



Biszfoszfonátok szintézisének vizsgálata

Szakdolgozat

Készítette: Nagy Dávid Illés

IV. évf. BSc Gyógyszeripari szakirányos vegyészmérnök hallgató

Témavezetők:

Dr. Keglevich György

egyetemi tanár

Dr. Grün Alajos

egyetemi adjunktus

Konzulens:

Kovács Rita

doktoráns

Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem

Szerves Kémia és Technológia Tanszék

2012

Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretném köszönetemet kifejezni témavezetőimnek, *Dr. Keglevich Györgynek* és *Dr. Grün Alajosnak*, valamint konzulensemnek, *Kovács Rita* doktoráns hallgatónak a munkám során nyújtott hasznos tanácsaikért és állandó segítségükért.

Köszönettel tartozom *Dr. Garadnay Sándornak* és *Dr. Balogh György Tibornak* a titrálások elvégzéséért.

Köszönöm továbbá *Török Ildikó* technikusnak és a kutatócsoportban dolgozóknak a laboratóriumi munkám során nyújtott segítségét.

Tartalomjegyzék

TARTALOMJEGYZÉK	3
1. BEVEZETÉS	4
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	7
2.1. α -HIDROXI-METILÉNBISZFOSZFONÁTOK ELŐÁLLÍTÁSA.....	7
2.1.1. Etidronsav előállítási lehetőségei	9
2.1.2. Fenidronsav előállítási lehetőségei	15
2.1.3. Rövid irodalmi összefoglalás	17
2.2. BISZFOSZFONÁTOK BIOLÓGIAI HATÁSA	17
3. SAJÁT MUNKA.....	21
3.1. CÉLKITŰZÉS	21
3.2. AZ ALKALMAZOTT ANALITIKAI MÓDSZEREK RÖVID ISMERTETÉSE	21
3.3. ETIDRONSAV/ETIDRONÁT SZINTÉZISÉNEK VIZSGÁLATA	22
3.3.1. Tisztítási kísérletek.....	28
3.3.2. Kicsapás	28
3.3.3. Digerálás.....	29
3.4. Mikrohullámú körülmények között végrehajtott kísérletek	30
3.4.1. Etidronsav/etidronát szintézisének vizsgálata MW körülmények között.....	30
3.5. FENIDRONSAV/FENIDRONÁT SZINTÉZISÉNEK VIZSGÁLATA.....	31
4. KÍSÉRLETEK RÉSZLETES LEÍRÁSA.....	34
4.1. KÉSZÜLÉKEK	34
4.2. ETIDRONSAV/ETIDRONÁT ELŐÁLLÍTÁSÁRA IRÁNYULÓ KÍSÉRLETEK	34
4.3. FENIDRONSAV/FENIDRONÁT ELŐÁLLÍTÁSÁRA IRÁNYULÓ KÍSÉRLETEK	36
5. ÖSSZEFOGLALÁS	39
6. IRODALOMJEGYZÉK.....	40

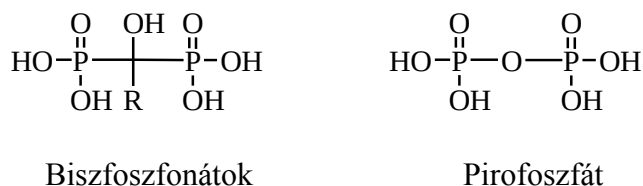
1. Bevezetés

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. Dorogi Gyáregységével együttműködve, *Dr. Garadnay Sándor* részvételével végzünk. Célja biszfoszfonátok előállításának tanulmányozása. Feladatom α -hidroxi-metilénbiszfoszfonátok, pontosabban 1-hidroxietilidén-1,1-bisz(foszonsav) (továbbiakban Etidronsav) és 1-hidroxi-1-fenilmetilén-1,1-bisz(foszonsav) (továbbiakban Fenidronsav) előállításának vizsgálata volt, melyek szerkezetét az 1. ábrán tüntettem fel.



1. ábra

Az etidronát és a fenidronát az etidronsav, illetve a fenidronsav mononátriumsói. A biszfoszfonátok két foszfonát csoportot tartalmazó vegyületek, melyek szerkezete hasonlít a pirofoszfátok szerkezetére (2. ábra).



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

2. ábra

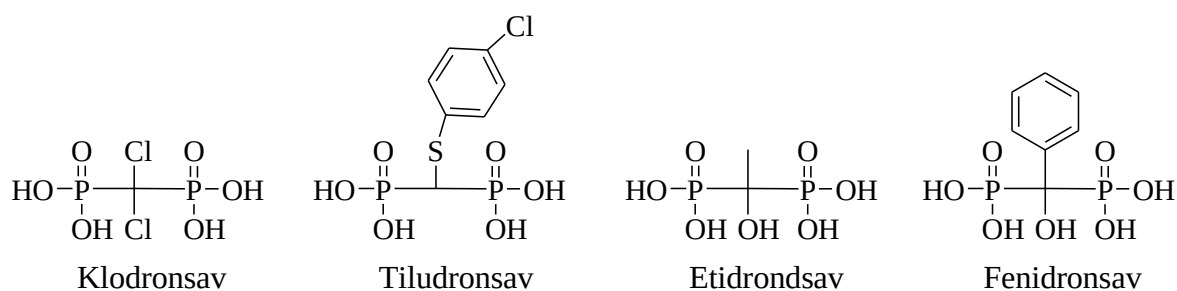
Ezen vegyületek előállításával már a 19. században foglalkoztak [1], melyeket először korróziógátlóként vagy komplexképző ágensként használtak, de a műtrágya-, textil-, kozmetikai és olajipar is hasznosította. Biológiai hatásukra az 1960-as években derült fény [2]. Biszfoszfonátokat posztmenopauzás osteoporózis (csonttritkulás), Paget-kór, emlőkarcinóma és tumorindukált hypercalcaemia kezelésére alkalmazzák, de újabban egyre

több adat szól a direkt daganatellenes hatásukról is. Ezek a krónikus kórképek, napjaink súlyos betegségei, melyekben a csontok ásványi anyag sűrűsége csökken, s így törékennyé válnak, már csekély erőhatásra is eltörhetnek. Az osteoporózis világszerte összesen 200 millió embert érinthet, Magyarországon kb. 900 ezerre tehető a betegek száma. A 3. ábrán egy egészséges személy, illetve egy osteoporózisban szenvedő beteg csontszöveve látható.



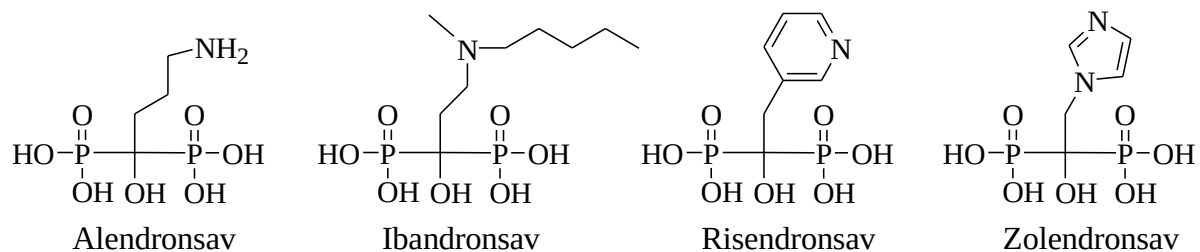
3. ábra

A biszfoszfónátok és a biszfoszfonsavak egymástól abban különböznek, hogy a középben lévő szénatomhoz (metilénsoport) más-más oldallánc kapcsolódik. A biológiai hatást ezen oldalláncok befolyásolják. Néhány tipikus példát az alábbiakban mutatok be (4. ábra).



4. ábra

Második és harmadik generációs képviselők az oldalláncban *N*-atomot tartalmazó származékok (5. ábra).



5. ábra

Az Alendronsav, Risendronsav és Ibandronsav nátriumsójuk formájában, míg a Zolendronsav savként kerül forgalomba.

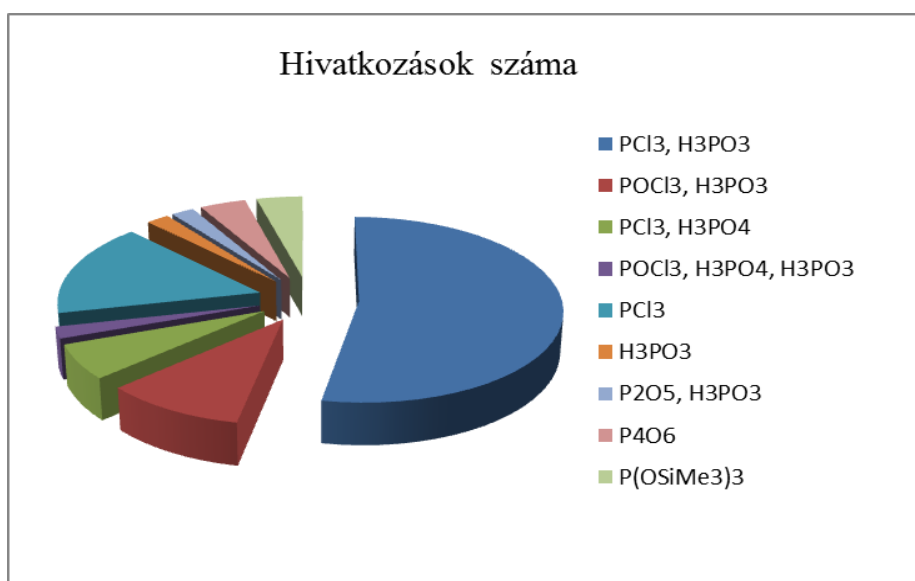
2. Irodalmi áttekintés

2.1. α -Hidroxi-metilénbiszfosfonátok előállítása

Az α -hidroxi-metilénbiszfosfonátokat legtöbbször karbonsavakból, vagy karbonsav-származékokból (savklorid, savanhidrid vagy észter) állítanak elő különböző reagensekkel. A hivatkozások több, mint felében foszfor-trikloridot, és foszforosavat használnak reagensként. Az etidronát és fenidronát esetén is ezek a módszerek dominálnak a szintézisekben. Az 1. táblázatban és a 6. ábrán különböző biszfosfonátok előállítási módszereinek gyakoriságát tüntettem fel.

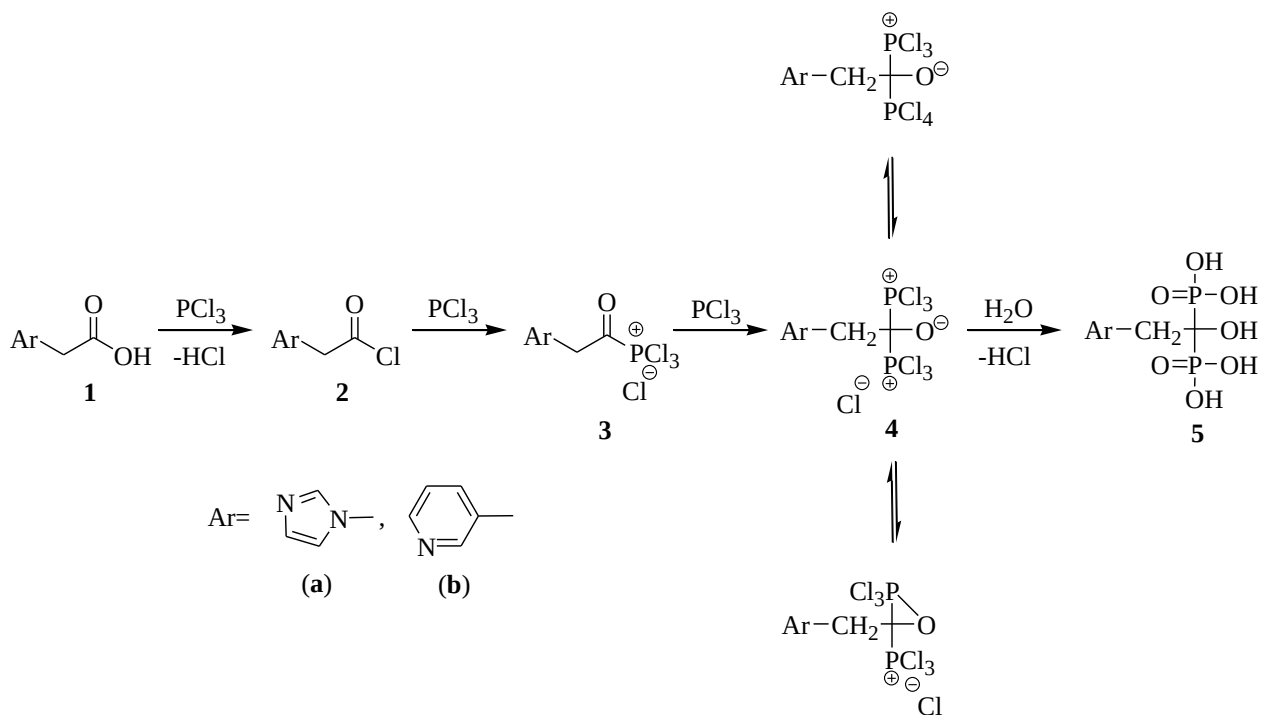
1. táblázat Előállítási módszerek gyakorisága

Reagens	Előállítható dronátok	Hivatkozások (db)
$\text{PCl}_3, \text{H}_3\text{PO}_3$	ibandronát, alendronát, risendronát, zolendronsav	26
$\text{POCl}_3, \text{H}_3\text{PO}_3$	ibandronát, risendronát, zolendronsav	5
$\text{PCl}_3, \text{H}_3\text{PO}_4$	zolendronsav	3
$\text{POCl}_3, \text{H}_3\text{PO}_4, \text{H}_3\text{PO}_3$	risendronát,	1
PCl_3	etidronsav, alendronát, zolendronsav	8
H_3PO_3	alendronát	1
$\text{P}_2\text{O}_5, \text{H}_3\text{PO}_3$	alendronát, risendronát	1
P_4O_6	etidronsav	2
$\text{P}(\text{OSiMe}_3)_3$	etidronsav, alendronát	2



6. ábra

A biszfoszfonsavak előállításának feltételezett reakciómechanizmusa szerint (7. ábra) először a heteroaril-ecetsav (1) savkloridja (2) képződik, majd a reakció második lépésében egy újabb foszfor-triklorid molekula karbonilsoporton történő támadásával, a savkloridból acil-foszfóniumsó (3) keletkezik. Valószínűleg ennek karbonilsoportján támad ismét a harmadik foszfor-triklorid molekula, így biszfoszfónium (4) köztitermék jön létre, ami különböző szerkezetekben stabilizálódhat. Az intermedier hidrolízise hidroxibiszfoszfonsavat (5) szolgáltat [3,4].

