

Inga Haugsvær

Stereoselektiv ringekspansjon av steroidanalogar med (*R*)-hydroksyazid for å danne potensielle CDK8 inhibitorar

Masteroppgåve i organisk kjem, lektorutdanninga i realfag

Rettleiar: Eirik Johansson Solum

Juni 2021

Inga Haugsvær

Stereoselektiv ringekspansjon av steroidanalogar med (*R*)-hydroksyazid for å danne potensielle CDK8 inhibitorar

Masteroppgåve i organisk kjem, lektorutdanninga i realfag
Rettleiar: Eirik Johansson Solum
Juni 2021

Noregs teknisk-naturvitskaplege universitet
Fakultet for naturvitenskap
Institutt for kjemi



NTNU

Kunnskap for ei betre verd

Forord

Denne masteroppgåva med tittelen «Stereoselektiv ringekspansjon av steroidanalogar med bruk av (*R*)-hydroksyazid for å danne potensielle CDK8 inhibitorar» er gjort ved institutt for kjemi ved NTNU, Trondheim, i løpet av skuleåret 2020/2021. Masteren er avslutninga på mitt Lektorstudie i realfag med hovudvekt på kjemi og matematikk. Arbeidet er blitt rettleia av førsteamanuensis Eirik Johansson Solum.

Eg vil takk rettleiaren min Eirik Johansson Solum for å alltid ha trua på at reaksjonane går, sjølv om det ikkje er realiteten. Du svarer alltid ordentleg på dei spørsmåla eg måtte ha, uansett kor banale dei er. Takk for at eg har fått bruke så mykje tid lab og på den måten både lært mykje innan kjemi og om meg sjølv. Ein takk går også til Susana Villa Gonzalez for å ordne med MS-analysane og til Roger Aarvik for å bestille, hente og levere alt av kjemikaliar og anna utstyr som eg har trengt.

Ein spesiell takk går til Malene Fikseth Jakobsen for det gode samarbeidet vi har hatt alle åra og spesielt det siste. Det har vore fint å kunne vere saman om og dele frustrasjon og glede over reaksjonar som går eller ikkje går. I tillegg har det hjulpet mykje å kunne dele kunnskap og erfaringar rundt masterprosjekta våre.

I tillegg vil eg takke kollektivet for å vere ein god stad for avkopling med fellesmiddagar, serie-sjåing og kaffidriking.

Til sist vil eg takke familie og venner for støtte med masteren og spesielt mamma som har vore til stor hjelp som nynorskorakel.

Samandrag

Akutt myelogen leukemi (AML) er ei kreftform som råkar fleire og fleire, men utviklinga i behandlinga har gått seint. Denne oppgåva er ein del av eit større prosjekt som går på å finne nye molekyl som fungerer inn i behandlinga av AML og som spesielt kan inhibere CDK8-enzymet. CDK8 er eit enzym som trengst for at ein type muterte celler skal halde fram med å dele seg og utvikle kreften. Ved å inhibere dette enzymet, vil kreften utvikle seg treigare.

Det er tidlegare syntetisert liknande molekyl som er blitt testa for biologisk aktivitet. Desse molekyla har vore steroid med aminosubstituent på A-ringen og arylsubstituent i 17-posisjon på D-ringen. I dette prosjektet er nitrogenet frå aminet inkorporert i A-ringen slik at den blir ein sjuring i staden for ein seksring.

Syntesen som er prøvd ut består av ein substitusjonsreaksjon for å danne eit krialt azid som vidare blir brukt for å utvide A-ringen på steroidet. Dei neste trinna er redusering, β -eliminering, triflering og til sist ein Suzuki kryss-kopling for å danne sju ulike målmolekyl med kvar sin arylsubstituent i 17-posisjon. Dei fire første trinna har Aubé gjort tidlegare på same molekyl, medan dei to siste trinna har Solum gjort på ein annan steroid.

Abstract

There are more and more people which is affected by acute myelogenous leukaemia (AML), but the treatment has not gone through any big development the last 30 years. This study is a part of a project which goal is to find some new molecules which can be used in treatment of AML and specifically inhibits the CDK8 enzyme. The CDK8 enzyme take part in the reaction path where the mutated cells do the cell division and makes more cancer cells. By inhibiting this enzyme, the cell division goes slower, and the cancer develops slower.

Previous there is synthesized some molecules which is similar to the molecule in this study, and they have been tested for biological activity as a CDK8 inhibitor. These molecules were steroids with an amino substituent on the A-ring and an aryl substituent in 17-position on the D-ring. In this study, the nitrogen is incorporated in the steroid structure to make the A-ring containing six carbons and one nitrogen instead of just six carbon atoms.

The synthesis which is done in this study contains one substitution reaction to make a kiral azid. Then the azid is used in the expansion reaction on the A-ring in the steroid. The next reactions are a reduction, a β -elimination, a triflation and in the end the Suzuki cross-coupling to make five different molecules with different arylsubstituent in 17-position. The first four steps are done previously by Aubé on the exact same molecule, while the last two steps are done by Solum on another steroid.

Innhald

Forord	I
Samandrag	III
Forkortingar	VIII
Sambindingar	X
1 Introduksjon	1
2 Teori	2
2.1 Tidlegare forskning	3
2.2 Synteseveg	6
2.3 S _N 2	6
2.4 Stereoselektiv ringekspansjon med keton	7
2.4.1 Ein generell Schmidt-reaksjon	7
2.4.2 Schmidt reaksjon på ring med alkohol på substituent	8
2.4.3 Regioselektiv utviding av A-ring	9
2.5 Oksidasjon med PCC	11
2.6 β-eliminasjon med hydridion (NaH)	12
2.7 Danning av triflat	13
2.7.1 Syrestyrke	13
2.8 Triflering	14
2.9 Suzuki kryss-kopling	15
2.9.1 Den sykliske prosessen	15
3 Resultat og diskusjon	18
3.1 Organisk syntese	18
3.1.1 Substitusjon av klor til azid	18
3.1.2 Utviding av ring	19
3.1.3 Oksidering av alkoholar	19
3.1.4 Spalting av karbon – nitrogen binding	22

3.1.5	Danning av triflatet.....	23
3.1.6	Suzuki.....	25
3.2	Analysar.....	28
3.2.1	Substitusjon av klor til azid.....	28
3.2.2	Utviding av ring	29
3.2.3	Oksidasjon av alkoholar	30
3.2.4	Spalting av karbon – nitrogen binding	31
3.2.5	Danning av triflat	32
3.2.6	Suzuki kryss-kopling.....	33
4	Konklusjon.....	35
5	Vidare arbeid.....	37
6	Eksperimentelt	40
6.1	Generell informasjon	40
6.1.1	Masse spektroskopi, MS	40
6.1.2	Kjernemagnetisk resonansspektroskopi, NMR	40
6.1.3	Infraraud spektroskopi, IR.....	40
6.1.4	Optisk rotasjon	40
6.2	Syntese av 2	41
6.3	Syntese av 4	42
6.4	Syntese av 5	43
6.5	Syntese av 6	44
6.6	Syntese av 7	45
6.7	Generell prosedyre for Suzuki kryss-kopling.....	46
6.7.1	Syntese av 8a	46
6.7.2	Syntese av 8b	47
6.7.3	Syntese av 8c	47
6.7.4	Syntese av 8d	48

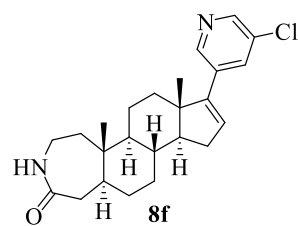
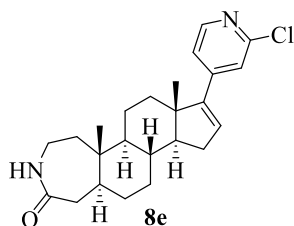
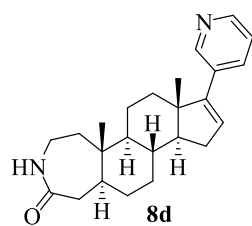
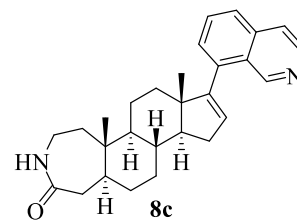
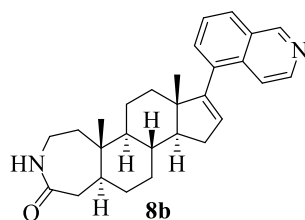
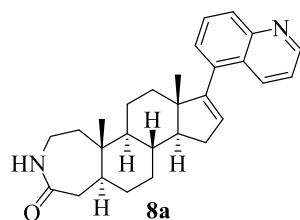
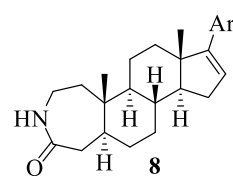
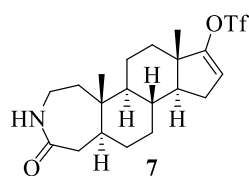
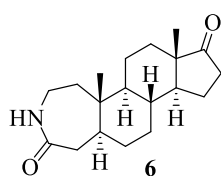
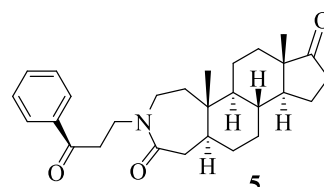
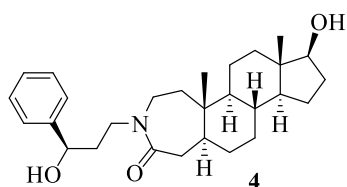
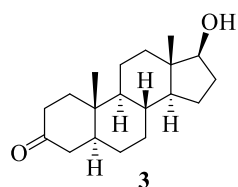
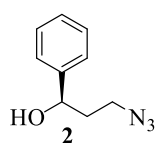
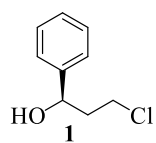
6.7.5 Syntese av 8e	49
Kjelder	50
A - Spektroskopisk data av sambinding 2	
B - Spektroskopisk data av sambinding 4	
C - Spektroskopisk data av sambinding 5	
D - Spektroskopisk data av sambinding 6	
E - Spektroskopisk data av sambinding 7	
F - Spektroskopisk data av sambinding 8a	
G - Spektroskopisk data av sambinding 8b	
H - Spektroskopisk data av sambinding 8c	
I - Spektroskopisk data av sambinding 8d	
J - Spektroskopisk data av sambinding 8e	

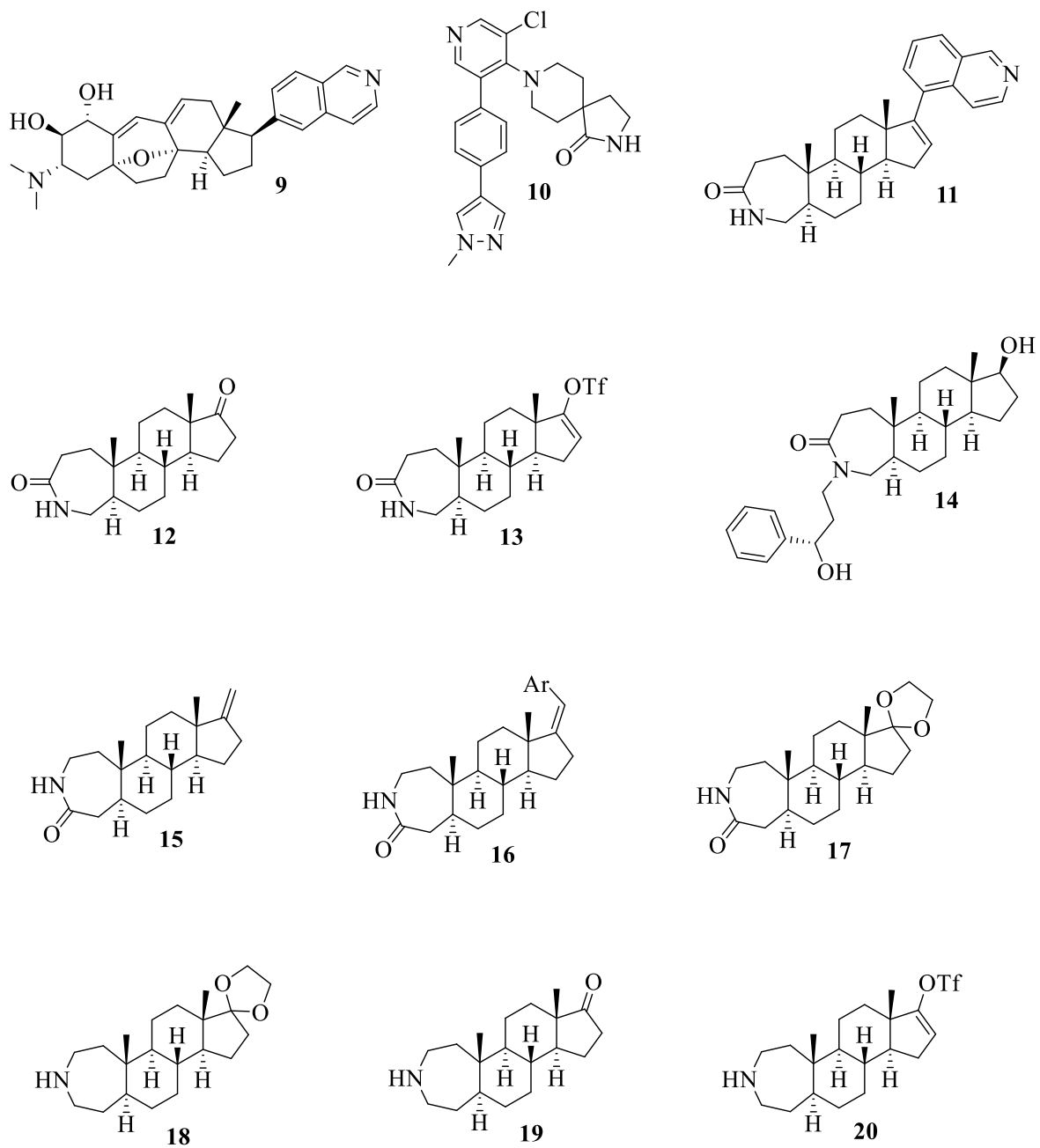
Forkortingar

[α]	Spesifikk rotasjon
μm	Nanometer
AML	Akutt myelogen leukemi
Ar	Aryl
br	Breitt
CDK	Syklinavhengig kinase
d	Dublett
dd	Dublett av dublettar
ddd	Dublett, dublett, dublett
DMF	Dimetylformamid
dt	Dublett av triplettar
dtd	Dublett, triplett, dublett
ekv.	Ekvivalentar
<i>et al.</i>	Et alii (med fleire)
FLT	FMS-liknande tyrosin kinaser
g	Gram
Int.	Integral
IR	Infraraud spektroskopi
<i>J</i>	Koplingskonstant
LAH	Litium aluminium hydrid
m	Multiplett (NMR), medium (IR)
M	Molar, [mol/l]
m/z	Masse pr. ladning
MeOH	Metanol
mg	Milligram
mmol	Millimol
MS	Massespektroskopi
NaHMDS	Natrium bis(trimetylsilyl)amid
NMR	Kjernemagnetisk resonansspektroskopi
PCC	Pyridinium klorokromat
ppm	Del per million
R_f	Retensjonsfaktor

RT	Romtemperatur
s	Singlett (NMR), sterk (IR)
S _N 2	Nukleofil substitusjon
t	Time(τ), triplett (NMR)
THF	Tetrahydrofuran
TLC	Tynnsjikt kromatografi
US FDA	U.S. Food and Drug Administration
w	Svak
wnt	Wingless relatert integrasjonsside
δ	Kjemisk skift
λ	Bølgelengde
ν	Bølgenummer

Sambindingar





1 Introduksjon

For 50 år sidan kunne ikkje akutt myelogen leukemi (AML) kurerast og framleis er overlevingsraten låg.¹⁻³ Ein av grunnane til det kan vere at utviklinga av nye behandlingmetodar hadde stått ganske stille mellom 1990 og 2015, sjølv om talet som fekk diagnosen auka. I 1990 var det litt over 63 800 i verda som vart råka av AML, medan talet i 2017 var 119 100.²

Behandlinga av denne kreftforma bygger vanlegvis på kjemoterapi i kombinasjon med stamcelletransplantasjon. Dette er harde behandlingar for pasienten, og dette passar dårleg overeins med at mange av pasientane er eldre.³ For at også dei svakaste skal kunne få ei behandling er det prøvd å finne andre behandlingmetodar. Ein metode som det er arbeidd mykje med er medisinar som målretta angrip dei enzymba som regulerer danning av dei sjuke cellene (målretta behandling).⁴ Ei slik type behandling kan anten bli brukt aleine eller i kombinasjon med kjemoterapi.

Mange ulike molekyl vert testa for å finne ut om dei kan fungere i denne typen målretta behandling. For at molekyla i det heile skal bli vurderte kan dei mellom anna ikkje vere for giftige og dei må binde seg spesifikt til det enzymet som skal inhiberast.¹ Med bakgrunn i dette, og mange fleire parameter, er det svært få molekyl som kjem så langt at dei blir godkjent for bruk i AML-behandling.

Om lag ein av tre pasientar med AML har ein mutasjon i FLT3 genet.⁵ Sidan det er ein så stor del av dei råka som har denne mutasjonen, er det fleire som prøver å lage medisinar som kan fungere målretta for å regulere dette genet. Etter 2017 har to slike FLT3-inhibitorar blitt godkjent av «Food and Drug Administration» (US FDA),^{6, 7} men mellom 2000 og 2017 vart ingen godkjente.

FLT3 er ein reseptor tyrosin kinase som kan fosforylerer ein tyrosinrest på STAT-proteinet. Fosforylering av tyrosinresten er ein av prosessane som må skje for at STAT-proteinet kan starte genekspressjon.⁸ I tillegg er det behov for at det skjer ei serinfosforylering. Serinfosforyleringa blir sett i gang av syklin avhengig kinase 8 (CDK8).⁹ På grunn av denne samanhengen kan CDK8 vere eit godt angrepspunkt for målretta behandling generelt, og då også forbehandling av AML.^{10, 11}

2 Teori

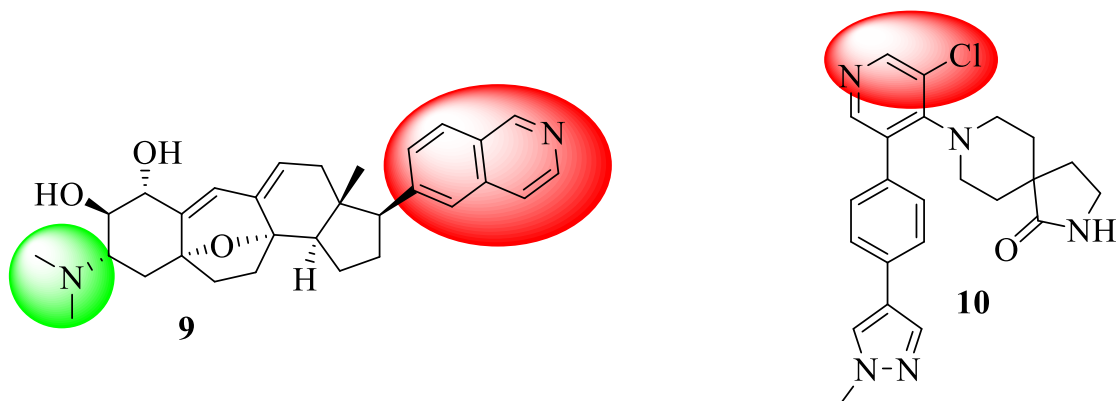
Enzym er som oftast ein spesialisert klasse av protein som har ansvar for å katalysere dei kjemiske prosessane i levande organismar.¹² Enzyrna gjer til at aktiveringsenergien for reaksjonen blir lågare. Det finst mange typar enzym i kroppen og alle har si spesielle oppgåve. Det at enzym fungerer som katalysatorar gjer til at dei er gode reguleringspunkt. Som oftast er det kroppen sjølv som regulerer prosessane, men nokre gonger treng kroppen hjelp. Då tar vi medisinar for å hjelpe til å regulere ein eller fleire prosessar i kroppen.

Det er fleire innfallsvinklar for å finne nye molekyl som kan fungere som medisinar. Ein metode er å ekstrahere naturstoff for å sjekke om dei kan verke som legemiddel.¹³ Fordelen med ei slik tilnærming er at naturen er kiral på same måte som kroppen, og derfor er det mogeleg at legemiddela kan verke betre saman med enzyrna i kroppen. Ein negativ faktor er at det kan vere tidkrevjande å få tak i eller ekstrahere verkestoffet på ein effektiv måte.¹⁴

Dersom det blir oppdaga eit naturprodukt som er biologisk aktivt, vil ein ofte prøve å lage det kjemisk for å auke tilgangen. Ei utfordring er at naturprodukta ofte er komplekse og vanskelege å framstille kjemisk. Ved å gjere forenklingar og undersøke kva som er dei viktigaste komponentane på molekylet, kan produktet bli lettare å framstille samtidig som det kan verte meir potent. For å få til dette må det nye produktet ha dei same bindingsstadane i lik avstand til kvarandre som naturproduktet. Ofte vert dette gjort ved å setje inn ringstrukturar. Ringstrukturar gir rigide sambindingar som gjer at ulike bindingar ikkje kan vri seg og endre konformasjon. Dersom konformasjonen endrar seg er det ikkje like stort sannsyn at sambindinga vil binde seg til enzymet.¹⁴

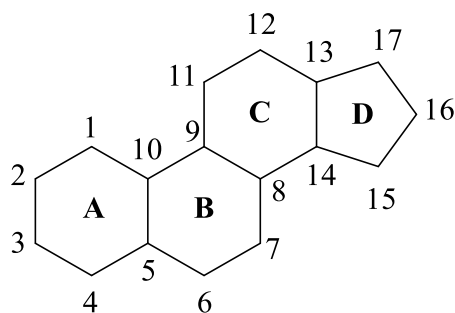
2.1 Tidlegare forskning

Syklinavhengig kinase 8 (CDK8) er eit enzym som kan vere eit mogleg angrepspunkt for kreftmedisin. Det er tidlegare forska på inhibitorar til dette enzymet, og det er mellom anna funne at Cortistatin A har både god bindingsevne og selektivitet til CDK8.^{15, 16} Det er også gjort studiar på CCT251545 som CDK8 inhibitor og også dette molekylet har vist gode eigenskapar som CDK8 inhibitor.¹⁷ Cortistatin A kjem i utgangspunktet frå ein marin svamp,¹⁸ medan CCT251545 er utvikla for å verke inn i wnt reaksjonsbane som regulerer celledeling.¹⁹ Ved å sjå på korleis desse molekyla bind seg til enzymet, er det funne at aminogruppene er dei viktigaste bindingspunktta (figur 2.1). CCT251545 har i tillegg eit kloratom som sit på ringen i *meta*-posisjon som også er med på å auke affiniteten inn i det aktive setet til enzymet.¹⁷



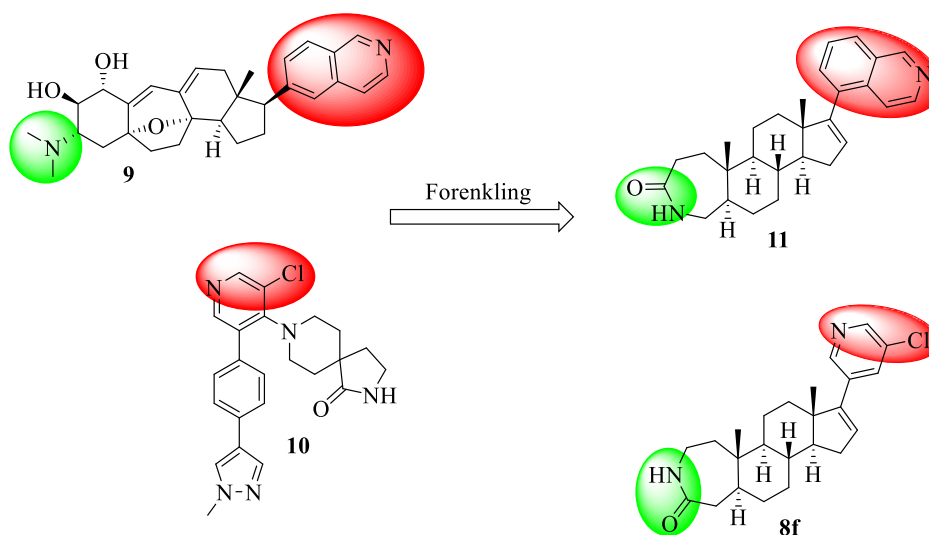
Figur 2.1: Strukturformel av Cortistatin A (**9**) og CCT251545 (**10**) med avmerking av viktige aminosubstituentar.

Når det skal finnast nye legemiddel, er ein metode å starte med ein rammestruktur. Ein type rammestruktur er steroid (figur 2.2). Eit steroid består av fire ringar, A-ring, B-ring, C-ring og D-ring. Alle ringane har to felles karbon med minst ein av dei andre ringane, og det gjer at strukturen er veldig rigid. I utgangspunktet er A, B, og C-ringen seksringar medan D-ringen er ein femring.²⁰



Figur 2.2: Generell strukturformel av eit steroid med fire ringar som er namngjeve A-, B-, C- og D-ring. Kvart karbon har si nummerering frå 1-17.

Steroid er mykje brukt i legemiddel fordi dei har vist seg å vere gode utgangspunkt for å danne molekyl med ulik biologisk aktivitet.^{21, 22} Det er også mogeleg å bytte ut eller legge til heteroatom i strukturen, slik at dei kjemiske eigenskapane til molekylet endrar seg.²³ Då kan molekyla danne bindingar på nye måtar og bruksområdet vil bli utvida. I tillegg har steroida ein kompakt og rigid struktur som gjer at dei viktige bindingspunktta står fastlåst med riktig avstand og vinkel i forhold til kvarandre. Rett konformasjon gjer til at dei alltid vil binde seg godt til ønska enzym.

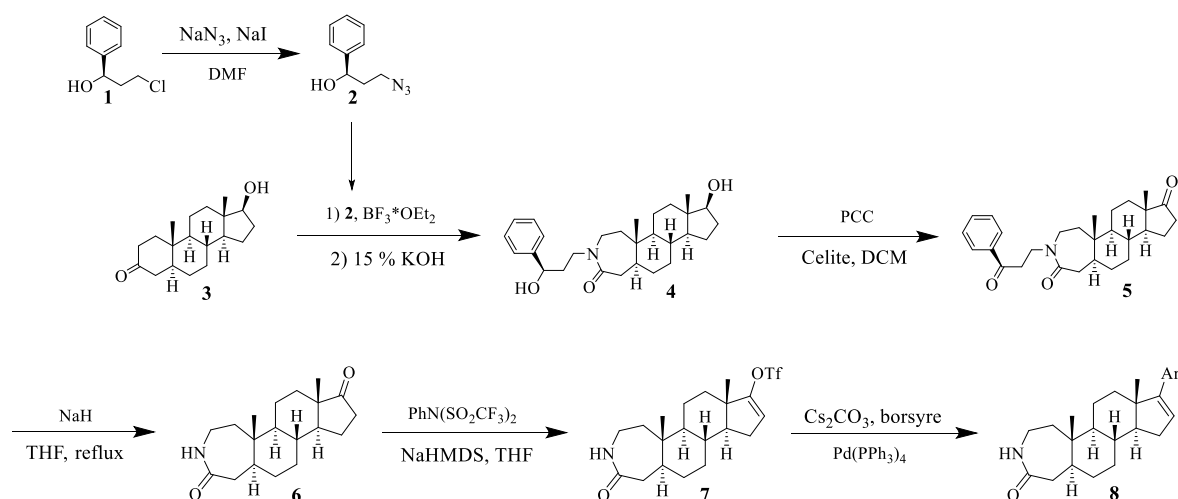


Figur 2.3: Mogelege CDK8 inhibitorar (**8f**, **11**) som er forenklingar av Cortistatin A (**9**) og CCT251545 (**10**).

Solum, Hansen, Aesoy og Herfindal har tidlegare prøvd å lage andre CDK8 inhibitorar.²⁴ Dei har slått saman Cortistatin A og CCT251545 og testa ut steroid der dei har lagt til ein aminosubstituent på A-ringen. Substituenten er lik aminosubstituenten som er farga grøn i Cortistatin A. For å danne bindingspunktet som er farga raudt, sette dei på pyridin- og isokinolinringar som substituentar på D-ringen i 17-posisjon. Nokre av substituentane har også eit kloratom bunde til seg slik som CCT254515 (figur 2.3).

Som utvikling av Solum *et al.*²⁴ sitt prosjekt er det funne andre sambindingar som det er ønska å teste ut den biologiske aktiviteten til. I desse steroida er nitrogenet inkorporert i A-ringen og den er utvida til ein sjuring i staden for ein seksring. I tillegg er det sett på eit oksygen slik at det vert eit amid. Ved å setje på endå ei hydrogenbindande gruppe, kan molekylet binde seg betre til enzymet. Substituentane i 17-posisjon er vidareført i desse nye molekyla.

2.2 Synteseveg



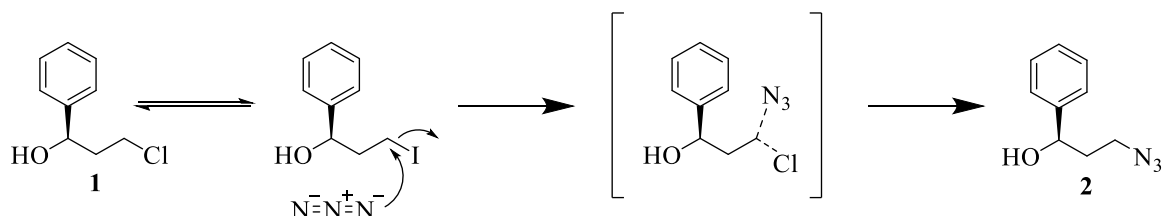
Skjema 2.1: Oversikt over ein mogeleg synteseveg av **8**

Med bakgrunn i prosjektet til Solum *et al.*²⁴ har målet med masteroppgåva vore å finne ein synteseveg for **8** med ulike substituentar i 17-posisjon (skjema 2.1). Kjemien for å gjere utvidinga av A-ringene er i hovudsak gjort kjent av Aubé. I 2018 kom det ein publikasjon får han og Charaschanya som omtalte utvidingar på mange ulike steroid.¹³ Kjemien fram til og med **6** er henta derifrå. Den resterande kjemien er godt kjent og gjort på liknande molekyl av mellom anna Solum *et al.*²⁴ I hovudsak består syntesevegen av ein $\text{S}_{\text{N}}2$ reaksjon for å danne eit hydroksyazid som vert brukt i utvidingsreaksjonen. Etter utvidinga er det gjort ei redusering og ein eliminasjon, før det vert danna eit triflat som vert brukt i ein Suzuki kryss-kopling reaksjon for å setje på substituentar i 17-posisjon. Azidet som vert brukt i utvidingsreaksjonen må vere enantiomert for at reaksjonen skal vere regioselektiv.

2.3 $\text{S}_{\text{N}}2$

For å danne det kirale hydroksyazidet som trengst i utvidingsreaksjonen, vert det brukt ein kiral alkohol med eit kloratom som utgangsstoff. Syntesen skjer ved ein $\text{S}_{\text{N}}2$ mekanisme som er ein substitusjonsreaksjon som skjer i eit trinn (skjema 2.2).²⁵ Dei komponentane som er viktige å ha ein god nukleofil og ei god utgåande gruppe. Klor fungerer som ei god utgåande gruppe, men det finst andre halogen som er betre.²⁵ Ved å tilsetje NaI saman med substratet vil det danne seg ei likevekt mellom mengde jod og mengde klor som er bunde til alkoholen. Jod er ei enda betre utgåande gruppe enn klor, så likevekta vil forskyve seg mot bunde jod. Azidet

fungerer som nukleofil og angrip karbonet som er kopla til jodatomet. Jod vert dytta ut medan azidet vert bunde. Reaksjonen gjev eit enantiomert reint produkt.²⁶



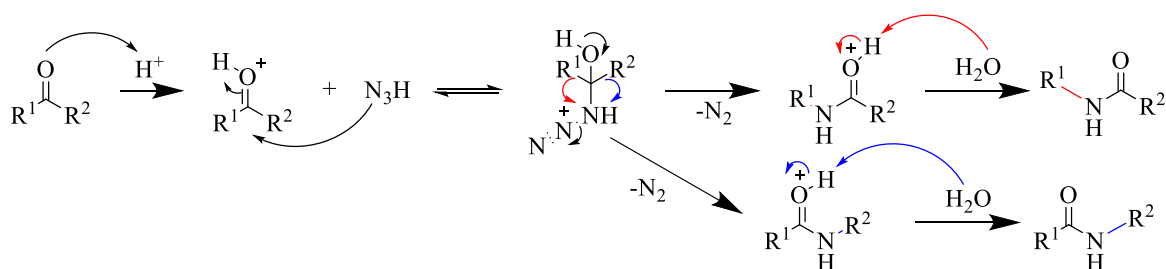
Skjema 2.2: S_N2 mekanisme for reaksjonen mellom azidet og (R)-3-klor-1-fenylpropanol (1) for å danne 2.

2.4 Stereoselektiv ringekspansjon med keton

Schmidt og Beckmann er dei to vanlegaste metodane for å omdanne eit keton eller eit aldehyd til eit amid.²⁷ Metodane kan brukast på alle alkylkjeder, også dei sykliske. Aubé, Li, Huh, Coombs og Wroblewski har tidlegare brukt ein Schmidt-reaksjon til å utvide ulike ringstrukturar.²⁸ I hovudsak har dei arbeidd med utviding av A-ringen og D-ringen på steroid. Metoden inneber at det vert lagt til eit heteroatom i steroidet, som gjer til at det får nye eigenskapar.²⁹

2.4.1 Ein generell Schmidt-reaksjon

I ein Schmidt-reaksjon vert det som regel brukt anten hydrazosyre eller eit alkylazid som reagerer med ein elektrofil^{28, 30}. Elektrofilen kan vere ulike grupper, men ofte er det ein karbonyl. For å gjere karbonylen til ein endå betre elektrofil, vert han protonert av ei syre (skjema 2.3). Azidet fungerer som nukleofil og angrip karbonylen som dannar eit intermediat. I intermediatet er bådett azidet og karbonylen, som er blitt alkohol, bunde.³¹



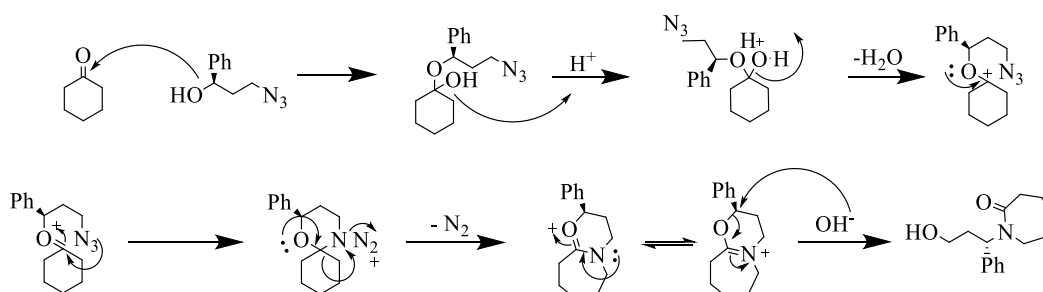
Skjema 2.3: Reaksjonsmekanismer for ein generell Schmidt-reaksjon.

