



ПЛОВДИВСКИ УНИВЕРСИТЕТ “ПАИСИЙ ХИЛЕНДАРСКИ”

**ХИМИЧЕСКИ ФАКУЛТЕТ
КАТЕДРА ОРГАНИЧНА ХИМИЯ**

Йордан Иванов Стремски

**Синтез на бензотиазолови производни чрез
мултикомпонентни реакции от Манихов тип**

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

на дисертационен труд
за присъждане на образователната и научна степен
“доктор”

*област на висше образование – 4. Природни науки, математика и информатика; професионално
направление – 4.2. Химически науки;
докторска програма – Органична химия*

Научен ръководител:
доц. д-р Стела Статкова-Абегхе

**Пловдив
2018**

Изследванията в дисертационния труд са извършени в катедрата по органична химия към Химически факултет при Пловдивски университет “Паисий Хилендарски”.

Изпитването на антибактериалната активност на синтезираните бензотиазолови производни, свързани на втора позиция с циклични кетони е проведено от секция Микробиология към катедра ”Биохимия и Микробиология” на Пловдивски университет “Паисий Хилендарски”.

Дисертационният труд е обсъден на катедрен съвет на катедра “Органична химия” при Пловдивски университет “Паисий Хилендарски” (Протокол № 293 от 20. 04. 2018 г.) и съдържа:

138 печатни страници, 65 схеми, 48 фигури, 16 таблици, 237 цитирани литературни източника.

Защитата на дисертационния труд ще се състои на 27. 07. 2018 г. от 11:00 часа в 4-та аудитория, Ректорат на Пловдивски университет “Паисий Хилендарски”.

Материалите по защитата са на разположение за интересующите се в Централната библиотека на ПУ “Паисий Хилендарски”.

Научно жури:

Проф. дхн Валерий Христов Христов

Проф. дхн Стефан Емилов Бояджиев

Проф. дхн Пантелей Петров Денев

Доц. д-р Жан Стефанов Петров

Доц. д-р Стела Миронова Статкова-Абегхе

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

МКР - Мултикомпонентни реакции

TLC - Тънкослойна хроматография

Трос-Cl - 2,2,2-трихлоретил-хлороформиат

CDCl₃ - Деутериран хлороформ

DMSO-d₆ - Деутериран диметилсулфоксид

AcN - Ацетонитрил

MIC - Минимална инхибираща концентрация

Et - Етил

Me - Метил

NOE - Ядрен ефект на Overhauser

o-Chloranil - 3,4,5,6-тетрахлоро-1,2-бензохинон

DDQ - 2,3-дихлоро-5,6-дициано-бензохинон

ЯМР - Ядрен магнитен резонанс

ИЧ - Инфрачервен

I. ВЪВЕДЕНИЕ

Хетероциклените съединения и техните производни предизвикват интерес, благодарение на своите биологични и фармакологични свойства. Те са едни от най-разпространените в природата органични вещества. Към тях принадлежат около половината от всички известни природни алкалоиди, растителни пигменти, антибиотици, витамини и други.

Бензотиазолът **1** и неговите производни са важен клас хетероцикленни съединения, които привличат върху себе си вниманието на учени, фармацевти и медицински химици по отношение на дизайна и синтеза на фармакологично важни структури съдържащи различно заместени молекулни групи.

Бензотиазоловото ядро е обект на редица научни изследвания, насочени към разработването на нови методи за синтез на структурно разнообразни аналози, притежаващи биологична активност. Важно приложение на бензотиазоловите съединения в медицината е използването им като ДНК и РНК маркери.

Възможността някои азотсъдържащи хетероцикленни съединения, като: хинолин, изохинолин, пиридин, имидазол, тиазол, бензимидазол и бензотиазол да проявяват свойства на циклични имини, разкрива пътища за синтез на различно заместени техни производни. Интерес представлява възможността за синтез на нови бензотиазолови съединения чрез мултикомпонентна реакция на междумолекулно α -амидоалкилиране.

Приоритетът на настоящия дисертационен труд е изследване и оптимизиране на взаимодействието на *N*-ацилиминиеви реагенти получени от бензотиазол и ацилхлориди с набор нуклеофили и приложение на мултикомпонентна реакция на α -амидоалкилиране от Манихов тип за получаване на бензотиазолови производни с потенциална биологична активност.

II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ НА ДИСЕРТАЦИЯТА

От литературния обзор става ясно, че липсват данни за изследване на взаимодействието на бензотиазол с ацилхлориди, с цел получаване на *N*-ацилиминиеви реагенти, както и данни за електрофилната реактивоспособност на такива интермедиати.

Свойствата на *N*-ацилиминиеви реагенти, получени от хетероциклени съединения, в качеството на циклични имини представляват интерес за синтетичната химия. Единствените публикации с резултати, получени при използване на бензотиазол са в Сборник Научни трудове на ПУ „П. Хилендарски”.

Във връзка с предхождащите изследвания и направеният литературен преглед, бе формулирана целта на дисертацията свързана с разширяване обсега на реакцията на междумолекулно амидоалкилиране за получаването на нови функционализирани на 2-ра позиция производни:

Приложение на *N*-ацилиминиеви реагенти от бензотиазол и ацилхлориди в мултикомпонентни реакции на α -амидоалкилиране от Манихов тип за синтеза на 2-заместени бензотиазолови съединения с потенциална биологична активност.

За осъществяване на поставената цел бе необходимо да се решат следните основни задачи:

1) Да се изследват възможностите за получаване и приложение на *N*-ацилиминиеви реагенти от бензотиазол и ацилхлориди в условията на мултикомпонентна реакция.

2) Да се синтезират нови 2-заместени бензотиазолови производни чрез мултикомпонентна реакция на α -амидоалкилиране на различни ароматни хетероциклени съединения.

3) Да бъде приложена мултикомпонентната реакция на α -амидоалкилиране между бензотиазол, ацилхлориди и метиленактивни съединения за синтез на нови 2-заместени производни.

4) Да се характеризират спектрално синтезираните бензотиазолови съединения и да се изследва потенциалната им активност.

5) Да се изследва възможността за получаване на бис-хетероциклени съединения, аналози на фитоалексина *Camalexin*, посредством реакция на окислителна ароматизация.

III. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

1. Мултикомпонентни реакции на α -амидоалкилиране на хетероароматни съединения

1.1. Мултикомпонентни реакции на α -амидоалкилиране на индол с използването на *N*-ацилиминиеви реагенти получени от бензотиазол

Първоначално бе изследвано влиянието на разтворителя върху равновесното взаимодействие между бензотиазол и етилхлороформиат, чрез добивите на получаващия се продукт от реакцията на амидоалкилиране на индол. За целта реакциите бяха проведени в различни безводни разтворители, а именно 1,2-дихлороетан, 1,4-диоксан, тетраhydroфуран и диетилов етер (Схема 1). Адуктообразуването бе проведено за 2 часа при стайна температура, а реакцията на амидоалкилиране с последващо добавяне на индол е проведена за 24 часа при стайна температура до получаване на 2-заместен продукт (**5a**, Схема 1). В хода на реакцията, хроматографски бе установено, че получаващият се продукт е нестабилен и претърпява последваща промяна. Вземайки предвид нестабилността на индола в кисела среда, за намаляване на киселинността (поради отделящият се хлороводород), реакцията бе проведена в присъствие на хлороводороден акцептор (Et_3N). В хода на реакцията, бавно на порции се добавя еквимоларно количество триетиламин, като рН на реакционната смес се поддържа под 7 (рН не се измерва, следи се по универсален индикатор). Установено е, че добавянето на еквимоларно количество триетиламин преди индола има негативно влияние и продукт **5a** не се получава.

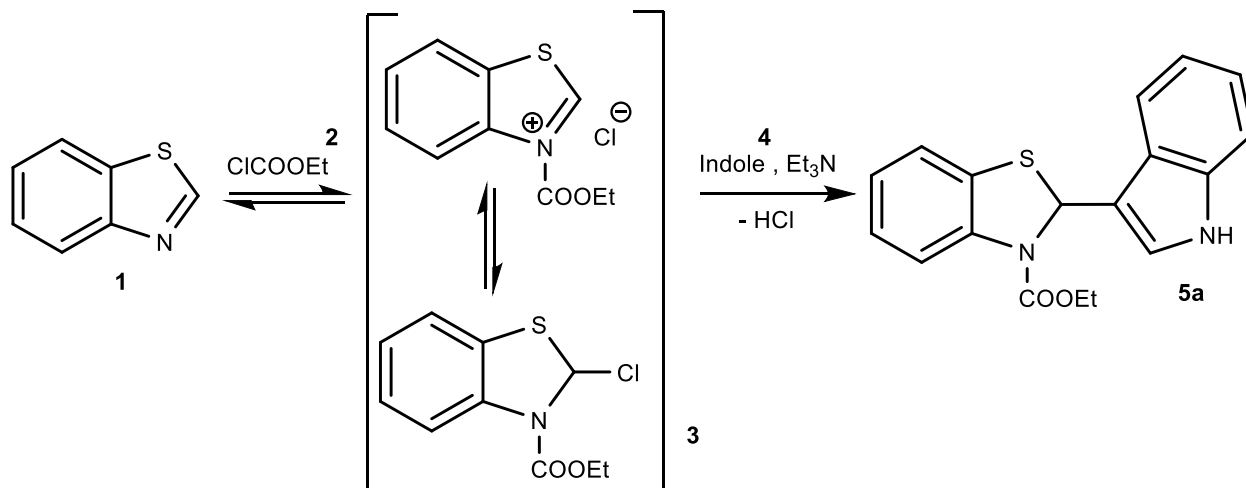


Схема 1

В Таблица 1 са показани получените добиви от проведените реакции с първоначално генериране на ацилиминиевия реагент при използването на различен разтворител:

Таблица 1 Използвани разтворители и добиви на продукт **5a**

Разтворител	Добив, %
1,2-дихлороетан	72
1,4-диоксан	71
Тetrahydroфуран (THF)	68

При тези експерименти бе установена минимална разлика в добивите (около 4 %) за три от използваните разтворители. За 24 часа при стайна температура и разтворител диетилов етер, се наблюдава пълното разпадане на продукта на амидоалкилиране **5a**. Така за по-нататъшните изследвания бе избран за разтворител 1,2-дихлороетан.

Във връзка с целта на дисертацията бяха предприети редица опити за провеждане на реакцията като мултикомпонентна, чрез последователно бързо смесване на изходните реагенти бензотиазол, етилхлороформиат, индол и триетиламин. Редът на смесване на реагентите има значение. Провеждането на α -амидоалкилирането на индол като мултикомпонентна реакция с етилхлороформиат в 1,2-дихлороетан с използването на хлороводороден акцептор, даде възможност за намаляване на реакционното време. Така същият продукт **5a** бе получен с добив 75 % за 4 часа (Таблица 2, стр. 8). По-този начин успешно бяха оптимизирани условията за осъществяване на реакцията, а именно - начин на смесване на изходните реагенти, подходяща температура и разтворител.

Получените резултати ни насочиха към опити за провеждането на мултикомпонентни реакции на α -амидоалкилиране, между бензотиазол, индол и други ацилхлориди (Схема 2, стр. 8). Успехът би дал възможност за изследване на влиянието на ацилната компонента върху реактивоспособността на *N*-ацилиминиевия реагент. Използваните ацилиращи реагенти (**2**, Схема 2) са алкилхлороформиатите - етилхлороформиат, метилхлороформиат, изопропилхлороформиат и 2,2,2-трихлороетил-хлороформиат (Трос-Cl). От киселинните хлориди използвахме - ацетилхлорид и бензоилхлорид.

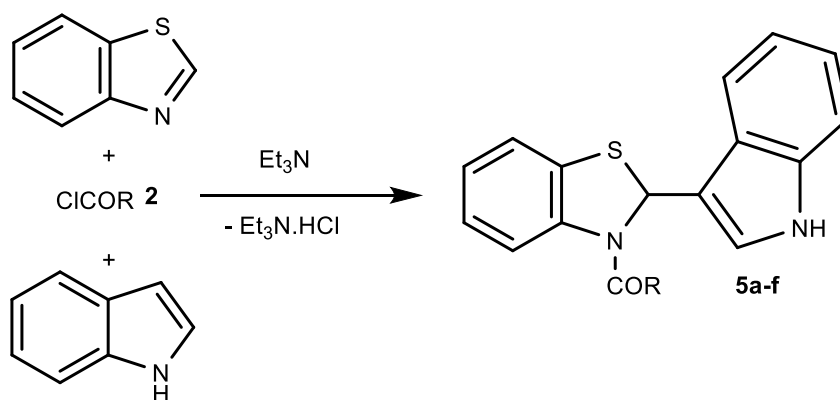


Схема 2

Получени са пет нови 2-заместени бензотиазолови производни **5** с добиви от 25 % до 92 % (Таблица 2).

Таблица 2 Реакционни условия за получаване и добиви на продукти **5a-f**

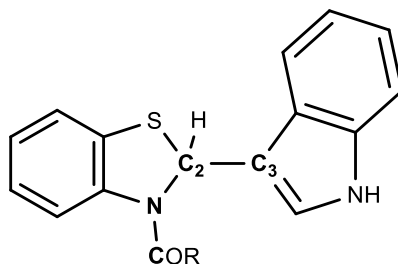
Продукт 5	R	T, °C	Време, h	Добив, %
a	-OCH ₂ CH ₃	25	4	75
b	-OCH ₃	25	4	85
c	-OCH(CH ₃) ₂	25	4	25
d	-OCH ₂ CCl ₃	0	1	92
e	-CH ₃	0	2	63
f	-C ₆ H ₅	25	2	60

Чрез тези изследвания бе установено, че скоростта на реакцията зависи от вида на ацилхлорида. Електронодонорни заместители в ацилната компонента намаляват реактивоспособността на ацилиминиевия реагент, докато електроноакцепторната група повишава реактивоспособността му. Така с използването на ацетилхлорид и Трос-Cl, реакцията протича с по-висока скорост при стайна температура, при което получаващите се продукти **5d** и **5e** бързо претърпяват последваща трансформация (проследяване с тънкослойна хроматография). Това ни накара да проведем реакциите при 0 °C, което даде възможност за по-добър контрол върху киселинността на средата и съответно до успешното изолиране на целевите съединения. С използването на бензоилхлорид, метил-, етил- и изопропилхлороформиат, реакциите протичат по-бавно и е необходима стайна температура, за време от 2 до 4 часа. В хода на реакциите е

използван триетиламин, като хлороводороден акцептор. Той се добавя бавно към реакционната смес за около 30 минути. Липсата на хлороводороден акцептор, води до осъществяване на странични превръщания в реакционната смес. Ходът на реакциите е проследен с тънкослойна хроматография с елуент смес петролев етер/диетилов етер (1:1), съдейки по наличието на нереагиралия индол. Бе потвърдена зависимостта, че степента на протичане на реакциите и добивите на очакваните продукти пряко зависят от стабилността на получаващите се *N*-ацилбензотиазолиевы йони *in situ*.