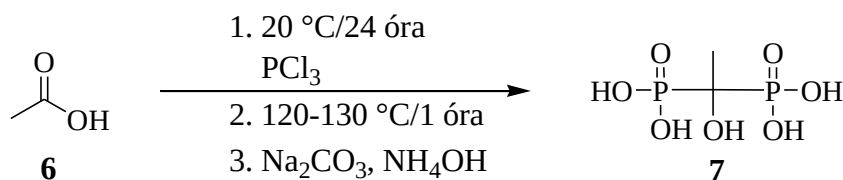


7. ábra

Keglevich, Grün és munkatársaik kísérletei során egyértelművé vált, hogy foszforosav alkalmazása a biszfoszfonátok szintézisében felesleges, mert alacsony nukleofilitása miatt nem reagál, kizárólag a foszfor-triklorid vesz részt a reakcióban. A kísérletek arra is rávilágítottak, hogy elegendő a foszfor-trikloridot 3,2 ekvivalens mennyiségben alkalmazni, mert hidrolízisével is csak szükségtelen foszforosav képződik, mely így további költségeket és környezeti terhelést eredményez [3,4].

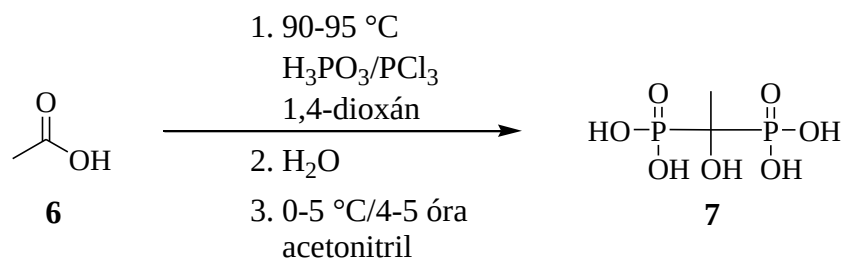
2.1.1. Etidronsav előállítási lehetőségei

Etidronsav (7) előállítását először Baeyer és Hoffmann [1] írta le 1897-ben. Egy ekvivalens ecetsavat (6) reagáltattak 0,4 ekvivalens foszfor-trikloriddal (8. ábra). A keveréket egy napig állni hagyták szobahőmérsékleten, majd egy órán át az elegyet 120-130 °C-ra fűtötték. A kapott nyersterméket nátrium-karbonáttal, illetve szalmiákszesszel semlegesítették, majd néhány óráig/napig állni hagyták, míg „kristálypéppé” nem dermedt az elegy. Következő lépésben forró vizet, majd annyi ammónium-hidroxidot adtak az elegyhez, hogy gyengén savas maradjon. A keveréket 10 °C-ra hűtötték, és tömény szalmiákszesszel kicsapták a terméket. A kivált anyagot szűrték, többször tisztították, majd vákuumban szárították.



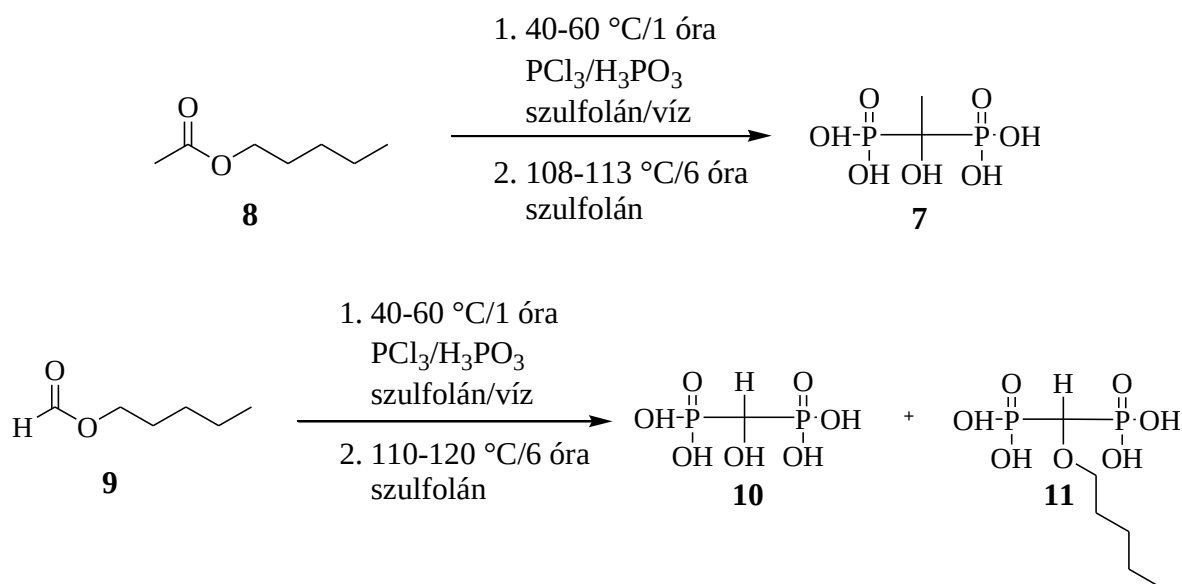
8. ábra

Pandey és munkatársai [5] 1 ekvivalens ecetsavat (6) reagáltattak 3,5 ekvivalens foszforossavval 1,4-dioxánban 90-95 °C-on kevertetés közben. Ezután 3,5 ekvivalens foszfor-trikloridot adtak a reakcióelegyhez, és továbbra is 90-95 °C-on kevertették (9. ábra). Következő lépésben az elegyet lehűtötték, és nagy feleslegben desztillált vizet adtak hozzá, majd ismét felmelegítették 90-95 °C-ra. Ezek után lehűtötték, acetonitrillel kicsapták a terméket, és további 4-5 órán keresztül 0-5 °C-on kevertették a csapadékot tartalmazó elegyet. Szűrés után acetonitrillel mosták, majd vákuumkemencében szárították. A terméket még annak ellenére is, hogy a szükségesnél kétszer annyi foszfortartalmú reagens volt a rendszerben, rendkívül gyenge 5%-os termeléssel kapták.



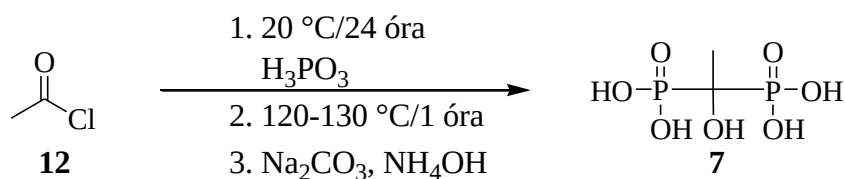
9. ábra

Dronsavak előállítása észterekből is megvalósítható. Ezen reakcióutakat Alfer'ev és társai [6] vizsgálták 1987-ben. Víz és szulfolán (vagy dimetil-szulfolán) keverékébe adagolták az 1,6 ekvivalens foszfor-trikloridot egy óra alatt intenzív kevertetés közben, mialatt a reakcióelegyet 40-60 °C-on tartották (10. ábra). A reakcióelegyen a foszforosavat *"in situ"* állították elő. További 30 percig kevertették, majd beadagolták az észtert (pl. pentil-acetátot vagy alkil-formiátokat), és 100-120 °C-on 4-6 órán keresztül kevertették. A reakcióelegyet forró toluollal extrahálták, a szilárd maradványhoz vizet adtak, és mikor feloldódott, az oldatot vízgőzdesztillálták. A maradékot vízzel hígították és szűrték. Pentil-acetátból (**8**) kiindulva közepes 39%-os, míg pentil-formiátból (**9**) 41%-os termeléssel kapták a megfelelő terméket (**7,10**). Alkil-formiátok esetén az alkilcsoport hidrolízise nem teljes mértékben következett be, például pentil-formiát esetén 11%-os termeléssel jelen van a pentoxi-metilénbiszfoszonsav (**11**) is.



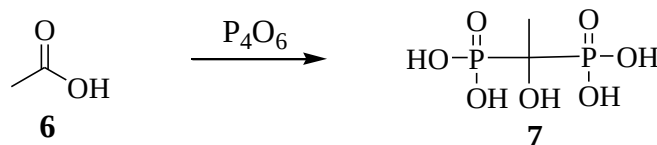
10. ábra

Az etidronsavat (**7**) Bayer és Hoffmann [1] acetyl-kloridból (**12**) is előállította foszforosav segítségével 1897-ben (11. ábra). A reakciót a fentebb leírtakkal (9. oldal) azonos módon végezték.



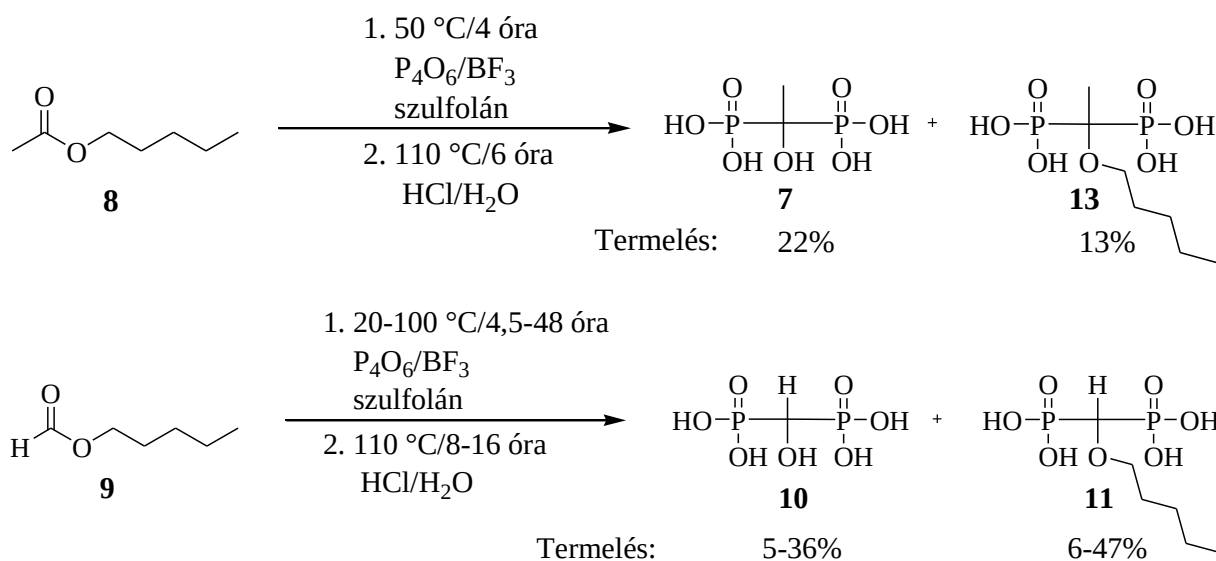
11. ábra

Schuelke és Ulrich [7] 1990-ben ecetsav (**6**) és foszfor-trioxid reakciójával állították elő az etidronsavat (**7**) (12. ábra). A terméket 70%-os termeléssel kapták.



