

**Київський національний університет імені Тараса Шевченка
Інститут високих технологій**

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

Дослідження впливу гем-дифлуорометиленового фрагменту на фізико-хімічні властивості функціоналізованих карбоциклічних сполук

Випускна кваліфікаційна робота магістра
студента напряму підготовки
102 Хімія
Герасимчука Максима Вадимовича

Науковий керівник:
доцент **Рябухін Сергій Вікторович**

Оцінка захисту роботи

Київ 2021 р.

Реферат

Кваліфікаційна робота присвячена експериментальному визначенню окремих фізико-хімічних параметрів гем-дифлуоро-заміщених карбоциклічних сполук та дослідженню впливу гем-дифлуорометиленового фрагменту на досліджувані параметри.

Експериментально виміряно pK_a та pK_aH для рядів флуорованих карбоциклічних кислот та амінів з різними положеннями гем-дифлуорометиленового фрагменту та різними розмірами циклів. Продемонстровано загальну тенденцію до підвищення кислотності в карбонових кислот і зменшенні основності в амінів при переході від нефлуорованих до флуорованих аналогів.

Синтезовано і охарактеризовано амідні похідні для рядів флуорованих карбоциклічних кислот та амінів для проведення досліджень ліпофільності, розчинності в воді та метаболітичної стабільності.

Експериментально виміряно значення $\log P$ та розчинності в воді для наборів амідних похідних. Встановлено зменшення ліпофільності при переході від нефлуорованих до флуорованих аналогів. Продемонстровано загальну тенденцію до підвищення розчинності у воді при знаходженні гем-дифлуоро метиленового фрагменту в 2 положенні, та зменшення розчинності при знаходженні атома флуору в 3 та 4 положенні карбоциклу в порівнянні з нефлуорованими аналогами.

Досліджено мікросомальну стабільність для ряду гем-дифлуорозаміщених амідних похідних, встановлено, що введення атомів флуору не пришвидшує мікросомальний метаболізм цих сполук в порівнянні з нефлуорованими аналогами.

Ключові слова: гем-дифлуорометиленовий фрагмент, карбоцикли, фізико-хімічні параметри, кислотність, ліпофільність, розчинність у воді, мікросомальна стабільність.

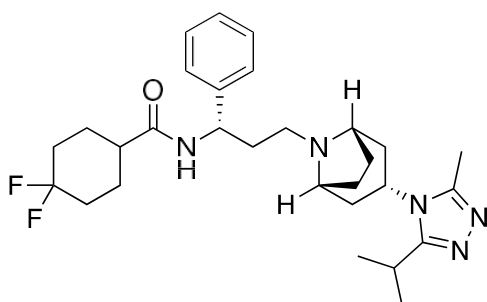
Зміст

РЕФЕРАТ	2
ВСТУП	4
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	6
1.1 ВПЛИВ ФЛУОРУВАННЯ АЛКІЛЬНОГО ФРАГМЕНТУ НА ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ПАРАМЕТРИ ХІМІЧНИХ СПОЛУК	6
1.2 МЕТОДИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ЛПОФІЛЬНОСТІ.....	12
РОЗДІЛ 2. ОБГОВОРЕННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДАНИХ.....	17
2.1 ДОСЛІДЖЕННЯ КИСЛОТНОСТІ ТА ОСНОВНОСТІ ФЛОУРОВМІСНИХ КАРБОНОВИХ КИСЛОТ ТА АМІНІВ	17
2.2 СИНТЕЗ ПОХІДНИХ ДЛЯ ПРОВЕДЕННЯ ВИМІРЮВАНЬ.....	25
2.3 ДОСЛІДЖЕННЯ ЛПОФІЛЬНОСТІ ТА РОЗЧИННОСТІ В ВОДІ	28
2.4 ДОСЛІДЖЕННЯ МІКРОСОМАЛЬНОЇ СТАБІЛЬНОСТІ	33
ВИСНОВКИ	35
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА	36
СПИСОК ПОСИЛАНЬ.....	46
ДОДАТКИ	50

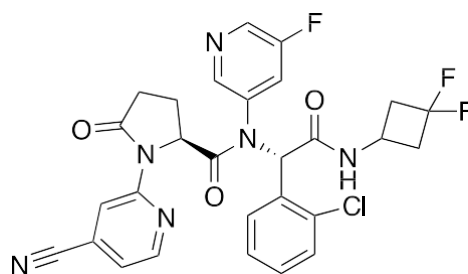
Вступ

Останнім часом, в таких галузях як агрохімія, а також розробка нових лікарських засобів, стрімко зростає значення фрагментів, що містять гем-дифлуоро заміщений атом карбону в структурі циклоалкільного фрагменту. Так поєднання конформаційних та стеричних особливостей карбонового скелету з унікальним впливом атомів флуору, дає можливість дуже гнучко впливати на властивості кінцевих біологічно активних сполук.

Наприклад, при розробці антиретровірусного препарату Maraviroc [1], вдалось значно збільшити ефективність зв'язування з мішенню шляхом заміни нефлуорованого алкільного замісника на флуорований, тоді як у випадку протипухлинного засобу Ivosidenib [2], введення атомів флуору в алкільний замісник дозволило значно покращити метаболічну стійкість препарату.

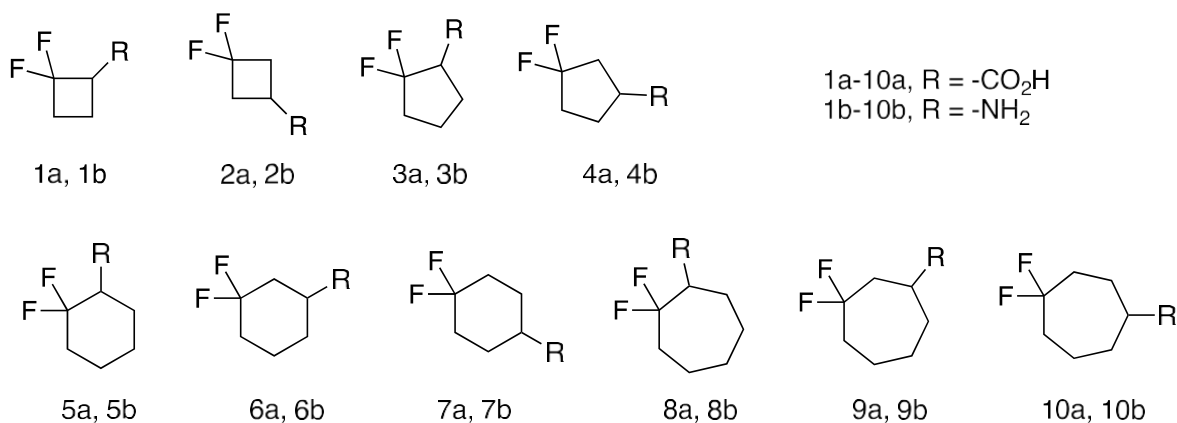


Maraviroc



Ivosidenib

Впродовж останніх років, кількість описаних в літературі сполук, що містять гем-дифлуоро заміщений атом карбону та які можна вважати будівельними блоками для потреб медичної хімії неупинно зростає. На сьогоднішній день вже описано препаративні підходи до отримання будівельних блоків з фрагментами гем-дифлуоро заміщених циклоалканів із розмірами циклів від 4 до 7 (1a-10a, 1b-10b) [3-6].



Проте наразі відсутня систематична інформація стосовно зв'язку між структурними параметрами, такими як розмір циклу та положення атомів флуору в ньому, та фізико-хімічними параметрами, такими як ліпофільність, кислотність, водорозчинність, для молекул які б містили даний фрагмент. Оскільки дані сполуки є цікавими для потреб медичної хімії, інформація про вплив різних фрагментів на фізико хімічні параметри кінцевих біологічно активних сполук була б надзвичайно корисною для створення препаратів з заданими фармакокінетичними та фармакодинамічними параметрами. Тому ми поставили собі за мету експериментально визначити фізико-хімічні параметри (ліпофільність, кислотність, розчинність у воді та метаболітичну стійкість) сполук 1a-10a, 1b-10b та їх нефлуорованих аналогів, та дослідити вплив гем-дифлуорометиленового фрагменту на ці властивості, залежно від розміру циклу та положення атомів флуору в ньому.

Розділ 1. Огляд літератури

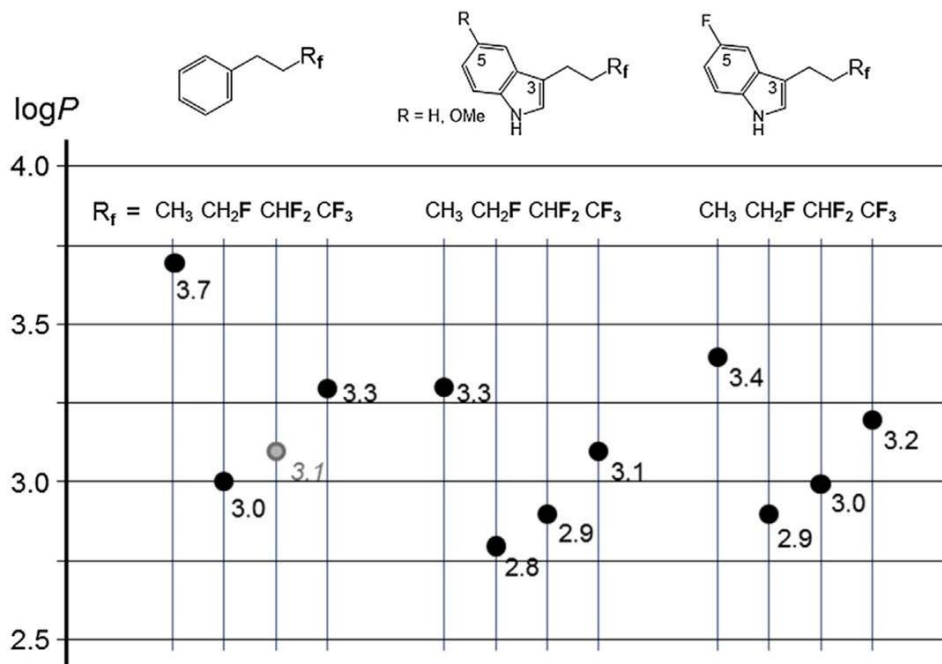
1.1 Вплив флуорування алкільного фрагменту на фізико-хімічні параметри хімічних сполук

Флуоровані сполуки не дарма є одними з найбільш поширених серед сучасних лікарських засобів [7]. Причиною цього є ряд унікальних властивостей атома флуору, таких як: висока електронегативність, відносно малий розмір, низька поляризуємість, ефективне перекривання електронних орбіталей атома флуору з іншими атомами другого періоду, що зумовлює міцні ковалентні зв'язки [8]. Така комбінація властивостей дозволяє широко використовувати атоми флуору для модуляції параметрів біологічно активних сполук [7].

Оскільки атом флуору має надзвичайно високу електронегативність, то це напряму впливає на кислотність і основність флуоровмісних сполук [8-11]. При дослідженні амінів та карбонових кислот з адамантановим скелетом було виявлено, що введення в структуру кожного атомів флуору (від нефлуорованого адамантану до трифлуороадамантану) призводить до зменшення основності амінів та збільшення кислотності відповідних карбонових кислот [10]. При дослідженні впливу положення атомів флуору в коротколанцюгових жирних кислотах було виявлено, що підвищення кислотності спостерігається навіть коли трифлуорометильну і карбоксильну групу розділяє дві метиленові групи [9], що демонструє вплив атомів флуору на віддалені частини молекули. В загальному можна говорити про адитивний характер впливу від різної кількості атомів флуору на основність амінів та на експоненційне спадання впливу зі збільшенням відстані між атомами флуору та основним центром. Хоча в циклічних структурах досить часто можуть відігравати роль і конформаційні ефекти [10]. Стосовно впливу на кислотність можна виділити такі емпіричні закономірності: флуорування завжди збільшує кислотність водневого зв'язку, флуорування зазвичай збільшує кислотність карбонових кислот (за деякими винятками) [11].

Заміщення атомів водню на атоми флуору також впливає і на розчинність сполук у воді, так при заміщенні в кінцевій метильній групі алкільного замісника, одного атому гідрогену атомом флуору, можна очікувати суттєве зростання розчинності у воді, при заміщенні другого розчинність дещо зменшується але є все ще більшою ніж у нефлуорованого аналогу, тоді як при повній заміні метильної групи на трифлуорометильну розчинність суттєво зменшується. При цьому спостерігається деякі кореляції між зміною розчинності та значеннями ліпофільності молекул. Проте варто зазначити, що окрім ліпофільності на розчинність впливають і інші фактори зокрема і енергія стабілізації кристалічної ґратки [11].

Вплив від заміщення атомів водню атомами флуору на ліпофільність досить складний і основну роль в ньому відіграє зміна сумарного дипольного моменту молекули, який можна обрахувати як суперпозицію векторів дипольних моментів зв'язків [12]. В цілому можна виділити декілька основних закономірностей: флуорування зазвичай (але не завжди) підвищує ліпофільність, флуорування в ароматичних системах завжди підвищує ліпофільність, моно- та трифлуорування насиченої алкільної групи зменшує ліпофільність [8].



Діаграма 1 Залежність значень $\log P$ від ступеню флуорування кінцевої метильної групи

Якщо розглядати флуорування кінцевої метильної групи то в більшості випадків спостерігається дуже подібна залежність ліпофільності від кількості атомів флуору. Так введення першого атому флуору значно зменшує ліпофільність тоді як введення кожного наступного збільшує цей параметр. При цьому трифлуорометилування призводить до зменшення ліпофільності відносно нефлуорованого аналогу (Діаграма 1) [10]. Проте не тільки кінцева метильна група має такий сильний вплив на ліпофільність, введення двох атомів флуору в гемінальних та вісцинальних положеннях один відносно одного, посеред алкільного ланцюга, також призводить до суттєвого зменшення ліпофільності. При цьому, цікавим є те, що такі ізомерні структури не сильно відрізняються за ліпофільністю хоча векторний аналіз демонструє суттєві відмінності в дипольних моментах цих груп [12]. Також відмінним від загальної тенденції є флуорування в коротко-ланцюгових спиртах, там заміщення метильної групи на трифлуорометильну призводить до значного підвищення ліпофільності [13]. Пояснення цього можна знайти проаналізувавши можливі конформації таких флуорованих спиртів. Надзвичайно вигідною є конформації при яких зв'язки C-F

та O-H є паралельні між собою (II та III на *Рисунку 1*) та реалізується антипаралельна диполь-дипольна взаємодія яка призводить до зменшення загального дипольного моменту молекули що в свою чергу призводить до збільшення ліпофільності [14].

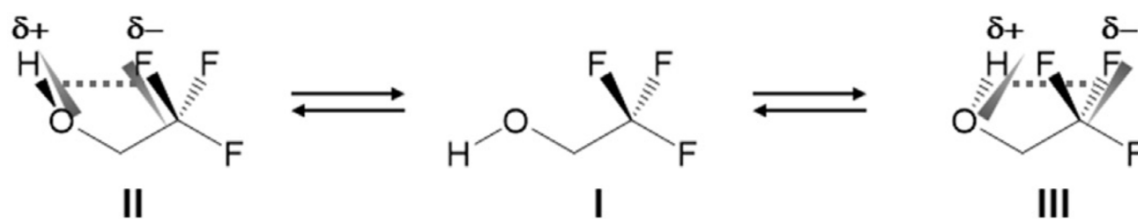


Рисунок 1 Конформації трифлуорометил заміщеного спирту, демонструють стабілізацію II та III структур, що веде до зменшення загального дипольного моменту молекули

В роботі 2019 року [15], автори підсумовують експериментально зібрані значення $\log D$ для сполук з фенільним фрагментом і визначають середні значення зміни $\log D$ від введення різних замісників в фенільне кільце. Аналізуючи представлені в роботі функціональні групи можна помітити що монофлуорування метильної групи призводить до зменшення ліпофільності, тоді як ди- та трифлуорування призводить до збільшення ліпофільності молекули (зміна $\log D$ для замісників Me +0.3, CH₂F +0.2, CHF₂ +0.4, CF₃ +0.9 одиниць).

Введення атомів флуору для підвищення метаболічної стабільності шляхом інактивації сайтів можливого окиснення досить широко відомий метод в медичній хімії який досить добре вивчений у випадку ароматичних сполук, тоді як стосовно аліфатичних молекул бракує систематичних знань стосовно ефективності такого прийому. Хоча є декілька дуже показових прикладів дуже вдалого введення всього одного атому флуору в алкільний замісник, що призвело до багатократного підвищення мікросомальної стабільності (*Рисунок 3*).

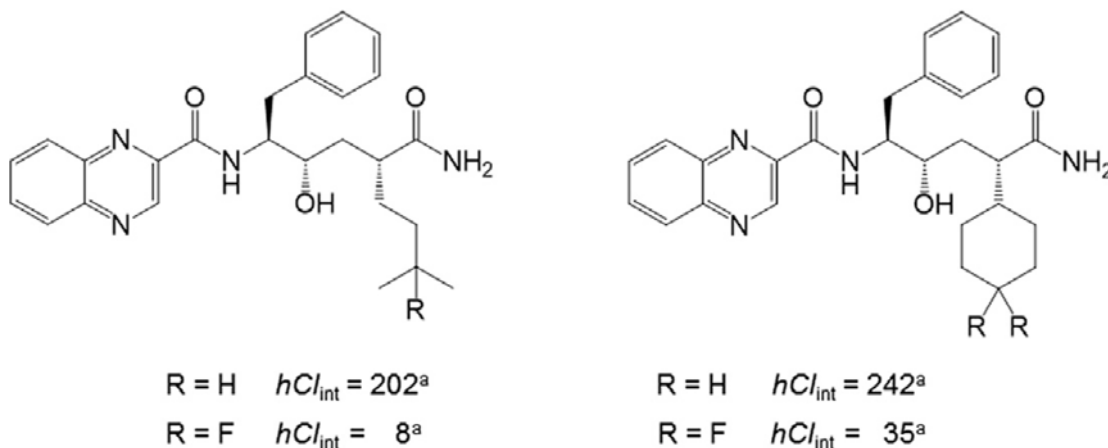


Рисунок 2 Приклади блокування оксидативного метаболізму в аліфатичних сайтах шляхом заміни атомів водню атомами флуору (антагоніст CCR1 розроблений компанією Pfizer); a - константи швидкості розпаду псевдопершого порядку (в одиницях (мл / хв / кг))

В даному випадку відбувалось досить швидке гідроксилування в ізопентильному заміснику, щоб запобігти цьому структуру було модифіковано атомом флуору що призвело до 25 кратного підвищення стабільності, в тому ж дослідженні циклогексильний фрагмент був використаний замість неопентильного проте це не допомогло вирішити проблему гідроксилування, після введення двох атомів флуору в 4 положення циклогексанового циклу стабільність підвищилась у 7 разів [11].

Також відомим прикладом використання флуорованих алкільних груп для блокування можливого оксидативного метаболізму є лікарський засіб Ivosidenib, в структуру якого входить фрагмент 3,3-гем-дифлуоро циклобутил аміну [16].

Не дивлячись на брак систематичних знань стосовно метаболітичної стабільності флуорованих алкільних фрагментів, спираючись на окремі публікації [15] можна говорити про незначне підвищення мікросомальної стабільності при флуоруванні насиченого карбонового ланцюга.

1.2 Методи експериментального визначення ліпофільності

Аналізуючи літературу можна виділити два основні підходи до експериментального визначення $\log P$. Перший підхід це методи що базуються на механічному змішуванні *n*-октанолу з водою в процесі чого відбувається розподіл аналіту між обома фазами і після досягнення рівноважного стану відбувається визначення концентрації аналіту [13,17-19]. Саме ж визначення концентрації аналіту найчастіше проводиться з використанням ЯМР спектроскопії або фотометричними методами. Особливо ефективними є використання ВЕРХ що дозволяє проводити дослідження зразків забруднених домішками, при цьому домішки не будуть впливати на отриманий результат оскільки відбувається розділення компонентів суміші і аналізується лише необхідний компонент [20].

При визначенні концентрації базуючись на ЯМР можна використовувати ЯМР спектроскопію на різних ядрах, так робота 2017 року [17], описує методику яка базується на порівнянні ^1H -ЯМР спектру водного шару до і після змішування з *n*-октанолом. Автори називають свою методику надзвичайно простою і придатною для використання в навчальних лабораторіях, оскільки вимірювання не потребує попередньої калібрування, точних кількостей розчинників, точної кількості аналіту а також відсутні можливі похибки пов'язані зі зміною об'єму однієї з фаз. Проте вистачає і обмежень, серед яких: достатньо висока розчинність аналіту в воді, можливість виокремити сигнал аналіту від сигналу води в ^1H -ЯМР спектрі. Значення $\log P$ не повинно бути занадто високим, конкретних цифр автори не наводять оскільки придатність до використання залежить від сукупності всіх факторів. Також вимірювання для сполук здатних до іонізації може давати не зовсім коректні результати оскільки в таких випадках з'являється залежність і від концентрації аналіту.

За наявності в молекулі атомів флуору, можна використати ^{19}F -ЯМР спектроскопію [13]. Методика включає використання внутрішнього флуоромісного стандарту з відомим значенням $\log P$, що дає можливість порівнювати

інтегральну інтенсивність аналіту та стандарту в спектрах ^{19}F -ЯМР та виходячи з цього обчислювати ліпофільність аналіту.

