KEMIAN LAITOS
JYVÄSKYLÄN YLIOPISTO

1,4-diaryylibutaani-1,4-dionien enantioselektiivinen synteesi

Kandidaatintutkielma ja
tutkimusprojekti
Rakenne- ja synteesikemia
Kemian laitos
13.12.2018
Roope Suvinen

Tiivistelmä

1,4-diaryylibuteeni-1,4-dioleita käytetään paljon lähtöaineina monissa luonnonaine- ja lääkeainesynteeseissä. Enantiopuhtaat tuotteet ovat yhä tärkeämmässä roolissa ja siksipä 1,4-diketoneiden enantioselektiivisiä pelkistyksiä on tutkittu paljon. Esimerkiksi lääkeaineiden enantiopuhtaus vaikuttaa suoraan sen tehokkuuteen sekä turvallisuuteen. Tässä tutkielmassa vertaillaan yleisimpiä 1,4-diketoneiden enantioselektiivisiä pelkistysmenetelmiä. Aihetta on rajattu 1,4-aryylibutaani-1,4-dioneihin ja niiden pelkistyksiin. Tutkielmassa on käsitelty myös muutaman alifaattisien 1,4-diketonien pelkistystä vertailuna aryylisubstituoituihin 1,4-diketoneihin. Yleisimpiä 1,4-diketoneiden pelkistystapoja on muun muassa proliinijohdannaisten katalyyttien, DIP-kloridin, oksatsaborolidiinikatalyyttien, organometallikompleksien sekä entsyymien avulla. Yleisin ja käytännöllisin 1,4-diketoneiden pelkistystapa on CBS-pelkistys, jolla saadaan 1,4-dioleita korkeilla diastereo- ja enantioselektiivisyyksillä sekä saannoilla.

Työn kokeellisessa osassa syntetisoitiin kahta erilaista 1,4-diaryylibutaani-1,4-dionia ja tutkittiin niiden enantioselektiivistä pelkistystä erilaisilla kaupallisesti hankituilla 24 eri ketoreduktaasientsyymeillä. Tavoitteena oli selvittää, pystyikö kyseisillä ketoreduktaasientsyymeillä pelkistämään diketoneita sekä mitkä kyseisistä entsyymeistä sopivat parhaiten 1,4-diaryylibutaani-1,4-dioneiden enantioselektiiviseen pelkistykseen. 1,4-diketoni, jonka aryyliryhmässä oli CF_3-ryhmät *meta*-asemissa ei pelkistynyt millään ketoreduktaasientsyymeillä. 1,4-Difenyylisubsituoitu diketoni pelkistyi 16 eri entsyymillä. Osalla entsyymeistä saavutettiin dioleille korkeat diastereo- ja enantiomeerisuhteet (parhaimmat *dr* >99:1, *er* 96:4).

Esipuhe

Tutkielman aiheeksi valittiin 1,4-diaryylibutaani-1,4-dionien enantioselektiivinen pelkistys aiheen ajankohtaisuuden takia. Enantiopuhtaat aineet ovat yhä tärkeämpi osa luonnonainesynteesiä, jonka takia erilaisten pelkistysmenetelmien tutkimus on erittäin tärkeää, jotta saavutettaisiin yhä enantiopuhtaampia molekyylejä. Tutkielman kirjallisuus on pääasiassa löydetty Reaxys-tietokannan, Google Scholar- hakupalvelun sekä SciFinder-tietokannan avulla ja kirjallisuutena on käytetty tieteellisiä verkkojulkaisuja. Tutkielmaa kirjoittaessa on myös hyödynnetty alan oppikirjoja ja verkkomateriaalia.

Kandidaattitutkielma oli osa luonnontieteiden kandidaatin opintojen päätteeksi suoritettavaa opinnäytetyötä, joka koostui kirjallisesta sekä kokeellisesta osasta. Opinnäytetyö suoritettiin vuoden 2018 kevät- ja syyslukukauden aikana Jyväskylän yliopiston Kemian laitoksen Rakenne- ja synteesikemian osastolla prof. Petri Pihkon tutkimusryhmässä. Tutkielman ohjaajana toimi tohtorikoulutettava FM Sami Kortet. Haluan kiittää Jyväskylän yliopiston professoria Petri Pihkoa mahdollisuudesta mielenkiintoiseen ja ajankohtaiseen projektiin. Todella iso kiitos tohtorikoulutettava FM Sami Kortetille erinomaisesta ja ammattitaitoisesta ohjauksesta opinnäytetyön suorittamisen aikana. Kiitos myös muille Pihkon ryhmän jäsenille, jotka loivat mieluisan ja inspiroivan työympäristön. Lopuksi haluan kiittää ystäviäni, perhettäni ja eritoten puolisoani, joka jaksoi tukea myös niinä vaikeina hetkinä.

Roope Suvinen

Sisällysluettelo

Tiivistelmä i

Esipuhe ii

Lyhenteet ja vierasperäiset sanat iv

Kirjallinen osa vi

1. Johdanto 1

2. 1,4-Disubstituoitujen diketonien enantioselektiivisiä pelkistyksiä 3

2.1 Diketonien asymmetrinen pelkistys proliinijohdannaisen katalyytin avulla 3

2.2 1,4-Disubstituoitujen diketonien pelkistys DIP-kloridin avulla 7

2.3 1,4-diaryylibutaani-1,4-dionien pelkistys oksatsaborolidiinikatalyytin avulla 10

2.4 1,4-Disubstituoitujen diketonien pelkistys CBS:llä 12

2.5 Asymmetrinen pelkistys organometallikompleksikatalyytin avulla 17

2.6 1,4-diketoneiden pelkistys entsyymien avulla 20

3. Yhteenveto 23

Kokeellinen osa .....

4. Johdanto 25

5. 1,4-diaryylibutaani-1,4-dionien synteesi ja niiden pelkistys 25

6. 1,4-disubstituoitujen diketonien stereoselektiivinen pelkistys ketoreduktaasientsyymien avulla 27

7. Yhteenveto 30

8. Syntetisoidut yhdisteet 31

8.1 Yleiset toimintaohjeet 31

8.2 1,4-bis(3,5-bis(trifluorometyyli)fenyyli)butaani-1,4-dioni 32

8.3 1,4-difenyylibutaani-1,4-dioni 33

8.4 1,4-difenyylibutaani-1,4-dioli 33

8.5 1,4-bis(3,5-bis(trifluorometyyli)fenyyli)butaani-1,4-dioli 34

8.6 1,4-bis(3,5-bis(trifluorometyyli)fenyyli)butaani-1,4-dioli 35

8.7 1,4-difenyylibutaani-1,4-dioli 36

9. Lähdeluettelo 39

Liitteet 43

Lyhenteet ja vierasperäiset sanat

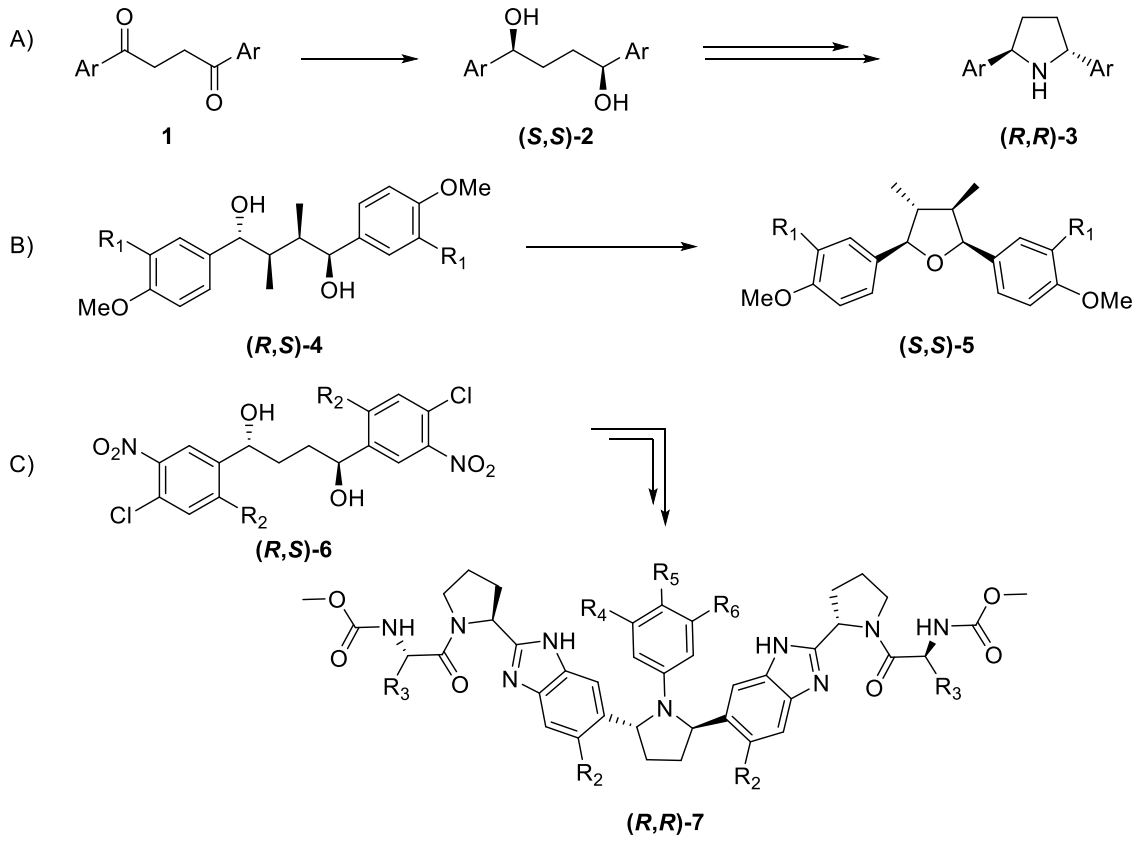
ADH	alkoholidehydrogenaasi
ATH	asymmetrinen vedynsiirto, *asymmetric transfer hydrogenation*
CBS	Corey–Bakshi–Shibata
DCM	dikloorimetaani
de	diastereomeerinen ylimäärä, *diastereomeric excess*
DIP-Cl	di-isopinokamfeyyliboraani
DMF	dimetyyliformamidi
DMSO	dimetyylisulfoksidi
dr	diastereomeerinen suhde, *diastereomeric ratio*
ee	enantiomeerinen ylimäärä, *enantiomeric excess*
ekv.	ekvivalentti
er	enantiomeerien suhde, *enantiomeric ratio*
GDH	glutamaattidehydrogenaasi
hl	huoneenlämpö
HPLC	korkean erotuskyvyn nestekromatografia, *high performance liquid chromatography*
IPA	isopropanoli
KRED	ketoreduktaasientsyymi
NADH	nikotiiniamidiadeniinidinukleotidi
NADPH	nikotiiniamidiadeniinidinukleotidifosfaatti

NMR	ydinmagneettinen resonanssi, *nuclear magnetic resonance*
THF	tetrahydrofuraani
TLC	ohutlevykromatografia, *thin layer chromatography*
TMSCl	trimetyylisilyylikloridi

Kirjallinen osa

1. Johdanto

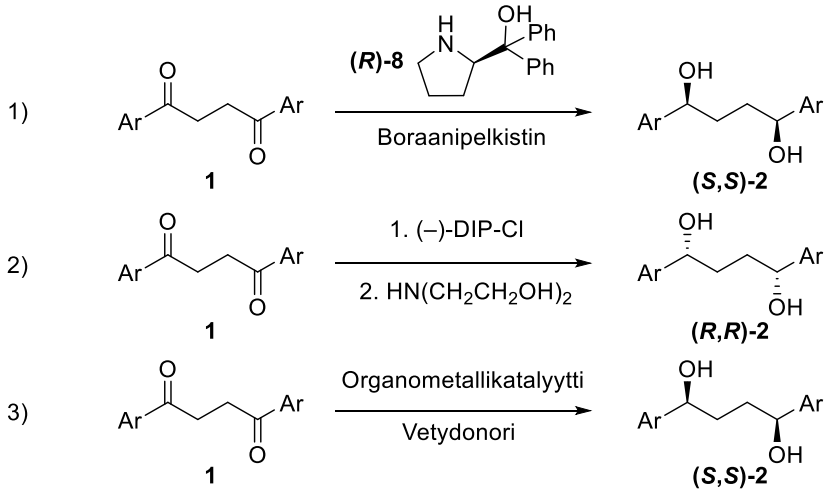
1,4-Aryylibutaani-1,4-diolit ovat orgaanisia yhdisteitä, jotka koostuvat kahdesta erilaisesta tai samanlaisesta aryyliryhmästä sekä kahdesta hydroksyyliryhmästä. Optisesti aktiivisia 1,4-dioleita voidaan löytää biologisesti aktiivisista yhdisteistä, kuten lääkkeistä ja luonnonaineista[1]. Niiden monipuolisuuden takia 1,4-diolit ovat tärkeitä C_2-symmetrisinä kiraalisina ligandeina ja apuvälineinä stereoselektiivisessä luonnonainesyntetiikassa, kuten 2,5-disubstituoituen pyrrolidiinien synteesissä (kaavio **1**, kohta A).[2] 1,4-diaryylibutaani-1,4-dioleita on myös käytetty erilaisten lignaanien synteeseissä (kaavio **1**, kohta B). Lignaanit ovat erilaisia kasveissa olevia polyfenoliyhdisteitä, jotka toimivat muun muassa kasvien puolustusmekanismissa, antioksidantteina, antimikrobisena ja syöpää ehkäisevinä yhdisteinä.[3]



Kaavio 1. 1,4-Diaryylibutaani-1,4-dioleista voidaan muodostaa A) 2,5-diaryylipyrrolidiineja B) (—)-veraguensin lignaaneita C) Pibrentasvir hepatiitti C-virus NS5A inhibiittoria

Enantiopuhtaiden tuotteiden syntetisointi on yhä tärkeämpää lääketieteessä ja teollisuudessa. Diolien pelkistyksissä tärkeintä on saada mahdollisimman enantiopuhtaita tuotteita mahdollisimman halvalla ja yksinkertaisella menetelmällä. Esimerkiksi erilaisissa lääkeaineissa on tärkeää, että vaikuttavan aineen halutun enantiomeerin pitoisuus olisi mahdollisimman korkea. Tämän takia useat eri tutkimusryhmät ovat olleet kiinnostuneita kehittämään uusia menetelmiä enantiopuhtaiden tuotteiden valmistamiseksi.

Viime vuosien aikana on kehitetty lukuisia menetelmiä sekä erilaisia pelkistimiä ja kiraalisia katalyytteja, jotka mahdollistavat 1,4-diketoneiden enantioselektiivisen pelkistyksen. Kuten esimerkiksi Coreyn, Baksin ja Shibatan kehittämä CBS-pelkistys[4] (kaavio **2**, kohta 1), (—)-DIP-Cl pelkistys[5] (kaavio **2**, kohta 2), organometallikatalysoidut pelkistykset[6] (kaavio **2**, kohta 3) sekä erilaiset proliinijohdannaisilla katalysoidut enantioselektiiviset pelkistykset[7]. Näistä ylivoimaisesti käytetyin on CBS-pelkistys sen helppokäyttöisyyden, hinnan ja korkean enantioselektiivisyyden takia. Tässä kirjallisuustutkielmassa tarkastellaan 1,4-diaryylibutaani-1,4-dionien yleisimpiä enantioselektiivisiä pelkistysmenetelmiä.



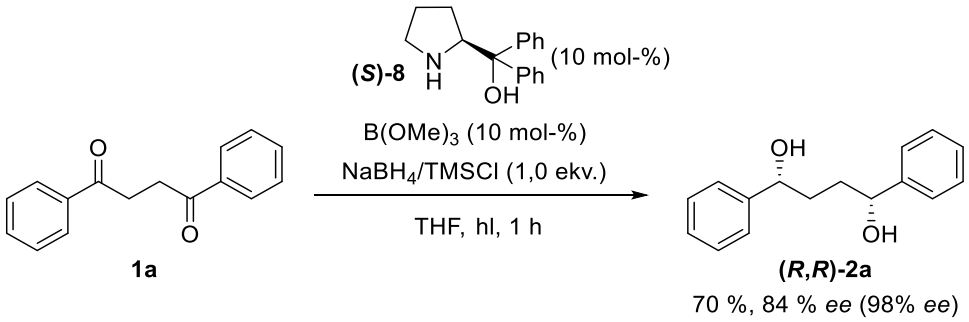
Kaavio 2. Erilaisia 1,4-diketonien enantioselektiivisiä pelkistysmenetelmiä. 1) Proliinijohdannaisen katalysoima pelkistys 2) (—)-DIP-Cl pelkistys 3) Organometallireagenssin katalysoima pelkistys

2. 1,4-disubstituoitujen diketonien enantioselektiivisiä pelkistyksiä

2.1 Diketonien asymmetrinen pelkistys proliinijohdannaisen katalyytin avulla

1,4-diketoneita voidaan pelkistää proliinijohdannaisen **8** ja erilaisten boorihydridien avulla. Reaktiossa **8** muodostaa kompleksin trimetyyliboraatin kanssa, muodostaen tehokkaan ja enantioselektiivisen katalyytin. Pelkistysmenetelmä on lähestulkoon sama kuin CBS-pelkistyksessä käytettävä katalyytti, mutta CBS-pelkistyksessä käytetään eri hydridilähdettä.

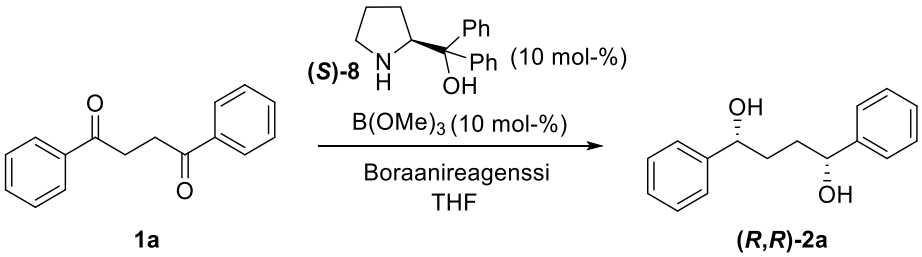
Vuonna 2001 Periasamy *et al.*[8] päätyivät kokeilemaan samaa katalyyttiä **(*S*)-8**, mutta eri pelkistimellä. He käyttivät natriumboorihydridiä yhdessä trimetyylisilyylikloridin (TMSCl) kanssa. Ainoastaan 10 mol-% katalyyttiä tuotti diolia **2a** hyvällä enantioselektiivisyydellä ja saannolla (kaavio **3**). Puhdistuksen jälkeen diolin enantiomeeriylimäärä parani huomattavasti (98% *ee*).



Kaavio 3. Periasamyn 1,4-difenyylibutaani-1,4-diketonin **1a** pelkistys

Muutaman vuoden myöhemmin Periasamy *et al.*[9] toistivat pelkistyksiä samalle diketonille **1a** käyttäen samaa proliinijohdannaista katalyyttiä (taulukko **1**) sekä pelkkää (*S*)-proliinia **9** (taulukko **2**). Huonoin diastereo- ja enantioselektiivisyys saavutettiin käyttäen pelkkää katalyyttiä ja natriumboorihydridiä (taulukko **1**, rivi **1**). Trimetyyliboraatin muodostaessa kompleksin katalyytin kanssa, saavutettiin huomattavasti paremmat diastereo -ja enantioselektiivisyydet 1,4-diolille (taulukko **1,** rivi **2**).

Taulukko 1. Periasamyn 1,4-difenyyli-1,4-dionin pelkistys proliinijohdannaisella **8** katalyytillä

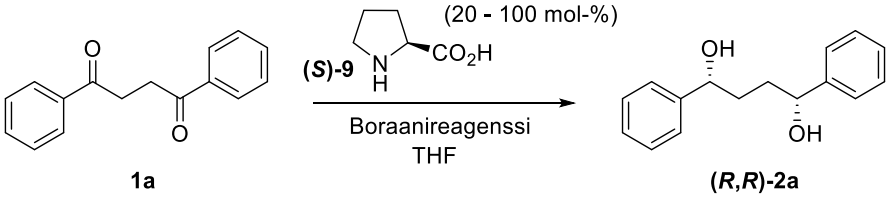


Rivi	Boraanireagenssi	*dl / meso*	*ee*% (1*R*,4*R*)	Saanto (%)
1	$NaBH_4$/TMSCl[a]	75 : 25	52	70
2	$NaBH_4$/TMSCl	93 : 7	93	70

a. Reaktio suoritettiin ilman trimetyyliboraattia $B(OMe)_3$

Vaikka yllä olevalla pelkistysmetodilla saavutettiin erinomaisia diastereo- ja enantioselektiivisyyksiä hyvillä saannoilla, ryhmä päätti kokeilla pelkistyksiä myös (*S*)-proliinilla **9**. Aikaisempien tutkimuksien perusteella (*S*)-proliinin katalysoima asetofenonin asymmetrinen pelkistys tuotti hyviä tuloksia.[10] Toisin kuin 1,4-diketonin pelkistykset (*S*)-proliinilla ja erilaisilla boraanireagensseilla tuottivat huonoilla tai keskinkertaisilla diastereoselektiivisyyksillä 1,4-dioleita (taulukko **2**). Jotta reaktiossa saavutettaisiin erinomaiset diastereo- ja enantioselektiivisyydet, tarvitaan reaktiossa trimetyyliboraattia, joka muodostaa aktiivisen kompleksin katalyytin kanssa.

Taulukko 2. 1,4-difenyylibutaani-1,4-dionin pelkistys pelkällä (*S*)-proliinilla **9** ja erilaisilla boraanireagensseilla



Rivi	Boraanireagenssi	*dl / meso*	*ee*% (1*R*,4*R*)	Saanto (%)
1	$NaBH_4$[a]	22 : 78	64	60
2	$BH_3 \cdot THF$[a]	62 : 38	81	60
3	$BH_3 \cdot THF$[b]	76 : 24	53	60
4	$PhNEt_2 \cdot BH_3$[b]	73 : 27	85	75

a. Reaktiossa käytettiin 100 mol% katalyyttiä.

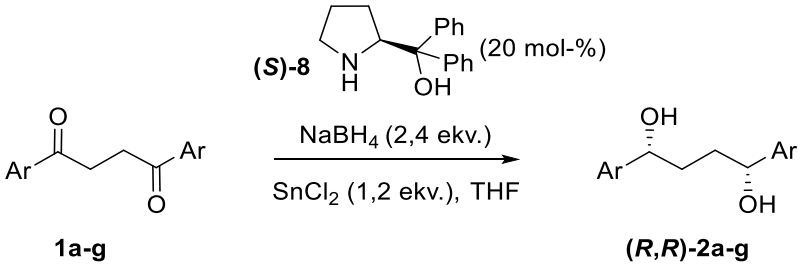
b. Reaktiossa käytettiin 20 mol% katalyyttiä.

