



**Institute of Organic Chemistry  
with Centre of Phytochemistry  
Bulgarian Academy of Sciences**



**UNIVERSITÉ PARIS  
DESCARTES**  
FACULTÉ DE SCIENCES  
PHARMACEUTIQUES DE PARIS  
ECOLE DOCTORALE MTCI

**Ивайло Момчилов Славчев**

# **Синтетични трансформации на природни продукти**

## **АВТОРЕФЕРАТ**

на дисертационен труд за присъждане на образователна и научната степен  
„доктор“

Научна специалност: Органична химия, шифър 01.05.03

Научни ръководители: проф. дн Владимир Димитров  
Prof. Brigitte Deguin

Научен консултант: доц. д-р Георги Добриков

**София, 2019 г.**

Изследванията, свързани с дисертационния труд, са проведени в лаборатория „Органичен Синтез и Стереохимия“ - Институт по Органична Химия с Център по Фитохимия, Българска Академия на Науките и Laboratoire de Pharmacognosie, Université René Descartes, Paris, France.

Дисертационният труд е обсъден и насочен за защита от колоквиума „Строеж и реакционна способност на органичните съединения и органичния синтез“ при ИОХЦФ-БАН от 10.07.2019 г.

Дисертационният труд е изложен на 232 страници, включва 20 таблици, 26 фигури и 69 схеми. Библиографията обхваща 276 литературни източника. Резултатите са отразени в 2 научни публикации и са представени на 7 научни форума.

Номерацията на фигурите, таблиците и съединенията в автореферата не е същата, като в дисертацията.

Защитата на дисертационния труд ще се проведе на 04.11.2019 г. в зала 111 „Акад. Б. Куртев“, бл. 9, на открито заседание на Научното жури.

Материалите по защитата са на разположение на интересуващите се в канцеларията на ИОХЦФ-БАН, стая 206, ул. „Акад. Г. Бончев“, бл. 9, гр. София

## ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

Piv – пивалоил

Glc – глюкоза

THF - тетраhydroфуран

NIS – *N*-йодосукцинимид

NBS - *N*-бромосукцинимид

NCS - *N*-хлоросукцинимид

DCM – дихлорометан

PDC – пиридиниев дихромат

DMF – диметилформаид

DEAD – диетил азодикарбоксилат

DIEA - *N,N*-диетилизопропиламин

EMB - етамбутол

MIC – минимална инхибираща концентрация

TBTU - 2-(1*H*-Benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tetramethylammonium tetrafluoroborate

MTT - 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide

MTBE – метил терт-бутил етер

PE – петролев етер

NMR – ядрено магнитен резонанс

ee – енантиомерен излишък

TLC – тънкослойна хроматография

## **I. Въведение**

Природните продукти са химични съединения, произведени от живи организми като бактерии, гъби, растения и животни. В природата съществува голямо разнообразие от вещества с всякакви свойства. Способностите на живота да създава химически структури са практически неограничени и този естествен процес създава съкровищница от материали, приложими във всеки клон на човешката дейност. Изобилието от естествено срещащи се съединения представлява огромен научен интерес. Всички видове научни области - от медицината и фармацията до синтетичната органична химия, участват в проучването на потенциала на природните продукти и намирането на по-нови и по-напреднали приложения за тях. Модерните дисциплини като качеството и удължаването на живота, забавянето на стареенето, както и класическите - борба срещу рака, инфекциите и други видове човешки болести - всички те гледат към природата като източник на материали, идеи и вдъхновение.

Органичната химия зависи силно от природни продукти като източници на изходни материали. Едно многообещаващо поле е частичният химичен синтез. Той използва съединения, изолирани от биологични източници, за по-нататъшни синтетични трансформации. По този начин науката се възползва от огромните съзидателни способности на естествения свят и осигурява допълнителна модификация и фина настройка на природните структури, което ги прави още по-добри в обслужването на специфични цели. Има няколко области, в които влиянието на естествените продукти е най-силно изразено. Една от тях е фармакогнозията - търсенето на потенциални нови лекарства от растителни и други природни източници. Броят на биологично активните вещества в естествения свят е огромен. Природата е най-богатият и най-мощният източник на нови лекарства и вещества с ценни свойства, свързани с благосъстоянието на хората. Прилагайки техниките на частичният химичен синтез върху огромното разнообразие от натурални продукти, може да се получи голямо изобилие от нови лекарства и други продукти за подобряване на здравето. Областта на естествените продукти включва и т.нар. chiral pool - натрупване на набор от хирални органични структури, които могат да бъдат изолирани в енантиомерно чиста форма от биологични източници. Той е безценен източник на изходни материали за получаване на лиганди за асиметричен катализ, хирални спомагателни и други структури, които са от решаващо значение за енантиселективния органичен синтез.

Работата с естествени продукти е важна и от гледна точка на фундаменталната органична химия. Тя стимулира разработването на нови техники за изолиране и пречистване, както и инструментални методи за характеризиране и структурно изясняване на органични съединения. Структурните модификации на естествените вещества често изискват използването на нови синтетични процедури, реактиви, разтворители и катализатори.

Тази дисертация е фокусирана върху синтетичните трансформации на три природни представителя от семейството на терпените:

- Аукубин, от който са получени нови хирални синтони, част от които са тествани като лиганди за асиметричен катализ.
- Фенхон, от който са получени редица производни, изследвани за тяхната противотуберкуозна активност.
- Камфор, който е химически модифициран в производни с потенциална противоракова активност.

## II. Получаване на нови хирални синтони от аукубин

Като част от дългогодишна работа, насочена към оползотворяване на аукубин (**1**) като естествен източник на нови хирални синтони (Схема 1), нашите изследвания трябваше да доведат до откриването на нова синтетична схема, превръщаща аукубина в използваеми структури, подходящи за практически приложения в различни области. Нашата цел беше да намерим начин да трансформираме натуралния продукт в прости, стабилни и диастереомерно чисти съединения, с желана стереохимия и функционални групи.

Като основа на нашата нова синтетична схема използвахме реакция, открита и описана от *X. Cachet*. Той съобщава за превръщането на перпивалоилаукубин (**2**) в йодолактони, чрез третиране с *N*-йодосукцинимид (NIS) във воден THF, последвано от окисление. По този метод бяха получени два изомерни йодолактона **3a** (4*R*) и **3b** (4*S*) като смес в съотношение 3:2 (Схема 1). Двата изомера лесно се разделят чрез колонна хроматография.

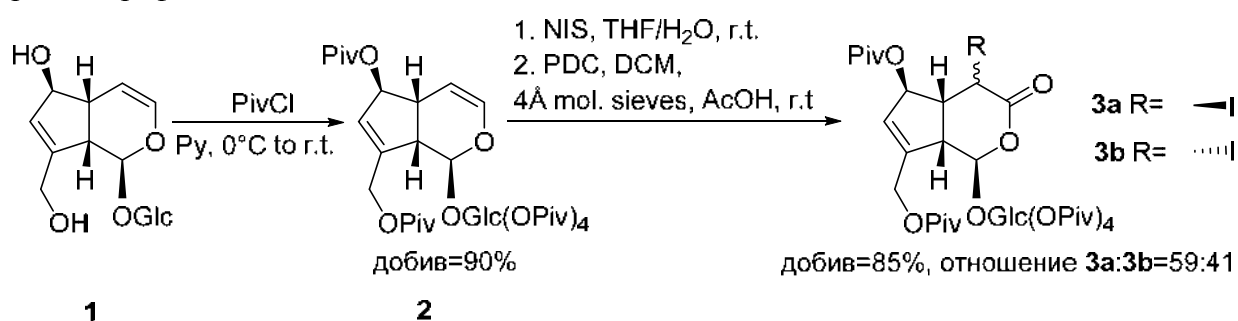


Схема 1

Получените гликозидни йодолактони бяха допълнително подложени на селективно свиване на пръстена в базични условия. Изборът на база за отварянето на пръстена на лактоните, елиминирането на глюкозата и образуването на фурановите производни, са решаващите моменти в този подход. *X. Cachet* описва използването на K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> в протонна среда като MeOH, водещо до образуването на смес от диастереомерни циклопентанофурани **4**, неделими чрез колонна хроматография. Механизмът, показан на Схема 2 за йодолактон **3b**, показва необходимост за 2 еквивалента база. Реакцията на **3b** беше завършена за 2 часа при стайна температура и доведе до смес от **4a** и **4b** в съотношение 7:3. Когато се третират **3a** при същите условия, се получава **4a** (45%), **4b** (20%) и **4c** (34%), придружени от следи от **4d**.

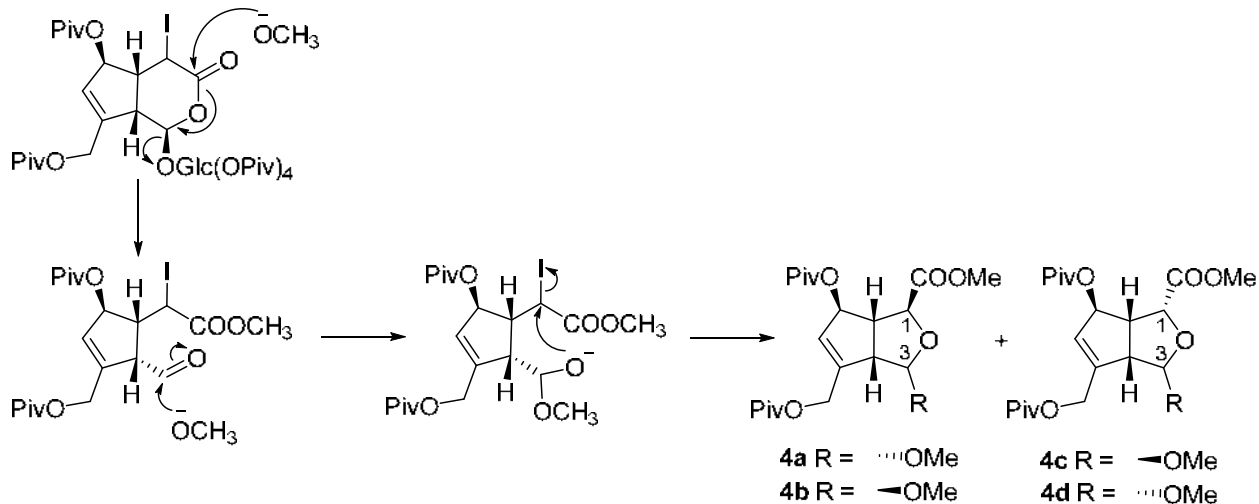


Схема 2. Предполагам механизъм за получаване на циклопентанофурани **4**.

### Стратегия и методология

Нашата стратегия беше да използваме резултатите на *Cachet* като отправна точка за изследванията ни. Предвиждаше се изследване на влиянието на различни условия върху съдържанието на изомерната смес, което да направи реакцията по-стереоселективна, както и да се намери начин за разделяне на изомерите и използването им по-нататък за получаване на нови хирални структури.

### Оптимизиране на реакционните условия

Съществуващите литературни данни за тази реакция се ограничават само до йодолактоните в смес MeOH/DCM при стайна температура. За обхвата на тази работа беше необходимо много по-широко проучване, което имаше две крайни цели:

- да се събере достатъчно информация, помагаша ни да разберем по-добре реакцията от теоретична гледна точка;
- да се намерят условия за получаване на поне един от диастереомерите в възможно най-голям диастереоизомерен излишък (т.е. да се направи възможно най-стереоселективна реакция).

Така проведохме задълбочено проучване на тази реакция, изследвайки влиянието на всички възможни променливи.

### Влияние на реакционните условия

Първоначалните условия за смалвяването на пръстена, разработени от *X. Cachet*, включват използването на DCM като съразтворител. Тъй като изходните халогенолактони имат ограничена разтворимост в MeOH, използването му без съразтворител не се счита за особено благоприятно за протичане на реакцията. Реакцията при всички случаи е хетерогенна, независимо от вида на използваните органични разтворители, тъй като основата ( $K_2CO_3$ ) също не е напълно разтворима в тях. Добавянето на съразтворител спомага главно за пълната разтворимост на халогенолактоните. Чист метанол е използван само веднъж - с **8a** при стайна температура и 2.2 екв.  $K_2CO_3$  като база. В този случай реакцията протича с по-ниска стереоселективност, в сравнение със същите условия, но с добавен DCM като неполярен съразтворител. Така че всички по-нататъшни тестове с чист метанол бяха преустановени. Изследването на факторите, които биха могли да повлияят на съотношението между четирите стереоизомера, означаваше намиране на правилните условия, които биха позволили образуването на стереоизомерите да става с различна скорост. За да се постигне тази цел, трябваше да се проучи внимателно влиянието и на останалите реакционни параметри.

### Влияние на вида на халогена

Йодо-, бромо- и хлоролактоните бяха синтезирани и тествани за тяхната различна реактивност, причинена от различната енергия на въглерод-халогенната връзка във всеки от тях, както и от специфичните промени в тяхната конформация, поради различния размер на халогенните атоми. Всички тези фактори са важна предпоставка за различно поведение на халогенолактоните в изследваната реакция.

### Влияние на природата на алкохола

Различни алкохоли (MeOH, EtOH, PrOH и други) бяха включени, за да се види как полярността на алкохола, неговата pKa стойност и неговите пространствени ефекти биха

повлияли на резултата от реакцията. Освен това е известно, че понятието за йонизираща сила на разтворителя (Y) е доказано полезно за интерпретиране на механизмите на хетеролитичните реакции в протонни среди. Y стойностите на някои низши алкохоли са както следва: MeOH (-1.09), EtOH (-2.3), i-PrOH (-2.73), t-BuOH (-3.5).

#### Влияние на природата на съразтворителя

Изследвани са съразтворители с различни полярности (толуен, DCM, THF, CH<sub>3</sub>CN). Прегрупирането се извършва в няколко етапа - отваряне на лактоновия пръстен, елиминирането на глюкозния остатък, образуване на хемиацетал и накрая образуване на фурановия пръстен с разцепване на въглерод-халогенната връзка. Трудно е да се предвиди ролята на съразтворителя в реакционния механизъм и неговото влияние върху резултата.

#### Влияние на реакционната температура

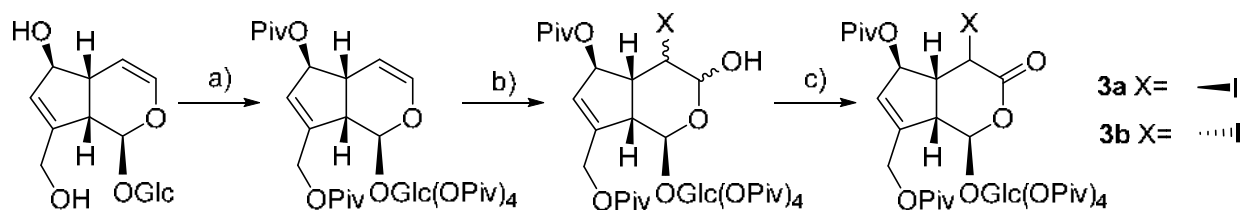
Тъй като температурата е основен фактор, влияещ върху стереоселективността на химичните реакции като цяло, изследването на по-широк температурен диапазон беше от решаващо значение за нашето изследване.

#### Влияние на естеството на базата

Различни бази (K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, NaHCO<sub>3</sub>) бяха тествани за тяхната способност да провеждат реакцията и за влиянието, което те биха могли да имат върху сместа от продукти. Задълбоченото изследване на контракцията на пръстена на α-халолактоните изискваше вариация на много различни условия. Броят на възможните комбинации между различните параметри е огромен, като се отчита броят на променливите и фактът, че някои променливи (като температура и съотношение алкохол/съразтворител) могат да имат много различни стойности. Необходим е рационален начин на изследване, за да се получи цялата необходима информация, без да се провеждат всички експерименти, тъй като това би било невъзможно дори на теория. Определен параметър беше изследван само докато ни даваше нова информация за реакцията и/или повишаваше стереоселективността. Веднага след като промяната на дадено реакционно условие се оказваше безплодно (т.е. не произвеждаше нови полезни резултати), експериментите в тази посока бяха преустановявани. Този протокол ни позволи да ограничим броя на експериментите до разумен минимум, докато съберем цялата необходима информация.

