

TARTU ÜLIKOOL

Loodus- ja täppisteaduste valdkond

Keemia instituut

Analüütilise keemia õppetool

Filips Petuhovs

**Karbasoolil põhinevate makrotsükliliste retseptorite süntees
kasutades takistatud ureasideme dünaamilist meetodit**

Bakalaureusetöö (12 EAP)

Keemia

Juhendaja(d): Alo Rüütel, PhD

Anton Mastitski, PhD

Ivo Leito, PhD

Tartu 2023

Kasutatud lühendid

Ac – atsetüül ($-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$)

Boc – *tert*-butoksükarbonüül

CDI – karbonüüldiimidiasool

COSMO-RS – *COnductor like Screening MOdel for Real Solvents*

DCM – diklorometaan

DMEDA – 1,2-dimetüületüleendiamiin

DMF – *N,N*-dimetüülformamiid

DMSO – dimetüülsulfoksiid

ekv – ekvivalent

Et – etüül ($-\text{CH}_2\text{CH}_3$)

ESI – elektropihustusionisatsioon

FGI – *functional group interconversion* (funktsionaalrühma muundamine)

HPLC – kõrgefektiivne vedelikkromatograafia

K_{af} – afiinsuskonstant

K_d – dissotsiatsioonikonstant

LDA – liitiumdiisopropüülamiid

Me – metüül ($-\text{CH}_3$)

n-Bu – *n*-butüül ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$)

NOESY – tuuma Overhauseri efekti spektroskoopia

OTf – trifluorometaansulfonaat ($-\text{OSO}_2\text{CF}_3$)

PTLC – preparatiivne õhukese kihi kromatograafia

TBTA – *tert*-butüül 2,2,2-trikloroatsetimidaat

TLC – õhukese kihi kromatograafia

TUM – takistatud ureasidemega makrotsükkel

TUS – takistatud ureaside

t-Bu – *tert*-butüül ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$)

TFA – trifluoroäädikhape

Sisukord

Kasutatud lühendid.....	2
Sissejuhatus.....	4
1. Kirjanduse ülevaade.....	5
1.1 Supramolekulaarkeemia.....	5
1.2 Karbasoolretseptorid.....	6
1.3 Supramolekulaarühendite süntees ja dünaamiline kovalentkeemia.....	7
1.4 Takistatud ureasidemega makrotsükli (TUM) süntees.....	9
2. Eksperimentaalne osa.....	12
2.1 Kasutatud töövahendid.....	12
2.2 Sünteesistrateegia.....	14
3. Tulemused ja arutelu.....	17
3.1 Asendatud bis(karbasolüül)uurea sünteesiraja optimeerimine.....	17
3.2 Bis(karbasolüül)uurea N-alküülimine.....	18
3.3 Alternatiivsed sünteesirajad.....	21
4. Kokkuvõte.....	24
5. Summary.....	26
6. Kasutatud kirjandus.....	27
7. Lisad.....	30
Lisa 1. Sünteesiprotokollid.....	30
Lisa 2. <i>Tert</i> -butüülimisreaktsioonide lisaandmed.....	35
Lisa 2. ¹ H TMR spektrid.....	36
Lisa 3. Massispektrid.....	46
Lisa 4. Pildid.....	51
8. Infoleht.....	57
9. Lihtlitsents.....	58

Sissejuhatus

Bis(karbasolüül)uureal põhinevad anioonretseptorid on üks väheseid retseptorite tüüpe, mida on kasutatud elektrokeemiliste sensorite arenduses ionofooridena karboksülaat- ja fosfaatioonselektiivsete elektrootide membraanides. Need ioonid on olulised elusorganismide metabolismis ning ravimi- ja toiduainetööstuses kasutatavate koostisosadena. Seetõttu on nende täpne eristamine ja määramine analüütilises keemias huvipakkuv teema.

Varasemates uuringutes on sünteesinud arvukalt bis(karbasolüül)uureal põhinevaid retseptoreid ja uurinud nende seondumisomadusi. Siiski on retseptormolekulide sünteesisaagised jäänud suhteliselt madalale tasemele. See piirab nende tootmist suuremates kogustes väljaspool laborit. Seetõttu on enne retseptorite kommertsialiseerimist oluline optimeerida sünteesimetoodikat. See tagaks kõrgemad saagised ning minimeeriks summaarse sünteesi hinna ja jäätmete hulga.

Dünaamiline kovalentkeemia pakub uusi võimalusi makrotsükliliste retseptorite sünteesi optimeerimiseks. See lähenemine hõlmab kineetilist ja termodünaamilist kontrolli, mis võimaldavad sünteesiprotsessi täpsemat juhtimist. Kineetiline kontroll hõlbustab makrotsükliliste retseptorite moodustumist madalamatel kontsentratsioonidel, kuid sageli kaasnevad sellega madalad saagised ja tülikad puhastusprotsessid. Teisalt võimaldab termodünaamiline kontroll saavutada sünteetilisi tasakaalusid, mis aitavad suurendada saagiseid ja optimeerida sünteesiprotsessi.

Bakalaureusetöö eesmärgid on järgmised:

- Uurida, kuidas on võimalik rakendada dünaamilise takistatud uureasideme meetodit bis(karbasolüül)uureal põhinevate makrotsüklite sünteesimiseks;
- arendada ja hinnata baasartiklil põhinevat makrotsüklite sünteesistrateegiat;
- võrrelda uuritava meetodi efektiivsust sünteesiaegade ja saagiste osas varasemate tööühmas kasutatud meetoditega.

