



Йорданка Димитрова Сапунджиева

Синтез на хинолинови производни с потенциално антибактериално действие

**Автореферат на дисертация за присъждане на образователна 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 Пламен Ангелов**

Пловдив 2025

Дисертационният труд е обсъден и насрочен за защита от катедрен съвет на Катедрата по органична химия към Химически факултет на Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“, проведен на 09.01.2025 г.

Основната част от изследванията по дисертационния труд са извършени в Химическия факултет на ПУ „Паисий Хилендарски“. Част от синтетичните експерименти са проведени в университета на Аликанте, Испания. Изследванията за антимикробно действие са проведени в Биологическия факултет на ПУ „Паисий Хилендарски“ и в Университета по хранителни технологии в Пловдив. ЯМР измерванията са направени в Института по органична химия с център по фитохимия към БАН, София.

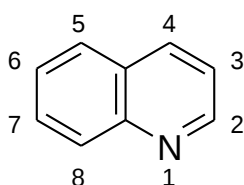
Дисертацията е написана на 144 печатни страници и съдържа 100 схеми, 12 таблици и 45 фигури. Библиографската справка обхваща 155 литературни източника.

СЪДЪРЖАНИЕ

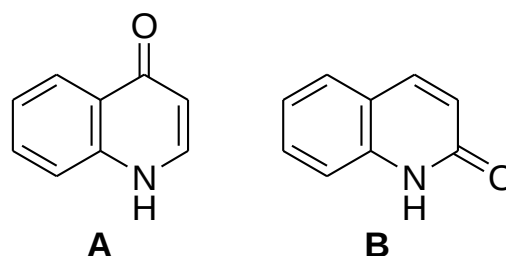
I. ВЪВЕДЕНИЕ	1
II. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ	2
1. Синтез на бета-кетоамиди	3
2. Синтез на 4-хинолонови производни	5
2.1. Ацилиране на енаминоамиди с орто-функционализирани бензоилхлориди	6
2.2. Циклизация на бензоилирани енаминоамиди до 2-алкил-4-хинолон-3-карбоксамиди	8
2.2.1. Редуктивна циклокондензация на орто-нитробензоилирани енаминоамиди 11	8
2.2.2. Вътрешномолекулно ароматно нуклеофилно заместване при <i>орто</i> -флуоробензоилирани енаминоамиди 13	12
2.3. Получаване на 2-алкил-4-хинолони	13
2.4. Получаване на 2-алкил-4-хинолон- <i>N</i> -оксиди	17
2.5. Опити за синтез на 2-бензил-4-хинолонови производни	20
3. Синтез на 2-хинолони	23
4. Изпитания за антибактериално действие	27
III. ОБОБЩЕНИ РЕЗУЛТАТИ И ИЗВОДИ	30
IV. ПУБЛИКАЦИИ	31
V. БЛАГОДАРНОСТИ	32

I. ВЪВЕДЕНИЕ

Хинолиновата пръстенна система (Фиг. 1) е застъпена в голям брой биологично активни съединения от природен^{1,2} и синтетичен^{3,4} произход. Наред с широкия спектър от биологични действия, в групата на хинолиновите производни съществува впечатляващо структурно многообразие, обусловено от възможността за частично или пълно насищане на ароматната пръстенна система, както и от възможностите за свързване на различно функционализирани остатъци или функционални групи в позиции 1 – 8. Сред производните на хинолина особен интерес представляват тези, с карбонилно функционализиран в позиции 2 или 4 пръстен – хинолин-2(1H)-они (Фиг. 2, В) и хинолин-4(1H)-они (Фиг. 2, А), съответно. За краткост, тези пръстенни системи често се означават още като 4-хинолони и 2-хинолони – терминология възприета и в този дисертационен труд.



Фигура 1. Хинолинова пръстенна система с номериране на позициите в нея.



Фигура 2. Хинолинови производни с карбонилна група в хетеропръстена – хинолин-4(1H)-они (А) и хинолин-2(1H)-они (В).

Интересът към методите за синтез на 2- и 4-хинолони произтича от присъствието им в голям брой алкалоиди от растителен и микробиален произход, както и в някои синтетични лекарствени вещества. Разработването на нови синтезни методи разширява пространството на достъпните структурни аналози, подпомага изучаването на връзките между структура и биологично действие, и е от първостепенна важност при използването на природни продукти като отправна позиция в създаването на нови лекарствени средства. С оглед на това бе поставена целта на този дисертационен труд – разработване на нови методи за **синтез на хинолинови производни**, и по-конкретно на производни от 2- и 4-хинолонов тип. По отношение на възможните биологични действия вниманието ни бе насочено най-вече към продукти с **потенциално антибактериално действие**, структурно близки до познати лекарствени вещества и бактериални метаболити. Този избор е основан на актуалния проблем със застрашителното нарастване на резистентостта към утвърдените в медицинската практика антибактериални средства. Още през 2014 г. световната здравна организация посочва реалната заплаха от настъпване на т.нар. „пост-антибиотична ера“, в която познатите до момента антимикробни лекарства ще са загубили своята ефективност и инфекции, доскоро смятани за безобидни, отново ще станат животозастрашаващи.⁵ Същият проблем е обект на обстоен анализ на британското здравно министерство.⁶ И в двата документа се подчертава, че след откриването на флуорохинолоновите антибактериални препарати през 80-те години на миналия век, за

¹ *Med. Res. Rev.* **2018**, 38, 775–828. DOI: 10.1002/med.21466

² *Med. Res. Rev.* **2018**, 38, 1614–1660. DOI: 10.1002/med.21492

³ *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, 164, 121–170. DOI: 10.1016/j.ejmech.2018.11.026

⁴ *Org. Biomol. Chem.* **2020**, 18, 9775–9790. DOI: 10.1039/d0ob02000a

⁵ <http://www.who.int/drugresistance/documents/surveillancereport/en/>

⁶ <https://www.gov.uk/government/publications/chief-medical-officer-annual-report-volume-2>

последните 30 години в медицинската практика не са въвеждани качествено нови антимикробни средства. Един подход за решаване на този проблем е интензифицирането на изследванията върху природни биологично активни вещества и техни синтетични аналози.

Настоящият дисертационен труд е фокусиран основно върху разработването на нов синтезен подход към 4-хинолони, включващи познати метаболити на опортюнистичния патоген *Pseudomonas aeruginosa*, както и нови техни аналози с антибактериално действие. В по-малка степен е изследвано получаването на структури от 2-хинолонов тип и някои проблеми в реализацията на синтеза на Кнор при по-сложно функционализирани субстрати. Като основни изходни съединения и обща отправна позиция за двата типа целеви структури са използвани β -кетоамиди, достъпни чрез по-рано разработен в катедрата по Органична химия метод.

II. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

За постигане на поставената в уводната част цел, а именно **синтез на хинолинови производни с потенциално антибактериално действие**, изследвахме два различни подхода, от които очаквахме да доведат до получаване на хинолинови производни от 4-хинолонов и 2-хинолонов тип, съответно. Общото между тези два подхода, показани на Схема 1, е използването на β -кетоамиди като изходни съединения. За разлика от комплексния подход **A**, който се опира на замислена от нас многоетапна методика и включва няколко възможни реализации, подход **B** е по същество реализация на едноетапна циклизация по Кнор, която привлече интереса ни с възможни последващи етапи и конкурентни процеси при някои изходни β -кетоамиди с по-сложно функционализирани остатъци R^1 .

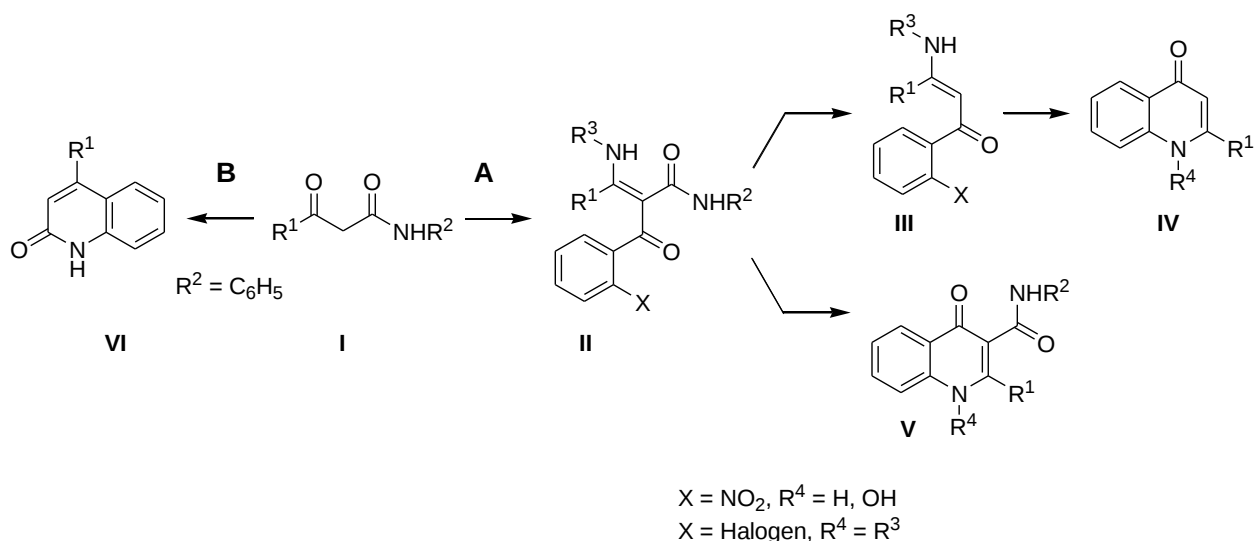


Схема 1. Общ план на изследванията върху синтезни последователности и очаквани междинни съединения, водещи до производни от 4-хинолонов (подход A) и 2-хинолонов (подход B) тип.

Реализацията на илюстрираните в Схема 1 подходи изискваше да бъдат изпълнени следните основни задачи:

1. Синтез на набор от изходни бета-кетоамиди **I**, като потенциални прекурсори за хинолинови производни.
2. Енаминиране и ацилиране на изходните бета-кетоамиди **I** с *орто*-заместени бензоилхлориди, за получаване на междинни въглеродно бензоилирани енаминоамиди **II**.
3. Декарбамоилиране на получените в предходната задача междинни съединения до бензоилирани енамини **III**.
4. Изследване реакционната способност на *орто*-нитробензоилирани междинни съединения **II** и **III** ($X = \text{NO}_2$) при различни редукиционни условия, с оглед трансформация на нитро до amino група и последваща вътрешномолекулярна циклокондензация до разнообразно заместени 2-алкил-4-хинолони **IV** и 2-алкил-4-хинолон-3-карбоксамиди **V**.
5. Изследване реакционната способност на *орто*-халогенобензоилирани междинни съединения **II** и **III** ($X = \text{Халоген}$) в реакции на вътрешномолекулярно ароматно нуклеофилно заместване, с получаване на 1*N*-заместени продукти **IV** и **V**.
6. Изследване на реакционната способност и селективността при циклизация по Кнор на някои от получените в Задача 1 бета-кетоамиди, с оглед директно получаване на 2-хинолонови производни **VI** с функционализиран остатък R^1 .

1. Синтез на бета-кетоамиди

Бета-кетоамидите **I** (Схема 1) са основни изходни съединения, необходими за синтеза на съединенията от хинолинов тип, поставени като цел в тази дисертация. Ето защо, като първа задача пред нас стоеше осигуряване на достатъчно широк набор от β -кетоамиди с подходящи заместители R^1 и R^2 . Сред използваните в тази работа β -кетоамиди **I** (Схема 1), тези с $R^1 = \text{CH}_3$ (известни като ацетоацетидами) са или достъпни търговски продукти ($R^2 = \text{H}$, C_6H_5 , $p\text{-C}_6\text{H}_4\text{Cl}$), или се получават лесно чрез ацетоацетиране на съответния амин $R^2\text{NH}_2$. Ацетоацетирането на амини е сравнително лесен синтез, който се осъществява чрез взаимодействие на амина с реагенти като дикетен, подходящ естер на ацетилоцетната киселина или 2,2,6-триметил-4*H*-1,3-диоксин-4-он. За работа в лабораторен мащаб особено удобен ацетоацетиращ реагент е 2,2,6-триметил-4*H*-1,3-диоксин-4-онът **1**, който използвахме за получаване на кетоамиди **3**, съгласно Схема 2. При нагряване този реагент се разпада до ацетилкетен **2**, който е същинския ацетоацетиращ агент. Реакциите с амини $R^2\text{NH}_2$ ($R^2 = \text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$, $p\text{-C}_6\text{H}_4\text{OCH}_3$) бяха провеждани във водна среда при температура на кипене, съгласно публикуван метод.⁷

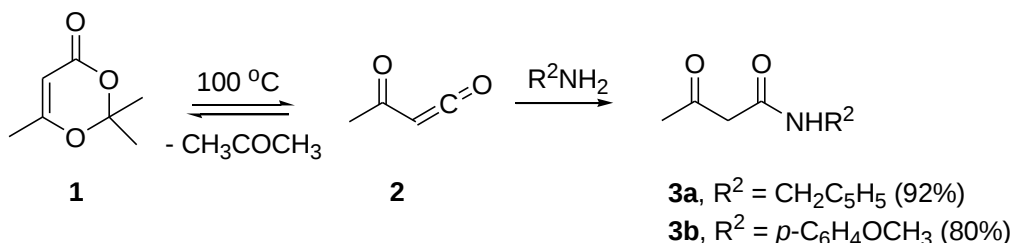


Схема 2. Ацетоацетиране на амини с 2,2,6-триметил-4*H*-1,3-диоксин-4-он.

⁷ RSC Adv. 2015, 5, 70915–70928. DOI <https://doi.org/10.1039/C5RA14355A>

За разлика от ацетоацетамидите обаче, дълговерижни β -кетоамиди, както и такива с допълнителни функционални групи, не се предлагат като търговски продукти и получаването им изисква прилагането на многоетапни методи. Такъв един метод, разработен по-рано в катедрата по Органична химия на ПУ „Паисий Хилендарски“, бе използван от нас за да приготвим основната част от използваните в тази работа β -кетоамиди. Методът се състои от три етапа (Схема 3 и Схема 4) и започва с енаминиране на ацетоацетамиди с монозащитен етилендиамин, при което се получават междинни β -енаминоамиди **4**, много добре податливи на α -C-ацилиране. Това ацилиране се извършва като втори етап и води до продукти **5**, чиято структура дава възможност за протичане на домино-последователност от вътрешномолекулно михаелово присъединяване и ретро-манихово фрагментиране. Необходимият Вос-монозащитен етилендиамин се приготвя лесно с добив от 75% чрез реакция на ди-^t-бутил дикарбонат с излишък от етилендиамин. След това той реагира с ацетоацетамидите **3**, за да се получат съответните β -енамино амиди **4**. Ацилирането на енаминоамидите **4** може да бъде извършено както с киселинни хлориди, в присъствието на еквимоларно количество база, така и по метода на смесените анхидриди. Независимо от вида на ацилиращия агент, в повечето случаи употребата на DMAP като катализатор води до по-високи добиви. C-ацилираните продукти **5** се получават с добиви в интервала 75-95% (Схема 3).

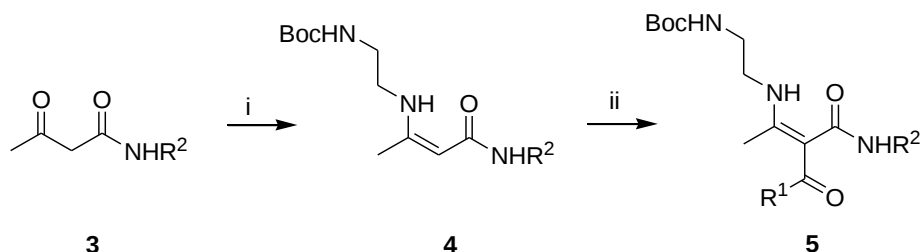


Схема 3. Реагенти и условия: (i) $\text{BocNHCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$, Na_2SO_4 , CH_2Cl_2 , или MeOH , 24h, стайна температура; (ii) DMAP, Et_3N , R^1COX , CH_2Cl_2 , 1h; X = Cl, OCOEt .

