

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
імені ТАРАСА ШЕВЧЕНКА**

**МИХАЙЛЮК ПАВЛО КОСТЯНТИНОВИЧ**

УДК 547.221 + 547.466 + 547.233 + 547.556.7

**ФЛУОРОВМІСНІ АМІНОКИСЛОТИ,  
АМІНИ ТА ДІАЗОАЛКАНИ**

02.00.03 – органічна хімія

**АВТОРЕФЕРАТ**  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
доктора хімічних наук

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі органічної хімії хімічного факультету Київського національного університету імені Тараса Шевченка.

**Науковий консультант:** доктор хімічних наук, професор  
**Толмачов Андрій Олексійович**,  
Київський національний університет  
імені Тараса Шевченка,  
головний науковий співробітник науково-виробничого  
хіміко-біологічного центру

**Офіційні опоненти:** доктор хімічних наук, професор, академік НАН  
України **Кухар Валерій Павлович**,  
Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН  
України, почесний директор, завідувач відділу  
тонкого органічного синтезу

доктор хімічних наук, професор  
**Ягупольський Юрій Львович**,  
Інститут органічної хімії НАН України, завідувач  
відділу хімії фтороорганічних сполук

доктор хімічних наук, професор  
**Чебанов Валентин Анатолійович**,  
ДНУ НТК «Інститут монокристалів» НАН  
України, в.о. генерального директора

Захист відбудеться **«07» березня 2017 р. о 14<sup>00</sup>** годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.001.25 Київського національного університету імені Тараса Шевченка за адресою: 01601, м. Київ, вул. Володимирська, 64, хімічний факультет, ауд. 518.

З дисертацією можна ознайомитись у науковій бібліотеці імені М. Максимовича Київського національного університету імені Тараса Шевченка за адресою: 01601, м. Київ, вул. Володимирська, 58, зал № 12, або на сайті Науково-консультаційного центру Київського національного університету імені Тараса Шевченка за посиланням: <http://scc.univ.kiev.ua/abstracts/>.

Автореферат розісланий **«\_\_» січня 2017 р.**

Вчений секретар спеціалізованої  
вченої ради Д 26.001.25, д.х.н.

Савченко І. О.

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Хімія флуороорганічних сполук є невід'ємною складовою прогресу багатьох різних, але взаємопов'язаних галузей досліджень, таких як розробка нових матеріалів з широким діапазоном застосувань (наприклад, фотоелектричних сонячних елементів) або таких засобів діагностики як позитрон-емісійна томографія, що використовує радіоактивні ядра  $^{18}\text{F}$ . Крім того, близькі властивості атомів  $^1\text{H}$  та  $^{19}\text{F}$  (стеричні об'єми, однакові спіни, високе гіромагнітне співвідношення та 100%-й природний вміст), а також майже повна відсутність атомів Флуору у природних органічних сполуках поряд з високою чутливістю ЯМР-сигналів  $^{19}\text{F}$  до хімічного оточення, створюють можливість застосування ядер  $^{19}\text{F}$  як міток для вивчення будови і механізмів дії біоорганічних молекул, наприклад, пептидів та протеїнів за допомогою методу  $^{19}\text{F}$  ЯМР. Зокрема, флуорозаміщені амінокислоти знаходять використання як потужні групи-репортери в структурних і функціональних дослідженнях пептидів. Синтез специфічних амінокислот, які є придатними для таких досліджень є актуальним і водночас складним завданням, що вимагає ретельного вивчення конформаційних і функціональних наслідків включення флуоровмісної амінокислоти в пептид.

Проте, найбільш сильний вплив Флуору на біохімічні науки, безсумнівно, пов'язаний з розвитком агрохімічної і медичної галузей. Адже більше 20% всіх фармацевтичних препаратів і агрохімікатів містять, щонайменше, один атом Флуору. Включення флуоровмісних груп в органічні молекули впливає на їх фізико-хімічні та біологічні властивості. Наприклад, в медичній хімії часто використовують високу електронегативність атомів Флуору, яка приводить до зниження основності сусіднього з флуоровмісною групою атома Нітрогену, що, в свою чергу, зменшує токсичність молекули. Також як для фармацевтичної, так і для агрохімічної галузей важливим фактором є значно вища енергія зв'язку C–F, порівняно зі зв'язком C–H, що приводить до підвищення метаболічної стабільності флуороорганічних сполук. При цьому флуоровмісні аміни та нітрогеновмісні гетероциклічні сполуки виявляють надзвичайно широкий спектр біологічної активності, а отже, їх фрагменти наявні в структурі багатьох сучасних лікарських засобів та агрохімікатів.

Таким чином, розробка стратегій синтезу нових конформаційно обмежених флуоровмісних аналогів природних амінокислот для досліджень мембраноактивних пептидів методом  $^{19}\text{F}$  ЯМР, а також структурно різноманітних флуоровмісних амінів і діазоалканів як цінних будівельних блоків для одержання на їх основі біологічно активних молекул є актуальним і перспективним напрямком органічної хімії.

Під час розробки синтетичних підходів особливу увагу було приділено практичній складовій, адже саме доступність та можливість масштабування методу створює перспективи його подальшого використання в органічному синтезі, ЯМР-дослідженнях або у створенні нових препаратів для медичної та агрохімічної промисловості.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота виконана на хімічному факультеті Київського національного університету імені Тараса Шевченка в рамках бюджетних тем № 06БФ037-06, 11БФ037-04, 14БП037-02, 16БП037-05.

**Мета і завдання дослідження.** Метою даної роботи є направлений синтез та вивчення будови нових конформаційно утруднених флуоровмісних аміно кислот для подальшого використання як  $^{19}\text{F}$ -міток в дослідженнях за допомогою твердотільного ЯМР; флуоровмісних амінів різної будови та флуорованих діазоалканів для застосування в органічному синтезі і одержання на їх основі біологічно активних молекул.

Для досягнення поставленої мети було необхідно розв'язати наступні задачі: провести дизайн нових флуоровмісних конформаційно утруднених амінокислот, амінів та діазоалканів; розробити практичні методи синтезу цільових структур з урахуванням можливості масштабування реакцій; встановити будову і стереохімічні особливості одержаних сполук; дослідити вплив атомів Флуору на структурні, хімічні та фізичні властивості синтезованих похідних.

*Об'єкти дослідження* – амінокислоти, аміни та діазоалкани з різними флуоровмісними замісниками.

*Предмет дослідження* – підходи до синтезу, будова, фізичні та хімічні властивості флуоровмісних амінокислот, амінів та діазоалканів.

*Методи дослідження* – органічний синтез, тонкошарова, препаративна колонкова та високоефективна рідинна хроматографія, спектроскопія ЯМР на ядрах  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  та  $^{19}\text{F}$ , круговий дихроїзм, мас-спектрометрія, рентгеноструктурні дослідження.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Одержано серію нових моно- та біциклічних флуоровмісних амінокислот для заміни залишків аланіну, валіну, лейцину, ізолейцину, фенілаланіну, серину, треоніну та проліну в пептидах. Досліджено структурні властивості ряду мембраноактивних пептидів, модифікованих синтезованими флуоровмісними амінокислотами.

Синтезовано структурно різноманітні нові флуоровмісні аміни – конформаційно обмежені аналоги піперидину, піролідину та азепану, а також ізомерні трифлуорометилморфоліни та трифлуорометилалкіланіліни.

Показано можливість генерування *in situ* ряду нових флуоровмісних діазоалканів з наступним їх застосуванням в синтезі піразол(ін)ів.

**Практичне значення одержаних результатів.** Розроблено препаративні методи синтезу ряду флуорованих амінокислот та амінів, що дозволяють одержання грамових кількостей бажаних продуктів, які є цінними будівельними блоками для медичної та агрохімічної галузей.

Здійснено включення ряду одержаних  $^{19}\text{F}$ -мічених амінокислот до складу мембраноактивних пептидів з подальшим вивченням їх будови методом твердотільного  $^{19}\text{F}$  ЯМР.

Розроблено практичні одноколбові методи синтезу різноманітних рядів флуоро- та ціановмісних піразол(ін)ів шляхом взаємодії генерованих *in situ* діазоалканів ( $\text{CF}_3\text{CHN}_2$ ,  $\text{C}_2\text{F}_5\text{CHN}_2$ ,  $\text{HCF}_2\text{CF}_2\text{CHN}_2$ ,  $\text{CF}_2\text{HCHN}_2$ ,  $\text{NCCN}_2$ ) з електронодефіцитними алкенами/алкінами.

**Особистий внесок здобувача** є визначальним на всіх етапах дослідження і полягає у формуванні наукового напрямку, обґрунтуванні ідеї, виборі об'єктів дослідження, плануванні експерименту, аналізі, інтерпретації, узагальненні

експериментальних даних, одержаних як особисто, так і у співавторстві з іншими дослідниками. Автор вдячний за плідні наукові дискусії науковому консультанту проф. А. О. Толмачову, проф. І. В. Комарову, проф. О. А. Запорожець, а також проф. А. Ульріх (Німеччина) та PhD С. Афоніну (Німеччина) за допомогу в дослідженні пептидів. У виконанні синтетичної частини роботи брали участь: к.х.н. О. Артамонов, к.х.н. А. Ткаченко, PhD В. Кубишкін, к.х.н. Д. Радченко, к.х.н. А. Бездудний, а також студенти і аспіранти. Систематизація даних проведена за участю к.х.н. О. Григоренка та к.х.н. Ю. Пустовіта; протолітичні і ліпофільні характеристики окремих сполук визначені к.х.н. В. Старовою. Синтез комплексних сполук здійснено у співпраці з науковою групою проф. Р. Діаза (США). Рентгеноструктурні дослідження здійснено групою проф. О. В. Шишкіна.

**Апробація результатів дисертації.** Результати дисертації було представлено на міжнародних конференціях: 18<sup>th</sup> European Symposium on Fluorine Chemistry (7–12.08.2016, Kyiv, Ukraine), Balticum Organicum Syntheticum (3–6.06.2016, Riga, Latvia), 251<sup>st</sup> American Chemical Society National Meeting (13–17.03.2016, San Diego, USA), 6<sup>th</sup> EFMC International Symposium on Advances in Synthetic and Medicinal Chemistry (15–18.11.2015, Rehovot, Israel), 21<sup>st</sup> International Symposium on Fluorine Chemistry and 6<sup>th</sup> International Symposium on Fluorous Technologies (23–28.08.2015, Como, Italy), Bioheterocycles 2015, XVI International Conference on Heterocycles in Bioorganic Chemistry (8–11.06.2015, Metz, France), FMC-ISMC 2014, XXIII International Symposium on Medicinal Chemistry (7–11.09.2014, Lisbon, Portugal), 4<sup>th</sup> International Symposium on Organofluorine Compounds in Biomedical, Organic Materials and Agriculture Sciences (6–10.07.2014, Bordeaux, France), ASMC'13 Moscow, 5<sup>th</sup> International Symposium on Advances in Synthetic and Medicinal Chemistry (5–8.05.2013, Moscow, Russia), 11<sup>th</sup> German Peptide Symposium (18–21.03.2013, Munich, Germany).

**Публікації.** За темою дисертації опубліковано 38 статей у провідних міжнародних фахових журналах, розділ монографії та 10 тез доповідей на конференціях.

**Структура та обсяг роботи.** Дисертація викладена на 360 сторінках і складається зі вступу, п'яти розділів, висновків, переліку використаних джерел (440 найменувань), містить 81 рисунок та 26 таблиць. У першому розділі висвітлено вплив атома Флуору на фізико-хімічні властивості органічних сполук (літературний огляд). Другий розділ присвячено дизайну, синтезу та використанню в дослідженні будови пептидів флуоровмісних амінокислот. У третьому розділі розглянуто підходи до синтезу флуорованих циклічних амінів. Четвертий розділ присвячено генеруванню флуоровмісних діазоалканів та використанню їх в синтезі гетероциклічних сполук. П'ятий розділ містить експериментальні дані дисертаційної роботи.

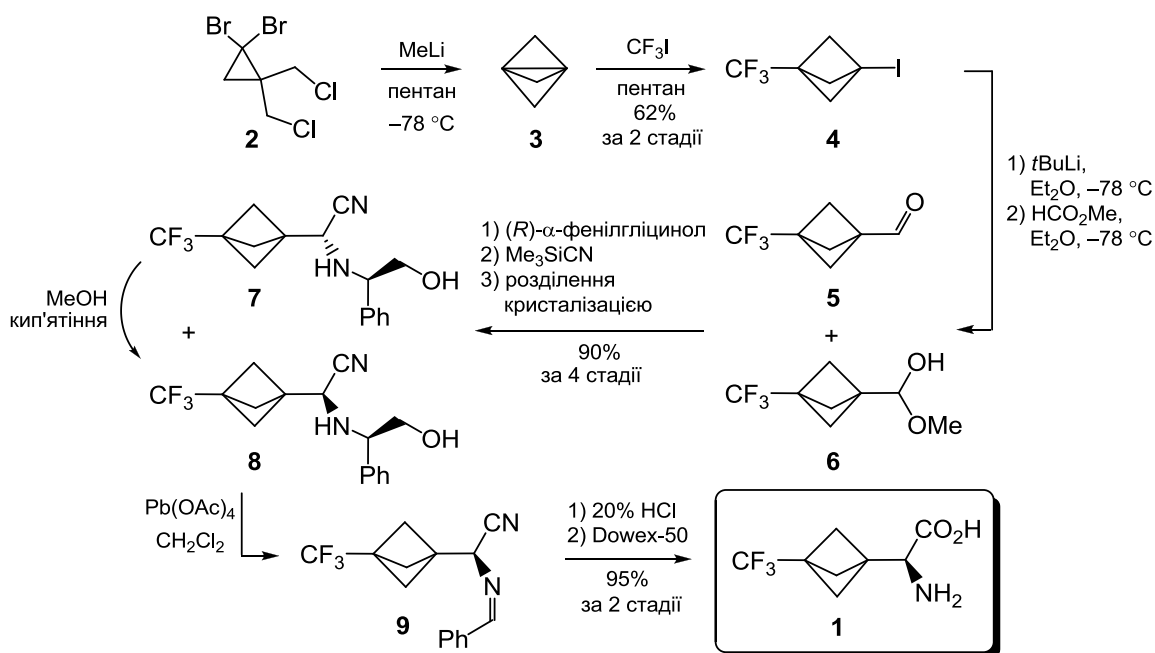
## **ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ ФЛУОРОВМІСНІ АМІНОКИСЛОТИ**

### **Оптимізований синтез 3-(трифлуорометил)біциклопент[1.1.1]-1-илглїцину**

У 2006 році нашою науковою групою було здійснено синтез CF<sub>3</sub>-заміщеного конформаційно жорсткого аналога неполярних аліфатичних α-амінокислот – сполуки **1**, що виявилась ефективною міпкою для твердотільного <sup>19</sup>F ЯМР-аналізу і була в подальшому успішно застосована для вивчення конформації, орієнтації у мембрані і динамічної поведінки декількох природних антимікробних пептидів.

Зростаюча зацікавленість амінокислотою **1** спонукала до розробки практичної процедури синтезу, що дозволила б одержання її грамових кількостей.

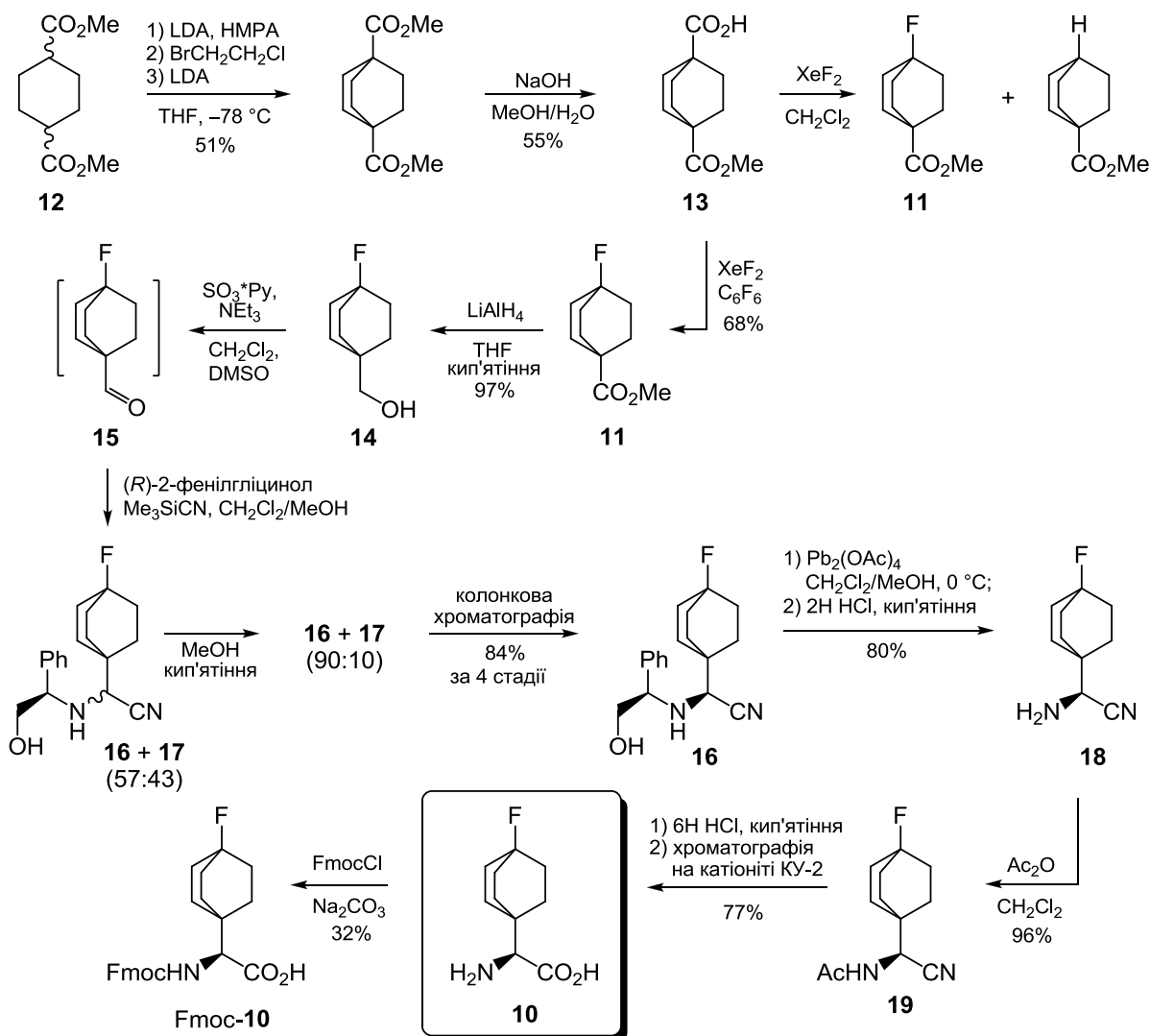
Шляхом оптимізації реакційної послідовності було зменшено кількість досить дорогого реагенту  $\text{CF}_3\text{I}$  з 2.2 екв. до 1.1 екв. без істотного зниження виходу продукту (62% замість 64%) (стадія **3**  $\rightarrow$  **4**). Триразовим повторенням циклу епімеризація-кристалізація для суміші **7/8** виділено сполуку **8** з загальним виходом 90% (з **4**) (в оригінальній методиці вихід складав 80% і було застосовано процедуру епімеризація-хроматографія). Крім того, знайдено, що на останній стадії синтезу використання 1.5 екв.  $\text{Pb}(\text{OAc})_4$  і збільшення часу реакції до 15 хв. значно покращує вихід **1** до 95%. Таким чином, оптимізована методика дозволила отримати 100 г амінокислоти **1**, при цьому загальний вихід продукту збільшено з 35% до 53%.



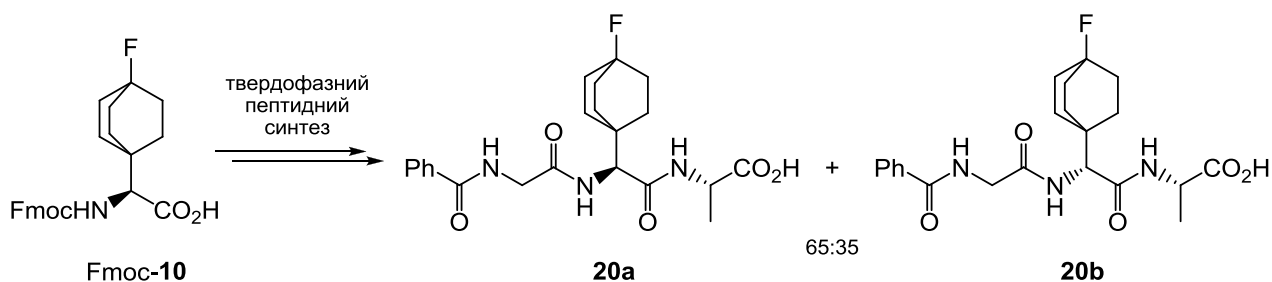
### Синтез (S)-2-аміно-2-(4-флуоробіцикло[2.2.2]октан-1-іл)ацетатної кислоти

Наступним кроком дослідження став дизайн та синтез аліфатичного аналога 4-флуорофенілгліцину – амінокислоти **10** з використанням біоізомерної заміни кільця бензену на біцикло[2.2.2]октан. Ключовою сполукою синтетичної стратегії була похідна **11**. Синтез молекули **11** розпочинали з дієстеру **12**, з якого низкою послідовних стадій одержували монокислоту **13**. Вирішальним кроком було перетворення карбоксильної групи сполуки **13** на атом Флуору дією  $\text{XeF}_2$ . Встановлено, що застосування поліфлуорованого розчинника  $\text{C}_6\text{F}_6$  дало можливість селективно отримати похідну **11**. Окисненням гідроксильної групи в сполуці **14** з використанням комплексу  $\text{Ru}^*\text{SO}_3$  в ДМСО отримали нестійкий альдегід **15**, який був використаний в наступній стадії без виділення. В реакції Штрекера сполуки **15** з  $(R)\text{-}\alpha\text{-фенілгліцинолом}$  утворювалась суміш стереоізомерів **16/17** (57:43). Знайдено, що в метанолі ізомер **17** зазнає ізомеризації в **16** (за 3 год. ізомеризація досягала термодинамічної рівноваги **16/17** 90:10). Необхідний основний ізомер **16** виділено за допомогою колонкової хроматографії. (S)-Стереоконфігурація новоутвореного хірального центру сполуки **16** підтверджена рентгеноструктурним дослідженням. Окиснювальне зняття хірального допоміжного залишку сполуки **16** дією  $\text{Pb}(\text{OAc})_4$  з

подальшим кислотним гідролізом проміжної основи Шиффа дало нітрил **18**. Несподівано було виявлено, що нітрильна група сполуки **18** не гідролізує в кислих умовах. Для подолання цієї проблеми проведено ацилювання **18** дією  $\text{Ac}_2\text{O}$  з утворенням **19**. У свою чергу гідроліз **19** відбувався легко в  $6\text{N HCl}$  впродовж 2 год.