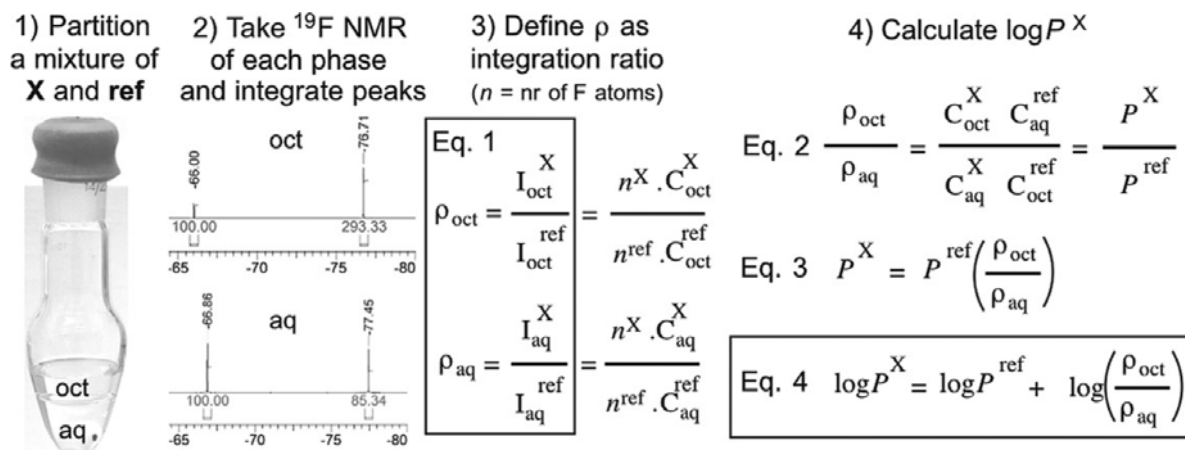


Рисунок 3 Принцип визначення $\log P$ з використанням ^{19}F -ЯМР спектроскопії та внутрішнього стандарту

Такий підхід, що базується на відносних значеннях має декілька важливих переваг, зокрема нівелюються систематичні похибки і відпадає необхідність в точних вимірюваннях мас аналіту чи стандарту а також об'єми фаз чи об'єми зразків для ЯМР аналізу. При цьому використовуючи даний метод можна вимірювати значення $\log P$ в діапазоні від -3 до +3. Автори зазначають важливість використання особливих параметрів при зйомці ЯМР спектрів оскільки було помічено що час спін-граткової релаксації в воді більший ніж в октанолі, тому для коректних значень необхідна повна релаксація ядер в обох розчинниках і високе співвідношення сигнал/шум. Дана методика була використана для вивчення впливу флуорування в аліфатичних спиртах які мають низькі значення коефіцієнтів екстинції в ультрафіолетовому діапазоні, що обмежує використання фотометричних методів для визначення концентрації.

При вимірюванні $\log P$ сполук з високими значеннями ліпофільності ($\log P = 4.5-8.2$) методами що базуються на механічному змішуванні розчинників може виникнути похибка викликана утворенням мікроемульсії октанолу в воді при

проведенні вимірювання на етапі змішування [18]. Невеликі кількості аналіту розчинені в краплях мікроемульсії можуть дуже сильно впливати на результати вимірювань, оскільки концентрація аналіту в воді надзвичайно низька порівняно з концентрацією в н-октанолі.

Для подолання цієї проблеми може бути використана спеціальна установка і протокол вимірювання ключовою особливістю якого є повільне перемішування обох фаз і недопущення їх змішування між собою, така методика потребує більше часу на вимірювання (в деяких випадках від 5 діб для встановлення рівноваги), проте методика була валідована в декількох лабораторіях і в цілому дозволяє отримати значення з точністю до 0.1 одиниці $\log P$ для сполук що є надзвичайно ліпофільними.

Ще одна варіація процедури вимірювання дозволяє використовувати надзвичайно малі кількості аналіту для проведення вимірювань [19]. Автори роботи пропонують 4 процедури для визначення ліпофільності в діапазоні від -2 до +4.5 одиниць $\log P$, при цьому автори роблять акцент на простоті і швидкості вимірювань що пов'язано з відмовою від вимірювання концентрації в октанольному шарі, а визначенню її через різницю концентрацій в водному шарі до і після змішування з н-октанолом. Таке рішення тягне за собою ряд переваг серед яких: менша кількість вимірювань загалом а також відсутність складної очистки нерухомої фази на ВЕРХ від н-октанолу. Також в роботі продемонстровано можливість адаптувати співвідношення н-октанолу й води для аналізу ряду сполук з широким діапазоном значень ліпофільності.

Іншим підходом до експериментального вимірювання $\log P$ є хроматографічні методи, де ліпофільність визначається з часу виходу аналіту на ВЕРХ. В публікації 2005 року автори вказують на великий потенціал методу ВЕРХ, не тільки як спосіб визначити концентрації речовин в системі н-октанол - вода, а і як самостійний метод визначення коефіцієнту розподілу [17]. В даній роботі описано кореляцію між фактором затримки (k) та значенням $\log P$, де $k = \frac{t_R - t_0}{t_0}$,

(t_R – час виходу речовини, t_0 – мертвий час). При цьому шляхом використання різних стаціонарних та рухомих фаз цей метод дозволяє вимірювати значення коефіцієнтів розподілу в системах відмінних від стандартної (н-октанол – вода). Так використання стаціонарних фаз, що є біоміметиками, може дати більше інформації про розподіл речовини в біологічних системах ніж звичайні методи. Також, зазначено відмінності в кореляціях для неіонізованих, іонізованих, та цвіттер-іонних сполук. Водночас, автори зазначають що основною проблемою для широкого використання ВЕРХ в вимірюванні значення коефіцієнтів розподілу є відсутність стандартизації в цій сфері. Оскільки такі параметри як тип мобільної та стаціонарної фази, швидкість потоку, об'єм стаціонарної фази, температура, методика проведення експерименту напряду впливають на отримані значення, то використання кожного нового набору вищезгаданих параметрів потребує окремого калібрування перед проведеннями цільових вимірювань, тому прийняття стандартизованої методики вимірювання змогло б допомогти зібрати більше інформації про використання даного методу та розкрило б його потенціал в вимірюваннях коефіцієнтів розподілу.

Таблиця 1 Значення $\log P$ та виміряні значення $\log k$ для стандартів.

Reference	LogP	Rt 1	Rt 2	Rt 3	Average Rt	Capacity factor (k)	Logk
Phenol	1.50	4.300	4.300	4.295	4.298	1.187	0.075
2-Fluorophenol	1.71	4.201	4.208	4.495	4.301	1.189	0.075
Benzofuran	2.67	8.375	8.375	8.383	8.378	3.263	0.514
Toluene	2.73	10.256	10.274	10.253	10.261	4.222	0.626
o-Xylene	3.12	13.252	13.276	13.579	13.369	5.804	0.764
Naphthalene	3.35	12.733	12.734	12.758	12.742	5.484	0.739
Cumene	3.66	17.059	17.066	17.167	17.097	7.701	0.887
t-butylbenzene	4.11	23.445	23.413	23.259	23.372	10.894	1.037
Butylbenzene	4.26	29.961	30.434	30.449	30.281	14.410	1.159
Anthracene	4.45	24.455	24.461	24.508	24.475	11.455	1.194
Pyrene	4.88	32.699	32.620	32.802	32.707	15.645	1.353

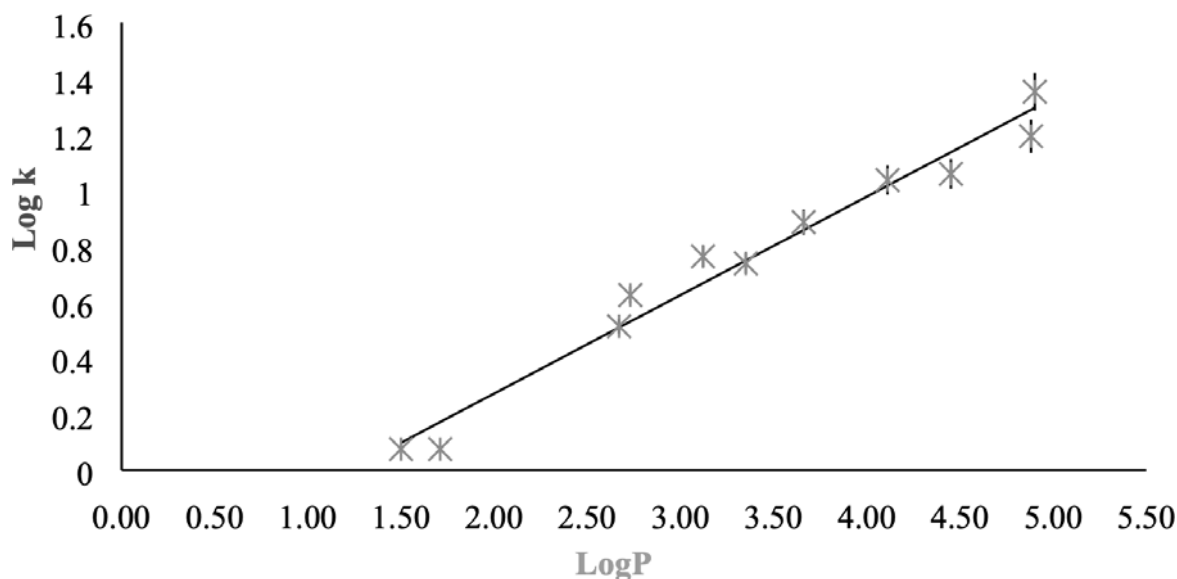


Рисунок 4 Лінійна залежність між значеннями $\log P$ та $\log k$ для набору стандартних речовин

Даний підхід був використаний для визначення $\log P$ ароматичних сполук флуорованих по бічному ланцюгу [20]. Для визначення параметрів цільових сполук спочатку було проведено калібрування на ароматичних сполуках з відомими значеннями $\log P$ в діапазоні 1.5 - 4.88 та знайдено лінійну залежність між значеннями $\log P$ та $\log k$, де k – це фактор затримки (Таблиця 1, Рисунок 4).

Використовуючи даний калібрувальний графік да вимірюючи значення часу виходу цільових сполук в стандартних умовах автори отримали значення коефіцієнту розподілу.

Підсумовуючи можна зауважити, що наразі найбільш поширеним є вимірювання концентрацій після змішування фаз в яких відбувається розподіл, при чому аналіз лише однієї фази дає можливість зменшити кількість необхідних вимірювань. Також варто зазначити великий потенціал використання ВЕРХ, проте використання цього методу потребує проведення калібрування на великій кількості стандартів.

Розділ 2. Обговорення експериментальних даних

2.1 Дослідження кислотності та основності флуорувмісних карбонових кислот та амінів

Для того щоб дослідити ефект зміни в кислотності карбонових кислот від введення атомів флуору в різних положеннях циклоалканового фрагменту, було експериментально виміряно значення pK_a для кислот 1a - 10a, а також для їх нефлуорованих аналогів 11a - 14a.

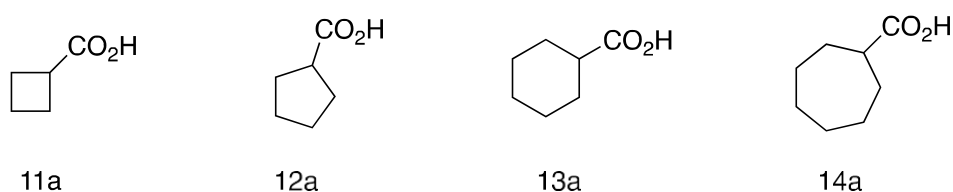
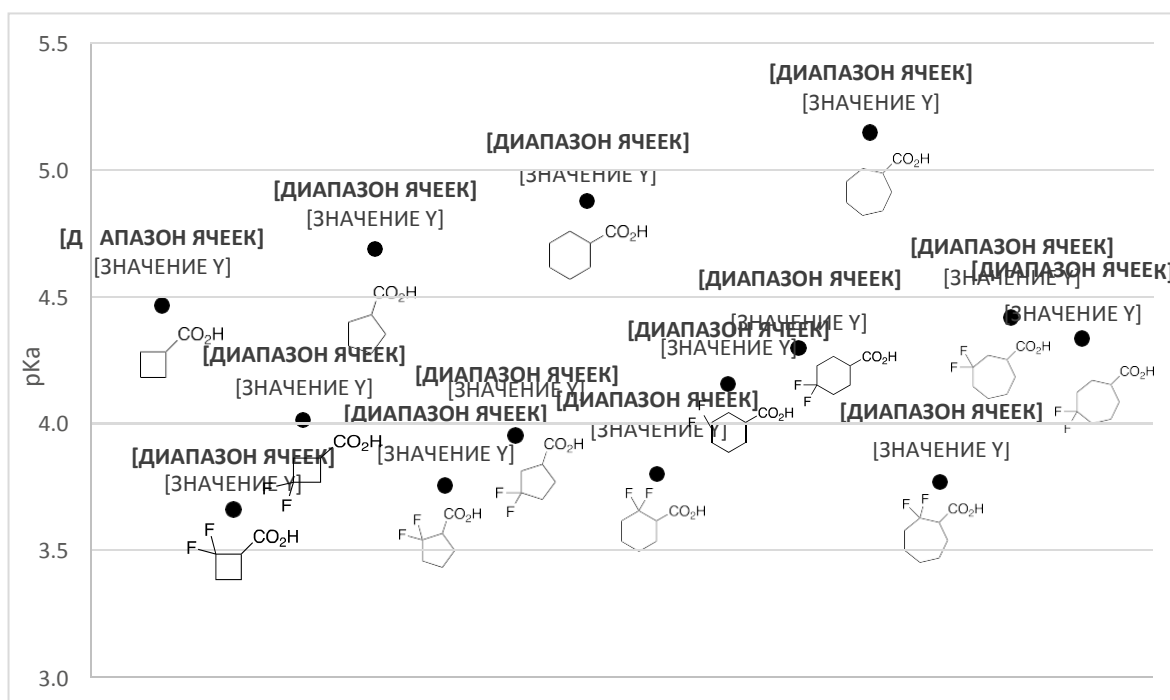


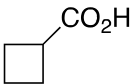
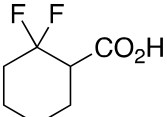
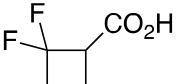
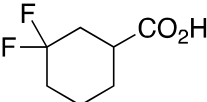
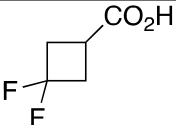
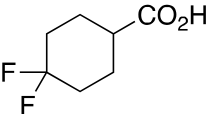
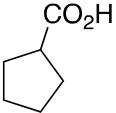
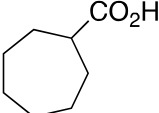
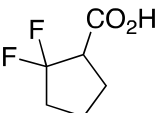
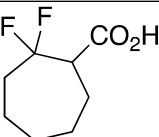
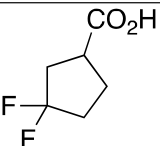
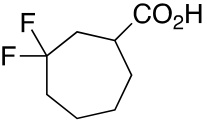
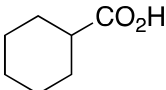
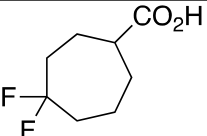
Рисунок 5 Нефлуоровані кислоти використані для вимірювання pK_a

Вимірювання pK_a проводилось методом кислотно основного титрування з використанням рН-метра. Результати розрахунків на основі експериментальних даних представлені в Таблиці 2 та на Діаграмі 3.



Діаграма 2 Експериментально визначені значення рKa карбонових кислот

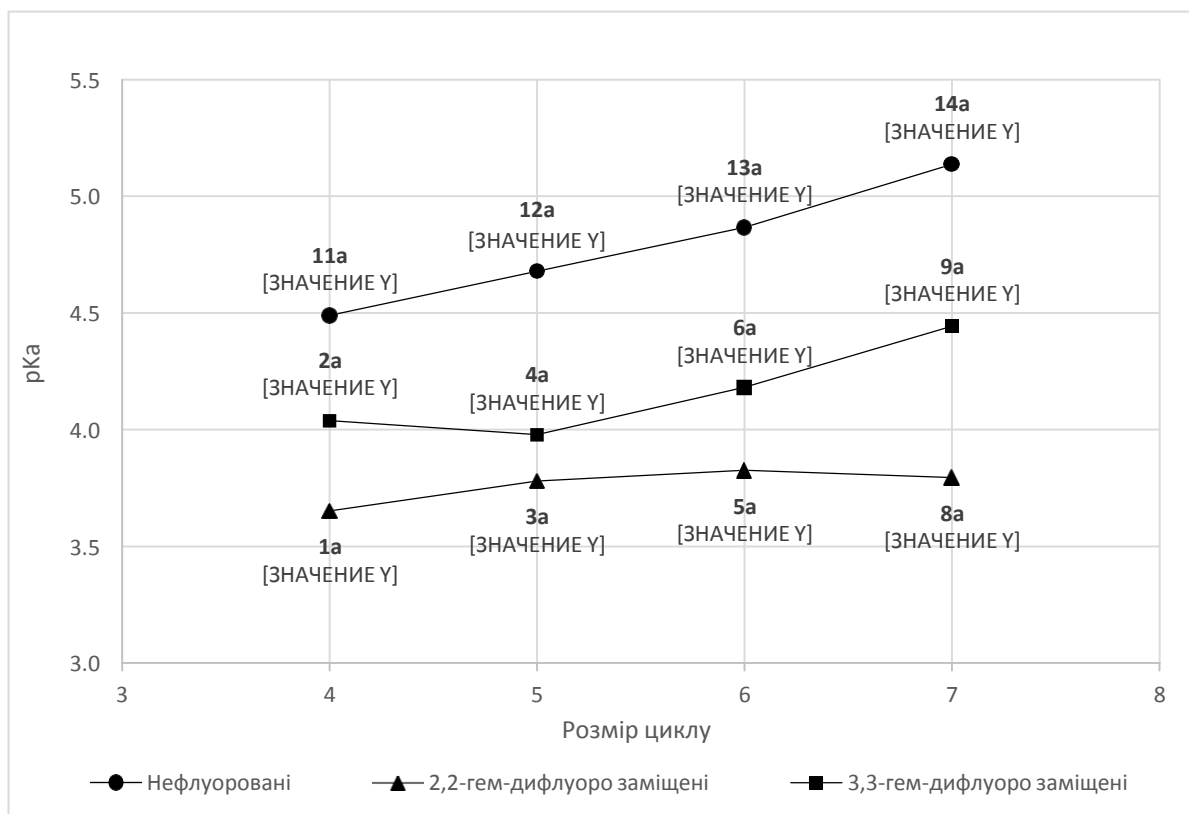
Таблиця 2 Експериментально визначені значення рKa карбонових кислот

Номер сполуки	Структурна формула	Вимірне значення рKa	Номер сполуки	Структурна формула	Вимірне значення рKa
11a		4,49	5a		3,83
1a		3,65	6a		4,18
2a		4,04	7a		4,32
12a		4,68	14a		5,14
3a		3,78	8a		3,80
4a		3,98	9a		4,44
13a		4,87	10a		4,36

Аналізуючи отримані результати можна помітити, що у всіх випадках введення атомів флуору призводить до збільшення кислотності (зменшення значення рKa), що узгоджується з літературними даними [14]. Найбільший вплив спостерігається в 2,2-геми-дифлуоро-заміщених сполуках (1a, 3a, 5a, 8a), що вочевидь пов'язано з сильним мезомерним ефектом атомів флуору. Суттєве збільшення кислотності у випадку сполук 7a та 10a свідчить про те, що ефект від заміни -CH₂- групи на -CF₂- групу є достатньо далекодіючим. У випадку з сполукою 10a (у порівнянні з

14a) спостерігається значно більше підвищення кислотності ніж можна було б очікувати по аналогії з описаними в літературі даними [10].

Залежність кислотності розміру циклу у об'єктах з різним положенням заміщення продемонстровано на *Діаграмі 3*.

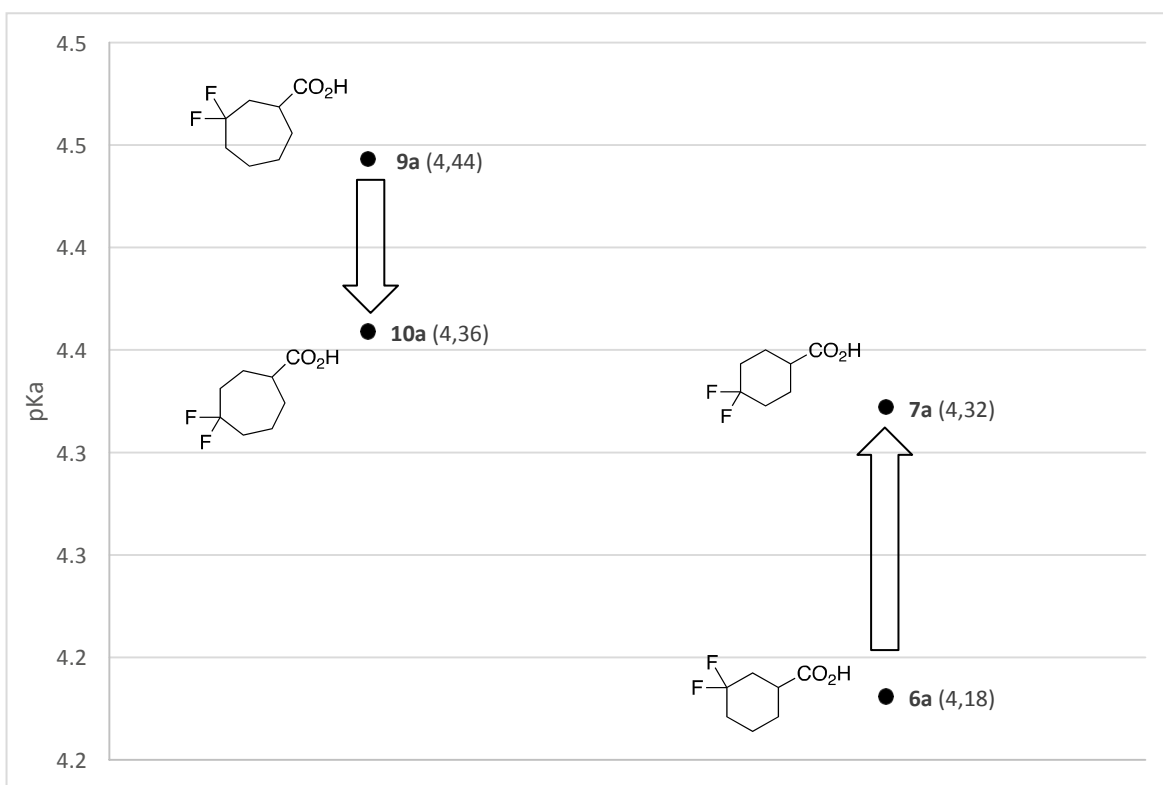


Діаграма 3 Порівняння значень pK_a для кислот з різним положенням атомів флуору.