Финалният етап при синтеза е снемането на Вос-защитата в **5** с трифлуорооцетна киселина, последвано от буфериране с воден разтвор на натриев ацетат, при което протича домино-последователност от вътрешномолекулно аза-михаелово присъединяване, последвано от ретро-манихово фрагментиране (Схема 4). Така, β -кетоамидите **8** се получават с отличен добив, без изолиране на междинните съединения **6-8'**. Като съпътстващ продукт се получава и 2-метил-4,5-дихидро-1H-имидазол, който лесно се отстранява чрез екстракция. Методът осигурява високи добиви на дълговерижни и функционализирани в остатъка R^1 кетоамиди, като в много случаи може да бъде изцяло проведен без необходимост от хроматографско пречистване на междинните съединения **5** или на крайните продукти **8**.

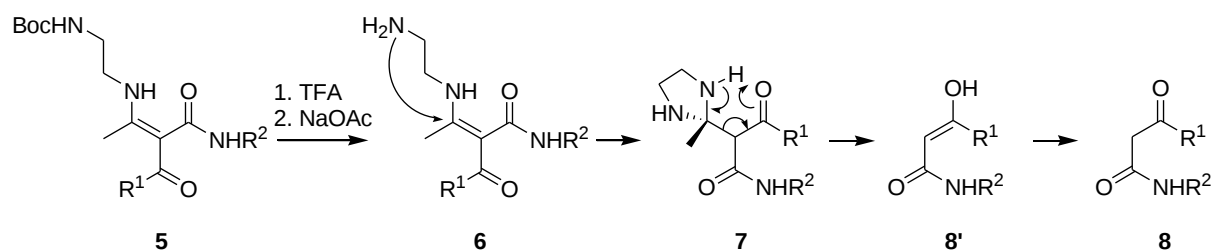


Схема 4. Синтез на β -кетоамиди **8** чрез домино-фрагментиране на междинните α -C-ацилирани съединения **5**.

Таблица 1. Добиви на β -кетоамиди **8**, получени съгласно Схема 3 и Схема 4.

8	R¹	R²	Добив 5 (%)	Добив 8 (%)
a	<i>n</i> -C ₃ H ₇	C ₆ H ₅	92	90
b	<i>i</i> -C ₄ H ₉	C ₆ H ₅	68	90
c	<i>n</i> -C ₅ H ₁₁	C ₆ H ₅	90	92
d	<i>n</i> -C ₇ H ₁₅	H	63	58
e	<i>n</i> -C ₇ H ₁₅	C ₆ H ₅	96	95
f	<i>n</i> -C ₇ H ₁₅	<i>p</i> -ClC ₆ H ₄	88	78
g	<i>n</i> -C ₇ H ₁₅	<i>p</i> -CH ₃ OC ₆ H ₄	76	90
h	<i>n</i> -C ₉ H ₁₉	H	90	50
j	<i>n</i> -C ₉ H ₁₉	C ₆ H ₅	95	96
k	<i>n</i> -C ₉ H ₁₉	<i>p</i> -ClC ₆ H ₄	83	95
l	<i>n</i> -C ₉ H ₁₉	<i>p</i> -CH ₃ OC ₆ H ₄	88	94
m	CH ₂ C ₆ H ₅	H	67	70
n	CH ₂ C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	92	90
o	CH ₂ C ₆ H ₅	<i>p</i> -ClC ₆ H ₄	85	95
p	CH ₂ C ₆ H ₅	<i>p</i> -CH ₃ OC ₆ H ₄	90	94
q	CH ₂ N(COOEt)C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	84	73
r	CH ₂ N(Troc)C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	89	60
s	CH ₂ N(COOEt)C ₆ H ₅	H	82	61
t	CH ₂ N(Troc)C ₆ H ₅	H	90	60

Този метод ни позволи да приготвим поредица бета-кетоамиди с дължината на въглеродната верига в остътъка R¹ от три до девет въглеродни атома, както и и такива, при които R¹ е функционализиран със защитена аминифенилова група. Видът на остатъците R¹ бе избран съобразно целевите крайни продукти от хинолонов тип, в които този остатък се очаква да бъде свързан в C2- или C4-позиция. От особен интерес бе възможността за въвеждане на *n*-хептилов, *n*-нонилов или бензилов остатък в C2-позиция на продукти от 4-хинолонов тип, тъй като това би дало достъп до познати биологично активни природни продукти и нови техни аналози. Ето защо, както е отразено в Таблица 1, основният дял на пригответените от нас изходни бета-кетоамиди се пада именно на хептил-, нонил- и бензил-заместени продукти.

2. Синтез на 4-хинолонови производни

След получаването на необходимите изходни β -кетоамиди, работата за реализация на изложената в Схема 1-А концепция продължихме с опити за получаване на междинни съединения **II**, които по-нататък биха ни позволили да получим както 2-алкил-4-хинолони от групата на хинолоновите бактериални кворумни регулатори, така и 2-алкил-4-хинолон-3-карбоксамиди, наподобяващи хинолактациновите алкалоиди. Тези целеви структури бяха избрани от една страна поради очакваното от тях биологично действие, а от друга поради това, че са удобна моделна система за първоначална оптимизация на синтезни процедури, които след това могат да бъдат приложени и към по-сложно построени природни продукти.

Видът на заместителя X в интермедиати **II** (Схема 1) позволява финалния етап на циклизация да бъде извършен по различни начини. При X = халоген е възможно това да стане като ароматно нуклеофилно заместване или като *Pd*-катализирано Бухвалд-Хартвиг аминирание. При X = NO₂, от друга страна, е необходимо тази група да бъде редуцирана до NH₂, така че това да доведе до вътрешно молекулна кондензация с елиминирание на R³NH₂ (трансаминиране). В рамките на този дисертационен труд бяха извършени опити основно с интермедиати **II**, в които X е нитрогрупа, а по-малко внимание беше отделено на такива с X = F.

2.1. Ацилиране на енаминоамиди с орто-функционализирани бензоилхлориди

Независимо от вида на остатъка X в интермедиати II (Схема 1), тяхното получаване изисква първоначално енаминиране на изходните кетоамиди чрез кондензация с подходящ първичен амин R^3NH_2 . В случай, че $X = F$, остатъкът R^3 от първичния амин ще бъде запазен в крайният продукт от хинолонов тип, докато при $X = NO_2$, този остатък ще има само спомагателна функция и ще бъде загубен във финалния циклизационен етап. Предвид това, във втория сценарий е уместно да бъде използван евтин и достъпен низш алифатен амин. В ролята на такъв избрахме етиламин. Взаимодействието на кетоамидите **9**⁸ с етиламин доведе до получаване на съответните енаминоамиди **10** (Схема 5). Реакциите проведохме като към дихлорометанов разтвор на съответния кетоамид **9** прибавяхме 70% воден разтвор на етиламин в излишък от 10-15 мол%, последван от безводен натриев сулфат. Получените смеси разбърквахме в затворен реакционен съд в продължение на 18 – 24 h. След филтруване на сушителя и отстраняване на разтворителя и излишъка от етиламин под вакуум, енаминоамидите **10** бяха използвани веднага в следващия етап на синтеза, без допълнително пречистване. Въпреки че са стабилни при нормални условия и могат да бъдат съхранявани продължително време, тези съединения не могат да бъдат пречиствани чрез хроматография върху силикагел или алумогел, тъй като лесно търпят хидролиза под действие на сорбента и се превръщат обратно в изходните β -кетоамиди. В ЯМР спектрите на непречистените енаминоамиди наблюдавахме интересна тенденция за установяване на ротамерно-тавтомерни равновесия в $CDCl_3$, с изразено влияние на заместителя R^1 – при малки остатъци R^1 (CH_3 , $n-C_3H_7$), както и при бензилов R^1 , доминира Z-енамино формата с дял от 90-95%, докато при дълговерижните остатъци R^1 се наблюдава спектрална картина съответстваща на сложна смес от тавтомери и Z/E диастереоизомери (Схема 6). Независимо от това, веществата **10** показаха висока реакционна способност към ацилиращи агенти, което позволи да получим съответните междинни съединения **11** чрез взаимодействие с 2-нитробензоилхлорид в присъствие на 1 еквивалент база (4-метилморфолин) и 0.05-0.20 еквивалента трансацилиращ катализатор (DMAP).

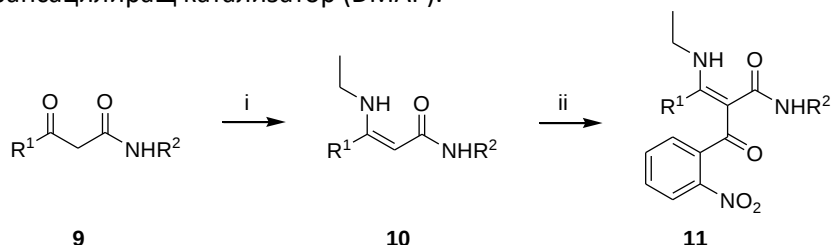


Схема 5. Получаване на α -(*o*-нитробензоил)- β -енаминоамиди **11**: i) $EtNH_2$ (70% aq., 1.05 – 1.15 equiv.), CH_2Cl_2 , Na_2SO_4 , 24 h r.t.; ii) NMM (1 equiv.), DMAP (0.2 equiv), *o*-нитробензоил хлорид (1 equiv.), CH_2Cl_2 , 2h, r.t.

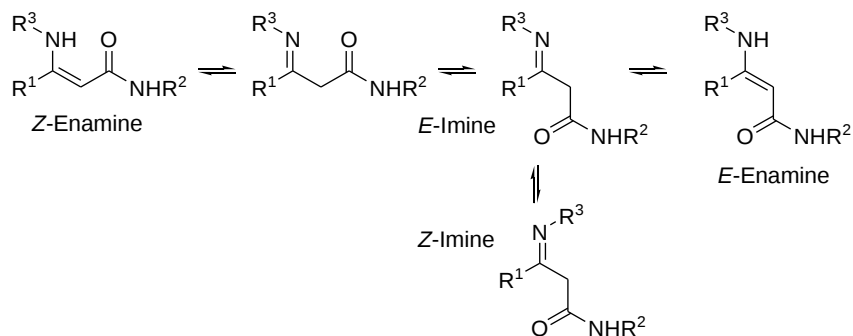


Схема 6. Равновесие между различни тавтомерни и диастереомерни форми на междинни съединения **10**.

⁸ Номерацията на кетоамидите тук следва схема, независима от тази в предходната точка.

Таблица 2. Добиви на α -(*o*-нитробензоил)- β -енаминоамиди **11**, получени съгласно Схема 5:

11	R¹	R²	Добив* (%)
a	<i>n</i> -C ₃ H ₇	C ₆ H ₅	90
b	<i>i</i> -C ₄ H ₉	C ₆ H ₅	75
c	<i>n</i> -C ₅ H ₁₁	C ₆ H ₅	89
d	<i>n</i> -C ₇ H ₁₅	C ₆ H ₅	88
e	<i>n</i> -C ₇ H ₁₅	<i>p</i> -C ₆ H ₄ OCH ₃	86
f	<i>n</i> -C ₇ H ₁₅	<i>p</i> -C ₆ H ₄ Cl	91
g	<i>n</i> -C ₉ H ₁₉	C ₆ H ₅	83
h	<i>n</i> -C ₉ H ₁₉	<i>p</i> -C ₆ H ₄ OCH ₃	81
i	<i>n</i> -C ₉ H ₁₉	<i>p</i> -C ₆ H ₄ Cl	79
j	CH ₃	<i>p</i> -C ₆ H ₄ Cl	90
k	CH ₃	<i>p</i> -C ₆ H ₄ OCH ₃	92
l	CH ₃	CH ₂ C ₆ H ₅	90

* След два етапа, без изолиране и пречистване на междинни съединения **10**.

Взаимодействията протекоха с висока селективност към α -въглеродния атом в **10** и доведоха до получаване на α -въглеродно ацилираните енаминоамиди **11** с добри добиви. Енаминоамиди **10** с първична карбоксамидна група ($R^2 = H$) дадоха по-ниски добиви от желаните междинни съединения **11** и опитите с тях като цяло бяха с лоша възпроизводимост. Тези примери не са включени в Таблица 2. От друга страна, когато R^2 е арилова или бензилова група, добивите на вещества **11** са с много добра възпроизводимост и попадат в интервала 75–92% (Таблица 2). Сред изследваните примери, заместителят R^1 оказва сравнително по-слабо влияние върху добивите на вещества **11**, но бе наблюдаван отявлено неблагоприятен ефект на пространствено запречване в някои от случаите. Така например, при наличие на заместители в α -позицията на R^1 , добивите на **11** бяха под 50% (оценени по HPLC и TLC) и по тази причина съответните продукти не бяха изолирани и пречистени за по-нататъшна работа.

По аналогичен начин, чрез междинно получаване на енаминоамиди **12** и взаимодействието им с *орто*-флуоробензоилхлорид (Схема 7), бяха получени *орто*-флуоробензоилните производни **13**. Очакваният за съединения **13** механизъм на циклизация предполага запазване на остатъка R^3 в крайните продукти от 4-хинолонов тип. Ето защо, за разлика от синтеза на нитро-аналозите **11**, тук бе вариран вида на използвания амин R^3NH_2 , с оглед диверсифициране на заместването при хинолоновия азотен атом в целевите крайни продукти. От друга страна, заместителят R^2 в повечето примери бе фиксиран на C₆H₅, за да ограничим броя на първоначално изследваните съединения. Добивите на получените съгласно Схема 7 продукти **13** и комбинациите от заместители в тях са представени в Таблица 3.

Таблица 3. Добиви на α -(*o*-флуоробензоил)- β -енаминоамиди **13**, получени съгласно Схема 7:

13	R¹	R²	R³	Добив* (%)
a	CH ₃	C ₆ H ₅	CH ₃	84
b	CH ₃	C ₆ H ₅	C ₂ H ₅	81
c	CH ₃	C ₆ H ₅	CH ₂ CH ₂ C ₆ H ₅	74
d	CH ₃	<i>p</i> -C ₆ H ₄ OCH ₃	C ₂ H ₅	87
e	CH ₃	<i>p</i> -C ₆ H ₄ Cl	C ₂ H ₅	92
f	C ₃ H ₇	C ₆ H ₅	CH ₃	71
g	C ₅ H ₁₁	C ₆ H ₅	CH ₃	77
h	C ₇ H ₁₅	C ₆ H ₅	C ₂ H ₅	60
i	C ₇ H ₁₅	<i>p</i> -C ₆ H ₄ OCH ₃	C ₂ H ₅	87

* След два етапа, без изолиране и пречистване на междинни съединения **12**.