#### Синтез на йодо-, бромо, хлоролактони от аукубин

Първоначално ние възпроизведохме условията на *Cachet*, следвайки синтетичната последователност, показана на Схема 3, за получаване на α-халогенолактони.

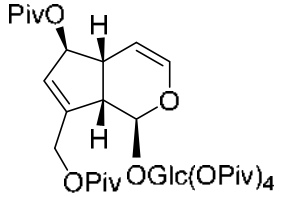
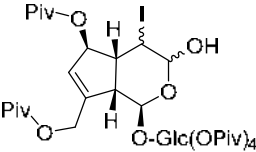
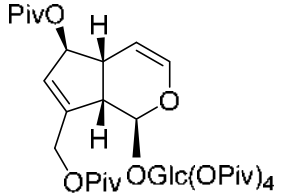
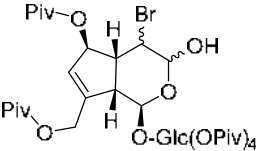
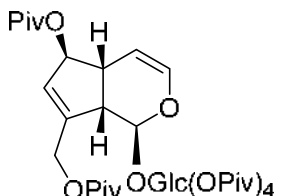
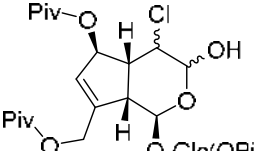


**Схема 3** a) PivCl, Py, 0°C→r.t., 90%; b) NXS (X=I, Br, Cl), THF/H<sub>2</sub>O, r.t.; c) PDC, DCM, 4 Å молекулно сито, AcOH, r.t;

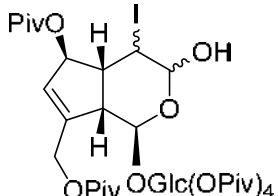
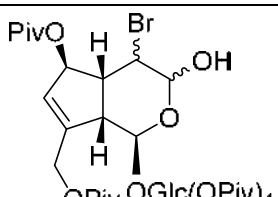
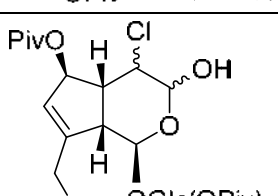
Резултатите ни бяха повече или по-малко в съответствие с резултатите от *X. Cachet*. В нашия случай добивът на йодолактолите е практически същият като този, получен от *X. Cachet* (съответно 94% и 95%). Добивът на йодолактоните е малко по-нисък в нашия случай (75%, до 85% при *X. Cachet*); съотношението между двата изомера е идентично и в двата случая (58:42 и 59:41).

Следвайки подобна синтетична процедура, успяхме да получим също бромо- (**8**) и хлоролактони (**9**). Следващите Таблици 1 и 2 обобщават условията и резултатите от нашите реакции:

**Таблица 1.** Получаване на йодо- (**5**), бромо- (**6**) и хлоролактоли (**7**).

Начален реагент	Условия	Продукти	Добив
	NIS, THF/H <sub>2</sub> O, r.t, 3h	 <b>5</b>	94%
	NBS, THF/H <sub>2</sub> O, r.t, 3h	 <b>6</b>	98%
	NCS, THF/H <sub>2</sub> O, r.t, 3h	 <b>7</b>	88%

**Таблица 2.** Получаване на йодо- (**3**), бромо- (**8**) и хлоролактони (**9**).

Начален реагент	Условия	Продукти	Добив
	PDC, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , 4 Å молекулно сито, AcOH, r.t, overnight	<b>3a:3b</b> 58:42	75%
	PDC, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , 4 Å молекулно сито, AcOH, r.t, overnight	<b>8a:8b</b> 80:20	85%
	PDC, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , 4 Å молекулно сито, AcOH, r.t, overnight	<b>9a:9b</b> 60:40	75%



Възпроизвеждайки експеримента на *X. Cachet*, проведохме реакцията на **3a** с 2.2 екв. от  $K_2CO_3$  в MeOH/DCM 1:1, водещо до 70% общ добив на смес от циклопента[с]фурани (**4a-4d**) и бицикло[3.1.0] хексан **10b** в съотношение 87:13. Съотношението между изомерите на циклопента [с] фуран е както следва: **4a/4b/4c/4d**=37.2/16.4/36.8/9.6. Спектралните данни, добивът и общият състав на получената смес от циклопента [с] фурани (**4a-4d**) потвърждават резултатите от *X. Cachet*. При **3a** реакцията е много слабо стереоселективна при стайна температура. Функционалната група при С-1 и С-3 е предимно в транс-положение един към друг и при въглерод С-1, съотношението екзо/ендо е 53.6%/46.4% за естерната група.

В реакционната смес винаги присъства страничен продукт **10b**, чиято структура е изобразена по-долу (Схема 4). Наличието на **10b** е доказано чрез  $^1H$ -NMR данни, това скелетно съединение на бицикло[3.1.0]хексан показва характерно химично отместване на алдехидния протон при 9.44 ppm и протони Н-С5 и Н-С6 при 3.15 и 2.60 ppm съответно. Стойността на константата на свързване  $J_{cis}$  (5.6) = 8.5 Hz описва стереохимията на циклопропановата част. За да обясним наличието на страничен продукт, предлагаме конкурентна реакционна последователност. В този случай, след като първият еквивалент метанолат е образувал междинния алдехид, втория еквивалент метанолат действа като основа, която депротонира  $\alpha$ -позицията на алдехида, за да образува енолат. Последната реакционна стъпка е атаката на новообразувания нуклеофил (хемиацетал-О-нуклеофил или енолат-С-нуклеофил) върху С-атома, носещ халоген.

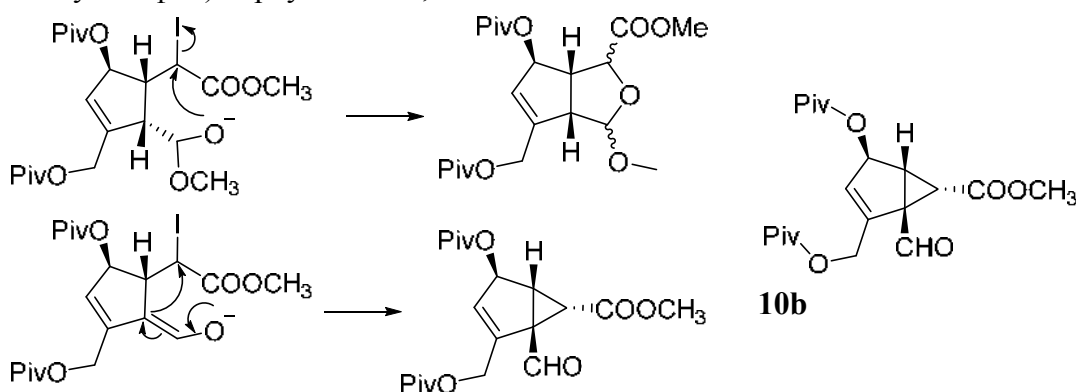


Схема 4. Две възможни последни стъпки, водещи съответно да тетраhydroфуранови и циклопропанови продукти

#### Алкална метанолиза на екзо- $\alpha$ -халогенолактони (**8a**, **9a**) в 1:1 MeOH/DCM

##### а) Хлоролактон **9a**

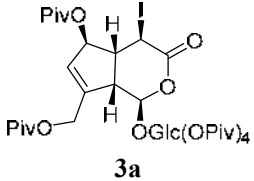
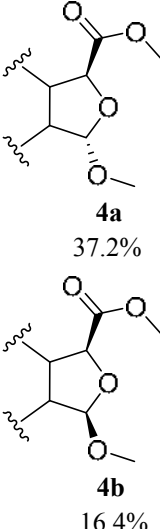
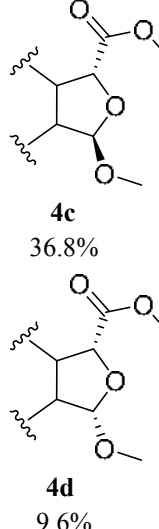
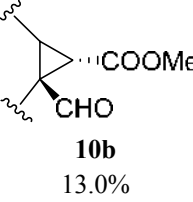
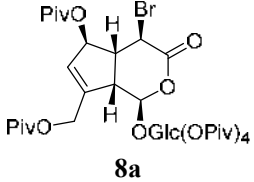
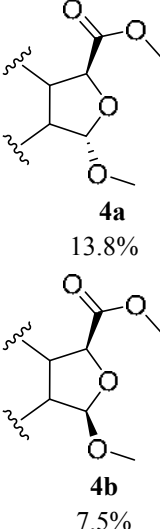
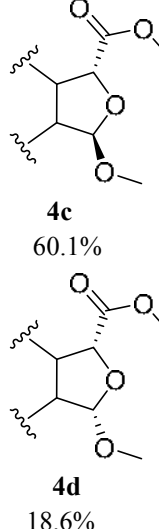
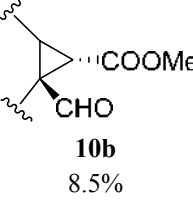
Хлоролактона **9a** реагира както **3a** при стандартни условия при стайна температура и дава подобна смес от продукти - **4a**, **4b**, **4c** и **4d** (Таблица 3). Тъй като реакциите за **3a** и **9a** не са стереоселективни, не е тествана реакция, протичаща при по-ниски температури.

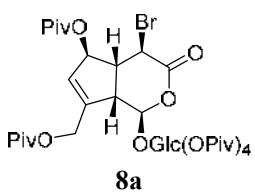
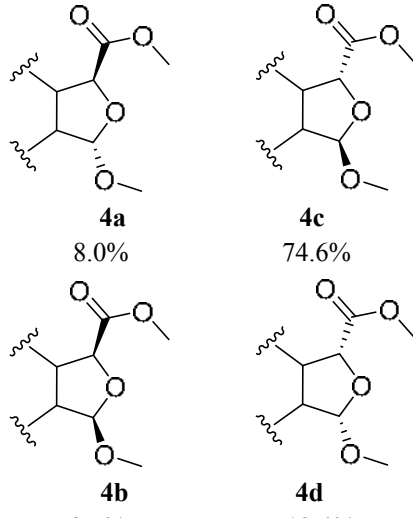
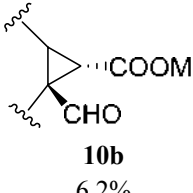
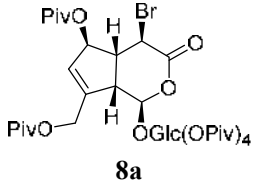
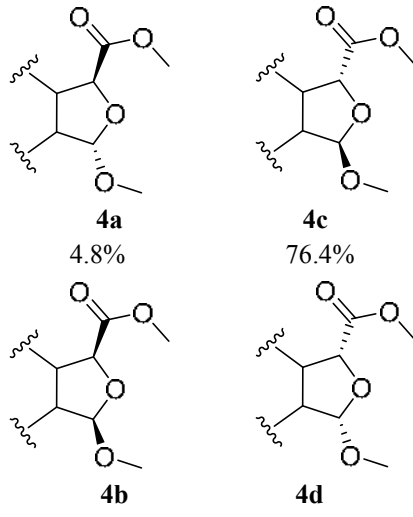
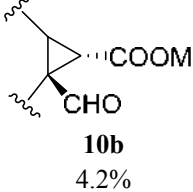
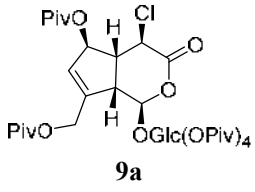
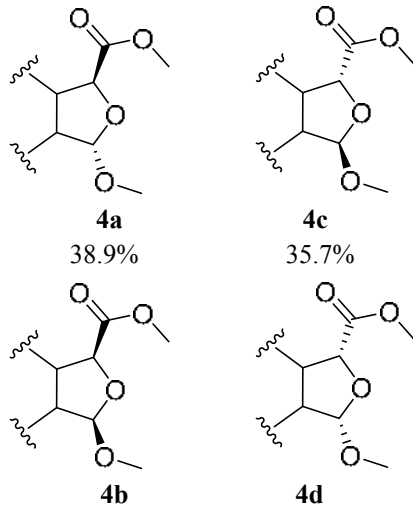
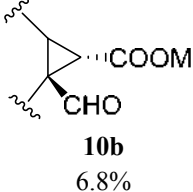
##### б) Бромолактон **8a**

При същите условия на реакция, както по-горе, **8a** дава със 70% добив, същата смес от продукти **4a**, **4b**, **4c** и **4d**, но този път с различна стереоселективност. В този случай при 25°C, делът на **4c** (транс-конфигурация между С-1 и С-3 функционални групи) и **4d** е 60.1% и 18.6%, съответно. Така за тези два стереоизомера общото съотношение е 78.7%, което показва интересна стереоселективност за С-1-ендо-карбоксилните производни. Следва да се отбележи, че съотношението се подобрява, когато температурата на

реакцията е по-ниска. Интересно е, че когато реакцията беше проведена при  $-60^{\circ}\text{C}$ , тази стереоселективност беше повишена до 94% и отношение  $4\text{c}/4\text{d}=76.4/17.4$  (Таблица 3).

**Таблица 3.** Алкална (2.2 екв.  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ) метанолиза на екзо- $\alpha$ -халогенолактони **3a**, **8a**, **9a** в  $\text{MeOH}/\text{DCM}$  1:1, в продължение на 5 минути.

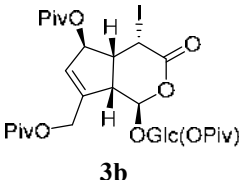
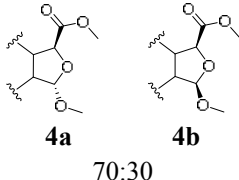
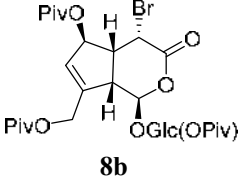
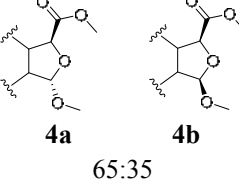
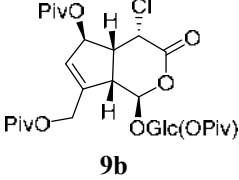
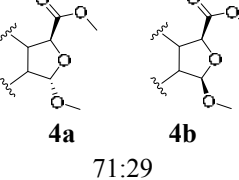
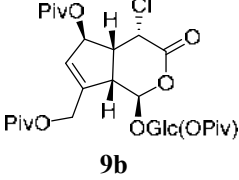
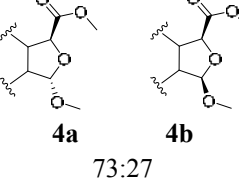
Изходен реагент, DCM:MeOH (1:1 v:v)	1) t, °C 2) Добив на 4+10b	Циклопентафуран, % на всеки изомер в сместа 4a-c	Бицикло[3.1.0] хексан % на 10b в сместа 4+10b
 <p><b>3a</b></p>	<p>1) r.t. 2) 70%</p>	 <p><b>4a</b> 37.2%</p> <p><b>4b</b> 16.4%</p>  <p><b>4c</b> 36.8%</p> <p><b>4d</b> 9.6%</p>	 <p><b>10b</b> 13.0%</p>
 <p><b>8a</b></p>	<p>1) r.t. 2) 70%</p>	 <p><b>4a</b> 13.8%</p> <p><b>4b</b> 7.5%</p>  <p><b>4c</b> 60.1%</p> <p><b>4d</b> 18.6%</p>	 <p><b>10b</b> 8.5%</p>

 <p><b>8a</b></p>	<p>1) -30°C 2) 70%</p>	 <p><b>4a</b> 8.0%</p> <p><b>4c</b> 74.6%</p> <p><b>4b</b> 3.7%</p> <p><b>4d</b> 13.4%</p>	 <p><b>10b</b> 6.2%</p>
 <p><b>8a</b></p>	<p>1) -60°C 2) 70%</p>	 <p><b>4a</b> 4.8%</p> <p><b>4c</b> 76.4%</p> <p><b>4b</b> 1.3%</p> <p><b>4d</b> 17.4%</p>	 <p><b>10b</b> 4.2%</p>
 <p><b>9a</b></p>	<p>1) r.t. 2) 70%</p>	 <p><b>4a</b> 38.9%</p> <p><b>4c</b> 35.7%</p> <p><b>4b</b> 14.9%</p> <p><b>4d</b> 10.5%</p>	 <p><b>10b</b> 6.8%</p>

Алкална метанолиза на ендо- $\alpha$ -халогелактони **3b**, **8b** и **9b** в 1:1 MeOH/DCM

Независимо от температурата (от 25°C до -20°C), ендо-халогенолактоните **3b**, **8b**, **9b** продуцират само 2 диастереомера (**4a** и **4b**) със сходни съотношение (7:3) и добив (70-80%).

