БЪЛГАРСКА АКАДЕМИЯ НА НАУКИТЕ

ИНСТИТУТ ПО ОРГАНИЧНА ХИМИЯ С ЦЕНТЪР ПО ФИТОХИМИЯ

Мая Трифонова Тавлинова-Кирилова

ХИРАЛНИ АМИНОБЕНЗИЛ-НАФТОЛИ И -ХИНОЛИНОЛИ, И ДИХИДРО-1,3-НАФТОКСАЗИНИ – СИНТЕЗ И КАТАЛИТИЧНИ ПРИЛОЖЕНИЯ

АВТОРЕФЕРАТ

на дисертация за получаване на образователната и научна степен „доктор“

в област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика;

професионално направление 4.2. Химически науки;

научна специалност „Органична Химия“

Научни ръководители: доц. д-р Калина Костова

гл. ас. д-р Мариана Каменова-Начева

София, 2023 г.

Синтетичните 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.

ЯМР спектралните изследвания са проведени в Центъра по ЯМР спектроскопия, ИОХЦФ-БАН.

Рентгеноструктурният анализ е проведен в Института по минералогия и кристалография „Акад. Иван Костов“ при БАН.

Изследванията за биологична активност са проведени в Биологически факултет на СУ „Св. Климент Охридски“.

Дисертационният труд е обсъден и насочен за защита от колоквиума „Природни и синтетични биологично активни съединения“ при ИОХЦФ-БАН на 14.12.2023 г.

Дисертационният труд е изложен на **220** страници, включва **11** таблици, **34** фигури и **112** схеми. Библиографията обхваща **187** литературни източника. Резултатите са публикувани в **3** научни публикации и са представени на **7** научни форума.

Номерацията на разделите, схемите, фигурите, таблиците и съединенията в автореферата е същата, както в дисертацията. Някои схеми са обединени и означени с букви, но е указана номерацията им в дисертацията.

Защитата на дисертационния труд ще се проведе на ……. 2024 г. от …. 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

Многокомпонентните реакции са модерен инструмент за бързо, лесно и ефективно получаване на структурно разнообразни многофункционални съединения в една стъпка. Това ги прави привлекателна област за разработки, насочени към приложения. Фармацевтичната индустрия прилага многокомпонентни реакции при генериране на библиотеки от многофункционални молекули и оценява тяхната активност в процеса на разработване на нови лекарства. Търсенето на нови лекарствени кандидати, насочени например, към третиране на патогени, развиващи резистентност, е в пряка зависимост от способността на лекарствената химия да генерира серии от нови съединения с разнообразни структурни характеристики. Икономически, регулаторни и обществени фактори все повече стимулират фармацевтичната индустрия към по-устойчиви производствени методи, което се постига чрез прилагане на принципите на зелената химия. В този процес многокомпонентните реакции притежават висок потенциал за реализиране на екологични производствени процеси на фармацевтични продукти. От гледна точка на лекарствената химия е много важно, в процеса на синтеза на нови съединения от прохирални субстрати, да могат да се генерират енантиомерно (диастереоизомерно) чисти продукти, поради известното влияние на стереохимията върху биологичната активност на веществата. Значителна част от усилията на съвременната експериментална органична химия са свързани с осъществяването на енантиоселективни варианти на почти всяка известна химична реакция. Многокомпонентните реакции са съществено звено при разработването на нови биологично активни съединения, включително структури притежаващи хиралност, с което е обясним нарастващия интерес към тях през последните години.

Реакцията на *Mannich* е една от често прилаганите многокомпонентни реакции и е класически метод за образуване на C–C връзка в органичната химия. Реакцията на *Mannich* е приложима за получаване на дихидро-1,3-нафтоксазини чрез кондензация на нафтолна компонента, амин и формалдехид. Този клас съединения демонстрира широк спектър от биологична активност. Съединенията намират приложение като междинни продукти за синтеза на *N*-заместени аминонафтоли и хетероциклични системи с азотен мост. От голямо значение са енантиоселективните варианти на реакцията. Единични са примерите за получаване на 1,3-O,N-хетероцикли при използване на хирални амини.

В класическата реакция на *Mannich* са разработени определени вариации. При замяната на формалдехид с ароматен алдехид, а съединенията с подвижен водороден атом – с

електронно богати ароматни съединения, като фенол, 1- или 2-нафтол, хинолинол или изохинолинол, протича трикомпонентна кондензация по *Betti*. Важна особеност на *Betti* реакцията е, че протича с висока диастереоселективност, когато използваният амин е хирален. Провеждането на кондензация по *Betti* с енантиомерно чисти амини е плодотворна изследователска тема. При този подход, наличието на известен стереогенен център при амина индуцира образуването на нов стереогенен център с висока стереоселективност. Постига се образуването на аминобензилнафтоли с два стереогенни центъра.

Основното множество от хирални аминонафтоли, аминобензилнафтоли и техни аналози се използват в асиметрични синтези като лиганди или помощни съединения, както и като интермедиати за получаване на биологично активни вещества. От особен интерес са приложенията, при които такива съединения се влагат като лиганди за енантиоселективни нуклеофилни присъединителни реакции на нулеофилни реагенти към карбонилни съединения, при което се получават хирални вторични алкохоли. Хиралните вторични алкохоли са ценни интермедиати в асиметричния органичния синтез за получаване на други хирални продукти – халогено-, тио- и фосфинови производни, амини, етери, естери, хетероцикли и др.

В асиметричния синтез и катализ се влага значителен ресурс в разработването на стратегии за синтез на нови хирални лиганди (модификатори), които са подходящи за разнообразни приложения. До сега не са синтезирани универсални лиганди или реагенти, приложими за различните типове енантиоселективни трансформации. Ефективността на даден хирален модификатор или катализатор (лиганд) е висока обикновено само за конкретна реакция.

Кондензациите по *Mannich* и *Betti* предоставят значителни възможности за синтез на хирални съединения. Чрез прилагането им са синтезирани структурно разнообразни хирални многофункционални съединения, които са използвани в т.н. асиметричен катализ и са приложени успешно за постигане на висока асиметричната индукция при присъединителните реакции на органоцинкови реагенти към алдехиди. В настоящия дисертационен труд усилията са насочени към използване на тези кондензационни реакции за синтез на нови хирални съединения, които могат да се прилагат като лиганди в енантиоселективното присъединяване на диетилцинк към алдехиди.

2. ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ

В настоящия дисертационен труд е планиран синтезът на нови хирални, нерацемични дихидро-1,3-нафтоксазини и аминобензил-нафтоли и -хинолиноли, както и приложимостта им като лиганди в енантиоселективни реакции.

Поставени са следните конкретни експериментални задачи:

1. Синтез на дихидро-1,3-нафтоксазини чрез кондензация по *Mannich* на нафтален-2-ол, формалдехид и хирални амини и тяхната редукция за получаване на аминометилнафтоли с третична амино група.

2. Използване на производни на природни аминокиселини, като (*R*)-(–)-2-фенилглицинол и метилов естер на (*R*)-(–)-2-фенилглицин, като източник на хиралност в кондензация по *Mannich*.

3. Провеждане на кондензация по *Mannich* за получаване на хирални, нерацемични бис-дихидро-1,3-нафтоксазини при използване на енантиомерно чист (*R,R*)- или (*S,S*)-циклохексан-1,2-диамин, както и при кондензация на нафталендиоли с (*S*)-(-)-1-фенилетан-1-амин.

4. Осъществяване на кондензация по *Mannich* на хинолин-6-ол, формалдехид и хирални амини и последваща редукция.

5. Провеждане на кондензация по *Betti* на хинолин-6-ол или хинолин-7-ол (хинолинови аналози на нафтален-2-ола) с ароматни алдехиди и хирални амини.

6. Структурно охарактеризиране на синтезираните нови хирални съединения с помощта на едномерна и двумерна ЯМР спектроскопия, масспектрометрия, специфичен ъгъл на въртене и елементен анализ.

7. Определяне конфигурацията на новоформирания стереогенен център при продуктите на кондензация по *Betti* посредством прилагане на съвременни ЯМР техники и рентгеноструктурен анализ.

8. Синтез на структурно разнообразни съединения, при използване на дикетопиперазина Cyclo(Gly-Pro) като базов компонент в реакции с различни електрофили.

9. Приложение на новополучените енантиомерно чисти аминобензил-нафтоли и -хинолиноли, като катализатори в моделна реакция за енантиоселективно присъединяване на диетилцинк към алдехиди.

10. Оценка на получените съединения за антимикробна и антивирусна активност.

4. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЯ

Като продължение на експериментите и постигнатите резултати в лабораторията по „Органичен синтез и стереохимия“, в която е изработена настоящата дисертационна работа, се насочихме към синтез на нови хирални дихидро-1,3-нафтоксазини.

4.1. Кондензация по *Mannich* на нафтален-2-ол (4-1) с формалдехид и хирални амини до дихидро-1,3-нафтоксазини и тяхната редукция

Кондензацията на нафтален-2-ол (**4-1**) с формалдехид и хирални амини: (*S*)-(+)-1,2,3,4-тетрахидронафтален-1-амин (**4-2**) и (*S*)-(+)-3,3-диметилбутан-2-амин (**4-5**), е извършена в етанол при 50 °C в рамките на 2 до 3 часа. Формалдехидът е вложен като формалин (37% воден разтвор) или като параформалдехид. Продуктите **4-3** и **4-6** са изолирани в чист вид след хроматографско пречистване като безцветни аморфни вещества с добив 95% и 88%, съответно. Получените дихидро-1,3-нафтоксазина **4-3** и **4-6** са редуцирани успешно с $LiAlH_4$ до съответните *N*-метил аминометилнафтоли **4-4** и **4-7** с добив 70 % и 55%, съответно (Схема **А**).

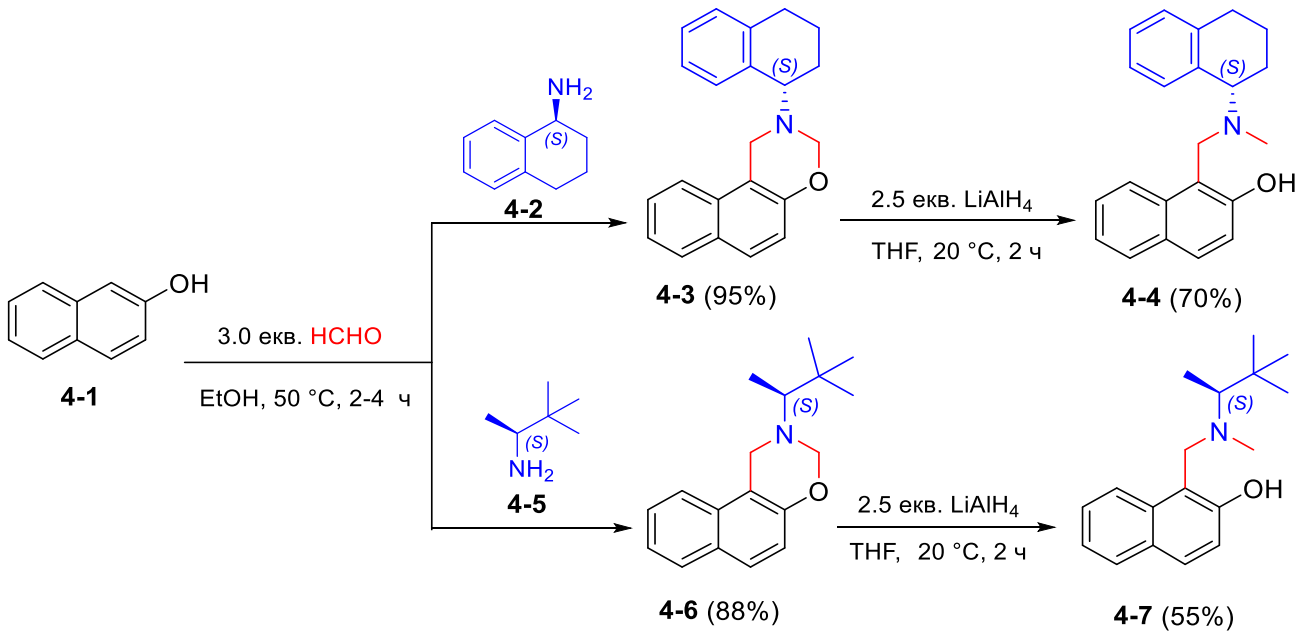


Схема А Получаване на *N*-метил аминометилнафтолите **4-4** и **4-7**
(Обобщени Схема **4-3** и Схема **4-4**)

Установено е, че аминонафтолът **4-7** е нестабилен и се разлага при продължителен престой на стайна температура. Съхранява се в атмосфера от аргон и при температура от 4 °C.

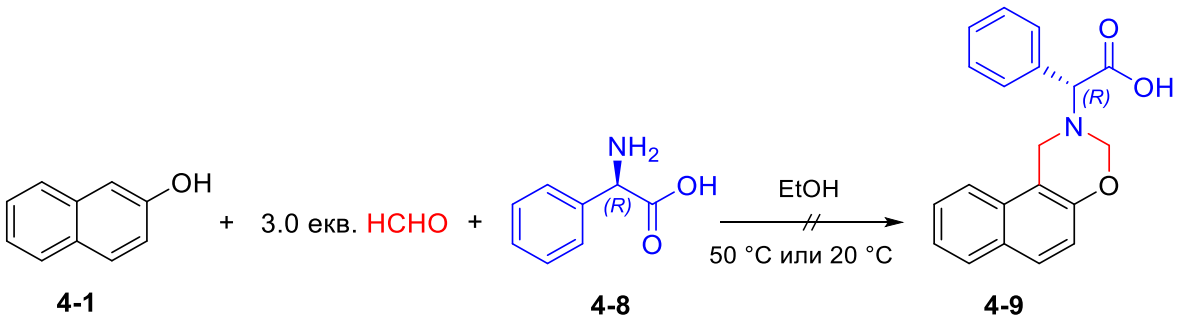
Новосинтезираните съединения (**4-3**, **4-4**, **4-6** и **4-7**), след пречистване с колонна хроматография, са охарактеризирани чрез ^{1}H и ^{13}C ЯМР спектроскопия и двумерни спектри: *COSY*, *HSQC*, *HMBC*; масспектрометрия; специфичен ъгъл на въртене; температура на топене и елементен анализ. Направените двумерни ЯМР спектри позволяват пълното отнасяне на сигналите за всички протони и въглеродни атоми.

Ефективността на аминометилнафтолите **4-4** и **4-7** като катализатори в енантиоселективни реакции е тествана в присъединителна реакция на диетилцинк към ароматни алдехиди (раздел **4.8.**).

4.2. Кондензация по *Mannich* на нафтален-2-ол (4-1) с формалдехид и хирални производни на природни аминокиселини като аминна компонента до дихидро-1,3-нафтоксазини и тяхната редукция

Аминокиселините – природни и синтетични, са лесно достъпни търговски продукти, а поради тяхната хиралност са подходящи за прилагане в асиметричния синтез. Наличието на две функционални групи дава възможност за допълнителни трансформации до разнообразни нови продукти. Това е причина за широкото им приложение в органичния синтез за получаване на нови хирални, нерацемични съединения с потенциална каталитична и биологична активност.

С цел получаване на нови хирални аминометилнафтоли, (*R*)-(–)-2-фенилглицинът (**4-8**) е използван в модифицирана *Mannich* реакция. Опитът да се получи дихидро-1,3-нафтоксазинът **4-9** е неуспешен (Схема **4-5**).



4-1 **4-8** **4-9**

Схема 4-5 Кондензация на нафтален-2-ол (**4-1**), формалдехид и (*R*)-(–)-2-фенилглицин (**4-8**)

Директното използване на аминокиселината **4-8** в реакция на *Mannich* не води до получаване на продукт, поради което се наложи използването на нейни производни като метилов естер на (*R*)-(–)-2-фенилглицина (**4-10**) и (*R*)-(–)-2-фенилглицинол (**4-14**).

4.2.1. Кондензация по *Mannich* на нафтален-2-ол (4-1), параформалдехид и метилов естер на *R*-(–)-2-фенилглицин (4-10) и последваща редукция на получения продукт

Изборът на хиралния аминоестер **4-10** е продиктуван от факта, че е лесно достъпен и сравнително евтин, както и от необходимостта да се направи сравнение между резултатите, постигнати в групата, при провеждане на кондензация по *Betti* и тези, получени при провеждане на кондензация по *Mannich*.

Проведена е кондензация по *Mannich* на метиловия естер на (*R*)-(–)-2-фенилглицина (**4-10**) с нафтален-2-ол (**4-1**) и параформалдехид в етанол при нагряване на 50 °C (Схема **4-8**).

