



**МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ
„ПРОФ. Д-Р ПАРАСКЕВ СТОЯНОВ” ВАРНА
ФАКУЛТЕТ ПО ФАРМАЦИЯ
КАТЕДРА ПО ФАРМАЦЕВТИЧНА ХИМИЯ**

Таня Неделчева Димова

**НОВИ АРОМАТНИ ЙОДОПРОИЗВОДНИ -
СИНТЕЗ, СТРУКТУРА, СВОЙСТВА**

АВТОРЕФЕРАТ

**на дисертационен труд за присъждане на
образователната и научна степен
„доктор“ по научна специалност
„Фармацевтична химия“,
професионално направление 7.3. Фармация**

Научни ръководители:

**Доц. Илиян Николов Колев, д.х
Доц. Светлана Фоткова Георгиева, д.ф.**

**ВАРНА
2023**

Дисертационният труд е обсъден на заседание на Катедрен съвет към Катедра „Фармацевтична химия“ и насочен за защита пред Научно жури с решение по протокол № 64/24.11.2023г. на Факултетен съвет и доклад с вх. № 108-705/28.11.2023г. от Проф. д-р Петко Маринов, д.м. – Декан на факултет „Фармация“ при Медицински университет – Варна, на основание чл. 24, ал. 6 и чл. 30, ал. 3 от ППЗРАСРБ, чл. 68, ал 1 от Правилника за развитието на академичния състав в Медицински университет – Варна.

Дисертационният труд обхваща 101 страници, 29 фигури, 75 схеми и 10 таблици. Цитирани са 213 заглавия.

Експерименталната работа по дисертационния труд е извършена в Катедра „Фармацевтична химия“ към Медицински университет - Варна.

Публичната защита на дисертационния труд ще се проведе на 26.02.2024 г. отч. в зала..... на открито заседание с Научно жури в състав:

Външни членове:

1. Проф. Александър Борисов Златков, д.ф.н.
2. Проф. Мая Боянова Георгиева, д.ф.
3. Проф. Лили Пламенова Пейкова, д.ф.
4. Проф. Пламен Тодоров Пейков, д.ф.

Резервен външен член:

Доц. Калин Валентинов Иванов, д.ф.

Вътрешен член:

Проф. Калоян Добринов Георгиев, д.ф.н.

Резервен вътрешен член:

Доц. Величка Йорданова Андонова, д.ф.

СЪДЪРЖАНИЕ

I. ВЪВЕДЕНИЕ	5
II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ	6
III. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЯ	7
1. СИНТЕЗ НА 2-ЙОДО-3,4,5-ТРИМЕТОКСИБЕНЗОЕНА КИСЕЛИНА	7
2. СИНТЕЗ НА 2,6-ДИЙОДО-3,4,5-ТРИМЕТОКСИБЕНЗОЕНА КИСЕЛИНА	10
3. СИНТЕЗ НА 2-ЙОДО-3,4,5-ТРИМЕТОКСИБЕНЗАЛДЕХИД	27
4. СИНТЕЗ НА 2,6-ДИБРОМО-3,4,5-ТРИМЕТОКСИБЕНЗОЕНА КИСЕЛИНА	36
5. СИНТЕЗ НА 2-БРОМО-3,4,5-ТРИМЕТОКСИБЕНЗОЕНА КИСЕЛИНА	49
6. СИНТЕЗ НА 2-БРОМО-6-ЙОДО-3,4,5-ТРИМЕТОКСИБЕНЗОЕНА КИСЕЛИНА	52
7. СИНТЕЗ НА 2-ЙОДО-3,4,5-ТРИМЕТОКСИФЕНИЛОЦЕТНА КИСЕЛИНА	55
V. ИЗВОДИ	57
VI. ПРИНОСИ.....	58
VII. ПУБЛИЧНОСТ НА РЕЗУЛТАТИТЕ	59

I. ВЪВЕДЕНИЕ

Халогенозаместените ароматни съединения се използват с безспорен успех в органичния и фармацевтичния синтез. Рационално, "дизайнът" на голямо разнообразие от полизаместени бифенили, стилбени и други производни може да бъде успешно реализиран с помощта на този клас съединения.

Редица халогенозаместени съединения се използват и за диагностични цели или получаването на т. нар. тъканно-имитиращи материали.

Ето защо, темата на настоящия дисертационен труд е насочена към синтеза и детайлното структурно охарактеризиране на нови йодо-, бромо- и смесено халогенозаместени ароматни съединения – съединения с особено голям потенциал в полето на фармацевтичния синтез, а също и в образната диагностика.

Акцент е поставен също и върху методите за израстване на монокристали от всяко получено съединение, с които безспорно доказваме и тяхната структура. В тази връзка е определена токсичността на някои от получените съединения. Отделно е оценена възможността за изработване на реални техни физични фантоми с приложение в контрастно-усилената мамография.

II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Поставена цел:

Да се реализира синтеза на нови йодозаместени съединения и техни бромосъдържащи аналози, а също да се оценят и техните структурни характеристики, токсичност и рентгено-контрастни свойства .

За реализиране на посочената цел са поставени следните задачи:

1. Да се синтезират нови халогенозаместени ароматни съединения.
2. Да се установят условията за кристализация и кристалните структури на новополучените съединения.
3. Да се оцени фотоиндуцираната токсичност на някои от получените йодосъдържащи съединения.
4. Да се оцени възможността за включването на дийодосъдържащите съединения в състава на реални, физични фантоми, предназначени за контрастно-усилена мамография.
5. Да се предложат нови екологосъобразни методи за синтеза на предвидените съединения.

III. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЯ

В качеството на прекурсор за синтезите е използвана природната еудесминова киселина (eudesmicacid). Присъствието на последната е установено в плодовете на *Olea europaea* и множество представители от *Eucalyptus spp.*

Киселината е използвана като прекурсор за синтеза на няколко терапевтични агента - *Methoserpidine*, *Troxipide*, *Trimetozine*, *Trimethobenzamide*, *Hexobendine*, *Dilazep*, *Trimebutine*.

1. СИНТЕЗ НА 2-ЙОДО-3,4,5-ТРИМЕТОКСИБЕНЗОЕНА КИСЕЛИНА

Синтезът на 2-йодо-3,4,5-триметоксибензоена киселина (ITMBA) е реализиран посредством окислението на 2-йодо-3,4,5-триметоксибензилов алкохол с реагента на Джоунс и приложения от нас, по-семпъл и ефективен метод за директно йодирание на 3,4,5-триметоксибензоена киселина с йодираща система йод-сребърен трифлуороацетат (I_2/CF_3COOAg ; съкр. $I_2/AgTFA$) (Схема 1).

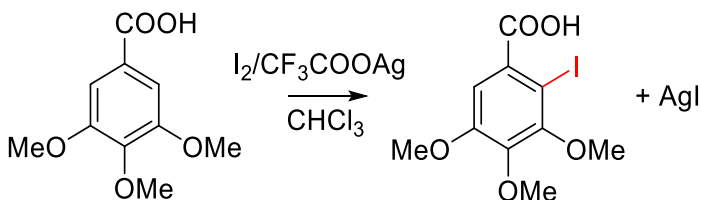


Схема 1. Йодирание на 3,4,5-триметоксибензоена киселина с йодираща система I_2/CF_3COOAg в среда от $CHCl_3$.

Въпросната киселина е получена и в резултат на хидролиза на съответния ѝ естер (Схема 2).

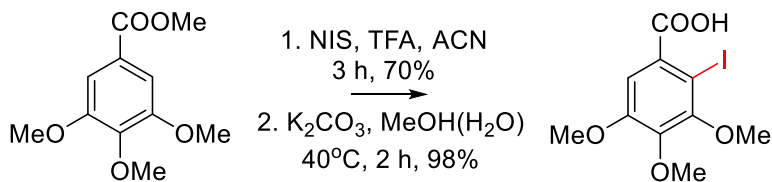


Схема 2. Получаване на ITMBA от метиловия естер на 3,4,5-триметоксibenзоена киселина.

Посочената система I_2/CF_3COOAg обикновено се използва за халогениране на слабо активирани и дезактивирани арени - халозаместени арени и производни на бензоената киселина. Използваните от различни автори реакционни условия се определят преди всичко от реактивоспособността на съответния прекурсор (ароматен въглеродород); така напр., бензоената киселина се йодираща в среда от нитробензен при 150 °C (с добив от 84%), метиловия естер на 3,4,5-триметоксibenзоената киселина – в хлороформ при стайна температура (в 45% добив), а йодирането на използваната от нас 3,4,5-триметоксibenзоената киселина - в кипящ $CHCl_3$ (в 99% добив). Въпреки, че в повечето случаи не е представено подробно описание на използваните експериментални процедури, е разумно да се предположи, че йодирането на арени следва да бъде осъществено в количествен добив, ако се спазват следните условия: използва се пряко приготвен сребърен трифлуороацетат, инертна атмосфера и строго анхидридна среда. Наличието на следи от влага (H_2O) в реакционната среда следва да се окажат причина за хидролиза на *in situ* формирания CF_3COOI до съответната по-ниско активна и нестабилна хипойодиста киселина (HIО):

$$CF_3COOI + H_2O \longrightarrow CF_3COOH + HOI$$

Високата токсичност на трифлуорооцетна киселина (CF_3COOH) ни принуди да преразгледаме използвания работен протокол. При работа с реагентната двойка I_2/AgNO_3 , вместо с I_2/AgTFA , ние успяхме да получим отново желания продукт, но по много по-удобен и екологосъобразен начин (Схема 3).



Схема 3. Синтез на ITMBA с йодираща система I_2/AgNO_3 в среда от метанол.

Обективно потвърждение, за пригодността на този синтетичен метод, получихме посредством проведения ^1H ЯМР анализ на суровия продукт. По този начин, инструментално е установено отсъствието на нежелани примеси в състава на „суровия“ продукт; включително и отсъствието на непрореагирала TMBА.

Както бе посочено в литературния обзор, пионери в използването на AgNO_3 (като съреагент) в реакциите на директно йодиране на ароматни въглеводороди са В. Nathaway *et al.* Освен това, използвайки същата реагентна двойка, М. Yusubov и съавтори успешно успяват да „преобразуват“ широка „гама“ ароматни въглеводороди в арилийоди при твърдофазни (механо-химични) условия. Въпреки това, за първи път, тук, потенциалът на въпросната йодираща система I_2/AgNO_3 , е използван в целенасочения синтез на ITMBA; киселина, която отново е

добита в количествен добив (+95%) и с изключително висока чистота (+98%).

2. СИНТЕЗ НА 2,6-ДИЙОДО-3,4,5-ТРИМЕТОКСИБЕНЗОЕНА КИСЕЛИНА

Синтезът на 2,6-дийодо-3,4,5-триметоксибензоена киселина (DITMBA) е реализиран за първи път от Kolev и съавтори. Авторите предлагат ефективен метод за директно йодиране на ТМВА с йодираща система $I_2/AgTFA$ използвайки стехиометрично количество от него (Схема 4).

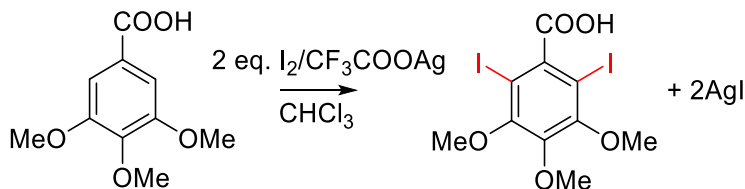


Схема 4. Синтез на DITMBA с йодираща система $I_2/AgTFA$.

Подбудени от същите ограничения в приложимостта на използваната CF_3COOH , ние решихме да изследваме потенциала на горепосочената реактантна двойка $I_2/AgNO_3$ в синтеза на DITMBA (Схема 5).

