



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Masteroppgave 2018 60 stp

Fakultetet for kjemi, bioteknologi og matvitenskap

Syntetiske studier av nye analoger av 2-metoksyøstradiol med antatt anti-cancer effekter

Synthetic studies of novel analogues of 2-methoxyestradiol with presumed anti-cancer effects

Malene Gaulin

Kjemi og bioteknologi

Forord

Arbeidet med denne masteroppgaven ble utført ved kjemiavdelingen på Fakultet for kjemi, bioteknologi og matvitenskap ved Norges miljø- og biovitenskapelige universitet.

Jeg vil gjerne takke mine fire veiledere Professor Yngve Stenstrøm, Professor Trond Vidar Hansen, Dr. Simen Antonsen og Dr. Jens M. J. Nolsøe for en morsom oppgave, og ikke minst veldig god veiledning. Det har vært veldig morsomt å få lov til være en del av deres gruppe.

Takk til Dr. Ida Aarum for god hjelp med alle mulige spørsmål, og takk til mine medstudenter, spesielt Christiane Færestrand Ellefsen, Marianne Stillerud og Erik Tylleskär for mange fine samtaler og kaffepauser. Dette året hadde ikke vært det samme uten dere.

Ikke minst vil jeg takke hele kjemigangen for det gode miljøet som finnes der, og alle hyggelige samtaler.

Jeg vil også takke Professor Dag Ekeberg og senioringeniør Hanne Devle for hjelp med HRMS-prøver, og jeg vil takke senioringeniør Anne Gravidahl for hjelp med bestilling av kjemikalier.

En stor takk rettes også til gode venner, familie og kjæreste for deres støtte og oppmuntring gjennom hele studiet.

Malene Gaulin

Sammendrag

I denne oppgaven har det blitt fremstilt analoger av østrogenmetabolitten 2-metoksyøstradiol. Det har totalt blitt syntetisert sju nye analoge forbindelser. Analogene ble fremstilt ved hjelp av ulike synteseveier.

Hovedfokuset i denne oppgaven var å gjøre modifikasjoner i posisjon C-2 i steroidskjelettet for SAR-studier. Utgangsstoffet som ble benyttet var østratetraenol. Tre av de nye analogene er alkylderivater. Det har også blitt syntetisert formyl- og amino-analoger.

Det har vært utfordringer med flere av reaksjonene, og det er nærliggende å anta at strukturen til østratetraenol setter begrensninger i form av konformasjonen til ringsystemet. I disse tilfellene ble det forsøkt å beskytte fenolgruppen i posisjon C-3 på steroidskjelettet. Beskyttelsesreaksjonene gav utbytter på 55 – 70%, men forenklet ikke videre reaksjonsforløp.

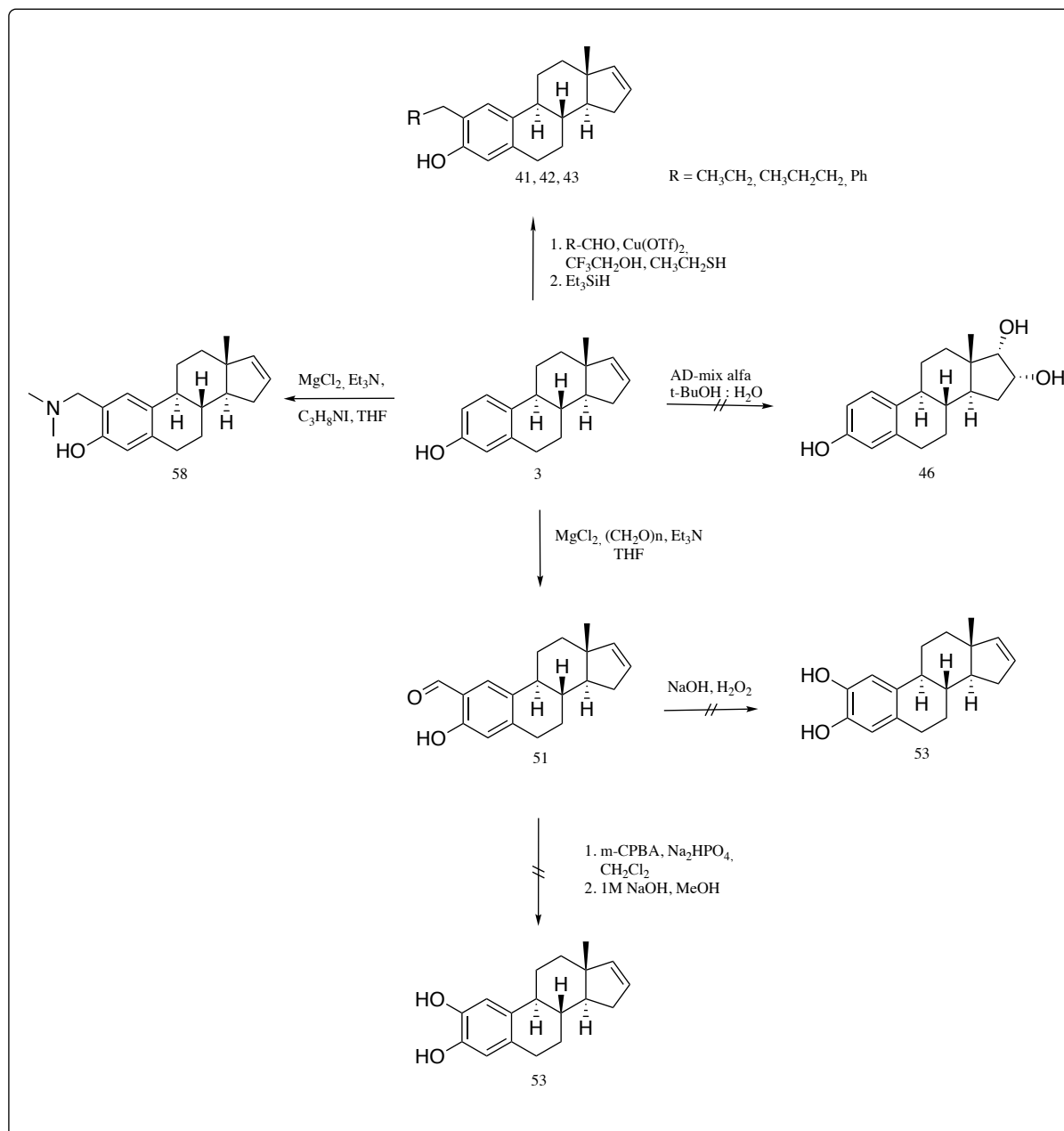
Abstract

In this thesis analogs of the estrogen metabolite 2-methoxyestradiol have been prepared. A total of seven new analog compounds have been synthesized. The analogues were prepared by various synthetic routes.

The main focus was to prepare modifications at the C2 position of the steroid-structure for SAR studies. In this study estratetraenol was used as starting material to prepare new analogs. Three of the new analogs were alkyl-derivates. Formyl- and amino-analogs were also prepared.

There have been challenges with several of the reactions, and it is natural to assume that the structure of estratetraenol imposes constraints in the form of conformation of the ring-system. In these cases, an attempt was made to protect the phenol group at position C-3 on the steroid skeleton. The protective reactions yielded yields of 55-70%, but did not further facilitate the reaction

Grafisk sammendrag



Forkortelser og trivialnavn

17 β - ø stradiol	(17 β)- ø stra-1,3,5(10)-triene-3,17-diol
2-metoksy ø stradiol	(17 β)-2-metoksy ø stra-1,3,5(10)-trien-3,17-diol
2-metoksy ø stron	3-hydroksy-2-metoksy ø stra-1,3,5(10)-trien-17-one
Androstenedion	Androst-4-en-3,17-dion
CBSI	«colchicine binding site agents»
ER	Østrogenreseptor
Etinylostradiol	(17 β)- ø stra-18-etinyl-1,3,5(10)-triene-3,17-diol
HIF-1	«Hypoxia-inducible factor»
Mm	Molekylmasse
MDR	«Multiple drug resistance»
MTA	«Microtubule targeting agents»
Progesteron	Pregn-4-ene-3,20-dion
Testosteron	Androst-4-en-17 β -ol-3-on
Testosteron-cypionate	Androst-4-en-17 β -ol-3-on-17 β -syklopentanpropionat
Østratetraenol	Østra-1,3,5(10),16-tetraen-3-ol
Østriol	(16 α)-(17 β)- ø stra-1,3,5(10)-triene-3,16,17-triol
Østron	Østra-1,3,5(10)-triene-3-ol-17-on

Generelle bemerkninger

Det er i hovedsak brukt IUPAC-nomenklatur for navnsetting av forbindelser.

For δ -verdier fra ^1H NMR er punktum benyttet istedenfor komma.

Innholdsfortegnelse

Forord	I
Sammendrag	II
Abstract.....	III
Grafisk sammendrag	IV
Forkortelser og trivialnavn	V
Generelle bemerkninger	VI
1 Innledning	1
1.1 Mål med studien	1
1.2 Kreft.....	1
1.2.1 Etiologi.....	2
1.2.2 Kjemoterapi	2
1.2.3 Angiogenese	2
1.2.4 Tubulin og mikrotubulin	3
1.3 Naturstoffbaserte legemidler	4
1.3.1 Naturstoffanaloger	7
1.3.2 Steroider	7
1.3.3 Steroidhormoner	10
1.3.4 Østrogen	10
1.4 2-Metoksyøstradiol.....	11
1.4.1 Virkning av 2-metoksyøstradiol rettet mot kreftbehandling	12
1.4.2 SAR-studier og analoger av 2-metoksyøstradiol.....	12
1.4.3 Kliniske studier av 2-metoksyøstradiol.....	17
1.5 Kjemisk bakgrunn.....	17
1.5.1 Reduktiv alkyleringsmekanisme.....	17
1.5.2 Sharpless dihydroksylering	19
1.5.3 <i>Orto</i> -formylering	20
1.5.4 Dakin oksidasjonen.....	21
1.5.5 Mannich-reaksjon	22
2 Resultater og diskusjon.....	23
2.1 Reduktiv alkylering	23
2.2 Sharpless asymmetrisk dihydroksylering	28
2.3 <i>Orto</i> -formylering	31
2.4 Dakin-oksidasjon.....	34

2.5	Mannich-reaksjon	37
3	Konklusjon og veien videre	40
4	Eksperimentelt	41
4.1	Generelt	41
4.2	Reduktiv alkylering	42
4.2.1	Syntese av 2-propyløstra-1,3,5(10)-16-tetraen-3-ol	42
4.2.2	Syntese av 2-butyløstra-1,3,5(10)-16-tetraen-3-ol	44
4.2.3	Syntese av 2-benzyløstra-1,3,5(10)-16-tetraen-3-ol	46
4.2.4	Syntese av 1,1-bis(etylsulfanyl)etan	48
4.3	Sharpless asymmetrisk dihydroksylering	50
4.3.1	Syntese av 1-fenyletan-1,2-diol	50
4.3.2	Syntese av 3-(metoksymetoksy)østra-1,3,5(10), 16-tetraen	52
4.4	<i>Orto</i> -formylering	54
4.4.1	Syntese av 2-formyl-3-hydroksy-5,6,7,8-tetrahydronaftalen	54
4.4.2	Syntese av 2-formyløstra-1,3,5(10)-16-tetraen-3-ol	56
4.5	Dakin-oksidasjonen	58
4.5.1	Syntese av 2-formyl-3-(metoksymetoksy)østra-1,3,5(10)-16-tetraen	58
4.6	Mannich	60
4.6.1	Syntese av 2-((dimetylamino)metyl)-3-hydroksy-5,6,7,8-tetrahydronaftalen	60
4.6.2	Syntese av 2-((dimetylamino)metyl)-østra-1,3,5(10)-16-tetraen-3-ol	62
5	Referanser	64
6	Vedlegg	68
6.1	Reduktiv alkylering	68
6.1.1	Forsøk på syntese av 2-etyl-3-hydroksy-5,6,7,8-tetrahydronaftalen	68
6.1.2	Syntese av 2,4-dietyl-3-hydroksy-5,6,7,8-tetrahydronaftalen	68
6.2	Sharpless asymmetrisk dihydroksylering	71
6.2.1	Forsøk på syntese av østra-1,3,5(10)-trien-3,16,17-triol	71
6.2.2	Forsøk på syntese av 3-(metoksymetoksy)østra-1,3,5(10)-trien-16,17-diol	72
6.3	Dakin-oksidasjon	73
6.3.1	Forsøk på syntese av østra-1,3,5(10)-16-tetraen-2,3-diol	73
6.3.2	Forsøk på syntese av 2-hydroksy-3-(metoksymetoksy)østra-1,3,5(10)-tetraen ...	74
6.4	¹ H NMR-spekter	75
6.5	IR-spekter	78
6.6	MS-spekter	83

1 Innledning

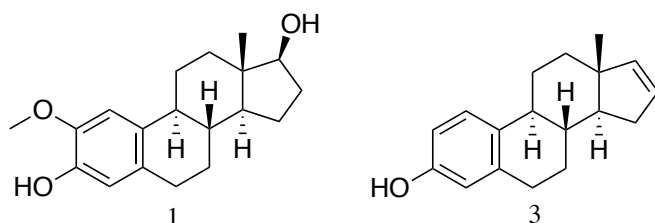
1.1 Mål med studien

En lovende forbindelse innen kreftbehandling, 2-metoksyøstradiol (**1**), er en metabolitt av østrogenet 17β -østradiol (**2**). Forbindelsen dannes enzymatisk ved hydroksylering av 2-posisjonen på A-ringene i steroidstrukturen og påfølgende metylering av fenolen. Metabolitten **1** har vært gjennom kliniske studier fase 1 og 2, og utviser en potent anti-cancer virkning på ulike krefttyper.¹⁻²

Forbindelsen inhiberer angiogenese og tumorvekst³ og binder dårlig til østrogenreseptorer, slik at behandling med **1** ikke medfører uønsket østrogenaktivitet.²

Forbindelse **1** har en svært kort halveringstid *in vivo*, og det er behov for analoger med lengre halveringstid.⁴ Forskning viser at posisjon 17 på D-ringene er utsatt for oksidering, og posisjon 3 på A ringene er utsatt for sulfonering.⁵

I denne oppgaven har østratetraenol (**3**) blitt benyttet som utgangsstoff for å lage analoger. Strukturelle aktivitetsforhold (SAR) skulle studeres i posisjon 2.



Figur 1-1. Strukturformel av 2-metoksyøstradiol (**1**) og østratetraenol (**3**).

1.2 Kreft

Kreft er en fellesbetegnelse på ulike sykdommer, med ulik risiko og sykdomsutvikling (FHI). Ifølge WHO er kreft den nest største dødsårsaken globalt, etter hjerte- og karsykdommer. I 2015 døde 8,8 millioner mennesker av kreft. Det antas at 30-50 % av alle dødsfall som følge av kreft kunne vært unngått ved å utvise forsiktighet rundt risikofaktorer som tobakk og alkohol og ved å opprettholde en sunn livsstil.⁶

1.2.1 Etiologi

Kreft er en kronisk, ikke-overførbart sykdom, og karakteriseres ved rask og ukontrollert celledeling. Tumorer kan deles inn i godartede og ondartede. Både godartede og ondartede svulster karakteriseres ved ukontrollert celledeling, men kun de ondartede tumorene er synonymt med kreft og kan indusere metastase (spredning til andre deler av kroppen).⁷

Celledeling er en svært kompleks og krevende cellebiologisk prosess.⁸ Det produseres over ti milliarder celler i kroppen daglig, og hver enkelt celledeling er nøye kontrollert av kroppens eget kontrollsystem.⁹ Kontrollsystemet oppdager feil under celledelingen og er ansvarlig for at cellen blir reparert før den fortsetter celledelingen. Skjer ikke dette induseres apoptose. En svikt i dette kontrollsystemet vil resultere i at defekte celler ikke fanges opp, men fortsetter celledelingen. Dette vil medføre en overproduksjon av celler. Balansen mellom dannelsen av nye celler og induert apoptose utgår. Omsider vil kreftcellene oppta plassen til de funksjonelle delene av ulike organer.^{1,8}

1.2.2 Kjemoterapi

De vanligste behandlingsmetodene som blir benyttet mot kreft er kjemoterapi, stråling og kirurgi. Type behandling avhenger av krefttype og sykdomsutvikling. Behandling omfatter også ofte en kombinasjon av de overnevnte.¹⁰

Kjemoterapi fokuserer på å rette opp i den ukontrollerte celleveksten. Prinsippet med kjemoterapi er å lokalisere og ødelegge tumorceller. Tumorceller skiller seg fra andre celler ved at de deler seg raskere og unnslipper apoptose. Anti-cancer stoffer som er målrettet mot disse egenskapene kalles antiproliferative stoffer. Celler som deler seg raskt, har større sannsynlighet for å påvirkes av slike stoffer da de mest sannsynlig gjennomgår en celledeling under behandling med antiproliferative stoffer. Friske celler gjennomgår apoptose etter et bestemt antall celledelinger. Dette er helt essensielt for en normal utvikling.¹ Det ultimate, kanskje utopiske, målet med utviklingen av nye kjemoterapeutika er å kunne ødelegge kreftceller uten å påvirke normale celler.⁸

1.2.3 Angiogenese

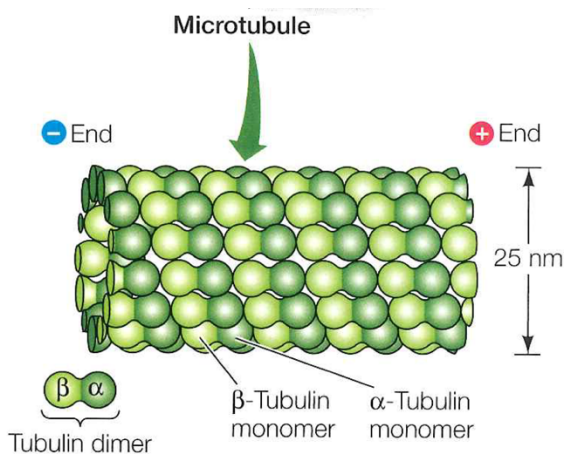
Angiogenese stammer fra det greske ordet angêion (årer) og genesis (fødsel). Angiogenese er dannelsen av nye kapillærer fra små blodårer. Denne prosessen er svært viktig i mange

fysiologiske, så vel som patologiske prosesser. Angiogenese inngår blant annet i embryoers utvikling, sårreparasjon, eggløsning, men også i tumorvekst.¹¹

Tumorer må i likhet med annet vev ha tilgang på oksygen og næringsstoffer for å kunne vokse.¹² Maksimal avstand for oksygendiffusjon er 100-200 μ m fra blodårer, dette medfører at eukaryote celler må befinne seg innen denne avstanden fra en blodåre for å få tilgang på oksygen. Vekst utenfor denne avstanden krever dannelse av nye blodårer ved angiogenese. Angiogenese er helt avgjørende for om en tumor vokser til en kritisk størrelse og induserer metastase til andre organer.¹³ Folkman rapporterte i 1971 at angiogenese-hemmere kunne være nyttig i kreftbehandling.¹⁴

1.2.4 Tubulin og mikrotubulin

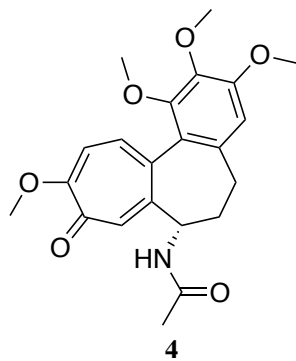
Substanser som er målrettet mot mikrotubulin, MTA, dekker den største gruppen av anticancerforbindelser.⁵ Mikrotubulin er en svært viktig komponent i den eukaryote cellen. Komponenten er hovedsakelig bygget opp av polypeptidkjedene α - og β -tubulin, (Figur 1-2). Proteinet er involvert i flere viktige prosesser i kroppen, blant annet celledelingen, utviklingen og opprettholdelse av cellens struktur.¹⁵



Figur 1-2. Illustrativ fremstilling av mikrotubuli

Kolkisin (**4**) (Figur 1-3) var det første stoffet som ble oppdaget å ha en destabiliserende effekt på tubulin, og forbindelsen ekstraheres fra *Colchicum autumnale L.*¹⁶ Forbindelse **4** blir ikke benyttet i behandling av kreft grunnet alvorlige bivirkninger som anemi og beinmargsskade.

Allikevel har det vært et stort fokus på å utvikle anti-cancer forbindelser som binder kolkisin-bindingssitet, CBSI.¹⁷



Figur 1-3. Strukturformel av kolkisin (4).

Under mitose interagerer anti-cancer forbindelser med mikrotubuli og forstyrrer dannelsen av mitotisk spindel. Dette resulterer i umiddelbar apoptose. Til tross for at den kliniske suksessen med MTA har gjort disse forbindelsene ledende innenfor behandling av blant annet brystkreft og eggstokkreft har de svært høy toksisitet og dårlig løselighet. Det jobbes derfor med å utvikle andre typer MTA for å øke effekten, minske toksiske bivirkninger og forhindre resistens mot legemidlene.¹⁸⁻¹⁹

1.3 Naturstoffbaserte legemidler

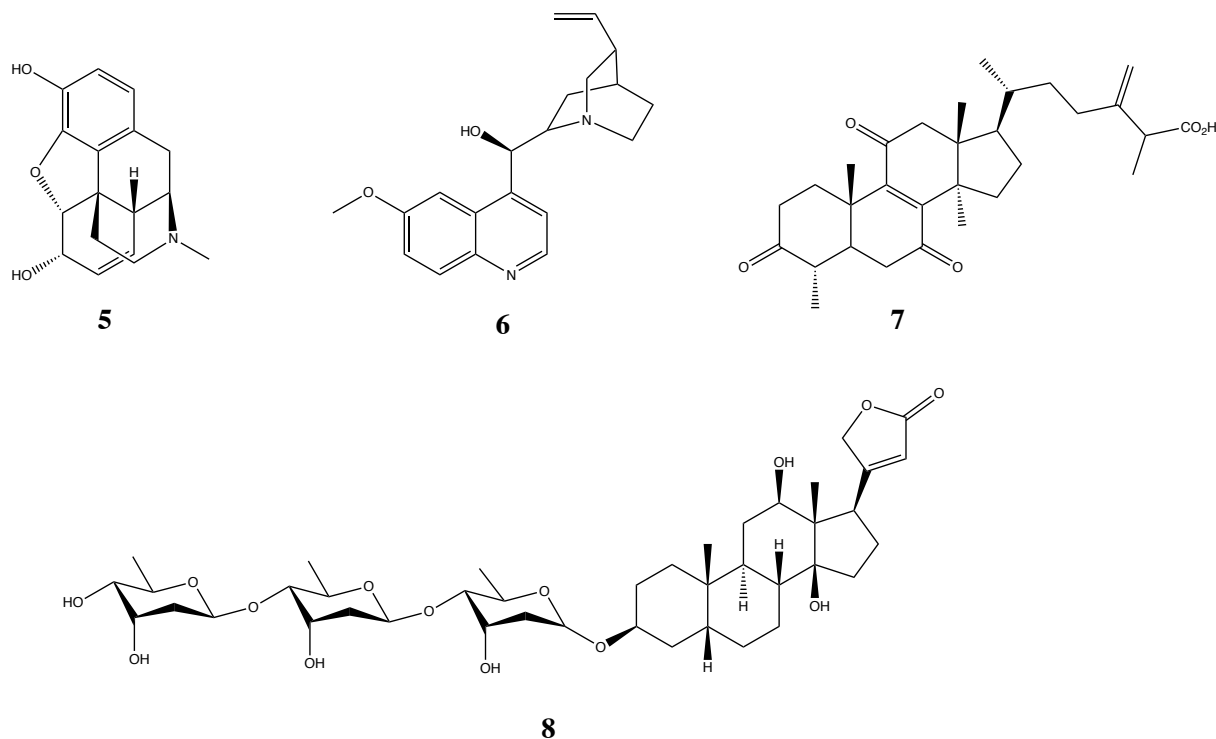
Naturstoffer er kjemiske forbindelser som produseres av levende organismer slik som planter, dyr, insekter og mikroorganismer. Naturstoffkjemi er studien av disse forbindelsene. I dag stammer rett under halvparten av alle godkjente legemidler direkte fra naturstoffer eller analoger av disse.²⁰

Naturstoffer deles inn i primære og sekundære metabolitter. De primære metabolittene er fundamentale for alt liv, da de er involvert i vekst, utvikling og reproduksjon. Primære metabolitter omfatter blant annet proteiner, lipider og karbohydrater.

De sekundære metabolittene er spesifikke for noen organismer. De er i motsetning til de primære metabolittene ikke livsviktige for organismen, men kan ha betydning for organismens evne til å forsvare seg i kampen for tilværelsen. De sekundære metabolittene har biologisk

aktivitet både inni og utenfor organismen, og er eksempelvis steroider, fettsyrederivater, terpenener og alkaloider.

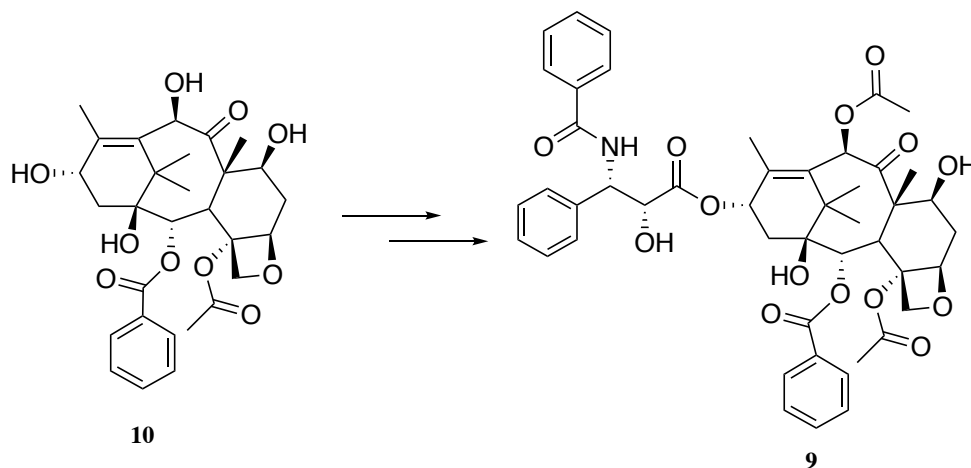
I mange tilfeller kan naturstoffer ekstraheres direkte fra den respektive produsenten. Eksempler på dette er morfin (**5**) som ekstraheres fra opiumvalmue, *Papaver somniferum*,²¹ kinin (**6**) som ekstraheres fra kinabark, *Cinchonae cortex*,²² Zhankuin-syre A (**7**) som isoleres fra soppen *Antrodia cinnamomea*²³ og digoksin (**8**) som ekstraheres fra revebjelle, *Digitalis lanata*²⁴ (Figur 1-4). Forbindelse **8** er i likhet med **5** på WHO's liste over essensielle medisiner, de tryggeste og mest effektive medisiner, innenfor helsevesenet.²⁵ Forbindelse **6** brukes i behandling av malaria og er en viktig ingrediens i tonic-vann.²⁶



Figur 1-4. Strukturformel av morfin (**5**), kinin (**6**), zhankuic-syre A (**7**) og digoksin (**8**).

En del metabolitter finnes kun i små kvantum i sine naturlige kilder, og isolering vil derfor være uforsvarlig. Paclitaxel (**9**) er et naturstoff som blir benyttet i behandling av både eggstokkreft og brystkreft under navnet taxol®.²⁷ Forbindelsen ble opprinnelig ekstrahert fra barken til *Taxus brevifolia*.²⁸ Høsting av barken ødelegger treet. Denne typen barlind vokser svært sakte, og ekstraksjon av **9** til kommersielt bruk vil over tid medføre at denne type barlind blir utryddet.²⁹

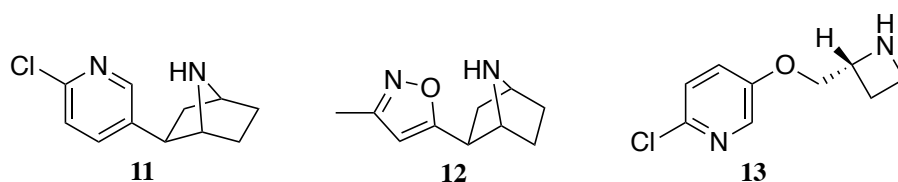
Ettersom **9** har en svært kompleks struktur, vil det ikke være økonomisk gunstig med en totalsyntese av stoffet til kommersielt bruk.³⁰ Forbindelse **9** syntetiseres derfor semisyntetisk fra 10-deacetylbaccatin III (**10**), som ekstraheres fra barnåler til europeisk barlind, *Taxus baccata*³¹ (Skjema 1-1). Disse nålene vokser ut igjen, og høsting av nålene vil dermed ikke ødelegge trærne.³²



Skjema 1-1. Semisyntese av paclitaxel (**9**) fra 10-deacetylbaccatin III (**10**)

I og med at metabolitter er forbindelser som er utviklet for å kunne oppfylle en spesiell funksjon i sin respektive vert, vil de ikke være optimalisert for medisinsk bruk i en annen art. De kan dog ses på som prototyper til ulike legemidler. Ved å syntetisere analoger til slike aktive metabolitter kan egenskapene optimaliseres slik at de kan benyttes som legemidler.³³

Et eksempel på dette er epibatidin (**11**) (Figur 1-5). Forbindelsen er et alkaloid som isoleres fra pilgiftfrosk, *Epipedobates anthonyi*, og ble første gang isolert i 1974 av Daly *et al.*³⁴ Forbindelse **11** ble vist å være 200 ganger mer potent enn morfin (**5**), men med svært giftige bivirkninger som lammelser og anfall.³⁵ For å unngå ugunstige bivirkninger og begrensninger er det behov for å syntetisere analoger av ulike naturstoffer.³⁶ Eksempler på strukturanaloger av forbindelse **11** som ikke har samme toksiske effekt er epiboksidin (**12**) og tebaniklin (**13**) (Figur 1-5).³⁷

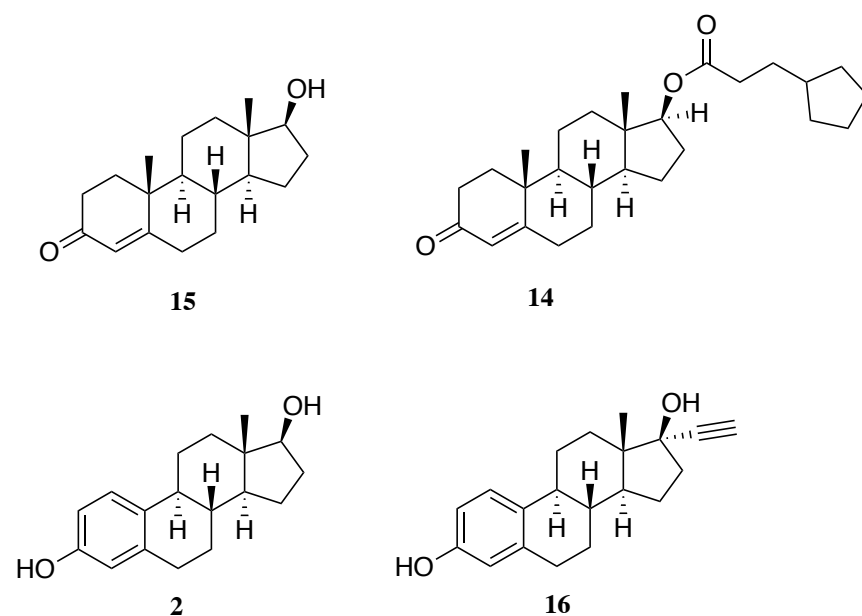


Figur 1-5. Strukturformel av forbindelse epibatidin (**11**), epiboksidin (**12**) og tebaniklin (**13**)

1.3.1 Naturstoffanaloger

En analog til et molekyl defineres som et molekyl med liknende struktur, men som avviker i form av en funksjonell gruppe eller et atom. Testosteron cypionate (**14**) er et anabolt steroid og er, som navnet tilsier, en analog av det mannlige kjønnshormonet testosteron (**15**) (Figur 1-6). Forbindelse **14** benyttes i behandling av mannlig hypogonadisme.³⁸ Forbindelsen benyttes også ved ikke-medisinsk bruk for å oppnå økt muskelstyrke og volum.

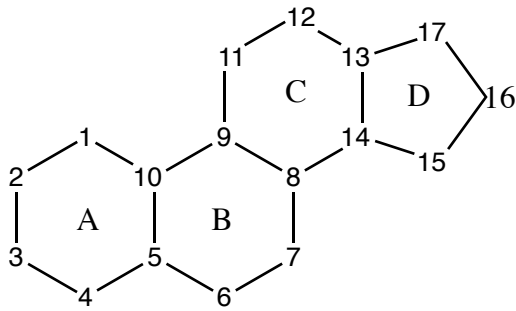
Etynyløstradiol (**16**) er en analog av østroget **2** (Figur 1-6), og er østrogenkomponenten i de fleste prevensjonspreparater for kvinner.³⁹ Forbindelsen er mindre sensitiv for metabolisme enn forbindelse **2**, da den har en etynyl gruppe i posisjon 17 som forhindrer oksidasjon av hydroksygruppen i posisjon 17.⁴⁰



Figur 1-6. Strukturformel av testosteron (**15**), testosteron cypionate (**14**) 17β-østradiol (**2**) og etynyløstradiol (**16**)

1.3.2 Steroider

Steroider er polysykliske, organiske molekyler med en rigid struktur som består av fire fusjonerte ringer, tre seksringer og en femring. Steroidene har et eget nummereringssystem (Figur 1-7) og et eget nomenklatursystem.⁴¹ Steroider som har en hydroksygruppe i 3-posisjon på A-ringene kalles steroler. Steroler som forekommer i planteriket kalles fytosteroler.

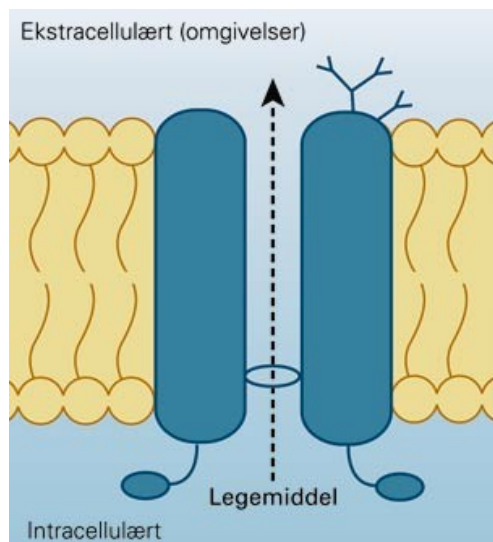


Figur 1-7. Nummereringsystem for steroidkjelett

Steroider utviser ofte biologisk aktivitet, og egenskapene avgjøres av de funksjonelle gruppene som er bundet til de ulike ringene. En liten endring i den kjemiske strukturen kan medføre store endringer i den biologiske aktiviteten. Det er innenfor steroidkjemi at forholdet mellom stereokjemi og biologisk aktivitet er mest markant.⁴²

Mange kjemoterapeutika utviser potensiell toksisitet. For eksempel øker forekomsten av kardiotoxiskitet i omfang hos pasienter som har gjennomgått behandling med kjemoterapeutika. Dette vises i form av blant annet hjertesvikt og tromboembolisme.⁴³

Multiresistente celler er celler som er resistente mot flere typer kjemoterapeutika som benyttes ved behandling av metastatisk kreft. Strukturanalyser av slike celler har vist at det ikke er en åpenbar kjemisk likhet mellom dem.⁴⁴ MDR («multiple drug resistance») oppstår som en følge av at medisiner ikke akkumuleres i spesifikke celler. Slike celler har en pumpe på overflaten av cellen som forhindrer legemiddelakkumulering. Proteinet som er ansvarlig for dette ble først oppdaget av *Juliano og Ling*, de kalte proteinet *P-glykoprotein* (Figur 1-8).⁴⁵ Dersom det skal være mulig å utvikle legemidler i bekjempelsen av kreft er det derfor svært viktig å forstå hvordan dette proteinet opptrer.⁴⁴ MDR celler kan deles inn i to typer avhengig om cellene er resistente i utgangspunktet, eller om de blir resistente i løpet av behandlingen.⁴⁶ Forskning har vist at fordelene ved å utvikle legemidler fra steroider er nettopp at de i liten grad vil påvirkes av slike multiresistente celler og at de har lav toksisitet.^{5, 47}

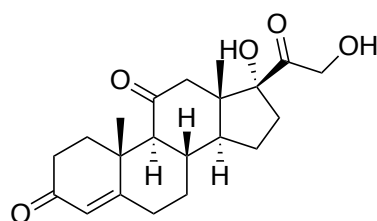


Figur 1-8. Modell av p-glykoprotein.⁴⁵

Etttersom steroider er lipider er de svært godt egnet til å penetrere cellemembraner og binde til reseptorer. Dette medfører at de har høy biotilgjengelighet.⁴⁷ Biotilgjengelighet er en farmakologisk parameter som angir andelen av medikamentdosen som når sentralsirkulasjon.⁴⁸

Steroider er vist å ha anti-inflammatoriske egenskaper og er svært effektive i forbindelse med kroniske inflammatoriske sykdommer, som for eksempel astma.⁴⁹ Kortison (**17**) (Figur 1-9) er et steroid som benyttes som astmamedisin. Forbindelse **17** ble først anvendt som legemiddel allerede i 1949. I tillegg til astma benyttes **17** av pasienter som lider av hudsykdommer, øyesykdommer og revmatiske sykdommer.⁵⁰

Steroider kan også fungere som anti-cancer stoffer både som enzyminhibitorer, antiproliferative og cytotoksiske forbindelser.⁵¹

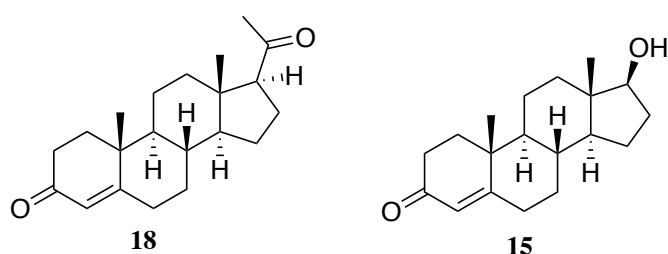


17

Figur 1-9. Strukturformel av kortison (**17**).

