

**9,11-SEKOSTEROOLIDE A,B- JA D-RINGI FRAGMENTIDE SIDUMINE  
LÄBI MICHAELI LIITUMISE**

Magistritöö

Üliõpilane: Kristi Rõuk

Juhendaja: Marek Kõllo, Keemia ja biotehnoloogia instituut, insener

Õppekava: Rakenduskeemia ja biotehnoloogia

Tallinn 2023

## **Autorideklaratsioon**

Kinnitan, et olen koostanud antud lõputöö iseseisvalt ning seda ei ole kellegi teise poolt varem kaitsmisele esitatud. Kõik töö koostamisel kasutatud teiste autorite tööd, olulised seisukohad, kirjandusallikatest ja mujalt pärinevad andmed on töös viidatud.

Autor: Kristi Rõuk

[allkiri ja kuupäev]

Töö vastab magistritööle esitatavatele nõuetele.

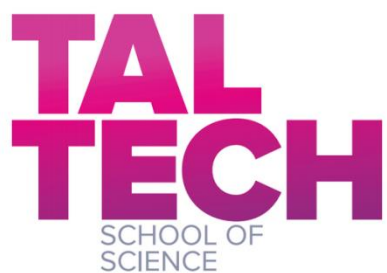
Juhendaja: Marek Kõllo

[allkiri ja kuupäev]

Töö on lubatud kaitsmisele.

Kaitsmiskomisjoni esimees: Ott Scheler

[allkiri ja kuupäev]



**CONNECTING THE A,B- AND D-RING FRAGMENTS  
OF 9,11-SECOSTEROLS THROUGH MICHAEL ADDITION**

Master's thesis

Student: Kristi Rõuk

Supervisor: Marek Kõllo, Department of chemistry and biotechnology, engineer

Study programme: Applied Chemistry and biotechnology

Tallinn 2023

# Sisukord

Sissejuhatus.....	6
1. Kirjanduse ülevaade .....	8
1.1 Asümmeetriline Michaeli liitumine.....	8
1.2 Organokatalüütiline Michaeli liitumine.....	12
1.3 Mukaiyama-Michaeli liitumine.....	14
1.4 Kirjanduse ülevaate kokkuvõte .....	16
2. Töö eesmärk.....	17
3. Tulemused ja arutelu.....	18
3.1 Michaeli liitumine.....	18
3.1.1 Michaeli aktseptorite sünteesimine.....	19
3.1.2 Michaeli liitumisreaktsioon .....	22
3.1.3 Michaeli produkti 46 diastereomeeride eraldamine .....	23
3.2 Metüleerimine.....	26
3.3 Sulfonüülrühma asendamine isoprenüülrühmaga. ....	28
4. Kokkuvõte.....	30
5. Eksperimentaalne osa .....	31
Abstract .....	39
Tänuavaldus .....	40
Kasutatud kirjandus.....	41

## Kasutatud lühendid

Ats	atsetoon
DCM	diklorometaan
de	diastereomeerne liig
DET	dietüültartraat
DIPEA	N,N-diisopropüületüülamiin
DME	dimetoksüetaan
DMI	1,3-dimetüül-2-imidasolidinoon
DMPU	N,N-dimetüülpropüüleeneurea
DMSO	dimetüülsulfoksiid
DNP	2,4-dinitrofenoolrühm
DNPH	2,4-dinitrofenüülhüdrasiin
EtOAc	etüülatsetaat
ee	enantiomeerne liig
ekv	ekvivalent
Et <sub>2</sub> O	dietüüleeter
<i>n</i> -BuLi	<i>n</i> -butüüllitium
<i>n</i> -Hex	<i>n</i> -heksaan
<i>in situ</i>	samas kohas
<i>i</i> -PrOH	isopropanool
IR	Infrapunane (lühend ingliskeelsest sõnast <i>infra red</i> )
HMDS	heksametüüldisilasaan
HMPA	heksameüülfosforamiid
HPLC	kõrgsurvedelikkromatograafia (lühend ingliskeelsest sõnast <i>high-performance liquid chromatography</i> )
<i>m</i> -CPBA	<i>meta</i> -kloroperbensoehape
HRMS	kõrglahutus-massispektromeetria lühend ingliskeelsest sõnast <i>high-resolution mass spectrometry</i> )
Me	metüülrühm
MeCN	atsetonitriil
MeOH	metanool
ms	molekulaarsõel
PE	petrooleeter
<i>rac</i>	ratseemiline
<i>p</i> -Tol	<i>para</i> -tolüülrühm
<i>p</i> -TsOH	<i>para</i> -tolueensulfoonhape
TBAF	<i>tetra-n</i> -butüülammoniumfloriid
TBDMS	<i>tert</i> -butüüldimetüüüsilüülrühm
TBHP	<i>tert</i> -butüülhüdroperoksiid
TES	trietüüsilüülrühm
THF	tetrahüdrofuraan
Ti( <i>i</i> -PrO) <sub>4</sub>	titaan(IV)isopropoksiid
TMR	tuuma magnetresonantsspektroskoopia
TMS	trimetüüsilüülrühm
Tos	tosüülrühm
<i>t</i> -BuOH	<i>tert</i> -butüülalkohol
<i>t</i> -BuOK	kaalium- <i>tert</i> -butoksiid
ÕKK	õhukese kihi kromatograafia

## Sissejuhatus

Sekosteroidid on modifitseeritud steroidide klass, mille kõige iseloomulikum joon on üks või mitu „katki lõigatud“ sidet steroidide omases tetratsükliilises süsinikskeletis. Kõik sekosteroolide alamrühmad on saanud oma nime vastavalt selle katkestatud sideme asukohale ja 9,11-sekosteroolid, millele käesolev töö keskendub, pole selles suhtes erandlikud.<sup>1</sup>

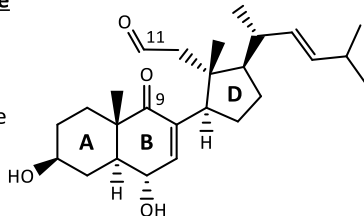
Sellesse rühma kuuluvad ühendid on teadlaste huvi pakkunud alates esimese 9,11-sekosterooli avastamisest 1972. aastal.<sup>2</sup> Kantuna üha uutest 9,11-sekosteroolide leidudest mereorganismides, näiteks korallides<sup>3,4</sup>, käsnades<sup>5</sup> ja molluskites<sup>6,7,8</sup>, ja isegi mõningates maismaa organismides, näiteks seentes<sup>9,10,11</sup>, on huvi selle steroidide rühma vastu intensiivistunud eriti viimastel aastatel. Kahtlemata mängivad nendele pööratud tähelepanus oma rolli ka avastatud 9,11-sekosteroidide üha keerukamad ja mitmekesisemad struktuurid ning neile omistatud bioloogiliste aktiivsuste aina kasvav plejaad.<sup>12,13</sup>

Näiteks omavad enamik 9,11-sekosteroole tsütotoksilist või antiproliferatiivset mõju erinevatele vähirakutüvedele ja mõned neist kutsuvad isegi esile programmeeritud rakusurma ehk apoptoosi.<sup>14,15,16</sup> Peale selle on täheldatud ka näiteks põletiku<sup>17,18,19</sup>, bakteri<sup>20,21</sup>, ja seenevastast toimet<sup>22</sup> ja teatud 9,11-sekosteroolidest võib abi olla ka luuhõrenemise ravis<sup>23,24</sup>. Seega ei paku 9,11-sekosteroolid mitte ainult väljakutset sünteetilisele keemiale, vaid omavad ka suurt potentsiaali ravimitööstuses.

Tänaseks on teada kümneid 9,11-sekosteroole ja nende sünteesimiseks on avaldatud mitmeid meetode, mis kasutavad üldjuhul kas poolsünteetilist või totaalsünteetilist lähenemisi (Joonis 1).

### Poolsünteetiline lähenemine

- steroidid lähteühendina
- C-ringi lõikamine ja sellele eelnevad/järgnevad modifikatsioonid
- laialt uuritud



9,11-sekosterool 1

### Totaalsünteetiline lähenemine

- kommertsiaalselt kättesaadavad lihtsad lähteühendid
- sihtmärkühendi täiskeemiline süntees
- vähe uuritud

**Joonis 1.** Kaks peamist lähenemisi 9,11-sekosteroolide sünteesile.

Neist populaarseim on kahtlemata poolsünteetiline lähenemine<sup>25,26,27,28,29,30,31</sup>, mis hõlmab üldjuhul mõne olemasoleva steroidi C-ringi „lõikamist“ 9. ja 11. süsiniku vahelt ning sellele eelnevaid ning järgnevaid modifikatsioone. 9,11-sekosteroolide totaalsüntees seavastu kujutab endast ühendi täiskeemilist sünteesi lähtudes lihtsatest ja kommertsiaalselt kättesaadavatest lähteainetest. Võrreldes poolsünteetilise lähenemisega on see suund pälvinud oluliselt vähem tähelepanu.

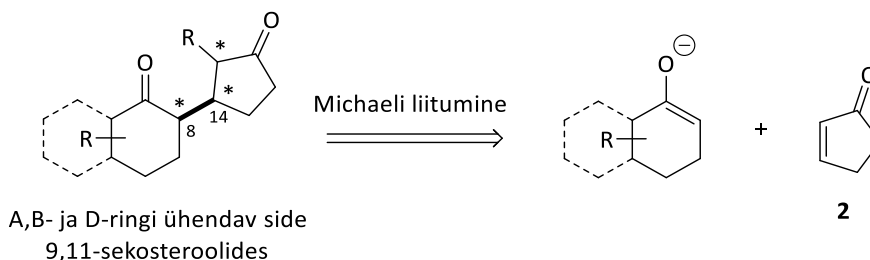
Vaatamata laiapõhjalistele uuringutele on avaldatud vaid üks totaalsünteesi meetod<sup>32</sup> ja üldist meetodi 9,11-sekosteroolide sünteesiks pole tänini. Ometi on ka Tallinna Tehnikaülikoolis selle suunas aastaid liigutud lähtudes strateegiast, mis kujutab endast A,B- ja D-ringi fragmentide eraldi valmistamist ning nende liitmist (Joonis 1 totaalsünteetiline lähenemine). Tänaseks on avaldatud sünteesiskeem A,B-ringi sünteesimiseks<sup>33</sup> ja teada on ka meetodid 9,11-sekosteroolide D-ringi

valmistamiseks<sup>34</sup>. Puudu on vaid viis nende fragmentide liitmiseks. Vastava meetodi leidmine ning katsetamine ongi käesoleva töö fookuseks, kusjuures põhirõhk on Michaeli liitumise reaktsioonil.

# 1. Kirjanduse ülevaade

1,4-liitumiseks ehk konjugeeritud liitumiseks nimetatakse mistahes nukleofiili liitumist  $\alpha,\beta$ -küllastumata karbonüülühendi elektrofiilsele kaksiksidemele, mille tulemusena tekib uus süsinik-süsinik side karbonüülühendi  $\beta$ -süsiniku juurde. Kui sellises reaktsioonis on nukleofiiliks stabiliseeritud karbanioon, näiteks enolaatanioon, siis nimetatakse seda reaktsiooni Michaeli liitumiseks, kusjuures nukleofiili tuntakse sel juhul Michaeli doonori ja  $\alpha,\beta$ -küllastumata karbonüülühendit Michaeli aktseptorina.

Michaeli liitumise reaktsioon on üks levinumaid viise uute süsinik-süsinik sidemete loomiseks ja tänaseks eksisteerib mitmeid variatsioone, millest osad on muuhulgas kas diastereo- või enantioselektiivsed.<sup>35</sup> Eesmärgiga luua side steroidide 8. ja 14. süsiniku vahele selliselt, et moodustuks 9,11-sekosteroolidele iseloomuliku ruumilise struktuuriga ühend, keskendub käesolev töö nimelt sellistele 1,4-liitumisreaktsioonidele (Joonis 2). Veelgi enam, kuna plaanitavas Michaeli liitumise reaktsioonis hakkavad vastavalt doonori ja aktseptori rolli mängima A,B- ja D-ringid, on rõhuasetus tsüklilistel ühenditel.



**Joonis 2.** Käesolevas töös käsitletav lähenemine 9,11-sekosteroolide A,B- ja D- ringi fragmentide ühendamisele.

## 1.1 Asümmeetriline Michaeli liitumine

Stereoselektiivne süntees, mida tuntakse ka enantioselektiivse või asümmeetrilise sünteesina, on IUPAC definitsiooni järgi keemiline reaktsioon või keemiliste reaktsioonide jada mille käigus tekivad lähteainele üks või rohkem uut kiraalsuse elementi kusjuures selle tulemusena tekib stereoisomeerseidprodukte ebavõrdsetes kogustes.<sup>36</sup> Lähtudes sellest definitsioonist on võimalik ka asümmeetrilisi konjugeeritud liitumisreaktsioone, sealhulgas Michaeli liitumist, defineerida kui 1,4-liitumisreaktsiooni, mille tulemusena tekivad uued stereoisomeersed ühendid ebavõrdsetes kogustes.

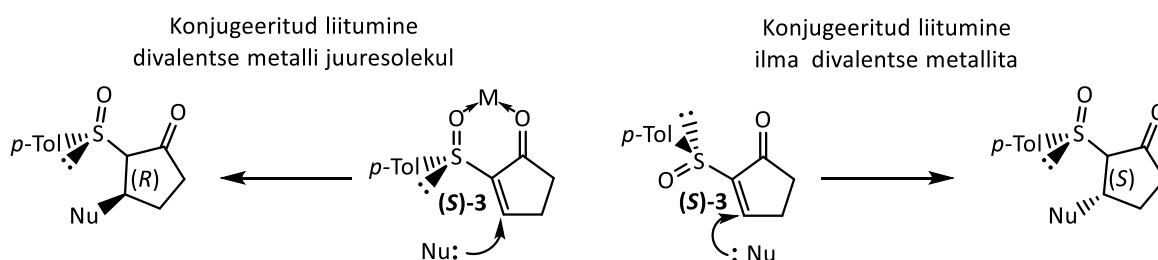
Mittekatalüütilises Michaeli liitumise reaktsioonis on kiraalseid Michaeli produkte võimalik saada kasutades kiraalseid lähteühendeid. Näiteks on kiralse Michaeli doonori liitumisel akiraalsele Michaeli aktseptorile moodustuva Michaeli produkti kiraalsuse allikaks Michaeli doonor, mis ühtlasi kontrollib uue stereotsentri teket. Sama kehtib, kui akiraalne doonor liitub kiraalsele aktseptorile, ainuke erinevus seisneb selles, et seekord kontrollib uue stereotsentri teket Michaeli aktseptor.<sup>37</sup>

Üks kirkam näide asümmeetrilistest liitumisreaktsioonidest, kus tekkiva produkti stereokeemiat kontrollib kiraalne Michaeli aktseptor, on Posner *et al.* töö  $\alpha,\beta$ -küllastumata sulfoksiididega.<sup>38</sup> Nimelt näitasid nad, et organometallilise nukleofiili konjugeeritud liitumisel vastavatele ühenditele



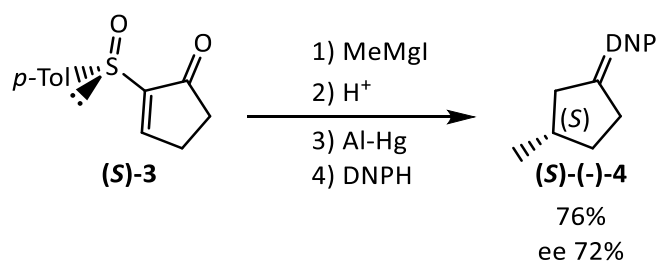
on võimalik saada atsüklilisi  $\beta$ -alküülkarboksüülestreid optilise puhtusega 59%-65% ja  $\beta$ -asendatud tsüklopentanoone optilise puhtusega 79%-98%.<sup>39</sup>

Nagu eelnevalt mainitud tuleneb selle 1,4-liitumise stereoselektiivsus ennekõike sulfoksiidi kiraalsusest. Idee poolest saab mistahes nukleofiil liituda sulfoksiidi (**S**)-3  $\beta$ -süsinikule kahelt poolt, kas *p*-tolüülrühma või väavli vaba elektronpaari poolt. Kuna nukleofiilil on kergem atakeerida poolt, mille steeriline takistus on väiksem, toimub konjugeeritud liitumine sulfoksiidi (**S**)-3  $\beta$ -süsinikule suurema tõenäosusega väavli elektronpaari poolt. Sellest võib järeldada, et 1,4-liitumise tulemusena tekkiva stereotsentri konfiguratsiooni on mitte ainult võimalik ennustada vaid ka kontrollida, kui leida viis sulfoksiidi konformatsiooni muutmiseks. Viimane on saavutatav läbi divalentsete metallide kasutamise või mittekasutamise, nagu illustreerib joonis 3.

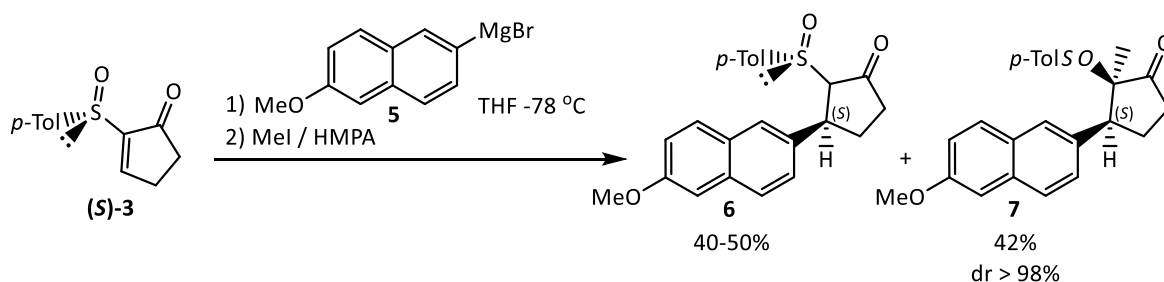


**Joonis 3.** Sulfoksiidi konformatsioon koos ja ilma kellaatkompleksi moodustava metallita.

Divalentse metalli, näiteks tsiingi juuresolekul, moodustavad sulfoksiid hapnik ja karbonüülrühma hapnik sellega kelaatkompleksi ja kuna nukleofiilne liitumine sulfoksiidi  $\beta$ -süsinikule toimub eelistatult steeriliselt vähem takistatud suunast moodustub selle tulemusena (*R*)-konfiguratsiooniga stereotsenter. Divalentse metalli puudumisel vastavat kelaatkompleksi ei moodustu ja 1,4-liitumise tulemusena tekib hoopis (*S*)-konfiguratsiooniga stereotsenter.<sup>40</sup> Seejuures näib, et väavli kiraalsusest tuleneva stereoinduktsiooni mõju on seda suurem, mida suurem on  $\beta$ -süsinikule liituv nukleofiil. Nii saadakse näiteks metüülmagneesiumjodiidi nukleofiilsel liitumisel sulfoksiidile (**S**)-3 produkt (**S**)-(-)-4 saagisega 76% ja optilise puhtusega 79% (Joonis 4) samas kui Grignardi reagenti **5** liitumisel samale sulfoksiidile on tulemuseks produkt **6**, mille *in situ* metüleerimisel saadud produkti **7** ee on >98% (Joonis 5).

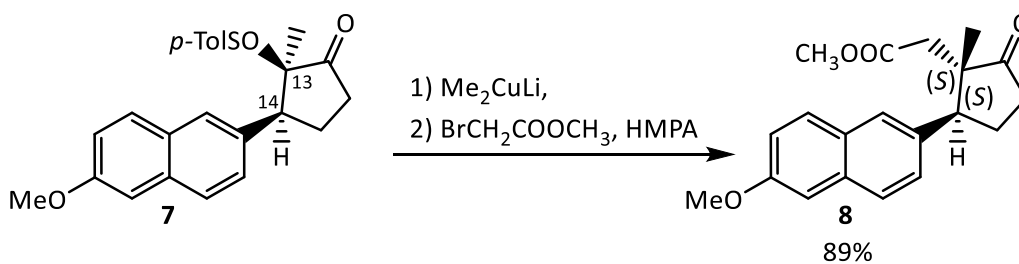


**Joonis 4.** Metüülmagneesiumjodiidi 1,4-liitumine sulfoksiidile (**S**)-3.



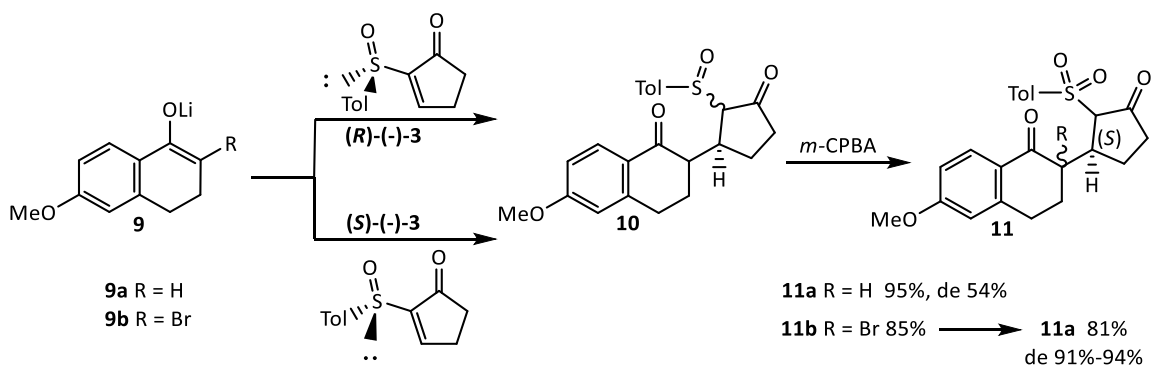
**Joonis 5.** Grignardi reagenti **5** konjugeeritud liitumine sulfoksiidile **(S)-3** ja järgnev *in situ* metüleerimine.

