



Яна Иванова Николова

**Синтез на многофункционални органични съединения с  
потенциална биологична активност и приложение в  
асиметричния синтез**

**АВТОРЕФЕРАТ**

за получаване на образователна и научна степен „доктор“  
Научна специалност: Органична химия, шифър 01.05.03

Научни ръководители: проф. дн Владимир Димитров  
доц. д-р Георги Добриков

София, 2017 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 28.03.2017 г.

Дисертационният труд е изложен на 171 страници, включва 12 таблици, 41 фигури и 40 схеми. Библиографията обхваща 174 литературни източника. Резултатите са отразени в 2 научни публикации и са представени на 8 научни форума.

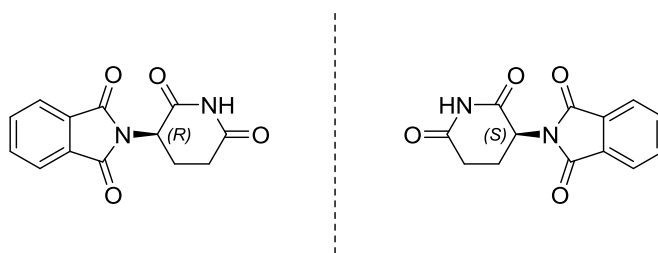
Номерацията на фигурите, таблиците и съединенията в автореферата е същата, както в дисертацията.

Защитата на дисертационния труд ще се проведе на 14.06.2017 г. от 10.30 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 УВОД

Фармакологичната активност на дадено лекарствено средство зависи от неговото взаимодействие с биологичния обект и по-конкретно взаимодействието му с някои от съставните части на този обект на молекулно ниво - например протеини, нуклеинови киселини, градивните части на мембраните (фосфолипиди и гликолипиди) и др. Организмите са изградени от сложни триизмерни биомолекули, които са способни да разпознават лекарствената молекула само с конкретни участъци от структурата си и това е определящо за начина на свързване и афинитета на лекарството към биологичния обект. От друга страна, биомолекулите (протеини, нуклеинови киселини, въглехидрати) са изградени от хирални фрагменти, което е причина отделните енантомери на едно хирално лекарствено средство да показват различна биологична активност. В повечето случаи само единият енантиомер притежава желаната активност, докато другият е или неактивен, или притежава друг вид активност, или дори може да има вредно за организма действие. Класически пример е лекарството талидомид (Фигура 1-1), което в края на 50-те и началото 60-те години на миналия век е използвано в рацемичната си форма за преодоляване на симптомите на сутрешно гадене при бременни жени. През 1961 г. е установено, че това лекарство в много случаи предизвиква увреждания на плода, особено когато е приемано в първите месеци от бременността. По-късно е изяснено, че единият енантиомер (*R*-формата) притежава желаните свойства да потиска сутрешното гадене, докато другият предизвиква необратимите увреждания.



Фигура 1-1

Сред съвременното разнообразие от лекарствени средства все повече се обръща внимание на хиралните съединения и тяхната енантиомерна чистота. През 1992 г. Американската агенция за контрол на храните и лекарствата (*US Food & Drug Administration, FDA*) публикува правила за стереоизомерните лекарствени форми.<sup>1</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. В индустриален мащаб, финансовият ресурс необходим за разделяне и фармакологично охарактеризиране на индивидуални стереоизомери е висок, което довежда до промяна на подхода от страна на фармацевтичните фирми. В последните години все по-успешно и икономически изгодно е директното синтезиране на енантиомерно и диастереоизомерно чисти форми на хиралните лекарствени средства, като решаващо значение за това има приложението на асиметричния синтез. Тази област от органичната химия се развива много бързо и до този момент по-голямата част от основните синтетични химични реакции имат достатъчно добре разработени асиметрични варианти. Познати са асиметрични варианти на реакциите на хидриране, изомеризация, редукция, асиметрични алдолни реакции, епоксидиране, дихидроксилиране и др., които се използват и в индустриален мащаб за синтеза на активни съставки на фармацевтични продукти (API = Active Pharmaceutical Ingredients).

Три са основните направления за получаване на стереоизомерно чисти съединения:

- Изолиране на енантиомерно и диастереоизомерно чисти съединения от природата – в литературата се обозначат като съединения, получени директно от природни източници (*chiral pool*); това са аминокиселини, въглехидрати, алкалоиди и много други съединения, за които природата е „разработила“ ефективни методи за синтез в процеса на еволюцията;
- Използване на разделителни методи за получаване на стереоизомерно чисти съединения (хроматография с хирални носители, разделяне на диастереоизомери и др. аналогични подходи) – при тези методи като хирални помощни вещества се използват съединения, получени от природата или такива синтезирани с тяхна помощ;
- Асиметрични синтези (стехиометрични или каталитични варианти) – използват се хирални помощни вещества, получени от природата или такива синтезирани с тяхна помощ.

Следователно за получаването на стереоизомерно чисти (или обогатени) съединения, природните продукти играят основна роля.

В зависимост от количеството на хиралните нерацемични помощни вещества, асиметричният синтез може да бъде каталитичен или стехиометричен. Особено перспективен е каталитичният асиметричен синтез, при който помощните вещества се прилагат в количества от 2 до 5 молни % спрямо субстрата. Важна особеност на този тип асиметрични реакции е, че досега не е синтезиран универсален лиганд или катализатор, приложим за различните типове енантиселективни трансформации. Ефективността на даден хирален

модификатор е висока обикновено само за конкретна реакция. В повечето случаи ефективността намалява при употреба с по-широк кръг от реагенти, и особено в рамките на по-широк кръг от реакции. Поради този факт разработването на нови асиметрични каталитични системи е обект на значителен интерес както в научните лабораториите, така и в индустрията.

Асиметричният вариант на реакцията на редукция на прохирални кетони заема важно място в органичния синтез като един от най-ефективните методи за получаване на хирални вторични алкохоли с висок енантиомерен излишък. Използването на подходящи хирални катализатори води до висока енантиселективност, количествен добив и кратко реакционно време, без да се засягат други функционални групи. Пример за промишлено използването на този метод е четиристадийният синтез на антидепресанта *Fluoxetine* (*Prozac*) на компанията *Eli Lilly*.<sup>2</sup> Ключова стъпка за получаването му в енантиомерно чист вид е асиметричната редукция на  $\beta$ -хлорпропиофенон с участието на хиралния *Corey-Bakshi-Shibata* (*CBS*) катализатор **1-1** (Схема 1-1). Целевият интермедиат **1-2** се получава с висок добив (85%), без да се налага използването на хроматографски методи за разделяне.

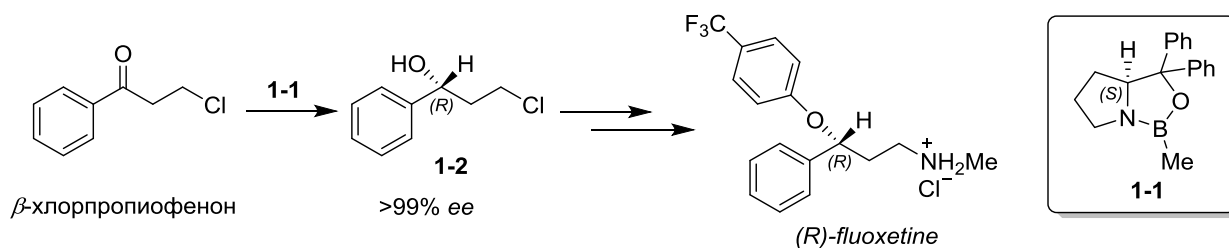


Схема 1-1

Продуктите от редукцията на прохирални кетони са важни синтетични интермедиати за получаване и на други хирални съединения - например халогено-, тио- и фосфинови производни, амини, етери, естери, хетероцикли и др., включително и такива с биологична активност. Те могат да бъдат използвани като енантиомерно чисти форми в най-разнообразни области - освен като лекарствени средства, също и като хранителни добавки, в парфюмерията и козметиката, в растителната защита (агрехимикали), в съвременните технологии (нови материали) и др.

В настоящия дисертационен труд се насочихме към прилагане на асиметрични синтетични подходи за получаване на хирални съединения с потенциална биологична активност и по-конкретно - антитуберкулозна, както и съединения, които могат да се прилагат като лиганди или помощни съединения в асиметричния синтез.

## 2 ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ

Целите, които си поставихме в настоящия дисертационен труд, са в областта на разработване на подходи за синтез на хирални съединения с потенциална биологична активност, както и на хирални съединения, подходящи за приложение като лиганди в асиметричния синтез. Конкретните задачи, които си поставихме, са следните:

1. Разработване на синтези на нови хирални енантиомерно чисти карбамиди, тиокарбамиди и ацилтиокарбамиди, съдържащи (*R*)-2-аминобутанолов остатък. Като източник на хиралност е избран търговски достъпният (*R*)-2-аминобутан-1-ол. Синтез на серия от ацилни производни на 2-аминоетил фенхол, притежаващи разнообразни заместители при азотния атом.
2. Оценка на *in vitro* антитуберкулозната активност на получените съединения чрез използване метода на *Canetti*.
3. Синтез на серия от хирални производни на квадратната киселина чрез свързване на скелета ѝ с фрагменти на хирални аминоклкохоли и амини. Изучаване на стереохимията на реакцията на редукция на  $\alpha$ -хлороацетофенон с боран диметилсулфид комплекс, катализирана от производните на квадратната киселина и хиралните аминоклкохоли.
4. Синтез на серия стерично запречени аминоклкохоли и изучаване на тяхната активност като лиганди за енантиселективна редукция на пропиофенон с боран диметилсулфид комплекс, както и в реакцията на присъединяване на диетилицинк към бензалдехид. Сравнение на активността на лигандите в двете енантиселективни реакции.
5. Приложение на спектрални методи за характеризиране на синтезираните съединения, както и изучаване на процеси, свързани със синтеза и приложението на съединенията като лиганди за асиметрични синтези.

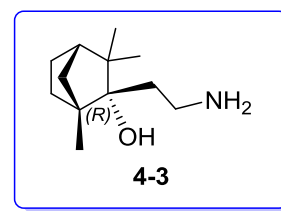
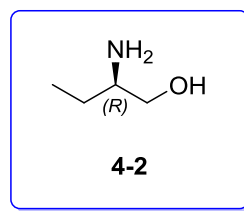
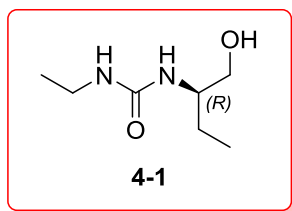
### 3 РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЯ

Настоящият дисертационен труд може условно да се раздели на две части, като двете съставляващи го синтетични направления са неразривно свързани помежду си. В първата част се демонстрират синтетични подходи за получаване на хирални съединения с потенциална биологична активност и изучаване на тяхната *in vitro* антитуберкулозна активност. Мотивацията да се насочим към оценка на антитуберкулозната активност на нови съединения е обоснована в Литературния обзор и влиянието на хиралността върху активността на синтезираните съединения е от особен интерес. Във втората част се разработват методи за получаване на хирални вторични аминокиселини, които могат да се приложат в синтеза на структури, притежаващи потенциална биологична активност, включително такива с антитуберкулозни свойства. Двете части на настоящата дисертация са логически свързани поради обстоятелството, че съединения и/или фрагменти от аналогичен структурен тип, притежаващи елементи на хиралност, са залегнали във фокуса на идеите и задачите.

#### 3.1 Синтез на хирални полифункционални съединения с антитуберкулозна активност

При търсенето на нови съединения с потенциална биологична активност могат да се използват различни подходи. Един от най-приложимите и сигурни методи е да се проучат внимателно съществуващите доказано активни структури и на тяхна основа да се търсят начини за подобряване на активността чрез осъществяване на синтетични вариации около определен структурен елемент. През последните години са синтезирани голям брой производни, съдържащи (*S*)-2-амино-1-бутанол като основен структурен елемент, както е показано в Литературния обзор. През 2012 г. в публикация на *Dobrikov* и сътрудници е дискутирана ключовата роля на конфигурацията на стереогенния център при серия съединения производни на (*R*)-2-аминобутан-1-ол (**4-2**)<sup>3</sup> за антимикулобактериалната им активност. Едно от открояващите се съединения в тази поредица е алифатно заместеният карбамид (*R*)-1-етил-3-(1-хидроксибутан-2-ил)уреа (ЕНВU, Фигура 4-1), около 5-6 пъти по-активен *in vitro* от етамбутола. Намерените литературни данни показват, че познатите до момента карбамиди/тиокарбамиди с антитуберкулозно действие, съдържат преди всичко арилови заместители при азотните си атоми, което очевидно не следва да се разглежда като единствена възможност. Всичко това предопредели нашите изследвания върху една

неизучена област – синтез на алифатни и смесени алифатно-ароматни карбамиди/тиокарбамиди, притежаващи (*R*)-2-аминобутанолов остатък.



(*R*)-1-етил-3-(1-хидроксибутан-2-ил)уреа  
(ЕНВU)  
МИК = 0.2 µg/ml (1.25 µM)

**Фигура 4-1**

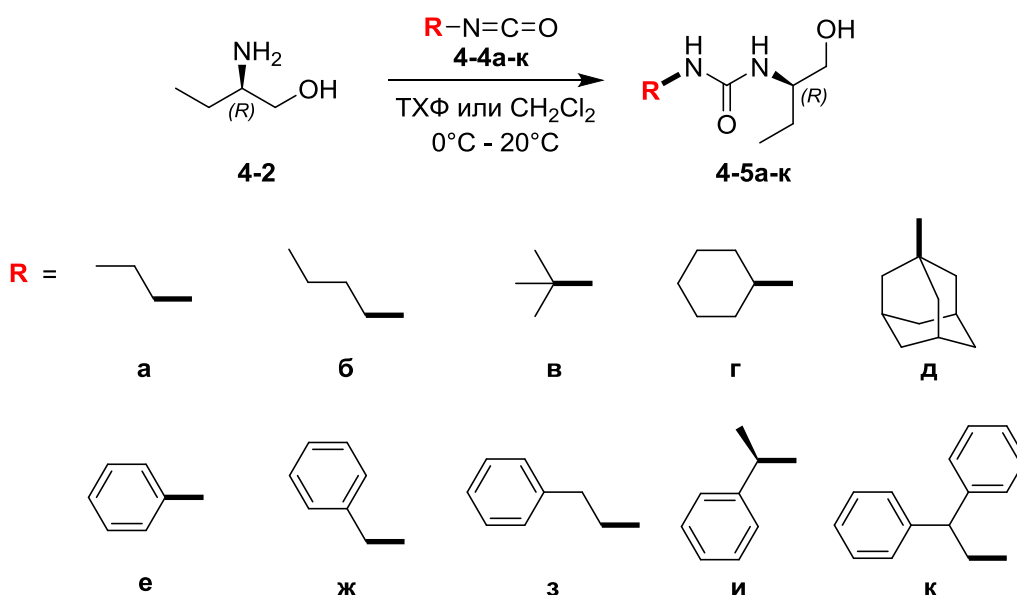
Както вече се демонстрира в Литературния обзор чрез работите на *Protopopova*<sup>4-6</sup> и *Bogatcheva*,<sup>7</sup> силно антитуберкулозно действие притежават някои много по-разнообразни по строеж (в сравнение с етамбутола) аминокалкохоли и диамини, като изглежда липофилността им е от ключово значение. Имайки предвид тези факти, като стартов реагент за синтеза на серия съединения, е избран хиралният аминокалкохол (**4-3**), получен от *Dimitrov* и сътрудници през 2001 г., съдържащ липофилния фенханов скелет.<sup>8</sup> Планирано е да се изучи доколко заместителите при аминок групата на този хирален аминокалкохол допринасят за антитуберкулозното действие, поради което част от тях са подбрани в съответствие с най-активните съединения от публикацията на *Dobrikov* и сътрудници.<sup>3</sup>

### 3.1.1 Получаване на производни на (*R*)-2-аминобутан-1-ол чрез въвеждане на карбамидна и тиокарбамидна функционални групи

Планиран е синтез на поредица от съединения, съдържащи карбамидна или тиокарбамидна група, свързана с хиралния фрагмент на (*R*)-2-аминобутан-1-ол. Структурното разнообразие се реализира чрез вариране на заместителите при втория азотен атом. За синтеза на тези съединения е използвана серия от изоцианати **4-4а-к**, съдържащи разнообразни заместители (Схема 4-1). Реакциите с (*R*)-2-аминобутан-1-ол са проведени в среда от сух тетраhydroфуран или метиленхлорид (сухите разтворители са необходими, за да се избегне възможна хидролиза на изоцианатите). Разтворът на (*R*)-2-аминобутан-1-ол в избрания разтворител се охлажда до 0°C, след което съответният изоцианат се добавя при тази температура. Реакцията първоначално е екзотермична и ако реакционната смес не се



охлажда, отделената топлина може да доведе до образуването на карбамат като страничен продукт. След прибавянето на изоцианат, реакционната смес се разбърква при стайна температура и превръщането на изходните съединения се следи с помощта на тънкослойна хроматография. Всички получени карбамиди са изолирани в чист вид с високи добиви (74-99%) във вид на безцветни кристали. В повечето случаи като предпочитан метод за пречистване е използвана прекристализация, поради слабата разтворимост на продуктите в подходящи органични разтворители, а колонна хроматография е приложена само за съединения **4-5б**, **4-5в** и **4-5к**.



**Схема 4-1**

По аналогичен начин са получени дикарбамидните структури **4-7а-в** от съответните диизоцианати **4-6а-в** (Схема 4-2). В никой от случаите не е установено образуване на странични продукти (тънкослойна хроматография). Крайните продукти са изолирани в чист вид чрез прекристализация с високи добиви (77-88%).

