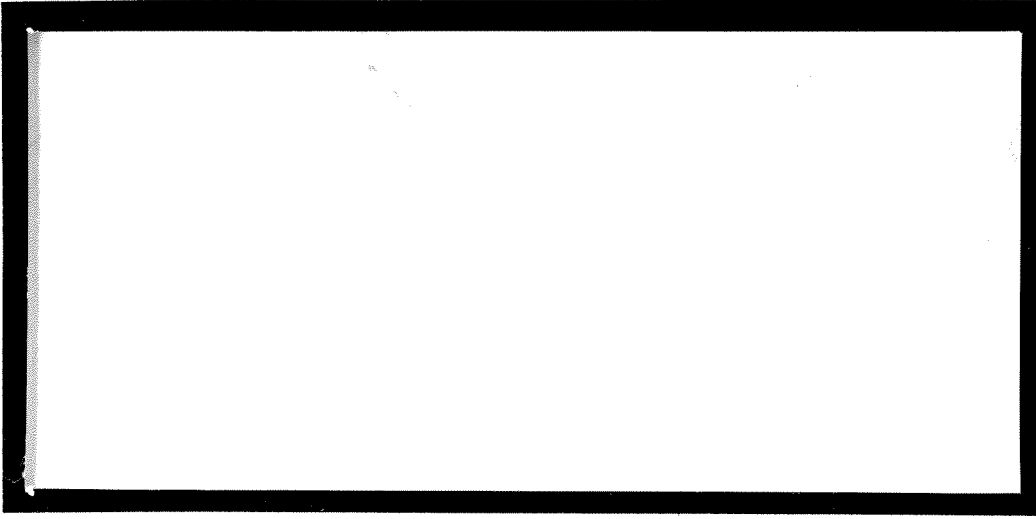


1997-1000



TÜRKİYE BİLİMSEL VE  
TEKNİK ARAŞTIRMA KURUMU

THE SCIENTIFIC AND TECHNICAL  
RESEARCH COUNCIL OF TURKEY



Temel Bilimler Araştırma Grubu

Basic Sciences Research Grant Committee

**ENZİMATİK YÖNTEMLERLE BİYOAKTİF  
MADDELERİN ENANSİYOSEÇİCİ  
SENTEZLERİ**

**PROJE NO:TBAG-1204**

*Özet ve yayınlar girildi.*

**Prof.Dr.Ayhan Sıtkı DEMİR  
Prof.Dr.Cihangir TANYELİ**

**KASIM 1995  
ANKARA**

## ÖNSÖZ

Bu projede enonların seçici oksidasyonu ile elde edilen asetoksi enonlar enzimlerle seçici olarak hidrolize edilerek optik saf hidroksi enonlar elde edilmiştir. Bu yolla kiral hidroksi enonların sentezleri için genel uygulanabilir bir yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntem doğa ürünlerinden Mint lakton ve Jolkinolid E nin sentezinde kullanılmıştır. Bu proje Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu tarafından desteklenmiştir.

## İÇİNDEKİLER

- I. Giriş
- II. Gelişme
  - II.1. Hidroksi Enonların Sentezleri
    - II.1.1. Enonların Seçici Oksidasyonları
    - II.1.2. Kimyasal Hidroliz Reaksiyonları
    - II.1.3. Enzimatik Hidroliz Reaksiyonları
    - II.1.4. Optik Verim Tayinleri
  - II.2. Mint Lakton ve Mentofuran Sentezleri ile İlgili Çalışmalar
  - II.3. (-)- Jolkinolid E nin Sentezi ile İlgili Çalışmalar
- III. Sonuç
- IV. Referanslar

## FIGÜRLER

Figür 1. Triçiklik enondan oluşam Mangan enolatta sterik engel modeli

Figür 2. Jolkinolid E nin <sup>1</sup>H NMR spektrumu

Figür 3. Jolkinolid E nin <sup>13</sup>C NMR spektrumu

Figür 4. Jolkinolid E nin DEPT spektrumu

Figür 5. Jolkinolid E nin <sup>1</sup>H COSY spektrumu

Figür 6. Jolkinolid E nin HOMO2DJ spektrumu

## ÖZ

$\alpha,\beta$ - Doymamış enonlar Mangan (III) asetat ile okside edilerek  $\alpha'$ -asetoksi enonlar % 70-87 verimle elde edilmişlerdir. Bu enonlar daha sonra LiOH ile hidroliz edilerek rasemik  $\alpha'$ -hidroksi türevlerine % 68-80 verimle çevrilmişlerdir.  $\alpha'$ -Asetoksi enonlar aynı zamanda hidrolaz tipi enzimler olan Pseudomonas Lipaz 30 ve PLE ile seçici olarak hidrolize edilmiştir. PLE ile yapılan hidrolizlerde verim Pseudomonas Lipaz 30 ile yapılabildiğine göre daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir (optik verim %88-96 kimyasal verim % 36-43 olarak bulunmuştur). Optik verimler rasemik ve kiral hidroksi enonların Mosher türevleri, asetil laktik asit türevleri nin NMR spektrumları ve GC analizleri ile belirlenmiştir. Bu yöntem daha sonra (-)-Mint lakton ve (-)-Jolkinolid E nin sentezinde kullanılmıştır. Mint laktonun kimyasal sentezi gerçekleştirilmiş ancak asimetric sentezinde izomerlerin ayırımında sorunlar çıkmış ve değişik yöntemler denenmesine rağmen mint laktonun optik saf isomeri sentezlenememiştir. Jolkinolid E nin sentezi için önce gerekli başlangıç maddesi olan triçiklik enon Manool dan başlanarak elde edilmiştir. Bu enon daha sonra Mangan (III) asetat oksidasyonu ile kloropropiyonik asit kullanılarak  $\alpha'$ ,kloropropiyoniloksi türevine dönüştürülmüştür. Daha sonra bu bileşiğin enzim hidrolizi (Pseudomonas lipaz p-30 ve PLE kullanılarak) ile elde edilen hidroksi ve kloropropiyoniloksi enonlar ayrı ayrı karakterize edilmiştir. Bu enonlarla trietilfosfit kullanılarak Arbuzov reaksiyonları yapılmış bunlarında çiklizasyonu ilede Jolkinolid E nin sentezi gerçekleştirilmiştir. Yapılan deneyler triçiklik enon un oksidasyonunun seçici olarak yürüdüğünü göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Mangan (III) asetat oksidasyonu, Biyokatalizörler, Enansiyoseçici hidroliz, Enzim reaksiyonları

## ABSTRACT

The  $\alpha'$ -oxidation of unsaturated ketones with  $Mn(OAc)_3$  provided a synthesis of  $\alpha'$ -acetoxy enones in good yield (70-87%). The acyloxyenones are hydrolyzed to hydroxy derivatives using LiOH and the hydroxy ketones are isolated in 68-80 % yield as racemic mixture. The hydrolysis of acetoxy group was carried out also using biocatalysts such as hydrolytic enzymes Lipase's. The use of pseudomonas P-30 gave low optical and chemical yields. The hydrolysis of acetoxyenones with PLE (pig liver esterases) gave hydroxy enones in very good optical yield (88-96 %ee and 36-43 % chemical yield). The optical yields are determined using Mosher derivatives and lactic acid derivatives of the racemic and optically active compounds by the NMR spectroscopy. This method was applied for the synthesis of (-)- Mint lactone and (-)- Jolkinolide E. Mint lactone synthesis gave problems by the separation of the isomers, only racemic mint lactone was synthesised. For the synthesis of Jolkinolide E the tricyclic enone was synthesised starting from Manool. The Manganese(III) acetate oxidation of tricyclic enone, enzymatic hydrolysis (Pseudomonas Lipase p-30 and PLE), separation of products and Arbuzow reaction followed cyclization gave Jolkinolide E in good yield.

Manganese(III) acetate oxidation, Biocatalyst, enantioselective hydrolysis, enzyme reactions.

## I. GİRİŞ

Yüksek enantiomerik zenginliğe sahip ilaçların ve doğal ürünlerin sentetik yollarla elde edilmelerinde karşılaşılan güçlükler nedeniyle son yıllarda biyokatalizörler ile sentezlenmeleri yada saf aktif izomerlerine ayrıştırılmaları tüm dünyada yapılan ileri teknolojik çalışmalar arasında yer almaktadır. Özellikle bu amaç için seçilen biyokatalizörlerin başında enzimler gelmektedir<sup>1-6</sup>. Enzimlerin seçilmesindeki temel kriterler aşağıdaki şekilde sıralanabilir<sup>7-15</sup>:

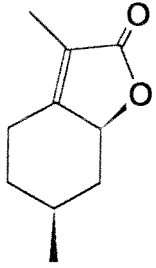
i) Geniş reaksiyon spektrumuna sahiptirler. Her tip organik reaksiyon için değişik enzimler kullanılabilir. Reaksiyonlar ılımlı koşullarda, oda sıcaklığında, nötral ortamda yürüdüklerinden, ortaya çıkabilecek olası sorunlar en aza inmektedir. Bu tür metodlarla izomerleşme, rasemleşme, epimerleşme gibi yan reaksiyonların olmasıolasılığı çok zayıftır.

ii) Çok etkili katalizörlerdir. Enzimatik reaksiyonların hızları normal organik reaksiyonlara göre çok fazladır.

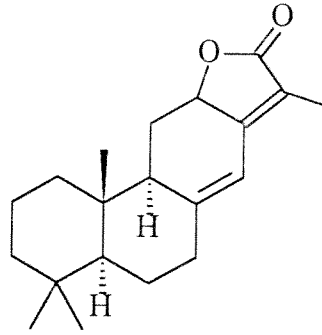
iii) Genel olarak çok yüksek seçiciliğe sahiptirler. Katalitik enzimatik reaksiyonlarda seçicilik substrat ile ürünün yapı ve stereokimyasına çok bağlıdır.

Bu proje iki bölümden oluşmaktadır. Birinci bölümde anti kanser ilaç olarak kullanılan çeşitli maddelerin yapılarında bulunan butenolidlerin sentezleri planlanmıştır<sup>16-22</sup>. Daha önce laboratuvarımızda geliştirdiğimiz bir yöntemle,  $Mn(OAc)_3$  kullanarak çiklik enonların  $\alpha'$ -konumları yüksek verimle asillendirilmektedir. Elde edilen  $\alpha$ -asiloksienonlar rasemik formda bulunmaktadır. Hedeflediğimiz stereoseçici reaksiyonların yapılabilmesi için, çok yönlü kullanım alanına sahip rasemik karışımın saf izomerlerine ayrıştırılması gerekmektedir. Projenin ağırlıklı tarafını oluşturan bu ikinci bölüm olan ayrıştırma safhasında yukarıda belirtilen çeşitli hidrolaz tipi enzimlerin biyokatalizör olarak kullanılması ve enonların optik saf olarak eldesi planlanmıştır (şema 1). Ayrıca geliştirilecek yöntemin Mint lakton ve Jolkinolid E nin total sentezinde kullanılması amaçlanmıştır.

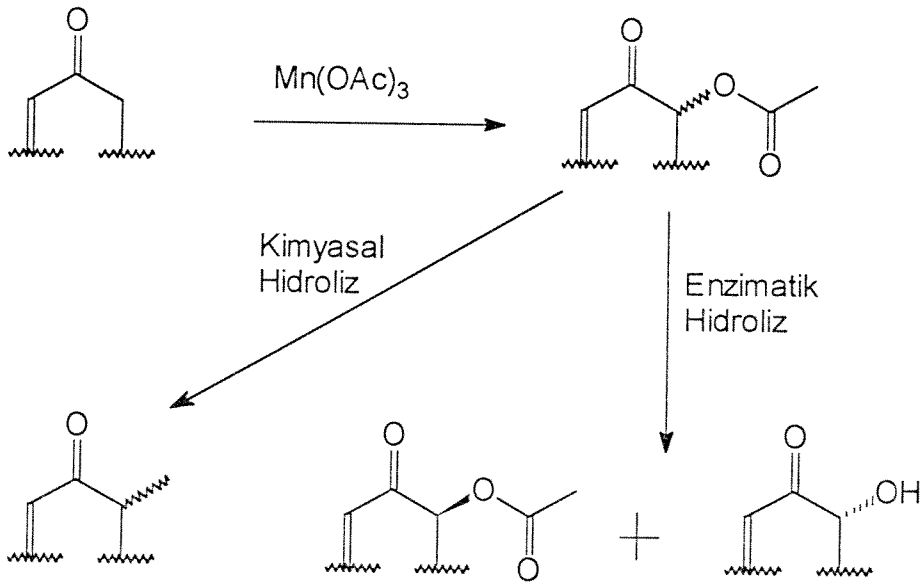




(+)- Mintlacto



Jolkinolide E



Şema 1

## II. GELİŞME

### II.1. HİDROKSİ ENONLARIN SENTEZLERİ

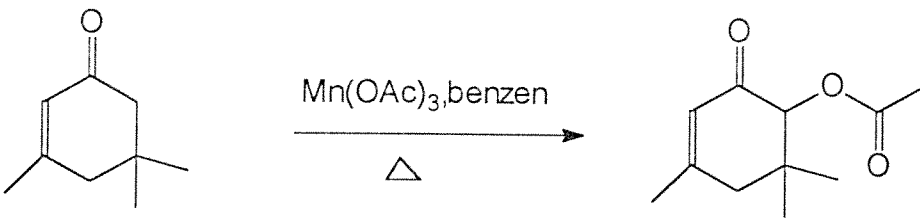
#### II.1.1. ENONLARIN SEÇİCİ OKSİDASYONLARI

Öngörülen plan çerçevesinde  $\alpha'$ -konumunun açiloksillenmesi için geliştirdiğimiz Mangan(III) asetat yöntemi uygulanmış ve bunun için önce enonlar seçilmiş ve ilk olarak 3,5,5-trimetilsikloheksanon Mangan(III) asetat ile benzen içerisinde reaksiyona sokulmuş ve reaksiyon ince tabaka, gaz kromatografisi ile takip edilmiştir. Reaksiyonun 5 saatte tamamlandığı tesbit edilmiş ve yapılan ekstraksiyondan sonra elde edilen ham ürün flash- kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Elde edilen renksiz yağmsı ürün ün spektroskopik analizleri beklenen ürün olduğunu kanıtlamıştır (Şema 2) ve reaksiyonun verimi % 71 olarak bulunmuştur.

IR(TF) :  $1740\text{ cm}^{-1}$  ester C=O ,  $1675\text{ cm}^{-1}$  keton C=O,  $1630\text{ cm}^{-1}$  C=C.

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.99 (s,3H,CH<sub>3</sub>), 1.10 (s,3H,CH<sub>3</sub>), 1.96(s,3H,CH<sub>3</sub>), 2.22 (s,3H,OCOCH<sub>3</sub>), 2.19 (d, J=18.4 Hz, 1H,Ha CH<sub>2</sub>), 2.55 (d, J=18. Hz, 1H, Hb CH<sub>2</sub>), 5.22 (s,1H,CHOCOCH<sub>3</sub>), 5.87-5.92 (m,1H,vinilik H).

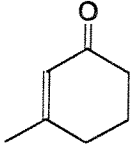
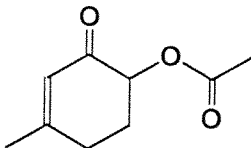
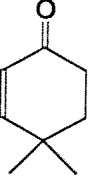
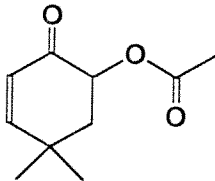
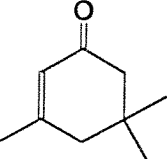
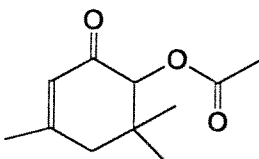
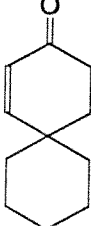
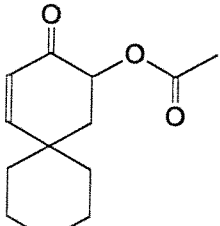
$^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  19.8, 20.6, 2.2, 27.2, 37.6, 6.0, 80.4 (C-6), 124.6 (C-2), 159.3(C-3), 170.4(ester C=O), 193.0(C=O).



Şema 2

Yapılan bu deneyler daha sonra değişik yapıda enonlarla denenmiş ve bu enonlarda Tablo 1 de gösterilen verimlerle  $\alpha'$ -asetoksi türevlerine dönüştürülmüştür.

Tablo 1 : Sentezlenen  $\alpha'$ -asetoksienonlar

Ketone	Ürün	Verim %	Süre(saa)
		70	10
		66	19
		71	5
		87	6

### II.1.2. KİMYASAL HİDROLİZ REAKSİYONLARI

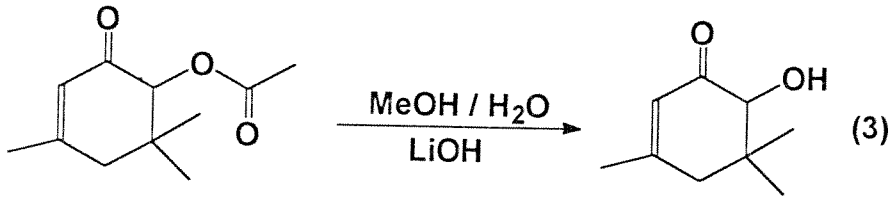
Elde edilen ürünlerden enzim katalizörlüğünde  $\alpha'$ -hidroksi türevlerinin sentezlenmesi planlandığından ilk basamak olarak bu ürünlerin referans madde olarak kullanılmaları için kimyasal yolla sentezleri gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla ilk olarak 6-asetoksi-3,5,5-trimetilsikloheksan Şema 3 te görüldüğü gibi sulu metanol çözeltisi içerisinde Lityum Hidroksit ile reaksiyona sokulmuş ve ince tabaka kromatografisi ile takip edilen reaksiyonun 1 saat içerisinde tamamlandığı

gözenmiştir. Yapılan ekstraksiyon ve kolon kromatografik saflaştırma sonucunda beklenen ürün viskoz bir yağ şeklinde % 70 verimle elde edilmiştir.

IR(TF): 3380  $\text{cm}^{-1}$  OH, 1668  $\text{cm}^{-1}$  C=O, 1634  $\text{cm}^{-1}$  C=C.

$^1\text{H}$ NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.83 (s,3H, $\text{CH}_3$ ), 1.21 (s,3H, $\text{CH}_3$ ), 1.97(s,3H, $\text{CH}_3$ ), 2.15 (d, J=18.5 Hz, 1H,Ha  $\text{CH}_2$ ), 2.47 (d, J=18.5Hz, Hb,  $\text{CH}_2$ ), 3.70 (geniş s, 1H, OH), 5.95-6.0 (m, 1H, vinilik H).

