



Мариана Георгиева Каменова-Начева

**Полифункционални аминоклкохоли и техни аналози –  
синтез, абсолютна конфигурация и приложение**

**АВТОРЕФЕРАТ**

за получаване на образователна и научната степен „доктор“

Научна специалност: Органична химия, шифър 01.05.03

Научни ръководители: проф. дн Владимир Димитров

Научен консултант: доц. д-р Георги Добриков

София, 2016 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

Дисертационният труд е обсъден и насочен за защита от колоквиума „Строеж и реакционна способност на органичните съединения и органичния синтез“ при ИОХЦФ-БАН от 21.06.2016 г.

Дисертационният труд е изложен на 159 страници, включва 12 таблици, 10 фигури и 60 схеми. Библиографията обхваща 234 литературни източника. Резултатите са отразени в 4 научни публикации и са представени на 9 научни форума.

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

Защитата на дисертационния труд ще се проведе на 27.09.2016 г. от 14 часа в зала 111 „Акад. Г. Бончев“, 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

## 1. ВЪВЕДЕНИЕ

Сред съвременното разнообразие от лекарствени средства все повече се обръща внимание на хиралните съединения и на тяхната енантиомерна чистота. Понастоящем броят на лекарствените препарати с един или повече хирални центъра непрекъснато нараства. През 1984 година *Simonyi*<sup>1</sup>, изучавайки шведско ръководство за клинични лекарствени средства за практикуващи лекари, отчита, че от посочените 666 лекарства, 355 (53%) имат най-малко един център на хиралност, от тях 181 (27%) лекарствени средства се използват като единични енантиомери, докато останалите 174 (26%) са рацемични смеси. През 1987 година *Ariens* и *Wuis*<sup>2</sup> правят оценка на пазара на лекарства и установяват, че 57% от тях са хирални (включени са всички хирални съединения – единични енантиомери или смеси от стереоизомери). Те посочват, че 55% от хиралните лекарствени субстанции се използват в рацемична форма, а останалите като чисти енантиомери.

През 1992 година Американската администрация за храни и лекарства (*US Food & Drug Administration, FDA*) публикува правила за стереоизомерните лекарствени форми<sup>3</sup>. Според тези правила, FDA може да издава разрешителни за продажба на рацемични хирални лекарства, но енантиомерите на тези съединения е необходимо да са фармакологично и токсикологично охарактеризирани. Причината за създаването на правилата е в самата природа на енантиомерите на едно хирално съединение – единият енантиомер може да е токсичен или неактивен, а другия полезен и с терапевтично приложение. В индустриален мащаб, финансовият ресурс необходим за разделяне и фармакологично охарактеризиране на рацемати е висок, което довежда до промяна на подхода от страна на фармацевтичните фирми. В последните години все по-успешно и икономически изгодно е директния синтез на енантиомерно и диастереоизомерно чисти форми на хиралните лекарствени средства, като решаващо значение има използването на асиметрични методи на синтез.

В съвременната лекарствена химия в синтетичен аспект интензивно се разработват следните стереоселективни реакции: асиметрично хидриране, асиметрична изомеризация, асиметрична редукция, асиметрични алдолни реакции, асиметрично епоксидиране, асиметрично дихидроксилиране.

Наред с изброените по-горе асиметрични трансформации с особен интерес се ползват енантиоселективните нуклеофилни присъединителни реакции към карбонилни съединения (алдехиди и кетони). Докато присъединяването на нуклеофили към кетони е

свързано със специфични проблеми, произлизащи от по-ниската реактивоспособност на карбонилната група, то присъединяването към алдехиди протича доста по-лесно и е добре изучено. Получените при това хирални вторични алкохоли са ценни интермедиати в асиметричния органичния синтез и особено във фармацевтичната промишленост.<sup>4,5</sup> От тях могат да се получат други хирални съединения, например халогено-, тио- и фосфинови производни, амини, етери, естери, хетероцикли и др.

Един от най-интересните варианти за асиметрично присъединяване на органометални нуклеофилни реагенти е реакцията на диалкил цинкови съединения с алдехиди. През последните две десетилетия, чрез подходящи комбинации на органоцинкови реагенти и хирални спомагателни вещества е постигнато значително многообразие от високоселективни реакции на нуклеофилно присъединяване към карбонилни съединения,<sup>6,7,8,9,10,11</sup> в частност алдехиди. Прилагането на органоцинкови съединения с функционални групи в органичния остатък придава особено голяма перспективност на този тип реакции, с възможности за синтез на сложни, полифункционални органични съединения<sup>12</sup>. Актуалността на изследванията представящи синтеза на нови хирални лиганди и приложението им в реакции, подпомогнати от метал-съдържащи катализатори, са обект на множество публикации и обзорни статии.<sup>6,11,13</sup> В тази тематична област са насочени синтетичните усилия представени в настоящия дисертационен труд.

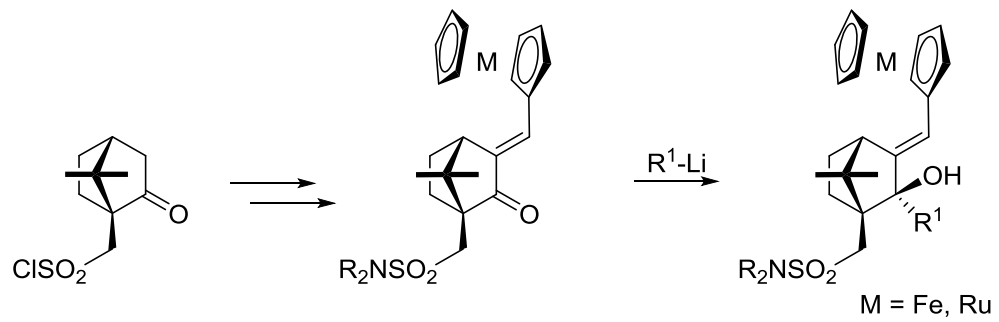
## 2. ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ

Основните цели, планирани за осъществяване в настоящия дисертационен труд са част от научната тематика на групата на *Димитров*,<sup>14-26</sup> а именно - получаване на нови хирални съединения с приложение в асиметричния синтез. Усилията в тази област са насочени към синтеза на хирални аминокиселини, които могат да се използват като лиганди за енантиселективни процеси. В рамките на тези изследвания, е показано, че хиралните терпенови кетони (+)-камфор, (-)-фенхон и (-)-ментон са подходящи като източници на хиралност за получаване на разнообразно заместени аминокиселини. Синтезираните до сега аминокиселини са приложени като лиганди за енантиселективно присъединяване на  $\text{Et}_2\text{Zn}$  към алдехиди, като в редица случаи е постигната енантиселективност по-добра от 90%.

В продължение на тази тематика основната цел на настоящия дисертационен труд е да се осъществи синтезът на нови аминокиселини и техни аналози.

Като се има предвид по-горе изложеното, конкретните задачи, които си поставихме в рамките на този дисертационен труд, са следните:

- Синтез на хирални аминокиселини и техни аналози чрез използване като източник на хиралност на лесно достъпния камфоров аналог - камфор-10-сулфонилхлорид. Планираната синтетична стратегия включва получаването на камфор-10-сулфонамид, който е подходящ за следващи трансформации.
- Синтез на камфор-10-сулфонамиди с подходящи заместители в 3-та позиция на бицикличния скелет, което да осигури допълнително стерично запречване на карбонилната група. Като подходящ вариант за осъществяване на такова заместване е генерирането на енолат от камфоровия аналог и последваща реакция с алдехид. Планирани са реакции с металоценови (желязо и рутений съдържащи) алдехиди (Схема 2-1).
- Камфор-10-сулфонамиди, функционализирани в 3-та позиция на бицикличния скелет, са подходящи изходни съединения за осъществяване на присъединителни реакции на нуклеофилни реагенти. Планирано е присъединяването на редица функционализирани органолитиеви реагенти към карбонилния въглерод, чрез което е възможно директно получаване на аминокиселини, както и техни аналози (Схема 2-1).



**Схема 2-1**

- Изучаване на стереохимията на присъединителните реакции на функционализирани органолитиеви съединения към прохиралния карбонилен въглероден атом.
- Оценка на новосинтезираните хирални аминокалкохоли и техните аналози като лиганди в моделната реакция за енантиселективно присъединяване на диетилцинк към алдехиди.

## 4.1 Синтез и приложение на нови хирални лиганди за присъединяване на диетилцинкови съединения към алдехиди

### 4.1.1 Получаване на 3-фероценилметилен-камфор-10-сулфонамиди като изходни съединения за синтез на нови лиганди

Като продължение на експерименти и резултати, постигнати в лабораторията, в която е изработена настоящата дисертационна работа, се насочихме към синтеза на нови аналози на 3-фероценилметилен-камфанови производни.<sup>27</sup> Някои от вече получените съединения от този тип показват висока енантиселективност при присъединяване на диетилцинк към бензалдехид (до 96% ee). Поради това синтетичната концепция за получаване на аминокалкохоли и техни аналози с включен в структурата 3-фероценилметилен-камфанов скелет беше мотивирана и оправдана. Като изходни съединения за планираните синтези беше необходимо да се получат камфор-10-сулфонамиди от търговския продукт (+)-камфор-10-сулfoxлорид **4-1**, производно на природния терпеноиден кетон (+)-камфор. Трансформирането му в сулфонамид **4-2** чрез реакция с диметиламини се провежда по разработена от нас процедура (Схема 4-1).

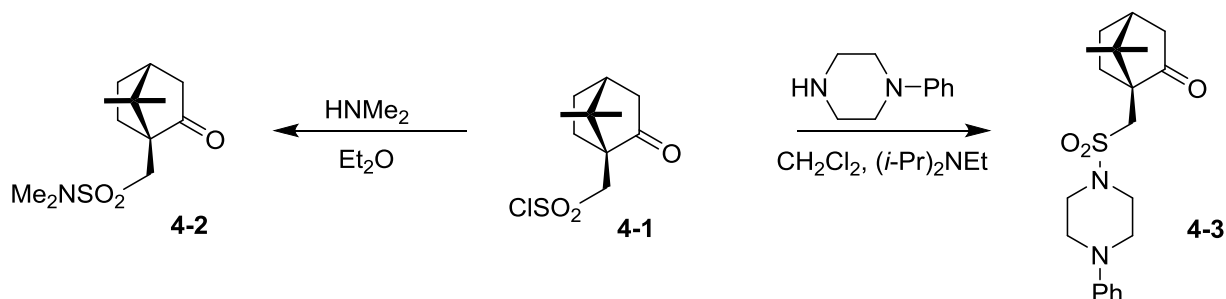


Схема 4-1

Реакцията между **4-1** и излишък от диметиламин се провежда в среда от Et<sub>2</sub>O. Съединение **4-2** се изолира след колонна хроматография с добив 94%.

На базата на публикувани процедури<sup>28</sup> и след оптимизирането им е синтезиран сулфонамид **4-3**. Един от начините за модифициране на **4-2** и **4-3** е въвеждането на арилметиленова група чрез *Claisen-Schmidt*<sup>29</sup> алдолна кондензация с на кетони с ароматни алдехиди до получаването на 1,2-ненаситени кетони. Този тип реакции с участието на различни ароматни алдехиди, включително фероценкарбалдехид,<sup>30,31</sup> са описани в литературата когато кондензацията се извършва с участието на (+)-камфор, но няма подобни данни за провеждане на реакцията с производни на камфора съдържащи сулфонамидна група. В предишни изследвания проведени в групата<sup>27</sup> реакцията между

(+)-камфор и фeroценкарбалдехид е осъществявана посредством получен *in situ* литиев енолат на (+)-камфора, като е доказано чрез ЯМР спектроскопия, че при ниски температури се образуват нестабилни интермедиати от типа на **4-4**, бързо превръщащи се в производните **4-5a** и **4-5b** (Схема 4-2).

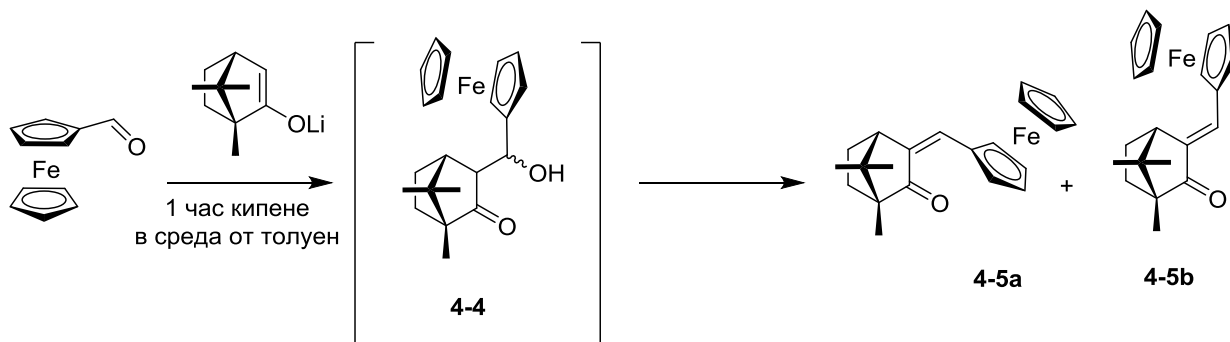


Схема 4-2

Една от целите на нашата стратегия за получаване на нови хирални лиганди е синтезът на 3-фероценилметилен-камфор-10-сулфонамид аналози на съединения **4-5a** и **4-5b** и провеждане на следващи трансформации. За получаване на аналози на съединения **4-5a** и **4-5b**, в инертна атмосфера и хомогенна среда (сух толуен), се получава *in situ* литиевият енолат **4-6** на (+)-камфор-10-сулфонамида **4-2** (Схема 4-3). Използвани са разтвори на два енолизиращи реагента – LHMDS или LDA (Метод А), като с първия от тях се постигат по-високи добиви на съединения **4-8** (Схема 4-3).

С цел намаляване на възможни странични продукти, първоначално реакцията между **4-6** и **4-7** се провежда при стайна температура. С помощта на тънкослойна хроматография се установява, че фeroценкарбалдехидът **4-7** не реагира напълно в рамките на няколко часа. За подобряване на превръщането му, същата реакция се провежда и при кипене на обратен хладник, като в рамките на 1 час **4-7** се изчерпва. Чрез ЯМР спектроскопия на суровата смес се определя, че 3-фероценилметилен-камфор-10-сулфонамидите **4-8a** и **4-8b** са в съотношение 3:97. След пречистване с колонна хроматография те са изолирани като чисти индивидуални изомери. За подобряване добива на **4-8a** и **4-8b**, реакцията се провежда при други условия, по аналогия на съществуващи литературни данни,<sup>30</sup> нагряване при 80°C в среда от толуен, калиева основа и междуфазов катализатор 18-корона-6 етер (Метод Б). В рамките на 5 часа фeroценкарбалдехидът **4-7** се изчерпва напълно (Схема 4-3). Чрез ЯМР спектроскопия на суровата смес се определя, че продуктите **4-8a** и **4-8b** отново са в съотношение 3:97. Двата изомера са охарактеризирани чрез мас-спектрометрия, ЯМР спектроскопия, специфичен ъгъл на въртене, точки на топене и елементен анализ.



