

α -Hidroxifoszfónatok előállítása, reakciói és biológiai aktivitása

RÁDAI Zita*

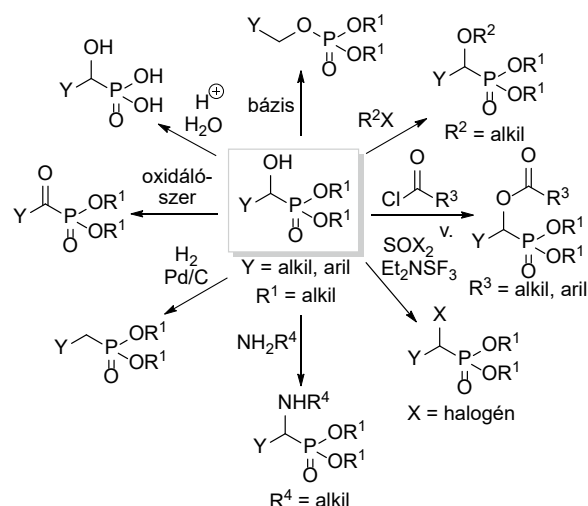
Szerves Kémia és Technológia Tanszék, Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Budafoki út 8., 1111 Budapest

1. Bevezetés

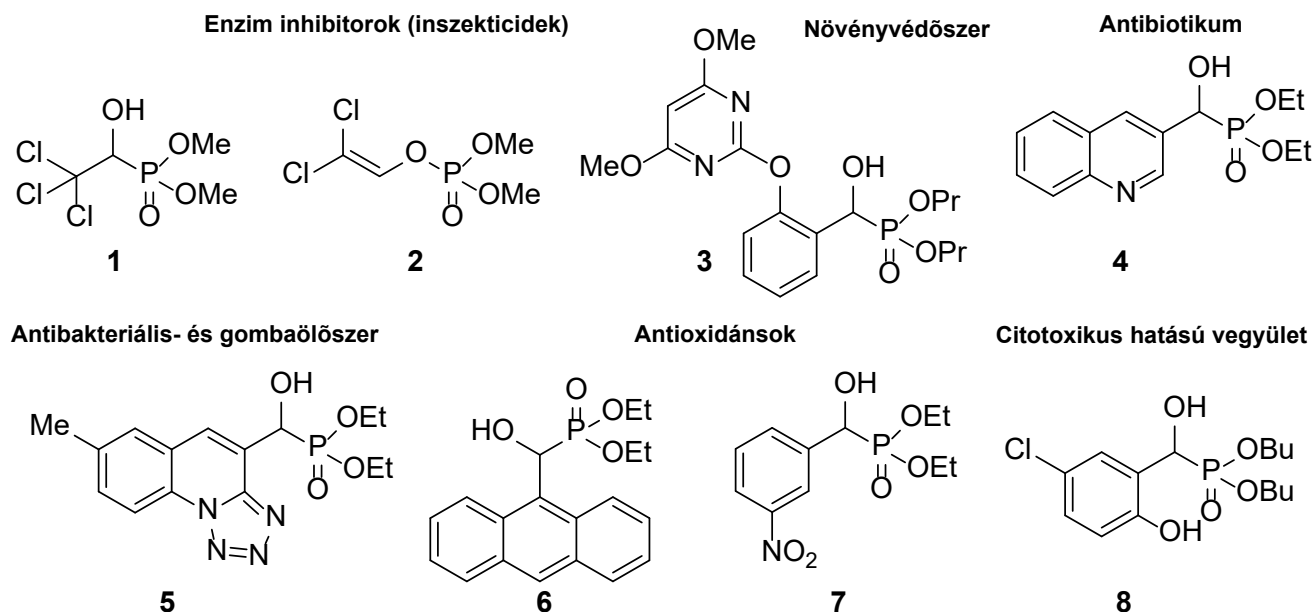
Az α -hidroxifoszfónatok elsősorban biológiai aktivitásuk miatt tartanak számot nagy érdeklődésre (1. ábra). Egy híres képviselőjük a triklór-fon (*O,O*-dimetil-2,2,2-triklór-1-hidroxietilfoszfónat) (1), mely 2,2-diklórvinil-dimetilfoszfónat (diklór-fosz) (2) formájában fejt ki hatását, mint acetilkolin-észteráz enzim bénító rovarölőszert.¹ Humán toxicitása miatt napjainkban azonban már nem használják. Az α -hidroxifoszfónatok között vannak növényvédőszer is (3),² más képviselőikről (4 és 5) pedig bebizonyították, hogy antibakteriális,^{3,4} illetve gombaölő⁴ hatással rendelkeznek. Egyes származékok (6 és 7) antioxidáns tulajdonságát igazolták.^{5,6} Az α -hidroxifoszfónatok citotoxikus hatását a szakirodalomban keveset vizsgálták.^{7,8}

Az α -hidroxifoszfónatokat leggyakrabban Pudovik-reakcióval állítják elő, ami dialkil-foszfít addícióját jelentő oxovegyületre. A szakirodalomban a Pudovik-reakciót rendszerint oldószer nélkül valósították meg, általában bázis katalizátor jelenlétében.⁹⁻¹² A szerzők hangsúlyozták, hogy ezek a módszerek környezetbarát megoldások α -hidroxifoszfónatok előállítására, azt azonban nem vették figyelembe, hogy a reakcióelegy feldolgozása, illetve a nyers-termék tisztítása során nagy mennyiségű szerves oldószer használtak fel. Tehát a szakirodalmi módszerek többsége nem nevezhető „zöld” eljárásnak.⁹⁻¹²

Az α -hidroxifoszfónatok nem csak biológiai vonatkozásban érdekesek, hanem szintetikus jelentőségük is van (2. ábra).^{13,14} Részt vehetnek *O*-acilezési, *O*-alkilezési reakciókban, illetve nukleofil szubsztitúcióban. Az OH-csoport redukciója, illetve oxidációja szintén lehetséges. Az észter-csoportok hidrolízisével foszfonsavak nyerhetők. Egy érdekes reakció a foszfa-Brook átrendeződés, melynek során az α -hidroxifoszfónat bázis jelenlétében benzil-foszfát-alakul.



2. Ábra. α -Hidroxifoszfónatok, mint értékes kiindulási anyagok.



1. Ábra. Válogatott példák biológiailag aktív α -hidroxifoszfónatokra.