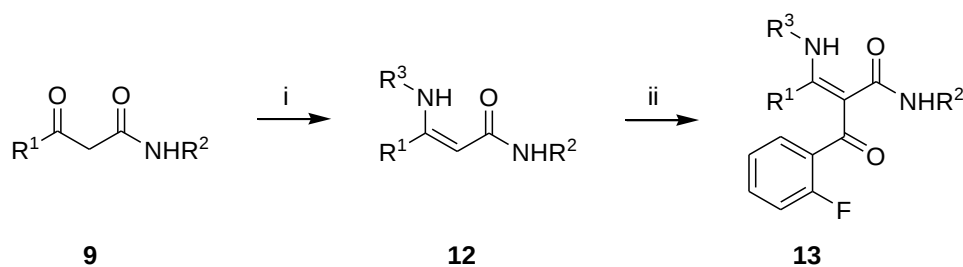


Схема 7. Получаване на α -(*o*-флуоробензоил)- β -енаминоамиди **13**, реагенти и условия: i) R^3NH_2 , CH_2Cl_2 , Na_2SO_4 , 24 h r.t.; ii) NMM (1 equiv.), DMAP (0.2 equiv.), *o*-флуоробензоил хлорид (1 equiv.), CH_2Cl_2 , 2h, r.t.

В ESI-MS на получените съединения **11** и **13** се наблюдават сигнали за молекулен йон при теоретично изчислените за моноацилирано производно m/z стойности, а протонните и въглеродни ЯМР спектри позволяват недвусмислено да определим, че *орто*-функционализираната бензоилна група е постъпила именно при алфа-въглеродния атом, а не в друга конкурентна нуклеофилна позиция, като например енаминния азот. Съпоставка между протонните ЯМР спектри на продуктите **11/13** и тези на изходните енаминоамиди **10/12** показва, че сигналът за енаминната NH група (9.00 – 9.40 ppm) се запазва в продуктите на реакцията, макар и отместен в по-слабо поле (11.59 – 11.90 ppm), докато характерния при изходните съединения сигнал за винилов протон (4.30 – 4.50 ppm) липсва в спектрите на продуктите. В 1H -декуплираните ^{13}C -ЯМР спектри на енаминоамидите **10/12** сигналът за алфа-въглеродния атом се появява при 83.40 – 84.50 ppm, докато в ацилираните продукти този сигнал е при около 107 ppm и е значително по-слаб поради липсата на съседни протони. При много от веществата **11/13** въпросният сигнал е трудно различим от шума, допълнителна причина за което са обменните процеси между различни ротамерно-тавтомерни форми. За разлика от позицията на ацилиране, конфигурацията на получените въглеродно ацилирани продукти **11/13** е значително по-трудно да бъде определена. В разтвор тези съединения съществуват под формата на ротамерно-тавтомерни смеси, за което съдим по техните протонни ЯМР спектри. В $DMSO-d_6$ преходът между различните състояния е бавен и това позволява да бъдат регистрирани ясни сигнали за всяка от формите. В повечето случаи в този разтворител доминира една основна форма, сигналите за която са описани в експерименталната част. Не бяха проведени детайлни изследвания за определяне конфигурацията на тази основна форма, но можем да твърдим, че това е енамино-тавтомер, въз основа на ясно изразеното спин-спиново взаимодействие между енаминните NH протони и тези от съседната им CH_2 група (при $R^3 = CH_2CH_3$). Благодарение на това взаимодействие, NH сигнала (при около 11.60 ppm) се регистрира като триплет, този за CH_2 (при около 3.50 ppm) – като недобре разделен дублет от квадруплети, вместо като единичен квадруплет, както би следвало за един имино-тавтомер. По същите причини, при $R^3 = CH_3$, NH сигнала се регистрира като квадруплет, а този за метиловата R^3 група – като дублет. От друга страна, в среда от $CDCl_3$ бяха регистрирани силно уширени коалесцентни сигнали, които не могат да бъдат ясно отнесени към конкретни протони. Това е индикация за по-бърз преход между ротамерно-тавтомерните състояния в този разтворител.

2.2. Циклизация на бензоилирани енаминоамиди до 2-алкил-4-хинолон-3-карбоксамиди

2.2.1. Редуктивна циклокондензация на орто-нитробензоилирани енаминоамиди **11**

Планираният финален циклизационен етап на орто-нитробензоилните интермедиати **11** включва редукция на нитро групата до amino група, и последваща вътрешномолекулна циклизация на получените междинни съединения (Схема 8).

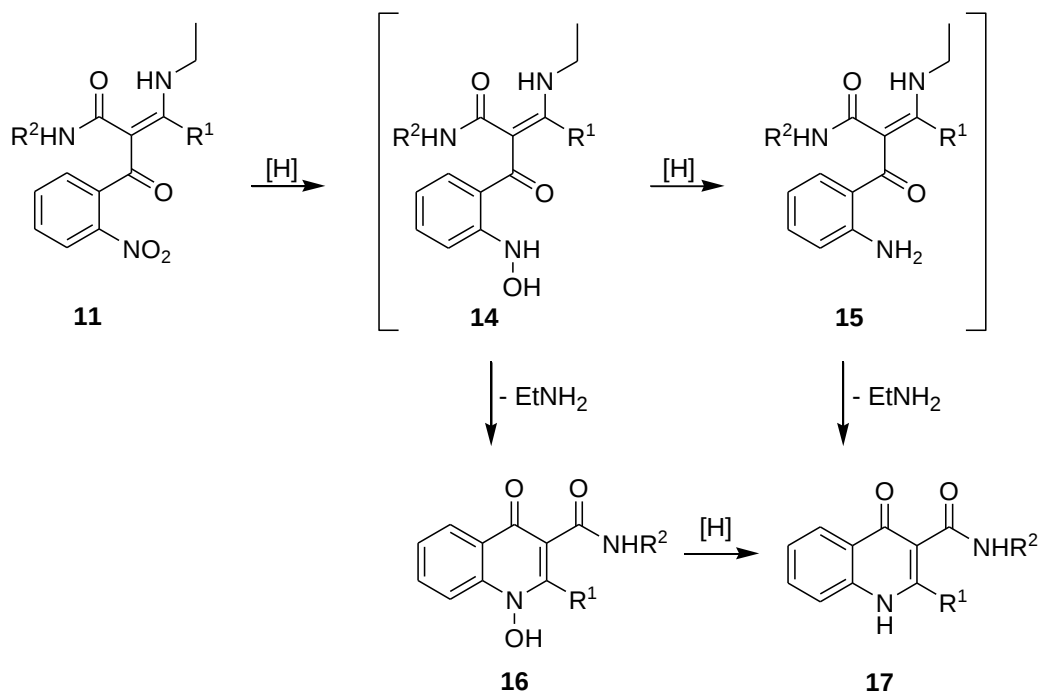
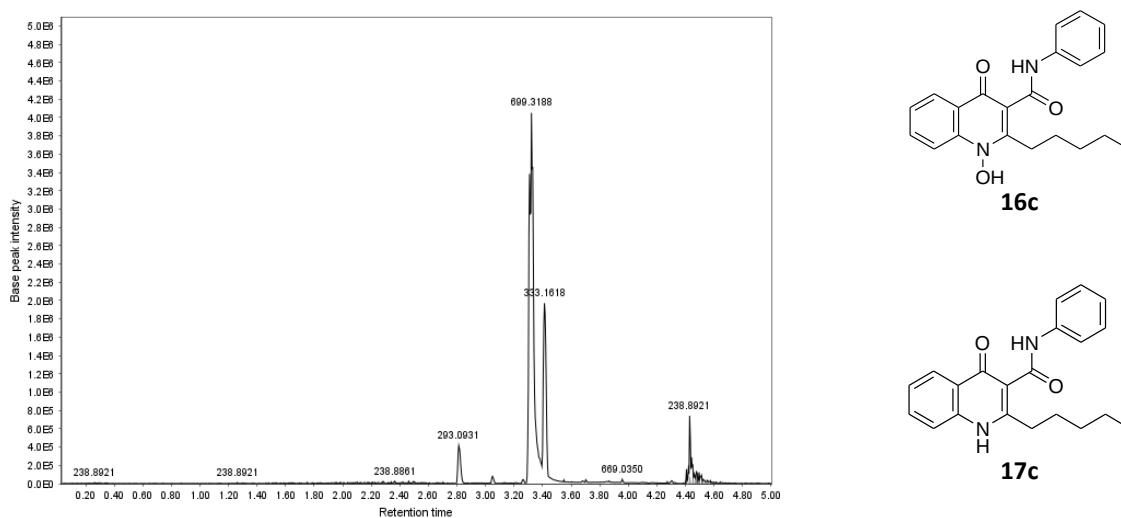
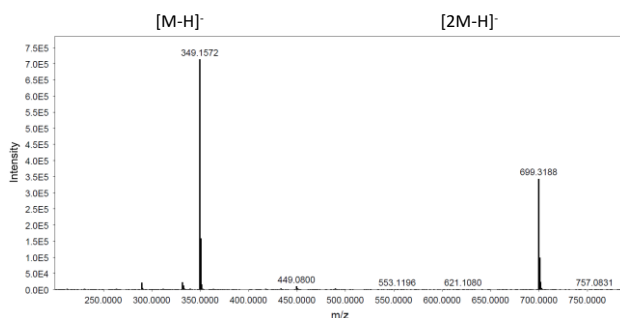


Схема 8. Редуктивна циклокондензация на *o*-нитробензоилирани интермедиати **11**.

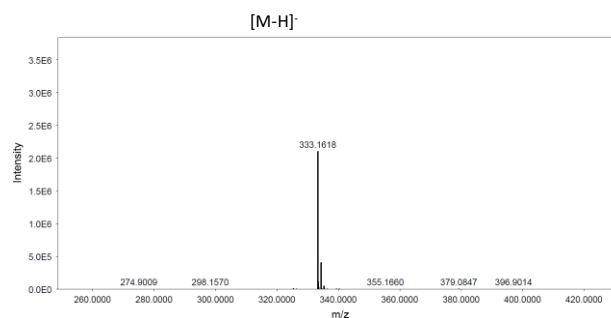
За тази цел проведохме опити при два типа редукционни условия – със цинк в оцетна киселина/дихлорометан или чрез хетерогенно *Pd*-катализирано (*Pd/C*) трансферно хидрогениране с амониев формиат. Опитите, и при двата типа условия, доведоха до сравнително бързо (в рамките на 1-4 часа) изчерпване на изходните съединения и получаване на трудноразделими смеси от продукти с много сходни ЯМР спектри. Първоначално допуснахме, че е възможно в ЯМР спектрите да се наблюдава смес от тавтомерни форми на получените циклични продукти **17**. Внимателен анализ на получените вещества чрез UPLC-MS обаче показва, че реакциите водят до смес от два продукта, различаващи се един от друг с 16 атомни единици за маса (Фиг. 1 – 3).



Фигура 1. UPLC хроматограма на реакционна смес, съдържаща съединения **16c/17c**.



Фигура 2. Мас-спектър на съединение 4с, ESI (-)



Фигура 3. Мас-спектър на съединение 5с, ESI (-)

Така бе установено, че от съединения **11** получаваме очакваните 2-алкил-4-(1*H*)-хинолон-3-карбоксамиди **17** в смес с техните *N*-хидрокси производни **16**. Този резултат е обясним, тъй като редукцията на ароматните нитропроизводни **11** преминава през съответните хидроксиламини **14**, които също са способни на вътрешномолекулна циклизация, която обаче води до *N*-хидрокси-4-хинолонови производни **16** (Схема 8). Този проблем постави задача за намиране на редукционни условия, които биха осигурили избирателно получаване на поне единия тип хинолонови продукти – **16** или **17**. По отношение на 1*H*-хинолоните **17** този проблем беше лесно решен чрез удължаване на времето за редукция със Zn/AsOH до 18 – 24h, което позволи *N*-хидрокси производните **16** да бъдат редуцирани до съединения **17** и последните да бъдат изолирани с високи добиви (Таблица 4).

Таблица 4. Добиви на 2-алкил-4-хинолон-3-карбоксамиди **17**, получени съгласно Схема 8:

17	R ¹	R ²	Добив (%)
a	<i>n</i> -C ₃ H ₇	C ₆ H ₅	90
b	<i>i</i> -C ₄ H ₉	C ₆ H ₅	56
c	<i>n</i> -C ₅ H ₁₁	C ₆ H ₅	63
d	<i>n</i> -C ₇ H ₁₅	C ₆ H ₅	90
e	<i>n</i> -C ₇ H ₁₅	<i>p</i> -C ₆ H ₄ OCH ₃	72
f	<i>n</i> -C ₇ H ₁₅	<i>p</i> -C ₆ H ₄ Cl	83
g	<i>n</i> -C ₉ H ₁₉	C ₆ H ₅	70
h	<i>n</i> -C ₉ H ₁₉	<i>p</i> -C ₆ H ₄ OCH ₃	80
i	<i>n</i> -C ₉ H ₁₉	<i>p</i> -C ₆ H ₄ Cl	82
j	CH ₃	<i>p</i> -C ₆ H ₄ Cl	92
k	CH ₃	<i>p</i> -C ₆ H ₄ OCH ₃	92
l	CH ₃	CH ₂ C ₆ H ₅	79

В някои от случаите чрез увеличаване на реакционното време бяха постигнати задоволителни добиви на 1*H*-хинолони **17** и при условия на *Pd*-катализирано хидрогениране, но като цяло редукцията с Zn/AsOH даде по-високи добиви на тези съединения. Междинни съединения **14/15** не бяха изолирани в нито един от изследваните примери, поради спонтанната им циклизация при условията на тяхното получаване. Вероятни са два алтернативни механизма на циклизация, включващи нуклеофилна атака на amino- или хидроксиламино групата към енаминен (6-*endo-trig*) или иминиев въглерод (6-*exo-trig*) на съответните протонирани тавтомери (Схема 9). Сключването на цикъла чрез това вътрешномолекулно нуклеофилно присъединяване е последвано от пренос на протон към етиламинния азот, което от своя страна улеснява елиминирването на етиламин в заключителната фаза на процеса (Схема 9). Съществува и вариант за протичане на 6-*endo-trig* циклизация след протониране при кетонния карбонилен клород, вместо при амидния, но за простота той не е включен в схемата.

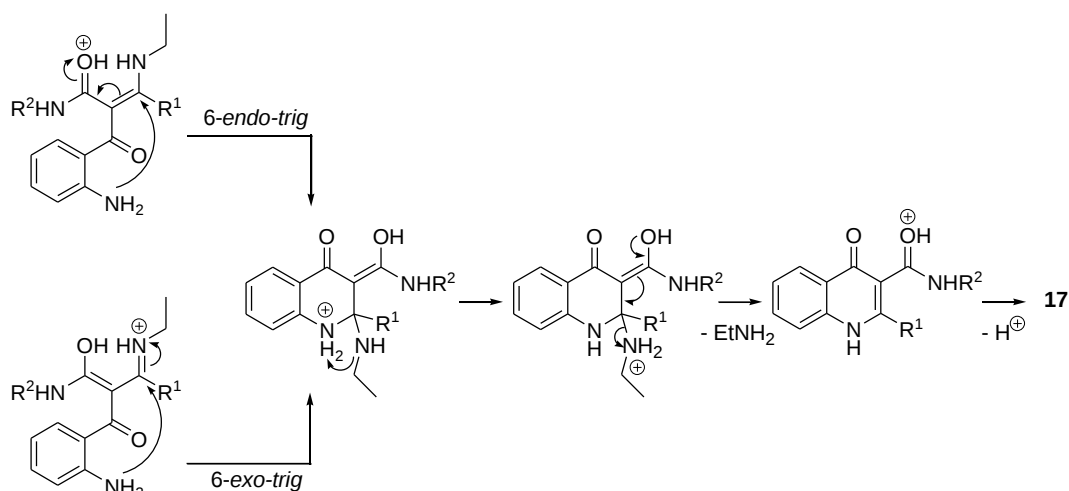
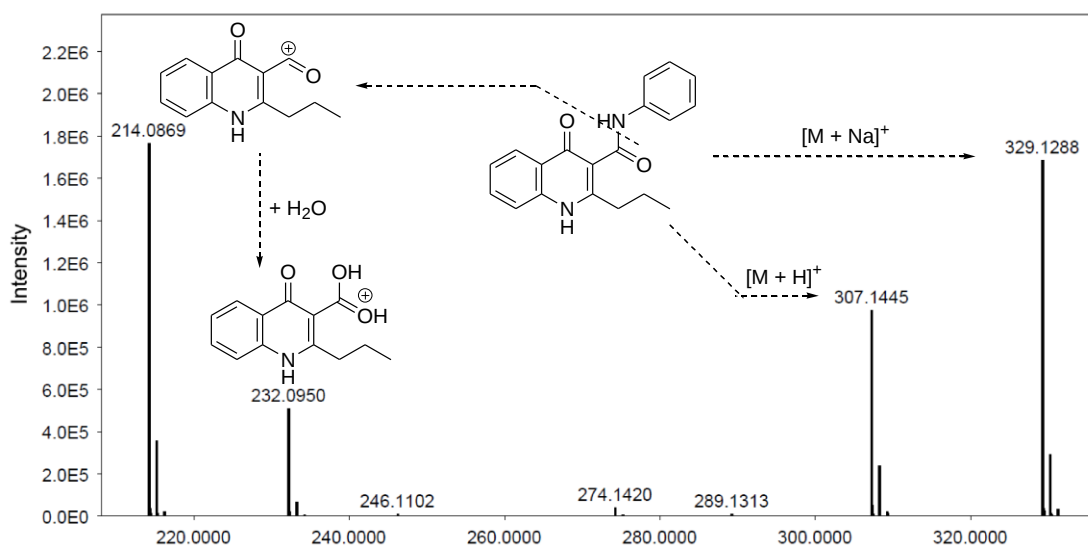


Схема 9. Вероятен механизъм на циклизация, с алтернативни 6-ехо и 6-ендо процеси.