Аналізуючи *Діаграму 2*, можна помітити щонайбільша кислотність спостерігається у 2,2-гем-дифлуоро заміщених кислот (1a, 3a, 5a, 8a), а найменша у нефлуорованих аналогів (11a - 14a). Цікавим є те, що у нефлуорованих кислот (11a - 14a) кислотність зменшується “рівномірно” зі збільшенням циклу, тоді як у флуорованих аналогів такої “рівномірності” не спостерігається. У 2,2-гем-дифлуоро заміщених кислот перехід від циклобутану (1a) до циклопентану (3a) призводить до суттєвого зменшення кислотності ($\Delta pK_a(1a - 3a) = 0.13$), тоді як подальше збільшення розміру циклу від циклопентану до циклогептану (3a, 5a,

8a) майже не змінює кислотність. У 3,3-гем-дифлуоро заміщених кислот, спостерігається протилежна ситуація, при переході від циклобутану (2a) до циклопентану (4a) відбувається несуттєве підвищення кислотності, тоді як, подальше збільшення розміру циклу (4a, 6a, 9a) призводить до збільшення значення рKa, подібно до нефлуорованих аналогів.

Також досить неочікуваним результатом виявилось при порівнянні значення рKa при 3,3-гем-дифлуоро заміщених кислотах (6a, 9a) та 4,4 - гем дифлуоро заміщених кислот (7a, 10a) (Діаграма 4).



Діаграма 4 Значення рKa для 3,3-гем-дифлуоро заміщених кислотах (6a, 9a) та 4,4 – гем-дифлуоро заміщених кислот (7a, 10a)

У всіх інших випадках віддалення атомів флуору від карбоксильної групи призводило до підвищення значення рKa, тоді як у випадках 4,4 – гем-дифлуоро заміщених кислот (7a, 10a), спостерігається два протилежних результати: збільшення кислотності у випадку циклогептан-карбонової кислоти і зменшення кислотності у випадку циклогексан-карбонової кислоти.

Для вивчення основних властивостей відповідних флуорованих амінів (1b - 10b) було виміряно значення pK_{aH} для досліджуваних сполук а також для ряду нефлуорованих аналогів (11b – 14b) (Рисунок 7).

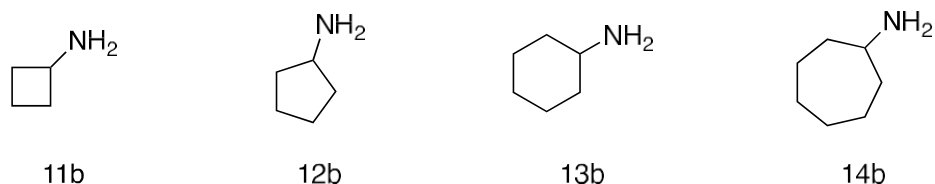
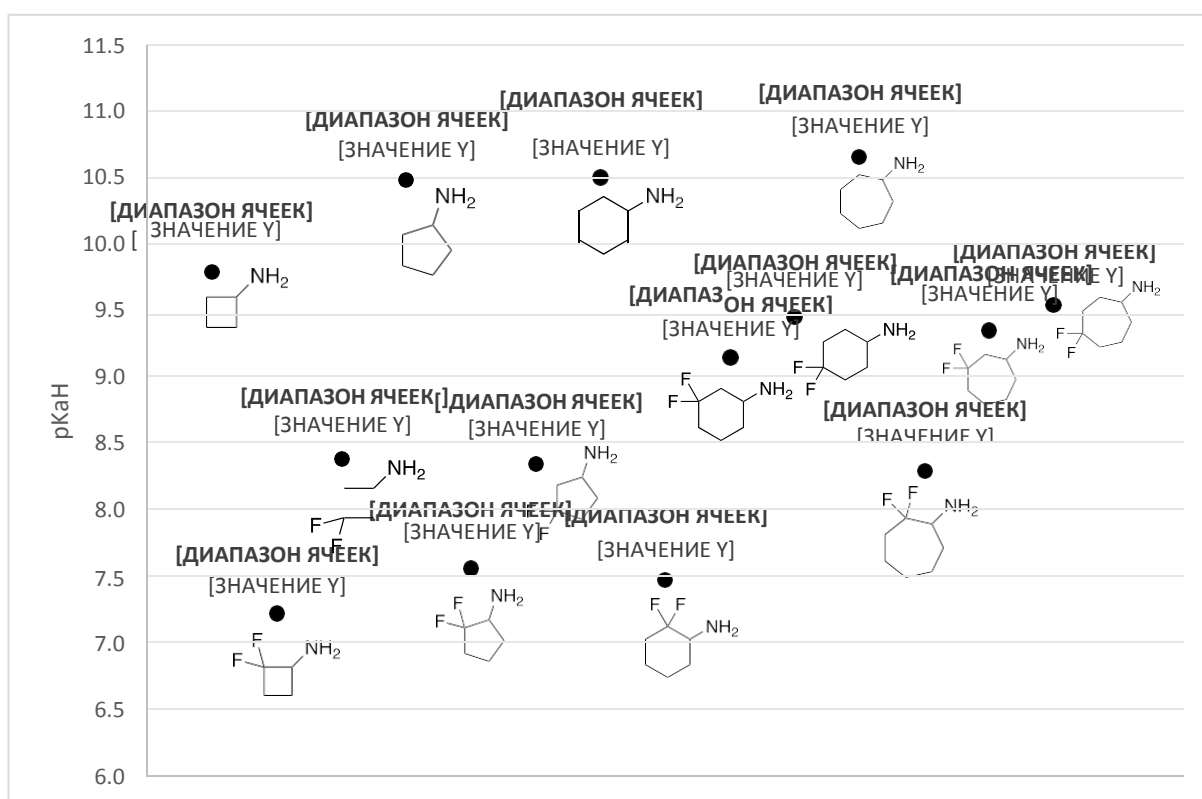


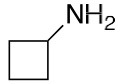
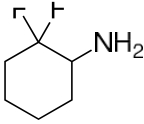
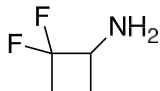
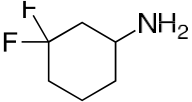
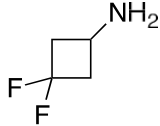
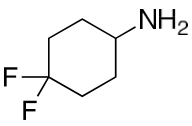
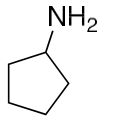
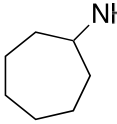
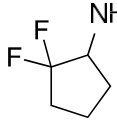
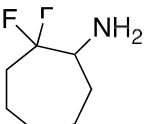
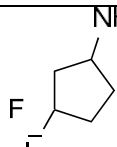
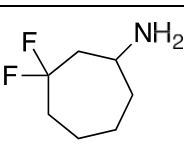
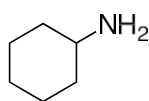
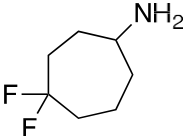
Рисунок 6 Нефлуоровані аміни використані для вимірювання pK_{aH}

Вимірювання проводилось за допомогою кислотно основного титрування з використанням рН-метра. Для проведення вимірювання, сполуки (1b - 14b) були використані у вигляді відповідних гідрохлоридів. Результати розрахунків на основі експериментальних даних представлені в Таблиці 3 та на Діаграмі 5.



Діаграма 5 Визначені значення pK_{aH} для гідрохлоридів відповідних амінів

Таблиця 3 Експериментально визначені значення рКаН для гідрохлоридів відповідних амінів

Номер сполуки	Структурна формула	Виміряне значення рКаН	Номер сполуки	Структурна формула	Виміряне значення рКаН
11b		9,79	5b		7,46
1b		7,2	6b		9,12
2b		8,37	7b		9,45
12b		10,48	14b		10,65
3b		7,55	8b		8,27
4b		8,33	9b		9,35
13b		10,5	10b		9,54

Аналізуючи отримані дані, можна помітити, що найбільший вплив на основність амінів відбувається у випадку введення атомів флуору в 2 положення циклоалкільного фрагменту, дещо менший ефект при флуоруванні 3 положення і ще менший при флуоруванні 4 положення. При цьому всі флуор-вмісні аміни є менш основними за свої нефлуоровані аналоги, що знову ж таки говорить про далекодіючий ефект від введення атомів флуору. Варто зазначити, що при порівнянні значень рКаН для незаміщених амінів і 2,2-гем-дифлуорозаміщених амінів спостерігається дещо менші зміни в основності (від 2,38 до 3,04 одиниць) ніж можна було б очікувати спираючись на літературні джерела (3,4 одиниці, по

1,7 за кожен атом флуору в β положенні відносно аміно групи [22]). Можливим поясненням цього може бути стабілізація протонowanego атому азоту за рахунок антипаралельного розміщення зв'язків N-H та C-F і реалізації диполь-дипольної взаємодії, як зображено на *Рисунку 7*, по аналогії з описаними в літературі прикладами [14].

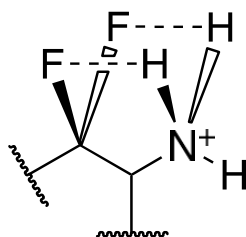
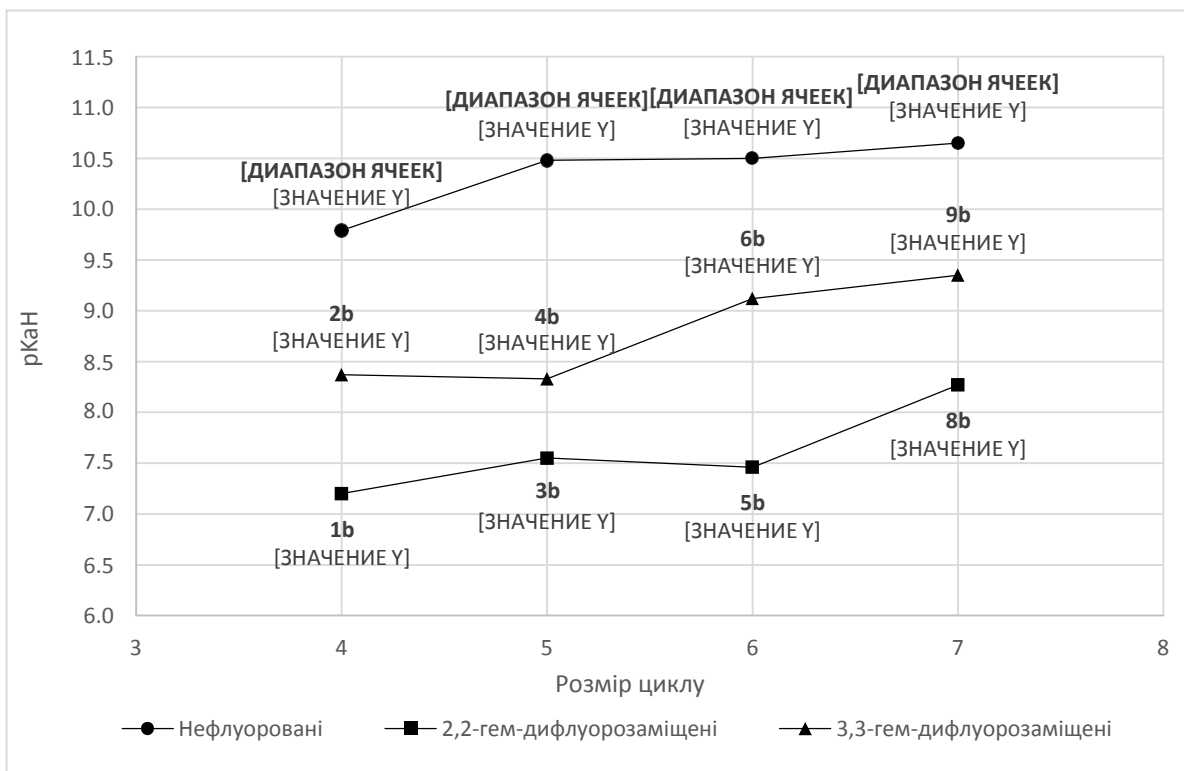


Рисунок 7 Стабілізація протонowanej аміно-групи атомами флуору в β -положенні

Що стосується залежності впливу на основність від положення атомів флуору в циклі, то тут можна говорити майже про «експоненційне» спадання впливу з віддаленням атомів флуору від аміно групи.

Дані по залежності основності в рядах циклобутан-циклогептан для сполук з різним положенням атомів флуору представлені на *Діаграмі 7*. Як і у випадку карбонових кислот, тут можна помітити що лінійна залежність основності від розміру циклу майже відсутня, що вочевидь можна пояснити конформаційними особливостями кожного з циклів, що зокрема впливає і на реалізацію взаємодії представленої на *Рисунку 7*. Так у випадку 2,2-гем-дифлуоро заміщених амінів, шестичленний представник (5b), демонструє незначне зменшення основності відносно циклопентильного аналога (3b), чим порушує тренд до лінійного зростання основності в цьому ряді сполук. В ряді 2,2-гем дифлуоро заміщених амінів, навпаки циклопентильний представник (4b) демонструє дещо менші значення pK_{aH} порівняно з циклобутильним аналогом (2b), чим також відрізняється від інших представників ряду, де спостерігається поступове зростання основності зі збільшенням розміру циклу.



Діаграма 6 Порівняння pK_{aH} для амінів з різним положенням атомів флуору.

В підсумку ж можна говорити про відповідність експериментальних даних із загальними очікуваннями на основі літературних даних для більшості об'єктів, проте досить багато сполук продемонструвало відхилення від загальних тенденцій, що потребує більш детального вивчення даних сполук в плані конформаційного аналізу, пошуку нових можливих взаємодій завдяки яким можна було б теоретично обґрунтувати результати експериментальних вимірювань.

2.2 Синтез похідних для проведення вимірювань

Проаналізувавши відомі в літературі методики вимірювання ліпофільності [13], було вирішено проводити дослідження використовуючи метод з механічним змішуванням розчинників та подальшим визначенням відношення концентрацій аналіту в обох фазах. Оскільки більшість методик базується на фотометричному визначенні концентрацій аналіту, то до сам аналіт повинен бути оптично активним в видимому або ультрафіолетовому діапазоні. Оскільки досліджувані сполуки (1a-14a, 1b-14b) не містять хромофорів в своїй структурі, то дослідження їх таким методом є досить проблематичним. Також, як вже було показано в попередньому розділі, флуорування напряму впливає на кислотність і основність досліджуваних об'єктів, а це означає, що сполуки з різними значеннями рКа будуть по різному іонізуватись в водному розчині і це напряму повпливає на розподіл між фазами. Для того щоб вирішити обидві ці проблеми одночасно, ми вирішили проводити дослідження амідних похідних досліджуваних об'єктів. Оскільки амідний зв'язок є надзвичайно поширеним в хімічному просторі загалом і в біологічно активних сполуках зокрема, дані похідні будуть досить коректними моделями для дослідження впливу флуорування на фізико-хімічні параметри.

Кислоти 1a-14a були перетворені в відповідні аніліди 1c-14c. Синтез відбувався з використанням CDI (N,N'-Карбонілдіімідазол), як активатора карбоксильної групи, та подальшим заміщенням імідазолу аніліном *Схема 1*.

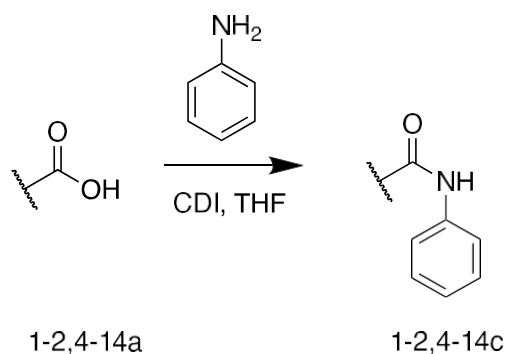


Схема 1 Загальна схема отримання анілідів 1c-14c

Даний підхід добре себе показав в більшості випадків, окрім кислоти 5a, де в умовах реакції утворювалась складна суміш, скоріше за все продуктів елімінування, розділення якої за допомогою хроматографії дало можливість виділити чистий анілід 5c з виходом 14%. У випадку кислоти 3a, суміш після проведення реакції не піддавалась розділенню хроматографічними методами, що підштовхнуло нас на пошуку альтернативного методу синтезу аніліду 3d. Інші методики які базуються на активації карбоксильної групи, такі як використання (EDC, HATU) не дозволили отримати цільову сполуку. Єдиним підходом який дав можливість отримати в чистому вигляді сполуку 3d. Стало перетворення кислоти 3a у відповідний метиловий естер 3e, та подальша реакція метилового естеру 3e з аніліном у присутності триметилалюмінію в толуені (Схема 2).

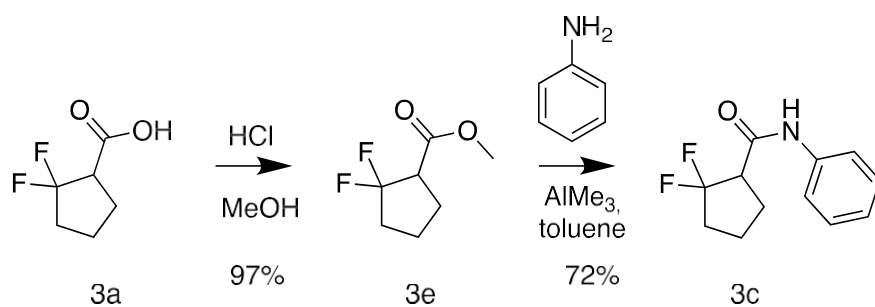


Схема 2 Альтернативна схема для отримання сполуки 3d

Аміни 1b-14b були перетворені у відповідні бензаміди 1d-14d, дією бензоїл хлориду на гідрохлориди сполук 1b-14b у присутності надлишку триетиламіну (Схема 3).

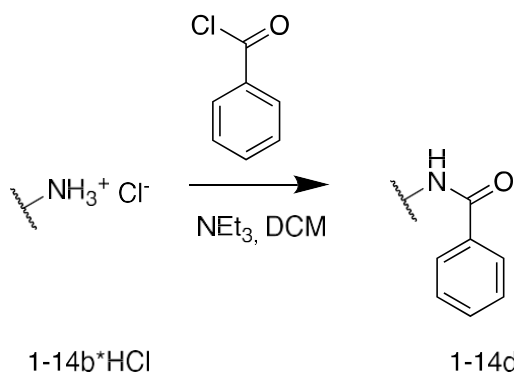


Схема 3 Загальна схема отримання бензамідів

Загалом було синтезовано 28 похідних (1c-14c, 1d-14d) (Рисунок 8).

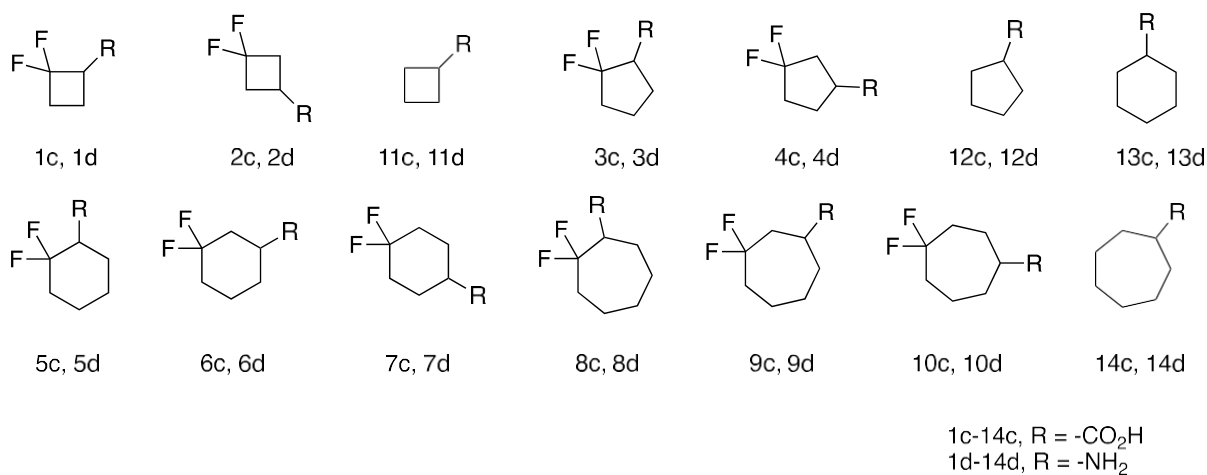


Рисунок 8 Аніліди (1-14c) та бензаміди (1-14d) отримані для вимірювання фізико хімічних параметрів.

Всі сполуки були отримані в індивідуальному вигляді з чистотою >90% (незначні кількості домішок не впливають на результати вимірювання оскільки під час LCMS аналізу відбувається розділення і аналізується лише цільова сполука) і охарактеризовані сукупністю спектрів ¹H-ЯМР, ¹³C-ЯМР, ¹⁹F-ЯМР (для флуор вмісних представників) та LCMS.