Получените кристални вещества **5a-f** бяха спектрално характеризирани с ЯМР, ИЧ спектроскопия и Масспектрометрия. Първоначално ¹H-, ¹³C-ЯМР спектрите на съединения **5a-f** снемме при 20 °C в разтворител CDCl₃ и честота на апарата 600 MHz. Дори и слабата киселинност дължаща се на онечиствания в използвания разтворител бе достатъчна за да предизвика химични промени на разтворените съединения **5a-f**. Това се дължи на тяхната нестабилност в кисела среда. В допълнение на това с разтворител CDCl₃, в ЯМР-спектрите бяха наблюдавани уширени сигнали, което допълнително затрудни тяхната коректна интерпретация.

От литературата е известно, че уширяване или сливане на сигнали може да се дължи на извършване на обменни процеси, тук най-вероятно дължащи се на ротамерни превръщания или по новообразуваната C₂-C₃ или по amidната N-C връзки в молекулата (Фиг. 1).

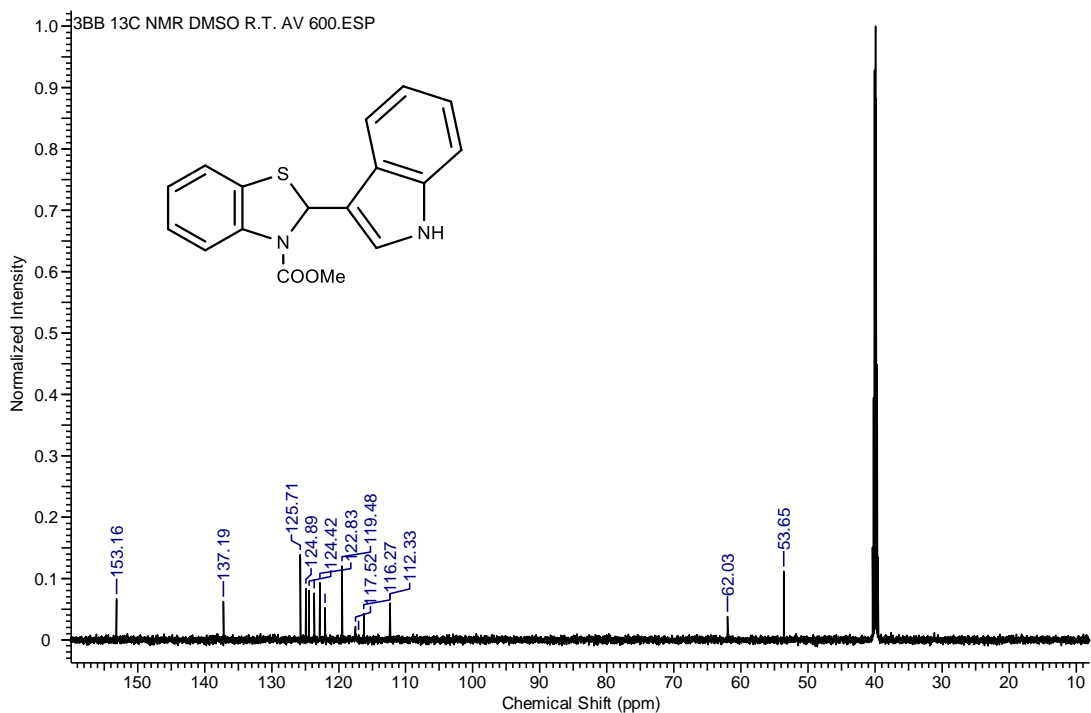


Фигура 1 Новообразувани връзки за продукти **5a-f**

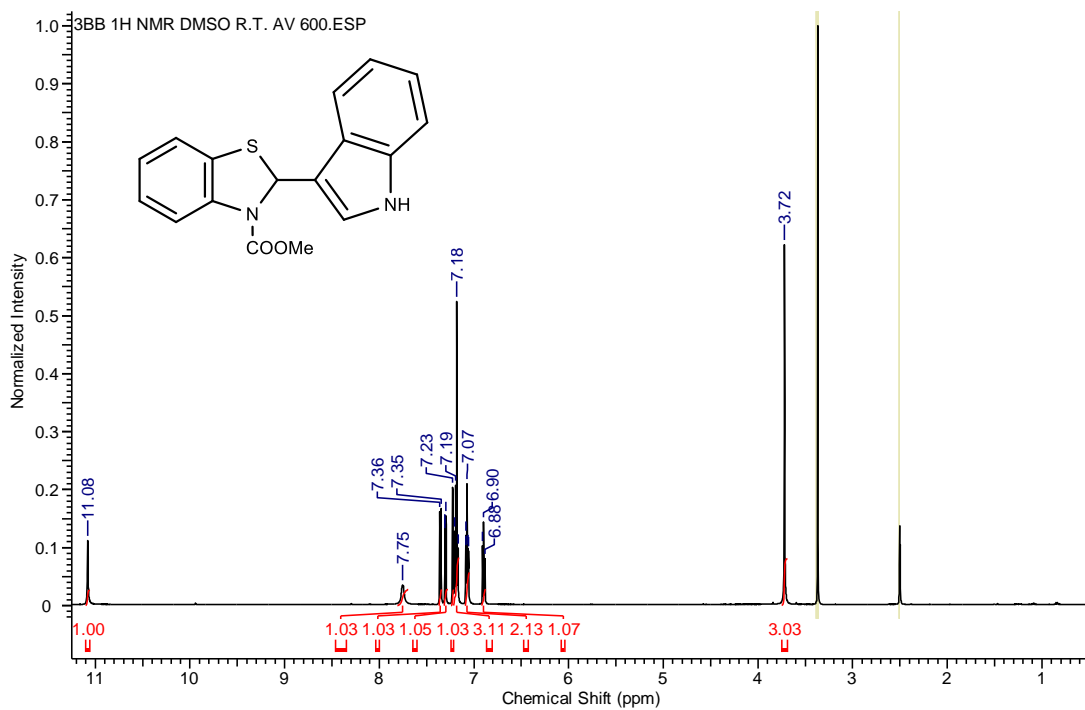
За подобряване качеството на спектрите, бе необходимо снемането им в различен разтворител. За тази цел бе използван DMSO-d₆ (за всички продукти **5**, без **5c** и **5f**). Промяната на разтворителя, води до регистрирането на по-ясни сигнали съответстващи като отместване и мултиплетност на очакваните за продукти **5a-f** (Фиг. 2, 3, стр. 10).

В ¹³C-ЯМР спектъра на съединение **5b** снет в CDCl₃ липсват два характеристични сигнала, а именно сигнал при около 60 ppm (62.0 ppm, Фиг. 2) отговарящ на sp³ хибридният въглероден атом

от бензотиазоловия фрагмент и сигнал за карбонилния въглерод, част от ацилния фрагмент (153.2 ppm, Фиг. 2).

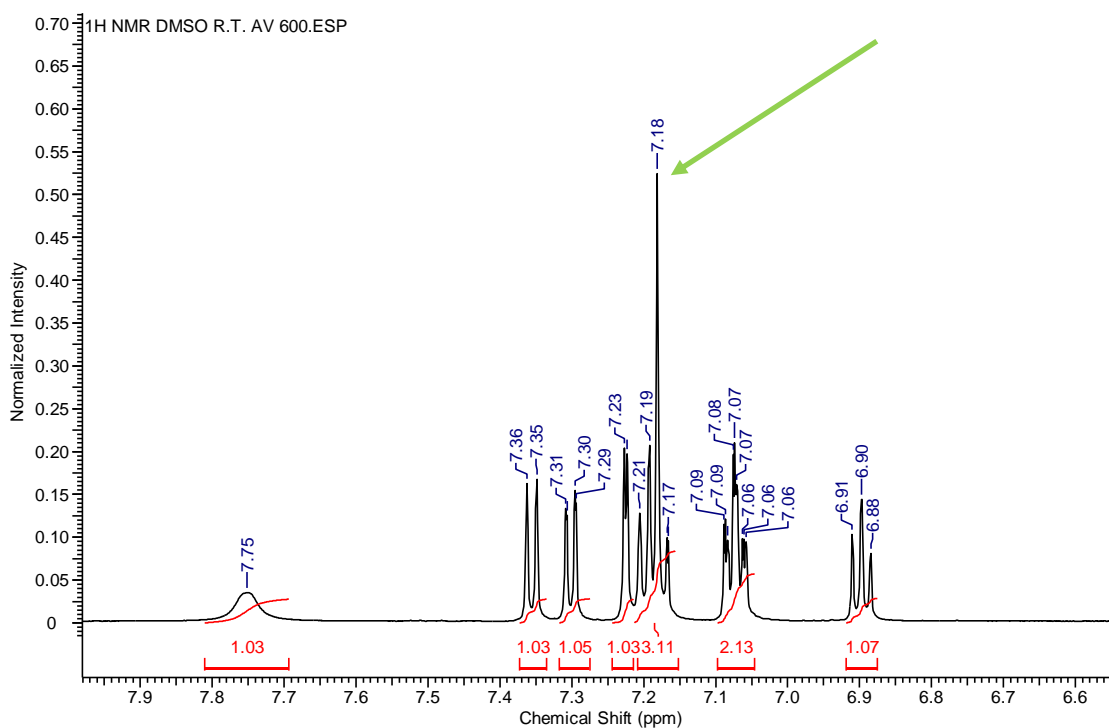


Фигура 2 ^{13}C -ЯМР спектър на съединение **5b** снет в DMSO-d_6 при ст.т. (150 MHz)

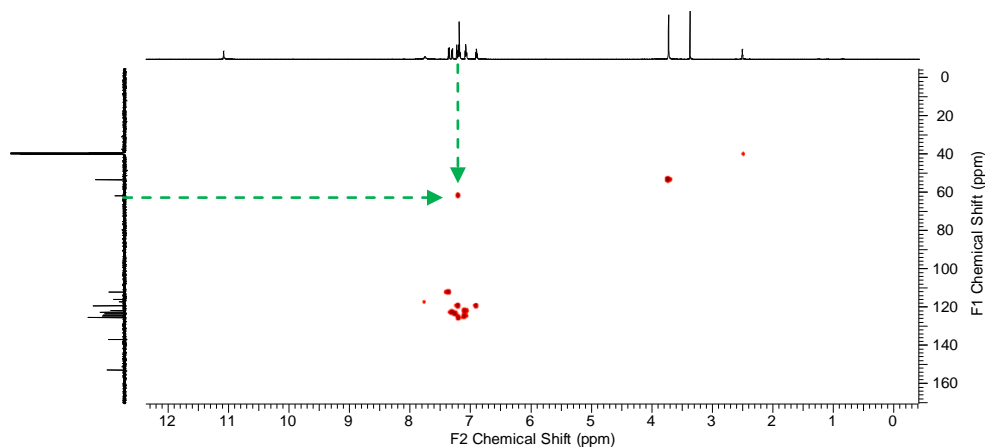


Фигура 3 ^1H -ЯМР спектър на съединение **5b** снет в DMSO-d_6 при ст.т. (600 MHz)

При анализирането на получените ^1H -ЯМР спектри, важно бе да бъде отнесен сигнала, за водородния атом при новообразувания асиметричен център - sp^3 хибридният въглерод C_2 . За целта бе използвана двумерна 2D HSQC техника (Фиг. 5). Установено бе, че в спектрите на продукти **5a-f**, се наблюдава интензивен синглет, припокриващ се със сигналите от ароматната част. Изполваната техника спомогна за идентифицирането на тези сигнали, разположени в интервала (7.13 – 7.34 ppm), доказващи структурата на продукти **5a-f**.



Фигура 4 ^1H -ЯМР на съединение **5b** снет в DMSO-d_6 при ст.т. (600 MHz) в интервала 6.88 – 7.75 ppm



Фигура 5 2D-HSQC двумерен спектър на съединение **5b** снет в DMSO-d_6

Както вече бе споменато, установено бе че, в кисела среда съединенията **5a-f** са нестабилни и в хода на реакцията търпят промяна като се получава един и същ продукт. Същият бе изолиран след пречистване с колонна хроматография от реакцията с използването на бензоилхлорид за 24 часа при стайна температура и спектрално характеризирани като трииндолилметан **6** с висок добив от 76 %. В хода на реакцията не бе използван Et₃N.

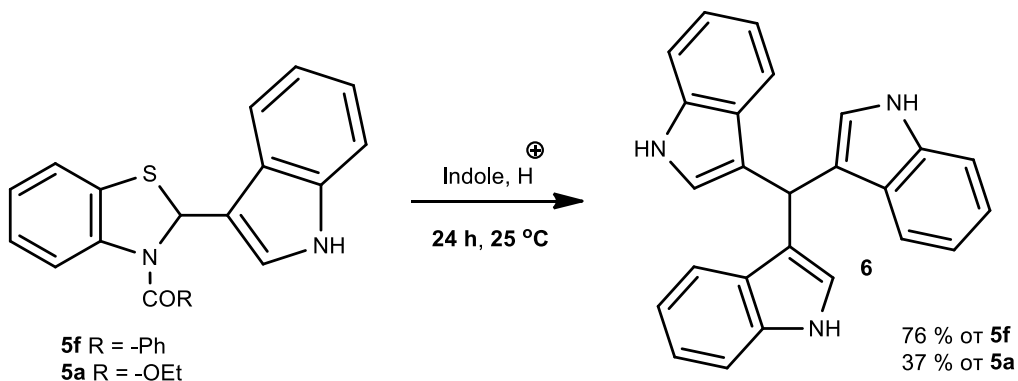


Схема 3

Това превръщане ни доведе до хипотезата, че за продукти **5a-f** в кисела среда се осъществява „отваряне“ на тиазолиновия пръстен до получаването на електрофилен интермедиат, който лесно встъпва в последваща реакция с индол до получаването на трииндолил метан (Схема 4, предполагаем механизъм).

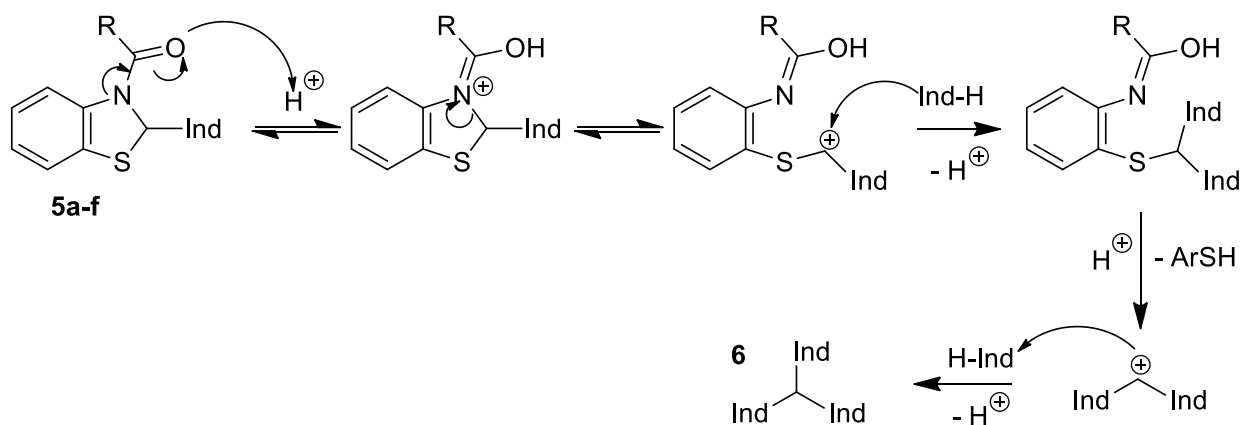


Схема 4

За да докажем тази хипотеза смесихме чисто вещество **5a**, с два еквивалента (2eq) индол в 10 mL смесен разтворител от 1,2-дихлороетан/трифлуороцетна киселина (10:1). След 24 часа при стайна температура, установихме пълното изчерпване на изходното съединение **5a**. Трииндолилметан бе изолиран след хроматографско пречистване, с добив от 37 % (Схема 3, стр. 12), което потвърди предположението, че съединения **5** в протонно кисела среда взаимодействат с индол.