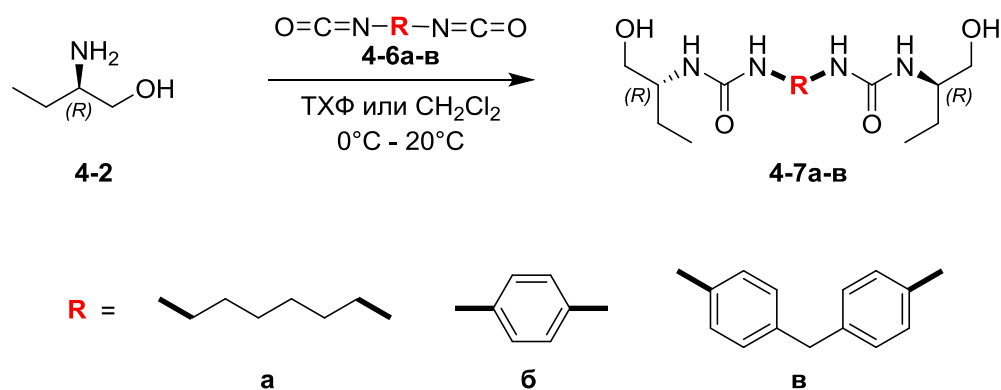


Схема 4-2

Хиралните карбамиди и тиокарбамиди, представени на Схема 4-3, са получени чрез различни синтетични методики. Съединение **4-9** е получено при взаимодействие на (*R*)-2-аминобутан-1-ол с карбамид (**4-8**) в отсъствие на разтворител (20% добив, бели кристали), съгласно описана в литературата аналогична процедура.<sup>9</sup> Съединение **4-11** е получено посредством реакция на ацилиране на **4-2** с карбамоил хлорид **4-10** при  $0^\circ\text{C}$  в сух метиленхлорид и в присъствие на триетиламин (13% добив, безцветно масло). Тиокарбамидите **4-13** и **4-15** са синтезирани чрез реакции на **4-2** със съответните изотиоцианати **4-12** и **4-14** при условия, аналогични на тези представени в Схеми 4-1 и 4-2. Те са изолирани в чист вид като безцветни масла посредством колонна хроматография с високи добиви (72 и 92%, съответно). Следва да се отбележи, че  $^1\text{H}$ -ЯМР спектрите на **4-13** и **4-15** се отличават от тези на аналогичните карбамиди по наблюдаваните широки сигнали без разпознаваема мултиплетност за протоните, разположени по въглеродната верига в близост до тиокарбамидната функционална група. Отделни широки сигнали са наблюдавани и при  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектрите на тези съединения. Тези особености най-вероятно се дължат на наличието на тавтомерни форми в разтвор и за двете съединения.

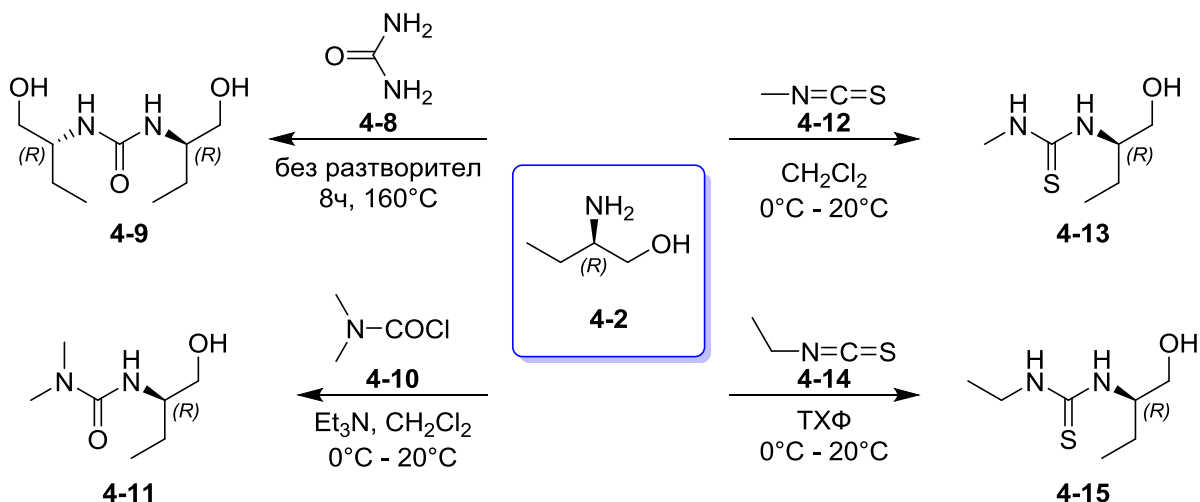


Схема 4-3

Малка серия от структурно разнообразни ацилтиокарбамидни производни (съединения **4-18а-д**, Схема 4-4), съдържащи фрагмент на (*R*)-2-аминобутан-1-ол, е получена посредством реакции между **4-2**, съответните киселинни хлориди **4-16а-д** и амониев тиоцианат **4-17** чрез прилагане на т.нар. „one-pot“-процедура. По аналогия с литературни данни, реакциите се провеждат в присъствието на каталитично количество PEG-400.<sup>10</sup>

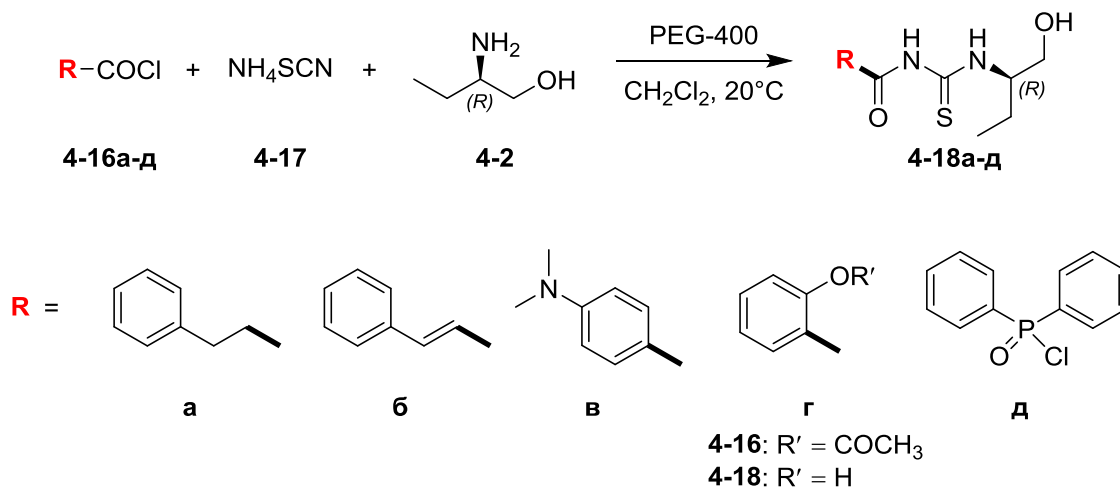


Схема 4-4

Методът за синтез на съединения **4-18** е лесно приложим и ефективен, което компенсира в значителна степен реализираните умерени добиви (между 17 и 65%). Съединенията са пречистени чрез колонна хроматография, като не се наблюдава присъствието на забележими примеси от странични продукти.

### 3.1.2 Получаване на производни на фенханов аминокалкохол (1*R*,2*R*)-2-(2-аминоетил)-2-хидрокси-1,3,3-триметилбицикло[2.2.1]хептан чрез функционализиране на амино групата

В рамките на предходещи този труд изследвания е синтезиран хиралният енантиомерно чист аминокалкохол **4-3** с фенханов скелет (Схема 4-5).<sup>8</sup> За целите на проведените в рамките на дисертацията изследвания **4-3** е синтезиран в многограмови количества. Синтетичната процедура включва в първия стадий количествено енантиселективно *ендо*-присъединяване на *in situ* генериран ацетонитрил литий ( $\text{LiCH}_2\text{CN}$ ) към (-)-фенхон (**4-19**) при  $-78^\circ\text{C}$ . Нитрилът **4-20** се изолира в чист вид чрез колонна хроматография, след което се редуцира количествено до аминокалкохол **4-3**, който се използва по-нататък без допълнително пречистване.

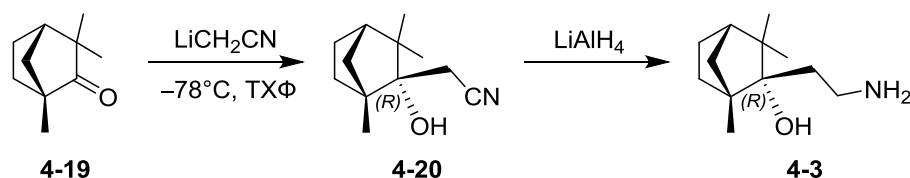


Схема 4-5

Аминокалкохолът **4-3** е приложен за получаване на разнообразни функционализирани структури чрез три синтетични процедури – *N*-ацилиране с участието на киселинни хлориди, аминолиза на естери и директно образуване на amidна връзка чрез реакции с ароматни киселини в присъствие на т. нар. реагенти за купелуване.

По-голяма част от целевите амиди, а именно съединения **4-22а-и**, са получени с участието на киселинните хлориди **4-21а-и** по стандартна процедура (Схема 4-6), при която към охладен до  $0^\circ\text{C}$  разтвор на **4-3** и  $\text{Et}_3\text{N}$  в сух метиленхлорид, се прибавя съответният киселинен хлорид, след което реакционната смес се разбърква при стайна температура в продължение на няколко часа. Всички реакции се следят чрез тънкослойна хроматография. Продуктите са изолирани в чист вид (66-90% добив) с помощта на колонна хроматография.

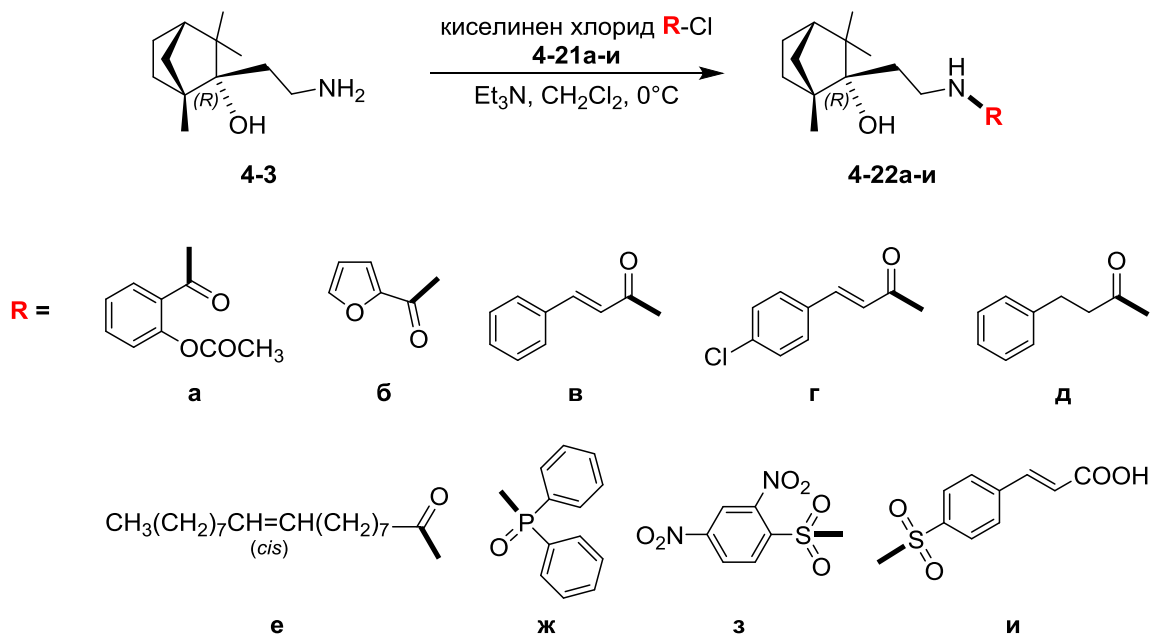


Схема 4-6

Други три производни (**4-24а-в**) са получени при реакции на аминолиза на естерите **4-23а-в** с **4-3** в отсъствие на разтворител, както е показано на Схема 4-7, и реакционните смеси са нагрявани до 90-100°C. Продуктите **4-24а-в** са изолирани с умерени добиви (35-66%) и с отлична чистота след колонна хроматография (прекрystalизация е използвана единствено при съединение **4-24в**, което е трудно разтворимо в органичните разтворители, подходящи за колонна хроматография).

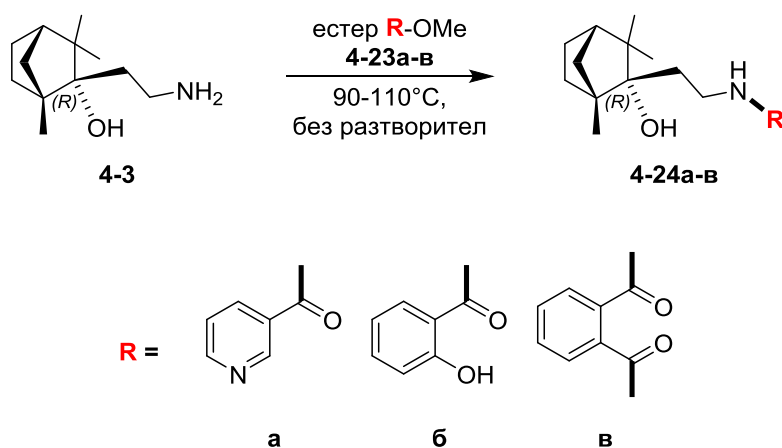


Схема 4-7

Съединения **4-26a-в** са получени чрез реакция на купелуване между **4-3** и съответните карбоксилни киселини **4-25a-в** (Схема 4-8) в присъствие на *O*-(бензотриазол-1-ил)-*N,N,N',N'*-тетраметилуриониев тетрафлуороборат (ТВТУ) като реагент за купелуване. ТВТУ е избран като един от най-ефективните активиращи реагенти за създаване на амидни връзки в пептидния синтез.<sup>11</sup> Амидите **4-26a-в** са изолирани с високи добиви посредством колонна хроматография. В случая с антраниловата киселина **4-25b** предварителна защита на ароматната амино група не е необходима поради ниската ѝ реактивоспособност в сравнение със силно нуклеофилната амино група от **4-3**. Съединение **4-25в** е получено от антранилова киселина и сулфамоил хлорид, като в литературата не са открити данни за синтеза му.

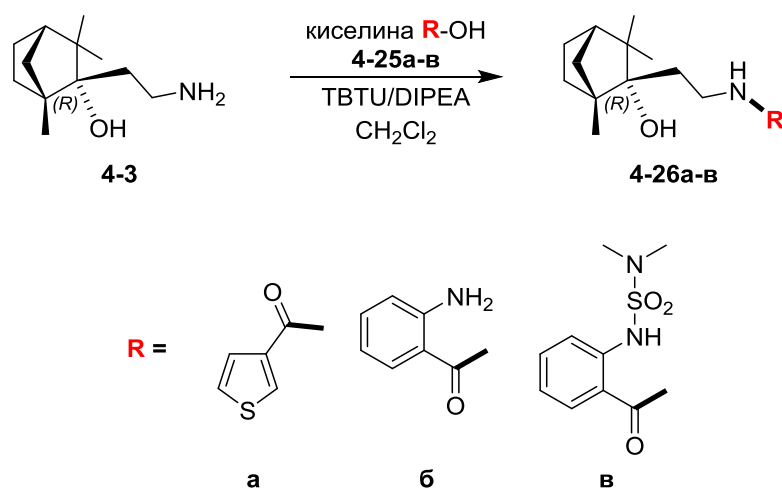


Схема 4-8

Чрез присъединителна реакция на **4-3** към етилизоцианат (**4-27**) е получен карбамидът **4-28** (Схема 4-9). Реакцията е проведена при 0°C в сух метиленхлорид, а продуктът **4-28** е изолиран с количествен добив и отлична чистота чрез прекристализация из хептан/МТБЕ. Карбаматът **4-30** е получен с количествен добив от **4-3** и търговски достъпния реагент 1,3-бис(бензоилоксикарбонил)-2-метил-изотиоуреа (**4-29**) по процедура, аналогична на описана в литературата.<sup>12</sup>

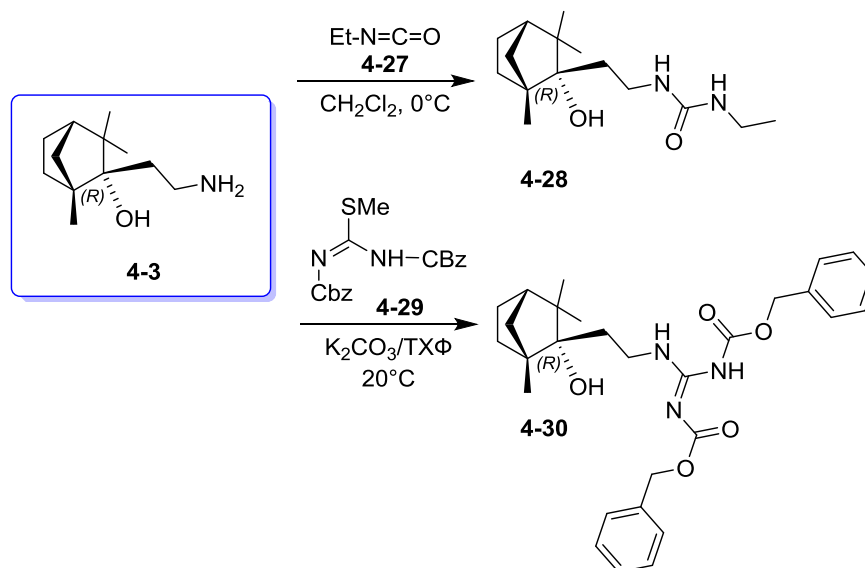


Схема 4-9

### 3.1.3 Антитуберкуозна активност на синтезираните съединения

Всички синтезирани съединения са изследвани по отношение на тяхната *in vitro* активност спрямо стандартен лабораторен щам *Mycobacterium tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv. С активните карбамидни структури са проведени тестове и срещу мултирезистентен щам 43 (резистентен едновременно към етамбутол, изониазид и рифампицин). Всички *in vitro* тестове са осъществени чрез прилагане метода на *Canetti*. Синтезираните съединения са в съгласие с Правилото на Липински (с изключение на **4-22e** и **4-30**), което дава виртуална оценка на лекарственото подобие като прогноза за фармакокинетичните свойства на дадена молекула. Като референт за определяне на антимикобактериалната активност на получените съединения е използван етамбутол, който е широко прилаган медикамент в световната медицинска практика.