* Tel.: 06-1-463-1111/5897; e-mail: zita.radai@gmail.com

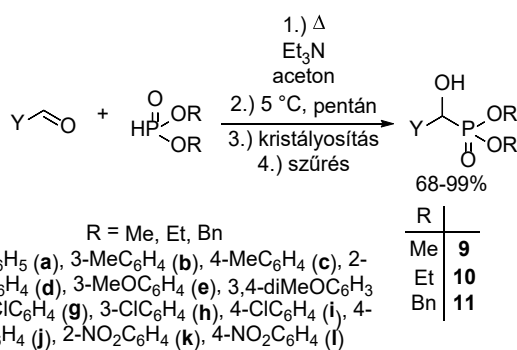
2. Eredmények és értékelésük

A Tanszéken közel tíz éve foglalkoznak α -hidroxifoszfónatok előállításával. Kutatócsoportunkban nagy hagyománya van a mikrohullámú (MW) technika alkalmazásának szerves kémiai reakciókban. Kezdetben a Pudovik-reakciót is MW körülmények között, nátrium-karbonát bázis jelenlétében valósították meg.¹⁵

Annak ellenére, hogy Kutatócsoportunkban korábban azt tapasztalták, hogy a MW besugárzás számos reakció lejátszódását kedvezően befolyásolta,^{16–19} felismertük, hogy a Pudovik-reakció megvalósításához valójában nincsen szükség sem magas hőmérsékletre, sem MW besugárzásra, a reakció enyhébb körülmények között is lejátszódik. Ezekből a megállapításokból kiindulva célul tűztük ki egy új variáció kidolgozását a Pudovik-reakcióra. Különleges figyelmet fordítottunk arra, hogy a szerves oldószer-felhasználást tekintve az irodalmi módszereknél zöldebb megoldást találjunk.

2.1. Egy új, környezetbarát eljárás kidolgozása α -hidroxifoszfónatok előállítására

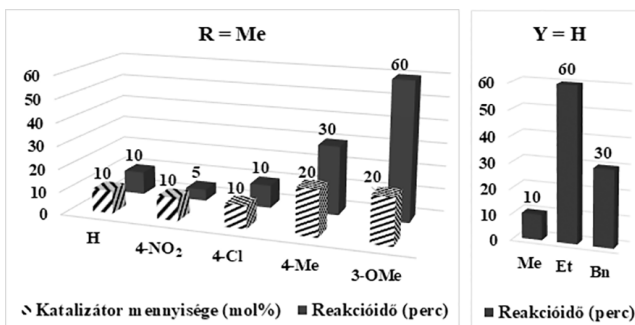
Új módszerünk szerint szubsztituált benzaldehid és dialkil-foszfít ekvimoláris elegyét katalitikus mennyiségű trietilamin jelenlétében, kis mennyiségű acetoneban forraltuk. A Pudovik-reakció lejátszódása után a reakcióelegyhez egy kicsapó oldószert (pentán) adtunk. Így hűtés hatására a várt termék (9–11) kikristályosodott a reakcióelegyből. Az α -hidroxifoszfónatokat (9–11) egy egyszerű szűréssel nagy tisztaságban (>99%), kiváló (68–99%) termeléssel kaptuk (3. ábra).²⁰



3. Ábra. Egy új, környezetbarát variáció a Pudovik-reakcióra.

Új módszerünk fő újdonsága, hogy nem volt szükség a termék utólagos tisztítására, így a szerves oldószer felhasználást a minimumra szorítottuk.

Megállapítottuk, hogy elektronvonzó szubsztituensek az aromás gyűrűn elősegítették a reakció lejátszódását, míg elektronküldő metil- vagy metoxicsoport jelenlétében hosszabb reakcióidőre volt szükség, illetve bizonyos esetekben a katalizátor mennyiségét is meg kellett növelni. A foszfítok közül a dimetil-foszfítoknak volt a legnagyobb a reaktivitása, amit a dibenzil-, majd dietil-foszfít követett (4. ábra).

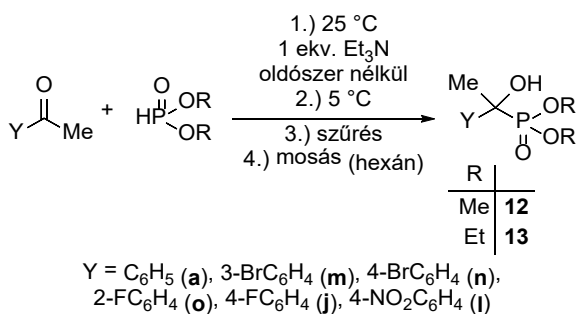


4. Ábra. Az aromás gyűrű szubsztituensének, illetve a dialkil-foszfít alkil-csoportjának reaktivitásra gyakorolt hatása.

2.2. A módszer kiterjesztése ketonok és dialkil-foszfít reakciójára

Új módszerünket szeretnénk volna kiterjeszteni ketonok és dialkil-foszfít reakciójára is, azonban azt tapasztaltuk, hogy a ketonok reakciója megköveteli egy ekvivalens trietilamin alkalmazását. A trietilamin azonban ebben a mennyiségben az acetone oldószert is aktiválta, így melléktermékként az acetone és dialkil-foszfít reakciójában keletkezett dimetil-1-hidroxi-1-metiletilfoszfónatot azonosítottuk. Annak érdekében, hogy a melléktermék keletkezését kiküszöböljük, a reakciót megkísérletük acetoneitrilben is. Azonban az oldószer és a nagy mennyiségű trietilamin együttes jelenléte a termék (12 és 13) kristályosodását jelentősen megnehezítette.

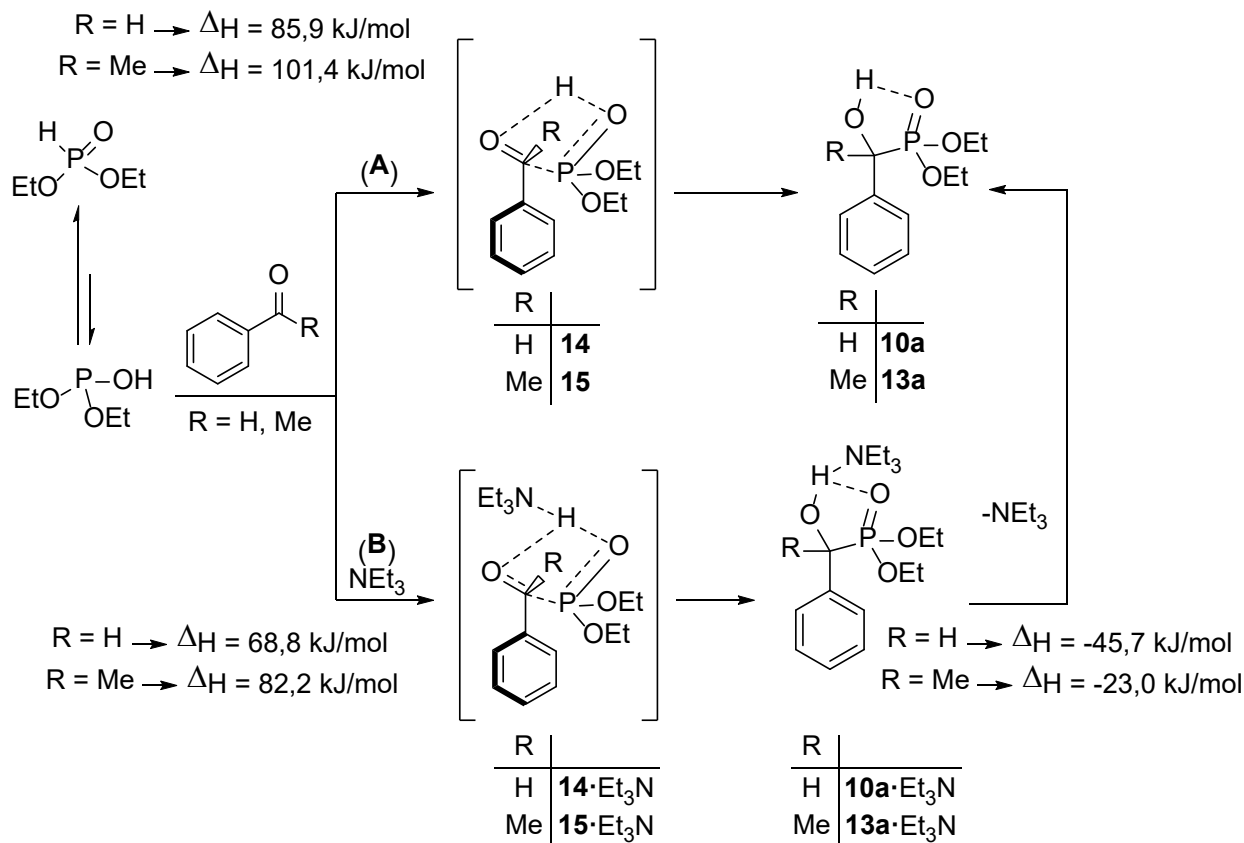
Az α -metil- α -hidroxifoszfónatok (12 és 13) előállítására végül az a megoldás született, hogy az addíciót oldószer nélkül hajtottuk végre, így a termék kikristályosodott a reakcióelegyből. Szűrés után a kristályokat hexános mosással tisztítottuk (5. ábra).²¹