Viimane näide on tähelepanuväärne ka selle poolest, et produkti **7** *p*-tolüülsulfinüülrühma eemaldamisel Me<sub>2</sub>CuLi-ga ja saadud enolaadi järgneval alküleerimisel metüülbromoatsetaadiga saadi eranditult vaid ühte 9,11-sekosterool **8** diastereomeeri saagisega 89% (Joonis 6). Seejuures näidati, et sünteetiliselt saadud produkti **8** analüüsid kattusid loodusliku östradioli modifitseerimisel saadud 9,11-sekosterooli **8** analüüsi tulemustega viidates sellele, et mõlemad pidid olema 13*S*, 14*S*-konfiguratsiooniga.<sup>3939</sup>



**Joonis 6.** Metüleeritud produkti **7** *p*-tolüülsulfinüülrühma asendamine metüülatsetüülrühmaga.

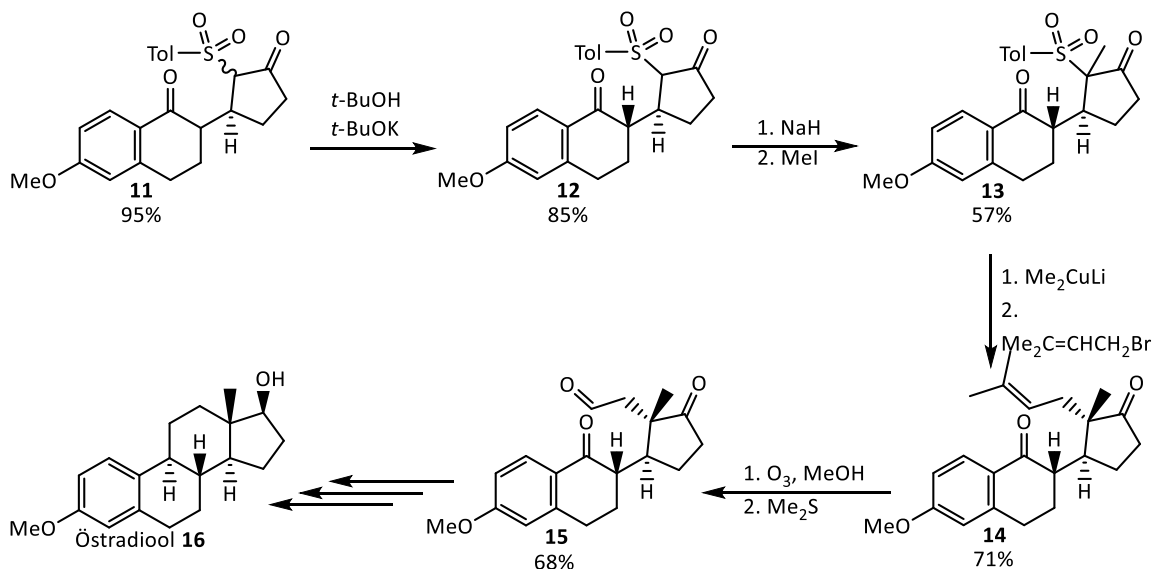
Käesolev töö põhineb Posner *et al.* 1986. aastal avaldatud artikli „Total Synthesis of Natural Estrone and Estradiol Methyl Ethers in Extremely High Enantiomeric Purity via an Asymmetric Michael Addition to an Unsaturated Sulfoxide“, milles on kirjeldatud asümmeetrilist Michaeli liitumist kui võtmereaktsiooni nais- ja meessuguhormoonide, östrogeeni ja östradioli, totaalsünteesis (Joonis 7). Vastav reaktsioon võimaldab nimelt liita tulevaste steroolide A,B- ja D-ringid, kusjuures reaktsioon on stereoselektiivne. Näiteks, kui sünteesida Michaeli produkti **11a** lähtudes Li-enolaadist **9a** saadakse produkt diastereomeese liiaga 54%. Produkti diastereomeerse liiaga 91-94% saavutatakse, kui produkti **11a** sünteesida läbi enolaadi **9b** ja Michaeli produkti **11b**.



**Joonis 7.** 1-tetraooni **9** Michaeli liitumine küllastumata sulfoksiidile **3**.

Posner, *et al.* on neid tulemusi selgitanud sulfoksiidi kelaatvormi ja mittekelaatvormi üheaegse esinemisega reaktsioonisegus ning nende erineva reaktiivsusega. Nende hinnangul domineerib reaktsioonisegus tõenäoliselt sulfoksiidi **3** mittekelaatvorm, mis reageerib oma väiksema elektrofiilsuse tõttu paremini steeriliselt vähem takistatud Li-enolaadiga **9a**. Sulfoksiidi **3** kelaatvormi esineb reaktsioonisegus vähem, aga tänu oma suuremale reaktiivsusele on see suuteline reageerima ka steeriliselt rohkem takistatud Li-enolaadiga **9b**. Sellest tulenevalt on järeldatud, et  $\alpha$ -monoasendatud enolaat **9a** reageerib sulfoksiidiga **(R)-(-)-3** läbi mittekelaatvormi samas kui  $\alpha,\alpha$ -diasendatud enolaat **9b** reageerib selektiivselt sulfoksiidi **(S)-(+)-3** kelaatvormiga. Kui viia Michaeli liitumine läbi vastavate ühendite vahel, ongi võimalik reaktsiooni tulemusena moodustuva **10** *m*-CPBA-ga oksüdeerimise tulemusena saadaprodukte **11a** ja **11b** soovitud S-konfiguratsiooniga steroidi **14**. süsiniku juures.

Stereoselektiivne Michaeli liitumine pole antud artikli ainuke voorus, sest järgides Posner, *et al.* välja pakutud sünteesiskeemi on üheks moodustuvaks vaheühendiks 9,11-sekosterool **15** (Joonis 8).



**Joonis 8.** Posneri sünteesiskeem 9,11- sekosterooli iseloomuliku süsinikskeleti valmistamiseks

9,11-sekosteroolini jõudmiseks viiakse esmalt produktiga **11** *t*-BuOK ja *t*-BuOH manusel järjestikku läbi deprotoneerimine ja protoneerimine, millega fikseeritakse moodustunud stereotsentrid soovitud asendisse. Saadud produkt **12** enoliseeritakse kasutades NaH ja metüleeritakse MeI

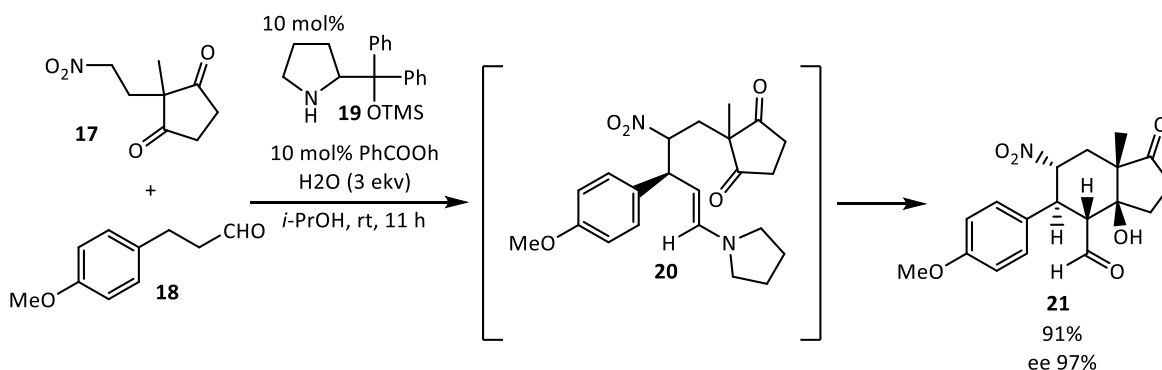
juuresolekul. Järgnevalt eemaldatakse  $\text{Me}_2\text{CuLi}$  toimel tosüürühm ja asendatakse see isoprenüürühmaga, saades nii produkti **14**. Kaksiksideme osonolüüsi tulemusena jõutaksegi 9,11-sekosteroolini **15**.<sup>41</sup>

## 1.2 Organokatalüütiline Michaeli liitumine

Michaeli reaktsioon võib olla stereoselektiivne ka siis, kui omavahel reageerivad akiraalne Michaeli doonor ja aktseptor tingimusel, et reaktsiooni aitab läbi viia kiraalne katalüsaator. Vastav lähenemine on pälvinud palju tähelepanu eriti viimastel aastatel, kuna tal on mitmeid eeliseid eelpoolkirjeldatud asümmeetrilise Michaeli liitumisega võrreldes. Näiteks võimaldab katalüsaatori kasutamine kasutada reaktsiooni läbiviimiseks akiraalseid ja isegi ratseemilisi lähteaineid, mida on võrreldes kiraalsete lähteainetega sageli oluliselt kergem kätte saada. Samuti piisab katalüüsiks enamasti väga väikese ehk katalüütilise koguse katalüsaatori kasutamisest ja parimatel juhtudel on katalüsaatorit peale kasutamist võimalik reaktsioonisegust tagasi saada, et seda üha uuesti ja uuesti kasutada.<sup>37</sup>

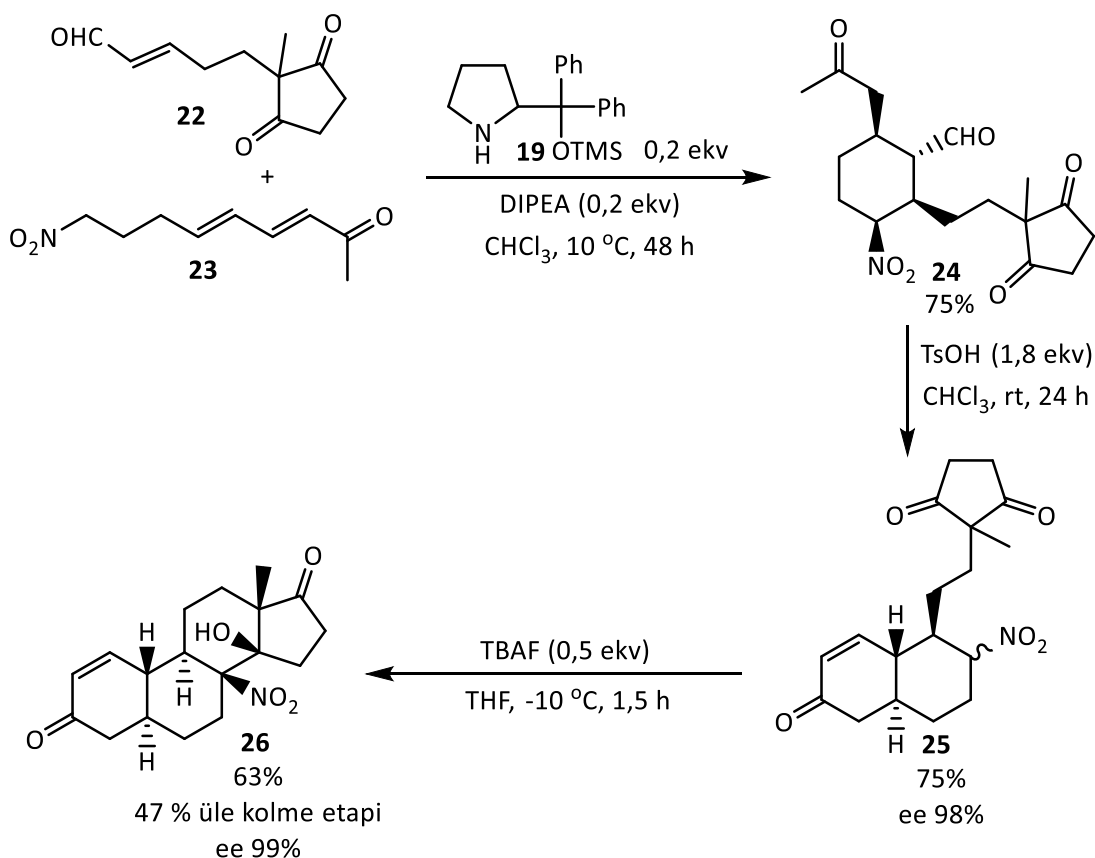
Tänaseks on katalüütilist Michaeli liitumise reaktsiooni laialdaselt uuritud ja teada on mitmeid meetode erinevate nukleofiilide 1,4-liitumise katalüüsiks ka  $\alpha,\beta$ -küllastumata tsükliilistele ketoonidele. Paraku napib kirjanduses näiteid reaktsioonidest, kus katalüüsitud oleks kahe tsükliilise ühendi omavahelist liitumisreaktsiooni ja meetodist, mis võimaldaks luua sideme steroidide A,B- ja D-ringi fragmentide vahele võib vaid unistada.<sup>42</sup> Samas ei tähenda see sugugi, et steroidide ja paljud teiste looduslikku päritolu ühendite süntees pole katalüsaatorite ja eriti orgaaniliste katalüsaatorite võidukäigust kasu lõiganud, sest kirjanduses leidub hulgaliselt näiteid steroidide ja nende vaheühendite sünteesimisest läbi erinevate intramolekulaarsete liitumisreaktsioonide.<sup>43,44</sup>

Üks näide organokatalüütilise Michaeli liitumise rakendustest steroidide sünteesil on Koshino *et al.* poolt 2018. aastal avaldatud östradiolmetüüleetri totaalsüntees<sup>45,46</sup>, mille võtmeetapiks on difenüülproliinoolsilüüleetri **19** vahendatud Michael/aldoolreaktsioon nitroalkaan **17** ja  $\alpha,\beta$ -küllastumata aldehüüdi **18** vahel, mis on toodud joonisel 9. Vastav reaktsioon võimaldab täielikult kontrollida tervelt 5 stereotsentrit nii, et produktina saadakse vaid üks isomeer enantiomeerse puhtusega kuni 97% ja saagisega 47%.



**Joonis 9.** Difenüülproliinoolsilüüleetri **19** katalüüsitud Michael/aldoolreaktsioon nitroalkaan **17** ja  $\alpha,\beta$ -küllastumata aldehüüdi **18** vahel.

Ka Jhuo ja kolleegid on rakendanud organokatalüütilist Michaeli liitumist steroidide sünteesis. Nende 2014 aastal avaldatud artikkel „One-Pot Organocatalytic Enantioselective Michael–Michael–Aldol–Henry Reaction Cascade. A Facile Entry to the Steroid System with Six Contiguous Stereogenic Centers“ kirjeldab tervet organokatalüütilist kaskaadi (Joonis 10), mille lõpuks saadi soovitud produkt **26** kätte saagisega 47% ja enantiomeerse puhtusega 99%.<sup>47</sup>



**Joonis 10.** enantioselektiivne Michael-Michael-Aldol-Henry reaktsiooni kaskaad steroidide sünteesiks.

Süntees algab nitroalkaan **22** ja nitroeen **23** kahe järjestikuse Michaeli liitumisega Jørgensen–Hayashi katalüsaatori **19** ja DIPEA katalüüsil, mille tulemusena tekib ühend **24** saagisega

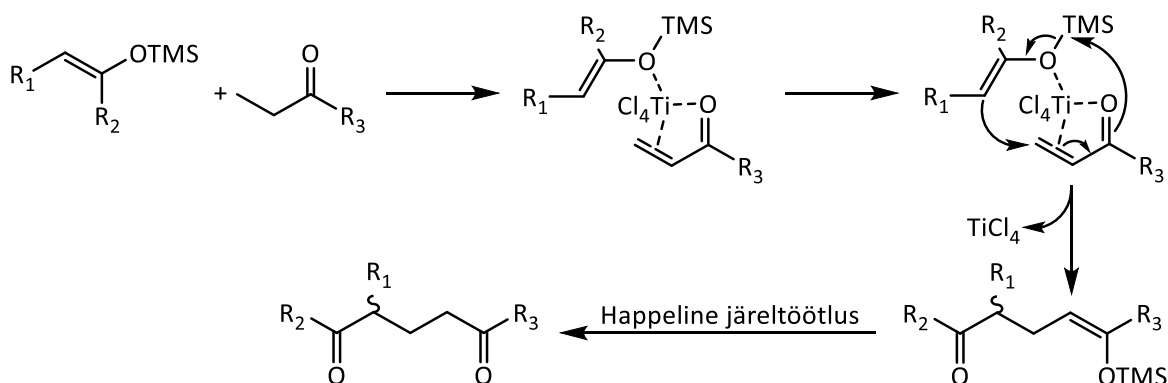
75%. Viimasega viiakse seejärel läbi sisemolekulaarne aldoolreaktsioon, ja seejärel Henry reaktsioon, mille tulemusena saadakse tekib üle **25** kätte tetratsükiline ühend **26**.

### 1.3 Mukaiyama-Michaeli liitumine

Mukaiyama aldoolreaktsioon on 1973. aastal Mukaiyama et al poolt avaldatud Lewise happe (algsest  $\text{TiCl}_4$ ) katalüüsitud aldoolreaktsioon silüülenooletri ja mõne karbonüülühendi, ketooni või aldehüüdi, vahel.<sup>48</sup> Lewise happe rolliks Mukaiyama reaktsioonis on atakeeritava karbonüülühendi aktiveerimine läbi vastava aldehüüdi või ketooni hapniku koordineerumise Lewise happele. Seeläbi muutub karbonüülühendi karbonüülne süsinik elektrofiilsemaks ja seega vastuvõtlikumaks nõrga nukleofiili, silüülenooletri nukleofiilsele atakile.

Seejuures võimaldab silüülenooletri kasutamine lahendada või mitu klassikalise aldoolreaktsiooniga seonduvat probleemi, millest üks on regioselectiivsus. Nimelt on silüülenooletreid võimalik genereerida regioselectiivselt, mis võimaldab seega paremini kontrollida, kuhu reaktiivne nukleofiili tekib. Seejuures silüülenooletrid ka oluliselt stabiilsemad kui vastavad metallenolaadid ja nende kasutamine aitab vältida ka enesekondensatsiooniproduktide teket, mis on üks klassikalise aldoolreaktsiooni suuremaid puudusi. Tänu sellele on Mukaiyama reaktsioon aastate jooksul pälvinud palju tähelepanu ja ajapikku on esile kerkinud selle klassikalise reaktsiooni mitmeid huvitavaid variatsioone.<sup>49</sup>

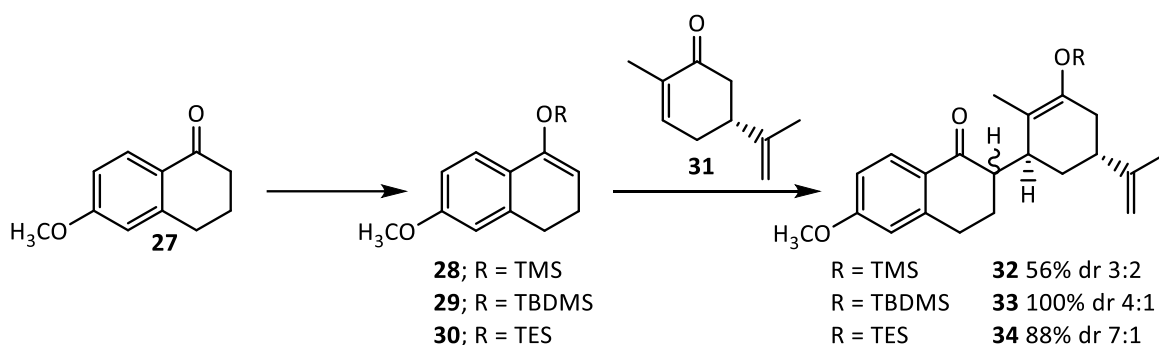
Üks laialdasemalt tuntud Mukaiyama reaktsiooni versioonidest on 1974. aastal Narasaka ja kolleegide poolt avaldatud silüülenooletri liitumine  $\alpha,\beta$ -küllastumata karbonüülühenditele Lewise happe katalüüsil, mida tuntakse täna Mukaiyama-Michaeli reaktsioonina.<sup>50</sup> Sarnaselt klassikalisele Mukaiyama reaktsioonile kulgeb ka see reaktsioon läbi karbonüülühendite koordineerumise Lewise happele, kuid lisadetailina toimub selle käigus silüülrühma ülekandmine teisele karbonüülrühmale (Joonis 11). Samuti, ei teki Mukaiyama-Michaeli reaktsiooni käigus Mukaiyama reaktsioonile tüüpilist  $\beta$ -hüdrosükarbonüülühendit. Selle asemel moodustub hoopis vastav dikarbonüülühend.



