

<https://doi.org/10.15407/dopovidi2023.01.064>

УДК 547.783

**Д.В. Присяжнюк**, <https://orcid.org/0000-0003-3286-4316>

**А.О. Колодяжна**, <https://orcid.org/0000-0002-7990-7830>

**О.І. Колодяжний**, <https://orcid.org/0000-0002-7693-5369>

Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України ім. В.П. Кухаря, Київ

E-mail: oikol123@bpci.kiev.ua

## Вплив стеричних факторів на ферментативне розділення 2,3-дигідро-1*H*-інденолів з урахуванням ефекту Кошланда

Представлено членом-кореспондентом НАН України О.І. Колодяжним

*Енантімерно чисті 2,3-дигідро-1*H*-індендіоли, що містять гідроксильну групу в ароматичному циклі, отримано з високими виходами за допомогою ферментативного кінетичного розділення відповідних рацематів. Оптимізацію процесу дерацемізації було досягнуто підбором біокатализаторів, ацилювальних реагентів, розчинників, температури, а також введенням стерично об'ємних силільних замісників в ароматичне кільце. Введення об'ємних трет-бутил-диметилсилільних груп в ароматичне кільце призводить до підвищення ефективності дерацемізації та збільшення енантіомерної чистоти продуктів реакції. Для кінетичного розділення було застосовано як ферментативну переетерифікацію, так і ферментативний гідроліз відповідних ацетатів. У результаті отримано дигідроіндендіоли, що мають (*S*)- та (*R*)-абсолютну конфігурацію високої енантіомерної чистоти. Після процесу кінетичного розділення енантіомерна чистота продуктів досягала 99 % ee.*

**Ключові слова:** 2,3-дигідро-1*H*-індендіоли, силільовані дигідроіндендіоли, ферментативне розділення, *Burkholderia ceracia* lipase, модель Кошланда.

Оптично активні дигідроіндендіоли є компонентами різних біологічно активних сполук. Вони становлять інтерес як синтетичні блоки для створення фармацевтичних препаратів, інсектицидів, пептидних нуклеїнових кислот та біорегуляторів. Наприклад, на їх основі створено індивідуальний пероральний препарат, який використовується для лікування інфекції вірусу імунодефіциту людини [1–5]. Іншим важливим фармацевтичним продуктом, розробленим на основі дигідроінденолів, є ладостигіл – засіб для лікування хвороби Альцгеймера та Паркінсона, що може уповільнити розвиток клінічних ознак протягом відносно короткого періоду часу [6–8].

Оскільки хіральні похідні індендіолів привертають неабияку увагу багатьох хіміків, були розроблені різні підходи до їх одержання. Деякі хіральні похідні 2,3-дигідроінденолів

---

Цитування: Присяжнюк Д.В., Колодяжна А. О., Колодяжний О.І. Вплив стеричних факторів на ферментативне розділення 2,3-дигідро-1*H*-інденолів з урахуванням ефекту Кошланда. *Допов. Нац. акад. наук Укр.* 2023. № 1. С. 64–73. <https://doi.org/10.15407/dopovidi2023.01.064>

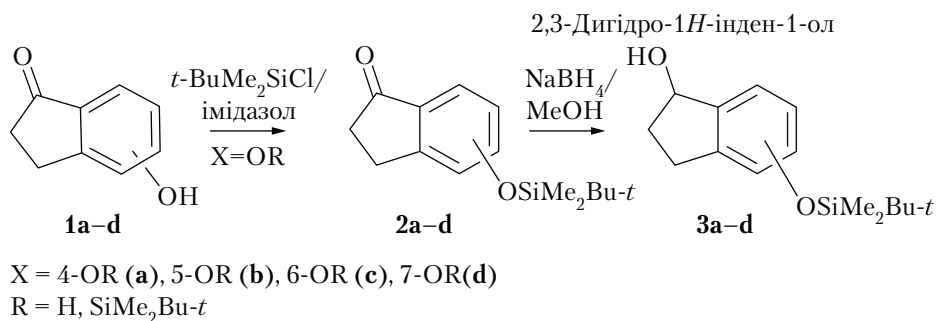
© Видавець ВД «Академперіодика» НАН України, 2023. Стаття опублікована за умовами відкритого доступу за ліцензією CC BY-NC-ND (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

виробляються в промисловості. Наприклад, у промисловому способі отримання хірального синтетичного блока індинавіру — (1*S*,2*R*)-*цис*-аміноінданолу використовують бактеріальні клітини *Rhodococcus* sp. Живі клітини *Rhodococcus* sp. здатні каталізувати біоконверсію індену в хіральні *цис*- та *транс*-індандіоли [5].

У хімічній літературі інформація про синтез заміщених в ароматичному кільці дигідроінденолів вкрай обмежена, хоча синтезу та властивостям цих сполук присвячено низку патентів. Нам вдалося знайти одну роботу японських авторів, у якій згадуються рацематичні похідні індандіолу [9]. Раніше було описано окисне кінетичне розділення рацемічних 2,3-дигідроіндендіолів з використанням ацетону як акцептора водню в присутності металоорганічного каталізатора — RuCl<sub>2</sub>-(PPh<sub>3</sub>) (фероценілоксазолідинфосфіну) [10]. Недоліком цього методу є необхідність використання важкодоступного та дорогого рутенієвого каталізатора, а також низькі виходи і недостатня енантіомерна чистота продуктів. До того ж цей метод здійснювався лише в міліграмових кількостях вихідних реагентів. В іншому способі отримання похідних 1-інденолу застосовували каталітичне гідрування інденонів з використанням оптично активного каталізатора Ru-PEG-BsDPEN [11] або каталізатора RuCl[(1*S*,2*S*)-*p*-тозил-*N*-CH(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)CH(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)NH<sub>2</sub>](6-*para*-цимол)/Bu<sub>4</sub>NBr [12]. Вивчено асиметричне гідроксилювання OH- та NH<sub>2</sub>-заміщених інденолів етилбензолдегідрогеназою [13]. Було запропоновано розділення рацемічних сумішей інденолів за допомогою препаративної хроматографії [6].