1.3.3 Steroidhormoner

Hormoner er definert som kjemiske stoffer som transporteres med blodet i små konsentrasjoner til et bestemt mål, hvor de utløser spesifikke fysiologiske responser.⁵² Steroidhormoner er hormoner som dannes fra steroider. Steroidhormonene kan deles inn i kjønnshormoner og binyrebarkhormoner (adrenokortikale hormoner), hvor kjønnshormonene produseres i kjønnskjertlene, og binyrebarkhormonene produseres i binyrebarken.⁵³ De kvinnelige kjønnshormonene er østrogen og progesteron (**18**). Østrogenene sørger for dannelse av kvinnelige karakteristika, mens **18** er involvert i menstruasjonssyklus, svangerskap og embryogenese. De mannlige kjønnshormonene kalles androgener, hvor det mest vanlige er testosteron (**15**). Androgenene er ansvarlige for dannelse av mannlige kjønnskarakteristika.⁵⁴



Figur 1-10 Strukturformel av progesteron (**18**) og testosteron (**15**).

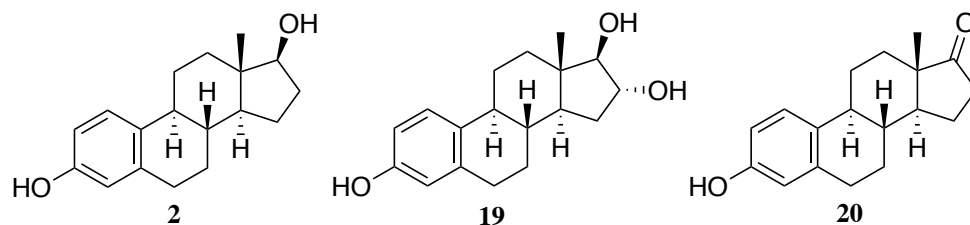
Binyrebarkhormonene er ansvarlige for regulering av elektrolyttbalansen og for regulering av protein og karbohydratmetabolisme i kroppen.⁵³

Sammenhengen mellom kjønnshormoner og kreft har blitt studert i flere tiår. Da særlig brystkreft, prostatakreft og livmorkreft.⁵⁵⁻⁵⁸ Allerede i 1977 rapporterte *Castagnetta et al.* at nivåene av østrogen i urin til brystkreftpasienter var signifikant høyere enn hos friske kvinner etter overgangsalder.⁵⁹ Hos kvinner er forbindelse **18** og østrogen direkte involvert i celledelingen i reproduktivt vev.⁶⁰ Det antas at to tredjedeler av post-menopausale kvinner som er diagnostisert med brystkreft har østrogenbettinget kreft, hvor østrogen er nødvendig for at tumoren skal vokse.⁶¹

1.3.4 Østrogen

Østrogen er en biologisk aktiv steroidforbindelse, og mange av de kommersielt tilgjengelige legemidlene er utviklet fra østrogen.⁶² De viktigste formene av østrogen er 17β -østradiol (**2**), østriol (**19**) og østron (**20**), (Figur 1-11). Østrogen ble første gang isolert fra urin til gravide

kvinner i 1929. Under graviditet øker forekomsten av østrogen med 50 ganger.⁶³ Alle østrogenene har en aromatisk A-ring.

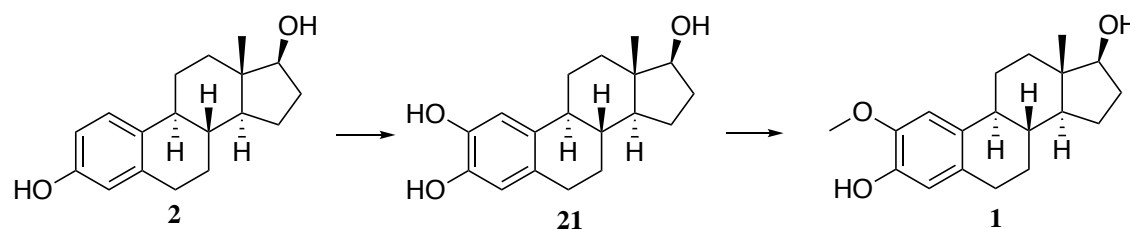


Figur 1-11. Strukturformel av 17β-østradiol (2), østriol (19) og østron (20).

I følge epidemiologien er en kvinnes sjanse for å utvikle brystkreft proporsjonalt med antall menstruasjonssykluser som finner sted i løpet av livet. Det er estimert at sjansen for å utvikle brystkreft synker med 20 % for hvert år menarke utsettes i tenårene. Kvinner som menstruerer opp til en alder av 55 år og eldre har dobbelt så stor sjanse for å utvikle brystkreft enn kvinner som slutter å menstruere i en alder av 45 år.⁶⁰

1.4 2-Metoksyøstradiol

Steroidet **1** er en naturlig forekommende metabolitt av **2**. Forbindelsen dannes ved hydroksylering av forbindelse **2** etterfulgt av en metylering i 2-posisjon på A-ringene, (Skjema 1-2). Forbindelsen var lenge antatt å være en inaktiv metabolitt, men biologiske og senere kliniske studier har vist at forbindelsen er effektiv mot flere typer kreft.¹⁻² Forbindelsen har lav toksisitet selv i høye doser, og kan administreres oralt.⁶⁴⁻⁶⁶



Skjema 1-2. Biosyntese av 2-metoksyøstradiol (1) fra 17β-østradiol (2).

Til tross for at **1** er en metabolitt av 17β-østradiol (**2**) fungerer den ikke som en agonist på østrogenreseptorene, ERα og ERβ. I 2002 bekreftet *Theresa M. LaVallee et al.* at **1** har lavere

affinitet for disse reseptorene enn forbindelse **2**.² Dermed vil ikke en behandling med **1** medføre uønsket østrogenaktivitet.

1.4.1 Virkning av 2-metoksyøstradiol rettet mot kreftbehandling

Dannelse av mikrotubulin er, som tidligere nevnt, en svært viktig del av cellesyklusen. Studier viser at **1** inhiberer polymeriseringen av tubulin ved å binde til kolkisin-bindingssetet som medfører en stans i cellesyklusen og induserer apoptose.⁶⁶⁻⁶⁷ Dette bekreftes av studier som viser at celler ble blokkert i G2/M fasen.⁶⁸ Denne blokkeringen bekrefter at det mest sannsynlig er forstyrrelser i dannelsen av mitotisk spindel.⁶⁹ I 1989 publiserte *Seegers et al.* en artikkel hvor de rapporterte at **1** hadde en antimitotisk effekt.⁷⁰

Det er også rapportert at **1** utviste en hemmende virkning på proliferasjon og angiogenese *in vitro*.³ Forsøk på mus bekreftet at oral tilførsel av **1** forhindret angiogenese og dermed undertrykket tumorvekst. *Fotsis et al.* konkluderte dermed at forbindelsen var det første steroidet som utviste en selvstendig anti-angiogenetisk virkning.³ Studier viser at forbindelse **1** nedregulerer HIF-1 α proteinnivået.⁷¹ HIF-1 α er ansvarlig for regulering av angiogenesen.⁷²

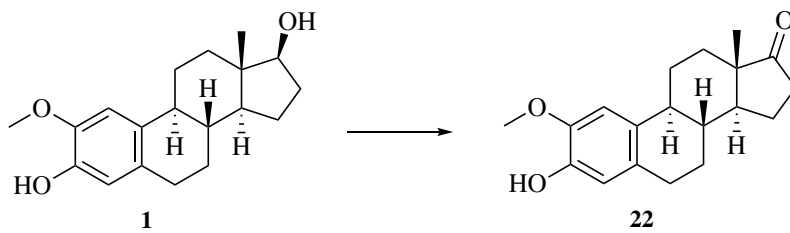
Forbindelsen har veldokumentert effekt både på MCF-celler (brystkreftceller), HeLa-celler (livmorhalskreft) og LNCaP-celler (prostatakreft).^{70, 73} Den anti-proliferative virkningen av **1** skjer uavhengig av østrogenreseptorene ER α og ER β .²

Forskning viser også at **1** induserer apoptose i kreftceller, men ikke i friske celler.⁶⁸

1.4.2 SAR-studier og analoger av 2-metoksyøstradiol

SAR-studier gjør det mulig å definere små forskjeller i struktur på molekylært nivå. Dette gjør det mulig å bestemme og identifisere hvilke kjemiske grupper som «vekker» den biologiske effekten i organismen. Virkningen av en biologisk aktiv forbindelse blir modifisert ved å lage analoger av den kjemiske strukturen. Det settes inn nye grupper i molekylet, og deretter studeres virkningen av den biologiske effekten.

Kliniske studier har vist at **1** har en ønsket anti-cancer virkning, men lav biotilgjengelighet og uønsket metabolisme i posisjon 3 og 17. Forbindelsen oksideres enkelt til den mindre aktive metabolitten av **1**, 2-metoksyøstron (**22**) (Skjema 1-3). Forbindelse **22** er vist å ha så mye som 10-100 ganger lavere biologisk aktivitet enn **1**.⁵

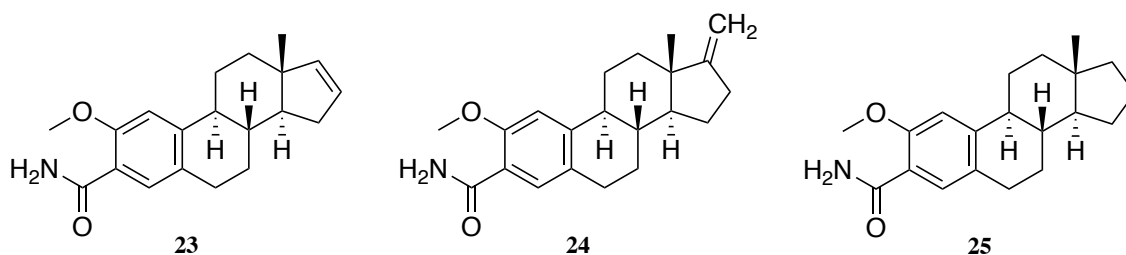


Skjema 1-3. Biosyntese av 2-metoksystron (22) fra 2-metoksystradiol (1).

Ettersom **1** vises å være svært lovende innenfor kreftforskning finnes det mye forskning på derivater av forbindelsen, blant annet for å forbedre biotilgjengelighet og andre kjemosensitive egenskaper.⁶⁶

Kliniske farmakokinetiske studier med **1** foreslo at en mulig løsning på den uønskede metabolismen kunne være å modifisere de to hydroksygruppene i **1**.⁵

For å se nærmere på struktur-aktivitetsforhold i posisjon 3 og 17 ble det utviklet tre svært potente analoger av **1**: ENMD-1198 (**23**), ENMD-1200 (**24**) og ENMD-1237 (**25**), (Figur 1-12). Alle de tre analogene var mer metabolsk stabile enn **1**, og de hadde en lavere IC₅₀,⁵ som vil si konsentrasjonen av medikament som vil gi 50% hemming/inhibering *iv vitro*.⁷⁴



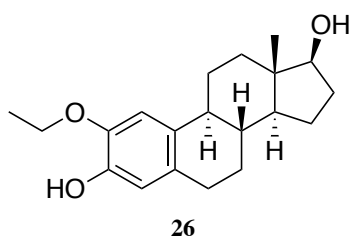
Figur 1-12. Strukturformel av ENMD-1198 (23), ENMD-1200 (24), ENMD-1237 (25).

Av de tre analogene ble forbindelse **23** vist å være den mest lovende analogen av **1**. Forbindelsen har gjennomgått kliniske studier og viste seg da å være mer potent enn **1**.^{19, 75} Forbindelsen har høyere biotilgjengelighet⁷⁵, fungerer antivaskulært og forstyrrer dannelsen av mikrotubuli.¹⁹

Andre analoger av **1** har blitt syntetisert, og noen av analogene utviste en høyere anti-proliferatisk effekt enn **1** og de fleste hadde også en bedre anti-tubulin effekt.⁶⁹

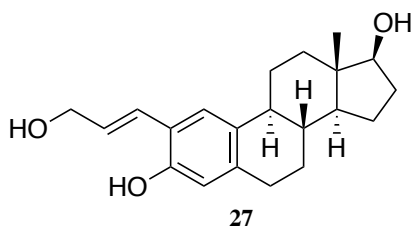
Modifisering på A-ringene

C-2 posisjonen på A-ringene er den mest studerte posisjonen i forbindelse **1**.⁶⁹ Cushman-gruppen ved Purdue University har laget flere analoger med alkoksigruppen i C-2 posisjonen. 2-Etoksyøstradiol (**26**) (Figur 1-13) var den beste kandidaten da den var ti ganger mer aktiv enn **1** *in vitro*.^{69, 76} *In vivo* studier viser derimot at **26** ikke er mer potent enn **1**.⁵ Forbindelse **26** inneholder også 17-hydroksigruppen som medfører at den er like utsatt for uønsket metabolisme som forbindelse **1**.⁵



Figur 1-13. Strukturformel av 2-etoksyøstradiol (**26**).

Cushman-gruppen lagde også ulike alkynyl-, alkenyl- og alkylderivater. En av analogene (**27**) (Figur 1-14) hadde bedre anti-proliferasjon mot brystkreftceller (MDA-MB-435) og prostatakreftceller (DU-145) enn **1**.⁷⁷



Figur 1-14. Strukturformel av alkenderivat (**27**).

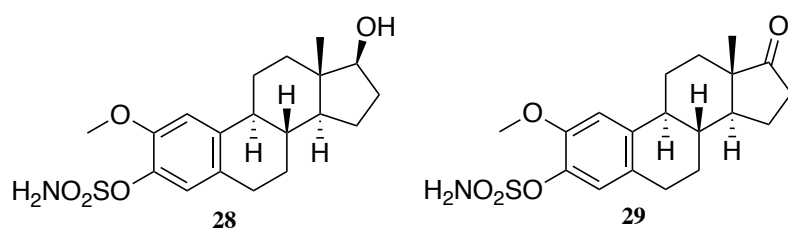
Fenolgruppen i C-3 posisjon på A-ringene har blitt forsøkt erstattet med ulike nitrogenforbindelser, NHCN, NHCONH₂, og NHCHO. Disse gav en IC₅₀ mot brystkreftceller (MDA-MB-231) på 0,62-0,78 sammenliknet med **1** som har en IC₅₀ på 0,79. NH₂ gav en dårligere IC₅₀ enn **1**.⁷⁸

Leese *et al.* publiserte i 2005 en artikkel som beskriver effekten av å innføre en sulfamatgruppe i 3-O posisjonen. To av disse derivatene 2-metoksyøstradiol-3-O-sulfamatase (**28**) og 2-metoksyøstron-3-O-sulfamatase (**29**) (Figur 1-15) var vesentlig mer aktive enn **1** mot alle cellelinjer det ble testet på, blant annet prostatakreft (DU-145), brystkreft (MDA-MB-435) og

eggstokkreft (OVCAR-3). Forbedringsgraden illustreres ved hjelp av MGM verdier, som viser at sulfamatderivatene var mer enn 10 ganger bedre enn **1**.⁷⁹

MGM-verdier beskriver en gjennomsnittskonsentrasjon som kreves for å oppnå 50 % hemming, altså gjennomsnittet av alle IC₅₀ verdiene.⁷⁹

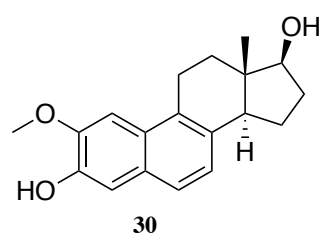
Allerede fem år tidligere hadde Purohit *et al.* bevist at **29** induserte en irreversibel stans ved G2/M i cellesyklusen, mens **1** induserer en reversibel stans.⁸⁰



Figur 1-15. Strukturformel av 2-metoksyøstradiol-3-O-sulfamatase (**28**) og 2-metoksyøstron-3-O-sulfamatase (**29**).

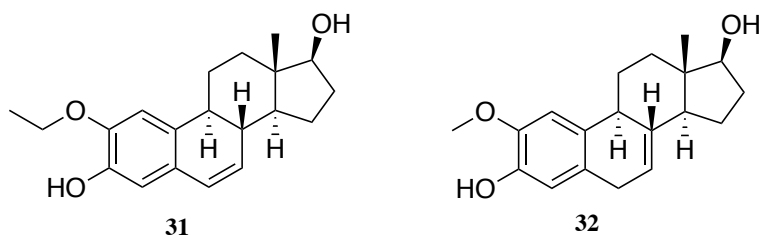
Modifisering på B- og C-ring

Kun noen modifiseringer har blitt gjort på B- og C-ringen i steroidskjelettet.⁶⁹ Rao *et al.* forsøkte å aromatisere B-ringen (**30**) (Figur 1-16) dette medførte lavere cytotoxissitet.⁶⁶



Figur 1-16. Strukturformel av forbindelse med aromatisert B-ring (**30**)

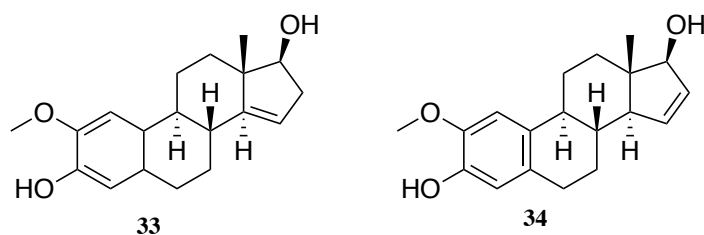
Det har også blitt innført dobbeltbindinger i posisjon 6 på forbindelse **26** som gav Δ^6 -analogen (**31**). Forbindelse **31** viste en drastisk nedgang i cytotoxissitet. Innføring av dobbeltbinding i posisjon 7 på **1** gav Δ^7 -analogen (**32**). Forbindelse **32** avdekket en mindre dramatisk nedgang i cytotoxissitet⁶⁶ (Figur 1-17).



Figur 1-17. Strukturformel av Δ^6 - (**31**) og Δ^7 -analogene (**32**).

Modifisering på D-ring

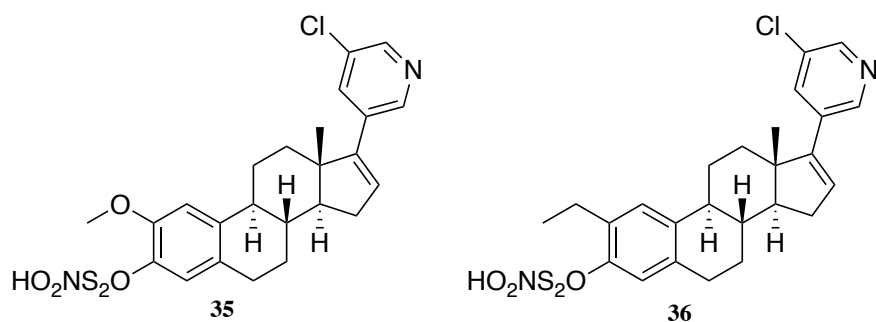
Rao *et al.* har laget en rekke analoger av **1**. To av disse analogene hadde en bedre biologisk aktivitet mot brystkreftceller (MDA-MB-435) og eggstokkreft (SK-OV-3) sammenliknet med **1**.⁶⁶ Den mest potente analogene var Δ^{14} -forbindelsen (**33**). Både **33** og Δ^{15} -forbindelsen (**34**) (Figur 1-18) var også mer potente i forbindelse med destabilisering av mikrotubuli. Til tross for at disse forbindelsene viste en bedre cytotoxiskitet enn **1** gjenstår det å se om de vil metaboliseres like lett som **1**.⁶⁶



Figur 1-18. Strukturformel av Δ^{14} -(**33**) og Δ^{15} -analogene (**34**).

I tillegg til de to overnevnte forbindelsene ble det syntetisert 13 forbindelser. Av disse ble 5 forbindelser studert i forhold til 17-posisjonen. Det ble vist at forbindelsene som inneholder en 17-hydroksygruppe i hvert av tilfellene var bedre enn tilsvarende forbindelse med en 17-ketogruppe. Dette støtter opp om antakelsene om at hydroksygruppen i 17-posisjon er viktig for den biologiske aktiviteten.⁶⁶ Unntaket til denne påstanden er **29** nevnt ovenfor, som var mer potent enn **1**.⁸⁰

LipChem-gruppen ved Universitetet i Oslo har syntetisert flere analoger av 2-metoksyøstradiol. Forbindelsene **35** og **36** (Figur 1-19) ble vist å være de mest potente, med en sulfamatgruppe i posisjon 3. Begge forbindelsene inneholder også en klorsubstituent i 2-posisjonen på pyridinringen.⁸¹



Figur 1-19. Strukturformel av sulfamatanalogene og til 2-metoksyøstradiol, (35) og (36).

Studier viser at ved å inkorporere et heteroatom i A-ringene eller D-ringene vil den biologiske aktiviteten øke.⁴⁷

1.4.3 Kliniske studier av 2-metoksyøstradiol

Grunnet gode prekliniske studier har **1** gjennomgått kliniske studier fase I og II.

I fase I testes toleransen av legemidlet. Testen utføres på et fåtall, frivillige, friske mennesker. Det er da mulig å se på farmakokinetiske egenskaper, og oppdage virkninger som ikke er avdekket i dyreforsøk. I fase II gis medikamentet til et fåtall pasienter, som kan ha positiv virkning av medikamentet. I fase II tilpasses dose, og det studeres hvordan medikamentet fungerer i kombinasjon med andre legemidler. Dersom medikamentet utviser positiv effekt går det videre til fase III.⁸² Ingen toksisitet grad 4 har blitt rapportert, selv ved doser opp til 1.2 gram per dag.¹ Rapporterte bivirkninger er kvalme, diarè, utmattelse, hodepine og hetetokter, men ingen av de vanlige bivirkningene forbundet med kjemoterapeutika ble observert slik som hårtap og beinmargsdepresjon.⁶⁹

1.5 Kjemisk bakgrunn

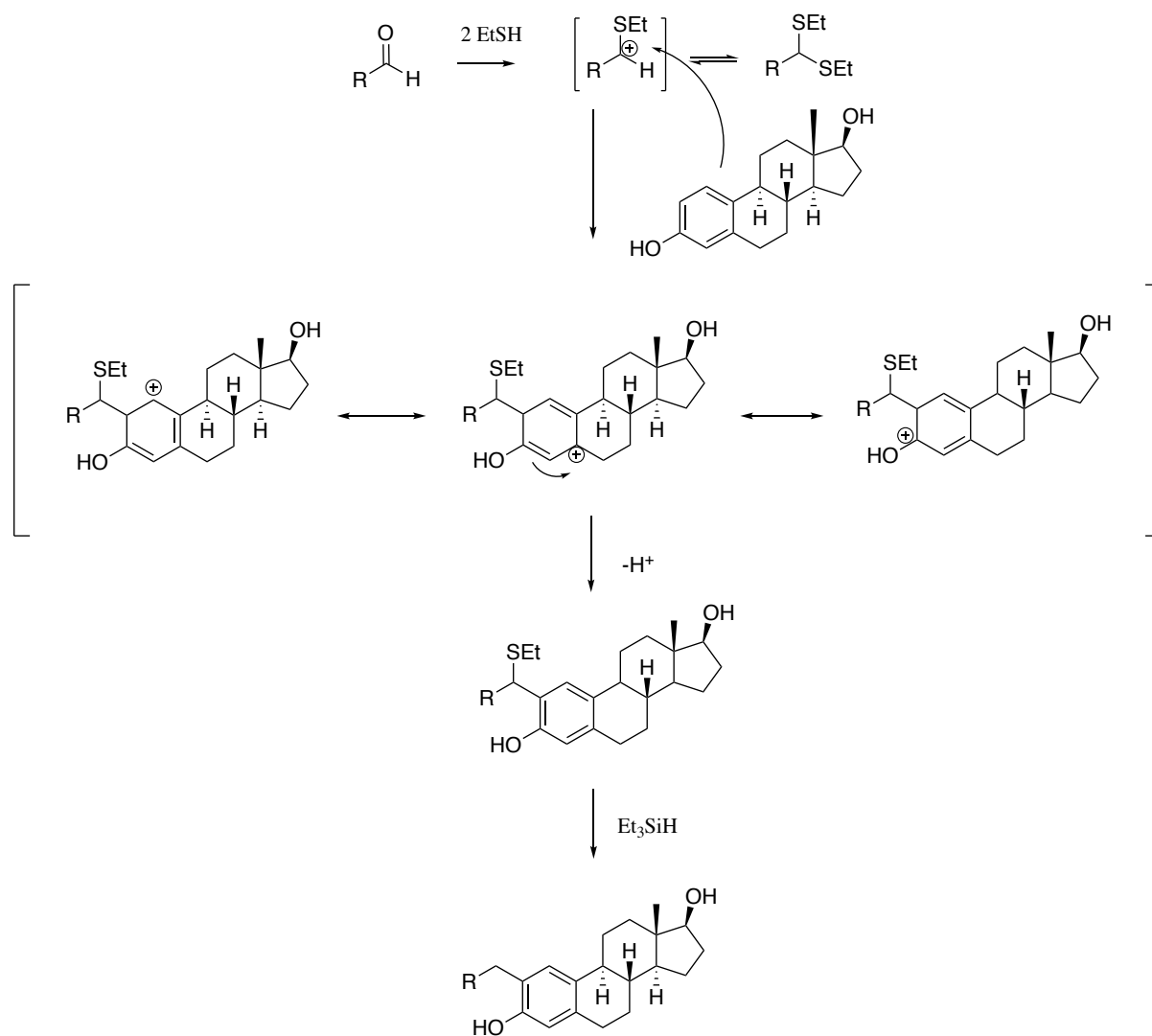
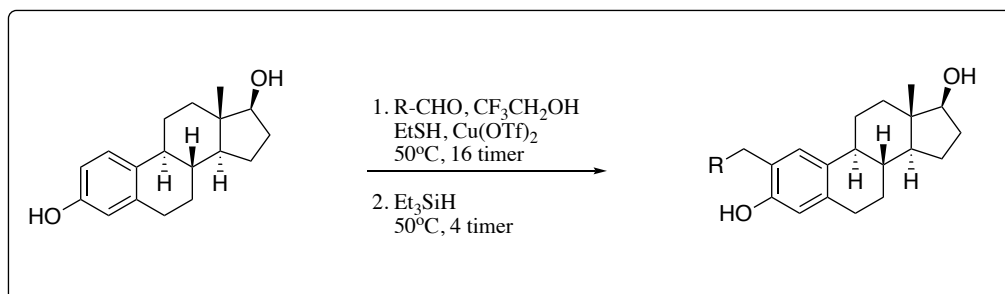
1.5.1 Reduktiv alkyleringsmekanisme

Til tross for Friedel-Crafts-reaksjonen har innføring av en primær alkylgruppe på en aromatisk forbindelse lenge vært et problem innenfor organisk syntese.⁸³

I 2015 kom Parnes og Pappo med en metode som effektivt alkylerer 17 β -østradiol (**2**). Reaksjonen er en substitusjonsreaksjon og foregår ved at aldehyd, løst i trifluoretanol, reagerer med etantiol under tilstedeværelse av kobbertriflat. Det dannes et tioniumion, som er i likevekt med ditioacetal. Tioniumionet adderes til aromaten, etterfulgt av en reduksjon av denne med trietylsilan. Reaksjonen er kjemoselektiv, noe som medfører at addisjonen skjer på aromaten

og ikke på alkenet. Reaksjonen er også regioselektiv som vil si at addisjonen skjer på 2-posisjon og ikke 4-posisjonen⁸³ (

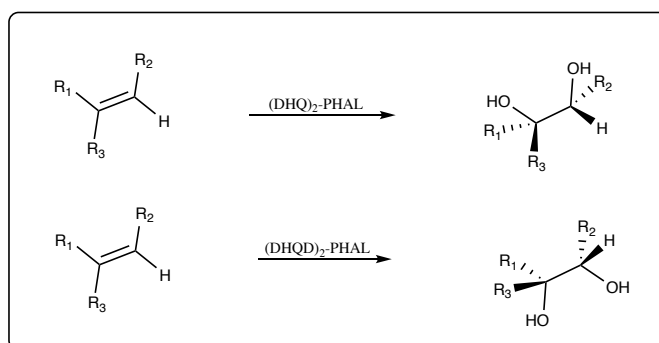
Skjema 1-4).



Skjema 1-4. Reaksjonsmekanisme reduktiv alkylering.

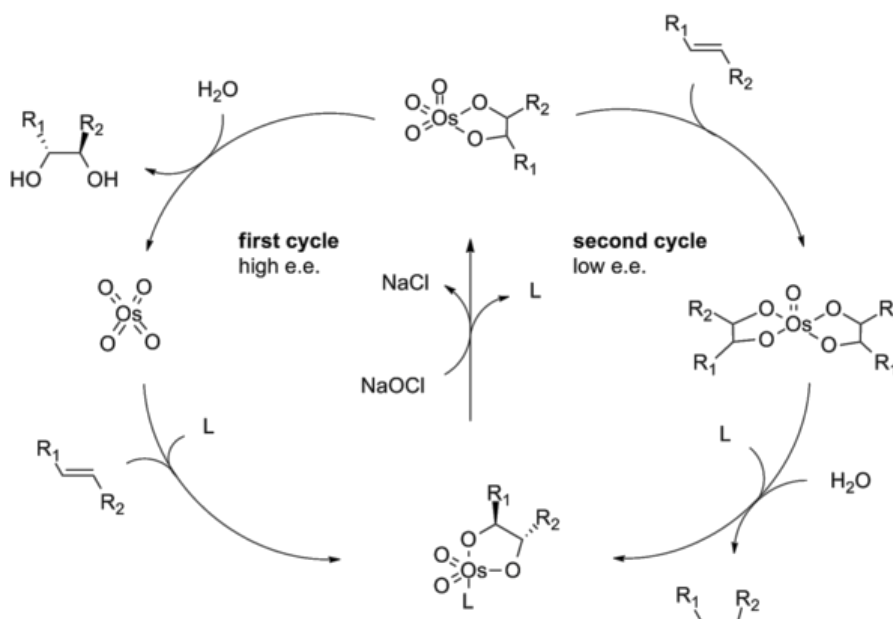
1.5.2 Sharpless dihydroksylering

Dihydroksyleringsreaksjoner er dannelsen av vicinale dioler fra alkener. Et kjent eksempel er Upjohn dihydroksylering som er en rasemisk dihydroksylering av alkener.⁸⁴ Nobelprisvinneren K. Barry Sharpless⁸⁵ viste på slutten av 80-tallet den kjemiske reaksjonen mellom et alken og OsO₄ i nærvær av en kiral ligand for å danne en vicinal diol med forutsigbar stereokjemi (Skjema 1-5).



Skjema 1-5. Sharpless asymmetrisk dihydroksylering med forutsigbar stereokjemi.

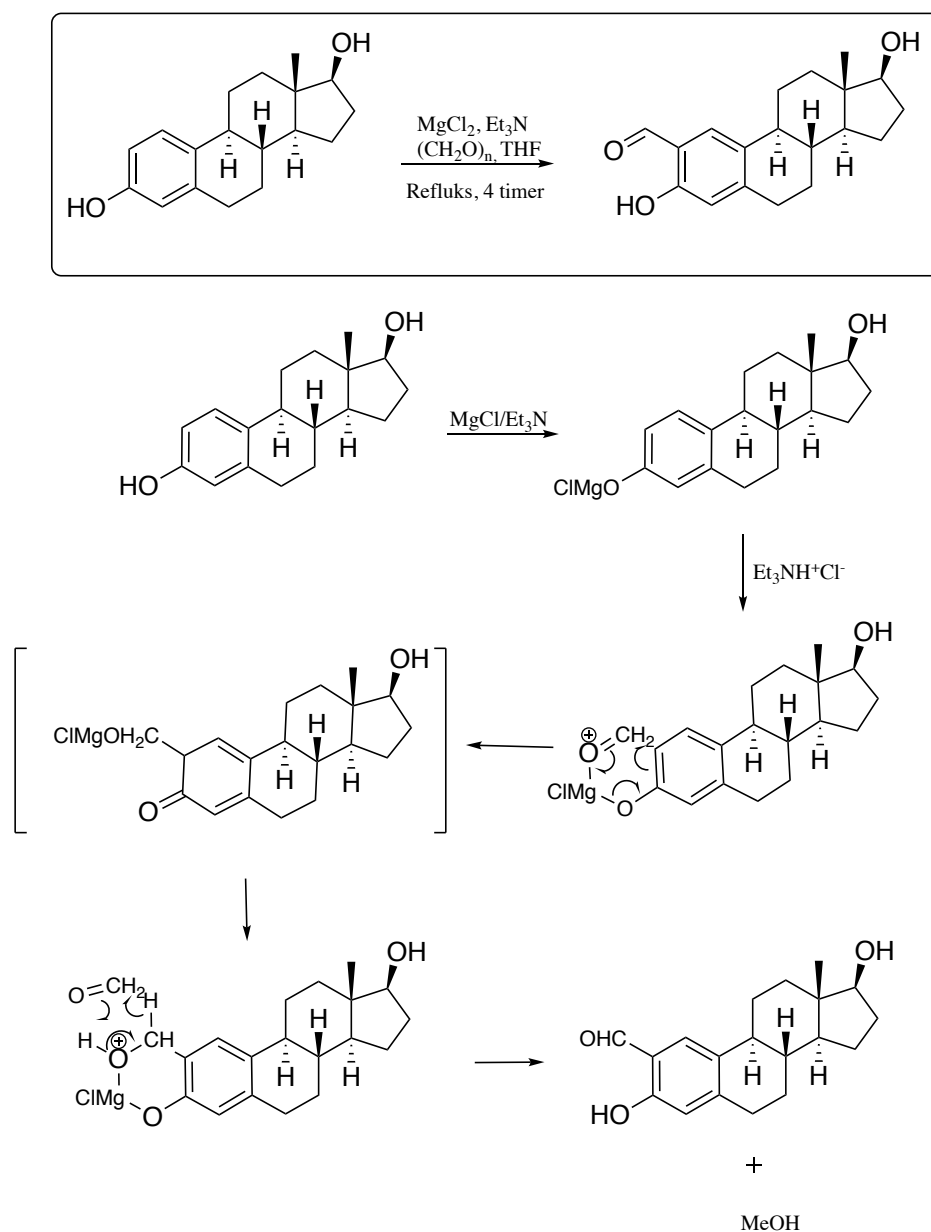
Reaksjonen kan utføres ved å benytte en AD-mix. Miksen er kommersielt tilgjengelig og inneholder nødvendige reagenser som kiral ligand (α eller β), og OsO₄ i form av dikaliumosmatedihydrat (K₂OsO₄(OH)₄).⁸⁶⁻⁸⁷ Mekanismen bak Sharpless asymmetrisk dihydroksylering er nøyere studert, og den foreløpige reaksjonsmekanismen er illustrert i Skjema 1-6.⁸⁴



Skjema 1-6. Foreløpig reaksjonsmekanisme, Sharpless asymmetrisk dihydroksylering.