1.2. Мултикомпонентни реакции на α -амидоалкилиране на индол с използването на *N*-ацилиминиеви реагенти получени от тиазол

В опити за разширяване на възможностите на мултикомпонентната реакция, потърсихме условия за използването на тиазол **7**, в ролята на цикличен имин за получаване на *N*-ацилиминиеви реагенти и приложението им в изследваните мултикомпонентни реакции на α -амидоалкилиране. В тази връзка бяха потърсени условия за провеждане на мултикомпонентни реакции на амидоалкилиране на индол, с използването на *N*-ацилиминиеви йони, получени от тиазол и алкилхлороформиати (Схема 5).

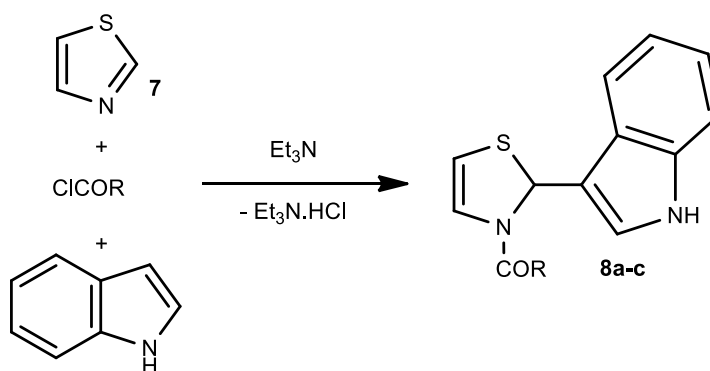


Схема 5

Реакциите проведохме чрез последователно смесване на тиазол, алкилхлороформиати и индол. От алкилхлороформиатите - метил-, етил- и 2,2,2-трихлороетил-хлороформиат. Реагентите бяха смесени в безводен 1,2-дихлороетан в предварително охладен на ледена баня реакционния съд, при постоянно разбъркване. В хода на реакциите в продължение на 30 минути бе добавяно еквимоларно количество хлороводороден акцептор (Et₃N). При провеждането на реакциите с метил- и етилхлороформиат, след 30 минути разбъркване на реакционната смес при 0 °C, тя се оставя за още 1 час при стайна температура с цел по-пълното взаимодействие на реагентите.

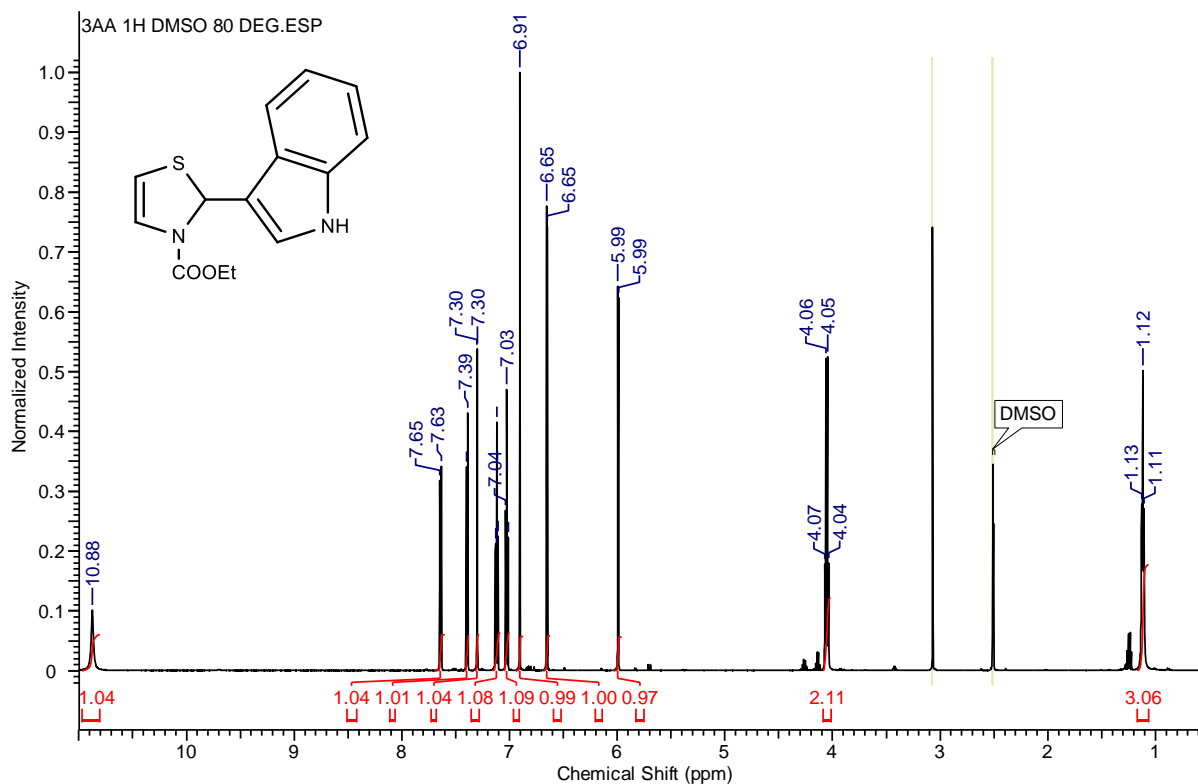
Степента на протичане на реакцията се следи чрез тънкослойна хроматография в система смес петролев/диетилов етер (1:1). След 1 час и 30 минути от започването, не се наблюдава промяна в съотношението очакван продукт/индол. След хроматографско пречистване продуктите бяха изолирани с добиви 83 % за **8a** и 90 % за **8b** (Таблица 3).

При използването на Трос-Cl, реакцията протече значително по-бързо - за 1 час при 0 °C, до пълно взаимодействие на изходните реагенти до продукт **8c**, с добив от 96 %. Очаквано и тук се наблюдава зависимост на електрофилната реактивоспособност на ацилиминиевите реагенти на тиазола от структурата на ацилната компонента. Наблюдаваната зависимост се потвърждава и от добивите на продукти **8a-c**.

Таблица 3 Реакционни условия за получаване и добиви на продукти **8a-c**

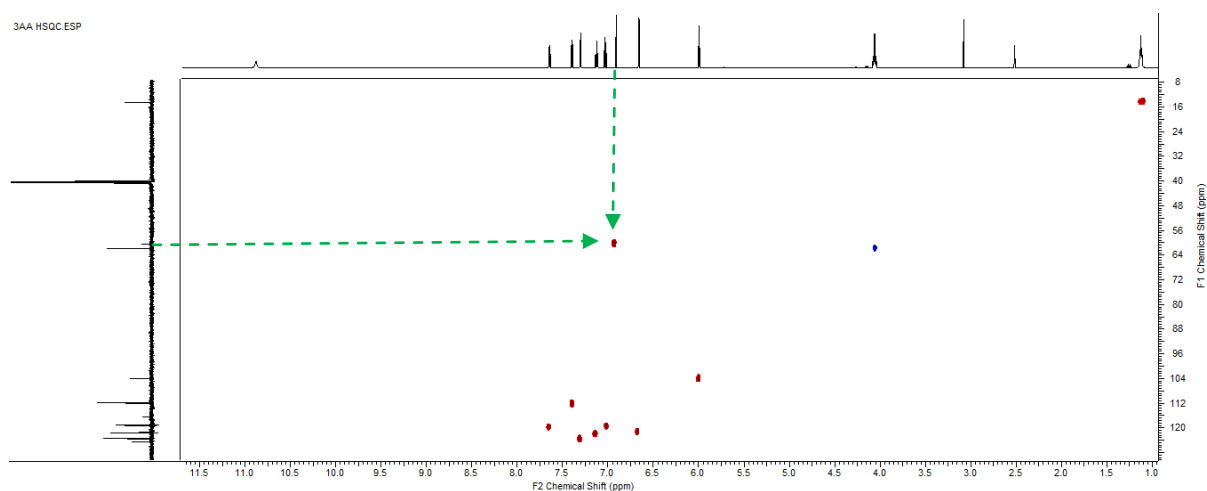
Продукти 8	R	T, °C	Време, h	Добив, %
a	-OCH ₂ CH ₃	0 – 25	1.5	83
b	-OCH ₃	0 – 25	1.5	90
c	-OCH ₂ CCl ₃	0	1	96

Получените продукти бяха спектрално характеризирани. Първоначално ¹H, ¹³C- ЯМР спектъра на съединения **8a-c** бяха заснети при 20 °C в разтворител DMSO-d₆ и честота на апарата 600 MHz. При тези условия, подходящи за бензотиазоловите съединения, тук бяха наблюдавани ротамерни ефекти водещи до уширени и трудни за отнасяне сигнали. С цел увеличаване на скоростта на ротамерния обмен и получаване на усреднени сигнали, се наложи спектрите да бъдат заснети при нагряване (80 °C). На Фиг. 6, стр. 15 е показан спектърът на съединение **8a** в DMSO-d₆ при нагряване (80 °C).



Фигура 6 ^1H -ЯМР спектър на съединение **8a** снет в DMSO-d_6 при $80\text{ }^\circ\text{C}$ (600 MHz)

Действително при тези условия бяха регистрирани ясни сигнали, съответстващи като отместване и мултиплетност на очакваните структури. И тук бе използвана двумерна техника, която показва точното разположение на сигнала отговарящ на H-Csp^3 (Фиг. 7). При новосинтезираните 2-заместени тиазолини **8a-c** този сигнал е в интервала (6.90 – 6.99 ppm).



Фигура 7. 2D-HSQC двумерен спектър на съединение **8a** снет в DMSO-d_6

1.3. Мултикомпонентни реакции на α -амидоалкилиране на индол с използването на *N*-ацилиминиеви реагенти получени от имидазол

За установяване на границите за приложение на мултикомпонентната реакция, подходът бе приложен и за имидазол **9** с цел изследване на зависимостта на реакцията от вида на иминната компонента. При успешен резултат това ще даде възможност да бъде предложен един нов алтернативен метод за получаване на 2-(3-индолил)-имидазолини **10a-e**, чрез мултикомпонентен синтез (Схема 6).

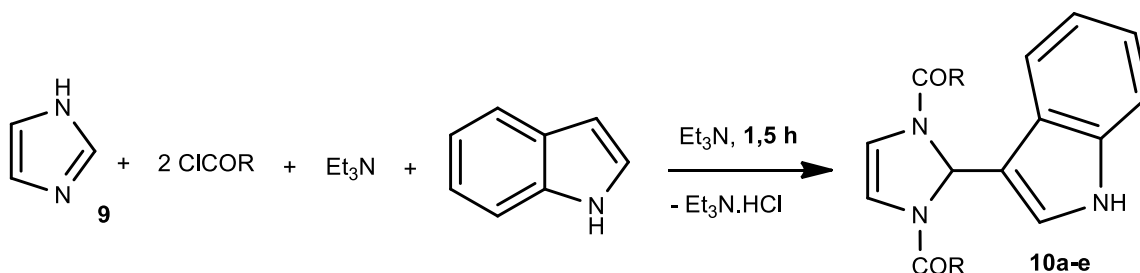


Схема 6

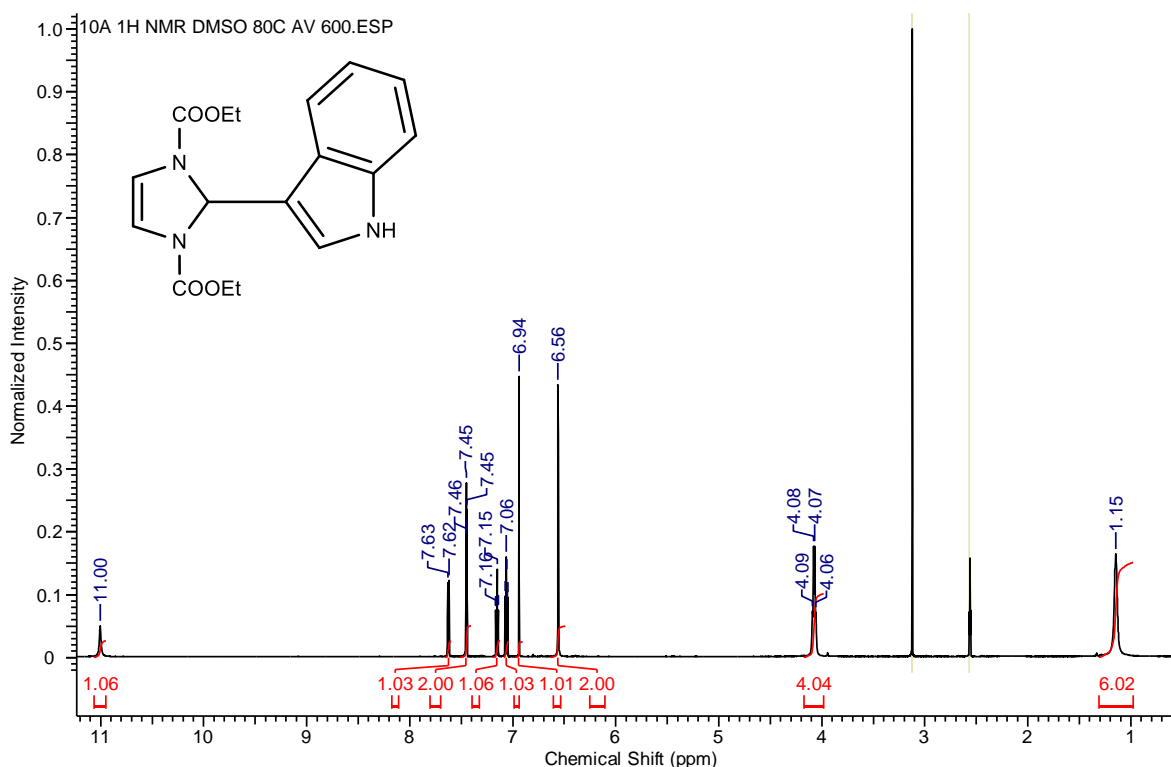
Реакциите бяха осъществени чрез активиране на имидазоловия пръстен с 2 еквивалента от използвания ацилхлорид, непосредствено след това към реакционната смес добавихме по 1 еквивалент индол и триетиламин. В първите 30 минути от реакционния ход бе добавен на капки и втори еквивалент триетиламин (с цел поддържане на слабо кисела среда) (Таблица 4).

