

Mastergrads oppg. 2011

Totalsyntese av Alkaloidet (\pm)-Powelline

Total Synthesis of the Alkaloid (\pm)-Powelline

Wkst



Marte Tøften

UNIVERSITETET FOR MILJØ- OG BIOVITENSKAP
Institutt for Kjemi, Bioteknologi og Matvitenskap
Masteroppgave 60 studiepoeng 2011



FORORD

Oppgaven ble utført ved Institutt for Kjemi, Bioteknologi og Matvitenskap, Universitetet for Miljø- og Biovitenskap, i perioden januar 2009 til august 2011. Har på grunn av graviditet, amming og PPU studier hatt et langt opphold på 23 måneder midt i den praktiske delen av oppgaven. Jeg får derfor den gleden av å levere min masteroppgave i det internasjonale kjemiåret 2011 ☺

Jeg vil si tusen takk til mine veiledere, Yngve Stenstrøm og Trond Vidar Hansen for at dere ikke mistet troen på meg, og alt dere har hjulpet meg med!

Takk til Anne-Marie for at jeg alltid får oppmuntrende ord og for at du alltid vil svare på spørsmålene jeg har ☺

Takk til Mona og Kine for hjelp til presisjonsarbeidet i sluttspurten!

Tusen takk til venner og familie som har motivert meg på tunge dager og som samtidig har måttet vise forståelse for at jeg har prioritert studiene mine. Tenk at jeg har klart å fullføre 6 års universitetsutdannelse i strekk, i tillegg til at jeg har blitt mamma til verdens beste gutt midt oppi det hele ☺

Min kjære Marius; takk for at du er den du er, og for at du er verdens beste venn, kjæreste og pappa! Nå starter vi et nytt liv med nye jobber og nytt hus ☺

Og til min skjønne lille William; Jeg er så utrolig stolt av deg! Du er helt perfekt!

Ås, august 2011

Marte Tøften



SAMMENDRAG

Mange alkaloider viser interessante farmakologiske virkninger. Dette gjelder blant annet krinin alkaloidene fra *Amaryllidaceae* familien. Målet med denne oppgaven var å syntetisere krinin alkaloidene (\pm)-powelline (**2**) og (\pm)-bufanidrine (**3**) i en tilnærmet lineær syntese som en del av et forskningsprosjekt på farmasøytisk institutt ved Universitetet i Oslo. Disse alkaloidene er blitt isolert fra planten *Crinum asiaticum* var. *sinicum* i *Amaryllidaceae* familien, og er verdifulle mål for totalsyntese fordi man har begrenset tilgang til disse i naturen.

Dette arbeidet førte fram til totalsyntesen av (\pm)-powelline (**2**) over ti reaksjoner med et samlet utbytte på 2 %. Totalsyntesen startet med forbindelse **13**, som i en Baeyer-Villiger oksidasjonsreaksjon, ble omdannet til fenolen **12**. Denne reagerte videre i en *ortho*-formylering til salisylaldehydet **11a**, som så ble metylert med MeI og K₂CO₃ til **11b**. Forbindelse **11b** reagerte så videre i en reduktiv amineringsreaksjon med tyramin (**10**) til aminet **9**. Ved å bruke trifluoreddiksyre anhydrid ble aminet **9** beskyttet med en trifluoracetylgruppe til intermediet **14**. Ved hjelp av en intramolekylær oksidativ fenolisk kobling som nøkkelreaksjon, ble nøkkelintermediet **8b** dannet, der heterosykelen ble inkorporert. En basisk hydrolyse av amidet i **8b**, gav samtidig en intramolekylær Michael syklisering til rasemisk oksopowelline **15**. En Luche reduksjon av **15** resulterte i alkoholen **16**. Den ble til slutt invertert i en Mitsunobu reaksjon som nådde fram til målmolekylet rasemisk powelline (**2**). Det ble også forsøkt å syntetisere (\pm)-bufanidrine (**3**) ved å metylere alkoholfunksjonen i (\pm)-powelline (**2**), men reaksjonen var mislykket, og på grunn av begrenset tid og stoffmengde, ble det ikke brukt tid på å endre reaksjonsbetingelsene.

Den intramolekylære oksidative fenoliske koblingen for å danne **8b** viste seg å være den mest utfordrende reaksjonen å gjennomføre med gode utbytter. Mye stoff gikk til spille i reaksjonen, noe som reduserte det totale utbyttet betraktelig. Det skal være mulig å oppnå de rapporterte utbyttene, så man bør se på forbedring av reaksjonsbetingelsene, slik at man kan få en mer effektiv syntesevei.

ABSTRACT

Many alkaloids have proven to exhibit interesting pharmacological effects. This includes the crinine alkaloids from the *Amaryllidaceae* family. The purpose of this thesis was to synthesize the crinine alkaloids (±)-powelline (**2**) and (±)-buphanidrine (**3**) in a linear synthesis, as a part of a research project at the School of Pharmacy, University of Oslo. These alkaloids have been isolated from the *Amaryllidaceae* plant *Crinum asiaticum* var. *sinicum*, and are valuable targets for total synthesis because of the limited access from their natural sources.

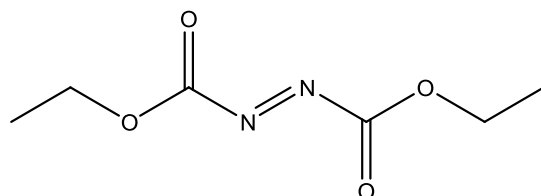
This work led to the total synthesis of (±)-powelline (**2**) in ten steps with a total yield of 2 %. The total synthesis started with the compound **13**, which was converted to the phenol **12** in a Baeyer-Villiger oxidation reaction. The phenol reacted further in an *ortho*-formylation to reach the salicylaldehyde **11a**, that was methylated with MeI and K_2CO_3 to **11b**. Compound **11b** was reacted under reductive amination conditions with tyramine (**10**) to amine **9**. By using trifluoroacetic anhydride, the amine was protected with a trifluoroacetyl group to the intermediate **14**. The key intermediate (**8b**), with the incorporated heterocycle, was obtained by doing an intramolecular oxidative phenolic coupling reaction. Basic hydrolysis of the amide group in **8b** also facilitated the intramolecular Michael cyclization that afforded racemic oxopowelline **15**. A Luche reduction of compound **15**, resulted in the alcohol **16**. The secondary hydroxyl group was finally inverted in a Mitsunobu reaction yielding racemic powelline (**2**). It was attempted to synthesize (±)-buphanidrine (**3**) by methylating the alcohol functionality in **2**. The reaction failed, and because of the limited time and amount of compound **2**, the reaction conditions were not improved.

The intramolecular oxidative phenolic coupling reaction to reach **8b**, was the most difficult reaction to complete with good yields. A lot of the material was lost in this reaction, which reduced the total yield considerably. It should be possible to improve the reported yields, so the reaction conditions should be optimized to achieve a more effective synthesis.

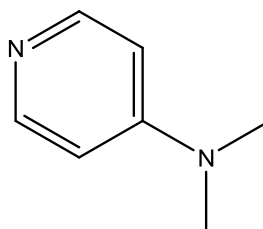
FORKORTELSER

Kjemikalier**Forkortelse** **Kjemisk navn****Kjemisk struktur**

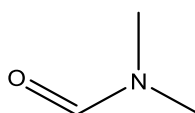
DEAD Dietyl azodikarboksylat



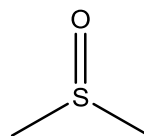
DMAP 4-Dimetylaminopyridin



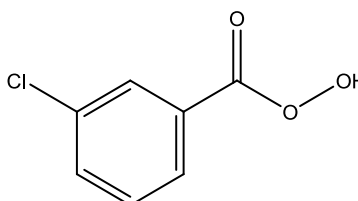
DMF Dimetylformamid



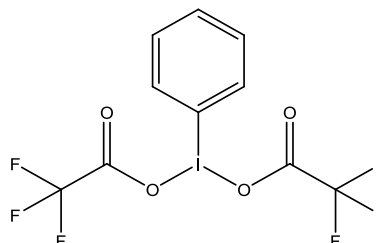
DMSO Dimetylsulfoksid



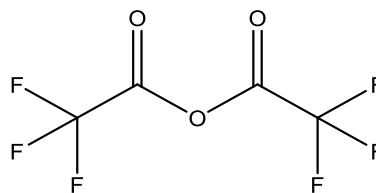
MCPBA 3-kloroperbenzosyre



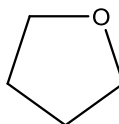
PIFA [Bis(trifluoroacetoksy)iod]benzen



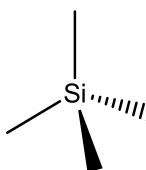
TFAA Trifluoreddiksyre anhydrid



THF Tetrahydrofuran



TMS Tetrametylsilan



Andre forkortelser

 δ Kjemisk skift B_0 Ytre magnetfelt

ekv Ekvivalenter

HOMO Høyeste okkuperte molekylorbital

 I Kjernespin J Koblingskonstant

LUMO Laveste uokkuperte molekylorbital

NMR Nuclear magnetic resonance, kjernemagnetisk ressonans

 R_F Retardasjonsfaktor

TLC Tynnsjiktskromatografi

UV Ultrafiolett stråling

INNHOLDSFORTEGNELSE

1. Generell innledning.....	1
1.1. Bakgrunn.....	1
1.1.1 Alkaloider.....	1
1.1.2. <i>Amaryllidaceae</i> – Alkaloider	2
1.1.3. Biologiske virkningmekanismer	5
1.2. Retrosyntese.....	7
1.2.1 Syntesestrategi.....	7
1.2.2. Konvergent og lineær syntese	9
1.3. Målsetning med oppgaven	10
1.4. Kjemisk bakgrunn.....	11
1.4.1 Baeyer-Villiger oksidasjon	11
1.4.2 <i>Ortho</i> -formylering av fenol	12
1.4.3. S _N 2-substitusjon.....	13
1.4.4. Reduktiv aminering.....	14
1.4.5 Acetylering med anhydrid og katalysator	15
1.4.6. Intramolekylær oksidativ kobling.....	17
1.4.7. Michael addisjon	18
1.4.8. Luche reduksjon	19
1.4.9. Mitsunobu reaksjon	20
1.4.10. Bruk av beskyttelsesgrupper.....	21
1.5 Kromatografi	22
1.5.1 Tynnsjikt-kromatografi (TLC)	22
1.5.2 Søylekromatografi	23
1.6 Nuclear Magnetic Resonans (NMR).....	24
1.7. Ultrafiolett spektroskopi.....	26
2. Resultater og diskusjon	27
2.1 Introduksjon	27
2.2. Syntese 1	30
2.3 Syntese 2	32
2.4 Syntese 3	33
2.5 Syntese 4	34

2.6 Syntese 5	36
2.7 Syntese 6	37
2.8 Syntese 7	39
2.9. Syntese 8	40
2.10 Syntese 9 og 10	41
2.11 Syntese 11	43
3 Oppsummering og veien videre	44
4. Eksperimentelt	46
4.1 Generelt	46
4.2 Syntese av 2,3-metylenedioksyfenol (12).....	47
4.3 Syntese av 4-hydroksybenzo[<i>d</i>][1,3]dioksol-5-karbaldehyd (11a).....	49
4.4 Syntese av 4-metoksybenzo[<i>d</i>][1,3]dioksol-5-karbaldehyd (11b).....	51
4.5 Syntese av 4-(2-((4-metoksybenzo[<i>d</i>][1,3]dioksol-5-yl)metylamino)etyl)fenol (9)	53
4.6 Syntese av 2,2,2-trifluoro- <i>N</i> -(4-hydroksyfenetyl)- <i>N</i> -((4- metoksybenzo[<i>d</i>][1,3]dioksol-5-yl)metyl)acetamid (14).....	55
4.7. Syntese av 2-(trifluoroacetyl)-7,8-(metylenedioksy)-9-metoksy-2,3,4,5- tetrahydro-1 <i>H</i> -[2]benzazepin-5-spiro-1'-sykloheksa-2',5',-dien-4'-on (8b).....	58
4.8. Syntese av (±)-Oksopowelline (15)	60
4.9. Syntese av (±)-Epipowelline (16).....	62
4.10 Syntese av <i>O</i> -formyl-powelline.....	64
4.11. Syntese av (±)-Powelline (2)	66
4.12. Forsøk på syntese av (±)-Bufanidrine (3)	68

 INDEKS FOR FIGURER, SKJEMAER OG TABELLER

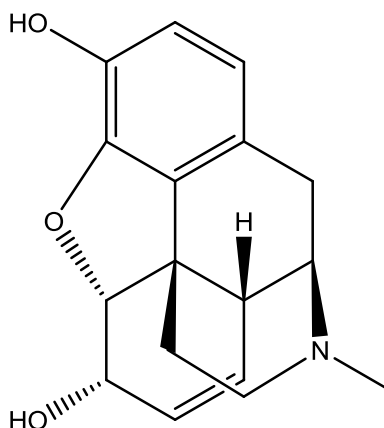
Figur 1 Morfin (1).....	2
Figur 2 Strukturskjema av målmolekylene (2) og (3).....	4
Figur 3 <i>Crinum asiaticum</i> var. <i>sinicum</i>	5
Figur 4 Serotonin (4).....	6
Figur 5 Strukturen til noen krinin alkaloider fra Amaryllidaceae familien.....	8
Figur 6 Resonansstabilisering av intermedietet	16
Figur 7 Illustrasjon av TLC-plate fra syntese 1	23
Figur 8 Illustrasjon av atomkjernenes orientering ved et ytre magnetfelt.....	24
Figur 9 Enkel illustrasjon av eksitasjon av elektroner mellom energinivåer	26
Figur 10 Karbaminsyre	34
Skjema 1 Biosyntese av Norbelladine (18)	3
Skjema 2 Biosyntese av krinin alkaloider	4
Skjema 3 Retrosyntetisk analyse basert på en biomimetisk strategi	9
Skjema 4 Mekanismen i Baeyer-Villiger oksidasjonen	11
Skjema 5 Reaksjonsskjema for Baeyer-Villiger oksidasjon	11
Skjema 6 Mekanismen for ortho-formylering av fenolen.....	12
Skjema 7 Mekanismen til S _N 2-substitusjon.....	13
Skjema 8 Reaksjonsskjema for reduktiv aminering av 11B.....	14
Skjema 9 Illustrasjon av amidannelsen med TFAA og DMAP	15
Skjema 10 Reaksjonsskjema for intramolekylær oksidativ kobling	17
Skjema 11 Mekanismen i Michael addisjon.....	18
Skjema 12 Mekanismen i Luche reduksjonen	19
Skjema 13 Mekanismen i Mitsunobu reaksjonens tre trinn	20
Skjema 14 Baeyer-Villiger reaksjon til fenolen 12	30
Skjema 15 Uønsket sidereaksjon ved protonering.....	31
Skjema 16 Ortho-formylering til salisylaldehydet 11a.....	32
Skjema 17 Williamson etersyntese til forbindelse 11b	33
Skjema 18 Reaksjon for syntese av 9, en reduktiv aminering	34
Skjema 19 Beskyttelse av det sekundære aminet.....	36
Skjema 20 Michael addisjon til forbindelse 8b	37
Skjema 21 Basisk hydrolyse av amidet førte til en intramolekylær michael syklisering. 39	
Skjema 22 Luche reduksjon av karbonyl	40
Skjema 23 To trinns reaksjon for å danne powelline(2).....	41
Skjema 24 Metylering av den inverterte alkoholen til metoksieteren	43
Tabell 1 Fremstilte molekyler i denne avhandlingen.....	28

1. GENERELL INNLEDNING

1.1. BAKGRUNN

1.1.1 ALKALOIDER

Alkaloider er nitrogenholdige organiske forbindelser som ofte har komplekse strukturer og mange viser signifikante farmakologiske egenskaper.¹ Alkaloider finnes i alle planter, og de kan isoleres fra alle deler av en plante. I følge Samuelsson er det gjerne i bark, blader og frukter, konsentrasjonen av alkaloider er høyest.² Derimot er det ikke nødvendigvis der alkaloidene produseres, da det er observert en aktiv transport av alkaloider i planter.² Alkaloidene dannes gjerne fra aminosyrer i biosyntesen, og ofte vil andre prekursorer som for eksempel terpenener og steroider bli bygd inn i alkaloidskjellettet. Biosyntesen til alkaloider kan derfor ofte ikke forklares i detalj som én hovedbiosyntesevei, men involverer som regel produkter fra to eller flere av disse rutene.² Dette gjør det vanskelig å lage en klar definisjon som ekskluderer andre nitrogenholdige forbindelser som for eksempel aminosyrer, enkle aminer, peptider, nukleinsyrer og vitaminer. S.W. Pelletier definerte i 1983 alkaloider som: *"An alkaloid is a cyclic organic compound containing nitrogen in a negative oxidation state which is of limited distribution among living organisms"*.³ Alkaloider er *sekundære metabolitter* i mange organismer. Det vil si at de ikke deltar i de metabolske prosessene som er livsnødvendige, men har gjerne en økologisk funksjon. Og alkaloider har som sagt, gjerne en farmakologisk virkning på mennesker og dyr. Eksempelvis er morfin (**1**), 7,8-didehydro-4,5-epoksy-17-metylmorfinan-3,6-diol, et alkaloid som brukes som smertelindring i legevitenenskapen.⁴



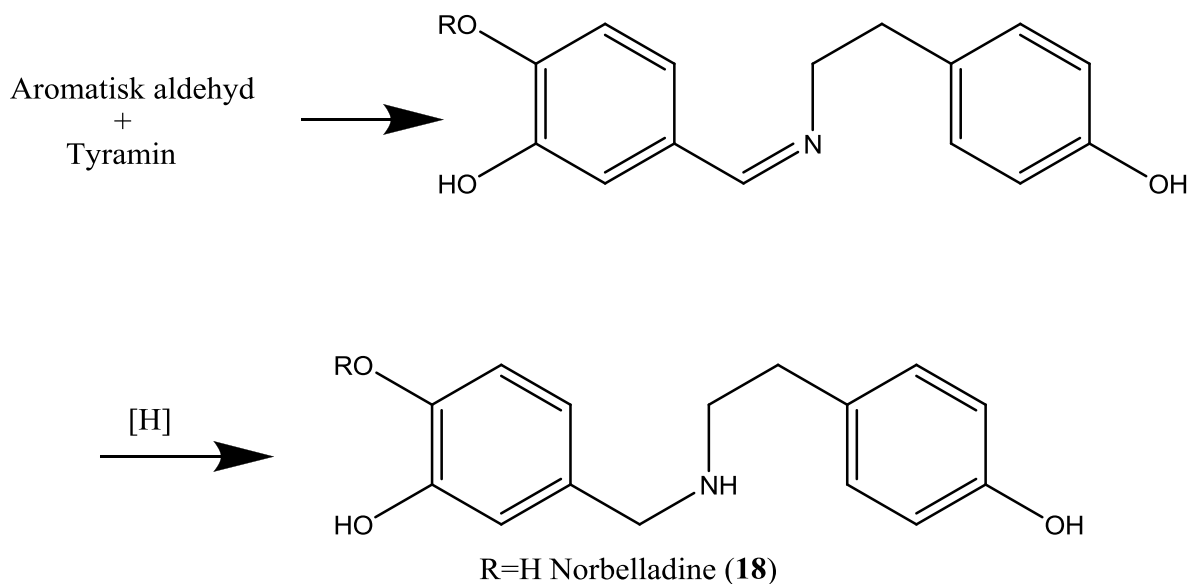
FIGUR 1 MORFIN (1)

1.1.2. AMARYLLIDACEAE – ALKALOIDER

Gjennom årtusener har noen plantefamilier blitt brukt terapeutisk mot ulike sykdommer. Disse er kjent som plantemedisiner. I de siste tiår, har man i kombinasjon med blant annet kjemisk syntese, datamodellering av molekyler og andre teknikker gjort store medisinske oppdagelser av nye virkestoffer mot farmakologiske mål med utgangspunkt i naturprodukter. Mange farmakologiske aktive forbindelser, inkludert alkaloider, fenoler, lektiner, peptider m.m. er blitt isolert fra planter i *Amaryllidaceae* familien, som inkluderer omtrent 75 slekter og 1600 arter.⁵ Familien er blant topp 20 i mest brukte medisinplantefamilier.³ Disse alkaloidene klassifiseres gjerne som *Amaryllidaceae* alkaloider. Denne plantefamilien har ifølge Hartwell vært kjent som medisinplanter siden den greske antikken, der oljer fra *Narcissus* slekten ble brukt til behandling av kreft.⁶ Det er mange ulike typer alkaloider i denne gruppen, og derfor grupperes de etter biosyntesevei framfor strukturellhet.⁴ Jin beskriver hvordan *Amaryllidaceae* alkaloidene fra *Galantus* blir syntetisert på tre ulike måter i deres metabolske biosyntese, der alle inkluderte ulike typer av intramolekylære oksidative fenoliske koblinger.⁷

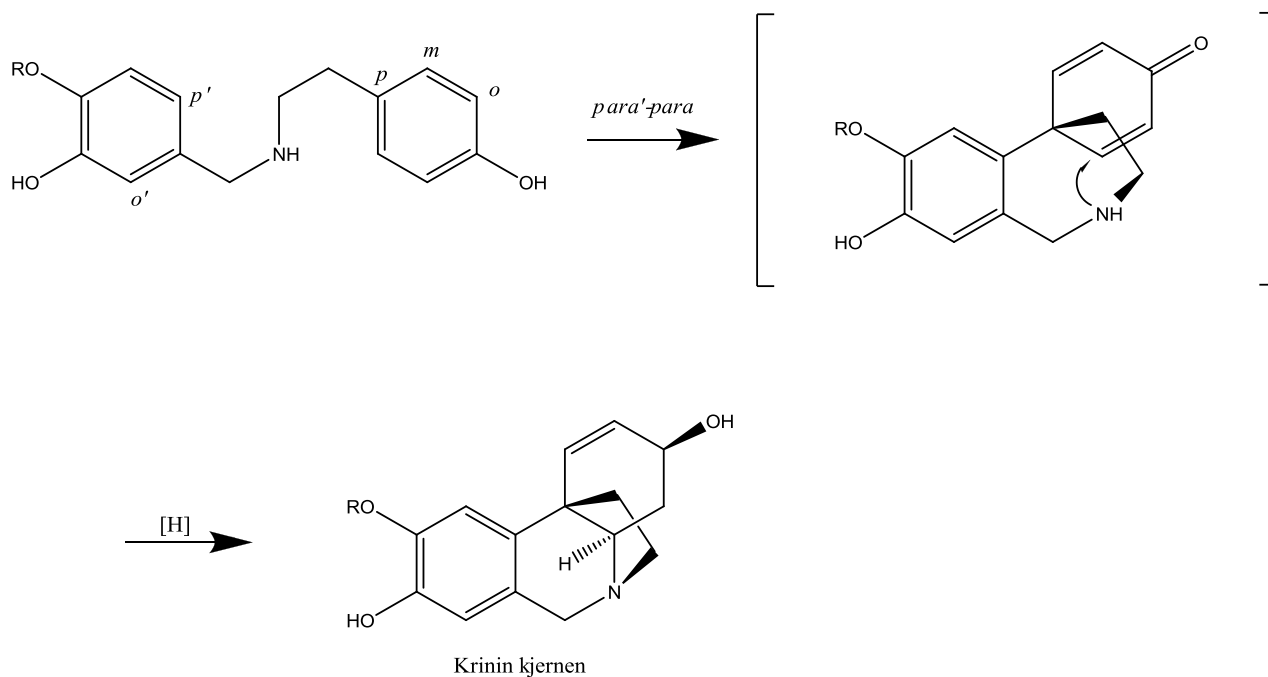
Amaryllidaceae alkaloidene har mange ulike strukturer, men alle er biosyntetiske derivater av norbelladine (**18**), eller dens derivater.⁸ Norbelladine produseres i planter

fra det aromatiske aldehydet 3,4-dihydroksybenzaldehyd og tyramin. Andre aromatiske aldehyder gir derivater av norbelladine, se skjema 1.



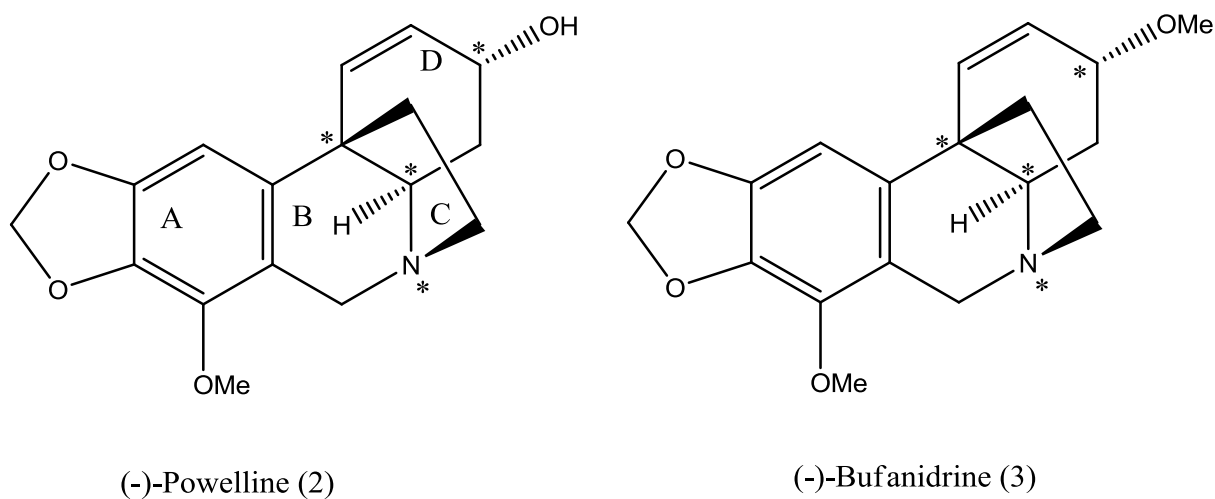
SKJEMA 1 BIOSYNTETISKE AV NORBELLADINE (18)

Zhong har beskrevet biosyntesen til krinin alkaloidene, som er den største familien.⁸ De produseres ved en intramolekylær oksidativ *para'*-*para* fenolisk kobling av norbelladine, etterfulgt av en nukleofil addisjon av aminet på dienonet som gir kjernen av krininalkaloider. Mekanismen er vist i skjema 2.



SKJEMA 2 BIOSYNTESE AV KRININ ALKALOIDER

Powelline (2) og Bufanidrine (3), som er mål molekylene i denne avhandlingen er begge isolert fra *Amaryllidaceae*-planten *Crinum asiaticum* var. *sinicum*, figur 3.