5. Ábra. α -Metil- α -hidroxifoszfónatok (12 és 13) előállítása.

2.3. A trietilamin-katalizált Pudovik-reakció energetikai háttere

Kíváncsiak voltunk a trietilamin szerepére a Pudovik-reakcióban, illetve az aldehidek és ketonok közötti reaktivitáskülönbség okára, ezért kvantumkémiai számításokkal (B3LYP/6-31G(d,p)//PCM(THF) elméleti szinten) vizsgáltuk dietil-foszfít és benzaldehid, illetve acetofenon Pudovik-reakciójának mechanizmusát katalizátor nélkül (6. ábra, A útvonat), illetve trietilamin katalizátorral (6. ábra, B útvonat).²² A számításokból kiderült, hogy a foszfít tri-



6. Ábra. Benzaldehyd, illetve acetofenon és dietil-foszfit Pudovik-reakciójának mechanizmusa katalizátor nélkül (A), illetve trietilamin katalizátorral (B).

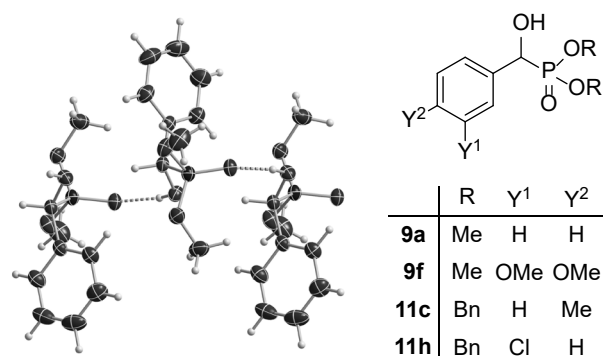
valens tautomer formában vesz részt a reakcióban. A trietilamin nem elég erős bázis ahhoz, hogy deprotonálja a foszfitot, azonban kölcsönhatásba lép a foszfit protonjával, így gyengíti a PO–H kötést, ezáltal csökkenti az átmeneti állapot entalpiáját, vagyis katalizálja a reakciót. Ezt a számított ΔH^\ddagger értékek is alátámasztották: benzaldehydből kiindulva, katalizátor nélkül az aktiválási entalpiáját 85,9 kJ/mol, míg trietilamin katalizátor jelenlétében ugyanez az érték 68,8 kJ/mol (6. ábra).

A számítások alátámasztották azt a megfigyelésünket is, hogy acetofenonból kiindulva a Pudovik-reakció megvalósítása nagyobb kihívást jelent, mint amennyiben benzaldehyd a kiindulási oxovegyület. Trietilamin jelenlétében a benzaldehyd reakciójának aktiválási entalpiájátja 68,8 kJ/mol, míg acetofenonra ez az érték 82,2 kJ/mol. Ami a termodinamikát illeti, szintén a benzaldehydből származtatható α -hidroxifoszfonát (10a) keletkezése a kedvezőbb (benzaldehyd esetében $\Delta H^\circ = -45,7 \text{ kJ/mol}$, míg 13a keletkezésére $\Delta H^\circ = -23,0 \text{ kJ/mol}$).

2.4. α -Hidroxifoszfonátok szerkezetvizsgálata röntgenkristallográfiával

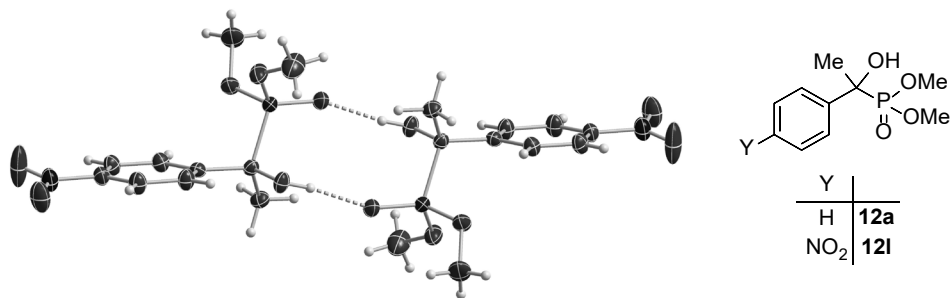
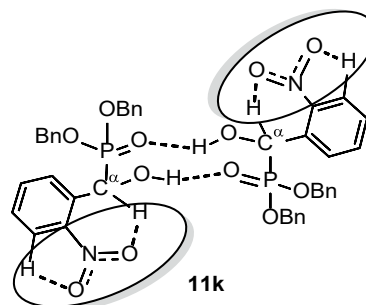
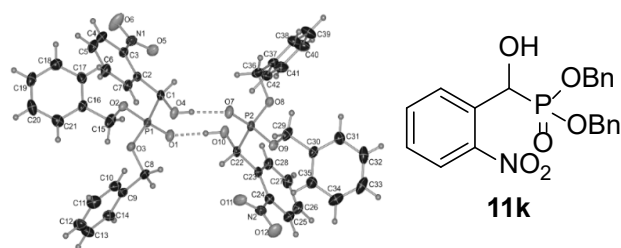
Hét α -hidroxifoszfonátból (9a, 9f, 11c, 11h, 11k, 12a és 12l) sikerült egykristályokat előállítanunk, így lehetőségünk nyílt a kristályszerkeztük tanulmányozására röntgenkristallográfiával.²¹ Megállapítottuk, hogy a kristályszerkeztükben

α -hidroxifoszfonát molekulák kétféle rendező elvet követtek. Az α -helyzetben hidrogént tartalmazó származékok (9a, 9f, 11c és 11h) kristályszerkeztükben a molekulák láncszerű asszociátumokat képeztek (7. ábra), míg az α -metil- α -hidroxifoszfonátok esetében (12a és 12l) a monomerek dimekké álltak össze (8. ábra).