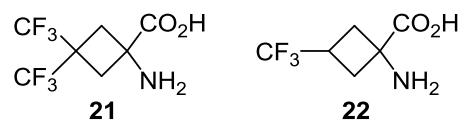
Далі було синтезовано захищену Fmoc-**10** та за допомогою твердофазного пептидного синтезу одержано трипептид  $\text{Vz-Gly-10-Ala-OH}$  (**20**). З реакційної суміші за допомогою HPLC були виділені два епімерні пептиди **20a/20b**. На відміну від 4-флуорофенілгліцину, амінокислота **10** рацемізувалась лише частково (**20a/20b** = 65:35), що зробило можливим визначення стереоконфігурації отриманих пептидів. Очевидно, що мажорний ізомер **20a** містив залишок (*S*)-**10**, тоді як мінорний **20b** – (*R*)-**10**.



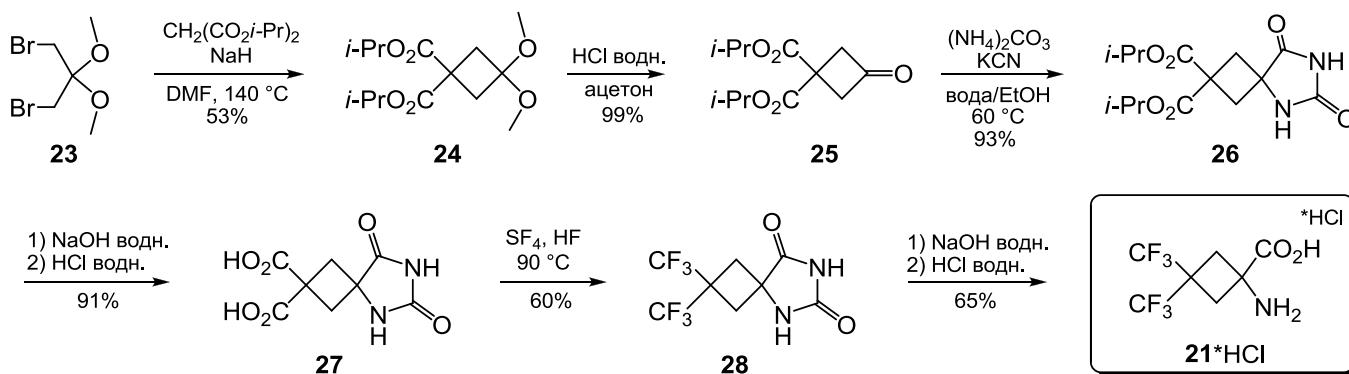
Отже, порівняно з 4-флуорофенілглїцином, який повністю рацемізується в умовах пептидного синтезу, лише часткова рацемізація сполуки **10** робить її вдалою  $^{19}\text{F}$ -міткою для заміни залишків аліфатичних амінокислот (Val, Ile, Leu) в пептидах для їх вивчення методом  $^{19}\text{F}$  ЯМР. Синтез амінокислоти **10** було здійснено в 11 стадій з загальним виходом 9%.

### CF<sub>3</sub>-Вмісні аналоги 1-аміноциклобутан-1-карбонової кислоти

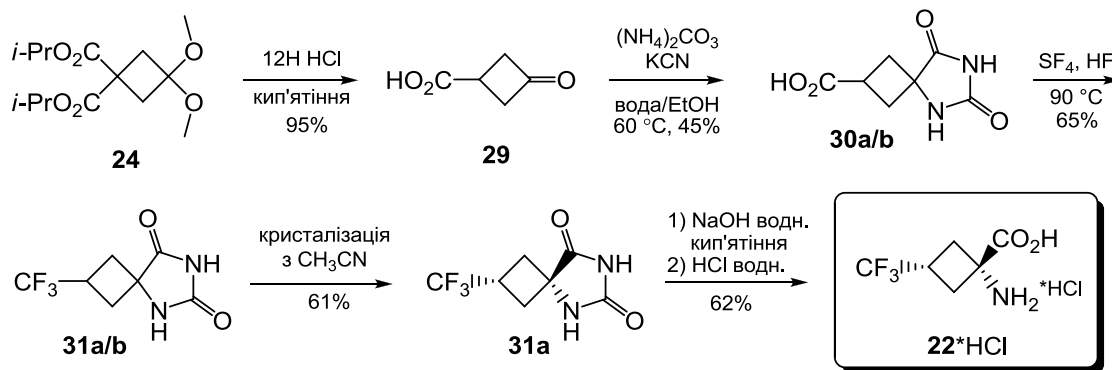
Наступним етапом дослідження став синтез перших представників CF<sub>3</sub>-заміщених похідних фармакологічно важливої 1-аміноциклобутан-1-карбонової кислоти – сполук **21** та **22**.



Синтез амінокислоти **21** розпочинали з циклобутану **24**, який може бути легко отриманий з відповідного диброміду **23**. Дибромід **23**, в свою чергу, було синтезовано в одну стадію з ацетону. Каталізоване кислотою зняття кетального захисту в сполуці **24** з наступним використанням реакції Бухерера – Бергса забезпечило одержання гідантоїну **26**. Ключова стадія синтезу – перетворення групи CO<sub>2</sub>H на CF<sub>3</sub> – проходила без ускладнень шляхом нагрівання дикислоти **27** з SF<sub>4</sub>/HF в автоклаві. Гідроліз гідантоїнового циклу сполуки **28** завершив синтез амінокислоти **21**.



Для синтезу амінокислоти **22**, циклобутан **24** спершу перетворили на кетокислоту **29**. Подальшим застосуванням реакції Бухерера – Бергса отримали відповідні діастереомерні гідантоїни **30a/b** у співвідношенні 4:1.

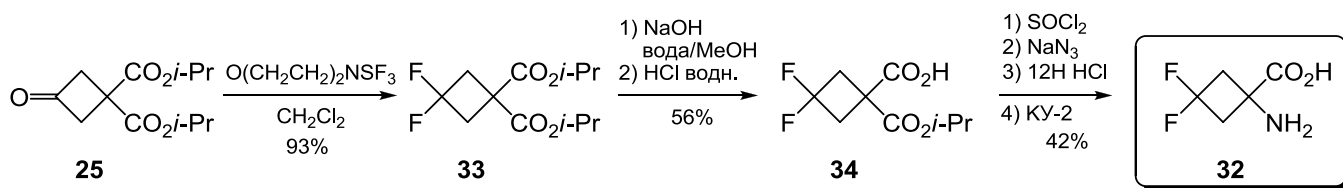


Перетворення карбоксильної на CF<sub>3</sub>-групу дією SF<sub>4</sub>/HF дало діастереомерну суміш гідантоїнів **31a/b**, з якої кристалізацією було виділено чистий основний ізомер **31a**, а наступним розщепленням гідантоїнового фрагмента з нього отримано

цільову амінокислоту **22**. Стереохімія сполуки **31a** була визначена за допомогою  $^1\text{H}$  NOESY ЯМР експериментів.

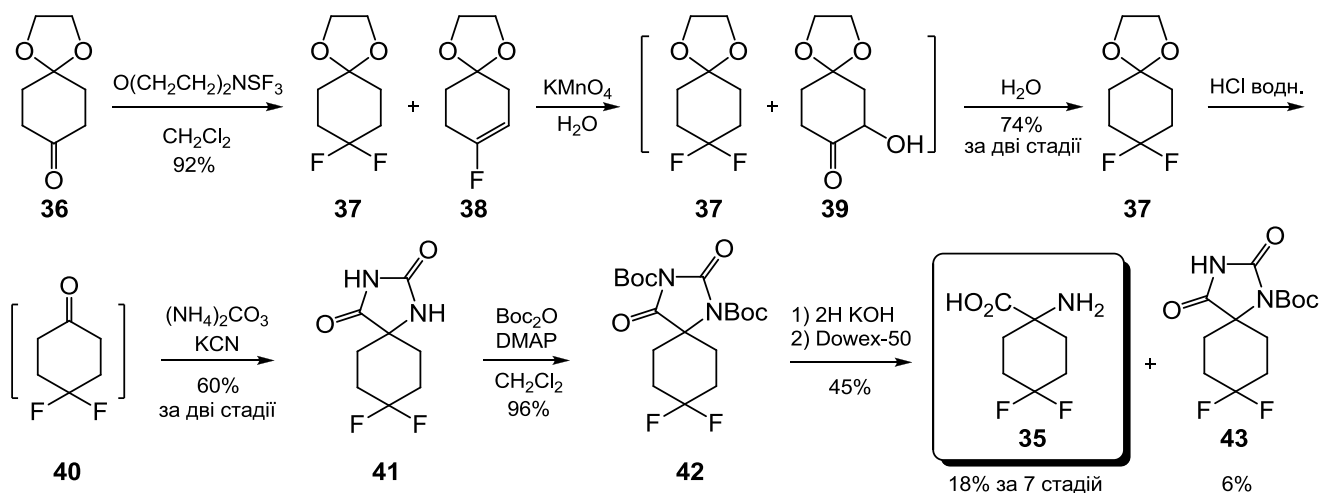
### Синтез 1-аміно-3,3-дифлуороциклобутанкарбонової кислоти

Позитивний результат у синтезі сполук **21** та **22** надихнув на застосування розробленої схеми перетворень для синтезу ще одного нового флуоровмісного аналога 1-аміноциклобутан-1-карбонової кислоти – амінокислоти **32**. Ключова стадія синтезу – перетворення кетогрупи сполуки **25** на  $\text{CF}_2$ -групу з утворенням **33** – відбувалась легко за кімнатної температури з використанням  $\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NSF}_3$  як флуоруючого агента. Необхідне перетворення карбоксильної групи сполуки **34** на аміногрупу проводили за допомогою реакції Курціуса, а катіонообмінною хроматографією отримали цільову амінокислоту **32**.



### Синтез 1-аміно-4,4-дифлуороциклогексанкарбонової кислоти

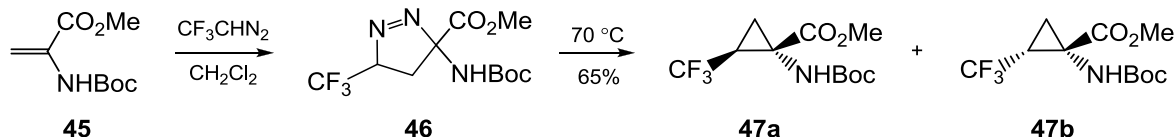
Дану частину роботи присвячено розробці практичного синтезу амінокислоти **35**, а також вивченню впливу атомів Флуору на конформацію, ліпофільність і кислотно-основні властивості молекули. Вихідною сполукою був циклогексанон **36**. Його флуоруванням дією  $\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NSF}_3$  отримано суміш 4:1 необхідної дифлуорованої сполуки **37** і побічного вінілфлуориду **38**.



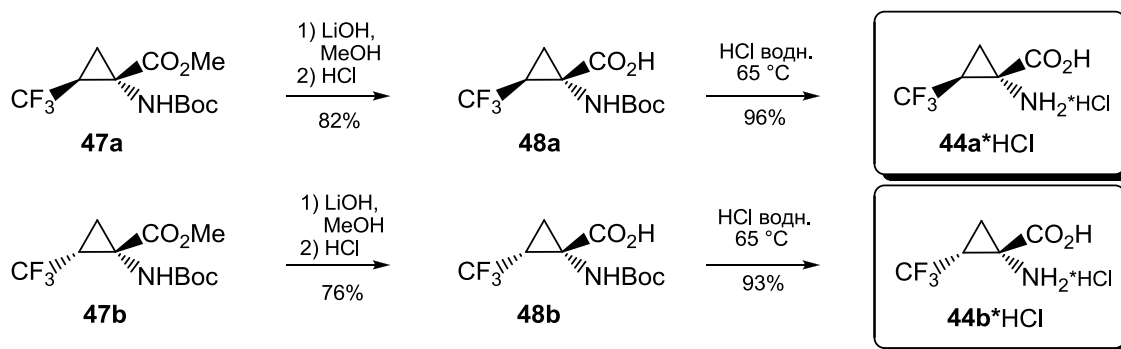
Оскільки пряме розділення суміші **37/38**, а також спроби оптимізації умов для зміни співвідношення продуктів не були ефективними, проведено окиснення алкену **38** у сполуку **39**. Розчин **37/38** у дихлорометані обробляли водним розчином  $\text{KMnO}_4$  за кімнатної температури впродовж 24 год. при інтенсивному перемішуванні. Промивання реакційної суміші водою дало індивідуальний кристалічний продукт **37** з виходом 74%. Варто зауважити, що розроблена проста процедура кількісної ізоляції дифлуорометильної похідної **37** із суміші **37/38** видається досить загальною і має знайти подальше застосування у флуороорганічній хімії, де утворення



Отже, було здійснено оптимізацію розробленої раніше стратегії для одержання мультиграмових кількостей обох сполук ( $\pm$ )-**44a** та ( $\pm$ )-**44b** без використання Rh-вмісних реагентів. Ключовою вихідною сполукою був алкен **45**; його реакцією з  $\text{CF}_3\text{CHN}_2$  одержано піразолін **46**, термічний розклад якого привів до утворення суміші **47a/47b** (4:1).



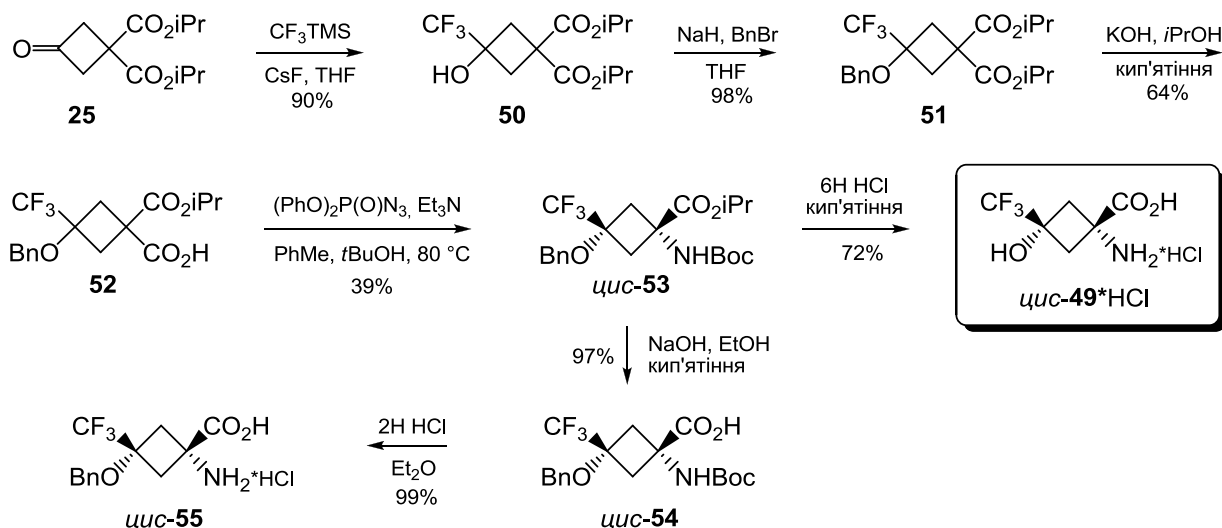
Значна різниця  $R_f$  діастереомерів **47a/b** дала можливість легко провести розділення колонковою хроматографією  $\sim 45$  г суміші. Омиленням та зняттям Boc-захисту було отримано бажані амінокислоти **44a** (19 г) та **44b** (5 г).



Визначення стереоконфігурації одержаних сполук проведено з використанням двовимірного експерименту  $^1\text{H}$  NOESY ЯМР для похідної **48b**.

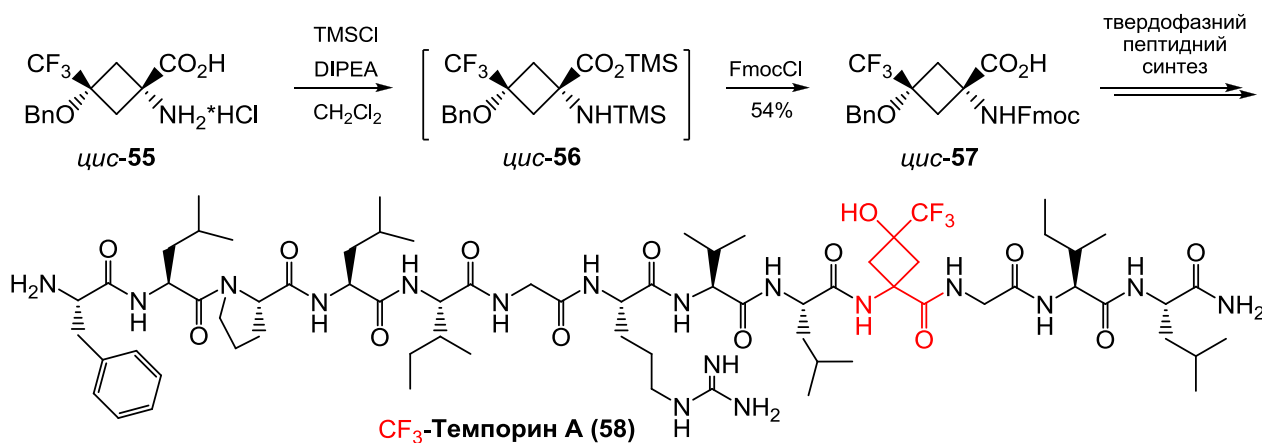
### Синтез флуоровмісного аналога серину та треоніну

Наступним етапом дослідження стало одержання  $\text{CF}_3$ -вмісного конформаційно жорсткого аналога серину та треоніну **49**. Синтез починали з кетону **25**, який перетворювали на спирт **50** з використанням реагенту Рупперта–Пракаша ( $\text{CF}_3\text{TMS}$ ). Селективним гідролізом *O*-бензильної похідної **51** з подальшим перегрупуванням Курціуса отримували суміш діастереомерів, в якій *цис*-ізомер **53** переважав (*цис:транс*  $\sim 2:1$ ) і був виділений з виходом 39% після фракційної кристалізації.



Молекулярна структура *цис*-**53** підтверджена за допомогою рентгеноструктурного дослідження. Усі захисні групи були легко видалені при кип'ятінні у 6M HCl, що дало амінокислоту *цис*-**49**\*HCl.

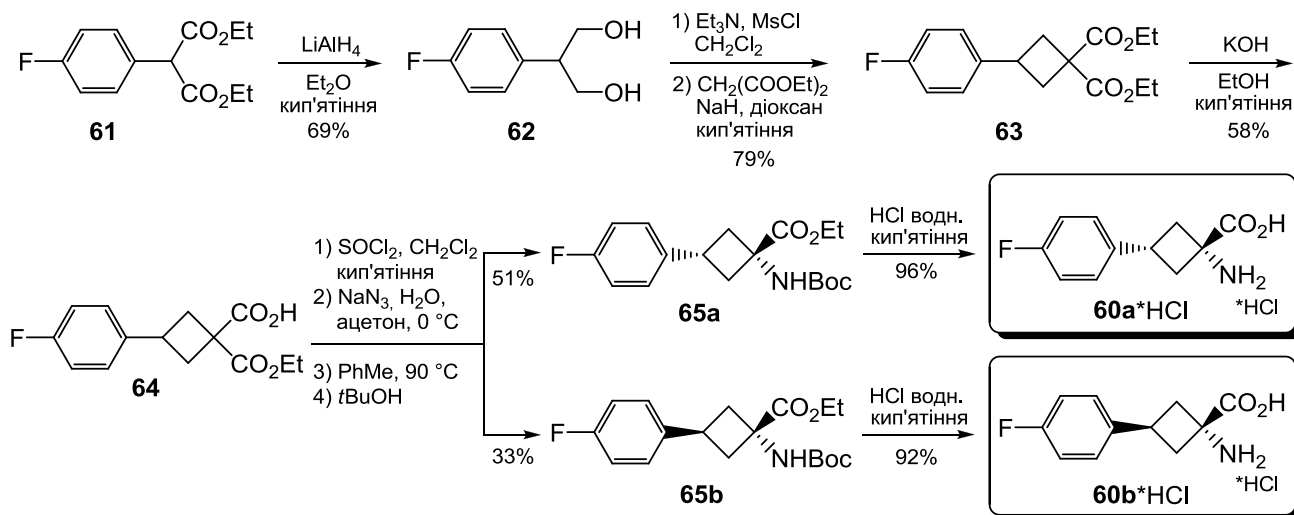
Введення *N*-Fmoc захисту у молекулу *цис*-**55** для її підготовки до використання у твердофазному пептидному синтезі було здійснено у два етапи з утворенням *цис*-**57** без виділення інтермедіату *цис*-**56**. Для перевірки використання *цис*-**49** як мітки для  $^{19}\text{F}$  ЯМР у структурних дослідженнях було обрано природний мембраноактивний протимікробний пептид темпорин А (H-Phe-Leu-Pro-Leu-Ile-Gly-Arg-Val-Leu-Ser-Gly-Ile-Leu-NH<sub>2</sub>) як модельну сполуку. Було синтезовано цей пептид, а також два його CF<sub>3</sub>-мічені аналоги, використовуючи як нову амінокислоту *цис*-**49** (H-Phe-Leu-Pro-Leu-Ile-Gly-Arg-Val-Leu-*цис*-**49**-Gly-Ile-Leu-NH<sub>2</sub>, **58**), так і відому гідрофобну CF<sub>3</sub>-мітку **1** (H-Phe-Leu-Pro-Leu-Ile-Gly-Arg-Val-Leu-**1**-Gly-Ile-Leu-NH<sub>2</sub>, **59**). Пептиди порівнювали з точки зору їх функціональної активності, а також вивчали їх конформації методом твердофазного  $^{19}\text{F}$  ЯМР. У стандартному антимікробному тестуванні всі три пептиди продемонстрували подібну активність. Спектри кругового дихроїзму показали, що обидва пептиди **58** і **59** у водних розчинах не мали чітко визначеної вторинної структури, але приймали конформацію  $\alpha$ -спіралі в присутності міцел (мембраноімітуюче середовище).