Ми для кінетичного розділення рацемічних дигідро-1-інденолів застосовували ферментативну переестерифікацію вінілацетатом у присутності різних біокаталізаторів [12]. Альтернативним методом розділення рацемічних сумішей на енантіомери 2,3-дигідро-1*H*-інденолів є ферментативний гідроліз рацемічних ацетатів дигідро-1*H*-інденолу в буферному розчині з постійним рН 7,2 у присутності ліпази *Candida antarctica* В в ароматичному кільці дигідро-1-індендіолів з високими виходами та високою хімічною чистотою.

Синтез рацемічних дигідро-1-індендіолів показаний на схемі 1. З використанням дигідроінденонів **2a–d** були отримані рацемічні галогендигідроінденоли **3a–d**. Для цього відновлювали дигідроінден-1-они з незначним надлишком боргідриду натрію в метанолі спочатку при охолодженні до 0 °С, а потім при кімнатній температурі. Реакцію завершували коротким кип'ятінням реакційної суміші із зворотним холодильником. У результаті були отримані силільовані 2,3-дигідроіндендіоли **3a–d** у вигляді безбарвних кристалічних речовин з гарними виходами.



**Схема 1**

Рацемічні 2,3-дигідро-1*H*-індендіоли розділяли на енантіомери за допомогою каталізованої ліпази переестерифікації вінілацетатом або ізопропенілацетатом у діізопропіловому ефірі в присутності ліпази *Burkholderia cepacia* (BCL). У цьому випадку (*S*)-дигідроіндендіоли **3** виділяли з виходом 45 % при 100 % *ee* (енантіомерний надлишок) і (*R*)-2,3-дигідроінденілацетати (+)-**4** отримували з виходом 40 % при 93 % *ee* після колонкової хроматографії із сумарним виходом реакції 85 % (схема 2).

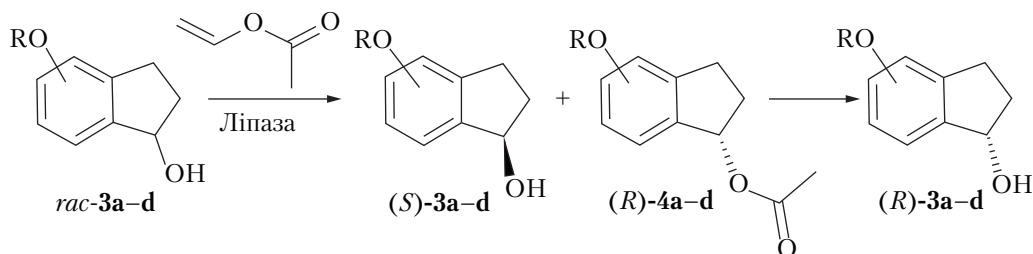


Схема 2

Розділення 2,3-дигідро-1*H*-індендіолів відбувалося з високими виходами та гарною оптичною чистотою. Виявилось несподіваним, що дигідро-1-індендіол, заміщений у бензольному кільці, регіоселективно ацилюється лише за гідроксильною групою, розташованою у циклопентановому кільці, і не ацилюється за фенольною ОН-групою.

Нами виявлено, що введення *трет*-бутилдиметилсилільної групи в ароматичне кільце підвищувало ефективність розділення рацематів на енантіомер. На підставі цього можна зробити висновок, що збільшення об'єму одного з двох замісників, приєднаних до вторинного спирту, сприяє більш стереоселективному укладанню субстрату в активному центрі ферменту. Як відомо активний центр ліпази містить дві порожнини, в яких знаходиться вторинний спирт відповідно до розмірів замісників. Згідно з теорією Кошланда (“модель індукованого субстрату”), мається на увазі гнучкість активного центру реакції дерацемізації. Приєднання субстрату до активного центру ферменту спричиняє зміну конфігурації каталітичного центру, у результаті його форма збігається з формою субстрату (“рука-рукавичка”). Якщо це перетворення сприяє кращій комплементарності субстрату та активного центру, то зростає швидкість реакції, тобто забезпечується значний каталітичний ефект. Завдяки їхньому взаємному впливу, коли субстрат наближається до активного центру ферменту, структури обох молекул, що реагують, трансформуються. В результаті полярні взаємодії різних частин білка посилюються і фермент стає жорсткішим у конформаційному відношенні. Виявлено, що *трет*-бутилметилловий ефір (МТБЕ) як розчинник, *Burkholderia cepacia* як біокаталізатор і температура 35 °С є оптимальними умовами для кінетичного розділення дигідроіндендіолів. У цьому випадку завершення реакції при 50 % конверсії забезпечувало плавну і однозначну реакцію між реагентами з утворенням тільки (*R*)-енантіомеру гідрокси-2,3-дигідро-1*H*-інден-1-іл ацетату. У результаті отримано (*S*)-дигідроіндендіол, який не прореагував, і (*R*)-дигідроінденілацетат, що забезпечило розділення стереоізомерів рацемічної суміші з високим хімічним виходом та високою оптичною чистотою (схема 3).

