



Politechnika Warszawska  
Wydział Chemiczny



# Opracowanie enzymatycznej metody syntezy chiralnych monoestrów kwasów 3-aryloglutarowych

Praca dyplomowa  
Dominika Sebastiana Koszelewskiego  
wykonana pod kierunkiem  
dr hab. inż. Ryszarda Ostaszewskiego  
w Zakładzie Technologii i Biotechnologii  
Środków Leczniczych  
w roku akademickim 2002-2003

Warszawa 2003

*Panu dr hab. inż. Ryszardowi Ostaszewskiemu  
dziękuję za zaproponowanie tematu pracy,  
cenne dyskusje oraz pomoc i opiekę w czasie  
jej wykonywania.*

*Bardzo dziękuję Pani mgr inż. Marcie  
Głazewskiej za udzieloną pomoc i wsparcie.*

*Bardzo dziękuję Pani mgr inż. Annie  
Fryszkowskiej za udzieloną pomoc.*

*Rodzicom*

# SPIS TREŚCI.

<b>1 WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW.</b>	5
<b>2 WSTĘP.</b>	6
<b>3 CEL PRACY.</b>	7
<b>4 CZĘŚĆ TEORETYCZNA.</b>	9
4.1 METODY SYNTEZY KWASÓW 3-ARYLOGLUTAROWYCH.	9
4.1.1 Trzyetapowa metoda syntezy kwasów 3-aryloglutarowych.	10
4.1.2 Dwuetapowa metoda syntezy kwasów 3-aryloglutarowych.	11
4.2 MODYFIKACJA GRUPY AROMATYCZNEJ KWASÓW 3-ARYLOGLUTAROWYCH.	12
4.3 CHEMICZNE METODY DESYMETRYZACJI BEZWODNIKÓW KWASÓW 3-ARYLOGLUTAROWYCH.	12
4.3.1 Chemiczna desymetryzacja bezwodników kwasów 3-aryloglutarowych alkaloidami cynchoidynowymi.	12
4.3.2 Chemiczna metoda syntezy chiralnych monoestrów kwasów glutarowych wykorzystująca koncepcję chiralnych pomocników.	13
4.4 ENZYMATYCZNE METODY DESYMETRYZACJI BEZWODNIKÓW KWASÓW 3-ARYLOGLUTAROWYCH.	14
4.5 DESYMETRYZACJA HYDROLITYCZNA DIESTRÓW KWASÓW 3-ARYLOGLUTAROWYCH.	16
4.6 METODY SYNTEZY LAKTONÓW Z MONOESTRÓW KWASÓW 3-ARYLOGLUTAROWYCH.	17
4.6.1 Selektywna redukcja grupy karboksylowej monoestrów kwasów 3-aryloglutarowych.	17
4.6.2 Selektywna redukcja grupy estrowej monoestrów kwasów 3-aryloglutarowych.	18
<b>5 WNIOSKI I PODSUMOWANIE CZĘŚCI LITERATUROWEJ.</b>	19
<b>6 WYNIKI BADAŃ WŁASNYCH.</b>	21
6.1 SYNTEZA BEZWODNIKÓW I RACEMICZNYCH MONOESTRÓW KWASÓW 3-ARYLOGLUTAROWYCH.	21
6.2 SYNTEZA RACEMICZNYCH LAKTONÓW Z MONOESTRÓW KWASÓW 3-ARYLOGLUTAROWYCH.	22
6.3 WPŁYW NOVOZYMU 435 I UŻYTEGO ALKOHOLU NA REAKCJĘ SYNTEZY CHIRALNYCH MONOESTRÓW KWASÓW 3-ARYLOGLUTAROWYCH.	23
6.4 BADANIA NAD CZYSTOŚCIĄ OPTYCZNĄ CHIRALNYCH MONOESTRÓW KWASU 3-(3,4-DICHLOROFENYLO)GLUTAROWEGO.	26
6.5 WPŁYW UŻYTEGO ENZYMU NA ENANCJOSELEKTYWNOŚĆ REAKCJI SYNTEZY MONOESTRÓW KWASU 3-(3,4-DICHLOROFENYLO)GLUTAROWEGO.	27
6.6 WPŁYW UŻYTEGO ROZPUSZCZALNIKA NA ENANCJOSELEKTYWNOŚĆ REAKCJI SYNTEZY MONOESTRÓW KWASU 3-(3,4-DICHLOROFENYLO)GLUTAROWEGO.	28
<b>7 WNIOSKI I PODSUMOWANIE BADAŃ WŁASNYCH.</b>	29
<b>8 CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA.</b>	31
<b>9 LITERATURA CYTOWANA.</b>	59

## 1. WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW.

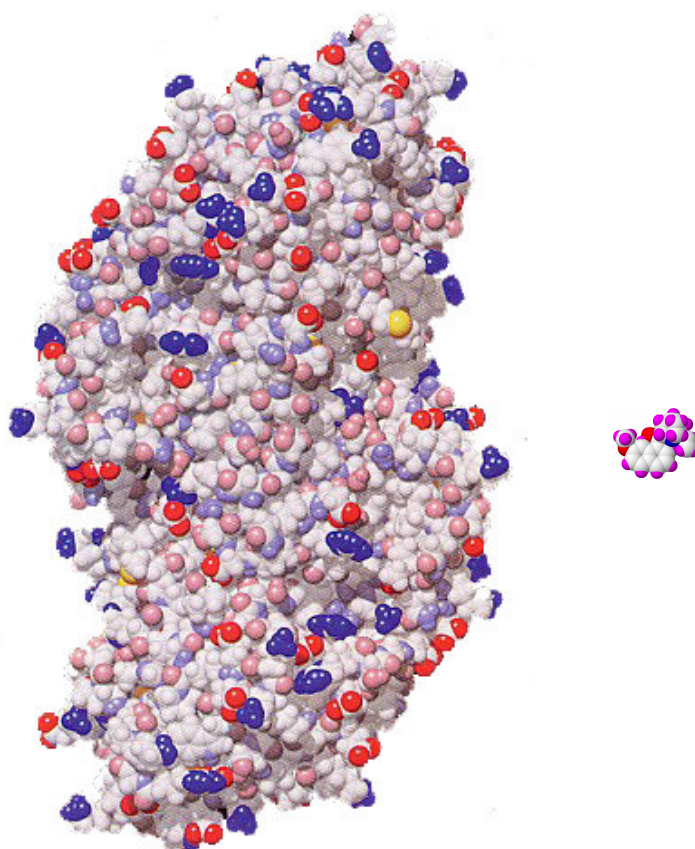
**AcCl** – chlorek kwasu octowego  
**Ac<sub>2</sub>O** – bezwodnik kwasu octowego  
**AcOEt** – octan etylu  
**AcOH** – kwas octowy  
***t*-Bu** – grupa *tert*-butylowa  
**DCC** – diimid kwasu 1,3-dicykloheksylowego  
**DMAP** – 4-(*N,N*-dimetyloamino)pirydyna  
**DME** – 1,2-dimetoksyetan  
**DMSO** - dimetylosulfotlenek  
**e.e.** – nadmiar enancjomeryczny  
**HPLC** – wysokosprawna chromatografia cieczowa  
**imm.** - immobilizowane  
**konw.** - konwersja  
**lipaza Amano P** – lipaza z *Pseudomonas fluorescens*  
**lipaza Amano PS** – lipaza z *Pseudomonas fluorescens*  
**lipaza Novozym 435** – lipaza z *Candida antarctica*  
**Np** – grupa naftyłowa  
**PCL** – lipaza z *Pseudomonas cepacia*  
**Ph** – grupa fenyłowa  
**PLE** – esteraza z wątroby świni  
***i*-Pr** – grupa *izo*-propylowa (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH-  
***i*-Pr<sub>2</sub>O** – eter izopropylowy  
***rac*** – mieszanina racemiczna  
**THF** – tetrahydrofuran  
**TLC** – chromatografia cienkowarstwowa  
***p*-TsOH** – kwas *p*-toluenosulfonowy

## 2. WSTĘP.

Rzeczywisty rozwój współczesnej chemii organicznej jest silnie związany z ochroną środowiska naturalnego. Stosowane procedury technologiczne muszą być procedurami, które są przyjazne środowisku. Wynika więc z tego, że zainteresowanie procesami nie wywierającymi złego wpływu na otoczenie będzie coraz większe.

Biokatalizatory jakimi są enzymy spełniają wyżej wymienione wymagania i umożliwiają prowadzenie różnorodnych reakcji chemicznych w łagodnych warunkach. Wysoka specyficzność substratowa enzymów wykorzystywana jest w szeregu procesach chemicznych. Ponieważ enzymy przyspieszają kinetykę określonej reakcji przez znaczne obniżenie jej energii aktywacji, dlatego też procesy z ich zastosowaniem prowadzą do otrzymania znacznie mniejszej ilości produktów ubocznych.

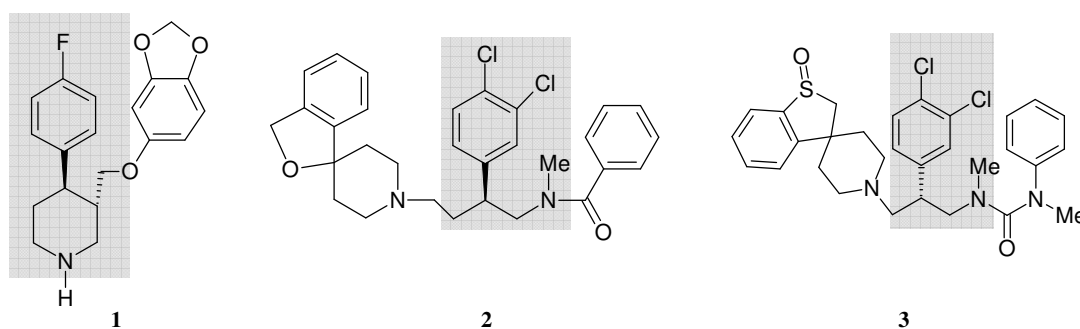
Ponieważ enzymy są katalizatorami szeregu procesów chemicznych warto uzmysłowić sobie jak bardzo złożona jest ich struktura, co dobrze obrazuje poniższa ilustracja dehydrogenazy alkoholowej. Dla porównania umieszczono strukturę katalizatora cynchoidynowego (po prawej), którego działanie zostanie później omówione.



### 3. CEL PRACY.

Chemia leków jest prężnie rozwijającą się dziedziną nauki. Stale poszukuje się nowych, efektywniejszych metod syntezy tej klasy związków, spełniających wymagania związane z ochroną środowiska naturalnego. Ponieważ aktywność biologiczna każdego leku związana jest z jego budową przestrzenną, poszukuje się metod syntezy enancjomerycznie lub diastereoizomerycznie czystych związków organicznych, które są składnikami lub substratami w syntezie tych związków.

Doskonałym przykładem związku, którego działanie lecznicze jest związane z jego czynnością optyczną jest (-)-Paroksetin<sup>1</sup> (**1**). Lek ten jest selektywnym antagonistą receptora serotoninowego odpowiedzialnego za stany depresyjne i lękowe. Wykazano, że w znacznym stopniu aktywność tego związku związana jest z ugrupowaniem 3-fenyloglutarowym obecnym w jego strukturze.



Ugrupowanie to można znaleźć również w strukturze wielu innych leków. Jednym z nich jest, stosowany w leczeniu astmy, antagonistą receptora neurokininowego NK<sub>2</sub> związek **2**<sup>2</sup>, natomiast drugi to antagonistą receptora CCR5 związek **3**<sup>3</sup>. Ten ostatni receptor jest między innymi odpowiedzialny za przenoszenie wirusa HIV-1 do wnętrza komórki.

Kluczowym etapem syntezy Paroksetinu (**1**) jest desymetryzacja diestru metylowego kwasu 3-(4-fluorofenylo)glutarowego prowadząca do otrzymania optycznie czynnego odpowiedniego monoestru o określonej konfiguracji. Obecnie reakcję tą wykonuje się jako proces enzymatycznej hydrolizy substratu. Niestety, oznacza to, że odpowiedni enzym jest w tej reakcji tracony. Ponadto wyodrębnienie produktu ze środowiska reakcji, jakim jest woda, jest bardzo trudne i kosztowne. Analogiczne reakcje chemiczne prowadzą do substratów wymienionych już leków.

Dlatego też istnieje pilna potrzeba opracowania nowej, ogólnej metody otrzymywania optycznie czynnych monoestrów kwasów 3-aryloglutarowych. Celem moich badań jest więc

opracowanie metody syntezy wymienionych związków. W celu uzyskania pełnej kontroli nad stereochemicznym przebiegiem tej reakcji niezbędne jest także opracowanie metody określania konfiguracji absolutnych uzyskiwanych produktów.

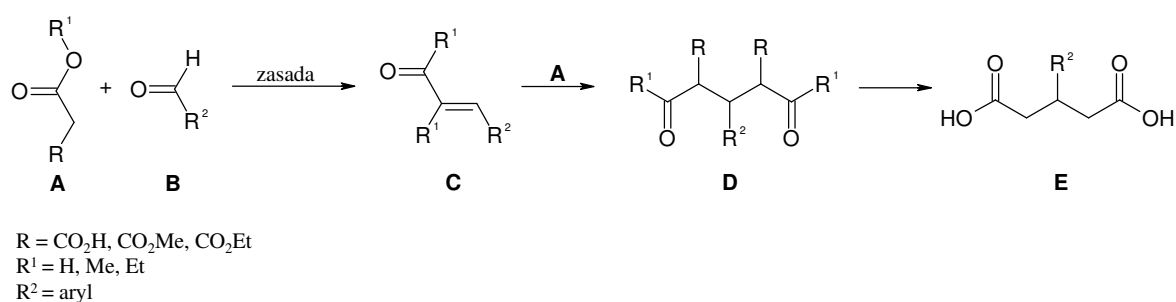
Ponadto w niniejszej pracy postaram się ustalić jaki wpływ na enancjoselektywność reakcji enzymatycznej ma użycie różnych alkoholi oraz rozpuszczalników.

## 4. CZĘŚĆ TEORETYCZNA.

Substratem stosowanym w syntezie chiralnych monoestrów kwasów 3-aryloglutarowych są odpowiednie kwasy lub ich bezwodniki. Ponieważ bezwodniki, które stosowałem jako substraty do reakcji enzymatycznych, otrzymywane są z odpowiednich kwasów omawiam ogólne metody syntezy tej klasy związków koncentrując się na ich syntezie.

### 4.1. METODY SYNTEZY KWASÓW 3-ARYLOGLUTAROWYCH.

Generalna metoda syntezy kwasów glutarowych (**E**), które posiadają podstawnik w pozycji 3 opiera się na kilkietapowej sekwencji reakcji <sup>8</sup> (Schemat 1).



**Schemat 1.**

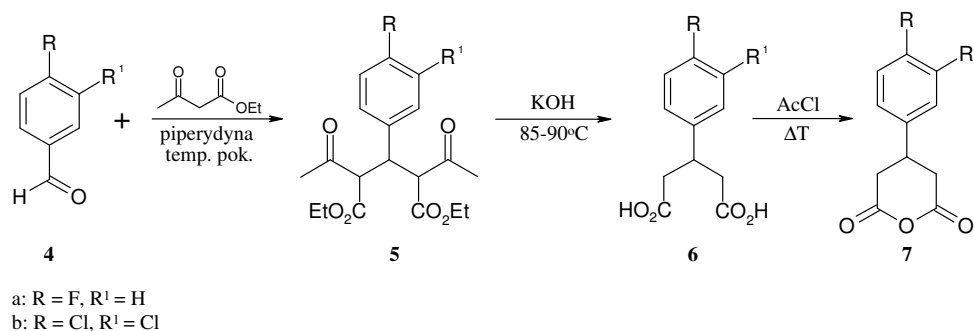
Pierwszym etapem tego procesu jest generowanie karboanionu z reagenta karbonylowego (**A**) przez zasadę. Powstały karboanion atakuje węgiel karbonylowy w aldehydzie (**B**). Powstały addukt stabilizowany jest przez odejście cząsteczki wody z utworzeniem  $\alpha,\beta$ -nienasyconego związku karbonylowego (**C**). Następnie do wiązania podwójnego powstałego produktu, przyłącza się druga cząsteczka nukleofila (**A**) dając odpowiedni produkt reakcji Michaela, ester (**D**). W kolejnej przemianie uzyskany związek jest poddany reakcjom hydrolizy i dekarboksylacji, prowadzących do kwasu glutarowego (**E**).

Zaprezentowana metoda jest procesem złożonym. Stosując do reakcji stechiometryczną ilość związków (**A**) i (**B**) można otrzymać  $\alpha,\beta$ -nienasycony związek (**C**), który można następnie użyć do reakcji Michaela z innym reagentem karbonylowym.

Omawiana metoda syntezy ma swoje ograniczenia. Najważniejsze z nich to rodzaj zastosowanego aldehydu aromatycznego oraz charakter podstawników znajdujących się w pierścieniu aromatycznym tegoż aldehydu. Podstawniki elektronoakceptorowe wpływają korzystnie na wydajność reakcji kondensacji przez zmniejszenie gęstości elektronowej na karbonylowym atomie węgla aldehydu aromatycznego, natomiast podstawniki elektronodonorowe zwiększają ową gęstość, co w znamienny sposób obniża wydajność reakcji kondensacji.

#### 4.1.1. Trzyetapowa metoda syntezy kwasów 3-aryloglutarowych.

Aromatyczne pochodne kwasu 3-aryloglutarowego **6** posiadające podstawniki halogenowe w pierścieniu aromatycznym zostały otrzymane zgodnie z poniżej przedstawionym schematem reakcji.



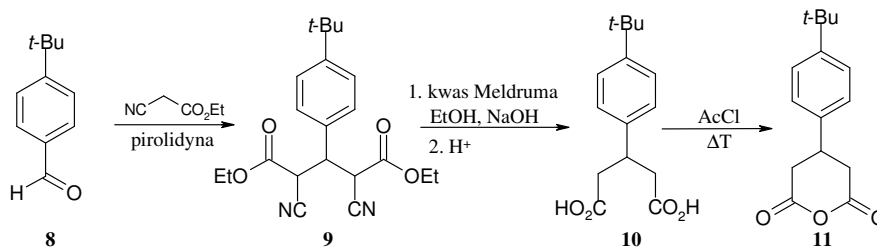
Schemat 2.

W reakcji kondensacji acetylooctanu etylu z aldehydem 4-fluorobenzoesowym (**4a**) otrzymano ester etylowy kwasu 2,4-diacetylo-3-(4-fluorofenylo)glutarowego (**5a**) z 69% wydajnością. Związek ten poddano reakcjom hydrolizy i dekarboksylacji otrzymując odpowiedni kwas **6a**, który następnie przekształcono przy użyciu chlorku kwasu octowego w bezwodnik kwasu 3-(4-fluorofenylo)glutarowego (**7a**). Wydajność ostatniego etapu wyniosła 94%<sup>5</sup> (Schemat 2).

Stosując wyżej opisaną metodę, otrzymano również bezwodnik kwasu 3-(3,4-dichlorofenylo)glutarowego (**7b**) z całkowitą wydajnością wynoszącą 43%<sup>6</sup>.

Przedstawiona metoda syntezy bezwodników aromatycznych wydaje się być bardzo atrakcyjną ze względu na łatwą dostępność i niski koszt reagentów oraz wysoką wydajność poszczególnych etapów syntezy.

Podobną sekwencję reakcji zastosowano w syntezie kwasu 3-(4-*tert*-butylofenylo)glutarowego (**10**). Substratami do reakcji kondensacji były aldehyd *p-tert*-butylobenzoesowy (**8**) i cyjanooctan etylu.

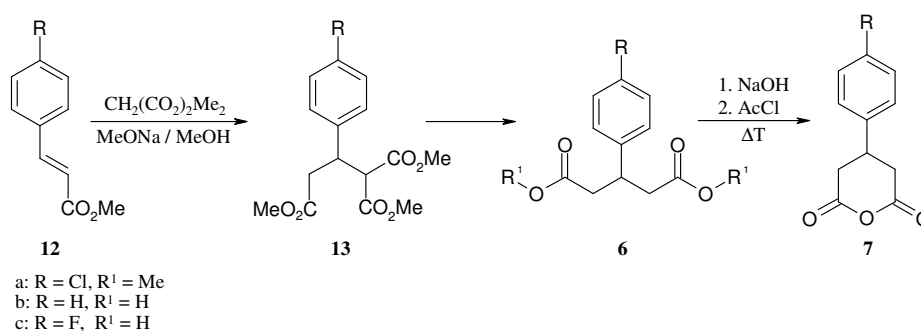


Schemat 3.

W reakcji kondensacji katalizowanej pirolidyną otrzymano związek pośredni, który bez wydzielenia poddany został reakcji Michaela z drugą cząsteczką cyjanooctanu etylu dając diester **9**. Związek ten poddano reakcjom hydrolizy i dekarboksylacji roztworem kwasu Meldruma z wodorotlenkiem sodu w etanolu, otrzymując po zakwaszeniu kwas 3-(4-*tert*-butylofenylo)glutarowy (**10**) z 50% wydajnością. Związek ten poddany reakcji cyklizacji chlorkiem kwasu octowego został przekształcony w bezwodnik **11** z wydajnością 95%<sup>7</sup> (Schemat 3).

#### 4.1.2. Dwuetapowa metoda syntezy kwasów 3-aryloglutarowych.

Tanie i dostępne reagenty, jakimi są pochodne kwasu cynamonowego, są także substratami w syntezie aromatycznych bezwodników kwasu glutarowego<sup>8</sup> (Schemat 4).



Schemat 4.

Ester metylowy kwasu *p*-chlorocynamonowego (**12a**), poddano reakcji z malonianem dimetylu i metanolanem sodu w suchym THF. Otrzymany z 85% wydajnością ester **13a** poddano reakcjom hydrolizy i dekarboksylacji wodnym roztworem chlorku sodowego z dodatkiem DMSO, otrzymując diester metylowy kwasu 3-(4-chlorofenylo)glutarowego (**6a**) z wydajnością wynoszącą 79%<sup>9</sup>. Związek ten po uprzedniej hydrolizie do kwasu 3-(4-chlorofenylo)glutarowego można poddać cyklizacji chlorkiem kwasu octowego otrzymując bezwodnik kwasu 3-(4-chlorofenylo)glutarowego (Schemat 4).