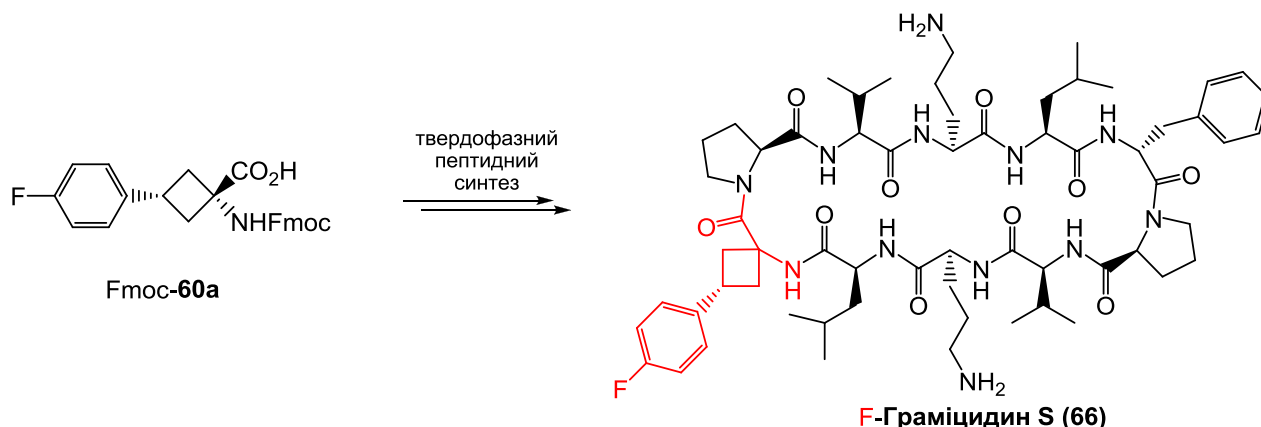
Отже, було синтезовано і досліджено амінокислоту *цис*-**49** як першу полярну CF<sub>3</sub>-мітку для твердотільного  $^{19}\text{F}$  ЯМР аналізу мембраноактивних Ser/Thr-вмісних пептидів.

### Синтез монофлуорозаміщеного аналога фенілаланіну

Подальшим кроком досліджень став дизайн та розробка методу синтезу  $^{19}\text{F}$ -мітки для заміни фенілаланіну. Синтез цільової сполуки **60** розпочинали з флуорозаміщеного діестеру **61**, відновленням якого за літературним методом отримували спирт **62**. Мезилування сполуки **62** з подальшим подвійним алкілюванням діетилмалонатом дало циклобутан **63**. Моногідролізом **63** отримали кислоту **64** у вигляді суміші двох ізомерів (3:2). Наступна реакція Курціуса дала два діастереомерні продукти, які були розділені за допомогою колонкової хроматографії з одержанням індивідуальних сполук **65a** (51%) і **65b** (33%). Стереоконфігурацію ізомерів визначали за допомогою рентгеноструктурного дослідження естеру **65a**. І, нарешті, зняттям Вос-захисту було отримано цільові амінокислоти **60a**\*HCl і **60b**\*HCl.



Як тест-систему для нової ЯМР-мітки обрано протимікробний пептид грамїцидин S (*цикло*[Val-Orn-Leu-<sup>D</sup>Phe-Pro]<sub>2</sub>). Шляхом заміни одного з двох залишків <sup>D</sup>Phe з використанням твердофазного пептидного синтезу довільно обрана амінокислота **60a** була включена до складу міченого пептиду *цикло*[Val-Orn-Leu-**60a**-Pro-Val-Orn-Leu-<sup>D</sup>Phe-Pro] (**66**). Варто зауважити, що амінокислота **60a** не ізомеризувалася під час пептидного синтезу. Результати комп'ютерних розрахунків і спектри кругового дихроїзму показали, що структура <sup>19</sup>F-міченого пептиду не набувала суттєвих змін через конформаційно обмежений бічний ланцюг.

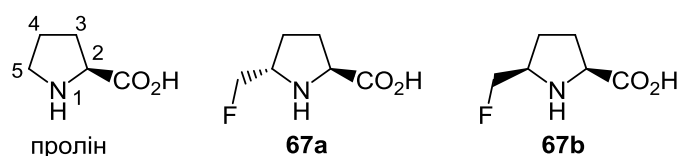


Отже, синтез нових монофлуорозаміщених конформаційно обмежених амінокислот **60a** та **60b** було здійснено у п'ять стадій, виходячи з діетил-2-(4-флуорофеніл)пропандіоату. Ці сполуки призначені для використання як <sup>19</sup>F-мітки у твердотільному ЯМР, зокрема, для вимірювання відстаней дальніх взаємодій <sup>19</sup>F-<sup>19</sup>F в мембранозв'язаних пептидах.

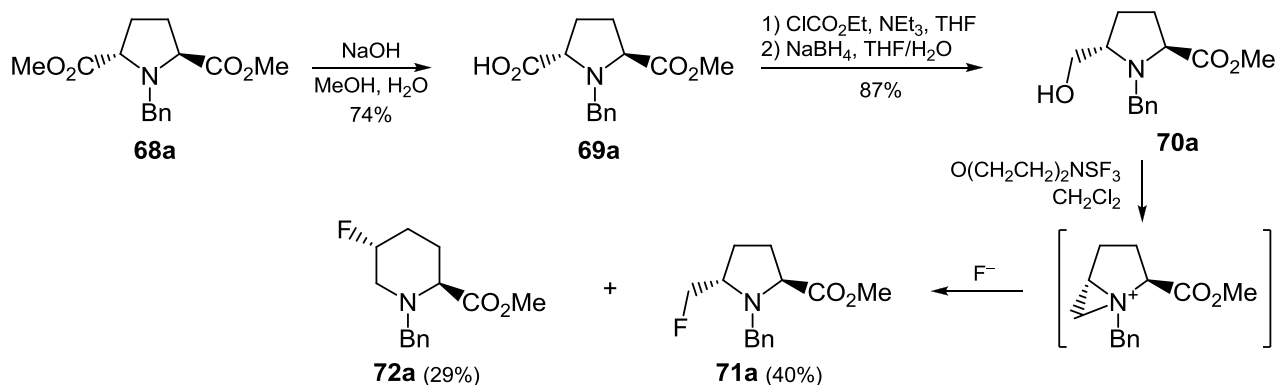
### Синтез флуоромісних аналогів проліну

#### Синтез 5-флуорометилпроліну та 5-флуоропіпеколінової кислоти

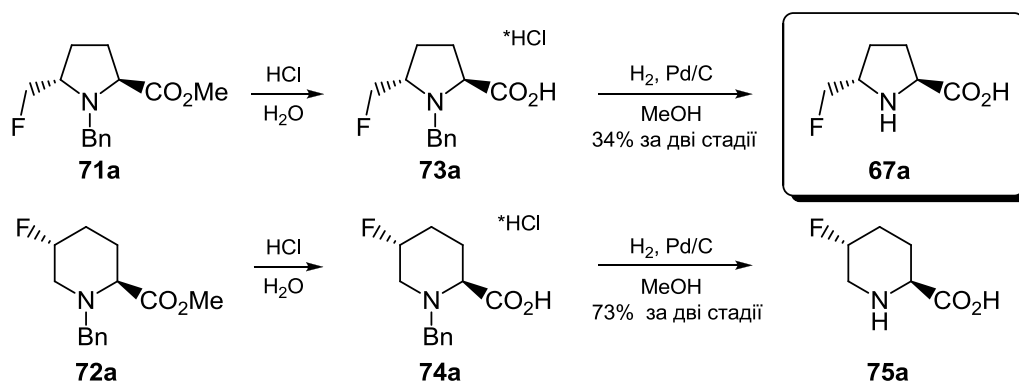
Первинна мета даної частини дослідження полягала в розробці стратегії синтезу пролінів *транс*-**67a** і *цис*-**67b**, що мають замісник -CH<sub>2</sub>F у 5-му положенні.



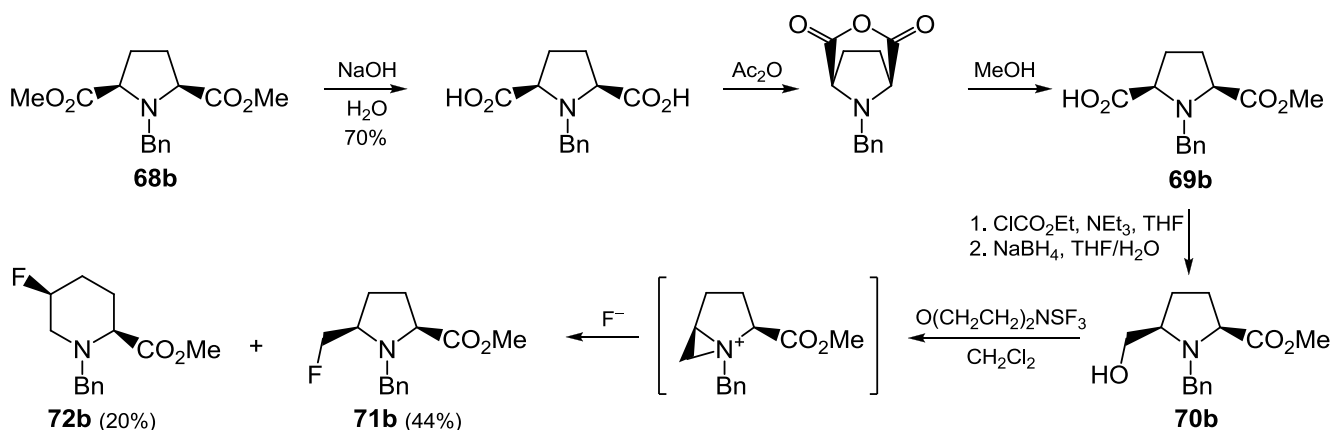
Вихідні сполуки **68a/b** були легко одержані з диметилгександіоату за двостадійним літературним методом. Лужний гідроліз *транс*-ізомеру **68a** дією 1 екв. NaOH приводив до *транс*-монокислоти **69a**, яку далі обробляли EtOCOCi і відновлювали дією NaBH<sub>4</sub> з отриманням відповідного *транс*-спирту **70a**. У ключовій стадії синтезу – реакції сполуки **70a** з O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NSF<sub>3</sub> – несподівано утворились два структурні ізомери: цільовий піролідин **71a** і побічний продукт **72a**, які були розділені колонковою хроматографією.



Кислотний гідроліз естерної групи в **71a** привів до кислоти **73a**\*HCl, каталітичне гідрування якої з подальшою катіонообмінною хроматографією завершило синтез цільового *транс*-5-флуорометилпроліну (**67a**). Ізомерна *транс*-5-флуоропіпеколінова кислота (**75a**) була отримана з піперидину **72a**. Будову сполук **67a** та **74a** підтверджено за допомогою рентгеноструктурного дослідження.

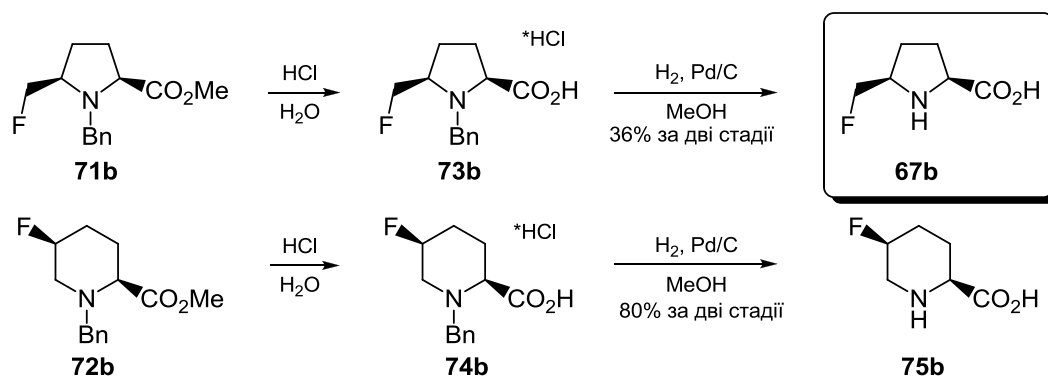


На відміну від *транс*-ізомеру **68a**, при гідролізі *цис*-**68b** дією 1 екв. NaOH замість відповідної монокислоти **69b** було одержано суміш вихідної сполуки **68b** і дикислоти.



*цис*-Монокислоту **69b** отримували з *цис*-дієстеру **68b** у три стадії відповідно до модифікованих літературних методик. Активація карбоксильної групи в **69b** з використанням EtOCOC/NEt<sub>3</sub> з подальшим відновленням утвореного проміжного продукту давала *цис*-спирт **70b**. Далі сполуку **70b** піддавали дії O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NSF<sub>3</sub> і знову спостерігали утворення двох структурних ізомерів: *цис*-піролідину **71b** і *цис*-піперидину **72b**, які розділяли за допомогою колонкової хроматографії.

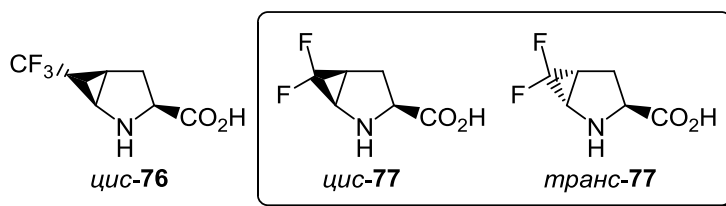
Кислотним гідролізом естеру **71b** було отримано кислоту **73b**\*HCl, каталітичне гідрування якої з подальшою катіонообмінною хроматографією дало цільовий *цис*-5-флуорометилпролін (**67b**). І, нарешті, з піперидину **72b** одержано нову *цис*-5-флуоропіпеколінову амінокислоту (**75b**). Будову сполук **73b** та **75b** доведено за допомогою рентгеноструктурного дослідження.



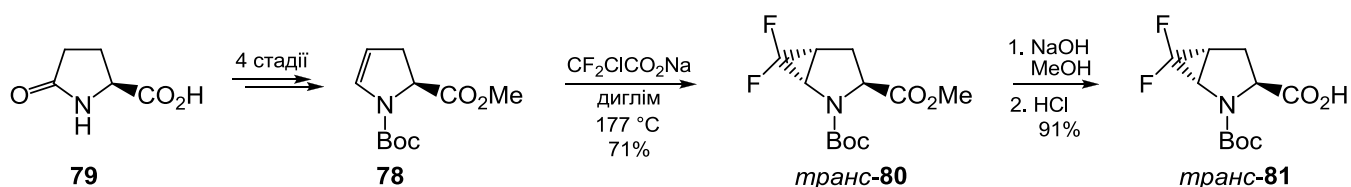
Отже, здійснено синтез рацемічних *транс*- і *цис*-5-флуорометилпролінів і розроблено ефективну процедуру одержання *транс*- і *цис*-5-флуоропіпеколінових кислот.

### Нові *цис*- та *транс*-4,5-дифлуорометанопроліни

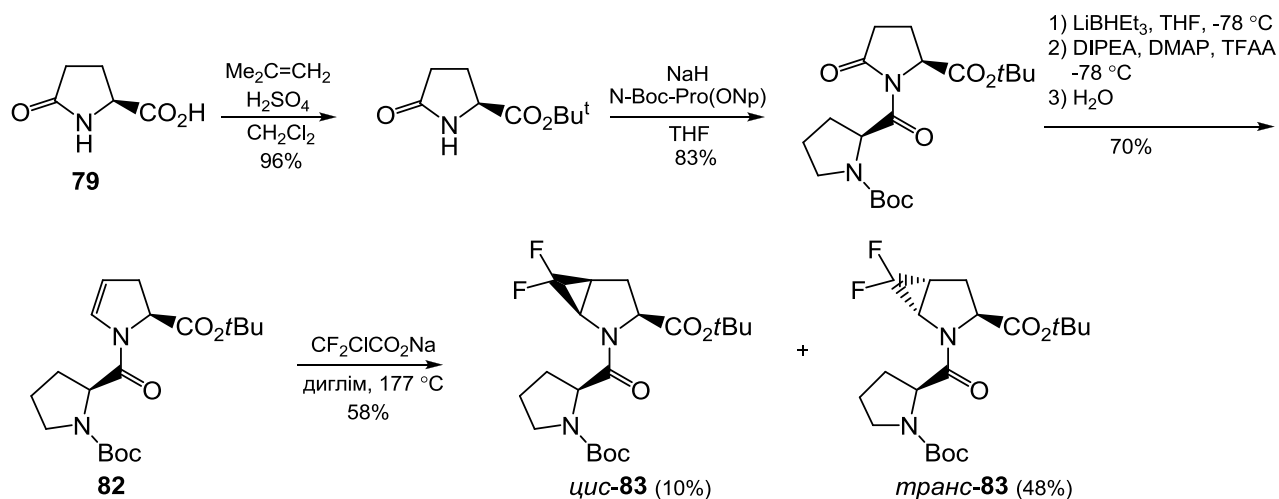
Далі увагу було приділено синтезу аналога одержаного раніше нашою науковою групою CF<sub>3</sub>-метанопроліну *цис*-**76** – 4,5-дифлуорометанопроліну **77**.



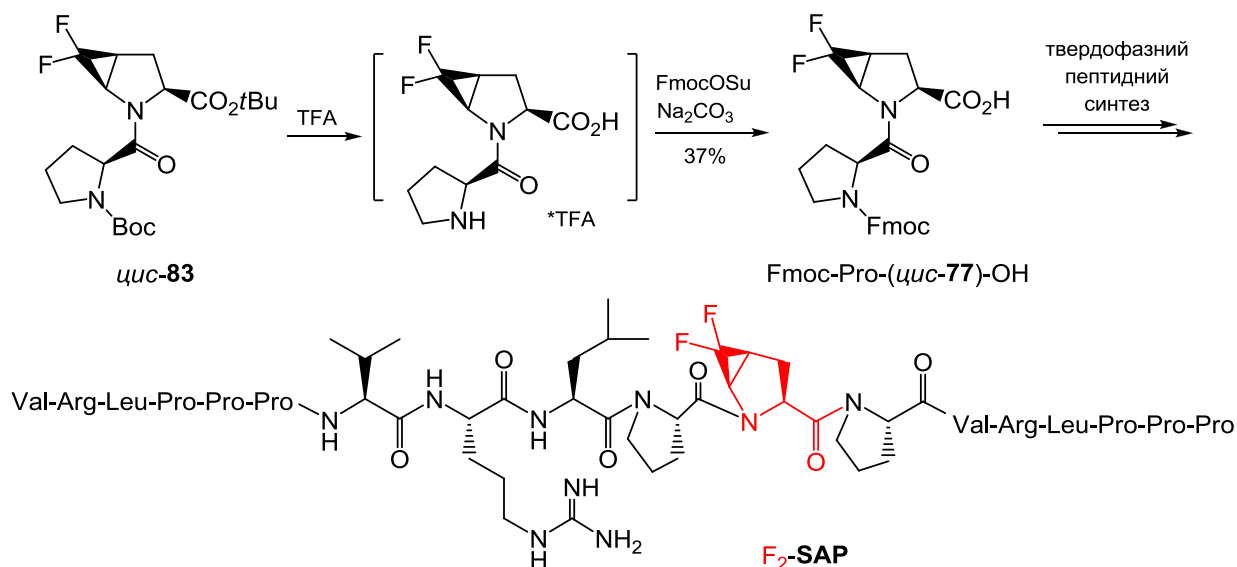
Ключовим хімічним перетворенням у синтезі амінокислоти **77** було додавання дифлуорокарбену до відповідного ненасиченого прекурсора – естеру *N*-Boc-*L*-4,5-дегідропроліну **78**, одержання якого проводили за літературними методиками з *L*-піроглутаматної кислоти (**79**). Отриману дифлуороциклопропанову похідну *транс*-**80** очищали за допомогою колонкової хроматографії і піддавали лужному гідролізу з утворенням *N*-Boc захищеної амінокислоти *транс*-**81**. Стереоконфігурацію отриманих сполук визначали за допомогою рентгеноструктурного дослідження для *транс*-**81**. Діастереоселективність утворення *транс*-**80** можна пояснити термодинамічним контролем реакції. Зняттям *N*-Boc захисту в дифлуороциклопропанах *транс*-**80** і *транс*-**81** були одержані відповідні *N*-незахищені сполуки, але вони швидко розкладались. Наприклад, за даними <sup>19</sup>F ЯМР період напіврозкладу (t<sub>1/2</sub>) відповідної незахищеної TFA-солі *транс*-**80** становив ~ 110 хв. (у CDCl<sub>3</sub>).



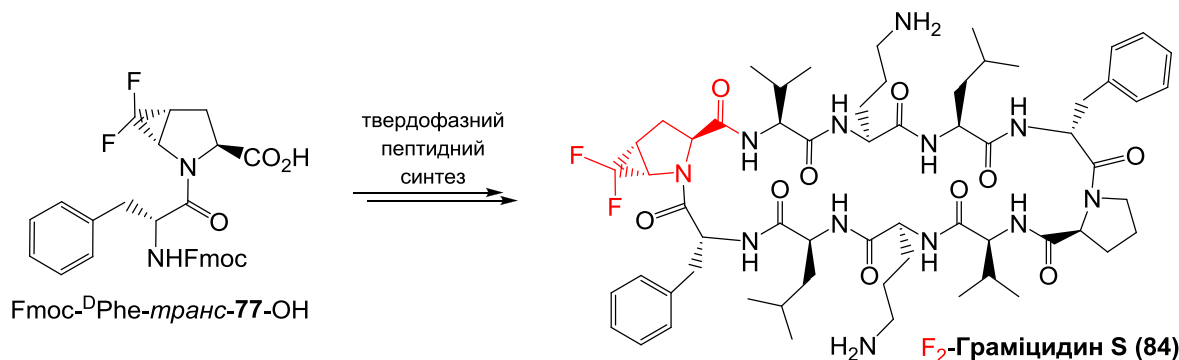
Для уникнення використання в подальших синтезах нестабільної *N*-незахищеної амінокислоти **77** було одержано в три стадії ненасичений дипептидний прекурсор **82**, який далі піддавали реакції дифлуороциклопропанування з уворенням ізомерних продуктів: *транс-83* і *цис-83* (5:1). Їх конфігурація визначена за допомогою гетероядерних  $^{19}\text{F}$ - $^1\text{H}$  ЯЕО-експериментів. Структура *цис-83* також підтверджена за допомогою рентгеноструктурного дослідження.



Обидва дипептиди *цис-83* і *транс-83* після гідролізу і заміни захисту *N*-Boc на *N*-Fmoc були використані у стандартному твердофазному пептидному синтезі з отриманням аналогів пролін-збагаченого мембранопроникного пептиду SAP [(Val-Arg-Leu-Pro-Pro-Pro)<sub>3</sub>]: Val-Arg-Leu-Pro-Pro-Pro-Val-Arg-Leu-Pro-(*цис-77*)-Pro-Val-Arg-Leu-Pro-Pro-Pro і Val-Arg-Leu-Pro-Pro-Pro-Val-Arg-Leu-Pro-(*транс-77*)-Pro-Val-Arg-Leu-Pro-Pro-Pro. Як *цис*-, так і *транс*-форми синтезованих пептидів були повністю стабільні в стандартних умовах твердофазного пептидного синтезу.