За разлика от междинните съединения **11**, цикличните продукти **17** са конформационно ограничени и в протонните им ЯМР спектри липсват дискутираните в предходната точка индикации за ротамерни обменни процеси. Предпочетената тавтомерна форма е карбонилната, като в ^{13}C -ЯМР спектрите се наблюдават сигнали за C4-карбонилния въглерод при 176 – 177 ppm и за амиден карбонилен въглерод при 164 – 166 ppm. Сигналите за въглеродните атоми във втора и трета позиция на хинолоновия пръстен са при 155 – 158 ppm и 111 – 113 ppm, съответно.

В мас-спектрите на **16** и **17** с електроспрей йонизация в положителен режим, наред с основния сигнал за молекулен йон се наблюдава и силен сигнал за ацилиев катионен фрагмент, получен при разкъсване на карбоксамидната група, както и сигнал за съответния адукт на този йон с молекула вода. Тази спектрална картина е характерна за всички съединения **16** и **17**, и е показана на Фигура 4 за съединение **17a**, като типичен пример. Йонизацията в отрицателен режим, от друга страна, не доведе до фрагментация и за съединения **17** бяха регистрирани само $[\text{M} - \text{H}]^-$ йони. В същия режим *N*-хидрокси производните **16** показаха ясна тенденция за димеризация, като във всички спектри наред със сигнала за $[\text{M} - \text{H}]^-$ присъстваше и сигнал за димерен $[2\text{M} - \text{H}]^-$ йон (Фигура 2).



Фигура 4. ESI+ мас-спектр на съединение **17a**, илюстриращ характерната за 2-алкил-4-хинолон-3-карбоксамидите **17** фрагментация.

2.2.2. Вътрешномолекулно ароматно нуклеофилно заместване при орто-флуоробензоилирани енаминоамиди **13**

При орто-флуоробензоилираните енаминоамиди **13** съществува възможност за ароматно нуклеофилно заместване от тип „присъединяване-елиминиране“, предвид изгодното взаимно положение на флуорен и ацилов заместител в бензенов пръстен. Това, в комбинация с еднаквата отдалеченост на два потенциални азотни нуклеофилни центъра в същата молекула, позволява заместването на флуорния атом да се извърши вътрешномолекулно, по два алтернативни пътя, водещи съответно до 4-хинолони **18** и 2,4-хинолиндиони **19** (Схема 10). Изборът на реакционен път би следвало да бъде определен още в първата стъпка на депротониране на изходните съединения **13**, осигуряваща активен азотен нуклеофил, който по-нататък да атакува ароматния въглерод, свързан с флуора. Очаквахме по-податлива на депротониране да бъде енаминната NH група, предвид по-добрата възможност за резонансна стабилизация на възникващия анион, но не можехме да изключим и конкурентен процес, иницииран от депротониране на амидната NH група. За да изясним това, проведохме поредица опити за циклизация на съединения **13** в базична среда, като варирахме разворителя, температурата, както и вида и количеството на използваната база. От първостепенна важност за протичане на циклизация бе силата на използваната база – бази като алкални карбонати или триетиламин не дадоха резултат, независимо от използвания разтворител и температура. Под действие на калиев третичен бутилат обаче изходните съединения претърпяха бърза реакция, водеща до един основен продукт. Най-добри резултати постигнахме при употреба на два еквивалента KO^tBu, в тетраhydroфуран при стайна температура. Тези условия бяха подходящи за всички изследвани примери и доведоха до получаване единствено на 4-хинолоните **18** (Таблица 5), но не и на хипотетично възможните 2,4-хинолиндионове изомери **19**. Двата типа възможни продукти биха имали много сходни ЯМР спектри, но важен детайл по който могат да бъдат различени е спин-спиновото взаимодействие между енаминния NH и съседните му протони в R³ остатъка, особено в комбинация с ароматен остатък R², при който аналогично разцепване на амидния NH сигнал не се наблюдава в ¹H-ЯМР спектрите. Споменатото спин-спиново взаимодействие в NHR³ води до триплетен (R³ = етил, фенетил) или квадруплетен (R³ = метил) сигнал за енаминния протон, както и до съответната мултиплетност на съседните му протони в R³. Такава мултиплетност на дискутираните сигнали ясно се вижда в спектрите на изходните съединения **13**, но не и в тези на продуктите, по което можем да съдим, че структурата им съответства на **18**, а не на **19**. Вариант с получаване на имино-тавтомер на **19** можем да изключим, тъй като той би бил разпознаваем по други признаци, като отнемстване на енолния OH сигнал и C4 сигнала в ¹³C спектрите.

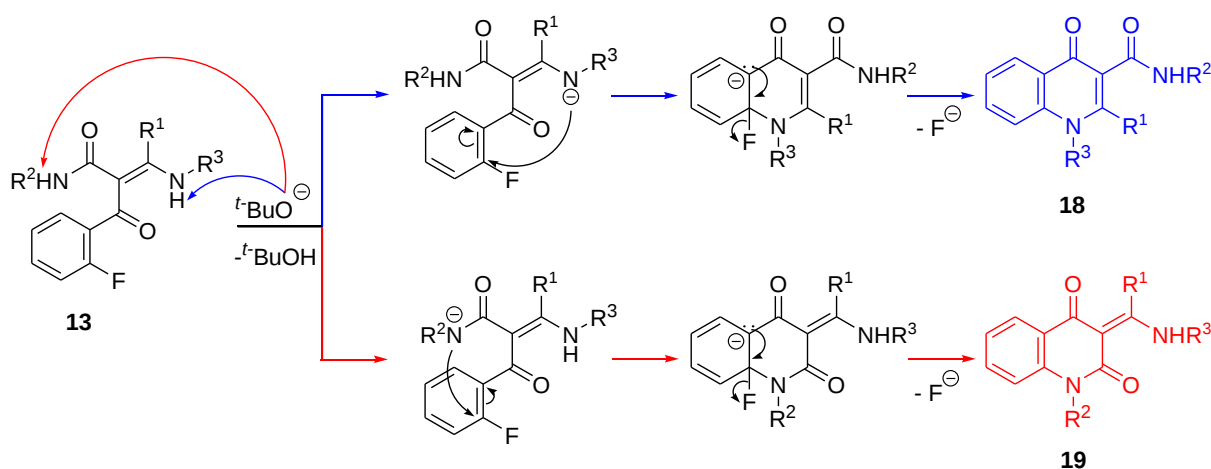


Схема 10. Възможни позиции за депротониране и алтернативни пътища за вътрешномолекулно ароматно нуклеофилно заместване при съединения **13**.

Таблица 5. Добиви на 1,2-диалкил-4-хинолон-3-карбоксамиди **18**, получени съгласно Схема 10:

18	R¹	R²	R³	Добив (%)
a	CH ₃	C ₆ H ₅	CH ₃	69
b	CH ₃	C ₆ H ₅	C ₂ H ₅	76
c	CH ₃	C ₆ H ₅	CH ₂ CH ₂ C ₆ H ₅	74
d	CH ₃	<i>p</i> -C ₆ H ₄ OCH ₃	C ₂ H ₅	70
e	CH ₃	<i>p</i> -C ₆ H ₄ Cl	C ₂ H ₅	72
f	C ₃ H ₇	C ₆ H ₅	CH ₃	75
g	C ₅ H ₁₁	C ₆ H ₅	CH ₃	76
h	C ₇ H ₁₅	C ₆ H ₅	C ₂ H ₅	56
i	C ₇ H ₁₅	<i>p</i> -C ₆ H ₄ OCH ₃	C ₂ H ₅	59

2.3. Получаване на 2-алкил-4-хинолони

Въглеродно ацилираните междинни съединения **11**, описани в точка 2.2., очаквахме лесно да претърпят процес на декарбамоилиране при нагряване в кисела среда. Реакцията е докладвана по-рано за сходни съединения от колектив от катедра Органична химия на ПУ „Паисий Хилендарски“, с реализации в среда от ортофосфорна или трифлуорооцетна киселина, при 60-80 °C или при кипене под обратен хладник, съответно. Успешното ѝ провеждане в контекста на настоящата работа би позволило получаване на 4-хинолонови производни без заместител в С3-позиция. Именно такива са редица природни 4-хинолони с интересни биологични функции, както бе обърнато внимание в раздел 2.1 на литературния обзор. Ето защо, проведохме опити за декарбамоилиране на *орто*-нитробензоилираните интермедиати **11** чрез нагряване при 60 °C в среда от чиста ортофосфорна киселина. При тези условия очакваното декарбамоилиране (Схема 11) протече чисто, в рамките на 1-2 часа, като наблюдавахме тенденция за забавяне на реакцията с удължаване на веригата в остатъка R¹. Това ни позволи да изолираме съответните β-енаминокетони **20** в добри добиви (Таблица 6). Влиянието на заместителя R² върху протичането на тези реакции не бе изследвано системно. Отразените в Таблица 6 добиви се отнасят за R² = C₆H₅.

ЯМР спектрите на енаминокетоните **20** в DMSO-*d*₆ във всички случаи указаха присъствие на смес от *Z/E* изомери в приблизително съотношение 85:15. Като типичен пример на Фигура 1 е показан протонния спектър на **20b** в интервал 0.70 – 5.50 ppm, в който ясно се виждат добре разделените сигнали за двата изомера. Въз основа на NOESY спектъра на същата смес може да се направи извода, че в по-висока концентрация е *Z* изомера, чиято молекула е стабилизирана от вътрешна водородна връзка C=O...H-N.

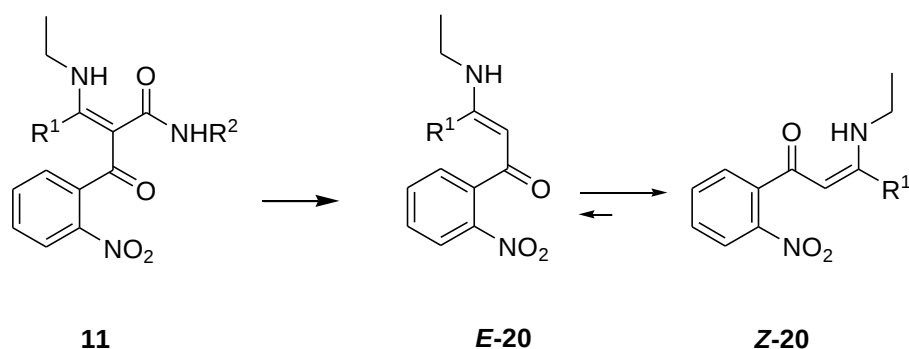
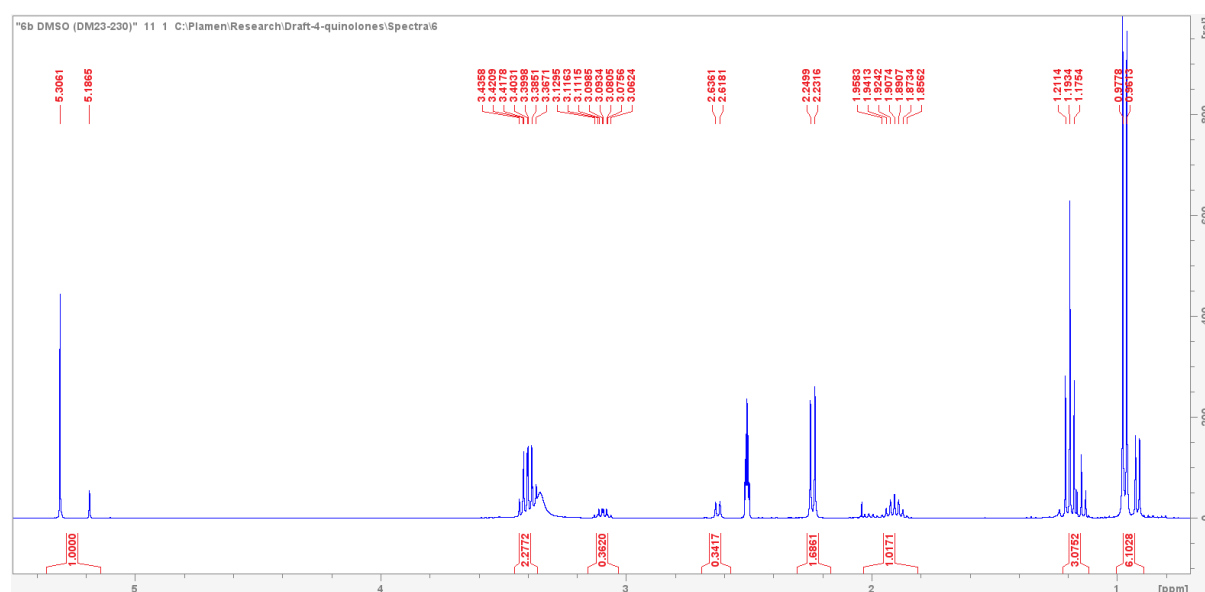


Схема 11. Декарбамоилиране на междинни съединения **11** в среда от H₃PO₄.