Антимикобактериалната активност на новосинтезираните съединения е определена чрез пропорционалния метод на *Canetti*. Той се препоръчва от СЗО за определяне на *in vitro* активността на различни съединения спрямо щамове *Mycobacterium tuberculosis*.<sup>13-16</sup>

Производните на (*R*)-2-аминобутан-1-ол, съдържащи карбамидна (**4-5a-к**, **4-7a-в**, **4-9**, **4-11**) и тиокарбамидна (**4-13** и **4-15**) функционални групи, не показват забележима активност срещу използвания щам *Mycobacterium tuberculosis*. Дори при концентрация 5 мкг/мл се наблюдава 100% растеж на бактериите. Резултатите от проведените тестове на съединенията са представени в Таблица 4-1. Единственото изключение е при съединение **4-5к**, което показва активност близка до тази на етамбутола. Интересно е да се отбележи, че съвсем

малки структурни промени в молекулата на активното съединение **4-1** (Фигура 4-1) водят до загуба на активността. Това се вижда най-отчетливо при хомолозите на **4-1** с пропилов (**4-5а**), *n*-бутилов (**4-5б**) и *tert*-бутилов (**4-5в**) заместител. Същият ефект оказва и замяната на карбонилната група с тиокарбонилна при съединения **4-13** и **4-15**. Подобна негативна тенденция може да се забележи и при производните на етамбутола (виж Литературен обзор).<sup>17,18</sup>

**Таблица 4-1.** *In vitro* антимикобактериална активност на съединения **4-5а-к**, **4-7а-в**, **4-9**, **4-11**, **4-13** и **4-15** срещу *Mycobacterium tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv.

Съединение	<i>In vitro</i> активност срещу <i>MTB</i> H <sub>37</sub> Rv MIC (µM)	LogP <sup>a</sup>
<b>4-5а</b>	>28.71	0.30 +/-0.35
<b>4-5б</b>	>26.56	0.83 +/-0.35
<b>4-5в</b>	>26.56	0.46 +/-0.36
<b>4-5г</b>	>23.33	1.30 +/-0.35
<b>4-5д</b>	>18.77	2.12 +/-0.39
<b>4-5е</b>	>24.01	1.51 +/-0.40
<b>4-5ж</b>	>22.49	1.01 +/-0.37
<b>4-5з</b>	>21.16	1.43 +/-0.36
<b>4-5и</b>	>21.16	1.36 +/-0.38
<b>4-5к</b>	<b>4.80</b>	3.04 +/-0.38
<b>4-7а</b>	>14.43	-0.16 +/-0.49
<b>4-7б</b>	>14.76	0.41 +/-0.56
<b>4-7в</b>	>11.67	2.80 +/-0.56
<b>4-9</b>	>24.48	-0.51 +/-0.39
<b>4-11</b>	>31.21	0.05 +/-0.39
<b>4-13</b>	>30.82	-0.09 +/-0.27
<b>4-15</b>	>28.36	0.44 +/-0.27
<b>ЕМВ.2НСI<sup>г</sup></b>	7.22	0.06 <sup>б</sup>

<sup>a</sup> LogP, коефициент на разпределение в системата *n*-октанол/вода, изчислен с помощта на ACDLabs/ChemSketch 12 (www.acdlabs.com).

<sup>г</sup> ЕМВ.2НСI – етамбутол дихлорид (референтно вещество).

<sup>б</sup> LogP на ЕМВ.2НСI е известен (литературни данни).<sup>19</sup>

Следващата серия ацилтиокарбамиди (Таблица 4-2) е съставена от пет производни на (*R*)-2-аминобутан-1-ол, съдържащи фармакофорни групи, показващи активност в рамките на структурите, публикувани от *Dobrikov* и сътрудници през 2012 г.<sup>3</sup> Всички съединения от тази серия имат висока активност срещу *Mycobacterium tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv. Данните за **4-18а** и **4-18г** са съизмерими тези на етамбутола, а **4-18в** и **4-18д** са малко по-активни от него. Като най-активно се проявява производното на канелената киселина **4-18б** – МИК = 0.36 µM. Поради показаната висока активност срещу стандартния лабораторен щам, съединения **4-18а-д** са изследвани и срещу мултирезистентен щам. Оказва се, че при първите три съединения активността рязко спада – наблюдава се 100% растеж на бактериалните клетки



при концентрация 5  $\mu\text{M}$ . Единствено при **4-18г** активността се запазва, а при **4-18д** тя намалява два пъти.

Фактът, че ацилтиокарбамидите показват висока антимикобактериална активност, ни даде основание да изследваме и цитотоксичността на тези съединения. За целта е използвана клетъчна линия от човешки ембрионални бъбречни клетки (НЕК293). Получените резултати, представени в Таблица 4-2, варират в широки граници – от 12.8 до 179.6. Стойностите за **4-18а** и **4-18б** са приемливи, докато **4-18в** проявява силен цитотоксичен ефект. Важно е да се отбележи, че най-активното съединение от тази серия – **4-18б**, се отличава с отличен индекс на селективност (119.2). Следователно това съединение може да бъде сериозен кандидат за по-нататъшни изследвания.

**Таблица 4-2.** *In vitro* антимикобактериална активност на съединения **4-18а-д** срещу *Mycobacterium tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv и мултирезистентен щам.

Съединение	<i>In vitro</i> активност срещу <i>MTB</i> H <sub>37</sub> Rv МІС ( $\mu\text{M}$ )	<i>In vitro</i> активност срещу мултирезистентен щам <i>MTB</i> МІС ( $\mu\text{M}$ ) <sup>a</sup>	<i>In vitro</i> цитотоксичност IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ ) <sup>b</sup>	Индекс на селективност, SI <sup>b</sup>	Log <sub>2</sub> <sup>f</sup>
<b>4-18а</b>	7.13	>17.83	66.2	9.3	1.75 +/-0.60
<b>4-18б</b>	<b>0.36</b>	>17.96	42.9	<b>119.2</b>	2.29 +/-0.61
<b>4-18в</b>	3.39	>16.92	12.8	3.8	1.73 +/-0.61
<b>4-18г</b>	<b>7.46</b>	<b>7.46</b>	104.4	14.0	1.58 +/-0.62
<b>4-18д</b>	5.74	11.49	179.6	31.3	1.86 +/-0.62
<b>EMB.2HCl<sup>d</sup></b>	7.22	NT	NT	NT	0.06 <sup>e</sup>

<sup>a</sup> Мултирезистентен щам 43

<sup>b</sup> Цитотоксичността е определена спрямо човешки ембрионални бъбречни клетки (НЕК 293Т).

<sup>b</sup> Индекс на селективност:  $SI = IC_{50}/MIC$  (H<sub>37</sub>Rv).

<sup>f</sup> Log<sub>2</sub>P, коефициент на разпределение в системата *n*-октанол/вода, изчислен с помощта на ACDLabs/ChemSketch 12 (www.acdlabs.com).

<sup>d</sup> EMB.2HCl – етамбутол дихидрохлорид (референтно вещество).

<sup>e</sup> Log<sub>2</sub>P на EMB.2HCl е известен (литературни данни).<sup>19</sup>

NT – не е изследвано.

Дизайнът на повечето от производните на фенхановия аминокалкохол (**4-22в,д,ж, 4-24а,б,в** и **4-28**), е така обмислен, че те да съдържат фармакофорни групи, показващи активност в рамките на карбамидините структури (виж по-горе). Интересно е да се отбележи, че въвеждането на различни заместители при азотния атом на **4-3** не оказва съществено влияние върху активността на производните (Таблица 4-3). Съединенията от тази серия (включително **4-3**) проявяват умерена антимикобактериална активност (в повечето случаи 30-70% от активността на етамбутола; 48% за **4-3**). Стойностите за МИК на съединения **4-22з,и** и **4-30** са близки до тази на етамбутола. При сулфонамида **4-22з** тази стойност е очаквана, основание за което дават работите на *Malwal* и сътрудници.<sup>20,21</sup> Според авторите 2,4-динитросулфонамидната група има важно значение като *in vivo* източник на серен

диоксид – ключов агент за селективно разрушаване на бактериалните макромолекули. В този контекст е интересно да се отбележи, че активността на другия сулфонамид **4-22и** (МИК = 6.14  $\mu\text{M}$ ) е много близка до тази на **4-22з**, въпреки различието в структурите по отношение на ароматната част. Съединение **4-30** е рядък пример на антитуберкулозен агент, включващ гуанидинов фрагмент в структурата си. Този фрагмент обикновено се среща при антибиотици като стрептомицин, капреомицин, виомицин<sup>22,23</sup> и при някои полиамини.<sup>24</sup>

Получените окуражителни стойности за антитуберкулозната активност на синтезираните съединения ни подтикнаха да задълбочим изследванията си чрез определяне на цитотоксичния ефект на веществата и изчисляване на техните индекси на селективност. Цитотоксичността е определена спрямо клетъчна линия от човешки ембрионални бъбречни клетки (HEK293). Както може да се види от резултатите, почти всички съединения показват слаба до умерена цитотоксичност (Таблица 4-3), като  $\text{IC}_{50}$  стойностите варират в широки граници – от 18.8 до 335.6. Изключение правят само четири съединения (**4-22а,в,е** и **4-24а**), при които стойностите са неприемливо ниски.

**Таблица 4-3.** *In vitro* антимикобактериална активност на съединения **4-3**, **4-22а-и**, **4-24а-в**, **4-26а-в**, **4-28** и **4-30** срещу *Mycobacterium tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv.

Съединение	<i>In vitro</i> активност срещу <i>MTB</i> H <sub>37</sub> Rv MIC ( $\mu\text{M}$ )	<i>In vitro</i> цитотоксичност $\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{M}$ ) <sup>a</sup>	Индекс на селективност, SI <sup>b</sup>	LogP <sup>b</sup>
<b>4-3</b>	15.20	42.3	2.8	2.13 +/-0.28
<b>4-22а</b>	13.92	18.9	1.4	2.80 +/-0.40
<b>4-22б</b>	10.30	62.3	6.0	2.91 +/-0.42
<b>4-22в</b>	15.27	23.8	1.6	4.24 +/-0.38
<b>4-22г</b>	22.15	72.5	3.3	4.76 +/-0.40
<b>4-22д</b>	18.22	178.6	9.8	3.86 +/-0.42
<b>4-22е</b>	13.00	21.6	1.7	9.72 +/-0.39
<b>4-22ж</b>	17.62	64.8	3.7	4.36 +/-0.60
<b>4-22з</b>	<b>7.02</b>	97.9	13.9	3.91 +/-0.44
<b>4-22и</b>	<b>6.14</b>	335.6	<b>54.7</b>	3.96 +/-0.45
<b>4-24а</b>	19.87	18.8	0.9	2.79 +/-0.40
<b>4-24б</b>	18.92	83.9	4.4	3.99 +/-0.46
<b>4-24в</b>	11.44	106.7	9.3	4.53 +/-0.55
<b>4-26а</b>	19.52	70.3	3.6	3.42 +/-0.49
<b>4-26б</b>	18.96	81.5	4.3	3.41 +/-0.43
<b>4-26в</b>	14.17	62.1	4.4	3.14 +/-0.68
<b>4-28</b>	14.91	121.2	8.1	2.31 +/-0.40
<b>4-30</b>	9.85	82.4	8.4	6.16 +/-0.65
<b>EMB.2HCl<sup>г</sup></b>	7.22	NT	NT	0.06 <sup>а</sup>

<sup>a</sup> Цитотоксичността е определена спрямо човешки ембрионални бъбречни клетки (HEK 293T).

<sup>b</sup> Индекс на селективност:  $\text{SI} = \text{IC}_{50}/\text{MIC}$  (H<sub>37</sub>Rv).

<sup>b</sup> LogP, коефициент на разпределение в системата *n*-октанол/вода, изчислен с помощта на ACDLabs/ChemSketch 12 (www.acdlabs.com).

<sup>г</sup> EMB.2HCl – етамбутол дихидрохлорид (референтно вещество).

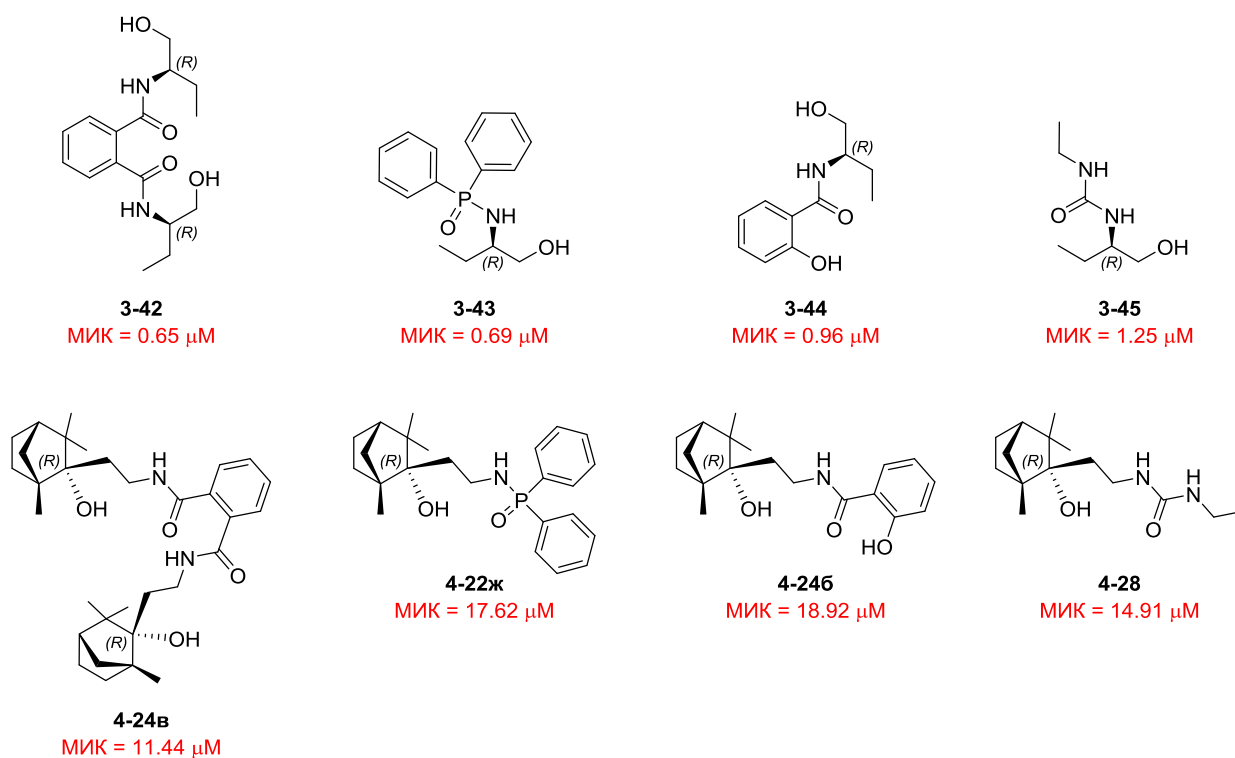
<sup>а</sup> LogP на EMB.2HCl е известен (литературни данни).<sup>19</sup>

NT – не е изследвано.

Освен активности близки до тази на етамбутола, съединения **4-22з,и** и **4-30** се отличават и със слаба цитотоксичност. Най-активното производно от тази серия (**4-22и**) се отличава с много добър индекс на селективност (54.7). Всички тези фактори определят **4-22и** като единствен подходящ кандидат от тази серия за следващи разработки.

От представените дотук резултати и данните, разгледани в Литературния обзор, могат да бъдат направени някои обобщаващи изводи. Сравнявайки **4-22а** и **4-24б**, се потвърждават заключенията направени от *Férriz* и сътрудници<sup>25</sup> и *Krátký* и сътрудници<sup>26</sup> за повишената антимикобактериална активност на салициламиди със защитена фенолна група. Очевиден е също така приносът на *para*-хлорзаместената цинамамидна група, водеща до още по-висока активност при **4-22г**.

Интересно беше да се разбере доколко едни и същи групи, свързани с различни аминокалколни остатъци допринасят за активността на съответните съединения, като беше направено сравнение на резултатите с тези на *Dobrikov* и сътрудници<sup>3</sup> (представени на Фигура 4-2). Оформени са няколко двойки, съдържащи еднакви функционални групи, свързани с различни аминокалколи – **4-24в** и **3-42**, **4-22ж** и **3-43**, **4-24б** и **3-44**, **4-28** и **3-45**. Ясно се забелязва, че за всяка двойка замяната на аминокалколовия остатък с фенханов води до 10-15кратно намаляване на активността, без обаче тя да стане пренебрежимо малка в нито един случай.



Фигура 4-2

Тези сравнения, макар и направени с ограничен набор от вещества, показват че най-вероятно посочените функционални групи са важни за наличието на антимикуобактериална активност, но нейната сила зависи от аминокислотния остатък.

### **3.2 Синтез на хирални полифункционални съединения като лиганди за асиметрични синтези**

От до сега представените синтетични резултати, както и от Литературния обзор, е видно, че хиралните полифункционални органични съединения играят важна роля в разработването на нови терапевтични препарати. Наличието в тези съединения на хетероатоми, способни да образуват водородни връзки (атоми с донорни или акцепторни свойства), е съществено за биологичната активност. Едновременно с това атомите с донорни или акцепторни свойства, присъстващи в структурно подходящи съединения, играят съществена роля при създаването на каталитични системи за осъществяване на асиметрични синтези. Такива са органичните съединения прилагани като лиганди за метал-катализирани трансформации. Следователно, структурно аналогични полифункционални хирални съединения могат да се прилагат както като терапевтични съединения, и така също и като лиганди в асиметричния синтез (сполучлив пример за такова съединение е хининът).

В рамките на дисертационния труд се насочихме към две синтетични трансформации, които имат важно значение в органичния синтез, а именно - редукция на кетони с борхидридни реагенти (борани) и нуклеофилно присъединяване на диетилцинк към алдехиди. За постигане на енантоселективност и при двете реакции могат да се прилагат каталитични количества от хирални аминокислоты и/или съединения, които съдържат фрагменти от аминокислота. И при двете реакции се получават енантоселективно вторични алкохоли, които са важни интермедиати при синтеза на биологично активни съединения за идентифициране и разработване на лекарствени кандидати.