**Joonis 11.** Mukaiyama-Michaeli reaktsiooni arvatav mehhanism  $\text{TiCl}_4$  manusel.<sup>51</sup>

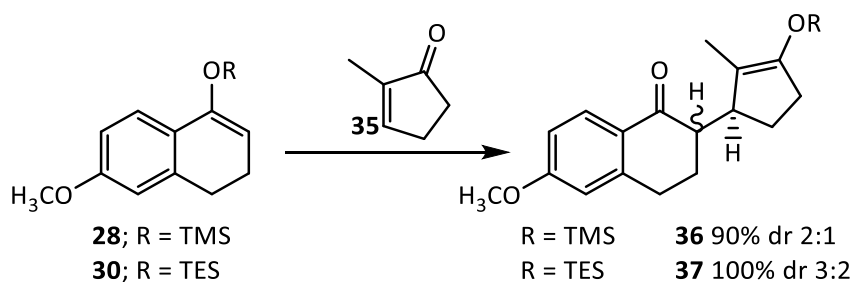
Sarnaselt klassikalisele Mukaiyama aldoolreaktsioonile on ka Mukaiyama-Michaeli reaktsioon aastate jooksul pälvinud palju tähelepanu ja leidnud muuhulgas rakendust ka polütsükliiliste looduslikku päritolu produktide, sealhulgas steroidide, sünteesis.<sup>51</sup> Nimelt on näidatud, et sarnaselt Posneri asümmeetrilisele Michaeli liitumisele, pakub ka Mukaiyama-Michaeli reaktsioon võimalust sideme loomiseks steroidide 8. ja 14. süsiniku vahele.

Esimene märg sellest pärineb Dratch *et al.* 2003. aasta artiklist „A new approach toward the synthesis of C,D-*cis* coupled steroid and C,D-*cis* coupled D-homosteroid skeletons“ kus 6-metoksütetraloonist **27** genereeritud silüülenooleetri Mukaiyama-Michaeli liitumine R-karvoonile **31** (Joonis 12) oli võtmereaktsiooniks C,D-*cis* seotud D-homosteroidi skeleti sünteesil. Seejuures leiti, et kasutatav silüülrühm mõjutab märkimisväärselt saadud tulemusi. Nii saadi näiteks trimetüülsilüülenolaati **28** kasutades produkt **32** kätte kahe diastereomeeri 3:2 seguna saagisega 56%. Tert-butüüldimetüülsilüülenooleetri **29** kasutamine andis produkti **33** diastereomeerse suhtega (4:1) ja kvantitatiivse saagisega, kuid kokkuvõttes parim tulemus saadi trietüülsilüülenooleetriga **30**, millega saadi produkt **34** kätte saagisega 88% ja diastereomeeride suhtega 7:1.



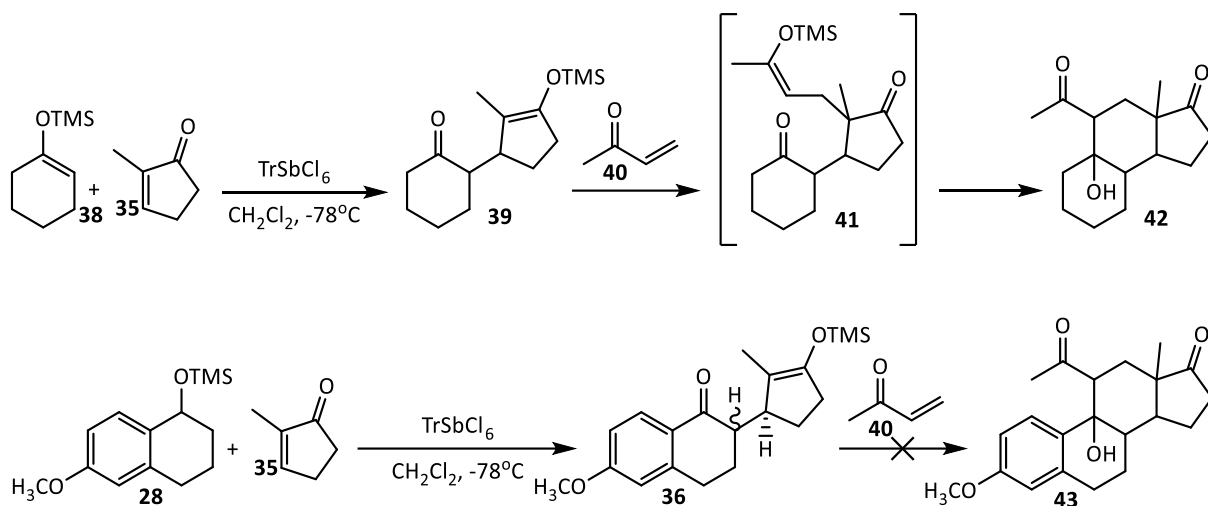
**Joonis 12.** 6-metoksütetraloonist **27** genereeritud silüülenooleetri Mukaiyama-Michaeli liitumine R-karvoonile **31**.

Sarnane reaktsioon viidi läbi ka metüülsüklopentenoon **35** manusel (Joonis 13), mille tulemuseks oli produkt **37** diastereomeeride suhtega 3:2 ja kvantitatiivse saagisega.<sup>52</sup> Sama reaktsiooni on läbi viidud ka trimetüülsilüülenooleetriga **28** saades tulemuseks **36** 2:1 diastereomeeride segu saagisega 90%.



**Joonis 13.** 6-metoksütetralooni **27** silüülenooleetri Mukaiyama-Michaeli liitumine tsüklopentenoonile **35**.

Eelpool kirjeldatud Mukaiyama-Michaeli produkte on täiendavalt uuritud eesmärgiga näha, kas nendega oleks potentsiaalselt võimalik läbi viia veel üks Mukaiyama-Michaeli liitumisreaktsiooni metüülvinüülketooni **40** manusel ja sellele järgnev intramolekulaarne 1,6-aldoolreaktsiooni. Paraku selgus, et domino-reaktsiooni, mis toimis hästi mudelühenditega, polnud steriilise takistuse ja/või 1,6-liitumisel esinevate elektroonsete efektide tõttu võimalik suuremate silüülenooleetrite osalusel (Joonis 14).<sup>53,54</sup>



**Joonis 14** Silüülenooleetrite **38** ja **28** rakendamine kahes järjestikuses Mukaiyama-Michaeli reaktsioonis ja järgnevas 1,6-aldoolreaktsioonis.

#### 1.4 Kirjanduse ülevaate kokkuvõte

Michaeli liitumine ja selle erinevad variatsioonid on ühed enamlevinud viise süsinik-süsinik sidemete loomiseks. Samas on nende rakendatavust tsükliliste ühendite liitumisreaktsioonides suhteliselt vähe uuritud.

Posner *et al.* asümmeetriline Michaeli liitumine  $\alpha,\beta$ -küllastumata sulfoksiididele on üks parimaid teadaolevaid viise steroidide A,B- ja D-ringi fragmentide liitmiseks võimaldades vastavat reaktsiooni läbi viia mitte ainult kõrge saagise, aga ka suurepärase stereoselektiivsusega. Samas on sellel lähenemisel ka omad puudused, millest üks teravamaid on piisava enantiomeerse puhtusega sulfoksiidide sünteesimine.

Katalüütiline ja eriti organokatalüütiline Michaeli liitumine on laialdaselt tähelepanu pälvinud lähenemine erinevate steroidide sünteesile. Samas pole vastavat lähenemist tänini rakendatud 9,11-sekosteroolide tsükliliste A,B- ja D-ringi fragmentide ühendamiseks.

Sarnaselt Posneri Michaeli liitumisele on ka Mukaiyama-Michaeli liitumist demonstreeritud võimalusena steroidide A,B- ja D-ringide vahele soovitud sideme loomiseks, kuid vastav reaktsioon pole stereoselektiivne.



## 2. Töö eesmärk

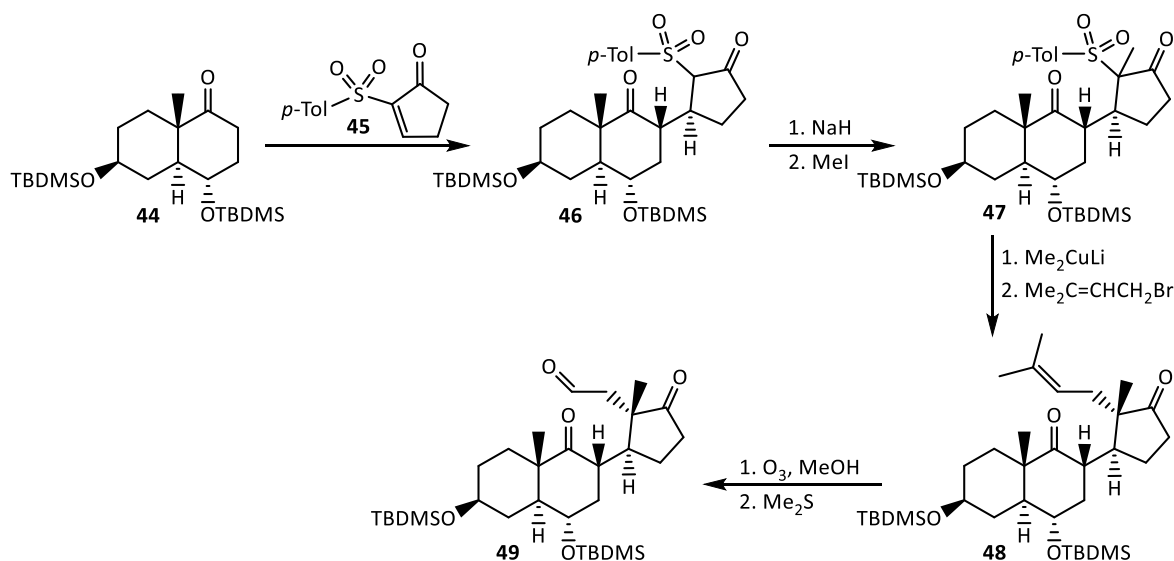
9,11-sekosteroolide totaalsüntees on sünteetilisele keemiale põnev väljakutse, mida on Tallinna Tehnikaülikoolis juba aastaid uuritud. Tänapäevaks on terviklikust sünteesiskeemist puudu vaid viis 9,11-sekosteroolide A,B-ringi ja D-ringi fragmentide ühendamiseks. Üks võimalus selle probleemi lahendamiseks on grupi poolt varem sünteesitud A,B-ringi fragmenti Michaeli liitumisreaktsioon sulfinüül- või sulfonüülrühma poolt aktiveeritud  $\alpha,\beta$ -küllastumata tsüklopentenoonele. Huvipakkuvad on ka järgnevad sünteesietapid, mille tulemusena on võimalik konstrueerida 9,11-sekosteroolidele iseloomulik süsinikskelett. Sellest tulenevalt seati käesolevale tööle järgmised eesmärgid:

1. Viia läbi Michaeli liitumine A,B-ringi fragmentiga kasutades erinevaid Michaeli aktseptoreid: sulfoksiidi **rac-3 ja (S)-3** ja sulfooni **45**.
2. Uurida Michaeli liitumise stereoselektiivsust, eraldada põhidiastereomeer ja määrata selle ruumiline struktuur.
3. Uurida edasisi sünteesietappe 9,11-sekosteroolidele iseloomulike asendajatega stereotsentrite konstrueerimiseks läbi vastavate alküleerimis- ja asendusreaktsioonide.

### 3. Tulemused ja arutelu

Käesolev töö raames uuriti Michaeli liitumise reaktsiooni kui võimalust 9,11-sekosteroolide A,B- ja D-ringi fragmentide ühendamiseks ning rakendati mõningate muudatustega Posner *et al.* sünteesiskeemi 9,11-sekosteroolidele iseloomuliku süsinikskeleti ehitamiseks.

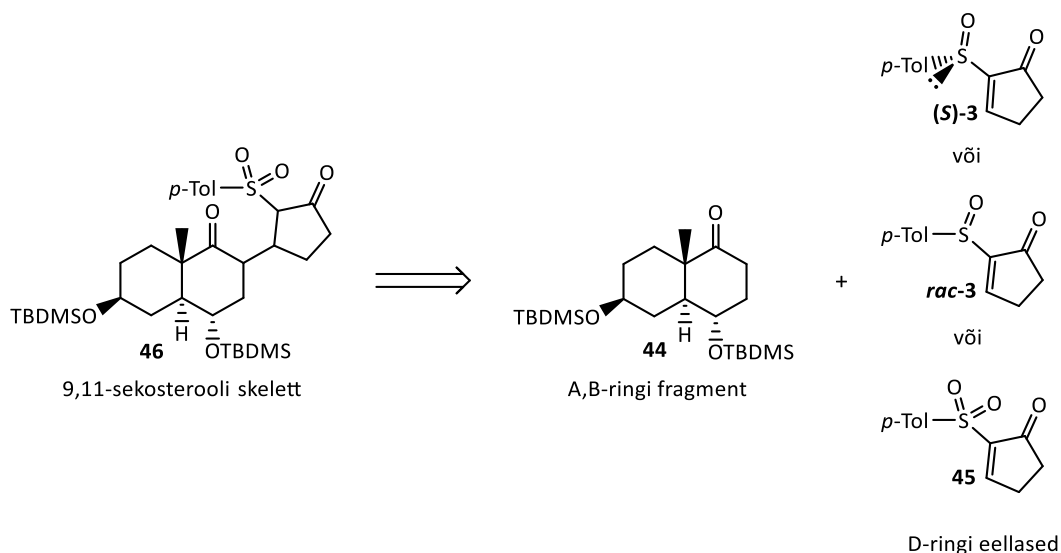
Planeeritav sünteesiskeem, mida kujutab joonis 15 koosneb laias laastus neljast etapist. A,B-ringi ja tulevase D-ringi fragmentide ühendamiseks viiakse läbi Michaeli liitumise reaktsioon. Seejärel saadud produkt metüleeritakse, millele järgneb tosüülrühma asendamine isoprenüülrühmaga. Lõpuks lõhustatakse osonolüüsi käigus isoprenüülrühma kaksiksidi, mille tulemusena saadaksegi kätte 9,11-sekosteroolidele iseloomulik süsinikskelett.



Joonis 15. Käesolevas töös järgitav sünteesiskeem.

#### 3.1 Michaeli liitumine

Posner *et al.* on kirjeldanud Michaeli liitumist kui võtmeetappi nais- ja meessuguhormoonide östrogeeni ja östradioli totaalsünteesis.<sup>41</sup> **Error! Bookmark not defined.** Vastav reaktsioon mängib kesket rolli ka käesolevas töös, sest läbi selle on võimalik A,B-ringi ja D-ringi fragmentide ühendamine ja seega ka 9,11-sekosteroolide iseloomuliku süsinikskeleti ehitamine (Joonis 16).



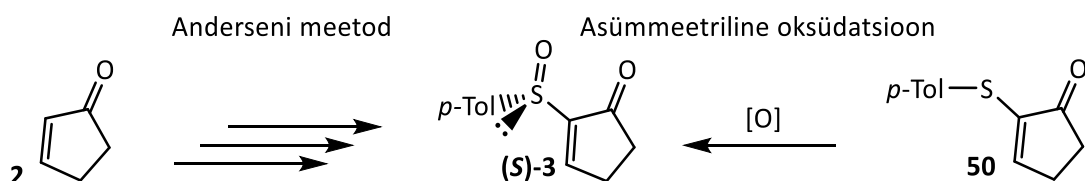
**Joonis 16.** A,B-ringi ja D-ringi sidumine läbi Michaeli liitumise.

Michaeli doonorina kasutati grupi poolt varem sünteesitud A,B-ringi fragmenti,<sup>33</sup> mille kaitsvad atsetoksürühmad on välja vahetatud tertbutüüldimetüülsilüül kaitsvate rühmade vastu vastavalt kirjanduses avaldatud protseduurile.<sup>55</sup>

Kuna Posneri tööd on veenvalt tõestanud, et enantiomeerselt rikastatud  $\alpha,\beta$ -küllastumata tsüklopentanooni sulfoksiidid on suurepärase Michaeli aktseptorid, otsustati erinevate Michaeli aktseptorite uurimist alustada sulfoksiidist **(S)-3**. Võrdlusmomendi saamiseks testiti ka ratseemilist sulfoksiidi **rac-3**. Idee poolest on sulfoksiidid head Michaeli aktseptorid tänu elektronaktseptoorsele sulfiinüülrühmale, mis kaksiksidet aktiveerib. Samas on sulfoonüülrühm veel tugevamalt elektronaktseptorne, mis tähendab, et  $\alpha,\beta$ -küllastumata tsüklopentanoon sulfoonid võiksid olla potentsiaalselt veel paremad Michaeli aktseptorid kui sulfoksiidid. Selle teooria testimiseks viidi Michaeli liitumisreaktsioonid läbi ka sulfooniga **45**.

### 3.1.1 Michaeli aktseptorite sünteesimine

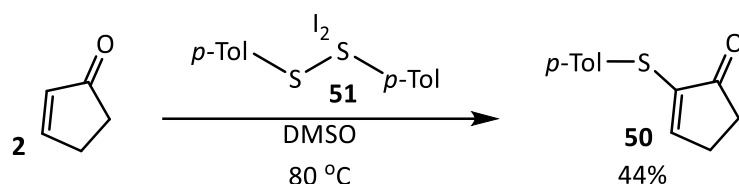
Enantiomeerselt rikastatud sulfoksiidi **(S)-3** sünteesimiseks on tänaseks teada kaks meetodi (Joonis 17). Neist esimene ja ühtlasi meetod, mida Posner *et al.* oma töös kasutasid, põhineb Anderseni meetodil, mis kujutab endast diastereomeerselt puhta sulfinaatestri  $S_N2$  tüüpi nukleofiilset asendusreaktsiooni.<sup>56,57,58</sup> Vastav sünteesiskeem koosneb kuuest järjestikusest reaktsioonist nõudes kohati keeruliste aparatuuride konstrueerimist ning toimetulemist ebastabiilsete vaheühenditega.<sup>59,60</sup> Seetõttu otsustati see variant kõrvale jätta.



**Joonis 17.** Meetodid enantiomeerselt rikastatud sulfoksiidi **(S)-3** sünteesiks.

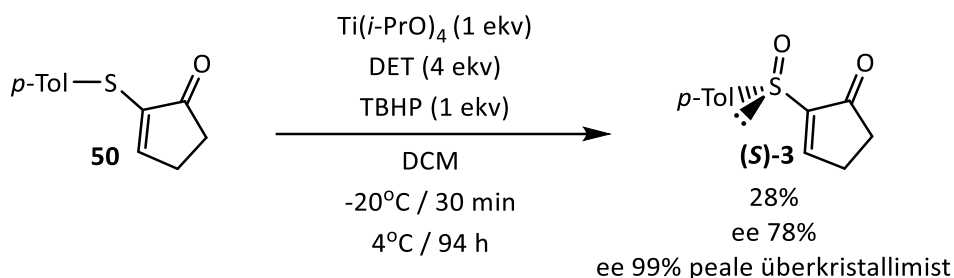
Teine meetod sulfoksiidi (**S**)-**3** sünteesiks põhineb sulfiidi **50** asümmeetrilisel oksüdatsioonil ja sellega paralleelselt toimival kineetilisel lahutamisel. Kuna vastav meetod on meie laboris välja töötatud, otsustati selle kasuks.<sup>61</sup>

Vajaminev sulfiid (**S**)-**3** sünteesiti lähtudes kirjanduses toodud protseduurist, mis kujutab endast tsüklopentanoonist **2** ja *p*-tolüüdisulfiidist **51** lähtuvat joodkatalüütilist asendusreaktsiooni (Joonis 18). Reaktsioon viidi läbi DMSOs 80°C juures 4 päeva vältel, mille järel eraldati sulfiid **50** saagisega 44%, kusjuures mõõdetud spektrid kattusid kirjanduses leiduvatega.<sup>62</sup> Lähteainet **50** saadi tagasi 52%. Seejuures leiti, et regeerimata jäänud disulfiidi on võimalik uuesti kasutada, kui seda eelnevalt metanoolist ümber kristallida.<sup>63</sup>



**Joonis 18.** Meetod sulfiidi **50** sünteesimiseks.

Enantiomeerselt rikastatud sulfoksiid (**S**)-**3** sünteesiti vastavalt kirjanduses toodud sulfiidi **50** asümmeetrilise oksüdatsiooni protseduurile (Joonis 19).<sup>61</sup> Selleks koostati Ti(*i*-PrO)<sub>4</sub>/(+)-DET/TBHP/**50** kompleks (1:4:1:1) -20 °C juures ja jätkati 30 min möödudes reaktsiooni 4°C juures 96 h vältel. Reaktsioonisegu puhastamisel saadi sulfiidi (**S**)-**3** saagisega 28% ja enantiomeerse puhtusega ee 78%, mida oli ümberkristallimisega võimalik tõsta kuni ee >99%.<sup>61</sup>



**Joonis 19.** Sulfiidi **50** asümmeetriline oksüdatsioon enantiomeerselt rikastatud sulfoksiidiks (**S**)-**3**.

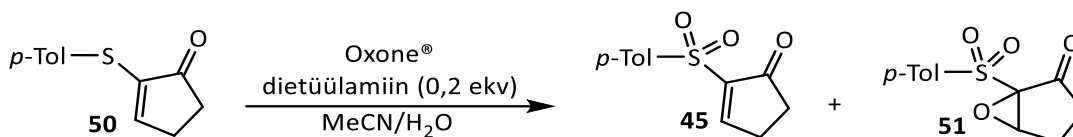
Ratseemiline sulfoksiid **rac-3** sünteesiti vastavalt kirjanduses toodud protseduurile, mis kujutas endast sulfiidi **50** oksüdeerimist kuni 1 ekv *m*-CPBAGA 0°C juures.<sup>64</sup> Selle tulemusena saadi ratseemilist sulfoksiidi saagisega 69%.