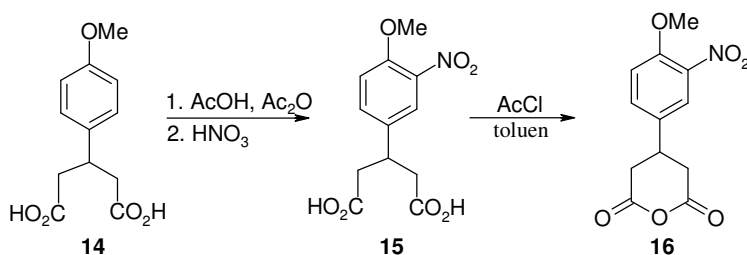
W podobny sposób do wyżej przedstawionej metody dokonano syntezy bezwodnika kwasu 3-fenyloglutarowego (**7b**). W reakcji kwasu cynamonowego z malonianem dietylu i etanolanem sodu w etanolu otrzymano ester **13b** z wydajnością 68%, który następnie poddano reakcjom hydrolizy i dekarboksylacji wodorotlenkiem potasu do kwasu 3-fenyloglutarowego (**6b**). Kwas ten w reakcji z chlorkiem kwasu octowego został przekształcony w odpowiedni bezwodnik **7b** z wydajnością 65%<sup>10</sup> (Schemat 4).

Analogiczną sekwencję reakcji zastosowano w celu otrzymania kwasu 3-(4-fluorofenylo)glutarowego (**6c**) z całkowitą wydajnością wynoszącą 70%<sup>11</sup> (Schemat 4).

Zaprezentowana metoda, której kluczowym etapem jest reakcja addycji Michaela do pochodnych kwasu cynamonowego, wydaje się być bardzo atrakcyjną ze względu na uzyskiwane wysokie wydajności poszczególnych reakcji.

#### 4.2. MODYFIKACJA GRUPY AROMATYCZNEJ KWASÓW 3-ARYLOGLUTAROWYCH.

Podstawnik aromatyczny kwasu glutarowego można poddawać szeregu modyfikacjom uzyskując nowe pochodne już znanych związków.



**Schemat 5.**

Przykładem zastosowania tej koncepcji jest reakcja nitrowania kwasu 3-(4-metoksyfenylo)glutarowego (**14**) prowadząca do kwasu 3-(4-metoksy-3-nitrofenylo)glutarowego (**15**) z 87% wydajnością. Kwas ten poddano reakcji cyklizacji chlorkiem kwasu octowego, otrzymując z 94% wydajnością odpowiedni bezwodnik<sup>12</sup> (**16**) (Schemat 5).

Tą koncepcję można także zastosować do syntezy halogenowanych pochodnych kwasu 3-fenyloglutarowego.

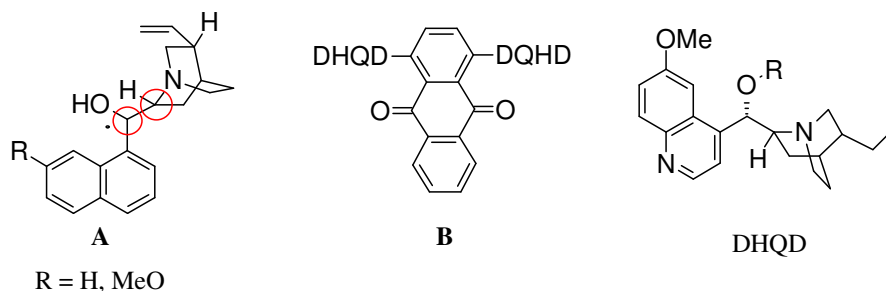
Kwas 3-fenyloglutarowy został poddany reakcji bromowania w wyniku której otrzymano kwas 3-(4-bromofenylo)glutarowy z 65% wydajnością<sup>13</sup>.

Przedstawione podejście wydaje się być bardzo atrakcyjnym, ale nie znajduje w literaturze szerszego zastosowania.

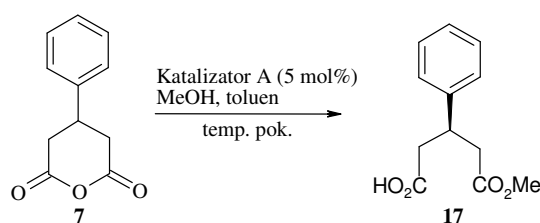
#### 4.3. CHEMICZNE METODY DESYMETRYZACJI BEZWODNIKÓW KWASÓW 3-ARYLOGLUTAROWYCH.

##### 4.3.1. Chemiczna desymetryzacja bezwodników kwasów 3-aryloglutarowych alkaloidami cynchoidynowymi.

Alkaloidy cynchoidynowe służą jako katalizatory wielu reakcji chemicznych. Stosowane są również w reakcji desymetryzacji bezwodników kwasu glutarowego.



Pierwszą klasę katalizatorów reprezentuje związek o strukturze A<sup>14</sup>. Katalizatory tego typu różnią się między sobą podstawnikami R przy atomie węgla w grupie naftyłowej oraz konfiguracją na chiralnych atomach węgla, która ostatecznie decyduje o konfiguracji absolutnej powstałego monoestru kwasu 3-fenyloglutarowego. Drugi typ katalizatorów cynchoidynowych przedstawia związek typu B. Rozbudowane podstawniki (DHQD) przy pierścieniu aromatycznych sprzyjają podniesieniu czystości optycznej produktu.



**Schemat 6.**

Desymetryzacja bezwodnika kwasu 3-fenyloglutarowego (**7**) prowadzona w toluenie i etanolu z 5% molową ilością katalizatora **A**, dała ester metylowy kwasu 3-fenyloglutarowego (**17**) z wydajnością 99% i nadmiarem enancjomerycznym wynoszącym 48%<sup>15</sup> (Schemat 6).

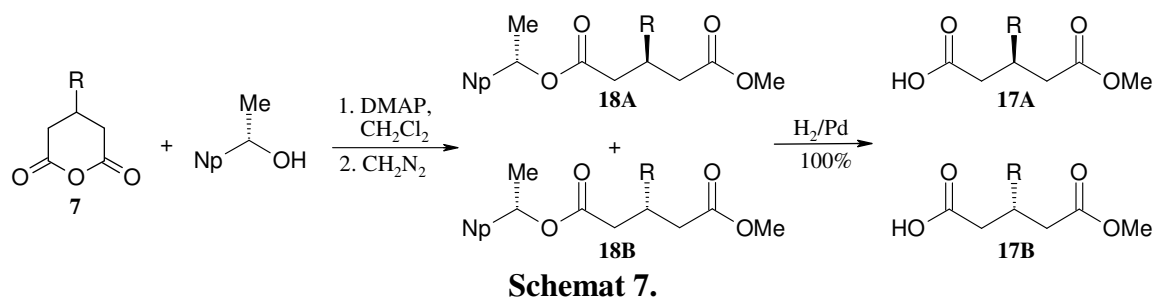
Opisaną metodę charakteryzuje niewątpliwie duża wydajność chemiczna, lecz otrzymany monoester cechuje niska czystość optyczna.

#### 4.3.2. Chemiczna metoda syntezy chiralnych monoestrów kwasów glutarowych wykorzystująca koncepcję chiralnych pomocników.

Optycznie czynne monoestry kwasu glutarowego na drodze chemicznej można otrzymać również poprzez utworzenie diastereoizomerycznych pochodnych z chiralnymi aminami lub alkoholami (chiralne pomocniki). Po rozdzieleniu otrzymanych pochodnych na diastereoizomery metodami fizycznymi w kolejnym etapie są usuwane wprowadzone jednostki chiralne (pomocniki), co prowadzi do optycznie czystych monoestrów.

Znane są przykłady zastosowania jako chiralnego pomocnika *l*-mentolu<sup>16</sup>, *R*-1-(naftylo)etyloaminy<sup>3,17</sup> lub optycznie czynnego 1-naftyloetanolu<sup>18</sup>.

Koncepcja zastosowania jako chiralnego pomocnika (*S*)-1-(1-naftylo)etanolu przedstawiona jest na Schemacie 7.



W reakcji z (*S*)-1-(1-naftylo)etanolem otrzymano diastereomeryczne pochodne kwasu glutarowego. Zastosowano pomiar protonowego rezonansu jądrowego ( $^1\text{H}$  NMR) w celu określenia proporcji uzyskanych diastereoizomerów.

Zauważono, że zmiana wielkości podstawnika R wpływa znacznie na proporcje uzyskiwanych diastereoizomerów, a nawet jak to ma miejsce dla grupy *tert*-butylowej (L.p. 5) dochodzi do odwrócenia proporcji diastereoizomerów (Tabela 1).

**Tabela 1.**

L.p.	R	18A:18B
1	Me	16:1
2	Et	14:1
3	<i>i</i> -Pr	7:1
4	Ph	8:1
5	<i>t</i> -Bu	1:3

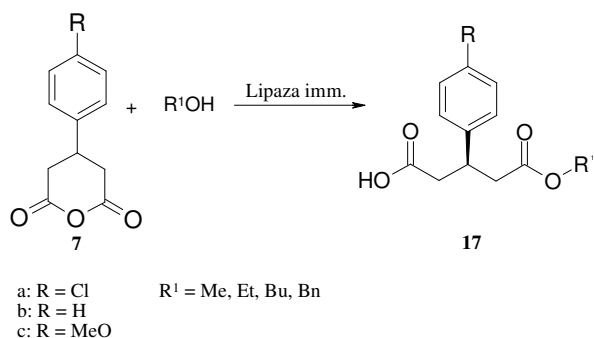
Po rozdzieleniu diastereoizomerów **18A** i **18B**, poddano je reakcji redukcji katalitycznej otrzymując optycznie czynne monoestry kwasu glutarowego. Reakcje redukcji przeprowadzono ze 100% wydajnością stosując katalizator palladowy umieszczony na węglu aktywnym<sup>16</sup> (Schemat 7).

#### 4.4. ENZYMATYCZNE METODY DESYMETRYZACJI BEZWODNIKÓW KWASÓW

##### 3-ARYLOGLUTAROWYCH.

Jak dotąd nie zamieszczono w literaturze żadnych informacji związanych z desymetryzacją enzymatyczną bezwodników kwasów 3-aryloglutarowych.

Badania nad reakcjami desymetryzacji aromatycznych bezwodników kwasu glutarowego, katalizowanymi lipazami, rozpoczęto w Zakładzie Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych PW.



**Schemat 9.**

Przeprowadzone badania nad zastosowaniem enzymów do katalizowania reakcji desymetryzacji bezwodnika 3-fenyloglutarowego<sup>20</sup> (**7**) alkoholami wykazały, że związki te reagują z enzymami nie dając oczekiwanych produktów. Dopiero zastosowanie immobilizowanych enzymów doprowadziło do uzyskania pożądaných produktów (Schemat 9).

Najwyższe wartości indukcji asymetrycznej uzyskano w reakcji bezwodnika kwasu 3-(4-metoksyfenylo)glutarowego (**7c**), katalizowanej immobilizowaną lipazą Amano PS. Równie dobrymi enzymami w reakcji desymetryzacji bezwodników kwasu 3-fenyloglutarowego okazały się Chirazym A i Novozym 435.

Przebadano również jaki wpływ na enancjoselektywność reakcji ma zastosowanie różnych rozpuszczalników. Jako reakcję modelową wybrano estyfikację bezwodnika kwasu 3-fenyloglutarowego (**7a**) etanolem, katalizowanej Novozymem 435 (Schemat 9). Wybrano rozpuszczalniki, które różniły się między sobą polarnością, gęstością oraz innymi właściwościami fizykochemicznymi. Pozwoliło to na wyodrębnienie grupy rozpuszczalników, w których reakcja desymetryzacji bezwodnika kwasu 3-fenyloglutarowego przebiega z najwyższymi wartościami nadmiarów enancjomerycznych i jednocześnie w najkrótszym okresie czasu.

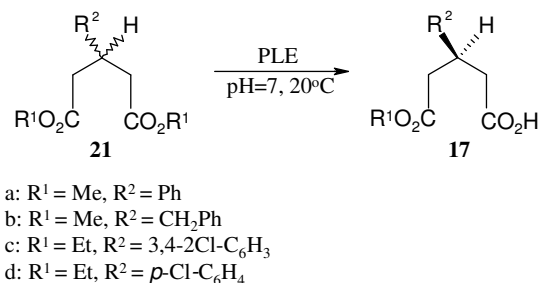
Do tych rozpuszczalników należą etery. Eter izopropylowy stosowany jako rozpuszczalnik w reakcjach enzymatycznych daje najwyższe wartości proporcji enancjomerów i najkrótszy czas trwania reakcji.

Sprawdzono również jaki wpływ na przebieg reakcji desymetryzacji ma zastosowanie różnych alkoholi. Najwyższe wartości indukcji asymetrycznej otrzymano w reakcjach bezwodników kwasu 3-fenyloglutarowego z etanolem, podobnie duże nadmiary enancjomeryczne uzyskano w reakcji tworzenia estru allilowego kwasu 3-fenyloglutarowego.

W kilku przypadkach, opierając się na danych literaturowych, przypisano konfiguracje absolutne uzyskanym produktom. Niestety, problem określenia ich konfiguracji absolutnych nie został rozwiązany.

#### 4.5. DESYMETRYZACJA HYDROLITYCZNA DIESTRÓW KWASÓW 3-ARYLOGLUTAROWYCH.

Czynne optycznie monoestry kwasów 3-aryloglutarowych (**17**) można otrzymać z diestrów kwasu glutarowego **21** w wyniku reakcji selektywnej hydrolizy substratów katalizowanej enzymami (Schemat 11).

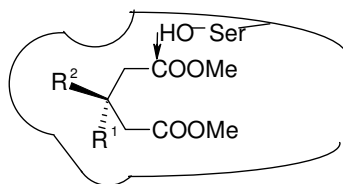


**Schemat 11.**

Esteraza z wątroby świni (PLE), która nie wymaga drogich w użyciu kofaktorów, katalizuje reakcję selektywnej hydrolizy 3-podstawionych diestrów kwasu glutarowego **21**<sup>21</sup>. Otrzymuje się optycznie czynne monoestry kwasu glutarowego z wysokimi nadmiarami enancjomerycznymi.

Reakcje hydrolizy prowadzono w 20°C w pH = 7. Odpowiednie pH mieszaniny reakcyjnej utrzymywano przez zastosowanie buforu fosforanowego. W obydwu przypadkach, gdy użyto jako substrat estry metylowe kwasu 3-fenylo-(**21a**, R<sup>1</sup> = Me, R<sup>2</sup> = Ph) i 3-benzyloglutarowego (**21b**, R<sup>1</sup> = Me, R<sup>2</sup> = CH<sub>2</sub>Ph) otrzymano monoestry **17a** i **17b** o konfiguracji absolutnej *S* z nadmiarami enancjomerycznymi wynoszącymi odpowiednio 54 i 81%<sup>22,23</sup>.

Również inne enzymy stosowane były w reakcjach desymetryzacji estrów kwasu 3-fenyloglutarowego. Stosując Lipazę Amano P otrzymano z 82% wydajnością monoester etylowy kwasu 3-(3,4-dichlorofenylo)glutarowego (**17c**) o konfiguracji absolutnej (*S*)<sup>24</sup> (Schemat 15). Stosując  $\alpha$ -chymotrypsynę otrzymano z wydajnością 92% i nadmiarem enancjomerycznym 97% monoester etylowy kwasu 3-(4-chlorofenylo)glutarowego<sup>25</sup> (**17d**).



a: R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = Ph  
 b: R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = CH<sub>2</sub>Ph

**Rys. 1.**

Wysoka enancjoselektywność reakcji prowadzonych z udziałem enzymów wynika ze ściśle określonej budowy centrum aktywnego. Wyróżnić w nim można dwa specyficzne miejsca; dużą

pętlę, w której umiejscawia się bardziej rozbudowany podstawnik aromatyczny ( $R^2$ ) i małą pętlę, w której lokuje się atom wodoru ( $R^1$ ) (Rys. 1). Takie ułożenie substratu sprawia, iż atak grupy hydroksylowej seryny może nastąpić tylko na jedną z grup estrowych użytego diestru.

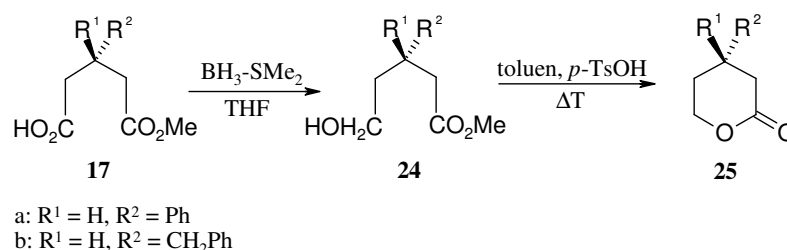
Katalizatorami tych reakcji są odpowiednie enzymy, a uzyskiwany produkt musi być wyodrębniany ze środowiska reakcji jakim jest woda, co znacznie podnosi koszty całego procesu.

#### 4.6. METODY SYNTEZY LAKTONÓW Z MONOESTRÓW KWASÓW 3-ARYLOGLUTAROWYCH.

##### 4.6.1. Selektywna redukcja grupy karboksylowej monoestrów kwasów 3-aryloglutarowych.

Selektywna redukcja grupy karboksylowej monoestrów kwasów 3-aryloglutarowych prowadzona jest do hydroksyestrów kwasów 3-aryloglutarowych, które dalej są laktonizowane do odpowiednich laktonów.

Związkami redukującymi kwasy karboksylowe do odpowiednich alkoholi są związki boru. Odczynniki te, przez swoją chemoselektywność, są atrakcyjnymi reagentami do syntezy optycznie czynnych laktonów.



**Schemat 13.**

W wyniku reakcji estru metylowego kwasu (3*S*)-3-fenyloglutarowego (**17a**) z kompleksem borowodoru z siarczkiem dimetylu otrzymano odpowiedni alkohol (3*R*)-5-hydroksy-3-fenylopentanian metylu (**24a**). Związek ten po hydrolizie kwasowej został poddany reakcji laktonizacji z użyciem kwasu *p*-toluenosulfonowego w toluenie prowadzącej do (+)-(4*S*)-4-fenylotetrahydropyran-2-onu (**25a**) z 53% wydajnością<sup>23</sup> (Schemat 13).

Analogiczną sekwencję reakcji zastosowano w celu otrzymania (+)-(4*S*)-4-benzylo-tetrahydropyran-2-onu (**25b**) z wydajnością 98%<sup>23</sup>.

Warto zauważyć, że powstające laktony mają taką samą konfigurację absolutną na asymetrycznym atomie węgla co użyte do ich syntezy, czynne optycznie, monoestry kwasu glutarowego.

Przytoczona metoda redukcji wydaje się być atrakcyjna ze względu na wysokie wydajności z jakimi otrzymuje się laktony, jednakże atut ten jest pomniejszony z powodu nieprzyjemnego charakteru używanego kompleksu borowodoru z siarczkiem dimetylu. Redukcja grupy kwasowej

monoestrów kwasu 3-fenyloglutarowego może być prowadzona zarówno gazowym borowodorem jak i odpowiednimi związkami boru. Jako, że te ostatnie charakteryzują się znacznie większą trwałością znalazły szersze zastosowanie w literaturze.

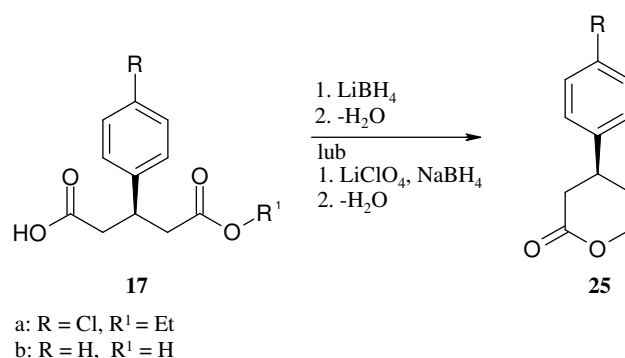
Wadą wymienionych związków jest niemożliwość użycia ich do redukcji monoestrów allilowych kwasów 3-aryloglutarowych. Ugrupowanie allilowe pod wpływem borowodoru ulega funkcjonalizacji. Warto zauważyć, iż gazowy borowódór nie redukuje grupy nitrowej. Umożliwia to otrzymywanie pochodnych kwasu 3-aryloglutarowego posiadających grupy nitrowe.

#### 4.6.2. Selektywna redukcja grupy estrowej monoestrów kwasów 3-aryloglutarowych.

W poprzednim paragrafie przytoczono metodę selektywnej redukcji grupy karboksylowej czynnych optycznie monoestrów kwasów 3-aryloglutarowych. Warto tu również zwrócić uwagę na możliwość selektywnej redukcji grupy estrowej tych związków.

Do chemoselektywnych odczynników stosowanych do redukcji grupy estrowej należą borowodorek litu oraz różne modyfikowane borowodorki tego pierwiastka.

W przeciwieństwie do reakcji z udziałem borowodoru utworzone laktony wykazują przeciwną konfigurację absolutną na asymetrycznym atomie węgla w stosunku do wyjściowego monoestru. Przyczyną tego jest zmiana starszeństwa podstawników w utworzonym produkcie laktonizacji.



**Schemat 14.**

W wyniku reakcji prowadzonej w suchym DME monoestru etylowego kwasu (3*R*)-3-(4-chlorofenylo)glutarowego (**17a**) z borowodorkiem litu otrzymano kwas (3*S*)-3-(4-chlorofenylo)-5-hydroksypentanowy, który poddano bezpośrednio reakcji laktonizacji prowadzącej do (4*S*)-(4-chlorofenylo)tetrahydro-2*H*-pyran-2-onu (**25a**) z wydajnością całkowitą 76%<sup>25</sup> (Schemat 17).

Zastosowanie do reakcji redukcji monoestrów kwasu glutarowego borowodorku sodu nie prowadzi do otrzymaniem odpowiedniego laktonu. Jest to związane z niską aktywnością tego odczynnika. Istnieje jednak możliwość generowania bezpośrednio w reakcji borowodorku litu z

borowodoru sodu oraz soli litu. Lakton, (4*S*)-4-fenylotetrahydro-2*H*-pyran-2-on (**25b**) otrzymany został tą metodą z 62% wydajnością<sup>15</sup> (Schemat 14).

Porównując koszty stosowanych w obydwu reakcjach odczynników można stwierdzić, iż metoda z wykorzystaniem borowodoru sodu do redukcji grupy estrowej monoestrów kwasów 3-aryloglutarowych ze względów ekonomicznych jest bardziej opłacalna.

## 5. WNIOSKI I PODSUMOWANIE CZĘŚCI LITERATUROWEJ.

Przedstawione sposoby otrzymywania optycznie czynnych monoestrów kwasów 3-aryloglutarowych można podzielić na metody katalizowane enzymami oraz pozostałe. Jednakże w literaturze nie zamieszczono żadnych informacji na temat otrzymywania tych związków na drodze enzymatycznej desymetryzacji odpowiednich bezwodników.

