



ПЛОВДИВСКИ УНИВЕРСИТЕТ „ПАИСИЙ ХИЛЕНДАРСКИ“

 Химически Факултет

Катедра Органична химия

ДИПЛОМНА РАБОТА

за получаване на образователно-квалификационна степен „Бакалавър“

на тема:

“Синтез на нови профен функционализирани β -кетонамиди”

Дипломант: Йоана Петрова Петрова

Специалност: Медицинска химия

Фак. № 2105571004

Научен ръководител: Доц. д-р Станимир Петров Манолов

Изследванията са проведени в Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“ с финансовата подкрепа по проект КП-06-Н59/14, финансиран от Фонд „Научни изследвания“, с ръководител доц. д-р Пламен Ангелов.

Пловдив

2025 година

Използвани съкращения

AcOH – Оцетна киселина

Ar - Арил

Bn - Бензил

Bu - Бутил

Cy – Циклохексил

DBU - 1,8-диазабицикло(5.4.0)ундец-7-ен

DCC - *N,N'*-Дициклохексилкарбодиимид

DCE – Дихлороетан

DMF – Диметилформамид

DCM – Дихлорометан

DMP - Дес-Мартинов периодинан

DMAP – 4-Диметиламинопиридин

HATU - Хексафлуорофосфат Азабензотриазол Тетраметил Уроний

HOAT - 1-Хидрокси-7-азабензотриазол

i-Bu – Изобутил

i-Pr – Изопропил

Me - Метил

PDC - Пиридиниев дихромат

Ph – Фенил

POEPOP - 400 – полиоксиетилен/полиоксипропилен

THF – Тетрахидрофуран

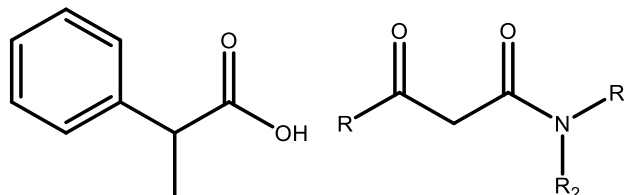
TFA – 2, 2, 2-трифлуорооцетна киселина

Съдържание

I. Въведение	4
II. Литературен обзор	6
III. Собствени изследвания	26
IV. Експериментална част	36
V. Обобщени резултати и изводи	40
VI. Участия в конференции и научни форуми	41
VII. Използвана литература	42

I. Въведение

Добре известно е, че нестероидните противовъзпалителни средства (НСПВС) представляват значим клас лекарства, широко използвани за облекчаване на болка, възпаление и фебрилни състояния (треска). Сред тях водещо място заемат производните на 2-фенилпропановата киселина (Фигура 1), включително ибупрофен, кетопрофен, напроксен, флурбипрофен и карпрофен.



Фигура 1. Структурни формули на 2-фенилпропанова киселина и β -кетоамиди.

β -Кетоамидите от друга страна, представляват особено интересен и значим клас органични съединения, които комбинират структурни елементи на кетони и амиди. Тази структура им придава уникални химични свойства, сред които се откроява способността за участие в тавтомерно равновесие, образуване на вътрешни водородни връзки и възможност за лесна модификация чрез въвеждане на различни функционални групи. Именно тези характеристики са в основата на широкия спектър от биологична активност, демонстриран от β -кетоамидите.

Въпреки доказаната си терапевтична ефективност, производните на 2-фенилпропановата киселина са свързани със значителен риск от нежелани лекарствени реакции, като най-често засегнати са гастроинтестиналният тракт и сърдечно-съдовата система. Това ограничава тяхната безопасност при продължителна употреба и подчертава необходимостта от разработване на нови подходи за структурна модификация, насочени към повишаване на селективността спрямо таргетните ензими и минимизиране на токсичността.

Предвид посочените ограничения, прикачването на кетоамиден структурен фрагмент към профеновите молекули представлява перспективна стратегия за създаване на нови хибридни молекули – профен-функционализирани β -кетоамиди.

Подобни съединения имат потенциала да съчетаят добре характеризирания противовъзпалителен ефект на профеновите производни с допълнителна биологична активност, произтичаща от структурните и електронни особености на β -кетоамидния фрагмент. Този подход открива възможности за проектиране на нов клас фармакологично активни молекули с подобрен терапевтичен профил.

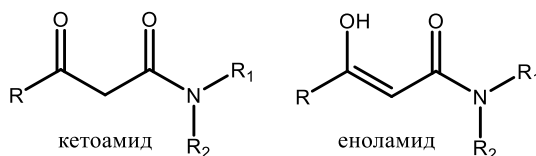
Поради широкия биологичен потенциал на съединенията, съдържащи β -кетоамидна структура, както и на производните на 2-фенилпропановата киселина, основната цел на настоящото изследване е насочена към разработване на нови техни аналози.

В настоящата дипломна работа са представени резултатите от синтеза на нови биофункционални хибридни молекули - профен-функционализирани β -кетоамиди.

II. Литературен обзор

β -Кетоамидите са органични съединения, които съдържат кето група ($C=O$) в β -позиция спрямо амидната група ($-NH-C=O$). Тази уникална структура ги поставя в центъра на множество изследвания в областта на медицинската химия, органичния синтез и дизайна на биологично активни молекули. Благодарение на пространственото разположение между електрофилната кетонна група и донорно-акцепторната природа на амидния фрагмент, β -кетоамидите проявяват характерна химична реактивност, възможности за тавтомерия, метална хелатираща способност, както и стабилна конформация, което улеснява специфичното им взаимодействие с ензимни активни центрове [1, 2].

Структурно, β -кетоамидите могат да съществуват в няколко тавтомерни форми – кетоамид и еноламид, което допълнително влияе върху тяхната биологична активност [3].



Фигура 2. Структурни формули на кетоамид и еноламид.

Тези съединения често образуват вътрешномолекулни водородни връзки и стабилни планарни структури, които ги правят подходящи за включване в пептидомиметични молекули – заместители на природни пептиди с подобрена метаболитна стабилност [4]. Освен това, наличието на β -дикарбонилната система (особено в някои производни) осигурява възможност за хелатиране с двувалентни метални йони, което разширява приложението им като ензимни инхибитори или метал-свързващи агенти [2, 5].

От гледна точка на синтетичната органична химия, β -кетоамидите са удобни интермедиати и могат да бъдат получени лесно чрез разнообразни методи [1, 6]. Структурната им модификация в α - и β -позиция (напр. чрез въвеждане на алкилови,

арилови или хетероароматни групи) оказва съществено влияние върху тяхната активност, фармакокинетични свойства и ензимна селективност [4, 7].

В последните години β -кетоамидите добиват специално внимание като основа за създаване на инхибитори на вирусни протеази, включително главната протеаза (Mpro) на вируса SARS-CoV-2. Благодарение на своето електрофилно ядро и стабилната си конформация, те взаимодействат селективно с каталитичния център на протеазата, което води до потискане на вирусната репликация *in vitro* и *in vivo* [5, 8]. Подобни структурно-базирани подходи са демонстрирани в изследвания, при които пептидомиметични β -кетоамиди показват стабилна свързаност и значителна антивирусна активност [8].

1. Методи за синтез на кетоамиди

1.1. Окислителни процеси на C(2)

Тук са включени синтези, които използват частично окислени амиди.

а) Окисление на 2-хидроксиамиди

α -Кетоамидите могат да бъдат получени чрез окисление на α -хидроксиамиди. Използвани окислителни включват PDC и DMP, които позволяват преобразуването на хидроксиди в карбонили (Схема 1).

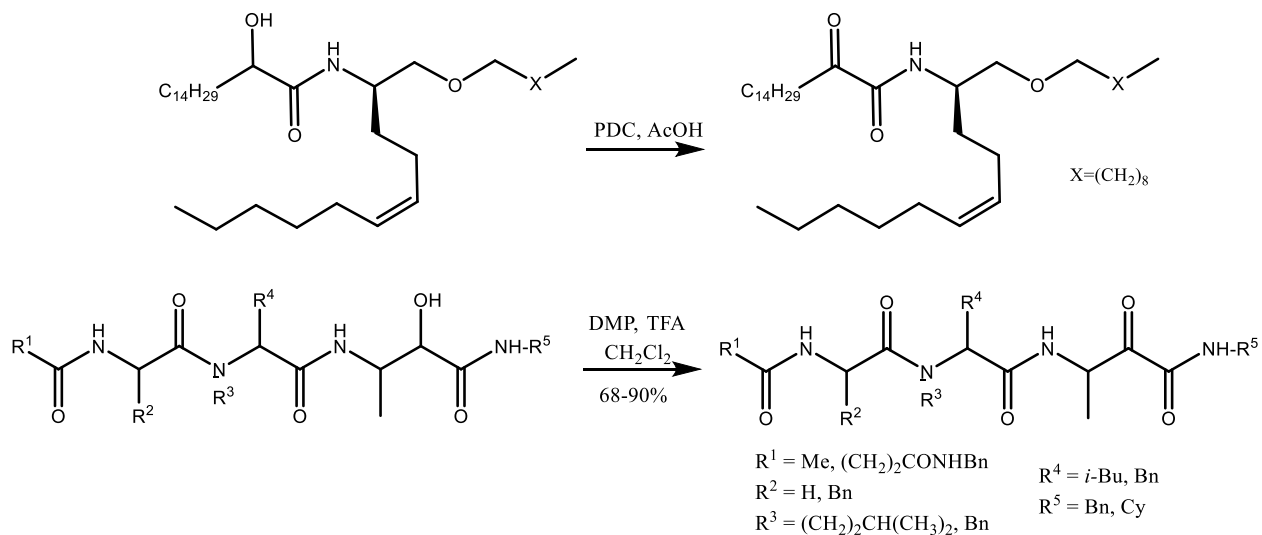


Схема 1. Окисление на 2-хидроксиамиди.

б) Окисление на 2-аминоамиди.

Този метод предлага алтернативен път за синтез на кетоамиди чрез окисление на amino групи (Схема 2).

X = полиоксидилен/полиоксипропилен (POEPOP-400)

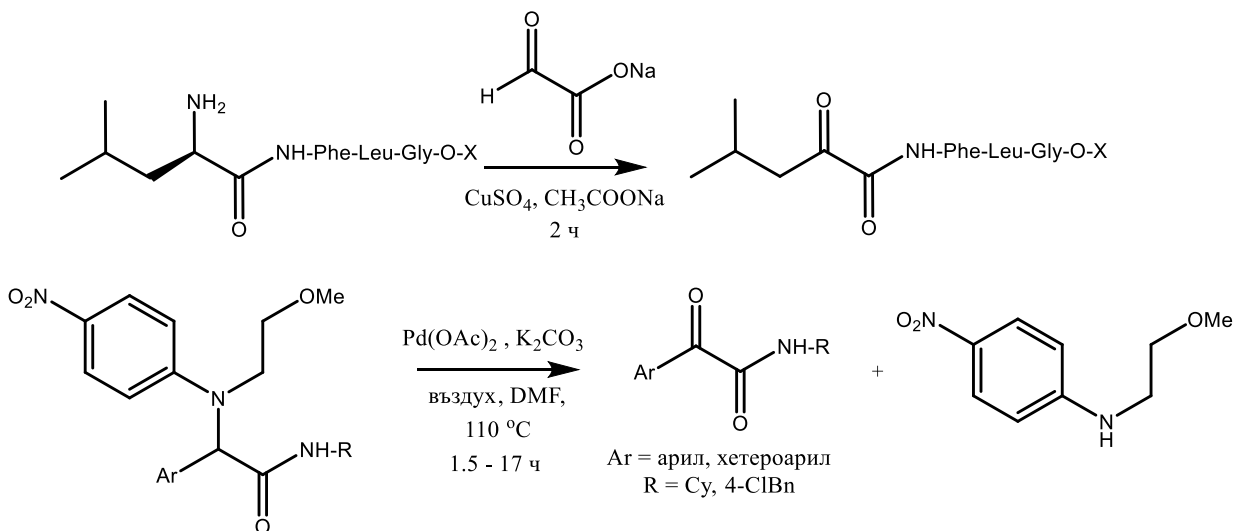


Схема 2. Окисление на 2-аминоамиди.

с) Окисление на 2-хлороамиди и α -заместени акроил амиди.

Алтернативен метод за синтез на хирални α -кетоамиди включва третиране на *N*-ацилоразолидин-тиони в основна среда. Така хетероцикличните съединения, които се получават лесно чрез кондензация на хирални групи от аминокиселини, с производни на α -хлорфенилацетилхлорид, претърпяват елиминиране на HCl под действието на NaHCO_3 , което инициира тандемен процес на отваряне и последващо циклизиране на хетероцикления пръстен (Схема 3).

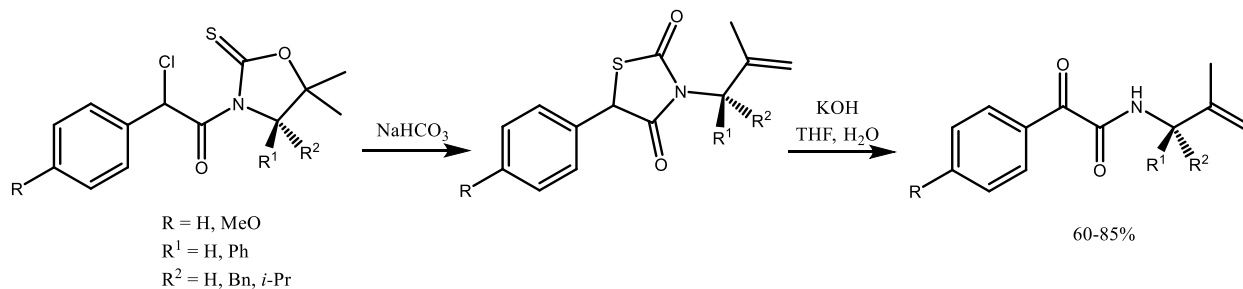


Схема 3. Окисление на 2-хлороамиди.

