

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА
ІНСТИТУТ ВИСОКИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Завідувач кафедри супрамолекулярної хімії
д.х.н., професор Ігор Володимирович Комаров
Протокол №__засідання кафедри
Від «__»_____2021 року

**СИНТЕЗ ОПТИЧНО ЧИСТИХ ЗАМІЩЕНИХ
ФЛУОРОВАНИХ ЕТАНОЛІВ**

Випускна кваліфікаційна робота бакалавра
студентки спеціальності 102 «Хімія»
Зварич Єлизавети Андріївни

Науковий керівник професор, д. х. н.
Рябухін Сергій Вікторович

Оцінка захисту роботи

Київ – 2021

Анотація

В роботі досліджено можливість отримання оптично чистих флуорованих етанолів методом ензиматичного кінетичного розділення рацемічних сумішей. На прикладі трьох модельних флуорованих етанолів, що містять екзоциклічну трифлуорометильну та дифлуорометильну групи, а також дифлуорометиленову групу у циклі описано синтез відповідних рацемічних похідних та продемонстровано ефективність їх ензиматичного розділення. Ефективними ензимами для даних цілей виявилися *Burkholderia cepacia lipase* – Amano-PS, *Candida antarctica lipase B* – Novozym. При виконанні роботи були використані підходи ензиматичного ацилювання (Amano-PS) та ензиматичного гідролізу (Novozym). Оскільки досліджувані об'єкти мають гідрофільні властивості, для них була розроблена методика гідролізу, яка передбачає використання розрахункової кількості води і дозволяє уникнути втрат речовини.

The possibility of obtaining optically pure fluorinated ethanols by the method of enzymatic kinetic separation of racemic mixtures was researched. The synthesis of the racemic derivatives of three model fluorinated ethanols containing exocyclic trifluoromethyl and difluoromethyl groups, and difluoromethylene group in the cycle is described and the efficiency of their enzymatic separation is demonstrated. *Burkholderia cepacia lipase* - Amano-PS, *Candida antarctica lipase B* - Novozym proved to be effective enzymes for these purposes. The enzymatic acylation (Amano-PS) and enzymatic hydrolysis (Novozym) approaches were used in this research work. Due to the fact that the researched substances are characterized hydrophilic properties, a hydrolysis technique was developed for this aim, which involves the use of a calculated amount of water and avoids the loss of the substance.

Зміст

Перелік умовних скорочень	4
Вступ.....	5
Розділ 1. Літературний огляд	8
1.1. Асиметричне відновлення флуорметилкетонів	8
1.1.1. Асиметричне відновлення з використанням резуктаз	8
1.1.2. Асиметричне відновлення з використанням реагентів Грін'єра.....	9
1.1.3. Каталітичне відновлення кетонів в присутності хіральних комплексів перехідних металів	9
1.1.4. Відновлення кетонів в присутності хіральних борних комплексів.	11
1.2. Енантіоселективне флуорметилування альдегідів.	13
1.3. Кінетичне ензиматичне розділення рацемічних спиртів	13
1.4. Дериватизація з допомогою хіральних реагентів	16
Розділ 2. Обговорення експериментальної частини	17
2.1. Синтез рацемічних спиртів	17
2.2. Визначення селективності розділення	18
2.3. Отримання оптично чистих сполук 2.1a-R та 2.1a-S.....	19
2.4. Отримання оптично чистих сполук 2.1b-R та 2.1b-S	21
2.5. Отримання оптично чистих сполук 2.1c-R та 2.1c-S.....	21
Розділ 3. Експериментальна частина.....	23
4.1. Синтез рацемічних спиртів	23
4.2. Загальна методика ензиматичного ацилювання спиртів	24
4.3. Загальна методика ензиматичного гідролізу ацетатів.....	24
4.4. Зняття ацетилу.....	25
4.5. Спектри речовин, досліджених у роботі.....	25
Висновки	28
Список використаних джерел	29
Додатки.....	32

Перелік умовних скорочень

d	Дублет
CDCl_3	дейтерований хлороформ
ee	енантиомерний надлишок, (enantiomeric excess)
кв	Квартет
м	Мультиплет
м.ч.	мільйонна частка
розч.	Розчинник
s	Синглет
t	Триплет
TMS	Тетраметилсилан
екв	Еквівалент
уш. с	уширений синглет
NMR	ядерний магнітний резонанс

Вступ

Актуальність теми. Молекули, які містять у своїй структурі атоми флуору, відіграють важливу роль в медичній хімії. Селективне введення флуору в терапевтичний або діагностичний низькомолекулярний препарат може покращити ряд фармакокінетичних і фізико-хімічних властивостей, таких як метаболічна стабільність і проникність через мембрану[1]. Також була зареєстрована підвищена спорідненість зв'язування флуорованих лікарських препаратів з білком-мішенню. Ще одним важливим застосуванням флуору є використання ^{18}F в якості радіоактивної мітки для позитронно-емісійної томографії[2].

З іншої сторони велика кількість біологічних молекул містить у своїй структурі хіральний центр, зокрема фрагмент вторинного спирту. Проте варто зауважити, що фрагменти природних макромолекул переважно представлені у вигляді одного енантіомера. Однак синтез таких біоактивних сполук, зокрема вторинних спиртів, вимагає вирішення складного завдання – формування хірального центру заданої конфігурації.

В той самий час потреба в подібного роду енантіомерно чистих тривимірних молекулах виникла і в сучасному біологічному скринінгу. Однією з останніх тенденцій в медичній хімії є «Escape from Flatland» – заміна ароматичного ядра на об'ємний насичений замісник, наприклад піридина на піперидин[3]. Це дозволяє створювати в молекулі додаткові хіральні центри та впливає на розчинність та експериментальні фізичні властивості, які важливі для успіху в створенні нових ліків.

Флуоровмісні оптично активні спирти завдяки своїй підвищеній кислотності, а також внаслідок структурних особливостей є надзвичайно перспективними сполуками для досліджень в медичній хімії та органічному синтезі. На даний момент уже існують лікарські препарати, які містять у своїй структурі такий фрагмент (*Рис.1*).

Саме тому формування хірального центру, зв'язаного з флуорованим фрагментом, є актуальною задачею.

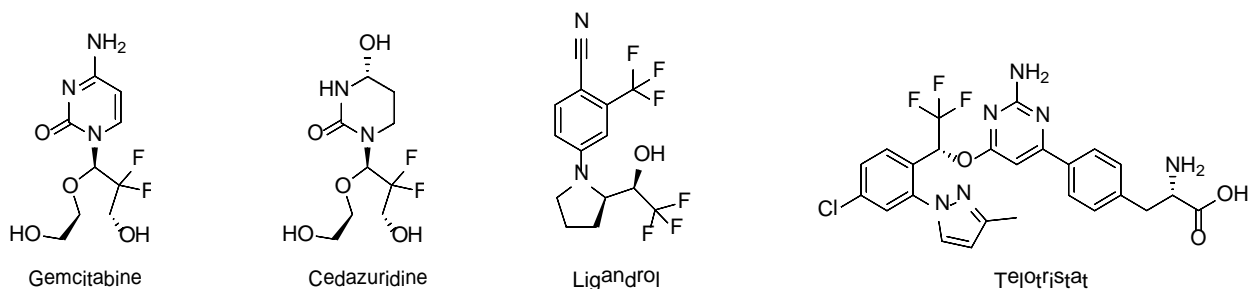


Рис.1 Приклади лікарських препаратів на основі флуорованих етанолів

Мета дослідження. Синтезувати оптично чисті заміщені флуоровані етаноли методом ензиматичного кінетичного розділення за допомогою ензимів *Burkholderia cepacia lipase* та *Candida antarctica lipase B*. Виявити вплив атома флуору та його розташування на перебіг біокаталітичного процесу.

Об'єкт дослідження – флуоровані етаноли на основі насичених кисневмісних гетероциклів, ензими *Burkholderia cepacia lipase* та *Candida antarctica lipase B*.

Предмет дослідження – препаративний метод кінетичного ензиматичного розділення та синтез хіральних будівельних блоків для медичної та органічної хімії.

Методи дослідження: органічний синтез, ензиматичний каталіз, спектроскопія – ЯМР, мас – спектроскопія, препаративна хроматографія.

Особистий внесок здобувача. Систематизацію літературних даних, препаративна частина роботи, аналіз спектральних досліджень, узагальнення та оформлення отриманих результатів, досліджень та встановлення будови одержаних сполук було проведено здобувачем особисто. Постановка завдання дослідження та обговорення результатів проводились разом з науковим керівником, д. х. н., проф. Рябухіним С.В.

Структура та обсяг роботи. Дипломна робота викладена на 35 сторінках і складається зі вступу, трьох розділів, висновків, переліку використаних джерел (20 найменувань) та додатків. Перший розділ присвячений літературному огляду методів синтезу оптично активних заміщених флуорованих етанолів. У другому розділі розглядається синтез оптично чистих флуорованих етанолів на основі насичених кисневмісних гетероциклів методом ензиматичного кінетичного розділення. Третій розділ є описом експериментальної частини дипломної роботи.

Ключові слова: синтез, оптично чисті, заміщені флуоровані етаноли, органічний синтез, ензиматичний каталіз, ЯМР, мас–спектроскопія, препаративна хроматографія.

Розділ 1. Літературний огляд

Відомі наступні методи отримання оптично активних заміщених флуорованих етанолів:

1. Асиметричне відновлення флуорметилкетонів
2. Енантіоселективне флуорметилування альдегідів
3. Кінетичне ензиматичне розділення рацемічних спиртів
4. Дериватизація з допомогою хіральных реагентів.

Також можливе одночасне використання декількох методів: отримання збагачених сумішей методами асиметричного синтезу з подальшою очисткою з допомогою кінетичного ензиматичного розділення.

1.1. Асиметричне відновлення флуорметилкетонів

1.1.1. Асиметричне відновлення з використанням резуктаз

CRED (карбонільні редуктази) - важливі ферменти, які беруть участь в багатьох біологічних процесах. Зазвичай їх виділяють із дріжджів. Реакції з використанням CRED відбуваються при нормальних умовах, що робить їх зручним реагентом для синтезу хіральных спиртів. Перебіг ферментативного каталітичного відновлення кетонів зображений на *Схемі 1.1*.