Sarnaselt ratseemilisele sulfoksiidile **rac-3**, kasutati ka sulfooni **45** sünteesimiseks esmalt sulfiidi oksüdeerimist *m*-CPBAGA, kuna see oli varasemalt ~300 mg andnud häid tulemusi (saagis 91%). Pealtnäha õnnestus reaktsioon hästi ka 1,5 g lähteainega, millest saadud toorsegu TMR näitas potentsiaalsetest produktidest peamiselt sulfooni olemasolu. Paraku osutus suure koguse toorsegu kolonnkromatograafiline puhastamine nii tekkinud kõrvalproduktide kui sulfooni enda halva lahustuvuse tõttu keeruliseks. Saadud fraktsioonid sisaldasid peale sulfooni **45** ka sulfoksiidi **3** ja isegi vähesel määral epoksiidi **51** (TMR spektrid kattusid kirjanduses leiduvatega<sup>65</sup>). Need tulemused olid kirjanduses leiduvaga kooskõlas<sup>66</sup>, kuid epoksiidi vältimiseks välja pakutud sulfiidi

50 järk-järguline oksüdeerimine üle sulfoksiidi **3** näis veel tülikamana kui *m*-CPBA-ga oksüdeerimine ongi. Seetõttu otsustati sulfooni **45** saamiseks uurida teisi meetode.

Järgnevalt otsustati proovida Kupwade *et al.* avaldatud üheetapilist meetodi<sup>67</sup> mis kasutas oksüdeerijana kaaliumperoksoomonosulfaadi kolmiksoola (2KHSO<sub>5</sub>·KHSO<sub>4</sub>·K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), mida tuntakse kommertsiaalselt Oxone nime all, ja katalüsaatorina dietüülamiini (Tabel 1).

**Tabel 1.** Sulfiidi **50** oksüdeerimine sulfooniks **45** kasutades oksüdeerijana kaaliumperoksoomonosulfaadi kolmiksoola Oxone.



	Oxone kogus (ekv)	Aeg	Produktid*			Sulfooni <b>45</b> saagis**
			Sulfoksiid <b>3</b>	Sulfoon <b>45</b>	Epoksiid <b>51</b>	
1	1,5	20 min	9%	81 %	10 %	52%
2	1,5 + 0,25 + 0,25	2 h	-	93 %	7 %	70%
3	1,75 + 0,25	1,5 h	-	94 %	6 %	80%
4	2	1,5 h	-	95 %	5 %	83%

\* Ainete protsentuaalsed sisaldused toorsegu NMR järgi.

\*\* Saagis arvutati lähtudes **45** sisaldusest toorsegu.

Esimene katse (Tabel 1, katse nr 1) viidi läbi vastavalt Kupwade *et al.* kirjeldatud meetodile kasutades sulfiidi **50** oksüdeerimiseks 1,5 ekvivalenti Oxone. Reaktsioon lõpetati 20 min möödudes ja kuna moodustunud produkt osutus antud tingimustel tahkeks, piisas selle puhastamiseks aine väljafiltrimisest ja kuivatamisest. Selliselt eraldati toorsegu, mis sisaldas TMR analüüsi järgi see peale sulfooni (81%) ka vähesel määral sulfoksiidi (9%) ja epoksiidi (10%). Seega saadi sulfooni **45** saagisega 52%. Sulfoksiidi **3** olemasolu produktis näitab, et reaktsioon polnud lõpuni kulgenud. Seda kinnitas ka filtraadist järgmisel päeval eraldatud tahke valkjase aine, mis TMR analüüsi järgi sulfooni **45** ja epoksiidi **51** seguks osutus. See saab võimalik olla vaid juhul, kui reaktsiooni lõpetamisel leidis reaktsioonisegus veel reageerimata sulfiidi **50** või sulfoksiidi **3**, mis Oxone juuresolekul vesifaasis edasi oksüdeerusid. Seega on tõenäoline, et reaktsioon vajanuks lõpuni kulgemiseks vaid rohkem aega ja protsessi kiirendamiseks potentsiaalselt ka veidi rohkem oksüdeerijat.

Järgmine reaktsioon viidi läbi sarnaselt eelmisele, kuid seekord monitooriti reaktsiooni edenemist ÕKK analüüsidega (Tabel 1, katse nr 2). Kuna esimese 30 min jooksul näis reaktsioonisegu sisaldavat rohkem sulfoksiidi **3** kui sulfooni **45** otsustati lisada 0,25 ekv tahket Oxone. Peale seda võetud proovid sisaldasid juba oluliselt rohkem sulfooni, aga kuna 30 min jooksul taaskord olulist muutust ei täheldatud lisati reaktsioonisegule veel 0,25 ekv Oxone. Seejärel näitasid ÕKK analüüsid, et reaktsioon on lõppenud. Seekord sisaldas eraldatud toorsegu lisaks sulfoonile **45** vaid epoksiidi **51**, vastavalt 93% ja 7%. Seega on kokku 2 ekv Oxone kasutamine võtmetähtsusega sulfoksiidi **3** vältimisel produktis.

Et uurida, millist mõju omab reaktsiooni kulule suurem oksüdeerija kogus, alustati kolmandat katset 1,75 ekvivalenti Oxone-ga (Tabel 1, katse nr 3) kusjuures reaktsioon viidi läbi ~1 g lähteainega **50**.

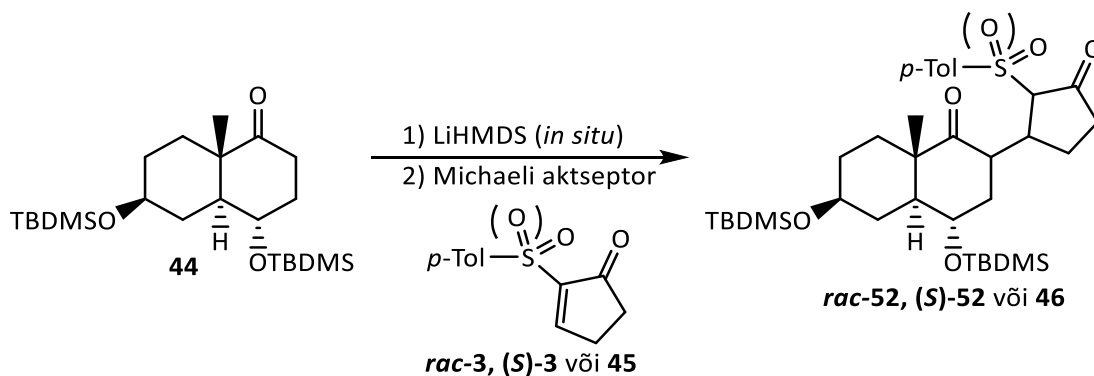
Esimene proov, mis võeti ÖKK analüüsi jaoks 30 min peale reaktsiooni algust, näitas, et segus sisaldas valdavalt sulfooni **45**, aga ka sulfoksiidi **3** ja erinevalt varasemast oli näha ka epoksiidi **51**. Peale täiendava 0,25 ekv Oxone lisamist tehtud ÖKK-i kohaselt (1,25 h peale reaktsiooni algust) olid reaktsioonisegus vaid sulfoon **45** ja epoksiid **51**, seega loeti reaktsioon lõppenuks. Eraldatud toorsegu sisaldas 94% sulfooni (saagis 80%) ja 6% epoksiidi. Sulfooni **45** saadi saagisega 80%, epoksiidi eraldati filtraadist saagsega 12%.

Neljandat ja viimast katset (Tabel 1 katse nr 4) alustati kohe 2 ekv Oxone-ga ja sarnaselt eelmisele korrale võeti esimene proov 30 min järel. Sellest tehtud ÖKK sarnanes eelmisele katsele, aga seekord puudus epoksiid **51**. Järgmises proovis, mis võeti 1h peale reaktsiooni algust, enam sulfoksiidi **3** ei nähtud ja reaktsioon lõpetati saades toorsegu, mis sisaldas 95% sulfooni ja 5% epoksiidi. Arvutuslikult saadi sulfooni **45** saagiseks 83%. Epoksiidi **51** eraldati filtraadist saagisega vaid 2%. Kolmanda ja neljanda katse tulemuste põhjal näib, et reaktsiooni võib rahulikult alustada suurema koguse Oxonega, aga see võib tingida suurema epoksiidi **51** saagise.

### 3.1.2 Michaeli liitumisreaktsioon

Michaeli liitumise reaktsioonide läbiviimisel erinevate Michaeli aktseptoritega (Tabel 2) lähtuti Posner *et al.* publitseeritud meetoditest.<sup>41</sup> Sellest tulenevalt kasutati A,B-fragmendi enoliseerimiseks LiHMDSi, mida on võimalik genereerida *in situ* HDMS-ist ja *n*-BuLi-st. LiHMDS on tugev alus aga trimetüülsilüülrühmde suure steerilise takistuse tõttu ka nõrk nukleofiil, mis välistab 1,2-liitumise kui potentsiaalse kõrvalreaktsiooni toimumise.

**Tabel 2.** Michaeli liitumised erinevate aktseptoritega.



Nr	Michaeli aktseptor	Produkt	Saagis	Diastereomeerne koostis
1	Ratseemiline sulfoksiid <b>rac-3</b>	<b>rac-52</b>	51 %	5 diastereomeeri segu*
2	Enantiomeerselt rikastatud sulfoksiid <b>(S)-3</b>	<b>(S)-52</b>	Info puudub**	3 diastereomeeri segu*
3	Sulfoon <b>45</b>	<b>46</b>	63 %	2 diastereomeeri suhtega 1:3 / 1:2***
4	Sulfoon <b>45</b>	<b>46</b>	66 %	2 diastereomeeri suhtega 1:2 / 1:1***

\* HPLC-HRMS analüüsi tulemuste järgi.

\*\*Vastavalt HPLC-HRMS analüüsile sisaldas toorsegu A,B-fragmenti **44**, sulfoksiidi **3** ja Michaeli produkti **(S)-52** vastavalt 53%, 5% ja 46%.

\*\*\* TMR analüüsi tulemuste järgi: enne kolonni / peale kolonni

Michaeli liitumise katseid erinevate Michaeli aktseptoritega alustati sulfoksiididest, ja esimesena otsustati 1,4-konjugeeritud liitumise reaktsioon läbi viia ratseemilise sulfoksiidiga **rac-3** (Tabel 2 katse nr 1). Selleks genereeriti A,B-fragmendist **44** LiHMDS-i kasutades vastav enolaat ja lisati seejärel **rac-3**. Reaktsioon lõpetati 18 h järel ning peale toorsegu kolonnkromatograafilist puhastamist saadi Michaeli produkti **rac-52** kätte saagisega 51%. Kuna eraldatud aine TMR spektrid olid väga keerulised, teostati produkti diastereomeerse koostise määramiseks HPLC-HRMS analüüs. Kattuvate piikide tõttu polnud produkti koostist võimalik täpselt määrata, kuid leitu põhjal näis produkt sisaldavat kokku vähemalt 5 erinevat diastereomeeri 8-st võimalikust.

Järgnevalt viidi Michaeli liitumine läbi enantiomeerselt rikastatud sulfoksiidiga **(S)-3** (Tabel 2 katse nr 2). Saadud toorsegust tehtud ÖKK analüüsid olid igati lootustandvad, kuna näitasid Michaeli produkti **(S)-52** olemasolu. Väikese ainekoguse tõttu segu kolonnkromatograafilise puhastamisega ei riskitud ning toorsegu viidi otse HPLC-HRMS analüüsi, millest selgus, et see sisaldas A,B-fragmenti **44**, sulfoksiidi **3** ja Michaeli produkti **(S)-52** vastavalt 53%, 5% ja 46%. Seejuures märgati olenevalt eluendist kas 2 või 3 diastereomeeri, mille vahekordi paraku kattuvate piikide tõttu määrata ei õnnestunud.

Viimasena viidi 1,4-liitumine läbi sulfooniga **45** (Tabel 2 katse nr 3). Toorsegust tehtud TMR näitas selgelt produkti olemasolu segus, kusjuures täheldati vaid 2 diastereomeeri suhtega 1:3. Peale kolonnkromatograafilist puhastamist eraldati Michaeli produkt **46** saagisega 63% ja distereomeeride suhtega 1:2. Teisel katsel (Tabel 2 katse nr 4) nähti toorsegu TMR spektril 2 diastereomeeri suhtega 1:2. Kolonni järel saadi **46** saagisega 66% ja distereomeeride suhtega 1:1.

Kokkuvõttes on enantiomeerselt rikastatud sulfoksiid **(S)-3** küll suurepärase stereoselektiivsusega Michaeli aktseptor, kuid võrreldes sulfooniga **45** on tal mitmeid puudusi. Näiteks on enantiomeerselt rikastatud sulfoksiidi **(S)-3**, erinevalt sulfoonist **45**, väga tülikas sünteesida. Ta annab 1,4-liitumisreaktsioonis A,B-fragmendiga **44** Michaeli produkti **(S)-52** küllaltki madala saagisega ja sellest sulfoonprodukti **46** saamiseks on vajalik täiendav oksüdeerimise etapp. Sulfooni **45** kasutamisel on see etapp välditav kuna sulfonüülrühm on aines juba olemas. Seega on vähemalt A,B-ringi fragmendi **44** puhul sulfoon **45** Michaeli aktseptorina parem valik.

### 3.1.3 Michaeli produkti **46** diastereomeeride eraldamine

A,B-fragmendi **44** Michaeli liitumisel sulfoonile **45** saadud ühendite näol on tegu uute ainega, mida pole varem sünteesitud. Sellega seoses on oluline nende ammendav iseloomustamine läbi erinevate uuringute, kuid see on võimalik vaid peale saadud diastereomeeride lahutamist. Viimane on oluline ka edasise töö seisukohalt kuna tööd vastavalt plaanitud sünteesiskeemile on mõtet jätkata vaid sellise diastereomeeriga, millel on 9,11-sekosteroolidele omane ruumiline struktuur. Sellest tulenevalt kaaluti erinevaid viise saadud segu lahutamiseks.

Üks võimalik meetod diastereomeeride lahutamiseks on kolonnkromatograafia, kuid sellel lähenemisega seotud omad riskid. Nimelt muudab kolonnkromatograafiaks kasutatav kergelt happeline silikageel aine diastereomeerset koostist nagu nähtub tabel 2 katsetest nr 3 ja 4, mille puhul oli muutused vastavalt 1:3 → 1:2 ja 1:2 → 1:1 (diastereomeer 1 (D1):diastereomeer 2 (D2)). Kuna mõlemal juhul oli kolonnist puhastamise järel tagasi saadud aine diastereomeerne suhe võrreldes toorseguga lähemal 1:1 pole välistatud, et uus kolonn võib olukorda veelgi halvendada. Sellest tulenevalt jäeti kolonnkromatograafia diastereomeeride lahutusmeetodina kõrvale.

Teine võimalik meetod diastereomeeride lahutamiseks on nende ümberkristallimine sobivast lahustite segust. Selleks katsetati Et<sub>2</sub>O/DCM 1:1 segu, petrooleetrit ja EtOAc/*n*-Hex 1:1 segu, millega saadud tulemusi kirjeldab tabel 3.

**Tabel 3.** Michaeli produkti **46** diastereomeeride lahutamine ümberkristallimise teel.

Lähteaine dr	Tingimused	Tulemused			
		Kristallide dr	Puhtus*	Emalahuse dr	Puhtus*
Et <sub>2</sub> O/DCM 1:1 segu					
1:2	3 järjestikust kristallimist 72 h jooksul -20°C juures	1:3	74%	1:1	50%
1:3	2 h -20°C juures	1:4	79%	1:1	59%
1:1	24 h -20°C juures	Kristalle ei moodustunud			
Petrooleeter **					
1:1	2 h +4°C juures	1:4	80%	1:1	41%
1:4	2 h +4°C juures	1:6	85%	-	-
EtOAc/PE 1:1 segu**					
1:1	24 h rt, siis 2h -20°C juures, siis 6 päeva +4°C juures ***	Üks diastereomeer D2	>99%	1:2	61%
1:2	1h rt, siis 3 öp +4°C****	1:8	88%	2:1	67%
1:8	2-3h rt, siis 1p +4°C****	1:10	91%	2:1	66%
7:1	Lisati seemnekristall dr-ga 1:6**** Kristallimisegu kuivaks auranud → lisati <i>n</i> -Hex, segati ja lasti seista	10:1	91%	3:1	75%

\* Diastereomeerne puhtus on arvatud põhidiastereomeeri järgi.

\*\*Emalahus ja loputused, kui neid tehti, filtriti läbi vatiga Pasteuri pipeti, millele jäänud kristallid loputati atsetooniga tagasi kolbi.

\*\*\* Kristalle loputati korduvalt külma *n*-Hex.

\*\*\*\*Aine lahustati minimaalses koguses EtOAc soojendades kolbi kuni 45°C vesivannil

Esimesena prooviti Michaeli produkti **46** ümberkristallida Et<sub>2</sub>O/DCM 1:1 segust. Selles lähtuti Michaeli produktist **46** diastereomeeride suhtega 1:2, millest esimese ümberkristallimise järel saadud kristalle kristalliti samas eluendis ümber veel kahel korral. Selle tulemusena saadi kätte kristallid dr-iga 1:3, milles D2 diastereomeerne puhtus on 74%. Täiendav ümberkristallimine ei parandanud tulemust oluliselt. Samuti polnud selle käigus saadud emalahust dr-iga 1:1 enam võimalik ümber kristallida, millest järeldati, et diastereomeerid on antud segus lahutatavad vaid vähesel määral. Seejuures on Et<sub>2</sub>O/DCM seguga ka tülikas töötada, kuna kristallid moodustuvad hästi vaid -20°C juures ja lahustuvad temperatuuri tõustes kiiresti.

Eraldatud emalahust diastereomeeride suhtega 1:1 püüti järgnevalt ümber kristallida PE-st ja juba esimesel katsel õnnestus eraldada kristallid dr-ga 1:4 ja diastereomeerse puhtusega 80%. Järgnev rekristallimine tulemusi oluliselt ei parandanud, tõstes kristallide diastereomeerset puhtust vaid 5% võrra. Seega on diastereomeerid petrooleetris küll mõnevõrra paremini lahutuvad, kuid saadud

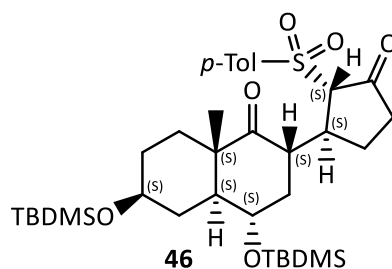


kristalide diastereomeerne puhtus jääb endiselt kesiseks. Samuti on lahustiga tema kiire aurustumise tõttu keeruline töötada.

Järgnevalt katsetati diastereomeeride lahutamiseks ümberkristallimist EtOAc/*n*-Hex 1:1 segust lähtudes diastereomeeride 1:1 segust. Seekord saadi esimesel katsel kätte väike kogus kristalle, mille diastereomeerne puhtus oli >99%. Lähtudes sama katse emalahusest, mille dr oli 1:2, saadi uue kristallimisega produkt diastereomeerse puhtusega 88%, mis tõsis järgneva rekristallimisega 91%. Selle kõrvalt saadud emalahusest dr-ga 2:1 enam hea puhtusega kristalle eraldada ei õnnestunud. Üheks võimaluseks kristallide puhtuse parandamisel on seemnekristalli kasutamine. Seda otsustati katsetada lisades seemnekristalli dr-ga 1:6 emalahusele dr-ga 7:1, kuid ootuspärase D2 asemel kristallus segust välja hoopis D1, kusjuures eraldatud diastereomeeri puhtus oli koguni 91%.

Ümberkristallimise käigus saadud teise diastereomeeri kristallidest mõõdeti aine eripöörang, samuti <sup>1</sup>H TMR, <sup>13</sup>C TMR, IR, HRMS spektrid. Aine ruumilise struktuuri määramiseks püüti D2 kristallidega läbi viia röntgenkristallograafilist uuringut, kuid selle käigus selgus, et uuritav aine on amorfne, mis tähendab, et röntgenkristallograafia abil on võimatu tema ruumilist struktuuri määrata. See avastus selgitab ka, miks Michaeli produkti **46** diastereomeeride lahutamine nii vaevaliseks osutus, kuigi steroidid ühendid on üldjuhul väga hästi ümber kristallitavad. Põhjus, miks Michaeli produkt **46** seda pole, võib seisneda A,B-fragmendi tert-butüüldimetüülsilüül-rühmades. Kui see on nii, võiks nende eemaldamine diastereomeeride lahutamist lihtsustada parandades nii omandatavate kristallide diastereomeerses puhtust kui nende saagist. Paraku selle hüpoteesi uurimisele täiendavalt aega ei pühendatud.