12. ábra

A dronsavak foszfor-trioxiddal való előállítási lehetőségét is vizsgálták Alfer'ev és munkatársai, [6] szintén észterekből bór-trifluorid vagy egyéb Lewis-sav katalizátor jelenlétében (13. ábra). Az észterhez (**8,9**) adták a bór-trifluorid szulfolános oldatát vagy hűtés közben vezették be a szükséges mennyiségű bór-trifluoridot. A készüléket inert gázzal átöblítették, majd 0,29-0,48 ekvivalens foszfor-trioxidot adagoltak be intenzív kevertetés közben. Ha a bór-trifluorid helyett más Lewis-sav katalizátort alkalmaztak, akkor a katalizátort csak az észter és a foszfor-trioxid inert atmoszférában való összekeverése után adagolták be. Ha a reakció során hő képződött, akkor az elegyet vízzel hűtötték, hogy a hőmérsékletet 30-50 °C-on tartsák. Az üvegszerű/viszkózus elegyet nagy mennyiségű 20%-os sósavoldattal hígították. Az oldószert kidesztillálták, majd a maradékot 110 °C-on hidrolizálták. Az illékonyabb komponenseket, amennyire lehetséges volt, vákuumban eltávolították. A tisztaságot ³¹P NMR-el ellenőrizték. Az alkalmazott katalizátor minősége, mennyisége, a reakcióidő és a reakcióhőmérséklet is befolyásolta a termékek mennyiségét, illetve arányát (2. táblázat).



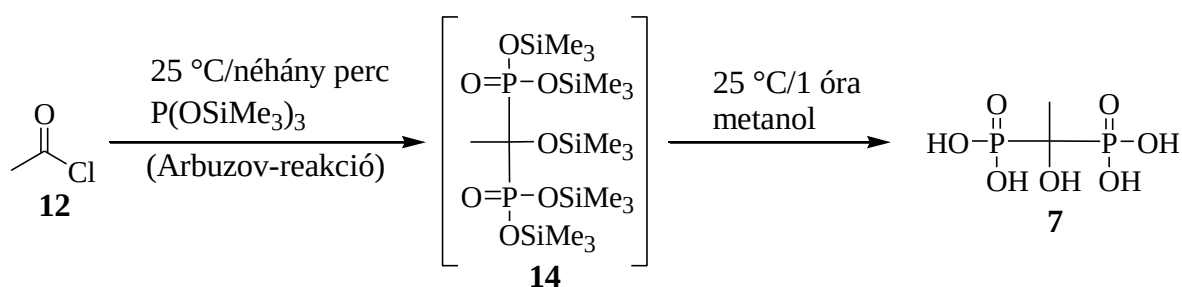
13. ábra

2. táblázat Katalizátorok és reakciókörülmények hatása a termékek mennyiségére, illetve arányára

Észter	Katalizátor	P ₄ O ₆ /észter molarány	katalizátor/észter molarány	Reakció hőmérséklet [°C]	Reakció idő [óra]	Termelés	
						(10)	(11)
9	BF ₃	0,42	1	20-25	48	24	47
9	BF ₃	0,48	0,095	80	13	26	34
9	BF ₃	0,48	0,048	100	4,5	5	23
9	(BuOBO) ₃	0,45	0,89 ^a	20-25	156	36	6

^a monomerre számolva

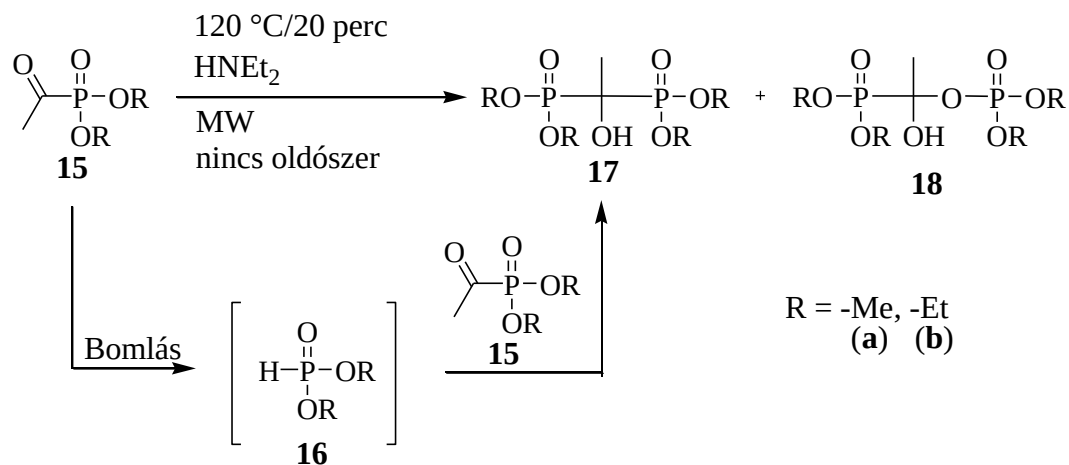
Lecouvey és társai [8] acetyl-kloridot (**12**) reagáltattak 2 ekvivalens trisz(trimetilszilil)-foszfittal, mely szobahőmérsékleten néhány perc alatt az 1-trimetilsziloxi-1,1-biszfoszfonsav tetrakis(trimetilszilil)-észterét (**14**) szolgáltatva (14. ábra). A szintézis Arbuzov-reakción alapul, mely a 2. ekvivalens trisz(trimetilszilil)-foszfít azonnali addíciójával a bis(trimetilszilil)- α -ketofoszfónatot adja. Az észter hidrolízisét metanolban, 25 °C-on, 1 óra alatt végezték (metanolízis). Az illékony frakciók lepárlása után a tiszta terméket 98%-os termeléssel kapták. A reakcióhoz oldószert nem használtak. A tisztaságot ³¹P NMR-el ellenőrizték.



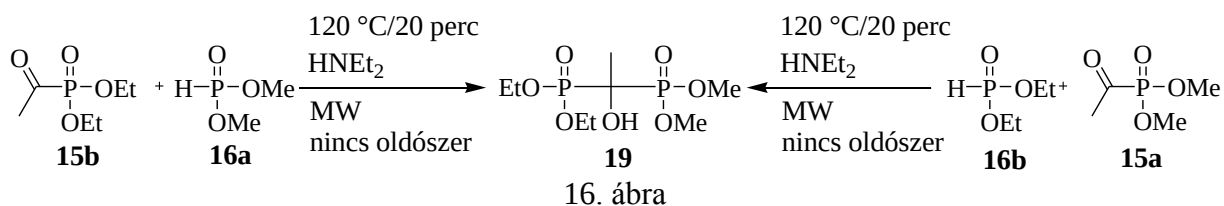
14. ábra

A Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem Szerves Kémia és Technológia Tanszékén Keglevich, Grün és munkatársaik [10,11] etidronsav-észterek (**17**) előállítását valósították meg mikrohullámú (MW) körülmények között. Dimetil- és dietil-oxoetilfoszfónatot (**15**) dimetil- és dietil-foszfittal (**16**) reagáltattak MW reaktorban 120 °C-on

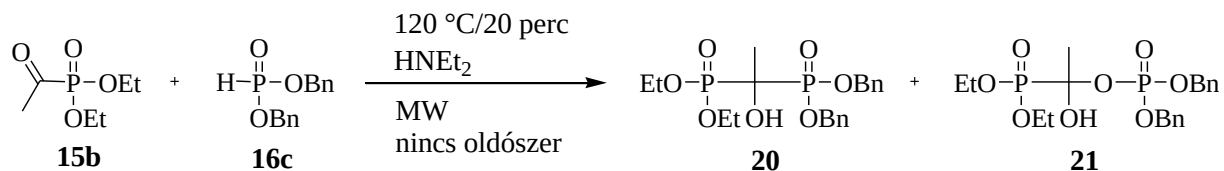
(15. ábra). A besugárzási idő 20 perc, az alkalmazott katalizátor dietil-amin (DEA) volt. Átrendeződéses reakcióval pedig foszfonát-foszfát (**18**) képződött.



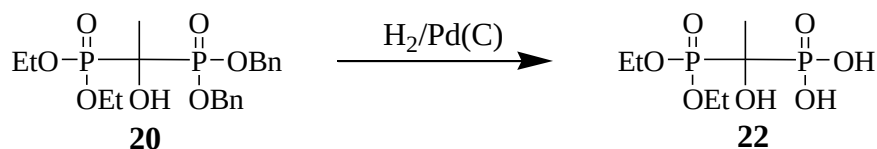
Ha a reakció során dietil-oxoetilfoszfonátot (**15b**) reagáltattak dimetil-foszfittal (**16a**) vagy dimetil-oxoetilfoszfonátot (**15a**) dietil-foszfittal (**16b**), akkor tetraetil- és tetrametil-hidroxi-metilénbiszfoszfonátok mellett főképpen vegyes észterek (**19**) képződtek (16. ábra).



Dietil-oxoetilfoszfonátot (**15b**) dibenzil-foszfittal (**16c**) is reagáltattak a fentebb leírtakkal azonos módon [10,11]. A dibenzil-dietil-hidroxi-metilénbiszfoszfonátot (**20**) elválasztották az átrendeződéssel képződött foszfonát-foszfáttól (**21**) (17. ábra).

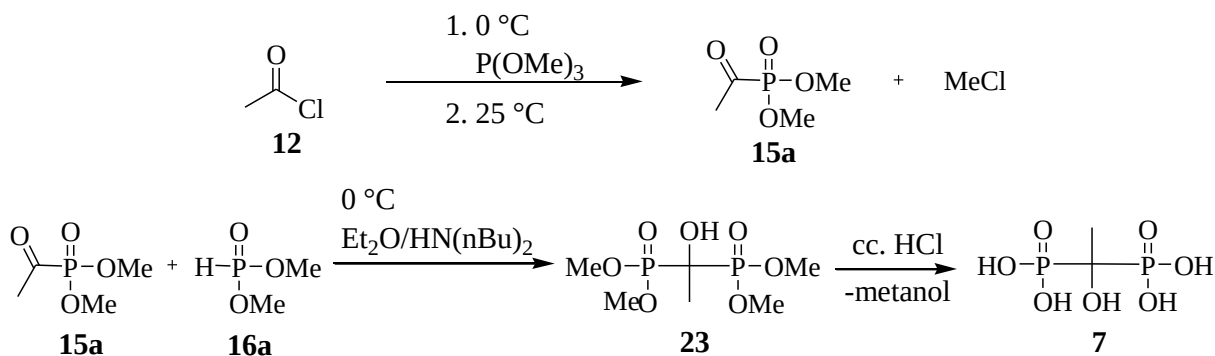


A dibenzil-dietil-hidroxi-metilénbiszfoszfonátot (**20**) katalitikusan hidrogéneztek [$\text{H}_2/\text{Pd}(\text{C})$], mely a benzilcsoportok redukcióját eredményezte, így a diészter-disav származékot kapták (**22**) (18. ábra). Az etilcsoportok hidrolízissel eltávolíthatók, így előállítható az etidronsav.



18. ábra

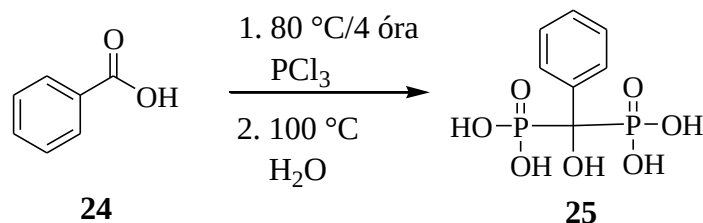
Nicholson és Vaughn [9] tetrametil-hidroxi-metilénbiszfoszfónátokat (**23**) állítottak elő 1971-ben. Acetil-kloridhoz (**12**) csepegtették 0 °C-on kevertetés közben az 1 ekvivalens trimetil-foszfítot (MeCl gáz fejlődött) (19. ábra). A beadagolás után a reakcióelegyet szobahőmérsékletűre melegítették és vákuumban desztillálták. A kapott dimetil-oxoetilfoszfónátot (**15a**) dimetil-foszfít (**16a**) (0,47 ekvivalens), dietil-éter és *n*-dibutil-amin (katalizátor) 0 °C-os elegyéhez adagolták lassan, kevertetés közben. A reakció mérsékelten exoterm, ezért vízhűtést alkalmaztak. A beadagolás után a terméket kiszűrték. A termelés 70%-os volt. A tetrametil-észtert (**23**) feleslegben vett tömény sósavval hidrolizálták (3 órán keresztül forralták). A mononátriumsót kristályosították.