1.5.3 Orto-formylering

Det finnes flere ulike metoder for formylering av aromater.⁸⁸ Orto-formyleringen som ble benyttet i dette prosjektet er en metode som er utviklet av Skattebøl og medarbeidere (Skjema 1-7).⁸⁹⁻⁹⁰ Metoden benytter et basesystem bestående av vannfri magnesiumklorid-trietylamin. Metoden gir bra utbytter og det dannes få biprodukter.⁸⁹

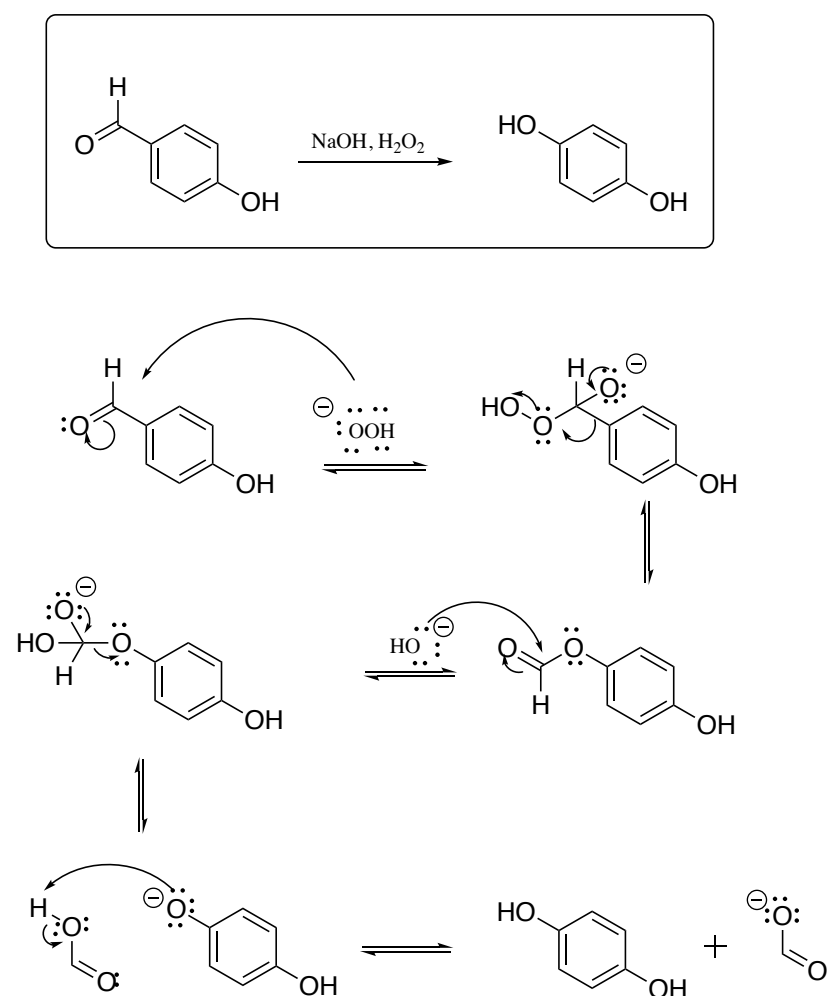


Skjema 1-7. Reaksjonsmekanisme, orto-formylering.

1.5.4 Dakin oksidasjonen

Oksidasjon av aromatiske aldehyder eller ketoner til de korresponderende fenoksi-estere med etterfølgende dannelse av fenoler i nærvær av NaOH og H₂O₂, kalles Dakin oksidasjonen (Skjema 1-8).⁸⁶ Dakin oksidasjonen har fått navnet sitt etter Henry Drysdale Dakin, som i 1909 rapporterte at han observerte store mengder av 1,2-dihydrobenzen etter oksidasjon av *ortho*-hydroksybenzen.⁸⁶ I et basisk miljø deprotoneres hydrogenperoksid og danner peroksi-anionet. Anionet reagerer med karbonylgruppen og det dannes et tetraheder-intermediat. Videre skjer en 1,2-aryl-migrering og resultatet er O-acylfenol, som igjen hydrolyseres. Katekolen dannes til slutt som følge av en syre-base reaksjon.

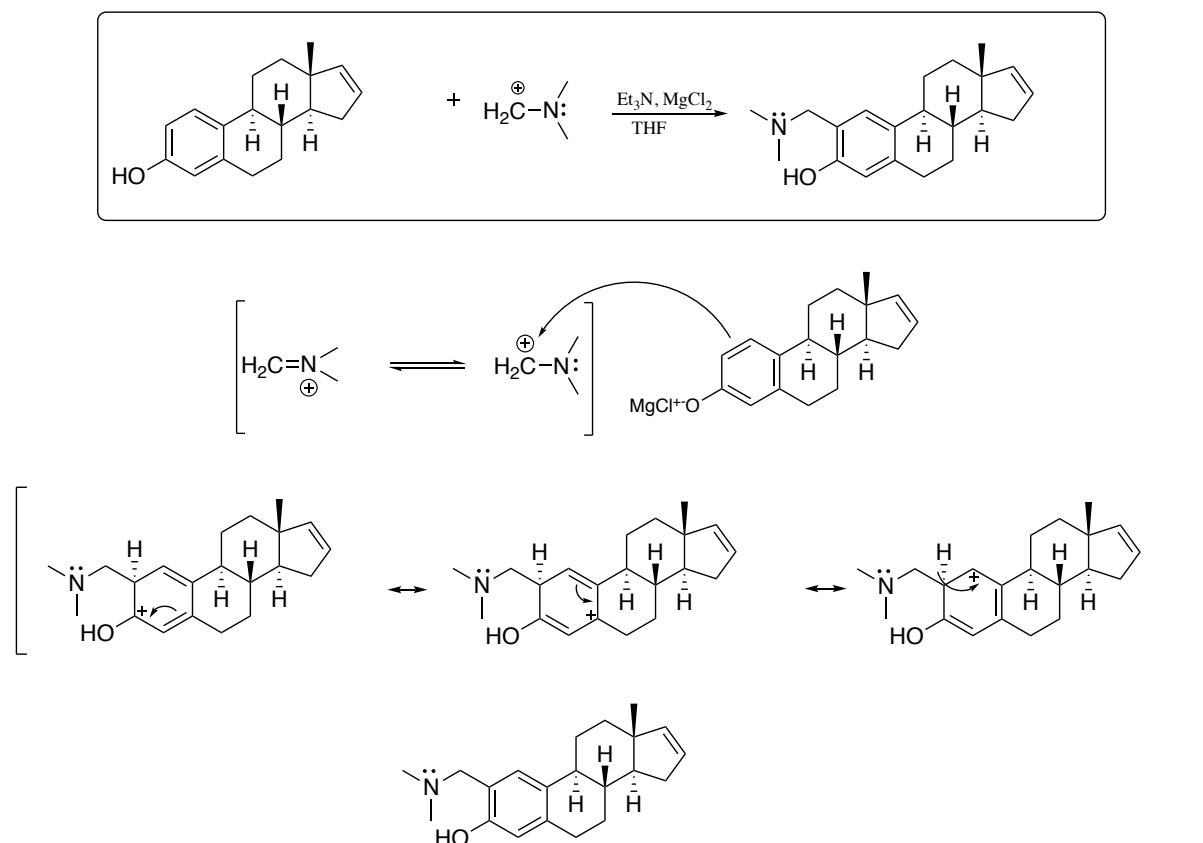
Mekanismen bak reaksjonen er svært lik Baeyer-Villiger oksidasjonen, reaksjonene er oksidative homologeringer.⁹¹ *m*-CPBA-reagenset som benyttes i Bayer-Villiger har også blitt benyttet til å oksidere aldehyder.⁶²



Skjema 1-8. Reaksjonsmekanisme, Dakin-oksidasjon.

1.5.5 Mannich-reaksjon

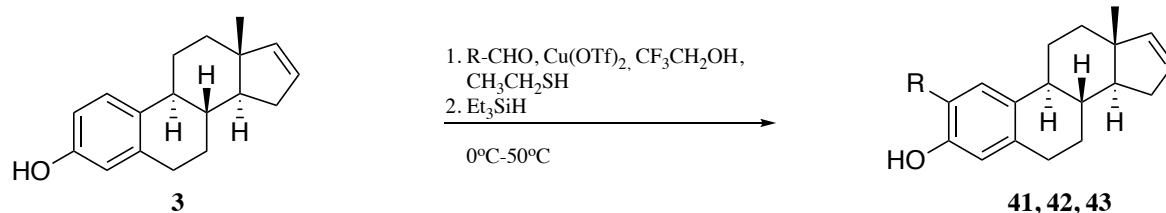
Reaksjonen er navngitt etter Carl Mannich, ettersom han oppdaget og bekreftet mekanismen bak reaksjonen i 1912.⁹³ Reaksjonen gjør det mulig å danne en C-N binding via en kondensasjonsreaksjon. Det må først dannes et imin via en kondensasjonsreaksjon mellom et aldehyd/keton og et primært eller sekundært amin. Iminet reagerer deretter med et nukleofilt karbonatom og danner en C-N binding. Reaksjonsmekanismen er illustrert i Skjema 1-9. Reaksjonen er vist å fungere med Eschenmosers salt og fenoler.⁹²



Skjema 1-9. Reaksjonsmekanisme for Mannich-reaksjonen.

2 Resultater og diskusjon

2.1 Reduktiv alkylering



Skjema 2-1. Reduktiv alkylering.

Alkyleringer av steroider, eksempelvis forbindelse **2** er tidligere utført av flere medlemmer i LipChem, med gode utbytter.^{81,94} De samme betingelsene, basert på arbeid av Parnes og Pappo,⁸³ ble derfor benyttet på forbindelse **3** i denne oppgaven.

Metoden fungerte bra med flere aldehyder, som vist i Tabell 2-1, men noe overraskende fungerte det ikke med acetaldehyd og pivaldehyd. I tilfellet med acetaldehyd ble det antatt at dette var på grunn av konkurrerende reaksjon hvor det dannes aldolprodukt. Antakelsen bekreftes av ¹H NMR-spekter som viser tydelig antydning til aldolprodukt (Figur 6-4).

¹H NMR-spekter av produktene fra alkyleringsreaksjonene viser to singletter ved hhv 7.0ppm og 6.5ppm. I forbindelse med etylering av forbindelse **3** var ikke disse signalene tilstede i ¹H NMR-spekter. Kobberreagenset (Cu(OTf)₂) som benyttes i reaksjonen er en sterk Lewis-syre, og et oksidasjonsreagens.⁹⁵ En mulig forklaring på de manglende aromatsignalene kan være at fenolen oksideres til kinon. IR-spekter av reaksjonsblandingen gir signal for karbonyl ved 1650cm⁻¹ (Figur 6-19). Det er nærliggende å anta at fenolen ble oksidert, men reaksjonen har ikke blitt studert i detalj. Aromatområdet i IR-spekteret skiller seg også ut fra de andre forbindelsene, som kan indikere at aromatområdet er endret.

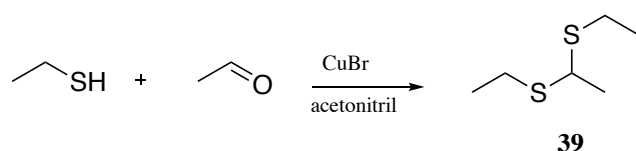
Det var allikevel uventet at utfordringene med acetaldehyd skulle være såpass store, da reductiv alkylering av 17β-østradiol med acetaldehyd tidligere er rapportert med utbytte på 80% av studentene i LipChem-gruppen.⁹⁴

Grunnet utfordringene med acetaldehyd ble det forsøkt å etylere et testsystem, 2-hydroksy-5,6,7,8-tetrahydronaftalen (**37**), med de samme reaksjonsbetingelsene.⁸³ Reaksjonen resulterte

her i dialkylering, og produktet var 2,4-dietyl-3-hydroksy-5,6,7,8-tetrahydronaftalen (**38**) (Figur 6-1). Den skarpe fenoltoppen ved 4.60ppm ble bekreftet med D₂O, (Figur 6-2). Forholdet mellom fenol ved 4.60ppm og aromatprotoner ved 6.81ppm skulle vært 1:2 i ¹H NMR-spekter av ønsket produkt. Forholdet er 1:1 som også er med på å bekrefte dialkyleringen av forbindelse **37**.

Det ble forsøkt flere ulike metoder for optimalisering av reduktiv alkylering med acetaldehyd. Etersom acetaldehyd har et lavt kokepunkt (20°C) ble det tilsatt et lite overskudd av aldehyd til reaksjonsblandingen. Etter dialkylering av testsystemet ble antall ekvivalenter av acetaldehyd og etantiol halvert, for å forhindre dialkyleringen. Ulike temperaturer ble også testet.

En mulig forklaring på at reaksjonen mislykkes, er selvkondensering via aldolreaksjon. Etter flere forsøk på optimalisering med acetaldehyd ble det besluttet å danne ditioacetalet (**39**) på forhånd, fremfor Parnes og Pappos dannelse *in situ*,⁸³ (Skjema 2-2). Reaksjonen mellom etantiol og acetaldehyd med CuBr, gav **39** i et reaksjonsutbytte på 61%. Utbyttet er litt lavere enn litteraturen som rapporterer et utbytte på 77%.⁹⁶

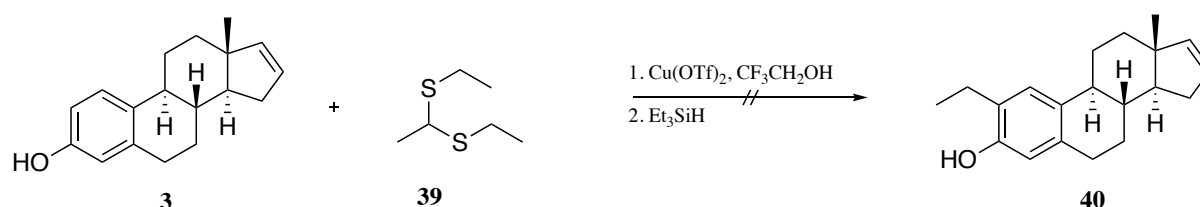


Skjema 2-2. Syntese av forbindelse 39.

¹H NMR spekter viser spor av etantiol (Figur 4-7), det ble allikevel ikke brukt tid på ytterligere opprensing. Etantiol ble tilsatt i overskudd i alle alkyleringene, og dermed ble det antatt at rester av etantiol ikke ville påvirke reaksjonen. Spektrale data er i overenstemmelse med tidligere publisert.⁹⁶

Forbindelse **39** ble deretter tilsatt til en løsning bestående av forbindelse **3**, trifluoretanol og kobber(II)triflat (Skjema 2-3). ¹H NMR-spekter som ble tatt opp av råprodukt viste antydning til ønsket produkt, 2-etyløstra-1,3,5(10)-16-tetraen-3-ol-1,3,5(10)-16-tetraen-3-ol (**40**) da signalene i aromatområdet svarer til to singleter ved hhv 7.0ppm og 6.45ppm med forholdet 1:1. Dersom reaksjonen gav produkt av **40** var det i liten grad. Forholdet mellom aromatprotoner og alkenprotonene ved 5.72ppm og 5.89ppm var 1:3. Spekteret viser også rester

av forbindelse **39**. Det ble forsøkt å rense stoffet ved hjelp av kolonnekromatografi (heksan:THF, 95:5), ^1H NMR-spekter viste tilstedeværelse av **39** etter opprensing. Det ble forsøkt å redusere tioacetalet med trietylsilan. Etter flere forsøk på optimalisering av eluentsystem ble det besluttet å ikke bruke mer tid på videre opprensing. Utfordringene som følger med kløyving av tioacetal er beskrevet i litteraturen.⁹⁷



Skjema 2-3. Forsøk på syntese av forbindelse **40**.

En annen tilnærming som kan testes er dannelse av tioacetaler ved hjelp av sink-katalysert hydrosulfonering av alkyner. Dette kunne vært nyttig dersom problemet viser seg å være aldol-bireaksjoner. Dette er rapportert med gode utbytter av korresponderende tioacetal.⁹⁸ Det gjenstår da å se om det blir et like stort problem i forbindelse med opprensing.

Da det er rapportert at reduktiv alkylering av steroider med acetaldehyd gir gode utbytter for andre steroider^{81, 94, 99}, og reaksjonen har fungert for andre aldehyder i denne oppgaven, er det å anta at molekylstrukturen til **3** setter begrensninger.

Solum *et al.* har tidligere vist en annen metode for reduktiv alkylering av steroid.⁹⁹ I denne reaksjonen formyleres **2**, etterfulgt av en olefinering via en Wittig reaksjon. Videre reduseres vinyl-gruppen til etyl-gruppen ved hjelp av Pd/C. Årsaken til at dette ikke ble utprøvd på **3** skyldes dobbeltbindingen i D-ringen. Ved å benytte Pd/C vil dobbeltbindingen i forbindelse **3** reduseres.

Syntese av 2-propyløstra-1,3,5(10)-16-tetraen-3-ol (**41**) gav det laveste utbyttet av alle aldehydene, på kun 35%. Allikevel var det positivt at reaksjonen gikk, og gav ønsket produkt, da det har vært store problemer med den reduktive alkyleringen i denne oppgaven.

Syntese 2-butyløstra-1,3,5(10)-16-tetraen-3-ol (**42**) gav et utbytte på 89% som er det høyeste utbytte av alle aldehyder som ble testet. Aldehydet ble tilsatt i underskudd, men det virket ikke


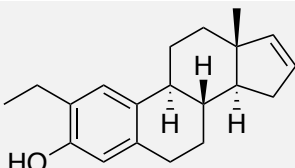
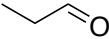
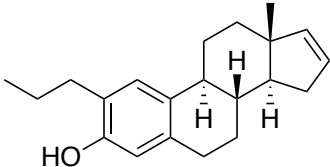
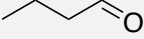
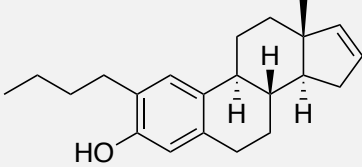
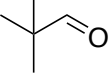
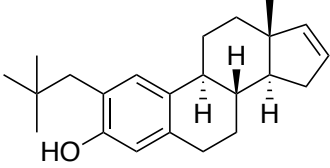
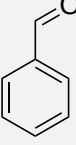
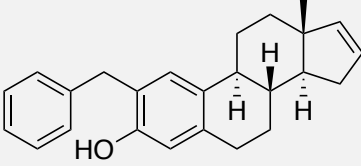
å ha noen innvirkning på reaksjonen. Andre aldehyder, slik som propanal og benzaldehyd, ble tilsatt i overskudd og kun gav én av de to mulige regioisomerene.

Syntese av 2-benzyløstra-1,3,5(10)-16-tetraen-3-ol (**43**) gav et utbytte på 63 %.

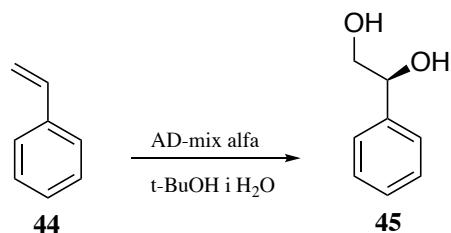
¹H NMR-spekteret (figur 4-5) viser en multipllett i området 7.38-7.15ppm, dette stemmer med forventet kjemisk skift for de aromatiske protonene i benzylgruppen. De to singlettene ved henholdsvis 7.06ppm og 6.51ppm stemmer overens med det som er forventet for de to aromatiske protonene i A-ringene. Det observeres også to like multiplletter i områdene 5.87ppm-5.77ppm og 5.69-5.61ppm. Disse integrerer for et proton hver, og viser med stor sannsynlighet de to alkenprotonene i D-ringene. I spekteret er det en bred topp ved 4.57ppm som integrerer for ett proton. Dette er en typisk alkoholtopp, og antas å være fenolen. Ved 4.00 ppm og 3.94ppm er det to identiske dubletter. Ved første øyekast ser det ut som en kvartett, men det er et såkalt ab-koblingsmønster som viser en geminal kobling. Dette skyldes at forbindelsen er diasterotopisk.

I alle de utførte alkyleringene ble mønsteret i aromatområdet brukt diagnostisk på råoljen. Dersom alkyleringsreaksjonen resulterte i ønsket produkt kunne det i alle tilfeller ses i et forhold mellom aromatprotoner og alkenprotoner på 1:1:1:1. Aromatprotonene kommer ut som to singletter og har et kjemisk skift på hhv 7.0ppm og 6.50ppm. Alkenprotonene kommer ut som to multiplletter og har et kjemisk skift på 6.0-5.7ppm og 5.9-5.6ppm (figur 4-1, 4-3, 4-5). Ingen av de syntetiserte forbindelsene **41**, **42**, **43** er tidligere kjent.

Tabell 2-1. Oversikt reduktiv alkylering.

	Aldehyd	Produkt	Utbytte %
1			ND
2			35
3			89
4			ND
5			63

2.2 Sharpless asymmetrisk dihydroksylering



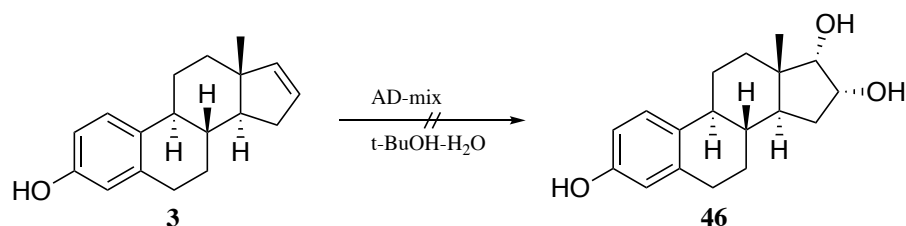
Skjema 2-4. Syntese av forbindelse 45.

Sharpless asymmetrisk dihydroksylering ble forsøkt utført på forbindelse **3**, men gav ikke ønskede resultater. Reaksjonen ble derfor utført på et tidligere rapportert system, styren (**44**),¹⁰⁰ (Skjema 2-4) som testsystem. Reaksjonen gav et utbytte på 56% av 1-fenyletan-1,2-diol (**45**). Ettersom testsystemet, **44** avviker i så stor grad fra molekylstrukturen til **3** vil ikke de to strukturene være sammenliknbare, men viser at det ikke er noe galt med noen av kjemikaliene. I steroidet er det to funksjonelle grupper, i forbindelse **44** er det kun én. Steroidet er også et mye større molekyl med flere begrensninger i form av sterisk hindring inkludert konformasjonsproblematikk.

Spesifikk dreiningsvinkel av produktet ble målt til +56°. Denne verdien stemmer bra overens med *R*-enantiomeren som har en spesifikk dreiningsvinkel oppgitt som +64°.¹⁰¹ Det skal også nevnes at det finnes artikler som rapporterer spesifikk dreiningsvinkel for *S*-enantiomeren oppgitt som +103°.¹⁰² Disse verdiene skulle vært identiske med motsatt fortegn, og det er derfor vanskelig å si med sikkerhet at resultatet av reaksjonen var *R*-enantiomeren.

Spektrale data er i overensstemmelse med litteraturen (figur 4-9, 4-10).¹⁰³

Forsøk på syntese av østra-1,3,5(10)-trien-3,16,17-triol (**46**) (Skjema 2-5) ble utført ved å benytte acetamid som kosolvent.¹⁰⁴ ¹H NMR-spekter viste signaler for alkenprotoner fra utgangsstoffet ved hhv 5.9 og 5.7ppm etter endt reaksjon. Andre gangen forsøket ble utført ble reaksjonen kjørt ved fravær av acetamid, da det fungerte godt med modellsystemet, **44**. Reaksjonen stod over natt under omrøring ved 0°C. ¹H NMR-spekter viste igjen signaler for alkenprotoner, og det ble dermed konkludert med at reaksjonen ikke hadde gått.



Skjema 2-5. Forsøk på syntese av forbindelse 46.

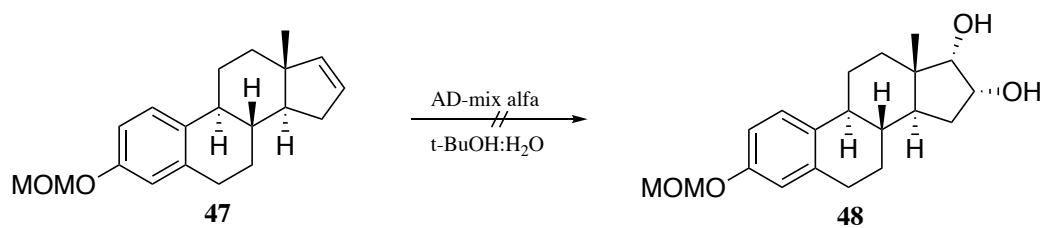
Etttersom det var problemer med å utføre reaksjonen på forbindelse **3** ble det vurdert om problemet kunne skyldes fenolen. I utgangsstoffet er det to funksjonelle grupper tilstede. Det ble derfor forsøkt å beskytte fenolen i forbindelse **3** med MOM-klorid i diisopropylamin. Reaksjonen (Skjema 2-6) gav et utbytte på 55% av forbindelsen 3-(metoksymetoksy)østra-1,3,5(10),16-tetraen (**47**).



Skjema 2-6. Syntese av forbindelse 47.

Aromatområdet ble, slik som tidligere, benyttet diagnostisk for å se vurdere reaksjonsforløpet. For steroidet svarer multiplisitetene i dette området til dublett, dublett, singlett fra 7.23-6.82ppm hvorav alle signalene integrerer til ett proton. ¹H NMR-spekteret gir også svært karakteristiske singleter ved henholdsvis 5.18ppm (2H) og 3.51ppm (3H), som igjen integrerer for hhv. 2 og 3 protoner. Disse signalene svarer til -O-CH₂-O og -O-CH₃.

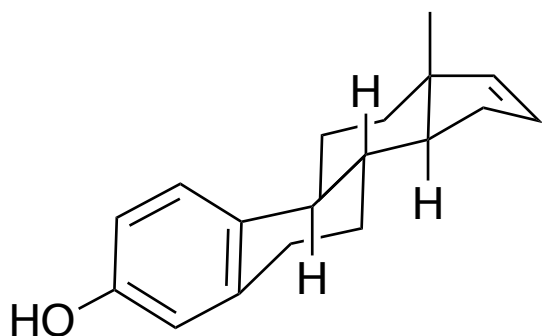
Etter beskyttelsesreaksjonen ble reaksjonsbetingelsene utprøvd på forbindelse **47** (Skjema 2-7). Protokollen som ble fulgt var identisk for modellsystemet, **44**.



Skjema 2-7. Forsøk på syntese av forbindelse 48.

^1H NMR-spekter for råprodukt etter endt reaksjon viser signal for de to alkenprotonene ved 5.9 og 5.7 ppm. Dette medførte at ingen videre opprensing ble foretatt, og det ble konkludert med at syntese av 3-(metoksymetoksy)østra-1,3,5(10)-trien-3,16,17-triol (**48**) ikke ville kunne gjennomføres innenfor tidsbegrensningen.

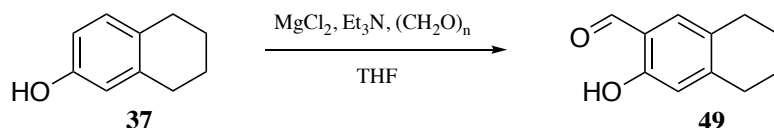
En årsak til at reaksjonen ikke fungerte kan skyldes konformasjonen av forbindelse **3**, da steroidet har en svært kompleks struktur. I strukturen til **3** er det en metylgruppe i posisjon C13 på den konvekse siden av molekylet, og på denne måten bidrar til sterisk hindring slik at det blir vanskelig å angripe steroidet fra den konvekse siden. Ved å se den romlige strukturen til **3** (Figur 2-1) fremkommer det at det vil være fortrukket å angripe nettopp fra den konvekse siden av molekylet. Da reaksjonen ikke fungerte til tross for at fenolen var beskyttet med MOMCl, og reaksjonen fungerte på det enkle testsystemet, **44**, styrker det antakelsen om at problemet skyldes konformasjonen av steroidet.



Figur 2-1. Strukturformel av østratetraenol som viser romlig orientering.

2.3 *Orto*-formylering

Skattebøl og medarbeidere rapporterte i 1999 en metode for å danne salisylaldehyder under tilstedeværelse av base-systemet $\text{MgCl}_2\text{-Et}_3\text{N}$ og paraformaldehyd med gode utbytter.⁸⁹⁻⁹⁰ Akselsen og Hansen rapporterer deretter i 2011 *orto*-formylering av forbindelse **2**.⁶² I denne oppgaven ble betingelsene utprøvd på forbindelse **37** og **3** og utbyttene var i begge tilfeller kvantitative.

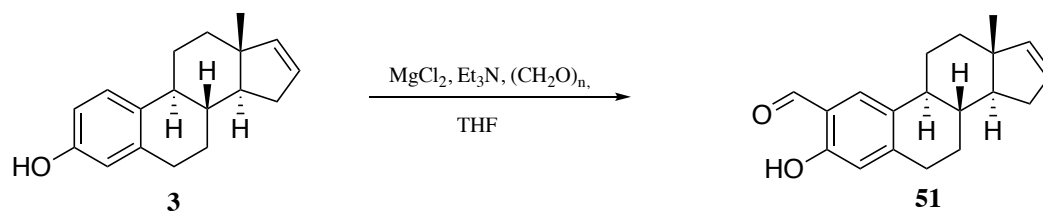


Skjema 2-8. Syntese av forbindelse 49.

Grunnet utfordringer med reduktiv alkylering ble *orto*-formyleringen utført på forbindelse **37** først (Skjema 2-8). Forsøket ble utført en gang, og gav et kvantitativt utbytte. Reaksjonen gav en blanding av de to mulige regioisomerene, 2-formyl-3-hydroksy-5,6,7,8-tetrahydronaftalen (**49**) 4-formyl-3-hydroksy-5,6,7,8-tetrahydronaftalen (**50**) i et forhold på 1:0.4, hvor den ønskede regioisomerer, **49**, var dominerende.

Singletene ved 12.0, 10.71, 10.36 og 9.79 ppm i ^1H NMR-spekter (Figur 6-5) integrerer til henholdsvis 1:2.14:1:2.28. Dette viser forholdet mellom regioisomerene, altså ca. 0.4:1. I aromatområdet er det en singlet ved 6.69ppm, en dublett ved 6.75ppm og en multipllett fra 7.24-7.18ppm. Singletten integrerer for to protoner, og viser aromatproton fra forbindelse **49**. Dubletten integrerer for ett proton og viser proton i aromatområdet for forbindelse **50**. Multipletten kan forklares ved at den ene dubletten fra den uønskede regioisomerer overlapper med singletten fra den ønskede regioisomerer, da den integrerer for tre protoner (Figur 6-5).

Etter syntese av forbindelse **49** ble de samme reaksjonsbetingelsene utprøvd på forbindelse **3**, (Skjema 2-9). Forsøket gav også her, ikke overraskende, en blanding av de to regioisomerene. Det er også tidligere rapportert at metoden resulterer i en kombinasjon av de to regioisomerene.⁶²



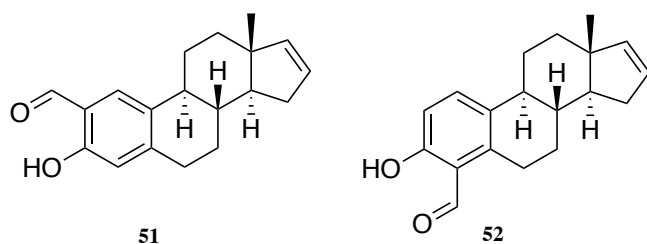
Skjema 2-9. Syntese av forbindelse 51.

Regioselektiviteten mellom regioisomerene, 2-formyløstra-1,3,5(10)-16-tetraen-3-ol (**51**) og 4-formyløstra-1,3,5(10)-16-tetraen-3-ol (**52**) var 8:1, hvorav den foretrukne regioisomeren, **51**, dominerte. Forsøket gav et kvantitativt utbytte.

I begge tilfeller ble ^1H NMR brukt diagnostisk for å vurdere resultatet av reaksjonen. Både singletten som integrerer for fenolproton og singletten som integrerer for aldehydproton var svært karakteristiske. Fenolprotonet kommer ut veldig tydelig, og litt høyt, som en skarp singlet ved 9.81ppm og aldehydprotonet kommer ut ved 10.78ppm. Dette skyldes trolig dannelsen av intramolekulære hydrogenbindinger mellom aldehyd og fenol.

Aromat- og alkenområdet ble også benyttet diagnostisk for å vurdere reaksjonsforløpet. Aromatprotonene kommer ut som to singletter ved hhv 7.41ppm og 6.71ppm. Alkenprotoner kommer ut som to multipler ved hhv 5.98-5.86ppm og 5.80-5.69ppm. Forhold mellom aromatprotoner og alkenprotoner var 1:1:1:1 (Figur 4-15).

Det ble forsøkt å separere de to regioisomerene, **51** og **52**, (Figur 2-2) ved hjelp av kolonnekromatografi. ^1H NMR-spekter ble tatt opp av tre ulike fraksjoner, hvorav alle fraksjonene viste en blanding av de to forbindelsene med nøyaktig samme blandingsforhold (hhv. 8:1). Da separasjonen ikke gikk ble det bestemt at blandingen skulle benyttes videre i en Dakin-oksidasjon. Resultatet av denne reaksjonen var at den ønskede regioisomeren, **51**, ble isolert i et forhold på 50:1. Dette indikerer at det er en reaktivitetsforskjell mellom forbindelse **51** og **52**, og nærmeste forklaring er at forbindelse **52** reagerer raskere. Dette kan eventuelt utnyttes ved opprensing. Utbytte av forbindelse **51** var lavt, kun 38 mg, dette tilsvarer 9 %.



Figur 2-2. Strukturformel av forbindelse 51 og 52.

Forsøket ble utført i acetonitril, som er et mer polart løsemiddel enn THF. Dette ble utført for å se om valg av løsemiddel kunne påvirke regioselektiviteten i reaksjonen. Acetonitril gav et forhold på cirka 1:7 mellom regioisomerene, og et lavere utbytte enn THF.

Forsøket ble også utført med DCM som er et mindre polart løsemiddel enn THF. Heller ikke dette så ut til å være et bedre alternativ enn THF da ¹H NMR-spekter indikerer at forholdet mellom regioisomerene var 1:8 og reaksjonen gav et lavere utbytte enn ved bruk av THF.

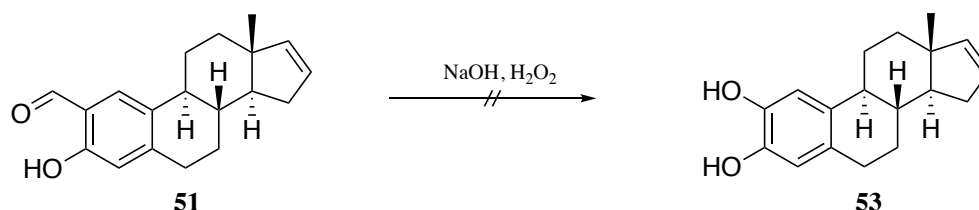
I forbindelse med optimalisering ble forsøket utført med THF, hvor resterende reaktanter ble både redusert og oppskalert. I dette tilfellet var det den opprinnelige protokollen til Solum *et al.*⁹⁹ som fungerte best og gav høyest utbytte (Tabell 2-2, figur 6-6 – 6-9).

Tabell 2-2. Optimalisering av ortoformylering.

Ekvivalenter					
Løsemiddel	Et ₃ N	Mgcl ₂	(CH ₂ O) _n	52:51	Utbytte (%)
THF	2	2	3	1:7	22
THF	3	3	4	1:8	94
THF	4	4	5	1:8	77
DCM	3	3	4	1:8	60
Acetonitril	3	3	4	1:7	63

2.4 Dakin-oksidasjon

Akselsen og Hansen har rapportert gode utbytter med *m*-CPBA for å danne katekolen av **2**.⁶² Molekylstrukturen til **3** inneholder et alken i D-ringene. Det ble derfor bestemt at Dakin-oksidasjonen skulle utføres med H₂O₂:NaOH, for å unngå en eventuell dannelse av epoksid.¹⁰⁵ Reaksjonen ble utført på forbindelse **51** for å syntetisere østra-1,3,5(10)-16-tetraen-2,3-diol (**53**) (Skjema 2-10).