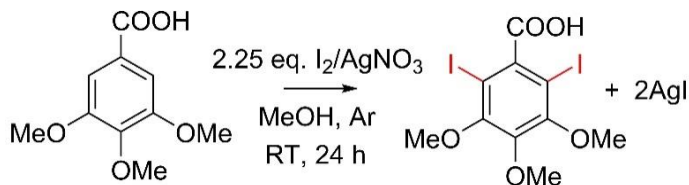


Схема 5. Синтез на DITMBA с йодираща система $I_2/AgNO_3$.

С въвеждането на този йодиращ реagens, ние реално успяхме да получим отново желания продукт – DITMBA.

Въпросната киселина е получена в количествен добив (> 95%); доказан в условията на многократно повторение на представената експериментална процедура. Чистотата на целевия продукт е оценена посредством ^1H ЯМР анализ. В спектрите, на така получените „сурови“ продукти, не се отчете присъствието на монойдозаместена киселина (ТМВА), а също и това на използвания прекурсор - ТМВА.

Експерименталните условия, които първоначално предложихме обаче, могат да бъдат сметени отново от повечето потребители като относително трудни за възпроизвеждане. Ето защо, ние се захем да изследваме потенциала на двойката реагенти I_2/AgNO_3 за йодирането на въпросната киселина при много по-благоприятни, от синтетична гледна точка, условия – в отсъствието на аргонова атмосфера и без съблюдаване на строго анхидридни условия.

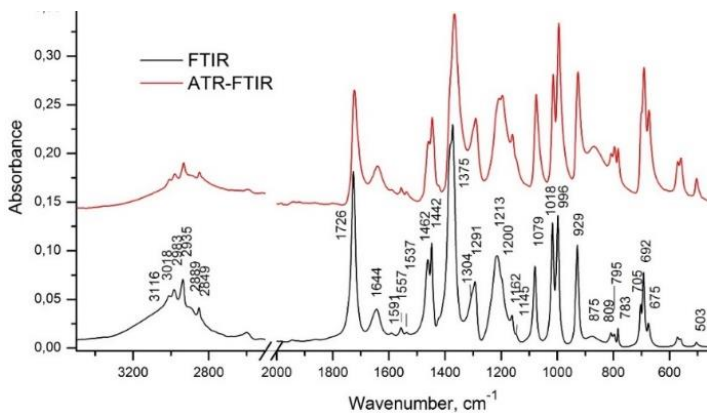
В повечето представени методологии работата с този реагент се провежда в строго анхидридна среда, тъй като разтворите на INO_3 не са стабилни при продължително съхранение, а неговото получаване следва да бъде извършено *in situ* в присъствието на органичната „мишена“/реагент. В една от методологиите обаче, въпросният реагент е получен при смесване на двата му прекурсора в хаван. Имайки предвид това, изглежда логично да се предположи, че дори в присъствието на вода (атмосферна влага) активността на реагента следва да бъде запазена изцяло.

Ето защо ние решихме да изследваме потенциала на модифицираната от нас методология в синтеза на целевата дийдозаместена киселина; без необходимостта от

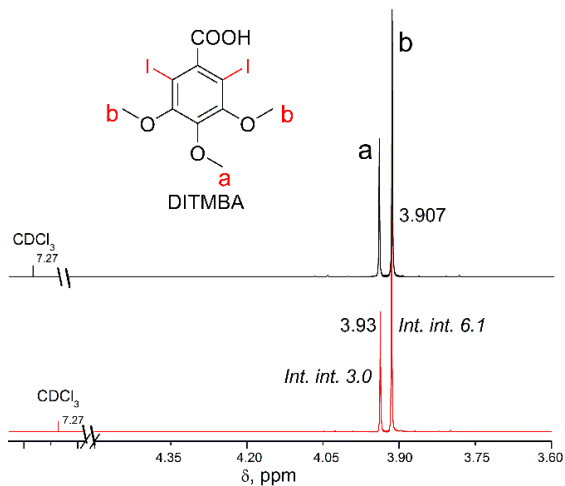
спазване на стриктно анхидридни условия. В тази връзка реакцията не е проведена в аргонова атмосфера. Отделно, към реакционната смес умишлено са въведени 100 μL вода. Противно на очакванията, в края на предвидения 24-часов реакционен интервал, привидно, регистрираме количественото изчерпване на въведения йод – знак, който носи първостепенна информация за количествения ход на планираната реакция. В следствие са получени и убедителни аналитични/инструментални (FTIR и NMR) доказателства по отношение на това.

Както се вижда от Фигура 1, профилите (или спектралните пръстови отпечатащи) на новополучения и докладвания порано FTIR спектър, напълно съвпадат; обстоятелство, което може да се възприеме като реално доказателство за идентичността на целевия продукт.

Тъй като въпросният анализ не може да предостави информация за чистотата на реакционния продукт, провеждането на допълнително изследване се оказва наложително. За да се получи обективна информация за този параметър, продуктът е допълнително подложен на ^1H NMR анализ (Фигура 2).



Фигура 1. FTIR спектри на DITBA, получени в безводна метанолна (черна линия) и водно-метанолна (червена линия) среда.



Фигура 2. ^1H NMR спектри на DITBA, получени в безводна метанолова (черна линия) и водно-метанолова (червена линия) среда.

В снетия ^1H NMR спектър (Фигура 2) присъствието на нереагирала еудесминова киселина, *de facto*, не се установи. Същото е валидно и за моноидозаместената (ITMBA) киселина. Освен това, броят и позицията на всички регистрирани резонансни сигнали съвпадат с тези, отразени в предходно наше проучване.

Следователно, наличието на минимално количество вода в реакционната смес не променя добива и чистотата на желанния продукт - DITMBA. Ето защо, с пълно основание, може да се твърди, че при наложените експериментални условия, поставената цел, а именно, да се осигури много по-„удобен“ метод за синтез на дийдозаместена еудесминова киселина (2,6-дийодо-3,4,5-триметоксибензоена киселина), е успешно реализирана.

Нещо повече, получените резултати могат да е използват и като доказателство за това, че във водно-метанолна среда, образувалият се *in situ* INO_3 реагент запазва своята активност/структурна цялост. Освен това, като косвено доказателство за същото, може да се представи и количественото преобразуване на въведения органичен реактант.

Ето защо представената препаративна методология притежава потенциала да бъде оптимална за синтеза на целевата DITMBA.

Потенциалът на реактантната двойка I_2/AgNO_3 е несъмнен за синтеза на ITMBA. Представените резултати дори я определят като предпочитана. Тези обстоятелства стоят в основата на нашите последвали спектрални и биологични

изследвания с по-големи количества от въпросните киселини.

Наред с това, от отделения неорганичен остатък (AgI) лесно може да се „възстанови“ изразходваното количество сребро (Схема 6).

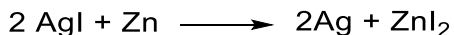


Схема 6. Взаимодействие между AgI и Zn.

В преходно проучване от нашия екип бяха представени и подробно оценени основните спектрални (FTIR и NMR) особености на DITMBA и по-точно на карбоксилната функционална група в ди-*ortho*-йодно обкръжение, а с това беше предложена и хипотезата, че същият функционал приема ортогонална конформация спрямо бензеновия пръстен. Въпреки, че всичко това е основано на връзката оптично поведение-структура, ние не успяхме да получим реално доказателство за тези заключения.

Ето защо, основният акцент в тази дисертационна разработка не поставяме единствено върху внедряването на нова, много по-„удобна“ за ползвателя стратегия за синтеза на DITMBA, но и за получаването (израстването) на нейни рентгено-квалитетни монокристали.

Монокристален DITMBA растеж

Загубите в структурната цялост на DITMBA кристали, възникваща по време на тяхното „сушене“ (в поток от сух аргон) от използвания органичен разтворител (кристализационната среда), могат да се възприемат като релевантен фактор, възпрепятстващ техния последващ SC-XRD анализ. Същото важи и за „кристало-свързаните“ с

разтворителя кристали, съхранявани в сухи стъклени флакони, в които използваният органичен разтворител (толуен) има възможността да заеме вътрешния им обем.

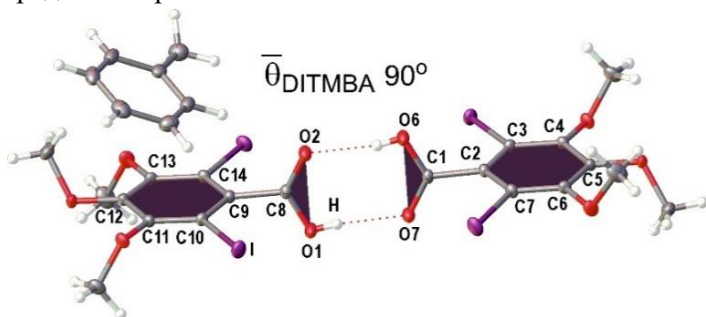
В опит да се запази структурната цялост на така получените DITMBA кристали, всички относително по-големи кристали са прехвърлени, с помощта на пинсета, от матерната луга в течен парафин. За целта е използван и подходящ стъклен флакон с по-малък вътрешен свободен обем. Така обработени, кристалите не променят „на пръв поглед“ своите характеристики – прозрачност и цялост. Впоследствие тяхното качеството е инструментално потвърдено като напълно приемливо. Въпросната киселина, както ще бъде представено по-долу, кристализира под формата на толуенов солватоморф.

В допълнение, успешно е получена също така и несолватираната кристална форма на същата киселина. Първоначалните ни опасения, относно термичната нестабилност на DITMBA, се оказаха напълно неоснователни. Неочаквано, при прекристализация на киселината из кипяща вода, в рамките на няколко минути получаваме фини, игловидни кристали. Добитите по този начин кристали са също така структурно (SC-XRD) и спектрално (Raman и UV) охарактеризирани.

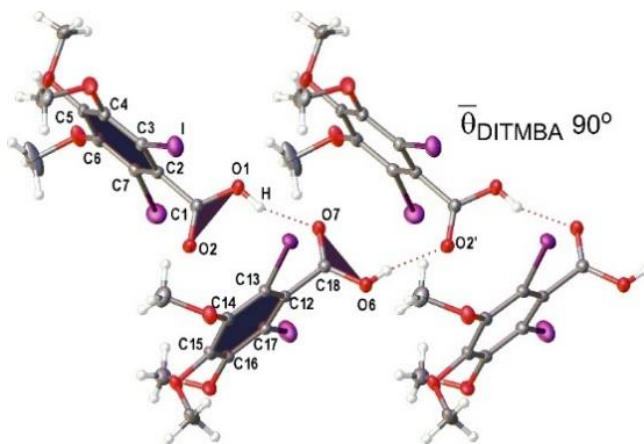
Рентгенова кристалография на DITMBA

DITMBA × толуен кристализира в пространствената група P-1 с две молекули киселина и молекула толуен в асиметрична клетка. В отсъствието на кристално включен разтворител, DITMBA кристализира в пространствена група P21/c; отново с две молекули в асиметрична клетка.

В паралел с докладваното по-рано за ITMBA, молекулната структура на DITMBA солватоморф, разкрива димерна подредба на две независими молекули посредством водородни връзки между техните COOH функционали (Фигура 3). Карбоксилните групи, в структурата на „лишената от разтворител“ DITMBA, образуват катемерна система от водородни връзки (Фигура 4). И в двата случая се наблюдава паралелно подреждане на пръстена както в изходната TMBA. В структурата на DITMBA × толуен димер кислородните контакти, на участващите във водородно свързване O-атоми, са O1•••O7 2.6157(19) и O2•••O6 2.6158(19) Å, докато съответните разстояния в катемерната DITMBA структура (без включен разтворител) те са по-дълги, O1•••O7 2.641(2) и O2•••O6 2.682(2) Å съответно. В ITMBA тези две O•••O разстояния са 2.627(9) Å, което е близко до тези на DITMBA × толуенов димер. Следва да се има предвид, че структурата на монодозаместеното съединение е определена при стайна температура, докато тези на DITMBA образци са определени при 123 К.