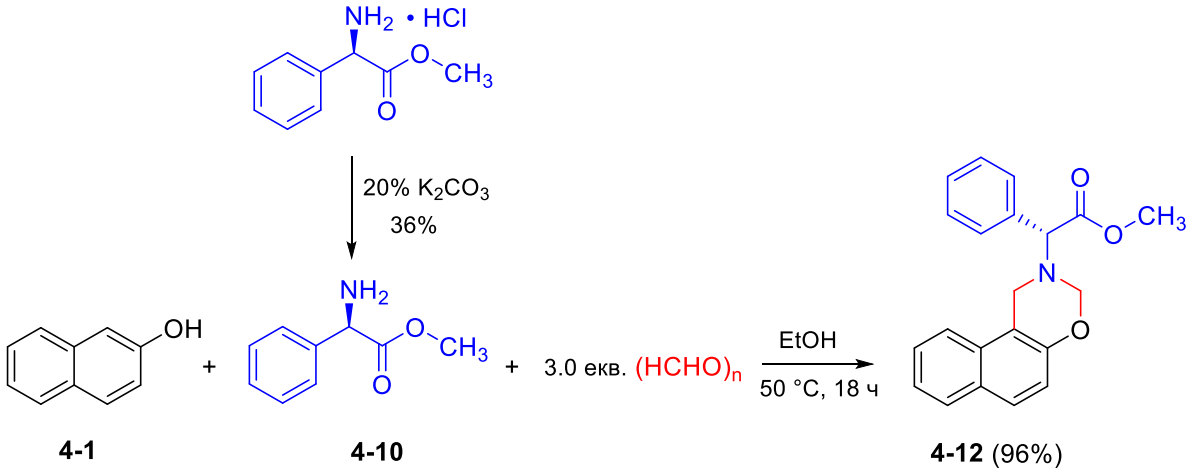
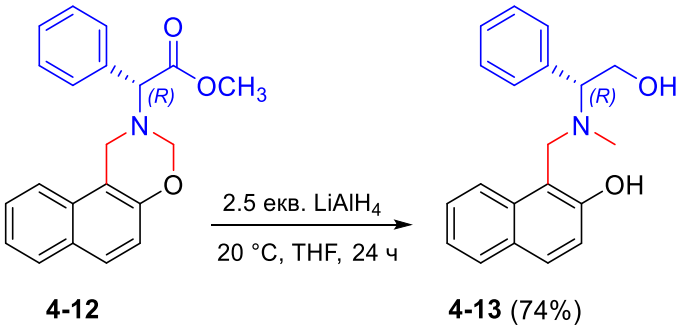


Схема 4-8 Кондензация на нафтален-2-ол (**4-1**), формалдехид и метилов естер на *R*-(–)-2-фенилглицина (**4-10**)

Метиловият естер **4-10** е под формата на хидрохлорид, като за освобождаването му като свободна база са използвани базите Et_3N и K_2CO_3. При използване на Et_3N като база и провеждане на реакцията в една стъпка, продуктът **4-12** се получава с 60% добив. Възможно е осъществяването на кондензацията в два етапа, както е отразено на Схема **4-8**. При първия етап получаването на естера **4-10** като свободна база се осъществява при обработка на хидрохлорида му с 20% разтвор на K_2CO_3, при което той е изолиран с добив от 36%. На

следващия етап **4-10** е вложен в реакция на *Mannich*, като добивът на изолирания целеви продукт **4-12** е висок – 96%. Общият добив от двата етапа в този случай е 58%.

При редукцията на **4-12** с $LiAlH_4$ е получен *N*-метилираният продукт **4-13**, като в хода на реакцията едновременно се редуцират естерната група и оксазиновият пръстен (Схема **4-9**). След пречистване с колонна хроматография продуктът **4-13** е изолиран в чист вид с 74% добив.



4-12 **4-13** (74%)

Схема 4-9 Получаване на *N*-метил аминометилнафтол **4-13**

С помощта на поляриметър е определен ъгълът на въртене на **4-13**: $[\alpha]_D^{20} = -14$ (с 1, $CHCl_3$). Фактът, че на съединение **4-13** е измерен ъгъл на въртене показва, че полученият продукт е оптически активен, но не доказва дали в хода на получаване на **4-12**, не настъпва частична рацемизация при С-атом, свързан с амино групата от фенилглициновия фрагмент. Такава рацемизация е наблюдавана при използване на метиловия естер на (*R*)-(–)-2-фенилглицина (**4-10**) при кондензация по *Betti* с нафтален-2-ол (**4-1**) и 1-нафталдехид.

За да се докаже със сигурност, че *N*-метил аминометилнафтолът **4-13**, получен по описаните в Схема **4-8** и Схема **4-9** методи, е чист енантиомер, е избран нов подход за неговото получаване, описан раздел **4.2.2**.

4.2.2. Кондензация по *Mannich* на нафтален-2-ол (4-1), параформалдехид и (*R*)-(–)-2-фенилглицинол (4-14) и последваща редукция на продукта

При кондензацията на (*R*)-(–)-2-фенилглицинол (**4-14**) с нафтален-2-ол (**4-1**) и параформалдехид е получена смес от два продукта **4-15** и **4-16** в съотношение 42:58 (съгласно ^{1}H ЯМР данни), с общ добив от 87%, определен след пречистване на реакционната смес с колонна хроматография (Схема **4-10**).

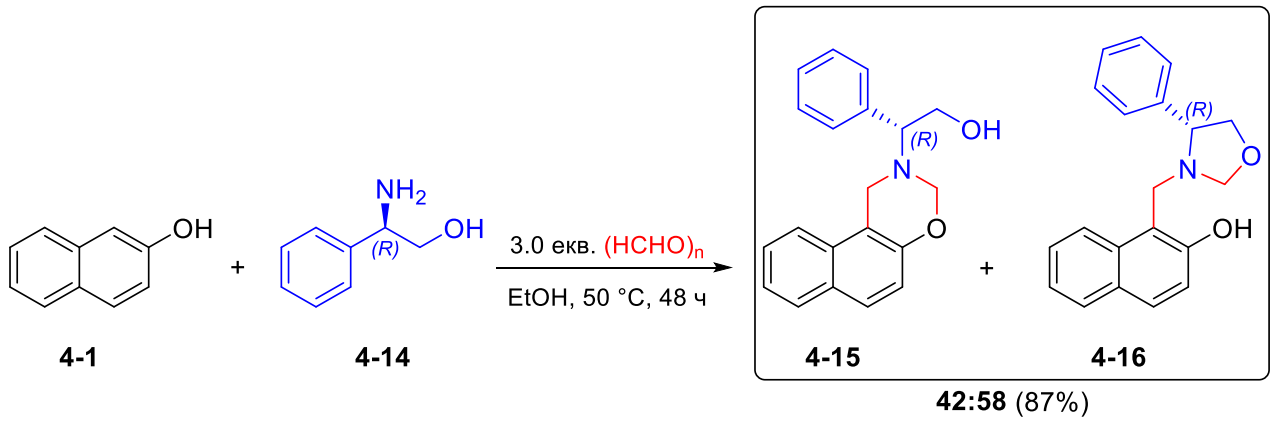
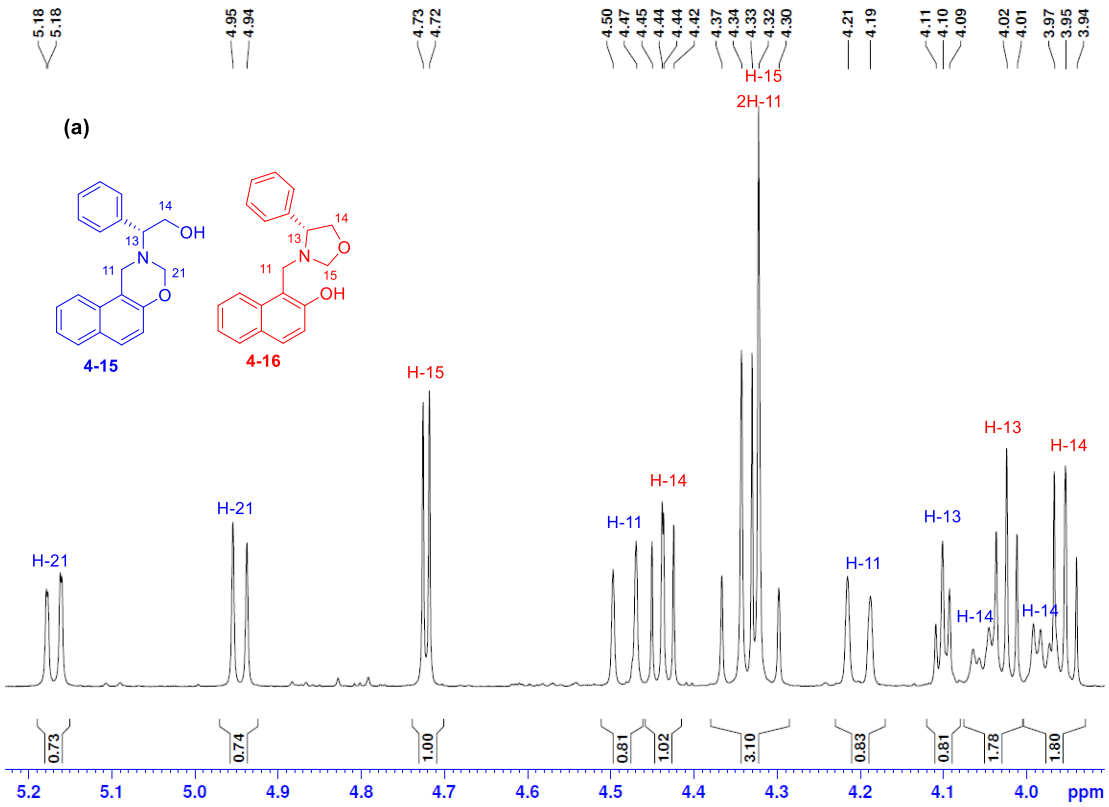
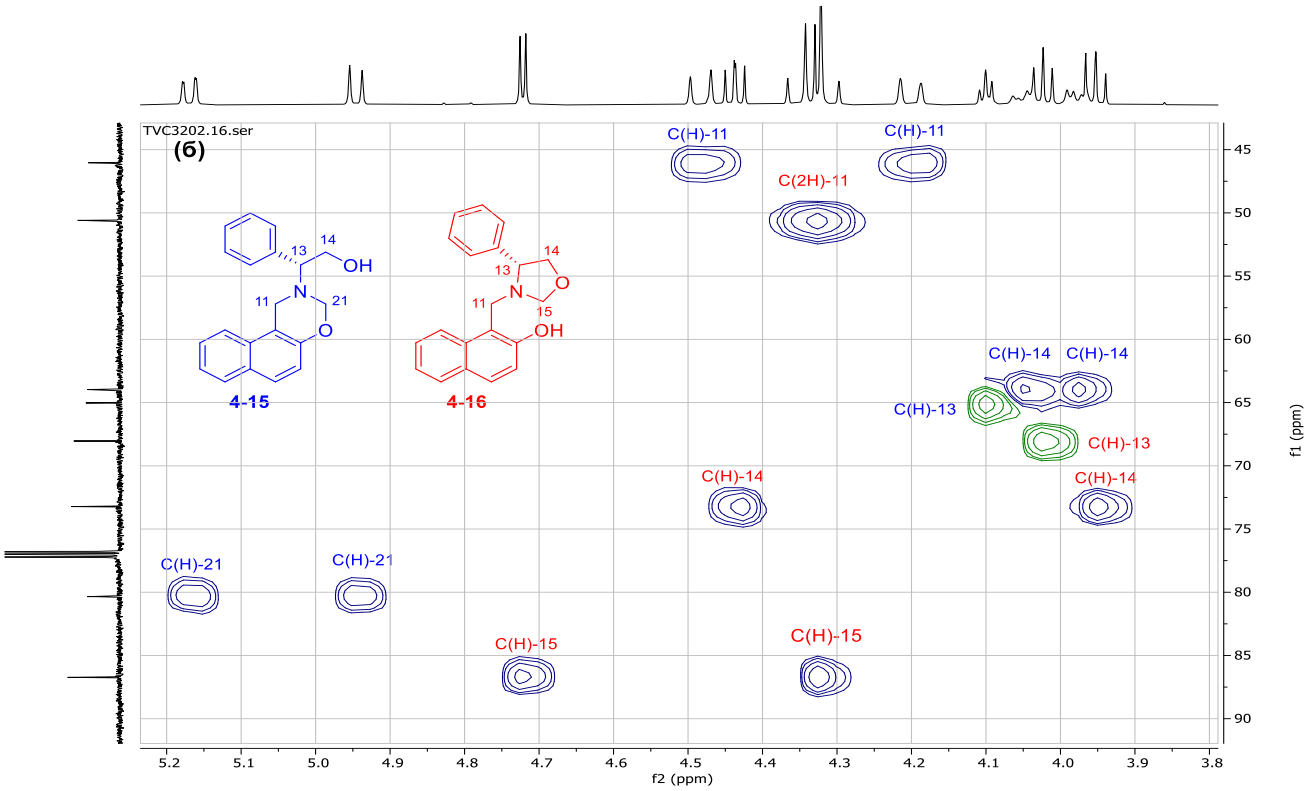


Схема 4-10 Кондензация на нафтален-2-ол (**4-1**), параформалдехид и (*R*)-(–)-2-фенилглицинол (**4-14**)

Опитите за разделяне на двата продукта, чрез колонна хроматография или прекристализация, са неуспешни. С помощта на ^{1}H и ^{13}C ЯМР спектроскопия и двумерни спектри (*COSY*, *HSQC*, *HMBC*) е определена структурата на двата продукта. На Фигура **4-1** са представени: **а)** ^{1}H ЯМР спектъра на смес от **4-15** и **4-16** в съотношение 42:58 и **б)** *HSQC* спектъра на същата смес, а в Таблица **4-1** са дадени някои характерни химични отмествания на протони и на С-атоми на **4-15** и **4-16**.





Фигура 4-1 Алифатна област на **а)** ^{1}H ЯМР спектър, **б)** *HSQC* спектър на смес от **4-15** и **4-16** в съотношение 42:58 с отнесени химични отмествания

Таблица 4-1 Химични отмествания (в м.ч.) и константи на спиново взаимодействие за алифатните протони и въглеродни атоми в ЯМР спектрите на съединения **4-15** и **4-16**

Номер на С-атом в скелета	**4-15**		**4-16**	
	δ^{1}H, мултиплетност (J в Хц)	δ^{13}C	δ^{1}H, мултиплетност (J в Хц)	δ^{13}C
C(H)-11	4.20, d (16.6) 4.48, d (16.6)	46.03	4.31, d (14.1) 4.35, d (14.1)	50.59
C(H)-13	4.10, t (4.9)	65.03	4.02, t (15.0)	69.04
C(H)-14	3.98, dd (11.5, 5.1) 4.05, dd (11.5, 4.5)	63.97	3.96, t (8.2) 4.44 dd (8.4, 7.3)	73.22
C(H)-15	–	–	4.35, d (4.6) 4.72, d (4.6)	86.73
C(H)-21	4.95, d (10.1) 5.17, dd (10.1, 1.2)	80.34	–	–

Сместа от **4-15** и **4-16** е подложена на редукция с $LiAlH_4$, при което е изолиран аминодиолът **4-13** с 69% добив след пречистване с колонна хроматография (Схема **4-11**). Така полученият продукт **4-13** е охарактеризиран с ЯМР спектроскопия и е идентичен с продукта, получен след редукция на дихидро-1,3-нафтоксазина **4-12** (Раздел **4.2.1.**).

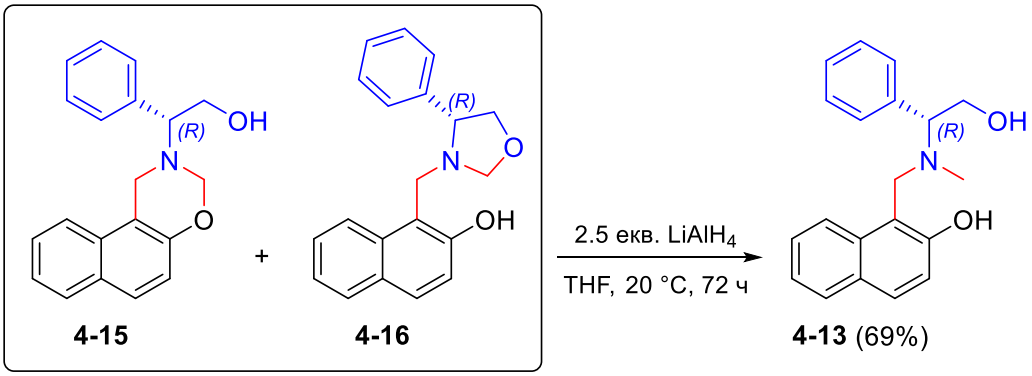


Схема 4-11 Получаване на съединение **4-13** след редукция на сместа от **4-15** и **4-16**

Измереният ъгъл на въртене (при същите условия) има еднаква стойност с тази на продукта, получен по метода описан в раздел **4.2.1.**, а именно $[\alpha]_D^{20} = -13.6$ (с 1.15, $CHCl_3$). Това доказва, че при кондензацията по *Mannich* на метилов естер на (*R*)-(–)-2-фенилглицина (**4-10**) (раздел **4.2.1**.) или (*R*)-(–)-2-фенилглицинол (**4-14**), като източници на хиралност, с нафтален-2-ол (**4-1**) и параформалдехид, няма загуба на хирална информация.

Аминодиолът **4-13** намира приложение като лиганд в енантиоселективни реакции на присъединяване на диетилцинк към алдехиди (Раздел **4.8.**).

4.3. Кондензация на нафтален-2-ол с циклохексан-1,2-диамин и алдехиди

В литературата са описани само единични примери за получаване на аминонафтоли със C_2-симетрия. Това предизвика интереса ни към провеждане на реакция по *Mannich* с циклохексан-1,2-диамин, който притежава такава симетрия, лесно достъпен е и на относително ниска цена. От друга страна лиганди, чиито структури са изградени от *β*-аминонафтолна и/или от *транс*-циклохексан-1,2-диаминова част, намират широко приложение като катализатори при асиметричното присъединяване на диалкилцинк към карбонилни съединения.

4.3.1. Кондензация по *Betti* на нафтален-2-ол (4-1), ароматни алдехиди и циклохексан-1,2-диамин (4-17)

С цел получаване на бис-аминобензилнафтоли от типа **4-20**, първоначално са проведени кондензации по *Betti* между циклохексан-1,2-диамин (**4-17**), под формата на рацемат и нафтален-2-ол (**4-1**) с различни ароматни алдехиди – 1-нафталдехид (**4-11**), бензалдехид (**4-18**), и 3-метил-бензалдехид (**4-19**). (Схема **4-12**).