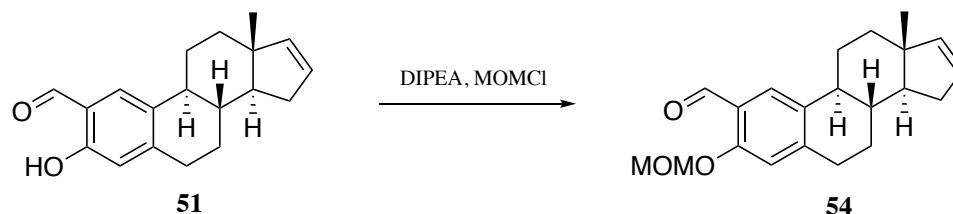


Skjema 2-10. Forsøk på syntese av forbindelse 53.

Reaksjonen gikk ikke, og ¹H NMR viste rent utgangsstoff etter endt reaksjon. Det er allikevel bemerkelsesverdig at regioisomerene **51** og **52** ble separert, og den ønskelige isomeren, **51** fra *ortho*-formyleringen ble isolert i forholdet 50:1 (Figur 4-15), slik som tidligere nevnt i kapittel 2.3.

Reaksjonen ble utført på nytt og stod underomrøring i cirka 30 timer. Reaksjonen resulterte i et sort stoff. Det er dermed nærliggende å anta at det ble dannet kinon.¹⁰⁶ Dette er tidligere rapportert av Akselsen og Hansen.¹⁰⁷⁻¹⁰⁸

Ettersom det var utfordringer med å utføre Dakin-reaksjonen ble det i likhet med Sharpless-reaksjonen, vurdert om problemet kunne skyldes at de ulike funksjonelle gruppene reagerte. Det ble derfor forsøkt å beskytte det formylerte steroidet, **51**, med MOM-klorid for å avgrense de funksjonelle gruppene fra tre til to (Skjema 2-11).



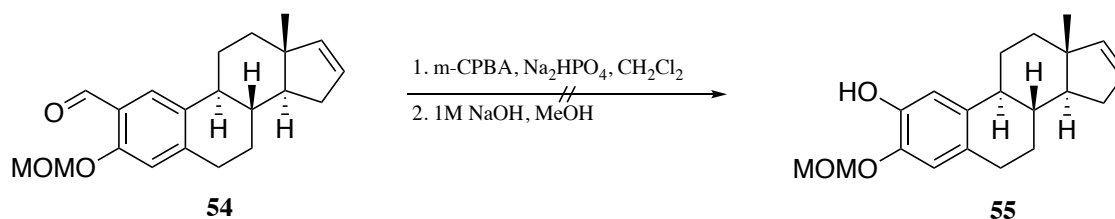
Skjema 2-11. Syntese av forbindelse 54.

Reaksjonen gav et utbytte på 70% av forbindelsen 2-formyl-3-(metoksymetoksy)østra-1,3,5(10)-16-tetraen (**54**). I ¹H NMR-spekter for forbindelse **54** (Figur 4-17) er det ett signal i

aldehyd-området ved 10.42 som integrerer for ett proton, signalet bekrefter at aldehyd-gruppen er intakt. Aromat-området viser to singleter ved hhv 7.74ppm og 6.91ppm hvor begge integrerer for ett proton. I likhet med syntese av forbindelse **47** ble også de karakteriske multiplisitetene for CH₃-O-CH₂ benyttet for å bekrefte reaksjonsforløpet. En singlet ved 5.25ppm som integrerer for to protoner bekrefter CH₂-gruppen. Likeledes bekrefter singletten ved 3.51ppm, som integrerer for tre protoner, CH₃-gruppen.

¹H NMR-spekteret viser antydning til forbindelse **51** som må ha vært tilstede i startmaterialet. Det ble bestemt at stoffet ikke skulle renses ytterligere, da såpass små mengder startmateriale vil ha en minimal påvirkning på utbyttet for videre reaksjon, og ingen innvirkning på selve reaksjonen.

Etter beskyttelsesreaksjonen ble det forsøkt å oksidere forbindelsen videre til 2-hydroksey-3-(metoksymetoksy)østra-1,3,5(10)-16-tetraen (**55**) ved å benytte *m*-CPBA (Skjema 2-12).



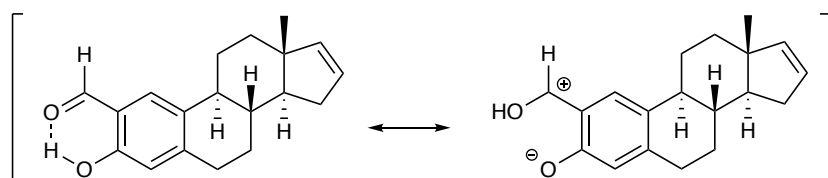
Skjema 2-12. Forsøk på syntese av forbindelse 55.

Tidligere ble det antatt at alkenet kunne omdannes til epoksid dersom *m*-CPBA ble benyttet. Alkenet har derimot blitt vist å ikke være særlig reaktivt. Dette kan skyldes sterisk hindring av metylgruppen i posisjon 17, på den konvekse siden av steroidet, slik som det ble diskutert i kapittel 2.2.

Etter endt opparbeiding viste ¹H NMR-spekter signaler som indikerte en intakt aldehydgruppe ved 10.42ppm. Det ble dermed konkludert med at reaksjonen ikke ville være mulig å utføre innenfor tidsbegrensningen.

Det vil være rimelig å anta at intramolekylære hydrogenbindinger mellom aldehyd og fenol i forbindelse **51** medfører en sterkere partiell positiv ladning på karbonylgruppen, som dermed innebærer at oksidasjonen vil gå raskere (Figur 2-3). Dette kan også være en forklaring på en eventuell kinon-dannelse, som er nevnt ovenfor. Med de samme argumentene vil det derfor

være nærliggende å tro at det beskyttede steroidet **54** vil reagere mye langsommere enn forbindelse **51**. Det vil ikke dannes intramolekulære hydrogenbindinger, og som en følge av dette vil ikke molekylet være like reaktivt. Dersom reaksjonen skal utføres på nytt bør dette tas hensyn til.

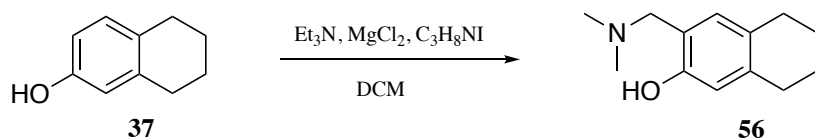


Figur 2-3. Resonansstrukturer av forbindelse 51.

2.5 Mannich-reaksjon

Pochini *et al.*¹⁰⁹ rapporterte i 1983 reaksjonen mellom fenoler og Echenmosers salt i nærvær av K_2CO_3 . Resultatene var utelukkende *orto*-substituerte produkter. Dette medførte at protokollen for regioselektiv *orto*-formylering⁸⁹⁻⁹⁰ ble benyttet for å utvikle en liknende protokoll for dannelsen av salisylaminer.⁹² Protokollen fra 2007 rapporterer gode utbytter, og betingelsene ble utført på forbindelse **3**.

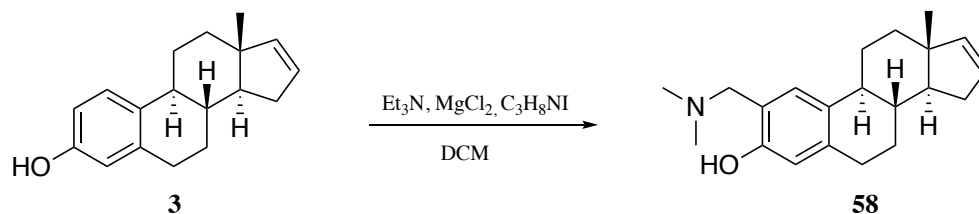
Også for denne reaksjonen ble betingelsene utprøvd på forbindelse **37** først (Skjema 2-13). Reaksjonen gav, i likhet med *orto*-formyleringen, en blanding av de to mulige regioisomerene 2-((dimetylamino)metyl)-3-hydroksy-5,6,7,8-tetrahydronaftalen (**56**) og 4-((dimetylamino)metyl)-3-hydroksy-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-3-ol (**57**). Forholdet mellom regioisomerene var 2:1, hvor den ønskede regioisomerer, **56** var dominerende.



Skjema 2-13. Syntese av forbindelse 56.

Forholdet mellom regioisomerene **56** og **57** kan tydelig ses i det aromatiske området i 1H NMR-spekteret. De aromatiske protonene kommer ut som en dublett ved 6.90ppm som integrerer for ett proton, en singlett ved 6.56ppm som integrerer for to protoner og en overlapp mellom en dublett og en singlett ved 6.68-6.62ppm som integrerer for tre protoner, (Figur 2-4).

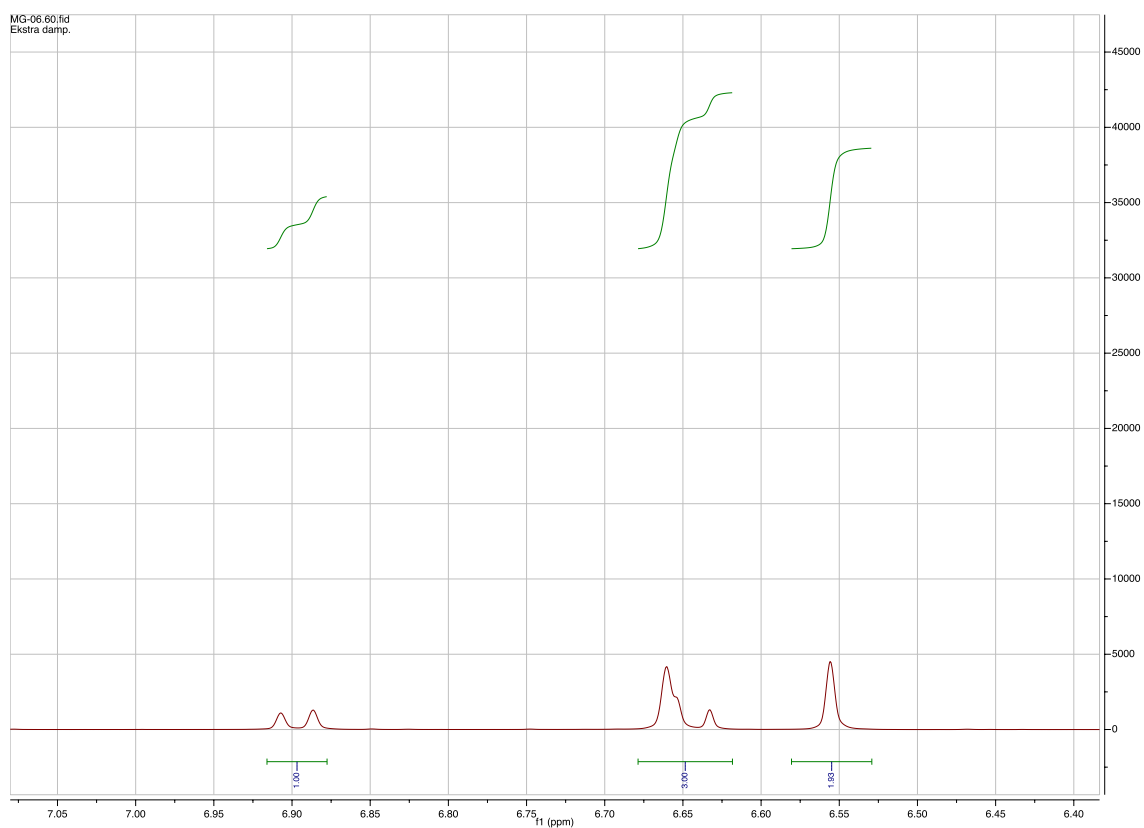
Ettersom reaksjon med testsystemet, **37**, gav ønsket produkt ble forsøket utført under de samme betingelsene på forbindelse **3** (Skjema 2-14).



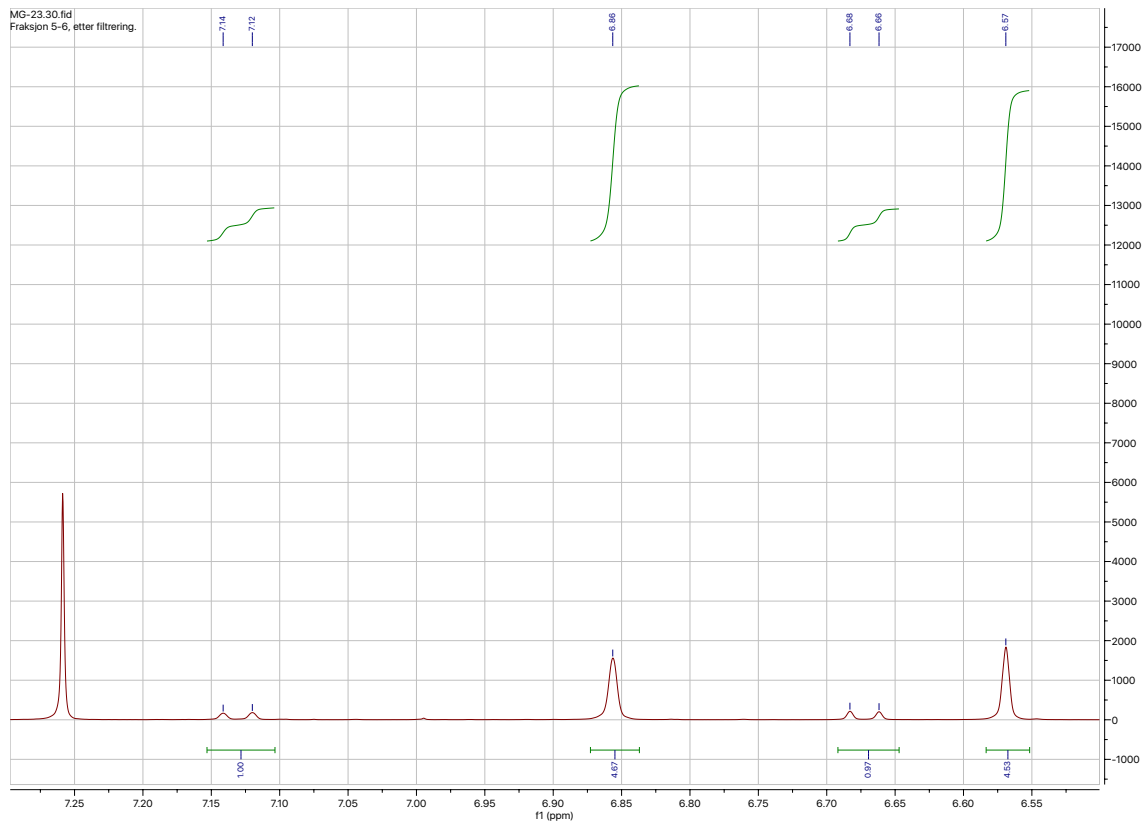
Skjema 2-14. Syntese av forbindelse 57

Reaksjonen gav et utbytte på 48%. I likhet med reaksjonen for testsystemet resulterte også dette forsøket i en kombinasjon av de to regioisomerene, 2-((dimetylamino)metyl)østra-1,3,5(10)-16-tetraen-3-ol (**58**) og 4-((dimetylamino)metyl)østra-1,3,5(10)-16-tetraen-3-ol (**59**). Forholdet var 1:0,22, hvorav den foretrukne regioisomerer, **58** dominerte (Figur 2-5). Det ble ikke foretatt videre forsøk for å separere de to regioisomerene.

I denne reaksjonen ble aromatområdet brukt diagnostisk for å vurdere reaksjonsforløpet. Aromatprotonene har et kjemisk skift på hhv 6.86 og 6.57ppm. Alkenprotonene kommer ut som to multipletter med et kjemisk skift fra 5.96-5.87 og 5.78-5.71ppm. Forhold mellom aromatprotoner og alkenprotoner er 1:1:1:1. Forbindelsen er ikke kjent fra tidligere.



Figur 2-4. ¹H NMR-spekter som viser forhold mellom regioisomerer etter syntese av forbindelse 56.



Figur 2-5. ¹H NMR-spekter som viser forhold mellom regioisomere etter syntese av 58.

3 Konklusjon og veien videre

Det ble totalt syntetisert sju forbindelser, **41**, **42**, **43**, **47**, **51**, **54**, **58**, som ikke er rapportert tidligere.

Reduktiv alkylering ble utført etter protokoll fra Parnes og Pappo.⁸³ Det var en del utfordringer med denne reaksjonen, og flere forsøk på optimalisering ble utprøvd. Etter flere forsøk på optimalisering ble det konkludert med at etylering av forbindelse **3** ikke lot seg gjennomføre innenfor tidsbegrensningen. Reaksjonen ble derimot gjennomført med flere andre aldehyder (Tabell 2-1).

Resultatet av både *orto*-formyleringen og Mannich-reaksjonen var de to mulige *orto*-regioisomerene. I begge tilfeller var det den foretrukne regioisomeren som dominerte. Dette stemmer godt overens med det Akselsen og Hansen tidligere har konkludert med for *orto*-formylering.⁶²

Det var derimot problemer med å utføre Dakin-oksidasjonen og Sharpless asymmetrisk dihydroksylering. Reaksjonene ble forsøkt flere ganger, med ulike endringer. Siden disse reaksjonene er rapportert å gå for andre steroider, virker det sannsynlig at strukturen til **3** setter begrensninger i form av konformasjonen til ringsystemet.

Til tross for at det har vært en del utfordringer i denne oppgaven er mange resultater oppnådd. Oppgaven har gitt kunnskap om østratetraenol, og molekylets begrensninger. En mulig tilnærming som har vært diskutert i forbindelse med dette prosjektet var å hydrogenere alkenet i D-ringen i forbindelse **3**, og se om reaksjonene ville være enklere å utføre i fravær av dobbeltbindingen.

Videre vil det nok være mulig å forbedre utbyttene i forbindelse med reduktiv alkylering. Det kan også være mulig å utføre Dakin-oksidasjonen med *m*-CPBA ved å variere reaksjonsbetingelsene. Som tidligere nevnt kan det også være mulig å hydrogenere alkenet i D-ringen i forbindelse **3** og deretter utføre Sharpless asymmetrisk dihydroksylering.

4 Eksperimentelt

4.1 Generelt

Løsemidlene som ble benyttet var av merket VWR og ble benyttet uten videre rensing. Løsemidlene var av teknisk kvalitet. Da det var nødvendig med vannfrie løsemidler ble septumforseglede flasker benyttet, og løsemidler ble trukket ut med en kanyle.

Tynnsjikt-kromatografi ble utført på TLC-aluminiumsplater med 250 μm silikagel 60 F₂₅₄. Det ble benyttet en kaliumpermanganatløsning for fremkalling av TLC-plater.

Opprensing ble utført ved kolonnekromatografi med silikagel 60 (40 μm -63 μm) fra Merck, løst i heksan.

NMR spekter ble tatt opp på et Bruker Ascend 400 instrument ved 25°C. ¹H NMR-spektre ble tatt opp med 400MHz. ¹³C NMR-spektre ble tatt opp med 100MHz. Koblingskonstanter rapporteres her i Hertz (Hz) og kjemiske skift rapporteres i parts per million (ppm, δ).

HRMS-prøver ble tatt opp på et Autospec Ultima (EI/70ev) instrument fra Micromass Ltd.

IR-spekter ble tatt opp med et Agilent 5500 series FTIR instrument med ATR diamantcelle.

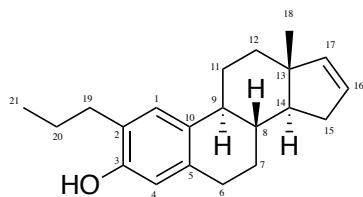
Optisk rotasjon ble målt på et PerkinElmer instrument, modell 341 polarimeter, 1dm celle med 1ml.

4.2 Reduktiv alkylering

Metoden som ble benyttet for reduktiv alkylering er basert på tidligere arbeid av Parnes & Pappo, og Gansbeke *et al.*^{83, 94}

Aldehyd (3,0mmol), etantiol (6.0 mmol, 0.44 ml) og kobbertriflat (2,5 mol%, 9,0 mg) ble tilsatt til en løsning av forbindelse **3** (1,0 mmol, 254mg) i 2,2,2-trifluoretanol (3.0 ml) i en avbrent rundkolbe. Blandingen stod under omrøring ved 0 °C i én time, før temperaturen ble økt til 50°C, og stod under omrøring i ytterligere 16 timer. Trietylsilan ble tilsatt (3,0 mmol, 0,48 ml), og blandingen stod i 4 timer under omrøring ved 50°C. Reaksjonen ble overvåket med TLC (heksan: EtOAc, 7:3), og bestemt ferdig etter 4 timer. Reaksjonsblandingen ble deretter dampet inn under redusert trykk.

4.2.1 Syntese av 2-propyløstra-1,3,5(10)-16-tetraen-3-ol



41

C₂₁H₂₈O

Mm: 296,45 g/mol

Utbytte: 104mg (35%)

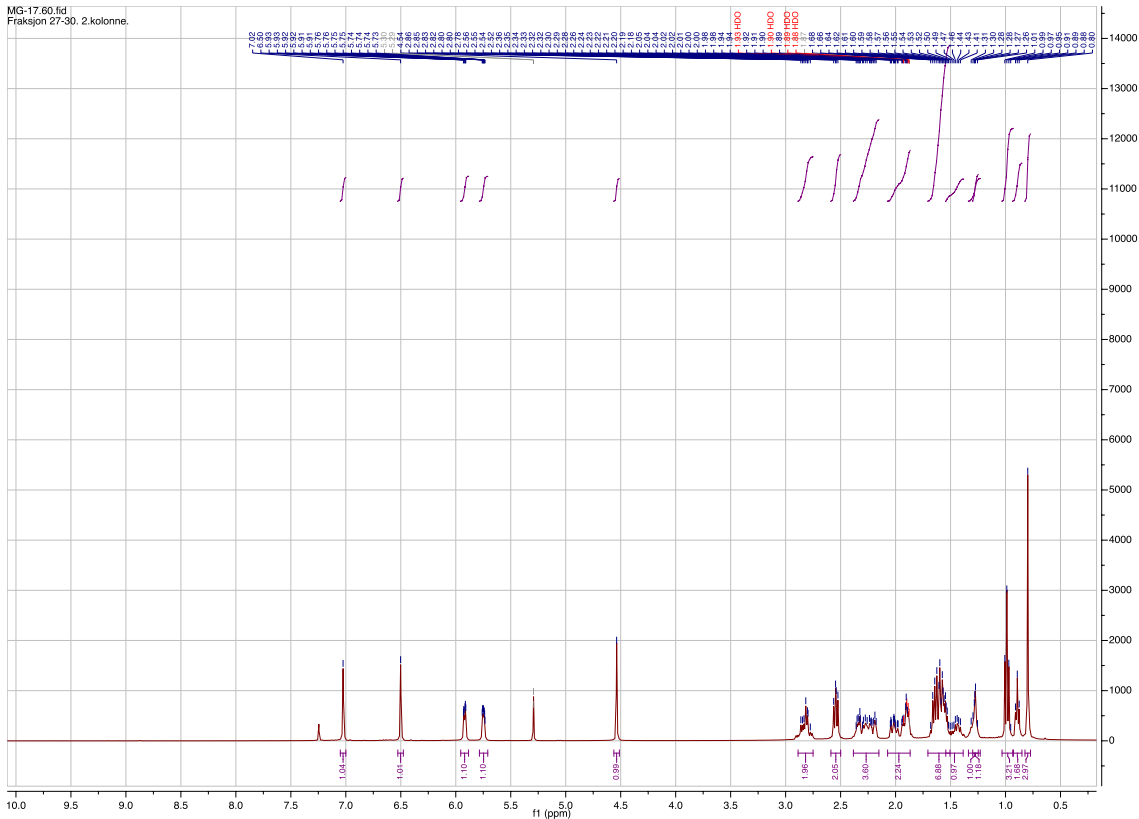
Opprensing: Silika (heksan:DCM, 1:1).

R_f = 0,21 (heksan:DCM, 1:1)

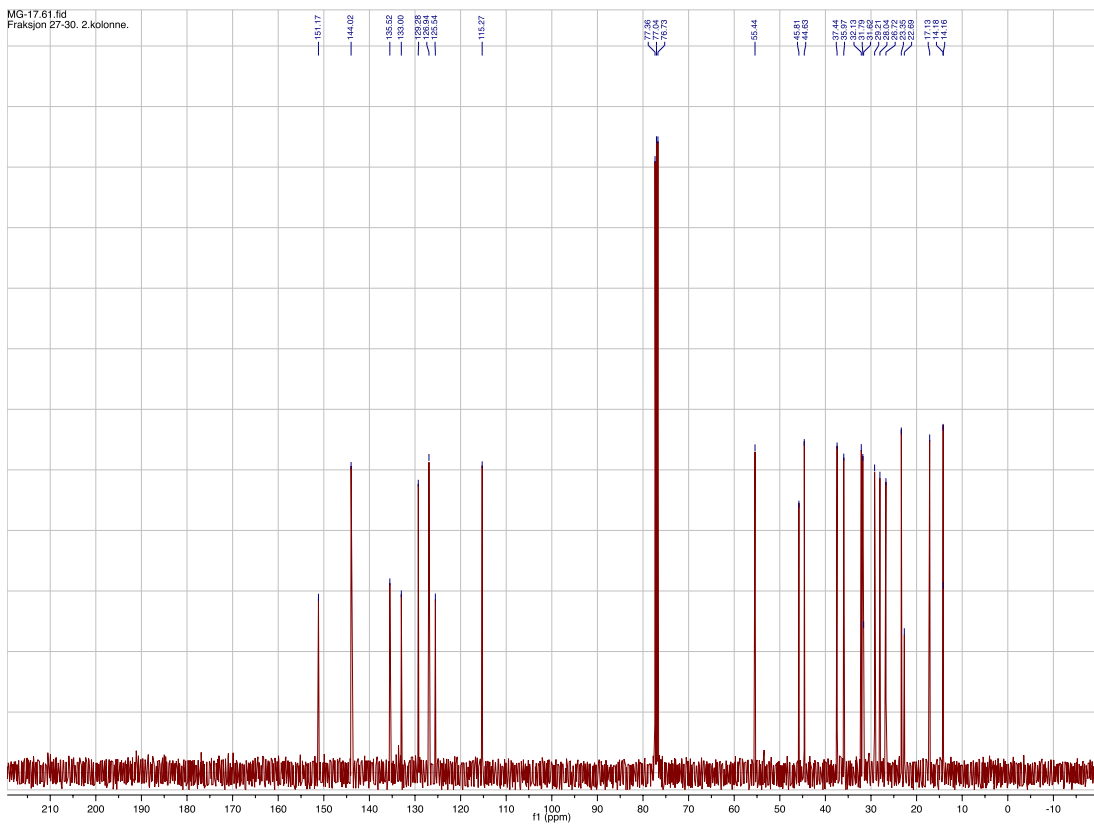
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.02 (s, 1H, H₁/H₄), 6.50 (s, 1H, H₁/H₄), 5.96-5.88 (m, 1H, H₁₆/H₁₇), 5.78-5.71 (m, 1H, H₁₆/H₁₇), 4.54 (s, 1H, OH), 2.88-2.75 (m, 2H), 2.54 (dd, *J* = 8.8, 6.6 Hz, 2H), 2.38-2.15 (m, 4H), 2.07-1.87 (m, 2H), 1.71-1.51 (m, 7H), 1.54-1.39 (m, 1H), 1.34-1.23 (m, 1H), 1.27 (s, 1H), 0.99 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H), 0.89 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H), 0.80 (s, 3H, H₁₈).

¹³C NMR (100MHz, CDCl₃) 151.17, 144.02, 135.52, 133.00, 129.28, 126.94, 125.54, 115.27, 55.44, 45.81, 44.63, 37.44, 35.97, 32.13, 31.79, 29.21, 28.04, 26.72, 23.35, 17.13, 14.18, 14.16.

IR: 3355, 3042, 2930, 2869, 1510, 1454 cm⁻¹

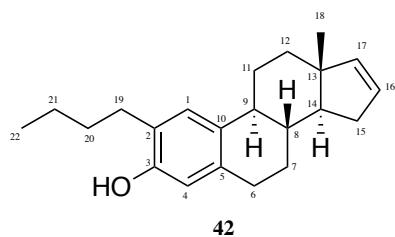


Figur 4-1. ^1H NMR-spekter av forbindelse 41.



Figur 4-2. ^{13}C NMR-spekter av forbindelse 41.

4.2.2 Syntese av 2-butyløstra-1,3,5(10)-16-tetraen-3-ol



$C_{22}H_{30}O$

Mm: 310,48 g/mol

Utbytte: 208 mg (89 %)

Opprensing₁: Silika (heksan:DCM, 1:1)

Opprensing₂: Silika (heksan:EtOAc, 1:1)

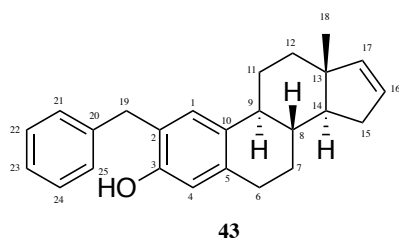
$R_f = 0,53$ (heksan:EtOAc, 7:3)

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.08 (s, 1H, H_1/H_4), 6.53 (s, 1H, H_1/H_4), 6.01-5.92 (m, 1H, H_{16}/H_{17}), 5.85-5.73 (m, 1H, H_{16}/H_{17}), 4.74 (s, 1H, OH), 2.94-2.56 (m, 5H), 2.47-2.20 (m, 4H), 1.98-1.89 (m, 2H), 1.70-1.55 (m, 7H), 1.52-1.29 (m, 4H), 1.32 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 1.00 (t, $J = 7.9$ Hz, 17H), 0.86 (s, 3H, H_{18}), 0.59 (q, 8H).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 151.22, 144.04, 135.41, 132.99, 129.29, 126.86, 125.85, 115.34, 55.56, 55.48, 45.84, 44.69, 38.25, 37.49, 36.02, 32.52, 32.46, 31.83, 29.82, 29.25, 28.11, 26.77, 24.08, 22.94, 22.80, 20.79, 17.20, 17.16, 14.59, 14.08, 13.95, 13.65, 6.86, 6.79, 6.49, 6.20, 5.44.

IR: 3600-3100, 2930, 2852, 1616, 1504, 1454 cm^{-1}

4.2.3 Syntese av 2-benzyløstra-1,3,5(10)-16-tetraen-3-ol



$C_{28}H_{30}O$

Mm: 344,50 g/mol

Utbytte: 219mg, 63%

Opprensing: Silika (heksan:DCM, 1:1).

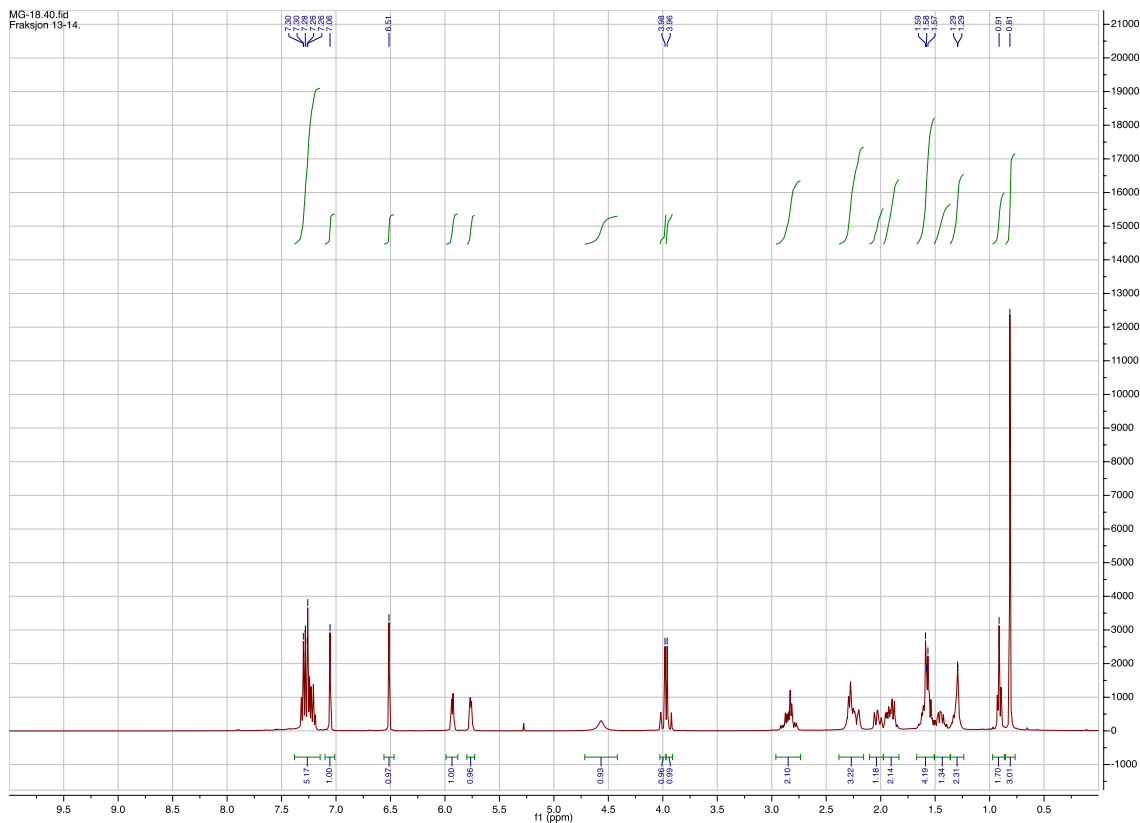
$R_f = 0,61$ (heksan:EtOAc, 7:3)

0,20 (heksan:DCM 1:1)

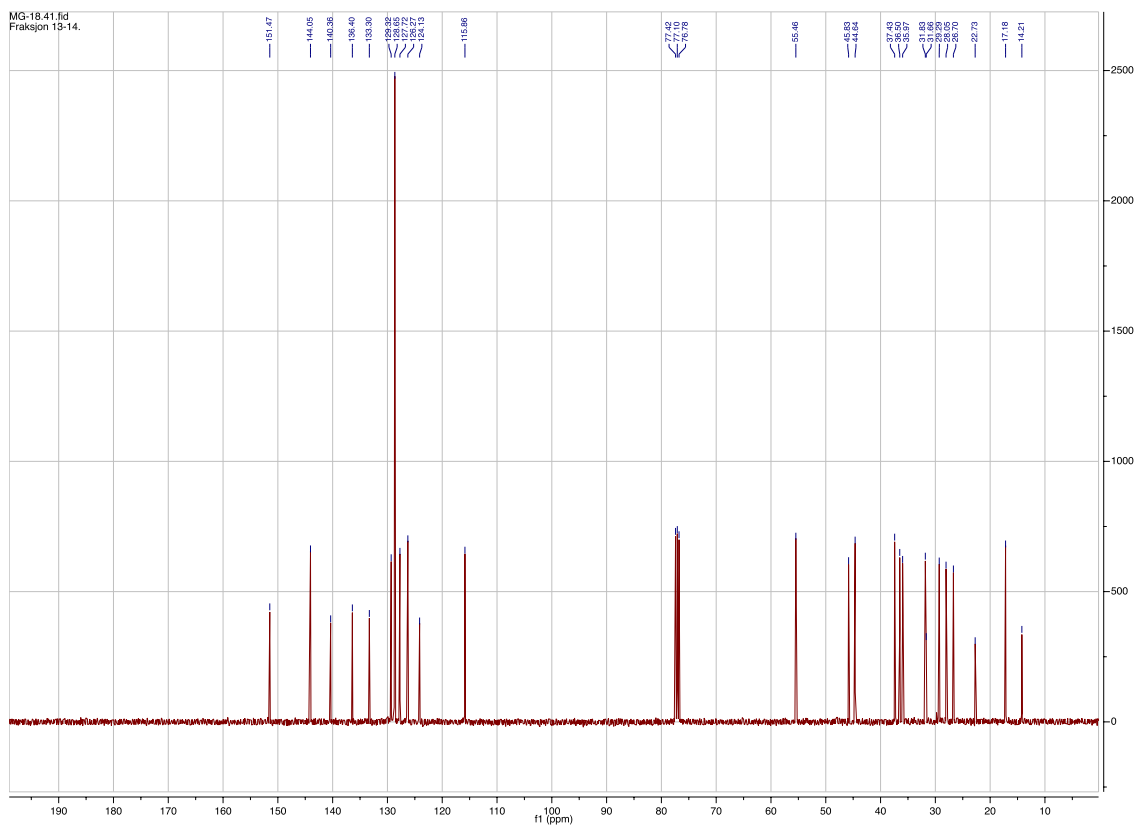
1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.38 – 7.15 (m, 5H, $H_{21-H_{24}}$), 7.06 (s, 1H, H_1/H_4), 6.51 (s, 1H, H_1/H_4), 5,87-5,77 (m, 1H, H_{16}/H_{17}), 5,69-5,61 (m, 1H, H_{16}/H_{17}) 4.57 (s, 1H, OH), 4.00 (d, $J = 15.5$ Hz, 1H, H_{19}), 3.94 (d, $J = 15.5$ Hz, 1H, H_{19}), 2.96 – 2.74 (m, 2H), 2.39 – 2.16 (m, 3H), 2.11 – 1.81 (m, 3H), 1.67 – 1.51 (m, 2H), 1.57-1.41 (m, 1H), 1.36 – 1.23 (m, 1H), 0.96 – 0.88 (m, 1H), 0.81 (s, 3H, H_{18}).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 151.47, 144.05, 140.36, 136.40, 133.30, 129.32, 128.65, 127.72, 126.27, 124.13, 115.86, 77.42, 77.10, 76.78, 55.46, 45.83, 44.64, 37.43, 36.50, 35.97, 31.83, 31.66, 29.29, 28.05, 26.70, 22.73, 17.18, 14.21.

