

ОТЧЕТ ПО ПРОЕКТ ЗА НАУЧНО И КАРИЕРНО РАЗВИТИЕ
НАЦИОНАЛНА ПРОГРАМА „МЛАДИ УЧЕНИ И ПОСТДОКТОРАНТИ“ II ЕТАП

Тема: „Изучаване на приложимостта на хирални съединения в нови каталитични системи; Изучаване на състава на екстракти получени от лечебни растения“

Участник: ас. д-р Жанина Петкова

/длъжност/степен, име фамилия/

Научен ръководител: проф. дхн Владимир Димитров

/длъжност/степен, име фамилия/

София, Февруари, 2021

Въведение (включва анотация на представения проект, цели, работна програма, предвидени дейности - до 2 стр.)

Проектът за бъдещо научно и кариерно развитие е в областта на асиметричния синтез. Значението и приложимостта на асиметричния синтез и катализ като средство за получаване на енантиомерно чисти съединения е с все по-нарастващо значение за академичната наука и особено за индустрията. Голяма част от основните синтетични химични реакции имат достатъчно добре разработени асиметрични варианти, базирани на хирални спомагателни вещества, прилагани в каталитични количества. Поради това непрекъснато се синтезират нови хирални съединения (лиганди), приложими като катализатори за разнообразни асиметрични варианти на органични реакции. До момента в лаборатория „Органичен синтез и стереохимия“ са получени значителен брой лиганди от различен структурен тип, показващи висока енантиоселективност в каталитични процеси. В настоящия проект се планира изследване на приложимостта на разнообразни хирални аминобензилнафтоли, бензен- и фeroценсулфонамиди като лиганди за нови каталитични реакции, в които не са прилагани до сега. Предвидено е да се изучи приложимостта на лигандите като „пре-катализатори“ в две нови синтетични трансформации. Първата е асиметрична редукция на прохирални кетони, която ще се изследва чрез моделната реакция на асиметрична редукция на α -хлороацетофенон с боран диметилсулфид комплекс ($\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$). Втората трансформация е мед-катализираната реакция на 1,4-присъединяване на диалкилцинкови съединения към α, β -ненаситени кетони, за целта ще се приложи моделната реакция на присъединяване на Et_2Zn към циклохексенон. Следва да се подчертае, че и при двата типа трансформации е налице богата палитра от синтетични приложения с възможности за синтез на многофункционални хирални съединения, които са от значение за лекарствената химия.

В рамките на друга група изследвания е планирано определянето на химичния състав на смеси от природни продукти. За тази цел ще се използва ултра-високо ефективен течен хроматограф с детектор маспектрометър с висока разделителна способност, доставен посредством финансиране за създаване на Център за компетентност „Устойчиво оползотворяване на био-ресурси и отпадъци от лечебни и ароматични растения за иновативни биоактивни продукти“, по оперативна програма

„Наука и образование за интелигентен растеж“. За овладяване на тази сложна апаратура ще се извършват множество анализи на синтетични съединения, както и разделяне, качествено и количествено определяне на основните компоненти в екстракти, получени от лечебни растения. Целта на изследователската дейност е химично профилиране и стандартизация на екстракти, които ще послужат за разработване на лечебни продукти (напр. лечебна козметика и др.).

Резултати и обсъждане (до 10 стр.)

Дейностите извършени по време на отчетния период на проекта за кариерно развитие са в няколко взаимно свързани насоки. Успешно е приключен важен етап от това развитие със завършване на процедурите по изработване на дисертационен труд и защитата му. Поради това настоящото изложение започва с представяне на тези резултати.

1. Приключване на процедурите и защита на дисертационен труд

Защитата на дисертационен труд е важен етап от кариерното израстване. По време на отчетения период завърши оформянето на дисертационния труд и автореферата на тема „Синтетични подходи за получаване на хирални и биологично активни съединения“. Дисертационният труд е успешно защитен и е придобита образователната и научна степен „доктор“, в област на висше образование „Природни науки, математика и информатика“, професионално направление 4.2. „Химически науки“, Научна специалност „Органична химия“. Следваща стъпка в моята научно-изследователска кариера е свързана с участие в конкурс за придобиване на академична длъжност „главен асистент“.

