

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА  
НАВЧАЛЬНО-НАУКОВИЙ ІНСТИТУТ ВИСОКИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Завідувач кафедри супрамолекулярної хімії

д.х.н., професор Сергій Вікторович Рябухін

Протокол №\_\_ засідання кафедри

Від «\_\_»\_\_\_\_\_ 2024 року

**СИНТЕЗ І ФІЗИКО-ХІМІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА  
ТЕТРАФТОРОВАНОГО АНАЛОГА  
γ-АМІНОБУТАНОВОЇ КИСЛОТИ**

Випускна кваліфікаційна робота магістра

студента спеціальності 102 Хімія

ОП «Хімія та наноматеріали»

**Марича Данила Дмитровича**

Науковий керівник професор, д. х. н.

**Комаров Ігор Володимирович**

Оцінка захисту роботи

---

## АНОТАЦІЯ

Марич Д. Д. Синтез нового похідного  $\gamma$ -амінобутанової кислоти – 4-аміно-2,2,3,3-тетрафтор амінобутанової кислоти – Випускна кваліфікаційна робота магістра за спеціальністю 102 Хімія ОП «Хімія та наноматеріали».

В роботі було досліджено методи отримання – 4-аміно-2,2,3,3-тетрафтор амінобутанової кислоти – перспективного аналога  $\gamma$ -амінобутанової кислоти та підібрано оптимальний метод для отримання мультиграмових кількостей фінальної сполуки. Структуру було підтверджено за допомогою фізико-хімічних методів аналізу: ЯМРу, мас-спектрометрії та рентгеноструктурного аналізу.

Ключові слова:  $\gamma$ -амінобутанова кислота, природні амінокислоти, фторовані похідні.

Marych D. D. Synthesis of a new derivative of  $\gamma$ -aminobutyric acid - 4-amino-2,2,3,3-tetrafluoroamino butanoic acid - Master's graduation thesis in the specialty 102 Chemistry EP "Chemistry and Nanomaterials".

In this work, the methods for the preparation of 4-amino-2,2,3,3-tetrafluoroamino butanoic acid, a promising analog of  $\gamma$ -aminobutanoic acid, were investigated and the optimal method for obtaining multigram quantities of the final compound was developed. The structure was confirmed by physicochemical analysis: NMR, mass spectrometry, and X-ray crystallographic analysis.

Key words:  $\gamma$ -aminobutyric acid, natural amino acids, fluorinated derivatives.

## ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ .....	2
ВСТУП .....	4
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ ТА ПОЗНАЧЕНЬ .....	8
Розділ 1. Літературний огляд .....	9
1.1 Загальні відомості про GABA, роль в живих організмах .....	9
1.2 ГАМК-шунт в організмі людини.....	10
1.3 Огляд сигнальної системи $\gamma$ -аміномасляної кислоти (ГАМК).....	12
1.4 Роль GABA в медицині .....	14
1.5 Вплив атому фтору на молекули з точки зору медичної хімії. ....	18
1.6 Області застосування фторованих похідних ГАМК. ....	22
1.6.1 Drug-design.....	22
1.6.2 Магнітно-резонансна томографія в ЦНС .....	25
Розділ 2. Обговорення експериментальної частини. ....	26
Розділ 3. Експериментальна частина .....	30
3.1 Реалізована схема синтезу.....	30
3.2 Експериментальна процедура.....	30
Розділ 4. Опис та обговорення фізико-хімічних властивостей отриманої сполуки. Порівняння з відомими аналогами. ....	37
4.1 Дослідження $pK_a$ .....	37
4.2 Дослідження рентгеноструктурного аналізу.....	38
4.3 Конформаційний аналіз.....	40
ВИСНОВКИ.....	43
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	44

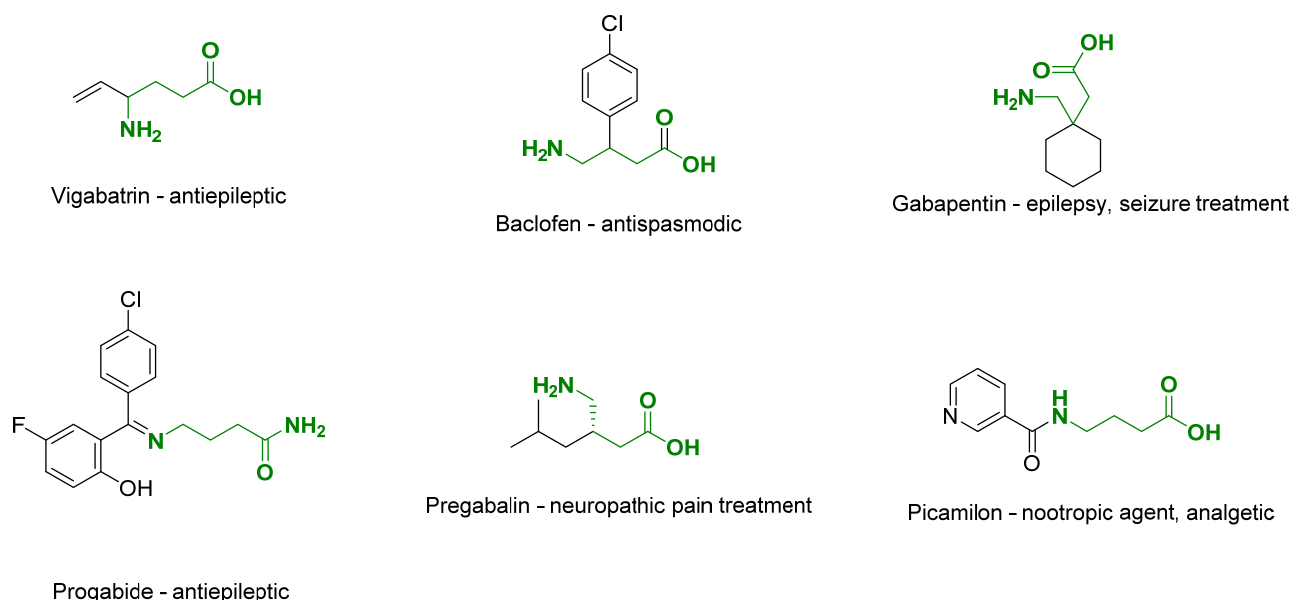
## ВСТУП

**Актуальність теми.** Гамма-аміно-масляна кислота (GABA) відіграє невід'ємну роль у фізіології людського організму. Як важливий нейромедіатор, GABA регулює активність нервових клітин та сприяє релаксації і заспокоєнню (1). У біохімічних процесах вона виконує функцію інгібітора, знижуючи активність нервових сигналів та забезпечуючи баланс між збудженням і гальмуванням (2). Крім того, GABA змінює кислотно-основні властивості органічних сполук, фрагментом яких вона є; це може мати важливе значення для розробки нових лікарських препаратів (3).

У сфері розробки лікарських засобів GABA використовується як молекулярна мішень для створення препаратів, призначених для лікування різних неврологічних розладів, включаючи тривожність, епілепсію та безсоння (4). Багато препаратів, спрямованих на модуляцію активності GABA-ергічної системи, вже успішно використовуються у клінічній практиці

– *Рис.1.1*

*Рис. 1* – медичні препарати – похідні GABA

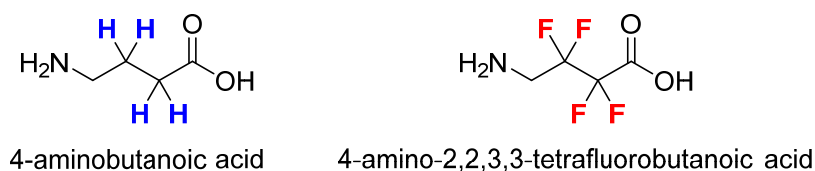


У свою чергу, Фтор стає все більш важливим трендом в медичній хімії завдяки своїм унікальним властивостям, які можуть покращити ефективність

та безпеку лікарських засобів [6][2]. Фторування органічних сполук виявляється корисним в багатьох аспектах, зокрема, у підвищенні стабільності молекул, підвищенні ліпофільності та підвищенні біологічної активності [3]. Актуальність фтор-похідних полягає у потенційній здатності покращувати лікувальні властивості лікарських засобів, зменшуючи при цьому можливі побічні ефекти та забезпечуючи високу ефективність (джерело). Відомо, що атом фтору в молекулі також підвищує проникність крізь крово-мозковий бар'єр та модулює кислотність сполук [4][5], що позитивно відображається на засвоюваності та біодоступності препаратів.

У даній роботі було розроблено і реалізовано синтетичний шлях перетворень, котрий дозволяє отримати абсолютно нове похідне GABA із чотирма атомами фтору у мультиграмових кількостях. На нашу думку, така модифікація гамма-амінобутанової кислоти є потенційним таргетом для створення медичних препаратів та/або біологічно активних добавок на її основі.

**Рис. 2** – нове похідне GABA, в якому 4 атоми Водню заміщені на Фтор – ціль нашого дослідження.



Підсумовуючи вищесказане, GABA в організмі людини відіграє ключову роль у регуляції нейротрансмісії, функціонуванні нервової системи; впливає на різні фізіологічні процеси, включаючи сон, настрій, апетит та рівень стресу [5]. Сама GABA і її похідні є перспективними мішенями в розробці лікарських препаратів. Розуміння їх біохімічних та фізіологічних властивостей є вирішальним в розробці та вдосконаленні процедур лікування різних нейрологічних захворювань.

**Мета і задачі дослідження.** Мета даного дослідження полягає в синтезі нового потенційного таргету для медичної хімії та дослідженні його фізико-хімічних властивостей. Цей підхід поєднує у собі такі фундаментальні тренди медичної хімії, як фтор і GABA - ключовий нейромедіатор в організмі людини, що може відкрити нові можливості в області розробки лікарських засобів.

*Об'єкт дослідження* – GABA, 4-аміно-2,2,3,3-тетрафтор амінобутанова кислота

*Предмет дослідження* - реалізація оптимального шляху синтезу нового, донині невідомого похідного, його ідентифікація за допомогою фізико-хімічних методів. Дослідження враховує хімічні особливості проміжних та кінцевої сполук з метою досягнення максимальної ефективності та вибору найбільш відповідних умов для їхнього синтезу в мультиграмових кількостях.

Методи дослідження — органічний синтез, ЯМР-спектроскопія на ядрах  $^1\text{H}$ ,  $^{19}\text{F}$  та  $^{13}\text{C}$ , LC/MS-спектрометрія, PCA, препаративна рідинна хроматографія.

**Особистий внесок здобувача.** Систематизація літературних даних, планування дослідження, експериментальна робота, узагальнення отриманих результатів, аналіз спектральних досліджень та встановлення будови отриманих сполук виконані особисто здобувачем. Постановка завдання дослідження та обговорення результатів проводились разом з науковим керівником, професором Комаровим Ігорем Володимировичем.

**Структура і обсяг роботи.** Кваліфікаційна робота викладена на 49 сторінках і складається з вступу, чотирьох розділів, висновку, переліку використаних джерел (50 найменувань), містить 10 рисунків, 9 схем та 2 таблиці. Перший розділ (літературний огляд) присвячений загальним відомостям про ГАБА, областям її застосування. У другому розділі наведено планування

експериментальної частини. Третій розділ є експериментальною частиною кваліфікаційної роботи. У четвертому – довели структуру фінальної сполуки, порівняли її фізико-хімічні характеристики із відомими найближчими структурними аналогами.

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ ТА ПОЗНАЧЕНЬ

Умовне скорочення	Розшифровка
GABA	Гамма-амінобутанова кислота
PCA	Реакція синтезу аміноциклізації
ЯМР	Ядерний магнітний резонанс
LC/MS	Рідинна хроматографія з мас-спектрометрією
Pd/C	Паладій на вугіллі
BAIB	Біс-ацетокси-йодбензол
TEMPO	2,2,6,6-Тетраметил-1-піперидиноксил-вільний радикал
ГАМК	Гамма-аміномасляна кислота
ЦНС	Центральна нервова система
THF	Тетрагідрофуран
ACN	Ацетонітрил
Boc	Трет-бутоксикарбоніл
CBZ	Карбоксибензил
GAD	Глутамат декарбоксилаза
GABA-T	Гамма-амінобутират-трансаміназа
LAH	Літій алюмініт гідрид
SSADH	Сукцинат-напівальдегід дегідрогеназа
Tf	Трифлат
RT	Кімнатна температура
DCM	Дихлорметан
MeOH	Метанол
OSu	N-гідроксисукцинімід
ЯМР	Ядерно-магнітний резонанс

## Розділ 1. Літературний огляд

### 1.1 Загальні відомості про ГАВА, роль в живих організмах

Гамма-амінобутанова кислота (ГАВА) - чотирьохвуглецева непротеїногенна амінокислота, яка присутня в живих організмах. Спочатку вона була виявлена в рослинах [7], потім ідентифікована в мозку ссавців (Roberts та Frankel, 1950)[8], а пізніше в кількох інших організмах, включаючи бактерії та гриби (Bouche et al., 2003) [9].

ГАМК природно міститься в різних продуктах харчування, таких як чай, помідори, соєві боби, пророщений рис і деякі ферментовані продукти, тож може надходити в організм через звичайний раціон харчування.

У хребетних вона утворюється незворотною реакцією  $\alpha$ -декарбоксілювання L-глутамінової кислоти або її солей, каталізованої ферментом декарбоксилазою [10] і функціонує як інгібіторний нейротрансмітер в центральній нервовій системі (ЦНС) [8]. Також виявлено її у декількох периферичних тканинах [11]. ГАВА є критично важливою для функціонування ЦНС, де приблизно 60–75% всіх синапсів є ГАВА-ергічними [12].