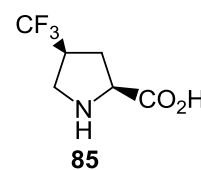
За допомогою стабільного дипептиду Fmoc-<sup>D</sup>Phe-*транс*-77-ОН, використовуючи твердофазний пептидний синтез було отримано мічений аналог грамїцидину S – пептид *цикло*[Val-Orn-Leu-<sup>D</sup>Phe-*транс*-77-Val-Orn-Leu-<sup>D</sup>Phe-Pro] (**84**). Прийнятний загальний вихід (20%) циклічного пептиду є непрямим свідченням того, що заміна природного проліну молекулою **77** не має істотного впливу на структуру відповідного лінійного прекурсора, а, отже, і циклічного продукту **84**. Практично ідентичні спектри кругового дихроїзму грамїцидину S і пептиду **84** у ліпосомах підтверджують, що вторинна структура не набула істотних змін. Також як мічений, так і природний пептиди демонстрували подібну гемолітичну та протимікробну активність проти різних бактеріальних штамів.



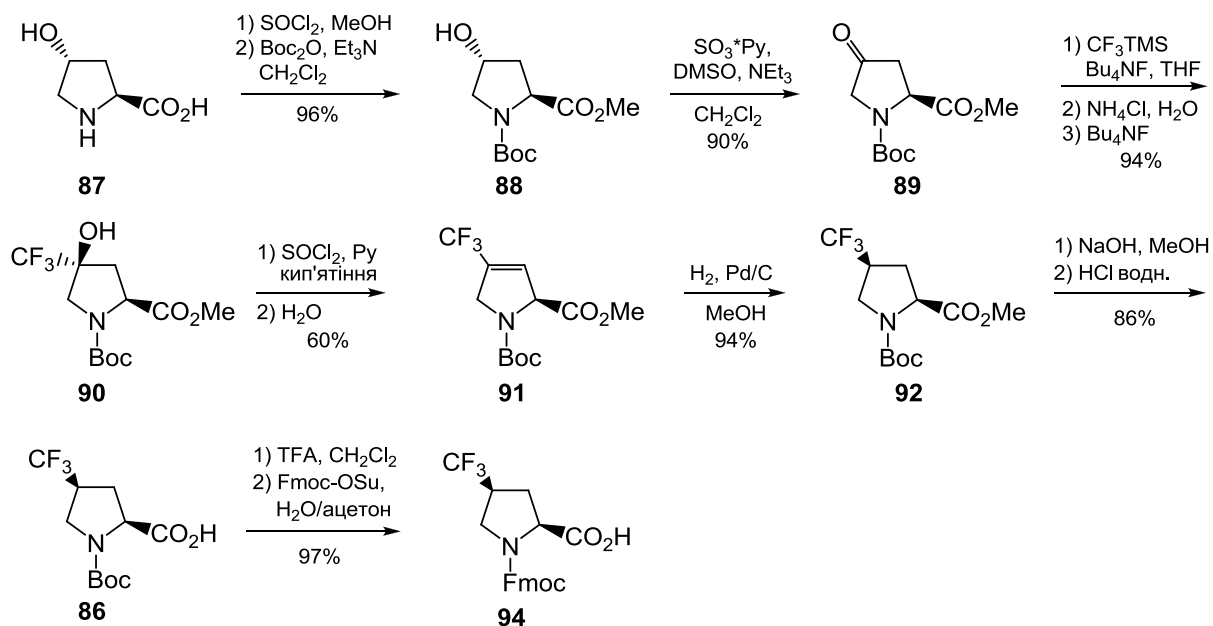
Отже, було здійснено включення конформаційно обмеженого <sup>19</sup>F-заміщеного метанопроліну *транс*-77 до циклічного протимікробного пептиду грамїцидину S замість одного залишку проліну. Твердотільний <sup>19</sup>F ЯМР-аналіз міченого пептиду **84** в орієнтованих ліпідних бішарах показав, що хімічні зсуви і форма спектральних ліній реагують на зміни температури. Це свідчить про структурну реорієнтацію молекул пептиду в мембрані, що узгоджується з раніше опублікованими даними. Отже, амінокислота **77** справді може бути використана як мітка для вивчення орієнтації і рухливості мембраноактивних пептидів у ліпідних бішарах за допомогою твердотільного <sup>19</sup>F ЯМР.

#### 4-(*S*)-Трифлуорометилпролін як <sup>19</sup>F ЯМР-мітка

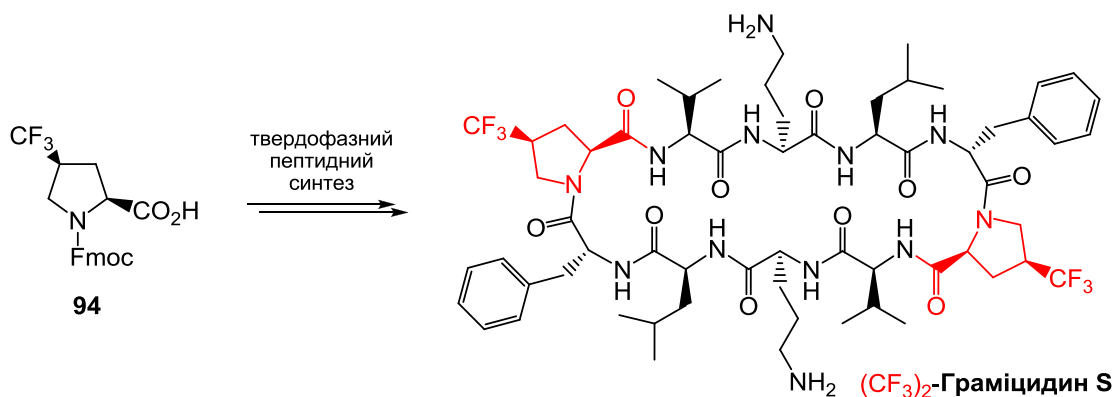
Дану частину роботи присвячено синтезу 4-(*S*)-CF<sub>3</sub>-проліну (**85**) та його використанню як структурної <sup>19</sup>F ЯМР мітки в дослідженнях мембраноактивного пептиду грамїцидину S.



Серед відомих підходів до одержання **85** обрано найбільш простий і економічний синтез *N*-Вос похідної **86**, виходячи з гідроксипроліну **87**. Гідроксильну групу метилового естеру **88** перетворювали на кето-функцію в умовах окиснення за Парихом – Дерингом, що дало кетон **89** з виходом 90%. Наступним введенням CF<sub>3</sub>-групи і відщепленням води з виходом 94% отримали сполуку **90**, яку далі перетворили на алкен **91**. Другий стереоцентр генерували гідруванням подвійного зв'язку з одержанням похідної **92**, омиленням карбоксильної групи якої отримали **86**. Загальний вихід **86** складав 39%, тобто майже вдвічі вище, ніж в оригінальній публікації.



За допомогою стандартних методів твердофазного пептидного синтезу амінокислоту **85** було включено у пептид грамїцидин S. Виходячи з **94** були отримані два мічені аналоги: **85**-грамїцидин S (одна заміна Pro на **85**) і **(85)**<sub>2</sub>-грамїцидин S (дві заміни Pro на **85**). Спочатку лінійну пептидну послідовність синтезували на твердому носії, а потім циклізували у розчині. Оскільки лінійні прекурсори повинні бути попередньо організовані для циклізації, успіх реакції підтверджує сумісність **85** з конформацією природного Pro-вмісного пептиду грамїцидину S.

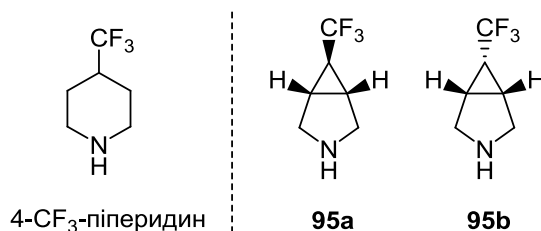


Далі увагу було зосереджено на вивченні більш зміненого дизаміщеного пептиду **(85)**<sub>2</sub>-грамїцидину S. Майже повна ідентичність спектрів кругового дихроїзму грамїцидину S та міченого **(85)**<sub>2</sub>-грамїцидину S у мембраноімітуючому середовищі свідчила про подібність їх структур у вказаних умовах. Отже, було продемонстровано, що 4-(S)-трифлуорометилпролін (**85**) не впливає на загальну геометрію скелету грамїцидину S, що робить його вдалою <sup>19</sup>F-міткою для заміни проліну.

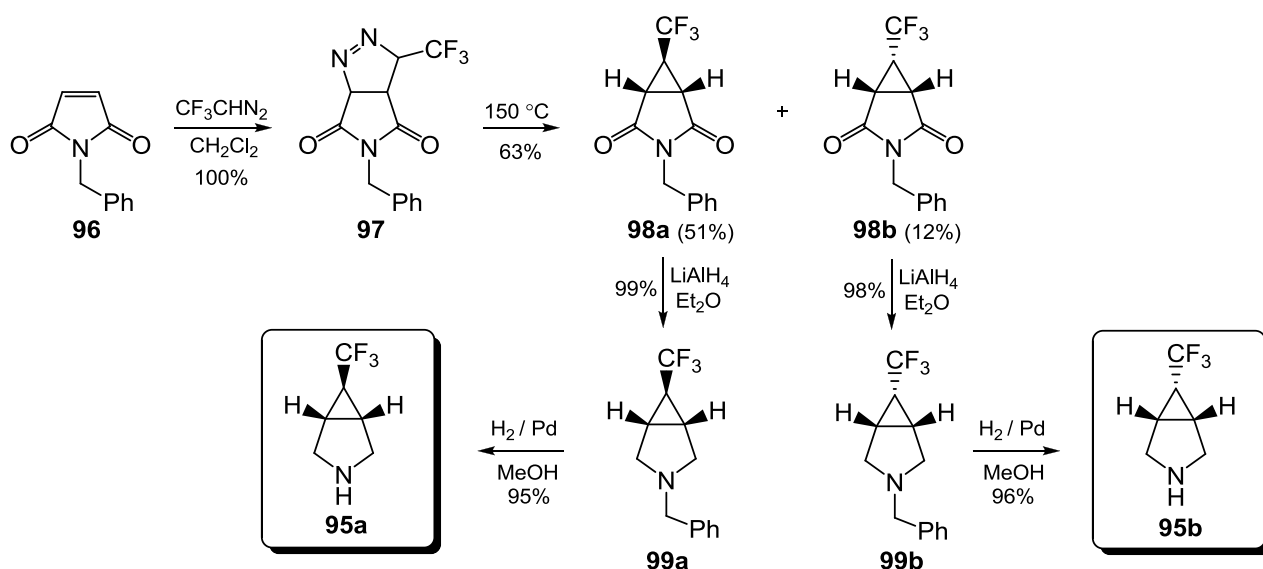
## ФЛУОРОВМІСНІ АМІНИ

### Синтез біциклічних аналогів 4-трифлуорометилпіперидину

Наступні дослідження присвячені синтезу конформаційно жорстких біциклічних молекул **95a** та **95b**, що є ізомерними аналогами 4-CF<sub>3</sub>-піперидину і можуть стати перспективними об'єктами для розробки лікарських препаратів.

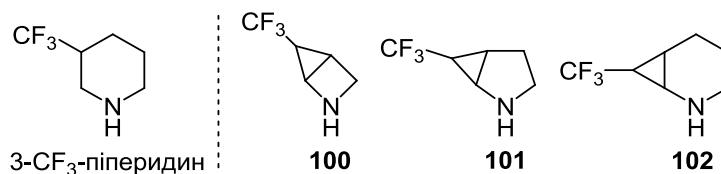


Ключовою стадією одержання амінів **95a** та **95b** була взаємодія електронодефіцитного малеїніміду **96** та  $\text{CF}_3\text{CHN}_2$ . Для генерування  $\text{CF}_3\text{CHN}_2$  ( $T_{\text{кип}} = 13^\circ\text{C}$ ) використовували взаємодію аміну  $\text{CF}_3\text{CH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{HCl}$  з  $\text{NaNO}_2$  у воді. Леткий продукт повільно видували струменем аргону у реактор з розчином алкену **96** у  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  і отримували піразолін **97** з кількісним виходом. Наступною термічною деструкцією **97** одержували циклопропани **98a/b** (4:1), які були розділені колонковою хроматографією. Далі проводили відновлення  $\text{C}=\text{O}$  груп сполуки **98a** дією  $\text{LiAlH}_4$ , яке дало *N*-захиснений піролідин **99a**. Наступним гідролітичним зняттям *N*-бензильного захисту було одержано бажану сполуку **95a**. Ізомерний амін **95b** отримували з відповідного аміду **98b** аналогічним чином. Рентгеноструктурне дослідження сполуки **98a** показало *транс*-конфігурацію  $\text{CF}_3$ -групи та піролідинового фрагмента відносно циклопропану.



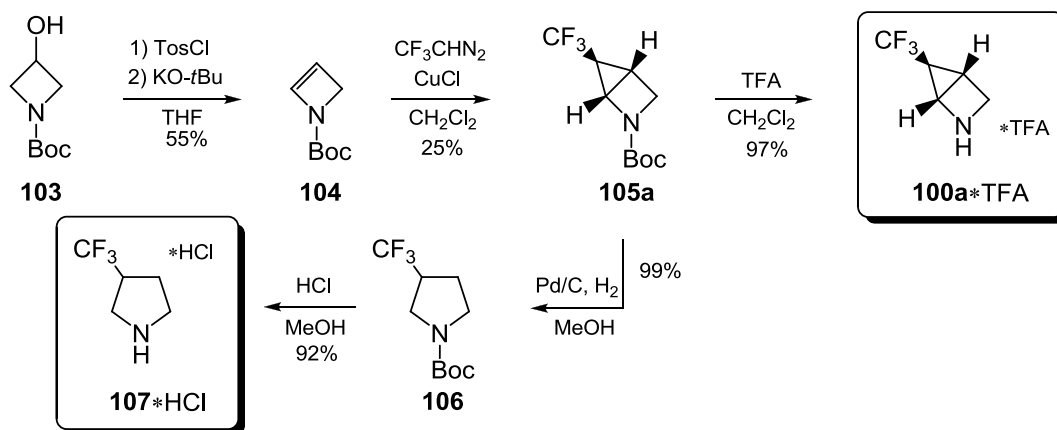
### Синтез біциклічних аналогів 3-трифлуорометилпіперидину

Подальша робота мала на меті розробку методів синтезу нових конформаційно обмежених аналогів 3- $\text{CF}_3$ -піперидину **100–102** як фармакологічно важливого фрагмента біологічно активних молекул.



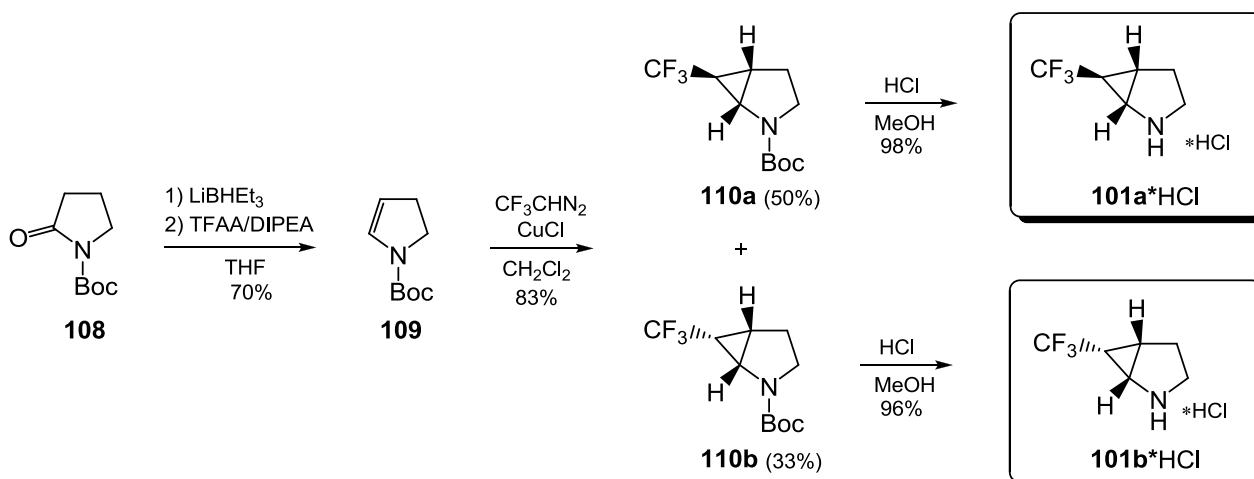
Вихідною сполукою в синтезі аміну **100** був азетидинол **103**, тозилуванням якого з наступною взаємодією з  $\text{KOtBu}$  отримано енамід **104**. Далі було здійснено  $\text{CF}_3$ -циклопропанування за раніше розробленою нами схемою (генерування газоподібного  $\text{CF}_3\text{CHN}_2$  з  $\text{CF}_3\text{CH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{HCl}$  та  $\text{NaNO}_2$  у воді, видування струменем

аргону в реактор з алкеном **104** у дихлорометані та безводним каталізатором  $\text{CuCl}$ ). Після очищення реакційної суміші колонковою хроматографією було одержано циклопропан **105a**. На жаль, спроби підвищення виходу реакції були невдалими. Можна припустити, що причиною низького виходу є стеричне напруження в 3-азабікло[2.1.0]пентановій системі через наявність конденсованих три- та чотиричленного кілець. На користь цього припущення свідчать дані рентгеноструктурного дослідження для сполуки **105a**, згідно з якими в молекулі наявний частково скручений амідний зв'язок карбаматного фрагмента. В той же час сполука **105a** є стабільною при зберіганні за кімнатної температури.

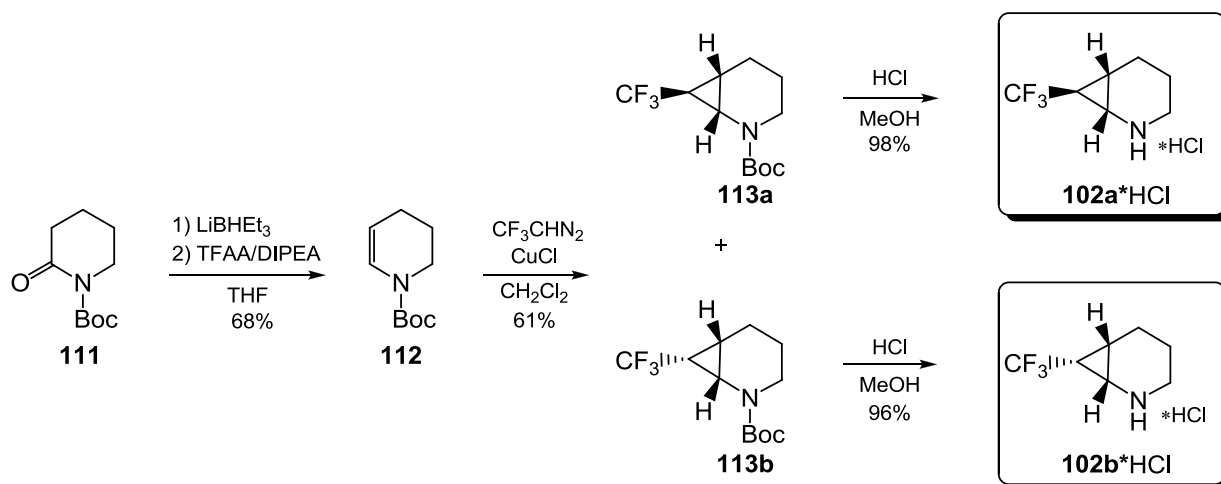


Наступною обробкою розчину **105a** сумішшю ТФА/дихлорометан було одержано цільовий амін **100a**\*ТФА. Також показано, що Pd-каталізованим гідруванням похідної **105a** можна отримати п'ятичленний захищений амін **106**. Подальше зняття захисту *N*-Boc сполуки **106** відбувалось з утворенням 3- $\text{CF}_3$ -піролідину (**107**\*HCl), який останнім часом є популярним об'єктом в дослідженнях лікарських препаратів і агрохімікатів, незважаючи на те, що його синтез детально описано лише нещодавно.

Вихідною сполукою в синтезі аміну **101** був піролідон **108**, відновленням якого з подальшою дією  $(\text{CF}_3\text{CO})_2\text{O}/\text{DIPEA}$  одержано сполуку **109** за літературними методиками. Порівняно зі сполукою **104**, реакція енамиду **109** з  $\text{CF}_3\text{CHN}_2$  за аналогічних умов відбувалась досить легко з утворенням продуктів **110a/b** (1.5:1.0), які було розділено колонковою хроматографією. Наступне зняття *N*-Boc захисту дало необхідні аміни **101a**\*HCl та **101b**\*HCl.



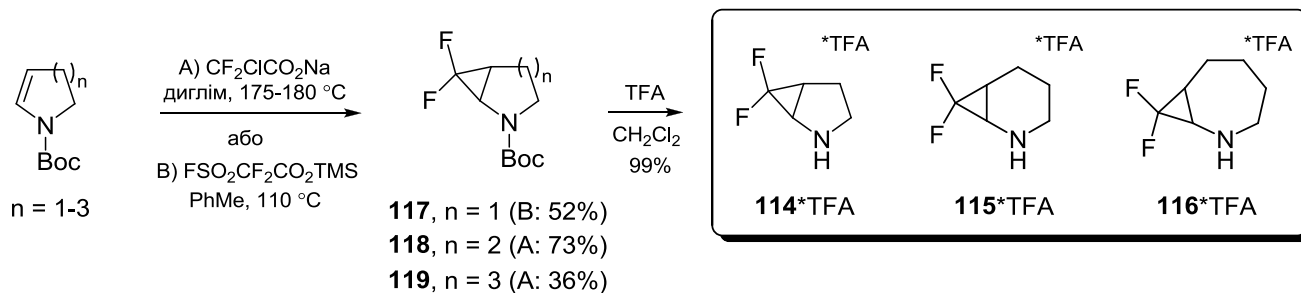
Розроблена стратегія була застосована і для синтезу аміну **102**. При цьому CF<sub>3</sub>-циклопропанування давало ізомерні сполуки **113a/b** (2.5:1.0) з виходом 61%.



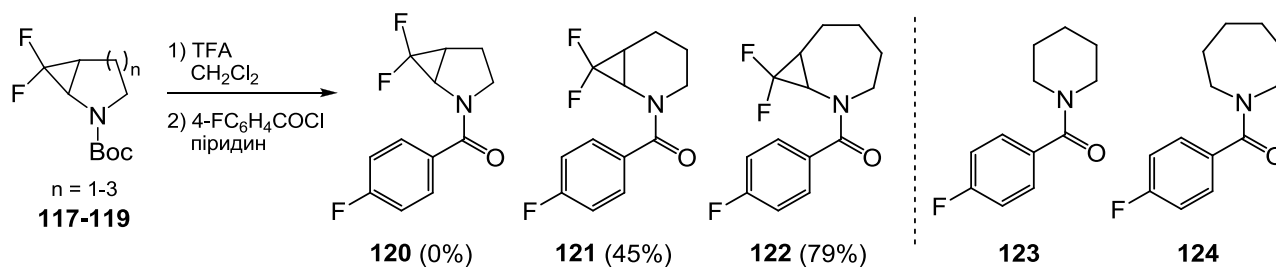
Стереоконфігурацію одержаних молекул **105a**, **110a** та **113a** було визначено за допомогою експерименту <sup>1</sup>H NOESY ЯМР, а згодом і за даними рентгено-структурного дослідження для молекули **105a**.