2. Изучаване на приложимостта на хирални съединения в нови каталитични системи

По време на втория етап от настоящия проект една от основните цели е да се изследва приложимостта на разнообразни хирални аминобензилнафтоли, бензен- и фeroценсулфонамиди като лиганди в нови каталитични реакции. Първата стъпка за осъществяване на заложената идея е получаване на хиралните лиганди. Синтезът на

целевите структури е осъществен на базата на вече разработени процедури в лаборатория „Органичен синтез и стереохимия“, съвместно с други колеги.

Първоначално са получени целевите аминобензилнафтолни аналози посредством трикомпонентна кондензация (*Betti*-кондензация) на ароматни и хетероароматни алкохоли **1** (2-нафтол и 6-хидроксихинолин) с **2** (1-нафталдеhid) и **3** (*S*-(–)-фенилетиламин, Схема 1). Реакциите са проведени в съответствие със стандартни лабораторни процедури. Желаните структури **4-1** и **4-2** са изолирани с добри добиви, висока диастереоселективност и са потвърдени чрез с едномерни и двумерни ЯМР експерименти.

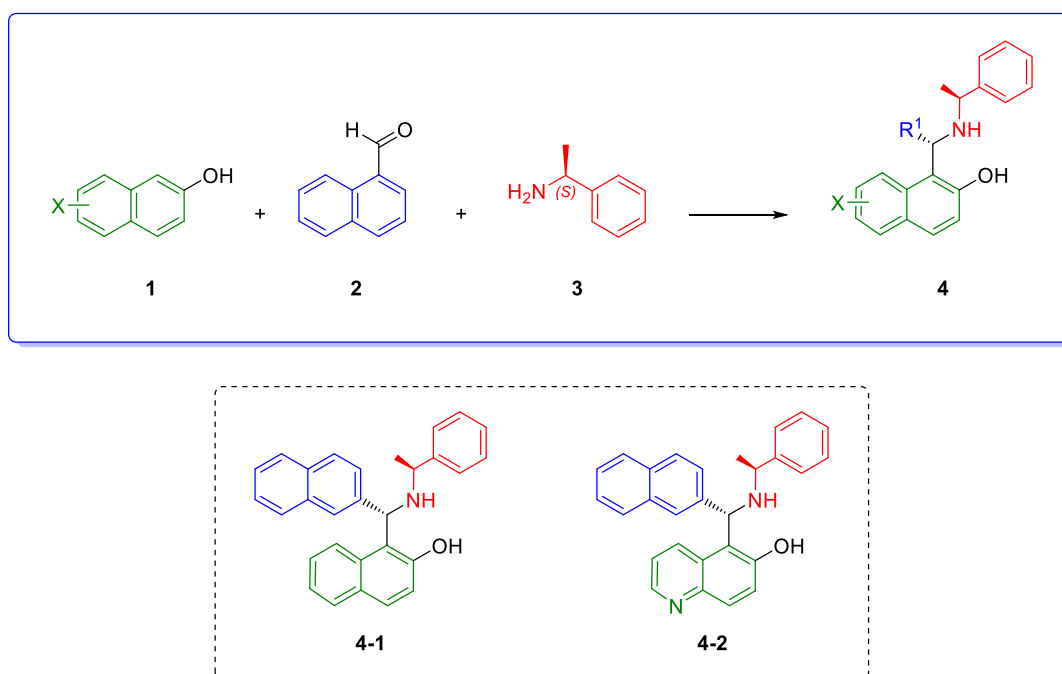
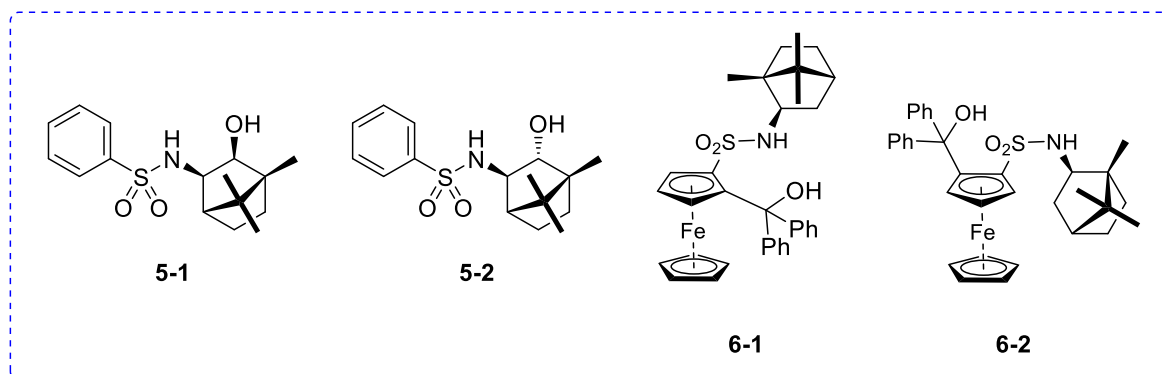


