

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ БІООРГАНІЧНОЇ ХІМІЇ ТА НАФТОХІМІЇ**

КУЧЕР ОЛЕКСАНДР ВОЛОДИМИРОВИЧ

УДК 547.26+547.431.3+547.772+547.78

**ЕНАНТІОСЕЛЕКТИВНЕ ЕНЗИМАТИЧНЕ РОЗДІЛЕННЯ
1-ЦИКЛОАЛКІЛ(АРИЛ, ГЕТАРИЛ)ЕТАНОЛІВ**

02.00.10 – біоорганічна хімія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата хімічних наук

Київ – 2016

Дисертацією є рукопис

Робота виконана у відділі хімії білків та пептидів Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України

Науковий керівник доктор хімічних наук,
старший науковий співробітник
Смолій Олег Борисович
Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії
НАН України, м. Київ,
завідувач відділу хімії білків та пептидів

Офіційні опоненти доктор хімічних наук,
старший науковий співробітник
Дубей Ігор Ярославович
Інститут молекулярної біології і генетики
НАН України, м.Київ,
завідувач відділу синтетичних біорегуляторів

доктор хімічних наук,
старший науковий співробітник
Ковтун Юрій Петрович
Інститут органічної хімії
НАН України, м.Київ,
старший науковий співробітник
відділу кольору та будови органічних сполук

Захист відбудеться _____ 2016 р. о ___ год. на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.220.01 в Інституті біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України (02660, Київ-94, вул. Мурманська, 1).

З дисертацією можна ознайомитися у науковій бібліотеці Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України за адресою: 02660, Київ-94, вул. Мурманська, 1.

Автореферат розіслано 29 серпня 2016 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради Д 26.220.01,
кандидат хімічних наук

В. О. Євдокименко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Характерною ознакою природних біомолекул, котрі відіграють важливу роль в процесах життєдіяльності, є наявність фрагменту хірального вторинного спирту. Такі молекули, як ДНК, РНК, а також вуглеводи та стероїди, представлені лише одним з можливих стереоізомерів. Крім того, більшість низькомолекулярних сполук, котрі є будівельними блоками макромолекул, зустрічаються в природі в енантімерно чистому вигляді. Однак синтез таких біоактивних сполук, зокрема вторинних спиртів, вимагає вирішення складного завдання – формування хірального центру заданої конфігурації. Одним із перспективних методів отримання енантіомерів є кінетичне ензиматичне розділення. Можливість виділення двох оптично активних антиподів є ключовою перевагою проти відомих інших методів, що, переважно, націлені на синтез одного з можливих стереоізомерів.

Незважаючи на досягнення в застосуванні біохімічного каталізу для розділення широкого кола хіральних сполук, отримання вторинних спиртів гетероциклічного ряду в енантімерно чистому вигляді потребує детального вивчення.

Отже, розробка препаративних методів розділення рацемічних похідних 1-гетарилетанолів є актуальною проблемою біоорганічної хімії.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконувалась в рамках бюджетної тематики відділу хімії білків та пептидів Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України 2009-2012 рр. № 2.1.10.14-09 “Інгібітори ферментів: синтез та біологічна активність похідних аналогів аденозину та псевдопептидів” (№ держреєстрації 0109U002338) та 2013-2016 рр. № 2.1.10.14-13 “Інгібітори ферментів: синтез та біологічна активність конденсованих гетероциклічних систем з ядром піримідину” (№ держреєстрації 0113U003094).

Мета та завдання дослідження. Основна мета роботи полягала в розробці препаративного методу розділення рацемічних сумішей

1-циклоалкіл(арил, гетарил)етанолів за допомогою ензиматичного каталізу. Для досягнення цієї мети необхідно було розв'язати наступні завдання:

1) розробити зручний метод розділення 1-циклопропіл- та 1-циклобутилетанолів за допомогою ензимів *Burkholderia cepacia lipase* та *Candida antarctica lipase B*;

2) дослідити вплив стеричних факторів на селективність ензиматичного розділення 1-арилетанолів на прикладах хроман-4-олу та його структурних аналогів;

3) знайти ефективний підхід до отримання енантімерно чистих 1-гетарилетанолів та виявити вплив природи гетероатома та його розташування на перебіг біокаталітичного процесу;

4) синтезувати ряд 2,2,2-трифторо-1-гетарилетанолів та розробити зручний спосіб розділення їх рацемічних сумішей на оптичні антиподи.

Об'єкт дослідження – похідні 1-циклоалкіл(арил, гетарил)етанолів.

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

Методи дослідження – органічний синтез, ІЧ та ЯМР-спектроскопія, хромато-мас спектрометрія, рентгеноструктурний аналіз, хіральна високоефективна рідинна хроматографія.

Наукова новизна одержаних результатів. В результаті експериментальних досліджень застосування методу ензиматичного розділення дозволило отримати оптично чисті 1-циклопропіл- та 1-циклобутилетаноли. З'ясовано вплив розміру аліциклічного замісника на селективність процесу. Розроблено метод розділення похідних хроман-4-олу та його структурних аналогів з високими енантімерними надлишками ($ee \geq 95\%$). Показано специфічну залежність селективності перетворення від природи гетероциклічного ядра. Отримано нові оптично чисті 2,2,2-трифторо-1-гетарилетаноли. Вперше застосовано метод хіральної сольватації в присутності цинхонідину для визначення енантімерної чистоти трифторометилгетарилкарбінолів.

Практичне значення одержаних результатів полягає в розробці препаративного методу розділення рацемічних 1-циклоалкіл(арил, гетарил)етанолів у присутності ензимів *Burkholderia cepacia lipase* та *Candida antarctica lipase B*. Одержані оптично чисті сполуки є важливими хіральними синтетичними блоками для отримання біологічно активних речовин. Енантіомерно чисті 1-циклоалкіл(арил, гетарил)етаноли можуть бути використані як основа для новітніх функціональних матеріалів, а також як міметики карбоксильної групи.

Особистий внесок здобувача. Препаративна частина роботи, аналіз спектральних досліджень та встановлення будови більшості синтезованих сполук зроблено особисто дисертантом. Рентгеноструктурні дослідження двох складних сполук виконані разом з к.х.н. С.В. Шишкіною (Інститут монокристалів НАН України, м. Харків). Молекулярний докінг синтезованих сполук проведений к.х.н. Ю.С. Морозом (Науково-навчальний хіміко-біологічний центр Київського національного університету імені Тараса Шевченка).

Апробація результатів дисертації. Результати дисертаційної роботи були представлені на Міжнародному симпозіумі “ Intracellular Signaling and Bioactive Molecules Design” (Львів, 2012р.), XXIII Українській конференції з органічної хімії (Чернівці, 2013р.) та Науково-практичній конференції “Биологически активные вещества: фундаментальные и прикладные вопросы получения и применения” (Новий Світ, Крим, 2013 р.)

Публікації. За матеріалами роботи опубліковано 5 статей та тези 3 доповідей на наукових конференціях.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, п'яти розділів, висновків та списку літературних джерел, що включає 210 найменувань. У першому розділі зроблено детальний огляд літератури щодо методів отримання оптично активних вторинних спиртів. В наступних чотирьох розділах розглянуті власні експериментальні дослідження.