Li *et al.*[11] kehittivät enantioselektiivisen tavan pelkistää 1,4-disubstituoituja diketoneja asymmetrisesti vuonna 2006. Heidän menetelmänsä perustui samaan proliinijohdannaisen

katalyytin **8** ja natriumboorihydridin käyttöön. Lisäksi he käyttivät reaktiossa tina(II)kloridia, joka on aikasempien tutkimuksien mukaan edistänyt yksinkertaisten ketonien asymmetristä pelkistystä.[12] Tuloksena syntyi tehokas tapa asymmetriseen pelkistykseen ja erinomaiseen enantioselektiivisyyteen.

Ryhmä sai pelkistettyä 1,4-disubstituoituja diketoneita eri substituenteilla hyvällä diastereo – ja enantioselektiivisyydellä sekä hyvillä saannoilla (Taulukko **3**). Ryhmä käytti pelkistyksissään 20 mol-% katalyyttiä. Huonoin diastereoselektiivisyys saavutettiin diolille **2e**, jonka aryyliryhmissä bromit olivat *meta*-asemassa, kun taas huonoin enantiomeeriylimäärä oli diolilla **2f**, jonka fenyylissä olivat kiinni *para*-asemassa elektronitiheyttä luovuttavat metoksiryhmät. Parhaimmat diastereoselektiivisyydet saatiin dioleille **2a** ja **2d**, joiden substituentteina olivat pelkät fenyyliryhmät tai joiden aryyleissä olivat kiinni *para*-asemassa olevat elektronitiheyttä puoleensavetävät bromit. Parhaat enantioselektiivisyydet saatiin dioleille **2a**,**2b** ja **2e**, jossa substituentteina olivat fenyyliryhmä tai aryylit, joissa fluorit olivat *para*-asemassa tai bromit *meta*-asemassa.

Taulukko 3. Erilaisten 1,4-diaryylibutaani-1,4-dioneiden pelkistys proliinijohdannaisen katalyytin **8** ja natriumboorihydridin avulla

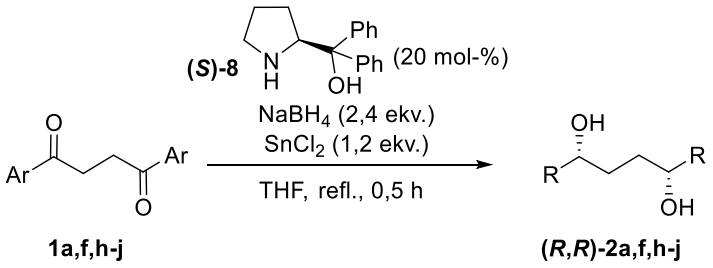


Dioli	Ar	*dl*/*meso*	ee %	Saanto %
2a	Ph	92:8	> 99	92
2b	*p*-F-Ph	91:9	> 99	93
2c	*p*-Cl-Ph	89:11	97	92
2d	*p*-Br-Ph	93:7	99	92
2e	*m*-Br-Ph	88:12	> 99	87
2f	*p*-OMe-Ph	-	92	85
2g	*p*-Ph-Ph	-	97	92

Lin menetelmä 1,4-difenyylibutaani-1,4-dionin pelkistykseen oli enantioselektiivisempi verrattuna Periasamyn tutkimusryhmän käyttämään menetelmään. Tina(II)kloridin käyttö pelkistyksessä paransi myös huomattavasti saantoja.

Denmark *et al.*[2] sovelsivat Lin menetelmää, laajentaen lähtöainevalikoimaa erilaisiin 1,4-diaryylisubstituoituihin diketoneihin. Tuloksena he saivat todella enantiopuhaita dioleita (Taulukko **4**). Diolin **2j**, jonka aryylissä olivat kiinni CF_3-ryhmät *meta*-asemissa, saanto jäi huonoksi. Tämä johtui todennäköisesti CF_3-ryhmistä, jotka steerisesti estivät katalyytin kiinnittymisen ketoryhmään ja näin ollen diketonin pelkistymisen. Muissa tuotteissa saannot olivat keskinkertaisia tai hyviä (49 – 74 %). Ryhmä totesi diastereoselektiivisyyden paranevan uudelleenkiteytyksen jälkeen kaikilla muilla dioleilla paitsi diolilla **2h**. Tämä johtui *meso*-isomeerin olevan enemmän kiteinen, kun muissa dioleissa. Yllättäen diketoni **2a**, jonka substituentteina olivat fenyylit, ei pelkistynyt. Pelkistymättömyyden syytä ei mainittu artikkelissa ollenkaan.

Taulukko 4. Denmarkin 1,4-diaryyli-1,4-butaanidionin stereoselektiivinen pelkistys



Dioli	Ar	*dr*	*er*	Saanto %
2a	Ph	-	-	-
2f	4-OMe-Ph	93 : 7 [99 : 1][a]	99 : 1	69
2h	4-*t*-Bu-Ph	90 : 10 [87 : 13][a]	99 : 1	49
2i	4-F_3C-Ph	89 : 11 [98 : 2][a]	> 99 : 1	74
2j	3,5-$(F_3C)_2$-Ph	79 : 21 [> 99 : 1][a]	> 99 : 1	40

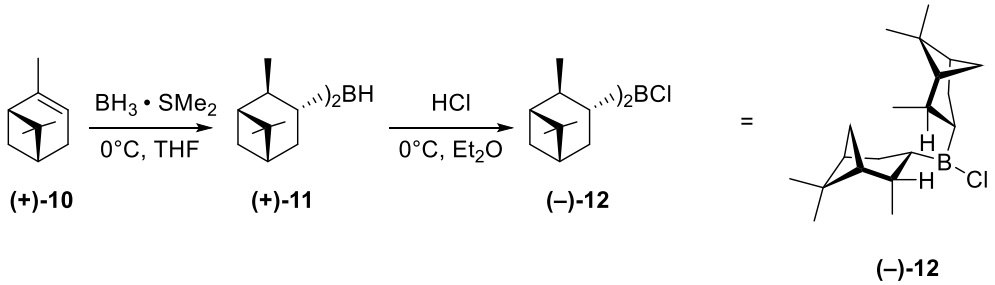
a. Diastereomeerisuhteet mitattu uudelleenkiteytyksen jälkeen

Proliinijohdannaisten katalyyttien käyttö asymmetrisessä 1,4-diayylibutaani-1,4-dionien pelkistyksissä tuottaa korkeilla diastereo- ja enantioselektiivisyyksillä dioleita, erityisesti trimetyyliboraatin muodostaessa kompleksin katalyytin **8** kanssa. Erinomainen diastereo- ja enantioselektiivisyys saavutetaan pienellä määrällä katalyyttiä (10 – 20 mol-%). Tina(II)kloridin käyttö reaktiossa edesauttoi saavuttamaan paremmat diastereo- ja enantioselektiivisyydet usealle eri 1,4-diolille, mutta haittapuolena pelkistyksissä on

tina(II)kloridin suuri määrä (1,2 ekv) ja sen myrkyllisyys, mikä tekee tinakloridin käytöstä pelkistyksissä epäideaalisen.

2.2 1,4-Disubstituoitujen diketonien pelkistys DIP-kloridin avulla

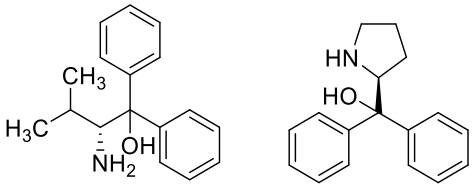
(—)-di-isopinokamfeyylikloroboraani ((—)-Ipc_2BCl tai (—)-DIP-Cl) (**12**) on asymmetrisessä synteesissä käytetty organoboraanipelkistin, jota voidaan käyttää diketonien, erityisesti 1,4-diaryylibutaani-1,4-dionien pelkistykseen. (—)Ipc_2BCl voidaan valmistaa kaupallisesti saatavilla olevasta (+)-∝-pineenistä (**10**) hydroboraation avulla.[5] Vuonna 1961 Brown *et al.*[13] raportoivat ensimmäisen kerran ketonien pelkistyksestä optisesti aktiivisella (—)Ipc_2BH:lla, jonka jälkeen pelkistin on kasvattanut suosiotaan tutkijoiden keskuudessa muun muassa erilaisten diketonien pelkistyksissä.



Kaavio **4**. (—)-di-isopinokamfeyylikloroboraanin synteesi (+)-∝-pineenistä hydroboraation avulla[5]

Chong *et al.*[14] päätyivät etsimään uusia enantioselektiivisiä pelkistystapoja, joita voisi soveltaa suuremman mittakaavan synteesiin. He pelkistivät aluksi 1,4-difenyylibutaani-1,4-dionia CBS-tyyppisellä pelkistyksellä. He huomasivat näiden boraanipohjaisten reagenssien tuottavan dioleita ainoastaan keskinkertaisilla diastereomeerisuhteilla. He käyttivät pelkistysreaktiossa difenyylivalinolia **13** sekä difenyyliprolinolia **8**, josta parhain diastereoselektiivisyys saavutettiin käyttäen difenyylivalinolia yhdessä boraanin kanssa (taulukko **5**).

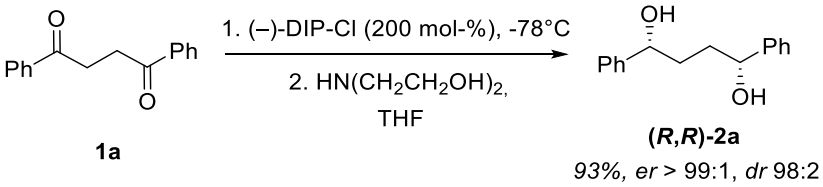
Taulukko **5**: Chongin käyttämät proliinijohdannaiset pelkistimet



Difenyylivalinoli **13** Difenyyliprolinoli **8**

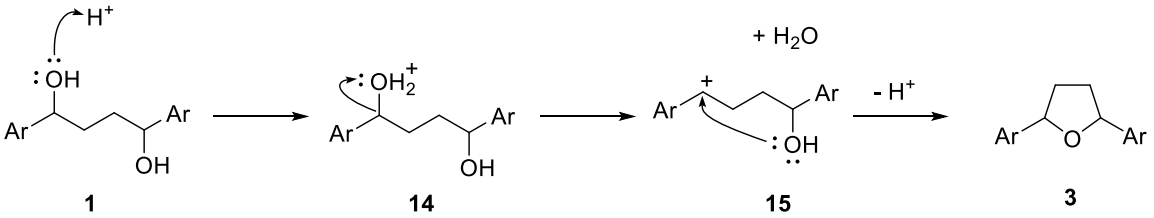
Reagenssi	*dl* : *meso*
Difenyylivalinoli/BH_3	14 : 1
Difenyyliprolinoli/BH_3	3-4 : 1
Difenyyliprolinoli/*n*-$BuB(OH)_2$	6 : 1

Boraanipohjaisten reagenssien sijaan he keksivät käyttää pelkistyksissä (—)-DIP-Cl:ia (**12**), joka tuotti lähes enantiopuhdasta diolia **2a** erinomaisella saannolla (*er* > 99 : 1 *, 93%) (kaavio **5)**. Diolin *meso*-(*R*,*S*)-muoto voitiin poistaa uudelleenkiteyttämällä CH_2Cl_2-heksaaniliuoksesta.



Kaavio **5**: Chongin 1,4-diketonin stereoselektiivinen pelkistys

Saatu dioli oli stabiili kiinteänä huoneenlämmössä ja säilyi useita vuosia ilman isomerisoitumista, mutta liuoksessa diolit muodostivat sekoituksen *cis*- ja *trans*-2,5-difenyylitetrahydrofuraania (kaavio **6**).



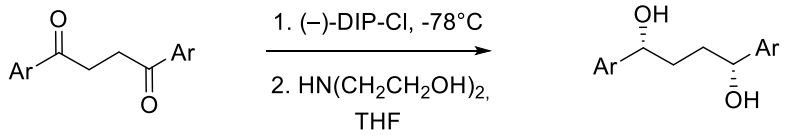
Kaavio 6. Pelkistys, jossa karbokationivälivaiheessa muodostuva sivutuote 2,5-difenyylitetrahydrofuraani (**3**)

* Enantiopuhtaus mitattu pyrrolidiinista, joka saatiin syntetisoitua diolista

Vuonna 2009 Chen *et al.*[15] sovelsivat Chongin menetelmää ja pelkistivät useita erilaisia 1,4-disubstituoituja diketoneita (taulukko **6**). Tuloksena he saivat 1,4-diaryylibutaani-1,4-dioleita korkealla diastereo- ja enantioselektiivisyyksillä ja saannoilla.

Diketonit **1h** ja **1k** pelkistyivät erinomaisesti kiraalisiksi dioleiksi. Diketoni **1l** tarvitsi huomattavan määrän (—)-DIP-kloridia (3 ekvivalenttia per karbonyyliryhmä) pelkistyäkseen. Vaikkakin selektiivisyys oli erinomainen (> 99 % *ee*, > 98 % *de*), saanto jäi todella pieneksi (19 %). Pelkistys tuotti 2,5-dinaftyylitetrahydrofuraania (**3**), joka todennäköisesti oli muodostunut karbokationi-välivaiheen kautta. (—)-DIP-kloridi on erittäin ilma- ja kosteusherkkä pelkistin[16]. Reagoidessaan veden kanssa, se muodostaa reaktioseokseen suolahappoa, joka puolestaan protonoi hydroksyyliryhmän paremmaksi lähteväksi ryhmäksi. Toinen hydroksyyliryhmä reagoi karbokationin kanssa muodostaen tetrahydrofuraanirakenteen, jota muodostui diketonin **1l** pelkistyksessä.

Taulukko 6. 1,4-Diaryylibutaani-1,4-dioleiden synteesi (—)-DIP-Cl pelkistimellä



1f,h,k,l-m **(*R*,*R*)-2f,h,k,l-m**

Dioli	Ar	Saanto%	*ee%*	*de%*
2f	4-OMePh	Hajonnut	-	-
2h	4-*t*-BuPh	63	> 95	> 95
2k	*p*-Tol	83	99,5	98,0
2l	2-naftyyli	19	99,3	99,4
2m	Mesityyli	Ei reaktiota	-	-

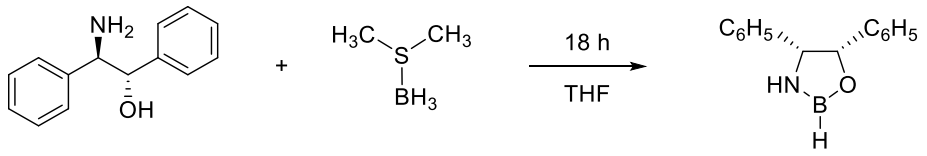
Asymmetriset pelkistykset diketoneille **1f** ja **1m** eivät toimineet (—)-DIP-kloridilla. Ryhmä ei saanut eristettyä tuotetta diketonin **1f** raakatuotteesta. Reaktio tapahtui happamissa olosuhteissa, jolloin reaktiossa tapahtuu mahdollisesti kahden metoksi-ryhmän demetylaatio. Tutkimusryhmä epäili, että fenyyliryhmät mahdollisesti hapettuivat pelkistysreaktion aikana, mutta artikkelissa ei sen tarkemmin perusteltu asiaa. Diketoni **1m** ei pelkistynyt edes yleisillä karbonyyliyhdisteiden pelkistykseen käytetyillä pelkistimillä ($LiAlH_4$, $NaBH_4$ ja $LiBH_4$). Tutkimusryhmä selvitti, että diketonin **1m** stabiileimmassa konformaatiossa fenyyliryhmät olivat kohtisuorassa vierekkäisten karbonyyliryhmien suhteen. Tästä johtuen mesityylin 2,6-

dimetyyliryhmät loivat steerisen esteen katalyytin ja karbonyyliryhmien välille, jolloin pelkistystä ei tapahtunut.

Diketonien pelkistäminen DIP-Cl pelkistimen avulla tuottaa korkeilla diastereo- ja enantioselektiivisyyksillä dioleita. Chongin ja Chenin suorittamissa pelkistyksissä katalyytin määrä oli suuri verrattuna proliinijohdannaisiin katalyytteihin, jolloin reaktio on isossa mittakaavassa kallis. DIP-Cl on myös erittäin kosteusherkkä katalyytti, jolloin veden kanssa reagoidessaan muodostaa suolahappoa, joka helposti protonoi 1,4-dioleiden hydroksyyliryhmät.

2.3 1,4-diaryylibutaani-1,4-dionien pelkistys oksatsaborolidiinikatalyytin avulla

Quallich *et al.*[17] aluksi pelkistivät erilaisia 1,4-disubstituoituja diketoneita boraanilla, jotka tuottivat diketoneita *meso*-isomeerisuhteella 1:1 — 5:1 suhteessa rasemaattiin. Huonon diastereoselektiivisyyden takia tutkimusryhmä päätyi käyttämään *erytro*-difenyyli oksatsaborolidiinia **18** katalyyttinä boraanipelkistyksen yhteydessä (taulukko **7**). Katalyytti muodostettiin *in situ* yhdisteistä **16** ja **17** (kaavio **7**).

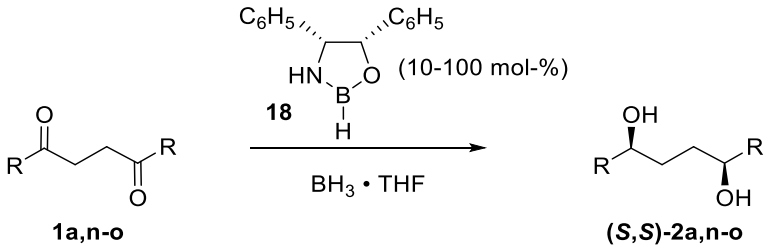


16 **17** **18**

Kaavio 7. *Erytro*-difenyyli oksatraborolidiinikatalyytin muodostus

Saadakseen paremman enantioselektiivisyyden he sovelsivat Coreyn *et al.*[4] optimoitua pelkistysreittiä, jossa boraania lisättiin stoikiometrinen määrä (1 ekv. boraania per karbonyyliryhmä). Pelkistys tuotti paremmalla diastereo- ja enantioselektiivisyydellä 1,4-diolia (taulukko **7**, **2a**) kun katalyyttiä käytettiin 100 mol-% katalyyttisen määrän sijaan. He pelkistivät myös muutamia alifaattisia 1,4-diketoneita. Huonoimmat stereoselektiivisyydet saatiin dioleille, jossa substituentteina olivat metyyliryhmät (taulukko **7**, **2n**). Diketonin **1n** metyyliryhmien takia katalyytti pystyi hyökkäämään karbonyyliryhmiin kummalta puolen tahansa, jolloin reaktio tuotti raseemisen seoksen.

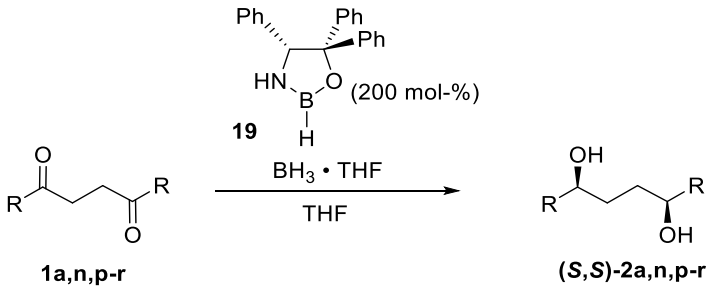
Taulukko 7: Boraanipelkistykset *erytro* difenyyli oksatraborolidiini katalyytin avulla



Dioli	R	Oksatsaborolidiini mol-%	*Meso* : *R,R* + *S,S*	*ee%*
2a	R = Ph	-	61 : 39	-
		10	21 : 79	94 (*S*,*S*)
		100	16 : 84	99 (*S*,*S*)
2n	R = Me	-	43 : 57	-
		10	31 : 69	17 (*S*,*S*)
2o	R = *t*-Bu	-	67 : 33	-
		10	20 : 80	97 (*S*,*S*)

Muutaman vuoden myöhemmin Bach *et al.*[18] pelkistivät fenyylisubstituoitua 1,4-diketonia **1a** samankaltaisella katalyytillä, jota Quallich *et al*. käyttivät. Ryhmä pelkisti myös alifaattisia diketoneita ja samalla paransivat metyylisubstituoidun diketonin enantiopuhtautta (taulukko **8, 2n**).Paras diastereo- ja enantioselektiivisyys saavutettiin 1,4-difenyylibutaani-1,4-dionille (taulukko **8**, **2a**). Pelkistyksissä ryhmä käytti 200 mol-% katalyyttiä. Muiden alifaattisten dioleiden enantiopuhtaudet olivat keskinkertaista, mutta saannot hyviä.

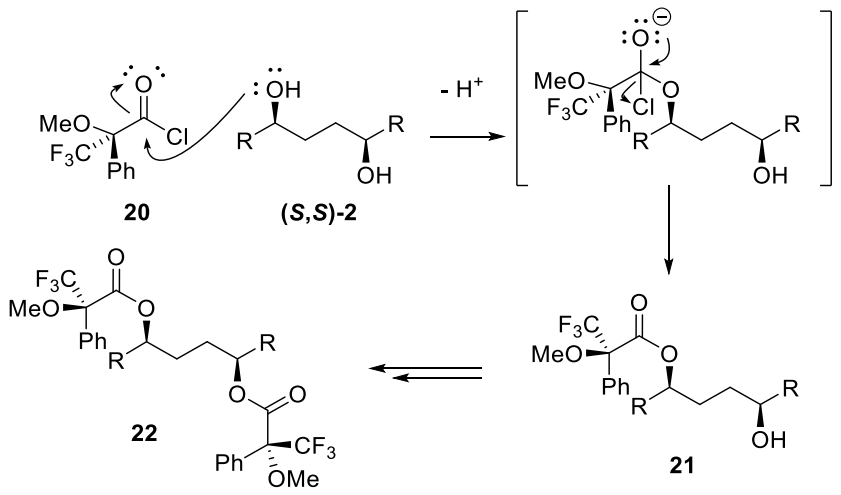
Taulukko 8. 1,4-diketonien pelkistykset *erytro*-trifenyylioksatraborolidiinin avulla



Dioli	R	Saanto %	*dl/ meso*[a]	*ee%*[a]	Enantiomeeri
2a	Ph	91	93 : 7 (91 : 9)[b]	99 (98)[b]	(*S*,*S*)
2n	Me	92	68 : 32	92	(*S*,*S*)
2p	Et	80	58 : 42	46	(*S*,*S*)
2q	Heks	75	67 : 33	45	(*R*,*R*)
2r	But	78	58 : 42	40	(*S*,*S*)

a. *dr* ja *ee*% määritetty (*S*)-Mosherin diesterin avulla

b. 20 mol-% katalyyttiä



Kaavio 8. Diesterin muodostus (*S*)-Mosherin happokloridilla

Bachin käyttämä katalyytti **19** sopii paremmin sellaisten diketonien pelkistämiseen, jossa substituentteina ei ole steerisesti estäviä ryhmiä. Bachin menetelmässä katalyyttiä ei muodostettu *in situ*, toisin kuin Quallichin pelkistyksessä. Erilaisia oksatsaborolidiinikatalyyttejä voidaan käyttää 1,4-diketoneiden enantioselektiivisissä asymmetrississä pelkistyksissä, mutta reaktioihin tarvitsee suhteellisen runsaan määrän katalyyttiä (100 - 200 mol-%) verrattuna proliinijohdannaisten katalysoimiin reaktioihin (10 – 20 mol-%).