### Синтез та характеристика дифлуоро-2-азабіцикло[n.1.0]алканів

Далі було здійснено дизайн, синтез і фізико-хімічне дослідження амінів **114–116** з різним розміром кільця. Вихідними сполуками в синтезі були *N*-Boc енаміди, які можна легко отримати з відповідних *N*-Boc-лактамів. Для генерування дифлуорокарбену використовували найбільш доступний реагент – натрій хлоридифлуороацетат. Незважаючи на жорсткі умови реакції, *N*-Boc аміни **118** і **119** отримано з виходами 73 і 36%, відповідно. У той же час, за аналогічних умов 5-членний енамід давав складну суміш продуктів реакції. Тому було застосовано інше джерело карбену – реагент Долб'є (FSO<sub>2</sub>CF<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>TMS) і одержано *N*-Boc амін **117** з виходом 52%. Після зняття *N*-Boc груп за допомогою TFA у дихлорометані бажані аміни **114–116** були виділені у формі TFA-солей для подальших досліджень.



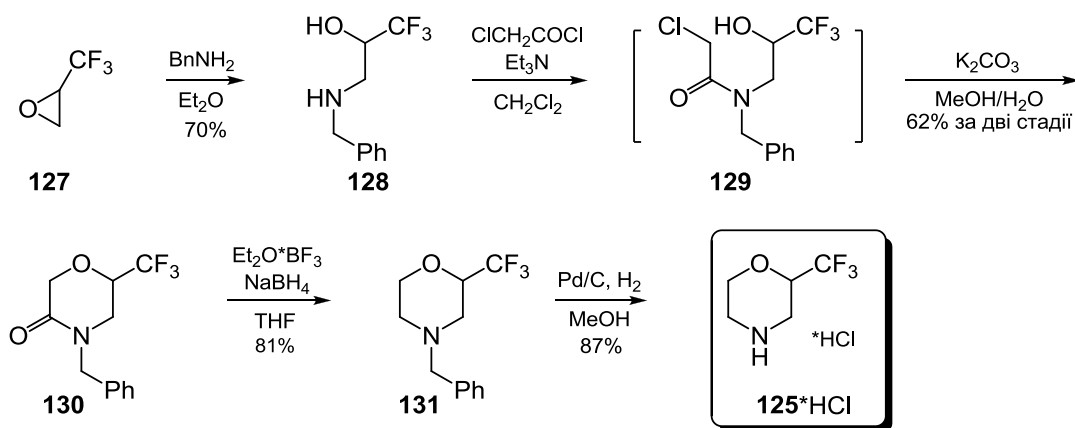
Ацилювання амінів **114–116** проводили в основних умовах відразу ж після зняття захисту *N*-Boc з утворенням ацильованих похідних **121** та **122**. У випадку аміну **114** не було отримано помітної кількості ацильованого продукту **120**. Крім того, одержано *N*-*n*-флуоробензоїльований піперидин **123** і азепан **124** для порівняння властивостей отриманих амідів.



Структуру синтезованих речовин аналізували за допомогою рентгеноструктурного дослідження для молекул **119**, **121** та **122** і ЯМР-спектроскопії. Для стабільних речовин **121** і **122** також виміряно розчинність у воді та ліпофільність, які виявились дещо вищими за значення, отримані для *N*-заміщених піперидину **123** і азепану **124**. Також було встановлено, що для всіх трьох амінів **114**–**116** характерні значення  $pK_a$  близькі до нейтральних. Виміряна метаболічна стабільність виявилась дещо меншою для дифлуороциклопропанових аналогів порівняно з нефлуорованими молекулами, що може бути пояснене незначним збільшенням ліпофільності цих сполук. Масив отриманих даних дозволив зробити висновок, що дифлуороциклопропановий залишок спричиняє лише невелику зміну ліпофільності молекул у порівнянні з нефлуорованими структурами циклічних вторинних амінів. У той же час він має значний структурний вплив, створюючи конформаційні обмеження і змінюючи основність сполук. Одержані вторинні аміни є перспективними будівельними блоками, зокрема, для розробки лікарських засобів. Крім того, подібні сполуки потенційно можуть бути застосовані в органокаталізі.

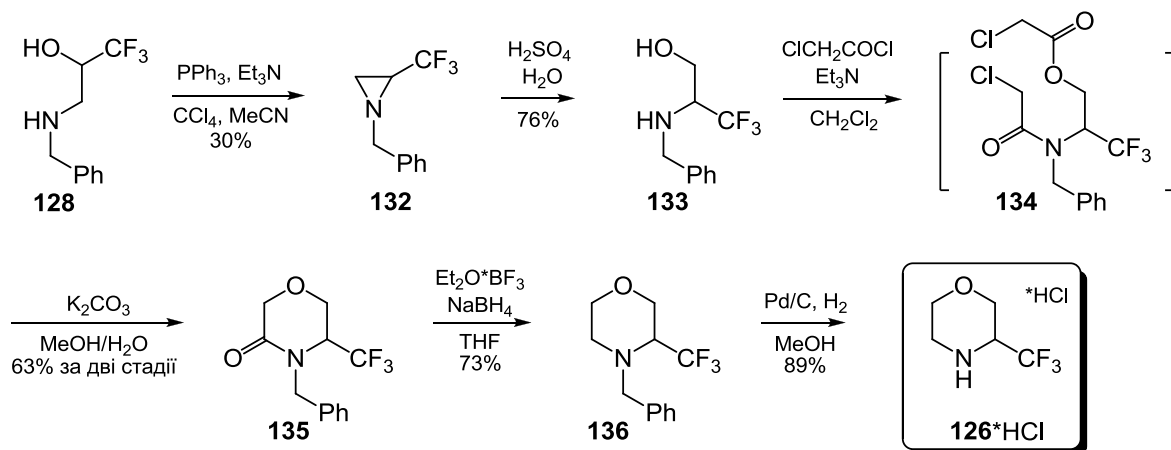
### Синтез та характеристика 2- та 3-трифлуорометилморфолінів

Метою подальшого дослідження став синтез та вивчення властивостей ізомерних 2- (**125**) і 3-трифлуорометилморфолінів (**126**). Синтез аміну **125** розпочинали з  $\text{CF}_3$ -оксирану **127**. Розкриття циклу дією бензиламіну приводило до сполуки **128** відповідно до літературного методу. Ацилювання аміну **128** з подальшою циклізацією отриманого проміжного продукту **129** давало морфолінон **130**. Відновленням аміду **130** з наступним зняттям *N*-бензильної групи було отримано амін **125**\*HCl, будова якого була підтверджена рентгеноструктурним дослідженням.

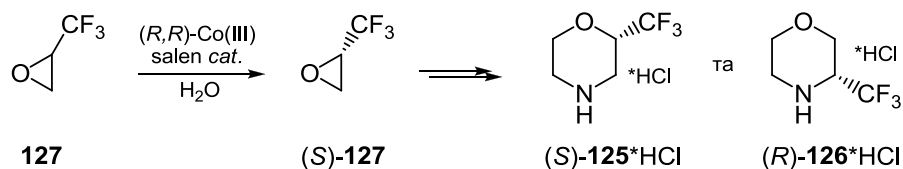


Для одержання аміну **126** аміноспирт **128** спочатку перетворювали на азиридин **132**. Розкриттям циклу **132** і подальшою циклізацією проміжної сполуки **134** отримано морфолінон **135**. Відновлення аміду **135** дало третинний амін **136**, а

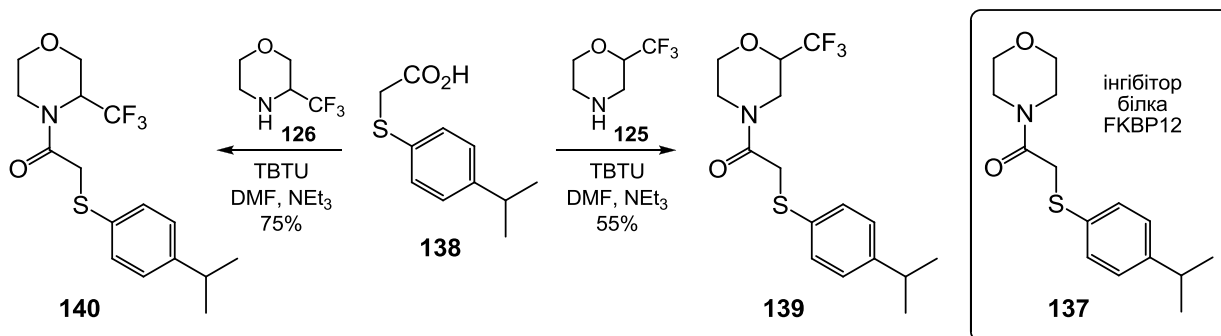
наступне зняття *N*-бензильної групи сполуки **136** гідрогенолізом завершило синтез аміну **126\*HCl**. Структура морфоліну **126\*HCl** також була підтверджена за допомогою рентгеноструктурного дослідження. Оптимізовані процедури синтезу амінів **125** і **126** повністю відтворені при масштабуванні: 43 г **125** і 11 г **126** були легко отримані в одному синтезі з епоксиду **127**.



Надалі було продемонстровано можливість застосування розроблених методик для отримання оптично активних амінів. За допомогою кінетичного розщеплення рацемічного **127** одержано оксид (*S*)-**127** відповідно до літературної процедури. Енантіомерно чисті аміни (*S*)-**125** і (*R*)-**126** синтезували з (*S*)-**127** за вищеописаною стратегією. Єдиною відмінністю було перетворення (*R*)-**132** на (*R*)-**133**: реакцію проводили в TFA за кімнатної температури щоб уникнути можливої рацемізації. За допомогою реагенту Мошера і хіральної HPLC визначено оптичну чистоту отриманих продуктів, яка становила >97% *ee*.



Оскільки введення трифлуорометильного замісника до залишку морфоліну різко зменшує основність аміногрупи, було важливо дослідити можливість функціоналізації атома Нітрогену амінів **125** і **126**. Біоактивна морфолінова похідна **137** вибрана з сучасної літератури як прототип. Ця сполука є інгібітором білка FKBP12, який каталізує *цис-транс* ізомеризацію пептидилпролінових зв'язків. Було здійснено одностадійне ацилювання обох амінів **125** і **126** кислотою **138** з отриманням трифлуорометильованих аналогів сполуки **137** – похідних **139** і **140**.

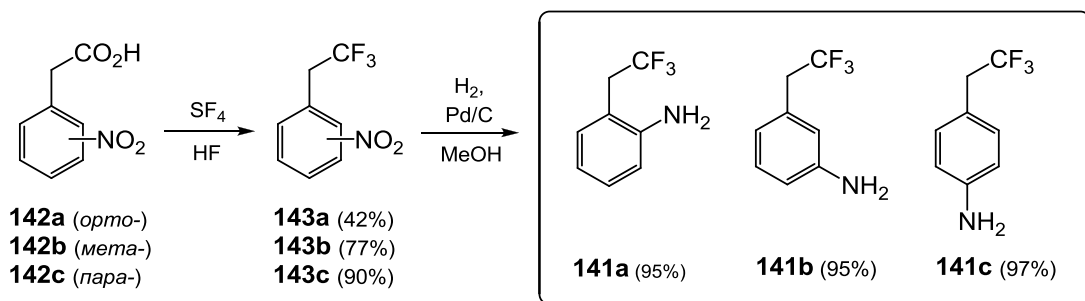


Аналіз даних рентгеноструктурного дослідження **125**\*HCl і **126**\*HCl показав, що введення трифлуорометильного замісника не змінює геометрію морфоліну. У той же час було продемонстровано, що CF<sub>3</sub>-група істотно впливає на рK<sub>a</sub>, logD і CL<sub>int</sub> характеристики морфоліну: зокрема, знижує основність і збільшує ліпофільність. Варто зазначити, що незважаючи на зниження основності аміногрупи, ацилювання обох амінів **125** і **126** легко відбувається в стандартних умовах.

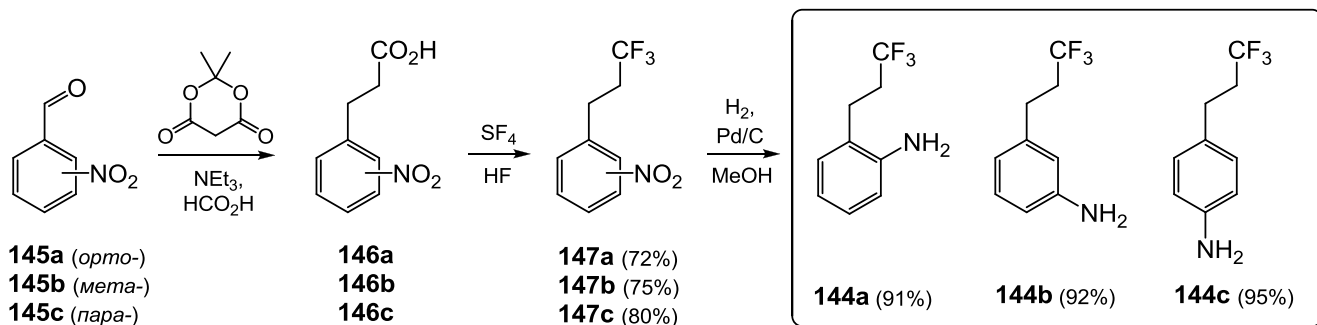
Враховуючи мультиграмову доступність, сполуки **125** і **126** можуть знайти справжнє практичне застосування в дослідженнях з розробки ліків. Особливо ці аміни здаються корисними у випадках, коли біологічно активні похідні морфоліну: а) токсичні через основність атома Нітрогену; б) мають низьку проникність крізь біомембрани через низьку ліпофільність; в) мають додаткові ліпофільні замісники в ядрі морфоліну, які беруть участь у гідрофобних взаємодіях з рецептором. Аміни **125** та **126** також можуть стати корисними в розробках нових агрохімікатів.

### Ізомерні (2,2,2-трифлуороетил)- та (3,3,3-трифлуоропропіл)аніліни

Наступне дослідження мало на меті розробку простого двостадійного мультиграмового методу одержання (2,2,2-трифлуорометил)анілінів **141a-c**. Синтез розпочинали з легкодоступних нітрофенілацетатних кислот **142a-c**, обробка яких трьома еквівалентами SF<sub>4</sub> за кімнатної температури впродовж трьох днів привела до утворення (2,2,2-трифлуороетил)нітробензенів **143a-c** з хорошими виходами. Далі Pd/C-каталізованим гідруванням нітрогруп молекул **143a-c** одержано ключові CF<sub>3</sub>-вмісні аніліни **141a-c** з майже кількісними виходами. Обидві стадії синтезу були проведені з кількостями субстратів від 50 до 100 г.



Далі було здійснено одержання ізомерних (3,3,3-трифлуоропропіл)анілінів (**144a-c**). Спершу розроблено трьохстадійний синтез сполуки **144a**, виходячи з *n*-нітробензальдегіду **145a**.



Альдегід **145a** дією кислоти Мельдрума в HCO<sub>2</sub>H перетворювали на **146a** відповідно до літературної методики. Далі кислоту **146a** обробляли SF<sub>4</sub> впродовж

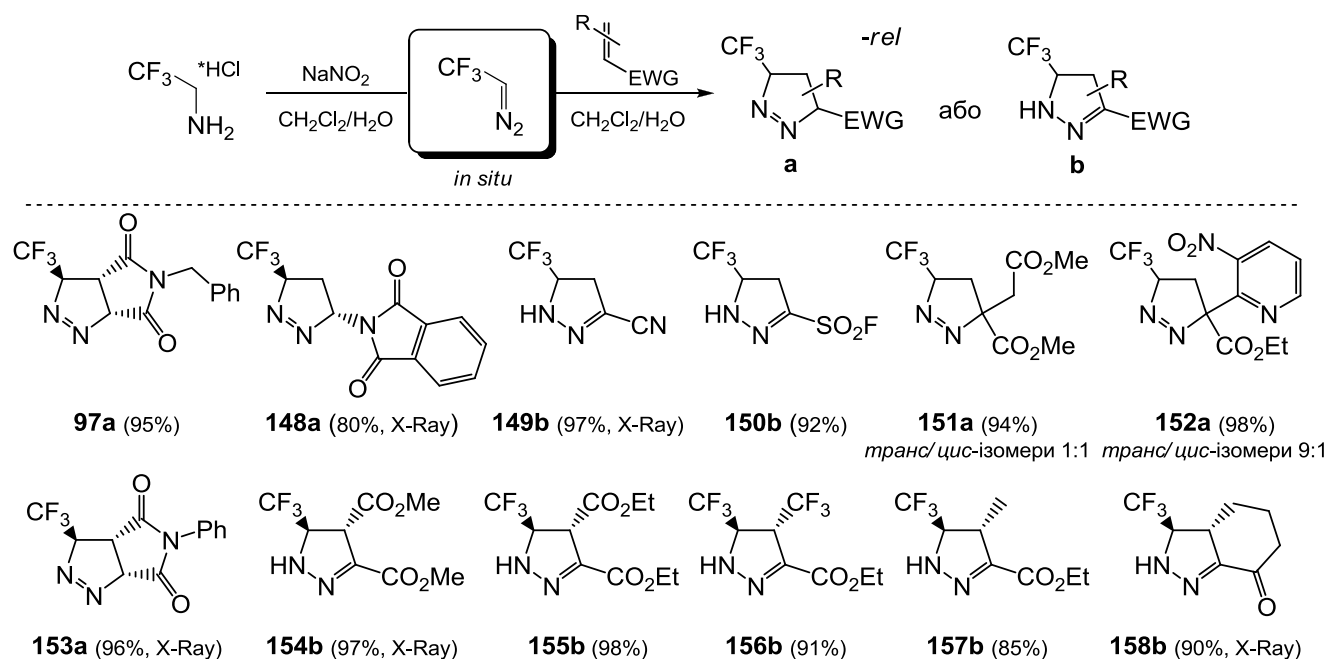
чотирьох днів. Спостерігали утворення побічного продукту  $\text{RCF}_2\text{OCF}_2\text{R}$  поряд з основним продуктом  $\text{RCF}_3$  (**147a**), який виділено з реакційної суміші з виходом 72% після перегонки. І, нарешті, гідруванням нітрогрупи в сполуці **147a** отримано цільовий амін **144a** з виходом 91%. Загальний вихід синтезу склав 45% і включав три стадії, виходячи з альдегіду **145a**. Методика, розроблена для **144a**, повністю відтворювалась при масштабуванні, що дозволило отримати 63 г продукту за один синтез. Маючи відпрацьовану масштабовану методику, її було використано для отримання раніше невідомих ізомерів аміну **144a** – сполук **144b** і **144c**. Стратегію успішно реалізовано для одержання 69 г аміну **144b** з альдегіду **145b** і 67 г ізомеру **144c** з альдегіду **145c** за один синтетичний підхід.

З огляду на масштабованість розроблених методик, синтезовані аніліни можуть знайти практичне застосування для розробки нових лікарських препаратів та агрохімікатів.

## ФЛУОРОВМІСНІ ДІАЗОАЛКАНИ В СИНТЕЗІ ПІРАЗОЛ(ІН)ІВ

### Трифлуорометилдіазометан ( $\text{CF}_3\text{CHN}_2$ )

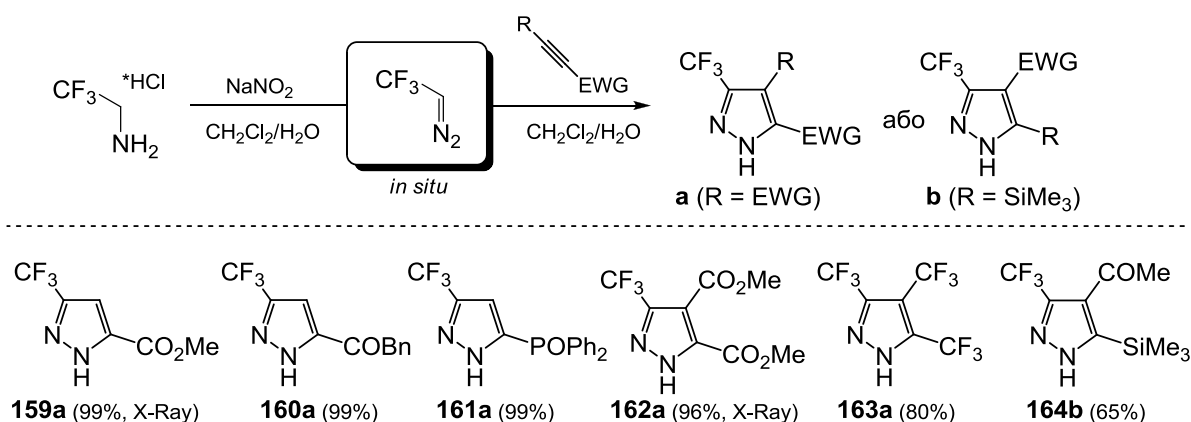
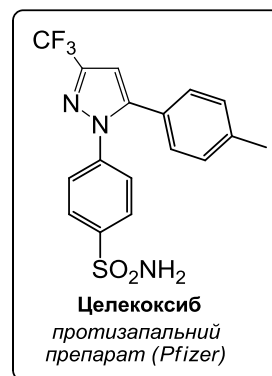
У результаті дослідження взаємодії модельного мелеїніміду **96** з генерованим *in situ*  $\text{CF}_3$ -діазометаном було розроблено одноколбовий метод одержання піразоліну **97a**, що легко масштабувався і дозволив синтезувати 75 г продукту за один експеримент. Оскільки алкен **96** не реагував з  $\text{NaNO}_2$  та  $\text{CF}_3\text{CH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{HCl}$ , це дозволило змішати усі реагенти в системі дихлорометан/вода. Перемішування отриманої суспензії впродовж 1 год. при  $0^\circ\text{C}$  та 24 год. за кімнатної температури привело до утворення чистого піразоліну **97a**. Вивчення меж застосування розробленого методу шляхом дослідження взаємодії генерованого *in situ*  $\text{CF}_3$ -діазометану з рядом монозаміщених алкенів різної будови показало, що  $\text{CF}_3$ -діазометан легко реагує лише з алкенами, що містять сильну електроноакцепторну групу (EWG). Для алкену зі слабкою EWG для підвищення конверсії було збільшено час реакції до двох тижнів та використано 12 еквівалентів  $\text{CF}_3$ -діазометану (продукт **148a**).