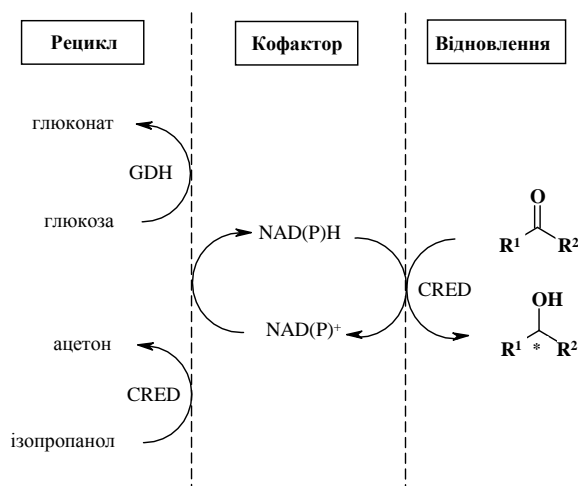


Схема 1.1

Таким методом було отримано серію ароматичних флуоретанолів з високою оптичною чистотою (Схема 1.2)[4].

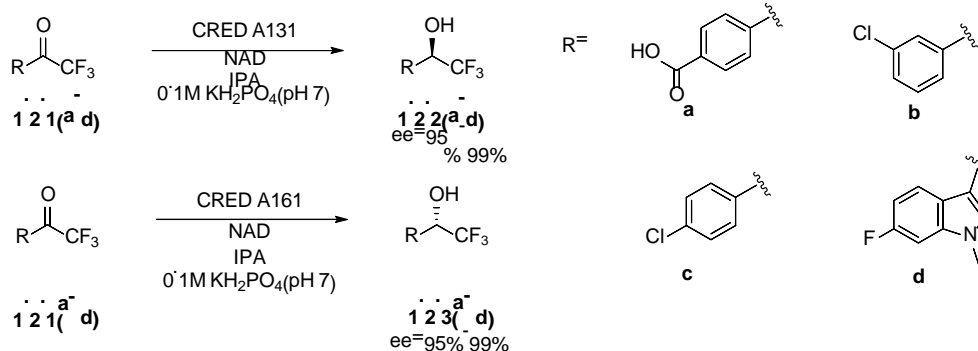


Схема 1.2

1.1.2. Асиметричне відновлення з використанням реагентів Гріньяра

Одним з найперших описаних методів отримання оптично активних флуорованих етанолів, було відновлення відповідних кетонів з допомогою реактиву Гріньяра, який містить хіральний центр [5]. Відновлення здійснюється через утворення комплексу між карбонілом та реагентом Гріньяра з подальшим переносом водню через шестичленний перехідний стан (Схема 1.3). Даним методом був отриманий 2,2,2-трифлуор-1-фенілетанол високої оптичної чистоти (ee=92%).

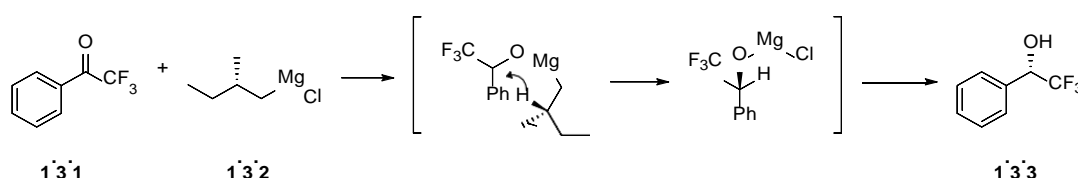


Схема 1.3

1.1.3. Каталітичне відновлення кетонів в присутності хіральних комплексів перехідних металів

Ще одним методом отримання оптично активних спиртів є каталітичне відновлення відповідних кетонів в присутності хіральних комплексів перехідних металів. Найпоширенішими та найефективнішими є комплекси на основі рутенію. Вони були розроблені Нобелівським лауреатом Р. Найорі. В реакції бере участь енантіомерно чистий ліганд, який координується з Ru(II),

також можливі варіанти з додаванням хіральних 1,2-діамінів. Селективність та конфігурація утвореного в ході реакції ізомеру залежить від природи каталізатору, що використовується.

У 1998 році була опублікована стаття де було досліджено використання родієвих комплексів із хіральними бідентантними лігандами на основі діамінів. Була отримана серія 1-арил заміщених 2,2,2-трифлуоретанолів з високим показником оптичної активності (Схема 1.4)[6].

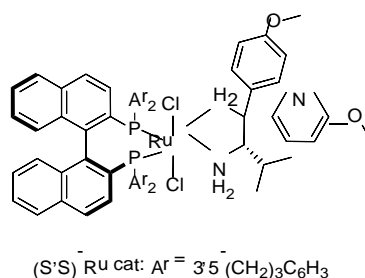
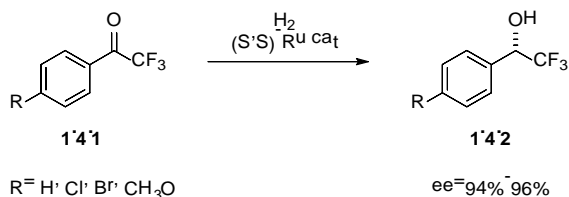


Схема 1.4

Схожі дослідження були проведені для комплексів родію[7] та іридію[8] (Схема 1.5). Можна помітити що даний метод для циклічного ароматичного замісника R показує хороші результати, в той час як для циклічного насиченого замісника значних досліджень немає.

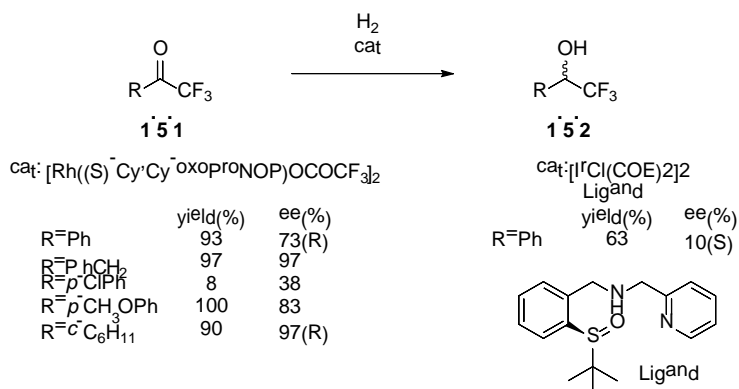


Схема 1.5

У 2011 р. було проведено дослідження впливу флуорованих замісників на селективність процесу відновлення [9]. Було виявлено що при

збільшенні заміщеності замісника R селективність відновлення зменшується (Схема 1.6).

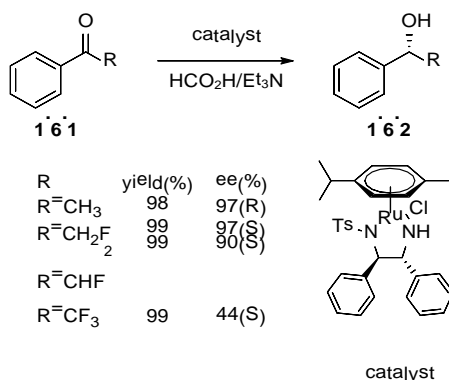


Схема 1.6

Також даний підхід було реалізовано на циклічних кетонах під час дослідження препаратів для інтраомуральної гіпоксії (Схема 1.7) [10].

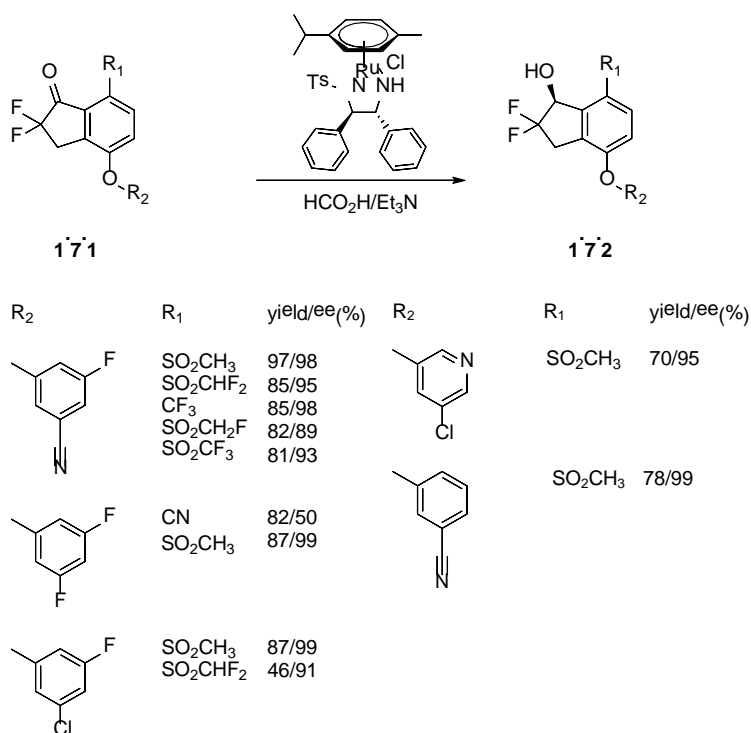


Схема 1.7

1.1.4. Відновлення кетонів в присутності хіральних борних комплексів

Зручним каталітичним методом енантіоселективного відновлення кетонів до вторинних спиртів є використання каталізатора Корі-Бакши-Шібата(CBS). Механізм реакції полягає в стереоконтрольованому

перенесенню гідрид-йона від атома Бору до атома Карбону відновлюваної карбонільної групи (Схема 1.8).