Zaprezentowane w przeglądzie literaturowym metody otrzymywania optycznie czynnych monoestrów kwasów 3-aryloglutarowych obarczone są pewnymi wadami. Pierwszą z nich, metodę desymetryzacji bezwodnika kwasu glutarowego alkaloidami cynchoidynowymi, charakteryzuje niewątpliwie duża wydajność chemiczna, lecz po stronie minusów trzeba odnotować to, iż wymaga ona użycia drogich, optycznie czynnych katalizatorów, a ponadto otrzymane monoestery cechuje niska czystość optyczna.

O wiele bardziej skomplikowaną i czasochłonną jest metoda tworzenia diastereoizomerów z bezwodników kwasu glutarowego. Po pierwsze - wymaga ona użycia czynnego optycznie reagenta; po wtóre - konieczne jest późniejsze rozdzielenie uzyskanej mieszaniny diastereoizomerów celem poddania ich następnie redukcji gazowym wodorem w obecności drogiego katalizatora. Koniecznym jest przypomnienie, iż proces uwodornienia jest niebezpieczny ze względu na wybuchowe właściwości mieszaniny tlenu z wodorem, co w przypadku zastosowania metody na skalę przemysłową, nakłada niezwykle wysokie rygory technologiczne celem zachowania względów bezpieczeństwa.

Hydrolyza enzymatyczna diestrów kwasu 3-fenyloglutarowego prowadzona jest w środowisku wodnym o ściśle kontrolowanym pH z użyciem nieimmobilizowanych biokatalizatorów. Zastosowanie środowiska wodnego w reakcji z organicznymi reagentami stwarza wiele problemów z wyodrębnieniem otrzymanych produktów, a także zastosowanie nieimmobilizowanych enzymów prowadzi do utraty ich po zakończonej reakcji co w znaczny sposób wpływa na koszty otrzymywania optycznie czynnych monoestrów kwasów 3-aryloglutarowych na skalę przemysłową.

Dlatego też celowym wydaje się podjęcie próby znalezienia metody otrzymywania chiralnych monoestrów kwasów 3-aryloglutarowych katalizowanej enzymami immobilizowanymi, co w dalszej perspektywie umożliwi zastosowanie jej na skalę przemysłową.

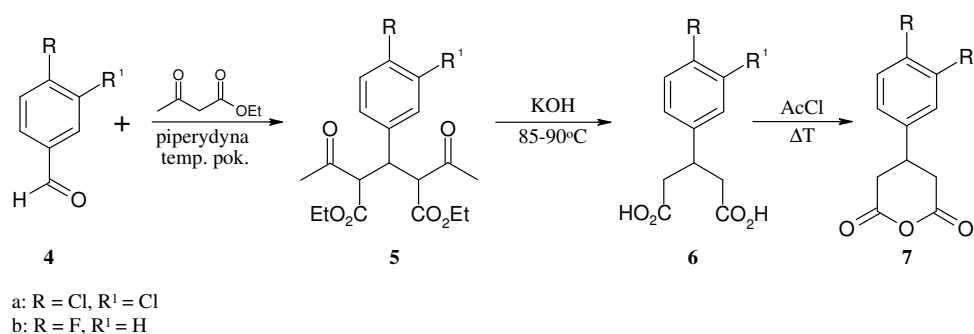
W celu uzyskania pełnej kontroli nad stereochemicznym przebiegiem tej reakcji, niezbędne jest także opracowanie metody określania konfiguracji absolutnych uzyskiwanych produktów.

## 6. WYNIKI BADAŃ WŁASNYCH.

### 6.1. SYNTEZA BEZWODNIKÓW I RACEMICZNYCH MONOESTRÓW KWASÓW

#### 3-ARYLOGLUTAROWYCH.

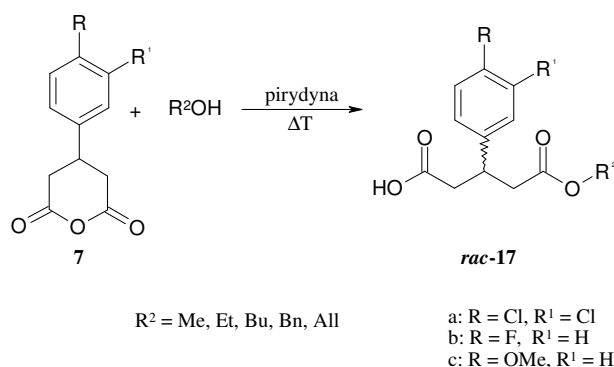
Do syntezy bezwodników kwasów 3-aryloglutarowych zastosowano metodę opartą na reakcji kondensacji acetylooctanu z odpowiednim aldehydem aromatycznym, zgodnie z metodą opisaną w paragrafie 4.1.1 dla syntezy aromatycznych pochodnych kwasów 3-aryloglutarowych (Schemat 15).



Schemat 15.

W wyniku reakcji addycji odpowiednich aldehydów **4** do acetylooctanu otrzymano odpowiednie estry etylowe kwasu 2,4-diacetylo-3-fenyloglutarowego (**5a**) i (**5b**) z wydajnościami wynoszącymi odpowiednio 63 i 66%. Reakcja dekarboksylacji i hydrolizy zasadowej związków **5** doprowadziła do otrzymania kwasów 3-fenyloglutarowych (**6**) z wydajnościami: 86% dla związku **6a**, 46% dla **6b**. Z otrzymanych kwasów w reakcji odwodnienia, chlorkiem kwasu octowego, otrzymane zostały bezwodniki: **7a** z wydajnością 72% oraz bezwodnik **7b** z wyższą wydajnością, wynoszącą 90%.

Racemiczne monoestry kwasu 3-fenyloglutarowego (*rac*-**17**) otrzymano zgodnie z reakcją przedstawioną na Schemacie 16. Metoda ta polegała na ogrzewaniu przez 2 godziny bezwodników kwasów 3-aryloglutarowych z odpowiednimi alkoholami w pirydynie<sup>35</sup>.



Schemat 16.

Wydajności z jakimi otrzymano monoestry kwasów 3-aryloglutarowych zabrane są w Tabeli 2.

**Tabela 2.** Racemiczne monoestry kwasów 3-aryloglutarowych.

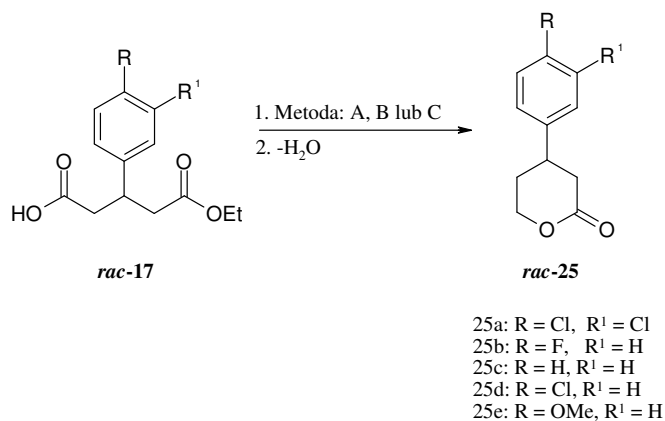
L.p.	17	R <sub>2</sub>	Wydajność (%)
1	17a	Me	97
2		Et	88
3		Bu	99
4		Bn	49
5		All	75
6	17b	Me	85
7		Et	91
8		Bu	86
9		Bn	86
10		All	89
11	17c	Et	85

Wszystkie związki zostały w pełni scharakteryzowane dostępnymi metodami analitycznymi.

## 6.2. SYNTEZA RACEMICZNYCH LAKTONÓW Z MONOESTRÓW KWASÓW 3-ARYLOGLUTAROWYCH.

Odpowiednie laktony z monoestrów kwasów 3-aryloglutarowych otrzymano trzema różnymi metodami (Schemat 17). Dwie pierwsze polegały na selektywnej redukcji grupy estrowej monoestru kwasu 3-aryloglutarowego do odpowiednich alkoholi. W metodzie A użyto do redukcji grupy estrowej borowoderek litu. Procedura syntezy była analogiczna do przedstawionej w paragrafie 4.6.2. metody syntezy laktonów. W metodzie B jako odczynnik redukujący użyto tańszego, ale znacznie mniej selektywnego, glinowodoru litowego. Ostatnia metoda syntezy laktonów, metoda C opierała się na selektywnej redukcji grupy kwasowej monoestrów kwasu 3-aryloglutarowego. Odczynnikiem który zastosowano do redukcji wymienionej grupy funkcyjnej był kompleks borowodoru z siarczkiem dimetylu w tetrahydrofuranie. Zastosowana procedura była analogiczna do tej, omówionej w paragrafie 4.6.1, która służyła do syntezy laktonów. Otrzymane w wyniku redukcji produkty poddano reakcji laktonizacji.

Opisane wyżej metody zastosowano do syntezy 4-(4-fluorofenylo)tetrahydro-2H-pyran-2-onu (*rac*-**25b**, L.p. 2). Wydajności otrzymanych z poszczególnych metod laktonów przedstawione są w Tabeli 3.



**Schemat 17.**

Redukcja grupy estrowej borowodorkiem litu (metoda A) prowadzi zawsze, z dużą wydajnością i niezależnie od rodzaju użytego monoestru kwasu 3-aryloglutarowego, do hydroksykwasu. Ta metoda została wybrana do syntezy pozostałych laktonów (*rac-25a,c-e*).

**Tabela 3.** Racemiczne laktony kwasu 3-aryloglutarowego.

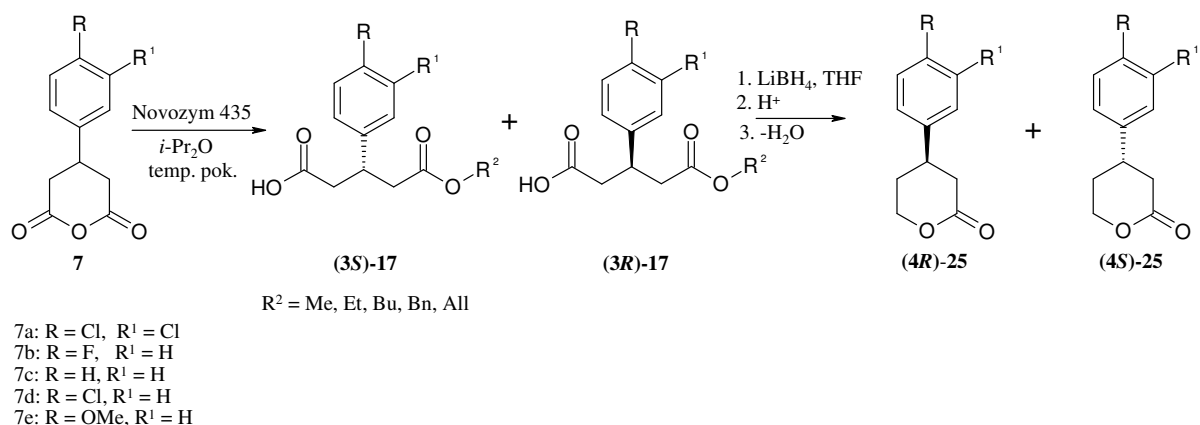
L.p.	<i>rac-25</i>	Metoda <sup>a</sup>	Wydajność (%)
1	25a	A	47
2	25b	A, B, C	76, 18, 61
3	25c	A	19
4	25d	A	43
5	25e	A	63

<sup>a)</sup> A: LiBH<sub>4</sub>; B: LiAlH<sub>4</sub>; C: BH<sub>3</sub>-S(Me)<sub>2</sub>

Dysponując racemicznymi wzorcami produktów podjęto badania nad enzymatyczną metodą syntezy chiralnych monoestrów kwasów 3-aryloglutarowych. Był to bowiem zasadniczy cel podjętych badań.

### 6.3. WPŁYW NOVOZYMU 435 I UŻYTEGO ALKOHOLU NA REAKCJĘ SYNTEZY CHIRALNYCH MONOESTRÓW KWASÓW 3-ARYLOGLUTAROWYCH.

W reakcji desymetryzacji wybranych bezwodników kwasów 3-aryloglutarowych różnymi alkoholami, katalizowanej Novozymem 435, otrzymano optycznie czynne monoestry (Schemat 18).



**Schemat 18.**

W Tabeli 4 zestawiono wydajności oraz czas prowadzenia reakcji desymetryzacji bezwodników kwasów 3-aryloglutarowych. Nie można było wykazać jaka jest konfiguracja otrzymanych produktów biorąc pod uwagę tylko znak skręcalności właściwej. Dlatego wszystkie monoestry przekształcone zostały w laktony, które dla każdego z chiralnych estrów są identyczne. W związku z czym z bezpośredniego porównania znaku skręcalności właściwej można było określić ich konfigurację. A więc także konfiguracji monoestrów, które były ich substratami.

Reakcje desymetryzacji bezwodników kwasów 3-aryloglutarowych przebiegają najlepiej dla alkoholu metylowego oraz etylowego. Równie wysokie wartości wydajności chemicznej uzyskano dla alkoholu allilowego. Użycie alkoholu butylowego oraz benzyłowego znacznie wpływa na czas prowadzonej reakcji. Równie duży wpływ na przebieg reakcji ma rodzaj użytego bezwodnika. Istotnymi różnicami w wynikach reakcji bezwodników kwasu 3-(3,4-dichlorofenylo)glutarowego, 3-(4-chlorofenylo)glutarowego i 3-(4-metoksyfenylo)glutarowego są czasy trwania reakcji. Prawdopodobnie jest to spowodowane istotną różnicą rozpuszczalności tych związków.

W większości otrzymane monoestry nie są opisane w literaturze, dlatego też nie można bezpośrednio przypisać im konfiguracji absolutnej. Optycznie czynne laktony **25c-e** są dobrze znane i opisane w literaturze. Korzystając z tego faktu przetransformowano otrzymane w wyniku reakcji enzymatycznej monoestry **17c-d** w odpowiednie chiralne laktony **25c-e**. Okazało się, że wszystkie otrzymane laktony mają konfigurację absolutną (*R*). W zastosowanej procedurze syntezy laktonów dochodzi do inwersji konfiguracji absolutnej na chiralnym atomie węgla. Z faktu tego wynika to, iż wszystkie użyte do reakcji estry mają konfigurację absolutną (*S*) (L.p. 11 – 25).

Laktony **25a,b** nie są opisane w literaturze. Absolutną konfigurację przypisano na podstawie danych literaturowych dotyczących chiralnego estru etylowego kwasu 3-(3,4-dichlorofenylo)glutarowego (L.p. 2)<sup>33</sup>. Otrzymany ester ma konfigurację absolutną (*S*). Tak więc otrzymany w następnym kroku lakton ma konfigurację absolutną (*R*). W wyniku transformacji pozostałych optycznie czynnych estrów kwasu 3-(3,4-dichlorofenylo)glutarowego (**17a**) w laktony, możliwe

było przypisanie im absolutnej konfiguracji (*S*) na podstawie znaku skręcalności optycznej laktonów (L.p. 2-5).

**Tabela 4.** Chiralne monoestry i laktony kwasów 3-aryloglutarowych.

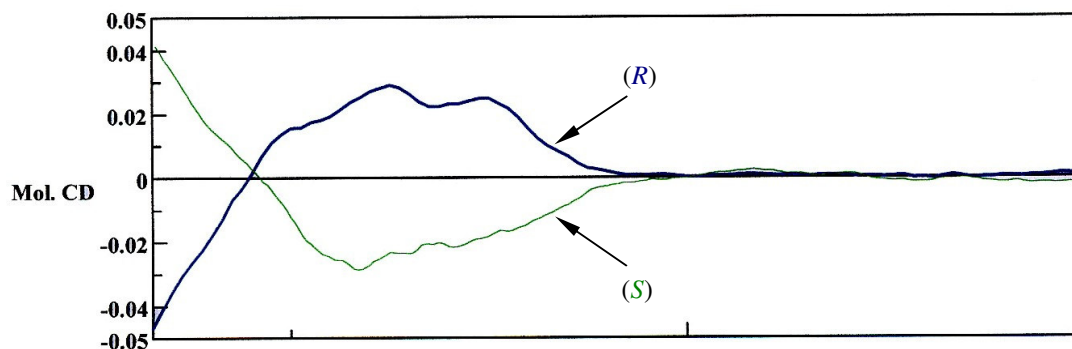
L.p.	17	Monoestry (17)				Laktony (25)			
		R <sup>2</sup>	Wyd./Konw. (%)/(%)	Czas (h/dni)	Konfig. <sup>a</sup>	Wyd.(%)	Konfig.	[α] <sup>20</sup> <sub>D</sub> (CHCl <sub>3</sub> ) <sup>b</sup>	Lit. [α] <sup>20</sup> <sub>D</sub> (CHCl <sub>3</sub> )
1	17a	Me	80	-15	<i>S</i>	35	<i>R</i>	-8.07	-
2		Et	66/76	-15	<i>S</i>	37	<i>R</i>	-7.10	
3		Bu	40/40	-15	<i>S</i>	60	<i>R</i>	-3.54	
4		Bn	44/88	-15	<i>S</i>	37	<i>R</i>	-1.82	
5		All	30/62	-15	<i>S</i>	62	<i>R</i>	-4.96	
6	17b	Me	90	27/-	<i>S</i>	49	<i>R</i>	-3.24	-
7		Et	89	20/-	<i>S</i>	67	<i>R</i>	-1.69	
8		Bu	44	-125	<i>S</i>	15	<i>R</i>	-3.15	
9		Bn	40	-17	<i>S</i>	67	<i>R</i>	-1.76	
10		All	76	-17	<i>S</i>	41	<i>R</i>	-4.91	
11	17c	Me	80	-15	<i>S</i>	52	<i>R</i>	-5.71	+3.80 ( <i>S</i> ) <sup>38</sup> -3.40 ( <i>R</i> ) <sup>39</sup>
12		Et	72	-14	<i>S</i>	34	<i>R</i>	-5.17	
13		Bu	93	-117	<i>S</i>	46	<i>R</i>	-7.11	
14		Bn	61	-132	<i>S</i>	27	<i>R</i>	-2.06	
15		All	85	-19	<i>S</i>	47	<i>R</i>	-4.07	
16	17d	Me	34	-15	<i>S</i>	-	-	-	+8.40 ( <i>S</i> ) e.e. = 97% <sup>36</sup>
17		Et	61	-14	<i>S</i>	36	<i>R</i>	-8.72	
18		Bu	53	-123	<i>S</i>	62	<i>R</i>	-4.55	
19		Bn	47	-133	<i>S</i>	16	<i>R</i>	-2.97	
20		All	64	-117	<i>S</i>	41	<i>R</i>	-6.28	
21	17e	Me	95	-18	<i>S</i>	71	<i>R</i>	-7.75	+3.63 ( <i>S</i> ) <sup>38</sup> -6.98 ( <i>R</i> ) e.e. = 93% <sup>37</sup>
22		Et	93	-119	<i>S</i>	28	<i>R</i>	-6.74	
23		Bu	65/44	-125	<i>S</i>	69	<i>R</i>	-3.45	
24		Bn	55/63	-133	<i>S</i>	15	<i>R</i>	-6.66	
25		All	100/70	-125	<i>S</i>	65	<i>R</i>	-5.41	

a), b) Parametry pomiaru skręcalności zamieszczone są w części eksperymentalnej.

Konfigurację absolutną laktonu **25b** określono wykorzystując metodę dichroizmu kołowego.

W celu wykazania, że reakcja redukcji może być przeprowadzona na grupie estrowej bądź karboksylowej monoestru kwasu 3-aryloglutarowego, otrzymano oba enancjomery 4-fluorofenylotetrahydropyran-2-onu (**25b**) z tego samego substratu. Wykonano ich widma CD (Rys. 2).

Rys. 2. Widmo CD wykonane dla laktonu (*R*)-**25b** i (*S*)-**25b**.



Porównano wartości skręcalności właściwej uzyskanych laktonów z wartościami zamieszczonymi w literaturze. Cytowany lakton **25d** (L.p. 17) miał wartość skręcalności właściwej wynoszącą  $-8.72$  ( $\text{CHCl}_3$ ), a literaturowy  $+8.40$  ( $\text{CHCl}_3$ )<sup>36</sup> dla nadmiaru enancjomerycznego równego 97%. Tak więc związek ten cechuje czystość optyczna wyższa aniżeli 97%. Również lakton **25e** (L.p. 21) charakteryzuje czystość optyczna przekraczająca 93%. Wartość skręcalności właściwej tego związku wynosiła  $-7.75$  ( $\text{CHCl}_3$ ), a literaturowa  $-6.98$  ( $\text{CHCl}_3$ ) dla nadmiaru enancjomerycznego 93%<sup>37</sup>.

Podsumowując można stwierdzić, że reakcje desymetryzacji wybranych bezwodników, bez względu na rodzaj użytego alkoholu, prowadzą do otrzymania chiralnych monoestrów o konfiguracji (*S*).

#### 6.4. BADANIA NAD CZYSTOŚCIĄ OPTYCZNĄ CHIRALNYCH MONOESTRÓW KWASU 3-(3,4-DICHLOROFENYLO)GLUTAROWEGO.

W wyniku enzymatycznej estryfikacji bezwodnika kwasu 3-(3,4-dichlorofenylo)glutarowego (**7a**) różnymi alkoholami otrzymano odpowiednie chiralne monoestry (Schemat 18). Reakcje prowadzone były w eterze izopropylowym w temperaturze pokojowej. Zastosowaną lipazą był Novozym 435. Jedynie reakcja z alkoholem metylowym przebiegła ze 100% konwersją (L.p. 1). Pozostałe reakcje zostały przerwane po 5 dniach.

Najwyższą wartość indukcji asymetrycznej wynoszącą 61% otrzymano dla reakcji syntezy estru metylowego. Jednocześnie reakcja ta przebiegła z najwyższą wydajnością chemiczną.

W przypadku monoestru benzyloвого nie ustalono nadmiaru enancjomerycznego, ponieważ produkt nie ulegał podziałowi na zastosowanej kolumnie chiralnej.

**Tabela 5.** Czystość optyczna uzyskanych monoestrów kwasu 3-(3,4-dichlorofenylo)glutarowego określana metodą HPLC.

L.p.	R <sup>2</sup>	e.e. (%)	Konfig.
1	Me	61	S
2	Et	47	S
3	Bu	31	S
4	Bn	-	S
5	All	39	S

Bez względu na użyty alkohol nie zaobserwowano zmiany konfiguracji absolutnej otrzymanych produktów (Tabela 5).

#### 6.5. WPŁYW UŻYTEGO ENZYMU NA ENANCJOSELEKTYWNOŚĆ REAKCJI SYNTEZY MONOESTRÓW KWASU 3-(3,4-DICHLOROFENYLO)GLUTAROWEGO.