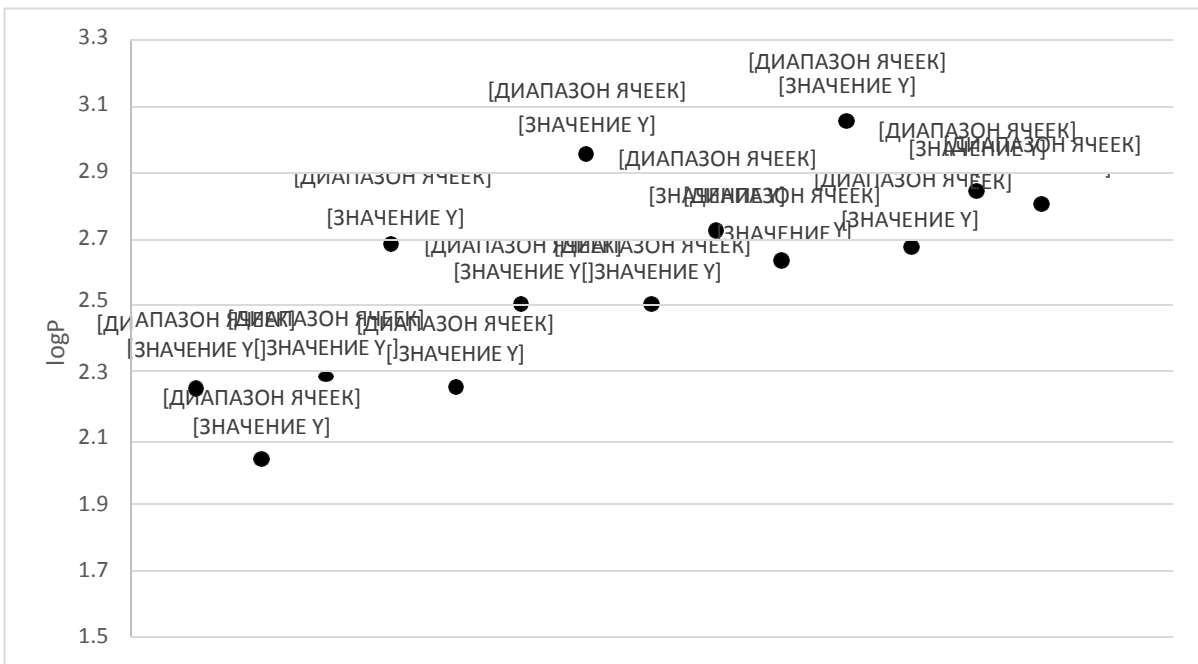
2.3 Дослідження ліпофільності та розчинності в воді

Для дослідження впливу атомів флуору на ліпофільність і розчинність у воді було використано модифікований варіант методики описаної в літературі [13], що дозволило нам визначити обидва параметри, які нас цікавлять без застосування великої кількості додаткових вимірювань.

Експериментально визначені значення $\log P$ та розчинності в воді (S_w) ряду анілідів 1с – 14с, наведено в *Таблиці 4* та на *Діаграмі 7*.

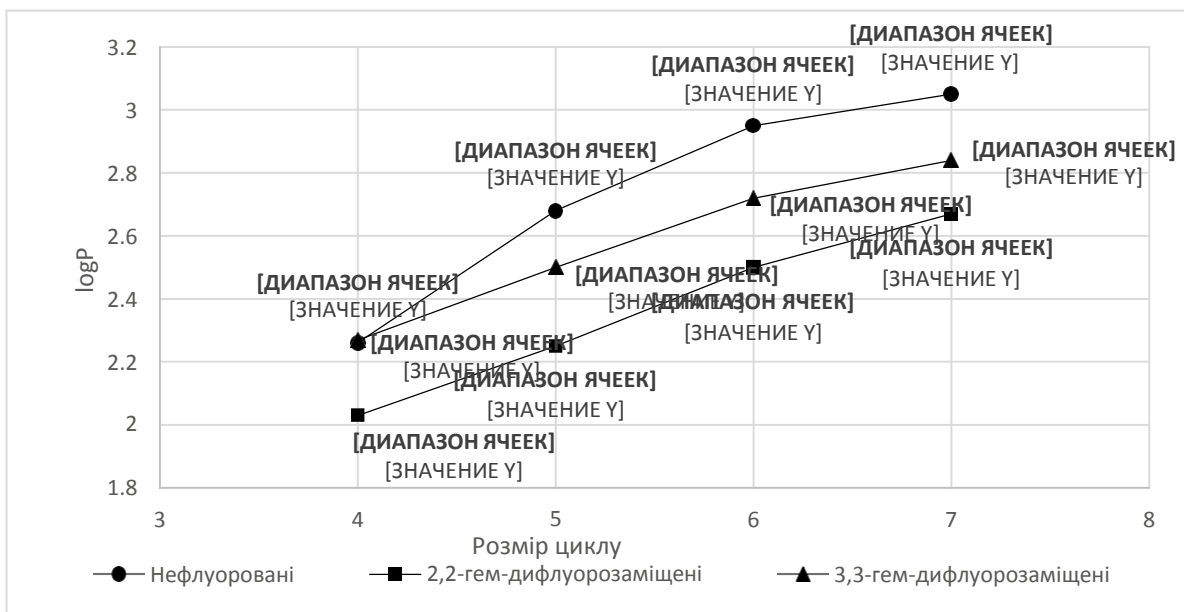
Таблиця 4 Експериментальні значення $\log P$ для ряду сполук 1с - 14с

Номер сполуки	Структурна формула	$\log P$	S_w (мг/мл)	Номер сполуки	Структурна формула	$\log P$	S_w (мг/мл)
11с		2,26	0,359	5с		2,5	0,066
1с		2,03	0,73	6с		2,72	0,024
2с		2,27	0,066	7с		2,63	0,038
12с		2,68	0,046	14с		3,05	0,034
3с		2,25	0,476	8с		2,67	0,044
4с		2,5	0,112	9с		2,84	0,012
13с		2,95	0,041	10с		2,8	0,017



Діаграма 7 Експериментальні значення $\log P$ для ряду сполук 1с - 14с

Аналізуючи значення водорозчинності можна помітити, що в циклобутанових похідних (11с, 1с, 2с) спостерігається значне збільшення розчинності при введенні атомів флуору в 2 положення та сильне зменшення водорозчинності при введенні атомів флуору в 3 положення циклобутанового фрагменту. В циклопентильних похідних введення атомів флуору в 2 положення циклу (3с) призводить до 10-ти кратного збільшення водорозчинності, а при у випадку 3,3-гем-дифлуоро заміщеного представника (4с) положення відбувається 3-кратна зміна. При аналізі значенні $\log P$ помітно, що у всіх випадках (окрім 2с), флуорування призводить до зменшення ліпофільності. При цьому найсильніше зменшення $\log P$ спостерігається у випадку 2,2-гем-дифлуор заміщених сполуках. Цікавим є те, що 3,3-гем-дмфлуоро заміщені сполуки (6с, 9с) мають значення $\log P$, вищі за відповідні 4,4-гем-дифлуорозаміщені аналоги (7с, 10с). Найбільша зміна ліпофільності спостерігається в циклопентильних (3с) та циклогексильних (5с) похідних (0.43 та 0.45 одиниць відповідно). При цьому зі збільшенням розміру циклу в об'єктах з однаковим заміщенням спостерігається "лінійне" збільшення ліпофільності (Діаграма 8).

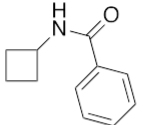
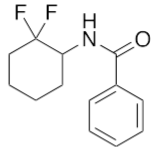
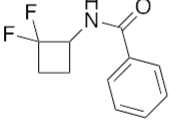
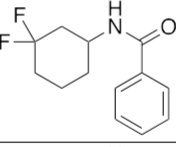
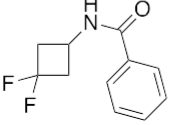
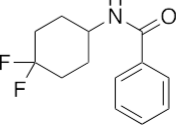
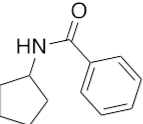
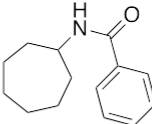
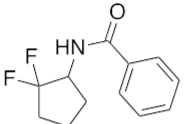
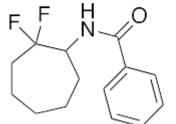
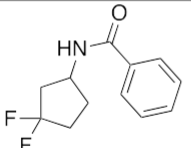
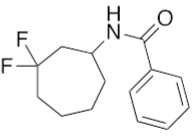
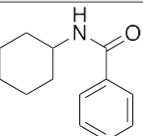
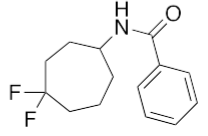


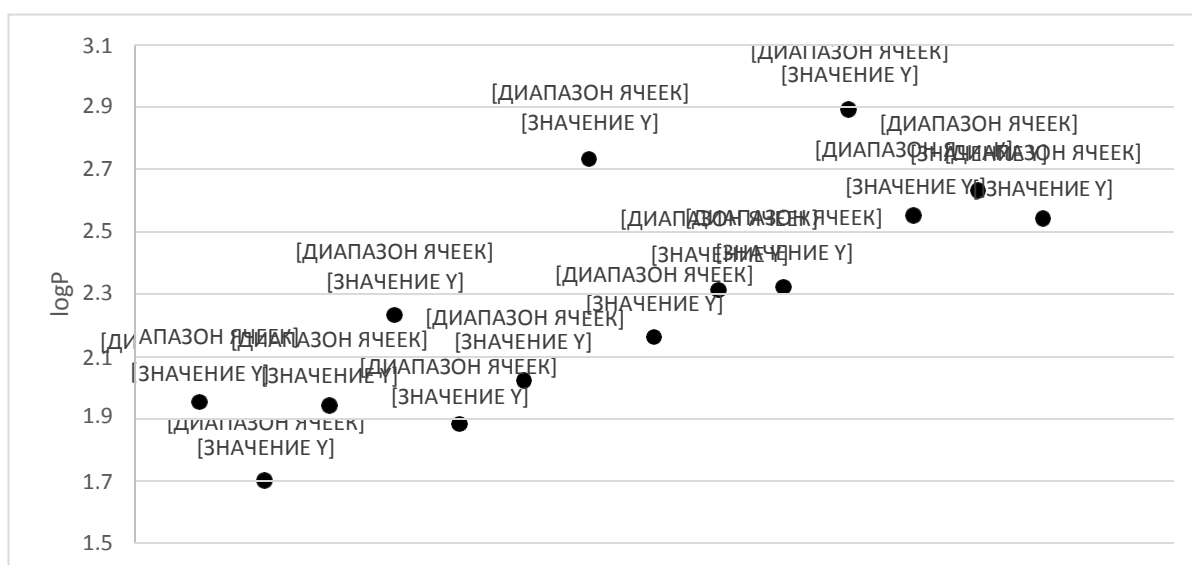
Діаграма 8 Порівняння значень $\log P$ для анілідів з різним положенням атомів флуору.

Аналогічні вимірювання були проведені і для ряду бензамідів (1d – 14d) (Таблиця 5, Діаграма 9). Аналізуючи значення розчинності у воді, можна помітити, що введення флуору в циклобутан призводить до суттєвого зменшення розчинності, при цьому ефект більший в 3,3-гем-дифлуоро заміщеному циклобутані (2d). В похідних циклопентану, флуорування 2 положення (3d) призводить до зменшення водорозчинності а от при флуоруванні 3 положення (4d) розчинність збільшується. У випадку циклогексанів, 2,2 та 3,3-гем-дифлуорозаміщені похідні (5d, 6d) є більш водорозчинними в порівнянні з нефлуорованим аналогом (13d), Схожим чином в циклогептанах всі флуоровані похідні (8-10d) мають дещо більші значення водорозчинності порівняно з нефлуорованим аналогом (14d).

Подібно до ряду анілідів (1c - 14c), флуорування у всіх випадках (окрім 2d) призводить до зменшення ліпофільності та найбільший вплив спостерігається у випадку 2,2-гем-дифлуоро заміщених сполук. Найбільша зміна $\log P$ (0,57 одиниць) спостерігається у випадку переходу від нефлуорованого (13d) до функціоналізованого по 2 положенню (5d).

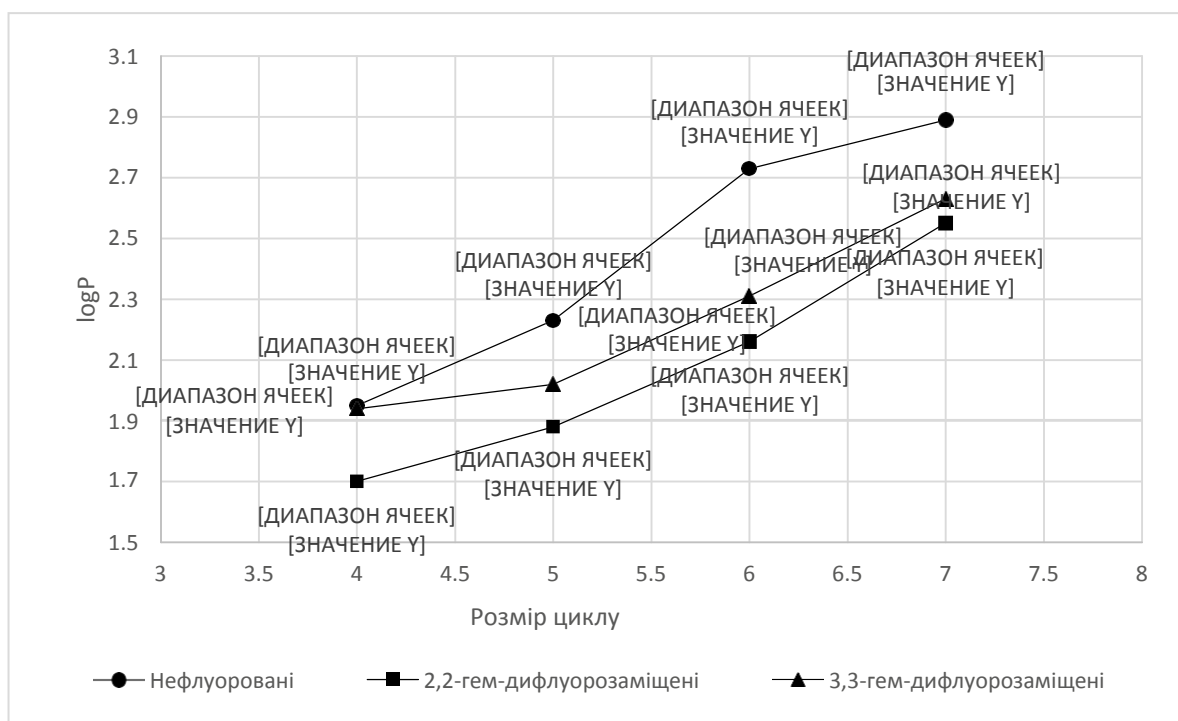
Таблиця 5 Експериментальні значення $\log P$ та S_w для ряду сполук 1d – 14d

Номер сполуки	Структурна формула	$\log P$	S_w (мг/мл)	Номер сполуки	Структурна формула	$\log P$	S_w (мг/мл)
11d		1,95	0,829	5d		2,16	0,154
1d		1,7	0,451	6d		2,31	0,101
2d		1,94	0,231	7d		2,32	0,036
12d		2,23	0,276	14d		2,89	0,03
3d		1,88	0,218	8d		2,55	0,043
4d		2,02	0,348	9d		2,63	0,032
13d		2,73	0,058	10d		2,54	0,056



Діаграма 9 Експериментальні значення $\log P$ та S_w для ряду сполук 1d-14d

Зі збільшенням розміру циклу спостерігається зменшення відмінностей в ліпофільності для 2,2- та 3,3- флуорованих аналогів (Діаграма 10). Що стосується сполук функціоналізованих по 4 положенню то у випадку циклогексанового представника (7d) спостерігаються досить незначні відмінності від 3,3-гем-дифлуоро заміщеного аналога (6d), тоді як в циклогептановому ряду перехід від 3,3-гем-дифлуоро заміщеного (9d) до 4,4-гем-дифлуоро заміщеного представника (10d) спостерігається зменшення ліпофільності. Подібно до анілідів (1с – 14с) збільшення розміру циклу, в об'єктах з однаковим заміщенням, призводить до “лінійного” збільшення ліпофільності.



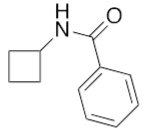
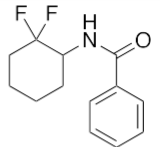
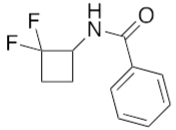
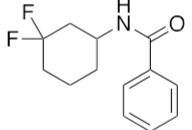
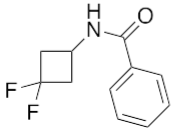
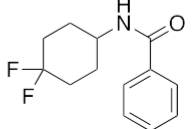
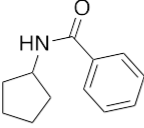
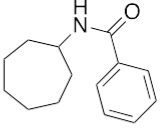
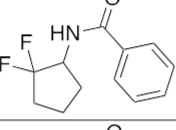
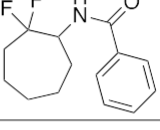
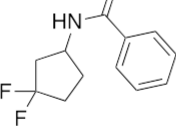
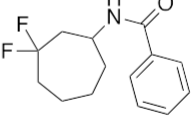
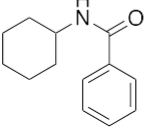
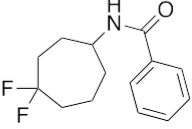
Діаграма 10 Порівняння значень $\log P$ для бензамідів з різним положенням атомів флуору.

Підсумовуючи отримані результати можна говорити про наявність загальних тенденцій, що узгоджуються з літературними даними проте також спостерігається і багато прикладів відхилень від простих моделей приведених в літературі, що потребує подальших досліджень у цьому напрямку.

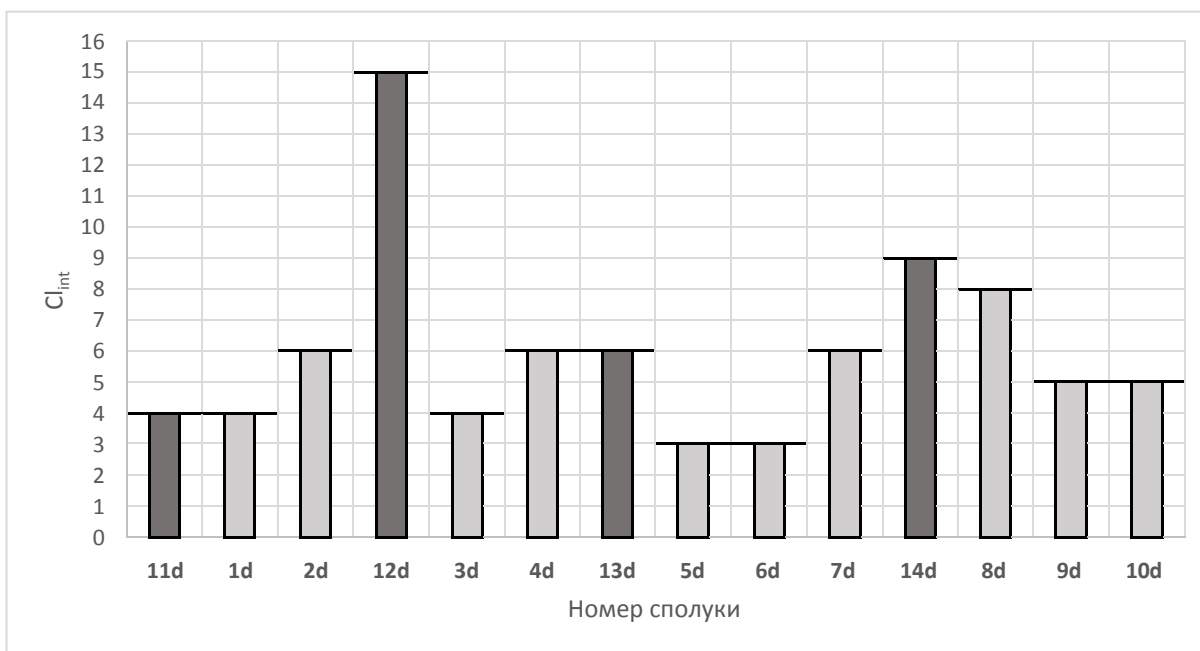
2.4 Дослідження мікросомальної стабільності.

Для дослідження впливу введення атомів флуору на метаболітичну стійкість, було проведено дослідження для визначення константи розпаду псевдо першого порядку (Cl_{int}). Методика дослідження базується на описаній в літературі процедурі [9]. Результати вимірювань подані в *Таблиці 6*, та на основі них побудована *Діаграма 11*.

Таблиця 6 Системний кліренс (Cl_{inv} В [$хв^{-1}/(мг/мл)prot$]) виміряний з використанням мікросом людської печінки для бензамідів 1d -14d.

Номер сполуки	Структурна формула	Cl_{int}	Номер сполуки	Структурна формула	Cl_{int}
11d		4	5d		3
1d		4	6d		3
2d		6	7d		6
12d		15	14d		9
3d		4	8d		8
4d		6	9d		5
13d		6	10d		5

Діаграма 11 Системний кліренс (Cl_{int} , В $[хв^{-1}/(мг/мл)prot]$) виміряний з використанням мікросом людської печінки для бензамідів 1d -14d. Темнішим кольором виділено нефлуоровані сполуки.



Аналізуючи отримані дані можна сказати, що флуорування в цілому не впливає на метаболітичну стабільність досліджуваних об'єктів, Тільки у випадку циклопентанових представників (3d, 4d), спостерігається значне зменшення значення Cl_{int} порівняно з нефлуорованим представником (12d). Інші значення лежать в межах похибок вимірювання методу. Імовірно це пов'язано з тим, що реалізується більш ніж один механізм деградації досліджуваних сполук, тому даний аспект потребує більш детального дослідження. Ефективним може бути використання іншого ароматичного фрагменту замість фенільного, що знизило б окиснення направлене на саме по даному фрагменту і дозволило б виокремити деградацію алкільної частини молекули.

Висновки

В ході роботи було експериментально досліджено фізико хімічні параметри (pK_a , $\log P$, розчинність у воді) набору сполук з флуор-вмісним циклоалкільним фрагментом та встановлено закономірності між структурними параметрами (розмір циклу, положення атомів флуору в циклі) та досліджуваними фізико-хімічними параметрами.

Продемонстровано, що введення атомів флуору в циклоалкільний фрагмент призводить до підвищення кислотності в карбонових кислотах та зменшення основності у амінах. При цьому найбільший вплив на спостерігається у випадку 2,2-гем-дифлуоро заміщених сполук.

Встановлено відмінності в характері зміни водорозчинності в похідних амнів та карбонових кислот.

Показано, що введення атомів флуору в циклоалкільний фрагмент призводить до зниження ліпофільності. Ефект найсильніше проявляється при функціоналізації 2 положення циклоалкільного фрагменту.