1.2. Подходи за амидиране

а) Неокислително амидиране.

Образуването на амидна връзка е една от най-значимите реакции в органичната химия, поради широкото разпространение на амидите в съвременните фармацевтични средства и биологично активни съединения [9].

Нов подход за синтез на амиди чрез кондензация при декарбоксилиране на *N*-алкилхидроксиламини и α -кетокاربоксилни киселини предизвиква интерес върху разработването на нови синтетични методи за получаване и модифициране на тези съединения [10].

Терминално ненаситени вторични и третични α -кетоамиди са синтезирани като ценни прекурсори за получаване на широка гама хетероциклени съединения (Схема 4) [11].

Първоначално, както пирогроздената киселина, така и бензоилмравчената киселина са трансформирани в съответните хлориди чрез използване на α,α -дихлорометилметилов етер като хлориращ реагент.

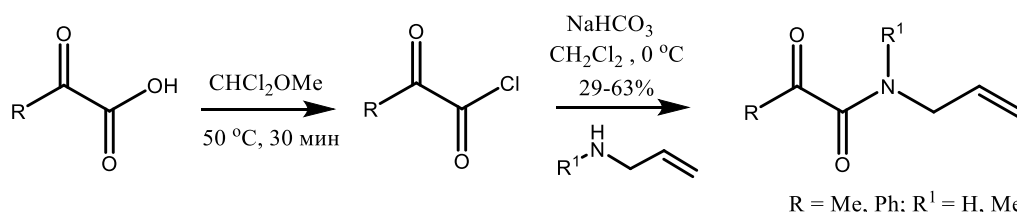


Схема 4. Неокислително амидиране.

б) Окислително амидиране.

Разработен е широк набор от окислителни методики за амидиране, насочени към синтез на кетоамиди, които осигуряват разширени възможности по отношение на избор на свързващи агенти и прилагащи по-меки реакционни условия.

Hulme и сътрудници [12] описват кръстосана реакция на дехидрогениращо свързване на арилглиоксали — атрактивни прекурсори за хетероциклични съединения [13] — с вторични амини чрез третиране със стехиометрично количество

SeO₂ при 100 °C. Реакцията може да бъде ускорена чрез микровълново облъчване, което позволява получаването на серия третични арил α -кетоамиди (Схема 5).

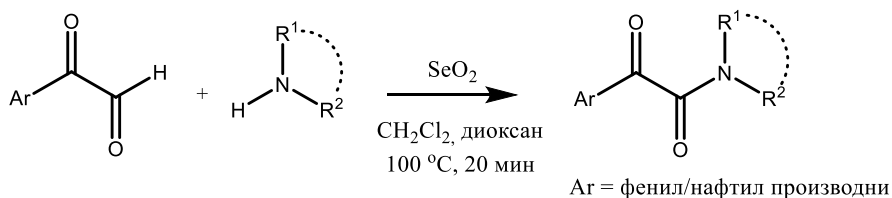


Схема 5. Окислително амидиране.

1.3. Процеси за образуване на C(1)-C(2) връзки

Тук са систематизирани подходи за получаване на α -кетоамиди, насочени към селективното формиране на σ -връзката между C(1) и C(2) атомите.

а) Йонна ретросинтетична фрагментация на C(1)–C(2) връзката

Образуването на σ -връзката между C(1) и C(2) атомите се извършва посредством различни прекурсори като цианометиламин, карбамоилстенан, карбамоилсилан, изоцианиди, ненаситени ацетали, Pd-катализиран свързвания, (цианометилен)фосфоран, триметилтиометан (Схема 6).

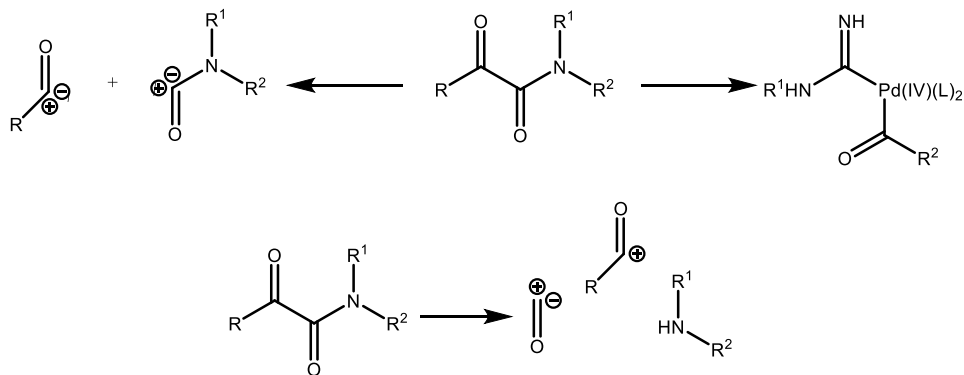


Схема 6. Образуване на C(1)-C(2) връзки.

б) Паладий катализирани реакции

Разработен е паладий (II)-катализиран хемоселективен процес за въвеждане на ацилна група в органични цианамиди, който ефективно се използва за синтез на *N*-монозаместени α -кетоамиди. При оптимизирани реакционни условия, нагриване на еквимоларни количества органични цианамиди и глиоксалови киселини в

присъствието на $\text{Pd}(\text{TFA})_2$ и амониев персулфат в дихлоретан (DCE) при 80°C за 2 часа води до получаване на α -кетоамиди (Схема 7).

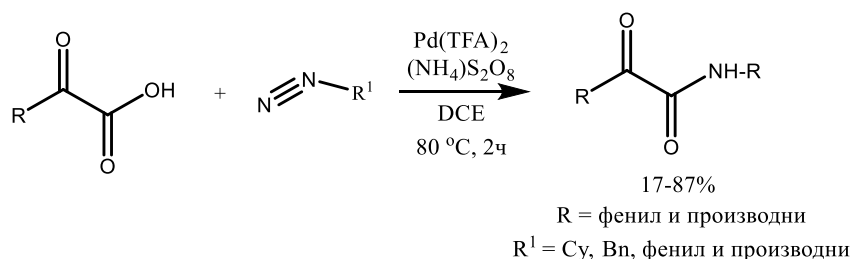


Схема 7. Паладий катализирана реакция за образуване на C(1)-C(2) връзки.

Литературният преглед показва, че са описани множество методи за синтез на кетоамиди, като през последните десетилетия е постигнат значителен напредък в разработването на разнообразни и ефективни протоколи за тяхното получаване [14].

2. Синтез на кетоамиди

Екип от немски и швейцарски учени, начело с Chaoren Shen, разработват универсално двойно карбонилиране на арил бромиди, катализирано от паладий (Схема 8).

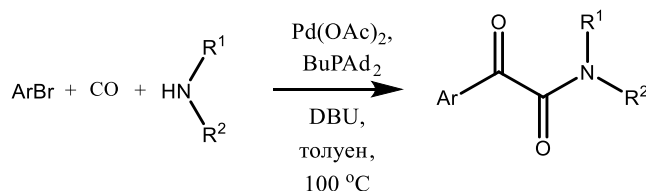


Схема 8. Синтез на α -кетоамиди.

Използвайки $\text{Pd}(\text{OAc})_2/\text{BuPAD}_2$ като каталитична система и DBU като основа, при относително ниско налягане на CO, се получават различни кетоамиди с добри добиви [15].

Yufen и съавтори разкриват ефективен подход, катализиран от видима светлина, за получаване на α -кетоамиди от α -оксокарбоксилни киселини, изоцианиди и вода (Схема 9).

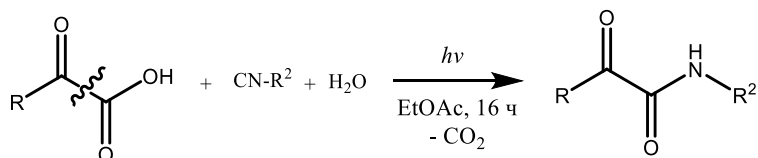


Схема 9. Получаване на α -кетоамиди от α -оксокарбоксилни киселини.

Настоящата трансформация може да бъде постигната при меки условия в отсъствие на метали чрез последователност от реакции на декарбоксилиране, радикалово присъединяване и хидратация, което осигурява нов и лесен подход за конструиране на α -кетоамиди от достъпни изходни реагенти [16].

Група индийски учени представят екологично чист синтез на ароматни α -кетоамиди, които са важен клас молекули с разнообразни биологични свойства и приложения в синтетичната химия. Този подход за синтез, предлага устойчивост и ефективност, намалявайки нуждата от токсични реагенти и високи температури.

Синтезът се извършва в един съд, използвайки алкил арил/хетероарил ацетати и циклични вторични амини в присъствието на кислород като окислител, чрез реакция на диазотиране, окисление и амидация, осъществявана с помощта на синя LED светлина (435-445 nm) в разтворител етил ацетат (Схема 10).

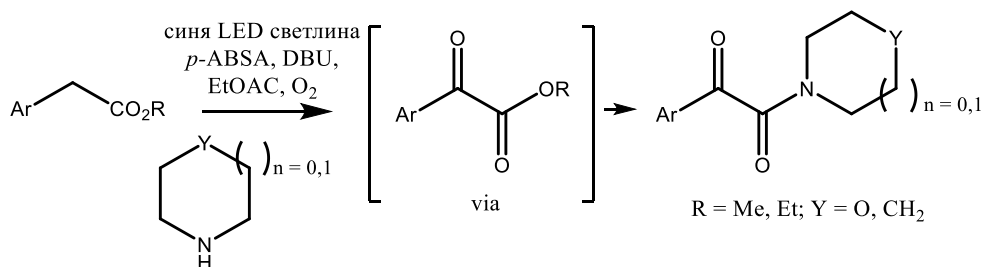


Схема 10. Екологично чист синтез на ароматни α -кетоамиди.

Реакцията започва с диазотиране, последвана от образуването на карбени, които се окисляват и взаимодействат с амина за образуването на желаните α -кетоамиди. Използването на кислород значително намалява образуването на нежелани странични продукти [17].

Кетоамидите, особено Weinreb β -кетоамидите, представляват важни субстрати в енантоселективната органокатализа. Те предлагат уникален баланс

между реактивност и селективност, което ги прави подходящи за различни синтетични трансформации.

Синтез на Weinreb β -кетоамиди

Синтезът на Weinreb β -кетоамиди може да се осъществи чрез три основни метода (Схема 11):

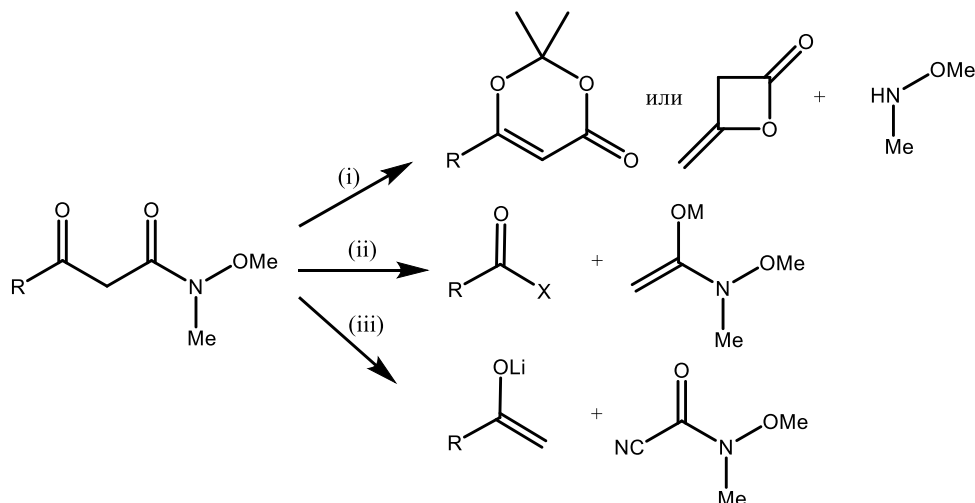


Схема 11. Обща схема за синтез на Weinreb β -кетоамиди.

- I. Термично разлагане на производни на дикетен или 1,3-диоксин-4-он в присъствието на *N,O*-диметилхидроксиламин.
- II. Ацилиране на енолати на *N*-метокси-*N*-метилацетамид.
- III. Присъединяване на литиеви енолати към производни тип Mander – *N*-метокси-*N*-метилцианоформамид.

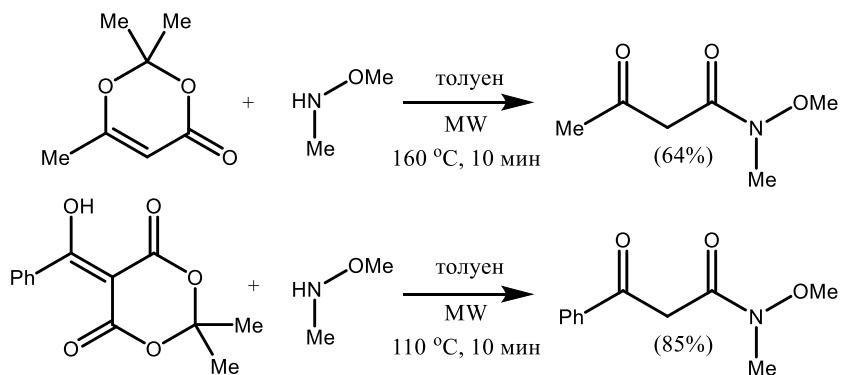


Схема 12. Синтез на β -кетоамиди на Weinreb при микровълново нагряване

Проведените изследвания демонстрират, че микровълновото нагряване значително подобрява добивите при синтеза на целевите съединения, като същевременно позволява ефективното получаване на разнообразие от β -кетоамиди с високи добиви за съществено редуцирани реакционни времена [18].

Реактивоспособност на кетоамидите

Кетоамидите участват в реакцията на Михаелово присъединяване към нитроолефини, които са утвърдени като високоефективни електрофилни субстрати в енантоселективната органокатализа [19]. Според резултатите от проведени изследвания, по-ниската киселинност на β -кетоамидите играе съществена роля за предотвратяване на епимеризацията, което от своя страна е от решаващо значение за постигането на висока стереоселективност.