Таблица 4 Реакционни условия за получаване и добиви на продукти **10a-e**

Продукт 10	R	T, °C	Добив, %
a	-OCH ₂ CH ₃	0 – 25	94
b	-OCH ₃	0 – 25	97
c	-OCH ₂ CCl ₃	0 – 25	92
d	-CH ₃	0	70 (81)*
e	-C ₆ H ₅	0	60 (67)*

*Добиви, получени с използване на смес от индол и триетиламин в реакцията на амидоалкилиране.

Съединения **10a-e** бяха изолирани с много добри добиви (от 60 % до 97 %), за време от 1.5 часа, при първоначална температура 0 °С за 30 минути и последваща ст.т (25 °С) (в реакциите с алкилхлороформиати) и 0 °С (при използването на ацетил- и бензоил хлориди) (Таблица 4, стр. 16). И тук бе потвърдена зависимостта на скоростта на реакцията от вида на киселинния хлорид, като добивите на получените продукти при използване на алкилхлороформиати са значително по-високи (**10a-c**; 92 % – 97 %). При използване на ацетилхлорид и бензоилхлорид в хода на взаимодействието се наблюдава бързо разпадане на целевия продукт на реакцията с промяна на цвета на реакционната смес. Това води до значително понижаване на добивите на изолираните продукти. По-високата реактивоспособност на *N*-ацилиминиевите реагенти, получени от имидазол с използване на ацетил- и бензоилхлорид наложи провеждането на реакциите при охлаждане на ледена баня (0 °С), за същото реакционно време. При тези условия, добивите на продукти **10d** и **10e** бяха повишени повече от два пъти (Таблица 4, **10d** - 70 %; **10e** - 60 %). С цел опити за предотвратяване на последващото превръщане на съединения **10d** и **10e**, реакцията е проведена с използване на смес от индол и триетиламин в реакцията на амидоалкилиране. Така добивите на продукти **10d** и **10e** са повишени до 81 % и 67 % съответно (посочени в Таблица 4, със *).



Фигура 8 ¹H-ЯМР спектър на съединение **10a** снет в DMSO-d₆ при 80 °С (600 MHz)

За имидазоловите производни също се наблюдават ротамерни превръщания, които водят до лошото качество на регистрираните ЯМР спектър (наблюдавано и в предишни примери). Спектрите бяха заснети в ратворител DMSO-d₆ и при температура (80 °C).

На Фиг. 8, стр. 17 е показан ¹H-ЯМР спектърът на съединение **10a** снет при оптимизираните условия (DMSO-d₆, 80 °C).

1.4. Мултикомпонентни реакции на α-амидоалкилиране на пиrol с използването на N-ацилиминиеви реагенти получени от бензотиазол

Във връзка с целта на дисертационния труд интерес представлява установяване на границите на приложение на тези реакции в зависимост от нуклеофила. При по-ранни изследвания с N-ацилиминиеви реагенти, получени от 3,4-дихидроизохинолин и ацилхлориди успешно са амидоалкилирани пиrol, тиофен и пиазин. Опитите за функционализиране на тези ароматни хетероцикли с N-ацилиминиеви реагенти от бензотиазол и ацилхлориди, обаче бяха успешни единствено за пиrolа. Наблюдавахме по-добра реактивоспособност на пиrolа в сравнение с индола, като реакцията протича с бързо отделяне на хлороводород при стайна температура. Затрудненията при контролиране на киселинността на средата доведоха до частично последващо взаимодействие на получаващите се продукти на амидоалкилиране с промяна в цвета на реакционната смес. След вариране на реакционната температура и последователността на смесване на реагентите бяха намерени условия за провеждането на мултикомпонентни реакции между бензотиазол, пиrol **11** и различни ацилхлориди (Схема 7).

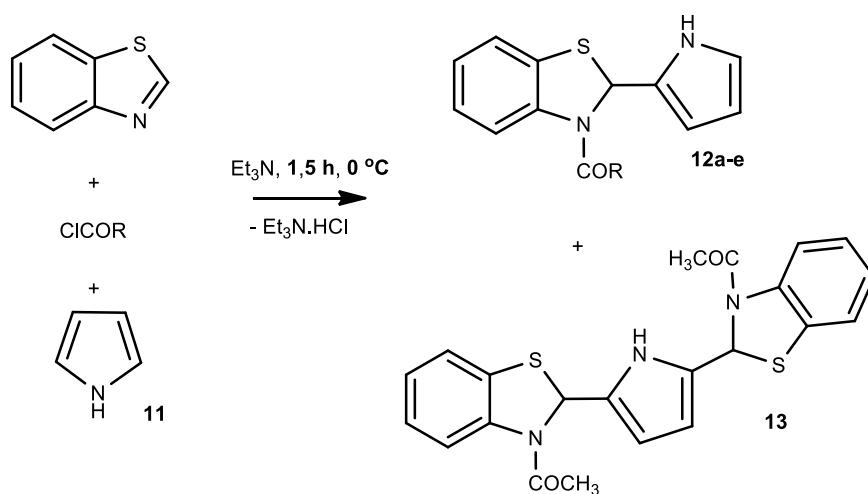


Схема 7

Установено бе, че реакциите протичат региоселективно с получаването на 2-заместени продукти **12a-e**, с добиви от 55 % до 93 %, при температура 0 °C за време от 1,5 часа (Таблица 5).

Таблица 5 Добиви на продукти **12-a-e**, **13**

Продукт	R	Добив, %
12a	-OCH ₂ CH ₃	55
12b	-OCH ₃	67
12c	-OCH ₂ CCl ₃	93
12d	-CH ₃	58
12e	-C ₆ H ₅	57
13	-	13

Потвърдена бе зависимостта, наблюдавана в реакциите с индол, че структурата на ацилхлорида оказва влияние върху скоростта и хода на реакцията. Най-реактивоспособни са *N*-ацилиминиевите реагенти, получени при взаимодействие на бензотиазол с ацетил- и бензоилхлорид, последвани от Трос-хлорид, метил- и етилхлороформиат. При тези мултикомпонентни реакции, проведени при охлаждане (на ледена баня) ясно се наблюдава разликата в добивите на продуктите с използване на алкилхлороформиати. По-ниските добиви на **12d** и **12e** се дължат на последващи трансформации. В един от случаите, с използването на ацетилхлорид, при същите реакционни условия бе изолиран дизаместен продукт **13** като смес от диастереоизомери - с добив от 13 % (Схема 7, стр. 18).

В процеса на хроматографско разделяне продукт **13** бе изолиран от колоната като смес от изомери (TLC). Впоследствие маспектъра на изолираната смес показва наличието на един базов пик HRMS *m/z* (ESI) - 444.0827, доказващ получаването на дизаместен продукт, като смес от двата възможни диастереоизомера.

2. Мултикомпонентни реакции на α -амидоалкилиране на метиленактивни съединения

2.1. Получаване на синтетични аналози на *Salvadoricine*

В публикация от 2010 г. на научната група са представени изследванията върху междумолекулното α -амидоалкилиране на метилкетони с ацилиминиеви реагенти, получени от

азотсъдържащи хетероцикли (в това число бензотиазол) и етилхлороформиат. Провеждането на реакцията с участие на бензотиазол за 5 часа при кипене на реакционната смес в разтворител 1,2-дихлороетан води до добив на **15a** - 35 %.

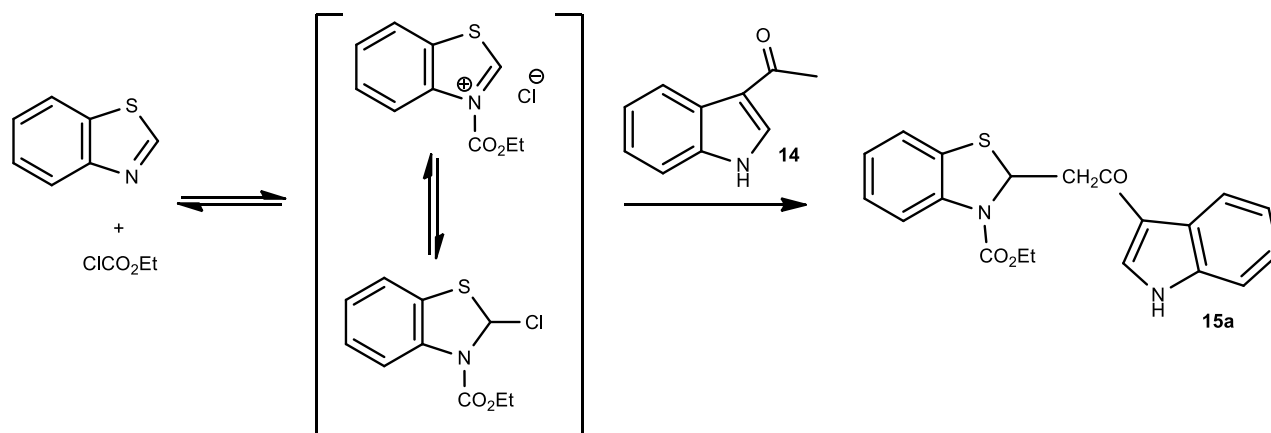


Схема 8

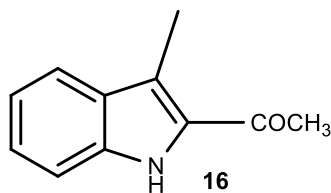
Високата реактивоспособност на изследваните от нас *N*-ацилиминиеви реагенти, получени при взаимодействие на бензотиазол и ацилхлориди спрямо индол и пирол в условията на мултикомпонентна реакция на α -амидоалкилиране, провокира необходимостта от ревизия на предхождащите изследвания. Направените по-рано изводи за необходимост от нагряване за получаване на ацилиминиевите реагенти вероятно са причина за по-ниските добиви на продуктите. Нагряването вероятно влияе на равновесната реакция между бензотиазол и ацилхлорид в обратна посока (Схема 8).

Работната хипотеза бе, че удължаване на реакционното време при по-ниски температури ще доведе до повишаване на добивите, като получаването на продукт на амидоалкилиране ще изтегля равновесието на дясно. За целта бе приложена мултикомпонентна реакция на амидоалкилиране на 3-ацетилиндол **14** с бензотиазол, етил- и метилхлороформиат (Схема 9, стр. 22). За оптимизиране на условията са варирани разтворителя, реакционната температура, количествата от изходните вещества и реда на смесването им. При изследване на трикомпонентните реакции на α -амидоалкилиране установихме, че в разтворител безводен дихлороетан и нагряване (60–100 °C) в продължение на 5 часа реакциите протичат с получаването на два продукта и остатък нереагирал 3-ацетилиндол. След хроматографско

разделяне, бяха изолирани както продуктите **15a, b**, така и известни количества от нереагиралия 3-ацетилиндол **14** (24 % при реакцията с етилхлороформиат и 55 % с метилхлороформиат).

При провеждане на реакциите в разтворител ацетонитрил за време от 80 часа при стайна температура, успяхме значително да повишим добива на продуктите (74 % с етилхлороформиат и 53 % с метилхлороформиат - след пречистване с колонна хроматография) (Таблица 6, стр. 22). В потвърждение на направената хипотеза бе установено, че увеличаването на реакционното време при стайна температура, води до по-пълно изчерпване на изходните реагенти и получаване на целевите продукти. Например при провеждане на реакциите за 1 седмица при стайна температура в ацетонитрил, се наблюдава изкрystalизиране на продуктите. Последващото отдекантиране на разтвора и промиване на кристалите с ацетонитрил, доведе до изолирането им в чисто състояние. Получените добиви са по-високи от тези след хроматографско разделяне, а именно (80 % с етилхлороформиат и 65 % с метилхлороформиат) (Таблица 6).

След 2 седмици при стайна температура повишаването на добивите е минимално - 2 % и 5 % за двете реакции - (82 % с етилхлороформиат и 70 % с метилхлороформиат). Така успешно са синтезирани с добри добиви два аналога **15a, b** на алкалоида *Salvadoricine* (**16**, Фиг. 9)



Фигура 9 *Salvadoricine*

Структурата на новополучените съединения **15a, b** е доказана със спектроскопски методи. Позицията на заместване при протичане на взаимодействието в молекулата на изходния 3-ацетилиндол е доказана с ЯМР-спектри.

В ^1H -спектрите на съединения **15a, b** снети в DMSO-d_6 при $80\text{ }^\circ\text{C}$ (600 MHz) са наблюдавани характерен набор от дублет от дублети (dd) в диапазона $\delta = 3.53 - 3.63$ ppm, отговарящи на протоните от CH_2 групата съседна на новообразувания асиметричен център (Фиг. 10, стр. 23).

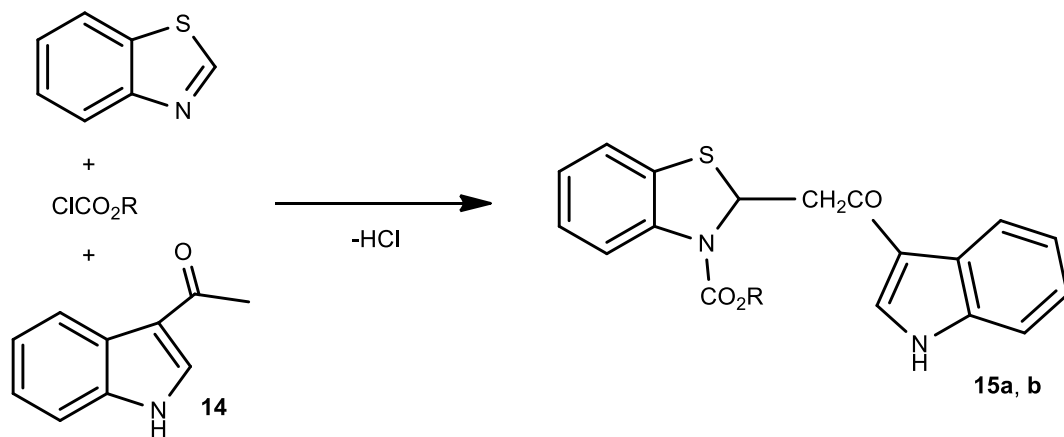
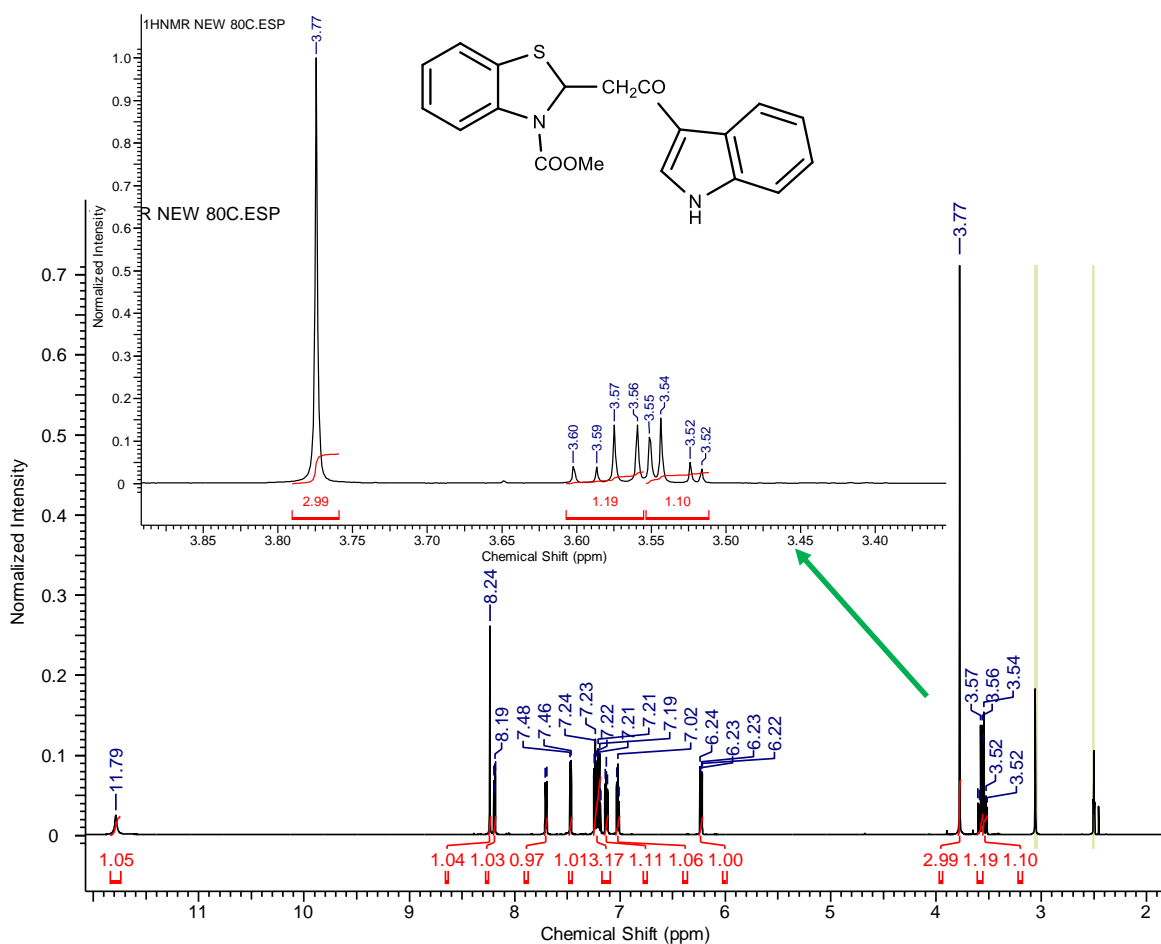