Далі було вивчено вплив стеричних факторів на взаємодію  $\text{CF}_3$ -діазометану з ди- та тризаміщеними алкенами різної будови, що містили принаймні одну сильну EWG ( $-\text{CO}_2\text{R}$ ,  $-\text{NO}_2$ ). Встановлено, що 1,1-дизаміщені алкени легко утворювали піразоліни незалежно від другого замісника: EWG або EDG (електронодонорна група). При цьому 1,2-дизаміщені алкени з другою EWG реагували повністю; алкени з EDG вимагали більшого часу реакції; алкени з сильною EDG не реагували. Циклічні, а також тризаміщені алкени (з трьома EWG) залишались незмінними. Варто зазначити, що [3+2]-циклоприєднання  $\text{CF}_3$ -діазометану з алкенами відбувалося регіоселективно з отриманням піразолінів з  $\text{CF}_3$ -замісником та EWG у положеннях 3 та 5; відповідні 3,4-дизаміщені ізомери не утворювались. Будову ряду продуктів було підтверджено за допомогою рентгеноструктурного дослідження.

Було встановлено, що для монозаміщених алкенів характерне утворення більш термодинамічно стабільних  $\Delta^2$ -піразолінів (**b**) з кон'югованими зв'язками  $\text{N}=\text{C}$  та  $\text{C}\equiv\text{N}$  (**149b**) /  $\text{S}=\text{O}$  (**150b**). Алкен, що не містив таких замісників давав  $\Delta^1$ -піразолін **148a**. У той же час для 1,1-дизаміщених субстратів отримано  $\Delta^1$ -піразоліни – продукти **151a** та **152a** (адже утворення  $\Delta^2$ -ізомеру неможливе). 1,2-Дизаміщені алкени давали  $\Delta^2$ -піразоліни, окрім **97a**, **153a**.

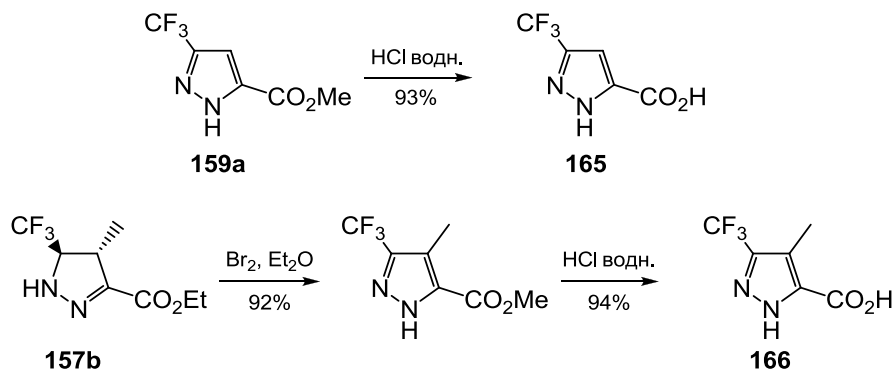
Також було вивчено аналогічну реакцію між генерованим *in situ*  $\text{CF}_3$ -діазометаном і алкінами, що приводить до одержання фармакологічно та агрохімічно важливих  $\text{CF}_3$ -вмісних піразолів. Встановлено, що у випадку монозаміщених субстратів з EWG ( $\text{R}=\text{H}$ ) відповідні продукти **159a–161a** утворювались з кількісними виходами. При цьому алкіни з EDG ( $\text{Ph}$ ,  $\text{SiMe}_3$ ) виявились інертними до дії  $\text{CF}_3\text{CHN}_2$ . Аналогічно до взаємодії з алкенами реакція відбувалася регіоселективно з отриманням 3,5-дизаміщених піразолів. Далі було досліджено реакційну здатність дизаміщених субстратів з однією EWG та різним другим замісником: алкіни з другою сильною EWG реагували повністю, але алкін з другою EDG ( $\text{SiMe}_3$ ) взаємодіяв досить повільно з утворенням єдиного регіоізомеру (конверсія 72%). Для сполуки **164b** з EWG у положенні 4 піразолу неочікувано спостерігали інвертовану регіоселективність.



Варто зауважити, що розроблена процедура генерування *in situ*  $\text{CF}_3\text{CHN}_2$  поряд з іншими піразолами дозволила в одну стадію з виходом 80% одержати цікаву молекулу **163a**. Відомі до сьогодні методи синтезу цього піразолу були досить

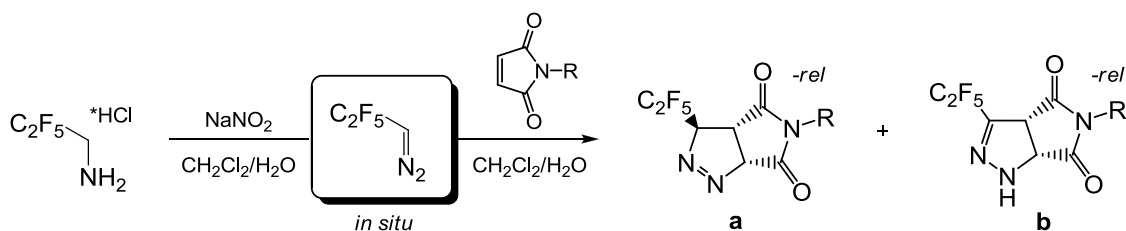
складними у виконанні та вимагали наявності в лабораторії спеціального обладнання. Визначене потенціометричним титруванням значення  $pK_a = 4.5$  для піразолу **163a** вказує на те, що сполука є більш кислотою ніж оцтова кислота з  $pK_a = 4.7$ .

Виходячи з естеру **159a** синтезовано фармакологічно важливу  $CF_3$ -вмісну кислоту **165**, а окисненням похідної **157b** і наступним гідролізом в кислому середовищі отримано її гомолог **166**.



### Пентафлуороетилдіазометан ( $C_2F_5CHN_2$ )

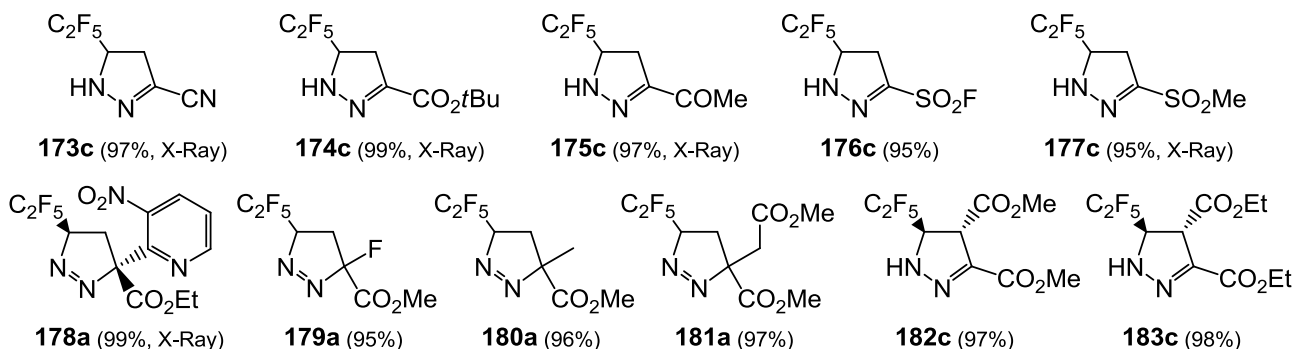
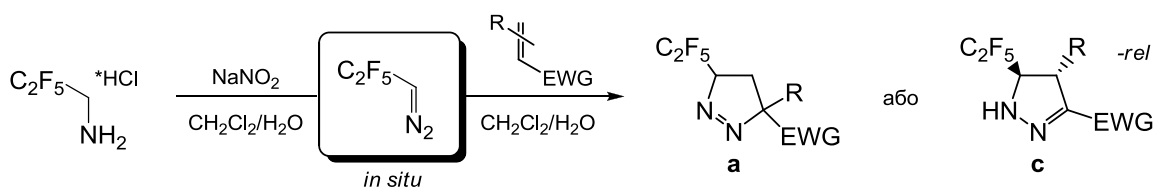
На відміну від популярного  $CF_3CHN_2$  концептуально привабливий  $C_2F_5CHN_2$  до сьогодні залишався невідомим. Щоб „заманити в пастку” уявний  $C_2F_5CHN_2$  було обрано активний алкен **96** з двома замісниками EWG.  $NaNO_2$  (4,0 екв.) додавали до суспензії  $C_2F_5CH_2NH_2 \cdot HCl$  (1.5 екв.) в суміші  $CH_2Cl_2$ /вода при  $0^\circ C$  на повітрі. Реакційну суміш перемішували впродовж 10 хв., під час яких органічний шар набував жовтого кольору, далі додавали малеїнімід **96** (1.0 екв.). Після витримання 72 год. за кімнатної температури було отримано суміш  $^1\Delta$ -/ $^2\Delta$ -піразолінів **167a/b** з кількісним виходом. Інші малеїніміди також реагували з  $C_2F_5CHN_2$  з утворенням  $^1\Delta$ - (a) та  $^2\Delta$ -піразолінів (b) з виходами 97–99%. Співвідношення ізомерів добре корелює з електронними властивостями N-замісника малеїніміду. Чим більш електроноакцепторним є замісник, тим більш високим є вміст  $^2\Delta$ -ізомеру: **167** (12%)  $\rightarrow$  **170** (47%)  $\rightarrow$  **168** (85%)  $\rightarrow$  **172** (100%).



**167a/b** R = Bn (99%); **168a/b** R = Ph (98%); **169a/b** R = 2-BrC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (99%);

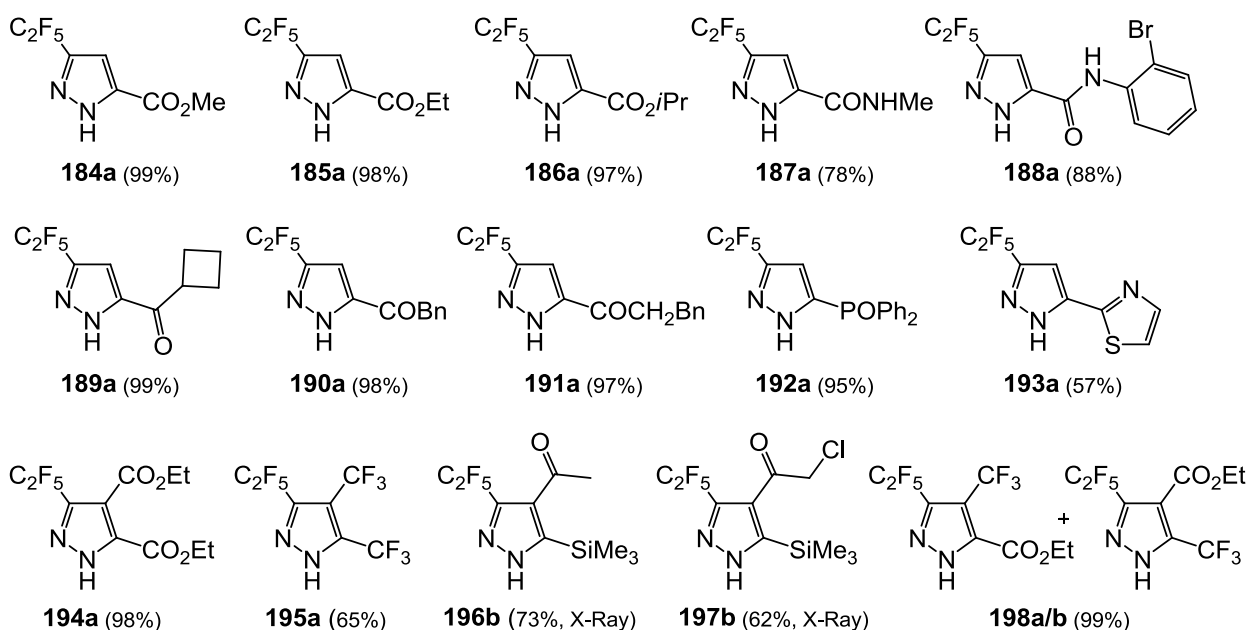
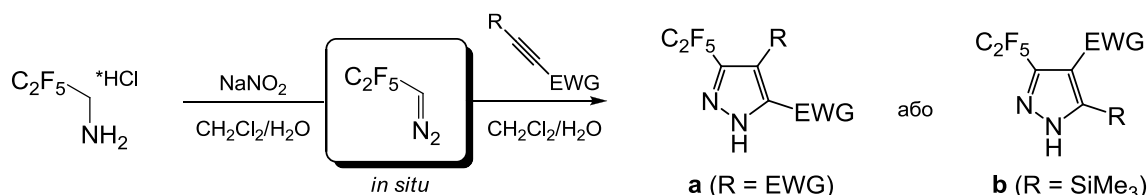
**170a/b** R = 4-OMeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (97%); **171a/b** R = 1-Napht (99%); **172b** R = 4-CO<sub>2</sub>EtC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (99%)

Було протестовано ряд моно- та дизаміщених алкенів. Реакція є регіоселективною: утворюється один регіоізомер з замісниками в положеннях 3 і 5 піразолінового ядра. Загалом спостерігалось утворення більш термодинамічно стабільних  $^2\Delta$ -піразолінів (c) з кон'югованим ендоциклічним зв'язком N=C і подвійними/потрійними зв'язками у складі EWG. Для дослідження стеричних вимог реакції було обрано різноманітні ди- і тризаміщені алкени із щонайменше однією сильною EWG.



Отже, у порівнянні з добре охарактеризованим  $\text{CF}_3\text{CHN}_2$ ,  $\text{C}_2\text{F}_5\text{CHN}_2$  є дещо менш активним у реакції [3+2]-циклопрієднання з алкенами через більший стеричний об'єм замісника  $\text{C}_2\text{F}_5$ , ніж  $\text{CF}_3$ .

Далі увагу було зосереджено на дослідженні взаємодії генерованого *in situ*  $\text{C}_2\text{F}_5\text{CHN}_2$  з різними за будовою алкінами. Розпочали з простого монозаміщеного алкіну з однією EWG ( $\text{CO}_2\text{Me}$ ). Оптимізація умов проведення реакції дозволила досягти повної конверсії і отримати піразол **184a** з виходом 99% без жодного очищення. Перетворення не вимало інертної атмосфери і відбувалось на повітрі. Для вивчення сфери застосування реакції в оптимізованих умовах були протестовані різні монозаміщені алкіни.

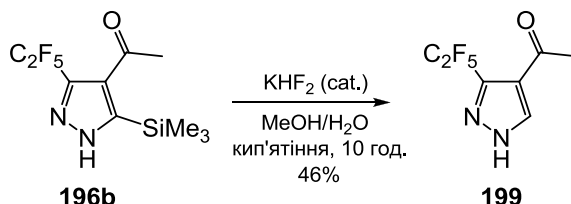


Субстрати з сильними EWG легко реагували з  $C_2F_5CHN_2$  за кімнатної температури з утворенням відповідних піразолів з високими виходами 95–99% без будь-якого очищення. Субстрати зі слабкою EWG реагували повільно, і навіть після одного тижня конверсія складала 33–76%. Проте, виходи цих сполук були покращені до 45–88% при підвищенні температури реакції до 40–45 °С. Цей метод, однак, не працював для ароматичних алкінів зі слабкою EWG або EDG.

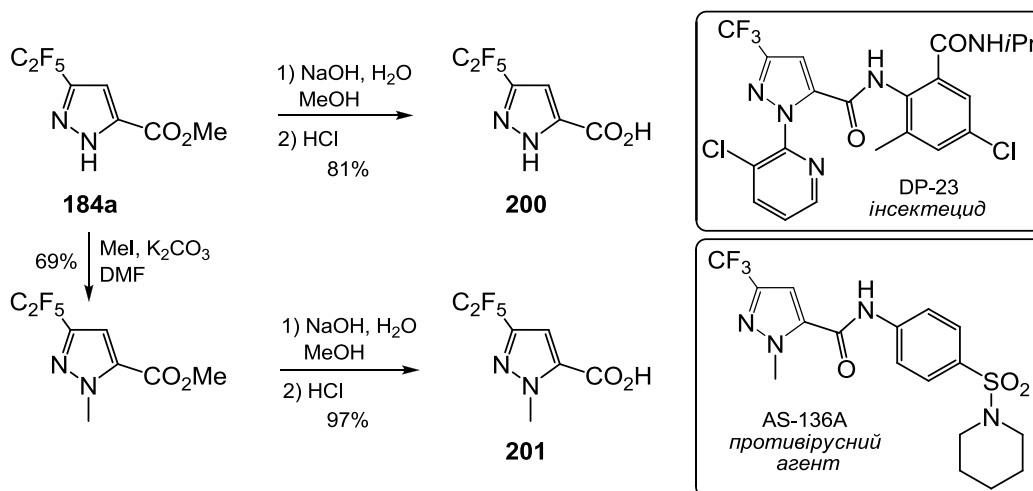
Також було вивчено різноманітні дизаміщені алкіни із щонайменше однією сильною EWG. Субстрати з другою EWG легко реагували з  $C_2F_5CHN_2$  з отриманням піразолів з майже кількісними виходами. Субстрат з другою EDG ( $SiMe_3$ ), проте, реагував повільно, але проведення реакції при 40 °С дозволило отримати цільові продукти **196b**, **197b**, **198a/b** з хорошими виходами.

Отже, досліджені монозаміщені алкіни взаємодіяли з  $C_2F_5CHN_2$  регіоселективно з утворенням тільки 3,5-дизаміщених піразолів. Дизаміщені алкіни реагували по-різному через конкуруючі електронні та стеричні ефекти. Продукт **198** отримували у вигляді суміші ізомерів, оскільки  $C_2F_5$  і  $CO_2Et$  мають подібні електроноакцепторні властивості. Навпаки, реакція алкіну, що має як EWG ( $-COMe$ ), так і EDG ( $-SiMe_3$ ), приводила до ізомеру **196b** з EWG у 4-му положенні. Ймовірно, що стеричні зіткнення між об'ємними замісниками  $C_2F_5$  і  $SiMe_3$  змушують реакцію слідувати оберненій регіоселективності.

Для демонстрації практичного потенціалу одержаних сполук було здійснено стандартне зняття TMS-групи в **196b**, що привело до кетону **199**. Ця стратегія дає можливість отримання 3,4-дизаміщених піразолів з відповідних триметилсилільних похідних.



Крім того, гідролізом сполуки **184a** одержано кислоту **200**, а алкілюванням піразолу **184a** з наступним гідролізом – кислоту **201**. Сполуки **200** і **201** є новими цінними будівельними блоками для медичної хімії.

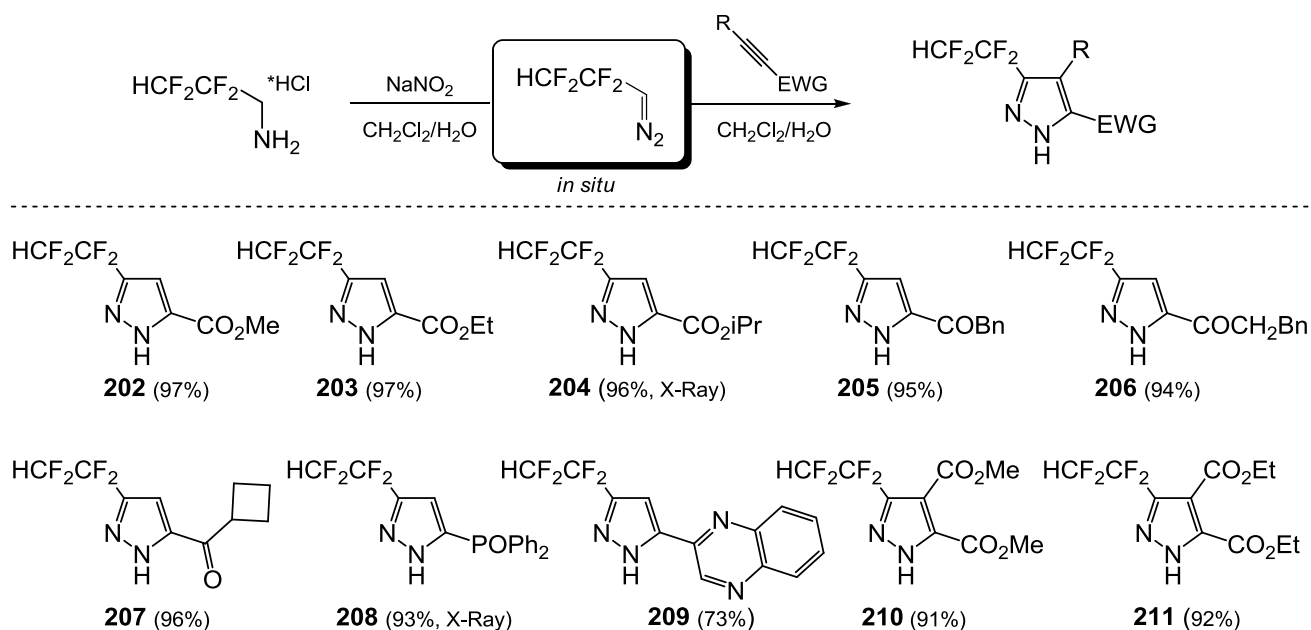


### Тетрафлуороетилдіазометан ( $\text{HCF}_2\text{CF}_2\text{CHN}_2$ )

Беручи до уваги вдалі результати синтезу  $\text{CF}_3$ -/ $\text{C}_2\text{F}_5$ -піразолів було досліджено універсальність цієї реакції, а саме можливість використання інших флуороалкіламінів та алкінів. Вивчено взаємодію модельного алкіну – метилпропіолату з різними амінами  $\text{RCF}_2\text{CH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{HCl}$  ( $\text{R} = \text{H}_2\text{NCH}_2\text{C}_3\text{F}_6$ ,  $\text{CHF}_2$ ,  $\text{CO}_2\text{Me}$ ,  $\text{Ph}$ ,  $\text{H}$ ,  $\text{HOCH}_2$ ,  $\text{Et}$ ,  $\text{BocNHCH}_2$ ) відповідно до раніше розроблених умов: суспензію гідрохлориду аміну,  $\text{NaNO}_2$  і алкіну перемішували у суміші дихлорометан/вода за кімнатної температури впродовж трьох днів. Бажані флуоровані піразоли були отримані лише у випадках  $\text{R} = \text{H}_2\text{NCH}_2\text{C}_3\text{F}_6$  та  $\text{CHF}_2$ .

Далі було досліджено реакційну здатність аміну  $\text{HCF}_2\text{CF}_2\text{CH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{HCl}$  по відношенню до різних алкінів і знайдено, що він поведився аналогічно вивченим раніше амінам  $\text{CF}_3\text{CH}_2\text{NH}_2$  і  $\text{C}_2\text{F}_5\text{CH}_2\text{NH}_2$ .

Таким чином, досліджувані взаємодії  $\text{RCF}_2\text{CH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{HCl}$  з  $\text{NaNO}_2$  та алкінами дають флуоровані піразоли і є універсальними реакціями, які ідеально працюють, якщо замісник "R" є атомом Флуору або флуороалкільною групою, а алкін містить електроноакцепторну групу.

