

Új foszfonát-származékok szintézise

SZALAI Zsuzsanna^{a,*}

^aBudapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem Szerves Kémia és Technológia Tanszék,
Műegyetem rkp. 3., 1111 Budapest, Magyarország

1. Bevezetés

Széleskörű biológiai aktivitásuk miatt a különböző foszfonát-típusú vegyületek kutatása „örökzöldnek” mondható. A vegyületek farmakológiai hatása elsősorban a molekulában található P-C egységnek tudható be.¹

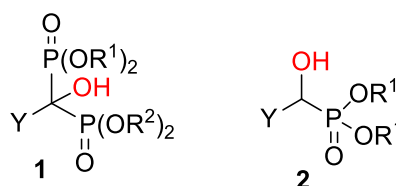
Az α -szubsztituált hidroxi-metilénbiszfoszfonát (1) származékokat gyakran alkalmazzák csonttritkulás és más betegségek kezelésében, például daganatok gyógyításában.²⁻⁵ Ismeretes, hogy a két foszfor funkció képes komplexet képezni a kalcium ionokkal, így azok a csontokban mobilizálhatók. A kalcium fontos szerepet játszik, ugyanis biztosítja a csontszövet szilárdságát, amely életünk során folyamatosan megújul. Az úgy nevezett remodeling során a csontbontó oszteoklasztok csontreszorpciót indítanak, a csontépítő oszteoblasztok pedig az új mátrix felépítéséért felelnek. Ennek a két folyamatnak egyensúlyban kell maradnia; ha felborul, akkor betegség alakulhat ki. Például a fokozott csontfelszívódás csonttritkuláshoz vezet.⁶

A hidroxi-biszfoszfonát (1) vegyületcsalád néhány tagját gyógyszerként is forgalomba hozták, amelyek csupán oldalláncukban térnek el egymástól, ami a biológiai hatásukért is felelős. Az újabb generációs vegyületek csontfelszívódást gátló hatása nagyságrendekkel nagyobb, mint a régebbieké, ezért terápiás dózisuk meglehetősen alacsony. Oldalláncuktól függően a hidroxi-biszfoszfonátok három csoportba sorolhatók: első, második és harmadik generációs vegyületek. Az első csoportba tartozó biszfoszfonátok, mint például az etidronát, a klodronát és a tiludronsav, nem tartalmaznak nitrogénatomot az oldalláncukban. A második generációs biszfoszfonátok, amelyek N-tartalmú alifás szubsztituenset tartalmaznak, az 1980-as években kerültek forgalomba. Tipikus példák a pamidronát, az alendronát és az ibandronát. A harmadik generációs vegyületek, például a zoledronsav és a risedronát oldalláncukban N-heterociklusos egységet tartalmaznak.⁵

Az α -hidroxifoszfonátok (2) kutatása szintén kulcsfontosságú feladat, hiszen enzim-inhibitor^{7,8} tulajdonságuk révén különböző biológiai hatással rendelkezhetnek.⁹⁻¹³

A hidroxi- és biszfoszfonátok általános képlete az 1. ábrán látható.

Doktori munkám során kulcsfontosságú feladat olyan új hidroxi- és biszfoszfonát származékok lehetőség szerint hatékony előállítására, melyek potenciálisan biológiai aktivitással rendelkezhetnek.



Y = H, alkil, aril, heteroaril, alkoxi, ariloxi, halogén, stb.
R¹, R² = H, alkil, aril

1. Ábra. α -Szubsztituált hidroxi-metilénbiszfoszfonátok (1) és α -hidroxifoszfonátok (2) általános képlete

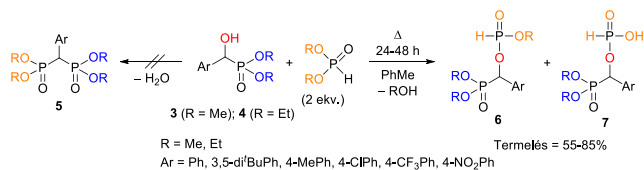
2. Saját eredmények

2.1. α -Hidroxi-benzilfoszfonátok és dialkil-foszfitok váratlan reakciója

Csoportunkban nagy hagyománya van az α -hidroxi-benzilfoszfonátok (3 és 4) szintézisének, illetve különböző reakcióinak vizsgálatának. Ezt a vonalat is kiegészítve, új megközelítésként szerettük volna a hidroxifoszfonátokat (3 és 4) dialkil-foszfitokkal reagáltatva biszfoszfonsav-észtereket (5) előállítani.