$^{13}\text{C}$ NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  18.4, 24.5, 27.6, 39.4, 45.8, 79.7(C-6), 123.0 (C-2) , 161.7(C-3), 199.5 (C=O).



Şema 3

Tablo 2 : Asetoksiketonların Hidroliz ürünleri

Ketone	Ürün	Verim %	Süre (h)
		73	2
		68	2
		70	1
		80	1/2

### II.1.3. ENZİMATİK HİDROLİZ REAKSİYONLARI

Sentetik organik kimyanın gelişmesi ile kompleks yapıya sahip biyoaktif moleküllerin stereokontrollü sentezleri mümkün olabilmıştır. Bu konudaki en önemli iki problem suda çözünebilen kompleks biyokimyasal maddelerin sentezleri için tekniklerin geliştirilmesi ve çevreyi kirletmeyen ekonomik olan sentetik metotların bulunmasıdır. Enzimlerin organik reaksiyonlarda katalizör olarak kullanılması yukarıda belirtilen problemlere önemli sayılacak çözümler getirmektedir. Proteinlerden oluşan enzimler biyolojik reaksiyonları in vivo ve doğal olan ve olmayan maddelerin reaksiyonlarında in vitro katalizlerler. Enzimlerin karakteristik özellikleri aşağıdaki şekilde sıralanabilir<sup>25,26</sup>:

- Enzimler reaksiyonların hızlarını artırır ve çok ılımlı şartlarda reaksiyon verirler
- Enzimler substratlar için yüksek seçicilik, reaksiyonlar için yüksek stereoseçicilik gösterirler.
- Enzimler gösterdikleri özellikler açısından ayarlanabilir özelliğe sahiptirler böylece reaksiyonların özelliklerini ve yönlerini değiştirmek imkanı olmaktadır.
- Enzimler reaksiyonları genel olarak aynı şartlar altında katalize ederler.
- Enzimler genelde dayanıklı değildirler.
- Enzimler kırılgandır ve çok yüksek enansiyoseçicilik gösterirler

Bu özellikleri nedeniyle enzimlerin katalizörlüğünde birçok yeni yöntem geliştirilmiş ve birçok yeni madde sentezlenmiştir. Bu çalışmada sentezlenen maddeler ile hidrolitik enzimlerden Lipazlar kullanılarak planlanan reaksiyonların gerçekleştirilmesine çalışılmıştır. Lipazlar serin hidrolazlarıdır ve genelde yağ asitlerinin lipitleri ile gliserolün lipit-su etkileşiminde hidroliz yaparlar)

Lipazların aktiviteleri lipit-su etkileşim yüzeyinde artmaktadır. Bu durumun çözünen lipazların lipit-su etkileşim yüzeyinde oluşan konformasyon değişikliğinden ortaya çıktığı tahmin edilmektedir. Çok değişik çeşitleri olan lipazlar genelde organik reaksiyonların katalizinde organik çözücüler içinde kullanılırlar. Lipazlar sentetik organik kimyada ester hidrolizinde , esterleşmede (asit ve alkol), transesterifikasyonda (alkol ve ester), interesterifikasyonda (ester ve asit) ve açıl

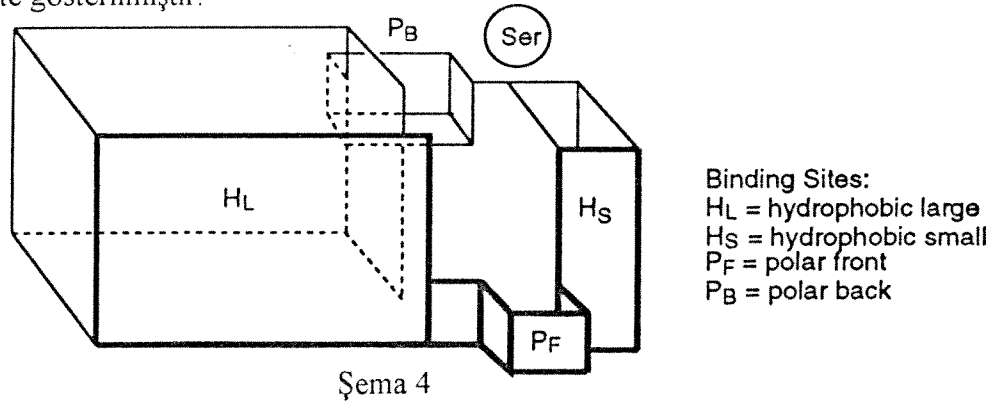
transfer reaksiyonlarında kullanılırlar. Lipazların katalize ettiği enansiyoseçici reaksiyonlar su içerisinde ve susuz organik çözücüler içerisinde yapılabilir. Bu çalışmada iki tür lipaz kullanılmıştır.

a. Pseudomonas Lipaz P-30<sup>27</sup>

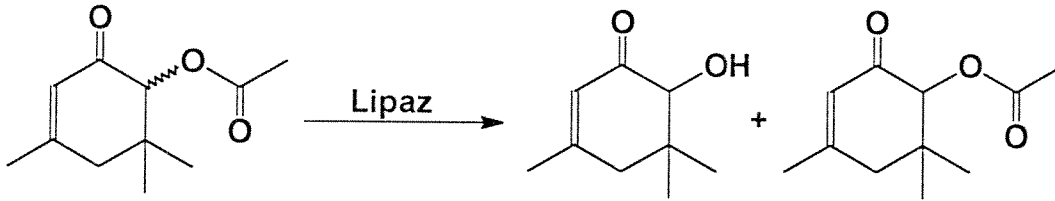
Bu lipaz özellikle 3-azido-2-(butanoyloxy)-3-fenil propiyonik esterinin enansiyoseçici hidrolizini katalize etmede kullanılır ve bu reaksiyonla (2R,3S)-izomeri elde edilir. Ayrıca antikanser ilaç olarak kullanılan Taxol'un C-13 yan zincirinin sentezinde  $\beta$ -laktam türevinin enansiyoseçici transformasyonunu katalize eder. Yine bu lipaz  $\beta$ -laktamların 3-asetoksi türevlerinin hidrolizinde de çok yüksek seçicilik vermektedir.

b. Pig Liver Esteraz (PLE)<sup>28</sup>

PLE serin tipi esterazlardan olup birçok esterlerin stereoseçici hidrolizinde kullanılır ve birçok izozimler ihtiva etmektedirler ve hepsi aynı türde seçicilik gösterirler. PLE lerin seçiciliği için birçok model geliştirilmiştir. En çok kullanılan model Jones tarafından öne sürülen "cubic-space active-site" modelidir. Bu model birçok prokiral, çiklik ve açıklık meso esterler, rasemik esterler için kullanılmıştır. Bu enzimler aynı zamanda laktamlar, laktonlar, çiklik karbonatlar, fosfonatlar, dimetil aziridin 2,3- dikarboksilatların hidrolizi içinde kullanılmıştır. Genel olarak hidroliz karışımına %10 ile 20 oranında dimetilsulfoksit eklenmesi stereo seçiciliği artırmaktadır. Sıcaklık değişimi ise önemli bir değişiklik oluşturmamaktadır. PLE aynı zamanda bazı organik-su karışım sistemlerinde kiral alkollerin enansiyoseçici transesterifikasyonunda da kullanılmıştır. PLE nin aktif yüz modeli şema 4 te gösterilmiştir.

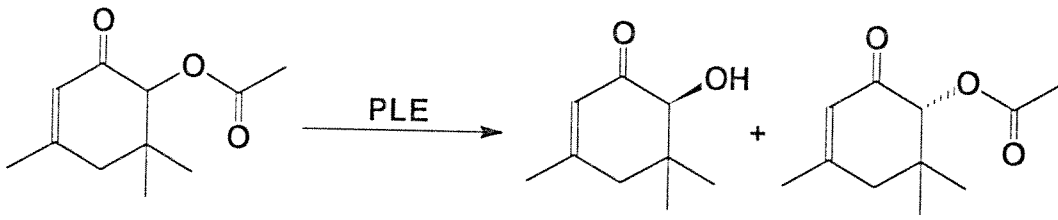


Şema 2 de görüldüğü gibi elde edilen  $\alpha'$ -asetoksi bileşiklerinin hidrolaz tipi enzimlerle biyoteknolojik yöntemlerle optik saf  $\alpha'$ -hidroksi ve  $\alpha'$ -asetoksi türevlerine dönüştürülmesi ve kimyasal yolla elde edilen  $\alpha'$ -hidroksi türevleri ile karşılaştırılmalı olarak yürütülmesi için deneylere başlanmıştır. İlk olarak 6-asetoksi-3,3,5-trimetil sikloheksanon lipaz tipi hidrolazla ( Pseudomonas dan elde edilen Lipaz P30) enzim reaktöründe PH 7.2-7.4 te 26 saat reaksiyona sokulmuştur. Reaksiyonun yürüyüşü Tablo 1 ve Tablo 2 de gösterilen referans maddeler kullanılarak ince tabaka kromatografisi ile takip edilmiştir. Reaksiyonun ilk 5 saatinde hidroliz ürününün oluştuğu gözlenmiştir (şema 5). Enzim reaktöründe yapılan reaksiyonlarda kullanılan NaOH miktarının başlangıç maddesinin % 50 sinin hidrolizi için gerekli miktarından fazla olmaması kontrol edilmiş ve bu kural tüm enzim reaksiyonlarında uygulanmıştır.



Şema 5

Ekstraksiyondan sonra yapılan gazkromatografik ve spektroskopik (NMR, IR, GC-MS) analizler hidroliz ürününün % 10-12 verimle oluştuğu bulunmuştur. Bu reaksiyonda verimin düşük olması nedeniyle şema 6 de görüldüğü gibi aynı reaksiyon değişik bir hidrolazla PLE (pig liver esteraz) ile yapılmıştır. Yapılan deneyde PLE/NH<sub>4</sub>SO<sub>4</sub> çözeltisi PH 7 tampon çözeltisi ile sabit oda sıcaklığında 6-asetoksi-3,3,5-trimetilsikloheksanon ile reaksiyona sokuldu ve ince tabaka ve gaz kromatografisi ile takip edildi. Reaksiyon hesaplanan miktarda baz kullanıldıktan sonra durduruldu. Yapılan ekstraksiyon ve saflaştırma işlemlerinden sonraki analizler hidroksi bileşiğinin % 37 verimle oluştuğunu göstermiştir. Yapılan IR , NMR spektrumları Tablo 1 ve Tablo 2 de gösterilen maddelerinkiyle karşılaştırılarak yapı analizleri doğrulanmıştır.



Şema 6

Aynı yöntemle diğer enonlarında hidrolizleri yapılmış ve elde edilen sonuçlar tablo 3 te gösterilmiştir.

Tablo 3 : PLE hidrolizi reaksiyon ürünleri

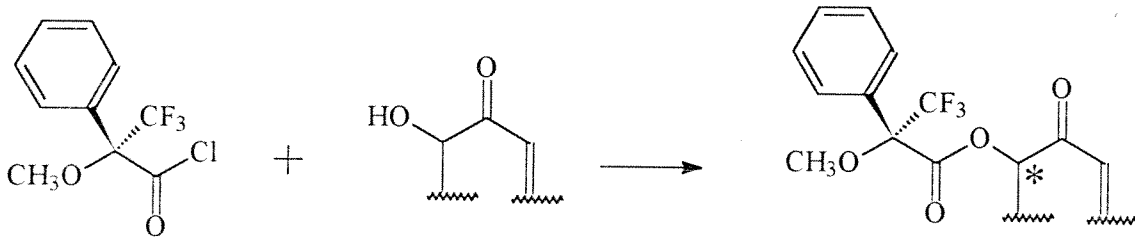
Başlangıç Maddesi	Ürünler *	Verimler (Hidroksi keton için %)
	 	37
	 	36
	 	41
	 	43



Verilen kesin stereokimya tahminidir (R veya S) tamamen terside olabilir. Elde edilen maddelerin optik çevirmeleri polarometrik ölçümler yapılarak bulunmuştur. Bu denemelerde elde edilen tüm maddeler polarimetrede optik çevirme göstermişlerdir.

#### II.1.4 OPTİK VERİM TAYİNLERİ

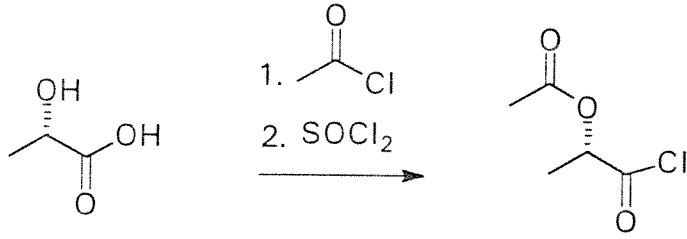
Elde edilen tüm hidroksi ketonların şema 7 te görüldüğü şekilde Mosher reagenzi ile Mosher türevleri hazırlanmıştır. Bu deneylerde önce Mosher asidi klorürüne çevrilmiş daha sonra piridin içerisinde hidroksiketon ile reaksiyona sokulmuş ve türevler sentezlenmiştir. Bu deneyler sadece NMR deneyleri için 1 mmol ün altında miktarlarla yapılmıştır. Aynı deneyler daha önce rasemik olarak sentezlenen hidroksienonlardada yapılmış ve diastereomerler elde edilmiştir.



Kiral ve rasemik

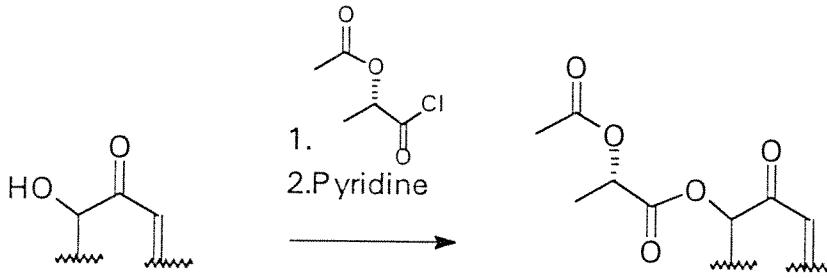
Şema 7

Sentezlenen mosher türevleri <sup>1</sup>H NMR spektrumunda incelenmiş ve metoksi grubu protonlarının 3.38 ppm civarında verdikleri singuletler incelenmiştir. Yapılan karşılaştırmalı ölçmelerde rasemik enonların diyastereomerik karışımları nedeniyle 1:1 oranında iki singulet verdikleri diğerlerinde ise bu oranın %88 ile 96 arasında değiştiği görülmüştür. Yine ee yüzdeleri bulmak için Eu(hfc)<sub>3</sub> kaydırma maddeleri NMR spektrumunda kullanılmış ancak birçok maddede keskin pikler olmaması nedeniyle kesin bir değerlendirme yapılamamıştır. Bu işlem için daha uygun ve ucuz yöntem seçilmiştir. Bu yöntemde önce şema 8 de görüldüğü gibi asetil L-laktül klorür sentezlenmiştir.



Şema 8

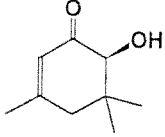
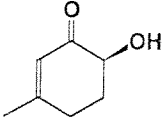
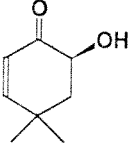
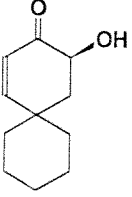
Asetil L-laktül klorürü hidroksi enonlarla şema 9 de gösterildiği gibi reaksiyona sokulmuş ve diyastereomerler elde edilmiştir. Bu bileşikler aynı zamanda rasemik hidroksi enonlarla yapılmıştır.



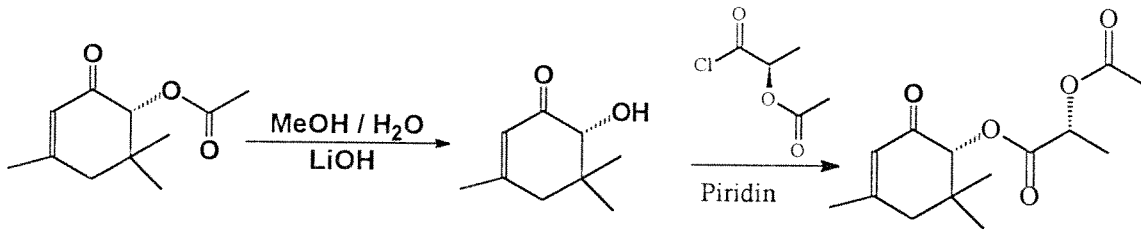
Şema 9

Elde edilen diyastereomerlerin oranları Gaz Kromatografisinde (OV 101 kolonu ) ve  $^1\text{H}$  NMR spektrumları ile analiz edilmiş ve güzel sonuçlar alınmıştır. Bu sonuçlar Mosher türevleri ile yapılan deneylerle karşılaştırıldığında  $^1\text{H}$  NMR sonuçları uyumluluk göstermektedir. Gaz kromatografik ölçümlerde duyarlılık nedeniyle üst sınır bazı örneklerde %96 yı aşmıştır. Bulunan optik verimler tablo 4 te gösterilmiştir.

Tablo 4 . Hidroksi enonların optik verimleri

Hidroksienon	Mosher Türevi (%ee)	Laktik asit türevi (%ee)
	88	87 ( 85 % GC)
	96	95 (98% GC)
	94	94
	96	96

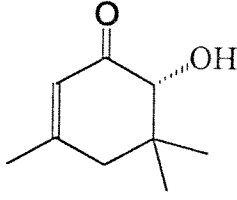
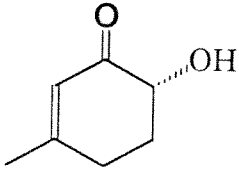
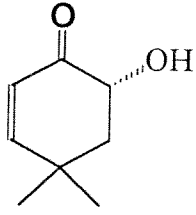
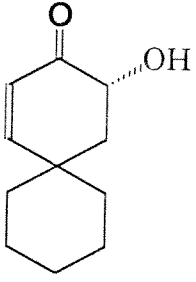
Bu çalışmaları takiben Tablo 3 te elde edilip kromatografik yöntemlerle ayrılan asetoksi enonlar şema 10 da görüldüğü gibi daha önce uygulanan yöntemle hidroliz edilerek hidroksi türevlerine dönüştürülmüş ve daha sonra çok düşük konsantrasyonlarda laktik asit türevleri hazırlanmıştır.