Селективност при органокатализирани реакции

Органокатализираните реакции с β -кетоамиди се характеризират с висока селективност. В едно от проведените изследвания са тествани различни катализатори с цел повишаване на диастереоселективността при присъединяване към нитростирени. Резултатите показват, че катализаторите, съдържащи ароматни заместители, осигуряват по-добра селективност в сравнение с тези с алкилови заместители.

Weinreb β -кетоамидите се утвърждават като ценен инструмент в органокаталитичните трансформации, благодарение на уникалния баланс между реактивоспособност и селективност, който предлагат. Синтетичните подходи за тяхното получаване, съчетани със способността им да предотвратяват епимеризация, ги правят особено приложими в съвременната органична химия [20].

John и сътрудници представят ефективна 2-компонентна реакция, последвана в същия реакционен съд от 3-компонентна реакция, за синтеза на изоксазолино- β -кетоамиди (Схема 13).

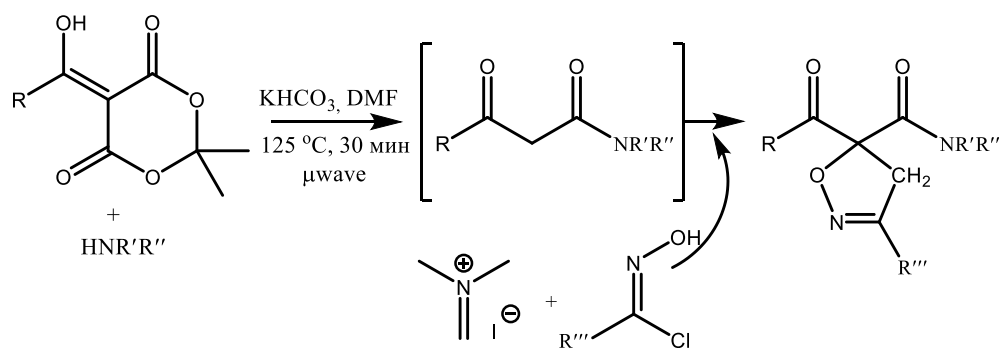


Схема 13. Синтез на изоксазолино- β -кетоамиди.

Този процес води до получаването на изоксазолино- β -кетоамид [21].

Antonio Buzharevski и колеги докладват синтеза и оценката на четири нови карборан-съдържащи производни на кетопрофен, две от които са пролекарствени естери с остатък, освобождаващ азотен оксид (Схема 14).

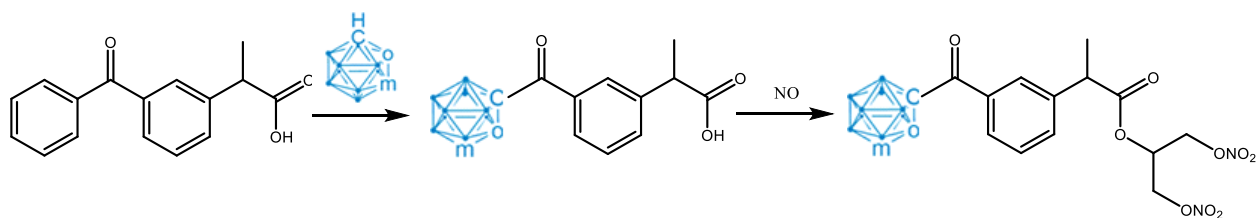


Схема 14. Синтез на карборан-съдържащи производни на кетопрофен.

Един от тези пролекарствени естери показва висока цитостатична активност срещу клетъчни линии на меланом и рак на дебелото черво. Най-изразената активност е открита в клетъчни линии, които са чувствителни към оксидативен стрес, който очевидно е индуциран от аналога на кетопрофена [22].

Christian Steuer и колеги представят систематичен и многостранен подход към откриването и първоначалната оптимизация на малки молекулни инхибитори, насочени срещу вирусната протеаза NS2B–NS3 на Dengue вируса (DenV) – ключов ензим за вирусната репликация и жизнения цикъл на вируса (Схема 15).

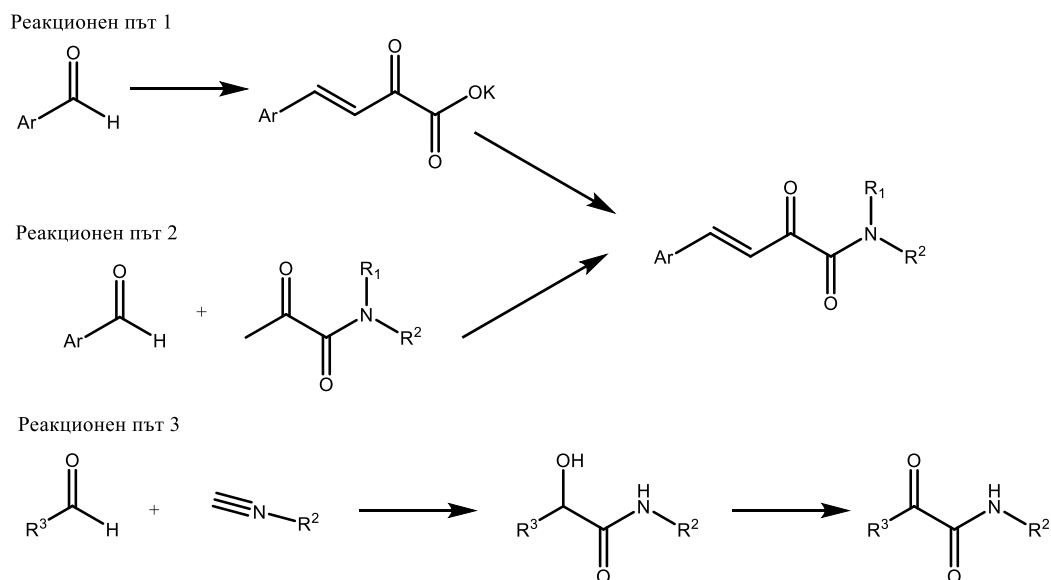


Схема 15. Синтез на β,γ -ненаситени α -кетоамиди.

Авторите разработват няколко синтетични подхода за получаване на β,γ -ненаситени α -кетоамиди с различни заместители както върху ароматния пръстен, така и върху амидния азот. За получаване на целевите съединения, те използват различни реагенти и условия, съответно i) пирогроздена киселина и KOH; ii) NATU, HOAT, DMF, 100°C, участващи в първия реакционен път. Вторият синтетичен подход включва реагентите iii) $\text{CH}(\text{OCH}_3)_3$, CH_2Cl_2 , 100°C; iv) DBU, CH_2Cl_2 . При третата разработена методика авторите включват v) SiCl_4 , CH_2Cl_2 , -78,4°C, NaHCO_3 ; vi) DMP, CH_2Cl_2 . Това структурно разнообразие им позволява да изследват подробно връзката между структура и активност (SAR).

Чрез комбиниране на съвременни синтетични подходи, биохимичен и клетъчен скрининг, те идентифицират нов клас кетоамидни съединения с доказана биологична активност и потенциал за лекарствено развитие.

Получените съединения са подложени на скрининг за инхибиторна активност срещу NS2B–NS3 протеазата на DenV. Използвани са различни биохимични методи, включително HPLC и флуориметрични анализи, за да се потвърди специфичността и механизмът на инхибиране. Кетоамидите действат като обратими ковалентни инхибитори, свързващи се с каталитичния серинов остатък на протеазата, което потиска вирусната репликация. Получените съединения показват възможност за

селективно инхибиране на флавиовирусни протеази, без значителен ефект върху човешки ензими, което е важно за избягване на странични ефекти [23].

Zhang и колеги изследват активността на α -кетоамидни инхибитори, насочени срещу главните протеази на коронавируса (Mpro) и 3C протеазите на ентеновируси (3Cpro), с цел разработване на широкоспектърни противовирусни агенти. Чрез структурно базиран дизайн, основан на кристалографски данни за активните центрове на SARS-CoV Mpro, HCoV-NL63 Mpro и CVB3 3Cpro, са идентифицирани структурни особености, които позволяват рационална оптимизация на инхибиторите.

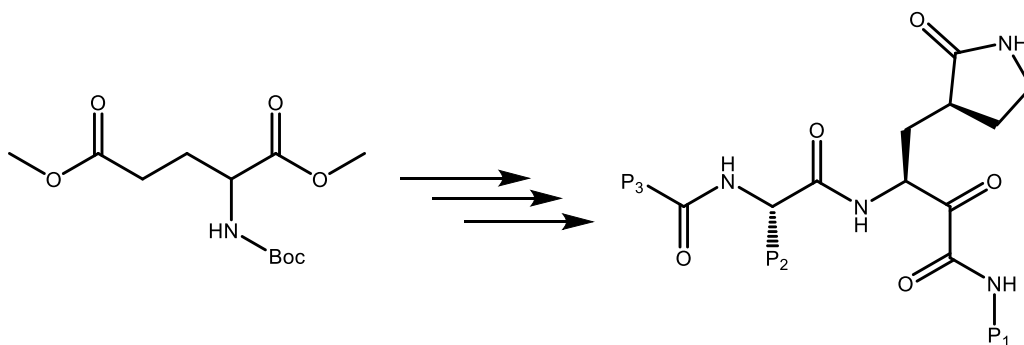


Схема 16. Синтез на α -кетоамиди.

В хода на изследванията авторите въвеждат γ -лактамово производно на глутамин в P1 позиция на инхибиторите, което води до намаляване на ентропийната загуба при свързване с протеазите и подобрява ефективността. Освен това се оптимизират заместителите в P2 позиция, като се използват циклобутилметилови и циклохексилметилови групи, което допълнително повишава афинитета и широкоспектърната активност на съединенията (Схема 16).

Резултатите от проведените *in vitro* изследвания показват, че оптимизираните α -кетоамиди проявяват изключително висока инхибиторна активност. α -Кетоамидите ефективно блокират репликацията на вирусната РНК, като по този начин инхибират размножаването на вирусите. Тези резултати ясно демонстрират, че оптимизираните α -кетоамиди притежават широк спектър на противовирусна

активност срещу различни коронавируси и ентеровируси, като същевременно се отличават с висока селективност и ниска токсичност в клетъчни модели [24].

Група учени синтезират серия от десет нови хирални β -кетоамиди чрез реакция на β -кетоестери с различни хирални амини и изследват тяхната антимикробна активност и МІС (минимална инхибиторна концентрация) срещу АТСС микроорганизми (грам-положителни и грам-отрицателни бактерии и гъбички) (Схема 17).

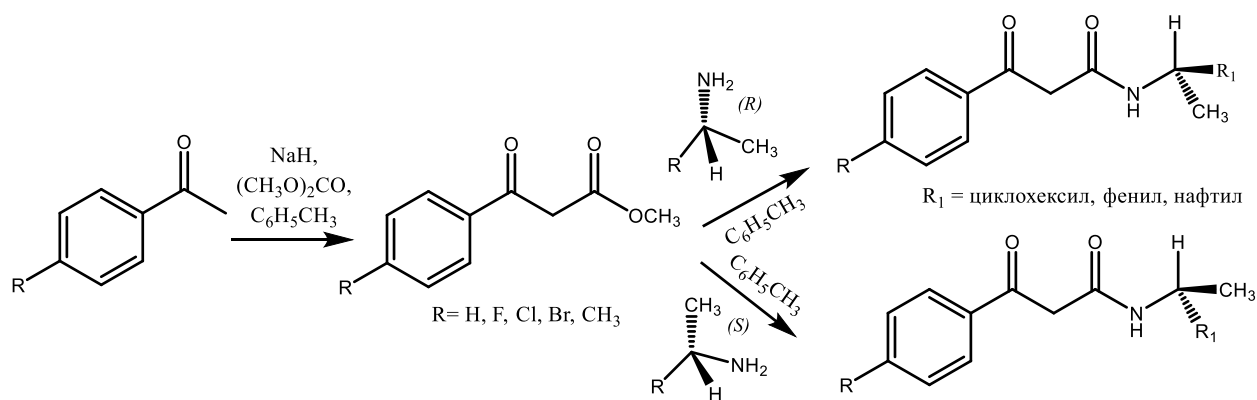


Схема 17. Синтез на хирални β -кетоамиди.

Резултатите от изследванията показват, че хиралните β -кетоамиди, особено тези с флуоро- и хлорофенилови групи, проявяват обещаваща антимикробна активност и представляват интерес за разработване на нови антимикробни агенти [25].

3. Нестероидни противовъзпалителни лекарствени средства.

Нестероидните противовъзпалителни средства (НСПВС) представляват широка група от лекарства, които имат мощни противовъзпалителни, аналгетични и антипиретични свойства. Те са сред най-често предписваните медикаменти в света, използвани за лечение на болка, възпаление и треска при различни заболявания, включително остеоартрит и ревматоиден артрит. Основният механизъм на действие на НСПВС е инхибирането на циклооксигеназите (COX), ензими, отговорни за синтеза на простагландини и тромбоцитен агрегат (ТХА).

Нестероидните противовъзпалителни средства могат да бъдат класифицирани по различни критерии, включително химична структура и селективност към COX [26].