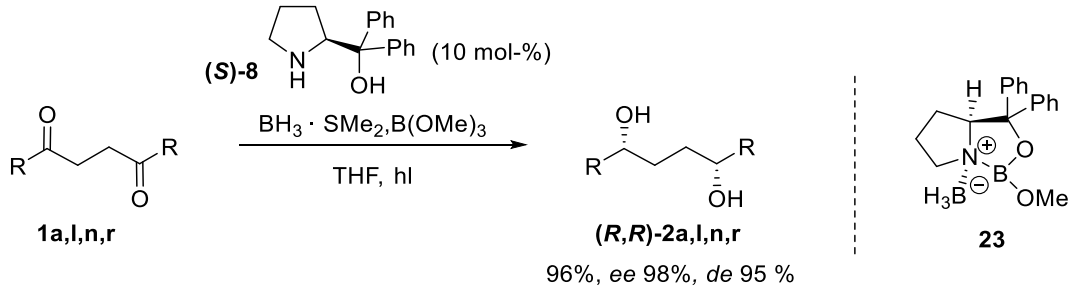
2.4 1,4-Disubstituoitujen diketonien pelkistys CBS:llä

Yksi yleisimmistä diketonien pelkistyksiin käytetty katalyytti on Corey, Bakshin ja Shibatan kehittämä proliinijohdannainen katalyytti **23** (CBS). CBS-pelkistyksessä katalyytti muodostaa kompleksin boraanin kanssa, joka mahdollistaa diketonien tehokkaan ja enantioselektiivisen pelkistymisen.[19] Sittemmin CBS-pelkistystä on käytetty laajalti esimeriksi erilaisissa luonnonaineiden synteeseissä.[20,21] CBS-pelkistys toimii prokiraalisten ketonien lisäksi erinomaisesti myös imiinien[22] ja syklisien α,β-enonien[23] pelkistämiseen. CBS-pelkistyksen etuna on reaktion korkea enantioselektiivisyys, sekä pelkistykseen käytettävän katalyytin pieni määrä (2 mol %).[24]

Vaikkakin 1,4-diaryylibutaani-1,4-dionien asymmetrinen pelkistys DIP-Cl tai boraanilla ja oksatsaborolidiinilla oli erittäin enantioseektiivinen, Aldous *et al.*[25] päätyivät etsimään vielä yksinkertaisempaa ja käytännöllisempää pelkistystapaa. He päätyivät käyttämään

ensimmäisenä CBS-pelkistystä 1,4-disubstituoitujen diketonien pelkistykseen. He pelkistivät 1,4-difenyyli-1,4-butaanidionia *in situ*-valmistetun oksatsaborolidiinin **23** (10 mol-%) sekä boraanidimetyylisulfidin avulla (taulukko **9**). Tulokseksi he saivat erinomaiset diastereo- ja enantioselektiivisyydet (*de* > 95 % ja *ee* > 99 %) ja erinomaisen saannon (96 %). Ryhmä huomasi, että diastereoselektiivisyys parani huomattavasti trimetyyliboraatin muodostaessa kompelksin katalyytin kanssa kuin muilla oksatsaborolidiinipelkistimillä. Tämä johtui todennäköisesti yhdisteiden boraanikeskuksien suuremmasta Lewis happamuudesta, joka vei selektiivisyyttä *meso*-isomeerin suuntaan.

Taulukko 9. Aldouksen CBS-pelkistyksen olosuhteet ja reaktion aktiivinen katalyytti-pelkistin-kompleksi **23**.



Dioli	R	Saanto (%)	*de%*	*ee%*
2a	Ph	96	96	98
2l	2-naftyyli	Ei reaktiota	-	-
2n	Me	74	22	33
2r	Bu	57	72	86

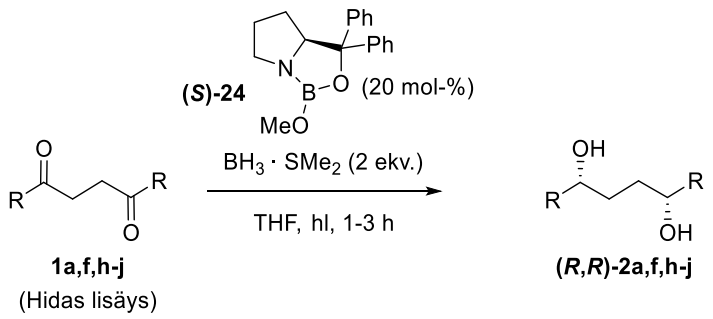
He toistivat diketonin pelkistyksiä 10 gramman mittakaavaan asti ilman saannon tai selektiivisyyden heikkenemistä. Tutkimusryhmä totesi Quallichin oksatsaborolodiinipelkistyksen ja Chongin DIP-kloridipelkistyksen epäideaaliseksi. Aldousin käyttämässä CBS-pelkistyksessä oli paljon hyvä etuja verrattuna Chongin käyttämään kiraaliseen Ipc_2BCl (**(–)-12**) pelkistimeen. Aldousin menetelmällä kiraalista katalyyttiä tarvittiin vain 10 mol-% kun Chong *et al*. käyttivät pelkistintä 200 mol-%. Chongin menetelmässä DIP-Cl poistaminen reaktioseoksesta oli ongelmallista ja aikaa vievää. CBS-pelkistyksen avulla vältettiin tämä puhdistusongelma.

Quallichin menetelmässä erinomaisiin enantio- ja diastereoselektiivisyyksiin päästiin ainoastaan käyttämällä stoikiometrisiä määriä oksatsaborolidiinia. Quallichin menetelmässä katalyytin valmistamiseen *in situ* vei 18 h, joka on pelkistysreaktioiden kannalta epäideaalista,

kun taas CBS-pelkistyksessä katalyytin valmistaminen aminoalkoholista ja trimetyyliboraatista *in situ* vei ainoastaan yhden tunnin huoneenlämmössä.[26]

Denmark *et al.*[2] käyttivät Aldouksen tutkimusryhmän käyttämää menetelmää erilaisten disubstituoitujen diketonien pelkistykseen. Ryhmä huomasi, että korkeat enantioselektiivisyydet saavutettiin dioleilla, joilla oli aryyleissä kiinni elektronirikkaat tai lievästi elektronivajaat substituentit (taulukko **10, 2a,2f,2i**). Huonoin diastereo- ja enantiomeerisuhteet oli 1,4-dioli, jonka aryyliryhmissä oli CF_3-substituentit *meta*-asemissa (taulukko **10, 2j**). Tutkimusryhmä oli valmistanut tämän diketonin tapauksessa katalyytin *in situ*, kun muiden dionien pelkistyksessä oli käytetty kaupallisesti saatavaa valmista katalyyttiä. Paras diastereoselektiivisyys saavutettiin 1,4-difenyylibutaani-1,4-diolille (taulukko **10**, **2a**).

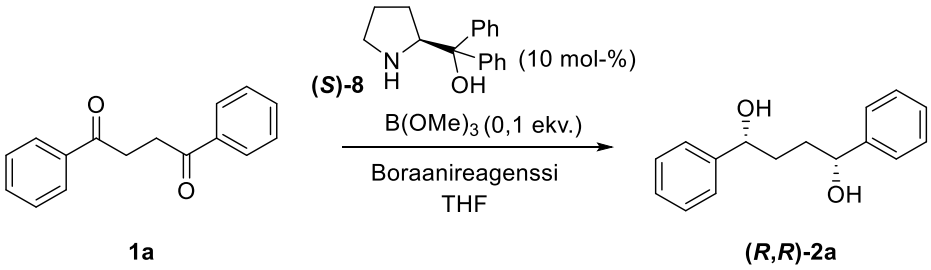
Taulukko **10**. CBS-pelkistyksiä 1,4-diaryylibutaani-1,4-dioneille



Dioli	R	*dr*	*er*	Saanto %
2a	Ph	91 : 9	> 99 : 1	-
2f	4-OMePh	78 : 22	> 99 : 1	82
2h	4-*t*-BuPh	80 : 20	99 : 1	83
2i	4-F_3CPh	84 : 16	> 99 : 1	85
2j	3,5-$(F_3C)_2$Ph	63 : 73	87 : 13	47

Natriumboorihydridipelkistyksien lisäksi Periasamy *et al.*[9] kokeilivat 1,4-difenyyli-1,4-dionin CBS-pelkistystä kahdella eri boraanireagenssilla. Pelkistys tuotti korkealla diastereo- ja enantioselektiivisyyksillä dioleita vähäisellä katalyytin määrällä (10 mol-%) kummallakin boraanireagenssila (Taulukko **11**). Tulokset olivat hyvin samanlaisia riippuen boraanireagenssista.

Taulukko 11. 1,4-difenyyli-1,4-dionin CBS-pelkistys

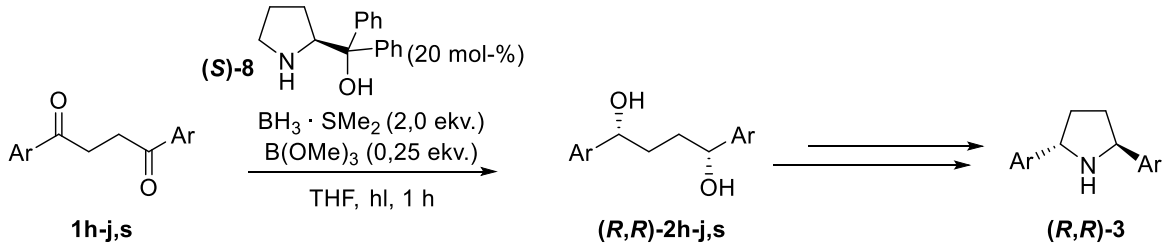


Boraanireagenssi	*dl / meso*	*ee*% (1*R*,4*R*)	Saanto (%)
$BH_3 \cdot THF^a$	88 : 12	97	85
$PhNEt_2 \cdot BH_3^b$	90 : 10	97	70

a. 0,2 ekvivalenttia
b. 2,4 ekvivalenttia

Kemppainen *et al.*[27] valmistivat erilaisia biaryylipyrrolidiinikatalyyttejä **3** 1,4-diaryylibutaani-1,4-dioneista aikaisempaa raportoitua menetelmää soveltaen. He käyttivät samaa CBS-pelkistysmenetelmää kuin Aldouksen[25] ja Denmarkin[2] tutkimusryhmät. Kemppainen *et al.* onnistuivat pelkistämään diketonia **2j** paljon paremmalla enantioselektiivisyydellä ja saannolla, kuin Denmark *et al*. (taulukko **12**, **2j**). Tämä johtui todennäköisesti siitä, että Denmark oli valmistanut katalyytin kyseisen diketonin pelkistystä varten *in situ*, kun muissa pelkistyksissä oli käytetty kaupallista CBS-pelkistintä.

Taulukko 12. Kemppainen *et al*. 1,4-diaryylibutaani-1,4-dionien CBS-pelkistys, enantiomeerisuhteet sekä saannot



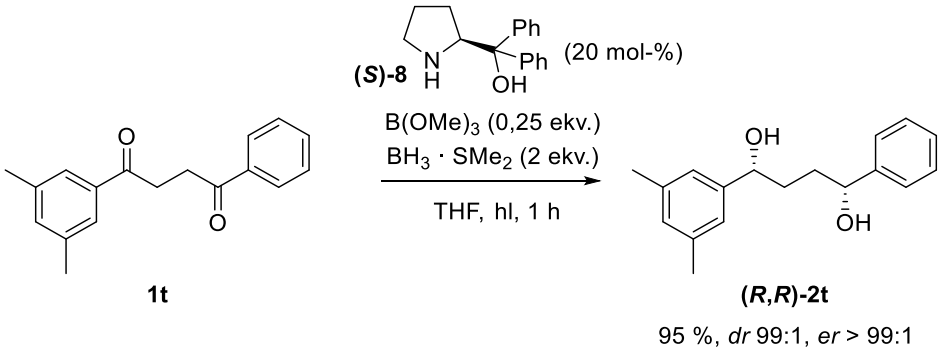
Dioli	Ar	*er*[a]	Saanto (%)
2h	4-*t*-BuPh	95 : 5	74
2i	4-CF_3Ph	99 : 1	88
2j	3,5-$(CF_3)_2$Ph	98 : 2[b]	97
2s	2-CH_3Ph	85 : 15	71

a. *Er* mitattu synteesireitin lopussa saatavasta tuotteesta tai fosforamidiittijohdannaisesta
b. (*S*,*S*)-enantiomeeri

Parhaimmat enantiomeerisuhteet ja saannot saavutettiin dioleilla **2i** ja **2j**, joiden aryylien substituentteina olivat elektronitiheyttä puoleensavetävät CF_3-ryhmät (taulukko **12**).

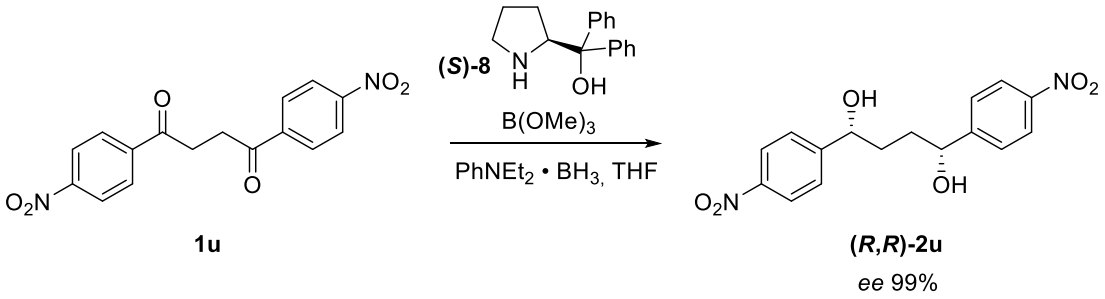
Huonoin *er* ja saanto saatiin diketonille **2s**. Tämä johtui todennäköisesti aryylissä kiinni *orto*-asemassa olevasta metyyliryhmästä, joka steerisesti esti katalyytin sitoutumisen ketoryhmään.

Vuonna 2016 Claraz *et al.*[28] pelkistivät diketonia **1t** CBS-pelkistyksellä käyttäen katalyyttiä **8** myös 20 mol-%. He saivat diolille erinomaisen diastero -ja enantioselektiivisyyden sekä saannon (kaavio **9**). Diastereoselektiivisyys oli mitattu lopputuotteesta fosforiamidiittijohdannaisten avulla.



Kaavio 9. Clarazin 1-(3,5-dimetyylifenyyli)-4-fenyylibutaani-1,4-dionin CBS-pelkistys

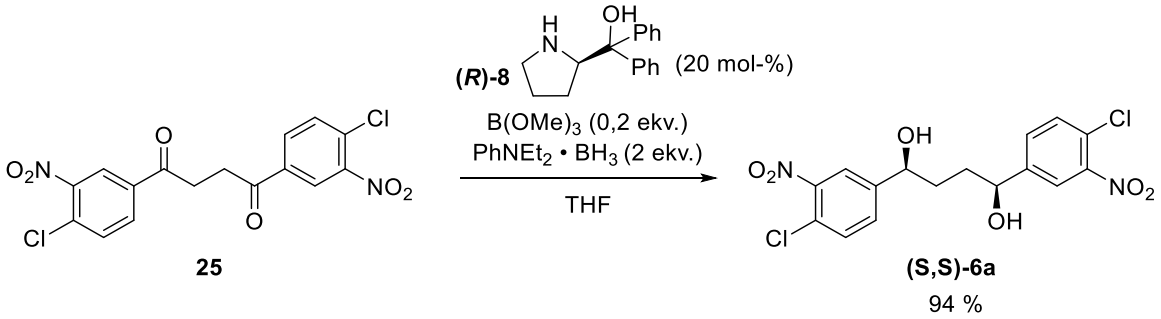
1,4-diaryylibutaani-1,4-dionin CBS-pelkistystä on myös hyödynnetty hepatiitti C ABT-267 lääkkeen synteesissä (NS5A inhibiittori). DeGoey *et al.*[29] pelkistivät CBS-pelkistyksellä diketonia **1u** mukaillen Periasamy *et al.*[9] käyttämää menetelmää, käyttäen dietyylianiliiniboraania. Tuloksena he saivat erinomaisen enantioselektiivisyyden diolille (kaavio **10**). Saantoa tai diastereoselektiivisyyttä ei artikkelissa mainittu.



Kaavio 10. Degoeyn 1,4-bis(4-nitrofenyyli)butaani-1,4-dionin CBS-pelkistys

Neljä vuotta myöhemmin Wagner *et al.*[30] pelkistivät diketonia **23** saman inhibiittorin synteesissä. He käyttivät pelkistyksissä noin 20 mol-% katalyyttiä yhdessä trimetyyliboraatin kanssa. Boraanimetyylisulfidin sijaan he käyttivät myös dietyylianiliiniboraania.

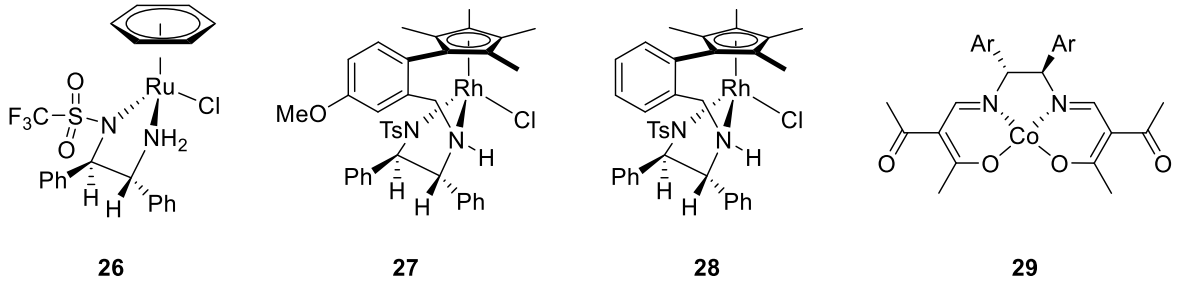
Pelkistystuotteena he saivat (*S*,*S*)-enantiomeeriä erinomaisella saannolla (94 %), mutta diastereo- ja enantiomeerisuhteita ei ollut määritetty (kaavio **11**).



Kaavio 11. Wagnerin 1,4-bis(4-kloro-3-nitrofenyyli)butaani-1,4-dionin CBS-pelkistys

2.5 Asymmetrinen pelkistys organometallikompleksikatalyytin avulla

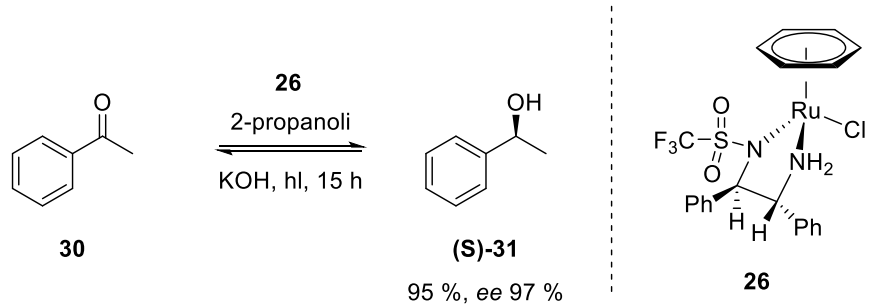
Organometallikompleksien käyttö katalyytteinä asymmetrisessä vedynsiirrossa (ATH) on ollut vuosikymmeniä tutkimuksen kohteena. Viime vuosina pelkistysmenetelmä on herättänyt yhä suurempaa kiinnostusta tutkijoiden keskuudessa kuten prokiraalisten ketonien ja diketonien enantioselektiivisissä pelkistyksissä. Yksi tunnetuimmista on Noyorin kehittämä katalyytti[6], jonka pohjalta on kehitetty useita erilaisia variaatioita, joissa siirtymämetallina on käytetty muun muassa rodiumia tai iridiumia[31]. ATH-reaktio perustuu vedyn additioon, jota katalysoidaan organometallikompleksilla. Reaktiossa vetydonorina voidaan käyttää esimerkiksi alkoholiliuottimia, kuten 2-propanolia. Prokiraalisten diketonien asymmetrisissa pelkistyksissä on myös käytetty optisesti aktiivista *β*-ketoiminatokoboltti(II)-kompleksia **29**.



Kuva 1. Hashiguchin, Echeverrian, Zhengin sekä Saton käyttämiä organometallikatalyyttejä.

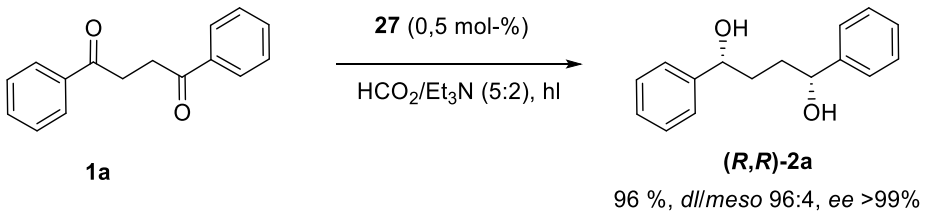
Vuonna 1995 Hashiguchi *et al.*[6] kehittivät kiraalisen organometallikompleksin, jossa rutenium(II) siirtymämetalli muodostaa *N*-(*p*-tolueenisulfonyyli)-1,2-

difenyylietyleenidiaamiiniligandin kanssa kompleksin **26** ([RuCl(η^6-areeni)(N-TsDPEN)]). Katalyyttiä on käytetty laajalti ketonien ja imiinien pelkistykseen. Tutkimuksissaan he huomasivat, että kiraalinen Ru(II)-katalyytti tuotti aromaattisten ketonien pelkistyksissä dioleita erinomaisella enantioselektiivisyydellä. He testasivat muunmuassa asetofenonin pelkistystä *in situ* muodostetun Ru(II)-katalyytin läsnäollessa (kaavio **12**). Tuloksena he saivat erinomaisen enantioselektiivisyyden ja saannon (97%, *ee* 95%). Vedynsiirtoreaktio ketoneilla on tasapainoreaktio. Tällä on haitallinen vaikutus tuotteena saatavan alkoholin enantiopuhtauteen, jos reaktion annetaan kulua liian pitkään, jolloin diolit alkavat hapettua takaisin ketoniksi.