W kolejnym etapie badań laboratoryjnych ustalono jaki wpływ na enancjoselektywność reakcji syntezy chiralnych monoestrów kwasu 3-aryloglutarowego ma użycie poszczególnych enzymów. Jako reakcję modelową wybrano desymetryzację bezwodnika kwasu 3-(3,4-dichlorofenylo)glutarowego (**7a**) etanolem. Reakcja była prowadzona w eterze izopropylowym w temperaturze pokojowej. Reakcje prowadzone były do osiągnięcia 100% konwersji. Postęp reakcji kontrolowany był metodą chromatografii cienkowarstwowej. Nadmiary enancjomeryczne, z jakimi otrzymano produkty, zebrane zostały w Tabeli 6.

**Tabela 6.** Zależność czystości optycznej produktu **17a** (R<sup>2</sup> = Et) od rodzaju użytej lipazy.

L.p.	Lipaza	Czas (dni) <sup>a</sup>	e.e. (%)	Konfig.
1	Chirazym A	2	77	S
2	Novozym 435	4	60	S
3	Chirazym C	21	45	S
4	Amano PS-C	2	44	S
5	Amano PS-D	9	37	S
6	PCL imm.	9	30	S
7	Chirazym B	7	24	S

<sup>a</sup>) Konwersja 100%.

Najwyższą wartość nadmiaru enancjomerycznego w najkrótszym czasie uzyskano dla reakcji katalizowanej lipazą Chirazym A (L.p. 1). Warto zauważyć, iż użycie lipazy Novozym 435 w skali analitycznej doprowadziło do otrzymania produktu o czystości optycznej wynoszącej 60% (Tabela 6, L.p. 2), gdy ten sam enzym użyty w większej skali doprowadził do otrzymania produktu z nadmiarem enancjomerycznym wynoszącym 47% (Tabela 5, L.p. 1). Najdłuższy czas prowadzenia reakcji wynoszący 21 dni odnotowano dla nieimmobilizowanej lipazy, Chirazymu C (L.p. 3), czystość optyczna otrzymanego produktu wynosiła 45%.

Bez względu na użyty enzym, zawsze w nadmiarze powstawał enancjomer (*S*).

#### 6.6. WPŁYW UŻYTEGO ROZPUSZCZALNIKA NA ENANCJOSELEKTYWNOŚĆ REAKCJI SYNTEZY MONOESTRÓW KWASU 3-(3,4-DICHLOROFENYLO)GLUTAROWEGO.

W badaniach nad reakcją otrzymywania chiralnych monoestrów kwasu 3-fenyloglutarowego sprawdzono jaki wpływ na enancjoselektywność tych reakcji ma zastosowanie różnych rozpuszczalników. W tym celu zbadano jaki wpływ na reakcję desymetryzacji bezwodnika kwasu 3-(3,4-dichlorofenylo)glutarowego (**7a**) etanolem (Schemat 18), ma grupa 5 rozpuszczalników (Tabela 7). Reakcję prowadzone były do osiągnięcia 100% konwersji. Zastosowaną lipazą był Novozym 435.

**Tabela 7.** Zależność czystości optycznej produktu **17a** ( $R^2 = Et$ ) od typu użytego rozpuszczalnika.

L.p.	Rozpuszczalnik	Czas (dni) <sup>a</sup>	e.e. [%]
1	Benzen	16	19
2	Eter etylowy	22	12
3	Eter <i>n</i> -propylowy	11	10
4	Eter <i>n</i> -butylowy	11	5
5	Eter <i>tert</i> -butylowy	22	3

<sup>a)</sup> Konwersja 100%.

Zebrane w Tabeli wyniki wyraźnie wskazują, że najlepszym rozpuszczalnikiem był benzen w którym otrzymano spodziewany produkt z nadmiarem enancjomerycznym 19%. W reakcjach prowadzonych w eterach (L.p. 2-6) najwyższe wartości nadmiarów enancjomerycznych wynoszących odpowiednio 12% (L.p. 2) i 10% (L.p. 3) otrzymano dla eteru etylowego i *n*-propylowego. Jednakże w przypadku tego ostatniego konwersja 100% została osiągnięta po 11 dniach, gdy dla eteru etylowego ten sam efekt został osiągnięty dopiero po dwukrotnie dłuższym

okresie czasu. Zastosowanie pozostałych eterów nie wpłynęło korzystnie na przebieg reakcji. Otrzymane w ich środowisku monoestry cechowała niska czystość optyczna.

Żaden z zastosowanych rozpuszczalników nie spowodował zmiany konfiguracji absolutnej otrzymanych monoestrów. W każdym z rozpatrywanych przypadków otrzymano produkty o konfiguracji absolutnej (*S*).

## 7. WNIOSKI I PODSUMOWANIE BADAŃ WŁASNYCH.

W niniejszej pracy wykonano syntezę szeregu chiralnych monoestrów kwasów 3-aryloglutarowych. Korelacją chemiczną udokumentowano konfigurację absolutną uzyskanych produktów. Ustalono jaki wpływ na enancjoselektywność reakcji enzymatycznej desymetryzacji bezwodników mają użyte alkohole.

Reakcje chemiczne katalizowane przez klasyczne katalizatory będą podobnie kiedy następuje zmiana podstawnika oddalonego od centrum reakcji. W przypadku reakcji enzymatycznej zaobserwowano to, iż drobna zmiana w strukturze substratu polegająca na zmianie grupy funkcyjnej w pozycji 3 i 4 pierścienia fenyłowego, powoduje bardzo dużą zmianę enancjoselektywności reakcji.

Wykazano, że reakcje desymetryzacji enzymatycznej wybranych bezwodników przebiegają najszybciej dla alkoholu metylowego, etylowego oraz allilowego. Dla tych alkoholi otrzymane produkty cechuje wysoka czystość optyczna.

Warto również zauważyć, że wszystkie reakcje przebiegały z użyciem rozpuszczalników organicznych, co ułatwia wyodrębnianie otrzymanych produktów estryfikacji. Zmiana enzymu, alkoholu oraz rozpuszczalnika nie zmienia enancjoselektywności badanych reakcji. Zawsze powstawały produkty o konfiguracji *S*. Rodzaj użytego rozpuszczalnika ma jednak istotny wpływ na czystość optyczną uzyskanych produktów. Najlepszym rozpuszczalnikiem okazał się eter izopropylowy.

Reakcję z alkoholem benzyłowym przebiegały najdłużej, a uzyskane produkty cechowała najniższa czystość optyczna. Duży wpływ na szybkość reakcji miała struktura chemiczna użytego bezwodnika. Przyczyną tego może być różna rozpuszczalność tych związków, co zauważono w przypadku bezwodnika kwasu 3-(4-metoksyfenylo)glutarowego. Substrat ten tworzy w środowisku reakcji aglomeraty, przez co utrudniony jest kontakt bezwodnika z katalizatorem i alkoholem. Problem ten może być rozwiązany przez zastosowanie efektywniejszej metody mieszania.

Uzyskane wyniki uzasadniają zastosowanie enzymów w stereokontrolowanej syntezie organicznej. Określenie wpływu używanych substratów, enzymów czy rozpuszczalników pozwala

na kontrolę stereochemicznego przebiegu reakcji enzymatycznej desymetryzacji bezwodników 3-aryloglutarowych, związków kluczowych w syntezie szeregu leków.

## 8. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA.

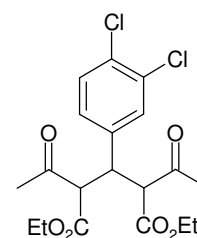
- **Reagenty:** acetylooctan etylu, aldehyd *p*-fluorobenzoesowy, aldehyd 3,4-dichlorobenzoesowy, piperydyna, pirydyna, chlorek acetylu, eter izopropylowy, eter metylowo *tert*-butylowy, eter *n*-propylowy, eter *n*-butylowy, eter *tert*-butylowy, 2M kompleks borowodoru z siarczkiem dimetylu w THF, borowoderek litu, glinowoderek litowy, tetrahydrofuran zostały zakupione w firmach Merck, Aldrich, pozostałe reagenty pochodziły z zasobów laboratorium.
- **THF:** był destylowany znad sodu z dodatkiem benzofenonu w atmosferze argonu.
- **TLC:** płytki pokryte żelem chromatograficznym 60 F-254, firmy Merck.
- **Chromatografia żelowa:** prowadzona na żelu krzemionkowym 60, 260-400 mesh.
- **Enzymy** jakie stosowano: Novozym 435 firmy Novo Nordisk.
- Inne enzymy: Chirazym L-2, c-f, c-3, lyso (Chirazym A), Chirazym L-1, c-f, lyso (Chirazym B), Chirazym L-2, c-f, c-2lyo (Chirazym C), AmanoPS-D, AmanoPS-C zostały zakupione w firmach Fluka, Sigma, Aldrich.
- Widma  $^1\text{H}$  NMR i  $^{13}\text{C}$  NMR zostały wykonane na aparacie Varian Gemini 200.
- Widma IR zostały wykonane na aparacie Perkin Elmer FT-IR Spectrum 2000.
- Widma dichroizmu kołowego zostały wykonane na aparacie JASCO J-715.
- Pomiary skręcalności optycznej wykonano na aparacie Jasco DIP-360.
- Rozdziały enancjomerów metodą HPLC zostały wykonane na aparacie LC-6A firmy Shimadzu zaopatrzonego w detektor UV SPD-6A i analizator Chromatopac C-R6A stosując kolumnę chiralną CHIRACEL OD-H firmy Chiracel® z prekolumną.
- Przygotowanie próbek do badań HPLC polegało na odsączeniu od mieszaniny reakcyjnej enzymu i ewentualnych zanieczyszczeń stałych.
- Analizy elementarne wykonano na aparacie CHN Perkin-Elementer 240.

### SYNTEZA BEZWODNIKÓW

#### Synteza estru etylowego kwasu 2,4 diacetylo-3-(3,4-dichlorofenylo)glutarowego (5a)

##### Procedura ogólna 1

Mieszaninę aldehydu 3,4-dichlorobenzoesowego (**4a**) (15.0 g, 0.080 mol) i acetylooctanu etylu (22.72 g, 0.16 mol) schłodzono do temperatury 0°C. Następnie przez 15 minut wkraplano piperydynę (1 ml). Mieszaninę, która uległa zestaleniu, pozostawiono na 7 dni w temperaturze pokojowej. Osad odsączony,



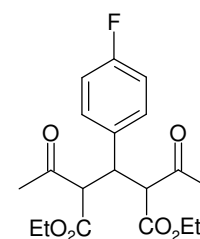
krystalizowano z etanolu, otrzymując (23.0 g, 0.05 mol) związek **5a** w postaci białych kryształów. Wydajność reakcji 63 %.

### Synteza estru etylowego kwasu 2,4 diacetylo-3-(4-fluorofenylo)glutarowego (**5b**)

Związek **5b** w postaci białych kryształów, otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 1. Wydajność reakcji 66%.

- temperatura topnienia 149-150°C (etanol), [lit. t.t. 160°C (etanol)<sup>26</sup>]
- Analiza elementarna dla C<sub>19</sub>H<sub>23</sub>FO<sub>6</sub>: Obliczono C 62.29% H 6.33%

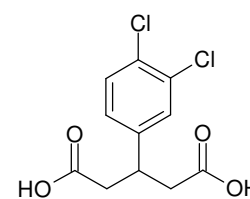
Znaleziono C 62.26% H 6.36%



### Synteza kwasu 3-(3,4-dichlorofenylo)glutarowego (**6a**)

#### Procedura ogólna 2

Do wodnego roztworu KOH (0.500 mol, 28.0 g w 24 ml wody) dodawano porcjami ester **5a** (0.050 mol, 23.0 g) przez 1.5 godziny, utrzymując temperaturę mieszaniny reakcyjnej w zakresie 85-95°C. Po dodaniu całości estru, mieszaninę reakcyjną ogrzewano jeszcze przez 2 godziny w temperaturze 80-85°C, następnie ostudzono do temperatury pokojowej i wylano na mieszaninę 200 ml wody i lodu. Po przemyciu octanem etylu, fazę wodną zakwaszono roztworem kwasu solnego do pH 1 i ekstrahowano ją trzema porcjami chloroformu (3x20 ml). Fazę organiczną zateżono na wyparce do uzyskania surowego produktu. Po krystalizacji z toluenu otrzymano związek **6a** (12.0 g, 0.04 mol) w postaci białych kryształów. Produkt otrzymano z wydajnością 86%.



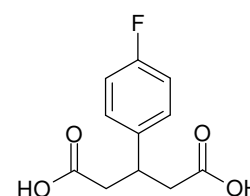
- R<sub>f</sub> = 0.66 (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- temperatura topnienia 155–156°C (toluen)[lit. 157°C (benzen)<sup>37</sup>]

### Synteza kwasu 3-(4-fluorofenylo)glutarowego (**6b**)

Związek **6b** w postaci białych kryształów, otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 2. Wydajność reakcji 46%.

- Temperatura topnienia 144°C (octan etylu / heksan) [lit. 144-147°C (octan etylu / heksan)<sup>28</sup>]
- R<sub>f</sub> = 0.15 (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- Analiza elementarna dla C<sub>11</sub>H<sub>11</sub>FO<sub>4</sub>: Obliczono C 58.41% H 4.90%

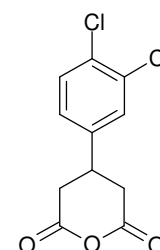
Znaleziono C 58.20% H 4.77%



### Synteza bezwodnika 3-(3,4-dichlorofenylo)glutarowego (**7a**)

#### Procedura ogólna 3

Roztwór kwasu **6a** (12.0 g, 0.040 mol) w chlorku acetylu (15 ml, 0.200 mol,) był ogrzewany do wrzenia przez 3 godziny. Po ostudzeniu mieszaniny reakcyjnej do



temperatury pokojowej nadmiar nie przereagowanego chlorku acetylu odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując stały, surowy produkt. Po krystalizacji z układu octan etylu / heksan, otrzymano (8.683 g, 0.030 mol) produktu **7a** w postaci białych kryształów. Wydajność reakcji 72%.

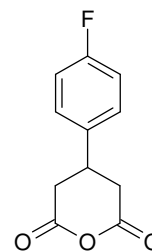
- temperatura topnienia 132-135°C (octan etylu / heksan) [lit. 198°C<sup>27</sup>].
- $R_f = 0.74$  (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 2.79-2.94 (dd,  $J=11.8$  Hz,  $J=17.4$  Hz, 2H), 3.10 (dd,  $J=4.5$  Hz,  $J=17.4$  Hz, 2H), 3.35-3.60 (m, 1H), 7.10 (dd,  $J=2.1$  Hz,  $J=8.2$  Hz, 1H), 7.35 (d,  $J=2.1$  Hz, 1H), 7.52 (d,  $J=8.2$  Hz, 1H)
- <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 34.1, 37.5, 67.1, 126.1, 129.0, 131.9, 201.5
- Analiza elementarna dla C<sub>11</sub>H<sub>8</sub>Cl<sub>2</sub>O<sub>3</sub>: Obliczono C 50.99% H 3.11%

Znaleziono C 50.70% H 3.19%

### Synteza bezwodnika 3-(4-fluorofenylo)glutarowego (**7b**)

Związek **7b** otrzymano w postaci białych kryształów, zgodnie z ogólną procedurą 3. Wydajność reakcji 90%.

- temperatura topnienia 98°C (octan etylu / heksan) [lit. 98.5-99°C (octan etylu / heksan)<sup>29</sup>].
- $R_f = 0.60$  (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 2.80-2.92 (dd,  $J=11.2$  Hz,  $J=17.0$  Hz, 1H), 3.14 (dd,  $J=4.5$  Hz,  $J=17.4$  Hz, 1H), 3.37 (m, 1H), 7.02-7.14 (m, 4H)
- <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 37.3, 41.2, 115.4, 122.3, 129.8, 130.1, 171.3



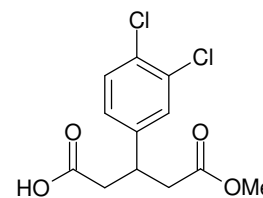
### ➤ SYNTEZA CHEMICZNA MONOESTRÓW KWASÓW 3-FENYLOGLUTAROWYCH

#### SYNTEZA CHEMICZNA ESTRÓW KWASÓW 3-(3,4-DICHLOROFENYLO)GLUTAROWYCH

#### Synteza estru metylowego kwasu 3-(3,4-dichlorofenylo)glutarowego (**17a**, R<sup>2</sup> = Me)

##### Procedura ogólna 4

Bezwodnik kwasu **7a** (0.200 g, 0.75 mmol) rozpuszczono w pirydynie (3 ml) i dodano metanol absolutny (0.15 ml, 3.60 mmol). Mieszaninę reakcyjną ogrzewano pod chłodnicą zwrotną przez 2.5 godziny. Następnie roztwór ochłodzono do temperatury pokojowej i dodano eteru etylowego (20 ml). Fazę eterową przemyto 2 M kwasem solnym (4 x 10 ml). Fazę organiczną wysuszone bezwodnym siarczanem magnezu, a następnie odparowano rozpuszczalnik otrzymując surowy produkt w postaci bezbarwnego oleju. Krystalizację prowadzono z układu eter etylowy / heksan otrzymując białe kryształy produktu **17a** (R<sup>2</sup> = Me) (0.213 g, 0.73 mmol) z wydajnością 97%.



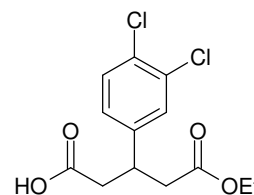
- temperatura topnienia 89-90°C (eter etylowy / heksan)
- $R_f = 0.20$  (MeOH /  $\text{CHCl}_3$  / HCOOH; 100:2:0.05; v/v/v)
- $^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2.56-2.63 (m, 4H), 2.76-2.91 (m, 3H), 3.62 (s, 1H), 7.48-7.53 (m, 2H), 7.10-7.14 (m, 1H)
- $^{13}\text{C NMR}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  32.0, 37.6, 42.6, 126.7, 126.8, 128.2, 128.4, 129.8, 131.4, 167.8
- Analiza elementarna dla  $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{O}_4$ : Obliczono C 49.51% H 4.15%

Znaleziono C 49.58% H 4.17%

### Synteza estru etylowego kwasu 3-(3,4-dichlorofenylo)glutarowego (17a, $\text{R}^2 = \text{Et}$ )

Związek **17a** ( $\text{R}^2 = \text{Me}$ ) w postaci białych kryształów otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 4 z wydajnością 88%.

- temperatura topnienia 93-94°C (octan etylu / heksan).
- $R_f = 0.16$  (MeOH /  $\text{CHCl}_3$  / HCOOH; 100:2:0.05; v/v/v)
- $^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.20 (t,  $J=7.1$  Hz, 3H), 2.55-2.88 (m, 4H), 3.55-3.75 (m, 1H), 4.09 (q,  $J=7.1$  Hz, 2H), 7.13 (dd,  $J=1.8$  Hz,  $J=8.2$  Hz, 1H), 7.37-7.42 (m, 2H)
- $^{13}\text{C NMR}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  14.7, 37.8, 40.5, 40.9, 61.4, 127.4, 129.9, 131.1, 131.6, 177.4, 201.6
- Analiza elementarna dla  $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{O}_4$ : Obliczono C 51.17% H 4.62%

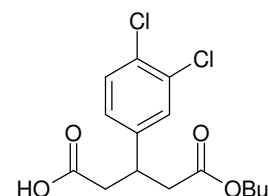


Znaleziono C 51.16% H 4.78%

### Synteza estru butylowego kwasu 3-(3,4-dichlorofenylo)glutarowego (17a, $\text{R}^2 = \text{Bu}$ )

Związek **17a** ( $\text{R}^2 = \text{Bu}$ ) w postaci białych kryształów otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 4 z wydajnością 99%.

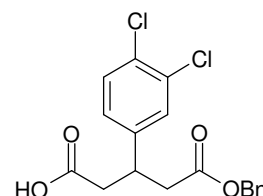
- $R_f = 0.25$  (MeOH /  $\text{CHCl}_3$  / HCOOH; 100:2:0.05; v/v/v)
- $^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.92 (t,  $J=7.2$  Hz, 3H), 1.24-1.35 (m, 2H), 1.36-1.70 (m, 2H), 2.98-2.73 (m, 4H), 3.60-3.75 (m, 1H), 4.03 (t,  $J=6.6$  Hz, 2H), 7.13 (dd,  $J=1.8$  Hz,  $J=8.2$  Hz, 1H), 7.37-7.42 (m, 2H)
- $^{13}\text{C NMR}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  19.7, 30.6, 31.2, 37.9, 40.5, 40.9, 86.7, 127.4, 130.0, 131.1, 143.1, 171.6, 176.2
- Analiza elementarna dla  $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{Cl}_2\text{O}_3$ : Obliczono C 54.07% H 5.44%



Znaleziono C 54.04% H 5.69%

### Synteza estru benzyloвого kwasu 3-(3,4-dichlorofenylo)glutarowego (17a, $\text{R}^2 = \text{Bn}$ )

Związek **17a** ( $\text{R}^2 = \text{Bn}$ ) w postaci białych kryształów otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 4 z wydajnością 49%.



- temperatura topnienia 78°C (octan etylu / heksan)
- $R_f = 0.24$  (MeOH /  $\text{CHCl}_3$  / HCOOH; 100:2:0.05; v/v/v)
- $^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2.52-2.88 (m, 4H), 3.50-3.84 (m, 1H), 5.01 (s, 2H), 6.92-7.38 (m, 8H)
- $^{13}\text{C NMR}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  37.8, 40.5, 40.8, 67.2, 127.3, 127.4, 128.8, 128.9, 129.0, 129.1, 130.0, 131.1, 131.7, 133.1, 135.9, 142.8, 170.4, 171.3
- Analiza elementarna dla  $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{O}_4$ : Obliczono C 58.87% H 4.39%

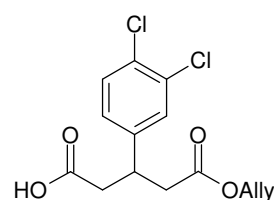
Znaleziono C 58.84% H 4.35%

### Synteza estru allilowego kwasu 3-(3,4-dichlorofenylo)glutarowego (17a, $\text{R}^2 = \text{Allyl}$ )

Związek **17a** ( $\text{R}^2 = \text{Allyl}$ ) w postaci białych kryształów otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 4 z wydajnością 75%.