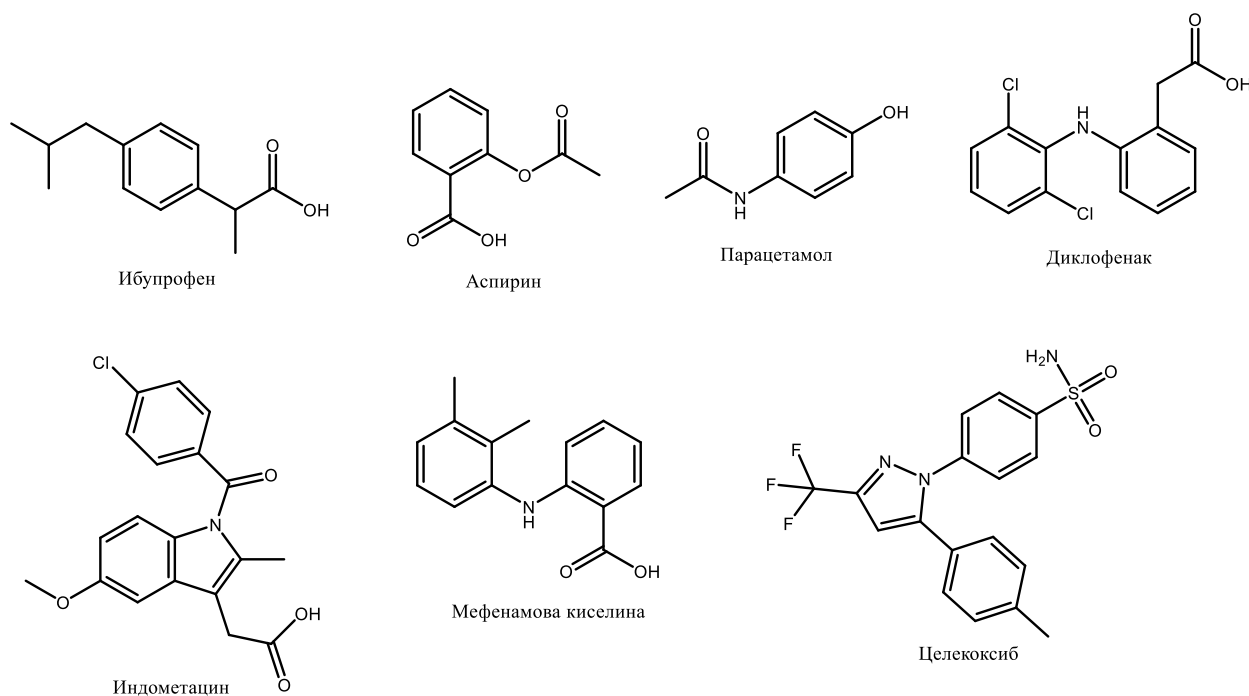


Схема 18. Класификация на нестероидните противовъзпалителни лекарствени средства.

Основните класове включват: салицилова киселина: ацетилсалицилова киселина (аспирин), производни на пара-аминофенол: ацетаминофен (парацетамол), инданови и инденови производни: индометацин, хетероарилови производни: диклофенак, арил-пропионови киселини: ибупрофен, антранилова киселина

(фенамати): мефенамова киселина, енолова киселина (оксиками): пироксикам, диацилхидразини: селективни инхибитори на COX-2 (целекоксиб) (Схема 18).

Нестероидните противовъзпалителни средства са свързани с редица нежелани реакции, включително: гастроинтестинални усложнения (язви, кървене), кардиоваскуларни (сърдечно-съдови) проблеми, ренална токсичност, задържане на течности и повишаване на кръвното налягане [27].

Изследванията показват, че селективните инхибитори на COX-2 могат да намалят риска от гастроинтестинални странични ефекти в сравнение с неселективните НСПВС, но все пак не елиминират напълно тези рискове.

Има доказателства, че НСПВС могат да играят роля в невровъзпалителните процеси и канцерогенезата. Проучванията показват, че инхибирането на простагландини може да влияе върху невровъзпалението, което е свързано с различни невродегенеративни заболявания. Освен това, редица изследвания предполагат потенциална противоракова активност на НСПВС, особено в контекста на колоректален рак (рак на дебелото черво)[28].

През последните години се наблюдава значителен напредък в разработването на нови противовъзпалителни агенти, характеризиращи се с оптимизирани фармакологични профили и подобрена безопасност. Изследванията се фокусират върху разработването на молекули с по-висока селективност към COX-2 и минимизиране на страничните ефекти. Новите молекули показват обещаващи резултати в клиничните изпитвания и предлагат нови възможности за лечение с по-добра поносимост [29].

Кутяков и съавтори изследват основните механизми на действие и невропротективният потенциал на НСПВС. Механизмът на действие на НСПВС се състои в инхибиране на синтеза на простагландини, които са медиатори на възпалителния процес. Съществуват две основни изоформи на циклооксигеназата [30] - COX-1 и COX-2, като последната е свързана със стимулирани (възпалителни) условия. Способността на НСПВС да инхибират тези изоформи определя тяхната противовъзпалителна, аналгетична и антипиретична активност.

Токсичността на НСПВС е свързана с различни механизми.

При токсичност свързана със стомашно-чревния тракт около 30–40% от пациентите, приемащи НСПВС, изпитват диспептични нарушения, 10–20% развиват ерозии и язви на стомаха, а 2–5% – кръвоизливи и перфорации. Основният механизъм на това действие е инхибиране на синтеза на простагландини, които играят защитна роля в стомаха [31].

Също така, нестероидните противовъзпалителни средства могат да причинят увреждане на бъбречната функция при 1–4% от пациентите, като механизмите включват намалено кръвоснабдяване на бъбреците чрез инхибиране на простагландини и директно въздействие върху бъбречния паренхим.

Продължителният прием на НСПВС във високи дози може да повиши риска от артериална хипертония и сърдечно-съдови заболявания, особено при употребата на селективни инхибитори на COX-2.

Някои фармацевтични продукти като диклофенак и сулиндак, могат да причинят чернодробни увреждания чрез различни механизми, включително взаимодействие с цитокини и активиране на митоген-активирани протеинкинази.

Други нежелани реакции са: невротоксичност, проявяваща се със замаяност, главоболие и в редки случаи припадъци; алергични реакции, включително кожни обриви; влияние върху репродуктивността, като НСПВС могат да потиснат овулацията при жените и да намалят продукцията на тестостерон при мъжете [32].

Невропротективен потенциал на НСПВС

Някои НСПВС проявяват невропротективни свойства. Те намаляват производството на провъзпалителни цитокини и регулират апоптозата и оксидативния стрес.

Нимезулид и други селективни инхибитори на COX-2 могат да инхибират факторите, свързани с разрушаването на хрущялната тъкан, като туморен некрозен фактор (TNF- α) [33].

Групи от учени разглеждат ефикасността на нестероидните противовъзпалителни средства при лечението на ревматични заболявания,

включително остеоартрит, ревматоиден артрит и анкилозиращ спондилит. Те установяват, че НСПВС показват умерена ефикасност при облекчаване на болката и сковаността при остеоартрит.

Нестероидните противовъзпалителни средства са основно средство за лечение на анкилозиращ спондилит, като те значително подобряват болката и физическата функция [34].

Професор Gunaydin и сътрудници изследват механизмите на действие на нестероидните противовъзпалителни средства на молекулярно ниво, както и техните ефекти върху различни системи в организма. Авторите акцентират върху ролята на НСПВС в модулирането на възпалителни процеси, както и върху потенциалните им терапевтични и странични ефекти.

Ефекти върху централната нервна система

Нестероидните противовъзпалителни средства проявяват невропротективен потенциал чрез инхибиране на COX-2, което може да намали β -амилоидната последователност от реакции, свързана с болестта на Алцхаймер [35]. Те също така намаляват микроглиалната активация и продукцията на провъзпалителни цитокини като TNF- α и IL-6. Освен това, НСПВС могат да инхибират активността на γ -секретазата, което редуцира образуването на амилоидни плаки (бели фиброзни съсиреци) и подпомага когнитивната функция [36].

Ефекти върху гастроинтестиналната система

Инхибирането на COX-1 от НСПВС води до намалена секреция на муцин (слуз, секрет) и бикарбонати, което може да предизвика гастроинтестинални увреждания като язви. Въпреки това, някои НСПВС стимулират експресията на стресови протеини като HSP-72 [37], които предпазват лигавицата от апоптоза и могат да играят роля в адаптивната гастропротекция [38].

Ефекти върху бъбречната функция

Нестероидните противовъзпалителни средства влияят върху бъбречната хемодинамика чрез инхибиране на синтеза на простагландини PGE2 и PGI2, които регулират гломерулната филтрация (обемът на течности филтрирани от бъбречните

гломерулни капиляри в Баумановата капсула за единица време), натриевата реабсорбция и водния баланс [39]. Освен това, те могат да намалят експресията на МСР-1 (моноцитен хемоатрактантен протеин-1), който е свързан с възпалителните процеси в бъбреците [40].

Mirzaagha Babazadeh синтезира 2-(1-пропен)оксиетил фталимид от реакция на 1-(2-хлороетокси)пропен с калиев-*t*-бутоксид и продуктът полимеризира чрез метод на катионна полимеризация, използвайки $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ като инициатор при -78°C за получаване на полимер. След това той се хидразинолизира с хидразин и дава полимер, съдържащ amino групи (Схема 19).

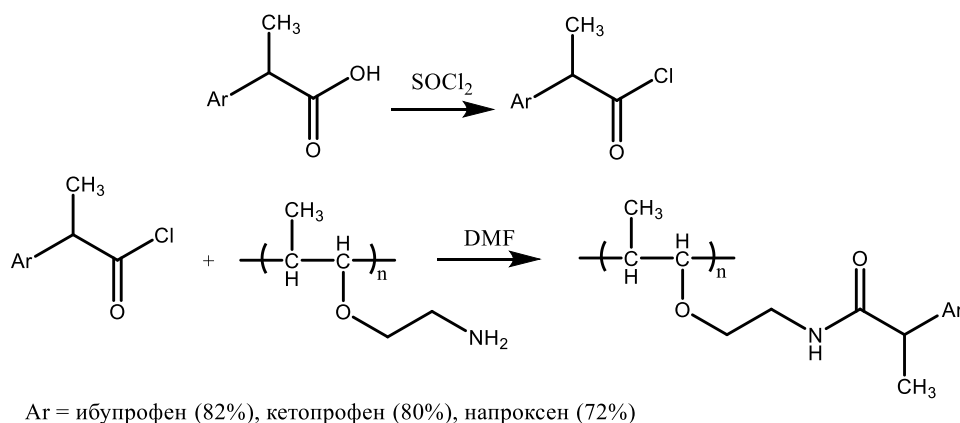


Схема 19. Получаване на профенови производни.

Три НСПВС, а именно ибупрофен, кетопрофен и напроксен са ковалентно свързани с полимер съдържащ амидни функции чрез взаимодействие на хлороацилирани лекарства с amino групи на полимер за получаване на три полимерни пролекарства [41].

Ramaa S. синтезира серия от девет естерни пролекарства на флурбипрофен. Селекцията на изходните алкохоли е направена по такъв начин, че да могат да бъдат получени пролекарства с различна липофилност. А именно, те се спират на метанол, етанол, *n*-пропанол, *i*-пропанол, *i*-бутанол, *t*-бутанол, бензилов алкохол, циклопентанол и циклохексанол. Те използват две различни синтетични методики, за да се естерифицира флурбипрофен:

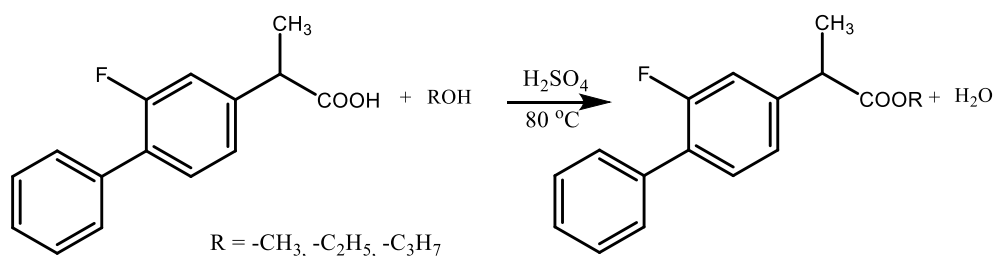


Схема 20. Директна естерификация на флурбипрофен.

Чрез директна естерификация са синтезирани три естера (метил, етил и *n*-пропил) на флурбипрофен (Схема 20).

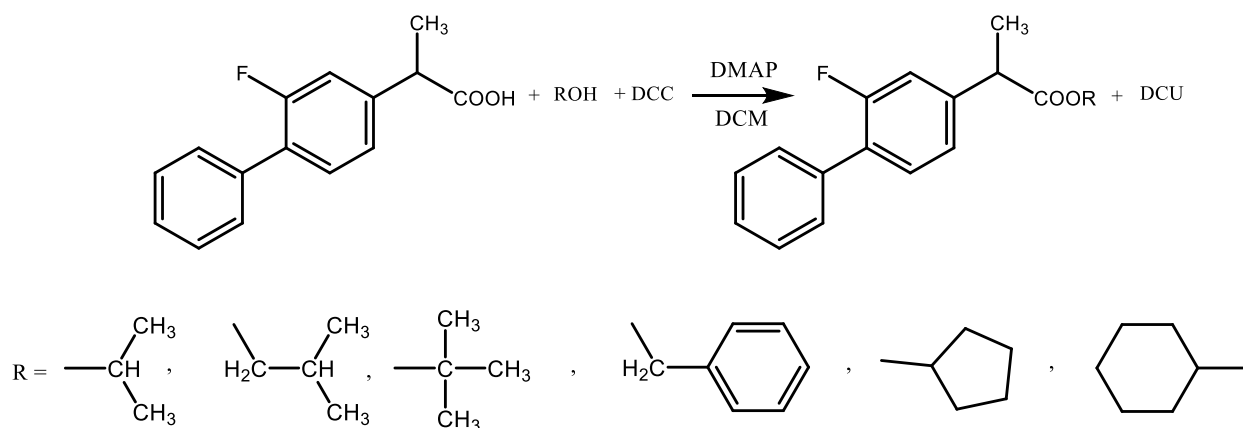


Схема 21. Свързване чрез карбодиимид.

Използвайки *N,N*'-дициклохексилкарбодиимид за активиране на карбоксилната група в молекулата на флурбипрофен са получени шест естера (*i*-пропил, *i*-бутил, *t*-бутил, бензил, циклопентил и циклохексил) (Схема 21) [42].