Vidare skjer det ei rearrangering. Det eine elektronparet på oksygenet slår inn slik at ei av R-gruppene migrerer til nitrogenet. Kva gruppe som migrerer kan vere vanskeleg å styre, og derfor vert metoden ofte brukt på symmetriske molekyl. Med eit slikt molekyl, vil det bli danna same produkt uansett kva for ei R-gruppe som migrerer.³¹

Dersom molekylet ikkje er symmetrisk og det er viktig kva for ei R-gruppe som migrerer, finst det metodar for å styre dette.³² Ein metode er å aktivt bruke substituentar på alkylkjeda. Store substituentar kan fungere som sterisk hindring slik at det berre er mogeleg for den eine R-gruppa å migrere. For at substituenten alltid skal hindre den same R-gruppa må den vere kopla i eit sterisk senter slik at substituenten alltid vil stå i same posisjon.³³ Til sist vart det tilsett base for å deprotonere ketonet og gjere det stabilt.³¹

2.4.2 Schmidt reaksjon på ring med alkohol på substituent

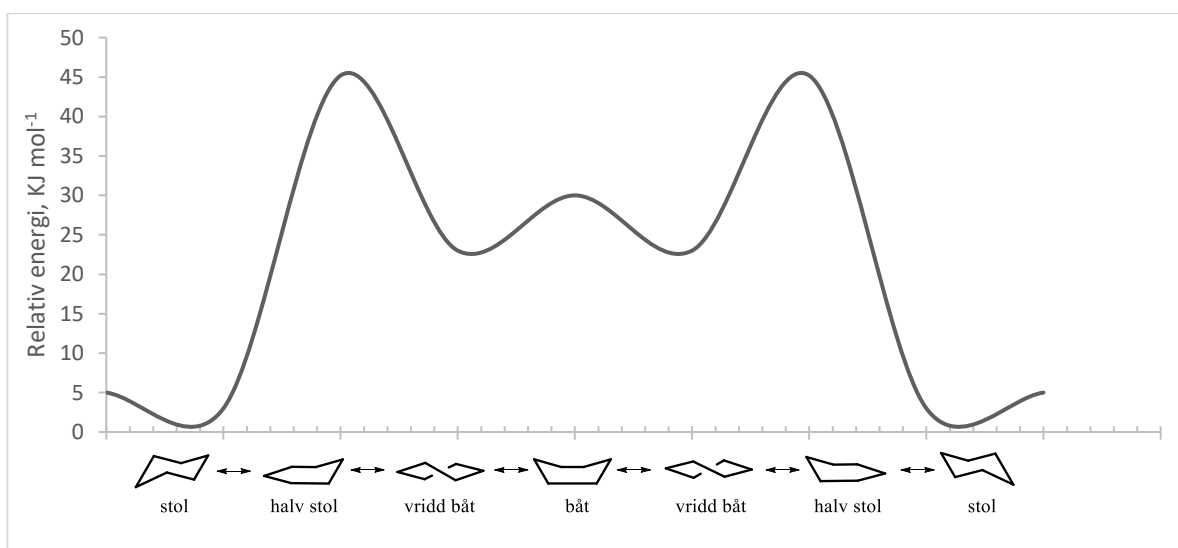
I tillegg til hydrazosyre og alkylazid kan hydroksyazid også fungere som nukleofil i ein Schmidt reaksjon.³⁴ Då vil alkoholen vere den beste nukleofilen, og derfor den gruppa som angrip ketonet først (skjema 2.4). Vidare vert det tilsett syre for å protonere alkoholen slik at vatn kan bli spalta av. Mellomproduktet er eit oksoniumion, som er eit godt angrepspunkt for azidet. Når azidet angrip karbonylen, vert det danne ein ringstruktur som er ustabil. Ei karbon-karbon bindinga blir broten og det vert danna ei karbon-nitrogen binding i staden. Det er danninga av karbon-nitrogen-bindinga som er den drivande krafta i reaksjonen. Når bindinga er danna, har ringstrukturen blitt utvida og er meir stabil. Strukturen er ein iminiumeter og ved å tilsetje base vil eterbindinga blir broten. Når eterbindinga er broten vert det danna eit laktam og substituenten er ein alkohol.^{13, 26, 35}



Skjema 2.4: Reaksjonsmekanisme for ein Schmidt type reaksjon der både alkohol og azid fungerer som nukleofil.

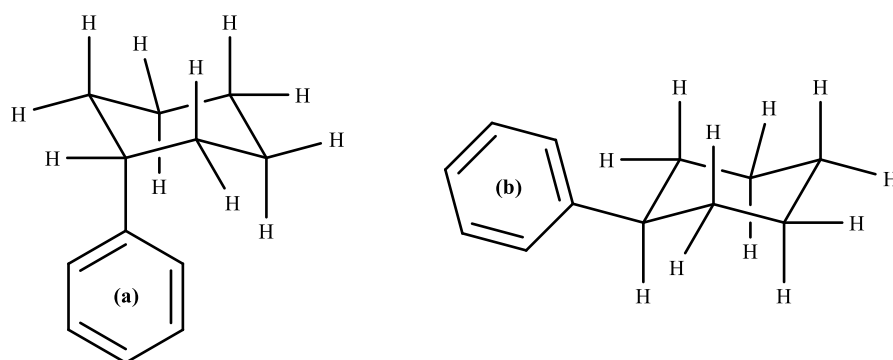
2.4.3 Regioselektiv utviding av A-ring

For å gjere Schmidt-reaksjonen regioselektiv er hydroksyazidet viktig. Det må ha styrande substituentar i eit kiralt senter slik at det tar ein bestemt konformasjon i den ustabile ringformen før migrasjonen skjer. På tidspunktet før migrasjonen er hydroksyazidet bunde til karbonylen i ein seksring. Ein seksring kan ha ulike konformasjonar, og den mest stabile er stolkonformasjon fordi den har lågast energi (figur 2.4).²⁵



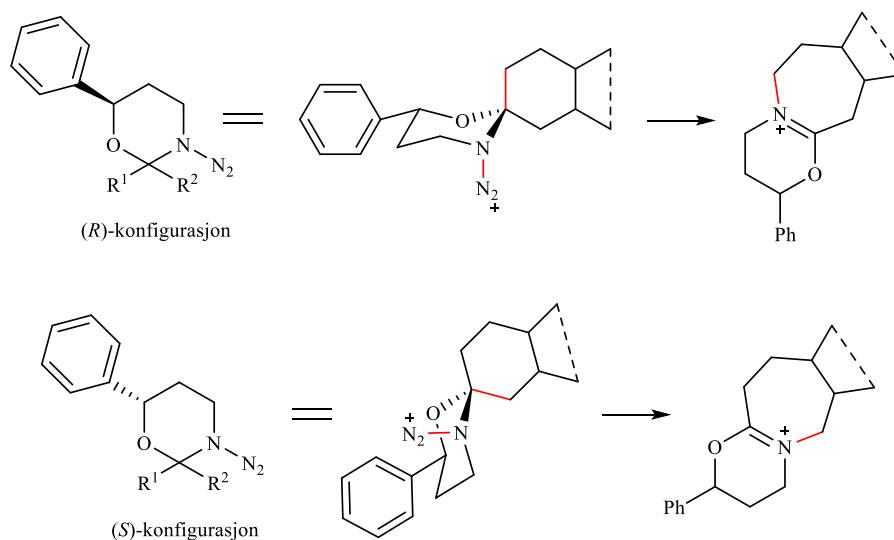
Figur 2.4: Oversikt over ulike ringkonformasjonar, og kor stabile dei er.

Når ringen er i stolkonformasjon vil substituentane stå anten aksialt eller ekvatorialt ut frå ringen (figur 2.5). Ringen er mest stabil når store substituentar står ekvatorialt. For å få til det, kan ringen snu seg. Då vil at alle substituentane som i utgangspunktet står ekvatorialt bytte til å stå aksialt, og omvendt.²⁵



Figur 2.5: (a) Sykloheksan med ein fenylsubstituent i aksial posisjon. (b) Sykloheksan med ein fenylsubstituent i ekvatorial posisjon.

For å gjere utvidingsreaksjonen regioselektiv er det ein fenylsubstituent på azidet som vil fungere som sterisk hindring.¹³ Dersom azidet har (*R*)-konfigurasjon i det steriske senteret, vil substiuenten alltid hindre den eine R-gruppa å migrere. På same måte vil eit azid med (*S*)-konfigurasjon i det kirale senteret, hindre migrasjon frå den andre R-gruppa. Kvar av dei to azida vil legge seg i sin stabile konformasjonen kvar gong. Sidan dei alltid dannar den same konformasjonen, betyr det at dei vil danne det same produkt kvar gong (skjema 2.5).

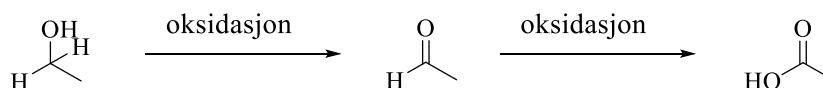


Skjema 2.5: Øverste reaksjon viser regioselektiv ekspansjon dersom azidet har (*R*)-konfigurasjon. Nederste reaksjon viser regioselektiv ekspansjon dersom azidet har (*S*)-konfigurasjon.

2.5 Oksidasjon med PCC

Ein oksidasjon er ein reaksjon som aukar oksidasjonstalet til eit atom i eit molekyl eller eit ion. I organisk kjemi skjer dette ofte ved at det blir fleire bindingar til oksygen og færre til hydrogen²⁵. Samtidig som det skjer ein oksidasjon vil det også skje ein reduksjon ein annan stad, anten ein annan stad på molekylet eller ionet eller på eit anna molekyl som er med i reaksjonen. Det molekylet som blir redusert og som får oksidasjonen til å skje, vert kalla ein oksidant.

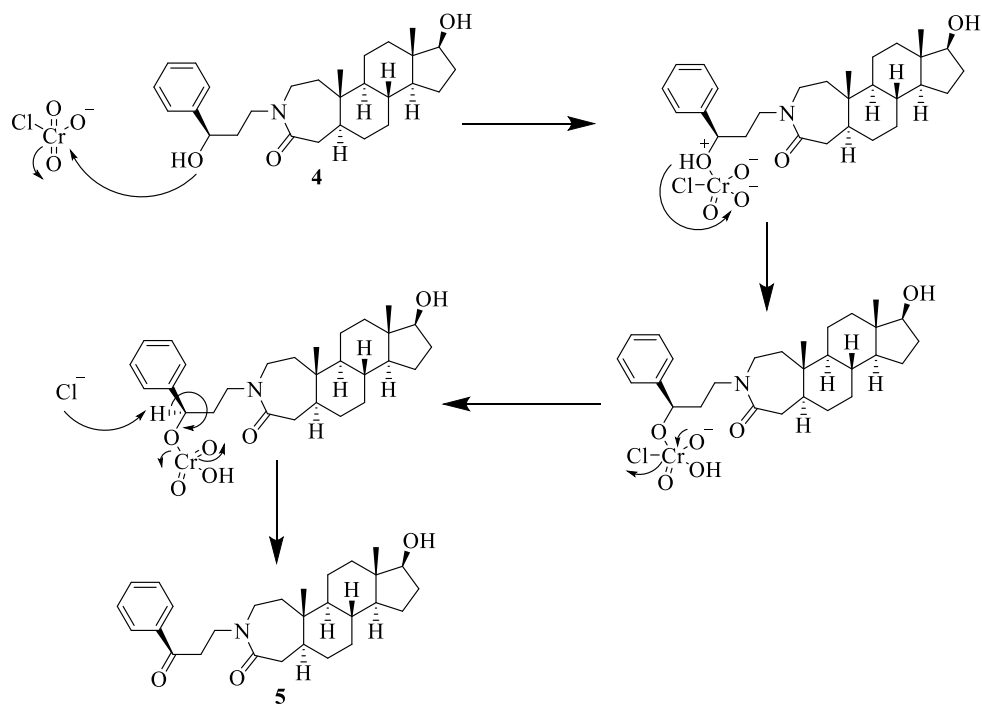
For å få det ønska produktet, er det viktig å velje rett oksidant til føremålet. Nokre oksidantar kan oksidere primære alkoholar til syrer, medan andre stoppar ved aldehyd (skjema 2.6). Andre oksidantar kan oksidere alken til anten alkohol eller epoksid.²⁵



Skjema 2.6: Oksidasjon av primær alkohol. Først blir alkoholen oksidert til aldehyd før den vidare blir oksidert til ei karboksylsyre.

Pyridinium klorokromat (PCC) er ein oksidant som vart utvikla på 70-talet av Corey.³⁶ Fordelar med å bruke denne oksidanten er at den er stabil, kan oksidere ulike alkoholsambindingar og at reaksjonane kan skje under milde forhold.³⁷ Eit anna stort pluss er at PCC svært sjeldan overoksidierer alkoholar til syrer. Faren for overoksidering er så liten, at det kan bli brukt PCC i stort overskot utan at det er fare for at det vert danna karboksylsyre.

Alkoholen fungere som nukleofil og angriper krom slik at ei av oksygen-krom bindingane blir slått ut og det skjer ei protonoverføring (skjema 2.7). Elektronparet på oksygenet slår inn igjen og sender den utgåande gruppa ut. I figuren er den utgåande gruppa klor. Kloridionet fungerer som nukleofil mot hydrogenet i α -posisjon og tar det med seg. Bindinga slår inn og dannar ei dobbelbinding til oksygenet slik at det vert danna eit keton og kromaten vert slått ut. Alkoholen i 17-posisjon vil gå gjennom same oksidasjonsmekanisme slik at det også vert danna eit ketoni den posisjonen.

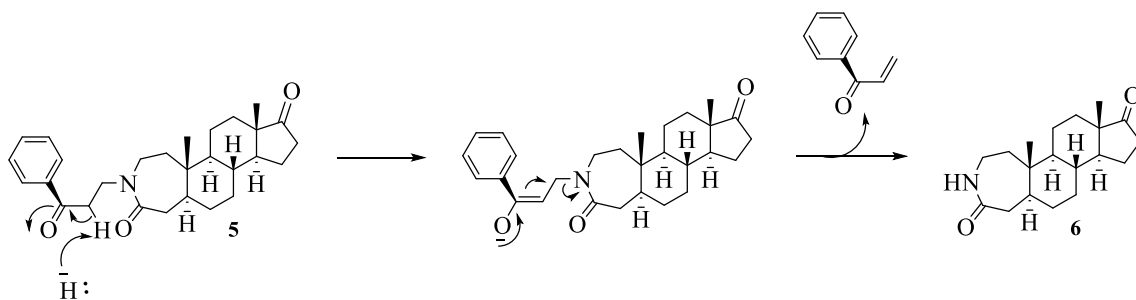


Skjema 2.7: Reaksjonsmekanisme for oksidasjon av sekundær alkohol (**4**) med bruk av PCC som gjev **5** som produkt.³⁶

2.6 β -eliminering med hydridion (NaH)

β -eliminering er ein mogeleg metode for å delalkylere amidet. For å få til elimineringa må det tilsetjast ein sterk base som kan spalte av eit hydrogen. Eit døme på ein slik sterk base er NaH som i løysing vil danne Na^+ ion og H^- ion. I tillegg til base må det vere ei stabiliserande gruppe som kan stabilisere den negative ladninga som vert danna når hydrogenet vert spalta av. Karbonylgrupper fungerer god som stabiliserande gruppe for negative ladningar.

Hydridionet fungerer som nukleofil og angrip hydrogenatomet som står β til nitrogenatomet (skjema 2.8).³⁸ Bindinga slår inn og danner ei negativ ladning. Ladninga er stabilisert av resonansstruktur med ketonet ved at den negative ladninga vandrar til oksygenet. Den negative ladninga slår så inn igjen, og bindinga mellom nitrogen og karbon vert broten. Produktet er **6** saman med 1-fenylprop-2-en-1-on som biprodukt.



Skjema 2.8: β -eliminasjon med hydridion for å dealkylere amid frå 5 til 6.

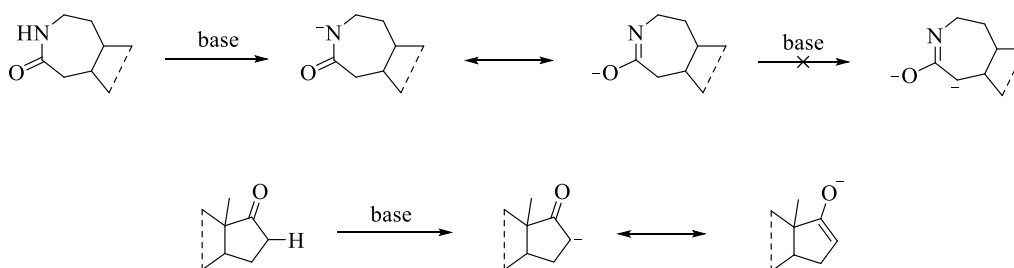
2.7 Danning av triflat

Triflat vert også kalla psaudohalid og er ei veldig god utgåande gruppe og med eit stort spekter av bruksområde i organisk kjemi.³⁹⁻⁴¹ Trifleringsreagenset har fleire oksygenatom som er gode på å stabilisere negative ladningar og det er desse atoma som i stor grad er grunnen til at triflat fungerer som ei veldig god utgåande gruppe.⁴² Ved å danne eit triflat vil det i neste trinn bli enklare å danne nye karbon-karbonbindingar

For å få danna triflatet trengst det eit trifleringsreagens og ein god nukleofil. På steroidet er det to stader det kan dannast ein nukleofil som er god nok. Den eine staden er ketonet i 17-posisjon og den andre er amidet.

2.7.1 Syrestyrke

For å danne nukleofilen må det skje ei deprotonering. Det hydrogenet som er svakast bunde til resten av molekylet, blir først spalta av.³¹ Vidare vil det nest svakast bunde hydrogenet blir spalta av og så vidare. Hydrogenet som er svakast bunde er også det hydrogenatomet som er mest surt. Det kjem av at atom i nærleiken av hydrogenet trekkjer på elektrona i bindinga og svekker bindinga og gjer til at hydrogenet blir meir likt eit H^+ ion. Grupper som inneheld slike elektrontiltrekkande atom kan til dømes vere amid og karbonyl. Dersom det er elektrondonerande grupper eller negative ladningar i nærleiken av eit hydrogen vil elektrona bli dytta mot hydrogenatomet, bindinga vil bli sterkare og atomet mindre surt (skjema 2.9).

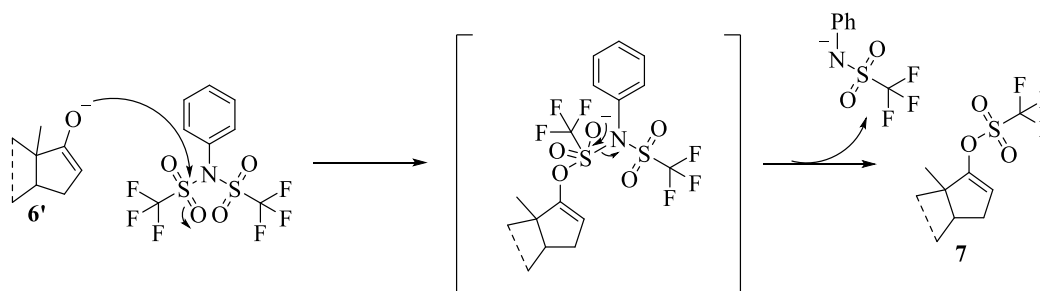


Skjema 2.9: Øverst visast det ei deprotonering av amid på A-ringen på steroidet. Etter den deprotoneringa skal det svært mykje til for at α -hydrogenet til amidet skal bli deprotonert. Nederst visast deprotonering av α -hydrogenet til ketonet på D-ringen.

Det suraste hydrogenet på steroidet er det som sit på amidet. Både nitrogenet og oksygenet er elektrontiltrekkande og vil kunne stabilisere den negative ladninga som vert danna. Når hydrogenet er spalta av, vil den negative ladninga gjere til at hydrogena i nærleiken blir mindre sure. Eit hydrogen som kunne vore surt er α -hydrogenet til amidet, men på grunn av ladninga er det lite surt. Hydrogenet som står α til ketonet vil då vere det suraste hydrogenet. Karbonylen vil trekke på elektrona slik at det er enkelt å spalte av hydrogenet. Dersom det er meir enn to ekvivalentar med syre til stades, vil hydrogen på andre delar av steroidet bli spalta av. Når hydrogenet som står α til ketonet er spalta av, er det blitt danna eit enolat som nukleofil.⁴³

2.8 Triflering

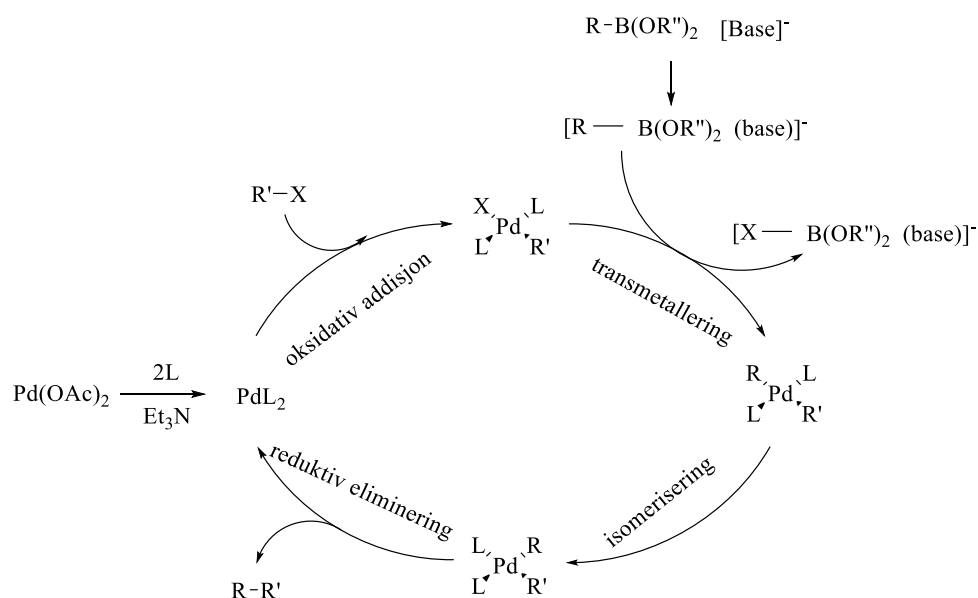
Enolatet angrip svovelatomet og skyv ut eine bindinga til eit av oksygenatoma (skjema 2.10). Når binding slår inn igjen, skyv den ut svovel–nitrogen-bindinga. Molekylet med nitrogen forlet reaksjonen og triflatet er danna på steroidet.⁴⁴



Skjema 2.10: Mekanisme av danning av triflatet (7) frå enolatet (6') av 6

2.9 Suzuki kryss-kopling

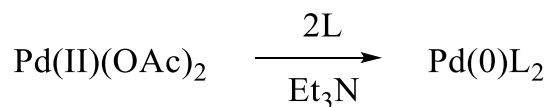
Ein vanleg metode for å danna karbon–karbon binding er Suzuki kryss-kopling. Då vert innskotsmetallet palladium (Pd) brukt som katalysator og det skjer ei krysskopling med ei borsyre som substituent. Det trengs ei god utgåande gruppe for at Pd skal kunne reagere med steroidet. Som presentert i førre del er triflat ei god utgåande gruppe. Suzuki kryss-kopling er ein syklisk prosess der Pd blir regenerert (skjema 2.11). Det gjer til at det ikkje er behov for å bruke mykje Pd.^{45, 46}



Skjema 2.11: Ein generell Suzuki kryss-kopling mekanisme.

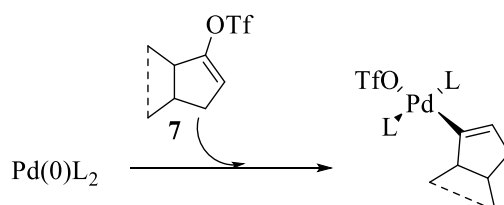
2.9.1 Den sykliske prosessen

Det første som skjer er ei aktivering av Pd (skjema 2.12). Pd vert redusert frå Pd(II) til Pd(0) ved at det vert satt på to ligandar. Etter dette førebauande trinnet er det fire trinn i sjølve syklusen.



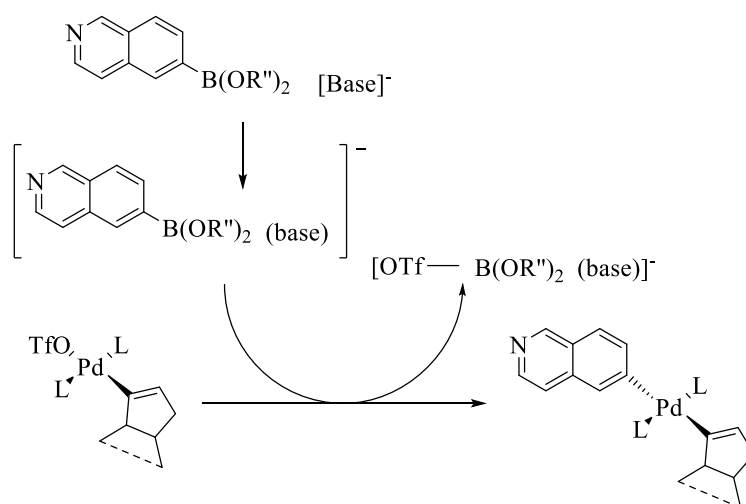
Skjema 2.12: Paladium (Pd), som fungere som katalysator, blir redusert frå oksidasjonstal II til 0.

Første trinn er ein oksidativ addisjon (skjema 2.13). Pd-komplekset reagerer med triflatet og blir ståande mellom steroidet og triflatet.⁴⁷ Konfigurasjonen til dei to ligandane, steroidet og triflatet vil vere lik kvar gong. Dei to ligandane vil stå trans i forhold til kvarandre og det same vil steroidet og triflatet.



Skjema 2.13: Oksidativ addisjon der Pd komplekset regarer med triflatet (7).

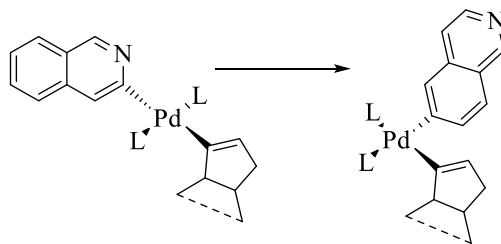
Trinn to er ei transmetallering (skjema 2.14). Det første som skjer er at ein base aktiverer borsyra. Den negative ladninga er ein god måte å auke dei nukleofile eigenskapane til boratomet på.⁴⁸ Borsyre/base komplekset reagerer så med Pd-komplekset. Når arylgruppa på borsyra skiftar plass med triflatet, skjer det ei transmetallering.⁴⁹ Produktet etter denne delen av reaksjonen er Pd-kompleks med to R-grupper og to ligandar.



Skjema 2.14: Basen aktiverer borsyra og det skjer ei transmetallering.

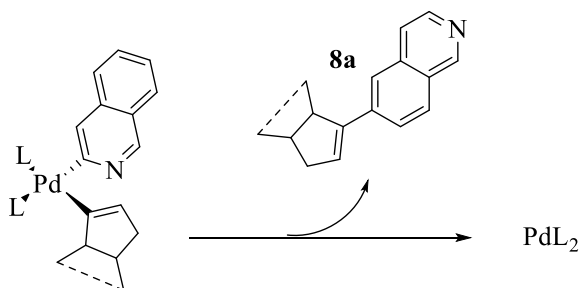
Trinn tre er ei isomerisering (skjema 2.15). Frå før står dei to R-gruppene trans i forhold til kvarandre. Ved ei isomerisering vert konfigurasjonen endra slik at dei står cis i forhold til

kvarandre. Når dei står cis i forhold til kvarandre, er dei nære nok til at dei i neste trinn kan reagere med kvarandre.



Skjema 2.15: Det skjer ei isomerisering slik at dei to alkena som skal bli produktet har rett posisjon i forhold til kvarandre.

Siste trinnet i syklusen er ei reduktiv eliminering der dei to R-gruppene bind seg til kvarandre i staden for til Pd (skjema 2.16). Det vert danna ei ny karbon–karbon binding og produktet som no ikkje er bunde til Pd, går ut av syklusen. Pd er regenerert slik at det kan ta ein ny runde i syklusen og danne fleire produktmolekyl.



Skjema 2.16: Reduktiv eliminering der Pd blir redusert og det vart danna ei karbon-karbon binding. Produktet (**8a**) forlet syklusen og Pd komplekset blir regenerert.

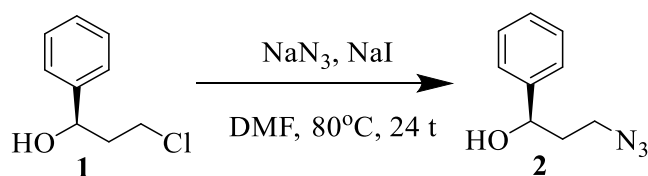
3 Resultat og diskusjon

3.1 Organisk syntese

Denne delen viser og diskuterer korleis syntesevegen frå utgangsstoff (**1**) til produkta (**8a-e**) gjekk. Mellom anna vil utbytte, reaksjonstid og mengde av ulike reagensar bli diskutert.

3.1.1 Substitusjon av klor til azid

Produktet etter at (*R*)-3-klor-1-fenylpropanol (**1**) reagerte i ein S_N2 reaksjonen til (*R*)-3-azid-1-fenylpropanol (**2**) var ei tyntflytande olje (skjema 3.1). Utbyttet var på 66 % og R_f = 0,45 i 15 % EtOAc/pentan. Produktet vart ikkje reinsa på kolonne, då analyser viste reint stoff.



Skjema 3.1: Syntese av **2** frå (*R*)-3-klor-1-fenylpropanol (**1**).

Prosedyren som vart brukt her er den Aubé og Charaschanya tidlegare har brukt på (*S*)-3-klor-1-fenylpropanol.¹³ Den reaksjonen gav eit utbytte på 89 %. Aubé *et al.*²⁶ har også gjort denne kjemien med (*R*)-3-klor-1-fenylpropanol, men då med ein litt annleis framgangsmåte.²⁶ I den siste metoden vart det brukt 25 °C og reaksjonstid på 18 t i staden for 80 °C og reaksjonstid på 24 t. Denne metoden gav 99 % utbytte. Ut i frå dette burde metoden med lågare varme og kortare reaksjonstid vore prøvd i denne syntesen.

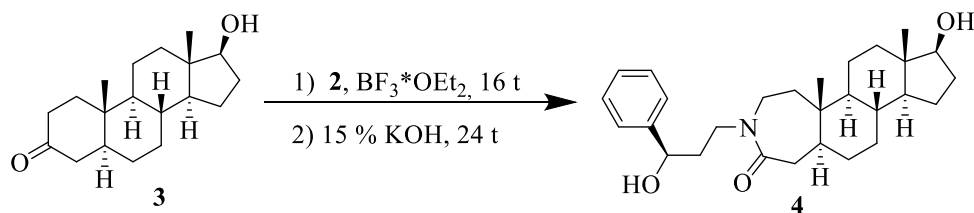
Høgare reaksjonstemperatur kan føre til at biprodukt med høgare aktiveringsenergi kan bli danna. Utbyttet ved denne prosedyren var mykje dårlegare enn det Aubé *et al.*²⁶ hadde tidlegare, så det kan tyde på at det er noko av utgangsstoffet som ikkje har reagert slik som ønska. Med bakgrunn i at produktet vart reint utan reinsing på kolonne, tydar det på at biprodukta var vassløyselege.

Tilsetjing av jod skal gjere til at reaksjonen går fortare og betre. Jod er ei betre utgåande gruppe enn klor. Når jod blir tilsett, blir det innstilt ei likevekt mellom molekyla med klor og molekyla med jod. Sidan jod er den beste utgåande gruppa vil azidet, som fungerer som nukleofil, angripe dei molekyla med jod først og det blir frigitt I⁺. Då vil mengda fritt jod auke og likevekta må

stille seg inn på nytt. Forholdet mellom bunde og fritt jod skal vere den same heile tida, så likevekta vil alltid gå mot meir bunde jod og mindre bunde klor når azidet reagerer.

3.1.2 Utviding av ring

Utvidinga av A-ringens frå seksring til sjuring gav eit gult pulver som råprodukt (skjema 3.2).



Skjema 3.2: Syntese av **4** der utgangssteroidet (**3**) reagerer med hydroksyazid (**2**).

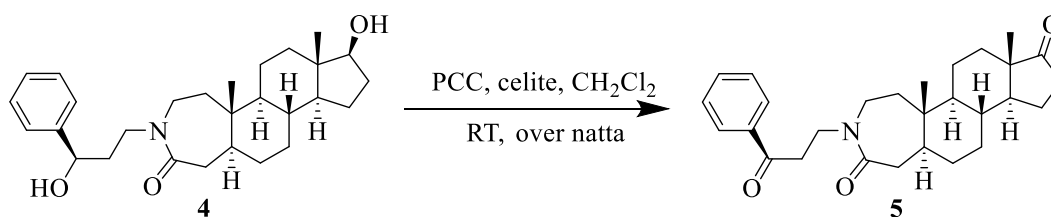
Reaksjonen vart i hovudsak gjort med eit forhold mellom **2** og **3** på 2:1 som er det same som Aubé og Charaschanya rapporterte i sin artikkel.¹³ Reaksjonen var fullstendig og produktet vart danna i eit utbytte på 95 % i høve til utgangssteroidet. Det vart også prøvd å gjere reaksjonen med eit forhold på 1:1 mellom **2** og **3**. Reaksjonen gav eit utbytte på 74 % i høve til utgangssteroidet, men den var ikkje fullstendig. Ved å sjå på utbytta i høve til hydroksyazidet (**2**) gjekk utbytte frå 48 % og opp til 74 % ved å endre forholdet til 1:1 (tabell 3.1).

Tabell 3.1: Oversikt over utbytta i to reaksjonane der det vart danna **4** med utgangspunkt i ulikt forhold mellom utgangssteroidet (**3**) og hydroksyazid (**2**).

3, [ekv.]	2, [ekv.]	Utbytte ift. steroidet, [%]	Utbytte ift. azid, [%]
1	2	95	48
1	1	74	74

3.1.3 Oksidering av alkoholar

Skjema 3.3 viser utgangspunktet for syntesen som vart gjort for å danne **4**. Som vist i tabell 3.2 vart det prøvd ut ulike mengder PCC og celite i tillegg til ulike reaksjonstider.



Skjema 3.3: Syntese av **5** der diolsteroidet (**4**) vart oksidert ved hjelp av PCC.

Denne reaksjonen er tidlegare rapportert med eit utbytte på 68 %. Med same prosedyre som Aubé og Charaschanya var det beste utbyttet på 46 %.¹³ Dette er eit lågt utbytte, og reaksjonen vart forsøkt optimalisert. I reaksjon 2 vart mengda PCC auka til 4 ekv. slik at det skulle vere i endå større overskot. PCC overoksidarar sjeldan, så risikoen for overoksidering frå keton til karboksylsyre er liten sjølv med mykje PCC til stades. I tillegg vart reaksjonen gjort utan celite oppi reaksjonsblandinga. Celite deltek ikkje aktivt i reaksjonen, men bind PCC slik at blandinga skal bli enklare å reinse. Her kunne det skje av celite batt PCC før den fekk reagere og derfor gjorde at det var for lite PCC tilgjengeleg. Desse endringane auka utbyttet til 49 %, som framleis er mykje lågare enn 68 %.