Досліджено вплив флуорування циклоалкільних фрагментів на метаболітичну стабільність. Встановлено, що введення атомів флуору не пришвидшує мікросомальний метаболізм.

Експериментальна частина

Розчинники були очищені відповідно до стандартних процедур. Вихідні матеріали були отримані на ТОВ "НВП "СНАМІН". Аналітичну ТШХ проводили з використанням плат Polychrom SI F254. Колоночну хроматографію проводили з використанням Kieselgel Merck 60 (230-400 меш) в якості стаціонарної фази. Спектри ЯМР ^1H , ^{13}C і ^{19}F були записані на спектрометрі Varian Gemini 2000 при 500 МГц або 400 МГц, 470 або 376 МГц 126 МГц або 100 МГц, відповідно. Хімічні зсуви повідомляються в мільйонних частках, використовуючи TMS (для ^1H , ^{13}C) як внутрішній стандарт. Мас-спектри реєстрували на приладі Agilent 1100 LCMSD SL з хімічною іонізацією (APCI) або електроспрей-іонізацією (ESI). Значення pK_a вимірювали за допомогою кислотно-основного титрування з використанням рН-метра.

Загальна методика синтезу амідів з аніліном (1-2с, 4-14с)

До розчину вихідної карбонової кислоти (2ммоль) в тетрагідрофурані (4мл), N,N'-Карбонілдіімідазол (2.5ммоль) був доданий однією порцією. Реакційна суміш перемішувалась протягом 2 годин при 40С. Після цього, анілін (2.5ммоль) був доданий однією порцією. Реакційна суміш перемішувалась протягом 18годин при 40С. Розчинник був видалений у вакуумі і залишок розбавлено водним розчином гідросульфату натрію (20мл) і відекстраговано дихлорметаном (3 рази по 20мл). Органічні шари були об'єднані, посушені над сульфатом натрію, відфільтровані та упарені у вакуумі. Залишок перекристалізовано із гексану, щоб отримати амід (1-2,4-14с).

2,2-Дифлуоро-N-фенілциклобутанкарбоксамід (1с).

Вихід 62%. Речовина отримана у вигляді світло жовтих кристалів, т.пл.= 93–95С ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3): δ 7.54 (d, J = 8.0 Гц, 2H), 7.43 – 7.24 (m, 3H), 7.12 (t, J = 8.0 Гц, 1H), 3.65 (m, 1H), 2.72 – 2.47 (m, 2H), 2.40 – 2.26 (m, 1H), 2.11 – 1.91 (m, 1H). ^{13}C ЯМР (126 МГц, CDCl_3): δ 165.0, 137.6, 129.1, 124.8, 120.4, 120.1 (dd, J = 296, 283.5 Гц), 52.4 (t, J = 22.2 Гц), 33.5 (t, J = 21.8 Гц), 13.1 (dd, J = 11.6, 4.6

Гц). ^{19}F ЯМР (376 МГц, CDCl_3): δ -84.3 (d, $J = 191.0$ Гц), -101.4 (d, $J = 191.0$ Гц). LCMS (m/z): 212 (M + H+).

3,3-Дифлуоро-N-фенілциклобутанкарбоксамід (2с).

Вихід 69%. Речовина отримана у вигляді світло жовтих кристалів, т.пл.= 175–176С, ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6): δ 10.05 (s, 1H), 7.61 (d, $J = 8.0$ Гц, 2H), 7.32 (t, $J = 8.0$ Гц, 2H), 7.06 (t, $J = 7.4$ Гц, 1H), 3.11 (m, 1H), 2.88 – 2.67 (m, 4H). ^{13}C ЯМР (126 МГц, DMSO-d_6): δ 170.4, 138.8, 128.5, 123.2, 119.4 (dd, $J = 284.5$, 269.4 Гц), 119.1, 38.2 (t, $J = 23.5$ Гц), 27.3 (m). ^{19}F ЯМР (376 МГц, DMSO-d_6): δ -81.3 (d, $J = 189.3$ Гц), -96.5 (d, $J = 189.5$ Гц). LCMS (m/z): 212 (M + H+).

N-Фенілциклобутанкарбоксамід (11с).

Вихід 77%. Речовина отримана у вигляді світло жовтих кристалів, т.пл.= 113–116С, ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3): δ 7.55 (d, $J = 7.8$ Гц, 2H), 7.37 (br s, 1H), 7.28 (t, $J = 7.8$ Гц, 2H), 7.07 (t, $J = 7.4$ Гц, 1H), 3.14 (q, $J = 8.5$ Гц, 1H), 2.46 – 2.31 (m, 2H), 2.26 – 2.14 (m, 2H), 2.07 – 1.85 (m, 2H). ^{13}C ЯМР (126 МГц, CDCl_3): δ 173.5, 138.1, 129.1, 124.3, 119.8, 41.1, 25.5, 18.1. LCMS (m/z): 176 (M + H+).

3,3-Дифлуоро-N-фенілциклопентанкарбоксамід (4с).

Вихід 86%. Речовина отримана у вигляді світло жовтих кристалів, т.пл.= 148–149С ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.54 (s, 1H), 7.49 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.30 (t, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.10 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 2.90 (m, 1H), 2.50 (m, 1H), 2.42 – 2.20 (m, 2H), 2.17 – 2.02 (m, 3H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 171.7, 137.6, 131.5 (m), 129.3, 124.9, 120.1, 43.5 (d, $J = 6.0$ Hz), 39.1 (t, $J = 26.4$ Hz), 35.3 (t, $J = 25.1$ Hz), 27.1. ^{19}F NMR (376 MHz, CDCl_3) δ -90.2 (d, $J = 227.5$ Hz), -95.5 (d, $J = 227.5$ Hz). LCMS (m/z): 224 (M - H+).

N-Фенілциклопентанкарбоксамід (12с)

Вихід 93%. Речовина отримана у вигляді світло жовтих кристалів, т.пл.= 164–166С ^1H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ 9.82 (s, 1H), 7.60 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.25 (t, $J = 8.0$ Hz, 2H), 6.98 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 2.75 (m, 1H), 1.86 – 1.76 (m, 2H), 1.76 – 1.60 (m, 4H), 1.57 – 1.47 (m, 2H). ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO-d_6) δ 174.1, 139.4, 128.3, 122.9, 119, 45.2, 30, 25.6. LCMS (m/z): 190 (M + H+).

2,2-Дифлуоро-N-фенілциклогексанкарбоксамід (5c)

Вихід 44%. Речовина отримана у вигляді світло жовтих кристалів, т.пл.= 134-135С. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.65 (s, 1H), 7.52 (d, J = 7.7 Hz, 2H), 7.31 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 7.11 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 2.77 (m, 1H), 2.31 – 2.20 (m, 1H), 2.15 – 2.07 (m, 1H), 1.95 – 1.84 (m, 2H), 1.84 – 1.73 (m, 1H), 1.72 – 1.51 (m, 2H), 1.41 – 1.30 (m, 1H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 167.1, 137.9, 130, 124.8, 123.3 (t, J = 245.0 Hz), 120.2, 51.5 (t, J = 22.1 Hz), 34.2 (t, J = 8.3 Hz), 27.1 (d, J = 5.6 Hz), 23.4, 22.5 (d, J = 8.3 Hz). ¹⁹F NMR (470 MHz, CDCl₃) δ –90.6, –91.1. LCMS (m/z): 240 (M + H⁺).

3,3-Дифлуоро-N-фенілциклогексанкарбоксамід (6c)

Вихід 73%. Речовина отримана у вигляді світло жовтих кристалів, т.пл.= 163-166С. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.50 (d, J = 7.7 Hz, 2H), 7.38 (s, 1H), 7.30 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 7.11 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 2.52 (t, J = 10.5 Hz, 1H), 2.38 – 2.21 (m, 1H), 2.18 – 2.00 (m, 2H), 1.98 – 1.83 (m, 2H), 1.76 – 1.51 (m, 3H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 171.8, 137.6, 129.1, 124.6, 123.3 (dd, J = 243.6, 238.2 Hz), 120, 43.4 (d, J = 9.6 Hz), 36.5 (t, J = 24.8 Hz), 33.5 (dd, J = 25.3, 21.9 Hz), 28.1, 21.8 (d, J = 9.9 Hz). ¹⁹F NMR (376 MHz, CDCl₃) δ –89.7 (d, J = 238.7 Hz), –100.3 (d, J = 238.7 Hz). LCMS (m/z): 238 (M – H⁺).

4,4-Дифлуоро-N-фенілциклогексанкарбоксамід (7c)

Вихід 94%. Речовина отримана у вигляді світло жовтих кристалів, т.пл.= 172-176С. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.50 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.32 (t, J = 7.9 Hz, 2H), 7.20 (s, 1H), 7.11 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 2.35 (t, 1H), 2.28 – 2.16 (m, 2H), 2.05 – 1.98 (m, 2H), 1.97 – 1.90 (m, 2H), 1.87 – 1.70 (m, 2H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 172.4, 137.7, 129.1, 124.6, 122.5 (t), 120.0, 43.8, 32.8 (t), 26.1 (d). ¹⁹F NMR (470 MHz, CDCl₃) δ –93.0 (d, J = 236.2 Hz), –100.5 (d, J = 236.2 Hz). LCMS (m/z): 238 (M – H⁺).

N-Фенілциклогексанкарбоксамід (13c)

Вихід 97%. Речовина отримана у вигляді світло жовтих кристалів, т.пл.= 149-151С. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.50 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.40 (s, 1H), 7.25 (t, J = 7.9 Hz, 2H), 7.05 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 2.20 (t, J = 11.5 Hz, 1H), 1.91 (d, J = 13.1 Hz, 2H),

1.84 – 1.73 (m, 2H), 1.72 – 1.63 (m, 1H), 1.58 – 1.44 (m, 2H), 1.35 – 1.11 (m, 3H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 174.5, 138.2, 129.1, 124.1, 120.0, 46.5, 29.7, 25.7. LCMS (m/z): 204 (M + H⁺).

2,2-Дифлуоро-N-фенілциклогептанкарбоксамід (8c)

Вихід 61%. Речовина отримана у вигляді світло жовтих кристалів, т.пл.= 132-134С. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.60 (s, 1H), 7.48 (d, 2H), 7.33 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 7.12 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 2.79 (m, 1H), 2.38 – 2.26 (m, 1H), 2.15 - 1.84 (m, 4H), 1.84 – 1.75 (m, 1H), 1.72 – 1.54 (m, 2H), 1.41 – 1.35 (m, 1H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 165.1, 134.9, 128, 121.4, 120.3 (t, J = 245.2 Hz), 118.2, 51.1 (t, J = 22.0 Hz), 35.2 (t, J = 8.3 Hz), 28.1 (d, J = 5.7 Hz), 25.8, 23.4, 20.5 (d, J = 8.5 Hz). ¹⁹F NMR (470 MHz, CDCl₃) δ –92.6, –94.1. LCMS (m/z): 254 (M + H⁺).

3,3-Дифлуоро-N-фенілциклогептанкарбоксамід (9c)

Вихід 63%. Речовина отримана у вигляді світло жовтих кристалів, т.пл.= 163-166С. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.48 (d, 2H), 7.29 (t, 2H), 7.07 (t, 1H), 2.52 - 2.20(m, 3H), 2.20 – 1.98 (m, 3H), 1.96 – 1.74 (m, 2H), 1.72 – 1.53 (m, 3H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 172.8, 135.6, 127.1, 122.6, 121.3 (dd), 122, 43.9 (d), 36.8 (t), 33.5 (dd), 30.5, 28, 23. ¹⁹F NMR (376 MHz, CDCl₃) δ –80.7 (d), –89.3 (d). LCMS (m/z): 254 (M + H⁺).

4,4-Дифлуоро-N-фенілциклогептанкарбоксамід (10c)

Вихід 84%. Речовина отримана у вигляді світло жовтих кристалів, т.пл.= 160-162С. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.48 (d, 2H), 7.30 (t, 2H), 7.10 (m, 2H), 2.48 – 2.23 (m, 2H), 2.20 – 1.78 (m, 7H), 1.62 – 1.44 (m, 1H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 175.7, 134.9, 121.5, 122.1, 120.5 (t), 118.2, 44.8, 32.1 (t), 27.1 (d), 26.1. ¹⁹F NMR (470 MHz, CDCl₃) δ –86.1 (d), –87.6 (d). LCMS (m/z): 254 (M + H⁺).

N-Фенілциклогептанкарбоксамід (14c)

Вихід 89%. Речовина отримана у вигляді світло жовтих кристалів, т.пл.= 140-142С. ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.76 (s, 1H), 7.59 (d, 2H), 7.22 (t, 2H), 7.01 (t, 1H), 2.49 (m, 1H), 1.92-1.85 (m, 2H), 1.84-1.38 (m, 10H) ¹³C NMR (126 MHz,

CDCl₃) δ 175.8, 140, 129, 123.3, 119.6, 46.9, 31.6, 28.4, 26.6. LCMS (m/z): 204 (M + H⁺).

Синтез аміду 3с

2,2-гем-дифлуоро-циклопентан-карбонова кислота(3а) (0.5г, 3.3ммоль) була розчинена в метанолі (15мл) і розчин було охолоджено до 0С. SOCl₂ (0.4г, 3.3ммоль) було додано по краплі, і реакційна суміш була нагріта до 20С. Отриманий розчин перемішувався протягом 48 годин і метанол був видалений у вакуумі щоб отримати метиловий естер 2,2-гем-дифлуоро-циклопентан-карбонової кислоти (3е) у вигляді жовтого масла (0.53г, 97% вихід) (¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 3.77 (s, 3H), 2.36 (m, 1H), 2.28 – 2.19 (m, 2H), 2.18 – 2.10 (m, 2H), 2.05 – 1.88 (m, 2H), 1.85 – 1.71 (m, 1H). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 164.5, 44.4 (t), 38 (t), 35.7(d), 27.2 (t). ¹⁹F{1H} NMR (376 MHz, CDCl₃) δ –91.8 (d), –98.3 (d). LCMS (m/z): 165 (M + H⁺)). До розчину 3е (100мг, 0.6ммоль) в толуені (8 мл) додали анілін (60мг, 0.6ммоль) та розчин триметилалюмінію (0.6мл, 1.2ммоль, 2М у гептані). Отримана суміш перемішувалась при 80С протягом 18 годин після чого було охолоджена до 20С. Толуеновий розчин вилили на водний розчин хлориду амонію (50мл) і відекстрагували етилацетатом (50мл). Органічний шар відділили, посушили над Na₂SO₄ та упарили у вакуумі. Залишок обробили гексаном, щоб відмити залишки вихідного естеру. Отримано амід 3с у вигляді світло жовтих кристалів. 99мг, (72% вихід) ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.55 – 7.47 (m, 3H), 7.31 (t, 2H), 7.11 (t, 1H), 3.05 (m, 1H), 2.36 – 2.30 (m, 1H), 2.28 – 2.11 (m, 2H), 2.10 – 2.01 (m, 1H), 2.01 – 1.89 (m, 1H), 1.85 – 1.70 (m, 1H). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 166.5, 137, 131(dd), 129.1, 124.7, 120.3, 53.4 (t), 35.2 (t), 25.8 (d), 20.3 (t). ¹⁹F NMR (376 MHz, CDCl₃) δ –93.1 (d), –101.3 (d). LCMS (m/z): 226 (M + H⁺).

Загальна методика синтезу амідів з бензоїл хлоридом (1-14d)

До розчину гідрохлориду аміну (1-14b)(2ммоль) в дихлорметані (10мл), триетиламін (5ммоль) був доданий однією порцією. Реакційна суміш була охолоджена в льодяній бані і бензоїл хлорид (2.2ммоль) був доданий невеликими порціями. Реакційна суміш повільно нагрівалась до кімнатної температури та перемішувалась 18 годин при 20С. Після цього ще 20 мл дихлорметану було додано і реакційна суміш була промита водою (50мл), розчином гідросульфату натрію (20мл) і водним розчином карбонату натрію (20мл), посушена над сульфатом натрію і розчинник видалений у вакуумі. Отриману речовину було оброблено гексаном і посушено у вакуумі, щоб отримати амід (1-14d).

N-(2,2-Дифлуороциклобутил)бензамід (1d)

Вихід 82%. Речовина отримана у вигляді білих кристалів, т.пл.= 127-129С 1H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ 7.78 (d, 2H), 7.50 (t, 1H), 7.42 (t, 2H), 6.60 (s, 1H), 5.10 – 4.96 (m, 1H), 2.51 – 2.25 (m, 3H), 1.75 – 1.63 (m, 1H). 13C ЯМР (101 МГц, CDCl₃): δ 166.7, 133.5, 132.1, 128.6, 127.1, 121.7 (dd), 52.8 (dd), 30 (t), 20.7 (d). 19F ЯМР (376 МГц, CDCl₃): δ –85.8 (d), –120.8 (d). LCMS (m/z): 212 (M+H⁺).

N-(3,3-Дифлуороциклобутил)бензамід (2d)

Вихід 88%. Речовина отримана у вигляді білих кристалів, т.пл.= 158-160С 1H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ 7.74 (d, J = 7.2 Гц, 2H), 7.59 (t, J = 7.4 Гц, 1H), 7.42 (t, J = 7.6 Гц, 2H), 6.63 (s, 1H), 4.51 – 4.38 (m, 1H), 3.12 – 2.98 (m, 2H), 2.66 – 2.50 (m, 2H). 13C ЯМР (126 МГц, CDCl₃): δ 167.6, 133.8, 132.1, 128.6, 127, 118.7 (dd), 43.1(t), 35.3 (dd). 19F ЯМР (376 МГц, CDCl₃): δ –85.5 (d, J = 198.7 Гц), –97.2 (d, J = 198.7 Гц). LCMS (m/z): 212 (M + H⁺).

N-Циклобутилбензамід (11d)

Вихід 92%. Речовина отримана у вигляді білих кристалів, т.пл.= 120-122С 1H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ 7.75 (d, J = 7.4 Гц, 2H), 7.44 (t, J = 7.4 Гц, 1H), 7.37 (t, J = 7.5 Гц, 2H), 6.48 (s, 1H), 4.54 (m, 1H), 2.43 – 2.31 (m, 2H), 2.02 – 1.91 (m, 2H), 1.83 – 1.65 (m, 2H). 13C ЯМР (126 МГц, CDCl₃): δ 166.6, 134.6, 131.5, 128.4, 127.1, 45.2, 31.2, 15.2. LCMS (m/z): 176 (M + H⁺).

N-(3,3-Дифлуороциклопентил)бензамід (4d)

Вихід 91%. Речовина отримана у вигляді білих кристалів, т.пл.= 126-128С 1H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.73 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.48 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.40 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 6.46 (s, 1H), 4.61 (m, 1H), 2.55 (m, 1H), 2.37 – 2.21 (m, 2H), 2.21 – 2.0 (m, 2H), 1.88 – 1.71 (m, 1H). 13C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 167.2, 134.1, 131.7, 131.1 (dd), 128.7, 127.0, 48.1 (t), 42.6 (t), 34.2 (t), 30.1 (t). 19F NMR (376 MHz, CDCl₃) δ –88.8 (d, J = 231 Hz), –92.7 (d, J = 231 Hz). LCMS (m/z): 226 (M + H⁺).

N-(2,2-Дифлуороциклопентил)бензамід (3d)

Вихід 80%. Речовина отримана у вигляді білих кристалів, т.пл.= 116-118С 1H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.80 (d, 2H), 7.52 (t, 1H), 7.46 (t, 2H), 6.35 (s, 1H), 4.71 – 4.61 (m, 1H), 2.39 – 2.30 (m, 1H), 2.26 – 2.14 (m, 2H), 1.90 – 1.78 (m, 2H), 1.62 (m, 1H). 13C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 167.4, 134.2, 131.8, 129.1 (dd), 128.7, 127.1, 54.7 (dd), 33.2 (t), 29.7 (d), 18.2 (dd). 19F NMR (470 MHz, CDCl₃) δ –104.5 (dd), –105.9 (dd). LCMS (m/z): 226 (M + H⁺).

N-Циклопентилбензамід (12d)

Вихід 93%. Речовина отримана у вигляді білих кристалів, т.пл.= 110-112С 1H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.73 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.45 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 7.38 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 6.21 (s, 1H), 4.36 (m, 1H), 2.04 (m, 2H), 1.75 – 1.56 (m, 4H), 1.54 – 1.41 (m, 2H). 13C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 167.2, 135.1, 131.2, 128.4, 126.8, 51.7, 33.2, 23.8. LCMS (m/z): 190 (M + H⁺).

N-(2,2-Дифлуороциклогексил)бензамід (5d)

Вихід 84%. Речовина отримана у вигляді білих кристалів, т.пл.= 124-126С 1H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.78 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 7.52 (t, J = 7.2 Hz, 1H), 7.45 (t, J = 7.42 Hz, 2H), 6.31 (s, 1H), 4.50 – 4.37 (m, 1H), 2.26 – 2.17 (m, 1H), 2.12 – 2.05 (m, 1H), 1.81 – 1.70 (m, 3H), 1.55 – 1.41 (m, 3H). 13C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 167.2, 134.2, 131.6, 128.8, 127.1, 122.1 (dd), 52.1 (t), 33.9 (dd), 30.5 (d), 23.7, 22.4 (d). 19F NMR (470 MHz, CDCl₃) δ –99.7, –100.2. LCMS (m/z): 240 (M + H⁺).

N-(3,3-Дифлуороциклогексил)бензамід (6d)

Вихід 76%. Речовина отримана у вигляді білих кристалів, т.пл.= 138-140С 1H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.77 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.52 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 7.43 (t, J

= 7.5 Hz, 2H), 6.42 (s, 1H), 4.46 – 4.35 (m, 1H), 2.1 (m, 1H), 2.0 – 1.84 (m, 4H), 1.81 – 1.67 (m, 2H), 1.61 – 1.55 (m, 1H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 166.8, 134.6, 131.7, 128.7, 127.1, 123.7 (t), 45.6 (t), 39.1 (t), 33.4 (t, J = 23.5 Hz), 30.3, 19.3 (t, J = 5.2 Hz). ¹⁹F NMR (470 MHz, CDCl₃) δ –91.2 (d), –92.7 (d). LCMS (m/z): 240 (M + H⁺).