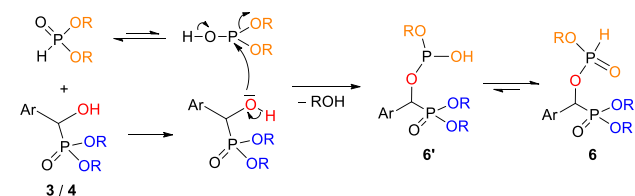
Dietil-, illetve dimetil α -hidroxi-benzilfoszfonátot (3 és 4) két ekvivalens dietil- és dimetil-foszfittal 24 órán keresztül toluolban refluxáltattunk a biszfoszfonát (5) előállítására céljából. Azonban azt tapasztaltuk, hogy nem a kívánt vegyület (5), hanem annak átrendeződött és részben hasadt származéka keletkezett (6 és 7) (2. ábra). A kondenzációs reakciót további elektronszívó és elektronszolgáltató csoportokkal változtatva szubsztituált esetekre is kiterjesztettük. Megállapítottuk, hogy a fenilgyűrűn para helyzetben lévő elektronszolgáltató metilcsoport csökkenti, az elektronszívó 4-Cl, 4-CF₃ és 4-NO₂ szubsztituensek valamelyest növelik az α -hidroxifoszfonátok reaktivitását, így kis mértékben csökkenthető a reakcióidő a szubsztituátlan esethez képest. A 4-Me szubsztituens esetében 48 óra forralásra volt szükség a teljes konverzió eléréséhez.¹⁴

* Szalai Zsuzsanna. Tel.: +36 1 463 5890; e-mail: szalai.zsuzsanna@edu.bme.hu



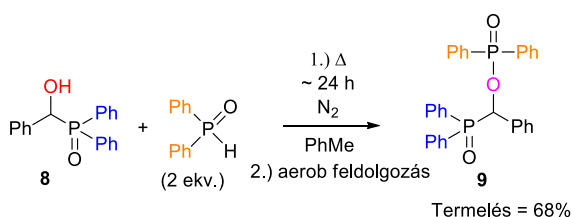
2. Ábra. α -Hidroxi-benzilfoszfonátok (**3** és **4**) dialkil-foszfitokkal való reakciója

Az új reakció mechanizmusára is javaslatot tettünk. Megközelítésünk szerint az α -hidroxifoszfonát (**3** és **4**) oxigénatomja megtámadja a P-reagens ($>\text{P}(\text{O})\text{H}$) háromértékű tautomer formájának ($>\text{POH}$) foszforatomját. Ezt egy alkoholmolekula távozása kíséri, amikor is az α -foszforiloxi-benzilfoszfonát (**6**) tautomer formája (**6'**) képződik (3. ábra). A dealkilezett származék (**7**) a reakció körülményei között (110 °C) hidrolízissel keletkezhet a reakcióelegyen elkerülhetetlenül jelenlévő víznyomok hatására.¹⁴



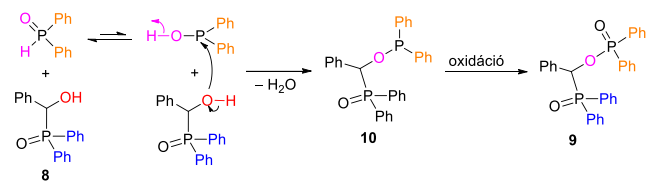
3. Ábra. α -Hidroxi-benzilfoszfonátok (**3** és **4**) dialkil-foszfitokkal történő kondenzációs reakciójának mechanizmusa

Ezután **8** α -hidroxibenzilfoszfin-oxidot difenilfoszfin-oxiddal reagáltattuk az előzőekhez hasonló körülmények között (24 h /110 °C, toluol oldószer), amikor is az α -hidroxibenzilfoszfin-oxid foszfinoilezett származékához (**9**) jutottunk. A reagens oxidációjának elkerülése érdekében azonban inert atmoszférát biztosítottunk (4. ábra).¹⁴



4. Ábra. Difenil- α -hidroxibenzilfoszfin-oxid (**8**) és difenilfoszfin-oxid reakciója