I reaksjon 3 vart mengda PCC auka til 6 ekv og celite vart igjen tilsett oppi reaksjonsblandinga. I tillegg vart reaksjonstida endra. I staden for å la den stå over natta, vart reaksjonen sjekka med TLC kvar time. Etter 5 timar var reaksjonen fullstending og det var ikkje meir utgangsstoff igjen. Reaksjonen vart avslutta og reinsa på kolonne. Utbyttet vart bestemt til å vere 50 %.

I reaksjon 4 vart reaksjonen testa med meir tilsett celite i reaksjonsblandinga. Reaksjonen fekk stå i 5 t og så reinsa. Utbyttet vart på 64 %, som er ganske mykje mindre enn det Aubé og Charaschanya rapporterte.¹³ Dette kan tyde på at sjølv om ikkje celite skal reagere for å danna produkt, er den viktig for reaksjonen.

Tabell 3.2.: Optimalisering av oksidasjonsreaksjonen der mengda celite tilsett i reaksjonen og reaksjonstida varierte.

Reaksjons nr.	Steroidet, [ekv.]	Celite, [spatelspissar]	PCC, [ekv.]	Tid, [t]	Utbytte, [%]
1	1	1	3	Over natt	46
2	1	0	4	Over natt	49
3	1	1	6	5	50
4	1	1 pr 0,1 g steroid	6	5	64

PCC løyser seg ikkje opp i noko løysingsmiddel og er derfor ikkje mogeleg å vaske vekk. For å få skilt PCC frå produktet vart det tilsett noko celite i reaksjonsblandinga før reaksjonen starta. Denne celiten batt mykje PCC og var lett å filtrere ut og skilje frå produktet. Den mengda PCC som ikkje batt seg til celiten i reaksjonsblandinga vart forsøkt filtrert vekk gjennom celite. Noko PCC vart skilt ut på denne måten, men framleis var det noko igjen saman med produktet. Råproduktet var derfor ei brun olje.

Råproduktet vart reinsa på flashkolonne. TLC 25 % EtOAc/pentan gav produktet ein $R_f = 0,23$ medan PCC har $R_f = 0$. Derfor vart det på første kolonne brukt 12 cm silika og nitrogentrykk. Sjølv om PCC skulle ha ein $R_f = 0$, kom det noko PCC gjennom kolonnen og gav produktet (**5**) ein lysebrun farge (tabell 3.3). Sjølv om produktet var lysebrunt, viste ikkje PCC på $^1\text{H NMR}$.

For å prøve å få vekk den lysebrune fargen, vart det gjort nokre endringar på reinsinga. Første endring var at mengda silika vart auka til 20 cm. Sidan det var eit vesentleg skilje mellom R_f til **5** og R_f til PCC, ville meir silika gje større skilnad på tida PCC og produktet brukte på å vandre gjennom kolonnen. Sjølv med denne endringa fekk produktet framleis ein lysebrun farge. Neste endring som vart gjort, var å utelate nitrogentrykket. I dei tidlegare kolonnen såg det ut som nitrogentrykket pressa PCC gjennom kolonnen. Med denne metoden vart all PCC verande igjen i kolonnen, og produktet vart eit perlemorskvitt pulver.

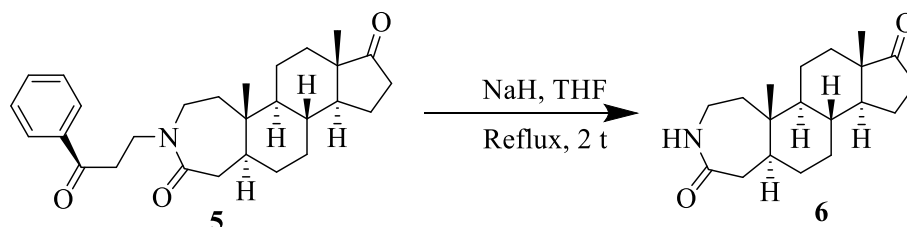
Tabell 3.3: oversikt over korleis reinsinga på kolonne vart gjennomført og korleis produktet såg ut i etterkant.

Lengde på kolonne, [cm]	Nitrogentrykk	Produkt
12	Ja	Lys brun pulver
20	Ja	Lys brun pulver
20	Nei	Kvit pulver

Ein annan mogelegheit kunne vore å endre forholdet mellom EtOAc og pentan slik at R_f til produktet hadde blitt høgare. I råproduktet var det ei ureing til stades som hadde svært høg R_f . Ved å først filtrere ut denne ureininga med 15 % EtOAc/pentan og så auke polariteten til eluenten for å auke R_f til produktet kunne produktet vandra så fort i kolonnen at PCC ikkje rakk å bli pressa gjennom.

3.1.4 Spalting av karbon – nitrogen binding

Skjema 3.4 viser syntesen av **6** med **5** som utgangsstoff. Råproduktet var eit gult pulver.



Skjema 3.4: Syntese av **6** der substituenten på dionsteroidet (**5**) vart fjerna ved bryting av nitrogen-karbon binding.

Produktet har eit fritt hydrogen på amidet som kan danne sterke hydrogenbindingar med silikaen. Dette gjorde at det var utfordrande å få reinsa produktet gjennom kolonnen. I starten var det brukt ein kolonne med 12 cm silika og råproduktet vart applisert i eit absorbat av silika (tabell 3.4). Denne metoden gjorde til at mykje produkt sat igjen på silikaen og utbyttet var på 25 %.

For å få meir av produktet gjennom kolonnen, vart mengda silika minka til 5 cm. Appliseringa vart også endra frå tørr applisering av absorbat i silika til at råproduktet vart løyst i eluenten og applisert. Utbyttet auka då til 37 %.

Tabell 3.4.: Oversikt over korleis reinsing flash-kolonne og mengde base vart variert for å auke utbyttet.

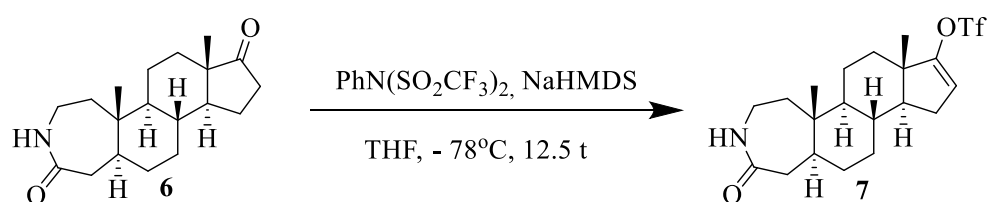
Lengde på kolonne, [cm]	Mengde NaH, [ekv.]	Applisering	Utbytte, [%]
12	3	Tørr i silika	25
5	3	Løyst i eluent	37
5	4,8	Løyst i eluent	97

37 % er eit lågt utbytte når det tidlegare er rapportert 74 %.¹³ For å prøve å forbetre reaksjonen vart mengda NaH auka frå 3 ekv. til 4.8 ekv. Denne endringa gav ei stor forbetring då utbyttet vart bestemt til 97 %. Ei slik forbetring kan tyde på at det var for lite H⁻ til stades i dei første reaksjonane. Sidan det var noko utbytte ved bruk av 3 ekv. og det vart stor forbetring når

mengda NaH vart auka, kan det tyde på at α -hydrogenet til alkoholen og fenylingen var det tredje mest sure hydrogenet på molekylet. Hydrogenet α til 17-posisjon og α til karbonylen i amidet kan vere surare sidan oksygena trekker på elektrona.

3.1.5 Danning av triflatet

Skjema 3.5 viser syntesen som vart brukt for å danne triflatet (7). Produktet var eit perlemorskvitt pulver.



Skjema 3.5: Syntesen av triflatsteroidet (7) fra dionsteroidet (6) med $\text{PhN}(\text{SO}_2\text{CF}_3)_2$, NaHMDS ved -78°C .

Solum *et al.*²⁴ har triflert steroid med denne metoden og fått eit utbytte på 85 %.²⁴ Det steroidet hadde ein seksring som A-ring med eit amin som substituent. I reaksjonen med 6 der A-ringen på steroidet er ein sjuring, vart det beste utbyttet bestemt til å vere 24 %.

Reaksjon 1 gav ikkje utbytte i det heile (tabell 3.5). Ein av grunnane til det kan vere at det vart tilsett for lite NaHMDS (base). Hydrogenet på amidet er surare enn det i α -posisjon til karbonylen. Når det vart tilsett 2 ekv., var ikkje basen i overskot. $\text{PhN}(\text{SO}_2\text{CF}_3)_2$ vart heller ikkje tilsett i overskot i denne reaksjonen. Til reaksjon 2 vart både mengda av basen, mengda av $\text{PhN}(\text{SO}_2\text{CF}_3)_2$ og reaksjonstida auka. Desse endringane til saman gav eit utbytte på 15 %, som også er lågt. I dei neste reaksjonane (3-6) var det berre reaksjonstida som vart prøvd å optimalisert. Det beste utbyttet, 26 %, kom ved ei reaksjonstid på 12,5 t.

Sjølv om 26 % er mykje meir enn 15 % er det mykje mindre enn 85 %. For å prøve å optimalisere reaksjonen ytterlegare, vart det gjort endringar i mengde base. Tanken var at meir base også kunne minke reaksjonstida noko. Det vart testa med både 4 og 5 ekv. base og med litt ulik reaksjonstid, men ingen av endringane gav betre utbytte.

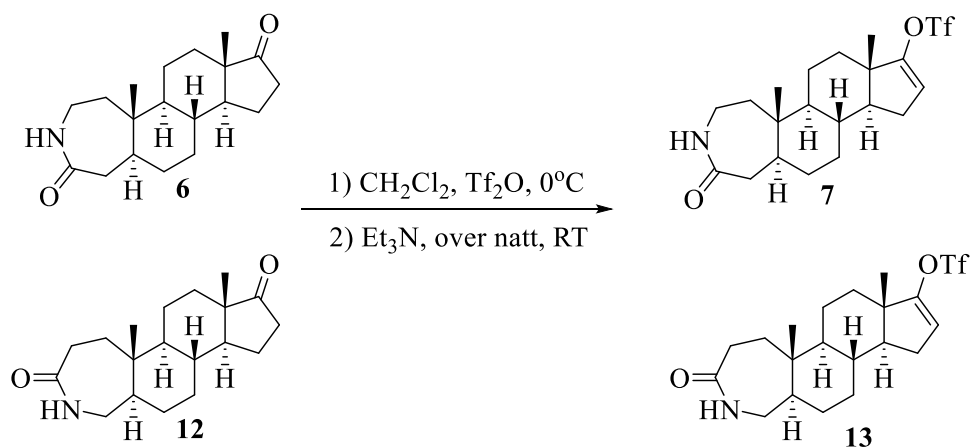
Tabell 3.5: Oversikt over korleis mengde base, mengde trifleringsreagens og reaksjonstid varierte for dei ulike trifleringsreaksjonaene.

Reaksjonsnr.	Base, [ekv.]	Trifleringsreagens, [ekv.]	Tid, [t]	Utbytte, [%]
1	2	1	11	-
2	3,5	1,5	19,5	16
3	3,5	1,5	13	20
4	3,5	1,5	12	20
5	3,5	1,5	16	15
6	3,5	1,5	12,5	26
7	4	1,5	11	16
8	5	1,5	7,5	15

Reaksjonen vart kontrollert gjennom heile reaksjonstida med TLC kvar time og kvar kom det to utslag. Det eine utslaget hadde ein $R_f = 0,14$ i 2 % MeOH/CH₂Cl₂ som svarar til utgangsstoffet. Det andre utslaget hadde ein $R_f = 0,23$ i same eluent. Det vart antatt at dette utslaget var produktet. Sidan utgangsstoffet var til stades gjennom heilt reaksjonen, var den ikkje fullstendig. Det kan tenkjast at reaksjonstida burde bli auka, men ut i frå reaksjon 2 og 6 ser det ikkje ut som om det hjelper. For å forbetre reaksjonen er det mogeleg å heller endre andre parameter enn reaksjonstida, som for eksempel mengde bade eller trifleringsreagens.

Solum *et al.*²⁴ har i sine reaksjonar brukt KHMDS som base, og ikkje NaHMDS som er brukt i dette prosjektet. Sidan deira utbytte var betre enn det som er rapportert her, kan endring av base vere ein måte å optimalisere reaksjonen på. I tillegg til KHMDS er det mogeleg å teste ut LiHMDS. Li⁺ ionet koordinerer veldig godt til oksygen og kan gjere mellomproduktet meir stabilt slik at det vert danna meir produkt.³¹

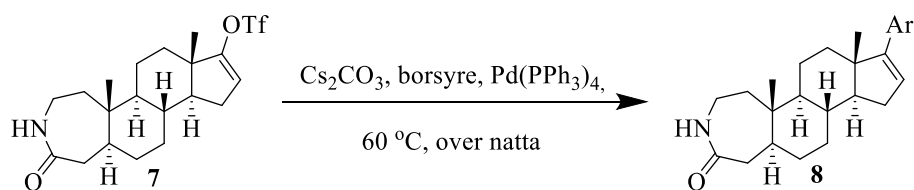
Ye, Chu og Wang har danna triflat ut i frå steroid med amid på både seksring og sjuring som A-ring på steroidet med ei anna syntese enn den som er beskrive her (skjema 3.6).⁵⁰ Dei har rapportert eit utbytte på 61 % for seksringen. For sjuringen har dei rapportert eit mykje lågare utbytte; 15 %. Solum *et al.*²⁴ har tidlegare gjort triflering på steroid med seksring som A-ring, då med amin som substituent, med utbytte over 60 %. Syntesen for steroid med sjuring som A-ring er i denne oppgåva gjort med eit utbytte på 26 %. Samanliknar ein resultatet i denne oppgåva og Solum sine steroid med arbeidet til Ye *et la.*⁵⁰ kan det tyde på at det er vanskelegare å danne triflat på sjuringa steroid enn på seksringa steroid.



Skjema 3.6: Syntesen Ye *et al.*⁵⁰ har brukt for å danne **7** og **13** fra **6** og **12**.

3.1.6 Suzuki

Det vart gjort fem suzukireaksjonar med ulike borsyrer. Den generelle framgangsmåten som var utgangspunktet, er vist i skjema 3.7.



Skjema 3.7: Generell Suzuki kryss-koplings reaksjon for å sette på ei arylgruppe i 17-posisjon for å danne **8 a-e**

Sjølv om kvar suzukireaksjon vart gjort med ulik borsyre, vart dei første reaksjonane brukt til å optimalisere dei seinare reaksjonane. Borsyrene som vart brukt var ganske like samtidig som steroidet som vart brukt var det same.

Tabell 3.6: Oversikt over mengde reagensar, reaksjonstid og utbytte på dei ulike suzukireaksjonane samt utbytte

Reaksjonsnr.	Borsyre	Borsyremengde, [ekv.]	Cs ₂ CO ₃ , [ekv.]	THF:vatn	Reaksjonstid, [t]	Utbytte, [%]
1	7-isokinolin	1,5	2	1:1	21	15
2	6-isokinolin	1,7	4	7:3	21	57
3	5-isokinolin	2,0	4	7:3	3	38
4	3-pyridin	2,0	4	7:3	3	40
5	2-klor-4-pyridin	2,0	4	7:3	3	28

I reaksjon 1 viste TLC at ikkje alt utgangsstoffet var reagert etter 16 t (tabell 3.6). På dette tidspunktet var blandinga brunorange. Solum *et al.*²⁴ har tidlegare gjort liknande reaksjonar med ei reaksjonstid på 16-21 t og då har reaksjonsblandinga blitt svart. Reaksjonen fekk derfor stå 5 t til for å sjå om reaksjonen vart fullstendig. Etter 21 t hadde ikkje blandinga endra farge og TLC viste framleis noko utgangsstoff. Reaksjonen vart avslutta og reinsa på kolonne (5 % MeOH/CH₂Cl₂) utan at produktet vart heilt reint. Med bakgrunn i liten mengde produkt vart det bestemt å ikkje reinse meir. Utbyttet, med noko ureining, vart bestemt til å vere 15 %.

Det vart gjort ganske mange endringar med tanke på mengde av dei ulike kjemikaliane frå reaksjon 1 til reaksjon 2 (tabell 3.6). Alle desse endringane til saman gjorde at blandinga vart svart før reaksjonen vart avslutta etter 21 t. For å klare å reinse produktet ordentleg vart det brukt 90 % EtOAc/pentan før det vart bytta til 2 % MeOH/CH₂Cl₂. Heilt til sist vart det brukt 6 % MeOH/CH₂Cl₂. Etter reinsinga var produktet reint og utbyttet vart bestemt til å vere 57 %.

Endringane frå reaksjon 2 til reaksjon 3 var i hovudsak reaksjonstida. Sidan reaksjonen hadde blitt svart før reaksjonen vart avslutta, vart reaksjonen følgt opp ved å ta TLC kvar time for å sjå når alt utgangsstoffet var reagert. Etter 3 t hadde reaksjonsblandinga skifta farge frå lys gul til svart og det var ikkje noko utgangsstoff igjen. Reaksjonen vart derfor avslutta og reinsa på same måte som for reaksjon 2 med unntak av 6 % MeOH/CH₂Cl₂ heilt på slutten. Utbyttet var på 38 % som er lågare enn utbyttet i reaksjon 2.

Sidan utbyttet gjekk ned med desse endringane, kan det verke som dei skulle vore unngått. Vurderinga med kortare reaksjonstid vart teke på bakgrunn av at Suzukireaksjonar kan overreagere og danne meir biprodukt dersom dei står for lenge.⁴⁸ Når det kjem til reinsinga kan det frie nitrogenet på amidet ha gjort til at noko av produktet bind seg sterkt til silikaen i

kolonnen. Derfor kan det ha sett ut som alt produktet var reinsa gjennom kolonnen, sjølv om noko framleis ikkje var kome gjennom. Ved å auke polariteten til eluenten heilt til sist, kan hydrogenbindingane mellom produktet og silikaen blir brotne, slik at produktet kjem ut.

Reaksjon 4 som danna **8d** vart gjort på akkurat same måten som reaksjon 3 som førte til **8c**. Utbyttet i denne reaksjonen var 40 %, som er ei lita auke frå utbyttet av **8c**.

Også produkt **8e** vart danna på omtrent same måte som **8c**. Reaksjonen vart svart etter 3 t, men TLC viste at det framleis var noko utgangsstoff igjen. Reaksjonen stod derfor 1,5 t til. Då var alt utgangsstoffet reagert og reaksjonen vart avslutta. Råproduktet vart reinsa på kolonne med 50 % EtOAc/pentan før eluenten vart endra til For å reinse råproduktet var det b Råproduktet vart reinsa på kolonne med 1 % MeOH/CH₂Cl₂. Til samanlikning med eluentane som vart brukt i reinsingsprosessen av **8b-d**, måtte det ein mindre del polart løysemiddel til for å få den same R_f verdien. Utbyttet for denne reaksjonen var på 29 % som er lågare enn dei andre reaksjonane. Både når det kjem til endring av R_f og til lågt utbytte er det truleg klor-atomet som verkar inn.

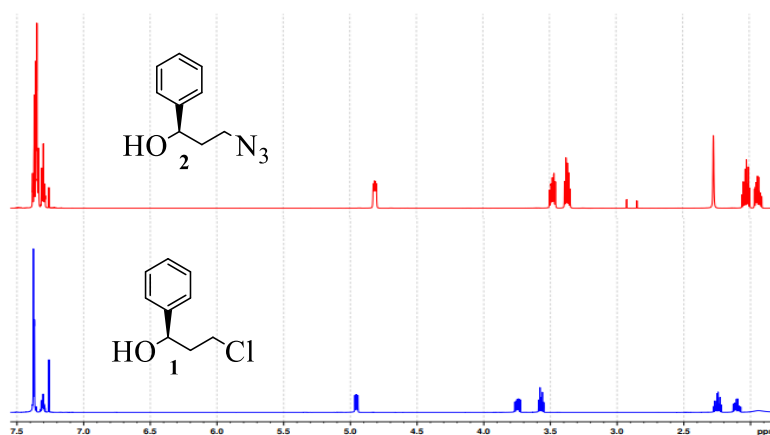
3.2 Analysar

I denne delen blir det tatt opp nokre av analysane som vart gjort av dei ulike produkta (**2-8**) for å finne indikatorar for at ønska produkt var danna.

3.2.1 Substitusjon av klor til azid

^1H NMR for **1** og **2** er ganske like, då klor og azidet påverkar hydrogenet på resten av molekylet nesten likt (figur 3.1). Sjølv med små ulikskapar er det mogeleg å bruke ^1H NMR til å bestemme om ønska produkt er danna. Ved å bruke IR-spektrometri i tillegg, kan reaksjonen underbyggast endå meir, då azid og klor har ulike utslag.

Det raudt ^1H NMR spekteret resonnerer til **2** då det viser til dei same utslaga som Aubé og Charaschanya har publisert tidlegare for denne sambindinga.¹³ I tillegg til å bestemme struktur, vart spekteret også brukt til å sjå om det var behov for meir reinsing etter vasking. Det er noko ureining rundt 3 ppm samt noko under 2 ppm. Sjølv med denne ureininga vart det konkludert med at produktet var reint nok, og det vart derfor ikkje reinsa vidare på kolonne.

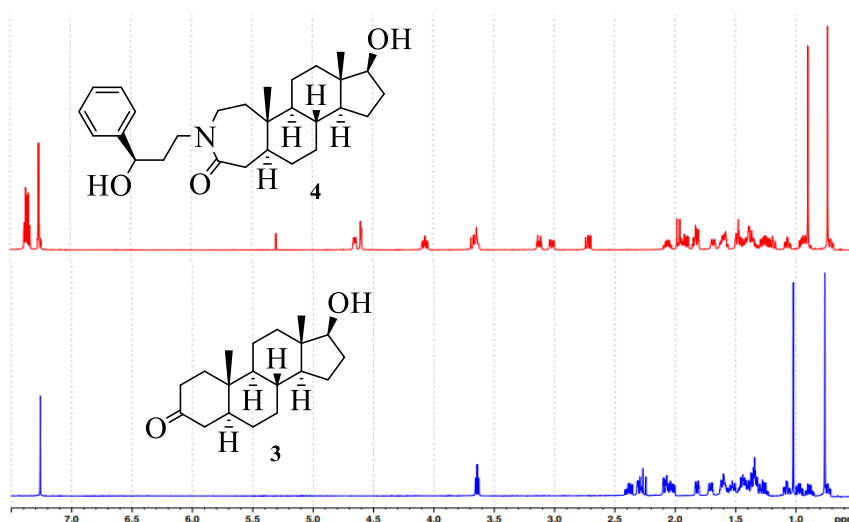


Figur 3.1: Raudt spekter er ^1H NMR av (R)-3-azid-1-fenylpropanol (**2**) medan blått spekter er ^1H NMR av (R)-3-klor-1-fenylpropanol (**1**)

For å finne indikasjonar på om substitusjonen frå klor til azid har hendt, er IR ein god metode. Azidet gjev eit sterkt utslag rundt 2000 cm^{-1} medan klor ikkje vil ha noko utslag i det området. Spekteret har eit sterkt utslag på 2089 cm^{-1} som indikerer at azidet har bytta plass med kloratomet. (figur A.3).^{51, 52}

3.2.2 Utviding av ring

^1H NMR har fleire skift som viser at det er **4** som er danna. Mellom anna er fleire utslag i spekteret til **4** enn i spekteret til **3** (figur 3.2) og det passer med molekylstrukturane. I tillegg er det to toppar over 7 ppm med samla integrasjonsverdi på 5 (figur B.2). Utslag over 7 ppm er hydrogen som er bunde til aromatar og sidan produktet skal ha ein aromaring med 5 hydrogen stemmer det. I tillegg til toppane som resonnerer til aromaringen er det også fleire toppar mellom 2.5 ppm og 5 ppm. Nokre av dei resonnerer til karbona på substituenten medan andre resonnerer til hydrogen i A-ringen som har endra verdiar på grunn av endra omgjevnadar.

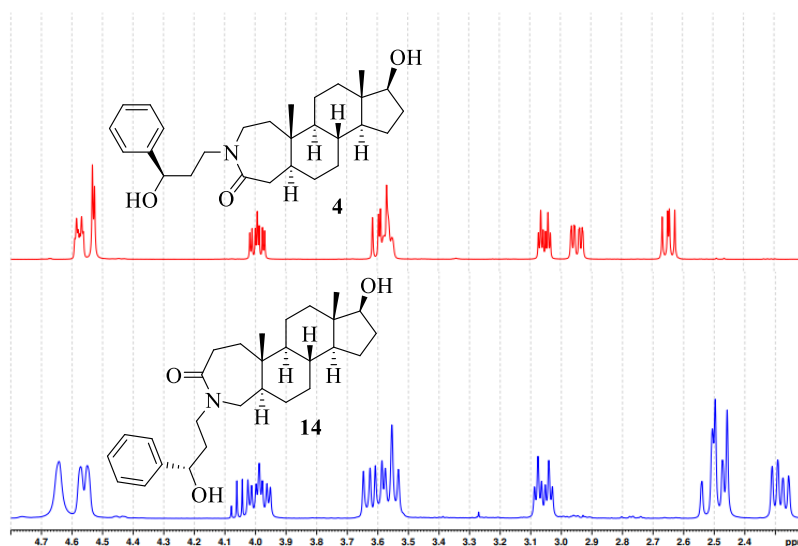


Figur 3.2: Raudt spekter er utklipp frå ^1H NMR av diolsteroidet (**4**) (vedlegg B). Blått spekter er ^1H NMR utgangssteroidet (**3**).

I utvidingsreaksjonen vert det brukt eit enantiomert hydroksyazid (**2**) for å styre kva for ei R-gruppe som skulle migrere til nitrogenet. Dersom **2** ikkje hadde vore enantiomert eller reaksjonen hadde danna eit racemat ville utslaga i spekteret vore annleis. Det raude spekteret er produktet som er danna ved bruk av (*R*)-isomeren (**2**) (figur 3.3). Det blå spekteret er produktet dersom (*S*)-isomeren av **2** hadde vore brukt. Utslaga ved 3.02 ppm og 2.72 ppm i det raude spekteret stemmer godt overeins med dei rapporterte verdiane for **4** med (*R*)-isomeren. På same måte stemmer utslag mellom 2.61 ppm og 2.52 ppm i det blå spekteret overeins med dei rapporterte verdiane for **14** der reaksjonen er gjort med (*S*)-isomeren (figur 3.3).¹³

I IR-spekteret av **4** (figur B.4) er utslaget på 2089 cm^{-1} , som viste til azide, forsvunne. I staden er det kome eit sterkt utslag ved 1622 cm^{-1} som indikerer C–N bindinga i amidet. Utslaget ved

3379 cm^{-1} viser til O-H bindinga på alkoholane. Utslaget er breitt, noko som også stemmer godt overeins med at det viser til alkoholalar.⁵¹



Figur 3.3: Raud er ^1H NMR av molekyl **4** og har (*R*)-isomeri medan blå er ^1H NMR av molekyl **14** og har (*S*)-isomeri.

3.2.3 Oksidasjon av alkoholalar

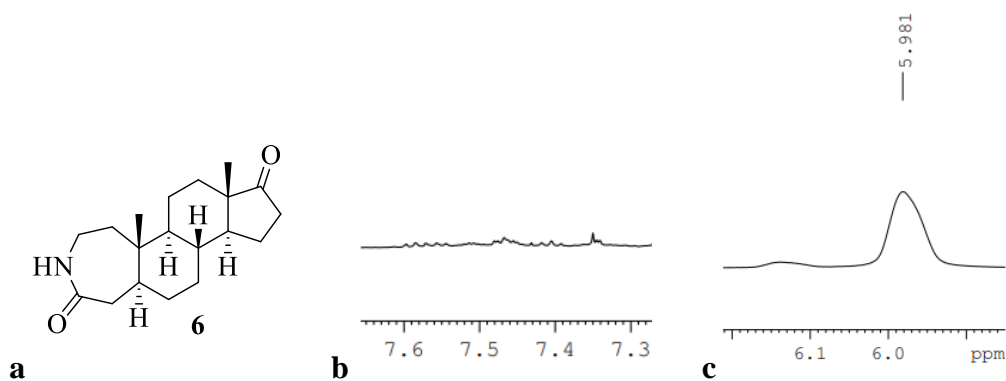
Oksidasjon av alkohol til karbonyl visar svært godt på ^{13}C NMR (figur C.1). Før oksidasjonen hadde skifta som resonnerer til dei to karbona med kvar sin alkohol på, verdiar under 100 ppm. Etter oksidasjonen vil skifta ha mykje høgare verdiar då keton vanlegvis har utslag mellom 180 og 220 ppm. Figur C.1 viser at det er to slik høge utslag. Det eine er på 221.0 ppm og resonnerer til ketonet i 17-posisjon. Utslaget på 199.2 ppm viser til ketonet på substituenten på A-ringen. Dei verdiane som er rapportert tidlegare for desse to karbona er på hhv. 221.1 ppm og 199.3 ppm.¹³

Utslaget ved 3379 cm^{-1} i IR-spekteret (figur C.4), som viste til alkoholen i **4**, er ikkje til stades i spekteret av **5**. Det stemmer godt overeins sidan alkoholane er redusert til keton i **5**. Dette vert indikert ved to nye utslag på 1735 cm^{-1} og 1681 cm^{-1} . Utslaget ved 1636 cm^{-1} viser til bindinga mellom C og O i amidet.⁵¹

3.2.4 Spalting av karbon – nitrogen binding

For å få danna amidet på A-ringene skjer det ein β -eliminering og heile substituenten på nitrogenet blir spalta av (figur 3.4a). Dette viser godt på ^1H NMR då det er mange hydrogen som vert spalta av. Det som er lettast å sjå er at utslag over 7 ppm, som er skifta til hydrogena på fenylingen, er forsvunne (figur 3.4b). Sjølv om dei sterke utslag rundt 7 ppm er forsvunne kan det sjå ut som det er ei lita forhøgning i dette området. Det er mogeleg det er noko ureining til stede

Når substituenten på nitrogenatomet vert spalta av, vil det binde seg til eit hydrogen i staden. I figur 3.4c har dette hydrogenet eit skift på 5.98 ppm, medan det tidlegare er rapportert til å vere 5.77 ppm. Ei forklaring på det kan vere at frie hydrogen blir påverka av temperaturen, løsemiddelet og konsentrasjonen til prøven.⁵¹ Utanom amid-hydrogenet stemmer verdien på dei andre skifta overeins med det som tidlegare er rapportert.



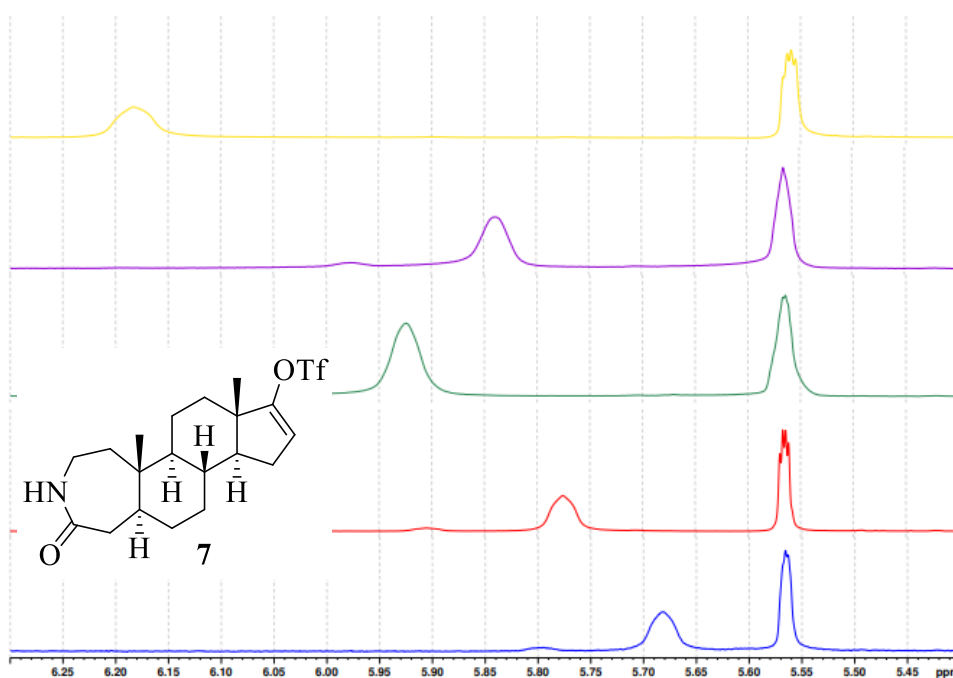
Figur 3.4: (a) utklipp av ^1H NMR frå 7.6 ppm til 7.3 ppm av vedlegg. (b) strukturformelen til **6**. (c) utklipp av ^1H NMR med utslaget som assosierer til hydrogenet på amidet (vedlegg D).

I IR-spekteret til **6** (figur D.4) er det kome til eit breitt utslag på 3228 cm^{-1} . Det indikerer at N-H bindinga er blitt danna etter β -elimineringa. Dersom det hadde vore meir enn eit hydrogen bunde til nitrogenet, ville det vore meir enn ein topp. Ketonet visast i spekteret ved utslaget på 1736 cm^{-1} medan C=O-bindinga på amidet kjem til syne i spekteret ved utslaget på 1665 cm^{-1}

3.2.5 Danning av triflat

Danninga av triflatet var vanskeleg å kontrollere med TLC, men i ^1H NMR vises danninga av dobbelbindinga mellom posisjon 16 og 17 på steroidet godt, ved at det kjem ein dobbel dublett (dd) med skift på 5.55 ppm. I ^1H NMR spekteret til **6** er det berre skiftet til amid-hydrogenet som ligg mellom 5 ppm og 6 ppm.

Kvart molekyl har sitt eige ^1H NMR spekter som vil vere likt kvar gong sambindinga vert analysert. Det kjem til syne ved utslaget på 5.6 ppm som resonnerer til hydrogenet i 16-posisjon (figur 3.5). Den andre toppen i spektera skulle i teorien også hatt same verdi kvar gong. Her varierer den mellom 5.7 ppm og 6.2 ppm. Grunnen til at det ikkje er slik, er at skiftet resonnerer til hydrogenet på amidet. Amidhydrogenet er fritt og kan danne hydrogenbindingar med mellom anna løysingsmiddelet.⁵³ Dersom konsentrasjonen på prøvane er ulike, vil det vere ulik mengde hydrogenbindingar, som gjer til at skiftet får litt ulik verdi.



Figur 3.5: Utklipp frå figur E.2 av ^1H NMR av **7** som er blitt danna i ulike reaksjonar. Spektera viser at hydrogenet på amidet ikkje vil ha ei statisk plassering då det mellom anna dannar hydrogenbindingar med løysingsmiddelet.