Şema 10

Yapılan <sup>1</sup>H NMR deneylerinde optik verim % 66- 78 arasında bulunmuştur ve bileşiklere göre değerleri tablo 5 te gösterilmiştir.

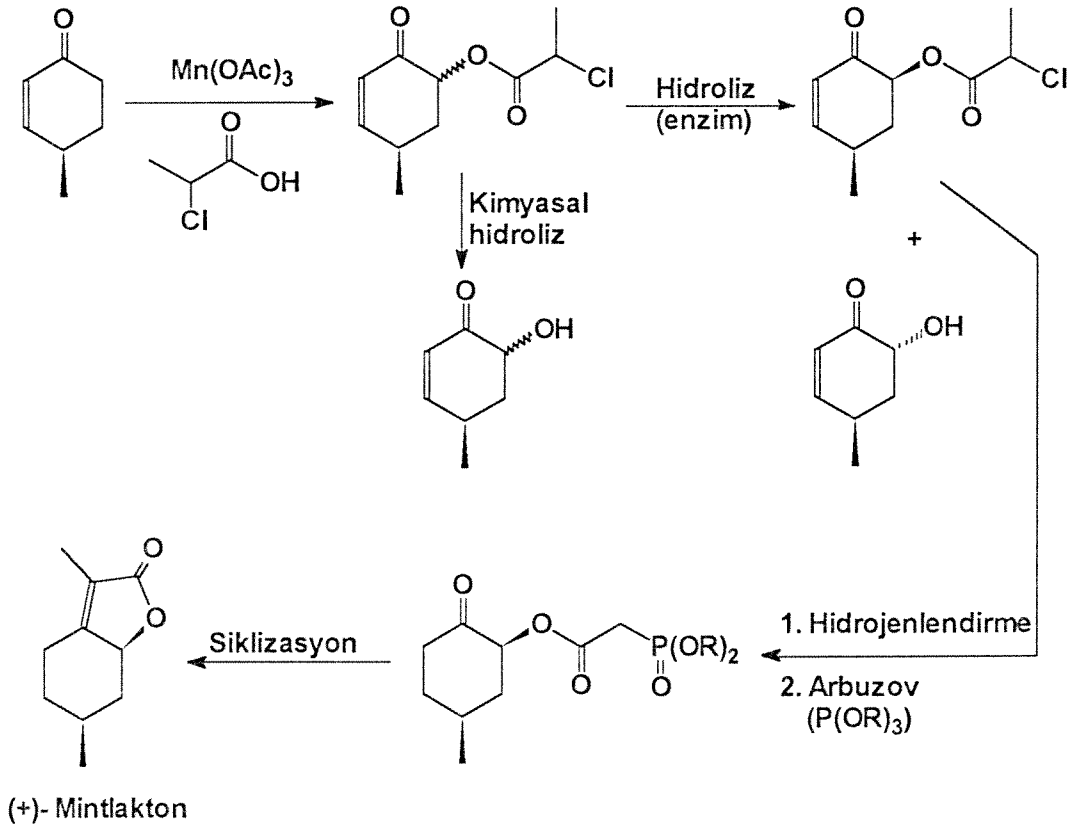
Tablo 5 . Hidroksi enonların optik verim değerleri

Hidroksienon	Laktik asit türevi (%ee)
	66
	78
	71
	68

Enzimlerin hidroliz etmediği isomerlerde optik verimin düşük olması hidroliz zamanının tam ayarlanamaması nedeniyle birkısım isomerin hidrolizleşmeden kalmasından kaynaklandığı tahmin edilmektedir.

## II.2. MİNT LAKTON VE MENTOFURAN SENTEZLERİ İLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR

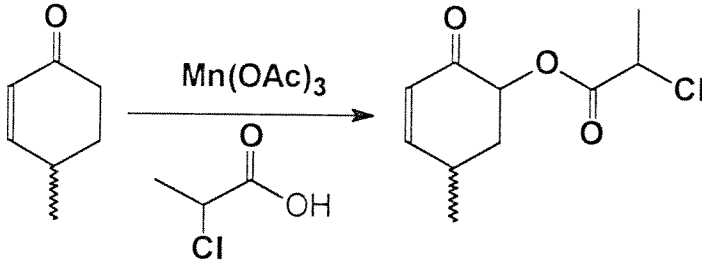
Proje önerisinde belirtilen ve şema 11de gösterildiği gibi sentezlenmesi planlanan Mint laktonun eldesi içinde başlangıç maddesi olarak 4-metilsikloheksan seçilmiştir.



(4)

Şema 11

Mangan (III) asetat Şema 12 de görüldüğü gibi 2-kloropropiyonik asit ile reaksiyona sokulmuştur. 8 saat süren reaksiyon (reaksiyon ince tabaka kromatografisi ile takip edilmiştir) sonucu oluşan ürün flash kolon kromatografisinde saflaŐtırıldıktan sonra %68 verimle renksiz yağ olarak izole edilmiştir. Spektroskopik analizler yapının doğruluğunu kanıtlamıştır.

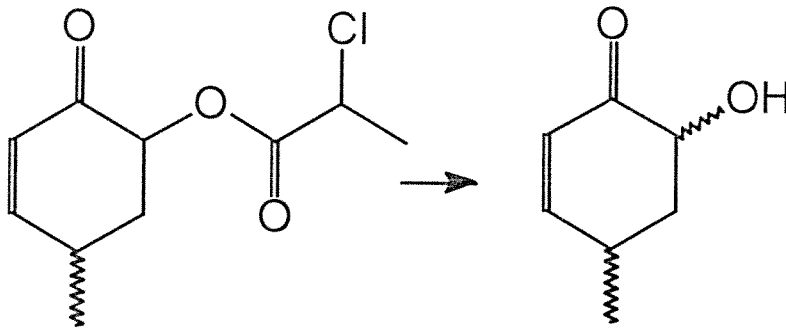


Şema 12

IR(TF): 1730 cm<sup>-1</sup> (ester C=O), 1630 cm<sup>-1</sup> (C=O), 1610 cm<sup>-1</sup> (C=C)

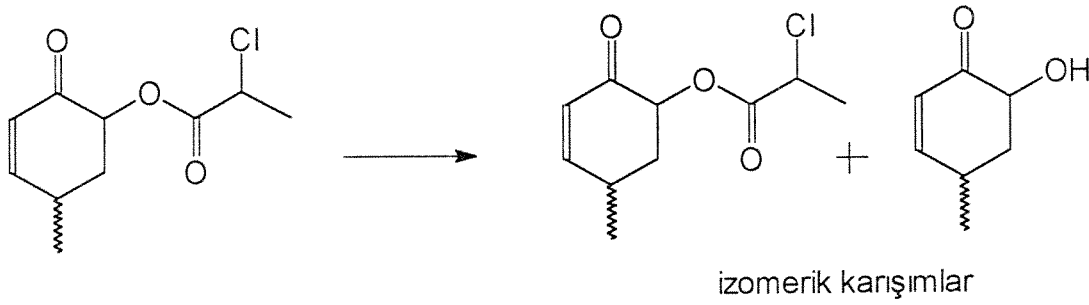
<sup>1</sup>HNMR (CDCl<sub>3</sub>) :  $\delta$  1.75 (d, J=7Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.92 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.01-2.53 (m, 4H, 2CH<sub>3</sub>), 4.51 (q, 1H, ClCH), 5.22-5.45 (m, 1H, OCH), 5.81(s, 1H, olef. H).

Elde edilen bu enon önce kimyasal yöntemle LiOH kullanılarak hidroliz edilmiş ve hidroksi türevi %92 verimle elde edilmiştir. Spektroskopik yöntemlerle (ır, NMR) karakterize edilen üründe 6 nolu karbona bağlı proton <sup>1</sup>H NMR spetrumunda baŐlangıŐ ürününe göre daha yüksek alana kayma göstermiştir (5.3 ppm den 4.7 ppm e kaymıŐtır) (Şema 13).



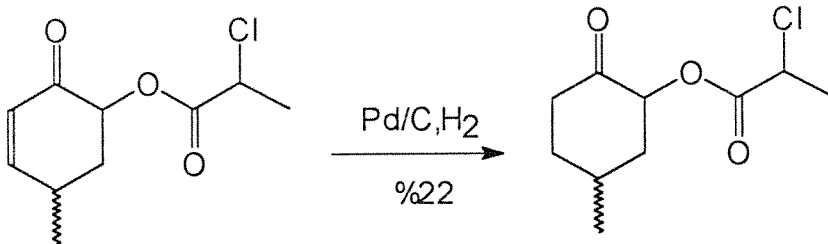
Şema 13

Aynı ürün daha önce belirtilen şartlarda PLE (pig liver esteraz) ile hidrolize edilmiş ve oluşan hidroliz ürünü ile oluşan stereoisomerlerin karışımının ayrımı için değişik kromatografik yöntemler (Preparatif ince tabaka kromatografisi , Flash kolon kromatografisi , analitik HPLC) uygulanmış hidroksi türevinin isomerleri rasemik türev ile karşılaştırılarak karakterize edilmiştir. Bu ürünün optik saflığı tayini  $^1\text{H}$  NMR ile denenmiştir ancak spektrumların karmaşıklığı nedeniyle bir sonuç alınamamıştır. Hidroliz olmayan kısmın saflaştırması değişik yöntemler kullanılmasına rağmen tam olarak gerçekleştirilememiştir (Şema 14).



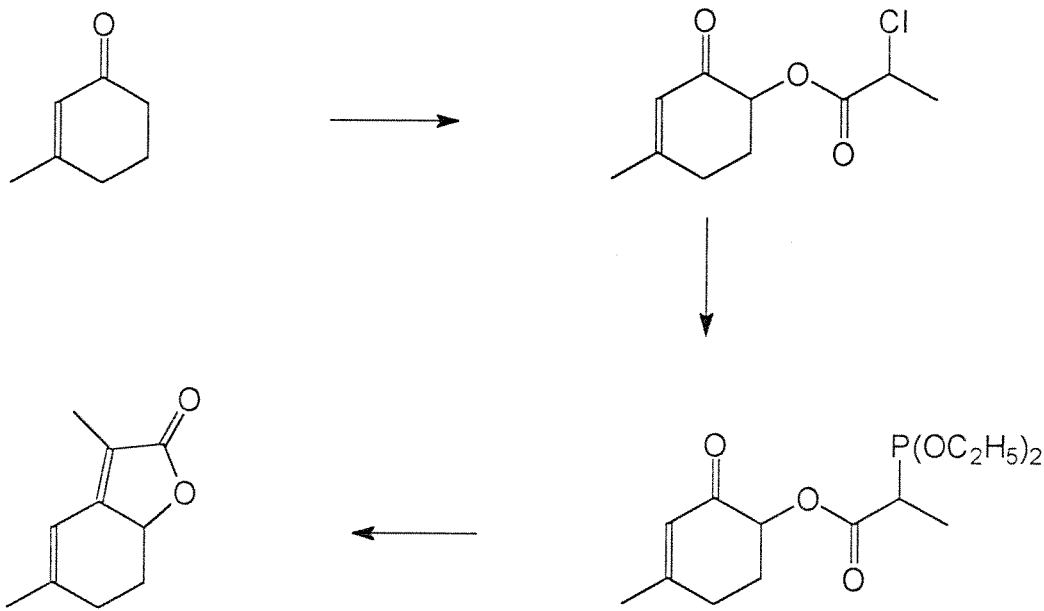
Şema 14

Yukarıdaki işlemlere paralel olarak hidroliz işlemi yapılmadan çifte bağın hidrojenlendirilmesi daha sonra hidrolizi planlanmış bunun için kloropropioniloksi enon önce şema 15 te görüldüğü gibi Pd/C ,  $\text{H}_2$  ile Par hidrojenlendirime aletinde hidrojenlendirilmiş oluşan ürünler incelendiğinde düşük verimle (%22) elde edilen beklenen ürünün yanında hidroliz ürünü ve daha değişik karakterize edilemeyen ürünler elde edilmiştir.



Şema 15

Hidrojenlendirilmiş ürün preparatif ince tabaka kromatografisi ile saflaştırılmış ve spektroskopik yöntemlerle (ir, NMR) karakterize edilmiştir. Ürünün  $^1\text{H}$  NMR spektrumunda başlangıç maddesinde 5.97 ve 6.83 ppm de gelen olefinik protonların sinyalleri kaybolmuştur. IR spektrumundada karbonil absorpsiyonu başlangıç maddesine göre daha yüksek değerde ( $1710\text{ cm}^{-1}$ ) gelmiştir. Tekrarlanan deney aynı sonuç verince yöntemin uygun olmadığına karar verilmiş ve hidrojenlendirmenin lakton halkası kapatıldıktan sonra yapılması planlanmıştır. Bu amaçla yukarıda bahsedilen işlemler mint laktonun diğer bir izomerinin sentezinde denenmiştir. Bu sistem başlangıç maddesinin ucuz ve kolay sentezlenebilmesinden dolayı seçilmiş ve aynı maddeden son basamakta yine bir doğa ürünü olan mentofurana kolayca dönüştürülebilmesi olanağında ayrıca bir avantaj olarak görülmüştür (şema 16).

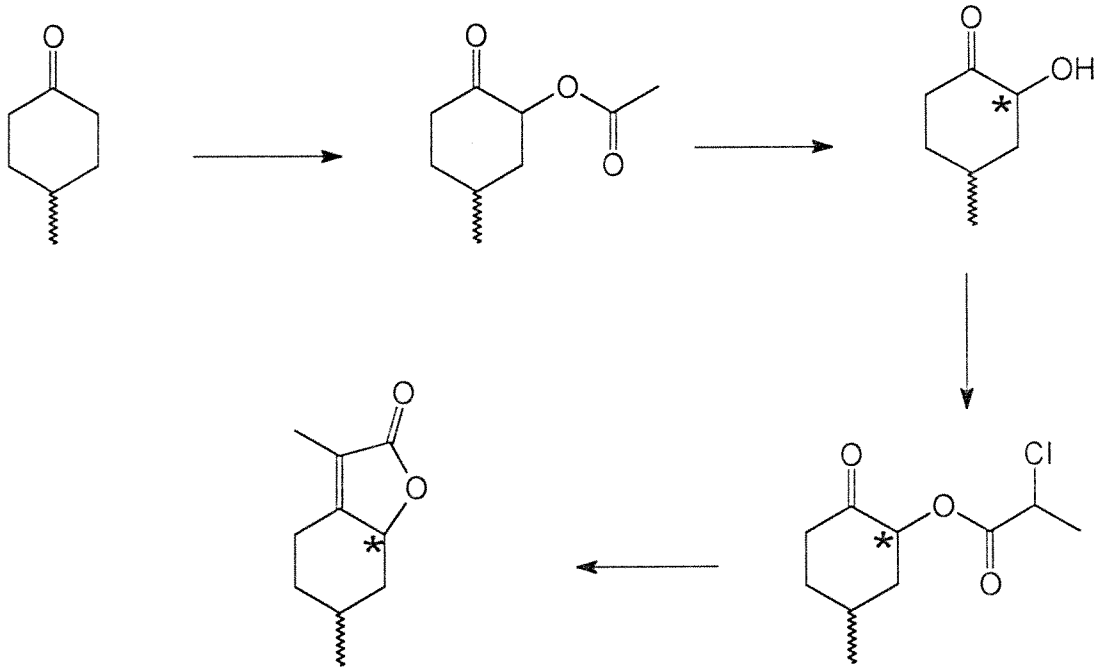


Şema 16

Şema 12 de gösterilen yönteme göre önce 3-metil sikloheksenon mangan (III) asetat ve kloropropiyonik asitle reaksiyona sokularak kloropropiyoniloksi keton %76 verimle sentezlenmiş ve yapı spektroskopik yöntemlerle karakterize edilmiştir ( $^1\text{H}$  NMR ( $\delta$ , ppm) 1.80 (d,3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.98 (s, 3H, $\text{CH}_3$ ), 2.25-2.55 (m,4H, $\text{CH}_2$ ), 4.50(q,1H,  $\text{CHCl}$ ), 5.25 (dd,  $^1\text{H}$ , $\text{OCH}$ ), 5.80 (s,1H, Olef. H). IR: 1740, 1670, 1600  $\text{cm}^{-1}$ . Daha sonra bu bileşik trietil fosfit ile reaksiyona sokularak arbutov türü tepkime ile maddenin fosfonat

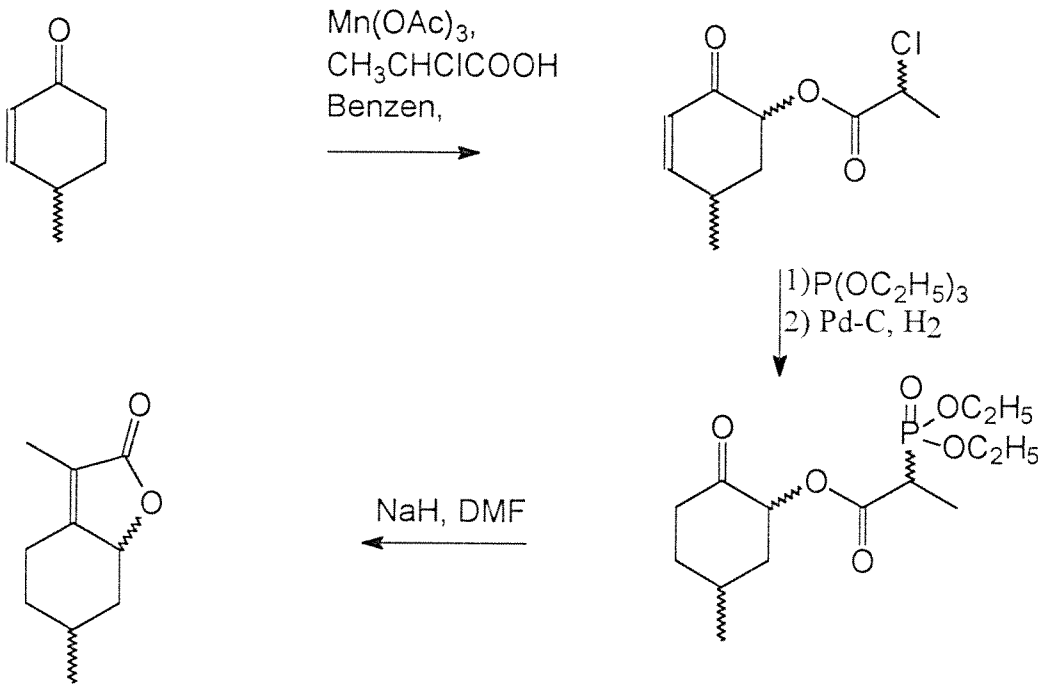


türevi % 61 verimle elde edilmiş ve spektroskopik yöntemlerle (ır, NMR) yapısı katlanmıştır. <sup>1</sup>H NMR spektrumunda başlangıç maddesine göre 4.50 ppm de gelen kuartet yerine 4.25-4.32 ppm de metilen grupları ile birlikte multipler, 1.11-1.39 arası metil gruplarının multipleri gelmektedir. Elde edilen fosfonatın Sodyum Hidrür ile reaksiyonu ile de Wittig- Horner tipi reaksiyonla lakton %58 verimle elde edilmiş ve spektroskopik yöntemlerle tanımlanmıştır (<sup>1</sup>H NMR (δ, ppm) : 1.90 (s,3H,CH<sub>3</sub>), 2.20-2.52 (m,4H,CH<sub>2</sub>), 5.35 (m, 1H,OCH), 5.90 (s,1H, olef. H) ).Uygulanan bu yöntemde genelde bir zorluk çıkmamıştır elde edilen terpen yeni bir bileşiktir. Bu safhada tek çifte bağın hidrojenlendirilmesi için değişik metotlar denenmiş ancak seçici olarak tek çifte bağın hidrojenlenmesi mümkün olmamıştır. Bu deneylerde değişik paladyum katalizörleri Pd-C, PdCl<sub>2</sub> kullanılmıştır. Karşılaşılan güçlük nedeniyle şema 17de gösterilen alternatif yöntemle aynı ürünlerin sentezlenmesi planlanmıştır.