IR: 3523, 3031, 2913, 2852, 1616, 1504, 1420 cm^{-1}

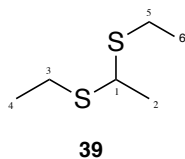


Figur 4-5. ^1H NMR-spekter av forbindelse 43.



Figur 4-6. ^{13}C NMR-spekter av forbindelse 43.

4.2.4 Syntese av 1,1-bis(etylsulfanyl)etan



Reaksjonen ble utført i henhold til en prosedyre av Lie *et al.* ⁹⁶

Under nitrogenatmosfære ble kobber(I)bromid (0,5mmol, 72mg) tilsatt til acetaldehyd (10mmol, 0,56ml) og etantiol (22mmol, 1,63ml) i acetonitril (20ml). Reaksjonsblandingen ble rørt ved romtemperatur i 16 timer, og ble deretter tilsatt 4M NaOH (20ml). Reaksjonsblandingen ble ekstrahert med DCM (3x20ml) og kombinert organisk fase ble vasket med vann, tørket med Na₂SO₄ og dampet inn under redusert trykk.

C₆H₁₄S₂

Mm: 135,26g/mol

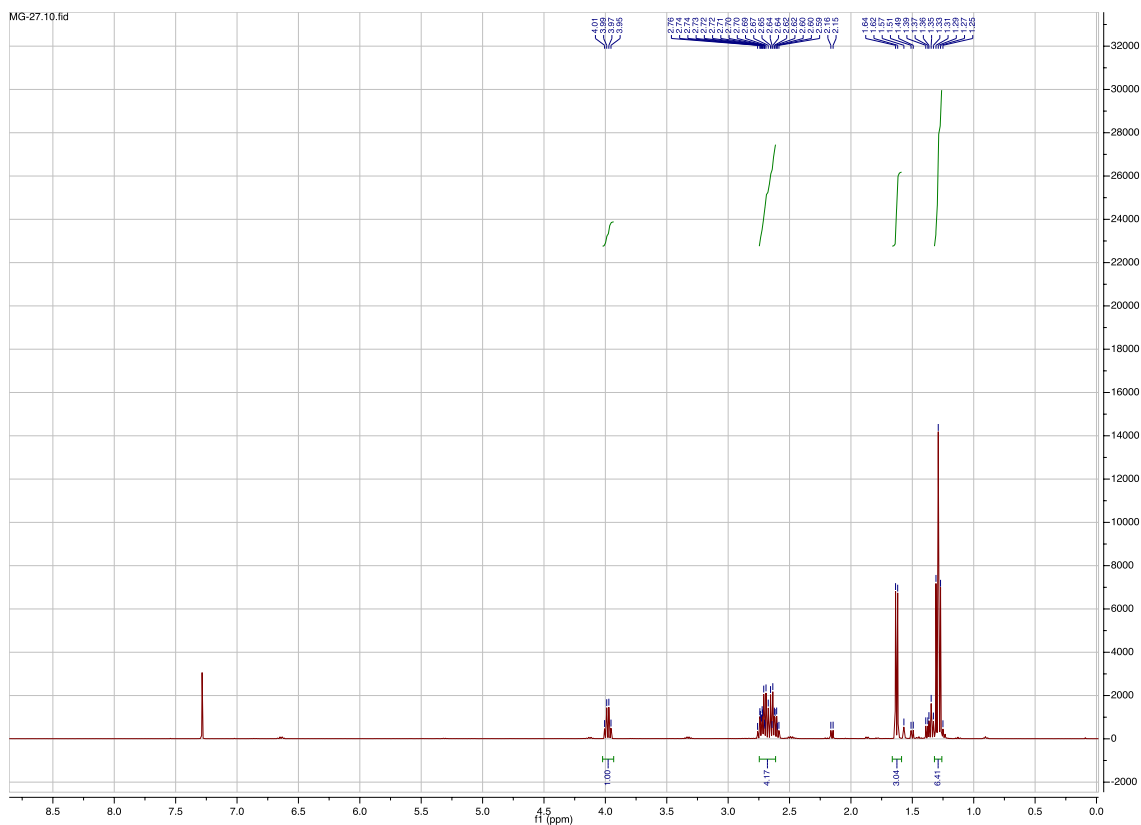
Utbytte: 919mg (61%)

R_f = 0,8 (heksan:EtOAc, 7:3)

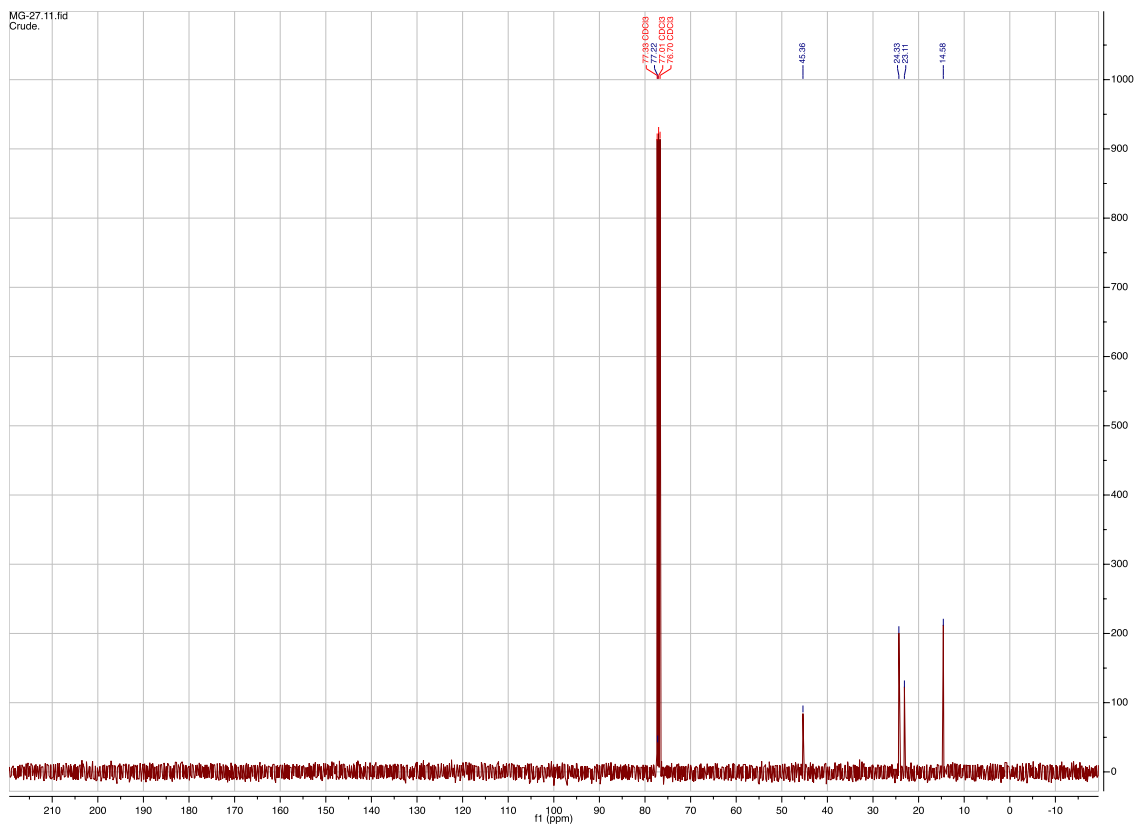
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.98 (q, *J* = 7.0 Hz, 1H, H₁), 2.75-2.61 (m, 4H, H₃, H₅), 1.63 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, H₂), 1.29 (t, *J* = 7.4 Hz, 6H, H₄, H₆).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 77.22, 45.36, 24.33, 23.11, 14.58.

IR: 2964, 2924, 2869, 1728, 1448 cm⁻¹



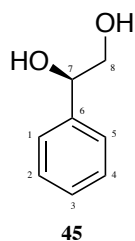
Figur 4-7. ^1H NMR-spekter av forbindelse 39.



Figur 4-8. ^{13}C NMR-spekter av forbindelse 39.

4.3 Sharpless asymmetrisk dihydroksylering

4.3.1 Syntese av 1-fenyletan-1,2-diol



Reaksjonen ble utført i henhold til protokoll av Aratikatla *et al.*¹⁰⁰

Under en nitrogenatmosfære ble forbindelse **44** (1mmol, 0,11ml) løst i t-BuOH:H₂O (1:1, 5,0ml) og tilsatt AD-mix α (1mmol, 778mg). Reaksjonsblandingen stod under omrøring ved romtemperatur i 18 timer. Reaksjonen ble overvåket med TLC (heksan:EtOAc, 8:2). Reaksjonen ble avsluttet ved tilsetning av vandig Na₂SO₃-løsning (0,6ml) ved 0°C, og stod under omrøring i ytterligere 60 minutter. Deretter ble løsningen ekstrahert med EtOAc (3x20ml). Kombinert organisk fase ble tørket med Na₂SO₄, dampet inn under redusert trykk og renset med kolonnekromatografi (silika, heksan:EtOAc, 1:1).

C₈H₁₀O₂

Mm: 138,17 g/mol

Utbytte: 73mg (53%)

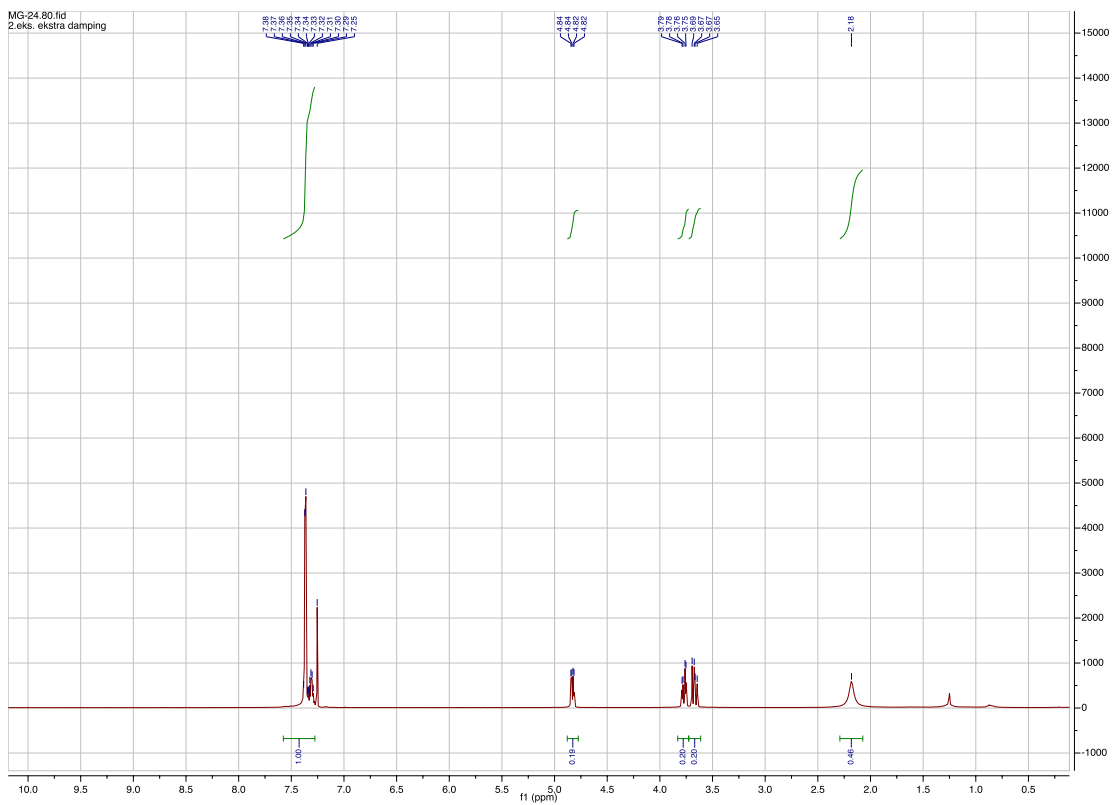
$R_f = 0,17$ (heksan:EtOAc, 1:1).

Spesifikk dreiningsvinkel: 56°

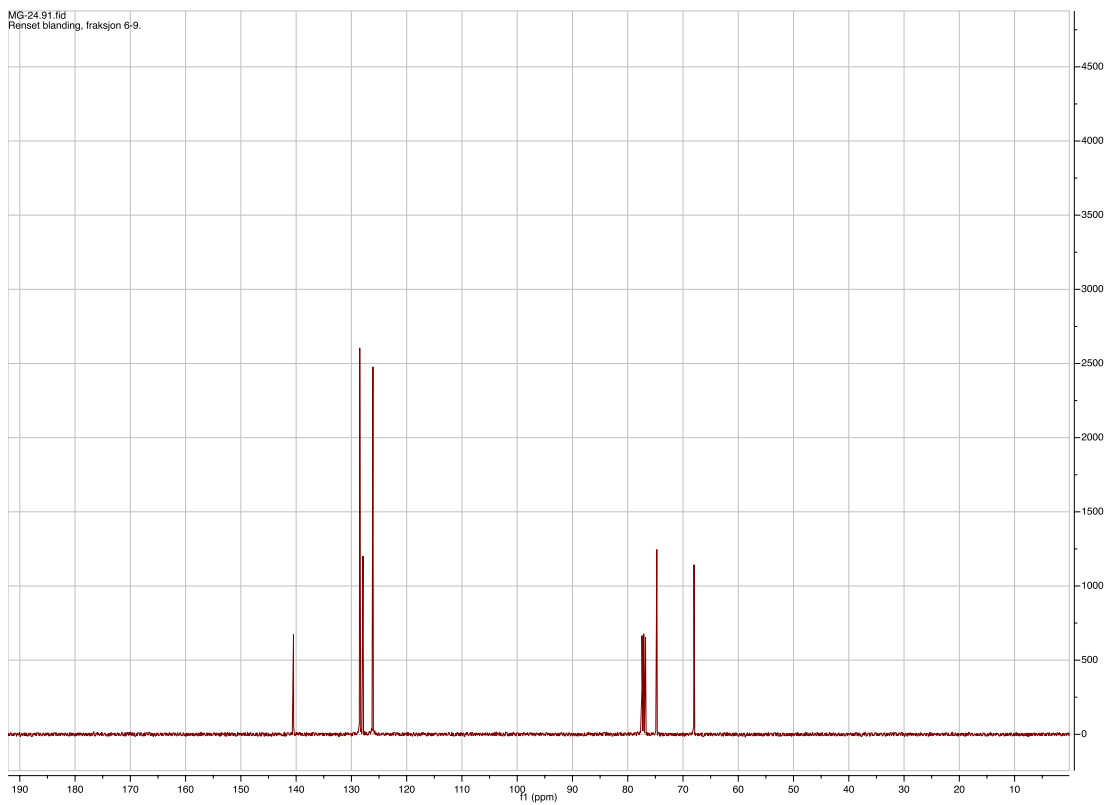
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.60-7.27 (m, 5H, H₁, H₂, H₃, H₄, H₅), 4.83 (dd, $J = 8.1, 3.6$ Hz, 1H), 3.77 (dd, $J = 11.2, 3.5$ Hz, 1H), 3.67 (dd, $J = 11.3, 8.1$ Hz, 1H), 2.18 (s, 2H, OH, OH).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 140.48, 128.49, 127.90, 126.10, 74.74, 68.00.

IR: 3366, 2924, 2874 cm⁻¹

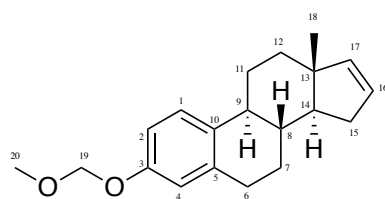


Figur 4-9. ^1H NMR-spekter av forbindelse 45.



Figur 4-10. ^{13}C NMR-spekter av forbindelse 45.

4.3.2 Syntese av 3-(metoksymetoksy)østra-1,3,5(10), 16-tetraen.



47

Reaksjonen ble utført i henhold til protokoll av Leutens *et al.* ¹¹⁰

Under en nitrogenatmosfære ble forbindelse **3** (0,5mmol, 127mg) tilsatt vannfri diisopropyletylamin (2,5ml). Blandingen ble avkjølt til 0°C og deretter tilsatt MOMCl (1,975mmol, 149µl) dråpevis. Reaksjonen ble varmet opp til romtemperatur, og stod under omrøring i ytterligere 14 timer.

Tilsvarende mengde mettet NH₄Cl-løsning ble tilsatt til reaksjonen sammen med dietyleter (10ml). Organisk fase ble separert fra, vasket med NH₄Cl-løsning (2x20ml), tørket med MgSO₄ og renset med kolonnekromatografi, (silika, heksan:EtOAc 9:1).

C₂₀H₂₆O₂

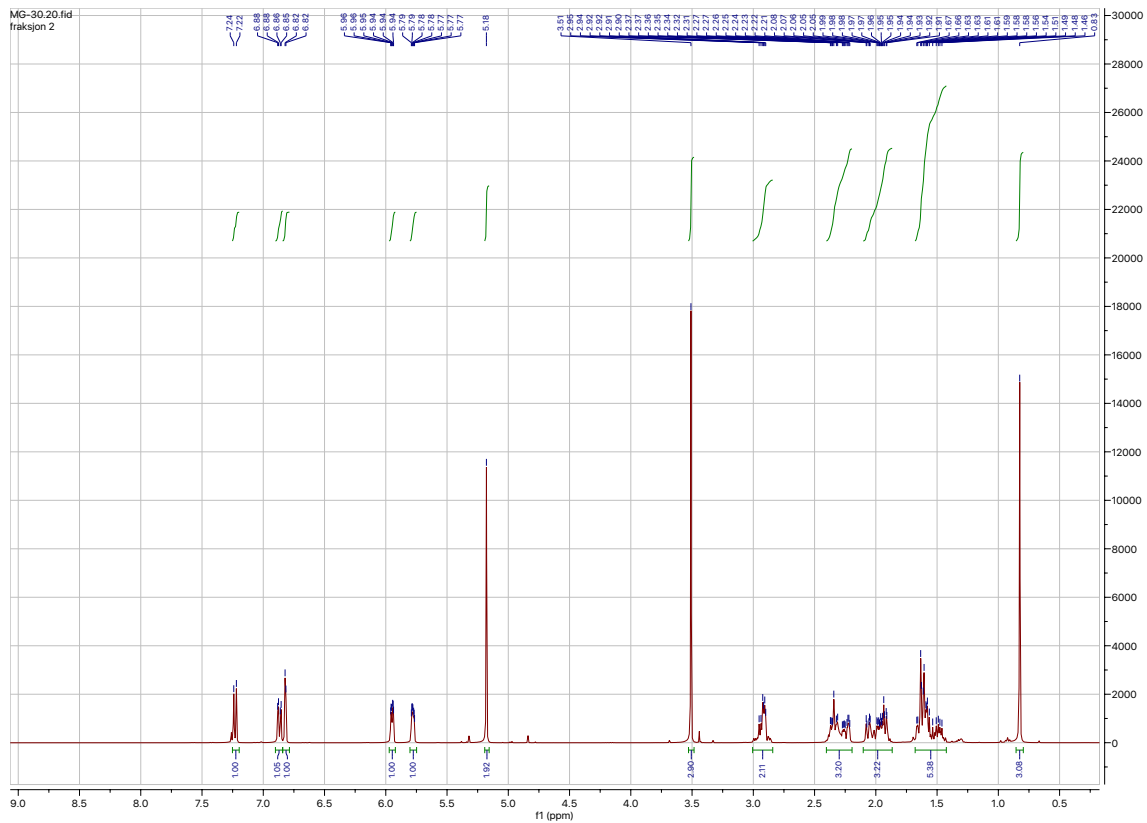
Mm: 298,43 g/mol

Utbytte: 82mg (55%).

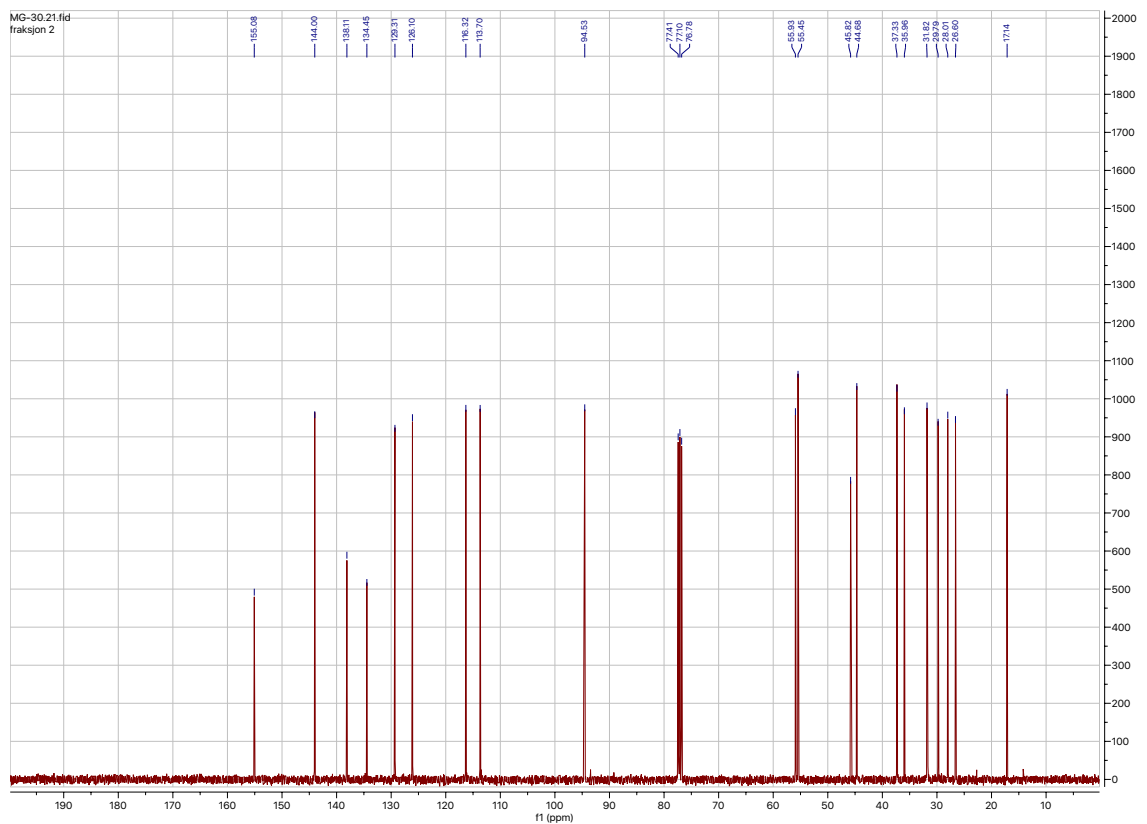
R_f = 0,47 (heksan:EtOAc, 9:1)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.23 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H, H₁/H₂), 6.87 (d, *J* = 8.6, 2.7 Hz, 1H, H₁/H₂), 6.82 (s, 1H, H₄), 5.97 – 5.92 (m, 1H, H₁₆/H₁₇), 5.80 – 5.75 (m, 1H, H₁₆/H₁₇), 5.18 (s, 2H, H₁₉), 3.51 (s, 3H, H₂₀), 3.01 – 2.84 (m, 2H), 2.40 – 2.19 (m, 3H), 2.10 – 1.87 (m, 3H), 1.68 – 1.42 (m, 5H), 0.83 (s, 3H, H₁₈).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 155.08, 144.00, 138.11, 134.45, 129.31, 126.10, 116.32, 113.70, 94.53, 55.93, 55.45, 45.82, 44.68, 37.33, 35.96, 31.82, 29.79, 28.01, 26.60, 17.14.



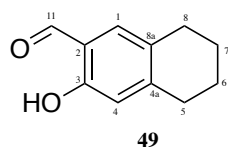
Figur 4-11. ¹H NMR-spekter av forbindelse 47.



Figur 4-12. ¹³C NMR-spekter av forbindelse 47.

4.4 Orto-formylering

4.4.1 Syntese av 2-formyl-3-hydroksy-5,6,7,8-tetrahydronaftalen.



Reaksjonen ble basert på tidligere arbeid av Solum *et al.*⁹⁹

Under en nitrogenatmosfære ble en løsning av forbindelse **37** (0,148g, 1mmol) i vannfri THF (10 ml) tilsatt MgCl₂ (0,28 g, 3 mmol), Et₃N (0,42 ml, 3 mmol) og paraformaldehyd (0,12 g, 4 mmol). Reaksjonsblandingen stod ved reflux i 4 timer. TLC (heksan:EtOAc, 8:2) etter 4 timer viste at alt utgangsstoff var konsumert. Reaksjonen ble avsluttet med 1 M vandig HCl (50 ml). Vannfasen ble ekstrahert med EtOAc (3x50 ml). Kombinert organisk fase ble vasket med en konsentrert vandig NaCl-løsning, og tørket med MgSO₄. Blandingen ble dampet inn under redusert trykk. Inndampingsrester ble rensert med kolonnekromatografi (silika, heksan:EtOAc, 8:2).

C₁₁H₁₂O

Mm: 176,22g/mol

Utbytte: 176mg (>96%).

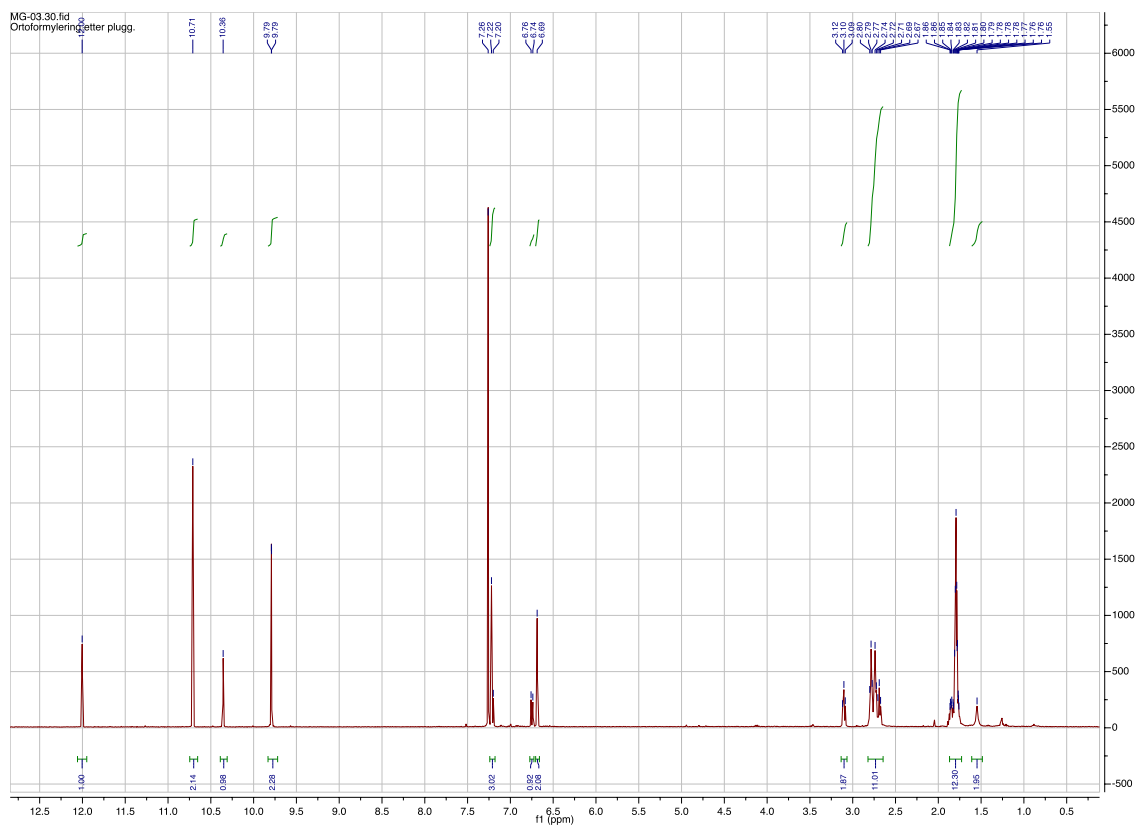
R_f=0,5 (heksan:EtOAc, 1:1)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 12.00 (s, 1H), 10.71 (s, 2H, H₁₁), 10.36 (s, 1H), 9.79 (s, 2H, H₃), 7.24-7.18 (m, 3H, H₁/H₄), 6.75 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.69 (s, 2H, H₁/H₄), 3.10 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 2.82-2.65 (m, 11H), 1.87-1.73 (m, 12H), 1.55 (s, 2H).

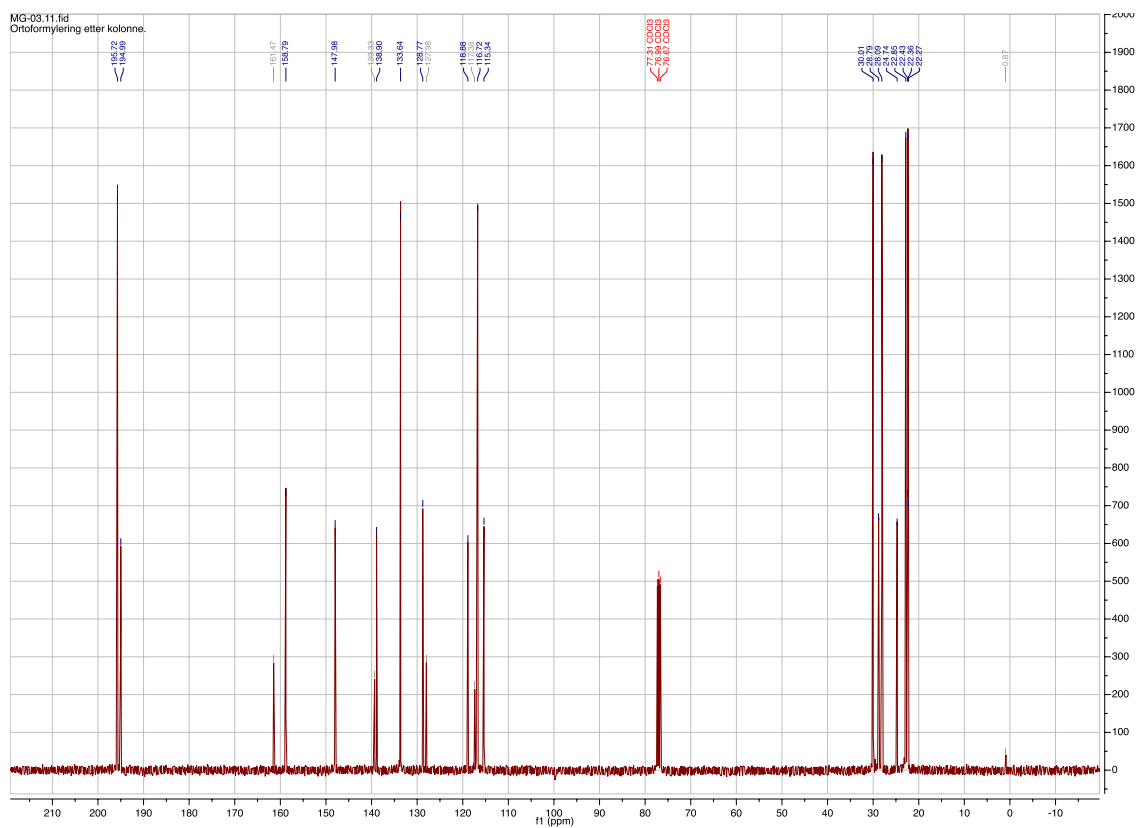
¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 195.72, 194.99, 158.79, 147.98, 138.90, 133.64, 128.77, 118.88, 116.72, 115.34, 30.01, 28.79, 28.09, 24.74, 22.85, 22.43, 22.36, 22.27.

IR: 3300-3000, 2930, 2863, 1650, 1577, 1465 cm⁻¹

HRMS: Funnet masse: 176,0843, C₁₁H₁₂O: 176,0837

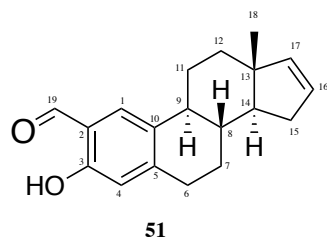


Figur 4-13. ^1H NMR-spekter av forbindelse 49.



Figur 4-14. ^{13}C NMR-spekter av forbindelse 49.

4.4.2 Syntese av 2-formyløstra-1,3,5(10)-16-tetraen-3-ol



Reaksjonen ble basert på arbeid av Solum *et al.*⁹⁹

Under en nitrogenatmosfære ble en løsning av forbindelse **3** (0,254 g, 1,0 mmol) i vannfri THF (10 ml) tilsatt MgCl₂ (0,28 g, 3 mmol), Et₃N (0,42 ml, 3 mmol) og paraformaldehyd (0,12 g, 4 mmol). Reaksjonsblandingen stod ved reflux i 4 timer. TLC (heksan:EtOAc, 8:2) etter fire timer viste at alt utgangsstoff var konsumert. Reaksjonen ble avsluttet med 1 M HCl (50 ml). Vannfasen ble ekstrahert med EtOAc (3x50 ml). Kombinert organisk fase ble vasket med en mettet vandig NaCl-løsning, tørket med MgSO₄ og dampet inn under redusert trykk. Inndampingsrestene ble rensert med kolonnekromatografi, (silika, heksan 100%).

C₁₉H₂₂O₂

Mm: 282,38 g/mol

Utbytte: 266mg (kvantitativt).