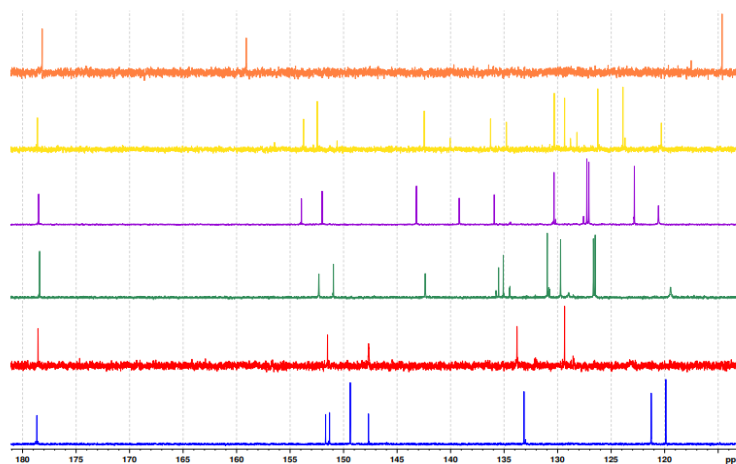
Det er fleire skilnadar, blant dei sterke utslaga, i IR-spektera til **6** og **7**. Eit av dei er det sterke utslaget ved 1736 cm^{-1} som er i spekteret til **6**. Dette utslaget er ikkje til stades i spekteret til **7**

(figur E.4) sidan det resonnerer til ei C=O binding, noko **7** ikkje har. I staden er det kome tre sterke utslag ved 1419 cm^{-1} , 1208 cm^{-1} og 1142 cm^{-1} . Desse indikerer triflatet. 1419 cm^{-1} viser til C-F bindinga medan 1298 cm^{-1} og 1142 viser til S=O bindingane.⁵³

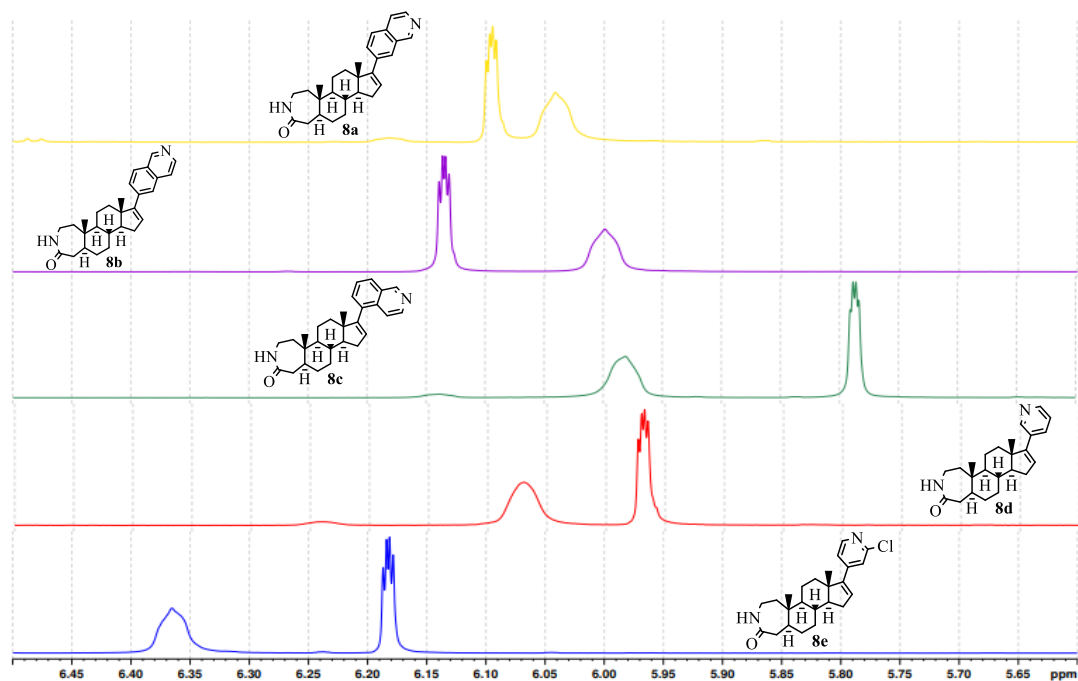
3.2.6 Suzuki kryss-kopling

I alle spektra er det mogeleg å sjå at det er kome fleire aromatiske karbon. **8 a-c** har fått ni nye aromatiske karbon, medan **8d** og **8e** har fått fem (figur 3.6). I utgangsstoffet (**7**) er det berre fire aromatiske karbon og eit av dei kvartære er ikkje blitt detektert. Figur 3.6 viser også at det er noko ureining til stades i **8a**.

I molekyl **8a-e** har alle ein dd frå 16-posisjon på steroidet, i tillegg til hydrogenet på amidet, mellom 5.6 ppm og 6.5 ppm (figur 3.7). Alle har ulik substituent i 17-posisjon så skiftet til hydrogenet i 16 posisjon vil ha litt ulik plassering. Sjølv om hydrogenet på amidet er langt unna 17-posisjon, varierer dette også mykje. Som diskutert tidlegare blir skiftet til dette protonet sterkt påverka av løysingsmiddel, temperatur og konsentrasjon i prøven. Til saman fører desse faktorane til at skiftet til hydrogenet på amidet varierer på å vere til høgre og venstre i forhold til skiftet som viser til hydrogenet i 16-posisjon.



Figur 3.6: Utklipp frå 115 ppm til 180 ppm av ^{13}C NMR til **7** og **8a-e** (vedlegg E-J). **7** er orange, **8a** er gul, **8b** er lilla, **8c** er grøn, **8d** er raud og **8e** er blå. Utgangsstoffet (**7**) for alle målmolekyla (**8a-e**) har mykje færre karbon innanfor aromatisk område.



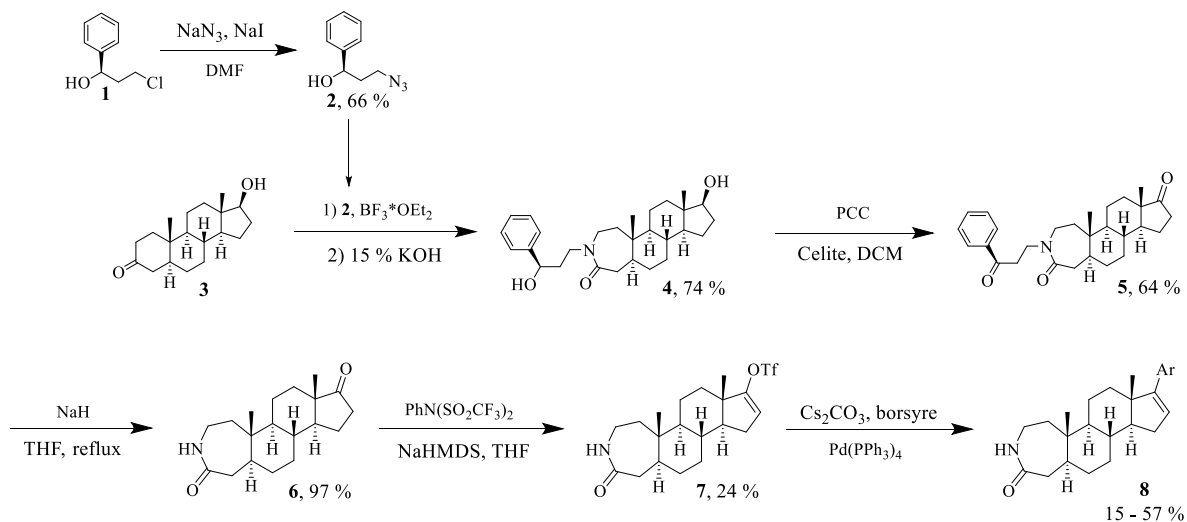
Figur 3.7: Utklipp frå 5.6 ppm til 6.5 ppm av ^1H NMR til **8a-e** (vedlegg F-J). Gul er **8a**, lilla er **8b**, grøen er **8c**, raud er **8d** og blå er **8e**.

Alle produkta (**8a-e**) har utslag i IR-spekteret som resonnerer til amidet med N-H strekk ved $3220\text{-}3225\text{ cm}^{-1}$ og C=O strekk ved $1661\text{-}1664\text{ cm}^{-1}$ (vedlegg F-J). Utanom desse er det få utslag som skil seg ut. Det kunne tenkast at det burde vore sterkare utslag rett over 3000 cm^{-1} som viser til aromatiske karbon. Det er ei forhøgning mellom utslaga for N-H bindinga og bindingane som viser til C-H alkena rundt 2900 cm^{-1} , men ingen toppar. **8e** har i tillegg eit sterkt utslag ved 1554 cm^{-1} . Det indikerer klorsubstituenten på pyridinringen. Klor verkar inn på pyridinringen og gjer til at frekvensen blir høgare.⁵¹

4 Konklusjon

Målet med denne oppgåva var å finne ein synteseveg for nye CDK8-inhibitorar. Solum *et al.*²⁴ har tidlegare jobba med steroid til dette føremålet, men då utan å utvide A-ringene på steroidet til ein sjuering med amid. Aubé *et al.*^{13, 26, 27} har arbeida med utviding av A-ringene på steroid, men ikkje med desse substituentane i 17-posisjon.

I syntesen (skjema 4.1) som vart prøvd ut, vart det brukt steroidderivat (**3**) som rammeverk og hydroksyazid (**2**) i utvidingsreaksjonen for å danne **4**. Vidare har molekylet blitt redusert til **5**, det har skjedd ein eliminasjon slik at **6** vart sanna. Til sist vart det danna eit triflat (**6**) som vart brukt til å danne nye karbon-karbonbindingar i ein Suzukimekanisme. I Suzukireaksjonane vart det brukt ulike isokinolin og pyridin borsyrer for å danne målmolekyla (**8a-e**).



Skjema 4.1: Oversikt over syntesevegen av **8** som er brukt i denne oppgåva og kva utbytte dei ulike reaksjonane hadde.

Utbyttet i dei ulike trinna varierte mykje. I syntesen av dei fire første trinna som Aubé og Charaschanya hadde gjort tidlegare, hadde alle over 64 % utbytte.¹³ Utbytta svarte også bra til det Aubé *et al.*^{13, 26} har rapportert sett vekk frå $\text{S}_{\text{N}}2$ reaksjonen. Trinn 5, som var trifleringsreaksjonene, hadde eit utbytte på 26 %. Når Solum *et al.*²⁴ har gjort den same reaksjonen på eit seksringa steroid, vart utbytte over 60 %. Det er eit vesentleg høgare utbytte. Ye *et al.*⁵⁰ har gjort ei anna syntese for å danne **7** og har danna seksringa friflat med den same syntesen. Også dei fekk mykje dårlegare utbytte av trifleringa på sjueringa steroid enn på

seksringa steroid. Med bakgrunn i det kan det tenkjast at det er vanskelegare å danne triflat på sjuringa steroid enn det er på seksringa steroid.

I Suzukireaksjonane varierte utbyttet frå 15 % til 40 %. Alle reaksjonane var gjort i liten skala og berre ein gong. Det gjorde at det ikkje var mogeleg å optimalisere reaksjonane for å forbetre utbyttet. Den vesle mengda som vart danna av produkta (**8a-e**) gjer til at løysingsmiddelrestar kan ha stor innverknad på målt vekt. Overflytting av produkt mellom ulike behaldarar kan også føre til stort prosentvis tap. Begge desse faktorane vil ha innverknad på storleiken på utbyttet.

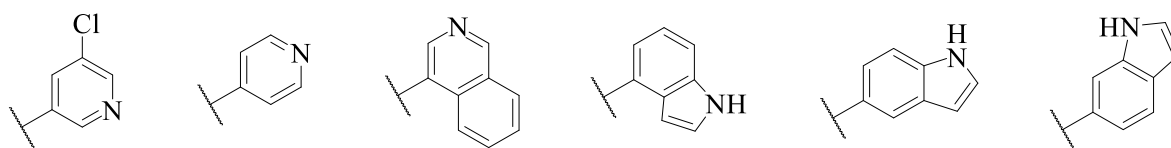
Målmolekyla er ein del av ein større studie av nye CDK8-inhibitorar og skal bli testa for biologisk aktivitet. På dette tidspunktet er det ikkje gjort.

5 Vidare arbeid

Dersom det viser seg at sjuringa steroid bind seg godt i CDK8 og denne syntesen skal bli brukt vidare, bør trifleringstrinnet optimaliserast.

Ein mogelegheit er å halde fram med syntesen som er beskrive i denne oppgåva og optimalisere den. Trifleringsreaksjonen er det reaksjonstrinnet med dårlegast utbytte, og her er det mogeleg å endre på forholdet mellom dei ulike komponentane i reaksjonen for å auke utbyttet. Det er også mogeleg å prøve å setje på andre grupper i 17-posisjon som kan verke som gode utgåande grupper.

For nokre av borsyrene gav Suzukireaksjonen godt utbytte. Eit slikt resultat tyder på at denne type reaksjon kan fungere godt, også med andre borsyrer. Borsyrer som kan vurderast å setjast på **7** er vist i figur 5.1. Desse substituentane, i tillegg til dei som er brukt i denne oppgåva, har Solum *et al.* sett på, på andre steroid tidlegare.²⁴



Figur 5.1: Substituentar som Solum *et al.*²⁴ har sett på i 17-posisjon på andre steroid. Dei kan også testast på det sjuringa steroidet som er syntetisert i denne oppgåva.

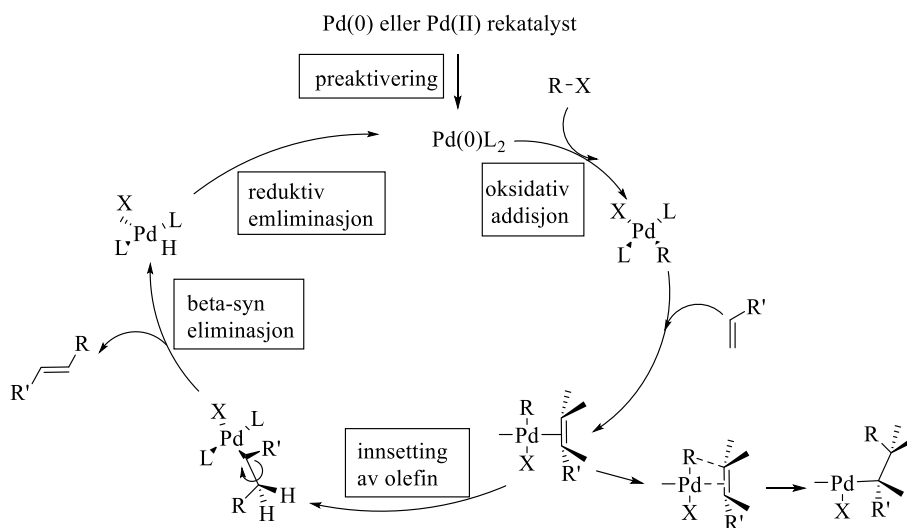
Sidan trifleringstrinnet var det trinnet som gav dårlegast utbytte i syntesen er det mogeleg å finne ei alternativ syntese. Eit døme kan vere å bruke Wittig og Heck for å setje på substituent i 17-posisjon istadenfor triflering og Suzuki kryss-kopling.

I ein Wittig-reaksjon blir det brukt fosfoniumylid som nukleofilt karbon.^{31, 54} Ylidet er både stabilt og ganske reaktivt og kan danne nye karbon-karbonbindingar ved å reagere med ein karbonyl som fungerer som elektrofil (skjema 5.1).⁵⁵ Ved at ylidet angrip ketonet i 17-posisjon vil det bli danna ei dobbeltbinding ut til ein karbonsubstituent i staden for karbonylen. Dobbeltbindinga vert det reaktive punktet når steroidet går inn i Heck-reaksjonen som er ein syklisk reaksjon.



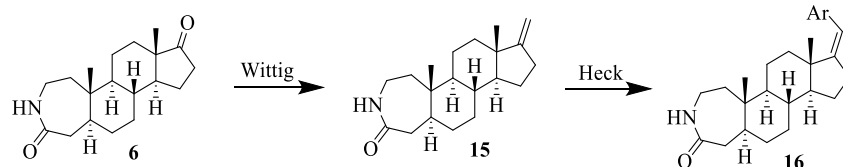
Skjema 5.1: Generell Wittig-reaksjon der fosfoniumylid reagerer med ein karbonyl.^{31, 54}

I ein Heck-syklus vert det, slik som i Suzuki-reaksjonen, brukt Pd som katalysator (skjema 5.2). I Suzuki-reaksjonen er arylsubstituenten ein del av ei borsyre, medan i ein Heck-reaksjon skal arylsubstituenten vere bunde til eit halid eller ei anna god utgåande gruppe.⁵⁶ Arylsubstituenten med halogen reagerer med Pd-katalysatoren ved oksidativ addisjon før steroidet kjem inn i syklusen. Dobbeltbindinga i 17-posisjon på steroidet reagerer med Pd-komplekset i fleire trinn og til slutt vil produktet forlate syklusen med ein arylsubstituent i 17-posisjon.



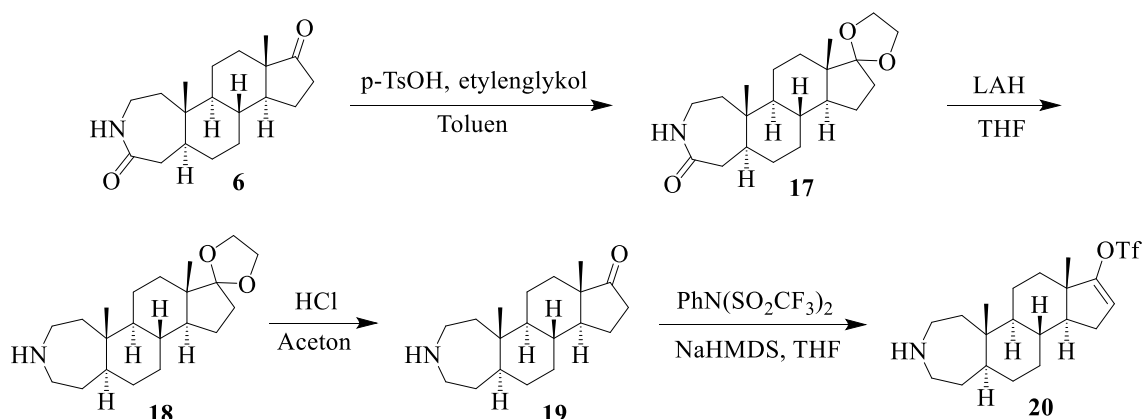
Skjema 5.2: Heck er ein syklisk reaksjon for å danne nye karbon-karbon bindingar. Pd(0) vert brukt som katalysator.

Produktet (**16**) ved denne metoden vil få eit ekstra karbonatom mellom steroidet og arylen i forhold til produktet (**8**) som vert danna ved bruk av triflering og Suzuki kryss-kopling (skjema 5.3). Denne endringa i molekylet gjer at nitrogenet i arylen vil ha annleis vinkel og avstand til amidet på A-ringen. Ei slik endring kan gjere at molekylet ikkje passar inn i det aktive setet i enzymet i kroppen.



Skjema 5.3: Strukturformel av reaksjonen frå **6** via **15** til **16**.

I **8a-e** er det eit amid på A-ring. Oksygenet kan vere eit problem då den kan danne hydrogenbindingar eller bli redusert i kroppen på veg til enzymet den skal inhibere. For å unngå dette er det mogeleg å heller lage eit amin (skjema 5.4). Det vil også gjere produktet meir likt steroidet som Solum *et al.*²⁴ har testa tidlegare.



Skjema 5.4: Ved redusering av amid til amin må dionsteroidet (**6**) beskyttast (**17**), reduserast (**18**) og så avbeskyttast (**19**) før den kan triflerast til **20**

Sidan det er to karbonylgrupper på steroidet, amidet og i 17-posisjon, må den eine beskyttast. Det kan bli gjort med etylenglykol som dannar acetal i staden for ein karbonyl.⁵⁷ Når karbonylen er beskytta til (**17**), må amidet reduserast til amin (**18**). Dette kan bli gjort med LAH som er eit sterkt reduksjonsmiddel.⁵⁸ Avbeskyttelsen av ketonet (**19**) kan gjerast med HCl i acetone før trifleringa blir gjort for å danne **20**.⁵⁷ Det er også mogeleg å avslutte denne syntesen med Wittig og Heck i staden for med triflering og Suzuki kryss-kopling.

6 Eksperimentelt

6.1 Generell informasjon

Alle kjemikaliane som vart brukt er å få tak i kommersielt. I flashkolonnen vart det brukt silika med porestorleik på 40-63 μm . Alle reaksjonane vart rørt med magnetrører og dersom temperaturen er høgare enn RT, er det brukt oljebad. Når det vart gjennomført TLC var det brukt TLC Silika gel 60 F₂₅₄.

6.1.1 Masse spektroskopi, MS

Massen vart nøyaktig bestemt i positiv og negativ modus på eit "Synapt G2-S" Q-TOF instrument frå Waters TM. Prøven vart ionisert ved bruk av ASAP probe (APCI) eller ESI probe. Det var ikkje brukt noko kromatografisk separasjon før masseanalysen. Nøyaktig masse og prosessering av spektra vart gjort av Waters TM Software Masslynx V4.1 SCN871.

6.1.2 Kjernemagnetisk resonansspektroskopi, NMR

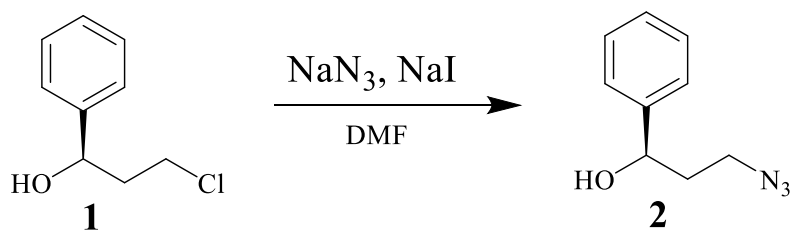
¹H NMR og ¹³C NMR spekter vart tatt ved å bruke eit Bruker Advance instrument ved 100 Hz for både ¹H NMR og ¹³C NMR. Løysingsmiddelet som vart brukt ved CDCl₃. Kjemiske skift for ¹H og ¹³C er vist til som δ [ppm] relativt til CDCl₃ som er 7.26 ppm i ¹H NMR og 77.16 i ¹³C NMR. Koplingskonstanter (*J*) er rapportert i Hz. Toppane er skildra i samsvar med multiplisiteten sin; s (singlet), d (dublett), dd (dublett av dublett), t (triplett), dtd (dublett triplett dublett), m (multiplett)

6.1.3 Infraraud spektroskopi, IR

Infraraudt spektroskopi var tatt på eit FTIR Thermo Nicolet Nexus FTIR spectrometer, ved å bruke ein Smart Endurance refleksjonscelle. Frekvensane mellom 4000-400 cm^{-1} er rapporterte. Toppane er skildra som w (svake), m (medium), s (sterke) eller br (breie)

6.1.4 Optisk rotasjon

Optisk rotasjon vart målt på eit AA10 Polarimeter, Optical Activity, LTD, med ei celle som var 10 mm lang for **1-6** og med ei celle som var 2.5 mm lang for **7** og **8b-d**. Prøvene vart løyst i CHCl₃. Bølgelengda, λ , var 589 nm og prøvene vart analysert ved 20 °C. Ut i frå dei målte verdiane vart spesifikk rotasjon bestemt.

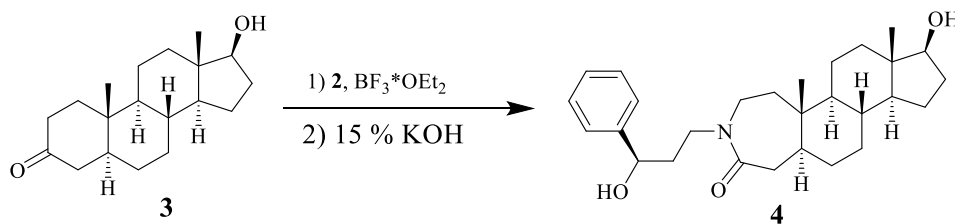


6.2 (R)-3-azid-1-fenylpropanol, hydroksyazid (**2**)

Ei blandinga av (R)-3-klor-1-fenylpropanol (**1**) (0.853-1.332 g, 5.00-7.81 mmol, 1 ekv.), natriumazid (0.975-1.522 g, 15.00-23.42 mmol, 3 ekv.) og natriumjodid (1.124-1.755 g, 7.50-11.71 mmol, 1,5 ekv.) vart løyst i dimetylformamid (DMF, 45 ml), rørt i 24 t ved 80 °C.

Blandinga vart tilsett dietyleter (Et₂O) og vatn, og fasane vart skilt. Organiskfasen vart var vaska med vatn før dei kombinerte vassfasane vart vaska med dietyleter. Vidare vart dei kombinerte organiske fasane tørka med brine og magnesiumsulfat, flitert og dampa inn. Produktet, (R)-3-azid-1-fenylpropanol (**2**), var ei blank tyntflytane olje i utbytte på 66 %. $R_f = 0.44$ i 15 % EtOAc/pentan.

Spektroskopiske data for **2** (vedlegg A): ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 7.38-7.34 (m, 4H), 4.81 (dd, $J = 8.2, 4.7$ Hz, 1H), 3.50-3.34 (dm, 2H), 2.27 (s, 1H), 2.05-1.90 (dm, 2H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 143.9, 128.7, 127.9, 125.8, 71.6, 48.3, 37.8. IR (cm⁻¹) ν : 3383 (br, w), 2089 (s), 1258 (m), 669 (s). Spesifikk rotasjon, $[\alpha]_{589}^{20} = +27.60$ (c = 1.232 g/100 ml, CHCl₃).



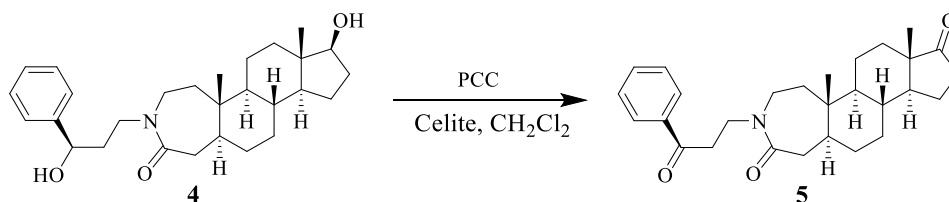
6.3 (5aS, 5bS, 7aS, 8S, 10aS, 10bR, 12aS) –8–hydroksy–3– ((S)–3–hydroksy–3–fenylpropyl) - 5a, 7a-dimetylheksadekahydrocyklopenta [5,6] nafto [1,2-d] azepin-2 (1H) -on, diolsteroid (**4**)

Utgangssteroidet (**3**) (0.331-0.697 g, 1.14-2.40 mmol, 1 ekv.) og hydroksyazidet (**2**) (0,404-0.850 g, 2.28-4.80 mmol, 2 ekv.¹) vart tilsett i ein tohalsa kolbe og løyst i tørr diklormetan (2.85-6.00 ml, 0.4 M) under nitrogen atmosfære. Blandinga vart kjølt ned til 0 °C og bortrifluorid dietyleterat (BF₃•OEt₂, 0.809-1.703 g, 5.70-12.00 mmol, 5 ekv.) vart tilsett dropevis. Kolben vart tetta og reaksjonen stod i 16 t ved romtemperatur. Vidare vart løysingsmiddelet dampa av svært forsiktig til produktet var ein brunorange gel.

Vidare vart det tilsett THF(2.50-5.25 ml) og vandig løysing av 15 % kaliumhydroksid (KOH) (15.0-31.6 ml) saman med gelen. Blandinga vart rørt kraftig ved RT i 24 t. reaksjonen vart fortynna med CH₂Cl₂ og fasane vart skilde. Den organiske fasen vart tørka med MgSO₄, filtrert og dampa inn. Produktet vart reinsa på flashkolonne med to ulike eluentar (50 % EtOAc/pentan, R_f ≈ 0; 5 % MeOH/CH₂Cl₂, R_f = 0.23). Produktet (**4**), var eit gult pulver.

Spektroskopisk data for **4** (vedlegg B): ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 7.38-7.33 (m, 4H), 7.27-7.24 (m, 1H), 4.65 (m, 1H), 4.60 (d, J = 4.2 Hz, 1H), 4.06 (dtd, J = 4.3, 10.6, 14.55 Hz, 1H), 3.68 -3.63 (m, 2H), 3.12 (dt, J = 4.7, 9.2, 14.1 Hz, 1H), 3.01 (m, 1H), 2.71 (dd, J = 10.7, 14.1 Hz, 1H), 2.09-2.02 (m, 1H), 1.98-1.88 (kompleks, 3H), 1.85-1.78 (m, 2H), 1.70-1.66 (m, 1H), 1.61-1.56 (m, 2H), 1.49-1.17 (kompleks, 9H), 1.06 (td, J = 4.2, 12.9, 16.9 Hz, 1H), 0.97-0.87 (kompleks, inneheld 0.90 (s, 3H), 5H), 0.73-0.69 (kompleks, inneheld 0.73 (s, 3H), 4H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 177.0, 144.1, 128.3, 127.1, 125.6, 81.8, 69.9, 54.5, 50.9, 45.7, 45.6, 44.1, 42.7, 41.8, 40.0, 38.5, 37.7, 36.8, 34.8, 34.8, 31.4, 30.8, 30.6, 23.3, 20.9, 12.0, 11.0. IR (cm⁻¹) ν: 3379 (br), 2929 (m), 2848 (m), 1622 (s), 729 (s), 699 (s). Spesifikk rotasjon, [α]₅₈₉²⁰ = +7.00 (c = 1.015 g/100 ml, CHCl₃).

¹ Det vart også prøvd ut med 1 ekv.



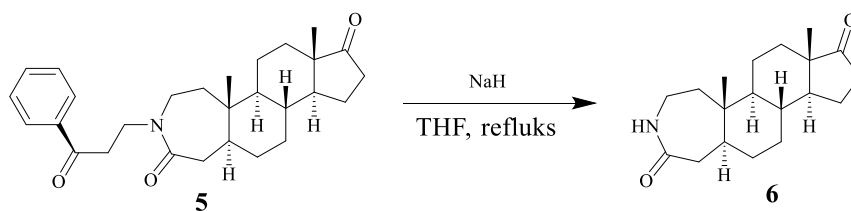
6.4 (5aS, 5bS, 7aS, 10aS, 10bR, 12aS) -5a, 7a-dimetyl-3- (3-okso-3-fenylpropyl) heksadekahydrocyklopenta [5,6] nafto [1,2-d] azepin-2, 8-dion, dionsteroid (**5**)

Diolsteroid (**4**) (0.118-1.268 g, 0.27-2.89 mmol, 1 ekv.) og celite (1-9 spatelspissar) vart tilsett i ein kolbe og det vart danna nitrogen atmosfære. Det vart tilsett tørr CH₂Cl₂ (13-48 ml) og blandinga vart kjølt ned til 0 °C før det vart tilsett PCC (0.174-3.737 g, 0.81-17.34 mmol, 6 ekv²). Den brune blandinga fekk romtemperert seg og rørt i 5 t³. Blandinga vart fortynne men CH₂Cl₂ (50 ml), filtrert over celite og dampa inn. Råproduktet var fortsatt brunt etter filtreringa. Råproduktet vart reinsa på kolonne (utan nitroentrykk, 75 % EtOAc/pentan, R_f = 0.28). Produktet, dionsteroidet (**5**), var eit perlemorskvitt pulver

Spektroskopiske data for **5** (vedlegg C): ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 7.97 (m, 2H), 7.56 (m, 1H), 7.46 (m, 2H), 3.80-3.62 (m, 3H), 3.27-3.20 (m, 3H), 2.75(dd, J = 14.2, 10.6 Hz, 1H), 2.43 (dd, J = 19.4, 8.3 Hz, 1H), 2.06 (m, 1H), 1.94-1.89 (m, 2H, inneheld d, J = 14.3 Hz, 1H), 1.81-1.76 (m, 3H), 1.67-1.63 (m, 1H), 1.51-1.15 (kompleks, 9H), 1.00-0.93 (m, 1H), 0.88 (s, 3H), 0.84 (s, 3H), 0.71 (m, 1H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 221.0, 199.2, 175.5, 136.7, 133.3, 128.7(2C), 128.2(2C), 54.2, 51.3, 47.5, 46.5, 45.2, 43.5, 41.3, 40.3, 38.4, 37.8, 35.8, 34.3, 31.5, 30.8, 30.6, 21.7, 20.5, 13.7, 12.0. IR (cm⁻¹) ν: 2922 (m), 2855 (m), 1735 (s), 1681 (s), 1636 (s), 728 (s), 691 (m). Spesifikk rotasjon, [α]_D²⁰ = + 75.92 (c = 1.001 g/100 ml, CHCl₃).

² Det blei også prøvd ut med 3 ekv. og 4. ekv med PCC

³ Det blei også prøvd ut å la reaksjonen stå over natta



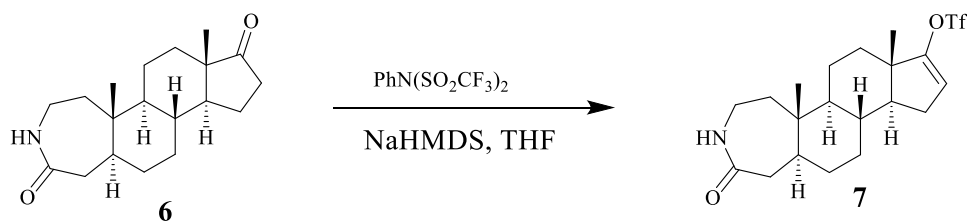
6.5 (5aS, 5bS, 7aS, 10aS, 10bR, 12aS) -5a, 7a-dimetylheksadekahydrocyklopenta [5,6] nafto [1,2-d] azepin-2, 8-dione, amidsteroid (**6**)

THF (10-165 ml) vart tilsett i ei blanding av dionsteroid (**5**) (0.056-0.717 g, 0.13-1.64 mmol, 1 ekv.) og natriumhydrid (60 % blanda i mineralolje, 0.015- 0.316 g, 0.63-13.16, 4.8 ekv.⁴) til alt var løyst. Løysinga vart varma til 65 °C og refluxsa i 2 t. Reaksjonen vart avkjølt til RT og avslutta med metta løysing NH₄Cl. Blandinga vart fortynna med CH₂Cl₂ og vaska med metta NH₄Cl, vatn og brine. Dei kombinerte organiske fasane vart tørka over MgSO₄, filtrert og dampa inn. Råproduktet vart reinsa på flashkolonne med to ulike eluentar (5 cm silika⁵, 90 % EtOAc/pentan, R_f ≈ 0; 5 % MeOH/CH₂Cl₂ R_f =0.23) Produktet, amidsteroidet (**6**), var eit gult pulver i utbytte på 97%.