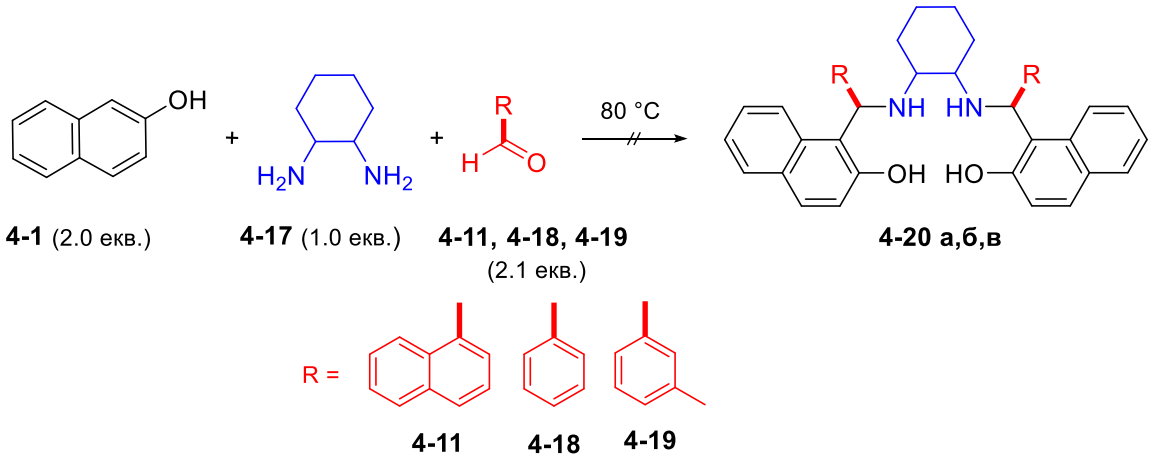


Схема 4-12 Обща процедура за получаване на бис-аминобензилнафтоли от тип **4-20** чрез кондензация по *Betti*

Ходът на реакцията се следи с тънкослойна хроматография, като с течение на времето се регистрира известно разлагане на изходните съединения, както и липса на дефинирано петно за продукт.

Проведени са опити за осъществяване на реакцията в два етапа, като първият е получаването на имин от алдехид, в случая 3-метилбензалдехид (**4-19**) и **4-17** (Схема **4-13**).

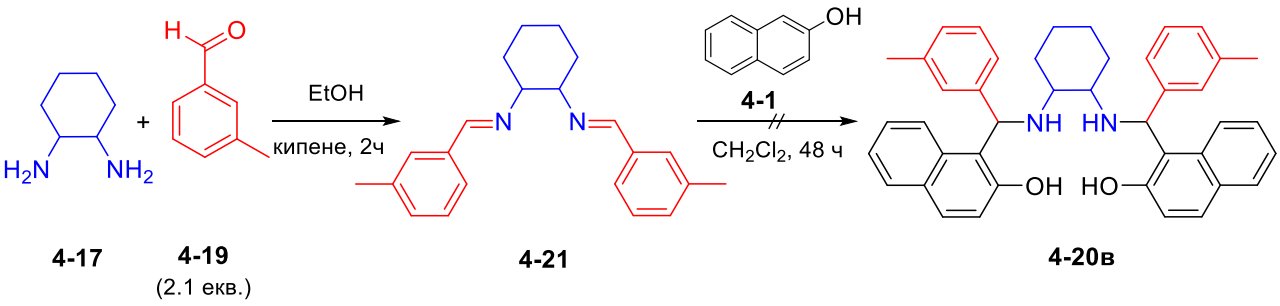


Схема 4-13 Синтез на бис-аминобензилнафтола **4-20в** на два етапа

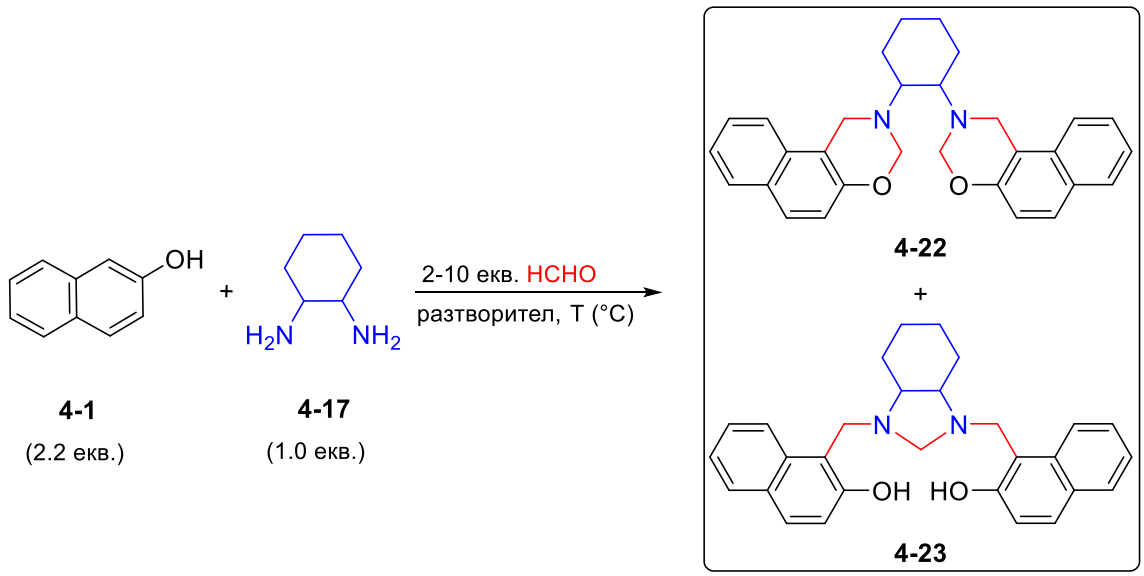
След 2 часа кипене в етанол по ^{1}H ЯМР спектър на суровата смес се установява образуването на диимина **4-21**. Проведената като втори етап реакция на **4-21** (без изолиране на диимина), с нафтален-2-ол (**4-1**) не води до получаване на целевия продукт **4-20в**.

4.3.2. Кондензация по *Mannich* на нафтален-2-ол (4-1), формалдехид и циклохексан-1,2-диамин (4-17) под формата на рацемат

След неуспешните опити за директно получаване на бис-аминобензилнафтоли чрез кондензация по *Betti* с ароматни алдехиди, се насочихме към кондензация по *Mannich* с формалдехид. Първоначалната цел е получаването на бис-дихидро-1,3-нафтоксазини от типа **4-22**, чиято редукция на следващ етап би довела до получаване на целевите бис-*N*-метил-аминометилнафтоли.

Проведени са серия от реакции на циклохексан-1,2-диамина (**4-17**) (под формата на рацемат) и нафтален-2-ол (**4-1**) с формалдехид (Таблица **4-2**). От ^{1}H ЯМР спектри на суровата реакционна смес е определено наличието на два продукта **4-22** и **4-23** в различно съотношение в зависимост от условията на реакцията. Опитите за разделяне и изолиране в чист вид на продуктите са неуспешни. След оптимизиране на условията за предпочетено получаване на **4-22**, е установено, че при провеждане на реакцията в толуен при 50 °C (ред 8), продуктите **4-22** и **4-23** се образуват в съотношение 1:02, което е най-доброто съотношение в полза на **4-22**.

Таблица 4-2 Оптимизиране на реакционните условия на кондензация на нафтален-2-ол (**4-1**), формалдехид и 1,2-циклохександиамин (**4-17**)



4-1 (2.2 екв.) + **4-17** (1.0 екв.) → 2-10 екв. HCHO, разтворител, T (°C) → **4-22** + **4-23**

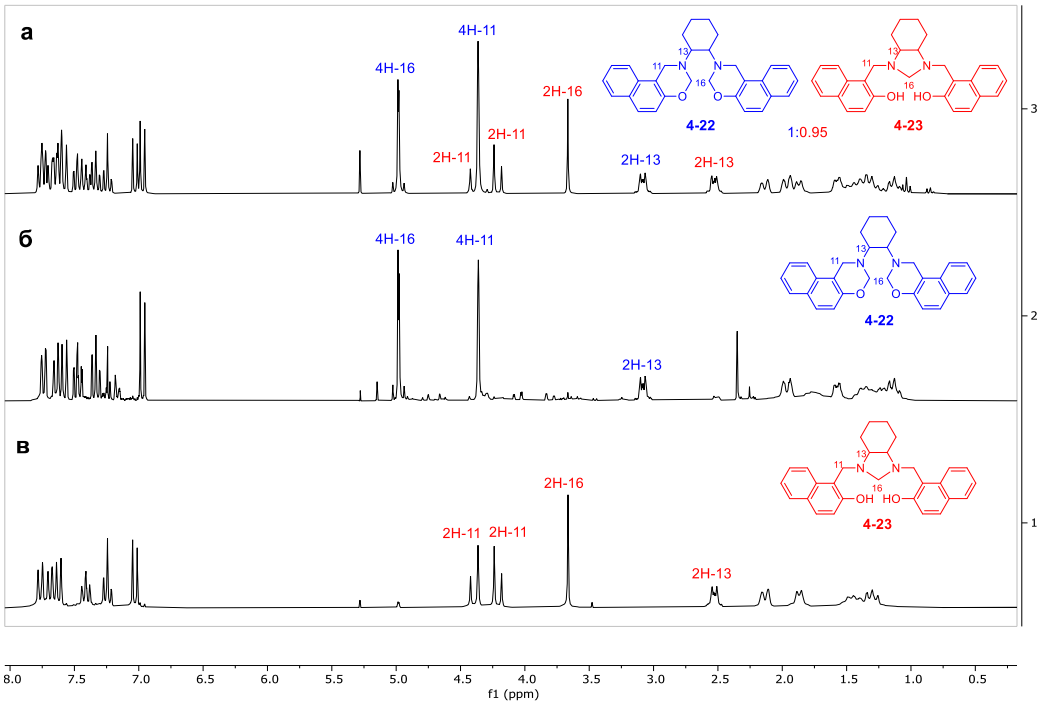
№	HCHO (екв.)	Разтворител	Време (час)	T (°C)	Молно съотн. 4-22:4-23[в]	Добив[д] 4-23 (%)
1	10[а]	EtOH	3	20	1:0.4	-
2	10[а]	EtOH	5	20	1:0.5	-
3	10[а]	EtOH	1	50	1:0.4	-
4	10[а]	EtOH	6	50	1:0.5	-
5	10[а]	EtOH	18	50	1:0.95[г]	-
6	10[б]	EtOH	24	50	0.7:1	34[е]
7	10[а]	EtOH	2.5	кипене	0.4:1	-
8	10[б]	толуен	24	50	1:0.2	-
9	4[а]	диоксан	1	20	0.4:1	-
10	2[а]	MeOH	2	кипене	0:1	50[ж]
11	2[б]	MeOH	2	кипене	0:1	46[ж]
12	2[б]	EtOH	2	кипене	0:1	34[ж]
13	2[б]	EtOH	24	50	0:1	63[е]

[а]37% воден разтвор на формалдехид
[б]Параформалдехид
[в]Молно съотношение, определено чрез ^{1}H ЯМР спектроскопия на сурова смес
[г]Съотношението е определено след миене на суровата реакционна смес с ацетонитрил
[д]Добив, изолирано съединения
[е]Добив на **4-23,** определен след колонна хроматография
[ж]Добив**,** определен след филтруване на кристализиралия **4-23** от реакционната смес

В търсене на условия за предпочетено получаване на бис-дихидро-1,3-нафтоксазина **4-22**, бяха намерени такива за получаване само на продукт **4-23**, когато реакцията се провежда в EtOH при 50 °C за 24 часа. При тези условия **4-23** се получава с 63% добив (ред 13).

При сравняване на ^{1}H ЯМР спектри на чистия продукт **4-23** ((в) във Фигура **4-2**) с тези на изолирана смес от **4-22** и **4-23** ((а) във Фигура **4-2**) и на преобладаващ **4-22** ((б) във Фигура **4-2**), е възможно да се определят характерните сигнали за двата продукта, като са забелязани съществени разлики в химичните отмествания за C(H)-11, C(H)-13 и C(H)-16. По този начин, без изолиране, е възможно разграничаване на двете съединения в смес и еднозначно определяне на структурите им с помощта на ЯМР и HRMS експерименти.

Характерните химични отмествания на двете съединения **4-22** и **4-23** за C(H)-11, C(H)-13 и C(H)-16 са отразени в Таблица **4-3**.



Фигура 4-2 ^{1}H ЯМР спектри на: (а) смес от **4-22** и **4-23** (1:0.95); (б) суров продукт **4-22** и (в) чист продукт **4-23** с обозначени характерни химични отмествания (в м.ч.)

Таблица 4-3 Данни за характерни химични отмествания (в м.ч.) на избрани протони, позволяващи разграничаване на съединения **4-22** и **4-23** в смес.

Характерни протони	**4-22**	**4-23**
	^{1}H-ЯМР (брой протони)	^{1}H-ЯМР (брой протони)
C(H)-11	4.36 (4H)	4.21 (2H) 4.39 (2H)
C(H)-13	3.03-3.14 (2H)	2.47-2.58 (2H)
C(H)-16	4.96 (2H) 5.01 (2H)	3.66 (2H)

Както беше споменато, двата продукта **4-22** и **4-23** не могат да бъдат разделени и изолирани в чист вид. Поради това получената смес от двете съединения, в съотношение 1:1, е подложена на редукция с $LiAlH_4$ с цел получаване на *N*,*N*-диметиловото производно **4-24**. Реакцията е проведена при 20 °C в THF за 2 часа (Схема **4-15**).

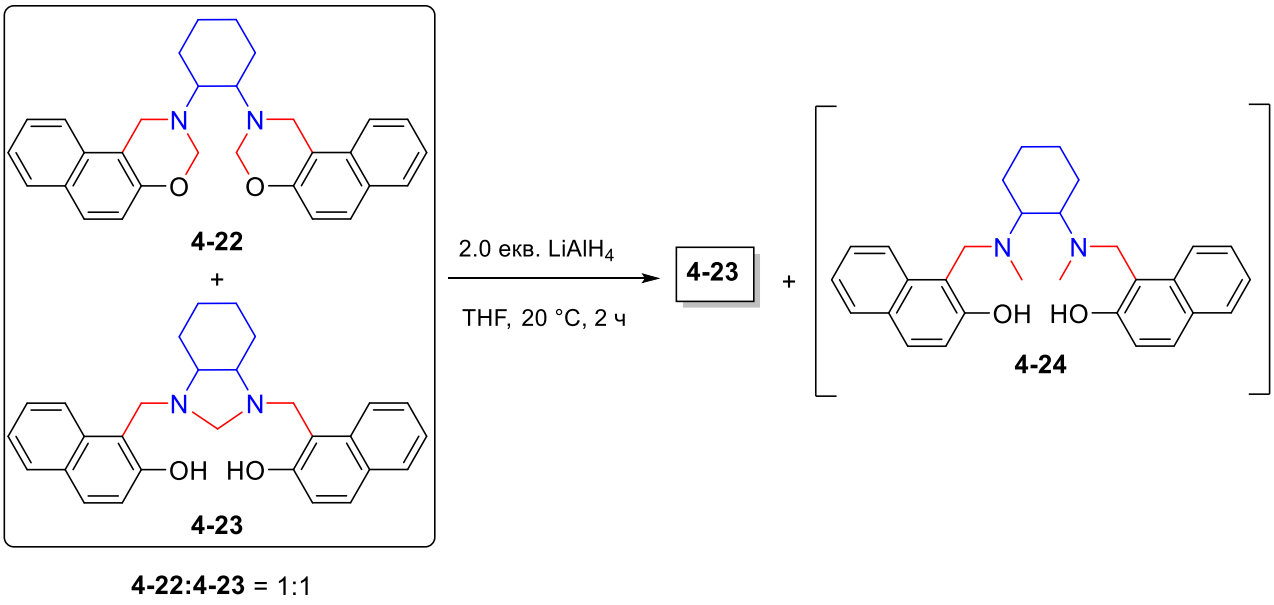


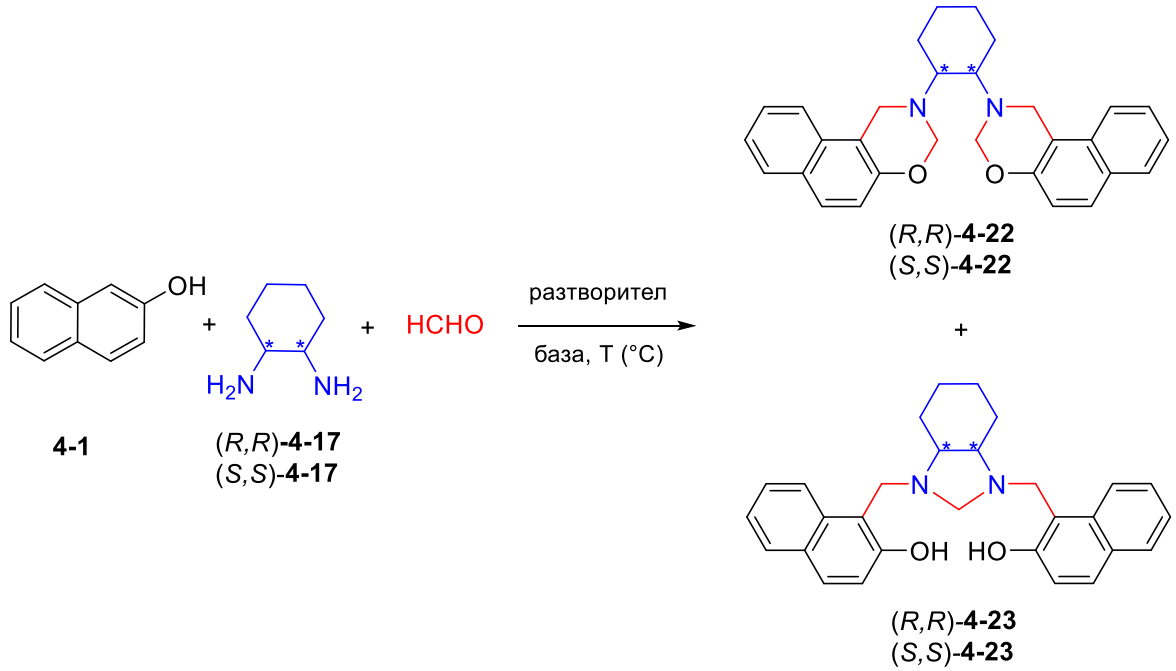
Схема 4-15 Редукция на смес от **4-22** и **4-23** в съотношение 1:1 с $LiAlH_4$

По ^{1}H ЯМР спектъра на суровата реакционна смес се установява наличието на **4-23**. Липсват характерните сигнали за **4-22**, което означава, че в хода на проведената реакция е настъпило разлагане на това съединение. След колонна хроматография не е изолиран продукт, означен като **4-24**. Неуспешна е и редукцията проведена с $NaBH_4$.