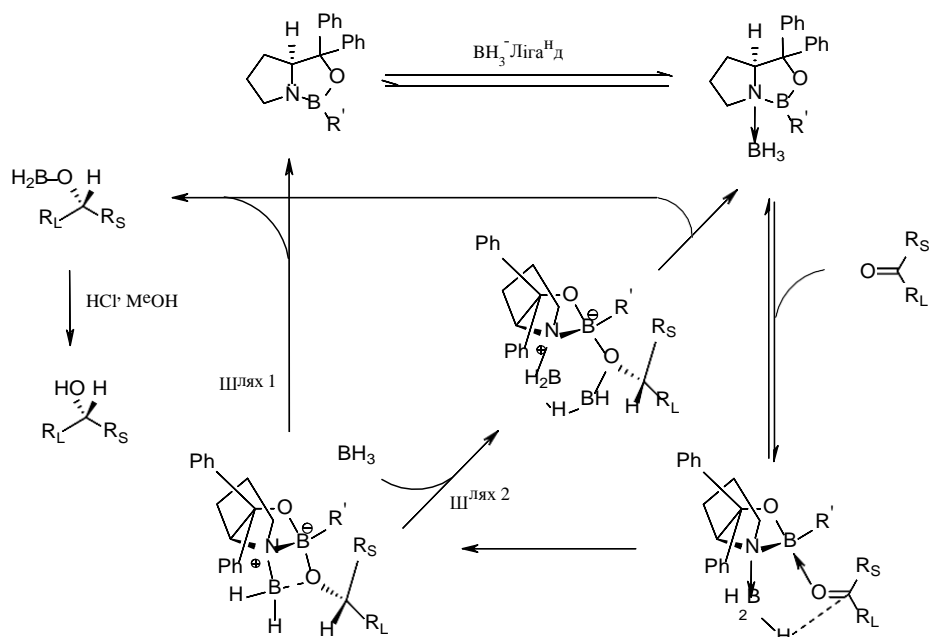


Схема 1.8

Даний метод застосовується для великої кількості субстратів, в тому числі, для отримання флуорованих етанолів (Схема 1.9) [11].

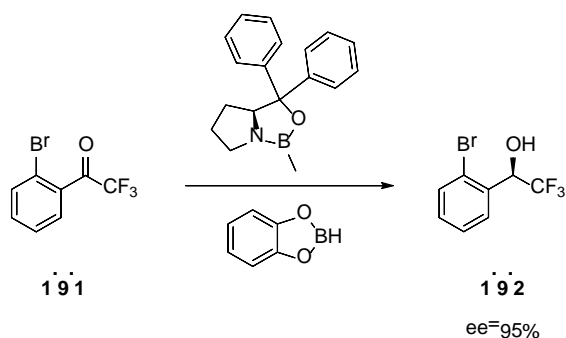


Схема 1.9

Також даний метод реалізований для відновлення циклічних кетонів (Схема 1.10) [12].

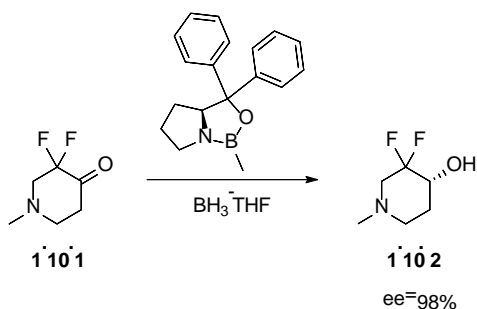


Схема 1.10

1.2. Енантіоселективне флуорметилування альдегідів.

Відомим методом отримання флуорованих етанолів є реакція Пракаша. При застосуванні певних хіральных індукторів реакцію можна провести енантіоселективно. Наприклад, у роботі Мізура та Шибата реакцію модифікували додавання амонієвих солей цинхонідину (Схема 1.11) [13]. Дане дослідження було продовжене ще у двох публікаціях [14,15], проте високе значення *ee* так і не було досягнуте.

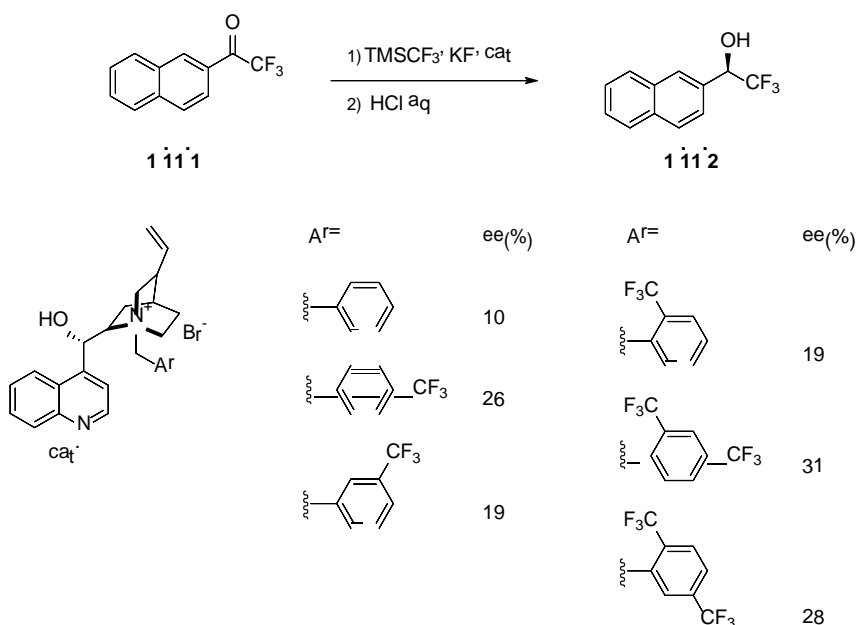


Схема 1.11

1.3. Кінетичне ензиматичне розділення рацемічних спиртів.

Одним з перспективних методів отримання оптично чистих сполук є кінетичне ензиматичне розділення. Застосування цього підходу відкриває

можливості для отримання широкого кола хіральних вторинних спиртів гетероциклічної природи. Переваги даного підходу над описаними вище методами каталітичного чи ензиматичного відновлення очевидні. По-перше, це можливість отримувати обидва енантіомери з рацемату внаслідок одного хімічного перетворення. По-друге, спектр застосування ензиму є набагато ширшим, ніж, зокрема, хірального каталізатора. По-третє, існує можливість оптичної доочистки енантіомеру до потрібної оптичної чистоти, в той час як у випадку каталітичного хімічного відновлення це неможливо. Фізико-хімічна основа методу полягає у значній різниці між швидкостями ацилювання та деацилювання різних енантіомерів. Це досягається завдяки специфічній взаємодії субстрату з активним центром ферменту. Модель «ключ-замок», що ілюструє роботу ферментативного каталізу, підходить для пояснення вибіркової селективності ензиму. Більш того, детальні дослідження ефективності ряду каталізаторів дозволили сформулювати емпіричне правило, котре постулює швидке ацилювання того з енантіомерів вторинного спирту, в якому положення великого (L) та середнього (M) по розміру замісників задовольняють вимоги модельної структури. Дане правило було сформульоване Казлаускасом для *Pseudomonas cepacia* [16].

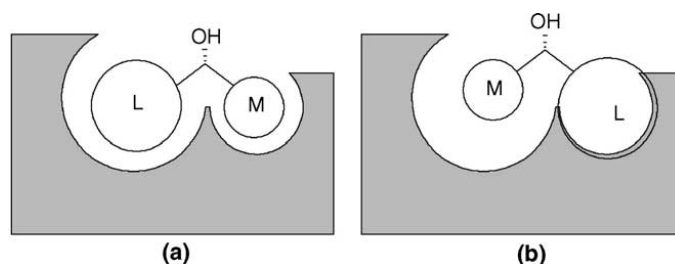


Рис.3. Ілюстрація правила Казлаускаса

Для розділення вторинних спиртів знайшли широко використовуються ензими *Burkholderia cepacia lipase* (скорочено – BCL) та *Candida antarctica lipase B*, або CAL-B. Комерційне маркування BCL – Amano-PS, а CAL-B – Novozym. При вирішенні проблеми розділення рацемату на енантіомери важливе значення відіграють умови проведення хімічного перетворення. Останні роки висока увага в дослідженнях ензиматичного каталізу приділяється вивченню як активності ферменту (тобто іммобілізації на

інертний носій, генетичних модифікацій), так і альтернативних середовищ протікання реакції (органічні розчинники, йонні рідини тощо). Вдале поєднання активності ліпази та умов проведення перетворення дозволяє суттєво підвищити вихід та оптичну чистоту бажаної сполуки.

Даним методом було отримано оптично чисті флуоровані етаноли заміщені алкільними (Схема 1.12) [17], арильними та гетарильними замісниками (Схема 1.13) [18].