Схема 1 Синтез на аминобензилнафтоли чрез трикомпонентна кондензация (*Betti*-кондензация)

По време на първия етап от проекта са получени хирални бензен- (**5-1** и **5-2**) и фeroценсулфонамидни (**6-1** и **6-2**) съединения, показани на Фигура 1. Тези структури и производни на тях са изследвани по отношение на тяхната *in vitro* антибактериална активност срещу референтния щам *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Rv, където показаха обещаваща антитуберкуозна активност. За планираните каталитични изследвания тези

съединения са синтезирани отново, както е описано по-долу.



Фигура 1. Хирални бензен- и фероценсулфонамиди

Целевите бензенсулфонамиди са получени чрез използване на достъпния фенилсулфонил хлорид **7** и хирален амин **8** (като смес от диастереоизомери, Схема 2). Реакционните условия включват използване на база DIPEA, разтворител CH₂Cl₂ и разбъркване при стайна температура. В чист вид, след колонна хроматография, са изолирани двата преобладаващи диастереоизомера, съответно **5-1** с 58% добив и **5-2** с 10% добив. Сулфонамидните структури са изолирани и пречистени чрез колонна хроматография, както и структурно охарактеризирани с помощта на ЯМР спектроскопия. Предстои получаване на съответните фероценсулфонамиди.

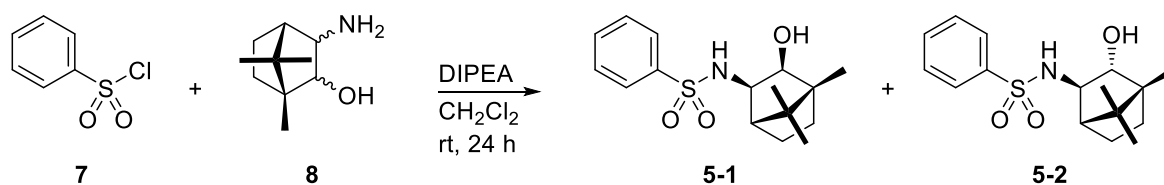


Схема 1 Синтез на банзенсулфонамиди

На следващ етап, синтезираните хирални аминобензилнафтоли са приложени като хирални лиганди в каталитична реакция на редукция на α -хлороацетофенон с $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$ комплекс. Експериментите са проведени с участието на 10 mol % лиганд при 50 °C в среда от THF и в атмосфера на аргон. Формирането на активния каталитичен

комплекс се осъществява чрез смесване на съответния лиганд с $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$ при стайна температура, след което реакционната смес се нагрява за 1 h при 50 °C. Каталитичните реакции протичат с високи добиви и сравнително кратки реакционни времена.