Şema 17

Bu yöntemle 4-metil sikloheksanon kurşun tetraasetat ile oksitlenerek asetoksi türevi sentezlenmiş daha sonra bu ürünün enzim hidrolizi basamağında daha önce kullanılan her iki lipaz denenmiş ancak oluşan izomerlerin kromatografik yöntemlerle ayrılması mümkün olmamıştır. Daha önce belirtilen çalışmalarda karşılaşılan ayırma problemleri ve verim düşüklüğü değiştirilen deney şartları ile de düzeltilememiştir bu nedenle mint laktonun rasemik sentezi literatürdeki metotlara göre en kısa yolla Şema 18 de gösterildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma yayına hazırlama aşamasındadır.



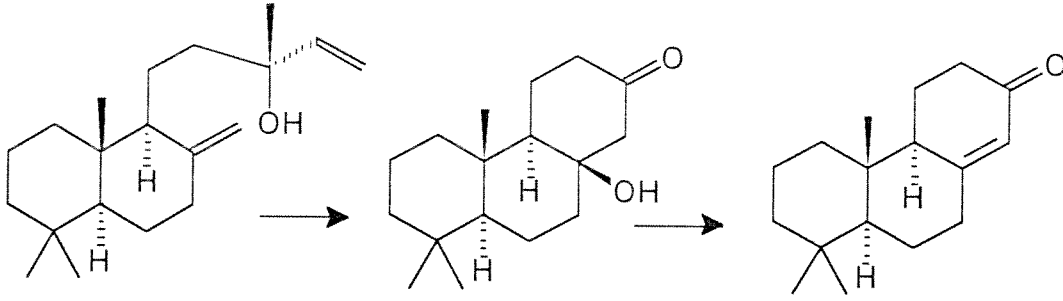
Şema 18

Elde edilen mint lakton spektroskopik metotlar kullanılarak karakterize edilmiştir {  $^1\text{H NMR}$  spektrum ( $\text{CCl}_4$ )  $\delta$  0.95 (d, 3H,  $J=6\text{Hz}$ ), 1.72 (t, 3H), 4.60 (dd, 1H,  $J=6$  ve  $11\text{Hz}$ ) } ve literatür değerleri ile uyumlu olduğu gözlenmiştir. Bu reaksiyonda toplam verim %11 olarak bulunmuştur. Bu alanda yapılan çalışmalar öngörülen ve tasarlanan yolla yürümemiştir.

### II.3. (-)- JOLKİNOLİD E NİN SENTEZİ İLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR

İlk defa Uemura tarafından izole edilen Jolkinolin E<sup>29-32</sup> nin sentezi için başlangıç maddesi olarak düşünülen enon un sentezi için literatürde uygulanmış bir yöntem alınmış bu yöntemle Manool dan

başlanmış ve şema 19 da belirtilen yöntemle enon sentezlenmiştir<sup>33-35</sup>.

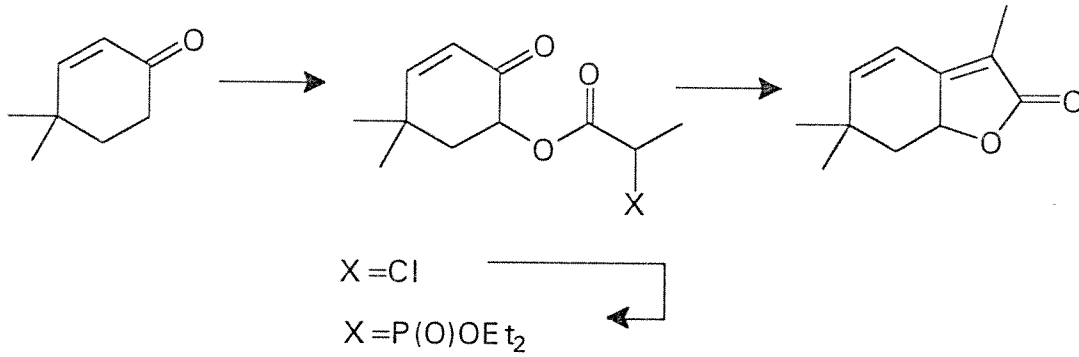


Manool

### Şema 19

(+)- Manool un potasyum permanganat ile oksidasyonu ve daha sonra oluşan alkolun konsantre süfürik asitle reaksiyonu sonucu % 45 verimle enon sentezlenmiştir. Tüm spektroskopik değerleri literatür değerleri ile uyum içerisindedir. Elde edilen bu ürün yapılması planlanan reaksiyonlar için başlangıç maddesi olarak kullanılmıştır.

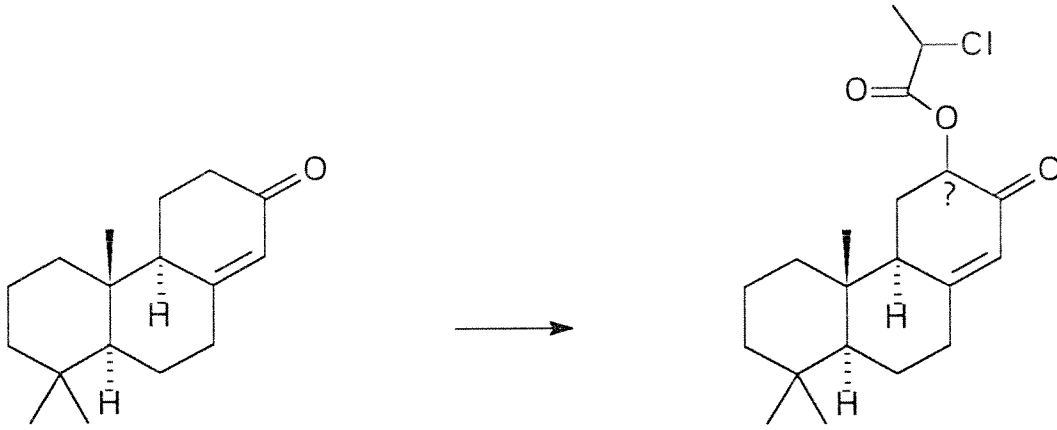
Planlandığı şekilde enonun  $\alpha$ -kloropropiyonik asit,  $Mn(OAc)_3$  reaksiyonu Yapılmadan önce bu reaksiyona uygun bir model sistemi seçilmiş ve yapılacak kimyasal reaksiyonlar bu model sistem üzerinde denenmiş, reaksiyon şartları optimize edilmiş ve amaçlanan model ürün şema 20 te görüldüğü gibi sentezlenip spektroskopik yöntemlerle karakterize edilmiştir



### Şema 20

Bu sonuç değişik reaksiyon şartları optimize edilerek bulunmuştur (IR (film): 1730, 1660, 1600  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.97 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.10 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.12-2.24 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 4.52 (q, 1H,  $\text{CHCl}$ ), 5.50 (dd, 1H,  $J=5.8$  and  $12.4$  Hz, C-6 H), 5.86 (d, 1H,  $J=10$  Hz, C-2 vinylic H), 6.70 (d, 1H,  $J=10$  Hz, C-3 vinylic H). Anal. teorik:  $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{O}_3\text{Cl}$ : C, 57.26; H, 6.55. Bulunan: C, 57.56; H, 6.41). Elde edilen substitue enon daha sonra Arbusov reaksiyonu için trietilfosfit ile reaksiyona sokulmuş en iyi verim enona göre altı kat fazla trietil fosfit in belirli zaman aralıklarında verilerek 3 saat geri soğutucuda ısıtılması ile elde edilmiştir (% 51). Oluşan ürün kromatografik yöntemlerle temizlenmiş, spektroskopik yöntemlerle karakterize edilmiştir (IR (film): 1730, 1660, 1610, 1200  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.99 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.03 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.12-1.40 (m, 6H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ , two  $\text{CH}_3$ ), 1.98 (d, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.10-2.24 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.85-4.32 (m, 5H,  $\text{OCH}_2$ , two  $\text{CH}_2$ , CH), 5.41 (m, 1H, C-6 H), 5.86 (d, 1H,  $J=10$  Hz, C-2 vinylic H), 6.61 (d, 1H,  $J=10$  Hz, C-3 vinylic H); MS (EI, 70 eV)  $m/e$  332 ( $\text{M}^+$ )). Fosfonat türevinin Wittig-Horner-Emons reaksiyonu ile siklizasyonu için Baz olarak NaH kullanılmış DMF ile geri soğutucuda yapılan reaksiyonla siklizasyon ürünü lakton kromatografik yöntemle temizlenmiş % 68 verimle elde edilmiştir. Karakterizasyonu spektroskopik yöntemlerle yapılmıştır (IR (film): 1770, 1750, 1610  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.08 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.21 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.08 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.14-2.23 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 5.45-5.65 (m, 1H, CH), 5.81 (d, 1H,  $J=9$  Hz, C-4 H), 6.54 (d, 1H,  $J=9$  Hz, C-5 H); Anal. Teorik hesaplanan:  $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_2$ : C, 74.12; H, 7.90. Bulunan: C, 74.46; H, 8.02). Yapılan bu işlemlerde model sistemde tüm reaksiyonlar incelenmiş ve optimize edilmiştir.

Model sistemde belirtilen yöntem aynı şartlar kullanılarak şema 19 da sentezlenen enon a uygulanmıştır. İlk olarak şema 21 görüldüğü gibi enon Mn(III) asetat ve kloropropiyonik asitle reaksiyona sokulmuş reaksiyon ince tabaka kromatografisi ile takip edilmiş ve oluşan ürün kromatografik yöntemlerle temizlenerek izole edilmiştir. Spektroskopik analizler bu ürünün beklenen ürün olduğunu kanıtlamıştır ve reaksiyonun verimi % 58 olarak bulunmuştur. (en. 164-166°C; IR (KBr): 1780, 1660, 1610  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.88 (s, 3H, C-10  $\text{CH}_3$ ), 0.92 (s, 3H, C-4  $\text{CH}_3$ ), 1.04 (s, 3H, C-4  $\text{CH}_3$ ), 1.72 (d,  $J=7.3$  Hz, 3H,  $\text{CHCl}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)$ ), 4.51 (q,  $J=7.3$  Hz, 1H,  $\underline{\text{C}}\text{HCl}(\text{CH}_3)$ ), 5.30 (dd, 1H,  $J=14$  Hz and  $7$  Hz, C-12 H), 5.91 (br s, 1H, vinylic H); MS (EI, 70eV)  $m/e$  352 ( $\text{M}^+$ )).

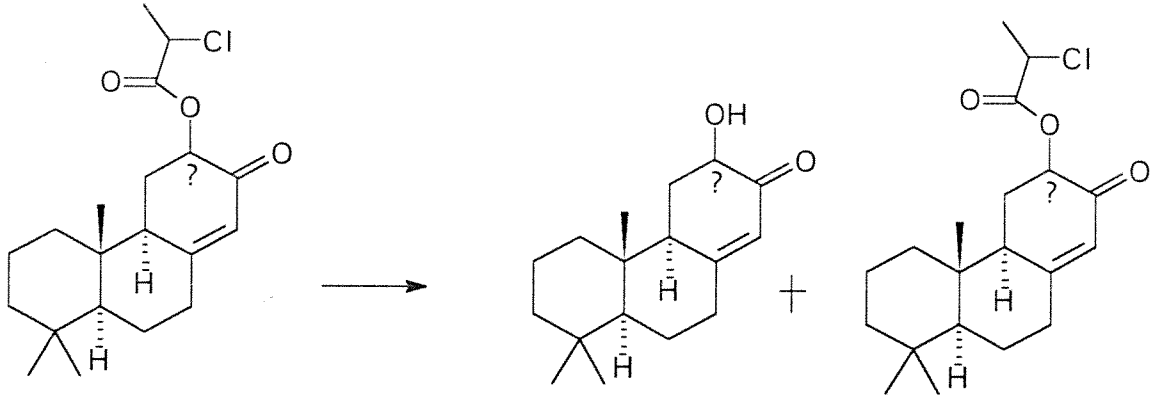


Şema 21

Elde edilen ürün daha sonraki basamaklarda karşılaştırma amacı ile iki değişik reaksiyonda başlangıç maddesi olarak kullanılmıştır:

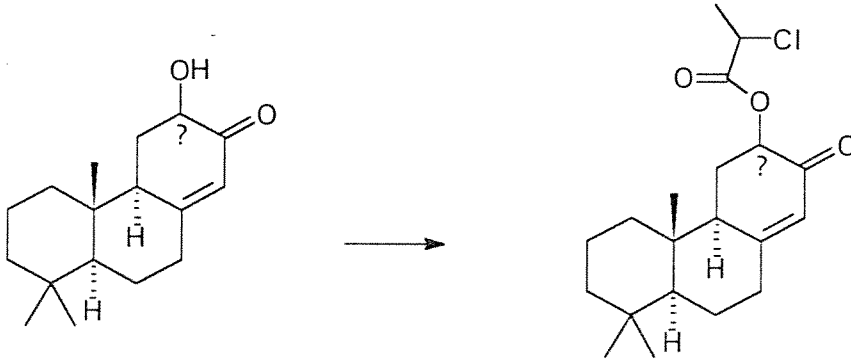
1. Enzim hidrolizi , Kloropropiyonil klorür ile reaksiyon
2. LiOH ile hidroliz , Kloropropiyonil klorürle reaksiyon
1. Enzim hidrolizi : Kloropropiyonil klorür ile reaksiyon.

Şema 22 de görüldüğü gibi kloropropioniloksi enon daha önce kullanılan genel enzim hidrolizi yöntemine göre ( optimize edilmiş şartlarla yapılan reaksiyonla) lipaz (*Pseudomonas* dan elde edilen lipaz P 30 ve PLE) ile hidroliz edilerek  $\alpha$ -hidroksi türevine % 43 (PLE) verimle çevrilmiş ve hidroliz olmayan kısımdan kromatografik yöntemle ayrılmıştır. Bu hidroliz ürünü spektroskopik yöntemlerle karakterize edilmiş, yapısı doğrulanmıştır (en. 132-133°C. (lit en. 134-136°C); IR (KBr): 3400, 1670, 1610  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CCl}_4$ ):  $\delta$  0.88 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 0.93 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.03 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.40 (br s, 1H, OH), 4.21 (dd, 1H,  $J=13$  Hz and 6 Hz, C-12 H), 5.81 (br s, 1H, vinylic H); Anal. Teorik hesaplanan  $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_2$ : C, 77.82; H, 9.99. Bulunan: C, 77.94; H, 10.23).



Şema 22

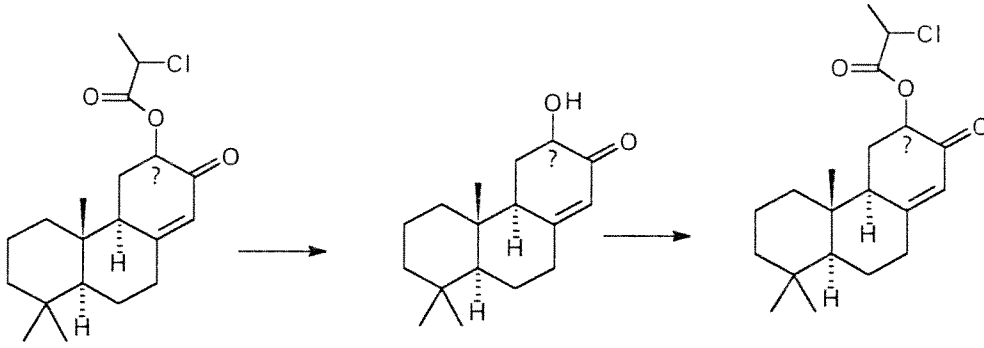
Elde edilen hidroksi keton piridin ve kloropropionil klorürle reaksiyona sokularak kloropropioniloksi enon % 88 verimle elde edilmiştir(şema 23).



Şema 23

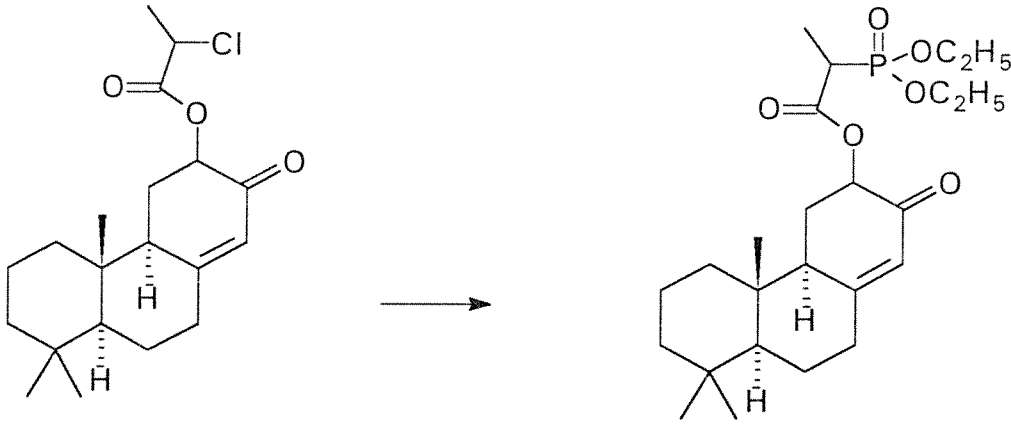
2. Lityum Hidroksit ile hidroliz, Kloropropionil klorürle reaksiyon:

Mangan(III) asetat ve kloropropionik asit ile daha önce elde edilen kloropropioniloksi enon THF içerisinde LiH ile reaksiyona sokularak hidroliz edilmiş ve hidroksi enon %94 verimle elde edilmiştir. Bu hidroksi enon şema 22 de belirtilen yöntemle elde edilen hidroksi enonla karşılaştırılmış ve tüm spektroskopik özelliklerinin aynı olduğu gözlenmiştir. Sonuç maddelerin kontrolü amacı ile bu enon da şema 23 de belirtilen yöntemle kloropropionil klorürle reaksiyona sokularak % 91 verimle kloropropioniloksi enon türevine dönüştürülmüştür ( şema 24).