Дисертаційна робота викладена на 131 сторінці друкованого тексту і містить 26 схем, 26 рисунків та 25 таблиць.

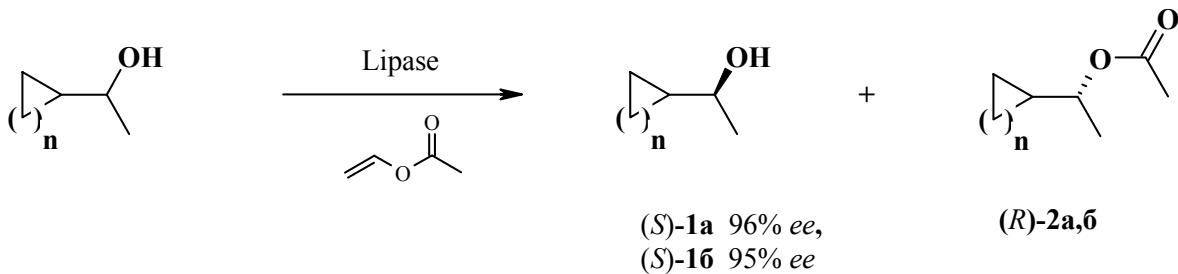
ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

1. Ензиматичне розділення 1-циклоалкілетанолів

Кінетичне ензиматичне розділення дозволяє отримати з рацемату спирту (аміну, карбонової кислоти тощо) обидва стереоізомери з високими енантіомерними надлишками. 1-Циклоалкілетаноли – найпростіші представники сполук з циклоалкільним фрагментом поруч з асиметричним атомом Карбону. Вони є синтетичними еквівалентами для хірального синтону, присутність якого в молекулі зумовлює біологічну активність широкого кола речовин.

Нами був розроблений зручний енантіоселективний метод розділення рацемічних 1-циклоалкілетанолів на оптичні антиподи з $ee \geq 95\%$ як для (*S*)-, так і для (*R*)-енантіомерів шляхом ацилювання спиртів в присутності ліпаз та ензиматичного гідролізу. Основою для отримання оптично активних 1-циклоалкілкарбінолів є реакція ензиматичного ацилювання доступних рацемічних спиртів вінілацетатом в присутності ліпази (схема 1).

Схема 1



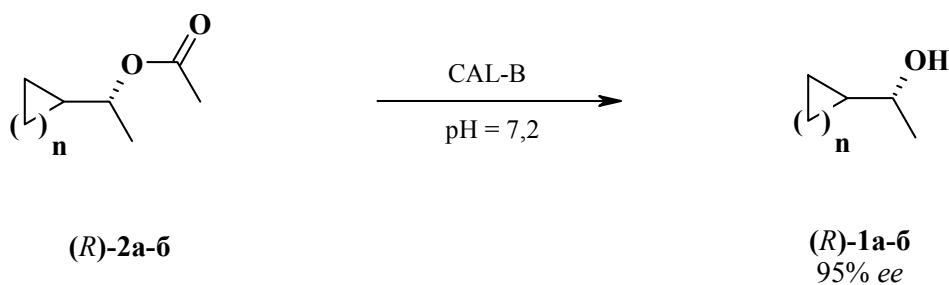
1a, 2a (n = 1); 1b, 2b (n = 2).

Для розділення вторинних спиртів нами було використано ацилази *Burkholderia cepacia lipase* (BCL) та *Candida antarctica lipase B* (CAL-B), котрі знаходять застосування в ензиматичному розділенні як біокаталізатори. Абсолютні конфігурації спиртів визначалися за правилом Казлаускаса. Проведення реакції зі сполукою **1a** в присутності BCL дозволило отримати ізомер (*S*)-**1a** з $ee = 96\%$ при конверсії 67%. Використання CAL-B в ідентичних умовах приводило до майже повного ацилювання рацемату, що свідчить про відсутність селективності. Саме тому для одержання оптично

активних спиртів (*S*)-**1a,б** використовувалася ліпаза BCL. Контроль селективності реакції здійснювався за допомогою дериватизаційного методу Мошера шляхом аналізу ЯМР ^1H та ^{19}F спектрів відповідних естерів. Після завершення ацилювання спирти (*S*)-**1a** і (*S*)-**1б** були відділені від ацетатів (*R*)-**2a,б** хроматографією на колонці. В результаті було отримано енантіомери (*S*)-**1a** і (*S*)-**1б** з *ee* 96% та 95% відповідно.

Для отримання оптично активних спиртів (*R*)-конфігурації енантіомерно збагачені ацетати (*R*)-**2a,б** вводили в реакцію ензиматичного гідролізу. Експериментальним шляхом було знайдено, що гідроліз (*R*)-**2a** в присутності CAL-B за 16 год проходить на 50%, в той час як з трикратним надлишком ліпази BCL конверсія за добу становить лише 4%. Саме тому для отримання (*R*)-**1б** було використано CAL-B (схема 2).

Схема 2



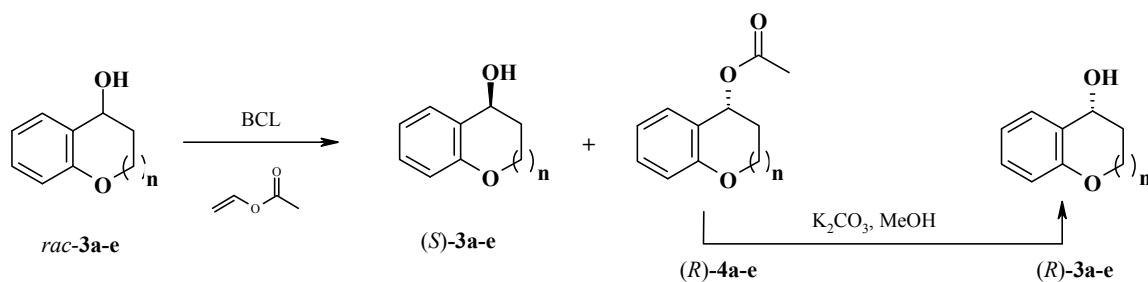
1a, 2a (n = 1); 1б, 2б (n = 2).

При гідролізі ацетатів для підвищення виходу спиртів конверсія доводилася до значення, близького до теоретичного вмісту цільового енантіомеру в збагаченій суміші. Висока селективність процесу гідролізу дозволила отримати оптично активні спирти з *ee* = 95%.

2. Ензиматичне розділення хроман-4-олу та його структурних аналогів

Наступним етапом нашої роботи було кінетичне ензиматичне розділення хроман-4-олів – бензанельованих аліциклічних спиртів, структурних аналогів 1-фенілетанолу. Розроблена методологія (див. розділ 1) дозволила суттєво покращити енантіоселективність розділення хроман-4-олу і досягти *ee* $\geq 94\%$ для обох енантіомерів (схема 3).

Схема 3



а: n = 1, X = O; б: n = 2, X = O; в: n = 1, X = S; г: n = 2, X = S; д: n = 1, X = SO₂; е: n = 2, X = SO₂.