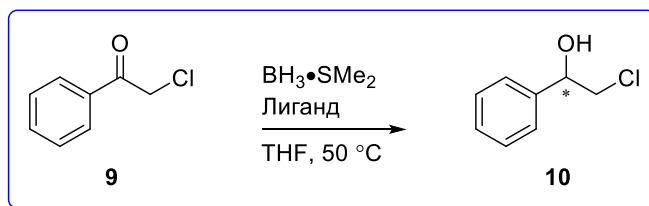


Схема 3 Енантоселективна редукция на прохирални кетони с $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$

За да се определи енантимерно съотношение за продукт **10** се наложи оптимизиране на инструментален метод. С помощта на капилярна газова хроматография е изпробван метод за определяне на енантиомерния излишък (*ee*) на продуктите от каталитичната реакция. Анализите за определяне на стойностите на *ee* на продукта α -(хлорометил)бензенметанол **10** са осъществени с газов хроматограф (*Shimadzu Nexis GC-2030*), с помощта на хирална колона MN-Hydrodex β -TBDAC (0.25 mm x 25 m), $T_{\text{кол.}}$ 160 °C, носещ газ N_2 1 mL/min, сплит 1:20, $T_{\text{дет.}}$ = 220 °C, $T_{\text{инж.}}$ = 220 °C. Време на задържане: $t_{(R)}$ = 5.41 min; $t_{(S)}$ = 5.64 min. Конфигурацията на получените алкохоли е определена чрез сравняване на резултатите с тези получени при аналогични изследвания в групата, които са в съответствие с литературните данни.

От проведените експерименти установихме, че аминокбензилнафтолните производни **4-1** и **4-2** са активни катализатори за провеждане на реакцията, но за съжаление не се наблюдава асиметрична индукция. Предстои провеждане на каталитични реакции и с другите лиганди, синтезирани в рамките на проекта. Целта е да се изучи връзката между структурата на лигандите и тяхната каталитична активност.

3. Биологични изследвания с Vapendavir (BTA-798)

По време на първия етап от програмата е синтезирано съединението **Vapendavir (BTA-798)** в грамова скала. То е мощен риновирусен инхибитор, с потвърден механизъм на действие върху естествената риновирусна инфекция при хора.

Интерес за нас представлява изследването на анти-ентеровирусната активност на съединението спрямо други вируси, включително провеждането на *in vivo* експерименти. През втория етап са започнати биологичните тествания, съединението е включено като част от тройна комбинация заедно с плеконарил и покапавир при експериментална инфекция с коксакивирус у мишки. Започнати са изследвания свързани с индивидуалния му ефект срещу коксакивируси В1 и В3 и полиовирус, както и включване на съединението в двойни комбинации с други ентеровирусни инхибитори, изпитани *in vitro* в HEp-2 клетки. Предстоят *in vivo* проучвания. Експерименталните опити към момента са в процес на завършване. Биологичните изследвания са извършени съвместно с колеги от Института по микробиология – БАН.

4. Дейности свързани с изучаване на състава на екстракти от лечебни растения и овладяване на нова апаратура

В рамките на проекта е планирано да се овладее нова аналитична апаратура (високо ефективни течни и газови хроматографи с различни детектори, вкл. масспектрометрични), чрез изследвания свързани с определяне на химичния състав на смеси от природни продукти в екстракти. За тази цел е проведен тренинг за работа с газов хроматограф с пламъчно-йонизационен детектор, автоматичен инжектор и хедспейс (*Shimadzu Nexis GC-2030*); високоефективен течен хроматограф с 3D детектор с диодна матрица (*Shimadzu Nexera-i LC-2040C 3D*); ултра високо ефективен течен хроматограф с масспектрометър с висока разделителна способност (*Thermo Scientific LC-MS Q Exactive Orbitrap*); високоефективен течен хроматограф с тройно-квадруполен масдетектор (*Shimadzu LCMS-8045*). Той включва работа със софтуерни програми, служещи за управление на всички модули на системите, съхранение и обработка на получените данни след анализите. Апаратурата е закупена за целите на проект за създаване на Център за компетентност „Устойчиво оползотворяване на био-ресурси и отпадъци от лечебни и ароматични растения за иновативни биоактивни продукти“ по оперативна програма „Наука и образование за интелигентен растеж“.