Kuna aine amorfne iseloom välistas tema ruumilise struktuuri määramise röntgenkristallograafia abil pöörduti järgmisena põhjaliku TMR analüüsi poole, mille teostas 800 Mhz TMR spektromeetril Tõnis Pehk. Selle käigus määrati ühendi **46** D2 konfiguratsioon lähtudes Michaeli liitumise reaktsiooni käigus moodustunud stereotsentrite asendajate sidestuskonstantidest ning suhtelistest konfiguratsioonidest teineteise suhtes. Kusjuures selgus, et D2 omab 9,11-sekosteroolidele iseloomulikke ruumilist struktuuri, mis on toodud joonisel 20.<sup>55</sup> TMR uuringute käigus mõõdeti ka spektrid, mille põhjal sai võimalikuks D2 spektrite täielik lahendamine.



**Joonis 20.** Teise diastereomeeri (D2) konfiguratsioon.

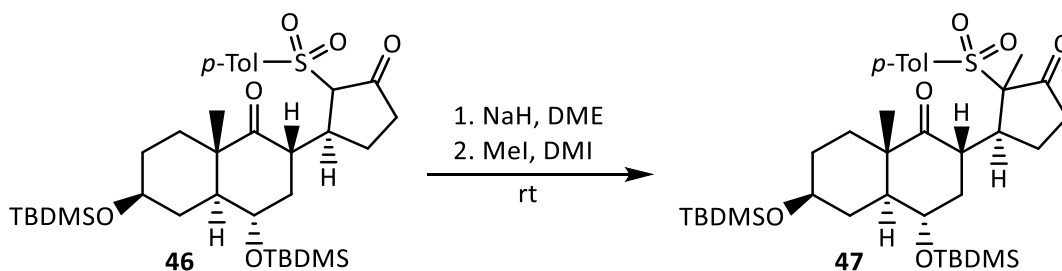
Vaatamata kõrge diastereomeerse puhtusega (91%) diastereomeeri D1 eraldamisele ei uuritud tema TMR spektreid lähemalt. Seda peamiselt põhjusel, et aine struktuuri lahendamiseks vajalikke hea lahutuvusega spektreid pole võimalik saada Loodusteaduste majas olemasoleva 400 Mhz TMR spektromeetril. Selleks on vajalikud mõõtmised 800 Mhz aparatuuriga, millele ligipääs on küllaltki piiratud.

Uurimustest A,B-ringi fragmendi **44** Michaeli liitumisest sulfoonile **45** ning eraldatud diastereomeeri TMR-struktuurianalüüsist avaldati teadusartikkel.<sup>55</sup>

### 3.2 Metüleerimine

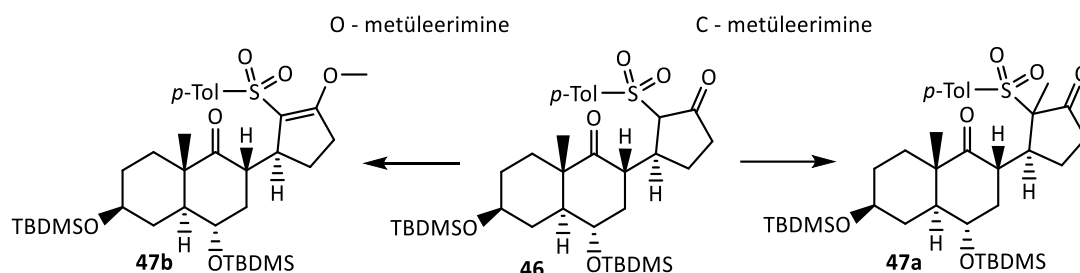
Peale Michaeli liitumise reaktsiooni on järgmiseks etapiks saadud produkti **46** metüleerimine, mis otsustati läbi viia järgides Posner *et al.* välja pakutud meetodi.<sup>41</sup> Kuna vastavat reaktsiooni pole varasemalt käesolevate ühenditega läbi viidud, ei juletud selleks kohe 91% puhtusega diastereomeeri kasutada. Selle asemel lähtuti esimeses reaktsioonis 127 mg Michaeli produktist **46**, mille dr oli 1:5.

Metüleerimist alustati lähteaine **46** selektiivsest enoliseerimisest NaH toimel (Joonis 21). Vastav reaktsioonietapp on selektiivne, kuna Michaeli produkti **46** karbonüülsed  $\alpha$ -vesinikud pole kõik võrdsest happelised. Neist kõige happelisem ja seega ka esmajärjekorras deprotoneeritav on 13. süsiniku küljes olev vesinik. Peale lähteaine **46** deprotoneerimist alküleeriti moodustunud enolaat Mel-ga, kuid Mel tulnuks Posneri protseduuri kohaselt lisada reaktsioonisegule HMPA-s lahustatuna. Viimane pole tänapäeval enam soovitatav, sest HMPA on tugev kartsinogeen. Selle lahusti asendamiseks on mitmeid alternatiive, näiteks DMPU ja DMI<sup>68</sup>, viimast kasutati käesolevas töös.



**Joonis 21.** Michaeli produkti **46** metüleerimine NaH ja Mel-ga.

Reaktsioon kestis 2 päeva. Toorsegust tehtud ÖKK ja TMR analüüsides olid selgesti äratuntavad lähteaine **46** signaalid, kuid keerulise segu tõttu ei suudetud esialgu määrata, kas see ka produkti **47** sisaldab. Toorsegu kolonnkromatograafilise puhastamise tulemusena saadi fraktsioonid kätte segudena. Ainete segude täiendava puhastamise ja mõõdetud TMR spektrite lähemal uurimisel mõisteti, et peale ootuspärase C-alküleerimise leidis aset ka O-alküleerimine (Joonis 22). Vastavad produktid **47a** ja **47b** olid moodustunud suhtega peaaegu 1:1 (saagised vastavalt 22% ja 26%) ja mõlemal juhul oli need kätte saadud diastereomeeride segudena, mis oli ootuspärane, kuid raskendas oluliselt tulemuste analüüsi. O-alküleerimise täheldamine seevastu tuli üllatusena, sest Posner *et al.* olid oma artiklis maininud vaid C-alküleeritud produkti **47a** teket saagisega 57%.



**Joonis 22.** Michaeli produkti **46** O- ja C-alküleerimine.

Karbonüülühendite enoolvormil on kaks nukleofiilset tsentrit, üks enooli hapnikul ja teine kaksiksideme  $\alpha$ -süsinikul. See, kumb neist reageerib aktiivsemalt, oleneb reaktsiooni tingimustest. Üldjuhul on süsinikul asuv nukleofiilne tsepter tugevam ja seega on eelistatud C-alküleerimine, kuid teatud tingimustel võib soosituks osutuda ka O-alküleerimine. Näieks toetasid käesolevas reaktsioonis O-metüleeritud produkti **47b** teket NaH kasutamisel tekkinud Na-enolaat ja sulfonüülrühmast tingitud suur steeriline takistus süsinikul paikneval nukleofiilsel tsentril. Steerilise takistuse vastu ei saa antud olukorras midagi ette võtta, kuid teoorias peaks olema võimalik vähendada **47b** teket läbi mõne sobivama aluse kasutamise.

Selleks et uurida, kuivõrd erinevate aluste kasutamine reaktsiooni mõjutab, viidi järgmine katse läbi lähtudes Michaeli produktist **46** dr-ga 1:3 ja kasutades lähteaine deprotoneerimiseks *t*-BuOK-d. Seekord lõpetati reaktsioon 1 ööpäeva möödudes. Taaskord moodustusid O- ja C-metüleeritud produktid **47a** ja **47b** peaaegu võrdsetes kogustes kuigi varasemaga võrreldes mõnevõrra paremate saagisega (vastavalt 34% ja 44%). Sellest katsest järeldub, et Michaeli produkti **46** kõige happelisemat vesinikku on võimalik deprotoneerida ka NaH-st nõrgema alusega nagu *t*-BuOK, kusjuures nõrgem alus näib koguni paremini toimivat. Samas ei näi teistsuguse aluse kasutamine omavat olulist mõju O- ja C-alküleerimise määrale.

See on mõnevõrra ootamatu kuna aluse valik mängib kirjanduse põhjal olulist rolli C- ja O-alküleerimise vahelise tasakaalu määramisel läbi oma katiooni. Viimane on nimelt võimeline interakteeruma hapnikul asuva nukleofiilse tsentriga ja seda blokeerima. Mida tugevamini kation hapnikul asuva negatiivse laenguga interakteerub, seda tugevamalt on see nukleofiilne tsepter blokeeritud ja seda enam on O-alküleerimine takistatud ja C-alküleerimine soositud. Selle, kui tugevalt kation hapniku nukleofiilse tsentriga seondub, määrab tema aatomraadius, millest lähtuvalt peaks parim olema  $\text{Li}^+$ - ja halvim  $\text{K}^+$ -kation.

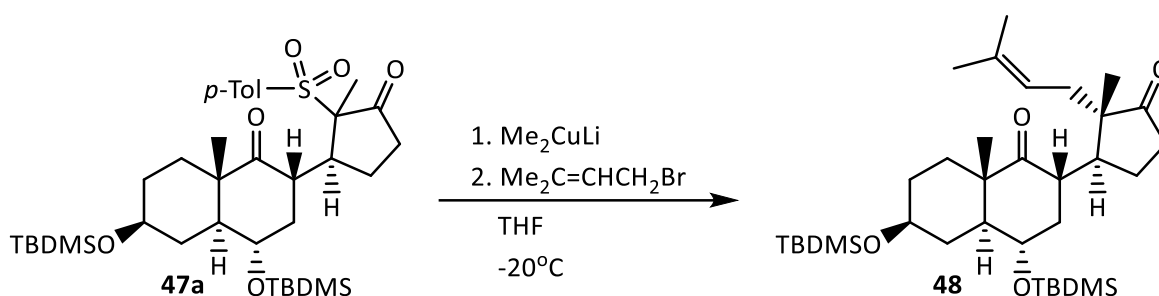
Kokkuvõttes on selge, et Posner *et al.* väljapakutud meetod toimib ja sellest lähtudes õnnestus eraldada piisavalt C-alküleeritud produkti **47a** järgmise etapi jaoks. Samas on tegu küllaltki halvasti töötava reaktsiooniga, mille suurimaks puuduseks on suur O-alküleerimise osakaal, mille tõttu ei sobi pool kättesaadavast aineest enam edasiseks tööks. Sellest tulenevalt on selge, et tööga edasi liikumise huvides oleks edaspidi vajalik kas Posneri meetodi täiendav optimeerimine või mõne sootuks muu lähenemise leidmine.

Uuringuid metüleerimise reaktsiooni optimeerimiseks on paraku mõtet läbi viia vaid puhta diastereomeeriga, kuna vastasel juhul hakkab töö edenemist sarnaselt selles peatükis kirjeldatud katsetele takistama keerulisest reaktsioonisegust tulenevad probleemid ainete puhastamisel ning analüüsil. Samas on Michaeli produkti **46** sünteesimine ja puhta diastereomeeri eraldamine küllaltki vaevarikas ning seega on tema kasutamine reaktsioonides, kust lähteaine ei pruugi esialgsel kujul

tagasi tulla, vähemalt esialgu, ebamõistlik. Sellest tulenevalt tasuks edaspidi kaaluda vähemalt esmaste uuringute teostamiseks sobiva mudelühendi kasutamist.

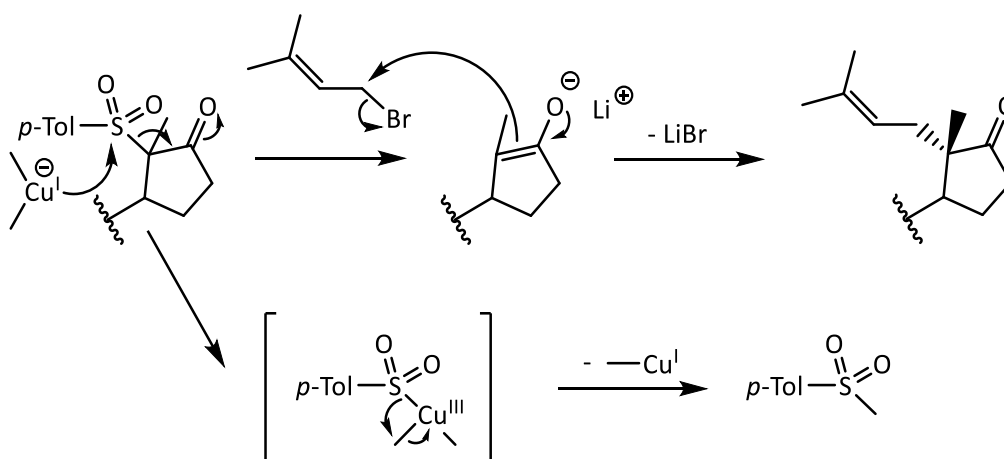
### 3.3 Sulfonüülrühma asendamine isoprenüülrühmaga.

Järgmiseks etapiks sünteesiskeemis on tulevasele 9,11-sekosteroolile järgmise asendaja, isoprenüülrühma, lisamine. Et uurida, kas reaktsioon toimib ootuspäraselt, viidi vastav reaktsioon läbi eelmises etapis eraldatud 75 mg C-metüleeritud produktiga **47a** (Joonis 23). See on oluline, kuna metüleerimise reaktsiooni edasisel uurimisel ja optimeerimisel kui väga aja ja töömahukal protsessil on mõte vaid juhul, kui järgneva etapiga on võimalik jõuda soovitud ühendini.



**Joonis 23.** Reaktsioon tosüülrühma asendamiseks isoprenüülrühmaga.

C-metüleeritud produktilt **47a** tosüülrühma eemaldamiseks valmistati esmalt CuI ja MeLi manusel Gilmani reagent ( $\text{Me}_2\text{CuLi}$ ), millele lisati seejärel vähehaaval C-metüleeritud produkt. Selle tulemusena moodustunud enolaadile lisati isoprenüülbromiid, mille järel toimunud asendusreaktsiooni tulemusena pidanuks moodustuma produkt **48** (joonis 24). Paraku osutus saadud toorsegu väga keeruliseks ning selle kolonnkromatograafilise puhastamise järel saadi fraktsioonid kätte segudena. Seejuures olid ainekogused nii väikesed (fraktsioonid, mis sisaldasid nii produkti **48** kui lähteainet **47a** kaalusid kokku vaid 13,4 mg), et nii produkti kui lähteaine olemasolu proovis oli määratav vaid HPLC-HRMS analüüsi abil. Edasised katsed proovi puhastada nurjusid.



**Joonis 24.** Sulfonüülrühma eemaldamise ja järgneva alküleerimisreaktsiooni reaktsiooni-mehhanism.

Üheks katse ebaõnnestumise põhjuseks on tõenäoliselt tõik, et reaktsioon viidi läbi väga väikeste ainekogustega (lähteaine mass 75 mg) ja sellest tulenevalt kujunes reagentide õige doseerimine väljakutseks. Tõenäoliselt ebaõnnestus ka Gilmani reagenti valmistamine. Kupraatreagent on üldjuhul värvitu kuni kollane aine, kuid MeLi lisamisel CuI-le värvus reaktsioonisegu üle kollase hoopis tume- ja seejärel heleroheliseks. Sellise värvimuutuse sai tingida vaid sinise  $\text{Cu}^{2+}$  iooni olemasolu lahuses, mis omakorda võib viidata mitmetele probleemidele.

$\text{Cu}^{2+}$  iooni esinemise reaktsioonisegus võis tingida niiskus ja viise kuidas see, vaatamata reaktsioonikolvi hoolikale kuivatamisele, reaktsioonisegusse tee leidis, on mitmeid. Neist tõenäolisem on seotud Gilmani reagenti valmistamiseks kasutatud CuI-ga. Nimelt oli reagent küllaltki vana ja võis seetõttu sisaldada üksjagu niiskust, kuid probleem võis seisneda ka CuI puhtuses. Vaskjodiid peaks puhtal kujul olema valge pulber, aga kasutatud reagent oli värvilt veidi kollakas. See viitab CuI disproportsioneerumisele, mille tulemusena moodustuvad  $\text{I}_2$  ja  $\text{Cu}^{2+}$ . Viimane ongi vaskjodiidi peamine kontaminant, mis reaktsiooni nurjata võis.<sup>69</sup> Probleemi vältimiseks edaspidi tuleks CuI enne kasutamist puhastada vastavalt publitseeritud meetodile.<sup>70</sup>

## 4. Kokkuvõte

Käesoleva töö eesmärgiks oli lähemalt uurida Michaeli liitumise reaktsiooni kui potentsiaalset meetodi 9,11-sekosteroolide A,B- ja D-ringi ühendamiseks. Selleks viidi 1,4-liitumise reaktsioonid kasutades doonorina meie grupi poolt varem sünteesitud A,B-ringi fragmenti **44** ja aktseptoritena kas ratseemilist sulfoksiidi **rac-3**, enantiomeerselt rikastatud sulfoksiidi (**S**)-**3** või sulfooni **45**.

Michaeli aktseptorid valmistati sulfiidi **50** oksüdeerimise teel lähtudes sobivast protseduurist. Sulfoksiid **rac-3** saadi oksüdeerides sulfiidi **50** *m*-CPBA-ga. Enantiomeerselt rikastatud sulfoksiid (**S**)-**3** valmistati kasutades meie laboris välja töötatud Ti-katalüüsi meetodit. Sulfoon **45** sünteesiti kasutades oksüdeerijana kaaliumperoksomonosulfaadi kolmiksoola Oxone, millega saavutati parim tulemus 2 ekv Oxone kasutamisel. Selle korral eraldatud produkt sisaldas TMR analüüsi järgi 95% sulfooni, andes arvutuslikult sulfooni saagiseks 83%.

Läbiviidud Michaeli liitumise katsete tulemusena saadi Michaeli produkti **rac-52** viie diastereomeeri seguna kogusaagisega 51%, sulfoksiidprodukti (**S**)-**52**, kolme diastereomeeri seguna kogusaagisega 46% ja sulfoonprodukti **46** kahe diastereomeeri seguna kogusaagisega 63% kuni 66%. Nendest tulemustest järeldati, et sulfoon **45** on uuritud aktseptoritest parim Michaeli liitumisreaktsioonis A,B-ringi fragmendiga **44**.

Michaeli produkti **46** diastereomeerid lahutati teineteisest ümberkristallimise teel EtOAc/*n*-Hex 1:1 segust, kusjuures parimal juhul õnnestus välja kristallunud diastereomeeri (D2) eraldada puhtusega kuni >99%. Saadud diastereomeeri ruumilne struktuur määrati kasutades TMR analüüsi, millest nähtus, et reaktsioonisegust eraldati 9,11-sekosteroolidele iseloomuliku ruumilise struktuuriga diastereomeer.

Sulfooni **45** rakendatavust Michaeli liitumisreaktsioonis 9,11-sekosterooli A,B-ringi fragmendiga **44**, moodustunud produkti **46** diastereomeeri eraldamist ning selle struktuuri määramiseks tehtud põhjalikku TMR-analüüsi kajastati meie teadusartiklis.<sup>55</sup>

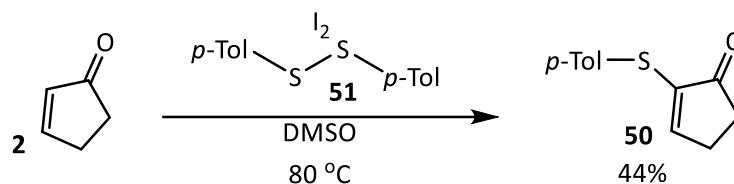
Uurides **46** metüleerimisreaktsiooni avastati, et koos oodatud C-metüleeritud produktiga **47a**, moodustub kasutatud reaktsioonitingimustes ootuspärase produktiga peaaegu võrdsel määral ka O-metüleeritud produkti **47b** saagistega vastavalt 22% ja 26%. Reaktsiooni tulemusi on õnnestus mõnevõrra parandada asendades NaH nõrgema alusega *t*-BuOK, millega saadi **47a** ja **47b** saagistega vastavalt 34% ja 44%. Saadud tulemustest järeldati, et reaktsioon vajab edasise töö huvides optimeerimist, ning vastavaid uuringud oleks mõistlik alustada sobiva mudelühendi otsimisest.

Metüleeritud produkti **47a** tosüülrühma asendamine isoprenüülrühmaga andis keerulise reaktsioonisegu, millest õnnestus produkti **48** olemasolu HRMS põhjal üksnes detekteerida. Paremate tulemuste saavutamiseks tuleks edaspidi reaktsioon läbi viia suurema ainekoguse ja puhtama lähteainega.

## 5. Eksperimentaalne osa

Niiskusetundlikud reaktsioonid viidi läbi argooni atmosfääris eelnevalt kuivatatud kolbides. Kasutatud solventidest DCM, Ats, EtOAc ja MeCN destilleeriti P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-lt, Et<sub>2</sub>O LiAlH<sub>4</sub>-lt või P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-lt, THF naatriumi ja bensofenooni segult ja MeOH naatriumilt. Kõiki teisi solvente kasutati täiendava puhastamiseta. DCM-i hoiti kasutamiseni aktiveeritud 4Å molekulaarsõelal. Õhukese kihi kromatograafia analüüsiks kasutati Mercki ÖKK silikageeli plaati 60 F<sub>254</sub>. Kolonnkromatograafiliseks puhastamiseks kasutati ThoMar silikageeli Kieselgel 60 extra fine (0,04-0,063mm). TMR spektrid mõõdeti kas Bruker Avance III 400 Mhz spektromeetril või Bruker Avance III 800 Mhz spektromeetril CDCl<sub>3</sub> lahuses. HPLC-HRMS spektrid mõõdeti Agilent 6540 UHD ACCURAT MASS Q-TOF LC/MS ja Agilent Infinity 1290 HPLC spektromeetrilt. Optilised pöörded määrati Anton Paar GWB Polarimeetril MCP 500.