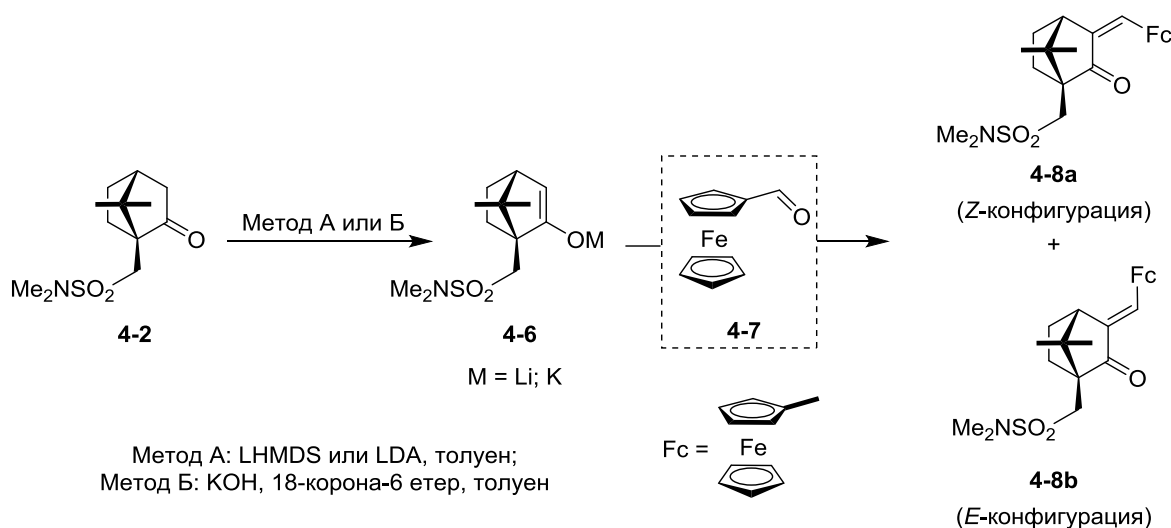


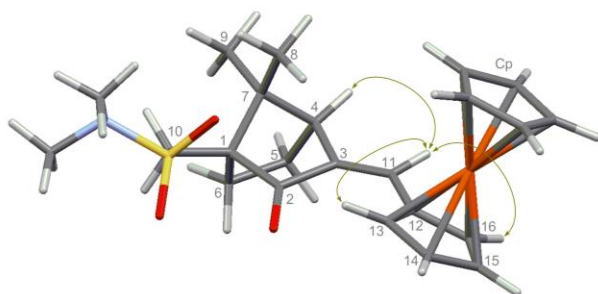
Схема 4-3

В настоящият дисертационен труд, наред с изследванията в областта на асиметричния синтез, се предлага и метод за определяне на конфигурацията на новообразуваните стереогенни центрове (или конфигурации при наличие на други причини за стереоизомеризъм) при диастереоизомерно чисти съединения, основан на ЯМР-спектроскопията. Предпоставка за използването на такъв метод е наличието на конформационна стабилност (напр. при бицикличния скелет) в получените съединения. Освен това при сулfoxлорида **4-1** е известна и абсолютната конфигурация при C-1 и C-4 въглеродните атоми. Тяхната конфигурация не се променя в хода на реакциите, в резултат на което се унаследява и в съединения **4-2**, **4-8a** и **4-8b**. За недвусмислено определяне на конфигурацията по отношение на двойната C=C връзка в новите диастереомерно чисти сулфонамиди **4-8a** и **4-8b**, се използват едномерни и двумерни ЯМР експерименти. При използването на съвременни ЯМР техники се установява, че **4-8a** е с Z-конфигурация (Фигура 4-1), а **4-8b** е с E-конфигурация (Фигура 4-2) поради представените в фигурите посредством стрелки важни близости на протони, получени от NOESY спектри. Подробно описание на установената пространствена близост между протоните (наблюдавани NOE) от бицикличния скелет, фероценовата част и протона при C-11 е представено в Таблица 4-1:

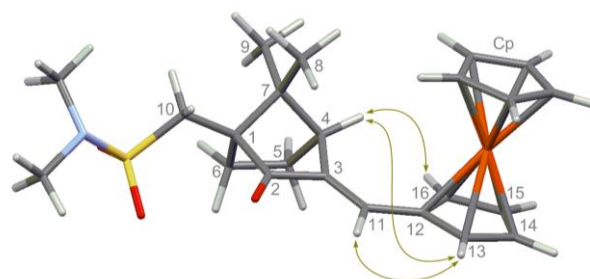
Таблица 4-1

4-8a	4-8b
11H – 4H	13H – 4H
11H – 13H	11H – 13H
11H – 16H	16H – 4H
9H – 5H <sub>екзо</sub>	8H – 4H
9H – 6H <sub>екзо</sub>	8H – 10H <sub>a</sub>
8H – 4H	9H – 5H <sub>екзо</sub>
9H – 10H <sub>b</sub>	9H – 6H <sub>екзо</sub>
8H – 10H <sub>a</sub> (слабо)	9H – 4H
8H – Cp (слабо)	9H – 10H <sub>b</sub>

В продукт **4-8a** (с *Z*-конфигурация) се наблюдава NOE-взаимодействие между протона при C-11 и протона при C-4 в бицикличния скелет. Това взаимодействие не се установява в продукт **4-8b** (*E*-конфигурация), но при него се наблюдава взаимодействие между протона свързан с C-4 от бицикличния скелет и два от протоните при C-13 и C-16 от заместения циклопентадиенов пръстен на фероценовия остатък. Това означава, че има свободно въртене на фероценовия остатък по C-11/C-12 връзката и при двата изомера.



Фигура 4-1



Фигура 4-2

Съединение **4-10** се получава по метод, подобен на приложения за **4-8** (Схема 4-4), чрез взаимодействие на литиевия енолат на сулфонамида **4-9** с фероценкарбалдехид **4-7**. Изполваните енолизираци бази са LHMDS и тетраметилпиперидин-литий (LTMP). Провеждането на реакцията в условия на междуфазов катализ (среда от толуен, калиева основа и 18-корона-6 етер) води до пълното изчерпване на фероценкарбалдехида **4-7**. След пречистване с колонна хроматография се изолира само един стереоизомер - продукт **4-10** под формата на тъмночервено кристално вещество с добив 92%. Той е охарактеризиран чрез мас-спектрометрия, ЯМР спектроскопия, специфичен ъгъл на въртене, точка на топене и елементен анализ.

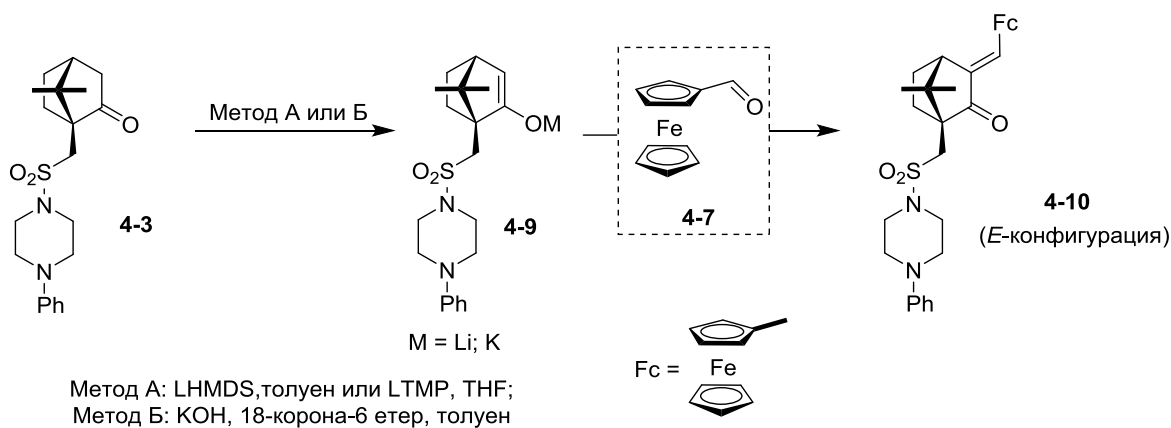


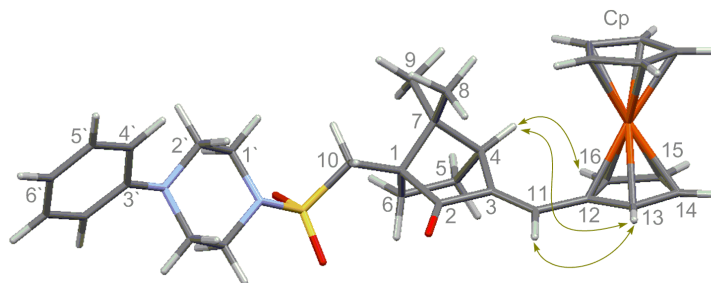
Схема 4-4

За определяне на конфигурацията на новосинтезирания диастереоизомер се използват двумерни ЯМР техники. Установява се, че **4-10** е с E-конфигурация на двойната C=C връзка (Фигура 4-3) поради наблюдаваните ефекти (NOE) описани в Таблица 4-2.

На Фигура 4-3 е представена конфигурацията на **4-10** и най-характерните наблюдавани пространствени взаимодействия между протони. И тук може да се твърди, че има свободно въртене на фeroценовия остатък по C-11/C12 връзката (пространствена близост на C-4 протона с протоните при C-13 и C-16).

Таблица 4-2

4-10
11H – 13H
16H – 4H
13H – 4H
8H – 4H
8H – 10H <sub>a</sub>
9H – 5H <sub>екзо</sub>
9H – 6H <sub>екзо</sub>
9H – 4H



Фигура 4-3

Интересно беше също така да получим 1,1'-дизаместени фeroценови аналози. Следва да се подчертае, че 1,1'-дизаместените производни на фeroцена в редица случаи се получават по-лесно от монозаместените. В допълнение такива структури също са от интерес за асиметричния синтез. Съединение **4-12** се получава чрез реакция между 2 екв. от сулфонамида **4-2** и дифероценкарбалдехид **4-11** в условията на междуфазов катализ (Схема 4-5). Диалдехидът **4-11** се синтезира по процедура описана в литературата.<sup>32</sup> След пречистване с колонна хроматография продуктът **4-12** се изолира с добив 60%, изолира се и нереагирал диалдехид **4-11**.

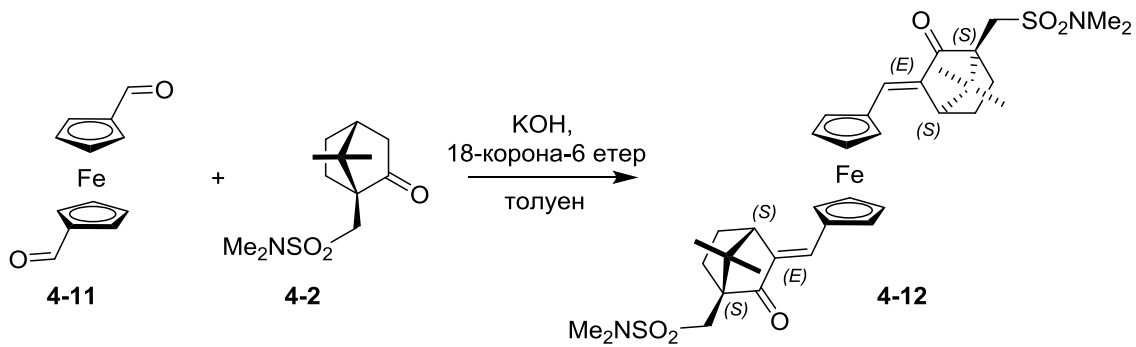
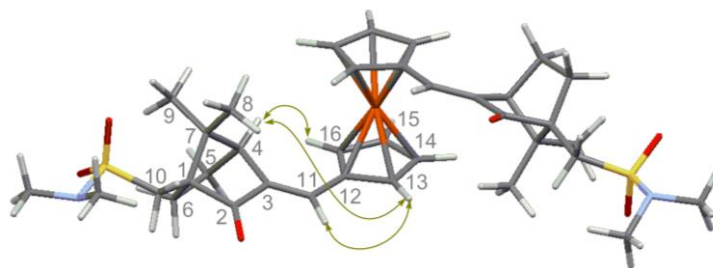


Схема 4-5

Съединение **4-12** се охарактеризира чрез мас-спектрометрия, ЯМР спектроскопия ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT, COSY, NOESY, HSQC, HMBC), специфичен ъгъл на въртене, точки на топене и елементарен анализ. Установява се, че **4-12** е с *E*-конфигурация (Фигура 4-4). Характерните NOE взаимодействия са представени в Таблица 4-3:

Таблица 4-3

4-12
11H-13H
4H – 13H
4H – 16H
4H – 5H <sub>екзо</sub>
9H – 5H <sub>екзо</sub>
9H – 6H <sub>екзо</sub>
8H – 4H
9H – 10H <sub>b</sub>



Фигура 4-4

#### 4.1.2 Получаване на 3-рутеноценилметилен-камфор-10-сулфонамиди като изходни съединения за синтез на нови лиганди

Рутеноценовите производни са относително стабилни изоелектронни аналози на фероценовите, но са по-слабо използвани. Това се дължи на значително по-високата им чувствителност на окисление, а отчасти и на факта, че рутеният е скъп метал. Те значително по-лесно от фероценовите аналози се разпадат до рутений и множество окислени органични продукти, особено в кисела среда. От друга страна рутеноценовите производни са много слабо изследвани и по отношение на биоактивността им. Някои рутенови съединения показват биологична активност (предимно антитуморна такава), но тя често е съчетана и с неприемливо висока токсичност.<sup>33,34</sup>

Интересът ни към рутеноценови производни е съвсем конкретен в случая – важно е да се синтезират рутеноценови лиганди, аналози на фероценовите, за да се разбере доколко по-обемистият рутеноценов остатък ще повлияе на енантиселективността при планираното присъединяване на диетилцинк към бензалдеhid. Първа стъпка при получаването на рутеноценови лиганди е синтезът на кетон, аналогичен на **4-8b**. Използвайки подобни на по-горе описаните реакционни условия, от рутеноценкарбалдехид **4-14** и енолата **4-6** и при използване на LHMDS като енолизиращ агент се получава съединение **4-15** (Схема 4-6).