**Таблица 4.** Алкална (2.2 екв. K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) метанолиза на ендо- $\alpha$ -халогенолактони **3b**, **8b**, **9b** в 1:1 MeOH/DCM за 5 минути.

Исходен реагент <b>3b</b> , <b>8b</b> , <b>9b</b>	1) t, °C 2) Време 3) Добив	Съразтв.	Разтворител/ алкохол	Циклопентафуран, % на всеки изомер в сместа	Бицикло[3.1.0] хексан
 <b>3b</b>	1) r.t. 2) 5 мин. 3) 80%	DCM	1:1	 <b>4a</b> <b>4b</b> 70:30	Няма продукт
 <b>8b</b>	1) r.t. 2) 5 мин. 3) 70%	DCM	1:1	 <b>4a</b> <b>4b</b> 65:35	Няма продукт
 <b>9b</b>	1) r.t. 2) 5 мин. 3) 70%	DCM	1:1	 <b>4a</b> <b>4b</b> 71:29	Няма продукт
 <b>9b</b>	1) -20°C 2) 5 мин. 3) 70%	DCM	1:1	 <b>4a</b> <b>4b</b> 73:27	Няма продукт

Реакцията с всички ендо-халогенолактони се извършва при стайна температура или -20°C за по-малко от 15 минути. Природата на халогена изглежда не оказва влияние върху стереоселективността на реакцията. Това контрастира с резултатите, наблюдавани при екзо-бромолактона **8a**, за който стереоселективността варира с температурата. Трябва също да се отбележи, че не е имало конкурентна реакция, тъй в никой случай не се наблщада бицикло[3.1.0] хексан като страничен продукт на. С тези резултати можем да забележим, че за реакциите при 25°C стереоселективността зависи от природата на халогена само при екзо-халогенидите, но не и с ендо-халогенидите.

Влияние на природата на алкохола

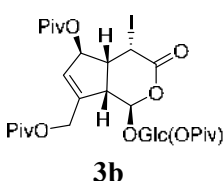
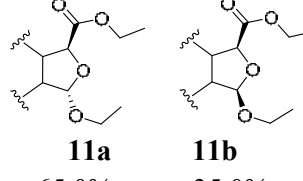
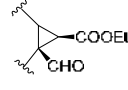
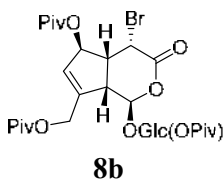
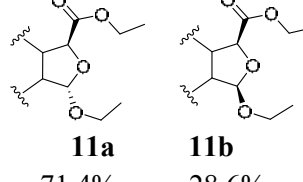
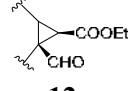
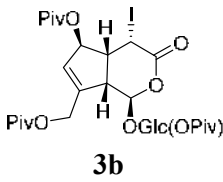
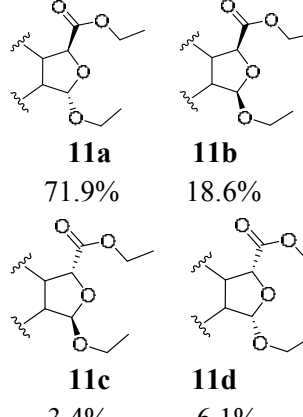
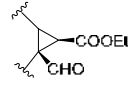
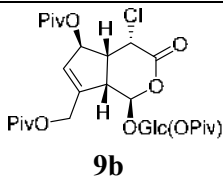
В EtOH/DCM (1:1)

а) Ендо- $\alpha$ -халогенолактони

Алкалната етанолиза на ендо-халогенолактоните (**3b**, **8b**, **9b**) (X = I, Br, Cl) (Таблица 5) е много по-бавна от метанолизата при същите концентрация и температура (Таблица 4). Хлоридът **9b** реагира напълно при 25°C чак след 24 часа. Изолираният добив на продуктите **11** никога не надвишава 55% в случая на етанолизата на йодид **3b** и бромид **8b**.

За реакциите при 25°C, екзо естерите **11a** и **11b** са получени с подобни пропорции, вариращи между 3:1 и 7:2. Интересно е, че когато етанолизата на йодид **3b** протича при -7°C (по-бавна реакция), това съотношение се повишава до 72:18 и също така се образуват ендо естерите **11c** и **11d**. Ние проверихме, че ендо-естерите не присъстват дори като следи в реакционни смеси, получени при 25°C. Трябва да се отбележи, че в страничните продукти **11c+11d**, цис-изомерът **11d** се намира в по-голяма пропорция, отколкото транс изомера **11c**. Това не е така при по-бързите метанолизи, които дават предимно транс-ендо-естер (**4c**), отколкото цис-ендо-естер (**4d**). Условиата на алкална етанолиза благоприятстват образуването на съединение **12a**, друг стереоизомер от бицикло[3.1.0]хексанов тип. Структурата е доказана от наличието на алдехиден протон при 9.48 ppm и от химичните отмествания на H5 и H6-циклопропанови протони съответно при 3.15 и 2.02, като стойността на константата на свързване е  $J_{trans} = 5$  Hz.

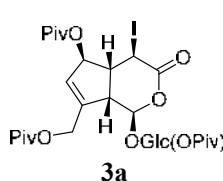
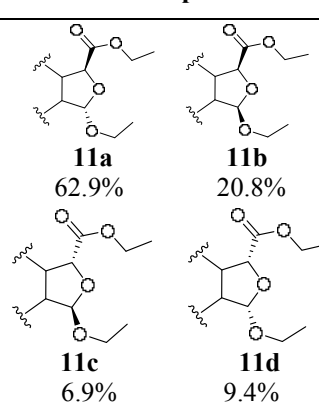
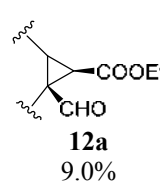
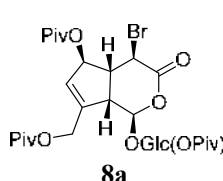
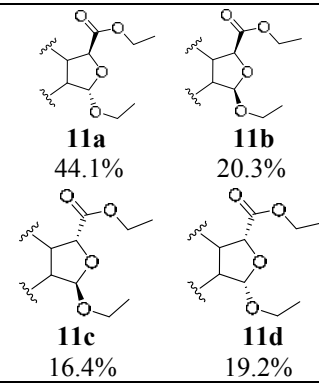
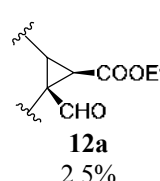
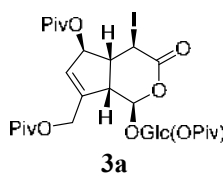
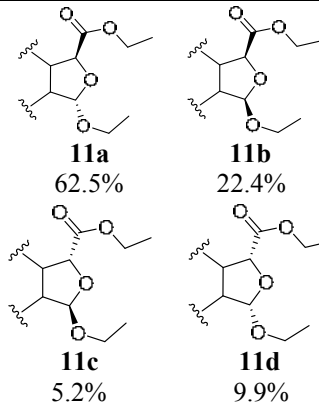
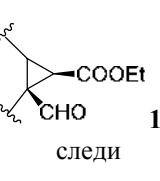
**Таблица 5.** Алкална (2.2 екв. K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) етанолиза на ендо- $\alpha$ -халогенолактони **3b**, **8b**, **9b** в 1: 1 MeOH/DCM

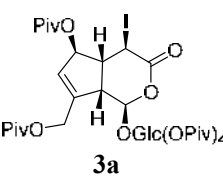
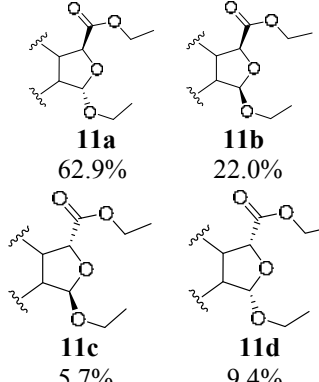
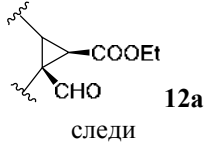
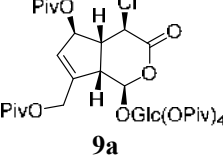
Изходен реагент <b>3a</b> , <b>8a</b> , <b>9a</b>	1) t, °C 2) Време (h) 3) Добив	Разтвори тел/ алкохол	Циклопентафуран, % на всеки изомер в сместа <b>11a-c</b>	Бицикло[3.1.0]хексан, % на <b>12a</b> в сместа <b>11+12a</b>
 <b>3b</b>	1) r.t. 2) 4 ч 3) 55%	1:1	 <b>11a</b> <b>11b</b> 65.0%      35.0%	 <b>12a</b> 2.9%
 <b>8b</b>	1) r.t. 2) 3 ч 3) 55%	1:1	 <b>11a</b> <b>11b</b> 71.4%      28.6%	 <b>12a</b> 2.1%
 <b>3b</b>	1) -7°C 2) 24 ч 3) 55%	1:1	 <b>11a</b> <b>11b</b> 71.9%      18.6% <b>11c</b> <b>11d</b> 3.4%      6.1%	 <b>12a</b> следи
 <b>9b</b>	1) r.t.	1:1	няма продукт	няма продукт

б) Екзо- $\alpha$ -халогенолактони **3a**, **8a**, **9a**

Както и в случая с ендо-халогенолактоните, алкалната етанолиза (Таблица 6) на екзо-халогенолактоните **3a**, **8a** и **9a** е много по-бавна от съответната метанолиза (Таблицы 3 и 4). При  $-20^{\circ}\text{C}$ , реакцията със **3a** показва минимални признаци на напредък след 24 часа. Затова реакционната смес се затопля до  $0^{\circ}\text{C}$  и след допълнителни 12 часа реакцията приключва. Добивът на изолираните продукти е еднакъв - 55% във всички случаи при  $25^{\circ}\text{C}$  и  $0^{\circ}\text{C}$ .

**Таблица 6.** Алкална (2.2 екв.  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ) етанолиза на екзо- $\alpha$ -халогенолактони **3a**, **8a**, **9a** в 1:1 MeOH/DCM

Изходен реагент <b>3a</b> , <b>8a</b> , <b>9a</b>	1) $t$ , $^{\circ}\text{C}$ 2) Време (h) 3) Добив	Циклопентафуран, % на всеки изомер в сместа <b>11a-c</b>	Бицикло[3.1.0]хексан, % на <b>12a</b> в сместа <b>11+12a</b>
 <p><b>3a</b></p>	1) r.t. 2) 6 ч 3) 55%	 <p><b>11a</b> 62.9%</p> <p><b>11b</b> 20.8%</p> <p><b>11c</b> 6.9%</p> <p><b>11d</b> 9.4%</p>	 <p><b>12a</b> 9.0%</p>
 <p><b>8a</b></p>	1) r.t. 2) 5 ч 3) 55%	 <p><b>11a</b> 44.1%</p> <p><b>11b</b> 20.3%</p> <p><b>11c</b> 16.4%</p> <p><b>11d</b> 19.2%</p>	 <p><b>12a</b> 2.5%</p>
 <p><b>3a</b></p>	1) $-7^{\circ}\text{C} \rightarrow 0^{\circ}\text{C}$ 2) 20 ч $\rightarrow$ 4 ч 3) 55%	 <p><b>11a</b> 62.5%</p> <p><b>11b</b> 22.4%</p> <p><b>11c</b> 5.2%</p> <p><b>11d</b> 9.9%</p>	 <p><b>12a</b> следи</p>

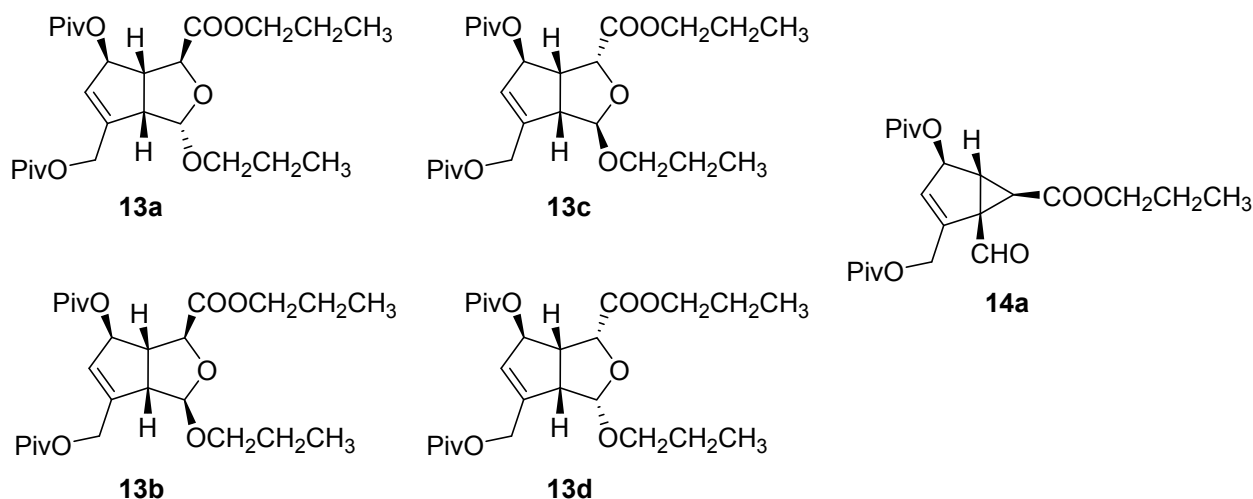
 <p><b>3a</b></p>	<p>1) -20°C→0°C 2) 24 ч→12 ч 3) 55%</p>	 <p><b>11a</b> 62.9%</p> <p><b>11b</b> 22.0%</p> <p><b>11c</b> 5.7%</p> <p><b>11d</b> 9.4%</p>	 <p><b>12a</b> следи</p>
 <p><b>9a</b></p>	<p>1) r.t.</p>	<p>разпад</p>	<p>разпад</p>

При 25°C и след 24 часа, екзо-хлоридът **9a** не реагира (Таблица 6), както и в случая на ендо-хлорид **9b** (Таблица 5). Във всички случаи смеси от **11a+11b+11c+11d** се формират в пропорции, които се различават слабо. Транс-екзо-естерът **11a** е основният изомер във всички случаи. Етанолизата на **3a** при 25°C и 0°C дава почти същите пропорции (63:21:7:9) **11a/11b/11c/ 1d**.

