



**ХИМИКОТЕХНОЛОГИЧЕН И МЕТАЛУРГИЧЕН
УНИВЕРСИТЕТ**

ДЕПАРТАМЕНТ ПО ХИМИЧНИ НАУКИ

КАТЕДРА „ОРГАНИЧНА ХИМИЯ”

**ACADEMIE DE MONTPELLIER UNIVERSITE MONTPELLIER II,
SCIENCES ET TECHNIQUES DU LANGUEDOC**

инж. Никола Димитров Павлов

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

на дисертация

АСИМЕТРИЧЕН СИНТЕЗ НА β^2 -ТРИПТОФАНОВИ АНАЛОЗИ И ПРИЛОЖЕНИЕТО ИМ В ПЕПТИДНИЯ СИНТЕЗ

за придобиване на образователната и научна степен „доктор”

по научна специалност

„Органична химия”

Научни ръководители: доц. д-р инж. Емилия Найденова
проф. Моник Калмес

Научно жури:

1. Чл. кор. проф. дхн Илия Рашков
2. Проф. Gilles Dujardin
3. Проф. Моник Калмес
4. Проф. дхн Мартин Божинов
5. Доц. д-р Иво Грабчев

София, 2011

Дисертационният труд е написан на 102 страници и съдържа 39 схеми, 15 фигури и 6 таблици. Цитирани са 107 източника.

Представеният дисертационен труд е обсъден и приет на защита на заседание на разширен научен съвет на научното звено на катедра „Органична химия”, състояло се на 28.10.2011г.

Публичната защита на дисертационния труд ще се проведе на 16/12/2011 от 10:00 часа в зала 424, ет. 4 сграда „А” на ХТМУ.

Материалите са на разположение на интересуващите се на интернет страницата на ХТМУ и в отдел „Научни дейности”, стая 406, етаж 4, сграда „А” на ХТМУ.

Използвани съкращения

Ac : ацетил

ACN : ацетонитрил

Bn : бензил

Boc : третичен бутилоксикарбонил

BOP : бензотриазолилокси-трис-(диметиламино)-фосфорен хексафлуорофосфат

DCM : дихлорометан

DIEA : диизопропилетиламин

DMAP : 4-(N,N-диметиламино)пиридин

DMF : N,N-диметилформамид

e.e. : енантиомерен излишък

e.d. : диастереоизомерен излишък

eq. : еквивалент

Et₃N : триетиламин

Et : етил

Fmoc : 9-флуоренилметилоксикарбонил

HOBt: 1-хидроксibenзотриазол

HPLC : Високо ефективна течна хроматография

i-Pr : изопропил

Me : метил

MS : мас-спектрометрия

Pbf: 2,2,4,6,7-пентаметилдихидробензофуран-5-сулфонил

rac : рацемичен

SPPS : твърдофазен пептиден синтез

Tf : трифлуорометансулфонат

THF : тетраhydroфуран

TFAA : трифлуороцетен анхидрид

TBTU : 2-(1H-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилурониев тетрафлуороборат

TFA: трифлуороцетна киселина

t-Bu: третичен бутил

TIS: триизопропилсилан

Z- бензилоксикарбонил

Въведение, цел и задачи

Повече от половината лекарствени средства използвани във фармацевтичната индустрия са хирални, като по-голямата част от тях са внедрени в производството под формата на един единствен енантиомер (енантиочиста молекула). От абсолютната конфигурация на тези хирални молекули често зависи тяхната биологична или фармакологична активност. Биологичната активност на всеки енантиомер трябва да е известна в случай на използване на рацемична смес. Въпреки големия брой съединения от естествен произход, все по – необходимо е разработването на нови синтетични методи за получаването на тези молекули и техни аналози.

Всеки нов синтетичен метод, по който могат да се получат енантиочисти молекули е важен и е от особен интерес както за химиците-синтетици така и за фармаколозите. Стереоселективният синтез, наречен още асиметричен е обект на много изследвания. Той позволява получаването на важни оптично активни съединения както природни, така и неприродни аминокиселини, лекарствени средства и други биологично активни вещества.

Към триптофана и неговите аналози се проявява засилен интерес, поради разнообразната им биологична активност. Ето защо голяма част от изследователите са насочили своето внимание към откриването на нови лекарствени средства съдържащи триптофан в молекулата си. Много биологичноактивни пептиди, съдържащи в своята верига тази аминокиселина имат важни физиологични свойства. Триптофанът е основна аминокиселина, която освен че играе важна роля в биосинтеза на протеини, е прекурсор на основни съединения като мелатонин (хормон на съня), при синтеза на невромедиатора серотонин (хормонът на щастието), триптами и др. Аналозите на триптофана са важни прекурсори за синтеза на пептидомиметици, аналози на природни продукти и на биологично активни съединения. Друго важно свойство което притежава тази аминокиселина е флуоресценцията на индоловото ядро. Това може да бъде използвано при изследване на конформационните изменения на даден протеин, а също така и при изследване на взаимодействието между протеин и мембрана.

От друга страна β -аминокиселините са интересни продукти които могат да бъдат използвани в много области на органичната химия. Тези съединения са намерили приложение в пептидния синтез, като е доказано, че подобряват устойчивостта на пептида спрямо ензимна хидролиза.

Във връзка с това, обект на настоящата дисертационна работа е разработването на нова стратегия за асиметричен синтез, позволяваща получаването на енантиочисти аналози на триптофана: β^2 -триптофан, 2-(3-индолил)- β -аланин, както и синтеза на нови аналози на биологично активни пептиди, съдържащи тези аминокиселини.

Целта на настоящата дисертационна работа е разработването на нов ефикасен метод за асиметричен синтез на оптично активни аналози на β^2 -триптофан и въвеждането им в биологичноактивни хексапептиди, лиганди на ноцицептиновия рецептор.

За реализиране на целта си поставихме следните **задачи**:

- ❖ Синтез на хирално спомагателно съединение и неговото нитропроизводно (*R*)-бензил-4-(4,4-диметил-3-(3-нитроакрилоилокси)-2-оксопиридин-1-ил)бензоат необходимо за реализиране на реакциите на асиметрично алкилиране по *Friedel-Crafts* ;
- ❖ Оптимизация на параметрите на реакцията по *Friedel-Crafts*: избор на катализатор, разтворител, температура и др;
- ❖ Осъществяване на реакцията на алкилиране по *Friedel-Crafts* в рацемична и енантиочиста серия, използвайки различно заместени индоли: индол, *N*-метилиндол, 5-метоксииндол 6-флуороиндол и 5-бромоиндол.
- ❖ Трансформация на алкилираните продукти от реакцията на *Friedel-Crafts*: редукция на нитрогрупата, отстраняване на хиралното спомагателно съединение и защита на получените триптофанови аналози с Fmoc група.
- ❖ Въвеждане на енантиочистите β -триптофанови аналози във веригата на хексапептиди чрез твърдофазен пептиден синтез по Fmoc стратегия.
- ❖ Пречистване и охарактеризиране на получените съединения.

I. Асиметричен синтез на β -триптофанови аналози.

При получаване на енантиочисти аналози на β -триптофан е необходимо използваните субстрати или реагенти да притежават асиметрични въглеродни атоми. Въз основа на направения литературен преглед ние решихме да използваме като хирално спомагателно съединение бензил-4-(4,4-диметил-3-хидрокси-2-оксопирролидин-1-ил)бензоат (**(R)**-4, чийто метод за синтез е описан от Calmes и сътрудници. Нитропроизводното на съединение (**(R)**-4 бензил-4-(4,4-диметил-3-(3-нитроакрилоилокси)-2-оксопирролидин-1-ил)бензоат (**(R)**-10 беше използвано за синтеза на оптично активни производни на β -триптофана.

I.1. Получаване на хирален нитроакрилат ((**(R)**-10).

I.1.1. Синтез на хирално спомагателно съединение в рацемична (*rac*-4) и оптично активна форма (**(R)**-4 или (**(S)**-4).

Първата част от многоетапния синтез включва получаването на (*RS*)-4-(4,4-диметил-3-хидрокси-2-оксопирролидин-1-ил)бензоена киселина (*rac*-3). Реакцията беше извършена в стопилка при температура от 190°C, в излишък на (*RS*)-пантолактон **1** и натриев 4-аминобензоат **2**. В резултат, на което беше получен съответният пантолактам *rac*-3. (Схема 1).

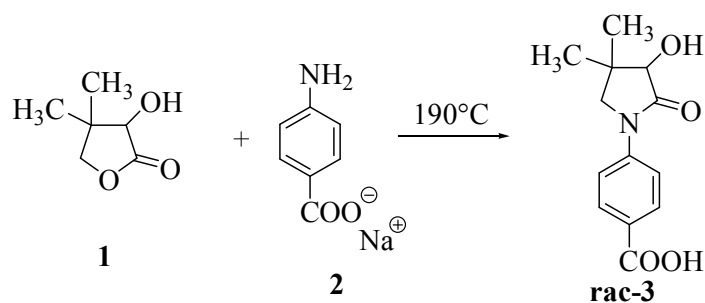


Схема 1. Получаване на пантолактам в стопилка

Защитата на свободната карбоксилна група беше осъществена с бензилов алкохол. Така полученото съединение (*rac*-4) беше превърнато в смес от два диастереоизомера **5**, чрез реакция с (*1S*)-камфаноил хлорид. Двата диастереоизомера бяха подложени на разделяне, с помощта на хроматографска колона и прекристализация. Така изолираните съединения, подложихме на алкална хидролиза със LiOH в среда от THF/H₂O, в резултат на което получихме двата енантиомера (**(R)**-4 и (**(S)**-4 на хиралното спомагателно съединение (Схема 2).

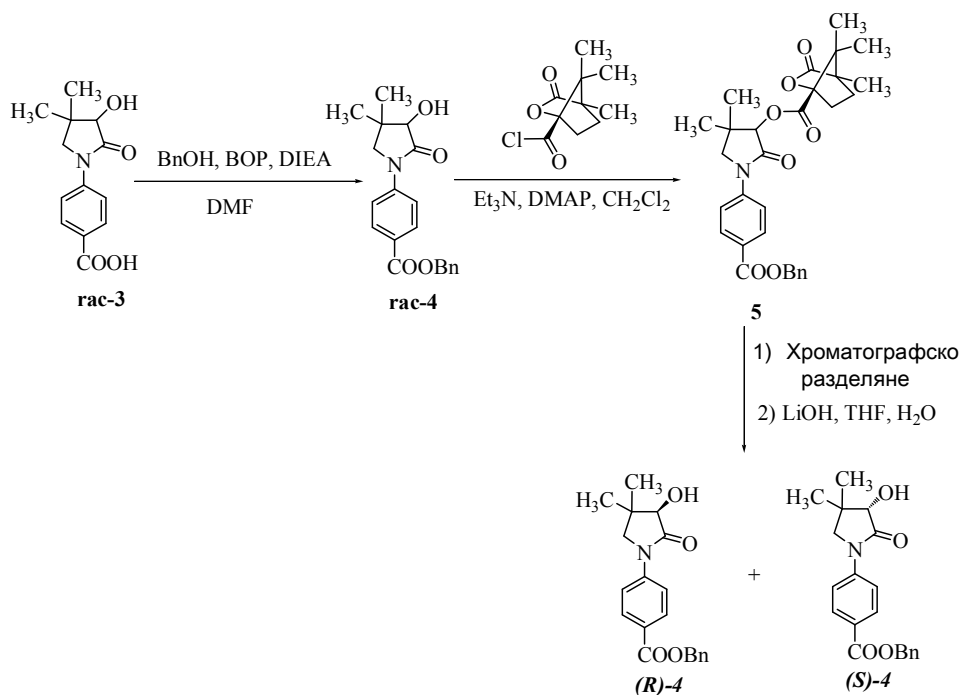


Схема 2. Реакционна схема за получаване на енантиочисто хирално спомагателно съединение (R)-4 или (S)-4

I.1.2. Получаване на рацемичен (rac-6) и оптично активен акрилат (R)-6.