19. ábra

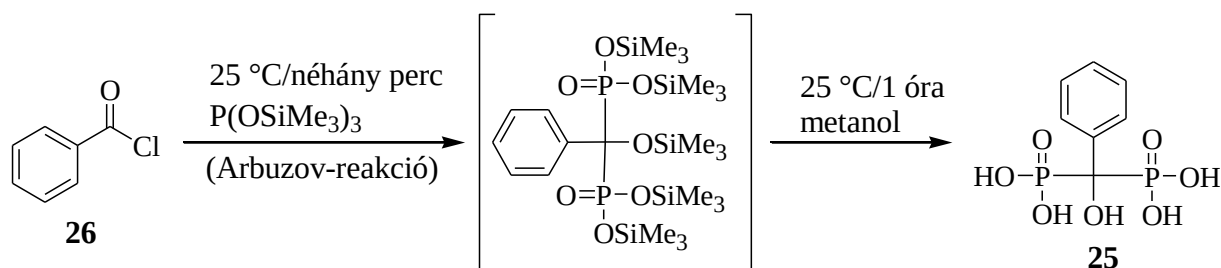
2.1.2. Fenidronsav előállítási lehetőségei

Alovitdinov és társai [12] 1996-ban benzoessavból (**24**) foszfor-triklorid segítségével állítottak elő fenidronsavat (**25**). A reakciópartnereket 80 °C-on 4 órán keresztül reagáltatták, majd a hidrolízist 100 °C-on végezték. A terméket viszonylag jó, 75%-os termeléssel kapták (20. ábra).



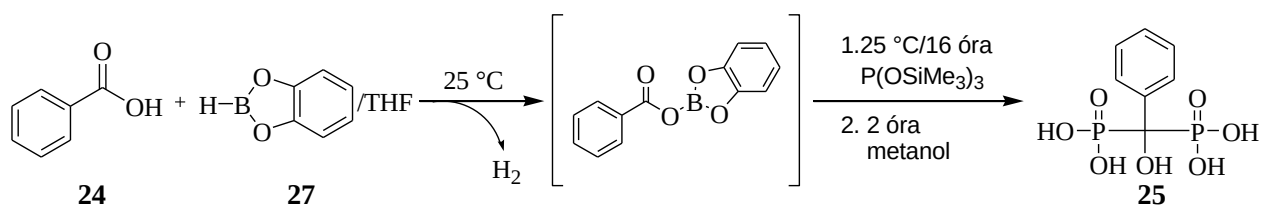
20. ábra

Lecouvey és társai [8] által leírt reakció nem csak acetyl-kloriddal - ami az etidronsavat szolgáltatja -, hanem egyéb savkloridokkal is megvalósítható, így például benzoyl-kloriddal (**26**), melyből fenidronsav (**25**) képződik (21. ábra). A terméket 91%-os termeléssel kapták.



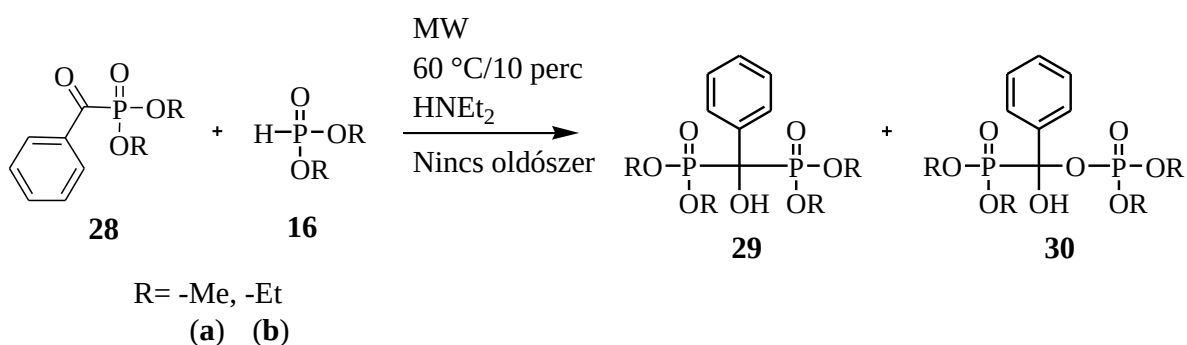
21. ábra

Egy 2011-es közlemény szerint Egorov, Aoun és munkatársaik [13] benzoessavból (**24**) kiindulva enyhe körülmények között állított elő a fenidronsavat (**25**). Tiszta benzoessavhoz 1,1 ekvivalens katekolborán (**27**) 1 M-os tetrahydrofurános oldatát adták, és szobahőmérsékleten argon atmoszférában 1 órán keresztül kevertették. A következő lépésben 2,1 ekvivalens trisz(trimetilszilil)-foszfítot adták a reakcióelegyhez, és 25 °C-on 16 órán át kevertették (22. ábra). Metanolízis, az oldószer eltávolítása, illetve diklórmétán hozzáadása után a kivált csapadékot elválasztották, és 68%-os termeléssel izolálták a tiszta terméket.



22. ábra

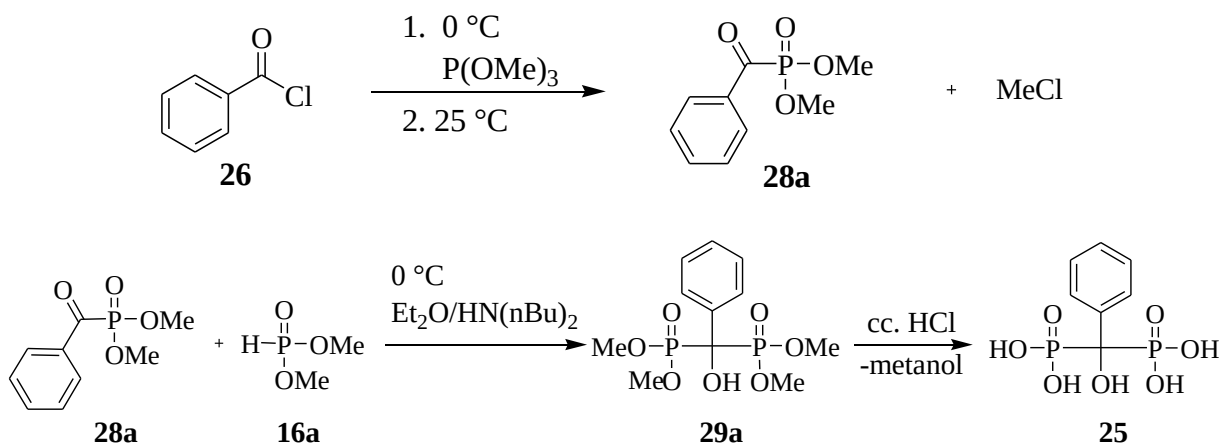
Keglevich, Grün és munkatársaik [10,11] az etidronsav-észterek szintézise mellett fenidronsav-észterek előállítását is megvalósították MW körülmények között. Dietil-benzoilfoszfónátot (**28**) reagáltattak dietil-foszfittal (**16**) azzal a különbséggel, hogy a reakcióhőmérséklet 60 °C, a besugárzási idő 10 perc volt (23. ábra). A konverzió 80%, a termelés 40% fenidronsav-észterre (**29**) nézve. Átrendeződéses reakcióval foszfónát-foszfát (**30**) is képződött. A reakciót dimetil-benzoilfoszfónát (**28**) és dimetil-foszfít (**16**) reakciójával is megvalósították. Ebben az esetben 60%-os konverziót és 34%-os termelést sikerült elérniük, annyi különbséggel, hogy a besugárzási idő a metil-észterek esetén 30 perc volt.



23. ábra

Az alkilcsoportok hidrolízissal eltávolíthatók, s így előállítható a fenidronsav.

Az etidronsav előállításával analóg módon Nicholson és Vaughn [9] tetrametil-fenidronsav-észtert (**29a**) is előállított. A termelés 96%-os volt.



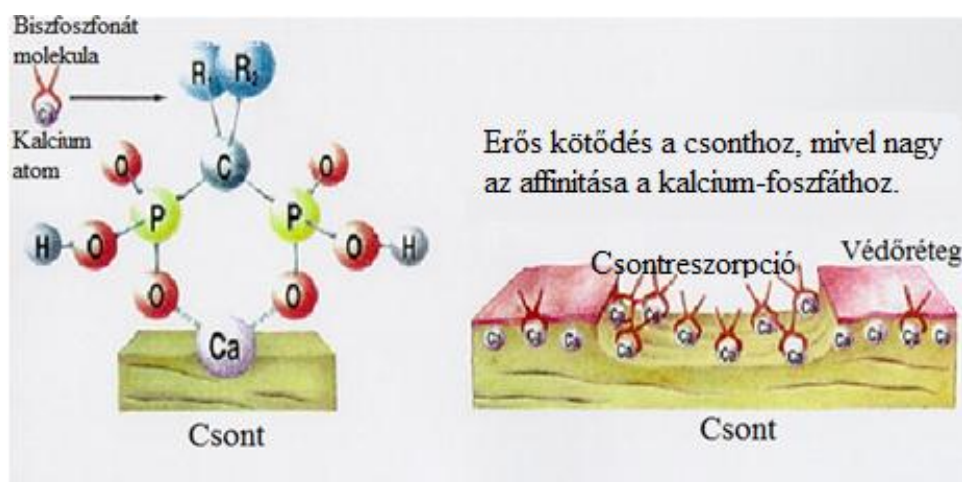
24. ábra

2.1.3. Rövid irodalmi összefoglalás

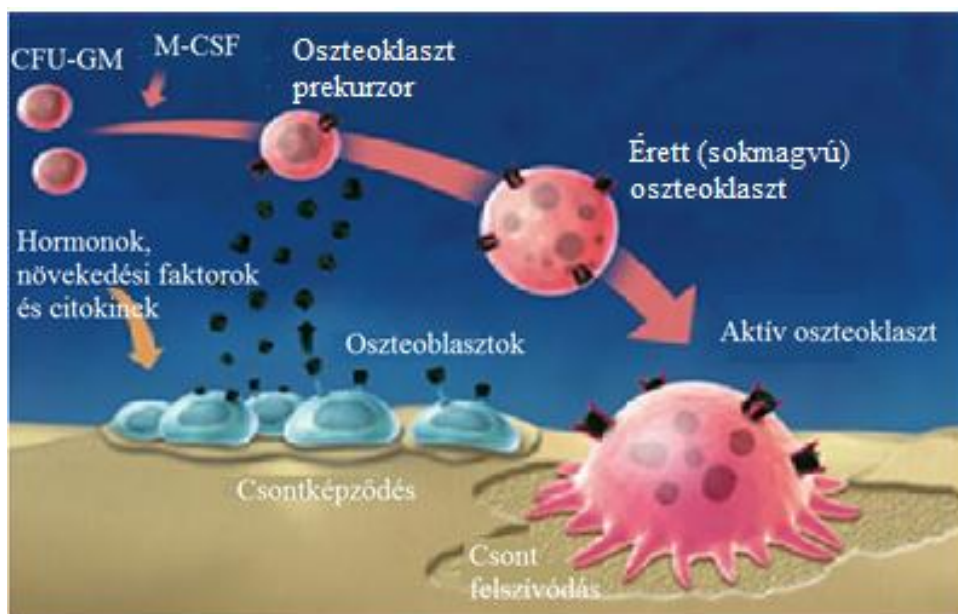
Az irodalmi receptekkel kapcsolatban számos probléma merül fel. Több esetben, a használt oldószert nem tüntették fel. A termelés vagy alacsony, vagy pedig nem adták meg. A termékek tisztaságáról nem tettek említést, így arról sem, hogy dronsavat vagy annak valamilyen nátrium sóját preparálták ki. Valamint nem található utalás a termék kristályvíztartalmára sem, ami több dronsav/dronát esetén is jellemző. A reakciómechanizmussal sehol sem foglalkoztak. P-reagensként a legtöbb esetben használtak foszforosavat, melyet a tanszéken bebizonyítottak, hogy nem vesz részt a dronsavak szintézisekben.

2.2. Biszfoszfonátok biológiai hatása

A biszfoszfonátok közös tulajdonsága, hogy "*in vivo*" gátolják az osteoclastok (előregedett csontszövet lebontását segítő óriássejtek) hatását [2,14,15]. A vegyületek a kalcium-foszfát-kristályokhoz gyorsan és erőlyesen hozzákötődnek, így meggátolják növekedésüket, aggregációjukat, oldódásukat, beavatkoznak tehát 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 osteoclastokra hatva is gátolják. A biszfoszfonátok foszfonát csoportjaik révén képesek komplexálni a Ca^{2+} ionokat (25. ábra). A 26. ábrán a csontképződés és a csontfelszívódás folyamata látható.



25. ábra



CFU-GM: granulocita/makrofág kólonia képző egység

M-CSF: makrofág kolónia stimuláló faktor

26. ábra

A régebbi és az újabb vegyületek nagymértékben eltérnek egymástól a reszorpciót gátló hatásukban, ezért az alkalmazott terápiás dózis is különböző (3. táblázat).