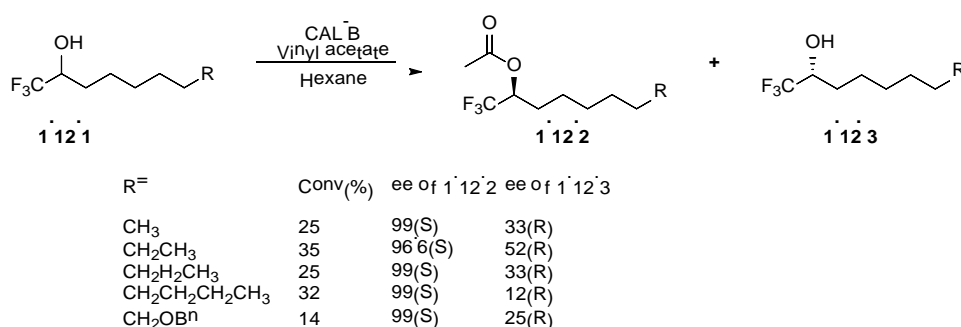


Схема 1.12

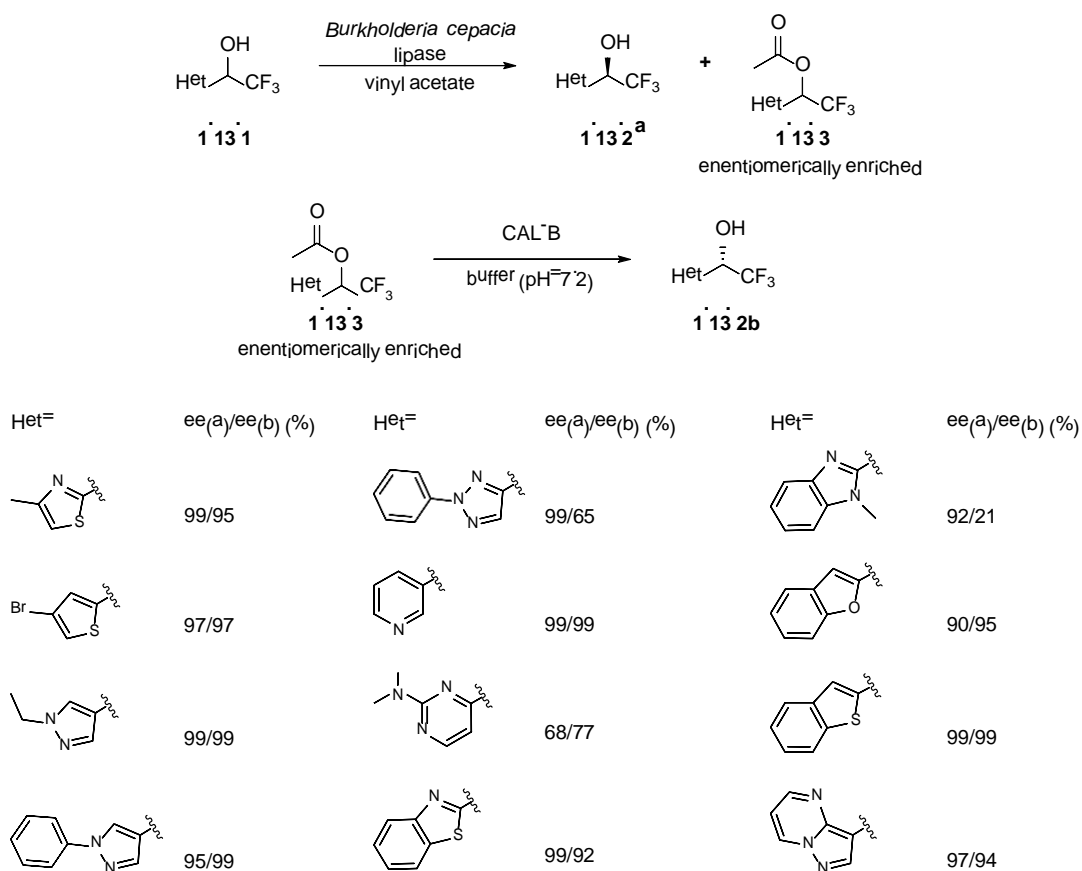


Схема 1.13

1.4. Дериватизація з допомогою хіральних реагентів.

Рацемічну суміш можна розділити класичними фізико-хімічними методами, якщо перетворити її на суміш діастереомерів. Для спиртів це можна реалізувати, синтезувавши відповідний ефір, наприклад, з допомогою реагента Мошера або будь-якої іншої кислоти, яка містить хіральний центр. Таким чином було отримана серія будівельних блоків при дослідженні потенційних інгібіторів малярійних аспарагінових протеаз, плазмепсинів. Суміш діастереомерів розділялась методом HPLC, а подальший гідроліз ефірів дозволив отримати цільові продукти (Схема 1.14) [19].

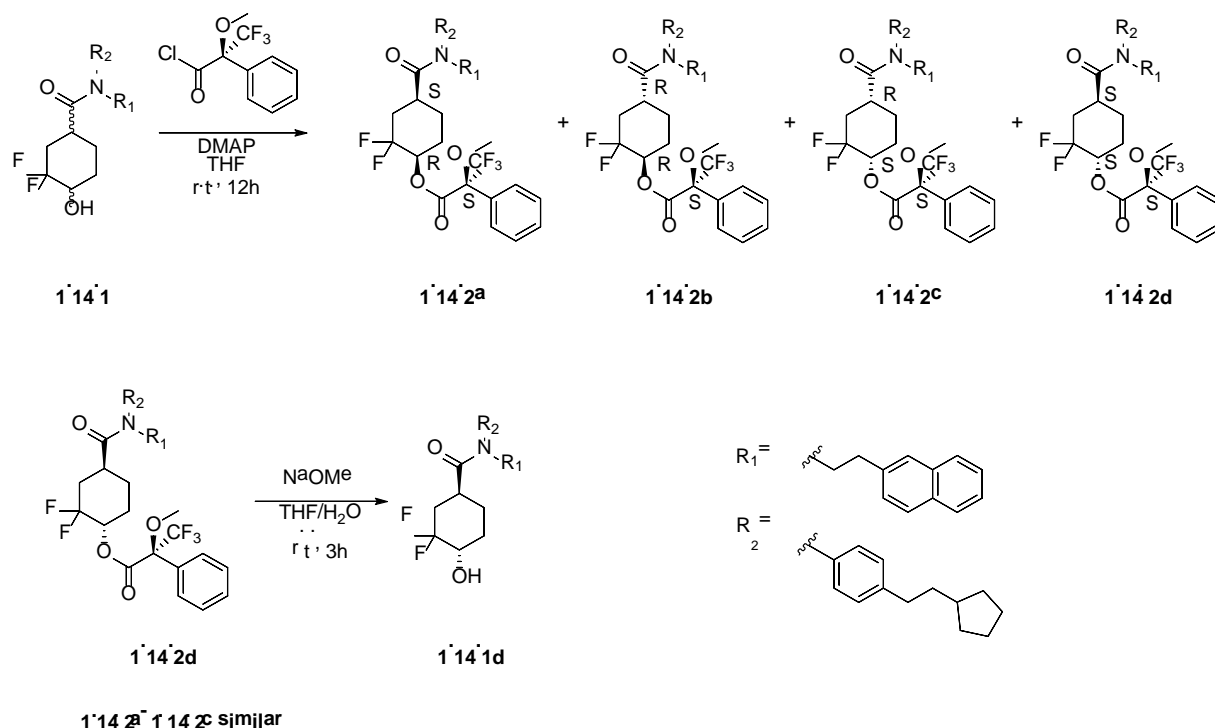


Схема 1.14

Розділ 2. Обговорення експериментальної частини

Перед початком експерименту сформулюємо гіпотезу, про те який же саме енантіомер буде взаємодіяти з ензимом швидко, а який повільно. Дане припущення не є абсолютним, а лише дозволяє спростити записи. Абсолютну конфігурацію можна підтвердити лише рентгеноструктурним аналізом. Користуючись емпіричним правилом Казлаускаса для для *Pseudomonas serasia* і вважаючи що тетрагідро-2Н-пірановий цикл є більшим замісником ніж групи CF_3 і CF_2 , в той час як в тетрагідрофурановому циклі група CF_2 є об'ємнішою ніж CH_2 , можна зробити висновок що для сполук 2.1a та 2.1b ацилюватимуться S ізомери, а для сполуки 2.1c – R ізомер.

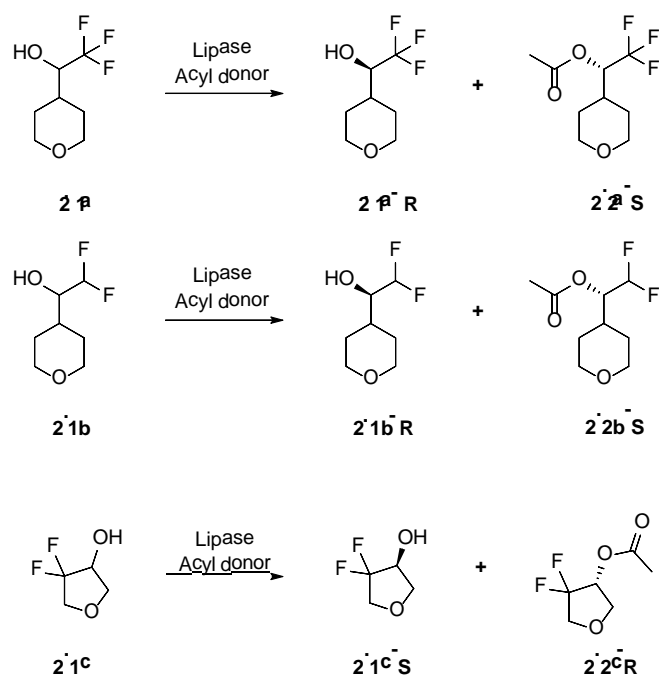
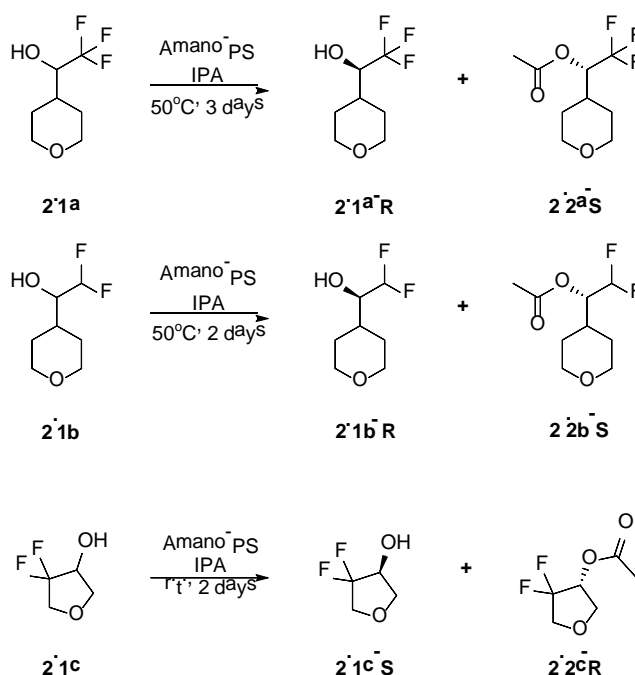


Схема 2.1

2.1. Синтез рацемічних спиртів

Для пришвидшення та спрощення роботи вихідними сполуками для синтезу рацемічних спиртів були обрані доступні нам субстрати. У випадку речовини 1a це тетрагідро-2Н-піран-4-карбальдегід. Необхідний спирт досягався реакцією Пракаша у класичних умовах, з подальшим зняттям кремнієвого захисту у метанолі насиченому хлороводнем. Отриманий сирий продукт очищався методом колонкової хроматографії.



Отримані результати відображені у *Таблиці 1*.

Спирт	Конверсія(%)	ee(%) спирту
1a	53	50,3(R)
1b	52	80,5(R)
1c	52	100(S)

Таблиця 1

Також було виявлено, що ацилювання спиртів 2.1a та 2.1b відбувається повільно і потребує жорстких умов, в той час як сполука 2.1c реагує швидко і в класичних умовах.

На основі отриманих результатів були застосовані наступні стратегії задля досягнення спиртів високої оптичної чистоти.

