

Professor Iliya Rashkov
Laboratory of Bioactive Polymers
Institute of Polymers
Bulgarian Academy of Sciences
1113 Sofia, Bulgaria
e-mail: rashkov@polymer.bas.bg
or rashkov_iliya@yahoo.fr

www.polymer.bas.bg et
www.bioactivepolymers-bas.org

РЕЦЕНЗИЯ

на дисертацията на инж. Никола Димитров Павлов,
представена за придобиване на образователната и научна степен „доктор”
по научната специалност „Органична химия” и Docteur de l'Université Montpellier 2

Рецензент: проф. дхн Илия Благоев Рашков, чл.-кор. на БАН
от Института по полимери – БАН

Темата на представената от инж. Никола Павлов дисертация е „Асиметричен синтез на β^2 -триптофанови аналози и приложението им в пептидният синтез”. Научни ръководители са доц. д-р инж. Емилия Найденова от Катедрата по органична химия на Департамента по химични науки на Химикотехнологичния и металургичен университет и проф. Моник Калмес от Университета на Монпелие 2, Франция.

Целите на дисертацията са:

- разработване на нова стратегия за асиметричен синтез, позволяваща ефикасното получаване на енантиочисти аналози на триптофана. Ключовият етап на стратегията на синтеза се основава на реакция на диастереоселективно алкилиране по Фридел-Крафтс на индоли, заместени с хирален β -нитроакрилат,
- включване на тези аналози на мястото на триптофана в биологично активни пептиди, за да бъдат получени производни с потенциална аналгетична активност.

За интереса и актуалността на дисертацията на инж. Павлов допринася и фактът, че триптофанът като незаменима аминокиселина играе ролята на градивен блок в биосинтезата на протеините. Той се намира в разнообразни пептиди, които имат физиологична активност. Някои от неговите природни производни (например серотонин или триптами), както и синтетични (например суматрипан) имат неврофизиологична активност (напр. опиоидна). Нещо повече, пептиди, съдържащи β -аминокиселини имат по-голяма устойчивост на ензимна хидролиза. Аналозите на триптофана са също прекурсори за синтеза на пептидомиметици и на биологично активни съединения. В допълнение, флуоресценцията на индоловото ядро на триптофана и аналозите му може да бъде използвана за проследяване на конформационните промени на протеините.

В направения правилно фокусиран литературен преглед инж. Павлов описва индоловите производни като биологично активни съединения, методите за синтез на индолови производни и по-конкретно синтезите на индолилглицини, на хомотриптофан, на триптофан, функционализиран по страничната верига и на 2-индолил- β -аланина (аналог на β -триптофана). Заклучено е, че са разработени

различни методи за синтез на производни на триптофана. Тази област на изследвания е важна и заслужава разработването ѝ да продължи по-специално синтеза на енантиочисти производни на β -триптофана: 2-индолил- β -аланини, чиито рацемични и асиметрични синтези са малко изследвани в литературата. Инж. Павлов описва много точно и с разбиране актуалните методи за синтез на пептиди (в разтвор и твърдофазни). Логичен е интересът и подборът на втория метод, както и изборът на стратегията FMOC (9-флуоренилметил оксикарбонил) за протекция на крайната аминогрупа. Инж. Павлов описва типовете смола, които са най-важни и обикновено използвани в пептидният синтез (NovaSyn® и Rink Amide®). Смолата е съставена от омрежен полистирен (с няколко процента дивинилбензен). Смолите имат разклонения, съдържащи различни функционални групи (използването на термина „разклонения“ за висящите групи е по-правилно, отколкото „ръце“ – *bras* на френски).