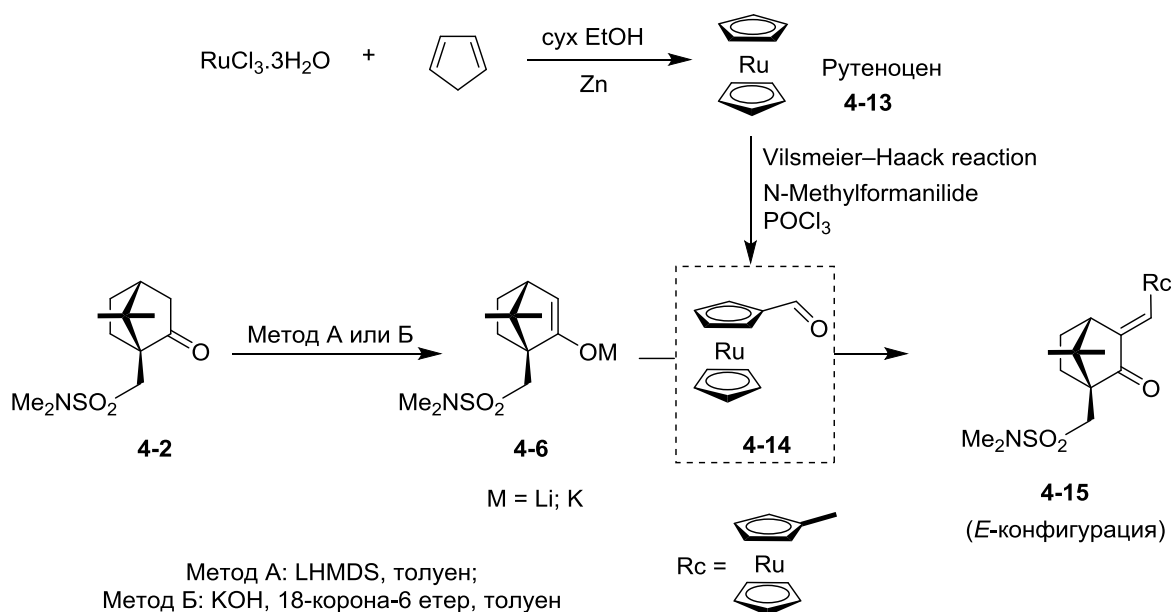


Схема 4-6

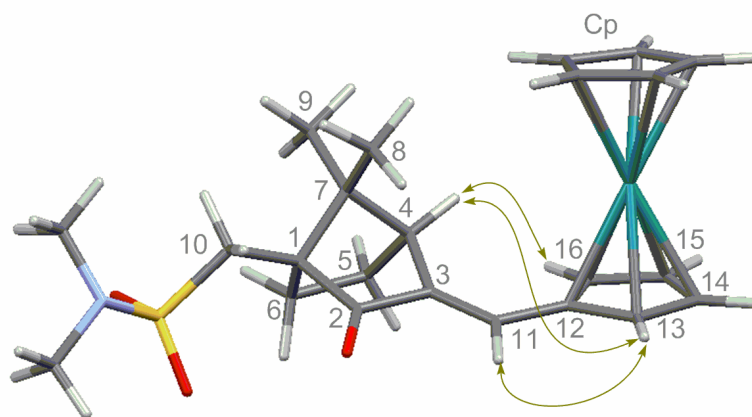
Рутеноценкарбалдехидът **4-14** се получава от рутеноцен **4-13** по реакция на *Vilsmeier-Haack* (Схема 4-6), по аналогия на описана в литературата процедура за синтез на фероценкарбалдехид.<sup>35</sup> Използваният рутеноцен не е търговски продукт и се синтезира от  $\text{RuCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , прясно дестилиран циклопентадиен и прахообразен  $\text{Zn}$  в сух етанол

(Схема 4-6).<sup>36</sup> Реакцията между рутеноценкарбалдехид **4-14** и енолата **4-6** по Метод А (Схема 4-6), протича с умерен добив (и съпътстващи продукти на разлагане) до образуването на **4-15**. При провеждането на реакцията в среда от кипящ толуен, калиева основа и междуфазов катализатор 18-корона-6 етер, изходният рутеноценкарбалдехид **4-14** се изчерпва в рамките на един час. След пречистване на **4-15** с колонна хроматография се изолира като един стереоизомер. Продуктът се охарактеризира чрез мас-спектрометрия, ЯМР спектроскопия, специфичен ъгъл на въртене, точка на топене и елементен анализ.

За определяне на конфигурацията на стереоизомера се използват двумерни ЯМР техники. Установено е, че **4-15** е с *E*-конфигурация (Фигура 4-5) поради следните наблюдавани ефекти (NOE), Таблица 4-4:

Таблица 4-4

4-15
11H – 13H
13H – 4H
16H – 4H
8H – 4H
8H – 10H <sub>a</sub>
9H – 5H <sub>екзо</sub>
9H – 6H <sub>екзо</sub>
9H – 4H
9H – 10H <sub>b</sub>



Фигура 4-5

Получените чисти диастереоизомери **4-8a**, **4-8b**, **4-10**, **4-12** и **4-15** са изходни съединения за синтез на аминоклохоли и техни *O*- и *S*-съдържащи аналози. Те са подходящи и за други разнообразни приложения и трансформации, които не са обект и цел на настоящата дисертационна работа.

#### 4.1.3 Получаване на $\beta$ -аминоклохоли и техни *O*- и *S*-съдържащи аналози чрез присъединяване на функционализирани органолигиеви реагенти

След получаването на набор от металоцен съдържащи камфор сулфонамиди с *E*- и *Z*-конфигурация на техните C=C връзки, се насочихме към присъединяване на функционализирани органолигиеви реагенти към карбонилната група на тези съединения.

Основна задача тук беше да се намерят оптимални условия за тези присъединявания, още повече, че няма литературни данни по въпроса. Предварително не беше ясно нито доколко диастереоселективно биха протекли тези реакции, нито доколко стабилна би била сулфонамидната група при реакция с органолитиеви реагенти. Сулфонамидните кетони притежават и друга особеност, която трябва да се имат предвид – допълнителното присъствие на обемиста сулфонамидна група в близост до карбонилната група, е възможно да окаже стерично влияние.

Насочихме се към стратегия, успешно разработена по-рано в групата на *Димитров* и сътр.<sup>37</sup> за присъединяване на органолитиеви реагенти към камфор. За провеждане на планираните изследвания, са избрани органолитиевите реагенти представени на Схема 4-7.

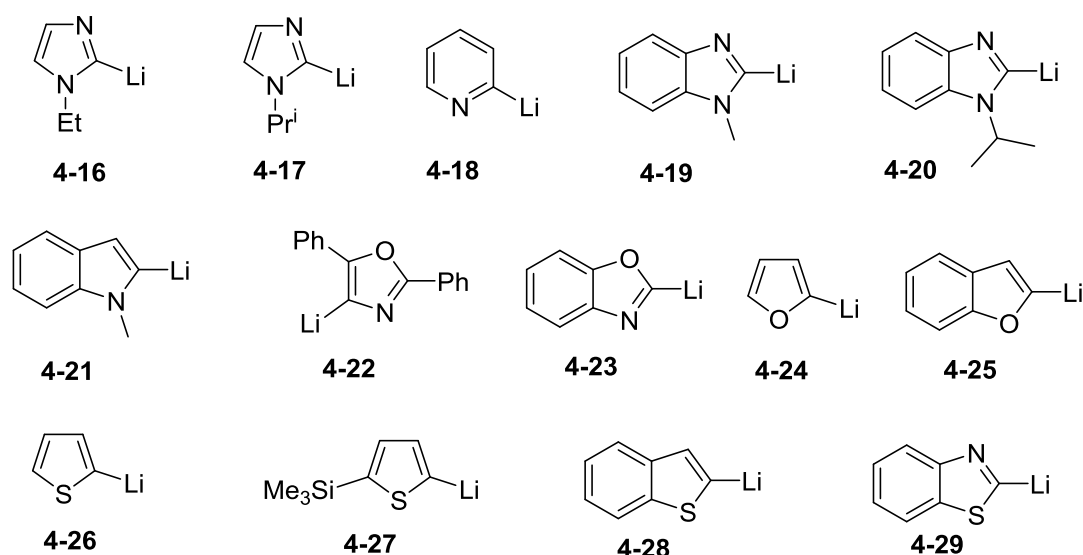


Схема 4-7

Реагентите са получени *in situ* съгласно описани в литературата процедури.

Присъединителните реакции на съединения 4-16-4-29 са проведени като към техните *in situ* получени суспензии или разтвори се добавят кетоните 4-8a, 4-8b, 4-10b и 4-15 (Схема 4-8). Синтезираните продукти са представени в Таблица 4-5.

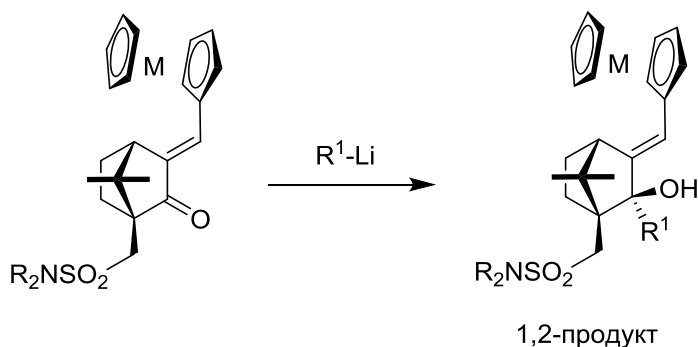


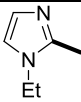
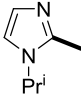

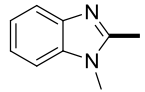
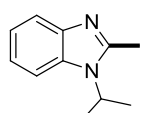
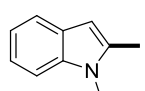
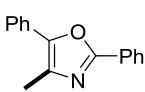
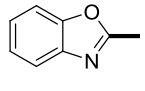

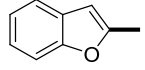

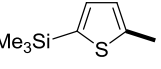
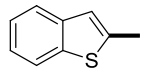
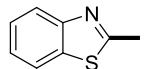

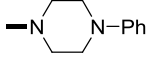


Схема 4-8

Получените съединения **4-39-4-41** се охарактеризират чрез мас-спектрометрия, ЯМР спектроскопия, специфичен ъгъл на въртене, точка на топене и елементен анализ.

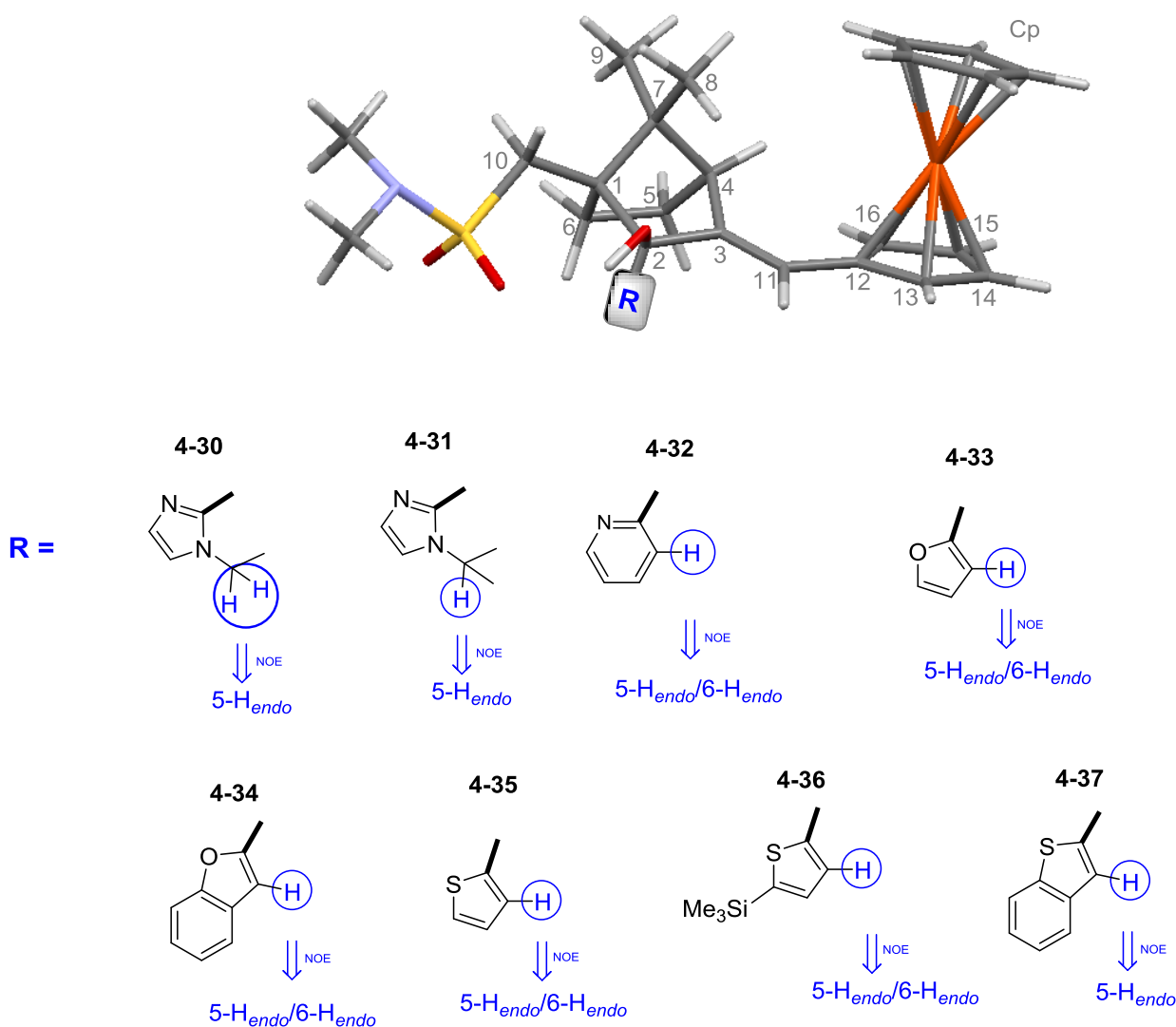
В Таблица 4-5 са представени обобщените резултати и получените продукти от реакциите между органолигиевите реагенти **4-16-4-29** и кетоните **4-8a**, **4-8b**, **4-10** и **4-15**. Както се вижда от таблицата, с най-висок добив се присъединяват органолигиевите реагенти **4-16** (с 80% добив на крайния продукт), **4-30** и **4-25** (с 83% добив на крайния продукт). С по-обемистите органолигиеви реагенти **4-19-4-23** присъединителна реакция не протича, което може да се обясни със стеричното пречене не само на сулфонамидната група, но и на металоцен-съдържащия заместител в съседство на карбонилните групи. Възможно е също така качеството на генерираните *in situ* реагенти в някои случаи да оказва отрицателно влияние. В нито един случай не са наблюдавани продукти на 1,4-присъединяване.