Spektroskopiske data for **6** (vedlegg D): ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 5.98 (s, 1H), 3.38 (dtd, J = 15.7, 12.1, 4.1 Hz, 1H), 3.03-2.98 (m, 1H), 2.76, (dd, J = 14.2, 11.0 Hz, 1H), 2.44 (dd, J = 19.4, 8.7 Hz, 1H), 2.10-2.04 (m, 1H), 1.95-1.70 (kompleks, 5H), 1.70 (m, 1H), 1.60-1.22 (kompleks, 9H) 1.01 (m, 1H), 0.94 (s, 3H), 0.85 (s, 3H), 0.81 (ddd, J = 11.7, 4.0 Hz, 1H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 221.0, 178.3, 54.2, 51.3, 47.5, 43.2, 42.2, 39.5, 39.0, 37.8, 35.8, 34.3, 31.5, 30.8, 30.7, 21.8, 20.6, 13.7, 12.0. IR (cm⁻¹) ν: 3228 (br, w), 2930 (m), 2856 (m), 1736 (s), 1665 (s), 751(s). Spesifikk rotasjon [α]₅₈₉²⁰ = + 64.64 (c = 0.510 g/100 ml, CHCl₃)

⁴ Det blei også prøvd ut med 3 ekv. NaH

⁵ Vart også prøvd ut med lenger kolonne



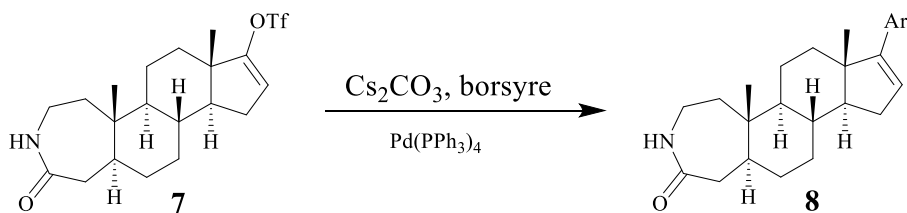
6.6 (5aS, 5bS, 7aS, 10aS, 10bR, 12aS) -5a, 7a-dimetyl-2-okso-1, 2, 3, 4, 5, 5a, 5b, 6, 7, 7a, 10, 10a, 10b, 11, 12, 12a-heksadekahydrosuklopenta [5,6] nafto [1,2-d] azepin-8-yl trifluorometansulfonat, triflatsteroid (**7**)

Amidsteroid (**6**) (30-213 mg 0.10-0.70 mmol, 1 ekv.) og N-fenylbis(trifluormetansulfonimid) (53-360 mg, 0.15-1.01 mmol, 1.5 ekv.) vart løyst i tørr THF og kjølt til $-78\text{ }^\circ\text{C}$. NaHMDS (64-449 mg, 0.35-2.45 mmol, 3.5 ekv.⁶) vart tilsett dropevis og reaksjonen vart rørt i 12.5 t⁷ ved $-78\text{ }^\circ\text{C}$. Reaksjonen vart avkjølt til RT før den vart avslutta med metta løysing av NH_4Cl . Blandinga vart ekstrahert med CH_2Cl_2 og dei organiske fasane vart kombinert. Vidare vart dei tørka med brine, MgSO_4 og dampa inn. Råproduktet var ei orange olje og vart reinsa på flashkolonne med to eluentar (90 % EtOAc/pentan, $R_f \approx 0$; 2 % MeOH/ CH_2Cl_2 , $R_f = 0.23$). Produktet, triflatsteroidet (**7**), var eit perlemorskvitt pulver i utbytte på 26 %.

Spektroskopisk data for **7** (vedlegg E): $^1\text{H NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ : 5.81(s, 1H), 5.56(dd, $J = 1.6, 3.1$ Hz, 1H), 3.40(dtd, $J = 4.3, 11.8, 18.8$ Hz, 1H), 3.02-2.97(m, 1H), 2.75(dd, $J = 10.9, 3.3$ Hz, 1H), 2.23-2.19(dm, 1H), 1.99-1.94(m, 1H), 1.88(dd, $J = 1.7, 14.3$ Hz, 1H), 1.78(dd, $J = 6.0, 14.2$ Hz, 1H), 1.75-1.66(m, 3H), 1.59-1.47(kompleks, 8H), 1.05-0.98(m, 1H), 0.95(s, 3H), 0.94(s, 3H), 0.91-0.86(m, 1H). $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 178.1, 159.1, 114.6, 54.4, 54.0, 44.5, 43.4, 41.8, 39.5, 39.1, 37.8, 32.7, 32.6, 30.7, 30.6, 28.5, 20.6, 15.2, 11.9. IR (cm^{-1}) ν : 3228(br, w), 2935(m), 2860(m), 1666(s), 1419(s), 1208(s), 1142(s). Spesifikk rotasjon $[\alpha]_{589}^{20} = +18.59$ ($c = 1.076$ g/100 ml, CHCl_3). HRMS (EI) m/z: detektert 436.1869, kalkulert ut i frå $\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{F}_3\text{NO}_4\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 436.19.

⁶ Vart også prøvd med 2 ekv., 4 ekv. og ekv. NaHMDS

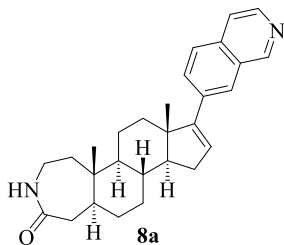
⁷ Reaksjonstid vart variert mellom 7.5-19.5 t



6.7 Generell prosedyre for Suzuki kryss-kopling

Triflatsteroid (**7**) (0.059-0.11 mmol, 1 ekv.), cesium karbonat (4 ekv.) og borsyra (1.5-2 ekv.) vart tilsett i ein rundkolbe under nitrogen atmosfære og løyst i ei blanding av vatn og THF (3:7, 2.3:5 ml). Reaksjonen vart varma til 60 °C og tilsett Pd(PPh₃)₄ (5 % mol). Etter ei tid vart reaksjonen avslutta ved å tilsetje brine og fasane vart skilde. Vidare vart vassfasen ekstrahert med EtOAc (4 x 3 ml). Dei kombinerte organiske fasane vart tørka med MgSO₄ og dampa inn. Produktet vart reinsa på flashkolonne med to eluentar (90 % EtOAc/pentan, 2 % MeOH/CH₂Cl₂).

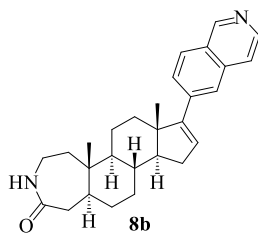
6.7.1 (5aS, 5bS, 7aS, 10aS, 10bR, 12aS) –8- (isokuinolin–7-yl) -5a, 7a–dimetyl-3, 4, 5, 5a, 5b, 6, 7, 7a, 10, 10a, 10b, 11, 12, 12a–tetradekahydrocyklopenta [5,6] nafto [1,2–d] azepin-2 (1H) –one, 7-isokinolin steroid (**8a**)



Det vart gjennomført generell prosedyre av Suzuki kryss-kopling med triflatsteroid (**7**) (48 mg, 0.11 mmol, 1 ekv.), cesium karbonat (72 mg, 0.22 mmol, 2 ekv.) og 7-isokinolin borsyra (22 mg, 0.13 mmol, 1.2 ekv.) løyst i vatn : THF (1:1, 4.5 ml). Råproduktet vart reinsa på flashkolonne (5 % MeOH/CH₂Cl₂, R_f = 0.054) og gav produkt (**8a**) eit utbytte på 15 % med noko ureining til stades.

Spektroskopiske data for **8a** (vedlegg F): ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 9.21 (s, 1H), 8.47 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.74 (d, *J* = 1.08 Hz, 2H), 7.61 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 6.09 (dd, *J* = 1.8, 3.2 Hz, 1H), 6.04 (s, 1H), 3.41 (dtd, *J* = 4.2, 11.9, 15.5 Hz, 1H), 3.01 (m, 1H), 2.78 (dd, *J* = 11.1, 14.3 Hz, 1H), 2.21 (dm, 1H), 2.19-2.16 (m, 1H) 2.08-2.05 (m, 1H), 1.90 (dd, *J* = 2.0, 14.2 Hz, 1H) 1.82 (dd, *J* = 6.0, 14.1 Hz, 1H), 1.78-1.75 (m, 1H), 1.71-1.44 (kompleks, 7H), 1.27-1.23 (kompleks, 2H), 1.10 (s, 3H), 1.08-1.03 (m, 1H), 0.98 (s, 3H), 0.95-0.85 (m, 2H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 178.6, 153.7, 152.4, 142.4, 136.2, 134.8, 130.3, 130.3, 129.2, 126.2, 123.9, 120.3, 57.4, 54.3, 47.2, 43.4, 41.8, 39.5, 39.0, 37.9, 35.6, 33.2, 31.8, 31.6, 30.9, 21.3, 16.7, 11.9. IR (cm⁻¹) ν: 3220 (br, w), 2928 (m), 2852 (m), 1662 (s), 752 (s).

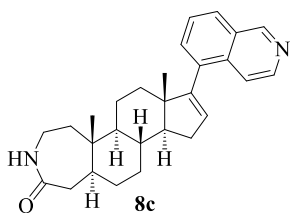
6.7.2 (5aS, 5bS, 7aS, 10aS, 10bR, 12aS) –8- (isokinolin–6-yl) -5a, 7a–dimethyl-3, 4, 5, 5a, 5b, 6, 7, 7a, 10, 10a, 10b, 11, 12, 12a–tetradekahydrocyklopenta [5,6] nafto [1,2-d]azepin-2 (1H) –one, 6-isokinolin steroid (**8b**)



Det vart gjennomført generell prosedyre av Suzuki kryss-kopling med triflatsteroid (**7**) (29 mg, 0.067 mmol, 1 ekv.), cesium karbonat (87 mg, 0.268 mmol, 4 ekv.) og 6-isokinolin borsyre (18 mg, 0.106 mmol, 1.6 ekv.) for å danne **8b**, 6-isokinolinsteroidet. Produktet (**8b**) var eit gult pulver og utbyttet var på 57 %. $R_f = 0.035$ i 2 % MeOH/CH₂Cl₂.

Spektroskopisk data for **8b** (vedlegg G): ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 9.18 (s, 1H), 8.48 (d, $J = 5.8$ Hz, 1H), 7.87 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.63 (dd, $J = 1.6, 8.5$ Hz, 1H), 7.59 (d, $J = 5.8$ Hz, 1H), 6.13 (dd, $J = 1.8, 3.2$ Hz, 1H), 6.00 (s, 1H), 3.41 (dtd, $J = 4.3, 11.8, 15.7$ Hz, 1H), 3.03-2.98 (m, 1H), 2.77 (dd, $J = 11.0, 14.3$ Hz, 1H), 2.28 (dm, 1H), 2.18-2.15 (m, 1H), 2.09-2.06 (m, 1H), 1.90 (dd, $J = 2.0, 14.3$ Hz, 1H), 1.82 (dd, $J = 5.9, 14.1$ Hz, 1H), 1.77 (m, 1H), 1.71-1.44 (kompleks, 8H), 1.25 (m, 1H), 1.10 (s, 3H), 1.08-1.04 (m, 1H), 0.99 (s, 3H), 0.92-0.88 (m, 1H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 206.9, 178.5, 153.9, 152.0, 143.2, 139.2, 139.0, 130.3, 127.2, 127.0, 122.8, 120.6, 57.4, 54.3, 47.3, 43.4, 41.8, 39.6, 39.0, 37.9, 35.6, 33.2, 31.8, 31.7, 30.9, 21.3, 16.8, 11.9. IR (cm⁻¹) ν : 3225 (br, w), 2931 (m), 2852 (m), 1664 (s), 752 (m). Spesifikk rotasjon, $[\alpha]_{589}^{20} = 51.23$ ($c = 1.015$ g/100 ml, CHCl₃). HRMS (EI) m/z : detektert 415.2749, kalkulert ut i frå C₂₈H₃₄N₂O [M+H]⁺ 415.26

6.7.3 5aS, 5bS, 7aS, 10aS, 10bR, 12aS) –8- (isokinolin–5-yl) -5a, 7a–dimetyl-3, 4, 5, 5a, 5b, 6, 7, 7a, 10, 10a, 10b, 11, 12, 12a–tetradekahydrocyklopenta [5,6] nafto [1,2-d] azepin-2 (1H) –one, 5-isokinolinsteroid (**8c**)



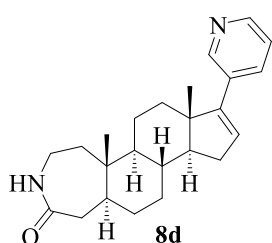
Det vart gjennomført generell prosedyre av Suzuki kryss-kopling med triflatsteroid (**7**) (27 mg, 0.062 mmol, 1 ekv.), cesium karbonat (80 mg, 0.248 mmol, 4 ekv.) og 5-isokinoline borsyre (21 mg, 0.124 mmol, 2 ekv.). Blandinga reagerte i 3 t for å danne produkt (**8c**), 5-isokinolinsteroidet. **8c** var eit gult pulver og utbytte var på 38 %. R_f

= 0.014 i 2 % MeOH/CH₂Cl₂.

Spektroskopiske data for **8c** (vedlegg H): ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 9.24 (s, 1H), 8.49 (s, 1H), 7.89 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.86 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.57 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.48 (dd, $J = 0.9, 7.1$ Hz, 1H), 5.98 (s, 1H), 5.78 (dd, $J = 1.4, 2.9$ Hz, 1H), 3.38 (dtd, $J = 4.2, 11.8, 15.7$ Hz,

1H), 3.01-2.96 (m, 1H), 2.77 (dd, $J = 11.0, 14.1$ Hz, 1H), 2.39 (dm, 1H), 2.18 (m, 1H) 1.90 (dd, $J = 1.8, 14.1$ Hz, 1H), 1.83 (m, 1H), 1.75 (dm, 2H), 1.67-1.21 (kompleks, 9H), 1.13 (m, 1H), 0.95 (s, 6H), 0.94-0.91 (m, 1H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 178.4, 152.3, 150.9, 142.4, 135.5, 135.0, 130.9, 129.7, 126.6, 126.5, 119.4, 57.2, 54.5, 49.4, 43.5, 41.8, 39.6, 39.1, 37.9, 35.1, 33.6, 32.2, 32.0, 30.9, 21.2, 16.4, 12.0. IR (cm^{-1}) ν : 3221(br, w), 2930 (m), 2850 (m), 1663 (s), 753 (s). Spesifikk rotasjon, $[\alpha]_{589}^{20} = 33.72$ ($c = 1.066$ g/100 ml, CHCl_3). HRMS (EI) m/z : detektert 415.2749, kalkulert ut i frå $\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 415.26,

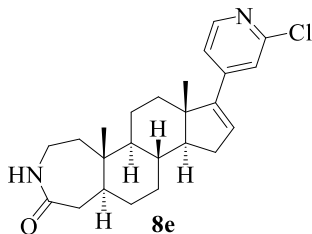
6.7.4 (5aS, 5bS, 7aS, 10aS, 10bR, 12aS) -5a, 7a-dimethyl-8- (pyridin-3-yl) -3, 4, 5, 5a, 5b, 6, 7, 7a, 10, 10a, 10b, 11, 12, 12a-tetradekahydrocyklopenta [5,6] nafto [1,2-d] azepin-2 (1H)-one, 3-pyridin steroid (**8d**)



Det vart gjennomført generell prosedyre av Suzuki kryss-kopling med triflatsteroid (**7**) (27 mg, 0.062 mmol, 1 ekv.), cesium karbonat (80 mg, 0.248 mmol, 4 ekv.) og 3-pyridin borsyre (15 mg, 0.124 mmol, 2 ekv.). Blandinga reagerte i 3 t for å danne produktet (**8d**), 3-pyridinsteroidet. **8d** var eit grått pulver og utbyttet var 40 %. $R_f = 0.032$ i 2 % $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$.

Spektroskopisk data for **8d** (vedlegg I): ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 8.53 (d, $J = 89.1$, 2H), 7.62 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.21 (s, 1H), 6.07 (s, 1H), 5.97 (dd, $J = 1.7, 3.5$ Hz, 1H), 3.39 (dtd, $J = 4.3, 12.0, 15.8$ Hz, 1H), 3.02-2.97 (m, 1H), 2.76 (dd, $J = 11.0, 14.2$ Hz, 1H), 2.23 (dm, 1H), 2.04-1.99 (m, 2H), 1.88 (dd, $J = 1.8, 14.3$, 1H), 1.80 (dd, $J = 6.0, 14.2$ Hz, 1H), 1.75 (dm, 1H), 1.68-1.39 (kompleks, 8H), 1.24 (t, 1H), 1.05 (m, 1H), 0.99 (s, 3H), 0.96 (s, 3H), 0.90-0.85 (m, 1H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 207.0, 178.5, 151.5, 147.6, 133.8, 129.3, 57.3, 54.3, 47.2, 43.4, 41.8, 39.5, 39.1, 37.8, 35.4, 33.2, 31.8, 31.6, 30.9, 21.2, 16.6, 11.9. IR (cm^{-1}) ν : 3321 (br, w), 2929 (m), 2851 (m), 1663 (s), 751 (s). Spesifikk rotasjon, $[\alpha]_{589}^{20} = +41.45$ ($c = 0.965$ g/100 ml, CHCl_3). HRMS (EI) m/z : detektert 365.2599, kalkulert ut frå $\text{C}_{24}\text{H}_{33}\text{N}_2\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 365.25.

6.7.5 (5aS, 5bS, 7aS, 10aS, 10bR, 12aS) –8-(2-chloropyridin-4-yl)-5a, 7a-dimethyl-3, 4, 5, 5a, 5b, 6, 7, 7a, 10, 10a, 10b, 11, 12, 12a-tetradekahydrocyklopenta [5,6] nafto [1,2-d] azepin-2 (1H) -one, 2-klor-4-pyridin steroid (**8e**)



Det vart gjennomført generell prosedyre av Suzuki kryss-kopling med triflatsteroid (**7**) (25 mg, 0.059 mmol, 1 ekv.), cesium karbonat (77 mg, 0.236 mmol, 4 ekv.) 2-klor-4-pyridin borsyre (18 mg, 0.118 mmol, 2 ekv.). Blandinga reagerte i 4.5 t før reaksjonen var fullstendig. Råproduktet vart reinsa på flashkolonne med to eluentar (50 % EtOAc/pentan $R_f \approx 0$; 1% MeOH/CH₂Cl₂, $R_f = 0.092$) og produktet (**8e**), 2-klor-4-pyridin steroidet, var eit grått

pulver i eit utbytte på 28 %.

Spektroskopiske data for **8e** (vedlegg J): ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 8.25 (dd, $J = 0.4, 5.2$ Hz, 1H), 7.25 (d, $J = 1.0$ Hz, 1H), 7.14 (dd, $J = 1.5, 2.5$ Hz, 1H), 6.36 (s, 1H), 6.18 (dd, $J = 1.8, 3.3$ Hz, 1H), 3.38 (dtd, $J = 4.4, 12.0, 15.7$ Hz, 1H), 3.02-2.97 (m, 1H), 2.76 (dd, $J = 11.0, 14.3$ Hz, 1H), 2.24 (dm, 1H), 2.05-1.99 (kompleks, 2H), 1.86 (dd, $J = 1.8, 14.3$ Hz, 1H), 1.79 (dd, $J = 5.9, 14.1$ Hz, 1H), 1.74-1.40 (kompleks, 7H), 1.23 (t, 1H), 1.04 (m, 1H), 1.00 (s, 3H), 0.95 (s, 3H), 0.92-0.84 (m, 2H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 178.6, 151.7, 151.3, 149.3, 147.6, 133.1, 121.2, 119.9, 57.2, 54.2, 47.0, 43.4, 41.7, 39.7, 39.0, 37.8, 35.2, 33.0, 31.7, 31.7, 30.8, 21.1, 16.7, 11.9. IR (cm⁻¹) ν : 3223 (br, w), 2930 (m), 2852 (m), 1661 (s), 1584 (s), 749 (s).

Kjelder

1. Döhner, H.; Weisdorf, D. J.; Bloomfield, C. D., Acute Myeloid Leukemia. *New. Eng. J. Med.* **2015**, *373* (12), 1136-1152.
2. Yi, M.; Li, A.; Zhou, L.; Chu, Q.; Song, Y.; Wu, K., The global burden and attributable risk factor analysis of acute myeloid leukemia in 195 countries and territories from 1990 to 2017: estimates based on the global burden of disease study 2017. *J. Hematol. Oncol.* **2020**, *13* (1), 72.
3. Wander, S. A.; Levis, M. J.; Fathi, A. T., The evolving role of FLT3 inhibitors in acute myeloid leukemia: quizartinib and beyond. *Ther. Adv. Hematol.* **2014**, *5* (3), 65-77.
4. Rzymiski, T.; Mikula, M.; Żyłkiewicz, E.; Dreas, A.; Wiklik, K.; Gołas, A.; Wójcik, K.; Masiejczyk, M.; Wróbel, A.; Dolata, I.; Kitlińska, A.; Statkiewicz, M.; Kuklinska, U.; Goryca, K.; Sapała, Ł.; Grochowska, A.; Cabaj, A.; Szajewska-Skuta, M.; Gabor-Worwa, E.; Kucwaj, K.; Białas, A.; Radzimierski, A.; Combik, M.; Woyciechowski, J.; Mikulski, M.; Windak, R.; Ostrowski, J.; Brzózka, K., SEL120-34A is a novel CDK8 inhibitor active in AML cells with high levels of serine phosphorylation of STAT1 and STAT5 transactivation domains. *Oncotarget* **2017**, *8* (20), 33779-33795.
5. Antar, A. I.; Otroock, Z. K.; Jabbour, E.; Mohty, M.; Bazarbachi, A., FLT3 inhibitors in acute myeloid leukemia: ten frequently asked questions. *Leukemia* **2020**, *34* (3), 682-696.
6. Short, N. J.; Kantarjian, H.; Ravandi, F.; Daver, N., Emerging treatment paradigms with FLT3 inhibitors in acute myeloid leukemia. *Ther Adv Hemato* **2019**, *10*, 2040620719827310.
7. Levis, M., Midostaurin approved for FLT3-mutated AML. *Blood* **2017**, *129* (26), 3403-3406.
8. Nelson, D. L.; Cox, M. M., *Lehninger Principles of Biochemistry*. WH Freeman: 2017; p 1-1172.
9. Menzl, I.; Zhang, T.; Berger-Becvar, A.; Grausenburger, R.; Heller, G.; Prchal-Murphy, M.; Edlinger, L.; Knab, V. M.; Uras, I. Z.; Grundschober, E.; Bauer, K.; Roth, M.; Skucha, A.; Liu, Y.; Hatcher, J. M.; Liang, Y.; Kwiatkowski, N. P.; Fux, D.; Hoelbl-Kovacic, A.; Kubicek, S.; Melo, J. V.; Valent, P.; Weichhart, T.; Grebien, F.; Zuber, J.; Gray, N. S.; Sexl, V., A kinase-independent role for CDK8 in BCR-ABL1+ leukemia. *Nat. Commun.* **2019**, *10* (1), 4741.

10. Porter, D. C.; Farmaki, E.; Altilia, S.; Schools, G. P.; West, D. K.; Chen, M.; Chang, B.-D.; Puzyrev, A. T.; Lim, C.-u.; Rokow-Kittell, R.; Friedhoff, L. T.; Papavassiliou, A. G.; Kalurupalle, S.; Hurteau, G.; Shi, J.; Baran, P. S.; Gyorffy, B.; Wentland, M. P.; Broude, E. V.; Kiaris, H.; Roninson, I. B., Cyclin-dependent kinase 8 mediates chemotherapy-induced tumor-promoting paracrine activities. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2012**, *109* (34), 13799.
11. Firestein, R.; Bass, A. J.; Kim, S. Y.; Dunn, I. F.; Silver, S. J.; Guney, I.; Freed, E.; Ligon, A. H.; Vena, N.; Ogino, S.; Chheda, M. G.; Tamayo, P.; Finn, S.; Shrestha, Y.; Boehm, J. S.; Jain, S.; Bojarski, E.; Mermel, C.; Barretina, J.; Chan, J. A.; Baselga, J.; Tabernero, J.; Root, D. E.; Fuchs, C. S.; Loda, M.; Shivdasani, R. A.; Meyerson, M.; Hahn, W. C., CDK8 is a colorectal cancer oncogene that regulates beta-catenin activity. *Nature* **2008**, *455* (7212), 547-51.
12. Litalien, C.; Beaulieu, P., Chapter 117 - Molecular Mechanisms of Drug Actions: From Receptors to Effectors. In *Pediatric Critical Care (Fourth Edition)*, Fuhrman, B. P.; Zimmerman, J. J., Eds. Mosby: Saint Louis, 2011; pp 1553-1568.
13. Charaschanya, M.; Aubé, J., Reagent-controlled regiodivergent ring expansions of steroids. *Nat. Commun.* **2018**, *9* (1), 934.
14. Patrick, G. L., *An Introduction to Medicinal Chemistry*. OUP Oxford: 2013.
15. Hatcher, J. M.; Wang, E. S.; Johannessen, L.; Kwiatkowski, N.; Sim, T.; Gray, N. S., Development of Highly Potent and Selective Steroidal Inhibitors and Degraders of CDK8. *ACS med. chem. lett.* **2018**, *9* (6), 540-545.
16. Cee, V. J.; Chen, D. Y.; Lee, M. R.; Nicolaou, K. C., Cortistatin A is a high-affinity ligand of protein kinases ROCK, CDK8, and CDK11. *Angew. Chem. Int. Edit.* **2009**, *48* (47), 8952-7.
17. Dale, T.; Clarke, P. A.; Esdar, C.; Waalboer, D.; Adeniji-Popoola, O.; Ortiz-Ruiz, M.-J.; Mallinger, A.; Samant, R. S.; Czodrowski, P.; Musil, D.; Schwarz, D.; Schneider, K.; Stubbs, M.; Ewan, K.; Fraser, E.; TePoele, R.; Court, W.; Box, G.; Valenti, M.; de Haven Brandon, A.; Gowan, S.; Rohdich, F.; Raynaud, F.; Schneider, R.; Poeschke, O.; Blaukat, A.; Workman, P.; Schiemann, K.; Eccles, S. A.; Wienke, D.; Blagg, J., A selective chemical probe for exploring the role of CDK8 and CDK19 in human disease. *Nat. Chem. Biol.* **2015**, *11* (12), 973-980.
18. Aoki, S.; Watanabe, Y.; Sanagawa, M.; Setiawan, A.; Kotoku, N.; Kobayashi, M., Cortistatins A, B, C, and D, Anti-angiogenic Steroidal Alkaloids, from the Marine Sponge *Corticium simplex*. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128* (10), 3148-3149.

19. Ewan, K.; Dale, T., The potential for targeting oncogenic WNT/beta-catenin signaling in therapy. *Curr. drug. targets.* **2008**, *9*, 532-47.
20. Vardanyan, R.; Hruby, V., Chapter 27 - Steroid Hormones. In *Synthesis of Best-Seller Drugs*, Vardanyan, R.; Hruby, V., Eds. Academic Press: Boston, 2016; pp 459-493.
21. Singla, P.; Salunke, D. B., Recent advances in steroid amino acid conjugates: Old scaffolds with new dimensions. *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, *187*, 111909.
22. Huang, Y.; Cui, J.; Chen, S.; Gan, C.; Zhou, A., Synthesis and antiproliferative activity of some steroidal lactams. *Steroids* **2011**, *76* (12), 1346-1350.
23. Ibrahim-Ouali, M.; Rocheblave, L., Recent advances in azasteroids chemistry. *Steroids* **2008**, *73* (4), 375-407.
24. Solum, E.; Hansen, T. V.; Aesoy, R.; Herfindal, L., New CDK8 inhibitors as potential anti-leukemic agents – Design, synthesis and biological evaluation. *Bioorgan. Med. Chem.* **2020**, *28* (10), 115461.
25. Solomons, T. W. G.; Fryhle, C. B.; Snyder, S. A., *Organic Chemistry*. Wiley: 2013; p 1199.
26. Sahasrabudhe, K.; Gracias, V.; Furness, K.; Smith, B. T.; Katz, C. E.; Reddy, D. S.; Aubé, J., Asymmetric Schmidt Reaction of Hydroxyalkyl Azides with Ketones. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125* (26), 7914-7922.
27. Milligan, G. L.; Mossman, C. J.; Aube, J., Intramolecular Schmidt Reactions of Alkyl Azides with Ketones: Scope and Stereochemical Studies. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117* (42), 10449-10459.
28. Wroblewski, A.; Coombs, T. C.; Huh, C. W.; Li, S.-W.; Aubé, J., The Schmidt Reaction. In *Org. Reactions*, 2012; pp 1-320.
29. Doorenbos, N.; Wu, M., Notes- Steroids. III. Synthesis of Some 3-Aza-A-homocholestanes by the Beckmann and Schmidt Rearrangements in Polyphosphoric Acid. *J. Org. Chem.* **1961**, *26* (7), 2548-2549.
30. Smith, P. A. S., The Schmidt Reaction: Experimental Conditions and Mechanism. *J. Am. Chem. Soc.* **1948**, *70* (1), 320-323.
31. Carey, F. A.; Sundberg, R. J., *Advanced Organic Chemistry: Part B: Reaction and Synthesis*. Springer: 2007.
32. Grecian, S.; Desai, P.; Mossman, C.; Poutsma, J. L.; Aubé, J., Reactions of Cyclopropanone Acetals with Alkyl Azides: Carbonyl Addition versus Ring-Opening Pathways. *J. Org. Chem.* **2007**, *72* (25), 9439-9447.

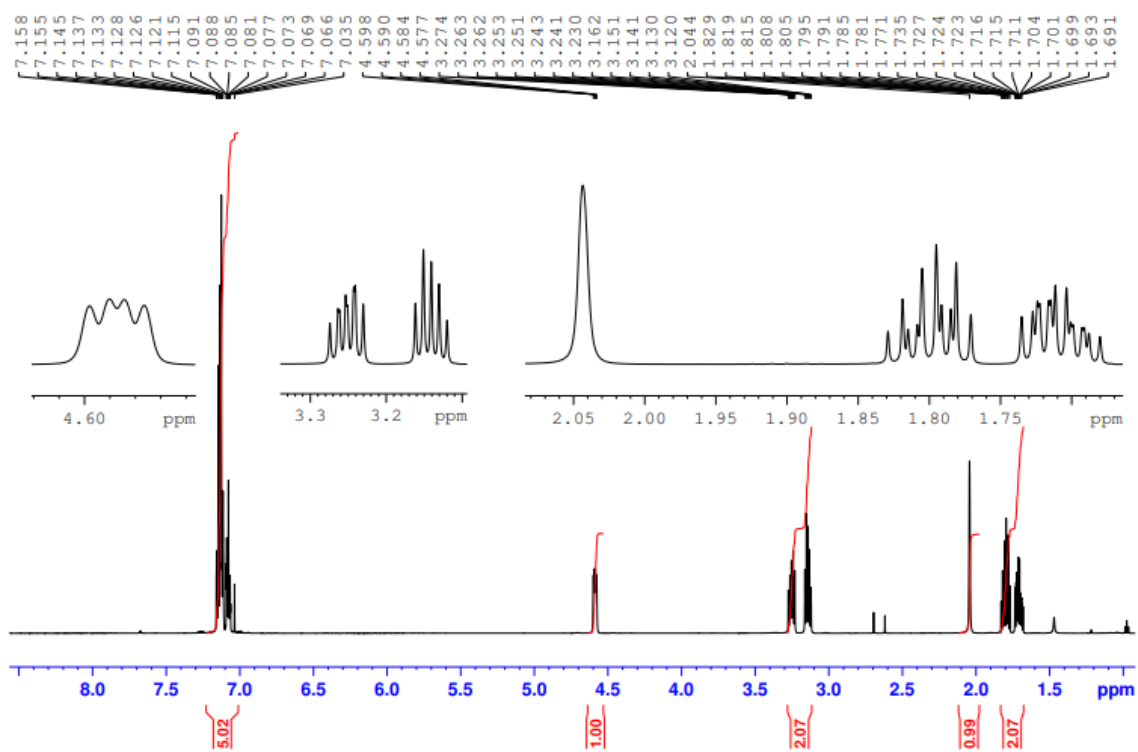
33. Aubé, J.; Hammond, M., Directed regiochemical control in the ring expansion reactions of a substituted trans-decalone. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31* (21), 2963-2966.
34. Smith, B. T.; Gracias, V.; Aubé, J., Regiochemical Studies of the Ring Expansion Reactions of Hydroxy Azides with Cyclic Ketones. *J. Org. Chem.* **2000**, *65* (12), 3771-3774.
35. Aube, J.; Milligan, G. L., Intramolecular Schmidt reaction of alkyl azides. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113* (23), 8965-8966.
36. Corey, E. J.; Suggs, J. W., Pyridinium chlorochromate. An efficient reagent for oxidation of primary and secondary alcohols to carbonyl compounds. *Tetrahedron Lett.* **1975**, *16* (31), 2647-2650.
37. Ley, S. V.; Madin, A., 2.7 - Oxidation Adjacent to Oxygen of Alcohols by Chromium Reagents. In *Comprehensive Organic Synthesis*, Trost, B. M.; Fleming, I., Eds. Pergamon: Oxford, 1991; pp 251-289.
38. Ribelin, T. P.; Aubé, J., Synthesis of enantiomerically enriched (R)-5-tert-butylazepan-2-one using a hydroxyalkyl azide mediated ring-expansion reaction. *Nat. Protoc.* **2008**, *3* (1), 137-143.
39. Howells, R. D.; Mc Cown, J. D., Trifluoromethanesulfonic acid and derivatives. *Chem. Rev.* **1977**, *77* (1), 69-92.
40. Stang, P. J.; Hanack, M.; Subramanian, L. R., Perfluoroalkanesulfonic esters: Methods of preparation and applications in organic chemistry. *Synthesis (Germany)* **1982**, *1982* (2), 85-126.
41. Binkley, R. W.; Ambrose, M. G., Synthesis and Reactions of Carbohydrate Trifluoro-Methanesulfonates (Carbohydrate Triplates). *J. Carbohydr. Chem.* **1984**, *3* (1), 1-49.
42. Dhakal, B.; Bohé, L.; Crich, D., Trifluoromethanesulfonate Anion as Nucleophile in Organic Chemistry. *J. Org. Chem.* **2017**, *82* (18), 9263-9269.
43. Ouellette, R. J.; Rawn, J. D., 22 - Condensation Reactions of Carbonyl Compounds. In *Organic Chemistry Study Guide*, Ouellette, R. J.; Rawn, J. D., Eds. Elsevier: Boston, 2015; pp 419-463.
44. Occhiato, E. G.; Trabocchi, A.; Guarna, A., Suzuki Reaction of Vinyl Triflates from Six- and Seven-Membered N-Alkoxy carbonyl Lactams with Boronic Acids and Esters. *J. Org. Chem.* **2001**, *66* (7), 2459-2465.
45. Miyaura, N.; Suzuki, A., Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reactions of Organoboron Compounds. *Chem. Rev.* **1995**, *95* (7), 2457-2483.

46. Miyaura, N.; Yamada, K.; Suzuki, A., A new stereospecific cross-coupling by the palladium-catalyzed reaction of 1-alkenylboranes with 1-alkenyl or 1-alkynyl halides. *Tetrahedron Lett.* **1979**, *20* (36), 3437-3440.
47. Hegedus, L. S., 1 - Introduction and Fundamentals. In *Comprehensive Organometallic Chemistry II*, Abel, E. W.; Stone, F. G. A.; Wilkinson, G., Eds. Elsevier: Oxford, 1995; pp 1-7.
48. Lima, C. F. R. A. C.; Rodrigues, A. S. M. C.; Silva, V. L. M.; Silva, A. M. S.; Santos, L. M. N. B. F., Role of the Base and Control of Selectivity in the Suzuki–Miyaura Cross-Coupling Reaction. *ChemCatChem* **2014**, *6* (5), 1291-1302.
49. Osakada, K., Chapter 5 - Transmetalation. In *Current Methods in Inorganic Chemistry*, Kurosawa, H.; Yamamoto, A., Eds. Elsevier: 2003; Vol. 3, pp 233-291.
50. Chu, D.; Wang, B.; Ye, T. Preparation of steroid derivatives as CYP17 inhibitors for the treatment of cancer. WO2011088160A2, 2011.
51. Silverstein, R. M.; Webster, F. X.; Kiemle, D., *Spectrometric Identification of Organic Compounds, 7th Edition*. Wiley: 2005; p 512.
52. Lieber, E.; Rao, C. N. R.; Chao, T. S.; Hoffman, C. W. W., Infrared Spectra of Organic Azides. *Anal. Chem.* **1957**, *29* (6), 916-918.
53. Field, L. D.; Sternhell, S.; Kalman, J. R., *Organic Structures from Spectra*. Fourth ed.; Wiley: 2011; p 15-20, 49.
54. Ouellette, R. J.; Rawn, J. D., 20 - Aldehydes and Ketones: Nucleophilic Addition Reactions. In *Organic Chemistry (Second Edition)*, Ouellette, R. J.; Rawn, J. D., Eds. Academic Press: 2018; pp 595-623.
55. Maryanoff, B. E.; Reitz, A. B., The Wittig olefination reaction and modifications involving phosphoryl-stabilized carbanions. Stereochemistry, mechanism, and selected synthetic aspects. *Chem. Rev.* **1989**, *89* (4), 863-927.
56. Beletskaya, I. P.; Cheprakov, A. V., The Heck Reaction as a Sharpening Stone of Palladium Catalysis. *Chem. Rev.* **2000**, *100* (8), 3009-3066.
57. Paulson, D. R.; Hartwig, A. L.; Moran, G. F., The ethylene ketal protecting group in organic synthesis. An undergraduate laboratory experiment. *J. Chem. Educ.* **1973**, *50* (3), 216.
58. Baumgarten, H. E.; Bower, F. A., Reactions of Amines. II. Degradation via Tertiary Amine Oxides¹. *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79* (12), 3145-3149.