Використання *трет*-бутилметилового етеру (ТБМЕ) як розчинника дозволило досягти конверсії 50% після 14 год проходження реакції при кімнатній температурі. Утворену суміш спирту *(S)*-3a та естеру *(R)*-4a розділяли шляхом колонкової хроматографії. Гідроліз ізомеру *(R)*-4a з карбонатом калію в метанолі приводив до утворення спирту *(R)*-3a. Аналіз ЯМР ¹⁹F спектрів естерів кислоти Мошера продемонстрував високі *ee* для *(S)*-3a та *(R)*-3a (табл.1).

Таблиця 1.

Параметри ензиматичного розділення хроман-4-олу та його похідних 3a-e в присутності BCL

Сполука	X	n	t, °C	Час реакції (год)	BCL (мас. %)	<i>(S)</i> -спирт		<i>(R)</i> -спирт	
						Вихід, %	<i>ee</i> , %	Вихід, %	<i>ee</i> , %
3a	O	1	23	14	1/10	47	94	43	95
3б	O	2	23	14	1/10	48	99	43	99
3в	S	1	23	14	1/10	47	95	40	95
3г	S	2	40	50	1/3	41	85	35	85
3д	SO ₂	1	40	14	1/10	40	95	34	94
3е	SO ₂	2	50	72	2/3	45	99	35	90

Для подальших досліджень нами був використаний субстрат з більшим розміром аліциклу **3б**. Застосування ідентичних умов розділення дозволило одержати обидва енантиомери відповідного гомохроманолу з *ee* ≥ 99%.

Вивчення впливу природи гетероатома на селективність було продемонстровано на прикладі тіохроман-4-олу **3в**. Знайдені нами умови привели до утворення енантіомерів (*S*)-**3в** та (*R*)-**3в** з $ee = 95\%$.

На прикладі розділення рацемічного гомотіохроманолу **3г** в присутності BCL спостерігалася значно нижча ефективність ліпази порівняно з попередніми сполуками. Цільові енантіомери (*S*)-**3г** та (*R*)-**3г** вдалося отримати лише з $ee = 85\%$. Щоб підвищити оптичну чистоту отриманих сполук, спирт (*S*)-**3г** повторно був введений в реакцію ацилювання у присутності BCL. В результаті цільовий (*S*)-енантіомер був отриманий з $ee = 99\%$. Ацетильований ізомер (*R*)-**4г** був ензиматично гідролізований в суміші ТБМЕ і фосфатного буферу. При конверсії 26% спирт (*R*)-**3г** отримано з $ee = 95\%$.

Рацемічні сульфони **3д** та **3е** були введені в реакцію ензиматичного розділення в жорстких умовах (50 °C, 4 дні) (див. табл.1). У випадку сполуки **3д** оптичні ізомери (*S*)-**3д** та (*R*)-**3д** вдалося отримати з $ee \geq 94\%$. Обидва енантіомери **3е** були синтезовані з $ee \geq 90\%$.

3. Ензиматичне розділення 1-гетарилетанолів

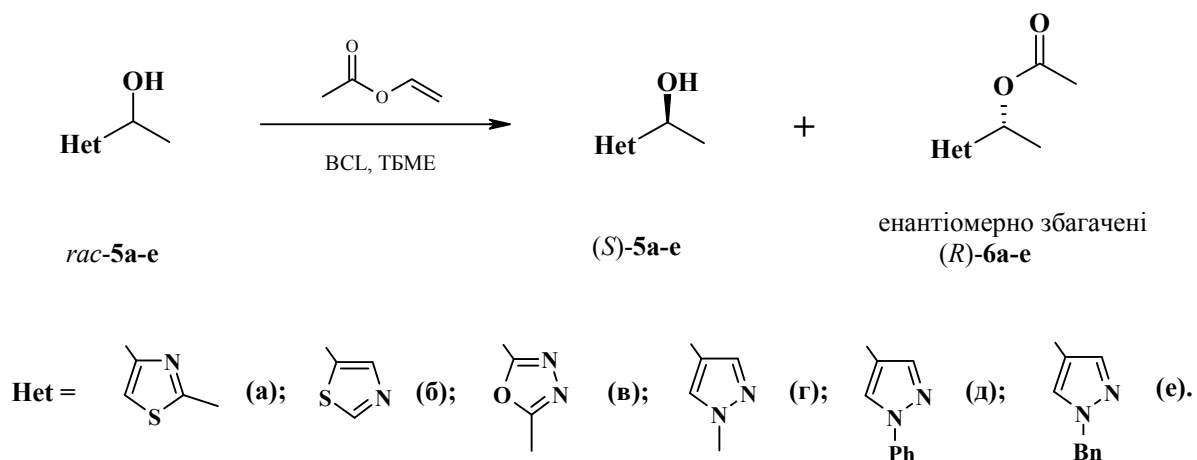
Хіральні ароматичні вторинні спирти, що містять у своєму складі гетероцикл, є структурними фрагментами важливих комерційних медичних препаратів та багатьох природних сполук.

Нами розроблений зручний метод отримання 1-гетарилетанолів шляхом ензиматичного розділення в присутності ліпаз *Burkholderia ceracia lipase* та *Candida antarctica lipase B*. Об'єктами для досліджень було вибрано 1-азолілетаноли **5а-е**, що відрізняються один від одного як розташуванням гетероатома відносно хірального центру, так і наявністю замісників у ароматичному кільці.

Для ензиматичного ацилювання 1-гетарилетанолів **5а-е** була використана BCL (схема 4). Реакцію проводили до конверсії, близької до

50%, після чого утворений енантімерно збагачений ацетат відділяли від спирту шляхом хроматографії на колонці.

Схема 4



Вплив природи гетероатома на селективність процесу ацилювання було продемонстровано на прикладі 1-(1,3-тіазол-5-іл)етанолю (**5б**). Оптичну чистоту отриманих (*S*)-спиртів встановлено за допомогою хірального HPLC аналізу (табл. 2).

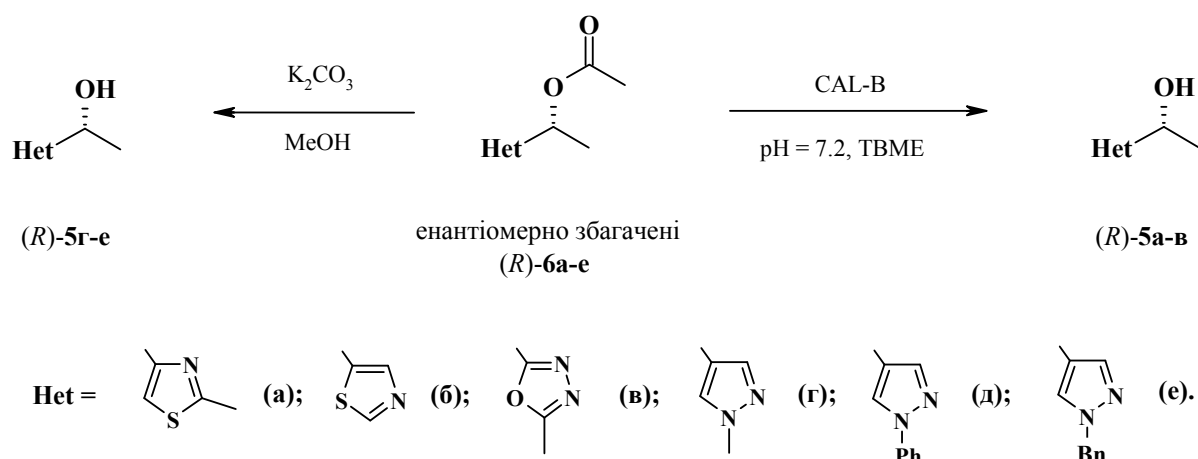
Таблиця 2.