Şema 24

Beşli halka oluşturmak amacı ile şema 21, 22, 23, 24 te sentezlenen kloropropioniloksi enonlar ayrı ayrı trietilfosfit ile Arbuzov reaksiyonuna sokularak fosfonat türevlerine % 51-59 verimle çevrilmişlerdir. Elde edilem maddelerin yapıları spektroskopik yöntemlerle doğrulanmıştır (IR (film): 1720, 1650, 1600, 1200  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.88 (s, 3H, C-10  $\text{CH}_3$ ), 0.95 (s, 6H, two C-4  $\text{CH}_3$ ), 1.26 (t,  $J=8$  Hz, 3H,  $\text{CHCH}_3$ ), 1.30-1.33 (m, 6H, two  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 3.86-4.15 (m, 4H, two  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 5.20-5.22 (m, 1H, CH), 5.81 (s, 1H, vinylic H); MS (EI, 70eV)  $m/e$  454 ( $\text{M}^+$ ) (şema 25).

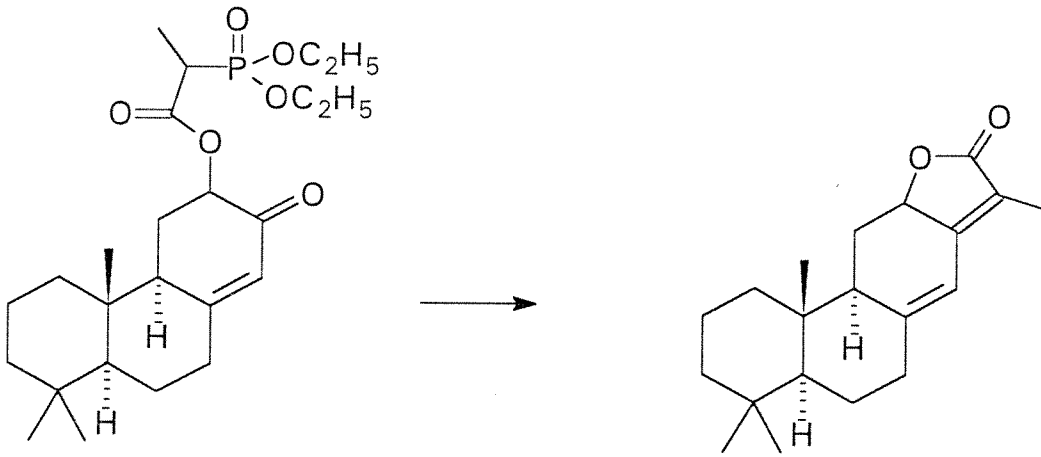


Şema 25

Elde edilen ürünlere Horner Emons siklizasyonu uygulanmış bu amaçla fosfonat THF içerisinde NaH ile gerisoğutucuda kaynatılmış ve reaksiyon ince tabaka kromatografisi ile takip edilerek neticelendirilmiştir. Oluşan reaksiyon ürününün temizlendikten sonra (Preparatif ince tabaka kromatografisi) spektroskopik yöntemlerle yapı tayini yapılmış ve Jolkinolid E nin oluştuğu

kanıtlanmıştır (mp 188-190°C, (lit. [2] 192-194°C);  $[\alpha]_D^{20}$  (Şema 23 ün ürünü) = -298.5° (c=2.1; CHCl<sub>3</sub>), (lit. [3]  $[\alpha]_D = -306°$  (c=3.6, CHCl<sub>3</sub>)); IR (KBr): 1760, 1640 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 0.85 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 0.91(s, 3H, CH<sub>3</sub>), 0.93(s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.83(broad s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.56(dd, 1H, J=9 Hz and 1 Hz, C-9 H), 4.87(dd, 1H, J=13.3 Hz and 6 Hz, C-12 H), 6.26(broad s, 1H, J=1Hz, C-14 H); <sup>13</sup>CNMR (CDCl<sub>3</sub>), 400 MHz): δ 8.26 (C-10 CH<sub>3</sub>), 16.82 (C-4 CH<sub>3</sub>), 19.08, 21.79 (C-4 CH<sub>3</sub>), 23.90, 27.56, 33.58 and 41.64 (C-4 and C-10), 33.87 (C-15 CH<sub>3</sub>), 37.19, 39.67, 41.95, 51.92 (C-5), 55.31 (C-9), 76.03 (C-12), 113.92 (C-14), 116.22 (C-13), 152.29 (C-15), 156.25 (C-8), 175.36 (C-16). MS (EI, 70eV) m/e 300 (M<sup>+</sup>) (şema 26).

Şema 26

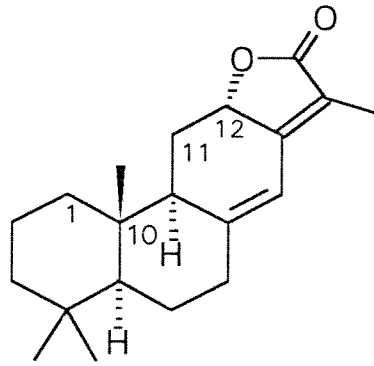


Elde edilen Jolkinold E lerin optik çevirmelei incelendiğinde beklenenin aksine tüm maddeler aynı optik çevirmeyi gösterdikleri (aynı konsantrasyonda -256- 259,5 °) saptanmıştır. Bu durumda ilk oksidasyon basamağının seçici olarak yürümüş olduğu kanaati oluşmuştur. Bu durumda oksidasyon basamağında oluşan Mn-enolatında kloropropiyoniloksi grubunun C-10 daki metil grubunun steriyokimyası nedeniyle bu gruba göre ters taraftan saldırması nın daha uygun olacağı tahmin edilmektedir(Figür 1). HYPERCHEM programı ile yapılan moleküler mekanik hesaplamalarda enerji minimumu gösteren yapının sentezlenen yapı olduğu bulunmuştur. Bu minimize edilmiş yapıda hesaplanan <sup>1</sup>H NMR etkileşim sabitleri pratik olarak bulunan etkileşim sabitleri ile karşılaştırılmış ve değerlerin birbirine yakınlığı yapıyı doğrulayıcı ipuçları vermiştir (Tablo 6).

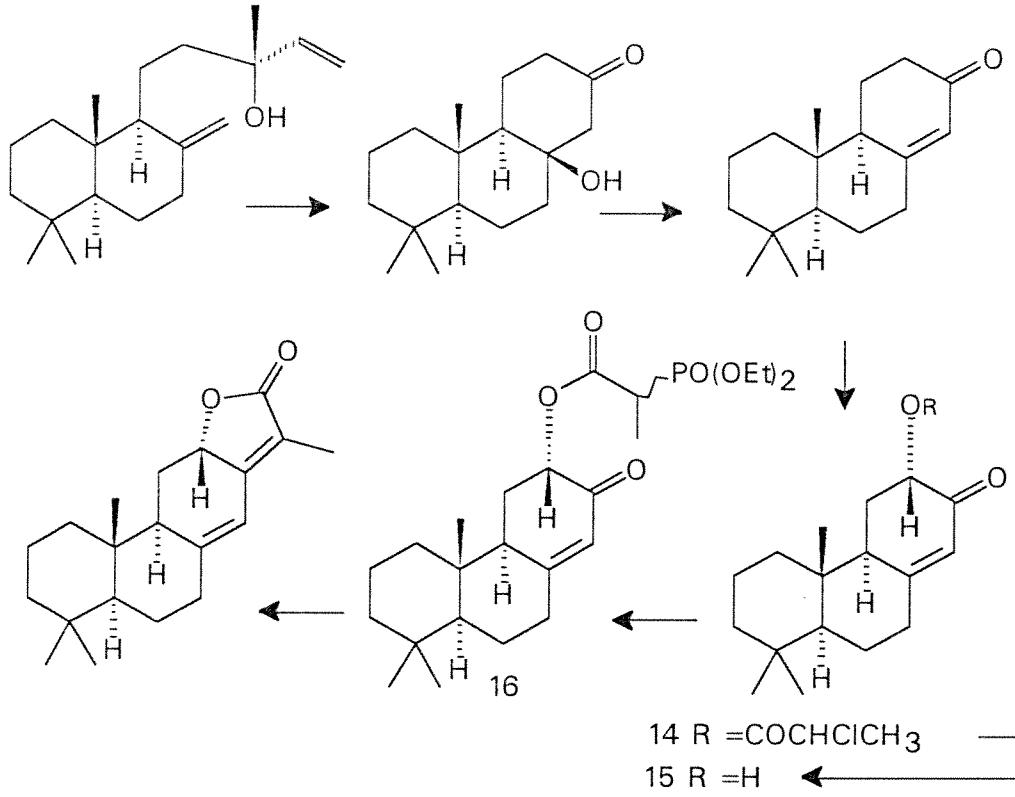


Tablo 6. Jolkinolid E için ölçülen ve hesaplanan dihedral açılar ve etkileşim sabitleri

Proton Pair	Dihedral angle ( $\Phi$ )	$J_{\text{calculated}}$	$J_{\text{observed}}$
H-9, H-11a	$34^\circ$	$J_{9,11a} = 8.8 \text{ Hz}$	$J_{9,11a} = 9 \text{ Hz}$
H-9, H-11e	$84^\circ$	$J_{9,11e} = 2 \text{ Hz}$	$J_{9,11e} = <1 \text{ Hz}$
H-11a, H-11e -			$J_{11a,11e} = 13.9 \text{ Hz}$
H-11a, H-12	$173^\circ$	$J_{11a,12} = 12.8 \text{ Hz}$	$J_{11a,12} = 13.3 \text{ Hz}$
H-11e, H-12	$58^\circ$	$J_{11e,12} = 4.3 \text{ Hz}$	$J_{11e,12} = 6 \text{ Hz}$



Sentezlenen (-)- Jolkinolid E nin  $^1\text{H}$  NMR,  $^{13}\text{C}$  NMR,  $^{13}\text{C}$ -NMR DEPT,  $^1\text{H}$  COSY spektrumları ekte sunulmuştur(Figür 2-5). Jolkinolid sentezi ile yapılan reaksiyon lar şema 27 da toplam olarak verilmiştir.



Şema 27

### III. SONUÇ

Yapılan proje çerçevesinde enonların seçici olarak oksidasyonları Mangane III asetat ile gerçekleştirilmiş ve bunlarında enzimlerle hidrolizi yapılmıştır. Enzim hidrolizleri için Lipaz türü enzimlerden Pseudomonas P-30 tipi enzimle PLE kullanılmıştır. PLE ile iyi sonuçlar alınmış ve % 36-43 kimyasal verimle hidroksi enonlar kromatografik ayırım sonucu elde edilmişlerdir. Bu enonların optik verimleri Mosher türevleri, laktik asit türevleri yapılarak NMR deneyleri ile % 88-96 ee olarak bulunmuştur. Böylece literatüre genel uygulanabilir kiral hidroksi enon sentezi kazandırılmıştır. Bu çalışmalar yayın safhasındadır. Elde edilen bu sonuçlar önce mint laktonun sentezinde uygulanmış ancak elde edilen isomer karışımlarının ayrılması mümkün olamamıştır. Mint laktonun sentezi kısa bir yolla rasemik olarak gerçekleştirilmiş ayrıca aynı yolla mentofuran

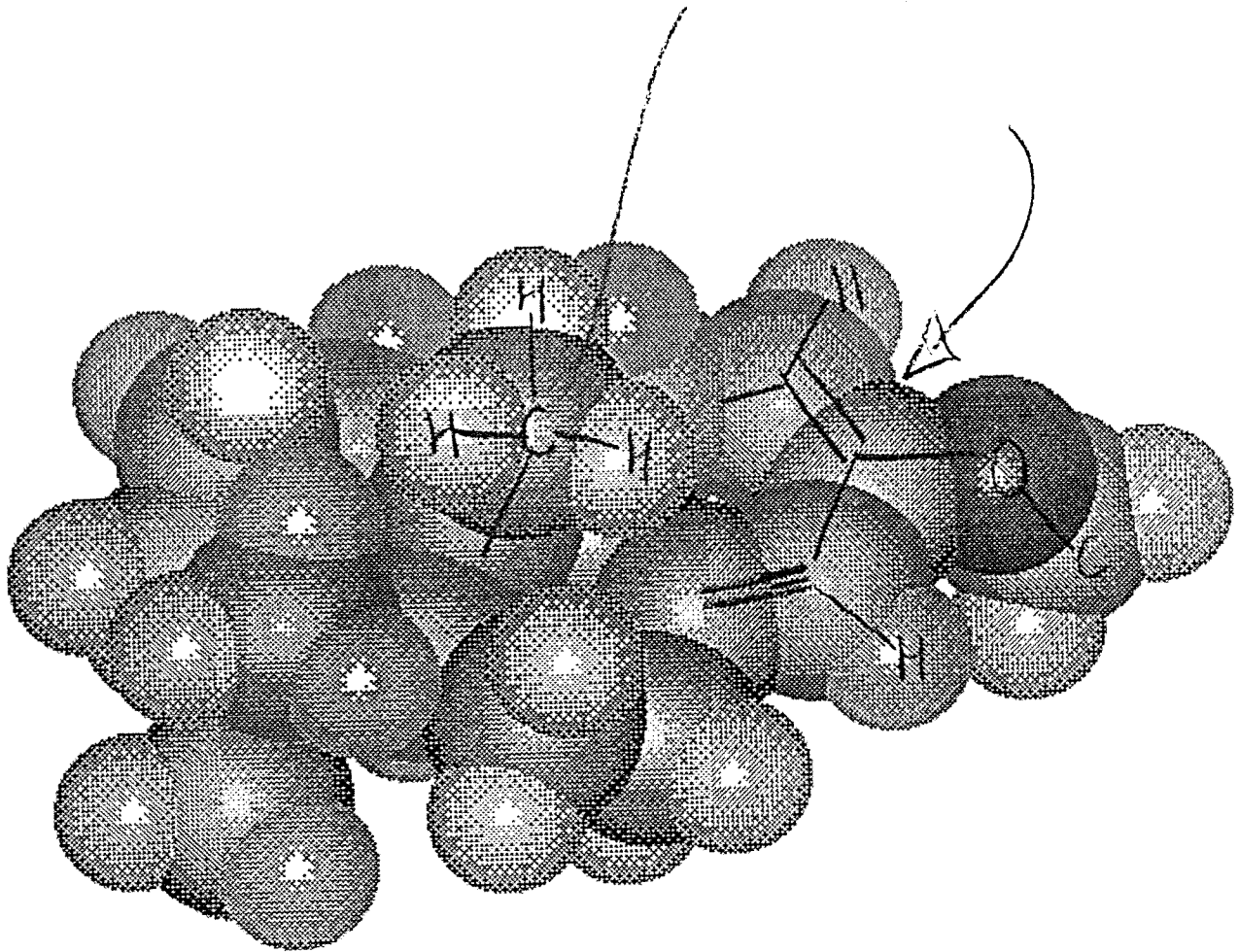
sentezi için gerekli son ürünün sentezi gerçekleştirilmiştir. İkinci uygulamada (-)- Jolkinolid E nin sentezi için yapılmıştır. Bu sentezde önce Manool dan başlanarak triçiklik bileşik sentezlenmiş bununda geliştirilen reaksiyonlarla oksidasyonu ve halka kapama reaksiyonu ile Jolkinolid E elde edilmiştir. Bu çalışmaların bir bölümü yayınlanmış ve ekte sunulmuştur.