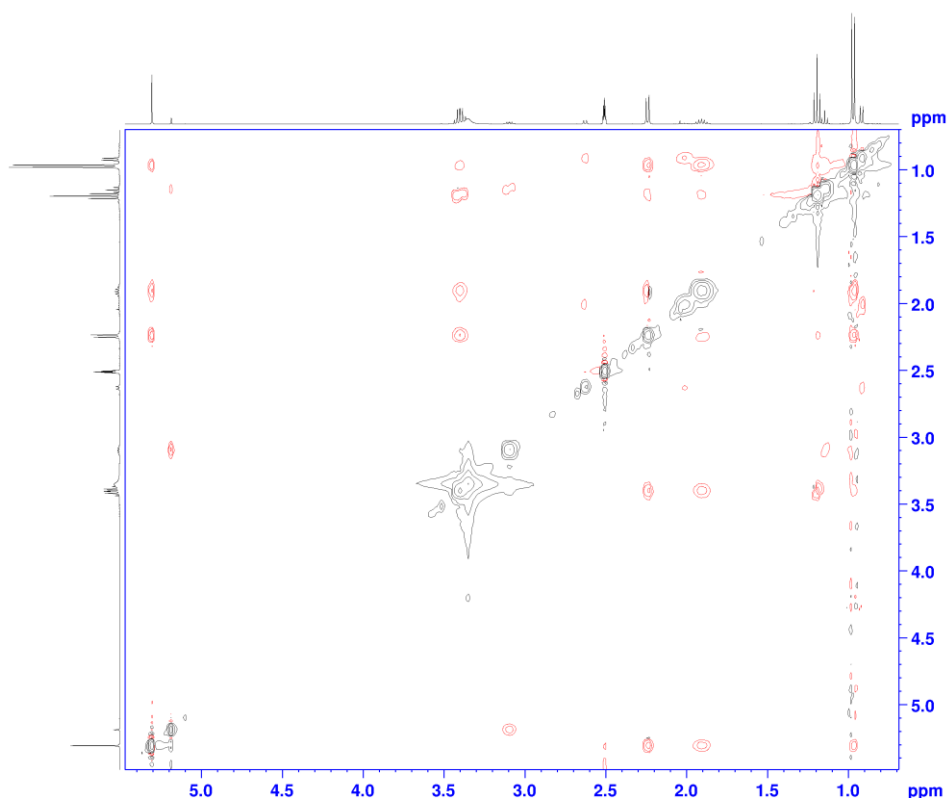
Таблица 6. Добиви на *β*-енаминокетони **20** получени чрез декарбамоилиране на междинни съединения **11**, съгласно Схема 2:

20	R¹	Добив (6) %
a	<i>n</i> -C ₃ H ₇	90
b	<i>i</i> -C ₄ H ₉	91
c	<i>n</i> -C ₅ H ₁₁	91
d	<i>n</i> -C ₇ H ₁₅	93
e	<i>n</i> -C ₉ H ₁₉	86

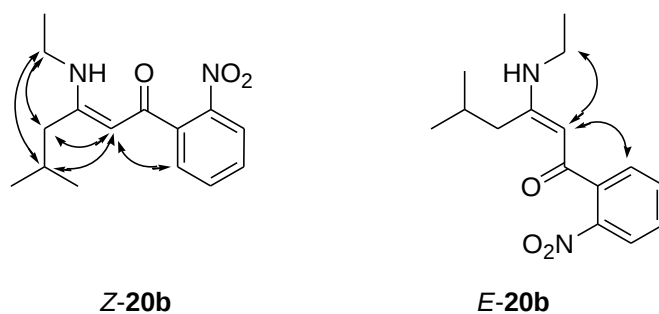
От приложените като Фигура 5 и Фигура 6 отрязци ясно се вижда, че сигналът за виниловия протон на минорния компонент (5.19 ppm) корелира със сигналите от етиловата групата, докато същия сигнал от основния компонент (5.30 ppm) корелира с изобутиловия остатък, което е индикация за съответните пространствени близости (Фигура 7). Спектрите на енаминокетоните **20** в CDCl₃ показват нетипично уширен сигнал за характеристичните винилови CH протони (около 5.3 ppm), което говори за динамично равновесие с обмен между *Z* и *E* изомерите. Механизмът на този процес вероятно включва последователност от енамино-имино тавтомеризация, ротация по сигма връзка в имино-тавтомера и обратна тавтомеризация до енамино-тавтомер, подобно на разгледания при енаминоамидите **10** процес (Схема 6). В този случай, обаче, имино-тавтомери практически не се регистрират в ЯМР спектрите, което показва, че са по-краткоживущи от тези при енаминоамидите **10**. Вероятна причина е липсата на възможност за стабилизация чрез вътрешна Н-връзка при имино-**20**, докато такава може да съществува между иминния и амидния азотни атоми на имино-**10** тавтомерите.



Фигура 5. Отрязък 0.70 – 5.50 ppm от ¹H-ЯМР спектър в DMSO-d₆ на *Z/E* изомерна смес от съединение **20b**.



Фигура 6. Отрязък от NOESY спектър на Z/E изомерна смес от съединение **20b**, позволяващ да определим конфигурациите на основния и минорния компонент.



Фигура 7. NOE корелации при Z- и E- изомерите на съединение **20b**.

Като следваща стъпка, по аналогия с циклизацията на интермедиати **11**, бяха проведени опити за редукция на нитрогрупата в получените енаминокетони **20** до аминогрупа. При това отново бе наблюдавано получаване на смес от хинолин-4-они **24** и техни N-хидроксипроизводни **23**, като циклизационен продукт на междинните хидроксиламини **21** (Схема 12). Провеждането на редукцията с голям излишък от $Zn/AcOH$ за 24 часа позволи да бъдат получени 2-алкил-4(1H)-хинолоните **24** в добри добиви и висока чистота, с тенденция за по-бавни реакции при удължаване на веригата в остатъка R^1 . Предполагаемият механизъм на циклизация не се различава съществено от този, разгледан в Схема 9, с тази разлика, че тук е налице само една карбонилна група, при която може да бъде протониран енамино тавтомерът (Схема 13).

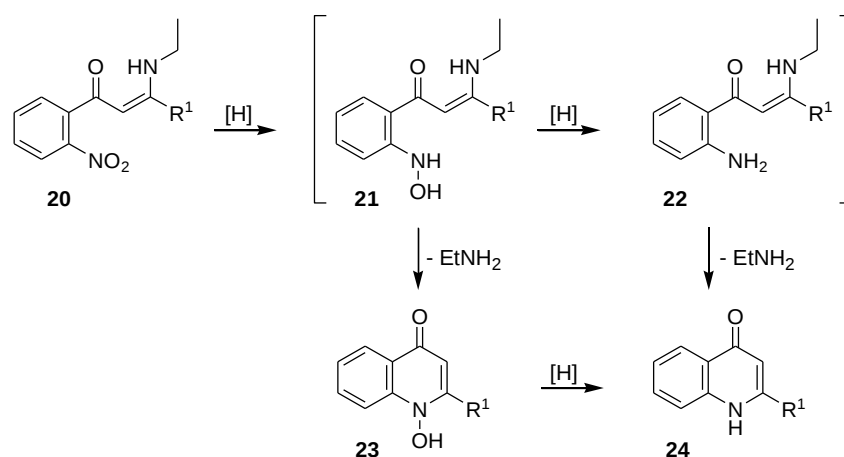


Схема 12. Редуктивна циклокондензация на енаминокетони **20**.

Таблица 7. Добиви на 2-алкил-4-хинолони **24**, получени съгласно Схема 2:

24	R ¹	Добив (%)
a	<i>n</i> -C ₃ H ₇	72
b	<i>i</i> -C ₄ H ₉	74
c	<i>n</i> -C ₅ H ₁₁	90
d	<i>n</i> -C ₇ H ₁₅	90
e	<i>n</i> -C ₉ H ₁₉	86

С изключение на съединение **24b**, всички синтезирани по гореописания начин 2-алкил-4-(1*H*)-хинолони **24** са известни от литературата природни продукти. Съединение **24a** е алкалоид, изолиран от *Boronia ternata* var. *elongata* и *Boronia alulata* (Rutaceae), а съединения **24c-e** са метаболити на *P. aeruginosa* и сродни бактериални видове, особено интересен сред които е C₇-аналога **24d** (ННQ), имащ важна роля в междуклетъчната комуникация на *P. aeruginosa*. Както бе споменато в литературния обзор, интересни биологични активности са наблюдавани и при C₅ и C₉-аналозите (**24c** и **24e**), които се продуцират както от бактерии, така и от някои растения.

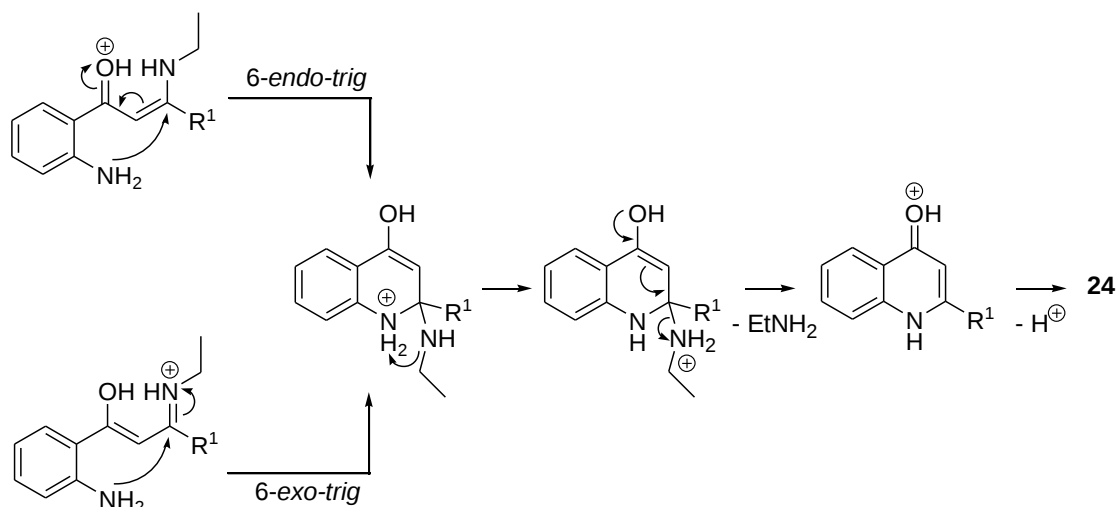


Схема 13. Вероятен механизъм на циклизация след редукция на енаминокетоните **20**.

2.4. Получаване на 2-алкил-4-хинолон-*N*-оксиди

След успешното получаване на 2-алкил-4(1*H*)-хинолоните **24** и 2-алкил-4(1*H*)-хинолон-3-карбоксамидите **17**, насочихме вниманието си към съответните им съпътстващи продукти на непълна редукция – *N*-хидрокси производните **23** и **16** (Схеми 8 и 12). Както бе обърнато внимание в литературния обзор, подобни съединения могат да съществуват в две тавтомерни форми, *N*-хидрокси-4-хинолонова **A** и 4-хинолинол-*N*-оксидна **B** (Схема 14). В литература е възприето тези съединения да се наричат с общото название 4-хинолон-*N*-оксиди, въпреки че действителния хинолонов тавтомер всъщност е *N*-хидрокси производно.

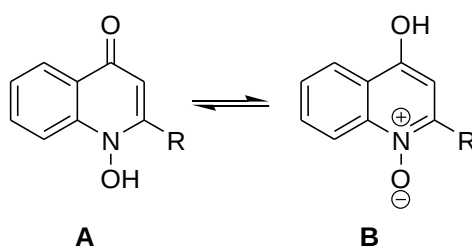


Схема 14. Тавтомерия между *N*-хидрокси-4-хинолон (**A**) и 4-хинолинол *N*-оксид (**B**).

Поради изразеното антибактериално действие на някои природни 2-Алкил-4-хинолон-*N*-оксиди, например тези с хептилова (HQNO) и нонилова верига (NQNO) във втора позиция, тези вещества са не по-малко интересни от редуцираните си аналози **24**. Ето защо, възможността за тяхното избирателно получаване от нитробензоилираните интермедиати **11** и **20** при условия на контролирана частична редукция привлече интереса ни. Намирането на условия за подобна редукция на нитро групата до хидроксиламино група, които при това не засягат *N*-оксидната група във финалните циклични продукти, съществено би разширило обсега на методиката.

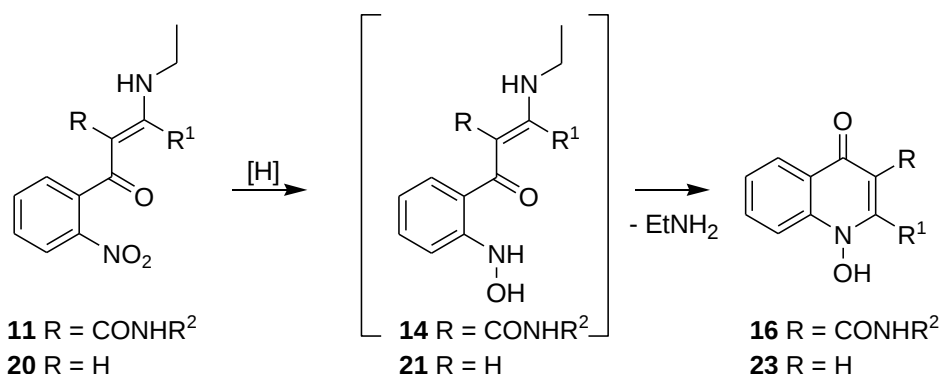


Схема 15. Частична редукция на нитро- до хидроксиламино група и последваща кондензация до 4-хинолон-*N*-оксиди **16/23**.

Както бе отбелязано в точка 2.2.1, при *Pd*-катализираното трансферно хидрогениране на междинни съединения **11** добивите на продукти **17** в повечето случаи бяха по-ниски от постигнатите с Zn/AcOH, независимо от продължителността на хидрогенирането. За това пък, при тези условия ограничаване на времето за хидрогениране до 60 – 90 минути позволи някои от *N*-хидрокси производните **16** да бъдат изолирани чисти и с добри добиви (Таблица 8, Условия А). *Pd*-катализираното трансферно хидрогениране обаче не беше подходящо за междинни съединения **11**, съдържащи ароматно свързан хлорен атом (**11f** и **11i**), поради съпътстваща редукция при връзката C-Cl. Неподходящи се оказаха тези условия и за междинните енаминокетони **20** (Схема 15, R = H), при които съкращаването на времето за реакция не позволи в нито един от случаите да изолираме с добри добиви незаместени в С3-позиция *N*-хидрокси производни **23**. Бяха проведени допълнителни експерименти за хидрогениране с H₂ при

атмосферно налягане в присъствие на Pd върху активен въглен, но резултатите не се различаваха съществено от тези, постигнати при условията на трансферно хидрогениране с амониев формиат. След множество експерименти за контролирано частично хидрогениране с H₂ при атмосферно налягане, постигнахме успех едва при употреба на частично инхибирана платина върху алуминиев оксид – условия докладвани по-рано от японска изследователска група, като подходящи за селективно превръщане на ароматни нитропроизводни съответните хидроксиламини. Съгласно тази публикувана процедура, към реакционните смеси прибавяхме малки количества DMSO и *n*-бутиламин, последвани от катализатора Pt/Al₂O₃. При тези хетерогенно-каталитични условия, и след изтегляне на въздуха от реакционния съд, бе осигурявана водородна атмосфера с помощта на обикновен балон. Така, при налягане на H₂ близко до атмосферното, желаното частично хидрогениране бе постигнато в рамките на 24 часа при стайна температура. Това позволи да получим както незаместени в C3-позиция *N*-оксиди **23** (R = H), така и недостъпните при Условия А хлорирани 3-карбоксаимидни производни **16** (R = CONHC₆H₄Cl) – Таблица 8, Условия Б.