### 2-(*p*-tolüültio)tsüklopent-2-een-1-oon **50**



Sulfiidi **50** sünteesiks lähtuti kirjanduses toodud protseduurist.<sup>62</sup>

Jood (264 mg, 1,0 mmol, 0,05 ekv) ja disulfiid **51** (5,142 g, 20,9 mmol, 1 ekv) lahustati DMSOs (83 ml). Seejärel lisati tsüklopentanoon **2** (4,213g, 50,1 mmol, 2,4 ekv) ja jäeti reaktsioonisegu 80 °C juurde 4 päevaks segama. Reaktsiooni lõpetamiseks lahjendati segu 170 ml EtOAc-ga. Seejärel pesti orgaanilist faasi 3x 170 ml destilleeritud veega. Saadud orgaaniline faas kuivatati MgSO<sub>4</sub>, filtriti ja kontsebreeriti. Toorsegu puhastati kolonnkromatograafiliselt (silikageel, 5% Ats/PE). Sulfiid **50** eraldati merevaiguoranži õlina massiga 3,764 g saagisega 44%. Disulfiidi **51** saadi oranzika kristallilise aina tagasi 2,685 g (52%). Disulfiidi on võimalik MeOH-s ümber kristallida.<sup>63</sup> Selleks tuleb aine lahustada minimaalses koguses MeOHs ja jätta ta seisma kuni valkjate kristallide moodustumiseni. Peale emalahuse eemaldamist saab saadud puhast disulfiidi **51** uuesti kasutada.

#### Sulfiidi **50** analüüsid:

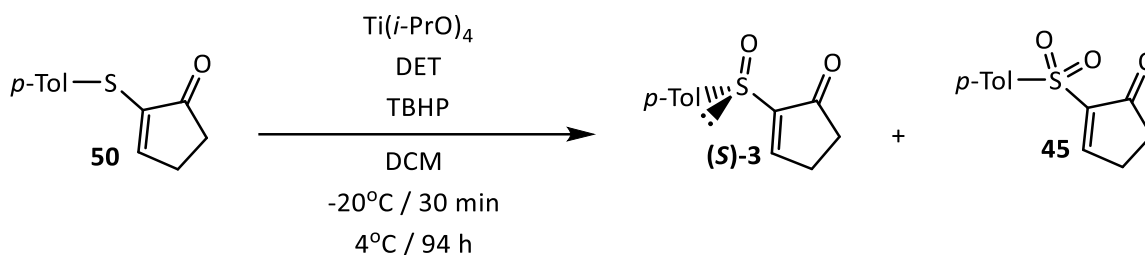
<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) = 7.45- 7.33 (m, 2H), 7.19 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 6.85 (t, J = 3.0 Hz, 1H), 2.63-2.56 (m, 2H), 2.56-2.47 (m, 2H), 2.35 (s, 3H).

<sup>13</sup>C-TMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) 205.0, 154.3, 143.9, 139.0, 134.0, 130.4, 127.2, 34.8, 27.4, 21.3.

ÖKK: R<sub>f</sub> = 0,45 (20% Ats/PE; UV 254, *p*-aniisaldehyüd).

Analüüsi tulemused kattuvad kirjanduses leiduvatega.<sup>62</sup>

## 2-(*p*-tolüülsulfinüül)tsüklopent-2-een-1-oon (**S**)-**3**



Enantiomeerselt rikastatud sulfoksiidi (**S**)-**3** sünteesis lähtuti kirjanduses toodud protseduurist.<sup>61</sup>

Kuiva argooniga täidetud ümarkolbi viidi 4Å ms (200 mg) ja DCM (3 ml). Seejärel jahutati segu  $-20^\circ\text{C}$ -ni ja lisati tilkhaaval  $\text{Ti}(i\text{-PrO})_4$  (0,29 ml, 1,0 mmol, 1 ekv), (+)-DET (0,67 ml, 3,9 mmol, 4 ekv), TBHP 5,5 M lahus dekaanis (0,18 ml, 1,0 mmol, 1 ekv) ja sulfiid **50** (200 mg, 1,0 mmol, 1 ekv). Peale 30 min segamist viidi reaktsioonisegu üle külmkappi  $+4^\circ\text{C}$  juurde ja jäeti see 94 h. Reaktsiooni lõpetamiseks lisati 5%  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  vesilahust (1,5 ml), mille järele jätkati segu segamist toatemperatuuril veel 30 min vältel. Reaktsioonisegu kontsentreeriti rotatsiooniaurustil ja lisati EtOAc (10 ml). Faasid eraldati ja orgaanilist faasi pesti 2x1,5 ml  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  5% vesilahusega ja 3x1,5 ml küllastunud NaCl vesilahusega. Saadud orgaaniline faas kuivatati  $\text{MgSO}_4$ -l, filtriti ja kontsentreeriti rotatsiooniaurustil. Peale kolonnkromatograafilist puhastamist (silikageel, gradient 20-35% Ats/PE) saadi 90 mg sulfoksiidi (**S**)-**3** kollaka kristallilise ainega (28%, ee 78%) ja 43 mg sulfooni **45** kollaka kristallilise ainega (19%). Lähteainet **50** saadi tagasi 72 mg (36%).

Sulfoksiidi (**S**)-**3** enantiomeerset puhtust on võimalik täiendavalt tõsta ümberkristallimisega EtOAc/ $\text{Et}_2\text{O}$  (1:1) segust. Selleks tuleb aine lahustada minimaalses koguses EtOAc, lisada  $\text{Et}_2\text{O}$  ja tõsta segu külmkappi  $+4^\circ\text{C}$  juurde kuni kristallide moodustumiseni.

### Sulfoksiidi (**S**)-**3** analüüsid:

ÕKK:  $R_f = 0,11$  (20% Ats/PE; UV 254, *p*-aniisaldehyüd)

$^1\text{H-TMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) = 8.14 (t,  $J = 2.8 \text{ Hz}$ , 1H), 7.71- 7.60 (m, 2H), 7.30 (d,  $J = 7.9 \text{ Hz}$ , 2H), 2.91-2.79 (m, 1H), 2.79-2.66 (m, 1H), 2.65-2.56 (m, 1H), 2.55-2.44 (m, 1H), 2.39 (s, 3H).

$^{13}\text{C-TMR}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) 202.2, 163.4, 152.0, 142.3, 139.3, 130.1, 125.1, 36.5, 27.6, 21.6.

Analüüsi tulemused kattuvad kirjanduses leiduvatega.<sup>61</sup>

HPLC: Lux 3u Amylose-2, 85% Hex 15% *i*-PrOH, 1 ml/min, 230 nm, R-enantiomeer 42.8 min. S-enantiomeer 57.3 min. Pärast ümberkristallimist on piikide pindalad vastavalt 1% ja 99%.

$[\alpha]_D^{25} +134^\circ$  ( $c$  0,368,  $\text{CHCl}_3$ )

### Sulfooni **45** analüüsid:

ÕKK:  $R_f = 0,57$  (40% Ats/PE; UV 254, *p*-aniisaldehyüd)

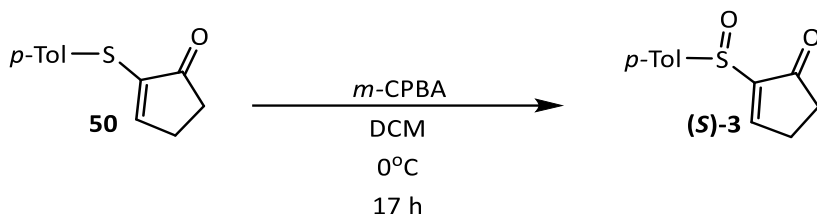
$^1\text{H-TMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) = 8.46 (t,  $J = 2.7 \text{ Hz}$ , 1H), 7.94 (d,  $J = 8.3 \text{ Hz}$ , 2H), 7.34 (d,  $J = 8.1 \text{ Hz}$ , 2H), 2.80 (dt,  $J = 5.5, 2.7 \text{ Hz}$ , 2H), 2.56-2.52 (m, 2H), 2.43 (s, 3H).



$^{13}\text{C}$ -TMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) 199.1, 170.5, 147.3, 145.3, 136.1, 129.8, 128.8, 36.0, 26.8, 21.8.

Analüüsi tulemused kattuvad kirjanduses leiduvatega.<sup>65</sup>

### 2-(*p*-tolüülsulfinüül)tsüklopent-2-een-1-oon *rac*-3



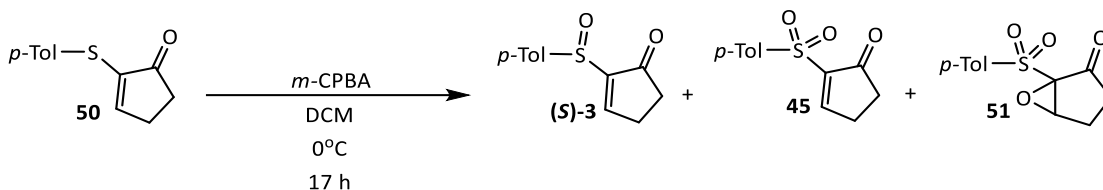
Ratseemiline *rac*-**3** sulfoksiid sünteesiti lähtudes kirjanduses toodud protseduurist.<sup>64</sup>

Sulfiid **50** (1,200 g mg, 5,9 mmol, 1 ekv) lahustati DCM-is (26 ml) ning saadud segu jahutati 0°C juurde. Seejärel lisati tilkhaaval *m*-CPBA 70-77% (1,379 g, 5,9 mmol, 1 ekv) lahus DCM-is (18 ml) ja jäeti segu 30 min segama. Seejärel lasti segul toatemperatuurini soojeneda ning jätkati segamist 17h vältel. Reaktsiooni lõpetamiseks lisati segule 10%  $\text{NaHCO}_3$  vesilahus (18 ml). Faasid eraldati ja orgaanilist faasi pesti küllastunud  $\text{NaCl}$  vesilahusega (18 ml). Toorsegu kuivatati  $\text{MgSO}_4$ , filtriti, kontsentreeriti rotatsiooniaurustil ja puhastati kolonnkromatograafiliselt (silikageel, gradient 20%  $\text{Ats/PE}$ ), mille tulemusena saadi 893 mg ratseemilist sulfoksiidi *rac*-**3** helepruuni tahke aienena (69%). Lähteainet **50** saadi tagasi 122 mg (10%).

### Ratseemilise sulfoksiidi *rac*-**3** HPLC-analüüs:

HPLC: Lux 3u Amylose-2, Hex:iPrOH 85:15, 1 ml/min, 230 nm, R-enantiomeer 43.7 min. S-enantiomeer 60,2 min. Piikide pindalad vastavalt 49% ja 51%.

### 2-(*p*-tolüülsulfonüül)tsüklopent-2-een-1-oon **45**



Sulfooni **45** sünteesil lähtuti samast protseduurist, millest lähtuti ka ratseemiline sulfoksiid sünteesil.<sup>64</sup>

Sulfiid **50** (1,500 g mg, 7,3 mmol, 1 ekv) lahustati DCM-is (33 ml) ning saadud segu jahutati 0°C juurde. Seejärel lisati tilkhaaval *m*-CPBA 70-77% (3,446 g, 14,7 mmol, 2 ekv) lahus DCM-is (18 ml) ja jäeti segu 30 min segama. Seejärel lasti segul toatemperatuurini soojeneda ning jätkati segamist monitoorides reaktsiooni kulgu ÖKK analüüsiga. Reaktsiooni lõpetamiseks lisati segule  $\text{NaHCO}_3$  küllastunud vesilahust (22 ml) ja  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  5% vesilahust (22 ml). Faasid eraldati ja orgaanilist faasi pesti küllastunud  $\text{NaCl}$  vesilahusega (22 ml). Toorsegu kuivatati  $\text{MgSO}_4$ , filtriti, kontsentreeriti rotatsiooniaurustil ja puhastati kolonnkromatograafiliselt (silikageel, gradient 25%  $\text{Ats/PE}$ ). Fraktsioonid saadi ainete seguna, mis sisaldasid peale sulfooni **45** ka sulfoksiidi **3** ja epoksiidi **51**. Ainete täiendavalt ei puhastatud.

## Epoksiidi 51 analüüsid:

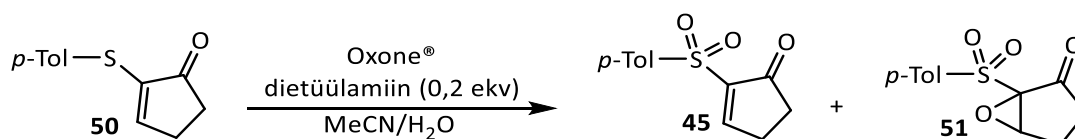
ÕKK:  $R_f = 0,66$  (40 Ats/PE; UV 254, *p*-aniisaldehyüd)

$^1\text{H-TMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  (ppm) 7.96 (d,  $J=8.4$  Hz, 2H), 7.39 (d,  $J=7.9$  Hz, 2H), 4.58 (d,  $J=1.8$  Hz, 1H), 2.46 (s, 3H), 2.41 – 2.35 (m, 2H), 2.35 – 2.31 (m, 1H), 2.29 – 2.16 (m, 2H)

$^{13}\text{C-TMR}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) 200.3, 146.2, 133.9, 129.9, 129.7, 70.9, 65.4, 33.4, 21.9, 21.4.

Analüüsi tulemused kattuvad kirjanduses leiduvatega.<sup>65</sup>

## 2-(*p*-tolüülsulfonüül)tsüklopent-2-een-1-oon 45

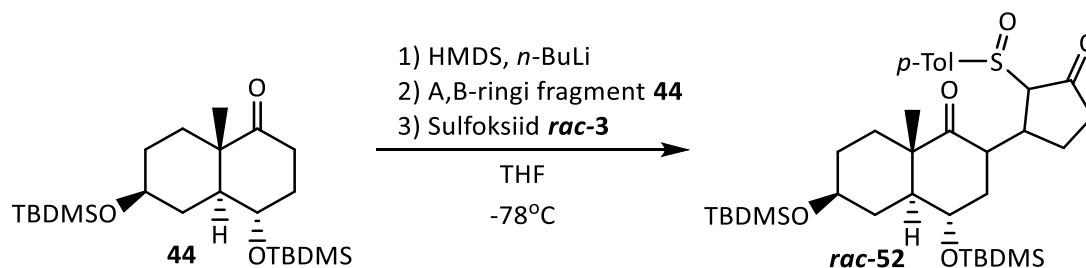


Sulfooni **45** sünteesil lähtuti kirjanduses toodud protseduurist.<sup>67</sup>

Sulfiid **50** (1,126 g, 5,5 mmol, 1 ekv) lahustati MeCNis (11 ml). Saadud segule lisati järgemööda dietüülamiin (0,11 ml, 1,1 mmol, 0,2 ekv) ja Oxone<sup>®</sup> (6,778 g, 9,6 mmol, 2 ekv) vesilahus (26 ml). Reaktsiooni edemenist jälgiti ÕKK analüüsiga. Reaktsiooni lõppedes lahjendati segu külma veega (40 ml), filtriti ja kuivatati. Selle tulemusena saadi 1,107 g toorsegu valkja tahke aine, mis sisaldas TMR analüüsi järgi 94% sulfooni **45** (saagis arvutuslikult 80%) ja 6% epoksiidi **51**, mida kasutati järgmises reaktsioonis ilma täiendava puhastamiseta.

Filtraadist eraldati seismise järel 172 mg valkjat helbelist epoksiidi **51** (12%).

## (4*S*,4*αS*,6*S*,8*αS*)-4,6-bis((*tert*-butüüldimetüülsilüül)oksü)-8*α*-metüül-2-(3-okso-2-(*p*-tolüülsulfinüül)tsüklopentüül)oktahüdro-naftaleen-1(2H)-oon *rac*-52



Michaeli produkti *rac*-**52** sünteesil lähtuti kirjanduses toodud protseduurist.<sup>41</sup>

Kuiva argooniga täidetud kolbi viidi THF (0,6 ml) ja HMDS (0,11 ml, 0,5 mmol, 1,1 ekv) ning jahutati saadud segu -78°C-ni. Seejärel lisati tilkhaaval *n*-BuLi 2,5 M lahus heksaanis (0,21 ml, 0,5 mmol, 1,1 ekv) ja jätkati segamist. 30 min möödudes soojendati reaktsioonisegu korraks toatemperatuurile ning jahutati siis taas -78°C juurde. Seejärel lisati segule tilkhaaval A,B-ringi fragmendi **44** (195 mg, 0,5 mmol, 1 ekv) lahus THFis (0,4 ml + 0,8 ml loputamiseks) ja jätkati segamist. Peale 1,5 h lisati sulfoksiidi *rac*-**3** (113 mg, 0,5 mmol, 1,1 ekv) lahus THFis (0,4 ml + 1,2 ml loputamiseks), lasti reaktsioonisegul toatemperatuurile soojeneda ja jäeti see üleöö segama (~18 h). Reaktsioon lõpetati küllastunud NH<sub>4</sub>Cl lahuse (4 ml) lisamisega. Seejärel faasid eraldati ja vesifaasi pesti 3x4 ml

DCM. Toorsegu kuivatati MgSO<sub>4</sub>, filtriti ja kontseentreeriti. Peale kolonnkromatograafilist puhastamist (silikageel, gradient 5-40% Ats/PE) saadi 155 mg Michaeli produkti **46**, kollakat tahket ainet, (saagis 51%) kätte 5 diastereomeeri seguna. A,B-fragmenti **44** saadi tagasi 37 mg (19%).

#### Michaeli produkti *rac*-**52** analüüsid:

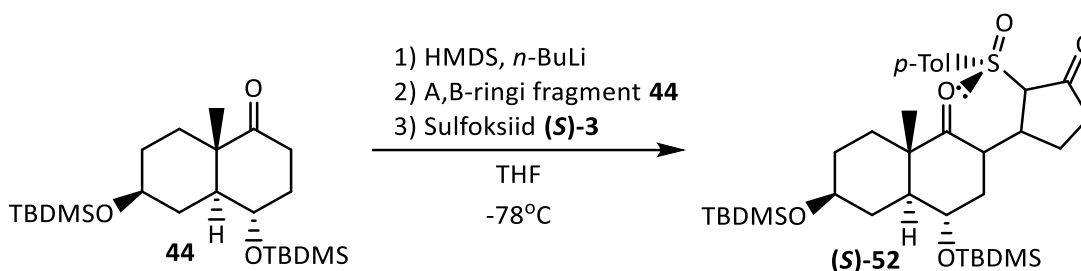
ÖKK: R<sub>f</sub> = 0,46 (20% Ats/PE; UV 254, *p*-aniisaldehyd)

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) 214.6, 214.3, 2,13.8, 213.0, 211.6, 211.4, 210.8, 210.5, 210.3, 209.6, 209.3.

HPLC: Agilent C18, gradient 10 min 10-0% H<sub>2</sub>O (0,1% HCOOH) 90-100% ACN (1% H<sub>2</sub>O), 0,3 ml/min, λ = 230 nm, t<sub>R</sub> (diastereomeer 1) = 4,6 min, t<sub>R</sub> (diastereomeer 2) = 4,9 min, t<sub>R</sub> (diastereomeer 3) = 5,6 min, t<sub>R</sub> (diastereomeer 4) = 5,9 min, (diastereomeer 5) = 6,9 min.

HRMS: for C<sub>35</sub>H<sub>58</sub>O<sub>5</sub>SSi<sub>2</sub>, [M+H]<sup>+</sup> arvutatud 647.3896, leitud 647.3616.