Таблица 4-5

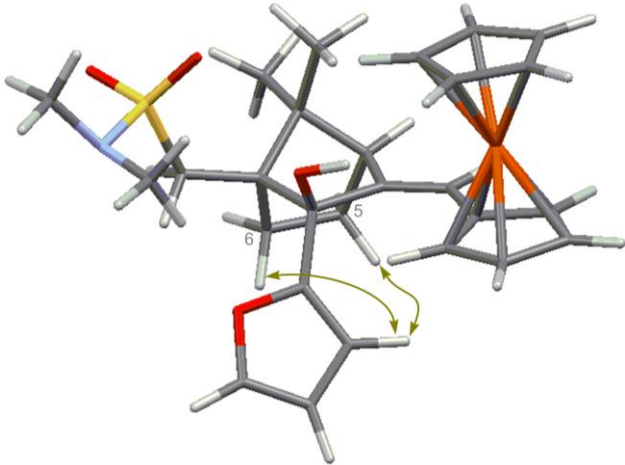
No	<i>E/Z</i>	M	R <sub>2</sub> N	R <sup>1</sup>	1,2-продукт/ добив (%)
1.	<i>E</i>	Fe	Me <sub>2</sub> N		4-30 / 80
2.	<i>E</i>	Fe	Me <sub>2</sub> N		4-31 / 48
3.	<i>E</i>	Fe	Me <sub>2</sub> N		4-32 / 47
4.	<i>E</i>	Fe	Me <sub>2</sub> N		-
5.	<i>E</i>	Fe	Me <sub>2</sub> N		-
6.	<i>E</i>	Fe	Me <sub>2</sub> N		-
7.	<i>E</i>	Fe	Me <sub>2</sub> N		-
8.	<i>E</i>	Fe	Me <sub>2</sub> N		-
9.	<i>E</i>	Fe	Me <sub>2</sub> N		4-33 / 59
10.	<i>E</i>	Fe	Me <sub>2</sub> N		4-34 / 83
11.	<i>E</i>	Fe	Me <sub>2</sub> N		4-35 / 48
12.	<i>E</i>	Fe	Me <sub>2</sub> N		4-36 / 47
13.	<i>E</i>	Fe	Me <sub>2</sub> N		4-37 / 65
14.	<i>E</i>	Fe	Me <sub>2</sub> N		4-38 / 25
15.	<i>Z</i>	Fe	Me <sub>2</sub> N		4-39 / 9
16.	<i>E</i>	Fe			4-40 / 68
17.	<i>E</i>	Ru	Me <sub>2</sub> N		4-41 / 38

Важно е да се отбележи, че от стереохимична гледна точка, присъединителните реакции протичат с висока стереоселективност само откъм *ендо*-страната на карбонилния С-атом, както това е известно при (+)-камфора. Поради това във всички случаи се получават само продукти с *екзо*-разположени хидроксилни групи. Стереохимията на продуктите и следователно съответните конфигурации на новосинтезираните съединения се определят недвусмислено чрез използване на двумерни ЯМР техники. Наблюдаваните пространствени ефекти (NOE), доказващи *ендо*-разположението на заместителя в камфановия скелет са представени във Фигури 4-6-4-9.

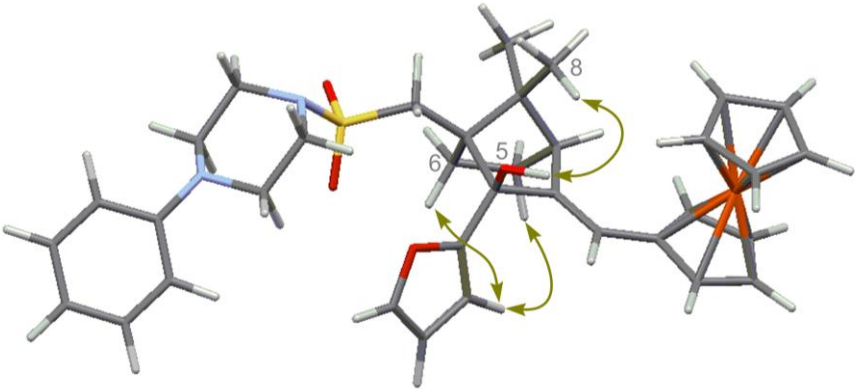


Фигура 4-6

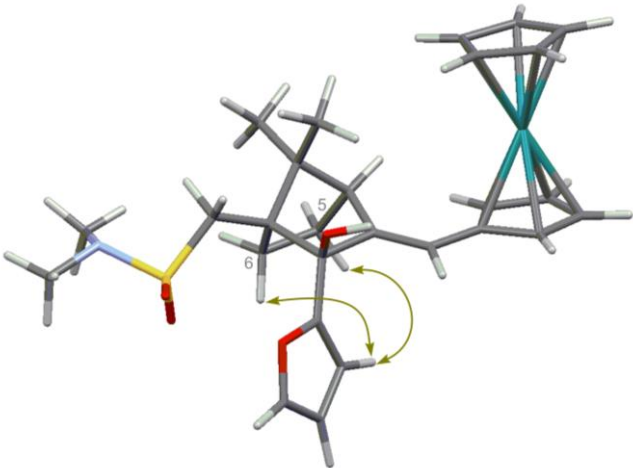
Посредством NOESY спектри се получава информация за относителното разположение на пространствено близки протони, от което може да се определи относителната конфигурация на С-2 атом, следователно и абсолютната му конфигурация при известна такава за С-1.



Фигура 4-7



Фигура 4-8



Фигура 4-9

4.1.4 Получаване на  $\gamma$ - и  $\delta$ -аминоалкохоли и техни S-съдържащи аналози

Дизайнът на алкохоли с пространствено отдалечен хетероатом спрямо хидроксилната група е с цел да се проследи влиянието на тази отдалеченост върху енантиселективността при използване на тези алкохоли като лиганди. Фактът, че серните и азотните атоми в съединенията са част от ароматни хетероцикли, не променя способността им да бъдат донори на електронна двойка и следователно да координират с цинков атом. За провеждане на планираните синтези са избрани реагенти, представени на Схема 4-9.

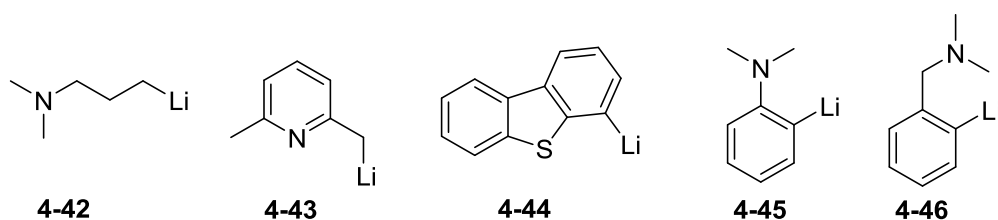


Схема 4-9

Органолитиевите реагенти **4-42-4-46** са получени съгласно описани в литературата процедури.

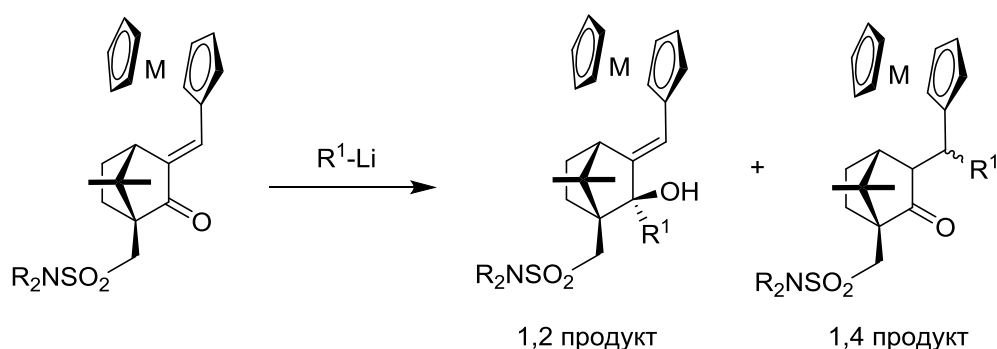


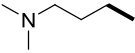
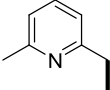
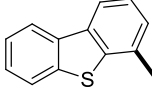
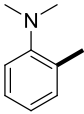
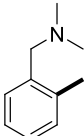
Схема 4-10

Получените *in situ* органолитиеви реагенти **4-43-4-46** и изолираното като кристално вещество **4-42** се присъединяват към кетона **4-8b** (Схема 4-10).

Продуктите получени в резултат на 1,2-присъединяване **4-47a**, **4-48a** и **4-49a** се охарактеризират чрез мас-спектрометрия, ЯМР спектроскопия, специфичен ъгъл на въртене, точка на топене и елементен анализ. Продуктите получени в резултат на 1,4-присъединяване **4-48b** и **4-49b** се прекристализират, което направи възможно изолирането в чист вид на главните изомери от диастереоизомерната смес. 1,4-присъединителните продукти не са основна цел на нашето изследване и поради това се охарактеризират само с ЯМР спектроскопия. Продуктът **4-50** се охарактеризира чрез мас-спектрометрия, ЯМР спектроскопия и елементен анализ. В Таблица 4-6 са представени обобщените резултати и получените продукти на реакцията между органолитиевите реагенти **4-42-4-46** и кетона **4-8b**. От таблицата се вижда, че във всички случаи в които има реакция, се наблюдава

получаването на конкурентния 1,4-продукт на присъединяване. Структурата на кетона **4-8b** предполага, че той би участвал освен в реакция на 1,2-нуклеофилно присъединяване към карбонилната група, но също така и в реакция на 1,4-присъединяване на органолитиевите реагенти към въглеродния атом в  $\beta$ -позиция спрямо карбонилната група (Схема 4-10). Пътят по който ще протече едната или другата присъединителна реакция зависи от условията на реакцията, природата на  $\alpha,\beta$  ненаситените карбонилни съединения и типа на нуклеофила.<sup>38</sup>

Таблица 4-6

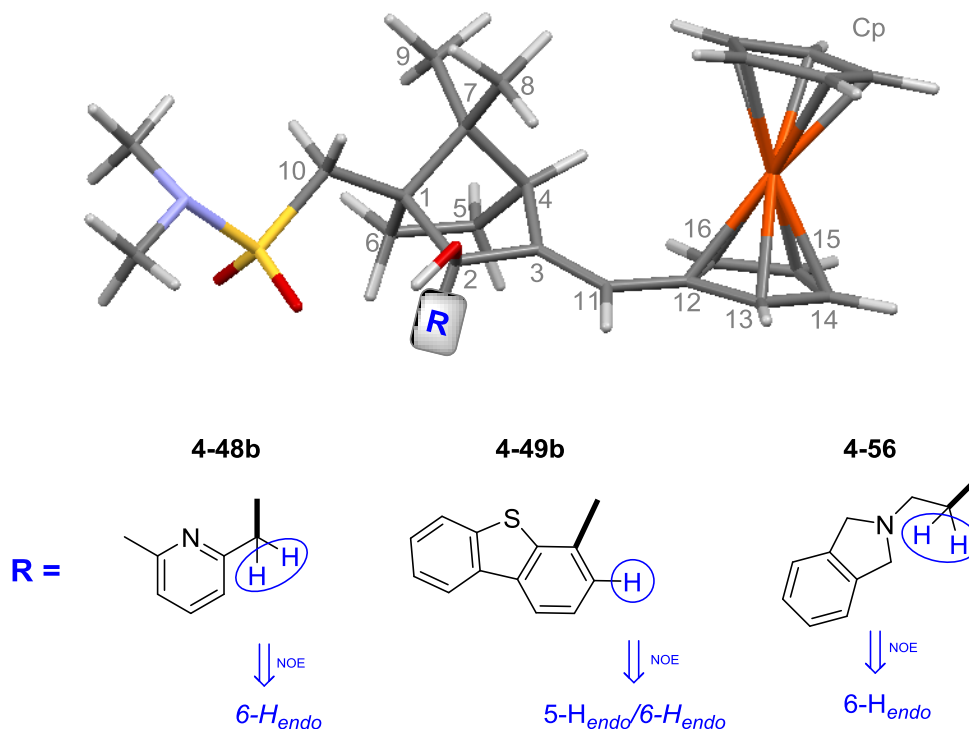
No	<i>E/Z</i>	M	R <sub>2</sub> N	R <sup>1</sup>	1,2-продукт/ добив (%)	1,4-продукт / добив (%)
1.	<i>E</i>	Fe	Me <sub>2</sub> N		<b>4-47a</b> / 37	<b>4-47b</b> / 48 1:1 <sup>a</sup>
2.	<i>E</i>	Fe	Me <sub>2</sub> N		<b>4-48a</b> / 52	<b>4-48b</b> / 22 10:1 <sup>a</sup>
3.	<i>E</i>	Fe	Me <sub>2</sub> N		<b>4-49a</b> / 25	<b>4-49b</b> / 44 10:1 <sup>a</sup>
4.	<i>E</i>	Fe	Me <sub>2</sub> N		-	-
5.	<i>E</i>	Fe	Me <sub>2</sub> N		-	<b>4-50</b> / 65 2:1 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Съотношение на изолираната след колонна хроматография смес от два диастереоизомера установено чрез <sup>1</sup>H-ЯМР спектроскопия.

Получаването на 1,4-присъединителни продукти може да се обясни и със стеричното пречене между обемистите литиирани реагенти и силно запреченото обкръжение на карбонилна група. Мястото на въглеродния атом в  $\beta$ -позиция спрямо карбонилната група се оказва по-достъпно за атака.

От стереохимична гледна точка 1,2-присъединяването на органолитиевите съединения протича във всички случаи откъм *ендо*-страната. Това се доказва чрез NOESY спектри. Наблюдава се пространствена близост между H-атоми от заместителя от една страна и *ендо*-разположените H атоми при C-5 и/или C-6 атомите от бицикличния скелет (Фигура 4-10). В <sup>1</sup>H-ЯМР спектър на продукт **4-47a** се наблюдава припокриване на *ендо*-протоните от C-5 и C-6 с протоните от пропиловата верига на аминния остатък.

Съпоставянето на тези резултати с данни от литературата, води до извода, че и тук присъединяването протича от *ендо*-страна.