В організмах рослин вона діє як захисна речовина та сигнальна молекула в різних фізіологічних процесах і допомагає реагувати на біотичні та абіотичні стреси. Бере участь у регулюванні первинного метаболізму, перерозподілі вуглецевих і азотних ресурсів, зменшенні накопичення активних форм кисню та підвищує стійкість рослин до окислювального стресу.

Отже, розуміння ролі ГАМК у життєдіяльності рослин дає теоретичне підґрунтя для застосування ГАМК у сільському та лісовому господарстві, а також для розробки ефективних стратегій виживання рослин у складних і мінливих середовищах [13].

## 1.2 ГАМК-шунт в організмі людини

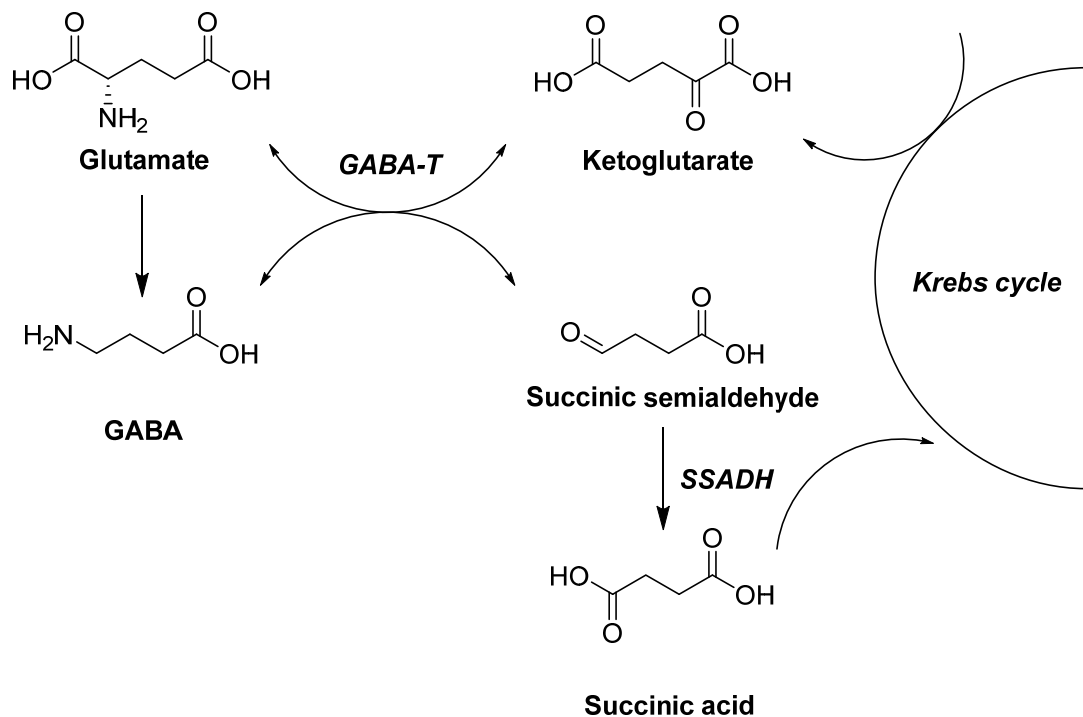
Гамма-аміномасляна кислота (ГАМК) - це амінокислота, яка слугує основним гальмівним нейромедіатором у головному та спинному мозку. Вона виконує свою основну функцію в синапсі між нейронами шляхом зв'язування з постсинаптичними ГАМК-рецепторами, які модулюють іонні канали, гіперполяризуючи клітину і гальмуючи передачу потенціалу дії.

Клінічне значення ГАМК не можна недооцінювати. Порушення ГАМК-сигналізації пов'язане з багатьма неврологічними та психіатричними захворюваннями. Модуляція ГАМК-сигналізації лежить в основі багатьох фармакологічних методів лікування в неврології, психіатрії та анестезії.

ГАМК-шунт - це замкнутий процес, який має подвійну мету: виробляти та зберігати запаси ГАМК. ГАМК присутній у високих концентраціях (мілімолярних) у багатьох ділянках мозку. Ці концентрації приблизно в 1 000 разів перевищують концентрації класичних моноамінових нейромедіаторів у тих самих ділянках. Це узгоджується з потужною і специфічною дією ГАМК-ергічних нейронів у цих ділянках. Глюкоза є основним попередником для виробництва ГАМК *in vivo*, хоча піруват та інші амінокислоти також можуть виступати в ролі попередників. Першим кроком у ГАМК-шунті є трансамінування  $\alpha$ -кетоглутарату, що утворюється в результаті метаболізму глюкози в циклі Кребса, за допомогою ГАМК  $\alpha$ -оксоглутараттрансaminaзи (ГАМК-Т) в l-глутамінову кислоту. Декарбоксилаза глутамінової кислоти (ГАМК) каталізує декарбоксилювання глутамінової кислоти з утворенням ГАМК. GAD експресується лише в клітинах, які використовують ГАМК як нейромедіатор. GAD, локалізований за допомогою антитіл або мРНК-гібридизаційних зондів, слугує чудовим маркером для ГАМК-ергічних нейронів у ЦНС. Було клоновано два споріднені, але різні гени GAD, що свідчить про незалежну регуляцію та властивості двох форм GAD: GAD65 та GAD67. Крім того, експресія GAD і деяких субодиниць ГАМК-рецепторів

була продемонстрована в деяких ненеуронних тканинах, що вказує на ймовірну функцію ГАМК за межами ЦНС. ГАМК метаболізується ГАМК-Т з утворенням бурштинового напівдегіду. Щоб зберегти наявні запаси ГАМК, трансамінування зазвичай відбувається, коли початкова вихідна сполука,  $\alpha$ -кетоглутарат, присутня, щоб прийняти аміногрупу, вилучену з ГАМК, перетворюючи глутамінову кислоту. Таким чином, молекула ГАМК може метаболізуватися лише тоді, коли утворюється молекула попередника. Бурштиновий напівдегід може бути окислений за допомогою бурштинової напівдегідрогенази (SSADH) до бурштинової кислоти, яка потім може знову входити в цикл Кребса, завершуючи цикл (*Схема 1.1*) [14].

*Схема 1.1* ГАМК-шунт



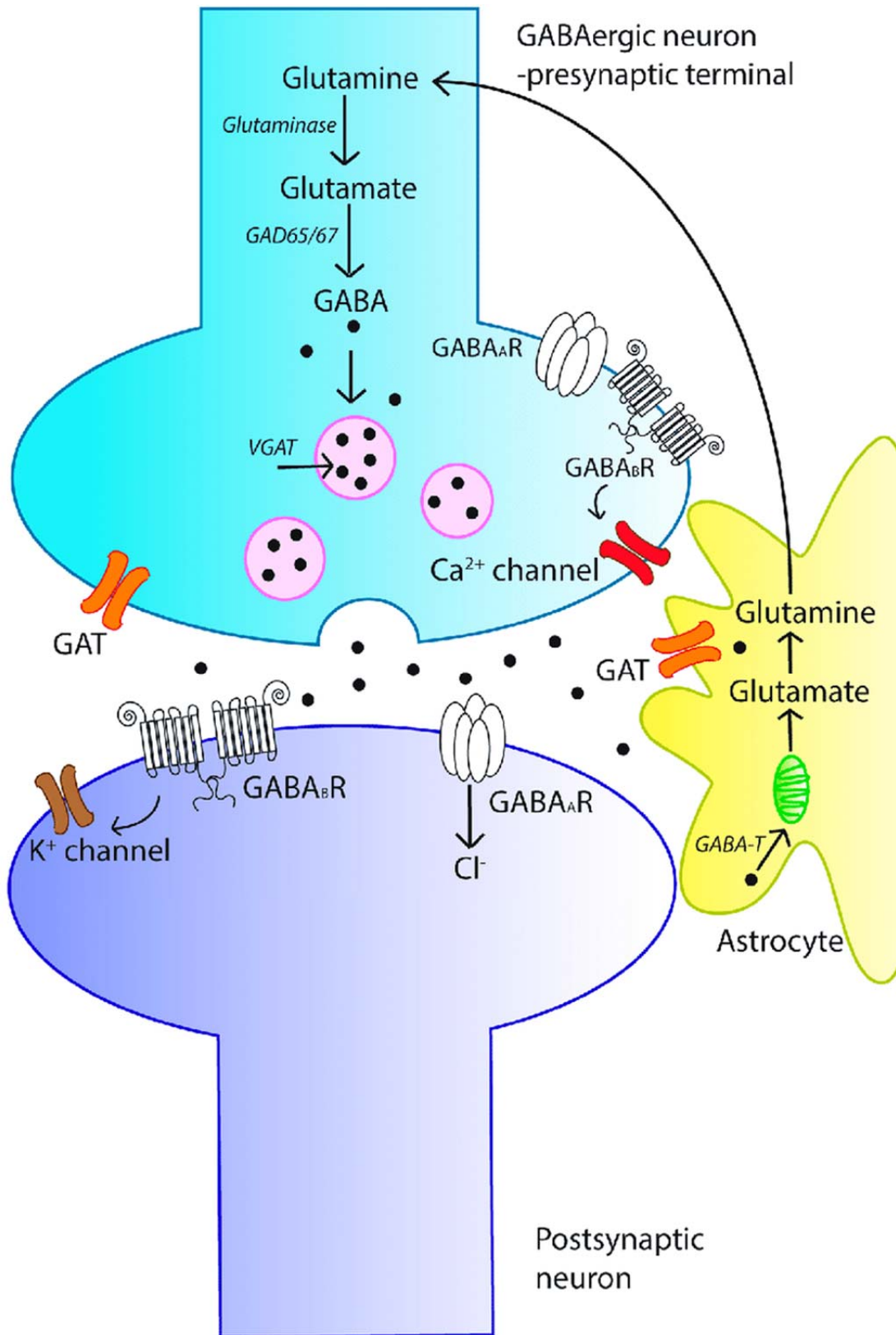
ГАМК синтезується в цитоплазмі пресинаптичного нейрона з глутамату за допомогою ферменту глутаматдекарбоксилази (GAD) - ферменту, який використовує вітамін В6 (піридоксин) як кофактор.

### 1.3 Огляд сигнальної системи $\gamma$ -аміномасляної кислоти (ГАМК).

На *Схемі 1.2* представлено ГАМК-ергічний синапс і показано ключові аспекти передачі ГАМК-ергічного сигналу. ГАМК синтезується в пресинаптичній терміналі з глутамату за допомогою декарбоксилази глутамінової кислоти (ГАМК). Потім ГАМК потрапляє до синаптичних везикул під дією везикулярного ГАМК-транспортера (vGAT). Після деполяризації мембрани ГАМК вивільняється в синапс і може зв'язуватися з іонотропними ГАМК-рецепторами (GABAAR) або метаботропними ГАМК-рецепторами (GABABR) на постсинаптичній мембрані, що призводить до пригнічення постсинаптичного нейрона.

Вивільнений ГАМК виводиться з синапсу мембранозв'язаними транспортерами ГАМК (GAT), локалізованими в нейронах та астроцитах. В астроцитах ГАМК рециркулює в синаптичні везикули або поглинається мітохондріями, де метаболізується ГАМК-трансаміназою (ГАМК-Т) до глутаміну для поглинання нейронами.

Схема 1.2 Ілюстрація сигнальної GABA-ергічної системи



## 1.4 Роль GABA в медицині

ГАМК має велике клінічне значення. Препарати, що діють на ГАМК-рецептори, широко використовуються як терапевтичні засоби та речовини для зловживання, і малоімовірно, що будь-який лікар, незалежно від спеціальності, не зіткнеться з клінічними ситуаціями, пов'язаними з ГАМК.

Існує безліч застосувань препаратів, які модулюють ГАМК-сигналізацію. Бензодіазепіни - це клас препаратів, які діють шляхом зв'язування з рецептором ГАМК-A, що призводить до збільшення проникності для іонів хлору за рахунок зміни частоти, з якою відкриваються хлорні канали. Застосовуються для хірургічної анестезії, лікування епілепсії, розладів швидкого сну, алкогольної абстиненції, есенціального тремору та м'язової спастичності. Вони також є поширеними наркотиками для зловживання.

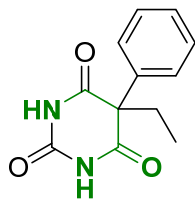
Етанол, одна з найстаріших і найпоширеніших психоактивних речовин, також впливає на GABA-A-рецептори. Алкогольний абстинентний синдром лікується препаратами, що модулюють ГАМК, такими як бензодіазепіни. Крім того, етанол і бензодіазепіни мають перехресну толерантність один до одного через схожий механізм дії. Передозування або одночасний прийом декількох препаратів, що модулюють ГАМК, може призвести до пригнічення дихання через посилення сигналізації ГАМК у стовбурі мозку [15].