Параметри ензиматичного ацилювання 1-гетарилетанолів **5a-e**
в присутності BCL

Сполука	t, °C	Час, год	Ліпаза (мас. %)	Конверсія, %	Вихід, %	ee (<i>S</i>)-спирту, %
5a	25	13	1/10	52	42	98
5б	40	12	1/10	58	40	99
5в	25	16	1/10	54	39	96
5г	25	13	1/10	50	40	98
5д	25	18	1/5	50	45	96
5е	25	18	1/5	50	46	97

З метою отримання (*R*)-спиртів з відповідних ацетатів нами була досліджена ефективність ензиматичного (в присутності CAL-B) та хімічного (K_2CO_3 , MeOH) деацилювання (*R*)-**6a** (схема 5). Підібрані умови ензиматичного гідролізу вдало підійшли для отримання 1-(1,3,4-оксадіазоліл)етанолю (*R*)-**5в** з високим енантімерним надлишком (98% ee).

Схема 5



Для ефективного деацильовання тіазолілетанолу (R)-6б знадобилися більш жорсткі умови (50 °С) та вища концентрація ліпази. В той же час, хімічний гідроліз ацетатів (R)-6a-в призводить до суттєво нижчих значень енантіомерних надлишків спиртів (R)-5a-в (80-90% *ee*) порівняно з результатами ензиматичного гідролізу (97-99% *ee*). З іншого боку, ензиматичний гідроліз *O*-ацетил-1-піразолілетанолу (R)-6г у присутності CAL-B (як і у випадку BCL) проходить з майже повною рацемізацією субстрату, тому для отримання піразолілетанолів (R)-5г-е нами був застосований хімічний гідроліз з K₂CO₃. В результаті нам вдалося отримати цільові сполуки (R)-5a-e з високою оптичною чистотою (87-96% *ee*) (табл. 3).

Таблиця 3.

Параметри гідролізу сполук (R)-5a-e

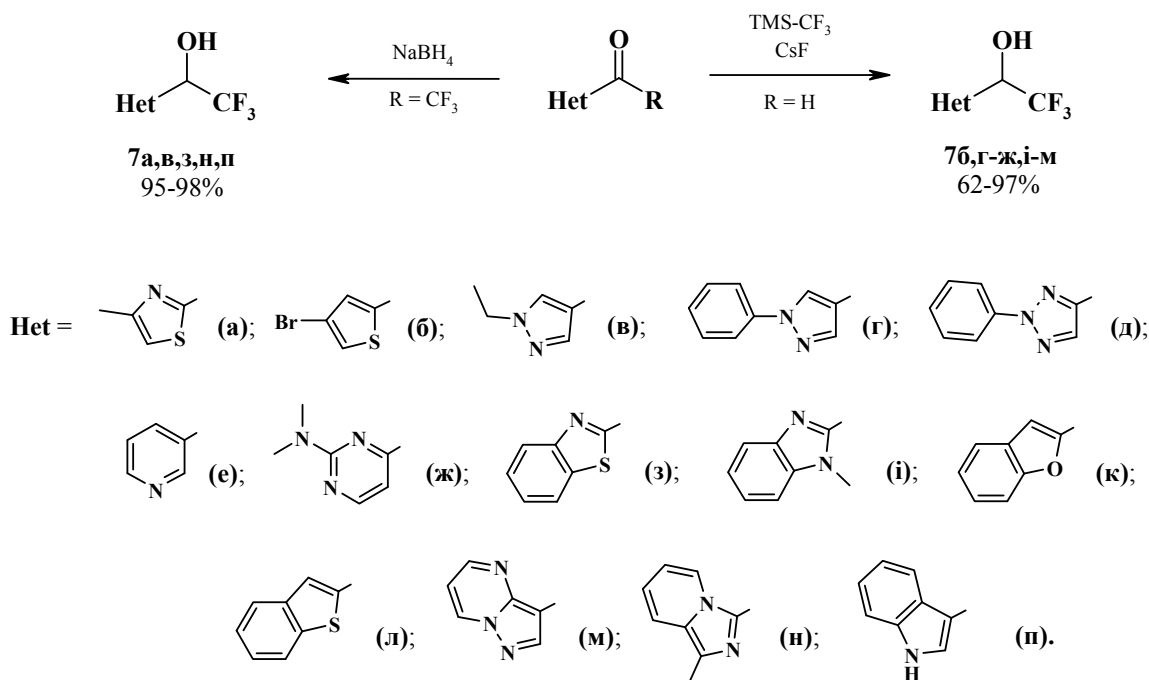
Сполука	t, °C	Час, год	Ліпаза (мас. %)	Конверсія, %	Вихід, %	<i>ee</i> (S)-спирту, %
5а	40	13	1/10	90	37	99
5б	50	15	1/5	87	35	97
5в	40	16	1/10	90	29	98
5г	25	3	-	100	31	87
5д	25	3	-	100	42	96
5е	25	3	-	100	43	95

4. Ензиматичне розділення 2,2,2-трифторо-1-гетарилетанолів

Останні десятиріччя зростання інтересу до фторованих органічних сполук різноманітної будови спричинило інтенсивні дослідження в області розробки синтетичних стратегій, що спрямовані на введення атома Флуору в органічні молекули. Серед них важливе місце посідають 2,2,2-трифторо-1-гетарилетаноли. Нами був застосований зручний спосіб розділення рацемічних трифторометилгетарилкарбінолів на оптичні антиподи.

Для досліджень було вибрано ряд 2,2,2-трифторо-1-гетарилетанолів **7а-п**, котрі містять гетероцикли різної структури (схема 6). Рацемічні спирти були синтезовані двома шляхами, котрі застосовувалися в залежності від доступності вихідної речовини. Сполуки **7а,в,з,н,п** отримані відновленням трифторометилкетонів борогідридом натрію, а їх близькі структурні аналоги **7б,г-ж,і-м** – приєднанням до відповідних альдегідів реагента Руперта-Пракаша.