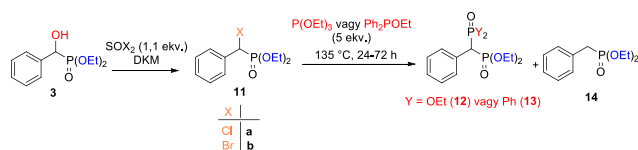
Ez esetben is javaslatot tettünk a reakció mechanizmusára vonatkozóan. Első lépésként az α -hidroxifoszfin-oxid (**8**) hidroxicsoportjának oxigénatomja támadást indít a $\text{Ph}_2\text{P}(\text{O})\text{H}$ reagens háromértékű tautomerjének foszforatomjára. Ezt vízkilépés kíséri, amely a foszfinészter-foszfin-oxid (**10**) képződéséhez vezet. A végső termék (**9**) a feldolgozás során oxidáció hatására keletkezik (5. ábra).¹⁴



5. Ábra. Difenil- α -hidroxibenzilfoszfin-oxid (**8**) és difenilfoszfin-oxid reakciójának mechanizmusa

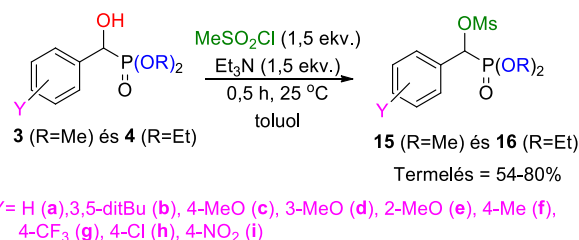
2.2. α -Hidroxi-benzilfoszfonátok módosítása, majd biszfoszfonáttá alakítása

Biszfoszfonát típusú vegyületek előállítására -további lehetőségként- jobb kilépő csoporttal rendelkező intermedierek szintézisét céloztuk meg α -hidroxibenzilfoszfonátokból (**3** és **4**) kiindulva. Először α -klór- és bróm-benzilfoszfonátokat (**11**) állítottunk elő csoportelőzmény alapján tionil-klorid és tionil-bromid felhasználásával.¹⁵ Az α -halogenofoszfonátokból (**11**) ezután dialkil-foszfitokkal megvalósított reakcióban szerettük volna előállítani a megfelelő biszfoszonsav észtereket, viszont semmilyen alkalmazott körülmény között nem tapasztaltuk a kívánt termék képződését. Trietil-foszfit, illetve etil-difenilfoszfin-nel Arbuzov-reakcióban csekély konverzióval, jelentős mennyiségű dehalogénezett melléktermék (**14**) képződése mellett azonban a megfelelő biszfoszfonát típusú (**12** vagy **13**) vegyület keletkezett (6. ábra).^{16, 17}



6. Ábra. α -Halogeno-benzilfoszfonátok Michaelis-Arbuzov-reakciója trietil-foszfittal és etil-difenilfoszfin-nel

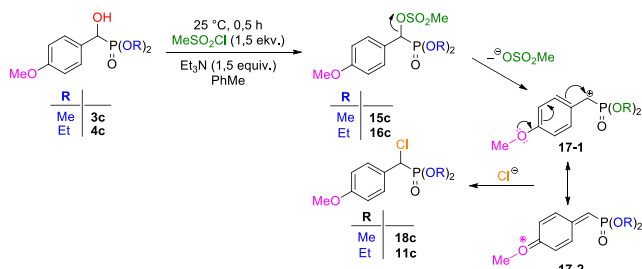
Ezután a hidroxifoszfonátokat (**3** és **4**) a megfelelő metil-származékok (**15-17**) előállítása céljából 1,5 ekvivalens metánszulfonil-kloriddal reagáltattuk, 1,5 ekvivalens trietil-amin jelenlétében 25 °C-on toluol oldószerben (7. ábra).^{16,17}



7. Ábra. α -Metánszulfoniloxi-benzilfoszfonátok (**15** és **16**) előállítása

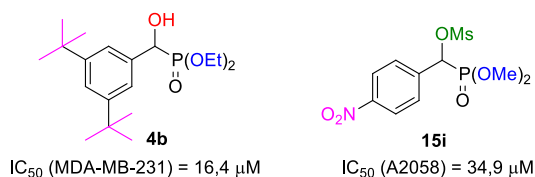
Meglepő módon a 4-metoxi- α -hidroxibenzilfoszfonátok (**3c** és **4c**) esetében a reakció a megfelelő α -klór-benzilfoszfonátokhoz (**11c** és **18c**) vezetett. Feltételeztük, hogy a meziloxi-származékok (**15c** és **16c**) olyan köztitermékek, amelyek az $\text{Et}_3\text{N} \cdot \text{HCl}$ -sóból származó klorid-anionnal reagálva $\text{S}_\text{N}1$ szubsztitúciós reakcióban klór-foszfonátokat