FIGUR 2 STRUKTURSKEJEMA AV MÅLMOLEKYLENE (2) OG (3)

Som det fremgår av figur 2, består målmolekylene av fire stereogene sentra og fem ringer; en aromatisk, en umettet, og to hetrocykler. Det eneste som skiller dem er at bufanidrine (**3**) inneholder en metoksieter i stedet for en allylisk alkohol på ring D.



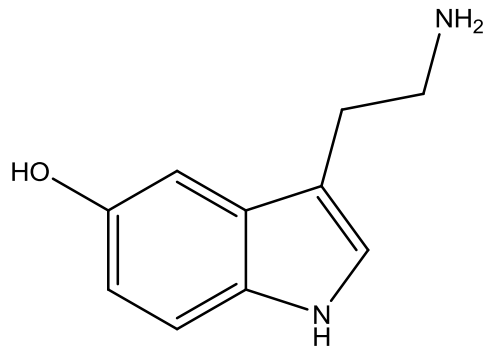
FIGUR 3 *CRINUM ASIATICUM* VAR. *SINICUM* ⁹

Nylig har Chen et *al.* isolert flere alkaloider fra denne planten.¹⁰ De karakteriserte 21 forbindelser, hvor syv av disse viste seg og være nye. I tillegg isolerte de to forbindelser som ikke tidligere har vært funnet i naturen, men som har vært lagd som syntetiske produkter.

Mange strukturer i denne klassen med alkaloider viser interessante biologiske egenskaper, blant annet immuno-stimulerende, cytotoxisk, antimalarial, og antikolinergik aktivitet. Isolering av forbindelser som viser seg å ha slike biologiske egenskaper, gir utslag i to forskningsområder; utvikling av organiske synteser for å lage de aktuelle forbindelsene, og analyser for å finne ut av hvilke forbindelser som kan bli brukt i videre studier på biokjemiske virkningsmekanismer.¹¹

1.1.3. BIOLOGISKE VIRKNINGMEKANISMER

Mange alkaloider er neurotransmittere, det vil si at de medierer transmisjonen av nerveimpulser.¹² Både powelline (**2**) og bufanidrine (**3**) har vist effekt i behandling av depresjon, da det virker inn på serotonin transporter [H3]-citalopram bindingsassay.¹³ Serotonin (5-hydroksytryptamin) (**4**) er hormonet og neurotransmitteren, som er involvert i overføring av de nerveimpulsene i sentralnervesystemet som påvirker sinnsstemningen. Serotonin transporter er membranprotein som frakter denne neurotransmitteren fra synapser til presynaptiske neuroner.¹⁴



FIGUR 4 SEROTONIN (4)

Powelline (**2**) har også vist interessante cytotoxiske egenskaper ved selektiv aktivering av procaspase-3 til caspase-3. Kreftceller har en signifikant forhøyet konsentrasjonsverdi av procaspase-3.¹⁵ Dette kan føre til programmert celledød. Den direkte aktiveringen av procaspase-3 til caspase-3 er derfor en viktig strategi for å behandle kreftpasienter med forhøyede verdier av procaspase-3.

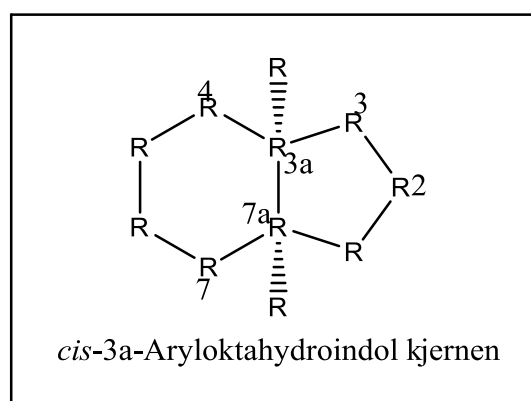
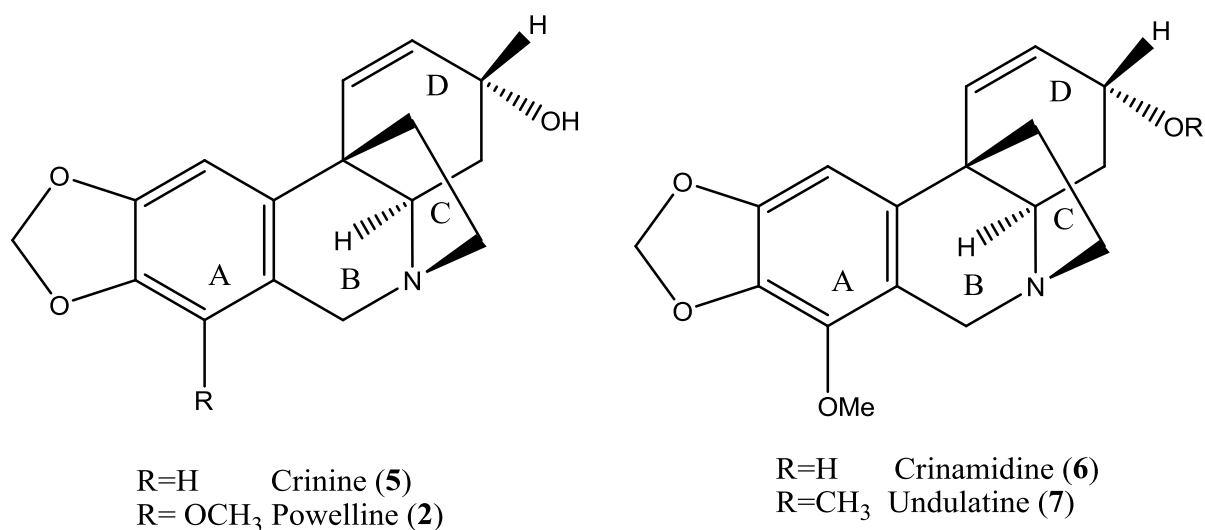
1.2. RETROSYNTESE

Mange av de medisinsk mest interessante naturproduktene forekommer ofte i svært små mengder i naturen. Derfor er det av stor interesse å anskaffe tilstrekkelige mengder av nyoppdagede forbindelser. Når man skal finne en syntesestrategi er det vanlig å ta utgangspunkt i målmolekylet. Målmolekylet deles så i fragmenter etter bestemte regler til man sitter igjen med utgangsstoffer som er lett tilgjengelig. Det å planlegge en kjemisk syntese på denne måten kalles en *retrosyntetisk analyse* og defineres av E. J. Corey som "en problemløsende teknikk for omforming av strukturen til et syntetisk målmolekyl til en sekvens av stadig enklere strukturer, som til slutt leder til enkle kommersielt tilgjengelige startmaterialer for kjemisk syntese".¹⁶

Siden man ønsker å finne fragmenter som er lette å syntetisere er det derfor logisk å starte med de delene som gir opphav til kompleksiteten i molekylet. Med kompleksitet tenker man på antall stereogene sentra og ringer. Det er også viktig at fragmentene er syntetisk oppnåelig eller kommersielt tilgjengelige, og at koblingen av dem er mulig. Enhver frakobling må altså korrespondere til en kjent og pålitelig reaksjon. Ofte vil det også være mange mulige synteseveier frem til et målmolekyl. Hvilken av disse som er best egnet, forandres kontinuerlig av hvilke stoffer, metoder og instrumenter som er tilgjengelig.

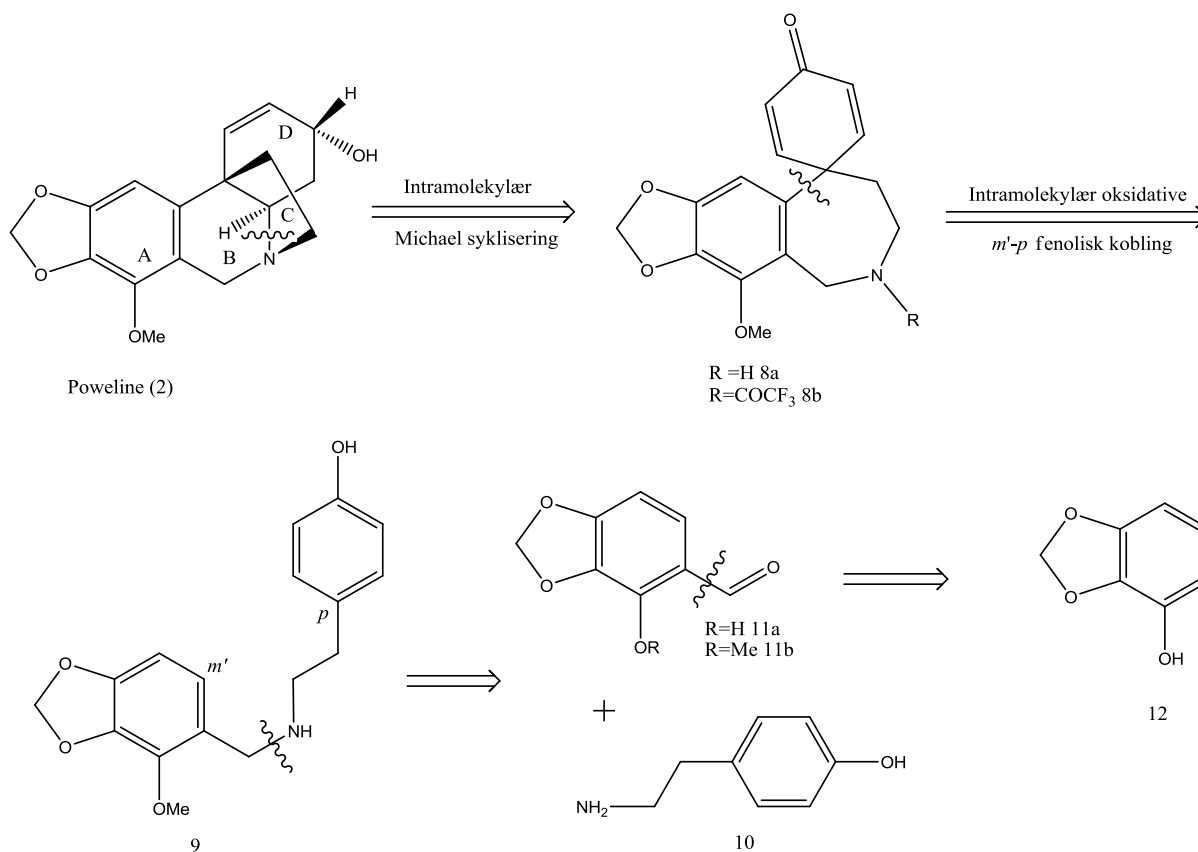
1.2.1 SYNTESESTRATEGI

Det er skjelettet av *cis*-3a-aryloktahydroindol (Figur 5) som karakteriserer krinin-klassen av alkaloider, slik som crinine (**5**), poweline (**2**), crinamidine (**6**) og undulatine (**7**). Disse fire forbindelsene representerer en viktig undreklasse i den store familien av *Amaryllidaceae* alkaloider.



FIGUR 5 STRUKTUREN TIL NOEN KRININ ALKALOIDER FRA AMARYLLIDACEAE FAMILIEN

Det er utviklet noen felles strategier for å syntetisere hovedskjelettet i disse alkaloidene. Disse inkluderer dannelsen av et kvaternært karbon og fire stereogene sentra. Likevel er det inkorporeringen av det sterisk hindrede kvaternære sentra som er det kritiske elementet i alle totalsynteser av krinin typer av alkaloider. I dag er det få synteser som har klart å løse denne utfordringen. De fleste strategiene baseres på *biomimetiske strategier*.^{7,8} Det vil si at man tar utgangspunkt i et aminospirodienon, som **8a**, som et nøkkel-mellomprodukt. Dannelsen av AB/BD ringene nås ved en intramolekylær oksidativ fenolisk kobling av **9**, etterfulgt av en intramolekylær Michaelisyklisering av **8a**, se skjema 3.



SKJEMA 3 RETROSYNTETISK ANALYSE BASERT PÅ EN BIOMIMETISK STRATEGI

1.2.2. KONVERGENT OG LINEÆR SYNTSE

I en lineær syntese settes en og en bit på molekylet for hvert syntesetrinn, i motsetning til i en konvergent syntese der fragmenter som har blitt laget hver for seg kobles sammen til slutt. Målet med en konvergent strategi er å få en kort og effektiv syntese med et bedre utbytte. Totalsyntesen av powelline (2), som er beskrevet i denne avhandlingen, går over 10 trinn. Dersom utbyttet i hver reaksjon er 50 %, vil det totale utbyttet bli kun 9,7 % ($0,5^{10}$). Med en konvergent syntese vil utbyttet bli betydelig høyere avhengig av hvilke fragmenter som bygges opp. Det er ikke alltid mulig med kun konvergent tilnærming, så en total syntese strategi vil ofte være en kombinasjon av lineær og konvergent syntese.¹⁷

En annen fordel med konvergent tilnærming er at det kan være tryggere og mer kontrollerbart. Dersom det for eksempel ligger mye jobb bak koblingen av to forbindelser er det risikabelt å eksperimentere videre med påkobling av de to neste forbindelsene. Risikoen ved koblingen av de to siste kan dermed fjernes ved at denne koblingen gjøres separat.

Metoden kan også være nyttig for å unngå eksponering av farlige kjemikalier. Da man ved en lineær syntese vil utsettes for et stoff i eksempelvis tre trinn, vil man i en konvergent syntese derimot kun utsettes i to trinn. Samme prinsipp gjelder også hvis et stoff er ustabilt, men mer stabilt når koblet sammen til neste molekyl. Færre trinn vil da også være gunstig.

1.3. MÅLSETNING MED OPPGAVEN

Denne avhandlingen er en videreføring av arbeidet til Ph.D Hany Anwar som ble gjort ved Farmasøytisk Institutt, Universitetet i Oslo i 2009. Målet med oppgaven var å videreutvikle syntesestrategier for flere, og andre krinin alkaloider. Første delmål var å syntetisere alkaloidet powelline (**2**), via nøkkelintermediatet **8a** som nås ved en intramolekylær oksidativ fenolisk kobling. Dette var Anwars målmolekyl. Når dette var gjort, var målet å få syntetisert bufanidrine (**3**), ved å gjøre en metylering av den allyliske alkoholen i powelline.

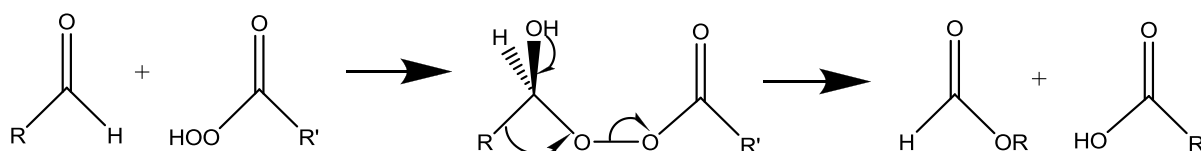
På grunn av deres interessante strukturer, begrensede tilgang og de nevnte bioaktivitetene, er disse naturproduktene verdifulle mål for en totalsyntese.¹⁸

1.4. KJEMISK BAKGRUNN

1.4.1 BAEYER-VILLIGER OKSIDASJON

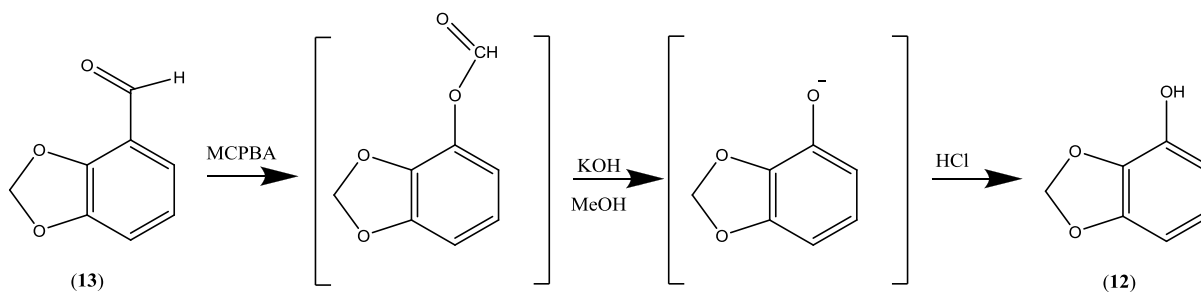
En Baeyer-Villiger oksidasjon er en oksidativ bryting av en karbon-karbon binding ved en karbonyl. Man bruker ofte MCPBA, som er en persyre og et oksidasjonsmiddel, og som gir innskudd av et oksygenatom mot et keton eller en aldehydkarbonyl og blir da en ester.¹²

Mekanismen i Baeyer-Villiger oksidasjonen begynner med en nukleofil addisjon av persyren til karbonylen, som gir peroksiesteren. Bindingen mellom de to oksygenatomene brytes i det R gruppen migrerer med sine elektroner til oksygenet. Dette resulterer i dannelsen av esteren og karboksylsyren.



SKJEMA 4 MEKANISMEN I BAEYER-VILLIGER OKSIDASJONEN

I dette tilfellet skjer reaksjonen på aldehydet (**13**), og da går oksygenet inn mellom karbonene, se skjema 5. På et keton vil oksygenet alltid gå inn på den siden som gir det mest stabile karbokationet. Dette er en svært stereospesifikk reaksjon.¹²



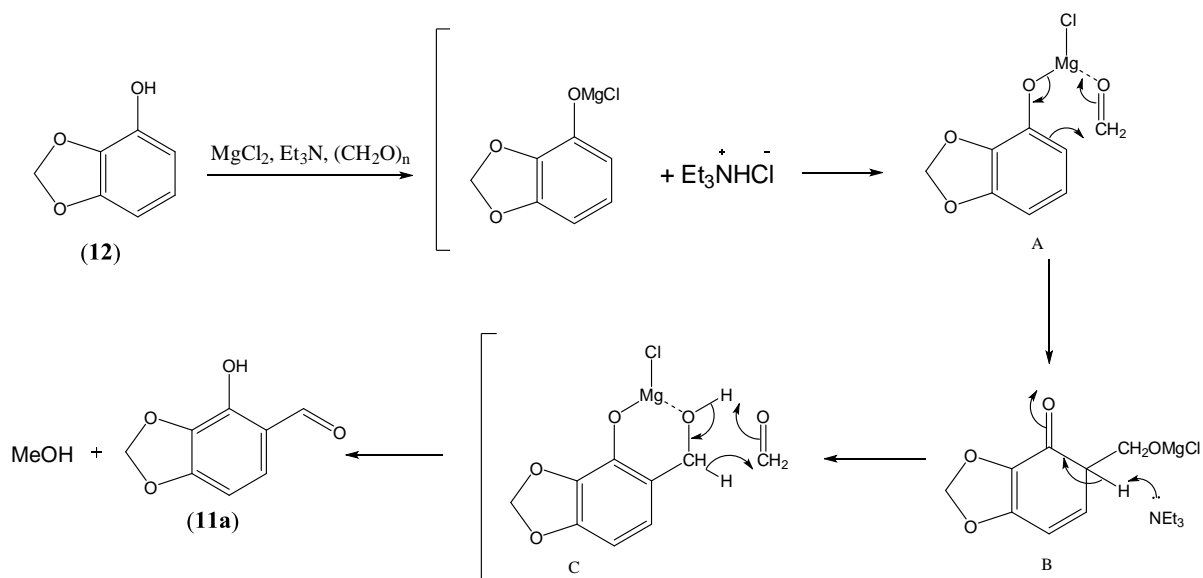
SKJEMA 5 REAKSJONSSKJEMA FOR BAEYER-VILLIGER OKSIDASJON

I dette tilfellet ønsker man å hydrolysere karbonylen slik at man kan danne fenolen. Dette gjøres ved å reagere med KOH i MeOH.

1.4.2 ORTHO-FORMYLERING AV FENOL

En *formylering* vil si at et organisk molekyl får tilført den funksjonelle gruppen COH. En *ortho*-formylering vil dermed si et innskudd av et aldehyd *ortho* til fenolen. Formylering av aromatiske forbindelser er en viktig reaksjonstype i organisk kjemi, og det finnes flere tilgjengelige metoder.¹⁹

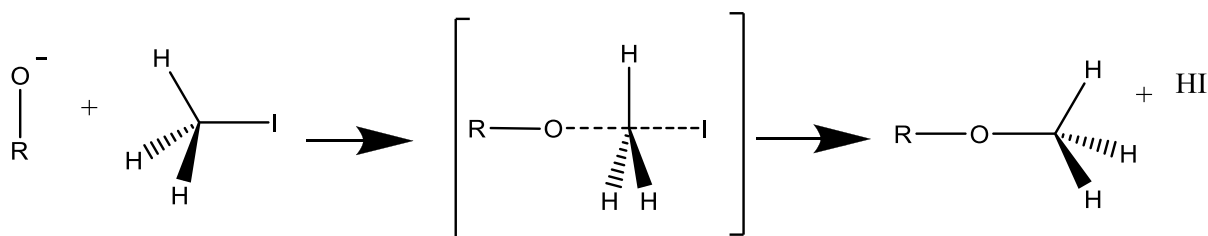
Mekanismen, som er vist i skjema 6, er rapportert av Hofsløkken og Skattebøl.²⁰ Den viser at reaksjonen initieres av basesystemet som gir saltet (A). Dette magnesiumsaltet er avgjørende for resten av reaksjonen, da ingen reaksjon skjer uten tilsetning av MgCl_2 . Intermediatet (A) reagerer så med formaldehyd gjennom sykloheksadienon strukturen og gir (B). (B) reager videre med trietylamin og danner (C) som tar del i en redoks reaksjon med formaldehyd, som gir metanol og salisylaldehydet 4-hydroksybenzo[*d*][1,3]dioksol-5-karbaldehyd (**11a**).



SKJEMA 6 MEKANISMEN FOR ORTHO-FORMYLERING AV FENOLEN

1.4.3. S_N2-SUBSTITUSJON

En S_N2-reaksjon er en ett-trinns prosess for inversjon av konfigurasjonen i sp³-hybridiserte karbonatomer. Det vil si at bindingen til den utgående gruppen begynner å brytes samtidig som bindingen til nukleofilen begynner å dannes. Man tilsetter en base som fjerner det sure protonet på fenolen, slik at man danner anionet som blir nukleofilen i reaksjonen. Nukleofilen angriper på "baksiden" av det sp³-hybridiserte karbonet som den utgående gruppen er bundet til, og det fører til inversjonen av konfigurasjonen.¹

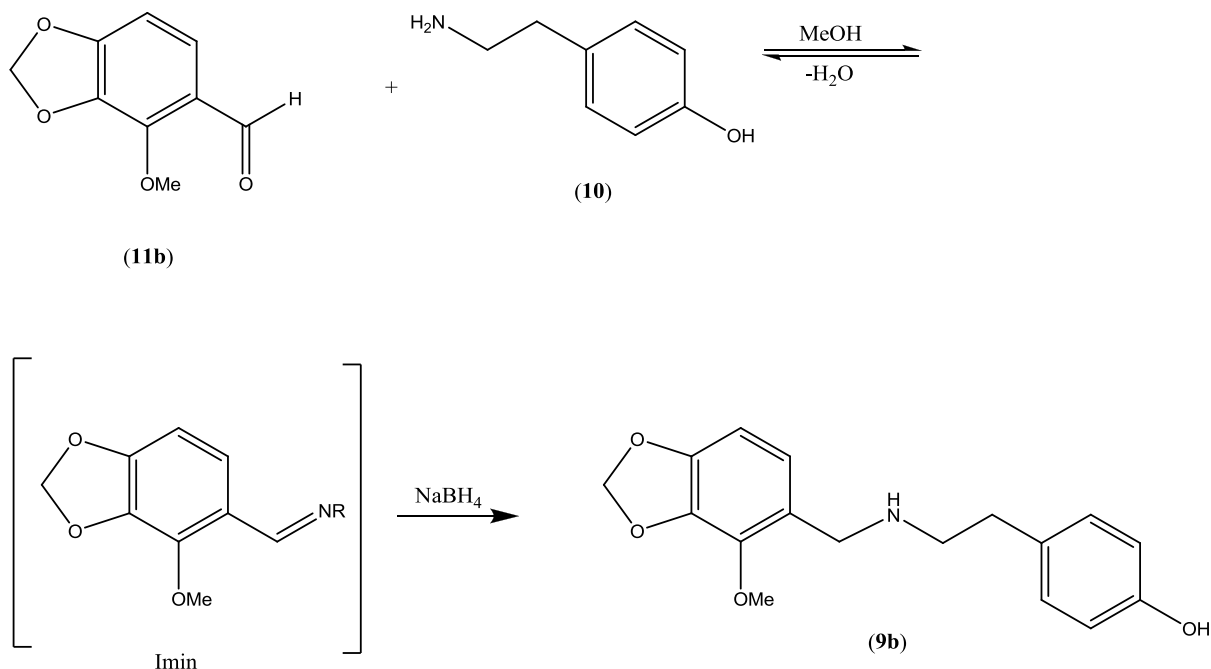
SKJEMA 7 MEKANISMEN TIL S_N2-SUBSTITUSJON

Metyljodid er et supert substrat for S_N2-substitusjon. Den er sterisk åpen for angrep fra nukleofilen, og jod er en god utgående gruppe.

1.4.4. REDUKTIV AMINERING

Et amin er et derivat av ammonium, der et eller flere av hydrogenatomene er erstattet med en R-gruppe. Avhengig av antall hydrogen som er erstattet blir aminene klassifisert som primære, sekundære og tertiære.

Det er det primære aminet, tyramin (**10**), som skal kobles med salisylaldehydet (**11b**) i denne reaksjonen. Dette skjer via et imin. Den reductive amineringen fører til at aminet blir sekundært ved å redusere oksidasjonsnivået til forbindelsen. Reaksjonsskjema vises i skjema 8.