N-(4,4-Дифлуороциклогексил)бензамід (7d)

Вихід 92%. Речовина отримана у вигляді білих кристалів, т.пл.= 177-179С. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.76 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.55 – 7.47 (m, 1H), 7.43 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 6.10 (d, J = 7.1 Hz, 1H), 4.19 – 3.97 (m, 1H), 2.24 – 2.01 (m, 4H), 1.99 – 1.82 (m, 2H), 1.72 – 1.54 (m, 2H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 167.1, 134.5, 131.6, 128.5, 127.2, 122.8 (dd, J = 242.8, 240.0 Hz), 46.7, 32.2 (t, J = 24.8 Hz), 28.8 (d, J = 9.2 Hz). ¹⁹F NMR (376 MHz, CDCl₃) δ –95.4 (d, J = 237.9 Hz), –101.8 (d, J = 237.9 Hz). LCMS (m/z): 240 (M + H⁺).

N-Циклогексилбензамід (13d)

Вихід 97%. Речовина отримана у вигляді білих кристалів, т.пл.= 149-152С. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 8.18 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.84 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.47 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 7.43 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 3.80 – 3.70 (m, 1H), 1.87 – 1.77 (m, 2H), 1.75 – 1.65 (m, 2H), 1.64 – 1.54 (m, 1H), 1.36 – 1.24 (m, 4H), 1.18 – 1.05 (m, 1H). ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-d₆) δ 165.2, 134.8, 130.8, 128, 127.4, 48.5, 32.2, 25.2, 25. LCMS (m/z): 204 (M + H⁺).

N-(2,2-Дифлуороциклогептил)бензамід (8d)

Вихід 71%. Речовина отримана у вигляді білих кристалів, т.пл.= 124-125С. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.64 (d, 2H), 7.48 (t, J = 7.2 Hz, 1H), 7.42 (t, J = 7.42 Hz, 2H), 6.50 (s, 1H), 4.58 – 4.32 (m, 1H), 2.12– 1.97 (m, 2H), 1.94 – 1.34 (m, 8H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 169.2, 137.2, 133.6, 124.5, 123.2, 120.1 (dd), 54.8 (t), 34.1 (dd), 30.8 (d), 29.6, 23.9, 21.4 (d). ¹⁹F NMR (470 MHz, CDCl₃) δ –90.8, – 108.8. LCMS (m/z): 254 (M + H⁺).

N-(3,3-Дифлуороциклогептил)бензамід (9d)

Вихід 79%. Речовина отримана у вигляді білих кристалів, т.пл.= 131-133С 1H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.75 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.51 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 7.46 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 6.40 (s, 1H), 4.33 – 4.25 (m, 1H), 2.54 – 2.38 (m, 1H), 2.35 – 1.91 (m, 3H), 1.91 – 1.47 (m, 5H). 13CNMR (126 MHz, CDCl₃) δ 164.8, 132.2, 130.1, 126.5, 122.2, 120.1 (t), 44.6 (t), 38.8 (t), 31.4 (t, J = 23.5 Hz), 30.5, 28.2, 19.3 (t, J = 5.2 Hz). 19F NMR (470 MHz, CDCl₃) δ –81.6 (d), –86.7 (d). LCMS (m/z): 254 (M + H⁺).

N-(4,4-Дифлуороциклогептил)бензамід (10d)

Вихід 84%. Речовина отримана у вигляді білих кристалів, т.пл.= 171-172С 1H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.70 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.47 (m, 1H), 7.44 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 6.01 (s, 1H), 4.32– 4.11 (m, 1H), 2.24 – 1.98 (m, 5H), 1.91 – 1.45 (m, 5H) 13C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 166.1, 132.5, 131.5, 126.1, 125.9, 121.1 (dd), 49.9, 31.5 (t), 28.9, 26.2. 19F NMR (376 MHz, CDCl₃) δ –83.8 (d), –87 (d). LCMS (m/z): 254 (M + H⁺).

N-Циклогептилбензамід (13d)

Вихід 92%. Речовина отримана у вигляді білих кристалів, т.пл.= 135-137С 1H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.72 (d, 2H), 7.50 – 7.24 (m, 3H), 6.05 (s, 2H), 4.1 (m, 1H), 2.03 – 1.95 (m, 2H), 1.83 – 1.45 (m, 10H). 13C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 160.2, 131.5, 130.1, 124, 122.4, 45.7, 34.1, 26.3, 25.4, 20.9. LCMS (m/z): 218(M + H⁺).

Загальна методика вимірювання logP та S_w

Досліджувана сполука (приблизно 3мг) змішувалась з 3мл деіонізованої води, і перемішувалась протягом 18 годин, щоб отримати насичений водний розчин. 1мл насиченого водного розчину відбирався і змішувався з 0.1мл н-октанолу протягом 18 годин для встановлення рівноваги. Після чого водний шар відділявся. Стандартний розчин готувався з 1-2мг досліджуваної сполуки та 1-2мл ДМСО (точні кількості розчинника і розчиненої речовини визначались в кожному випадку окремо під час приготування розчину і обчислювались точно концентрація стандартного розчину). Насичений водний розчин, розчин після змішування з октанолом і стандартно розчин аналізувались за допомогою LCMS

і визначалась інтегральна інтенсивність поглинання в хроматограмі та обчислювались концентрації до та після змішування з н-октанолом. Дані отримані шляхом усереднення трьох незалежних вимірювань.

Загальна методика визначення Cl_{int}

В ємність для інкубації (фінальний об'єм 600мкл) поміщались 2 μ M аналіту, 0,415мг/мл мікросоми людської печінки, і система регенерації NADPH(буферний розчин (50 mM, pH 7.4), $MgCl_2$ (10 mM), EDTA (1 mM), NADP⁺ (2 mM), глюкоза-6-фосфат·2H₂O (20 mM). Зразки інкубувалися протягом 40 хвилин, аліквоти 40 μ L були відібрані через 7, 15 ,25, 40 хв розведені 200 μ L ацетонітрилу та відцентрифуговані перед LCMS дослідженням. Побудовано графік Log інтегральної інтенсивності піків аналіту від часу інкубації, нахил ліній тренду був використаний для того щоб оцінити константу швидкості псевдо першого порядку внутрішнього кліренсу (Cl_{int}) Кожне значення було усередненим з двох незалежних вимірювань)

СПИСОК ПОСИЛАНЬ

1. David A. Price, Simon Gayton, Matthew D. Selby, Jens Ahman, Sarah Haycock-Lewandowski, Blanda L. Stammen and Andrew Warren Initial synthesis of UK-427,857 (Maraviroc) // *Tetrahedron Letters* – 2005, Vol. 46, P. 5005–5007.
2. Popovici-Muller J, Lemieux RM, Artin E, et al. Discovery of AG-120 (Ivosidenib): A First-in-Class Mutant IDH1 Inhibitor for the Treatment of IDH1 Mutant Cancers. *ACS Med Chem Lett.* 2018;9(4):300-305. Published 2018 Jan 19. doi:10.1021/acsmchemlett.7b00421
3. Dirk Elend , David Fengas & M. Jonathan Fray (2005): A Practical Synthesis of 3,3-Difluorocyclobutane Carboxylic Acid, *Synthetic Communications: An International Journal for Rapid Communication of Synthetic Organic Chemistry*, 35:5, 657-662
4. Kostiantyn P.Melnykov , Pavel S.Nosik, Bohdan B.Kurpil, Dmitriy A.Sibgatulin, Dmitriy M.Volochnyuk, Sergey V.Ryabukhin, Oleksandr O.Grygorenko, Synthesis of gem-difluorocyclopentane/hexane building blocks, *Journal of Fluorine Chemistry* <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfluchem.2017.04.012>
5. Chernykh, Anton V.; Melnykov, Kostiantyn P.; Tolmacheva, Nataliya A.; Kondratov, Ivan S.; Radchenko, Dmytro S.; Daniliuc, Constantin G.; Volochnyuk, Dmitriy M.; Ryabukhin, Sergey V.; Kuchkovska, Yuliya O.; Grygorenko, Oleksandr O. (2019). The Last of the gem-Difluorocycloalkanes: Synthesis and Characterization of 2,2-Difluorocyclobutyl-Substituted Building Blocks. *The Journal of Organic Chemistry*, (), acs.joc.9b00719–.doi:10.1021/acs.joc.9b00719
6. Herasymchuk, M., Melnykov, K.P., Yarmoliuk, D.V., Serhiichuk, D., Rotar, V., Pukhovoi, T., Kuchkovska, Y.O., Holovach, S., Volochnyuk, D.M., Ryabukhin, S.V. and Grygorenko, O.O. (2021), Last of the gem-Difluorocycloalkanes 2: Synthesis of Fluorinated Cycloheptane Building Blocks. *Eur. J. Org. Chem.* <https://doi.org/10.1002/ejoc.202001530>

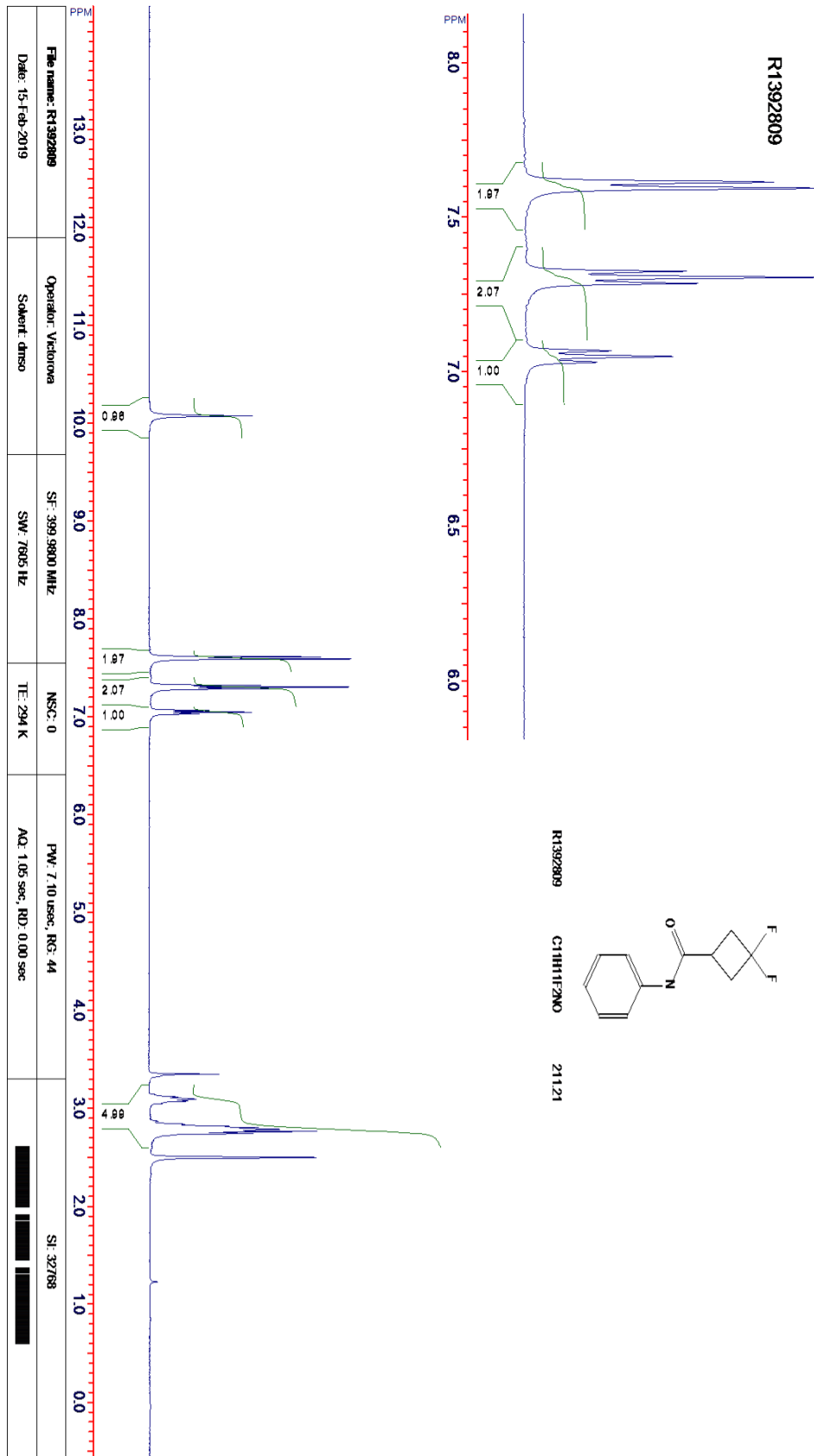
7. Inoue M, Sumii Y, Shibata N. Contribution of Organofluorine Compounds to Pharmaceuticals. *ACS Omega*. 2020;5(19):10633-10640. Published 2020 Apr 22. doi:10.1021/acsomega.0c00830
8. Huchet QA, Kuhn B, Wagner B, Kratochwil NA, Fischer H, Kansy M, Zimmerli D, Carreira EM, Müller K. Fluorination Patterning: A Study of Structural Motifs That Impact Physicochemical Properties of Relevance to Drug Discovery. *J Med Chem*. 2015 Nov 25;58(22):9041-60. doi: 10.1021/acs.jmedchem.5b01455. Epub 2015 Nov 17. PMID: 26523333.
9. Bruce E. Smart, Fluorine substituent effects (on bioactivity), *Journal of Fluorine Chemistry*, Volume 109, Issue 1, 2001, Pages 3-11,
10. Goss KU. The pKa values of PFOA and other highly fluorinated carboxylic acids. *Environ Sci Technol*. 2008 Jan 15;42(2):456-8. doi: 10.1021/es702192c. Erratum in: *Environ Sci Technol*. 2008 Jul 1;42(13):5032. PMID: 18284146.
11. Jasys, V. & Lombardo, Franco & Appleton, Troy & Bordner, Jon & Ziliox, Martine & Volkmann, Robert. (2000). Preparation of Fluoroadamantane Acids and Amines: Impact of Bridgehead Fluorine Substitution on the Solution- and Solid-State Properties of Functionalized Adamantanes. *Journal of The American Chemical Society - J AM CHEM SOC*. 122. 10.1021/ja992652x.
12. Linclau B, Wang Z, Compain G, Paumelle V, Fontenelle CQ, Wells N, Weymouth-Wilson A. Investigating the Influence of (Deoxy)fluorination on the Lipophilicity of Non-UV-Active Fluorinated Alkanols and Carbohydrates by a New log P Determination Method. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2016 Jan 11;55(2):674-8. doi: 10.1002/anie.201509460. Epub 2015 Nov 23. PMID: 26592706; PMCID: PMC4832822.
13. Andrés A, Rosés M, Ràfols C, Bosch E, Espinosa S, Segarra V, Huerta JM. Setup and validation of shake-flask procedures for the determination of partition coefficients (logD) from low drug amounts. *Eur J Pharm Sci*. 2015 Aug 30;76:181-91. doi: 10.1016/j.ejps.2015.05.008. Epub 2015 May 9. PMID: 25968358.

14. Klaus Müller, 2 - Fluorination patterns in small alkyl groups: their impact on properties relevant to drug discovery, Editor(s): Günter Haufe, Frédéric R. Leroux, In Progress in Fluorine Science, Fluorine in Life Sciences: Pharmaceuticals, Medicinal Diagnostics, and Agrochemicals, Academic Press, 2019, Pages 91-139,
15. Tomita R, Al-Maharik N, Rodil A, Bühl M, O'Hagan D. Synthesis of aryl α,α -difluoroethyl thioethers a novel structure motif in organic chemistry, and extending to aryl α,α -difluoro oxyethers. *Org Biomol Chem*. 2018 Feb 14;16(7):1113-1117. doi: 10.1039/c7ob02987j. PMID: 29359220.
16. Popovici-Muller J, Lemieux RM, Artin E, Saunders JO, Salituro FG, Travins J, Cianchetta G, Cai Z, Zhou D, Cui D, Chen P, Straley K, Tobin E, Wang F, David MD, Penard-Lacronique V, Quivoron C, Saada V, de Botton S, Gross S, Dang L, Yang H, Utley L, Chen Y, Kim H, Jin S, Gu Z, Yao G, Luo Z, Lv X, Fang C, Yan L, Olaharski A, Silverman L, Biller S, Su SM, Yen K. Discovery of AG-120 (Ivosidenib): A First-in-Class Mutant IDH1 Inhibitor for the Treatment of IDH1 Mutant Cancers. *ACS Med Chem Lett*. 2018 Jan 19;9(4):300-305. doi: 10.1021/acsmchemlett.7b00421. PMID: 29670690; PMCID: PMC5900343.
17. Cumming H, Rücker C. Octanol-Water Partition Coefficient Measurement by a Simple ^1H NMR Method. *ACS Omega*. 2017 Sep 28;2(9):6244-6249. doi: 10.1021/acsomega.7b01102. PMID: 31457869; PMCID: PMC6644330.
18. Landry ML, Crawford JJ. LogD Contributions of Substituents Commonly Used in Medicinal Chemistry. *ACS Med Chem Lett*. 2019 Dec 11;11(1):72-76. doi: 10.1021/acsmchemlett.9b00489. PMID: 31938466; PMCID: PMC6956358.
19. Tolls J, Bodo K, De Felip E, Dujardin R, Kim YH, Moeller-Jensen L, Mullee D, Nakajima A, Paschke A, Pawliczek JB, Schneider J, Tadeo JL, Tognucci AC, Webb J, Zwijzen AC. Slow-stirring method for determining the n-octanol/water partition coefficient (P_{ow}) for highly hydrophobic chemicals: performance evaluation in a ring test. *Environ Toxicol Chem*. 2003 May;22(5):1051-7. PMID: 12729214.

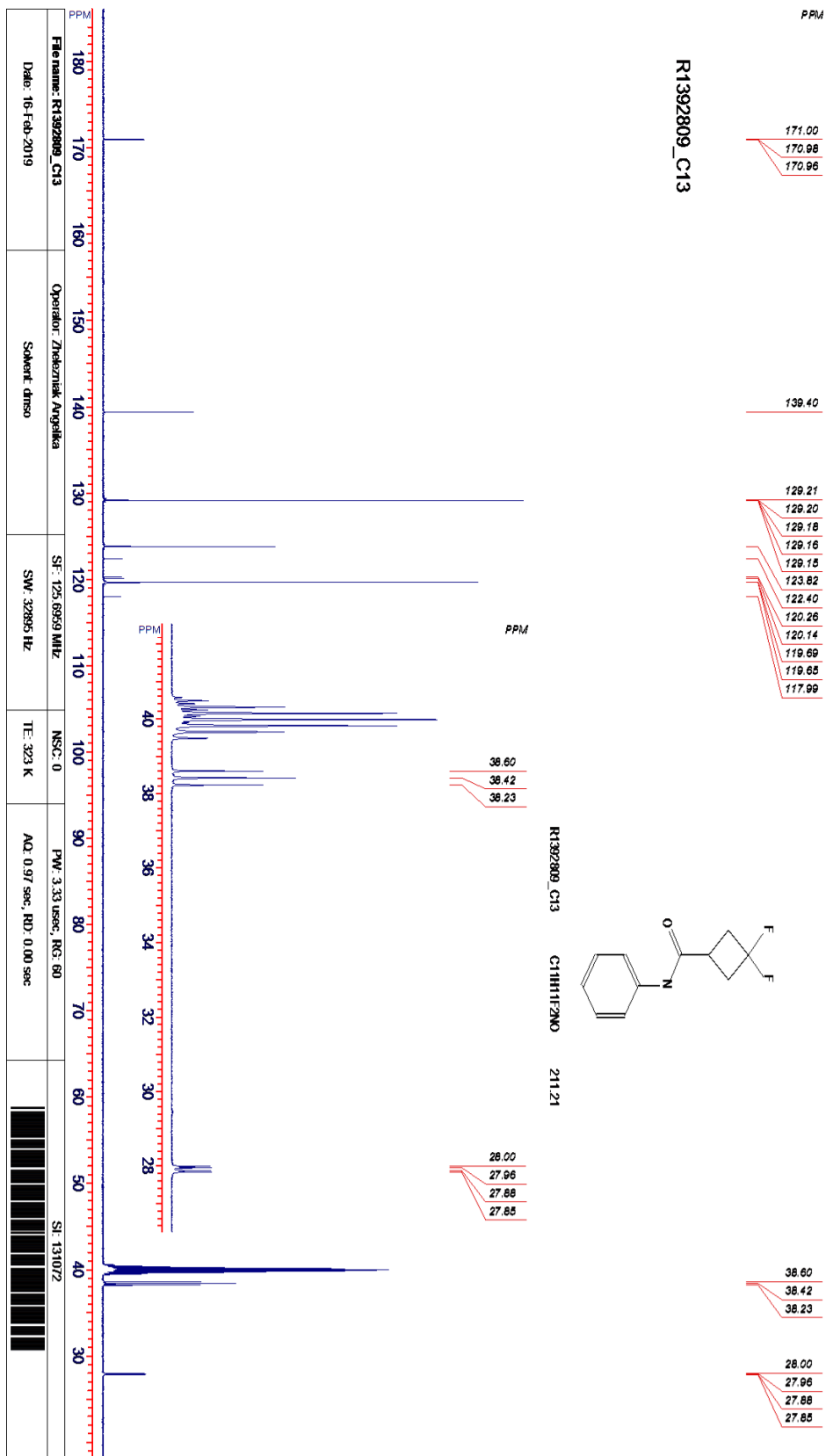
20. Valkó K. Application of high-performance liquid chromatography based measurements of lipophilicity to model biological distribution. *Journal of chromatography. A.* 2004 May;1037(1-2):299-310. DOI: 10.1016/j.chroma.2003.10.084.
21. Müller K, Faeh C, Diederich F. Fluorine in pharmaceuticals: looking beyond intuition. *Science.* 2007 Sep 28;317(5846):1881-6. doi: 10.1126/science.1131943. PMID: 17901324.