2.3. Отримання оптично чистих сполук 2.1a-R та 2.1a-S

У випадку сполуки 1a для початку конверсію реакції доводили до 50% і розділяли методом колонкової хроматографії спирт та ацетат. Внаслідок цього були отримані енетіомерно забагачені сполуки 2.1a-R та 2.2a-S зі значеннями ee≈50%. Після цього оптично грязну речовину 2.1a-R запускали в

реакцію ензиматичного ацилювання і продовжували її поки не було досягнуте бажане значення еє. Оптично чиста речовина досягалась при конверсії 75%.

Сполуку 2.1a-S отримували з допомогою ензиматичного гідролізу оптично грязної речовини 2.2a-S. Оскільки і спирт 2.1a, і ацетат 2.2a є достатньо водорозчинними сполуками, класичні умови гідролізу були модифіковані. Замість великої кількості фосфатного буферу (з розрахунку 1.5 л буферу на 1 моль речовини) у реакції брала участь розрахункова кількість води. Це дозволило виділяти речовину після гідролізу без значних втрат. Оптично чиста речовина досягалась при конверсії 23%. Невисоку селективність ацилювання можна пояснити незначною відмінністю між розмірами тетрагідро-2H-піранового та групи CF₃.

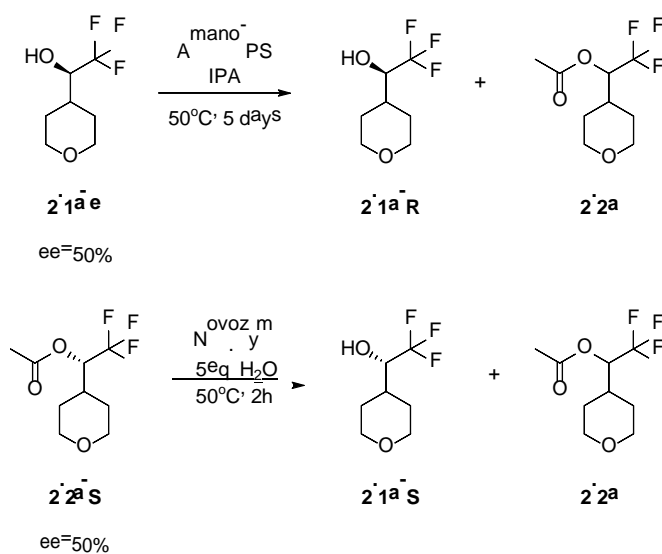


Схема 2.6

Також при підборі умов гідролізу для об'єкту 2.2a-S була досліджена ефективність різних ензимів при використанні незначної кількості води (5 еквівалентів по відношенню до кількості речовини). Було встановлено, що з трьох доступних нам ензимів (*Burkholderia cepacia* lipase – Amano-PS, *Candida antarctica* lipase B – Novozym та *Pig liver esterase* – PLE) лише Novozym каталізує реакцію в даних умовах, попри те, що в класичних умовах на даному об'єкті працюють всі три ензими.

2.4. Отримання оптично чистих сполук 2.1b-R та 2.1b-S

Для об'єкту 2.1b була застосована інша стратегія – спочатку отримувалась оптично чиста речовина 2.1b-R, при конверсії реакції 65%. Після хроматографічного розділення речовин 2.1b-R та 2.2b-S, оптично збагачений ацетат запускали у ензиматичний гідроліз в умовах які були підібрані для сполуки 2.2a-S. Реакцію зупиняли при конверсії 70%.

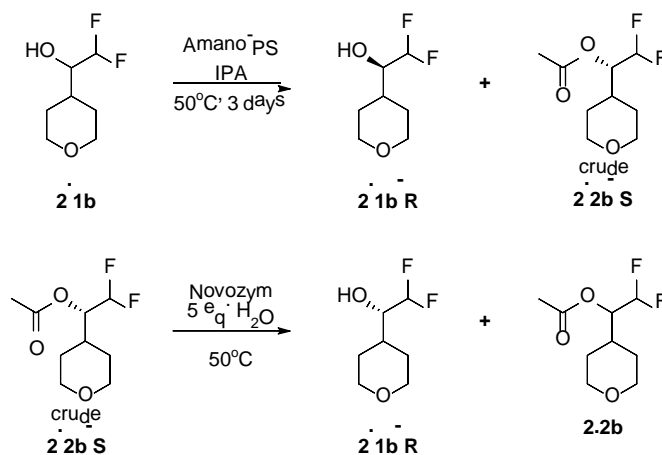


Схема 2.7

2.5. Отримання оптично чистих сполук 2.1c-R та 2.1c-S

Оскільки початкове дослідження для спирту 2.1c показало хороший результат, реакція ензиматичного ацилювання проводилась до конверсії \square 50%. Після цього сполуки 2.2c-R та 2.1c-S розділялися колонковою хроматографією. Для отримання 2.1c-R ацетат 2.2c-R відновлювали з допомогою літій алюмогідриду в діетиловому етері. Даний метод був обраний через низьку температуру кипіння розчинника та відсутність необхідності промивати реакційну суміш водою при виділенні. Невисокі виходи при отриманні спиртів можна пояснити тим, що речовина легколетка і втрати відбулися під час хроматографії та в процесі упарювання розчинників.

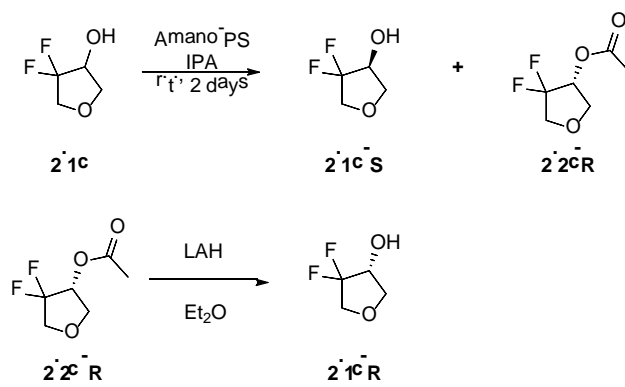


Схема 2.7

Розділ 3. Експериментальна частина

Ліпаза Amano-PS з культури *Burkholderia cepacia*, іммобілізована на діатомітовій землі, виготовлена компанією Amano Enzyme USA. Ліпаза Novozym 435 з культури *Candida antarctica* (CAL-B), іммобілізована на акриловій гумі, придбана у Sigma-Aldrich. ЯМР ^1H та ЯМР ^{13}C спектри були записані на спектрометрі Bruker Avance DRX 500 (при 500 та 126 MHz відповідно), ЯМР ^{19}F спектри – на Varian UNITY Plus 400 (при 376 MHz). Значення кута оптичного обертання були отримані на поляриметрі JASCO J-20 з 50-мм кюветою при 20°C та 589 нм (D-лінія Натрію). Дериватизація за участі (S)-(+)-МТРА-Cl та (R)-(-)-МТРА-Cl здійснювалася згідно описаної процедури [20]. Значення енантіомерних надлишків визначалися на основі аналізу ЯМР ^{19}F спектрів похідних кислоти Мошера.

4.1. Синтез рацемічних спиртів

Синтез 2.1a

Альдегід 2.4a (0.08 моль, 1 екв) розчинити у тетрагідрофурані (100 мл), додати до розчину CsF (0.016 моль, 0.2 екв). Охолодити розчин до 0°C та прикапати TMSCF_3 (0.096 моль, 1.2 екв). Перемішувати 2 години при кімнатній температурі. Контроль реакції відбувається спектрально за фактом зникнення альдегідного сигналу. Реакційну суміш упарити. Окремо генерується розчин HCl в метанолі, для цього при 0°C до метанолу (50мл) прикапати AcCl (0.24 моль, 3 екв). Перемішувати 5 хв. Після цього при 0°C прикапати речовину 2.3a в метанолі (50 мл) до отриманого розчину. Перемішувати 1 годину при кімнатній температурі. Контроль реакції відбувається спектрально за фактом зникнення сигналів TMS групи. Реакційна суміш упарюється. Отриманий сирий продукт очищується хроматографічно (градієнт Гексан/Етил Ацетат). Вихід 83%.

Синтез 2.1b

Кетон 2.5b (0.018 моль, 1 екв) розчинити у метанолі (30 мл). Охолодити розчин до 0°C та порціями присипати боргідрид натрію (0.0144 моль, 0.8 екв). Перемішувати 4 години при кімнатній температурі. Контроль

реакції відбувається спектрально. Після проходження реакції до реакційної суміші додається амоній хлорид (0.0216 моль, 1.2 екв) та упарюється. Отримана суміш заливається ацетонітрилом (30 мл) відкип'ячується та фільтрується, фільтрат упарюється. Отриманий спирт 2.1b без додаткової очистки запускається у наступну стадію.

4.2. Загальна методика ензиматичного ацилювання спиртів

Спирт 2.1a-c(0.05 моль, 1 екв) розчинити у ТВМЕ додати ензим «Amano PS» та ізопропеніл ацетат (ацилюючий агент) (0.1 моль, 2 екв). Колбу щільно закрити пробкою, зафіксувавши її, і перемішувати при відповідній температурі до моменту отримання потрібної конверсії реакції. Співвідношення ензиму, температура проведення реакції та конверсія наведена у *Таблиці 2*. Контроль реакції здійснюється спектрально. При досягненні потрібної конверсії реакції ліпаза фільтрується і двічі промивається ТВМЕ. Фільтрат упарюється та отримана суміш ацетату та спирту хроматографічно ділиться (градієнт Гексан/Етил Ацетат (ТВМЕ для об'єкту 2.1c)). Аналіз оптичної чистоти здійснювали по спектрам $^{19}\text{F-NMR}$ для відповідних естерів Мошера.

Спирт	Масове співвідношення ензиму та речовини	Температура проведення реакції (°C)	Конверсія при якій реакцію зупиняли (% ацетату у суміші)
2.1a	1:1	50	50
2.1a-R	1:1	50	75
2.1b	1:2	50	65
2.1c	1:10	20	50

Таблиця 2

4.3. Загальна методика ензиматичного гідролізу ацетатів

Ацетат 2.1a-b (0.05 моль, 1 екв) розчинити у ТВМЕ додати ензим «Novozym 435» та воду (0.25 моль, 5 екв). Колбу щільно закрити пробкою, зафіксувавши її, і перемішувати при 50°C до моменту отримання потрібної

конверсії реакції. Конверсія реакцій наведена у *Таблиці 3*. Контроль реакції здійснюється спектрально. При досягненні потрібної конверсії реакції ліпаза фільтрується і двічі промивається ТВМЕ. Фільтрат сушиться над Na_2SO_4 та упарюється, отримана суміш ацетату та спирту хроматографічно ділиться (градієнт Гексан/Етил Ацетат). Аналіз оптичної чистоти здійснювали по спектрам $^{19}\text{F-NMR}$ для відповідних естерів Мошера.