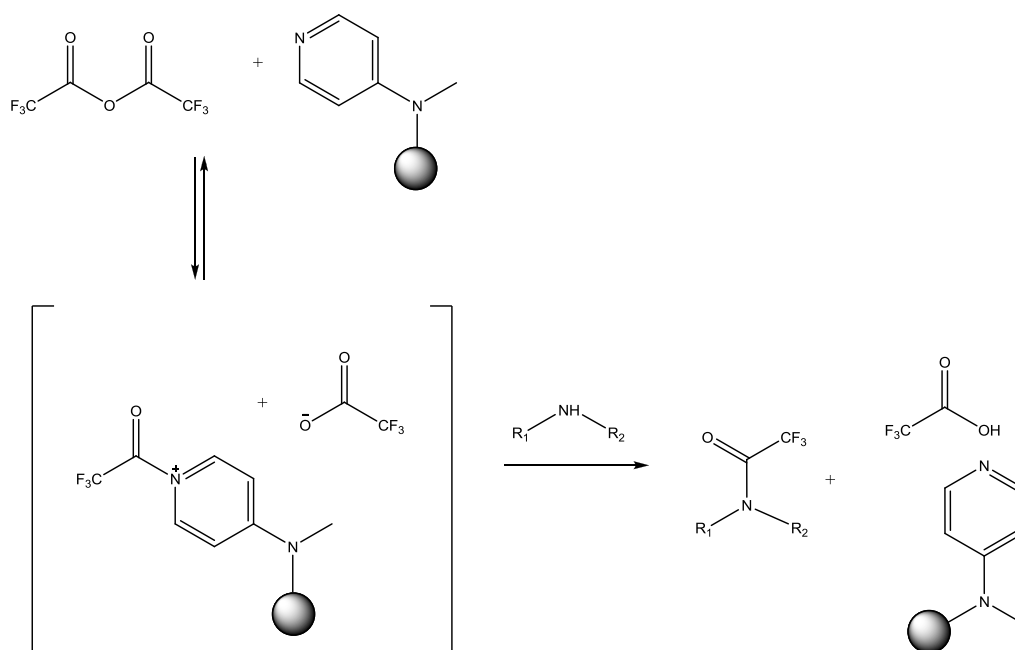
SKJEMA 8 REAKSJONSSKJEMA FOR REDUKTIV AMINERING AV 11B

Mekanismen involverer et nukleofilt angrep på karbonylgruppa, som fører til dannelsen av et imin. I dette tilfellet er det et primært amin som brukes. Iminet som dannes som intermediat i denne reaksjonen er da *N*-substituert og kalles også *Schiffs base*. Ved å redusere C=N bindingen i mellomproduktet, i dette tilfellet med NaBH₄, dannes det sekundære aminet (**9**).

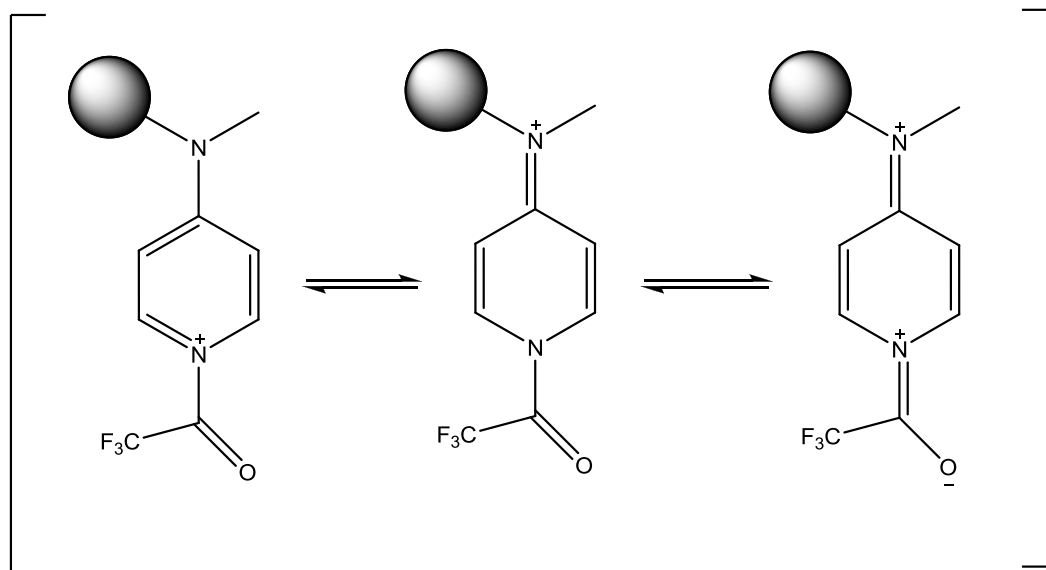
Man kan danne alle typer aminer ved reduktiv aminering. Ved bruk av NH₃ dannes primære aminer og for å danne tertiære aminer kan man bruke piperidin, da via et iminiumion.

1.4.5 ACETYLERING MED ANHYDRID OG KATALYSATOR

En *acetylering* vil si at et organisk molekyl får innført den funksjonelle gruppen COCH_3 . Dette skjer ofte ved bruk av et anhydrid. I dette tilfellet er acetylgruppen som innføres fluorert. DMAP er en nukleofil katalysator i reaksjonen, se skjema 9. DMAP reagerer først med anhydridet og danner et salt intermediet. Det acetylte intermediet reagerer så som en elektrofil på aminet, og produktet **14** dannes.

SKJEMA 9 ILLUSTRASJON AV AMIDDANNELSEN MED TFAA OG DMAP²¹

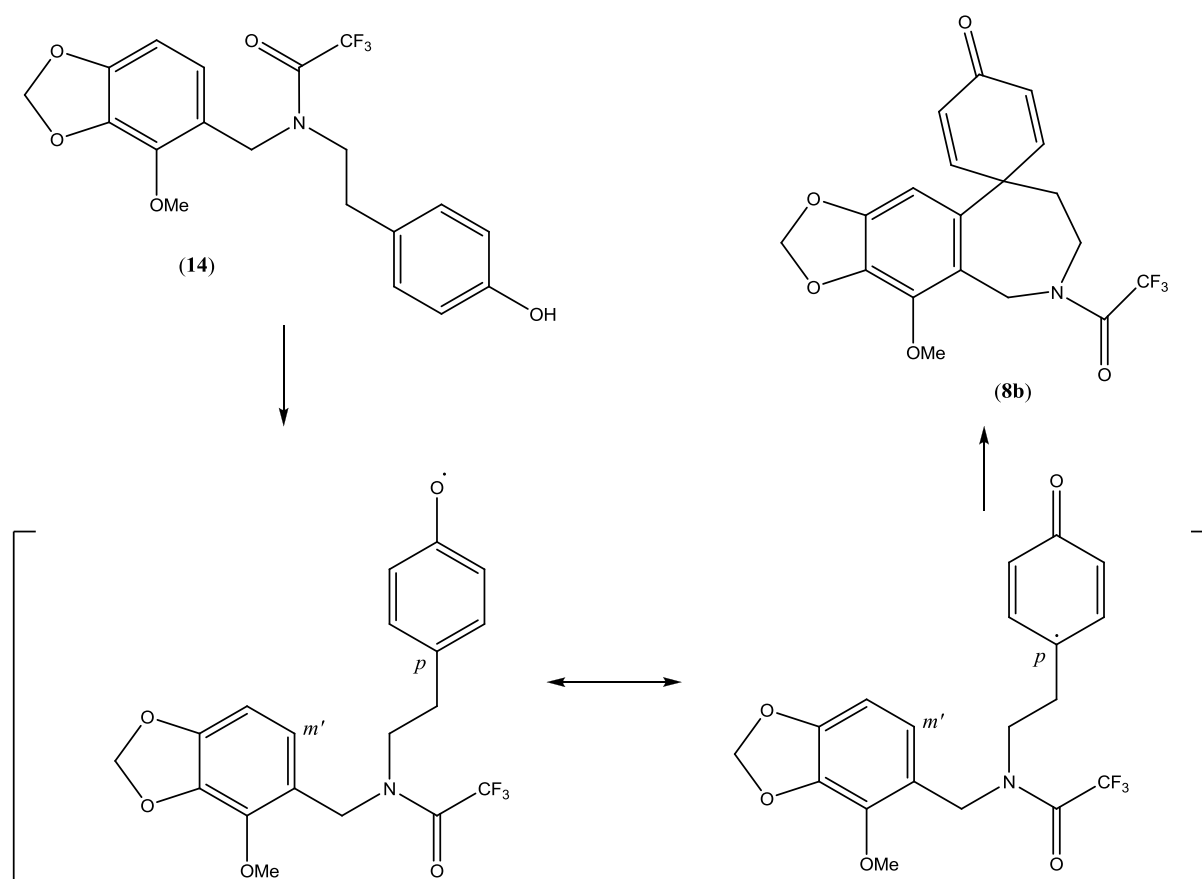
På grunn av den unike strukturen til DMAP, vil intermediet resonansstabiliseres, se figur 6.



FIGUR 6 RESONANSSTABILISERING AV INTERMEDIATET

1.4.6. INTRAMOLEKYLÆR OKSIDATIV KOBLING

Dannelsen av heterosykelen i denne ring-lukkings reaksjonen er nøkkelreaksjonen i biosyntesen av *Amaryllidaceae* alkaloider. Vanligvis bruker man heteroatomet som nukleofilen i en intramolekylær substitusjon eller addisjons reaksjon når man danner heterosykler. Men i dette tilfellet er det en intramolekylær oksidativ fenolisk kobling som bidrar til dannelsen av ringen. Det er en *meta'*-*para* binding som dannes mellom de to aromatene. Mekanismen til slike reaksjoner involverer et reaktivt radikal kation som intermediat, se skjema 10.

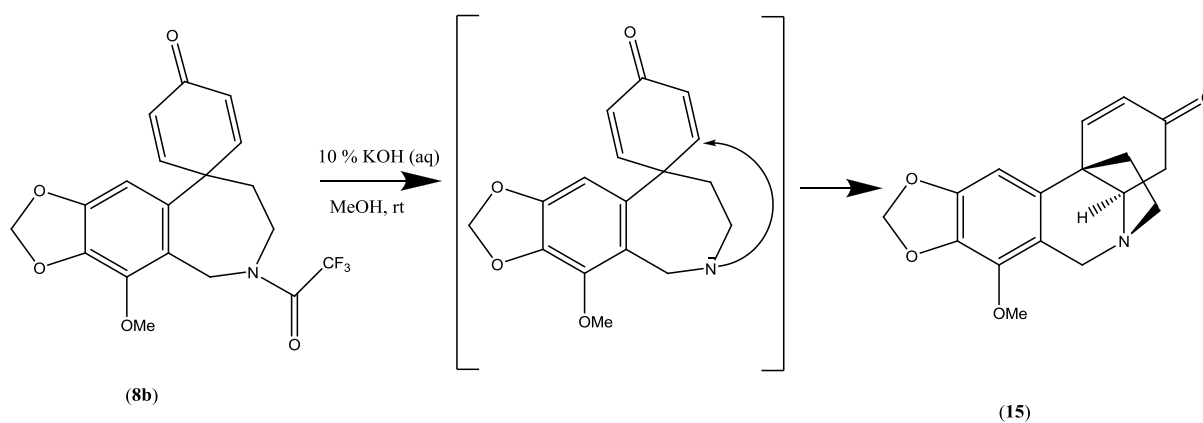


SKJEMA 10 REAKSJONSSKJEMA FOR NØKKELEKREKSJONEN, DEN INTRAMOLEKYLÆRE OKSIDATIVE KOBLINGEN

1.4.7. MICHAEL ADDISJON

En Michael addisjon involverer en konjugert addisjon av en nukleofil fra en aktiv hydrogenforbindelse, til en α,β -umettet karbonylforbindelse. En α,β -umettet karbonylforbindelse består av to elektrofile deler; karbonyl karbonet, og β -karbonet. Denne reaksjonen er veldig vanlig, og foregår i mange α,β -umettet karbonylforbindelser.

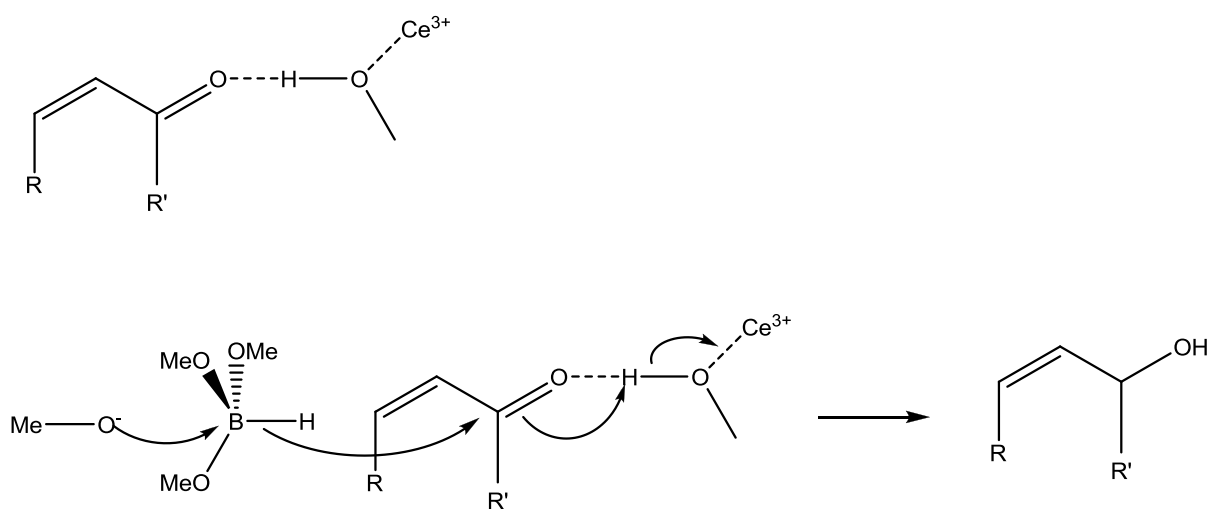
I denne oppgaven blir en intramolekylær Michael syklisering utført ved først å utføre en basisk hydrolyse av amidet, slik at man får det sekundære aminet, som i reaksjonen reagerer som nukleofil. Den binder seg til β -karbonene og man får en 1,4-addisjon, se skjema 11.



SKJEMA 11 MEKANISMEN I MICHAEL ADDISJON

1.4.8. LUCHE REDUKSJON

Luche reduksjon er en selektiv 1,2-reduksjon av α,β -umettede aldehyder og ketoner ved bruk av natriumborhydrid sammen med CeCl_3 . CeCl_3 aktiverer metanolen i tillegg til at CeCl_3 er en selektiv Lewis-syre katalysator for metanolysen av natriumborhydrid. Dette resulterer i reagenser av ulike natrium metoksyborhydrid, som er "harde" reduksjonsmidler. Dette gir en 1,2-reduksjon med høyere selektivitet.²² Mekanismen er skissert i skjema 12.



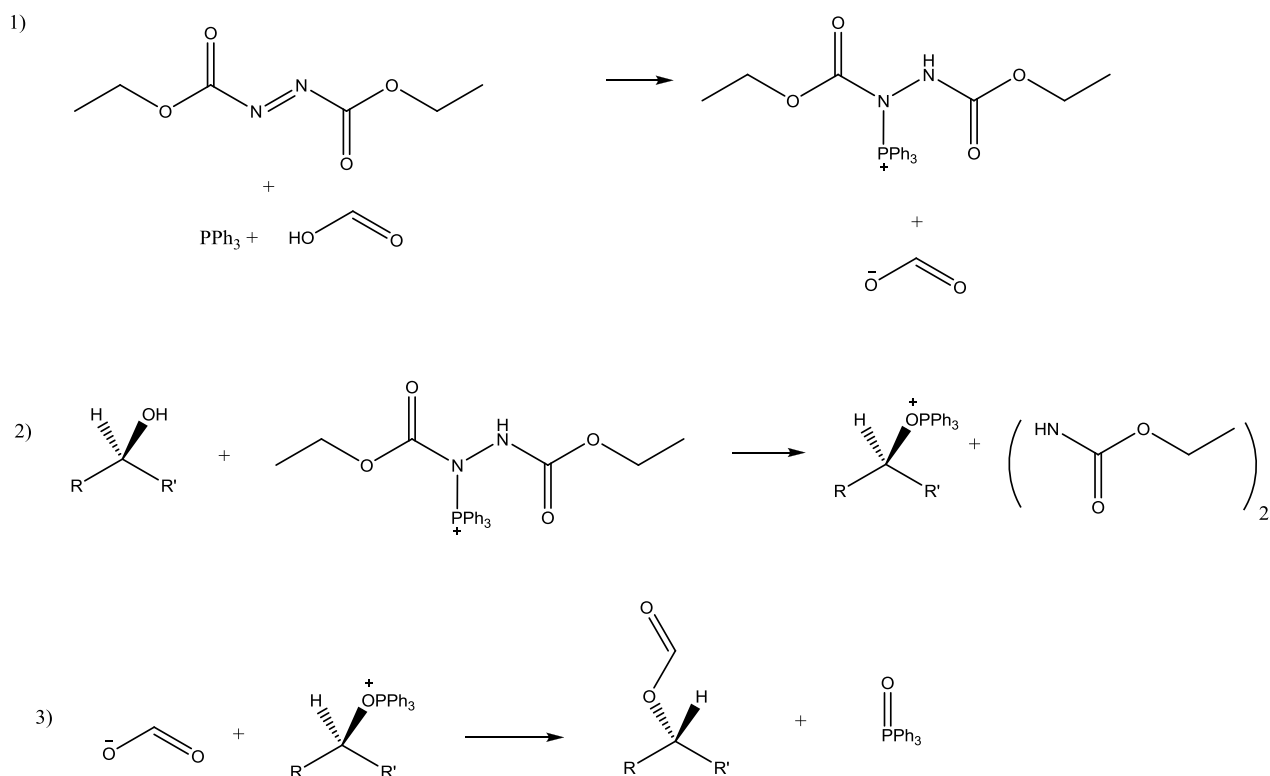
SKJEMA 12 MEKANISMEN I LUCHE REDUKSJONEN

Luche reduksjon er en god reaksjon for å danne en allylisk alkohol, som er en viktig funksjonell gruppe.

1.4.9. MITSUNOBU REAKSJON

Mitsunobu-reaksjonen konverterer den sekundære alkoholen til en ester, ved bruk av DEAD, PPh₃ og HCOOH.

Reaksjonen beskrives av Hughes et *al.* som en reaksjon i tre trinn, se skjema 13.²³ Første trinn er dannelsen av aduktet. Det skjer ved at trifenyfosfin kombinert med DEAD generer fosfoniumintermediatet. Trinn to er aktivering av alkoholen som skjer ved at intermediatet fra trinn en bindes til alkoholoksygenet, og aktiverer på den måten det som en utgående gruppe. Tredje trinn er en S_N2 reaksjon der en substitusjon av nukleofilen fra trinn en reagerer med intermediatet fra trinn to, og danner esteren *O*-formyl-powelline (**17**).



SKJEMA 13 MEKANISMEN I MITSUNOBU REAKSJONENS TRE TRINN

I dette tilfellet vil *O*-formyl-powelline (**17**) reagere videre til alkoholen powelline (**2**). Mitsunobureaksjonen er mye brukt til nettopp dette, å invertere sekundære alkoholer.

1.4.10. BRUK AV BESKYTTELSESGRUPPER

Det kan i ulike sammenhenger være verdifullt å beskytte funksjonelle grupper i et molekyl i en lineær syntese dersom det er fare som uønskede sidereaksjoner. Dette er spesielt aktuelt for *multifunksjonelle molekyler*, det vil si molekyler med flere funksjonelle grupper. Det kan være at funksjonelle grupper i molekylet ikke vil tåle de nødvendige reagensene eller betingelsene i reaksjonen som skal utføres. Da er det mulig å innføre en beskyttelsesgruppe som opprettholder kjemoselektiviteten i molekylet. Det finnes flere forskjellige beskyttelsesgrupper, der TMS er en av de vanlige. Når man skal velge beskyttelsesgruppe bør den oppfylle visse krav;²⁴ den må reagere selektivt og med et godt utbytte på den aktuelle funksjonelle gruppen, og den må gi et beskyttet molekyl som er stabilt under de betingelsene man skal bruke. Den må også være enkel å fjerne med et godt utbytte. Beskyttelsesgruppen bør ikke gi opphav til diastereomere.

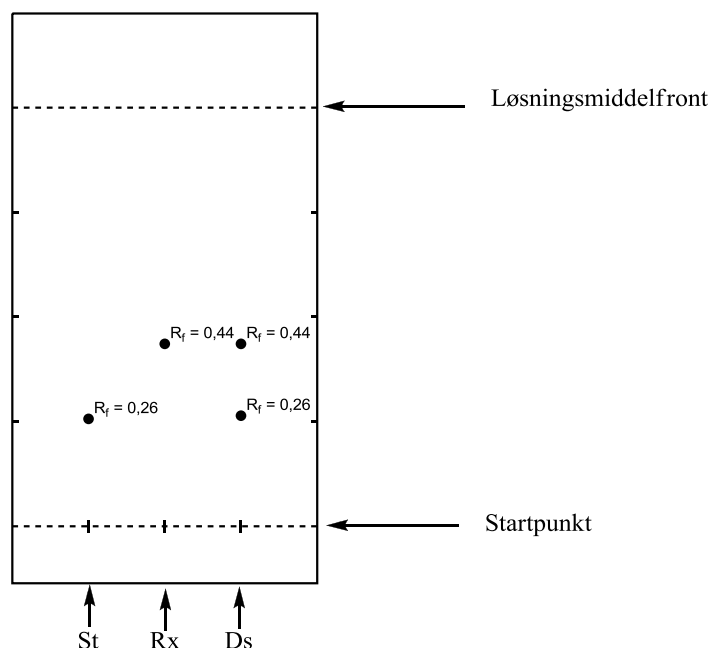
I denne avhandlingen blir det sekundære aminet **7b** beskyttet med en trifluoracetylgruppe. Beskyttelsesgruppen blir igjen fjernet ved å hydrolysere amidet med 10 % vandig KOH. Ulempen med bruk av beskyttelsesgrupper er at det krever ekstra reaksjonstrinn både å beskytte og å avbeskytte de funksjonelle gruppene. Likevel er det ofte en nødvendighet å bruke beskyttelsesgrupper.

1.5 KROMATOGRAFI

Kromatografi er ett samlebegrep for teknikker som benyttes for å separere ulike kjemiske forbindelser i en blanding. Dette brukes både til å påvise enkeltstoffer i en blanding, og til å isolere større stoffmengder i en blanding. Prinsippet i denne metoden er at forbindelser med ulike kjemiske og fysiske egenskaper distribueres ulikt mellom to faser. Ett kromatografisk system består av en bevegelig mobilfase og en immobil, ikke-blandbar stasjonærfase. Denne kan være pakket i en kolonne eller være på et papir. Mobil- og stasjonærfasen velges slik at komponentene som skal separeres har ulik løselighet i hver av fasene. Den aktuelle prøven sendes gjennom stasjonærfasen sammen med mobilfasen. Når vil man få en separasjon av stoffene på bakgrunn av deres egenskaper i forhold til stasjonærfasen. Stoffene detekteres så av en passende detektor. I denne avhandlingen er UV-lys og løsning av kaliumpermanganat blitt brukt for å visualisere forbindelsene.

1.5.1 TYNNSJIKTKROMATOGRAFI (TLC)

I tynnsjikt-kromatografi er et tynt lag av en uløselig substans, eks. silika gel, dekt på en plate, eks. aluminium. Forbindelsene som skal separeres påsettes i små flekker i den ene enden av platen. Platen settes så ned i et kammer med elueringsmiddelet i bunnen. Det er viktig at kammeret er mettet med elueringsmiddel før du setter oppi TLC-platen. Dette gjøres ved å la filterpapir dekke innsiden av kammeret, slik at elueringsmiddelet trekkes oppover. Elueringsmiddelet er gjerne en blanding av ulike løsningsmidler. Når elueringsmiddelet nå trekker seg oppover platen vil forbindelsene som er påsatt følge med avhengig av deres løselighet og adsorpsjon/desorpsjons-egenskaper. Egenskapene gjør at de vil vandre i ulik hastighet, og på den måten blir de separert. Figur 7 er en illustrasjon av TLC-platen som ble brukt for å følge reaksjonen i syntesen av 2,3-metylendioksyfenol (**12**).



FIGUR 7 ILLUSTRASJON AV TLC-PLATE FRA SYNTSE 1

Den veien stoffene har vandret i forhold til elueringsmiddelet kalles R_F -verdi.

Ligning 1

$$R_F = \frac{\text{Strekning forbindelsen har vandret}}{\text{Strekning elueringsmiddelet har vandret}}$$

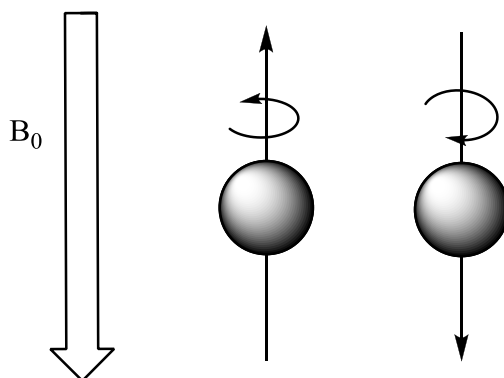
R_F -verdien er karakteristisk for hver forbindelse under gitte betingelser som løsningsmiddel, tykkelse på adsorbent, temperatur og mengden som er påsatt. TLC er brukt i denne avhandlingen for å identifisere stoffer i fraksjoner søylekromatografi, og for å følge reaksjonsforløp.

1.5.2 SØYLEKROMATOGRAFI

Når man skal isolere større mengder stoff, må man også benytte større mengde adsorbent. Da er det vanlig å bruke en søyle som man fyller med adsorbent. Forbindelsen man skal rense opp påsettes øverst i kolonnen og adsorberes på stasjonærfasen. Elueringsmiddelet fylles så på fra toppen, og tyngdekraften fører alt igjennom kolonnematerialet. Løsningsmiddelet tappes av i bunnen og samles opp i små fraksjoner hvor forbindelsene blir separert. Søylekromatografi er blitt brukt i denne avhandlingen som opprensingsmetode for å fjerne forurensninger fra råproduktene.

1.6 NUCLEAR MAGNETIC RESONANS (NMR)

Kjernemagnetisk resonans, eller Nuclear Magnetic Resonans er en viktig metode for strukturbestemmelse av organiske forbindelser, og har blitt brukt i hver reaksjon i denne avhandlingen. Fenomenet kjernemagnetisk resonans ble først observert i 1946, og er siden 1960-tallet blitt brukt rutinemessig i organisk kjemi.²⁵ Ved å benytte NMR går man helt ned på atomnivå, og man kan på den måten observere hver eneste kjerne i molekylet. Atomkjernen er positivt ladd på grunn av protonene. Noen av kjernene oppfører seg som magneter da de danner en magnetisk dipol fordi de spinner rundt sin egen akse. Dette kalles kjernens spinnkvantetall, I . Det er kun kjerner med $I \neq 0$ som kan observeres med NMR. Kjernene vil ha en tilfeldig orientering. Når kjernene påføres et ytre magnetfelt, B_0 , vil de orientere seg i $2I + 1$ måter.²⁵ Kjernene i både ^1H og ^{13}C har $I = 1/2$, som gir to mulige spinn, $I = 2(1/2) + 1 = 2$, spinn med klokken (+1/2) og spinn mot klokken (-1/2).¹ Dette er illustrert i figur 8.