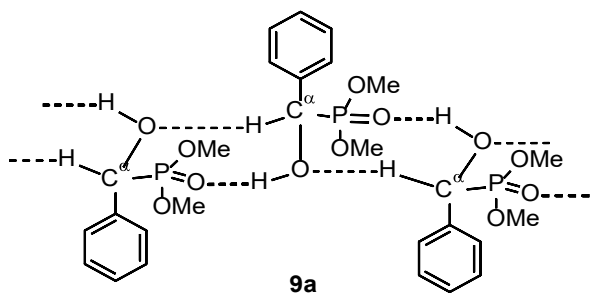
7. Ábra. Lánc-asszociátumokat képző α -hidroxifoszfonátok.

Az általunk előállított származékok között a fenti szabály alól csupán egyetlen kivétel volt. A dibenzil-1-hidroxil-1-(2-nitrofenil)metilfoszfonát (11k) molekulák a kristályszerkeztükben – előzetes várakozásainkkal ellentétben – lánc-asszociátumok helyett dimekket alkottak (9. ábra).

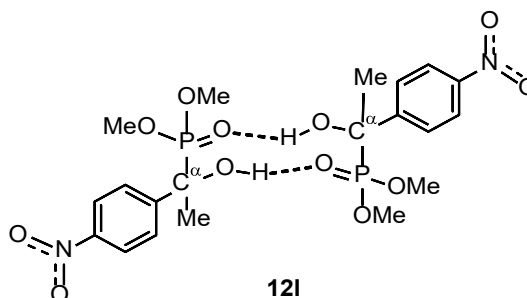
8. ábra. Dimereket képző α -hidroxifoszfónátok.9. Ábra. A kivételt képező **11k** molekula kristályrácsában található dimerek.

A jelenségre szerettünk volna magyarázatot találni, így vizsgáltuk a lánc-asszociátumok, illetve dimerek kialakulásáért felelős fő kölcsönhatásokat. Megállapítottuk, hogy mindkét esetben a kristályrácsban a legerősebb kölcsönhatás a $P=O \cdots H-O$ hidrogén-híd. Az α -helyzetben hidrogént tartalmazó hidroxifoszfónátok (**9a**, **9f**, **11c** és **11h**) esetében a kristályrácsban egy másodlagos összetartó erő is jelen volt, ami a szomszédos molekulák α -H atomja és OH-csoportjának O-atomja között jött létre (10. ábra). Amennyiben mindkét kölcsönhatás kialakult a kristályrácsban, a lánc-asszociátumok keletkezése volt kedvezményezett. Az α -metil- α -hidroxifoszfónátok (**12a** és **12l**) esetében az α -H atom hiánya következtében a $C^\alpha-H \cdots O-C^\alpha$ másodlagos kölcsönhatás nem tudott létrejönni, így ezek a származékok (**12a** és **12l**) dimereket képeztek.

A kivételt jelentő dibenzil-1-hidroxi-1-(2-nitrofenil)metilfoszfónát (**11k**) esetében az α -H atom az *ortho*-helyzetű nitro-csoporttal alakított ki kölcsönhatást, így a $C^\alpha-H \cdots O-C^\alpha$ másodlagos rácsösszetartó erő nem tudott kialakulni. Ez a származék tehát úgy viselkedett, mint **12a** és **12l** α -metil- α -hidroxifoszfónátok, ahol az α -H hiányzik, vagyis ebben az esetben is dimerek képződtek (11. ábra).



9a



12l

10. Ábra. Fő kristályrács összetartó erők a lánc-asszociátumok és dimerek esetében.

11. Ábra. A kivételt képező **11k** molekula kristályrácsában található dimerek.

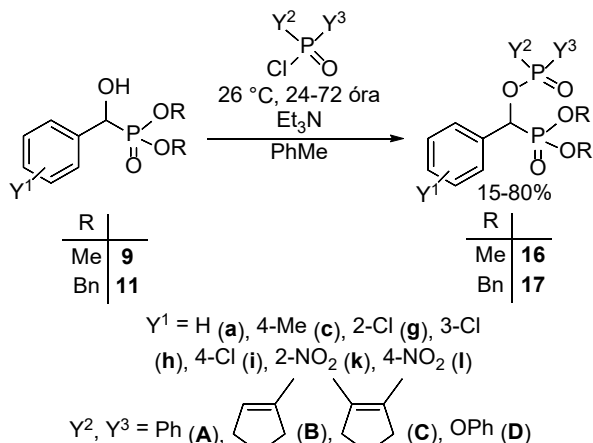
2.5. α -Hidroxifoszfónátok továbbalakítása

Ahogy a Bevezetésben is bemutattam, az α -hidroxifoszfónátok rendkívül sokoldalú vegyületek. Továbbalakításukkal számos vegyületcsalád állítható elő, melyek potenciális biológiai aktivitással rendelkeznek.

Az α -aciloxifoszfónátok a szakirodalomban növényvédőszerként ismertek.^{23,24} Ezen vegyületek foszfor analogjaira azonban csak néhány példa található, így kutatómunkám során α -hidroxifoszfónátok foszforsav-, illetve foszfinsav-kloridokkal való acilezését kezdtük vizsgálni.²⁵

Foszforilezőszerként ciklikus foszfinsav-kloridokat (1-klór-3-foszfólen-1-oxidokat), difenilfoszfinsav-kloridot, illetve egy foszforsav-származékot (difenilfoszforil-kloridot) választottunk. A reakciókat szobahőmérsékleten, toluolban végeztük, trietilamin savmegkötő jelenlétében (12. ábra). Tapasztalataink szerint a ciklikus foszfinsav-kloridok voltak a legreaktívabbak, melyekkel 24 óra alatt lejáródott a reakció. Difenilfoszfinsav-kloriddal 48 órára volt szükség, míg difenilfoszforil-kloriddal 72 óra után is

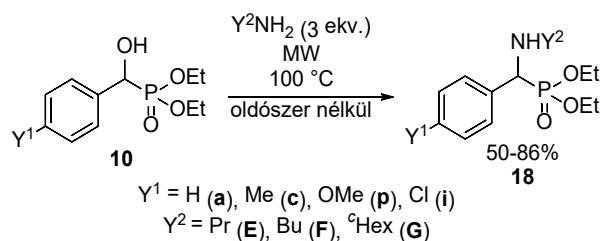
csupán szerény (~16%) termeléssel sikerült előállítani a várt termékeket (**16D**). Ennek oka a foszforsav-származék csökkent reakciókészsége, illetve a termék fokozott hidrolízisre való érzékenysége.