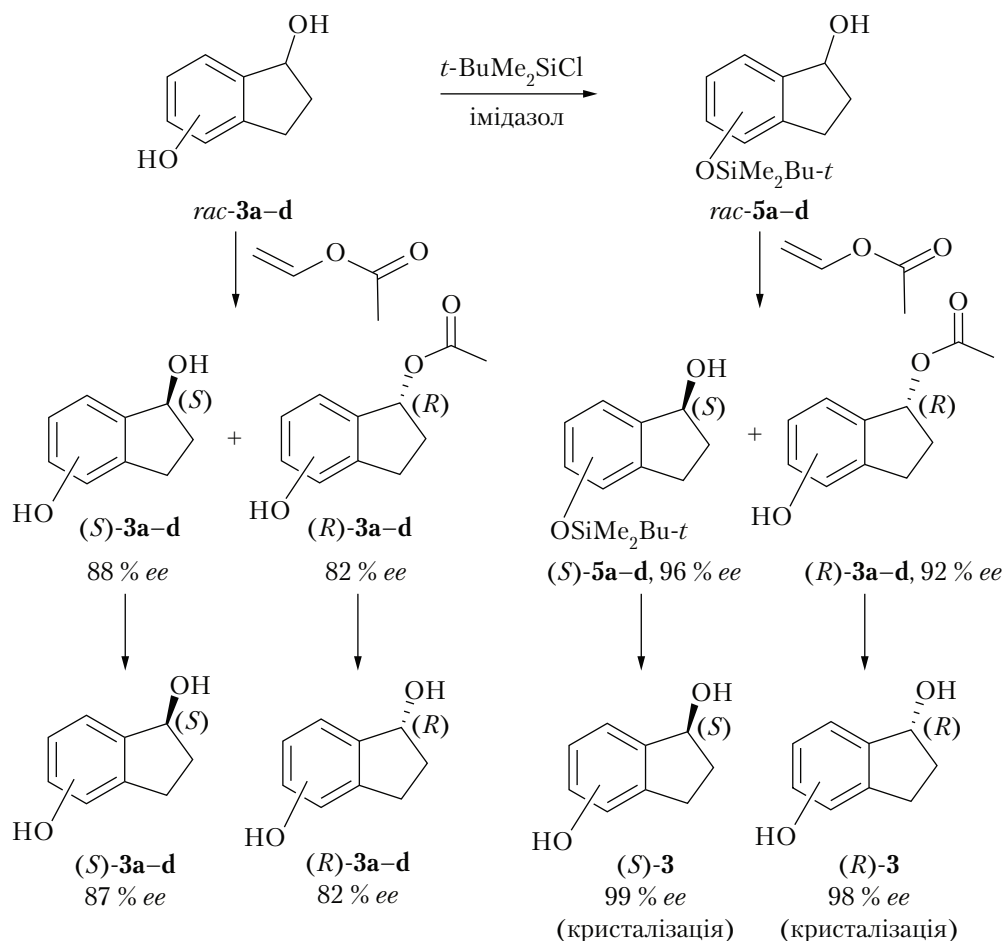


Схема 3

За подальшого гідролізу (*R*)-дигідроінденілацетатів утворюється дигідроіндендіол (*R*)-конфігурації. Таким чином, можна отримати як (*S*)-, так і (*R*)-енантіомери інденолу.

Відомо, що зміна розчинника у багатьох випадках кінетичного ферментативного розділення може впливати на енантіомерну або енантіотопну селективність, а також швидкість реакції. Тому метою подальшого дослідження було визначення найефективнішого розчинника у цій системі. Ми протестували ряд розчинників (таблиця): діізопропіловий ефір (DIPE), дибутиловий ефір (DBE), метил-*трет*-бутилефір (МТВЕ) та толуол. Найкращі результати показав МТВЕ. Якщо як розчинник використовували МТВЕ, енантіомерний надлишок (+)-**3** становив 96 % *ee* (вихід 45 %), а (-)-**4** – 92 % *ee* (вихід 48 %). Толуол також застосовується для цього розділення, хоча й менш ефективно.

Реакцію кінетичного ферментативного гідролізу гідрокси-2,3-дигідро-1H-інден-1-іл ацетату проводили у двофазній системі з буферним розчином, рН 7,2, у середовищі МТВЕ у присутності біокатализатора CALB при 45 °С. Реакція завершувалася з досягненням конверсії 50 %. У результаті отримані (*R*)-енантіомер інденолу і (*S*)-інденолацетат, що не прореагував. Методика забезпечувала розділення стереоізомерів рацемічної суміші з високим

## Вплив природи розчинника і температури на розділення(±)-3а

Розчинник	Конверсія, %	Температура, °C	Спирт (+)-3		Ацетат (-)-4	
			Вихід, %	ee, %	Вихід, %	ee, %
DIPE	55	25	34	94	63	52
DIPE	50	35	42	92	57	66
DBE	50	25	32	93	67	87
DBE	45	45	44	92	43	96
MTBE	55	25	45	96	48	92
MTBE	50	35	44	92	55	93
Толуол	55	45	39	97	52	76

Примітка. 10 ммоль (2,55 г) (±)-2, 10 ммоль (1,00 г) циклогексанолу, 50 мл розчинника, 2,0 г ліпази (Novozim 435<sup>®</sup>), 40 °C. DIPE – діізопропіловий ефір; DBE – дибутиловий ефір; MTBE – метил-*трет*-бутиловий ефір.

хімічним виходом і високою оптичною чистотою. За подальшого гідролізу (*S*)-5-гідрокси-2,3-дигідро-1*H*-інден-1-іл ацетату, що не прореагував, утворювався енантімерно чистий (*S*)-інденол (схема 4). Оскільки Novozym 435<sup>®</sup> (імобілізована ліпаза *Candida antarctica*) має термостійкі властивості, ми дослідили вплив температури реакції на енантімерний надлишок продукту в тих самих умовах з використанням MTBE як розчинника. Зниження температури реакції до 30 °C не мало помітного впливу на енантіоселективність або швидкість реакції. Водночас з підвищенням температури до 60 °C швидкість реакції помітно збільшувалася, хоча без збільшення ефективності розділення.