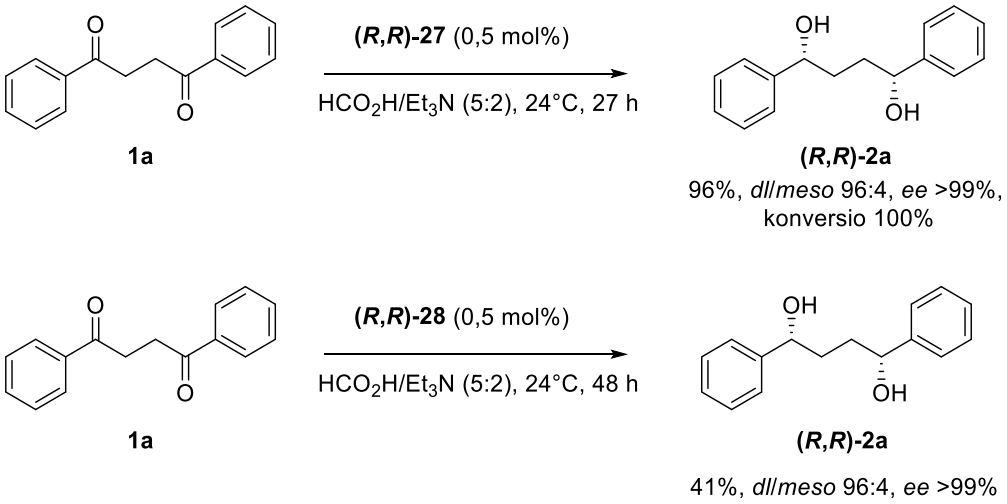
Kaavio 12: Hashiguchin *et al*. kehittämä kiraalinen RuCl(η^6-areeni)(N-TsDPEN) katalyytti ja asetofenonin pelkistys

1,4-difenyyli-1,4-butaanidionin pelkistyksessä Echeverria *et al.*[31] sovelsivat Hashiguchin menetelmää käyttämällä samantyylistä katalyyttiä **27**. Rh(II)-metallin käytöllä Ru(II)-metallin sijasta saavutettiin tehokkaampi katalyyttinen aktiivisuus. Ryhmä testasi aluksi asetofenonin pelkistystä eri vedynluovuttajasubstraateilla. Formiaattihapon ja trietyyliamiinin avulla (HCO_2H/Et_3N (1:1)) asetofenonin pelkistys tuotti (*S*)-1-fenyylietan-1-olia erinomaisella enantioselektiivisyydellä (99% *ee*). Ryhmän käyttämän Rh(II)-TsDPEN-katalyytin (**27**) avulla saavutettiin 1,4-difenyyli-1,4-butaanidionin pelkistämisessä erinomaiset diastereo- ja enantioselektiivisyydet sekä erinomainen saanto, kun vedynluovuttajana käytettiin formiaattihappoa ja trietyyliamiinia suhteella 5:2 (kaavio **13**).



Kaavio 13. 1,4-difenyyli-1,4-butaanidionin pelkistys Ru(II)-TsDPEN katalyytilla

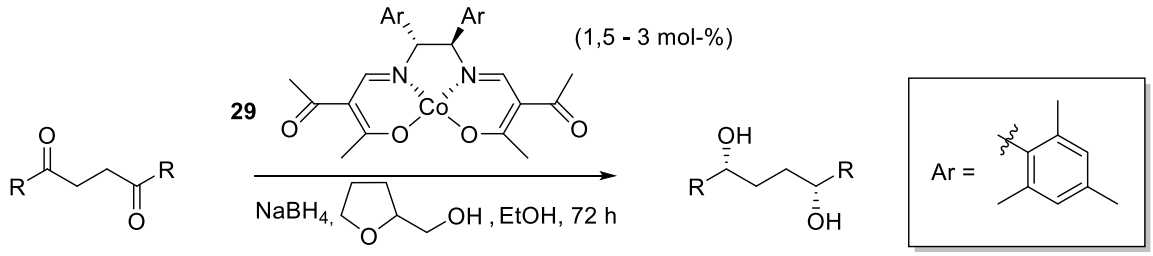
Zheng *et al.*[32] pelkistivät myös samalla katalyytillä **27** saaden saman enantioselektiivisyyden ja 96 % saannolla. Ryhmä koetti pelkistystä myös hieman erilaisella katalyytillä **28**, jossa aromaattisessa renkaassa ei ollut metoksiryhmää. Ryhmä totesi katalyytin kelvottomaksi aromaattisten 1,4-diketonien pelkistykseen, saatuaan reaktiosta samat diastereo- ja enantioselektiivisyyden, kuin katalyytillä **27**, mutta saannoksi vain 41 % (kaavio **14**).



Kaavio 14. Zhengin 1,4-difenyyli-1,4-butaanidionin pelkistykset kahdella eri organometallikompleksikatalyytilla

Vuonna 2004 Sato *et al.*[33] pelkistivät useita erilaisia 1,4-diaryyli-1,4-diketoneita kobolttikompleksin **29** ja natriumboorihydridin avulla. He huomasivat aikaisempien raportoitujen tutkimuksien pohjalta natriumboorihydridin yhdessä katalyyttisen määrän kobolttikatalyyttia pelkistävän 1,3-diaryyli-1,3-propaanidioneita korkealla *dl*/*meso*-suhteella ja enantioselektiivisyydellä[34]. Tämän pelkistysmenetelmän etuna oli tarvittavan katalyytin pieni määrä (3 mol-%), kun taas esimerkiksi CBS-pelkistyksessä käytettävä katalyytin määrä enantioselektiiviseen 1,4-diketoneiden pelkistykseen vaihteli 10-20 mol-% välillä. Kolmen erilaisen diketonin pelkistyksistä saavutettiin erinomaiset diastereo- ja enantioselektiivisyydet sekä hyvät saannot (taulukko **13**).

Taulukko 13. Co(II)-kompleksin katalysoima pelkistys



1a,h,l **2a,h,l**

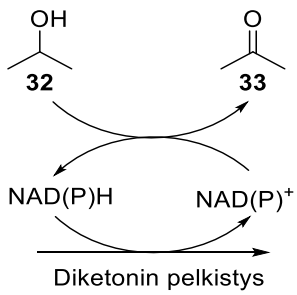
Dioli	R	*dl*/*meso*	*ee* (%)	Saanto (%)
2a	Ph[a]	87 : 13	99	Kvant.
2h	4-*t*-BuPh	94 : 6	> 99	75
2l	2-naftyyli[b]	95 : 5	97	77

a. Katalyytin määrä 3 mol-%
b. THF-$CHCl_3$ liuottimessa

Organometallikompleksien käyttö katalyytteinä on erinomainen tapa pelkistää 1,4-disubstituoituja dioneita korkealla diastereo- ja enantioselektiivisyyksillä. Katalyytin tarvittava määrä reaktiossa on todella pieni (0,5 – 3 mol%), verratuna esimerkiksi CBS-pelkistykseen. Huono puoli organometallikompleksien käytössä on suhteellisen pitkät reaktioajat muihin pelkistysmenetelmiin verrattuna (27 – 72 h).

2.6 1,4-diketoneiden pelkistys entsyymien avulla

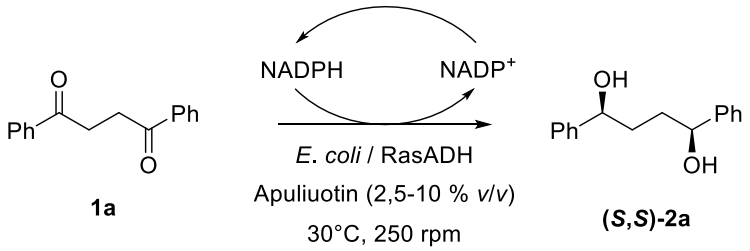
Aikaisemmin 1,4-diketonien pelkistys on rajoittunut erilaisten metallipohjaisten katalyyttien, oksatsaborolidiinin tai organokatalyytti-boraani-kompleksien käyttöön. Uusi vaihtoehtoinen tapa pelkistää 1,4-disubstituoituja diketoneita on erilaisten biokatalyyttien, alkoholidehydrogenaasientsyymien avulla (ADH). Niiden erinomaisen selektiivisyyden takia niitä voidaan käyttää laajalti erilaisten kiraalisten alkoholien synteesissä.[1] Entsyymien käyttö diketonien pelkistyksissä on paljon hyviä etuja. Kuten esimerkiksi entsyymit toimivat vesiliuoksessa ja miedoissa olosuhteissa. Niitä voidaan kierrättää ja käyttää yhä uudelleen, joka lisää kustannustehokkuutta. Jotta entsyymi toimisi pelkistysreaktiossa, tarvitaan kofaktori, joka voi esimerkiksi olla solujen metaboliassa toimiva nikotiiniadeniinidinukleotidifosfaatti (NADPH). Jotta kofaktoria voidaan kierrättää reaktiossa yhä uudelleen, täytyy mukana olla jokin hydridinluovuttaja kuten esimerkiksi 2-propanoli (kuva **2**, **32**).



Kuva 2. Kofaktorin NAD(P)H kierrätys isopropanolin avulla.

Mourelle-Insua *et al.*[1] päätyivät pelkistämään 1,4-disubstituoituja diketoneita ketoreduktaasientsyymien avulla. Ryhmä päätyi käyttämään *Ralstonia*-bakteerista eristettyä alkoholidehydrogenaasientsyymiä, joka on aktiivinen ja hyvin stereoselektiivinen biokatalyytti. Pelkistykset suoritettiin miedoissa olosuhteissa vesiliuoksessa ja 30 celsiusasteessa erilaisilla 1,4-diaryyli-1,4-dioneille. Aluksi he pelkistivät 1,4-difenyylibutaani-1,4-dionia (**1a**) erilaisilla apuliuottimilla sekä kofaktorinkierrättäjillä (IPA tai glukoosi/GDH). Kofaktorina käytettiin NADPH:ia. Tuloksena he saivat korkealla diastereo- ja enantioselektiivisyyksillä jokaista diolia (taulukko **14**). Parhaimman diastereo -ja enantioselektiivisyyden hyvällä konversiolla saatiin olosuhteilla 5% *v*/*v* THF, 30°C ja 24 h reaktioajalla.

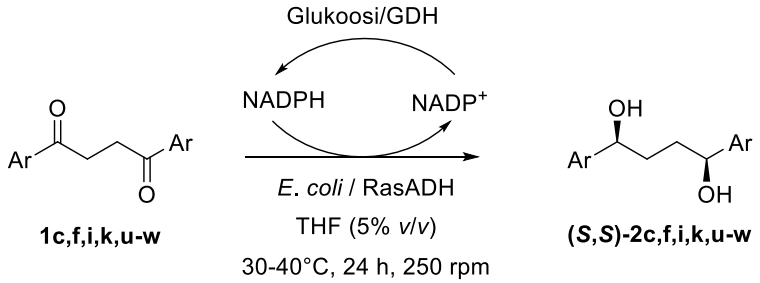
Taulukko 14. 1,4-difenyylibutaanin-1,4-dionin pelkistykset käyttäen E. *coli*/RasADH:ta



Kofaktorinkierrättäjä	Apuliuotin	% (v/v)	t (h)	Konversio (%)	*de*	*ee* (%)
Glukoosi / GDH	DMSO	2,5	48	82	99 : 1	> 99
Glukoosi / GDH	-	-	48	72	99 : 1	> 99
IPA	-	-	48	72	89 : 1	> 99
Glukoosi / GDH	EtOH	2,5	24	57	99 : 1	> 99
Glukoosi / GDH	1,4-dioksaani	5	24	78	> 99	> 99
Glukoosi / GDH	1,4-dioksaani	10	24	79	99 : 1	> 99
Glukoosi / GDH	MTBE	5	24	83	> 99	> 99
Glukoosi / GDH	MTBE	10	48	77	> 99	> 99
Glukoosi / GDH	**THF**	**5**	**24**	**88**	**> 99**	**> 99**
Glukoosi / GDH	THF	10	48	82	99 : 1	> 99

Ryhmä päätyi testaamaan myös useita muita diketoneita optimoituja olosuhteita käyttäen. He saivat pelkistettyä jokaista diketonia erinomaisilla diastereo- ja enantioselektiivisyyksillä (taulukko **15**). Konversioprosentti vaihteli hyvästä erinomaiseen. Ainoastaan huonot konversiot olivat dioleilla, joiden aryyliryhmissä substituenttina olivat metoksiryhmät *meta*- tai *para*-asemassa (taulukko **15**, **2u** ja **2w**).

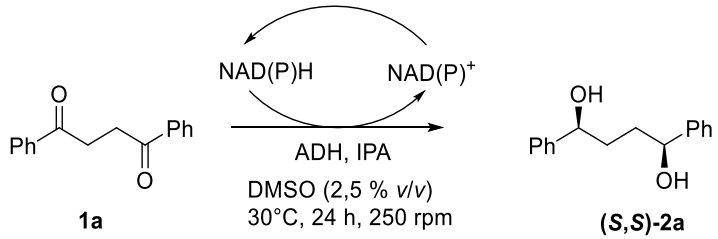
Taulukko 15. 1,4-diketonien pelkistys käyttäen *E.coli*/RasADH entsyymiä ja THF:ää apuliuottimena



Dioli	Ar	*de%*	*ee%*	Konversio (%)
2c	*p*-Cl-Ph	> 99	> 99	82
2f	4-OMePh	> 99	> 99	72
2i	4-F_3CPh	> 99	> 99	50
2k	*p*-Tol	> 99	> 99	77
2u	3-OMePh	> 99	> 99	8
2v	*m*-Cl-Ph	> 99	> 99	43
2w	2-OMePh	> 99	> 99	8

Ryhmä testasi myös kaupallisesti saatavien ketoreduktaasientsyymien (Codex® KRED)[35] pelkistyskykyä. Reaktiossa IPA toimi kofaktorinkierrättäjänä pH:ssa 7 fosfaattipuskurissa. Ainoastaan viisi ketoreduktaasientsyymiä pelkistivät diketonia **1a** hyvillä ja erinomaisilla diastereoselektiivisyyksillä (taulukko **16**, rivit **1 ja 2**). Enantioselektiivisyydet olivat myös erinomaisia jokaisen pelkistyksen kohdalla (>99% *ee*). Ainoastaan ketoreduktaasientsyymillä P2-D03 muodostui (1*R*,4*R*)-enantiomeeriä pelkistyksestä, kun taas muut tuottivat vastakkaista enantiomeeriä.

Taulukko 16. 1,4-difenyylibutaani-1,4-dionin pelkistys kaupallisesti saatavien ketoreduktaasientsyymien avulla



Rivi	ADH	Konversio (%)	*de*[a]	*ee* (%)
1	P1-B02	85	> 99	> 99
2	P1-B10	79	> 99	> 99
3	P1-B12	75	99 : 1	> 99
4	P2-D03	89	87 : 13	> 99[b]
5	P2-D11	69	98 : 2	> 99

a. (1*S*,4*S*) ja (1*R*,4*R*) suhteessa *meso*-(1*R*,4*S*)-diastereomeeriin
b. (1*R*,4*R*)-diolin enantioylimäärä

Ketoreduktaasientsyymien käyttö aromaattisten 1,4-diketonien pelkistyksessä tuottaa dioleita erinomaisilla diastereo- ja enantioselektiivisyyksillä. Entsyymireaktioiden yksinkertaisuus sekä miedot olosuhteet tekee kyseisestä metodista erittäin varteenotettavan vaihtoehdon suuren mittakaavan synteesiin. Reaktioaika on verrattuna CBS-pelkistykseen huomattavasti pidempi. Todennäköisesti reaktio-olosuhteita optimoimalla aikaa saadaan lyhennettyä.

3. Yhteenveto

1,4-Diaryyli-1,4-dioleiden käyttö lähtöaineina monissa luonnonaine- ja lääkeainesynteeseissä on yleistynyt hurjasti. Niiden enantioselektiivisiin pelkistyksiin on vuosien aikana pyritty kehittämään entistä kustannustehokkaampia ja enantioselektiivisempiä metodeita. Kaikki kirjallisuustutkielmassa käsitellyt pelkistysmetodit tuottivat hyvillä tai erinomaisilla diastereo- ja enantioselektiivisyydellä 1,4-diaryylibutaani-1,4-dioleita. Tärkeintä pelkistyksissä on katalyytin määrä sekä reaktio-olosuhteet, jotka vaikuttavat selektiivisyyteen ja synteesin kustannuksiin.

Proliinijohdannaiskatalyytit (**8**) tuottivat erinomaisilla stereoselektiivisyyksillä dioleita pienellä määrällä katalyyttiä (10 – 20 mol-%). Pelkistys toimi erinomaisesti vain silloin, kun katalyytti muodosti kompleksin trimetyyliboraatin kanssa. Tina(II)kloridin käyttö pelkistyksessä kasvatti diastereo- ja enantioselektiivisyyttä, mutta suuren määrän sekä toksisuuden takia se on epäideaalinen ison mittakaavan enantioselektiiviseen pelkistykseen.

(—)-DIP-Cl (**(–)-12**) on tehokas pelkistin, jolla saavutetaan todella korkeat diastereo- ja enantioselektiivisyydet melko suurella määrällä pelkistintä (200 mol-%). Lisäksi pelkistin tarvitsee matalan lämpötilan ja kuivat reaktio-olosuhteet, jotta pelkistys onnistuisi. (—)-DIP-Cl reagoi veden kanssa, mikä häiritsee pelkistysreaktiota tuottamalla ei-toivottuja sivutuotteita.

CBS-pelkistys on ylivoimaisesti suosituin menetelmä 1,4-diaryylibutaani-1,4-dionien pelkistyksessä. Menetelmästä tekee ideaalisen lyhyt reaktioaika, stereoselektiivisyys sekä katalyytin **8** vähäinen määrä (10 – 25 mol-%). Muut oksatsaborolidiinikatalyytit **18** ja **19** ylsivät myös korkeisiin enantioselektiivisyyksiin, mutta vaativat suuremman katalyytin määrän toimiakseen (100 – 200 mol-%).

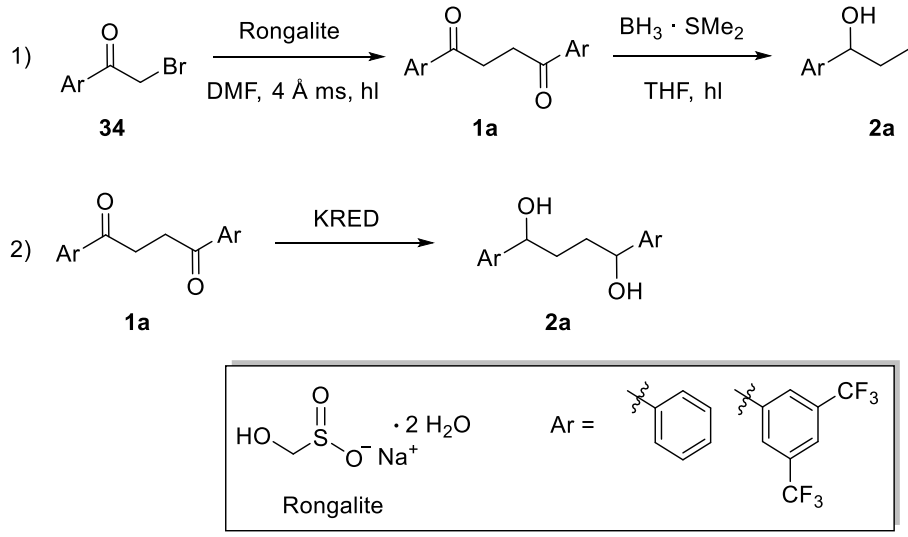
Organometallit katalysoivat 1,4-diketoneiden vedytystä, jolloin tuloksena saatiin 1,4-dioleita erinomaisilla enantioselektiivisyyksillä pienellä määrällä katalyyttiä (0,5 mol-%). Huonona puolina organometallien käytöstä voidaan mainita pitkät reaktioajat (27 – 72 h), jotta mahdollisimman korkeat diastereo- ja enantioselektiivisyydet saavutettaisiin.

Nykyiset pelkistysreaktiot ovat kalliita tehtäväksi suuressa mittakaavassa. Uusi vaihtoehtoinen menetelmä 1,4-diketoneiden enantioselektiivisissä pelkistyksissä on erilaisten ketoreduktaasientsyymien käyttö, joita saadaan eristettyä esimerkiksi erilaisista bakteereista. Entsyymeillä saavutetaan lähestulkoon enantiopuhtaita tuotteita reaktio-olosuhteita optimoimalla ja niillä voidaan pelkistää erilaisia 1,4-disubstituoituja diketoneita. Entsyymit toimivat miedoissa olosuhteissa ja reaktiot voidaan suorittaa vesiliuoksessa. Niiden käyttö on hyvin kustannustehokasta, koska käytettävät kofaktoreita voidaan kierrättää reaktiossa. Huonona puolena entsyymien hinnat ovat suhteellisen korkeat verrattuna muihin käsiteltyihin pelkistysmenetelmiin.

Kokeellinen osa

4. Johdanto

Työn tarkoituksena oli selvittää kaupallisten ketoreduktaasientsyymien pelkistyskykyä ja pelkistysreaktion diastereo- ja enantioselektiivisyyttä 1,4-diaryylibutaani-1,4-dioneiden ollessa lähtöaineina. Työn ensimmäisessa osassa syntetisoitiin kaksi erilaista 1,4-disubstituoitua diketonia **1a** ja **1j**, jotka valmistettiin 2-bromi-1-aryylietan-1-onista (**34**) mukaillen Kemppainen *et al*.[27] käyttämää menetelmää. Tämän jälkeen diketonit pelkistettiin boraanidimetyylisulfidilla vastaaviksi dioleiksi (kaavio **15**). Toisessa osassa työtä tutkittiin 24 erilaisen kaupallisen ketoreduktaasientsyymien pelkistyskykyä sekä pelkistysreaktion diastereo- ja enantioselektiivisyyttä käyttäessä lähtöaineina syntetisoituja diketoneja.[†] Lopuksi reaktioiden stereoselektiivisyyttä tutkittiin kiraalisen HPLC:n avulla.



Kaavio **15**. 1,4-diaryylibutaani-1,4-dionin synteesi ja pelkistys.