FIGUR 8 ILLUSTRASJON AV ATOMKJERNENES ORIENTERING VED ET YTRE MAGNETFELT

^1H NMR og ^{13}C NMR er de viktigste endimensjonale analysene man gjør med NMR. Kjernene vil gi signaler som kommer ut som topper med ulike *kjemiske skift* (δ) i ett spekter. Det kjemiske skiftet beskriver hvor i spekteret signalet fra en bestemt atomkjerne kommer. Dette måles i en skala hvor man ser på δ -enheter fra signalet til en referanseforbindelse. Referanseforbindelsen er som regel tetrametylsilan (TMS). Denne

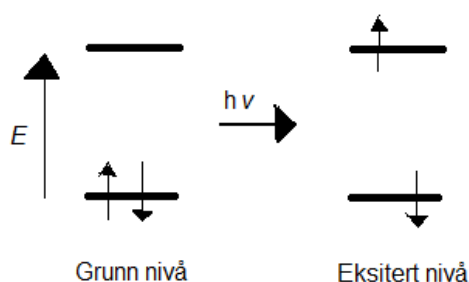
velges ofte fordi den har 12 ekvivalente hydrogenatomer, som vil vises som en singlet i spekteret. I tillegg er TMS inert og flyktig. De fleste organiske forbindelser gir signaler ved lavere felt enn TMS og har derfor positivt kjemisk skift. I praksis bruker man også løsningsmiddelet som referanseforbindelse.

$$\text{Ligning 2} \quad \delta = \frac{\text{Observert avstand fra TMS(Hz)}}{\text{Spektrometerfrekvens (MHz)}}$$

Spesifikke kjemiske grupper har karakteristiske kjemiske skift, som gjør at man kan identifisere forbindelser. NMR-signalet fra et proton blir ofte splittet opp i flere topper i spekteret. Dette kalles *spin-spin splitting* og skjer på grunn av interaksjonen mellom protoner på karbonatomene i nærheten. Dette fenomenet gir nyttig informasjon strukturen til molekylet. Splittingen gir n+1 topper, der n er antall tilstøtende protoner.²⁵

1.7. ULTRAFIOLETT SPEKTROSKOPI

Ultra fiolett stråling er den elektromagnetiske strålingen med kortere bølglengde enn synlig lys, 100-400 nm. UV-spektroskopi brukes for å detektere konjugerte π -elektroner. Det er da en forutsetning at molekylene som skal separeres inneholder kromoforer som absorberer den elektromagnetiske strålingen.²⁶ Absorpsjon av den ultrafiolette strålingen gjør at elektroner eksiteres mellom energi nivåer. Dette er illustrert i figur 9.



FIGUR 9 ENKEL ILLUSTRASJON AV EKSITASJON AV ELEKTRONER MELLOM ENERGINIVÅER

Et elektron eksiteres fra det høyeste okkuperte molekyl orbitalet (HOMO) til det laveste uokkuperte molekyl orbitalet (LUMO), fra et orbital med lavere energi til et orbital med høyere energi. Normalt skjer denne transisjonen fra et fullt til et tomt orbital.

Lange konjugerte systemer vil gi absorpsjonsmaksimum ved en lang bølglengde.²⁵ Det vil si at for hver suksessiv addisjon av en dobbeltbinding reduserer energiforskjellen mellom HOMO og LUMO, og dette bringer da absorpsjonsmaksimumet nærmere de synlige bølglengdene, kjent som "*red shift*". På samme måte vil bølglengden for absorpsjonsmaksimumet bli kortere dersom en dobbeltbinding fjernes, også kalt "*blue shift*".²⁵

I denne avhandlingen blir UV-stråling brukt for å detektere forbindelser i TLC analyser.

2. RESULTATER OG DISKUSJON

2.1 INTRODUKSJON

Målmolekylene i oppgaven var krininalkaloidene powelline (**2**) og bufanidrine (**3**). Flere andre lignende molekyler var aktuelle å syntetisere, men på grunn av begrenset tid ble kun disse valgt. Begge molekylene er kjente forbindelser i litteraturen, men denne syntesestrategien for å nå bufanidrine (**3**) er ikke tidligere rapportert.

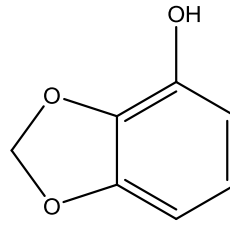
Syntesene fram til powelline (**2**) ble gjort som analoge synteser til arbeidet presentert i artikkelen av Anwar og Hansen.¹⁸ De samme prosedyrene i oppbygging av alkaloidene ble benyttet. Disse metodene er beskrevet i innledningen.

Proseduren i litteraturen¹⁸ inneholdt ofte rensing av råproduktet ved kromatografi. Ved flere tilfeller var det ikke nødvendig med en fullstendig rensing av produktet, da stoffet viste seg å være tilstrekkelig rent med NMR. I noen tilfeller ble råproduktene også filtrert gjennom en enkel sintertrakt fylt med silikagel for å fjerne uønskede partikler.

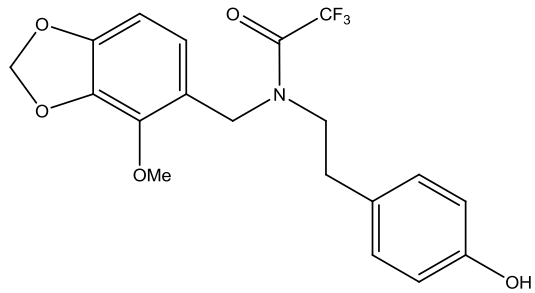
TABELL 1 FREMSTILTE MOLEKYLER I DENNE AVHANDLINGEN

Molekylnummer	Struktur
2	
3	
8b	
9	
11a	
11b	

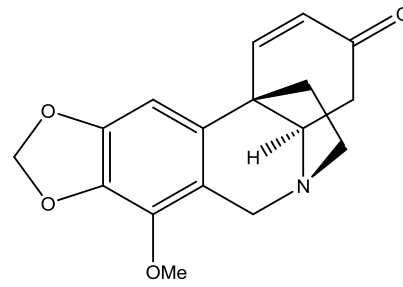
12



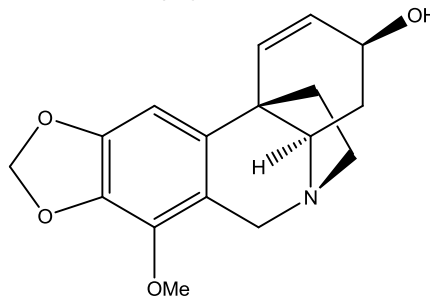
14



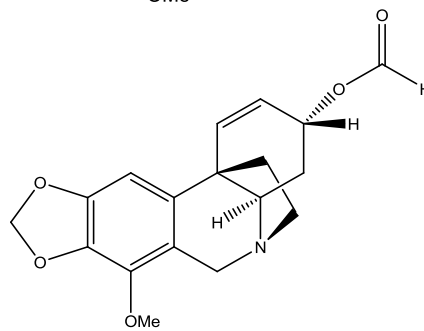
15



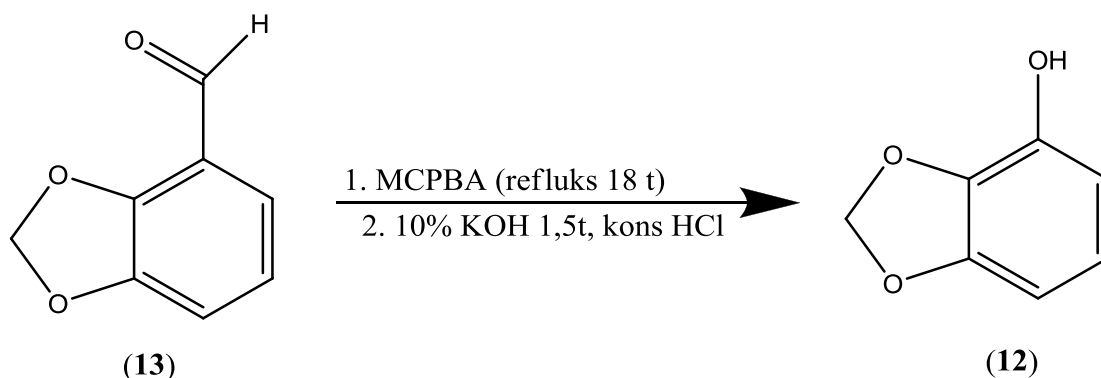
16



17



2.2. SYNTESE 1



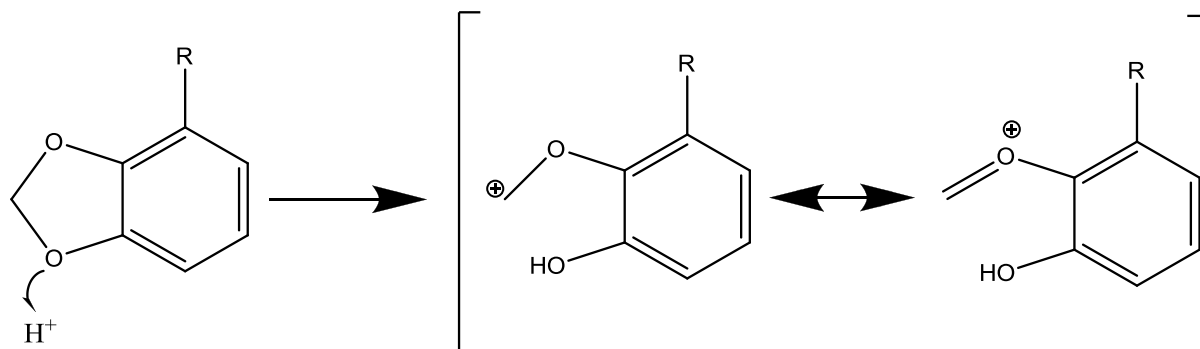
SKJEMA 14 BAEYER-VILLIGER REAKSJON TIL FENOLEN 12

2,3-Metylendioksyfenol (**12**) ble syntetisert, fra kommersielt tilgjengelig 2,3-metylendioksybenzaldehyd (**13**), som tidligere rapportert.^{18, 27}

Reaksjonstrinnet er vist i skjema 14. Ved bruk av persyren MCPBA ble et oksygenatom satt inn mellom aldehydet og aromaten i en Baeyer-Villiger oksidasjon. Reaksjonen følger mekanismen som er beskrevet i kapittel 1.4.1.

Det dannes syrerester etter MCPBA i en slik reaksjon. Restene ble fjernet ved ekstraksjon, da de ved tilsetning av NaHCO_3 gikk over i vannfasen. For å hydrolysere aldehydkarbonylen, slik at man kan danne fenolen, ble MeOH og KOH tilsatt. Fikk da anionformen av fenolen, som ble protonert med HCl. Fenolen kunne da isoleres ved ekstraksjon, da den ble løst i den organiske fasen.

Ved tilsetning av HCl for protonering av fenolen kan man over tid få en uønsket sidereaksjon. Sidereaksjonen involverer en reaksjon mellom oksygen i femringen og proton som blir tilsatt. Reaksjonen vil bryte opp femringen, og produktet stabiliseres i to resonansformer, se skjema 15.

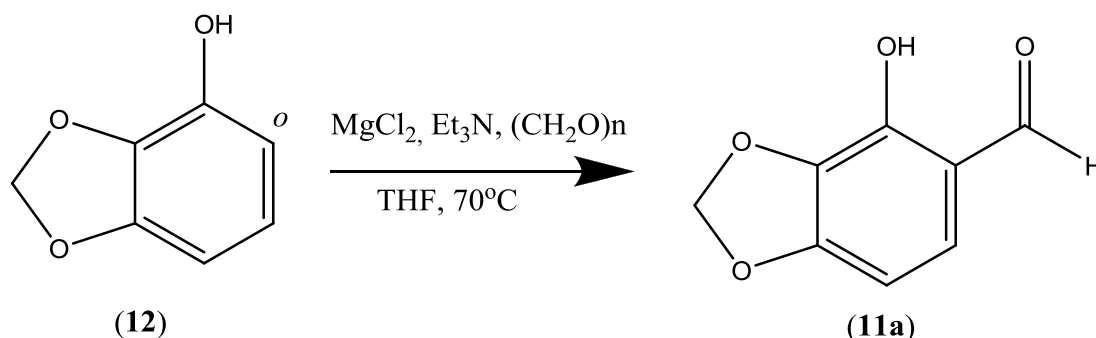


SKJEMA 15 UØNSKET SIDEREAKSJON VED PROTONERING

Ved en tilfeldighet ble det i et tilfelle benyttet etylacetat som løsningsmiddel under refluksingen, men dette gav ingen utslag i utbytte.

Reaksjonen ble utført på mellom 1 og 17mmol skala, og råproduktet ble rensset med søylekromatografi. Reaksjonen ble gjentatt totalt ni ganger med utbytter mellom 73-98 %. Forventet utbytte var 60-65 %, så utbyttene ble betydelig bedre enn tidligere rapportert.¹⁸

2.3 SYNTSE 2

SKJEMA 16 *ORTHO*-FORMYLERING TIL SALISYLALDEHYDET 11A

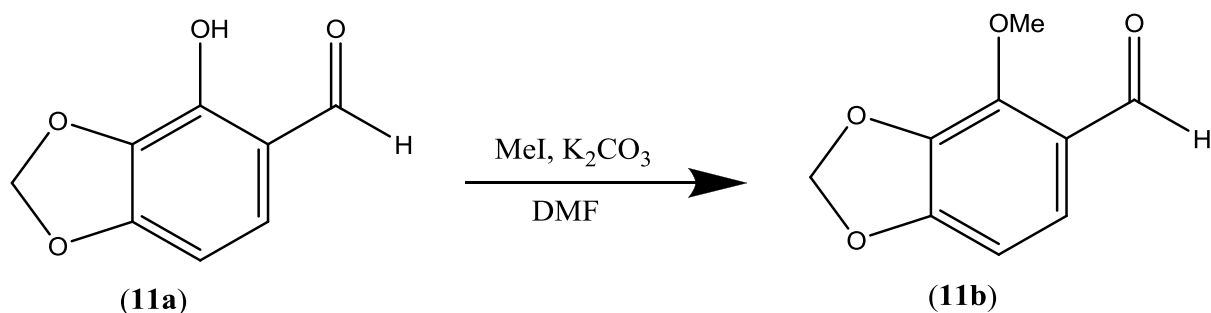
4-Hydroksybenzo[*d*][1,3]dioksole-5-karbaldehyd (**11a**) ble syntetisert på samme måte som er beskrevet i litteraturen, med et forventet utbytte på 96 %.^{18,28}

Reaksjonen er en *ortho*-formylering av fenolen **12** med magnesiumklorid, trietylamin og *para*-formaldehyd i THF under reflux. Reaksjonstrinnet er vist i skjema 16, og mekanismen følger beskrivelsen i kapittel 1.4.2.

Denne reaksjonen krever at man jobber under tørre betingelser. Det vil si at alt glassutstyr som ble brukt i dette trinnet ble tørket i ovn ved 100 °C over natt, for så å bli kjølt ned i eksikator før det ble tatt i bruk. Dette ble gjort for å unngå fuktighet til reaksjonens saltdannelse, se mekanisme i avsnitt 1.4.2. Kjemikaliene paraformaldehyd og magnesiumklorid ble også oppbevart i eksikator, og løsningsmiddelet trietylamin ble på forhånd destillert.

Reaksjonen ble utført på mellom 3 og 13 mmol skala. Reaksjonen ble gjentatt totalt syv ganger med utbytter mellom 56-97 %. Det viste seg å være vanskelig å løse opp råproduktet etter inndamping på rotavapor. Det ble derfor forsøkt å løse opp råproduktet med både etylacetat og diklormetan, og da ekstrahere vannfasen med samme løsningsmiddel. Men prosedyren med dietyleter ga de beste utbyttene (74-97 %). Det ble ikke foretatt noen videre opprensning av produktet.

2.4 SYNTESE 3



SKJEMA 17 WILLIAMSON ETERSYNTESE TIL FORBINDELSE 11B

Forbindelse **11b** ble syntetisert som tidligere rapportert.¹⁸

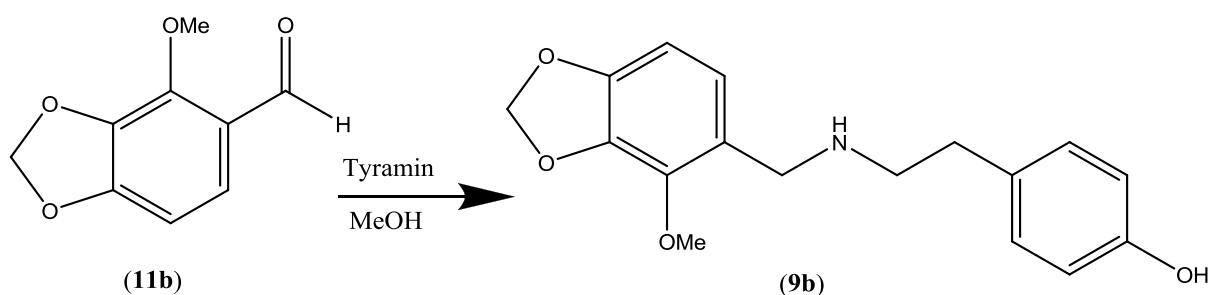
Reaksjonstrinnet er vist i skjema 17. Reaksjonen er en Williamson eter syntese. Den kan beskrives som en S_N2 -reaksjon med MeI og fenolen **11a**.

Basen K_2CO_3 ble tilsatt for å fjerne det sure fenolprotonet. Det gav fenoksid-anionet, som da virket som nukleofilen i S_N2 -substitusjonen med metyliodid. Mekanismen er beskrevet i kapittel 1.4.3. Det aprotiske, polare løsningsmiddelet DMF ble valgt fordi det er gunstig for polare mekanismer, slik som en S_N2 -reaksjon er.

Det viste seg å være vanskelig å dampe inn produktet til tørrhet på rotavapor. DMF kan være svært vanskelig å fjerne på rotavapor på grunn av det høye kokepunktet (153 °C). DMF ble fjernet med en vandig opparbeidelse. Det vil si at man tilsetter et organisk løsemiddel som for eksempel Et_2O , og deretter tilsetter vann. DMF vil da gå over i vannfasen. Den organiske fasen ble så vasket med mettet NaCl, for så å bli tørket, og dampet inn på rotavapor.²⁹

Reaksjonen ble utført på mellom 2,5 og 12 mmol skala. Reaksjonen ble gjentatt totalt syv ganger med utbytter mellom 78-99 %. Forventet utbytte var 96 %.¹⁸ Det ble ikke foretatt noen videre opprensning.

2.5 SYNTSESE 4

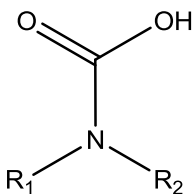


SKJEMA 18 REAKSJON FOR SYNTSESE AV 9, EN REDUKTIV AMINERING

Forbindelse **9** ble syntetisert som tidligere rapportert, med et forventet utbytte på 82 %.¹⁸

Reaksjonstrinnet er vist i skjema 18. Reaksjonen er en reduktiv aminering med tyramin. Mekanismen involverer et nukleofilt angrep på karbonylgruppa, som fører til et imin. Mekanismen er beskrevet i kapittel 1.4.4. NaBH_4 ble tilsatt for å redusere $\text{C}=\text{N}$ bindingen, slik at det sekundære aminet **9** ble dannet.

Aminet ble ved oppbevaring i kjøleskap før videre reaksjoner. Det viste seg at de hvite krystallene ble brune over tid. Dette kan skyldes at aminet kan ha reagert med CO_2 , og dannet karbaminsyre av aminet, se figur 10.. Dette er en reversibel reaksjon som kan skje med både primære og sekundære aminer.³⁰ For å unngå denne reaksjonen, ble krystallene flushet med nitrogen før oppbevaring de siste gangene reaksjonen ble gjentatt.



FIGUR 10 KARBAMINSYRE

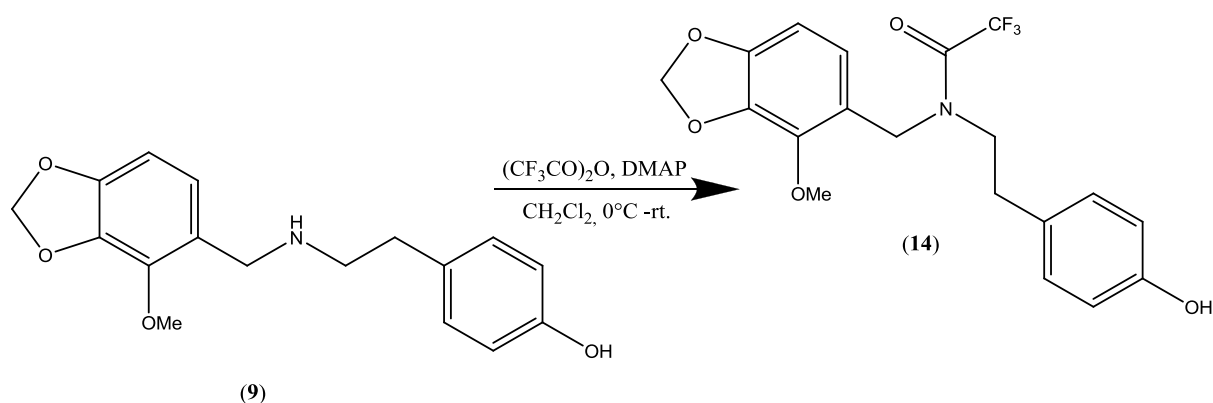
Reaksjonen ble utført på mellom 2 og 8 mmol skala. Reaksjonen ble gjentatt totalt ti ganger med utbytter mellom 26-60 %, altså betydelig lavere en tidlige rapportert.

Man kan her forsøke å bruke andre reduksjonsmidler på iminet, som for eksempel NaBH_3CN . Dette ble ikke gjort i denne avhandlingen, men man bør prøve å se om det kan gi bedre utbytter. Den siste gangen reaksjonen ble gjort, ble det observert at intermedietet så ut til å være enklere å løse i Cl_2CH_2 etter inndamping på rotavapor. Det var et problem at mye stoff ble igjen i kolben da det skulle løses opp for å ekstraheres etter inndamping. Det bør derfor forsøkes å ekstrahere med Cl_2CH_2 eller eventuelt andre løsningsmidler når syntesen skal gjentas.

Det ble ikke foretatt noen videre opprensning da NMR spektrene viste at stoffet var tilstrekkelig rent.

Etter at det var blitt tatt NMR av prøvene med d_6 -DMSO som løsemiddel, ble prøvene resirkulert ved å bli tilbakeført til kolbene. Dette viste seg å være vanskelig å få fjernet igjen, da DMSO er et aprotisk løsningsmiddel med et høyt kokepunkt (189 °C). Problemet ble løst ved å ekstrahere løsningen med Cl_2CH_2 og vann. d_6 -DMSO gikk da over i vannfasen.

2.6 SYNTSE 5



SKJEMA 19 BESKYTTELSE AV DET SEKUNDÆRE AMINET

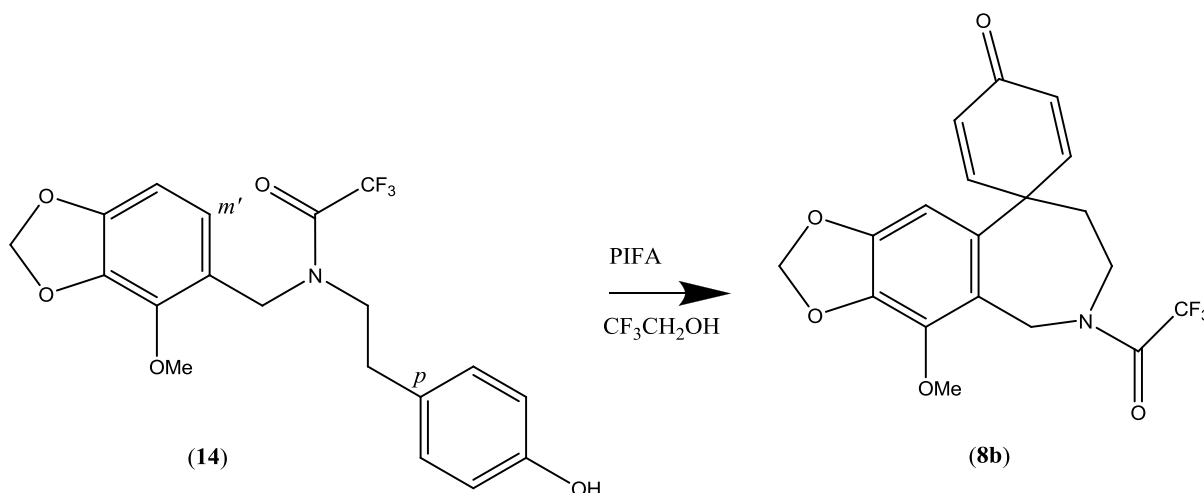
14 ble syntetisert som tidligere rapportert, med et forventet utbytte på 76 %.¹⁸

Reaksjonstrinnet er vist i skjema 19. I denne reaksjonen ble en trifluoracetylgruppe satt på det sekundære amidet **9**. Ved bruk av det fluorerte anhydridet TFAA og DMAP, ble aminet acetylet. Dette gav amidet **14**. Mekanismen er beskrevet i kapittel 1.4.5.

Aminet måtte beskyttes for at den neste reaksjonen, den fenoliske koblingen, skulle bli vellykket. Det er tidligere rapportert at COCF_3 er den beskyttelsesgruppen som gir det høyeste utbyttet i den fenoliske koblingen.³¹

Reaksjonen ble gjentatt totalt fire ganger med utbytter av råprodukt på mellom 90 og 100 %. Spektroskopiske data av råproduktet viste derimot at det inneholdt mye forurensning. De fire batchene ble slått sammen to og to. Den ene batchen ble først forsøkt rensset ved filtrering i sintertrakt med silikagel. Dette gav dårlig resultat, og førte til at produktet ble ytterligere forurenset med silikapartikler. Det ble da valgt å rense på nytt med søylekromatografi. Utbytte fra denne batchen ble 25 %. Den andre batchen ble kun rensset med søylekromatografi og utbyttet var på 78 %.