Багато інших препаратів модулюють ГАМК-сигналізацію, зокрема такі *(Рис.1.1)*:

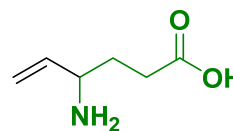
- *Барбітурати*, седативні препарати, які збільшують тривалість, протягом якої хлоридний канал відкритий, коли ГАМК зв'язується з рецептором ГАМК-A
- *Вігабатрин*, протиепілептичний інгібітор ГАМК-трансамінази
- *Пропофол*, седативний засіб, який зазвичай використовується при загальній анестезії, а також алостеричний модулятор та агоніст ГАМК-A-рецепторів

- *Флумазеніл*, антагоніст бензодіазепіну, який зв'язується з рецептором GABA-A і може усунути інтоксикацію бензодіазепінами та покращити психічний стан при печінковій енцефалопатії
- *Баклофен*, міорелаксант та агоніст GABA-B
- *Вальпроєва кислота*, стабілізатор настрою та протиепілептичний засіб, який, за гіпотезою, має інгібуючий вплив на поглинання ГАМК
- *Золпідем*, седативно-снودійний засіб, який впливає на рецептор ГАМК-A
- *Габапентин*, який зазвичай призначають для лікування невропатичного болю, частково здійснює свою дію шляхом збільшення синтезу ГАМК через модуляцію глутаматдегідрогенази

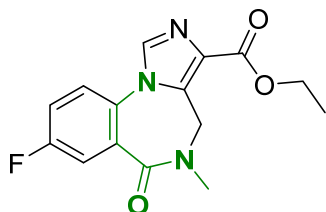
**Рис.1.1** Приклади препаратів



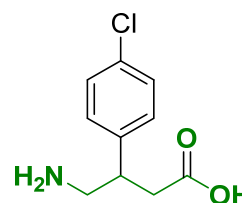
Phenobarbital - barbiturates representative



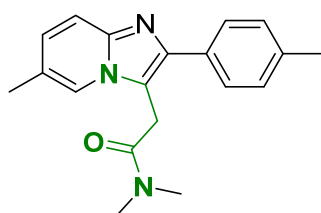
Vigabatrin - antiepileptic



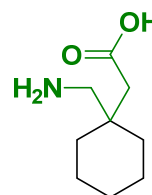
Flumazenil



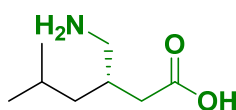
Baclofen - antispasmodic



Zolpidem



Gabapentin - epilepsy, seizure treatment



Pregabalin - neuropathic pain treatment

**Примітка:** кольором виділені фрагменти GABA, або такі, що мімікують її.

Чи може ГАМК бути самостійним препаратом?

У 2020 році група науковців [16] проаналізувала вибірку із існуючих 5913 публікацій, в яких згадувалося про тестування GABA на тваринах. В результаті електронного літературного пошуку, було обрано 14 публікацій, у котрих вивчали вплив на людський організм орального прийому GABA. Зокрема – на рівень стресу та сон.

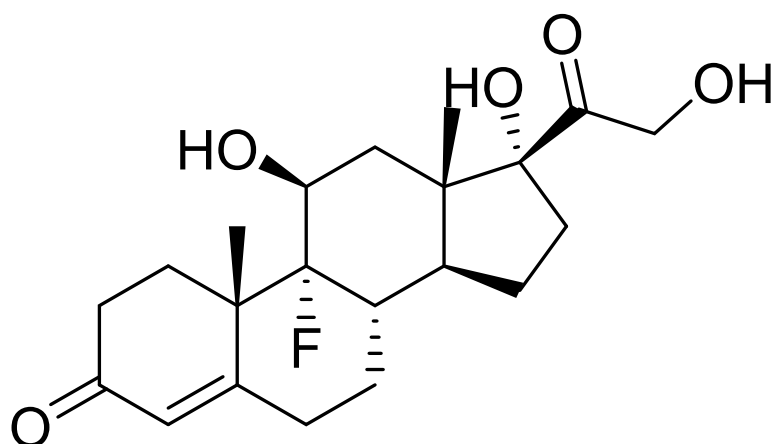
Загалом, з'ясували, що існує помірна кількість доказів щодо впливу GABA на стрес (через те, що існує більше досліджень з позитивними результатами) та низький рівень доказів щодо впливу GABA на сон. Методології досліджень, включених до цього огляду суттєво відрізнялися, але включали як суб'єктивні, так і об'єктивні показники стресу та сну. Більшість досліджень не виявили значного суб'єктивного покращення показників стресу після споживання одноразової дози природної або біосинтетичної форми GABA. Докази щодо тривалого застосування ГАМК є неоднозначними, в роботі Yoshida (2015) повідомляється про покращення показників спокою та тривожності в групі, що приймала ГАМК (порівняно з контрольною групою), на 4-му тижні лікування. З іншого боку, лише деякі суб'єктивні показники сну, включаючи порушення сну, відчуття після пробудження, початок і підтримання сну, сонливість вранці та відновлення після втоми показники покращувалися лише при тривалому застосуванні ГАМК протягом щонайменше одного тижня (Okada та ін., 2000; Yamatsu та ін., 2013, 2016). Решта досліджень показали або тенденції до покращення, або незначне суб'єктивне покращення сну. Цілком можливо, що для того, щоб викликати суб'єктивні позитивні ефекти щодо стресу і сну, потрібне тривале вживання природної ГАМК.

Попри те, що користь ГАМК, як повноцінного лікарського препарату неоднозначна, вона, її похідні та біоізостери є фрагментами десятків лікарських препаратів. Її рецептори є важливими мішенями, а нестача GABA в організмі приводить до серйозних захворювань. В більшості своїй, GABA-пов'язані препарати відносяться до наступних груп: спазмолітики, протиепілептичні, протисудомні, ноотропні препарати, снодійні, антидепресанти.

### 1.5 Вплив атому фтору на молекули з точки зору медичної хімії.

Традиційна медична хімія, заснована на використанні природних сполук або близьких похідних, і кількість таких сполук, що містять фтор, є дуже невеликою [17]. Відповідно, фторовані сполуки були рідкісними в медичній хімії до 1970-х років. Рання робота Буша і Магеша [18] над 9 $\alpha$ -фтор-гідрокортизолом (*Рис.1.2*) показала, як введення фтору в існуючу біологічно активну може позитивно повпливати на її характеристики. Найбільш вражаючим відкриттям є відсутність окислення 11 $\beta$ -гідроксильної групи до кетону, що

*Рис. 1.2* 9 $\alpha$ -Fluorocortisol



швидко відбувається з кортизолом і призводить до втрати біологічної активності.

Заміна атома водню або гідроксильної групи атомом фтору є стратегією, яка широко використовується при розробці ліків для зміни біологічної функції. Хоча зазвичай вважається, що фтор для заміщення водню викликає мінімальний стеричний ефект на рецепторних ділянках, фактичний радіус Ван-дер-Ваальса фтору (1,47 Å) лежить ° між радіусом кисню (1,57 Å) і водню (1,2 Å) [17]. Незважаючи на те, що фтор має більший розмір, ніж водень, кілька досліджень продемонстрували, що він є розумним імітатором водню і чинить лише незначну стеричну дію на рецептори, принаймні для монофункціональних аналогів [19]. На відміну від їхніх

невеликих відмінностей у розмірах, водень і фтор мають зовсім інші електронні властивості. Фтор — найбільш електронегативний елемент періодичної системи (3,8 за Полінгом) (*Табл. 1.1*).

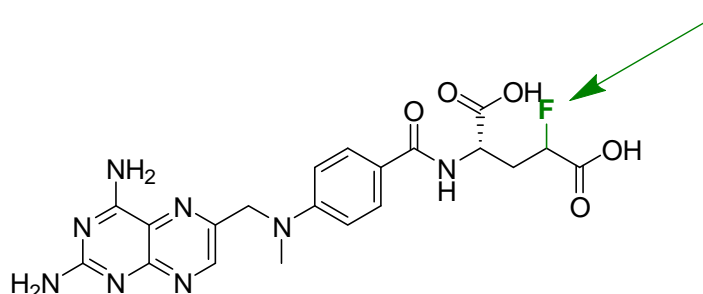
Результуюча зміна в розподілі електронів у молекулі після заміни атома водню на фтор може змінити рКа, дипольні моменти і навіть хімічну реакційну здатність і стабільність сусідніх функціональних груп.

*Табл. 1.1* – порівняння властивостей атомів F, O та H

Element	Electro-negativity	Bond length (CH <sub>2</sub> X, Å)	Van der Waals radius (Å)	Bond energy (kcal/mol)
H	2.1	1.09	1.20	99
F	4.0	1.39	1.35	116
O(OH)	3.5	1.43	1.40	85

Наявність одного фтору, суміжного з функцією карбонової кислоти в аліфатичних системах, також може мати виражений вплив на рКа. Цей факт було використано для обґрунтування зниження токсичності нових монофторвмісних аналогів метотрексату (*Рис. 1.3*). Включення атома фтору поруч з функцією глутамінової карбоксильної кислоти призводить до підвищення кислотності. Як наслідок, ці нові аналоги менш токсичні, ніж метотрексат, оскільки не утворюють поліглютаматів – небажаних клітинних метаболітів.[20]

*Рис. 1.3* Methotrexate. Атом фтору в  $\alpha$ -положенні карбоксильної групи значно підвищує її кислотність



Фтор утворює один із найсильніших зв'язків із вуглецем (енергія зв'язку C-F = 116 ккал/моль), який має підвищену окислювальну та термічну стійкість порівняно з вуглець-водневим зв'язком (C-H = 99 ккал/моль). Такий зв'язок поляризує молекулу – утворюється диполь.

Фтор також має ряд специфічних стереоелектронних ефектів, таких як аномерний ефект фтору у вуглеводах, ефект стабілізації Ан-Ейзенштейна в кінетичній роздільній здатності, опосередкованій ліпазою, та цис-ефект у дифторованих алканах [19].

На відміну від простої заміни водню на фтор, заміна метиленової функції на дифторометиленову (CF<sub>2</sub> на CH<sub>2</sub>) може мати значний вплив як на конформацію, так і на фізичні властивості [19]. Дифторометиленовий фрагмент фактично використовується як електронний імітатор лабільних атомів кисню у фосфатних ефірах (R-CF<sub>2</sub>-PO<sub>3</sub><sup>2-</sup> vs R-OPO<sub>3</sub><sup>2-</sup>). Ця функціональна група знайшла широке застосування в дизайні інгібіторів ферментів, які гідролізують або зв'язують фосфатні ефіри [21]. CF<sub>2</sub> було запропоновано як розумну ізостеричну та ізополярну заміну гідроксильної групи через їхній розмір, електронний розподіл та здатність діяти як акцептор водневих зв'язків [22, 23].

Наявність атома фтору може впливати на ліпофільність молекули і, отже, на розподіл лікарського засобу в мембранах, а також полегшувати гідрофобну взаємодію молекули лікарського засобу зі специфічними місцями зв'язування на рецепторах або ферментах. Заміна одного ароматичного атома водню зазвичай призводить лише до незначного збільшення ліпофільності, тоді як група CF<sub>3</sub> є однією з найбільш ліпофільних серед усіх замісників. Іон фтору є хорошою відхідною групою, оскільки є спряженою основою сильної кислоти. Тому іон фтору може бути втрачений як в реакціях заміщення, так і в реакціях елімінування, і цей аспект хімії фтору може бути використаний при розробці ліків або хімічних агентів, які утворюють стабільні ковалентні зв'язки з рецепторами-мішенями або ферментами в рамках їхньої

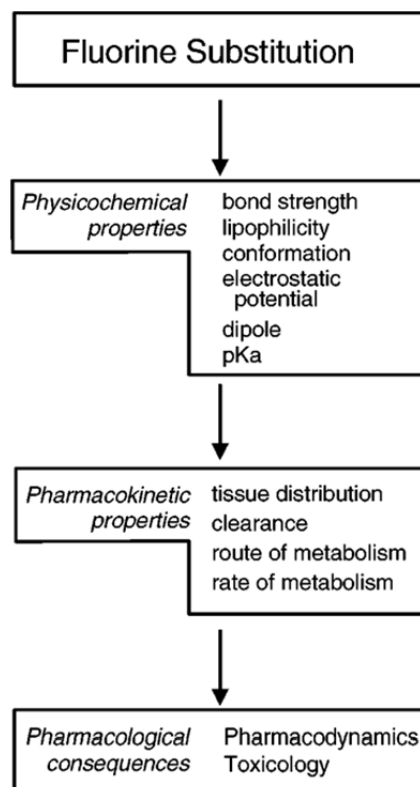
фармакологічної відповіді. Цей процес лежить в основі концепції "летального синтезу" [24].

Незважаючи на те, що фтор трохи більший за водень, кілька досліджень продемонстрували, що він є розумним імітатором водню і, як очікується, спричинить мінімальні стеричні збурення щодо способу зв'язування сполуки з рецептором або ферментом [26]. У той же час, введення атома фтору суттєво змінює фізико-хімічні властивості сполуки через його високу електронегативність. Тому такий тип модифікації може індукувати зміну біологічних реакцій молекули.

Однак слід підкреслити, що моделювання C-F зв'язку у взаємодіях лікарський засіб-рецептор не є тривіальним завданням навіть для дуже простих молекул у водному середовищі [25].

Введення фтору в молекулу може бути використано для зміни швидкості, шляху та ступінь метаболізму ліків (*Схема 1.3*). Заміщення функції на атом фтору також може бути використано для дисоціації фармакологічних і токсикологічних властивостей препарату, коли виявлено токсичний метаболіт

**Схема 1.3** Введення атому фтору в сполуку змінює її фармакологічні властивості



Наразі багато фторованих сполук синтезуються у фармацевтичних дослідженнях і широко застосовуються для лікування захворювань. До них відносяться: протиракові препарати [19], антидепресанти, протизапальні засоби, анестетики та препарати для центральної нервової системи [27], а в останні роки було опубліковано низку оглядових статей, присвячених різним терапевтичним класам фторвмісних препаратів [19,27].