- temperatura topnienia 65-66°C (octan etylu / heksan)
- $R_f = 0.24$  (MeOH /  $\text{CHCl}_3$  / HCOOH; 100:2:0.05; v/v/v)
- $^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2.55-2.84 (m, 4H), 3.52-3.68 (m, 1H), 4.42-4.58 (d,  $J=5.8$  Hz, 2H), 5.15-5.30 (m, 2H), 5.68-5.92 (m, 1H), 7.02-7.12 (dd,  $J=2.0$  Hz,  $J=2.4$  Hz, 1H), 7.24-7.40 (m, 2H)
- $^{13}\text{C NMR}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  37.8, 37.9, 40.4, 40.8, 66.0, 119.2, 127.0, 127.3, 129.9, 130.1, 131.1, 132.2, 142.9, 171.1
- Analiza elementarna dla  $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{O}_3$ : Obliczono C 53.02% H 4.45%

Znaleziono C 53.23% H 4.50%



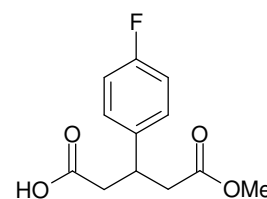
### SYNTEZA CHEMICZNA ESTRÓW KWASÓW 3-(4-FLUOROFENYLO)GLUTAROWYCH

#### Synteza estru metylowego kwasu 3-(4-fluorofenylo)glutarowego (17b, $\text{R}^2 = \text{Me}$ )

Związek **17b** ( $\text{R}^2 = \text{Me}$ ) w postaci białych kryształów otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 4 z wydajnością 85%.

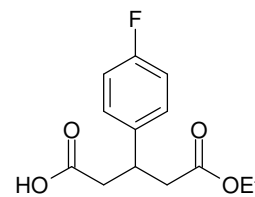
- temperatura topnienia 90-91°C (octan etylu / heksan) [lit. 97-98°C (benzen)<sup>30</sup>].
- $R_f = 0.32$  (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- $^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2.53-2.84 (m, 4H), 3.58 (s, 3H), 3.61-3.72 (m, 1H), 6.92-7.04 (m, 2H), 6.96 (d,  $J=8.75$  Hz, 2H), 7.18 (d,  $J=8.56$  Hz, 2H)
- $^{13}\text{C NMR}$  (50MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  37.9, 40.7, 41.1, 52.3, 115.2, 115.8, 129.2, 129.3, 129.4, 138.4, 172.3
- Analiza elementarna dla  $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{FO}_4$ : Obliczono C 60.00% H 5.45%

Znaleziono C 59.82% H 5.79%



### Synteza estru etylowego kwasu 3-(4-fluorofenylo)glutarowego (17b, R<sup>2</sup> = Et)

Związek **17b** (R<sup>2</sup> = Et) w postaci białych kryształów otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 4 z wydajnością 91%.

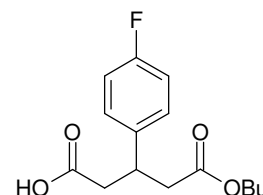


- temperatura topnienia 35-36°C (octan etylu / heksan)
- R<sub>f</sub> = 0.38 (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.14 (t, J=7.15 Hz, 3H), 2.51-2.82 (m, 4H), 3.61 (qt, J=7.59 Hz, 1H), 4.03 (q, J=7.14 Hz, 2H), 6.88-7.02 (m, 2H), 7.10-7.26 (m, 2H)
- <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 14.7, 37.9, 40.9, 41.3, 61.1, 115.2, 115.7, 129.2, 129.4, 138.3, 138.4, 159.8, 164.7, 171.8, 177.7
- Analiza elementarna dla C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>FO<sub>4</sub>: Obliczono C 61.41% H 5.95%

Znaleziono C 61.16% H 5.95%

### Synteza estru butylowego kwasu 3-(4-fluorofenylo)glutarowego (17b, R<sup>2</sup> = Bu)

Związek **17b** (R<sup>2</sup> = Bu) w postaci białych kryształów otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 4 z wydajnością 86%.

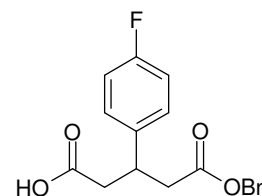


- temperatura topnienia 63-64°C (octan etylu / heksan)
- R<sub>f</sub> = 0.46 (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.87 (t, J=7.3 Hz, 3H), 1.16-1.36 (m, 2H), 1.40-1.58 (m, 2H), 2.51-2.82 (m, 4H), 3.52-3.70 (m, 1H), 3.97 (t, J=6.6 Hz, 2H), 6.90-7.05 (m, 2H), 7.12-7.28 (m, 2H)
- <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 14.2, 19.6, 31.1, 38.0, 40.1, 41.3, 65.1, 115.8, 116.2, 129.2, 129.4, 138.3, 138.4, 172.0, 177.6
- Analiza elementarna dla C<sub>15</sub>H<sub>19</sub>FO<sub>4</sub>: Obliczono C 63.82% H 6.78%

Znaleziono C 63.18% H 6.98%

### Synteza estru benzyłowego kwasu 3-(4-fluorofenylo)glutarowego (17b, R<sup>2</sup> = Bn)

Związek **17b** (R<sup>2</sup>=Bn) w postaci białych kryształów otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 4 z wydajnością 86%.



- temperatura topnienia 114-115°C (octan etylu / heksan)
- R<sub>f</sub> = 0.37 (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 2.54-2.84 (m, 4H), 3.54-3.72 (m, 1H), 5.01 (s, 2H), 6.85-7.02 (m, 2H), 7.06-7.40 (m, 7H)
- <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 37.9, 40.8, 41.2, 67.0, 115.8, 116.2, 128.7, 129.0, 129.2, 129.4, 136.1, 138.2, 171.7, 177.6

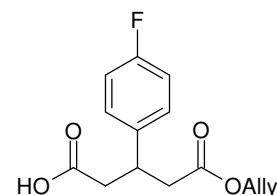
- Analiza elementarna dla  $C_{18}H_{17}FO_4$ : Obliczono C 68.35% H 5.42%

Znaleziono C 68.39% H 5.57%

### Synteza estru allilowego kwasu 3-(4-fluorofenylo)glutarowego (17b, $R^2 = \text{Allyl}$ )

Związek 17b ( $R^2 = \text{Allyl}$ ) w postaci białych kryształów otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 4 z wydajnością 89%.

- temperatura topnienia 63-64°C (octan etylu / heksan).
- $R_f = 0.47$  (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- $^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2.55-2.88 (m, 4H), 3.51-3.72 (m, 1H), 4.48 (d,  $J=5.7$  Hz, 2H), 5.10-5.28 (m, 2H), 5.68-5.90 (m, 1H), 6.90-7.05 (m, 2H), 7.10-7.28 (m, 2H)
- $^{13}\text{C NMR}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  38.1, 41.0, 41.4, 66.2, 116.5, 116.9, 119.6, 130.0, 130.1, 133.1, 164.5, 172.5



- Analiza elementarna dla  $C_{14}H_{15}FO_4$ : Obliczono C 63.15% H 5.68%

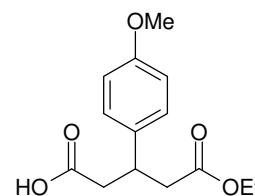
Znaleziono C 62.88% H 5.90%

### SYNTEZA CHEMICZNA ESTRÓW KWASÓW 3-(4-METOKSYFENYLO)GLUTAROWYCH

#### Synteza estru etylowego kwasu 3-(4-metoksyfenylo)glutarowego (17e, $R^2 = \text{Et}$ )

Związek 17e ( $R^2 = \text{Et}$ ) w postaci białych kryształów otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 4 z wydajnością 85%.

- temperatura topnienia 76-78°C (octan etylu / heksan), [lit. 78°C<sup>31</sup>]
- $R_f = 0.33$  (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- $^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.20 (t,  $J=7.2$  Hz, 3H), 2.74 (m, 4H), 3.63 (m, 1H), 3.83 (s, 3H), 4.09 (q,  $J=7.2$  Hz, 2H), 6.9 (d,  $J=7.2$  Hz, 2H), 7.19 (d,  $J=7.2$  Hz, 2H)
- $^{13}\text{C NMR}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  14.6, 41.5, 55.9, 60.9, 114.8, 129.4, 136.0
- Analiza elementarna dla  $C_{14}H_{18}O_5$ : Obliczono C 63.15% H 6.81%



Znaleziono C 62.98% H 6.68%

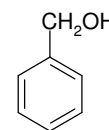
### ➤ SYNTEZA LAKTONÓW Z MONOESTRÓW KWASÓW 3-ARYLOGLUTAROWEGO

#### Reakcja modelowa dla redukcji grupy karboksylowej

##### Synteza alkoholu benzyloвого benzoowego

##### Ogólna procedura 5

Roztwór kwasu benzoowego (0.500 g, 4.01 mmol) w suchym tetrahydrofuranie (2.5 ml) ochłodzono do temperatury -78°C. Po ok. 10 minutach szybkiego mieszania powoli wkroplono 2M roztwór  $\text{BH}_3 \cdot \text{S}(\text{CH}_3)_2$  w tetrahydrofuranie (2.3 ml, 4.60 mmol). Mieszanie pozwolono osiągnąć temperaturę pokojową i całość mieszano przez 4 godziny w temperaturze 20-25°C. Dodano powoli alkohol metylowy (4 ml) w celu



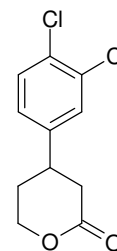
rozłożenia nie przereagowanego borowodoru, a wydzielający się wodór odprowadzono do otworu wentylacyjnego. Następnie odparowano rozpuszczalnik pod zmniejszonym ciśnieniem. Surowy produkt przemyto wodą (11 ml), nasyconym roztworem kwaśnego węgla sodu (11 ml) i solanki (11 ml). Fazę organiczną wysuszono bezwodnym węglanem potasu i odparowano na wyparce obrotowej uzyskując alkohol benzyłowy (0.442 g, 4.09 mmol)

- $n_D = 1.5300$  [lit =  $1.5350^{32}$ ].
- $R_f = 0.49$  (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)

### Synteza 4-(3,4-dichlorofenylo)tetrahydro-2H-pyran-2-onu (25a)

#### Ogólna procedura 6

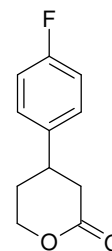
Roztwór monoestru **17a** ( $R^2 = Et$ ) (0.070 g, 0.240 mmol) w suchym tetrahydrofuranie (3 ml) ochłodzono do temperatury 0°C. Dodano *tert*-butanolan potasu (0.027 g, 0.240 mmol) i pozwolono mieszaninie reakcyjnej osiągnąć temperaturę pokojową. Następnie dodano borowoderek litu (0.011 g, 0.505 mmol). Całość szybko mieszając ogrzewano przez 1 godzinę pod chłodnicą zwrotną. Dodano powoli stężony kwas solny (2 ml). Roztwór ekstrahowano chlorkiem metylu (3x5 ml). Połączone fazy organiczne przemyto solanką (5 ml) i osuszono bezwodnym siarczanem magnezu. Rozpuszczalnik odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem, uzyskując bezbarwny olej. Surowy produkt rozpuszczono w suchym toluenie (5 ml) z dodatkiem katalitycznej ilości kwasu *p*-toluenosulfonowego. Odparowano rozpuszczalnik na wyparce obrotowej. Proces powtórzono 3 krotnie. Surowy produkt przemyto trietyloaminą (0.1 ml). Nadmiar aminy odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem. Powstały olej oczyszczono chromatografią kolumnową (heksan / octan etylu; 8:2; v/v) otrzymując związek **25a** (0.028 g, 0.114 mmol) z wydajnością 47%.



- $R_f = 0.32$  (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- $^1H$  NMR (200 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  1.80-2.15 (m, 2H), 2.48 (dd,  $J=10.8$  Hz,  $J=17.5$  Hz, 1H), 3.15 (ddd,  $J=1.6$  Hz,  $J=6.0$  Hz,  $J=17.8$  Hz, 1H), 4.20-4.50 (m, 3H), 6.80 (dd,  $J=2.2$  Hz,  $J=8.3$  Hz, 1H), 7.25 (d,  $J=2.1$  Hz, 1H), 7.35 (d,  $J=8.3$  Hz, 1H)
- $^{13}C$  NMR (50 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  30.6, 37.3, 37.7, 68.8, 126.4, 129.2, 131.5, 131.9, 133.6, 143.5, 170.2
- IR ( $cm^{-1}$ ): 2960, 2931, 2909, 1735 (-C=O), 1564, 1475, 1443, 1403, 1362, 1287, 1255, 1173, 1152, 1133, 1080, 1031, 980, 956, 922, 821, 631
- Analiza elementarna dla  $C_{11}H_{10}Cl_2O_2$ : Obliczono C 53.90% H 4.11%  
Znaleziono C 53.78% H 4.13%

### Synteza 4-(4-fluorofenylo)tetrahydro-2H-pyran-2-onu (25b)

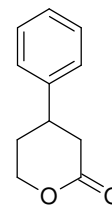
Związek **25b** w postaci bezbarwnego oleju otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 6 z wydajnością 76%.



- $R_f = 0.35$  (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- $^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.82-2.13 (m, 2H), 2.50 (dd,  $J=10.6$  Hz,  $J=17.5$  Hz, 1H), 2.80 (ddd,  $J=1.5$  Hz,  $J=5.9$  Hz,  $J=17.5$  Hz, 1H), 3.05-3.22 (m, 1H), 4.20-4.45 (m, 2H), 6.92-7.14 (m, 4H)
- $^{13}\text{C NMR}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  31.1, 37.6, 38.5, 69.5, 116.8, 117.2, 129.2, 129.3, 129.5, 130.3, 139.9, 160.8, 165.7, 171.9
- IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2964, 2933, 1885, 1730 (-C=O), 1606, 1512, 1477, 1401, 1258, 1159, 1102, 1078, 1015, 835, 667
- Analiza elementarna dla  $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{FO}_2$ : Obliczono C 68.03% H 5.71%  
Znaleziono C 68.01% H 5.81%

### Synteza 4-fenyltetrahydro-2H-pyran-2-onu (25c)

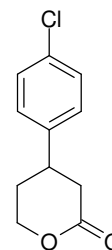
Związek **25c** w postaci bezbarwnego oleju otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 6 z wydajnością 19%.



- $R_f = 0.39$  (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- $^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.94-2.12 (m, 2H), 2.56 (dd,  $J=10.6$  Hz,  $J=17.6$ , 1H), 2.86 (ddd,  $J=1.5$  Hz,  $J=5.8$  Hz,  $J=17.2$  Hz, 1H), 3.08-3.28 (m, 1H), 4.30 (dt,  $J=3.6$  Hz,  $J=11.4$  Hz, 1H), 4.42 (ddd,  $J=3.7$  Hz,  $J=4.8$  Hz,  $J=11.3$  Hz, 1H), 7.15 (d,  $J=7.2$  Hz, 2H), 7.28 (d,  $J=7.2$  Hz, 2H)
- $^{13}\text{C NMR}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  31.1, 31.2, 38.2, 69.5, 127.7, 128.5, 130.2, 171.1
- IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3066, 3029, 2962, 2929, 1729 (-C=O), 1603, 1495, 1478, 1454, 1403, 1257, 1166, 1076, 1040, 976, 952, 700
- Analiza elementarna dla  $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_2$ : Obliczono C 74.97% H 8.39%  
Znaleziono C 74.94% H 7.89%

### Synteza 4-(4-chlorofenylo)tetrahydro-2H-pyran-2-onu (25d)

Związek **25d** w postaci białych kryształów otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 6 z wydajnością 43%.



- temperatura topnienia 79-80°C (heksan / octan etylu) [lit. 81-83°C (benzen)<sup>25</sup>]
- $R_f = 0.34$  (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- $^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.70-2.15 (m, 2H), 2.51 (dd,  $J=10.6$  Hz,  $J=17.6$

Hz, 1H), 2.85 (ddd,  $J=1.5$  Hz,  $J=5.8$  Hz,  $J=17.2$  Hz, 1H), 3.05-3.28 (m, 1H), 4.28 (dt,  $J=3.6$  Hz,  $J=11.4$  Hz, 1H), 4.46 (ddd,  $J=3.7$  Hz,  $J=4.8$  Hz,  $J=11.3$  Hz, 1H), 7.07 (d,  $J=8.4$  Hz, 2H), 7.26 (d,  $J=8.4$  Hz, 2H)

- $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  30.8, 37.5, 38.0, 69.0, 127.4, 127.7, 128.3, 128.5, 128.9, 129.0, 129.3, 129.4, 129.7, 141.7, 170.7
- IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2935, 1732 ( $-\text{C}=\text{O}$ ), 1612, 1514, 1494, 1478, 1442, 1403, 1302, 1253, 1225, 1094, 1078, 1078, 1014, 977, 953, 829, 700, 535
- Analiza elementarna dla  $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{ClO}_2$ : Obliczono C 62.72% H 5.26%

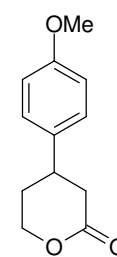
Znaleziono C 62.86% H 5.21%

### Synteza 4-(4-metoksyfenylo)tetrahydro-2H-pyran-2-onu (25e)

Związek **25e** w postaci białych kryształów otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 6 z wydajnością 45%.

- temperatura topnienia  $83^\circ\text{C}$  (heksan / octan etylu) [lit.  $83.4-83.6^\circ\text{C}$  (benzen)<sup>37</sup>]
- $R_f = 0.32$  (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- $^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.91-2.26 (m, 2H), 2.61 (dd,  $J=10.6$  Hz,  $J=17.6$ , 1H), 2.95 (ddd,  $J=1.6$  Hz,  $J=5.9$  Hz,  $J=17.2$  Hz, 1H), 3.12-3.31 (m, 1H), 3.82 (s, 1H), 4.37 (dt,  $J=3.9$  Hz,  $J=11.4$  Hz, 1H), 4.48 (ddd,  $J=3.8$  Hz,  $J=4.8$  Hz,  $J=11.3$  Hz, 1H), 6.92 (d,  $J=8.8$  Hz, 2H), 7.16 (d,  $J=8.8$  Hz, 2H)
- $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  31.1, 37.2, 38.3, 55.9, 69.2, 114.8, 128.0, 135.5, 159.2, 171.3
- IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2963, 2937, 2910, 2839, 1731, 1613, 1585, 1515, 1478, 1465, 1443, 1403, 1372, 1306, 1295, 1252, 1180, 1152, 1115, 1078, 1036, 976, 952, 903, 832, 811
- Analiza elementarna dla  $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_3$ : Obliczono C 69.89% H 6.84%

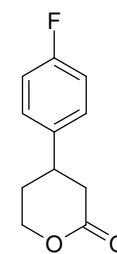
Znaleziono C 69.73% H 6.72%



### Synteza 4-(4-fluorofenylo)tetrahydro-2H-pyran-2-onu (25b)

#### Ogólna procedura 7

Roztwór monoestru **17b** ( $\text{R}^2 = \text{Et}$ ) (0.070 g, 0.291 mmol) w suchym tetrahydrofuranie (3 ml) ochłodzono do temperatury  $0^\circ\text{C}$ . Następnie dodano *tert*-butanolan potasu (0.034 g, 0.303 mmol). Mieszanie pozwolono osiągnąć temperaturę pokojową. Dodano glinowoderek litowy (0.035 g, 0.903 mmol). Roztwór szybko mieszając ogrzewano przez 1 godzinę pod chłodnicą zwrotną. Dodano powoli stężony kwas solny (2 ml). Roztwór ekstrahowano chlorkiem metylu (3x5 ml). Połączone fazy organiczne przemyto solanką (5 ml) i wysuszono bezwodnym siarczanem magnezu. Rozpuszczalnik odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem, otrzymując bezbarwny olej. Surowy produkt rozpuszczono w suchym toluenie (5 ml) z dodatkiem katalitycznej ilości kwasu *p*-toluenosulfono-



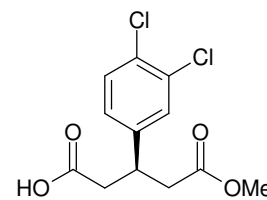
wego. Odparowano rozpuszczalnik pod zmniejszonym ciśnieniem. Proces powtórzono 3 krotnie. Surowy produkt przemyto trietyloaminą (0.1 ml). Nadmiar aminy odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem na wyparce obrotowej. Otrzymany olej oczyszczono chromatografią kolumnową (heksan / octan etylu; 8:2; v/v) otrzymując związek **25b** (0.010 g, 0.051 mmol) z wydajnością 18%.

- $R_f = 0.35$  (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2963, 2909, 1886, 1733 (-C=O), 1607, 1513, 1478, 1403, 1255, 1160, 1099, 1078, 1015, 834

➤ **PREPARATYWNA SKALA SYNTEZY CHIRALNYCH ESTRÓW KWASÓW 3-ARYLOGLUTAROWYCH I LAKTONÓW.**

**Ester metylowy kwasu (3S)-(+)-3-(3,4-dichlorofenylo)glutarowego (17a,  $R^2 = \text{Me}$ )**

Do roztworu bezwodnika kwasu 3-(3,4-dichlorofenylo)glutarowego (**7a**) (0.120 g, 0.463 mmol) w eterze izopropylowym (10 ml) dodano Novozymu 435 (50 mg) oraz alkohol metylowy (30  $\mu\text{l}$ , 0.736 mmol) i pozostawiono na wytrząsarce w temperaturze pokojowej. Przebieg reakcji



monitorowano metodą TLC ( $R_f = 0.20$ ,  $\text{CHCl}_3 / \text{MeOH} / \text{HCOOH}$ ; 100:2:0.05; v/v/v). Reakcja zakończyła się po 5 dniach. Po odsączeniu enzymu z mieszaniny reakcyjnej, odparowano rozpuszczalnik. Otrzymano oleisty produkt (0.1337 g, 99% wydajności), który po krystalizacji z układu eter etylowy / heksan dał białe kryształy produktu (0.1070 g) z 80% wydajnością.

- $[\alpha]_D^{20} = + 5.04$  (c 1.00, etanol)
- HPLC: e.e.= 61%
- Parametry analizy:
  - układ: heksan /i-PrOH /  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ; v/v/v; 198:1:1
  - $\lambda = 225\text{nm}$
  - Przepływ: 2.0 ml/min - czasy retencji enancjomerów  $R_{1S} = 41.1$ ,  $R_{1R} = 45.1$
- temperatura topnienia 79-89°C (eter etylowy / heksan).

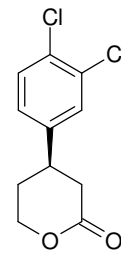
Analiza elementarna dla  $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{O}_4$ : Obliczono C 49.51% H 4.15%

Znaleziono C 49.53% H 4.29%

**Redukcja i laktonizacja estru (3S)-(17a) ( $R^2 = \text{Me}$ ) do laktonu (4R)-(25a)**

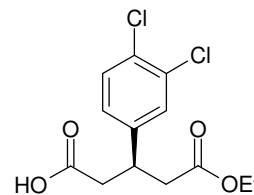
Związek **25a** w postaci bezbarwnego oleju otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 6 z wydajnością 35%.