(11c és 18c) képeznek. A MeSO_3^- anion távozása egy kationos intermedierhez vezethet, amely két rezonáns formában (17-1 és 17-2) létezhet, amelyek közül a 17-2 kinoid szerkezetű, ami stabilizációt jelent (8. ábra). A 2-metoxi- α -hidroxibenzilfoszfonátok (3e és 4e) metánszulfonil-kloriddal történő reakciója szintén a megfelelő α -klórfoszfonátokhoz vezetett.¹⁶



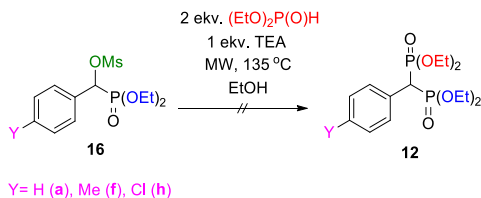
8. Ábra. 4-Metoxi- α -hidroxibenzilfoszfonátok (3c és 4c) reakciója metánszulfonil-kloriddal

Az új hidroxibenzil- (3 és 4) és meziloxibenzilfoszfonátokat (15 és 16) citotoxicitás vizsgálatoknak vetettük alá kétféle tumoros sejtvonalon (humán emlő adenokarcinóma (MDA-MB-231) és melanóma (A2058)). A vizsgált sejtkultúrákon a terc-butil-csoportot tartalmazó hidroxifoszfonát (4b), illetve a 4-nitro-szubsztituált meziloxi-származék (15i) mutatkozott a leghatékonyabbnak (9. ábra).¹⁶



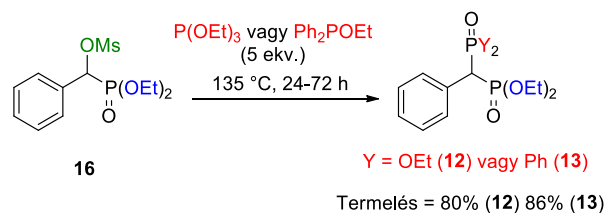
9. Ábra. A citotoxicitás vizsgálatokban legjobb hatást mutató hidroxibenzil- (4b) és meziloxibenzilfoszfonátok (15i)

Néhány előállított metánszulfoniloxi-benzilfoszfonátból (16a, 16f és 16h) először dietil-foszfittal történő kondenzációs reakcióban kíséreltük meg a metilénbiszfoszfonátok (12) előállítását, viszont a kívánt termék képződését nem tapasztaltuk (10. ábra).¹⁶



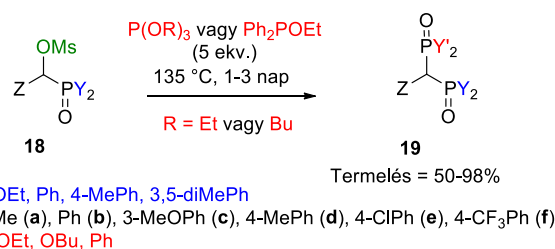
10. Ábra. α -Metánszulfoniloxi-benzilfoszfonátok (16a, 16f, és 16h) dietil-foszfittal megkísérelt reakciója

A mezilátokat ezután trietil-foszfittal és etil-difenilfoszfinittel Arbuzov-reakcióba vittük. Meglepetésre ebben az esetben a biszfoszfonát típusú vegyület (12 vagy 13) keletkezett teljes konverzióval (11. ábra).^{16,17} Legjobb tudomásunk szerint a szakirodalom nem tesz említést Michaelis-Arbuzov reakciókról, amelyekben a klór- és brómalkánok helyett meziloxi-származékot alkalmaztak volna.