4.3.3. Кондензация по *Mannich* на нафтален-2-ол (4-1), формалдехид и (*R*,*R*)- или (*S*,*S*)-циклохексан-1,2-диамин (4-17)

Паралелно с оптимизиране на условията за получаване на **4-22** и **4-23** от рацемичен циклохексан-1,2-диамин (**4-17**), е проведена кондензация по *Mannich* на енантиомерно чист (*R*,*R*)- или (*S*,*S*)-циклохексан-1,2-диамин ((*R*,*R*)-**4-17** или (*S*,*S*)-**4-17**, съответно) с нафтален-2-ол (**4-1**) и формалдехид, с цел получаване на хирални нерацемични лиганди с подходяща структура във връзка с тяхното приложение в асиметричния катализ. При кондензация на (*R*,*R*)-**4-17** с нафтален-2-ол (**4-1**) и формалдехид (10.0 екв.) е изолирана смес от бис-дихидро-1,3-нафтоксазин (*R*,*R*)-**4-22** и имидазолидинов продукт (*R*,*R*)-**4-23**, а при използване на (*S*,*S*)-**4-17** е изолирана смес от бис-дихидро-1,3-нафтоксазин (*S*,*S*)-**4-22** и имидазолидинов продукт (*S*,*S*)-**4-23**. Молното съотношение на продуктите в изолираните смеси, както и добивът на имидазолидина (*R*,*R*)-**4-23** и (*S*,*S*)-**4-23** в тези смеси са определени на базата на интегралите на характерни протони в ^{1}H ЯМР спектъра на сместа (Таблица **4-4**).

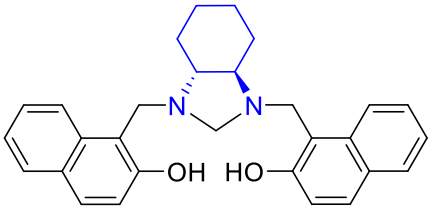
Таблица 4-4 Оптимизиране на реакционните условия на кондензация на 2-нафтол (**4-1**), формалдехид и (*R*,*R*)- или (*S*,*S*)-циклохексан-1,2-диамин ((*R*,*R*)-**4-17**, (*S*,*S*)-**4-17**, съответно)



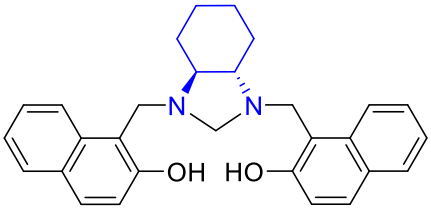
№	HCHO (екв.)	*(R,R)*- или *(S,S)*-диамин	База	Р-тел	Реакц. време (час)	T (°C)	Молно съотн. 4-22:4-23[д]	Добив 4-23 (%)
1	10[а]	(*R*,*R*)-**4-17**[в]	Et_3N	EtOH	24	кипене	0.5:1	22[е]
2	10[а]	(*R*,*R*)-**4-17**[в]	KOH	EtOH	24	кипене	1:0.5	9[е]
3	10[а]	(*R*,*R*)-**4-17**[в]	K_2CO_3	EtOH	24	кипене	0.2:1	24[е]
4	10[а]	(*S*,*S*)-**4-17**[в]	K_2CO_3	EtOH	24	кипене	0.4:1	24[ж]
5	2[а]	(*R*,*R*)-**4-17**[в]	K_2CO_3	EtOH	24	50	0:1	29[е]
6	2[б]	(*R*,*R*)-**4-17**[в]	K_2CO_3	EtOH	24	50	0:1	30[е]
7	2[б]	(*S*,*S*)-**4-17**[в]	K_2CO_3	EtOH	24	50	0:1	31[ж]
8	2[б]	(*R*,*R*)-**4-17**[в]	K_2CO_3	MeOH	2	кипене	0:1	42[з]
9	2[б]	(*R*,*R*)-**4-17**[г]	-	MeOH	2	кипене	0:1	47[з]

[а]37% воден разтвор на формалдехид
[б]Параформалдехид
[в](*R*,*R*)- и (*S*,*S*)-циклохексан-1,2-диаминът е под формата на тартарат
[г](*R*,*R*)-циклохексан-1,2-диаминът е като свободна база
[д]Молно съотношение, определено чрез ^{1}H ЯМР спектроскопия на сурова смес
[е]Добив на (*R*,*R*)-**4-23**, изолиран след пречистване с колонна хроматография
[ж]Добив на *(S,S)*-**4-23**, изолиран след пречистване с колонна хроматография
[з]Добив на *(R,R)*-**4-23,** определен след филтруване на кристализиралия **4-23** от реакционната смес.

След намиране на условия за получаване на рацемичен **4-23**, като единствен продукт с добър добив от 63% (раздел **4.3.2.**), интересът ни се насочи към синтез на енантиомерно чист имидазолидинов продукт (Фигура **4-3**).



(*R*,*R*)-**4-23**



(*S*,*S*)-**4-23**

Фигура 4-3 Структурни формули на (*R*,*R*)-**4-23** и (*S*,*S*)-**4-23**

При провеждане на реакцията с 2.0 екв. параформалдехид и кипене за 2 ч. в MeOH като разтворител (*R*,*R*)-**4-23** се изолира с 42% добив (Таблица **4-4**, ред 8). Когато диаминът (*R*,*R*)-**4-17** се използва като свободна база, добивът на продукта е повишен до 47%, като е изолиран с висока чистота (Таблица **4-4**, ред 9). Съответният енантиомер (*S*,*S*)-**4-23** е получен с най-висок добив от 31% при нагряване на (*S*,*S*)-**4-17** в EtOH на 50 °C (Таблица **4-4**, ред 7).

Изолираните съединения (*R*,*R*)-**4-23** и (*S*,*S*)-**4-23** (Фигура **4-3**) не са описани в химическата литература и са напълно охарактеризирани със съвременни методи за анализ. Структурата на продукт (*R*,*R*)-**4-23** и абсолютната конфигурация на стереогенните центрове е потвърдена с рентгеноструктурен анализ на монокристал. Имидазолидиновите производни (*R*,*R*)-**4-23** и (*S*,*S*)-**4-23** притежават подходяща структура и свойства, позволяващи да бъдат използвани като лиганди в моделната реакция за енантиоселективно присъединяване на диетилцинк към алдехиди (Раздел **4.8.**).

4.5. Кондензация по *Mannich* на нафталендиоли с формалдехид и (*S*)-(–)-1-фенилетан-1-амин и последваща редукция

В групата на *Димитров* са докладвани резултати относно приложимостта на нафтален-2,3- и нафтален-2,6-диоли в кондензационна реакция с ароматни алдехиди и (*S*)-(–)-1-фенилетан-1-амин (**4-29**). Като продължение на тези изследвания са синтезирани бис-дихидро-1,3-нафтоксазините **4-30** и **4-33**, при чиято редукция, по аналогия с примерите в раздел **4.1.**, се очаква получаването на *N*-заместени бис-аминометилнафтоли. Интересът към осъществяване на кондензация по *Mannich* с нафталендиоли се обосновава главно от възможността да се реализира „двойна“ кондензация в рамките на една дихидроксинафталенова единица при което да се синтезират лиганди с два координационни центъра, както и да се изследва влиянието на подобни структури върху каталитичната активност и степента на асиметрична индукция на лиганда. Продуктите **4-30** и **4-33** се

получават при кондензация на нафтален-2,3-диол (**4-28**) или нафтален-2,6-диол (**4-32**), формалдехид и (*S*)-(−)-1-фенилетан-1-амин (**4-29**) и се изолират с високи добиви от 98% и 94%, съответно (Схема **B**).

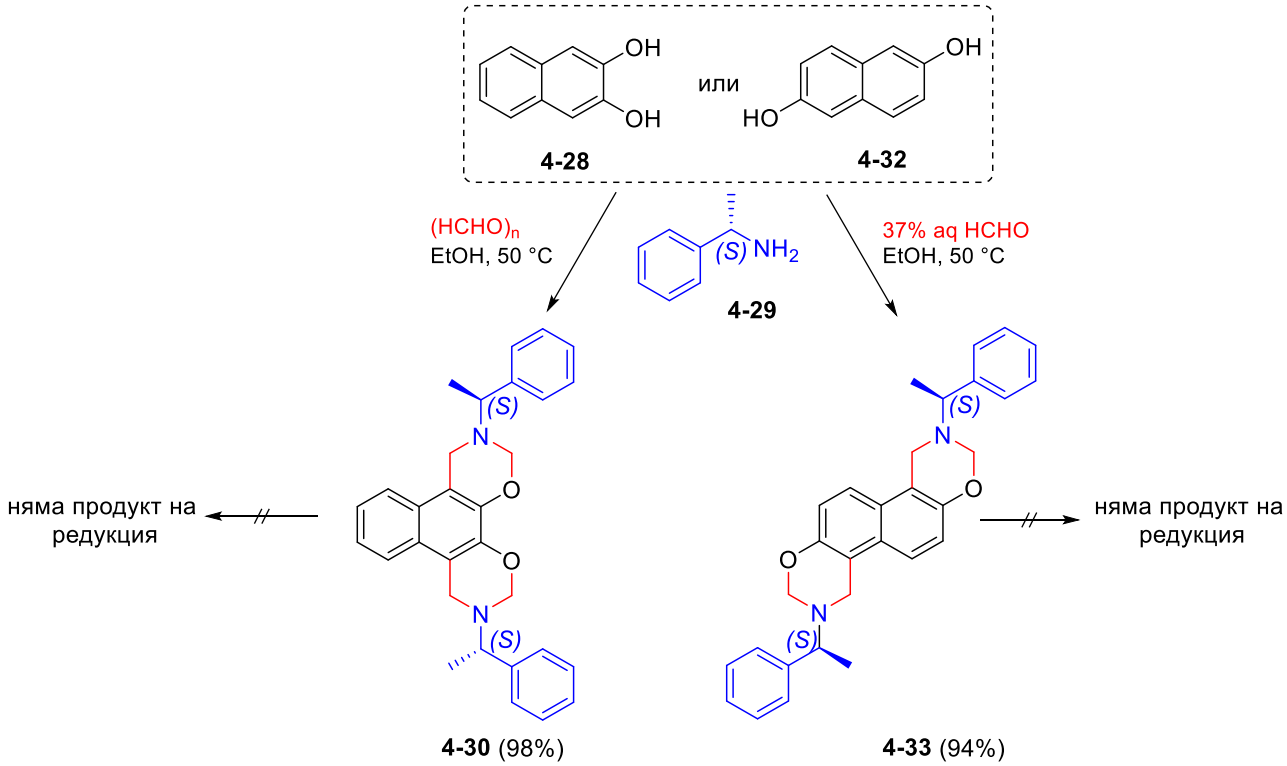


Схема B Кондензация на нафтален-2,3-диол (**4-28**) или нафтален-2,6-диол (**4-32**), формалдехид и (*S*)-(−)-1-фенилетан-1-амин (**4-29**)
(Обобщени: Схема **4-21**, Схема **4-22**, Схема **4-23** и Схема **4-24**)

На следващ етап **4-30** и **4-33** са подложени на редукция с $LiAlH_4$ или $NaBH_4$ с цел получаване на *N*-заместени бис-аминометилнафтоли с третична амино група. Провеждането на реакцията при различни условия не води до изолиране на дефиниран продукт.

Структурата на продукт **4-30**, както и абсолютната конфигурация на стереогенните центрове е потвърдена с рентгеноструктурен анализ на монокристал.

4.6. Кондензация на хинолиноли с алдехиди и хирални амини

Осъществена е кондензация на хинолиноли с ароматни алдехиди и хирални амини и е изследвано влиянието на хинолинолната компонента върху хода на кондензацията, както и върху каталитичната активност на получените аминохинолиноли в присъединителни реакции на диалкилцинкови съединения към алдехиди.

4.6.1. Кондензация по *Mannich* на хинолин-6-ол (4-35), формалдехид и хирални амини до дихидро-1,3-оксазинхинолини и редукцията им до аминометилхинолиноли

Синтезирани са дихидро-1,3-оксазинихинолините **4-36** и **4-38** при кондензация на формалдехид с хиралните амини (*S*)-(–)-1-фенилетан-1-амин (**4-29**) или (*S*)-(+)-1,2,3,4-тетрахидронафтален-1-амин (**4-2**) и електронно богатата компонента хинолин-6-ол (**4-35**) (Схема **4-25**). Реакциите са проведени при нагряване на 50 °C в среда от етанол.

Дихидро-1,3-оксазинхинолините **4-36** и **4-38** са получени с висок добив над 95%, след пречистване посредством колонна хроматография. С цел получаване на хирални аминоалкохоли, притежаващи третична амино група, **4-36** и **4-38** са редуцирани с $LiAlH_4$ (Схема **4-25**). Продуктите **4-37** и **4-39** са получени в чист вид след пречистване с колонна хроматография с висок добив от 75% и 82%, съответно.

Новосинтезираните съединения **4-36**, **4-37**, **4-38** и **4-39** са охарактеризирани чрез ^{1}H и ^{13}C ЯМР спектроскопия, мас спектрометрия, специфичен ъгъл на въртене, точка на топене и елементен анализ. Направените двумерни ЯМР спектри позволяват пълното отнасяне на сигналите за всички протони и въглеродни атоми.

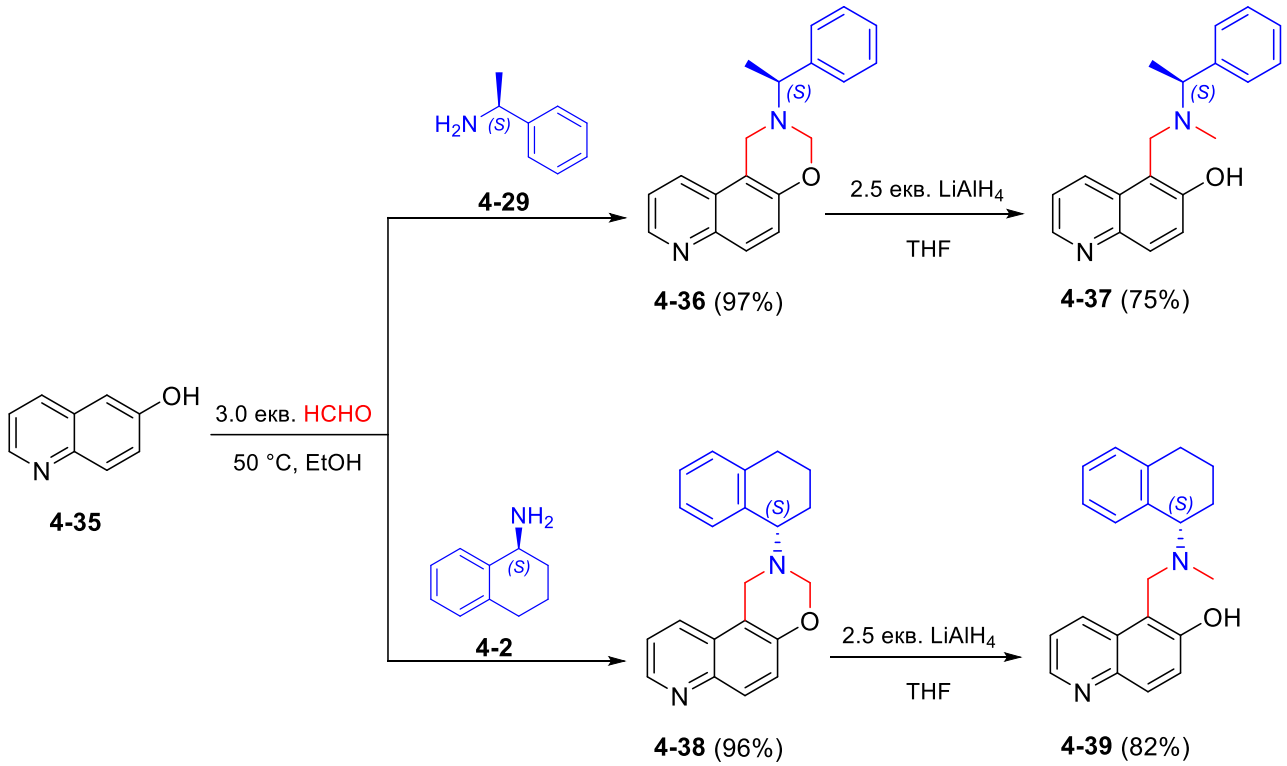


Схема 4-25 Кондензация на хинолин-6-ол (**4-35**), формалдехид и хирални ароматни амини. Редукция на дихидро-1,3-оксазинхинолините **4-36** и **4-38**

Хиралните аминометилхинолиноли **4-37** и **4-39** са вложени като лиганди при присъединяване на Et_2Zn към алдехиди и е изследвана каталитична им активност (Раздел **4.8.**).