Етанолизата на екзо-бромид **8a** при 25°C води до различно съотношение (44:20.5:16.5:19) на продуктите **11a/11b/11c/11d**. Ние проверихме, че тези продукти не се намират в равновесие при нашите реакционни условия. Както и в случая с етанолита на ендо-халогенолактони, транс-екзоестерът **11a** е в по-голямо количество от цис-екзо-естер **11b**, и цис-ендо-естерът **11d** е в по-голямо количество от транс-ендо-изомера **11c**.

#### Други алкохоли: *n*-PrOH/DCM (1:1), *t*-BuOH/DCM (1:1) и PhCH<sub>2</sub>OH/DCM (1:1)

Повече или по-малко успешни реакции бяха постигнати с *n*-PrOH с DCM като съразтворител в съотношение 1:1 и 2.2 екв. K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Два експеримента бяха направени с ендо-лактони - с **8b** при стайна температура, и с **3b** от 0°C до r.t. С *n*-PrOH бяха проведени два експеримента при стайна температура с **3a** и **8a**. Съединение **3a** беше допълнително тествано при 0°C - след 24 часа при тази температура с много малко признаци на напредък, реакционната смес беше затоплена до 12°C и държана при тази температура цяла нощ. Реакцията все още не беше приключила, така че беше оставена да се затопли до стайна температура, където завърши за 2 часа. В *n*-PrOH реакцията е доста бавна, отнема около 12 часа до края, за всички тествани халолактони при стайна температура. Добивът спада до около 25%. В *n*-PrOH реакция практически не протича при -7°C, така че е оставена да се затопли до стайна температура. В *n*-PrOH всички халолактони реагират практически по един и същи начин. Те дават същите продуктови смеси, които се състоят от **13a** и **13c** в съотношение 80:20, и малки количества от **13b**, **13d** и **14a** като странични продукти (Фиг. 1). Не са наблюдавани промени в стереоселективността при различни температури.



Фигура 1.

Други алкохоли:

Някои допълнителни експерименти бяха проведени с различни видове алкохоли. Съединение **9a** беше тествано със системата *t*-BuOH/DCM (1:1), като бяха използвани три различни бази - *t*-BuOK, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> и NaOH (2.2 еквивалента от всяка). Всички реакции бяха неуспешни, водещи само до множество неидентифицирани продукти на разпад. Съединение **8a** беше тествано с бензилов алкохол в THF/DCM (1:1), с 2.2 екв. K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> като основа. Количеството на алкохола се увеличи от 2.2 на 10 еквивалента, без никакъв успех - изходният материал отново се разгражда.

#### Влияние на съразтворителя

Както се вижда по-горе (Таблица 4), алкалната метанолиза на ендо-хлорид **9b** при -20°C дава най-добър добив на транс-екзо-естер **4a**. Алкалната етанолиза на ендо-йодид **3b** също показва добра стереоселективност в полза на транс-екзо-естер **11a**. Тъй като ние искахме да получим селективно съответните ендо-естери, започнахме изследване на ефекта на разтворителя върху алкалната метанолиза, заменяйки DCM с други съразтворители. Резултатите са показани в Таблица 7.

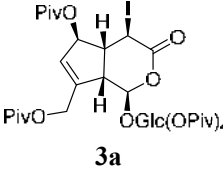
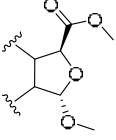
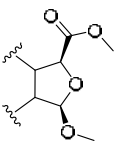
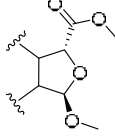
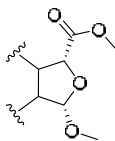
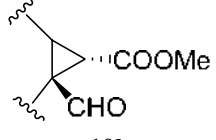
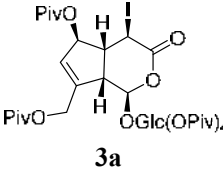
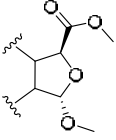
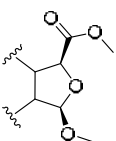
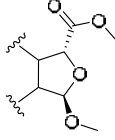
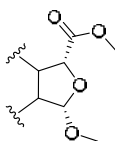
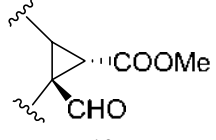
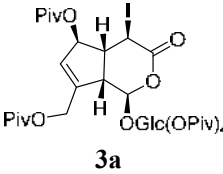
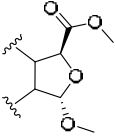
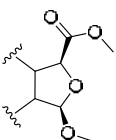
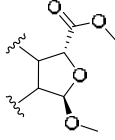
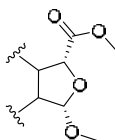
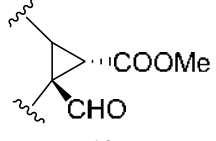
#### Йодолактон **8a** (I)\*

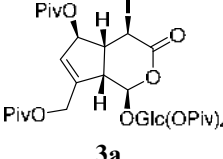
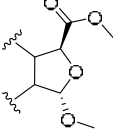
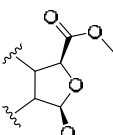
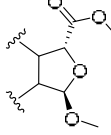
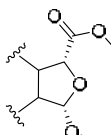
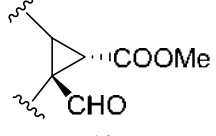
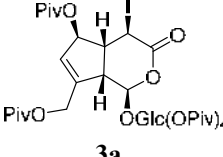
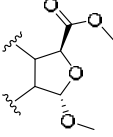
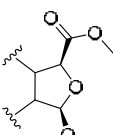
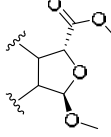
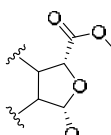
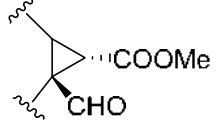
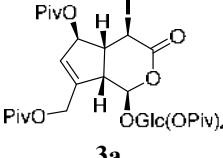
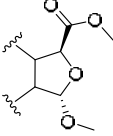
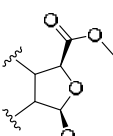
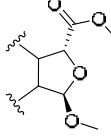
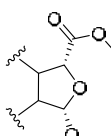
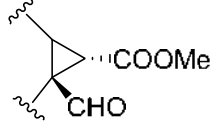
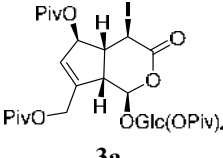
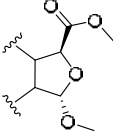
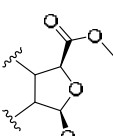
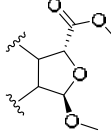
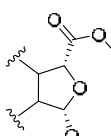
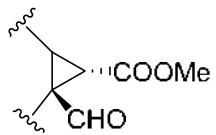
\*Резултатите от метанолиза за **3a** и **9a** са подобни (Таблица 3), затова изследването е проведено само за **3a**.

За екзо-йодолактон **3a** бяха проведени редица различни експерименти. Две температури (стайна температура и -30°C), три органични разтворителя с различна полярност (толуен, THF и CH<sub>3</sub>CN) и две различни съотношения съразтворител/MeOH (1:1 и 10: 1) бяха тествани (Таблица 7).



**Таблица 7.** Ефект на създателител върху алкалната (2.2 екв. K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) метанолиза на екзо- $\alpha$ -йодолактон **3a**. Добив на агликони (**4** + **10b**)  $\approx$ 70%.

Изходен реагент <b>3a</b>	1) Разтворител 2) Отношение разтв./MeOH 3) t, °C 4) Време	Циклопентафуран, % на всеки изомер в сместа 4a-c	Бицикло[3.1.0]хексан % на <b>10b</b> в сместа 4+10b
 <p><b>3a</b></p>	<p>1) Толуен 2) 1:1 3) r.t. 4) 5 мин.</p>	 <p><b>4a</b> 34.2%</p>  <p><b>4b</b> 16.9%</p>  <p><b>4c</b> 40.5%</p>  <p><b>4d</b> 8.3%</p>	 <p><b>10b</b> 7.3%</p>
 <p><b>3a</b></p>	<p>1) Толуен 2) 1:1 3) -30°C 4) 5 мин.</p>	 <p><b>4a</b> 7.5%</p>  <p><b>4b</b> 3.0%</p>  <p><b>4c</b> 77.5%</p>  <p><b>4d</b> 12.0%</p>	 <p><b>10b</b> 4.4%</p>
 <p><b>3a</b></p>	<p>1) THF 2) 1:1 3) r.t. 4) 5 мин.</p>	 <p><b>4a</b> 43.2%</p>  <p><b>4b</b> 27.3%</p>  <p><b>4c</b> 21.6%</p>  <p><b>4d</b> 8.0%</p>	 <p><b>10b</b> 1.2%</p>

 <p><b>3a</b></p>	<p>1) CH<sub>3</sub>CN 2) 1:1 3) r.t. 4) 5 мин.</p>	 <p><b>4a</b> 47.6%</p>  <p><b>4b</b> 20.0%</p>  <p><b>4c</b> 23.7%</p>  <p><b>4d</b> 8.6%</p>	 <p><b>10b</b> 5.6%</p>
 <p><b>3a</b></p>	<p>1) Толуен 2) 10:1 3) r.t. 4) 5 мин.</p>	 <p><b>4a</b> 23.3%</p>  <p><b>4b</b> 9.4%</p>  <p><b>4c</b> 44.6%</p>  <p><b>4d</b> 22.6%</p>	 <p><b>10b</b> 9.2%</p>
 <p><b>3a</b></p>	<p>1) Толуен 2) 10:1 3) -30°C 4) 5 мин.</p>	 <p><b>4a</b> 10.8%</p>  <p><b>4b</b> 4.0%</p>  <p><b>4c</b> 53.0%</p>  <p><b>4d</b> 32.2%</p>	 <p><b>10b</b> 7.3%</p>
 <p><b>3a</b></p>	<p>1) Толуен 2) 1:10 3) r.t. 4) 5 мин.</p>	 <p><b>4a</b> 29.2%</p>  <p><b>4b</b> 17.9%</p>  <p><b>4c</b> 47.2%</p>  <p><b>4d</b> 5.7%</p>	 <p><b>10b</b> 10.0%</p>

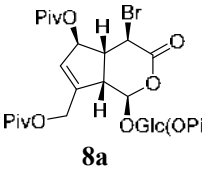
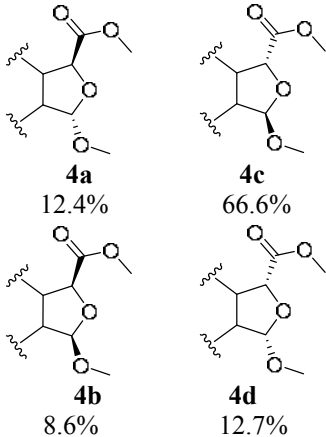
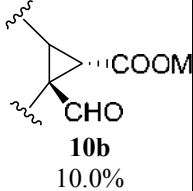
С 1:1 MeOH/толуен, отношението на ендо- срещу екзо-метилестера става благоприятно (>1). Стереоселективността **4a/4b/4c/4d** е 7.5:3:77.5:12 и за **[4c+4d]/[4a+4b]** е 89.5:10.5, когато реакцията протича при -30°C. Когато сместа от разтворители е 1:10 MeOH/толуен при 25°C, селективността **[4c+4d]/[4a+4b]** е 67.2:32.8. При -30°C е значително по-добра - 85.2:14.8. В 10:1 MeOH/толуен при 25°C селективността ендо/екзо намалява. Паралелно, наблюдавахме образуването на страничен продукт на бицикло[3.1.0]хексан, който има най-нисък добив (4.4%) за 1:1 MeOH/толуен при -30°C и най-висок (10%) за 10:1 MeOH/толуен при 25°C. Резултатите с 1:1 MeOH/THF и MeOH/CH<sub>3</sub>CN при 25°C показват по-ниски стереоселективности от толуола като съразтворител. При всички условия добивът остава постоянно около 70% и времето за реакция продължава да бъде много кратко в целия изследван температурен диапазон.

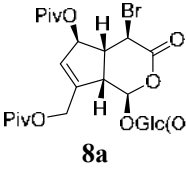
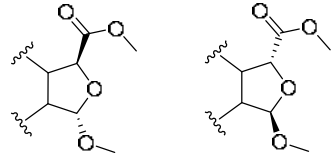
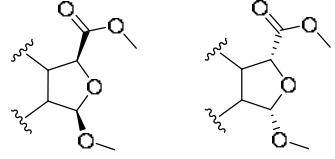
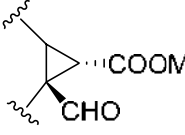
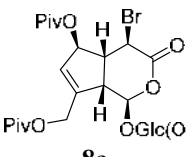
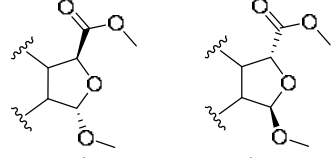
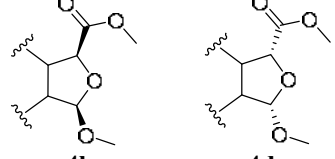
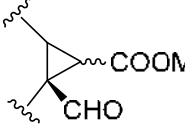
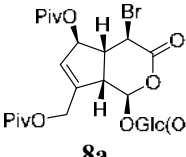
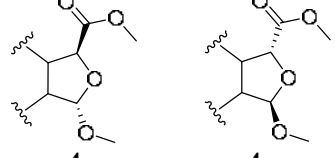
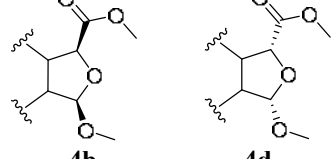
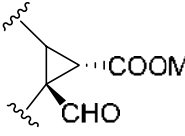
### Бромолактон **8a**

В светлината на резултатите на йодолактон **3a**, беше изследвана метанолизата на екзо-бромолактона **8a** в 1:1 MeOH/толуен и в различни смеси от MeOH с CH<sub>3</sub>CN. Резултатите са представени в Таблица 8. Както и екзо-йодолактон **3a** (Таблица 3), алкалната метанолиза на екзо-бромолактон **8a** в 1:1 MeOH/толуен произвежда повече ендо-естерите **4c** и **4d**, отколкото екзо-естерите **4a** + **4b**. Най-добра селективност **[4c+4d]/[4a+4b]** се наблюдава при метанолиза при -30°C (92.4/7.6). При тези условия, малките количества от изолирания **10b** (3.1%), показват, че получаването на бицикло[3.1.0]хексан като страничен продукт е сведено до минимум.

Беше изследвана ролята на CH<sub>3</sub>CN като съразтворител и открихме по-ниска селективност за смеси 1:5 и 1:1 MeOH/CH<sub>3</sub>CN, при -30°C и при рефлукс. Нагриването благоприятства образуването на бицикло[3.1.0]хексанови продукти **10a** и **10b** (добив 32%). Най-добра селективност **[4c+4d]/[4a+4b]** се наблюдава за метанолиза при -30°C (89.6:10.4).

**Таблица 8.** Алкална (2.2 екв. K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) екзо- $\alpha$ -бромолактон **8a** в различни разтворители. Добив на агликони (**4+10b**)  $\approx$ 70%.