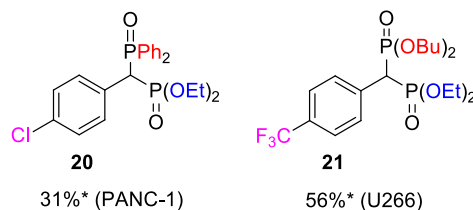
11. Ábra. α -Metánszulfoniloxi-benzilfoszfonátok (16) Michaelis-Arbuzov-reakciója trietil-foszfittal és etil-difenilfoszfinittel

A módszert kiterjesztve változatosan szubsztituált biszfoszfonátokat, biszfoszfin-oxidokat és foszfonát-foszfin-oxidokat (19) szintetizáltunk és jellemeztünk (12. ábra).^{17,18}



12. Ábra. Biszfoszfonátok, biszfoszfin-oxidok és foszfonát-foszfin-oxidok (19) előállítása Arbuzov-reakcióval

A kipreparált származékok antiproliferatív hatásvizsgálatát humán hasnyálmirigy adenokarcinóma (PANC-1) és mielóma multiplex (U266) sejtvonalakon végeztük el 100 μM koncentrációban. Előbbi esetben a Cl-atomot tartalmazó foszfonát-foszfin-oxid (20), utóbbi sejtvonalon a CF_3 -csoportot tartalmazó biszfoszfonát (21) mutatkozott a leghatékonyabbnak, a sejtek túlélőképessége ezekben az esetekben 31%, illetve 56%-ra csökkent (13. ábra).¹⁷



* Az adott sejt túlélőképessége 100 μM koncentrációban.

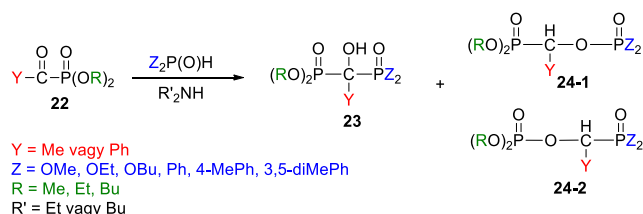
13. Ábra. Az *in vitro* antiproliferatív hatásvizsgálatokban legjobb hatást mutató származékok

2.3. 2.3. Hidroximetilénbiszfoszfonátok szintézise α -oxofoszfonátokból Pudovik-reakcióval

α -Hidroximetilénbiszfoszfonát típusú vegyületeket is szeretnénk volna előállítani α -oxofoszfonátok és különböző P-reagensok Pudovik-reakciójával.^{19,20}

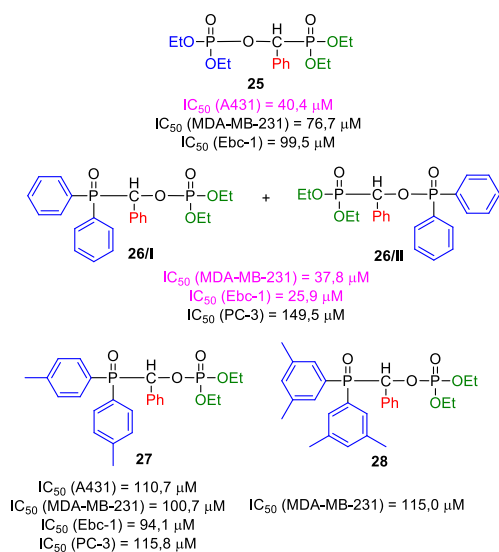
Acetil-, valamint benzoil-klorid trimetil-, trietil- és tributil-foszfittal történő Arbuzov-reakciójával α -oxofoszfonátokat (22) képeztünk, majd azokat dialkil-foszfitokkal és diarilfoszfin-oxidokkal különböző körülmények (hőmérséklet,

oldószer és katalizátor molaránya) között szekunder amin katalizátorok jelenlétében reagáltattuk, mely során adduktok (**23**) és átrendeződött származékok (**24**) keletkeztek (14. ábra). A kétféle termék (**23** addukt és **24** átrendeződött species) képződésére optimalizált körülményeket a katalizátor mennyiségének és a hőmérséklet változtatásával határoztuk meg. Megállapítottuk, hogy az átrendeződést döntően az Y szubsztituens, valamint a szekunder amin mennyisége befolyásolja. Metilcsoport esetén 5% dietil-amin jelenlétében végezve a reakciókat a biszfoszfónát (**23**) képződése volt a meghatározó, de 20% katalizátort alkalmazva már az átrendeződött species (**24**) is megjelent a termékelegyen. 40% Amint adva a reakcióelegyhez teljes mértékű átrendeződés kísérte a reakciókat. Amennyiben a központi szénatomon fenilcsoport foglalt helyet, az adduktok (**23**) csak intermedierek voltak, melyek állásra, katalizátor jelenléte nélkül is átrendeződtek. A hőmérséklet, az oldószer, az amin fajtája, valamint a Z szubsztituensek kevésbé voltak hatással a reakciók kimenetelére.^{19,20}