3. táblázat Biszfoszfonátok adagolása [14,16,17]

Biszfoszfonát	Adagolás	Kezelés időtartama	Csontreszorpció gátló hatás
Etidronát	Mineralizációs zavar elkerülése miatt kis adagokban. Negyedévente 2 hétig 400 mg	3-4 év	1
Klodronát	300 mg/nap (hypercalcaemia kezelés)	Maximum 7 nap	10-szeres
Tiludronát	400 mg/nap 3 hónapig	12 nap-12 hét	10-szeres
Alendronát	Napi 10 mg (vagy heti egyszeri 70 mg)	Akár 10 év lényeges mellékhatások nélkül	5000-szeres
Risendronát	Napi 5 mg (vagy heti egyszeri 35 mg)	-	-
Ibandronát	Havi egyszeri 150 mg vagy 3 havonta 3 mg intravénásan	-	több 10000-szeres
Zolendronát	évi 1-szer intravénásan 4 mg	-	több 10000-szeres

Az oldalláncban nitrogént nem tartalmazó vegyületek (első generációs készítmények) alkalmazása során nem hidrolizálható adenzin-trifoszfát-analógok keletkeznek, melyek gátolják a sejtanyagcseréhez szükséges enzimek működését, így citotoxikus hatásúak (pl.: Etidronát, Klodronát). Az oldalláncban N-atomot tartalmazó biszfoszfónátoknál ez a hatás elhanyagolható. (Második generációs biszfoszfónátok: N-alifás oldalláncú, harmadik generációs: N-heterociklusos oldalláncú vegyületek.)

Biszfoszfónátok "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. A 4. táblázat adatai alapján látható, hogy Ibandronát esetén étkezés előtt egy órával érdemes bevenni a készítményt.

4. táblázat Biológiai hasznosulás csökkenése a bevétel idejének függvényében ibandronát esetén [18]

Bevétel módja	Biológiai hasznosulás csökkenése
Reggelivel	90 %
Étkezés előtt 30 perccel	30 %
Étkezés előtt 60 perccel	Nem csökken
Étkezés után 2 órával	75%

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 biszfoszfónátok féléletideje 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 erőlyesen gátolja. Az újabban kifejlesztett származékok lényegesen hatékonyabb csontreszorpció-gátlók, de mineralizációs zavart nem okoznak. Az etidronát egyedüliként növeli a tubuláris foszfátreabszorpciót, míg a többi vegyület csökkenti.

5. táblázat Néhány biszfoszfónát ED₅₀ (hatásos dózis) értéke [19]

Biszfoszfonsav	ED₅₀ (µg/kg)
Zolendronát	0,07
Ibandronát	1,1
Risendronát	1,4
Alendronát	8
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 készítmények: Klodronsav (Bonefos[®]), Tiludronát (Skelid[®]), Alendronát (Fosamax[®], Sedron[®]), Ibandronát (Bonviva[®], Bonoste[®]), Risendronát (Actonel[®], Nurrid[®]), Zolendronát (Zometa[®], Reclast[®]).

3. Saját munka

3.1. Célkitűzés

Kutatómunkám konkrét célja az Etidronát és Fenidronát szintézisének a tanulmányozása volt. Feladatom volt a megfelelő reakciókörülmények, beleértve a reagensek optimális arányának felderítése. A tanszéken egyéb biszfoszfónátokra kidolgozott eljárást adaptálnom kellett saját vegyületeimre. Tanulmányoztam a savkloridon keresztül, illetve etil-acetátból kiinduló reakcióutakat is. A biszfoszfónátok szintézisére az eddigi tapasztalatok szerint a legmegfelelőbb oldószernek a metánszulfonsav bizonyult. Munkám során egyéb oldószerekben, illetve oldószer nélkül is megkíséreltem elvégezni a reakciót. Emellett kihívást jelentett a megfelelő tisztaságú termék izolálása.

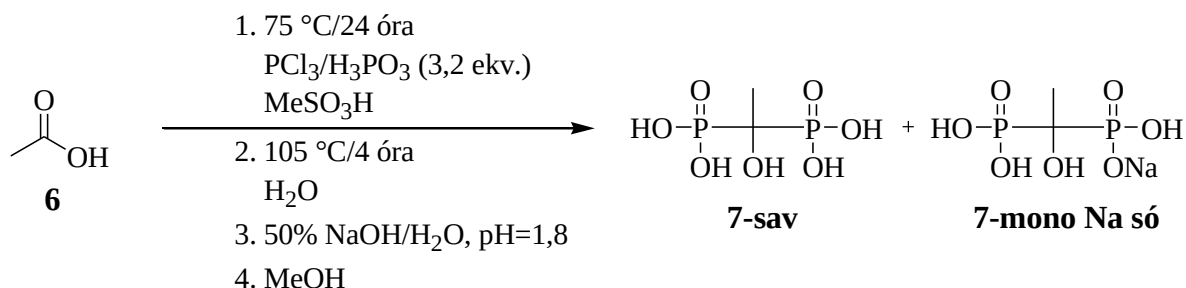
3.2. Az alkalmazott analitikai módszerek rövid ismertetése

„A biszfoszfónátok, a gyógyszerkészítmények 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 [20]. A minták tisztaságát titrálással, ^{31}P NMR spektrum felvételével, illetve néhány esetben ^{13}C NMR spektrum segítségével vizsgáltuk. A ^{31}P NMR spektrumokban láthatjuk a várt termékünket, a foszforossavat, abban az esetben, ha a feleslegben (3,2 ekvivalens) adott foszfor-triklorid elhidrolizál vagy a reakciót foszforossav és foszfor-triklorid alkalmazásával végeztük. Ezen kívül látható még az esetleges többi foszfortartalmú szennyező. A ^{13}C NMR spektrumokban pedig jelen van a várt dronát, és szennyezőként a nátrium-mezilát. A titrálás alapján a minták etidronsav/etidronát és fenidronsav/fenidronát tartalmát kaphatjuk meg (%-ban). A mérések Mettler DL77 típusú titrátorral készültek. A titrálást 0,1 mol/l koncentrációjú nátrium-hidroxid mérőoldattal végezték. A titrálási görbén egy ekvivalenciapont látható. A készülék a bemért minta tömegéből és a nátrium-hidroxid mérőoldat fogyásából számolja a minta tisztaságát. Minimum három párhuzamos mérést végeztek minden esetben. A termékek szabad sav és mono nátrium só keverékei, mivel a feldolgozáskor nátrium-hidroxiddal állítjuk a pH-t. A nyerstermékben nátrium-mezilát és foszforossav is megjelenik szennyezőként. A szabad sav és nátrium só arányának

megállapítása még megoldandó feladat. Esetünkben a tisztaság és termelés adatokat szabad dronsavat, mononátrium sót és ezek 1:1 arányú keverékét feltételezve is megadtuk.

3.3. Etidronsav/etidronát szintézisének vizsgálata

A tapasztalatok alapján dronsavak előállítására a foszfor-triklorid tűnik a legalkalmasabb reagensnek. Munkám során az első kísérletekben –hasonlóan a korábban a Tanszéken vizsgált dronátokhoz - foszfor-trikloridot és foszforossavat alkalmaztam reagensként különböző arányokban (27. ábra). A reakciókat metánszulfonsav oldószerben, 24 órás reakcióidővel, 75 °C-on hajtottuk végre. A hidrolízist 105 °C-on 4 óráig végeztük, majd a pH-t 1,8-ra állítjuk és metanollal csapjuk ki a terméket.



27. ábra

Amennyiben a reakció során csak 3,2 ekvivalens foszforossavat használtam P-reagensként, nem képződött termék (6. táblázat). A foszforossav mennyiségét 2,1 vagy 1,1 ekvivalensre csökkentve és egyidejűleg 1,1, illetve 2,1 ekvivalens foszfor-trikloridot is bemérve sikerült etidronsavat/etidronátot előállítani. Az 1,1 ekvivalens foszfor-trikloridot és 2,1 ekvivalens foszforossavat alkalmazó kísérletet két módon is elvégeztem. Az első esetben a foszfor-trikloridot és a foszforossavat egyszerre adtam az elegyhez, második esetben pedig 6 órával a foszfor-triklorid beadagolása után adtam hozzá a foszforossavat. Ezen kísérletek során az analitika (titrálás) tanúsága szerint 50% alatti mennyiségben tartalmazhatják a minták a terméket. A foszfor-triklorid mennyiségét növelve egyre nagyobb tisztasággal és termeléssel sikerült kinyerni a terméket. A legeredményesebb kísérlet az volt, tisztaság 85%, termelés 48%, mely során csak 3,2 ekvivalens foszfor-trikloridot használtam P-reagensként (6. táblázat, 3 sor).

A nyersteget valamennyi esetben a feloldáshoz szükséges legkevesebb mennyiségű vízben oldottuk forrón, majd metanollal kicsaptuk. Ezt háromszor

megismételtük, majd a kicsapott anyagot 100 ml metanollal forraltuk. A táblázatban szereplő eredményeket a háromszoros metanos kicsapás és metanos forralás után nyert anyag analízisével kaptuk.

A mérési eredmények alapján elmondható, hogy az irodalomban leírt eljárásokban felesleges a foszforosav alkalmazása. A tanszéken kifejlesztett módszernek megfelelően, melyből szabadalom is született (8. oldal) [3,4], etidronsav esetén is csak 3,2 ekvivalens foszfor-trikloridra van szükség P-reagensként a reakció lejátszódásához.

6. táblázat Etidronsav/etidronát szintézise foszforosav és foszfor-triklorid különböző arányú keverékeivel

	PCl ₃ (ekvivalens)	H ₃ PO ₃ (ekvivalens)	Tisztaság ^a (%)			Termelés ^a (%)		
			Szabad savként ^b	Mono Na sóként ^c	Keverék 50-50% elegyként ^d	Szabad savként ^b	Mono Na sóként ^c	Keverék 50-50% elegyként ^d
1	0	3,2	-	-	-	0	0	0
2	2,1	1,1	64	71	68	38	46	42
3	3,2	0	81	89	85	44	52	48

^a harmadik kicsapás és digerálás után, titrálás alapján (Mettler DL77 típusú készülék)

^b szabad dronsavat feltételezve

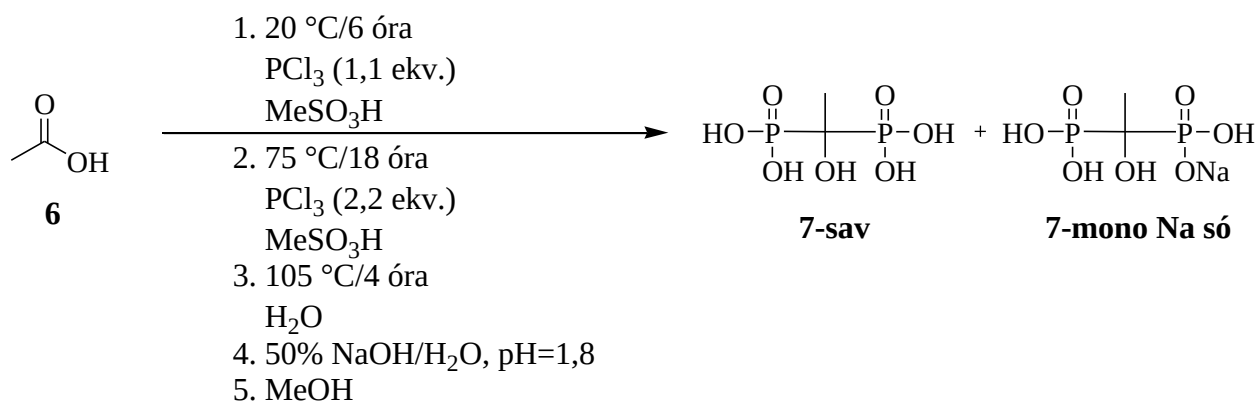
^c 1:1 arányú keveréket feltételezve

^d mono nátrium sót (dronátot) feltételezve

A termék kinyerése során többször ismételt metanos kicsapásokkal, majd metanos digerálással 71-89%-os tisztaságot értünk el. Valószínűleg nátrium-meziláttal szennyezett a termék, ami az oldószer (metánszulfonsav) és a nátrium-hidroxid reakciója során keletkezik. További erőfeszítéseket kell tennünk, hogy megszabaduljunk ettől a ballaszttól.

A korábbi tapasztalatok, és az általam végzett kísérletek is rávilágítottak arra, hogy a dronsavak képzése során első intermediereként a kiindulási karbonsavakból a megfelelő savklorid képződik.

Ezért a következő kísérletben először külön lépésben állítottam elő az acetyl-kloridot 1,1 ekvivalens foszfor-trikloriddal. Az "in situ" előállított acetyl-kloridot második lépésben 2,2 ekvivalens foszfor-trikloriddal reagáltattam (28. ábra, 7. táblázat).



