav oldatban forraltuk. Az oldószer eltávolítása után (vákuumban) 0,80 g benzidronsavat

kaptunk (tisztaság: 90%, halványsárga por). A nyersterméket 5 ml izopropil-alkoholban szuszpendáltuk, és szobahőmérsékleten 30 percet kevertettük. A tisztítást egyszer megismételtük. Az eljárással 0,60 g, 100%-os tisztaságú benzidronsavhoz (**15**) jutottunk (fehér por). ^{31}P NMR (D_2O) δ 18,6; δ [32] (D_2O) 19,5; ^1H NMR δ (D_2O) 3,22 (t, $J=13,6$, 2H, CH_2); 7,31-7,18 (m, 5H, ArH); δ [35] ($\text{CD}_3\text{C}(\text{O})\text{CD}_3$) 3,31 (t, $J=12$, 2H, CH_2); 7,25-7,03 (m, 3H, ArH); 7,5-7,28 (m, 2H, ArH); ^{13}C NMR (D_2O) δ 38,4 (s, CH_2); 73,9 (t, $J=144,3$, P-C-P); 127,0 (s, C_4); 128,0 (s, C_2^*); 131,3 (s, C_3^*); 135,5 (t, $J=8,4$, C_1) *felcserélhető, δ [50] (D_2O) 42,0; 78,8 (t, $J_{\text{C,P}}=145,7$); 130,2; 131,2; 134,4; 138,8.



35. ábra

Benzidronsav-dinátrium sójának szintézise fenilecetsavból kiindulva, foszfor-trikloriddal és foszforossavval egy lépéses reakcióban (4. táblázat, 9. sor)

10,5 ml metánszulfonsavba bemértünk 3,4 g (0,025 mol) fenilecetsavat (**19**) és 2,1 g (0,025 mol) foszforossavat, majd intenzív keverés közben kb. 30 perc alatt becsepegtettünk 6,6 ml (0,075 mol) foszfor-trikloridot. Becsepegtetés után 85 °C-on 24 órán keresztül reagáltattuk a komponenseket. Miután szobahőmérsékletűre hűtöttük 20 ml (1,1 mol) vizet adtunk a keverékhez, majd 105 °C-on 4 órán át forraltuk. Ezt követően a pH-t 50%-os NaOH oldattal (~13 ml) 2,5-re állítottuk, majd szobahőmérsékleten 12 órát kevertettük a szuszpenziót, végül a kiválást szűrtük (20,0 g). A nyersterméket 25 ml forró vízben feloldottuk, majd 100 ml metanolt adunk az elegyhez és vizes hűtés közben egy órán keresztül kevertettük. A kiválást szűrtük, majd a digerálást 60 ml metanol-víz (94:6) elegyben 30 °C-on 30 percig végeztük. A szilárd terméket szűrtük. Szárítást (infralámpa alatt) követően 6,9 g (80%), 95%-os tisztaságú benzidronátot (**15**) kaptunk. ^{31}P NMR (D_2O) δ 17,8; δ [11] (D_2O) 19,0; ^{13}C NMR (D_2O) δ 38,4 (s, CH_2); 74,3 (t, $J=134,7$, P-C-P); 126,7 (s, C_4); 128,0 (s, C_2^*); 131,5 (s, C_3^*); 136,8 (t, $J=7,9$, C_1) *felcserélhető.

Benzidronsav-dinátrium sójának szintézise fenilecetsavból kiindulva, foszfor-trikloriddal két lépéses reakcióban (5. táblázat, 1. sor)

10,5 ml metánszulfonsavba bemértünk 3,4 g (0,025 mol) fenilecetsavat (**19**), majd intenzív keverés közben 2,4 ml (0,028 mol) foszfor-trikloridot csepegtettünk be és szobahőmérsékleten 6 órán át reagáltattuk a komponenseket. Ezután 4,6 ml (0,053 mol) foszfor-trikloridot adtunk az elegyhez és további 18 órán keresztül kevertettük 85 °C-on. A reakció feldolgozása (hidrolízis, pH állítás, kiválás szűrése, metanolos kicsapás és digerálás) a fent leírt módon történt. Szárítás (infralámpa alatt) után a benzidronát (**15**) tömege 4,0 g (46%), a tisztaság 94%. ^{31}P NMR (D_2O) δ 17,7.

