

# АВТОРСКА СПРАВКА ЗА НАУЧНИТЕ ПРИНОСИ

в трудовете на гл. ас. д-р Ирена Любомирова Филипова

представени за участие в конкурс за академичната длъжност доцент по професионално направление 4.2 Химически науки, научна специалност "Органична химия", за нуждите на лаборатория "Органичен синтез и стереохимия", обявен в Държавен Вестник бр. 10 от 05.02.2016 г.

Научно-изследователската ми дейност е в областта на синтетичната органична и органометална химия и може да бъде обобщена в две основни направления: стереоселективен синтез на хирални лиганди за асиметричния катализ и получаване на биологично активни съединения на основата на достъпни природни хирални продукти.

Резултатите, представени в публикации № 3, 4 и 5 са постигнати при изработване на дисертационния труд за придобиване на научната и образователна степен "доктор". Те са описани в т. 1.1. на изложението.

## 1. Приноси в областта на асиметричния синтез и катализ.

Разработването на ефективни стереоселективни каталитични методи за създаване на стереогенни центрове чрез използване на хирални реагенти и катализатори е една от основните задачи на съвременния органичен синтез. Всеки енантиселективен процес изисква фина настройка следователно множеството от хирални лиганди е оправдано както от научна, така и от индустриална гледна точка.

### 1.1. Синтез на аминокдиоли и приложението им като хирални лиганди за енантиселективно присъединяване на Et<sub>2</sub>Zn към бензалдехид.

Синтезирани са с високи добиви и диастереоселективност нови хирални епоксидни алкохоли, производни на природните (1*R*)-(+)-камфор и (1*R*)-(-)-фенхон, чрез реакции на V<sup>5+</sup>-катализирано епоксидиране (публ. № 3, 4). Тези епоксидни алкохоли са трансформирани в аминокдиоли чрез високо регио- и диастереоселективно аминолитично отваряне на епоксидния пръстен в присъствие на метални соли (публ. № 5). В хода на изследванията са установени два случая на катализиране от метални йони (V<sup>5+</sup>, Li<sup>+</sup>) *Wagner-Meerwein* тип прегрупировки на епоксиден алкохол и аминокдиол с камфанов скелет (публ. № 3, 5). Формираните оксатрициклически продукти са експериментално потвърдени и е предложено обяснение за тяхното образуване. Наблюдавана е V<sup>5+</sup>-катализирана прегрупировка на епоксиден алкохол, произведен на (-)-фенхон, до алилов диол като предложеният механизъм е подкрепен с експериментални данни (публ. № 4). При определяне на абсолютните конфигурации на получените диастереоизомерно чисти съединения за пръв път е използван подход прилагаш комбинация от съвременни ЯМР спектрални експерименти и теоретични пресмятания (молекулярна механика). Предпоставка за това е наличието на конформационно стабилен бициклически скелет с известна абсолютна конфигурация. Синтезираните диастереоизомерно чисти аминокдиоли

са изследвани като хирални модифициращи лиганди за енантиселективно присъединяване на  $\text{Et}_2\text{Zn}$  към бензалдехид (публ. № 5). Вложени в 3 молни % те катализират получаването на 1-фенил-1-пропанол с висок добив и енантиомерен излишък до 80%. Тяхната ефективност създава предпоставка за използването им и в други метал катализирани процеси. Използването на лесно достъпни природни източници на хиралност прави синтеза на лигандите изключително изгоден.