#### **3.2.1 Синтез на лиганди за енантоселективна редукция на прохирални кетони с борани – хирални аминокислоты и хирално модифицирани производни на квадратната киселина**

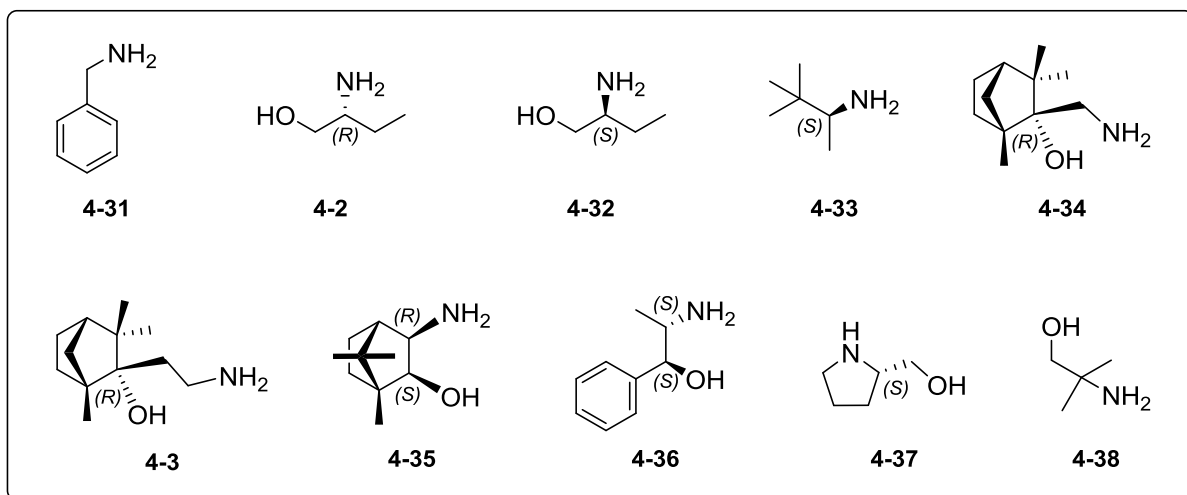
След забележителния успех, постигнат от т.нар. *CBS*-катализатор, както и останалите задълбочени изследвания на *Corey* и сътрудници, в литературата са публикувани значителен брой примери за успешно приложение на различни лиганди, съдържащи  $\beta$ -

аминоалкохолен фрагмент (виж Литературен обзор). Понастоящем продължават да се разработват подходи за синтез на нови структурно разнообразни хирални аминокиселини и да се изучава ефективността им като лиганди за редукция.

В анализа на литературата са представени наскоро публикувани резултати, при които хирални аминокиселинни фрагменти са вградени в структурата на квадратната киселина.<sup>27-31</sup> Тези съединения са приложени като хирални лиганди (10 молни %) за асиметрична редукция на алкиларил и  $\alpha$ -халогенирани ароматни кетони, като най-висока енантиселективност е постигната с производни с участие на (*S*)-пролинол (82-99% *ee*) и ендо-3-аминоизоборнеол (94-99% *ee*). Заинтригувани от тези резултати си поставихме за цел да изучим влиянието на квадратната киселина като структурен фрагмент, комбиниран с фрагменти от хирални аминокиселини, както и с фрагменти само на хирални амини, върху енантиселективността на редукция на прохирални кетони с боран диметилсулфид комплекс ( $\text{BH}_3 \cdot \text{Me}_2\text{S}$ ). Проведено е сравнително изучаване на енантиселективността на редукция с лиганди под формата на свободни аминокиселини, както и такива, в които съответният аминокиселин е свързан в структурата на квадратната киселина.

### 3.2.1.1 Получаване на хирални аминокиселини и амини – изходни компоненти за синтез на производни на квадратната киселина

За целите на планираните синтези като основни изходни съединения се използват хиралните аминокиселини и амини, представени на Фигура 4-3. Част от тях са търговски продукти (**4-2**, **4-31-4-33**, **4-36-4-38**). Бензиламинът (**4-31**) и аминокиселинът **4-38** са избрани като единствени реагенти, добавящи нехирална компонента в предвидените за синтез производни на квадратната киселина. В литературата не са открити данни за приложението на нито един от двата енантиомера на 2-аминобутан-1-ол (**4-2** и **4-32**) като лиганди за редукция на кетони. За (*S,S*)-норпсевдоефедрин (**4-36**) също не са открити подобни данни, въпреки широкото приложение на съединенията от групата на ефедрините в областта на асиметричния катализ. Незапреченият пролинол (**4-37**), показал умерена енантиселективност в изследванията на *Itsuno* и сътрудници,<sup>32</sup> е избран като цикличен вторичен амин, който свързан със скелета на квадратната киселина би допринесъл за известна конформационна ригидност на системата.



Фигура 4-3

Останалите три хирални аминокатола (4-3, 4-34 и 4-35), производни на природните терпеноиди (+)-камфор и (-)-фенхон, са синтезирани в съответствие с многостепенни литературни процедури, част от които са разработени в групата на Димитров.<sup>8,33,34</sup>

Получаването на 4-3 е описано по-горе (раздел 4.1.2), а синтетичният път за получаване на 4-34 е представен на Схема 4-10. Самите аминокатола, както и редица техни *N*-алкилови производни успешно са използвани като лиганди за енантиселективно присъединяване на диетилцинк към алдехиди.

Получаването на 4-34 (Схема 4-10) изисква предварително активиране на кетона с помощта на  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ , за да се осъществи успешна присъединителна реакция. След присъединяването на  $\text{Me}_3\text{SiCN}$ , което протича от *екзо*-страната на бицикличния скелет, се изолират посредством колонна хроматография продукти 4-39 и 4-40. Силиловият етер 4-40 не се трансформира до 3-39 въпреки многократни опити за това. Редукцията на 4-39 с  $\text{LiAlH}_4$  до 4-34 протича с висок добив.

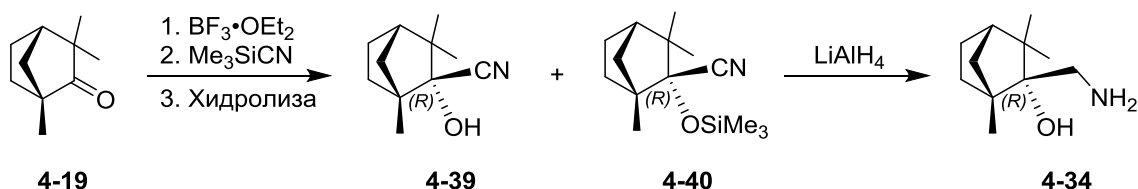


Схема 4-10

Получаването на 3-екзо-аминоизоболнеол (**4-35**) в енантиомерно чист вид, се оказва истинско предизвикателство. Първоначално беше предвидено използването на процедурата, описана от *Chen* и сътрудници през 2005 г. (Схема 4-11).<sup>33</sup> Посоченият реакционен път води до получаването на аминокатола под формата на неделима диастереоизомерна смес, съдържаща желания изомер (с *екзо*-разположени функционални групи) и другите смесени *екзо/ендо*-диастереоизомери в съотношение 90:10. Очакваше се разделянето да бъде осъществено на следващ етап (т.е. след свързването на аминокатола в структурата на квадратната киселина) посредством колонна хроматография. Поради лошата разтворимост на получените амиди на квадратната киселина, този метод за пречистване се оказва неприложим в конкретния случай.

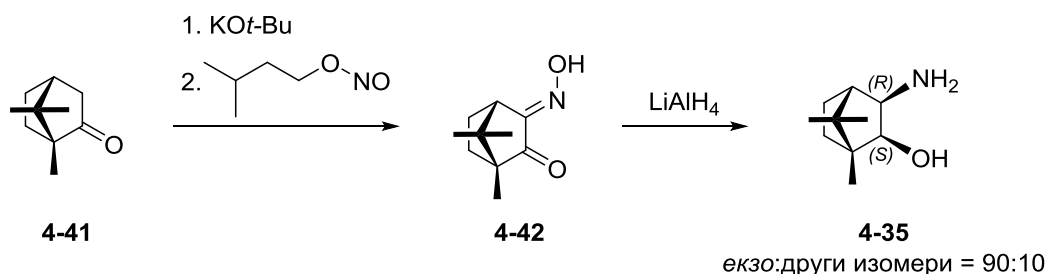


Схема 4-11

Много по-ефективен за нашите цели се оказва синтетичният път, предложен през 2008 г. от *Bosiak* и сътрудници (Схема 4-12), водещ до получаването на енантиомерно чист 3-екзо-аминоизоболнеол.<sup>34</sup> Първоначално полученият камфорхиноноксим **4-42** е изолиран в съотношение *син:анти* = 6:94 (в оригиналната процедура съотношението е *син:анти* = 74:26). След редукция с LiAlH<sub>4</sub> отново се получава неделима диастереоизомерна смес, поради което не е необходимо да се провежда процедура за пречистване на оксима **4-42**.

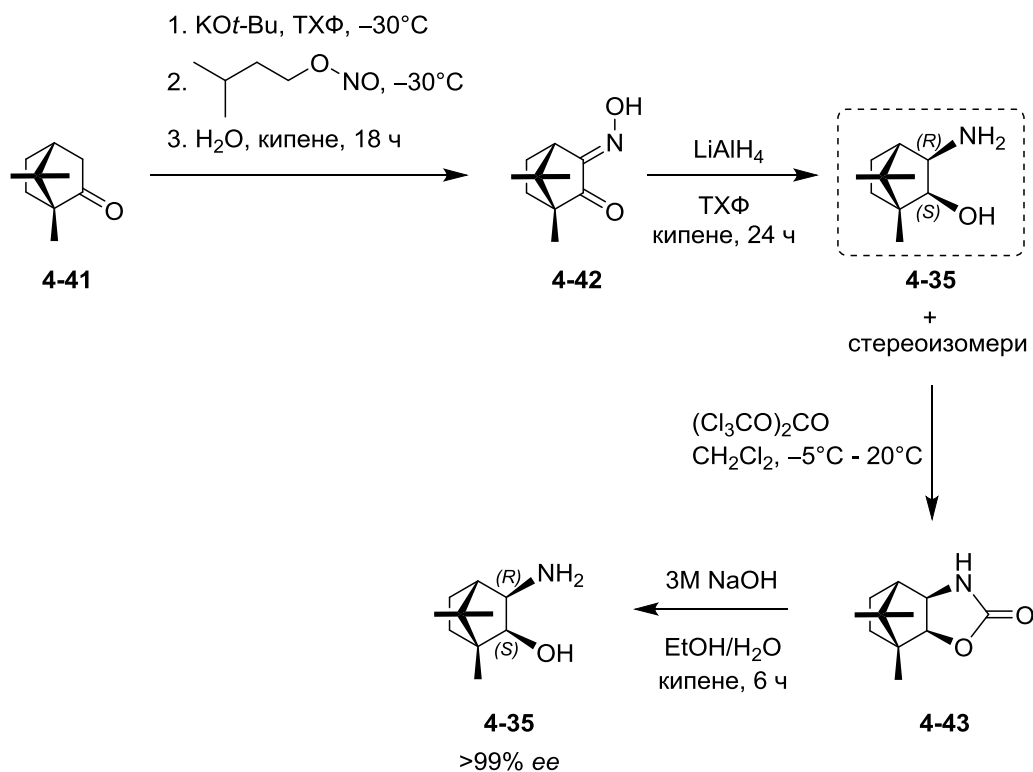


Схема 4-12

Същественото предимство на този метод се дължи на използването на трифосген за реакция с **4-35**, водеща до образуване на **4-43** с 78% добив. Очевидно е, че такъв вид циклична структура може да бъде формирана само от *цис*-разположени функционални групи (т.е. само от ди-*екзо*- или ди-*ендо*-изомерите на суровия **4-35**). Разделянето на **4-43** от присъстващия ди-*ендо*-изомер се осъществява лесно посредством колонна хроматография. След кипене на пречистения **4-43** в присъствие на 3M NaOH се получава енантиомерно чист **4-35** с 98% добив.



### 3.2.1.2 Синтез на производни на квадратната киселина чрез въвеждане на хирални фрагменти от аминокиселини и амини

Синтезът на амиди на квадратната киселина включва получаването на два структурни типа съединения – моноамид естери (моноамиди) и дизаместени производни (диамиди). Моноамидите **4-45** - **4-48** са получени с високи добиви от **4-44** и съответните амини или аминокиселини (**4-2**, **4-31** - **4-33**) с цел използването им като изходни структури за синтез на дизаместени производни (Схема 4-13).

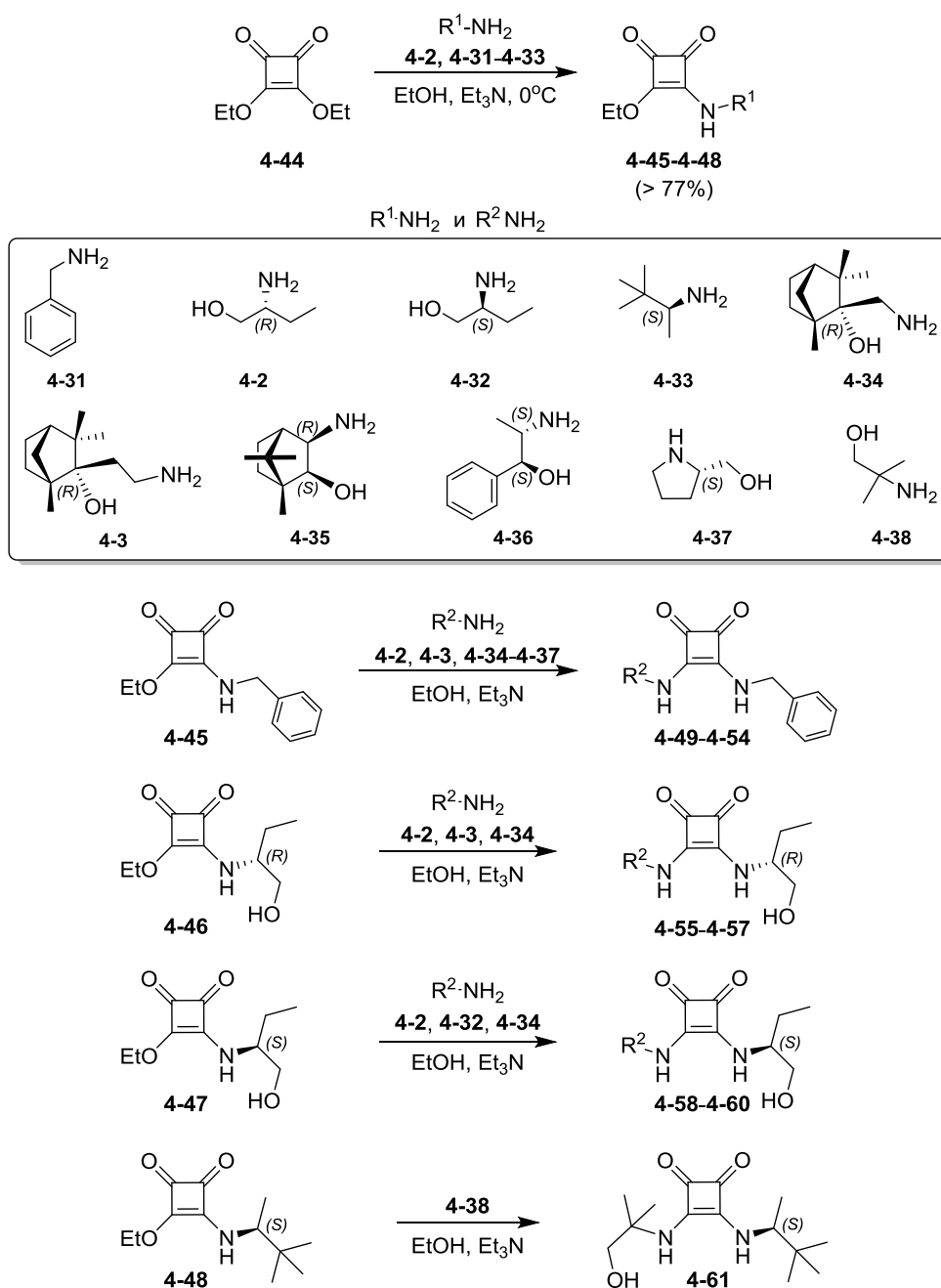
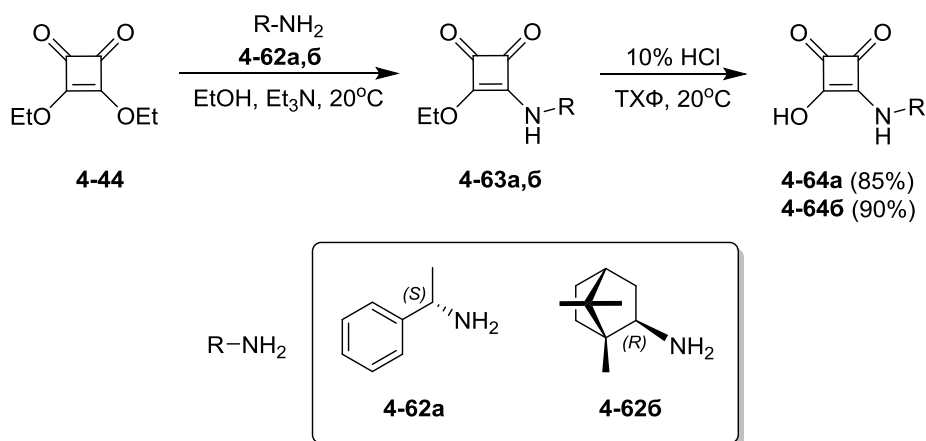


Схема 4-13

За синтеза им са използвани нехирален (**4-31**) и хирален (**4-33**) амин, както и двата енантиомера на 2-аминобутан-1-ол (**4-2** и **4-32**). За получаването на дизаместените производни **4-49 - 4-61** (при стандартни реакционни условия) е използвана серия амини и аминокиселини ( $R^1-NH_2$  и  $R^2-NH_2$ ), представени на Схема 4-13. Всеки от получените диамиди на квадратната киселина **4-49 - 4-61** съдържа поне един хирален амино или аминокиселинен фрагмент.