Benzidronsav-dinátrium sójának szintézise fenilecetsavból kiindulva, tionil-kloriddal és foszfor-trikloriddal két lépéses reakcióban (5. táblázat, 2. sor)

10,5 ml metánszulfonsavba bemértünk 3,4 g (0,025 mol) fenilecetsavat (**19**), majd intenzív keverés közben 1,9 ml (0,026 mol) tionil-kloridot csepegtettünk be és szobahőmérsékleten 6 órán át reagáltattuk a komponenseket. Ezután 4,6 ml (0,053 mol) foszfor-trikloridot adtunk az elegyhez és további 18 órán keresztül kevertettük 85 °C-on. A reakció feldolgozása (hidrolízis, pH állítás, kiválás szűrése, metanolos kicsapás és digerálás) a fent leírt módon történt. Szárítás (infralámpa alatt) után a benzidronát (**15**) tömege 2,1 g (24%), a tisztaság 94%. ^{31}P NMR (D_2O) δ 17,8.

Benzidronsav-dinátrium sójának szintézise fenilecetsav-kloridból kiindulva, foszfor-trikloriddal és foszforossavval (6. táblázat, 4. sor)

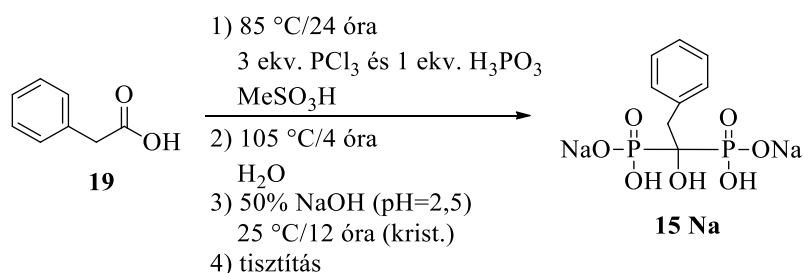
10,5 ml metánszulfonsavba bemértünk 3,3 ml (0,025 mol) fenilecetsav-kloridot (**12**) és 2,3 g (0,028 mol) foszforossavat, majd intenzív keverés közben 4,8 ml (0,055 mol) foszfor-trikloridot csepegtettünk be és 85 °C-on 20 órát kevertettük. A reakció feldolgozása (hidrolízis, pH állítás, kiválás szűrése, metanolos kicsapás és digerálás) a fent leírt módon történt. Szárítás (infralámpa alatt) után a benzidronát (**15**) tömege 4,7 g (55%), a tisztaság 95%. ^{31}P NMR (D_2O) δ 17,8.

Benzidronsav-dinátrium sójának szintézise fenilecetsav-etilészterből kiindulva, foszfor-trikloriddal (6. táblázat, 6. sor)

10,5 ml metánszulfonsavba bemértünk 4 ml (0,025 mol) fenilecetsav-etilésztert (**46**) és intenzív keverés közben 4,8 ml (0,055 mol) foszfor-trikloridot csepegtettünk be és 85 °C-on 20 órát kevertettük. A reakció feldolgozása (hidrolízis, pH állítás, kiválás szűrése, metanolos kicsapás és digerálás) a fent leírt módon történt. Szárítás (infralámpa alatt) után a benzidronát (**15**) tömege 5,1 g (55%), a tisztaság 88%. ^{31}P NMR (D_2O) δ 17,8.

5. Összefoglalás

Munkánk során kidolgoztunk egy új, hatékony, magas termelést biztosító módszert a benzidronát (**15**) szintézisére. A korábbi eljárások döntő része Arbuzov-reakción alapult. Ennek során fenilecetsav (**19**), foszfor-triklorid és foszforosav reakcióját vizsgáltuk metánszulfonsavban.



A legjobb eredményeket abban az esetben értük el, amikor 3 ekvivalens foszfor-trikloridot és 1 ekvivalens foszforosavat használtunk P-reagensként. Az optimális molarány esetén a termelés 81% (tisztaság 95%) volt, mely a biszfoszfónatok szintézisében kiemelkedő eredménynek számít. Az általunk kidolgozott feldolgozási módszer során a benzidronsav-dinátrium sóját kaptuk termékként, amely termikus vizsgálatok alapján nem tartalmazott kristályvizet.

Új megfigyelés a foszforosav pozitív hatása a termelésre, amely eddig a tanszéken vizsgált egyik biszfoszfónát előállításakor sem volt tapasztalható metánszulfonsav oldószer használata esetén. Ezen kedvező hatás - egy lehetséges magyarázat szerint - a foszforosavból és foszfor-trikloridból képződő - a karbonilcsoporttal szemben nukleofilebb - (HO)₂P-O-PCl₂ speciesnek köszönhető. A fenilecetsav-kloridból (**12**) és a fenilecetsav-etilészterből (**46**) kiinduló kísérletek lehetővé tették, hogy következtessünk a lehetséges intermedierekre. A kísérletekből arra a megállapításra jutottunk, hogy a domináns intermedier a megfelelő vegyes-anhidrid (PhCH₂C(O)OSO₂Me) (**42**), nem pedig a fenilecetsav-klorid. A túlsúlyban lévő köztitermék két úton is létrejöhet. Az egyik lehetőség, hogy a fenilecetsav-klorid (**12**) és metánszulfonsav (**25**) reakciójában keletkezik, másik út pedig, hogy a fenilecetsav (**19**) reagál a metánszulfonsav-kloriddal (**27**), amely a foszfor-triklorid és metánszulfonsav (**25**) reakciója során képződhet.