Таблица 8. Добиви на 1-хидрокси-2-алкил-4-хинолон-3-карбоксаимиди **16** и 1-хидрокси-2-алкил-4-хинолони **23**, получени съгласно Схема 15:

	R ¹	R	Условия	Добив (%)
16a	<i>n</i> -C ₃ H ₇	CONHC ₆ H ₅	А	57
16b	<i>i</i> -C ₄ H ₉	CONHC ₆ H ₅	А	75
16c	<i>n</i> -C ₅ H ₁₁	CONHC ₆ H ₅	А	60
16d	<i>n</i> -C ₇ H ₁₅	CONHC ₆ H ₅	А	70
16e	<i>n</i> -C ₇ H ₁₅	CONH- <i>p</i> -C ₆ H ₄ OCH ₃	А	64
16f	<i>n</i> -C ₇ H ₁₅	CONH- <i>p</i> -C ₆ H ₄ Cl	Б	82
16g	<i>n</i> -C ₉ H ₁₉	CONHC ₆ H ₅	А	70
16h	<i>n</i> -C ₉ H ₁₉	CONH- <i>p</i> -C ₆ H ₄ OCH ₃	А	70
16i	<i>n</i> -C ₉ H ₁₉	CONH- <i>p</i> -C ₆ H ₄ Cl	Б	82
23a	<i>n</i> -C ₃ H ₇	H	Б	70
23b	<i>i</i> -C ₄ H ₉	H	Б	58
23c	<i>n</i> -C ₅ H ₁₁	H	Б	70
23d	<i>n</i> -C ₇ H ₁₅	H	Б	68
23e	<i>n</i> -C ₉ H ₁₉	H	Б	70

Така разработеният от нас подход за синтез на 2-алкил-4-хинолон-*N*-оксиди има преимущество пред най-използвания до момента публикуван метод, който се състои в триетапна модификация на предварително получени 2-алкил-4(1*H*)-хинолони (*O*-защита, заключаваща хинолинолната тавтомерна форма; *N*-окисление; и снемане на защитата).

Сред получените от нас съединения, изброени в Таблица 8, особен интерес представляват природните продукти HQNO и NQNO (**23d** и **23e**, съответно), които са известни и добре изучени метаболити на *P. aeruginosa* с изразена антибиотична активност срещу *S. aureus* и други Грам-положителни бактерии. Важно достойнство на разработеният метод е и възможността да бъдат получени нови и неизследвани 3-карбоксаимидни аналози на тези природни съединения.

От всички описани до тук 4-хинолонови производни, за пръв път наблюдавахме спектрални характеристики съответстващи на 4-хинолинолов тавтомер (**B**, Схема 14) при някои от *N*-оксидите **23** с R = H. Това бяха съединения **23a**, **c**, **d** и **e**. В ¹H-ЯМР спектрите на тези съединения, измерени в DMSO-d₆ при 25 °C, C3-H сигналят се появява при 7.02-7.15 ppm, вместо при около 6 ppm, както това е характерно за кето-тавтомерните форми на техните 1*H*-аналози **24**, а също и за *N*-хидрокси-4-хинолоните **23b,e**. Характерна разлика в ¹³C-ЯМР спектрите на двете тавтомерни форми е отместването на C4-сигнала – при карбонилните тавтомери на този сигнал

е в интервала 174-177 ppm, докато при хинолинолните е при 166-167 ppm. За съединения **23** (R = H) са известни и по-рано публикувани ЯМР харктеристики, но те се отнасят само за техни разтвори в деутериран метанол и са индикативни за хинолонова *N*-хидроксидна форма, с C4-карбонилна ^{13}C сигнал видим само в HMBSC спектрите.

Особено интересен беше случая на съединение **23e** (R = H, R¹ = C₉H₁₉), което при еднакви условия на синтез, в зависимост от начина на изолиране и пречистване бе получено и в двете си тавтомерни форми (Схема 16), ясно различаващи се по своите физични свойства като разтворимост, температура на топене, ЯМР спектри (Фигура 8) и ИЧ спектри (Фигура 9). Когато **23e** бе изолирано без помощта на колонна хроматография, а само след кристализация и промиване с диетилов етер, то имаше добра разтворимост в DMSO, т.т. 103-104 °C и ЯМР спектърът съответстваше на 4-хинолинол *N*-оксид. При изолиране чрез колонна хроматография върху силикагел с елуент диетилов етер, същото съединение кристализира в различни на вид кристали с много ниска разтворимост в DMSO, т.т. 146-147 °C и ЯМР спектър съответстващ на *N*-хидроксидна-4-хинолон.

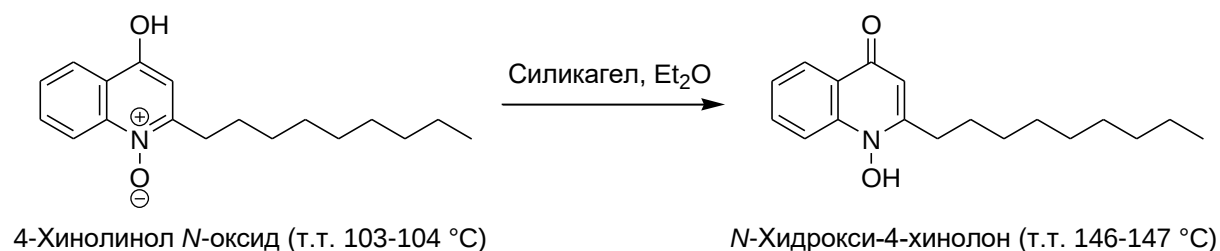
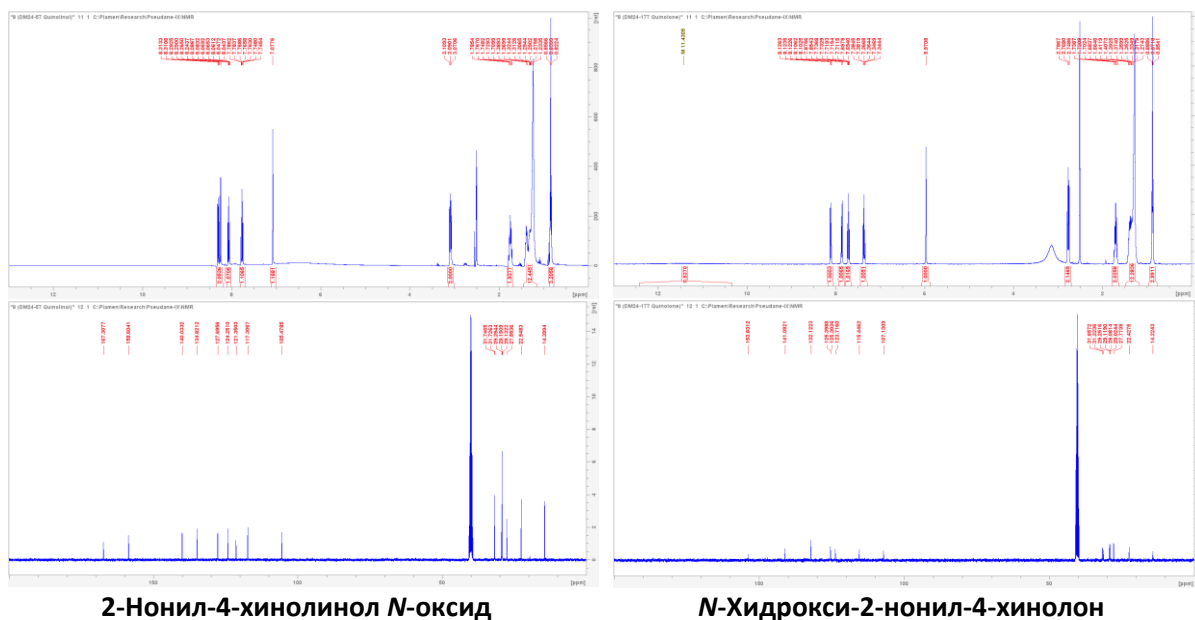
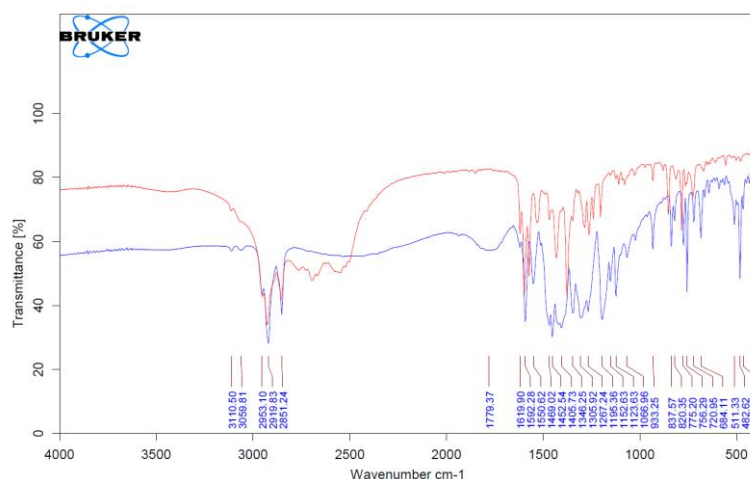


Схема 16. Тавтомерна промяна на съединение **23e** при колонна хроматография върху силикагел.



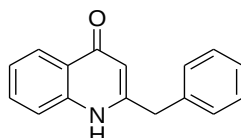
Фигура 8. ^1H и ^{13}C ЯМР спектри в DMSO-*d*₆ на двете тавтомерни форми на съединение **23e**.



Фигура 9. ИЧ спектри (табл. KBr) на 2-Нонил-4-хинолинол N-оксид (в червено) и N-Хидрокси-2-нонил-4-хинолон (в синьо).

2.5. Опити за синтез на 2-бензил-4-хинолонови производни

Повечето от природните 2-алкил-4-1(*H*)-хинолони съдържат алкилова верига с различна дължина и ненаситеност, свързана във втора позиция на хинолоновото ядро. Един от по-необичайните продукти от този тип е 2-бензил-4-1(*H*)-хинолонът (Фигура 10), изолиран като метаболит на *P. aeruginosa* BD06-03 през 2020 г.⁹ и синтезиран по-късно от същата изследователска група.¹⁰ Очаквахме, че описаната дотук методика за синтез на хинолонови производни би позволила да получим както този природен продукт, така и нови негови аналози с карбоксамиден заместител в трета позиция, но при опитите да осъществим това, констатирахме неочаквана реакция в етапа на декарбамоилиране, която ограничи разработения от нас подход само до получаване на карбоксамидни аналози на 2-бензил-4(1*H*)-хинолона.



Фигура 10. Структура на 2-бензил-4(1*H*)-хинолон.

Опитите в тази насока извършихме по описания по-горе начин (т. 2.1 и 2.2.1), с тази разлика, че предпочетохме да използваме метиламин за получаване на междинните енаминоамиди **26** (Схема 17). Причината за това е, че *N*-метил енаминоамидите **26** кристализират добре, за разлика от своите етилови аналози и лесно могат да бъдат изолирани в чист вид. За съпоставка, в един от примерите (с R = C₆H₅) синтезните последователности **26** → **28** и **26** → **30** бяха реализирани и с *N*-етилово производно, без това да доведе до разлики във вида на получаваните продукти или съществено да намали добивите. Така, изхождайки от кетоамиди **25**, чрез енаминиране, *орто*-нитробензоилиране и последваща редукция на **27** с Zn/AcOH, в три стъпки успешно получихме карбоксамидни аналози на 2-бензил-4(1*H*)-хинолона съгласно Схема 17.

⁹ *Journal of Natural Products*. **2020**, 83, 2294–2298. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.0c00026>

¹⁰ *J. Nat. Prod.* **2020**, 83, 3181–3190. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.0c00865>

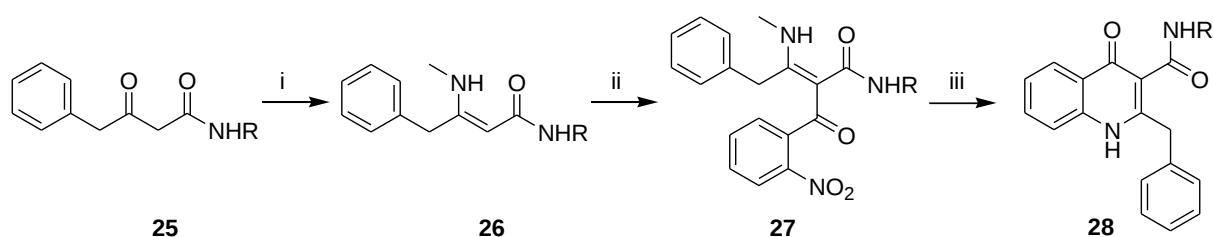


Схема 17. Синтез на 2-бензил-4-хинолон-3-карбоксамиди.

Таблица 9. Добиви на междинни съединения **26**, **27** и крайни продукти **28**, получени съгласно Схема 17.

	R	Добив (%)		
		26	27	28
a	C ₆ H ₅	95	67	74
b	<i>p</i> -C ₆ H ₄ OCH ₃	96	74	73
c	<i>p</i> -C ₆ H ₄ Cl	93	65	71

Опитите за декарбамоилиране на междинни съединения **27** обаче тук не дадоха очаквания по аналогия със съединения **11** (т. 2.3, Схема 11) резултат **29**, независимо от вида на заместителя R. И в трите случая нагряването на **27** в ортофосфорна киселина при 60 °C доведе до получаване на един и същ неочакван продукт **30** с добив 73-78%, придружено от елиминиране на съответния амин RNH₂ (Схема 18). Структурата на **30** бе доказана въз основа на ЯМР и мас-спектрален анализ и би могла да бъде резултат както от вътрешномолекулно електрофилно заместване от Фридел-Крафтс тип, така и от бп-електроциклен процес, протичащ в тавтомер на **27** с необходимата спрегната система (Схема 18).

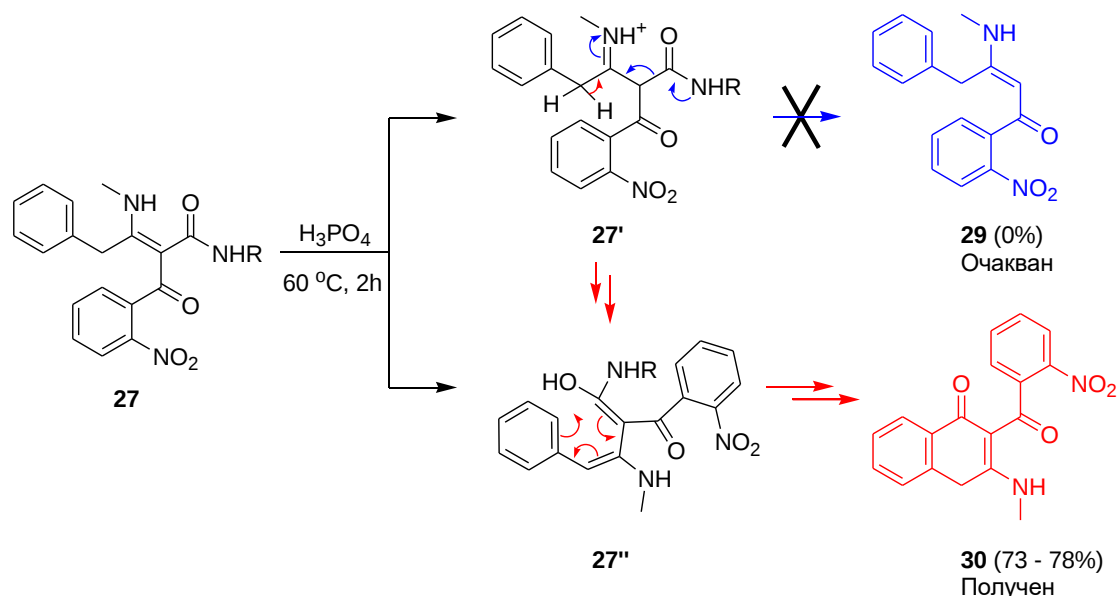


Схема 18. Неочаквана трансформация на съединения **27** до 3-метиламино-2-(2-нитробензоил)-4H-нафтаден-1-он (**30**), с вероятна междинна тавтомеризация, позволяваща бп-електроциклен процес.

Интересна особеност в мас-спектрите с положителна електроспрей йонизация на междинни съединения **27a** и **27c** е, че базовият (най-интензивен) сигнал съответства на протониран молекулен йон [M + H]⁺ на неочаквания продукт **30**, а собствените [M + H]⁺ йони на **27a** и **27c** са с по-нисък интензитет. Съединение **27b** дава базов сигнал съответстващ на

собствения му $[M + H]^+$ йон, но отново присъства интензивен сигнал (50% спрямо базовия) за протониран молекулен йон на **30**. Това е индикация, че неочакваната трансформация на **27** до **30** вероятно протича и при условията на положителна електроспрей йонизация.