12. Ábra. α -Hidroxifoszfónátok reakciója foszfinsav-, illetve foszforsav-kloridokkal.

Az α -aminofoszfónátok az α -aminosavak foszfor analogjai, melyek számos biológiai hatásuknak köszönhetően váltak ismertté.^{26,27} A vegyületsalád tagjait emzim inhibitoroként, antibiotikumként, vírusellenes, valamint citotoxikus hatású szerként tartják számon. Az α -aminofoszfónátokat a szakirodalomban általában oxovegyület, amin és *P*-reagens háromkomponensű reakciójában (Kabachnik–Fields-reakció) állítják elő.^{28–30}

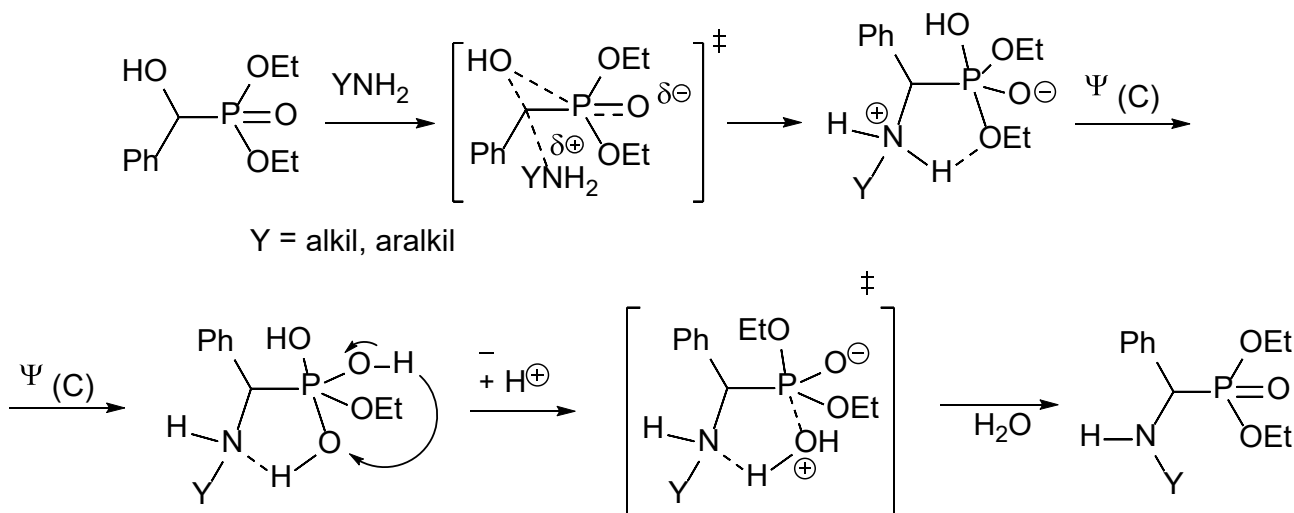
Kutatócsoportunkban egy új módszert dolgoztak ki α -aminofoszfónátok (**18**) előállítására, mely szerint dietil-1-hidroxi-1-fenilmetilfoszfónát (**10a**) és primer aminok reakcióját MW körülmények között, katalizátor és oldószer hozzáadása nélkül valósították meg.³⁰ A reakciót kiterjesztettük különféle *para*-helyzetben szubsztituált α -aminofoszfónátok (**18c**, **18p**, **18i**) előállítására is (13. ábra).²⁰



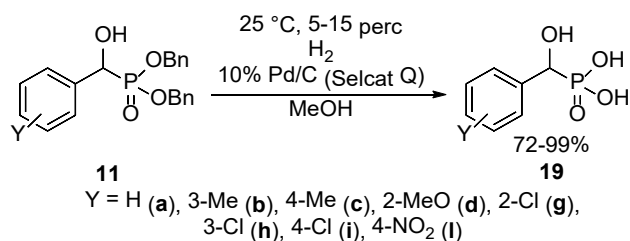
13. Ábra. α -Hidroxifoszfónátok (**10**) reakciója primer aminokkal.

Meglepetésünkre azt tapasztaltuk, hogy a nukleofil szubsztitúció rendkívül rövid idő (10–30 perc) alatt lejártszódik, így kvantumkémiai számításokkal vizsgáltuk a reakció mechanizmusát.^{22,31} A számításokból kiderült, hogy az amin nukleofil támadása S_N2 mechanizmust követ. A sebességmeghatározó lépés a hidroxi-csoport kilépése az α -szénatomról. Ezt a lépést egy kedvező szomszédcsoport hatás segíti, melynek hajtóereje a P–O kötés létesülése (14. ábra). Ez a jelenség magyarázatot jelenthet a gyors reakcióra.

Az α -hidroxifoszfonsavakat a szakirodalomban általában a megfelelő metil- vagy etil-észter hidrolízisével állítják elő, melyet sokszor nagy savfeleslegben, a reakcióelegy forralásával végeznek, a reakció pedig hosszú órákat vesz igénybe.^{32,33} Az α -hidroxifoszfonsavak (**19**) előállítására kutatócsoportunkban egy új módszert dolgoztunk ki.³⁴ Dibenzil-1-hidroxi-1-arylmetilfoszfónátokat (**11**) Pd/C katalizátor jelenlétében katalitikus hidrogénezéssel alakítottuk hidroxifoszfonsavakká (**19**) (15. ábra). A módszer előnye, hogy a debenzilezés a hidrolízisekkel szemben szobahőmérsékleten, rövid idő alatt lejártszódott, így ez egy jó alternatíva az erélyes körülmények között végzett hidrolízisekre. Egyetlen hátrányként a csökkent atomhatékonyság említhető.



14. Ábra. Kedvező szomszédcsoport hatás α -hidroxifoszfónátok és primer aminok reakciója során.

15. Ábra. Dibenzil- α -hidroxifoszfónátok (11) katalitikus hidrogénezése.

2.6. α -Hidroxifoszfónátok és származékaik citotoxicitás vizsgálata

Mivel az α -hidroxifoszfónátok és származékaik jelentősége elsősorban biológiai aktivitásukban rejlik, célul tűztük ki az általunk előállított vegyületkönyvtár biológiai hatásának feltérképezését. Az α -hidroxifoszfónátok citotoxicitását korábban keveset vizsgálták,^{7,8} így vegyületeinket Mes-Sa mCherry és Mes-Sa/Dx5 mCherry humán rákos sejtvonalakon teszteltük, mint potenciális tumorelleni hatóanyagok. Először egy előszűrést végeztünk, melynek során több, mint hatvan α -hidroxifoszfónátot (9–11), α -foszforiloxifoszfónátot (16 és 17), α -aminofoszfónátot (18), valamint α -hidroxifoszfonsavat (19) teszteltünk 20 μ M, illetve 200 μ M koncentrációban. Toxikusnak azokat a vegyületeket nyilvánítottuk, melyek az adott koncentrációban a sejtek minimum 50%-át elpusztították.