Parcha и сътрудници докладват синтез на серия амиди на напроксен и ибупрофен чрез кондензация на техните киселинни хлориди с различни метилови естери на аминокиселини (Схема 22).

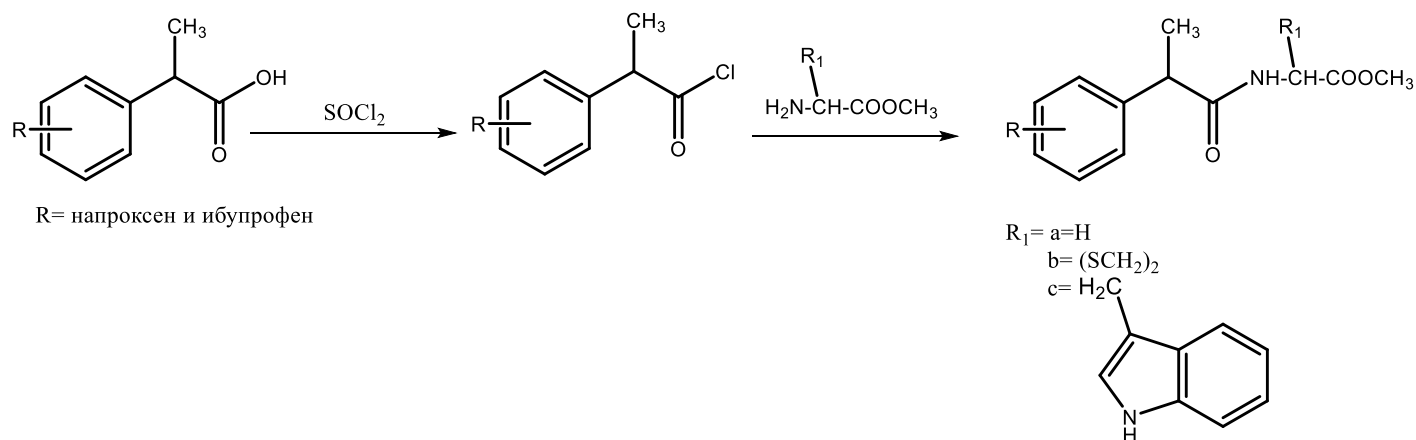


Схема 22. Синтез на профенови хибридни молекули.

Докладваните нови молекули показват значителна противовъзпалителна активност и ниска токсичност в сравнение с изходните профени [43].

От направената литературна справка може да се обобщи, че синтезът на нови хибридни молекули, съчетаващи β -кетоамиди с профени, е напълно обоснован и перспективен подход. Разработени и докладвани са поредица методи за получаване на β -кетоамиди, които позволяват въвеждане на различни структурни фрагменти за получаване на молекули с потенциална биологична активност.

Профените от друга страна, са добре проучени нестероидни противовъзпалителни средства с доказан механизъм на действие, а комбинирането им с β -кетоамидни структури би довело до съединения с нови или подобрени фармакологични свойства, включително противовъзпалителна, антимикробна и антивирусна активност. Синтезът на подобни хибридни молекули представлява перспективна изследователска насока за разработването на нови терапевтични агенти с усъвършенстван фармакологичен профил, включващ повишена ефикасност и подобрена безопасност.

III. Собствени изследвания

Литературната справка показва, че 1,3-дикарбонилните съединения представляват универсален клас органични молекули, широко използвани като синтетични интермедиати в органичната и медицинската химия. Техните структурни характеристики и химична реактивоспособност ги правят особено подходящи за изграждане на нови биологично активни съединения с подобрени фармакологични свойства. Сред тях особено значение имат β -кетоамидите, които проявяват разнообразна биологична активност и се разглеждат като потенциални фармакофори в дизайна на нови лекарствени молекули. Профените – представители на нестероидните противовъзпалителни средства (НСПВС) – са добре утвърдена група съединения с доказана аналгетична, антипиретична и противовъзпалителна активност. Те са производни на 2-фенилпропановата киселина и съществуват като двойки енантиомери (*R* и *S*), като основната фармакологична активност се свързва със *S*-формата.

Доказаната биологична активност на β -кетоамидите и профените обуславя засилен научен интерес към създаването на хибридни молекули, обединяващи техните фармакофорни елементи, като в тази насока се прилагат разнообразни синтетични стратегии и методи за конструиране както на производни на β -кетоамиди, така и на структурно модифицирани профени.

Това поставя основата на настоящата дипломна работа, насочена към синтез и структурна характеристика на нови производни, с цел изследване на тяхната потенциална биологична активност и оценка на възможни зависимости структура–активност.

Цел на дипломната работа

Въз основа на изложеното по-горе е формулирана и основната цел на настоящото изследване, а именно - синтез на нови профен-функционализирани β -кетоамиди.

В съответствие с поставената цел, са дефинирани няколко основни синтетични задачи, илюстрирани в представената по-долу ретросинтетична схема, както следва:

1. Синтез на подходящ изходен енаминоамид като ключов интермедиат.
2. Ацилиране на синтезияния енаминоамид с активирани производни на профени с цел въвеждане на профеновия фармакофор в молекулната структура.
3. Домино-фрагментиране на аминокиселини енаминоамиди до профен функционализирани β -кетоамиди.

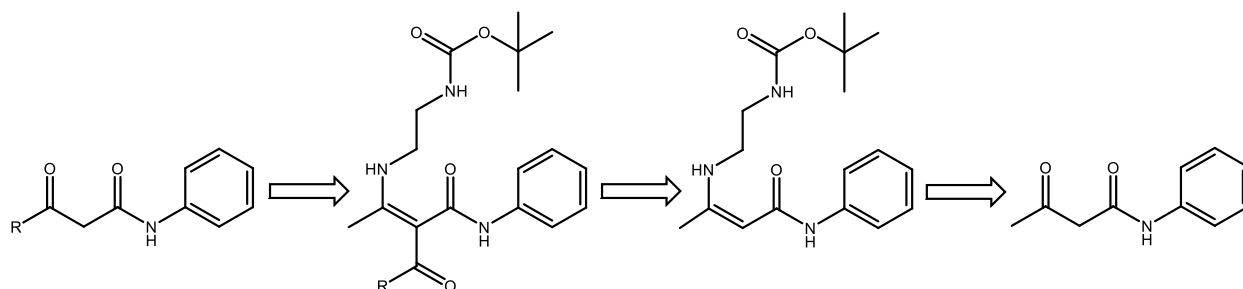


Схема 1. Ретросинтетична схема за получаване на хибриди между β -кетоамиди и профени.

За синтеза на ключовия енаминоамид бе необходим първоначален синтез на монозащитен етилендиамин. Вос-монозащитеният етилендиамин **5** беше успешно получен чрез реакция между третичен бутил дикарбонат **2** и излишък от етилендиамин **1**, следвайки утвърдена методика, използвана в катедрата по Органична химия. Реакцията протича по механизма даден на схема 2.

Амино групата атакува карбонилната група на ди-трет-бутил дикарбонат (Вос₂О) **2**, в резултат на което трет-бутил карбонатът **4** напуска.

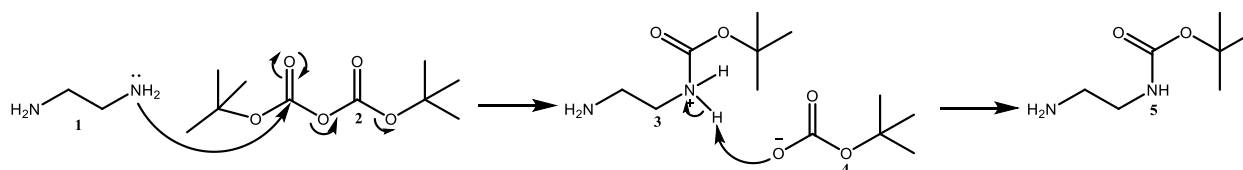


Схема 2. Монозащита на етилендиамин **1** с третичен бутил дикарбонат **2**.

Трет-бутил карбонатът **4** депротонира amino групата в **3** и се получава продукта на реакцията **5**. Полученият страничен трет-бутил бикарбонат се разпада до въглероден диоксид и трет-бутанол, който е водоразтворим (Схема 3).

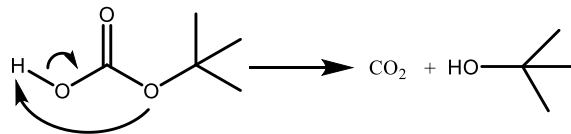


Схема 3. Разпадане на страничния продукт.

Въз основа на представената по-горе ретросинтетична схема, синтезът бе инициран със стъпка 1 – получаване на изходен енаминоамид като ключов междинен продукт. В присъствие на Na_2SO_4 като обезводняващо средство, Восмонозащитен етилендиамин **5** лесно взаимодействаха с ацетоацетанилид **6**, взети в еквимоларно отношение. По този начин бе получен енаминоамид **8** с отличен добив от 95% (Схема 4).

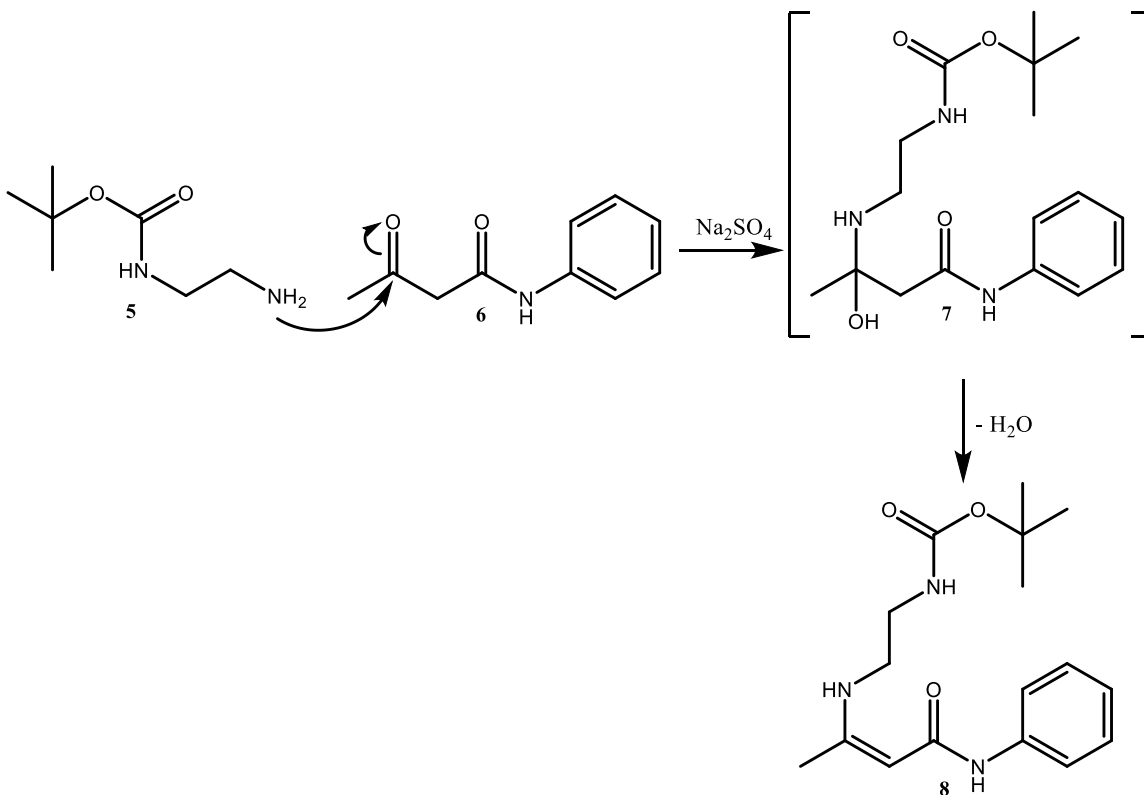


Схема 4. Синтез на енаминоамид **8**.

Ключова задача в настоящите изследвания беше оптимизирането на реакционните условия, които осигуряват висок добив и чистота на целевите α -C-ацилирани производни на β -енаминоамидите. За тази цел бяха проведена серия от експерименти, в които бяха систематично променяни параметрите на реакцията, като температура и продължителност, както и видът на използваните активиращи агенти за карбоксилната група на профеновите производни.

Първоначално беше изпробван реагент за активиране на карбоксилната група в структурата на профените, а именно *N,N'*-дициклохексилкарбодиимид (DCC). Карбодиимидите представляват важен клас съединения с особено значение за синтез на амиди. Въпреки че е изследвано широко разнообразие от карбодиимидни реагенти с цел свързване на карбоксилни киселини с амини, в практиката се прилагат само ограничен брой представители. Сред най-широко използваните карбодиимиди е *N,N'*-дициклохексилкарбодиимид, който намира широко приложение не само при образуването на амидни и естерни връзки, но и в реакции на въглеродно ацилиране. В този контекст DCC улеснява образуването на междинни реакционноспособни комплекси между карбоксилни киселини и електрофилни реагенти, като по този начин позволява въвеждането на ацилиращи фрагменти към нуклеофилни въглеродни центрове. Такива трансформации разширяват синтетичния потенциал на DCC отвъд традиционните кондензационни реакции и го утвърждават като универсален инструмент в съвременната органична химия.

В тази насока първоначално бяха осъществени експериментални опити за C-ацилиране на енаминоамид **8** с профенови производни **10**, при което активирането на карбоксилната група се извършва посредством *N,N'*-дициклохексилкарбодиимид (DCC) **9** (Схема 5).