## 1.6 Області застосування фторованих похідних ГАМК.

### 1.6.1 Drug-design

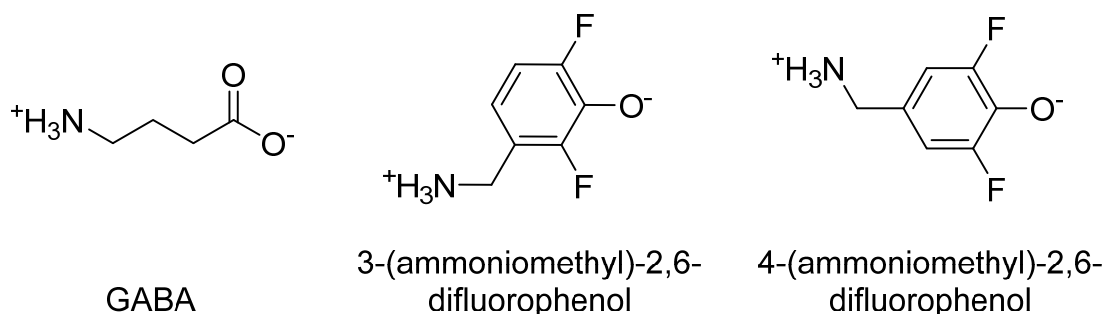
Існує два основних нейромедіатори, які беруть участь у регуляції активності нейронів головного мозку:  $\gamma$ -аміномасляна кислота (ГАМК), один з найпоширеніших гальмівних нейромедіаторів, та L-глутамінова кислота, збудливий нейромедіатор.<sup>1</sup> Концентрація ГАМК регулюється двома

піридоксаль 5'-фосфат (PLP) залежними ферментами: декарбоксилазою L-глутамінової кислоти (GAD), яка каталізує перетворення L-глутамату в ГАМК, та ГАМК-аміотрансферази (ГАМК-АТ), яка розщеплює ГАМК до янтарного напівдегіду (ЯН) одночасно з перетворенням  $\alpha$ -кетоглутарату на L-глутамат. 2 Коли концентрація ГАМК у мозку знижується нижче порогового рівня, виникають судоми<sup>3</sup>; підвищення рівня ГАМК у мозку припиняє судоми.<sup>4</sup> Зниження концентрації ГАМК та ферменту ГАМК пов'язане не лише з симптомами епілепсії<sup>5,6</sup>, але й з деякими іншими неврологічними захворюваннями, такими як хорея Гантінгтона, хвороба Паркінсона, хвороба Альцгеймера, та пізня дискінезія.

Рівень ГАМК у мозку не може бути підвищений за допомогою введення препарату ГАМК, оскільки він не проникає через гематоенцефалічний бар'єр. Підхід, який виявився успішним для підвищення рівня ГАМК у мозку, полягає у використанні сполуки, яка перетинає гематоенцефалічний бар'єр, а потім інгібує або інактивує ГАМК-АТ, таким чином підвищуючи концентрацію ГАМК (29)

До прикладу, [30] в цій роботі було реалізовано спробу мімікрії дифтор-заміщеної ГАМК, використовуючи 2,6-дифторофенол (**Рис.1.4**).

**Рис. 1.4** Дифторфенольна група імітує карбоксильну в молекулі ГАМК



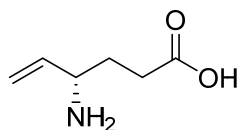
Qui та ін. синтезували імітатори ГАМК, використовуючи 2,6-дифторофенол, оскільки рКа фенолу (9,81) знижується до 7,12 після введення двох атомів фтору в ароматичне кільце [31]. При такому рН молекула перебуває у цвіттер-іонній формі, що є оптимальним для імітації ГАМК для

ГАМК-АТ. 3-(амінометил)-2,6-дифторофенол та 4-(амінометил)-2,6-дифторофенол (*Рис. 1.5*) були протестовані як субстрати для ГАМК-АТ з мозку свиней, і обидва виявилися поганими субстратами, але були конкурентними інгібіторами ГАМК-АТ. Це свідчить про те, що 2,6-дифторофеноли здатні імітувати функціональність карбонових кислот і, отже, діяти як ліпофільні біоізостери. Підвищена ліпофільність цього фрагмента повинна полегшити проходження через гематоенцефалічний бар'єр таким чином, дати поштовх розробці нових протисудомних препаратів.

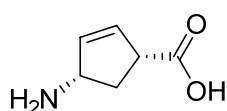
А науковці [31] з Northwestern University запропонували оригінальний підхід до пошуку альтернативи Vigabatrin'у, котрий вважається одним із найефективніших антиконвульсантів, що використовується у 60-ти країнах по всьому світу, проте заборонений у США.

Ними було синтезовано ряд конформаційно обмежених аналогів ГАМК і протестовано їх в якості інгібітора та субстрата GABA-АТ. В ході експерименту, виявилось, що фторовані аналоги сполуки 3 проявляють бажану активність, а сполука **1.6.4** у 187(!) разів більш потужний інгібітор GABA-АТ, ніж сам Vigabatrin.

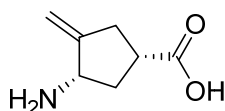
**Рис. 1.6** Пошук кандидатів на заміну Vigabatrin'у



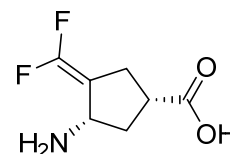
**1.6.1** - Vigabatrin



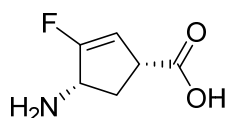
**1.6.2**



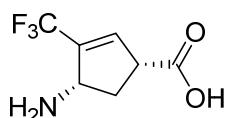
**1.6.3**



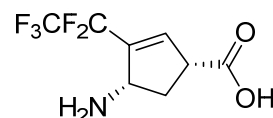
**1.6.4**



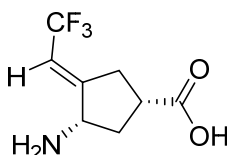
**1.6.5**



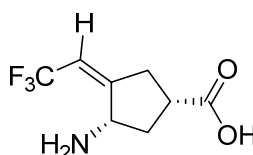
**1.6.6**



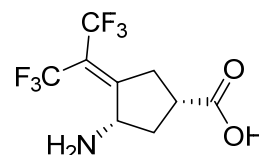
**1.6.7**



**1.6.8**



**1.6.9**



**1.6.10**

### 1.6.2 Магнітно-резонансна томографія в ЦНС

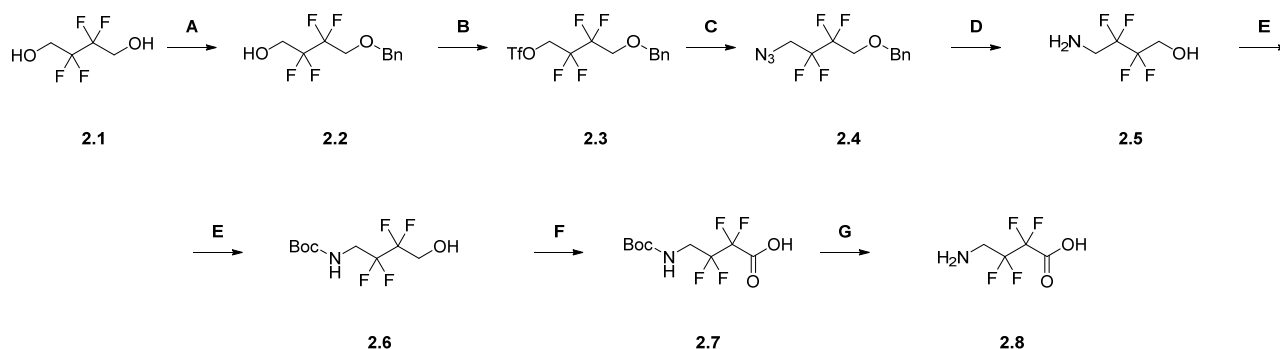
Висока (100%) природна ізотопна поширеність  $^{19}\text{F}$  робить чутливість магнітного резонансу досить високою і порівнянною з протонною.

Таким чином, сполуки  $^{19}\text{F}$  можуть бути використані в МРТ для візуалізації головного мозку. Оскільки немає ендогенних сполук, що містять фтор, фоновий шум для цього виду візуалізації є дуже низьким. Використання цього методу починає отримувати все більше досліджень, оскільки необхідні технології стають все більш досконалыми і доступними.

До них відносяться сканери з підвищеною напруженістю магнітного поля і кращі методи обробки даних [32].

## Розділ 2. Обговорення експериментальної частини.

Схема 2.1 Попередня схема синтезу



В якості вихідної речовини було обрано 2,2,3,3-тетрафторобутан-1,4-діол. Актуальність цього субстрату полягає у тому, що атоми фтору вже наявні в молекулі і хімічні перетворення полягають лише в заміні функціональних груп. Дана молекула є комерційно доступною, або може бути отриманою відновленням відповідного дієфіру ЛАН'ом [34].

Потенційна проблема даної схеми полягає в селективності алкілювання симетричного діолу 2.1, проте, дане перетворення було реалізоване [33].

Практичний експеримент підтвердив можливість такої реакції з високою регіоселективністю та виходом >90%, без необхідності чистити продукт алкілювання.

Надалі було проведено класичні перетворення за допомогою Tf<sub>2</sub>O та азиду натрію, котрі дозволили отримати моно-бензокси азид з хоршим виходом (83,7% вихід за 3 стадії).

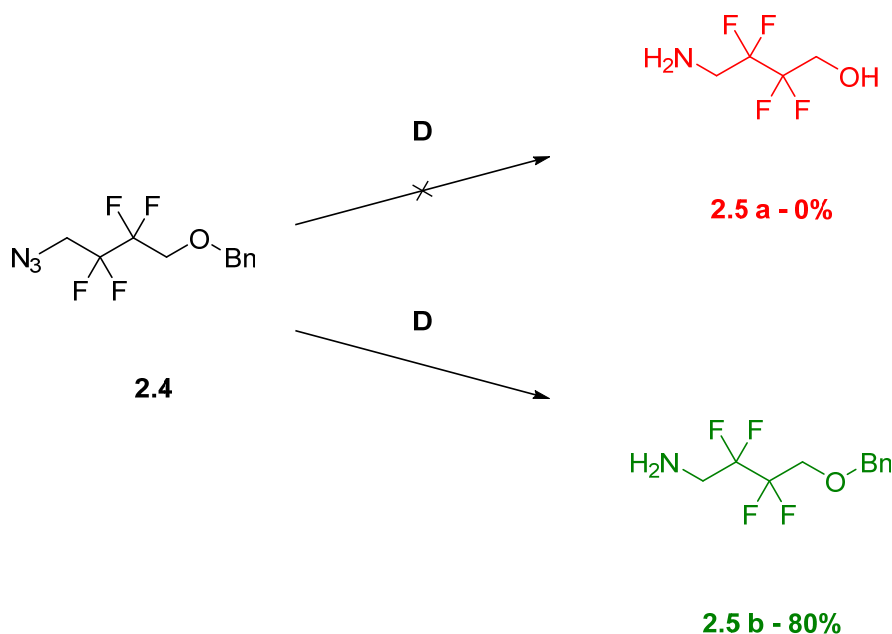
Очікувалося, що перетворення **D** дозволить отримати аміно-спирт в умовах каталітичного відновлення з Pd/C, проте всі проби призвели лише до відновлення азидної групи до аміну. В свою чергу, реакція дебензилювання не проходила навіть в умовах підвищеного тиску та температури (див. **Табл. 2.1, Схема 2.2**).

Табл. 2.1 Каталітичне гідрування

Pd/C – кількість, екв.	Тиск, атм.	Температура, °C	Вихід продукту 5a, %
0,05	1	20	0%
0,1	20	50	3%

*Примітка:* в обох випадках одержали продукт відновлення азиду до аміногрупи – 5b.

Схема 2.2 Поведінка сполуки 4 в умовах каталітичного гідрування



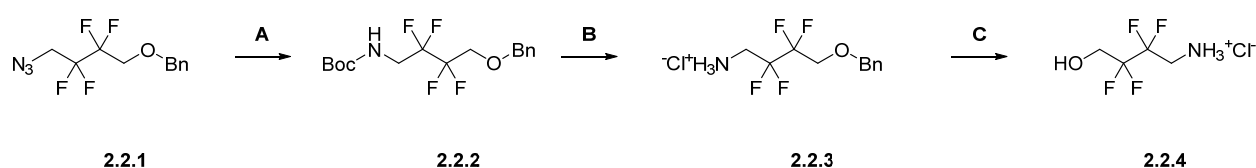
Нами було висунуто припущення, що така поведінка сполуки пов'язана з можливістю до утворення комплексної сполуки з каталізатором, так як первинний амін, що утворився в результаті відновлення азиду може відігравати роль монодентантного ліганда за рахунок наявності неподіленої пари електронів на атомі азоту.

Тому, було прийнято спробу обійти цей ефект перетворенням аміну в сольову форму – гідрохлорид. Попередньо, також амін, котрий вдалося отримати відновленням на попередній стадії вирішили захистити за допомогою Boc – захисної групи. Очікували, що таке перетворення дозволить підняти вихід і нівелювати імовірність отримання вторинного

аміну в процесі відновлення азиду (побічна реакція, в ході якої азидна група виступає в ролі відхідної).

Одержане Вос – похідне було оброблено з діоксановим розчином соляної кислоти, що дозволило отримати бажаний гідрохлорид аміну. При спробі його дебензилювання, реакцією каталітичного гідрування, одержали позитивний результат із виходом >90% у м'яких умовах – при атмосферному тиску (*Схема 2.2*).