Фигура 3. Димерната структура на DITMBA × толуен



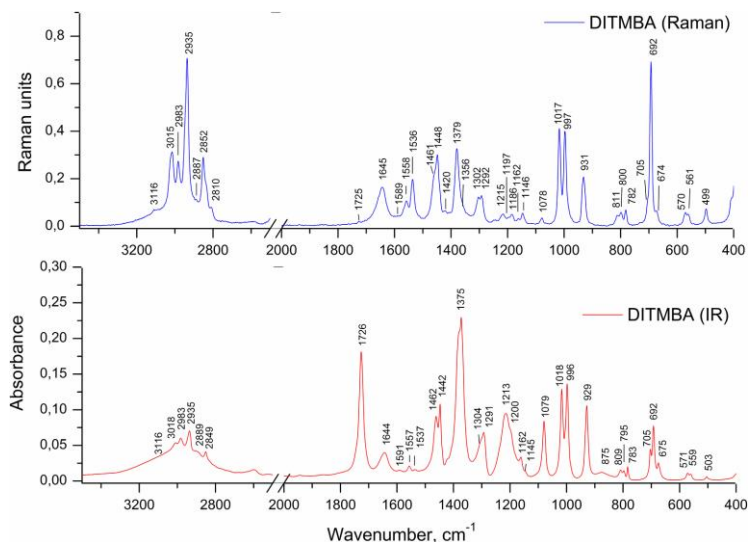
Фигура 4. DITMBA катемер

И в двете DITMBA структури карбоксилните групи са перпендикулярно ориентирани спрямо равнината на прилежащите им бензенови пръстени. В димерната солватоморфна структура отклоненията от хипотетичния (идеален) прав ъгъл са $2.84(7)$ и $4.85(7)^\circ$. В катемерната структура DITMBA те са по-малки - $0.04(7)$ и $1.96(7)^\circ$. За разлика от това, двустенният ъгъл между средните равнини на карбоксилната група и бензеновия пръстен в докладвания по-рано монозаместен еквивалент на тези киселини, ITMBA, се равнява на $14.3(5)^\circ$, което го прави ориентационно полуравнинен.

Вибрационен анализ на DITMBA

В предходната работа на I. Kolev и съавтори [99], свързана със същата киселина, е предположено, че DITMBA молекули образуват димерна структура в твърдо състояние. В настоящата дисертация ние предоставяме кристалографски данни, които показват, че молекулите на DITMBA,

лежат във взаимно перпендикулярни равнини. Както се вижда от Фигура 4, катемерът притежава равнина на симетрия, перпендикулярна на тази, организирана от C_6 остатъците. Първата равнина се характеризира с C_s симетрия. Това на практика означава, че всички вибрационни движения са активни и се проявяват както в IR, така и в Раман спектъра (Фигура 5).



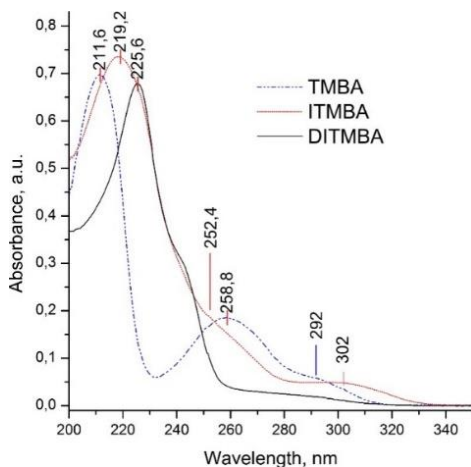
Фигура 5. Раман (синя крива) и IR (червена крива) спектри на DITMBA катемер в областта $3500 \div 400 \text{ cm}^{-1}$.

Съгласно квантово-химичните изчисления се наблюдават два вибрационни мода на катемерно-аранжираните карбонилни групи в IR и Раман спектрите. Единият е асиметричен (1726 cm^{-1}) с по-голям интензитет, а другият е симетричен (1644 cm^{-1}) с по-нисък интензитет. Разстоянието между тях е приблизително 82 cm^{-1} . Изчислените Раманови честоти прогнозираят, че

нискочестотната ивица е значително по-интензивна от високочестотната такава. Това реално се наблюдава в експерименталния Раманов спектър. Наблюдаваната високочестотна ивица на Н-свързаните DITMBA карбоксилни групи, може да се обясни не само с наличието на *ortho*-ефект (виж Фигура 5), но и с наложеното електростатично влияние на C-I диполи над тях.

UV спектрален анализ

Въпреки, че планарната архитектура на TMBA е дълбоко повлияна от *ortho*-позиционирания йоден атом, отличителните електро-спектрални характеристики на този (родителски) хромофор, остават незасегнати от него (Фигура 6). Всъщност, както се вижда от представената фигура, спектърът на ITMBA до известна степен наподобява този на изходната (TMBA) киселина. Освен това въпросната система реагира по очакван начин на наложения пространствен/стеричен ефект. В тази връзка, наблюдаваното „синьо” отместване на основната електрон-трансферна (ET) ивица с приблизително 7 nm може да се приеме като реална експериментална мярка за наличието на слаба пространствена интерференция, наложена от въведения йоден атом върху конюгираната TMBA система. Същата закономерност се наблюдава и в случая на изоморфната монобромозаместена киселина, където моделът на заместване е идентичен, а наложеният пространствен ефект е дори още по-слабо изразен.



Фигура 6. UV спектри на TMBA (синя, пунктирана крива), ITMBA (червена крива) и DITMBA (черна, плътна крива).

По отношение на вторичната ЕТ ивица на същия продукт с много по-нисък интензитет, нейният максимум се отмества приблизително с 7 nm в „червената“ област; т.е. в очакваното направление. Същото се отнася и за най-интензивната (бензеноидна) ивица в спектъра. Ефективното участие на халогенния атом, при спречение с родителската система, в този случай е най-вероятната причина за наблюдаваното батохромно отместване на въпросните ивици. Разбира се, влиянието на останалите заместители в профила на общата абсорбция (ITMBA) е трудно да се оцени, поради „електронно-амфотерния“ характер (p-електрондонорен и d-електронакцепторен) на разглеждания халогенен атом. В представения раздел промените в интензитета на наблюдаваните ивици умишлено не се обсъждат, предвид очакваната експериментална неопределеност в процеса на пробоподготовка.

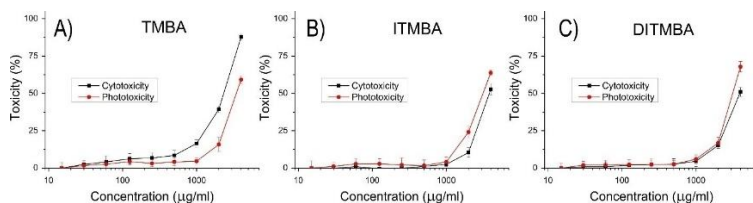
Що се отнася до спектъра на DITMBA, в него е конституиран *suigeneris* спектрален феномен (Фигура 6). Предполага се, че отсъствието на ЕТ ивици в спектъра на DITMBA изглежда напълно оправдано, когато разглежданият двустенен ъгъл, θ_{DITMBA} (Фигури 3 и 4), достигне своята гранична стойност или, с други думи, когато очакваното резонансно взаимодействие между карбоксилния и ароматния функционал е напълно преустановено. Ивицата на поглъщане (λ_{max} 221 nm), регистрирана в спектъра на въпросния продукт, се явява единствено доказателство за реализираните р- π електронни взаимодействия между "изолирания" (от наличието на карбоксилния функционал) бензенов хромофор и останалите пет +M заместителя.

Разбира се, същото явление е наблюдавано и от други автори, но за различно заместени бензеноиди - бифенили, нитробензени, ацетофенони и др., в които участието на ароматния остатък в общото спрежение е също напълно преустановено. Следователно би било разумно да се предположи, че ортогоналността (установена в кристално състояние) между бензеновия пръстен и карбоксилната функционална група в пренаселената с йод DITMBA система е присъща и за разредените разтвори на въпросната киселина.

***In vitro* анализ на цито- и фототоксичност на DITMBA**

Изследвана е *in vitro* цитото- и фототоксичността на DITMBA, ITMBA и TMBA с помощта на 3T3 NRU тест. За целта използваните клетки са инкубирани с изпитваните вещества в концентрационния интервал от 15 до 4000 $\mu\text{g/ml}$ за 24 часа при стандартни условия. Цитотоксичността/

фототоксичността е изразена в %; спрямо отрицателна контрола. Получените резултати са представени на Фиг. 7.



Фигура 7. Криви доза-отговор за цитотоксичност и фототоксичност определени с клетъчна линия BALB 3Т3.

А) TMBA, В) ITMBA, С) DITMBA. Стойностите са осреднени \pm SD от три независими експеримента, $n = 6$.

Таблица 1. Средни стойности за CC_{50} и стойност на PIF.

Клетъчна линия	Образец	CC_{50} средна стойност \pm SD ($\mu\text{g/ml}$)		PIF*
		Цитотоксичност	Фототоксичност	
BALB 3Т3	TMBA	2438.14 \pm 65.74	3580.93 \pm 61.84	0.68
	ITMBA	3854.91 \pm 145.18	3298.76 \pm 121.16	1.17
	DITMBA	3899.02 \pm 101.38	3306.29 \pm 85.43	1.18
	Acridine Orange**	5.51 \pm 0.33	0.14 \pm 0.06	39.3

* PIF (фактор на фотодразнение), $PIF < 2$ не е фототоксичен, $PIF \geq 2$ и < 5 вероятна фототоксичност, $PIF \geq 5$ фототоксичен.

** Положителна контрола (фототоксично съединение).

Стойностите на CC_{50}/PC_{50} (50% цитотоксична/фототоксична концентрация) са изчислени чрез нелинеен регресионен анализ на основа установените зависимости доза-, „биологичен отговор“ (Таблица 1). За всяко тествано

съединение получените CC_{50} стойности могат да се използват и за определяне на т. нар. PIF (фактор на фотодразнение): $PIF = CC_{50}/PC_{50}$

За всички тествани съединения изчисленият $PIF < 2$, което демонстрира високо ниво на фотобезопасност. Цитотоксичността на ITMBA и DITMBA ($CC_{50} = 3854.91 \pm 145.18$ и $3899.02 \pm 101.38 \mu\text{g/ml}$ съответно) е значително по-ниска ($p < 0.001$) от тази на TMBA ($CC_{50} = 2438.14 \pm 65.74 \mu\text{g/ml}$). Резултатите разкриват, че TMBA, ITMBA и DITMBA са безопасни за локално приложение.

В заключение може да се обобщи, че е въведен нов високоефективен препаративен метод за синтез на 2,6-дийодо-3,4,5-триметоксибензоена киселина (DITMBA). Бивайки екологосъобразен и високодобивен посоченият метод може да се използва за синтеза на значителни количества от въпросната киселина.

В допълнение, успешно са установени два метода, позволяващи кристализацията на DITMBA под формата на толуенов солватоморф и на несолватиран катемер. По този начин границата на специфичния за DITMBA *ortho*-ефект, приет по-рано, намери своето кристалографско потвърждение.