За постигането на целта на дисертацията инж. Павлов е имал да разреши серия от много сложни задачи:

- Синтез на хирално спомагателно съединение и на нитроакрилатното производно [(R)-бензил-4-(4,4-диметил-3-(3-нитроакрилоилокси)-2-оксопирилодин-1-ил)бензоат], необходимо за провеждането на реакциите на асиметрично алкилиране по Фридел-Крафтс;

- Осъществяване на реакцията на алкилиране по Фридел-Крафтс в рацемична и енантиочиста серии при използването на различно заместени индоли: индол, N-метилиндол, 5-метоксииндол, 6-флуороиндол и 5-бромоиндол. Оптимизиране на параметрите на реакцията по Фридел-Крафтс: избор на катализатор, на разтворител, на температура;

- Превръщане на продуктите на реакцията по Фридел-Крафтс: редукция на нитрогрупата, отстраняване на хиралното спомагателно съединение и защита на триптофановите аналози с FMOC група.

- Въвеждане на енантиочистите β -триптофанови аналози във веригата на хексапептиди чрез твърдофазен пептиден синтез по Fmoc стратегията.

Инж. Павлов е имал предвид следните факти (*Journal of Organic Chemistry*, 76: 6116 2011): (1) алкилирането по Фридел-Крафтс между ароматен C-нуклеофил и беден на електрони олефин, е мощен метод за образуване на въглерод-въглеродна връзка. (2) Индолите, богати на хетероароматни електрони и ефективни акцептори по Михаел, са широко изучени като партньори в реакцията на Фридел-Крафтс при катализ с Люисови киселини. В случая на аналозите на триптофана асиметричният вариант на тази реакция не е разработен при използване на реакция на индола с глиоксилимин за получаване на оптически активен α -(3-индолил)глицин. (3) Алкилирането на индоли по Фридел-Крафтс с хирален β -нитроакрилат е интересна реакция за получаването оптически активни аналози на β -триптофана, тъй като нитрогрупата силно изтегля електрони и лесно може да бъде превърната в $-NH_2$ група.

Алкилирането по Фридел-Крафтс на β -нитроакрилат (R)-2 N-метилиндол 10a ($R_1 = CH_3$ и $R_2 = H$), използван като представител на индола, най-напред е извършена съгласно Chen et al. при стайна температура в присъствие на меден (II) трифлейт $Cu(OTf)_2$ като Люисова киселина в сух дихлорометан. В тези условия е наблюдавано пълно превръщане на β -нитроакрилата за 16 часа. Анализите с HPLC, LC/MS и 1H ЯМР показват образуването на смес от два диастереоизомера като единият преобладава (съотношение 88/12).

Опитвайки се да увеличи стереоселективността на реакцията, инж. Павлов е изучил влиянието на различни параметри на реакцията (разтворители, Люисови киселини, температура и концентрация на реактивите). При провеждане на реакцията в солватиращ разтворител като тетрахидрофуран, е отчетен слаб ефект върху

диастереоселективността. При това анализи с HPLC показват образуването на странични продукти, също както при използването на смес от диетилов етер и дихлорометан. При провеждане на реакцията при ниска температура (-20 °C) се наблюдава по-голяма селективност, придружена от намаляване на скоростта на реакцията. При -78 °C само 11% от нитроакрилата се превръща за 24 часа. От друга страна повишаването на температурата до -40 °C е позволило да се постигне пълно превръщане на нитроакрилата за 96 часа при получаване на смес от два диастереомера в съотношение 91/9. Закljučавайки, че това малко подобрене на стереоселективността не е достатъчно привлекателно, за следващите синтези инж. Павлов е избрал да провежда реакциите на алкилиране в дихлорометан при стайна температура. За да подбере Люисовата киселина, инж. Павлов изследва различни трифлейти. Не е наблюдавано никакво подобряване при използване на $\text{Yb}(\text{OTf})_3$ и $\text{Er}(\text{OTf})_3$. От друга страна, $\text{Zn}(\text{OTf})_2$ е позволил провеждането на бърза реакция при стайна температура, но с по-малка селективност. При използването на $\text{Zn}(\text{OTf})_2$ при ниска температура (-20 °C) е получена по-добра селективност, но не по-голяма, отколкото при използването на $\text{Cu}(\text{OTf})_2$, $\text{Yb}(\text{OTf})_3$, или $\text{Er}(\text{OTf})_3$ при стайна температура. Окуражен от резултатите, получени с N-метилендола, инж. Павлов е изучил алкилирането по Фридел-Крафтс с различни заместени индоли при използването на оптимизираните условия. Във всички случаи след колонна хроматография той е изолирал главните алкилирани продукти в енантиочиста форма. Абсолютната конфигурация на новосъздадения асиметричен център е определена с рентгеноструктурен анализ на нитроестера 12e след прекристализация из смес диетилов етер/дихлорометан/циклохексан.