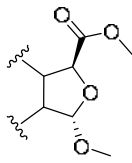
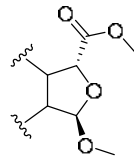
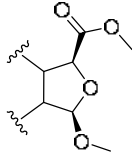
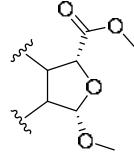
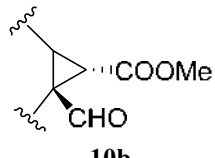
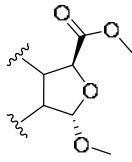
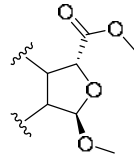
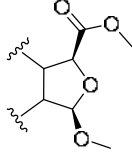
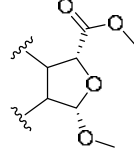
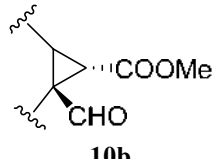
Изходен реагент <b>8a</b>	1) Разтворител 2) Отношение разтв./MeOH 3) t, °C 4) Време	Циклопентафуран, % на всеки изомер в сместа 4a-c	Бицикло[3.1.0]хексан % на <b>10b</b> в сместа 4+10b
 <p><b>8a</b></p>	1) толуен 2) 1:1 3) r.t. 4) 5 мин	 <p><b>4a</b> 12.4%</p> <p><b>4c</b> 66.6%</p> <p><b>4b</b> 8.6%</p> <p><b>4d</b> 12.7%</p>	 <p><b>10b</b> 10.0%</p>

 <p><b>8a</b></p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1) толуен</li> <li>2) 1:1</li> <li>3) -30°C</li> <li>4) 5 мин</li> </ol>	 <p><b>4a</b> 5.0%</p>  <p><b>4b</b> 2.6%</p> <p><b>4c</b> 80.0%</p> <p><b>4d</b> 12.4%</p>	 <p><b>10b</b> 3.1%</p>
 <p><b>8a</b></p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1) CH<sub>3</sub>CN</li> <li>2) 5:1</li> <li>3) рефлукс</li> <li>4) 5 мин</li> </ol>	 <p><b>4a</b> 37.3%</p>  <p><b>4b</b> 16.8%</p> <p><b>4c</b> 27.2%</p> <p><b>4d</b> 18.7%</p>	 <p><b>10</b> 32.1%</p> <p><b>10b/10a</b> 58.3/41.7</p>
 <p><b>8a</b></p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1) CH<sub>3</sub>CN</li> <li>2) 1:1</li> <li>3) -30°C</li> <li>4) 5 мин</li> </ol>	 <p><b>4a</b> 5.8%</p>  <p><b>4b</b> 4.6%</p> <p><b>4c</b> 75.9%</p> <p><b>4d</b> 13.7%</p>	 <p><b>10b</b> 7.8%</p>

### Ефект на базата

Тъй като базата (K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) не е напълно разтворима в реакционната среда, се тестват други такива - Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> и NaHCO<sub>3</sub>, както и добавка от 18-crown-6 (лиганд за K<sup>+</sup>, повишаващ разтворимостта в органични разтворители). Експериментите бяха провеждани с бромолактон **8a** при най-добрите разработени условия (Таблица 9).

**Таблица 9.** Ефект на 2.2 еквивалента от базата върху алкалната метанолиза на екзо- $\alpha$ -халогелактон **8a** в 1:1 MeOH/толуен при 25°C.

База	1) Време 2) Добив	Циклопентафуран, % на всеки изомер в сместа 4a-c	Бицикло[3.1.0]хексан % на 10b в сместа 4+10b
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	1) 5 мин 2) 70%	 <b>4a</b> 15.7%  <b>4c</b> 65.4%  <b>4b</b> 9.0%  <b>4d</b> 9.9%	 <b>10b</b> 20.5%
NaHCO <sub>3</sub>	Няма реакция	-	-
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> + 18-crown-6 (cat.)	1) 5 мин 2) 70%	 <b>4a</b> 13.0%  <b>4c</b> 68.5%  <b>4b</b> 8.9%  <b>4d</b> 9.6%	 <b>10b</b> 11.3%

Бе открито, че NaHCO<sub>3</sub> не индуцира метанолиза на **8a**. Базите K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> и Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> водят до същите реакционни смеси, с подобни добиви. В присъствието на каталитично количество 18-crown-6, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> индуцира метанолиза, но дава същите резултати, както без тази добавка. Проучихме също дали редът на добавяне на реагенти, разтворители и база ще повлияе на резултатите от метанолизата с **8a**. Оказа се че реда на добавяне е без значение за протичане на реакцията.

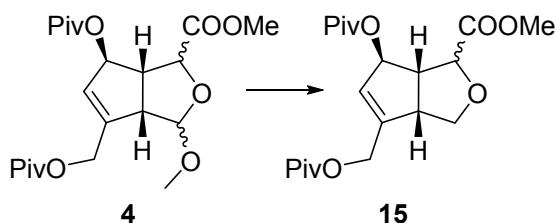
#### Заклучение

Намерени бяха условия за селективен синтез на екзо-метилови естери **4a+4b** от ендо-халогенолактоните (2.2 екв. K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 1:1 MeOH/DCM, стайна температура или -20°C) или ендо-метилови естери **4c+4d** от екзо-бромо-лактон (2.2 екв. K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 1:1 MeOH/толуен, -30°C).

### III. Химична дериватизация на циклопентанофурановите продукти

#### Намаляване на броя на функционалните групи

Както вече беше отбелязано, контракцията на пръстена на получените от аукубин халогенолактони в базични условия дава смес от два или четири изомера, които се оказаха напълно неразделими чрез класическа колонна хроматография върху силикагел. Нашите предишни резултати показват също, че стереохимията на C1 центъра е много добре контролирана по време на прегрупировката в базична среда. Наистина, открихме процедури за получаване на екзо-метилови естери **4a+4b** от ендо-халогенолактони (2.2 екв.  $K_2CO_3$ , MeOH/DCM 1:1,  $-20^\circ C$ ) и ендо-метилови естери **4c+4d** от екзо-бромо-лактон (2.2 екв.  $K_2CO_3$ , 1:1 MeOH/толуен,  $-30^\circ C$ ). Въпреки това, тези смеси са неизползваеми за синтеза на нови лиганди за асиметричен катализ. Необходима е допълнителна модификация на функционалните групи на скелета, за да се получат специфично или изцяло двата (3*R*) и (3*S*) стереоизомери, които лесно се разделят чрез хроматография. Особено обещаваща реакция е селективната редукция, водеща до отстраняване на аномерния кислород:

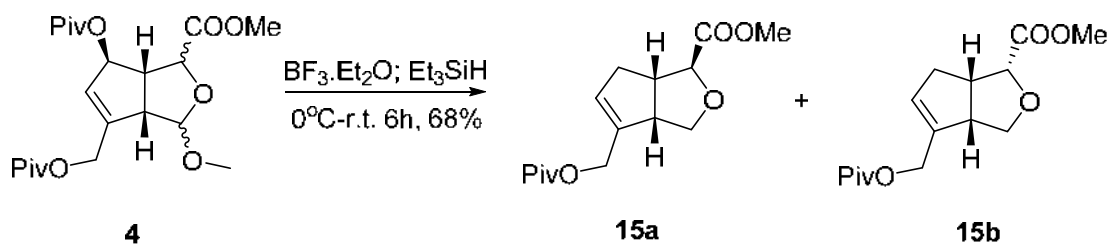


**Схема 5.** Реакция на отстраняване на аномерния кислород

Този подход ни даде две основни ползи:

- Опростяване на структурата, която да реагира по по-предвидим начин при по-нататъшни дериватизации.
- Намаляване на броя на изомерите от 4 до 2 и от 2 до 1, като по този начин се увеличава добивът на всеки отделен изомер.

Успяхме да проведем реакцията, като приложихме литературна методология с  $BF_3 \cdot Et_2O$  и  $Et_3SiH$ :



**Схема 6.** Отстраняване на аномерния кислород с  $BF_3 \cdot Et_2O$ ,  $Et_3SiH$ ,  $0^\circ C$ -r.t., 6 ч., добив 68%

В хода на реакцията се наблюдава загуба на вторичната пивалоилирана хидроксилна група. Делът на всеки изомер зависи от съдържанието на изходната смес, което от своя страна се определя от условията на прегрупировката на халогенолактона. Общият добив на реакцията (двата изомера) е около 70%. Съединение **15a** се получава от сместа **4a-4b**. Диастереоизомерите **15a** и **15b** се получават от сместа **4a-4d**, като съотношението зависи от състава на сместа. Двата диастереомера се разделят успешно чрез колонна хроматография.

### Получаване на лиганди

Получените диастереомерно чисти естери **15a** и **15b** се използват като хирални синтони за производството на лигандни структури, с потенциална употреба за асиметричен катализ. Използвайки реактивите на Гриняр, естерите се трансформират в третични алкохоли с подходящи заместители. Общо, 6 третични алкохола с допълнителна OH група бяха синтезирани (Таблица 10).

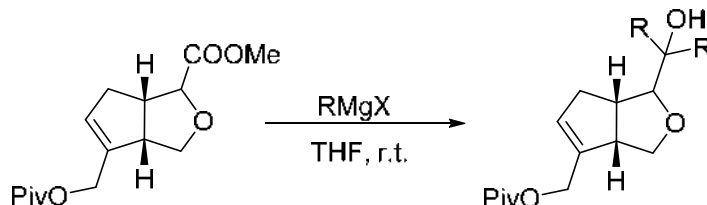


Схема 7. Получаване на третични алкохоли с помощта на Гринярови реактиви

Таблица 10. Получаване на третични алкохоли 16-21

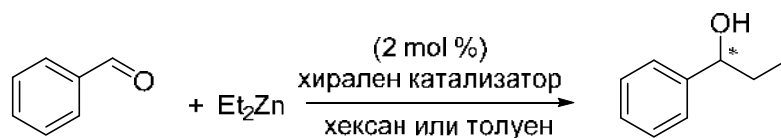
	<p><b>15a</b></p>	<p><b>15b</b></p>
	<p><b>16</b> (85%)</p>	<p><b>17</b> (80%)</p>
	<p><b>18</b> (81%)</p>	<p><b>19</b> (74%)</p>
$\text{CH}_3\text{MgCl}$	<p><b>20</b> (78%)</p>	<p><b>21</b> (72%)</p>

### Тестване на новите синтезирани лиганди в реакцията на асиметрично присъединяване на Et<sub>2</sub>Zn към алдехиди

Новосинтезираните съединения трябваше да бъдат тествани в каталитична реакция. Като се вземе предвид структурата и функционалните групи на лигандите, за моделна каталитична реакция беше избрано асиметричното присъединяване на органоцинкови съединения към алдехиди. Тестът имаше две основни цели:

- Да се определи дали тези нови структури изобщо имат каталитични свойства.
- Да се види дали те могат да постигнат добра асиметрична индукция, т.е. да доведат до получаване на реакционния продукт с висок енантиомерен излишък.

Получените диастереомерно чисти съединения **16-21** имат напълно изяснени структура и конфигурация и дават възможности за различни приложения, както и по-нататъшни химически трансформации. Основната цел на тази работа е приложението на тези съединения като хирални лиганди. Поради тази причина новосинтезираните хидрокси-етери бяха използвани като хирални помощни вещества при реакцията на енантиселективно присъединяване на диетилцинк към бензалдехид (Схема 8).



**Схема 8**

Реакцията на присъединяване се провежда, следвайки процедура, която е приета като стандарт за тестване на ефективността на хиралните лиганди. Хиралният лиганд се прилага в 2 mol%, а Et<sub>2</sub>Zn в количество от 2.0 еквивалента. Изборът на разтворител (хексан или толуен) зависи от разтворимостта на всеки лиганд. Присъединяването на Et<sub>2</sub>Zn се провежда при стайна температура с много високи добиви (до 99%). Времето на реакцията е 72 часа във всички случаи. Продуктът 1-фенил-1-пропанол се изолира и пречиства чрез колонна хроматография и неговият енантиомерен излишък се определя чрез газова хроматография (Таблица 11).

**Таблица 11.**

№	Лиганд	Разтворител	Лиганд (mol %)	Добив на 1-фенил-1-пропанол (%)	ee (%) на 1-фенил-1-пропанол <sup>a</sup>
1.	16	hexane	2.0	97	1.0 ( <i>R</i> )
2.	17	hexane	2.0	95	4.0 ( <i>R</i> )
3.	18	hexane	2.0	97	1.9 ( <i>S</i> )
4.	19	hexane	2.0	97	12.4 ( <i>S</i> )
5.	20	NT	NT	NT	NT
6.	21	toluene	2.0	97	6.7 ( <i>R</i> )

Общата енантиомерна индукция на серията лиганди е ниска (1-12% ee). Трудно е да се интерпретират получените резултати по отношение на степента на енеантоселективност и



особено по отношение на посоката на асиметричната индукция. По аналогия с дискусиите от литературата може да се предложи следното обяснение на експерименталните резултати. Образуването на катализатора е изключително важна стъпка в реакцията на присъединяване и се осъществява чрез протолитична реакция (протолиза на  $\text{Et}_2\text{Zn}$  с **A**, водеща до **B**) (Схема 9). Мономерният алкилцинк-алкокси комплекс **B** е в равновесие с неговия димер **C**. Степента на дисоциация на димера към мономера **B** зависи от стабилността на **C**, която от своя страна зависи от структурата на лиганда. Само мономерът **B** води до образуването на комплекса, който извършва реакцията на присъединяване. Следователно, с лиганди, които образуват относително стабилни димери, степента на дисоциация към реалния катализатор **B** е по-малка, което води до относително по-малко ефективна реакция на присъединяване. Установено е, че димерът **C** може да има различни структури, а този със син-ориентирани алкилови групи е по-стабилен. Тези фактори влияят преди всичко на реактивността на субстрата в реакцията на присъединяване и вероятно са отговорни за продължителното време на реакция. Факторите, влияещи на енантиомерната индукция и нейната "посока" (*R* или *S*-енантиомер), трябва да се търсят в комплекса, образуван *in situ* между **B**,  $\text{R}_2\text{Zn}$  и алдехида, през който се осъществява реакцията на присъединяване. Тук основната роля се играе от хиралния лиганд и е много трудно да се оцени влиянието му от стереохимична гледна точка.

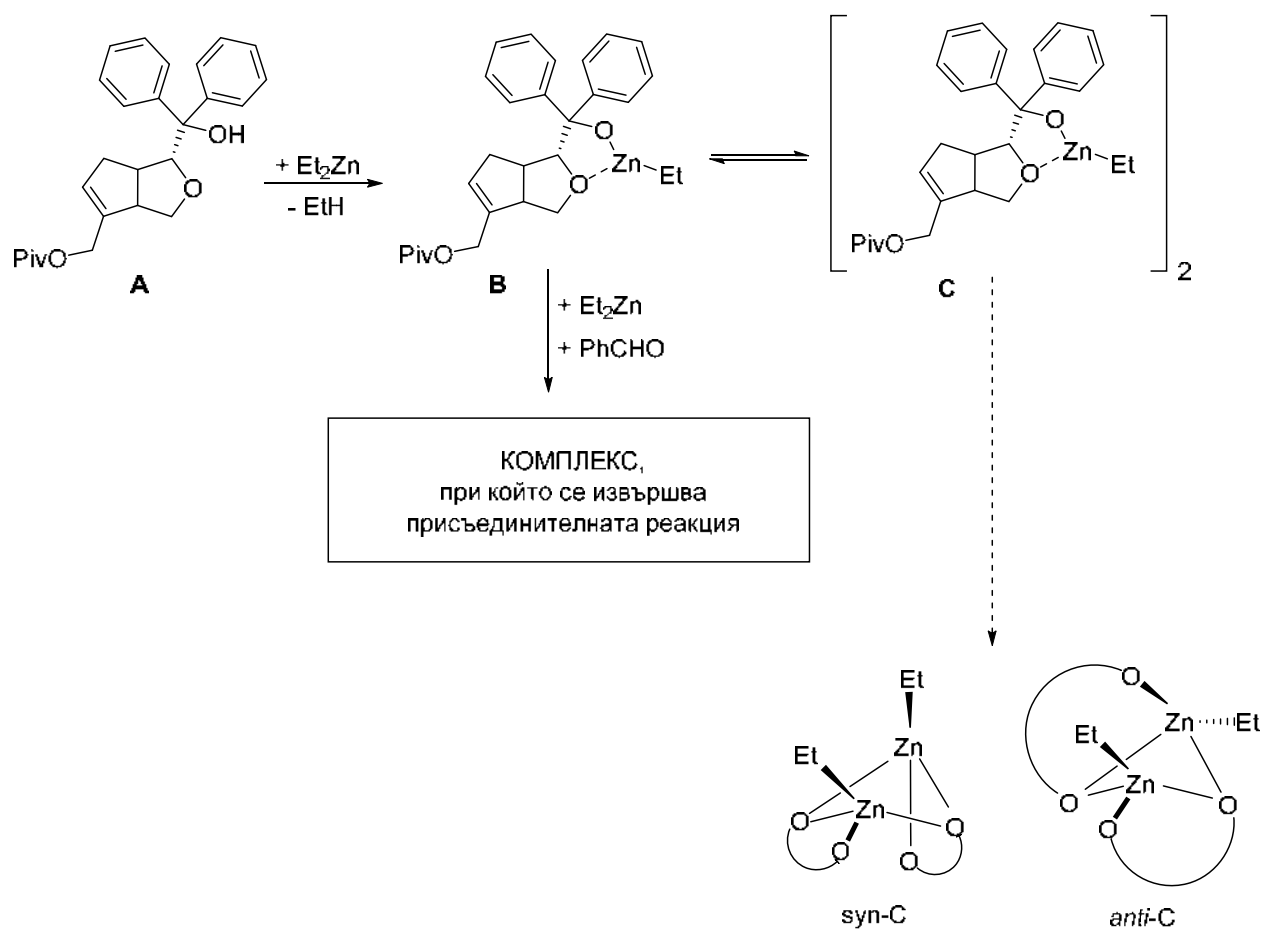


Схема 9

Синтезираните лигандни структури, получени от аукубин, успяха успешно да катализират присъединяването на органоминерни съединения към ароматни алдеhide. Въпреки ниските нива на асиметрична индукция, тези съединения остават потенциално подходящи за каталитични цели. С малки промени в структурата им, въвеждайки различни

хетероатоми (N или S), те могат да увеличат асиметричната си индукция. Също така те могат да бъдат тествани в различни видове каталитични реакции. След като са доказани каталитичните свойства на структурата, получена от аукубин, тя може да бъде доразвита, за да даде ефективни лиганди за асиметричен синтез.