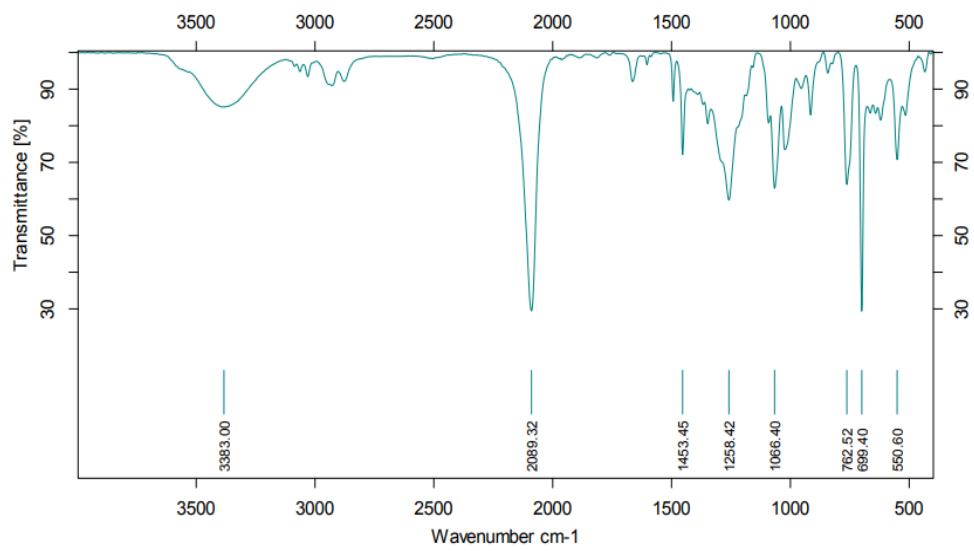
A - Spektroskopisk data av sambinding 2



Figur A.1: ^{13}C NMR spekter av 2.

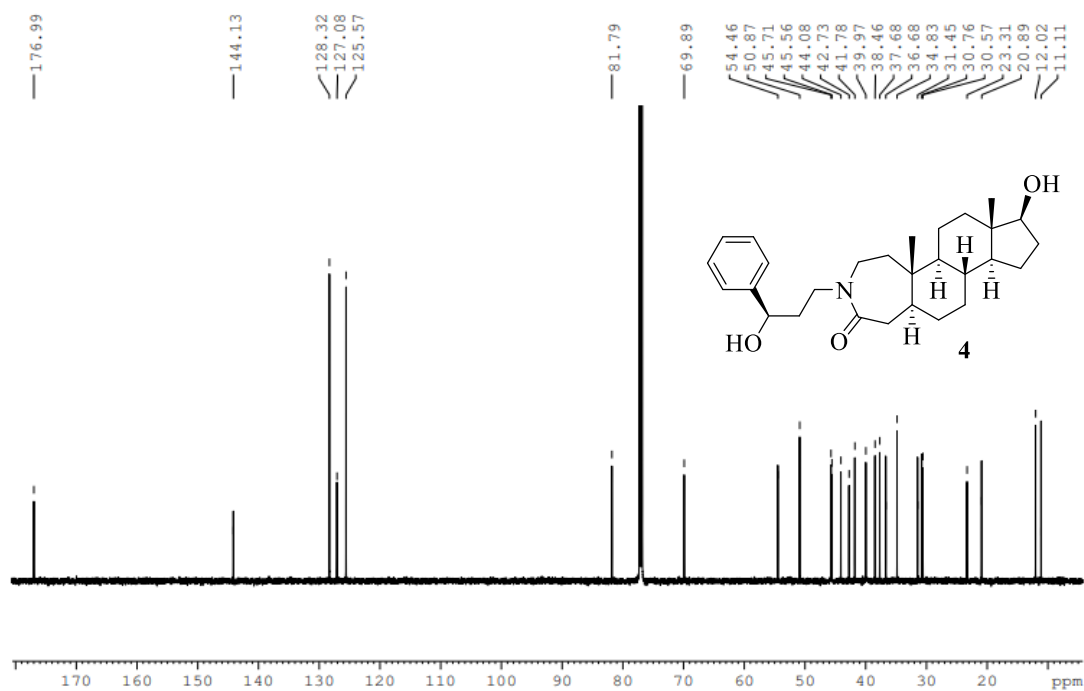


Figur A.2: ^1H NMR spekter av 2.

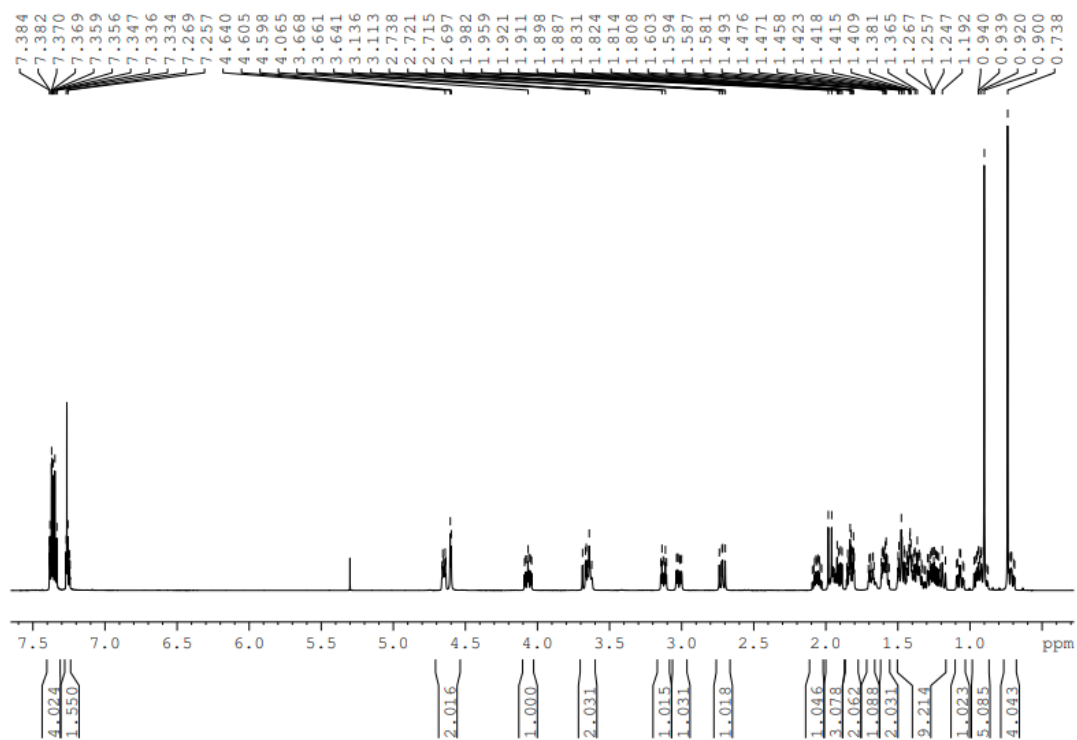


Figur A.3: IR-spekter av 2.

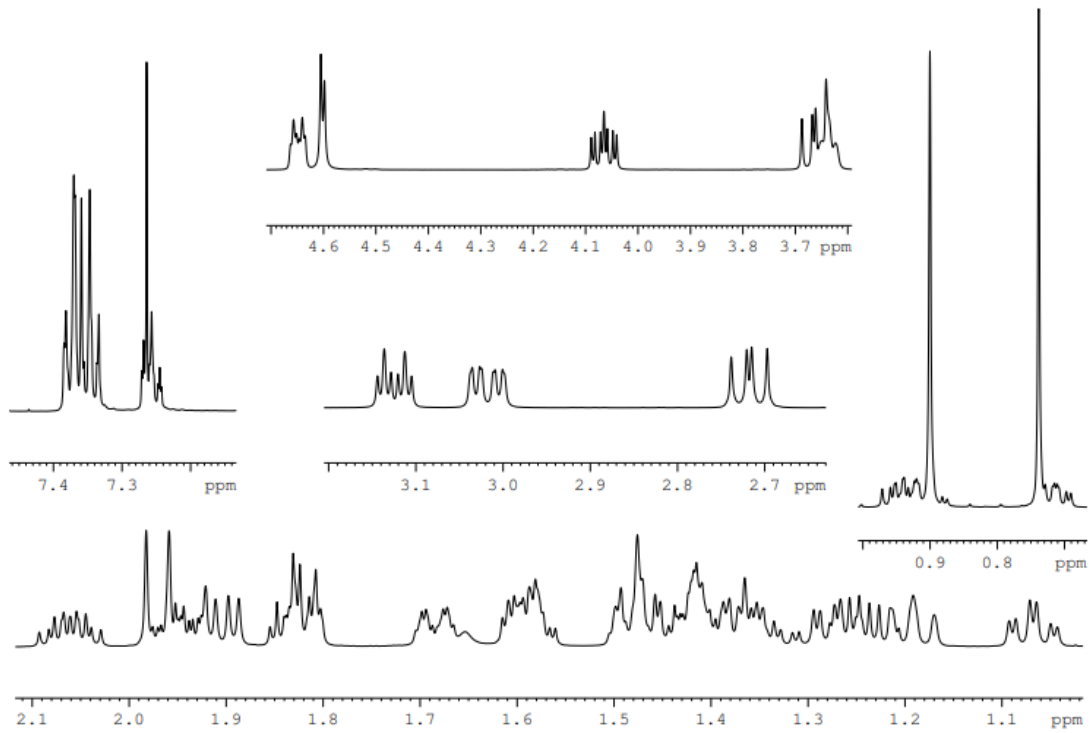
B - Spektroskopisk data av sambinding 4



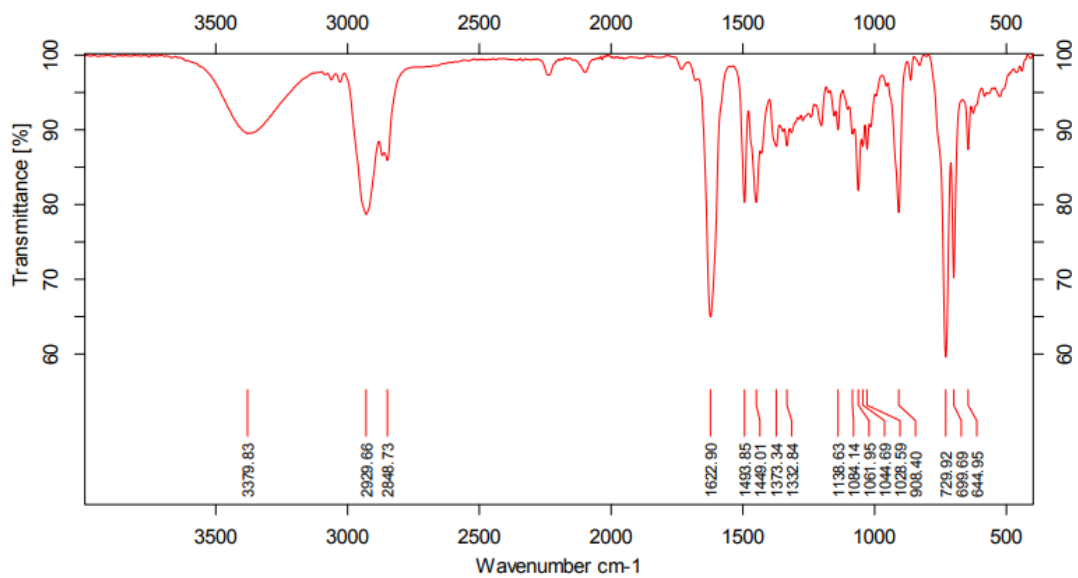
Figur B.1: ^{13}C NMR spekter av 4.



Figur B.2: ^1H NMR spekter av 4.

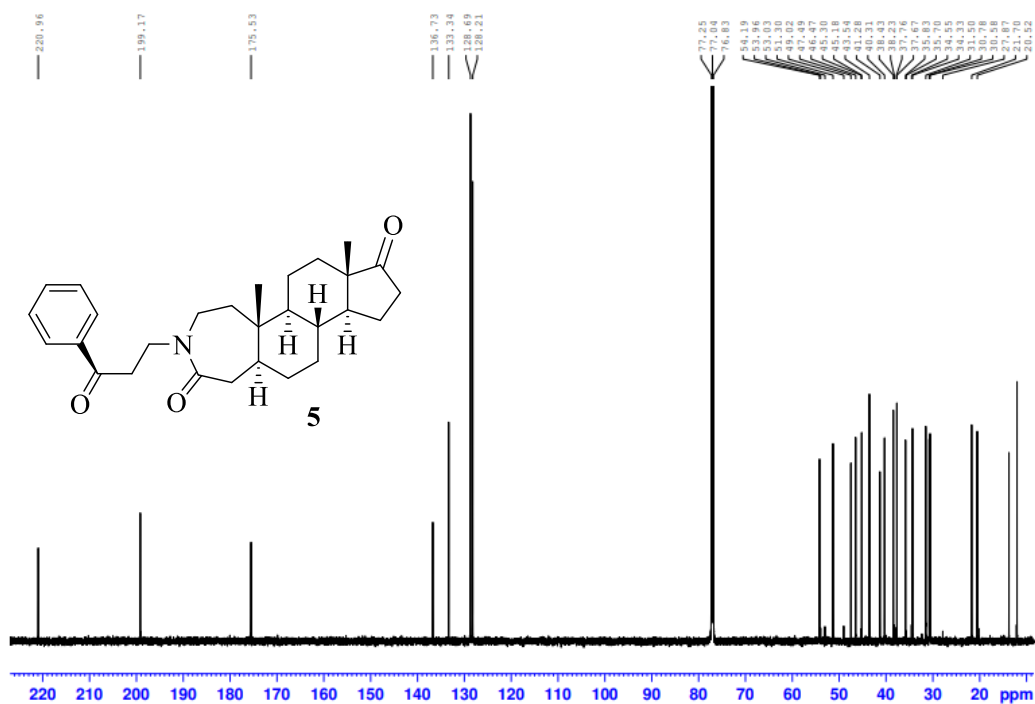


Figur B.3: ^1H NMR spekter av **4** som er zooma inn.

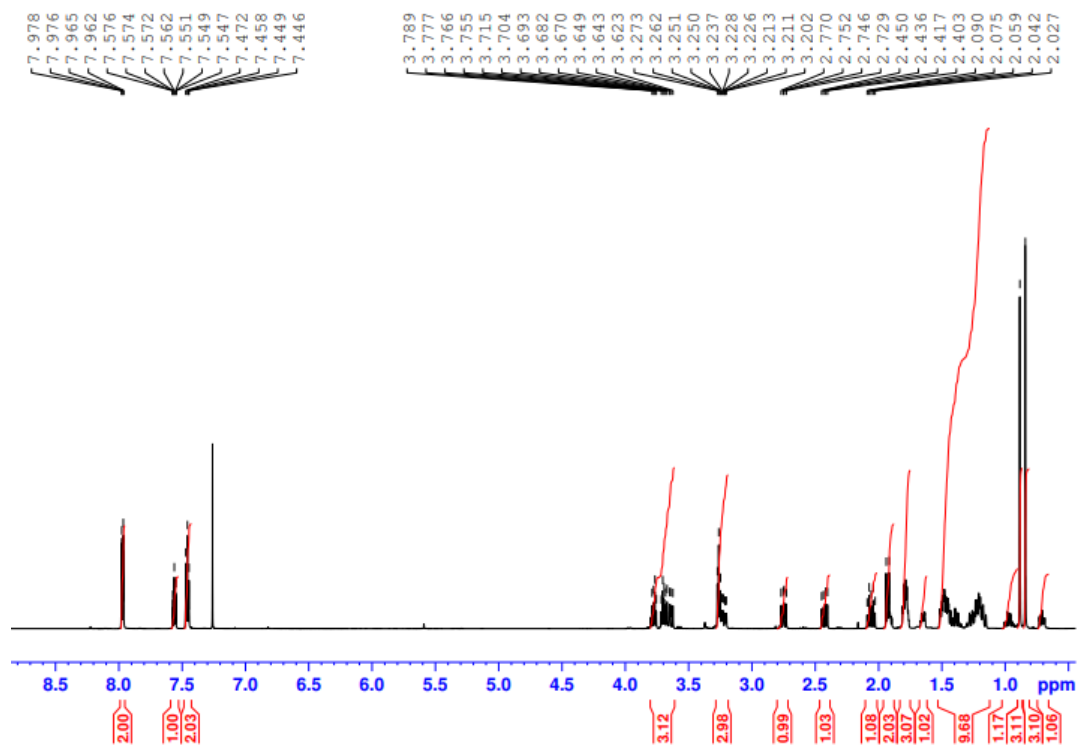


Figur B.4: IR-spekter av **4**.

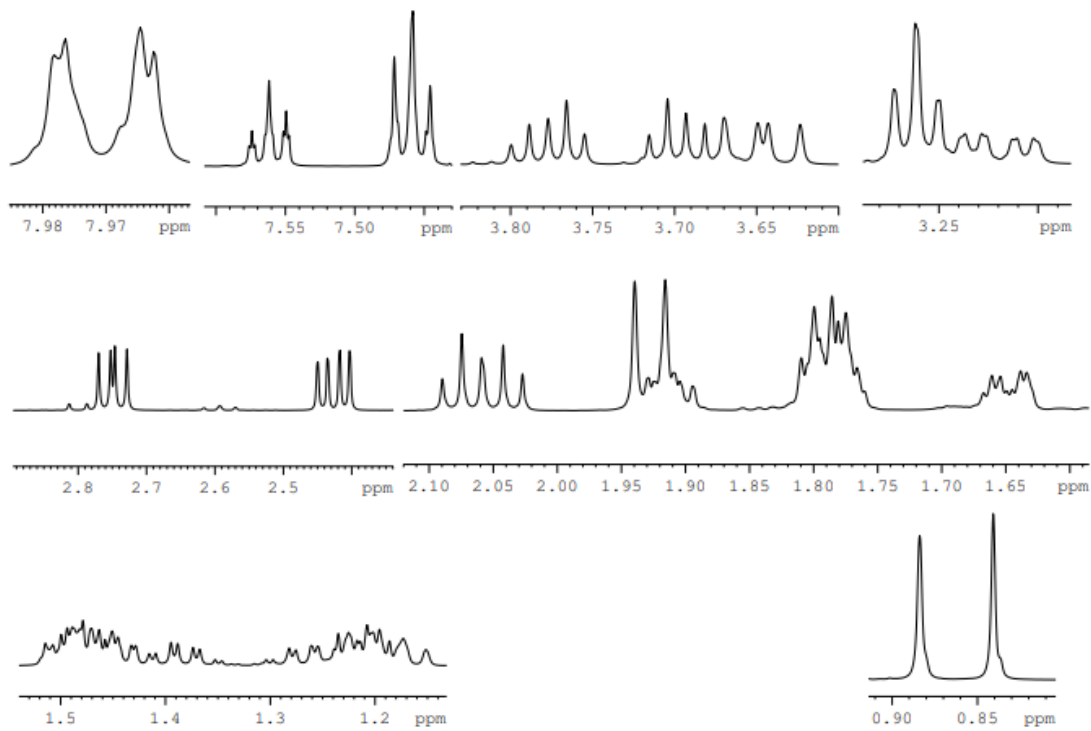
C - Spektroskopisk data av sambinding 5



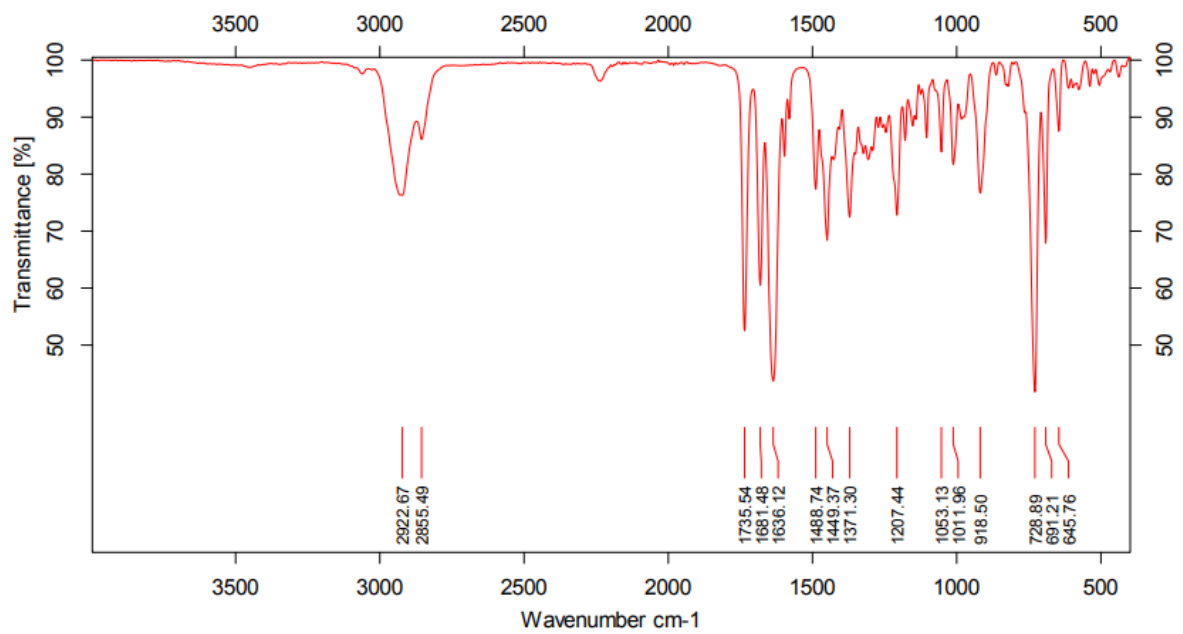
Figur C.1: ^{13}C NMR spekter av 5.



Figur C.2: ^1H NMR spekter av 5.

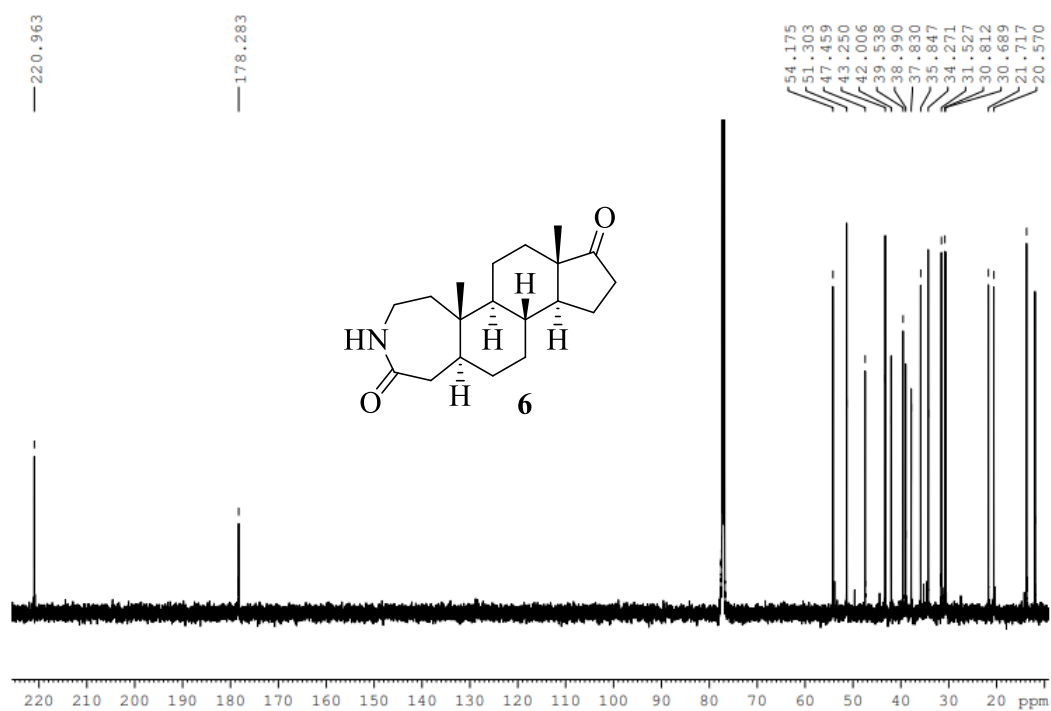


Figur C.3: ^1H NMR spekter av **5** som er zooma inn.

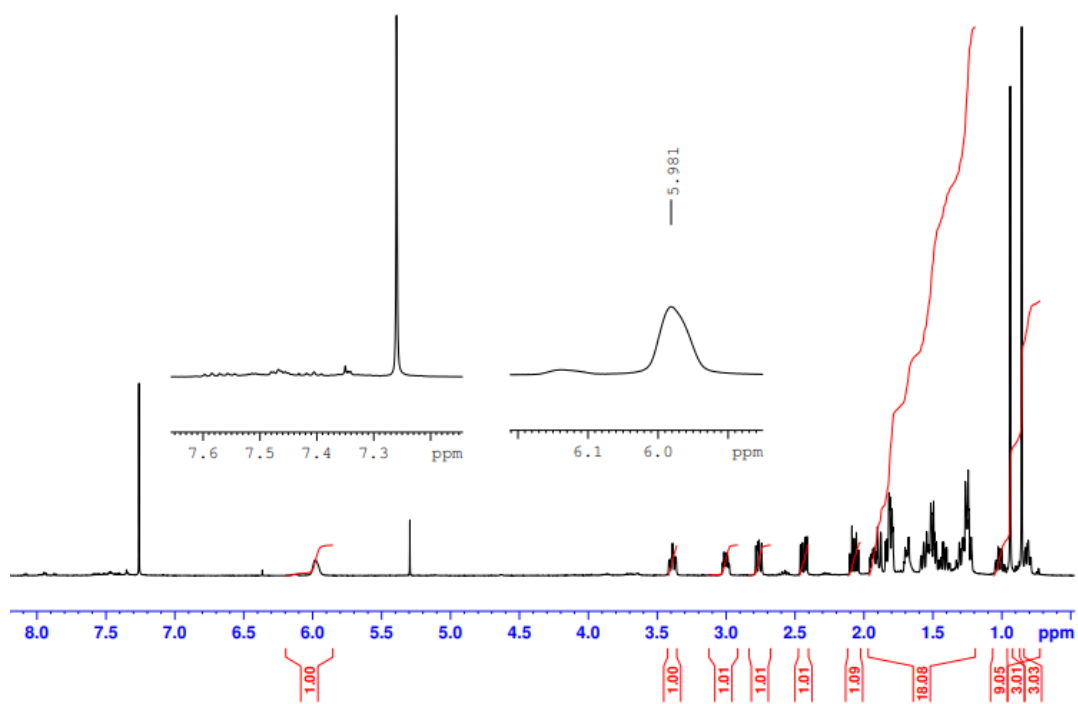


Figur C.4: IR-spekter av **5**.

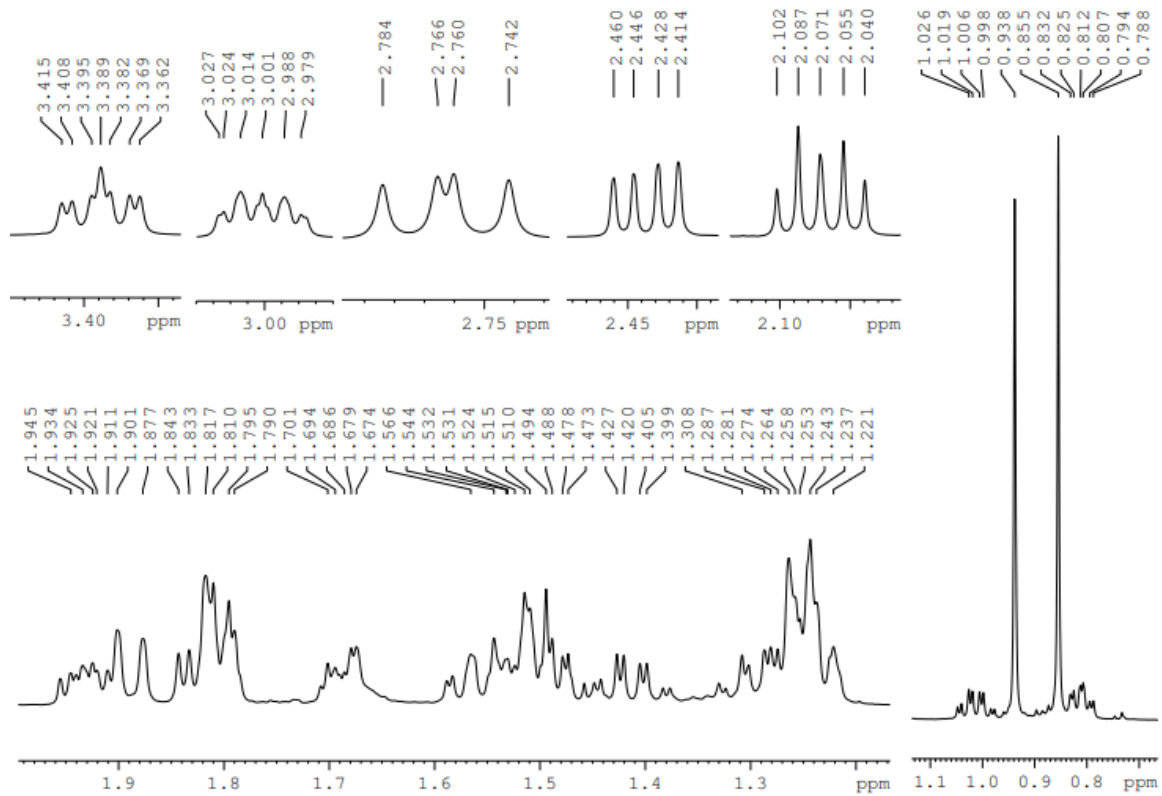
D - Spektroskopisk data av sambinding 6



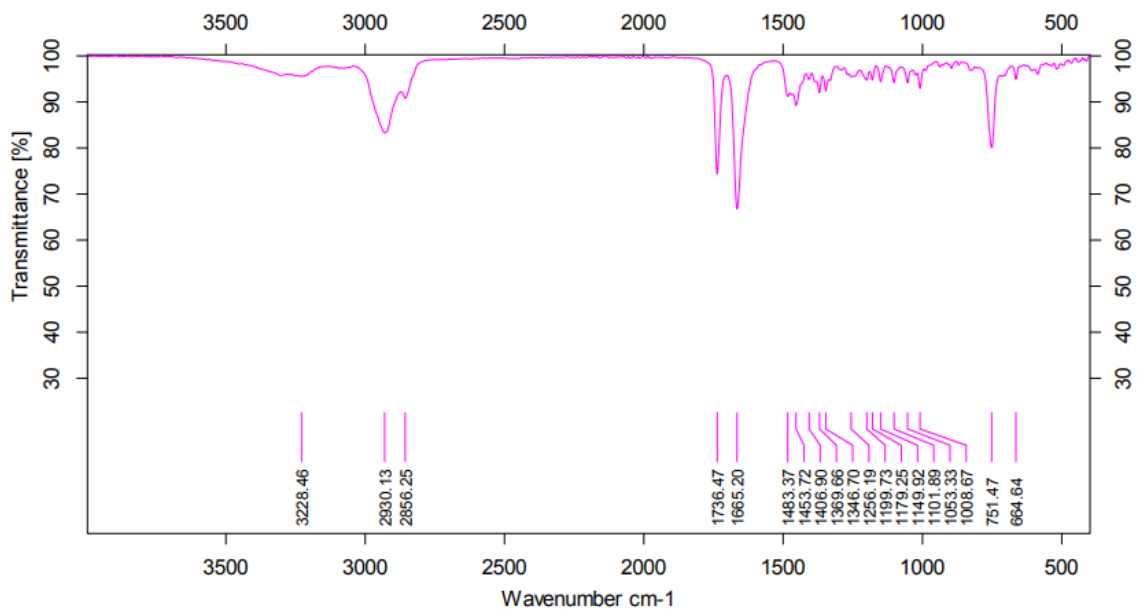
Figur D.1: ^{13}C NMR spekter av 6.



Figur D.2: ^1H NMR spekter av 6.

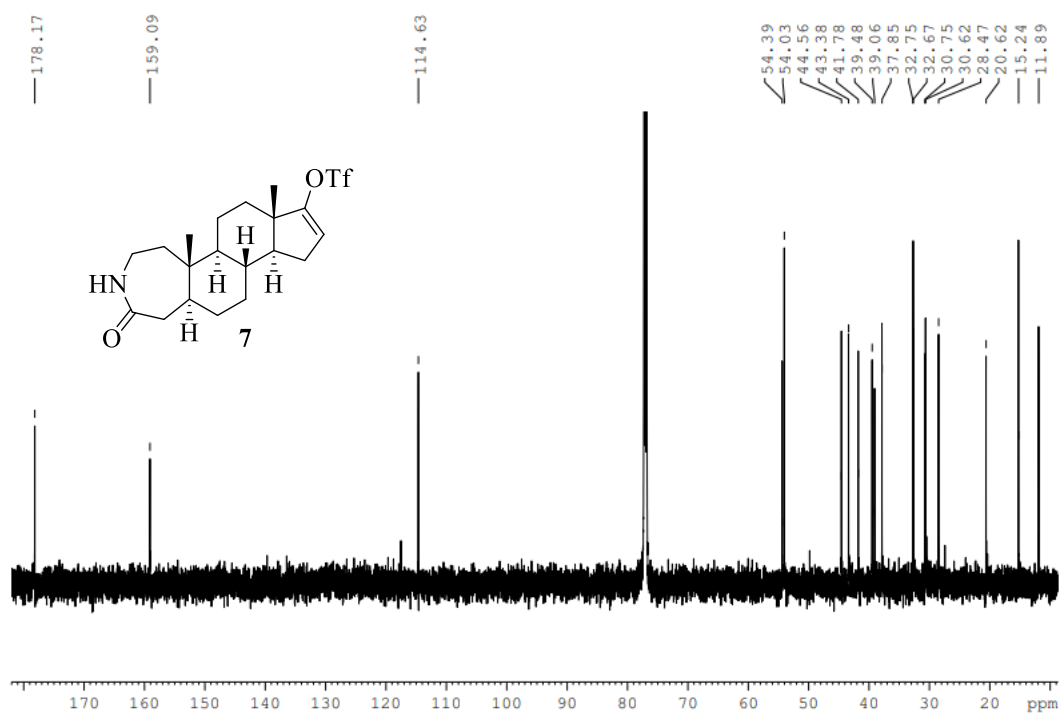


Figur D.3: ^1H NMR spekter av **6** som er zooma inn.