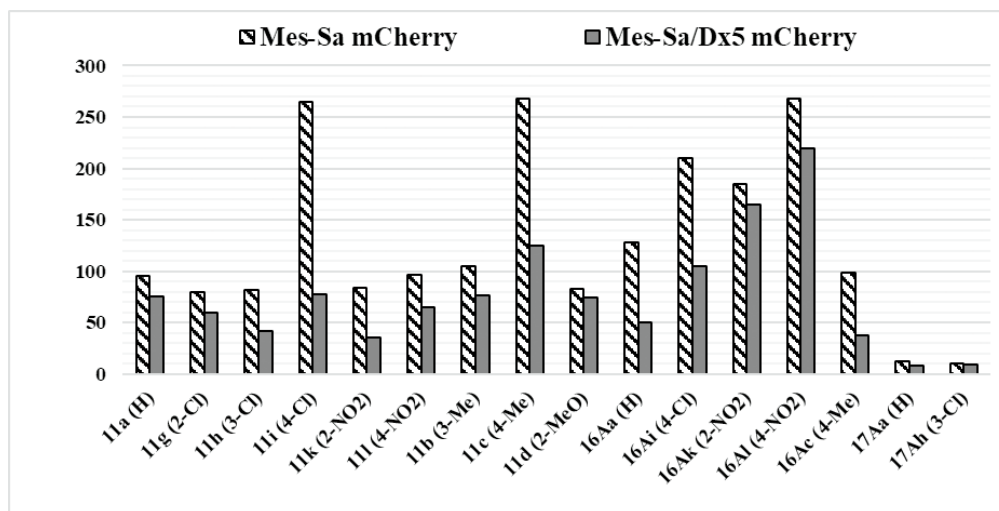
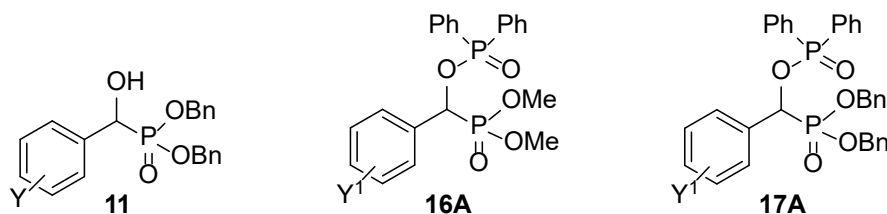
A mérések szerint 20 μ M koncentrációban egyik vegyület sem bizonyult toxikusnak a vizsgált sejtvonalakkal szemben, azonban 200 μ M koncentrációban a dibenzil-1-hidroxil-1-arilmetilfoszfónátok (11)³⁴ és a difenilfoszfinoil egységet tartalmazó α -foszfinoiloxifoszfónátok (16A) hatá-

sosnak bizonyultak, így ezeknek a származékoknak meghatároztuk az IC₅₀ értékét. Azok a vegyületek, melyek a dibenzil-foszfónát és az α -difenilfoszfinoiloxi egységet is tartalmazták (17A) fokozott aktivitást (IC₅₀ ~ 10 μ M) mutattak (16. ábra).

Az α -hidroxifoszfónátok és származékaik citotoxicitás vizsgálata során elért eddigi eredményeink biztatóak, ezért vegyületkönyvtárunkat további humán rákos sejtvonalakon is vizsgáljuk.

3. Összefoglalás

Doktori kutatómunkám α -hidroxifoszfónátok előállítását, illetve továbbalakítási lehetőségeinek vizsgálatát célozta. Először egy új módszer dolgoztunk ki α -hidroxifoszfónátok előállítására, melynek fő újdonsága, hogy a kémiai reakciót a reakcióelegyből történő kristályosítás követte, így az α -hidroxifoszfónátokat nagy tisztasággal kaptuk. Az utólagos tisztítás elkerülhetővé vált, a szerves oldószer-felhasználást pedig csökkenteni tudtuk az irodalmi módszerekhez képest. **Kísérleteink** során azt tapasztaltuk, hogy a ketonok a benzaldehidekhez képest csökkent reakciókészségűek a Pudovik-reakcióban. Ezt a jelenséget kvantumkémiai számításaink is alátámasztottuk. Az általunk előállított α -hidroxifoszfónátok kristályszerkezetét röntgen-kristallográfiával vizsgáltuk. Magyarázatot adtunk arra, hogy az **α -metil- α -hidroxifoszfónátok dimereket képeznek, míg a benzaldehidből származtatható α -hidroxifoszfónátok kristályrácsában lánc-asszociátumok találhatóak. Az α -hidroxifoszfónátokat különféle reakciókban hasznosítottuk, így új reakcióutakat dolgoztunk ki.** α -Hidroxi-

16. Ábra. α -Hidroxifoszfónátok és a belőlük képzett citotoxikus származékok IC₅₀ értéke Mes-Sa mCherry és Mes-Sa/Dx5 mCherry rákos sejtvonalakon (zárójelben az aromás gyűrű szubsztituensét jelöltem).

foszfonátok és foszfortartalmú savkloridok reakciójával új, korábban nem ismert vegyületcsaládokat tettünk hozzáférhetővé. A hidroxil-csoport nukleofil szubsztitúciója primer aminokkal α -aminofoszfonátokat eredményezett. A dibenzil-1-hidroxil-1-arilmetilfoszfonátok katalitikus hidrogénezésével pedig α -hidroxifoszfonosavakhoz jutottunk. **Végül az általunk előállított vegyületkönyvtár citotoxikus hatását vizsgáltuk**, melynek során találtunk biológiai aktivitást mutató, ígéretes hatóanyagokat.

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom Dr. Keglevich György témavezetőmnek és Dr. Kiss Nóra Zsuzsa konzulensemnek munkám során nyújtott segítségükért. Köszönöm Dr. Mucsi Zoltánnak a kvantumkémiai számításokban nyújtott segítségét. Dr. Hegedűs Lászlónak a katalitikus hidrogénezések során nyújtott segítségéért tartozom hálával. A citotoxicitás vizsgálatokat az MTA-TTK Enzinnológia Intézet munkatársai, Tóth Szilárd, Windt Tímea, Nagy Veronika és Füredi András végezték. A kutatás a Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alap (K119202) támogatásával valósult meg. Az Emberi Erőforrások Minisztériuma ÚNKP-18-3-IV-BME-265 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának támogatásával készült.