Фигура 4-10

Аминоалкохолите от типа **4-56** се получават в рамките на тристадиен синтез (Схема 4-12). Първоначално към **4-8b** и **4-51** се присъединява полученият *in situ* ацетонитриллитий **4-52** в среда от THF (Схема 4-12). След колонна хроматография се изолират нитрилите **4-53a** и **4-53b**. Съединенията са напълно охарактеризирани с точка на топене, ъгъл на въртене, мас-спектрометрия и елементен анализ. Едномерните и двумерните ЯМР спектри на новосинтезираните съединенията **4-53a** и **4-53b** недвусмислено определят конфигурацията на съединенията и потвърждават тяхната структурата. Редукцията на нитрилите **4-53** до първичните амини **4-54** се провежда в среда от Et<sub>2</sub>O/THF и редуциращ агент ЛАН. След пречистване с колонна хроматография са изолирани като оранжеви кристални вещества. Получените съединения са напълно охарактеризирани с точка на топене, ъгъл на въртене, мас-спектрометрия и елементен анализ. Използваните едномерни и двумерни ЯМР техники спомагат за пълното охарактеризиране на структурата и конфигурацията на получените съединения **4-54a** и **4-54b**.

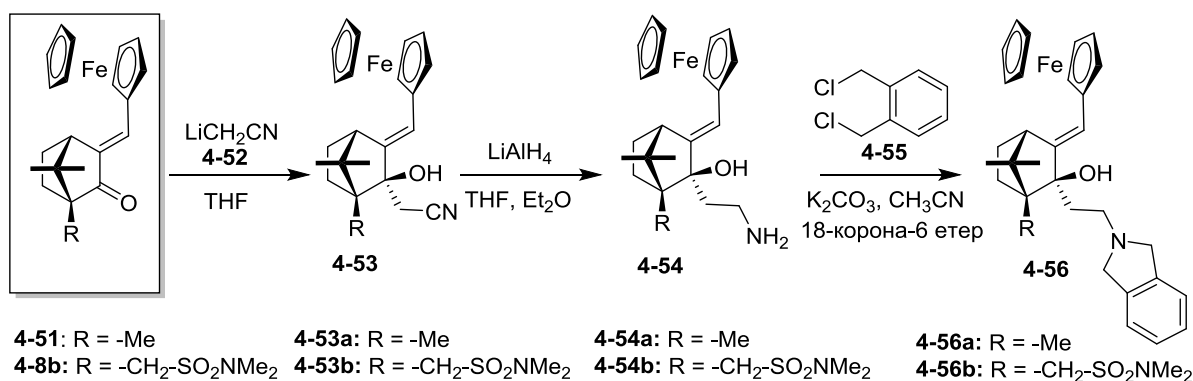
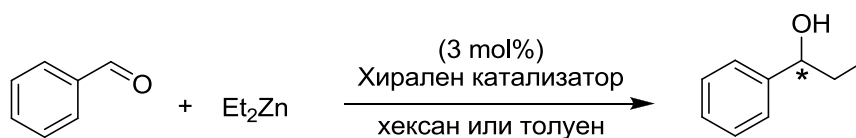


Схема 4-12

Чрез циклично *N*-алкилиране с дихлорида **4-55** в среда от ацетонитрил, база K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> и междуфазов катализатор 18-корона-6 етер се получава изоиндолиновият aminoalkohol **4-56**. Ниските добиви на изоиндолиновите aminoalkoholi **4-56a** и **4-56b** са следствие от множеството странични продукти получени по време на реакцията и наблюдавани от нас чрез TLC. Изолираните съединения се охарактеризират напълно с точка на топене, ъгъл на въртене, мас-спектрометрия и елементен анализ. За определяне на конфигурацията на получените aminoalkoholi **4-56a** и **4-56b** се използват едномерни и двумерни ЯМР техники, като решаващите аргументи за определяне на абсолютната конфигурация се получават от NOESY спектрите (Фигура 4-10).

#### 4.1.5 Приложение на β-, γ- и δ-аминоалкохоли и техни аналози като хирални лиганди за присъединяване на диетилцинк към бензалдехид

Синтезираните в рамките на дисертацията хирални съединения **4-30-4-40**, **4-47a-4-49a**, **4-56a** и **4-56b** допринасят за разширяване на знанията относно стереохимията на нуклеофилните присъединителни реакции на органометални реагенти към производни на камфора. Получените диастереоизомерно чисти вещества са с напълно изяснена конфигурация и предоставят богати възможности за разнообразни приложения и допълнителни химични трансформации. Основният ни интерес в настоящата дисертационна работа е насочен към прилагането на тези съединения като хирални лиганди. Поради тази причина синтезираните β-, γ- и δ-аминоалкохоли и техните *O*- и *S*-съдържащи аналози с камфанов скелет се прилагат като хирални спомагателни вещества в реакцията на енантиселективно присъединяване на диетилцинк към бензалдехид (Схема 4-13).



**Схема 4-13**

Присъединителната реакция се провежда съгласно процедура, която се е наложила като стандартна при тестване на ефективността на хиралните лиганди. Първоначално реакциите се провеждат в хексан, но поради ниската разтворимост на лигандите, той бе заменен с толуен, което увеличи и енантиомерния излишък на продукта на присъединяване 1-фенил-пропанол. Присъединяването на  $\text{Et}_2\text{Zn}$  към бензалдехид протича при стайна температура и във всички случаи, с изключение на реакцията катализирана с хирален лиганд **4-48a**, е с много високи добиви (до 99%). Продуктът 1-фенил-1-пропанол се изолира и пречиства чрез колонна хроматография преди определянето на енантиомерния му излишък посредством газова хроматография.



Таблица 4-7

№	Лиганд	Разтворител	Лиганд (молни %)	Добив на 1-фенил- пропанол (%)	ee (%) на 1-фенил- пропанол <sup>a</sup>
1.	4-30	хексан	3.0	97	10 ( <i>S</i> )
2.	4-30	толуен	3.0	95	21 ( <i>S</i> )
3.	4-31	толуен	3.0	97	20 ( <i>S</i> )
4.	4-32	хексан	3.0	97	9 ( <i>S</i> )
5.	4-32	толуен	3.0	98	12 ( <i>S</i> )
6.	4-33	хексан	3.0	97	63 ( <i>R</i> )
7.	4-33	толуен	3.0	99	76 ( <i>R</i> )
8.	4-34	хексан	3.0	99	63 ( <i>R</i> )
9.	4-34	толуен	3.0	99	76 ( <i>R</i> )
10.	4-35	хексан	3.0	96	41 ( <i>R</i> )
11.	4-35	толуен	3.0	99	56 ( <i>R</i> )
12.	4-36	толуен	3.0	92	56 ( <i>R</i> )
13.	4-37	толуен	3.0	90	62 ( <i>R</i> )
14.	4-38	толуен	3.0	90	18 ( <i>S</i> )
15.	4-39	толуен	3.0	77	6 ( <i>R</i> )
16.	4-40	толуен	3.0	98	61 ( <i>R</i> )
17.	4-47a	толуен	3.0	82	68 ( <i>S</i> )
18.	4-48a	толуен	3.0	62	14 ( <i>R</i> )
19.	4-49a	толуен	3.0	73	6 ( <i>S</i> )
20.	4-56a	толуен	3.0	99	38 ( <i>R</i> )
21.	4-56b	толуен	3.0	88	25 ( <i>R</i> )

<sup>a</sup> ee = enantiomeric excess (енантиомерен излишък), определен посредством газова хроматография с хирална колона (виж. Експериментална част).

Лигандите представени на Таблица 4-7 могат да се разделят на три условни групи в зависимост от структурата на присъединения органолитиев реагент: аминокалкохоли, алкохоли с *O*-съдържаща функционална група и алкохоли със *S*-съдържаща функционална група. Най-висока асиметрична индукция показаха лигандите **4-33** и **4-34** (76 % *ee*), принадлежащи към втората група. Тези резултати са причината да се извърши присъединяване на фураниллитий **4-24** към *Z*-изомера (**4-8a**) до получаването на лиганд **4-39**. Високата стерична запреченост в лиганд **4-39** не доведе до повишаване на асиметричната индукция, както очаквахме, а напротив - тя съществено се понижи (6% *ee*). Намаляване на асиметричната индукция (до 61% *ee*) се наблюдава и при използването на лиганд **4-40**, в който диметилсулфонамидната група при лиганд **4-8b** е заменена с обемистата фенилпиперазинова сулфонамидна група. Най-висока енантиселективност (68% *ee*) на лигандите от групата на аминокалкохолите се постига с хирален катализатор **4-47a**. В предишни изследвания<sup>27</sup> при използването на лиганд, структурен аналог на **4-47a**, в който липсва сулфонамидната група, се наблюдава по-ниска енантиселективност (35% *ee*). Интересно е да се отбележи, че се наблюдава промяна и в посоката на асиметричната индукция - докато с лиганд **4-47a** *S*-енантиомера се получава предпочетено, то при неговия аналог конфигурацията на 1-фенил-пропанола е (*R*). От това сравнение може да се направи извода, че сулфонамидната група оказва влияние при определяне посоката на асиметричната индукция. Умерена енантиселективност се постига с лиганди **4-56a** и **4-56b** (38% *ee* и 25% *ee*, съответно). В литературата са докладвани малко примери за използването на алкохоли със *S*-съдържаща функционална група като лиганди в енантиселективната реакция на присъединяване на диалкилцинкови съединения към алдехиди (виж. Литературен обзор). Същият ефект се наблюдава при лиганд **4-47a** (стерично влияние на сулфонамидната група) при използването на лиганд **4-35**, съдържащ тиофенов остатък. В сравнение с неговия камфанов аналог, синтезиран в предишни изследвания в групата (22% *ee*),<sup>27</sup> в нашите изследвания се наблюдава 62% *ee* при използването на лиганд **4-35** и запазване на посоката на асиметричната индукция (*R*-конфигурацията). Наличието на обемистата триметилсилилна група (лиганд **4-36**) в тиофеновия пръстен не променя енантиселективността (56% *ee*). Повишаване на асиметричната индукция се наблюдава при използването на лиганд **4-37**, където обемистия дибензотиофенов остатък води до запазване посоката на асиметричната индукция и увеличаване на енантиселективността (62% *ee*). Намаляване на енантиселективността се установява при лиганд **4-49a** (6% *ee*), но посоката на асиметричната индукция се обръща (*S*-енантиомер).

В заключение би могло да се твърди, че получаването на ефективни хирални лиганди все още зависи само от правилото “проба-грешка”.

#### 4.2 Изследване приложимостта на някои природни алкалоиди и аминокиселини като хирални лиганди за присъединяване на диетилцинк към фероценкарбалдехид

Използването на цинхона алкалоиди като катализатори в енантиселективна реакция на присъединяване на органоцинкови съединения към алдехиди за първи път е докладвано от *Smaardijk* и сътр.<sup>39</sup> Най-добри резултати са постигнати при присъединяването на диетилцинк към 2-етоксибензалдехид с помощта на хинин (92% ee). На базата на тези резултати се прилагат цинхона алкалоидите и природният аминокиселин (*S*)-аланинол като лиганди в реакцията на присъединяване на диетилцинк към фероценкарбалдехид (Схема 4-16). Първоначално реакцията се провежда при стайна температура и разтворител хексан. След колонна хроматография се изолират три продукта и нереагирал фероценкарбалдехид **4-7**. Структурата на продукти **4-57**, **4-58** и **4-59** се определя чрез ЯМР спектроскопия.

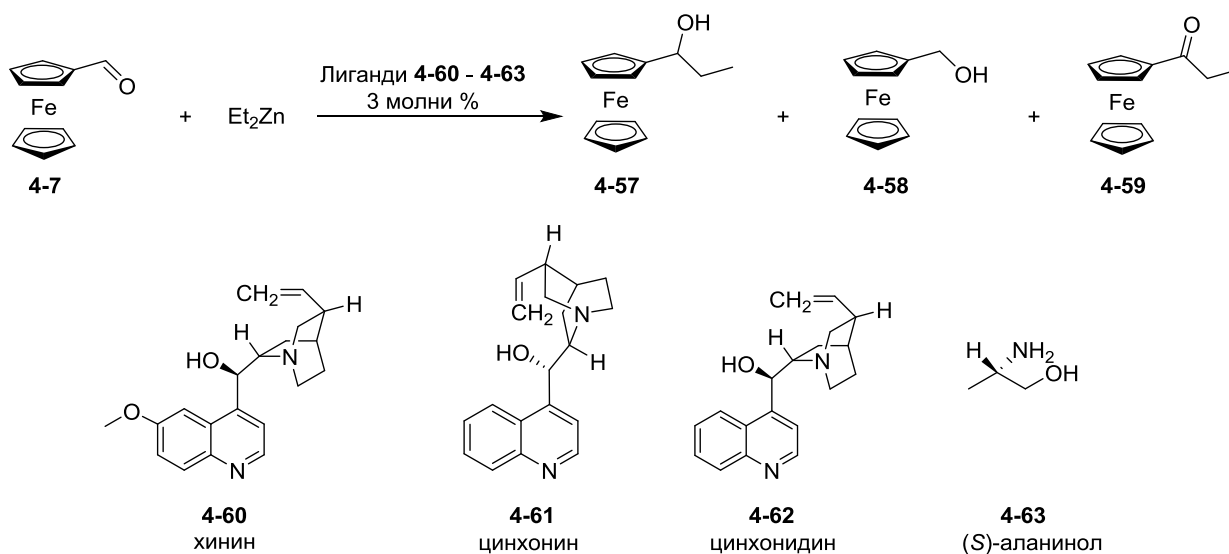


Схема 4-16

Образуването на съединения **4-58** и **4-59** може да се обясни с допускането,<sup>40</sup> че протича редокси реакция от типа на *Cannizzaro* между **4-7** и **4-57**, което довежда до окисление на **4-57** до кетона **4-59** и редукция на **4-7** до алкохола **4-58**. Трябва да се отбележи, че *Noyori* и сътр.<sup>41</sup> са отбелязали аналогичен случай - образуването на 1-фенил-1-пропанон при присъединяване на диетилцинк към бензалдехид, без да е дискутирана възможната причина за това. Алкохолът **4-58** може да се получи алтернативно при

редукция на алдехида **4-7**, чрез  $\beta$ -водороден трансфер от етиловата група на диетилцинковия реагент. Тъй като **4-58** не е летлив, за определяне конфигурацията му се използва ъгъл на въртене. Резултатите от присъединителната реакция са обобщени в Таблица 4-8. Използването на хинин **4-60** като хирален модификатор дава най-добри добиви (ред 1), но се постигната умерена енантиоселективност (27% ee). Прилагането на цинхонин **4-61**, цинхонидин **4-62** и аминокиселината (S)-аланин **4-63** (получен от природната аминокиселина (S)-аланин) като катализатори не води до асиметрична индукция или до много слаба такава (ред 2; редове 3 и 6, съответно).