4.6.2. Кондензация по *Betti* на хинолин-6-ол (4-35) с 3-метилбензалдехид (4-19) или 1-нафталдехид (4-11) и (*S*)-(–)-1-фенилетан-1-амин (4-29)

Кондензацията на хинолин-6-ол (**4-35**) с 3-метилбензалдехид (**4-19**) или 1-нафталдехид (**4-11**) и (*S*)-(–)-1-фенилетан-1-амин (**4-29**) протича при нагряване на 80 °C в отсъствие на разтворител (Схема **C**). Съответните продукти са изолирани като смес от два диастереоизомера с ниски добиви. Съотношение на **4-40а** и **4-40б** е 83:17, а на **4-43а** и **4-43б** е 85:15, определено с помощта на ^{1}H ЯМР спектроскопия. Преобладаващият изомер **4-40а** е изолиран с добив 19% след допълнителна прекристализация из диетилов етер/хексан, а **4-40б** е изолиран в чист вид след хроматографско пречистване. Главният диастереоизомер **4-43а** е изолиран с добив 19%. Добивът на диастереоизомер **4-43б** е определен по ^{1}H ЯМР спектър на сместа (7% изчислен добив).

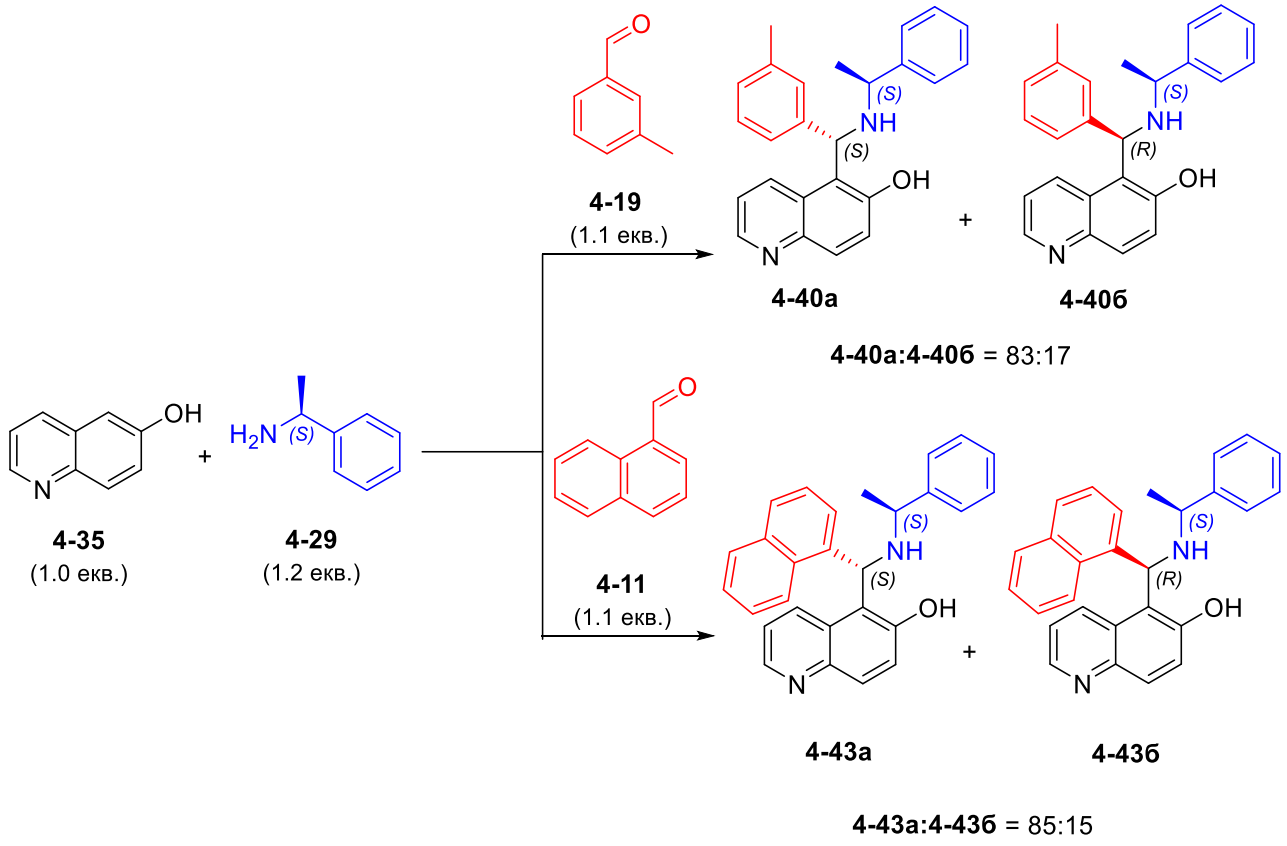


Схема С Кондензация по *Betti* на хинолин-6-ол (**4-35**), 3-метилбензалдехид (**4-19**) или 1-нафталдехид (**4-11**) и (*S*)-(–)-1-фенилетан-1-амин (**4-29**)
(Обобщени Схема в Таблица **4-5** и Схема **4-28**)

Получаването на дихидро-1,3-оксазинхинолини от аминобензилхинолиноли има няколко важни аспекта. От една страна при тяхната редукцията могат да се получат *N*-заместени аминобензилхинолиноли, които да намерят приложение в асиметричния катализ. От друга страна съединения с аналогична структура проявяват изразена биологична активност. Дихидро-1,3-оксазинхинолините също успешно са използвани за определяне конфигурацията на новоформирания стереогенен център (означен със звезда в Схема **4-26**) с помощта на ЯМР експерименти. Въвеждането на метиленов мост между N- и O-атом е удобен синтетичен метод, който не засяга съществуващите стереогенни центрове, а същевременно намалява конформационната подвижност на молекулата.

Изолираните в чист вид **4-40а** и **4-40б** са трансформирани в дихидро-1,3-оксазинхинолини **4-41а** и **4-41б** с параформалдехид при нагряване на 50 °C в етанол (Схема **4-26**). Продуктите **4-41а** и **4-41б** са изолирани в чист вид с висок добив от 94% и 90%, съответно.

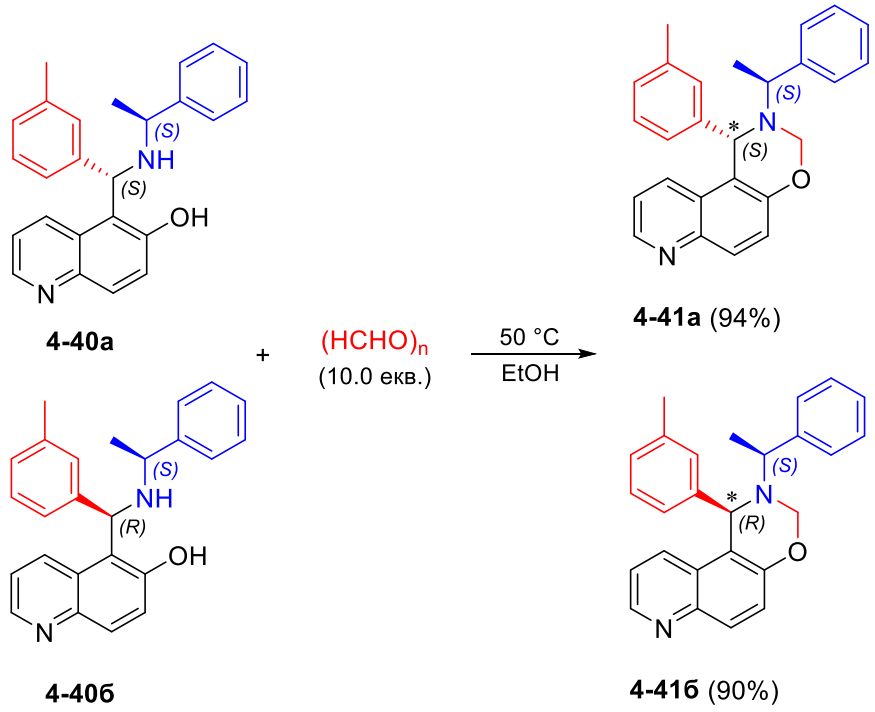


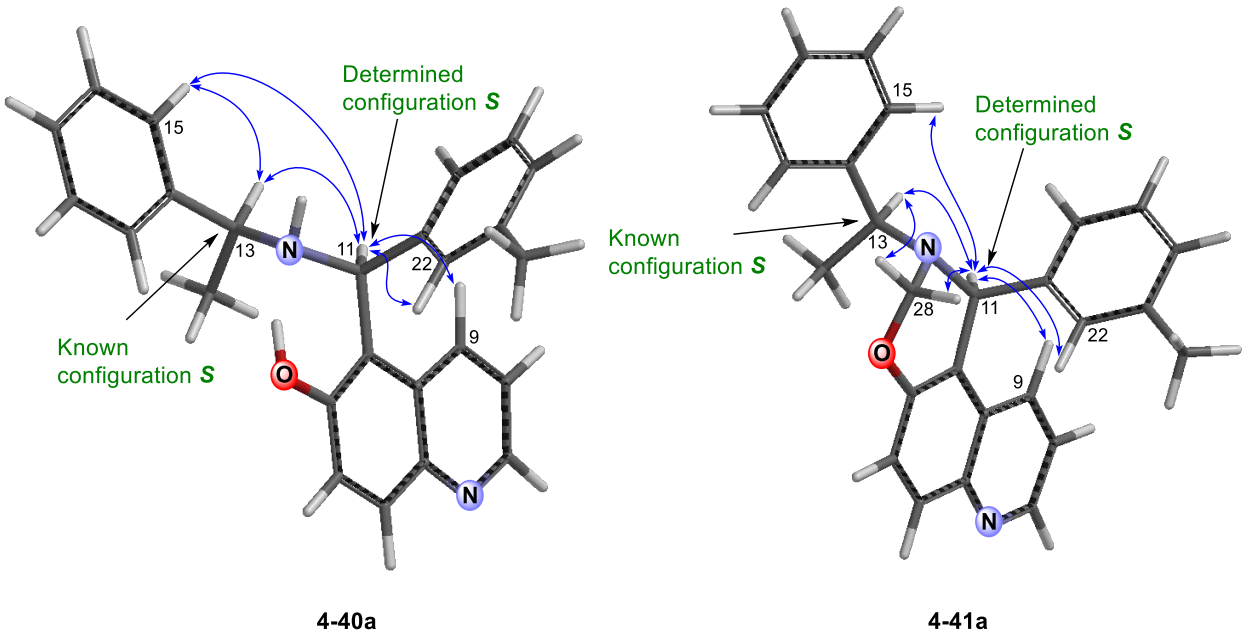
Схема 4-26 Получаване на дихидро-1,3-оксазинхинолините **4-41а** и **4-41б**

Опитите за редукция на дихидро-1,3-оксазинхинолинът **4-41а** с $LiAlH_4$ са неуспешни.

Синтезираните аминобензилхинолиноли **4-40а**, **4-40б** и **4-43а** и дихидро-1,3-оксазинхинолини **4-41а** и **4-41б** са охарактеризирани с помощта на съвременни ЯМР техники (^{1}H, ^{13}C, *DEPT*, *COSY*, *HSQC*, *HMBC*, *NOESY*). Това позволява пълното отнасяне на сигналите за всички протони и въглеродни атоми.

Една от задачите на дисертационния труд е чрез използване на подходящи ЯМР експерименти и при наличие на стереогенен център с известна абсолютна конфигурация да се определи конфигурацията на новообразувания стереогенен център в синтезираните аминобензилхинолиноли, получени при кондензация по *Betti*, а също така и в съответните дихидро-1,3-оксазинхинолини. От направените *NOESY* експериментите е възможно да се определят протоните, характеризиращи се с пространствена близост един спрямо друг (Фигура **4-7**). Въз основа на тази информация и при известна „*S*“ конфигурация на вложения в кондензацията амин, която не се променя в хода на реакцията, което означава, че е унаследена и в съединения **4-40a** и **4-41a**, с голяма вероятност може да се определи относителната конфигурация на новоформирания стереогенен център C-11 като „*S*“, след прилагане правилото на *Cahn-Ingold-Prelog* за старшинството на заместителите.

При дихидро-1,3-оксазинхинолина **4-41a**, получен след трансформация на аминобензилхинолинола **4-40a**, новоформираният стереогенен център C-11 се оказва включен в един 6-членен пръстен, който се отличава с конформационна стабилност. Това дава допълнителна възможност за определяне с по-голяма степен на сигурност на пространственото разположение на заместителите в молекулата чрез *NOESY* експерименти (Фигура **4-7**). Като се вземе предвид известната абсолютната конфигурация на стереогенния център при C-13, която е „*S*“, може да се заключи, че конфигурацията на новоформирания стереогенен център при C-11 също е „*S*“.



4-40a **4-41a**

Фигура 4-7 Пространствено близки протони в структурите на **4-40a** и съответния дихидро-1,3-оксазинхинолин **4-41a**

С помощта на рентгеноструктурен анализ на монокристал на диастереоизомерно чистия аминобензилхинолинол **4-40а**, при известна абсолютна конфигурация при С-13, която е „*S*“ от аминната компонента, е определена абсолютната конфигурация на новоформирания стереогенен центъра С-11 като „*S*“, която съвпада с тази определена чрез ЯМР експерименти.

4.6.4. Кондензация по *Betti* на хинолин-7-ол (4-44) с 3-метилбензалдехид (4-19) или 1-нафталдехид (4-11) и (*S*)-(–)-1-фенилетан-1-амин (4-29)

С цел получаване на нови аминохинолиноли и изследване тяхната каталитична активност е проведена кондензацията и с друга електронно богата компонента, съдържаща хетероатом в молекулата си, като хинолин-7-ол (**4-44**).

Кондензацията на хинолин-7-ол (**4-44**) с 3-метилбензалдехид (**4-19**) или 1-нафталдехид (**4-11**) и (*S*)-(–)-1-фенилетан-1-амин (**4-29**) е проведена при температура 80 °C в отсъствие на разтворител за 48 часа (Схема **D**). След хроматографско пречистване са изолирани смес от два диастереоизомера **4-45а** и **4-45б** в съотношение 75:25 и съответно смес от два диастереоизомера **4-46а** и **4-46б**, в съотношение 87:13, определено с ^{1}H ЯМР спектроскопия. Преобладаващият изомер **4-45а** е изолиран в чист вид с добив 28%, а **4-45б** с добив 6%. Диатереоизомерната смес **4-46а** и **4-46б** не може да бъде разделена.

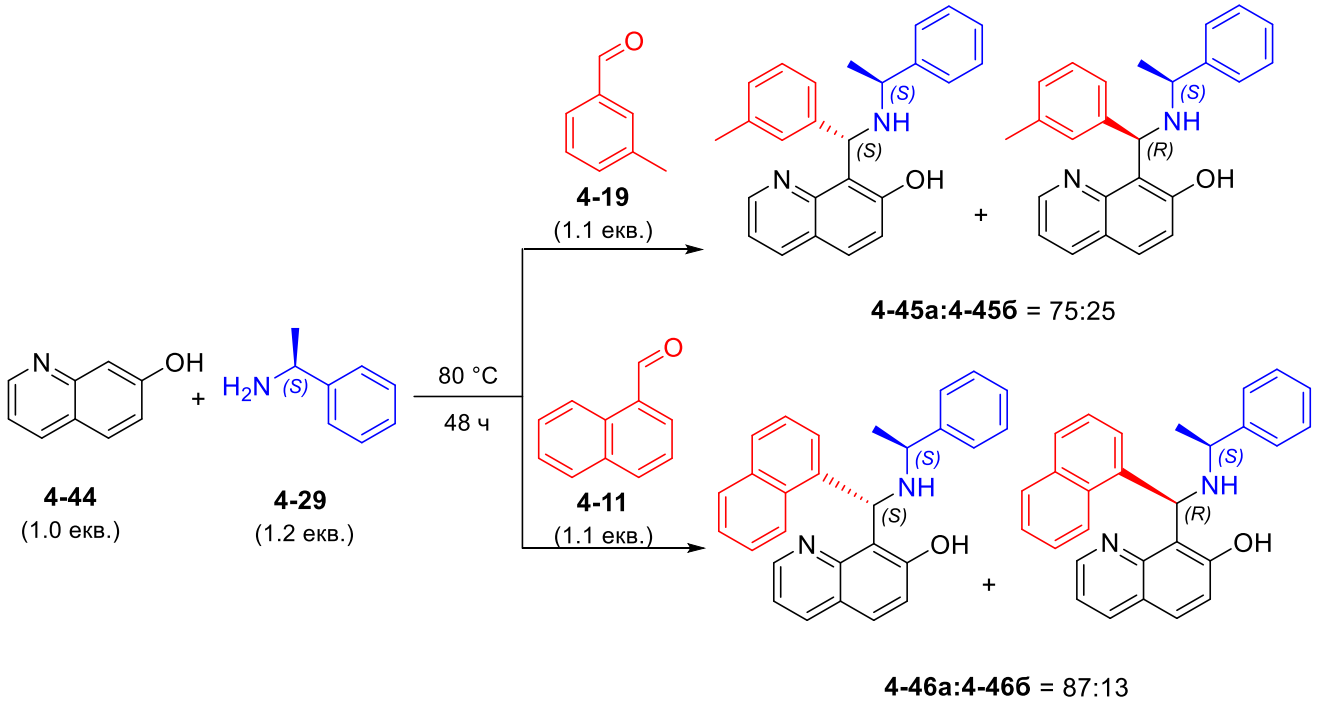


Схема D Кондензация по *Betti* на хинолин-7-ол (**4-44**), 3-метилбензалдехид (**4-19**) или 1-нафталдехид (**4-11**) и (*S*)-(–)-1-фенилетан-1-амин (**4-29**)
(обобщени Схема **4-29** и Схема **4-30**)

В заключение може да се направи извода, че при използване на хинолин-6-ол или хинолин-7-ол кондензацията протича с ниски добиви, въпреки провеждането на реакцията при различни условия, като реакционно време, използването на разтворител или не, както и използването на адитиви. Във всички случаи е установено наличие на нереагирали изходни компоненти, както и на съответния имин, получен в резултат от реакцията между алдехид и амин.