При взаимодействие с акрилоилхлорид, в присъствие на триетиламин, при температура -20°C беше получен бензил 4-(3-акрилоилокси)-4,4-диметил-2-оксо пирролидин-1-ил)бензоат (rac-6) или (R)-6 (Схема 3).

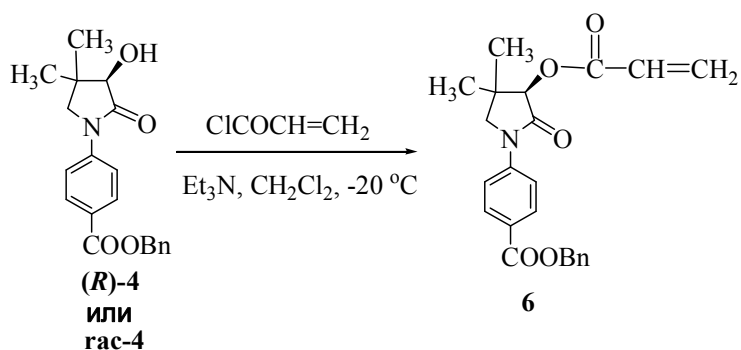


Схема 3. Синтез на бензил 4-(3-акрилоилокси)-4,4-диметил-2-оксопирролидин-1-ил)бензоат (6)

I.1.3. Синтез на (*R*)-бензил-4-(4,4-диметил-3-(3-нитроакрилоилокси)-2-оксопиролидин-1-ил)бензоат (**10**)

β -Нитроакрилатът (*R*)-**10** или *rac*-**10** беше получен от съответното акрилоилно съединение (*R*)-**6** или *rac*-**6**. По класическата реакция на *Lemieux-Johnson* - окисление на двойната връзка на съединение (**6**) с осмиев тетраоксид и натриев перйодат в среда от THF/H₂O, беше получен съответният глиоксилат (**7**) и неговата хидратна форма (**8**) в съотношение (10/90). Следващият етап от синтеза се състои в трансформация на глиоксилатната група, което беше осъществено по реакцията на *Henry*. Тя се извършва в среда от нитрометан, в присъствие на Al₂O₃ до получаване на диастереоизомерната смес (50/50) на алкохола **9** (Схема 4).

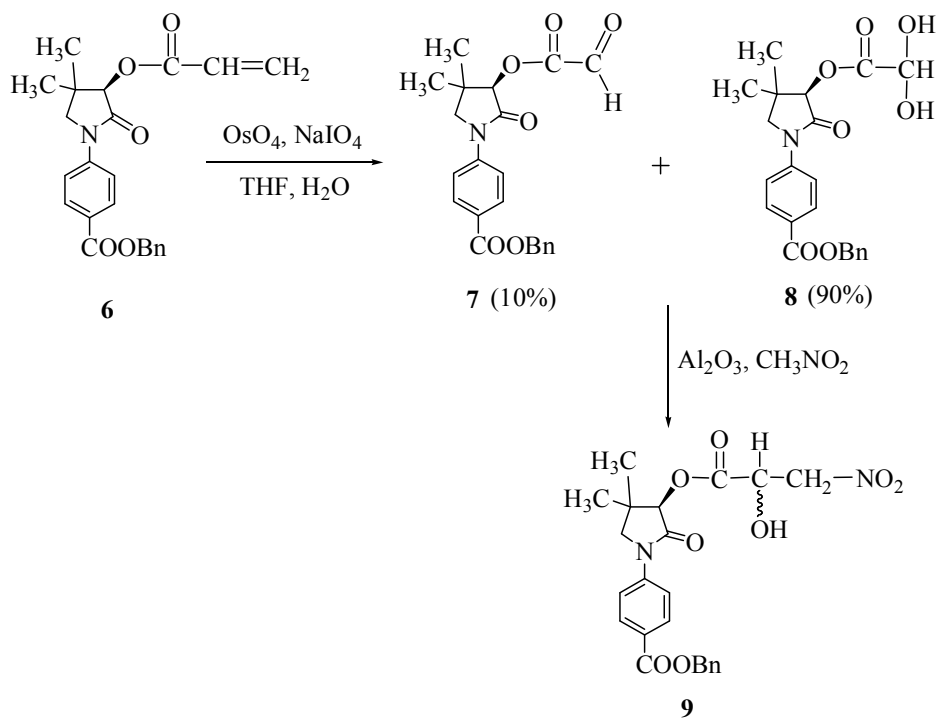


Схема 4. Синтез на бензил-4-(4,4-диметил-3-(3-нитро-2-хидроксипропионилокси)-2-оксопиролидин-1-ил)бензоат (**9**)

Последният етап от синтеза е създаване на двойна връзка, и получаването на бензил-4-(4,4-диметил-3-(3-нитро-2-хидроксипропионилокси)-2-оксопиролидин-1-ил)бензоат. Това беше осъществено чрез дехидратация на алкохола **9**. Първите експерименти бяха извършени по вече описаната от Calmes методика. Неочаквано в този случай, методът доведе до незадоволителни резултати: невъзпроизводими синтези, променлив добив и често пълно разпадане на изходния продукт. За да намерим оптималните условия на реакцията, бяха извършени експерименти с различни реактиви за формиране на добра напускаща група. Бяха варирани - температурата на

реакционната среда, времетраенето на реакцията, както и количествата на реагентите (Таблица 1).

Таблица 1. Опити за дехидратация на нитроалкохола 9

Реактиви	Количество (eq)	Температура (°C)	Времетраене	Резултат
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{CH}_3-\text{S}-\text{Cl} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$ и Et_3N	1.05	0	5 + 2 min	Променливи добиви и чистота
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_3\text{C}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{S}-\text{Cl} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$ и Et_3N	1	-78	3h	Реакция не протича
$\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{O} \\ \parallel \quad \parallel \\ \text{F}-\text{C}-\text{C}-\text{O}-\text{C}-\text{C}-\text{F} \\ \mid \quad \mid \quad \mid \quad \mid \\ \text{F} \quad \text{F} \quad \text{F} \quad \text{F} \end{array}$ и Et_3N	1	-78	3h	Реакция не протича
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{CH}_3-\text{S}-\text{Cl} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$ и Et_3N	1	-40	3h	Получаване на мезилат (9'')
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{CH}_3-\text{S}-\text{Cl} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$ и Et_3N	1	0	3h	Разпадане на изходния продукт
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{CH}_3-\text{S}-\text{Cl} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$ и Et_3N	3	0	15 + 30 min	Получаване на желания продукт и разпадане с времето
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{CH}_3-\text{S}-\text{Cl} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$ и Et_3N	3	-78	1 min	Получаване на желания продукт (10) ; Количествен добив

В случаите, в които се използва тозилхлорид и трифлуороцетен анхидрид (TFAA), при ниска температура, изходният продукт не реагира. При същите условия (-78°C) и използването на мезилхлорид, реакцията води до формиране на мезилата **9''**. За съжаление очакваният процес на дехидратиране не беше осъществен. След повишаване на температурата до -40°C , получихме мезилпантолактам **9'** като страничен продукт (Схема 5).

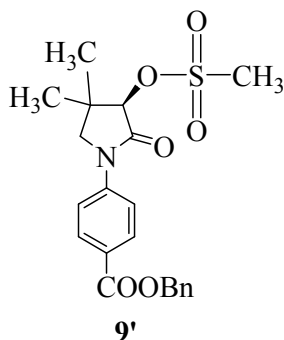


Схема 5. Страничен продукт от реакцията-мезилпантолактам

При 0°C и запазване на реакционните условия настъпи пълно разпадане на изходния продукт. В опитите ни да намерим оптималните реакционни условия, ние продължихме да варираме температурата на реакционната среда и времетраенето на процеса. Така при използване на голям излишък от мезилхлорид и триетиламин при -78°C и намаляване времето на реакцията беше получен желания продукт (**10**) с количествен добив. Така полученият β -нитроакрилат (*R*)-**10** или *rac*-**10** беше използван без допълнително пречистване. Продуктът е нестабилен и трябва да бъде съхраняван при ниска температура.

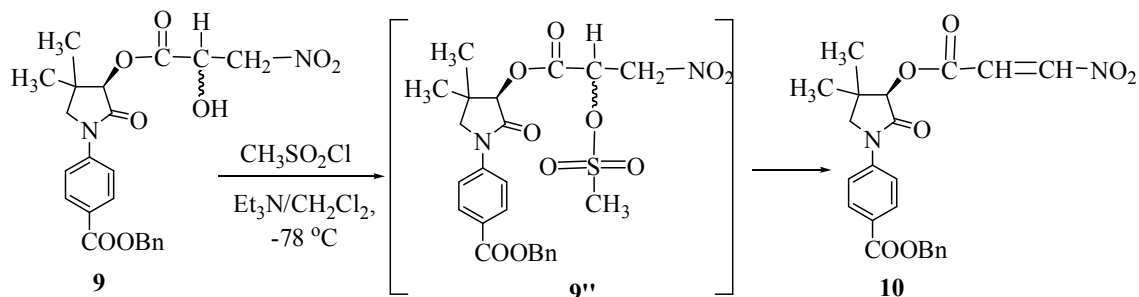


Схема 6. Получаване на бензил-4-(4,4-диметил-3-(3-нитроакрилоилокси)-2-оксопиролдин-1-ил)бензоат (**10**)

I.2. Реакция на алкилиране по *Friedel-Crafts*

В настоящата дисертационна работа са представени получените резултати, относно асиметричното алкилиране по *Friedel-Crafts* на различно заместени индоли с β -нитроакрилат (**(R)-10**), както и последващите трансформации до получаването на оптично чисти β -триптофанови аналози.

I.2.1. Намиране на оптималните условия за протичане на алкилирането по *Friedel-Crafts*.

При търсенето на подходящи реакционни условия за алкилиране на индоли с β -нитроакрилат (**(R)-10**) ние използвахме *N*-метилиндол **11a** ($R_1 = \text{CH}_3$ и $R_2 = \text{H}$) като базово съединение. Първият ни опит за алкилиране по *Friedel-Crafts*, беше извършен по методика описана от Chen. Тя се състои в използването на еквимоларни количества от реагентите, при стайна температура, в присъствие на каталитични количества от Люисовата киселина $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ (Схема 7).