Оскільки повторне використання відновленого ферменту є найважливішою проблемою, яку необхідно вирішити до створення промислового процесу, було досліджено вплив кількості повторних циклів на ефективність розділення. Встановлено, що ліпазу можна використовувати до трьох циклів без помітного зниження ефективності розділення. В оптимальних умовах (обробка Novozym 435<sup>®</sup> і дибутиловим ефіром протягом 20–30 год при 30–40 °C) (±)-4 перетворюється на (1*S*)-3 (вихід: 47 %, 94 % *ee*) та (*R*)-4 (вихід: 49 %, 92 % *ee*) відповідно (див. схему 2). Розроблена методологія забезпечує легкий доступ як до (*S*)-, так і до (*R*)-енантімерів індено-галогенгідринів з високою оптичною чистотою. Використовуючи ліпазу *Burkholderia cepacia* та вінілацетат, ми розділили індандіол на енантімер, який є ключовим проміжним продуктом у синтезі ладостигілу. Ці сполуки легко перетворюються на аміноінденоли шляхом взаємодії з ацетонітрилом в умовах реакції Ріттера, даючи енантімерно чистий (1*S*, 2*R*)-*цис*-1-аміноіндан-2-ол [14].

Індандіоли – безбарвні кристалічні речовини, структура та хімічна чистота яких підтверджені спектрами ЯМР. Оптичну чистоту встановлювали шляхом дериватизації кислотою Мошера, а також аналізу хіральної ВЕРХ з хіральною хроматографічною колонкою Chiralpak OD-3 (гексан : IPA : MeOH = 95 : 2,5 : 2,5), швидкість потоку 0,6 мл/хв, λ = 210 нм). Після перекристалізації чистота синтезованих бромінданолів становила 99 % *ee* (див. схему 4).

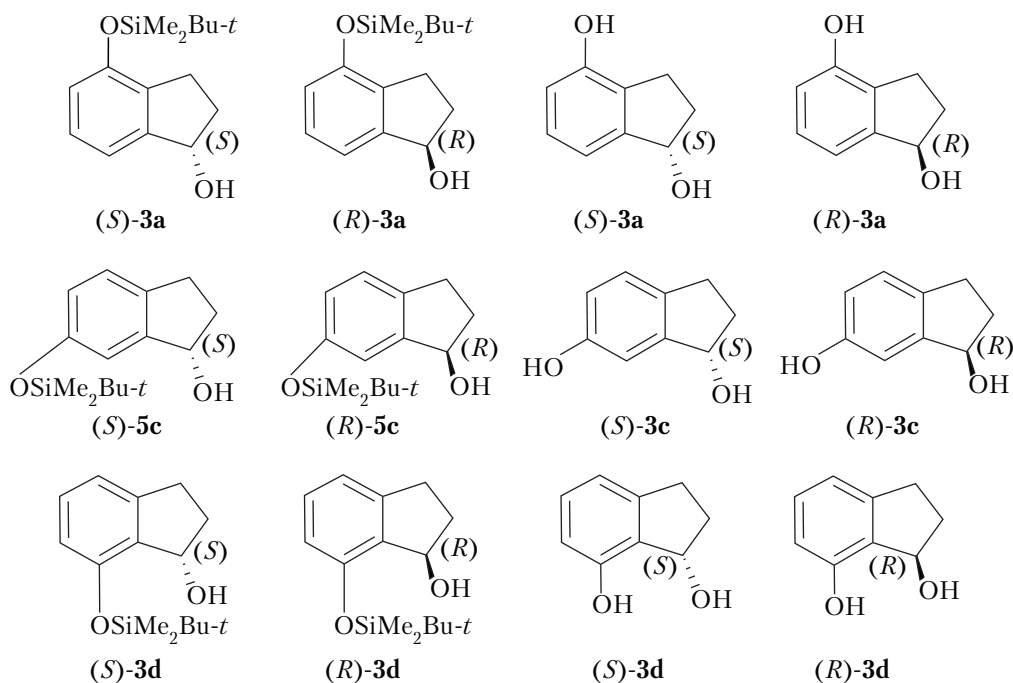


Схема 4

Для визначення абсолютної стереохімії енантімерно чистих продуктів застосували правило Казлаускаса. Згідно з правилом Казлаускаса, ці замісники розташовані у двох різних кишнях активного центру ферменту залежно від їх розміру, який визначає абсолютну конфігурацію продуктів ферментативної реакції. Із застосуванням цього емпіричного правила було виявлено, що в результаті біокаталітичного ацилювання утворюються (*R*)-ефіри, а (*S*)-галогенінданол залишається таким, що не прореагував.

**Висновок.** Запропонований біокаталізатор *Burkholderia cepacia* дає можливість отримувати як оптичні енантіомери дигідро-1H-інденолів з високими виходами, так і досягати високої енантімерної чистоти в розчині метил-*трет*-бутилового ефіру при кімнатній температурі та помірній кількості біокаталізатора. Введення об'ємної *трет*-бутилдиметилсилілоксильної групи в ароматичний цикл спричиняє підвищення ефективності кінетичної дерацемізації 2,3-дигідроіндендіолів.