Във връзка с планираното химично профилиране на екстракти е оптимизиран метод за газхроматографско определяне на мастно-киселинния състав на *Camelina sativa*. Анализите за определяне на мастно-киселинния профил на пробите са

осъществени с газов хроматограф (*Shimadzu Nexis GC-2030*), с помощта на колона Supelco Simplicity-wax (30 m x 0.32 mm x 0.25 μ m). Температурен режим на колоната от 170 °C до 260 °C, с 2 °C/min и задържане при тази температура в продължение на 5 min, носещ газ N₂ 0.5 mL/min, сплит 1:50, T_{дет.} = 260 °C, T_{инж.} = 280 °C. Пиковите са идентифицирани спрямо времето на задържане на референтни проби. След направения мастно-киселинен анализ на масло от семена на *Camelina sativa*, са идентифицирани 17 мастни киселини. Установихме, че в маслото се съдържат основно ненаситени мастни киселини до 84%. Преобладаващото количество е на α -линоленова киселина (29%), следвано от линолова киселина (21%), олеинова киселина (19%) и ейкозенова киселина (14%). Останалите 13 мастни киселини са в количество по-малко от 6%.

Допълнително е валидиран газхроматографски метод за разделяне и анализ на хирален линалил ацетат, в състава на етерично масло от лавандула. Този компонент е контролиран, като енантиомерната му чистота е определяща за качеството на маслото. При определяне на автентичността на маслата енантиомерният излишък на (*R*)-изомера следва да е над 99 %. Анализът е осъществен с помощта на хирална колона MN-Hydrodex β -TBDAC (0.25 mm x 25 m), T_{кол.} 220 °C, носещ газ N₂ 1 mL/min, сплит 1:20, T_{дет.} = 240 °C, T_{инж.} = 240 °C. Конфигурациите на продуктите са определени в съответствие с литературни данни.

Предстои довършване на експерименталната работа по описаните направления и обобщаване на резултатите в научни статии. Представените дейности са частично подкрепени от Министерството на образованието и науката в България по Национална научна програма „Млади учени и докторанти“ и за провеждането им не е използвано финансиране от бюджета на други проекти.

Изводи/Обобщение

Изследователската дейност и резултатите от нея могат да се обобщят както следва:

- Завършена е процедурата по представяне на дисертационен труд, който е защитен успешно на 17.12.2020 г.
- Синтезирани са хирални аминокбензилнафтолни и бензенсулфонамидни структури. Всички съединения са изолирани в чист вид и са структурно

охарактеризирани с помощта на необходимите анализи.

- Изучена е каталитичната активност на аминокбензилнафтолните производни при редукцията на α -хлороацетофенон с боран диметилсулфид комплекс. С помощта на газова хроматография е приложен инструментален метод за определяне на енантиомерния излишък на продуктите от каталитичната реакция. Установено е, че приложените лиганди не индуцират енантиоселективност.
- Проведени са биологични тестове със съединението **ВТА-798**, свързани с изследването на анти-ентеровирусната му активност.
- С цел повишаване на квалификацията е взето участие в обучения, свързани с приложението и овладяването на нова модерна апаратура, която да бъде успешно приложена в бъдещата научна работа. Валидиран е инструментален газхроматографски метод и е определен мастно-киселинния състав на масло от семена на *Camelina sativa*. Изпробван е газхроматографски метод за разделяне и анализ на хирален линалил ацетат, в състава на етерично масло от лавандула.
- Предстои завършване на експерименти относно каталитичната активност на синтезираните съединения. Получените резултати ще бъдат обобщени в научни статии.

Публикации (излезли или подадени за печат публикации, в които изрично е изказана благодарност към Програмата) и участия на научни форуми

Дата: 04.02.2021 г.

Изготвил: ас. д-р Жанина Петкова