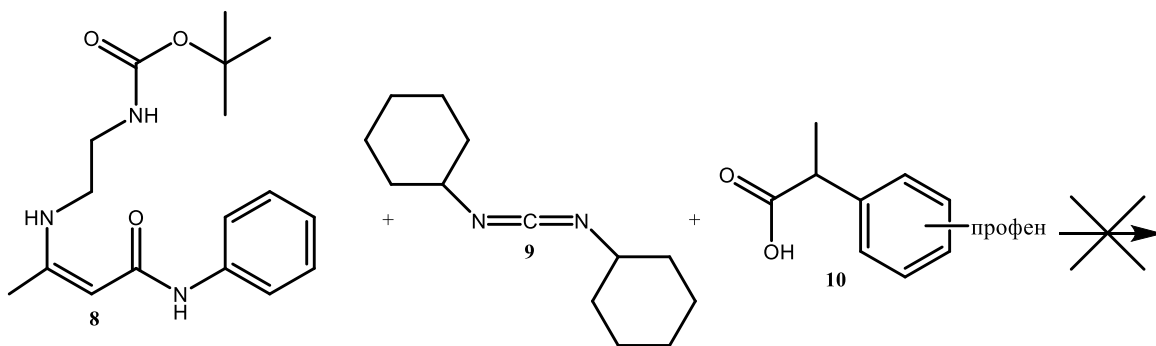


Схема 5. Активиране на профени с DCC.

При провеждане на реакцията при стайна температура в дихлорометан, не се наблюдава индикация за протичане на реакция в продължение на едно денонощие (24 часа).

Неуспешният опит с активиране на карбоксилната група в профеновите молекули ни насочи, към нейното трансформиране в киселинен хлорид и последващо C-ацилиране. Тионилхлоридът реагира с карбоксилна киселина, като се образува O–S връзка; последващо нуклеофилно ацилно заместване с участието на хлориден анион води до разкъсване на тази връзка и формиране на серен диоксид (SO₂) като страничен продукт (Схема 6).

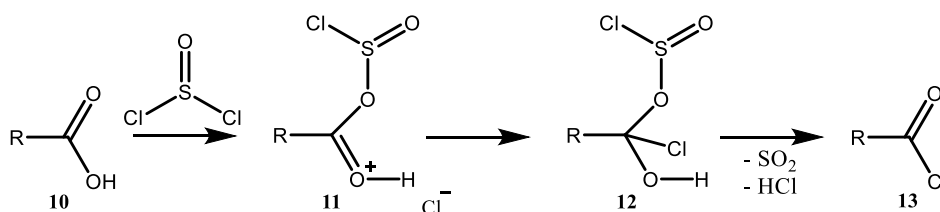


Схема 6. Функционализиране на профени **10** до киселинни хлориди **13**.

Реакцията се провежда в толуен при кипене в продължение на 2 часа за всички профени, а именно ибупрофен, флурбипрофен, кетопрофен, напроксен и карпрофен (Схема 7). Получените така киселинни хлориди **13** се използват директно в следващата реакция на ацилиране (Схема 7).

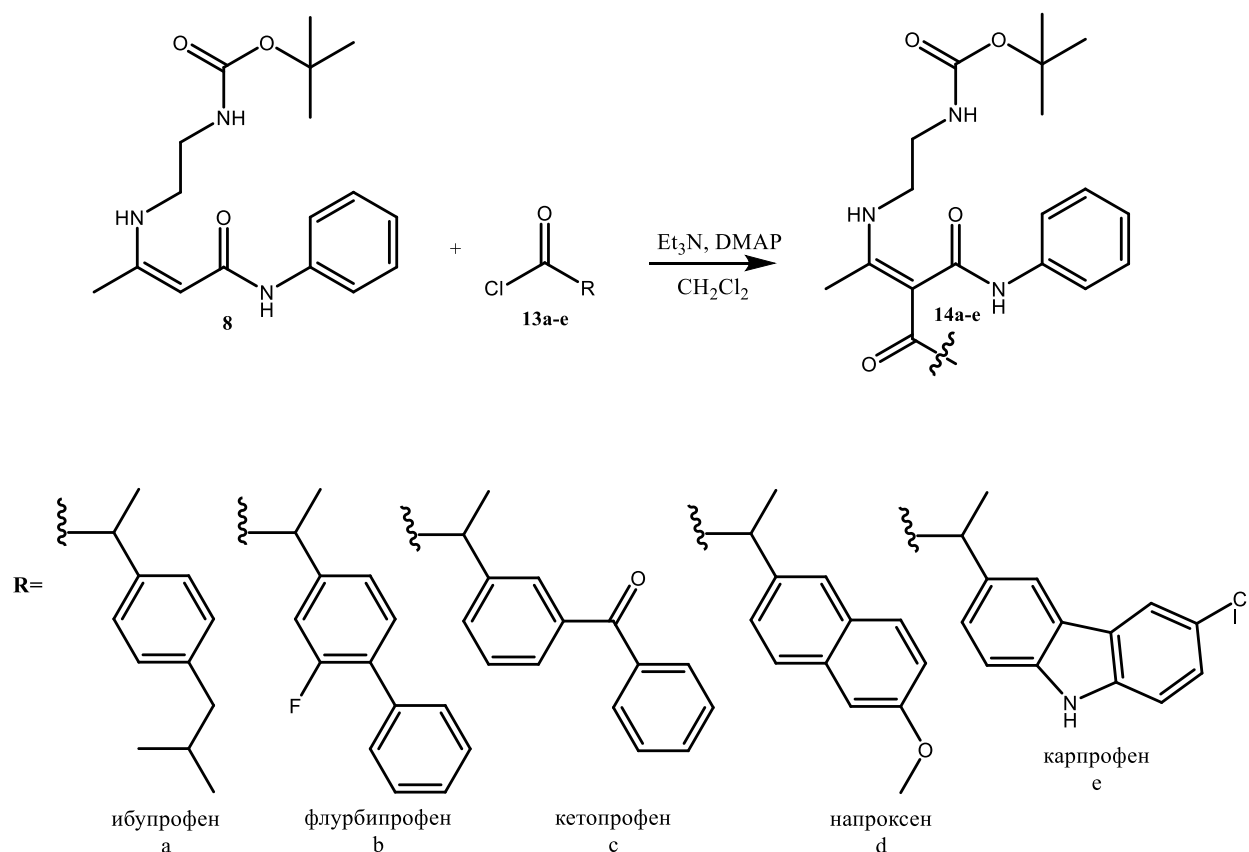


Схема 7. Ацилиране на енаминоамид **8** с киселинни хлориди на профени.

След изолиране на киселинните хлориди чрез отдестилиране на толуена, те се разтварят в дихлорметан, след което към реакционната смес се добавят последователно енаминоамид **8**, триетиламин и катализаторът 4-диметиламино-пиридин (DMAP) в каталитично количество (на върха на шпатула). Реакционната смес се разбърква при стайна температура за 1 час. При проведените експерименти беше установено, че при зададените реакционни условия процесът се инициира, но не протича до пълно преобразуване на изходния енаминоамид **8**, независимо от удължаването на реакционното време. След 24 часа спектралният анализ показва наличие на над 85% от изходния енаминоамид **8**, което свидетелства за ниска степен на протичане на реакцията. Това наблюдение наложи модифициране на методиката чрез използване на двоен моларен излишък от киселинния хлорид. Реагентът беше прибавен към предварително охладена (0°C) реакционна суспензия, съдържаща

енаминоамид **8**, триетиламин и каталитично количество 4-диметиламино-пиридин (DMAP).

Може да се обобщи, че провеждането на ацилирането както при стайна температура, така и при охлаждане с двоен излишък от киселинен хлорид не доведе до съществени различия в хода на реакцията, което се потвърждава от идентичните хроматографски профили. И при двата температурни режима реакцията протича по аналогичен начин, като се наблюдава наличие на значително количество непрореагирал изходен енаминоамид **8**, което свидетелства за непълна конверсия и неефективно протичане на ацилирането при проведените условия.

Следваща стъпка бе активиране на карбоксилната група в молекулите на профените с помощта на пивалоилхлорид **15** (Схема 8).

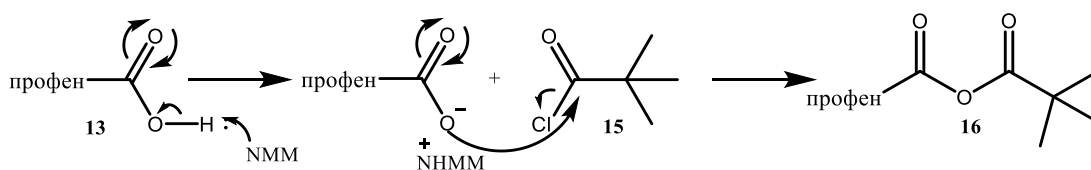


Схема 8. *In situ* получаване на смесени анхидриди на пивалоилхлорид с профени.

Полученият смесен анхидрид **16** взаимодейства след това с енаминоамид **8** в присъствие на DMAP до получаване на междинните продукти **14a-e** (Схема 9).

Смесените анхидриди **16a-e** бяха получени *in situ* непосредствено преди употреба, без тяхното изолиране и пречистване. За целта, към охладен в ледена баня разтвор на съответния профен (1 mmol) в дихлорометан бе добавено еквимоларно количество *N*-метилморфолин (1 mmol), последвано от еквимоларно количество пивалоилхлорид (1mmol). В същия реакционен съд, 10 минути по-късно, към така получените смесени анхидриди бе добавян разтвор на енаминоамид **8** (1 mmol), и каталитично количество DMAP (0.2 mmol), след което ледената баня бе отстранявана и разбъркването продължавано при стайна температура (15-25°C). За 60 минути се наблюдава максимално получаване на продуктите **14a-e**. При тези условия междинните продукти бяха получени с добиви от 20 до 41 % (Таблица 1).

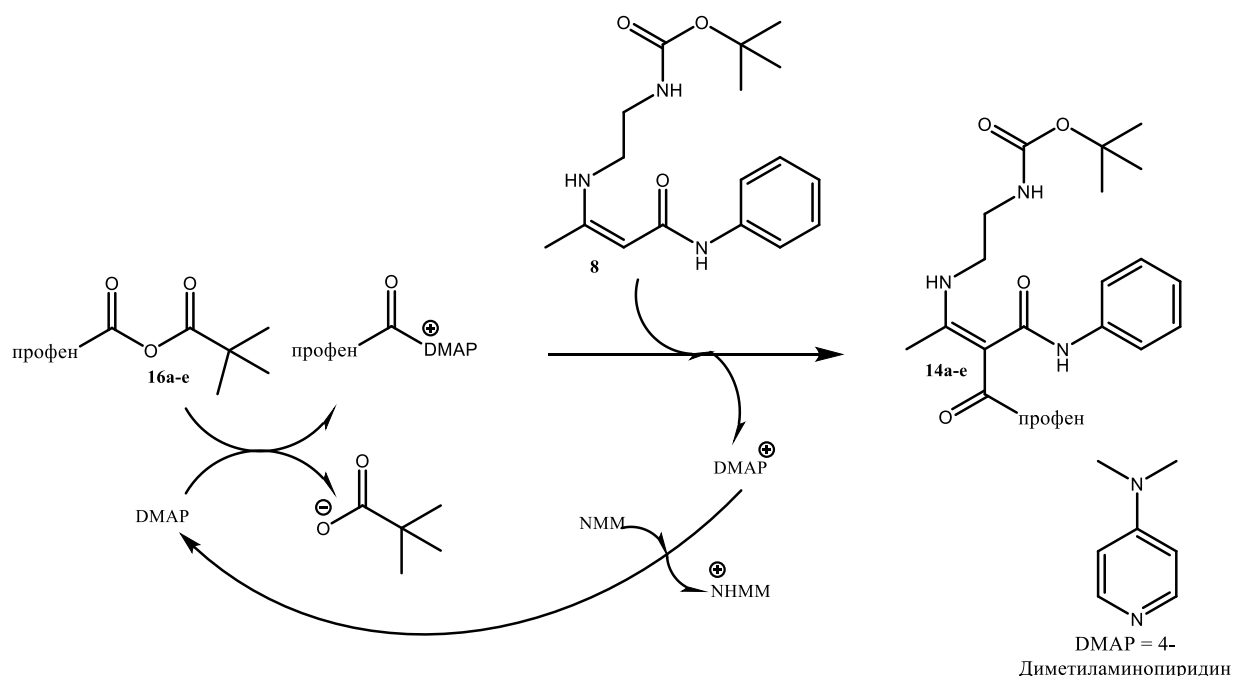


Схема 9. Каталитичен цикъл на диметиламинопиридина при ацилиране на енаминон със смесен пивалов анхидрид.

Ниските добиви при реакцията на ацилиране могат да се обяснят с две основни причини. На първо място, в структурата на ацилиращия агент е налице заместител в α -позиция спрямо карбонилната група, т.е. наличен е третичен въглероден атом.

Съединение	Добив, %
14a	41
14b	30
14c	25
14d	20
14e	25

Таблица 1. Добиви на съединения **14a-e**.

Това, от своя страна, предизвиква значително пространствено (стерично) възпрепятстване, което ограничава достъпа на нуклеофила до електрофилния център

и затруднява ефективното протичане на ацилирането. Също така, литературните данни показват, че ацилирането с участието на смесени карбонатни анхидрид-естери на фенилоцетни киселини протича с ниски добиви, поради тяхната склонност към разпадане до съответните бензилови естери. Този процес се обуславя от лабилността на бензиловото свързване, което улеснява странични трансформации, конкуриращи основния реакционен път. В този контекст, при смесените анхидриди, съдържащи бензилова структурна единица, както и заместител в α -позиция спрямо карбонилната група, това допълнително способства за образуване на бензилов катион или по-стабилен бензилов вторичен катион – които могат да участват в нежелани странични реакции, намалявайки ефективността на целевото ацилиране [44].

Изследванията, проведени в рамките на дипломната работа, бяха продължени съобразно предложената ретросинтетична схема (Схема 1), като акцентът бе поставен върху домино-фрагментацията на ацилираните продукти **14a–e**. За тази цел бе приложена разработена в катедрата по Органична химия методика за синтез на нефункционализирани β -кетоамиди (Схема 10).