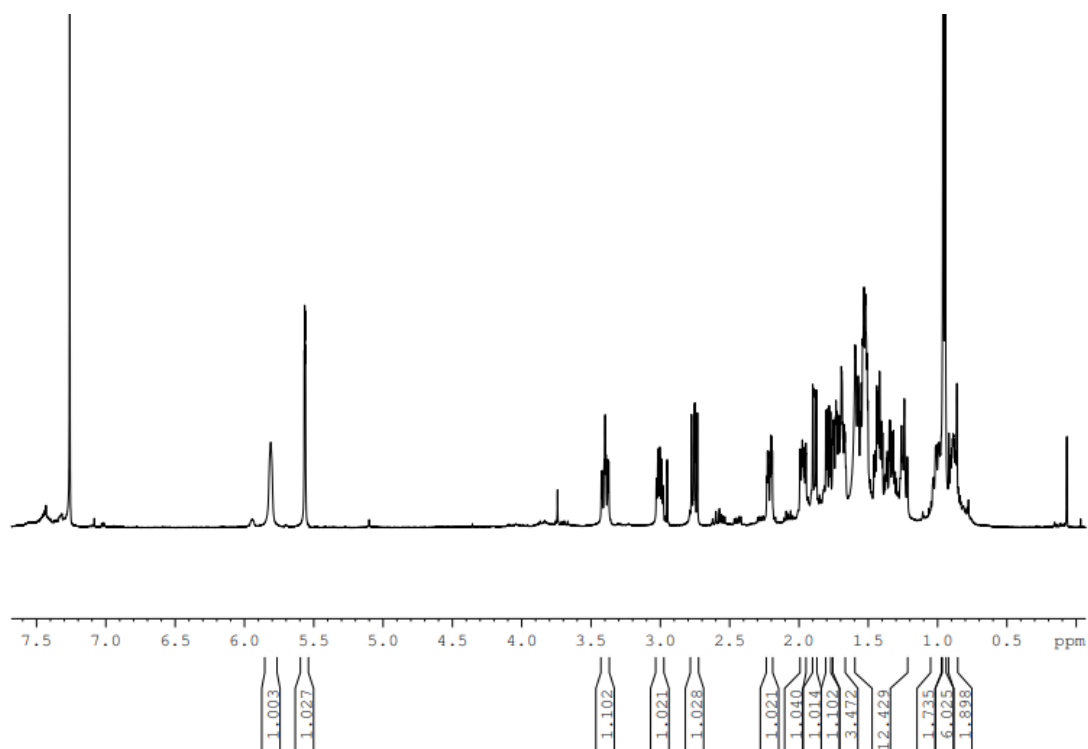


Figur D.4: IR-spekter av **6**.

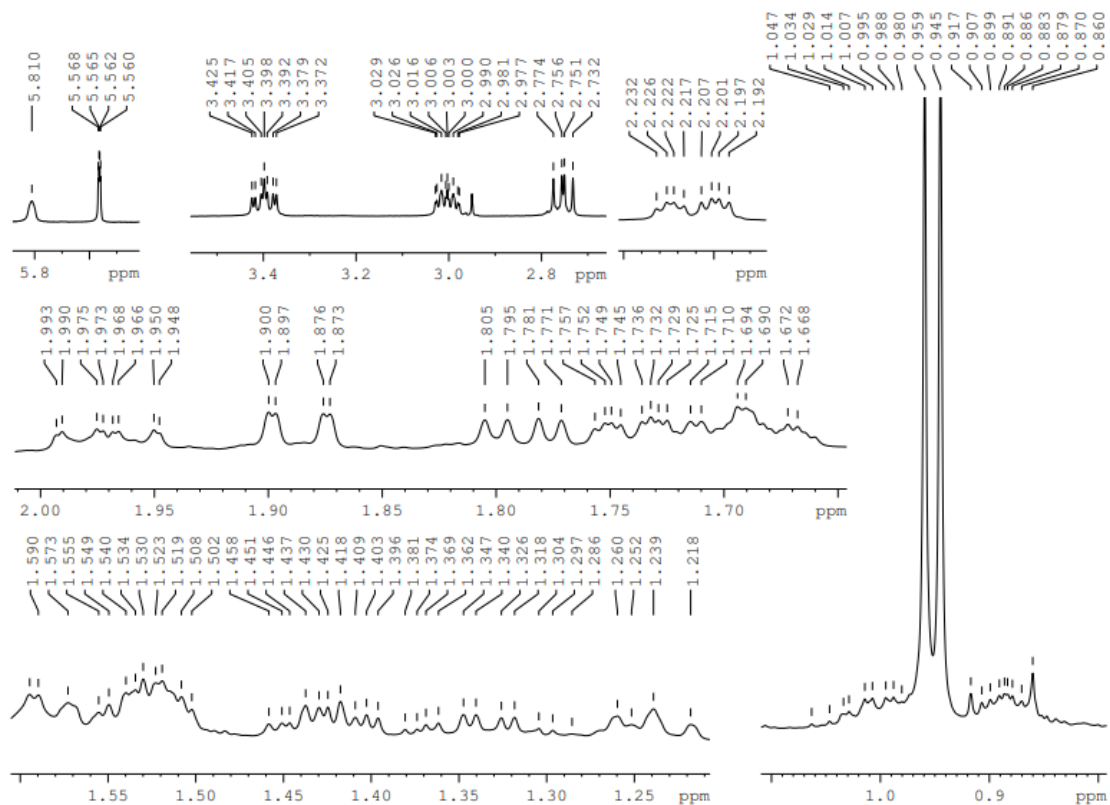
E - Spektroskopisk data av sambinding 7.



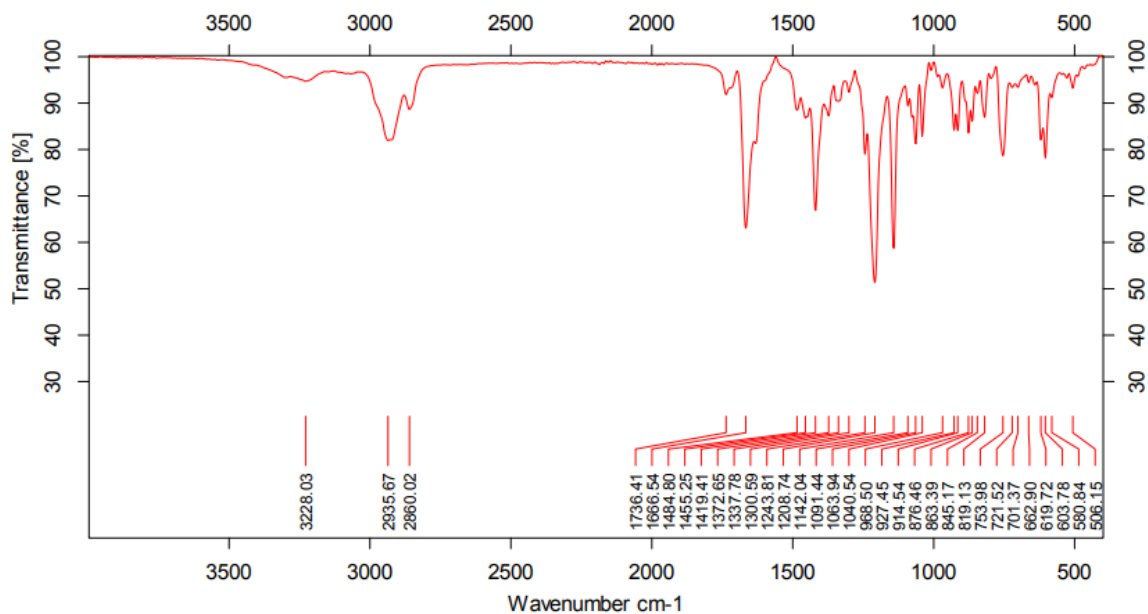
Figur E.1: ^{13}C NMR spekter av 7.



Figur E.2: ^1H NMR spekter av 7.



Figur E.3: ^1H NMR spekter av 7 som er zooma inn.



Figur E.4: IR-spekter av 7.

Single Mass Analysis

Tolerance = 2.0 PPM / DBE: min = -10.0, max = 50.0

Element prediction: Off

Number of isotope peaks used for i-FIT = 6

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions

1513 formula(e) evaluated with 3 results within limits (all results (up to 1000) for each mass)

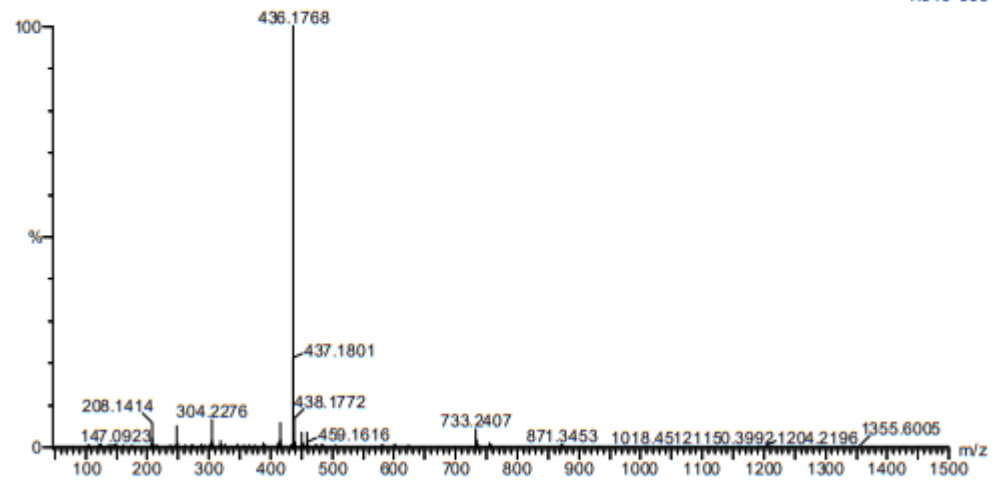
Elements Used:

C: 0-100 H: 0-100 N: 0-2 O: 0-10 S: 0-1 F: 0-3

2021_339_114 (1.075)AM2 (Ar,35000.0,0.00,0.00); ABS; Cm (114:117)

1: TOF MS ES+

1.64e+006

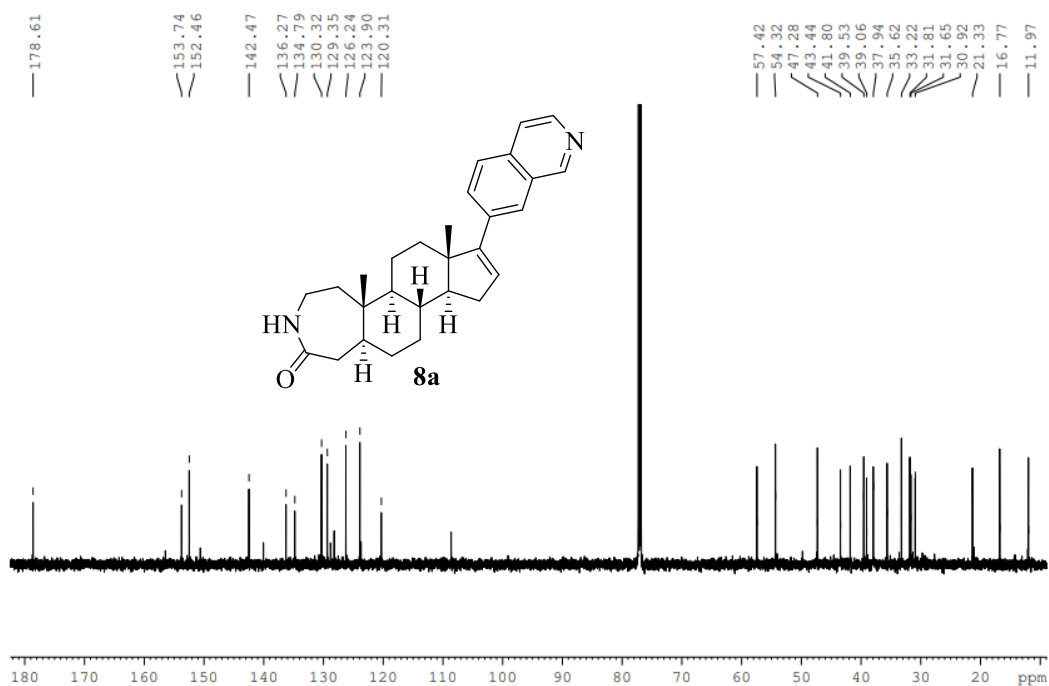


Minimum: -10.0
Maximum: 5.0 2.0 50.0

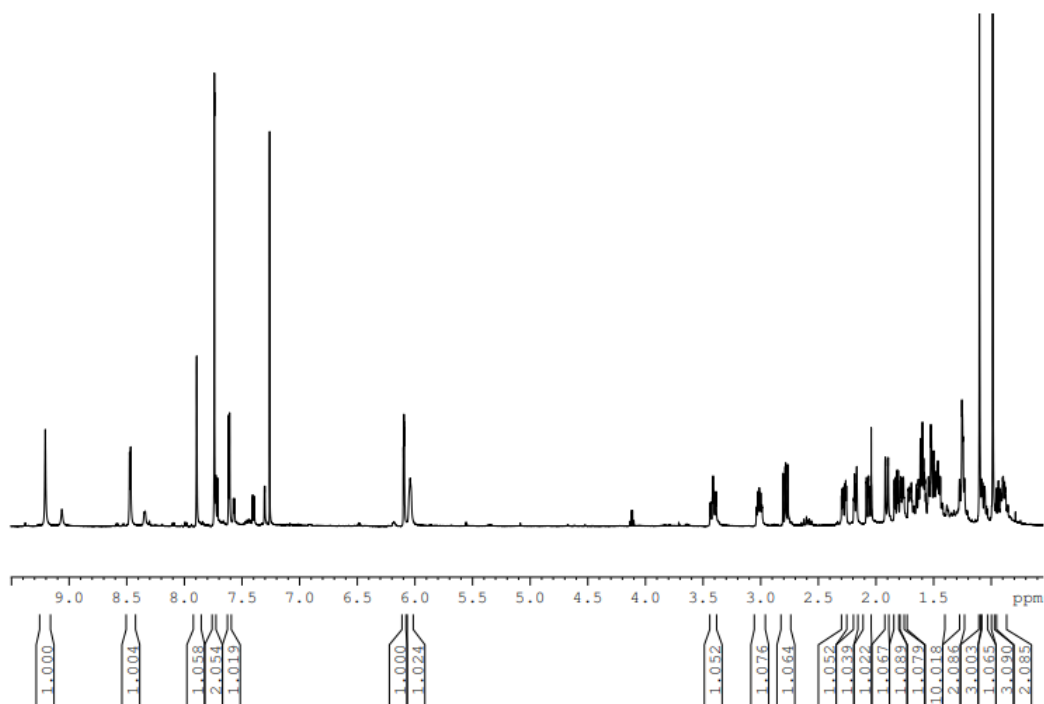
Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	i-FIT	Norm	Conf (%)	Formula
436.1768	436.1769	-0.1	-0.2	5.5	1508.5	0.000	99.98	C20 H29 N O4 S F3
	436.1772	-0.4	-0.9	9.5	1517.2	8.663	0.02	C22 H27 N O7 F
	436.1760	0.8	1.8	13.5	1518.7	10.144	0.00	C25 H26 N O6

Figur E.5: MS-spekter av 7, [M + H]⁺

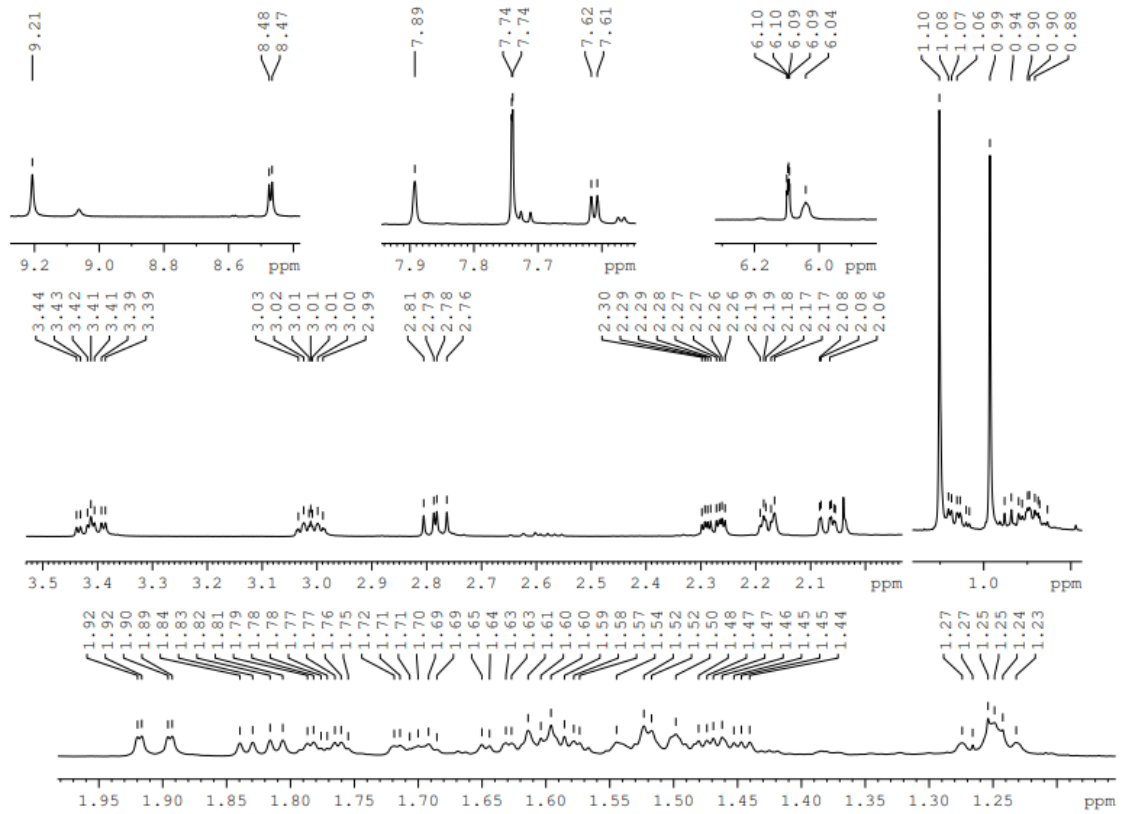
F - Spektroskopisk data av sambinding **8a**



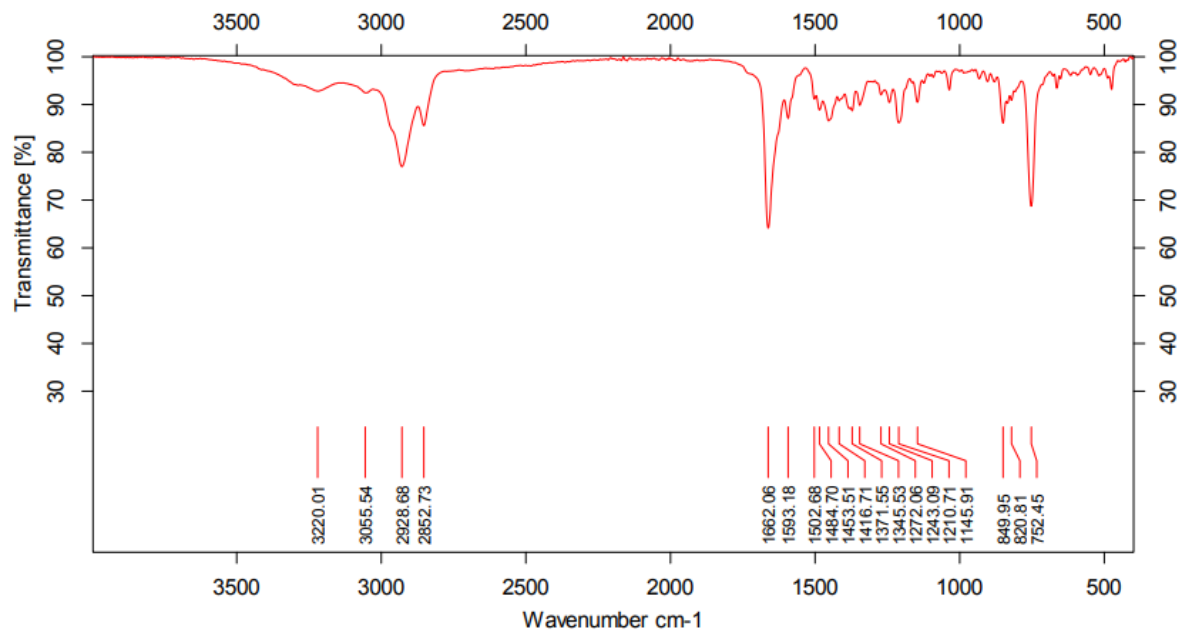
Figur F.1: ^{13}C NMR spekter av **8a**.



Figur F.2: ^1H NMR spekter av **8a**.

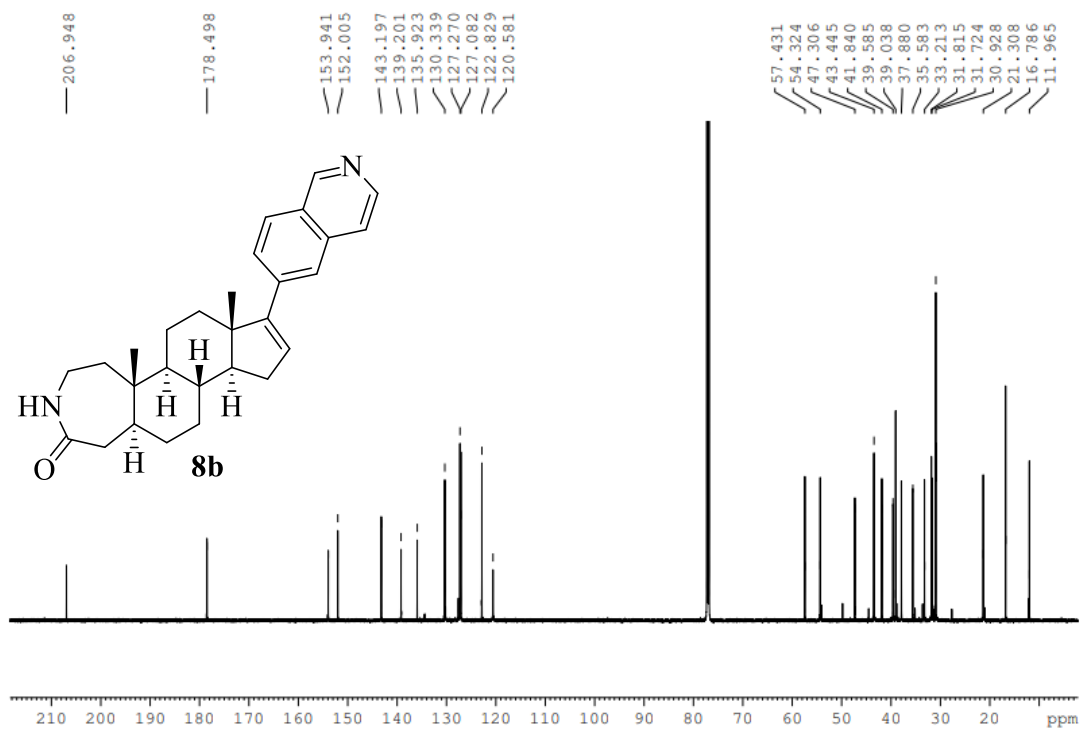


Figur F.3: ^1H NMR spekter av **8a** som er zooma inn.

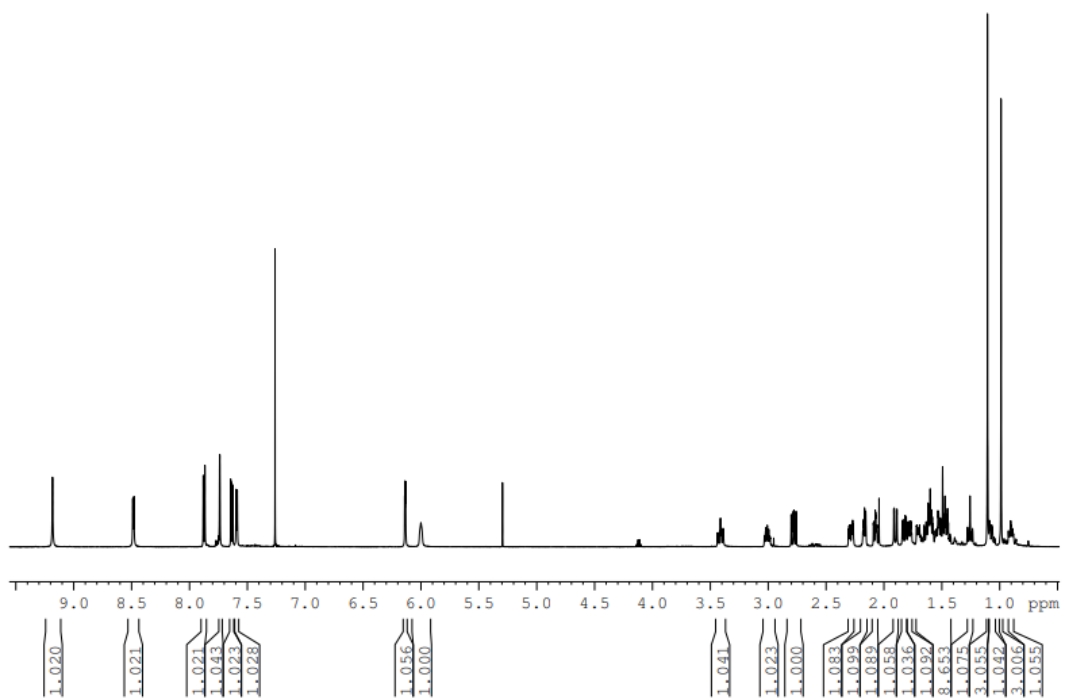


Figur F.4: IR-spekter av **8a**.

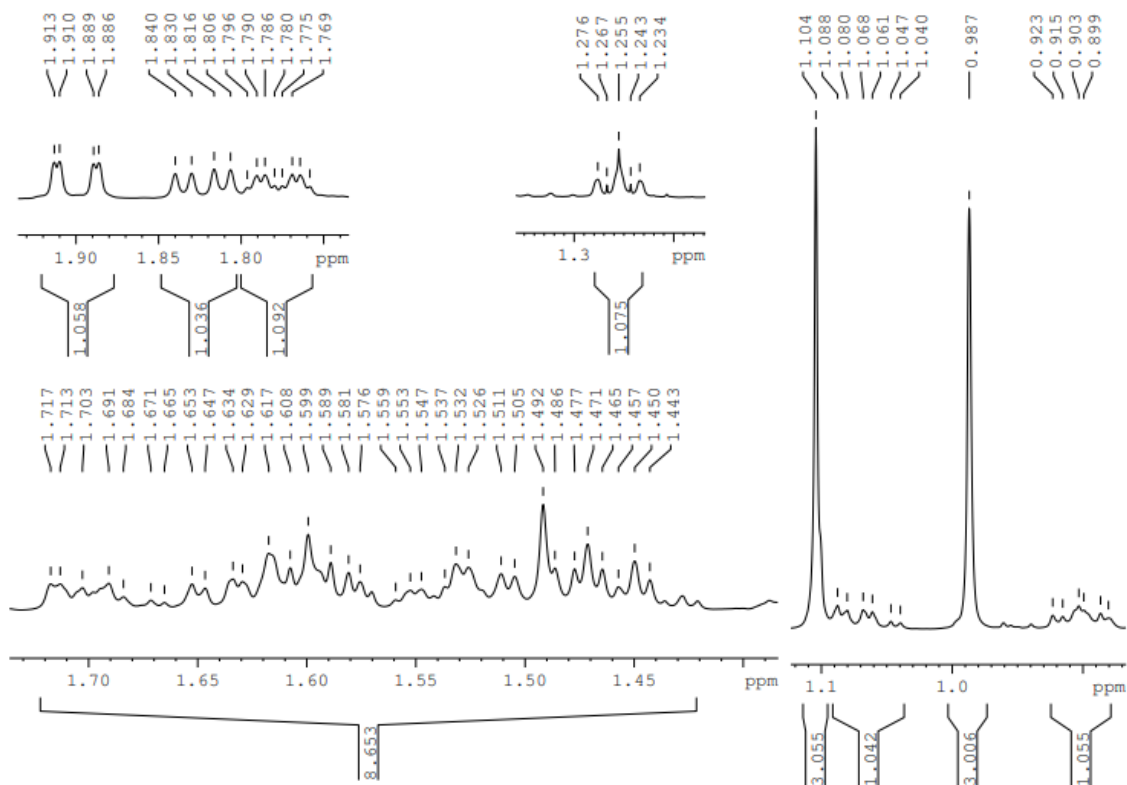
G - Spektroskopisk data av sambinding 8b



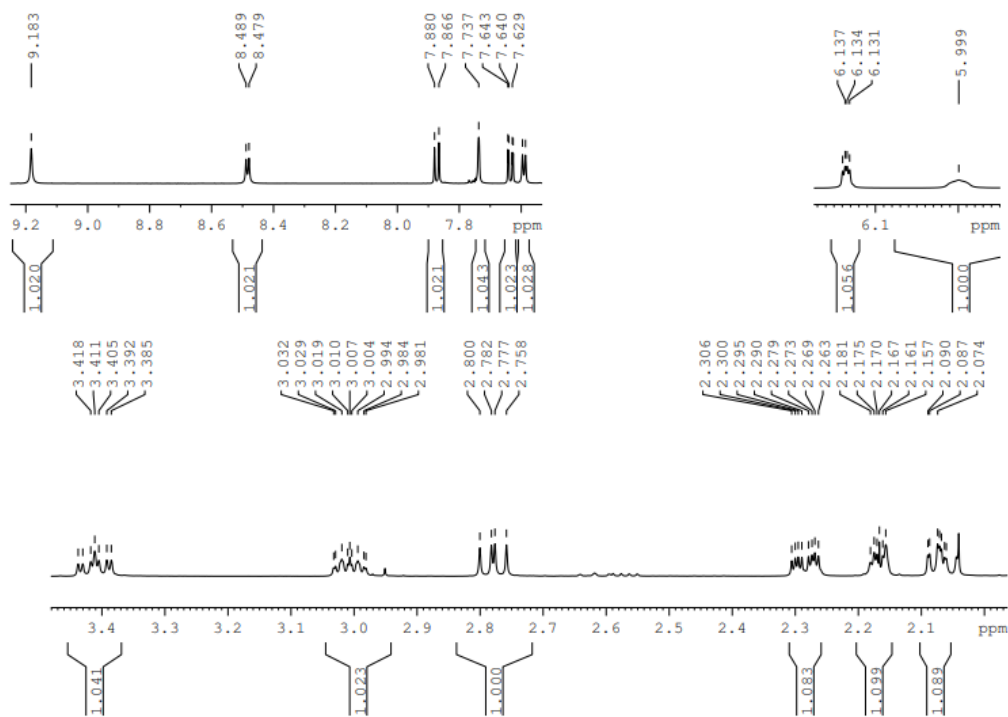
Figur G.1: ^{13}C NMR spekter av **8b**.



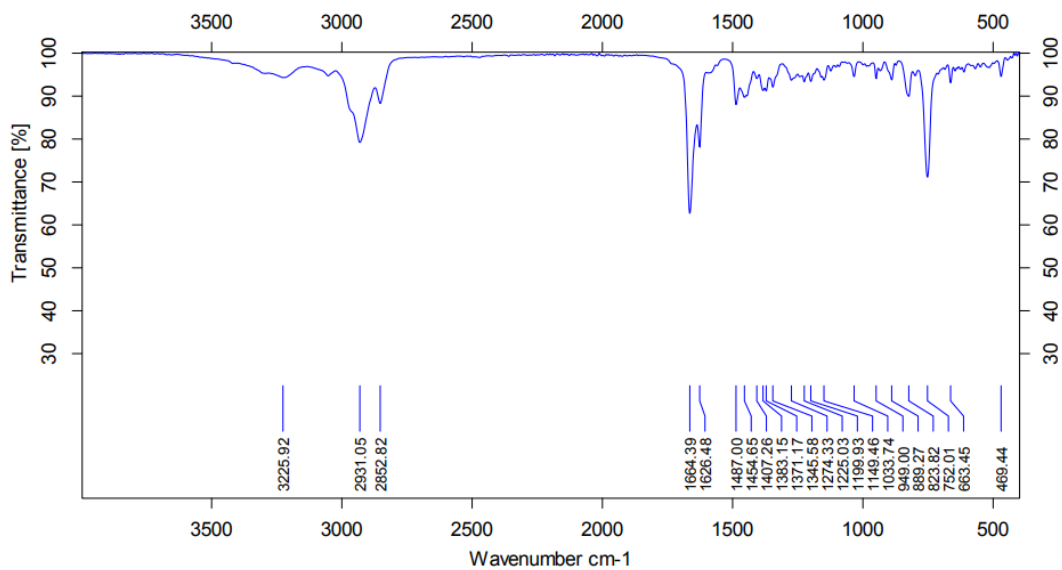
Figur G.2: ^1H NMR spekter av **8b**.



Figur G.3: ^1H NMR spekter av **8b** som er zooma inn.



Figur G.4: ^1H NMR spekter av **8b** som er zooma inn.



Figur G.5: IR-spekter av 8b.