- $R_f = 0.32$  (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- $[\alpha]_D^{20} = - 8.07$  (c 1.60,  $\text{CHCl}_3$ )
- IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2965, 2909, 1734 (-C=O), 1564, 1475, 1444, 1403, 1362, 1287, 1256, 1173, 1152, 1133, 1080, 1031, 980, 956, 921, 821, 631



### Ester etylowy kwasu (3*S*)-(+)-3-(3,4-dichlorofenylo)glutarowego (17a, R<sup>2</sup> = Et)

Do roztworu bezwodnika kwasu 3-(3,4-dichlorofenylo)glutarowego (7a) (0.120 g, 0.463 mmol) w eterze izopropylowym (10 ml) dodano Novozymu 435 (50 mg) oraz alkohol etylowy (45  $\mu$ l, 0.767 mmol) i pozostawiono na wytrząsarce w temperaturze pokojowej. Przebieg reakcji monitorowano metodą TLC ( $R_f$  = 0.16, CHCl<sub>3</sub> / MeOH / HCOOH; 100:2:0.05; v/v/v). Reakcję przerwano po 5 dniach. Po odsączeniu enzymu z mieszaniny reakcyjnej, odparowano rozpuszczalnik. Otrzymano oleisty produkt (0.1061 g, 76% konwersji), który po krystalizacji z układu eter etylowy / heksan dał białe kryształy produktu (0.0913 g) z 66% wydajnością.



- $[\alpha]_D^{20} = + 3.83$  (c 1.00, etanol)[lit. + 6.90 (c 1.0, etanol) dla (*S*)-enancjomeru<sup>33</sup>]
- HPLC: e.e.= 47%
- Parametry analizy:
  - układ: heksan / *i*-PrOH / CH<sub>3</sub>COOH; 198:1:1; v/v/v
  - $\lambda$ =225nm
  - Przepływ: 1.0 ml/min - czasy retencji enancjomerów  $R_{1S} = 65.0$ ,  $R_{1R} = 69.8$
- temperatura topnienia 76-77°C (eter etylowy / heksan)

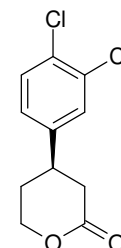
Analiza elementarna dla C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>Cl<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: Obliczono C 51.17% H 4.62%

Znaleziono C 51.12% H 4.51%

### Redukcja i laktonizacja estru (3*S*)-(17a) (R<sup>2</sup> = Et) do laktonu (4*R*)-(25a)

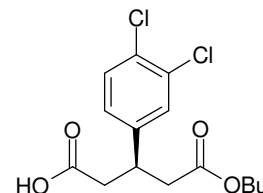
Związek 25a w postaci bezbarwnego oleju otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 6 z wydajnością 37%.

- $R_f = 0.32$  (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- $[\alpha]_D^{20} = - 7.10$  (c 2.00, CHCl<sub>3</sub>)
- IR (cm<sup>-1</sup>): 2964, 2909, 1735 (-C=O), 1564, 1475, 1444, 1403, 1362, 1287, 1256, 1173, 1152, 1133, 1080, 1031, 980, 956, 921, 821, 630



### Ester butylowy kwasu (3*S*)-(+)-3-(3,4-dichlorofenylo)glutarowego (17a, R<sup>2</sup> = Bu)

Do roztworu bezwodnika kwasu 3-(3,4-dichlorofenylo)glutarowego (7a) (0.120 g, 0.463 mmol) w eterze izopropylowym (10 ml) dodano Novozymu 435 (50 mg) oraz alkohol butylowy (80  $\mu$ l, 0.870 mmol) i pozostawiono na wytrząsarce w temperaturze pokojowej. Przebieg reakcji monitorowano metodą TLC ( $R_f$  = 0.25, CHCl<sub>3</sub> / MeOH / HCOOH; 100:2:0.05; v/v/v). Reakcję przerwano po 5 dniach. Po odsączeniu enzymu z mieszaniny reakcyjnej, odparowano rozpuszczalnik. Otrzymano oleisty produkt (0.0608 g, 40% konwersji), który po krystalizacji z układu eter etylowy / heksan dał białe kryształy produktu (0.0413 g) z 40% wydajnością.

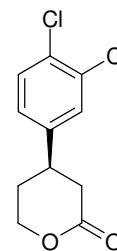


- $[\alpha]_D^{20} = + 1.33$  (c 0.50, etanol)
- HPLC: e.e.= 31%
- Parametry analizy:
  - układ: heksan / *i*-PrOH / CH<sub>3</sub>COOH; 198:1:1; v/v/v
  - $\lambda=225\text{nm}$
  - Przepływ: 1.0 ml/min - czasy retencji enancjomerów  $R_{tS} = 56.9$ ,  $R_{tR} = 62.4$

### Redukcja i laktonizacja estru (3S)-(17a) ( $R^2 = \text{Bu}$ ) do laktonu (4R)-(25a)

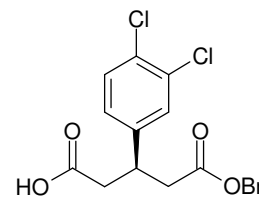
Związek **25a** w postaci bezbarwnego oleju otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 6 z wydajnością 60%.

- $R_f = 0.32$  (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- $[\alpha]_D^{20} = - 3.54$  (c 1.70, CHCl<sub>3</sub>)
- IR (cm<sup>-1</sup>): 2965, 2909, 1734 (-C=O), 1564, 1475, 1444, 1403, 1362, 1287, 1256, 1173, 1152, 1133, 1080, 1031, 980, 956, 921, 821, 631



### Ester benzytowy kwasu (3S)-(-)-3-(3,4-dichlorofenylo)glutarowego (17a, $R^2 = \text{Bn}$ )

Do roztworu bezwodnika kwasu 3-(3,4-dichlorofenylo)glutarowego (**7a**) (0.120 g, 0.463 mmol) w eterze izopropylowym (10 ml) dodano Novozymu 435 (50 mg) oraz alkohol butylowy (90  $\mu\text{l}$ , 0.870 mmol) i pozostawiono na wytrząsarce w temperaturze pokojowej. Przebieg reakcji monitorowano metodą TLC ( $R_f = 0.25$ , CHCl<sub>3</sub> / MeOH / HCOOH; 100:2:0.05; v/v/v). Reakcję przerwano po 5 dniach. Po odsączeniu enzymu z mieszaniny reakcyjnej, odparowano rozpuszczalnik. Otrzymano oleisty produkt (0.1483 g, 88% konwersji), który po krystalizacji z układu eter etylowy / heksan dał białe kryształy produktu (0.0724 g) z 44% wydajnością.

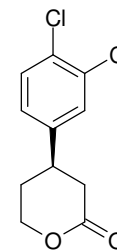


- $[\alpha]_D^{20} = -1.54$  (c 1.00, etanol)

### Redukcja i laktonizacja estru (3S)-(17a) ( $R^2 = \text{Bn}$ ) do laktonu (4R)-(25a)

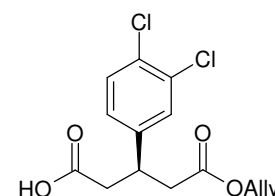
Związek **25a** w postaci bezbarwnego oleju otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 6 z wydajnością 37%.

- $R_f = 0.32$  (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- $[\alpha]_D^{20} = - 1.82$  (c 1.60, CHCl<sub>3</sub>)
- IR (cm<sup>-1</sup>): 2962, 1731 (-C=O), 1563, 1472, 1405, 1362, 1288, 1259, 1155, 1133, 1080, 1031, 980, 957, 921, 822, 630



### Ester allilowy kwasu (3S)-(+)-3-(3,4-dichlorofenylo)glutarowego (17a, $R^2 = \text{Allyl}$ )

Do roztworu bezwodnika kwasu 3-(3,4-dichlorofenylo)glutarowego (**7a**) (0.120 g, 0.463 mmol) w eterze izopropylowym (10 ml) dodano



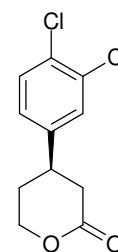
Novozymu 435 (50 mg) oraz alkohol allilowy (50  $\mu$ l, 0.730 mmol) i pozostawiono na wytrząsarce w temperaturze pokojowej. Przebieg reakcji monitorowano metodą TLC ( $R_f = 0.24$ ,  $\text{CHCl}_3$  /  $\text{MeOH}$  /  $\text{HCOOH}$ ; 100:2:0.05; v/v/v). Reakcję przerwano po 5 dniach. Po odsączeniu enzymu z mieszaniny reakcyjnej, odparowano rozpuszczalnik. Otrzymano oleisty produkt (0.0755 g, 62% konwersji), który po krystalizacji z układu eter etylowy / heksan dał białe kryształy produktu (0.0357 g) z 30% wydajnością.

- $[\alpha]_D^{20} = + 1.68$  (c 1.00, etanol)
- HPLC: e.e.= 39%
- Parametry analizy:
  - układ: heksan / *i*-PrOH /  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ; 198:1:1; v/v/v
  - $\lambda = 225\text{nm}$
  - Przepływ: 2.0 ml/min - czasy retencji enancjomerów  $R_{tS} = 32.7$ ,  $R_{tR} = 34.2$

### Redukcja i laktonizacja estru (3S)-(17a) ( $R^2 = \text{Allyl}$ ) do laktonu (4R)-(25a)

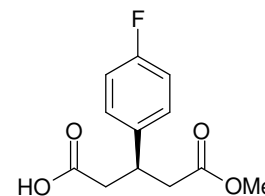
Związek **25a** w postaci bezbarwnego oleju otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 6 z wydajnością 35%.

- $R_f = 0.32$  (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- $[\alpha]_D^{20} = - 4.96$  (c 1.85,  $\text{CHCl}_3$ )
- IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2964, 2909, 1735 ( $-\text{C}=\text{O}$ ), 1564, 1475, 1444, 1403, 1362, 1287, 1256, 1172, 1152, 1134, 1080, 1031, 980, 956, 921, 821, 631



### Ester metylowy kwasu (3S)-(-)-3-(4-fluorofenylo)glutarowego (17b, $R^2 = \text{Me}$ )

Do roztworu bezwodnika kwasu 3-(4-fluorofenylo)glutarowego (**7b**) (0.120 g, 0.576 mmol) w eterze izopropylowym (10 ml) dodano Novozymu 435 (90 mg) oraz alkohol metylowy (30  $\mu$ l, 0.736 mmol) i pozostawiono na wytrząsarce w temperaturze pokojowej. Przebieg reakcji monitorowano metodą TLC ( $R_f = 0.32$ , heksan / octan etylu; 6:4; v/v/v). Reakcja zakończyła się po 27 godzinach. Po odsączeniu enzymu z mieszaniny reakcyjnej, odparowano rozpuszczalnik. Otrzymano oleisty produkt (0.1384 g, 99% wydajności), który po krystalizacji z układu eter etylowy / heksan dał białe kryształy produktu (0.1245 g, 0.518 mmol) z 90% wydajnością.



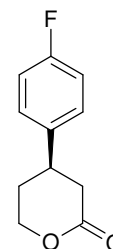
- $[\alpha]_D^{20} = - 4.29$  (c 1.00,  $\text{CHCl}_3$ )
- temperatura topnienia  $42^\circ\text{C}$  (eter etylowy / heksan)
- IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2955 ( $-\text{CH}_2-$ ), 1733 w. ( $-\text{COOMe}$ ), 1715 w. ( $-\text{COOH}$ ), 1606, 1512, 1438, 1367, 1272, 1160 (C-F), 1100 ( $-\text{O}-\text{H}$ ), 1041, 834
- Analiza elementarna dla  $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{FO}_4$ : Obliczono C 60.00% H 5.45%

Znaleziono C 60.07% H 5.51%

### Redukcja i laktonizacja estru (3S)-(17b) ( $R^2 = \text{Me}$ ) do laktonu (4R)-(25b)

Związek **25b** w postaci bezbarwnego oleju otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 6 z wydajnością 49%.

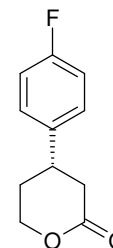
- $R_f = 0.35$  (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- $[\alpha]_D^{20} = -3.24$  (c 2.00,  $\text{CHCl}_3$ )
- IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2963, 2929, 1885, 1733 ( $-\text{C}=\text{O}$ ), 1607, 1513, 1478, 1403, 1255, 1099, 1078, 1015, 835, 667



### Redukcja i laktonizacja estru (3S)-(17b) ( $R^2 = \text{Me}$ ) do laktonu (4S)-(25b)

Surowy produkt otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 5. Surowy produkt rozpuszczono w suchym toluenie (10 ml) z dodatkiem katalitycznej ilości kwasu *p*-toluenosulfonowego. Odparowano rozpuszczalnik pod zmniejszonym ciśnieniem. Proces ten powtórzono 3 krotnie. Otrzymany olej przemyto trietyloaminą (0.1 ml). Nadmiar aminy odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem na wyparce obrotowej. Otrzymany olej oczyszczono chromatografią kolumnową (heksan / octan etylu; 8:2; v/v) otrzymując związek **25b** (0.025 g, 0.129 mmol) z wydajnością 61%.

- $R_f = 0.35$  (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- $[\alpha]_D^{20} = +3.35$  (c 1.25,  $\text{CHCl}_3$ )
- IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2962, 2928, 1885, 1732 ( $-\text{C}=\text{O}$ ), 1607, 1513, 1478, 1403, 1253, 1098, 1078, 1015, 835, 668

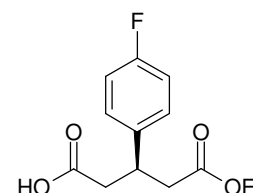


### Ester etylowy kwasu (3S)-(-)-3-(4-fluorofenylo)glutarowego (17b, $R^2 = \text{Et}$ )

Do roztworu bezwodnika kwasu 3-(4-fluorofenylo)glutarowego (**7b**) (0.120 g, 0.576 mmol) w eterze izopropylowym (10 ml) dodano Novozymu 435 (90 mg) oraz alkohol etylowy (45  $\mu\text{l}$ , 0.767 mmol) i pozostawiono na wytrząsarce w temperaturze pokojowej. Przebieg reakcji monitorowano metodą TLC ( $R_f = 0.38$ , heksan / octan etylu; 6:4; v/v). Reakcja zakończyła się po 20 godzinach. Po odsączeniu enzymu z mieszaniny reakcyjnej, odparowano rozpuszczalnik. Otrzymano oleisty produkt (0.1465 g, 100% wydajności), który po krystalizacji z układu eter etylowy / heksan dał białe kryształy produktu (0.1302 g, 0.512 mmol) z 89% wydajnością.

- $[\alpha]_D^{20} = -4.70$  (c 1.00,  $\text{CHCl}_3$ )
- temperatura topnienia 59-60°C (eter etylowy / heksan)
- Analiza elementarna dla  $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{FO}_4$ : Obliczono C 61.41% H 5.95%

Znaleziono C 61.24% H 6.07%

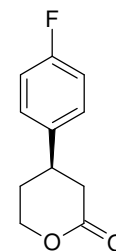


### Redukcja i laktonizacja estru (3S)-(17b) ( $R^2 = Et$ ) do laktonu (4R)-(25b)

Związek **25b** w postaci bezbarwnego oleju otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 6 z wydajnością 67%.

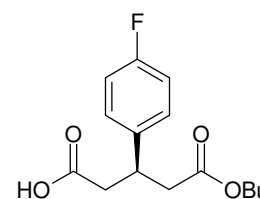
- $R_f = 0.35$  (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- $[\alpha]_D^{20} = -1.69$  (c 1.35,  $CHCl_3$ )
- Analiza elementarna dla  $C_{11}H_{11}FO_4$ : Obliczono C 68.03% H 5.71%

Znaleziono C 68.16% H 5.87%



### Ester butylowy kwasu (3S)-(-)-3-(4-fluorofenylo)glutarowego (17b, $R^2 = Bu$ )

Do roztworu bezwodnika kwasu 3-(4-fluorofenylo)glutarowego (**7b**) (0.120 g, 0.576 mmol) w eterze izopropylowym (10 ml) dodano Novozymu 435 (90 mg) oraz alkohol butylowy (84  $\mu$ l, 0.913 mmol) i pozostawiono na wytrząsarce w temperaturze pokojowej. Przebieg reakcji monitorowano metodą TLC ( $R_f = 0.46$ , heksan / octan etylu, 6:4; v/v). Reakcja zakończyła się po 25 dniach. Po odsączeniu enzymu z mieszaniny reakcyjnej, odparowano rozpuszczalnik. Otrzymano oleisty produkt (0.1623 g, 99% wydajności), który po krystalizacji z układu eter etylowy / heksan dał białe kryształy produktu (0.0722 g, 0.256 mmol) z 44% wydajnością.

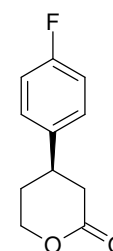


- $[\alpha]_D^{20} = -2.18$  (c 0.50,  $CHCl_3$ )
- temperatura topnienia 44-46°C (eter etylowy / heksan)
- IR ( $cm^{-1}$ ): 3510 (-O-H), 2962, 2930, 2876, 1818, 1767 (-COOBu), 1720 (-COOH), 1608, 1512, 1414, 1161, 1099, 1070, 1039, 951, 834

### Redukcja i laktonizacja estru (3S)-(17b) ( $R^2 = Bu$ ) do laktonu (4R)-(25b)

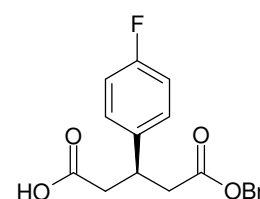
Związek **25b** w postaci bezbarwnego oleju otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 6 z wydajnością 15%.

- $R_f = 0.35$  (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- $[\alpha]_D^{20} = -3.15$  (c 0.50,  $CHCl_3$ )
- IR ( $cm^{-1}$ ): 2964, 2909, 1885, 1734 (-C=O), 1607, 1513, 1478, 1403, 1255, 1160, 1078, 1015, 977, 952, 835



### Ester benzylowy kwasu (3S)-(-)-3-(4-fluorofenylo)glutarowego (17b, $R^2 = Bn$ )

Do roztworu bezwodnika kwasu 3-(4-fluorofenylo)glutarowego **7b** (0.120 g, 0.576 mmol) w eterze izopropylowym (10 ml) dodano Novozymu 435 (90 mg) oraz alkohol benzylowy (90  $\mu$ l, 0.870 mmol) i pozostawiono na wytrząsarce w temperaturze pokojowej. Przebieg reakcji monitorowano metodą TLC ( $R_f = 0.37$ , heksan / octan etylu, 6:4; v/v). Reakcja zakończyła się po 7 dniach. Po odsączeniu enzymu z mieszaniny reakcyjnej, odparowano rozpuszczalnik. Otrzymano oleisty



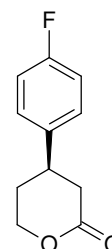
produkt (0.1819g, 99% wydajności), który po krystalizacji z układu eter etylowy / heksan dał białe kryształy produktu (0.0731 g, 0.231 mmol) z 40% wydajnością.

- $[\alpha]_{D=20}^{20} = -1.38$  (c 0.80,  $\text{CHCl}_3$ )

### Redukcja i laktonizacja estru (3S)-(17b) ( $R^2 = \text{Bn}$ ) do laktonu (4R)-(25b)

Związek **25b** w postaci bezbarwnego oleju otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 6 z wydajnością 67%.

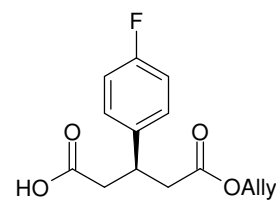
- $R_f = 0.35$  (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- $[\alpha]_{D=20}^{20} = -1.76$  (c 2.15,  $\text{CHCl}_3$ )
- IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2963, 2931, 1885, 1732 ( $-\text{C}=\text{O}$ ), 1606, 1512, 1478, 1403, 1255, 1160, 1078, 1015, 977, 953, 835



### Ester allilowy kwasu (3S)-(-)-3-(4-fluorofenylo)glutarowego (17b, $R^2 = \text{Allyl}$ )

Do roztworu bezwodnika kwasu 3-(4-fluorofenylo)glutarowego (**7b**) (0.120 g, 0.576 mmol) w eterze izopropylowym (10 ml) dodano Novozymu 435 (90 mg) oraz alkohol allilowy (55  $\mu\text{l}$ , 0.803 mmol) i pozostawiono na wytrząsarce w temperaturze pokojowej. Przebieg reakcji monitorowano metodą TLC ( $R_f = 0.47$ , heksan / octan etylu, 6:4; v/v). Reakcja zakończyła się po 7 dniach. Po odsączeniu enzymu z mieszaniny reakcyjnej, odparowano rozpuszczalnik. Otrzymano oleisty produkt (0.1532 g, 99% wydajności), który po krystalizacji z układu eter etylowy / heksan dał białe kryształy produktu (0.1160 g, 0.435 mmol) z 76% wydajnością.

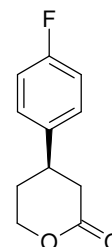
- $[\alpha]_{D=20}^{20} = -2.53$  (c 0.90,  $\text{CHCl}_3$ )
- temperatura topnienia 44-50°C (eter etylowy / heksan)
- IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3516 ( $-\text{O}-\text{H}$ ), 2986, 2949, 2345, 1885, 1818 ( $-\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 1729 ( $-\text{COOH}$ ), 1607, 1512, 1421, 1375, 1273, 1160 (C-F), 834



### Redukcja i laktonizacja estru (3S)-(17b) ( $R^2 = \text{Allyl}$ ) do laktonu (4R)-(25b)

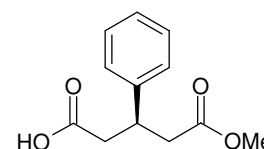
Związek **25b** w postaci bezbarwnego oleju otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 6 z wydajnością 41%.

- $R_f = 0.35$  (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- $[\alpha]_{D=20}^{20} = -4.91$  (c 1.70,  $\text{CHCl}_3$ )
- IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2964, 2908, 1885, 1734 ( $-\text{C}=\text{O}$ ), 1607, 1513, 1478, 1403, 1255, 1233, 1160, 1078, 1015, 977, 952, 835



### Ester metylowy kwasu (3S)-(-)-3-fenyloglutarowego (17c, $R^2 = \text{Me}$ )

Do roztworu bezwodnika kwasu 3-fenyloglutarowego (**7c**) (0.120 g, 0.631 mmol) w eterze diizopropylowym (10 ml) dodano Novozymu 435 (90



mg) oraz alkohol metylowy (36  $\mu$ l, 0.884 mmol) i pozostawiono na wytrząsarce w temperaturze pokojowej. Przebieg reakcji monitorowano metodą TLC ( $R_f = 0.28$ ,  $\text{CHCl}_3 / \text{MeOH} / \text{HCOOH}$ ; 100:2:0.05; v/v/v). Reakcja zakończyła się po 5 dniach. Po odsączeniu enzymu z mieszaniny reakcyjnej, odparowano rozpuszczalnik. Otrzymano oleisty produkt (0.1400 g, 99% wydajności), który po krystalizacji z układu eter etylowy / heksan dał białe kryształy produktu (0.1125 g, 0.506 mmol) z 80% wydajnością.