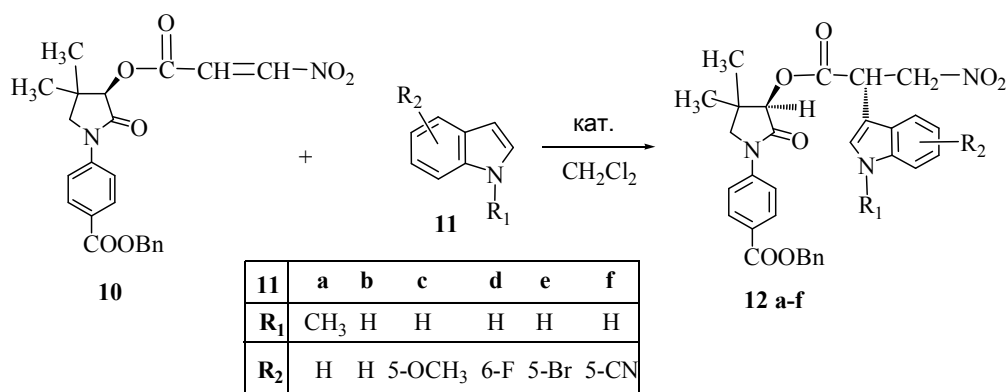


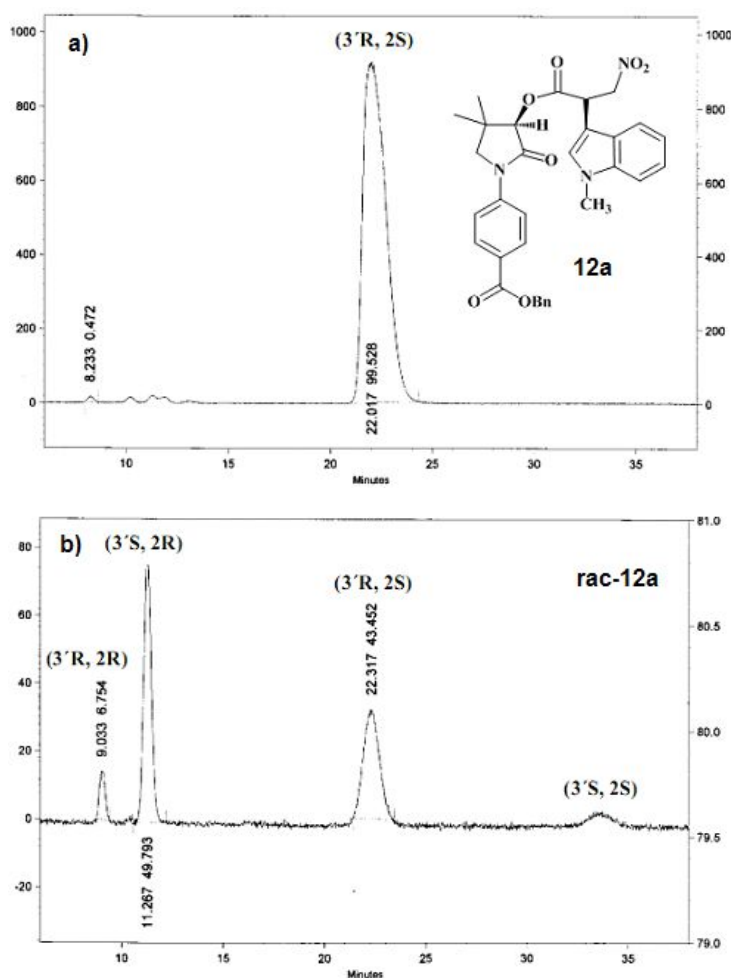
Схема 7. Асиметрично алкилиране по *Friedel-Crafts* между индоли (**11a-f**) и β -нитроакрилат (**(R)-10**)

Поради ниската разтворимост на β -нитроакрилата **10** в диетилов етер, ние използвахме дихлорометан. При тези условия очакваният продукт **12a** беше получен след провеждане на реакцията в продължение на 16 часа.

За да потвърдим получените резултати ние осъществихме синтеза на рацемичен нитроакрилат (**(SR)-10**) и повторихме реакцията на алкилиране с базовото ни съединение, *N*-метилиндол **11a**.

Анализите на получените рацемични и оптично активни съединения бяха извършени с помощта на HPLC (аналитична и хирална колона), LC/MS и ЯМР. Те

еднозначно потвърждават образуването на смес от два диастереоизомера **12a**, като единият от тях е преобладаващ (съотношение 88/12) (Таблица 2, №1). Процентното съотношение на всяка диастереоизомерна двойка беше определено чрез хирално HPLC обратна фаза (колона C: Chiralcel OD-RH). На Фигура 1 е представен HPLC профилът на рацемичния и оптично активен (3'R,2S)-[N-(4-бензилоксикарбонилфенил)-4,4-диметил-2-оксопиролидин-3-ил]-2-(1-метил-1H-индол-3-ил)-3-нитропропионат (**rac-12a**) и (**12a**). От HPLC профила може да се види пик при 22.02 min съответстващ на единствения енантиомер (Фигура 1a). От Фигура 1b се вижда наличието на четири съединения, които съответстват на рацемичната смес на двата диастереоизомера (3'R,2S)/(3'R,2R) и (3'S,2R)/(3'S,2S), получени в съотношение 88/12.



Фигура 1. Сравнение между HPLC профилите на съединения **12a**

I.2.3. Ефекти на разтворителя и температурата върху стереоселективността при реакцията на *Friedel-Crafts*.

За да увеличим стереоселективността на реакцията, бяха варирани няколко параметъра като: разтворител, Люисова киселина, температура и концентрация на реагентите. Ефектите при смяната на разтворителите и температурата са представени в Таблица 2. При използването на $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ като Люисова киселина и провеждайки реакцията при стайна температура, дихлорометанът и толуенът дадоха сравними резултати за добивите, степените на превръщане на изходното съединение и стереоселективността (Таблица 2, №1 и 2). Когато реакцията беше проведена в присъствие на по-полярен разтворител като THF, наблюдавахме леко подобрение на стереоселективността (Таблица 2, №3), но HPLC анализът на реакционната среда показва образуването на странични продукти. Същият случай се наблюдава и при използването на смес от диетилов етер и дихлорометан (Таблица 2, №4).

Също така ние установихме че увеличаването на концентрацията на изходното съединение **10** в реакционната среда, т.е. от 0.15M на 0.35M не оказва влияние върху диастереоселективността на реакцията на алкилиране по *Friedel-Crafts*, напротив тази модификация доведе също до формиране на странични съединения. Наличието на тези продукти е установено чрез HPLC анализ на реакционната среда и те не са изолирани. При провеждане на реакцията при ниска температура (-20°C), наблюдавахме забавяне на процеса. За пълното превръщане на изходното съединение беше необходимо удължаване на реакционното време на 42h, при което установихме незначително увеличение на стереоселективността (Таблица 2, №5). При понижаване на температурата до -78°C , след 24h само 11% от нитроакрилата (*R*)-**10** бяха трансформирани. Повишаването на температурата на -40°C позволи пълното превръщане на β -нитроакрилата (*R*)-**10** в желания продукт за 96h и даде смес от двата диастереоизомера **12a**, в съотношение 91/9. Това подобрение на стереоселективността ни се видя незначително поради увеличеното реакционното време. Изложените до тук резултати ни дадоха основание да изберем за разтворител дихлорометан и стайна температура за провеждане на по-нататъшните реакции с различно заместени индоли.

Таблица 2. Ефекти на разтворителя и температурата върху реакцията на *Friedel-Crafts* между *N*-метилендол **11a** и β -нитроакрилат ((*R*)-**10**).

№	Разтворител ^a	Температура	Времетраене (h)	Степен на превръщане (%) ^b	(3'R,2S)/(3'R,2R) 12a (%) ^d
1	CH ₂ Cl ₂	t _{ст.}	16	>99	88/12
2	Толуен	t _{ст.}	16	>99	88/12
3	THF	t _{ст.}	16	>99 ^c	91/9
4	Et ₂ O/ CH ₂ Cl ₂ ^e	t _{ст.}	16	>99	/ ^c
5	CH ₂ Cl ₂	- 20°C	42	>99	90/10
6	CH ₂ Cl ₂	- 78°C и – 40°C ^f	96	98	91/9

^a0.15M концентрация на нитроакрилат. ^bУстановено чрез HPLC анализ на реакционната среда и изразходваното количество на нитроакрилат. ^cФормиране на странични продукти. ^dПроцентно съотношение установено чрез HPLC (аналитична и хирална колона), LC/MS и ¹H ЯМР. ^e 10% CH₂Cl₂ бяха прибавени за пълното разтваряне на нитроакрилата. ^fСлед 24h, температурата беше увеличена на -40°C.

I.2.4. Влияние на природата на Люисовата киселина върху реакцията на *Friedel-Crafts*.

В стремежа си да подобрим стереоселективността на реакцията ние решихме да изпробваме и други Люисови киселини, за които се предполага че образуват комплекс между метала и нитрогрупата, по време на реакцията на алкилиране по *Friedel-Crafts* с нитроалкени, както е описано в литературата.

Таблица 3. Ефекти на Люисовите киселини върху реакцията на *Friedel-Crafts* между *N*-метилендол и β -нитроакрилат ((*R*)-10).

№	Люисова киселина ^a	Температура	Времетраене (h)	Степен на превръщане (%) ^b	(3'R,2S)/(3'R,2R) (%) ^d
1	Cu(OTf) ₂	t _{ст.}	16	>99	88/12
2	Zn(OTf) ₂	t _{ст.}	4	>99	73/27
3	Zn(OTf) ₂	-20°C	16	90	80/20 ^c
4	Yb(OTf) ₃	t _{ст.}	16	>99	88/12
5	Er(OTf) ₃	t _{ст.}	16	>99	88/12
6	-	t _{ст.}	5	>99	84/16
7	-	- 40°C	75h	81	88/12
8	-	0°C	12	>99	84/16

^a Разтворител = CH₂Cl₂, 0.15M концентрация на нитроакрилат. ^b Установено чрез HPLC анализ на реакционната среда и изразходваното количество на нитроакрилат. ^c Формиране на странични продукти. ^d Установено чрез HPLC (аналитична и хирална колона), LC/MS и ¹H ЯМР.

Никакво подобрене не беше установено при използването на Yb(OTf)₃ и Er(OTf)₃ (Таблица 3, №4 и 5), тъй като бяха наблюдавани същите стойности за диастереоизомерния излишък както при представените по-горе резултати. От друга страна присъствието на каталитични количества от Zn(OTf)₂ позволи увеличаване на скоростта на реакцията при стайна температура, но доведе до намаляване на стереоселективността (Таблица 3, №2 и 3). По-добра селективност беше получена при използването на същия катализатор, с понижаване на температурата до -20°C, но тя не беше по-висока от получената до момента при използването на Cu(OTf)₂, Yb(OTf)₃ или Er(OTf)₃ при стайна температура (Таблица 3, № 1, 3, 4 и 5).

Изненадващи се оказаха получените резултати от опитите, проведени при отсъствието на Люисова киселина. В този случай реакцията протече бързо, но с леко намаляване на селективността в сравнение с реакциите, при които бяха използвани Cu(OTf)₂, Yb(OTf)₃ или Er(OTf)₃ (Таблица 3, №6). В този случай, обратно на описаното в литературата при реакция на алкилиране по *Friedel-Crafts* между индоли и нитроалкени, Люисовата киселина, с изключение на Zn(OTf)₂, забавя реакцията. Тя не

действа като катализатор, а като важна добавка, защото използването ѝ в каталитични количества води до минимално подобряване на стереоселективността.

Отсъствието на Люисова киселина и понижаване на температурата на -40°C доведе до забавяне на реакцията (Таблица 3, №7). При 0°C беше наблюдавано незначително забавяне на скоростта на реакцията, без това да доведе до съществена промяна на нейната селективност (Таблица 3, № 8).

1.2.5. Реакции на *Friedel-Crafts* между различно заместени индоли и нитроакрилат (10).