Макар и неочакван, продуктът **30** е способен да претърпи редуктивна циклокондензация по механизъм подобен на дискутираните в т. 2.2.1 и 2.3. За разлика от вече разгледаните случаи обаче, тук са възможни две алтернативни циклизации до различни продукти, с атака на amino групата в междинно съединение **31** върху енаминен или карбонилен въглерод, съответно (Схема 19).

Проведени бяха опити за редукция на нитрогрупата в **30** както с Zn/AcOH, така и чрез хетерогенно-каталитично хидрогениране в присъствие на Pd върху активен въглен. И двата типа условия дадоха смес от продуктите на разгледаните в Схема 19 алтернативни циклизации, които бяха регистрирани чрез UPLC-MS анализ. Този анализ показва, че в сместа доминира ангуларно кондензираният продукт **32** (Фигура 10), но за съжаление не успяхме да постигнем препаративно разделяне на двата продукта и да ги охарактеризираме с ЯМР и ИЧ спектри. Предвид интензивно червеното обагряне на получената смес, допускаме че са предпочетени тавтомерните форми с ароматен нафталенов пръстен, осигуряващи възможност за по-ефективно π -спрежение.

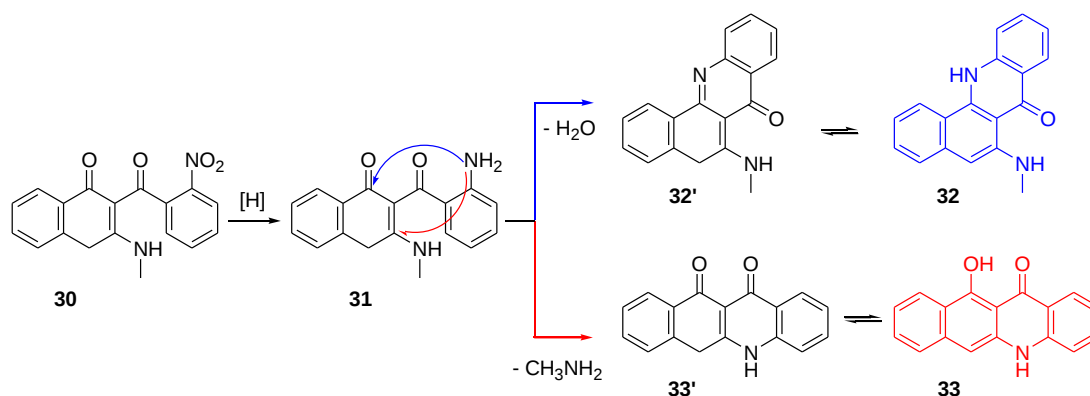
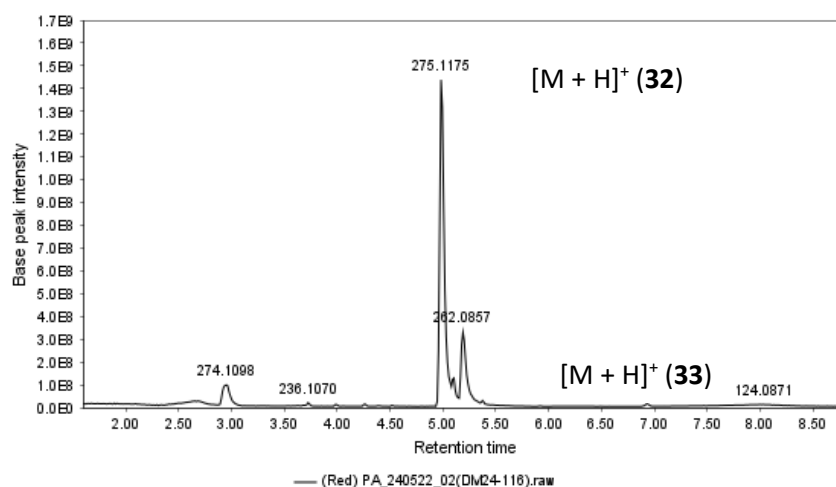


Схема 19. Редукция на нитрогрупата в **30** и последващи конкурентни циклизации до смес от продукти **32** и **33**.



Фигура 10. UPLC хроматограма на суров продукт, получен съгласно Схема 19, с мас-детекция в ESI+ режим.

Допуснахме, че линейно кондензираният продукт **33** може да бъде получен при циклизация на карбоксамидно производно от тип **28**, по механизъм наподобяващ този на циклизацията **27** → **30**, но опитите да постигнем това бяха неуспешни. Дори и след продължително нагряване на съединение **28a** при 80 – 120 °C в ортофосфорна киселина, то не претърпя промяна (Схема 20).

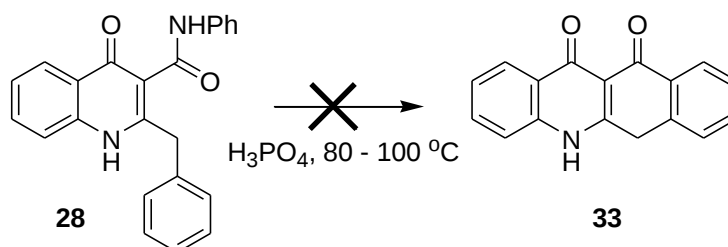


Схема 20. Несуспешен опит за циклизация на **28** до **33**.

3. Синтез на 2-хинолони

В по-рано публикувана статия, колектив от катедра Органична химия при ПУ „Паисий Хилендарски“ демонстрира приложение на реакцията на Кнор за синтез на 4-аминоалкил-2-хинолони с различна дължина на алкиловата верига, като използва съответните аминокиселини за синтез на необходимите изходни бета-кетоамиди (лит. обзор, т. 2.2.4). За да разширим обсега на този подход, проведохме експерименти с използване на *N*-защитени фенилглицини за получаване на изходните бета-кетоамиди (т. 1, примери **8q-t**). Така получените кетоамиди са интересни с това, че при условията на Кнор (протоно-кисела среда) разполагат с два алтернативни пътя за циклизация на оксониево-карбениевите катионни интермедиати **35**, получавани при протониране на кетонната им карбонилна група. И в двата случая циклизацията би протекла като вътрешномолекулярно ароматно електрофилно заместване, със сключване на 5-или 6-членен цикъл, съответно (Схема 21). В първия случай продуктът би бил производно от индолов тип, докато във втория би се получило 2-хинолоново производно.

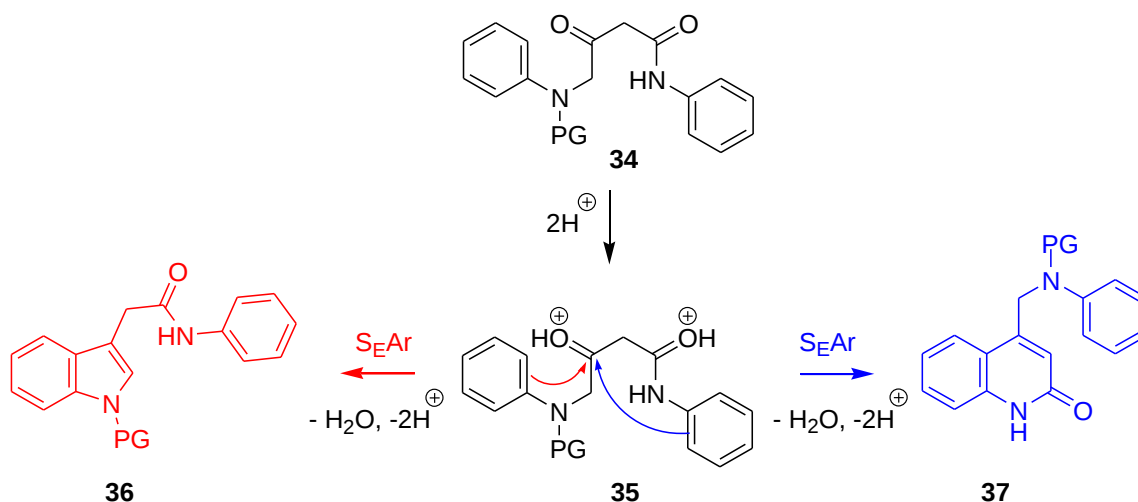


Схема 21. Алтернативни възможности за циклизация при кето-амиди **34**, получени от фенилглицин.

Първоначално проведохме опити с кетоамиди **38**, в които R = H и е възможен само един тип циклизация – до съответните индолилацетамиди **39** (Схема 22). Тези опити потвърдиха хипотезата за възможно сключване на 5-членен пръстен и показаха, че този процес е по-бавен

от по-рано изследваната Кнор-циклизация до 2-хинолони при подобни субстрати. В среда от полифосфорна киселина при 80 °C бяха необходими 3 часа за изчерпване на COOEt-защитения кетоамид **38a** или 5 часа, в случая на Трос-защитения аналог **38b**. За сравнение, Кнор-циклизациите на подобни субстрати до 2-хинолони отнемат 1.5 часа при същата температура.¹¹

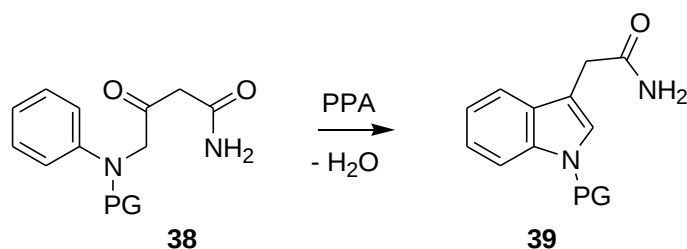


Схема 22. Получаване на индолилацетамиди.

След това пристъпихме към работа с изходни кетоамиди **34** (Схема 23). В среда от полифосфорна киселина при 80 °C бяха необходими 3 часа за изчерпване на кетоамидите **34**. При PG = COOEt бяха получени три изомерни продукта, като в допълнение на очакваните от нас **36a** и **37a** изолирахме и спироцикленото производно **40a**. При PG = Трос доминираше един основен продукт – хинолона **37b**, а продукти **36b** и **40b** не бяха изолирани.

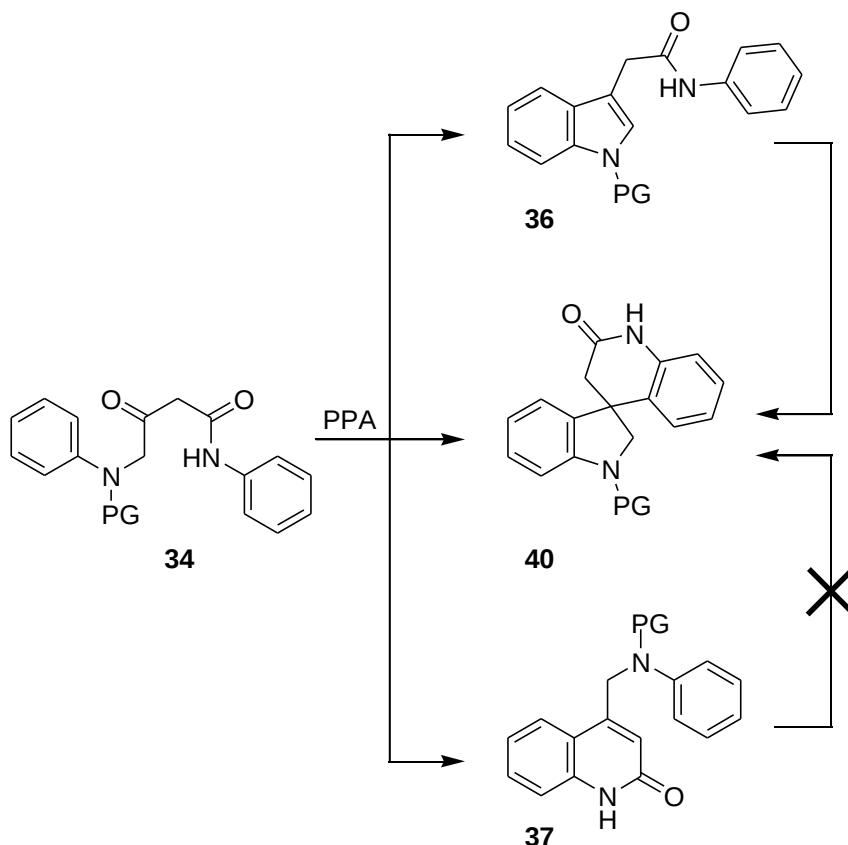
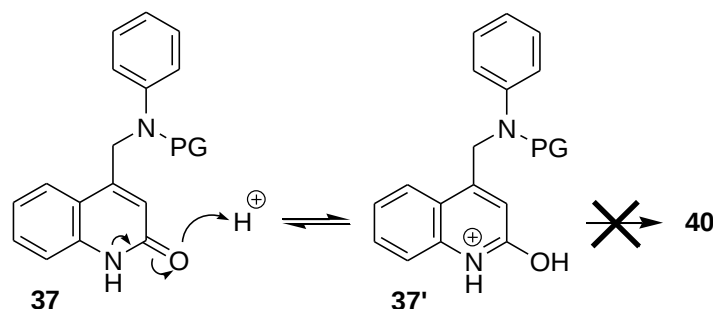
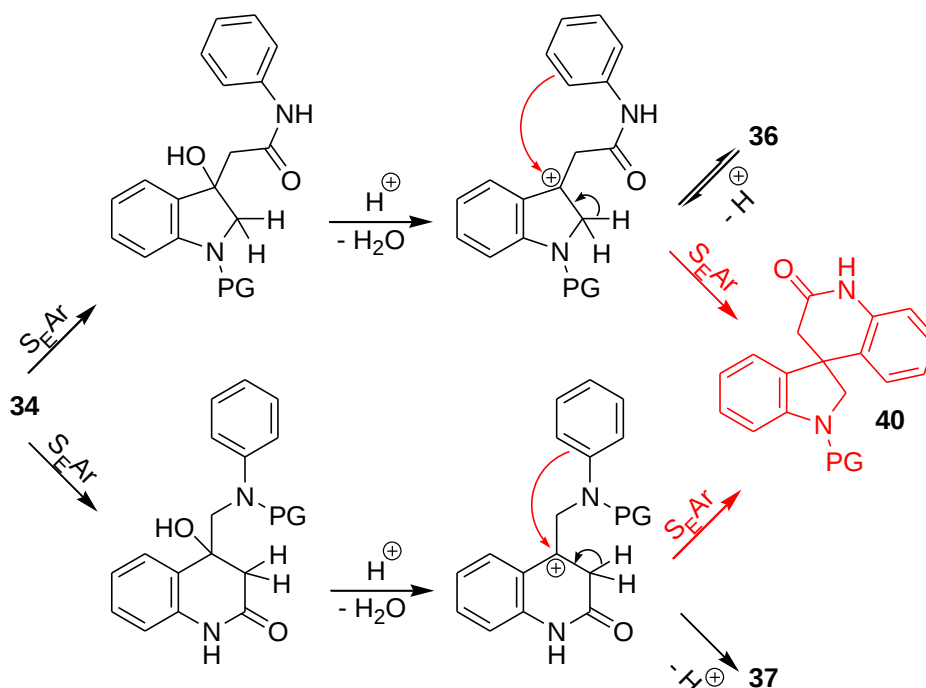


Схема 23. Продукти, получени при циклизация на **34** в среда от полифосфорна киселина.