### **1.2. Синтез на полифункционални съединения с камфанов скелет с участието на органолитиеви реагенти.**

Осъществен е синтез на библиотека от  $\beta$ -,  $\gamma$ - и  $\delta$ -аминоалкохоли с бицикло-хептанов скелет. Като изходно съединение, носител на хиралност, е избран и синтезиран модифициран аналог на (1*R*)-(+)-камфор, съдържащ обемист дихидроинденев заместител в 3-та позиция (публ. № 14). Хиралните аминоклохоли са получени чрез реакции на нуклеофилно присъединяване на *N*-функционализирани органолитиеви реагенти към карбонилната група. Библиотеката от лиганди включва диметиламиноалкохоли и алкохоли, съдържащи *N*-хетероциклен остатък. Всички присъединителни реакции протичат 100% *ендо*-диастереоселективно. Реакцията с 1,2-дизаместен фeroцениллитиев реагент, използван като рацемична смес, води до получаването на един диастереоизомер, в следствие на *ендо*-присъединяване, изгодно само за единия от планарно хиралните енантиомери. Конфигурациите на новите хирални съединения са доказани с помощта на ЯМР спектроскопия. Абсолютната конфигурация на планарно хиралния фeroценов аминоклохол е потвърдена с кристалографски рентгеноструктурен анализ. Прилагането на получените аминоклохоли като модифициращи лиганди за енантиселективно присъединяване на  $\text{Et}_2\text{Zn}$  към бензалдехид води до количествено превръщане и умерена енантиселективност до 58% *ee*.

### **1.3. Синтез на бис-стероидални диоли и приложението им като хирални лиганди.**

В рамките на сътрудничество с немската фирма Шеринг е оптимизиран синтезът на аксиално хирални бис-стероидални диоли от естрон. Те са приложени като лиганди за енантиселективно присъединяване на  $\text{Et}_2\text{Zn}$  към различни алдехиди (публ. № 6). Реакциите в този случай протичат през образуване на смесени алкоксиди на диолите с  $\text{Ti}(\text{OiPr})_4$ . Постигнатата енантиселективност е до 86%. Абсолютната конфигурация на изолираните продукти зависи от аксиалната хиралност на диастереоизомерните лиганди.

### **1.4. Синтез на фосфин-карбоксамиди и аминоклофини, и приложението им в енантиселективни реакции с участие на преходни метали.**

Фосфин-карбоксамидите се обособяват като специфичен клас иновативни *P,O*-хелатиращи лиганди за Pd- катализирани реакции. Различните донорни функционални групи в структурата им позволяват независими модификации и следователно фина настройка на лигандите. Основен принос в нашите научни изследвания е разработването на ефективен синтез на планарно хирални фeroцен съдържащи лиганди посредством високо диастереоселективно amid-насочено *орто*-литиране (публ. № 11, 13). Планарната хиралност е въведена с различна степен на диастереоселективност при поредица от фeroценкарбоксамиди. Най-висока диастереоселективност е постигната при

амиди, производни на лесно достъпните (1*R*)-(+)-камфор и (1*S*)-(-)-β-пинен, водейки до единствен диастереоизомер с поредица от електрофили. Процесът е разработен и за диастереоселективно amid-насочено *орто,орто'*-дилитиране. Абсолютните конфигурации на новите планарно хирални съединения са определени с помощта на ЯМР спектроскопия и кристалографски структурен анализ. Във всички случаи заместителят е от страната на карбонилната група, което е недвусмислено доказателство за ключовата роля на карбонилния кислороден атом за насочване на лития в етапа на депротониране. Изчистената методология позволява въвеждане на различни функционални групи и получаването на разнообразни планарно хирални 1,2-дизаместени фeroценови производни. Сред тях планарно хиралните фeroценови фосфин-карбоксамиди са от особен интерес като *P,O*-хелатиращи лиганди за Pd- катализирани реакции. Посредством диастереоселективно *орто*-лителиране, последвано от реакция с хлордифенилфосфин са получени нови лиганди, съчетаващи планарна и централна хиралност. Всички продукти са изолирани с високи до отлични добиви като единствени диастереоизомери. Синтезираните моно-фосфино и бис-фосфино фeroценкарбоксамидни лиганди са изследвани за тяхната каталитична активност в реакция на Pd-катализирано асиметрично алилово алкилиране (AAA) на 1,3-дифенилпропенил ацетат с диметил малонат. Оптимизирани са условията на реакцията. Моно-фосфино фeroценкарбоксамиди, производни на (+)-камфор и (-)-β-пинен показват най-висока ефективност, катализиратйки реакцията с енантиселективност до 82% ee.