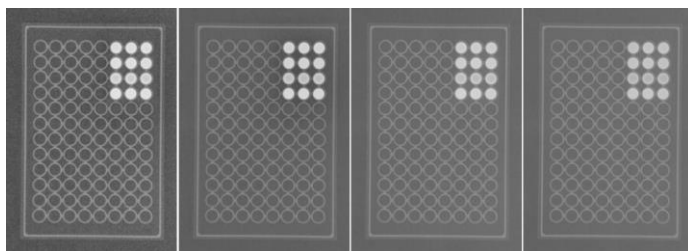
Освен това, както показват резултатите от настоящия и предходен вибрационен анализ, най-вероятно, с отстраняване на кристално включения толуен, се реализира реструктуриране на DITMBA димер в нецентросиметричен катемер.

От друга страна, данните от направения UV анализ свидетелстват, че дори в разтвор обсъжданата киселина

запазва своята специфична ортогонална (или квазиортогонална) конфигурация.

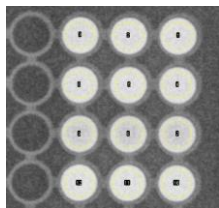
Тъй като се предполага, че DITMBA киселина е фоточувствителна, то ние установяваме, че тя не показва признаци на фотоиндуцирана токсичност спрямо тестовата клетъчна линия BALB/3T3 клон А31.

На Фигура 8 са представени експерименталните рентгенови микрографии на импровизиран фантом с радиоконтрастни вещества при 40, 60, 80 и 100 kV. Както се вижда, с увеличаване на kV се наблюдава по-нисък контраст на изображенията, което би могло да се дължи на увеличената вероятност за *Compton* 'ово взаимодействие. Освен това визуално контрастът на NaDITMB е малко по-нисък в сравнение с този на останалите вещества.

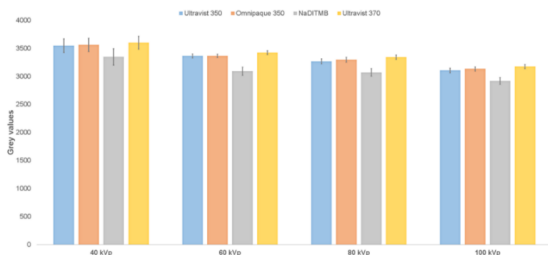


Фигура 8. Рентгенови изображения на контрастния фантом при 40, 60, 80 и 100 kVp (отляво надясно). Първи ред - Ultravist 350; втори ред - Omnipaque 350; трети ред – NaDITMB; четвърти ред - Ultravist 370.

Фигура 9 представя реализираното измерване на различните радиоконтрастни агенти в съставения фантом. Обобщени са резултатите от анализирания области с площ 24.576 mm^2 за всеки контрастен материал.



Фигура 9. Измерени стойности на „сивото” за изображения на фантом. Избраната площ е еднаква за всички контрастни йодни агенти и се равнява на $24,576 \text{ mm}^2$. Зона 1-3 съответства на Ultravist 350, зона 4-6 - на Omnipaque 350, зона 7-9 - на NaDITMB, докато зона 10-12 представя Ultravist 370.



Фигура 10. Измерени стойности на „сивото” за изображените контрастни материали.

Сравняването на отделните стойности (в скалата на „сивото”) между различните контрастни материали (Фигура 10) потвърждава констатациите от симулационното изследване (Фигура 9). Докато клинично използваните контрастни материали демонстрират почти същите стойности на „сивото”, предложеният NaDITMB показва малко по-ниски такива. Тази тенденция се запазва за всички енергийни нива. При много ниска енергия (от 40 kV) е очевидно, че несъответствието между NaDITMB и

Iohexol 350 (Omnipaque), както и Ultravist 350, е несъществено. Всъщност 40 kV представлява по-ниският енергиен обхват на рентгенографска техника с общо предназначение, където потокът на фотоните може да е недостатъчен за получаване на изображения с намалени флуктуации. За по-високите kV, резултатите убедително демонстрират по-малка разлика между NaDITMB и Omnipaque. Този контраст става особено очевиден с максимално отклонение от 8% при 60 kV на рентгеновия лъч.

Данните от настоящото изследване могат да се обобщят по следния начин: DITMBA може да се използва като алтернатива на клинично използваните радиоконтрастни агенти в изграждането на нови, физични фантоми, предназначени за контрастно-усилената маммография.

Данните, които подкрепят констатациите от това проучване, са публично достъпни на <http://doi.org/10.5281/zenodo.8296786>.

3. СИНТЕЗ НА 2-ЙОДО-3,4,5-ТРИМЕТОКСИБЕНЗАЛДЕХИД

3,4,5-Триметоксибензалдехид - реакции на халогениране (йодиране, бромиране), окисление

Ароматните алдехиди намират широко приложение в производството на лекарствени вещества, багрила, пестициди и пр. Така напр., 3,4,5-триметоксибензалдехидът (ITMBD) се прилага в синтеза на *Trimethoprim*.

В тази връзка Harfenist, а също и F. Ziegler, получават 2-йодо-3,4,5-триметоксибензалдехид посредством окисление на 2-йодо-3,4,5-триметоксибензилов алкохол с MnO_2 в разтвор на бензен. Методиката е използвана и за синтеза на 2-бromo-3,4,5-триметоксибензалдехид. Като алтернативен, може да бъде използван и развития от В. Ніran и съвт., метод на окисление на 3,4,5-триметоксибензалдехид с пиридиниев флуорохромат (PFC) в среда от N,N -диметилформаид (DMF) и в присъствие на *para*-толуенсулфонова киселина (TsOH).

2-йодо-3,4,5-триметоксибензалдехид

В тази връзка, 2-йодо-3,4,5-триметоксибензалдехид (Схема 7) е получен за първи път от Bradley и съвт. като към разтвора, на реактантния алдехид в CH_2Cl_2 , авторите добавят предварително приготвен разтвор на сребърен (I) трифлуороацетат ($AgCOOCF_3$) и към получената смес впоследствие те внасят наситен разтвор на йод. Същата методология е използвана от М. Nunn и съватори.

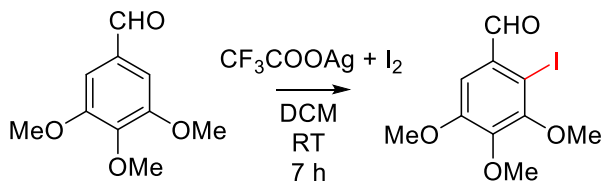


Схема 7. Синтез на 2-йодо-3,4,5-триметоксибензалдехид по метода на Bradley.

N. Nicolaus и съвт. заменят използвания от Bradley дихлорометан с хлороформ.

S. Rossington и сътрудници йодират ароматния алдехид посредством използваната от Suzuki и съавт. йодираща система I_2/H_5IO_6 (Схема 8).

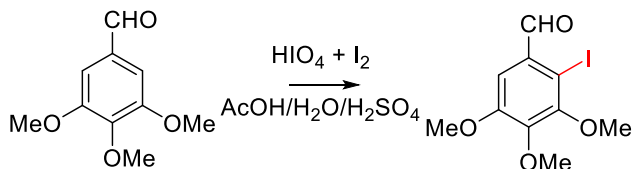


Схема 8. Синтез на 2-йодо-3,4,5-триметоксибензалдехид посредством реагентната двойка I_2/ H_5IO_6 .

W. Gao и съавт. получават 2-йодо-3,4,5-триметоксибензалдехид използвайки N-йодосукцинимид (NIS) в качеството на йодиращ реагент (Схема 9).

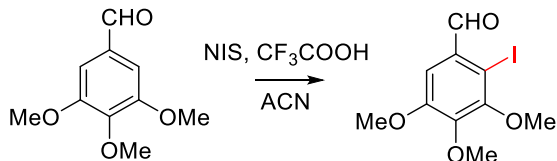


Схема 9. Синтез 2-йодо-3,4,5-триметоксибензалдехид с йодиращ реагент N-йодсукцинимид (NIS).

M. Nunn синтезира 2-бромо-3,4,5-триметокси-бензалдехид използвайки разработения от Brown и съавт. метод на директно бромане на алдехида с молекулен бром в среда от хлороформ. Продуктът авторите получават в 99% добив (Схема 10).

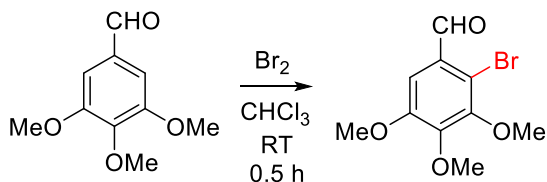


Схема 10. Синтез на 2-бromo-3,4,5-
триметоксibenзалдеhid по метода на Brown.

Полученият от същите автори йодиран алдеhid е използван за синтеза на други, много по-сложно устроени от структурно гледище съединения – стилбенови, фенантrenoви производни (Схема 11) и др.

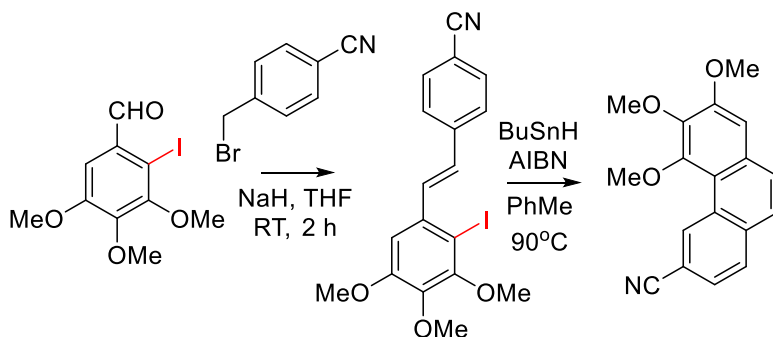


Схема 11. Синтез на йодостилбен и 5,6,7-триметокси-3-
фенантренкарбонитрил от ITMBD.

Възможността, да изследваме потенциала на системата $I_2/AgNO_3$ в синтеза на заглавното съединение, е отново поставена.

Използвайки тази йодираща система, А. Pangoan и съвт. успяват да получат 2-йодо-5-метоксibenзалдеhid и 2-йодо-4,5-диметоксibenзалдеhid (Схема 12).

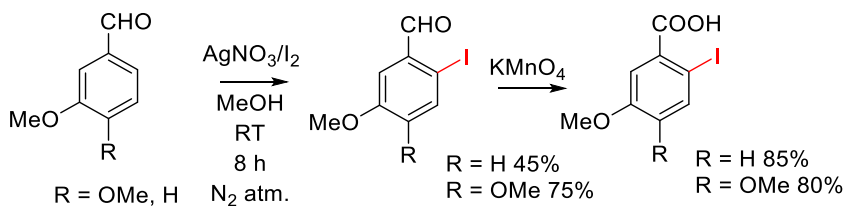


Схема 12. Получаване на *орто*-йодозаместени производни на бензалдехида и на бензоената киселина.

Действително, използвайки посочената йодираща система, ние успяхме да добием желания ароматен алдехид в количествен добив (Схема 13). ITMBD е изолиран под формата на бледожълти, иглести кристали в добив от 85 до 92%; М.р. 55 ÷ 57°C; 66 ÷ 66.5°C; 68 ÷ 69°C.