За да се изучи по-пълно приноса на скелета на квадратната киселина в планираните каталитични реакции е целесъобразно да се синтезират производни, при които е налична хидроксилна група не само в странична верига, но и такава, която е директно свързана със скелета. С прилагане на хиралните амини **4-62a** и **4-62b** са синтезирани съответните производни **4-64a** и **4-64b**, както е представено на Схема 4-14.



**Схема 4-14**

За постигане на по-пълно структурно разнообразие и вариране на стеричните фактори планирахме въвеждане на аминокиселинни фрагменти със значително запречване при хидроксилната група. Известно е, че въвеждането на обемисти заместители в близост до активен център на даден лиганд, в много случаи оказва влияние върху стеричния ход на реакциите. Стерично запреченият аналог (**4-68**) на (*S*)-2-аминобутан-1-ол е получен в три стъпки от аминокиселината **4-65**, която предварително се бензилира по азотния атом, като едновременно с това се естерифицира до съединение **4-66** с 86% добив. В следващата стъпка към **4-66** се присъединява  $PhMgCl$  и се получава аминокиселин **4-67** с 86% добив. Аминокиселинът **4-68** е получен посредством дебензилиране на **4-67** с 10% Pd/C (Схема 4-15). Моноамидът на квадратната киселина **4-69** е получен от **4-68** с висок добив (97%).

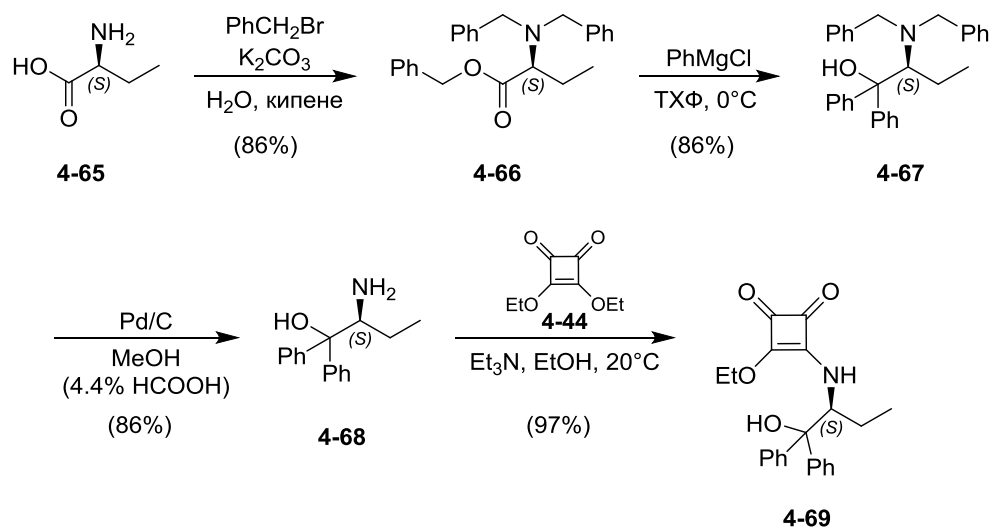


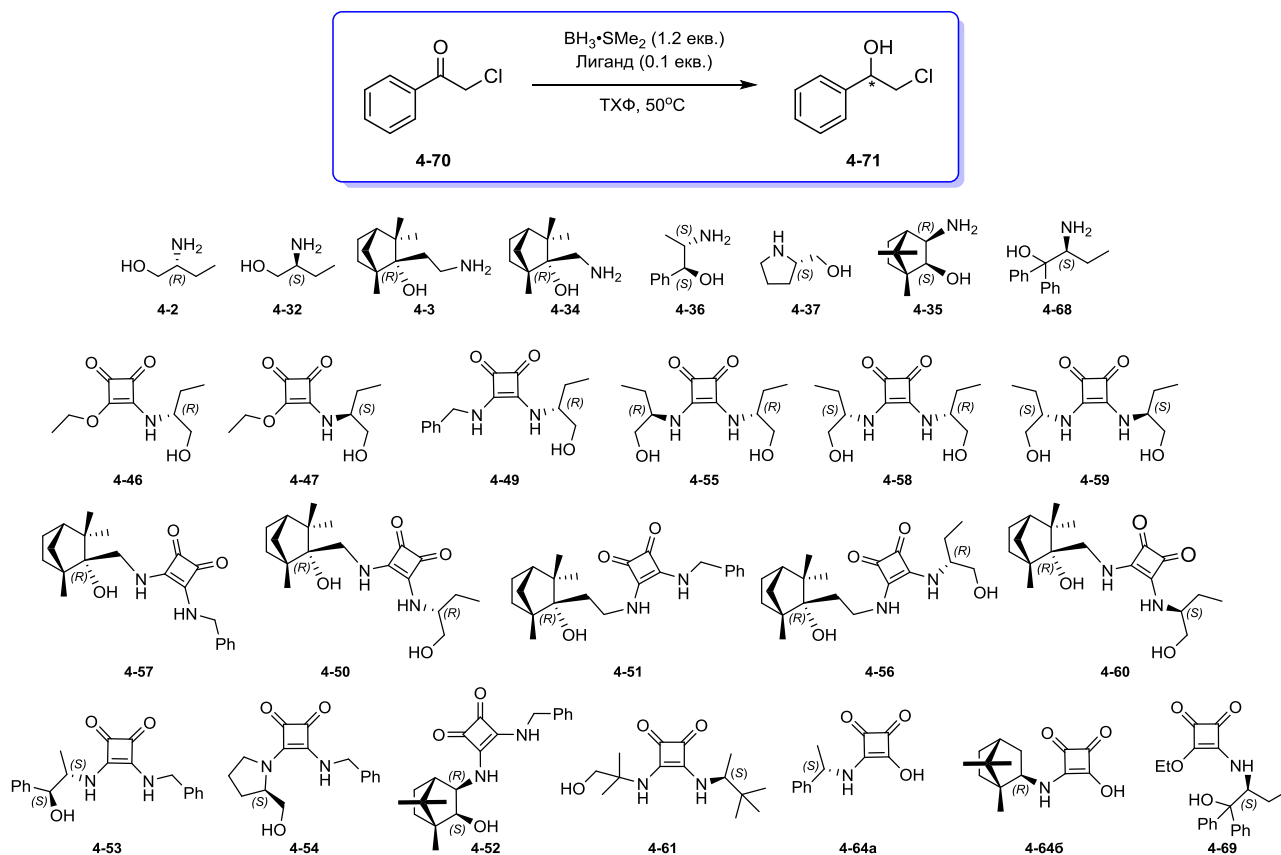
Схема 4-15

Чрез приложените синтетични подходи е синтезирана поредица от структурно разнообразни производни на квадратната киселина с включени фрагменти на хирални аминокиселини и амини, както и редица свободни хирални аминокиселини. Съединенията са охарактеризирани с помощта на ЯМР спектроскопия, маспектрометрия и други методи.

### 3.2.1.3 Каталитична активност на хирални производни на квадратната киселина и хирални аминокиселини при редукция на $\alpha$ -хлороацетофенон с боран диметилсулфид комплекс

Синтезираните производни на квадратната киселина (моно- и диамиди), както и съответните аминокиселини, са приложени като хирални лиганди в моделна реакция на редукция на  $\alpha$ -хлороацетофенон (4-70) с  $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$  (Таблица 4-4). Формирането на активния каталитичен комплекс е осъществено чрез смесване на съответния лиганд с  $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$  при стайна температура, след което реакционната смес се нагрява за 1 ч. при  $50^\circ\text{C}$ . Каталитичните реакции протичат с високи добиви и кратки реакционни времена (20-30 минути) във всички случаи. При използването на производните на квадратната киселина са постигнати умерени енантиселективности. Само с лиганди 4-46, 4-52 и 4-57 енантиселективността е над 50%. За сравнение, резултатите, постигнати при използването на свободните аминокиселини, са значително по-високи във всички случаи (дясна част на таблицата).

**Таблица 4-4.** Асиметрична редукция на  $\alpha$ -хлороацетофенон, катализирана от хирални лиганди.



Амиди на квадратната киселина			Свободни аминокиселини		
Лиганд	Добив (%)	<i>ee</i> <sup>a</sup> (конфигурация)	Лиганд	Добив (%)	<i>ee</i> <sup>a</sup> (конфигурация)
4-46	99	<b>53 (R)</b>	4-2	90	<b>71 (R)</b>
4-47	99	31 (S)			
4-49	72	39 (R)	4-32	96	<b>83 (S)</b>
4-55	99	42 (R)			
4-58	86	0			
4-59	99	19 (S)	4-3	99	9 (S)
4-51	92	0	4-34	99	49 (R)
4-57	99	<b>56 (R)</b>			
4-50	95	10 (R)	4-36	80	61 (S)
4-56	99	49 (R)	4-37 <sup>6</sup>	98	44 (R)
4-60	99	35 (S)	4-35 <sup>B</sup>	94	79 (S)
4-53	80	13 (S)	-	-	-
4-54	99	37 (S)	-	-	-
4-52	99	<b>56 (R)</b>	-	-	-
4-61	98	0	-	-	-
4-64a	99	0	-	-	-
4-64b	93	0	-	-	-
4-69	92	26 (S)	4-68	99	<b>85 (S)</b>

<sup>a</sup> Енантиомерният излишък (*ee*) е определен с помощта на капилярна газова хроматография с хирална колона MN-Hydrodex  $\beta$ -TBDAC (0.25 mm x 25 m). Конфигурациите на продуктите са определени в съответствие с литературни данни; <sup>6</sup> По литературни данни<sup>32</sup>; <sup>B</sup> По литературни данни<sup>35</sup>

От резултатите, представени в Таблица 4-4, може да се направи обобщен извод, че фрагментът на квадратната киселина не оказва положително влияние върху постигнатата асиметрична индукция при редукцията на кетона.

Съществената роля на хиралните аминокиселини фрагменти, включени в състава на амидите на квадратната киселина, е най-добре илюстрирана при съединение **4-58**. В този случай се наблюдава пълно компенсиране на породената от двата енантиомерни фрагмента на аминобутанола енантиселективност, водещо до загуба на селективност. Съединение **4-58** следва да се разглежда като *мезо*-форма. Освен това, ако се сравнят резултатите, постигнати с лиганди **4-51** и **4-57** с тези от лиганд **4-3**, може категорично да се каже, че енантиселективността, постигната с **4-57** се дължи изцяло на хиралния аминобутанолов фрагмент.

За получаване на по-детайлна информация за влиянието на скелета на квадратната киселина са синтезирани (по-горе в раздел 4.2.1.2) лиганди **4-64a** и **4-64b**. Тези две съединения формално могат да бъдат разглеждани като аминокиселини, при които хидроксилната група е свързана директно със скелета на квадратната киселина, а аминокиселинната група е в отделен фрагмент. При използването на тези съединения като лиганди не се наблюдава асиметрична индукция. Аналогичен е случаят с лиганд **4-61**, при който фрагментът с хидроксилната група е нехирален, а хиралният аминокиселин фрагмент очевидно не влияе върху селективността.

От получените резултати може да се направи извод, че влиянието на фрагмента на квадратната киселина като скелет на синтезираните лиганди, определено е отрицателно. Очевидно е, че свободните аминокиселини се проявяват като по-добри лиганди при редукцията на  $\alpha$ -хлороацетофенон с  $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$ . Интересно е да се отбележи, че съгласно литературната справка 2-аминобутан-1-ол не е използван досега като лиганд в редукция на кетони с борани. Възможно обяснение за това може да е, че простата му структура и конформационната подвижност на веригата са приети като недостатък, поради което не са извършвани експерименти (виж Литературен обзор).

Поради високата асиметрична индукция, постигната с аминокиселинола **4-32**, беше целесъобразно да се направи опит за оптимизиране на условията за редукция на **4-70** (Таблица 4-5). Чрез удължаване времето за образуване на активния каталитичен комплекс от 1 на 4 ч. е постигнатата по-висока енантиселективност (до 86%). Намаляването на температурата за образуване на каталитичния комплекс води до понижаване на селективността – 73% при стайна температура и едва 22% при 0°C. Смяната на разтворителя ТХФ с толуен оказва слабо отрицателно влияние върху енантиомерния излишък на продукта,

което е по-значително при температура от 50°C и почти незначително при температура от 100°C.

**Таблица 4-5.** Оптимизиране на условията на асиметрична редукция на  $\alpha$ -хлороацетофенон.

Лиганд <sup>a</sup>	Температура (°C)	Разтворител	Време (мин)	Добив (%)	<i>ee</i> <sup>b</sup> (конфигурация)
4-32	50	ТХФ	20	96	83 ( <i>S</i> )
4-32 <sup>b</sup>	50	ТХФ	5	91	<b>86 (<i>S</i>)</b>
4-32	25	ТХФ	30	92	73 ( <i>S</i> )
4-32	0	ТХФ	240	99	22 ( <i>S</i> )
4-32	50	Толуен	20	97	70 ( <i>S</i> )
4-32	100	Толуен	5	91	80 ( <i>S</i> )

<sup>a</sup> Образуване на каталитичната система – смесване на лиганда и  $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$  в съответния разтворител при стайна температура, след което получената смес се разбърква 1 ч. при съответната реакционна температура.

<sup>b</sup> Каталитичната система се разбърква 4 ч. при съответната реакционна температура.

<sup>c</sup> Енантиомерният излишък (*ee*) е определен с помощта на капилярна газова хроматография с хирална колона MN-Hydrodex  $\beta$ -TBDAC (0.25 mm x 25 m). Конфигурациите на продуктите са определени в съответствие с литературни данни.

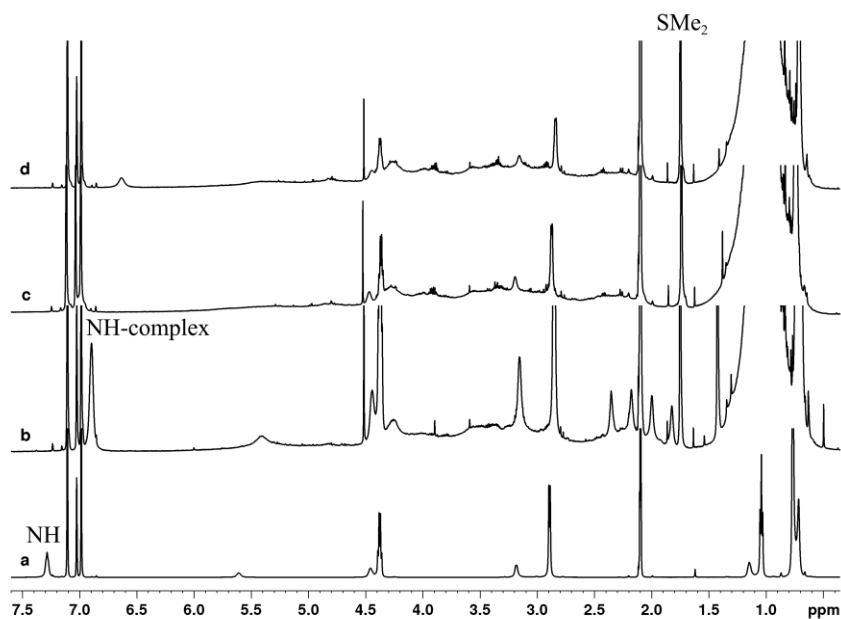
### 3.2.1.4 Изучаване на каталитичната система образувана от боран диметилсулфид и хирален лиганд с помощта на ЯМР експерименти

Описаните в раздел 4.2.1.3 резултати за постигнатите енантиселективности с производните на квадратната киселина и със свободните аминокиселини, използвани за техните синтези, са неочаквани, поради публикуваните данни за аналогични съединения в аналогични каталитични реакции.<sup>27-31</sup> С цел да се обяснят съществено по-ниските енантиселективности постигнати с хирално модифицираните производни на квадратната киселина в сравнение с тези на свободните хирални аминокиселини, бяха предприети по-детайлни изследвания с помощта на ЯМР експерименти. Използвани са едномерни ( $^1\text{H}$  и  $^{11/10}\text{B}$ ) и двумерни ( $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  HMBC,  $^1\text{H}$  DOSY и COSY) ЯМР техники.

Същността на експериментите за установяване ролята на лиганди, притежаващи структурата на квадратната киселина с включен фрагмент на хирален аминокиселин, в сравнение с лигандите на база само хирален аминокиселин, се състои в изучаване на стабилността на формиращите се каталитични комплекси при смесването на лиганд с боран диметилсулфид комплекс. За тази цел бяха използвани съединения **4-32**, **4-47** и **4-48**, представляващи съответно 2-аминобутанол (без структурен фрагмент на квадратната киселина), квадратна киселина с включен фрагмент съдържащ amino и хидроксилна функции, и квадратна киселина с включен фрагмент съдържащ само amino функция. Проведени са експерименти, при които се смесват поотделно съединения **4-32**, **4-47** и **4-48** с

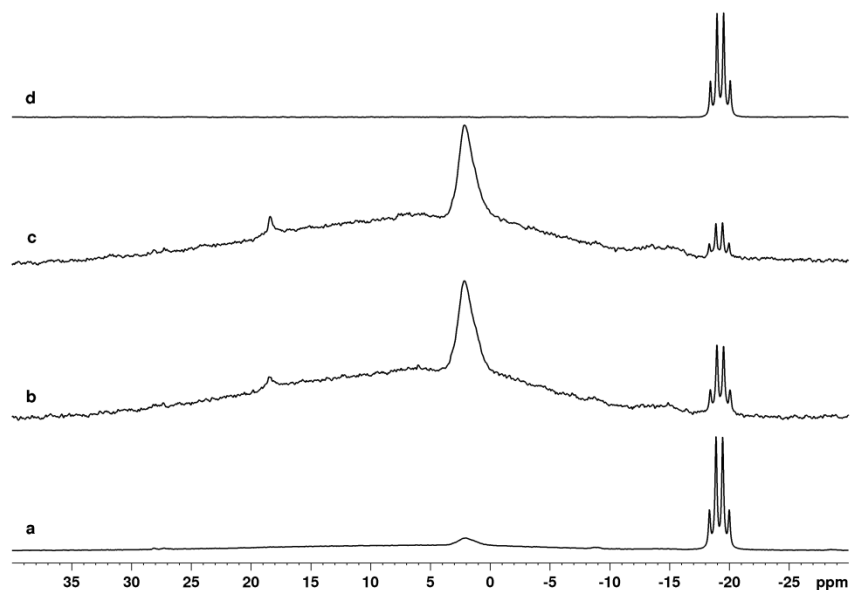
$\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$  в деутерирани разтворители (тетрахидрофуран или толуен) и така получената каталитична система се изучава с помощта на ЯМР експерименти.