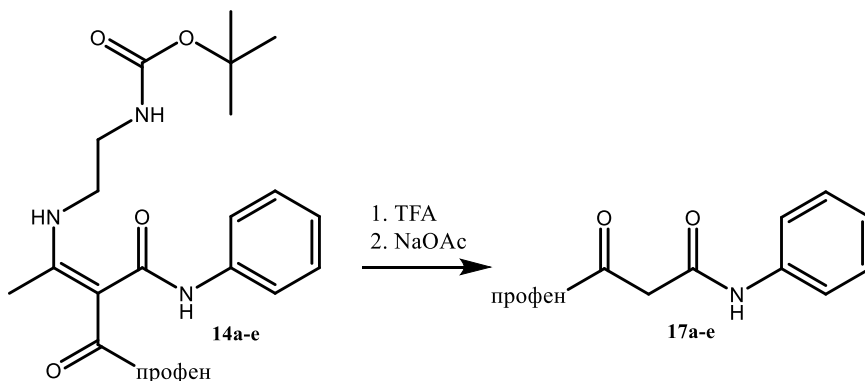


Схема 10. Домино-фрагментиране на ацилирани енаминоамиди до профен функционализирани β -кетоамиди.

Процедурата включва отстраняване на *Boc*-защитната група чрез обработка с чиста трифлуороцетна киселина при стайна температура за 5 минути, последвано от буфериране на реакционната смес с воден разтвор на натриев ацетат в продължение на 2 часа. Получените крайни продукти **17a–e** – β -кетоамиди, съдържащи профенов фрагмент в структурата си, са получени с високи добиви представени в таблица 2.

Съединение	Добив, %
17a	94
17b	96
17c	94
17d	92
17e	98

Таблица 2. Добиви на съединения **17a-e**.

Всички получени хибридни молекули са нови съединения (*Reaxys*) и са охарактеризирани спектрално с техните температури на топене (за кристалните), ^1H и ^{13}C - ЯМР и мас спектри.

IV. Експериментална част

Всички реагенти и разтворители са закупени от търговски доставчици (Sigma-Aldrich S.A. и Riedel-de Haën, София, България) и са използвани както са получени. ЯМР спектралните измервания са проведени със спектрометър Bruker Avance Neo 400 (ИОХЦФ-БАН, Bruker, Билерика, Масачузетс, САЩ). ^1H -NMR и ^{13}C -NMR спектри на получените нови съединения са снети в разтворител $\text{DMSO-}d_6$ при 400 MHz и 101 MHz, съответно. Химичните отмествания са дадени в относителни ppm и са отнесени към тетраметилсилан (TMS) ($\delta = 0.00$ ppm) като вътрешен стандарт; константите на свързване са посочени в Hz. Всички ЯМР спектри са снети при стайна температура. Масспектралният анализ е извършен на масспектрометър Q Exactive Plus с висока разделителна способност (HRMS) с йонизиращ източник с нагрят електроспрей (HESI-II) (Thermo Fisher Scientific, Inc., Бремен, Германия), оборудван с Dionex Ultimate 3000RSLC с ултрависока производителност система за течна хроматография (UHPLC) (Thermo Fisher Scientific, Inc., Уолтъм, Масачузетс, САЩ). За тънкослойната хроматография са използвани хроматографски плаки Fluka silicagel 60, 0.2 mm, Al (Merck KGaA, Дармщат, Германия).

1. Получаване на монозащитен етилендиамин

Етилендиамин (13,5 g, 225 mmol) се разтваря в дихлорметан (64 mL), след което, при поддържане на температура 20°C чрез охлаждане на водна баня и интензивно разбъркване, към разтвора постепенно, на капки, се прибавя разтвор на ди-третичен-бутилдикарбонат (6,6 g, 30 mmol) в 6–10 mL дихлорметан. След пълното добавяне на реагента, реакционната смес се разбърква допълнително в продължение на един час. След това към реакционната смес се добавя вода (40 mL), разбъркването продължава още 15 минути, след което фазите се разделят с помощта на делителна фуния. Водният слой се отделя, а към органичната се прибавя ново количество вода (20 mL), след което сместа се разбърква с магнитна бъркалка и подкислява с концентрирана солна киселина до достигане на pH 1,5. След

разслояване органичната фаза се отстранява, а водната се алкализирa до pH 12 чрез добавяне на разтвор на натриева основа (NaOH, 4,9 g, 34 mmol, разтворени в 10 mL вода). Полученият разтвор се екстрахира двукратно с дихлорметан (2 × 35 mL). Обединените органични екстракти се сушат над безводен натриев сулфат и разтворителят се отстранява под вакуум. Продуктът представлява прозрачно масло (3.6 g, 75%). Необходимо е да се съхранява в добре затворен съд, без достъп на въздух. Поради значителната разтворимост на продукта във вода е необходимо указаните по-горе обеми при операциите по екстракция да се спазват стриктно.

1.2. Кондензация на амини с ацетоацетамиди

В облодънна колба, към разтвор на съответния ацетоацетамид (10 mmol) в дихлорметан (50 ml) се прибавя съответния моно защитен етилендиамин (10 mmol) и безводен натриев сулфат (1.56 g, 11 mmol). Реакционната смес се кипи за 1 час под обратен хладник, при непрекъснато разбъркване с магнитна бъркалка. След това веднага се филтрува на горещо и разтворителя се отстранява чрез дестилация. Получените енаминоамиди са стабилни на въздух и могат да бъдат съхранявани при стайна температура, но лесно се разлагат върху силикагел и не могат да бъдат проследявани чрез тънкослойна хроматография.

2. Получаване на съединения 14a-e. α -C-ацилиране на енаминоамиди.

Към охладена на 0°C суспензия на съответния профен, NMM и пивалоил хлорид в 10ml дихлорметан се добавя енаминоамида (1 mmol), DMAP (0,2 mmol) и NMM (1mmol), също разтворени в 10 ml дихлорметан. Сместа се разбърква в продължение на 60 минути. Реакционната смес се прехвърля в делителна фуния, заедно с още 30 ml дихлорметан и се промива последователно с воден разтвор на солна киселина (10:1, v:v), и вода. Органичната фаза се суши над безводен натриев сулфат, след което разтворителя се отстранява чрез дестилация. Получените продукти **14a-e** са използвани директно в следващата стъпка.

3. Получване на β -кетоамиди 17а-е

Към съответния α -С-ацилиран енаминоамид **14а-е** (1 mmol) се прибавя трифлуорооцетна киселина (1 ml за всеки 100 mg субстрат) и сместа се разбърква с магнитна бъркалка в продължение на 5 минути. След това се добавя 3 mol/L воден разтвор на натриев ацетат (10 ml за всеки ml TFA), последван от дихлорометан (30 – 50 ml) и сместа се оставя да се бърка интензивно в продължение на 2 часа. След това слоевете се разделят и водната фаза се екстрахира допълнително с дихлорометан. Органичните фракции се обединяват, промиват се с малко количество наситен воден разтвор на натриев хидрогенкарбонат (20 ml) и се сушат над безводен натриев сулфат. Разтворителят се отстранява чрез дестилация, а остатъкът се пречиства чрез колонна хроматография на силикагел или се промива с диетилов/петролев етер в останалите случаи. От промивния етер може да се изолира допълнително количество кетоамид след филтруване през къс слой силикагел.

17a: 4-(4-Изобутилфенил)-3-оксо-N-фенилпентанамид

Бели кристали, $t_f = 82-84^\circ\text{C}$, добив 94%, $R_f = 0.62$ (петролеев етер/диетилов етер = 1/3). ^1H NMR (80 MHz,) δ 9.14 (s, 1H), 7.52 (m, 2H), 7.33 (m, 1H), 7.11 (m, 6H), 3.86 (q, $J = 6.9$ Hz, 1H), 3.47 (d, $J = 1.1$ Hz, 2H), 2.45 (d, $J = 7.0$ Hz, 2H), 1.85 (dt, $J = 13.1, 6.6$ Hz, 1H), 1.43 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H), 0.91 (d, $J = 6.4$ Hz, 6H). ^{13}C NMR (20 MHz) δ 207.40, 164.10, 141.29, 137.64, 136.22, 129.99, 128.94, 127.73, 124.47, 120.16, 53.52, 47.84, 45.01, 30.15, 22.40, 16.95. Електроспрей йонизация (ESI) m/z изчислено за $[\text{M}+\text{Na}]^+ \text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{NNaO}_2^+ = 346.1778$ измерена 346.1792 (масова грешка $\Delta m = 4.0$ ppm).

17b: 4-(2-Флуоро-[1,1'-бифенил]-4-ил)-3-оксо-N-фенилпентанамид

Мръсно бели кристали, $t_f = 112-114^\circ\text{C}$, добив 96%, $R_f = 0.65$ (петролеев етер/диетилов етер = 1/2). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.90 (s, 1H), 7.47 – 7.43 (m, 4H), 7.40 – 7.35 (m, 3H), 7.33 – 7.28 (m, 2H), 7.25 (dd, $J = 8.5, 7.5$ Hz, 2H), 7.08 – 7.02 (m, 2H), 4.24 – 3.95 (m, 1H), 3.87 (q, $J = 6.9$ Hz, 1H), 3.58 – 3.38 (m, 1H), 1.43 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 206.88, 163.28, 137.40, 131.61, 131.57, 129.03, 128.97, 128.53, 128.45, 127.91, 127.65, 124.64, 124.06, 120.15, 115.78, 115.55,

53.40, 47.79, 16.91. Електроспрей йонизация (ESI) m/z изчислено за $[M+Na]^+$ $C_{23}H_{20}FNNaO_2^+ = 384.1371$ измерена 384.1404 (масова грешка $\Delta m = 8.6$ ppm).

17c: 4-(3-Бензоилфенил)-3-оксо-N-фенилпентанамид

Бели кристали, $t_T = 165-167^\circ C$, добив 94%, $R_f = 0.54$ (петролеев етер/диетилов етер = 1/3). 1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.01 (s, 1H), 7.75 – 7.72 (m, 2H), 7.71 – 7.60 (m, 4H), 7.59 (t, $J = 1.7$ Hz, 1H), 7.57 – 7.55 (m, 3H), 7.51 (dd, $J = 2.0, 1.1$ Hz, 1H), 7.33 – 7.25 (m, 2H), 7.07 – 7.02 (m, 1H), 4.23 (q, $J = 7.0$ Hz, 1H), 3.71 – 3.46 (m, 2H), 1.38 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 205.06, 196.05, 165.16, 140.83 (Ar), 139.26, 137.80, 137.39, 133.23, 132.87, 130.13, 130.11, 129.69, 129.50, 129.19, 129.05, 123.89, 119.54, 51.95, 50.67, 17.84. Електроспрей йонизация (ESI) m/z изчислено за $[M+Na]^+$ $C_{24}H_{21}NNaO_3^+ = 394.1414$ измерена 394.1445 (масова грешка $\Delta m = 7.9$ ppm).

17d: 4-(6-Метоксинафтаген-2-ил)-3-оксо-N-фенилпентанамид

Бели кристали, $t_T = 105-107^\circ C$, добив 92%, $R_f = 0.64$ (петролеев етер/диетилов етер = 1/3). 1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.84 – 7.74 (m, 3H), 7.72 (dt, $J = 2.0, 0.7$ Hz, 2H), 7.39 (dd, $J = 8.5, 1.8$ Hz, 3H), 7.32 – 7.27 (m, 2H), 7.16 (dd, $J = 8.8, 2.6$ Hz, 1H), 4.15 – 3.98 (m, 2H), 3.90 (q, $J = 6.9$ Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 1.47 (d, $J = 7.1$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 174.38, 157.67, 136.25, 135.57, 134.24, 134.12, 133.78, 132.52, 130.29, 129.62, 128.89, 127.46, 126.65, 126.04, 119.23, 106.19, 60.71, 55.64, 44.92, 15.96. Електроспрей йонизация (ESI) m/z изчислено за $[M+Na]^+$ $C_{22}H_{21}NNaO_3^+ = 370.1414$ измерена 370.1427 (масова грешка $\Delta m = 3.5$ ppm).

17e: 4-(6-Хлоро-9H-карбазол-2-ил)-3-оксо-N-фенилпентанамид

Бели кристали, $t_T = 176-177^\circ C$, добив 98%, $R_f = 0.33$ (петролеев етер/диетилов етер = 1/3). 1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 11.33 (s, 1H), 10.12 (s, 1H), 9.15 – 7.78 (m, 3H), 7.72 – 6.34 (m, 8H), 4.08 (s, 2H), 3.63 (q, $J = 6.8$ Hz, 1H), 1.33 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 209.22, 165.61, 139.49, 138.05, 137.23, 129.87, 129.46, 129.24, 128.31, 120.39, 50.37, 46.53, 44.24, 29.00, 22.48, 16.47. Електроспрей йонизация (ESI) m/z изчислено за $[M+Na]^+$ $C_{23}H_{19}ClN_2NaO_2^+ = 413.1028$ измерена 413.1082 (mass error $\Delta m = 13.0$ ppm).

V. Обобщени резултати и изводи

В съответствие с формулираната цел, успешно са реализирани следните основни изследователски задачи:

1. Успешно е синтезиран изходен енаминоамид **8** като ключов интермедиат, използвайки разработен в катедрата по Органична химия метод;
2. Проучени се условията за ацилиране на енаминоамид **8** с активирани производни на профени, като е установено, че:
 - a. Реакция не протича с използването на профени активирани с N,N' -дициклохексилкарбодиимид;
 - b. Реакция с профени активирани с тионилхлорид протича, но с ниски добиви за продължително време;
 - c. Реакция с профени активирани с пивалоил хлорид протича, като получените добиви са по-добри в сравнение с другите методи.
3. Установени са оптималните условия за протичане на домино-фрагментиране на аминокацилираните енаминоамиди **14a-e** до профен функционализирани β -кетоамиди **17a-e**.
4. Получените хибридни молекули **17a-e** са нови съединения (*Reaxys*), като всички са изолирани и охарактеризирани, както с техните температури на топене, така и спектрално с ^1H , ^{13}C -ЯМР и мас спектри.