Схема 6

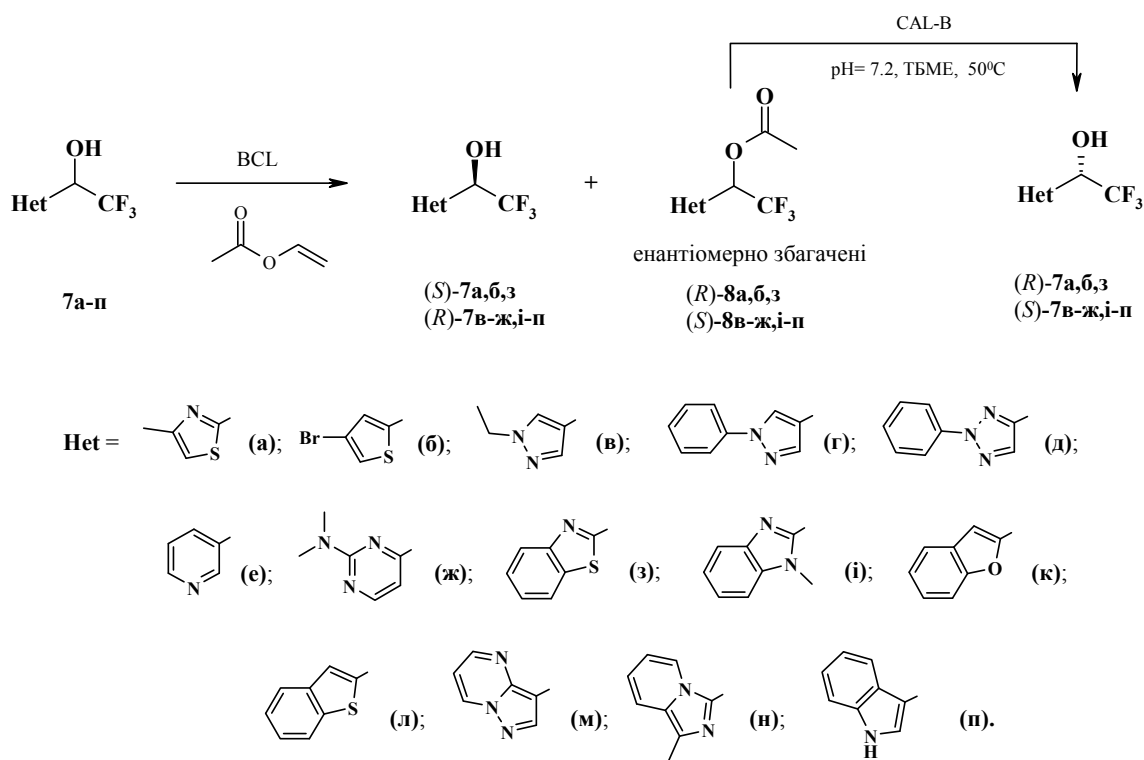


Енантіоселективне ензиматичне ацилювання рацемату проводилося в присутності ВСL. Для сполук **7в,ж,з,м,н** неацильовані ізомери вдалося

отримати з низькою оптичною чистотою (62-77% *ee*), тому енантіомерно збагачені зразки були повторно введені в реакцію (схема 7).

Для визначення оптичної чистоти отриманих спиртів використовували метод хіральної сольватації в присутності цинхонідину. Даний сольватуєчий реагент було використано вперше для 2,2,2-трифторо-1-гетарилетанолів. Слід зазначити, що цинхонідиновий метод є більш дешевим та простим порівняно з методом Мошера, а також дозволяє отримати результати, котрі добре узгоджуються з даними хірального HPLC аналізу.

Схема 7



Ензиматичним ацилюванням 2,2,2-трифторо-1-гетарилетанолів нам вдалося отримати спирти (S)-7a,b,z та (R)-7v-w,i-p з *ee* \geq 85%.

Наступним етапом був гідроліз енантіомерно збагачених естерів (R)-8a,b,z та (S)-8v-w,i-p, що приводив до утворення інших ізомерів спиртів (схема 7). Деацилювання ацетатів в присутності CAL-B за 15 год проходило до конверсії, близької до теоретичного вмісту цільової сполуки. У більшості випадків нам вдалося отримати оптично чисті спирти з *ee* \geq 90% (табл. 4).

Параметри кінетичного ензиматичного розділення 2,2,2-трифторо-1-гетарилетанолів **7а-п** в присутності BCL та CAL-B

Сполука	Спирт, отриманий після ацилювання			Спирт, отриманий після гідролізу		
	Ізомер	Вихід, %	ee, %	Ізомер	Вихід, %	ee, %
7а	(<i>S</i>)- 7а	21	99	(<i>R</i>)- 7а	33	95
7б	(<i>S</i>)- 7б	29	97	(<i>R</i>)- 7б	37	97
7в	(<i>R</i>)- 7в	11	99	(<i>S</i>)- 7в	38	99
7г	(<i>R</i>)- 7г	42	85	(<i>S</i>)- 7г	39	99
7д	(<i>R</i>)- 7д	27	99	(<i>S</i>)- 7д	20	65
7е	(<i>R</i>)- 7е	25	99	(<i>S</i>)- 7е	19	99
7ж	(<i>R</i>)- 7ж	15	68	(<i>S</i>)- 7ж	32	77
7з	(<i>S</i>)- 7з	23	99	(<i>R</i>)- 7з	31	92
7і	(<i>R</i>)- 7і	30	92	(<i>S</i>)- 7і	30	21
7к	(<i>R</i>)- 7к	34	90	(<i>S</i>)- 7к	15	95
7л	(<i>R</i>)- 7л	28	99	(<i>S</i>)- 7л	26	99
7м	(<i>R</i>)- 7м	17	97	(<i>S</i>)- 7м	32	94
7н	(<i>R</i>)- 7н	19	99	(<i>S</i>)- 7н	10	59
7п	(<i>R</i>)- 7п	26	99	(<i>S</i>)- 7п	11	97

Для перевірки стереохімічних аспектів ензиматичного розділення 2,2,2-трифторо-1-гетарилетанолів абсолютну конфігурацію сполуки (*R*)-**7а** було підтверджено методом рентгеноструктурного аналізу та за допомогою правила Кана-Інгольда-Прелога (рис. 1). Емпіричне правило Казлаускаса підтверджує даний результат.

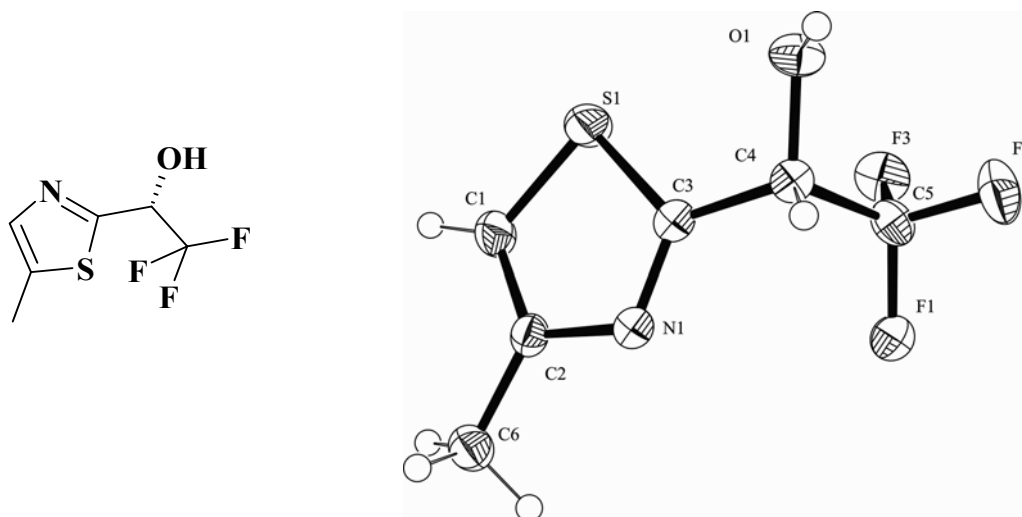


Рис. 1. Будова сполуки (*R*)-**7а** за даними РСД

Для пояснення експериментальних даних, що були отримані в процесі ензиматичного розділення, був проведений молекулярний докінг, котрий базувався на аналізі спорідненості досліджуваних енантіомерів до кристалічних структур CAL-B та BCL. Нами були знайдені оптимальні розташування молекул в активних центрах ліпаз на основі даних про геометрію комплексу ензим-субстрат. Встановлено, що для 2,2,2-трифторо-1-тіазолілетанолу **7a** висока селективність ацилювання зумовлена вищою спорідненістю до ензиму спирту (*R*)-**7a** порівняно з ізомером (*S*)-**7a** (рис. 2).