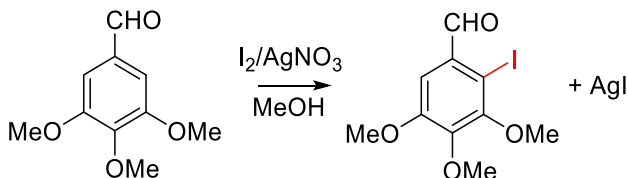
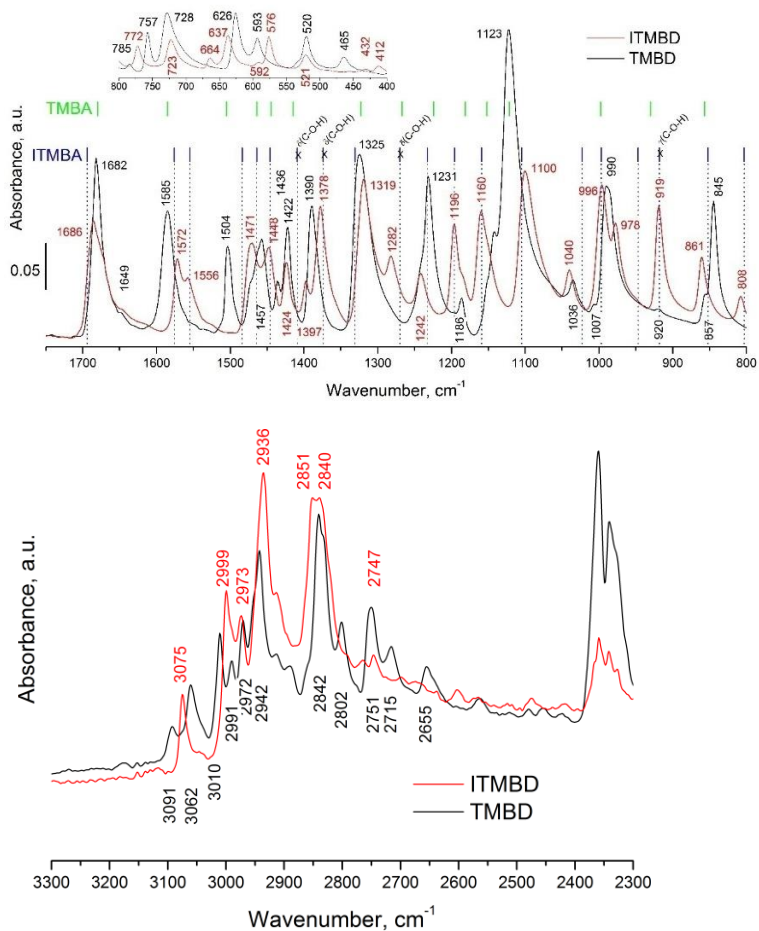


Схема 13. Синтез на 2-йодо-3,4,5-триметокси-бензалдехид (ITMBD) със системата I_2/AgNO_3 в среда от метанол.

Молекулният състав на получения продукт определяме посредством ATR-FTIR спектроскопия.

Вибрационен анализ на ITMBD

Отнасянето на вибрационните честоти е осъществен посредством сравнителен анализ на снетия спектър на 2-йодо-3,4,5-триметоксибензалдехид (ITMBD; Фигура 11) с тези на 3,4,5-триметоксибензалдехид, 3,4,5-триметоксибензоена киселина (ТМВА), 2-йодо-3,4,5-триметоксибензоена киселина (ITМВА) и свързаните с нея други производни.



Фигура 11. ATR-FTIR спектри на 2-йодо-3,4,5-триметоксибензалдехид (червена линия) и 3,4,5-триметоксибензалдехид (черна линия) в областта $3300 \div 400 \text{ cm}^{-1}$; със сини и зелени вертикални линии са представени позициите на абсорбционните максимуми на ITMBA и TMBA.

В ATR-FTIR спектъра на 2-йодо-3,4,5-триметокси бензалдехида ивиците, приписани на асиметричните валентни трептения на C-H връзките, се наблюдават при 2973 и 2936 cm^{-1} , а тези, свързани със симетричните валентни C-H трептения - при 2840 cm^{-1} . Тук е редно да се отбележи, че в спектъра на въпросния продукт не се наблюдава характерното за карбоксилните киселини „хало“ от 2400 до 2800 cm^{-1} , присъщо за асиметричните O-H...O валентни вибрации. Факт, който отхвърля окислителния потенциал на използвания реагент спрямо присъстващата СНО група. Абсорбционни ивици, характерни за асиметричните и симетрични C-H деформационни вибрации, откриваме съответно при 1488 и 1424 cm^{-1} .

В допълнение, три средно- до високо интензивни ивици се наблюдават при 990, 1100 и 1282 cm^{-1} . Последните могат да бъдат рационално свързани с вибрациите на наличните три MeO групи, а именно: със симетричните и асиметричните O-CH₃ валентни вибрации, както и с вибрационното движение на C-OCH₃ връзки. Ивици, наблюдавани в спектъра на разглеждания продукт при 757, 728 и 432 cm^{-1} , могат да бъдат приписани на валентни и деформационни C-OCH₃ вибрации. От друга страна, регистрираните при 1160 и 1196 cm^{-1} ивици корелират добре с махаловидните трептения на CH₃ молекулни остатъци.

Обикновено присъстват две двойки абсорбционни ивици в областта 1650–1320 cm^{-1} , свързани с тангенциалните вибрации на ароматната C=C връзка. Съгласно всеизвестните Wilson'ови нотации тези ивици се обозначават като 8a, 8b, 19a и 19b. Като цяло, позицията им и тяхната интензивност се влияят не само от естеството, но

и от броя и позицията на заместителите в ароматния пръстен. В спектъра на изоморфно заместената ITMBA се наблюдават три от тези ивици със среден интензитет при 1577, 1554 и 1484 cm^{-1} , а в спектъра на ITMBD – при 1572, 1556 и 1471 cm^{-1} . Интересното е, да се отбележи, че присъствието на четвъртата ивица не може да бъде адекватно отнесена/установена, по причина, че тя най-вероятно е „скрита“ в наличните ивици, характерни за метиловите, асиметрични и симетрични C-H деформационни трептения или сред останалите такива, локализирани в честотния интервал от 1320 ÷ 1500 cm^{-1} .

Според G. Varsanyi честотните области на 14 (*Kekule*), 1 („дишащи“) и 12 (деформационни) вибрации са съответно 1200–1260, 1120–1200 и 1020–1090 cm^{-1} . Честотните стойности на тези движения, налични в спектъра, се регистрират при 1242, 1186 (рамо) и 1040 cm^{-1} .

Ивиците с много слаб до среден интензитет, наблюдавани при 808, 785, 664, 637, 592, 521 и 412 cm^{-1} , се приписват на деформационните ССС трептения на ароматния фенилов остатък.

Според E. Mooney, валентните трептения на C–X групи (X = Cl, Br и I) попадат в честотния обхват от 1129 до 480 cm^{-1} . Обикновено йод-съдържащите съединения абсорбират в много по-тесен честотен интервал - от 650 до 450 cm^{-1} . В спектъра на въпросния алдехид ивицата, наблюдавана при 576 cm^{-1} , може да се определи като присъща за C_{Ar}-I трептения.

Присъствието на алдехидна група в ATR-FTIR спектъра на ITMBD регистрираме по наличната абсорбционна ивица с

максимум при 1686 cm^{-1} . Значителното изменение в профила на последната използваме като допълнителна индикация за присъствието на йоден атом в молекулната структура на продукта. Наблюдаваното отместване в „синята“ област е показателно за наличието на силно вътремолекулно, електростатично взаимодействие предавано през пространството между съседно позиционирания йоден и кислороден атом. Увеличаването на честотата на вибрационните C=O движения следва да бъде свързано и с редуцираното участие на последната в резонансни взаимодействия с ароматната система. Трябва да се отбележи също, че подобен ефект е установен и в случая на ITMBA.

Тъй като COOH функционал може да бъде причина за невъзможното участие на ITMBA в реакцията на Хек, ние решихме да проведем аналогични изследвания с получения ITMBD.

В нито едно от осъществените няколко взаимодействия, с посочения алдехид, ние не успяхме да постигнем формирането на желаните продукти (Схеми 14-16).

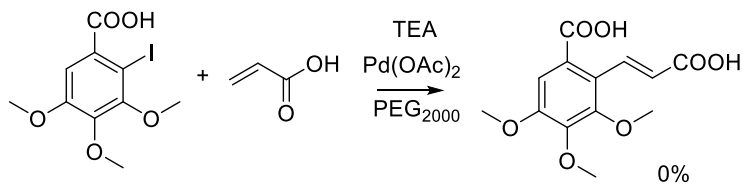


Схема 14. Синтез на 2-(2-карбоксивинил)-3,4,5-триметоксibenзоена киселина.

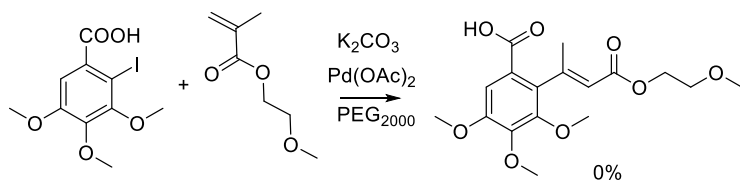


Схема 15. Синтез на 3,4,5-триметокси-2-(3-(2-метоксиетокси)-2-метил-3-оксопроп-1-ен-1-ил)бензоена киселина.

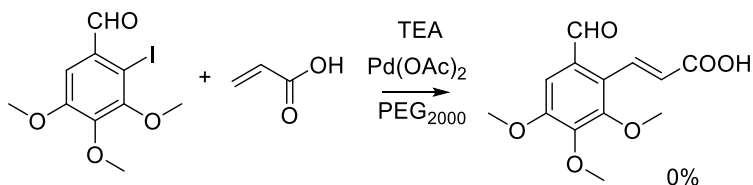


Схема 16. Синтез на 3-(6-формил-2,3,4-триметоксифенил)акрилова киселина в присъствието на ТЕА.

Следователно като причина, за невъзможността за участие на ITMBA и ITMBD в посочената реакция, следва да изгъкнем стеричната природа на наличните заместители (метокси и карбоксилна/алдехидна група), които възпрепятстват участието на този тип субстрати в С-С куплиране с α -ненаситени естери и киселини.

4. СИНТЕЗ НА 2,6-ДИБРОМО-3,4,5-ТРИМЕТОКСИБЕНЗОЕНА КИСЕЛИНА

Броморганичните съединения са също така високо ценени прекурсори в органичния и фармацевтичния синтез. Тяхното участие в реакциите на хомо- и кръстосано свързване е безспорно и дори предпочетено, предвид

инертността на този тип връзки спрямо електромагнитното лъчение от видимата част на спектъра.

Редица бромирани агенти се използват за техния синтез, но само някои от тях изглеждат напълно безопасни за потребителя-химик и за околната среда. Ето защо в настоящият раздел е представен нов и екологосъобразен метод за синтеза на 2,6-дибромо-3,4,5-триметоксибензоена киселина (Схема 17), въпреки, че последната може да бъде свободно закупена от различни производители.

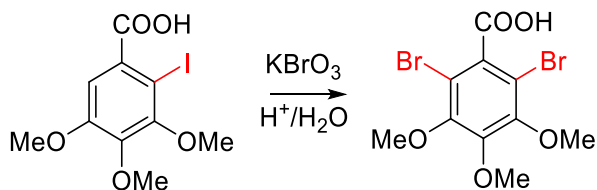


Схема 17. Синтез на 2,6-дибромо-3,4,5-триметоксибензоена киселина

2,6-дибромо-3,4,5-триметоксибензоената киселина (DBrTMBA) е получена в опит да синтезираме смесена халогенозаместена TMBA. Вместо желания продукт (BrTMBA) е отделен такъв, в чиято структура посредством SC-XDR анализ регистрирахме присъствието на два идентични халогенни (бромни) атома. Като причина за появата на това съединение представяме проявата на две последователни реакции спрямо ползваната киселина/прекурсор - 2-йодо-3,4,5-триметоксибензоена киселина, а именно: тази на желаното бромране и неочаквано трансхалогениране на йоден с бромнен атом. Въпросният синтез е реализиран с използването на KBrO₃ в сярно-кисела среда (Схема 17).