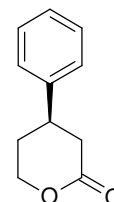
- $[\alpha]_D^{20} = -3.58$  (c 1.10,  $\text{CHCl}_3$ )
- temperatura topnienia 54-55°C (eter etylowy / heksan)
- $^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2.73-2.79 (m, 4H), 3.62 (s, 3H), 3.62-3.80 (m, 1H), 7.20-7.33 (m, 5H)
- $^{13}\text{C NMR}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  38.5, 40.6, 41.0, 127.6, 127.7, 129.2, 142.8, 172.5, 177.7
- Analiza elementarna dla  $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_4$ : Obliczono C 64.82% H 6.35%

Znaleziono C 64.33% H 6.34%

### Redukcja i laktonizacja estru (3S)-(17c) ( $R^2 = \text{Me}$ ) do laktonu (4R)-(25c)

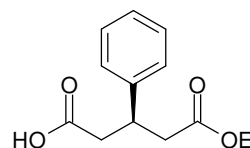
Związek **25c** w postaci bezbarwnego oleju otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 6 z wydajnością 52%.

- $R_f = 0.39$  (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- $[\alpha]_D^{20} = -5.71$  (c 2.10,  $\text{CHCl}_3$ ) [lit. + 4.00 (c 2.70,  $\text{CHCl}_3$ ) dla (*S*) enancjomeru<sup>36</sup>]
- IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3067, 3027, 2965, 1730 (-C=O), 1603, 1496, 1478, 1454, 1403, 1255, 1171, 1076, 1039, 976, 952, 700



### Ester etylowy kwasu (3S)-(-)-3-fenyloglutarowego (17c, $R^2 = \text{Et}$ )

Do roztworu bezwodnika kwasu 3-fenyloglutarowego (**7c**) (0.120 g, 0.631 mmol) w eterze izopropylowym (10 ml) dodano Novozymu 435 (80 mg) oraz alkohol etylowy (50  $\mu$ l, 0.852 mmol) i pozostawiono na wytrząsarce w temperaturze pokojowej. Przebieg reakcji monitorowano metodą TLC ( $R_f = 0.24$ ,  $\text{CHCl}_3 / \text{MeOH} / \text{HCOOH}$ ; 100:2:0.05; v/v/v). Reakcja zakończyła się po 4 dniach. Po odsączeniu enzymu z mieszaniny reakcyjnej, odparowano rozpuszczalnik. Otrzymano oleisty produkt (0.1489 g, 99% wydajności), który po krystalizacji z układu eter etylowy / heksan dał białe kryształy produktu (0.1077 g, 0.456 mmol) z 72% wydajnością.



- $[\alpha]_D^{20} = -4.01$  (c 1.10,  $\text{CHCl}_3$ ) [lit. + 9.47 (c 1.1, benzen) dla (*R*) enancjomeru<sup>34</sup>]
- temperatura topnienia 59°C (eter etylowy / heksan) [lit. t.t. = 59-60 °C<sup>35</sup>]
- IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3513 (-O-H), 3030, 2984, 2940, 1727 (-COOH), 1495, 1374, 1272, 1186, 1041, 700

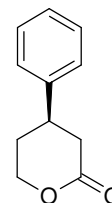
- $^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.85 (t,  $J=7.1$  Hz, 3H), 2.68-2.81 (m, 4H), 3.10-3.25 (m, 1H), 4.08 (q,  $J=7.1$  Hz, 2H), 7.28 (m, 5H)
- $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  14.7, 38.6, 41.3, 61.1, 113.4, 127.8, 129.1, 142.8, 156.9, 172.1, 178.1
- Analiza elementarna dla  $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_4$ : Obliczono C 66.09% H 6.83%

Znaleziono C 65.88% H 6.51%

### Redukcja i laktonizacja estru (3S)-(17c) ( $\text{R}^2 = \text{Et}$ ) do laktonu (4R)-(25c)

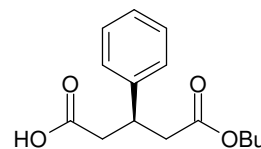
Związek **25c** w postaci bezbarwnego oleju otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 6 z wydajnością 31%.

- $R_f = 0.39$  (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -5.17$  (c 1.40,  $\text{CHCl}_3$ ) [lit. + 4.00 (c 2.70,  $\text{CHCl}_3$ ) dla (S) enancjomeru<sup>36</sup>]
- IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3067, 3027, 2965, 1730 (-C=O), 1603, 1496, 1478, 1454, 1403, 1255, 1171, 1076, 1039, 976, 952, 700



### Ester butylowy kwasu (3S)-(-)-3- fenyloglutarowego (17c, $\text{R}^2 = \text{Bu}$ )

Do roztworu bezwodnika kwasu 3-fenyloglutarowego (**7c**) (0.120 g, 0.631 mmol) w eterze izopropylowym (10 ml) dodano Novozymu 435 (90 mg) oraz alkohol butylowy (84  $\mu\text{l}$ , 0.913 mmol) i pozostawiono na wytrząsarce w temperaturze pokojowej. Przebieg reakcji monitorowano metodą TLC ( $R_f = 0.39$ ,  $\text{CHCl}_3$  / MeOH / HCOOH; 100:2:0.05; v/v/v). Reakcja zakończyła się po 17 dniach. Po odsączeniu enzymu z mieszaniny reakcyjnej, odparowano rozpuszczalnik. Otrzymano oleisty produkt (0.1665 g, 99% wydajności), który po krystalizacji z układu eter etylowy / heksan dał białe kryształy produktu (0.1547 g, 0.585 mmol) z 93% wydajnością.

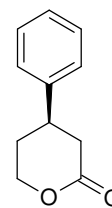


- $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -2.13$  (c 1.50,  $\text{CHCl}_3$ )
- temperatura topnienia 41-43°C (eter etylowy / heksan)
- $^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.91 (t,  $J=7.2$  Hz, 3H), 1.30 (q,  $J=7.2$  Hz, 2H), 1.46-1.56 (m, 2H), 2.68-2.79 (m, 4H), 3.62-3.70 (m, 1H), 4.01 (t,  $J=6.5$  Hz, 2H), 7.27-7.32 (m, 5H)
- $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  14.2, 19.6, 31.1, 38.6, 40.9, 41.0, 65.0, 127.5, 127.7, 129.1, 129.3, 142.8, 172.2, 178.3

### Redukcja i laktonizacja estru (3S)-(17c) ( $\text{R}^2 = \text{Bu}$ ) do laktonu (4R)-(25c)

Związek **25c** w postaci bezbarwnego oleju otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 6 z wydajnością 46%.

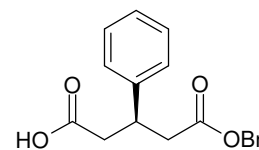
- $R_f = 0.39$  (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -7.11$  (c 2.00,  $\text{CHCl}_3$ ) [lit. + 4.00 (c 2.70,  $\text{CHCl}_3$ ) dla (S) enancjomeru<sup>36</sup>]



- IR (cm<sup>-1</sup>): 3067, 3027, 2965, 2909, 1730 (-C=O), 1603, 1496, 1478, 1454, 1403, 1255, 1171, 1076, 1039, 976, 952, 700

### Ester benzyloxy kwasu (3S)-(+)-3-fenyloglutarowego (17c, R<sup>2</sup> = Bn)

Do roztworu bezwodnika kwasu 3-fenyloglutarowego (7c) (0.120 g, 0.631 mmol) w eterze izopropylowym (10 ml) dodano Novozymu 435 (90 mg) oraz alkohol benzyloxy (95 μl, 0.918 mmol) i pozostawiono na wytrząsarce w temperaturze pokojowej. Przebieg reakcji monitorowano metodą TLC (R<sub>f</sub> = 0.40, (CHCl<sub>3</sub> / MeOH / HCOOH; 100:2:0.05; v/v/v). Reakcja zakończyła się po 32 dniach. Po odsączeniu enzymu z mieszaniny reakcyjnej, odparowano rozpuszczalnik. Otrzymano oleisty produkt (0.1880 g, 99% wydajności), który po krystalizacji z układu eter etylowy / heksan dał białe kryształy produktu (0.1154 g, 0.387 mmol) z 61% wydajnością.

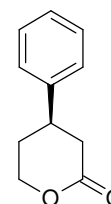


- [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = + 0.61 (c 0.90, CHCl<sub>3</sub>)
- <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 2.28 (m, 4H), 3.70 (m, 1H), 5.06 (s, 2H), 7.15-7.40 (m, 5H)
- <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 38.8, 41.1, 41.4, 67.3, 128.4, 128.5, 129.5, 129.8, 130.0, 137.0, 143.5, 172.9, 179.0

### Redukcja i laktonizacja estru (3S)-(17c) (R<sup>2</sup> = Bn) do laktonu (4R)-(25c)

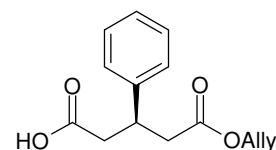
Związek 25c w postaci bezbarwnego oleju otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 6 z wydajnością 27%.

- R<sub>f</sub> = 0.39 (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = - 2.06 (c 1.00, CHCl<sub>3</sub>) [lit. + 4.00 (c 2.70, CHCl<sub>3</sub>) dla (S) enancjomeru<sup>36</sup>]
- IR (cm<sup>-1</sup>): 3067, 2965, 2909, 1730 (-C=O), 1603, 1496, 1478, 1454, 1403, 1255, 1171, 1076, 1039, 976, 952, 700



### Ester allilowy kwasu (3S)-(-)-3-fenyloglutarowego (17c, R<sup>2</sup> = Allyl)

Do roztworu bezwodnika kwasu 3-fenyloglutarowego (7c) (0.120 g, 0.631 mmol) w eterze izopropylowym (10 ml) dodano Novozymu 435 (90 mg) oraz alkohol allilowy (55 μl, 0.803 mmol) i pozostawiono na wytrząsarce w temperaturze pokojowej. Przebieg reakcji monitorowano metodą TLC (R<sub>f</sub> = 0.36, CHCl<sub>3</sub> / MeOH / HCOOH; 100:2:0.05; v/v/v). Reakcja zakończyła się po 9 dniach. Po odsączeniu enzymu z mieszaniny reakcyjnej, odparowano rozpuszczalnik. Otrzymano oleisty produkt (0.1565 g, 99% wydajności), który po krystalizacji z układu eter etylowy / heksan dał białe kryształy produktu (0.1336 g, 0.538 mmol) z 85% wydajnością.



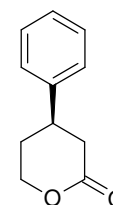
- [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = - 4.86 (c 0.88, CHCl<sub>3</sub>)
- temperatura topnienia 44-46°C (eter etylowy / heksan)

- $^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2.76 (m, 3H), 3.65 (t,  $J=7.25$  Hz, 2H), 4.50 (d,  $J=5.78$  Hz, 2H), 5.15 (s, H), 5.25 (d,  $J=7.29$  Hz, H), 5.70-5.91 (m, H), 7.29 (m, 5H)
- $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  38.4, 38.6, 40.7, 65.7, 118.8, 127.6, 127.8, 129.2, 129.3, 132.5, 142.8, 171.7, 178.0

### Redukcja i laktonizacja estru (3S)-(17c) ( $\text{R}^2 = \text{Allyl}$ ) do laktonu (4R)-(25c)

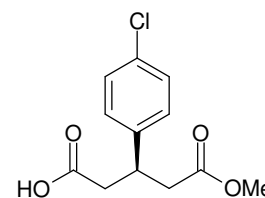
Związek **25c** w postaci bezbarwnego oleju otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 6 z wydajnością 47%.

- $R_f = 0.39$  (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- $[\alpha]_D^{20} = -4.07$  (c 2.00,  $\text{CHCl}_3$ ) [lit. + 4.00 (c 2.70,  $\text{CHCl}_3$ ) dla (*S*) enancjomeru<sup>36</sup>]
- IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3067, 2964, 2909, 1730 ( $-\text{C}=\text{O}$ ), 1603, 1496, 1478, 1454, 1403, 1255, 1171, 1076, 1038, 976, 952, 700



### Ester metylowy kwasu (3S)-(-)-3-(4-chlorofenylo)glutarowego (17d, $\text{R}^2 = \text{Me}$ )

Do roztworu bezwodnika kwasu 3-(4-chlorofenylo)glutarowego (**7d**) (0.120 g, 0.534 mmol) w eterze izopropylowym (10 ml) dodano Novozymu 435 (90 mg) oraz alkohol metylowy (36  $\mu\text{l}$ , 0.884 mmol) i pozostawiono na wytrząsarce w temperaturze pokojowej. Przebieg reakcji monitorowano metodą TLC ( $R_f = 0.40$ ,  $\text{CHCl}_3 / \text{MeOH} / \text{HCOOH}$ ; 100:2:0.05; v/v/v). Reakcja zakończyła się po 5 dniach. Po odsączeniu enzymu z mieszaniny reakcyjnej, odparowano rozpuszczalnik. Otrzymano oleisty produkt (0.1369 g, 99% wydajności), który po krystalizacji z układu eter etylowy / heksan dał białe kryształy produktu (0.0463 g, 0.180 mmol) z 34% wydajnością.

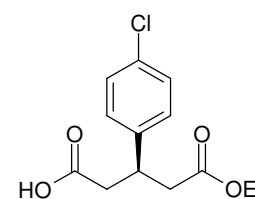


- $[\alpha]_D^{20} = -9.61$  (c 0.88,  $\text{CHCl}_3$ ) [lit. + 4.10 (c 2.60,  $\text{CHCl}_3$ ) dla (*R*) enancjomeru<sup>9</sup>]
- $^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2.66-2.70 (m, 4H), 3.62 (s, 3H), 3.40-3.60 (m, 1H), 7.14 (d,  $J=8.4$  Hz, 2H), 7.26 (d,  $J=8.4$  Hz, 2H)
- $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  38.0, 40.5, 40.8, 52.2, 129.1, 129.4, 133.4, 141.3, 172.2, 177.2
- Analiza elementarna dla  $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{ClO}_4$ : Obliczono C 56.15% H 5.10%

Znaleziono C 56.20% H 5.11%

### Ester etylowy kwasu (3S)-(-)-3-(4-chlorofenylo)glutarowego (17d, $\text{R}^2 = \text{Et}$ )

Do roztworu bezwodnika kwasu 3-(4-chlorofenylo)glutarowego (**7d**) (0.120 g, 0.534 mmol) w eterze izopropylowym (10 ml) dodano Novozymu 435 (90 mg) oraz alkohol etylowy (47  $\mu\text{l}$ , 0.801 mmol) i pozostawiono na wytrząsarce w temperaturze pokojowej. Przebieg reakcji monitorowano metodą TLC ( $R_f = 0.27$ ,  $\text{CHCl}_3 / \text{MeOH} / \text{HCOOH}$ ; 100:2:0.05; v/v/v). Reakcja zakończyła się po 4 dniach. Po odsączeniu enzymu z mieszaniny reakcyjnej, odparowano rozpuszczalnik.



Otrzymano oleisty produkt (0.1442 g, 99% wydajności), który po krystalizacji z układu eter etylowy / heksan dał białe kryształy produktu (0.0878 g, 0.324 mmol) z 61% wydajnością.

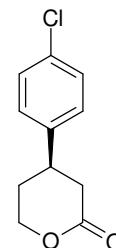
- $[\alpha]_D^{20} = -3.80$  (c 0.90,  $\text{CHCl}_3$ )
- temperatura topnienia 69-70°C (eter etylowy / heksan)
- Analiza elementarna dla  $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{ClO}_4$ : Obliczono C 57.68% H 5.59%

Znaleziono C 57.55% H 5.79%

### Redukcja i laktonizacja estru (3S)-(17d) ( $\text{R}^2 = \text{Et}$ ) do laktonu (4R)-(25d)

Związek **25d** w postaci białych kryształów otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 6 z wydajnością 36%.

- $R_f = 0.34$  (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- $[\alpha]_D^{20} = -8.72$  (c 1.38,  $\text{CHCl}_3$ )
- temperatura topnienia 80°C (heksan / octan etylu) [lit. 81-83°C (benzen)<sup>25</sup>]
- IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2935, 1732 (-C=O), 1612, 1514, 1494, 1478, 1442, 1403, 1302, 1253, 1225, 1094, 1078, 1078, 1014, 977, 953, 829, 700, 535

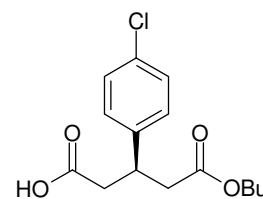


### Ester butylowy kwasu (3S)-(-)-3-(4-chlorofenylo)glutarowego (17d, $\text{R}^2 = \text{Bu}$ )

Do roztworu bezwodnika kwasu 3-(4-chlorofenylo)glutarowego (**7d**) (0.120 g, 0.534 mmol) w eterze izopropylowym (10 ml) dodano Novozymu 435 (90 mg) oraz alkohol butylowy (84  $\mu\text{l}$ , 0.913 mmol) i pozostawiono na wytrząsarce w temperaturze pokojowej. Przebieg reakcji monitorowano metodą TLC ( $R_f = 0.32$ ,  $\text{CHCl}_3$  / MeOH / HCOOH; 100:2:0.05; v/v/v). Reakcja zakończyła się po 23 dniach. Po odsączeniu enzymu z mieszaniny reakcyjnej, odparowano rozpuszczalnik. Otrzymano oleisty produkt (0.1590 g, 99% wydajności), który po krystalizacji z układu eter etylowy / heksan dał białe kryształy produktu (0.0842 g, 0.282 mmol) z 53% wydajnością.

- $[\alpha]_D^{20} = -2.25$  (c 0.90,  $\text{CHCl}_3$ )
- temperatura topnienia 60°C (eter etylowy / heksan)
- $^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.15 (t,  $J=7.0$  Hz, 3H), 1.10-1.35 (m, 2H), 1.35-1.60 (m, 2H), 2.68 (m, 4H), 3.50-3.70 (m, 1H), 3.67 (t,  $J=6.6$  Hz, 2H), 7.23 (d,  $J=8.6$  Hz, 2H), 7.35 (d,  $J=8.6$  Hz, 2H)
- $^{13}\text{C NMR}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  14.3, 19.7, 31.1, 38.1, 40.8, 41.1, 65.1, 129.2, 129.3, 129.3, 133.3, 141.2, 171.9, 177.7
- Analiza elementarna dla  $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{ClO}_4$ : Obliczono C 60.30% H 6.41%

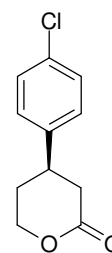
Znaleziono C 60.39% H 6.45%



### Redukcja i laktonizacja estru (3S)-(17d) ( $R^2 = Bu$ ) do laktonu (4R)-(25d)

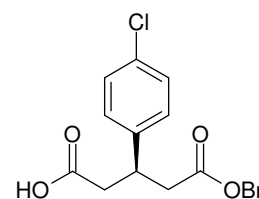
Związek **25d** w postaci białych kryształów otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 6 z wydajnością 62%.

- $R_f = 0.34$  (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- $[\alpha]_D^{20} = -4.55$  (c 1.40,  $CHCl_3$ )
- IR ( $cm^{-1}$ ): 2964, 1732 ( $-C=O$ ), 1495, 1478, 1444, 1403, 1302, 1256, 1094, 1079, 1014, 977, 952, 828, 700, 534



### Ester benzytowy kwasu (3S)-(+)-3-(4-chlorofenylo)glutarowego (17d, $R^2 = Bn$ )

Do roztworu bezwodnika kwasu 3-(4-chlorofenylo)glutarowego (**7d**) (0.120 g, 0.534 mmol) w eterze izopropylowym (10 ml) dodano Novozymu 435 (90 mg) oraz alkohol benzytowy (95  $\mu$ l, 0.918 mmol) i pozostawiono na wytrząsarce w temperaturze pokojowej. Przebieg reakcji monitorowano metodą TLC ( $R_f = 0.31$ ,  $CHCl_3$  / MeOH / HCOOH; 100:2:0.05; v/v/v). Reakcja zakończyła się po 33 dniach. Po odsączeniu enzymu z mieszaniny reakcyjnej, odparowano rozpuszczalnik. Otrzymano oleisty produkt (0.1772 g, 99% wydajności), który po krystalizacji z układu eter etylowy / heksan dał białe kryształy produktu (0.0835 g, 0.251 mmol) z 47% wydajnością.

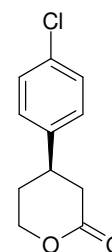


- $[\alpha]_D^{20} = +0.40$  (c 0.90,  $CHCl_3$ )
- temperatura topnienia 126°C (eter etylowy / heksan)

### Redukcja i laktonizacja estru (3S)-(17d) ( $R^2 = Bn$ ) do laktonu (4R)-(25d)

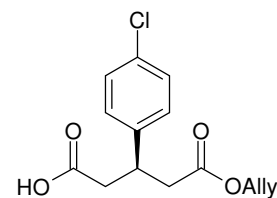
Związek **25d** w postaci białych kryształów otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 6 z wydajnością 16%.

- $R_f = 0.34$  (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- $[\alpha]_D^{20} = -2.97$  (c 0.70,  $CHCl_3$ )
- IR ( $cm^{-1}$ ): 3029, 2962, 1730 ( $-C=O$ ), 1597, 1494, 1455, 1413, 1307, 1258, 1161, 1107, 1094, 1079, 1014, 977, 953, 828, 698



### Ester allilowy kwasu (3S)-(-)-3-(4-chlorofenylo)glutarowego (17d, $R^2 = Allyl$ )

Do roztworu bezwodnika kwasu 3-(4-chlorofenylo)glutarowego (**7d**) (0.120 g, 0.534 mmol) w eterze izopropylowym (10 ml) dodano Novozymu 435 (90 mg) oraz alkohol allilowy (55  $\mu$ l, 0.803 mmol) i pozostawiono na wytrząsarce w temperaturze pokojowej. Przebieg reakcji monitorowano metodą TLC ( $R_f = 0.35$ ,  $CHCl_3$  / MeOH / HCOOH; 100:2:0.05; v/v/v). Reakcja zakończyła się po 17 dniach. Po odsączeniu enzymu z mieszaniny reakcyjnej, odparowano rozpuszczalnik. Otrzymano oleisty produkt (0.1509 g, 99% wydajności), który po krystalizacji z układu eter etylowy / heksan dał białe kryształy produktu (0.0964 g, 0.341 mmol) z 64% wydajnością.