28. ábra

7. táblázat Etidronsav/etidronát előállítása kétlépéses szintézisben

1. Savhalogenid képzés	2. Dronátképzés	Eredmény					
PCl_3 (ekvivalens)	H_3PO_3 (ekvivalens)	Tisztaság ^a (%)			Termelés ^a (%)		
		Szabad savként ^b	Mono Na sóként ^c	Keverék 50-50% elegyként ^d	Szabad savként ^b	Mono Na sóként ^c	Keverék 50-50% elegyként ^d
1,1	2,2	77	85	81	39	43	41

^a harmadik kicsapás és digerálás után, titrálás alapján (Mettler DL77 típusú készülék)

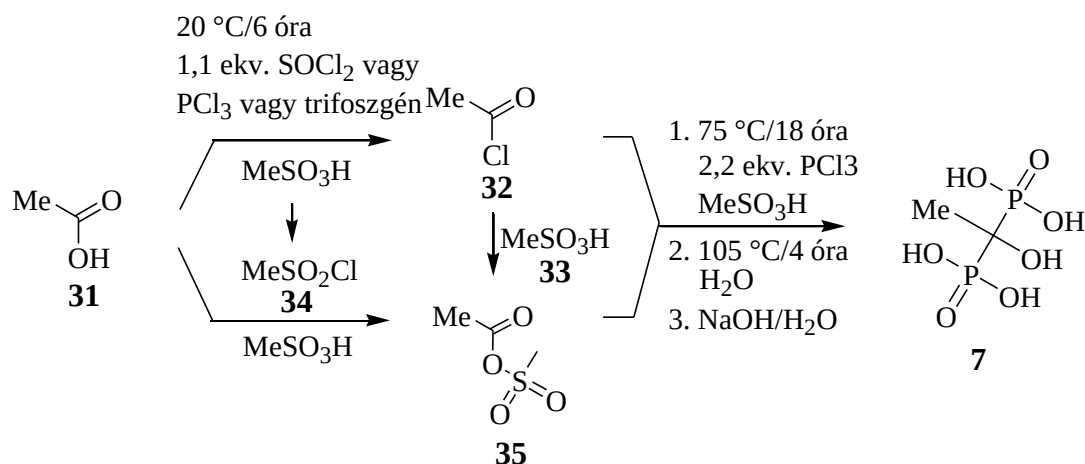
^b szabad dronsavat feltételezve

^c 1:1 arányú keveréket feltételezve

^d mono nátrium sót (dronátot) feltételezve

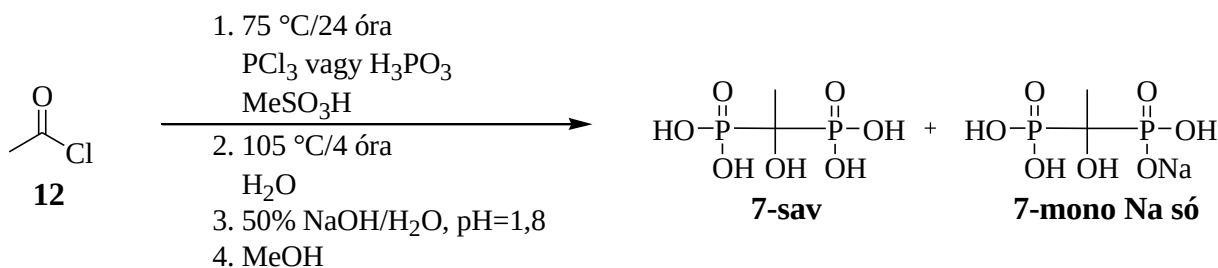
Az eredmény (tisztaság és termelés), nem tér el túlságosan a direkt, egy lépéses reakcióétól (6. táblázat 3. sor). Az elvégzett kísérlet megerősíti, hogy valóban az acetyl-klorid lehet az első intermedier.

A metánszulfonsav oldószer használatakor elképzelhető, hogy intermedierként vegyes-anhidrid (35) alakul ki, mely létrejöhet a karbonsav-klorid (32) és metánszulfonsav (33) reakciójából, vagy a kiindulási karbonsav (31) reagál a reakcióelegyben "in situ" képződő metánszulfonil-kloriddal (34) (29. ábra). A tanszéken risendronsav szintézisét toluolban megvalósították, és bizonyították a savklorid intermedier jelenlétét [21].



29. ábra

A szintézist közvetlenül acetil-kloridból (**12**) kiindulva is megpróbáltam végrehajtani (30. ábra, 8. táblázat). Ezen kísérletek során kevesebb (2 ekvivalens) P-reagens fogy a reakcióban, mivel savklorid képzésre már nincs szükség a reakció során. A minták %-os etidronsav/etidronát tartalma körülbelül 60%.



30. ábra

8. táblázat Az acetil-kloridból kiinduló etidronsav/etidronát szintézis eredményei

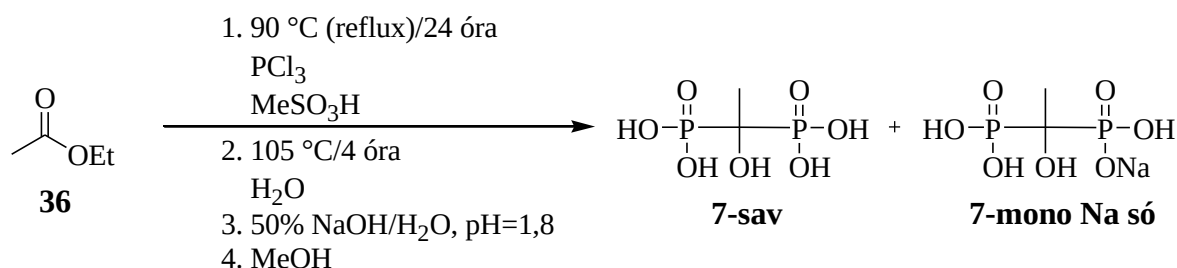
	Reagens	Tisztaság ^a (%)	Termelés ^a (%)
1	PCl ₃	~60	~39
2	H ₃ PO ₃	-	0

^a harmadik kicsapás és digerálás után

Az acetil-kloridból kiinduló reakciót az acetil-klorid nagy illékonysága és könnyű hidrolizálhatósága miatt, feleslegből kiindulva az elegy forráspontján valósítottam meg. A várakozásnak megfelelően csak abban az esetben képződött termék, amikor foszfor-trikloridot alkalmaztam P-reagensként.

A reakciót az acetil-kloridos reakcióval analóg módon etil-acetátból (**36**) kiindulva is megkíséréltem elvégezni, az elegy forráspontján (31. ábra, 9. táblázat). Az etil-acetátot a

nagyfokú illékonyága miatt feleslegben alkalmaztam. Ezen kísérletek során is - az etoxicsoport jó távozó képessége miatt - kevesebb foszfor-triklorid használódik fel a reakcióban P-reagensként.



31. ábra

9. táblázat Etil-acetátból kiinduló etidronsav/etidronát szintézis eredménye

Reagens	Tisztaság ^a (%)	Termelés ^a (%)
PCl ₃	~30	34

^a harmadik kicsapás és digerálás után

A várakozásnak megfelelően az etidronsav/etidronát előállítása etil-acetátból is megvalósítható az etoxicsoport jó távozó képességének köszönhetően. Az észterből kiinduló reakció lejátszódása is bizonyíték arra, hogy az etidronsav/etidronát ecetsavból történő előállításakor első intermediereként elengedhetetlen egy jobb távozócsoporttal rendelkező karbonsavszármazék képzése, mint például savklorid vagy észter. A reakció észterből való megvalósításának további előnye, hogy így csökkenthető a reakció során képződő sósavgáz mennyisége, mivel savkloridból kiindulva, illetve a savkloridot különböző utakon előállítva a reakció során a klorid csoport sósavként lép ki. További előny az is, hogy az etil-acetát nem mérgező, illetve olcsó, szemben a halogénező ágensekkel. Látható, hogy az etidronsav/etidronát szintézise etil-acetátból kiindulva környezetbarátabb, mint ecetsavból, illetve acetyl-kloridból.

A dronsavak szintézise a legtöbb esetben nagy viszkozitású és heterogenitású keverékhez vezet. Az eddigi tapasztalatok szerint a legjobb oldószernek a metánszulfonsav bizonyult, de ezzel az oldószerrel a nagy probléma, hogy nehéz a feldolgozás során képződő nátrium-mezilát ballasztól megszabadulni. Megpróbáltuk az ecetsav és foszfor-triklorid reakcióját más oldószerben, illetve oldószermentes körülmények között (10. táblázat) is megvalósítani. Fontos megemlíteni, hogy ezen reakciók során sötét színű, kátrányos elegyeket kaptunk.

10. táblázat Etidronsav/etidronát szintézise különböző oldószerekben 3,2 ekvivalens foszfor-trikloriddal

	Oldószer	Reakció hőmérséklet (°C)	Reakció idő (óra)
1	-	75	24
2	toluol	100	48
3	acetonitril	75	24
4	1,4-dioxán	75	24
5	metánszulfonsav- metilészter	75	24
6	1-butil-3-metilimidazólium- hexafluoro-foszfát	75	24

Oldószer alkalmazása nélkül, illetve egyéb oldószerekben végzett reakciók során csak nagyon alacsony termeléssel és tisztasággal sikerült etidronsavhoz/etidronáthoz jutnunk. Mikrohullámú körülmények között is megkíséreltük elvégezni oldószer távollétében a reakciót, ennek eredményeit a 3.4.2. fejezetben foglaltam össze. Az 1,4-dioxánban végrehajtott reakciót az irodalomban leírtak szerint végeztük, hasonló eredménnyel [5]. Metánszulfonsav-metilészterben oldószerként való alkalmazása célszerűnek tűnt, mivel közel áll a szerkezete a metánszulfonsavéhoz, és elkerülhető a pH állításkor a nátrium-mezilát képződés. Azonban az oldószerben sem sikerült elérni a várt eredményeket. A vizsgált ionos oldószer sem megfelelő a reakció lejátszódásához, és a feldolgozás is nehézkes.

További erőfeszítéseket teszünk, hogy a metánszulfonsavat kezelhetőbb, környezetbarátabb oldószerre cserélhessük, illetve hogy teljesen elhagyhassuk az etidronsav/etidronát szintézise során.

A szulfolánban, mint oldószerben végzett előkísérletek biztató eredményeket mutatnak, habár egyenlőre foszforosavat és foszfor-trikloridot együtt felhasználva valósítottuk csak meg a reakciót. A nyersterméket többszöri metanolos digerálással tisztítottuk. A tisztított termék ^{31}P és ^{13}C NMR spektruma alapján is csak etidronsavat/etidronátot tartalmaz, viszont a termelés csak 10%. Az eredmények alapján a szulfolán megfelelő oldószernek bizonyulhat a metánszulfonsav kiváltására.

3.3.1. Tisztítási kísérletek

A tanszéken kidolgozott eljárás szerint [3,4] háromszoros metanolos kicsapás volt az általános tisztítási eljárás, ezért vizsgáltam, hogy ez a módszer alkalmazható-e, a mi esetünkben is.

3.3.2. Kicsapás

A kicsapási kísérletek célja annak vizsgálata, hogy mely oldószer a legmegfelelőbb a termék kicsapására vizes oldatból. A 3,2 ekvivalens foszfor-trikloridot alkalmazó reakció nyerstermékét (6. táblázat, 3. sor) háromfelé osztottam, a feloldáshoz szükséges legkevesebb mennyiségű vízben feloldottam, és szobahőmérsékleten 30-30-30 ml metanolt, izopropanolt vagy acetont adtam az oldatokhoz. Ezekben az esetekben a nyerstermékét és a kicsapott termékeket is csak ^{31}P NMR-el vizsgáltuk, mivel csak arra voltunk kíváncsiak, hogy melyik kicsapószer oldja be a legtöbb foszfor-tartalmú szennyezőt. Az eredményeket a 11. táblázat tartalmazza.

11. táblázat A "kicsapószer" tisztítás eredményei ^{31}P NMR alapján

		Etidronsav/etidronát tartalom (%)^a	Foszfortartalmú szennyező (%)^a
1	Nyerstermék ^b	51	49
	Kicsapószer		
2	Metanol	71	29
3	Izopropanol	56	44
4	Aceton	54	46

^a ^{31}P NMR alapján

^b 6. táblázat, 3. sor

A kísérletek azt mutatják, hogy a legmegfelelőbb kicsapószer a metanol, mivel a metanolos kicsapás során történt a legnagyobb mértékű tisztulás. (A szennyezés nagy része a folyadékfázisban marad.)

3.3.3. Digerálás

A digerálási kísérletek során (12. táblázat) azt vizsgáltam, hogy van-e esetleg olyan oldószer, mely csak az anyagomat, vagy csak valamely szennyezőt/szennyezőket oldja. A nyerstermékekhez 100-100 ml metanolt, etil-acetátot, izopropanolt vagy acetont adtam és 60 percen keresztül forraltam. A forralás után szűrtem, illetve az oldatokat bepároltam annak vizsgálata érdekében, hogy mi oldódott át az adott oldószerbe.