Додатки

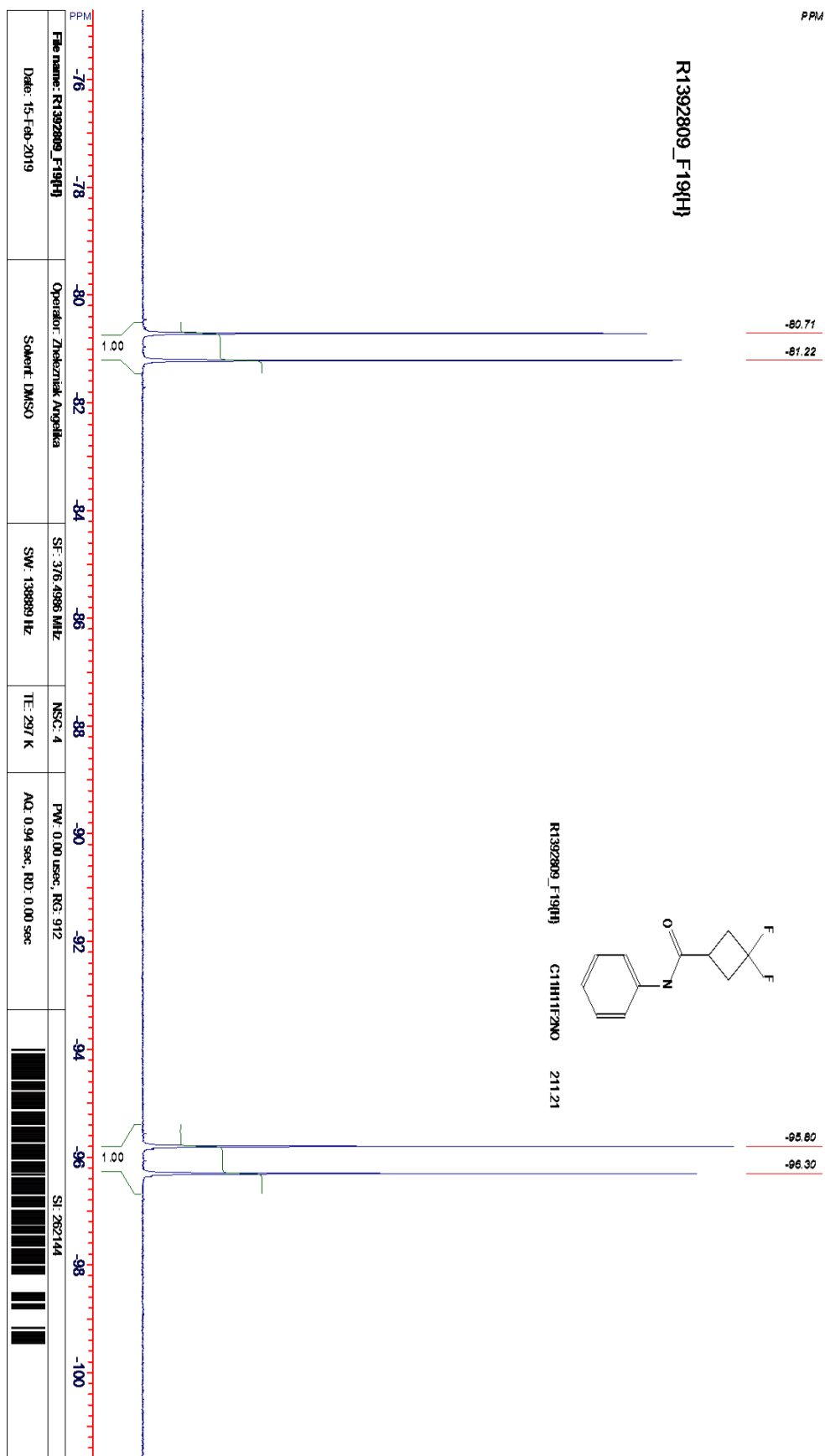
¹H ЯМР сполуки 2с



13C ЯМР сполуки 2c

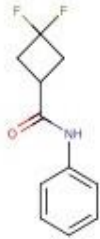


19F ЯМР сполуки 2с



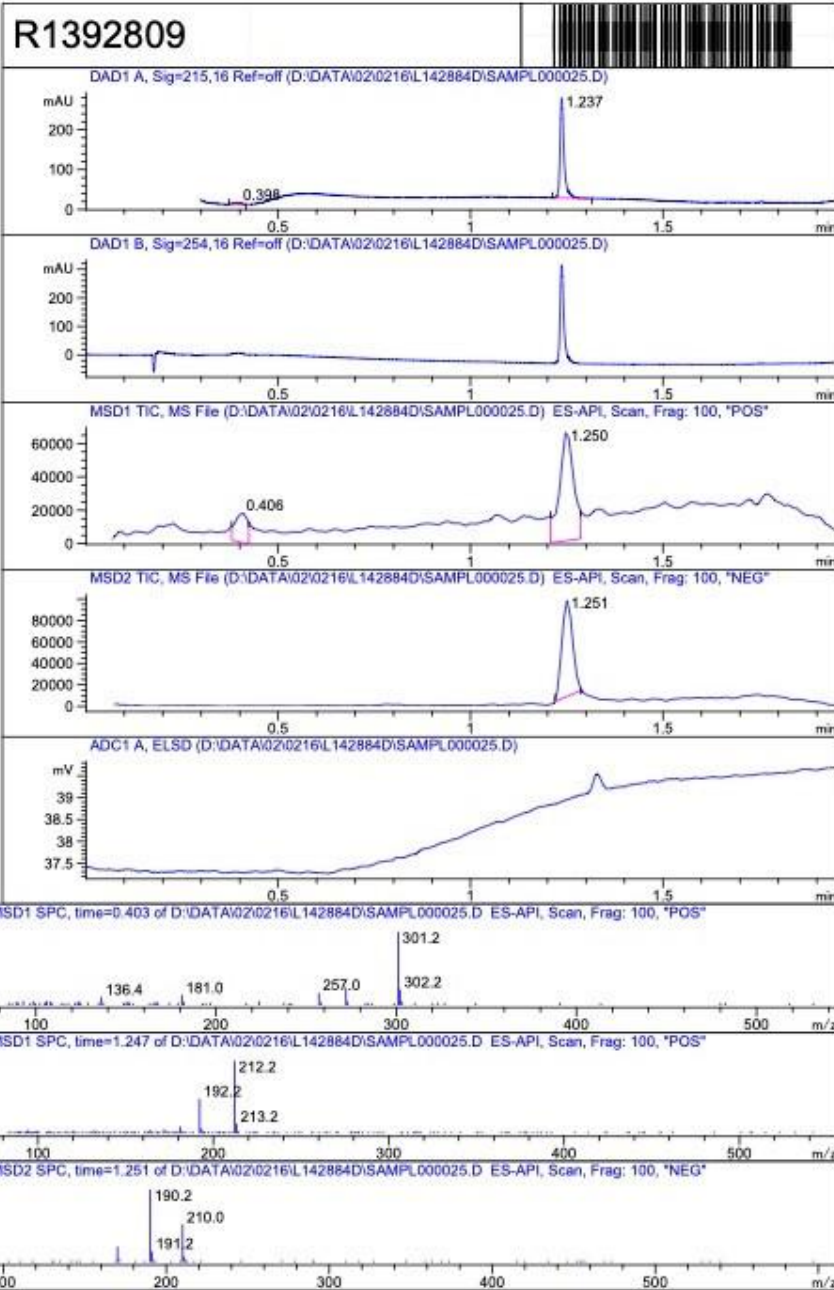
LCMS сполуки 2с

MaxPeak: 97.37%
Ret_Time: 1.237 min



Mol Wt 211.21
Exact Mass 211.1

#	Time	Area%
1	0.398	2.63
2	1.237	97.37



Inj.Date 2/15/2019

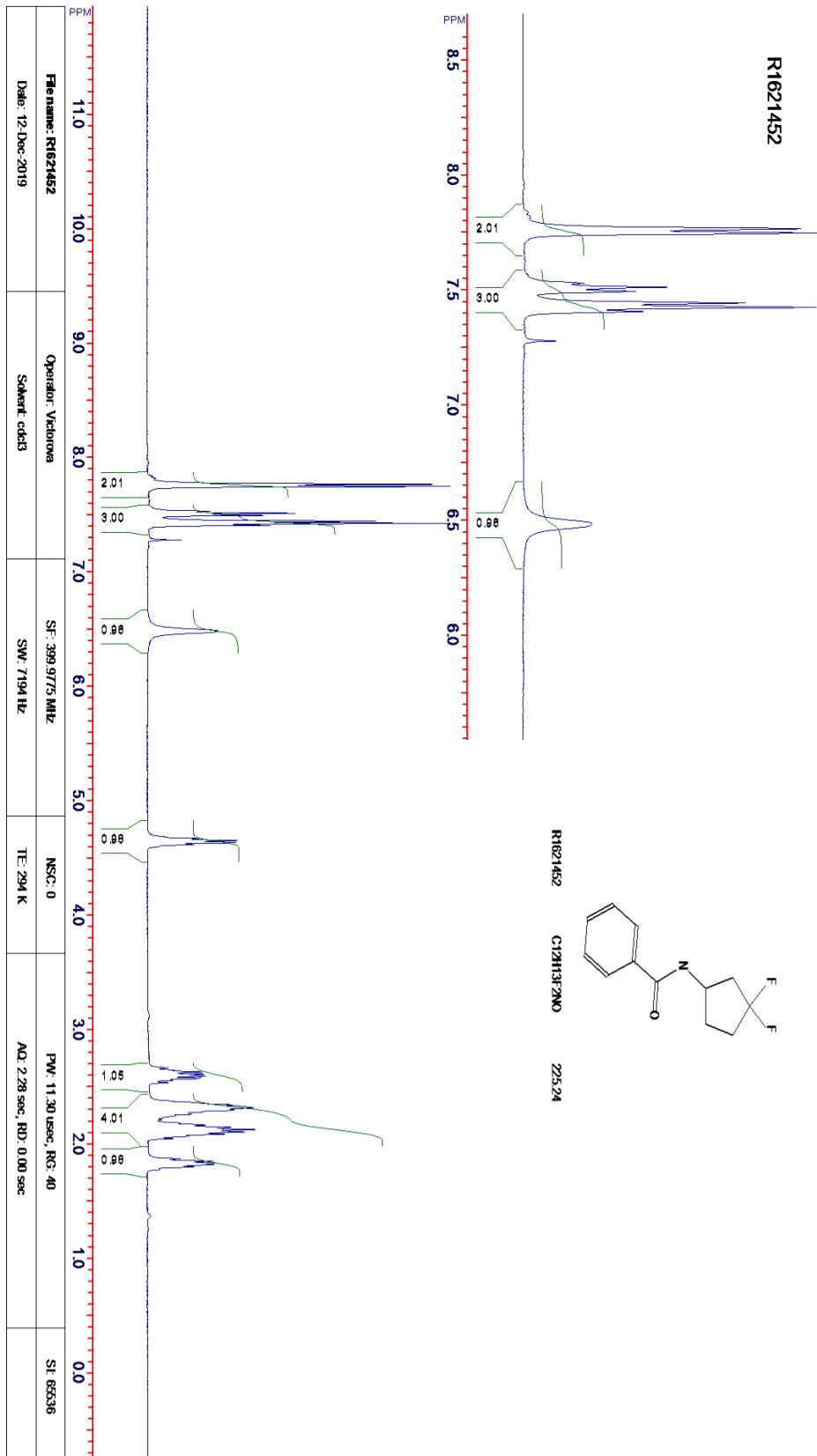
LB

P2-C-04

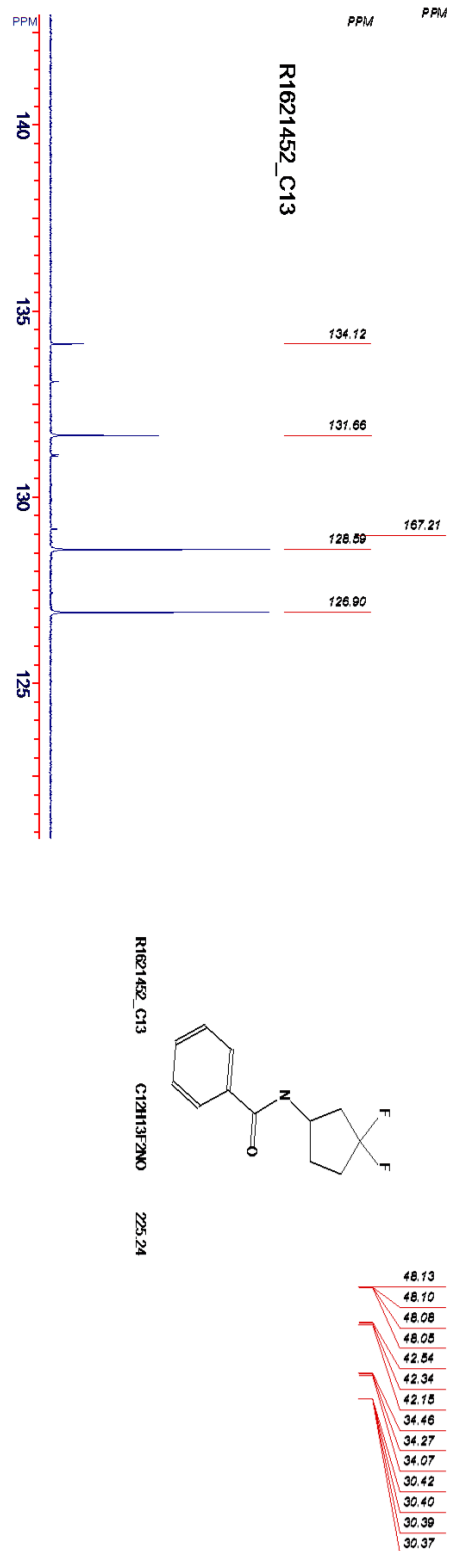
-5-

Acq. Method C:\CHEM32\ -> ->

1H ЯМР сполуки 4d

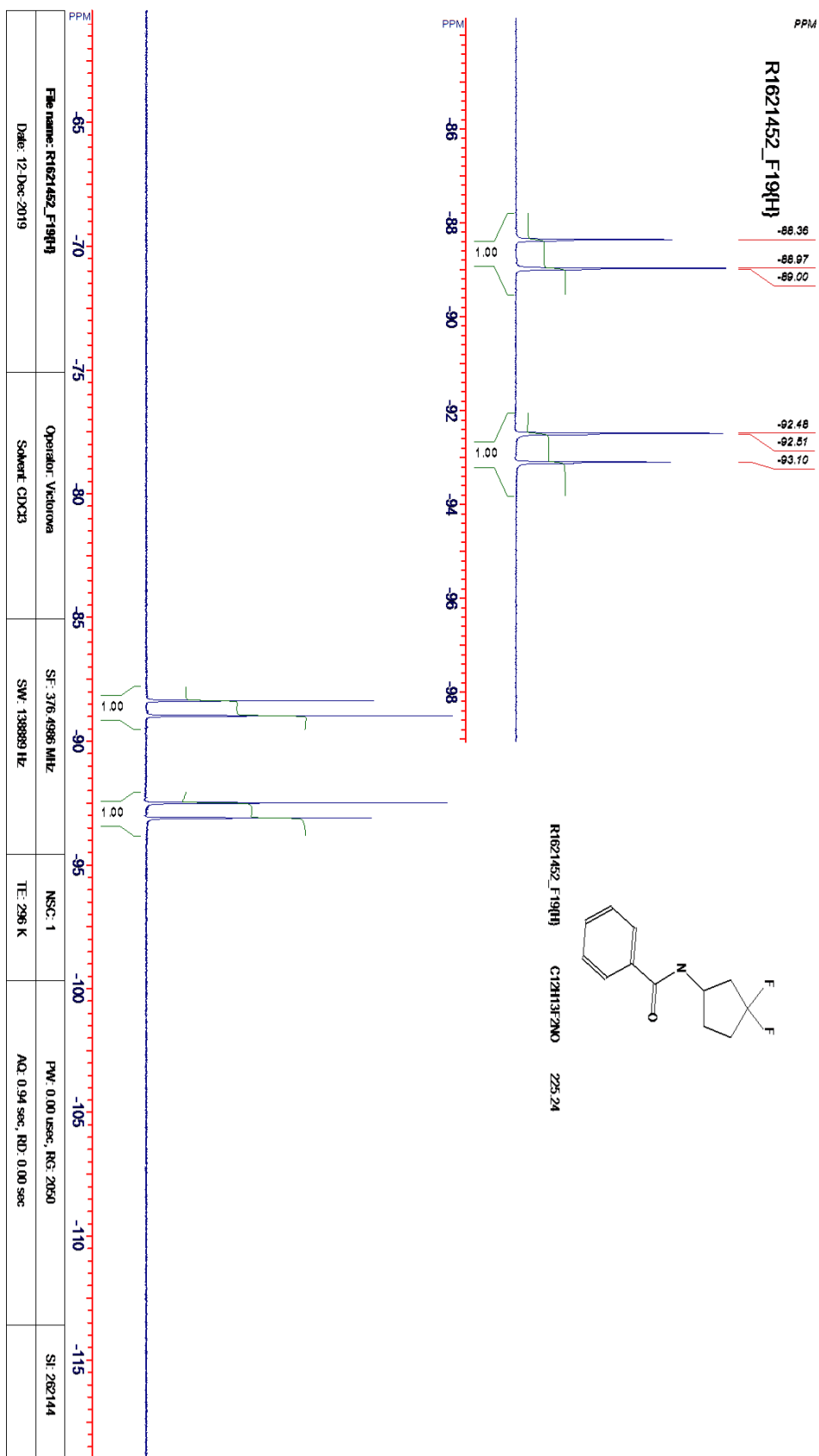


13C ЯМР сполуки 4d



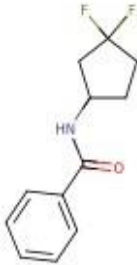
File name: R1621452_C13	Operator: Vasilova	SF: 125.6953 MHz	NSC: 0	PW: 3.33 usec. RG: 60	SI: 131072
Date: 12-Dec-2019	Solvent: cdcl3	SW: 32895 Hz	TE: 293 K	Acq: 0.97 sec. RD: 0.00 sec	

19F ЯМР сполуки 4d



LCMS сполуки 4d

MaxPeak: 100.00%
Ret_Time: 1.146 min



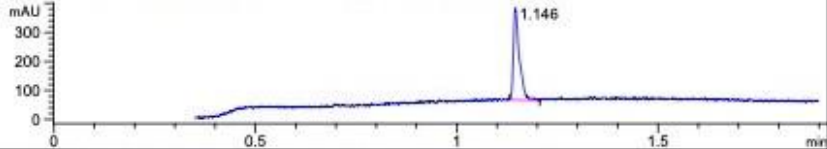
Mol Wt 225.24
Exact Mass 225.12

#	Time	Area%
1	1.146	100.00

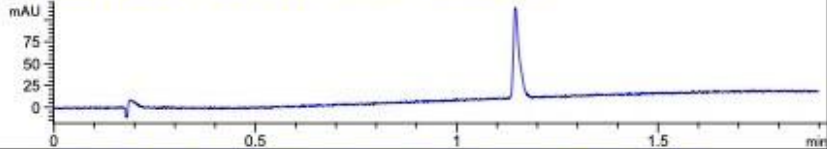
R1621452



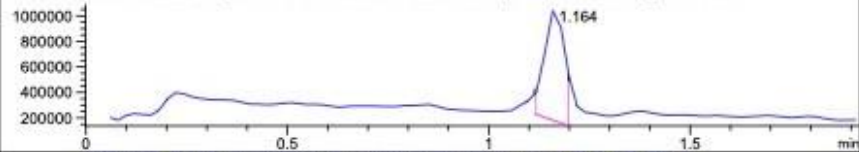
DAD1 A, Sig=215,10 Ref=off (D:\DATE\1214\1212743D\SAMPL037.D)



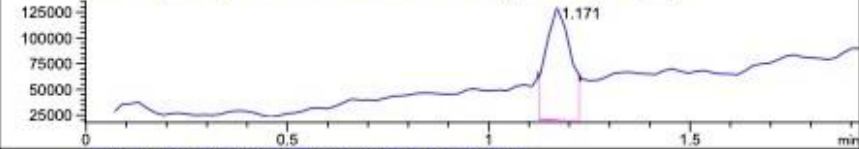
DAD1 B, Sig=254,10 Ref=off (D:\DATE\1214\1212743D\SAMPL037.D)



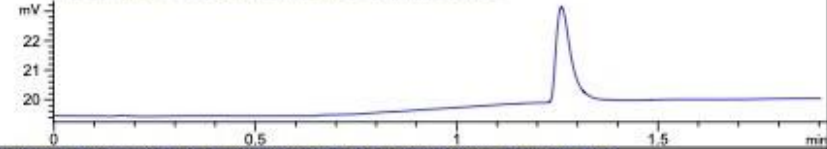
MSD1 TIC, MS File (D:\DATE\1214\1212743D\SAMPL037.D) API-ES, Scan, Frag: 120, "Pos"



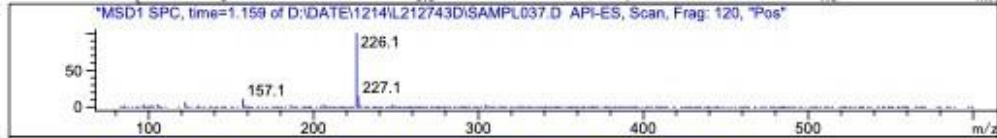
MSD2 TIC, MS File (D:\DATE\1214\1212743D\SAMPL037.D) , Scan, Frag: 120, "Neg"



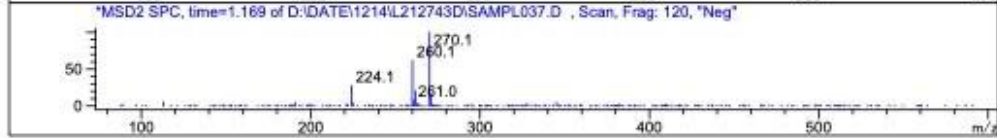
ADC1 A, ADC1 ELSD (D:\DATE\1214\1212743D\SAMPL037.D)