На Фигура 4-4 са представени  $^1\text{H}$  ЯМР спектрите на чистия лиганд **4-48** в толуен- $\text{d}_8$  и на лиганда в присъствие на  $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$ , снети при различни интервали от време след приготвяне на пробата. Спектрите показват, че при добавяне на  $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$  сигналът на NH протона от лиганда се отмества в по-силно поле с 0.39 м.ч., а сигналите за протоните на останалите структурни фрагменти се разширяват (Фигура 4-4b). Този резултат потвърждава образуването на комплекс между **4-48** и  $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$ , вероятно чрез координиране на NH групата от лиганда към В-атом, при което се отделя свободен диметилсулфид (1.75 м.ч.). Едновременно с образуването на комплекса, протичат и деструктивни реакции, тъй като в спектрите снети след няколко часа се наблюдава появата на множество допълнителни сигнали, както и намаляване на интензитета на сигналите на лиганда (Фигура 4-4c и d).



**Фигура 4-4.**  $^1\text{H}$  ЯМР спектри на: а) лиганд **4-48** в толуен- $\text{d}_8$ ; и на **4-48** в присъствие на  $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$ , снети: б) 15 мин. след приготвяне на пробата; в) 3ч. 30 мин. след приготвяне на пробата; г) 5ч. след приготвяне на пробата.

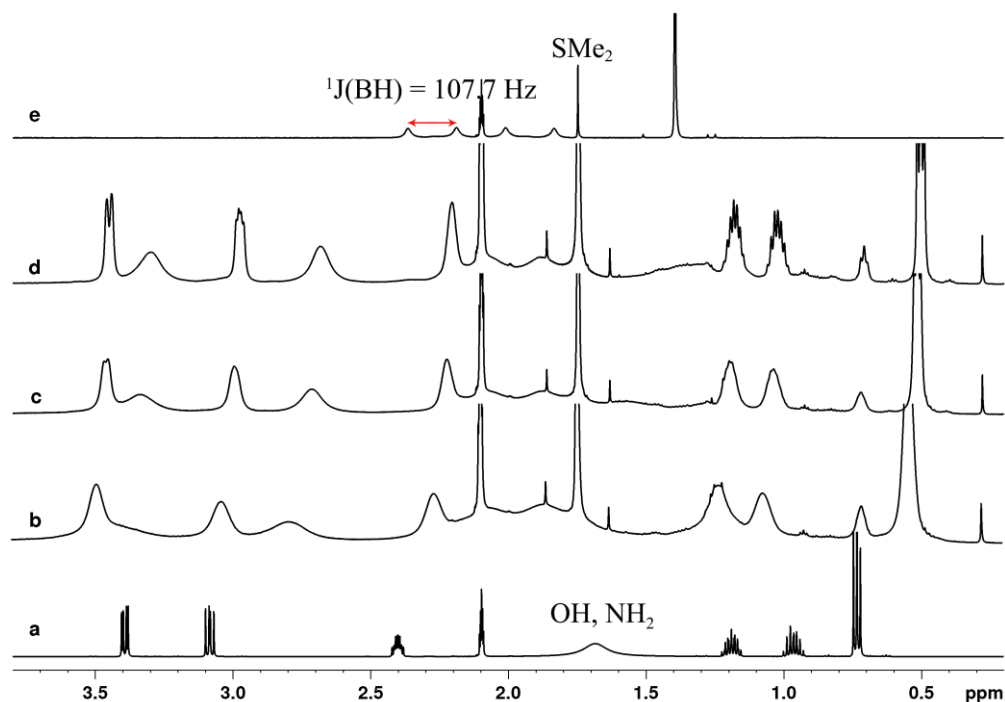
Образуването на комплекс между **4-48** и  $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$  се потвърждава и от  $^{11}\text{B}$  ЯМР спектрите, в които освен характерния квартет за изходния  $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$  при  $-19.17$  м.ч., се наблюдава допълнителен сигнал при 2.1 м.ч. (Фигура 4-5а и d). Участието на  $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$  в странични реакции се потвърждава от намаляването на интензитета на квартета при  $-19.17$  м.ч. с времето (Фигура 4-5b и c).



**Фигура 4-5.**  $^{11}\text{B}$  ЯМР спектри на: а)  $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$  в присъствие лиганд **4-48** 15 мин. след приготвяне на пробата; б) 3ч. 30 мин. след приготвяне на пробата; в) 5ч. след приготвяне на пробата и д)  $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$  в толуен- $\text{d}_8$ .

С цел да се изясни ролята на структурния фрагмент на квадратната киселина за стабилността на каталитичния комплекс беше изследвано взаимодействието на лиганд **4-32**, който не съдържа този фрагмент, с  $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$ . На Фигура 4-6 са представени  $^1\text{H}$  ЯМР спектрите на чистия лиганд в толуен- $\text{d}_8$  и на лиганда в присъствие на  $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$ . От  $^1\text{H}$  ЯМР спектрите на **4-32** (Фигура 4-6) може да се направи извода, че между **4-32** и  $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$  протича реакция, при което се отделя координирания диметилсулфид. Индикация за това е наблюдаваното отместване и разширяване на сигналите на лиганда при добавяне на  $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$  и появата на сигнал за диметилсулфид при 1.75 м.ч.

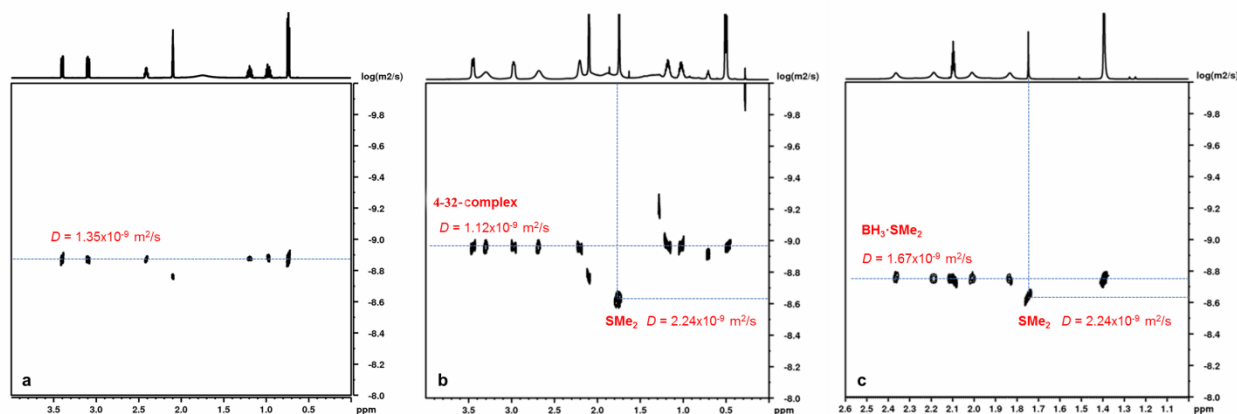




**Фигура 4-6.**  $^1\text{H}$  ЯМР спектри на а) аминокетол **4-32** в толуен- $d_8$ ; б) **4-32** в присъствие на  $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$  15 мин. след приготвяне на пробата; в) 4ч. 30 мин. след приготвяне на пробата; г) 4 дни след приготвяне на пробата; е)  $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$  толуен- $d_8$ .

$^1\text{H}$  спектрите показват, че непосредствено след смесване на реагентите, всички сигнали на лиганда са широки (Фигура 4-6б) и се наблюдават два допълнителни широки сигнала при 2.80 и 3.37 м.ч. Разширяването на сигналите е индикация за участието на лиганда в образуване на комплекси/интермедиати с  $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$ . Допълнителните сигнали може да се дължат на ОН и NH протоните, които са свързани в комплекса и поради тази причина подвижността им е ограничена, което прави възможно наблюдаването им в спектъра. Друго обяснение за тези допълнителни сигнали, е образуването на интермедиат, в който лиганда се координира към  $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$  по повече от един начин, като съществува динамично равновесие между различните типове интермедиати. В  $^1\text{H}$  ЯМР спектрите, снети при различни интервали от време след приготвяне на пробата, се наблюдава стесняване на сигналите на лиганда и на допълнителните сигнали при 2.80 и 3.37 м.ч. Това показва, че с времето равновесието се изтегля към един предпочетен интермедиат, като образуваният комплекс между **4-32** и  $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$  запазва стабилността си в продължение на дни.

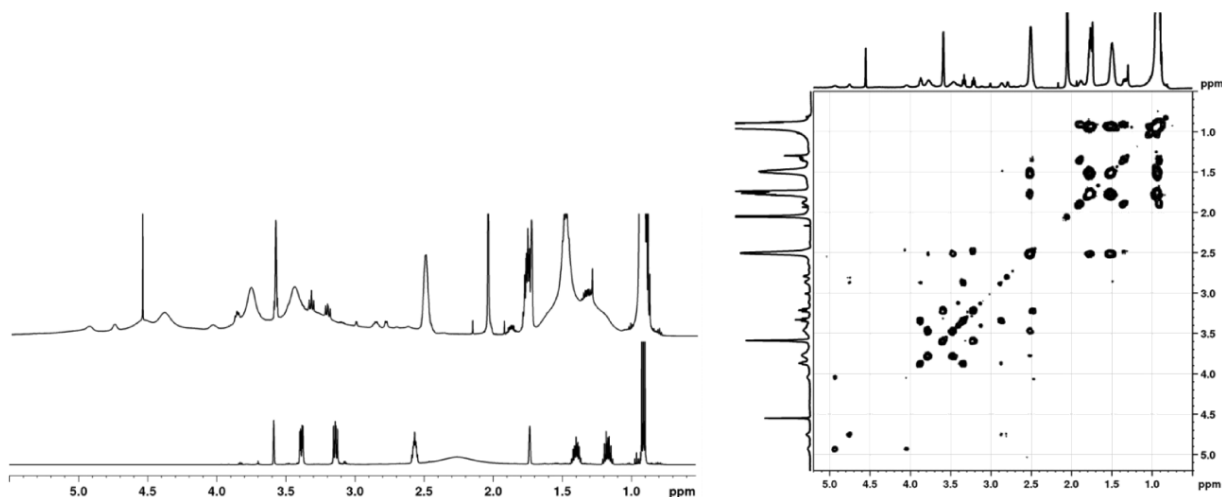
Образуването на комплекс между лиганда и  $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$  се потвърждава и от  $^1\text{H}$  DOSY спектрите на реакционната смес (Фигура 4-7).



**Фигура 4-7.**  $^1\text{H}$  DOSY спектри на: а) **4-32** в толуен- $d_8$ ; б) **4-32** в присъствие на  $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$ ; в)  $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$  в толуен- $d_8$ .

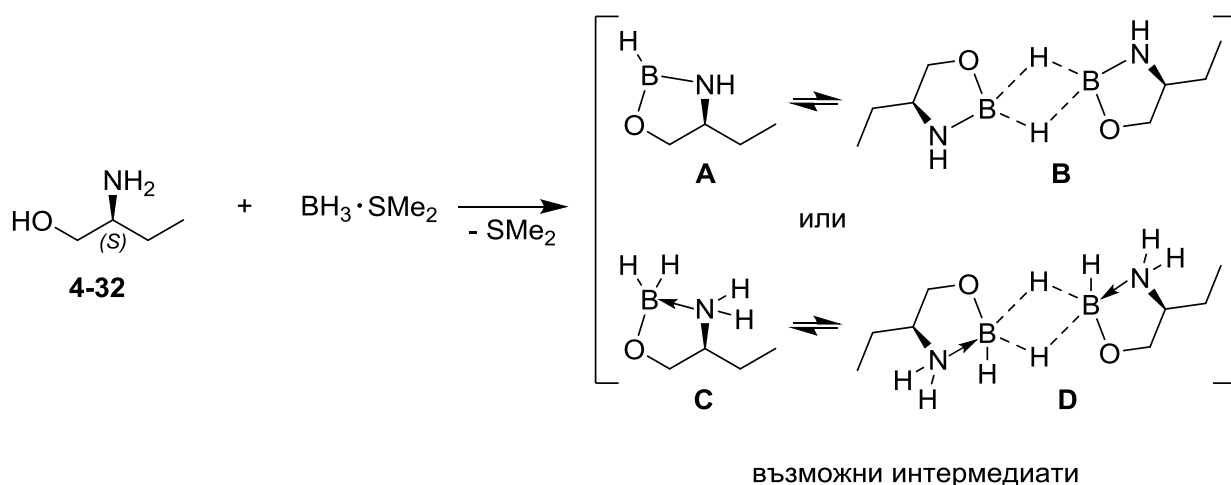
Сравнението на  $^1\text{H}$  DOSY спектрите на **4-32** в отсъствие (Фигура 4-7а;  $D = 1.35 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ ) и в присъствие на  $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$  (Фигура 4-7б;  $D = 1.12 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ ) показва, че дифузионният коефициент на **4-32** намалява при добавяне на  $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$ , което потвърждава образуването на комплекса. Отделянето на  $\text{SMe}_2$  в реакционната смес се потвърждава от появата на сигнала при 1.75 м.ч., който има същия дифузионен коефициент ( $2.24 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ ), както този определен от спектрите на чистия  $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$  в толуен- $d_8$  (Фигура 4-7с), в който се регистрира малко количество  $\text{SMe}_2$ , както и дифузионния коефициент определен от спектрите на чист  $\text{SMe}_2$  в толуен- $d_8$ .

С цел да се изследва по-детайлно влиянието на разтворителя върху възможността за образуване на различни типове комплекси между **4-32** и  $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$  бяха проведени експерименти в разтворител ТХФ- $d_8$ .  $^1\text{H}$  ЯМР спектрите (Фигура 4-8) показват, че в този разтворител се образуват няколко типа стабилни интермедиати, което се потвърждава от увеличения брой сигнали в спектъра на лиганда след добавяне на  $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$ . Чрез анализ на корелационните сигнали в COSY спектъра на реакционната смес са идентифицирани три основни групи спинов системи от типа  $-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_2-$ , които могат да се интерпретират като резултат от различни типове координиране на лиганда към  $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$ .



**Фигура 4-8.**  $^1\text{H}$  ЯМР спектри на **4-32** в ТХФ- $d_8$  в отсъствие и присъствие на  $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$  (ляво). COSY спектър на реакционната смес в ТХФ- $d_8$  (дясно).

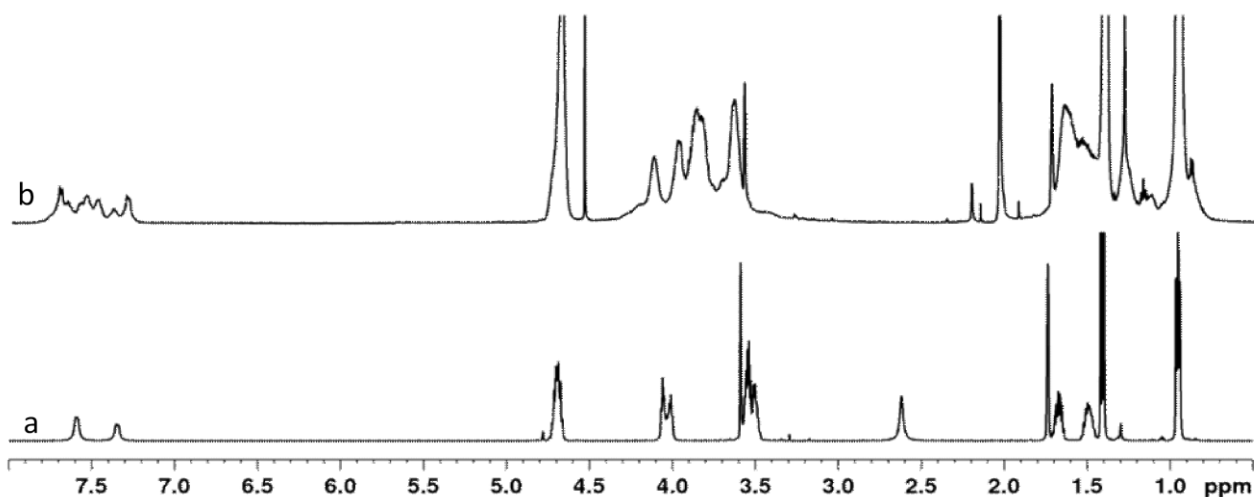
На Схема 4-16 са представени някои от възможните типове интермедиати. При тази реакция се очаква първоначално образуване на интермедиати от типа на **A** и **C**, формирани в следствие на протолиза с участие на хидроксилната група. От ЯМР спектрите не може да се направи извод дали протича протолиза и посредством NH протона с образуване на ковалентна връзка B-N (интермедиат **A**) или азотният атом е свързан чрез комплексообразуване с борния атом (интермедиат **C**). След образуването на интермедиати **A** или **C**, очевидно протича процес на асоциация до димери от типа на **B** или **D**, както и с висока степен на вероятност интермедиати с по-висока степен на асоциация.



**Схема 4-16**

Образуването на интермедиати с различен тип и брой на свързаните лиганди е доказано чрез  $^1\text{H}$  дифузионна ЯМР спектроскопия. В DOSY спектъра на **4-32** в ТХФ- $d_8$  в присъствие на  $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$  се регистрират два основни компонента, с дифузионни коефициенти от  $1.02 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  и  $0.81 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ , които са по-малки от този на чистия лиганд в ТХФ- $d_8$  ( $1.68 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ ). Това показва, че се образуват поне два вида интермедиати, съдържащи различен брой лиганди, като комплексите запазват стабилността си с времето.