2.7 SYNTSE 6



SKJEMA 20 MICHAEL ADDISJON TIL FORBINDELSE 8B

Nøkkelintermediatet i totalsyntesen, **8b**, ble syntetisert som tidligere rapportert, med et forventet utbytte på 60 %.¹⁸

Reaksjonstrinnet er vist i skjema 20. Reagerte intermediatet (**14**) i en oksidasjon med det hypervalente iod-reagenset fenyliodid(III)*bis*(trifluoracetat) (PIFA) i trifluoretanol, som gav den fenoliske *meta'*-*para*-koblingen til dienonet **8b**. Mekanismen er beskrevet i kapittel 1.4.6.

Reaksjonen ble utført på mellom 0,5-6 mmol skala. Reaksjonen ble gjentatt totalt fire ganger, med utbytter på 9-18 %. Det ble brukt mye tid på å rense opp råproduktet med kromatografi, da det var veldig forurenset.

Denne reaksjonen har ikke vært vellykket med tanke på det dårlige utbytte. Dette tiltross for at reaksjonsbetingelsene har vært de samme som beskrevet i litteraturen.^{18, 31} Dette er nøkkelreaksjonen i denne syntese-strategien for krininalkaloidene. Det bør derfor brukes tid på å optimalisere betingelsene i denne reaksjonen, slik at man får en mer effektiv totalsyntese. For eksempel rapporterer Kita *et al.* et høyere utbytte ved -40 °C.³¹

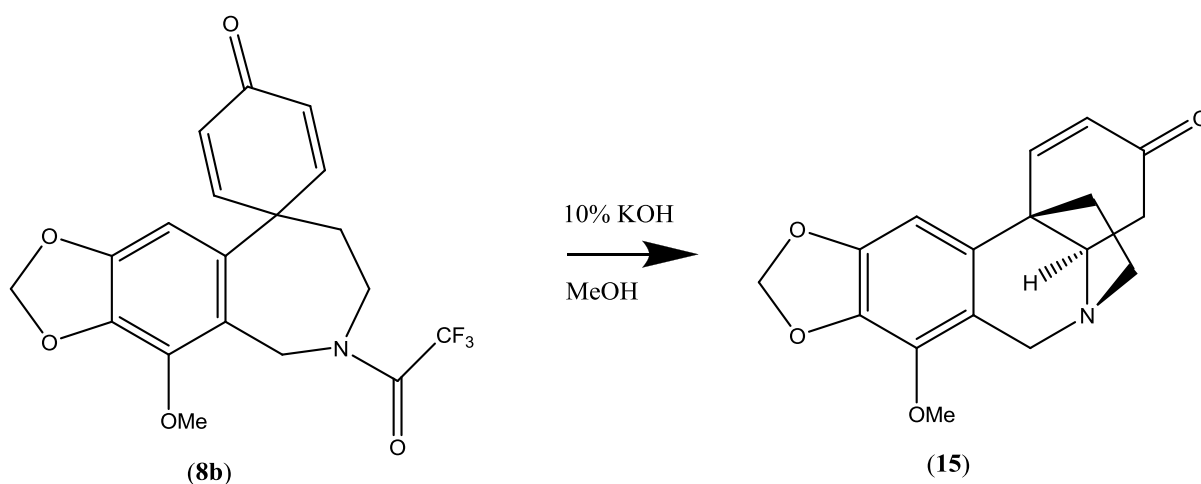
Reaksjonen krever et svakt, nukleofilt, polart løsningsmiddel.³¹ Det ble i disse syntesene kun brukt trifluoretanol. Her bør man forsøke å bruke andre tilsvarende løsningsmidler som for eksempel $(\text{CF}_3)_2\text{CHOH}$.

Det fins også andre reagenser for fenolisk oksidativ kobling som bør prøves ut. Dette inkluderer blant annet metodene som presenteres av Schwart *et al.* med vanadium oksytriklorid i acetonitrill, og tallium(III)trifluoracetat i Cl_2CH_2 .³² Sistnevnte metode rapporterer et utbytte på opptil 88 %.

Det at totalsyntesen er tilnærmet lineær gjør at det dårlige utbytte i denne reaksjonen gir en kraftig reduksjon i totalsyntesens utbytte.

^{13}C NMR-spekteret av denne forbindelsen kan synes å være komplisert, da de fleste karbonene kommer ut som doble signaler. Dette skyldes at molekylet inneholder en trifluoracetylgruppe som er sterkt elektronegativt. Fluor vil på samme måte som hydrogen gi koblingsmønstre i NMR. Koblingskonstantene er dessuten ofte mye høyere for fluor. Viser til koblingskonstantene i Williams og Flemming.²⁵ Når et ^{13}C NMR-spekter tas opp, bestråles prøven også mot hydrogen slik at disse koblingene ikke blir synlige. I dette tilfellet blir ikke prøven bestrålt mot fluor, og på den måten vil derfor koblingene bli synlige.

2.8 SYNTSESE 7



SKJEMA 21 BASISK HYDROLYSE AV AMIDET FØRTE TIL EN INTRAMOLEKYLÆR MICHAEL SYKLISERING

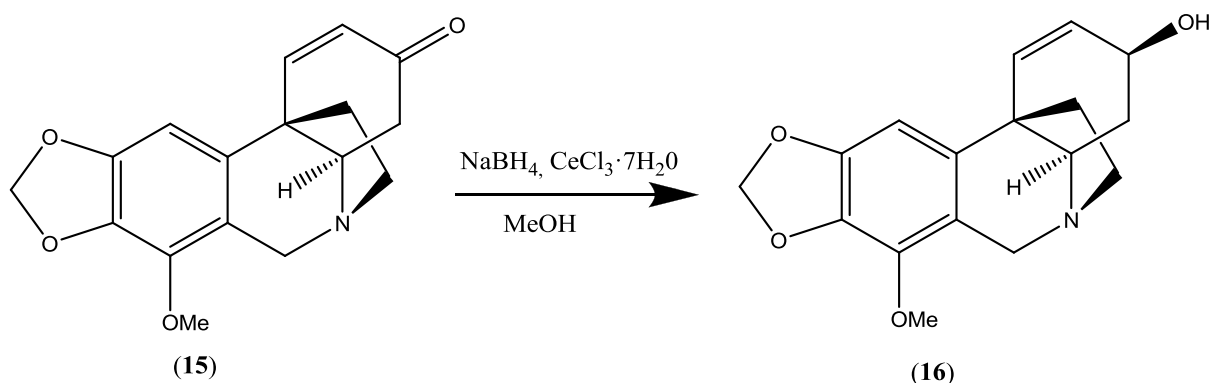
Oksopowelline (**15**) ble syntetisert som tidligere rapportert.¹⁸

Reaksjonstrinnet er vist i skjema 21. Reaksjonen er en basisk hydrolyse av amidgruppen der KOH ble tilsatt for å fjerne beskyttelsesgruppen. Dette førte samtidig til en intramolekylær Michael syklisering på den α - β -umettede karbonylen, som gav rasemisk oksopowelline. Mekanismen er beskrevet i kapittel 1.4.7.

Reaksjonen ble utført en gang, med utbytte på 61 %, mot forventet 77 %.

Ved NMR ble prøven løst i CDCl_3 , i motsetning til tidligere rapportering, der det har blitt brukt DMSO.¹⁸ CDCl_3 er det mest vanlige løsningsmiddelet til NMR-bruk, og det er enkelt å dampe av på rotavapor. Dette var viktig da det i disse syntesene har vært jobbet med små mengder stoff, og det har derfor vært viktig å kunne gjenvinne NMR-prøvene.

2.9. SYNTSESE 8



SKJEMA 22 LUCHE REDUKSJON AV KARBONYL

Epipowelline (**16**) ble syntetisert som tidligere rapportert, med et forventet utbytte på 78 %.¹⁸

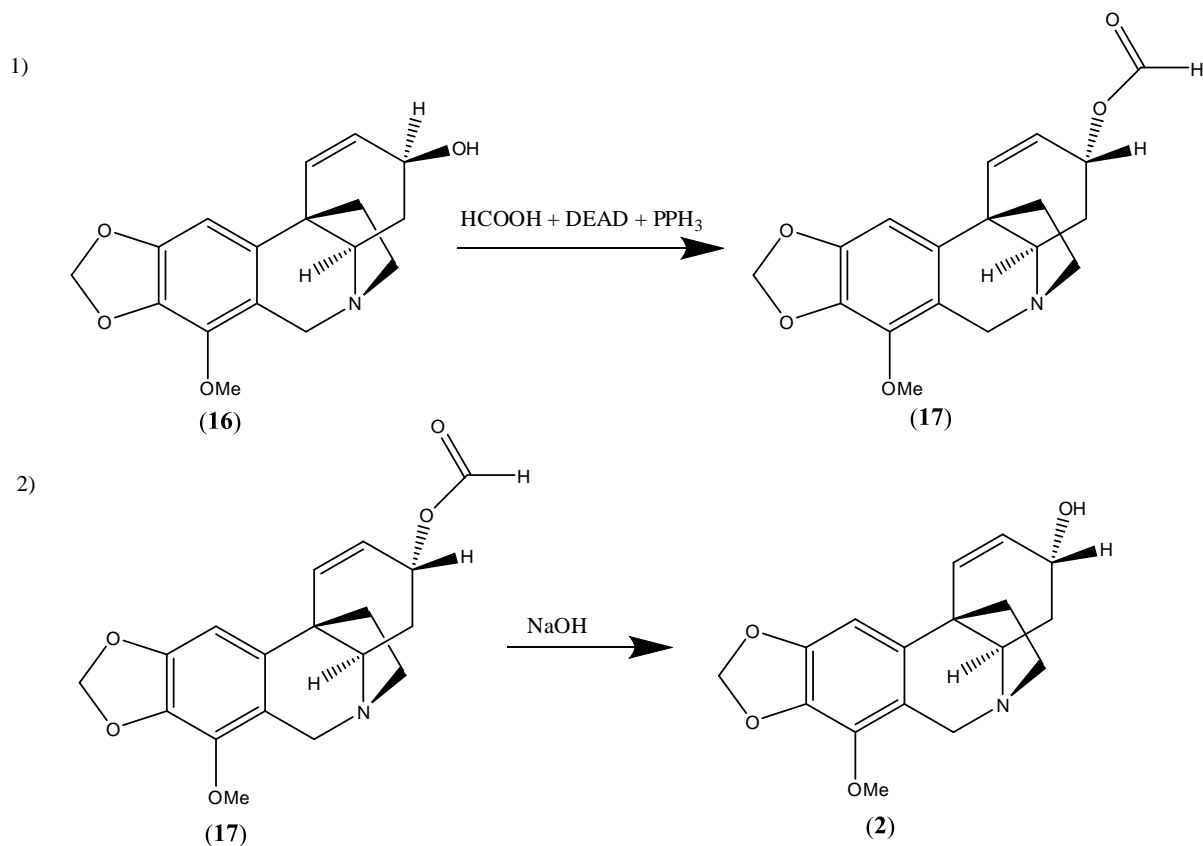
Reaksjonstrinnet er vist i skjema 22. Ved hjelp av en Luche reduksjon med NaBH_4 og CeCl_3 , får vi redusert karbonylen til en sekundær alkohol. Mekanismen er beskrevet i kapittel 1.4.8. ·

Reaksjonen ble utført en gang med et utbytte på 81 %.

Forslag til utprøving av syntese strategien er her å prøve metoden som er beskrevet av Jin, der de reduserer karbonylen i et lignende alkaloid med L-selectride i THF ved -78°C .⁷

Man bør også se på om det er mulig å redusere karbonylen med kirale reduksjonsmidler direkte til powelline. Det kan da være interessant å blant annet prøve metoden med kirale litium aloksider.³³

2.10 SYNTSE 9 OG 10



SKJEMA 23 TO TRINNS REAKSJON FOR Å DANNE POWELLINE(2)

Powelline (**2**) ble syntetisert som tidligere rapportert.¹⁸

Reaksjonstrinnene er vist i skjema 23. Syntesen er en to trinns prosess, der epipowelline (**16**) først ble reagert med PPh_3 , DEAD og HCOOH i en Mitsunobu reaksjon til *O*-formylpowelline (**17**). Mekanismen er beskrevet i kapittel 1.4.9. Denne reaksjonen har et forventet utbytte på 53 %.

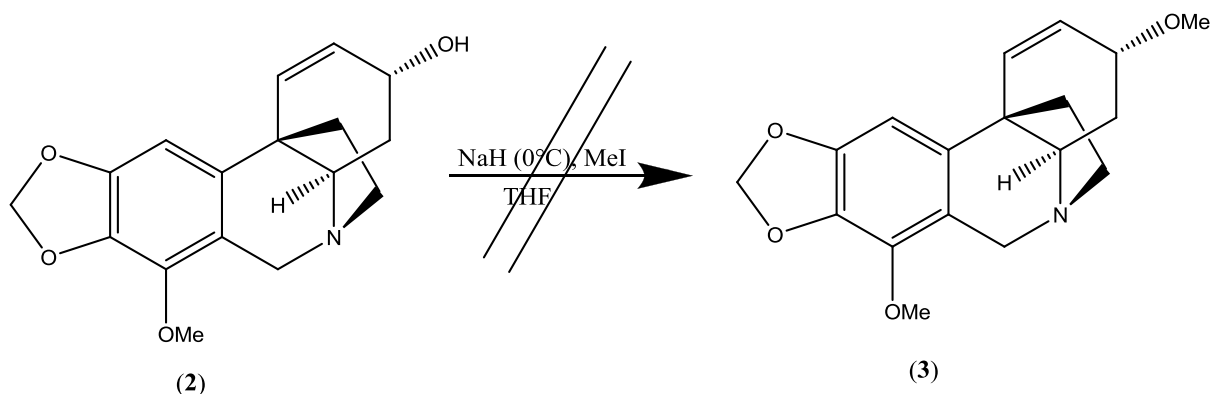
Syntesen ble fullført ved å redusere formylgruppen i *O*-formylpowelline med NaOH og den inverterte, sekundære alkoholen powelline (**2**) ble dannet, med et forventet utbytte på 94 %.

Mitsunobureaksjonen er en vanlig reaksjon til inversjon av sekundære alkoholer.

Reagenset dietylazodikarboksyilat som blir brukt i mitsunobureaksjonen er et kjemikalie som er kontrollert av den Europeiske Union på grunn av dets eksplosive egenskaper. Det er derfor blokkert for direkte leveranse i ordresystemene til kjemikalieleverandører.

Reaksjonene ble utført en gang. Råproduktet av O-formyl-powelline (**17**) ble rensset med søylekromatografi med en gradert eluent. Utbyttet av rensset produkt (**17**) var 71 %. Råproduktet av powelline (**2**) ble også rensset med søylekromatografi med et utbytte på 74 %.

2.11 SYNTSE 11



SKJEMA 24 METYLERING AV DEN INVERTERTE ALKOHOLEN TIL METOKSIETEREN

Bufanidrine (**3**) ble forsøkt syntetisert basert på prosedyren som er beskrevet av Paterson *et al.*³⁴, med et rapportert utbytte på 94 %.

Reaksjonstrinnet er vist i skjema 24. NaH er en sterk base som deprotonerte alkoholen slik at anionet ble dannet. Anionet virket som nukleofilen i reaksjonen. Reaksjonen er en Williamson etersyntese. Den kan beskrives som en S_N2 -reaksjon, og mekanismen er beskrevet i kapittel 1.4.3.

Ved tilsetning av NH_4Cl er det viktig å kjøle ned blandingen på forhånd, fordi det fort kan koke over. Det er et sterkt basisk miljø i reaksjonsblandingen på grunn av NaH. NH_4Cl tilsettes for å nøytralisere løsningen.

Reaksjonen ble utført 2 ganger uten resultater. Etter inndamping på rotavapor ble det tatt 1H - og ^{13}C NMR av råproduktet. Spektrene viset ingen signifikante topper som tydet på dannelsen av bufanidrine (**3**). På grunn av begrenset stoffmengde av powelline (**2**), ble det ikke forsøkt å endre betingelser for reaksjonen.

3 OPPSUMMERING OG VEIEN VIDERE

Målet med oppgaven var å videreutvikle syntesestrategier for krinin type alkaloider. Det ble gjort i forlengelse av Hany F. Anwars arbeider publisert i 2008, der powelline (**2**) ble syntetisert med et totalutbytte på 10 % over ni trinn.¹⁸ Samtidig har også Bogle et *al.* publisert en syntese av de samme målmolekylene, **2** og **3**, med et totalt utbytte på 6 % for begge forbindelsene, men ved å velge en annen syntesestrategi.³⁵ Dette viser relevansen til dette arbeidet.

Dette arbeidet har nådd fram til powelline (**2**) over ti trinn med et totalt utbytte på 2 %. Det ble forsøkt å syntetisere bufanidrine (**3**) over elleve trinn, men den siste syntesen ble mislykket, og på grunn av begrenset tid ble det ikke forsøkt andre reaksjonsbetingelser for metyleringen. Likevel ansees det å være mulig å nå målet, da litteraturen beskriver gode prosedyrer og utbytter for syntesen. Arbeidet med de vellykkede syntesene må ses på som det mest verdifulle arbeidet. Spesielt syntesen av 2,3-metylendioksyfenol gav et betydelig høyere utbytte enn tidligere rapportert.

Totalutbytte i denne lineære totalsyntesen blir sterkt påvirket av hvert enkelt utbytte. Det var spesielt den intramolekylære oksidative fenoliske koblingen som viste seg og være vanskelig i denne syntesen (18 % utbytte), og det bør derfor jobbes med å bedre betingelsene for denne reaksjonen slik at man får en mer effektiv syntese. Også opprensingen av forbindelsene kan forbedres. Det ble ikke brukt tid på å optimalisere opprensingen med kromatografi. Flere av forbindelsene hadde forurensede NMR spektre, så det er rimelig å anta at bære renheten og utbytter kan forbedres her.

En måte å øke effektiviteten på er å se på om man kan komme fram til samme målmolekyl ved en mer konvergent syntese, men på grunn av målmolekylens kompleksitet kan også dette være vanskelig. Men man må se om det fins muligheter der man isteden kan bygge opp ulike fragmenter i uavhengige synteser, som til slutt kan kobles sammen.

Det ble brukt mye tid på å gjenta reaksjoner som i utgangspunktet var vellykkede. Dette for å sikre nok stoff til de siste reaksjonene. Da mange av reaktantene var svært kostbare å kjøpe inn, ble reaksjonene hele veien utført i liten skala. Dette var svært tidkrevende.

Fordelen med å jobbe på mikroskala er likevel at man reduserer risikoen for skader ved forgiftning, eksplosjoner og avfallsproblemer.

Da disse alkaloidene har svært interessante biologiske virkninger, er forskningen på disse stoffene samfunnsnyttig. Når man har etablert en effektiv syntese til powelline (**2**) er det også kort vei til mange flere krinin type alkaloider. Blant annet er det mulig å nå crinamidine (**6**) ved en asymmetrisk Sharpless epoksidering.³⁶ En Williamson etersyntese av **6** vil kunne gi undulatine (**7**). Man bør også fortsette å se på nye synteseveier for å syntetisere ytterligere *Amaryllidaceae* alkaloider, slik at man kan fortsette å teste ut de interessante farmakologiske virkningene. Kanskje blir disse alkaloidene framtidens medisiner?

4. EKSPERIMENTELT

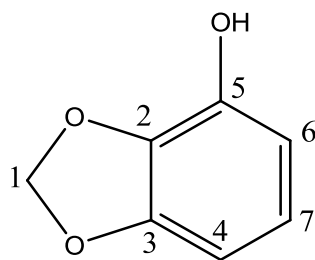
4.1 GENERELT

Opprensing ved flashkromatografi ble utført manuelt med Versa flashTM, og som kolonnemateriale ble det benyttet Versa PakTM silica cartridge kolonne, 40x75 mm fra Supelco. Det ble også utført manuell flash i selvpakket kolonne med Silicagel 60 (0,040-0,063 mm) fra Merck. TLC ble utført med silikaplater av typen Silica gel 60 F254 fra Merck. Til fremkalling av platene ble UV-lys og kaliumpermanganat-løsning brukt. UV-instrumentet som ble benyttet var av typen Upland, Mineralight[®] lamp multiband UV - Modell UVGL-25.

Løsningsmidler benyttet i syntesene, som eter, diklormetan, heksan, etylacetat og kloroform var alle av teknisk kvalitet og ble kjøpt tørre over molsieve når det var påkrevd.

¹³C- og ¹H-NMR-spekterene ble tatt opp på et Varian Gemini 300 NMR-instrument: Samtlige spektre ble tatt opp ved de samme betingelsene: 25 °C, 300 MHz, og 32 skanninger ved ¹H NMR og 75 MHz, 1000 skanninger ved ¹³C NMR. Prøvene ble løst i CDCl₃ og *d*₆-DMSO. Disse ble brukt som intern referanse med skiftverdier på hhv. ¹H NMR; CDCl₃: δ = 7.26 ppm og *d*₆-DMSO: δ = 2.50 ppm og ¹³C NMR; CDCl₃: δ = 77.16 ppm; *d*₆-DMSO: δ = 39.52 ppm.

4.2 SYNTESE AV 2,3-METYLENEDIOKSYFENOL (12)

**12****Utbytte: 98 %**

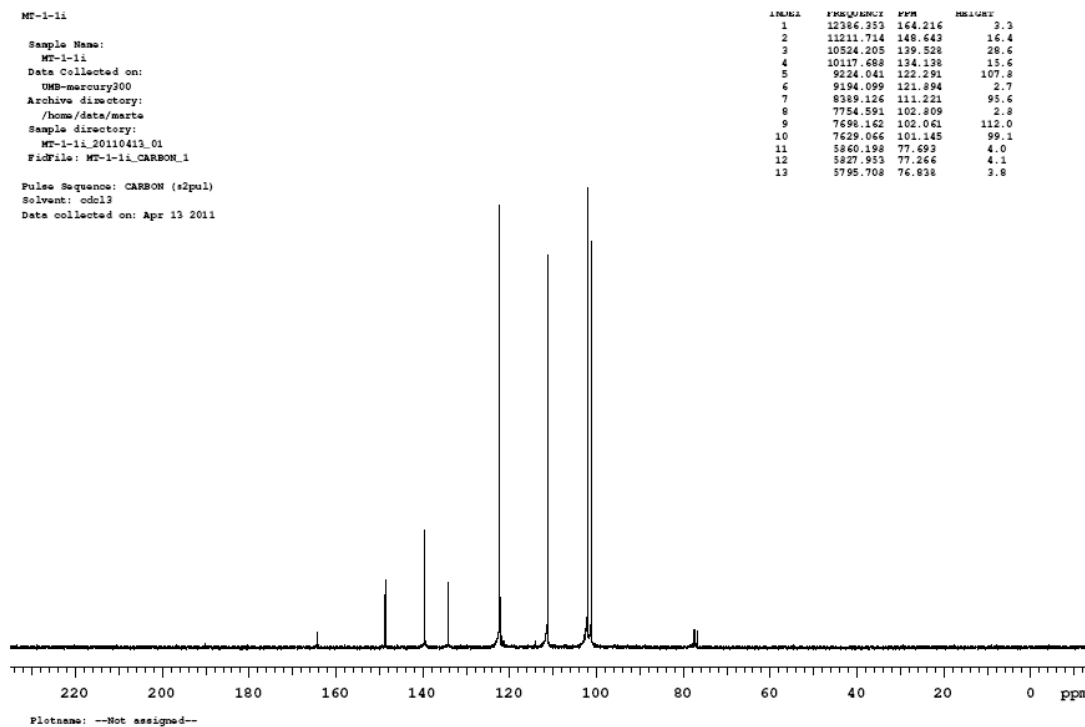
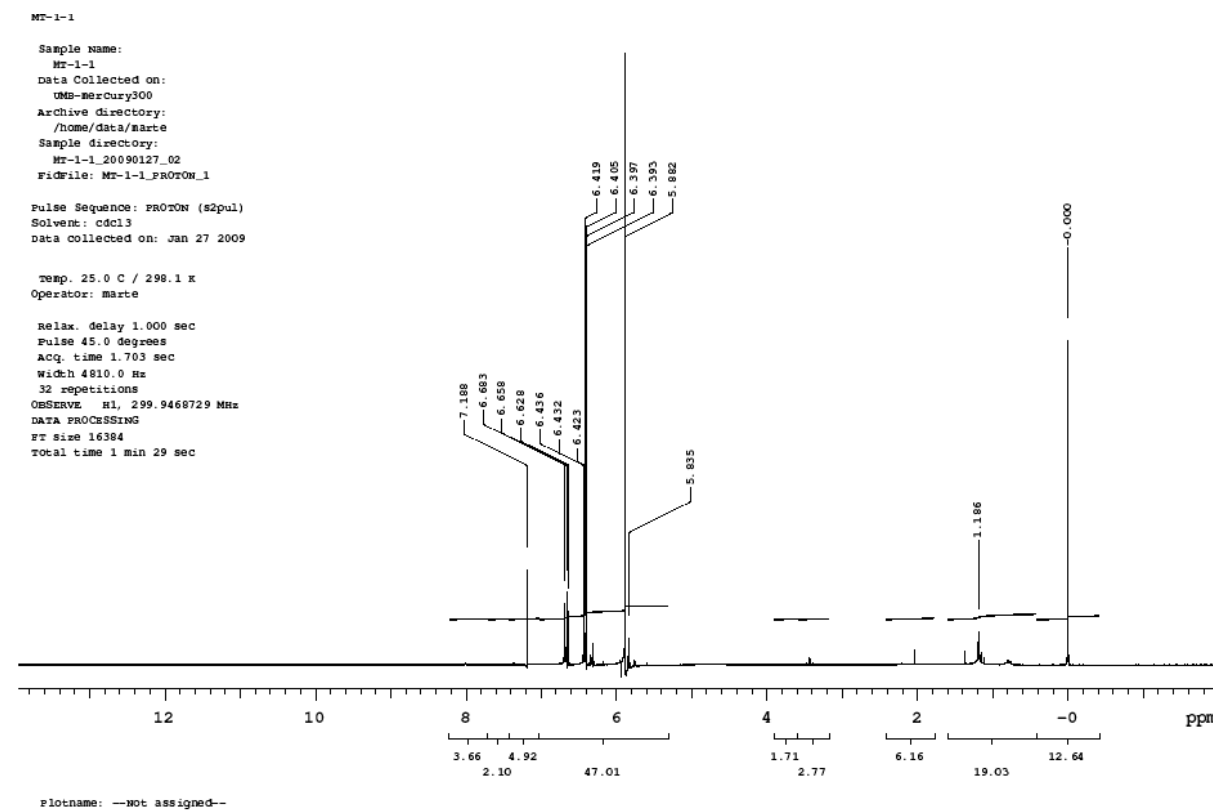
2,3-Metylenedioksiybenzaldehyd (1 mmol, 0,15 g) ble løst i CH_2Cl_2 (30 ml). Til dette ble MCPBA (2 mmol, 0,345 g, 2 ekv) tilsatt litt etter litt. Løsningen ble refluxert over natt.