На база на получените резултати с *N*-метилиндол, ние осъществихме реакции на алкилиране по *Friedel-Crafts*, като използвахме различно заместени индоли **11b-f** и β -нитроакрилат (*R*)-**10**. Тези експерименти бяха реализирани с прилагане на оптимизираните от нас условия. Получените резултати са представени в Таблица 4.

Таблица 4. Реакция на алкилиране по *Friedel-Crafts* между различно заместени индоли (**11a-f**) и β -нитроакрилат ((*R*)-**10**).

№	Индоли	R ₁	R ₂	Времетраене (h)	Степен на превръщане (%) ^a	(3'R,2S)/(3'R,2R) 12a-f (%) ^b	(3'R,2S)- 12a-f Добив ^c /ее ^b (%)
1	11a	CH ₃	H	16	>99	88/12	36/>99
2	11b	H	H	22	>99	82/18	34/>99
3	11c	H	5-OCH ₃	22	>99	86/14	35/>99
4	11d	H	6-F	96	92	89/11	30/>99
5	11e	H	5-Br	96	95	83/17	30/>99
6	11f	H	5-CN	170	62	/	/

^aУстановено чрез HPLC анализ на реакционната среда и изразходваното количество на нитроакрилат.

^bУстановено чрез HPLC (аналитична и хирална колона), LC/MS и ¹H ЯМР.

^cДобив.

Всички индолови производни използвани при тези условия, т.е. Cu(OTf)₂ като Люисова киселина, стайна температура и дихлорометан като разтворител, водят до получаване на съответните алкилирани продукти. Степените на превръщане на

нитроакрилата варират от 62 до 99%, в зависимост от времетраенето на реакцията и природата на заместителя при азотния атом или/и заместителя на позиция 5/6 в индоловото ядро (Таблица 4). При реакция на нитроакрилата с *N*-метилиндол **11a** и индол **11b**, се наблюдава пълно превръщане на изходните продукти за 16h и 22h съответно (Таблица 4, №1 и 2). Подобен резултат беше получен и при реакция със заместен в пета позиция с електронодонорна метокси група (5-OCH₃) и индол (Таблица 4, №3). Функционалните групи флуоро (6-F) и бром (5-Br) имат отрицателен индукционен (- *I*) и положителен мезомерен ефект (+*M*), като последният е определящ, защото очакваните продукти бяха получени с добър добив, но с удължаване на реакционното време на 96h (Таблица 4, №4 и 5). В същото време трябва да се отбележи че в тези два случая беше установено наличието на страничен продукт (3-5%), свързан със загуба на нитрогрупа.

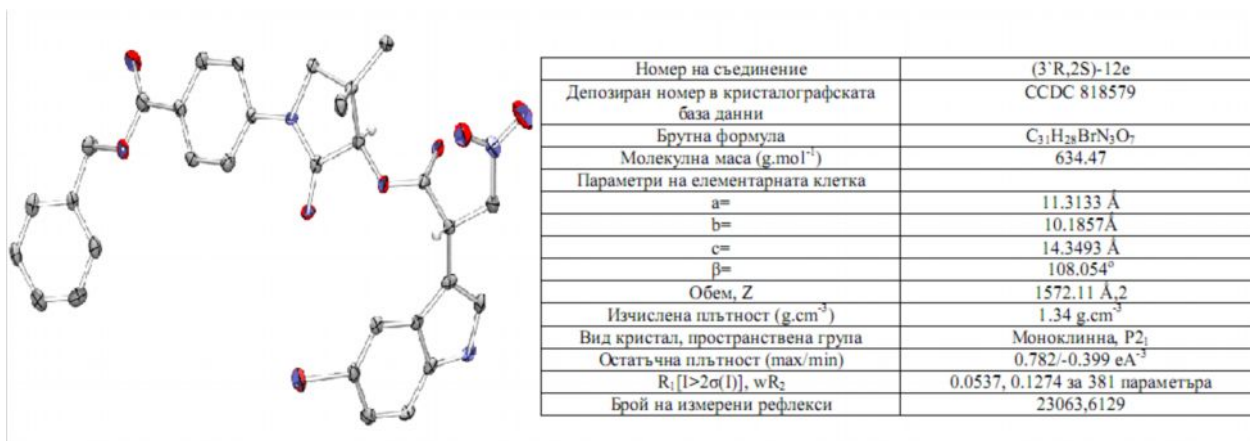
Тези резултати показват, че като цяло електронодонорните или електроноакцепторните групи не влияят особено на диастереоселективността на реакцията.

В присъствие на заместител (електроноакцепторната цианогрупа, CN), реакционното време беше удължено на 170h, но въпреки това само 62% от нитроакрилата бяха трансформирани (Таблица 4, №6).

1.2.6. Определяне на абсолютната конфигурация на основните продукти от реакцията на *Friedel-Crafts*.

При всички реакции на алкилиране, оптично активните продукти **12a-e** бяха изолирани с колонна хроматография. Въпреки добрите стойности на степените на превръщане на нитроакрилата, основни енантиочисти продукти **12a-e** (ee > 99%), бяха получени със сравнително ниски добиви, поради трудностите при разделяне на сместа от двата диастереоизомера (3'*R*, 2*S*) и (3'*R*, 2*R*).

Абсолютната конфигурация на новосъздадения асиметричен център беше установена с рентгеноструктурен анализ (Фигура 2) на нитроестера **12e**. Монокристалът беше получен чрез кристализация, в смес от диетилов етер, дихлорометан и циклохексан.

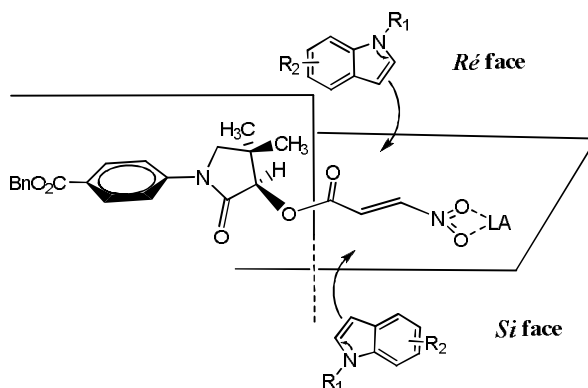


Фигура 2. Рентгено-структурен анализ на (3'R,2S)-[N-(4-бензилоксикарбонилфенил)-4,4-диметил-2-оксопиридин-3-ил]-2-(5-бромо-1H-индол-3-ил)-3-нитропропаноат **12e**

От известната конфигурация на хиралното спомагателно съединение (*R*)-**4** установихме, че абсолютната конфигурация на съединение **12e** е (3'*R*, 2*S*). По аналогия приемаме, че конфигурациите на другите нитроестери **12a-d** са също (3'*R*, 2*S*).

1.2.7. Предложен модел за обяснение на фасиалната диастереоселективност на реакцията.

На база диастереофасиалната селективност, наблюдавана в присъствие или отсъствие на Люисова киселина ние предложихме модел, представен на Фигура 3, който позволява да се рационализира стереоконтролът на реакцията на алкилиране.



Фигура 3. Предложен модел за реакцията на алкилиране между индоли и нитроакрилат (*R*)-**10**

В този модел нитроакрилатът (*R*)-**10** и петчленният цикъл на хиралното спомагателно съединение се намират в две перпендикулярни равнини. Двете карбонилни групи са почти перпендикулярни една спрямо друга. Тази предпочитана конформация на двете карбонилни групи е известна в литературата, и описва производните на пантолактона. Също така при предишни експерименти реализирани от екипа на Calmès се наблюдава същото пространствено групиране в кристалната структура на аналози на хиралното спомагателно съединение **4**.

В този модел, геминалните метилови групи на хиралното спомагателно съединение, разположени от двете страни на петчленния цикъл, предизвикват минимални стерични въздействия като блокират *Ré* страната на нитроакрилата. За да се избегне до максимум стеричното отблъскване с хиралното спомагателно съединение, приближаването на индолите се осъществява от към страната на двойната връзка, която е най-малко запречена, т.е. *Si* страна, което води до получаването в по-голяма степен на съединения със съответната конфигурация (*3'R*, *2S*).

I.3. Превръщане на алкилираните продукти **12a-e в *N*-Fmoc β-триптофанови аналози **15a-e**.**

I.3.1. Редукция на нитрогрупата.

Превръщането на алкилираните оптично активни продукти **12a-e** в аналози на *N*-Fmoc β-триптофан **15a-e** започна с редукция на нитрогрупата в аминокгрупа. Най-често срещаният метод е използването на водород при атмосферно налягане и Pd/C като катализатор. За да се намерят най-добрите условия на тази реакция използвахме различни разтворители (Таблица 5). Като базово съединение използвахме [*N*-(4-бензилоксикарбонилфенил)-4,4-диметил-2-оксопиролдин-3-ил]-2-(1-метил-1*H*-индол-3-ил)-3-нитропропионат **12a**.

Таблица 5.

№	Разтворител	Резултат
1	CH ₃ OH	Реакция не протича
2	CH ₃ OH/AcOH	Формиране на продукт 12a''
3	EtOH/ AcOH	Трансестерификация
4	iPrOH/AcOH	Трансестерификация
5	AcOH glacial	Реакция не протича
6	AcOH/5%H ₂ O	Формиране на желаните продукти 13a-d

При използването на CH₃OH като разтворител не беше наблюдавана никаква трансформация, поради ниската разтворимост на изходния продукт в реакционната среда. В опита си да разтворим изходния продукт ние добавихме няколко капки оцетна киселина (Таблица 5, №2). При тези условия установихме че се получава нов продукт, неотговарящ на очакваното от нас съединение (Схема 8).

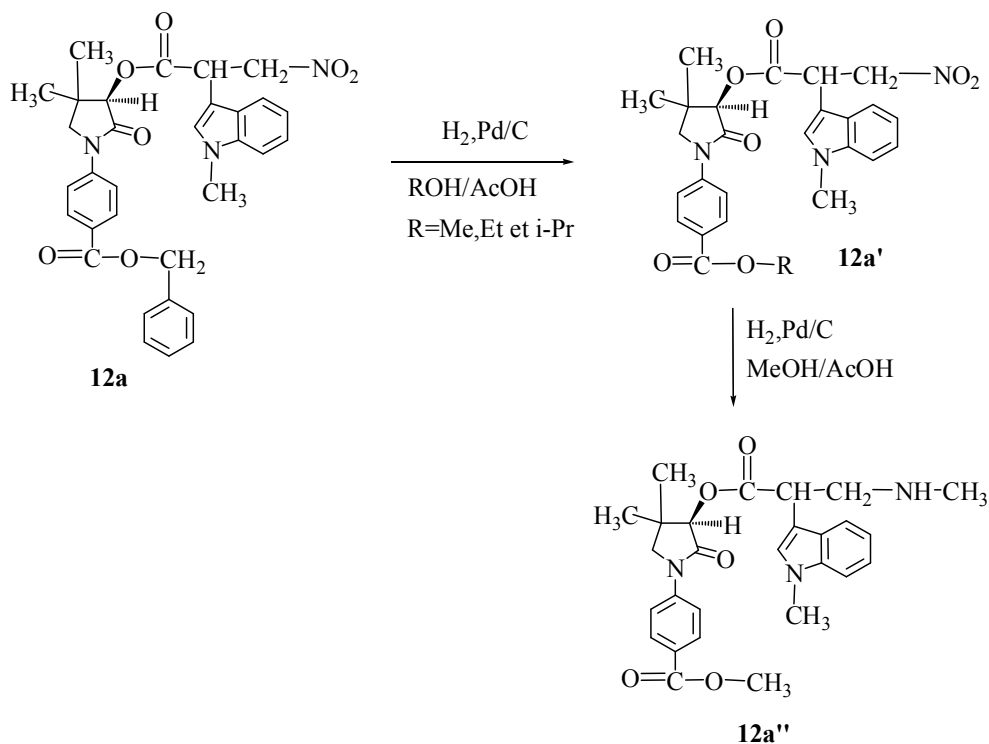


Схема 8. Формиране на странични продукти по време на реакция на хидрогениране на съединение **12a**