KBrO₃ се явява удобен източник на молекулен бром. Този реагент се използва, както за бромиране на дезактивирани ароматни съединения, така и в осцилаторни реакции. Разтворим е във вода, но е почти неразтворим в алкохол. За аналитични цели той се суши при 100–110°C за 1 час. KBrO₃ е силен окислител (стандартен потенциал 1.44 V) с относително ниска токсичност. По време на неговото съхранение трябва да се внимава, той да не попада в контакт с минерални киселини и органични съединения.

KBrO₃ (вкл. и NaBrO₃) реагират количествено с KBr в разредени разтвори на минерални киселини (обикновено в тези на сярна киселина):



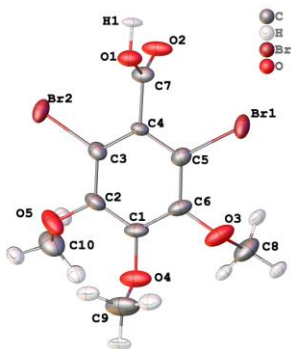
Полученият *in situ* Br₂ представлява удобен реагент за бромиране на алкени и ароматни съединения. С него са бромирани успешно и метилкетони, заместени циклохексенони, тиофен, органоборни съединения, циклопентаметилен-дифенилкаласни съединения, а също и сулфонилхидразида.

Подобно на представената по-горе 2,6-дийодо-3,4,5-триметоксибензоена киселина (DITMBA) кристалната структура на заглавното дибромно съединение е съставена от катемерно свързани, посредством водородни връзки, DBrTMBA молекули.

Рентгенова кристалография на DBrTMBA

DBrTMBA (Фигура 12) кристализира в моноклинна пространствена група - P2₁/n. Във всяка асиметрична

клетка ($Z=4$) е установено присъствието на само една молекула от въпросната киселина.



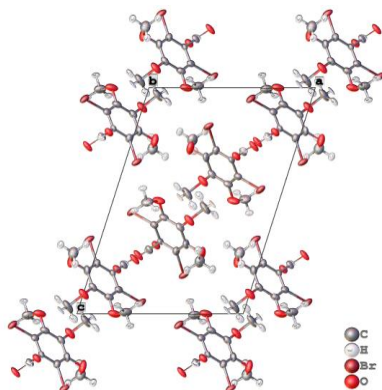
Фигура 12. Схема на структурата и означенията на DBrTMBA.

Според получените данни, кристалът DBrTMBA е прозрачен, безцветен игловиден, с размери $0.08 \times 0.06 \times 0.03 \text{ mm}^3$ от DBrTMBA, подходящ за SC-XRD анализ, е подбран и монтиран на дифрактометър Rigaku Oxford Diffraction Super Nova. Дифракционният модел е получен с помощта на AtlasS2 CCD детектор, обработен е и финализиран с помощта на CrysAlisPro (42.92a) софтуер (Rigaku Oxford Diffraction, 2019).

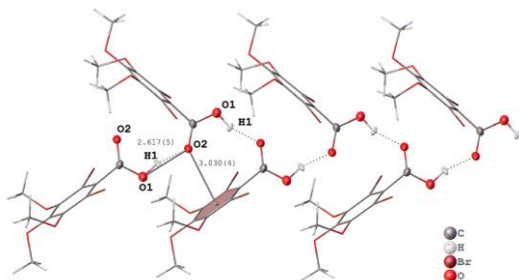
За разлика от плътно свързаните, посредством двойка водородни контакти, молекули на моно- и дийодо-3,4,5-триметоксибензоена киселина (ITMBA и DITMBA.толуен), полученият продукт не формира H-свързана димерна структура в твърдо състояние (Фигура 13). Вместо това се наблюдава непрекъснатата верига, от водородни връзки (22281408_rev.cif) в кристалографско направление b , свързваща отделните молекули на DBrTMBA.

Следователно, от структурно гледище, надмолекулната структура на DBrTMBA наподобява тази на докладваната по-рано DITMBA.

Определеното разстояние на междумолекулното водородно (O1—O2) взаимодействие в DBrTMBA е 2.617 (5)Å (Фигура 14).

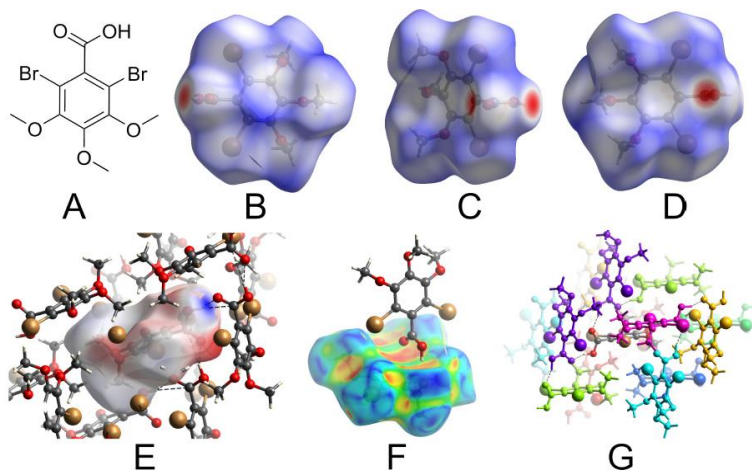


Фигура 13. Опаковка на DBrTMBA по кристалографската *b*-посока.



Фигура 14. Синдиотактично разположение на молекули DBrTMBA в кристалографско направление *b*.

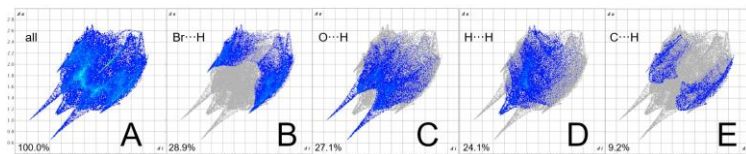
Друга интересна структурна особеност, в този синдиотактичен образец, откриваме в контактното (I_p)—π(C₆) взаимодействие между карбонилния-O₂ атом и геометричния бензенов център; от 3.030 (4)Å (Фигура 14). Този контакт вероятно възпрепятства възможността за реализиране на димерен тип структура присъща, както за ITMBA, така и за образца DITMBA × толуен. В последния, молекулата на толуеновия разтворител най-вероятно „възпрепятства“ реализирането на този тип взаимодействие. Карбоксилната група на DBrTMBA (O1-C7-O2) приема конфигурация близка до ортогоналната (86,7 (2)°) спрямо средната геометрична равнина на пръстен C₆. Регистрираното отклонение е медиално спрямо докладваните стойности за DITMBA катемер. За да се придобие по-подробна информация, относно кристалното DBrTMBA „опаковане“ и приноса на отделните (най-близки) контакти на междумолекулно взаимодействие, е използвана специализирана софтуерна програма (Crystal Explorer), позволяваща провеждането на *Hirshfeld* анализ. На Фигура 19 (изображения С и D) са представени реализираните най-близки контакти на взаимодействие за DBrTMBA, а именно – водородно свързване и взаимодействие от типа O(I_p)—π(C₆) в подфигура F. Свойствата на водородния контакт са визуализирани посредством картографиране на електростатичния потенциал на *Hirshfeld*-овата DBrTMBA повърхност (E).



Фигура 15. Химична структура (А) и три различно ориентирани (В-Д) DBrTMBA с d-Hirshfeld повърхност; (Е) най-близки контакти и електростатичен потенциал (-0.077, 0.252); (F) кривина на Hirshfeld-овата повърхност и (G) съседно локализирани молекули.

На Фигура 20-G, в различни цветове, са представени енергиите на междумолекулно взаимодействие. Както се очаква, най-силно междумолекулно взаимодействие се реализира в контактното Н и O(lp)— π (C6) взаимодействие (лилаво оцветената съседна молекула).

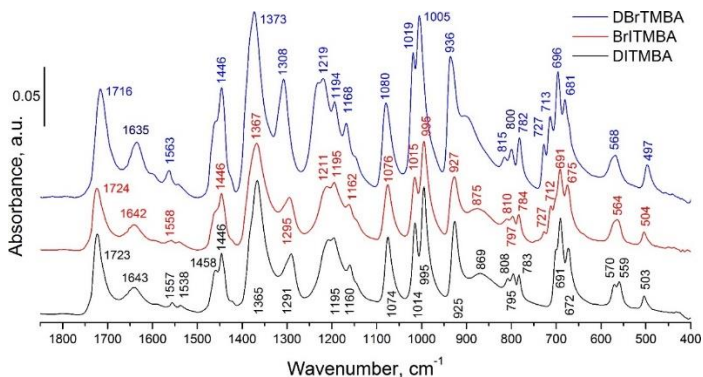
Графиките на пръстовите отпечатьци (Фигура 16) представят различията в степента на междуатомно взаимодействие за Br—H, O—H, H—H и C—H връзки, което разкрива високата степен на Br—H и O—H взаимодействия.



Фигура 16. Графики на пръстови отпечатъци на повърхността на Hirshfeld за DBrTMBA.

ATR- FTIR анализ на DBrTMBA

Вибрационните честоти на DBrTMBA са определени чрез сравнителен анализ на данните от неговия IR спектър с тези на DITMBA и на смесената, халогенозаместена BrITMBA (Фигура 17). По този начин можем да наблюдаваме важни спектрални промени при заместване на йодни с бромни атоми. Както може да се очаква, тази структурна трансформация засяга главно вибрациите на бензеновия пръстен C-Br карбоксилната група и в по-малка степен вибрациите на H_3C-O групите.



Фигура 17. ATR-FTIR спектър на DBrTMBA (синя линия), DITMBA (черна линия) и BrITMBA (червена линия) в $1800 \div 400 \text{ cm}^{-1}$ диапазон.

Вибрации на фениловия пръстен

Значителна промяна в молекулното силово поле се наблюдава при „дишащите“ бензенови вибрации попадащи в $1600 \div 1450 \text{ cm}^{-1}$ област (Фигура 17). В представения спектър се откриват три от тези ивици с относително висок до среден интензитет.

Позицията и интензитета на посочените ивици зависят преди всичко от природата, броя и локализация на заобикалящите ги заместители. В спектъра на DBrTMBA тези ивици се регистрират при $1601, 1563$ и 1544 cm^{-1} , а в спектрите на образците DITMBA и BrITMBA - при $1588, 1557, 1538$ и $1594, 1558, 1542 \text{ cm}^{-1}$.

Ивиците със слаб до среден интензитет, наблюдавани в спектъра на DBrTMBA при $904, 815, 696, 681, 568$ и 497 cm^{-1} най-вероятно характеризират бензеновите C=C-C деформационни трептения.

В спектъра на DBrTMBA ивиците, характерни за валентните асиметрични и симетрични C-Br вибрации, се наблюдава при 713 и 727 cm^{-1} (Фигура 17).

Особености и специфично спектрално поведение на DBrTMBA катемер.

В кристална фаза, по подобие на DITMBA, молекулите на DBrTMBA взаимодействат образувайки безкраен катемер-асоциат. В IR-спектърът на DBrTMBA ивиците, характерни за $\nu(\text{C}=\text{O})$ трептенията, се наблюдават при честоти 1635 и 1716 cm^{-1} (Фигура 17).

Необикновеното спектрално поведение на DBrTMBA катимер следва да бъде рационално приписано на два ефекта:

- този на наложения стеричен ефект от бромни атоми върху карбоксилния функционал, който предизвиква нарастване на честотата на валентното $\nu(\text{C}=\text{O})$ трептене, извън-равнинните $\gamma(-\text{O}-\text{H}\dots\text{O})$ и $\delta(\text{C}-\text{O}-\text{H})$ трептения (виж Фигура 17) и
- този на наличния поляризационен ефект (електростатично взаимодействие през пространството) между C-I диполи с този на карбоксилния функционал.