Можем да обобщим резултатите с заключението, че търсенето на ефективни хирални катализатори все още се основава на опита и грешката.

#### **IV. Синтез на нови хирални транс-арилакриламиди с фенханов скелет и изучаване на тяхната *in vitro* антитуберкулозна активност**

##### **Получаване на (E)-арилакрилови киселини**

По-голямата част от необходимите канелени киселини **46-69** бяха получени по метода на Дьобнер, чрез кондензация на маленова киселина със серия от алдехиди **22-45** (в около 0.01 моларна скала), съдържащи разнообразни заместители (Схема 10). За всичките киселини **46-69** съществуват многобройни литературни източници за получаване, като неизменно метода на Дьобнер е един от успешно използваните за целта. Данните показваха, че масовата практика е маленовата киселина да участва с 1 до максимум 1.5 еквивалента спрямо алдехида, което в редица случаи е водело до занижени добиви (50-65% след пречистване). Обичайните реакционни условия за получаване на **46-69** включваха смесването на реагентите при стайна температура и кипене на обратен хладник за период от 2 до 4 часа. Използвано бе минимално количество пиридин (6 мл) и присъствие на каталитични количества пиперидин (3 капки), но маленовата киселина бе винаги в количества 2.5 еквивалента спрямо алдехида. Във всички случаи се наблюдаваха завишени добиви на съответните канелени киселини (70% или повече след пречистването им), като се особено драстично се повиши добива на **67** – от 25% суров продукт по литературни данни до 75% прекристализиран **67**.

Пълното изчерпване на изходните алдехиди за сметка на увеличението на желаните продукти беше удобно проследено с помощта на тънкослойна хроматография (подвижни фази на основата на метиленхлорид/диетилов етер). Както при алдехидите, така и при канелените киселини се постига подвижност и едновременно с това отлично разделяне в такъв тип фази. Реакционната смес се отработва с разредена солна киселина. Получените канелени киселини падат като утайка, която се филтрува и мие с вода. След прекристализация из смес етанол/вода в различни съотношения, киселините **46-69** се изолират в чист кристален вид с много добри до количествени добиви. В никой от случаите не бяха установени странични примеси в крайните продукти (тънкослойна хроматография, <sup>1</sup>H-ЯМР). Една малка част от необходимите киселини (**70-74**) или техни киселинни хлориди (**75-76**) бяха налични като търговски продукти (Схема 11).

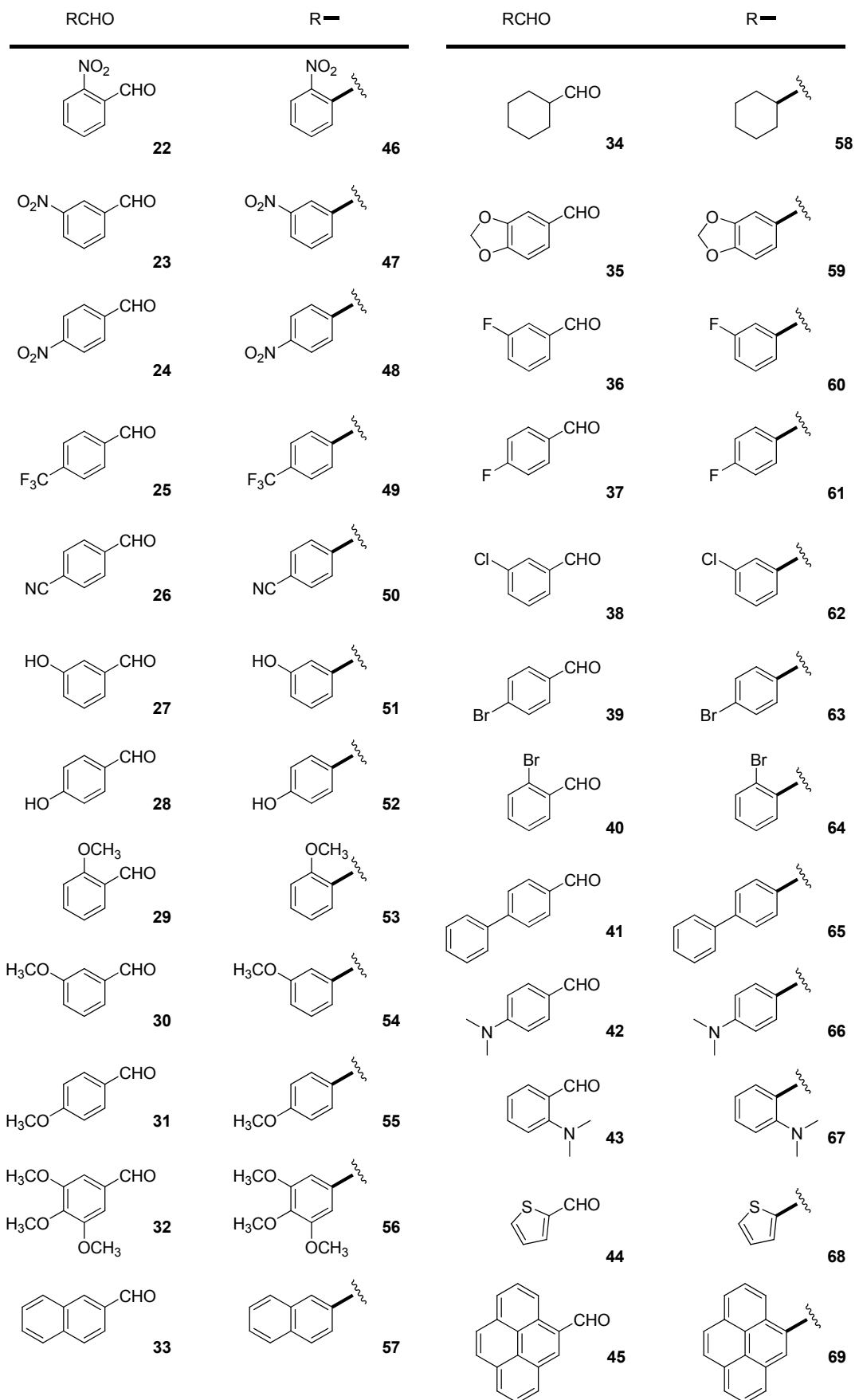
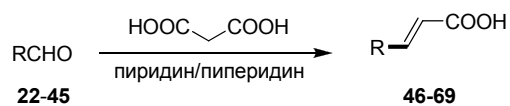


Схема 10

## Търговски киселини и киселинни хлориди:

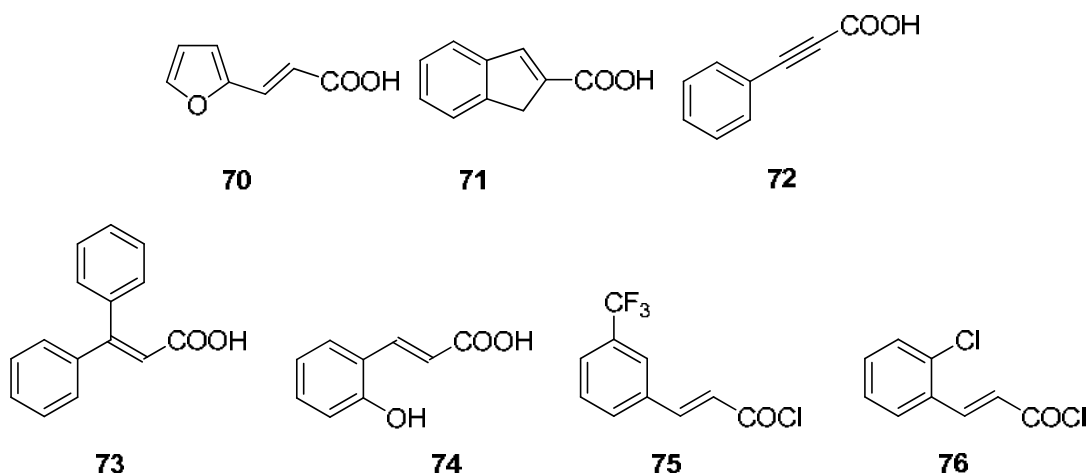


Схема 11

Получаване на *N*-ацилни производни на фенхановия аминокиселин (1*R*,2*R*)-2-(2-аминоетил)-2-хидрокси-1,3,3-триметилбицикло[2.2.1]хептан

Необходимият изходен фенханов аминокиселин **79** бе получен с високи добиви и в диастереоизомерно чист вид в рамките на двустадийн синтез (Схема 12), съгласно литературните данни. Първият стадий включва количественото енантиселективно *ендо*-присъединяване на *in situ* генериран  $\text{LiCH}_2\text{CN}$  към (-)-фенхон (**77**) при  $-78^\circ\text{C}$  без присъствие на безводен  $\text{CeCl}_3$ . След изолирането му в чист вид чрез колонна хроматография, нитрилът **78** бе редуциран количествено до целевия изходен аминокиселин **79**, който бе с необходимата висока чистота (над 98% по ЯМР данни) и бе използван по-нататък без нужда от допълнително пречистване.

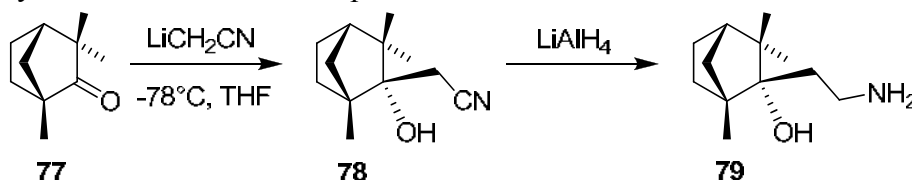
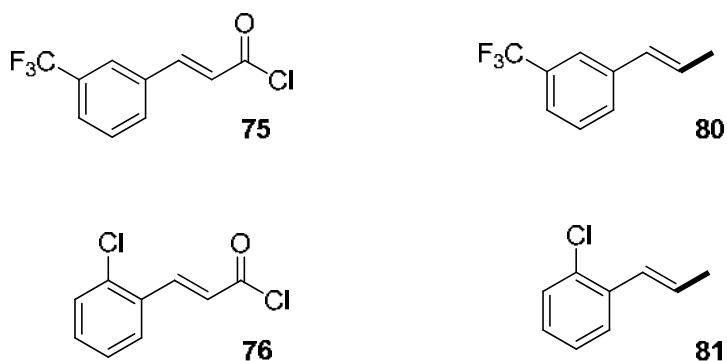
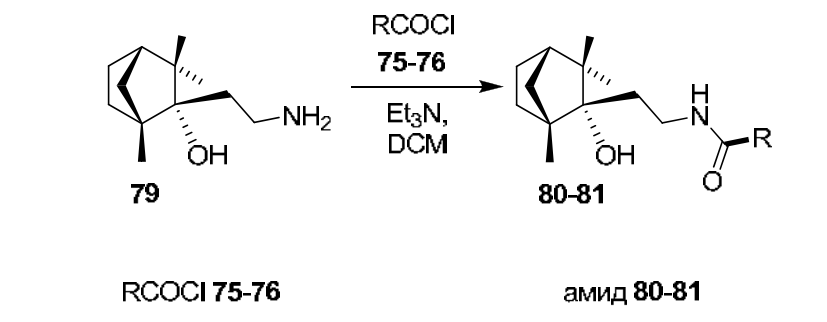


Схема 12

Производните на **79** бяха получени по два основни начина – *N*-ацилиране с участието на киселинни хлориди и реакция между съответните канелени киселини и амина **79**.

Малка част от целевите амиди, а именно съединения **80-81**, бяха получени с участието на киселинните хлориди **75-76**, съответно, по стандартна процедура (Схема 13). Към охладен до  $0^\circ\text{C}$  разтвор на аминокиселина **79** и  $\text{Et}_3\text{N}$  в метиленхлорид (DCM), беше прибавен съответният киселинен хлорид **75-76**, след което реакционната смес беше разбърквана при стайна температура в продължение на няколко часа. Слабият над-стехиометричен излишък на  $\text{Et}_3\text{N}$  (около 1.2 екв.) осигурява необходимите базични условия за пълното протичане на *N*-ацилирането. Реакциите бяха проследени чрез тънкослойна хроматография. След отработване, продуктите **80-81** бяха изолирани в чист вид с високи добиви чрез колонна хроматография.



**Схема 13**

Основната част от целевите амиди **82-110** бяха синтезирани чрез реакция между канелените киселини **46-74** и фенхановия aminoалкохол **79** в присъствието на къплинг-реагент (TBTU), следвайки стандартна процедура (Схема 14). Към разтвор на изходната киселина в сух метиленхлорид при стайна температура се добавя еквивалентно количество TBTU, след това 2.5 еквивалентен излишък на DIPEA и накрая еквивалентно количество от aminoалкохола **79**. Следва разбъркване при стайна температура за няколко часа. Ходът на реакцията се следи с тънкослойна хроматография. След отработване с вода всички получени амиди **82-110** бяха получени в чист вид чрез колонна хроматография. Добивите в повечето случаи бяха високи. Очаквано, единствено при реакциите на хидроксиканелените киселини **51-52** и **74** със **79** бяха наблюдавани занижени добиви на съответните целеви амиди **90-92**, тъй като фенолните хидрокси групи на киселините не бяха предварително защитени. Всички целеви амиди **82-110** бяха напълно охарактеризирани чрез ЯМР спектроскопия (вкл. 2D експерименти), елементарен анализ, точки на топене и мас-спектрометрия. Беше доказана тяхната много висока химична и диастереоизомерна чистота.