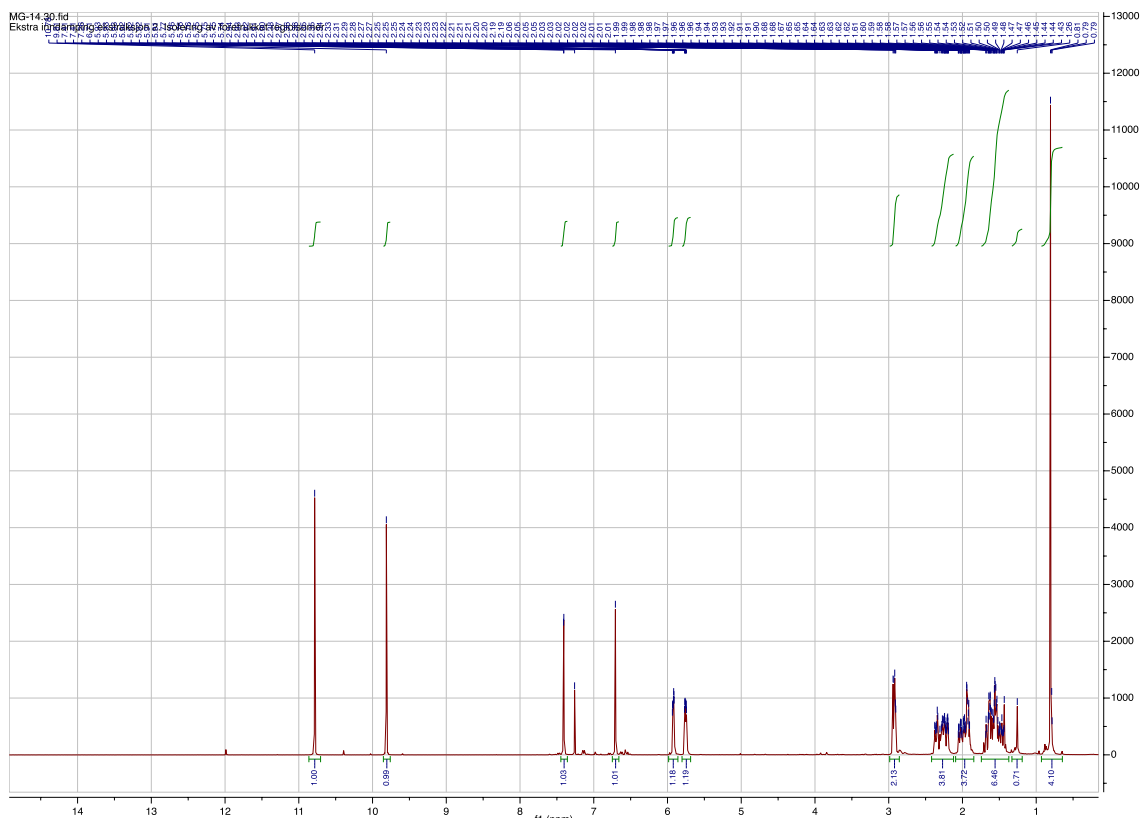
R_f = 0,56 (heksan:EtOAc, 8:2).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 10.78 (s, 1H, H₁₉), 9.81 (s, 1H, H₃), 7.41 (s, 1H, H₁/H₄), 6.71 (s, 1H, H₁/H₄), 5.98-5.86 (m, 1H, H₁₆/H₁₇), 5.80-5.69 (m, 1H, H₁₆/H₁₇), 2.99-2.86 (m, 2H), 2.42-2.12 (m, 4H), 2.09-1.85 (m, 4H), 1.74-1.37 (m, 6H), 1.26 (s, 1H), 0.81 (s, 3H, C₁₈).

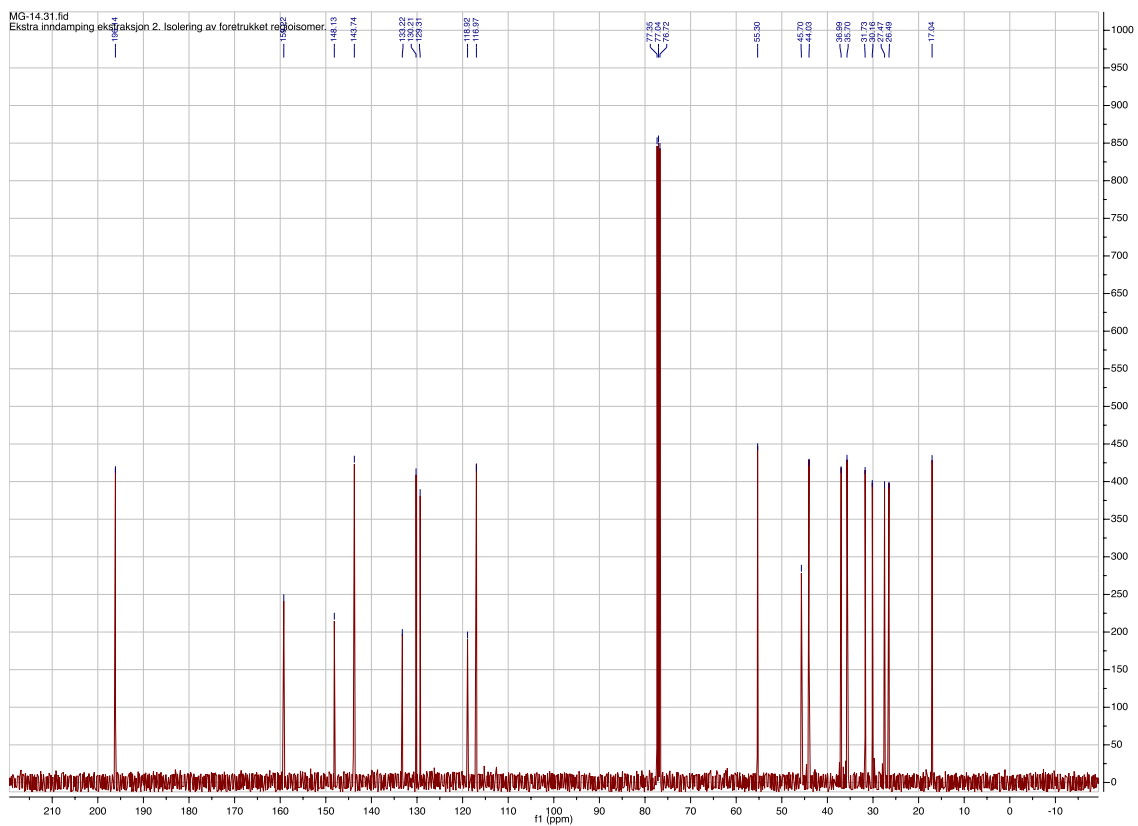
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 196.14, 159.22, 148.13, 143.74, 133.22, 130.21, 129.31, 116.97, 55.30, 45.70, 44.03, 36.99, 35.70, 31.73, 30.16, 27.47, 26.49, 17.04.

IR: 3165, 3042, 2930, 2852, 1655, 1571 cm⁻¹

HRMS: funnet masse: 282,160, C₁₉H₂₂O₂: 282,1620



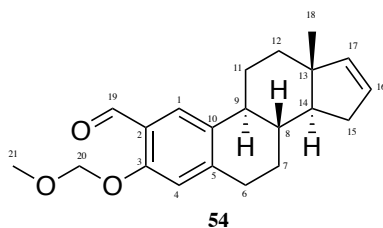
Figur 4-15 ^1H NMR-spekter av forbindelse 51.



Figur 4-16 ^{13}C NMR-spekter av forbindelse 51.

4.5 Dakin-oksidasjonen

4.5.1 Syntese av 2-formyl-3-(metoksymetoksy)østra-1,3,5(10)-16-tetraen



Reaksjonen ble utført i henhold til protokoll av Leutens *et al.*¹¹⁰

Under en nitrogenatmosfære ble forbindelse **51** (266mg, 0,94 mmol) løst i diisopropyletylamin (6,0 ml). Blandingen ble avkjølt til 0°C, og MOMCl (2,35 mmol, 178 µl) ble tilsatt dråpevis. Reaksjonen ble deretter varmet opp til romtemperatur og stod under omrøring i ytterligere 14 timer. Reaksjonen ble bekreftet fullført med TLC (heksan:EtOAc, 8:2). Reaksjonsblandingen ble tilsatt mettet NH₄Cl-løsning (10ml) sammen med dietyleter. Organisk fase ble vasket med mettet NH₄Cl (2x10ml), tørket med MgSO₄ og dampet inn under redusert trykk. Dette gav MOM-eteren **54**.

C₂₁H₂₆O₃

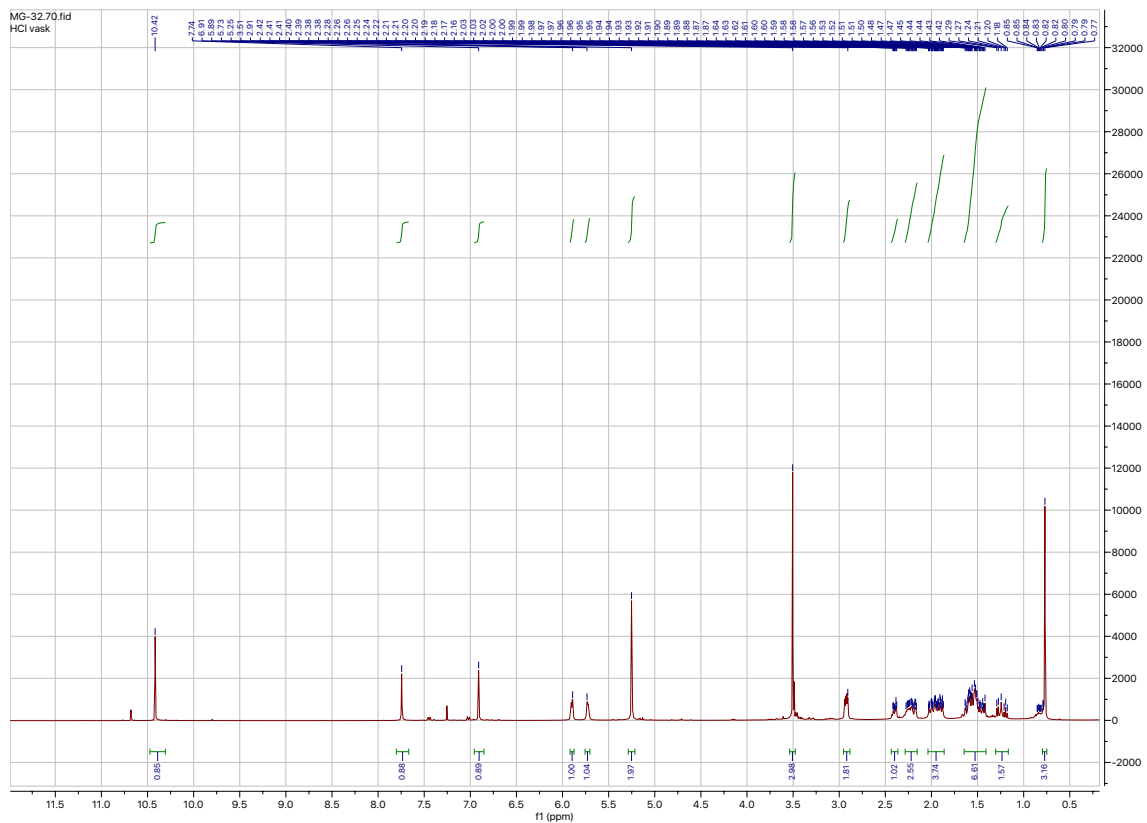
Mm: 326,44 g/mol

Utbytte: 70% (226mg)

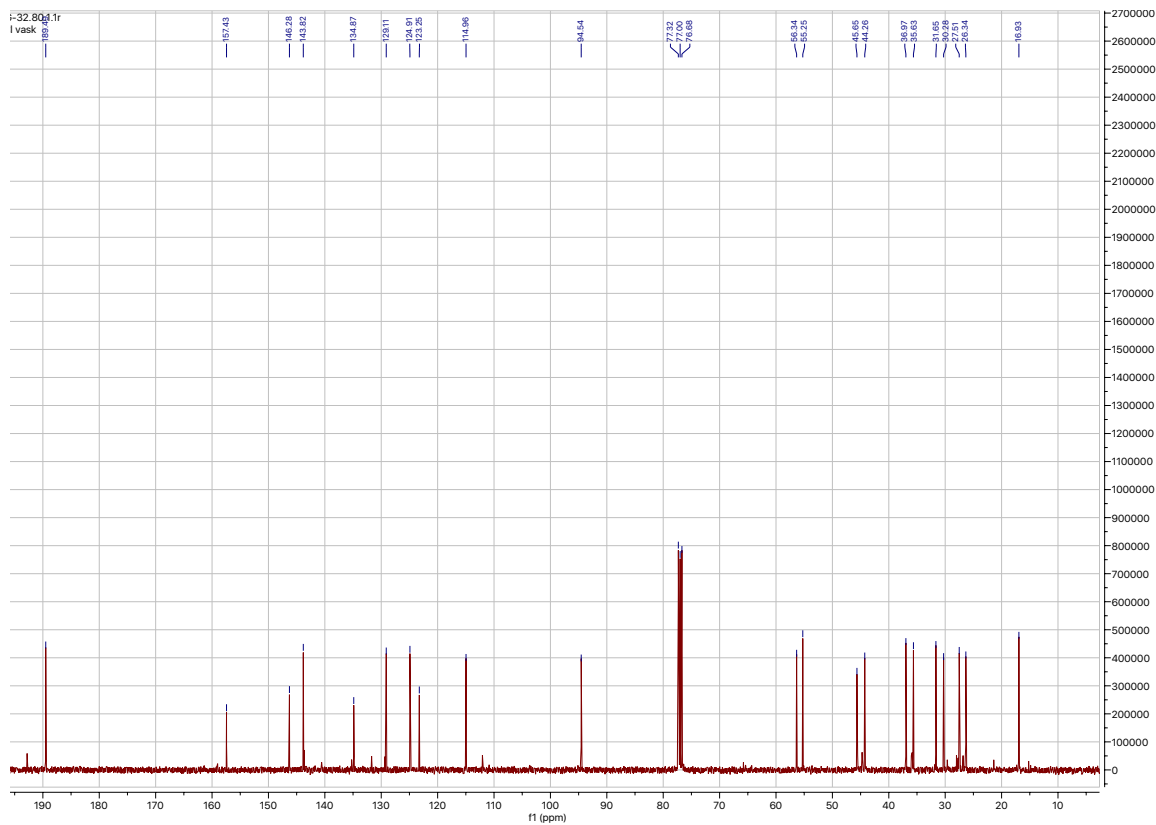
R_f = 0,34 (heksan:EtOAc, 8:2).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 10.42 (s, 1H, H₁₉), 7.74 (s, 1H, H₁/H₄), 6.91 (s, 1H, H₁/H₄), 5.92 – 5.88 (m, 1H, H₁₆/H₁₇), 5.76 – 5.70 (m, 1H, H₁₆/H₁₇), 5.25 (s, 2H, H₂₀), 3.51 (s, 3H, H₂₁), 2.95 – 2.88 (m, 2H), 2.44 – 2.36 (m, 1H), 2.29 – 2.15 (m, 3H), 2.04 – 1.86 (m, 4H), 1.65 – 1.41 (m, 7H), 1.30 – 1.17 (m, 2H), 0.77 (s, 3H, H₁₈).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 189.49, 157.43, 146.28, 143.82, 134.87, 129.11, 124.91, 123.25, 114.96, 94.54, 77.32, 77.00, 76.68, 56.34, 55.25, 45.65, 44.26, 36.97, 35.63, 31.65, 30.28, 27.51, 26.34, 16.93.



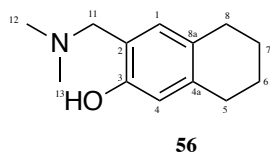
Figur 4-17. ^1H NMR-spekter av forbindelse 54.



Figur 4-18. ^{13}C NMR-spekter av forbindelse 54.

4.6 Mannich

4.6.1 Syntese av 2-((dimetylamino)metyl)-3-hydroksy-5,6,7,8-tetrahydronaftalen



Reaksjonen ble basert på tidligere arbeid av Anwar *et al.*⁹²

Under en nitrogenatmosfære ble Eschenmosers salt (1,0 mmol, 0,185g) tilsatt til forbindelse **37** (1,0 mmol, 0,148g) i DCM (4,0 ml), Et₃N (2,4 mmol, 0,33 ml) og vannfri MgCl₂ (2 mmol, 0,190g). Reaksjonen stod under omrøring ved romtemperatur over natten og ble overvåket med TLC (heksan:EtOAc,1:1). Reaksjonsblandingen ble vasket med H₂O (20ml), tørket med MgSO₄ og dampet inn under redusert trykk. Inndampingsrester ble rensset med kolonnekromatografi (silika, heksan:EtOAc, 1:1).

C₁₃H₁₉NO

Mm: 205,30 g/mol

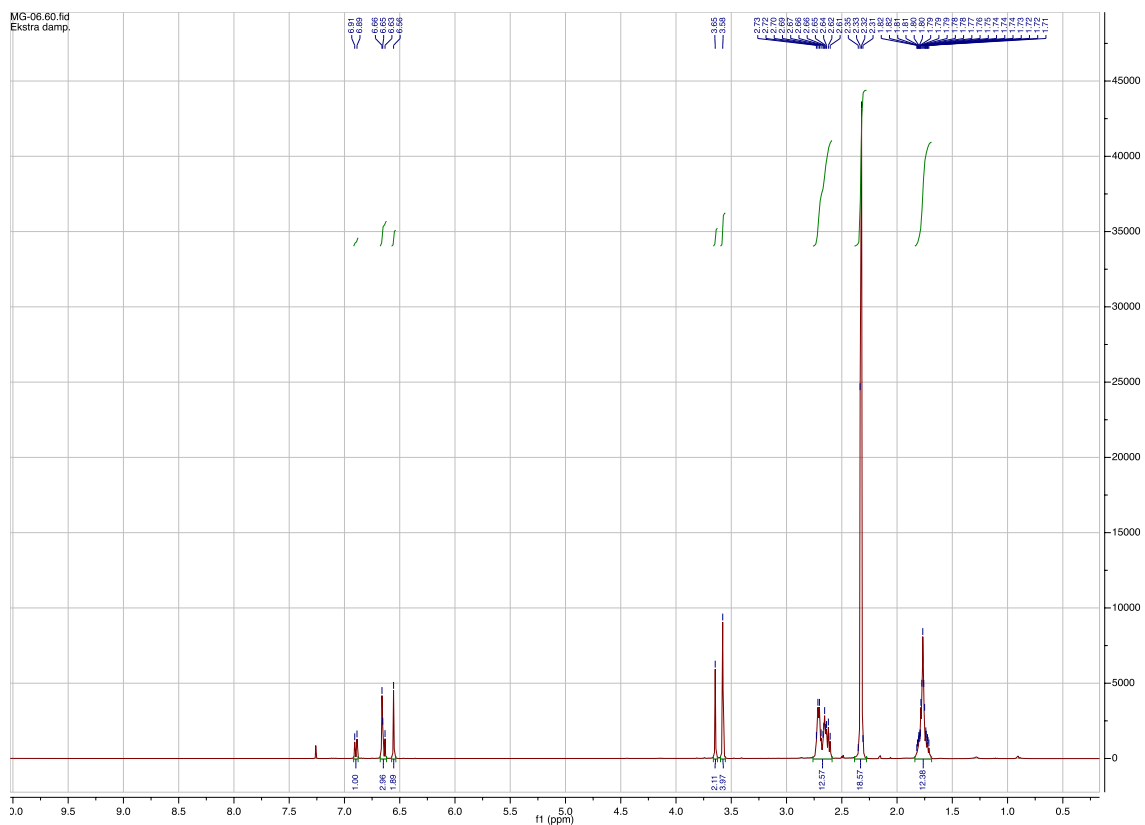
Utbytte: 32%

R_f = 0,11 (EtOAc, 100%)

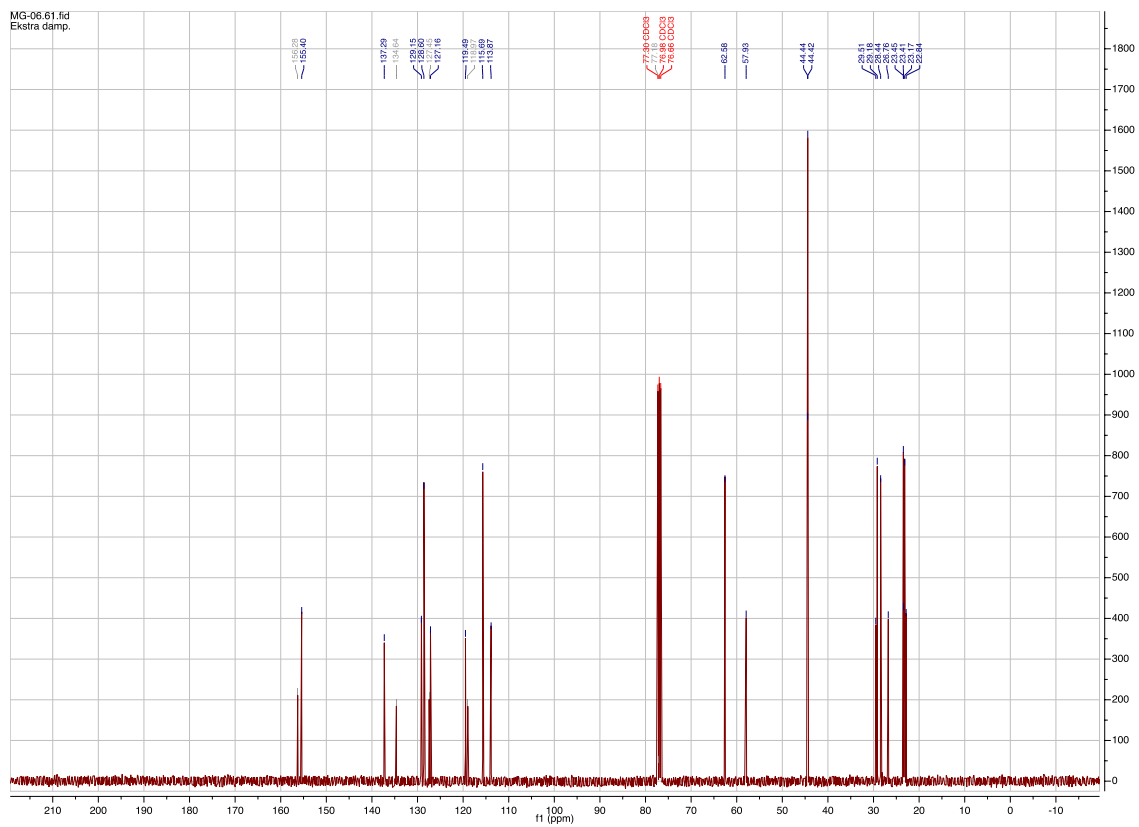
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.90 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, H₁/H₄), 6.68-6.62 (m, 3H, H₁/H₄), 6.56 (s, 2H), 3.65 (s, 2H), 3.58 (s, 4H), 2.76-2.59 (m, 13H), 2.33 (d, *J* = 5.2 Hz, 19H), 1.84-1.69 (m, 12H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 155.40, 137.29, 129.15, 128.60, 127.16, 119.49, 115.69, 113.87, 62.58, 57.93, 44.44, 44.42, 29.51, 29.18, 28.44, 26.76, 23.45, 23.41, 23.17, 22.84.

IR: 3400-2300, (OH), 2924, 2857, 2248, 1599, 1476 cm⁻¹

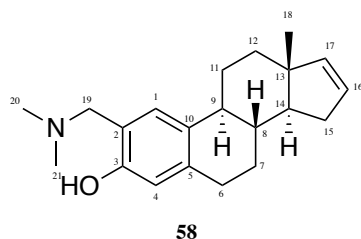


Figur 4-19. ^1H NMR-spekter av forbindelse 56.



Figur 4-20. ^{13}C NMR-spekter av forbindelse 56.

4.6.2 Syntese av 2-((dimetylamino)metyl)-østra-1,3,5(10)-16-tetraen-3-ol



Reaksjonen ble basert på tidligere arbeid av Anwar *et al.* ⁹²

Under en nitrogenatmosfære ble en blanding av forbindelse **3** (1,0 mmol, 254mg) i DCM (4,0 ml) tilsatt Eschenmosers salt (1,0 mmol, 0,185g), Et₃N (2,4 mmol, 0,33 ml) og vannfri MgCl₂ (2 mmol, 190mg). Reaksjonen stod under omrøring ved romtemperatur over natten. Reaksjonen ble fulgt med TLC (Heksan:EtOAc, 1:1). Reaksjonsblandingen ble vasket med H₂O (20ml), tørket med MgSO₄ og videre dampet inn under redusert trykk. Inndampingsrester ble rensset med kolonnekromatografi (silika, heksan:EtOAc, 1:1).

C₂₁H₂₉NO

Mm: 311,47 g/mol

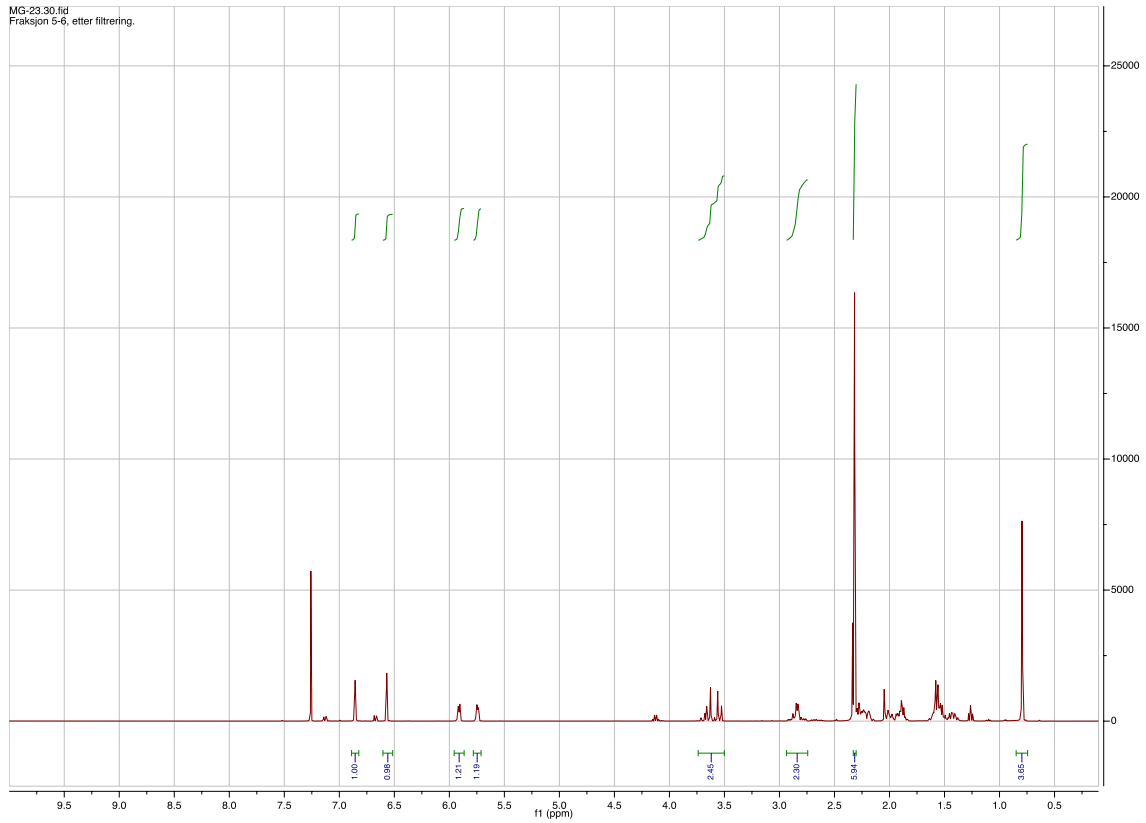
Utbytte: 151 mg, 48%

R_f = 0,1 (EtOAc, 100%)

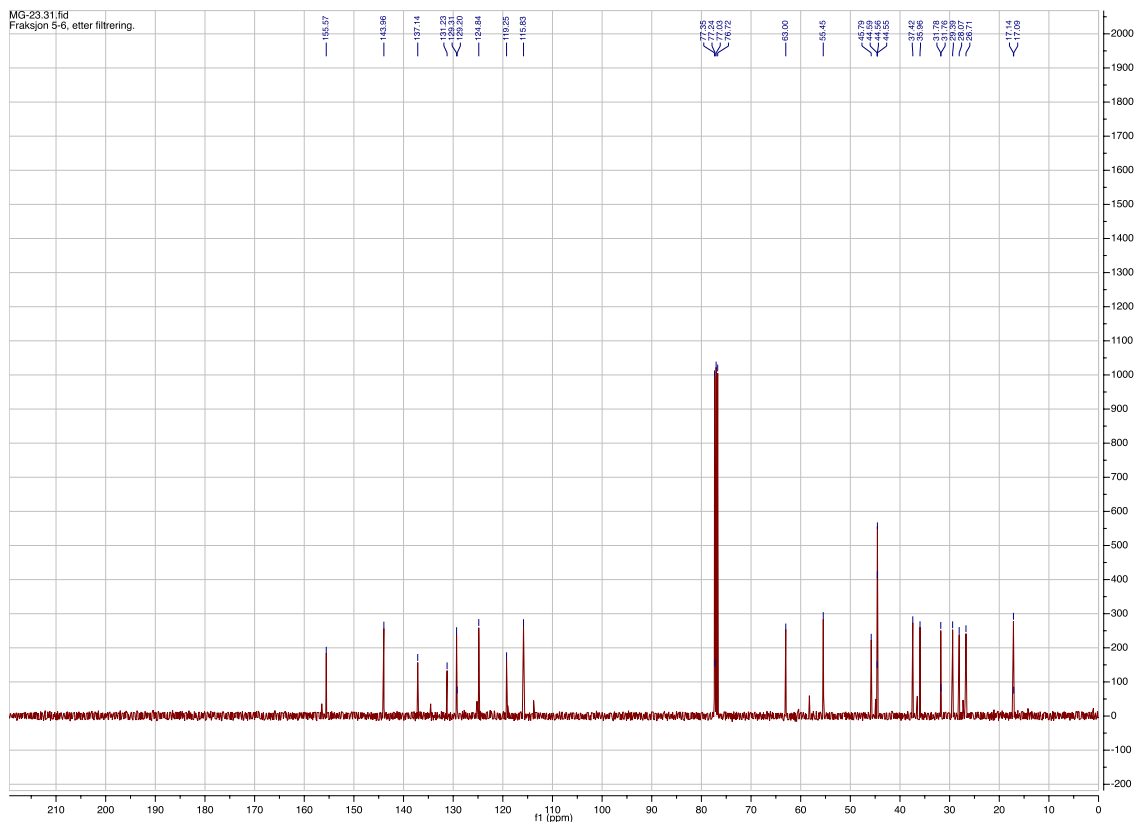
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d) δ 6.86 (s, 1H, H₁/H₄), 6.57 (s, 1H, H₁/H₄), 5.96 – 5.87 (m, 1H, H₁₆/H₁₇), 5.78 – 5.71 (m, 1H, H₁₆/H₁₇), 3.74 – 3.50 (m, 2H), 2.94 – 2.74 (m, 2H), 2.32 (s, 6H), 2.27 – 2.13 (m, 1H), 2.08 – 1.82 (m, 3H), 1.72 – 1.33 (m, 4H), 0.79 (s, 3H, C₁₈).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 155.57, 143.96, 137.14, 131.23, 129.31, 124.84, 119.25, 115.83, 77.35, 77.24, 77.03, 76.72, 63.00, 55.45, 45.79, 44.59, 44.56, 44.55, 37.42, 35.96, 31.78, 29.39, 28.07, 26.71, 17.14.

IR: 3014, 2924, 1582, 1465 cm⁻¹



Figur 4-21. ^1H NMR-spekter av forbindelse 58.



Figur 4-22. ^{13}C NMR-spekter av forbindelse 58.

5 Referanser

1. Chilman-Blair, K., *Drugs of the future*, **2003**, 28, 1064-1069.
2. LaVallee, T. M.; Zhan, X. H.; Herbstritt, C. J.; Kough, E. C.; Green, S. J.; Pribluda, V. S., *Cancer research*, **2002**, 62, 3691-3697.
3. Fotsis, T.; Zhang, Y.; Pepper, M. S.; Adlercreutz, H.; Montesano, R.; Nawroth, P. P.; Schweigerer, L., *Nature*, **1994**, 368, 237.
4. Mueck, A.; Seeger, H., *Steroids*, **2010**, 75, 625-631.
5. LaVallee, T. M.; Burke, P. A.; Swartz, G. M.; Hamel, E.; Agoston, G. E.; Shah, J.; Suwandi, L.; Hanson, A. D.; Fogler, W. E.; Sidor, C. F., *Molecular cancer therapeutics*, **2008**, 7, 1472-1482.
6. WHO Cancer treatment | Cancer prevention. <http://www.who.int/cancer/en/> (accessed 21.01.2016).
7. Rang, H. P.; Dale, M. M., *Rang and Dale's pharmacology*. 7 ed.; Churchill Livingstone Elsevier: Edinburgh, **2012**; 673, 9780702034718
8. Jordan, A.; Hadfield, J. A.; Lawrence, N. J.; McGown, A. T., *Medicinal research reviews*, **1998**, 18, 259-296.
9. Rang, H. P.; Dale, M. M., *Rang and Dale's pharmacology*. 7 ed.; Churchill Livingstone Elsevier: Edinburgh, **2012**; 66, 9780702034718
10. National_cancer_institute Cancer treatment. <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment> (accessed 03.12.2018).
11. Natale, G.; Bocci, G.; Lenzi, P., *World journal of surgery*, **2017**, 41, 1625-1634.
12. Weinberg, R. A., *The Biology of Cancer*. 1 ed.; Garland Science: New York, **2007**; p 556, 0815340761
13. Carmeliet, P.; Jain, R. K., *Nature*, **2000**, 407, 249.
14. Folkman, J., *New England Journal of Medicine*, **1971**, 285, 1182-1186.
15. Bacher, G.; Beckers, T.; Emig, P.; Klenner, T.; Kutscher, B.; Nickel, B., *Pure and Applied Chemistry*, **2001**, 73, 1459-1464.
16. Klintschar, M.; Beham-Schmidt, C.; Radner, H.; Henning, G.; Roll, P., *Forensic science international*, **1999**, 106, 191-200.
17. Lu, Y.; Chen, J.; Xiao, M.; Li, W.; Miller, D. D., *Pharmaceutical research*, **2012**, 29, 2943-2971.
18. Myles, D. C., *Elsevier*, **2002**, 37, 125-131.
19. Pasquier, E.; Sinnappan, S.; Munoz, M. A.; Kavallaris, M., *Molecular cancer therapeutics*, **2010**, 9, 1535-7163. .
20. Newman, D. J.; Cragg, G. M., *Journal of natural products*, **2016**, 79, 629-661.
21. Xu, R.; Ye, Y.; Zhao, W., *Introduction to Natural Products Chemistry*. 1 ed.; CRC Press Taylor and Francis group: USA, **2012**; pp 1-3, 9781439860762
22. Faurant, C., *Parasite: journal de la Société Française de Parasitologie*, **2011**, 18, 215.
23. Xu, R.; Ye, Y.; Zhao, W., *Introduction to Natural Products Chemistry*. 1 ed.; CRC Press Taylor and Francis group: USA, **2012**; p 32, 9781439860762
24. Hollman, A., *BMJ: British Medical Journal*, **1996**, 312, 912.
25. WHO *WHO model list of essential medicines, 19th list.*; 2013; pp 1, 21.
26. Brasić, J. R., *Psychological reports*, **1999**, 84, 355-367.
27. Felleskatalogen Paclitaxel Accord. <https://www.felleskatalogen.no/medisin/paclitaxel-accord-accord-healthcare-633096> (accessed 12.12.2018).
28. Schiff, P. B.; Fant, J.; Horwitz, S. B., *Nature*, **1979**, 277, 665.
29. Cragg, G. M.; Schepartz, S. A.; Suffness, M.; Grever, M. R., *Journal of natural products*, **1993**, 56, 1657-1668.