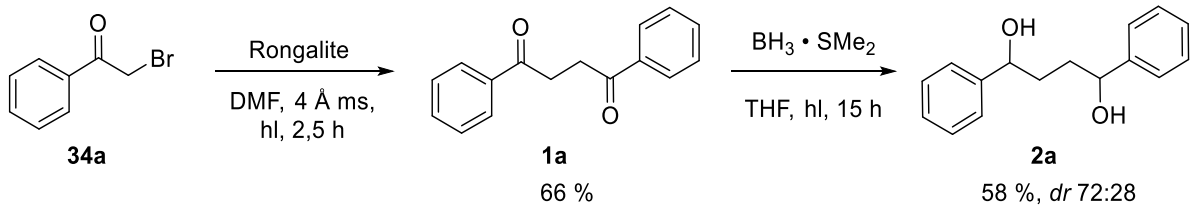
5. 1,4-diaryylibutaani-1,4-dionien synteesi ja niiden pelkistys

Projektin aluksi syntetisoitiin kaksi erilaista 1,4-diaryylibutaani-1,4-dionia **1a** ja **1j**. Kummatkin synteesit suoritettiin käyttäen kirjallisuudesta tunnettua menetelmää.[27,36] Ensimmäistä diketonia **1a** onnistuttiin syntetisoimaan hyvällä saannolla (66 %). Reaktion todettiin kuluneen loppuun jo 2,5 tunnin aikana. Reaktioaika oli paljon lyhyempi kuin Kemppainen *et al*. olivat väittäneet.[36] Ilma- ja kosteusherkän luonteensa takia, reaktion saantoa saattaa

[†] Työ suoritettiin, koska samankaltaisia entsyymipelkistyksiä ei ole aikaisemmin julkaistu.

helposti pienentää välineiden tai reagenssien kosteus. Saantoa söi todennäköisesti myös sivureaktiot, jotka tuottivat huomattavan määrän tunnettuja sivutuotteita.[37]

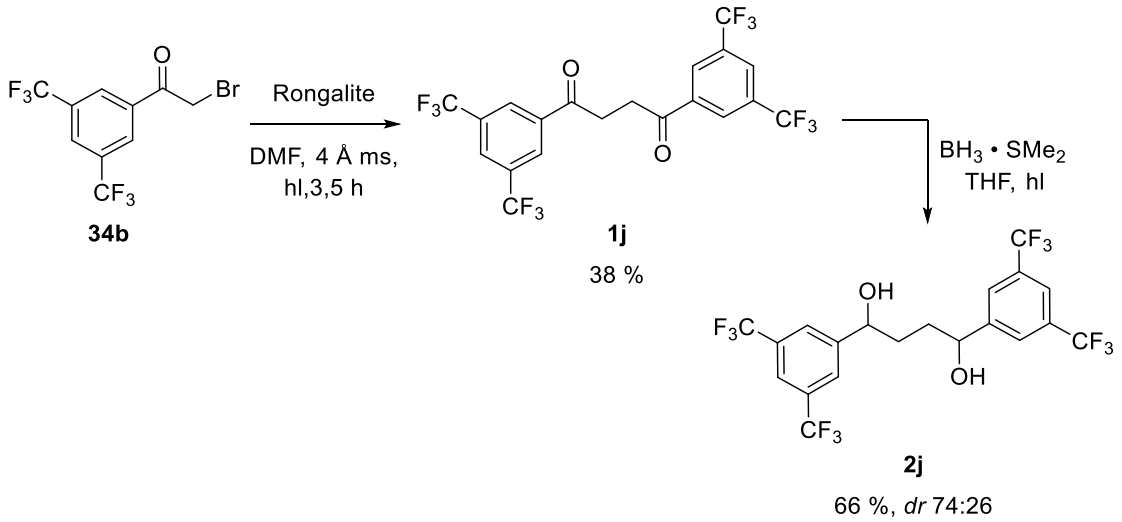
Tämän jälkeen diketonia **1a** pelkistettiin boraanidimetyylisulfidilla, josta saadiin vertailunäyte HPLC-analyysiä varten. Vertailunäyte sisälsi sekä raseemisen seoksen kiraalista diastereomeeriä **2a,** että *meso*-diastereomeeriä. Diolin saanto ja diastereomeerisuhde oli hyvä, suosien *meso*-isomeeriä (kaavio **16**).



Kaavio 16. 1,4-difenyyli-1,4-diketonin synteesi ja sen pelkistys

Diketonia **1j** syntetisoitiin samalla menetelmällä. Saanto jäi pienemmäksi kuin diketonin **1a** synteesissä. Reaktioaika oli myös paljon lyhyempi kuin Kemppaisen julkaisussa olevassa reaktiossa.[27] Saantoa söi myös samat muodostuvat sivutuotteet kuin diketonin **1a** synteesissä.

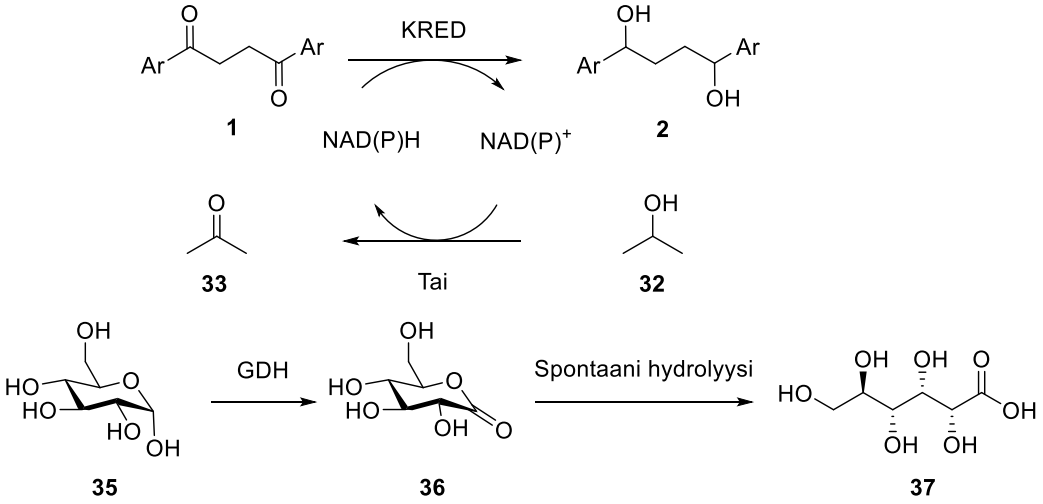
Diketonin **1j** pelkistyksessä käytettiin myös samaa boraanidimetyylisulfidikompleksia. Saanto oli hyvä sekä diastereomeerisuhteeksi saatiin lähestulkoon sama kuin diolin **2a** tapauksessa, suosien *meso*-isomeeriä (kaavio **17**).



Kaavio 17. 1,4-bis(3,5-bis(trifluorometyyli)fenyyli)butaani-1,4-dionin synteesi ja sen pelkistys

6. 1,4-disubstituoitujen diketonien stereoselektiivinen pelkistys ketoreduktaasientsyymien avulla

Projektin toisessa osassa tutkittiin kaupallisten ketoreduktaasientsyymien pelkistystehokkuutta sekä pelkistysreaktion enantio- ja diastereoselektiivisyyttä. Pelkistyksiä testattiin 24 eri ketoreduktaasientsyymeillä (Codex® KRED Screening kit)[35], joista 19 entsyymiä tarvitsi kofaktorin kierrätykseen isopropanolia ja loput 5 entsyymiä GDH/Glukoosi-kiertoa (kaavio **18**). Entsyymit valittiin eritoten niiden laajan lähtöainevalikoiman ja korkean enantioselektiivisyyden takia. Pelkistykset suoritettiin Codexin ohjeiden mukaisesti.



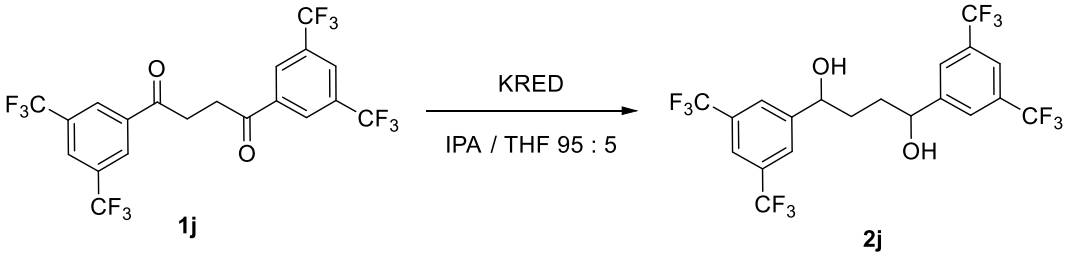
Kaavio 18. 1,4-aryylibutaani-1,4-dionien pelkistys ketoreduktaasientsyymeillä isopropanoli- tai glukoosikierrolla.

Aluksi entsyymien toimivuus testattiin asetofenonin pelkistyksellä. Entsyymeiksi valittiin viisi erilaista isopropanolikiertoa käyttävää entsyymiä, joiden tiedettiin pelkistävän asetofenonia erinomaisella konversiolla.[38] Asetofenonin pelkistyminen todettiin TLC-analyysillä.

Aluksi yritettiin pelkistää diketonia **1j** Codexin ohjeiden mukaisesti. Isopropanolin määrä oli kuitenkin kaksinkertainen ohjeeseen nähden. Tuotetta ei kuitenkaan muodostunut tunnin aikana, jonka jälkeen reaktioiden annettiin edetä yön yli. Vuorokauden jälkeen tuotetta ei ollut vieläkään muodostunut. Reaktiota yritettiin käynnistää lisäämällä kofaktoreita liuoksiin, jolloin vialleihin 16-20 tehtiin NAD^+ lisäykset sekä $NADP^+$ lisäykset vialleihin 1 – 15. Lisäksi reaktion tasapainoa koitettiin siirtää tuotteiden puolelle lisäämällä isopropanolia vialleihin 1 – 15. Lisäyksien jälkeen tuotetta ei ollut muodostunut, jolloin reaktioseoksien lämpötilaa

nostettiin 50°C-asteeseen ja reaktion annettiin edetä 14 tuntia. Tämän jälkeen tuotetta ei ollut muodostunut mihinkään vialiin (taulukko **17**).

Taulukko 17. Codex® KRED entsyymipelkistykset diketonille **1j**



Vialli	Entsyymi[a,b]	Vialli	Entsyymi[a,b]
1	P1-A04	11	P2-D11
2	P1-H10	12	P2-D12
3	P1-B02	13	P3-B03
4	P1-B05	14	P3-G09
5	P1-B10	15	P3-H12
6	P1-C01	16	KRED-101
7	P2-B02	17	KRED-119
8	P2-C02	18	KRED-130
9	P2-C11	19	NADH-101
10	P2-D03	20	NADH-110

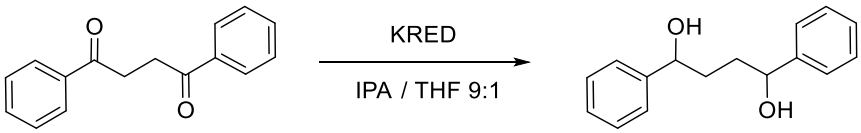
a. Vialleissa 1-15 olevat entsyymit toimivat IPA-kierrolla
b. Vialleissa 16-20 olevat entsyymit toimivat glukoosikierrolla

Diketonin **1j** pelkistymättömyys johtui todennäköisesti diketonin aryyliryhmien CF_3-substituenteista, jotka loivat steerisen esteen diketonin ja entsyymin aktiivisen kohdan välille. Pelkistyksiin voitaisiin kokeilla toisia ketoreduktaasientsyymeitä, jotka kiinnittyisvät helpommin diketonien ketoryhmiin. Esimerkiksi Mourelle-Insua *et al.*[1] käyttämä *E.coli* -bakteerista eristetty alkoholidehydrogenaasientsyymi pelkisti erilaisia steerisesti estyneitä aromaattisia 1,4-diketoneita erinomaisilla diastereo- ja enantioselektiivisyyksillä vaikkakin huonolla konversiolla.

Toisen diketonin **1a** (taulukko **18**) pelkistyksissä saavutettiin huomattavasti parempia tuloksia. Pelkistyksiin käytettiin samaa menetelmää ja samoja entsyymeitä (24 kpl) kuin diketonin **1j** pelkistyksissä. Reaktioiden annettiin edetä 18 tuntia 30°C-asteessa, jonka jälkeen tuotetta oli muodostunut 12 eri entsyymillä (taulukko **18**, viallit 2,4-5,7,11-12,14-15,18-19,22-23). Kymmenellä eri entsyymillä oli myös muodostunut keto–alkoholi tuotetta (taulukko **18**, viallit 2,4-5,7,11-12,15-16,18), mistä voidaan päätellä, että reaktiot eivät olleet kuluneet

loppuun asti. Lämpötilaa nostettiin 40°C-asteeseen ja reaktion annettiin kulua 24 tuntia, jonka aikana ei havaittu muutosta. Reaktioseoksiin lisättiin isopropanolia tasapainon siirtämiseksi tuotteiden puolelle (taulukko **18**, viallit 1–19). Reaktioita koitettiin myös edesauttaa lisäämällä kofaktoreita reaktioseoksiin (taulukko **18**, viallit 1–20 ja 22–23) Reaktioiden annettiin edetä vielä 14 tuntia 50°C-asteessa, jonka jälkeen 16 eri entsyymillä todettiin 1,4-diolin muodostuminen ja neljällä niistä lähtöaineen todettiin kuluneen loppuun (taulukko **18**, viallit 2,5,15,16).

Taulukko 18. Codex® KRED entsyymipelkistykset diketonille **1a**



1a **2a**

Vialli	Entsyymi[a,b]	Diolia	Lähtöainetta jäljellä	Keto-OH
1	P1-A04	Ei	Kyllä	Ei
2	P2-B02	Kyllä	Ei	Kyllä
3	P1-H10	Ei	Kyllä	Ei
4	P1-B10	Kyllä	Kyllä	Kyllä
5	P2-D03	Kyllä	Ei	Kyllä
6	P3-H12	Ei	Kyllä	Ei
7	P1-B05	Kyllä	Kyllä	Kyllä
8	P3-B03	Ei	Kyllä	Ei
9	P3-G09	Ei	Kyllä	Kyllä
10	P2-C11	Ei	Kyllä	Kyllä
11	P2-C02	Kyllä	Kyllä	Kyllä
12	P1-C01	Kyllä	Kyllä	Kyllä
13	P2-H07	Ei	Kyllä	Kyllä
14	P1-H08	Kyllä	Kyllä	Kyllä
15	P1-B12	Kyllä	Ei	Kyllä
16	P1-B02	Kyllä	Ei	Kyllä
17	P2-G03	Kyllä	Kyllä	Kyllä
18	P2-D11	Kyllä	Kyllä	Kyllä
19	P2-D12	Kyllä	Kyllä	Kyllä
20	KRED 130	Kyllä	Kyllä	Ei
21	NADH 101	Ei	Kyllä	Ei
22	KRED 101	Kyllä	Kyllä	Ei
23	KRED 119	Kyllä	Kyllä	Ei
24	NADH 110	Kyllä	Kyllä	Ei

a. Vialleissa 1-19 entsyymit toimivat IPA-kierrolla
b. Vialleissa 20-24 entsyymit toimivat glukoosikierrolla

Viallit, joista huomattava osa lähtöaineista oli pelkistynyt dioliksi valittiin karakterisoitavaksi HPLC:llä. Diastereo- ja enantioselektiivisyydet vaihtelivat huonosta erinomaiseen. Huonoin diastereoselektiivisyys saavutettiin entsyymillä P1-C01 ja huonoin enantioselektiivisyys saatiin P2-D12 entsyymille. Parhaimmat diastereo- ja enantioselektiivisyydet saavutettiin entsyymeillä P2-D03, P1-B02, P1-B12 ja P1-B10 (taulukko **19**). Enantiomeerisuhteita ei voitu luotettavasti määrittää tietyille dioleille, koska HPLC:n resoluutio ei ollut riittävä. Luotettavien tulosten saamiseksi lisätutkimuksia olisi tarvittu.

Taulukko 19. Entsyymipelkistyksissä syntetisoitujen dioleiden **2a** diastereo- ja enantiomeerisuhteet

Entsyymi (KRED)	*dr*	*er*	Lähtöainetta jäljellä
P2 – D03	**71 : 29**	**96 : 4**	**Ei**
P2 – C02	64 : 36	16 : 84	Kyllä
P2 – B02	43 : 57	42 : 58	Ei
P1 – B02	**> 99 : 1**	**-**	**Ei**
P1 – B12	**> 99 : 1**	**-**	**Ei**
P1 – B05	62 : 38	30 : 70	Kyllä
P1 – B10	**> 99 : 1**	**-**	**Kyllä**
P1 – C01	**49 : 51**	**7 : 93**	**Kyllä**
P2 – D11	**97 : 3**	**-**	**Kyllä**
P2 – D12	57 : 43	53 : 47	Kyllä
KRED 101	67 : 33	63 : 37	Kyllä
KRED 119	85 : 15	-	Kyllä

7. Yhteenveto

Projektissa onnistuttiin syntetisoimaan 1,4-diaryylibutaani-1,4-diketoneita **1a** ja **1j** kohtalaisilla saannoilla (kaavio **14**). Diketonin **1j** saanto jäi pieneksi reaktiossa syntyneiden sivutuotteiden takia. Karakterisoimista varten 1,4-diketonien pelkistys boraanimetyylisulfidilla tuottivat 1,4-dioleita kohtalaisilla saannoilla suosien *meso*-isomeerejä.

Entsyymipelkistyksissä diketoni **1j** ei pelkistynyt millään valitsemillamme entsyymeillä. Tämä johtui todennäköisesti diketonin aryyliryhmien CF_3-substituenteista, jotka loivat steerisen esteen diketonien karbonyyliryhmien ja entsyymin välille. Diketonin **1a** pelkistykset onnistuivat parhaiten 13 eri entsyymeillä, jotka käyttivät IPA-kiertoa. Parhaimmat

diastereomeerisuhteet saavutettiin entsyymeillä P1-B02, P1-B12, P1-B10 ja P2-D11. Parhaimmat enantiomeerisuhteet saavutettiin entsyymeillä P2-D03 ja P1-C01. Glukoosikierrolla toimivat entsyymit KRED 130, KRED 101, KRED 119 ja NADH 110 tuottivat todella vähän diolia **2a**. Entsyymillä NADH 101 diolia **2a** ei muodostunut ollenkaan. IPA-kierto oli glukoosikiertoa huomattavasti parempi vaihtoehto 1,4-diketoneiden pelkistykseen. Diketonin **1a** tapauksessa entsyymin aktiivinen kohta pääsi kiinnittymään paljon helpommin karbonyylin happeen, kun aryylissä ei ollut kiinni steerisesti estäviä ryhmiä. Tulokset korreloivat Mourelle *et al*. toteutettuihin entsyymipelkistyksiin, missä diastereo- ja enantiomeerisuhteet olivat lähes identtisiä tämän projektin 1,4-diketoneiden pelkistysreaktioiden tuloksien kanssa (katso kirjallinen osa kpl **2**.**6**, taulukko **16**) .

Yleisesti ottaen Codexin ketoreduktaasientsyymien avulla pystyi pelkistämään 1,4-difenyyli-1,4-diketonia kohtalaisilla sekä erinomaisilla diastereoselektiivisyyksillä. Ratkaisu steerisesti estyneiden diketonien pelkistykseen olisi esimerkiksi käyttää muita erilaisia ketoreduktaasi- tai alkoholireduktaasientsyymeitä, jotka pääsisivät helpommin kiinnittymään karbonyylihiilen happeen steerisestä esteestä riippumatta. Pelkistymättä jääneiden diketoneiden (**1a**) reaktio-olosuhteita muuttamalla saatettaisiin saada myös tuotetta. Jatkotutkimuksia varten olisi suotavaa laajentaa lähtöainevalikoimaa sekä testata muita saatavilla olevia ketoreduktaasientsyymeitä.

8. Syntetisoidut yhdisteet

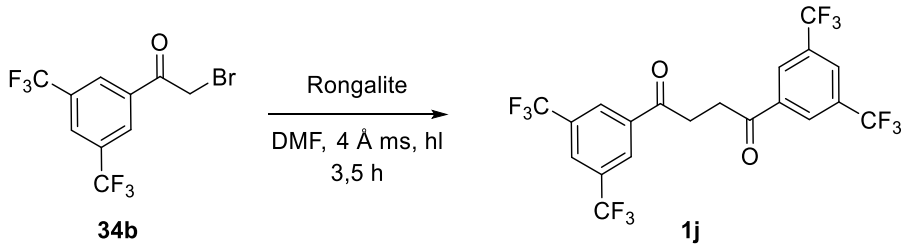
8.1 Yleiset toimintaohjeet

Kaikki reaktiot suoritettiin argonatmosfäärissä uunikuivatuissa astioissa. DCM ja THF olivat MBraun MB-SPS-800 liuotinkuivausjärjestelmästä. Vedetön DMF oli tislattu kalsiumhydridin päältä. Kaikki muut reagenssit ja liuottimet käytettiin sellaisenaan kuin ne oli toimittajalta saatu. TLC analyysit suoritettiin käyttäen Merck silikageeliä F254 (230-400 mesh). TLC-levyjen värjäysaineena käytettiin vanilliinia (2,5 g vanilliini, 100 ml EtOH, 1 ml H_2SO_4) tai kaliumpermanganaattia (4 g $KMnO_4$, 30 g K_2CO_3, 7,5 ml 1 M NaOH, 450 ml H_2O). Tuotteiden sulamispisteet määritettiin Stuart Scientific SMP3-sulamispistemittarilla. IR-spektrit mitattiin

Bruker Alpha FTIR-spektrometrillä. NMR-spektrit mitattiin 300 K lämpötilassa Bruker Avance III HD 300 MHz -spektrometrillä. Kemialliset siirtymät spektreissä on ilmoitettu ppm-asteikolla suhteessa deuteroimattomaan jäännösliuottimeen[39]. Entsyymireaktioissa orgaaninen faasi eroteltiin sentrifuugilla. Tuotteiden diastereo- ja enantiomeerien tunnistamiseen käytettiin HPLC:tä. HPLC-laitteistona käytettiin Waters 717 plus autosampleria, Waters 6000S controller pumppua sekä Waters 2487 Dual lambda absorbance detektoria (UV 220/254 nm).

Entsyymipelkistykset tehtiin Codex® KRED ohjeiden mukaisesti. Pelkistyksissä entsyymit liuotettiin KRED Recycle Mix P (128 mM Na_3PO_4, 1,7 mM $MgSO_4$, 1,1 mM $NADP^+$, pH 7) tai KRED Recycle Mix N (263 mM Na_3PO_4, 1,7 mM $MgSO_4$, 1,1 mM $NADP^+$, 1,1 mM NAD^+, 80 mM D-glukoosi, 4,3 U/ml glukoosidehydrogenaasi, pH 7,0) liuoksiin. Vialleissa 1–19 olevat entsyymit käyttivät KRED Recycle Mix P:tä ja vialleissa 20-24 olevat entsyymit käyttivät KRED Recycle Mix N:ää.