Следващ етап на ЯМР изследването включва съединение **4-47**, което съдържа структурен фрагмент на квадратната киселина и аминокиселинен фрагмент. В спектъра на **4-47** в ТХФ- $d_8$  (Фигура 4-9а) се наблюдават сигнали, указващи затруднено въртене около някои от връзките в съединението (например сигналите на NH протоните са при 7.35 и 7.61 м.ч.). При смесване на **4-47** с  $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$  в ТХФ- $d_8$ , се наблюдава отместване на NH сигналите, както и увеличаване на броя на NH и на останалите сигнали в  $^1\text{H}$  спектъра (Фигура 4-9б).



**Фигура 4-9.**  $^1\text{H}$  ЯМР спектри на **4-47** в ТХФ- $d_8$  в отсъствие (а) и присъствие (б) на  $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$ .

Този резултат показва, че вероятно първоначално протича протолиза с образуване на интермедиати от типа на **A-D**, но не е възможно да се направят заключения за тяхната структура. В този случай, за разлика от другия изследван лиганд, включващ фрагмент на квадратната киселина (**4-48**), образуваните комплекси са стабилни, тъй като в рамките на следващите няколко часа не се наблюдават промени в спектъра. Ако сравним резултатите, получени с **4-47** и **4-48**, може да направим извода, че наличието в молекулата на лиганд **4-47** едновременно на хидроксилна и аминокиселинна група допринася за по-голямата стабилност на комплексите и забавя процесите на деструкция, които при **4-48** протичат бързо. Като се

сравнят тези резултати с поведението на аминокатола **4-32** в реакционната система, чиито комплекси с  $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$  показват по-голяма стабилност, с основание може да се твърди, че приносът на скелета на квадратната киселина способства за намаляване на стабилността и разлагане на интермедиатите от типа на **A-D**, отговорни за ефективността на каталитичната система.

### 3.2.1.5 Синтез на стерично запречени аналози на 2-аминобутан-1-ол

Получената висока енантиселективност при употребата на стерично запречения лиганд **4-68**, ни провокира да продължим изследванията си в тази насока. Очевидно е, че въвеждането на обемисти заместители в непосредствена близост до хидроксилната група, оказва положително влияние върху постигнатата енантиселективност. Освен нашите резултати, за доказателство на това твърдение свидетелстват и многобройните литературни данни. Далеч по-оскъдна е информацията, отнасяща се до производни, запречени по азотния атом. Като следваща стъпка в нашата работа, ние решихме да синтезираме стерично запречени аналози на двата енантиомера на 2-аминобутан-1-ол (Схема 4-17). Чрез реакции на *N*-алкилиране са получени 4 нови производни на 2-аминобутан-1-ол **4-73**, **4-75**, (*R*)-**4-77** и (*S*)-**4-77**.

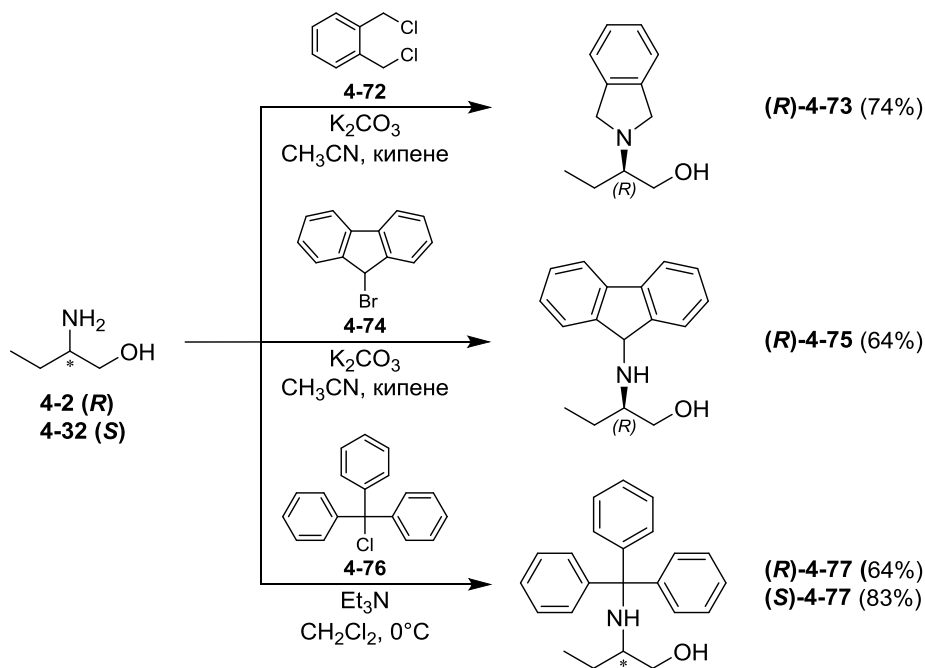


Схема 4-17

В две от реакциите заместител по азота е въведен съответно с 1,2-бис(хлорометил)бензен и 9-бромо-9*H*-флуорен при кипене в среда от сух ацетонитрил и излишък от база –  $K_2CO_3$ . В случая на двата енантиомера на аминобутанола реакциите са проведени с тритилхлорид в разтворител сух метиленхлорид при  $0^\circ C$  и база  $Et_3N$ . Всички реакции протичат с добри добиви. Продуктите са изолирани в чист вид посредством колонна хроматография.

### 3.2.1.6 Синтез на стерично запрещени аналози на (*S*)-фенилглицинол и 2-аминоетил фенхол (4-3)

Подобно на 2-аминобутан-1-ол, литературните данни за приложението на фенилглицинол също са незначителни. Намерен е само един източник, описващ употребата на (*R*)-фенилглицинол в редукция на заместени ацетофенони с борани, при което е постигната висока енантиселективност (*ee* до 91 %).<sup>36</sup>

Фенилглицинол **4-78** е използван за получаване на аналози, заместени по азота, по аналогичен на описания в раздел 4.2.1.5 начин (Схема 4-18). Крайните продукти **4-79** - **4-81** са изолирани с добри добиви посредством колонна хроматография.

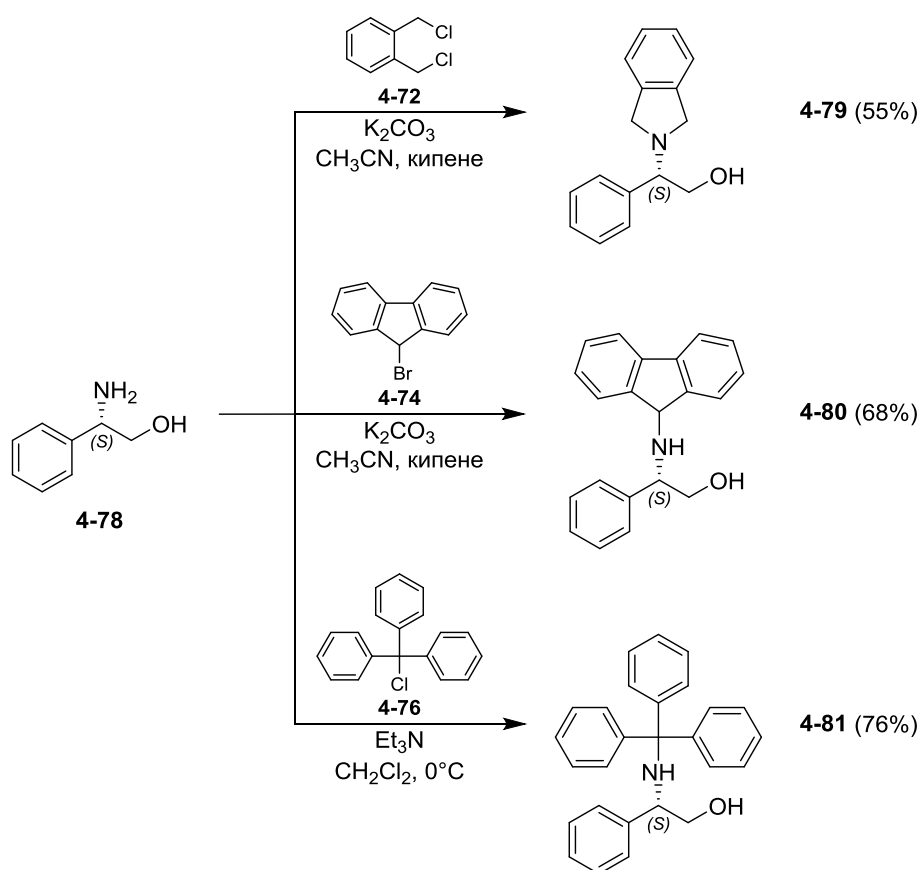


Схема 4-18

Ранните изследвания на *Dimitrov* и сътрудници показват относително ниската стереоселективност, получена след приложение на съединение **4-3** като лиганд за енантиселективно присъединяване на диетилцинк към бензалдехид.<sup>8</sup> По-късно чрез алкилиране в базични условия са получени три *N*-алкилови производни на **4-3** – aminoalkoholите **4-82**, **4-83** и **4-84** (Схема 4-19). В случаите на **4-83** и **4-84** реакциите протичат само до *N*-моноалкилирани продукти поради големия обем на алкиловите остатъци. Желаните продукти са получени в чист вид чрез колонна хроматография.

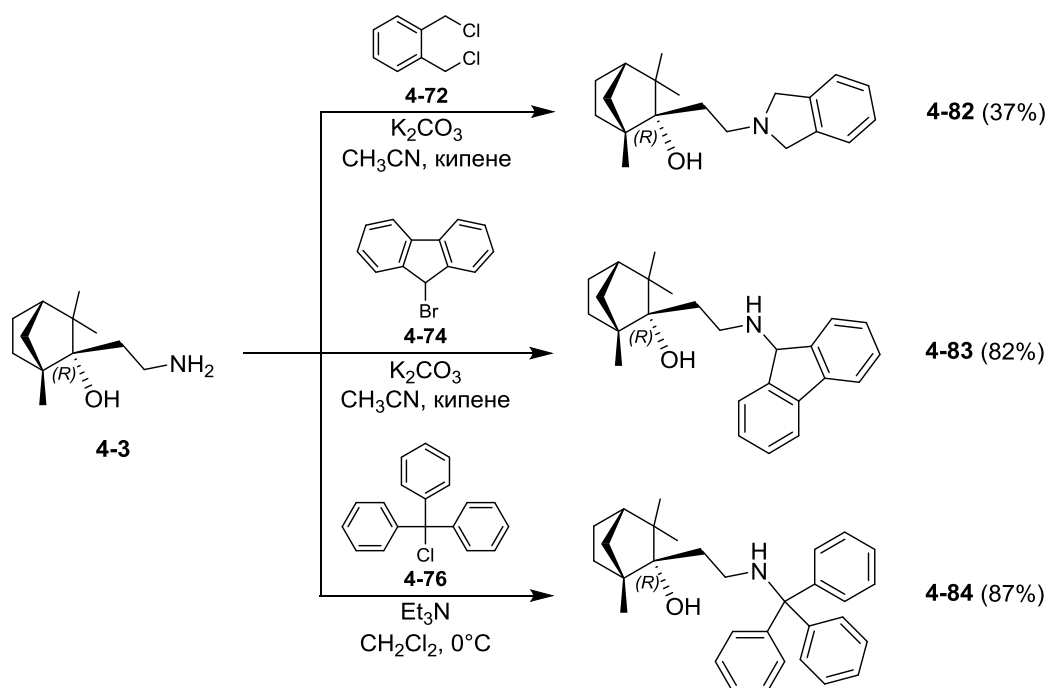


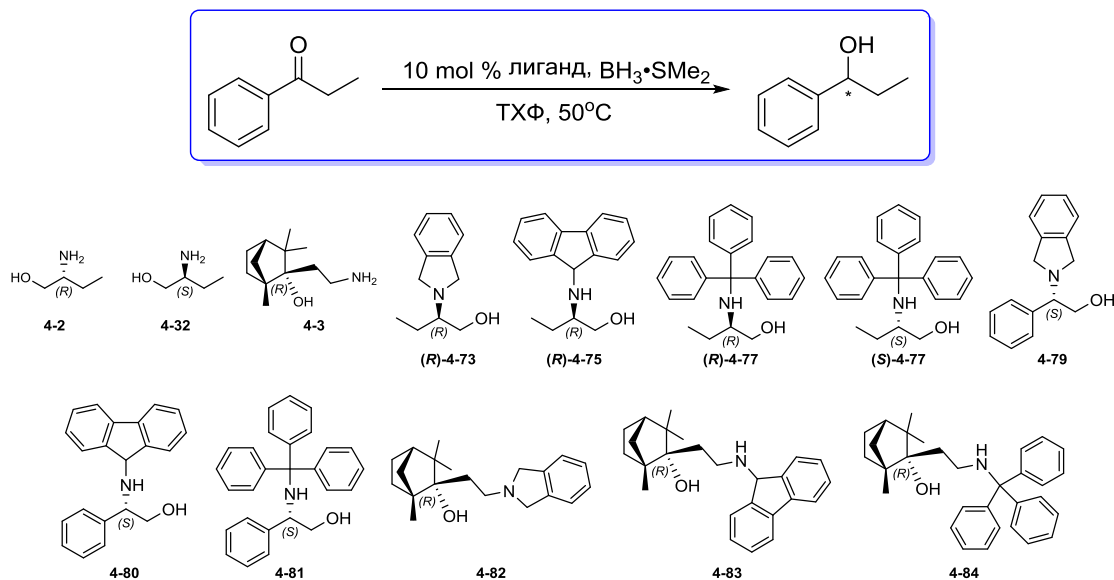
Схема 4-19

### 3.2.1.7 Каталитична активност на стерично запречените aminoalkoholi при редукция на пропиофенон с боран диметилсулфид комплекс

Получените стерично запречени aminoalkoholi са приложени като хирални лиганди в редукция на пропиофенон с  $BH_3 \cdot SMe_2$  (Таблица 4-6). Като моделно съединение е избран пропиофенон, защото при редукцията с боран се получава 1-фенил-1-пропанол. Същият вторичен алкохол се получава и при присъединяване на диетилцинк към бензалдехид, катализирано от хирални aminoalkoholi. Поради това е възможно да се сравняват резултатите, постигнати с aminoalkoholите при редукция на пропиофенон (в този раздел), с

тези, постигнати при присъединяване на диетилцинк към бензалдеhid (в следващия раздел). Реакциите са проведени с участието на 10 молни % лиганд при 50°C в разтворител ТХФ.

Таблица 4-6. Асиметрична редукция на пропиофенон.



Лиганд	Реакционно време (ч)	Добив (%)	<i>ee</i> <sup>a</sup> (конфигурация)
<b>4-2</b>	0.5	99	<b>62 (S)</b>
<b>4-32</b>	0.5	99	<b>67 (R)</b>
<b>(R)-4-73</b>	0.5	99	5 (S)
<b>(R)-4-75</b>	18	99	2 (S)
<b>(R)-4-77</b>	18	99	20 (S)
<b>(S)-4-77</b>	0.5	99	49 (S)
<hr/>			
<b>4-78</b>	0.5	99	<b>76 (R)</b>
<b>4-79</b>	0.5	99	2 (S)
<b>4-80</b>	18	99	5 (R)
<b>4-81</b>	0.7	99	21 (R)
<hr/>			
<b>4-3</b>	0.5	99	0
<b>4-82</b>	0.5	99	0
<b>4-83</b>	18	99	0
<b>4-84</b>	0.5	96	0

<sup>a</sup> Енантиомерният излишък (*ee*) е определен с помощта на капиларна газова хроматография с хирална колона MN-Hydrodex  $\beta$ -TBDAc (0.25 mm x 25 m). Конфигурациите на продуктите са определени в съответствие с литературни данни.

От представените в таблицата резултати е видно, че редукцията на пропиофенон протича във всички случаи с висок добив. Напротив, постигнатата енантиселективност само в случая на аминоктохолите **4-2** и **4-32** е умерена. Във всички останали случаи се наблюдава или отсъствие на енантиселективност, или много ниски стойности за енантимерен излишък.

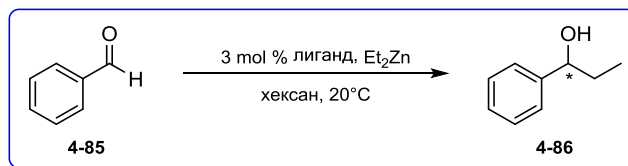


### 3.2.2 Енантиселективно присъединяване на диетилцинк към бензалдехид, катализирано от хирални аминокиселини

Получените хирални аминокиселини са приложени като N,O-лиганди в реакция на присъединяване на диетилцинк към бензалдехид (Таблица 4-7). Реакциите са проведени при стайна температура в разтворител сух хексан и с участието на 3 молни % хирален лиганд. Добивите на получените продукти са високи (с изключение на случаите с лиганди **4-80** и **4-81**), което е показателно за образуването на действащи каталитични комплекси. Най-висока енантиселективност е постигната с двата енантиомерни лиганда **4-77** – 79% с (*R*)-изомера и 77% с (*S*)-изомера.

Интересно е, че въпреки наличието на обемисти заместители при азота в трите *N*-алкилирани аминокиселини с фенханов скелет, с два тях (**4-82** и **4-83**) не се постига добра енантиселективност (в сравнение с тази постигната с незаместения **4-3**). Напротив, с лиганд **4-84** енантиселективността рязко се повишава до 67%, което очевидно се дължи на обемистата тритилова група. Трябва да се спомене и факта, че въз основа на натрупания дългогодишен опит и литературните данни, е показано, че обикновено аминокиселините, чрез които се постига висока енантиселективност при тази каталитична реакция притежават третичен азотен атом. От друга страна, точно аминокиселините с вторични азотни атоми (каквито са лигандите **4-83** и **4-84**), са подходящи като катализатори за асиметрична редукция на кетони с борани.

Таблица 4-7. Енантиселективно присъединяване на диетилцинк към бензалдехид.