Hivatkozások

- Lorenz, W.; Henglein, A.; Schrader, G. *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 2554–2556.
<https://doi.org/10.1021/ja01614a061>
- Song, H.; Mao, H.; Shi, D. *Chin. J. Chem.* **2010**, *28*, 2020–2024.
<https://doi.org/10.1002/cjoc.201090337>
- Pokalwar, R. U.; Hangarge, R. V.; Maske, P. V.; Shingare, M. S. *Arkivoc* **2006**, *11*, 196–204.
<https://doi.org/10.3998/ark.5550190.0007.b20>
- Kategaonkar, A. H.; Pokalwar, R. U.; Sonar, S. S.; Gawali, V. U.; Shingate, B. B.; Shingare, M. S. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 1128–1132.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2009.12.013>
- Rao, K. U. M.; Sundar, C. S.; Prasad, S. S.; Rani, C. R.; Reddy, C. S. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2011**, *32*, 3343–3347.
<https://doi.org/10.5012/bkcs.2011.32.9.3343>
- Naidu, K. R. M.; Kumar, K. S.; Arulselvan, P.; Reddy, C. B.; Lasekan, O. *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* **2012**, *345*, 957–963.
<https://doi.org/10.1002/ardp.201200192>
- Kalla, R. M. N.; Lee, H. R.; Cao, J.; Yoo, J. W.; Kim, I. *New J. Chem.* **2015**, *39*, 3916–3922.
<https://doi.org/10.1039/C5NJ00312A>
- Lewkowski, J.; Moya, M. R.; Wrona-Piotrowicz, A.; Zakrzewski, J.; Kontek, R.; Gajek, G. *Beilstein J. Org. Chem.* **2016**, *12*, 1229–1235.
<https://doi.org/10.3762/bjoc.12.117>
- Nandre, K. P.; Nandre, J. P.; Patil, V. S.; Bhosale, S. V. *Chem. Biol. Interface* **2012**, *2*, 314–321. Nincs DOI
- Kumar, K. S.; Reddy, C. B.; Reddy, M. V. N.; Rani, C. R.; Reddy, C. S. *Org. Commun.* **2012**, *5*, 50–57. Nincs DOI
- Aouani, I.; Lahbib, K.; Touil, S. *Medicinal Chem.* **2015**, *11*, 206–213.
<https://doi.org/10.2174/1573406410666140706154046>
- Ramanarivo, H. R.; Solhy, A.; Sebt, J.; Smahi, A.; Zahouily, M.; Clark, J.; Sebt, S. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2013**, *1*, 403–409.
<https://doi.org/10.1021/sc3001417>
- Sobhani, S.; Tashrif, Z. *Tetrahedron* **2010**, *66*, 1429–1439.
<https://doi.org/10.1016/j.tet.2009.11.081>
- Rádai, Z.; Keglevich, G. *Molecules* **2018**, *23*, 1493–1522.
<https://doi.org/10.3390/molecules23061493>
- Keglevich, G.; Tóth, V. R.; Drahos, L. *Heteroatom Chem.* **2011**, *22*, 15–17.
<https://doi.org/10.1002/hc.20649>
- Kiss, N. Z.; Ludányi, K.; Drahos, L.; Keglevich, G. *Synthetic Commun.* **2009**, *39*, 2392–2404.
<https://doi.org/10.1080/00397910802654880>
- Keglevich, G.; Grün, A.; Bálint, E. *Curr. Org. Synth.* **2013**, *10*, 751–763.
<https://doi.org/10.2174/1570179411310050006>
- Bálint, E.; Tajti, A.; Tripolszky, A.; Keglevich, G. *Russ. J. Gen. Chem.* **2009**, *79*, 1480–1485.
<https://doi.org/10.3390/ecsoc-21-04716>
- Keglevich, G.; Grün, A.; Bölskei, A.; Drahos, L.; Kraszni, M.; Balogh, G. T. *Heteroatom Chem.* **2012**, *23*, 574–582.
<https://doi.org/10.1002/hc.21053>
- Keglevich, G.; Rádai, Z.; Kiss, N. Z. *Green Process. Synth.* **2017**, *6*, 197–201.
<https://doi.org/10.1107/S2053229619001839>
- Rádai, Z.; Kiss, N. Z.; Czugler, M.; Karaghiosoff, K.; Keglevich, G. *Acta Crystallogr. C* **2019**, *C75*, 283–293.
<https://doi.org/10.1107/S2053229619001839>
- Kiss, N. Z.; Rádai, Z.; Mucsi, Z.; Keglevich, G. *Heteroatom Chem.* **2016**, *27*, 260–268.
<https://doi.org/10.1002/hc.21324>
- Chen, X. B.; Shi, D. Q., *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.* **2008**, *183*, 1134–1144.
<https://doi.org/10.1080/10426500701578522>
- Soung, M. G.; Kim, J. H.; Kwon, B. M.; Sung, N. D., *Bull. Korean Chem. Soc.* **2010**, *31*, 1355–1360.
<https://doi.org/10.5012/bkcs.2010.31.5.1361>
- Rádai, Z.; Hodula, V.; Kiss, N. Z.; Kóti, J.; Keglevich, G. *Mendeleev Commun.* **2019**, *29*, 153–154.
<https://doi.org/10.1016/j.mencom.2019.03.011>
- Demkowicz, S.; Rachon, J.; Daško, M.; Kozak, W., *RSC Adv.* **2016**, *6*, 7101–7112.
<https://doi.org/10.1039/C5RA25446A>
- Kafarski, P.; Lejczak, B., *Curr. Med. Chem. - Anti-Cancer Agents.* **2001**, *1*, 301–312.
<https://doi.org/10.2174/1568011013354543>
- Keglevich, G.; Bálint, E.; Keglevich, G.; Bálint, E., *Molecules.* **2012**, *17*, 12821–12835.
<https://doi.org/10.3390/molecules171112821>
- Zefirov, N. S.; Matveeva, E. D., *Arkivoc.* **2008**, *2008*, 1–17.
<https://doi.org/10.3998/ark.5550190.0009.101>
- Kafarski, P.; Górný Vel Górníak, M.; Andrásiak, I., *Curr. Green Chem.* **2015**, *2*, 218–222.
<https://doi.org/10.2174/2213346102666150109203606>
- Kiss, N. Z.; Kaszás, A.; Drahos, L.; Mucsi, Z.; Keglevich, G. *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 207–209.
<https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2011.11.026>
- Forlani, G.; Occhipinti, A.; Berlicki, Ł.; Dziedziola, G.; Wiczorek, A.; Kafarski, P., *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 3193–3199.
<https://doi.org/10.1021/jf800029t>
- Nesterov, V. V.; Kolodiazny, O. I., *Tetrahedron.* **2007**, *63*, 6720–6731.
<https://doi.org/10.1016/j.tet.2007.04.101>
- Rádai, Z.; Szeles, P.; Kiss, N. Z.; Hegedűs, L.; Windt, T.; Nagy, V.; Keglevich, G. *Heteroatom Chem.* **2018**, e21436.
<https://doi.org/10.1002/hc.21436>

Synthetic and biological importance of α -hydroxyphosphonates

α -Hydroxyphosphonates have attracted attention due to their biological activity as enzyme inhibitors,¹ herbicides,² antiviral agents,^{3,4} as well as fungicides⁴ and antioxidants.^{5,6} So far, only a few studies reported the investigation of α -hydroxyphosphonates as potential cytotoxic agents (Scheme 1).^{7,8}

α -Hydroxyphosphonates are also important starting materials. By the transformation of the α -hydroxy function, *O*-alkoxyphosphonates and *O*-acyloxyphosphonates may be synthesized. The hydroxy function can also take part nucleophilic substitutions, reductions or oxidations. The hydrolysis of the ester functions results in α -hydroxyphosphonic acids (Scheme 2).^{13,14}

The most commonly applied synthetic route towards α -hydroxyphosphonates is the Pudovik reaction that involves the addition of a dialkyl phosphite to an oxo compound (aldehyde or ketone), usually in the presence of a base catalyst. The authors of the articles often emphasize the “greenness” of their methods. However, the huge solvent consumption during the work-up and purification process is disregarded that makes these procedures less environmentally friendly.^{9–12}

MW technique has been successfully used to enhance a number of different reactions in our research group.^{16–19} The Pudovik reaction has also been carried out under MW conditions.¹⁵ However, we realized that this reaction does not require harsh conditions and MW irradiation.