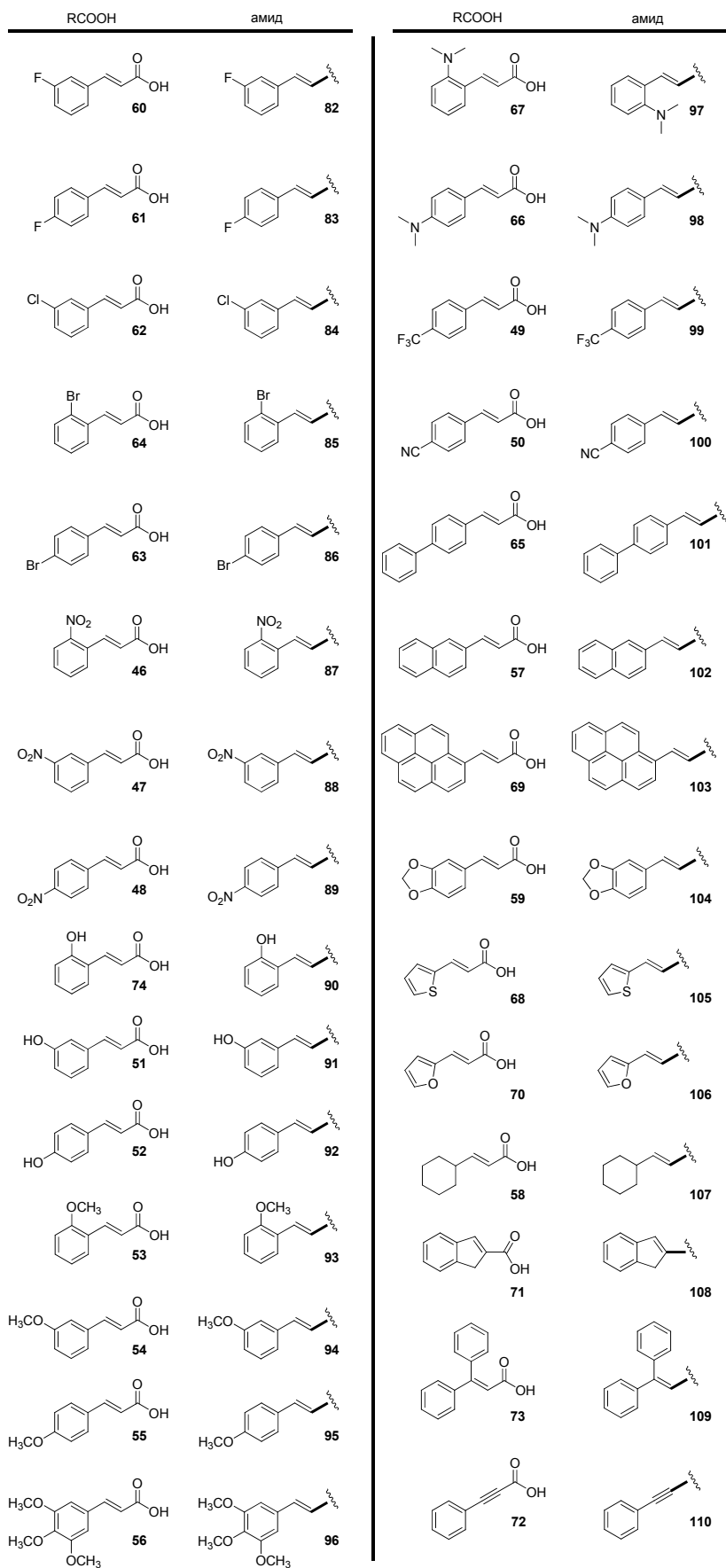
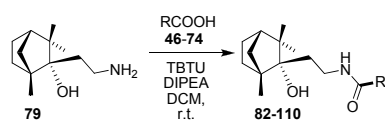


Схема 14

Тестване *in vitro* на новосинтезираните съединения по отношение на действието им спрямо стандартен лабораторен чувствителен щам *Mycobacterium tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv чрез използване метода на *Canetti*

#### Модифициран метод на *Canetti*

Антимикобактериалната активност на новосинтезираните съединения бе определена чрез модифициран вариант на пропорционалния метод на *Canetti*. Той се препоръчва от СЗО за определяне на *in vitro* активността на различни съединения спрямо щамове *Mycobacterium tuberculosis*.

Описание на метода:

Всяко от тестваните вещества е разтворено при съответните концентрации в диметилсулфоксид (DMSO) (разтворител, който се смята за индиферентен спрямо биологични обекти, включително и живи клетки) и се добавя към епруветка съдържаща 5 мл *Löwenstein-Jensen* хранителна среда. След коагулиране на средата при 85°C за 30 минути се добавя суспензия от референтен щам *Mycobacterium tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv (~10<sup>5</sup> бактерии/mL) с последваща инкубация при 37°C за 45 дни. Всяко вещество се тества при пет концентрации – 5, 2, 0.2, 0.1 и 0.05 mg/mL. Приготвя се и контролна епруветка, която не съдържа тествани вещества, както и еталонна епруветка, съдържаща етамбутол дихидрохлорид. Резултатите се отчитат по съотношение на броя прораснали бактериални колонии във всяка от епруветките спрямо броя колонии в контролните епруветки и това съотношение се представя като процент (0% при липса на пораснали колонии и 100% при пълен растеж). Изчислява се минималната инхибираща концентрация (МИК) за всяко тествано вещество, която представлява минималната измерена концентрация на даденото вещество, при която е наблюдавано пълно потискане на растежа на бактерията. В случай че някое вещество покаже 0% растеж дори при концентрация 0.05 mg/mL, тестът с това вещество се повтаря при няколко още по-ниски концентрации, докато се установи неговата МИК. Стойностите за МИК се преизчисляват окончателно в µM за да могат коректно да се сравняват както помежду си, така и спрямо МИК на еталонното вещество, в случая етамбутол дихидрохлорид (ЕМВ). Изборът му не е задължителен, нито следва задължителни правила, но обикновено това е добре известно активно вещество, което има или сравнително близка структура или сходен механизъм на действие в сравнение с изследваните съединения.

#### Резултати от тестването на новосинтезираните съединения 80-110

Резултатите от проведените тестове на съединенията са представени в Таблица 12, като са сравнени с еталонния ЕМВ и аминоксидол **79**.

**Таблица 12. *In vitro* антимикобактериална активност на съединения 80-110 срещу референтен щам *Mycobacterium tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv.**

Съединение	Добив (%)	Активност срещу референтен щам <i>Mycobacterium tuberculosis</i> H <sub>37</sub> Rv, MIC (µg/ml)	Цитотоксичност срещу човешка ембрионална бъбречна клетъчна линия 293T, IC <sub>50</sub> (µg/ml)	Индекс на селективност, SI <sup>a</sup>	LogP <sup>b</sup>
<b>79</b>	-	3.0	NT	NT	-
<b>80</b>	82	7.0	NT	NT	5.10 +/- 0.59
<b>81</b>	71	5.0	NT	NT	4.62 +/- 0.40
<b>82</b>	81	5.0	NT	NT	4.36 +/- 0.49
<b>83</b>	84	4.5	NT	NT	4.25 +/- 0.50
<b>84</b>	78	5.0	NT	NT	4.85 +/- 0.40
<b>85</b>	80	6.0	NT	NT	5.01 +/- 0.44
<b>86</b>	87	>6.0	NT	NT	5.13 +/- 0.53
<b>87</b>	80	2.5	94.2	37.7	3.79 +/- 0.47
<b>88</b>	83	4.0	NT	NT	4.14 +/- 0.40
<b>89</b>	73	6.0	NT	NT	4.02 +/- 0.42
<b>90</b>	34	4.0	NT	NT	4.26 +/- 0.55
<b>91</b>	57	6.0	NT	NT	3.65 +/- 0.40
<b>92</b>	23	4.0	NT	NT	3.70 +/- 0.40
<b>93</b>	87	6.5	NT	NT	4.25 +/- 0.39



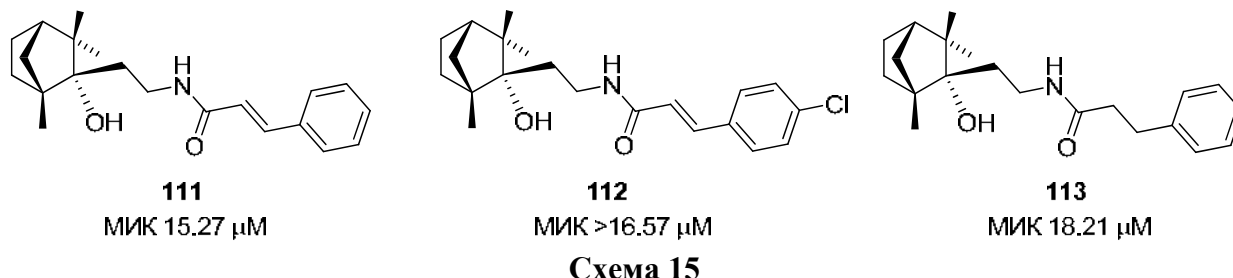
<b>94</b>	92	4.5	NT	NT	4.22 +/- 0.39
<b>95</b>	86	3.5	NT	NT	4.19 +/- 0.39
<b>96</b>	68	1.0	10.9	10.9	3.83 +/- 0.41
<b>97</b>	89	5.0	NT	NT	4.35 +/- 0.40
<b>98</b>	80	0.2	13.4	67.0	4.75 +/- 0.48
<b>99</b>	76	6.0	NT	NT	5.20 +/- 0.59
<b>100</b>	85	4.5	NT	NT	3.81 +/- 0.50
<b>101</b>	80	4.5	NT	NT	6.00 +/- 0.41
<b>102</b>	88	5.0	NT	NT	5.47 +/- 0.39
<b>103</b>	73	4.0	NT	NT	7.19 +/- 0.39
<b>104</b>	80	2.5	11.5	4.6	4.36 +/- 0.48
<b>105</b>	78	5.0	NT	NT	4.06 +/- 0.57
<b>106</b>	96	4.0	NT	NT	3.86 +/- 0.40
<b>107</b>	90	6.0	NT	NT	4.69 +/- 0.34
<b>108</b>	74	5.0	NT	NT	4.67 +/- 0.39
<b>109</b>	82	5.0	NT	NT	6.40 +/- 0.75
<b>110</b>	51	5.0	NT	NT	5.35 +/- 0.60
<b>EMB.2HCl</b>	-	2.0	NT	NT	0.06 <sup>d</sup>

<sup>a</sup> индекс на селективност:  $SI = IC_{50}/MIC$ ; NT – not tested/calculated

<sup>b</sup>  $LogP$ , изчислен с ACDLabs/ChemSketch 2012 (www.acdlabs.com).

<sup>d</sup> Log*P* of ethambutol dihydrochloride (EMB.2HCl), известен от литературата: N.R. Budha, R.E. Lee and B. Meibohm, Curr. Med. Chem. 15 (2008) 809.

Преди обсъждането на тестването на новосинтезираните съединения, е интересно да се отбележи защо бяха избрани именно те. В рамките на успешно защитена дипломна работа през 2012 г. бяха синтезирани серии от други амиди на аминокиселините **79**, като сред тях бяха и три производни на канелената киселина **111-113** (Схема 15).



Въпреки че бяха над 2 пъти по-слабо активни от референтния етамбутол, тези съединения бяха избрани като отправна точка за настоящата дипломна работа поради факта, че съществуват удобни синтетични пътища за разнообразно вариране на ацилния остатък на канелената киселина и съответно получаване на голям брой производни. Направените впоследствие изследвания показаха подобна активност и на самия аминокиселин **79** (Таблица 12). По този начин се откри възможността детайлно да се изследва доколко активността на съединенията зависи от промени в остатъка на канелената киселина, т.е да се търси връзката структура-активност при по-голям брой структурно близки съединения – производни на основното активно вещество **79**.

За цялата серия **80-110** е характерно запазването на относително добро „фоновото“ ниво на анти tubеркулозна активност, която за повечето съединения се движи в рамките на 30 до 70 % от активността на етамбутола (съответно 80-140% от тази на **79**). Варирането на разнообразни заместители и техните позиции в ароматните ядра, както и заместването с хетероциклени или кондензирани ароматни ядра в повечето случаи не променя особено тази тенденция. Замяната на двойната с тройна и проста връзка (**110** и **113** съответно), циклоhexанов вместо фенилов пръстен (**107**), допълнителен фенилов заместител при двойната C=C връзка в β-позиция (**109**), както и допълнителна циклизация (**108**) също не се отразяват особено на активността. Сред общата поредица се отличават съединения **87**, **96**, **98**, **103** и **104**. Най-активният амид **98** показва много ниска МИК (0.54 μM). Интересното е, че активността на неговия *орто*-изомер **97** е в рамките на „фоновото“ ниво. Показаната умерена активност на алкокси производните **96** и **104** е по-висока в сравнение с тази на техните моно метокси аналози **93-95**. Аналогично, *орто*-нитропроизводното **87** се отличава с по-високата си активност от неговите *мета*- и *пара*-изомери **88** и **89**, съответно. Добрите данни за пиреновия аналог **103** е възможно да се дължат и на повишената му липофилност.

Въз основа на горепосочените резултати може да се направят някои изводи за връзката структура-активност, наблюдавана при настоящата серия съединения:

- остатък на **79** най-вероятно е основен носител на анти tubеркулозната активност;
- всеки *N*-ацилен заместител при **79**, съдържащ фрагменти-аналози на канелената киселина, сам по себе си не е отговорен за проявяването на анти tubеркулозна активност (напр. **107-110** и **113** не съдържат цинамоилов фрагмент, но запазват характерната за серията „фоновата“ активност);

- в отделни случаи някои О- и N-съдържащи заместители в ароматното ядро на остатъка на канелената киселина може да повишат силно активността при съответните производни на **79** (съединения **87**, **96**, **98** и **104**);
- наличието на  $\text{CF}_3$  или халоген в ароматното ядро на остатъка на канелената киселина не влияе съществено на активността, в сравнение с незаместения амид **111**;
- влиянието на кондензирани ароматни аналози на цинамамидите се нуждае от по-нататъшно проучване (**103** е относително активен, но **102** е в рамките на „фона“);
- чрез съединения **96** и **104** се потвърждават някои литературните данни, в които разнообразни ароматни алкокси- и полиалкокси-производни имат повишена антитуберкуозна активност спрямо техни хидрокси или други аналози.

В заключение, от изследваната поредица вещества могат да се отличат 5 съединения, подходящи за водещи структури - **87**, **96**, **98**, **103** и **104**. Бъдещи вариации на разнообразни алкокси- и диалкиламино- заместители в ароматните ядра на канелените производни на **79** могат да бъдат перспективни с оглед получаването на още по-активни структури. С оглед на това че **79** вероятно е основен носител на антитуберкуозната активност, получаването и на по-широки кръгове от негови производни може да бъде от голям интерес.

## V. Синтез на фeroценилметилден и арилиден-заместени камфорови производни с потенциално противораково действие

Фероценовият фрагмент е широко използван при проектирането на съединения с антитуморна активност. Доказано е, че свързването на фероцен с биомолекули и природни продукти е много ефективна стратегия.

На базата на тези познания и на предишни резултати в нашата група беше произведена серия от нови хирални съединения, получени от (1*R*)-(+)-камфор и (1*S*)-(+)-10-камфор сулфонамид, носещ арилиденови и фeroценилметилиденови остатъци и тяхната цитотоксична активност срещу човешки ракови клетъчни линии беше оценена.

В рамките на настоящата дисертация бяха синтезирани четири съединения (**114** и **115-117**) като част от по-широкото изследване, посветено на противораковата активност на фeroценилметилден и арилиден-заместени съединения с камфенов скелет.

Четири съединения, синтезирани като част от настоящата дисертация, играят специфична роля в по-голямата серия от деривати на камфена. Три от тях (**115-117**) са предназначени да тестват значимостта на фeroцениловата част за противораковата активност, тъй като те имат арилов, а не фeroценилов заместител в камфеновия скелет. Целта на четвъртото съединение (**114**) е да свърже две камфенови скелета с една фeroценилова част.