Впоследствие са проведени изследвания за изучаване влиянието на хиралността върху асиметричната индукция по време на каталитичния процес. Синтезирани са аналогични на гореописаните структури, но без планарна хиралност с използване на аминокалкохоли и амини, производни на (+)-камфор (**публ. № 15, 21**). Осъществени са модификации както на amidната, така и на фосфиновата функции. Ефективността на новосинтезираните лиганди е оценена в реакцията на Pd-катализирано AAA. Най-висока асиметрична индукция до 92% ee е реализирана при серията лиганди, получени от 3-екзо-аминоизоборнеол (**публ. № 15**). Установено е, че каталитичният процес е силно повлиян от типа на използвания камфанов хирален помощник.

На следващ етап е изучено влиянието на донорния хетероатом върху реактивоспособността на комплексите с преходния метал и асиметричната индукция на каталитичния процес (**публ. № 17**). Синтезирани са аминокосфинови аналози на фосфино-карбоксамидите, с участието на 3-екзо-аминоизоборнеол. Прилагането на получените лиганди в моделната каталитична реакция води до количествено превръщане и енантиселективност до 91% ee. Установено е, че замяна на типа на лигандите от *P,O*- в случая на карбоксамидите с *P,N*- при аминокосфините не оказва съществено влияние както върху енантиселективността, така и върху посоката на асиметрична индукция.

Високата каталитична активност на фосфин-карбоксамидите с камфанов скелет ни насочи към дизайн и синтез на нови структури, базирани на други хирални полициклични природни съединения. Природният алкалоид (-)-цитизин за пръв път е използван като източник хиралност за синтез на три нови хирални фосфин-бензенкарбоксамиди (**публ. № 23**). Лигандите са получени от цитизин, тетрахидроцитизин или

тетрахидродеоксицитизин. Структурата и конформациите на новите съединения са установени чрез ЯМР, кристалографски структурен анализ и DFT изчисления. Конформационното поведение на лигандите по отношение на затруднената ротация на amidната група и подвижността на пиперидиновия пръстен е изучено с помощта на едномерни и двумерни ЯМР спектри и на базата на DFT изчисления. Хиралните фосфин-карбоксамиди са изследвани като лиганди в реакцията на Pd-катализирано ААА. Установено е, че наблюдаваната каталитична активност силно зависи от конформационното поведение на лигандите. Най-висока енантиселективност от 91% е постигната с лигандът, произведен на тетрахроцитизин, съществуващ като единствен предпочетен конформер. Формирането на комплексите на лигандите с паладий е изучено с помощта на ЯМР-спектроскопия. Установено е, че равновесието между *P,O*-хелатирани и *P,P*-нехелатирани комплекси силно зависи от съотношението между лиганд и паладий.

Предстои разширяване на започнатите изследвания с други природни източници на хиралност. Запланувано е и разработване на разнообразни каталитични реакции.

## **2. Дизайн и синтез на съединения, притежаващи биологична активност**

Второто направление на научните изследвания е насочено към дизайн и синтез на нови биологично активни структури, базирани на съединения изолирани от природата. Разработките са резултат на сътрудничество с Институт по Микробиология „Стефан Ангелов“ – БАН и Фармацевтичен Факултет на МУ-София.

### **2.1. Синтез и антимикулобактериална активност на амиди с камфанов скелет.**

Осъществен е синтез на серия от нови  $\beta$ -амидоалкохоли и амидодиоли с камфанов скелет (публ. № 16). Последните са получени при реакция на 3-екзо-аминоизоборнеол с избрани киселинни халогениди или с хирални  $\alpha$ -хидрокси киселини. За целта природни  $\alpha$ -аминокиселини са превърнати в техните хидрокси аналози със запазване на конфигурацията. Синтезираните вещества са оценени за тяхната *in vitro* активност спрямо референтния щам *M. tuberculosis* H37Rv. Някои от съединенията демонстрират активности до 25 пъти по-високи от тази на етамбутол, използван като референт. Малки структурни промени в страничната верига променят активността от микро- в нано-моларни инхибиращи концентрации. На базата на тези резултати е създаден QSAR модел задаващ насоки за дизайн и синтез на нови по-активни структури. Установено е, че наличието на 2 донорни атома на *H*-връзки и до 3 пръстена в молекулите са оптимални за наномоларната активност. След направен дизайн на нова серия камфанови производни (публ. № 20) са синтезирани амиди и амидоалкохоли с участието на изоборниламид и борниламид. При реакции с  $\alpha$ -хидрокси киселини са получени нови девет амидоалкохоли (публ. № 19, 22). Осъществен е синтез и на серия от амиди с камфанов скелет чрез кондензация на изоборниламид и борниламид с избрани киселинни халогениди (публ. № 26). Проведеният биологичен скрининг показва, че активността на новите съединения варира от микро- до наномоларни инхибиращи концентрации в зависимост от киселинния остатък. Шест от тях демонстрират забележителна антитуберкулозна активност (МИК 0.16  $\mu$ M) в комбинация с ниска цитотоксичност. Сред тях амидът, получен чрез кондензация на борниламид и фуран-2-карбоксилска киселина, се очертава като