8.2 1,4-bis(3,5-bis(trifluorometyyli)fenyyli)butaani-1,4-dioni

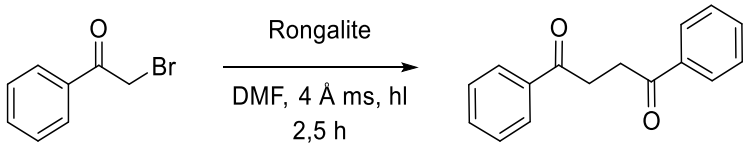


1-[3,5-bis(trifluorometyyli)fenyyli]-2-bromoetanonia (**34b** 95%, 4,28 g, 12,1 mmol, 2,0 ekv.), 4 Å molekyyliseuloja (m = 10 g**,** 200 m-%) ja Rongalitea (natriumhydroksimetaanisulfinaatti dihydraatti, 98%, 2,11 g, 11,6 mmol, 2,2 ekv.) punnittiin kolviin. Lisäksi kolviin lisättiin kuivaa DMF:ää (17 ml) argon atmosfäärissä. Reaktioseosta sekoitettiin huoneenlämmössä 3,5 h, jonka jälkeen lähtoaineen todettiin kuluneen loppuun (TLC). Reaktio sammutettiin vedellä (46 ml). Raakatuote suodatettin, pestiin vedellä ja liuotettiin DCM:ään, jonka jälkeen liuottimet haihdutettiin. Raakatuote pestiin (11 × 5 ml) kylmällä Et_2O/heksaani 1:9 liuoksella, kunnes raakatuote oli puhdas. Saatu tuote oli kellertävän valkoista kiinteää jauhetta (38 %, 1,18 g, 2,31 mmol).

R_f (EtOAc/Heksaani 1:9) = 0,26; ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,46 (app.s, 4H), 8,12 (app.s, 2H), 3,55 (app.s, 4H); ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 195,6, 138,1, 132,7 (q, *J* = 34,0 Hz), 128,3 (q, *J* = 3,3 Hz), 126,8 (sept., *J* = 3,6 Hz), 123,0 (q, *J* = 273,0 Hz), 32,8; sp = 172,9 – 174,0 °C;

Data vastasi kirjallisuutta.[27]

8.3 1,4-difenyylibutaani-1,4-dioni



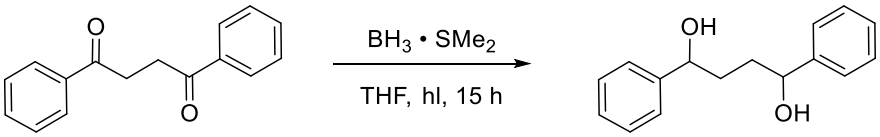
34a **1a**

2-bromi-1-fenyylietan-1-nonia (**34a** 98%, 4,92 g, 24,2 mmol, 2,0 ekv) ja Rongalitea (natriumhydroksimetaanisulfinaatti dihydraatti, 98%, 4,23 g, 26,9 mmol, 2,0 ekv.) punnittiin kolviin. Lisättiin 4 Å molekyyliseuloja (m = 10 g, 200 m-%) ja kuivaa DMF:ää (37 ml) argon atmosfäärissä. Reaktioseosta sekoitettiin huoneenlämmössä 2,5 h, jonka jälkeen lähtöaineen todettiin kuluneen loppuun (TLC). Reaktio sammutettiin vedellä (98 ml). Raakatuote suodatettiin, pestiin vedellä ja liuotettiin DCM:ään. Tämän jälkeen liuottimet haihdutettiin ja raakatuote liuotettiin DCM:ään (49 ml). Raakatuote pestiin kerran kylläisellä NaCl vesiliuoksella, 2x 1 M NaOH ja vielä kerran kylläisellä NaCl vesiliuoksella, jonka jälkeen raakatuote kuivattiin natriumsulfaatilla. Kuivauksen jälkeen tuote suodatettiin, jolloin saatiin valkoista kiinteää jauhetta (65,8 %, 1,90 g, 7,97 mmol).

R_f (EtOAc/Heksaani 1:9) = 0,22; ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,07 - 8,03 (m, 4H), 7,61 - 7,55 (m, 2H), 7,50 - 7,45 (m, 4H), 3,47 (s, 4H); ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 198,8, 137,0, 133,3, 128,7, 128,3, 32,7**;** sp = 143,9 - 144,9 °C.

Data vastasi kirjallisuutta.[36]

8.4 1,4-difenyylibutaani-1,4-dioli

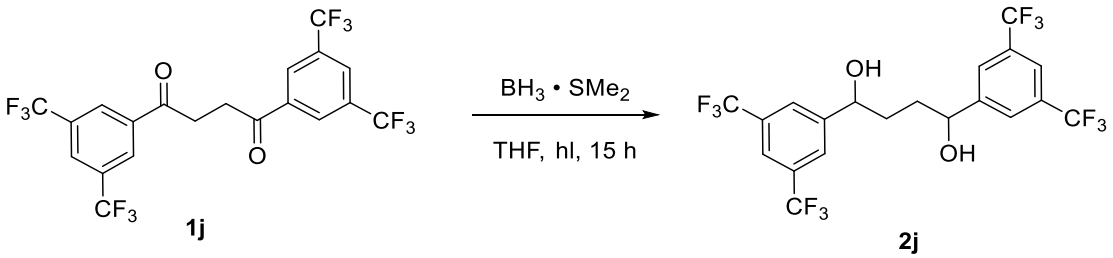


1a **2a**

1,4-Difenyyli-1,4-butaanidionia (**1a**, 50,1 mg, 0,21 mmol, 1,0 ekv) liuotettiin kuivaan THF:ään (1,3 ml) argon atmosfäärissä. Reaktio käynnistettiin lisäämällä boraanidimetyylisulfidia (39,9 mg, 0,525 mmol, 2,5 ekv). Tuotetta ei ollut muodostunut, minkä takia boraanimetyylisulfidia lisättiin 2,5 h jälkeen (0,060 ml, 0,63 mmol, 3 ekv.). Reaktioseosta sekoitettiin huoneenlämmössä 15 tuntia, jonka jälkeen lähtöaineen todettiin kuluneen loppuun (TLC). Reaktio sammutettiin 2 M suolahapon vesiliuoksella. Reaktioseos neutraloitiin pH:seen 7 1 M natriumhydroksidin vesiliuoksella, jonka jälkeen liuottimet haihdutettiin. Raakatuote suodatettiin ja liuotettiin etyyliasetaattiin. Etyyliasetaatti haihdutettiin, minkä jälkeen raakatuotteen annettiin kuivua vakuumissa yön yli. Raakatuote puhdistettiin pylväskromatografialla (heksaani/EtOAc 10:90 → 1:1), jolloin saatiin valkoista jauhetta (58 %, 29,7 mg, 0,12 mmol, *dr* 72:28 *meso*:*dl*).

R_f (EtOAc/Heksaani 1:1) = 0,40; ^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7,31 – 7,19 (m, 10 H), 4,59 (br. s, 2H), 1,92 – 1,61 (m, 4H); ^{13}C NMR (75 MHz, CD_3OD) δ 146,4, 129,2, 128,2, 127,1, 75,1 (*meso),* 75,0, 36,5 (*meso*), 36,45; sp = 94,5 - 100,5 °C

8.5 1,4-bis(3,5-bis(trifluorometyyli)fenyyli)butaani-1,4-dioli

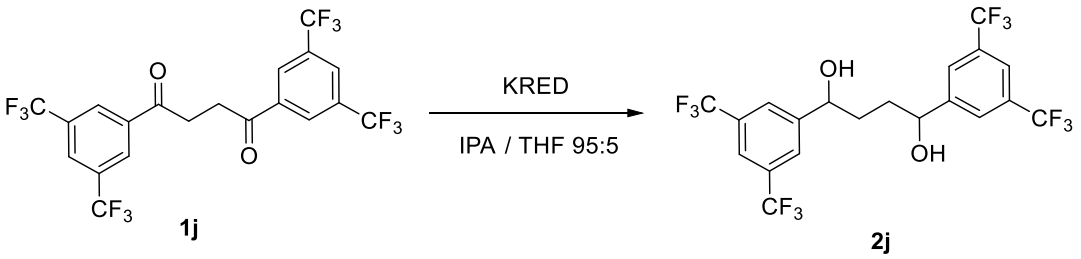


1,4-Bis[3,5-bis(trifluorometyyli)fenyyli]-1,4-butaanidionia (**1j,** 54,5 mg, 0,11 mmol, 1,0 ekv.) liuotettiin kuivaan THF:ään (1,3 ml) argon atmosfäärissä. Reaktio käynnistettiin lisäämällä boraanidimetyylisulfidia (0,08 ml, 0,844 mmol, 7,90 ekv). Tuotetta ei ollut muodostunut 3,5 h jälkeen, jolloin boraanidimetyylisulfidia lisättiin reaktioseokseen (0,04 ml, 0,42 mmol, 4 ekv.). Reaktioseosta sekoitettiin huoneenlämmössä 15 tuntia, jonka jälkeen lähtöaineen todettiin kuluneen loppuun (TLC). Reaktio sammutettiin 2M suolahapon vesiliuoksella, kunnes kuplintaa ei havaittu. Reaktioseos neutraloitiin natriumvetykarbonaatilla pH:seen 7. Liuottimet haihdutettiin ja raakatuote suodatettiin sekä liuotettiin etyyliasetaatilla, minkä jälkeen liuotin haihdutettiin. Raakatuote kuivattiin, jonka jälkeen se puhdistettiin

pylväskromatografialla (heksaani/EtOAc 10:90 → 1:1), jolloin saatiin valkoista jauhetta. (66 %, 36,2 mg, 70,4 µmol, *dr* 74:26 *meso*:*dl*).

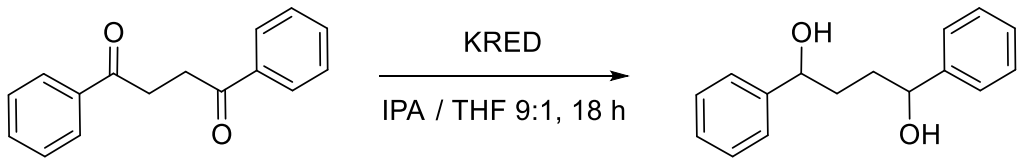
R_f (EtOAc/Heksaani 3:7) = 0,61 ^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7,92 (s, 4H), 7,83 (s, 2H), 4,88 - 4,83 (m, 2H), 1,97 - 1,69 (m, 4H); ^{13}C NMR (75 MHz, CD_3OD) δ 150,4, 150,3 (*meso*), 132,6 (q, *J* = 33,1 Hz), 127,5 – 127,3 (m), 124,9 (q, *J* = 271,7 Hz), 121,8 – 121,7 (m), 73,4 (*meso*), 73,0, 36,3 (*meso*), 36,1; sp = 103,8 – 106,8°C

8.6 1,4-bis(3,5-bis(trifluorometyyli)fenyyli)butaani-1,4-dioli



KRED-Mix N punnittiin 30 ml vialliin (300,4 mg) ja liuotettiin ionisoituun veteen (6 ml). KRED-Mix P punnittiin 30 ml vialliin (266,5 mg) ja liuotettiin ionisoituun veteen. Entsyymit punnittiin eri 1,5 ml vialleihin (n. 10-12 mg) ja ne liuotettiin KRED-Mix N ja P liuoksiin (0,9 ml). Vialleissa 1–15 olevat entsyymit käyttivät KRED Recycle Mix P:tä ja vialleissa 16-20 olevat entsyymit käyttivät KRED Recycle Mix N:ää (taulukko **17**). Lähtöaineet (**1j**) punnittiin myös 1,5 ml vialleihin (n. 10-13 mg) ja ne liuotettiin IPA / THF 9 : 1 liuokseen (0,1 ml). Tämän jälkeen lähtöaineliuokset ja entsyymiliuokset yhdistettiin, jolloin reaktioliuoksen kokonaistilavuus oli 1,0 ml. Poikkeuksellisesti viallissa 15 KRED-Mix P liuosta oli vain 0,5 ml. Reaktioiden annettiin edetä 15 tuntia 30-31°C lämpötilassa, jonka aikana diketonien pelkistystä ei tapahtunut. NAD^+ lisättiin vialleihin 16-20 (1 mg) ja $NADP^+$ vialleihin 1-15 (1 mg). Myös isopropanolia lisättiin vialleihin 1-15 (0,3 ml, 30-% IPA konsentraatio). Reaktion annettiin kulua kolme päivää, jonka aikana pelkistyksiä ei tapahtunut. Lämpötilaa nostettiin 50°C ja annettiin reaktion kulua 14h, jonka aikana pelkistyksiä ei tapahtunut.

8.7 1,4-difenyylibutaani-1,4-dioli



1a **2a**

KRED Mix N punnittiin 30 ml vialliin (301,8 mg) ja liuotettiin ionisoituun veteen (6,0 ml). KRED Mix P punnittiin 30 ml vialliin (604 mg) ja liuotettiin ionisoituun veteen (20,0 ml). Vialleissa 1–19 olevat entsyymit käyttivät KRED Recycle Mix P:tä ja vialleissa 20-24 olevat entsyymit käyttivät KRED Recycle Mix N:ää (taulukko **18**). Lähtöaineet punnittiin (**1a**) 1,5 ml vialleihin ja liuotettiin IPA/THF 9:1 liuokseen (0,1 ml). Entsyymit punnittiin 1,5 ml vialleihin, jonka jälkeen ne liuotettiin KRED Mix liuoksiin (0,9 ml). Tämän jälkeen lähtöaineliuokset ja entsyymiliuokset yhdistettiin ja reaktioiden annettiin edetä 18 tuntia 30℃-asteessa. 18 tunnin jälkeen 12 eri viallissa huomattiin muodostuneen 1,4-dioleita. Lämpötilaa nostettiin vialleissa 40℃-asteeseen 24 tunniksi, jonka aikana muutosta ei tapahtunut. Vialleihin 1–19 lisättiin isopropanolia (0,3 ml, 30-% IPA konsentraatio). NAD^+ lisättiin vialleihin 20-24 (1 mg) ja $NADP^+$ vialleihin 1-19 (1 mg), jonka jälkeen reaktioiden annettiin kulua 50℃-asteessa 14 tuntia.

Taulukko 20. HPLC:llä määritettyjen dioleiden (**2a**) diastereo- ja enantiomeerisuhteet

Entsyymi (KRED)	Vialli	*dr*	*er*
P2 – B02	2	43 : 57	42 : 58
P1 – B10	4	> 99 : 1	-
P2 – D03	5	71 : 29	96 : 4
P1 – B05	7	62 : 38	30 : 70
P2 – C02	11	64 : 36	16 : 84
P1 – C01	12	49 : 51	7 : 93
P1 – B12	15	> 99 : 1	-
P1 – B02	16	> 99 : 1	-
P2 – D11	18	97 : 3	-
P2 – D12	19	57 : 43	53 : 47
KRED 101	22	67 : 33	63 : 37
KRED 119	23	85 : 15	-

Tämän jälkeen seokset uutettiin etyyliasetaatilla (1,5 ml) ja pestiin kylläisellä natriumkloridivesiliuoksella (0,3 ml). Orgaaninen faasi eroteltiin sentrifugoimalla, jonka

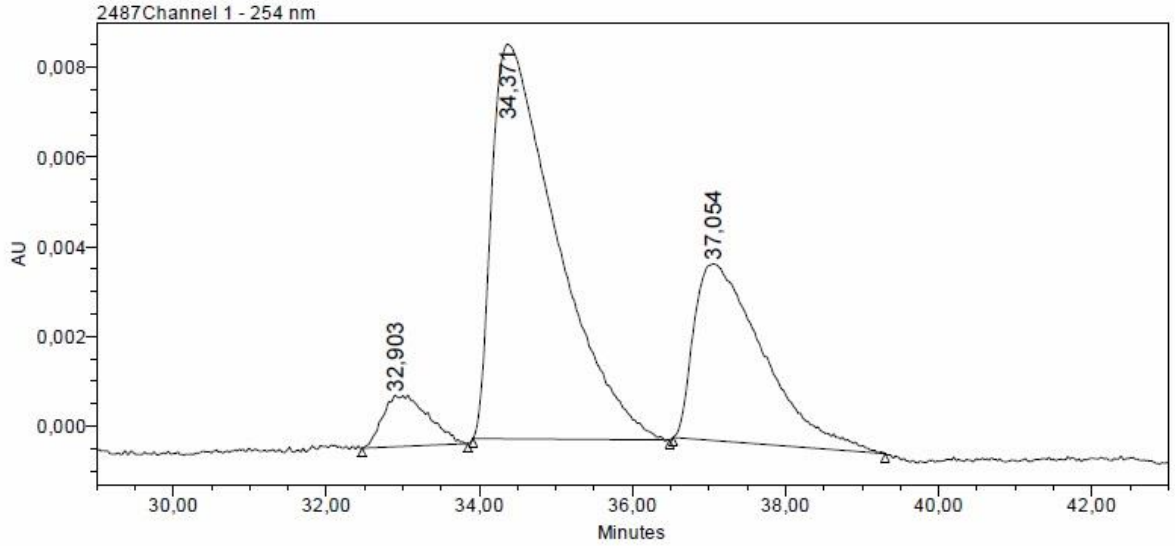
jälkeen liuokset kuivatettiin natriumsulfaatilla. Kuivatut liuokset sentrifugoitiin ja suodatettiin. Liuoksista valmistettiin HPLC-näyteliuokset suodattamalla 0,45 µm suodattimen läpi HPLC-vialliin.

HPLC: Chiralpack IB, Heks:IPA 97:3, 1 mL/min, huoneenlämpö, **λ** =254 nm, t_r(*ent*)-1a = , t_r(*ent*)-1b ja t_r (*meso*)-1.[‡]

Esimerkki taulukosta 20, entsyymi P2 – C02:

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	THV-009 SM11	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	1	Acq. Method Set:	
Injection #:	1	Processing Methoc	SM11 254nm
Injection Volume:	5,00 ul	Channel Name:	2487Channel 1
Run Time:	100,0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	254 nm
Date Acquired:	26.3.2018 12:03:35 EEST		
Date Processed:	30.10.2018 11:06:32 EET		



Processed Channel Descr.: 254 nm

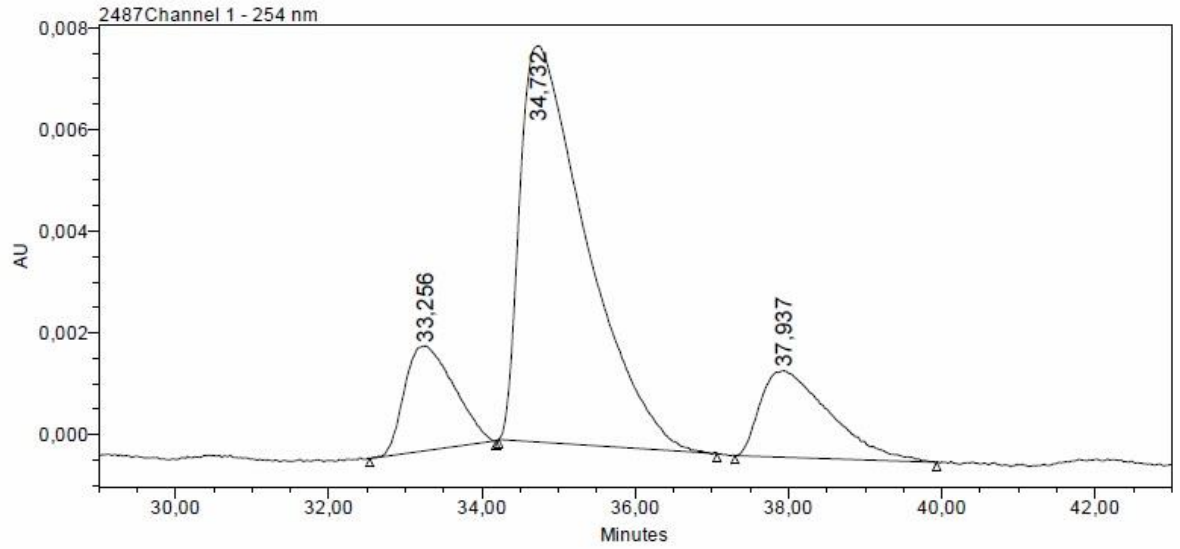
	Processed Channel Descr.	RT	Area	% Area	Height
1	254 nm	32,903	46765	5,76	1141
2	254 nm	34,371	518576	63,82	8801
3	254 nm	37,054	247229	30,43	3936

[‡] Enantiomeerien merkintätapana käytettiin a ja b, koska työssä ei selvitetty kumpi enantiomeeri eluoitui ensin.

Referenssinäyte

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	THV-004 Mixture of er and dr	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	1	Acq. Method Set:	
Injection #:	1	Processing Methoc	THV004ref
Injection Volume:	10,00 ul	Channel Name:	2487Channel 1
Run Time:	100,0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	254 nm
Date Acquired:	6.3.2018 12:24:48 EET		
Date Processed:	24.10.2018 15:59:34 EEST		



Processed Channel Descr.: 254 nm

	Processed Channel Descr.	RT	Area	% Area	Height
1	254 nm	33,256	92209	13,78	2067
2	254 nm	34,732	470447	70,29	7794
3	254 nm	37,937	106673	15,94	1696

9. Lähdeluettelo

1. Mourelle-Insua, Á.; de Gonzalo, G.; Lavandera, I. ja Gotor-Fernández, V., Stereoselective enzymatic reduction of 1,4-diaryl-1,4-diones to the corresponding diols employing alcohol dehydrogenases, *Catalysts*, **2018**, *8*, 150.

2. Denmark, S. E.; Chang, W.-T. T.; Houk, K. N. ja Liu, P., Development of Chiral Bis-hydrazone Ligands for the Enantioselective Cross-Coupling Reactions of Aryldimethylsilanolates, *J. Org. Chem.*, **2015**, *80*, 313–366.

3. Davidson, S. J. ja Barker, D., Synthesis of various lignans via the rearrangements of 1,4-diarylbutane-1,4-diols, *Tetrahedron Lett.*, **2015**, *56*, 4549–4553.

4. Corey, E. J.; Bakshi, R. K.; Shibata, S.; Chen, C.-P. ja Singh, V. K., A Stable and Easily Prepared Catalyst for the Enantioselective Reduction of Ketones. Applications to Multistep Syntheses, *J. Am. Chem. Soc*, **1987**, *109*, 7925–7926.

5. Brown, H. C.; Chandrasekharan, J. ja Ramachandran, P. V., Chiral Synthesis via Organoboranes. 14. Selective Reductions. 41. Diisopinocampheylchloroborane, an Exceptionally Efficient Chiral Reducing Agent, *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, *110*, 1539–1546.

