

Rzeczywistość chemii farmaceutycznej podąża za wymaganiami przemysłu farmaceutycznego dotyczącymi czystości optycznej produktów reakcji. Od czasów afery związanej z Talidomidem, która miała miejsce w latach sześćdziesiątych ubiegłego wieku nastąpiło znaczne zaostrzenie przepisów rejestracyjnych. Obecnie dokumentacja nowego farmaceutyku musi zawierać informacje dotyczące farmakokinetyki pojedynczych enancjomerów, a także konwersji jednego stereoizomeru w drugi. Wymagania te wydają się zasadne, ponieważ duża część ksenobiotyków zawierających centra stereogeniczne istnieje w postaci dwóch lub więcej stereoizomerów, które wykazują różną aktywność biologiczną. W najlepszym przypadku jeden z enancjomerów jest dystomerem drugiego co oznacza, że ma znacznie mniejsze działanie terapeutyczne. Przykładem może być *R*-ibuprofen o niższej biodostępności w stosunku do *S*-ibuprofenu. Często jednak jeden ze stereoizomerów charakteryzuje się wysoką toksycznością, np. *R*-naproksen silnie uszkadza wątrobę (*S*-naproksen to środek przeciwbólowy), a *R,R*-etambutol wpływa na pogorszenie wzroku (*S,S*-etambutol stosuje się w leczeniu gruźlicy).

Istnieje kilka strategii stosowanych w celu stereoselektywnego przeprowadzania reakcji chemicznych. Jedną z nich obejmuje użycie czynników indukujących asymetrię w postaci organokatalizatorów. Z definicji są to małe cząsteczki organiczne niezawierające w swojej konstytucji metali. Często nazywa się je synzymami z uwagi na efektywność zbliżoną do enzymów. Od roku 2000 obserwuje się ustawicznie rosnącą popularność organokatalizy przejawiającą się w coraz większej, z roku na rok, liczbie doniesień literaturowych na ten temat. Jest to uzasadnione licznymi zaletami organokatalizatorów. Oprócz niejednokrotnie wysokiej stereoselektywności cechuje je nietoksyczność, inertyność wobec wody i tlenu, stosunkowo niska cena, szeroka możliwość modyfikacji, a także immobilizacji. Te liczne przysięgi organokatalizatorów przyczyniły się do mojego zainteresowania tematyką syntez z ich udziałem.

Podczas studiów doktoranckich podjęłam próbę stereoselektywnego alkilowania Friedla-Craftsa indolu za pomocą aryliidenowych pochodnych kwasu Meldruma. Substraty do syntezy nie były wybrane przypadkowo. Ugrupowanie indolu stanowi fragment aminokwasu – tryptofanu. W wyniku przemian biochemicznych powstają z niego biogenne aminy takie jak tryptamina, serotonina, melatonina. Indol z uwagi na swoją strukturę dobrze dopasowuje się do białek błonowych klasy GPCR (G Protein-Coupled Receptor). Uczestniczą one w przekazywaniu sygnału do wnętrza komórki. Z uwagi na to indol znajduje się wysoko na liście struktur uprzywilejowanych w procesie „drug design”. Do dziś istnieje około 200 związków wykazujących aktywność biologiczną zawierających w swojej budowie fragment indolu, a wśród nich takie farmaceutyki jak indometacyna, ergotamina, tadalafil, ondasteron.

Także odczynniki elektrofilowe w postaci aryliidenowych pochodnych kwasu Meldruma nie są typowymi odczynnikiem alkilującymi. Ich budowa stawia je w szeregu akceptorów Michaela, jednak

potencjał aplikacyjny tych związków jest znacznie szerszy od typowych układów α,β -nienasyconych. Rozpad fragmentu kwasu Meldruma do oksoketenu umożliwia przeprowadzenie reakcji addycji z udziałem typowych odczynników nukleofilowych (woda, alkohole, aminy) lub reakcję wewnątrzcząsteczkowego acylowania Friedla-Crafts'a.

Pierwszym krokiem w kierunku stereoselektywnego alkilowania indolu była synteza szeregu aryliidenowych pochodnych kwasu Meldruma, zgodnie z procedurami literaturowymi. Następnie zweryfikowałam reaktywność aryliidenowych pochodnych kwasu Meldruma wobec czterech heterocyklicznych związków organicznych (pirolu, N-metylopirolu, indolu, furanu) oraz jednego związku homocyklicznego o wysokiej gęstości elektronowej (N,N-dimetyloaniliny). Otrzymałam szereg produktów reakcji alkilowania z wydajnościami od 13% do 94%. Użycie kwasu Lewisa było konieczne tylko w przypadku furanu. Rezultaty moich badań były pomocne w opracowaniu mechanizmu reakcji typu „*one pot synthesis*” z udziałem kwasu Meldruma, aldehydu benzoowego oraz indolu, zaproponowanej, lecz nie opisanej, w 1995 roku przez Laronze. Wyniki powyższych eksperymentów zostały opublikowane w czasopiśmie *Synthesis* (Najda E., Zakaszewska A., Janikowska K., Makowiec S. *Practical Method for the Preparation of 2,2-Dimethyl-5-aryl[(hetero)aryl]methyl-1,3-dioxane-4,6-diones: Synthesis and Mechanistic Study*, *Synthesis* 2016, 48, 3589–3596, DOI 10.1055/s-0035-1561656).