Таблица 4-8

№	Хирален лиганд	Температура	Време (ч)	Превръщане (%)			ee (%) (конф.)
				4-57	4-58	4-59	
1.	4-60	+20°C	101	61	7	1	27 (S)
		+60°C	7	72	9	9	19 (R)
2.	4-61	+20°C	138	50	7	4	0
3.	4-62	+20°C	183	72	7	8	9 (S)
6.	4-63	+20°C	138	27	10	5	5 (S)

Изследвайки температурния ефект в присъединителната реакция на диетилцинк към бензалдеhid при катализатори природни алкалоиди и аминокиселини, *Muchow* и сътр.<sup>42</sup> посочват, че увеличаването на температурата води до увеличаване на енантиоселективността. За подобряване на получените резултати реакцията се провежда при нагряване от 60°C в среда от толуен и хирален лиганд **4-60**. В Таблица 4-8 се вижда, че реакционното време намалява, а добивът на целевия алкохол **4-57** се увеличава (ред 1). По-интересен се оказва друг ефект, наблюдаван при повишаване на температурата. Преобладаващата S-конфигурация на **4-57**, когато реакцията се провежда при стайна температура, се променя в преобладаваща R-конфигурация (макар и с по-ниска стойност на ee – 19% R), когато реакцията се провежда при нагряване.

В заключение може да се добави, че използването на природните алкалоиди и аминокиселини като хирални катализатори в присъединителната реакция на диетилцинк към фероценкарбалдеhid потвърждава правилото, че няма универсални катализатори за посочената реакция и търсенето на нови и по-ефективни катализатори продължава.

### 4.3 Опити за получаване на 1,2-дизаместени фероценови производни с планарна хиралност

В рамките на настоящия дисертационен труд се демонстрират синтетични подходи за получаване на полифункционални съединения, приложими като хирални катализатори за енантиселективно присъединяване на диетилцинк към алдехиди.

Значителна тежест има синтезът на хирални съединения, включващи в структурата си фeroценов остатък. Този тип съединения се ползва с нарастващ интерес през последните години поради високата си ефективност като катализатори за асиметрични синтези. Особено перспективни за каталитично приложение са 1,2-дизаместените фeroценови съединения от тип **B** (Схема 4-17), които притежават равнина на хиралност. За получаване на такъв тип лиганди ключова роля играят хиралните  $\alpha$ -хидроксиалкил фeroценови производни от тип **A**, от които посредством диастереоселективно превръщане се получават разнообразни 1,2-дизаместени фeroцени от тип **B**, притежаващи равнина на хиралност (Схема 4-17).

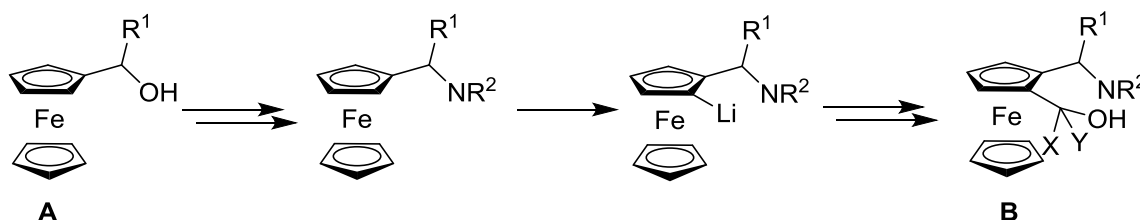


Схема 4-17

Синтетичната ни стратегия се основава на получаването на имин (шифова база) **4-65** от фeroценкарбалдехид **4-7** и хиралния *S*-фенилетиламин **4-64** (Схема 4-18). Проведохме реакцията в среда от сух бензен, в присъствието на безводен  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и кипене в аргонова атмосфера. За определяне структурата на имин **4-65** се използва ЯМР спектроскопия. Поради химическата нестабилност на имина, той е включен в следващия синтетичен етап без допълнително пречистване. Бяха проведени присъединителни реакции към **4-65** на избрани органометални реагенти.

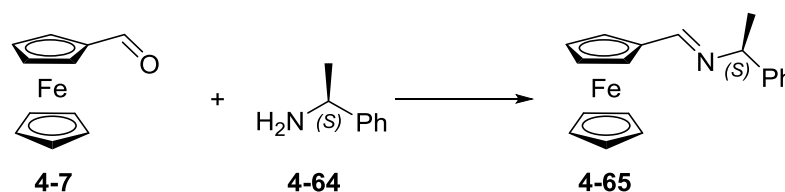


Схема 4-18

Реакцията на присъединяване на норборниллитий **4-66** към **4-65**, се провежда в среда от диетилов етер при  $-30^\circ\text{C}$  и аргонова атмосфера (Схема 4-19). Ходът на реакцията се проследява с помощта на тънкослойна хроматография. Чрез колонна хроматография се изолира амин **4-67** като червено масло с добив 35%. Чрез ЯМР спектроскопия **4-67** е определено като смес от два диастереоизомера в съотношение 10:7. Опитите за

разделянето на двата изомера чрез колонна хроматография при използване на различни фази са неуспешни, поради прекалено близките им  $R_f$  стойности.

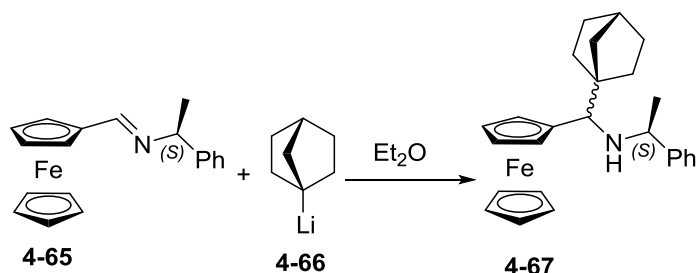


Схема 4-19

С цел промяна в полярността на продуктът **4-67**, което евентуално би довело до по-добро хроматографско разделяне на съответните два диастереоизомера, се провеждат опити за *N*-метиране. *N*-метирането с  $\text{HCHO}$  се извършва в среда от  $\text{MeOH}$  с последваща редукция (Схема 4-14). Суровият продукт **4-68** се пречиства чрез колонна хроматография. Изолират се три фракции: **4-68a** (48% добив), **4-68b** (6% добив) и **4-68c** (6%). Чрез ЯМР спектроскопия се определи съдържанието на всяка фракция: **4-68a** е целевият продукт и се изолира като смес от два диастереоизомера в съотношение 1:1; **4-68b** и **4-68c** са странични продукти на реакцията (Схема 4-20). Последвалите опити за хроматографско разделяне на **4-68a** на индивидуални диастереоизомери са неуспешни.

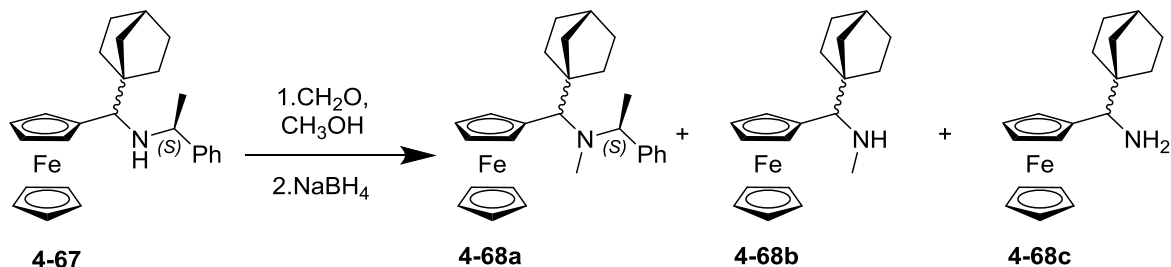


Схема 4-20

При следващите експерименти, опитите за провеждане на реакция между имин **4-65** и Гриняровият реагент  $\text{MeMgBr}$  бяха неуспешни (Схема 4-21). Успешно се присъединява *n*- $\text{BuLi}$  към  $\text{C}=\text{N}$  връзката (Схема 4-21). След разделяне с колонна хроматография се изолират три фракции.

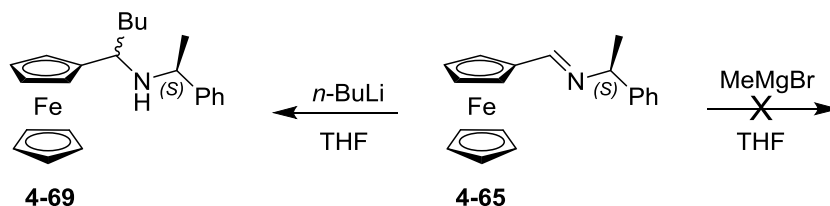


Схема 4-21

Посредством ЯМР спектроскопия се наблюдават два диастереоизомера. Установи се, че единия диастереоизомер **4-69a** (16% добив) е изолиран с примес от имин **4-65**; **4-69b** е смесена фракция от два диастереоизомера и изходен имин **4-65**; **4-69c** е смесена фракция между втория диастереоизомер и изходен имин **4-65**. Опитите за разделяне и пречистване на изолираните фракции бяха неуспешни.

Проведени са експерименти за получаване на 1,1'-дизаместени фероцени. От фероцен **4-70**, посредством литиране и реакция с DMF се синтезира **4-72** с 53% добив, както и монофероценкарбалдехид **4-7** (Схема 4-22).

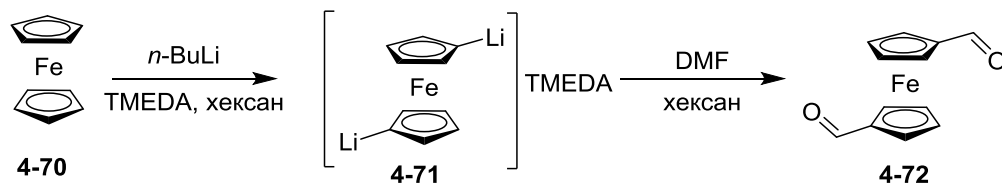


Схема 4-22

Диалдехидът **4-72** се превърща в имин **4-73** по процедура, разработена за получаването на монопроизводното (Схема 4-23). Суровият продукт **4-73** се влага в следваща реакция без допълнително пречистване.

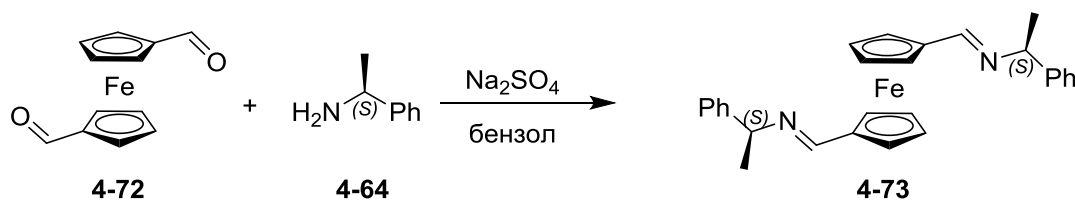


Схема 4-23

Реакцията на присъединяване на норборнилитий **4-66** към **4-73** се провежда за 3 часа при  $-30^{\circ}\text{C}$  и при  $0^{\circ}\text{C}$  за период от 10 часа (Схема 4-24).

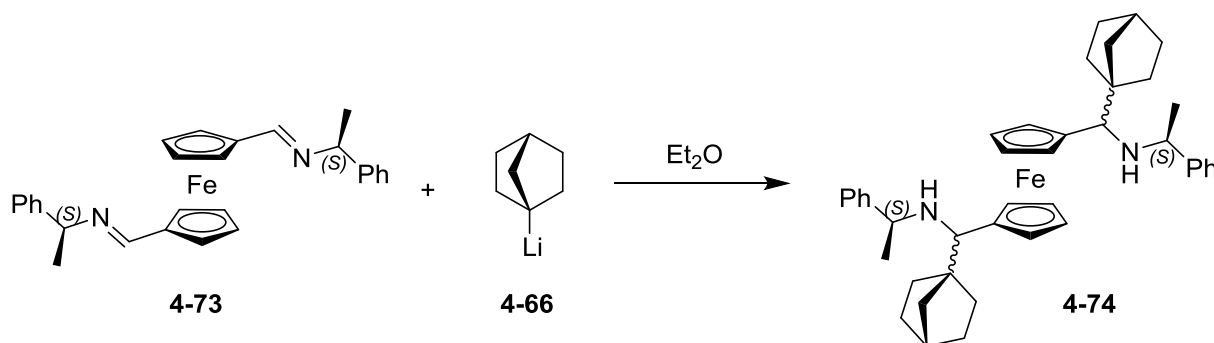


Схема 4-24

След хроматографско пречистване се изолира **4-74** (79% добив, червено масло) като смес от три диастереоизомера и изходен имин **4-73** (ЯМР спектър). Продукт **4-74** отново се разделя с колонна хроматография. Изолират се няколко фракции: **4-74a** като смес от първия диастереоизомер и изходен имин; втора фракция като смес от два

диастереоизомера **4-74a**, **4-74b** и изходен имин; трета фракция **4-74b** като втори диастереоизомер; четвърта фракция като смес от два диастереоизомера **4-74b** и **4-74c**; пета фракция **4-74c** като трети изомер, но замърсена с неизвестно вещество. Всяка от фракциите беше изследвана с ЯМР спектроскопия, но припокриването на алифатните протони от бицикличния скелет на норборнила затрудниха еднозначното интерпретиране на смесените фракции. Отнасянето на  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектрите на фракция **4-74b** (втори диастереоизомер) както и неговия мас-спектър, потвърдиха получаването на продукт **4-74**. Получаването на сложни смеси от диастереоизомери с близки физични свойства затрудниха по-нататъшната работа с получените от горните реакции съединения. Решаването на този проблем може да бъде постигнато чрез провеждането на реакции с прилагането на допълнителни хирално насочващи лиганди или чрез използването на препаративна високо ефективна течна хроматография, което е обект на бъдеща работа.