30. Nicolaou, K.; Ueno, H.; Liu, J.-J.; Nantermet, P.; Yang, Z.; Renaud, J.; Paulvannan, K.; Chadha, R., *Journal of the American Chemical Society*, **1995**, *117*, 653-659.
31. Gennari, C.; Carcano, M.; Donghi, M.; Mongelli, N.; Vanotti, E.; Vulpetti, A., *The Journal of organic chemistry*, **1997**, *62*, 4746-4755.
32. CEKOVIC, Z.; Matovic, R.; SAICIC, R., *Journal of the Serbian Chemical Society*, **1999**, *64*, 497-503.
33. Wender, P. A.; Baryza, J. L.; Bennett, C. E.; Bi, F. C.; Brenner, S. E.; Clarke, M. O.; Horan, J. C.; Kan, C.; Lacôte, E.; Lippa, B., *Journal of the American Chemical Society*, **2002**, *124*, 13648-13649.
34. Spande, T. F.; Garraffo, H. M.; Edwards, M. W.; Yeh, H. J.; Pannell, L.; Daly, J. W., *Journal of the American Chemical Society*, **1992**, *114*, 3475-3478.
35. Bannon, A.; Decker, M.; Holladay, M.; Curzon, P.; Donnelly-Roberts, D.; Puttfarcken, P.; Bitner, R.; Diaz, A.; Dickenson, A.; Porsolt, R., *Science*, **1998**, *279*, 77-80.
36. Coseri, S., *Mini reviews in medicinal chemistry*, **2009**, *9*, 560-571.
37. Angerer, K., *Innovation: The European Journal of Social Science Research*, **2011**, *24*, 353-369.
38. Sih, R.; Morley, J. E.; Kaiser, F. E.; Perry, I. I. I. H. M.; Patrick, P.; Ross, C., *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **1997**, *82*, 1661-1667.
39. Reimers, A., *Tidsskrift for den Norske Legeforening*, *124*, 1785-1786.
40. Kuhl, H., *Climacteric*, **2005**, *8*, 3-63.
41. Moss, G., *Pure and Applied Chemistry*, **1989**, *61*, 1783-1822.
42. Dewick, P. M., *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*. John Wiley & Sons LTD.: United Kingdom, **2009**; p 248, 9780470741689
43. Hasselberg, N. E.; Sarvari, S. I.; Edvardsen, T., *Hjerteforum*, **2012**, *25*, 29.
44. Gottesman, M. M., *Cancer research*, **1993**, *53*, 747.
45. Molden, E., *Den norske legeforening*, **2004**, *124*, 2921-2923.
46. Perez-Tomas, R., *Current medicinal chemistry*, **2006**, *13*, 1859-1876.
47. Banday, A. H.; Mir, B. P.; Lone, I. H.; Suri, K.; Kumar, H. S., *Steroids*, **2010**, *75*, 805-809.
48. Slørdal, L.; Spigset, O., *Tidsskrift for den Norske Legeforening*, **2005**, *125*, 1344-1345.
49. Barnes, P. J.; Adcock, I.; Spedding, M.; Vanhoutte, P. M., *Trends in pharmacological sciences*, **1993**, *14*, 436-441.
50. Husebye, E. Kortison. <https://sml.snl.no/kortison> (accessed 07.11.2014).
51. Tantawy, M. A.; Nafie, M. S.; Elmegeed, G. A.; Ali, I. A., *Bioorganic chemistry*, **2017**, *73*, 128-146.
52. Berg, J. P. Hormoner. <https://sml.snl.no/hormoner> (accessed 20.02.2018).
53. Samuelsson, G., *Drugs of natural origin*. 5 ed.; **2004**; 366, 9197431842
54. Nordeng, H. Androgener. <https://sml.snl.no/androgener> (accessed 04.12.2018).
55. Castagnetta, L.; Granata, O. M.; Cocciadiferro, L.; Saetta, A.; Polito, L.; Bronte, G.; Rizzo, S.; Campisi, I.; Agostara, B.; Carruba, G., *Annals of the New York Academy of Sciences*, **2004**, *1028*, 233-246.
56. Bishayee, A.; Ahmed, S.; Brankov, N.; Perloff, M., *Frontiers in bioscience: a journal and virtual library*, **2011**, *16*, 980.
57. Hulka, B. S.; Liu, E. T.; Lininger, R. A., *Cancer*, **1994**, *74*, 1111-1124.
58. Wilding, G., *Cancer surveys*, **1992**, *14*, 113-130.
59. Castagnetta, L.; Paparopoli, G.; Traina, A., *Prevention and Detection of Cancer*. , **1977**, *1*, 627-636.
60. Weinberg, R. A., *The Biology of Cancer*. 1 ed.; Garland Science: New York, **2007**; p 440, 0815340761

61. Brueggemeier, R. W.; Hackett, J. C.; Diaz-Cruz, E. S., *Endocrine reviews*, **2005**, *26*, 331-345.
62. Akselsen, Ø. W.; Hansen, T. V., *Tetrahedron*, **2011**, *67*, 7738-7742.
63. Dewick, P. M., *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*. John Wiley & Sons LTD.: United Kingdom, **2009**; p 290, 9780470741689
64. Pribluda, V. S.; Gubish, E. R.; LaVallee, T. M.; Treston, A.; Swartz, G. M.; Green, S. J., *Cancer and Metastasis Reviews*, **2000**, *19*, 173-179.
65. Lakhani, N. J.; Sparreboom, A.; Xu, X.; Veenstra, T. D.; Venitz, J.; Dahut, W. L.; Figg, W. D., *Journal of pharmaceutical sciences*, **2007**, *96*, 1821-1831.
66. Rao, P. N.; Cessac, J. W.; Tinley, T. L.; Mooberry, S. L., *Steroids*, **2002**, *67*, 1079-1089.
67. D'Amato, R. J.; Lin, C. M.; Flynn, E.; Folkman, J.; Hamel, E., *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **1994**, *91*, 3964-3968.
68. Fukui, M.; Zhu, B. T., *Molecular Carcinogenesis: Published in cooperation with the University of Texas MD Anderson Cancer Center*, **2009**, *48*, 66-78.
69. Kumar, B. S.; Raghuvanshi, D. S.; Hasanain, M.; Alam, S.; Sarkar, J.; Mitra, K.; Khan, F.; Negi, A. S., *Steroids*, **2016**, *110*, 9-34.
70. Seegers, J. C.; Aveling, M.-L.; van Aswegen, C. H.; Cross, M.; Koch, F.; Joubert, W. S., *Journal of steroid biochemistry*, **1989**, *32*, 797-809.
71. Mabweesh, N. J.; Escuin, D.; LaVallee, T. M.; Pribluda, V. S.; Swartz, G. M.; Johnson, M. S.; Willard, M. T.; Zhong, H.; Simons, J. W.; Giannakakou, P., *Cancer cell*, **2003**, *3*, 363-375.
72. Krock, B. L.; Skuli, N.; Simon, M. C., *Genes & cancer*, **2011**, *2*, 1117-1133.
73. Kumar, A. P.; Garcia, G. E.; Slaga, T. J., *Molecular Carcinogenesis: Published in cooperation with the University of Texas MD Anderson Cancer Center*, **2001**, *31*, 111-124.
74. Offermanns, S.; Rosenthal, W., IC50 Values. In *Encyclopedia of Molecular Pharmacology*, Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, **2008**; p 53, 9783540389187
75. Zhou, Q.; Gustafson, D.; Nallapareddy, S.; Diab, S.; Leong, S.; Lewis, K.; Gore, L.; Messersmith, W. A.; Treston, A. M.; Eckhardt, S. G., *Investigational new drugs*, **2011**, *29*, 340-346.
76. Cushman, M.; He, H.-M.; Katzenellenbogen, J. A.; Lin, C. M.; Hamel, E., *Journal of medicinal chemistry*, **1995**, *38*, 2041-2049.
77. Cushman, M.; Mohanakrishnan, A. K.; Hollingshead, M.; Hamel, E., *Journal of medicinal chemistry*, **2002**, *45*, 4748-4754.
78. Suwandi, L. S.; Agoston, G. E.; Shah, J. H.; Hanson, A. D.; Zhan, X. H.; LaVallee, T. M.; Treston, A. M., *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, **2009**, *19*, 6459-6462.
79. Leese, M. P.; Hejaz, H. A.; Mahon, M. F.; Newman, S. P.; Purohit, A.; Reed, M. J.; Potter, B. V., *Journal of medicinal chemistry*, **2005**, *48*, 5243-5256.
80. Purohit, A.; Hejaz, H. A.; Walden, L.; MacCarthy-Morrogh, L.; Packham, G.; Potter, B. V.; Reed, M. J., *International journal of cancer*, **2000**, *85*, 584-589.
81. al-Kazaale, N.; Tran, P. T.; Haidari, F.; Solum, E. J.; Liekens, S.; Vervaeke, P.; Sylte, I.; Cheng, J.-J.; Vik, A.; Hansen, T. V., *Steroids*, **2018**, *136*, 47-55.
82. Fagbokforlaget <https://farmakologi.portfolio.no/read/80336e60-c05f-4be3-b5fc-f8eab456ae1> (accessed Hentet 07.02.2018).
83. Parnes, R.; Pappo, D., *Organic letters*, **2015**, *17*, 2924-2927.
84. Heravi, M. M.; Zadsirjan, V.; Esfandyari, M.; Lashaki, T. B., *Tetrahedron: Asymmetry*, **2017**, *28*, 987-1043.

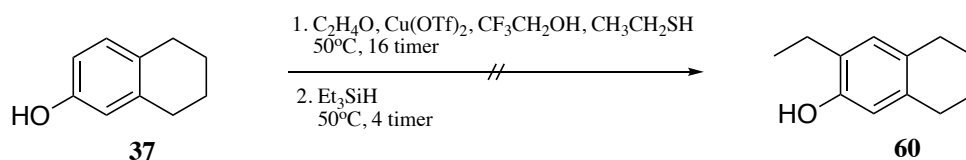
85. Heravi, M. M.; Lashaki, T. B.; Fattahi, B.; Zadsirjan, V., *RSC Advances*, **2018**, *8*, 6634-6659.
86. Kurti, L.; Czako, B., Strategic applications of named reactions in organic synthesis. 1 ed.; Academic Press: USA, **2005**; p 118, 0080575412
87. Sigma-Aldrich AD-mix alfa.
https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/392758?lang=en®ion=NO&gclid=CjwKCAjwuO3cBRAyEiwAzOxKsljMZHSxg01_nk7MY-1867iDEG_Ev8VcWyO-PFvKZT_xvZukxoJ4yRoCvEwQAvD_BwE (accessed 10.11.2018).
88. Olah, G.; Ohannesian, L.; Arvanaghi, M., *Chem. Rev.*, **1987**, *87*, 671.
89. Hofsløkken, N. U.; Skattebøl, L., *Acta Chem. Scand*, **1999**, *53*, 258-262.
90. Hansen, T. V.; Skattebøl, L., *Organic Syntheses*, **2005**, *89*, 64-68.
91. Krow, G. R., *Organic Reactions*, **1993**, *43*, Abstract.
92. Anwar, H. F.; Skattebøl, L.; Hansen, T. V., *Tetrahedron*, **2007**, *63*, 9997-10002.
93. Mannich, C.; Krösche, W., *Archiv der Pharmazie*, **1912**, *250*, 647-667.
94. Van Gansbeke, K.; Solum, E. J.; Liekens, S.; Vik, A.; Hansen, T. V., *Steroids*, **2017**, *124*, 54-59.
95. Nagayoshi, K.; Sato, T., *Chemistry Letters*, **1983**, *12*, 1355-1356.
96. Li, J.-X.; Schieberle, P.; Steinhaus, M., *Journal of agricultural and food chemistry*, **2012**, *60*, 11253-11262.
97. Langille, N. F.; Dakin, L. A.; Panek, J. S., *Organic letters*, **2003**, *5*, 575-578.
98. Taniguchi, N.; Kitayama, K., *Synlett*, **2018**, *29*, 2712-2716.
99. Solum, E. J.; Cheng, J.-J.; Sylte, I.; Vik, A.; Hansen, T. V., *RSC Advances*, **2015**, *5*, 32497-32504.
100. Aratikatla, E. K.; Valkute, T. R.; Puri, S. K.; Srivastava, K.; Bhattacharya, A. K., *European journal of medicinal chemistry*, **2017**, *138*, 1089-1105.
101. Singh, S.; Duffy, C. D.; Shah, S. T. A.; Guiry, P. J., *The Journal of organic chemistry*, **2008**, *73*, 6429-6432.
102. Paolucci, C.; Rosini, G., *Tetrahedron: Asymmetry*, **2007**, *18*, 2923-2946.
103. Plietker, B.; Niggemann, M.; Pollrich, A., *Organic & biomolecular chemistry*, **2004**, *2*, 1116-1124.
104. Aoyagi, Y.; Adachi, Y.; Akagi, S.; Ohno, N.; Takeya, K., *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, **2009**, *19*, 1876-1878.
105. Ahn, H. M.; Bae, J. M.; Kim, M. J.; Bok, K. H.; Jeong, H. Y.; Lee, S. J.; Kim, C., *Chemistry: A European Journal*, **2017**, *23*, 11969-11976.
106. Cavalieri, E. L.; Li, K.-M.; Balu, N.; Saeed, M.; Devanesan, P.; Higginbotham, S.; Zhao, J.; Gross, M. L.; Rogan, E. G., *Carcinogenesis*, **2002**, *23*, 1071-1077.
107. Pettit, G. R.; Thornhill, A. J.; Moser, B. R.; Hogan, F., *Journal of natural products*, **2008**, *71*, 1561-1563.
108. Akselsen, Ø. W.; Odlo, K.; Cheng, J.-J.; Maccari, G.; Botta, M.; Hansen, T. V., *Bioorganic & medicinal chemistry*, **2012**, *20*, 234-242.
109. Pochini, A.; Puglia, G.; Ungaro, R., *Synthesis*, **1983**, *1983*, 906-907.
110. Lautens, M.; Maddess, M. L., *Organic letters*, **2004**, *6*, 1883-1886.
111. Surrey, A. R., *Organic Syntheses*, **1946**, *26*, 90.
112. Xie, R.-g.; Deng, L.-s.; Gu, H.-q.; Fan, Y.-m.; Zhao, H.-m., *Steroids*, **1982**, *40*, 389-392.

6 Vedlegg

6.1 Reduktiv alkylering

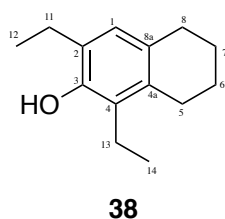
Forsøkene ble, slik som beskrevet i kapittel 5.2, utført i henhold til protokoll. ^{83, 94}

6.1.1 Forsøk på syntese av 2-etyl-3-hydroksy-5,6,7,8-tetrahydronaftalen



Skjema 6-1. Forsøk på syntese av forbindelse 60.

6.1.2 Syntese av 2,4-dietyl-3-hydroksy-5,6,7,8-tetrahydronaftalen



$C_{14}H_{20}O$

Mm: 204,31 g/mol

Utbytte: 108mg (53 %).

Opprensing: Silika (heksan:EtOAc, gradienteluering).

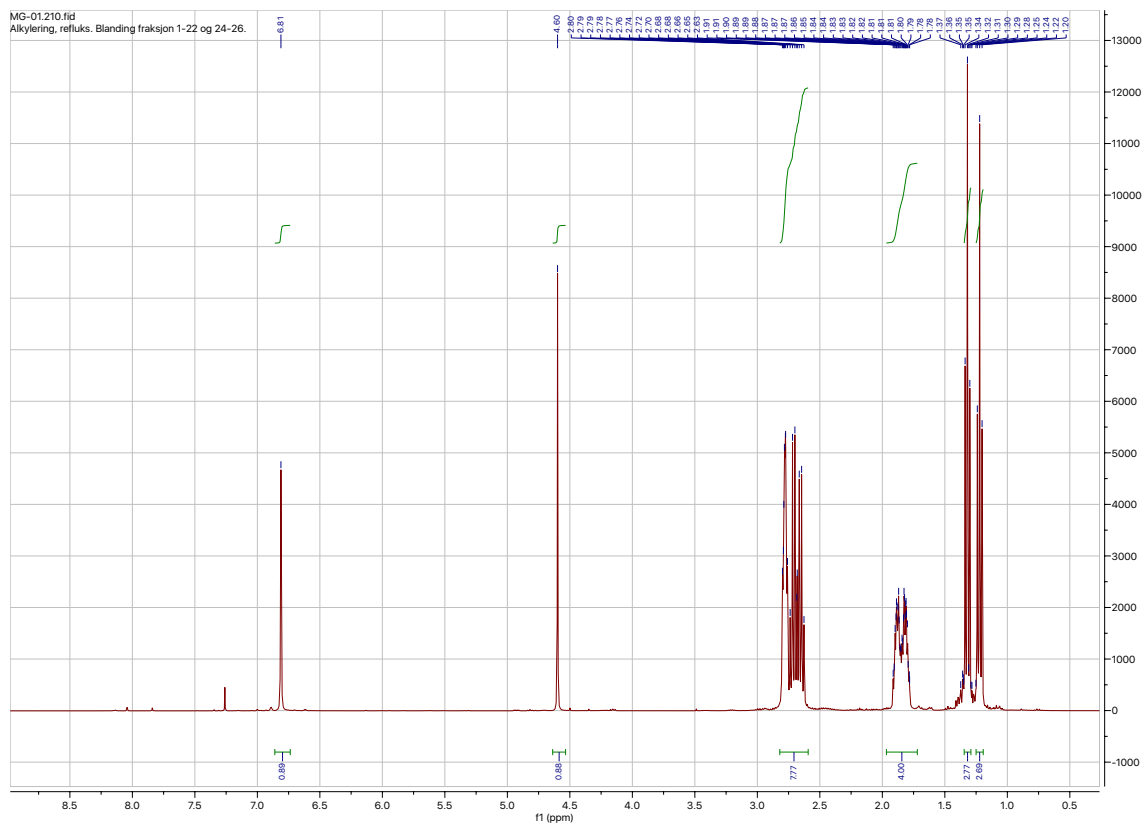
$R_f = 0,67$ heksan:EtOAc (70:30).

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6.81 (s, 1H, H_1), 4.60 (s, 1H, OH), 2.82 – 2.59 (m, 8H), 1.97 – 1.72 (m, 4H), 1.32 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H), 1.22 (t, $J = 7.6$ Hz, 3H).

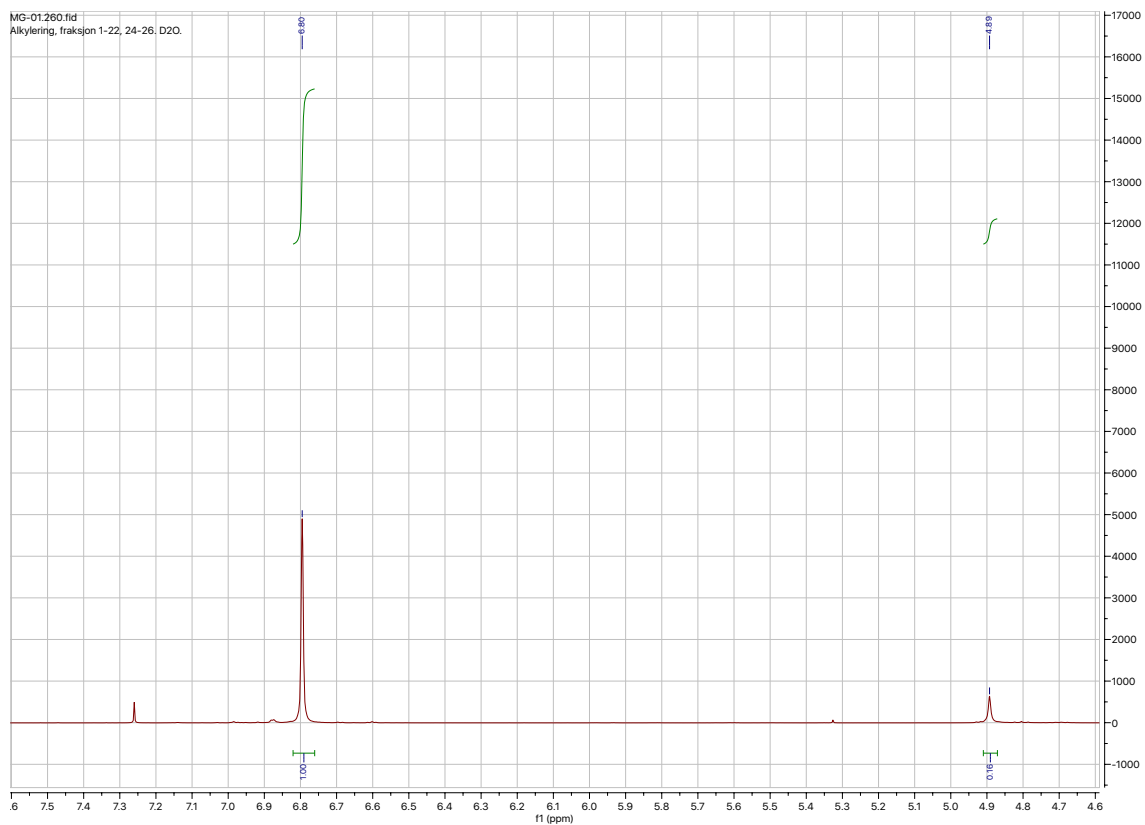
^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 125.81, 28.34, 24.86, 22.26, 21.79, 21.66, 17.72, 12.80, 12.08.

IR: 3568, 2964, 2930, 2874, 1471 cm^{-1}

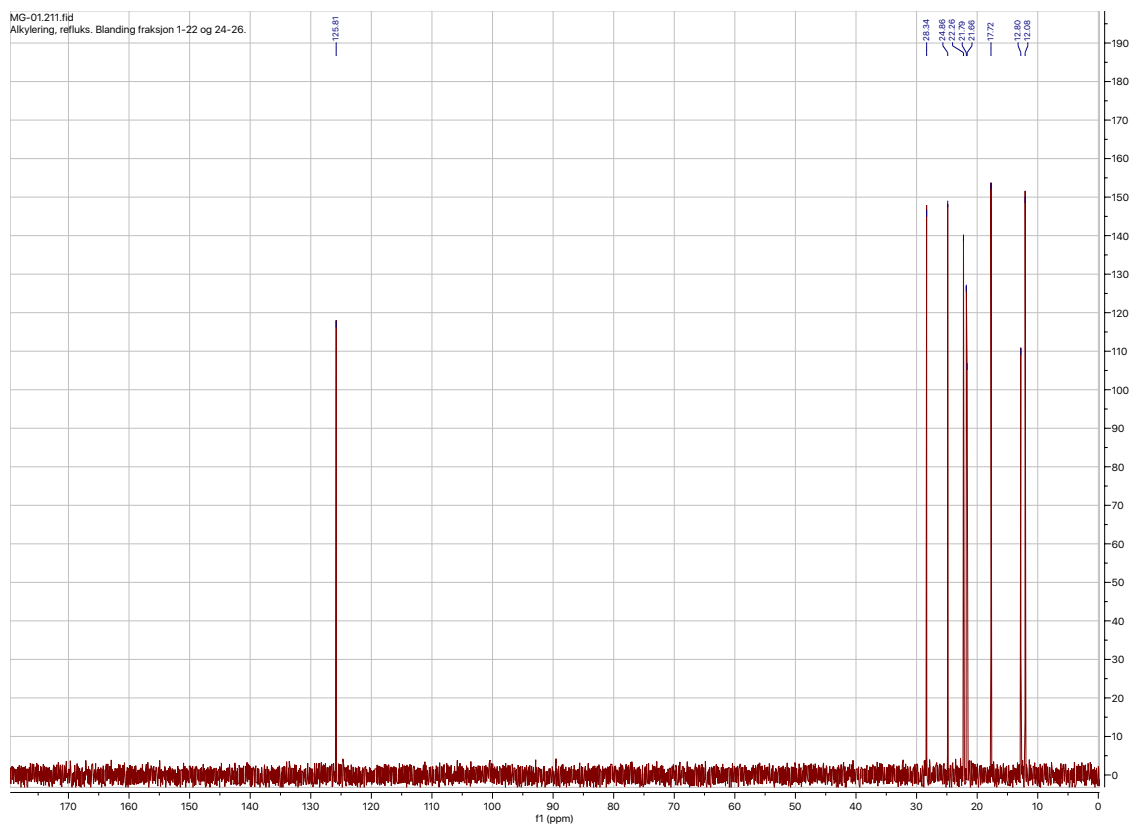
HRMS: funnet masse: 204,1519, $C_{14}H_{20}O$: 204,1514



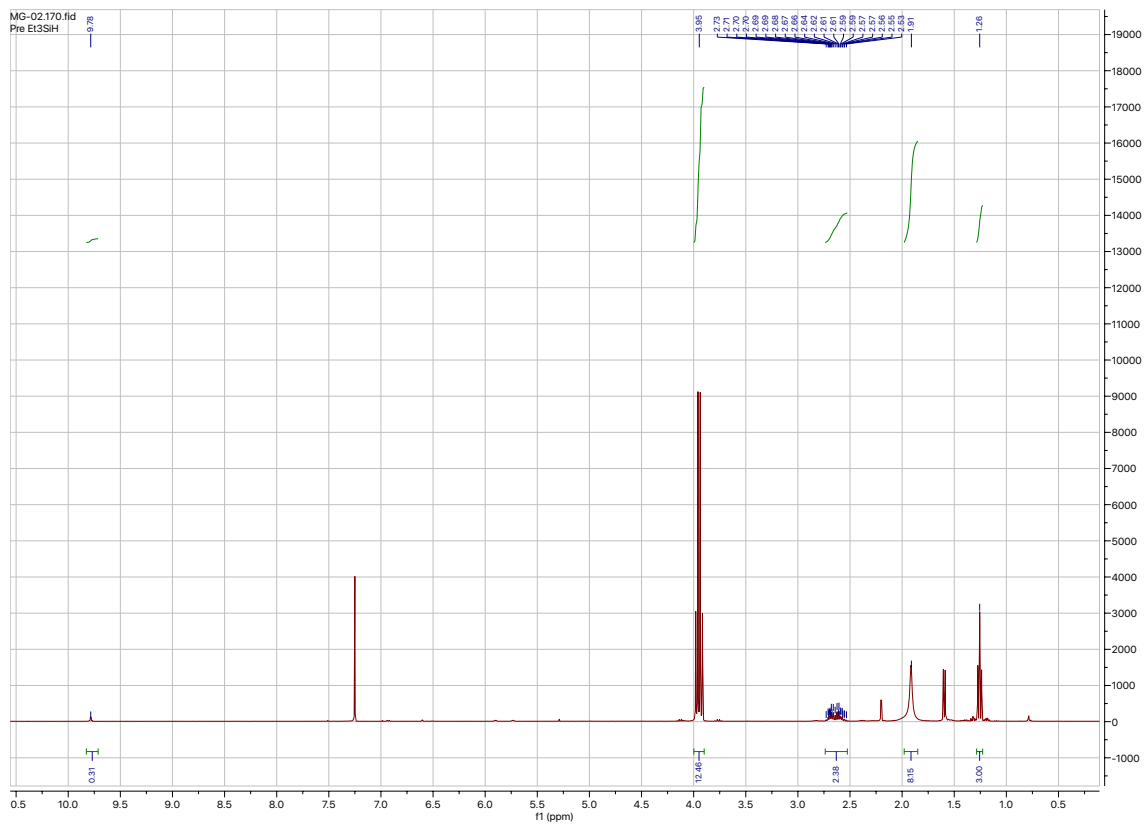
Figur 6-1. ^1H NMR-spekter av forbindelse 38.



Figur 6-2. ^1H NMR-spekter av forbindelse 38, etter resting med D₂O



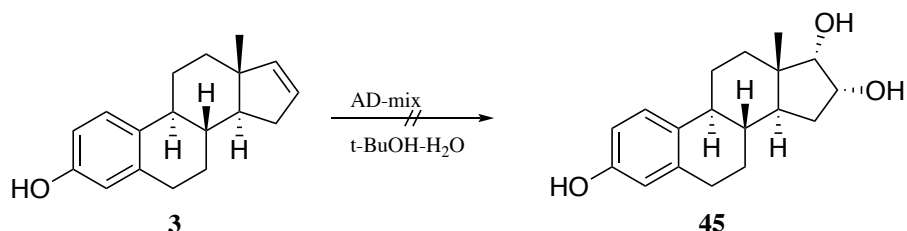
Figur 6-3. ^{13}C NMR-spekter av forbindelse 38.



Figur 6-4. ^1H NMR-spekter, aldolprodukt.

6.2 Sharpless asymmetrisk dihydroksylering

6.2.1 Forsøk på syntese av østra-1,3,5(10)-trien-3,16,17-triol



Skjema 6-2. Forsøk på syntese av forbindelse 45.

Reaksjonen ble utført etter de samme betingelsene som ble benyttet ved asymmetrisk dihydroksylering av styren.¹⁰⁰

Metode 1:

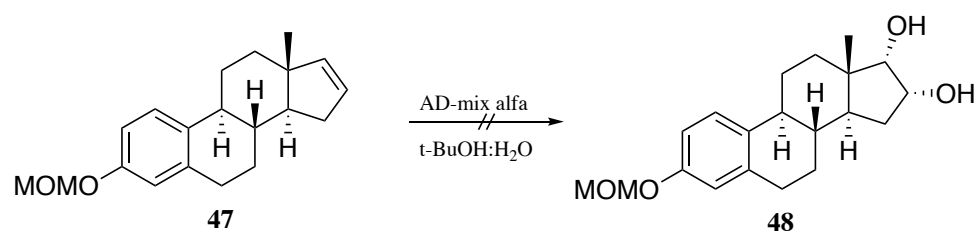
Under en nitrogenatmosfære ble forbindelse **3** (1mmol, 254mg) løst i t-buOH:H₂O (1:1, 10ml) og tilsatt AD-mix α (1mmol, 778mg). Reaksjonsblandingen stod under omrøring ved 0°C over natten. Reaksjonen ble overvåket med TLC (heksan:EtOAc, 80:20). Reaksjonsblandingen ble tilsatt en mettet løsning av Na₂SO₃ (0,6ml) ved 0°C, og stod under omrøring i ytterligere 60 minutter. Deretter ble det tilsatt 10 ml EtOAc til reaksjonsblandingen. Fasene ble separert og vannfasen ble ekstrahert med EtOAc (2x10ml). Kombinert organisk fase med tørket med Na₂SO₄, dampet inn under redusert trykk og rensert med kolonnekromatografi (silika, heksan:EtOAc, 1:1).

Reaksjonen ble utført i henhold til protokoll.¹⁰⁴

Metode 2:

Til en nitrogenatmosfære ble forbindelse **3** (0,169mmol), tilsatt en blanding av AD-mix α (0,169mmol) og AcNH₂ (0.169mmol) i tBuOH-H₂O (1:1, 2.1 ml). Reaksjonsblandingen stod under omrøring ved romtemperatur i seks timer. Reaksjonsblandingen ble tilsatt mettet Na₂SO₃ (10 ml), og deretter ekstrahert med EtOAc (3x10ml). Kombinert organisk fase ble tørket med MgSO₄, filtrert og dampet inn under redusert trykk.

6.2.2 Forsøk på syntese av 3-(metoksymetoksy)østra-1,3,5(10)-trien-16,17-diol

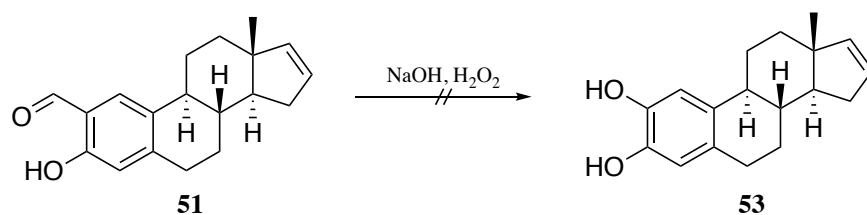


Skjema 6-3. Forsøk på syntese av forbindelse **48**.

Forbindelse **47** (0,27mmol, 82mg) ble løst i t-BuOH:H₂O (2,5ml) og tilsatt AD-mix α (0,5mmol, 389mg). Reaksjonsblandingen stod under omrøring ved romtemperatur over natten. Reaksjonen ble overvåket med TLC (heksan:EtOAc, 7:3).

6.3 Dakin-oksidasjon

6.3.1 Forsøk på syntese av østra-1,3,5(10)-16-tetraen-2,3-diol



Skjema 6-4. Forsøk på syntese av forbindelse

Metode 1:

Reaksjonen ble utført i henhold til protokoll.¹¹¹

Under en nitrogenatmosfære ble forbindelse **51** (1,5 mmol, 419mg) tilsatt NaOH (3,0ml). Blandingen stod under omrøring ved romtemperatur til alt fast stoff var løst. Deretter ble det tilsatt 6% H₂O₂ (1,875mmol, 4,4μl). Etter tilsetning av H₂O₂ stod reaksjonsblandingen i ytterligere 30 minutter under omrøring ved romtemperatur. Videre ble vannfasen surgjort med HCl (1M), og ekstrahert med dietyleter (4x20ml). Kombinert organisk fase ble tørket med Na₂SO₄, og dampet inn under redusert trykk.

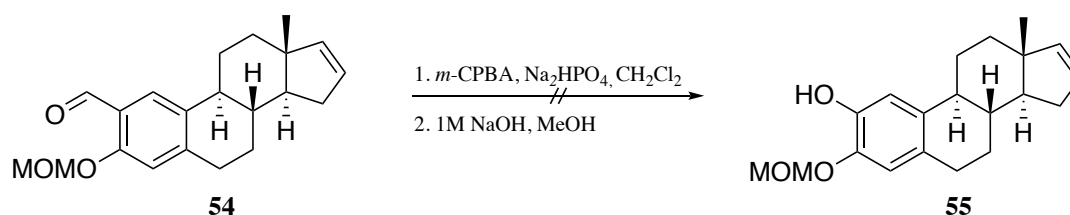
Metode 2:

Reaksjonen ble utført i henhold til protokoll.¹¹²

Under en nitrogenatmosfære ble en løsning av forbindelse **51** i diglyme (20ml) tilsatt NaOH (1M, 1.2ml) og 6% H₂O₂ (0.65 ml). pH for reaksjonen ble holdt mellom 8.2 og 8.5.

Reaksjonen stod under omrøring ved romtemperatur i 30 timer.

6.3.2 Forsøk på syntese av 2-hydroksi-3-(metoksymetoksi)østra-1,3,5(10)-tetraen



Skjema 6-5. Forsøk på syntese av forbindelse **55**.

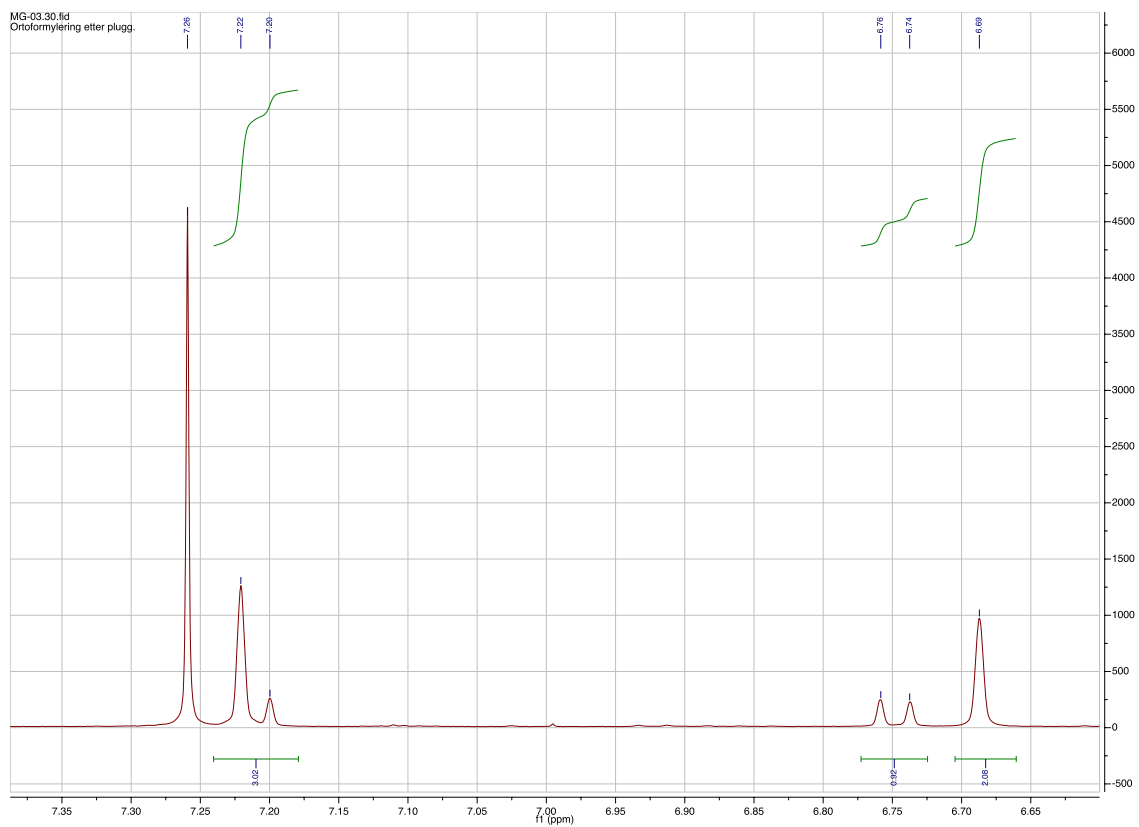
Forsøket ble utført i henhold til protokoll.⁶²

Under nitrogenatmosfære ble en løsning av *m*-CPBA (77%, 0,46mmol, 155mg) i DCM (2,5ml) og dioksan (1,0ml) tilsatt dråpevis til en løsning av **54** (82,5mg, 0,25 mmol) i DCM (2,5ml) og Na₂HPO₄ x 2H₂O (130 mg, 0,73mmol). Reaksjonsblandingen stod under omrøring i 24 timer ved romtemperatur.