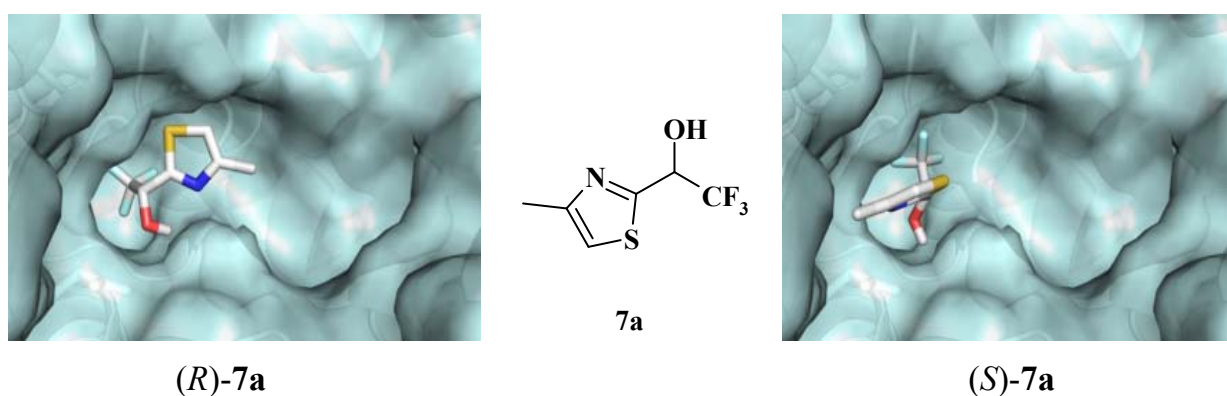


Рис. 2. Комп'ютерна модель оптимального розташування (*R*)-**7a** та (*S*)-**7a** в активному центрі BCL для реакції ацилювання

Для сполук **7ж** та **7і** було продемонстровано високу схожість розміщення енантіомерів обох конфігурацій в активному центрі BCL (рис. 3). Низькі значення енергії зв'язування (*S*)-спиртів порівняно з їх оптичними антиподами приводить до падіння стереоселективності реакції ацилювання.

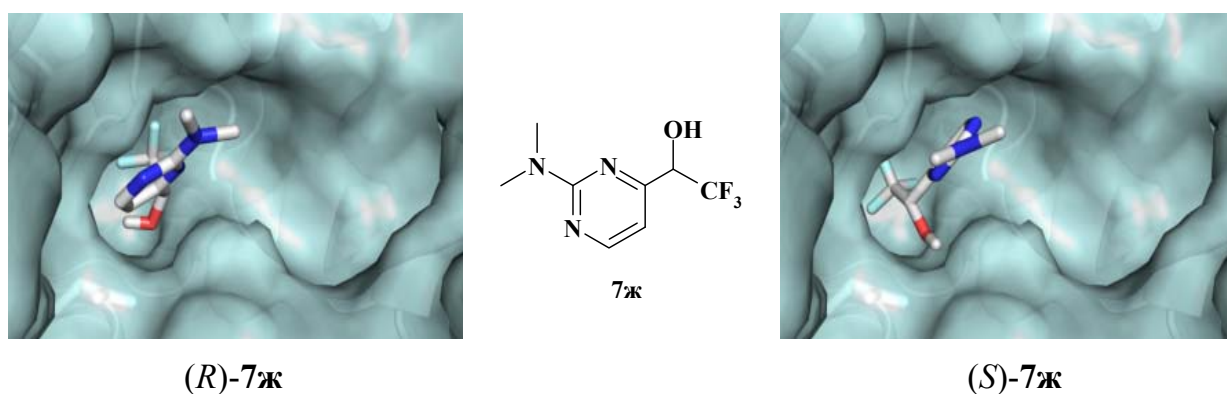


Рис.3. Комп'ютерна модель оптимального розташування (*R*)-**7ж** та (*S*)-**7ж** в активному центрі BCL для реакції ацилювання

Розрахунки параметрів реакції гідролізу *O*-ацетил-2,2,2-трифторометил-1-гетарилетанолів продемонстрували високу кореляцію отриманих даних з експериментальними ($\geq 75\%$). Показано, що стереоселективність деацилювання сполуки **8a** зумовлена високою енергією зв'язування ізомеру (*R*)-**8a** з активним центром ліпази і вигідними геометричними характеристиками комплексу ензим-субстрат (рис. 4).

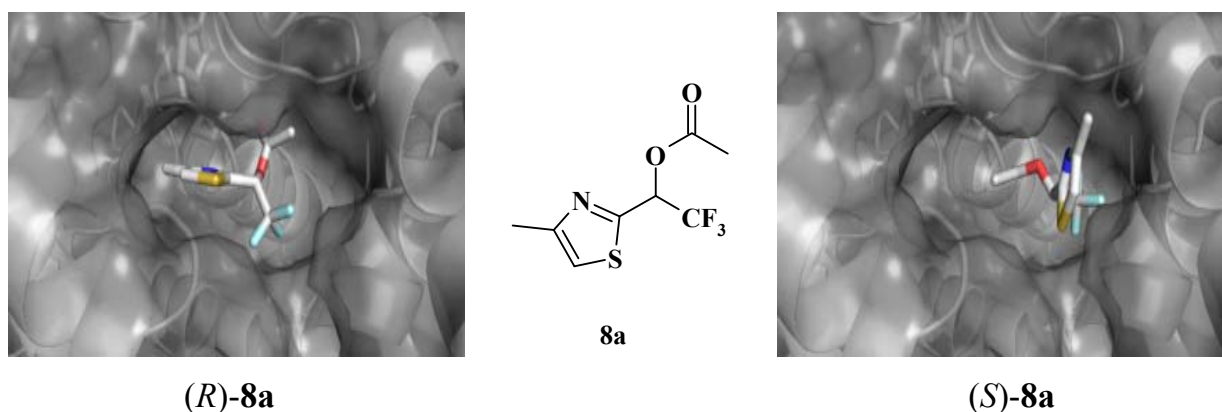


Рис.4. Комп'ютерна модель оптимального розташування (*R*)-**8a** та (*S*)-**8a** в активному центрі CAL-B для реакції гідролізу

Для обох енантіомерів ацетатів **8ж**, **8г**, **8і** та **8н** спостерігалася схожість розрахованих характеристик спорідненості до ензиму, що пояснює низьку селективність гідролізу для (*S*)-**8ж**, (*S*)-**8і** та (*S*)-**8н**. Показано, що для ацетатів (*S*)-**8г** та (*S*)-**8н** вигідна геометрія комплексу ензим-субстрат є рушійною силою селективного проходження ензиматичного гідролізу (рис. 5).