Лиганд	Реакционно време (ч)	Добив (%)	<i>ee</i> <sup>a</sup> (конфигурация)
<b>4-2</b>	43	90	49 ( <i>R</i> )
<b>4-32</b>	43	87	49 ( <i>S</i> )
<b>(R)-4-73</b>	22	94	42 ( <i>S</i> )
<b>(R)-4-75</b>	75	91	20 ( <i>R</i> )
<b>(R)-4-77</b>	18	89	<b>79 (<i>R</i>)</b>
<b>(S)-4-77</b>	20	89	<b>77 (<i>S</i>)</b>
<hr style="border-top: 1px dashed black;"/>			
<b>4-78</b>	48	81	26 ( <i>R</i> )
<b>4-79</b>	26	84	47 ( <i>R</i> )
<b>4-80</b>	21	25	5 ( <i>R</i> )
<b>4-81</b>	28	65	6 ( <i>R</i> )
<hr style="border-top: 1px dashed black;"/>			
<b>4-3<sup>6</sup></b>	48	80	28 ( <i>R</i> )
<b>4-82</b>	1	99	22( <i>R</i> )
<b>4-83</b>	43	75	7 ( <i>R</i> )
<b>4-84</b>	14	99	<b>63 (<i>R</i>)</b>

<sup>a</sup> Енантиомерният излишък (*ee*) е определен с помощта на капилярна газова хроматография с хирална колона MN-Hydrodex  $\beta$ -TBDAC (0.25 mm x 25 m). Конфигурациите на продуктите са определени в съответствие с литературни данни.

<sup>6</sup> По литературни данни<sup>8</sup>

Получените резултати от реакциите на редукция с боран и тези на присъединяване на диетилцинк към карбонилни съединения могат да се използват за проектиране на подходящи за синтез структури, чрез които да се оптимизират получените резултати, т.е. да се постигнат по-добри селективности.

## 4 ИЗВОДИ

Резултатите, представени в настоящата дисертация, могат да се обобщят както следва:

1. Синтезирана е поредица от хирални структурно разнообразни съединения, съдържащи различни хетероатоми (O, S, N и P), при което са разработени подходящи синтетични подходи. Всички съединения са охарактеризирани с необходимите спектрални методи (ЯМР спектроскопия, масспектрометрия и др.).
2. Изучена е антитуберкулозната активност на 40 нови съединения от два структурни типа (производни на (R)-2-аминобутан-1-ол и 2-аминоетил фенхол) спрямо стандартен лабораторен щам *Mycobacterium tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv и мултирезистентен щам. Установена е висока активност при 6 съединения от първата серия (включително срещу мултирезистентния щам) и при 2 съединения от втората серия. Тези данни са сравними или по-добри от активността на лекарствения препарат етамбутол. Получените резултати предоставят възможност за оптимизиране на активните съединения до нови по-активни структури.
3. Синтезирана е серия от хирални производни на квадратната киселина чрез свързване на скелета ѝ с фрагменти на хирални аминокалкохоли и амини (повечето синтезирани с помощта на оригинални методики). Изучена е каталитичната активност на производните на квадратната киселина и тази на хиралните аминокалкохоли при редукцията на  $\alpha$ -хлороацетофенон с боран диметилсулфид комплекс. В противовес на литературните данни, по-висока енантиселективност се постига с хиралните аминокалкохоли, в сравнение с тази на производните на квадратната киселина, носещи фрагменти от същите аминокалкохоли.
4. Използвани са ЯМР техники (едномерни -  $^1\text{H}$  и  $^{11/10}\text{B}$  и двумерни -  $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  HMBC, COSY и  $^1\text{H}$  DOSY) за установяване ролята на лиганди със структурата на квадратната киселина с включен фрагмент на хирален аминокалкохол в сравнение с тези от хирален аминокалкохол като активен катализатор в реакцията на редукция на прохирални кетони. Изучена е стабилността на формиращите се каталитични комплекси при смесването на лиганд с боран диметилсулфид комплекс с цел да се обяснят по-ниските енантиселективности, постигнати с хирално модифицираните производни на квадратната киселина, в сравнение с тези на свободните хирални аминокалкохоли.

5. Синтезирана е поредица от стерично запречени аминокиселини и е изучена активността им като лиганди за енантиселективна редукция на пропиофенон с боран диметилсулфид комплекс.
6. Синтезираните стерично запречени аминокиселини са приложени като лиганди за енантиселективно присъединяване на диетилцинк към бензалдехид, с което е направено сравнение на активността им в реакцията на редукция и в реакцията на нуклеофилно присъединяване. Получените резултати предоставят възможност за структурно оптимизиране и синтез на нови лиганди.

## 5 Публикации във връзка с темата на дисертацията

1. Dobrikov, G.M., Valcheva, V., Nikolova, Y., Ugrinova, I., Pasheva, E., Dimitrov, V. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2013**, *63*, 468-473. Efficient synthesis of new (*R*)-2-amino-1-butanol derived ureas, thioureas and acylthioureas and *in vitro* evaluation of their antimycobacterial activity.

Забелязани цитати:

1. Adan, D., Yamin, B., Leng, O.W., Ibrahim, N., *The 2014 UKM FST Postgraduate Colloquium: proceedings of the Universiti Kebangsaan Malaysia, Faculty of Science and Technology 2014 Postgraduate Colloquium*, 2014, *1614*, 218-223. Synthesis, characterization and antibacterial study of tripodal tris-(*N*-benzoylthioureido)ethylamine.
2. Anuta, V., Nitulescu, G.M., Dinu-Pirvu, C.E., Olaru, O.T., *Molecules*, 2014, *19*, 10, 16381-16401. Biopharmaceutical profiling of new antitumor pyrazole derivatives.
3. Li, S., Li, H., Cao, X., Chen, C., *Letters in Drug Design and Discovery*, 2014, *11*, 1, 98-103. Synthesis and bio-evaluation of novel salicylic acid-oriented thiourea derivatives with potential applications in agriculture.
4. Tatar, E., Küçükgülzel, Ş., Karakuş, S., de Clercq, E., Andrei, G., Snoeck, R., Pannecouque, C., Öktem Okullu, S., Ünübol, N., Kocagöz, T., Kalayci, S., ŞahİN, F., Küçükgülzel, I., *Marmara Pharmaceutical Journal*, 2015, *19*, 2, 88-102. Synthesis and biological evaluation of some new 1,3,4-thiadiazole and 1,2,4-triazole derivatives from L-methionine as antituberculosis and antiviral agents.
5. Tatar, E., Ş., Karakuş, Küçükgülzel, Ş.G., Öktem Okullu, S., Ünübol, N., Kocagöz, T., de Clercq, E., Andrei, G., Snoeck, R., Pannecouque, C., Kalayci, S., ŞahİN, F., Sriram, D., Yogeewari, P., Küçükgülzel, I., *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2016, *39*, 502–515. Design, synthesis, and molecular docking studies of a conjugated thiadiazole–thiourea scaffold as antituberculosis agents.
6. Ghorab, M.M., El-Gaby, M.S.A., Soliman, A.M., Alsaïd, M.S., Abdel-Aziz, M.M., Elaasser, M.M., *Chemistry Central Journal*, 2017, *11*:42 (12 pages). Synthesis, docking study and biological evaluation of some new thiourea derivatives bearing benzenesulfonamide moiety.
7. Plutín, A.M., Alvarez, A., Mocoelo, R., Ramos, R., Castellano, E.E, da Silva, M.M., Villarreal, W., Pavan, F.R., Meira, C.S., Filho, J.S.R., Moreira, D.R.M., Soares M.B.P., Batista, A.A., *Polyhedron*, 2017, *132*, 70-77, Palladium(II)/N, N-disubstituted-N`-acylthioureas complexes as anti-Myco**ba**cterium tuberculosis and anti-*Trypanosoma cruzi* agents.
8. Duan A.-H., Wang B.-J., Xie S.-M., Zhang J.-H., Yuan L.-M., *Chirality*, 2017; *29*, 172–177; A chiral, porous, organic cage-based, enantioselective potentiometric sensor for 2-aminobutanol.

2. Dobrikov, G.M., Valcheva, V., Nikolova, Y., Ugrinova, I., Pasheva, E., Dimitrov, V. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2014, 77, 243-247. Enantiopure antituberculosis candidates synthesized from (-)-fenchone.

Забелязани цитати:

1. Sokolova, A.S., Yarovaya, O.I., Shernyukov, A.V., Gatilov, Y.V., Razumova, Y.V., Zarubaev, V.V., Tretiak, T.S., Pokrovsky, A.G., Kiselev, O.I., Salakhutdinov, N.F., *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2015, 105, 263-273. Discovery of a new class of antiviral compounds: Camphor imine derivatives.
2. Zeng, H. , Chen, X., Liang, J., *Journal of Medical Microbiology*, 2015, 64, 1, 93-103. In vitro antifungal activity and mechanism of essential oil from fennel (*Foeniculum vulgare* L.) on dermatophyte species.
3. Dorsza, M., Kleniewska, K., Wojaczyńska, E., , *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*, 2016, 191, 2, 279-282. Monoimines derived from (1*R*, 2*R*)-1,2-diaminocyclohexane in aza-Diels-Alder reaction: synthesis and characterization of sulfur derivatives based on the 2-azanorbonyl skeleton.
4. Duan A.-H., Wang B.-J., Xie S.-M., Zhang J.-H., Yuan L.-M., *Chirality*, 2017; 29, 172–177; A chiral, porous, organic cage-based, enantioselective potentiometric sensor for 2-aminobutanol.

## 6 Участия в научни форуми

№	Период на провеждане	Място на провеждане	Име на форума	Автори и наименование на доклада
1	20.05.2015 - 22.05.2015	София, България	XIV Национална конференция по химия за студенти и докторанти	Я. Николова, Г. Добриков, В. Димитров Нови запрещени хирални аминокалкохоли - сравнително изследване на каталитичната им активност в асиметрични реакции (Доклад)
2	05.07.2015 - 09.07.2015	Bratislava, Slovakia	21st International Conference on Organometallic Chemistry	Nikolova, Y., Dobrikov, G.M., Dimitrov, V. Chiral aminoalcohol attached to squaric acid fragment as backbone for asymmetric borane reduction (Постер)
3	05.10.2015 - 06.10.2015	Rome, Italy	COST Action CM1407 - Challenging organic syntheses inspired by nature - from natural products chemistry to drug discovery	Dobrikov, G.M., Dimitrov, V., Nikolova, Y., Slavchev, I., Petkova, Z. Antimycobacterial activity of small molecules generated by synthetic transformations of natural products (Постер)
4	14.10.2015 - 17.10.2015	Пловдив, България	2nd International conference on natural products utilization: from plants to pharmacy shelf	Nikolova, Y., Dobrikov, G.M., Valcheva, V., Ugrinova, I., Pasheva, E., Dimitrov, V. Efficient synthesis of enantiopure antituberculosis candidates derived from (-)-fenchone (Постер)
5	15.05.2016 - 19.05.2016	Siena, Italy	Sixth European Workshop in Drug Synthesis	Nikolova, Y., Dobrikov, G.M., Valcheva, V., Ugrinova, I., Pasheva, E., Dimitrov, V. Antimycobacterial activity of small molecules generated by synthetic transformations of (R)-2-amino-1-butanol and (1S)-(-)-fenchone (Постер)

6	15.06.2016 - 19.06.2016	Боровец, България	International Summer School "Supramolecular Chemistry – Ideas, Design and Methods for Investigations "	Nikolova, Y., Shestakova, P., Dobrikov, G.M., Dimitrov, V. Chiral aminoalcohol fragments attached to squaric acid core – evaluation of the ability to form oxazaborolidines as reduction catalysts (Постер)
7	18.09.2016 - 20.09.2016	София, България	18th Central and Eastern European NMR Symposium & Bruker Users' Meeting	Nikolova, Y., Shestakova, P., Dobrikov, G.M., Dimitrov, V. A <sup>1</sup> H, <sup>11</sup> B and DOSY NMR study of complexes of chiral aminoalcohols and their squaramides with BH <sub>3</sub> ·SMe <sub>2</sub> (Постер)
8	19.04.2017 - 21.04.2017	Пловдив, България	International Spring School „Supramolecular Chemistry - Methods, Concepts and Applications“	Nikolova, Y., Shestakova, P., Dobrikov, G.M., Dimitrov, V. Chiral aminoalcohol fragments attached to squaric acid core – evaluation of the ability to form oxazaborolidines as reduction catalysts (Постер)



## 7 ЛИТЕРАТУРА

1. Gal, J. In *Chirality in Drug Research*; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2006; pp. 1-26.
2. Lin, G.-Q.; Li, Y.-M.; Chan, A. S. C. In *Principles and Applications of Asymmetric Synthesis*; John Wiley & Sons, Inc., 2002; pp. 331-396.
3. Dobrikov, G. M.; Valcheva, V.; Stoilova-Disheva, M.; Momekov, G.; Tzvetkova, P.; Chimov, A.; Dimitrov, V. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2012**, *48*, 45-56.
4. Lee, R. E.; Protopopova, M.; Crooks, E.; Slayden, R. A.; Terrot, M.; Barry Iii, C. E. *Journal of Combinatorial Chemistry* **2003**, *5*, 172-187.
5. Protopopova, M.; Bogatcheva, E.; Nikonenko, B.; Hundert, S.; Einck, L.; Nacy, C. A. *Medicinal Chemistry* **2007**, *3*, 301-316.
6. Protopopova, M.; Hanrahan, C.; Nikonenko, B.; Samala, R.; Chen, P.; Gearhart, J.; Einck, L.; Nacy, C. A. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **2005**, *56*, 968-974.
7. Bogatcheva, E.; Hanrahan, C.; Chen, P.; Gearhart, J.; Sacksteder, K.; Einck, L.; Nacy, C.; Protopopova, M. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* **2010**, *20*, 201-205.
8. Dimitrov, V.; Dobrikov, G.; Genov, M. *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, *12*, 1323-1329.
9. Zarzyka-Niemiec, I. *Journal of Applied Polymer Science* **2009**, *114*, 1141-1149.
10. Peng, H.; Liang, Y.; Chen, L.; Fu, L.; Wang, H.; He, H. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* **2011**, *21*, 1102-1104.
11. Valeur, E.; Bradley, M. *Chemical Society Reviews* **2009**, *38*, 606-631.
12. Quancard, J.; Labonne, A.; Jacquot, Y.; Chassaing, G.; Lavielle, S.; Karoyan, P. *Journal of Organic Chemistry* **2004**, *69*, 7940-7948.
13. Canetti, G.; Fox, W.; Khomenko, A.; Mahler, H. T.; Menon, N. K.; Mitchison, D. A.; Rist, N.; Smelev, N. A. *Bulletin of the World Health Organization* **1969**, *41*, 21-43.
14. Canetti, G.; Froman, S.; Grosset, J.; Hauduroy, P.; Langerová, M.; Mahler, H. T.; Meissner, G.; Mitchison, D. A.; Šula, L. *Bulletin of the World Health Organization* **1963**, *29*, 565-578.
15. Canetti, G.; Rist, N.; Grosset, J. *Revue de tuberculose et de pneumologie* **1963**, *27*, 217-272.
16. Heifets, L. In *Multidrug-resistant Tuberculosis*; Bastian, I.; Portaels, F. Eds.; Kluwer Academic: Dordrecht, The Netherlands, 2000; pp. 133-144.
17. Shepherd, R. G.; Baughn, C.; Cantrall, M. L.; Goodstein, B.; Thomas, J. P.; Wilkinson, R. G. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1966**, *135*, 686-710.
18. Yendapally, R.; Lee, R. E. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* **2008**, *18*, 1607-1611.
19. Budha, N. R.; Lee, R. E.; Meibohm, B. *Current Medicinal Chemistry* **2008**, *15*, 809-825.
20. Malwal, S. R.; Sriram, D.; Yogeewari, P.; Chakrapani, H. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* **2012**, *22*, 3603-3606.
21. Malwal, S. R.; Sriram, D.; Yogeewari, P.; Konkimalla, V. B.; Chakrapani, H. *Journal of Medicinal Chemistry* **2012**, *55*, 553-557.
22. Tripathi, R. P.; Bisht, S. S.; Ajay, A.; Sharma, A.; Misra, M.; Gupt, M. P. *Current Medicinal Chemistry* **2012**, *19*, 488-517.
23. Janin, Y. L. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* **2007**, *15*, 2479-2513.
24. Nefzi, A.; Appel, J.; Arutyunyan, S.; Houghten, R. A. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* **2009**, *19*, 5169-5175.
25. Férriz, J. M.; Vávrová, K.; Kunc, F.; Imramovský, A.; Stolaříková, J.; Vavříková, E.; Vinšová, J. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* **2010**, *18*, 1054-1061.
26. Krátký, M.; Vinšová, J.; Buchta, V.; Horvati, K.; Bösze, S.; Stolaříková, J. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2010**, *45*, 6106-6113.

27. Wu, X. F.; Min, C.; Nyamzundui, E.; Zhou, H. B.; Dong, C. *Tetrahedron: Asymmetry* **2011**, *22*, 1640-1643.
28. Zhang, J.; Zhou, H. B.; Lü, S. M.; Luo, M. M.; Xie, R. G.; Choi, M. C. K.; Zhou, Z. Y.; Chan, A. S. C.; Yang, T. K. *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, *12*, 1907-1912.
29. Zhou, H.; Lü, S.; Xie, R.; Chan, A. S. C.; Yang, T. K. *Tetrahedron Letters* **2001**, *42*, 1107-1110.
30. Zhou, H. B.; Zhang, J.; Lü, S. M.; Xie, R. G.; Zhou, Z. Y.; Choi, M. C. K.; Chan, A. S. C.; Yang, T. K. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 9325-9333.
31. Zou, H.-H.; Hu, J.; Zhang, J.; You, J.-S.; Ma, D.; Lü, D.; Xie, R.-G. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical* **2005**, *242*, 57-61.
32. Hirao, A.; Itsuno, S.; Nakahama, S.; Yamazaki, N. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* **1981**, 315-317.
33. Chen, Y. K.; Jeon, S. J.; Walsh, P. J.; Nugent, W. A. *Organic Syntheses* **2005**, *82*, 87-92.
34. Bosiak, M. J.; Krzemiński, M. P.; Jaisankar, P.; Zaidlewicz, M. *Tetrahedron: Asymmetry* **2008**, *19*, 956-963.
35. Santhi, V.; Rao, J. M. *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 3553-3560.
36. Hett, R.; Senanayake, C. H.; Wald, S. A. *Tetrahedron Letters* **1998**, *39*, 1705-1708.