Структурните промени, явяващи се следствие от проявения *ortho*-ефект, се изразяват в измененията на двустенния ъгъл θ сключен между равнините на карбоксилните групи и ароматните пръстени.

Валентните O-H вибрации на карбоксилния DBrTMBA функционал следва да са особено чувствителни спрямо установените електронно-структурни ефекти. Профилът на O-H ивиците обаче е изключително сложен в кристално състояние. В този и други случаи, валентните O-H трептения са представени от значително широка абсорбционна ивица, заемаща областта от 3200 до 2500 cm^{-1} . Припокриването на тази широка O-H ивица с присъстващите в областта няколко C-H₃ ивици (характерни за трите налични -OCH₃ групи) затруднява допълнително коректното отнасяне на валентните трептения на тези групи при 3146 и 3071 cm^{-1} . Въпреки това, характерното извън-равнинно $\gamma(-\text{O}-\text{H}\dots\text{O})$ трептене на киселинния функционал

се оказва значително по-информативно и показателно за неговата сила. Наблюдаваното високочестотно отместване на тази ивица в спектъра на DBrTMBA (при 937 cm^{-1}), в сравнение с тази в DITMBA спектър (при 925 cm^{-1}), е придружено и от незначително увеличение интензитета на първата. Липсата на спрежение, между киселините функционали на DBrTMBA и DITMBA и на техните бензенови остатъци, би следвало да намали силите на междумолекулно свързване, което би предизвикало и тяхното нискочестотно отместване. Въпреки това, C-I и C-Vr диполи на ITMBA и VrTMBA би следвало да оказват много по-силен поляризиращ ефект върху наличните им карбоксилни функционали, отколкото тези на DITMBA и DBrTMBA, поради факта, че последните попадат в равнина перпендикулярна на равнината на ароматните им пръстени. Резултатът се изразява в регистрираната по-слаба поляризация на DITMBA и DBrTMBA C=O...H-O-, „катемерно-свързани“ групи поради пространственото разположение на техните C-I и C-Vr диполи. Това обяснява по-високата честота на наблюдаваната извън-равнинна $\gamma(-\text{O}-\text{H}...\text{O})$ ивица в инфрачервените спектри на двата катемерни образца.

Двете равнинни деформационни трептения $\delta(\text{C}-\text{O}-\text{H})$ на ITMBA са локализирани при 1406 и 1373 cm^{-1} . Двойката равнинни деформационни $\delta(\text{C}-\text{O}-\text{H})$ честоти в инфрачервения спектър на DITMBA могат да бъдат отнесени като син- и антифазни, на които съответстват спектрални ивици с нисък и висок интензитет. За разлика от спектралните данни за ITMBA, тези за $\delta(\text{C}-\text{O}-\text{H})$ на DITMBA и DBrTMBA се наблюдават при 1425 и 1365 cm^{-1}

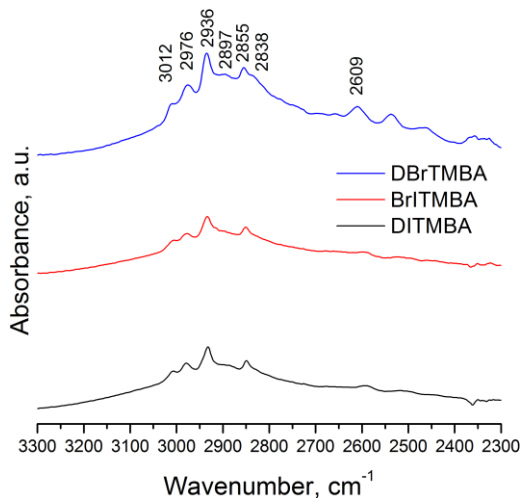
и $1425(7)$ и 1373 cm^{-1} . Сравнявайки тези данни, с аналогичните за ТМВА, откриваме, че високочестотната ивица при 1425 cm^{-1} е интензивна, докато ивицата при 1375 cm^{-1} е слабо интензивна. Очевидно е, че промяната в спрежението не оказва съществено влияние върху позицията на извън фазовото, деформационно трептене, докато синфазното трептене се оказва по-чувствително. Компонентът на диполното C-I и C-Br електрично поле оказва значителен ефект върху диполния момент на преход в режима на синфазно деформиране, който притежава почти успоредна посока на компонента на диполното електрично поле. Ето защо тук се регистрира забележима промяна в интензитета на тези ивици (Фигура 17).

Електронните фактори като индукционен и мезомерен ефект на заместителите оказват също влияние върху позицията на карбонилната ивица за DBrTMBA. Очевидно е, че поради пространствения ефект на двата бромни атома мезомерният ефект на заместителите вероятно е доста по-слабо изразен и „ограничен“ в областта на ароматната пръстенна система. Трябва да се отбележи, че наблюдаваното честотно изместване на карбонилната група в DBrTMBA, по аналогия с дийодозаместения аналог, може да бъде допълнително повлияно от силния електрон-акцепторен ефект на трите метокси групи.

Трептения на CH_3O - остатъци

Следвайки горната схема за сравняване на спектралните характеристики на ITMBA, DITMBA и DBrTMBA установяваме, че няма значителна разлика в позицията на характерните за трите метокси групи симетрични и асиметрични валентни C-H ивици (Фигура 18).

Асиметричните и симетричните С-Н деформационни вибрации, открити в ATR-FTIR спектъра съответно при 1458(9) и 1446 cm^{-1} за DITMBA (Фигура 17), са сходни с тези за същата киселина представени в Таблица 8 при 1462 и 1448 cm^{-1} .



Фигура 18. FTIR спектри на DBrTMBA, DITMBA и ITMBA във високочестотната област от 3300 ÷ 2300 cm^{-1} .

Трите ивици, наблюдавани в областта 1100 ÷ 990 cm^{-1} в ATR-FTIR спектрите на DITMBA и DBrTMBA, могат да бъдат приписани на валентните симетрични и асиметрични вибрации на -O-CH₃ групи, които притежават почти сходни позиции с тези, налични в ITMBA спектъра (Фигура 11).

Честотната ивица при 1194 cm^{-1} може да се припише на асиметричните валентни C_{At}-O-CH₃ вибрации, докато тази при 815 cm^{-1} - на симетричните такива.

5. СИНТЕЗ НА 2-БРОМО-3,4,5-ТРИМЕТОКСИБЕНЗОЕНА КИСЕЛИНА

Синтезът на 2-бромо-3,4,5-триметоксибензоена киселина (BrTMBA) реализираме с помощта на бромiraща система $\text{KBrO}_3/\text{KBr}/\text{H}_2\text{SO}_4$ (Схема 18). Въпросното съединение получаваме с цел използването му в качеството на прекурсор за синтеза на смесената халогенозаместена 2-бромо-6-йодо-3,4,5-триметоксибензоена киселина (BrITMBA).

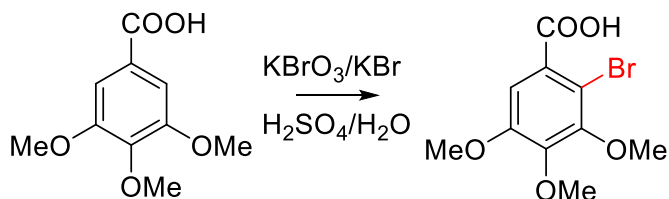
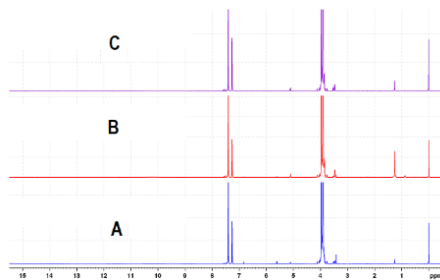


Схема 18. Синтез на BrTMBA.

За да установим необходимото количество от използвания бромiraщ реагент, реализираме няколко последователни синтеза. При първия синтез залагаме необходимото стехиометрично количество от всеки реагент (1 еквивалент KBrO_3) (Схема 18). При втория синтез използваме 1.1 еквивалента от реагента KBrO_3 , а в третия – 1.2 еквивалента KBrO_3 . Получените по този начин три отделни продукта подлагаме на ЯМР анализ. За първите два продукта отчитаме присъствието на непрореагирала ТМВА, а за третия - отсъствието на такава (Фигура 19).

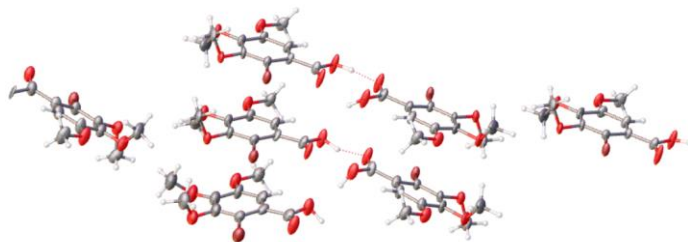


Фигура 19. ^1H ЯМР спектри на BrTMBA, получена с (А) 1.0 еквивалент KBrO_3 , (В) 1.1 еквивалента KBrO_3 и (С) 1.2 еквивалента KBrO_3 .

Ето защо, за синтеза на целевата киселина, е необходимо използването на 1.2 молни еквивалента от въпросния неорганичен окислител. При влагането на излишък от този реагент компенсираме евентуални загуби от елементарен бром, настъпили в хода на ТМВА бромирането.

Въпреки, че BrTMBA присъства в каталозите на повечето световни производители, тук ние представяме много по-рационален и безопасен метод за нейния синтез.

Отделно, с помощта на SC-XRD анализ за първи път е установена и кристалната структура на въпросната киселина (Фигура 20).

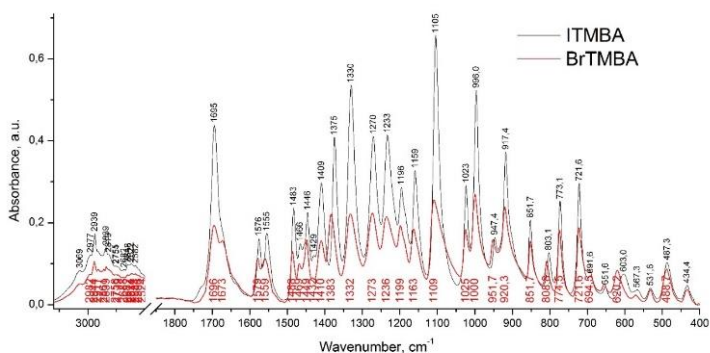


Фигура 20. Кристална структура на BrTMBA.

Проведеният рентгенов анализ разкри, че монобромоземстената киселина кристализира със седем конформационно различаващи се помежду си молекули в елементарна клетка (пространствена група P1).

Освен това установяваме, че по подобие на ITMBA, молекулите на BrTMBA посредством своите COOH групи също формират centrosиметрични междумолекулни асоциати/димери.

ATR-FTIR спектрите на двете монохалогенозаместени киселини изглеждат твърде сходни помежду си (Фиг. 21).



Фигура 21. ATR-FTIR спектри на BrTMBA (червена линия) и ITMBA (черна линия).

Особености и специфично вибрационно поведение на COOH функционал в състава на BrTMBA.

В кристална фаза молекулите на ITMBA и BrTMBA взаимодействат помежду си образувайки димерни асоциати. В IR-спектър на BrTMBA ивиците, характерни за

$\nu(\text{C}=\text{O})$ трептения, се наблюдават при честоти 1696 и 1673 cm^{-1} , а тази - в спектъра на ГТМВА - при 1695 cm^{-1} (Фиг. 21).