#### IV. REFERANSLAR

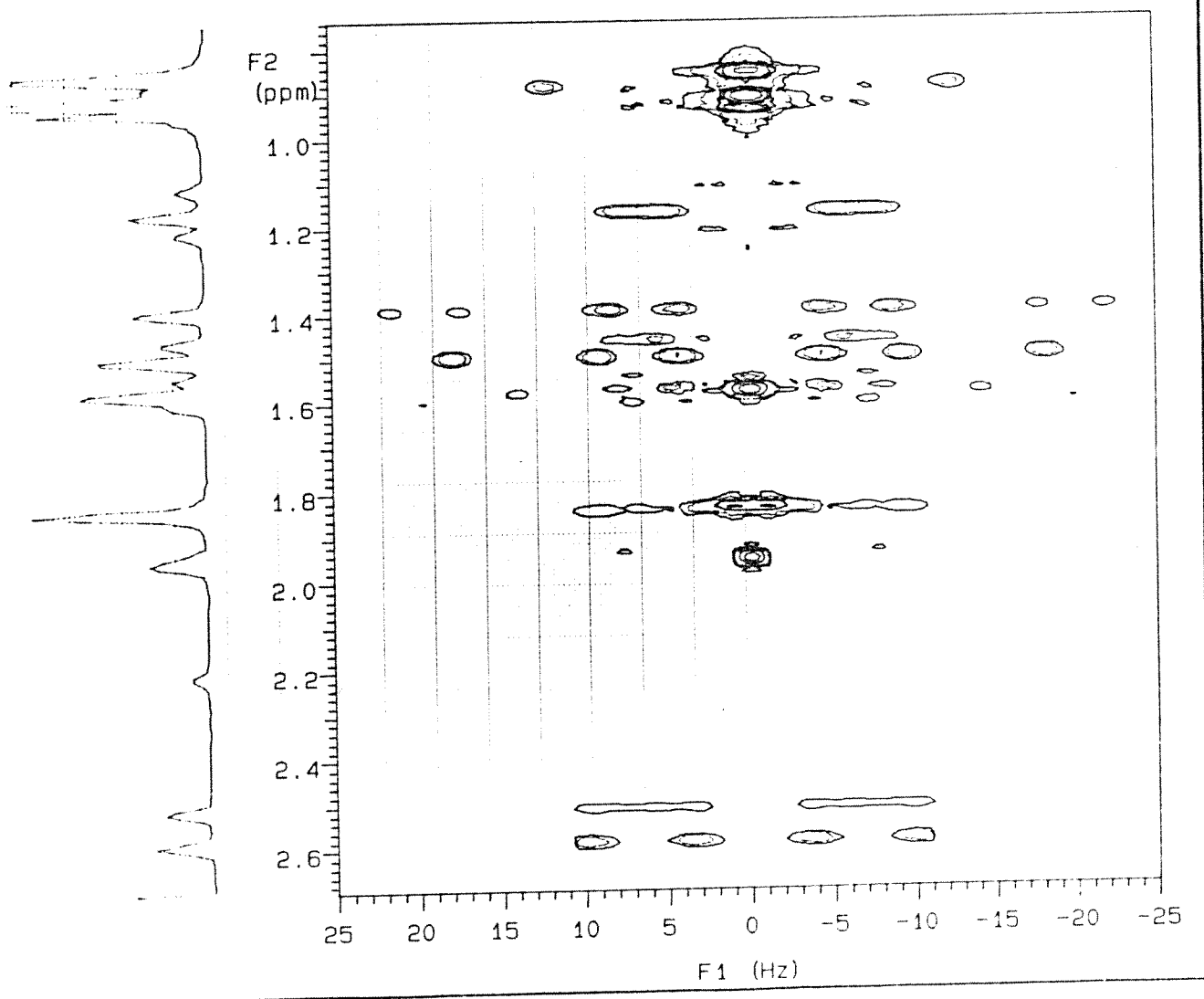
1. Ackermann,P., Tabler, H. and Ganter, C., *Helv. Chim. Acta.*, **1972**,55, 2731
2. Behnam, B.A., Hall, D.M. and Modra, B., *Tetrahedron Lett.* **1979**,2619.
3. Yellin, R., Green, B.S. and Knossow, M., *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102, 1157.
4. Fastrez, J. and Daffee, V., *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102, 3601.
5. Koenig, W.A., Benecke, I. and Bretting, H., *Angew. Chem. Int. Eng.* **1981**,20, 693.
6. Whitesides, G.M. and Wong, C.H., *Aldrichimica Acta* **1984**,16, 27.
7. Whitesides, G.M. and Wong, C.H., *Angew. Chem.* **1985**,97, 617.
8. Jones, J.B., *Tetrahedron* **1986**,42,3351.
9. Wong, C.H., *Science* **1989**, 24, 1145.
10. Jones, J.B., in asymmetric synthesis, J.D. Morrison, Ed., Academic, New York, **1986**, pp 309-344
11. Toone, E.J., Simon, E.S, Bednarski, M.D. and Whitesides, G.M., *Tetrahedron* **1989**, 45, 5365.
12. Zhu, L.M. and Tedford, M.C, *Tetrahedron* **1990**,46,6587.
13. Drueckhammer, D.G.,Hennen, W.J., Pederson, R.L., Barbas, C.F., Gautheron, C.M., Krach, T. and Wong, C.H., *Synthesis* **1990**,499.
14. Csuk, R. and Glanzer, B.I., *Chem. Rev.* **1991**, 91, 49.
15. Petragani N., Ferraz, H.M.C., Silva, G.V.J., *Synthesis* **1986**,157.
16. Bohlmann, F., Zdero, C., King, R.M., Robinson, H., *Phytochemistry* **1981**,20,2425.
17. Gadir,S.A., Smith, Y., Taha, A.A., Thaller, V., *J.Chem.Res.(S)* **1986**,102.
18. Garst, M.E., Spencer, T.E., *J. Org. Chem.* **1983**,48, 2442.
19. Grieco, P.A., Pognowski, C.S., Burke, S., *J. Org. Chem.* **1975**, 40, 542.
20. Katsumura, S., Isoe, S., *Chem. Lett.* **1982**, 1689.

21. Bezuidenhoudt, B.C., Swanepoel, A., Brandt, E.V., Ferreira, D.J., *J.Chem. Soc., Perkin Trans.* 1990,2599.
22. Simon, A.P., *The Total Synthesis Of Natural Products*, John Willey & Sons, Inc. New York, Vol. 7, pp 383(1988)
23. Demir A. S. Jeganathan A. Watt D. S. *J. Org. Chem.* **1989**, 53, 4020; Demir A. S. Camkerten N. Akgun H. Tanyeli C. Mahasneh A. S. Watt D. S. *Synth. Commun.* **1990**, 20, 2279; Demir A. S. Sayrac T. Watt D. S. *Synthesis* **1990**, 1119; Demir A. S. Akgun H. Tanyeli C. Watt D. S. *Synthesis* **1991**, 719. Demir, A. S., Saatcioğlu, A. *Synthetic. Comm.* **1993**,23(5), 571.
24. For a review see, Demir A. S. Jeganathan, A. *Synthesis* **1992**, 235.
25. Wong, C.H., Whitesides, G.M. *Enzymes in Synthetic Organic Chemistry*, Pergamon,Oxford **1994**.
26. Faber, K. *Biotransformations in organic Chemistry* , Springer Berlin, **1995**.
27. Honig, H., Seuffer-Wasserhal, P., Weber, H. *Tetrahedron* **1990**, 46, 3841.
28. Tone, E.J., Werth, M.J., Jones, J.B., *J. Am. Chem. Soc.* **1990**,112, 4946.
29. Uemura D. Hirata Y. *Chem. Lett.* **1974**, 819.
30. Katsumura S. Isoe S. *Chem. Lett.* **1982**, 1689; Katsumura S. Kimura A. Isoe S. *Tetrahedron* **1989**, 45, 1337.
31. Nakano T. Aillo M. A. *J. Chem. Res. (S)* **1985**, 268.
32. Donovan S. F. Avery M. A. McMurry J. E. *Tetrahedron Lett.* **1979**, 3287.
33. Grant P. K. Hodges R. *J. Chem. Soc.* (1960) 5274; Schenk H. R. Gutmann H. Jeger O. Ruzicka L. *Helv. Chim. Acta* **1952**, 35, 817; Scheidegger U. Schaffner, K. Jeger O. *Helv. Chim. Acta* **1962**, 45, 400; Bevan C. W. L. Ekong D. E. U. Okogun J. I. *J. Chem. Soc. C* **1968**, 1067; Hugel G. Oehlschlager A. C. Ourisson G. *Tetrahedron* **1966**, Suppl. 8, Part I, 203.
34. Church R. F. Ireland R. E. Marshall J. A. *J. Org. Chem.* **1966**, 31, 2526.
35. Plattner J. J. Gless R. D. Rapoport H. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, 94, 8613; Liang S. Paquette L. A. *Tetrahedron Asymm.* **1990**, 1, 445.