VI. Участия в конференции и научни форуми

1. **15-17.05.2024г.** - Участие в XXII Национална конференция по химия за студенти и докторанти, гр. София, с доклад на тема “Синтез на нови профен функционализирани кетоамиди”.
2. **05.06.2024г.** - Участие в семинар АСМ 2 – “Инструментални техники и методи за химичен анализ - предизвикателства и нови решения”, гр. Пловдив, с постер на тема “New profen ketoamides – synthesis and characterization”.
3. **18-19.10.2024г.** - Участие в Седма научна конференция за млади студенти, докторанти и млади учени “Предизвикателства в Химията”, гр. Пловдив, с постер на тема “Синтез на нови профен функционализирани β -кетоамиди”.
4. **22-23.11.2024г.** - Участие в научна сесия “Дни на науката”, СУБ – Пловдив, с постер на тема “New profen ketoamides – synthesis and characterization”.
5. **03-04.12.2024г.** - Участие в Шеста работна среща на общото събрание на национална научна инфраструктура “Съхранение на енергия и водородна енергия (НИ-СЕВЕ) ”, гр. Пловдив, с постер на тема “New profen ketoamides – synthesis and characterization”.
6. **23-25.04.2025г.** - Участие във Втора международна конференция “Революции и Еволюции”, гр. Пловдив, с доклад на тема “Синтез на нови профен функционализирани кетоамиди”.
7. **05.06.2025г.** – Участие в семинар АСМ 2 – “Инструментални техники и методи за химичен анализ - предизвикателства и нови решения”, гр. Пловдив, с постер на тема “Синтез и *in silico* оценка на нови профен функционализирани кетоамиди”.

VII. Използвана литература

1. El-Meligie, S.; Khalil, A. Nadia. A Review on the Synthetic Routes to β -Keto Amides. *Current Organic Chemistry*, **2019**, 23, 198–217. <https://doi.org/10.2174/1385272822666190121155414>
2. Zanirato, V. et al. Recent Developments in General Methodologies for the Synthesis of α -ketoamides. *Synthesis*, **2022**, 54, 1157–1176.
3. Hansen, P.E. Tautomerism and biological activity of β -keto compounds. *Magnetic Resonance in Chemistry*, **2017**, 55, 1166–1180.
4. Kher, N.G. & Jirgensons, A.O. Synthesis of β -amino- α -ketoamides: methodology and applications. *Current Organic Synthesis*, **2014**, 11, 1–20.
5. Zagórska, A. et al. Inhibitors of SARS-CoV-2 Main Protease (Mpro). *Biomolecules*, **2024**, 14, 797. <https://doi.org/10.3390/biom14070797>
6. Dai, W. et al. Structure-based design of antiviral drug candidates targeting the SARS-CoV-2 main protease. *Science*, **2020**, 368, 1331–1335.
7. Ghosh, A.K. et al. Design of α -ketoamide inhibitors targeting the SARS-CoV 3CL protease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2011**, 21, 2722–2727.
8. Zhang, L. et al. Crystal structure of SARS-CoV-2 main protease provides a basis for design of improved α -ketoamide inhibitors. *Science*, **2020**, 368, 409–412.
9. Pattabiraman, V. R.; Bode, J. W. Rethinking amide bond synthesis. *Nature*, **2011**, 480, 471–479. <https://doi.org/10.1038/nature10702>
10. Bode, J. Reinventing Amide Bond Formation. *Top. Organomet. Chem.* **2012**, 44, 13–34.
11. Heaney, F.; Fenlon, J.; McArdle, P.; Cunningham, D. α -Keto amides as precursors to heterocycles - Generation and cycloaddition reactions of piperazin-5-one nitrones. *Organic and Biomolecular Chemistry*. **2003**, 1, 1122–1132. <https://doi.org/10.1039/b210943n>
12. Shaw, A. Y.; Denning, C. R.; Hulme, C. Selenium dioxide-mediated synthesis of α -ketoamides from arylglyoxals and secondary amines. *Tetrahedron Letters*. **2012**, 53, 4151–4153. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2012.05.136>

13. _Eftekhari-Sis, B.; Zirak, M.; Akbari, A. Arylglyoxals in synthesis of heterocyclic compounds. *Chemical Reviews*. **2013**, *113*, 2958–3043. <https://doi.org/10.1021/cr300176g>
14. _Risi, C.; Pollini, G. P.; Zanirato, V. Recent Developments in General Methodologies for the Synthesis of α -Ketoamides. *Chemical Reviews*. **2016**, *116*, 3241–3305). <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00443>
15. _Shen, C.; Fink, C.; Laurenczy, G.; Dyson, P. J.; Wu, X. F. Versatile palladium-catalyzed double carbonylation of aryl bromides. *Chemical Communications*. **2017**, *53*, 12422–12425. <https://doi.org/10.1039/c7cc07412c>
16. _Lv, Y.; Bao, P.; Yue, H.; Li, J. S.; Wei, W. Visible-light-mediated metal-free decarboxylative acylations of isocyanides with α -oxocarboxylic acids and water leading to α -ketoamides. *Green Chemistry*. **2019**, *21*, 6051–6055. <https://doi.org/10.1039/c9gc03253c>
17. _Maiti, D.; Prabakar, T.; Ghosh, P.; Sen, S. A one pot diazo installation-photochemical oxidation (blue LED-O₂)/ amidation of aryl/heteroaryl acetates with cyclic 2°-amines: An eco-friendly synthesis of aromatic α -ketoamides. *Tetrahedron*. **2022**, *125*. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2022.133043>
18. _Du, H.; Rodriguez, J.; Bugaut, X.; Constantieux, T. Organocatalytic enantio- and diastereoselective conjugate addition to nitroolefins: When ketoamides surpass ketoesters. *Chemistry - A European Journal*. **2014**, *20*, 8458–8466. <https://doi.org/10.1002/chem.201402192>
19. _Alonso, D. A.; Baeza, A.; Chinchilla, R.; Gómez, C.; Guillena, G; Pastor, I. M.; Ramón, D. J. Recent advances in asymmetric organocatalyzed conjugate additions to nitroalkenes. *Molecules*. **2017**, *22*, 6. <https://doi.org/10.3390/molecules22060895>
20. _Du, H.; Dudognon, Y.; Rodriguez, J.; Constantieux, T.; Bugaut, X. Weinreb β -Ketoamides in Enantioselective Organocatalysis: A Balance between Reactivity and Selectivity. *Synlett*. **2018**, *29*, 1272–1280. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1591870>

21. Knapp, J. M.; Zhu, J. S.; Wood, A. B.; Kurth, M. J. Expedient synthesis of a 72-membered isoxazolino- β -ketoamide library by a 2·3-component reaction. *ACS Combinatorial Science*. **2012**, *14*, 85–88. <https://doi.org/10.1021/co200199h>
22. Buzharevski, A.; Paskas, S.; Laube, M.; Lönnecke, P.; Neumann, W.; Murganic, B.; Mijatovic, S.; Maksimovic-Ivanic, D.; Pietzsch, J.; Hey-Hawkins, E. Carboranyl Analogues of Ketoprofen with Cytostatic Activity against Human Melanoma and Colon Cancer Cell Lines. *ACS Omega*. **2019**, *4*, 8824–8833. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b00412>
23. Steuer, C.; Gege, C.; Fischl, W.; Heinonen, K. H.; Bartenschlager, R.; Klein, C. D. Synthesis and biological evaluation of α -ketoamides as inhibitors of the Dengue virus protease with antiviral activity in cell-culture. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. **2011**, *19*, 4067–4074. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2011.05.015>
24. Zhang, L.; Lin, D.; Kusov, Y.; Nian, Y.; Ma, Q.; Wang, J.; von Brunn, A.; Leyssen, P.; Lanko, K.; Neyts, J.; de Wilde, A.; Snijder, E. J.; Liu, H.; Hilgenfeld, R. α -Ketoamides as Broad-Spectrum Inhibitors of Coronavirus and Enterovirus Replication: Structure-Based Design, Synthesis, and Activity Assessment. *Journal of Medicinal Chemistry*. **2020**, *63*, 4562–4578. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b01828>
25. Mtat, D.; Yangui, T.; Touati, R.; Guerfel, T.; Walha, K.; Hassine, B. ben. Synthesis, structural aspects and antimicrobial activity of novel chiral β -keto amides. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. **2015**, *7*, 601–607. www.jocpr.com
26. Antman, E. M.; Bennett, J. S.; Daugherty, A.; Furberg, C.; Roberts, H.; Taubert, K. A. Use of nonsteroidal antiinflammatory drugs: An update for clinicians: A scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. **2007**, *115*, 1634-1642. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.181424>
27. Jones, R. Nonsteroidal anti-inflammatory drug prescribing: past, present, and future. *Am. J. Med.* **2001**, *110*, 4-7. [https://doi.org/10.1016/s0002-9343\(00\)00627-](https://doi.org/10.1016/s0002-9343(00)00627-6)

28. Rothwell, P.M.; Wilson, M.; Elwin, C.E.; Norrving, B.; Algra, A.; Warlow, C.P.; Meade, T.W. Long-term effect of aspirin on colorectal cancer incidence and mortality: 20-year follow-up of five randomised trials. *Lancet*. **2010**, 376, 1741-1750. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)61543-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)61543-7)
29. Bacchi, S.; Palumbo, P.; Sponta, A.; Coppolino, M. F. Clinical Pharmacology of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs: A Review. *Allergy Agents in Medicinal Chemistry*. **2012**, 11, 52-64.
30. Bruno, A.; Tacconelli, S.; Patrignani, P. Variability in the response to non-steroidal anti-inflammatory drugs: Mechanisms and perspectives. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*. **2014**, 114, 56–63. <https://doi.org/10.1111/bcpt.12117>
31. Boelsterli, U. A.; Redinbo, M. R.; Saitta, K. Multiple NSAID-Induced Hits Injure the Small Intestine: Underlying Mechanisms and Novel Strategies. *Toxicol Sci*. **2013**, 131, 654-667. <http://toxsci.oxfordjournals.org>
32. Øtensen, M.; Khamashta, M.; Lockshin, M.; Parke, A.; Brucato, A.; Carp, H.; Doria, A.; Rai, R.; Meroni, P.; Cetin, I.; Derksen, R.; Branch, W.; Motta, M.; Gordon, C.; Ruiz-Irastorza, G.; Spinillo, A.; Friedman, D.; Cimaz, R.; Czeizel, A.; Tincani, A. Anti-inflammatory and immunosuppressive drugs and reproduction. *Arthritis Research and Therapy*. **2006**, 8, 3. <https://doi.org/10.1186/ar1957>
33. Kutyakov, V. A.; Shadrina, L. B.; Trufanova, L. V.; Andrzejewska-Shurygina, V. Y.; Gertsog, G. E.; Salmina, A. B. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: Key mechanisms of action and neuroprotective potential. *Eksperimental'naya i Klinicheskaya Farmakologiya*. **2019**, 82, 38–46. <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2019-82-2-38-46>
34. Hochberg, M. C.; Simon, L. S. Efficacy of NSAIDs in the treatment of rheumatic diseases. *NSAIDs and Aspirin: Recent Advances and Implications for Clinical Management*. **2016**, 37–43. https://doi.org/10.1007/978-3-319-33889-7_3

35. _Yagami T.; Koma H.; Yamamoto Y. Pathophysiological roles of cyclooxygenases and prostaglandins in the central nervous system. *Mol Neurobiol.* **2016**, 53, 4754-71. <https://doi.org/10.1007/s12035-015-9355-3>
36. _Krause, D. L.; Müller, N. Neuroinflammation, microglia and implications for anti-inflammatory treatment in Alzheimer's disease. *International Journal of Alzheimer's Disease.* **2010**, 14. <https://doi.org/10.4061/2010/732806>
37. _Matsui, H.; Shimokawa, O.; Kaneko, T.; Nagano, Y.; Rai, K.; Hyodo, I. The pathophysiology of nonsteroidal antiinflammatory drug (NSAID) induced mucosal injuries in stomach and small intestine. *J. Clin. Biochem. Nutr.* **2011**, 48, 107–111. <https://doi.org/10.3164/jcbrn.10079>
38. _Musumba, C.; Pritchard, D. M.; Pirmohamed, M. Cellular and molecular mechanisms of NSAID-induced peptic ulcers. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics.* **2009**, 30, 517–531. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2009.04086.x>
39. _Nørregaard, R.; Kwon, T. H.; Frøkiær, J. Physiology and pathophysiology of cyclooxygenase-2 and prostaglandin E2 in the kidney. *Kidney Research and Clinical Practice.* **2015** , 34, 194–200. <https://doi.org/10.1016/j.krcp.2015.10.004>
40. _Gunaydin, C.; Bilge, S. S. Effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs at the molecular level. *Eurasian Journal of Medicine.* **2018**, 50, 116–121. <https://doi.org/10.5152/eurasianjmed.2018.0010>
41. _Babazadeh, M. Design, synthesis and in vitro evaluation of vinyl ether type polymeric prodrugs of ibuprofen, ketoprofen and naproxen. *International Journal of Pharmaceutics.* **2008**, 356, 167–173. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2008.01.003>
42. _Mohan, R.; Ramaa, C. S. Ester prodrugs of flurbiprofen: Synthesis, plasma hydrolysis and gastrointestinal toxicity. *Indian Journal of Chemistry - Section B Organic and Medicinal Chemistry.* **2007**, 46, 1164–1168. <https://doi.org/10.1002/chin.200746204>

43. Parcha, V.; Gahlot, M.; Ram, V. Synthesis and pharmacological evaluation of naproxen and ibuprofen derivatives. *J. Indian Chem. Soc.* **2004**, 81
44. Yanev, P.; Angelov, P. Synthesis of functionalised β -keto amides by aminoacylation/domino fragmentation of β -enamino amides. *Beilstein J. Org. Chem.* 2018, 14, 2602-2606. <https://doi.org/10.3762/bjoc.14.238>