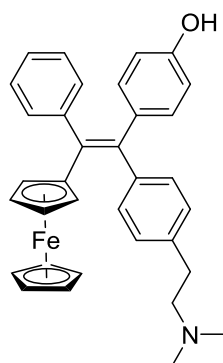
#### **4.4 Изучаване на биологичната активност на някои от синтезираните хирални съединения**

Откриването на антитуморната активност на някои фероценови производни е едно от първите изследвания на органометални съединения на преходните метали в тази насока и датира отпреди повече от 20 години. През 1984 г. германски учени показват, че някои фероценови водоразтворими соли притежават висока активност *in vivo* спрямо асцитния тумор на *Ehrlich* при мишки,<sup>43</sup> с което поставят началото на голям и многообещаващ клон в дизайна на антинеопластични средства. Оттогава насам предимно в Европа и САЩ са правени множество изследвания насочени към търсенето, синтеза и определянето на противотуморната активност на фероцените, рутеноцените, както и на други органични съединения на Fe и Ru.<sup>44,45,46</sup>

От изследванията на *Dombrowski* и сътр.<sup>45</sup> става ясно, че независимо от структурата на различните фероцени, те притежават сравнително ниска токсичност, което ги прави удачна алтернатива на платиновите цитостатици, характеризиращи се с неблагоприятен токсикологичен профил. Антипролиферативните и цитотоксичните свойства на фероцените спрямо малигнено-трансформираните клетки са проучени обстойно.<sup>47,48</sup> С оглед оптимизиране на фармакологичните свойства са синтезирани и множество водоразтворими фероцени, притежаващи някои предимства, свързани с улесненото им проникване в туморните клетки.<sup>49,50</sup> В последните няколко години синтеза и изследването на нови фероцени с антитуморно действие нараства дотолкова, че вече може да се говори за тяхното фармацевтично и клинично приложение, като особено ясно се утвърждават



фероценовите аналози на тамоксифена – фероцифена (Схема 4-25) и фероцен съдържащите феноли.<sup>51,52</sup>



Фероцифен

**Схема 4-25**

В заключение металоцените, в частност фероценовите и рутеноценовите съединения, представляват перспективен клас цитотоксични съединения с потенциално клинично значение. Особеностите на металния център, механизмът на свързване с ароматните лиганди и пространствената им структура модифицират фармакологичните им свойства в сравнение с тези на планарните платинови цитостатици. Именно различните фармакодинамични свойства обуславят интереса към металоцените за повлияване на тумори, слабо чувствителни или резистентни към цисплатин и аналозите му.

**Таблица 4-9**

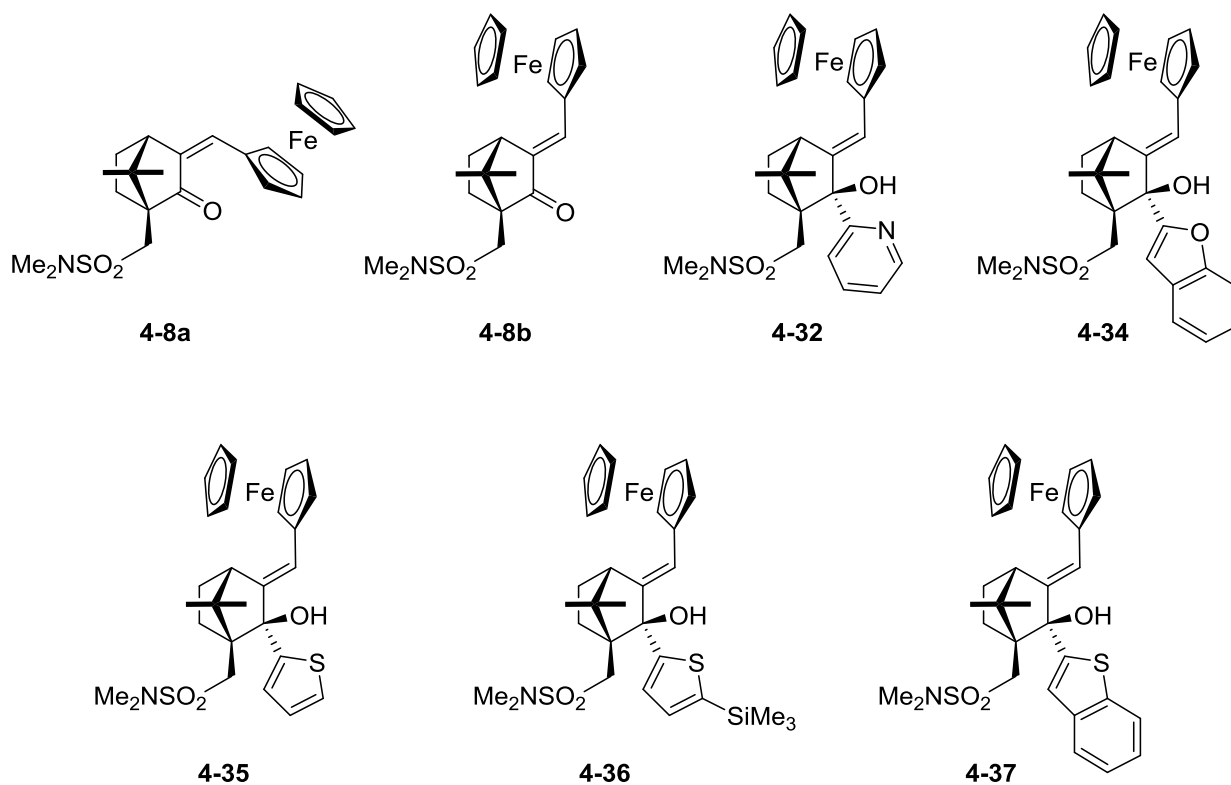
Клетъчна линия	Тъканен произход	Хистологичен тип
<b>HL-60</b>	<i>Acute promyelocytic</i>	leukemia
<b>HL-60/Dox</b>	<i>Acute promyelocytic, resistance</i>	leukemia
<b>BV-173</b>	<i>B cell precursor</i>	leukemia
<b>K-256a</b>	<i>Bone marrow</i>	leukemia
<b>NB-4</b>	<i>Acute promyelocytic</i>	leukemia
<b>A549</b>	<i>Lung</i>	adenocarcinoma
<b>H1299</b>	<i>Lung, metastatic site</i>	adenocarcinoma
<b>MCF-7</b>	<i>Mammary gland, breast; metastatic site</i>	adenocarcinoma
<b>MDA-MB-231</b>	<i>Mammary gland, breast; metastatic site</i>	adenocarcinoma
<b>HUVEC</b>	<i>Umbilical vascular endothelium</i>	endothelia
<b>HEK293</b>	<i>Embryonic kidney</i>	epithelia

**Клетъчни култури.** Цел на това изследване бяха човешки клетъчни линии от нормален и туморен произход. Клетките са получени от колекцията от клетъчни култури

на ATCC (*The Global Bioresource Center*). Детайли за тъкания произход на клетъчните линии и техния хистологичен тип са обобщени в Таблица 4-9.

#### 4.4.2 Резултати и коментари

Синтезираните в рамките на настоящата дисертация съединения обединяват в своята структура фероценова и двойна връзка - фрагменти които се съдържат и във фероцифена (Схема 4-25). Въвеждането на други фармакофорни групи, такива каквито са хетероциклите: фуранов, бензофуранов, тиафенов, пиридинов и др., както и намерената в литературата информация предполагат, че получените вещества могат да проявят биологично действие, особено противотуморна активност. Наличието на камфанов фрагмент първоначално насочи нашия интерес към установяване на тяхната антибактериална активност, но поради получените незадоволителни резултати,



изследванията в тази насока не бяха продължени. С част от съединенията (Схема 4-26) се проведе тест за установяване на цитотоксичната им активност, спрямо две клетъчни линии - HL-60 (остра промиелоцитна левкемия) и резистентната суб-линия HL-60/Dox, характеризираща се с множествена лекарствена резистентност.

Клетъчната жизнест бе оценена с помощта на стандартния МТТ-тест. Данните от проведеното фармакологично изследване са представени в Таблица 4-10.

Таблица 4-10

№	Структура	IC <sub>50</sub> (μM)	
		HL-60	HL-60/Dox
1.	Цисплатин	8.3	31.2
2.	4-8a	8.9	262.8
3.	4-8b	8.5	30.5
4.	4-32	8.1	202.1
5.	4-34	6.07	107.2
6.	4-35	6.1	6.22
7.	4-36	27.5	218.2
8.	4-37	17.8	378.3

Като референтни в таблицата са представени IC<sub>50</sub> стойностите на цисплатин. Това антитуморно лекарство се използва широко от години и за него са правени задълбочени клинични, токсикологични и фармакологични изследвания, доказали множеството му странични действия, токсичност спрямо здрави човешки клетки, както и развитието на лекарствена резистентност. Изброените проблеми важат в пълна сила и за останалите антитуморни химиотерапевтици, намерили клинично приложение до момента.

Всички изследвани съединения показаха концентрационно-зависим цитотоксичен ефект, което в повечето случаи позволи определянето на съответните IC<sub>50</sub> стойности (концентрацията на веществото предизвикваща 50% намаляване на виталните клетки, спрямо нетретираната контрола).

При някои от новосинтезираните съединения получените IC<sub>50</sub> стойности са сравними или дори по-ниски от тези на референтното противотуморно лекарство цисплатин (редове 2-6), което дава основание те да бъдат проучени по-задълбочено и да се използват евентуално като лидерни структури за следващи проучвания. Най-добри резултати върху двете линии показан съединение **4-35** (ред 6), неговата IC<sub>50</sub> стойност е по-ниска от тази на цисплатин при клетъчни линии HL-60 и пет пъти по-ниска при резистентната суб-линия HL-60/Dox.

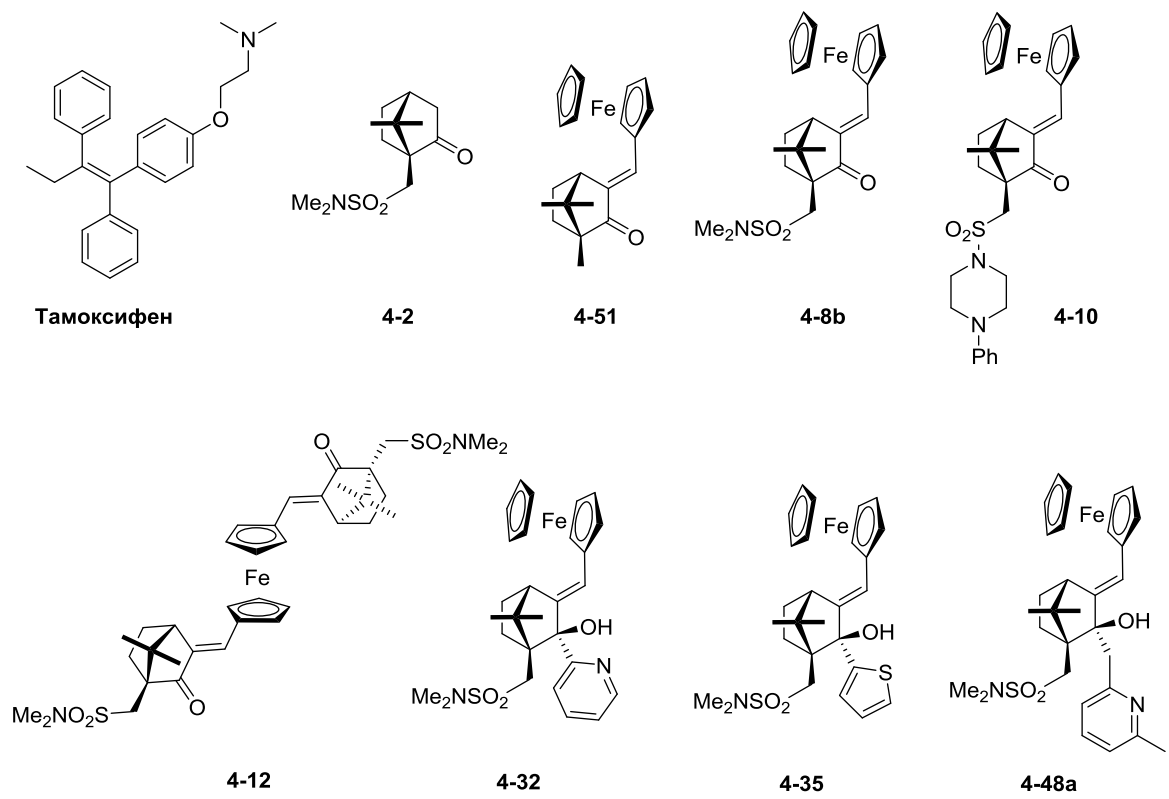


Схема 4-27

Таблица 4-11

No	Структура	IC <sub>50</sub> (μM)								
		BV-173	K-256a	NB-4	A549	H1299	MCF-7	MDA	HEK	HUVEC
1.	Tamoxifen	-	-	-	19.7	35.5	18.8	23.5	32.7	26.1
2.	4-2	-	105.5	100	-	-	-	-	-	-
3.	4-8b	-	-	-	112	135	114	100	89	97
4.	4-10	-	88	180	35	41	77	98	42	50
5.	4-12	NS	NS	NS	NS	141	NS	NS	>200	>200
6.	4-32	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
7.	4-35	0.5	15.3	4.6	10.4	17.7	16.5	35	10.4	11.5
8.	4-48a	-	-	-	-	33	15.1	35	-	23
9.	4-51	-	-	15.5	-	70	-	-	>200	165

NS – много слаба разтворимост в DMSO; съединенията бяха разтворени в ацетон, но резултатите от проведените тестове не са възпроизводими.

Тези резултати потвърдиха нашите очаквания и това ни накара да разширим обхвата на изследванията в посока тестване на нови структури и обхващане на по-голям брой туморни келтъчни линии. Структурите на втората група съединения са представени на Схема 4-27, а резултатите от теста за цитотоксичната им активност в Таблица 4-11. Като референтни в таблицата са представени IC<sub>50</sub> стойностите на тамоксифен. Резултатите от

изследването отново потвърди високата активност на съединение **4-35** (ред 7), в повечето случаи  $IC_{50}$  стойността е по-ниска от тази на тамоксифен.

Предстои задълбочено изследване на механизма на действие на най-активните структури с помощта на експериментални и теоретични методи.

## 5. ИЗВОДИ

1. Синтезирани са фeroцен- и рутеноцен-заместени камфор-10-сулфонамиди като подходящи изходни съединения за получаване на хирални полифункционални производни.

2. Изолирани са редица хирални аминокoхoли и техни O- и S-съдържачи аналози чрез осъществяване на присъединителни реакции на функционализирани органолитиеви съединения към фeroцен- и рутеноцен-заместени камфор-10-сулфонамиди и фeroцен-заместен камфор.

3. Приложени са съвременни ЯМР техники за определяне на конфигурациите на синтезираните серии от хирални съединения, чрез което е определен стереохимичният ход на присъединяване на органолитиевите реагенти към фeroцен- и рутеноцен-заместените камфор-10-сулфонамиди.

4. Синтезираните хирални аминокoхoли и техни O- и S-съдържачи аналози са приложени в каталитични количества като пре-катализатори в моделната реакция на енантиселективно присъединяване на диетилцинк към бензалдехид с постигнати максимални енантиселективности от 76%. Предложено е обяснение на стереохимичния ход на реакциите.