При същите условия $\text{CH}_3\text{OH}/\text{AcOH}$, наблюдавахме реакция на трансестерификация, която доведе до получаването на съответния метилов естер **12a'** ($\text{R} = \text{CH}_3$), едновременно с което беше осъществена редукцията на нитрогрупата, но с последващо *N*-метиране на получената аминогрупа, което доведе до получаването на съединение **12a''**. Тази странична реакция е наблюдавана и по време на хидрогениране на защитени с бензилоксикарбонилна група (*Z*) аминокиселини. За да избегнем тази нежелана реакция ние решихме да заменим метиловия алкохол с етилов и изопропилов алкохол, пак в присъствие на оцетна киселина, заради ниската разтворимост на изходното съединение. (Таблица 5 №3 и 4). В този случай беше осъществена само реакция на трансестерификация, която доведе до получаването на съответните етилов и изопропилов естер **12a'** ($\text{R} = \text{Et}$ и *i*-Pr), без желаната редукция на нитрогрупата. Ледена оцетна киселина като реакционна среда е използвана за редукция на алифатна нитрогрупа при стайна температура и атмосферно налягане, но в нашия случай това не доведе до очаквания резултат (Таблица 5, №3). В един от последните си опити ние прибавихме към ледената оцетна киселина няколко капки вода. При тези условия след 16h, при стайна температура и атмосферно налягане получихме желанят продукт, под формата на ацетат (Схема 9).

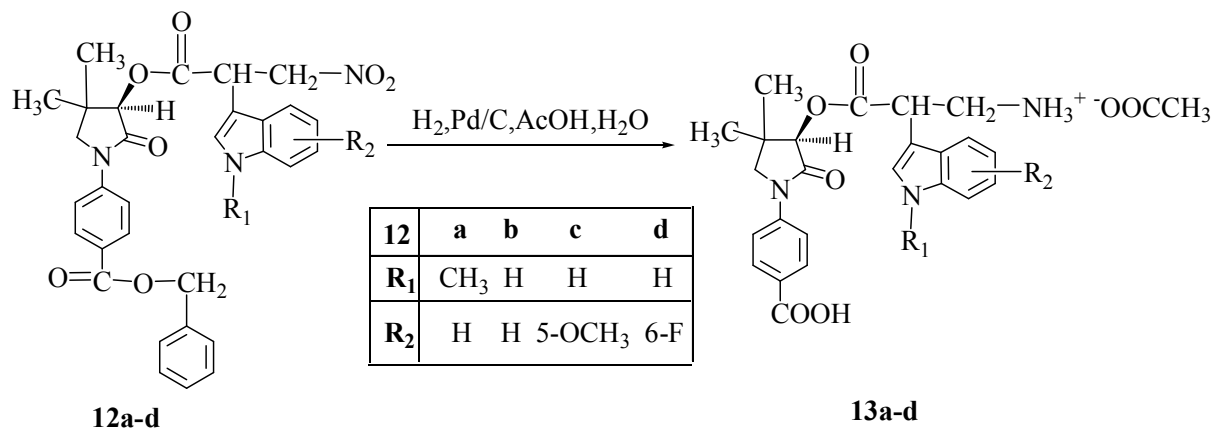


Схема 9. Редукция на алкилираните продукти **12a-d**

За да редуцираме нитрогрупата на съединение **12e** трябваше да използваме условия различни от тези при останалите алкилирани продукти **12a-d**, поради наличието на бром атом в ядрото на индола. От литературата е известно че класическото хидрогениране на съединения съдържащи бром, в присъствие на Pd/C

като катализатор, води до дебромване на изходния продукт (реакция на *Suzuki*) (Схема 10).

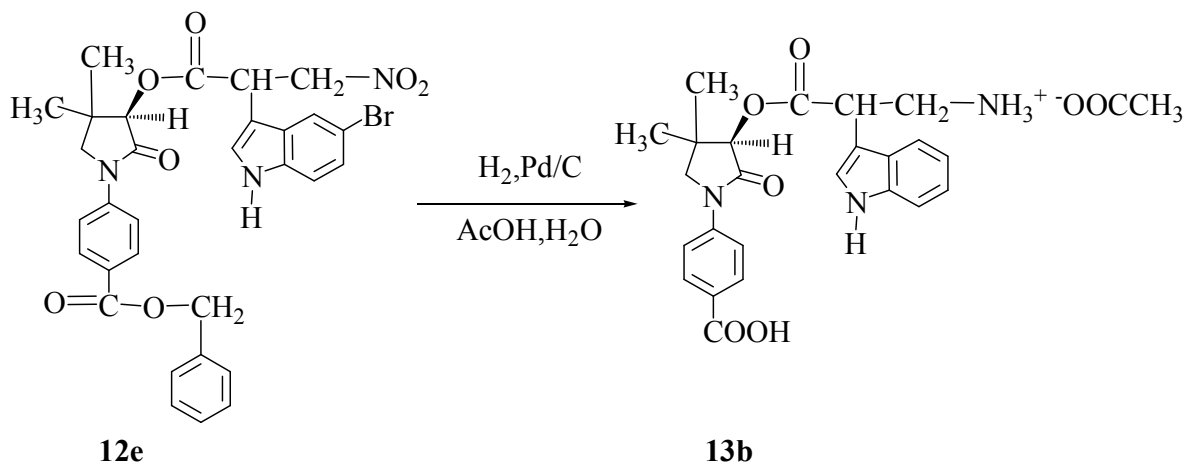


Схема 10. Дебромване на съединение **12e** по време на реакция на хидрогениран, в присъствие на *Pd/C*.

В съответствие с литературните данни получихме продукта **13b** вместо желания **13e** и продължихме с търсенето на условия, използвайки вече публикувани в литературата резултати за редукцията на нитрогрупата, които биха ни позволили да запазим бромния атом (Таблица 6).

Таблица 6.

№	Реактиви	Резултат
1	Ni/Raney, H ₂	Редукция на NO ₂ и дебромване
2	Pt/C, H ₂	Хидрогенолиза на бензилов естер
3	PtO ₂ , H ₂	Хидрогенолиза на бензилов естер
4	Zn/HCl	Редукция на NO ₂ и дебромване
5	Zn/HCl/Et ₂ O	Редукция на NO ₂ и дебромване
6	Zn/HCl/THF/AcOH/H ₂ O	Получаване на желания продукт 13e

При използване на *Raney Ni*, получихме същия незадоволителен резултат както при *Pd/C* (Таблица 6, №1). След това изпробвахме други два катализатора описани в литературата, съдържащи платина: *Pt/C* и *PtO₂* (катализатор на *Адамс*) (Таблица 6, №2 и

3), способни да редуцират нитрогрупи, но в нашия случай беше наблюдавана само хидрогенолиза на бензиловия естер, без изменение при нитрогрупата. След получените незадоволителни резултати с каталитичната редукция ние приложихме химична редукция. За начало използвахме класическите условия, т.е. цинк на прах и концентрирана солна киселина (Таблица 6, № 4). При тези условия успяхме да редуцираме нитрогрупата, но отново изгубихме бромния атом. След това използвахме същите реагенти, но в комбинация с органични разтворители (Таблица 6, №5 и 6). При тези условия: смес от Zn/HCl/THF/AcOH/H₂O редукцията на нитрогрупата беше успешна и доведе до получаването на съединение **13e**, при което се запазиха бензиловият естер и бромният атом (Схема 11).

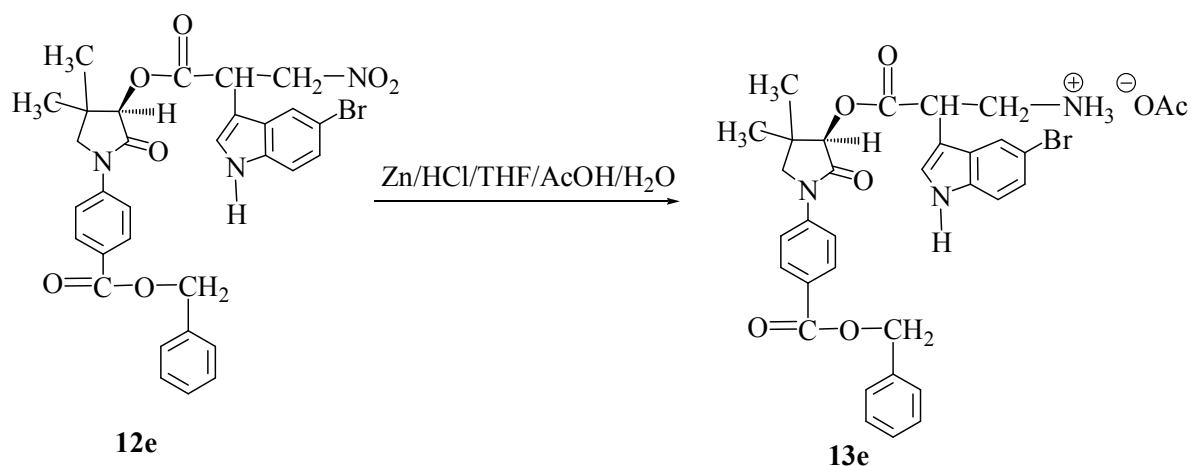


Схема 11. Редукция на *N*-(4-бензилоксикарбонилфенил)-4,4-диметил-2-оксопирролидин-3-ил]-2-(5-бромо-1H-индол-3-ил)-3-нитропропионат **12e**

Получените междинни съединения **13a-e** бяха използвани при последващи реакции без допълнително пречистване, и бяха доказани с помощта на HPLC и LC/MS.

I.3.2. Отстраняване на хиралното спомагателно съединение.

I.3.2.1 Алкална хидролиза с LiOH.

Следващият етап от синтеза се състоеше в разкъсване на естерната връзка между хиралното спомагателно съединение и β-триптофановите аналози, чрез алкална хидролиза, без да се наблюдава епимеризация. За да получим количествен добив бяха необходими 3 еквивалента LiOH: един – да неутрализира солта от аминогрупата, втори - да сформира карбоксилатен йон и трети - да осъществи алкалната хидролиза на естерната връзка. След края на всяка реакция, ние извършвахме подкисляване (pH~2) с

помощта на 1N HCl, за да получим междинните продукти **14a-e**: със свободна карбоксилна група и аминогрупа под формата на хидрохлорид. Последната реакция се състоеше в защита на аминогрупата с Fmoc група. Това беше осъществено с помощта на Fmoc-OSu, в слабоалкална среда, което доведе до получаване на съответните *N*-Fmoc- β -триптофанови аналози **15a-e** (Схема 12).