**Схема 2.2** вирішення проблеми дебензилювання

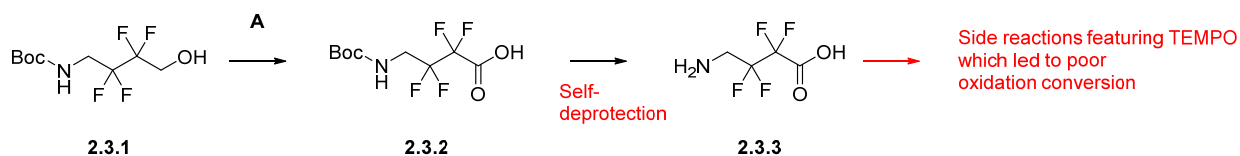


**Умови проведення реакцій:** (A) Pd/C, H<sub>2</sub>, Boc<sub>2</sub>O, MeOH, RT; (B) Dioxane HCl, DCM, RT; (C) Pd/C, H<sub>2</sub>, MeOH, 1atm, RT.

Отриманий гідрохлорид аміноспирту вирішили захистити з Вос – захисною групою. Захищене похідне надалі вводили в реакцію окиснення, аби отримати захищену амінокислоту, з котрої можна буде зняти захисну групу в м'яких умовах (HCl в органічному розчиннику), проте наші очікування не справдилися. В найкращому випадку отримали слідові кількості продукту при реакції окиснення із TEMPO та ВАІВ.

Припустили, що такі виходи можуть бути пов'язані із силою одержаної кислоти. Імовірно, її вистачає, аби знімати Вос захист – як результат, продукт не вдається виділити, та можливими стають побічні реакції за участю вільної аміногрупи – *Схема 2.3*.

**Схема 2.3** імовірна причина поганої конверсії криється в невдало підбраній захисній групі

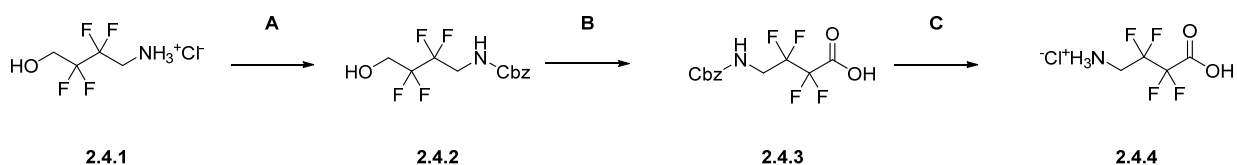


**Умови проведення реакцій:** (A) TEMPO, BAIB, ACN-water, RT.

В зв'язку з цим, вирішили замінити захист на Cbz, котрий стабільніший в кислому середовищі, ніж Boc.

Дана заміна дозволила нам провести реакцію окиснення з виходами >75% в умовах TEMPO – BAIB (Схема 2.4).

**Схема 2.4**



**Умови проведення реакцій:** (A) CBZ-OSu, NaHCO<sub>3</sub>, THF-water; (B) TEMPO, BAIB, ACN-water, RT; (C) HCl<sub>(aq)</sub>, reflux.

Захисну групу було знято в умовах кип'ятіння з водним HCl з майже кількісним виходом.

Враховуючи увесь вищеописаний досвід, ми прийшли до остаточної схеми синтезу 4-аміно-2,2,3,3-тетрафтор амінобутанової кислоти, котра наведена на **Схемі 3.1**. Даний шлях є довшим і дещо складнішим, аніж очікуваний, проте дозволяє отримати фінальну сполуку з хорошим виходом – 41,7% за 9 стадій.

### Розділ 3. Експериментальна частина

Для проведення реакцій, що потребували перемішування, а також для виділення і очищення цільових продуктів використовувалась магнітна мішалка (IKA RCT basic). Усі комерційно доступні речовини та розчинники використовувалися в реакціях без додаткового очищення/сушки.

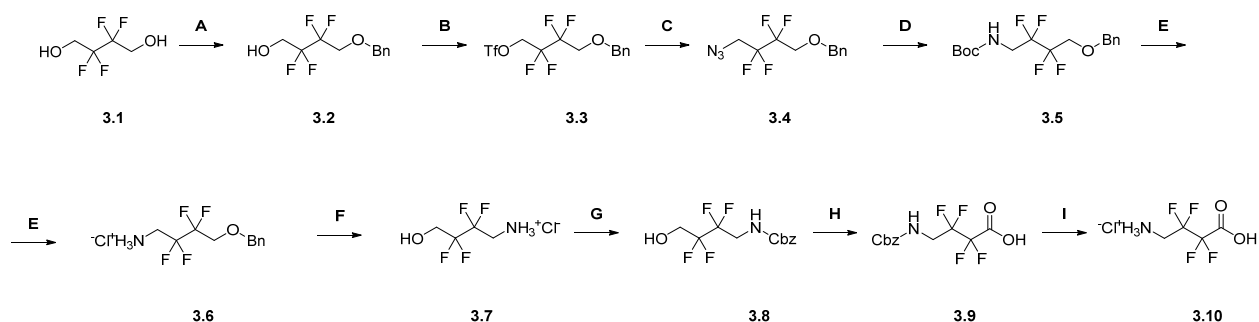
Спектри ЯМР виміряні на спектрометрі Bruker Avance DRX 500:  $^1\text{H}$  (500 МГц), внутрішній стандарт ТМС;  $^{13}\text{C}$  (125 МГц), внутрішній стандарт ТМС.

HPLC MS (APSI) експерименти проводились на хроматомас спектрометрі Agilent 1100 \ DAD \ MSD VL G1965a. Використовувалась м'яка хімічна позитивна іонізація.

Тонкошарова хроматографія проводилась на пластинках Silufol UV 254 та Merck 60F<sub>254</sub>. Препаративна колоночна хроматографія проводилась з використанням силікагелю 63 – 200 mesh, Merck.

#### 3.1 Реалізована схема синтезу

*Схема 3.1* В ході дослідження було підібрано оптимальну схему синтезу 4-аміно-2,2,3,3-тетрафтор амінобутанової кислоти



#### 3.2 Експериментальна процедура

##### 3.2 - 4-(бензилокси)-2,2,3,3-тетрафлуоробутан-1-ол

(150 г; 0,925 моль) 2,2,3,3-тетрафторбутан-1,4-діолу було розчинено у 1500 мл безводного ацетонітрилу. До реакційної маси послідовно було додано  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (255,8 г; 1,85 моль) та бензил бромід (158,28 г; 0,925 моль). Реакційну

масу кип'ятили на масляній бані протягом 12 годин. По закінченню цього часу, реакційну масу було охолоджено, осад неорганічних солей було сфільтровано та промито ацетонітрилом. Маточний розчин було упарено під зниженим тиском, залишок розчинено в МТБЕ та промито водою (1x300 мл), та розсоллом (2x200 мл). Після цього, органічний шар було посушено над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , розчинник упарено під зниженим тиском. Отримали **4-(бензилокси)-2,2,3,3-тетрафлуоробутан-1-ол** (217 г; 93%). Продукт було використано в наступній стадії без очистки. Yellowish oil.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.46 – 7.30 (m, 5H), 4.68 (s, 2H), 4.00 (td,  $J = 13.6, 5.4$  Hz, 2H), 3.90 (tt,  $J = 13.1, 1.6$  Hz, 2H), 2.49 (d,  $J = 7.1$  Hz, 1H).  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  136.1, 128.7, 128.5, 128.0, 116.1 (tt,  $J = 253.1, 30.8$  Hz), 116.0 (tt,  $J = 253.1, 30.3$  Hz), 74.6, 66.8 (t,  $J = 27.9$  Hz), 60.7 (t,  $J = 27.2$  Hz).  $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$  NMR (376 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  -122.4, -125.1. MS (APCI)  $m/z = 275$  ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ). HRMS (ESI/QTOF)  $m/z$ :  $[\text{M} + \text{Na}]^+$  Calcd for  $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{F}_4\text{O}_2\text{Na}^+$ : 275.0666; Found: 275.0665.

### 3.3 – 4-(бензилокси)-2,2,3,3-тетрафторобутил трифторометансульфонат

**4-(бензилокси)-2,2,3,3-тетрафлуоробутан-1-ол** (150г; 0,595 моль) було розчинено у дихлорометані (1,5л). Реакційну суміш охолодили до  $-10^\circ\text{C}$  і додали піридин (94,1г; 1,19 моль) за раз. Слідом, ангідрид трифторметансульфонової кислоти (218,14г; 0,77 моль) було додано через капельну воронку при заданій температурі. Після закінчення додавання ангідриду, реакційну масу було залишено самовільно відігріватися до кімнатної температури при перемішуванні. Через 16 годин, до реакційної маси було додано 1 л холодної води і залишено перемішуватися на 15 хв. Перенесли реакційну масу в ділильну воронку, розділили і органічний шар промили 2x300 мл 1М розчином соляної кислоти, 1x300 мл розсоллом. Органічний шар було висушено над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , розчинник упарено під зниженим тиском. Отримали **4-(бензилокси)-2,2,3,3-тетрафторобутил трифторометансульфонат** (207г; 90,7%). Продукт було використано в наступній стадії без очистки.

Brown oil.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.48 – 7.30 (m, 5H), 4.86 (t,  $J = 13.7$  Hz, 2H), 4.65 (s, 2H), 3.88 (td,  $J = 12.7, 1.9$  Hz, 2H).  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  135.8, 128.7, 128.5, 128.0, 118.6 (q,  $J = 319.5$  Hz), 115.6 (tt,  $J = 255.2, 29.9$  Hz), 113.5 (tt,  $J = 256.1, 32.4$  Hz), 74.5, 69.7 (t,  $J = 24.8$  Hz), 66.4 (t,  $J = 28.4$  Hz).  $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$  NMR (376 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  -74.7, -121.5, -123.00. HRMS (ESI/QTOF)  $m/z$ :  $[\text{M} + \text{Na}]^+$  Calcd for  $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{F}_7\text{O}_4\text{SNa}^+$ : 407.0158; Found: 407.0158.

### 3.4 – ((4-азидо-2,2,3,3-тетрафторобутокс)метил)бензол

**4-(бензилокси)-2,2,3,3-тетрафторобутил трифторометансульфонат** (198г; 0,51 моль) було розчинено у ДМФ (500мл). Додали азид натрію (50,2г; 0,77 моль). Реакційну масу нагріли на масляній бані до  $60^\circ\text{C}$  і перемішували при цій температурі протягом 12 годин. Після закінчення реакції, реакційну масу охолодили та вилили на 1л води. Водний розчин було проекстраговано з МТБЕ (3x300 мл), об'єднані органічні шари промили розсолем (3x200 мл). Органічний шар було висушено над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , розчинник упарено під зниженим тиском. Отримали **((4-азидо-2,2,3,3-тетрафторобутокс)метил)бензол** (142 г; 99%). Продукт було використано в наступній стадії без очистки.

Yellowish liquid.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.51 – 7.30 (m, 5H), 4.66 (s, 2H), 3.89 (t,  $J = 13.5$  Hz, 2H), 3.76 (t,  $J = 15.3$  Hz, 2H).  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  135.9, 128.1, 127.8, 127.3, 115.8 (tt,  $J = 255.2, 31.2$  Hz), 115.4 (tt,  $J = 253.1, 31.7$  Hz), 73.9, 66.1 (t,  $J = 27.3$  Hz), 49.7 (t,  $J = 23.9$  Hz).  $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$  NMR (376 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  -119.9, -121.5. HRMS (ESI/QTOF)  $m/z$ :  $[\text{M} - \text{N}_2 + \text{H}]^-$  Calcd for  $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{F}_4\text{NO}^-$ : 250.0855; Found: 250.0841.

### 3.5 - Трет-бутил (4-(бензилокси)-2,2,3,3-тетрафторобутил)карбамат

**((4-азидо-2,2,3,3-тетрафторобутокс)метил)бензол** (142 г; 0,51 моль) було розчинено в метанолі. Додали  $\text{Woc}_2\text{O}$  (123г; 0,56 моль), та Pd/C (10%) – 1г. Реакційну масу барботували з аргоном протягом 5хв, після цього,

барботували з воднем, протягом 1,5 години. Коли повної конверсії було досягнуто, реакційну масу сфільтрували, розчинник упарили при зниженому тиску і отримали брудний продукт - **Трет-бутил (4-(бензилокси)-2,2,3,3-тетрафторобутил)карбамат** (175 г), котрий запустили в наступну стадію без очистки.

Colourless viscous oil.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.51 – 7.21 (m, 6H), 4.62 (s, 2H), 3.98 (t,  $J = 14.7$  Hz, 2H), 3.62 (td,  $J = 16.8, 6.5$  Hz, 2H), 1.37 (s, 9H).  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  155.7, 137.1, 128.3, 127.8, 127.6, 116.4 (dd,  $J = 251.5, 30.5$  Hz), 116.2 (dd,  $J = 250.6, 28.7$  Hz), 78.6, 73.3, 66.2 (t,  $J = 25.6$  Hz), 28.0 (one of the signals is not resolved with solvent peak).  $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$  NMR (376 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  -120.0, -121.6. HRMS (ESI/QTOF)  $m/z$ :  $[\text{M} + \text{Na}]^+$  Calcd for  $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{F}_4\text{NO}_3\text{Na}^+$ : 374.1350; Found: 374.1345.

### 3.6 - 4-(бензилокси)-2,2,3,3-тетрафторобутан-1-амін гідрохлорид

**Трет-бутил (4-(бензилокси)-2,2,3,3-тетрафторобутил)карбамат** (175 г) розчинили в дихлорметані (200 мл) і додали насичений розчин соляної кислоти в діоксані. Реакційна маса перемішувалася при кімнатній температурі протягом 16 годин. В процесі реакції утворився білий осад, котрий було сфільтровано та промито двічі з діетиловим ефіром. Отримали чистий **4-(бензилокси)-2,2,3,3-тетрафторобутан-1-амін гідрохлорид** (130г; 90%).