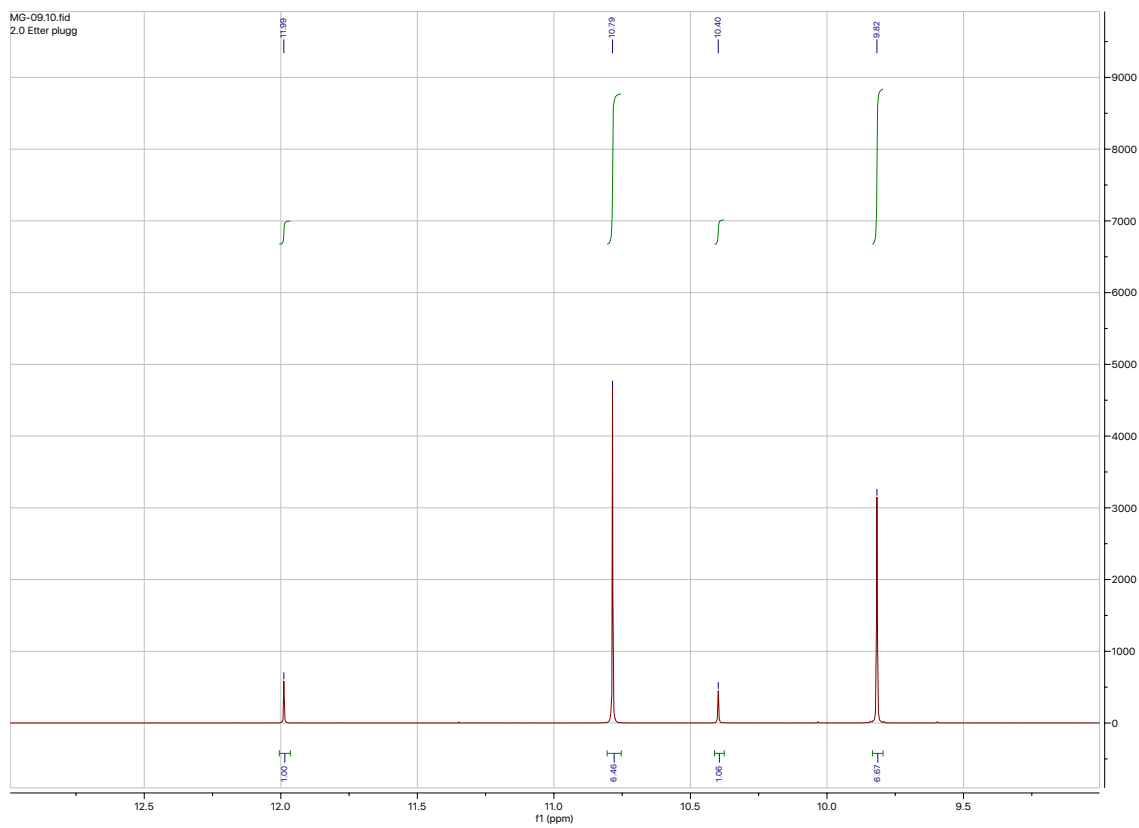
Reaksjonsblandingen ble deretter overført til H₂O (25ml) og produktet ble ekstrahert med dietyleter (3x20ml). Kombinert organisk fase ble vasket med mettet NaHCO₃ (25ml), og en konsentrert vandig NaCl-løsning (25ml). Organisk fase ble tørket med MgSO₄ og dampet inn under redusert trykk (gult fast stoff). Inndampingsrester (gul olje) ble løst i MeOH (5ml). Deretter ble det tilsatt NaOH (1M, 3ml) og reaksjonsblandingen stod under omrøring ved romtemperatur i ytterligere 2 timer.

Løsningen ble nøytralisert til pH=7 med NaHCO₃:AcOH (1:1, 15ml). MeOH ble dampet bort under redusert trykk. Inndampingsrester ble overført til en blanding av EtOAc:H₂O (1:1, 50ml). Vannfasen ble ekstrahert med EtOAc (20ml). Kombinert organisk fase ble tørket med MgSO₄ og dampet inn under redusert trykk (gult fast stoff).

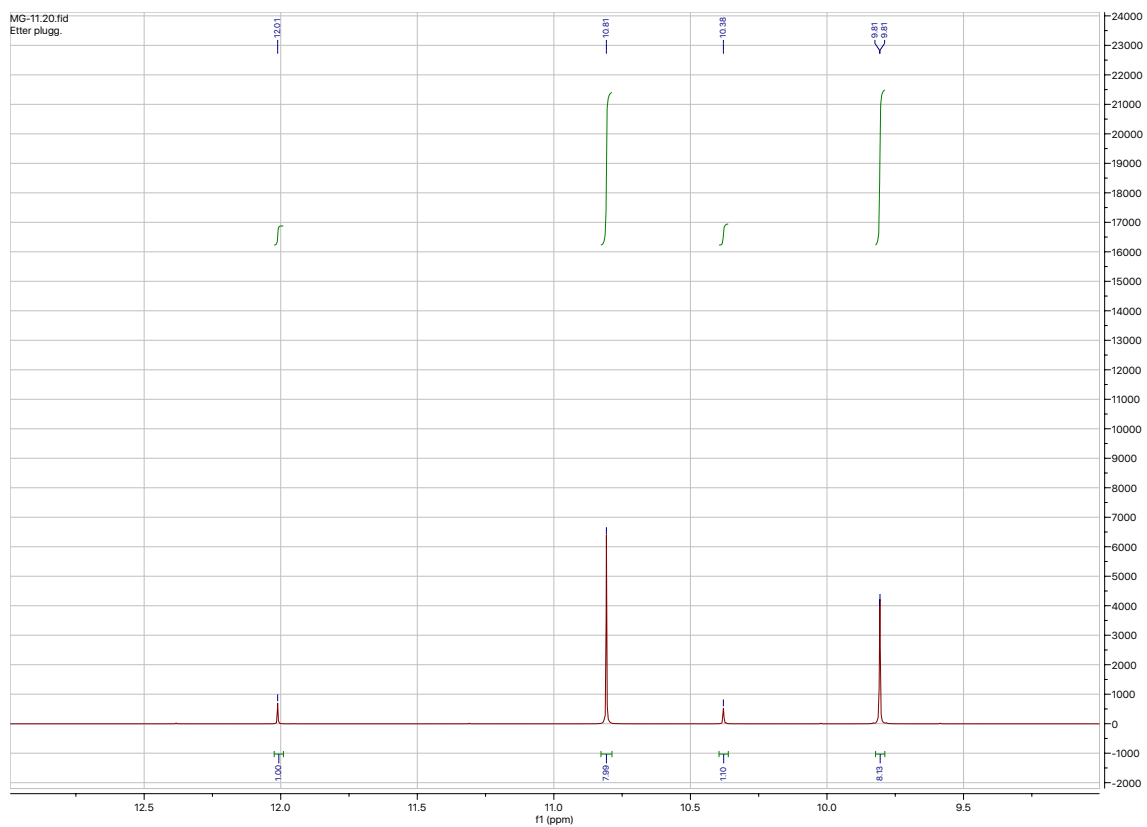
6.4 ^1H NMR-spekter



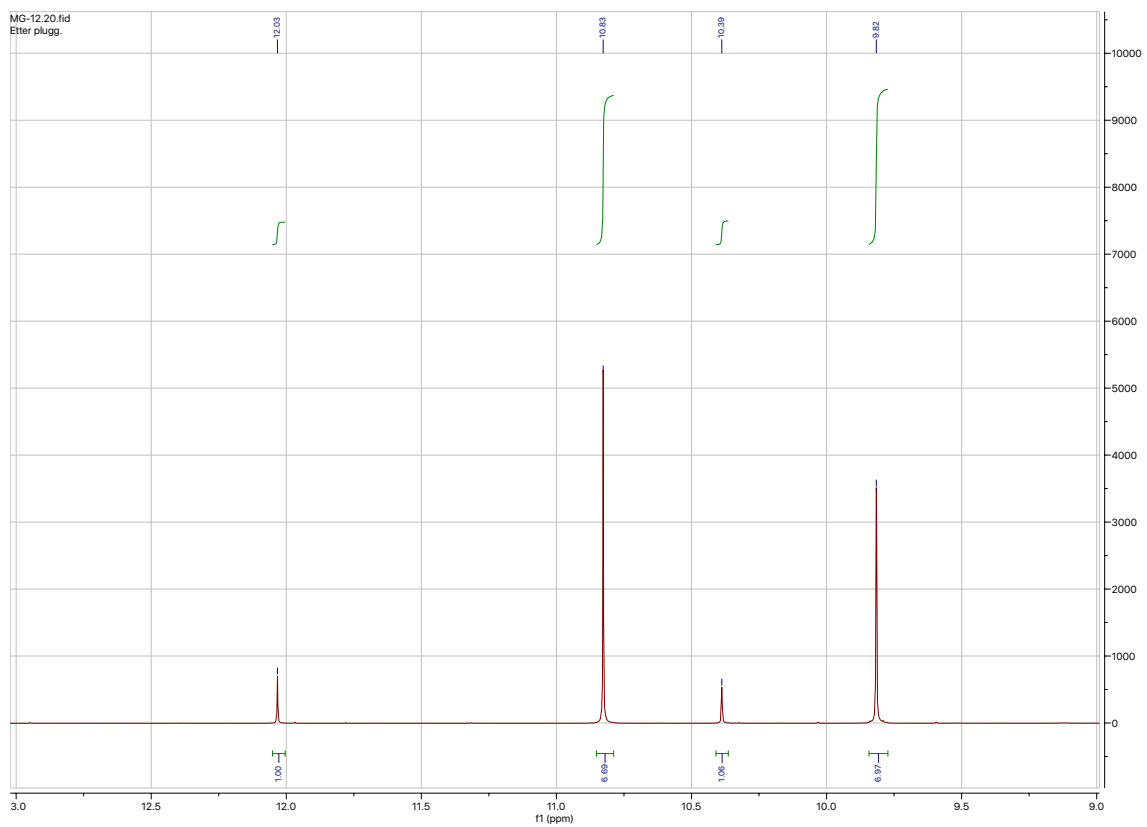
Figur 6-5. ^1H NMR-spekter av forbindelse 49.



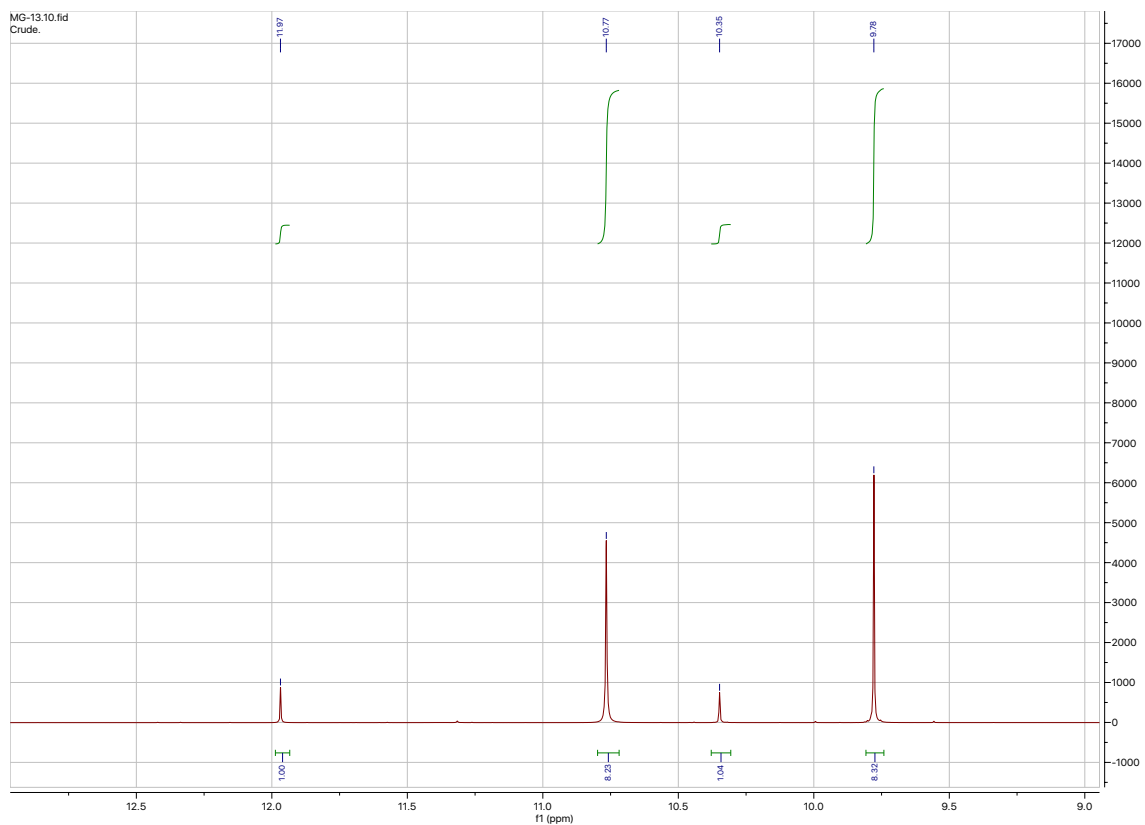
Figur 6-6. ^1H NMR-spekter for orto-formylering, nedskalering av ekvivalenter.



Figur 6-7. ^1H NMR-spekter for orto-formylering med DCM.

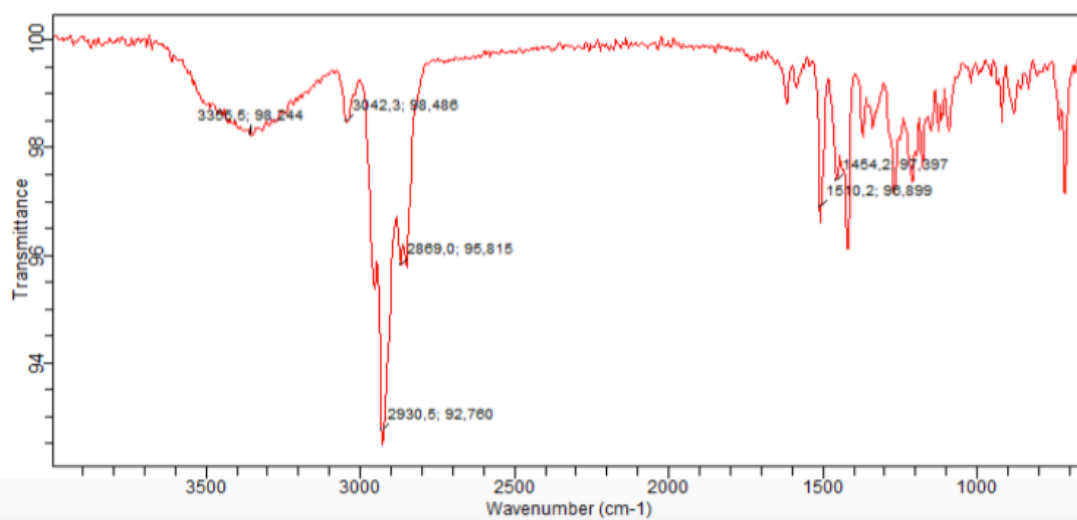
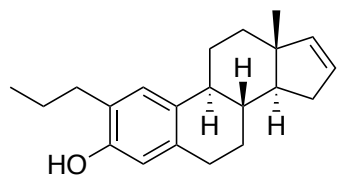


Figur 6-8. ^1H NMR-spekter for orto-formylering med acetonitril.

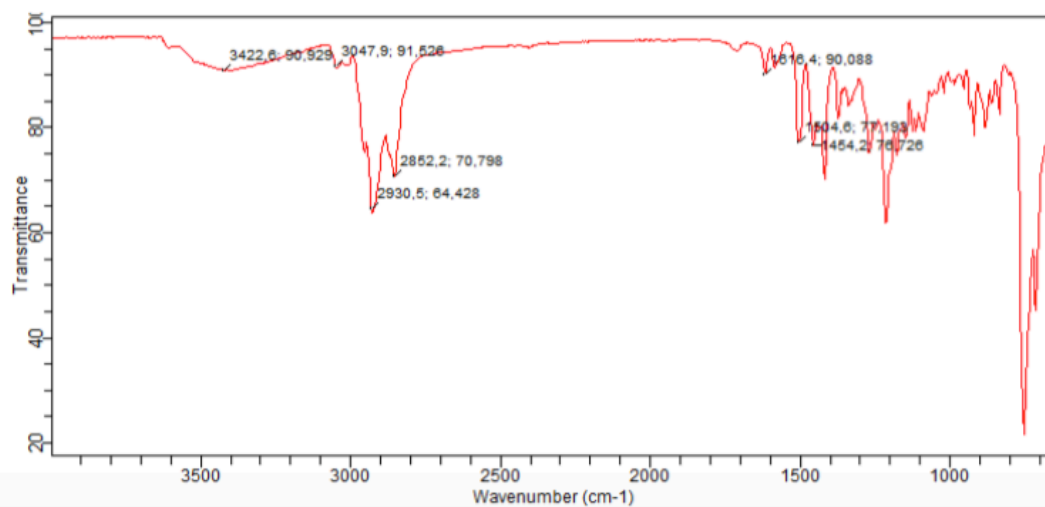
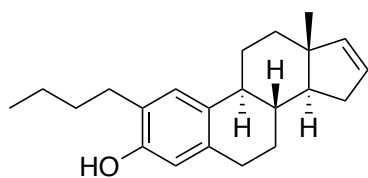


Figur 6-9. ^1H NMR-spekter for orto-formylering, oppskalering av ekvivalenter.

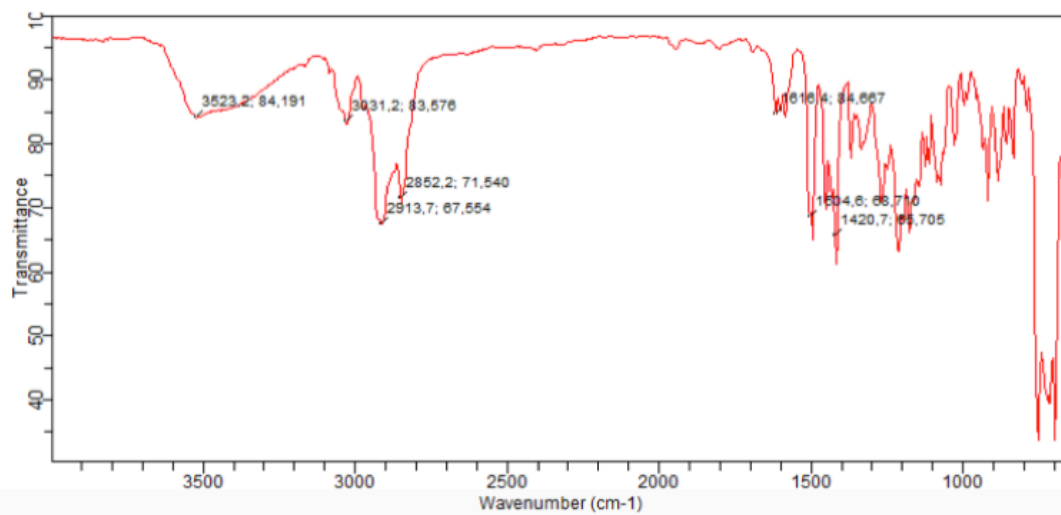
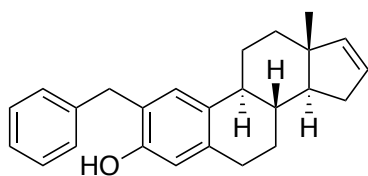
6.5 IR-spekter



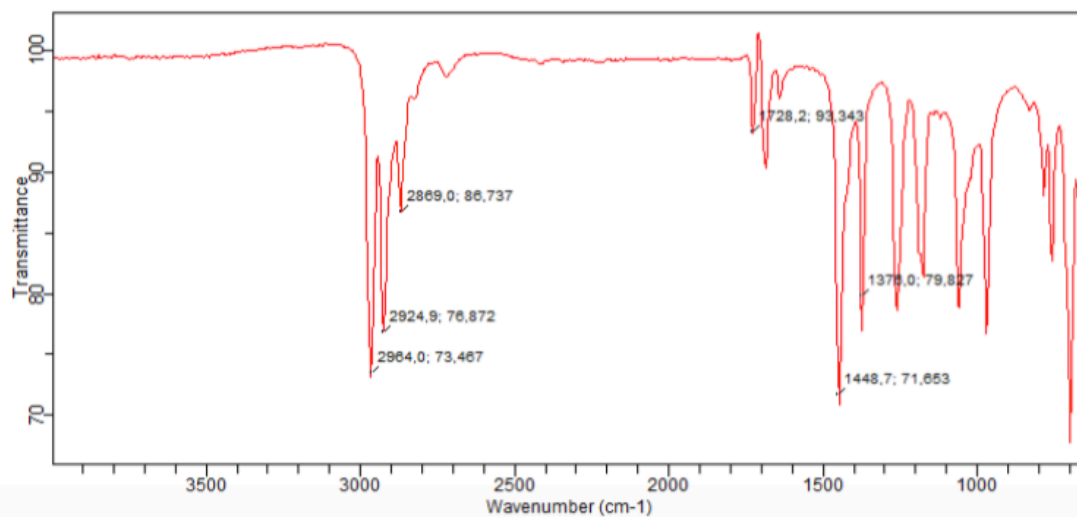
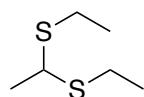
Figur 6-10. IR-spekter av forbindelse 41



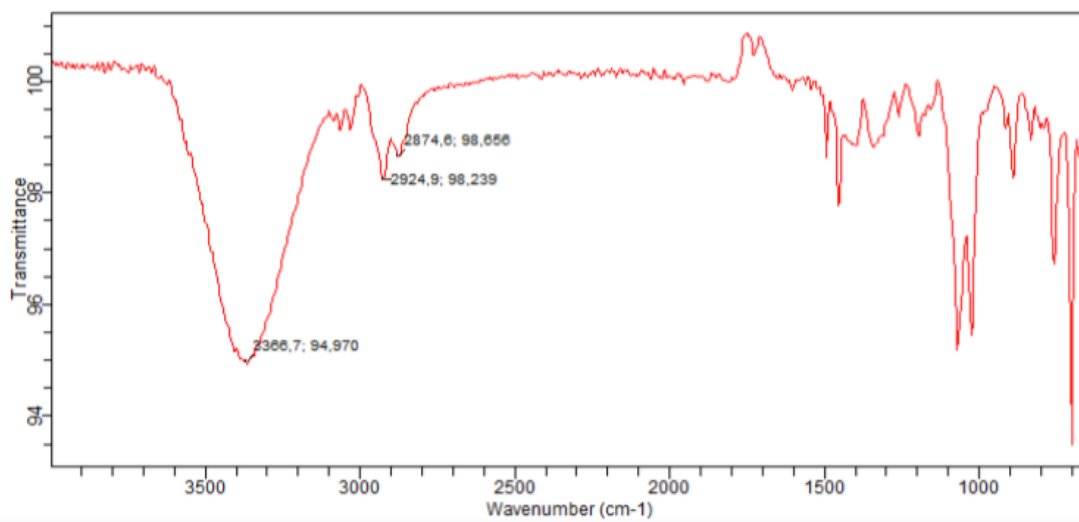
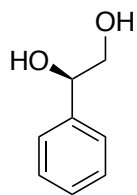
Figur 6-11. IR-spekter av forbindelse 42.



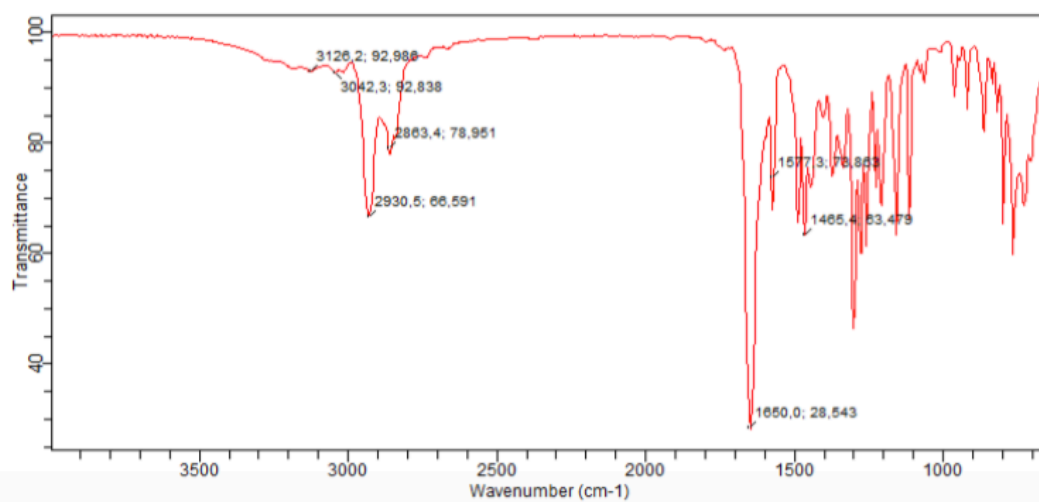
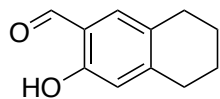
Figur 6-12. IR-spekter av forbindelse 43.



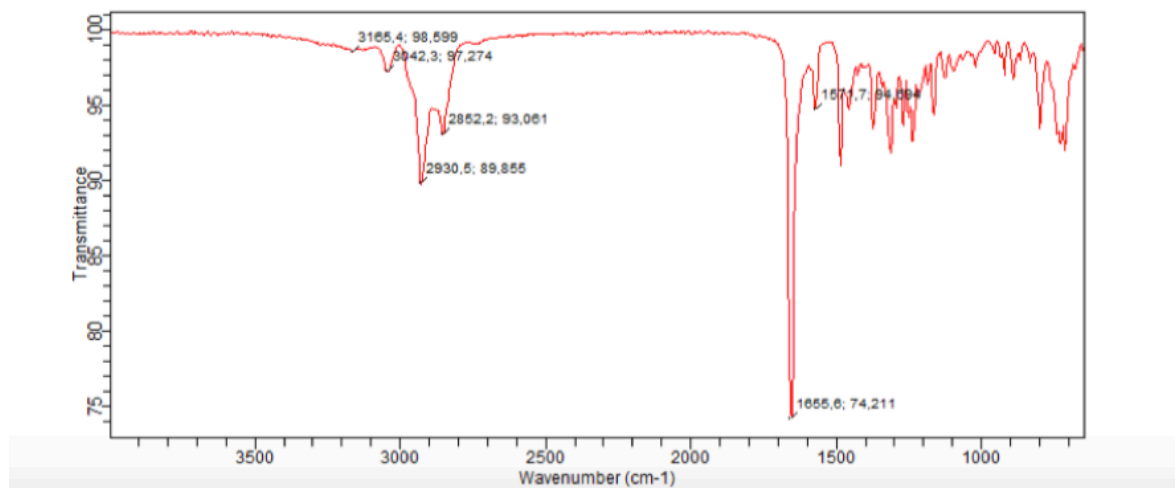
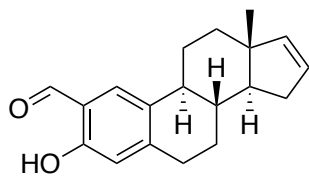
Figur 6-13. IR-spekter av forbindelse 39.



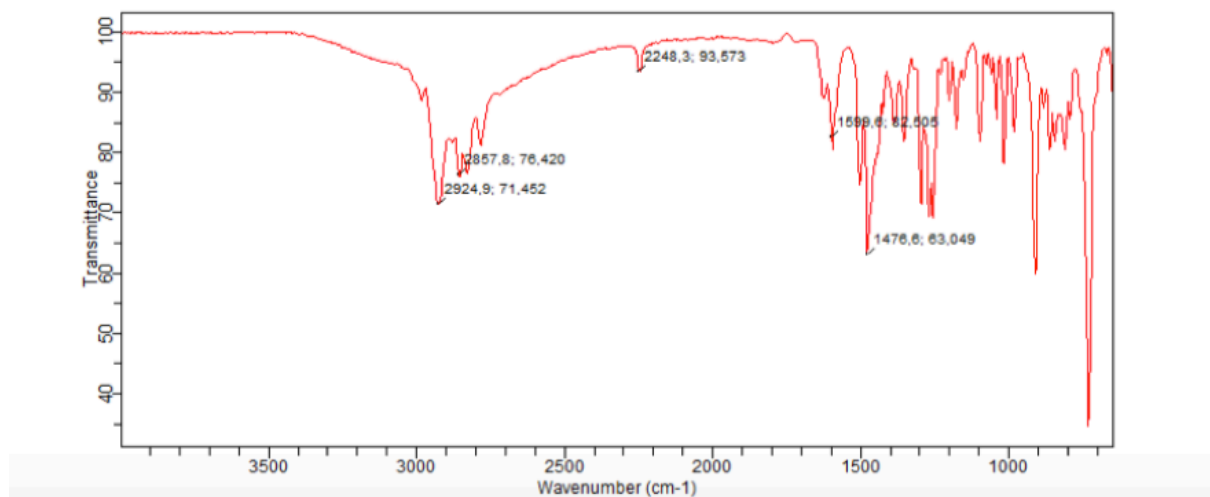
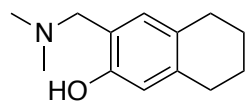
Figur 6-14. IR-spekter av forbindelse 45.



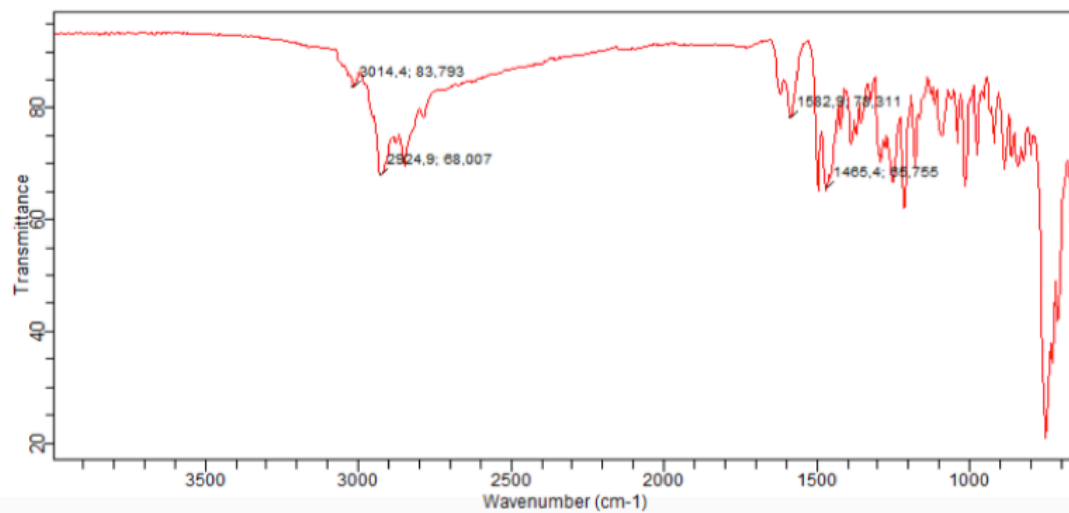
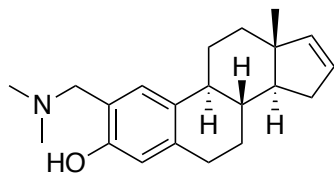
Figur 6-15. IR-spekter av forbindelse 49.



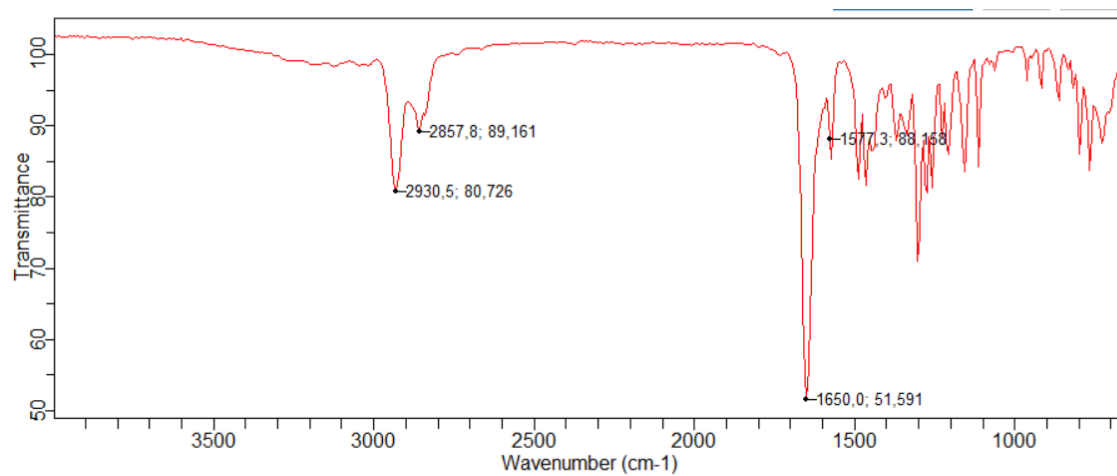
Figur 6-16. IR-spekter av forbindelse 51.



Figur 6-17. IR-spekter av forbindelse 56.



Figur 6-18. IR-spekter av forbindelse 57.



Figur 6-19. IR-spekter av etylerings-forsøk.

6.6 MS-spekter

Elemental Composition Report

Page 1

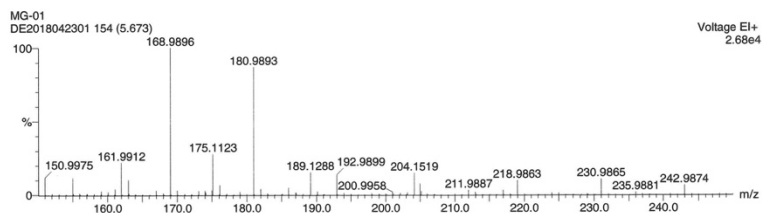
Single Mass Analysis

Tolerance = 10.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0

Isotope cluster parameters: Separation = 1.0 Abundance = 1.0%

Monoisotopic Mass, Odd and Even Electron Ions

57 formula(e) evaluated with 1 results within limits (up to 50 closest results for each mass)



Minimum:

Maximum:

Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Score	Formula
204.1519	204.1514	0.5	2.4	5.0	1	C14 H20 O

Figur 6-20. HRMS-spekter av forbindelse 38.

Elemental Composition Report

Page 1

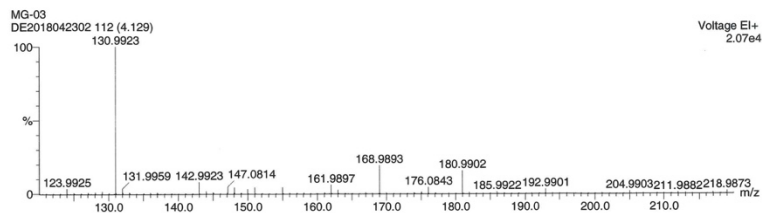
Single Mass Analysis

Tolerance = 10.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0

Isotope cluster parameters: Separation = 1.0 Abundance = 1.0%

Monoisotopic Mass, Odd and Even Electron Ions

51 formula(e) evaluated with 1 results within limits (up to 50 closest results for each mass)



Minimum:

Maximum:

Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Score	Formula
176.0843	176.0837	0.6	3.2	6.0	1	C11 H12 O2

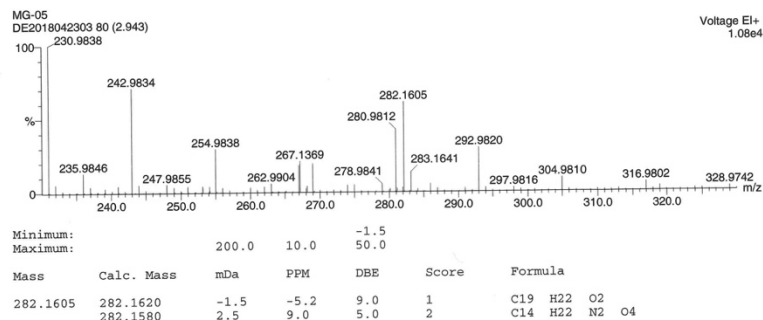
Figur 6-21. HRMS-spekter av forbindelse 49.

Elemental Composition Report

Single Mass Analysis

Tolerance = 10.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0
 Isotope cluster parameters: Separation = 1.0 Abundance = 1.0%

Monoisotopic Mass, Odd and Even Electron Ions
 77 formula(e) evaluated with 2 results within limits (up to 50 closest results for each mass)



Figur 6-22. HRMS-spekter av forbindelse 51.



Norges miljø- og biovitenskapelige universitet
Noregs miljø- og biovitenskapelige universitet
Norwegian University of Life Sciences

Postboks 5003
NO-1432 Ås
Norway