#### (4*S*,4*αS*,6*S*,8*αS*)-4,6-bis((*tert*-butüüldimetüülsilüül)oksü)-8*α*-metüül-2-(3-okso-2-(*S*)-(p-tolüülsulfinüül)tsüklopentüül)oktahüdraftaleen-1(2*H*)-oon (*S*)-**52**



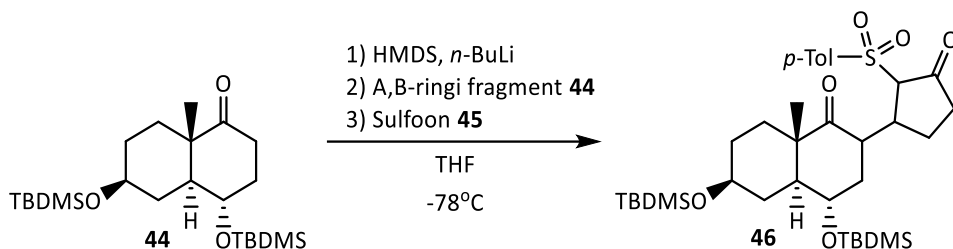
Michaeli produkti (**S**)-**52** sünteesil lähtuti kirjanduses toodud protseduurist.<sup>41</sup>

Kuiva argoonatmosfääriga kolbi viidi THF (0,5 ml) ja HMDS (27 µl, 0,1 mmol, 1,1 ekv) ning jahutati saadud segu -78°C-ni. Seejärel lisati tilkhaaval *n*-BuLi 2,5 M lahus heksaanis (51 µl, 0,1 mmol, 1,1 ekv) ja jätkati segamist. 30 min järel soojendati reaktsioonisegu korraks toatemperatuurile ning jahutati siis taas -78°C juurde. Seejärel lisati segule tilkhaaval A,B-ringi fragmendi **44** (50 mg, 0,1 mmol, 1 ekv) lahus THF-is (0,5 ml + 0,5 ml loputamiseks) ja jätkati segamist. Peale 1,5 h lisati sulfoksiidi (**S**)-**3** (28 mg, 0,1 mmol, 1,1 ekv) lahus THF-is (0,5 ml + 0,5 ml loputamiseks), lasti reaktsioonisegul toatemperatuurile soojeneda ja jäeti see ~20 h segama. Reaktsioon lõpetati küllastunud NH<sub>4</sub>Cl lahuse (1 ml) lisamisega. Seejärel faasid eraldati ja vesifaasi pesti 3x1 ml DCM. Toorsegu kuivatati MgSO<sub>4</sub>-l, filtriti, kontseentreeriti ning teostati HPLC-HRMS analüüs, mille järgi sisaldas toorsegu A,B-fragmenti **44**, sulfoksiidi (**S**)-**3** ja Michaeli produkti **46** vastavalt 53%, 5% ja 46%.

#### Michaeli produkti (**S**)-**52** HPLC-analüüs

HPLC: Zorbax Eclipse Plus C18 Rapid Resolution HD, 85% MeOH, 15% H<sub>2</sub>O (0,05% HCOOH), 0,2 ml/min, λ = 210 nm: t<sub>R</sub> (diastereomeer 1) = 3,5 min, t<sub>R</sub> (diastereomeer 2) = 3,9 min, t<sub>R</sub> (diastereomeer 3) = 4,8 min.

**(4*S*,4*αS*,6*S*,8*αS*)-4,6-bis((*tert*-butüüldimetüülsilüül)oksü)-8*α*-metüül-2-(3-okso-2-tosüül-1*λ*<sup>3</sup>,2*λ*<sup>3</sup>-tsüklopentüül)oktahüdraaftaleen-1(2*H*)-oon **46****



Michaeli produkti **46** sünteesil lähtuti kirjanduses toodud protseduurist.<sup>41</sup>

Kuiva argooniga täidetud kolbi viidi THF (1,25 ml) ja HMDS (0,35 ml, 1,7 mmol, 1,1 ekv) ning jahutati saadud segu -78°C-ni. Seejärel lisati tilkhaaval *n*-BuLi 2,5 M lahus heksaanis (0,67 ml, 1,7 mmol, 1,1 ekv) ja jätkati segamist. 30 min möödudes soojendati reaktsioonisegu korraks toatemperatuurile ning jahutati siis taas -78°C juurde. Seejärel lisati segule tilkhaaval A,B-ringi fragmendi **44** (659 mg, 1,5 mmol, 1 ekv) lahus THFis (1,25 ml + 0,5 ml loputamiseks) ja jätkati segamist. Peale 1,5 h lisati sulfooni **45** (395 mg, 1,7 mmol, 1,1 ekv) lahus THFis (1,84 ml + 2,5 ml loputamiseks), lasti reaktsioonisegul toatemperatuurile soojeneda ja jäeti see üleöö segama (~16 h). Reaktsioon lõpetati küllastunud NH<sub>4</sub>Cl lahuse (6 ml) lisamisega. Seejärel faasid eraldati ja vesifaasi pesti 3x5 ml DCM. Toorsegu kuivatati MgSO<sub>4</sub>, filtriti ja konsentreeriti. Peale kolonnkromatograafilist puhastamist (silikageel, gradient 5-40% Ats/PE) saadi 664 mg Michaeli produkti **46**, valget tahket ainet, (saagis 66%) kätte kahe diastereomeeri ~ 1:1 seguna. A,B-fragmenti **44** saadi tagasi 158 mg (24%).

Diastereomeere on võimalik ümberkristallimise teel teineteisest mingil määral lahutada. Selleks lahustati Michaeli produkt minimaalses koguses etüülatsetaadis segu seejuures kuni 45°C-ni soojendades. Seejärel lisati EtOAc sama kogus *n*-Hex ja viidi segu 24 h +4 °C juurde.

**Michaeli produkti 46 D2 analüüsid.**

ÕKK: R<sub>f</sub> = 0,51(20% Ats/PE; UV 254, *p*-aniisaldehyüd)

<sup>1</sup>H NMR (800 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) 7.75-7.67 (m, 2H), 7.39-7.33 (m, 2H), 3.87 (td, J = 10.3, 10.3, 4.6 Hz, 1H), 3.50-3.43 (m, 2H), 3.27 (ddd, J = 14.0, 5.8, 3.2 Hz, 1H), 3.20 (dtd, J = 8.7, 7.0, 6.4, 3.2 Hz, 1H), 2.45 (s, 3H), 2.44-2.40 (m, 2H), 2.37-2.30 (m, 1H), 2.14 (ddd, J = 12.9, 5.8, 3.2 Hz, 1H), 2.11 (ddt, J = 12.4, 4.8, 2.5 Hz, 1H), 1.78-1.71 (m, 1H), 1.57 (dd, J = 10.1, 2.8 Hz, 1H), 1.55-1.45 (m, 2H), 1.44-1.36 (m, 3H), 1.31-1.25 (m, 1H), 1.13 (s, 3H), 0.91 (s, 9H), 0.87 (s, 9H), 0.10 (d, J = 4.3 Hz, 6H), 0.04 (d, J = 3.3 Hz, 6H)

<sup>13</sup>C NMR (201 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) 213.9, 206.4, 145.5, 134.6, 130.0, 129.4, 72.4, 71.4, 68.7, 50.3, 46.8 (2x), 39.4, 38.2, 37.1, 33.2, 31.5, 31.1, 26.0 (2x), 23.8, 21.9, 18.4, 18.2, 17.5, 4.0, 4.5, 4.6, 4.7.

HRMS: for C<sub>35</sub>H<sub>58</sub>O<sub>6</sub>Si<sub>2</sub>, [M+H]<sup>+</sup> arvutatud 663.3565, leitud 663.3551.

IR (cm<sup>-1</sup>): 2954.48, 2857.03, 1749.85, 1706.13, 1472.08, 1255.90, 1142.99, 1085.08, 873.69, 836.90, 775.11.

$[\alpha]_D^{25} = +37.7633$  (c 0.424,  $\text{CHCl}_3$ ).

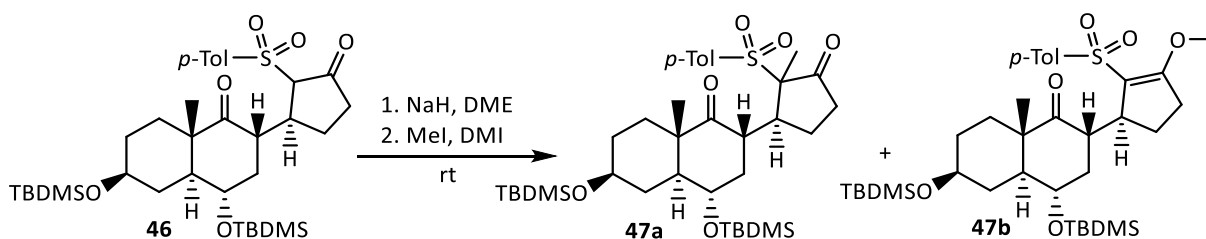
#### Michaeli produkti 46 D1 analüüsid.

ÕKK:  $R_f = 0,57$  (20% Ats/PE; UV 254, *p*-aniisaldehyüd)

$^1\text{H-TMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) 7.68 (d,  $J=8.4$  Hz, 2H), 7.35 (d,  $J=7.9$  Hz, 2H), 3.95 – 1.18 (m, 18H), 2.45 (s, 3H), 1.14 (s, 3H), 0.91 (s, 9H), 0.87 (s, 9H), 0.11 (d,  $J=4.0$  Hz, 6H), 0.04 (d,  $J=1.9$  Hz, 6H)

$^{13}\text{C-TMR}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) 214.8, 206.3, 145.4, 134.8, 129.9, 129.3

#### (2*S*,4*S*,4*α**S*,6*S*,8*α**S*)-4,6-bis((*tert*-butüüldimetüülsilüül)oksü)-8*α*-metüül-2-((1*S*)-2-metüül-3-okso-2-tosüültsüklopentenüül)oktahüdronaftaleen-1(2*H*)-oon 47a



Kuiva argoonatmosfääriga kolbi kaaluti Michaeli produkt **46** (143 mg, 0,2 mmol, 1 ekv) *t*-BuOK (24 mg, 0,2 mmol, 1 ekv). Saadud segule lisati DME (3,54 ml) ja alustati selle segamist. 1 h järel lisati reaktsioonisegule paralleelselt DMI (0,71 ml) ja Mel (0,19 ml) ning jätkati segamist monitoorides reaktsiooni kulgu ÕKK analüüsidega. Reaktsioon lõpetati ~48 h järel tõstes segu liigse DME ja Mel eraldamiseks rotatsiooniaurustile. Seejärel lisati saadud segule destilleeritud vett (10 ml), faasid lahutati ja orgaanilist faasi pesti täiendavalt 3x10 ml destilleeritud veega. Toorsegu kuivatati  $\text{MgSO}_4$ , filtriti ja puhastati kolonnkromatograafiliselt (silikageel, gradient 10-20% Ats/PE). Seguna saadud fraktsioone puhastati täiendavalt preparatiivse ÕKK-ga (silikageeli plaadid, eluent 20% Ats/PE). Selle tulemusena saadi C-metüleeritud produkti **47a** valge tahke ainenähte 22% saagisega ja O-alküleeritud produkti **47b** valge tahke ainenähte 26% saagisega. Lähteainet oli näha vaid jälgedes.

#### C-alküleeritud produkti 47a analüüsid:

ÕKK:  $R_f = 0,71$  (20% Ats/PE; UV 254, *p*-aniisaldehyüd)

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) 7.52 (d,  $J=8.4$  Hz, 2H), 7.30 (d,  $J=7.8$  Hz, 2H), 4.17 – 4.07 (m, 1H), 3.98 (td,  $J=10.3, 4.4$  Hz, 1H), 3.51 (tt,  $J=9.9, 4.9$  Hz, 1H), 3.03 (dt,  $J=13.1, 6.8$  Hz, 1H), 2.80 – 2.65 (m, 2H), 2.44 (s, 3H), 2.43 – 2.25 (m, 2H), 2.20 – 2.06 (m, 1H), 2.02 – 1.90 (m, 1H), 1.89 – 1.75 (m, 1H), 1.68 – 1.56 (m, 1H), 1.56 – 1.29 (m, 5H), 1.33 (s, 3H), 1.31 (s, 3H), 0.90 (s, 9H), 0.89 (s, 9H), 0.12 (d,  $J=2.0$  Hz, 6H), 0.06 (d,  $J=2.0$  Hz, 6H)

$^{13}\text{C NMR}$  (201 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) 214.5, 211.8, 145.4, 133.6, 130.5, 129.2, 74.2, 71.6, 69.2, 51.8, 46.8, 46.6, 42.5, 41.1, 37.2, 33.3, 31.7, 31.2, 26.0, 26.00, 23.3, 21.9, 20.7, 18.5, 18.2, 16.8, 3.9, 4.5, 4.6, 4.7

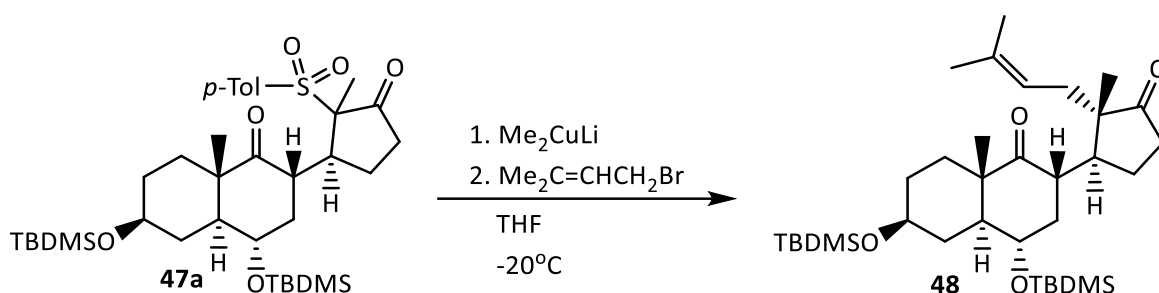
#### O-alküleeritud produkti 47b analüüsid:

ÕKK:  $R_f = 0,42$  (20% Ats/PE; UV 254, *p*-aniisaldehyüd)

$^1\text{H-TMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) 7.81 (d,  $J=8.4$  Hz, 2H), 7.29 (d,  $J=7.9$  Hz, 2H), 3.83 – 3.77 (m, 1H), 3.73 (s, 3H), 3.64 (dt,  $J=9.2, 2.7$  Hz, 1H), 3.53 (ddd,  $J=14.4, 6.0, 3.0$  Hz, 1H), 3.49 – 3.41 (m, 1H), 2.59 – 2.36 (m, 2H), 2.42 (s, 3H), 2.23 – 2.02 (m, 4H), 1.80 – 1.68 (m, 1H), 1.68 – 1.59 (m, 1H), 1.59 – 1.48 (m, 1H), 1.48 – 1.18 (m, 4H), 1.15 (s, 3H), 0.87 (s, 9H), 0.86 (s, 9H), 0.05 – -0.02 (m, 12H)

$^{13}\text{C-TMR}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) 214.6, 167.5, 143.6, 140.2, 129.6, 127.3, 112.7, 71.6, 68.8, 58.0, 50.2, 46.7, 45.9, 41.9, 35.6, 33.2, 31.8, 31.1, 30.4, 26.0, 26.0, 22.7, 21.7, 18.4, 18.1, 17.7, 4.0, 4.5, 4.7, 4.8

**(2*S*,4*S*,4 $\alpha$ *S*,6*S*,8 $\alpha$ *S*)-4,6-bis((*tert*-butüüldimetüüsilüül)oksü)-8 $\alpha$ -metüül-2-((1*S*,2*S*)-2-metüül-2-(3-metüülbut-2-*een*-1-üül)-3-oksotsüklopentüül)oktahüdronaftaleen-1(2*H*)-oon **48****



Kuiva argoonikeskkonnaga kolbi viidi  $\text{CuI}$  (76 mg 0,4 mmol, 4 ekv) ja värskest destilleeritud  $\text{Et}_2\text{O}$  (1,6 ml). Saadud suspensioon jahutati  $0^\circ\text{C}$  juurde ja lisati seejärel tilkhaaval  $\text{MeLi}$  1,6 M lahus  $\text{Et}_2\text{O}$ -s (0,46 ml, 0,7 mmol, 7 ekv). 15 min järel lisati metüleeritud produkti **47a** (75 mg, 0,1 mmol, 1, ekv) lahus THF-is (1,2 ml + 1 ml loputamiseks) ja jätkati segamist 1,25 h vältel. Seejärel jahutati reaktsioonisegu  $-21^\circ\text{C}$  juurde ja lisati isoprenüülbromiid (0,12 ml, 1,1 mmol, 10 eq). Peale 1,5 h reaktsioon lõpetati küllastunud  $\text{NH}_4\text{Cl}$  vesilahuse lisamisega (15 ml). Faasid lahutati ja vesifaasi ekstraheeriti 5x25ml  $\text{EtOAc}$ -ga. Kombineeritud orgaanilised faasid kuivatati  $\text{MgSO}_4$ -l, filtriti ja puhastati kolonnkromatograafiliselt (silikageel, gradient 5-25%  $\text{Ats/PE}$ ). Kolonnist saadi produkti **48** fraktsioonid kätte segus lähteainega **47a**. HPLC-HRMS järgi rohkem produkti **48** sisaldanud fraktsioone puhastati täiendavalt preparatiivse ÖKK-iga (silikageeli plaadid, eluent 10%  $\text{EtOAts/PE}$ ), kuid selle järel produkti **48** uuesti tuvastada ei õnnestunud.

ÖKK:  $R_f = 0,78$  (20%  $\text{Ats/PE}$ ; UV 254, *p*-aniisaldehyd)

HRMS:  $\text{C}_{34}\text{H}_{62}\text{O}_4\text{Si}_2$ ,  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  arvutatud 613,4079, leitud 613,4037.

## Abstract

The aim of the present work was to closely study the Michael addition reaction as a potential method of connecting the A,B- and D-rings of 9,11-secosterols. To that end 1,4-addition reactions were conducted using the previously prepared A,B-ring fragment **44** as the donor and either racemic sulfoxide *rac*-**3**, enantiomerically enriched sulfoxide (**S**)-**3** or sulfone **45** as the acceptor.

The Michael acceptors were prepared from sulfide **50** by oxidizing them according to an appropriate procedure. Sulfoxide *rac*-**3** was obtained by oxidizing sulfide **50** with *m*-CPBA. The enantioenriched sulfoxide (**S**)-**3** was acquired by following the Ti-catalyzed procedure first developed in our laboratory. Sulfone **45** was prepared by utilizing potassium peroxymonosulfate triplex salt Oxone as oxidant. The best results were obtained when 2 eq of Oxone were used, in which case the product contained 95% of sulfone according to NMR analysis, which corresponds to the calculated yield of 83%.

The conducted Michael addition reactions gave Michael product *rac*-**52** as a mixture of five diastereomers with the yield of 51%, the sulfoxide product (**S**)-**52** as a mixture of 3 diastereomers with the yield of 46% and the sulfone product **46** as a mixture of two diastereomers with the yield of 63% to 66%. From this it was concluded, that out of the acceptors studied sulfone **45** gives the best result in a Michael addition reactions with the A,B-ring fragment **44**.

The diastereomers of Michael product **46** were separated by recrystallization from an EtOAc/*n*-Hex 1:1 mixture and in the best case the crystallizing diastereomer D2 was obtained with up to >99% purity. The structure of the diastereomer was determined through NMR analysis, which showed that the diastereomer obtained had the same structure characteristic to 9,11-secosterols.

The applicability of sulfone **45** in the Michael addition reaction with the A,B-ring fragment **44** of 9,11-secosterols, the separation of the diastereomer of Michael product **46** and the elucidation of its structure through thorough NMR analysis were published in a science article.<sup>55</sup>

By studying the methylation reaction of **46** it was discovered that aside from the expected C-methylated product **47a** the O-methylation product **47b** is also formed in nearly equal amounts giving rise to yields of 22% and 26% respectively. The results of the reaction could be slightly improved by exchanging NaH with *t*-BuOK, which gave **47a** and **47b** with the yields of 34% and 44% respectively. From these results it was concluded, that the reaction would benefit from optimization in the near future and that the studies should be conducted by using an appropriate model compound.

The substitution reaction meant to replace the tosyl group of the starting compound **47a** with an isoprenyl group afforded such a complicated reaction mixture that the presence of product **48** could only be detected by HRMS. For better results to be obtained in the future the reaction should be conducted with a larger quantity of purer starting compound.

## Tänuavaldus

Soovin tänada Margus Loppi mulle antud võimaluse eest 9,11-sekosteroolide sünteesi uurida ning oma tööd ka välismaal tutvustada.

Tänan Ivar järvingut ja Tõnis Pehki HPLC-HRMS ja TMR analüüside teostamise eest.

Soovin tänada oma kolleege Katalüüsi, Pideva voolu keemia ja Supramolekulaarse keemia uurimisgruppide, kes on mind sellel teekonnal oma nõu ja jõuga aidanud ning loonud turvalise ja sõbraliku töökeskkonna.