Colourless crystals,  $mp = 129 - 130$  °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.98 (s, 3H), 7.57 – 7.17 (m, 5H), 4.63 (s, 2H), 4.05 (t,  $J = 14.2$  Hz, 2H), 3.63 (t,  $J = 17.4$  Hz, 2H).  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR (151 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  137.4, 128.9, 128.4, 128.2, 116.2 (tt,  $J = 251.7, 28.2$  Hz), 116.0 (tt,  $J = 257.9, 29.5$  Hz), 73.8, 66.4 (t,  $J = 26.1$  Hz), 39.0 (t,  $J = 21.9$  Hz).  $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$  NMR (376 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  -118.7, -121.5. MS (APCI)  $m/z = 252$  ( $[\text{M} + \text{H}]^+$ ). HRMS (ESI/QTOF)  $m/z$ :  $[\text{M} + \text{H}]^+$  Calcd for  $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{F}_4\text{NO}^+$ : 252.1006; Found: 252.1005.

### 3.7 - 2,2,3,3-тетрафторо-4-гідроксибутан-1-амін гідрохлорид

**4-(бензилокси)-2,2,3,3-тетрафторобутан-1-амін гідрохлорид** (130г; 0,5 моль) було розчинено в метанолі (1л), додали Pd/C (10%) – 1г, дегазували та гідрували в атмосфері водню при нормальному тиску. Через 16 годин, реакційну масу було сфільтровано, розчинник упарили при зниженому тиску, аби одержати чистий **2,2,3,3-тетрафторо-4-гідроксибутан-1-амін гідрохлорид** (87г; 90%).

Colourless powder, mp = 126 – 128 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.97 (br s, 3H), 6.18 (br s, 1H), 3.86 (t, J = 14.3 Hz, 2H), 3.61 (t, J = 17.4 Hz, 2H).  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR (151 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  116.7 (tt, J = 252.3, 27.5 Hz), 116.2 (tt, J = 254.6, 31.4 Hz), 58.9 (t, J = 27.1 Hz), 39.3 (t, J = 22.3 Hz).  $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$  NMR (376 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  -118.9, -123.5. MS (APCI) m/z = 162 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ). HRMS (ESI/QTOF) m/z:  $[\text{M} + \text{H}]^+$  Calcd for  $\text{C}_4\text{H}_8\text{F}_4\text{NO}^+$ : 162.0537; Found: 162.0534.

### 3.8 - бензил (2,2,3,3-тетрафторо-4-гідроксибутил) карбамат

**2,2,3,3-тетрафторо-4-гідроксибутан-1-амін гідрохлорид** (71г; 0,359) було розчинено в суміші води та ТГФу (2:1, 1 л). До реакційної маси послідовно порціями додали  $\text{NaHCO}_3$  (90,57г; 1,08 моль), та CbzOSu (89,57г; 0,359 моль). Реакційну масу перемішували при кімнатній температурі протягом 15 годин. Після цього сконцентрували, водний шар проекстрагували з етил ацетатом (3x250 мл), об'єднані органічні шари промили розсолем (1x200 мл), посушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , розчинник упарили під зниженим тиском. Одержали **бензил (2,2,3,3-тетрафторо-4-гідроксибутил) карбамат** (99г; 93%)

Colourless powder, mp = 99 – 101 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.82 (t, J = 6.4 Hz, 1H), 7.45 – 7.23 (m, 5H), 5.87 (t, J = 6.4 Hz, 1H), 5.05 (s, 2H), 3.83 (td, J = 15.0, 6.3 Hz, 2H), 3.71 (td, J = 17.1, 6.3 Hz, 2H).  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR (151 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  157.0, 137.2, 128.8, 128.4, 128.3, 117.2 (tt, J = 253.1, 30.0 Hz), 116.9 (tt, J = 252.2, 28.3 Hz), 66.3, 59.1 (t, J = 26.2 Hz), 41.2 (t, J = 23.0 Hz).  $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$  NMR (376 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  -120.3, -123.5. MS (APCI) m/z = 318

([M+Na]<sup>+</sup>). HRMS (ESI/QTOF) m/z: [M + Na]<sup>+</sup> Calcd for C<sub>12</sub>H<sub>13</sub>F<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>Na<sup>+</sup>: 318.0724; Found: 318.0723.

**3.9 - 4-(((бензилокси)карбоніл)аміно)-2,2,3,3-тетрафторбутанова кислота Бензил (2,2,3,3-тетрафторо-4-гідроксибутил) карбамат** (48г; 0,163 моль) розчинили у суміші ацетонітрилу та води (1:1, 500 мл). Послідовно порціями додали диацетоксийодбензол (115,2г; 0,358 моль) та TEMPO (5,1г; 0,033 моль). Реакційну масу перемішували при кімнатній температурі протягом 16 годин. Сконцентрували під зниженим тиском, водний шар підлужнили 5М розчином NaOH до рН = 11. Водний розчин промили з дихлорметаном (3x150мл), підкислили з концентрованою соляною кислотою до рН = 2. Водний шар проекстрагували з етил ацетатом (3x300 мл), об'єднані органічні шари промили з розсолем (1x200 мл), посушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, розчинник упарили під зниженим тиском. Брудний продукт почистили за допомогою флеш-хроматографії у системі гексан-МТБЕ 6/4. Одержали чисту **4-(((бензилокси)карбоніл)аміно)-2,2,3,3-тетрафторбутанову кислоту** (36г; 75%).

Beige powder, mp = 91 – 94 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.85 (s, 1H), 7.46 – 7.21 (m, 5H), 5.05 (s, 2H), 3.77 (dt, J = 16.9, 8.4 Hz, 2H). <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} NMR (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 161.5 (t, J = 28.2 Hz), 157.0, 137.2, 128.8, 128.4, 128.3, 116.2 (tt, J = 253.8, 31.3 Hz), 109.5 (tt, J = 260.1, 34.5 Hz), 66.4, 40.9 (t, J = 22.5 Hz). <sup>19</sup>F{<sup>1</sup>H} NMR (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ -119.2 and -120.9, -121.6 and -123.0. MS (APCI) m/z = 308 ([M-H]<sup>-</sup>). HRMS (ESI/QTOF) m/z: [M - H]<sup>-</sup> Calcd for C<sub>12</sub>H<sub>10</sub>F<sub>4</sub>NO<sub>4</sub><sup>-</sup>: 308.0551; Found: 308.0544.

### **3.10 - гідрохлорид 4-аміно-2,2,3,3-тетрафтор амінобутанової кислоти**

**4-(((бензилокси)карбоніл)аміно)-2,2,3,3-тетрафторбутанову кислоту** (36 г; 0,117 моль) суспендували в суміші етанолу (30мл) та концентрованої соляної кислоти (100 мг). Реакційну масу нагріли на масляній бані до +60°C і перемішували при цій температурі протягом 16-20 годин. Гомогенну реакційну масу упарили при зниженому тиску, твердий залишок затерли в

МТБЕ., аби отримати чистий **гідрохлорид 4-аміно-2,2,3,3-тетрафторамінобутанової кислоти** (20,4г; 87,6%). Beige crystals, mp = 165 – 168 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  8.94 (s, 3H), 7.62 (s, 1H), 3.70 (t, J = 16.6 Hz, 2H).  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR (126 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  160.4 (t, J = 26.9 Hz), 115.3 (tt, J = 254.5, 30.2 Hz), 108.6 (tt, J = 261.8, 33.0 Hz), 38.6 (t, J = 23.2 Hz).  $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$  NMR (376 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  -118.2, -119.8. MS (APCI) m/z = 176 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ). HRMS (ESI/QTOF) m/z:  $[\text{M} + \text{Na}]^+$  Calcd for  $\text{C}_4\text{H}_5\text{F}_4\text{NO}_2\text{Na}^+$ : 198.0149; Found: 198.0146.

## Розділ 4. Опис та обговорення фізико-хімічних властивостей отриманої сполуки. Порівняння з відомими аналогами.

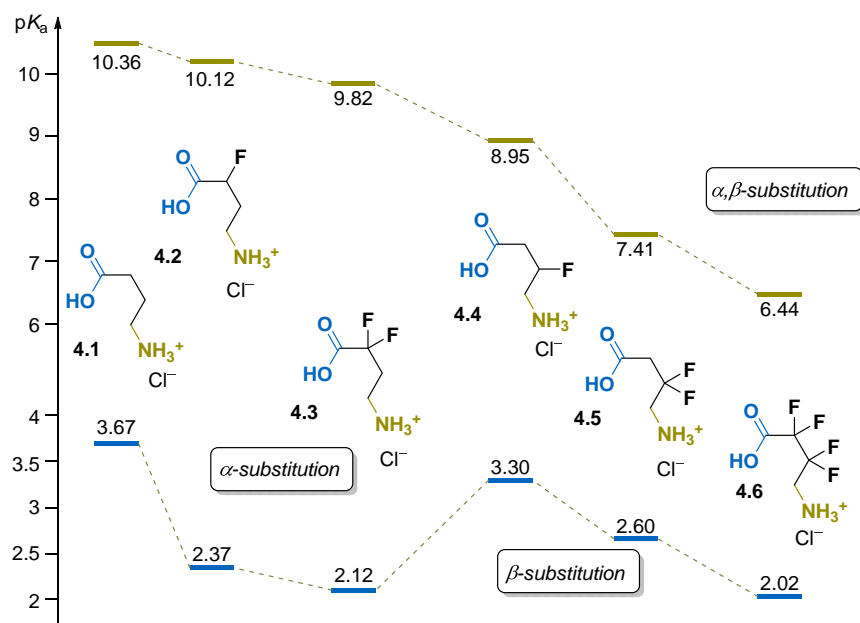
### 4.1 Дослідження рКа

Отримавши значну кількість амінокислоти 4.6 (гідрохлориду), провели оцінку її обраних фізико-хімічних властивостей. Таким чином, значення рКа1 і рКа2 були отримані за допомогою стандартного потенціометричного титрування гідрохлоридів 4.6; 4.1 і чотирьох моно- та дифторованих аналогів ГАМК 4.2 - 4.5 (*Рис. 4.1*).

Для протонованої аміногрупи значення рКа відповідали загальним тенденціям, встановленим раніше для амінів [15,20,29,30]. Дійсно, кожен атом фтору в  $\beta$ -положенні підвищував кислотність протонованого амінного фрагмента на 1,5–1,7 одиниць рКа, тоді як кожен  $\gamma$ -фтор знижував значення рКа на 0,2–0,6 од. Вплив фторування на кислотність групи COOH виявився менш очевидним.

Хоча загальна тенденція до зниження рКа при збільшенні кількості атомів фтору та/або зменшенні відстані наскрізного зв'язку була чітко помітною, значення  $\Delta$ рКа на один атом фтору виявилися різними для кожного випадку. Не дивно, що тетрафторована сполука 2 продемонструвала найвищу кислотність як аміно-, так і карбоксильної груп серед запропонованого набору фторованих аналогів ГАМК.

**Рис. 4.1** Значення рKa1 та рKa2 для сполук 4.1- 4.6 (при 21 °С)



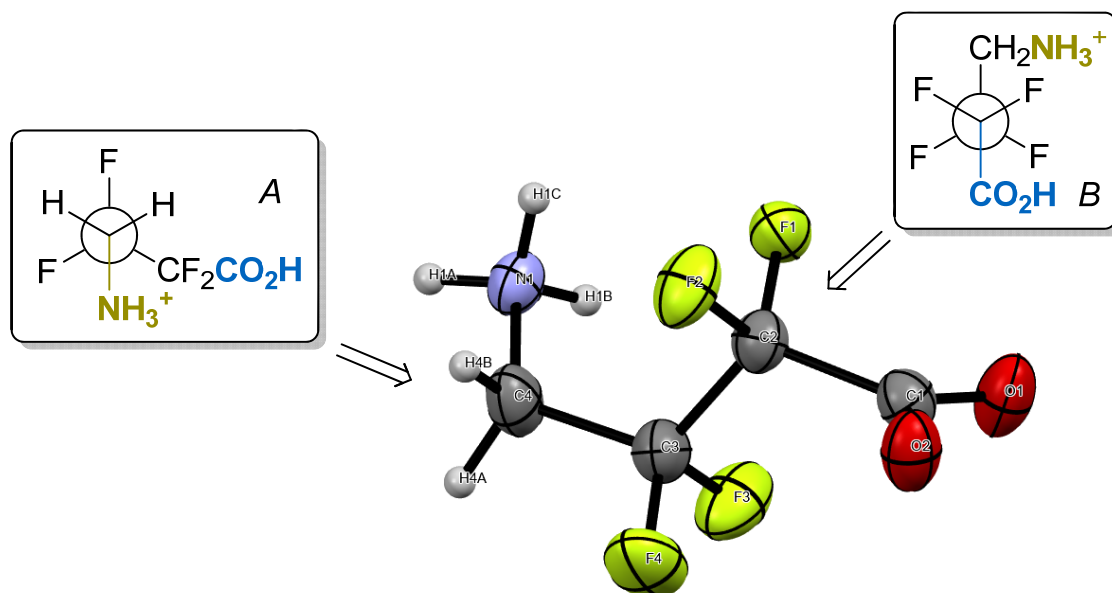
## 4.2 Дослідження рентгеноструктурного аналізу

Рентгеноструктурні дослідження амінокислоти **2** виявили кілька цікавих ефектів впливу фрагмента CF<sub>2</sub>CF<sub>2</sub> на конформацію молекули. По-перше, антипаралельна орієнтація зв'язків C<sub>4</sub>-N та C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>, що спостерігалася раніше для моно- та дифторвмісних аналогів ГАМК **4.4** та **4.5** [20,25] (яка може бути пов'язана, головним чином, з гош - ефектом фтору [31]), не була підтверджена для випадку **4.2**. Натомість для амінокислоти **4.6** спостерігається синклінальна (гош) орієнтація вищезгаданих фрагментів (табл. 1, позиції 1 і 2; проекція Ньюмена А). У той час як фторний ефект у протонуваних β-фторвмісних амінах пояснюють сприятливою електростатичною взаємодією позитивно заряджених атомів азоту та негативно зарядженого фтору [31-33], конформаційну поведінку сполуки **4.6** можна пояснити порівняльним аналізом наскрізних просторових відстаней N...F (Рядок 6). Зокрема, для **4.5**, відстані між атомами азоту та двома атомами фтору становили 2,785 Å та 2,815 Å, тоді як для **4.6** відповідні значення становили 2,889 Å та 3,648 Å для атомів фтору при C<sub>3</sub> та 2,785 Å та 3,511 Å - при C<sub>2</sub>. Крім того, проекція Ньюмена, побудована навколо віртуальної осі C<sub>4</sub>-C<sub>2</sub>, виявила затулену конформацію зв'язків C<sub>4</sub>-N і C<sub>2</sub>-F<sub>1</sub>

( $\theta = -1.67^\circ$ ), що разом з відносною просторовою близькістю відповідних атомів може призводити до високоефективної взаємодії антипаралельних C-N і C-F диполів, які стабілізують спостережувану конформацію в твердому стані.