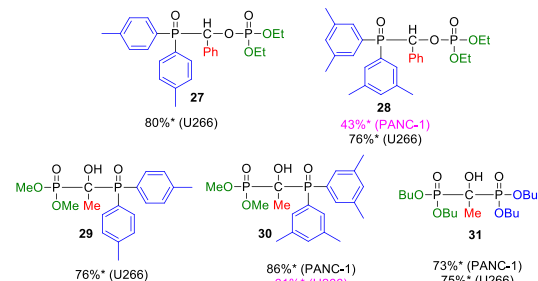
14. Ábra. Hidroxi-metilénbiszfoszfónátok (**23**) és átrendeződött származékaik (**24**) szintézise α -oxofoszfónátokból

A kétféle termék képződésére megfelelő (optimalizált) körülményeket alkalmazva egy közel húsz tagú vegyülettárat szintetizáltunk, amely tagjait négy különböző tumoros sejtvonalon (humán emlő adenokarcinóma (MDA-MB-231), prosztatás kissejtes karcinóma (PC-3), tüdő laphámsejtes karcinóma (Ebc-1), valamint epidermoid karcinóma (A431)) citosztázis vizsgálatoknak vetettük alá. Ezekon a sejtkultúrákon az aromás egységeket tartalmazó átrendeződött származékok (**25-28**) mutatkoztak a leghatásosabbnak (15. ábra).²⁰



15. Ábra. A citosztázis vizsgálatokban legjobb hatást elérő vegyületek

Vizsgáltuk a vegyületek antiproliferatív hatását is humán hasnyálmirigy adenokarcinóma (PANC-1) és mielóma multiplex (U266) sejtvonalakon. A 16. ábrán látható vegyületek (**27-31**) esetében sikerült a sejtek túlélőképességét 61-80%-ra csökkenteni.¹⁷



* Az adott sejt túlélőképessége 100 μ M koncentrációban.

16. Ábra. Az *in vitro* antiproliferatív hatásvizsgálatokban legjobban teljesítő származékok

Köszönetnyilvánítás

A publikáció, illetve az annak keretében ismertett tudományos eredmény a Richter Gedeon Nyrt. által létrehozott Richter Gedeon Talentum Alapítvány (székhely: 1103 Budapest, Gyömrői út 19-21.) támogatásával, „Richter Gedeon Kiválósági PhD Ösztöndíj” keretében készült. A Doktoranduszi Kiválósági Ösztöndíj Program (DKÖP) által támogatott projekt a Kulturális és Innovációs Minisztérium Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból nyújtott, valamint a Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem közös támogatásával, a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatallal kötött támogatási szerződés alapján valósult meg.

Hivatkozások

- Fields, S. C. *Tetrahedron* **1999**, 55, 12237–12273. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(99\)00701-2](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(99)00701-2)
- Russell, R. G. G. *Bone* **2011**, 49, 2–19. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2011.04.022>
- Russell, R. G. G. *Pediatrics* **2007**, 119, 150–162. <https://doi.org/10.1542/peds.2006-2023H>
- Massey, A. S.; Pentlavalli, S.; Cunningham, R.; McCrudden, C. M.; McErlean, E. M.; Redpath, P.; Ali, A. A.; Annett, S.; McBride, J. W.; McCaffrey, J.; Robson, T.; Migaud, M. E.; McCarthy, H. O. *Mol. Pharm.* **2016**, 13, 1217–1228. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.5b00670>
- Hudson, H. R.; Wardle, N. J.; Blight, S. W. A.; Greiner, I.; Grün, A.; Keglevich, Gy. *Mini Rev. Med. Chem.* **2012**, 12, 313–325. <https://doi.org/10.2174/138955712799829285>
- Gyires, K.; Fürst, Z. *A farmakológia alapjai*; Medicina kiadó **2011**.
- Frechette, R. F.; Ackerman, C.; Beers, S.; Look R.; Moore, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, 7, 2169–2172. [https://doi.org/10.1016/S0960-894X\(97\)00390-9](https://doi.org/10.1016/S0960-894X(97)00390-9)
- Forlani, G.; Occhipinti, A.; Berlicki, Ł.; Dziedziola, G.; Wiecezorek, A.; Kafarski, P. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, 56, 3193–3199. <https://doi.org/10.1021/jf800029t>