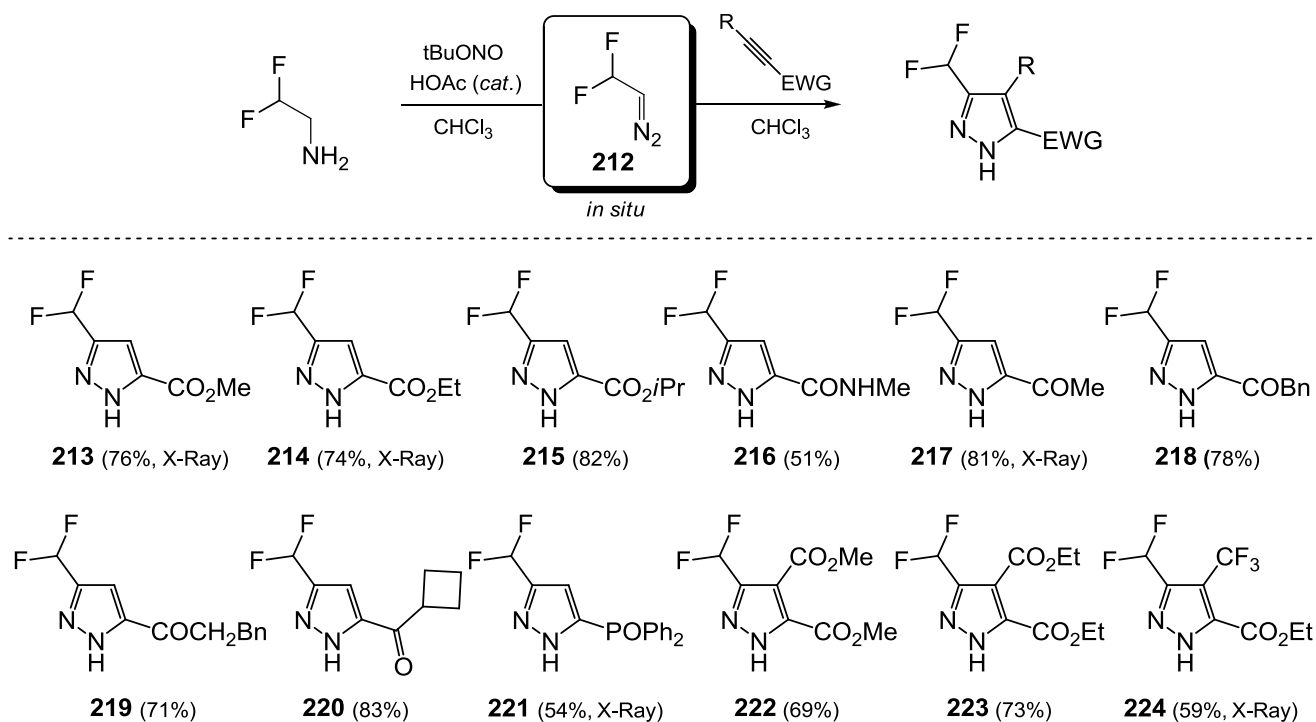


### Дифлуорометилдіазометан ( $\text{CF}_2\text{HCHN}_2$ )

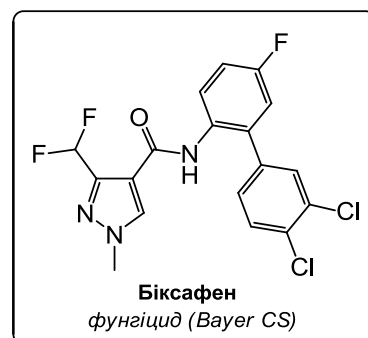
Спроби одержання найближчого аналога  $\text{CF}_3$ -діазометану –  $\text{CF}_2\text{HCHN}_2$  (**212**) у водному середовищі, тобто в умовах, розроблених для синтезу  $\text{CF}_3\text{CHN}_2$ , були невдалими. Результатом взаємодії гідрохлориду дифлуороетиламіну з  $\text{NaNO}_2$  у суспензії дихлорометан/вода було утворення суміші дифлуороетанолу та діазоацетальдегіду поряд з іншими неідентифікованими продуктами.

Після ряду експериментів було встановлено, що безбарвний розчин дифлуороетиламіну, *трет*-бутилізонітриту і  $\text{AcOH}$  (*cat.*) у хлороформі після нагрівання зі зворотним холодильником  $\sim 10$ – $15$  хв. набував жовтого забарвлення – утворення  $\text{CF}_2\text{HCHN}_2$ . Для того, щоб „впіймати” передбачуваний проміжний продукт **212** через 10 хв. нагрівання припиняли і додавали метилпропіолат. Після витримання реакційної суміші впродовж 1 дня за кімнатної температури

кристалічний піразол **213** був отриманий з виходом 76% після колонкової хроматографії.



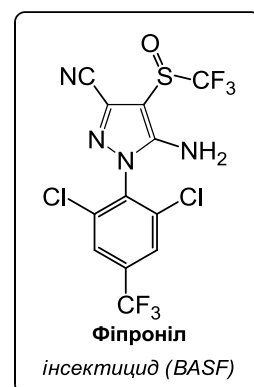
Для дослідження сфери застосування розробленого підходу були випробувані різні електронодефіцитні моно- і дизаміщені алкіни. Субстрати з сильними EWG реагували з утворенням відповідних піразолів з хорошими виходами. Алкіни зі слабкими EWG реагували повільно і вимагали більшого надлишку  $\text{CF}_2\text{HCHN}_2$ . Менш активовані ( $n\text{-CF}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{C}\equiv\text{CH}$ ) або неактивовані алкіни ( $\text{Ph-C}\equiv\text{CH}$ ) не реагували. Реакція була регіоселективною: з монозаміщеними алкінами вона приводила до одного регіоізомеру з замісниками в 3-му і 5-му положеннях піразольного ядра. Синтезовані  $\text{CF}_2\text{H}$ -вмісні піразоли мають високий потенціал для подальшого використання в агрохімії.



### Дізоацетонітрил ( $\text{NCCHN}_2$ )

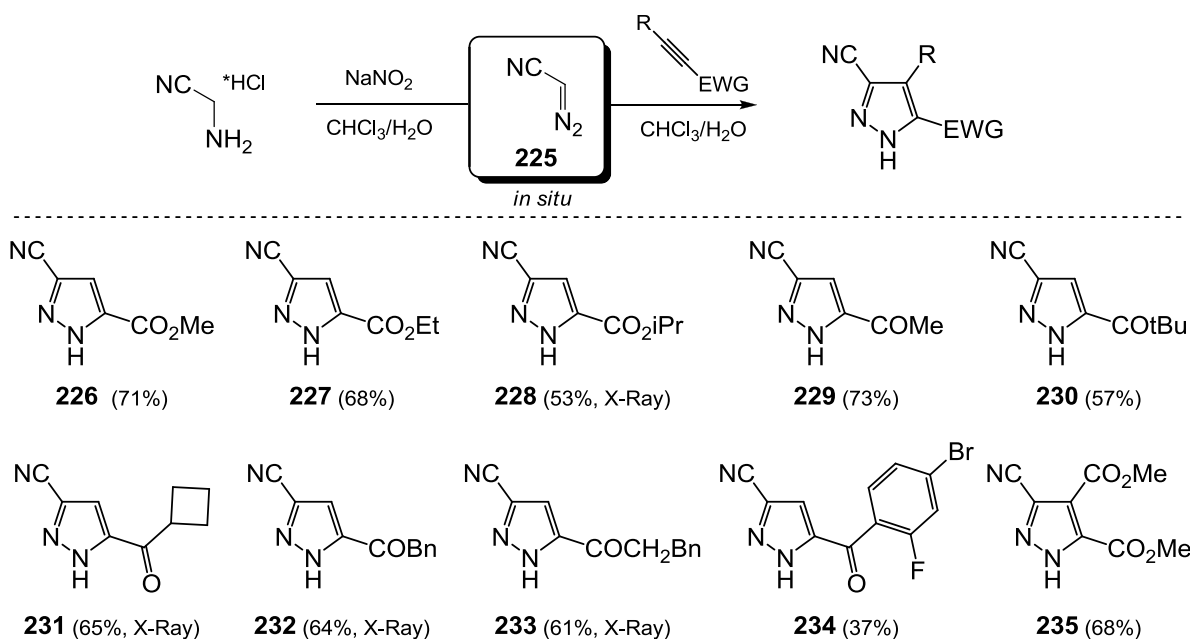
Позитивні результати генерування *in situ* флуоровмісних дізоалканів надихнули на розробку подібної процедури для одержання дізоацетонітрилу ( $\text{NCCHN}_2$ , **225**). Молекула **225** не містить атомів Флуору, але відкриває шлях до отримання агрохімічно перспективних ціановмісних піразолів.

З часу першого одержання дізоацетонітрилу Курціусом (1898 р.), його вибухонебезпечні властивості заважали широкому застосуванню. Так, за останнє десятиліття  $\text{NCCHN}_2$  залишався майже невивченим: він не використовувався ані в наукових дослідженнях, ані в промисловій хімії (опубліковано лише 3 статті і жодного патенту).

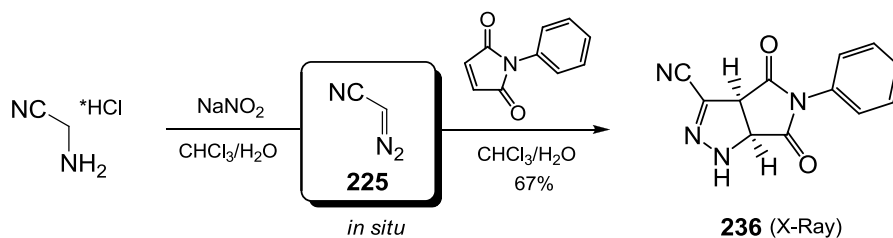


Отже, було розроблено практичну процедуру генерування **225** *in situ* в суміші хлороформ/вода. Методика є експериментально дуже простою: змішування трьох компонентів разом без інертної атмосфери і каталізу. Діазо-інтермедіат утворюється *in situ*, повністю вступає в реакцію з алкінами і відсутній при обробці реакційної суміші.

Наступним етапом стало дослідження взаємодії генерованого *in situ* діазоацетонітрилу **225** з різними електронодефіцитними моно- і дизаміщеними алкінами. Більшість алкінів були легко перетворені на відповідні CN-вмісні піразоли. Стерично громіздкі алкіни вимагали збільшення часу реакції, але все ж давали бажані продукти з хорошими виходами. Менш активовані (*n*-CF<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>C≡CH), або неактивовані алкіни (Ph-C≡CH) не реагували. Ці результати свідчать про те, що реакція **225** з алкінами належить до I типу [3+2]-циклоприсоединения.



Для демонстрації високого практичного потенціалу генерованого *in situ* **225** він був також використаний в іншій хімічній реакції – [3+2]-циклоприсоединенні з алкенами. Як і слід було очікувати, модельний малеїнімід легко перетворювався на піразолін **236**.



## ВИСНОВКИ

У дисертації наведено шляхи вирішення наукової проблеми розробки стратегій синтезу нових конформаційно обмежених флуоровмісних аналогів природних амінокислот, структурно різноманітних флуоровмісних амінів і діазоалканів як цінних будівельних блоків для одержання на їх основі біологічно активних молекул для медичної та агрохімічної промисловості.

1. Проведено дизайн та синтезовано серію флуоровмісних моно- та біциклічних конформаційно обмежених амінокислот на основі циклопропану, циклобутану, циклогексану, біцикло[1.1.1]пентану, біцикло[2.2.2]октану та азабіцикло[3.1.0]гексану як міток  $^{19}\text{F}$  ЯМР для заміни залишків природних амінокислот: Ala, Val, Leu, Ile, Phe, Ser, Thr, Pro.
2. Для ряду одержаних амінокислот (3- $\text{CF}_3$ -біциклопент[1.1.1]-1-илгліцину, 1-аміно-3-гідрокси-3- $\text{CF}_3$ -циклогексанкарбонової кислоти, 1-аміно-3-(4-флуорофеніл)циклобутан карбонової кислоти, 6,6-дифлуоро-2-аза-біцикло[3.1.0]гексан-3-карбонової кислоти, 2-аміно-(4-флуоробіцикло[2.2.2]окт-1-ил)ацетатної кислоти та 4- $\text{CF}_3$ -проліну) продемонстровано сумісність зі стандартними методами твердофазного пептидного синтезу, що дало можливість одержання  $^{19}\text{F}$ -мічених пептидів та дослідження їх будови за допомогою методу твердотільного  $^{19}\text{F}$  ЯМР. Встановлено, що одержані амінокислоти є перспективними  $^{19}\text{F}$  ЯМР мітками, адже структури мічених пептидів не набувають змін через конформаційно обмежений бічний ланцюг.
3. На прикладі 1-аміно-4,4-дифлуороциклогексанкарбонової кислоти досліджено вплив атома Флуору на властивості молекули. Встановлено, що введення Флуору не змінює геометрію молекули, але впливає на значення  $pK_a$  (підвищує кислотність карбоксильної функції та знижує основність атома Нітрогену) та збільшує ліпофільність молекули.
4. Розроблено практичні синтетичні підходи для одержання ряду біциклічних флуоровмісних амінів – аналогів піперидину, піролідину та азепану, а також мультиграмові синтетичні підходи до ізомерних як рацемічних, так і енантіомерно чистих 2- і 3- $\text{CF}_3$ -морфолінів.
5. На прикладі ізомерних  $\text{CF}_3$ -морфолінів досліджено вплив трифлуорометильної групи на їх властивості і показано, що введення  $\text{CF}_3$ -замісника не змінює геометрію морфолінового фрагмента, але знижує основність і збільшує ліпофільність молекул.
6. Розроблено надійну процедуру двохетапного мультиграмового одержання трьох ізомерних *S*-(2,2,2-трифлуоретил)анілінів і практичний загальний підхід до ізомерних (3,3,3-трифлуоропропіл)анілінів.
7. Показано, що генерування *in situ* ряду діазоалканів ( $\text{CF}_3\text{CHN}_2$ ,  $\text{C}_2\text{F}_5\text{CHN}_2$ ,  $\text{HCF}_2\text{CF}_2\text{CHN}_2$ ,  $\text{CF}_2\text{HCHN}_2$ ,  $\text{NCCN}_2$ ) з подальшим введенням в реакцію з алкенами/алкінами є ефективним способом одержання цінних піразолів та піразолінів з різними флуоровмісними замісниками. Розроблені процедури є

високопрактичними, оскільки не вимагають виділення потенційно токсичних і вибухонебезпечних газоподібних діазосполук, не потребують застосування інертної атмосфери, каталізаторів та особливої підготовки розчинників, також легко масштабуються, що дозволяє отримувати грамові кількості продуктів.

- Експериментально підтверджено, що взаємодія генерованих *in situ* флуоромісних діазоалканів з електронодефіцитними алкенами/алкінами належить до І типу реакцій [3+2]-циклоприєднання, яке прискорюється електроноакцепторними- та уповільнюється електронодонорними замісниками.

### СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

- Radchenko D. S. Trifluoromethyl-substituted analogues of 1-aminocyclobutane-1-carboxylic acid / D. S. Radchenko, **Р. К. Mykhailiuk**, A. V. Bezdudny, I. V. Komarov // Synlett. – 2009. – Vol. 11. – P. 1827–1829. (*Особистий внесок здобувача: планування дослідження, синтез частини сполук, аналіз результатів, написання статті*).
- Kubyshkin V. Synthesis of a conformationally rigid analogue of 2-aminoadipic acid containing an 8-azabicyclo[3.2.1]octane skeleton / V. Kubyshkin, **Р. К. Mykhailiuk**, A. S. Ulrich, I. V. Komarov // Synthesis. – 2009. – P. 3327–3331. (*Особистий внесок здобувача: планування дослідження, синтез частини сполук, аналіз результатів, написання статті*).
- Mykhailiuk Р. К.** An optimized protocol for the multigram synthesis of 3-(trifluoromethyl)bicyclo[1.1.1]pent-1-ylglycine (CF<sub>3</sub>-Bpg) / P. K. Mykhailiuk, N. M. Voievoda, S. Afonin, A. S. Ulrich, I. V. Komarov // Journal of Fluorine Chemistry. – 2010. – Vol. 131. – P. 217–220. (*Особистий внесок здобувача: планування дослідження, синтез сполук, аналіз результатів, написання статті*).
- Mykhailiuk Р. К.** 1-Amino-3,3-difluorocyclobutanecarboxylic acid / P. K. Mykhailiuk, D. S. Radchenko, I. V. Komarov // Journal of Fluorine Chemistry. – 2010. – Vol. 131. – P. 221–223. (*Особистий внесок здобувача: планування дослідження, синтез сполук, аналіз результатів, написання статті*).
- Artamonov O. S. Simple and efficient procedure for a multigram synthesis of both *trans*-And *cis*-1-Amino-2-(trifluoromethyl)cyclopropane-1-carboxylic Acid / O.S. Artamonov, **Р. К. Mykhailiuk**, N. M. Voievoda, D. M. Volochnyuk, I. V. Komarov // Synthesis. – 2010. – P. 443–446. (*Особистий внесок здобувача: планування дослідження, аналіз результатів, написання статті*).
- Salwiczek M. Compatibility of the conformationally rigid CF<sub>3</sub>-Bpg side chain with the hydrophobic coiled-coil interface / M. Salwiczek, **Р. К. Mikhailiuk**, S. Afonin, I. V. Komarov, A. S. Ulrich, B. Kokschi // Amino Acids. – 2010. – Vol. 39. – P. 1589–1593. (*Особистий внесок здобувача: планування дослідження, синтез частини сполук, аналіз результатів*).
- Denisenko A. V. 3-Benzyl-3-azabicyclo[3.1.1]heptan-6-one: A promising building block for medicinal chemistry / A. V. Denisenko, A. P. Mityuk, O. O. Grygorenko, D. M.

- Volochnyuk, O. V. Shishkin, A. A. Tolmachev, **P. K. Mykhailiuk** // *Organic Letters*. – 2010. – Vol. 12. – P. 4372–4375. (*Особистий внесок здобувача: планування дослідження, аналіз результатів, написання статті*).
8. **Mykhailiuk P. K.** Exploiting morph-DAST mediated ring-expansion of substituted cyclic  $\beta$ -amino alcohols for the preparation of cyclic fluorinated amino acids. Synthesis of 5-fluoromethylproline and 5-fluoropiperic acid / P. K. Mykhailiuk, S. V. Shishkina, O. V. Shishkin, O. A. Zaporozhets, I. V. Komarov // *Tetrahedron*. – 2011. – Vol. 67. – P. – 3091–3097. (*Особистий внесок здобувача: планування дослідження, синтез сполук, аналіз результатів, написання статті*).
  9. Grygorenko O. O. Trifluoromethyl-substituted cyclopropanes / O. O. Grygorenko, O. S. Artamonov, I. V. Komarov, **P. K. Mykhailiuk** // *Tetrahedron*. – 2011. – Vol. 67. – P. 803–823. (*Особистий внесок здобувача: планування дослідження, аналіз літературних даних*).
  10. Levterov V. Multigram synthesis of 1-(difluoromethyl)imidazoles and -benzimidazoles / V. Levterov, O. O. Grygorenko, **P. K. Mykhailiuk**, A. A. Tolmachev // *Synthesis*. – 2011. – P. 1243–1248. (*Особистий внесок здобувача: планування дослідження, аналіз результатів, написання статті*).
  11. Kubyshkin V. S. Incorporation of *cis*- and *trans*-4,5-Difluoromethanoprolines into polypeptides / V. S. Kubyshkin, **P. K. Mykhailiuk**, S. Afonin, A. S. Ulrich, I. V. Komarov // *Organic Letters*. – 2012. – Vol. 14. – P. 5254–5257. (*Особистий внесок здобувача: планування дослідження, аналіз результатів, написання статті*).
  12. Trofymchuk S. A facile synthesis of isomeric *C*-(2,2,2-trifluoroethyl)anilines / S. Trofymchuk, A. V. Bezdudny, Y. M. Pustovit, O. Lukin, A. N. Boyko, A. Chekotylo, A. A. Tolmachev, **P. K. Mykhailiuk** // *Synthesis*. – 2012. – Vol. 44. – P. 1974–1976. (*Особистий внесок здобувача: планування дослідження, аналіз результатів, написання статті*).
  13. Gerus I. I. “Reported, but Still Unknown.” A Closer Look into 3,4-Bis- and 3,4,5-Tris(trifluoromethyl)pyrazoles / I. I. Gerus, R. X. Mironetz, I. S. Kondratov, A. V. Bezdudny, Y. V. Dmytriv, O. V. Shishkin, V. S. Starova, O. A. Zaporozhets, A. A. Tolmachev, **P. K. Mykhailiuk** // *Journal of Organic Chemistry*. – 2012. – Vol. 77. – P. 47–56. (*Особистий внесок здобувача: планування дослідження, аналіз результатів, написання статті*).
  14. **Mykhailiuk P. K.** 1-Amino-4,4-difluorocyclohexanecarboxylic acid as a promising building block for drug discovery: Design, synthesis and characterization / P. K. Mykhailiuk, V. Starova, V. Iurchenko, S. V. Shishkina, O. V. Shishkin, O. Khilchevskiy, O. Zaporozhets // *Tetrahedron*. – 2013. – Vol. 69. – P. 4066–4075. (*Особистий внесок здобувача: планування дослідження, синтез сполук, аналіз результатів, написання статті*).
  15. Tkachenko A. N. A  $^{19}\text{F}$  NMR label to substitute polar amino acids in peptides: A  $\text{CF}_3$ -substituted analogue of serine and threonine / A. N. Tkachenko, **P. K. Mykhailiuk**, S. Afonin, D. S. Radchenko, V. S. Kubyshkin, A. S. Ulrich, I. V. Komarov // *Angewandte*

- Chemie - International Edition. – 2013. – Vol. 52. – P. 1486–1489. (*Особистий внесок здобувача: планування дослідження, синтез частини сполук, аналіз результатів*).
16. Kubyshkin V. S. Incorporation of labile *trans*-4,5-difluoromethanoproline into a peptide as a stable label for  $^{19}\text{F}$  NMR structure analysis / V. S. Kubyshkin, **P. K. Mykhailiuk**, S. Afonin, S. L. Grage, I. V. Komarov, A. S. Ulrich // Journal of Fluorine Chemistry. – 2013. – Vol. 152. – P. 136–143. (*Особистий внесок здобувача: планування дослідження, аналіз результатів, написання статті*).
17. Artamonov O. S. Synthesis of isomeric 6-trifluoromethyl-3-azabicyclo[3.1.0]hexanes: Conformationally restricted analogues of 4-trifluoromethylpiperidine / O. S. Artamonov, E. Y. Slobodyanyuk, O. V. Shishkin, I. V. Komarov, **P. K. Mykhailiuk** // Synthesis. – 2013. – Vol. 45. – P. 225–230. (*Особистий внесок здобувача: планування дослідження, аналіз результатів, написання статті*).
18. Shcherbatiuk A.V. Synthesis of 2- and 3-trifluoromethylmorpholines: Useful building blocks for drug discovery / A. V. Shcherbatiuk, O. S. Shyshlyk, D. V. Yarmoliuk, O. V. Shishkin, S. V. Shishkina, V. S. Starova, O. A. Zaporozhets, S. Zozulya, R. Moriev, O. Kravchuk, O. Manoilenko, A. A. Tolmachev, **P. K. Mykhailiuk** // Tetrahedron. – 2013. – Vol. 69. P. 3796–3804. (*Особистий внесок здобувача: планування дослідження, аналіз результатів, написання статті*).
19. Wadhvani P. Stereochemical effects on the aggregation and biological properties of the fibril-forming peptide [KIGAKI] $_3$  in membranes / P. Wadhvani, J. Reichert, E. Strandberg, J. Bürck, J. Misiewicz, S. Afonin, N. Heidenreich, S. Fanghänel, **P. K. Mykhailiuk**, I. V. Komarov, A. S. Ulrich // Physical Chemistry Chemical Physics. – 2013. – Vol. 15. – P. 8962–8971. (*Особистий внесок здобувача: планування дослідження, синтез частини сполук, аналіз результатів*).
20. Jayaratna N. B. Silver(I) and copper(I) adducts of a tris(pyrazolyl)borate decorated with nine trifluoromethyl groups / N. B. Jayaratna, I. I. Gerus, R. V. Mironets, **P. K. Mykhailiuk**, M. Yousufuddin, H. V. R. Dias // Inorganic Chemistry. – 2013. – Vol. 52. – P. 1691–1693. (*Особистий внесок здобувача: синтез частини сполук, аналіз результатів*).
21. Iminov R. T. A convenient route to 1-alkyl-5-trifluoromethyl-1,2,3-triazole-4-carboxylic acids employing a diazo transfer reaction / R. T. Iminov, A. V. Mashkov, B. A. Chalyk, **P. K. Mykhailiuk**, A. V. Tverdokhlebov, A. A. Tolmachev, Y. M. Volovenko, O. V. Shishkin, S. V. Shishkina // European Journal of Organic Chemistry. – 2013. – P. 2891–2897. (*Особистий внесок здобувача: планування дослідження, аналіз результатів, написання статті*).
22. Artamonov O. S. Synthesis of trifluoromethyl-substituted 3-azabicyclo[n.1.0]alkanes: Advanced building blocks for drug discovery / O. S. Artamonov, E. Y. Slobodyanyuk, D. M. Volochnyuk, I. V. Komarov, A. A. Tolmachev, **P. K. Mykhailiuk** // European Journal of Organic Chemistry. – 2014. – P. 3592–3599. (*Особистий внесок здобувача: планування дослідження, написання статті*).