Elemental Composition Report

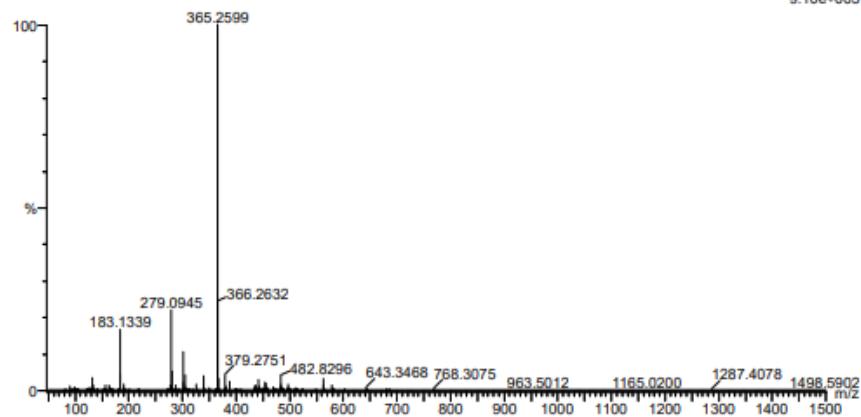
Page 1

Single Mass Analysis

Tolerance = 3.0 PPM / DBE: min = -10.0, max = 50.0
 Element prediction: Off
 Number of isotope peaks used for i-FIT = 6

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions
 470 formula(e) evaluated with 1 results within limits (all results (up to 1000) for each mass)
 Elements Used:
 C: 0-100 H: 0-100 N: 0-3 O: 0-10 S: 0-1
 2021_359 63 (0.604)AM2 (Ar,35000.0,0.00,0.00);ABS; Cm (63)
 1: TOF MS ES+

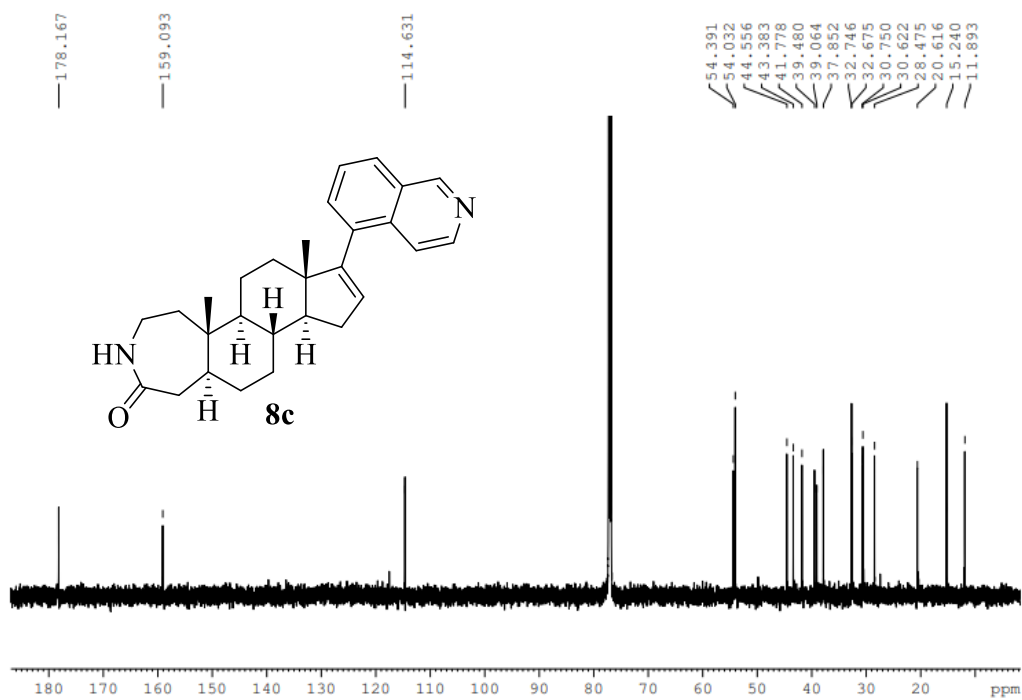
9.10e+005



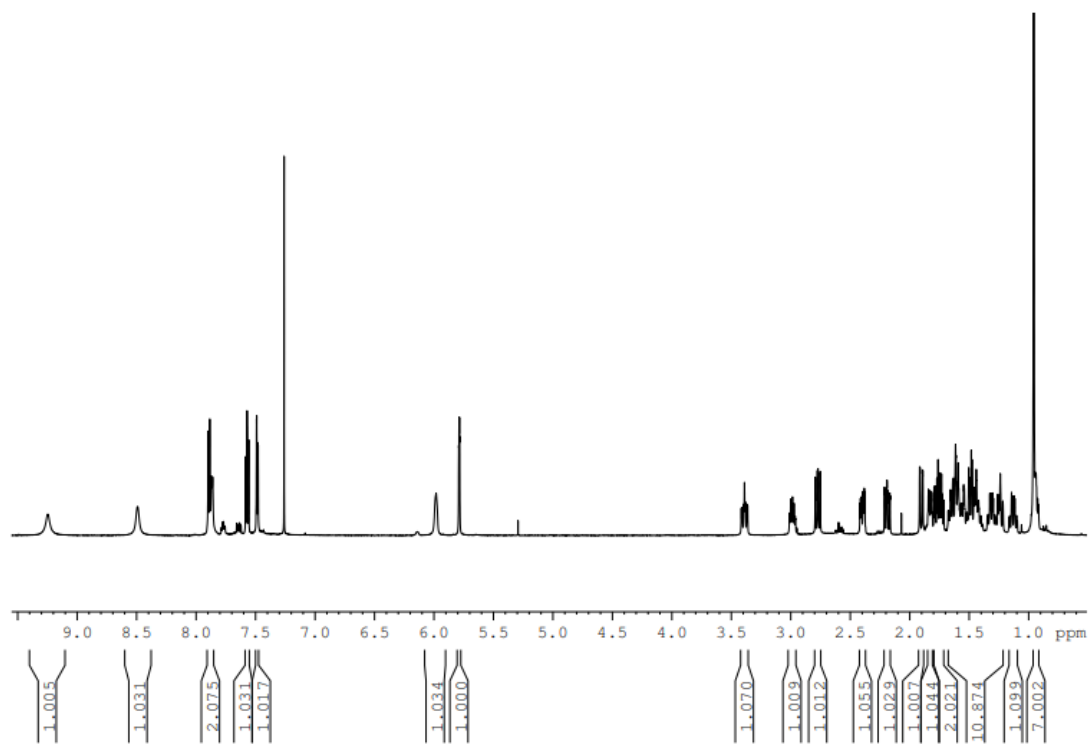
Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	i-FIT	Norm	Conf(%)	Formula
365.2599	365.2593	0.6	1.6	9.5	1874.9	n/a	n/a	C24 H33 N2 O

Figur G.6: MS-spekter av 8b, [M + H]⁺

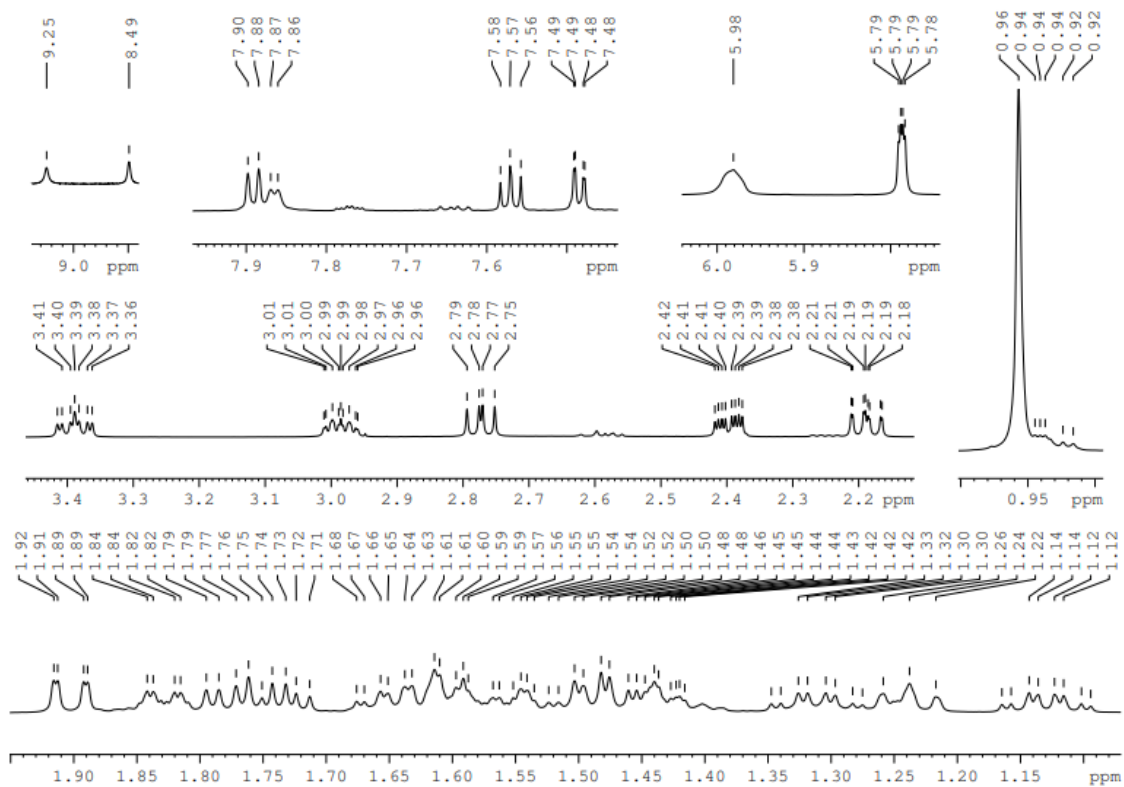
H - Spektroskopisk data av sambinding 8c



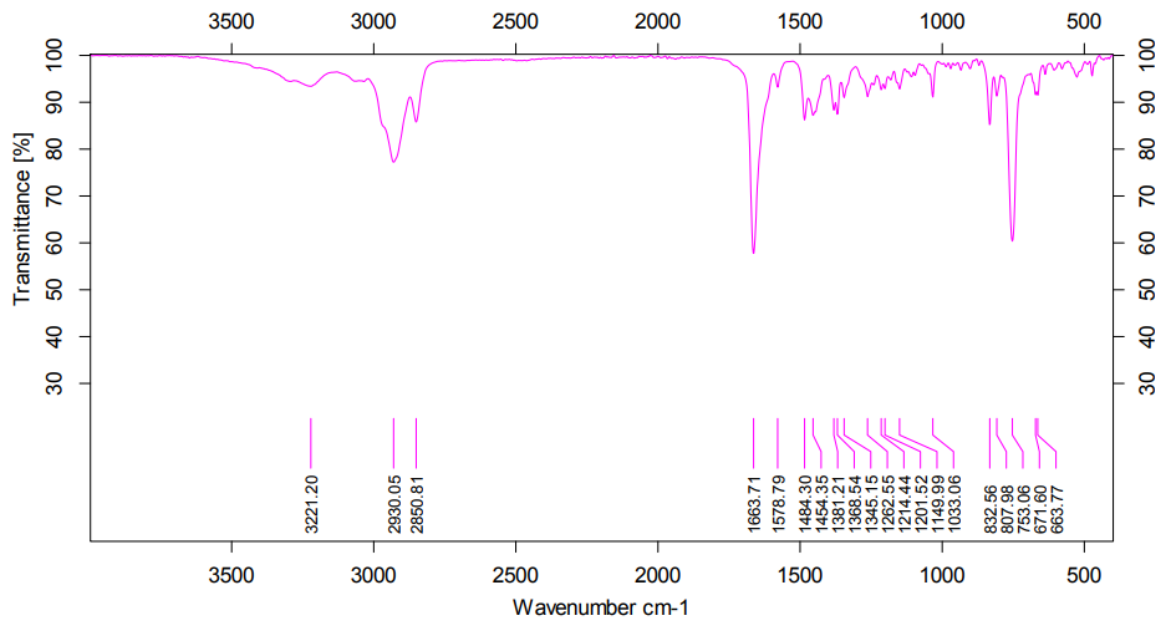
Figur H.1: ^{13}C NMR spekter av **8c**.



Figur H.2: ^1H NMR spekter av **8c**.



Figur H.3: ^1H NMR spekter av **8c** som er zooma inn.



Figur H.4: IR-spekter av **8c**.

Single Mass Analysis

Tolerance = 2.0 PPM / DBE: min = -10.0, max = 50.0

Element prediction: Off

Number of isotope peaks used for i-FIT = 6

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions

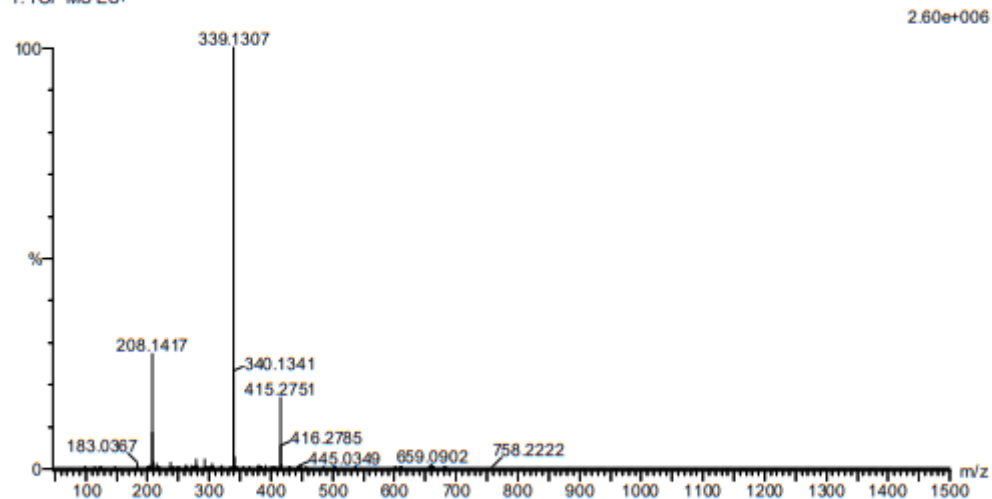
1910 formula(e) evaluated with 3 results within limits (all results (up to 1000) for each mass)

Elements Used:

C: 0-100 H: 0-100 N: 0-10 O: 0-10 Cl: 0-2

2021_336 88 (0.839) AM2 (Ar,35000.0,0.00,0.00); ABS; Cm (88:91)

1: TOF MS ES+

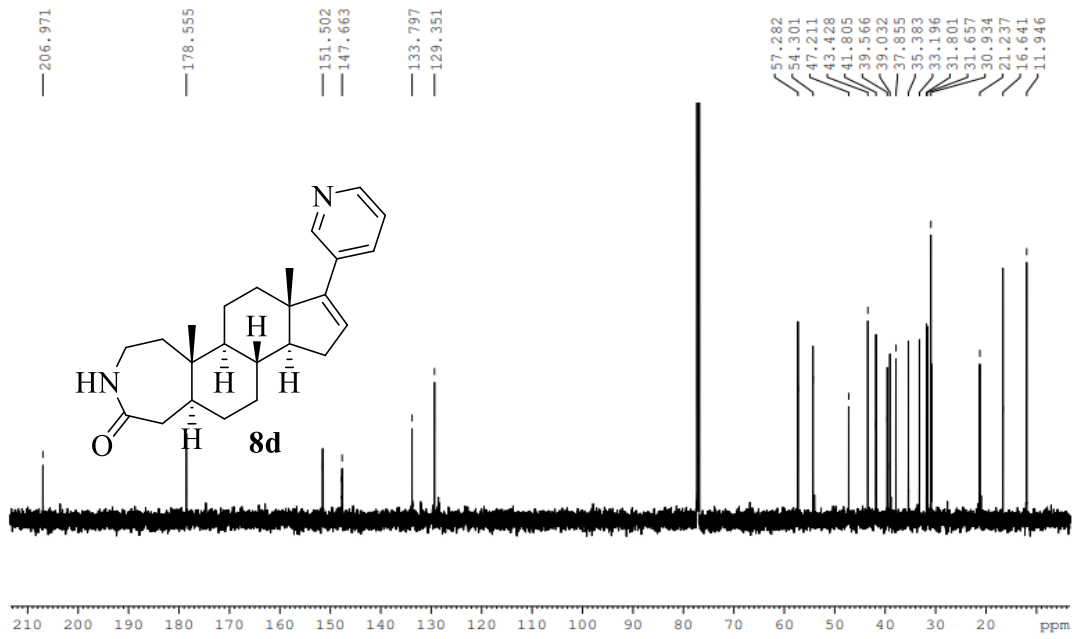


Minimum: -10.0
Maximum: 50.0

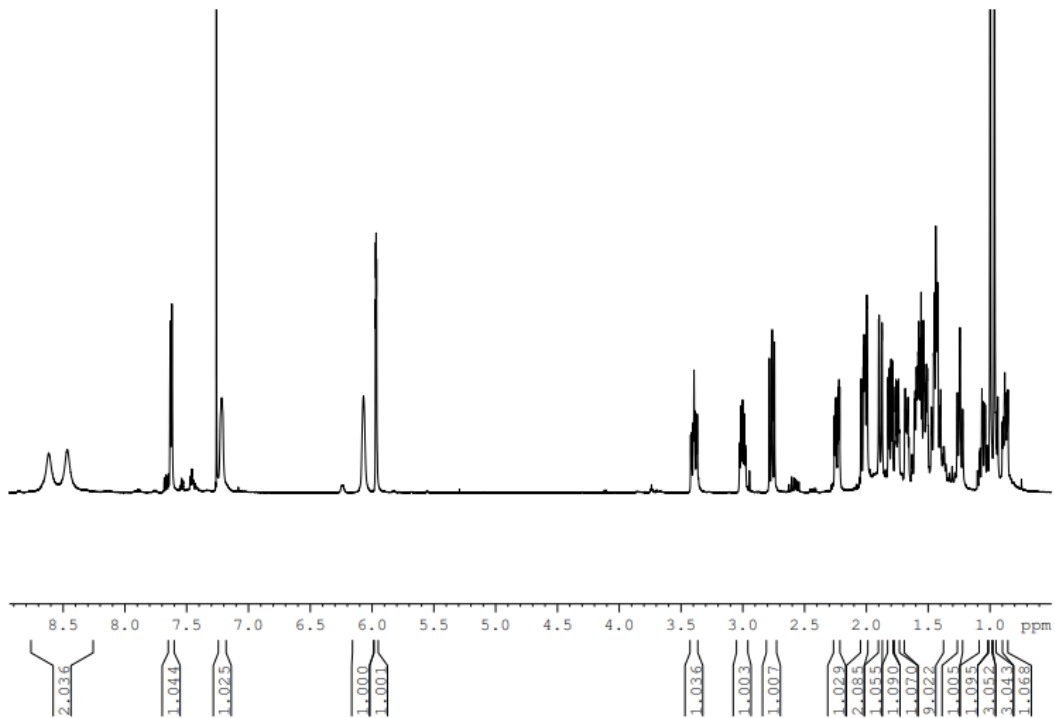
Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	i-FIT	Norm	Conf (%)	Formula
415.2751	415.2749	0.2	0.5	12.5	1520.6	0.000	100.00	C28 H35 N2 O
	415.2746	0.5	1.2	-1.5	1549.6	28.998	0.00	C21 H45 O3 Cl2
	415.2746	0.5	1.2	-9.5	1546.6	25.974	0.00	ClO H44 N4 O10 Cl

Figur H.5: MS-spekter av **8c**, $[M + H]^+$

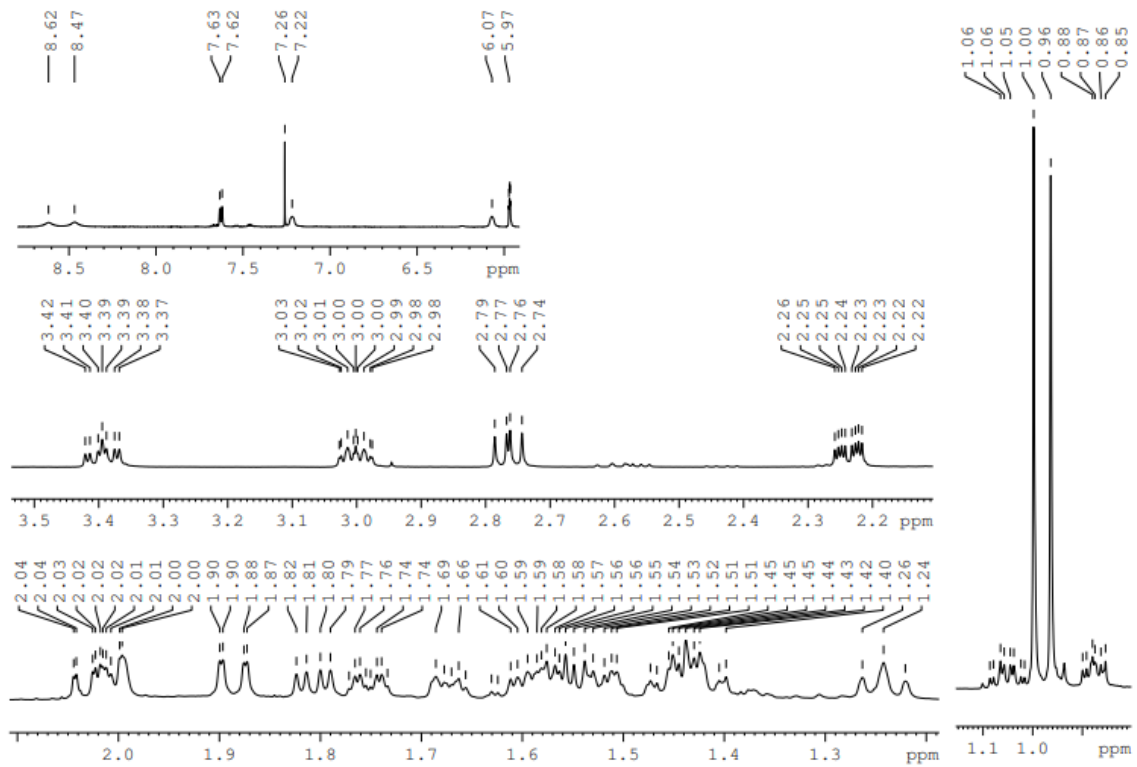
I - Spektroskopisk data av sambinding 8d



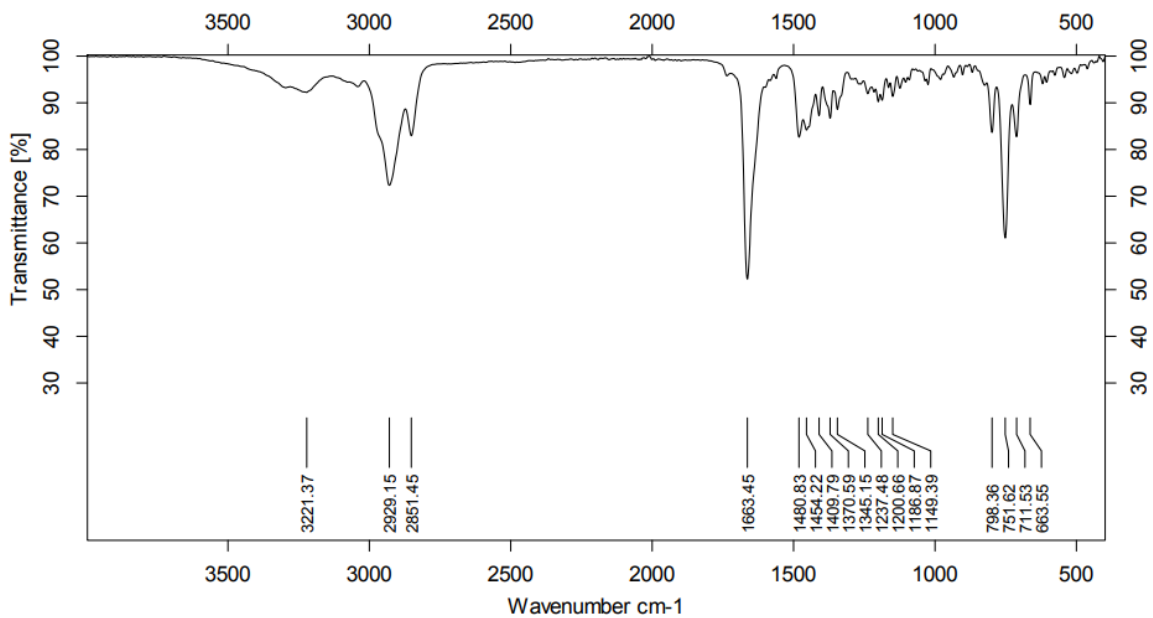
Figur I.1: ^{13}C NMR spekter av **8d**.



Figur I.2: ^1H NMR spekter av **8d**.



Figur I.3: ^1H NMR spekter av **8d** som er zooma inn.



Figur I.4: IR-spekter av **8d**.

Single Mass Analysis

Tolerance = 3.0 PPM / DBE: min = -10.0, max = 50.0

Element prediction: Off

Number of isotope peaks used for i-FIT = 6

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions

470 formula(e) evaluated with 1 results within limits (all results (up to 1000) for each mass)

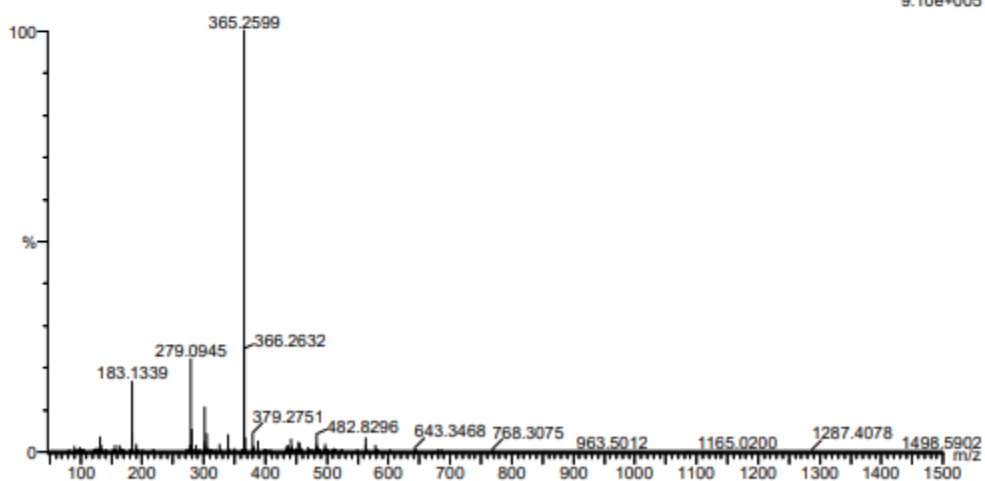
Elements Used:

C: 0-100 H: 0-100 N: 0-3 O: 0-10 S: 0-1

2021_359 63 (0.604)AM2 (Ar,35000.0,0.00,0.00);ABS; Cm (63)

1: TOF MS ES+

9.10e+005

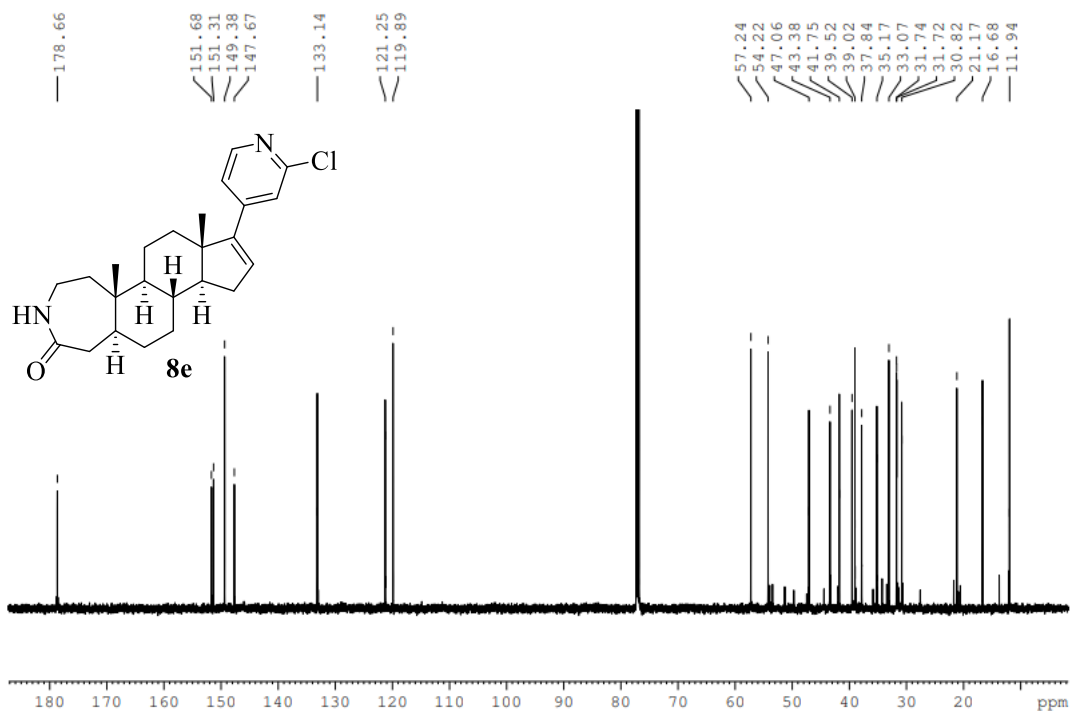


Minimum: -10.0
Maximum: 5.0 3.0 50.0

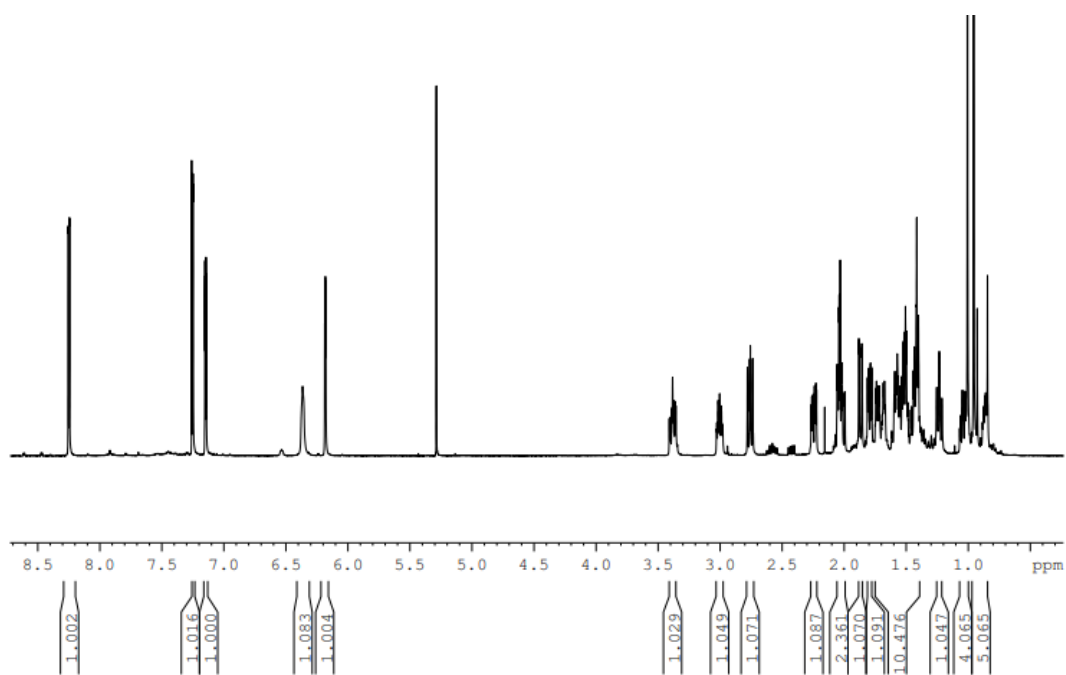
Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	i-FIT	Norm	Conf(%)	Formula
365.2599	365.2593	0.6	1.6	9.5	1874.9	n/a	n/a	C24 H33 N2 O

Figur I.5: MS-spekter av **8d**. $[M + H]^+$

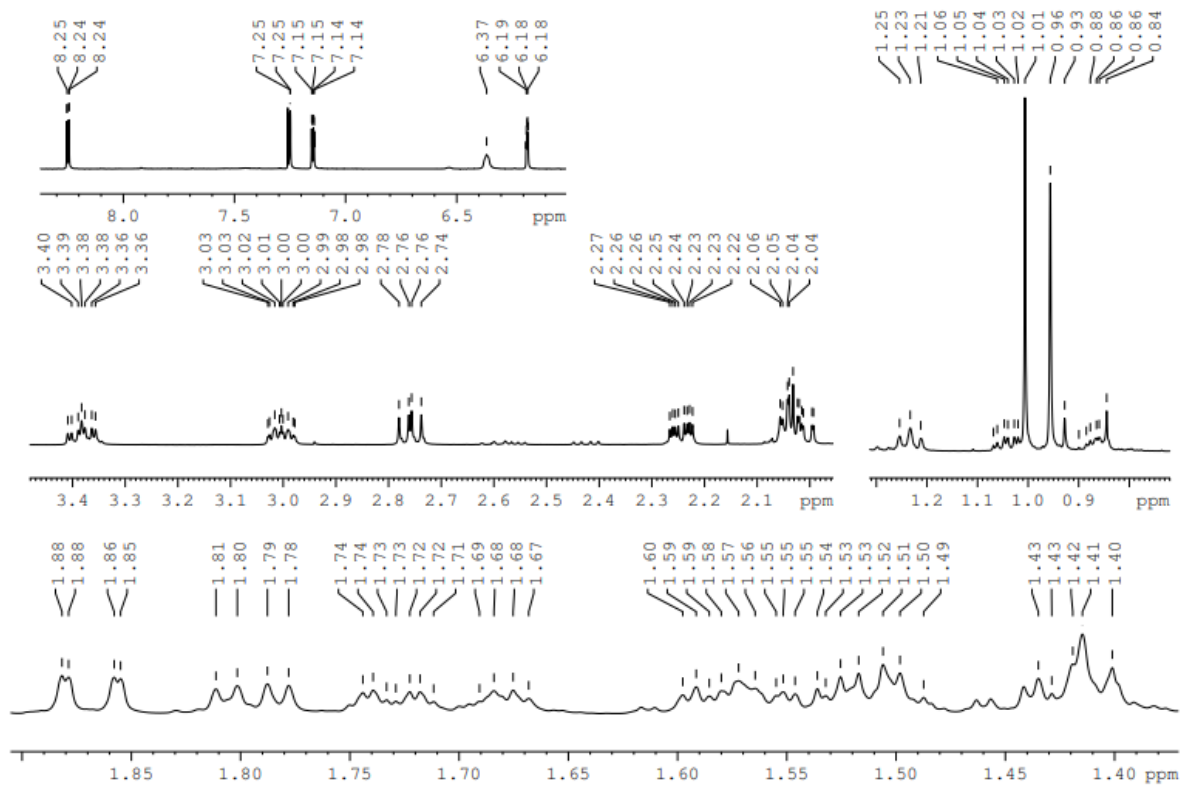
J - Spektroskopisk data av sambinding 8e



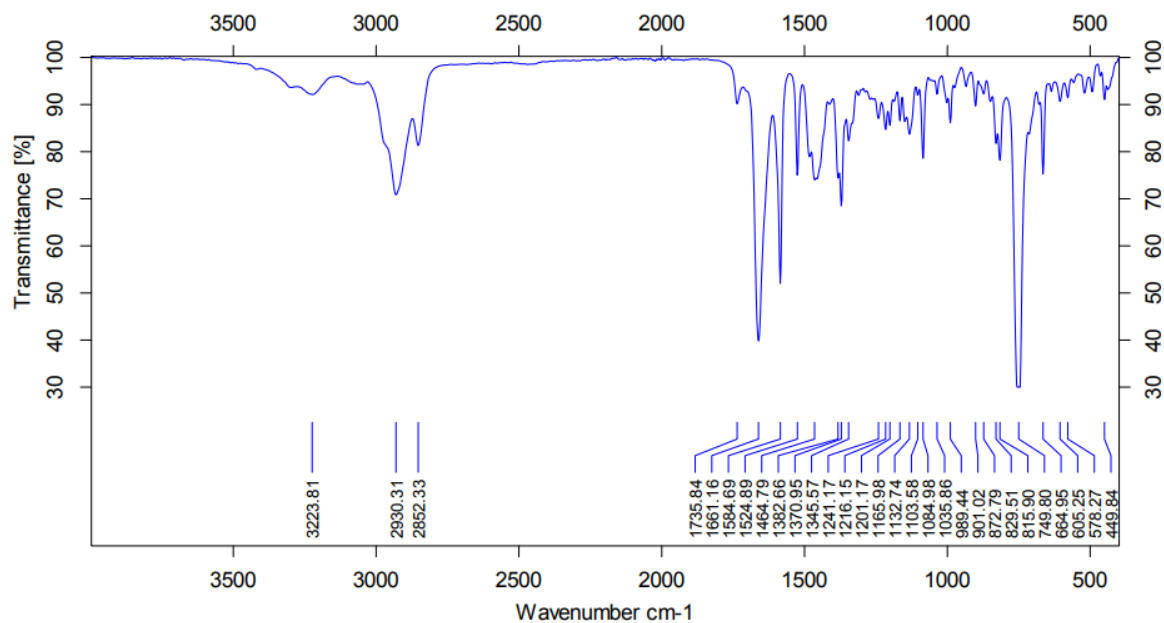
Figur J.1: ^{13}C NMR spekter av **8e**.



Figur J.2: ^1H NMR spekter av **8e**.



Figur J.3: ^1H NMR spekter av **8e** som er zooma inn.



Figur J.4: IR-spekter av **8e**.