**Експеримент.** Спектри ЯМР  $^1\text{H}$  та  $^{13}\text{C}$  записані в розчиннику  $\text{CDCl}_3$  на спектрометрі 500 МГц при температурі навколишнього середовища. Величини хімічного зсуву ( $\delta$ ) виражені у мільйонних частках стосовно ТМС як внутрішнього стандарту. Кратність сигналів показано як с (синглет), д (дублет), дд (дулет дуплету), тд (трійка дублетів), т (триплет), м (мультиплет), ш (широкий сигнал), кв (квартет). Константи спин-спінової взаємодії ( $J$ ) вказані у герцах. Хіральний ВЕРХ-аналіз проводили в системі Agilent 1100, оснащений колонкою Chiralpak OD-3 або аналітичними колонками Chiracel (Chiral Technologies) зі стаціонарною фазою на основі целюлози. Усі реагенти та розчинники використовували без спеціального очищення. Колонкову хроматографію виконували на силікагелі 60 (70–230 меш) з використанням зазначених елюентів. Оптичне обертання вимірювали на поляриметрі Perkin-Elmer 241 (лінія натрію D при 20 °C). Температури топлення не коригува-

лися. Всі реакції проводили у скляному посуді, висушеному на вогні або в сушильній камері при перемішуванні на магнітній мішалці. Використовували ліпазу *Burkholderia cepacia* (Амапо PS) виробництва “Амапо Pharmaceutical” (Японія). За ходом реакцій стежили за допомогою аналітичної тонкошарової хроматографії (ТШХ) на пластинках силікагелю 60 F254 (“Merck”, Німеччина) і продукти візуалізували за допомогою анізальдегіду або УФ. Чистоту всіх сполук перевіряли за допомогою ТШХ та ЯМР-вимірювань.

**Ферментативна кінетична дерацемізація 2,3-дигідро-1H-індендіолів.**

**Метод А. Ферментативне кінетичне розділення (+/-)-2,3-дигідро-1H-індендіолів 3a-d.** До розчину (+/-)-2,3-дигідро-1H-інден-1,4-діолу (0,01 моль) у МТВЕ (3 мл) додавали ліпазу *Burkholderia cepacia* (0,2 г) та вінілацетат (10 мл). Потім реакційну суміш перемішували при 24 °С до 50 %-ї конверсії вихідного спирту, що тривало 18 год. Ацетилювання продукту контролювали за допомогою ТШХ та ЯМР. Реакційну суміш фільтрували, випарювали у вакуумі. Залишок очищали хроматографією на силікагелі, використовуючи як елюент суміш гексан—етилацетат—етанол (95 : 53 : 1). Отримано (*S*)-2,3-дигідроінденол, що не прореагував, і (*R*)-гідрокси-2,3-дигідро-1H-інден-1-іл ацетат.

**Метод В. Ферментативне кінетичне розділення (+/-)-трет-бутилдиметилсилілокси-2,3-дигідро-1H-інден-1-олів (4a-d).** До розчину трет-бутилдиметилсилілокси-2,3-дигідро-1H-інден-1-олу (10 г) у ТГФ (100 мл) додавали вінілацетат (30 мл) та ліпазу *Burkholderia cepacia* (1 г). Суміш перемішували при 25 °С протягом 24 год. Перебіг реакції контролювали за допомогою ЯМР-спектроскопії. Після проходження реакції на 50 % фільтрували ліпазу і випарювали. Залишок після упарювання піддавали колонковій хроматографії. Спочатку сумішшю  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -*n*- $\text{C}_6\text{H}_{14}$  1 : 10 елюювали ацетат, а потім чистим  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  елюювали спирт, що не прореагував. У результаті отримали (*R*)-ацетат і (*S*)-спирт, що не прореагував. Фракцію (*S*)-спирту, що не прореагував, розчиняли в сухому ТГФ (50 мл) і додавали при 0 °С 1 М розчин тетрабутиламоній фториду (ТВАФ) в ТГФ (35 мл, 1,05 екв). Перемішували при кімнатній температурі 15 год. Після цього розчин упарювали. Продукт кристалізували у розчині гексан/МТВЕ (2 : 1). Отримали (*S*)-2,3-дигідро-1H-індендіол з виходом 45 %

(*R*)-2,3-Дигідро-1H-інден-1,4- діол ((*R*)-3a). 1-Гідрокси-2,3-дигідро-1H-інден-1-іл ацетат (~6 г), отриманий у попередньому експерименті, розчиняли в МТВЕ (100 мл) і додавали фосфатний буфер (рН 7,25) (150 мл), а також Novozym 435 (0,75 г). Суміш перемішували при кімнатній температурі. Перебіг реакції контролювали за допомогою ЯМР-спектроскопії. З досягненням конверсії 90 % розчин фільтрували, відокремлювали органічний шар, сушили над безводним сульфатом натрію, фільтрували та випаровували. Відокремлювали ацетат від спирту за допомогою колонкової хроматографії (елюенти  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ - $\text{C}_6\text{H}_{11}$ -1 : 10—100 %  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). Отримали (*R*)-спирт з виходом 44—46 %.

(*S*)-2,3-Дигідро-1H-інден-1,4-діол ((*S*)-3a). Вихід 45 %, т. пл. 134 °С (толуол),  $[\alpha] = +37,1$  (с, 0,8,  $\text{CH}_3\text{CN}$ ).

<sup>1</sup>H ЯМР (DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, м. ч. (*J*, Гц): 1,75—1,90 (м, 1H), 2,06—2,23 (м, 1H), 2,58—2,71 (м, 1H), 2,98 (дт, *J* = 15,7, 7,8 Гц, 1H), 4,70 (ш, 1H), 5,09—5,22 (м, 1H), 6,56 (д, *J* = 7,9 Гц, 1H), 6,65 (д, *J* = 7,3 Гц, 1H), 7,01 (т, *J* = 7,6 Гц 1H), 9,06 (ш, 1H).

<sup>13</sup>C ЯМР (CDCl<sub>3</sub>), δ, м. ч.: 28,54, 37,63, 77,34, 116,08, 117,45, 129,89, 130,82, 150,81, 156,84. Знайдено, %: С 71,45; Н 6,82. C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>. Розраховано, %: С 71,98; Н 6,71.