потенциален водещ кандидат за по-нататъшно разработване на нови антитуберкулозни агенти (публ. № 26).

Създаден е модел предсказващ анти-туберкуозна активност на амиди, получени от теофилин-7-оцетна киселина (7-ТАА) с аминокиселини. Моделът е приложен върху библиотека, съставена от 40 аминокиселини и естери на аминокиселини кондензирани с 7-ТАА. Съединенията, показали най-добри резултати са синтезирани и изследвани за тяхната активност спрямо *M. tuberculosis* H37Rv. Всички са стабилни и нетоксични към човешки клетки, и демонстрират антитуберкуозна активност 60 пъти по-висока от тази на етамбутол (публ. № 25).

## **2.2. Дизайн, синтез и антихолинестеразна активност на производни на галантамин с индоллов остатък.**

Инхибиторите на ацетилхолинестераза (AChE) са основната терапия срещу болестта на Алцхаймер. Сред тях, галантамин е най-толерирания и понастоящем е одобрен за терапия на болестта. Целта е създаването на аналози с двойно свързване към ензима – свързване в каталитичния център и свързване в периферния анионен център. С помощта на молекулен докинг са изследвани комплексите между производни на галантамин и ензима AChE и видовете взаимодействия между двете молекули. В резултат е направен дизайн и предсказан афинитета на 10 нови производни на галантамин с индоллов остатък в страничната верига. Установено е, че индоловият остатък е подходящ за координиране към ароматните остатъци от периферен анионен център от ензима чрез хидрофобни  $\pi$ - $\pi$  взаимодействия. Четирите производни с най-висок предсказан афинитет са синтезирани и изследвани за тяхната инхибираща активност (публ. № 24). Те показват активност между 11 и 95 пъти по-висока от тази на галантамин, което е в подкрепа на предсказания афинитет.

Резултатите доказват правилността на работната хипотеза и дават основание да се продължи процеса на дизайн – синтез – скрининг на нови производни на галантамин.

## **3. Синтез на органични съединения с целеви свойства и приложения.**

Наред с приносите в двете основни направления справката очертава още четири тематични направления свързани със синтез на съединения с определени свойства и приложение в материалознанието.

### **3.1. Синтез на аминостероиди като моделни съединения за кръгово дихроичната спектроскопия.**

В рамките на сътрудничество с колеги от Колумбийския Университет в Ню Йорк е оптимизиран синтезът на 3-амино-17-хидрокси стероиди. След кондензация с порфирин те са трансформирани в съответните амидо-естери с порфиринов остатък (публ. № 1, 2). Поради отдалечеността на пространствено фиксираните хромофори те са използвани като моделни съединения в спектроскопия на кръгов дихроизъм (CD), базирана на метода за екситонна хиралност. Отчитането на разликите в знака и големината на наблюдаваните Котонови ефекти в екситонния CD дава възможност за определяне на абсолютни конфигурации при природни съединения с отдалечени стереогенни центрове, както и за

конформационно изследване на биополимери, пептиди, нуклеинови киселини и др (**публ. № 1**).