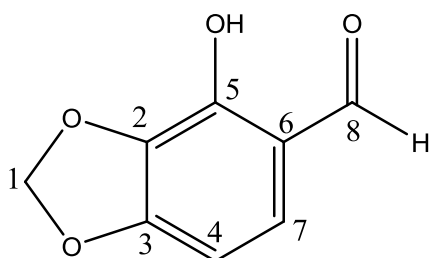
Løsningen ble så kjølet ned til romtemperatur og dampet inn til tørrhet på rotavapor. Mellomproduktet ble løst i EtOAc (30 ml) og den organiske fasen ble vasket med mettet NaHCO_3 (2x30 ml). Den organiske fasen ble tørket med MgSO_4 , filtrert og dampet inn. Mellomproduktet ble så løst i MeOH (3ml) og 10 % KOH løsning (6 ml) ble tilsatt. Dette ble satt på røring i 1,5 timer. Deretter ble løsningen surgjort med konsentrert HCl til pH 2-3 og ekstrahert med Et_2O (3x15 ml). Den organiske fasen ble vasket med mettet NaCl løsning (2x30 ml) og tørket med MgSO_4 . Filtrerte og dampet inn til tørrhet. Produktet ble rensert med kromatografi (SiO_2 , heksan/etylacetat, 8/2). Fikk 2,3-metylenedioksiyfenol (**10**) som et gult fast stoff.

R_F -verdi: 0,44

^1H NMR (300MHz, CDCl_3): $\delta = 7,19$ (s, 1H), 6,66 (t, $J = 8,1$ Hz, 1H), 5,88 (s, 2H) 6,42 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 6,41 (d, $J = 8,1$ Hz)

^{13}C NMR (75Hz, CDCl_3): $\delta = 148,64$ (C5), 139,53, 134,14, 122,29, 121,89, 111,22, 102,06, 101,15 (C1)

Spekter 1: ^{13}C -NMR spekter av forbindelse 12Spekter 2: ^1H -NMR spekter av forbindelse 12

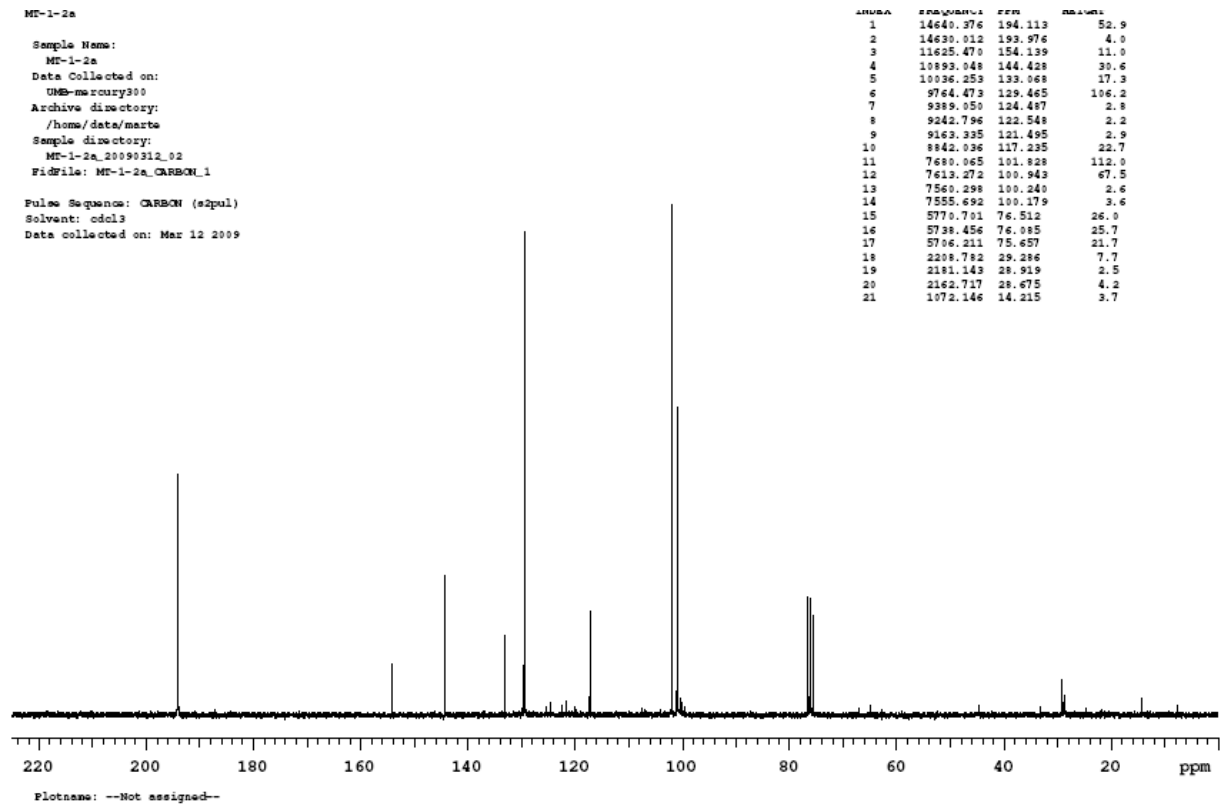
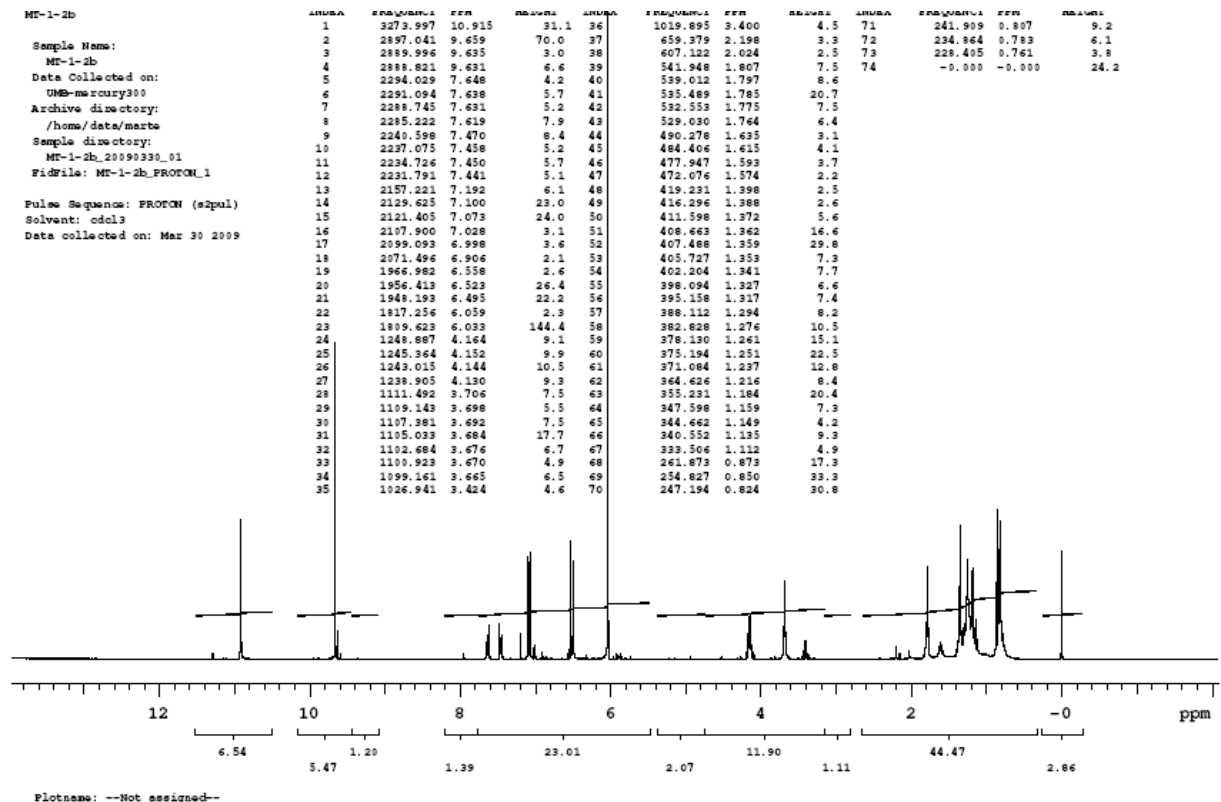
4.3 SYNTSE AV 4-HYDROKSYBENZO[D][1,3]DIOKSOL-5-KARBALDEHYD
(11A)**11a****Utbytte: 96 %**

Til en tørr THF løsnings (30 ml) med 2,3-metylendioksyfenol (0,35 g, 2,5 mmol), tørr magnesiumklorid (0,48 g, 5 mmol, 2 ekv) og trietylamin (0,51 g, 5 mmol, 2 ekv), ble *para*-formaldehyd (0,23 g, 7,5 mmol, 3 ekv) tilsatt. Reaksjonsblandingen ble varmet til reflux under nitrogen atmosfære i 4,5 timer. Reaksjonen ble fulgt med TLC (heksan/EtOAc, 8/1). Etter nedkjøling til romtemperatur, ble 1N HCl (10 ml) tilsatt og løsningen ble ekstrahert med Et₂O. Den organiske fasen ble tørket med MgSO₄ og konsentrert på rotavapor. Dette gav 4-hydroksybenzo[d][1,3]dioksol-5-karbaldehyd (**11a**) (0,40 g, 96 %) som svakt gult fast stoff.

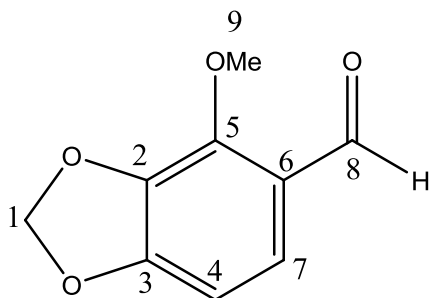
Smeltepunkt 113-115 °C.

¹H NMR (300MHz, CDCl₃): δ = 10,92 (s, 1H), 9,66 (s, 1H), 7,09 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 6,51 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H)

¹³C NMR (75Hz, CDCl₃): δ = 194,11 (C8), 154,14 (C5), 144,43, 133,07, 129,47, 117,24, 101,83, 100,94 (C1)

Spekter 3: ^{13}C -NMR spekter av forbindelse **11a**Spekter 4: ^1H -NMR spekter av forbindelse **11a**

4.4 SYNTSE AV 4-METOKSYBENZO[D][1,3]DIOKSOL-5-KARBALDEHYD (11B)

**11b****Utbytte: 99 %**

Til en DMF-løsning (40 ml) av 4-hydroksybenzo[d][1,3]dioksol-5-karbaldehyd (**11a**) (0,88 g, 5,26 mmol) og K_2CO_3 (1,45 g, 10,52 mmol, 2 ekv) ble MeI (0,66 ml, 10,52 mmol, 2 ekv) tilsatt. Reaksjonsblandingen ble satt på røring over natt.

En løsning av 1N HCl (6 ml) ble tilsatt og blandingen ble ekstrahert med Et_2O . Den organiske fasen ble tørket med $MgSO_4$, og dampet inn til tørrhet. Dette gav 4-metoksybenzo[d][1,3]dioksol-5-karbaldehyd (0,93 g, 99 %) (**11b**) som et gult fast stoff.

1H NMR (300MHz, $CDCl_3$): δ = 10,15 (s, 1H), 7,39 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 6,52 (dd, J = 8,1, 3,0 Hz, 1H), 5,96 (s, 2H), 4,05 (s, 3H)

^{13}C NMR (75Hz, $CDCl_3$): δ = 188,07 (C8), 154,68 (C5), 146,16, 135,88, 124,25, 122,80, 103,22, 101,85 (C1), 60,15 (C9)

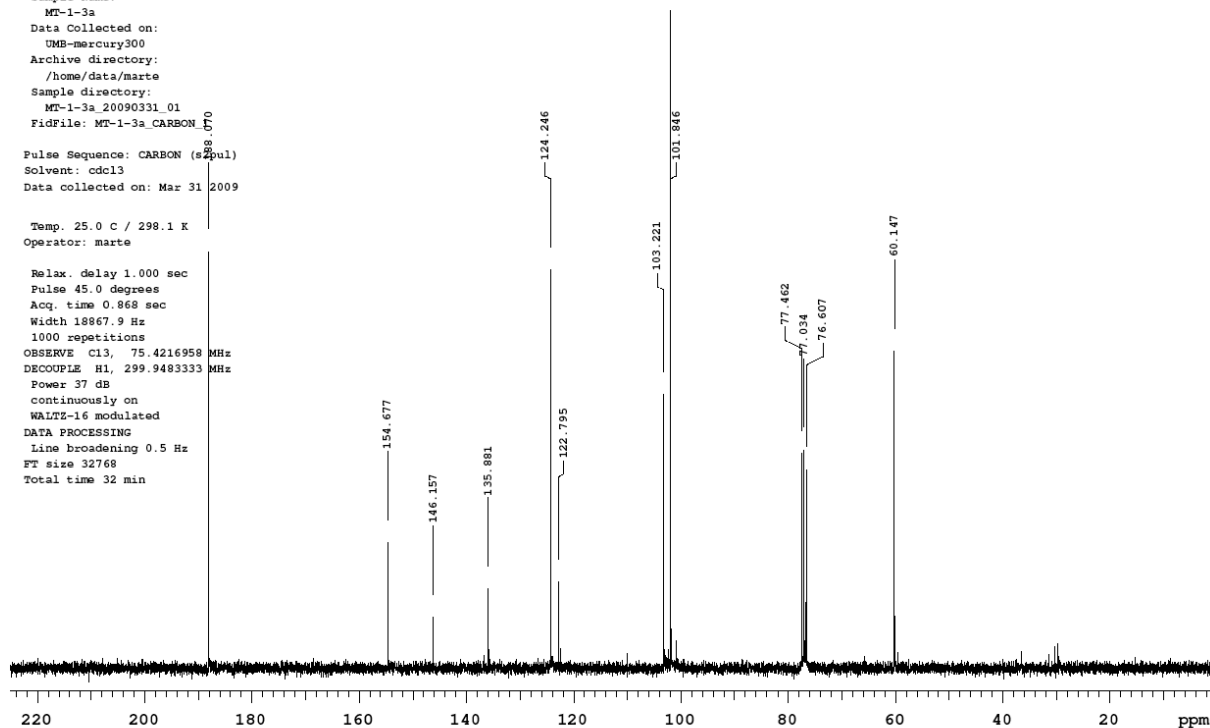
MT-1-3a

Sample Name:
MT-1-3a
Data Collected on:
UMB-mercury300
Archive directory:
/home/data/marte
Sample directory:
MT-1-3a_20090331_01
FidFile: MT-1-3a CARBON

Pulse Sequence: CARBON (s2pul)
Solvent: cdcl3
Data collected on: Mar 31 2009

Temp. 25.0 C / 298.1 K
Operator: marte

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 0.868 sec
Width 18867.9 Hz
1000 repetitions
OBSERVE C13, 75.4216958 MHz
DECOUPLE H1, 299.9483333 MHz
Power 37 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 0.5 Hz
FT size 32768
Total time 32 min



Plotname: --Not assigned--

Spekter 5: ^{13}C -NMR spekter av forbindelse **11b**

MT-1-3a

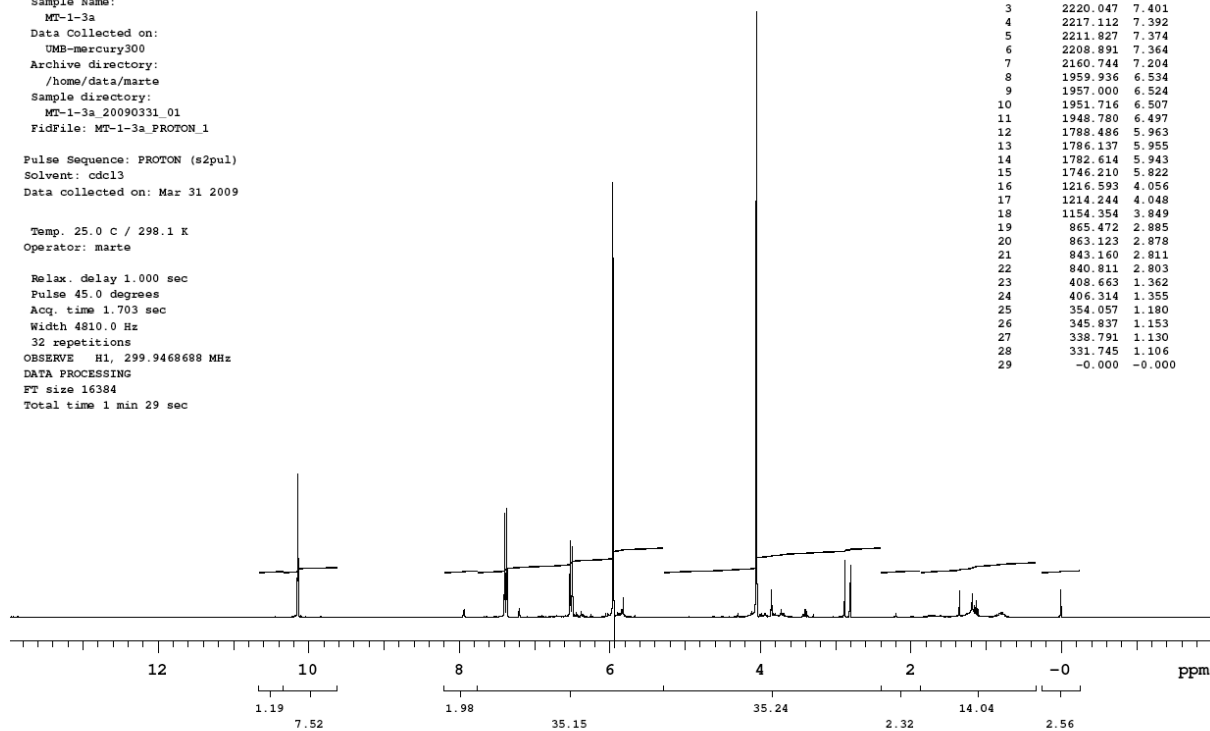
Sample Name:
MT-1-3a
Data Collected on:
UMB-mercury300
Archive directory:
/home/data/marte
Sample directory:
MT-1-3a_20090331_01
FidFile: MT-1-3a PROTON_1

Pulse Sequence: PROTON (s2pul)
Solvent: cdcl3
Data collected on: Mar 31 2009

Temp. 25.0 C / 298.1 K
Operator: marte

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.703 sec
Width 4810.0 Hz
32 repetitions
OBSERVE H1, 299.9468688 MHz
DATA PROCESSING
FT size 16384
Total time 1 min 29 sec

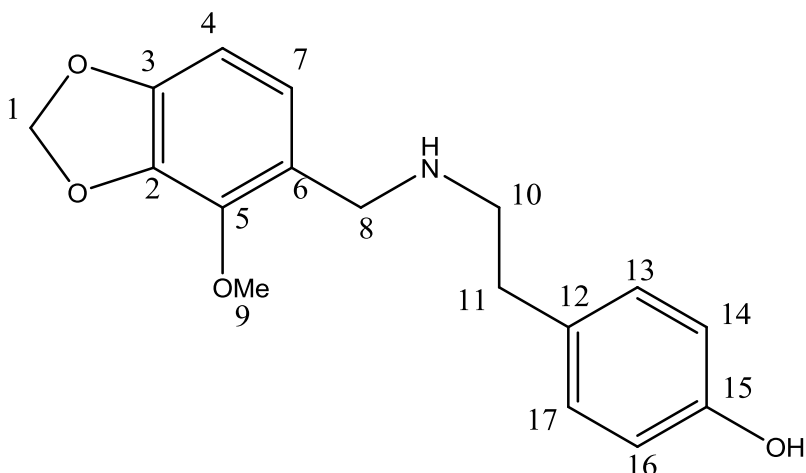
ANAL	FREQUENCY	FFT	AREA
1	3044.418	10.150	
2	3042.070	10.142	
3	2220.047	7.401	
4	2217.112	7.392	
5	2211.827	7.374	
6	2208.891	7.364	
7	2160.744	7.204	
8	1959.936	6.534	
9	1957.000	6.524	
10	1951.716	6.507	
11	1948.780	6.497	
12	1788.486	5.963	
13	1786.137	5.955	
14	1782.614	5.943	
15	1746.210	5.922	
16	1216.593	4.056	
17	1214.244	4.048	
18	1154.354	3.849	
19	865.472	2.885	
20	863.123	2.878	
21	843.160	2.811	
22	840.911	2.803	
23	408.663	1.362	
24	406.314	1.355	
25	354.057	1.180	
26	345.837	1.153	
27	338.791	1.130	
28	331.745	1.106	
29	-0.000	-0.000	



Plotname: --Not assigned--

Spekter 6: ^1H -NMR spekter av forbindelse **11b**

4.5 SYNTSE AV 4-(2-((4-METOKSYBENZO[D][1,3]DIOKSOL-5-YL)METYLAMINO)ETYL)FENOL (9)



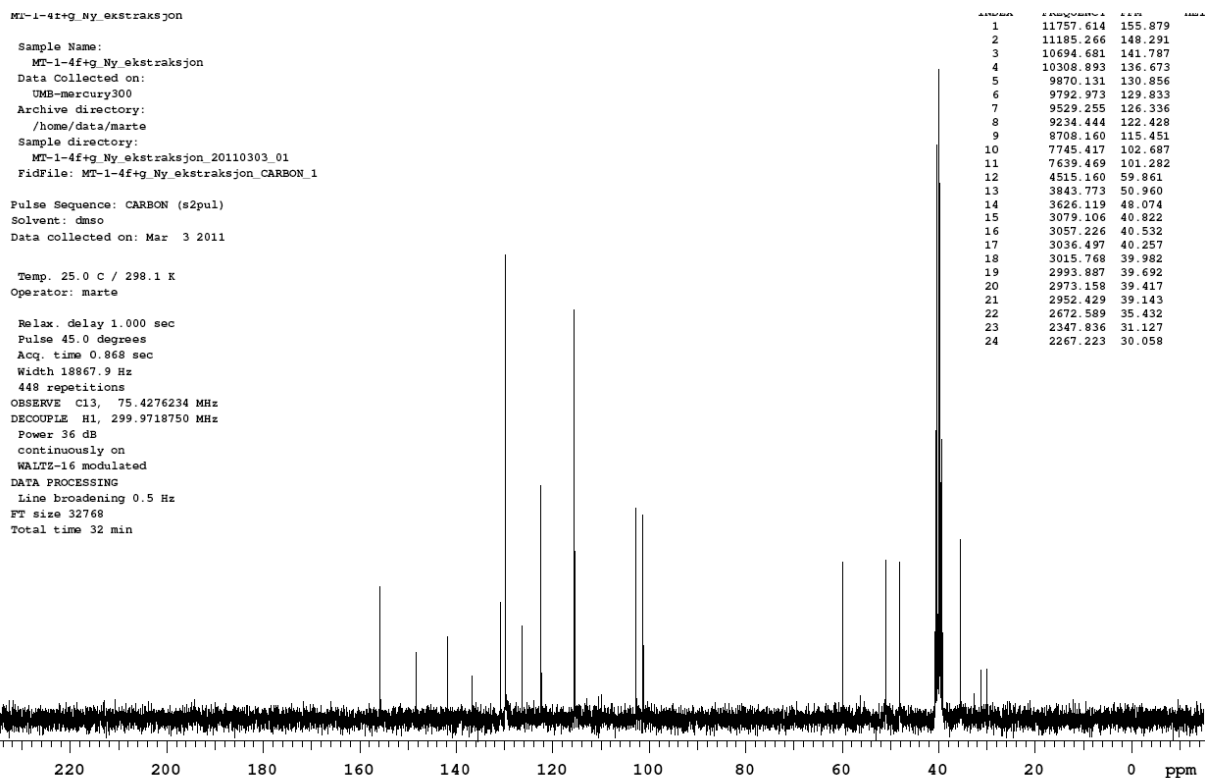
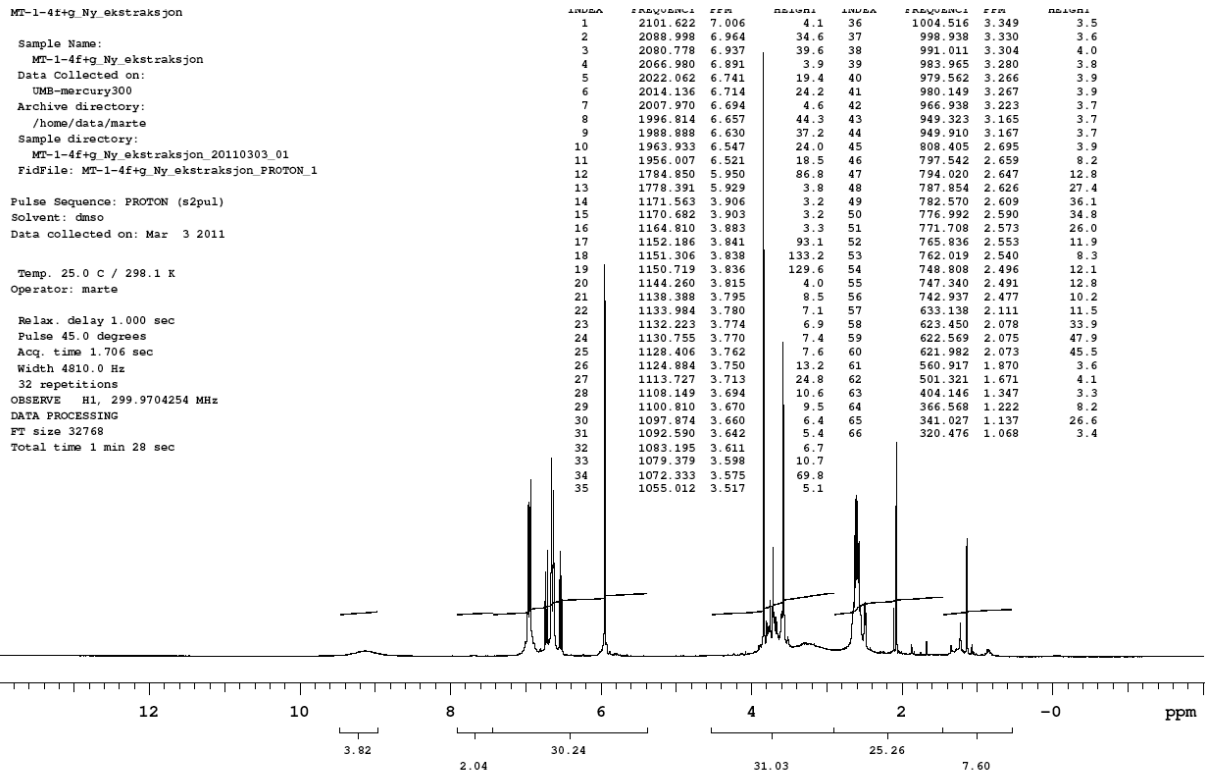
9

Utbytte: 60 %

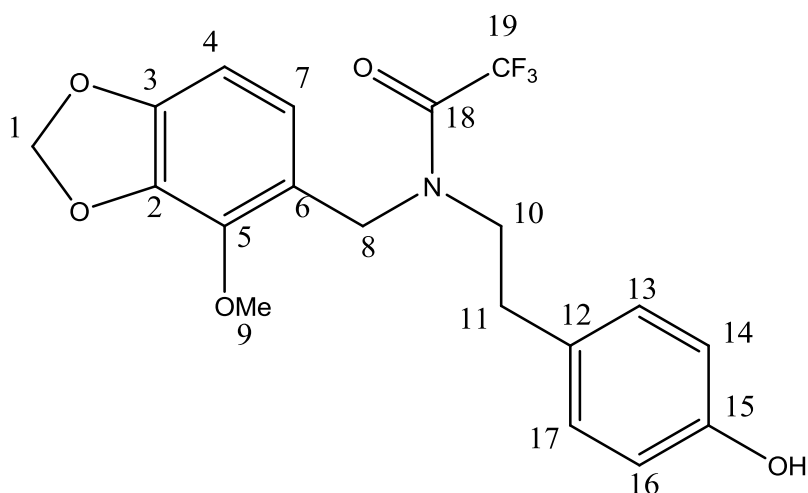
En løsning av 4-metoksybenzo[*d*][1,3]dioksol-5-karbaldehyd (**11b**) (1,51 g, 8,7 mmol) og tyramin (**10**) (1,20 g, 8,7 mmol, 1 ekv) i MeOH (60 ml) ble satt på røring i romtemperatur i 2 timer. Reaksjonen ble fulgt med TLC (Heksan/EtOAc 1/1). Så ble en løsning av NaBH₄ (0,99 g, 26,1 mmol, 3 ekv) i MeOH (15 ml) tilsatt dråpevis. Reaksjonsblandingen sto på røring i 45 min og løsemiddelet ble så dampet av på rotavapor. Råproduktet ble løst i Et₂O og vasket med mettet NaHCO₃ (2x30 ml). Den organiske fasen ble tørket med MgSO₄ og filtrert. Dampet inn og fikk 4-(2-((4-metoksybenzo[*d*][1,3]dioksol-5-yl)methylamino)etyl)fenol (**9**) som hvit fast stoff (1,52 g, 60 %).