(*R*)-2,3-Дигідро-1H-інден-1,4-діол ((*R*)-**3e**). Вихід 42 %, т. пл. 135 °С,  $[\alpha]_D^{20} = -35,2$  (с, 0,8, CH<sub>3</sub>CN).  $[\alpha]_D^{20} = -42,95$  (C = 1, CDCl<sub>3</sub>) [12].

<sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>), δ, м. ч. (*J*, Гц): 2,0 (м, 1H, CH), 2,25 (с, 1H, OH), 2,5 (м, 1H, CH), 2,75 (м, 1H, CH), 3,0 (м, 1H, CH), 4,8 (ш, 1H, OH), 5,25 (м, 1H, CHOH), 6,75 (м, 1H, H = Ar), 7,05 (м, 1H, H = Ar), 7,2 (м, 1H, H = Ar).

<sup>13</sup>C ЯМР (CDCl<sub>3</sub>), δ, м. ч.: 28,54, 37,63, 77,34, 116,08, 117,45, 129,89, 130,82, 150,81, 156,84. Знайдено, %: C 71,66; H 6,92. C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>. Розраховано: C 71,98; H 6,71.

(*S*)-2,3-Дигідро-1H-інден-1,6-діол ((*S*)-**3c**).  $[\alpha]_D^{25} = +6,1$  (с, 1,00, CH<sub>3</sub>CN), 98,8 % *ee*.  $[\alpha]_D^{25} = +7,36$  (с, 0,734, CH<sub>3</sub>CN), 99,0 % *ee* (*S*) [10].  $[\alpha]_D^{25} = 6,1$  (с, 1,0, CH<sub>3</sub>CN), 98,8 % *ee* (*S*).

<sup>1</sup>H ЯМР (DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, м. ч.: 9,10 (с, 1H), 6,97 (д, *J* = 8,0 Гц, 1H), 6,72 (д, *J* = 2,3 Гц, 1H), 6,58 (дд, *J* = 8,1, 2,4 Гц, 1H), 5,13 (д, *J* = 6,1 Гц, 1H), 4,93 (кв, *J* = 6,6 Гц, 1H), 2,75 (м, 1H), 2,56 (дт, *J* = 15,4, 7,9 Гц, 1H), 2,36–2,21 (м, 1H), 1,72 (м, *J* = 12,6, 8,3, 6,6 Гц, 1H).

<sup>13</sup>C ЯМР (DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, м. ч.: 28,5, 36,0, 74,6, 110,9, 114,6, 124,9, 132,5, 147,8, 156,1.

(*R*)-2,3-Дигідро-1H-інден-1,6-діол ((*R*)-**3c**). Т. пл. 121 °С (толуол). Жовті кристали;  $[\alpha]_D^{20} = -6,35$  (C = 0,1, CH<sub>3</sub>CN).

<sup>1</sup>H ЯМР (DMSO), δ, м. ч. (*J*, Гц): 1,60–1,84 (м, 1H), 2,18–2,37 (м, 1H), 2,53–2,63 (м, 1H), 2,67–2,87 (м, 1H), 4,93 (кв, *J* = 6,3 Гц, 1H), 5,15 (д, *J* = 6,1 Гц, 1H), 6,58 (дд, *J* = 8,0, 1,8 Гц, 1H), 6,72 (с, 1H), 6,96 (д, *J* = 8,1 Гц, 1H), 9,13 (ш, 1H).

(*S*)-2,3-Дигідро-1H-інден-1,7-діол ((*S*)-**3d**). Безбарвні кристали;  $[\alpha]_D^{20} = +37,1$  (с, 0,8, CH<sub>3</sub>CN).  $[\alpha]_D^{23} = +23,9$  (с, 1,25, CHCl<sub>3</sub>), 95,0 % *ee* [12].

<sup>1</sup>H ЯМР (DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, м. ч. (*J*, Гц): 1,75–1,90 (м, 1H), 2,06–2,23 (м, 1H), 2,58–2,71 (м, 1H), 2,98 (дт, *J* = 15,7, 7,8 Гц, 1H), 4,70 (ш, 1H), 5,09–5,22 (м, 1H), 6,56 (д, *J* = 7,9 Гц, 1H), 6,65 (д, *J* = 7,3 Гц, 1H), 7,01 (т, *J* = 7,6 Гц, 1H), 9,06 (ш, 1H). ЯМР відповідають даним [15].  $[\alpha]_D^{23} = +37,9$  (с, 0,8, CH<sub>3</sub>CN), 95,0 % *ee*.

(*R*)-2,3-Дигідро-1H-інден-1,7-діол ((*R*)-**3d**).  $[\alpha] = -35,2$  (с, 0,8, CH<sub>3</sub>CN).

<sup>1</sup>H ЯМР (DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, м. ч. (*J*, Гц): 1,75–1,90 (м, 1H), 2,06–2,23 (м, 1H), 2,58–2,71 (м, 1H), 2,98 (дт, *J* = 15,7, 7,8 Гц, 1H), 4,70 (ш, 1H), 5,09–5,22 (м, 1H), 6,56 (д, *J* = 7,9 Гц, 1H), 6,65 (д, *J* = 7,3 Гц, 1H), 7,01 (т, *J* = 7,6 Гц, 1H), 9,06 (ш, 1H).

#### ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

- Shankar S.S., Dubé M.P., Gorski J.C., Klaunig J.E., Steinberg H.O. Indinavir impairs endothelial function in healthy HIV-negative men. *Am. Heart J.* 2005. **150**. p. 933. <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2005.06.005>
- Liu F., Boross P.I., Wang Y.-F., Tozser J., Louis J.M., Harrison R.W., Weber I.T. Kinetic, stability, and structural changes in high-resolution crystal structures of HIV-1 protease with drug-resistant mutations L24I, I50V, and G73S. *J. Mol. Biol.* 2005. **354**. P. 789–800. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2005.09.095>
- Eira M., Araujo M., Seguro A.C. Urinary NO<sub>3</sub> excretion and renal failure in indinavir-treated patients. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2006. **39**. P. 1065–1070. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2006000800009>
- Igarashi Y., Otsutomo S., Harada M., Nakano S. Enzymatic resolution of indene bromohydrin acetate using immobilized lipase. *Tetrahedron: Asymmetry*. 1997. **8**, № 16. P. 2833–2837. [https://doi.org/10.1016/S0957-4166\(97\)00351-0](https://doi.org/10.1016/S0957-4166(97)00351-0)
- Luo Z., Qin F., Yan S., Li X. An efficient and promising method to prepare Ladostigil (TV3326) via asymmetric transfer hydrogenation catalyzed by Ru–Cs-DPEN in an HCOONa–H<sub>2</sub>O–surfactant system. *Tetrahedron: Asymmetry*. 2012. **23**. P. 333–338. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2012.02.022>



- Weinstock M., Luques L., Bejar C., Shoham S. Ladostigil, a novel multifunctional drug for the treatment of dementia co-morbid with depression. *J. Neural Transm.* 2006. **70**. P 443–446. [https://doi.org/10.1007/978-3-211-45295-0\\_67](https://doi.org/10.1007/978-3-211-45295-0_67)
- Yoshimatsu S., Yamada A., Nakata K. Silylative kinetic resolution of racemic 1-indanol derivatives catalyzed by chiral guanidine. *J. Org. Chem.* 2018. **83**. P. 452–458. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.7b02493>
- Murase K., Nligata K., Mase T., Murakami M. Synthesis of new indent derivatives with adrenergic blocking properties. *Yakugaku Zasshi*. 1972. **92**, Iss. 11. P.1358–1363. [https://doi.org/10.1248/yakushi1947.92.11\\_1358](https://doi.org/10.1248/yakushi1947.92.11_1358)
- Process for the synthesis of enantiomeric indanylamine derivatives: Pat. 2006/0199974 A1 US. IPC C07C 271/40. Publ. 07.09.2006.
- Kisic A., Stephan M., Mohar B. *ansa*-Ruthenium(II) complexes of  $R_2NSO_2DPEN-(CH_2)_n(\eta^6\text{-aryl})$  conjugate ligands for asymmetric transfer hydrogenation of aryl ketones. *Adv. Synth. Catal.* 2015. **357**. P. 2540–2546. <https://doi.org/10.1002/adsc.201500288>
- Dry granulation formulation for an HIV protease inhibitor: Pat. 6,645,961 B1 US. IPC A61K 31/495, A61K 31/47, A61K 31/535. Publ. 11.11.2003.
- New aryl-benzocycloalkyl amide derivative: Pat. WO 2012/101011. IPC C07C 237/24, C07D 257/00, C07D 311/00, C07D 333/00, C07D 271/00, C07D 305/00, A61P 13/12, A61K 31/165, A61K 31/4245, A61K 31/41. Publ. 02.08.2012.
- Bowers N.I., Boyd D.R., Sharma N.D., Goodrich P.A., Grocock M.R., Blacker A.J., Goode P., Dalton H. Stereoselective benzylic hydroxylation of 2-substituted indanes using toluene dioxygenase as biocatalyst. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*. 1999. Iss. 11. P. 1453–1461. <https://doi.org/10.1039/A901453E>
- Спосіб одержання стереоізомерів дигідро-1-інденолів формули 1 з використанням кінетичного розділення рацематів у присутності ферментів *Burkholderia cepacia* lipase або *Candida antarctica* lipase В: пат. 118619 Україна. МПК C07C 27/08, C07C 27/22; заявл. 12.06.2017. Опубл. 11.02.2019, Бюл. № 3.
- Ou-yang J., Zhang W., Qin F., Zuo W., Xu S., Wang Y., Qin B., You S., Jia X. Enantioselective bioreduction of benzo-fused cyclic ketones with engineered *Candida glabrata* ketoreductase 1 – a promising synthetic route to ladostigil (TV3326). *Org. Biomol. Chem.* 2017. **15**. P. 7374–7379. <https://doi.org/10.1039/C7OB01803G>