6. Hashiguchi, S.; Fujii, A.; Takehara, J.; Ikariya, T. ja Noyori, R., Asymmetric Transfer Hydrogenation of Aromatic Ketones Catalyzed by Chiral Ruthenium(II) Complexes, *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, *117*, 7562–7563.

7. Bach, J.; Berenguer, R.; Garcia, J.; López, M.; Manzanal, J. ja Vilarrasa, J., Oxazaborolidine-catalysed reduction of alk-2-ene-1,4-diones. A convenient access to chiral 1,4-diols, *Tetrahedron*, **1998**, *54*, 14947–14962.

8. Periasamy, M.; Dharma Rao, V. ja Seenivasaperumal, M., Resolution of C2-symmetric 2,3-diphenylbutane-1,4-diol and purification of diastereomeric 1,4-diphenylbutane-1,4-diol using (S)-proline and boric acid, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2001**, *12*, 1887–1890.

9. Periasamy, M.; Seenivasaperumal, M. ja Rao, V. D., Convenient Procedures for the Asymmetric Reduction of 1,4-Diphenylbutane-1,4-dione and Synthesis of 2,5-Diphenylpyrrolidine Derivatives, *Synthesis*, **2003**, *2003*, 2507–2510.

10. Brunel, J. M.; Maffei, M. ja Buono, G., Enantioselective reduction of ketones with borane, catalyzed by (*S*)-(−)-proline or (*S*)-(+)-prolinol., *Tetrahedron: Asymmetry*, **1993**, *4*, 2255–2260.

11. Li, X.; Zhao, G. ja Cao, W.-G., An Efficient Method for Catalytic Asymmetric Reduction of Diketones and Application of Synthesis to Chiral 2,5-Diphenylpyrrolidine and 2,5-Diphenylthiolane, *Chinese J. Chem.*, **2006**, *24*, 1402–1405.

12. Zhao, G. ja Hu, J.-B., Sn-Mediated Catalytic Asymmetric Reduction of Carbonyl Groups by Sodium Borohydride (or Sodium Borodeuteride), *Chinese J. Chem.*, **2010**, *21*, 819–823.

13. Brown, H. C. ja Bigley, D. B., Stereochemical consequences of ketone reductions by diborane and substituted boranes, *J. Am. Chem. Soc.*, **1961**, *83*, 3166–3167.

14. Michael Chong, J.; Clarke, I. S.; Koch, I.; Olbach, P. C. ja Taylor, N. J., Asymmetric synthesis of trans-2,5-diphenylpyrrolidine: A C2-symmetric chiral amine, *Tetrahedron: Asymmetry*, **1995**, *6*, 409–418.

15. Chen, H.; Sweet, J. A.; Lam, K.-C.; Rheingold, A. L. ja McGrath, D. V., Chiral amine–imine ligands based on trans-2,5-disubstituted pyrrolidines and their application in the palladium-catalyzed allylic alkylation, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2009**, *20*, 1672–1682.

16. Knight, D. W. ja Hartung, J., *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, Second, Wiley, 2001.

17. Quallich, G. J.; Keavey, K. N. ja Woodall, T. M., Enantioselective synthesis of C2-symmetric diols, *Tetrahedron Lett.*, **1995**, *36*, 4729–4732.

18. Bach, J.; Berenguer, R.; Garcia, J.; López, M.; Manzanal, J. ja Vilarrasa, J., Oxazaborolidine-catalysed reduction of alk-2-ene-1,4-diones. A convenient access to chiral 1,4-diols, *Tetrahedron*, **1998**, *54*, 14947–14962.

19. Clayden, Jonathan; Greeves, N; Warren, S., *Organic chemistry*, Second, Oxford University Press, New York, US, 2012.

20. Herzon, S. B. ja Myers, A. G., Enantioselective synthesis of stephacidin B, *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 5342–5344.

21. Xiao, D.; East, S. P. ja Joullié, M. M., Total synthesis of sanjoinine A (frangufoline), *Tetrahedron Lett.*, **1998**, *39*, 9631–9632.

22. Wallbaum, S. ja Martens, J., Asymmetric syntheses with chiral oxazaborolidines, *Tetrahedron: Asymmetry*, **1992**, *3*, 1475–1504.

23. Corey, E. J. ja Helal, C. J., Reduction of Carbonyl Compounds with Chiral Oxazaborolidine Catalysts: A New Paradigm for Enantioselective Catalysis and a Powerful New Synthetic Method, *Angew. Chemie Int. Ed.*, **1998**, *37*, 1986–2012.

24. Cho, B. T., Recent advances in the synthetic applications of the oxazaborolidine-mediated asymmetric reduction, *Tetrahedron*, **2006**, *62*, 7621–7643.

25. Aldous, D. J.; Dutton, W. M. ja Steel, P. G., A simple enantioselective preparation of (2S,5S)-2,5-diphenylpyrrolidine and related diaryl amines, *Tetrahedron Asymmetry*, **2000**, *11*, 2455–2462.

26. Masui, M. ja Shioiri, T., A Practical Method for Asymmetric Borane Reduction of Prochiral Ketones Using Chiral Amino Alcohols and Trimethyl Borate, *Synlett*, **1997**, *1*, 273–274.

27. Kemppainen, E. K.; Sahoo, G.; Piisola, A.; Hamza, A.; Kótai, B.; Pápai, I. ja Pihko, P. M., Mukaiyama-Michael Reactions with *trans* -2,5-Diarylpyrrolidine Catalysts: Enantioselectivity Arises from Attractive Noncovalent Interactions, Not from Steric Hindrance, *Chem. - A Eur. J.*, **2014**, *20*, 5983–5993.

28. Claraz, A.; Sahoo, G.; Berta, D.; Madarász, Á.; Pápai, I. ja Pihko, P. M., A Catalyst Designed for the Enantioselective Construction of Methyl- and Alkyl-Substituted Tertiary Stereocenters, *Angew. Chemie Int. Ed.*, **2016**, *55*, 669–673.

29. DeGoey, D. A.; Randolph, J. T.; Liu, D.; Pratt, J.; Hutchins, C.; Donner, P.; Krueger, A. C.; Matulenko, M.; Patel, S.; Motter, C. E.; Nelson, L.; Keddy, R.; Tufano, M.; Caspi, D. D.; Krishnan, P.; Mistry, N.; Koev, G.; Reisch, T. J.; Mondal, R.; Pilot-Matias, T.; Gao, Y.; Beno, D. W. A.; Maring, C. J.; Molla, A.; Dumas, E.; Campbell, A.; Williams, L.; Collins, C.; Wagner, R. ja Kati, W. M., Discovery of ABT-267, a Pan-Genotypic Inhibitor of HCV NS5A, *J. Med. Chem.*, **2014**, *57*, 2047–2057.

30. Wagner, R.; Randolph, J. T.; Patel, S. V.; Nelson, L.; Matulenko, M. A.; Keddy, R.; Pratt, J. K.; Liu, D.; Krueger, A. C.; Donner, P. L.; Hutchinson, D. K.; Flentge, C.; Betebenner, D.; Rockway, T.; Maring, C. J.; Ng, T. I.; Krishnan, P.; Pilot-Matias, T.; Collins, C.; Panchal, N.; Reisch, T.; Dekhtyar, T.; Mondal, R.; Stolarik, D. F.; Gao, Y.; Gao, W.; Beno, D. A. ja Kati, W. M., Highlights of the Structure–Activity Relationships of Benzimidazole Linked Pyrrolidines Leading to the Discovery of the Hepatitis C Virus NS5A Inhibitor Pibrentasvir (ABT-530), *J. Med. Chem.*, **2018**, *61*, 4052–4066.

31. Echeverria, P.-G.; Férard, C.; Phansavath, P. ja Ratovelomanana-Vidal, V., Synthesis, characterization and use of a new tethered Rh(III) complex in asymmetric transfer hydrogenation of ketones, *Catal. Commun.*, **2015**, *62*, 95–99.

32. Zheng, L.-S.; Llopis, Q.; Echeverria, P.-G.; Férard, C.; Guillamot, G.; Phansavath, P. ja Ratovelomanana-Vidal, V., Asymmetric Transfer Hydrogenation of (Hetero)arylketones with Tethered Rh(III)– *N* -(*p* -Tolylsulfonyl)-1,2-diphenylethylene-1,2-diamine Complexes: Scope and Limitations, *J. Org. Chem.*, **2017**, *82*, 5607–5615.

33. Sato, M.; Gunji, Y.; Ikeno, T. ja Yamada, T., Efficient Preparation of Optically Pure C 2 -Symmetrical Cyclic Amines for Chiral Auxiliary, *Synthesis*, **2004**, *2004*, 1434–1438.

34. Ohtsuka, Y.; Kubota, T.; Ikeno, T.; Nagata, T. ja Yamada, T., Convenient Preparation of Optically Pure 1,3-Diaryl-1,3-propanediols, *Synlett*, **2000**, *4*, 535–537.

35. Codexis, Codex® Ketoreductase (KRED) Screening Kit, https://www.codexis-estore.com/product-page/codex-ketoreductase-kred-screening-kit (Luettu 6.12.2018).

36. Kemppainen, E. K.; Sahoo, G.; Valkonen, A. ja Pihko, P. M., Mukaiyama–Michael Reactions with Acrolein and Methacrolein: A Catalytic Enantioselective Synthesis of the C17–C28 Fragment of Pectenotoxins, *Org. Lett.*, **2012**, *14*, 1086–1089.

37. Jarvis, W. F.; Hoey, M. D.; Finocchio, A. L. ja Dittmer, D. C., Organic reactions of reduced species of sulfur dioxide, *J. Org. Chem.*, **1988**, *53*, 5750–5756.

38. Codex ® KRED Screening Kit Frequently Asked Questions What Is The Kred Screening Kit And Why Use It?, https://docs.wixstatic.com/ugd/5a7b2a_4fa7f9d02ec540e7b5db850ee1ca8f49.pdf (Luettu 6.12.2018)

39. Fulmer, G. R.; Miller, A. J. M.; Sherden, N. H.; Gottlieb, H. E.; Nudelman, A.; Stoltz, B.

M.; Bercaw, J. E. ja Goldberg, K. I., NMR Chemical Shifts of Trace Impurities: Common Laboratory Solvents, Organics, and Gases in Deuterated Solvents Relevant to the Organometallic Chemist, *Organometallics*, **2010**, *29*, 2176–2179.

Liitteet

Liite 1 1,4-bis(3,5-bis(trifluorometyyli)fenyyli)butaani-1,4-dioni (**1j**) ^{1}H-NMR-spektri

Liite 2 1,4-bis(3,5-bis(trifluorometyyli)fenyyli)butaani-1,4-dioni (**1j**) ^{13}C-NMR-spektri

Liite 3 1,4-bis(3,5-bis(trifluorometyyli)fenyyli)butaani-1,4-dioli (**2j**) ^{1}H-NMR-spektri

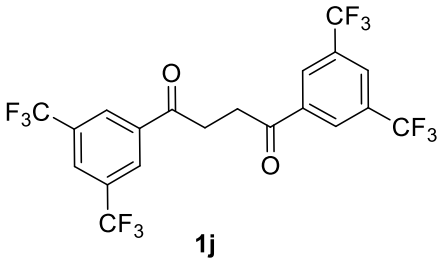
Liite 4 1,4-bis(3,5-bis(trifluorometyyli)fenyyli)butaani-1,4-dioli (**2j**) ^{13}C-NMR-spektri

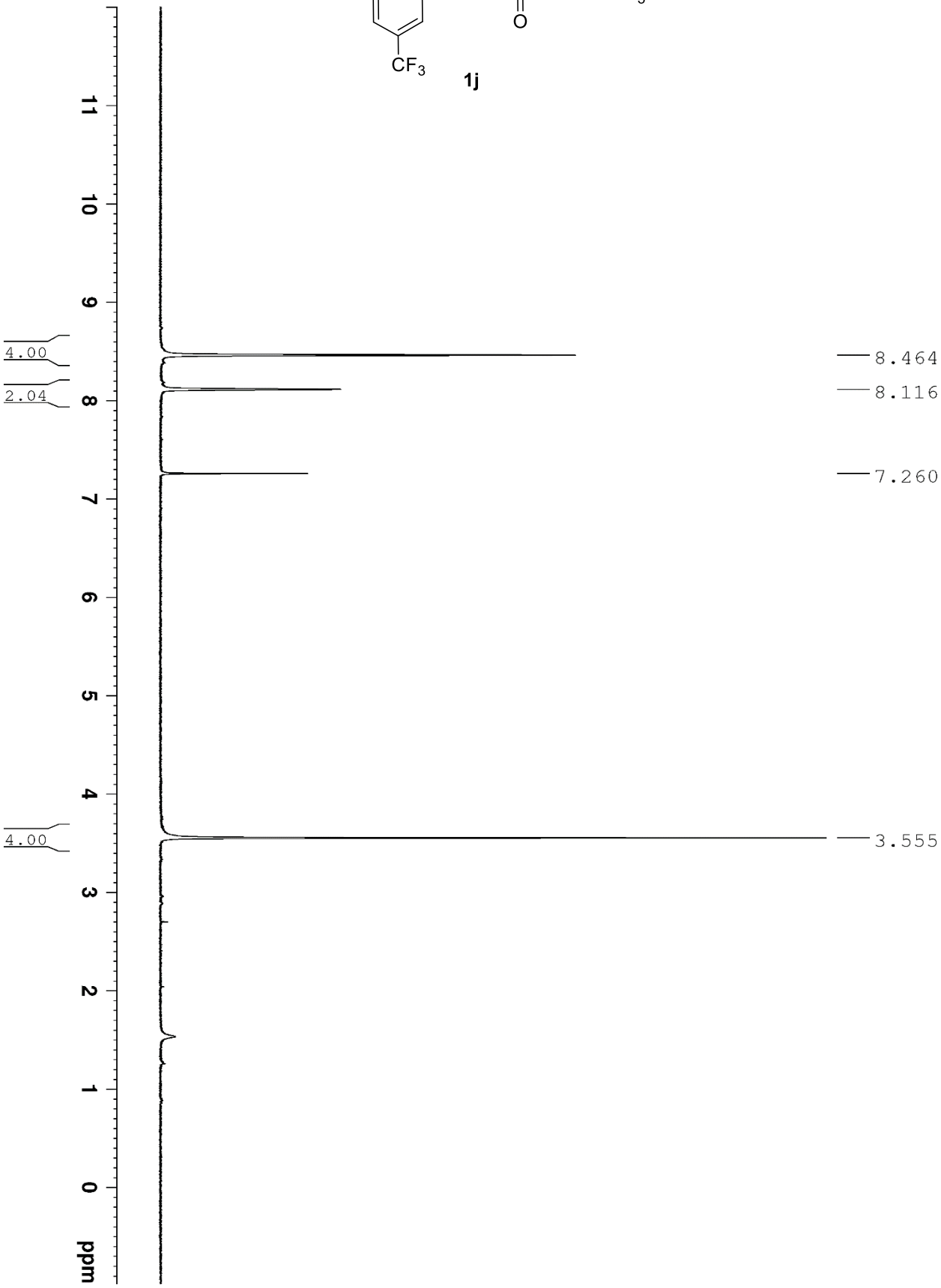
Liite 5 1,4-difenyylibutaani-1,4-dioni (**1a**) ^{1}H-NMR-spektri

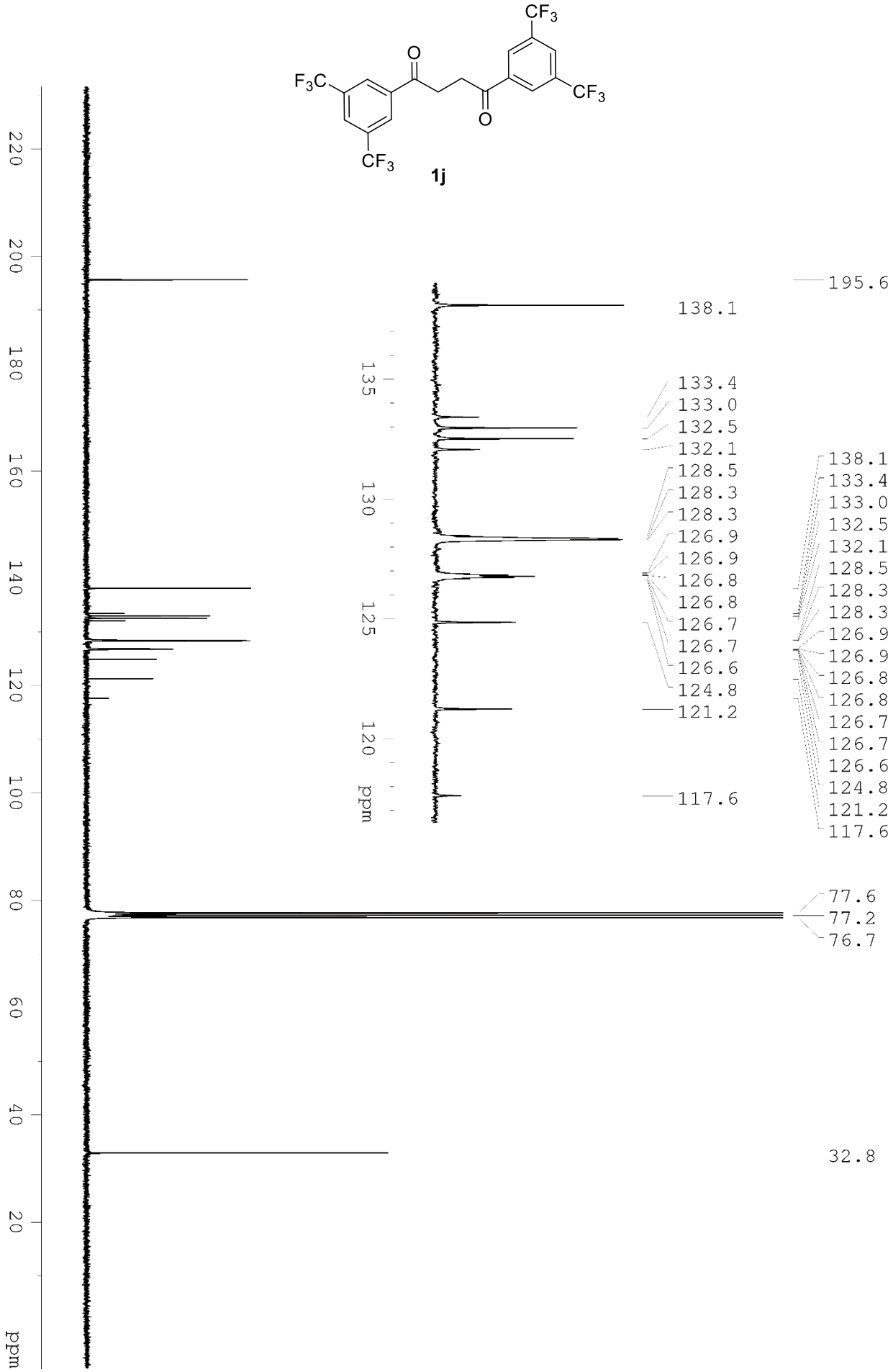
Liite 6 1,4-difenyylibutaani-1,4-dioni (**1a**) ^{13}C-NMR-spektri

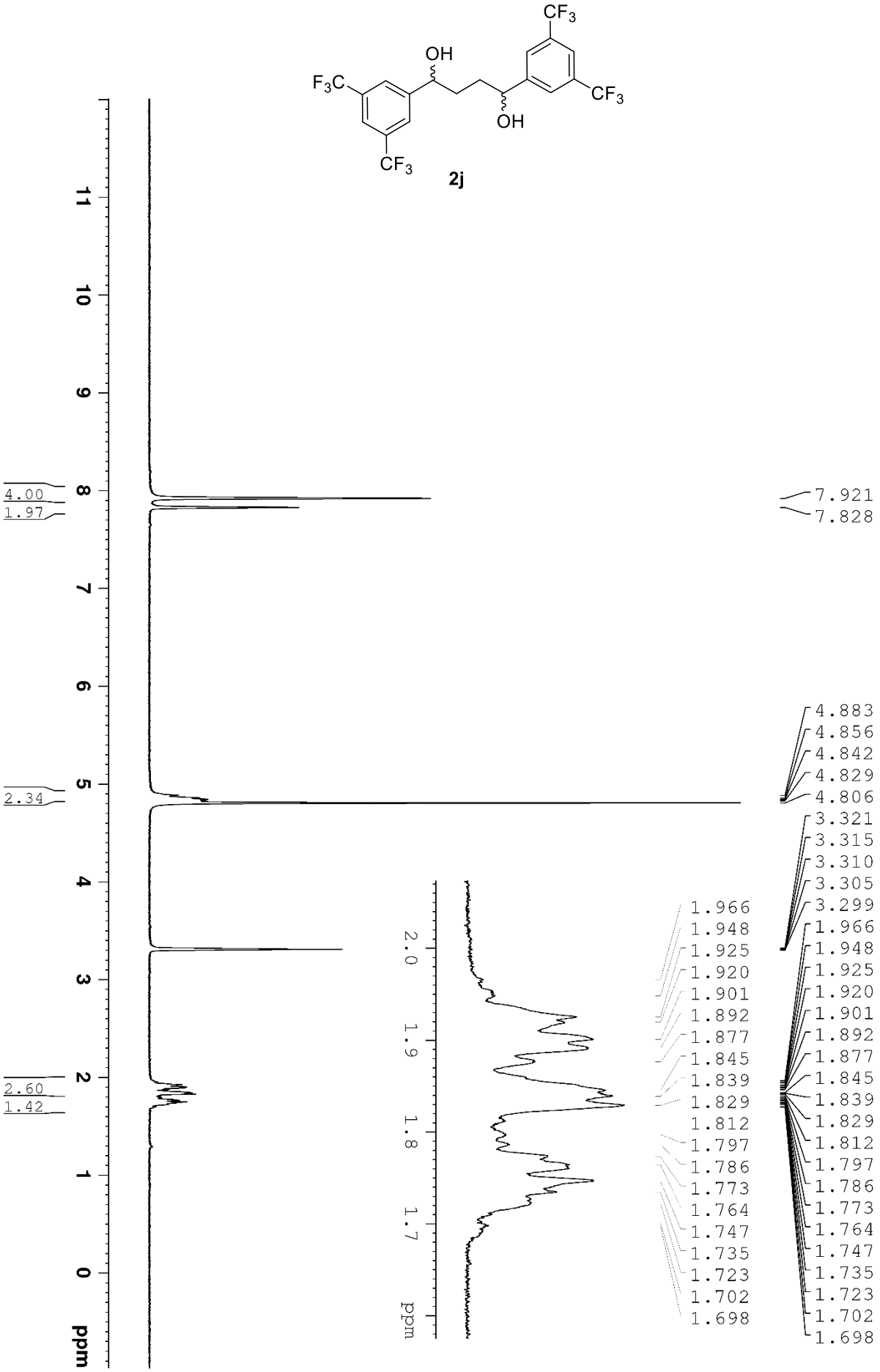
Liite 7 1,4-difenyylibutaani-1,4-dioli (**2a**) ^{1}H-NMR-spektri