6. Irodalomjegyzék

- [1] N. Menshutkin; *Eur. J. Org. Chem.*, **1865**, 133, 317-320.
- [2] H. V. Baeyer, K. A. Hofmann; *Chem. Ber.*, **1897**, 30, 1975.
- [3] W. S. Rolf, M. Irene; *Pharm. World Sci.*, **1998**, 20, 206-213.
- [4] R. G. G. Russell; *Bone*, **2011**, 49, 2-19.
- [5] J. Fischer, C. R. Ganellin; *Analogue-based Drug Discovery*: E. Breuer; 15, The Development of Bisphosphonates as Drugs, 371-384, **2006**, Wiley, Weinheim.
- [6] R. G. G. Russell; *Pediatrics*, **2007**, 119, 150-162.
- [7] L. Widler, K. A. Jaeggi, M. Glatt, K. Müller, R. Bahmann, M. Bisping, A. R. Born, R. Cortesi, G. Guiglia, H. Jeker, R. Klein, U. Ramseier, J. Schmid, G. Schreiber, Y. Seltenmeyer, J. R. Green; *J. Med. Chem.*, **2002**, 45, 3721-3738.
- [8] H. R. Hudson, N. J. Wardle, S. W. A. Blight, I. Greiner, A. Grün, Gy. Keglevich; *Mini Rev. Med. Chem.*, **2012**, 12, 313-325.
- [9] S. Ghosh, J. M. W. Chan, C. R. Lea, G. A. Meints, J. C. Lewis, Z. S. Tovian, R. M. Flessner, T. C. Loftus, I. Bruchhaus, H. Kendrick, S. L. Croft, R. G. Kemp, S. Kobayashi, T. Nozaki, E. Oldfield; *J. Med. Chem.*, **2004**, 47, 175-187.
- [10] M. B. Martin, J. S. Grimley, J. C. Lewis, H. T. Heath, B. N. Bailey, H. Kendrick, V. Yardley, A. Caldera, R. Lira, J. A. Urbina, S. N. J. Moreno, R. Docampo, S. L. Croft, E. Oldfield; *J. Med. Chem.*, **2001**, 44, 909-916.
- [11] J. Agapkina, D. Yanvarev, A. Anisenko, S. Korolev, J. Vepsäläinen, S. Kochetkov, M. Gottikh; *Eur. J. Med. Chem.*, **2014**, 73, 73-82.
- [12] T. Wenger; *A makroszkópos és mikroszkópos anatómia alapjai*, Semmelweis kiadó, Budapest, **2008**, 30.
- [13] K. Gyires, Zs. Fürst; *Farmakológia*, Medicina, Budapest, **2007**, 794-796.
- [14] R. G. G. Russell, P. I. Croucher, M. J. Rogers; *Osteoporosis Int.*, **1999**, 9, S66-80.

- [15] A. J. Roelofs, K. Thompson, S. Gordon, M. J. Rogers; *Clin. Cancer. Res.*, **2006**, *12*, 6222-6230.
- [16] R. G. G. Russell, M. J. Rogers; *Bone*, **1999**, *25*, 97-106.
- [17] M. J. Rogers, J. C. Crockett, F. P. Coxon, J. Mönkökken; *Bone*, **2011**, *49*, 34-41.
- [18] Bonefos[®] alkalmazási előirat (http://www.ogyi.hu/kiseroirat/ah/ah_0000015843_20111012085228.doc)
- [19] Skelid[®] alkalmazási előirat (http://www.ogyi.hu/kiseroirat/ah/ah_0000015856_20080129130134.doc)
- [20] Actonel[®] alkalmazási előirat (http://www.ogyi.hu/kiseroirat/ah/ah_0000021470_20130704092427.doc)
- [21] Bonoste[®] alkalmazási előirat (http://www.ogyi.hu/kiseroirat/ah/ah_0000032137_20140206110902.doc)
- [22] Bonviva[®] alkalmazási előirat (http://www.ema.europa.eu/docs/hu_HU/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000501/WC500052652.pdf)
- [23] L. Widler, K. A. Jaeggi, M. Glatt, K. Müller, R. Bachmann, M. Bisping, A. R. Born, R. Cortesi, G. Guiglia, H. Jeker, R. Klein, U. Ramseier, J. Schmid, G. Schreiber, Y. Seltmeyer, J. R. Green; *J. Med. Chem.*, **2002**, *45*, 3721-3738.
- [24] G. R. Kieczkowski, R. B. Jobson, D. G. Melillo, D. F. Reinhold, V. J. Grenda, I. Shinkai; *J. Org. Chem.*, **1995**, *60*, 8310-8312.
- [25] L. M. Nguyen, E. Niesor, C. L. Bentzen; *J. Med. Chem.*, **1987**, *30*, 1426.
- [26] A. Grün, G. I. Molnár, B. Bertók, I. Greiner, Gy. Keglevich; *Heteroatom Chem.*, **2009**, *20*, 350-354.
- [27] G. M. Kosolapoff; *J. Am. Chem. Soc.*, **1953**, *75*, 1500-1501.
- [28] D. R. Magnin, J. K. Dickson, J. V. Logan, R. M. Lawrence, Y. Chen, R. B. Sulsky, C. P. Ciosek, S. A. Biller, T. W. Harrity; *J. Med. Chem.*, **1995**, *38*, 2596.
- [29] L. I. Kruse, V. P. Shah; US 5204336, **1993**, *Chem. Abstr.*, **1993**, *119*, 160564.