### Синтез на фeroценилметилиденово производно **114** и арилиденови производни **115-117** от (1*S*)-(+)-10-камфор сулфонамид

Всички съединения от серията са получени чрез литературна синтетична процедура. Кондензацията на Клайзен–Шмидт в алфа-положение по отношение на карбонилните групи е извършена при кипене на толуен с еквимоларни количества от ароматни алдехиди 1,1'-фeroцендикарбоксалдехид (**118**), бензалдехид (**119**), 3,4,5-триметоксибензалдехид (**120**), 2-тиофенкарбоксалдехид (**121**) и съответните S-камфор сулфонамидни производни кетони (1*S*)-(+)-N,N-диметил-10-камфорсулфонамид (**122**) и (1*S*)-(+)-N-(*трет*-бутил) камфорсулфонамид (**123**), синтезиран преди това, използвайки стандартна процедура (Схеми 16 и 17). Присъствието на KOH и каталитични количества от 18-crown-6 поддържа базичните условия, необходими за тази реакция. Интересно е, че само *E*-изомерите на арилиденовите съединения са изолирани като единствени продукти (доказано чрез <sup>1</sup>H NMR) Тази стереохимия се очаква, тъй като реакцията на (+) - камфор с други ароматни алдехиди е добре описана и следва същия път. Отсъствието на *Z*-изомери се дължи на пространственото пречене между фeroценовата част и скелета на камфена.

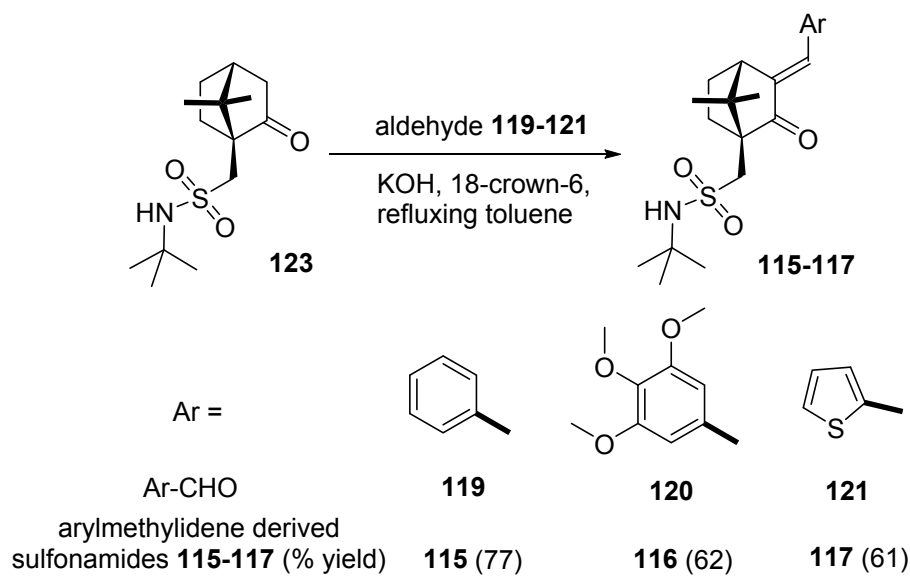


Схема 16

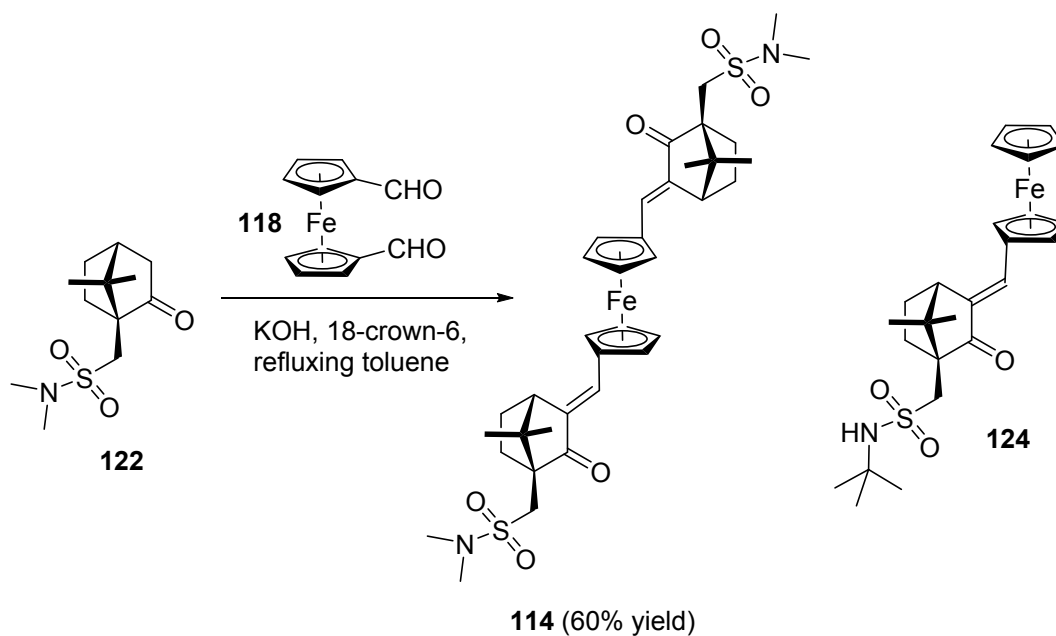


Схема 17

### In vitro цитотоксичност

Цитотоксичните и цитостатичните активности на новосинтезираните камфорни сулфонамиди бяха тествани върху голям набор от ракови и нормални човешки клетъчни линии (Таблица 13). Клетките се инкубират със седем концентрации на всяко от изпитваните съединения в серийни разреждания, вариращи от 0.01  $\mu\text{M}$  до 300  $\mu\text{M}$  в продължение на три дни, и клетъчната жизнеспособност се определя с помощта на МТТ тест.

Клетъчна линия	Тъканен произход	Хистологичен тип	Хранителна среда
BV-173	Прекурсор на В-клетки	Левкемия	80% RPMI 1640 + 20% FBS
K-256a	Костен мозък	Левкемия	90% RPMI 1640 + 10% FBS
NB-4	Остър промиелоцит	Левкемия	90% RPMI 1640 + 10% FBS
A549	Бял дроб	Аденокарцинома	F12/K + 10% FBS
H1299	Бял дроб, метастатичен сайт	Аденокарцинома	90% RPMI 1640 + 10% FBS
MCF-7	Млечни жлези, гърди; метастатичен сайт	Аденокарцинома	90% DMEM + 10% FBS
MDA-MB231	Млечни жлези, гърди; метастатичен сайт	Аденокарцинома	90% RPMI 1640 + 10% FBS
HEK293	Ембрионален бъбрек	Епител	90% DMEM + 10% FBS
HUVEC	Пъпнален съдов ендотел	Ендотел	EGM <sup>TM</sup> -Plus Growth Media-LONZA

**Таблица 13.**

За съжаление, съединения **114**, **115** и **116** показват много ниска разтворимост в DMSO и така се използва алтернативен разтворител като ацетон. Тъй като резултатите от тези тестове не са възпроизводими, данните, получени от тях, не могат да бъдат използвани за правилна оценка на противораковата активност на тези съединения и не са взети под внимание. Това ни остави с много ограничена възможност за тълкуване, тъй като само съединение **117** дава използваеми резултати.

Имаше само един начин да се интерпретира съществуващата информация и да се позиционират съединенията, синтезирани в настоящата дисертация в по-широкия контекст на цялата серия от камфорни производни. За да се сравни активността на **117** с неговия пряк фероценилов аналог **124**, синтезиран преди това, като се използва стандартна процедура.

Резултатите за активността на двете съединения са показани в Таблица 14:

**Таблица 14:** Цитотоксичност на съединенията, тествани върху набор от различни клетъчни линии (IC<sub>50</sub> стойности, представени в µM; NT - не тествани)

Compound	BV-173	K-256a	NB-4	A549	H1299	MCF-7	MDA-MB231	HEK293	HUVEC
<b>117</b>	5.9	12.5	4.0	13.7	52	14.2	56	68	69
<b>124</b>	NT	NT	NT	52	38	28	34	41	37

Както можем да видим, резултатите са двусмислени. Фероцениловото производно **124** показва значително по-висока активност срещу клетъчни линии A549 и MCF-7, докато тиофениловият аналог **117** е малко по-активен при H1299 и MDA-MB231 клетъчни линии.

Сулфонамидът, съдържащ фeroцен, също е значително по-малко токсичен за нормалните клетъчни линии HEK293 и HUVEC, отколкото неговия тиофенилов аналог.

Поради недостатъчни експериментални данни не може да се направи изчерпателно сравнение между производните на арилиден и фeroценилметилиден, така че не може да се установи значението на фeroцена и арилиденовата част за противораковата активност.

## ИЗВОДИ:

- Естествените иридоиди са достъпни и диастереоизомерно чисти. Първоначалната цел на тази работа беше да се намерят ефективни пътища за превръщане на аукубин в библиотека от нови енантиомерно чисти лиганди за приложение в асиметричния катализ. Търсенето започва с прилагането на последователност от реакции, представени първо от *Cachet* и сътрудници, която позволява освобождаването на агликон на аукубин и неговото превръщане в смеси от (1*R*,5*S*,8*R*)-4-алкокси-6-пивалоиоксиметил, 8-пивалоилокси-3-оксабицикло][3.3.0]ес-6-ен-1-карбоксилни естери, образуват се 4-те възможни 2,4-диастереоизомери. Първо, търсихме реакционни условия, които биха довели до получаването на един от тези стереоизомери по-селективно. Прилагайки след това последователност от катионно редуциране на ацеталната част при С (4) и двойно присъединяване на реактиви на Гриняр към карбоксилния естер, са получени шест нови диастереоизомерно чисти третични алкохола и техният потенциал като хирални лиганди при присъединяване на диетилцин към бензалдехид са проучени. Въпреки че нашите предварителни резултати относно асиметричната индукция са посредствени, нашите изследвания позволяват да се ограничи броят на механизичните начини за образуване на (1*R*,5*S*,8*R*)-4-алкокси-6-пивалоиоксиметил, 8-пивалоилокси-3-оксабицикло][3.3.0]ес-6-ен-1-карбоксилни естери: те предлагат нови алтернативи за оползотворяване на аукубин.
- Достъпният натурален продукт (-)-фенхон се използва като изходен материал за лесен синтез на 31 нови диастереоизомерно чисти производни, носещи остатък от канелена киселина. Всички новосинтезирани съединения бяха оценени за тяхната *in vitro* активност срещу *Mycobacterium tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv. Серията като цяло демонстрира значителна противотуберкуозна активност, като 4 съединения достигат или надвишават силата на референтния етамбутол.
- Беше синтезирана серия от 4 нови арилиден и фeroценил-заместени производни на (+)-камфор. Изследвани бяха техните цитотоксични и цитостатични свойства срещу голям набор от ракови и нормални човешки клетъчни линии.



## НАУЧНИ ТРУДОВЕ:

Публикации в чуждестранни научни списания/тематичен сборник или в наше научно списание с международен статут:

- Kamenova-Nacheva, M., Schroder, M., Pasheva, E., **Slavchev, I.**, Dimitrov, V., Momekov, G., Nikolova, R., Shivachev, B., Ugrinova, I., Dobrikov, G. M. Synthesis of ferrocenylmethylidene and arylidene substituted camphane based compounds as potential anticancer agents. *New Journal of Chemistry*, 41, 17, The Royal Society of Chemistry's, 2017, ISSN:1369-9261, DOI:10.1039/c7nj00619e, 9103-9112. ISI IF:3.269 **ISI IF – Q1**
- **Slavchev, I.**, Dobrikov, G.M., Valcheva, V., Ugrinova, I., Pasheva, E., Dimitrov, V. Antimycobacterial activity generated by the amide coupling of (-)-fenchone derived aminoalcohol with cinnamic acids and analogues. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 24, 21, Elsevier, 2014, ISSN:0960894X, DOI:10.1016/j.bmcl.2014.09.021, 5030-5033. SJR:0.821, ISI IF:2.42 **ISI IF - Q2**

## ЦИТАТИ:

Публикация:

**Slavchev, I.**, Dobrikov, G.M., Valcheva, V., Ugrinova, I., Pasheva, E., Dimitrov, V. Antimycobacterial activity generated by the amide coupling of (-)-fenchone derived aminoalcohol with cinnamic acids and analogues. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 24, 21, Elsevier, 2014

Цитирана от:

- Nuutinen, T., Medicinal properties of terpenes found in *Cannabis sativa* and *Humulus lupulus*, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2018, Volume 157, Pages 198-228.
- Guzman J.D., Natural cinnamic acids, synthetic derivatives and hybrids with antimicrobial activity, *Molecules*, 2014, Volume 19, Pages 19292-19349.

## УЧАСТИЕ В НАУЧНИ ПРОЯВИ:

1. **Ivaylo Slavchev**, Georgi M. Dobrikov, Mariana Kamenova-Nacheva, Iva Ugrinova, Ivan Stoykov, Vladimir Dimitrov. Anticancer activity of new ferrocenylidene derivatives of (+)-camphor sulfonamides. Юбилейна научна конференция по случай 55 годишнина от създаването на Института по молекулярна биология, София, България
2. Georgi M. Dobrikov, Vladimir Dimitrov, Yana Nikolova, **Ivaylo Slavchev**, Zhanina Petkova. Antimycobacterial activity of small molecules generated by synthetic transformations of natural products. COST Action CM1407 - Challenging organic syntheses inspired by nature - from natural products chemistry to drug discovery, Rome, Italy.
3. **Ivaylo Slavchev**, Georgi M. Dobrikov, Vladimir Dimitrov, Violeta Valcheva, Iva Ugrinova, Evdokia Pasheva. Antimycobacterial activity generated by the amide coupling of (-)-fenchone derived aminoalcohol with cinnamic acids and analogues. 2nd International conference on natural products utilization: from plants to pharmacy shelf, Пловдив, България.
4. Mariana Kamenova-Nacheva, Yana Nikolova, Iva Ugrinova, Ivan Stoykov, Evdokia Pasheva, **Ivaylo Slavchev**, Vladimir Dimitrov, George Momekov, Georgi M. Dobrikov. Synthesis of ferrocenylmethylidene and arylidene substituted camphane-based compounds as potential anticancer agents. The First Training School of COST Action CM1407 - In vitro evaluation of compounds with anticancer potential, Belgrade, Serbia.
5. Mariana Kamenova-Nacheva, Yana Nikolova, Iva Ugrinova, Ivan Stoykov, Evdokia Pasheva, **Ivaylo Slavchev**, Vladimir Dimitrov, George Momekov, Georgi M. Dobrikov. Synthesis of ferrocenylmethylidene and arylidene substituted camphane-based compounds as potential anticancer agents. 22 International Conference on Organometallic Chemistry, Amsterdam, Netherlands.
6. Mariana Kamenova-Nacheva, Maria Schröder, Iva Ugrinova, Ivan Stoykov, Evdokia Pasheva, **Ivaylo Slavchev**, Vladimir Dimitrov, George Momekov, Georgi M. Dobrikov. Synthesis of camphane-based compounds as potential anticancer agents. 3rd International Conference on Natural Products Utilization: from Plant to Pharmacy Shelf, Банско, България.
7. Mariana Kamenova-Nacheva, B. Shivachev, R. Nikolova, **I. Slavchev**, V. Dimitrov, G. M. Dobrikov. Synthesis And X-Ray Crystallographic Studies Of Ferrocenylmethylidene And Arylidene Substituted Camphane Based Compounds. VIIth National Crystallographic Symposium with International Participation, Sofia, Bulgaria.