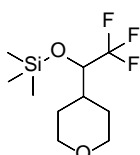
Ацетат	Конверсія при якій реакцію зупиняли (% спирту у суміші)
2a-S	20
2a-S	70

Таблиця 3

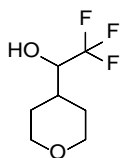
4.4. Зняття ацетилу

При 0°C до діетилового етеру (4 мл) при перемішуванні в атмосфері аргону обережно, порціями присипати літій алюмогідрид (1.08 ммоль, 0.6 екв). Через 10 хв обережно прикапати розчин ацетату 2.2с (1.8 ммоль, 1 екв) в діетиловому етері (2 мл). Перемішувати 4 години. Контроль реакції здійснюється спектрально. Після проходження реакції при 0°C до реакційної суміші прикапати розчин KOH (0.324 ммоль, 0.18 екв) у воді (0.255 мл). Перемішувати 30 хв, відфільтрувати та упарити фільтрат. Отриманий спирт 2.1с додаткової очистки не потребує. Вихід 56%.

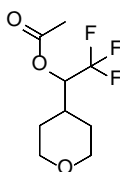
4.5. Спектри речовин, досліджених у роботі



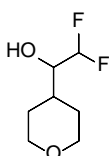
rac-триметил(2,2,2-трифтор-1-(тетрагідро-2H-піран-4-іл) етокси) силан (2.4a). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 4.02-3.96 (m, 2H), 3.71 (t, 1H), 3.42-3.34 (m, 2H), 1.95-1.87 (m, 1H), 1.66 (d, 1H), 1.57-1.47 (m, 3H), 0.16 (s, 9H). $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ -0.2, 29.2, 35.6, 67.3, 75.6, 121.1-128.5.



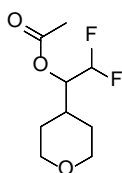
***rac*-2,2,2-трифтор-1-(тетрагідро-2H-піран-4-іл) етанол (2.1a).** ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.04 – 3.91 (m, 2H), 3.68 (p, $J = 7.4$ Hz, 1H), 3.48 – 3.32 (m, 2H), 3.11 (s, 1H), 1.93 (tdd, $J = 10.5, 6.2, 4.0$ Hz, 1H), 1.84 – 1.70 (m, 2H), 1.57 (ttt, $J = 17.0, 13.0, 12.5, 8.2$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 124.57, 73.34, 67.68, 36.21, 29.85. ^{19}F NMR (376 MHz, CDCl_3) δ -75.83 (d, $J = 18.8$ Hz).



***rac*-2,2,2-трифтор-1-(тетрагідро-2H-піран-4-іл) етилацетат (2.2a).** ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.17 (m, $J = 7.1$ Hz, 1H), 3.99 (dt, $J = 11.9, 5.9$ Hz, 2H), 3.38 (tdd, $J = 12.1, 6.6, 2.2$ Hz, 2H), 2.16 (s, 3H), 2.12 – 2.01 (m, 1H), 1.67 – 1.58 (m, 2H), 1.53 (qtd, $J = 12.9, 12.5, 4.5$ Hz, 2H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 169.97, 125.03, 74.48, 67.48, 34.43, 29.52, 20.92.



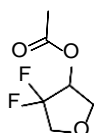
***rac*-2,2-дифтор-1-(тетрагідро-2H-піран-4-іл) етанол (2.1b).** ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.73 (t, $J = 55.7, 4.2$ Hz, 1H), 4.04 – 3.85 (m, 2H), 3.53 (dtd, $J = 14.2, 7.3, 4.6$ Hz, 1H), 3.38 (tt, $J = 11.9, 2.9$ Hz, 2H), 1.86 (tt, $J = 10.4, 5.1$ Hz, 1H), 1.69 (ddd, $J = 16.0, 13.0, 3.9$ Hz, 1H), 1.56 (dtd, $J = 24.4, 12.6, 4.4$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 109.76, 75.42, 67.74, 35.96, 29.19. ^{19}F NMR (376 MHz, CDCl_3) δ -128.13 – -132.36 (m).



***rac*-2,2-дифтор-1-(тетрагідро-2H-піран-4-іл) етилацетат (2.2b).** ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.79 (t, $J = 54.8$, 3.6 Hz, 1H), 4.93 (dddd, $J = 13.7$, 10.4, 6.1, 3.7 Hz, 1H), 3.96 (dd, $J = 11.1$, 5.3 Hz, 2H), 3.36 (dd, $J = 14.5$, 6.9, 3.3 Hz, 2H), 2.12 (s, 3H), 2.03 (dq, $J = 10.8$, 5.7 Hz, 1H), 1.64 – 1.40 (m, 4H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 169.97, 125.03, 74.48, 67.48, 34.43, 29.52, 20.92.



***rac*-4,4-дифтортетрагідрофуран-3-ол (2.1c).** ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.35 – 4.21 (m, 1H), 4.16 (dd, $J = 10.4$, 5.4 Hz, 1H), 4.05 – 3.88 (m, 2H), 3.83 (dt, $J = 10.4$, 2.9 Hz, 1H), 2.01 (s, 1H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 124.75, 74.29, 74.02 – 73.63, 73.63 – 73.09. ^{19}F NMR (376 MHz, CDCl_3) δ -108.52 (d, $J = 240.5$ Hz), -125.39 (d, $J = 240.8$ Hz).



***rac*-4,4-дифтортетрагідрофуран-3-ілацетат (2.2.c).** ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.22 (dd, $J = 10.8$, 6.2 Hz, 1H), 4.25 (dd, $J = 10.9$, 5.6 Hz, 1H), 4.03 – 3.76 (m, 3H), 2.14 (d, $J = 2.6$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 169.74, 124.52, 73.50, 71.78, 70.34, 21.11.

Висновки

У ході виконання даної роботи:

- Доведено ефективність методу ензиматичного розділення для отримання оптично чистих заміщених флуорованих етанолів
- Розроблено препаративну методику ензиматичного гідролізу для гідрофільних сполук, яка дозволяє виділяти речовину з високим виходом.
- Визначена залежність селективності ензиматичного розділення від об'єму флуорованих замісників.

Список використаних джерел

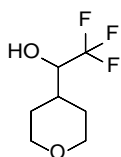
1. Shah, P.; Westwell, A. D. The Role of Fluorine in Medicinal Chemistry. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 2007, 22 (5), 527–540. <https://doi.org/10.1080/14756360701425014>.
2. Varagnolo, L.; Stokkel, M. P. M.; Mazzi, U.; Pauwels, E. K. J. 18F-Labeled Radiopharmaceuticals for PET in Oncology, Excluding FDG. *Nucl. Med. Biol.* 2000, 27 (2), 103–112. [https://doi.org/10.1016/S0969-8051\(99\)00109-2](https://doi.org/10.1016/S0969-8051(99)00109-2).
3. Lovering, F.; Bikker, J.; Humblet, C. Escape from Flatland: Increasing Saturation as an Approach to Improving Clinical Success. *J. Med. Chem.* 2009, 52 (21), 6752–6756. <https://doi.org/10.1021/jm901241e>.
4. Rowan, A. S.; Moody, T. S.; Howard, R. M.; Underwood, T. J.; Miskelly, I. R.; He, Y.; Wang, B. Preparative Access to Medicinal Chemistry Related Chiral Alcohols Using Carbonyl Reductase Technology. *Tetrahedron Asymmetry* 2013, 24 (21–22), 1369–1381. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2013.09.015>.
5. Mosher, H. S.; Stevenot, J. E.; Kimble, D. O. Asymmetric Reductions. IV. The Action of the Grignard Reagent from (+)-2-Methylbutyl Chloride on 2,2,2-Trifluoroacetophenone. *J. Am. Chem. Soc.* 1956, 78 (17), 4374–4376. <https://doi.org/10.1021/ja01598a049>.
6. Ohkuma, T.; Koizumi, M.; Doucet, H.; Pham, T.; Kozawa, M.; Murata, K.; Katayama, E.; Yokozawa, T.; Ikariya, T.; Noyori, R. Asymmetric Hydrogenation of Alkenyl, Cyclopropyl, and Aryl Ketones. RuCl₂(Xylbinap)(1,2-Diamine) as a Precatalyst Exhibiting a Wide Scope [9]. *J. Am. Chem. Soc.* 1998, 120 (51), 13529–13530. <https://doi.org/10.1021/ja983257u>.
7. Kuroki, Y.; Sakamaki, Y.; Iseki, K. Enantioselective Rhodium(I)-Catalyzed Hydrogenation of Trifluoromethyl Ketones. *Org. Lett.* 2001, 3 (3), 457–459. <https://doi.org/10.1021/ol006962s>.
8. Tang, L.; Wang, Q.; Wang, J.; Lin, Z.; Wang, X.; Cun, L.; Yuan, W.; Zhu, J.; Liao, J.; Deng, J. A New Chiral Sulfinyl-NH-Pyridine Ligand for Ir-Catalyzed Asymmetric Transfer Hydrogenation Reaction. *Tetrahedron Lett.* 2012, 53 (30), 3839–3842. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2012.04.110>.