Znając reaktywność aryliidenowych pochodnych kwasu Meldruma wobec heterocyklicznych związków aromatycznych, przeprowadziłam przesiewowe reakcje alkilowania w obecności organokatalizatorów dostępnych komercyjnie (5 z grupy organokatalizatorów kowalencyjnych i 6 niekowalencyjnych). Tylko reakcja alkilowania indolu z użyciem organokatalizatora tiomocznikowego skutkowało otrzymaniem produktów nie w postaci mieszaniny racemicznej, a mieszaniny enancjomerów o stosunku ilościowym 60:40. Zarówno wartość nadmiaru enancjomerycznego wynosząca 20% jak i struktura organokatalizatora stanowiły punkt wyjściowy do dalszych modyfikacji i optymalizacji. Warto wspomnieć, iż nadmiar enancjomeryczny określałam wykorzystując do tego celu $^1\text{HNMR}$. Otrzymane w wyniku reakcji enancjomery, nierozróżnialne na widmie $^1\text{HNMR}$, przeprowadzałam w sole diastereoizomeryczne (na skutek reakcji z czystą optycznie *R*-fenyloetyloaminą), których przesunięcia chemiczne pozwalały na scałkowanie osobno singletów pochodzących od protonów metinowych. W wyniku optymalizacji warunków reakcji, otrzymałam indol alkilowany benzyliidenową p-chlorobenzyliidenową oraz p-nitrobenzyliidenową pochodną kwasu Meldruma, z nadmiarami enancjomerycznymi równymi odpowiednio: 36%, 58%, 36%. Wyniki tych badań znajdują się na etapie recenzji w czasopiśmie *Letters In Organic Chemistry*.

Kolejnym etapem moich badań była modyfikacja struktury organokatalizatora. Dokonałam jej na podstawie analizy potencjalnego mechanizmu oddziaływania organokatalizatora z substratami oraz modelowania molekularnego metodami kwantowo-chemicznymi wspomnianej interakcji. Na drodze

czteroetapowej syntezy otrzymałam 14 nowych chiralnych organokatalizatorów tiomocznikowych i scharakteryzowałam ich strukturę. Następnie zweryfikowałam ich efektywność w roli czynników indukujących asymetrię w reakcji alkilowania indolu za pomocą aryldenowych pochodnych kwasu Meldruma. Jeden z nowych organokatalizatorów wykazał wyższą stereoselektywność w reakcji alkilowania indolu za pomocą p-nitrobenzylidenowej pochodnej kwasu Meldruma, zapewniając nadmiar enancjomeryczny 48%. Wyniki powyższych eksperymentów zostały opublikowane w czasopiśmie Synthetic Communications (Najda-Mocarska E., Zakaszewska A., Janikowska K., Makowiec S. *New thiourea organocatalysts and their application for the synthesis of 5-(1H-indol-3-yl)methyl-2,2-dimethyl-1,3-dioxane-4,6-diones a source of chiral 3-indoymethyl ketenes*, Synthetic Communications 2018, 48, 14-25, DOI 10.1080/00397911.2017.1383432).

Podsumowując, wykazałam, iż indol może ulegać stereoselektywnej reakcji alkilowania za pomocą aryldenowych pochodnych kwasu Meldruma w obecności organokatalizatorów tiomocznikowych. Produkty otrzymane na tej drodze mogą stanowić interesujące substraty do dalszych przemian chemicznych.

Nowadays chemistry development follows pharmaceutical industry requirements concerning optical purity of reaction products. Since the time of the Thalidomide affair, which took place in the 1960s, there has become a dramatic increase in registration regulations. At present, the documentation of the new pharmaceutical product just has to contain information about the pharmacokinetics of individual enantiomers as well as the conversion of one stereoisomer into the another. These requirements seem to be reasonable because many xenobiotics contain stereogenic centers which means that they exist in the form of two or more stereoisomers exhibiting different biological activity. In best case one of the enantiomers is a distomer, which means that it has a significantly smaller therapeutic effect. For instance *R*-ibuprofen has lower bioavailability compared to *S*-ibuprofen. However, one of the stereoisomers often is even toxic, for example *R*-naproxen strongly damages the liver (*S*-naproxen is an analgesic), *R*, *R*-ethambutol damages the eyesight (*S,S*-ethambutol is used in tuberculosis treatment).