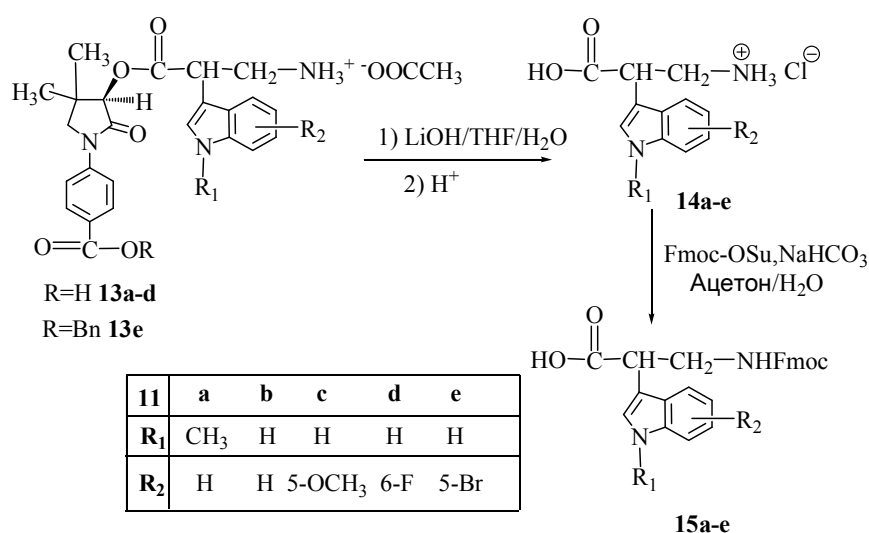
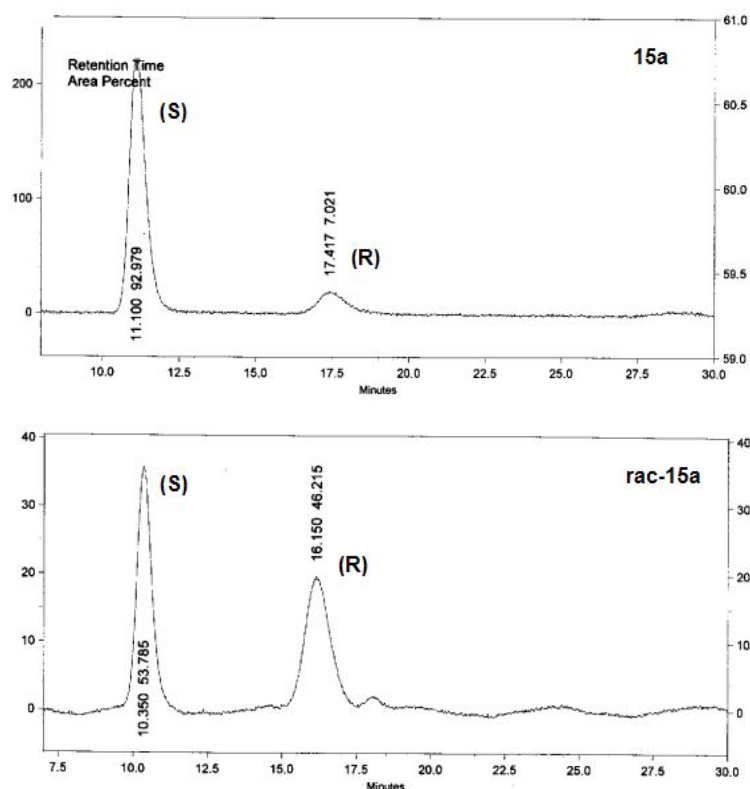


Схема 12. Отстраняване на спомагателното съединение и защита на аминокиселината с Fmoc- група

За контрола на оптичната чистота на продуктите **15a-e**, както и/или за да се установи възможната епимеризация, която може да настъпи по време на елиминирането на спомагателното съединение, ние осъществихме реакция на алкилиране по *Friedel-Crafts* между рацемичен нитроакрилат **rac-10** и *N*-метилиндол **11a**.

След редукция и алкална хидролиза на енантиочистото съединение (3'*R*,2*S*)-**12a** и на рацемичната смес на същото съединение (3'*R*,2*S*)/(3'*R*,2*R*)/(3'*S*,2*R*)/(3'*S*,2*S*)-**12a**, бяха сравнени HPLC профилите на съответстващите им *N*-Fmoc- β -триптофанови аналози **15a** и **rac-15a** (Фигура 4).



Фигура 4. Контрол на епимеризация при получаване на *N*-Fmoc- β -триптофанови аналози **15a**

Ние констатирахме, че след трансформация на оптично чистото съединение **12a** се наблюдава значителна степен на епимеризация (около 7 % за **15a**) (Фигура 4). Ние установихме, че частичната загуба на оптичната чистота става по време на алкалната хидролиза на междинното съединение **13a**, и се дължи на киселинността на α - протона на това съединение.

I.3.2.2 Хидролиза с Me_3SnOH .

За да се избегне или намали епимеризацията, решихме да използваме триметилкалаен хидроксид (Схеми 13 и 14) описан в литературата като съединение, което премахва нежелана епимеризация по време на хидролиза на естерна връзка. Поради факта че защитната Fmoc- група не би трябвало да бъде засегната по време на такава хидролиза, ние използвахме условията на Me_3SnOH директно към *N*-Fmoc защитените субстрати **16a-d** и **17e**.

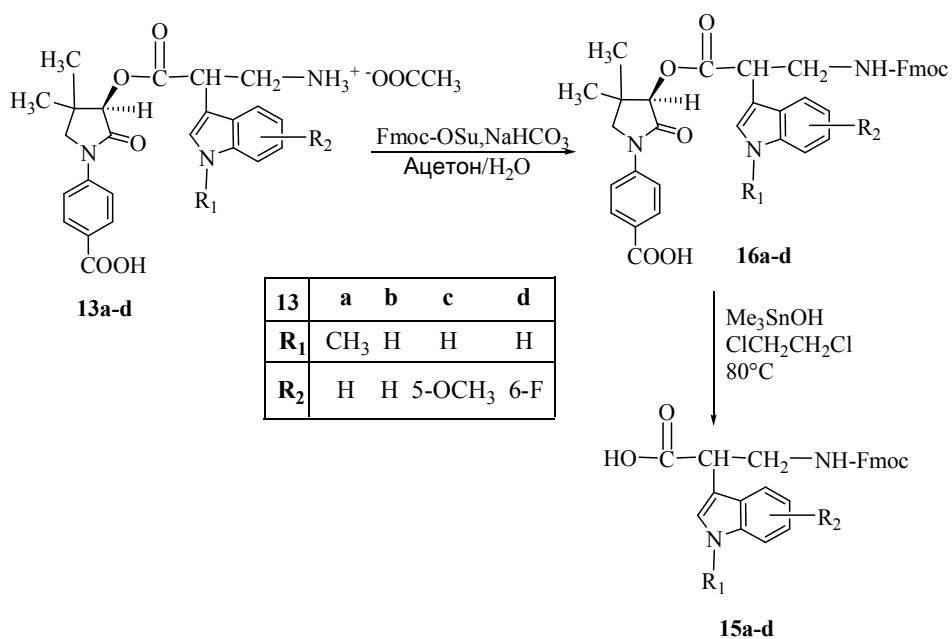


Схема 13. Оптимизирани условия за трансформацията на продуктите на реакцията на Friedel-Crafts в аналози на *N*-Fmoc β-триптофан **15a-d**.

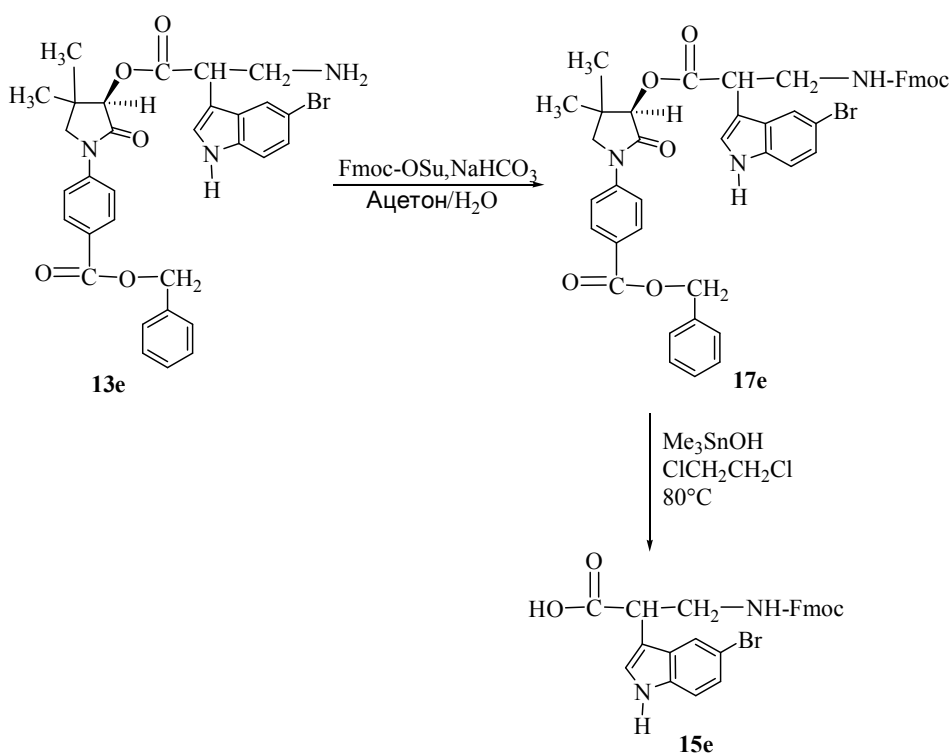
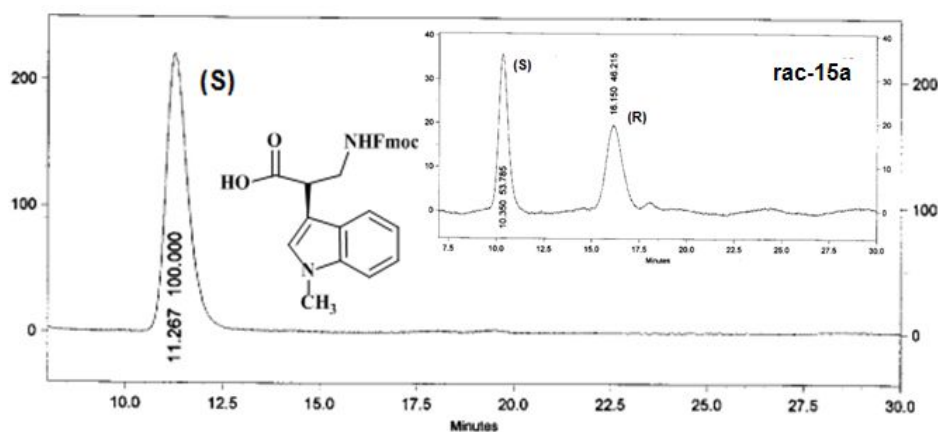


Схема 14. Трансформация на продукта **13e** без епимеризация в *(S)*-3-(9-флуоренилметоксикарбониламино)-2-(5-бромо-1H-индол-3-ил)пропанова киселина **15e**

Първият етап от тази синтеза беше получаването *N*-Fmoc защитени производни **16a-d** и **17e**, използвайки Fmoc-OSu в слабоалкална среда, от съответните изходни

съединения **13a-e**. След това защитените продукти бяха подложени на взаимодействие с триметилкалаен хидроксид, в среда от 1,2-дихлороетан, при температура 80°C. Получените продукти бяха пречистени с помощта на колонна хроматография. Това доведе до получаването на аналози на *N*-(*S*)-Fmoc- β -триптофан (**S**)-**15a-e** с добри добиви.