Figür 1 Enon dan oluþan mangan Enolatta sterik engel

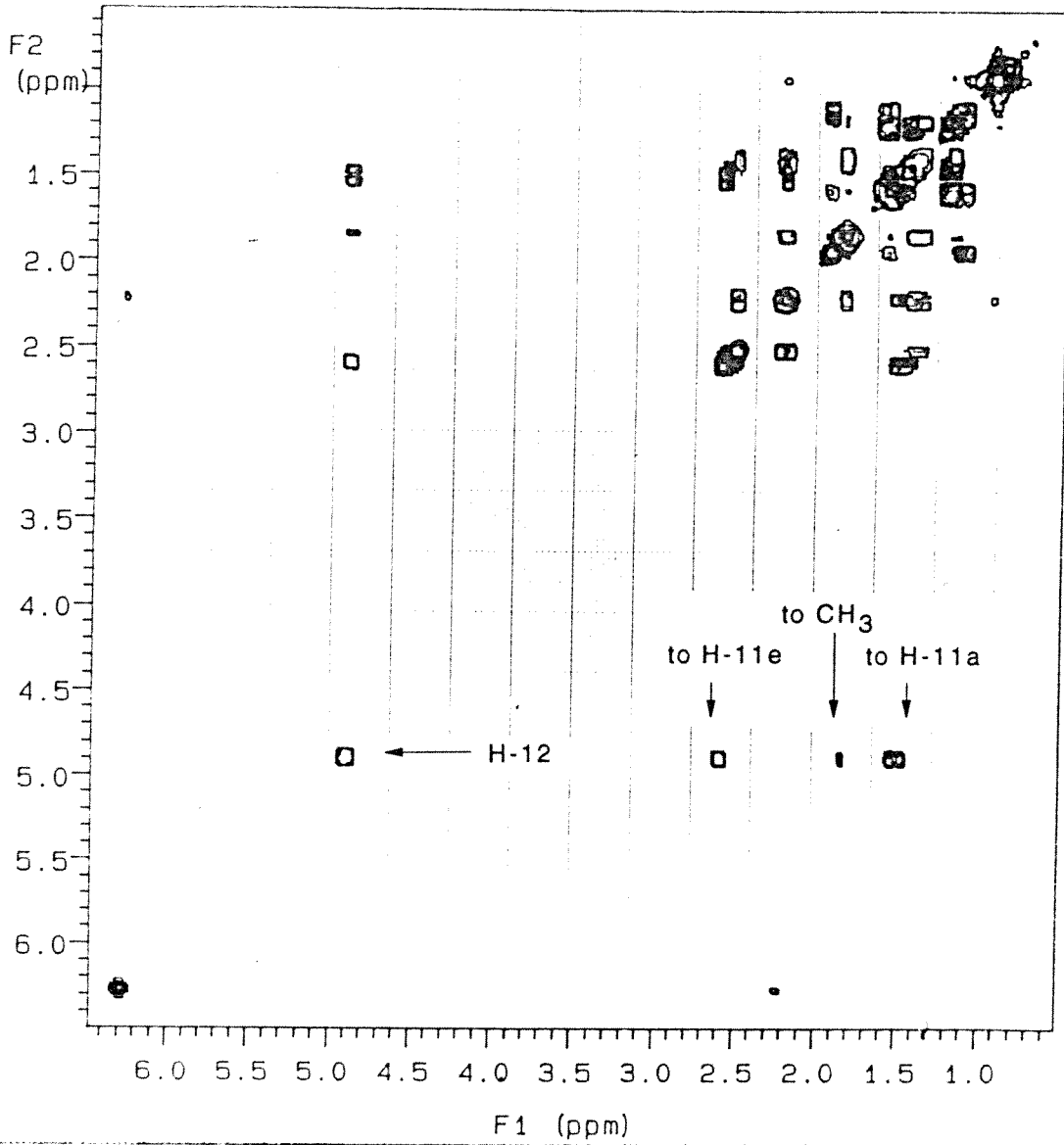


# Jolkinolid E nin HOM2DJ Spektrumu

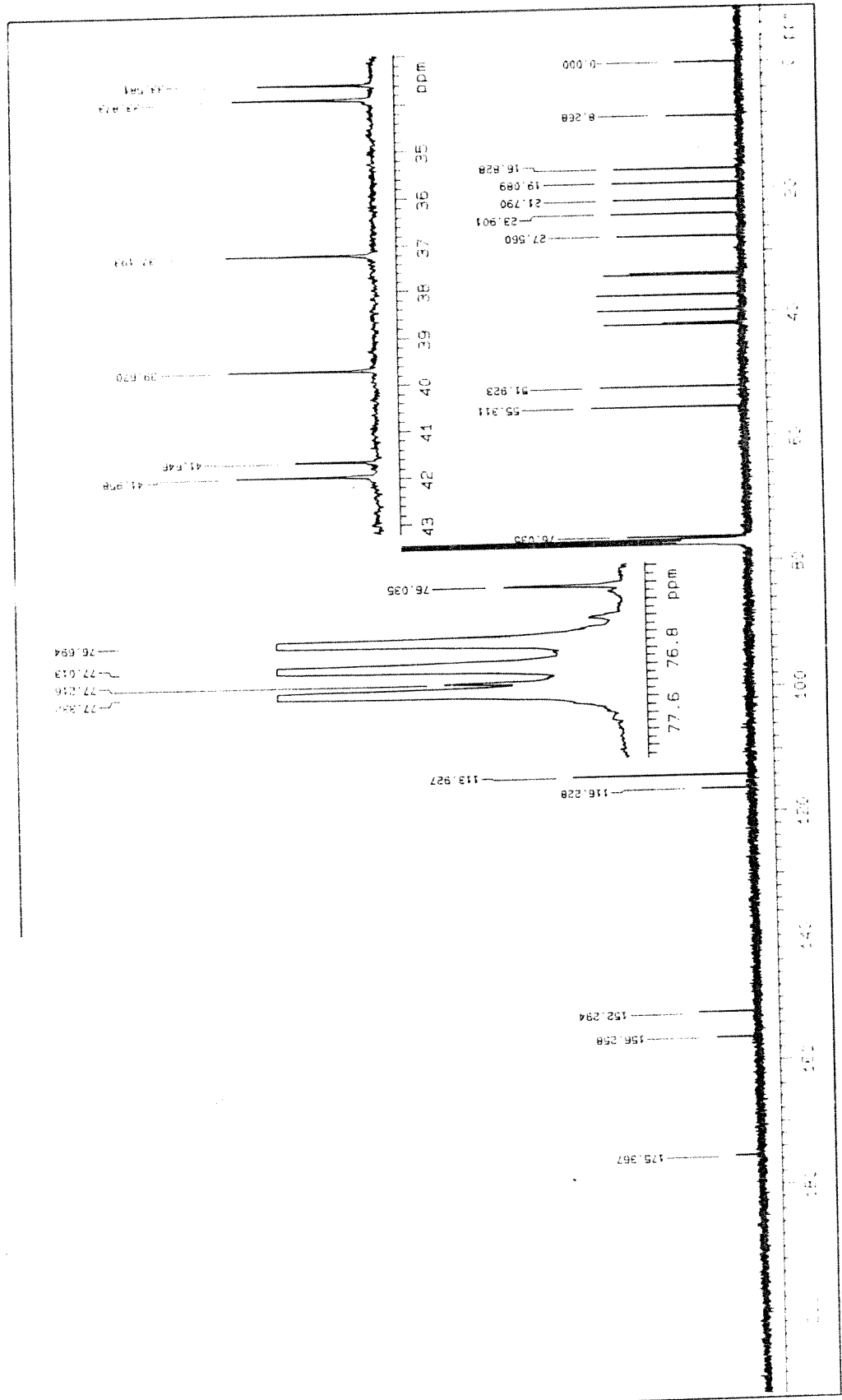


Jolkinolid E nin  $^1\text{H}$  COSY spektrumu

COSY  $^1\text{H}$  NMR

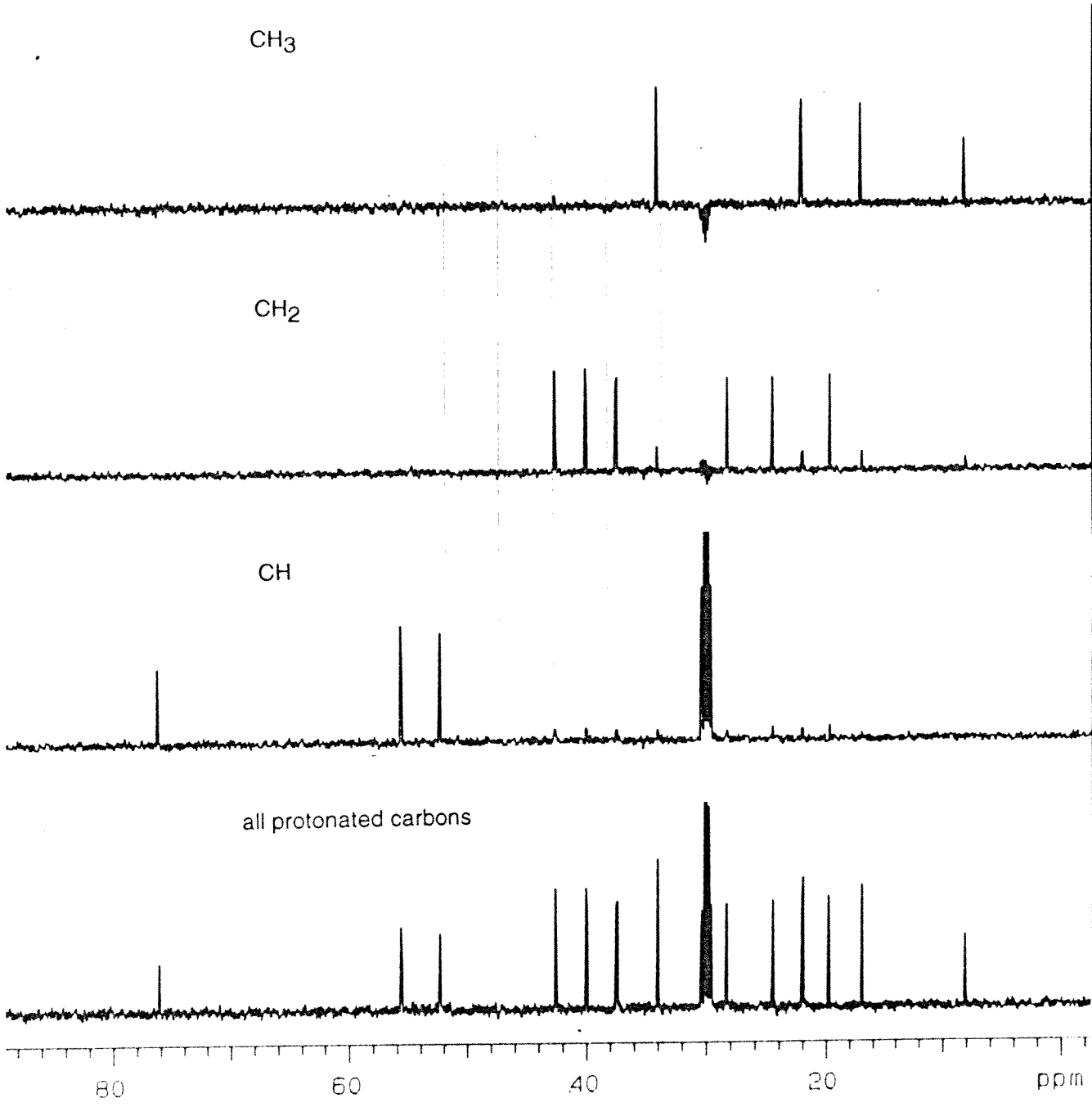


# Jolkinolid E nin $^{13}\text{C}$ NMR Spektrumu

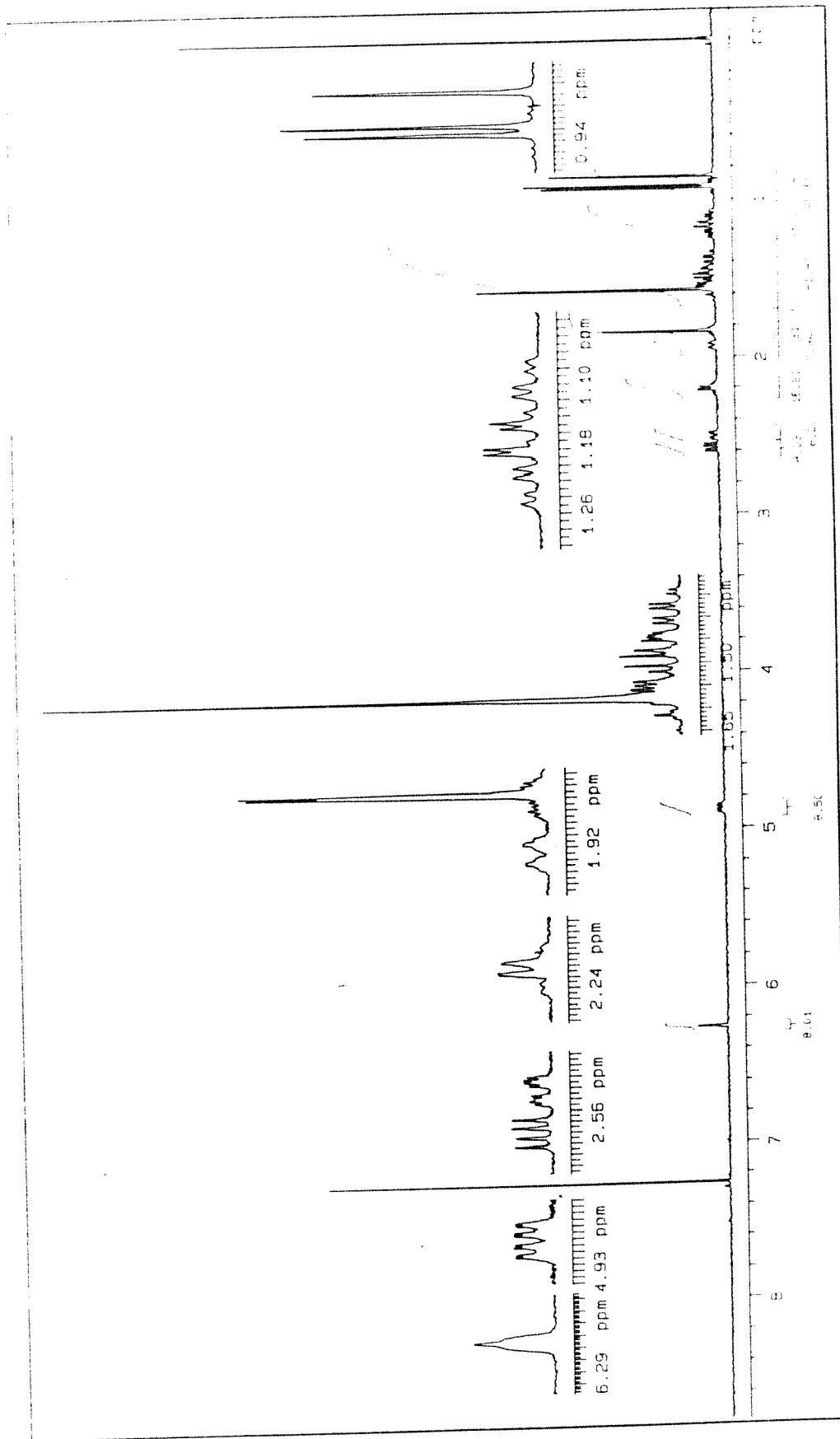




Jolkinolid E nin DEPT spektrumu



# Jolkinolid E nin $^1\text{H}$ NMR Spektrumu



## Butenolide annelations using a manganese(III) oxidation. A synthesis of jolkinolide E

Ayhan S Demir\*, Cihangir Tanyeli, Hülya Akgün, Zerrin Çaliskan, Emine Özgül

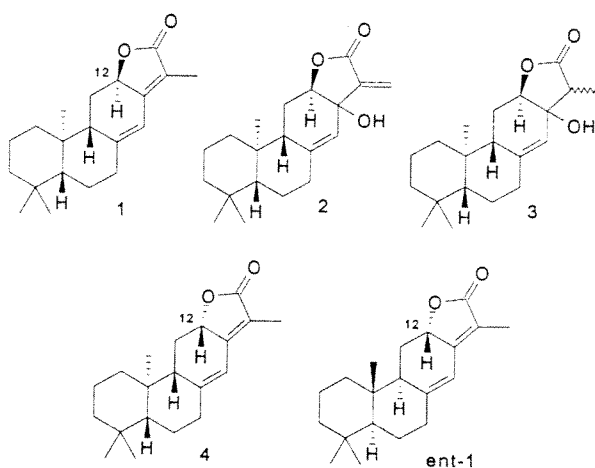
*Department of Chemistry, Middle East Technical University, 06531 Ankara, Turkey*

(received 25 October 1994, accepted 22 March 1995)

**Summary** – A general procedure was developed for the annelation of a butenolide to an enone that highlighted a manganese(III) oxidation of an enone. The merit of this procedure was illustrated in a synthesis of (–)-jolkinolide E, **1**, from (+)-manool **11**. A potassium permanganate-mediated degradation of **11** and dehydration of an intermediate hydroxyketone **12** according to a literature procedure afforded a tricyclic enone **13**. Oxidation of **13** with manganese(III) acetate and chloropropionic acid regio- and stereoselectively furnished a C-12 $\alpha$  chloropropionyl ester **14**. An Arbuzov reaction of **14** with triethylphosphite and an intramolecular Horner-Emmons cyclization of the resulting phosphonate **15** afforded (–)-jolkinolide E, the structure of which was investigated in detail by NMR. This methodology was also applied to dimethylcyclohex-2-en-1-one. This overall approach offers a general solution to the problem of butenolide annelation to enones.

**Keywords:** (–)-jolkinolide E / manganese(III) acetate oxidation / butenolide annelation.

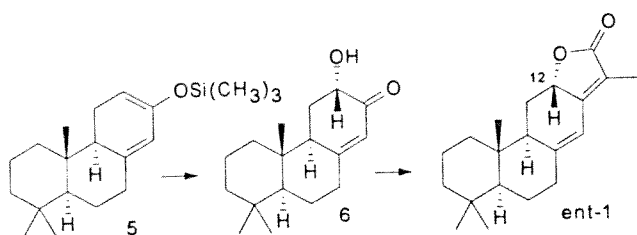
Uemura and Hirata [1] first isolated (+)-jolkinolide E together with jolkinolides A, B, C and D, from *Phorbia Jolkini* Boiss (Euphorbiaceae). The structural assignment for **1** rested on a correlation with (+)-ferruginol and chemical interconversions among related compounds in the jolkinolide family. However, the C-12 $\alpha$ (H) stereochemistry in (+)-jolkinolide E **1** was rigorously established. The C-12 hydrogen in the NMR spectra of jolkinolide C **2** and its dihydrolog **3** appeared as a broad singlet with half-height width of 5 Hz consistent with an equatorial hydrogen, and the conversion of dihydrojolkinolide D **3** to **1** suggested that (+)-jolkinolide E **1** possessed the same C-12 $\alpha$ (H) stereochemistry as shown in structure **1** in scheme 1. Although this evidence supported the assignment of (+)-jolkinolide E as **1**, the epimeric structure remained a possibility. In this connection, we have undertaken a synthesis of jolkinolide E and a detailed study of the <sup>1</sup>H NMR of the naturally occurring mate-



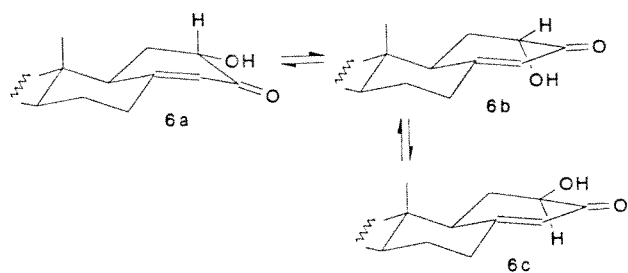
Scheme 1

Subsequent to the report on the isolation of jolkinolide E **1**, Isoe [2] reported a synthesis of (+)-**1** and Nakano [3] reported a synthesis of the enantiomer of the natural product, (–)-jolkinolide E **1**. In both cases, the syntheses ostensibly supported the C-12 $\alpha$ (H) stereochemical assignment originally made by Uemura and Hirata in (+)-jolkinolide E **1** addressing the issue of the C-12 stereochemistry. Both syntheses relied on a stereoselective epoxidation of an intermediate trimethylsilyl enol ether in order to induce a C-12 hydroxyl group. For example, as shown in scheme 2 for Nakano's synthesis [3] of *ent*-**1**, the

epoxidation of the trimethylsilyl enol ether **5** from the less hindered  $\alpha$ -face delivered the  $\alpha$ -ketol **6** which has a C-12 $\alpha$  hydroxyl group. The  $\alpha$ -ketol **6** had <sup>1</sup>H NMR data (C-12 $\beta$  hydrogen at  $\delta$  4.32 with  $J = 6$  and 13 Hz) and CD measurements (negative  $\pi$ - $\pi^*$  at 240 nm; positive  $n$ - $\pi^*$  at 323 nm) that supported a pseudoboat conformation **6a** (scheme 3) for ring C in which the C-12 $\alpha$  hydroxyl group occupied a pseudoequatorial position. Unfortunately, no base-catalyzed equilibration studies were reported, which might have excluded an alternative pseudochair conformation **6c** for ring C in which the C-12 $\alpha$  hydroxyl group occupies a pseudoequato-



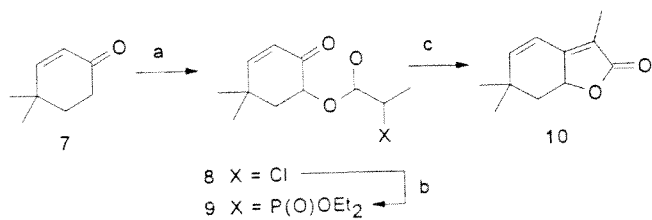
Scheme 2



Scheme 3

rial position. The  $\alpha$ -ketol **6** was subsequently converted to (-)-jolkinolide E **ent-1**, which has spectral data in agreement with **1** but an "equal" but opposite optical rotation: for **1**,  $[\alpha]_D +340$  ( $c = 0.45$ ,  $\text{CHCl}_3$ ); and for **ent-1**,  $[\alpha]_D -306$  ( $c = 3.6$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

On the basis of the supportive but limited data in support of the C-12 $\alpha$ (H) stereochemistry for **1**, we reinvestigated the synthesis of (-)-jolkinolide E **ent-1** using a procedure for the  $\alpha'$ -acyloxylation of enones developed in our laboratories [5,6]. In an initial model study shown in scheme 4, the oxidation of 4,4-dimethylcyclohex-2-en-1-one **7** with four equivalents of manganese(III) acetate in combination with 12 equivalents of  $\alpha$ -chloropropanoic acid furnished the desired  $\alpha'$ -(2-chloropropanoyloxy)enone **8** in good yields as a mixture of diastereomers. The anhydrous manganese(III) acetate used in this oxidation was prepared from manganese(II) nitrate and acetic anhydride and was dried using phosphorus pentoxide under vacuum prior to use. A negligible amount of  $\alpha'$ -acetoxyated enone was also obtained in this reaction (5-6% according to GLPC), but separation of the  $\alpha'$ -acetoxy and  $\alpha'$ -(2-chloropropanoyloxy)ketone **8** was readily accomplished by column chromatography. The Arbuzov reaction of **8** with an excess of triethyl phosphite proceeded

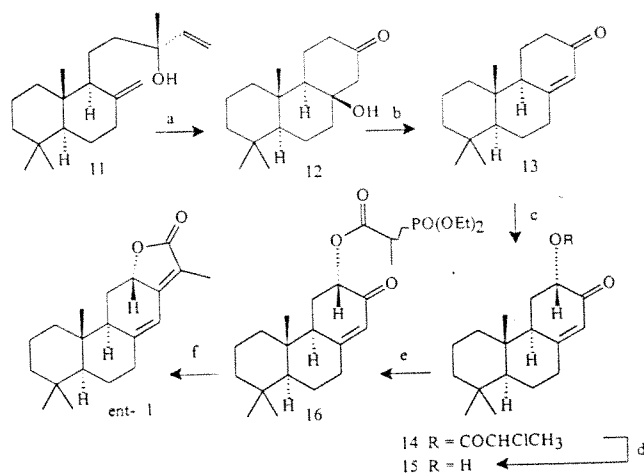


a : 2-chloropropanoic acid,  $\text{Mn}(\text{OAc})_3$ , benzene, reflux (61%);  
b :  $\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3$ , reflux (51%); c :  $\text{NaH}$ , THF, reflux (68%).

Scheme 4

in 51% yields to give the phosphonate **9**. An intramolecular Horner-Emmons cyclization [4] of **9** with sodium hydride in THF gave the desired butenolide **10** in 68% yields.

With the successful completion of this model study, attention was focused on the synthesis of (-)-jolkinolide E **ent-1** using the same procedure. As shown in the scheme 5, the oxidation of (+)-manool **11** with potassium permanganate [7] and the dehydration of the intermediate  $8\beta$ -hydroxypodocarp-13-one **12** gave podocarp-8(14)-en-13-one **13** [8]. The manganese(III) oxidation of **13** using four equivalents of manganese(III) acetate in combination with 12 equivalents of 2-chloropropanoic acid led regioselectively to the  $\alpha'$ -(2-chloropropanoyloxy)enone **14** in 43% yields as a mixture of diastereomers at the acyclic chiral center. The presence of this epimeric mixture at the acyclic position was not a problem since this stereocenter was ultimately removed in the butenolide annelation step.



a :  $\text{KMnO}_4$ , acetone (12%); b :  $\text{H}_3\text{O}^+$ , MeOH, reflux (45%); c : 2-chloropropanoic acid,  $\text{Mn}(\text{OAc})_3$ , benzene, reflux (43%); d : 2 N NaOH, MeOH (87%); e :  $\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3$ , reflux (51%); f :  $\text{NaH}$ , THF, reflux (42%).

Scheme 5

The C-12 stereochemistry of the 2-chloropropanoyloxy group in **14** was uncertain at this point, but was later assigned the  $\alpha$ -orientation on the basis of its conversion to **ent-1**. The  $^1\text{H}$  NMR spectrum of **14** displayed the C-12 $\beta$ (H) hydrogen at  $\delta$  5.30 as a doublet of doublets ( $J_{11\alpha,12\beta} = 14$  Hz and  $J_{11\beta,12\beta} = 7$  Hz, and saponification [9] of **14** provided the  $\alpha'$ -hydroxyenone **15** [7] which also displayed the C-12 $\beta$ (H) hydrogen at  $\delta$  4.23 as a doublet of doublets with similar coupling constants. At this stage, this data would support either the C-12 $\beta$ (H) stereochemistry, in which the enone ring occupies a pseudoboat conformation (eg, the ester of **6a**), or the C-12 $\alpha$ (H) stereochemistry, in which the enone ring occupies a pseudochair conformation (eg, the ester of **6c**).

The initial reaction between the manganese(III) acetate and 2-chloropropanoic acid presumably resulted

mixed manganese(III) complex, which has both ethyl and chloropropionate ligands. This mixed manganese(III) acetate may interact with the enone to form a metal enolate, analogous to the enol-lead triacetate enolate proposed by Corey and Schaefer [10] for the  $\alpha$ -acetoxylation reaction of ketones. Other studies in our laboratories, in which pure manganese(III) carboxylates (eg, manganese(III) propanoate, etc) were used and applied to the oxidation of enones failed to produce the desired  $\alpha$ -acyloxyenones. Several explanations could be advanced to explain these observations. Pure manganese(III) carboxylates that have structures other than acetate may have different structures and hence different reactivities relative to manganese(III) acetate. Mixed manganese(III) carboxylates may have acetate and some other carboxylate ligand present prior to reaction with the enone and possess different reactivity and structure of manganese(III) acetate. Alternatively, manganese(III) acetate may interact with the enone to form a metal enolate, and this acetoxy manganese(III) enolate may subsequently undergo rapid ligand exchange with the excess 2-chloropropanoic acid to give the  $\alpha'$ -(chloropropanoyloxy)enone. Until now the structures of these presumed mixed manganese(III) complexes or even manganese(III) enolates, which thus far have eluded our efforts at crystallization, the explanation for the observed formation of the  $\alpha'$ -(chloropropanoyloxy)enone **14** from enone **13** using manganese(III) acetate and 2-chloropropanoic acid must be regarded as tentative.

Completion of the synthesis of (-)-jolkinolide E **1** involved an Arbuzov reaction of  $\alpha$ -chloroethoxy enone **14** with an excess of triethyl phosphite to give the corresponding phosphonate **16**. The reduction of **16** with sodium hydride in THF gave **1** in 42% yields. The physical and spectral properties of *ent*-**1** were in agreement with values in the literature with the exception of the specific rotation [1,2], which is in full agreement with another report [3] on the basis of the (-)-enantiomer.

A detailed  $^1\text{H}$  NMR study of jolkinolide E *rac*-**1** was undertaken to resolve the stereochemical question at C-12. In the COSY HH NMR spectrum, the H-12 proton at  $\delta$  4.87 displayed three couplings. The assignment of the small, long-range coupling ( $J_{12,18} = 1.5$  Hz) to the vinylic methyl group was obvious. The remaining two couplings to the equatorial H-11e proton at  $\delta$  1.50 and axial H-11a proton at  $\delta$  1.50 were consistent with the general notion that equatorial protons appear in lower fields than axial protons. A detailed analysis of the observed coupling constants, particularly  $J_{9,11e}$  and  $J_{9,11a}$ , with coupling constants calculated from dihedral angles from an MM<sup>+</sup> minimized structure (table I) was only consistent with structure **1**. The coupling constants calculated from dihedral angles from an MM<sup>+</sup> minimized structure for the C-12 epimeric structure **4** gave  $J_{9,11e} = 5.8$  Hz ( $\Phi = 48^\circ$ ) and  $J_{9,11a} = 12.7$  Hz ( $\Phi = 170^\circ$ ) and these values were not in agreement with the observed  $J$  values (table I). In summary, this work has demonstrated the value of a manganese(III) oxidation in the annelation of a butenolide to an enone and, in conjunction with NMR studies, confirmed the structure of (-)-jolkinolide E *ent*-**1**.