9. Kategaonkar, A. H.; Pokalwar, R. U.; Sonar, S. S.; Gawali, V. U.; Shingatem, B. B.; Shingare, M. S. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 1128–1132.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2009.12.013>
10. Reddy, G. S.; Sundar, C. S.; Prasad, S. S.; Dadapeer, E. D.; Raju, C. N.; Reddy, C. S. *Der Pharma Chemica* **2012**, *4*, 2208–2213.
11. Sampath, S.; Raju, C. N.; Rao, C. V. *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.* **2016**, *191*, 95–99.
<https://doi.org/10.1080/10426507.2015.1032412>
12. 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>
13. Varga, P. R.; Belovics A.; Bagi P.; Tóth, Sz.; Szabó, R.; Drahos, L.; Keglevich, Gy. *Molecules* **2022**, *27*, 2067.
<https://doi.org/10.3390/molecules27072067>
14. Szalai, Zs.; Ábrányi-Balogh, P.; Keglevich, Gy. *J. Org. Chem.* **2025**, *90*, 439–447.
<https://doi.org/10.1021/acs.joc.4c02355>
15. Grün, A.; Greiner, I.; Keglevich, Gy. *Current Org. Chem.* **2019**, *23*, 968–973.
<https://doi.org/10.2174/1385272823666190611103102>
16. Szalai, Zs.; Debrei, M.; Ábrányi-Balogh, P.; Bösze, Sz.; Oláhné Szabó, R.; Drahos, L.; Keglevich Gy. *ACS Omega* **2024**, *9*, 31043–31055.
<https://doi.org/10.1021/acsomega.4c04382>
17. Szalai, Zs.; Bednárík, J.; Tóth, B. Sz.; Takács, A.; Tekula, Sz.; Köhidai, L.; Karaghiosoff, K.; Drahos, L.; Keglevich, Gy. *Pharmaceuticals* **2025**, *18*, 91.
<https://doi.org/10.3390/ph18010091>
18. Szalai, Zs.; Kis, A. S.; Takács, A.; Köhidai, L.; Karaghiosoff, K.; Czugler, M.; Drahos, L.; Keglevich, Gy. *Molecules* **2025**, *30*, 428.
<https://doi.org/10.3390/molecules30020428>
19. Szalai, Zs.; Keglevich, Gy. *Molecules* **2021**, *26*, 7575.
<https://doi.org/10.3390/molecules26247575>
20. Szalai, Zs.; Tóth, B.; Oláhné Szabó, R.; Bösze, Sz.; Karaghiosoff, K.; Czugler, M.; Drahos, L.; Keglevich, Gy. *Molecules* **2023**, *28*, 6037.
<https://doi.org/10.3390/molecules28166037>

The synthesis of new phosphonate derivatives

The biological activity and pharmacological applications of phosphonates are key topics, particularly in the treatment of osteoporosis and cancer diseases. In my PhD research, we focused on the synthesis of new P-compounds and on the evaluation of their biological effects.

Initially, we aimed to synthesize novel bisphosphonate derivatives through the condensation reaction of α -hydroxyphosphonates and dialkyl phosphites. However, our results indicated that instead of the expected compound, a rearranged and partially dealkylated derivative were formed. Therefore, we attempted similar transformations using α -halogenophosphonates in reactions with dialkyl phosphites, but the desired compound was not obtained.

Subsequently, we subjected α -chloro- and α -bromophosphonates to the Michaelis-Arbuzov reaction with trialkyl phosphites and

ethyl diphenylphosphinite. This approach resulted in low conversions and significant amounts of the dehalogenated byproducts alongside the bisphosphonate. In order to create a better leaving group, we synthesized α -mesyloxy-benzylphosphonates, which successfully yielded the target compounds by the Arbuzov reaction.

Finally, we synthesized hydroxy group containing bisphosphonate-type derivatives from α -oxophosphonates through the Pudovik reaction. Notably, in this case, the formation of the adduct was accompanied by a rearrangement; however, with a fine-tuning, we were able to selectively obtain the two types of products.

The cytotoxicity and antiproliferative effects of all synthesized compounds were also evaluated, showing promising results.