Фигура 5. Сравнение между хиралните HPLC профили на съединения **15a** и **rac-15a**

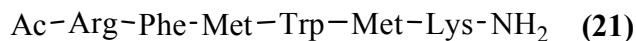
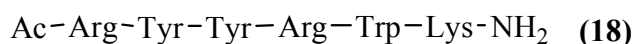
Хиралният HPLC анализ на съединение **15a**, използвано като референтно (Фигура 5) показва отсъствието на втория енантиомер в сравнение с резултата получен при използването на LiOH. Приложението на този нов метод позволява трансформирането на продукти на реакцията по *Friedel-Crafts* в аналози на *N*-(*S*)-Fmoc- β -триптофан (**S**)-**15a-e**, без епимеризация.

II. Синтез на опиоидни пептиди

Синтезираните оптично активни триптофанови аналози ни послужиха при получаването на по-сложни молекули с потенциално биологично действие, в частност чрез тяхното въвеждане в пептидни вериги.

Една от основните области на изследване в катедра Органична химия при ХТМУ-София е получаването на опиоидни пептиди и по конкретно аналози на ноцицептина. Тези продукти представляват интерес поради техните противоболкови свойства. Хексапептидите **18** и **21** (Фигура 6) представляват най-късата пептидна последователност която взаимодейства селективно с NOP-рецептора. Тези пептиди са

използвани като модел при изследванията на връзката структура-активност и намирането на нови лиганди за NOP-рецептора [106, 107].



Фигура 6. Скъсени аналози на ноцицептин

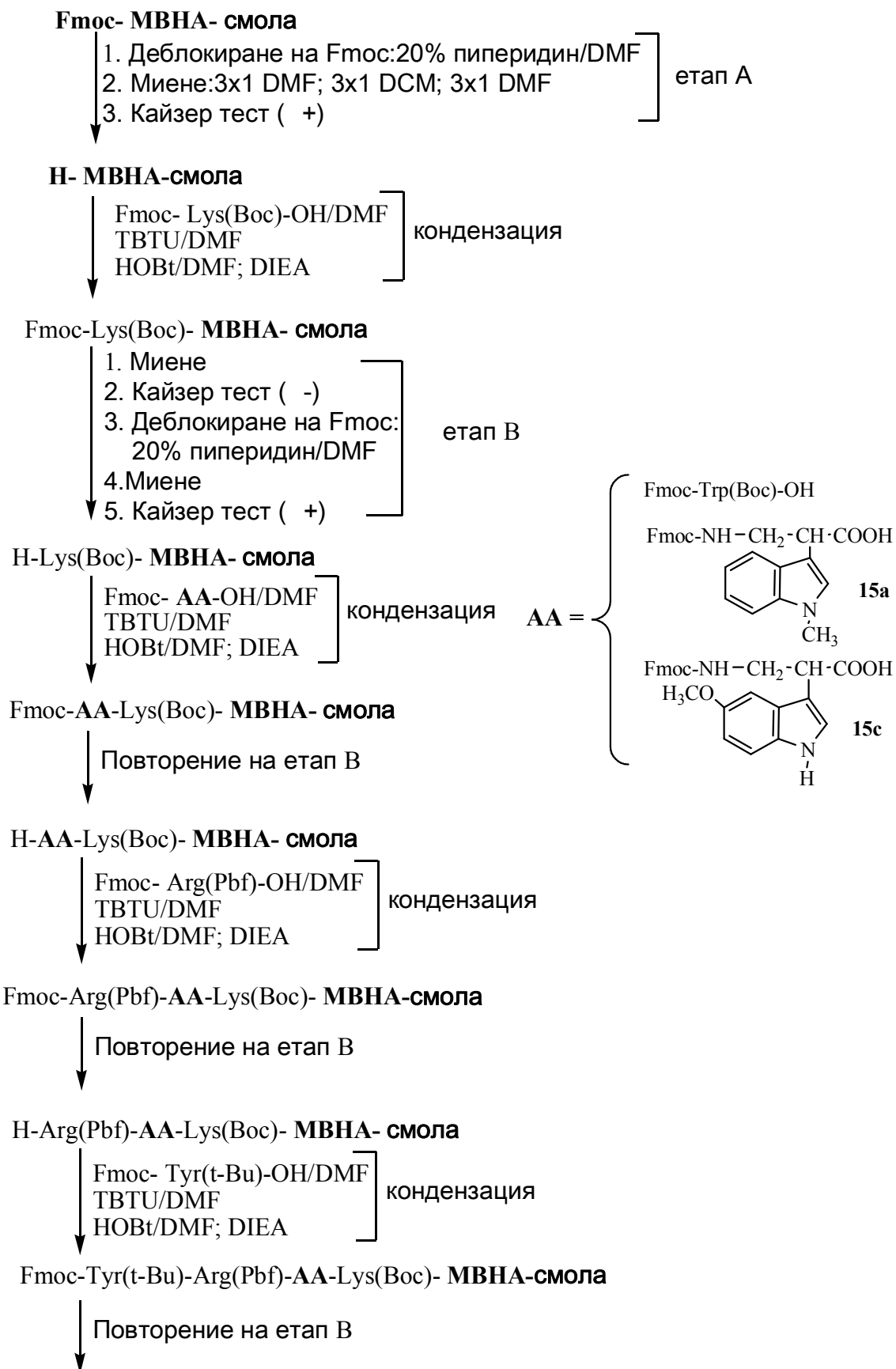
Ние осъществихме синтеза на новите аналози на посочените хексапептиди, като заместихме аминокиселината Trp с получените от нас енантиochисти производни на 2-индолил-β-аланин с цел повишаване устойчивостта към ензимно разграждане. Тези синтези бяха реализирани чрез използването на твърдофазен пептиден синтез (SPPS), по Fmoc-стратегия. Като полимерен носител използвахме киселинно лабилната Rink amide MBHA смола, която дава възможност за получаване на крайния продукт под формата на C-краен амид.

Етапите за получаване на двете групи пептиди са представени на следните две схеми (Схеми 15 и 16). Първият етап (Етап А) от синтеза е деблокирането на защитната Fmoc група от смолата. Реакциите на кондензация на аминокиселините бяха реализирани с помощта на TBTU/HOBt, в присъствие на DIEA. Страничните вериги на аминокиселините (Arg, Lys, Trp, Tyr) бяха защитени както следва: Fmoc-Arg(Pbf)-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Trp(Boc)-OH и Fmoc-Tyr(tBu)-OH.

Контролът на реакциите на деблокиране на Fmoc-групата и кондензация беше осъществен с помощта на Кайзер тест. За ацилиране на N-края на пептидите използвахме оцетен анхидрид, в присъствие на DIEA. Свалянето на пептида от смолата осъществихме в кисела среда (TFA).

Всички пептиди бяха пречистени и охарактеризирани чрез HPLC и LC/MS.

Предвижда се да бъдат извършени биологични изследвания за установяване на биологичната активност на тези съединения.



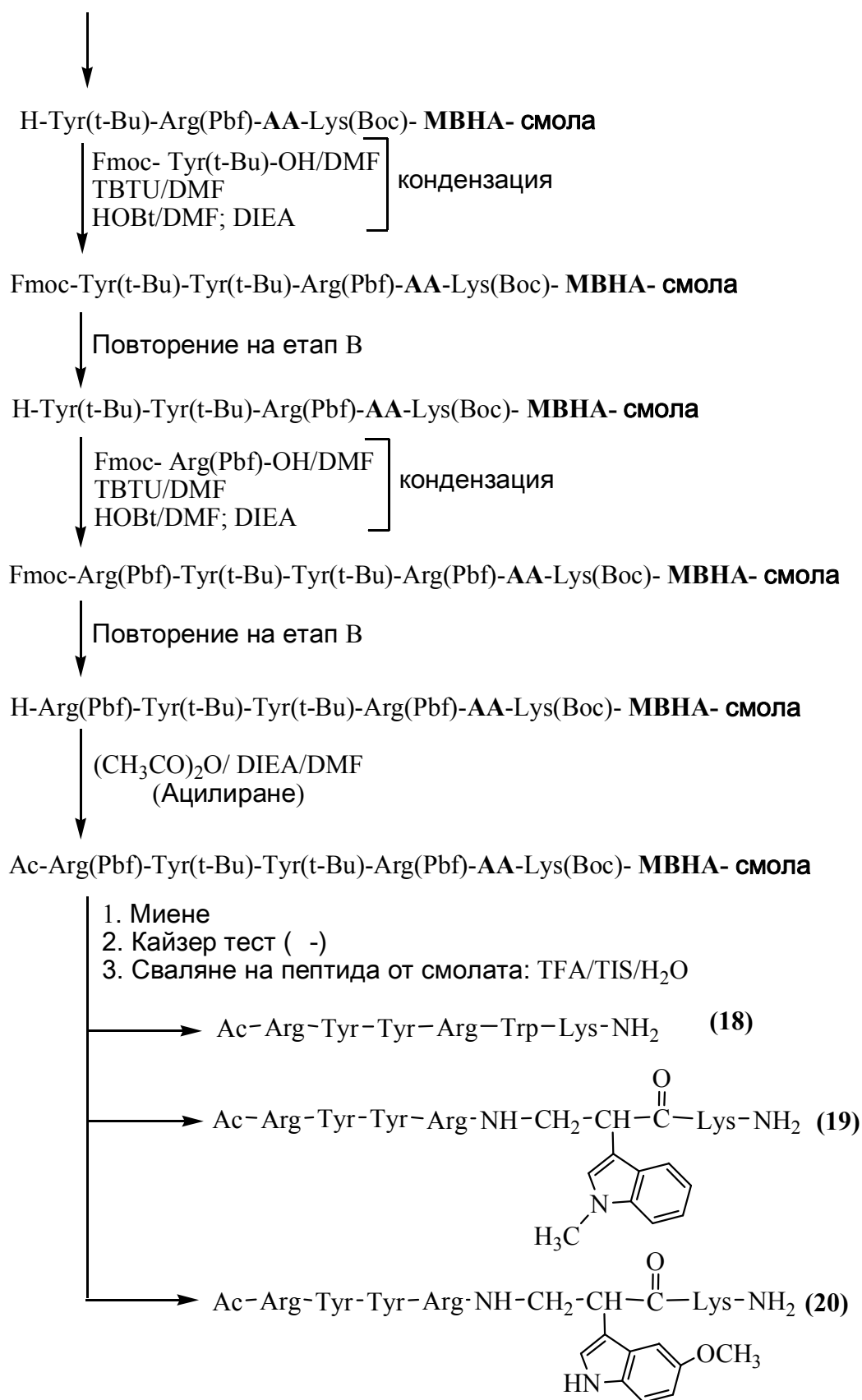
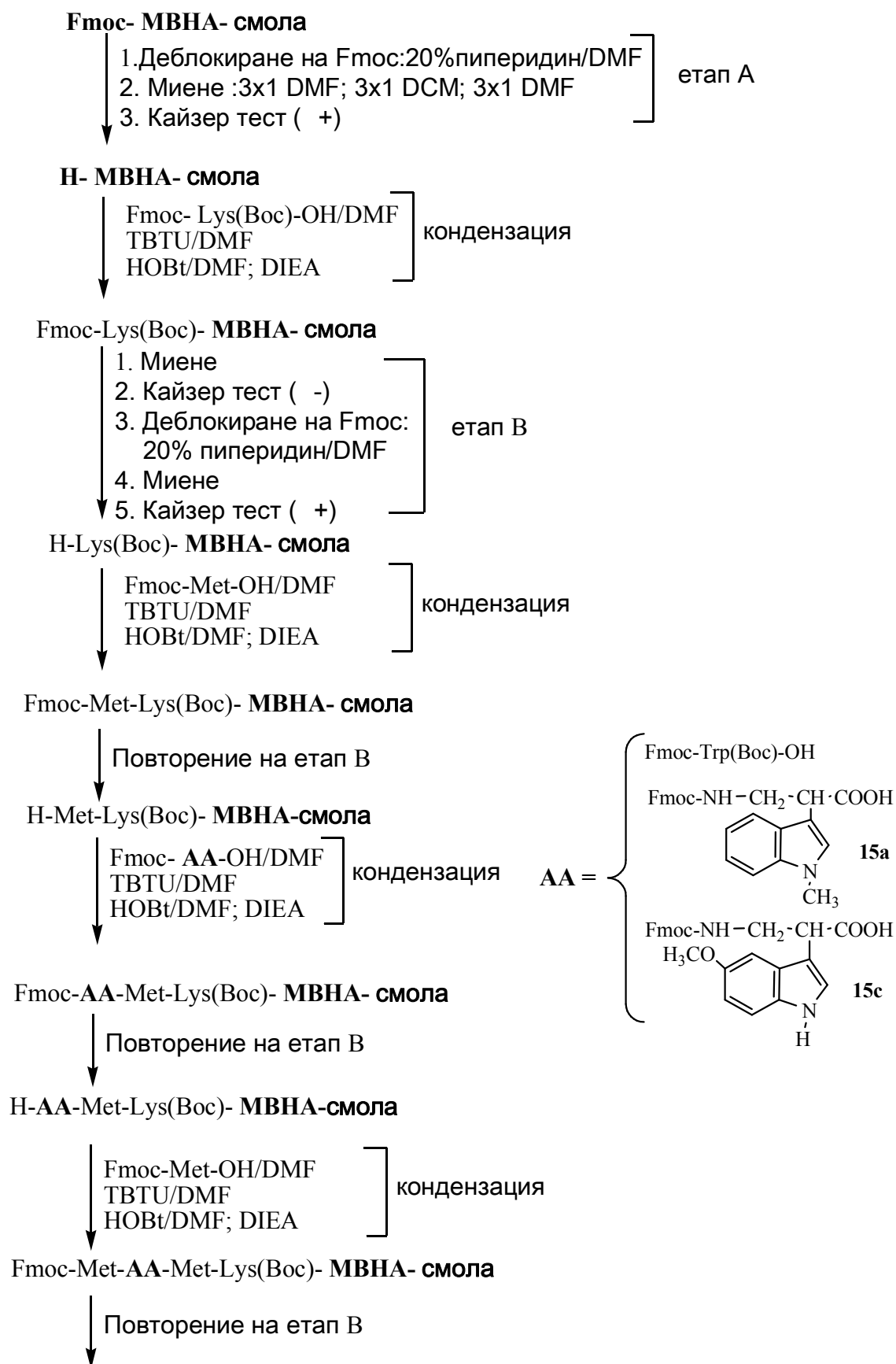