Надійшло до редакції 24.10.2022

## REFERENCES

- Shankar, S. S., Dubé, M. P., Gorski, J. C., Klauinig, J. E. & Steinberg, H. O. (2005). Indinavir impairs endothelial function in healthy HIV-negative men. *Am. Heart J.*, 150, pp. 933. <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2005.06.005>
- Liu, F., Boross, P. I., Wang, Y. F., Tozser, J., Louis, J. M., Harrison, R. W. & Weber, I. T. (2005). Kinetic, stability, and structural changes in high-resolution crystal structures of HIV-1 protease with drug-resistant mutations L24I, I50V, and G73S. *J. Mol. Biol.*, 354, pp. 789-800. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2005.09.095>
- Eira, M., Araujo, M. & Seguro, A. C. (2006). Urinary  $NO_3$  excretion and renal failure in indinavir-treated patients. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 39, pp. 1065-1070. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2006000800009>
- Igarashi, Y., Otsutomo, S., Harada, M. & Nakano, S. (1997). Enzymatic resolution of indene bromohydrin acetate using immobilized lipase. *Tetrahedron: Asymmetry*, 8, No. 16, pp. 2833-2837. [https://doi.org/10.1016/S0957-4166\(97\)00351-0](https://doi.org/10.1016/S0957-4166(97)00351-0)
- Luo, Z., Qin, F., Yan, S. & Li, X. (2012). An efficient and promising method to prepare Ladostigil (TV3326) via asymmetric transfer hydrogenation catalyzed by Ru–Cs-DPEN in an  $HCOONa-H_2O$ –surfactant system. *Tetrahedron: Asymmetry*, 23, pp. 333-338. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2012.02.022>
- Weinstock, M., Luques, L., Bejar, C. & Shoham, S. (2006). Ladostigil, a novel multifunctional drug for the treatment of dementia co-morbid with depression. *J. Neural Transm.*, 70, pp. 443-446. [https://doi.org/10.1007/978-3-211-45295-0\\_67](https://doi.org/10.1007/978-3-211-45295-0_67)
- Yoshimatsu, S., Yamada, A. & Nakata, K. (2018). Silylative kinetic resolution of racemic 1-indanol derivatives catalyzed by chiral guanidine. *J. Org. Chem.*, 83, pp. 452–458. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.7b02493>
- Murase, K., Nligata, K., Mase, T. & Murakami, M. (1972). Synthesis of new indent derivatives with adrenergic blocking properties. *Yakugaku Zasshi*, 92, Iss. 11, pp. 1358-1363. [https://doi.org/10.1248/yakushi1947.92.11\\_1358](https://doi.org/10.1248/yakushi1947.92.11_1358)
- Pat. 2006/0199974 A1 US, IPC C07C 271/40, Process for the synthesis of enantiomeric indanylamine derivatives, Boulton L. T., Lennon I. C. & Bahar, E., Publ. 07.09.2006.

10. Kisic, A., Stephan, M. & Mohar, B. (2015). *ansa*-Ruthenium(II) complexes of R<sub>2</sub>NSO<sub>2</sub>DPEN-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>(η<sup>6</sup>-aryl) conjugate ligands for asymmetric transfer hydrogenation of aryl ketones. *Adv. Synth. Catal.*, 357, pp. 2540-2546. <https://doi.org/10.1002/adsc.201500288>
11. Pat. 6645961 Bl US. IPC A61K 31/495, A61K 31/47, A61K 31/535, Dry granulation formulation for an HIV protease inhibitor, Lui, C. Y., Ostovic, D., Katdare, A. V. & Stelmach, C., Publ. 11.11.2003.
12. Pat. WO 2012/101011, IPC C07C 237/24, C07D 257/00, C07D 311/00, C07D 333/00, C07D 271/00, C07D 305/00, A61P 13/12, A61K 31/165, A61K 31/4245, A61K 31/41, New aryl-benzocycloalkyl amide derivative, Aebi, J., Binggeli, A., Hertel, C., Konkar, A. A., Kuehne, H., Kuhn, B., Maerki, H. P. & Wang, H., Publ. 02.08.2012.
13. Bowers, N. I., Boyd, D. R., Sharma, N. D., Goodrich, P. A., Groocock, M. R., Blacker, A. J., Goode P. & Dalton, H. (1999). Stereoselective benzylic hydroxylation of 2-substituted indanes using toluene dioxygenase as biocatalyst. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, Iss. 11, pp. 1453-1461. <https://doi.org/10.1039/A901453E>
14. Pat. 118619 Ukraine. IPC C07C 27/08, C07C 27/22, Method of producing stereoisomers of dihydro-1-indoles of formula 1 using kinetic separation of racemates in the presence of *Burkholderia cepacia* lipase or *Candida Antarctica* lipase B enzymes, Kolodiazhnyi, O. I., Kolodiazhna, A. O. & Kolodiazhna, O. O., Publ. 11.02.2019.
15. Ou-yang, J., Zhang, W., Qin, F., Zuo, W., Xu, S., Wang, Y., Qin, B., You, S. & Jia, X. (2017). Enantioselective bioreduction of benzo-fused cyclic ketones with engineered *Candida glabrata* ketoreductase 1 – a promising synthetic route to ladostigil (TV3326). *Org. Biomol. Chem.*, 15, pp. 7374–7379. <https://doi.org/10.1039/C7OB01803G>

Received 24.10.2022

D.V. Prysiazhnyuk, <https://orcid.org/0000-0003-3286-4316>

A.O. Kolodiazhna, <https://orcid.org/0000-0002-7990-7830>

O.I. Kolodiazhnyi, <https://orcid.org/0000-0002-7693-5369>

V.P. Kukhar Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry of the NAS of Ukraine, Kyiv

E-mail: oikol123@bpci.kiev.ua

#### IMPACT OF STERIC FACTORS ON ENZYMATIC RESOLUTION OF 2,3-DIHYDRO-1H-INDENOLS TAKING INTO ACCOUNT THE KOSHLAND EFFECT

Enantiomerically pure 2,3-dihydro-1H-indendiols containing a hydroxyl group in the aromatic ring were obtained in high yields by enzymatic kinetic resolution of the corresponding racemates. Optimization of the process of deracemization was achieved by selecting biocatalysts, acylating reagents, solvents, and temperature, as well as the introduction of sterically bulky silyl substituents into the aromatic ring. The introduction of bulky tert-butyl dimethylsilyl groups into the aromatic ring leads to an increase in the efficiency of deracemization and an increase in the ee of reaction products. For kinetic separation, both enzymatic transesterification and enzymatic hydrolysis of the corresponding acetates were used. As a result, dihydroindenediols with (*S*)- and (*R*)-absolute configurations of high enantiomeric purity were obtained. After the process of kinetic resolution, the enantiomeric purity of the products attained 99 % ee.

**Keywords:** 2,3-dihydro-1H-indendiols, silylated dihydroindenediols, enzymatic resolution, *Burkholderia cepacia* lipase, Koshland model.