Крім того, для фрагментів  $\text{CO}_2^-$  і  $\text{CH}_2\text{NH}_3^+$  спостерігалася антипаралельна орієнтація (**Табл. 1, проекція B**), що можна пояснити електростатичним відштовхуванням C-F диполів у сусідніх фрагментах gem- $\text{CF}_2$ .

**Таблиця 4.2.1** Молекулярна структура тетрафтор-, 3-фтор- та 3,3-дифтор-гамма-аналогів ГАМК 4.6, 4.4, 4.5 відповідно, за даними рентгенівської кристалографії



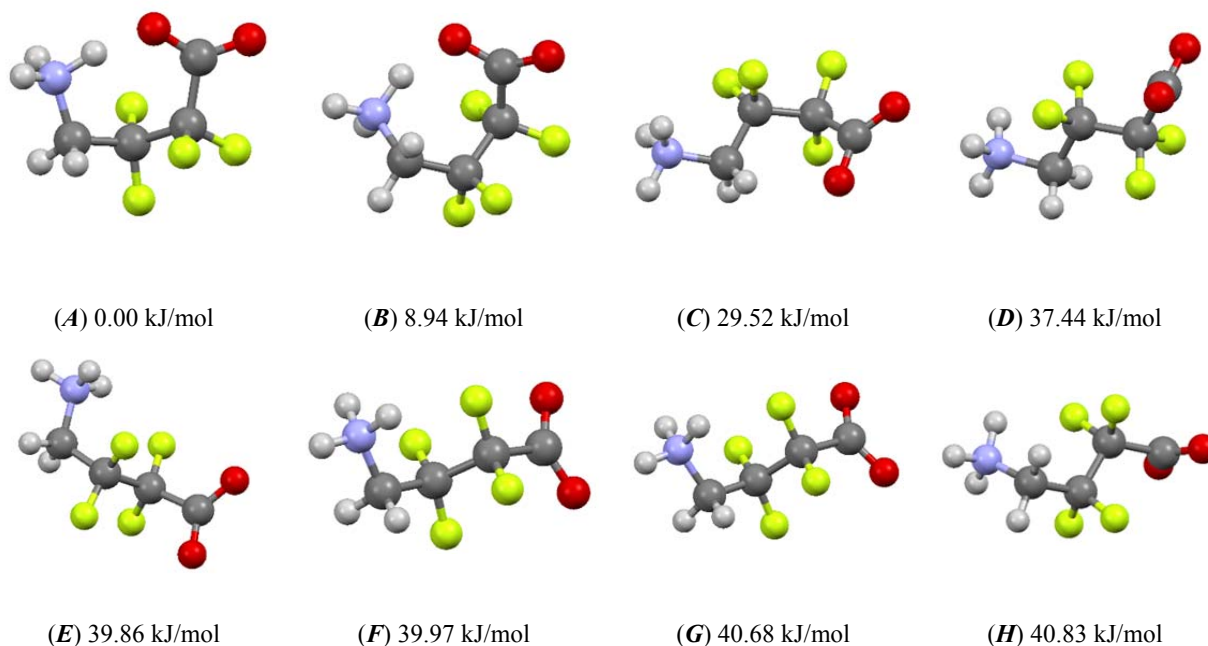
Entry	Parameter	4.6	(R)-4.4 [20]	(S)-4.4 [20]	4.5 [25]
1	N1-C4-C3-C2, °	63.27	-173.78	-176.78	178.86
2	N1-C4-C3-F, °	F3: -59.62; F4: -176.81	-56.05	64.81	F1: -58.82; F2: 54.11
3	C1-C2-C3-C4, °	176.36	-70.31	-170.5	-63.61
4	C1-C2-C3-F, °	F3: -58.38; F4: 55.82	172.37	-52.81	F1: 60.75; F2: 173.96
5	N1-C4-C2-C1, °	-130.37	129.69	21.21	122.94
6	N...F, Å	F1: 2.785; F2: 3.511; F3: 2.889; F4: 3.648	2.744	2.883	2.785 2.815

### 4.3 Конформаційний аналіз

Заінтриговані структурними особливостями амінокислоти 4.6 у твердому стані, ми звернули увагу на конформаційні рівноваги в розчині ДМСО. Оптимізація геометрії на рівні DFT з використанням функціоналу PBE0 [34], базисного набору QZVP [35] та моделі розв'язання континууму РСМ [36] дозволила отримати вісім конформерів А-Н, зображених на *(Рис. 4.3.1)*. Дві найнижчі за енергією структури А і В мають внутрішньомолекулярний водневий зв'язок між амонієвим і карбоксилатним фрагментами, і їх було опущено, оскільки вони можуть бути несуттєвими в розчині ДМСО [37]. Наступний за енергією конформер С демонструє розгорнуту "зигзагоподібну" конформацію з типовим незграбним розташуванням С4-Н та обох С3-Ф зв'язків.

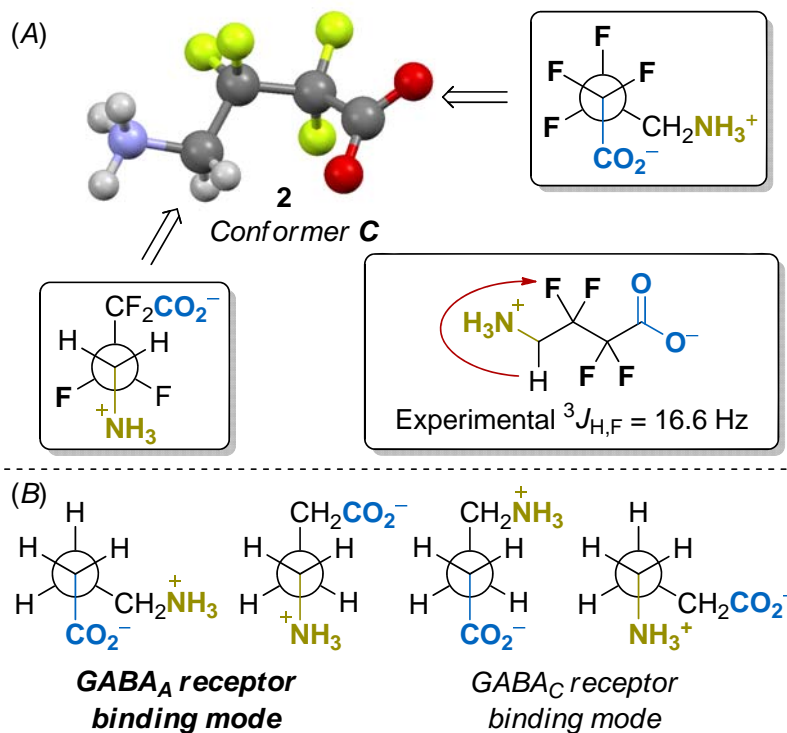
Для зв'язків С1-С2 і двох С3-Ф спостерігалися анти- і гош-орієнтації. Наступний за енергією коформер D структурно близький до конформера С (відрізняючись від нього відносним вирівнюванням фрагментів гем-СF<sub>2</sub>), тоді як високоенергетичні конформери Е-Н дуже нагадують структуру кристалізованого 4.6. Відносно невелике значення 3J<sub>H,F</sub>, що спостерігається для 4.2 (16.6 Гц), підтверджує подвійне гош-вирівнювання фрагментів N-С4-С3-Ф3 і N-С4-С3-Ф4, передбачене розрахунковим шляхом *(Рис. 4.3.2, А)* [38].

**Рис. 4.3.1** Розраховані конформери А-Н 2,2,3,3-тетрафтор- $\gamma$ -аміномасляної  
кислоти 4.6 в ДМСО



Попередні дослідження показали важливість конформації ліганду для афінності зв'язування з різними ГАМК-рецепторами [23,39]. Згідно з результатами, отриманими О'Нagan та колегами [20,21], різні конформери  $\gamma$ -аміномасляної кислоти є оптимальними для утворення стабільних комплексів з ГАМК- та ГАМК-рецепторами (**Рис. 4.3.1, B**). Порівняння розрахованої найнижчої енергетичної конформації амінокислоти 4.6 (A) з конформерами ГАМК, запропонованими попередніми авторами, дозволяє припустити, що сполука 4.6 може бути селективним агоністом ГАМК (аналогічно до 4.5 та (S)-4.4) [20,25].

**Рис. 6** (А) Переважна конформація 2 у розчині ДМСО та константа спінового зв'язку  $^3J_{H,F}$  у ДМСО-d6 (В) Моделі зв'язування  $\gamma$ -аміномасляної кислоти з GABA<sub>A</sub> та GABA<sub>C</sub> рецепторами.



## ВИСНОВКИ

У цій роботі представлено простий синтез 2,2,3,3-тетрафторованої  $\gamma$ -аміномасляної кислоти, виходячи з комерційно доступного 2,2,3,3-тетрафторобутан-1,4-діолу. Селективна монопохідна на першій стадії та подальші прості органічні перетворення дозволили отримати досліджувану сполуку масою 20 г з виходом 41% за 9 стадій. Кислотно-основне титрування отриманої сполуки та її найближчих аналогів (ГАМК, моно- та дифтор ГАМК) знову продемонструвало вплив заміщення фтору на кислотні властивості іонізованих фрагментів. Рентгеноструктурні дослідження виявили незвичний для фторованих аналогів ГАМК конформаційний зсув з "наскрізною" гош-стабілізацією між  $C-NH_3^+$  і  $C-F$  у дистальному фрагменті gem- $CF_2$ .

Комп'ютерний конформаційний аналіз і порівняння його з експериментальними даними  $^1H$  ЯМР-спектроскопії дають альтернативну структуру в розчині, яка дуже нагадує раніше описану конформацію зв'язування ГАМК з ГАМК-рецептором.

Ми вважаємо, що запропонована сполука, аналог природної амінокислоти, та її синтез знайдуть належне місце в органічній та медичній хімії як фторований будівельний блок або як новий інструмент для дослідження ліганд-рецепторних взаємодій.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

- 1) O'Hagan D. Understanding organofluorine chemistry. An introduction to the C-F bond. *Chem Soc Rev.* 2008;37(2):308-319. DOI: 10.1039/b711844a
- 2) Müller K, Faeh C, Diederich F. Fluorine in pharmaceuticals: looking beyond intuition. *Science.* 2007;317(5846):1881-1886. DOI: 10.1126/science.1131943
- 3) Uneyama K. Recent advances in fluorine-containing amino acids and analogs as GABA receptor ligands. *Future Med Chem.* 2011;3(7):877-896. DOI: 10.4155/fmc.11.48
- 4) Arain FM, Wang J, Pham J, et al. Blood-brain barrier integrity and breast cancer metastasis to the brain. *Pathophysiology.* 2015;22(4):277-285. DOI: 10.1016/j.pathophys.2015.09.002
- 5) Azzawi ZG, Wahid Z, Al-Rawi NH. Modulation of pH by flufenamic acid: an indication of the drug's mode of action. *Biochem Mol Biol Int.* 1995;36(6):1121-1133. PMID: 7649143.
- 6) Johnston GA. GABA<sub>A</sub> receptor pharmacology. *Pharmacol Ther.* 1996;69(3):173-198.
- 7) Steward FC, Thompson JF, Dent CE. 1949.  $\gamma$ -Aminobutyric acid: a constituent of the potato tuber? *Science* 110, 439–440.
- 8) ROBERTS E, FRANKEL S. gamma-Aminobutyric acid in brain: its formation from glutamic acid. *J Biol Chem.* 1950 Nov;187(1):55-63. PMID: 14794689.
- 9) Erratum: GABA signaling: a conserved and ubiquitous mechanism [Trends Cell Biol. 13 (2003), 607–610]
- 10) [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(90\)85081-P](https://doi.org/10.1016/0031-9422(90)85081-P)
- 11) Riesz M, Erdő SL. GABAB receptors in the rabbit uterus may mediate contractile responses. *Eur J Pharmacol.* 1985 Dec 17;119(3):199-204. doi: 10.1016/0014-2999(85)90296-1. PMID: 3004992.