- [30] M-P. Teulade, P. Savignac, E. E. Aboujaoude, S. Lietge, N. J. Collignon; *Organomet. Chem.*, **1986**, 304, 283.
- [31] M. Lecouvey, I. Mallard, T. Bailly, R. Burgada, Y. Leroux; *Tetrahedron Lett.*, **2001**, 42, 8475-8478.
- [32] M. Lecouvey, Y. Leroux, M. Kraemer, M. Crepin, D. E. Manouni, M. Louriki; US 2003/0036537, **2003**, *Chem. Abstr.*, **2003**, 138, 122736.
- [33] D. E. Manouni, Y. Leroux, R. Burgada; *Phosphorus, Sulfur, Silicon*, **1989**, 42, 73-83.
- [34] Gy. Keglevich, A. Grün, I. G. Molnár, I. Greiner; *Heteroat. Chem.*, **2011**, 22, 640-648.
- [35] M. Egorov, S. Aoun, M. Padrines, F. Redini, D. Heymann, J. Lebreton, M. Mathé-Allainmat; *Eur. J. Org. Chem.*, **2011**, 35, 7148-7154.
- [36] C. E. McKenna, B. A. Kashemirov, G. V. Sanchez; US 2008/0200679, **2008**, *Chem. Abstr.*, **2008**, 149, 288865.
- [37] C. E. McKenna, B. A. Kashemirov, Z-M. Li; *Phosphorus, Sulfur, Silicon*, **1999**, 144-146, 313-316.
- [38] Gy. Keglevich, A. Grün, K. Aradi, S. Garadnay, I. Greiner; *Tetrahedron Lett.*, **2011**, 52, 2744-2746.
- [39] S. Garadnay, A. Grün, Gy. Keglevich, J. Neu; *Magyar szabadalmi bejelentés*, HUP1100071, **2011**, *Chem. Abstr.*, **2011**, 157, 356874.
- [40] Gy. Keglevich, A. Grün, R. Kovács, S. Garadnay, I. Greiner; *Curr. Org. Synth.*, **2013**, 10, 640-644.
- [41] Gy. Keglevich, A. Grün, R. Kovács, K. Koós, B. Szolnoki, S. Garadnay, J. Neu, L. Drahos, I. Greiner; *Lett. Drug. Des. Discov.*, **2012**, 9, 345-351.
- [42] R. Kovács, D. I. Nagy, A. Grün, Gy. T. Balogh, S. Garadnay, I. Greiner, Gy. Keglevich; *Lett. Drug. Des. Discov.*, **2013**, 10, 733-737.
- [43] R. Kovács, D. I. Nagy, A. Grün, S. Garadnay, I. Greiner, Gy. Keglevich; *Lett. Org. Chem.*, **2014**, 11, 368-373.

- [44] D. I. Nagy, *Biszfoszfónátok szintézisének vizsgálata*, TDK dolgozat, SzKT Tanszék BME, **2012**.
- [45] D. I. Nagy, *Biszfoszfónátok szintézisének vizsgálata*, Szakdolgozat, SzKT Tanszék BME, **2012**.
- [46] Gy. Keglevich, A. Grün, R. Kovács, O. Németh, S. Garadnay, I. Greiner; *Heteroatom Chem.*, **2014**, 25, 186-193.
- [47] Gy. Keglevich, I. Greiner; *Curr. Green Chem.*, **2014**, 1, 2-16.
- [48] R. Kovács, A. Grün, S. Garadnay, I. Greiner, Gy. Keglevich; *Green Proc. Synth.*, **2014**, 3, 111-116.
- [49] C. K. Zacharis, P. D. Tzanavaras; *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2008**, 48, 483-496.
- [50] E. Guenin, D. Ledoux, O. Oudar, M. Lecouvey, M. Kraemer; *Anticancer Res.*, **2005**, 25, 1139-1146.