Схема 9

Таблица 6 Реакционни условия и добиви на продукти **15a, b**

15	R	Време, h / T, °C	Добив, %	Време, h / T, °C	Добив, %	Време, h / T, °C	Добив, %
		Дихлороетан		Ацетонитрил		Ацетонитрил	
a	-Et	5 h / 85 °C	55	80 h / 25 °C	74	1 седмица / 25 °C	80
b	-Me	5 h / 60 °C	25	80 h / 25 °C	53	1 седмица / 25 °C	65



Фигура 10 ^1H -ЯМР спектър на съединение **15b** снет в DMSO-d_6 при $80\text{ }^\circ\text{C}$ (600 MHz)

Характерно разцепени са и сигналите отговарящи за H-Csp^3 - „dd“ 6.30 ppm (при **15a**) и 6.23 ppm (при **15b**). Това характерично разцепване се дължи на успешно образуваната C-C връзка и наличието на два протона от CH_2 - групата. В ^1H -ЯМР спектрите на двата продукта, ясно се наблюдава и присъствието на синглет отговарящ за H-Csp^2 от индоловия фрагмент при 8.30 ppm **15a** и 8.24 ppm **15b**. Наличието на тези синглети отхвърля възможността за протичане на реакция на заместване в молекулата на индоловия хетероцикъл. Тези ЯМР-спектри са достатъчно доказателство за местоположението на протеклата реакция на α -амидоалкилиране при получаването на двата продукта **15a, b**, а именно на α -позиция спрямо карбонилната група.

2.2. Мултикомпонентни реакции на α -амидоалкилиране на бензилиденацетон до получаване на бензотиазолови производни с потенциална антитуморна активност

Потърсихме условия за приложение мултикомпонентна реакции на α -амидоалкилиране между бензотиазол, етил-, метилхлороформиат и бензилиденацетон **17** (Схема 10).

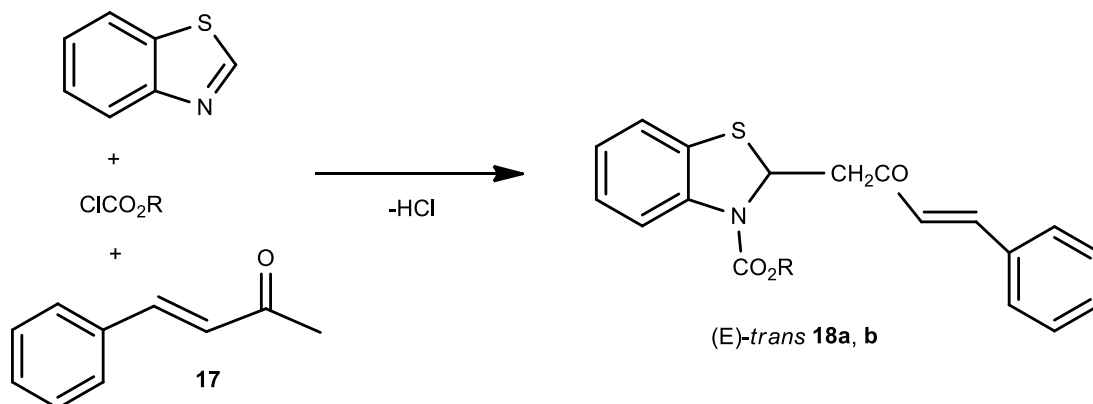


Схема 10

Взаимодействието с този ненаситен кетон протича по-бавно от това с използването на 3-ацетилиндол, а получените продукти **18a, b** са с по-ниски добиви (Таблица 7). Предполагаме, че тази разлика се дължи на наличието на стиролов фрагмент в молекулата на бензилиденацетона, оказващ влияние върху СН-киселиността на метиловата група в съседство с карбонилния въглерод. И тук както при вече осъществените реакции (Схема 10), по-дългото време за протичане на взаимодействията при меки условия оказват положително влияние. Увеличаването на реакционното време от 5 до 80 часа при стайна температура за двете реакции, води до повишаване на добивите на продукти **18a, b** с около 25 % (Таблица 7).

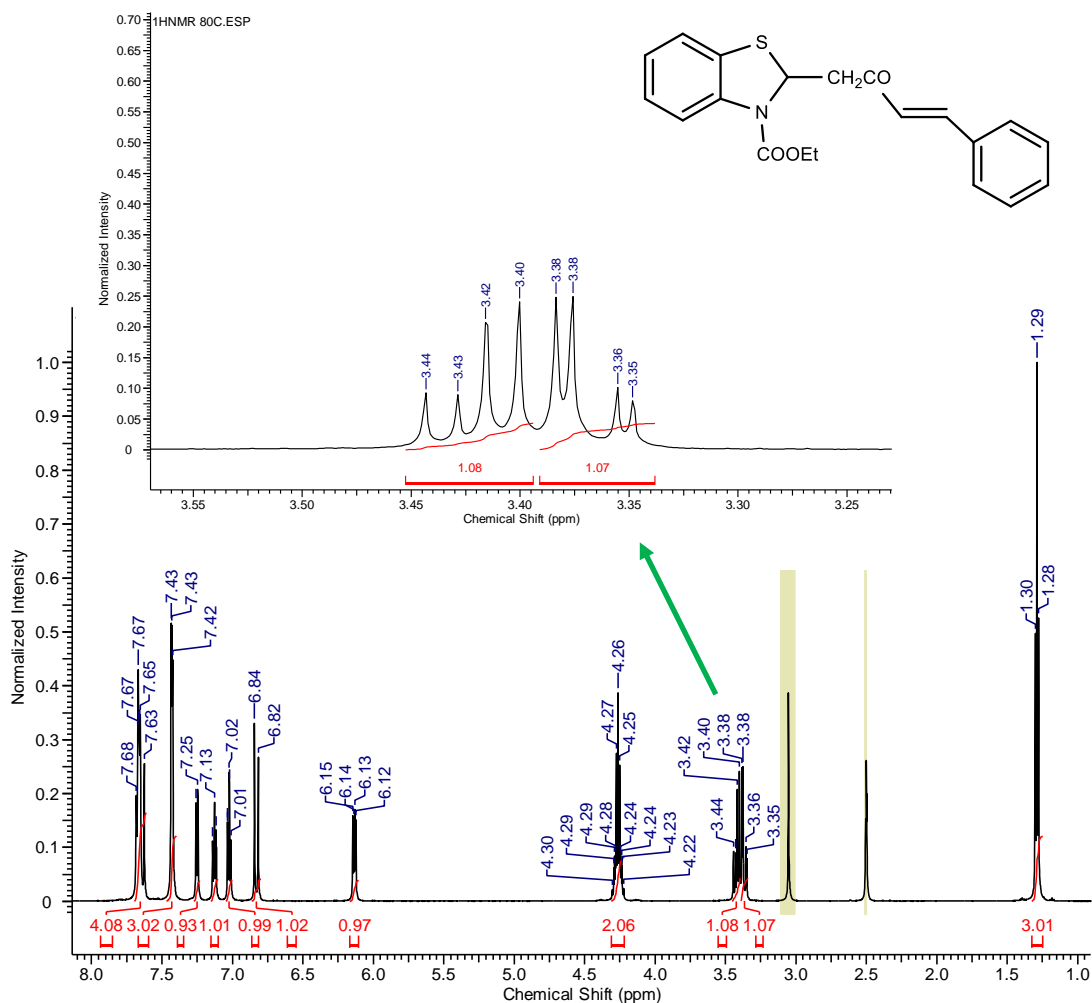
Таблица 7 Реакционни условия за получаване и добиви на **18a, b**

18	R	Време, h / T, °C Ацетонитрил	Добив, %	Време, h / T, °C Дихлороетан	Добив, %
a	-Et	5 h / 25 °C	24	80 h / 25 °C	50
b	-Me	5 h / 25 °C	28	80 h / 25 °C	55

Структурата на продукти **18a** и **18b** е доказана чрез използването на ^1H - ^{13}C -ЯМР спектри снети в DMSO-d_6 (600 MHz). На Фиг. 11 е показан ^1H -ЯМР спектърът на **18a** с облатта на характерните сигнали за метиленовата група.

И тук са наблюдавани характеристичните сигнали за CH_2 групата свързана с новообразувания sp^3 хибриден въглероден атом при продуктите **18a**, **b**. Двата дублет от дублети (“dd”, “dd”) са в интервала $\delta = 3.37 - 3.49$ ppm. Сигналят за протона при асиметричния въглероден атом - “dd” е при около 6.14 ppm (при **18a**) и 6.08 ppm (за **18b**).

Разположението на сигналите в ^1H -ЯМР спектрите на двата продукта, отговарящи за двата съседни протона при двойната връзка (H-Csp^2), доказва конфигурацията - очаквано E (*trans*). Сигналите са наблюдавани като дублет в интервала 6.83 – 6.85 ppm (за единия протон) и дублет при 7.64 – 7.70 ppm (за другия) с висока константа на спин-спиново взаимодействие $J = 16.4$ Hz.



Фигура 11 ^1H -ЯМР спектърът на съединение **18a** снет в DMSO-d_6 при 80°C (600 MHz)

Опитите ни за използване на киселинни хлориди в тези реакции не бяха успешни. Търсенето на условия за амидоалкилиране на кетони (без активиране) с *N*-ацетил и *N*-бензоил-бензотиазалиеви реагенти продължава.

2.3. Мултикомпонентни реакции на α -амидоалкилиране на циклични кетони

Поради интереса към приложението на мултикомпонентните реакции за синтез на разнообразни бензотиазолови съединения, изследванията ни бяха насочени към проучване на възможността за взаимодействието между бензотиазол, алкилхороформиати и инданони **19** в условията на мултикомпонентна реакция (Схема 11). Установено бе, че реакцията с използването на бензотиазол, метилхороформиат и инданон като нуклеофилен реагент в еквимоларно отношение протича успешно след смесване на реагентите в безводен дихлороетан и кипене на реакционната смес (80 °C) за 2 часа. При тези условия се наблюдава получаването на два продукта. След провеждане на хроматографско разделяне на препаративна колона с носител силикагел и елуент смеси петролев етер/диетилов етер е изолиран един продукт **20b**, под формата на безцветни кристали с добив от хроматографска колона - 86 % (Таблица 8, стр. 27). Втори продукт не бе изолиран. Вероятно при мултикомпонентната реакция се получава смес от диастереоизомери при хроматографирането на които протича реакция на епимеризация в хроматографската колона поради възможността за енолизация (във фрагмента от инданона). С използването на етилхороформиат при същите реакционни условия бе изолиран продукт **20a** - с добив от 76 %.

Изследванията показаха, че за амидоалкилиране на 3,4-метилендиокси инданон, оптималните реакционни условия са - 24 часа при стайна температура, при които продуктите **20c**, **d** са получени с добиви 60 % и 81 % (Схема 11, Таблица 8).