5. Изолирани са продуктите на присъединяване на диетилцинк към фeroценкарбалдехид, катализирано от хинин, цинхонин, цинхонидин и S-аланинол, с което е изучена приложимостта им като хирални лиганди.

6. Предложен е подход за получаване на 1,2-дизаместени фeroценови производни с планарна хиралност, посредством получаване на хирален имин и присъединяване към него на подходящи органометални реагенти.

7. Определена е антитуморната активност на серия от новосинтезирани полифункционални хирални съединения, като в някои е постигната по-висока цитотоксична активност, от тази на референтните вещества цисплатин и тамоксифен.

## Публикации във връзка с темата на дисертацията

1. Dimitrov, V.; Kamenova-Nacheva, M. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy* **2009**, *44*, 317-332. Enantioselective organozinc-catalyzed additions to carbonyl compounds – recent developments (review);

### Забелязани цитати

1. Ameta, K.L.; Penoni, A., *Heterogeneous Catalysis: A Versatile Tool for the Synthesis of Bioactive Heterocycles*, 2014;
2. Lumbroso, A.; Cooke, M.L.; Breit, B. **2013**, *Angew. Chem. Int. Ed.*, *52*, 1890–1932 ;
3. Shen, B.; Huang, H.; Bian, G.; Zong, H.; Song, L. **2013**, *Chirality*, *25*, 561–566;
4. Werner, T.; Riahi, A. M.; Schramm, H. *Synthesis* **2011**, 3482-3490;
5. Knipe, C., *Organic Reaction Mechanisms*, 2010 A;
2. Kamenova-Nacheva, M.; Dobrikov, G.; Dimitrov, V. *Arkivoc* **2009**, *2009*, 141-152. Preparation of  $\beta$ -amino-alcohol analogs by the addition of *N*-, *O*-and *S*-containing substituents to ferrocenylcamphorsulfonamide - Ligands for enantioselective addition of diethylzinc to benzaldehyde;

### Забелязани цитати

1. Marques, F. A.; Wosch, C. L.; Frensch, G.; Labes, R.; Maia, B. H. L. N. S.; Salomé, K. S.; Barisona, A.; Guerrero, P. G., Jr. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2015**, *26*, 165-170;
2. Ferreira, A. S. D.; Schulz, J.; Galvão, A. M.; Roseiro, A. P. S.; Štěpnička, P.; Veiros, L. F.; Carvalho, M. F. N. N. *Journal of Organometallic Chemistry* **2014**, *760*, 108-114.
3. Dikova, K.; Kamenova-Nacheva, M.; Kostova, K.; Dimitrov, V. *Bulgarian Chemical Communications* **2014**, *46*, *Special Issue A*, 33-38. Enantioselective addition of diethylzinc to ferrocene carbaldehyde-reaction outcome by using natural compound based catalysts;
4. Kamenova-Nacheva, M.; Dobrikov, G.; Dimitrov, V., *Tetrahedron Asymmetry* **2016**, *27*, 852-864. Synthesis and catalytic application of ferrocene substituted camphane-based aminoalcohols and *S*-containing heterocyclic analogues.

## Участие в научни форуми

№	Период на провеждане	Град и държава на провеждане	Име на форума	Автори и наименование на доклада
1	29.09.2004 - 1.10.2004	София, България	Пета Национална Конференция по Химия	К. Костова, К. Петкова, М. Каменова, И. Филипова, С. Панев, В. Димитров "Енантioseлективно присъединяване на диетилцинк към алдехиди катализирано от хирални лиганди" (постер).
2	23.07.2006 - 28.07.2006	Zaragoza, Spain	XXII International Conference on Organometallic Chemistry	Dobrikov, G., Kamenova, M., Petkova, K., Kostova, K. Dimitrov, V. Chiral ligands incorporating the ferrocene core for enantioselective addition of diethylzinc to aldehydes (постер)
3	10.09.2006 - 14.09.2006	Ohrid, Macedonia	5 <sup>th</sup> International Conference of the Chemical Societies of the South-East European Countries	Kamenova, M., Dobrikov, G., Dimitrov, V. Chiral ferrocene derivatives - synthesis and application as ligands for enantioselective addition of diethylzinc to benzaldehyde (постер)
4	09.12.2006 - 12.12.2006	Sofia, Bulgaria	1 <sup>st</sup> International symposium on organic chemistry	Kamenova, M., Dobrikov, G., Dimitrov, V., Synthesis of chiral ligands for enantioselective addition of diethylzinc to benzaldehyde (постер)
5	01.09.2007 - 06.09.2007	Sofia, Bulgaria	XVIIth EuCheMs Conference on organometallic Chemistry, 2007	Kamenova, M., Dobrikov, G., Dimitrov, V. Chiral ferrocene derivatives – synthesis and application as ligands for enantioselective addition of diethylzinc to benzaldehyde (постер)
6	01.01.2010 - 02.01.2010	Варна, България	9-та научна конференция по природни науки на ШУ „Епископ Константин Преславски”, 2010	Dobrikov, G., Stoyanova, M., Kamenova-Nacheva, M., Karabelov, Y., Valcheva, V., Dimitrov, V. Synthesis and biological activity of new chiral compounds derived from (R)-2-amino-1-butanol and bicyclic terpenoids (постер)
7	18.06.2010 - 19.06.2010	Копривщица, България	8 <sup>th</sup> Chemistry Conference	Kamenova-Nacheva, M., Karabelov, Y., Stoyanova, M., Dobrikov, G., Momekov, G., Valcheva, V., Dimitrov, V. Synthesis and biological activity of new chiral compounds derived from bicyclic terpenoids (постер)
8	30.10.2010 - 02.11.2010	Sofia, Bulgaria	3 <sup>rd</sup> International Symposium on Organic Chemistry with satellite meeting on NMR in Life Sciences	Kamenova-Nacheva, M., Dobrikov, G., Momekov, G., Dimitrov, V. Synthesis and Anticancer Activities of New Chiral Compounds Derived from (+)-Camphor and (-)-Fenchone (постер)
9	05.10.2015 - 06.10.2015	София, България	Юбилейна научна конференция по случай 55 год. от създаването на Института по молекулярна биология	Slavchev, I., Dobrikov, G.M., Kamenova-Nacheva, M., Ugrinova, I., Stoykov, I., Dimitrov, V. Anticancer activity of new ferrocenylidene derivatives of (+)-camphor sulfonamides (постер)



## ЛІТЕРАТУРА

1. Simonyi, M. *Medicinal Research Reviews* **1984**, *4*, 359-413.
2. Wuis, E. W. *Pharmaceutisch Weekblad - Scientific Edition* **1987**, *9*, 249-260.
3. *Chirality in Drug Research*, Francotte, E.; Lindner, W. ed.; WILEY-VCH, Weinheim, Germany, **2006**.
4. Nugent, W. A. *Advanced Synthesis and Catalysis* **2003**, *345*, 415-424.
5. Fukuda, A.; Kobayashi, Y.; Kimachi, T.; Takemoto, Y. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 9305-9313.
6. Noyori, R.; Kitamura, M. *Angewandte Chemie (International Edition in English)* **1991**, *30*, 49-69.
7. Soai, K.; Niwa, S. *Chemical Reviews* **1992**, *92*, 833-856.
8. Blaser, H. U. *Chemical Reviews* **1992**, *92*, 935-952.
9. Seebach, D.; Plattner, D.; Beck, A.; Hunziker, D. *Helvetica Chimica Acta* **1992**, *75*, 2171.
10. Seebach, D.; Grass, G.; Wilka, E.-M.; Hilvert, D.; Brunner, E. *Helvetica Chimica Acta* **1979**, *62*, 2695.
11. Noyori, R.; Suga, S.; Kawai, K.; Okawa, S.; Kitamura, M. *Pure Appl. Chem.* **1988**, *60*, 1597.
12. Knochel, P.; Yeh, M. C. P.; Berk, S. C.; Talbert, J. *Journal of Organic Chemistry* **1988**, *53*, 2390-2392.
13. Knochel, P.; Singer, R. D. *Chemical Reviews* **1993**, *93*, 2117-2188.
14. Dimitrov, V.; Bratovanov, S.; Simova, S.; Kostova, K. *Tetrahedron Letters* **1994**, *35*, 6713-6716.
15. Dimitrov, V.; Kostova, K.; Hesse, M. *Tetrahedron Asymmetry* **1994**, *5*, 1891-1894.
16. Dimitrov, V.; Simova, S.; Kostova, K. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 1699-1706.
17. Dimitrov, V.; Philipova, I.; Simova, S. *Tetrahedron Asymmetry* **1996**, *7*, 1493-1500.
18. Dimitrov, V.; Genov, M.; Simova, S.; Linden, A. *Journal of Organometallic Chemistry* **1996**, *525*, 213-224.
19. Genov, M.; Kostova, K.; Dimitrov, V. *Tetrahedron Asymmetry* **1997**, *8*, 1869-1876.
20. Genov, M.; Dimitrov, V.; Ivanova, V. *Tetrahedron Asymmetry* **1997**, *8*, 3703-3706.
21. Philipova, I.; Dimitrov, V.; Simova, S. *Tetrahedron Asymmetry* **1999**, *10*, 1381-1391.
22. Kostova, K.; Dimitrov, V.; Simova, S.; Hesse, M. *Helvetica Chimica Acta* **1999**, *82*, 1385-1399.
23. Dimitrov, V.; Panev, S. *Tetrahedron Asymmetry* **2000**, *11*, 1513-1516.
24. Panev, S.; Dimitrov, V. *Tetrahedron Asymmetry* **2000**, *11*, 1517-1526.
25. Panev, S.; Linden, A.; Dimitrov, V. *Tetrahedron Asymmetry* **2001**, *12*, 1313-1321.
26. Dimitrov, V.; Dobrikov, G.; Genov, M. *Tetrahedron Asymmetry* **2001**, *12*, 1323-1329.
27. Добриков, Г. М.; дисертация, ИОХЦФ-БАН, 2006.
28. Williams, P. D.; Anderson, P. S.; Ball, R. G.; Bock, M. G.; Carroll, L.; Chiu, S. H. L.; Clineschmidt, B. V.; Chris Culberson, J.; Erb, J. M.; Evans, B. E.; Fitzpatrick, S. L.; Freidinger, R. M.; Kaufman, M. J.; Lundell, G. F.; Murphy, J. S.; Pawluczyk, J. M.; Perlow, D. S.; Pettibone, D. J.; Pitzenberger, S. M.; Thompson, K. L.; Veber, D. F. *Journal of Medicinal Chemistry*® **1994**, *37*, 565-571.
29. Vashchenko, V.; Kutulya, L.; Krivoshey, A. *Synthesis* **2007**, *2007*, 2125-2134.
30. Salisova, M.; Puciova, M.; Postnova, V. N.; Toma, S. *Chemical Papers* **1990**, *44*, 201-207.
31. Klimova, E. I.; Ramírez, L. R.; Klimova, T.; García, M. M. *Journal of Organometallic Chemistry* **1998**, *559*, 43-53.
32. Mueller-Westerhoff, U. T.; Zheng, Y.; Ingram, G. *Journal of Organometallic Chemistry* **1993**, *463*, 163-167.

33. Top, S.; El Hafa, H.; Vessières, A.; Huché, M.; Vaissermann, J.; Jaouen, G. *Chemistry – A European Journal* **2002**, *8*, 5241-5249.
34. Dorcier, A.; Dyson, P. J.; Gossens, C.; Rothlisberger, U.; Scopelliti, R.; Tavernelli, I. *Organometallics* **2005**, *24*, 2114-2123.
35. Rosenblum, M.; Banerjee, A. K.; Danieli, N.; Fish, R. W.; Schlatter, V. *Journal of the American Chemical Society* **1963**, *85*, 316-324.
36. Kuendig, E. P.; Monnier, F. R. *Adv. Synth. Catal.* **2004**, *346*, 901-904.
37. Dobrikov, G. M.; Philipova, I.; Nikolova, R.; Shivachev, B.; Chimov, A.; Dimitrov, V. *Polyhedron* **2012**, *45*, 126-143.
38. Clayden, J.; Greeves, N.; Warren, S. *Organic Chemistry*; OUP Oxford, 2012.
39. Smaardijk, A. A.; Wynberg, H. *Journal of Organic Chemistry* **1987**, *52*, 135-137.
40. Bonetto, L.; Fornasier, R.; Tonellato, U. *Gazzetta chimica Italiana* **1995**, *125*, 63.
41. Kitamura, M.; Okada, S.; Suga, S.; Noyori, R. *Journal of the American Chemical Society* **1989**, *111*, 4028-4036.
42. Muchow, C.; Vannoorenberghe, Y.; Buono, G. *Tetrahedron Letters* **1987**, *28*, 6163-6166.
43. Simenel, A. A.; Samarina, S. V.; Snegur, L. V.; Starikova, Z. A.; Ostrovskaya, L. A.; Bluchterova, N. V.; Fomina, M. M. *Applied Organometallic Chemistry* **2008**, *22*, 276-280.
44. Fouda, M. F. R.; Abd-Elzaher, M. M.; Abdelsamaia, R. A.; Labib, A. A. *Applied Organometallic Chemistry* **2007**, *21*, 613-625.
45. Dombrowski, K. E.; Baldwin, W.; Sheats, J. E. *Journal of Organometallic Chemistry* **1986**, *302*, 281-306.
46. Kopf-Maier, P.; Kopf, H. *Drugs of the Future* **1986**, *11*, 297-319.
47. Meunier, P.; Ouattara, I.; Gautheron, B.; Tirouflet, J.; Camboli, D.; Besançon, J. *European Journal of Medicinal Chemistry* **1991**, *26*, 351-362.
48. Top, S.; Tang, J.; Vessieres, A.; Carrez, D.; Provot, C.; Jaouen, G. *Chemical Communications* **1996**, 955-956.
49. Neuse, E. W.; Meirim, M. G.; Blom, N. F. *Organometallics* **1988**, *7*, 2562-2565.
50. Weissfloch, L.; Wagner, M.; Probst, T.; Senekowitsch-Schmidtke, R.; Tempel, K.; Molls, M. *BioMetals* **2001**, *14*, 43-49.
51. Top, S.; Vessières, A.; Cabestaing, C.; Laios, I.; Leclercq, G.; Provot, C.; Jaouen, G. E. *Journal of Organometallic Chemistry* **2001**, *637-639*, 500-506.
52. Allardyce, C. S.; Dorcier, A.; Scolaro, C.; Dyson, P. J. *Applied Organometallic Chemistry* **2005**, *19*, 1-10.