¹H NMR (300MHz, *d*₆-DMSO): 9,09 (brs, 1H), 6,95 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 6,73 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 6,64 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 6,53 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 5,95 (s, 2H), 3,83 (s, 3H), 3,58 (s, 2H), 3,22 (brs, 1H), 2,54-2,70 (m, 4H)

¹³C NMR (75Hz, *d*₆-DMSO): δ = 155,88 (C15), 148,29, 141,79, 136,67, 130,86, 129,83, 126,34, 122,43, 115,45, 102,69, 101,28 (C1), 59,86 (C9), 50,96 (C8/10), 49,07(C8/10), 35,43 (C11)

Spekter 7: ^{13}C -NMR spekter av forbindelse 9Spekter 8: ^1H -NMR spekter av forbindelse 9

4.6 SYNTSE AV 2,2,2-TRIFLUORO-*N*-(4-HYDROKSYFENETYL)-*N*-((4-METOKSYBENZO[*D*][1,3]DIOKSOL-5-YL)METYL)ACETAMID (**14**)



14

Utbytte: 78 %

En blanding av polymer-supported DMAP (1,85 g, 15,15 mmol, 3 ekv) og 4-(2-((4-metoksybenzo[*d*][1,3]dioksol-5-yl)metylamino)etyl)fenol (**9**) (1,52 g, 5,05 mmol) i CH₂Cl₂ ble kjølt ned til 0 °C. Så ble trifluoreddiksyre anhydrid (0,84 ml, 6,06 mmol, 1,2 ekv) tilsatt dråpevis med en sprøyte. Reaksjonsblandingen ble varmet opp til romtemperatur over natt.

Reaksjonsblandingen ble filtrert og vasket med MeOH (3x25 mL) og deretter dampet inn på rotavapor.

Produktet ble rensert med kromatografi (SiO₂, heksan/etylacetat, 1/4). Fikk 2,2,2-trifluoro-*N*-(4-hydroksyfenetyl)-*N*-((4-metoksybenzo[*d*][1,3]dioksol-5-yl)metyl)acetamid (**14**) som et fargeløst stoff (1,56 g, 78 %).

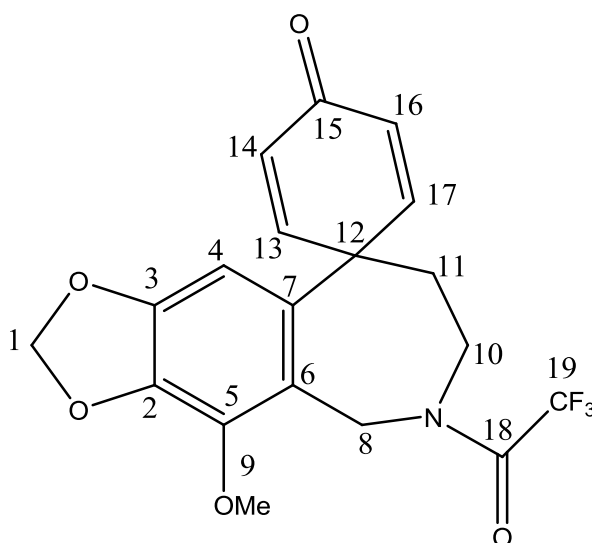
R_F-verdi: 0,85

¹H NMR (300MHz, CDCl₃): 6,83-6,89 (m, 2H), 6,62-6,70 (m, 2H), 6,41-6,44 (m, 2H), 5,79 (d, *J* = 2,1 Hz, 2H), *, 4,52 (s, 1H), 4,31 (s, 1H), 4,02 (d, *J* = 7,2 Hz, 3H), 3,30-3,40 (m, 2H), 2,58-2,69 (m, 2H)

*Rapportert en bred singlet ved 5,20 ppm¹⁸

¹³C NMR (75Hz, CDCl₃): 154, 14, 153, 90, 148,83, 148,66, 141,04, 140,81, 135,20, 132,08, 128,88, 128,77, 128,66, 128,52, 122,49, 121,59, 120,95, 118,94, 114,74, 114,57, 101,78, 101,55, 100,29, 100,20, 60,12, 58,55, 47,39, 43,57, 33,31, 30,93

4.7. SYNTESE AV 2-(TRIFLUOROACETYL)-7,8-(METYLENEDIOKSY)-9-METOKSY-2,3,4,5-TETRAHYDRO-1H-[2]BENZAZEPIN-5-SPIRO-1'-SYKLOHEKSA-2',5',-DIEN-4'-ON (8b)



8b

Utbytte: 18 %

PIFA (267 mg, 0,62 mmol, 1,2 ekv) i $\text{CF}_3\text{CH}_2\text{OH}$ (5 ml) ble tilsatt til en løsning av 2,2,2-trifluoro-*N*-(4-hydroksyfenetyl)-*N*-((4-metoksybenzo[*d*][1,3]dioksole-5-yl)metyl)acetamid (**14**) (204 mg, 0,51 mmol) i $\text{CF}_3\text{CH}_2\text{OH}$ (20 ml) ved 0 °C.

Reaksjonsblandingen sto på røring i 45 min, før det ble dampet inn på rotavapor.

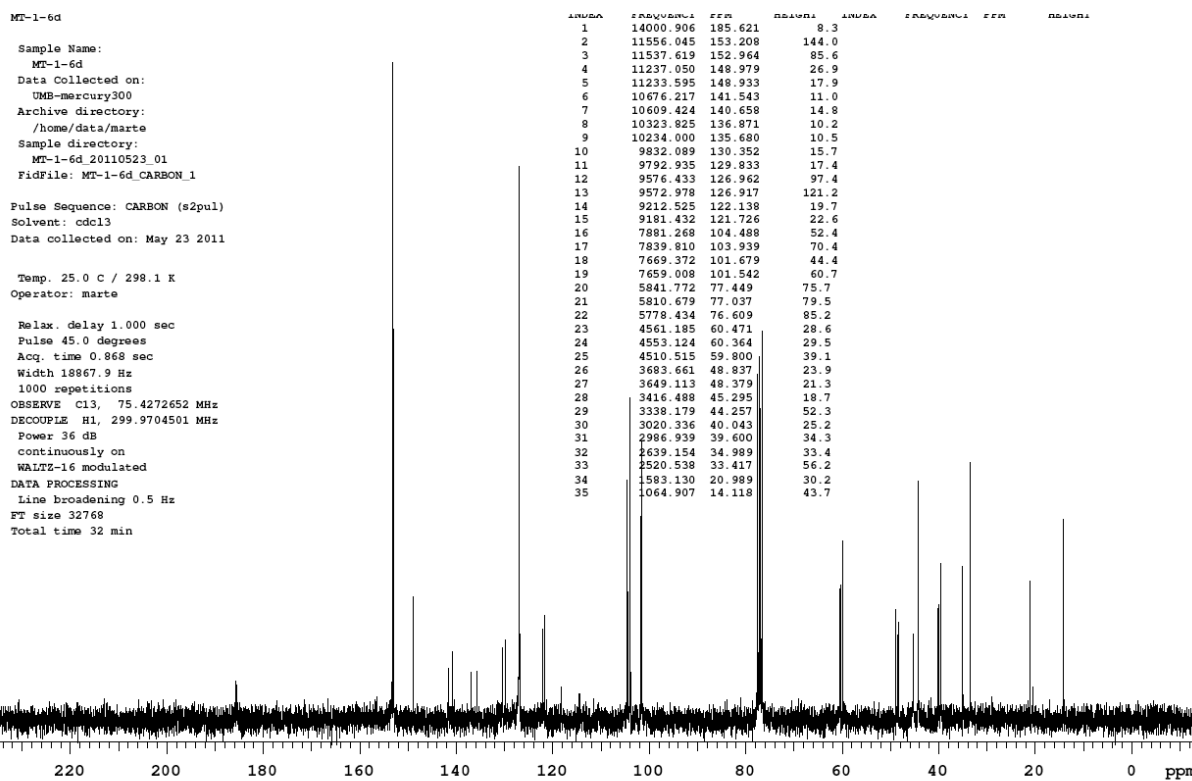
Produktet ble rensset med kromatografi (SiO_2 , heksan/etylacetat, 1/1). Fikk 2-(trifluoroacetyl)-7,8-(metylenedioksy)-9-metoksy-2,3,4,5-tetrahydro-1H-[2]benzazepin-5-spiro-1'-sykloheksa-2',5',-dien-4'-on (**8b**) som gule krystaller.

R_F -verdi: 0,32

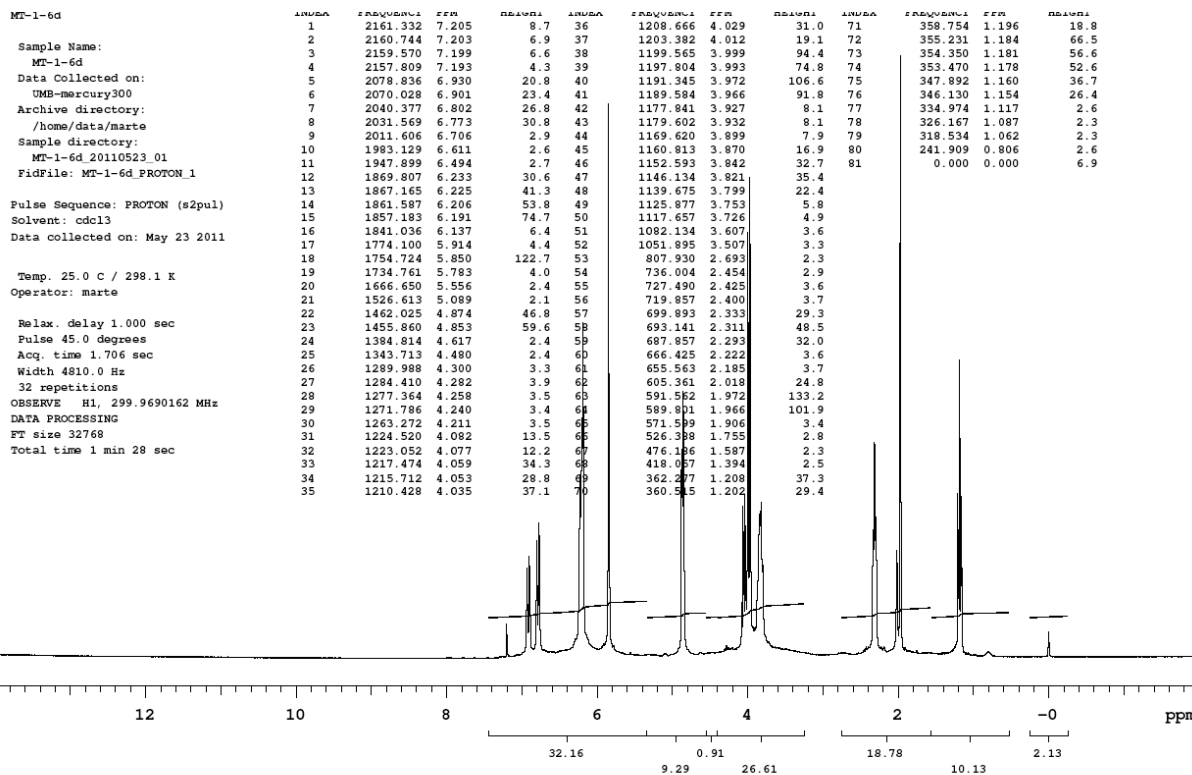
^1H NMR (300MHz, CDCl_3): 6,77-6,93 (m, 2H), 6,19-6,23 (m, 3H), 5,85 (s, 2H), 4,86 (d, $J = 6,3$ Hz, 2H), 4,04 (d, $J = 7,2$ Hz, 3H), 3,80-3,90 (m, 2H), 2,31 (t, $J = 6,6$ Hz, 2H)

^{13}C NMR (75Hz, CDCl_3): 185,62, 185*, 153,20, 152,96, 148,98, 148*, 141,54, 140,66, 136,87, 135,68, 130,35, 129,83, 126,96, 126,92, 122,14, 121, 73, 118*, 118*, 114*, 114*, 104, 49, 103,94, 101,68, 101,54, 59,80, 48,84, 48,38, 45,30, 44,26, 40,04, 39,60, 34,99, 33,42

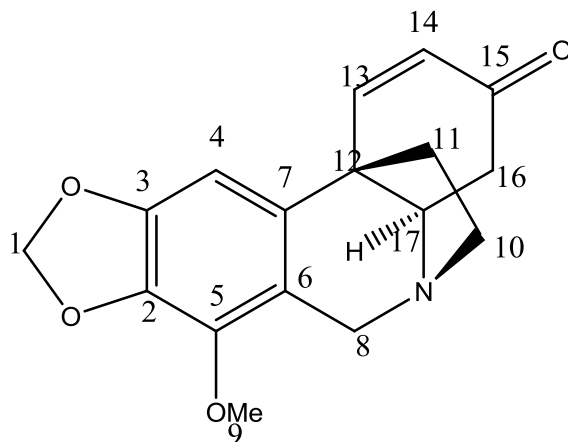
*Toppen er synlig, men eksakt verdi kommer ikke opp i lista.



Spekter 11: ¹³C-NMR spekter av forbindelse **8b**



Spekter 12: ¹H-NMR spekter av forbindelse **8b**

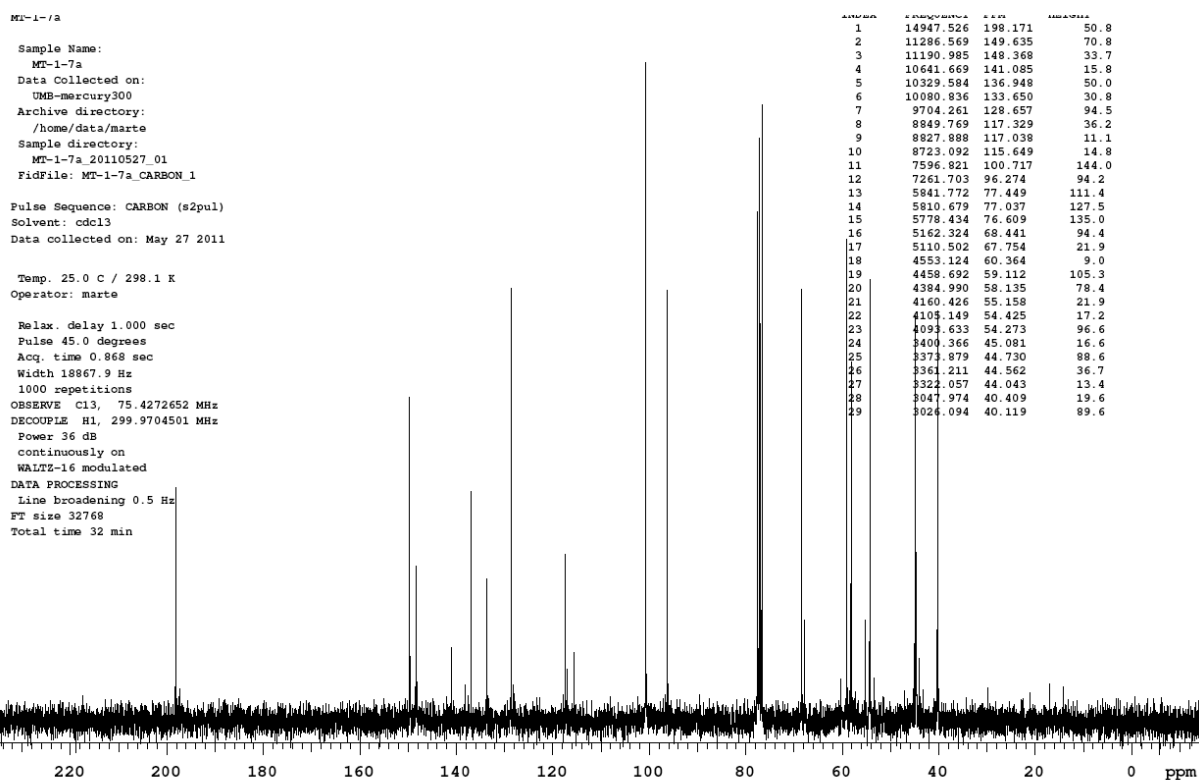
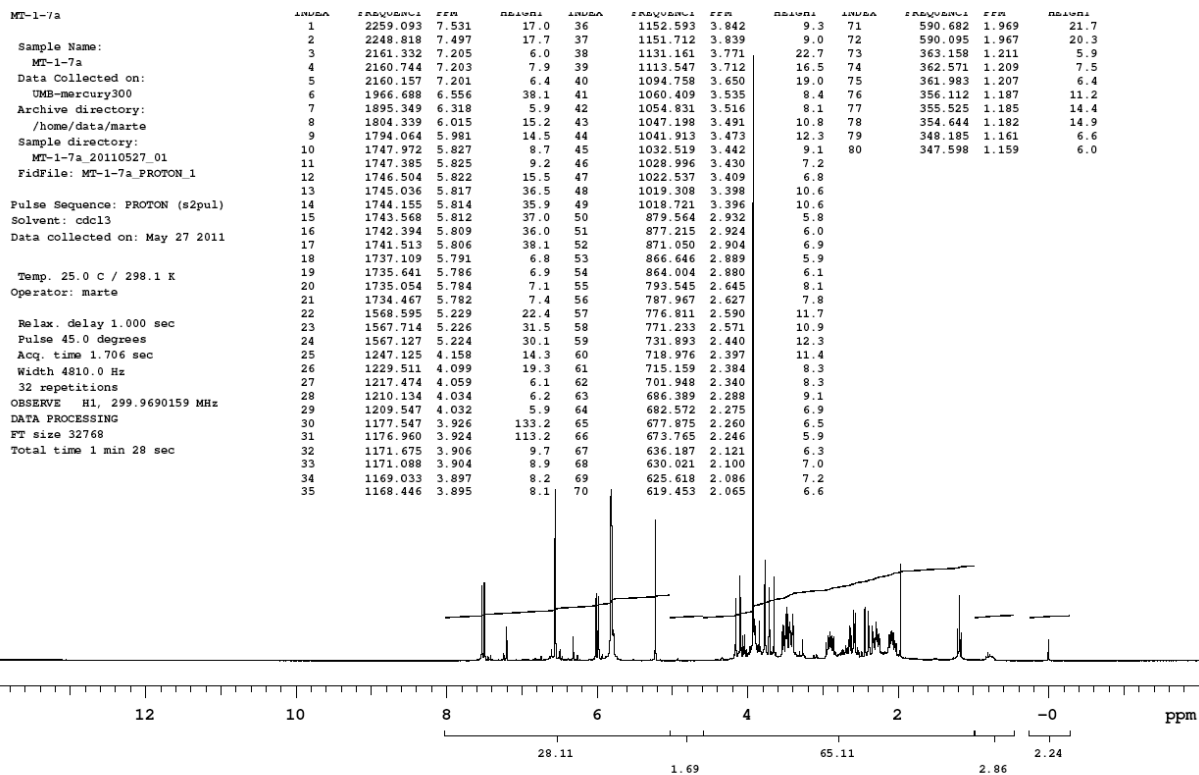
4.8. SYNTESE AV (\pm)-OKSOPOWELLINE (15)**15****Utbytte: 61 %**

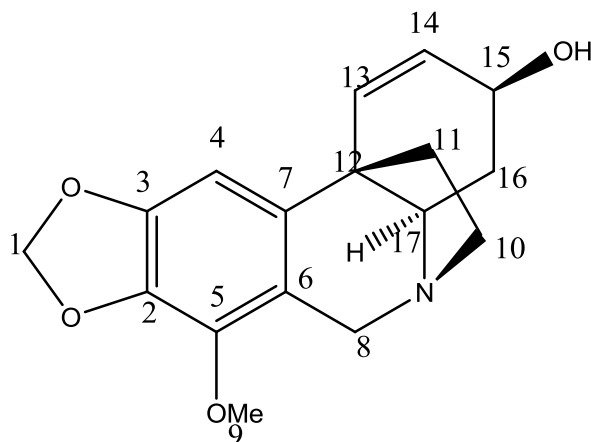
En løsning av vandig kaliumhydroksid 10 % (13,5 ml) ble tilsatt til en løsning av 2-(trifluoroacetyl)-7,8-(metylenedioksi)-9-metoksy-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-[2]benzazepin-5-spiro-1'-sykloheksa-2',5',-dien-4'-on (**8b**) (0,68 g, 1,72 mmol) i metanol (13,5 ml) ved romtemperatur. Reaksjonsblandingen sto på røring over natt.

Dampet inn og ekstraherte med CH₂Cl₂. Tørket den organiske fasen med MgSO₄, og dampet inn på rotavapor. Fikk (\pm)-Oksopowelline (**15**) som hvite krystaller.