Каталитична активност на **4-40а**, **4-40б**, **4-43а** и **4-45а** е изследвана в присъединителни реакции на Et_2Zn към алдехиди. Определена е степента на асиметрична индукция (Раздел **4.8.**).

4.7. Стереоселективна стратегия за функционализиране на 2,5-дикетопиперазин, получен от L-пролин и глицин

За осъществяване на една от целите на дисертацията, а именно получаване на нови хирални, енантиомерно чисти съединения е предложена стереоселективна стратегия за получаване на различно заместени 2,5-дикетопиперазини с използване на природната аминокиселина L-пролин. В рамките на плана се насочихме към получаването на ДКП от L-пролин и глицин поради възможностите за провеждане на многостранни последващи реакции на функционализиране. Описаните експериментите могат да се разглеждат като „изпробване на концепция“, предоставяща при успех, възможности за развитие и синтезиране на серия от нови съединения с потенциална приложимост.

4.7.1. Синтез на дикетопиперазин от L-пролин и глицин и получаване на *N*-бензилиран дикетопиперазин

Осъществен е синтезът на 2,5-дикетопиперазин **4-52** посредством циклизация на L-пролин (**4-47**) и метилов естер на глицина (**4-49**) под формата на хидрохлорид чрез използване на описана в литературата процедура. Получаването на ДКП е реализирано в рамките на 4 стъпки, без междинно изолиране на продуктите, с общ добив от 56% спрямо изходния L-пролин (Схема **Е**).

Общият добив от 56% е значително по-висок в сравнение с публикувания в литературата добив от 38%.

N-Бензилирането на **4-52** с бензилбромид (**4-53**) се извършва при използване на NaH в ацетонитрил (Схема **Е**), като продуктът **4-54** се изолира с 78% добив. Общият добив на **4-54** спрямо L-пролина **4-47** е 44%.

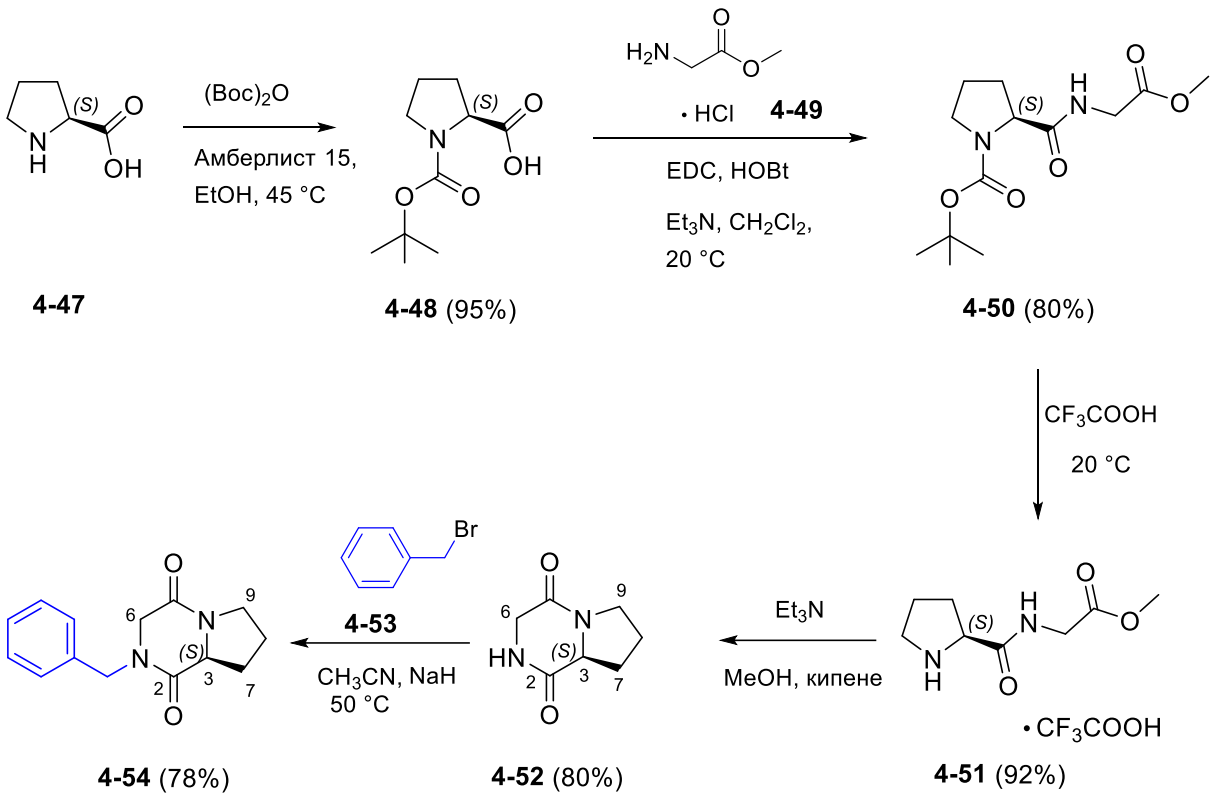


Схема Е Синтез на **4-52** (Cyclo(Gly-Pro)) и последващо *N*-бензилиране до **4-54** (Обобщени Схема **4-31** и Схема **4-32**)

В литературата има описан само един пример за получаване на **4-54** с 56% добив чрез многокомпонентна реакция на *Ugi*. В този случай не се взема предвид, че за получаването на едно от изходните съединения (2-(2-изоцианофенил)ацеталдехид диметил ацетал) е необходима 5-стъпкова схема. Така наглед едностадийната синтеза на **4-54** е усложнена от необходимостта да се синтезира едно от изходните вещества и в крайна сметка общият добив на **4-54**, спрямо вложения първоначално L-пролин, се намалява осезателно.

4.7.2. Алкилиране на дикетопиперазин 4-54 при използване на 3,5-диметокси бензилбромид (4-56)

За въвеждането на различни заместители в 6-та позиция на ДКП **4-54** е необходимо най-напред да се осъществи депротониране в позиция 6 с последващо алкилиране с подходящи електрофили. За депротонирането могат да се използват силни бази като LiHMDS (литиев хексаметилдисилазид) или LDA (литиев диизопропиламид). Алкилирането на генерирания енолат **4-55** се осъществява с 3,5-диметоксибензилбромид (**4-56**) като моделно съединение (Схема **4-33**).

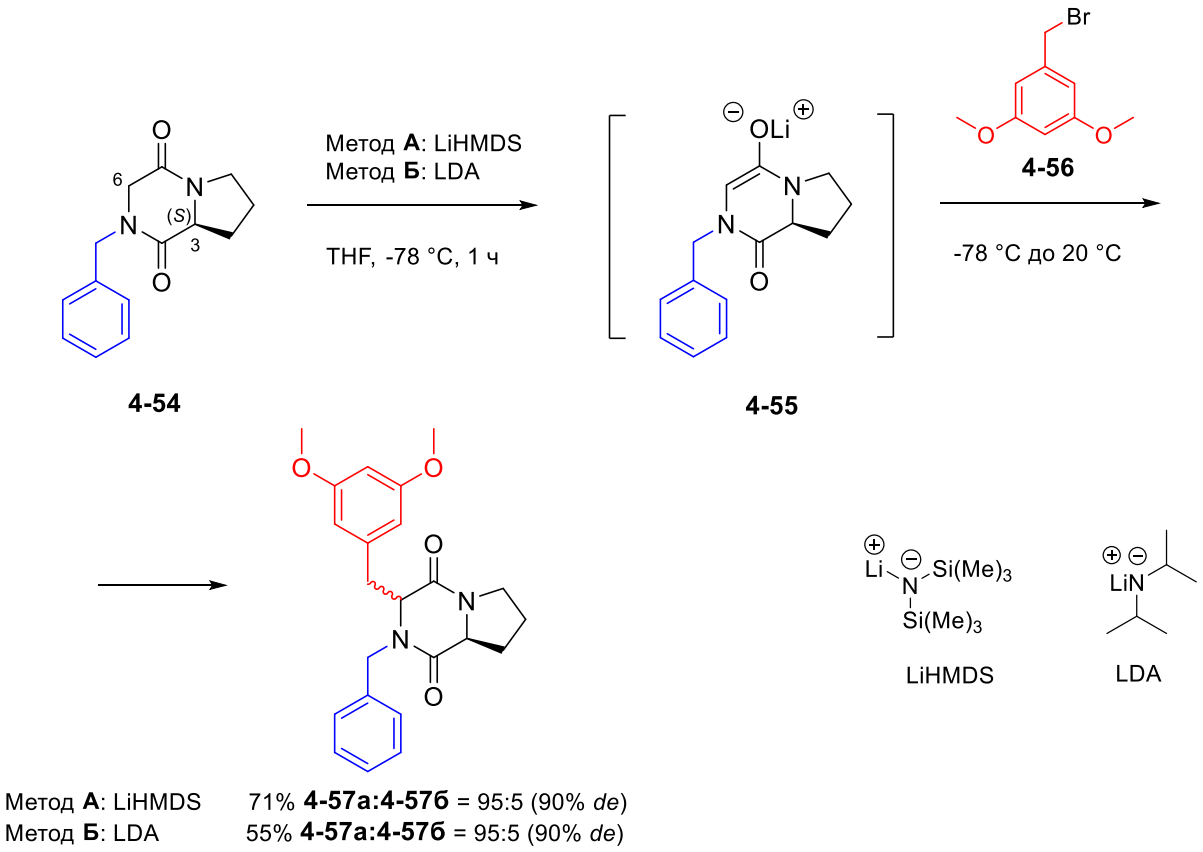


Схема 4-33 Алкилиране на **4-54** с 3,5-диметоксибензилбромид (**4-56**) при използване на LiHMDS (Метод **А**) или LDA (Метод **Б**) като депротониращи агенти

Продуктът **4-57** е изолиран с 71% добив (Метод **А**) или 55% добив (Метод **Б**), като смес от два диастереоизомера (**4-57а:4-57б**) в съотношение и в двата случая 95:5 (90% *de*) определено по ЯМР данни. Двата диастереоизомера имат еднаква R_f-стойност и не могат да бъдат изолирани в чист вид отделно един от друг.

4.7.3. Ацилиране на дикетопиперазин 4-54 при използване на киселинен хлорид 3-метилбензоилхлорид (4-58)

С цел получаване на разнообразни нови продукти с ДКП-скелет е проведена реакция на ацилиране на **4-54** с 3-метилбензоилхлорид (**4-58**) след депротониране с LiHMDS или LDA (Схема **4-34**).

Независимо от депротониращия агент (LiHMDS или LDA) очакваният продукт **4-59** е изолиран след хроматографско пречистване в нисък добив (25% по метод **А** и 26% по метод **Б**). При използване на LDA се изолират 2 продукта (**4-59** и **4-60**), като резултат от ацилиране в 6-та позиция и в 3-та позиция на ДКП пръстен, съответно. Съединенията **4-59** и **4-60** са

изолирани в чист вид. Страничният продукт **4-60** е изолиран с 9% добив. При използване на LiHMDS се изолира само продуктът на ацилиране в 6-та позиция (**4-59**). И в двата случая (метод **А** или метод **Б**) се изолира само един диастереоизомер на **4-59**.

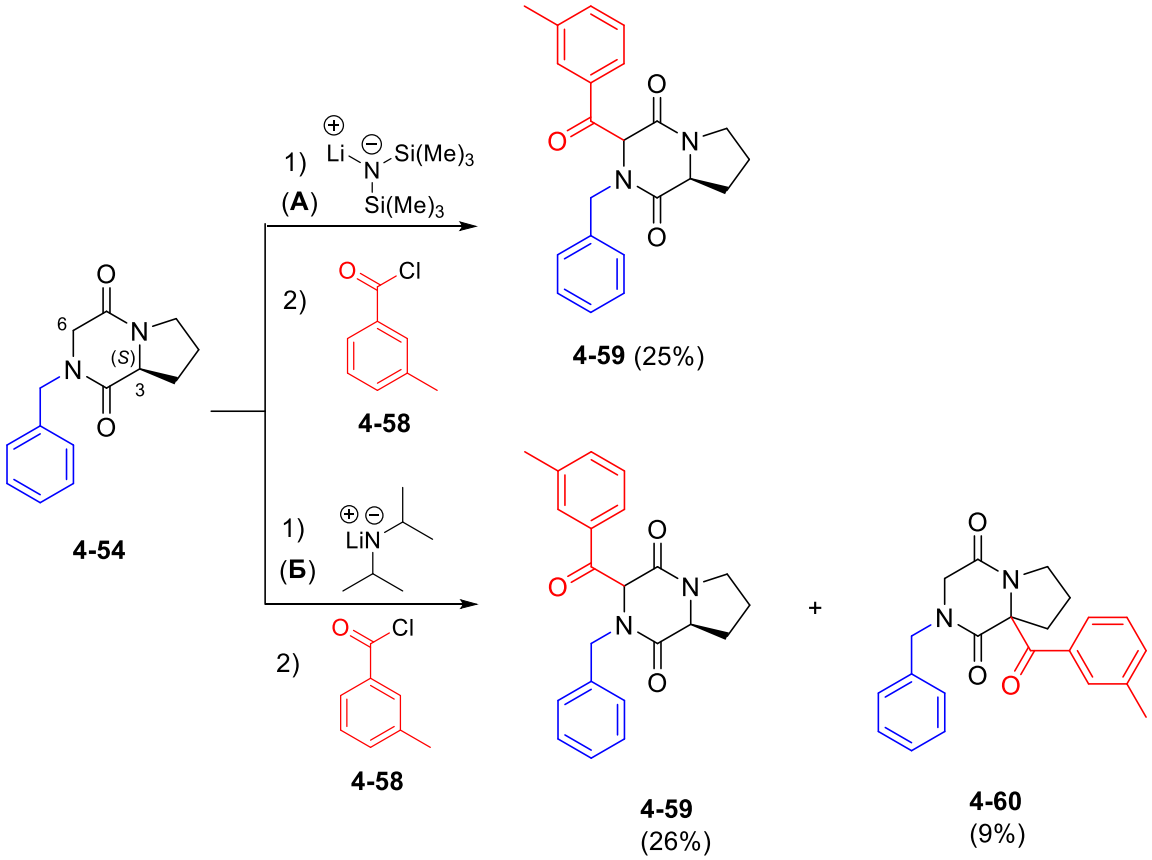


Схема 4-34 Ацилиране на **4-54** с 3-метилбензоилхлорид (**4-58**) при използване на LiHMDS (Метод **А**) или LDA (Метод **Б**) като депротониращи агенти

Експериментите описани в раздели **4.7.1.** и **4.7.2.** демонстрират успешен синтез, базиран на литературни данни, при който ефективно и с добри добиви се получава ДКП **4-54** като изходна структура за синтетични стереоселективни трансформации. Оптимизираният метод за депротониране и последваща реакция с подходящ електрофил може да се приложи за синтез на разнообразни многофункционални съединения. Резултатите постигнати в т.н. „изпробване на концепция“ предоставят добри перспективи за следващи разработки извън целите на настоящата дисертация.

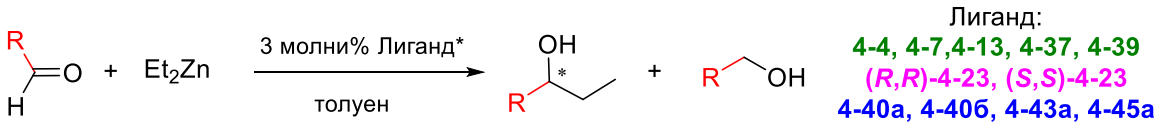
4.8. Приложение на новосинтезираните хирални аминоалкохоли като катализатори в енантиоселективно присъединяване на диетилцинк към алдехиди

Една от целите на дисертацията е изследване на каталитичните свойства на новополучените хирални аминоалкохоли **4-4**, **4-7**, **4-13**, **4-37**, **4-39**, (*R*,*R*)-**4-23**, (*S*,*S*)-**4-23**, **4-40а**, **4-40б**, **4-43а** и **4-46а** в енантиоселективно присъединяване на диетилцинк към алдехиди, поради подходящата им структура и свойства.

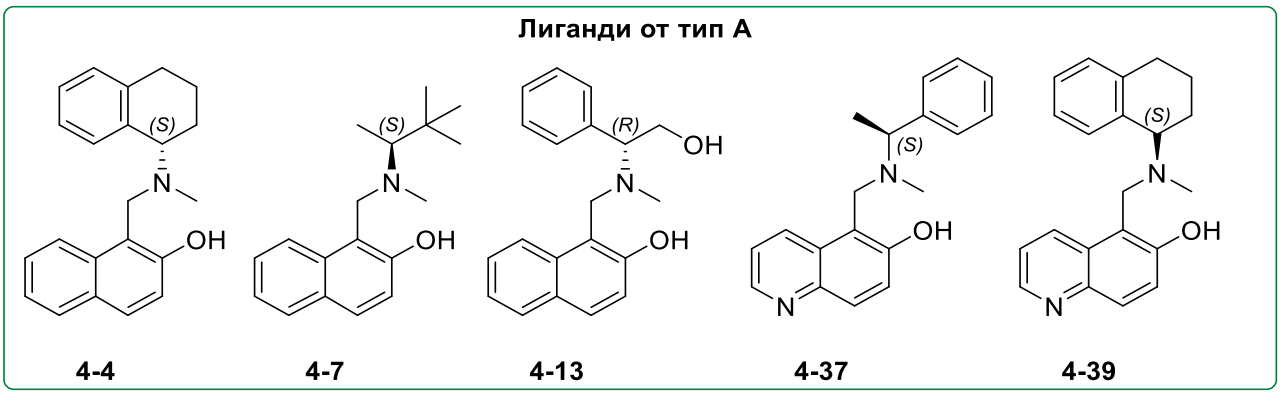
Реакциите на присъединяване са проведени в инертна атмосфера, чрез стандартна процедура прилагана и описана многократно в специализираната литература. Енантиомерният излишък (*ee*) на получения вторичен алкохол е определен чрез високо ефективна течна или газова хроматография с хирални колони. Конфигурацията на получените алкохоли е определена чрез сравняване на резултатите с тези, получени при аналогични изследвания (хроматографски по време на задържане и по специфичен ъгъл на въртене).