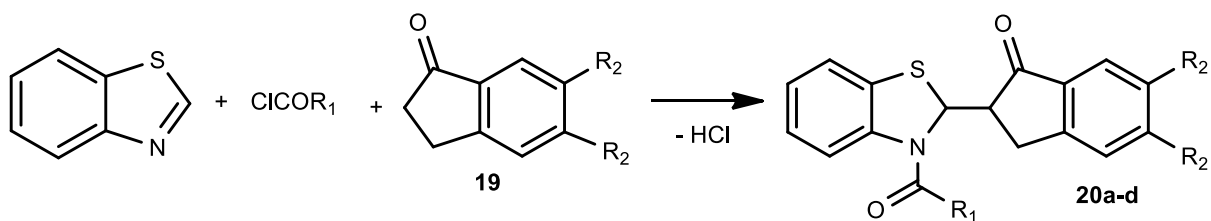
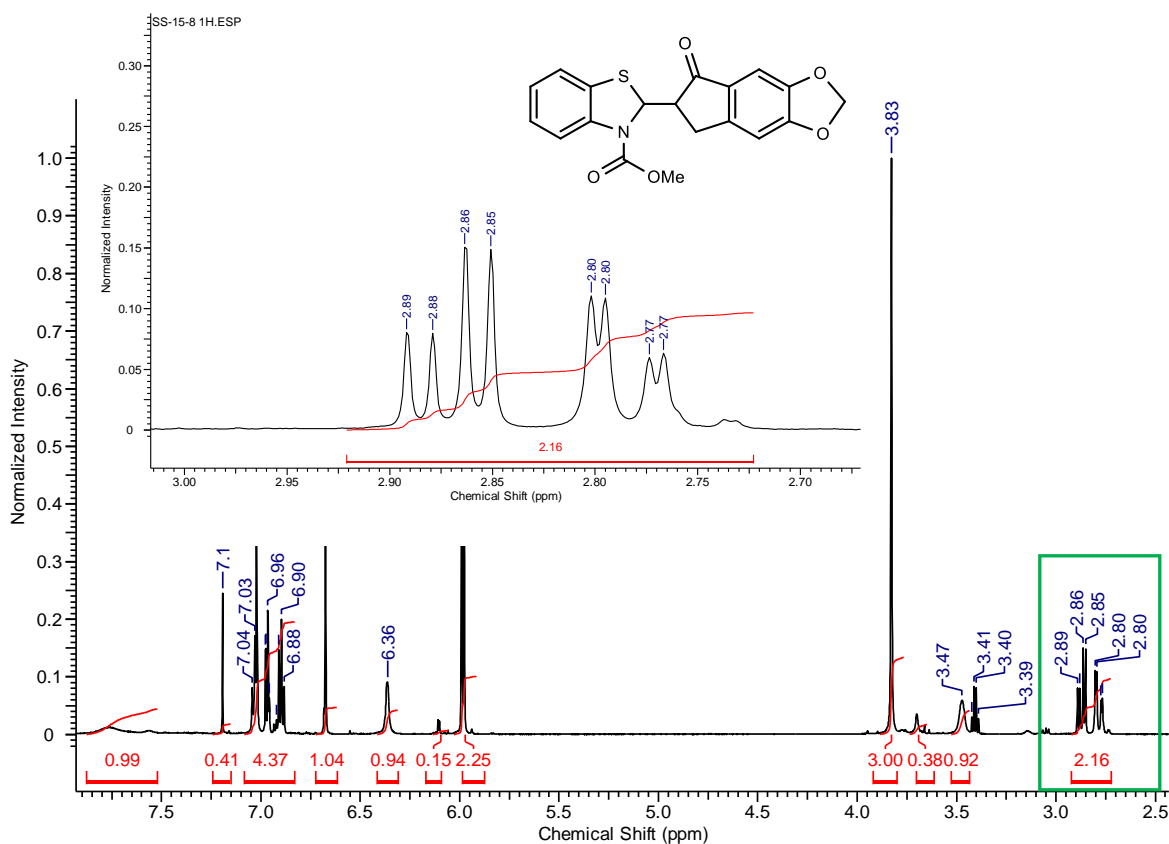


Схема 11

Таблица 8 Реакционни условия за получаване и добиви на продукти **20a-d**

Продукт	R ₁	R ₂	Време, h / T, °C	Добив, %
20a	-OEt	H	2 h / 80 °C	76
20b	-OMe	H	2 h / 80 °C	86
20c	-OEt	-OCH ₂ O-	24 h / 25 °C	60
20d	-OMe	-OCH ₂ O-	24 h / 25 °C	81

Спектроскопските данни потвърдиха региоселективното протичане на мултикомпонентните реакции до получаването на продукти **20a-d**. Мястото на заместване в α -позиция спрямо карбонилната група бе доказано с ЯМР спектри снети в CDCl₃ при стайна температура.



Фигура 12 ¹H-ЯМР спектър на съединение **20d** снет в CDCl₃ при ст.т. (600 MHz)

В ^1H -ЯМР спектрите на продукти **20a-d** бе наблюдаван характерен набор сигнали - два дублет от дублети в диапазона $\delta = 2.79 - 3.10$ ppm за протоните от бензиловата CH_2 група. На Фиг. 12, стр. 27 е показан типичен ^1H -ЯМР - спектър на продукт **20d**, с увеличение в областта на характеристичните сигнали $2.77 - 2.89$ ppm, отговарящи за спомената (CH_2) група. Аналогични спектри и сигнали бяха наблюдавани и за останалите съединения в тази група.

Бяха потърсени условия за мултикомпонентни реакции между бензотиазол, алкилхлороформиати и димедон (**21**, Схема 12). Първоначално проведохме реакцията с използването на етилхлороформиат при кипене на реакционната смес ($80\text{ }^\circ\text{C}$) в продължение на 3 часа. При тези условия получихме продукт **22a** с нисък добив от 40 % и значително количество нереагирал димедон. В опит да оптимизираме реакционните условия за получаване на по-висок добив, осъществихме взаимодействието в безводен дихлороетан за 24 часа при стайна температура ($25\text{ }^\circ\text{C}$). Така продукт **22a** бе изолиран с значително по-висок добив от 67 % (Таблица 9). Провеждането на мултикомпонентната реакция с използването на метилхлороформиат при оптимизираните условия (24 часа, стайна температура в дихлороетан), получихме продукт **22b** с добив от 63 %. (Схема 12, Таблица 9).

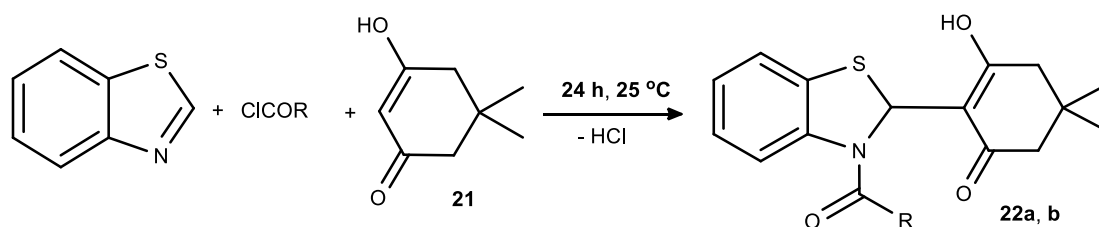
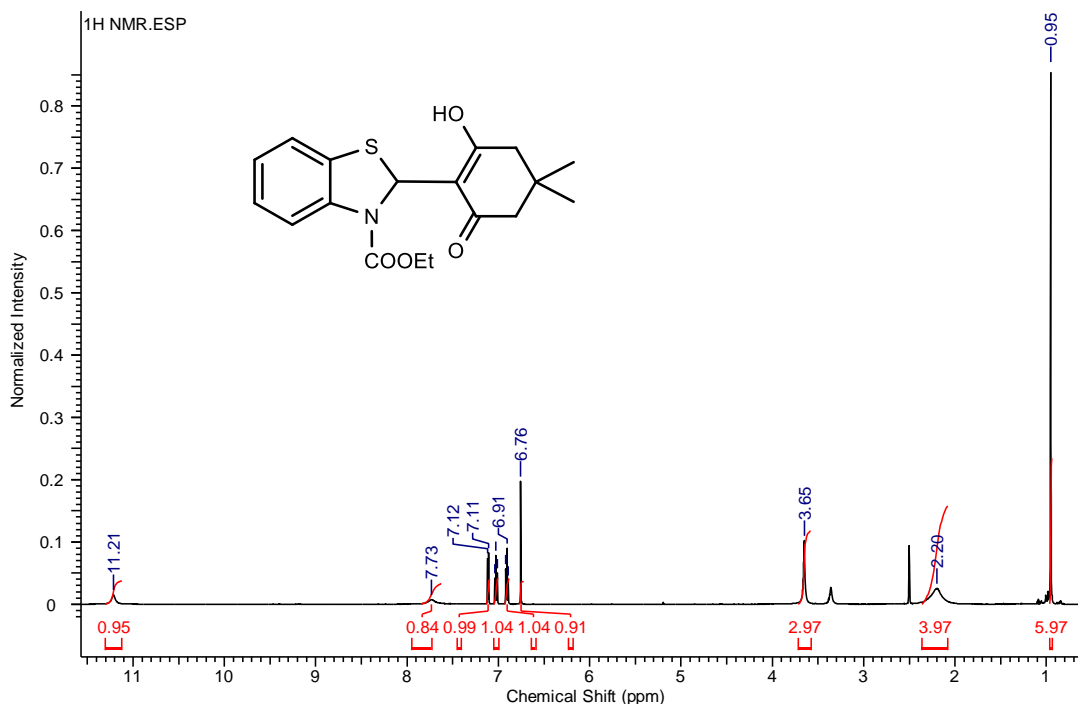


Схема 12

Таблица 9 Добиви на продукти **22a, b**

Продукт	R	Добив, %
22a	-OEt	67
22b	-OMe	63

Структурата на съединения **22** е доказана с помощта на ЯМР-спектри. Отнасянето на сигналите доказва получаването на продукти **22a, b** в енолна форма. На Фиг. 13 е показан спектър на съединение **22b**, снет в DMSO-d_6 при стайна температура (600 MHz).



Фигура 13 ^1H -ЯМР спектър на съединение **22b** снет в DMSO-d_6 при ст.т. (600 MHz)

2.3.1. Антибактериална активност на 2-заместени бензотиазолови съединения

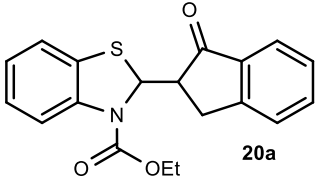
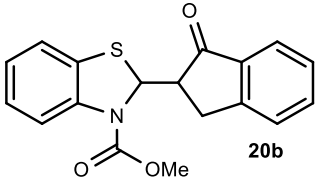
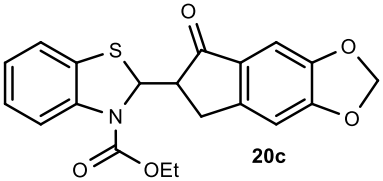
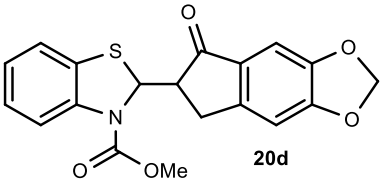
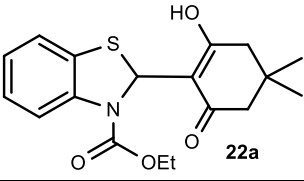
При предходящи изследвания проведени съвместно с колеги микробиолози от Биологическия факултет при Пловдивски университет е установена антибактериална активност за някои тетрахидроизохинолинови съединения съдържащи като заместител на първа позиция карбонилен фрагмент.

Това ни насочи към изпитване на антимикробната активност на синтезираните бензотиазолови производни, свързани на втора позиция с циклични кетони **20** и **22**. Изследванията са проведени от секция Микробиология към катедра ”Биохимия и Микробиология” на ПУ ”Паисий Хилендарски”.

Активността на бензотиазоловите съединения е изследвана спрямо следните референтни щамове бактерии: *Escherichia coli* ATCC 8739; *Bacillus licheniformis* ATCC 14580; *Bacillus cereus* ATCC 11778; *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P.

Първоначалните изследвания за активността на съединения **20a-d**, **22a** са проведени с използването на дисково-дифузионен метод и разтвори на съединенията в 50 % DMSO (1 mg/mL) с натоварване на хартиените дискове до 100 μg . Проведен е първичен скрининг в Mueller-Hinton агар, резултатите от които са представени в Таблица 10.

Таблица 10 Резултати от проведените биологични изследвания

Продукти	Микроорганизми (стерилна зона, mm)	МИС mg/mL
 <p>20a</p>	<i>Bacillus licheniformis</i> - 19 <i>Escherichia coli</i> - 22	0,027 0,055
 <p>20b</p>	Не проявява активност	-
 <p>20c</p>	<i>Bacillus licheniformis</i> - 18 <i>Escherichia coli</i> - 22	0,027 0,060
 <p>20d</p>	Не проявява активност	-
 <p>22a</p>	<i>Bacillus cereus</i> - 10 <i>Staphylococcus aureus</i> - 12	0,031 0,031

От таблицата се вижда, че съединения **20b** и **20d** не проявяват активност в изследваната концентрация, докато съединения **20a** и **20c** проявяват антибактериална активност срещу Грам-положителните бактерии *Bacillus licheniformis* ATCC 14580 и Грам-отрицателните бактерии - *Escherichia coli* ATCC 8739 (стерилна зона 18-22 mm). Съединение **22a** проявява умерена активност срещу Грам-положителните бактерии - *Bacillus cereus* ATCC 11778 и *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P (стерилна зона 10, 12 mm).

Определени са минимални инхибиторни концентрации (МИС) на антибактериалните агенти, чрез метода със серийни разреждания на препарата в агар. Посевния материал е с 0.5 по McFarland, равняващо се на 1.5×10^8 CFU. Определените МИС са в диапазона (0.027-0.060 mg/mL) (Таблица 10).

Резултатите показват, че съединения **20a** и **20c** са активни срещу Грам-положителните бактерии *Bacillus licheniformis* ATCC 14580 и Грам-отрицателните бактерии - *Escherichia coli* ATCC 8739 (MIC 0.027-0.060 mg/mL). Съединение **22a** проявява активност срещу Грам-положителните бактерии - *Bacillus cereus* ATCC 11778 и *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P (MIC 0.031 mg/mL) (Таблица 10, стр. 30).

3. Синтетични трансформации на продуктите на амидоалкилиране

3.1. Реакции на окислителна ароматизация за получаване на бис-хетероцикленни съединения, аналози на фитоалексина *Camalexin*

3.1.1. Получаване на *Camalexin* и Бензокамалексин

След успешното провеждане на мултикомпонентните реакции на α -амидоалкилиране, бяха получени 14 различни 2-заместени индол-съдържащи хетероцикленни съединения, чрез директно свързване на двата хетеропръстена. Работната ни хипотеза е, че при успешна ароматизация ще бъде възможно да предложим нов метод за синтез на аналози на фитоалексина *Camalexin*. Първоначално насочихме вниманието си към избирането на подходящ окислител за осъществяване на такъв тип реакции и продължихме изследванията с опити за снемане на спомагателната ацилна или алкоксикарбонилна група и ароматизиране. Успехът в тези изследвания би довел до нов алтернативен метод за синтеза на молекули с доказан биологичен профил.

За окисление на 2-алкил- и 2-фенил- *N*-алкоксикарбонил бензотиазоли по-рано е използван хинона - *o*-Chloranil. Следвайки литературните данни, ние потърсихме подходящи условия за провеждане на реакции на окислителна ароматизация на 2-(3-индолил)-бензотиазолини **5a-f**, прилагайки *o*-Chloranil, като варирахме количеството окислител, температурата и времето. Така съединения **5a-f** бяха успешно ароматизирани при използването на 1.5 еквивалента от окислителя *o*-Chloranil **23** в ацетонитрил до получаване на Бензокамалексин **25** с добиви от 80 % до 96 % (Схема 13, стр. 32). Реакциите са осъществени за време от 1 до 4 часа и температура от 25 °C до 85 °C (Таблица 11, стр. 32). Окислителната реакция зависи от вида на ацилната компонента. При наличие на алкоксикарбонилни заместители е необходимо нагряване, докато при ацетилна и бензоилна група окислителната ароматизация с *o*-Chloranil, протича при стайна температура с високи добиви.

За разширяване на възможностите на този окислителен метод, потърсихме и други достъпни хинони, които до сега не са използвани за окисление на подобни субстрати. Успешно осъществихме ароматизацията на бензотиазоловите и тиазоловите съединения с използването на окислител DDQ **24**. Реакциите са проведени в ацетонитрил при стайна температура за 1 – 2 часа и 1.5 еквивалента от DDQ. Съединения (**5a**, **5b**, **5d**) са ароматизирани до Бензокамалексин с добиви 70 % – 83 %.