12. táblázat A "digerálósos" tisztítás eredményei

	Oldószer	Oldódás	³¹P NMR
1	Metanol	Kb. a fele tömeg átoldódott a metanolba	Csak a foszforszennyező oldódott át
2	Etil-acetát	nincs	-
3	Izopropanol	nincs	-
4	Aceton	nincs	-

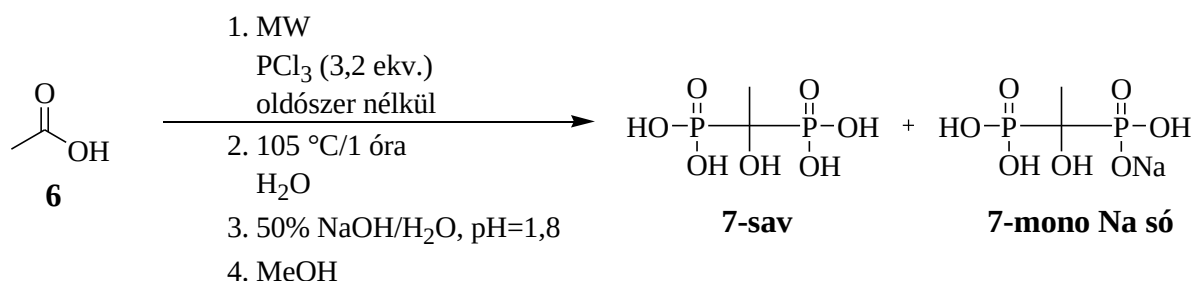
Az eredmények azt mutatják, hogy a metanolos digerálás alkalmas a foszforszennyezőtől való megszabadulásra, mely során termékvesztés nincs.

3.4. Mikrohullámú körülmények között végrehajtott kísérletek

Az egyéb oldószerekben csak igen gyenge termeléssel kivitelezett reakciókat megkíséreltük oldószer alkalmazása nélkül, tehát *"in substantia"*, MW reaktorban megvalósítani. A környezetbarát technológiák kifejlesztése az ipar számos területén, így a vegyiparban is egyre nagyobb szerepet kap. A tapasztalatok szerint a hagyományos módon le nem játszódó reakció, számos esetben megvalósítható MW körülmények között. A MW besugárzással végrehajtott reakció [22-24] lehetővé teszi az oldószer elhagyását, és ezáltal az ömledékben való reakcióvégzést, ami kapcsolódik a környezetbarát kémia 12 alapelveéhez, miszerint "a segédanyagok használatát minimalizálni kell, s amennyiben szükséges, ezek "zöldek" legyenek" [25]. Az elegyben minden pillanatban, akár 50 °C-os lokális túlmelegedések lépnek fel véletlenszerű eloszlásban, és ez növeli a hatékonyságot és a reakciósebességet.

3.4.1. Etidronsav/etidronát szintézisének vizsgálata MW körülmények között

Az etidronsav/etidronát (7) szintézisét MW körülmények között eddig még senki sem tanulmányozta. Ecetsavat (6) és 3,2 ekvivalens foszfor-trikloridot reagáltattunk 65 °C-on 30 perces reakcióidővel (32. ábra, 13. táblázat). A nyersterméket metanolos digerálással tisztítottuk.



32. ábra

13. táblázat MW körülmények között végrehajtott etidronsav/etidronát szintézis eredménye

Reakcióidő (perc)	Reakció hőmérséklet (°C)	Tisztaság ^a (%)	Termelés (%)
30	65	78 ^b	7

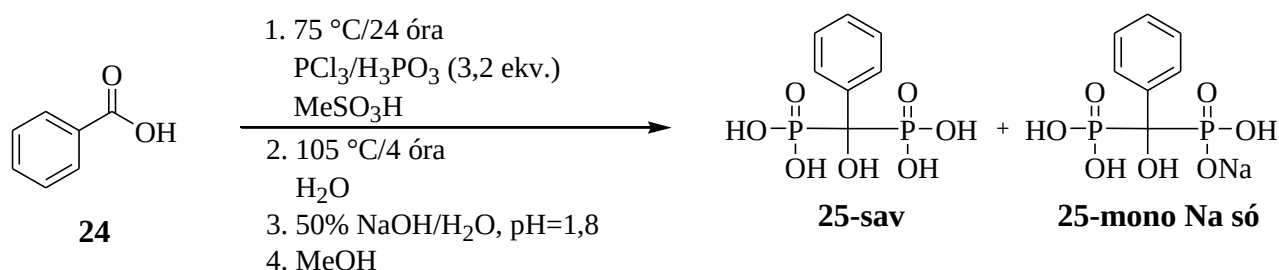
^a ³¹P NMR spektruma alapján

^b egyszeri metanolos digerálás után

Már a rövid reakcióidejű kísérlet is mutatja, hogy MW körülmények között oldószer alkalmazása nélkül is bekövetkezik a reakció. Az elkövetkező kísérletek során derítjük fel a megfelelő reakciókörülményeket.

3.5. Fenidronsav/fenidronát szintézisének vizsgálata

A fenidronsav/fenidronát (25) szintézisének vizsgálata során, az etidronsavnál/etidronátnál is felmerült kérdések tisztázása volt a cél. Az első kísérletekben foszfor-triklorid és foszforosav különböző arányokban való alkalmazását vizsgáltam az etidronsavhoz/etidronáthoz hasonlóan (33. ábra).



33. ábra

A reakció során csak 3,2 ekvivalens foszforosavat használva P-reagensként, ebben az esetben sem képződött termék (14. táblázat). Amennyiben csökkentettem a foszforosav, illetve egyidejűleg növeltem a foszfor-triklorid mennyiségét, az etidronsavnál/etidronátnál leírtaknak megfelelően sikerült fenidronsavat/fenidronátot előállítani. A foszfor-triklorid mennyiségét növelve a várakozásnak megfelelően egyre nagyobb tisztasággal képződött a termék. A legjobb kísérlet az volt, amikor csak 3,2 ekvivalens foszfor-trikloridot használtam P-reagensként.

14. táblázat Feniodronsav/fenidronát szintézise foszforosav és foszfor-triklorid különböző arányú keverékeivel

	PCl ₃ (ekvivalens)	H ₃ PO ₃ (ekvivalens)	Tisztaság ^a (%)			Termelés ^a (%)		
			Szabad savként ^b	Mono Na sóként ^c	Keverék 50-50% elegyként ^d	Szabad savként ^b	Mono Na sóként ^c	Keverék 50-50% elegyként ^d
1	0	3,2	-	-	-	0	0	0
2	1,1	2,1	73	79	76	25	29	27
3	2,1	1,1	79	86	83	38	45	42
4	3,2	0	86	93	90	40	46	43

^a harmadik kicsapás és digerálás után, titrálás alapján (Mettler DL77 típusú készülék)

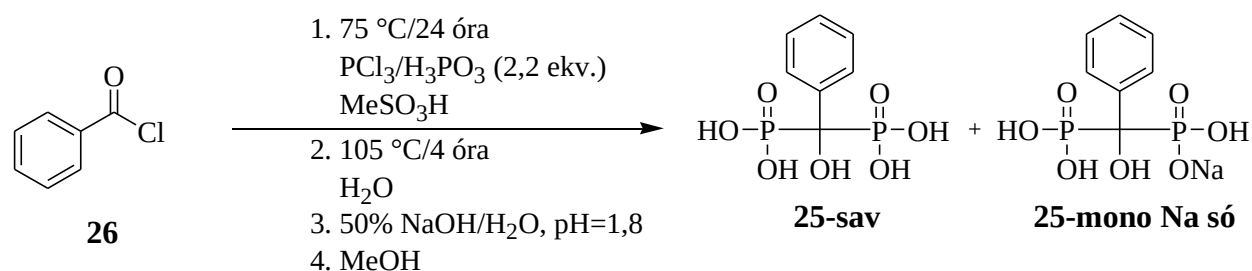
^b szabad dronsavat feltételezve

^c 1:1 arányú keveréket feltételezve

^d mono nátrium sót (dronátot) feltételezve

A feniodronsavat/fenidronátot nagyobb tisztaságban és termeléssel sikerült izolálni a kísérletek során, mint az etidronsavat/etidronátot, amely a fenilcsoport jelenlétének köszönhető. Elképzelhető, hogy a molekula vízdoldhatósága csökken, és így jobban kicsapható. Természetesen a nátrium-mezilát szennyező - mint minden dronát szintézis esetén - a feniodronsav/fenidronát esetén is problémákat okoz, mert nehéz tőle megszabadulni.

A korábbi tapasztalatoknak megfelelően feniodronsav/fenidronát (**25**) esetén is, első intermediereként a kiindulási benzoesavból a megfelelő savklorid, a benzoil-klorid képződhet. Így logikus a feniodronsav/fenidronát szintézisét benzoesav-kloridból (**26**) kiindulva is végrehajtani (34. ábra, 15. táblázat). Ezen kísérletek során 1 ekvivalenssel kevesebb P-reagenst alkalmaztam (2,2 ekvivalenst), mivel a savklorid képzéséhez már nincs szükség halogénező ágensre.



34. ábra

15. táblázat Feniodronsav/fenidronát szintézisének eredményei benzoil-kloridból kiindulva

	Reagens	Tisztaság^a (%)	Termelés^a (%)
1	PCl ₃	68	26
2	H ₃ PO ₃	-	0

^a harmadik kicsapás és digerálás után, (GlpKa típusú készülék)

A várakozásainknak megfelelően szintén csak abban az esetben képződött termék, amikor foszfor-trikloridot használtam P-reagensként a második lépésben.

A jövőben feniodronsav/fenidronát előállítását is megkísérlem észterből (benzoesav-etilészterből) megvalósítani, mivel ezen reakcióút ugyancsak bizonyítékként szolgálhat, hogy a reakció végbemeneteléhez elengedhetetlen egy jobb távozócsoporthal rendelkező karbonsavszármazék jelenléte, illetve környezetvédelmi szempontból is jelentős.

4. Kísérletek részletes leírása

4.1. Készülékek

NMR: A ^{31}P NMR és ^{13}C NMR spektrumokat Bruker AV-300 és DRX-500 típusú készülék segítségével vették fel.

Potenciometriás titrátor: A minták tisztaságát Mettler DL77 típusú titrátor, illetve GlpKa (Sirius Analytical Ltd., East Sussex, UK) potenciometriás titrátor segítségével, különbségi potenciometrikus titrálás módszerét alkalmazva határozták meg. A kapott eredmények három független mérés átlagaként lettek megadva.

Mikrohullámú reaktor: a reakciókat egy CEM Discover típusú MW reaktorban, 100 W-os besugárzási teljesítménnyel hajtottuk végre.

4.2. Etidronsav/etidronát előállítására irányuló kísérletek

Etidronsav/etidronát előállítása egylépéses szintézisben foszfor-trikloriddal és foszforossavval: 10,5 ml metánszulfonsavhoz 1,4 ml (0,025 mol) ecetsavat csepegtetünk szobahőmérsékleten, majd (a 16. táblázat szerint) összesen 3,2 ekvivalens foszfor-trikloridot és/vagy foszforossavat adunk különböző arányokban az elegyhez. A foszforossav könnyen feloldódik. 85 °C-on 24 órán keresztül kevertetjük az elegyet. A foszfor-triklorid becsepegtetése, illetve melegítés közben gázfejlődés (HCl) tapasztalható és a reakcióelegy fehér/sárga opálos lesz. A további feldolgozás, illetve tisztítás a 37. oldalon leírt általános eljárás szerint történik. ^{31}P NMR (D_2O) δ : 19,2; $\delta_{\text{P}}^{[26]}$: 19,4; ^{13}C NMR (D_2O) δ : 20,3 (CH_3), 71,6 (t, $J=130$ Hz, P-C-P); pKa mért: pKa₂: 2,5; pKa₃: 6,7; pKa₄: 10,7; pKa₅: 13,7; Irodalmi [27]: pKa₁: 1,35; pKa₂: 2,87; pKa₃: 7,03; pKa₄: 11,3.

16. táblázat Foszfor-triklorid és foszforossav különböző arányú keverékeivel végzett etidronsav/etidronát szintézis bemérései

	Reakció [PCl ₃ (ekv.):H ₃ PO ₃ (ekv.)]	PCl ₃ [mol]	H ₃ PO ₃ [mol]	PCl ₃ [ml]	H ₃ PO ₃ [g]
1	3,2 : 0	0,08	0	7	0
2	2,1 : 1,1	0,053	0,028	4,6	2,3
3	1,1 : 2,1	0,028	0,053	2,4	4,3
4	0 : 3,2	0	0,08	0	6,6

Etidronsav/etidronát előállítása kétlépéses szintézisben: 10,5 ml metánszulfonsavhoz 1,4 ml (0,025 mol) ecetsavat csepegtetünk szobahőmérsékleten, majd első lépésben 1,1 ekvivalens 2,3 ml (0,028 mol) foszfor-trikloridot adunk hozzá, és 6 órán át szobahőmérsékleten kevertetjük. Második lépésben 2,2 ekvivalens 4,8 ml (0,05 mol) foszfor-trikloridot adunk az elegyhez, és további 18 órán keresztül 85 °C-on kevertetjük. Az első és második lépés során is gázfejlődés (HCl) tapasztalható. A reakció végén az elegy színes (barna vagy sárga), és lerakódás van a lombik falán. A további feldolgozás, illetve tisztítás a 37. oldalon leírt általános eljárás szerint történik.