23. Tkachenko A. N. Design and synthesis of a monofluoro-substituted aromatic amino acid as a conformationally restricted  $^{19}\text{F}$  NMR label for membrane-bound peptides / A. N. Tkachenko, **P. K. Mykhailiuk**, D. S. Radchenko, O. Babii, S. Afonin, A. S. Ulrich, I. V. Komarov // *European Journal of Organic Chemistry*. – 2014. – P. 3584–3591. (*Особистий внесок здобувача: планування дослідження, аналіз результатів, написання статті*).
24. Slobodyanyuk E. Y. One-pot synthesis of  $\text{CF}_3$ -substituted pyrazolines/pyrazoles from electron-deficient alkenes/alkynes and  $\text{CF}_3\text{CHN}_2$  generated in situ: Optimized synthesis of tris(trifluoromethyl)pyrazole / E. Y. Slobodyanyuk, O. S. Artamonov, O. V. Shishkin, **P. K. Mykhailiuk** // *European Journal of Organic Chemistry*. – 2014. – P. 2487–2495. (*Особистий внесок здобувача: планування дослідження, аналіз результатів, синтез частини сполук, написання статті*).
25. **Mykhailiuk P. K.** Generation of  $\text{C}_2\text{F}_5\text{CHN}_2$  *in situ* and its first reaction: [3+2] cycloaddition with alkenes / *Chemistry – A European Journal*. – 2014. – Vol. 20. – P. 4942–4947.
26. Fanghänel S. Structure analysis and conformational transitions of the cell penetrating peptide transportan 10 in the membrane-bound state / S. Fanghänel, P. Wadhvani, E. Strandberg, W. P. R. Verdurmen, J. Bürck, S. Ehni, **P. K. Mykhailiuk**, S. Afonin, D. Gerthsen, I. V. Komarov, R. Brock, A. S. Ulrich // *PLoS ONE*. – 2014. – Vol. 9. – P. e99653. (*Особистий внесок здобувача: планування дослідження, синтез частини сполук, аналіз результатів*).
27. Yarmoliuk D. V. Direct noncatalytic electrophilic trifluoroacetylation of electron-rich pyrazoles / D. V. Yarmoliuk, V. V. Arkhipov, M. V. Stambirskyi, Y. V. Dmytriv, O. V. Shishkin, A. A. Tolmachev, **P. K. Mykhailiuk** // *Synthesis*. – 2014. – Vol. 46. – P. 1254–1260. (*Особистий внесок здобувача: планування дослідження, аналіз результатів, написання статті*).
28. Trofymchuk S. Synthesis of isomeric (3,3,3-trifluoropropyl)anilines / S. Trofymchuk, A. Bezdudny, Y. Pustovit, **P. K. Mykhailiuk** // *Journal of Fluorine Chemistry*. – 2015. – Vol. 171. – P. 174–176. (*Особистий внесок здобувача: планування дослідження, синтез аналіз результатів, написання статті*).
29. Bandak D. Design and synthesis of novel  $^{19}\text{F}$ -amino acid: A promising  $^{19}\text{F}$  NMR label for peptide studies / D. Bandak, O. Babii, R. Vasiuta, I. V. Komarov, **P. K. Mykhailiuk** // *Organic Letters*. – 2015. – Vol. 17. – P. 226–229. (*Особистий внесок здобувача: планування дослідження, аналіз результатів, написання статті*).
30. Kubyshkin V. Synthesis and studies on gem-fluorinated 2-azabicyclo[n.1.0]alkanes / V. Kubyshkin, Y. Kheylik, **P. K. Mykhailiuk** // *Journal of Fluorine Chemistry*. – 2015. – Vol. 175. – P. 73–83. (*Особистий внесок здобувача: планування дослідження, аналіз результатів, написання статті*).
31. Kubyshkin V.  $\gamma$ -(*S*)-Trifluoromethyl proline: evaluation as a structural substitute of proline for solid state  $^{19}\text{F}$ -NMR peptide studies / V. Kubyshkin, S. Afonin, S. Kara, N. Budisa, **P. K. Mykhailiuk**, A. S. Ulrich // *Organic & Biomolecular Chemistry*. – 2015. –

- Vol. 13. – P. 3171–3181. (*Особистий внесок здобувача: планування дослідження, аналіз результатів, написання статті*).
32. **Mykhailiuk P. K.** Three-component synthesis of C<sub>2</sub>F<sub>5</sub>-substituted pyrazoles from C<sub>2</sub>F<sub>5</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>\*HCl, NaNO<sub>2</sub> and electron-deficient alkynes / Beilstein Journal of Organic Chemistry. – 2015. – Vol. 11. – P. 16–24.
33. **Mykhailiuk P. K.** Three-component synthesis of fluorinated pyrazoles from fluoroalkylamines, NaNO<sub>2</sub> and electron-deficient alkynes // Organic and Biomolecular Chemistry. – 2015. – Vol. 13. – P. 3438–3445.
34. **Mykhailiuk P. K.** *In situ* generation of difluoromethyl diazomethane for [3+2] cycloadditions with alkynes / Angewandte Chemie – International Edition. – 2015. – Vol. 54. – P. 6558–6561.
35. **Mykhailiuk P. K.** New Life for Diazoacetonitrile (N<sub>2</sub>CHCN): In situ Generation and Practical Synthesis of CN-Pyrazoles / European Journal of Organic Chemistry. – 2015. – P. 7235–7239.
36. Iminov R. T. Multigram synthesis of fluoroalkyl-substituted pyrazole-4-carboxylic acids / R. T. Iminov, A. V. Mashkov, I. I. Vyzir, B. A. Chalyk, A. V. Tverdokhlebov, **P. K. Mykhailiuk**, L. N. Babichenko, A. A. Tolmachev, Y. M. Volovenko, A. Biitseva, O. V. Shishkin, S. V. Shishkina // European Journal of Organic Chemistry. – 2015. – P. 886–891. (*Особистий внесок здобувача: планування дослідження, аналіз результатів, написання статті*).
37. Arkhipov A. V. Unexpected Reactivity of Trifluoromethyl Diazomethane (CF<sub>3</sub>CHN<sub>2</sub>): Electrophilicity of the Terminal N-Atom / A. V. Arkhipov, V. V. Arkhipov, J. Cossy, V. O. Kovtunencko, **P. K. Mykhailiuk** / Organic Letters. – 2016. – Vol. 18. – P. 3406–3409. (*Особистий внесок здобувача: планування дослідження, синтез частини сполук, аналіз результатів, написання статті*).
38. Khutoryanskiy V. V. Synthesis of Functionalized 2-Trifluoromethylquinolines and their Heteroaromatic Analogues / V. V. Khutoryanskiy, A. V. Biitseva, **P. K. Mykhailiuk** // Asian Journal of Organic Chemistry. – 2016. – Vol. 5. – P. 513–520. (*Особистий внесок здобувача: планування дослідження, синтез частини сполук, аналіз результатів, написання статті*).
39. Kubyshkin V. S. Trifluoromethyl-substituted α-amino acids as solid state <sup>19</sup>F-NMR labels for structural studies of membrane peptides / V. S. Kubyshkin, I. V. Komarov, S. Afonin, **P. K. Mykhailiuk**, S. L. Grage, A. S. Ulrich // Book chapter in Fluorine in pharmaceutical and medicinal chemistry. From biophysical aspects to clinical applications [Ed. V. Gouverneur, K. Müller]. – 2012. – London: Imperial college press. – P. 91–138. (*Особистий внесок здобувача: аналіз літературних даних, написання публікації*).
40. Design, synthesis and application of fluorinated amino acids as labels to study the membrane active peptides by solid state <sup>19</sup>F NMR / **P. Mykhailiuk** [та ін.]. // ASMC'13 Moscow, 5th International Symposium on Advances in Synthetic and Medicinal Chemistry. – Moscow (Russia), 2013. – P. T28.

41. Design, synthesis and application of fluorinated amino acids as labels to study the membrane active peptides by solid state  $^{19}\text{F}$  NMR / **P. Mykhailiuk** [та ін.] // 11<sup>th</sup> German Peptide Symposium. – Munich (Germany), 2013. – P. 74.
42. **Mykhailiuk P.** Development of Novel Building blocks to accelerate drug discovery / P. Mykhailiuk // FMC-ISMIC 2014, XXIII International Symposium on Medicinal Chemistry. – Lisbon (Portugal), 2014. – P. 28.
43.  $\text{CF}_3\text{CHN}_2$  and  $\text{C}_2\text{F}_5\text{CHN}_2$ : Underestimated reagents in organic synthesis / **P. Mykhailiuk** [та ін.] // 4th International Symposium on Organofluorine Compounds in Biomedical, Organic Materials and Agriculture Sciences. – Bordeaux (France), 2014. – P. 54.
44. Synthesis and Application of Unnatural Proline Analogues: Advanced Building Blocks for Medicinal Chemistry / **P. Mykhailiuk** [та ін.] // 66th EFMC International Symposium on Advances in Synthetic and Medicinal Chemistry. – Rehovot (Israel), 2015. – P. 87.
45. Novel Fluorinating Reagents – Fluorinated Diazoalkanes / **P. K. Mykhailiuk**, E.Y. Slobodyanyuk, O.S. Artamonov, A.V. Archipov // 21<sup>st</sup> International Symposium on Fluorine Chemistry and 6<sup>th</sup> International Symposium on Fluorous Technologies. – Como (Italy), 2015. – P. 37.
46. Synthesis of agrochemistry-related F-heterocycles from novel fluorinated diazoalkanes / E. Slobodyanyuk, O. Artamonov, A. Archipov, **P. Mykhailiuk** // Bioheterocycles 2015, XVI International Conference on Heterocycles in Bioorganic Chemistry. – Metz (France), 2015. – P. 55.
47. **Mykhailiuk P.K.** Fluorinated amino acids, amines and diazo alkanes: Synthesis and application / P.K. Mykhailiuk // 18<sup>th</sup> European symposium on fluorine chemistry. – Kyiv (Ukraine), 2016. – P. 57.
48. **Mykhailiuk P.K.** Fluorinated amino acids, amines and diazo alkanes: Synthesis and application / P.K. Mykhailiuk // Balticum Organicum Syntheticum. – Riga (Latvia), 2016. – P. 20.
49. **Mykhailiuk P.K.** Novel fluorinating reagents - fluorinated diazoalkanes / P.K. Mykhailiuk // 251<sup>st</sup> American Chemical Society National Meeting. – San Diego (USA), 2016.

## АНОТАЦІЯ

Михайлюк П. К. Флуоровмісні амінокислоти, аміни та діазоалкани. – Рукопис. Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора хімічних наук за спеціальністю 02.00.03 – органічна хімія. – Київський національний університет імені Тараса Шевченка МОН України, Київ, 2016.

Дисертаційна робота присвячена синтезу та дослідженню властивостей флуоровмісних амінокислот, амінів та діазоалканів. В результаті досліджень здійснено дизайн та синтезовано серію флуоровмісних моно- та біциклічних конформаційно

обмежених амінокислот як міток  $^{19}\text{F}$  ЯМР для заміни залишків природних амінокислот: Ala, Val, Leu, Ile, Phe, Ser, Thr, Pro. Для ряду одержаних амінокислот продемонстровано сумісність зі стандартними методами твердофазного пептидного синтезу, що дало можливість одержання  $^{19}\text{F}$ -мічених пептидів та дослідження їх будови за допомогою методу твердотільного  $^{19}\text{F}$  ЯМР.

Розроблено практичні синтетичні підходи для одержання ряду біциклічних флуоровмісних амінів (аналогів піперидину, піролідину та азепану), ізомерних як рацемічних, так і енантіомерно чистих 2- і 3- $\text{CF}_3$ -морфолінів, а також ізомерних C-(2,2,2-трифлуоретил)анілінів і (3,3,3-трифлуоропропіл)анілінів.

Знайдено, що генерування *in situ* ряду діазоалканів ( $\text{CF}_3\text{CHN}_2$ ,  $\text{C}_2\text{F}_5\text{CHN}_2$ ,  $\text{HCF}_2\text{CF}_2\text{CHN}_2$ ,  $\text{CF}_2\text{HCHN}_2$ ,  $\text{CNCHN}_2$ ) з подальшим введенням в реакцію з алкенами/алкінами є високопрактичним і ефективним способом одержання цінних піразолів та піразолінів з різними флуоровмісними замісниками.

Ключові слова: амінокислоти, аміни, Флуор, протеїни, твердотільний ЯМР, конформаційне обмеження, циклоалкани, діазосполуки, [3+2]-циклоприєднання, піразоли.

## АННОТАЦИЯ

Михайлюк П. К. Фторсодержащие аминокислоты, амины и диазоалканы. – Рукопись. Диссертация на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 02.00.03 – органическая химия. – Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко МОН Украины, Киев, 2016.

Диссертационная работа посвящена синтезу и исследованию свойств фторсодержащих аминокислот, аминов и диазоалканов. В результате исследований осуществлен дизайн и синтез серии фторсодержащих моно- и бициклических конформационно затрудненных аминокислот как меток  $^{19}\text{F}$  ЯМР для замены остатков природных аминокислот: Ala, Val, Leu, Ile, Phe, Ser, Thr, Pro. Для ряда полученных аминокислот продемонстрировано совместимость со стандартными методами твердофазного пептидного синтеза, что дало возможность получения  $^{19}\text{F}$ -меченных пептидов и исследования их строения с помощью метода твердотельного  $^{19}\text{F}$  ЯМР.

Разработаны практические подходы для получения ряда бициклических фторсодержащих аминов (аналогов пиперидина, пирролидина и азепана), изомерных как рацемических, так и энантиомерно чистых 2- и 3- $\text{CF}_3$ -морфолинов, а также изомерных C-(2,2,2-трифторэтил)анилинов и (3,3,3-трифторпропил)анилинов.

Найдено, что генерирование *in situ* ряда диазоалканов ( $\text{CF}_3\text{CHN}_2$ ,  $\text{C}_2\text{F}_5\text{CHN}_2$ ,  $\text{HCF}_2\text{CF}_2\text{CHN}_2$ ,  $\text{CF}_2\text{HCHN}_2$ ,  $\text{CNCHN}_2$ ) с последующим введением в реакцию с алкенами/алкінами является высокопрактичным и эффективным способом получения ценных пиразолов и пиразолинов с разными фторсодержащими заместителями.

Ключевые слова: аминокислоты, амины, фтор, протеины, твердотельный ЯМР, конформационное ограничение, циклоалканы, диазосоединения, [3+2]-циклоприєднання, пиразолы

## SUMMARY

Mykhailiuk P. K. Fluorine-containing amino acids, amines and diazoalkanes. – Manuscript. Thesis for Doctor's degree by speciality 02.00.03 – organic chemistry. – Kyiv National Taras Shevchenko University MES Ukraine, Kyiv, 2016.

The thesis is devoted to the synthesis and the study of the fluorine-containing amino acids, amines and diazoalkanes. The initially reported synthetic procedure for 3-(trifluoromethyl)bicyclo[1.1.1]pent-1-ylglycine (CF<sub>3</sub>-Bpg) was optimized. 100 g of CF<sub>3</sub>-Bpg were obtained and overall yield was increased from 35% to 53%. (*S*)-2-Amino-2-(4-fluorobicyclo[2.2.2]octan-1-yl)acetic acid (F-Bog) was synthesized as a <sup>19</sup>F label to replace the residues of Val, Ile, Leu in peptides to subsequently study by <sup>19</sup>F NMR. 1-Amino-3-(trifluoromethyl)- and 1-amino-3,3-bis(trifluoromethyl)cyclobutanecarboxylic acids were synthesized from 1,3-dibromoacetone dimethyl ketal. The key step of the syntheses was a transformation of the acid moiety into the CF<sub>3</sub>-group using SF<sub>4</sub> and HF. Simple and efficient six steps strategy to 1-amino-3,3-difluorocyclobutanecarboxylic acid was developed. The key step of the synthesis was a transformation of the ketone group into the CF<sub>2</sub>-group using morph-DAST. The synthesis of 1-amino-4,4-difluorocyclohexanecarboxylic acid was performed in three steps from a commercially available material in 22% overall yield. An impact of fluorine atoms on conformation, lipophilicity and acidity has been studied. A simple and efficient procedure for the multigram synthesis of the both (±)-*trans*- and (±)-*cis*-1-amino-2-CF<sub>3</sub>-cyclopropane-1-carboxylic acid was developed. The key step of the synthesis was the addition of CF<sub>3</sub>CHN<sub>2</sub> to methyl 2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]acrylate, followed by thermal decomposition of the resulting pyrazoline. *cis*-1-Amino-3-hydroxy-CF<sub>3</sub>cyclobutanecarboxylic acid was synthesized as the first polar CF<sub>3</sub>-label for solid-state <sup>19</sup>F NMR structure analysis of membrane-active peptides. The *cis*- and *trans*- isomers of 1-amino-3-(4-fluorophenyl)-cyclobutanecarboxylic acid were synthesized in five steps from diethyl 2-(4-fluorophenyl)propanedioate. The compounds were incorporated into the antimicrobial peptide gramicidin S to replace a native residue of D-Phe. The synthesis of racemic *trans*- and *cis*-5-fluoromethyl prolines was performed. The key step of the synthesis was a transformation of the CH<sub>2</sub>OH-group into the CH<sub>2</sub>F-one using morph-DAST. An efficient procedure towards *trans*- and *cis*-5-fluoropipecolic acids was elaborated. Novel difluoro-analogues of proline were obtained by adding difluorocarbene to *N*-Boc-4,5-dehydroproline methyl ester in 71% yield. The application of *trans*-4,5-difluoromethanoproline as a new label for solid state <sup>19</sup>F NMR structure analysis of membrane-active peptides was tested on gramicidin S. 4-(*S*)-CF<sub>3</sub>-proline was synthesised according to a modified literature protocol with improved yield on a multigram scale. The exchange of native Pro for 4-trifluoromethyl proline in the gramicidin S was shown to preserve the overall amphipathic peptide structure.

Two isomeric conformationally restricted analogues of 4-CF<sub>3</sub>-piperidine were synthesised in four steps from *N*-benzylmaleimide. Five CF<sub>3</sub>-substituted 3-azabicyclo-[*n*.1.0]alkanes were synthesized by CuCl-mediated trifluoromethylcyclopropanation reaction of the corresponding cyclic enamides with CF<sub>3</sub>CHN<sub>2</sub>. Three novel amines all possessing *gem*-difluorocyclopropane, secondary amino group and a fused aliphatic cycle were synthesized by difluorocyclopropanation of *N*-Boc protected enamides. Chemical

structure, physico-chemical properties and fragmentation mechanisms of the fluorinated amines were studied in details. 2- and 3-Trifluoromethylmorpholines were prepared in both the racemic and optically active forms from the commercially available 2-trifluoromethyloxirane and comprehensively characterized by crystallographic analysis, solubility,  $pK_a$ , logD parameters and clearance rate. Three isomers of C-(2,2,2-trifluoroethyl)aniline were prepared on a multigram scale from readily available nitrophenylacetic acids in two steps. Three isomers of (3,3,3-trifluoropropyl)aniline have been prepared in 60–70 g amount from the corresponding nitrobenzaldehydes in three steps.

The [3+2] cycloaddition of  $CF_3CHN_2$ , generated *in situ*, with electron-deficient alkenes/alkynes afforded  $CF_3$ -substituted pyrazolines/pyrazoles in quantitative yields. The novel chemical reagent,  $C_2F_5CHN_2$ , was generated *in situ* from  $C_2F_5CH_2NH_2 \cdot HCl$  and sodium nitrite. It reacted with mono- and disubstituted electron-deficient alkenes/alkynes to afford  $C_2F_5$ -pyrazolines/pyrazoles in excellent yields. A novel approach to agrochemically important  $CF_2H$ -substituted pyrazoles has been developed based on the elusive reagent  $CF_2HCHN_2$ , which was generated *in situ* for the first time and employed in [3+2] cycloaddition reactions with alkynes. Explosive diazoacetonitrile ( $N_2CHCN$ ) was generated *in situ* and used in the practical synthesis of agrochemistry-related CN-pyrazoles.

**Key words:** amino acids, amines, fluorine, proteins, solid-state NMR, conformational restriction, cycloalkanes, diazo compounds, [3+2]-cycloaddition, pyrazoles.