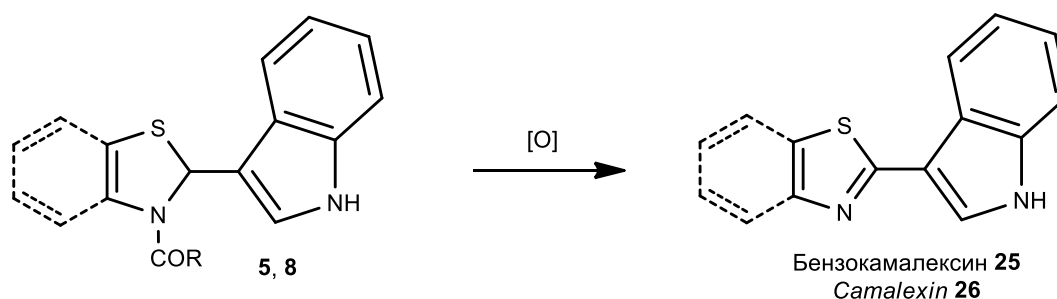


Схема 13

В Таблица 11 са показани оптималните условия за провеждане на окислителните реакции и добивите на получения Бензокамалексин **25**:

Таблица 11 Реакционни условия за окисление на **5a-f** и добиви на Бензокамалексин **25**

Окисление на	Окислител <i>o</i> -Chloranil (1.5eq)			Окислител DDQ (1.5eq)		
	Т, °C	Време, h	Продукт 25 Добив, %	Т, °C	Време, h	Продукт 25 Добив, %
5a	85	4	81	25	2	70
5b	85	1	85	25	1	72
5d	25	2	80	25	2	83
5e	25	2	88	-	-	-
5f	25	2	96	-	-	-

Успехът при получаване на Бензокамалексин в две последователни стъпки – мултикомпонентна реакция на α -амидоалкилиране и последваща окислителна ароматизация ни даде повод за търсене на възможности за приложение на метода и при синтез на *Camalexin*. Окислителната ароматизация с *o*-Chloranil и DDQ бе приложена и при съединения **8a-c**, (Схема

13, стр. 32). Установено бе, че окислението на тиазоловите съединения протича по-лесно, в сравнение с бензотиазоловите - за 1 час при 0 °C (Таблица 12). Необходимо е и по-малко количество окислител - 1 еквивалент.

В резултат на проведените изследвания бе разработен нов метод за получаване на фитоалексина *Camalexin 26* с много високи добиви от 74 % до 97 % (Таблица 12).

Таблица 12 Реакционни условия за окисление на **8a-c** и добиви на *Camalexin 26*

Окисление на	Окислител <i>o</i> -Chloranil (1eq)			Окислител DDQ (1eq)		
	Т, °C	Време, h	<i>Camalexin</i> 26 Добив, %	Т, °C	Време, h	<i>Camalexin</i> 26 Добив, %
8a	0	1	97	0	1	74
8b	0	1	95	0	1	83
8c	0	1	93	0	1	92

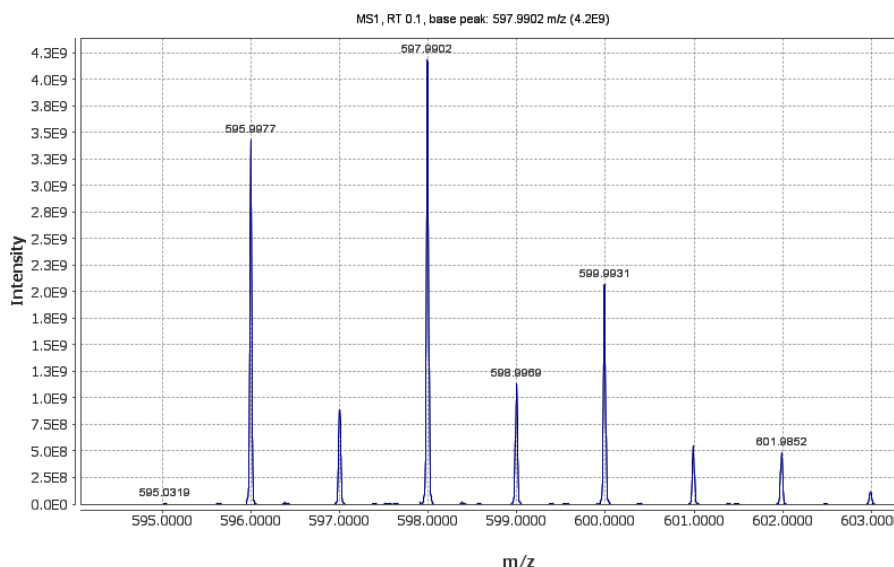
За определяне на работния обхват и приложимостта на този двуетапен метод, бе необходимо да изпитаме приложението му за синтез на природния алкалоид в грамове количества.

За осъществяване на тази цел избрахме най-високодобивната мултикомпонентна реакция за синтез на продукт **8c**, изолиран след прекристализация при използването на 7 mmol тиазол и последваща окислителна ароматизация с *o*-Chloranil. След осъществяване на двуетапния синтез и хроматографско пречистване (само след окислението), в рамките на няколко часа е изолиран *Camalexin 26* с добив (88 %) - 1.232 g. Този продукт е комерсиално достъпен на цена от 391 € за 25 mg, по данни от търговската мрежа (Merck).

3.1.2. Получаване на Аза-камалексин

След успешно проведените реакции на окисление при продукти (**5** и **8**), насочихме вниманието си към осъществяване на окислително ароматизиране на 2-(3-индолил)-имидазолини (**10a-c**) с цел получаване на нов синтетичен аналог на фитоалексина *Camalexin*, съдържащ в структурата си имидазол вместо тиазол фрагмент.

Първоначално проведехме реакцията с използването на съединение **10a** и двукратен излишък от окислителя (*o*-Chloranil) при кипене в ацетонитрил (85 °C) (Схема 15, стр. 35). Установихме, че един час след началото на реакцията се наблюдава превръщането на изходното съединение в два продукта - основен (62 %) и страничен. Съединенията бяха изолирани чрез колонна хроматография на алуминиев оксид. Спектралната характеристика показва, че основният продукт не съответства на първоначално очаквания Аза-камалексин. След снемане на масспектър бе установено, че полученото съединение е с доста по-голяма молекулна маса от очакваната - HRMS m/z (ESI) - 597.9902 (Фиг. 14).



Фигура 14 ESI-HRMS спектър на продукт **27a**

С помощта на ЯМР анализ бе доказана структура на продукт **27a**, получен при циклоприсъединителна реакция по Дилс-Алдер с добив 62 % (Схема 15, стр. 35).

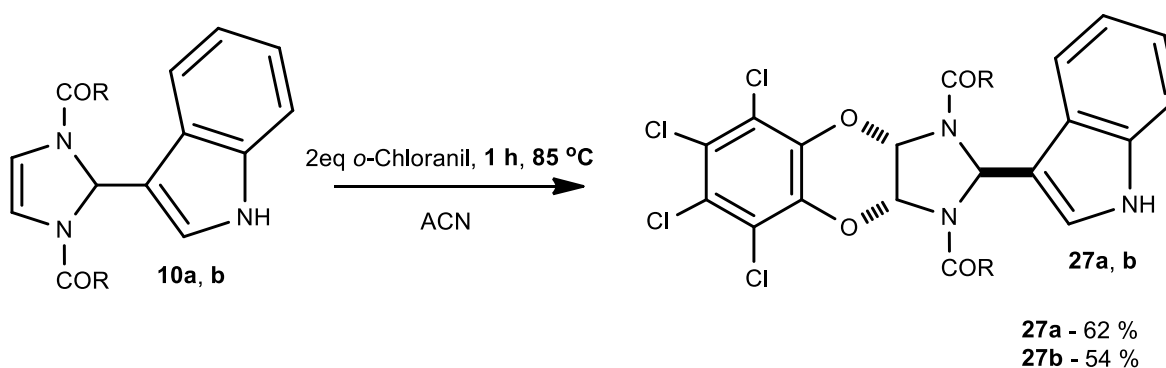
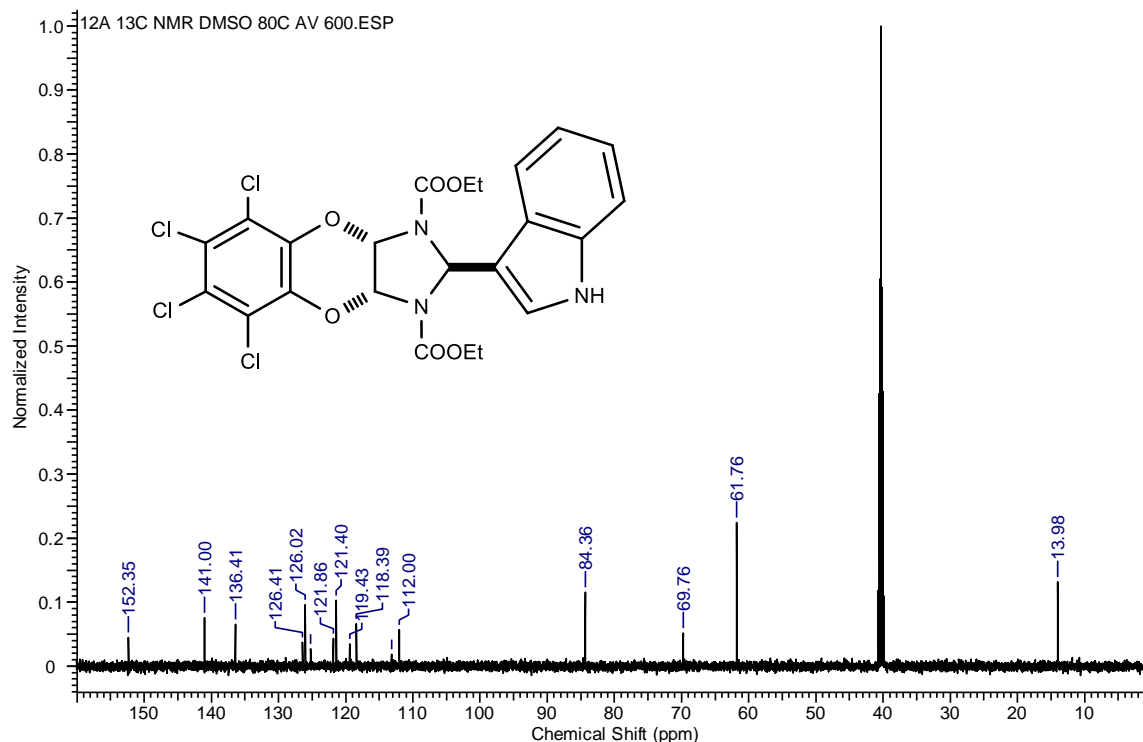


Схема 15

Снемането на ^1H -, ^{13}C - ЯМР спектрите бе осъществено при вече установените оптимални условия за имидазоловите производни - в разтворител DMSO-d_6 при $80\text{ }^\circ\text{C}$. ^{13}C - ЯМР спектрите на изходния реагент **10a** и новополучения продукт са сравнени. В ^{13}C - ЯМР спектър на продукт **27a** се наблюдава появата на ивица при 84.36 ppm , доказваща промяната от sp^2 в sp^3 хибридно състояние на въглеродните атоми от имидазоловия пръстен (Фиг. 15).



Фигура 15 ^{13}C -ЯМР спектър на съединение **27a** снет в DMSO-d_6 при $80\text{ }^\circ\text{C}$ (150 MHz)

Окислението на **10b** при същите реакционни условия (Схема 15, стр. 35), също протича по [4+2] циклоприсъединителен механизъм и доведе до получаването на продукт **27b**, изолиран след хроматографско разделяне с добив от 54 %. Получените Дилс-Алдерови адукти **27a** и **27b** са изолирани като един (от двата възможни) диастереоизомер, а отсъствието на ядрен ефект на Overhauser (NOE) при протона на 2-ра позиция в имидазолиновия пръстен, предполага тяхната *trans* конфигурация.

Получените резултати показаха различна реактивоспособност в окислителни реакции на имидазолови и бензотиазолови съединения. За постигане на окислителна ароматизация на

съединения **10** , потърсихме условия за получаване на желания аза-аналог на *Camalexin*, като проведохме окисленията при по меки условия, за 4 часа при стайна температура 20–25 °C с използването на 1 еквивалент от окислителя (Схема 16). Тези реакционни условия се оказаха благоприятни за получаването на нов синтетичен аналог, съдържащ в структурата си имидазолов фрагмент **28**.

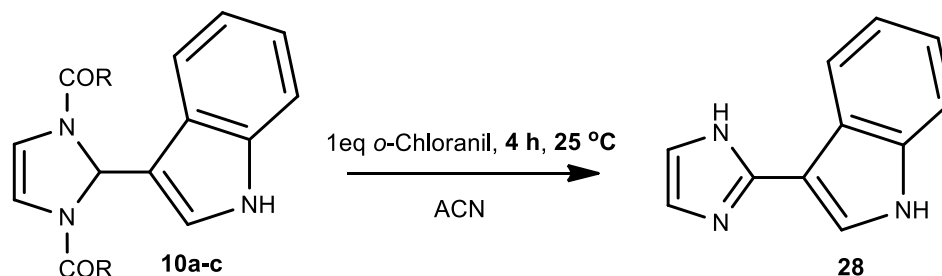


Схема 16

Полученият Аза-камалексин **28** бе пречистен с препаративна колонна хроматография и изолиран с високи добиви (72 % – 88 %, Таблица 13). Данните от спектралната характеристика потвърждават успешно протеклата окислителна ароматизация за синтеза на целевата структура.

Таблица 13 Добиви на Аза-камалексин **28**

Окисление на	Аза-камалексин 28 Добив, %
10a	88
10b	80
10c	72

3.1.3. Реакции на окислителна ароматизация за получаване на 2-(1H-пирол-2-ил)бензо[d]тиазол

След успешното амидоалкилиране на α -позиция в пироловия пръстен до продукти **12a-e**, бяха проведени и реакции на окислителна ароматизация с участието на успешно използвания за тази цел при индолите съединения хинон - *o*-Chloranil. Съединения **12a, b** са успешно ароматизирани с 2 еквивалента от окислителя, до получаването 2-(2-пирол-ил)-бензотиазол (**29**, Схема 17). Съединението **29** представлява синтетичен аналог на фитоалексина *Camalexin*.

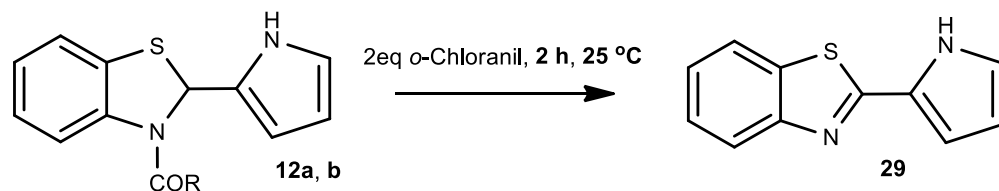


Схема 17

Продукт **29** е хроматографски пречистен и изолиран с отлични добиви от двете окислителни реакции (Таблица 14).

Таблица 14 Добиви на 2-(2-пиролил)-бензотиазол **29**

Окисление на	Продукт 29 Добив, %
12a	91
12b	86

В последните години в научната литература са публикувани поредица синтети на 2-пиролил-2-бензотиазол **29**, базирани върху основните методи за получаване на 2-заместени бензотиазоли. Предложеният от нас нов двуетапен метод предлага ефективна възможност за получаване на такъв тип бис-хетероциклени съединения, без необходимостта от използването на скъпи катализатори и реагенти.