Etidronsav/etidronát előállítása acetil-kloridból kiindulva: 10,5 ml metánszulfonsavhoz (a 17. táblázat szerint) acetil-kloridot, majd foszfor-trikloridot vagy foszforossavat adunk az elegyhez szobahőmérsékleten. A foszforossav könnyen feloldódik. 85 °C-on 24 órán keresztül kevertetjük az elegyet. A foszfor-triklorid becsepegtetése, illetve melegítés közben gázfejlődés (HCl) tapasztalható és a reakcióelegy fehér/sárga opálos lesz. Amennyiben a reakció során csak foszforossavat használunk, az elegy színtelen oldat. A további feldolgozás, illetve tisztítás a 37. oldalon leírt általános eljárás szerint történik. A termelést a foszfor-triklorid mennyiségére számoltuk.

17. táblázat Acetil-kloridból kiinduló etidronsav/etidronát szintézis bemérései

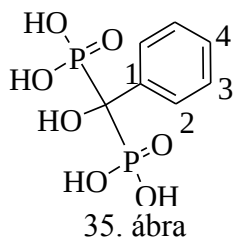
	Acetil-klorid		PCl ₃		H ₃ PO ₃	
	mol	ml	mol	ml	mol	g
1	0,125	8,9	0,055	4,8	-	-
2	0,025	1,8	-	-	0,055	4,5

Etidronsav/etidronát előállítása etil-acetátból kiindulva: 10,5 ml metánszulfonsavhoz 12,2 ml (0,125 mol) etil-acetátot adunk szobahőmérsékleten, majd 4,8 ml (0,055 mol) foszfor-trikloridot csepegtetünk hozzá. 24 órán keresztül 90 °C-on (reflux) kevertetjük. Az elegy színtelen oldat. Hidrolízis után az elegyet a fele mennyiségére pároljuk. A további feldolgozás, illetve tisztítás a 37. oldalon leírt általános eljárás szerint történik. A termelést a foszfor-triklorid mennyiségére számoltuk.

Etidronsav/etidronát előállítása mikrohullámú besugárzással: 0,5 ml (8,74 mmol) ecetsavhoz 2,4 ml (28 mmol, 3,2 ekv.) foszfor-trikloridot csepegtetünk szobahőmérsékleten, amikor is emulziót kapunk. MW körülmények között adott hőmérsékleten megadott ideig (a 13. táblázat szerint) nyitott rendszerben, hűtővel és kotyogóval ellátott lombikban nitrogén atmoszférában kevertetjük (teljesítmény: 100 W, felfűtés 5 perc). A fűtés indításakor heves gázfejlődés (HCl) tapasztalható. A reakció végére az elegy színtelen oldat, és sárga lerakódás látható az edény falán. A további feldolgozás a 37. oldalon leírt általános eljárás szerint történik.

4.3. Feniodronsav/fenidronát előállítására irányuló kísérletek

Feniodronsav/fenidronát előállítása egylépéses szintézisben foszfor-trikloriddal és foszforossavval: 10,5 ml metánszulfonsavhoz 3,1 g (0,025 mol) benzoessavat adunk szobahőmérsékleten, majd (a 18. táblázat szerint) összesen 3,2 ekvivalens foszfor-trikloridot és/vagy foszforossavat adagolunk különböző arányokban az elegyhez. A foszforossav könnyen feloldódik. A benzoessav a foszfor-triklorid hatására oldódik fel. 85 °C-on 24 órán keresztül kevertetjük az elegyet. A foszfor-triklorid becsepegtetése, valamint melegítés közben gázfejlődés (HCl) tapasztalható, a reakcióelegy fehér/sárga opálos lesz. A további feldolgozás, illetve tisztítás a 37. oldalon leírt általános eljárás szerint történik. ^{31}P NMR (D_2O) δ : 15,9; $\delta_{\text{P}}^{[26]}$:15,9, ^{13}C NMR (D_2O) δ : 80 (t, $J=131$ Hz, P-C-P), 125 (s, ArC₄), 126 (t, $J=3,5$ Hz, ArC₂), 127 (s, ArC₃), 144 (s, ArC₁); pK_{a1}: 1,35; pK_{a2}: 2,87; pK_{a3}: 7,03; pK_{a4}: 11,3 [27]



18. táblázat Foszfor-triklorid és foszforossav különböző arányú keverékeivel végzett feniodronsav/fenidronát szintézis bemérései

	Reakció [PCl₃ (ekv.):H₃PO₃ (ekv.)]	PCl₃ [mol]	H₃PO₃ [mol]	PCl₃ [ml]	H₃PO₃ [g]
1	3,2 : 0	0,08	0	7	0
2	2,1 : 1,1	0,053	0,028	4,6	2,3
3	1,1 : 2,1	0,028	0,053	2,4	4,3
4	0 : 3,2	0	0,08	0	6,6

Feniodronsav/fenidronát előállítása benzoil-kloridból kiindulva: 10,5 ml metánszulfonsavhoz 2,9 ml (0,025 mol) benzoil-kloridot csepegtetünk szobahőmérsékleten, majd (a 19. táblázat szerint) foszfor-trikloridot vagy foszforossavat adunk az elegyhez. A foszforossav könnyen feloldódik. 85 °C-on 24 órán keresztül kevertetjük az elegyet. A foszfor-triklorid becsepegtetése, illetve melegítés közben gázfejlődés (HCl) tapasztalható és a reakcióelegy fehér opálos lesz. Amennyiben a reakció során csak foszforossavat használunk, az elegy szintelen oldat. A további feldolgozás, illetve tisztítás a 37. oldalon leírt általános eljárás szerint történik.

19. táblázat Benzoil-kloridból kiinduló feniodronsav/fenidronát szintézis bemérései

	P-reagens	PCl₃			H₃PO₃		
		mol	ekvivalens	ml	mol	ekvivalens	g
1	PCl ₃	0,055	2,2	4,8	-	-	-
2	H ₃ PO ₃	-	-	-	0,055	2,2	4,5

A kísérletek során alkalmazott általános feldolgozási, illetve tisztítási eljárás:

Lehűtés után 25 ml vizet adunk az elegyhez, majd 105 °C-on további 4 órán át kevertetjük. Hidrolízis során heves gázfejlődés (HCl) tapasztalható, illetve a lombik falán lévő esetleges kiválás feloldódik. 50%-os nátrium-hidroxid-oldattal a pH-t 1,8-asra állítjuk, majd a terméket 127 ml metanollal csapjuk ki, 45 percig kevertetjük. A fehér csapadékot szűrjük, szárítjuk (nyerstermék tömege 7-10 g), majd a terméket a feloldáshoz szükséges legkevesebb mennyiségű vízben feloldjuk, az esetleges oldhatatlan szennyezést szűrjük, és 50 ml

metanollal ismét kicsapjuk. A tisztítást még kétszer ismétljük. A "kicsapásos" tisztítás után a terméket 100 ml metanolban forraljuk 60 percen át és a fel nem oldódott anyagot szűrjük, majd szárítjuk (tisztított termék tömege 1-2 g).

5. Összefoglalás

A korábbi szakirodalmak alapján, foszforossav is szükséges az etidronsav/etidronát és feniodronsav/fenidronát szintéziséhez. Munkánk során mind etidronsav/etidronát és mind feniodronsav/fenidronát esetén sikerült bebizonyítani, hogy előállításukhoz nincs szükség foszforossavra, mivel az nem vesz részt a reakcióban, s így csak felesleges környezetterhelést eredményez. Az irodalomban másik elterjedt módszer, hogy a foszfor-trikloridot a szükségesnél nagyobb mennyiségben alkalmazzák, amely szintén környezeti terhelést eredményez, a hidrolízisekor képződő sósavgáz és foszforossav miatt. Az általunk végzett kísérletek során kiderült, hogy a reakció során nem indokolt 3,2 ekvivalens foszfor-trikloridnál nagyobb mennyiséget alkalmazni. Két lépésben végrehajtva foszfor-trikloriddal a reakciót, szintén előállítható a várt vegyület, mely alátámasztja, hogy a savklorid lehet a reakció első intermediere. Az acetyl-kloridból vagy észterből kiinduló reakció lejátszódása is bizonyíték arra, hogy az etidronsav/etidronát vagy feniodronsav/fenidronát előállításakor első intermediereként elengedhetetlen egy jobb távozcsoporttal rendelkező karbonsavszármazék képzése, mint például savklorid vagy észter. Az észterből kiinduló reakció környezetvédelmi szempontból is figyelemreméltó, mivel csökkenthető a melléktermékként képződő sósavgáz mennyisége.

A metánszulfonsav oldószer kiváltása, illetve ennek nyomán a nátrium-mezilát ballasztól való megszabadulás továbbra is megoldandó feladat. MW körülmények között mi állítottunk elő először etidronsav/etidronát, oldószer távollétében végeztük a reakciót. Már az első próbálkozások is ígéretesnek bizonyultak.

További terveink etidronsav/etidronát és feniodronsav/fenidronát szintézisének megvalósítása és optimalizálása MW körülmények között oldószer alkalmazása nélkül, valamint különböző poláris oldószerekben, ionos folyadékokban, mivel így elkerülhető a nátrium-mezilát szennyező képződése.

6. Irodalomjegyzék

- [1] H. v. Baeyer, K. A. Hofmann; *Chem. Ber.*, **1897**, 30, 1975.
- [2] W. S. Rolf, M. Irene; *Pharm. World Sci.*, **1998**, 20, 206-213.
- [3] Gy. Keglevich, A. Grün, K. Aradi, S. Garadnay, I. Greiner; *Tetrahedron Lett.*, **2011**, 52, 2744-2746.
- [4] S. Garadnay, A. Grün, Gy. Keglevich, J. Neu; *Magyar szabadalmi bejelentés*, HUP1100071, **2011**.
- [5] S. C. Pandey, H. Haider, S. Saxena, M. K. Singh, R. K. Thaper, S. K. Dubey; *WO2006134603*, **2006**, *Chem. Abstr.*, **2007**, 146, 62922.
- [6] I. S. Alfer'ev, S. Y. Bobkov, I. L. Kotlyarevskii; *Russ. Chem. Bull.*, **1987**, 36, 571–576.
- [7] S. Ulrich; *Phosphorus, Sulfur, Silicon*, **1990**, 51/52, 623- 626.
- [8] M. Lecouvey, I. Mallard, T. Bailly, R. Burgada, Y. Leroux; *Tetrahedron Lett.*, **2001**, 42, 8475-8478.
- [9] D.A. Nicholson, H. Vaughn; *J. Org. Chem.*, **1971**, 36, 3843-3845.
- [10] Gy. Keglevich, A. Grün, I. G. Molnár, I. Greiner; *Heteroat. Chem.*, **2011**, 22, 640–648.
- [11] A. Grün, I. G. Molnár, B. Bertók, I. Greiner, Gy. Keglevich; *Heteroat. Chem.*, **2009**, 20, 350-354.
- [12] A. B. Alovitdinov, G. B. Khamrakulov, M. V. Khalmukhamedova, T. A. Agzamov; *Russ. J. Gen. Chem.*, **1996**, 66, 769-771.
- [13] M. Egorov, S. Aoun, M. Padrines, F. Redini, D. Heymann, J. Lebreton, M. Mathé-Allainmat; *Eur. J. Org. Chem.*, **2011**, 7148-7154.
- [14] K. Gyires, Zs. Fürst; *Farmakológia*, Medicina, Budapest, **2007**, 794-796.

- [15] H.R. Hudson, N. J. Wardle, S. W. A. Blight, I. Greiner, A. Grün, Gy. Keglevich; *Mini Reviews in Med. Chem.*, **2012**, 12, 313-325.
- [16] Bonefos[®] betegtájékoztató (www.ogyi.hu/kiseroirat/bh/bh_0000015844_20120223140155.doc)
- [17] Skelid[®] betegtájékoztató (www.ogyi.hu/kiseroirat/bh/bh_0000015856_20080129130143.doc)
- [18] Bonviva[®] alkalmazási előírás (www.ogyi.hu/kiseroirat/bh/bh_0000032848_20120924115730.doc)
- [19] 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.
- [20] C. K. Zacharis, P. D. Tzanavaras; *J. Pharmaceut. Biomed. Anal.*, **2008**, 48, 483-496
- [21] 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.
- [22] R. Gedye, F. Smith, K. Westway, H. Ali, J. Rousell; *Tetrahedron Lett.*, **1986**, 27, 279-282.
- [23] R. J. Giuerre, T. L. Bray, S. M. Duncan; *Tetrahedron Lett.*, **1986**, 27, 4945-4948.
- [24] D. A. Mustafa, B. A. Kashemirov, C. E. McKenna; *Tetrahedron Lett.*, **2011**, 52, 2285-2287.
- [25] K. Barta, M. Csékei, Sz. Csihony, H. Mehdi, I. T. Horváth, Z. Pusztai, G. Vlád; *Magyar Kémikusok Lapja*, **2000**, 55, 173-181.
- [26] E. Guenin, E. Degache, J. Liquier, M. Lecouvey; *Eur. J. Org. Chem.*, **2004**, 2983-2987.
- [27] J. DeRuiter, C. Randall; *Endocr. Module*, **2002**, Spring.