Отместването на ивиците, характерни за COOH функционал на ВгТМВА в „синята“ област, следва да бъде приписано на два ефекта:

- този на наложения стеричен ефект от бромов атом върху карбоксилния функционал, който предизвиква нарастване на честотата на валентното $\nu(\text{C}=\text{O})$ трептене, извън-равнинните γ ($-\text{O}-\text{H}\dots\text{O}$) и $\delta(\text{C}-\text{O}-\text{H})$ трептения (виж Фигура 26, Таблица 9) и
- този на наличният, поляризационен ефект между диполите $\text{C}-\text{Br}$ и $\text{C}=\text{O}$.

Структурните промени, явяващи се следствие от проявяването *ortho*-ефект, се изразяват в измененията на двустенния ъгъл θ , сключен между равнините на карбоксилните групи и ароматните пръстени.

Що се касае до останалите абсорбционни ивици в спектъра на ВгТМВА, то тяхната позиция и относителен интензитет разкриват изоструктурната (идентичното заместване) природа на двете ароматни киселини.

6. СИНТЕЗ НА 2-БРОМО-6-ЙОДО-3,4,5-ТРИМЕТОКСИБЕНЗОЕНА КИСЕЛИНА

Синтезът на 2-бromo-6-йодо-3,4,5-триметоксибензоена киселина (ВгТМВА) е реализиран посредством двустъпков протокол (Схема 19). За целта, полученото монобромно производно използваме в качеството на реактант за синтеза на смесена, халогенозаместена киселина.

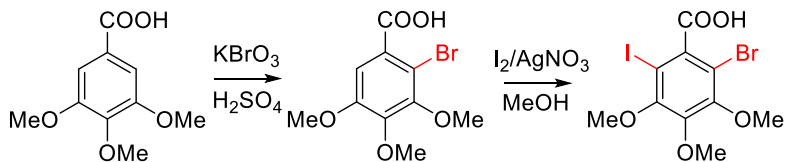
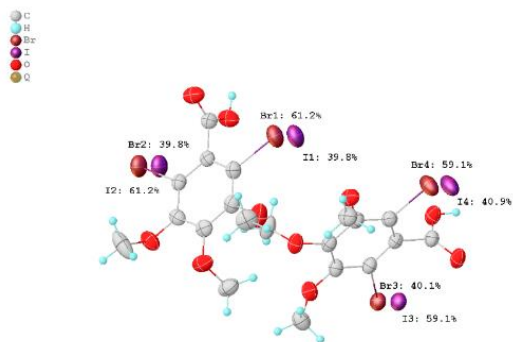


Схема 19. Синтез на BrITMBA.

Кристалната структура на получената киселина е установена посредством SC-XRD анализ (Фигура 22).



Фигура 22. Кристална структура на BrITMBA.

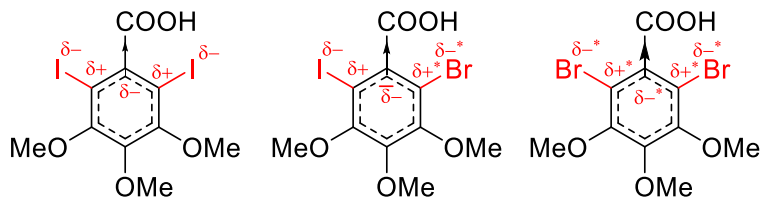
По подобие на DBrTMBA и DITMBA, смесенохалогенният представител кристализира в безкрайна, водород-свързана катемерна система. Анализът разкрива вероятно присъствие на бромни и йодни атоми във всяка отделна молекула. Наблюдаваното подреждане на молекулите може да е свързано с пространствено транслиране на отделни катемерни вериги, в които всеки съседен халогенен атом се явява „противохалогенен“. Освен това, елементарната клетка на BrITMBA притежава коренно различни геометрични характеристики (размер, обем) от тези на неговите хомозаместени аналози - $a = 7.3456(1) \text{ \AA}$, $b = 17.4928(3) \text{ \AA}$, $c = 21.0051(3) \text{ \AA}$; $V = 2699.04(7) \text{ \AA}^3$.

Особености и специфично спектрално поведение на BrITMBA катимер

В IR-спектърът на BrITMBA ивиците, характерни за $\nu(\text{C}=\text{O})$ трептения, се наблюдават при честоти 1642 и 1724 cm^{-1} (Фигура 17).

Както е отразено по-горе, необикновеното спектрално поведение на COOH функционал от състава на DBrTMBA катимер, следва да бъде приписано на наложения стеричен ефект от бромния и йодния атом върху карбоксилния функционал и наличният поляризационен ефект между диполите C-I, C-Br и COOH .

Индукционният ефект на халогенните заместители (йоден и бромнен атом) оказват съществено влияние върху позицията на карбонилната DBrTMBA ивица (Фигура 17). Очевидно е, че поради наличния стеричен ефект, мезомерният ефект е прекъснат, а такъв е налице единствено между ароматната, пръстенна система и останалите 5 заместителя – халогенни атоми и метокси групи (Фигура 23).



Фигура 23. Разлика в електроотрицателността на C_{Ar} -атоми, носители на COOH функционали при трите катимерни представителя – DBrTMBA, DITMBA и BrITMBA.

7. СИНТЕЗ НА 2-ЙОДО-3,4,5-ТРИМЕТОКСИФЕНИЛОЦЕТНА КИСЕЛИНА

Синтезът на заглавната киселина (IPhAA) реализираме посредством приложението на протокол за получаване на ITMBA, DITMBA и BrITMBA (Схема 20).

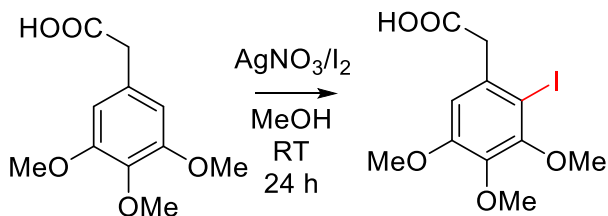
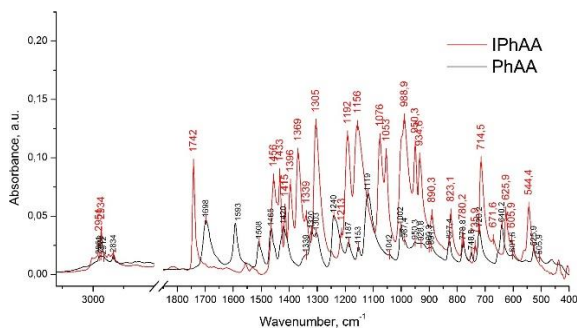


Схема 20. Синтез на IPhAA.

Молекулния състав на полученият продукт определяме посредством ATR-FTIR анализ.

Вибрационен анализ

Отнасянето на вибрационните честоти осъществяваме посредством сравнителен анализ на снетия спектър за IPhAA с тези на PhAA, ITMBD и ITMBA.



Фигура 24. ATR-FTIR спектри на IPhAA и PhAA.

Както се вижда от Фигура 24 инфрачервените спектри, на повторно прекристализирания продукт IPhAA и изходната PhAA киселина, притежават коренно различни спектрални профили, дори в зоната на пръстовия отпечатък.

Указание, за успешното въвеждане на йоден атом в ароматната система, може да се намери и в зоната на ароматните C=C трептения. В спектъра на йодозаместената киселина се регистрират появите на две нови, нискоинтензивни ивици в областта $1520 - 1570 \text{ cm}^{-1}$ – ивици, присъщи за тангенциалните вибрации на ароматните C=C връзки на 5-заместени ароматни системи. При 1213 и 1053 cm^{-1} наблюдаваме ароматните 14 (*Kekule*) и 12 (деформационни) вибрации на IPhAA. Ивиците със слаб до среден интензитет, отчетени при 823 , 780 , 672 , 626 , 606 и 544 cm^{-1} , приписваме на деформационните C=C трептения на фениловия остатък.

Абсорбционни ивици, присъщи за асиметричните и симетричните C-H деформационни вибрации, намираме съответно при 1456 и 1433 cm^{-1} .

V. ИЗВОДИ

1. Синтезирани са нови халогенозаместени съединения - 2-(2-йодо-3,4,5-триметоксифенил)оцетна киселина (ITMPhAA) и 2-бромо-6-йодо-3,4,5-триметоксибензоена киселина (BrITMBA).
2. Установени са условията за кристализация и кристалните структури на 2,6-дийодо-3,4,5-триметоксибензоена киселина (DITMBA) и нейния толуенов солватоморф, а също и тези на 2,6-дибромо-3,4,5-триметоксибензоена (DBrTMBA) и 2-бромо-3,4,5-триметоксибензоена киселина (BrTMBA).
3. Проведените *in vitro* изследвания разкрит отсъствието на фотоиндуцирана DITMBA токсичност спрямо тестваната BALB/3T3 клетъчна линия от клон A31.
4. Оценен е потенциалът на новополучената натриева сол на DITMBA в изграждането на реални физични фантоми, предназначени за контрастно-усилена мамография.
5. Установена е реактивността на $I_2/AgNO_3$ реагентна двойка в йодирането на различни ароматни субстрати - 3,4,5-триметоксибензалдехид, 3,4,5-триметоксибензоена киселина и 2-(3,4,5-триметоксифенил)оцетна киселина.
6. Установена е инертността на йодиращата $I_2/AgNO_3$ система във водно-метанолова среда и реактивността на последната в синтеза на DITMBA.
7. Предложена е нова екологосъобразна методология за синтеза на BrTMBA и DBrTMBA.

VI. ПРИНОСИ

1. Установени са кристалните структури на четири хомо- и хетерохалогенозаместени ароматни киселини – DITMBA, BrTMBA, DBrTMBA и BrITMBA.
2. Установена е тенденцията на несоватираната DITMBA и нейните изоструктурни DBrTMBA и BrITMBA аналози да формират своеобразни H-свързани системи от катемерен тип.
3. Установено е, че определящият за геометричната/ конформационна стабилност на DITMBA, DBrTMBA и BrITMBA молекули е организирания междумолекулен O(lp)— π (C6) контакт.
4. Въведени са нови и лесно изпълними протоколи за синтеза на бромо-, йодо- и бромо-йодо съдържащи ароматни киселини с леснодостъпни и безопасни за ползвателя и околната среда неорганични реагенти.

VII. ПУБЛИЧНОСТ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

В издания, реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация:

1. Iliyan Kolev, Tanya Dimova, Ivan Iliev, Marin Rogozherov, Michael Bodensteiner, *Further findings concerning 2,6-diiodo-3,4,5-trimethoxybenzoic acid* (Part II), *Journal of Molecular Structure*, Volume 1294, Part 1, (2023), 136388, ISSN 0022-2860, <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.136388>

2. F. Meurer, T. Dimova, M. Bodensteiner, I. Kolev, *2,6-Dibromo-3,4,5-trimethoxybenzoic acid*, (2023), *Acta Cryst.* 79, ISSN 2056-9890, DOI: 10.1107/S2056989023007831.

В нереферирани издания с научно рецензиране:

1. Tanya Dimova, Nadya Hadzhieva, Nadezda Nefedova, Iliyan Kolev, *Strategies in the synthesis of orto-diiodine-substituted aromatic acids*, *Industrial Technologies*, Vol. 8 (1) 2021, pp. 81-86

2. Iliyan Kolev, Tanya Dimova, *On the iodination of eudesminic acid with INO_3 in an aqueous-methanolic medium*, *Scripta Scientifica Pharmaceutica*, 2023, ISSN 0582-3250

ФИНАНСИРАНЕ

Участие в проект по Фонд „Наука“ към Медицински университет - Варна - № 20023. Наименование на проекта „Синтез и структурен анализ на нови органойодни съединения – потенциални рентгено-контрасни вещества“, с ръководител доц. Илиян Николов Колев, д.х.