9. Slungård, S. V.; Krakeli, T. A.; Thvedt, T. H. K.; Fuglseth, E.; Sundby, E.; Hoff, B. H. Investigation into the Enantioselection Mechanism of Ruthenium-Arene- Diamine Transfer Hydrogenation Catalysts Using Fluorinated Substrates. *Tetrahedron* 2011, 67 (31), 5642–5650. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2011.05.099>.
10. Dixon, D.; Stengel P.; Wang B. Hif-2-alpha inhibitor polymorphs. Patent WO2016145236 (A1), September 15, 2016.
11. Corey, E. J.; Cheng, X. M.; Cimprich, K. A.; Sarshar, S. Remarkably Effective and Simple Syntheses of Enantiomerically Pure Secondary Carbinols from Achiral Ketones. *Tetrahedron Lett.* 1991, 32 (47), 6835–6838. [https://doi.org/10.1016/0040-4039\(91\)80419-7](https://doi.org/10.1016/0040-4039(91)80419-7).
12. Yu, F.; Wu, X.; Lu, Y.; Yan, F.; Liu, J.; Lu, S. Chiral N-substituted-3, 3-difluoro-4-hydroxypiperidine derivative and preparation method thereof. Patent CN111377850 (A), July 7, 2020.
13. Mizuta, S.; Shibata, N.; Hibino, M.; Nagano, S.; Nakamura, S.; Toru, T. Ammonium Bromides/KF Catalyzed Trifluoromethylation of Carbonyl Compounds with (Trifluoromethyl)Trimethylsilane and Its Application in the Enantioselective Trifluoromethylation Reaction. *Tetrahedron* 2007, 63 (35), 8521–8528. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2007.05.024>.
14. Wu, S.; Guo, J.; Sohail, M.; Cao, C.; Chen, F. X. The Enantioselective Trifluoromethylation of Aromatic Aldehydes by Quaternary Ammonium Bromide and (IPr)CuF at Low Catalyst Loading. *J. Fluor. Chem.* 2013, 148, 19–29. <https://doi.org/10.1016/j.jfluchem.2013.01.027>.
15. Obijalska, E.; Mlostoń, G.; Six, A. Enantioselective Additions of (Trifluoromethyl)Trimethylsilane to α -Imino Ketones Derived from Aryl Glyoxals. *Tetrahedron Lett.* 2013, 54 (20), 2462–2465. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2013.02.093>.
16. Kazlauskas, R. J.; Weissfloch, A. N. E.; Rappaport, A. T.; Cuccia, L. A. A Rule to Predict Which Enantiomer of a Secondary Alcohol Reacts Faster in Reactions Catalyzed by Cholesterol Esterase, Lipase from *Pseudomonas Cepacia*, and Lipase from *Candida Rugosa*. *J. Org. Chem.* 1991, 56 (8), 2656–2665. <https://doi.org/10.1021/jo00008a016>.
17. Hamada, H.; Shiromoto, M.; Funahashi, M.; Itoh, T.; Nakamura, K. Efficient Synthesis of Optically Pure 1,1,1-Trifluoro-2-Alkanols through

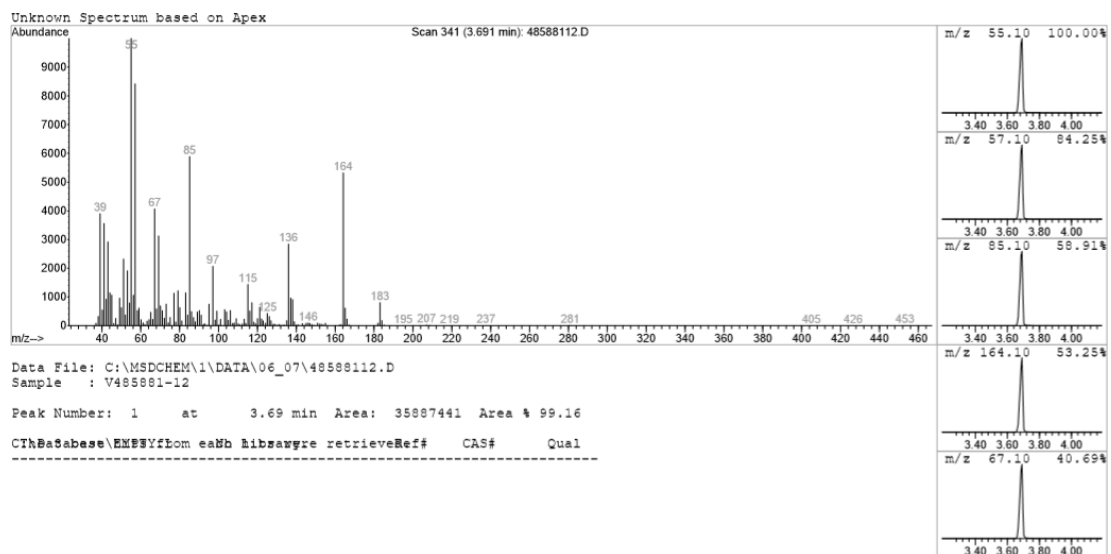
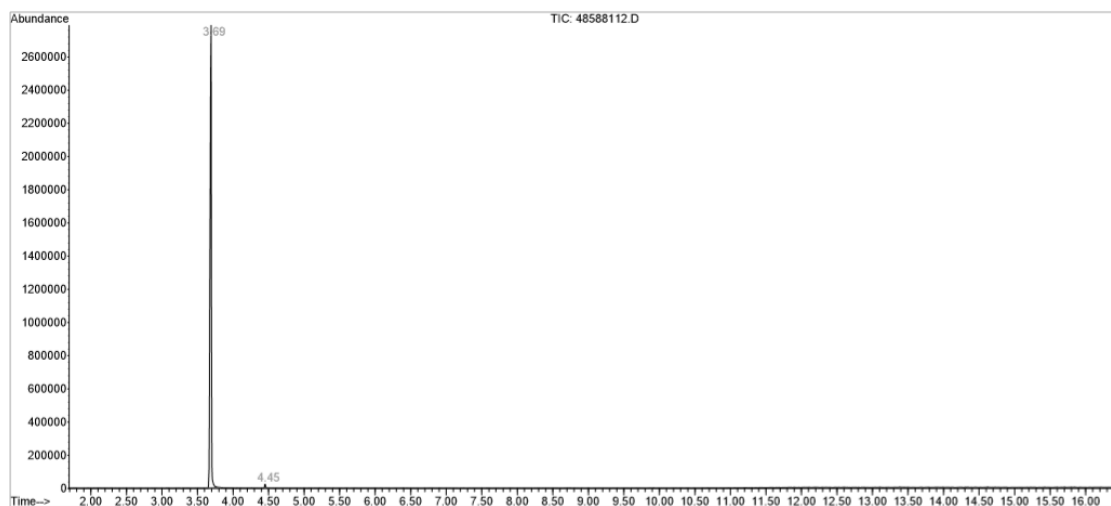
- Lipase-Catalyzed Acylation in Organic Media. *J. Org. Chem.* 1996, 61 (7), 2332–2336. <https://doi.org/10.1021/jo951976a>.
18. Kucher, O. V.; Kolodiazhnaya, A. O.; Smolii, O. B.; Prisuazhnyk, D. V.; Tolmacheva, K. A.; Zaporozhets, O. A.; Moroz, Y. S.; Mykhailiuk, P. K.; Tolmachev, A. A. Enzyme-Catalyzed Kinetic Resolution of 2,2,2-Trifluoro-1-(Heteroaryl)Ethanol: Experimental and Docking Studies. *European J. Org. Chem.* 2014, 2014 (34), 7692–7698. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201403013>.
19. Fäh, C.; Mathys, R.; Hardegger, L. A.; Meyer, S.; Bur, D.; Diederich, F. Enantiomerically Pure and Highly Substituted Alicyclic α , α - Difluoro Ketones: Potential Inhibitors for Malarial Aspartic Proteases, the Plasmeprins. *European J. Org. Chem.* 2010, No. 24, 4617–4629. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201000712>.
20. Dale, J. A.; Mosher, H. S. Nuclear Magnetic Resonance Enantiomer Regents. Configurational Correlations via Nuclear Magnetic Resonance Chemical Shifts of Diastereomeric Mandelate, O-Methylmandelate, and α -Methoxy- α -Trifluoromethylphenylacetate (MTPA) Esters. *J. Am. Chem. Soc.* 1973, 95 (2), 512–519. <https://doi.org/10.1021/ja00783a034>.

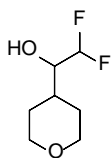
Додатки

GCMS-спектри



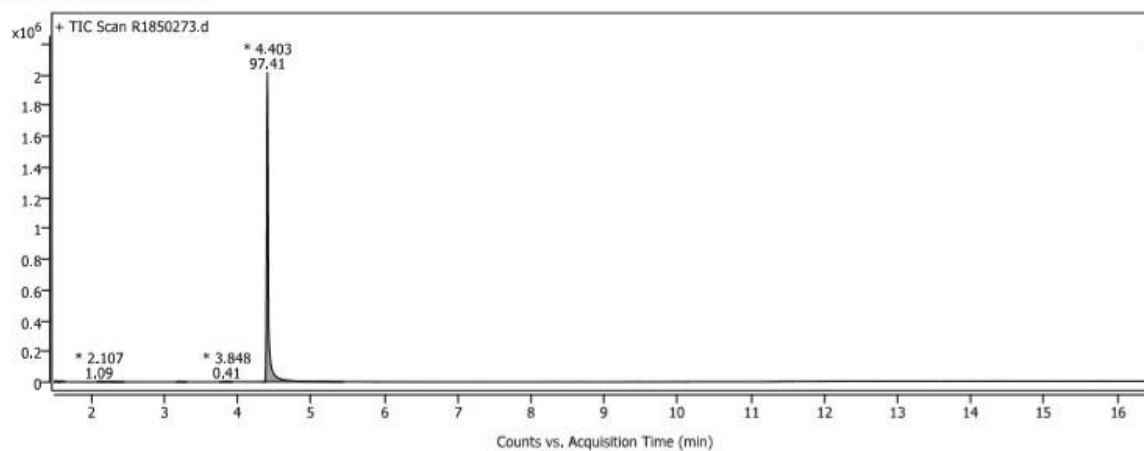
rac-2,2,2-трифтор-1-(тетрагідро-2H-піран-4-іл) етанол (2.1a).