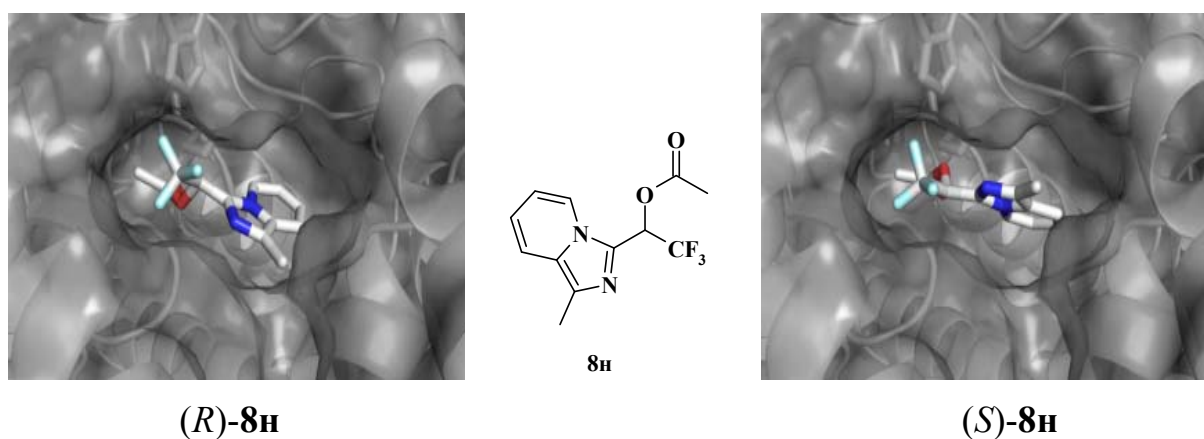


Рис.5. Комп'ютерна модель оптимального розташування (*R*)-**8н** та (*S*)-**8н** в активному центрі CAL-B для реакції гідролізу

ВИСНОВКИ

В дисертаційній роботі наведено нове вирішення наукової задачі, що полягає в розробці зручного препаративного підходу до отримання оптично активних 1-циклоалкіл(арил, гетарил)етанолів за допомогою кінетичного ензиматичного розділення та встановленні взаємозв'язку між енантіоселективністю процесу та структурою субстрату.

1. Запропоновано метод ензиматичного розділення 1-циклопропіл- та 1-циклобутилетанолів в присутності *Burkholderia cepacia lipase* та *Candida antarctica lipase B*. Встановлено вплив розміру циклічного фрагменту на селективність процесу.

2. Отримано оптично активні структурні аналоги хроман-4-олу з високими енантіомерними надлишками ($ee \geq 95\%$) та досліджено вплив замісників біля хірального центру на перебіг кінетичного ензиматичного розділення. Встановлено залежність швидкості реакції від природи гетероциклу.

3. Знайдено умови кінетичного ензиматичного розділення 1-гетарилетанолів за допомогою ензимів *Burkholderia cepacia lipase* та *Candida antarctica lipase B* і одержано (*R*)-, (*S*)-енантіомери з високою оптичною чистотою (97-99% ee). Показано вплив розташування та природи гетероатома на селективність процесу.

4. Синтезовано ряд 2,2,2-трифторо-1-гетарилетанолів та розроблено препаративний підхід до біокаталітичного розділення рацемічних сумішей на енантіомери. Вперше запропоновано метод хіральної сольватації в присутності цинхонідину для контролю оптичної чистоти цільових ізомерів.

5. Результати молекулярного докінгу (*R*)- та (*S*)-енантіомерів 2,2,2-трифторо-1-гетарилетанолів створюють передумови для прогнозування ефективності ензиматичного розділення хіральних вторинних спиртів.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Kucher Olexandr V. Enzymatic resolution of chroman-4-ol and its core analogues with *Burkholderia cepacia* lipase / Olexandr V. Kucher, Anastasiya O. Kolodyazhnaya, Oleg B. Smolii, Alexandr I. Boiko, Vladimir S. Kubyshkin, Pavel K. Mykhailiuk, Andrey A. Tolmachev // *Tetrahedron: Asymmetry* – 2014. – Vol. 65, №6-7. – P. 563-567. (Особистий внесок здобувача: збір літературних даних, проведення експериментальних досліджень, хроматографічне розділення сумішей, написання статті).
2. Kucher Olexandr V. Enzyme-catalyzed kinetic resolution of 2,2,2-trifluoro-1-(heteroaryl)ethanols: experimental and docking studies / Olexandr V. Kucher, Anastasiya O. Kolodyazhnaya, Oleg B. Smolii, Dmytro V. Prisuazhnyk, Katerina A. Tolmacheva, Olga A. Zaporozhets, Yurii S. Moroz, Pavel K. Mykhailiuk, Andrey A. Tolmachev // *Eur. J. Org. Chem.* – 2014. – №34. – P.7692-7698. (Особистий внесок здобувача: збір літературних даних, хімічний синтез, проведення експериментальних досліджень, встановлення будови отриманих сполук, обговорення отриманих результатів, написання статті).
3. Shishkina Svitlana V. Crystal structure of (*S*)-1-(1,3-benzothiazol-2-yl)-2,2,2-trifluoroethanol / Svitlana V. Shishkina, Olexandr V. Kucher, Anastasiya O. Kolodyazhnaya, Oleg B. Smolii, Andrey A. Tolmachev // *Acta Cryst.* – 2014. – E70. – o946. (Особистий внесок здобувача: збір літературних даних, проведення експериментальних досліджень, обговорення отриманих результатів).
4. Кучер О.В. Ензиматичне розділення 1-циклоалкілетанолів / О.В. Кучер, А.О. Колодяжна, О.Б. Смолій // *Журн. орг. фарм. хімії.* – 2014. – Т. 12, №4. – С. 65-70. (Особистий внесок здобувача: збір літературних даних, проведення експериментальних досліджень, хроматографічне розділення сумішей, написання статті).
5. Kucher Olexandr V. Lipase kinetic enantiomeric resolution of 1-heteroarylethanols / Olexandr V. Kucher, Anastasiya O. Kolodyazhnaya, Oleg B. Smolii, Nadiya K. Nazarenko, Vladimir S. Kubyshkin, Pavel K. Mykhailiuk, Andrey A. Tolmachev // *Tetrahedron: Asymmetry* – 2016. – Vol. 27, №7-8. –

Р.341-345. (*Особистий внесок здобувача*: проведення експериментальних досліджень, встановлення будови отриманих сполук, обговорення отриманих результатів, написання статті).

6. Smolii O. B. Synthesis of potent tyrosine kinase inhibitors / O.B. Smolii, O.V. Kucher, L.V. Muzychka // International Symposium: Intracellular Signaling and Bioactive Molecules Design. – Lviv. – 2012. – P. 95. (*Особистий внесок здобувача*: збір літературних даних, проведення експериментальних досліджень, хімічний синтез, обговорення отриманих результатів, підготовка доповіді).