На основата на диастереофасиалната селективност, наблюдавана в присъствие или в отсъствие на Люисова киселина, е предложен модел за тази стереохимична изомерия на алкилирането на индоли по Фридел-Крафтс (Фигура 1). Нитроалкрилатът и петчленният цикъл на хиралното спомагателно съединение са в две перпендикулярни равнини. Двете карбонилни групи са почти перпендикулярни една спрямо друга.

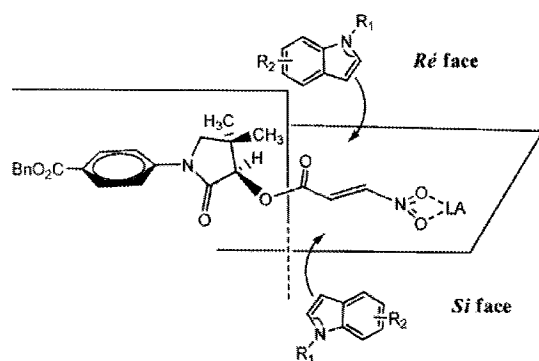


Figure 1.

Геминалните диметилни групи на спомагателното съединение, разположени от двете страни на петчленния цикъл, създават минимални стерични взаимодействия като същевременно блокират страната Ré на нитроакрилата. За да се избегне стеричното отблъскване с хиралното спомагателно съединение, индолите атакуват с предпочитане откъм страната на двойната връзка, която е най-малко запречена (Si страна), като дава съответните (3'R, 2S) съединения.

Предложеният механизъм на присъединяване е логичен и може да обясни ролята на координирането с метални йони на Люисови киселини и ролята на разтворителя като тетраhydroфуран или диетилов етер, способен да промени координирането между $-\text{NO}_2$ групата и металния йон.

Инж. Павлов намира оптималните условия за превръщане на енантиочистите алкилирани продукти 11a-d в N-Fmoc β -триптофанови аналози 13a-d. Получените резултати са описани подробно и с разбиране в дисертационния труд (на френски

език) и в автореферата (на български език) и в една публикация, излязла през 2011 г. в *Journal of Organic Chemistry* (IF₂₀₁₀ 4.02).

В отговор на научния интерес на българския екип инж. Павлов е успял да получи опиоидни пептиди и да участва в предварителни тестове (*in vivo*) за определянето на биологичната им активност. Получените резултати са обект на 3 съобщения на симпозиуми – европейски през 2010 и американски през 2011 г. и на други научни конференции.

В заключение, тази дисертация е качествен изследователски труд, много последователен, грижливо представен, който ще бъде полезен за бъдещите изследователи в тази област, и който свидетелства, че инж. Павлов има много добри познания по темата. Инж. Павлов е провел обширна работа по синтез, чийто интерес е безспорен. Инж. Павлов е овладял много техники на анализ. Литературният преглед е целесъобразно направен. Всички получени резултати са описани правилно и грижливо обсъдени. Опитната част предоставя подробни описания; получените продукти са много добре охарактеризирани. Дисертационният труд съдържа научни резултати, които представляват оригинални приноси. Авторефератът отразява пълно и точно основните резултати от дисертацията.

Като имам предвид гореизложеното, аз убедено препоръчвам на почитаемото Научно жури да присъди на инж. Никола Димитров Павлов образователната и научна степен „доктор“ по научната специалност 4.2 Химически науки (Органична химия) и Docteur de l'Université Montpellier-2, Sciences et Technique du Languedoc.

София, 23.11.2011

Илия Рашков