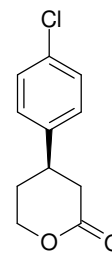
- $[\alpha]_D^{20} = -6.35$  (c 0.40,  $\text{CHCl}_3$ )
- $^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2.74 (m, 4H), 3.66 (m, 1H), 4.52 (d,  $J=5.8$  Hz, 2H), 5.20 (s, 1H), 5.27 (d,  $J=7.7$  Hz, 1H), 7.19 (d,  $J=8.6$  Hz, 2H), 7.31 (d,  $J=8.6$  Hz, 2H)
- $^{13}\text{C NMR}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  37.9, 40.6, 40.9, 65.9, 119.0, 129.2, 129.3, 132.3, 133.4, 141.1, 171.5, 177.4
- Analiza elementarna dla  $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{ClO}_4$ : Obliczono C 59.48% H 5.35%

Znaleziono C 59.45% H 5.29%

### Redukcja i laktonizacja estru (3S)-(17d) ( $\text{R}^2 = \text{Allyl}$ ) do laktonu (4R)-(25d)

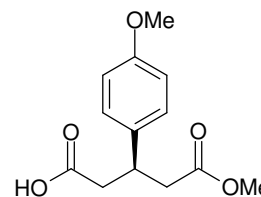
Związek **25d** w postaci białych kryształów otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 6 z wydajnością 41%.

- $R_f = 0.34$  (heksan, octan etylu; 6:4; v/v)
- $[\alpha]_D^{20} = -6.28$  (c 2.20,  $\text{CHCl}_3$ )
- IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3027, 2964, 2908, 1732 ( $-\text{C}=\text{O}$ ), 1495, 1478, 1444, 1403, 1302, 1256, 1225, 1171, 1094, 1079, 1014, 977, 952, 828, 700, 534



### Ester metylowy kwasu (3S)-(+)-3-(4-metoksyfenylo)glutarowego (17e, $\text{R}^2 = \text{Me}$ )

Do roztworu bezwodnika kwasu 3-(4-metoksyfenylo)glutarowego (**7e**) (0.120 g, 0.545 mmol) w eterze izopropylowym (10 ml) dodano Novozymu 435 (90 mg) oraz alkohol metylowy (36  $\mu\text{l}$ , 0.884 mmol) i pozostawiono na wytrząsarce w temperaturze pokojowej. Przebieg reakcji monitorowano metodą TLC ( $R_f = 0.37$ ,  $\text{CHCl}_3 / \text{MeOH} / \text{HCOOH}$ ; 100:2:0.05; v/v/v). Reakcja zakończyła się po 8 dniach. Po odsączeniu enzymu z mieszaniny reakcyjnej, odparowano rozpuszczalnik. Otrzymano oleisty produkt (0.1370 g, 99% wydajności), który po krystalizacji z układu eter etylowy / heksan dał białe kryształy produktu (0.1308 g, 0.518 mmol) z 95% wydajnością.

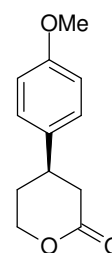


- $[\alpha]_D^{20} = +7.62$  (c 0.60, etanol)
- temperatura topnienia 55-57°C (eter etylowy / heksan)
- IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3512 ( $-\text{O}-\text{H}$ ), 2955, 2913, 2839 ( $\text{Ar}-\text{OCH}_3$ ), 1732 ( $-\text{COOMe}$ ), 1713 ( $-\text{COOH}$ ), 1612, 1514, 1438, 1369, 1250, 1179, 1036, 831

### Redukcja i laktonizacja estru (3S)-(17e) ( $\text{R}^2 = \text{Me}$ ) do laktonu (4R)-(25e)

Związek **25e** w postaci białych kryształów otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 6 z wydajnością 71%.

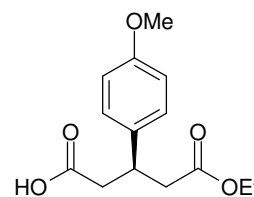
- $R_f = 0.32$  (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- $[\alpha]_D^{20} = -7.75$  (c 3.2,  $\text{CHCl}_3$ ) [lit. - 6.98 (c 0.98,  $\text{CHCl}_3$ ) dla (*R*) enancjomeru<sup>37</sup>]
- IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2963, 2937, 2909, 2839, 1731, 1613, 1585, 1515, 1478, 1465, 1443,



1403, 1307, 1295, 1252, 1180, 1152, 1115, 1078, 1036, 976, 952, 903, 832, 811

### Ester etylowy kwasu (3*S*)-(+)-3-(4-metoksyfenylo)glutarowego (17e, R<sup>2</sup> = Et)

Do roztworu bezwodnika kwasu 3-(4-fluorofenylo)glutarowego (7e) (0.120 g, 0.545 mmol) w eterze izopropylowym (10 ml) dodano Novozymu 435 (80 mg) oraz alkohol etylowy (50  $\mu$ l, 0.852 mmol) i pozostawiono na wytrząsarce w temperaturze pokojowej. Przebieg reakcji monitorowano metodą TLC ( $R_f$ =0.28, CHCl<sub>3</sub> / MeOH / HCOOH; 100:2:0.05; v/v/v). Reakcja zakończyła się po 6 dniach. Po odsączeniu enzymu z mieszaniny reakcyjnej, odparowano rozpuszczalnik. Otrzymano oleisty produkt (0.1449 g, 99% wydajności), który po krystalizacji z układu eter etylowy / heksan dał białe kryształy produktu (0.1357 g, 0.509 mmol) z 93% wydajnością.

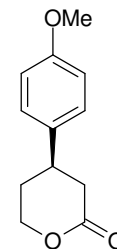


- $[\alpha]_D^{20} = + 8.33$  (c 0.95, etanol)
- temperatura topnienia 75-77°C (eter etylowy / heksan) [lit. 78°C<sup>31</sup>]
- <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  1.20 (t,  $J=7.2$  Hz, 3H), 2.74 (m, 4H), 3.63 (m, 1H), 3.83 (s, 3H), 4.09 (q,  $J=7.2$  Hz, 2H), 6.9 (d,  $J=7.0$  Hz, 2H), 7.19 (d,  $J=7.2$  Hz, 2H)
- <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  14.6, 41.5, 55.9, 60.9, 114.8, 129.4, 136.0, 159.4, 172.9, 174.8

### Redukcja i laktonizacja estru (3*S*)-(17e) (R<sup>2</sup> = Et) do laktonu (4*R*)-(25e)

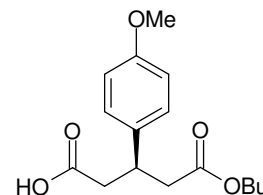
Związek 25e w postaci białych kryształów otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 6 z wydajnością 28%.

- $R_f = 0.32$  (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- $[\alpha]_D^{20} = - 6.74$  (c 1.80 CHCl<sub>3</sub>) [lit. - 6.98 (c 0.96, CHCl<sub>3</sub>) dla (*R*) enancjomeru<sup>37</sup>]
- IR (cm<sup>-1</sup>): 2961, 2937, 2911, 2839, 1730, 1613, 1585, 1514, 1477, 1465, 1442, 1403, 1296, 1251, 1180, 1113, 1078, 1036, 976, 952, 832, 811



### Ester butylowy kwasu (3*S*)-(+)-3-(4-metoksyfenylo)glutarowego (17e, R<sup>2</sup> = Bu)

Do roztworu bezwodnika kwasu 3-(4-metoksyfenylo)glutarowego (7e) (0.120 g, 0.545 mmol) w eterze izopropylowym (10 ml) dodano Novozymu 435 (90 mg) oraz alkohol butylowy (84  $\mu$ l, 0.913 mmol) i pozostawiono na wytrząsarce w temperaturze pokojowej. Przebieg reakcji monitorowano metodą TLC ( $R_f = 0.30$ , CHCl<sub>3</sub> / MeOH / HCOOH; 100:2:0.05; v/v/v). Reakcję przerwano po 25 dniach. Po odsączeniu enzymu z mieszaniny reakcyjnej, odparowano rozpuszczalnik. Otrzymano oleisty produkt (0.0699 g, 44% konwersji), który po krystalizacji z układu eter etylowy / heksan dał białe kryształy produktu (0.0460 g, 0.156 mmol) z 65% wydajnością.

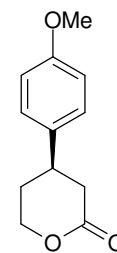


- $[\alpha]_D^{20} = + 2.32$  (c 0.50, etanol)
- temperatura topnienia 97°C (eter etylowy / heksan)

### Redukcja i laktonizacja estru (3S)-(17e) (R<sup>2</sup> = Bu) do laktonu (4R)-(25e)

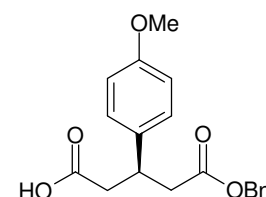
Związek **25e** w postaci białych kryształów otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 6 z wydajnością 69%.

- $R_f = 0.32$  (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- $[\alpha]_D^{20} = -3.45$  (c 2.00, CHCl<sub>3</sub>) [lit. - 6.98 (c 0.98, CHCl<sub>3</sub>) dla (R) enancjomeru<sup>37</sup>]
- IR (cm<sup>-1</sup>): 2962, 2937, 2910, 2839, 1731, 1613, 1585, 1515, 1478, 1465, 1443, 1403, 1295, 1252, 1180, 1115, 1077, 1036, 976, 952, 832, 811



### Ester benzytowy kwasu (3S)-(-)-3-(4-metoksyfenylo)glutarowego (17e, R<sup>2</sup> = Bn)

Do roztworu bezwodnika kwasu 3-(4-metoksyfenylo)glutarowego (**7e**) (0.120 g, 0.545 mmol) w eterze izopropylowym (10 ml) dodano Novozymu 435 (90 mg) oraz alkohol benzytowy (95 μl, 0.918 mmol) i pozostawiono na wytrząsarce w temperaturze pokojowej. Przebieg reakcji monitorowano metodą TLC ( $R_f = 0.32$  CHCl<sub>3</sub> / MeOH / HCOOH; 100:2:0.05; v/v/v). Reakcję przerwano po 33 dniach. Po odsączeniu enzymu z mieszaniny reakcyjnej, odparowano rozpuszczalnik. Otrzymano oleisty produkt (0.1120 g, 63% konwersji), który po krystalizacji z układu eter etylowy / heksan dał białe kryształy produktu (0.0617 g, 0.188 mmol) z 55% wydajnością.

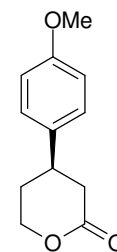


- $[\alpha]_D^{20} = -0.40$  (c 0.50, etanol)
- temperatura topnienia 95°C (eter etylowy / heksan)
- <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 2.67 (m, 4H), 3.58 (m, 1H), 3.76 (s, 3H), 5.00 (s, 2H), 6.76 (d,  $J=8.3$  Hz, 2H), 7.08 (d,  $J=8.3$  Hz, 2H), 7.20 (m, 5H)
- <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 38.1, 41.3, 41.7, 56.1, 67.3, 115.2, 129.5, 135.4, 175.9, 178.9
- IR (cm<sup>-1</sup>): 3621, 3509 (-O-H), 2977 (-CH<sub>2</sub>-), 2934, 2897 (CH<sub>3</sub>-Ar), 1720 (-COOH), 1611, 1514, 1391, 1250, 1180, 1046, 877, 830

### Redukcja i laktonizacja estru (3S)-(17e) (R<sup>2</sup> = Bn) do laktonu (4R)-(25e)

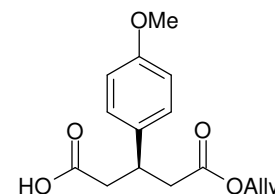
Związek **25e** w postaci białych kryształów otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 6 z wydajnością 15%.

- $R_f = 0.32$  (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- $[\alpha]_D^{20} = -6.66$  (c 0.50, CHCl<sub>3</sub>) [lit. - 6.98 (c 0.98, CHCl<sub>3</sub>) dla (R) enancjomeru<sup>37</sup>]
- IR (cm<sup>-1</sup>): 2962, 2936, 2910, 2839, 1730, 1613, 1585, 1515, 1477, 1465, 1443, 1403, 1295, 1252, 1180, 1115, 1077, 1036, 976, 952, 832, 811



### Ester allilowy kwasu (3S)-(+)-3-(4-metoksyfenylo)glutarowego (17e, R<sup>2</sup> = Allyl)

Do roztworu bezwodnika kwasu 3-(4-metoksyfenylo)glutarowego (**7e**) (0.120 g, 0.545 mmol) w eterze izopropylowym (10 ml) dodano



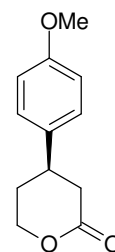
Novozymu 435 (90 mg) oraz alkohol allilowy (55  $\mu$ l, 0.803 mmol) i pozostawiono na wytrząsarce w temperaturze pokojowej. Przebieg reakcji monitorowano metodą TLC ( $R_f = 0.21$ ,  $\text{CHCl}_3 / \text{MeOH} / \text{HCOOH}$ ; 100:2:0.05; v/v/v). Reakcję przerwano po 25 dniach. Po odsączeniu enzymu z mieszaniny reakcyjnej, odparowano rozpuszczalnik. Otrzymano oleisty produkt (0.1060 g, 70% konwersji), który po krystalizacji z układu eter etylowy / heksan dał białe kryształy produktu (0.0847 g, 0.304 mmol) z 100% wydajnością.

- $[\alpha]_D^{20} = +7.30$  (c 0.65, etanol)
- IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3516 (-O-H), 2959, 2839 (Ar-OCH<sub>3</sub>), 1729 (-COOH), 1612, 1514, 1250, 1179, 1037, 988, 933, 831, 503
- <sup>1</sup>H NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2.73 (m, 4H), 3.63 (m, 1H), 3.81 (s, 1H), 4.52 (d,  $J=5.7$  Hz, 2H), 5.18 (s, 1H), 5.26 (d,  $J=7.7$  Hz, 1H), 6.86 (d,  $J=11.6$  Hz, 2H), 7.18 (d,  $J=8.6$  Hz, 2H)
- <sup>13</sup>C NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  37.8, 40.9, 41.3, 55.7, 65.7, 114.6, 114.7, 118.8, 128.5, 128.7, 132.5, 134.8, 159.0, 171.8, 177.4

### Redukcja i laktonizacja estru (3S)-(17e) ( $R^2 = \text{Allyl}$ ) do laktonu (4R)-(25e)

Związek **25e** w postaci białych kryształów otrzymano zgodnie z ogólną procedurą 6 z wydajnością 15%.

- $R_f = 0.32$  (heksan / octan etylu; 6:4; v/v)
- $[\alpha]_D^{20} = -5.41$  (c 2.60,  $\text{CHCl}_3$ ) [lit. = -6.98 (c 0.98,  $\text{CHCl}_3$ ) dla (*R*) enancjomeru<sup>37</sup>]
- IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2962, 2936, 2910, 2839, 1731, 1613, 1585, 1515, 1478, 1465, 1443, 1403, 1295, 1252, 1180, 1116, 1077, 1036, 976, 952, 832, 812



### BADANIE WPŁYWU ENZYMU NA REAKCJĘ DESYMETRYZACJI BEZWODNIKA KWASU 3-(3,4-DICHLOROFENYLO)GLUTAROWEGO ETANOLEM.

#### Procedura ogólna 8

Do roztworu bezwodnika kwasu 3-(3,4-dichlorofenylo)glutarowego (0.0130 g, 0.05 mmol) w eterze izopropylowym (2 ml) dodano alkohol etylowy (5.0  $\mu$ l) i odpowiednią lipazę (Chirazym A –0.0054 g, Chirazym B – 0.0052 g, Chirazym C – 0.0051 g, PCL imm. – 0.0056 g, Novozym 435 imm. – 0.0053 g, AmanoPS-C imm.– 0.0070 g, AmanoPS-D 0.0020 g). Mieszaninę reakcyjną pozostawiono na wytrząsarce w temperaturze pokojowej. Przebieg reakcji kontrolowano metodą TLC. Czasy trwania reakcji i uzyskane nadmiary enancjomeryczne zebrane są w Tabeli 6.

- $R_f = 0.16$ , ( $\text{CHCl}_3 / \text{MeOH} / \text{HCOOH}$ ; 100:2:0.05; v/v/v)
- Parametry analizy HPLC były zgodne z procedurą stosowaną do analizowania estru etylowego kwasu (3S)-(+)-3-(3,4-dichlorofenylo)glutarowego (**17a**,  $R^2 = \text{Et}$ ) (heksan / i-PrOH /  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ; 198:1:1; v/v/v;  $\lambda = 225\text{nm}$ ; 1.0 ml/min, czasy retencji enancjomerów  $R_{tS} = 65.0$ ,  $R_{tR} = 69.8$ ).

**BADANIE WPŁYWU ROZPUSSZCZALNIKA NA REAKCJĘ DESYMETRYZACJI BEZWODNIKA KWASU 3-(3,4-DICHLOROFENYLO)GLUTAROWEGO ETANOLEM.**

Procedura ogólna 7

Bezwodnik kwasu 3-fenyloglutarowego (0.0130 g, 0.05 mmol), alkohol etylowy (4.5 ml) i Novozym 435 (około 0.0050 g) umieszczono w 2 ml odpowiedniego rozpuszczalnika (eter etylowy, eter *n*-propylowy, eter *n*-butylowy, eter *tert*-butylowy, benzen). Przebieg reakcji kontrolowany był metodą TLC. Czasy trwania reakcji i uzyskane nadmiary enancjomeryczne zebrane są w Tabeli 7.

$R_f = 0.16$  (CHCl<sub>3</sub> / MeOH / HCOOH; 100:2:0.05; v/v/v)

- Parametry analizy HPLC były zgodne z procedurą stosowaną do analizowania estru etylowego kwasu (3*S*)-(+)-3-(3,4-dichlorofenylo)glutarowego (**17a**, **R**<sup>2</sup> = **Et**) (heksan / *i*-PrOH / CH<sub>3</sub>COOH; 198:1:1; v/v/v;  $\lambda = 225\text{nm}$ ; 1.0 ml/min, czasy retencji enancjomerów  $R_{iS} = 65.0$ ,  $R_{iR} = 69.8$ ).

## 9. LITERATURA CYTOWANA.

1. M. S. Yu, I. Lantos, Z.-Q. Peng, J. Lu, T. Cacchio, *Tetrahedron Lett.*, **2000**, *41*, 5647.
2. H. Kubota, A. Kakefuda, Y. Okamoto, *Chem. Pharm. Bull.*, **1998**, *46*, 1538.
3. P. D. Conrad, P. E. Finke, *Biorg. Med. Chem. Lett.*, **2001**, *11*, 259.
4. R. P. Linstead, E. G. Noble, E. J. Boorman, *J. Chem. Soc.* **1933**, 557.
5. J. Perregaard, E.K. Moltzen, E. Meier, C. Sanchez, *J. Med. Chem.*, **1995**, *38*, 1998.
6. T. Genge, *J. Indian. Chem. Soc.*, **1959**, *36*, 677.
7. J. Yang, *J. Org. Chem.*, **2002**, *67*, 5057.
8. R. Chenevert, M. Desjardins, *Tetrahedron Letters* **1991**, *32*, 4249.
9. R. Chenevert, M. Desjardins, *Can. J. Chem.* **1994**, *72*, 2312.
10. R. B. Meyer, C. R. Hauser, *J. Org. Chem.* **1961**, *26*, 3183.
11. L. T. Liu, P.-C. Hong, H.-L. Huang, S.-F. Chen, C.-L. J. Wang, Y.-S. Wen, *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, *12*, 419.
12. W. T. Smith, J. W. Ryan, *J. Org. Chem.*, **1961**, *26*, 3856.
13. W. T. Smith, *J. Org. Chem.*, **1956**, *21*, 704.
14. Y. Chen, S.-K. Tian, L. Deng, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 9542.
15. J. Hirakate, M. Inagaki, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, **1987**, 1053.
16. R. Altschul, P. Bernstein, S. C. Cohen, *J. Am. Chem. Soc.*, **1956**, *78*, 5091.
17. T. R. Hoye, A. Koltun, *Tetrahedron Lett.*, **2000**, *41*, 2289.
18. P. D. Theisen, C. H. Heathcock, *J. Org. Chem.*, **1993**, *58*, 142.
19. R. Shinteni, G. C. Fu, *Angew. Chem.*, **2002**, *42*, 1057.
20. M. Głazewska, Praca magisterska „Enzymatyczne Reakcje Desymetryzacji Bezwodników Kwasu 3-Fenyloglutarowego” **2002**, Wydział Chemiczny, Politechnika Warszawska.
21. J. Hiratake, K. Yamamoto, *Tetrahedron Letter*, **1989**, *30*, 1555.
22. S. E. Laszlo, *J. Med. Chem.*, **1992**, *35*, 833.
23. L. K. Lam, R. A. Hui, *J. Org. Chem.*, **1986**, *51*, 2047.
24. M. J. Homann, R. Vail, *Adv. Synth. Catal.*, **2001**, *343*, 6-7, 744.
25. L. Y. Chen, A. Zaks, *J. Org. Chem.*, **1996**, *61*, 8341.
26. J. Perregaard, E. K. Moltzen, E. Meier, *J. Med. Chem.*, **1995**; *38*; 1998.
27. T. Genge, *J. Indian. Chem. Soc.*, **1959**; *36*; 677.
28. K. Steinacker, *J. Org. Chem.*, **1965**; *30*; 3237.
29. L. T. Liu, P.-C. Hong, H.-L. Huang, S.-F. Chen, C.-L. J. Wang, Y.-S. Wen, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2001**; *12*; 419.

30. J. Gootjes, W. Nauta, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas.*, **1965**, *84*, 1183.
31. L. Chirte, *J. Univ. Bombay. Sci.*, **1935**, *4*, 94.
32. L. Falk, *J. Amer. Chem. Soc.*, **1909**, *31*, 91.
33. M. J Homman, R. Vail, *Adv. Synth. Catal.*, **2001**, *343*, 744.
34. M. Sato et al., *Chem. Pharm. Bull.*, **1992**, *40*, 1972.
35. A. Burger, A. Hofstetter, *J. Org. Chem.*, **1959**, *24*, 1290.
36. Y. Takaya, *Tetrahedron: Asymmetry*, **1999**, *10*, 4047.
37. D. Enders, *Chem. Ber.*, **1987**, *120*, 1223.
38. I. Mayers, *J. Org. Chem.*, **1979**, *44*, 2250.
39. L. Evans, *J. Amer. Chem. Soc.*, **2000**, *8*, 122.