Спироцикленият продукт **40** би могъл да е резултат от циклизация на два различни катионни интермедиата от бензиков тип, получавани в хода на първоначалните S_EAr процеси

¹¹ Molbank 2021, M1266, DOI:[10.3390/M1266](https://doi.org/10.3390/M1266)

(Схема 24). И за двата интермедиата съществуват конкурентни пътища за елиминиране на протон до продукти **36** и **37**, съответно, или за втора S_EAr циклизация, водеща до спироциклен продукт **40**. Интерес представляваше дали веднъж получените продукти **36** и **37** биха могли да осигурят същите катионни интермедиати при протониране, т.е. дали финалната стъпка на получаването им е обратим процес. В случай че това е така, то съществува и допълнителен път за формиране на спироциклен продукт от **36** и **37** при условията на получаването им. За да проверим тази хипотеза подложихме предварително изолирани и пречистени продукти **36a** и **37a** на нагряване в среда от полифосфорна, както и в среда от ортофосфорна киселина, при 80 °C. При тези експерименти, в рамките на 3 часа наблюдавахме пълно превръщане на индоловия продукт **36a** в спироциклен **40a**, докато 2-хинолоновият продукт **37a** не претърпя промяна дори и след 5 часа при същите условия. Допускаме, че това се дължи на формиране на стабилен 2-хидроксихинолиниев йон **37a'** във втория случай (Схема 25).



ЯМР спектрите на трите изомера **36a**, **37a** и **40a** се различават съществено (Фигура 11) и позволяват недвусмислено да определим структурата на всеки от продуктите. В протонния спектър на спироцикления продукт, като резултат от възникването на стереогенен център, се наблюдават две АВ спинов системи, съответстващи на

диастереотопните метиленови протони, които са в съседство на асиметричния въглероден атом. Протоните на едната от тези метиленови групи (2.69/3.05 ppm) са свързани към въглерод с $\delta = 42.2$ ppm (по HSQC) и корелират с амидния въглерод (168.5 ppm) при HMBC измерване, което позволява да я отнесем към шестчленния цикъл. Такава корелация няма при метиленовата група в петчленния пръстен (^1H $\delta = 3.89/4.03$ ppm, ^{13}C $\delta = 60.7$ ppm). Протонните сигнали и на двете CH₂ групи корелират в HMBC с ^{13}C сигнала на общия за двата пръстена четвъртичен въглерод (46.1 ppm). 2J константите в тези метиленови групи са 16 Hz и 12 Hz за шестчленния и петчленния цикъл, съответно. В ^1H ЯМР спектрите на съединения **36** и **37** най-съществена разлика има в отместванията на метиленовите групи – δ $^1\text{H}/^{13}\text{C} = 3.79/34.7$ за **36a**, където CH₂ е в съседство с карбонилна група, и δ $^1\text{H}/^{13}\text{C} = 5.15/50.7$ за **37a**, където CH₂ е в съседство с азотен атом. Също така, нововъзникналите sp^2 -CH сигнали лесно се идентифицират чрез HSQC измерване. При индоловия пръстен на **36a** това е ароматният C2-H сигнал (7.69 ppm ^1H и 124.4 ppm ^{13}C), а при хинолоновия на **37a** – C3-H (6.29 ppm ^1H и 119.4 ppm ^{13}C).

4. Изпитания за антибактериално действие

Голяма част от новополучените в рамките на този дисертационен труд съединения бяха изследвани за антибактериално и противогъбично действие в сътрудничество с катедра Биохимия и микробиология към ПУ „Паисий Хилендарски“. За първоначален скрининг бе използван метода на дифузия в агарови ямки с хомогенна посевка на съответните щамове в хранителната среда. Изследваните вещества бяха зареждани като разтвор в DMSO с концентрация 1 mg/mL. В ямките бе поставян по 100 μL разтвор, осигуряващ 100 μg от изследваното вещество, след което хранителните среди бяха инкубирани при 37 °C за 24h (или 48h за *C. albicans*). Активността на веществата бе оценявана по диаметъра на стерилната зона около ямките (Фиг. 12). При тези условия бяха тествани наличните към дадения момент продукти от 4-хинолонов тип с дължина на въглеродната верига във втора позиция до седем въглеродни атома, всяко от тях върху три типа микроорганизми – Грам-положителни (*S. aureus*) и Грам-отрицателни (*E. coli*) бактерии, както и срещу гъбата *Candida albicans*. При тези опити, изследваните вещества показаха слаба или умерена активност срещу *E. coli*, докато срещу *S. aureus* активни бяха само C₅ и C₇ хинолоновите производни, като в три от случаите тази активност беше особено висока (Таблица 10, използвана е номерацията на веществата от т. 2).

Таблица 10. Антибактериална активност хинолонови производни **16**, **17** и **24** при концентрация 1 mg/mL.

Вещество*	Диаметър на стерилната зона (mm)**	
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>E. coli</i> ATCC 25922
16b	-	17
16d	27 (MIC ≤ 6.25 $\mu\text{g/mL}$)	16
16e	22 (MIC ≤ 3.12 $\mu\text{g/mL}$)	-
16f	20 (MIC ≤ 3.12 $\mu\text{g/mL}$)	-
17a	-	16
17b	-	15
17c	-	14
17d	19	14
17e	15	16
17f	15	15
24a	-	16
24b	-	15
24c	18	15
24d	21	13

* Включени са само вещества, даващи диаметър на стерилната зона по-голям от 10 mm.

** Вкл. 8 mm диаметър на ямката.

Противогъбична активност срещу *C. albicans* не беше наблюдавана при нито едно от изследваните вещества. Измежду неописаните в литературата съединения, само вещества **16d**, **16e** и **16f** дадоха зони на инхибиране по-широки 20 mm (срещу *S. aureus*) и бе преценено, че е оправдано да бъдат допълнително изследвани за определяне на минимални инхибиторни концентрации (MIC). Висока активност срещу *S. aureus* бе наблюдавана и при вещество **24d** (Табл. 10), но тъй като то е добре известен и обстойно изследван природен продукт (HNQ), при него не бе определяна MIC. Прецизното определяне на MIC срещу *S. aureus* ATCC 25923 бе извършено чрез последователни разреждания на веществата в течен хранителен бульон, с фотометрично определяне на бактериалната гъстота. Като положителен контрол бе използван хинолоновия антибиотик Левофлоксацин. Така, за вещество **16d** беше определена MIC $\leq 6.25 \mu\text{g/mL}$, а за вещества **16e** и **16f** MIC $\leq 3.12 \mu\text{g/mL}$. Положителният контрол (Левофлоксацин) показва MIC $\leq 0.78 \mu\text{g/mL}$ при еднакви други условия.

Получената от този първоначален скрининг информация показва, че активността на веществата нараства с удължаване на въглеродната верига в позиция C2, както и че *N*-хидроксид-4-хинолоните като цяло са по-активни от съответните им 4(1*H*)-хинолони. Това даде основание от една страна да оптимизираме условията за селективно получаване на *N*-хидроксид производни чрез контролирана частична редукция на нитробензоилните прекурсори **11** и **20**, а от друга – да синтезираме нови аналози с нонилов заместител в C2 позиция. Това бе осъществено успешно, както е описано в точки 2.2.1 и 2.4.

Антибактериалното действие на допълнително получените нови C₉-производни изследвахме върху разширен набор от микроорганизми – *Escherichia coli* ATCC 8739, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ATCC 6538, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 и *Bacillus subtilis* NBIMCC 1208. Тези експерименти бяха проведени в катедра Микробиология на Университета по хранителни технологии, по описания по-горе агар-дифузионен метод, но вече при десетократно по-ниска концентрация на изследваните вещества. Използвани бяха 0.1 mg/mL разтвори на веществата в ДМСО, които бяха зареждани в обем 60 μL , в агарови ямки с диаметър 6 mm. Наблюдаваните зони на инхибиране са отразени в Таблица 11, като в ролята на положителен контрол е синтезираният от нас метаболит на *P. aeruginosa* *N*-хидроксид-2-нонил-4-хинолон **23e** (NQNO), известен със своето антибиотично действие.

Таблица 11. Антибактериална активност на 2-нонил-заместени 4-хинолонови производни **16**, и **17** при концентрация 100 $\mu\text{g/mL}$.

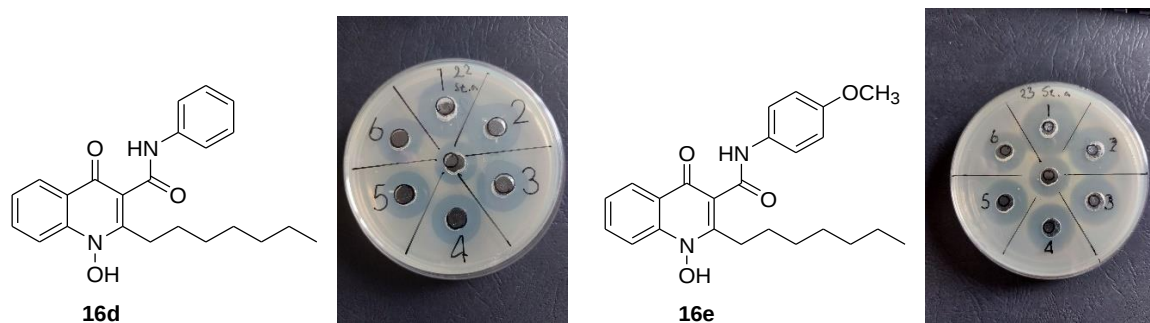
	Диаметър на стерилната зона (mm) ¹					
	<i>E.coli</i> ATCC 25922	<i>E.coli</i> ATCC 8739	<i>S.aureus</i> ATCC 25923	<i>S.aureus</i> ATCC 6538	<i>Enterococcus</i> <i>faecalis</i> ATCC 29212	<i>B.subtilis</i> NBIMCC 1208
17g	-	-	19	-	-	-
17h	-	-	11	-	-	-
17i	-	-	9	-	-	9
16g	-	15	25	-	-	15
16h	-	-	20	-	15	15
16i	15	15	19	16	15	15
24e	-	-	14	-	-	9
23e	14	15	27	14	14	20

¹ Вкл. 6 mm диаметър на ямката.

Вижда се, че и в тази поредица отново *N*-хидроксид производните **16** са по-активни от редуцираните си аналози **17**, като най-чувствителен сред изследваните щамове е *S. aureus* ATCC 25923. Забележителен е контрастът с другия изследван щам на *S. aureus* – ATCC 6538, който бе умерено инхибиран само от съединение **16i** и от положителния контрол **23e**. Съединение **16i** показва и най-широк спектър на активност, с инхибиране на всички изследвани микроорганизми.

Срещу устойчивият *S. aureus* ATCC 6538, **16i** дори показва по-висока активност от природния антибиотик NQNO (**23e**).

Така получените резултати открояват няколко особено активни вещества сред новосинетзираните в рамките на дисертационния труд (*N*-хидрокси-4-хинолон-3-карбоксамидите **16** с *n*-хептилов и *n*-нонилов заместител в C2-позиция), което е добра основа за бъдещи изследвания върху по-голям брой 4-хинолонови производни, така че да бъде анализирана в детайли връзката между структура и антибактериално действие.



Фигура 12. Серийни разреждания на вещества **16d** и **16e** върху посевки на *S. aureus* ATCC 25923

III. ОБОБЩЕНИ РЕЗУЛТАТИ И ИЗВОДИ

1. Изследвани са три различни подхода за получаване на хинолинови производни, всеки от които изхожда от β -кетоамиди като изходни съединения. Необходимите β -кетоамиди са получени по оригинален метод, разработен по-рано от нашата изследователска група, с което е демонстрирано разширение в обсега му на приложение.
2. Разработен е нов метод за получаване на 2-алкил-4-хинолони, 2-алкил-4-хинолон-3-карбоксамиди и техни *N*-хидроксипроизводни чрез редуктивни циклокондензации на *орто*-нитробензоилирани енаминни интермедиати. Разработеният синтетичен метод позволи за пръв път да бъдат изолирани и охарактеризирани като индивидуални съединения двете тавтомерни форми на бактериалния токсин 2-нонил-4-хинолон-*N*-оксид (NQNO).
3. Разработен е метод за получаване на 1,2-диалкил-4-хинолон-3-карбоксамиди чрез вътрешномолекулно ароматно нуклеофилно заместване в *орто*-флуоробензоилирани енаминни интермедиати.
4. С помощта на новоразработените методи са синтезирани шест природни съединения от групата на 4-хинолоните, които са известни метаболити на *P. aeruginosa* или растителни алкалоиди. Наред с това са синтезирани тридесет и седем нови и неизучени техни структурни аналози, с вариране на заместители в позиции 1, 2 и 3 в 4-хинолоновата пръстенна система.
5. Изследвано е поведението на γ -аминофенил-функционализирани β -кетоамиди при условия на Кнор-циклизация в полифосфорна киселина, при което наред с очакваните 2-хинолони са изолирани още два типа продукти на конкуренти циклизационни процеси. Показано е, че конкурентният продукт от индолов тип търпи допълнителна деаромативна спироциклизация.
6. Получените в резултат на изследванията нови 4-хинолонови производни са тествани за антибактериално действие, при което са открити няколко вещества със силно действие срещу *S. aureus* и едно вещество с широкоспектърно действие срещу Грам-положителни и Грам-отрицателни бактерии.

IV. ПУБЛИКАЦИИ

Резултати от дисертацията са публикувани в следните статии:

1. Mollova-Sapundzhieva, Y.; Angelov, P.; Georgiev, D.; Yanev, P. Synthetic approach to 2-alkyl-4-quinolones and 2-alkyl-4-quinolone-3-carboxamides based on common β -keto amide precursors. *Beilstein journal of organic chemistry* **2023**, 19, 1804–1810. <https://doi.org/10.3762/bjoc.19.132>
2. Angelov, P.; Mollova-Sapundzhieva, Y.; Alonso, F.; Goranov, B.; Nedialkov, P.; Bachvarova, D. Concise Synthesis of Pseudane IX, Its N-Oxide, and Novel Carboxamide Analogs with Antibacterial Activity. *Molecules* **2024**, 29, 3676. <https://doi.org/10.3390/molecules29153676>
3. Angelov, P.; Mollova-Sapundzhieva, Y.; Nedialkov, P. Attempted Synthesis of the *Pseudomonas aeruginosa* Metabolite 2-Benzyl-4(1H)-quinolone and Formation of 3-Methylamino-2-(2-nitrobenzoyl)-4H-naphthalen-1-one as an Unexpected Product. *Molbank* **2024**, 2024, M1877. <https://doi.org/10.3390/m1877>
4. Mollova, Y.; Angelov, P.; Yanev, P. 3-Carbamoylmethyl-Indole-1-Carboxylic Acid Ethyl Ester. *Molbank* **2022**, 2022, M1324. <https://doi.org/10.3390/M1324>
5. Mollova-Sapundzhieva, Y.; Alonso, F.; Angelov, P.; Nedialkov, P. Synthesis of 4-Quinolone N-Oxides via Controlled Partial Hydrogenation of 2-Nitrobenzoyl Enamines. *ChemRxiv* **2024**, <https://doi.org/10.26434/chemrxiv-2024-4w06r>
6. Angelov, P.; Mollova-Sapundzhieva, Y. Cyclization Modes in Anilides of *N*-Protected 3-Oxo-4-phenylaminobutyric Acid Under Knorr Conditions. *Molbank* **2024**, 2024, M1933. <https://doi.org/10.3390/M1933>

V. БЛАГОДАРНОСТИ

Изследванията в този дисертационен труд са осъществени с финансовата помощ на Фонд Научни изследвания (проект **КП-06-H59/14**), Британското Кралско химическо дружество (проект **R21-2062713611**) и Европейската комисия (NextGenerationEU, чрез националния план за възстановяване и устойчивост на Република България, (проект DUECOS **BG-RRP-2.004-0001-C01**).