RT 1.164



RT 1.171



Inj.Date 12/14/2019

E

P2-E-02

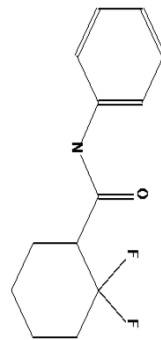
-VL-

Acq. Method C:\HPCHEM\-->

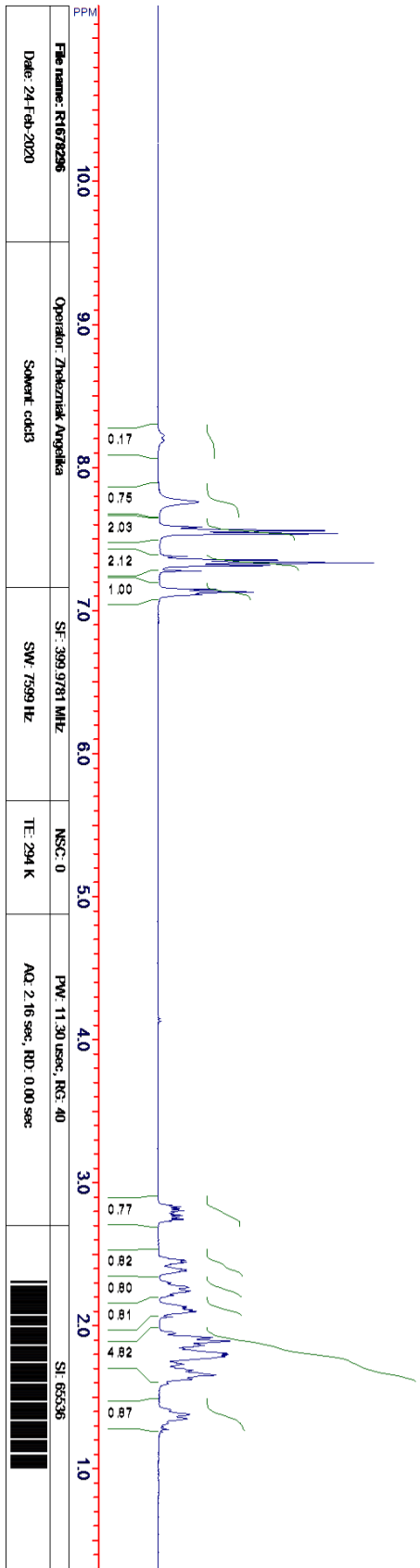
-->

1H ЯМР сполуки 5с

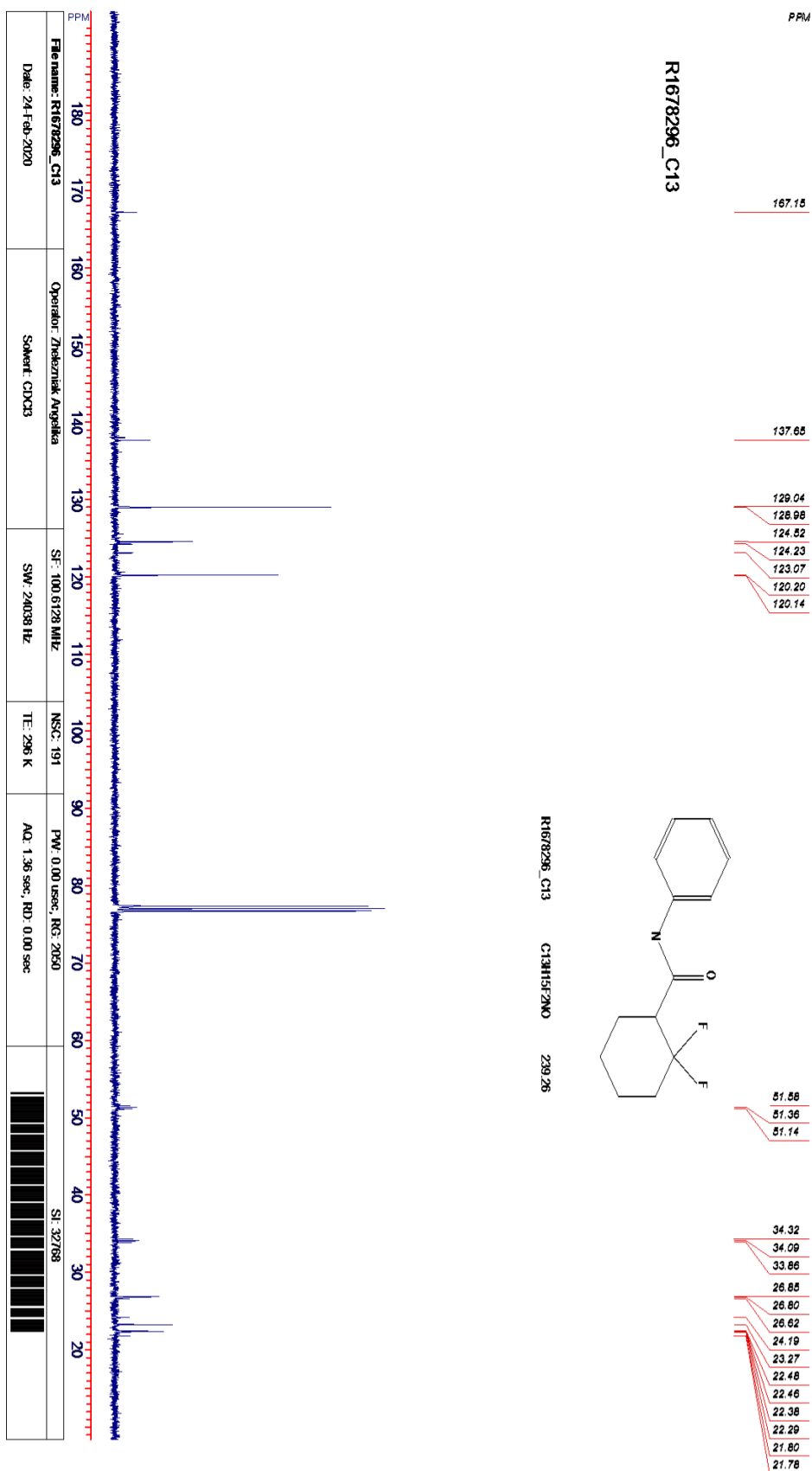
R1678296



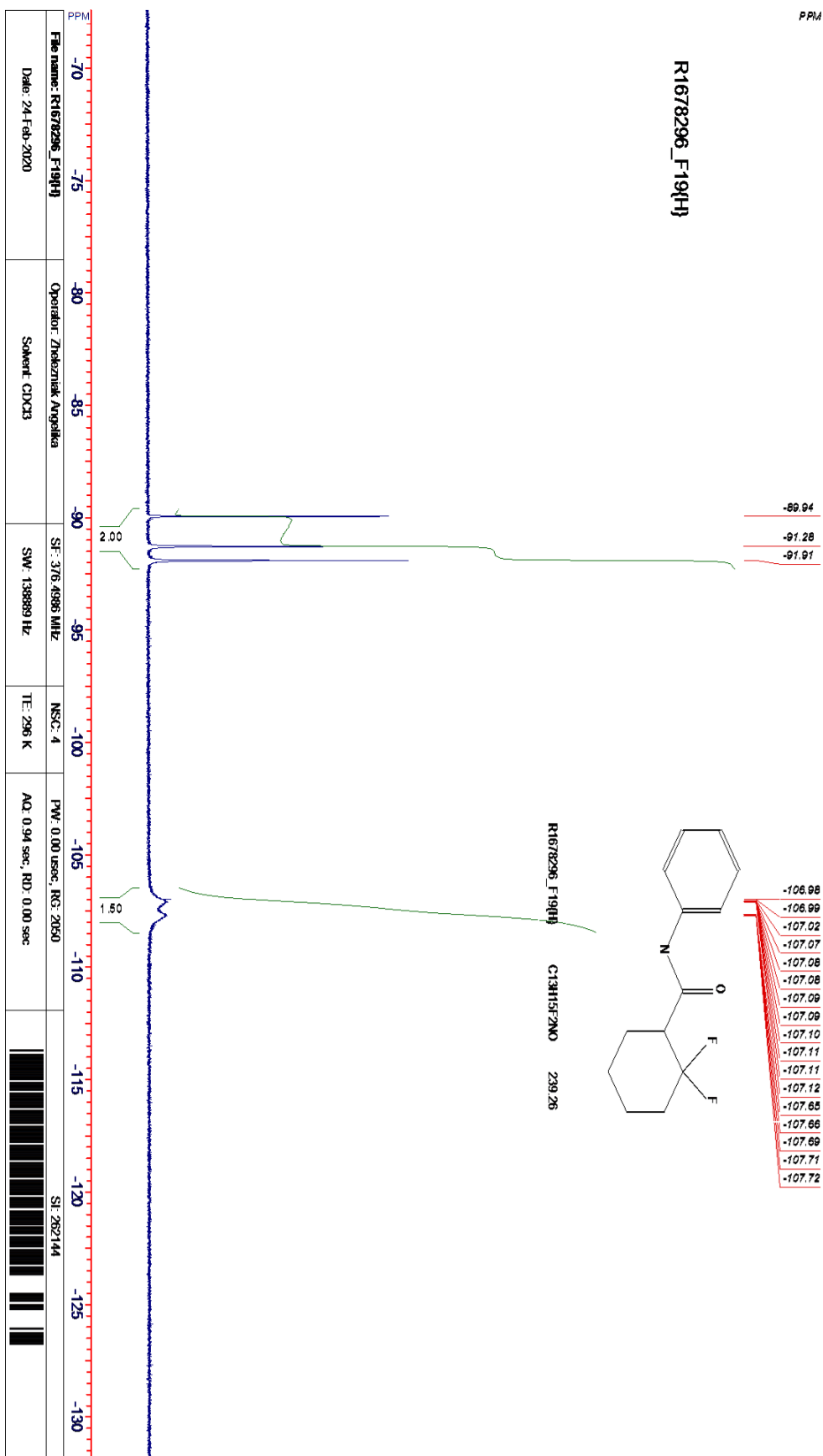
R1678296 C13H15F2NO 239.26



13C ЯМР сполуки 5c

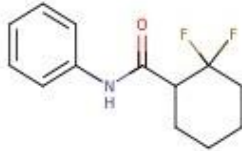


19F ЯМР сполуки 5с



LCMS сполуки 5c

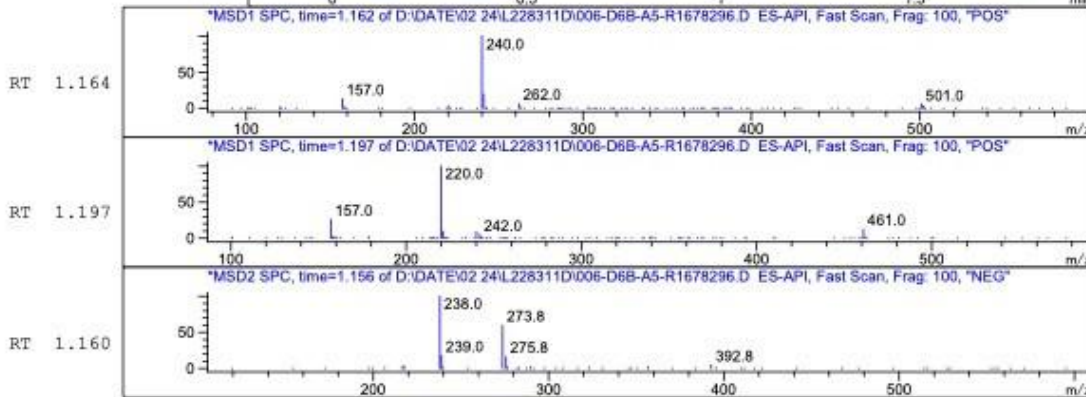
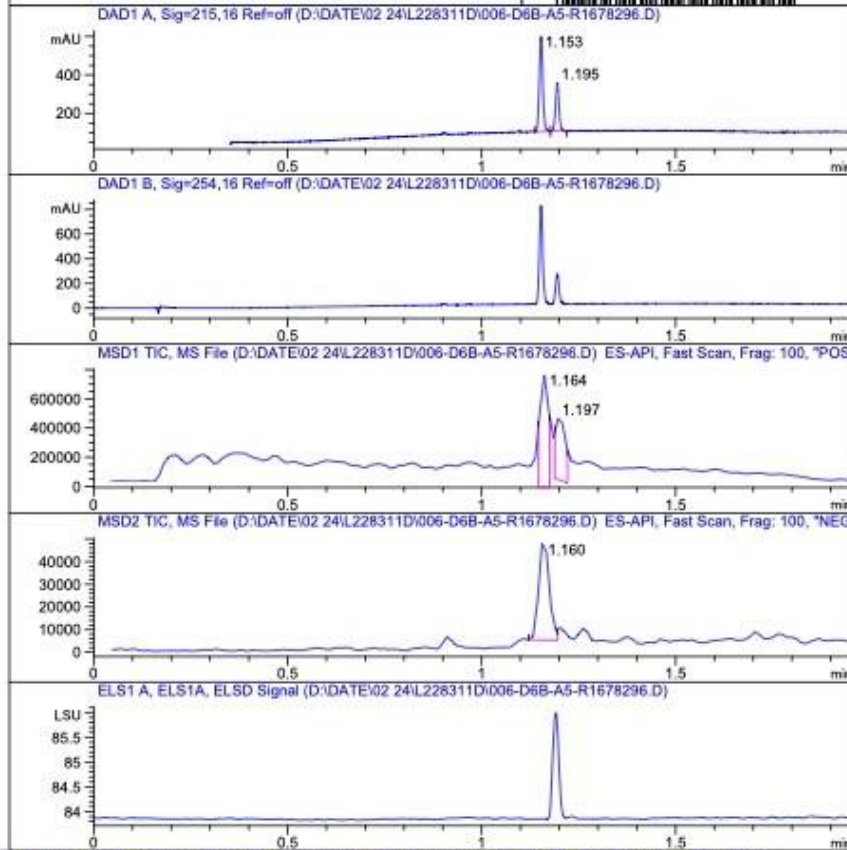
MaxPeak: 66.99%
Ret_Time: 1.153 min



Mol Wt 239.26
Exact Mass 239.14

#	Time	Area%
1	1.153	66.99
2	1.195	33.01

R1678296

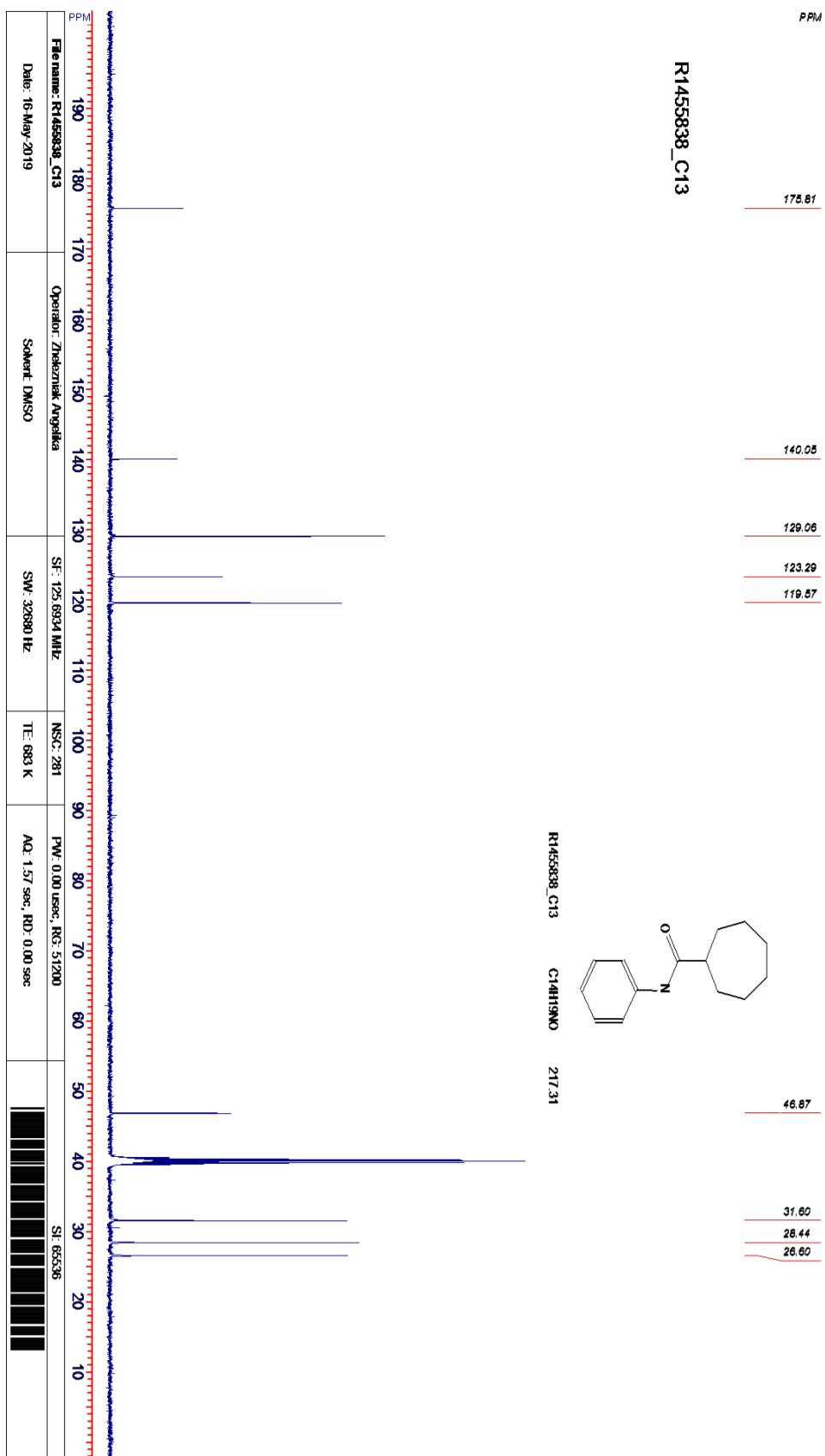


Inj.Date 2/24/2020

E

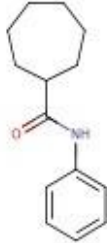
Acq. Method C:\Users\ -> ->

13C ЯМР сполуки 14с



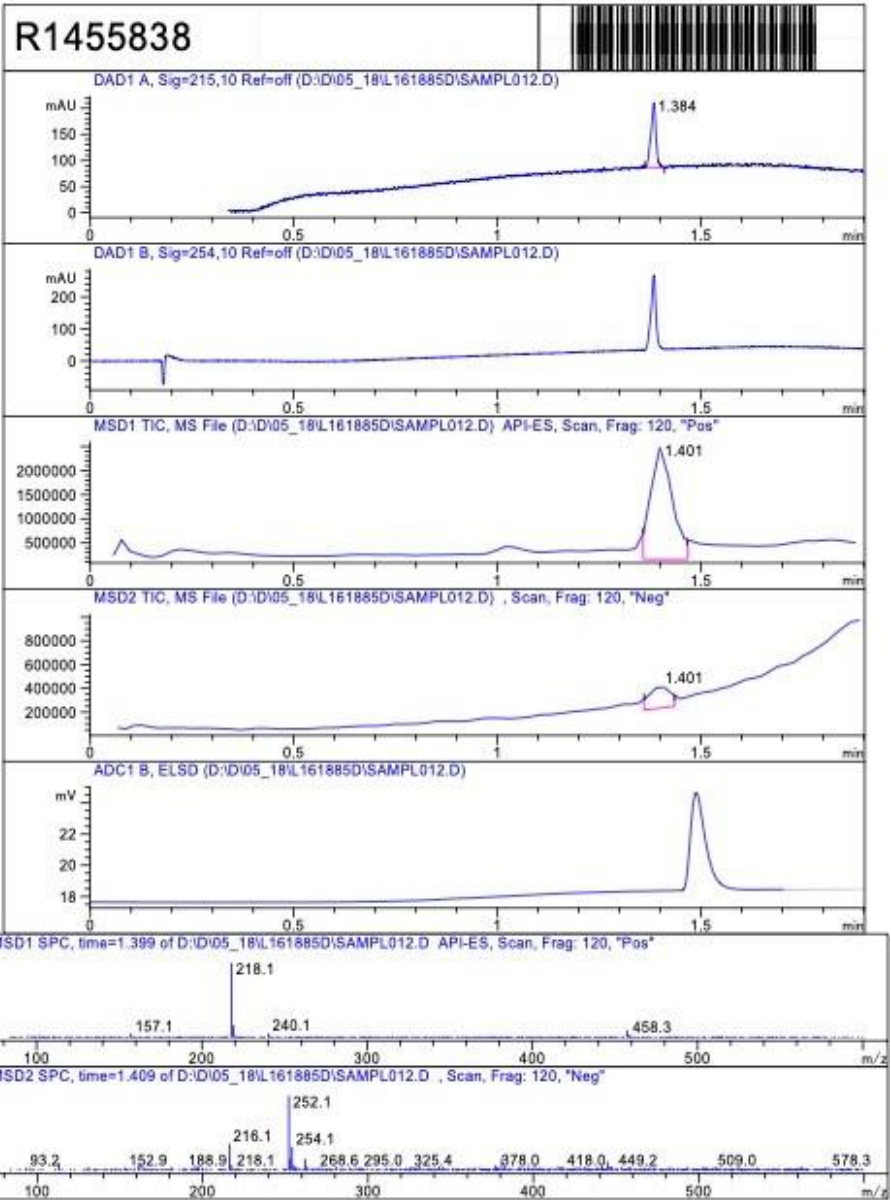
LCMS сполуки 14c

MaxPeak: 100.00%
Ret_Time: 1.384 min



Mol Wt 217.31
Exact Mass 217.18

#	Time	Area%
1	1.384	100.00



Inj.Date 5/18/2019

N

P2-B-03

-SL-

Acq. Method C:\HPCHEM\ ->

->