3.2. Реакции на редуктивно снемане на Трос групата

2,2,2-трихлороетил-хлороформиат (Трос-Cl) е широко прилаган реагент в органичния синтез, използван за защита на хидроксилна или amino групи. В литературата са публикувани поредица методи показващи възможностите за лесното отстраняване на тази защитна група при редуктивни условия. Изследванията в тази връзка ни провокираха да потърсим възможности за получаване на водород-заместени производни на Бензокамалексин и *Camalexin*, използвайки вече синтезираните Трос съдържащи производни **5d**, **8c** и **10c**.

Опитите за получаване на дихидро-производни на Бензокамалексин и *Camalexin* чрез редуktivно снемане на Троc групата (съединения **5d** и **8c**), не бяха успешни, но ни доведоха до интересни резултати в случая с **8c**. Опитът за провеждане на реакцията с **5d** с десетократен излишък от Zn/NH₄Cl при кипене в MeOH, доведе до получаването на сложна смес от продукти (наблюдавани чрез TLC). Докато с използването на **8c**, реакцията доведе до получаване на един основен продукт, изолиран и спектрално характеризиран като 3-формилиндол **31** с добив от 70 % (Схема 18).

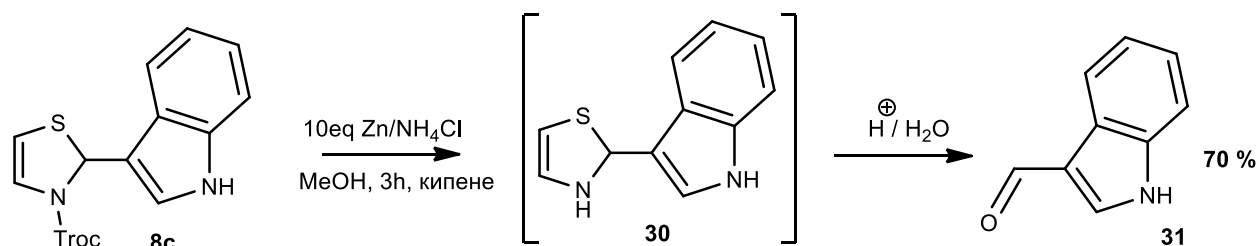


Схема 18

Предполагаме, че при тези условия, реакцията преминава през получаване на дихидрокамалексин **30**, но след хидролизно отваряне на тиазолиновия пръстен, превръщането води до получаване на формилиран продукт **31** (предполагаме механизъм - Схема 19, стр. 39).

В случая с **5d**, наличието на бензенов фрагмент вероятно оказва влияние върху стабилността на интермедиатите, през които преминава реакцията. Въпреки търсенето на различни условия за протичане, продукт **31** не бе изолиран.

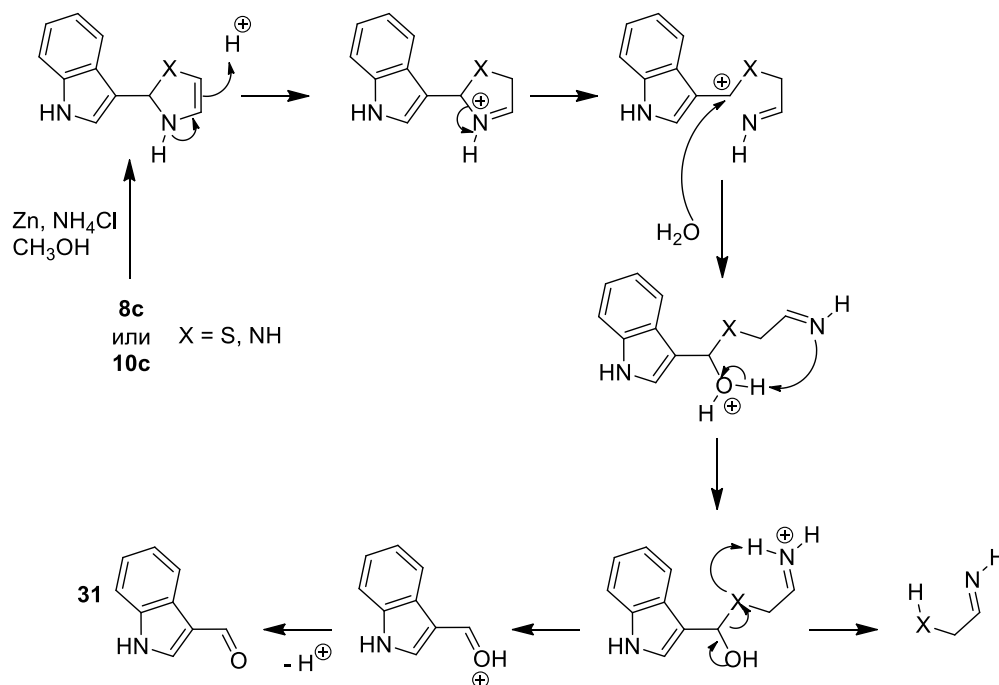


Схема 19

Установихме, че по аналогичен начин алдехид може да бъде получен и от продукт **10c**. Първоначално реакцията бе проведена с използване на условията от Схема 18, стр. 38. Това води до получаване на алдехид, регистриран с помощта на TLC, но в доста по-ниска степен от този наблюдаван с участието на **8c**. За оптимизиране на условията проведохме реакцията с добавяне на 20 % вода и нагряване за 2 часа при 60 °C. Тези условия се оказаха благоприятни, а индол-3-карбалдехид **31** бе получен и изолиран чрез колонна хроматография с висок добив от 82 % (Схема 20).

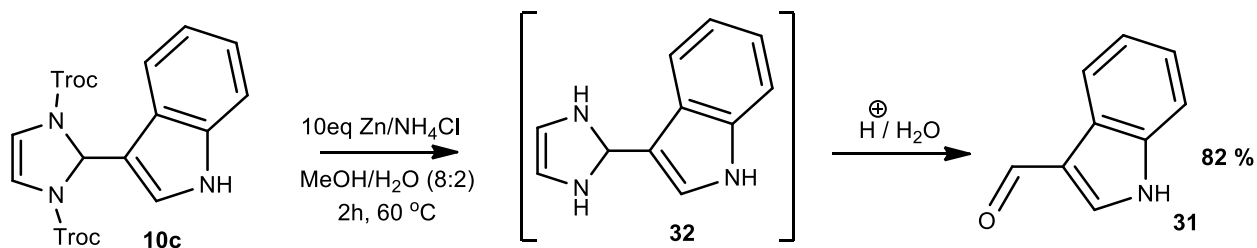


Схема 20

Тези резултати предполагат, че имидазолиновия интермедиат **32** е по-устойчив на хидролиза от тиазолиновия **31**. Това налага провеждането на реакцията в присъствие на вода (80 % MeOH, Схема 20, стр. 39).

Тази реакция, заедно с горепосоченото образуване на трииндолилметан (Схема 4, стр. 12), предполагат потенциалното използване на *N*-алкоксикарбонил-тиазолиновата част като маскиран формилен еквивалент. Понастоящем продължават изследванията свързани с разширяване на обсега на този метод и прилагането му като удобна алтернатива при получаването на арил- и хетероарилови алдехиди.

IV. ОБОБЩЕНИ РЕЗУЛТАТИ

1. Успешно е приложена мултикомпонентна реакция на α -амидоалкилиране на хетероциклени съединения (индол и пирол) с използването на ацилиминиеви реагенти получени от бензотиазол и ацилхлориди. Реактивоспособността на тези реагенти зависи от структурата на ацилхлорида;

2. Установено е наличие на ротамерни равновесия в молекулите на продуктите, водещи до коалесценти сигнали в протонните ЯМР спектри, снети в CDCl_3 при стайна температура. Като подходящи условия за спектрална характеристика на продуктите са определени: разтворител DMSO-d_6 и температура $80\text{ }^\circ\text{C}$;

3. Успешно е приложена мултикомпонентна реакция на α -амидоалкилиране между бензотиазол, алкилхлороформиати и метиленактивни съединения за синтез на десет 2-заместени бензотиазоли с потенциална биологична активност;

4. Три от новосинтезираните бензотиазолови производни показват антибактериална активност при концентрация $100\text{ }\mu\text{g}$, срещу четири щама микроорганизми. Определени са минималните инхибиращи концентрации (MIC);

5. Установени са условията за окислителна ароматизация на част от новосинтезираните съединения с използването на хиноните *o*-Chloranil и DDQ, при което са получени *Camalexin* и негови синтетични аналози.

V. ПРИНОСИ

1. Успешно е разширен обхвата на реакцията на междумолекулно α -амидоалкилиране с прилагане на мултикомпонентен подход;

2. Предложен е нов двуетапен метод за синтез на биологично активни аналози на фитоалексина *Camalexin*, чрез реакция на амидоалкилиране, последвана от окислителна ароматизация;

3. Демонстрирано е практическото приложение на новия метод при синтеза на грамове количества *Camalexin*;

4. Във връзка с изследванията върху дисертационния труд са синтезирани и спектрално характеризирани 38 съединения - 25 нови и 13 публикувани по-рано;

5. За първи път е демонстрирано въвеждане на „скрита“ формилна група, чрез ацилиминиеви реагенти, получени от тиазол и имидазол.

VI. СПИСЪК НА ПУБЛИКАЦИИ И УЧАСТИЯ В НАУЧНИ ФОРУМИ

1. Публикации включени в дисертацията

1. **Y. Stremski**, S. Statkova-Abeghe, P. Angelov, I. Ivanov, Synthesis of *Camalexin* and related analogues, Journal of Heterocyclic Chemistry, **2018**, IF₍₂₀₁₇₎ = 0.893, Accepted Manuscript, Article DOI: 10.1002/jhet.3192;

2. **Y. Stremski**, S. Statkova-Abeghe, D. Georgiev, P. Angelov, I. Ivanov, Synthesis and antibacterial activity of 2-substituted benzothiazoles, Bulgarian Chemical Communications, Special Issue G, 49, 32-36, **2017**, IF₍₂₀₁₇₎ = 0.238;

3. **Y. Stremski**, S. Statkova-Abeghe, I. Ivanov, P. Angelov, A new method for the synthesis of 2-(1H-pyrrol-2-yl)benzo[d]thiazole, Scientific Works of the Union of Scientists in Bulgaria - Plovdiv, Series C. - Technics and technologies, XIV, 196-199, **2017**;

4. **Й. Стремски**, С. Статкова-Абегхе, И. Иванов, В. Стаева, Приложение на *N*-ацилиминиеви реагенти получени от бензотиазол, за синтез на биологично активни вещества, Сборник с доклади от националната научна конференция - „Образование и наука - за личностно и обществено развитие“; Книжка II; Природни науки - Математика, информатика и технически науки; Биология, химия и медицина, 109-119, **2017**.

2. Участия в научни форуми

1. **20.05.2015г.** Участие в семинар организиран от фирма ACM2, Thermo Fisher Scientific и Химическия факултет на Пловдивски Университет „Паисий Хилендарски“ с **постер** на тема: „Three-component Mannich-type reactions for synthesis of *Camalexin*'s analogs“, S. Statkova-Abeghe, **Y. Stremski**, M. Naydenov, D. Vozhilov;

2. **11-13.06.2015г.** Участие в VI-та Международна научна конференция на младите учени, организирана от Съюз на българските учени – гр. Пловдив с **постер** на тема: „Multicomponent reactions for synthesis of new benzothiazole derivatives with antibacterial activity“, **Y. Stremski**, S. Statkova-Abeghe, V. Gacheva;

3. **27-28.11.2015г.** Участие в трета научна конференция за студенти и докторанти "Предизвикателства в Химията", организирана от Химическия факултет на Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“ гр. Пловдив с **доклад** на тема: „Синтез на бис-хетероциклични производни чрез мултикомпонентни реакции“, **Стремски Й.**, Сали А., Сали Ш., Статкова-Абегхе Ст.;

4. **27-28.11.2015г.** Участие в трета научна конференция за студенти и докторанти "Предизвикателства в Химията", организирана от Химическия факултет на Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“ гр. Пловдив с **постер** на тема: „Приложение на мултикомпонентни реакции за синтез на 2-индолилимидазолини“, **Стремски Й.**, Киркова Д., Статкова-Абегхе Ст.;

5. **18-20.05.2016г.** Участие в XV Национална конференция по химия за студенти и докторанти, организирана от Факултета по Химия и Фармация на СУ „Св. Климент Охридски“ град София с **доклад** на тема: „Нов метод за получаване на 2-пироллил-бензотиазоли чрез мултикомпонентен синтез“, **Й. Стремски**, Ст. Статкова-Абегхе, А. Сали;

6. **07.06.2016г.** Участие в семинар организиран от фирма ACM2, Thermo Fisher Scientific и Химическия факултет на Пловдивски Университет „Паисий Хилендарски“ с **постер** на тема: „Synthesis and spectral characterization of new 2-pyrrolyl-benzothiazoles“, **Y. Stremski**, S. Statkova-Abeghe, A. Sali, M. Naydenov, D. Vozhilov;

7. **09-11.10.2016г.** Участие в XX Научна конференция по Химия с международно участие, организирана от Химическия факултет при Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“ по случай 25 годишния юбилей, с **постер** на тема: „Synthesis and antibacterial activity of 2-substituted benzothiazoles“, **Y. Stremski**, S. Statkova-Abeghe, D. Georgiev, V. Gacheva;

8. **28-29.10.2016г.** Участие в ежегодната научна сесия „Дни на науката 2016“, организирана от Съюз на българските учени – гр. Пловдив, с **постер** на тема: „A new method for the synthesis of 2-(1H-pyrrol-2-yl)benzo[d]thiazole“, **Y. Stremski**, S. Statkova-Abeghe, I. Ivanov, P. Angelov;

9. **17-19.05.2017г.** Участие в XVI Национална конференция по химия за студенти и докторанти, организирана от Факултета по Химия и Фармация на СУ „Св. Климент Охридски“ град София, с **доклад** на тема: „Нов метод за синтез на фитоалексина *Camalexin* и негови синтетични производни“, **Стремски Й.**, Киркова Д., Клисурова Д., Статкова-Абегхе Ст.;

10. **14.06.2017г.** Участие в семинар организиран от фирма ACM2, Thermo Fisher Scientific и Химическия факултет на Пловдивски Университет „Паисий Хилендарски“ с **постер** на тема: „Synthesis and spectral characterization of new benzothiazolyl-naphtoquinones“, **Y. Stremski**, S. Statkova-Abeghe, A. Avramov, M. Naydenov, I. Ivanov;

11. **15,16.06.2017г.** Участие в VII-та Международна научна конференция на младите учени, организирана от Съюз на българските учени – гр. Пловдив с **постер** на тема: „Synthesis and radical scavenging activity of new benzothiazole derivatives“, **Y. Stremski**, V. Balcheva, D. Klisurova, St. Statkova-Abeghe;

12. **27-28.10.2017г.** Участие в Национална научна конференция „Образование и наука - за лично и обществено развитие“, организирана от Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“ – Филиал Смолян, град Смолян, с **доклад** на тема: „Приложение на N-ацилиминиеви реагенти получени от бензотиазол, за синтез на биологично активни вещества“, **Йордан Стремски**, Стела Статкова-Абегхе, Илиан Иванов, Вероника Стаева.