### **3.2. Синтез на 2-заместени 4-(3H)-хиназолинони и изследване на структурата им.**

Резултатите в тази област се базират на сътрудничество с колеги от лабораторията по теоретична химия и флуоресцентна спектроскопия на ИОХЦФ. В рамките на тази тематика е разработен удобен метод за синтез на нови 2-арил-заместени производни на 4-(3H)-хиназолинон чрез литиране на 2-метил-4-(3H)-хиназолинон и следващо нуклеофилно присъединяване на заместени ароматни алдехиди към литираната метилова група. Получените вторични алкохоли са трансформирани в съответните  $\alpha$ -хиназолил- $\omega$ -арил-полиени посредством дехидратация, катализирана от трифлуороцетна киселина (**публ. № 7, 9**). Теоретично и експериментално е изучено влиянието на заместителите върху спектралните им свойства, а именно типовете електронни преходи и базираните на това флуоресцентни свойства (**публ. № 7**). Спрегнатите 2-заместени  $\alpha$ -хиназолил- $\omega$ -арил-полиени представляват интерес като потенциални нови материали с класически и нелинейни оптични свойства (флуоресценция и хиперполяризуемост), както и като потенциални антибактериални вещества.

### **3.3. Синтез на амиди на 16-меркаптохексадеканова киселина, способни да образуват спонтанно подредени моно слоеве върху метални субстрати.**

Предмет на разработката е получаване на органични материали, способни да образуват спонтанно подредени моно слоеве и е в областта на материалознанието и нанотехнологиите, приоритетни направления в науката, както на ЕС, така и на България. Тя е пряко свързана със сътрудничество с колеги от лабораторията по инфрачервена спектроскопия на ИОХЦФ. Изследователската дейност е насочена към дизайн и синтез на съединения с дълги алифатни вериги, съдържащи в единия край тиолова група, а в другия - различно заместени арил-амиди чрез което да се повлияе върху способността за образуване на ориентирани слоеве. Разработен е синтез на амиди на 16-меркаптохексадеканова киселина от лесно достъпни изходни вещества с високи добиви. Серията от арилови заместители включва 4-метоксифенил, 4-хидроксифенил, 3,5-диметоксифенил и 3,5-дихидроксифенил (**публ. № 10, 12**). Получените  $\omega$ -заместени алкантиоли с амиден остатък в края на веригата са изследвани за получаване на моно слоеве върху Au(111) с помощта на инфрачервена и видима спектроскопска елипсометрия. Доказано е спонтанно формиране на подредени моно слоеве в предпочетена *транс* конформация на въглеродородната верига и силно изразени водородни връзки.

### **3.4. Прилагане метода на "директна амидна циклизация" при пептиди, съдържащи остатък на антранилова киселина**

В рамките на специализация в Института по Органична химия към Университета в Цюрих е изучена възможността за получаване на десет-членни циклотрипептиди, съдържащи антранилов остатък. Цикличните пептиди, съдържащи остатък на антранилова киселина, известни като "циклоаспептиди", са изключително рядко срещани в природата. Сред тях актиномицин – D е широко използван като антибиотик и

противотуморно средство. Линейните трипептиди, съдържащи  $\alpha,\alpha$ -дизаместени аминокиселини са синтезирани с участието на 2,2-дизаместени 2*H*-азирин-3-амини, използвайки на т. нар. "азирин/оксазолонов" метод (**публ. № 8**). Предимствата на подхода в сравнение с класическите методи за пептиден синтез са меки условия на реакцията, протичаща без странични продукти и допълнителни активиращи реагенти. В резултат на това пречистването на продуктите е значително опростено. Получените линейни трипептиди, съдържащи антранилов остатък са подложени на киселинно-катализирана вътрешномолекулна циклизация, т. нар. "директна амидна циклизация". В условията на реакцията първоначално се формира 1,3-оксазол-5(4*H*)-он като интермедиат, а анилинвата amino група действа като нуклеофил. В два от случаите вместо очакваните десет-членни циклотрипептиди като основни продукти се получават съответните трициклични 1,3а,7-триазабенз[е]азулен-3,6-диони. Предполага се, че първоначално формираните циклични пептиди в условията на реакцията претърпяват вътрешномолулно сключване на пръстен, последвано от елиминиране на вода. В хода на изследванията е установен и един пример за формиране на 20-членен циклохексапептид, в резултат на междумолекулна реакция. Структурите на продуктите са установени със ЯМР и мас-спектроскопия и потвърдени с кристалографски структурен анализ.

Подпис:

/гл. ас. д-р Ирена Филипова/