Ennekõike soovin tänada oma juhendajat Marek Kõllot, kes on mind minu töös igakülgset aidanud ja mind julgustanud ning toetanud siis, kui olin valmis alla andma. Tänan Ivar Järvingut ja Tõnis Pehki teostatud HPLC-HRMS ja TMR analüüside eest



## Kasutatud kirjandus

---

- <sup>1</sup>Sica, D.; Musumeci, D. (2004). Secosteroids of Marine origin. *Steroids*, 69, (11-12), 743-756.
- <sup>2</sup>Enwall, E. L.; van der Helm, D.; Hsu, I. N.; Pattabhiraman, T.; Schmitz, F. J.; Spraggins R. L.; Weinheimer, A. J. (1972). Crystal Structure and Absolute Configuration of Two Cyclopropane Containing Marine Steroids. *J. Chem. Soc. Chem. Comm.*, 215-216.
- <sup>3</sup>Ioannou, E.; Abdel-Razik, A.F.; Alexi, A.; Vagias, C.; Alexis, M. N.; Roussis, V. (2009). 9,11-Secosterols with antiproliferative activity from the gorgonian *Eunicella cavolini*. *Bioorg. Med. Chem.*, 17, (13), 4537-4541.
- <sup>4</sup>Chang, Y.-C.; Kuo, L.-M.; Hwang, T.-L.; Yeh, J.; Wen, Z.-H.; Fang, L.-S.; Wu, Y.-C.; Lin, C.-S.; Sheu, J.-H.; Sung, P.-J. (2016). Pinnisterols A–C, New 9,11-Secosterols from a Gorgonian *Pinnigorgia* sp. *Mar. Drugs*, 14, (1), 12.
- <sup>5</sup>Ding, Y.-F.; Liu, L.-Y.; Tang, J.; Fan, D.-X.; Ji, Y.-Y.; Lin, H.-W.; Wang, J.; Hong, L.-L. (2023). Hipposponols A and B, two new 9, 11-secosterols from the marine sponge *Hippospongia lachne* de Laubenfels. *Nat. Prod. Res.*, 1-7.
- <sup>6</sup>van Wyk, A. W.; Gray, C. A.; Whibley, C. E.; Osoniyi, O.; Hendricks, D. T.; Caira, M. R.; Davies-Coleman, M. T. (2008). Bioactive Metabolites from the South African Marine Mollusk *Trimusculus costatus*. *J. Nat. Prod.*, 71, (3), 420-425.
- <sup>7</sup>Kawamura, A.; Kita, M.; Kigoshi, H. (2015). Aplysiasecosterol A: A 9,11-Secosteroid with an Unprecedented Tricyclic  $\gamma$ -Diketone Structure from the Sea Hare *Aplysia kurodai*. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 54, (24), 7073-7076.
- <sup>8</sup>Kita, M.; Kawamura, A.; Kigoshi, H. (2016). Aplysiasecosterols B and C: two new 9,11-secosteroids with a cisfused 1,4-quinone structure from the sea hare *Aplysia kurodai*. *Tetrahedron Lett.*, 57, (8), 858-860.
- <sup>9</sup>Ge, F.-H.; Duan, M.-H.; Li, J.; Shi, Q.-L. (2017). Ganoderin A, a novel 9,11-secosterol from *Ganoderma lucidum* spores oil. *J. Asian. Nat. Prod. Res.*, 19, (12), 1252-1257.
- <sup>10</sup>Li, J.; Chen, C.; Fang, T.; Wu, L.; Liu, W.; Tang, J.; Long, Y. (2022). New Steroid and Isocoumarin from the Mangrove Endophytic Fungus *Talaromyces* sp. SCNU-F0041. *Molecules*, 27, (18), 5766.
- <sup>11</sup>Fu, P.; Zhang, Y.; Wang, C.; Si, S.; Liu, X.; Che, Y. (2023). Altersteroids A–D, 9,11-Secosteroid-Derived  $\gamma$ -Lactones from an *Alternaria* sp. *J. Nat. Prod.*, 86, (3), 604-611.
- <sup>12</sup>Duecker, F. L.; Reuß, F.; Heretsch, P. (2019). Rearranged ergostane-type natural products: chemistry, biology, and medicinal aspects. *Org. Biomol. Chem.*, 17, (7), 1624-1633.
- <sup>13</sup>Noack, F.; Heinze, R. C.; Heretsch, P. (2019). Contemporary Synthetic Strategies towards Secosteroids, *abeo*-Steroids, and Related Triterpenes. *Synthesis*, 51, (10), 2039-2057.

- 
- <sup>14</sup>Koljak, R.; Pehk, T.; Järving, I.; Liiv, M.; Lopp, A.; Varvas, K.; Vahemets, A.; Lille, Ü.; Samel, N. (1993). New Antiproliferative 9,11-secoesterol from Soft Coral *Gersemia fruticosa*. *Tetrahedron Lett.*, *34*, (12), 1985–1986.
- <sup>15</sup>Lopp, A.; Pihlak, A.; Paves, H.; Samuel, K.; Koljak, R.; Samel, N. (1994). The effect of 9,11-secoesterol, a newly discovered compound from the soft coral *Gersemia fruticosa*, on the growth and cell cycle progression of various tumor cells in culture. *Steroids*, *59*, (4), 274–281.
- <sup>16</sup>Koljak, R.; Lopp, A.; Pehk, T.; Varvas, K.; Müürisepp, A.-M.; Järving, I.; Samel, N. (1998). New Cytotoxic Sterols from the Soft Coral *Gersemia fruticosa*. *Tetrahedron*, *54*, (1–2), 179–186.
- <sup>17</sup>Chang, Y.-C.; Hwang, T.-L.; Sheu, J.-H.; Wu, Y.-H.; Sung, P.-J. (2016). New Anti-Inflammatory 9,11-Secosterols with a Rare Tricyclo[5,2,1,1]decane Ring from a Formosan Gorgonian *Pinnigorgia* sp. *Mar. Drugs*, *14*, (12), 218.
- <sup>18</sup>He, H.; Kulanthaivel, P.; Baker, B. J.; Kalter, K.; Darges, J.; Cofield, D.; Wolff, L.; Adams, L (1995). New Antiproliferative and Antiinflammatory 9,11-Secosterols from the Gorgonian *Pseudopterogorgia* sp. *Tetrahedron*, *51*, (1), 51-58.
- <sup>19</sup>Huang, C.-Y.; Su, J.-H.; Duh, C.-Y.; Chen, B.-W.; Wen, Z.-H.; Kuo, Y.-H.; Sheu, J.-H. (2012). A new 9,11-secoesterol from the soft coral *Sinularia granosa*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, *22*, (13), 4373–4376.
- <sup>20</sup>Yang, I.; Choi, H.; Won, D. H.; Nam, S.-J.; Kang, H. (2014). An Antibacterial 9,11-Secosterol from a Marine Sponge *Ircinia* sp. *Bull. Korean Chem. Soc.*, *35*, (11), 3360-3362.
- <sup>21</sup>Yang, I.; Choi, H.; Nam, S.-J.; Kang, H. (2015). A new 9,11-secoesterol with a 1,4-quinone from a Korean marine sponge *Ircinia* sp. *Arch. Pharm. Res.*, *38*, (11), 1970-1974.
- <sup>22</sup>Li, H.; Matsunaga, S.; Fusetani, N. (1994). A new 9,11-secoesterol, stelletasterol from a marine sponge *Stelletta* sp. *Experientia*, *50*, (8), 771-773.
- <sup>23</sup>van Minh, C. V.; Cuong, N. X.; Tuan, T. A.; Choi, E. M.; Kim, Y. H.; Kiem, P. V. (2007). A New 9,11-Secosterol from the Vietnamese Sea Soft Coral, *Sarcophyton mililatensis*, increases the Function of Osteoblastic MC3T3-E1 Cells. *Nat. Prod. Commun.*, *2*, (11), 1095-1100.
- <sup>24</sup>Xu, C.; Li, J.; Su, L.; Tang, H.; Zhang, W. (2020). Osteoclastogenesis Modulatory Steroids from the South China Sea Gorgonian Coral *Iciligorgia* sp. *Chem. Biodivers.*, *17*, (6).
- <sup>25</sup>Migliuolo A.; Picciulli V.; Sica D. (1991). Structure Elucidation and Synthesis of 3 $\beta$ ,6 $\alpha$ -Dihydroxy-9-oxo-9,11-seco-5 $\alpha$ -cholest-7-en-11-al, a Novel 9,11-Secosterol from the Sponge *Spongia Officinalis*. *Tetrahedron*, *47*, (37), 7937–7950.
- <sup>26</sup>Jäälaid, R.; Järving, I.; Pehk, T.; Lille, Ü. (1998) First partial synthesis of 9,11-secoesterols with the modified side chain. *Proc. Estonian Acad. Sci. Chem.*, *47*, (4), 196-199.
- <sup>27</sup>Jäälaid, R.; Järving, I.; Pehk, T.; Parve, O., Lille, Ü. (2001). Short Synthesis of Novel 9,11-secoesterols. *Nat. Prod. Lett.*, *15*, (4), 221-228.

- 
- <sup>28</sup>Kongkathip, B.; Hasakunpaisarn, A.; Boonananwong, S.; Kongkathip, N. (2010). Synthesis of cytotoxic novel 9,11-secosterol analogs: Structure/activity studies. *Steroids*, *75*, (12), 834-847.
- <sup>29</sup>Köllo, M.; Kasari, M.; Kasari, V.; Pehk, T.; Järving, I.; Lopp, M.; Jöers, A.; Kanger, T. (2021). Designed whole-cell-catalysis-assisted synthesis of 9,11-secosterols. *Beilstein J. Org. Chem.* *17*, 581-588.
- <sup>30</sup>Li, X.; Zhang, Z.; Fan, H.; Miao, Y.; Tian, H.; Gu, Y.; Gui, J. (2021). Concise Synthesis of 9,11-Secosteroids Pinnigorgiols B and E. *J. Am. Chem. Soc.*, *143*, (13), 4886-4890.
- <sup>31</sup>Miao, Y., L. X., Zhang, M., Fan, H. and Gui, J. (2022). Synthesis of 9,11-Secosteroids Pinnisterol E, Glaciasterol B, and 6-Keto-aplidiasterol B. *Org. Lett.*, *24*, (8), 1684-1688.
- <sup>32</sup>Lu, Z.; Zhang, X.; Guo, Z.; Chen, Y.; Mu, T.; Li, A. (2018). Total Synthesis of Aplysiasecosterol A. *J. Am. Chem. Soc.*, *140*, (29), 9211-9218.
- <sup>33</sup>Aav, R.; Kanger, T.; Pehk, T.; Lopp, M. (2000). Synthesis of the AB-Ring of 9,11-Secosterols. *Synlett.*, *4*, 529-531.
- <sup>34</sup>Köllo, M.; Aav, R.; Tamp, S.; Jarvet, J.; Lopp, M. (2014). Asymmetric synthesis of the 2,2,3-trisubstituted cyclopentanone, D-ring fragment of 9,11-secosterols. *Tetrahedron* *70*, (38), 6723-6727.
- <sup>35</sup> Brahmachari, G.; Gorai, D. (2009). Michael Addition Reaction: Applications in Total Synthesis of Bioactive Natural Products. *Nat. Prod.*, *43*, (4), 782-804.
- <sup>36</sup> IUPAC. (1997). Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). McNaught, A. D.; Wilkinson, A. Blackwell Scientific Publications, Oxford. 2219.
- <sup>37</sup> Jha, S. C.; Joshi, N. N. (2002). Catalytic, enantioselective Michael addition reactions. *ARKIVOC*, (7), 167-196.
- <sup>38</sup> Posner, G. H. (1987). Asymmetric Synthesis of Carbon-Carbon Bonds Using Sulfinyl Cycloalkenones, Alkenolides, and Pyrone. *Acc. Chem. Res.*, *20*, (2), 72-78.
- <sup>39</sup> Posner, G. H.; Mallamo, J. P.; Miura, K. (1981). High asymmetric induction during organometallic  $\beta$ -addition to  $\alpha,\beta$ -ethylenic sulfoxides. Synthesis of optically active  $\beta$ -alkylcarboxylic acids,  $\beta$ -substituted cyclopentanones, and steroidal 11-oxoequilenin methyl ether. *J. Am. Chem. Soc.*, *103*, (10), 2886-2888.
- <sup>40</sup> Posner, G. H.; Mallamo, J. P.; Hulce, M.; Frye, L. L. (1982). Asymmetric Induction during Organometallic Conjugate Addition to Enantiomerically Pure 2-Arylsulfinyl)-2-cyclopentenones. *J. Am. Chem. Soc.*, *104*, (15) 4180-4185.
- <sup>41</sup> Posner, G. H.; Switzer, C. (1986). Total Synthesis of Natural Estrone and Estradiol Methyl Ethers in Extremely High Enantiomeric Purity via an Asymmetric Michael Addition to an Unsaturated Sulfoxide. *J. Am. Chem. Soc.*, *108*, (6), 1239-1244.
- <sup>42</sup> Dalpozzo, R.; Bartoli, G.; Bencivenni, G. (2011). Asymmetric Organocatalytic Reactions of  $\alpha,\beta$ -Unsaturated Cyclic Ketones. *Symmetry*, *3*, (1), 84-125.

- 
- <sup>43</sup> Hagiwara H. (2021). Recent Advance of Domino Michael Reaction in Natural Product Synthesis. *Natural Product Communications.*, 16, (10).
- <sup>44</sup> Vetica, F.; Pandolfi, F.; Pettazzoni, L.; Leonelli, F.; Bortolami, M. (2022). Organocatalyst Design for the Stereoselective Annulation towards Bicyclic Diketones and Analogues. *Symmetry*, 14, (2), 355.
- <sup>45</sup> Hayashi, Y.; Koshino, S.; Ojima, K.; Kwon, E. (2017) Pot Economy in the Total Synthesis of Estradiol Methyl Ether by Using an Organocatalyst. *Angew Chem Int Ed Engl.* 56, (39), 11812-11815.
- <sup>46</sup> Koshino, S.; Kwon, E.; Hayashi, Y. (2018). Total Synthesis of Estradiol Methyl Ether and Its Five-Pot Synthesis with an Organocatalyst. *Eur. J. Org. Chem.*, (41), 5629–5638.
- <sup>47</sup> Jhuo, D. H.; Hong, B. C.; Chang, C. W.; Lee, G. H. (2014) One-pot organocatalytic enantioselective Michael-Michael-aldol-Henry reaction cascade. A facile entry to the steroid system with six contiguous stereogenic centers. *Org Lett.* 16, (10);, 724-727.
- <sup>48</sup> Mukaiyama, T.; Narasaka, K.; Banno, K. (1973). NEW ALDOL TYPE REACTION. *Chem. Lett.*, 2, (9), 1011 –1014.
- <sup>49</sup> Matsuo, J.; Murakami, M. (2013) The Mukaiyama Aldol Reaction: 40 Years of Continuous Development. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 52, (35), 9109 – 9118.
- <sup>50</sup> Narasaka, K.; Soai, K.; Mukaiyama, T. (1974). THE NEW MICHAEL REACTION. *Chem. Lett.*, 3, (10), 1223 –1224.
- <sup>51</sup> Wang, Z. (2010). *Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents*. Hoboken, N.J.: John Wiley & Sons, Inc., 1k 1996-1999
- <sup>52</sup> Dratch, S.; Charnikhova, T.; Sarabèr, F. C. E.; Jansen, B. J. M.; de Groot, A. (2003). A new approach toward the synthesis of C,D-**cis** coupled steroid and C,D-**cis** coupled D-homosteroid skeletons. *Tetrahedron*, 59, (24), 4287-4295.
- <sup>53</sup> Sarabèr, F. C. E.; Dratch, S.; Bosselaar, G.; Jansen, B. J. M.; de Groot, A. (2006). Domino Mukaiyama–Michael reactions in the synthesis of polycyclic systems. *Tetrahedron*, 62, (8) 1717-1725.
- <sup>54</sup> Sarabèr, F. C. E.; Baranovsky, A.; Jansen, B. J. M.; Posthumus, M. A.; de Groot, A. (2006). New approaches toward the synthesis of (D-homo) steroid skeletons using Mukaiyama reactions. *Tetrahedron*, 62, (8), 1726-1742.

- 
- <sup>55</sup> Kõllo, M.; Rõuk, K.; Järving, I.; Pehk, T.; Lopp, M. (2023). Towards the total synthesis of 9,11-secosterol: Linking A,B- and Drings with Michael addition to sulfone-activated cyclopentenone. *Tetrahedron*, 136.
- <sup>56</sup> O'Mahony, G.E.; Kelly, P.; Lawrence, E.; Maguire, A.R. (2011). Synthesis of enantioenriched sulfoxides. *Arkivoc*, 1-110.
- <sup>57</sup> Andersen, K. K. (1962). Synthesis of (+)-ethyl *p*-tolyl sulfoxide from (-)-menthyl (-)-*p*-toluenesulfinate. *Tetrahedron Lett.*, 3, (3), 93-95.
- <sup>58</sup> Andersen, K. K.; Caffield, W.; Papanikolaou, N. E.; Foley, J. W.; Perkins, R. I. (1964). Optically Active Sulfoxides. The Synthesis and Rotatory Dispersion of Some Diaryl Sulfoxides. *J. Am. Chem. Soc.*, 86, (24), 5637-5646.
- <sup>59</sup> Hulce, M.; Mallomo, J. P.; Frye, L. L.; Kogan, T. P.; Posner, G. H. (1986). (*S*)-( + )-2-(*p*-toluenesulfinyl)-2-cyclopentenone: Precursor for Enantioselective Synthesis of 3-substituted Cyclopentanones. *Org. Synth*, 64, 196.
- <sup>60</sup> Smith III, A. B.; Branca, S. J.; Guaciario, M. A.; Wovkulich, P. M.; Korn, A. (1983). 2-hydroxymethyl-2-cyclopentenone. *Org. Synth.*, 61, 65.
- <sup>61</sup> Kõllo, M.; Rõuk, K.; Lopp, M. (2022). Synthesis of 2-(*S*)-[4-methylphenyl)sulfinyl]-2-cyclopenten-1-one, a D-ring precursor of 9,11-secosterols. *Proc. Estonian Acad. Sci.*, 71, (4), 307-313.
- <sup>62</sup> Ge, W.; Zhu, X.; Wei, Y. (2013) Iodine-Catalyzed Selective Synthesis of 2-Sulfanylphenols via Oxidative Aromatization of Cyclohexanones and Disulfides. *Adv. Synth. Catal.*, 355, (14-15), 3014-3021.
- <sup>63</sup> Kice, J. L.; Bowers, K.W. (1962). Mechanisms of Reactions of Sulfinic Acids. II. The Reaction of *p*-Tolyl Disulfide with *p*-Toluenesulfinic Acid. *J. Am. Chem. Soc.*, 84, (12), 2384–2389.
- <sup>64</sup> Adam, W.; Kumar, A. S.; Saha-Möller, C.R. (1995). Synthesis of  $\alpha$ -Methylene- $\beta$ -hydroperoxy Sulfoxides by Regioselective Photooxygenation (Schenck Reaction) of Racemic Vinyl Sulfoxides. *Synthesis*, (12), 1525-1528.
- <sup>65</sup> García Ruano, J.L., Fajardo, C., Fraile, A., Martín, M. R. (2005). *m*-CPBA/KOH: an efficient reagent for nucleophilic epoxidation of gem-deactivated olefins. *J Org Chem.*, 70, (11), 4300-4306.
- <sup>66</sup> Yechezkel, T.; Ghera, E.; Ostercamp, D.; Hassner, A. (1995). Cyclopentannulations Leading to the Synthesis of Bicyclic Conjugated Enediones. *J. Org. Chem.*, 60, (16), 5135-5142.
- <sup>67</sup> Kupwade, R. V.; Khot, S. S.; Lad, U. P.; Desai, U. V.; Wadgaonkar, P. P. (2017). Catalyst-free oxidation of sulfides to sulfoxides and diethylamine catalyzed oxidation of sulfides to sulfones using Oxone as an oxidant. *Res. Chem. Intermed.*, 43, (12), 6875-6888.
- <sup>68</sup> Lo, C.-C.; Chao, P.-M. (1990). Replacement of carcinogenic solvent HMPA by DMI in insect sex pheromone synthesis. *J. Chem. Ecol.*, 16, (12), 3245-53.

---

<sup>69</sup> Hegedus, L.; Lipshutz, B.; Nozaki, H.; Reetz, M.; Rittmeyer, P.; Smith, K.; Totter, F.; Yamamoto, H. (1994). *Organometallics in Synthesis A Manual*. Wiltshire, UK: John Wiley & Sons, Inc., 1k 286.

<sup>70</sup> Kauffman, G. B.; Fang, L. Y.; Viswanathan, N.; Townsend, G. (1984). Purification of Copper (i) Iodide. *Inorganic Syntheses*, 22, 101-103.

## **Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks<sup>1</sup>**

Mina **Kristi Rõuk** (*autori nimi*)

1. Annan Tallinna Tehnikaülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose

### **9,11-sekosteroolide A,B- ja D-ringi Fragmentide Sidumine Läbi Michaeli Liitumise** (*lõputöö pealkiri*)

mille juhendaja on **Marek Kõllo** (*juhendaja nimi*)

1.1 reprodutseerimiseks lõputöö säilitamise ja elektroonse avaldamise eesmärgil, sh Tallinna Tehnikaülikooli raamatukogu digikogusse lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

1.2 üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tallinna Tehnikaülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas Tallinna Tehnikaülikooli raamatukogu digikogu kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.

2. Olen teadlik, et käesoleva lihtlitsentsi punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

3. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest ning muudest õigusaktidest tulenevaid õigusi.

---

**26.05.2023** (kuupäev)

---

<sup>1</sup> Lihtlitsents ei kehti juurdepääsupiirangu kehtivuse ajal vastavalt üliõpilase taotlusele lõputööle juurdepääsupiirangu kehtestamiseks, mis on allkirjastatud teaduskonna dekaani poolt, välja arvatud ülikooli õigus lõputööd reprodutseerida üksnes säilitamise eesmärgil. Kui lõputöö on loonud üks või enam isikut oma ühise loomingu tegevusega ning lõputöö kaas- või ühisautor(id) ei ole andnud lõputööd kaitsvale üliõpilasele kindlaksmääratud tähtajaks nõusolekut lõputöö reprodutseerimiseks ja avalikustamiseks vastavalt lihtlitsentsi punktidele 1.1. ja 1.2, siis lihtlitsents nimetatud tähtaja jooksul ei kehti.