On the basis of these recognitions, we aimed at rationalizing the Pudovik reaction from a green chemical point of view. According to our new method, an equimolar mixture of a substituted benzaldehyde and a dialkyl phosphite was stirred in a minimal amount of acetone in the presence of triethylamine as the catalyst. After adding some pentane to the reaction mixture, the desired product (**9–11**) crystallized out on cooling. α -Hydroxyphosphonates (**9–11**) were obtained after a simple filtration in high purity (>99%) and high yields (68–99%) (Scheme 3).²⁰ The main novelty of this new method is the unnecessary of further purification steps; thus, we managed to reduce the use of organic solvents to the minimum.

It was found that benzaldehydes possessing electron withdrawing substituents facilitated the reaction. Among the phosphorus reagents, dimethyl phosphite was the most reactive, followed by dibenzyl and then diethyl phosphite (Scheme 4).

The reaction was also attempted starting from ketones. However, that reaction required the use of one equivalent of triethylamine. The catalyst in such a huge amount activated the acetone solvent in the reaction leading to the formation of dimethyl 1-hydroxy-1-methylethylphosphonate. As a solution, the Pudovik reaction of ketones was carried out under solvent-free conditions and the product (**12** or **13**) was purified with hexane (Scheme 5).²¹

The mechanism of the Pudovik reaction was investigated by DFT calculations.²² It was found that triethylamine is not a base strong enough to deprotonate the phosphite, but it is able to facilitate the reaction by weakening the PO–H bond in the trivalent tautomer form of the dialkyl phosphite. The calculations also indicated that starting from benzaldehyde, the reaction is more favorable than starting from acetophenone from kinetic as well as thermodynamic point of view (Scheme 6).

The crystal structure of seven α -hydroxyphosphonates (**9a**, **9f**, **11c**, **11h**, **11k**, **12a** and **12l**) was investigated by X-ray diffraction measurements.²¹ We observed that the molecules of α -*H*- α -hydroxyphosphonates (**9a**, **9f**, **11c** and **11h**) formed chain-like associates (Scheme 7), while in the crystal structure of α -methyl- α -hydroxyphosphonates (**12a** and **12l**) dimers could be found (Scheme 8). Only dibenzyl 1-hydroxy-1-(2-nitrophenyl)methylphosphonate (**11k**) did

not fit in the above rule, as instead of chain-like associates, dimers constructed the crystal structure (Scheme 9). To understand this phenomenon, we investigated the main associations constructing the crystal lattice. In all cases, P=O \cdots H–O *H*-bond between the neighboring molecules was found as the main interaction. In the crystal structure of α -*H* containing derivatives (**9a**, **9f**, **11c** and **11h**), a secondary C α –H \cdots O–C α *H*-bond also occurred (Scheme 10). The presence of both types of interactions resulted in the formation of chain-like associates. In case of hydroxyphosphonates lacking the α -*H* (**9a**, **9f**, **11c** and **11h**) the secondary interaction could not occur, thus only dimers could be formed. In the molecules of the exception dibenzyl 1-hydroxy-1-(2-nitrophenyl)-methylphosphonate (**11k**) the *ortho*-nitro function shielded the α -*H*. As a consequence, it could not take part in the C α –H \cdots O–C α bond, accordingly the monomers formed dimers (Scheme 11).

α -Hydroxyphosphonates are versatile compounds. Besides their biological properties, they can be transformed to a series of different derivatives that may also possess biological activity.

α -Acyloxyphosphonates are known as herbicides in the literature.^{23,24} However, the synthesis of α -phosphoryloxyphosphonates is a new field. We performed the phosphinylation and phosphorylation of α -hydroxyphosphonates to obtain new α -phosphinyloxyphosphonates (**16A**, **16B** and **16C**) and α -phosphoryloxyphosphonates (**16D**) (Scheme 12).²⁵

α -Aminophosphonates are of importance due to their biological activity.^{26,27} These compounds are usually synthesized through the Kabachnik–Fields reaction, the three-component condensation of an oxo compound, an amine and a phosphorus reagent.^{28–30} The reaction of α -hydroxyphosphonates with primary amines is an alternative way of synthesis. In our research group, a new method has been elaborated for the synthesis of α -aminophosphonates (**18**) from α -hydroxyphosphonates (**10**) under MW irradiation without the use of any catalyst or solvent (Scheme 13).^{22,31} To our surprise, the reaction took place within a short (10–30 min) reaction time, thus the mechanism was investigated by DFT calculations. It was found that the nucleophilic attack of the primary amine to the hydroxyphosphonate (**10**) follows a S_N2 mechanism. The reaction is facilitated by a favorable neighboring group effect (Scheme 14).^{22,31}

α -Hydroxyphosphonic acids are usually synthesized through the hydrolysis of the corresponding methyl or ethyl ester in acidic conditions under reflux.^{32,33} As an alternative route, we performed the catalytic hydrogenation of dibenzyl 1-hydroxy-1-arylmethylphosphonates (**11**), which afforded α -hydroxyphosphonic acids (**19**) in 5–150 min at ambient temperature (Scheme 15).³⁴

The cytotoxic activity of α -hydroxyphosphonates has only been investigated in a few articles so far.^{7,8} This motivated us to screen our chemical library against two human cancer cell lines, Mes-Sa mCherry and Mes-Sa/Dx5. During the primary screen we selected the potent derivatives from more than sixty molecules including α -hydroxyphosphonates (**9–11**), α -phosphinyloxyphosphonates (**16A**, **16B** and **16C**), α -phosphoryloxyphosphonates (**16D**), α -aminophosphonates (**18**) and α -hydroxyphosphonic acids (**19**). First, the compounds were tested in concentrations of 20 μ M and 200 μ M. Toxicity was defined as at least 50% growth inhibition compared to the untreated cells. During the primary screen, dibenzyl 1-hydroxy-1-arylmethylphosphonates (**11**) and α -phosphinyloxyphosphonates containing the diphenylphosphinoyl moiety (**16A**) proved to be the most potent cytotoxic agents. For these types of compounds, IC₅₀ values were determined. Derivatives containing both the dibenzyl phosphonate and the diphenylphosphinoyl moiety (**17A**) expressed increased toxicity (IC₅₀ ~ 10 μ M) against the investigated cell lines (Scheme 16).