Схема 15. Синтез на хексапептиди (18, 19, 20)



Изводи

В резултат на извършената синтетична работа е разработен нов ефикасен метод за асиметричен синтез на оптично активни аналози на β^2 -триптофана.

1. Синтезирано е хирално спомагателно съединение (*R*)-бензил-4-(4,4-диметил-3-хидрокси-2-оксопиролдин-1-ил)бензоат, както и неговото нитроакрилатно производно (*R*)-бензил-4-(4,4-диметил-3-(3-нитроакрилоилокси)-2-оксопиролдин-1-ил)бензоат. Също така са синтезирани и съответните референтни рацемични съединения.
2. Намерени са оптималните условия за протичане на реакцията на алкилиране по *Friedel-Crafts* между хиралния нитроакрилат и различно заместени индоли.
3. Намерени са оптималните условия за превръщането на алкилираните продукти, което доведе до получаването на рацемични и оптично чисти аналози на *N*-Fmoc- β^2 -триптофан:
 - ✓ (*S*) и (*RS*)-3-(9-флуоренилметоксикарбониламино)-2-(1-метил-1*H*-индол-3-ил)пропанова киселина;
 - ✓ (*S*) и (*RS*)-3-(9-флуоренилметоксикарбониламино)-2-(1*H*-индол-3-ил)пропанова киселина;
 - ✓ (*S*) и (*RS*)-3-(9-флуоренилметоксикарбониламино)-2-(5-метокси-1*H*-индол-3-ил)пропанова;
 - ✓ (*S*) и (*RS*)-3-(9-флуоренилметоксикарбониламино)-2-(6-флуоро-1*H*-индол-3-ил)пропанова киселина;
 - ✓ (*S*) и (*RS*)-3-(9-флуоренилметоксикарбониламино)-2-(5-бромо-1*H*-индол-3-ил)пропанова киселина.
4. Доказано е отсъствието на епимеризация, и е установена абсолютната конфигурация на крайните аминокиселини.
5. Чрез твърдофазен пептиден синтез по Fmoc стратегия са синтезирани 4 нови пептида с потенциална биологична активност и 2 референтни пептида – скъсени аналози на ноцицептина – имащи следната структура:
 - ✓ Ac-Arg-Tyr-Tyr-Arg-**X**-Lys-NH₂
 - ✓ Ac-Arg-Phe-Met-**X**-Met-Lys-NH₂

Приноси

В дисертационния труд могат да се открият следните по-важни приноси с научен и приложен характер:

1. Направена е подробна литературна справка относно методите за синтез β 2-триптофанови аналози и тяхното въвеждане във веригата на биологичноактивни пептиди.

2. На тази база е разработен нов метод за асиметричен синтез на β 2-триптофанови аналози.

3. Намерени са подходящите условия за реакция на асиметрично алкилиране по Friedel-Crafts между различно заместени индоли и хирален β -нитроакрилат, варирайки параметрите на реакцията като температура, катализатор и др.

4. Намерени са подходящите условия за превръщане на алкилираните продукти в рацемични и оптично активни N-Fmoc- β 2-триптофанови аналози.

5. Установена е липсата на епимеризация при прилагане на разработения от нас метод и абсолютната конфигурация на изолираните продукти. Предложен е модел за диастереофасиалната селективност на реакцията на алкилиране по Friedel-Crafts.

6. Чрез твърдофазен пептиден синтез, по Fmoc-стратегия са получени 4 нови пептида с потенциална биологична активност.

На базата на тези резултати са публикувани 4 статии в международни научни издания и е взето участие в 7 научни конференции.

Списък с публикации

1. Emilia D. Naydenova, Petar T. Todorov, **Nikola D. Pavlov**, Elena B. Dzhambazova, and Adriana I. Bocheva. N/OFQ(1-13)NH₂ Analogues with Aminophosphonate Moiety: Synthesis and Analgesic Activity. **Peptides** **2010**. *Proceedings of the 31st European Peptide Symposium Michal Lebl, Morten Meldal, Knud J. Jensen, Thomas Hoeg-Jensen (Editors) European Peptide Society, 486-487, 2010.*
2. **Nikola Pavlov**, Pierre Gilles, Claude Didierjean, Emmanuel Wenger, Emilia Naydenova, Jean Martinez, and Monique Calmès. Asymmetric Synthesis of β^2 -Tryptophan Analogues via Friedel-Crafts Alkylation of Indoles with a Chiral Nitroacrylate. **Journal of Organic Chemistry**, Volume 76 (15), p. 6116–6124, **2011**. (IF=4.00).
3. Adriana I. Bocheva, Elena B. Dzhambazova, Petar T. Todorov, **Nikola D. Pavlov**, Emilia D. Naydenova. Effects of naloxone and JTC-801 on analgesic activity of novel N/OFQ(1-13)NH₂ analogues. *Proceedings of the 22nd American Peptide Symposium Michal Lebl (Editor) American Peptide Society, 340-341, 2011.*
4. Emilia D. Naydenova, **Nikola D. Pavlov**, Petar T. Todorov, Elena B. Dzhambazova, Adriana I. Bocheva. Analgesic effects of novel hexapeptide analogues as nociceptin receptor ligands. *Proceedings of the 22nd American Peptide Symposium Michal Lebl (Editor) American Peptide Society, 356-357, 2011.*

Списък с участия в научни конференции

1. Emilia D. Naydenova, Petar T. Todorov, **Nikola D. Pavlov**. *Synthesis of new ligands for nociceptin/orphanin FQ receptor*. 5-th Bulgarian Peptide Symposium 28-30 May **2008** – Bachinovo, Poster, Book of Abstracts, P 36.
2. Zamfirova R., Mateeva P., Todorov P., **Pavlov N.**, Naydenova E., Todorov S. *Biological activity of novel hexapeptide derivatives synthesized with Ca, α -disubstituted cyclic amino phosphonates*. 6-th National Congress of Pharmacology, Varna, Bulgaria, 1 – 4 October, **2009**, Poster, Book of Abstracts.
3. Emilia D. Naydenova, Petar T. Todorov, **Nikola D. Pavlov**, Rositza N. Zamfirova, Polina I. Mateeva, Simeon B. Todorov. *Synthesis and structure-activity relationships of novel hexapeptides with Ca, α -disubstituted cyclic amino phosphonates as nociceptin receptor ligands*. 11th International Congress on Amino Acids and Proteins, August 3-rd to 7-th, **2009**, Vienna, Austria. Amino Acids, Supplement to Volume 37, S 75, 2009, DOI 10.1007/s00726-009-0320-1.
4. **Nikola Pavlov**, Pierre Gilles, Emilia Naydenova, Jean Martinez, Monique Calmès. *Synthèse asymétrique d'analogues de β -tryptophane par alkylation de Friedel-Craft d'indoles par un β -nitroacrylate chiral*. Journée Grand Sud-Ouest et de Catalogne SCF-SCQ 26 novembre **2010** Montpellier, France. Abstracts, OC1 p.12. **Устен доклад.**
5. Petar Todorov, **Nikola Pavlov**, Emilia Naydenova, Jean Martinez, Monique Calmes. *Synthesis of new bicyclic α -aminophosphonic acids via Kabachnik-Fields reaction as potential biologically active compounds*. Seventh National Conference on Chemistry, International Year of Chemistry 2011, 26–29 May **2011**, Sofia, Bulgaria – 2-P3, p.21.
6. **Nikola Pavlov**, Petar Todorov, Emilia Naydenova, Jean Martinez, Monique Calmes. *Enantioselective synthesis of new β^2 -homotryptophan analogues via Friedel-Crafts alkylation*. „Day of sport and Science”, 8-th scientific – University of Chemical Technology and Metallurgy-Sofia, 18 May **2011**. Poster, Book of Abstracts, C.V.II.97, p.101. – **Първа награда за участие**
7. **Nikola Pavlov**, Pierre Gilles, Claude Didierjean, Emilia Naydenova, Jean Martinez, Monique Calmès. *Synthèse asymétrique de nouveaux analogues de β -tryptophane*. 17^{ème} congrès du GFPP - Groupe français des peptides et des protéines -30 Janvier - 4 Février **2011**, Aussois, France. Abstracts, A9 p.80 Poster.