7. Кучер О.В. Ензиматичне кінетичне розділення трифторметилкарбінолів / О.В. Кучер, А. О. Колодяжна, О. Б. Смолій // XXIII Українська конференція з органічної хімії. – Чернівці. – 2013. – С. 242. (*Особистий внесок здобувача*: збір літературних даних, проведення експериментальних досліджень, встановлення будови отриманих сполук, підготовка доповіді).

8. Kucher O.V. Enzymatic resolution of structural analogues of chromanol / O.V. Kucher, A.O. Kolodyazhnaya, O.B. Smolii // International Interdisciplinary Scientific Conference. Biologically Active Substances and Materials: Fundamental and Applied Problems. – Novy Svet, Crimea. – 2013. – P.74. (*Особистий внесок здобувача*: збір літературних даних, проведення експериментальних досліджень, обговорення отриманих результатів, підготовка доповіді).

АНОТАЦІЯ

Кучер О. В. Енантіоселективне ензиматичне розділення 1-циклоалкіл(арил, гетарил)етанолів. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук за спеціальністю 02.00.10 – біоорганічна хімія. Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії Національної Академії Наук України. Київ, 2016.

Дисертаційна робота присвячена розробці препаративного методу отримання оптично активних 1-циклоалкіл(арил, гетарил)етанолів за допомогою ензиматичного каталізу. Здійснено порівняльний аналіз

ефективності ацилаз *Burkholderia cepacia lipase* та *Candida antarctica lipase B* в біокаталітичних реакціях ацилювання та гідролізу. Показано вплив розміру та природи замісників біля хірального центру вторинного спирту на селективність ензиматичного розділення. Отримано оптично активні структурні аналоги хроман-4-олу з високими енантімерними надлишками ($ee \geq 95\%$) та встановлено залежність швидкості реакції від природи гетероциклу. Знайдено умови кінетичного ензиматичного розділення 1-гетарилетанолів за допомогою ензимів *Burkholderia cepacia lipase* та *Candida antarctica lipase B*. Проведено синтез ряду рацемічних 2,2,2-трифторо-1-гетарилетанолів та розроблено препаративний підхід до їх розділення на енантімери. Вперше продемонстровано перспективи застосування методу хіральної сольватації в присутності цинхонідину для 2,2,2-трифторо-1-гетарилетанолів. За допомогою молекулярного докінгу встановлено залежність селективності ензиматичного розділення трифторометилгетарилкарбінолів від структури субстрату, що може бути корисним для прогнозування ефективності ензиматичного розділення хіральних вторинних спиртів.

Ключові слова: кінетичне ензиматичне розділення, *Burkholderia cepacia lipase*, *Candida antarctica lipase B*, 1-циклоалкілетаноли, 1-арилетаноли, 1-гетарилетаноли, 2,2,2-трифторо-1-гетарилетаноли, цинхонідин, молекулярний докінг.

АННОТАЦІЯ

Кучер А. В. Энантиоселективное энзиматическое разделение 1-циклоалкил(арил, гетарил)этанолов. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия. Институт биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины. Киев, 2016.

Диссертационная работа посвящена разработке препаративного метода получения оптически активных 1-циклоалкил(арил, гетарил)этанолов с помощью энзиматического катализа. Осуществлён сравнительный анализ эффективности ацилаз *Burkholderia cepacia lipase* и *Candida antarctica*

lipase B в биокаталитических реакциях ацилирования и гидролиза. Показано влияние размера и природы заместителей возле хирального центра вторичного спирта на селективность энзиматического разделения. Получены оптически активные структурные аналоги хроман-4-ола с высокими энантиомерными избытками ($ee \geq 95\%$) и установлена зависимость скорости реакции от природы гетероцикла. Найдены условия кинетического энзиматического разделения 1-гетарилэтанолов с помощью энзимов *Burkholderia cepacia lipase* и *Candida antarctica lipase B*. Проведён синтез ряда рацемических 2,2,2-трифтор-1-гетарилэтанолов и разработан препаративный подход к их разделению на энантиомеры. Впервые продемонстрированы перспективы применения метода хиральной сольватации в присутствии цинхонидина для 2,2,2-трифтор-1-гетарилэтанолов. С помощью молекулярного докинга установлена зависимость селективности энзиматического разделения трифторметилгетарилкарбинолов от структуры субстрата, что может быть полезным для прогнозирования эффективности энзиматического разделения хиральных вторичных спиртов.

Ключевые слова: кинетическое энзиматическое разделение, *Burkholderia cepacia lipase*, *Candida antarctica lipase B*, 1-циклоалкилэтанолы, 1-арилэтанолы, 1-гетарилэтанолы, 2,2,2-трифтор-1-гетарилэтанолы, цинхонидин, молекулярный докинг.

SUMMARY

Kucher O.V. Enantioselective enzymatic resolution of 1-cycloalkyl(aryl, hetaryl)etanols. – As a manuscript.

Thesis for Candidate Degree in Chemical Sciences. Specialty 02.00.10 – Bioorganic Chemistry. – Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine. Kyiv, 2016.

The thesis is devoted to elaboration of preparative approach to optically active 1-cycloalkyl(aryl, hetaryl)etanols by means of enzymatic kinetic resolution. The efficiency of *Burkholderia cepacia lipase* and *Candida antarctica lipase B* in acylation and hydrolysis reactions was tested on different substrates that helped

determine conditions for enzymatic kinetic resolution of 1-hetaryletanols. The research showed that selectivity of enzymatic resolution depends on the size and type of substituents at the chiral carbon of secondary alcohols.

A convenient protocol for lipase resolution of chroman-4-ol and its analogues (six- and seven-membered rings with O, S, SO₂) was developed. Enantiopure derivatives of chroman-4-ol ($ee \geq 95\%$) were prepared and the dependence of reaction rates on a type of heterocycle was established.

The conditions for kinetic enzymatic resolution of 1-hetaryletanols using *Burkholderia cepacia* lipase and *Candida antarctica* lipase B enzymes were investigated. The influence of a heteroatom type on reaction selectivity was observed.

In the course of research a set of racemic 2,2,2-trifluoro-1-hetarylethanols was synthesized and a convenient protocol for enantiopure (*R*)- and (*S*)-isomers was developed. Significant number of compounds were resolved on a multigram scale using this approach. It was the first time that a method of chiral solvation in the presence of cinchonidine was applied to 2,2,2-trifluoro-1-hetarylethanols.

Identities and purity of the compounds obtained were determined by NMR spectrometry, LC-MS, infrared spectroscopy, polarimetry, and elemental analysis. In the case of (1*R*)-2,2,2-trifluoro-1-(4-methyl-1,3-thiazol-2-yl)ethanol, single crystal analysis was performed to establish absolute configuration.

Molecular docking of investigated 2,2,2-trifluoro-1-hetarylethanols against the abovementioned lipases allowed explaining the resolution selectivity for different substrates, which can serve to predict the efficiency of kinetic enzymatic resolution of chiral secondary alcohols.

Key words: enzymatic kinetic resolution, *Burkholderia cepacia* lipase, *Candida antarctica* lipase B, 1-cycloalkylethanols, 1-arylethanols, 1-hetarylethanols, 2,2,2-trifluoro-1-hetarylethanols, cinchonidine, molecular docking.