**Table I.** A summary of observed and calculated coupling constants and dihedral angles for jolkinolide E **1**.

Proton pair	Dihedral angle ( $\Phi$ )	$J_{\text{calculated}}$	$J_{\text{observed}}$
H-9, H-11a	$34^\circ$	$J_{9,11a} = 8.8$ Hz	$J_{9,11a} = 9$ Hz
H-9, H-11e	$84^\circ$	$J_{9,11e} = 2$ Hz	$J_{9,11e} < 1$ Hz
H-11a, H-11e	—	—	$J_{11a,11e} = 13.9$ Hz
H-11a, H-12	$173^\circ$	$J_{11a,12} = 12.8$ Hz	$J_{11a,12} = 13.3$ Hz
H-11e, H-12	$58^\circ$	$J_{11e,12} = 4.3$ Hz	$J_{11e,12} = 6$ Hz

## Experimental section

### General

All reagents were of commercial quality, and reagent quality solvent were used without further purification. IR spectra were determined on a Philips model PU9700 spectrometer.  $^1\text{H}$  NMR spectra were determined on a Bruker AC 80 MHz FT, AC 200 MHz and Varian 400 MHz FT spectrometers. GC analyses were determined on a HP 5890 gas chromatograph. Mass spectra were obtained on VG Trio2 spectrometer at an ionization energy of 70 eV. Optical rotation values were measured with a Perkin Elmer P241 polarimeter. Elemental analyses were performed at the Middle East Technical University Analysis Center. Molecular mechanics calculations were performed with Hyper Chem software for computational chemistry and molecular modeling from Autodesk.

### 6-[(2-Chloropropanoyl)oxy]-4,4-dimethylcyclohex-2-en-1-one **8**

A mixture of manganese(III) acetate (2.12 g, 10 mmol) and 2-chloropropanoic acid (3.24 g, 30 mmol) in benzene (40 mL) was refluxed for 1 h in a Dean-Stark trap. The mixture was cooled, and compound **7** (0.3 g, 2.5 mmol) was added. The mixture was refluxed for 24 h, cooled to  $25^\circ\text{C}$ , diluted with EtOAc, washed with 1 M aqueous HCl, saturated aqueous  $\text{NaHCO}_3$  and brine, and dried over anhydrous  $\text{MgSO}_4$ . The crude product was chromatographed on preparative thick-layer chromatography silica-gel F-254 plates (EtOAc/hexane 1:3) to afford **8** (0.351 g, 61%) as an oil.

IR (film) : 1730, 1660, 1600  $\text{cm}^{-1}$ .

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  0.97 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.10 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.12-2.24 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 4.52 (q, 1H,  $\text{CHCl}$ ), 5.50 (dd, 1H,  $J = 5.8$  and 12.4 Hz, C-6 H), 5.86 (d, 1H,  $J = 10$  Hz, C-2 vinylic H), 6.70 (d, 1H,  $J = 10$  Hz, C-3 vinylic H).

Anal calc for  $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{O}_3\text{Cl}$  : C, 57.26; H, 6.55. Found : C, 57.56; H, 6.41.

### 6-(2-(Diethoxyphosphinoyl)propanoyloxy)-4,4-dimethylcyclohex-2-en-1-one **9**

A mixture of **8** (0.575 g, 2.5 mmol) and triethyl phosphite (1.3 g, 8 mmol) was refluxed under argon for 3 h. The reaction was monitored by TLC on silica gel (EtOAc/hexane 1:1). During this time, an additional triethyl phosphite (1.3 g, 8 mmol) was added at 1 h intervals. The excess triethyl phosphite was removed by distillation under vacuum, and the residue was chromatographed on preparative thick-layer chromatography silica-gel F-254 plates (EtOAc/hexane 1:1) to afford **9** (0.423 g, 51%) as an oil.

IR (film) : 1730, 1660, 1610, 1200  $\text{cm}^{-1}$ .

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.99 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.03 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.12-1.40 (m, 6H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ , 2  $\text{CH}_3$ ), 1.98 (d, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.10-2.24 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.85-4.32 (m, 5H,  $\text{OCH}_2$ , 2  $\text{CH}_2$ , CH), 5.41 (m, 1H, C-6 H), 5.86 (d, 1H,  $J = 10$  Hz, C-2 vinylic H), 6.61 (d, 1H,  $J = 10$  Hz, C-3 vinylic H).

MS (EI, 70 eV)  $m/e$  332 ( $\text{M}^+$ ).

### 3,6,6-Trimethyl-7,7a-dihydrobenzofuran-2(6H)-one 10

To a suspension of NaH (0.096 g, 4 mmol) (washed with pentane) in anhydrous THF (25 mL) at  $25^\circ\text{C}$  under argon was added **9** (0.83 g, 2.5 mmol) dropwise. The mixture was refluxed for 1 h. The reaction was quenched with  $\text{H}_2\text{O}$  and extracted with EtOAc. The organic layer is washed with brine and dried over anhydrous  $\text{MgSO}_4$ . The residue was chromatographed on preparative thick-layer chromatography silica-gel F-254 plates (EtOAc/hexane 1:5) to afford **10** (0.303 g, 68%) as an oil.

IR (film): 1770, 1750, 1610  $\text{cm}^{-1}$ .

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.08 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.21 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.08 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.14-2.23 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 5.45-5.65 (m, 1H, CH), 5.81 (d, 1H,  $J = 9$  Hz, C-4 H), 6.54 (d, 1H,  $J = 9$  Hz, C-5 H).

Anal calc for  $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_2$ : C, 74.12; H, 7.90. Found C, 74.46; H, 8.02.

### $\beta$ -Hydroxy podocarpin-13-one 12

The procedure of Grant and Hodges [7] was repeated using (+)-manool **11** (10.4 g, 36 mmol) in acetone (40 mL) and potassium permanganate (31.6 g, 200 mmol) to give **12** (1.1 g); mp  $202\text{--}203^\circ\text{C}$  (lit:  $204\text{--}205^\circ\text{C}$  [7]).

### Podocarp-8(14)-en-13-one 13

To compound **12** (0.8 g, 3 mmol) in methanol (10 mL) was added sulfuric acid (4 mL). The solution was refluxed for 30 min and cooled to  $25^\circ\text{C}$ . The product was extracted with ether and purified by column chromatography on silica gel (pentane/ether 20:1) to afford **13** (0.32 g, 45%); mp  $62\text{--}64^\circ\text{C}$  (lit:  $64\text{--}66^\circ\text{C}$  [7]).

### 12 $\alpha$ [(2-Chloropropanoyl)oxy]podocarp-8(14)-en-13-one 14

A mixture of manganese(III) acetate (1.06 g, 5 mmol) [5,6] and 2-chloropropanoic acid (1.62 g, 15 mmol) in benzene (30 mL) was refluxed for 1 h under a Dean-Stark trap. The mixture was cooled to  $25^\circ\text{C}$ , and enone **13** (0.307 g, 1.25 mmol) was added. The mixture was refluxed for 12 h and was cooled to  $25^\circ\text{C}$ . The product was diluted with EtOAc, washed successively with 1 M aqueous HCl solution, saturated sodium bicarbonate solution, and brine, and dried over anhydrous  $\text{MgSO}_4$ . The crude product was chromatographed on preparative layer Merck silica gel PF-254 plates (EtOAc/hexane 1:10) to afford **14** (0.255 g, 58%). Recrystallization (EtOAc/hexane) gave **14** (0.189 g, 43%); mp  $164\text{--}166^\circ\text{C}$ .

IR (KBr): 1780, 1660, 1610  $\text{cm}^{-1}$ .

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.88 (s, 3H, C-10  $\text{CH}_3$ ), 0.92 (s, 3H, C-4  $\text{CH}_3$ ), 1.04 (s, 3H, C-4  $\text{CH}_3$ ), 1.72 (d,  $J = 7.3$  Hz, 3H,  $\text{CHCl}(\text{CH}_3)$ ), 4.51 (q,  $J = 7.3$  Hz, 1H,  $\text{CHCl}(\text{CH}_3)$ ), 5.30 (dd, 1H,  $J = 14$  Hz and 7 Hz, C-12 H), 5.91 (br s, 1H, vinylic H).

MS (EI, 70 eV)  $m/e$  352 ( $\text{M}^+$ ).

### 12 $\alpha$ -Hydroxy podocarp-8(14)-en-13-one 15

A literature procedure [8] was repeated using **14** (0.035 g, 0.1 mmol) and 2 N NaOH (2 mL) in MeOH to give **15** (0.021 g, 87%; mp  $132\text{--}133^\circ\text{C}$  (lit [3] mp  $134\text{--}136^\circ\text{C}$ ).

IR (KBr): 3400, 1670, 1610  $\text{cm}^{-1}$ .

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CCl}_4$ ):  $\delta$  0.88 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 0.93 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.03 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.40 (br s, 1H, OH), 4.21 (dd, 1H,  $J = 13$  Hz and 6 Hz, C-12 H), 5.81 (br s, 1H, vinylic H).

Anal calc for  $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_2$ : C, 77.82; H, 9.99. Found C, 77.94; H, 10.23.

### 12 $\alpha$ -[2-(Diethoxyphosphinoyl)propanoyloxy]podocarp-8(14)-en-13-one 16

A mixture of **14** (0.35 g, 1.0 mmol) and triethyl phosphite (1.3 g, 8 mmol) were refluxed under argon for 2 h. The reaction was monitored by TLC (silica gel/ether) and during this time, an additional triethyl phosphite (1.3 g, 8 mmol) was added at 1 h intervals. The excess of triethyl phosphite was removed by distillation under vacuum, and the residue was chromatographed on preparative thick-layer chromatography silica-gel F-254 plates ( $\text{Et}_2\text{O}$ ) to afford **16** (0.231 g, 51%) as a semi-solid.

IR (film): 1720, 1650, 1600, 1200  $\text{cm}^{-1}$ .

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.88 (s, 3H, C-10  $\text{CH}_3$ ), 0.95 (s, 6H, 2 C-4  $\text{CH}_3$ ), 1.26 (t,  $J = 8$  Hz, 3H,  $\text{CHCH}_3$ ), 1.30-1.33 (m, 6H, 2  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 3.86-4.15 (m, 4H, 2  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 5.20-5.22 (m, 1H, CH), 5.81 (s, 1H, vinylic H).

MS (EI, 70 eV)  $m/e$  454 ( $\text{M}^+$ ).

### (-)-Jolkinolide E ent-1

To a suspension of sodium hydride (0.036 g, 1.5 mmol) (washed with pentane) in anhydrous THF (6 mL) was added **16** (0.30 g, 0.66 mmol). The mixture was refluxed for 30 min. The mixture was cooled, quenched with 5% HCl solution, and extracted with chloroform. The organic layer was washed with water, dried over anhydrous  $\text{MgSO}_4$ , and the residue was chromatographed on preparative thick-layer chromatography silica-gel F-254 plates (EtOAc/hexane 1:5) to afford *ent*-**1** (0.083 g, 42%); mp  $188\text{--}190^\circ\text{C}$  (lit [2]  $192\text{--}194^\circ\text{C}$ ).  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -293.5$  ( $c = 2.1$ ;  $\text{CHCl}_3$ ), (lit [3]  $[\alpha]_{\text{D}} = -306$  ( $c = 3.6$ ,  $\text{CHCl}_3$ )).

IR (KBr): 1760, 1640  $\text{cm}^{-1}$ .

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.85 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 0.91 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 0.93 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.83 (broad s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.56 (dd, 1H,  $J = 9$  Hz and 1 Hz, C-9 H), 4.87 (dd, 1H,  $J = 13.3$  Hz and 6 Hz, C-12 H), 6.26 (broad s, 1H,  $J = 1$  Hz, C-14 H).

$^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , (400 MHz):  $\delta$  8.26 (C-10  $\text{CH}_3$ ), 16.82 (C-4  $\text{CH}_3$ ), 19.08, 21.79 (C-4  $\text{CH}_3$ ), 23.90, 27.56, 33.58 and 41.64 (C-4 and C-10), 33.87 (C-15  $\text{CH}_3$ ), 37.19, 39.67, 41.95, 51.92 (C-5), 55.31 (C-9), 76.03 (C-12), 113.92 (C-14), 116.22 (C-13), 152.29 (C-15), 156.25 (C-8), 175.36 (C-16).

MS (EI, 70 eV)  $m/e$  300 ( $\text{M}^+$ ).

### Acknowledgments

We thank the Middle East Technical University for grant (No. AFP 1993) and the Scientific and Research Council of Turkey (TBAG). We also thank the North Atlantic Treaty Organization (Grant 880346-D2). We thank Prof DS Watt helpful discussions, Dr S Arseniyadis for computer simulations, Prof SL Smith and WC Layton (University of Kentucky) for NMR spectra.

## ences

- mura D, Hirata Y, *Chem Lett* (1974) 819
- tsumura S, Isoe S, *Chem Lett* (1982) 1689;  
tsumura S, Kimura A, Isoe S, *Tetrahedron* (1989)  
1337
- kano T, Aillo MA, *J Chem Res (S)* (1985) 268
- novan SF, Avery MA McMurry JE, *Tetrahedron Lett*  
(1979), 3287
- demir AS, Jeganathan A, Watt DS, *J Org Chem* (1989)  
4020; Demir AS, Camkerten N, Akgun H, Tanyeli C,  
ahsneh AS, Watt DS, *Synth Commun* (1990) 20,  
79; Demir AS, Sayrac T, Watt DS, *Synthesis* (1990)  
19; Demir AS, Akgun H, Tanyeli C, Watt DS *Syn-*  
*thesis* (1991) 719
- 6 For a review see, Demir AS, Jeganathan A, *Synthesis*  
(1992) 235
- 7 Grant PK, Hodges R *J Chem Soc* (1960) 5274;  
Schenk HR, Gutmann H, Jeger O, Ruzicka L, *Helv*  
*Chim Acta* (1952) 35, 817; Scheidegger U, Schaffner K,  
Jeger O *Helv Chim Acta* (1962) 45, 400; Bevan CWL,  
Ekong DEU, Okogun JI, *Chem Soc C* (1968) 1067;  
Hugel G, Oehlschlager AC, Ourisson G, *Tetrahedron*  
(1966) Suppl 8, Part I, 203
- 8 Church RF, Ireland RE, Marshall JA *J Org Chem*  
(1966) 31, 2526
- 9 Plattner JJ, Gless RD, Rapoport H, *J Am Chem Soc*  
(1972) 94, 8613; Liang S, Paquette LA, *Tetrahedron :*  
*Asymmetry* (1990) 1, 445
- 10 Corey EJ, Schaefer JP, *J Am Chem Soc* (1960) 82, 918

## BİYOGRAFİK BİLGİ FORMU

Proje No: TBAG 1204

2- Rapor Tarihi: 1.11.1995

Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri: 1 Kasım 1993 - 31 Ekim 1995

Projenin Adı: Enzimatik Yöntemlerle Biyoaktif Maddelerin Enansiyoseçici Sentezleri

Proje Yürütücüsü ve Yardımcı Araştırmacılar: Prof.Dr.Ayhan S.Demir  
Yardımcı Araştırmacı : Doç.Dr.Cihangir TanyeliProjenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi: Orta Doğu Teknik Üniversitesi  
Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü  
06531 Ankara

Destekleyen Kuruluş(ların) Adı ve Adresi: -

Özet (Abstract):

## ÖZ

$\alpha,\beta$ - Doymamış enonlar Mangan (III) asetat ile okside edilerek  $\alpha'$ -asetoksi enonlar % 70- 87 verimle elde edilmişlerdir. Bu enonlar daha sonra LiOH ile hidroliz edilerek rasemik  $\alpha'$ -hidroksi türevlerine % 68-80 verimle çevrilmişlerdir.  $\alpha'$ -Asetoksi enonlar aynı zamanda hidrolaz tipi enzimler olan Pseudomonas Lipaz 30 ve PLE ile seçici olarak hidrolize edilmiştir. PLE ile yapılan hidrolizlerde verim Pseudomonas Lipaz 30 ile yapılabildiğine göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir (optik verim %88-96 kimyasal verim % 36-43 olarak bulunmuştur). Optik verimler rasemik ve kiral hidroksi enonların Mosher türevleri, asetil laktik asit türevleri nin NMR spektrumları ve GC analizleri ile belirlenmiştir. Bu yöntem daha sonra (-)-Mint lakton ve (-)- Jolkinolid E nin sentezinde kullanılmıştır. Mint laktonun kimyasal sentezi gerçekleştirilmiş ancak asimetrik sentezinde izomerlerin ayırımında sorunlar çıkmış ve değişik yöntemler denenmesine rağmen mint laktonun optik saf isomeri sentezlenememiştir. Jolkinolid E nin sentezi için önce gerekli başlangıç maddesi olan triçiklik enon Manool dan başlanarak elde edilmiştir. Bu enon daha sonra Mangan (III) asetat oksidasyonu ile kloropropiyonik asit kullanılarak  $\alpha'$ -kloropropiyoniloksi türevine dönüştürülmüştür. Daha sonra bu bileşiğin enzim hidrolizi (Pseudomonas lipaz p-30 ve PLE kullanılarak) ile elde edilen hidroksi ve kloropropiyoniloksi enonlar ayrılarak karakterize edilmiştir. Bu enonlarla trietilfosfit kullanılarak Arbuzov reaksiyonları yapılmış bunlarında çiklizasyonu ile de Jolkinolid E nin sentezi gerçekleştirilmiştir. Yapılan deneyler triçiklik enon un oksidasyonunun seçici olarak yürütüldüğünü göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Mangan (III) asetat oksidasyonu, Biyokatalizörler, Enansiyoseçici hidroliz, Enzim reaksiyonları

Anahtar Kelimeler:

Proje ile ilgili Yayın/Tebliğlerle ilgili Bilgiler Bull.Soc.Chim.Fr.1995.132, 423-427

Bilim Dalı:

Fen Bilimleri Dalı Kodu: 405.02.00

ISIC Kodu:

Uzmanlık Alanı Kodu: 405.02.01

- Etütünü (\*) :  Sınırlı Sınırsız

- Raporun Gizlilik Durumu :

 Gizli Gizli Değil

Raporun Sınai Raporunun İdaresini İsto. İşiniz Kurum ve Kuruluşları Ayrısı Belirleriz