There are several possible strategies which can be used in order to carry out chemical reactions in a stereoselective way. One of them involves applying organocatalysts as asymmetric induction agents. By definition, they are small organic molecules which do not include metals in their structure. They are known as synzymes due to their high efficiency comparable to enzymes. Since year 2000 growing popularity of organocatalysis has been easily observable in increasing number of literature reports on this subject. The cause of this phenomenon is in numerous advantages of organocatalysts. In addition to high stereoselectivity, they can be characterized by non-toxicity, inertness to water and oxygen, relatively low price, wide modification possibilities and immobilization. These essential qualities of organocatalysts have contributed to my interest in the subject of synthesis with their participation.

During my doctoral studies I attempted stereoselective Friedel-Crafts alkylation of indole with arylidene derivatives of Meldrum acid. Substrates for synthesis were not selected by accident. The indole moiety is a part of the amino acid- tryptophan. As a result of biochemical changes, various biogenic amines such as tryptamine, serotonin, melatonin were formed from indole. Because of its structure, indole is well suited to GPCR protein receptors (G Protein-Coupled Receptor). They participate in signal transmitting to the interior of the cell. Because of this, indole is located high on the list of privileged structures in the "*drug design*" process. To this day, there are about 200 compounds containing indole registered as drugs, for example indomethacin, ergotamine, tadalafil, ondasterone.

Electrophilic reagents - arylidene derivatives of Meldrum acid also are not typical alkylating reagents. From the structure point of view they can be described as Michael's acceptors, but the application potential of these compounds is much wider than typical α , β -unsaturated compounds. Decomposition of a Meldrum acid fragment to oxoketene allows to carry out many types of reactions, for example

addition of typical nucleophilic reagents (water, alcohols, amines) or intramolecular Friedel-Crafts acylation reaction.

The first step in purpose to stereoselective alkylation of indole was the arylidene derivatives of Meldrum acid synthesis, according to literature procedures. Then I was able to verify the reactivity of the arylidene derivatives of Meldrum acid towards four heterocyclic aromatic compounds (pyrrole, N-methylpyrrole, indole, furan) and one π -excess homocyclic compound (N, N-dimethylaniline). I have obtained a number of alkylation reaction products with yields ranging from 13% to 94%. The use of Lewis acid was only necessary in the case of furan. The results of my research have been helpful in developing a “one pot synthesis” mechanism involving Meldrum acid, benzaldehyde and indole, proposed in 1995 by Laronze. The results of the described research were published in the *Synthesis* journal (Najda E., Zakaszewska A., Janikowska K., Makowiec S. *Practical Method for the Preparation of 2,2-Dimethyl-5-{aryl[(hetero)aryl]methyl}-1,3-dioxane-4,6-diones: Synthesis and Mechanistic Study*, *Synthesis* 2016, 48, 3589–35960, DOI 10.1055/s-0035-1561656).

I screened alkylation reactions in the presence of commercially available organocatalysts (5 covalent and 6 noncovalent) having in mind the reactivity of the arylidene derivatives of Meldrum acid with heterocyclic aromatics. Only the alkylation of indole in the presence of thiourea- based organocatalyst resulted in obtaining the product in a form of mixtures of enantiomers with a ratio 60:40. The 20% enantiomeric excess and the organocatalyst structure provide a starting point for further modification of organocatalyst structure and optimization reaction conditions. It is worth to mention I enumerated the enantiomeric excess using ^1H NMR technique. The obtained enantiomers, which were undistinguishable in the ^1H NMR spectrum, were converted into diastereoisomeric salts (resulting from the reaction with optically pure *R*-phenylethylamine). Their different chemical shifts allowed to separate integration of methine protons. I obtained the benzyldiene, *p* chlorobenzyldiene and the *p*-nitrobenzyldiene derivatives of Meldrum acid alkylated indole, as a result of the reaction conditions optimization, with enantiomeric excesses of 36, 58 and 36% respectively. The results of this study are in the review stage in *Letters In Organic Chemistry* journal.

The next step of my research was organocatalyst's structure modification. In this purpose, I considered the potential mechanism of interaction between the organocatalyst and substrates. I analyzed effect of molecular modeling the whole system (organocatalyst, substrates, solvent) with the use of quantum chemical methods as well. On the path of the four-step synthesis, I received 14 new chiral thiourea organocatalysts and I characterized their structure. Then I verified their effectiveness as inducers of asymmetry in the alkylation of indole with arylidene derivatives of Meldrum acid. One of the new organocatalysts showed higher stereoselectivity in the alkylation reaction of indole with *p*-nitrobenzyldiene derivative of Meldrum acid, providing the 48% enantiomeric excess. The results of these experiments were published in the *Synthetic Communications* journal (Najda-Mocarska E.,

Zakaszewska A., Janikowska K., Makowiec S *New thiourea organocatalysts and their application for the synthesis of 5-(1H-indol-3-yl)methyl-2,2-dimethyl-1,3-dioxane-4,6-diones a source of chiral 3-indoymethyl ketenes*, *Synthetic Communnications* 2018, 48, 14-25, DOI 10.1080/00397911.2017.1383432)

I am able to prove that indole can undergo stereoselective alkylation with aryldiene derivatives of Meldrum acid in the presence of thiourea organocatalysts. Products obtained on this way may be treated as interesting substrates for further chemical transformations.