За целите на изследването лигандите са разделени в три групи, спрямо вида на заместителите при N-атом. Обобщените резултатите са систематизирани в Таблица **4-6**.

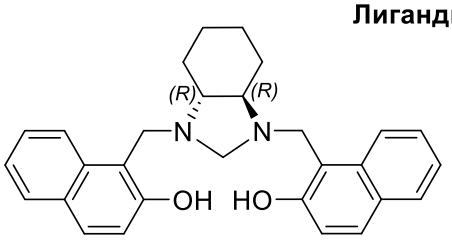
Таблица 4-6 Каталитична активност на синтезираните лигандите в енантиоселективно присъединяване на диетилцинк към алдехиди



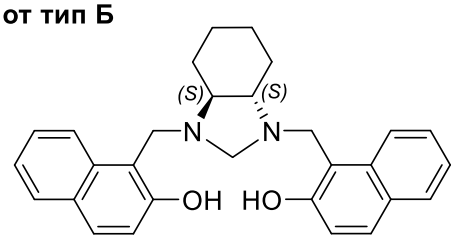
1-нафталдехид (**4-11**)	**4-66**	**4-72**
фероценкарбалдехид (**4-61**)	**4-67**	**4-73**
2-метоксибензалдехид (**4-62**)	**4-68**	**4-74**
4-хлорбензалдехид (**4-63**)	**4-69**	**4-75**
циклохексанал (**4-64**)	**4-70**	**4-76**
канелен алдехид (**4-65**)	**4-71**	**4-77**



Лиганди от тип Б

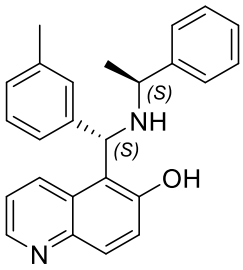


(*R*,*R*)-**4-23**

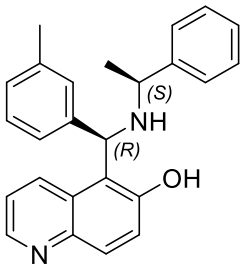


(*S*,*S*)-**4-23**

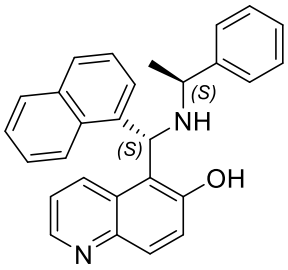
Лиганди от тип В



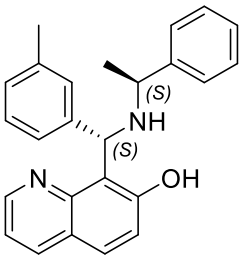
4-40а



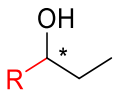
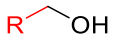
4-40б



4-43а



4-45а

№	Лиганд	Алдехид	Реакц. време (час)	Продукт (добив[а]) (%)		*ее* (*конфиг.*) (%)
						
1	**4-4**	2-метоксибензалдехид	48	**4-68** (69)	–	15 (*R*)[б]
2	**4-4**	1-нафталдехид	48	**4-66** (34)	**4-72** (20)	0
3	**4-7**	2-метоксибензалдехид	120	**4-68** (56)	–	6 (*R*)[б]
4	**4-7**	1-нафталдехид	120	**4-66** (56)	–	3 (*R*)[в]
5	**4-13**	2-метоксибензалдехид	72	**4-68** (57)	–	11 (*R*)[б]
6	**4-37**	2-метоксибензалдехид	48	**4-68** (74)	–	**39 (*R*)**[б]
7	**4-37**	1-нафталдехид	123	**4-66** (36)	**4-72** (57)	3 (*R*)[в]
8	**4-39**	2-метоксибензалдехид	48	**4-68** (88)	–	24 (*R*)[б]
9	**4-39**	1-нафталдехид	72	**4-66** (54)	**4-72** (24)	0
10	(*R*,*R*)-**4-23**	2-метоксибензалдехид	72	**4-68** (66)	–	**53 (*R*)**[б]
11	(*S*,*S*)-**4-23**	2-метоксибензалдехид	24	**4-68** (80)	–	**58 (*S*)**[б]
12	(*R*,*R*)-**4-23**	1-нафталдехид	52	**4-66** (45)	**4-72** (30)	39 (*R*)[в]
13	(*S*,*S*)-**4-23**	1-нафталдехид	120	**4-66** (54)	–	30 (*S*)[в]
14	(*R*,*R*)-**4-23**	4-хлорбензалдехид	144	**4-69** (90)	–	49 (*R*)[в]
15	(*S*,*S*)-**4-23**	4-хлорбензалдехид	120	**4-69** (30)	–	50 (*S*)[в]

16	(*R*,*R*)-**4-23**	циклохексанал	24	**4-70** (46)	–	38 (*S*)[б]
17	(*S*,*S*)-**4-23**	циклохексанал	24	**4-70** (49)	–	40 (*R*)[б]
18	(*R*,*R*)-**4-23**	фероценкарбалдехид	48	**4-67** (80)	–	38 (*R*)[в]
19	(*S*,*S*)-**4-23**	фероценкарбалдехид	120	**4-67** (74)	–	42 (*S*)[в]
20	**4-40а**	2-метоксибензалдехид	24	**4-68** (84)	–	**93 (*R*)[б]**
21	**4-40б**	2-метоксибензалдехид	48	**4-68** (68)	–	63 (*S*)[б]
22	**4-40а**	1-нафталдехид	120	**4-66** (66)	**4-72** (24)	10 (*R*)[в]
23	**4-40б**	1-нафталдехид	48	**4-66** (14)	**4-72** (22)	18 (*S*)[в]
24	**4-40а**	4-хлорбензалдехид	168	**4-69** (61)	**4-75** (14)	23 (*R*)[в]
25	**4-40б**	4-хлорбензалдехид	168	**4-69** (56)	–	16 (*S*)[в]
26	**4-40а**	циклохексанал	24	**4-70** (29)	–	14 (*S*)[б]
27	**4-40а**	фероценкарбалдехид	24	**4-67** (89)	–	**96 (*R*)[в]**
28	**4-40а**	канелен алдехид	48	**4-71** (53)	–	72 (*R*)[в]
29	**4-43а**	2-метоксибензалдехид	24	**4-68** (62)	–	**95 (*R*)[б]**
30	**4-43а**	1-нафталдехид	48	**4-66** (31)	**4-72** (35)	40 (*R*)[в]
31	**4-43а**	4-хлорбензалдехид	114	**4-69** (62)	–	53 (*R*)[в]
32	**4-43а**	циклохексанал	24	**4-70** (41)	–	50 (*S*)[б]
33	**4-43а**	фероценкарбалдехид	24	**4-67** (89)	–	**98 (*R*)[в]**
34	**4-43а**	канелен алдехид	48	**4-71** (77)	–	75 (*R*)[в]
35	**4-45а**	2-метоксибензалдехид	48	**4-68** (76)	–	86 (*R*)[в]
36	**4-45а**	циклохексанал	48	**4-70** (67)	–	12 (*S*)[б]
37	**4-45а**	фероценкарбалдехид	24	**4-67** (93)	–	96 (*R*)[в]

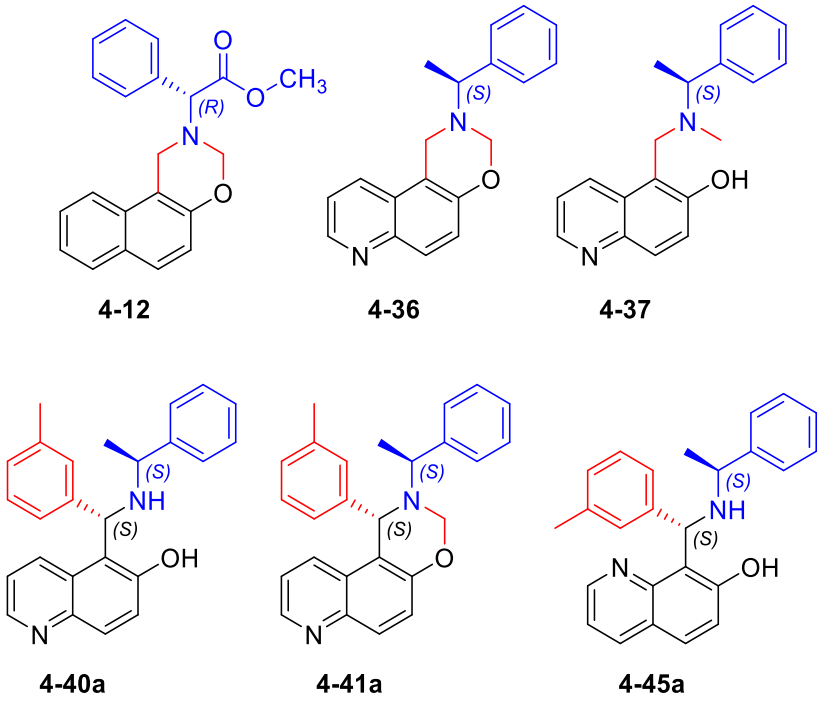
[а]Добивът е на продукти изолирани в чист вид след колонна хроматография
[б]Енантиомерният излишък е определен чрез ГХ анализи
[в]Енантиомерният излишък е определен чрез ВЕТХ анализи.

От проведените реакции за енантиоселективно присъединяване на диетилцинк към алдехиди, катализирано от изброените по-горе три групи хирални нерацемични лиганди, може да се направи следния извод: Лигандите от тип **А** получени при кондензация по *Manich* на нафтален-2-ол, формалдехид и хирални амини, проявяват ниска енантиоселективност, което се дължи по всяка вероятност на подвижността на метиленовия мост между азотния атом от аминната компонента и въглеродния атом от нафтолната или хинолинолната компонента, съответно. При втората група лиганди от тип **Б** с имидазолидинов пръстен в молекулата, е регистрирана умерена асиметрична индукция, въпреки наличието на два центъра за координация на цинковия атом. При третата група лиганди от тип **В**, които са представители на така наречените „*Betti* бази“, при които нафтолната компонента е заменена с хинолинолна, според очакванията е регистрирана много висока енантиоселективност до 98% *ee*.

4.9. Биологична активност

4.9.1. Оценка на антимикробна активност

За оценка на антимикробната активност на съединения **4-12**, **4-36**, **4-37**, **4-40a**, **4-41a** и **4-45a** (Фиг. **4-10**) са използвани 3 бактериални тест патогена (грам-положителни и грам-отрицателни): *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 и дрождев щам *Candida albicans* ATCC 10231.



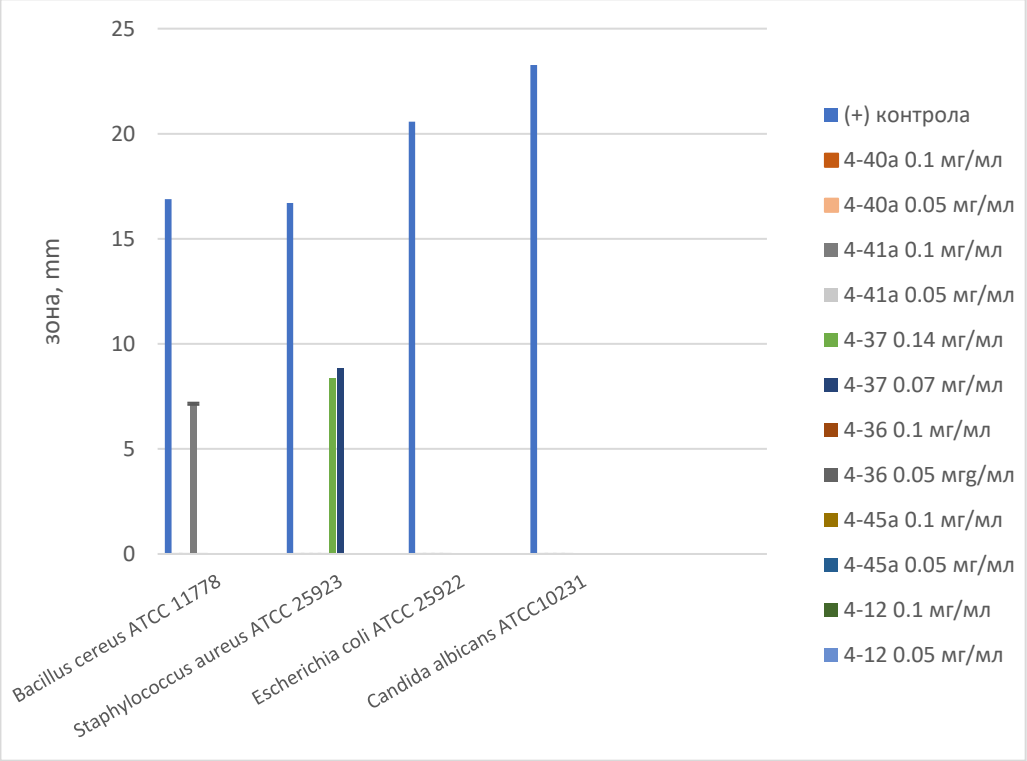
Фигура 4-10 Структура на синтезираните съединения **4-12**, **4-36**, **4-37**, **4-40a**, **4-41a** и **4-45a** тествани за антимикробна активност

За коректното осъществяване на експериментите, като положителни контроли са използвани антибиотични дискчета, подходящи за всеки съответен тест патоген. Използваната (+) контрола за бактериалните тест патогена е *Gentamicin*, а за дрождевия щам (+) контрола е *Nistatin*.

Резултатите от оценката за антимикробна активност на изследваните проби са представени графично на Фигура **4-11**, като на нея са изобразени зоните на инхибиране. Оценен е и ефектът на инхибиране на пробите, като % от (+) контрола (Фигура **4-12)**.

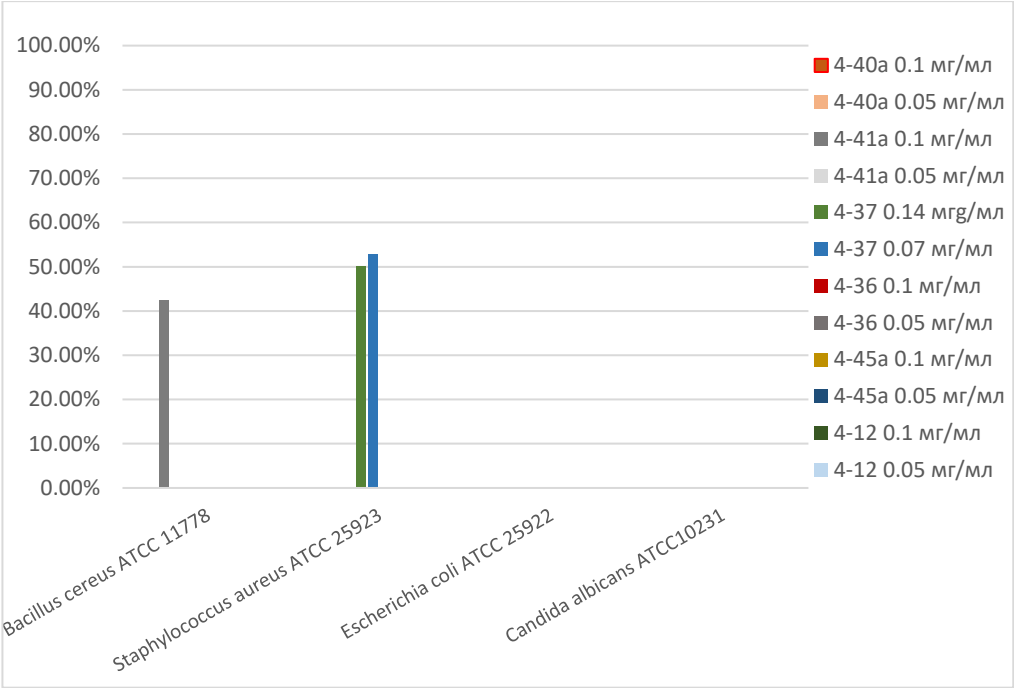
Въз основа на представените данни и получените резултати се вижда, че само две от изследваните синтетични вещества, а именно (**4-37** и **4-41a**), аналози на БАВ, проявяват

биологична активност към различни тест патогени (Фигура **4-11**). При синтетичното вещество **4-41a** е установена антимикробна активност срещу тест патогена *Bacillus cereus*, когато то се прилага в концентрация от 0.1 мг/мл. При прилагане на съединението в по-ниска концентрация – 0.05 мг/мл не се наблюдава такава. При **4-37** е установена антибактериална активност при двете изследвани концентрации – 0.14 мг/мл и 0.07 мг/мл срещу тест културата *Staphylococcus aureus*. Определен е ефектът на инхибиране на двете биологично активни вещества, като при **4-41a** тя е 42% от този на (+) контрола, а при **4-37** е 50 до 52% от този на (+) контрола при двете анализирани концентрации (Фигура **4-12)**.



Фигура 4-11 Резултати от оценката за антимикробна активност като отчетени зони на инхибиране на изследваните проби, аналози на синтетични вещества на БАВ

По отношение на другите изследвани вещества не е установена антимикробна активност срещу тестваните бактериални патогени и дрождев щам, което може да се дължи на трудностите при разтваряне на пробите и съответно при последващото (проникване) дифундиране на тестваните вещества в агаровите среди.