¹H NMR (300MHz, CDCl₃): δ = 7,51 (d, *J* = 10,2 Hz, 1H), 6,56 (s, 1H), 5,89-5,82 (m, 3H), 4,01 (d, *J* = 17,7 Hz, 1H), 3,92 (s, 3H), 3,65-3,77 (m, 1H), 3,43-3,51 (m, 1H), 2,88-2,93 (m, 1H), 2,39- 2,59 (m, 1H), 2,28 (m, 1H), 2,12-2,07 (m, 2H)

¹³C NMR (75Hz, CDCl₃): δ = 198,17 (C15), 149,64, 148,37, 141,09, 136,95, 133,65, 128,66, 117,33, 100,72 (C1), 96,27, 68,44, 59,11, 58,14, 54, 27, 44,73, 44,56, 40,12

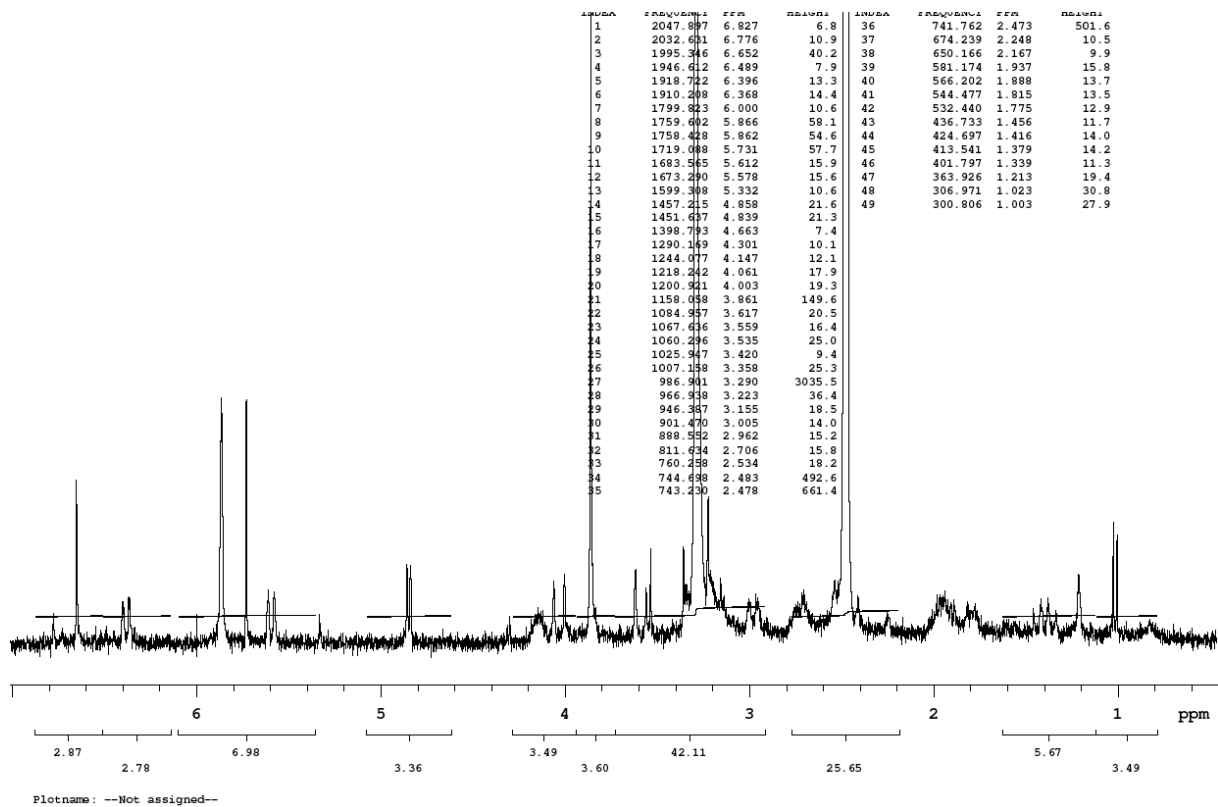
Spekter 13: ^{13}C -NMR spekter av (+)-Oksopowelline (15)Spekter 14: ^1H -NMR spekter av (+)-Oksopowelline (15)

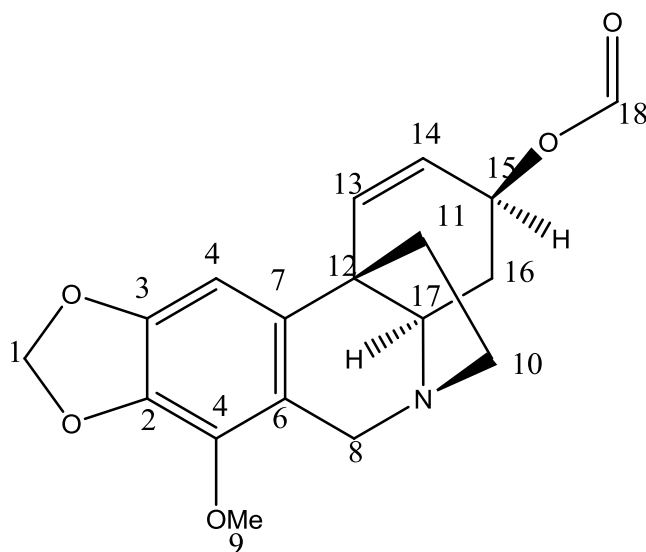
4.9. SYNTSE AV (\pm)-EPIPOWELLINE (16)**16****Utbytte: 81 %**

I en løsning av oksopowelline (**15**) (0,31 g, 1,04 mmol) i MeOH (30 ml), ble NaBH_4 (0,08 g, 2,18 mmol, 2,1 ekv) og $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,81 g, 2,18 mmol, 2,1 ekv) tilsatt. Etter en time i romtemperatur ble reaksjonsblandingen filtrert gjennom celite og vasket med MeOH. Dampet inn på rotavapor. Råproduktet ble løst i CH_2Cl_2 , og vasket to ganger med mettet vandig NaHCO_3 . Vannfasen ble ekstrahert med CH_2Cl_2 . Den organiske fasen ble tørket med MgSO_4 , og konsentrert på rotavapor. Dette gav epipowelline (**16**) som hvite krystaller.

^1H NMR (300MHz, CDCl_3): δ = 6,65 (s, 1H), 6,38 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 5,86 (ABq, 2H), 5,60 (d, J = 10,2 Hz, 1H), 4,85 (d, J = 5,7 Hz, 1H), 4,15 (m, 1H), 4,03 (d, J = 17,4 Hz, 1H), 3,86 (s, 3H), 3,59 (d, J = 17,4 Hz), 3,22 (m, 1H), 2,98 (d, J = 12,9 Hz, 1H), 2,70 (m, 1H), 1,93 (m, 1H), 1,81 (m, 1H), 1,40 (m, 1H)

^{13}C NMR (75Hz, CDCl_3): På grunn av lite stoff, ble ingen topper synlige i karbonspekteret.

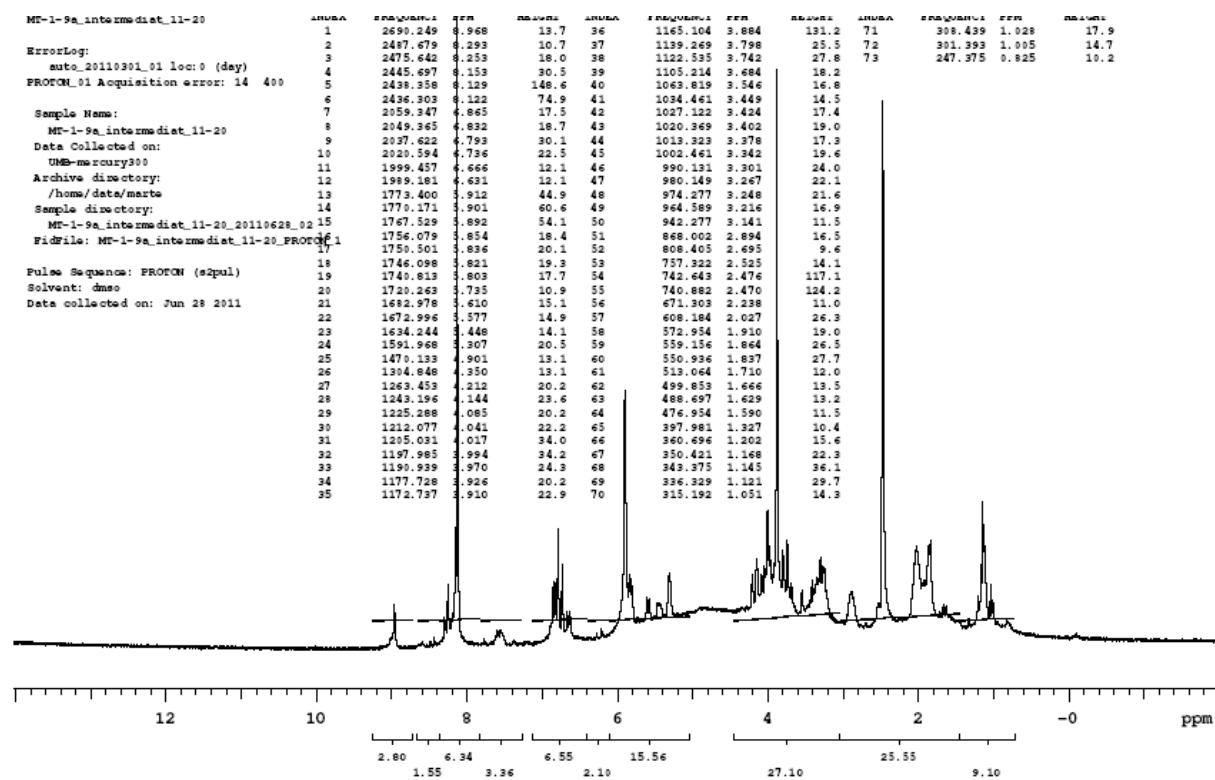
Spekter 15: ^1H -NMR spekter av (\pm)-Epipowelline (16)

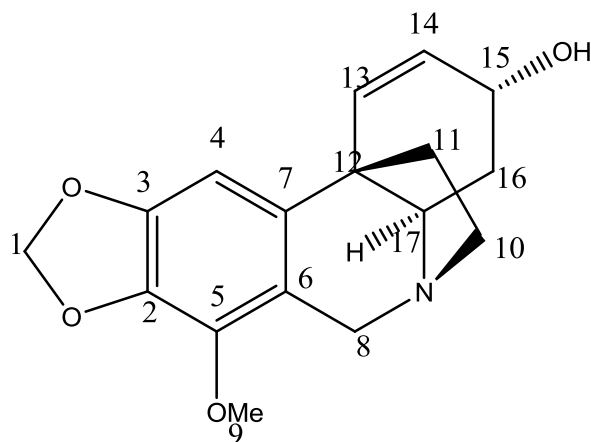
4.10 SYNTSE AV *O*-FORMYL-POWELLINE**17****Utbytte: 71 %**

I en løøsning av epipowelline (**16**) (0,19 g, 0,63 mmol) i tørr THF (16 ml), ble PPh₃ (0,33 g, 1,27 mmol, 2 ekv), HCOOH (0,13 g, 2,85 mmol, 4,5 ekv) og DEAD (40 % i toluen) (0,22 g, 1,27 mmol, 2 ekv) tilsatt. Reaksjonsblandingen fikk stå under nitrogenatmosfære i romtemperatur i 3 dager, mens det ble tilsatt ekstra porsjoner av PPh₃ (0,33 g), HCOOH (0,13 g) og DEAD (0,22 g) hver 24. time. Reaksjonsblandingen ble så dampet inn på rotavapor. Råproduktet ble rensset med kromatografi (SiO₂, Kloroform/metanol, 97/3, 92/8, 90/10). Dette gav *O*-formyl-powelline (**17**) som hvitt pulver (0,15 mg, 71 %).

R_F-verdi: 0,37

Da dette kun var et intermediat, ble kun ¹H-spekter tatt opp. Det ble ikke brukt tid på å analysere dette spekteret.

Spekter 16: ^1H -NMR spekter av *O*-formyl-powelline

4.11. SYNTESE AV (\pm)-POWELLINE (2)

2

Utbytte: 74 %

Til en løsning av *O*-formyl-powelline (**17**) (0,15 g, 0,45 mmol) i THF (13 ml) ble 2 N vandig NaOH (13 ml) tilsatt. Dette stod på røring i 1,5 timer i romtemperatur, før løsningsmiddelet ble dampet av på rotavapor. Mellomproduktet ble løst i CHCl₃, vasket med 25 % vandig NH₃, og ekstrahert med CHCl₃. Den organiske fasen ble vasket med mettet NaHCO₃, tørket med MgSO₄ og dampet inn på rotavapor. Råproduktet ble rensert med kromatografi (SiO₂, kloroform/metanol, 90/10). Fikk powelline (**2**) (0,10g, 74 %) som hvite krystaller.

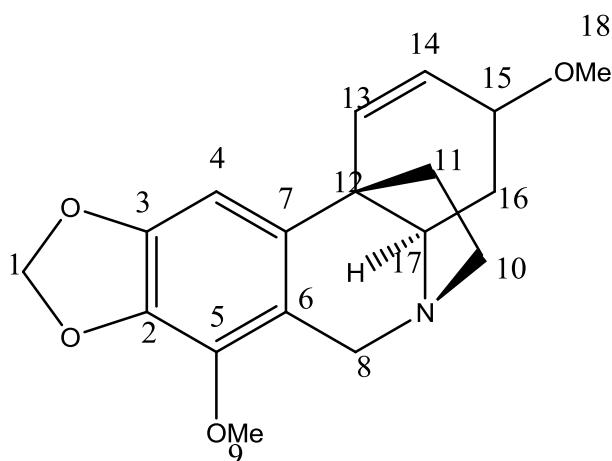
R_F-verdi: 0,44

¹H NMR (300MHz, CDCl₃): δ = 6,47 (s, 1H), 6,50 (d, J = 9,3 Hz, 1H), 5,87 (dd, J = 9,9, 5,1 Hz, 1H), 5,78 (ABq, 2H), 4,26 (m, 1H), 4,15 (d, J = 15,6 Hz, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,75 (d, J = 13,2 Hz, 1H), 3,30 (m, 1H), 2,80 (m, 1H), 2,09 (m, 2H), 1,95 (m, 1H), 1,80 (m, 1H)

¹³C NMR (75Hz, CDCl₃): δ = 148,02 (C3), 139,33 (ArC), 139*(ArC), 132,23 (ArC), 131,50 (C13), 128,84 (ArC), 127,42 (C14), 100,50 (C1), 96,61 (C4), 63,95 (C15), 62,35 (C17), 59,07 (C9), 58,62 (C8), 53,34 (C10), 44,93 (C12), 44,12 (C11), 34,94 (C16)

*Toppen er så lav at den ikke kommer opp på listen med eksakt verdi.

4.12. FORSØK PÅ SYNTESE AV (±)-BUFANIDRINE (3)

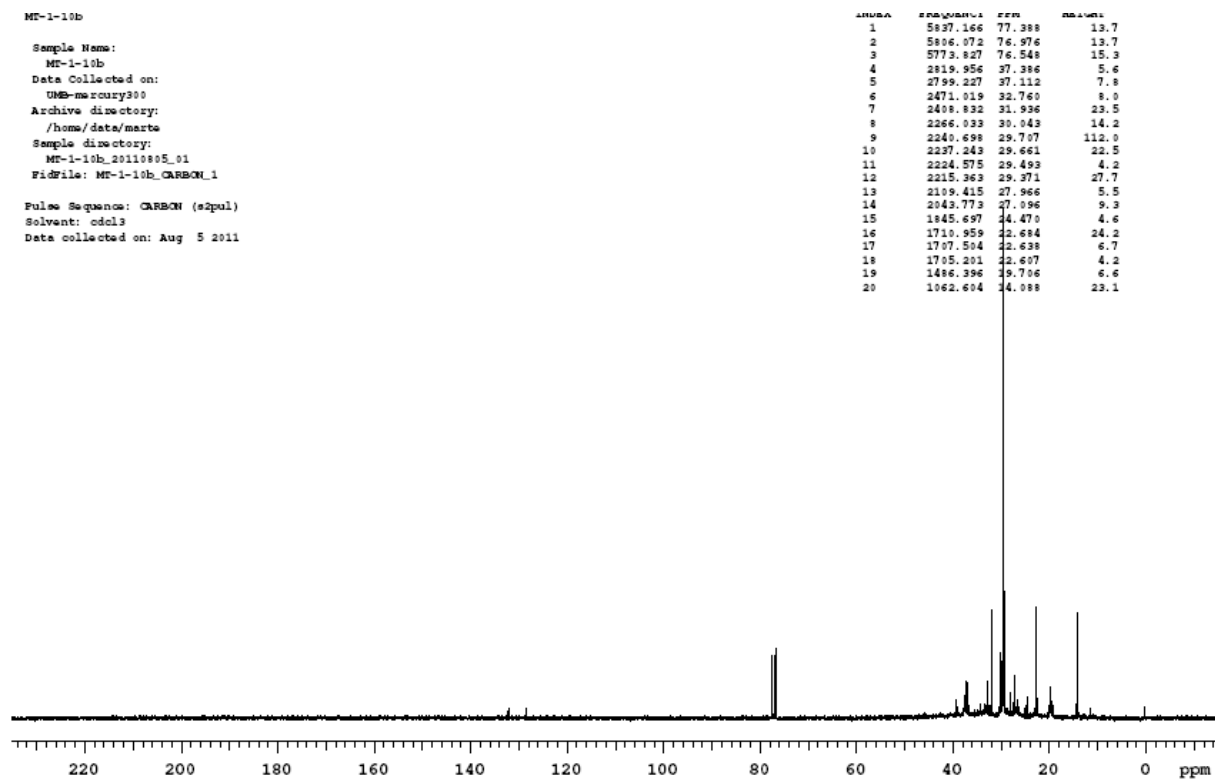
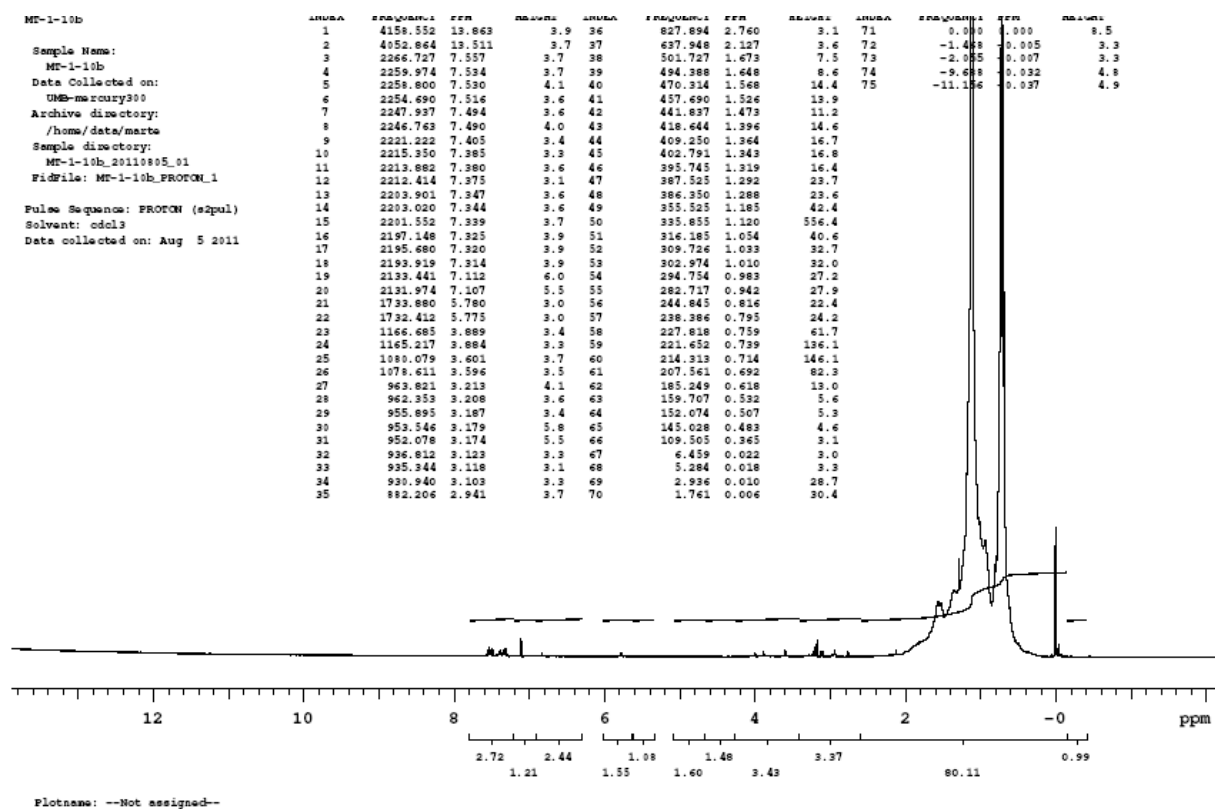


3

Til en kald ($0\text{ }^{\circ}\text{C}$) løsning av NaH (0,04 g, 1,67 mmol, 5 ekv) i THF (3 ml) på røring, ble (±)-powelline (**2**) (0,100 g, 0,33 mmol) tilsatt som en løsning i THF (2 ml).

Reaksjonsblandingen stod på røring i romtemperatur i 1 time før MeI (0,1 ml, 1,67 mmol, 5 ekv) ble tilsatt. Reaksjonsblandingen stod på røring i 18 timer. Så ble blandingen kjølt ned til $0\text{ }^{\circ}\text{C}$, før mettet vandig NH_4Cl (10 ml) ble tilsatt forsiktig. Den resulterende blandingen ble fortynnet med Et_2O (10 ml). Fasene ble separert, og den vandige fasen ble ekstrahert med Et_2O (3x5 ml). De organiske fasene ble slått sammen og vasket med mettet NaCl-løsning (10 ml), tørket med MgSO_4 og dampet inn på rotavapor. Fikk et råprodukt med gule krystaller (0,04g).

Spektroskopiske data fra ^1H - og ^{13}C NMR gav ingen signifikante topper som kunne tyde på dannelse av (±)-bufanidine (**3**).

Spekter 19: ^{13}C -NMR spekter av råprodukt fra forsøk på syntese av forbindelse 3Spekter 20: ^1H -NMR spekter av råprodukt fra forsøk på syntese av forbindelse 3

REFERANSER

1. Hart, H.; Craine, L. E.; Hart, D. J.; Hadad, C. M., *Organic Chemistry - A Short Course*. 12 ed.; Houghton Mifflin Company: 2007.
2. Samuleson, G., *Drugs of natural origin*. 4 ed.; Routledge: 2001.
3. Pelletier, S. W., The Nature and Definition of an Alkaloid. In *Alkaloids, Chemical and Biological Perspectives*, John Wiley & Sons Inc.: New York, 1983; 1-31.
4. Dewick, P. M., *Medicinal Natural Products - A biosynthetic Approach*. 2 ed.; John Wiley & Sons Inc.: 2001.
5. P. F., S. Asparagales; Amaryllidaceae.
<http://www.mobot.org/mobot/research/apweb/orders/asparagalesweb.htm#Amaryllidaceae> (20.07.2011),
6. Hartwell, J. L., Plants used against cancer. A Survey. *Lloydia* **1967**, *30*, 379-436.
7. Jin, Z., Amaryllidaceaw and Sceletium alkaloids. *Natural Product Reports* **2005**, *22*, 111-126.
8. Zhong, J., Amaryllidaceae and Sceletium alkaloids. *Natural Product Reports* **2007**, *24*, 886-905.
9. <http://www.cfh.ac.cn/Album/ShowAlbum.aspx?albumid=efc80052-8335-47d8-a0aa-f451120ac16d> (21.07.2011),
10. Chien-Kuang Chen, F.-H. L., Li-Hong Tseng, Chia-Ling Jiang, and Shoei-Sheng Lee, Comprehensive Study of Alkaloids from *Crinum asiaticum* var. *sinicum* Assisted by HPLC-DAD-SPE-NMR. *Journal of Natural Products* **2011**, *74*, 411-419.
11. Brossi, A., In *The Alkaloids: Chemistry and pharmacology*, Orlando, 1985; Vol. 25, 22.
12. Carey, F. A., *Organic Chemistry*. 4 ed.; Mc Graw Hill Higher Education: 2000.
13. Neergaard, J. S.; Andersen, J.; Pedersen, M. E.; Stafford, G. I.; Staden, J. V.; Jäger, A. K., Alkaloids from *Boophone disticha* with affinity to the serotonin transporter. *South African Journal of Botany* **2009**, *75*, 371-374.
14. Squire, L. R.; Bloom, F. E.; Spitzer, N. C.; Lac, S. d.; Ghosh, A.; Berg, D., *Fundamental neuroscience*. 2 ed.; Elsevier Science: San Diego, 2003. 176.
15. Putt, K. S.; Chen, G. W.; Pearson, J. M.; Sandhorst, J. S.; Hoagland, M. S.; Kwon, J.-T.; Hwang, S.-K.; Jin, H.; Churchwell, M. I.; Cho, M.-H.; Doerge, D. R.; Helferich, W. G.; Hergenrother, P. J., Small-molecule activation of procaspase-3 to caspase-3 as a personalized anticancer strategy. *Nature Chemical Biology* **2006**, *2*, 543-550.
16. Corey, E. J.; Cheng, X.-M., *The Logic of Chemical Synthesis*. Wiley: 1995. 1-16.
17. Clayden, J.; Greeves, N.; Warren, S.; Wothers, P., *Organic Chemistry*. Oxford University Press: 2001.
18. Anwar, H. F.; Hansen, T. V., First Total Synthesis of (+/-)-Powelline. *Synlett* **2008**, 2681-2683.
19. Olah, G. A.; Ohannesian, L.; Arvanaghi, M., Formylating Agents. *Chemical Reviews* **1987**, *87*, 671-686.
20. Hofsløkken, N. U.; Skattebøl, L., Convenient Method for the orto-Formylation of Phenols. *Acta Chemica Scandinavica* **1999**, *53*, 258-262.
21. Xu, S.; Held, I.; Kempf, B.; Mayr, H.; Steglich, W.; Zipse, H., The DMAP-Catalyzed Acetylation of Alcohols - A Mechanistic Study. *Chemistry - A European Journal* **2005**, *11*, 4751-4757.
22. Luche Reduction. <http://www.organic-chemistry.org/namedreactions/luche-reduction.shtml> (30.05.2011),
23. Hughes, D. L.; Reamer, R. A.; Bergan, J. J.; Grabowski, E. J. J., A Mechanistic Study of the Mitsunobu Esterification Reaction. *Journal of American Chemical Society* **1988**, *110*, 6487-6491.
24. Greene, T. W.; Wuts, P. G. M., *Protective Groups in Organic Synthesis*. 4 ed.; John Wiley & Sons Inc: New York, 2007. 1.
25. Williams, D.; Fleming, I., *Spectroscopic Methods in Organic Chemistry*. Mc Graw Hill: 2008.
26. Ahuja, S., *Chromatography and separation science*. Academic Press: 2003. 125-126.

27. Rigby, J. H.; Maharoo, U. S. M.; Mateo, M. E., Studies on the Marciclasine Alkaloids: Total Synthesis of (±)-Narciclasine and (±)-Pancratistatin. *Journal of American Chemical Society* **2000**, *122*, 6624-6628.
28. Hansen, T. V.; Skattebøl, L., Ortho-formylation of phenols; Preparation of 3-bromosalicylaldehyde. *Organic Syntheses* **2005**, *82*, 64-68.
29. Delhaye, L.; Ceccato, A.; Jacobs, P.; Köttgen, C.; Merscaert, A., Removal of Reaction Solvent by Extractive Workup: Survey of Water and Solvent Co-extraction in Various Systems. *Organic Process Research & Development* **2007**, *11*, 160-164.
30. Schaefer, W. H., Reaction of primary and secondary amines to form carbamic acid glucuronides. *Current Drug Metabolism* **2006**, *7*, 873-881.
31. Kita, Y.; Takanda, T.; Gyoten, M.; Tohma, H.; Zenk, M. H.; Eichhorn, J., An Oxidative intramolecular Phenolic Coupling Reaction for the Synthesis of Amaryllidaceae Alkaloids Using a Hypervalent Iodine(III) Reagent. *Journal of Organic Chemistry* **1996**, *61*, 5857-5864.
32. Schwartz, M. A.; Rose, B. F.; Holton, R. A.; Scott, S. W.; Vishnuavajjala, B., Intramolecular Oxidative Coupling of Diphenolic, Monophenolic, and Nonphenolic Substrates. *Journal of American Chemical Society* **1977**, *99*, 2571-2578.
33. Sokeirik, Y. S.; Sato, K.; Omote, M.; Ando, A.; Kumadaki, I., Asymmetric reduction of perfluoroalkyl ketones with chiral lithium aloxides. *Tetrahedron Letters* **2006**, *46*, 2821-2824.
34. Paterson, I.; Britton, R.; Ashton, K.; Knust, H.; Stafford, J., Synthesis of antimicrofilament marine macrolides: Synthesis and configurational assignment of a C5-C16 degradation fragment of reidispongiolid A. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2004**, *101*, 11986-11991.
35. Bogle, K. M.; Hirst, D. J.; Dixon, D. J., Total Synthesis of (+/-)-Powelline and (+/-)-Buphanidrine. *Organic Letters* **2010**, *12*, 1252-1254.
36. Katsuki, T.; Sharpless, K. B., The first practical method for asymmetric epoxidation. *Journal of American Chemical Society* **1980**, *102*, 5974-5976.