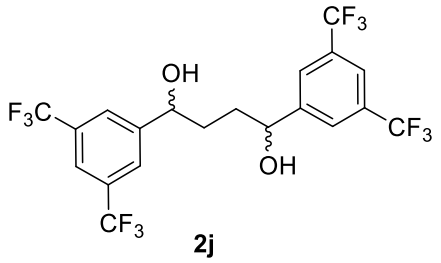
Liite 9 1,4-difenyylibutaani-1,4-dioli (**2a**) ^{13}C-NMR-spektri

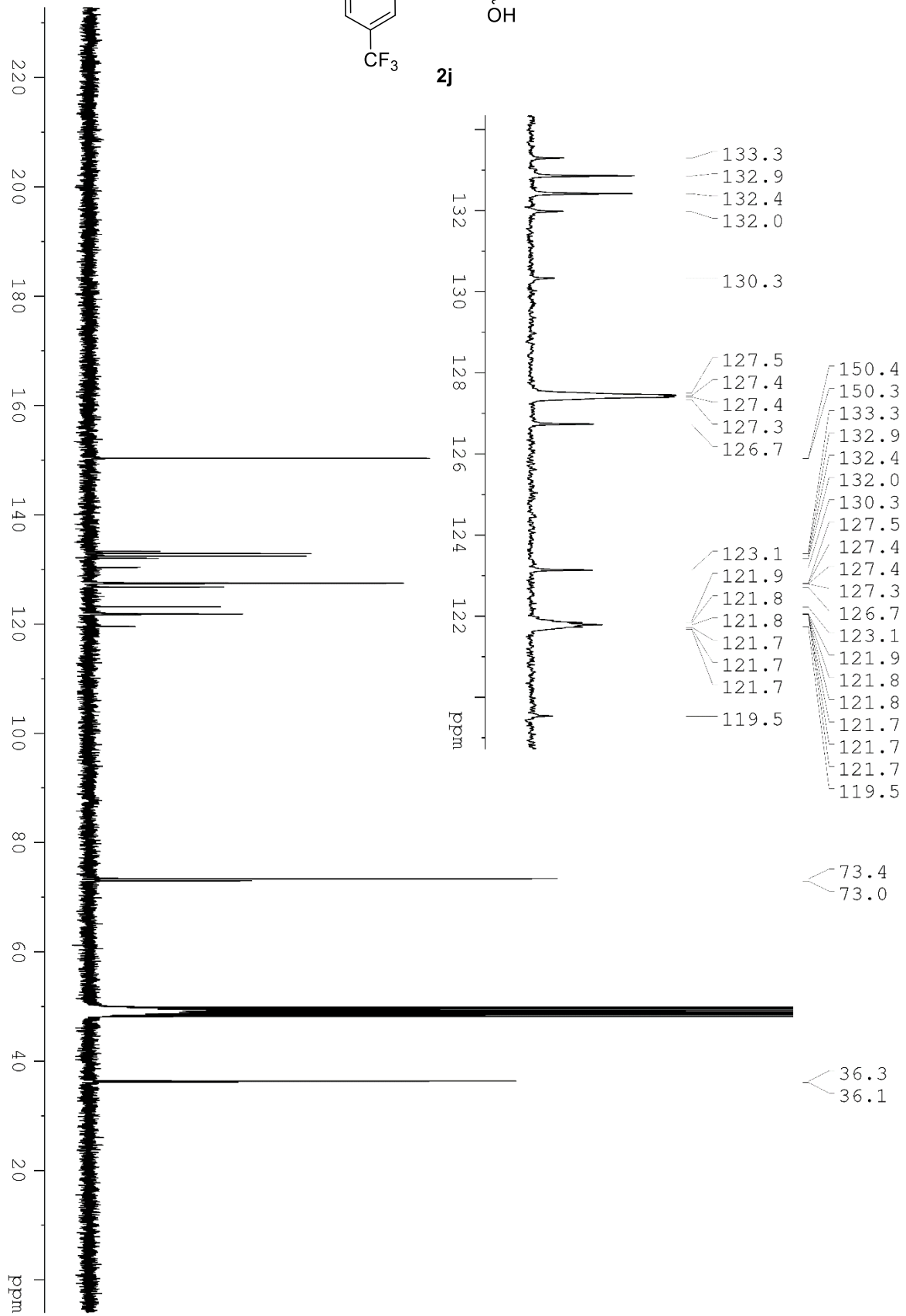

CF3
O
F3C
CF3
O
CF3
1j

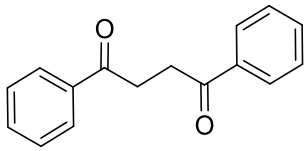

4.00
2.04
4.00
8.464
8.116
7.260
3.555
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
ppm


CF3
F3C
CF3
CF3
O
O
1j
195.6
138.1
133.4
133.0
132.5
132.1
128.5
128.3
128.3
126.9
126.9
126.8
126.8
126.7
126.7
126.6
124.8
121.2
117.6
77.6
77.2
76.7
32.8
135
130
125
120
ppm
220
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
ppm

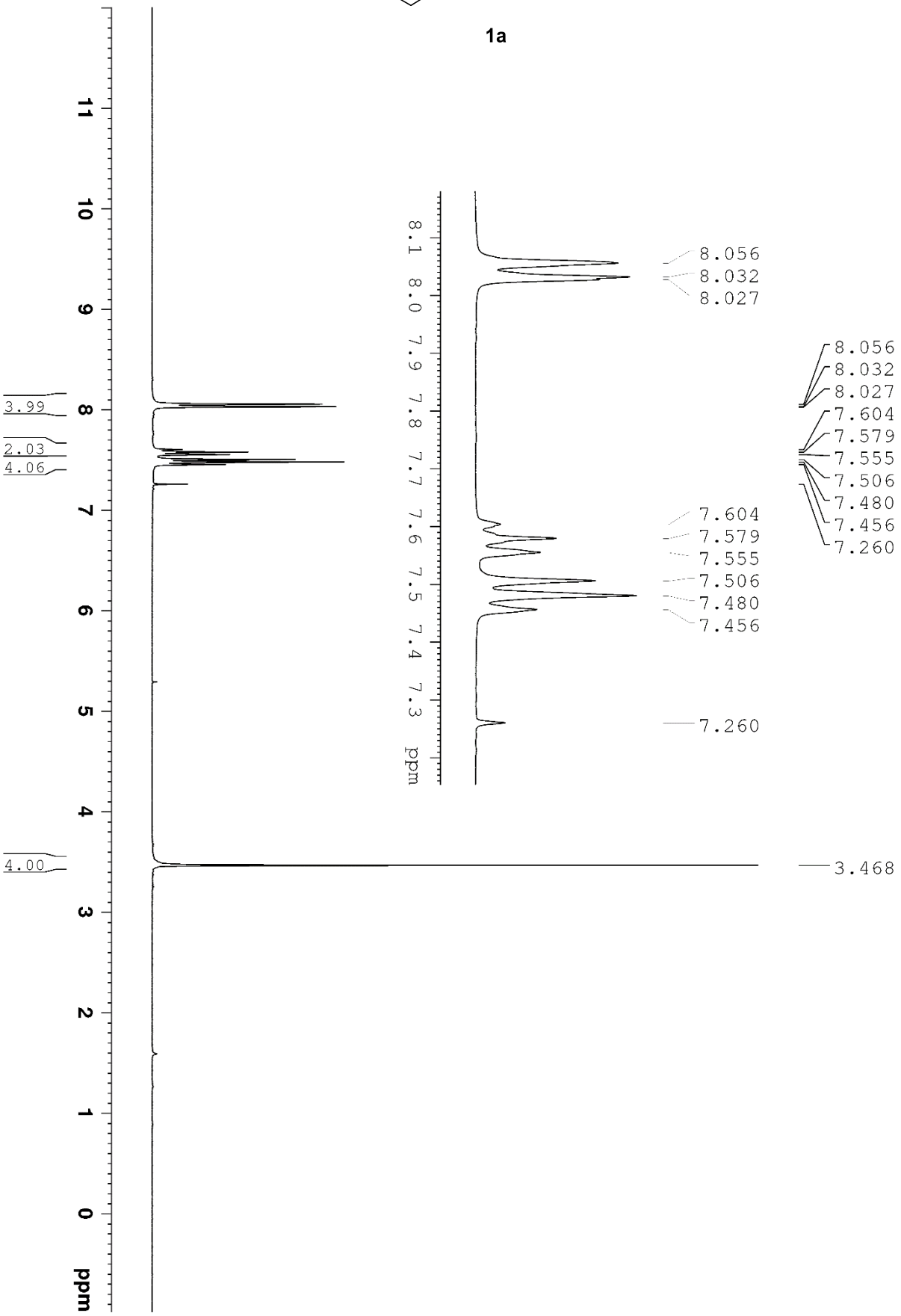

CF3
OH
F3C
CF3
OH
CF3
2j
4.00
1.97
2.34
2.60
1.42
7.921
7.828
4.883
4.856
4.842
4.829
4.806
3.321
3.315
3.310
3.305
3.299
1.966
1.948
1.925
1.920
1.901
1.892
1.877
1.845
1.839
1.829
1.812
1.797
1.786
1.773
1.764
1.747
1.735
1.723
1.702
1.698
ppm

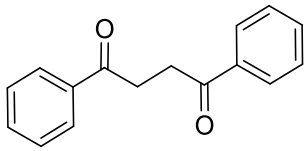

CF3
OH
F3C
CF3
OH
CF3
2j


133.3
132.9
132.4
132.0
130.3
127.5
127.4
127.4
127.3
126.7
123.1
121.9
121.8
121.8
121.7
121.7
121.7
119.5
150.4
150.3
133.3
132.9
132.4
132.0
130.3
127.5
127.4
127.4
127.3
126.7
123.1
121.9
121.8
121.8
121.7
121.7
121.7
119.5
73.4
73.0
36.3
36.1
ppm

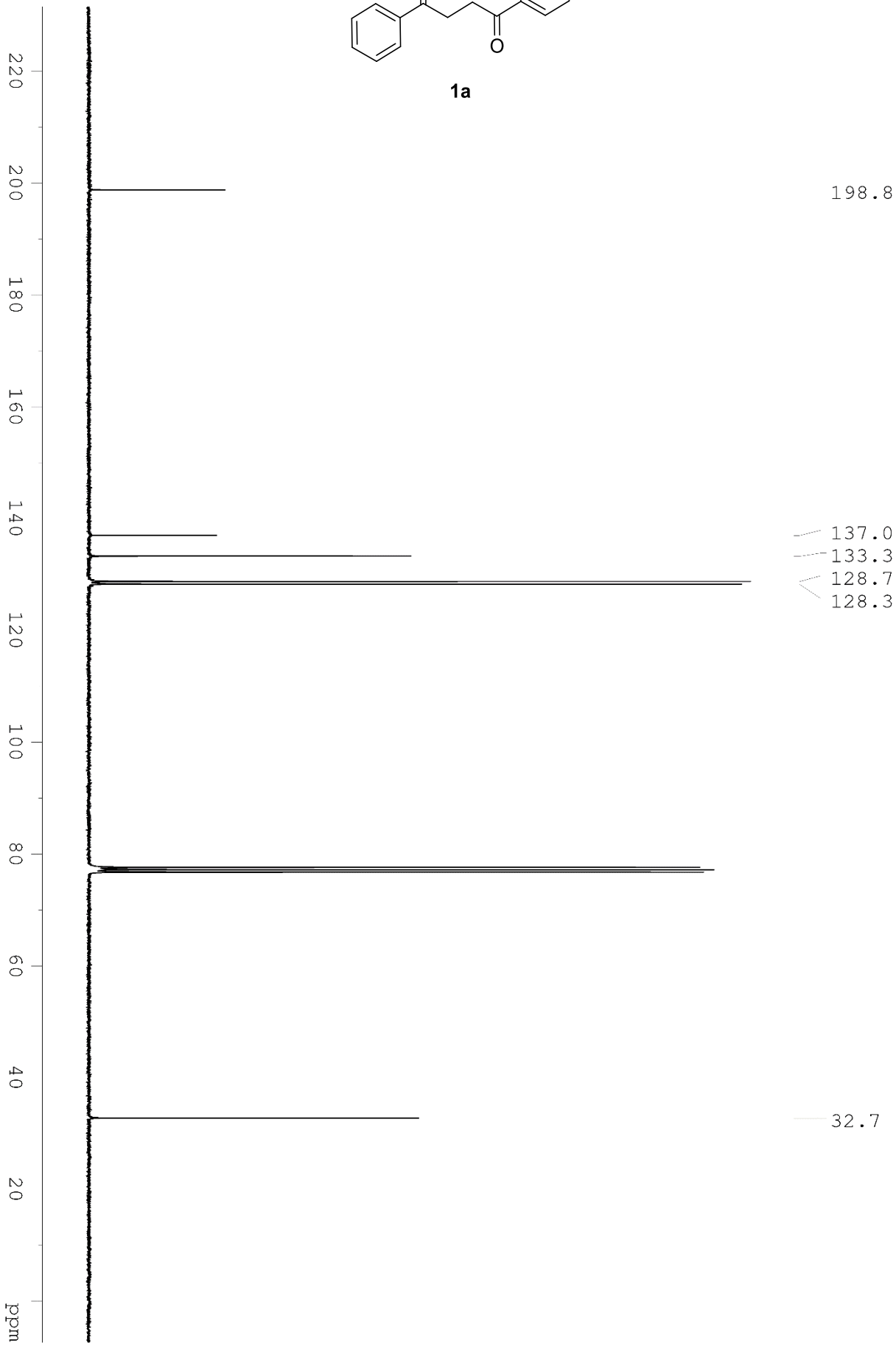


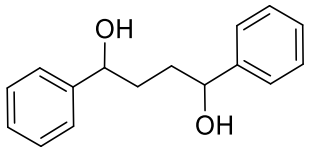
1a


11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
ppm
3.99
2.03
4.06
4.00
8.1
8.0
7.9
7.8
7.7
7.6
7.5
7.4
7.3
ppm
8.056
8.032
8.027
7.604
7.579
7.555
7.506
7.480
7.456
7.260
3.468

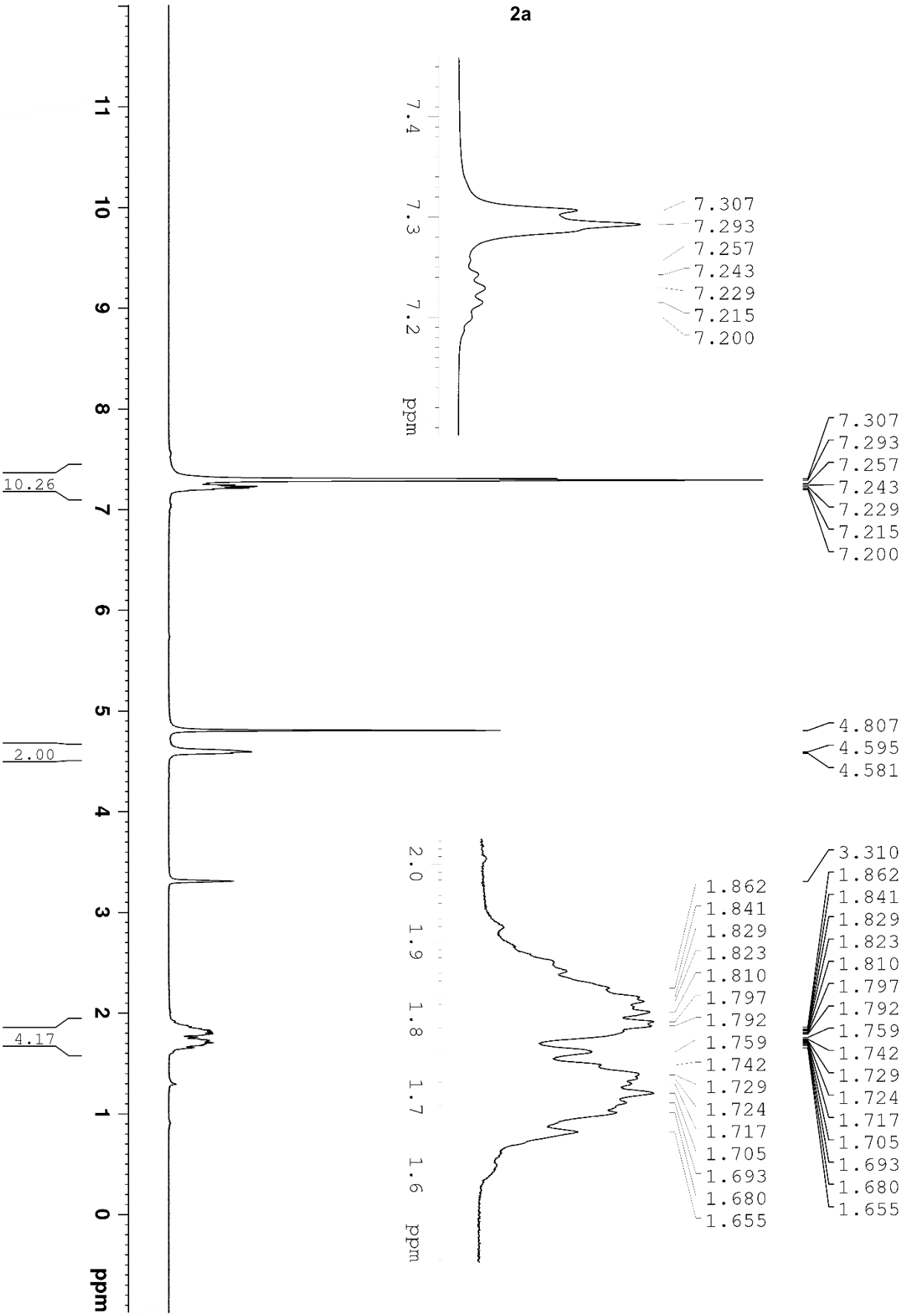


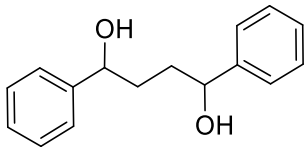
1a


198.8
137.0
133.3
128.7
128.3
32.7
220
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
ppm

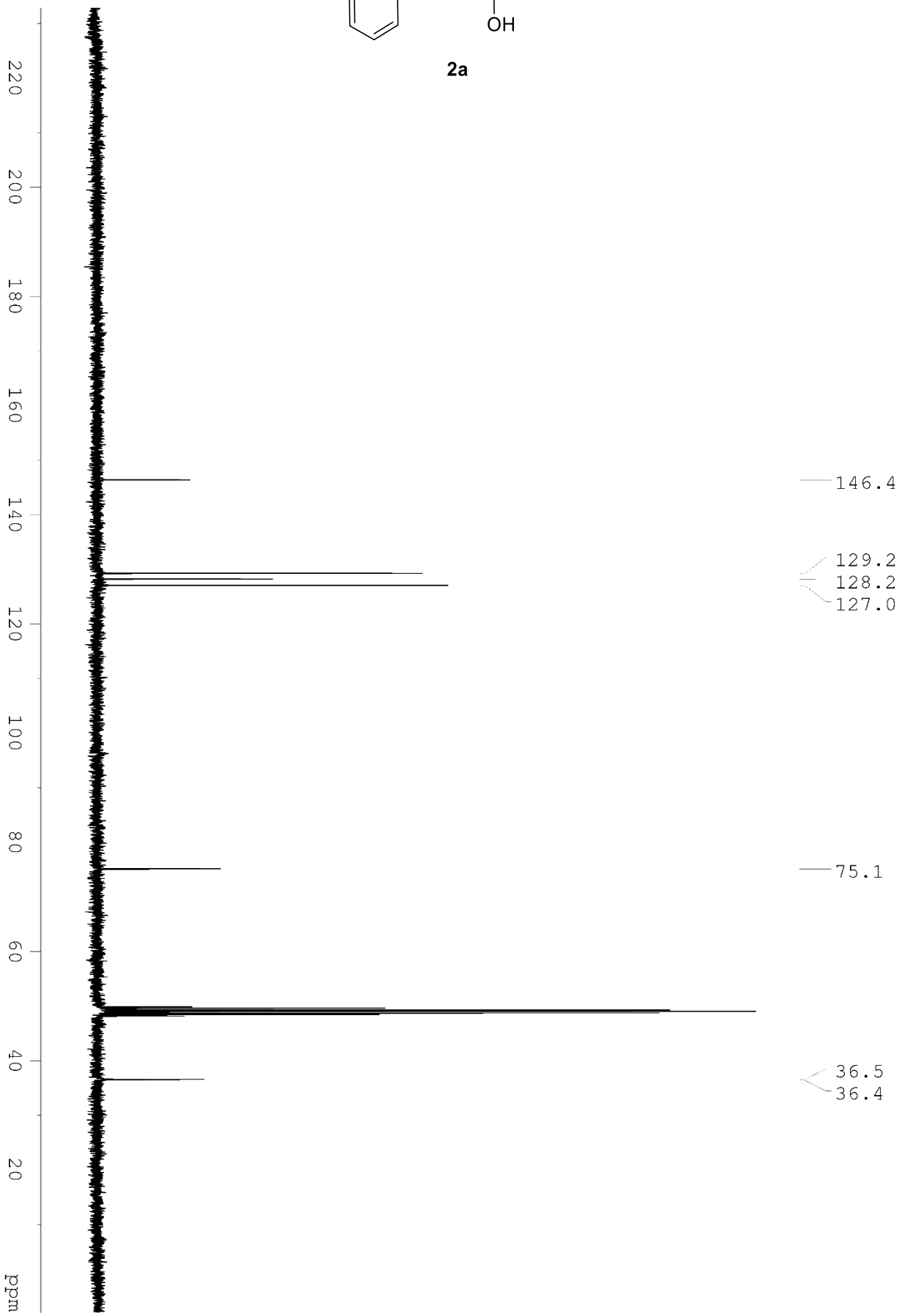

OH
OH

2a


7.307
7.293
7.257
7.243
7.229
7.215
7.200
7.4
7.3
7.2
ppm
10.26
2.00
4.17
4.807
4.595
4.581
3.310
1.862
1.841
1.829
1.823
1.810
1.797
1.792
1.759
1.742
1.729
1.724
1.717
1.705
1.693
1.680
1.655
2.0
1.9
1.8
1.7
1.6
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0


OH
OH

2a


220
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
ppm
146.4
129.2
128.2
127.0
75.1
36.5
36.4