- 12) Schwartz RD. The GABAA receptor-gated ion channel: biochemical and pharmacological studies of structure and function. *Biochem Pharmacol.* 1988 Sep 15;37(18):3369-75. doi: 10.1016/0006-2952(88)90684-3. PMID: 2458730.
- 13) Guo Z, Gong J, Luo S, Zuo Y, Shen Y. Role of Gamma-Aminobutyric Acid in Plant Defense Response. *Metabolites.* 2023 Jun 10;13(6):741. doi: 10.3390/metabo13060741. PMID: 37367899; PMCID: PMC10304255.
- 14) Olsen RW, DeLorey TM. GABA Synthesis, Uptake and Release. In: Siegel GJ, Agranoff BW, Albers RW, et al., editors. *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects.* 6th edition. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1999. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK27979/>
- 15) Jewett BE, Sharma S. Physiology, GABA. [Updated 2023 Jul 24]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513311/>
- 16) Hepsomali, P., Groeger, J. A., Nishihira, J., & Scholey, A. (2020). Effects of Oral Gamma-Aminobutyric Acid (GABA) Administration on Stress and Sleep in Humans: A Systematic Review. In *Frontiers in Neuroscience* (Vol. 14). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00923>
- 17) Park, B. K., Kitteringham, N. R., & O'Neill, P. M. (2001). Metabolism of Fluorine-Containing Drugs. In *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* (Vol. 41, Issue 1, pp. 443–470). Annual Reviews. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.41.1.443>
- 18) Bush, I., & Mahesh, V. (1964). Metabolism of 11-oxygenated steroids. 3. Some 1-dehydro and 9 $\alpha$ -fluoro steroids. In *Biochemical Journal* (Vol. 93, Issue 2, pp. 236–255). Portland Press Ltd. <https://doi.org/10.1042/bj0930236>
- 19) O'Hagan, D., & Rzepa, H. S. (1997). Some influences of fluorine in bioorganic chemistry. In *Chemical Communications* (Issue 7, pp. 645–652). Royal Society of Chemistry (RSC). <https://doi.org/10.1039/a604140j>

- 20) Kokuryo, Y., Kawata, K., Nakatani, T., Kugimiya, A., Tamura, Y., Kawada, K., Matsumoto, M., Suzuki, R., Kuwabara, K., Hori, Y., & Ohtani, M. (1997). Synthesis and Evaluation of Novel Fluorinated Methotrexate Derivatives for Application to Rheumatoid Arthritis Treatment. In *Journal of Medicinal Chemistry* (Vol. 40, Issue 20, pp. 3280–3291). American Chemical Society (ACS). <https://doi.org/10.1021/jm970085n>
- 21) Liu, Y., Ahmed, V., Hill, B., & Taylor, S. D. (2005). Synthesis of a non-hydrolyzable estrone sulfate analogue bearing the difluoromethanesulfonamide group and its evaluation as a steroid sulfatase inhibitor. In *Organic & Biomolecular Chemistry* (Vol. 3, Issue 18, p. 3329). Royal Society of Chemistry (RSC). <https://doi.org/10.1039/b508852f>
- 22) Surya Prakash, G. K., Zibinsky, M., Upton, T. G., Kashemirov, B. A., McKenna, C. E., Oertell, K., Goodman, M. F., Batra, V. K., Pedersen, L. C., Beard, W. A., Shock, D. D., Wilson, S. H., & Olah, G. A. (2010). Synthesis and biological evaluation of fluorinated deoxynucleotide analogs based on bis-(difluoromethylene)triphosphoric acid. In *Proceedings of the National Academy of Sciences* (Vol. 107, Issue 36, pp. 15693–15698). Proceedings of the National Academy of Sciences. <https://doi.org/10.1073/pnas.1007430107>
- 23) Blackburn, G. M., Kent, D. E., & Kolkman, F. (1984). The synthesis and metal binding characteristics of novel, isopolar phosphonate analogues of nucleotides. In *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1* (p. 1119). Royal Society of Chemistry (RSC). <https://doi.org/10.1039/p19840001119>
- 24) Peters, R. A. (1957). Mechanism of the Toxicity of the Active Constituent of *Dichapetalum Cymosum* and Related Compounds. In *Advances in Enzymology - and Related Areas of Molecular Biology* (pp. 113–159). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9780470122631.ch3>
- 25) Abraham, R. J., Smith, T. A. D., & Thomas, W. A. (1996). Conformational analysis. Part 28. OH...F hydrogen bonding and the conformation of trans-2-

fluorocyclohexanol. In *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* (Issue 9, pp. 1949–1955). Royal Society of Chemistry (RSC). <https://doi.org/10.1039/p29960001949>

26) Saleem A, Yap J, Osman S, Brady F, Suttle B, Lucas SV, Jones T, Price PM, Aboagye EO. Modulation of fluorouracil tissue pharmacokinetics by eniluracil: in-vivo imaging of drug action. *Lancet*. 2000 Jun 17;355(9221):2125-31. doi: 10.1016/s0140-6736(00)02380-1. PMID: 10902627.

27) Dollery, C. (1999) *Therapeutic drugs*. Vol. I. 3rd Edition, Churchill Livingstone, Edinburgh.

28) Sun, S., & Adejare, A. (2006). Fluorinated Molecules as Drugs and Imaging Agents in the CNS. In *Current Topics in Medicinal Chemistry* (Vol. 6, Issue 14, pp. 1457–1464). Bentham Science Publishers Ltd. <https://doi.org/10.2174/156802606777951046>

29) Lu, H., & Silverman, R. B. (2006). Fluorinated Conformationally Restricted  $\gamma$ -Aminobutyric Acid Aminotransferase Inhibitors. In *Journal of Medicinal Chemistry* (Vol. 49, Issue 25, pp. 7404–7412). American Chemical Society (ACS). <https://doi.org/10.1021/jm0608715>

30) Qiu, J., Stevenson, S. H., O'Beirn, M. J., & Silverman, R. B. (1998). 2,6-Difluorophenol as a Bioisostere of a Carboxylic Acid: Bioisosteric Analogues of  $\gamma$ -Aminobutyric Acid. In *Journal of Medicinal Chemistry* (Vol. 42, Issue 2, pp. 329–332). American Chemical Society (ACS). <https://doi.org/10.1021/jm9804351>

31) Lu, H., & Silverman, R. B. (2006). Fluorinated Conformationally Restricted  $\gamma$ -Aminobutyric Acid Aminotransferase Inhibitors. In *Journal of Medicinal Chemistry* (Vol. 49, Issue 25, pp. 7404–7412). American Chemical Society (ACS). <https://doi.org/10.1021/jm0608715>

32) Shah, P., & Westwell, A. D. (2007). The role of fluorine in medicinal chemistry. In *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* (Vol. 22, Issue 5, pp. 527–540). Informa UK Limited. <https://doi.org/10.1080/14756360701425014>

- 33) Scott, D. E., Rooney, T. P. C., Bayle, E. D., Mirza, T., Willems, H. M. G., Clarke, J. H., Andrews, S. P., & Skidmore, J. (2020). Systematic Investigation of the Permeability of Androgen Receptor PROTACs. In *ACS Medicinal Chemistry Letters* (Vol. 11, Issue 8, pp. 1539–1547). American Chemical Society (ACS). <https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.0c00194>
- 34) Ward, R. B. (1965). The Hydrolysis and Oxidation of  $\alpha,\iota$ -Bis(methylthio)polyfluoroalkanes. In *The Journal of Organic Chemistry* (Vol. 30, Issue 9, pp. 3009–3011). American Chemical Society (ACS). <https://doi.org/10.1021/jo01020a028>
- 35) Müller, K. (2019). Fluorination patterns in small alkyl groups. In *Fluorine in Life Sciences: Pharmaceuticals, Medicinal Diagnostics, and Agrochemicals* (pp. 91–139). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-812733-9.00002-7>
- 36) Deniau, G., Slawin, A. M. Z., Lebl, T., Chorki, F., Issberner, J. P., van Mourik, T., Heygate, J. M., Lambert, J. J., Etherington, L., Sillar, K. T., & O'Hagan, D. (2007). Synthesis, Conformation and Biological Evaluation of the Enantiomers of 3-Fluoro- $\gamma$ -Aminobutyric Acid ((R)- and (S)-3F-GABA): An Analogue of the Neurotransmitter GABA. In *ChemBioChem* (Vol. 8, Issue 18, pp. 2265–2274). Wiley. <https://doi.org/10.1002/cbic.200700371>
- 37) Yamamoto, I., Deniau, G. P., Gavande, N., Chebib, M., Johnston, G. A. R., & O'Hagan, D. (2011). Agonist responses of (R)- and (S)-3-fluoro- $\gamma$ -aminobutyric acids suggest an enantiomeric fold for GABA binding to GABAC receptors. In *Chemical Communications* (Vol. 47, Issue 28, p. 7956). Royal Society of Chemistry (RSC). <https://doi.org/10.1039/c1cc12141c>
- 38) Yamamoto, I., Jordan, M. J. T., Gavande, N., Doddareddy, M. R., Chebib, M., & Hunter, L. (2012). The enantiomers of syn-2,3-difluoro-4-aminobutyric acid elicit opposite responses at the GABACreceptor. In *Chem. Commun.* (Vol. 48, Issue 6, pp. 829–831). Royal Society of Chemistry (RSC). <https://doi.org/10.1039/c1cc15816c>

39) I.S. Kondratov, M.Y. Bugera, N.A. Tolmachova, G.G. Posternak, C.G. Daniliuc, G. Haufe, Radical Reactions of Alkyl 2-Bromo-2,2-difluoroacetates with Vinyl Ethers: “Omitted” Examples and Application for the Synthesis of 3,3-Difluoro-GABA, *J. Org. Chem.* 80 (2015) 12258–12264.

<https://doi.org/10.1021/acs.joc.5b02171>.

40) Brandariz, I., Fiol, S., Herrero, R., Vilarino, T., & Sastre de Vicente, M. (1993). Protonation constants of .alpha.-alanine, .gamma.-aminobutyric acid, and .epsilon.-aminocaproic acid. In *Journal of Chemical & Engineering Data* (Vol. 38, Issue 4, pp. 531–533). American Chemical Society (ACS).

<https://doi.org/10.1021/je00012a012>

41) Holovach, S., Melnykov, K. P., Skreminskiy, A., Herasymchuk, M., Tavlui, O., Aloshyn, D., Borysko, P., Rozhenko, A. B., Ryabukhin, S. V., Volochnyuk, D. M., & Grygorenko, O. O. (2022). Effect of gem-Difluorination on the Key Physicochemical Properties Relevant to Medicinal Chemistry: The Case of Functionalized Cycloalkanes. In *Chemistry – A European Journal* (Vol. 28, Issue 19). Wiley. <https://doi.org/10.1002/chem.202200331>

42) Buissonneaud, D. Y., van Mourik, T., & O’Hagan, D. (2010). A DFT study on the origin of the fluorine gauche effect in substituted fluoroethanes. In *Tetrahedron* (Vol. 66, Issue 12, pp. 2196–2202). Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2010.01.049>

43) Hunter, L. (2010). The C–F bond as a conformational tool in organic and biological chemistry. In *Beilstein Journal of Organic Chemistry* (Vol. 6). Beilstein Institut. <https://doi.org/10.3762/bjoc.6.38>

44) Silla, J. M., Duarte, C. J., Cormanich, R. A., Rittner, R., & Freitas, M. P. (2014). Conformational analysis of 2,2-difluoroethylamine hydrochloride: double gauche effect. In *Beilstein Journal of Organic Chemistry* (Vol. 10, pp. 877–882). Beilstein Institut. <https://doi.org/10.3762/bjoc.10.84>

- 45) Adamo, C., Cossi, M., & Barone, V. (1999). An accurate density functional method for the study of magnetic properties: the PBE0 model. In *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM* (Vol. 493, Issues 1–3, pp. 145–157). Elsevier BV. [https://doi.org/10.1016/s0166-1280\(99\)00235-3](https://doi.org/10.1016/s0166-1280(99)00235-3)
- 46) Barbieri, P. L., Fantin, P. A., & Jorge, F. E. (2006). Gaussian basis sets of triple and quadruple zeta valence quality for correlated wave functions. In *Molecular Physics* (Vol. 104, Issue 18, pp. 2945–2954). Informa UK Limited. <https://doi.org/10.1080/00268970600899018>
- 47) Miertuš, S., Scrocco, E., & Tomasi, J. (1981). Electrostatic interaction of a solute with a continuum. A direct utilization of AB initio molecular potentials for the prevision of solvent effects. In *Chemical Physics* (Vol. 55, Issue 1, pp. 117–129). Elsevier BV. [https://doi.org/10.1016/0301-0104\(81\)85090-2](https://doi.org/10.1016/0301-0104(81)85090-2)
- 48) Crittenden, D. L., Chebib, M., & Jordan, M. J. T. (2003). Stabilization of Zwitterions in Solution:  $\gamma$ -Aminobutyric Acid (GABA). In *The Journal of Physical Chemistry A* (Vol. 108, Issue 1, pp. 203–211). American Chemical Society (ACS). <https://doi.org/10.1021/jp036700i>
- 49) Abraham, R. J., & Kemp, R. H. (1971). Rotational isomerism. Part XI. The nuclear magnetic resonance spectra and rotational isomerism of 1,2-difluoro- and 1,1,2-trifluoroethane. In *Journal of the Chemical Society B: Physical Organic* (p. 1240). Royal Society of Chemistry (RSC). <https://doi.org/10.1039/j29710001240>
- 50) Puthenkalam, R., Hieckel, M., Simeone, X., Suwattanasophon, C., Feldbauer, R. V., Ecker, G. F., & Ernst, M. (2016). Structural Studies of GABAA Receptor Binding Sites: Which Experimental Structure Tells us What? In *Frontiers in Molecular Neuroscience* (Vol. 9). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2016.00044>.