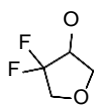
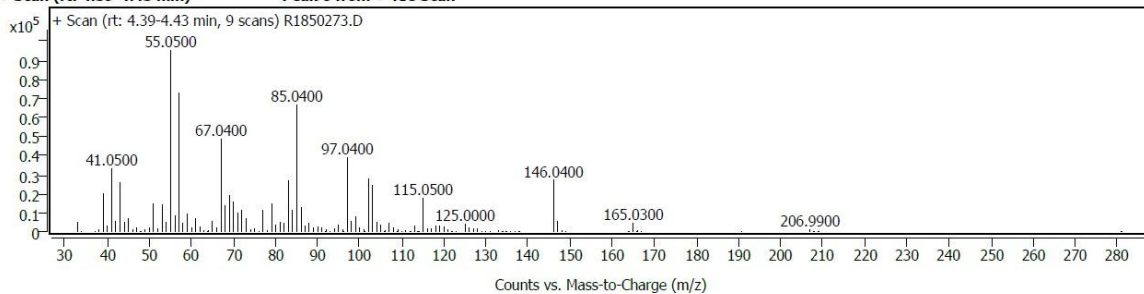


***rac*-2,2-дифтор-1-(тетрагідро-2H-піран-4-іл) етанол (2.1b).**

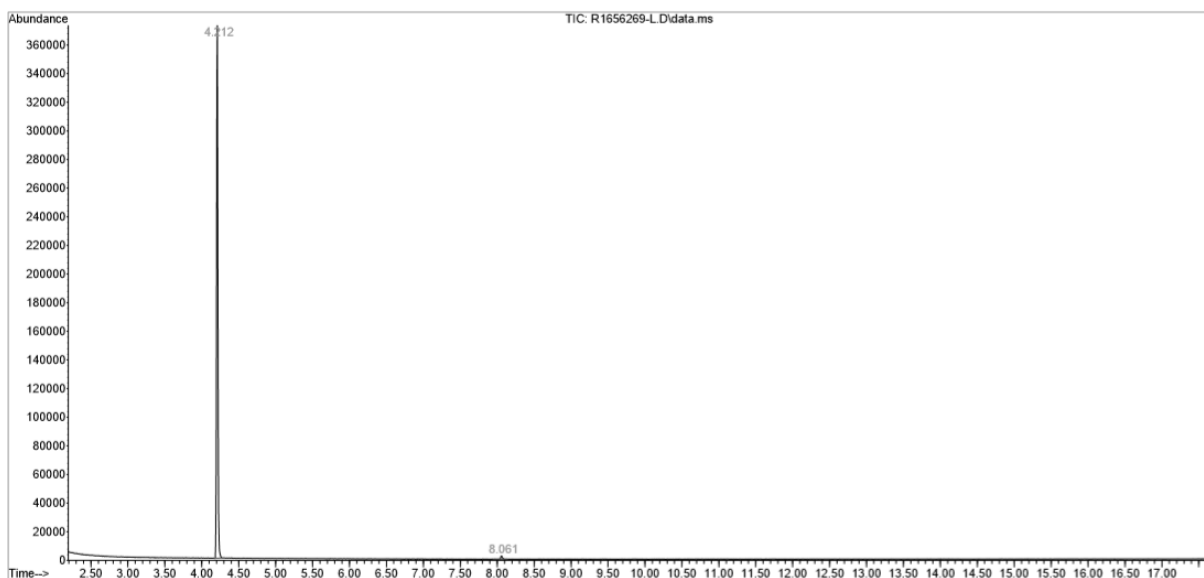
Sample Chromatograms

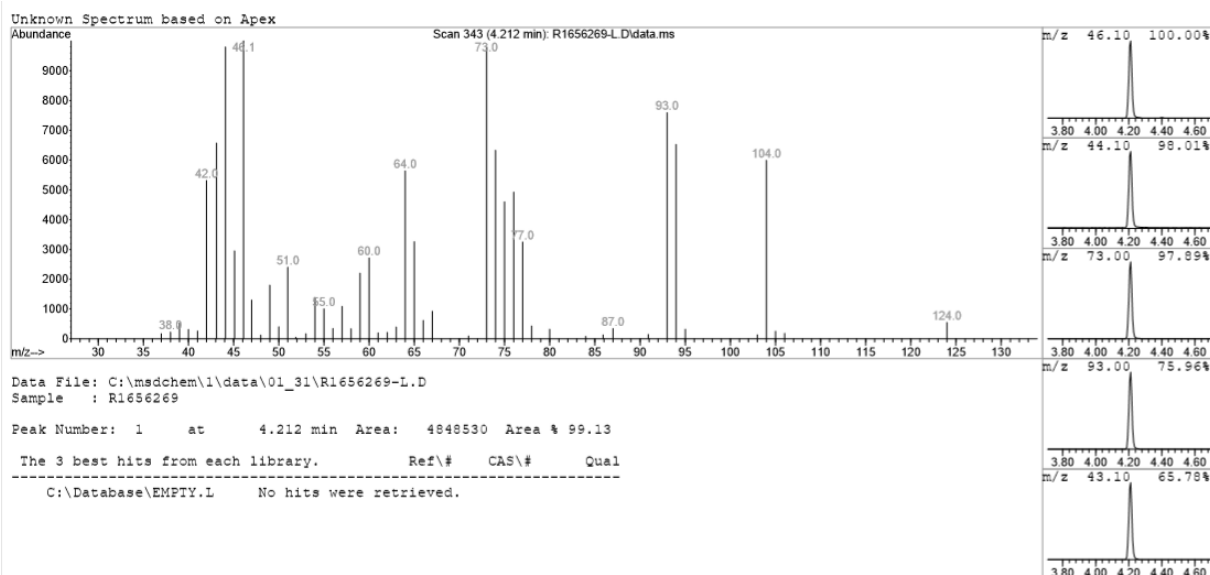


+ Scan (rt: 4.39-4.43 min) Peak 6 from + TIC Scan



***rac*-4,4-дифтортетрагідрофуран-3-ол (2.1c).**



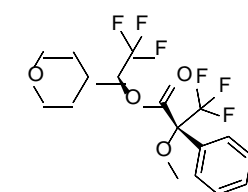
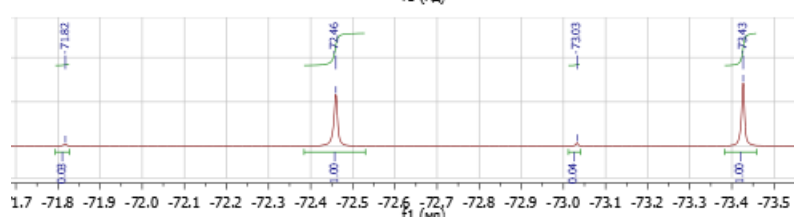
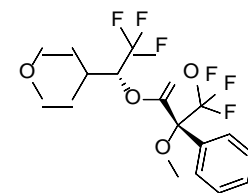
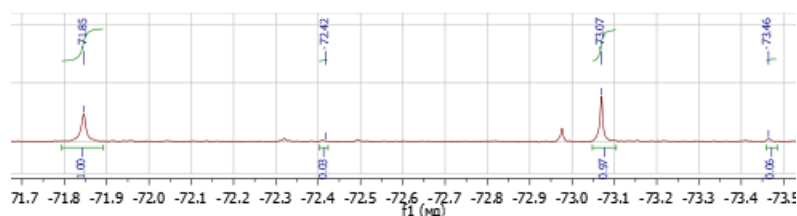
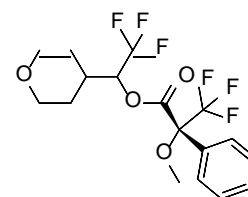
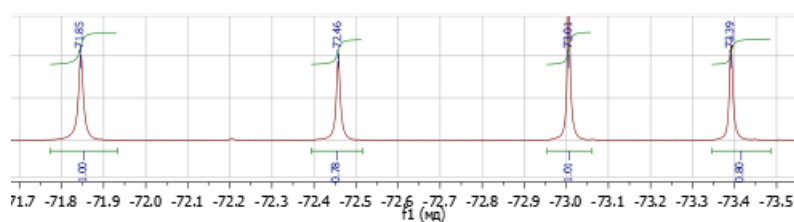


Оптичний аналіз

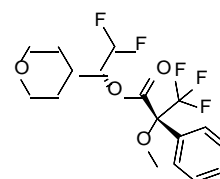
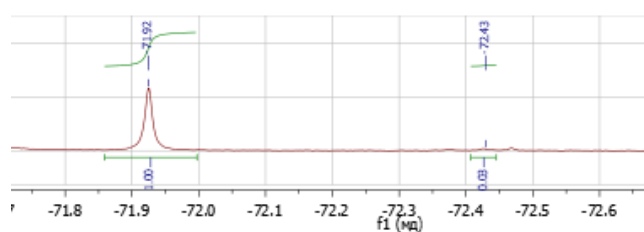
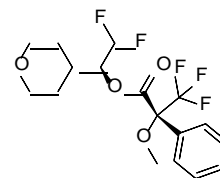
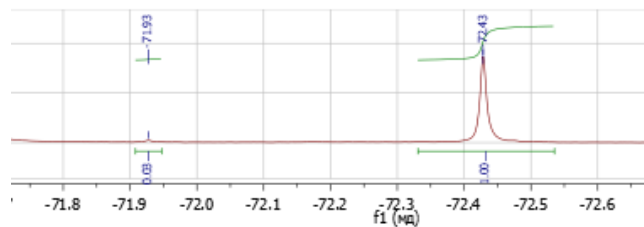
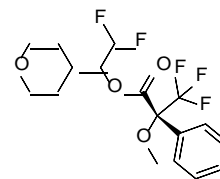
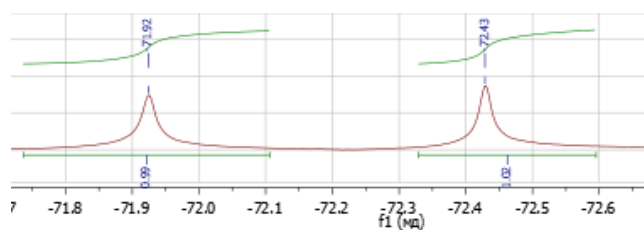
Речовина	$[\alpha]_D^{25}$	Розчинник	Концентрація(г на 100 мл)	еє(%)
2.1a-R	+15.35	CH ₃ OH	0.5	97
2.1a-S	-15.17	CH ₃ OH	0.5	95
2.1b-R	+14.34	CH ₃ OH	0.5	94
2.1b-S	-14.48	CH ₃ OH	0.5	95
2.1c-R	+0.58	CDCl ₃	0.6	93
2.1c-S	-0.62	CDCl ₃	0.6	100

¹⁹F NMR спектри естерів Мошера

2,2,2-трифтор-1-(тетрагідро-2H-піран-4-іл)етанол (2.1a).



2,2-дифтор-1-(тетрагідро-2H-піран-4-іл) етанол (2.1b).



4,4-дифтортетрагідрофуран-3-ол (2.1c)