Фигура 4-12 Ефект на инхибиране при изследваните проби аналози на синтетични вещества на БАВ, като % от (+) контрола на изследваните проби

4.9.2. Оценка на антивирусна активност

Съединения **4-12**, **4-40a** и **4-41a**, изобразени на Фигура **4-10**, са изследвани за антивирусна активност. Определена е МНК (Максимална нетоксична концентрация спрямо клетъчната линия) (Таблица **4-7**).

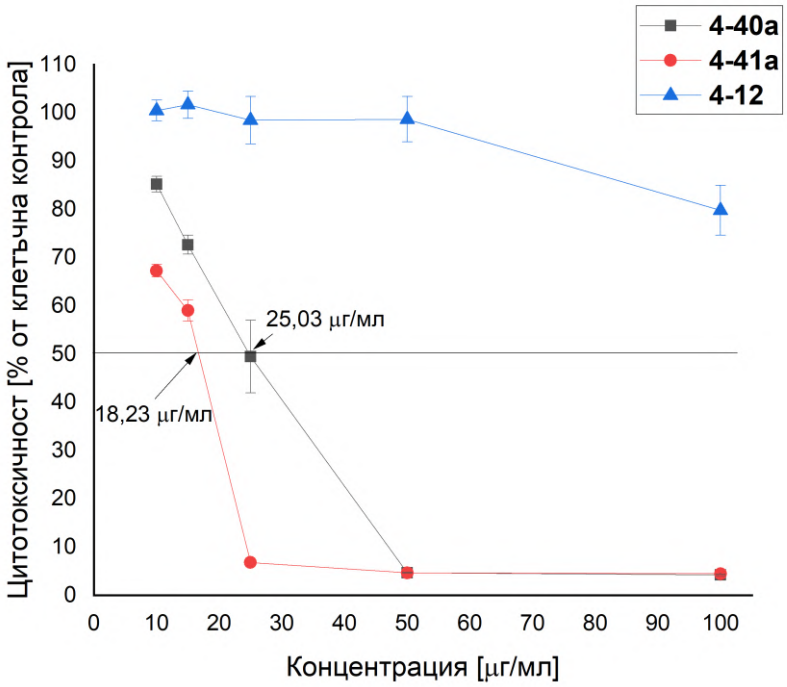
Таблица 4-7 Активност на веществата **4-12**, **4-40a** и **4-41a** спрямо клетъчната култура (MDBK) и вирусната репликация (HSV-1)

Вещество	**МНК мкг/мл**	**ЦТК$_{50}$ мкг/мл**	**ИК$_{50}$ мкг/мл**
4-40a	15	25.03	-
4-41a	15	18.23	-
4-12	100	-	93.8

Определянето на 50% цитотоксична концентрация (ЦТК$_{50}$) е базирано на спектрофотометрично изследване.

На база теста за определяне на жизнеността са построени дозо-зависими криви (Фиг. **4-13**), като на клетките се въздейства с разтвори на изследваните вещества с нарастваща концентрация. Построените криви позволиха определянето на ЦТК$_{50}$ за веществата **4-40a**, **4-**

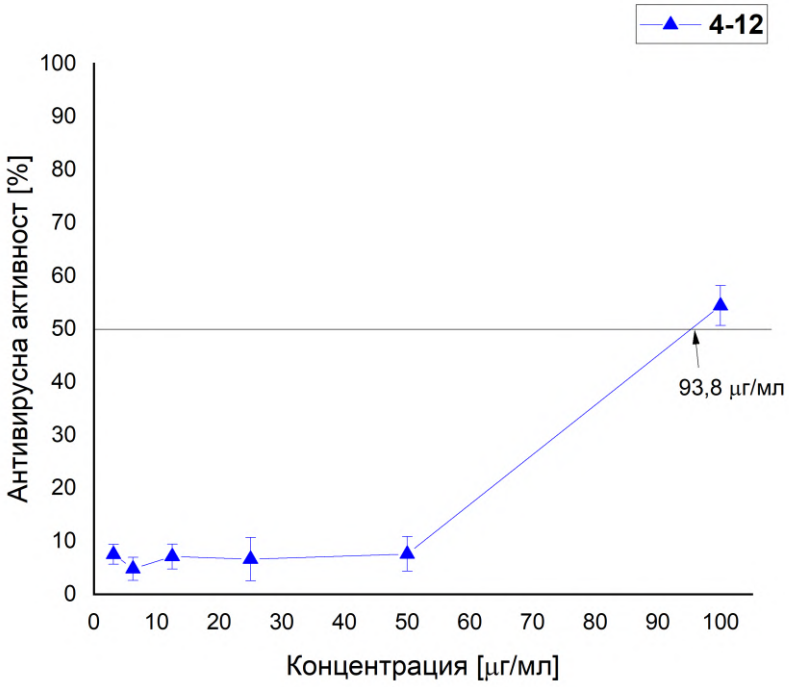
41a и **4-12**. Определянето на ЦТК$_{50}$ става графично с помощта на построената крива “доза (концентрация)-клетъчна преживяемост”.



Фиг. 4-13 Дозо-зависими криви на цитотоксичността спрямо клетъчна култура MDBK

След определяне ефекта върху използваната клетъчна линия MDBK, тестваните вещества бяха изследвани за антивирусна активност спрямо HSV-1 (херпес симплекс вирус тип 1, щам F) ((*Simplexvirus humanalpha1*)(https://ictv.global)). Спрямо неговата репликация, единствено вещество **4-12** прояви антивирусна активност, като единствено в МНК тя достига до 58,7% инхибиция на вирусната репликация. На база на построената дозо-зависима крива това позволява и определяне на 50% инхибираща концентрация – 93,8мкг/мл (Фиг. **4-14**).

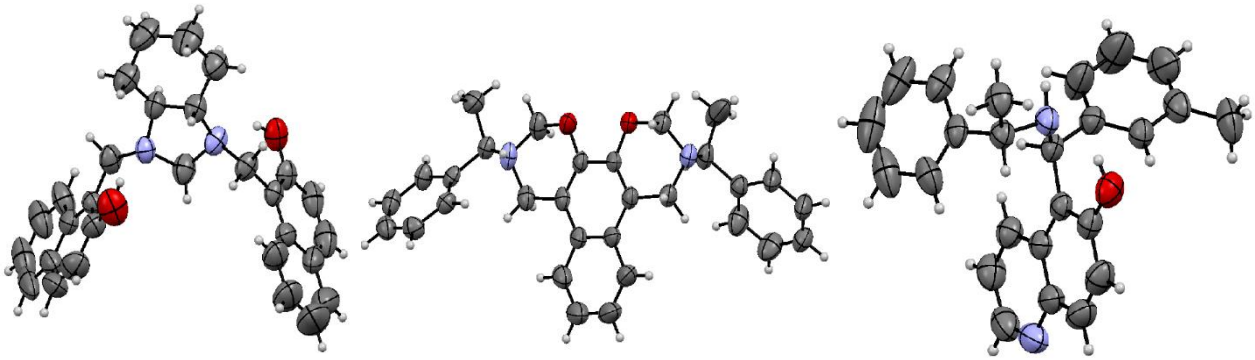
Стойностите, които се наблюдават както спрямо клетъчната линия, така и спрямо вируса, предполагат по-ниска активност спрямо златния стандарт при херпесвирусната терапия – Ацикловир и неговите производни.



Фиг. 4-14 Антивирусна активност на вещество **4-12** спрямо HHV-1 щам F

Структурна информация

Структурата на съединения (*R*,*R*)-**4-23**, **4-30** и **4-40a** и тяхната абсолютна конфигурация е еднозначно потвърдена с рентгеноструктурен анализ на монокристал.



(*R*,*R*)-**4-23** **4-30** **4-40a**

ORTEP изглед на съединения (*R*,*R*)-**4-23**, **4-30** и **4-40a**, H-атомите са представени със сфери с произволни радиуси, а елипсоидите са с 50% вероятност

5. ИЗВОДИ

1. Синтезирани са дихидро-1,3-нафтоксазини чрез *Mannich* кондензация на нафтален-2-ол, формалдехид и разнообразни хирални амини. Съединенията са интермедиати за синтеза на третични *N*-заместени аминоалкохоли, получени след редукция.
2. Използвани са производни на природна аминокиселина – (*R*)-(–)-2-фенилглицинол и метилов естер на (*R*)-(–)-2-фенилглицина като източник на хиралност в *Mannich* кондензация с формалдехид и нафтален-2-ол с цел получаване на хирален аминодиол. Доказано е, че и в двата случая реакцията протича със запазване на конфигурацията на изходните хирални компоненти.
3. Синтезирани са с висок добив бис-дихидро-1,3-нафтоксазини чрез трикомпонентна кондензация по *Mannich* на 2,3- или 2,6-дихидроксинафталени с формалдехид и (*S*)-(−)-1-фенилетан-1-амин.
4. Осъществена е *Mannich* кондензация на нафтален-2-ол, формалдехид и (*R,R*)- или (*S,S*)-циклохексан-1,2-диамин. Намерени са оптимални условия за предпочетено образуване на хирален, нерацемичен имидазолидинов бис-хидроксинафтален.
5. Проведена е трикомпонентна кондензация от *Betti* тип на хинолинови аналози на нафтален-2-ол (хинолин-6- или 7-ол) с ароматни алдехиди (3-метил-бензалдехид и 1-нафталдехид) и (*S*)-(−)-1-фенилетан-1-амин. Реакциите протичат с висока диастереоселективност. При производните на хинолин-6-ол с 1-нафталдехид е изолиран само по един от двата диастереоизомера, а при използване на 3-метилбензалдехид е възможно изолирането и на двата диастереоизомера в чист вид. При производните на хинолин-7-ол с 1-нафталдехид е изолирана неразделима смес от двата диастериоизомера в съотношение 87:13, а при използването на 3-метилбензалдехид е възможно изолирането и на двата диастереоизомера в чист вид.
6. Новосинтезираните хирални съединения са напълно охарактеризирани с помощта на ЯМР спектроскопия, масспектрометрия, специфичен ъгъл на въртене и елементен анализ.
7. Определена е конфигурацията на новоформирания стереогенен център на аминобензилхинолинола **4-40a** посредством съвременни ЯМР техники. С рентгеноструктурен анализ е доказана приложимостта на ЯМР подхода за определяне на конфигурацията на този тип съединения.

8. Синтезираните хирални, нерацемични лиганди (разделени на 3 групи) са използвани като катализатори (лиганди) в моделната реакция за енантиоселективно присъединяване на диетилцинк към алдехиди. Установено е, че лигандите получени при кондензация по *Mannich* на нафтален-2-ол, формалдехид и хирални амини проявяват ниска енантиоселективност. При лигандите с имидазолидинов пръстен в молекулата е регистрирана умерена асиметрична индукция. При лигандите, получени посредством кондензация по *Betti* от хинолин-6- или 7-ол, алдехиди и (*S*)-(−)-1-фенилетан-1-амин е постигната висока енантиоселективност – до 98% *ee*.
9. Синтезиран е нов заместен дикетопиперазин чрез осъществяване на синтетична стратегия, базирана на депротониране с LiHMDS (метод **А**) или LDA (метод **Б**) и последващо алкилиране с 3,5-диметоксибензилбромид с добив 71% и 55%, съответно. Реакцията е високо диастереоселективна, което е установено с помощта на ЯМР спектроскопия (92% *de*). Синтезирани са два нови заместени дикетопиперазина чрез депротониране с LiHMDS (метод **А**) или LDA (метод **Б**) и последващо ацилиране с 3-метилбензоил хлорид. В първия случай се изолира само един продукт, ацилиран в позиция 6. Във втория случай се изолират 2 продукта в резултат на ацилиране в позиция 3 и позиция 6.
10. Изолираните междинни съединения и крайни продукти, производни на дикетопиперазина Cyclo(Gly-Pro) са охарактеризирани с помощта на ЯМР спектроскопия, масспектрометрия, Т.т. и елементен анализ. Посредством използване на двумерни ЯМР техники е направено пълно отнасяне на протоните и на С-атоми на новополучените продукти. Получените синтетични и физикохимични резултати с дикетопиперазините са перспективни в бъдещи разработки за синтез на структурно разнообразни многофункционални съединения с потенциална биологична активност.
11. Оценена е биологичната активност на изпрани съединения, както следва: При вещество **4-41a** е установена антимикробна активност срещу тест патогена *Bacillus cereus*, когато то се прилага в по-висока концентрация – 0.1 мг/мл. При прилагане на съединението в по-ниска концентрация – 0.05 мг/мл не се наблюдава такава. При **4-37** е установена антибактериална активност при двете изследвани концентрации – 0.14 мг/мл и 0.07 мг/мл срещу тест културата *Staphylococcus aureus*. Определен е и ефектът на инхибиране на двете вещества, като при **4-41a** тя е 42% от този на (+) контрола, а при **4-37** е 50 до 52% от този на (+) контрола при двете анализирани концентрации. Единствено вещество **4-12**

прояви антивирусна активност, но само в МПК – малко над 50% инхибиция на вирусната репликация.

Списък с научната дейност по темата на дисертацията на асистент Мая Тавлинова-Кирилова

Списък с научни публикации и забелязани цитати по темата на дисертацията

1. **Tavlinova-Kirilova, M.**, Marinova, M., Angelova, P., Kamenova-Nacheva, M., Kostova, K., Dimitrov, V., *Bulgarian Chemical Communications*, **2016**, *48*, 4, 705-712. Three component condensation of Betti-type – efficient tool for synthesis of chiral naphthoxazines and aminobenzylnaphthols for enantioselective diethylzinc addition to aldehydes.

JCR category rank **Q4**

1. Slitikov, P. V., Evdokimenkova, Y. B., *Herald of the Bauman Moscow State Technical University, Series Natural Sciences*, **2021**, *1*(94), 126-143. Aminomethylated Hydroxinaphthalenes: Synthesis and Application.
2. Ganesh, S., Sarika, K., Reddy, P. N., Padmaja, P., *Current Catalysis*, **2021**, *10*(1), 75-80. Synthesis of New Chiral *N*-alkyl *Betti*-base Ligands via One-Pot Three Component Strategy.

2. Petrova, A., Pancheva, M., Kostova, K., Zagranyarska, I., **Tavlinova-Kirilova, M.**, Dimitrov, V., *Bulgarian Chemical Communications*, **2017**, *49*, Special Issue B, 18-24. Stereoselective functionalization strategy of 2,5-diketopiperazine derived from L-proline and glycine.

JCR category rank **Q4**

3. **Tavlinova-Kirilova, M.**, Dikova, K., Marinova, M. K., Kamenova-Nacheva, M., Rusew, R., Sbirkova-Dimitrova, H., ... & Dimitrov, V., *Crystals*, **2023**, *13*(10), 1495. Synthesis and Structural Analysis of Chiral Bis-dihydro [1,3]-naphthoxazines and Imidazolidine Derivatives Prepared by Three-Component *Mannich*-Type Condensation.

JCR category rank **Q2**

Списък с участия на научни конференции по темата на дисертацията

1. 21st International Conference on Organometallic Chemistry;
Bratislava, Slovakia; 05.07.2015 – 09.07.2015 г.
Kostova, K., Tavlinova-Kirilova, M., Marinova, M., Zagranyarska, I., Dikova, K., Dimitrov, V. *Diastereoselective synthesis of chiral aminonaphthols for enantioselective addition of diethylzinc to aldehydes* (Постер).

2. 25th Congress of the Society of Chemists and Technologists of Macedonia;
Ohrid, Macedonia; 19.09.2018 – 22.09.2018 г.
Tavlinova-Kirilova, M., Kostova, K., Kamenova-Nacheva, M., Nikolova, R., Shivachev, B., Dimitrov, V. *Mannich-Type Approach to Chiral Amino-Quinolinols - Synthesis and Application* (Постер)

3. VIIth National Crystallographic Symposium with International Participation
Sofia, Bulgaria; 03.10.2018 - 05.10.2018 г.
Dikova, K., Tavlinova-Kirilova, M., Kostova, K., Chimov, A., Nikolova, R., Shivachev, B., Dimitrov, V. *Synthesis of chiral aminoalcohols-configuration determination and catalytic application* (Постер)

4. Scientific Conference: Research Infrastructure in support of Science, Technology and Culture
Sofia, Bulgaria; 29.09.2020 - 30.09.2020 г.
Tavlinova-Kirilova, M., Kamenova-Nacheva, M., Kostova, K., Dimitrov, V. *Synthesis of Chiral, non-Racemic Aminonaphthols and Determination of their Chiroptical Properties Using a Polarimeter* (Постер)

5. Scientific Conference: Research Infrastructure in support of Science, Technology and Culture
Sofia, Bulgaria; 29.09.2020 - 30.09.2020 г.
Kamenova-Nacheva, M., Tavlinova-Kirilova, M., Kostova, K., Dimitrov, V. *Enantioselective Addition of Et_2Zn to Aldehydes - Determination of Enantiomeric Excess by High-Performance Liquid Chromatography (HPLC)* (Постер)

6. Scientific Conference: Research Infrastructure in support of Science, Technology and Culture
Pravetz, Bulgaria; 08.09.2021 - 10.09.2021 г.
Kamenova-Nacheva, M., Tavlinova-Kirilova, M., Kostova, K., Dimitrov, V. *Synthesis of chiral, non-racemic aminonaphthols and determination of their chiroptical properties using a polarimeter* (Постер)

7. Scientific Conference: Research Infrastructure in support of Science, Technology and Culture
Plovdiv, Bulgaria; 12.09.2022 - 14.09.2022 г.
Kamenova-Nacheva, M., Tavlinova-Kirilova, M., Kostova, K., Dimitrov, V. *Synthesis of bis-dihydro-1,3-naphthoxazines using 1,2-cyclohexanediamine or dihydroxynaphthalenes in Mannich condensation* (Постер)