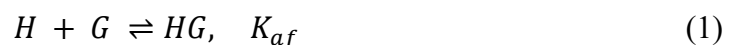
1. Kirjanduse ülevaade

1.1 Supramolekulaarkeemia

Supramolekulaarkeemia uurimisobjektid on sünteetilised või looduslikud ained, mis on võimelised mittekovalentse vastastikmõju kaudu moodustama kahe või enama molekuli assotsiaate [1]. Selliseid assotsiaate nimetatakse ka võõrustaja-külalise kompleksideks. Need koosnevad substraatmolekulist või -ioonist ning retseptormolekulist [2]. Interaktsioonide hulgast on kõige rohkem vaadeldud vesiniksidemeid, mis mängivad olulist rolli anioonide seondumisel. Teised jõud, mis samuti mõjutavad kompleksimoodustumist, on laeng-laeng interaktsioonid, laeng-dipool interaktsioonid, π - π interaktsioonid ning solvendiefektid [3].

Kaks põhilist omadust, mille järgi arendatakse uusi sünteetilisi retseptoreid, on nende seondumisvõime ning transpordivõime. Tugeva seondumisvõimega retseptorid leiavad rakendust analüütilistel eesmärkidel ning peamised kriteeriumid, mida arvestatakse nende välja töötamisel, on seondumise tugevus või efektiivsus, seondumise selektiivsus ja lahustuvus keskkonnas, kus neid kasutatakse. Transpordiks kasutatavad retseptormolekulid peavad samuti siduma iooni selektiivselt ja piisava tugevusega, kuid mitte nii tugevasti, et seda ei saaks pärast retseptori küljest eemaldada. Samamoodi peavad hästi lahustuma nii vaba retseptor kui ka retseptori kompleks iooniga transportimise keskkonnas [4].

Seondumise efektiivsus on tavaliselt kvantifitseeritud läbi suuruse, mida nimetatakse afiinsuskonstandiks või seondumiskonstandiks. Afiinsuskonstant on kompleksi moodustumise reaktsiooni



tasakaalukonstant. See suurus väljendab kui termodünaamiliselt stabiilne on retseptormolekuli ja seonduva osakese kompleks, ning seda arvutatakse retseptormolekuli (H), seonduva osakese (G) ja nende kompleksi (HG) aktiivsuste kaudu tasakaaluolekus järgmiselt:

$$K_{af} = \frac{a_{HG}}{a_H a_G} \quad (2)$$

Retseptor-ligand kompleksi lagunemisreaktsiooni tasakaalukonstanti nimetatakse dissotsiatsioonikonstandiks ning see on defineeritud kui afiinsuskonstandi pöördväärtus [5].

Supramolekulaarses iontranspordis on dissotsiatsioonikonstant olulisem ja rohkem kasutatav parameeter.

$$K_d = \frac{1}{K_{af}} = \frac{a_H a_G}{a_{HG}} \quad (3)$$

Peamised eksperimentaalsed meetodid, mille abil määratakse retseptorite afiinsuskonstante, on kalorimeetrilised, potentsiomeetrilised, UV-Vis spektroskoopilised ja TMR-meetodid [6].

1.2 Karbasoolretseptorid

Anioonide retseptorite disainil vaadeldakse kõige sagedamini funktsionaalrühmi, mis saavad käituda vesiniksideme doonoritena [7]. Tavalised lähteained on NH rühma sisaldavad heterotsüklilised ühendid, näiteks indoolid, karbasoolid, indolokarbasoolid või biindoolid. Heterotsükliliste struktuurelementide ühendamiseks kasutatakse sageli amiid- või uureafragmente. Amiidrühma, uurea ja karbasooli lämmastikud ning aromaatses tuuma prootonid toimivad vesiniksidemete doonoritena, aidates eriti efektiivselt stabiliseerida anioone, mis sisaldavad negatiivse ja suhteliselt lokaliseeritud laenguga rühmi. Näide sellistest anioonidest on karboksülaatanioonid [8].

Et karboksülaatide retseptoriteks saavad olla nii makrotsüklilised molekulid kui ka atsüklilised ühendid, on nende kahe kategooria eristamine sageli peen ja mõnevõrra kunstlik. Anioonide retseptorite puhul on vesiniksideme doonorite soodsa konformatsiooni ja paigutuse saavutamine kriitiline. Arvukad atsüklilised retseptorid on tõestanud end küllaltki efektiivsete anioonide sidujatena [7]. Katioonide ja anioonide komplekseerijate vahel ilmneb erinevus, mida tuntakse kui makrotsüklilist efekti [4]. Eriti sfääriliste katioonide jaoks on makrotsüklilised retseptorid oluliselt tõhusamad kui nende atsüklilised analoogid tänu suuremale eelorganiseeruvusele [9]. Eelorganiseerumise põhimõte väidab, mida paremini on võõrustaja- ja külaliskemolekuli geomeetria enne komplekseerumist vastastikku sobivaks organiseeritud, seda stabiilsem on nende vahel moodustuv kompleks [10].

Makrotsüklid on eelorganiseerumise idee ja võimaluste selge näide. Nende eripärad, tihti seotud eelorganiseeruvusega, võimaldavad neid kasutada mitmesugustes rakendustes. Ent nende süntees, mille juurde kuulub makrotsükliseerimise etapp, võib olla üpris keeruline. Võib olla vaja keerukaid

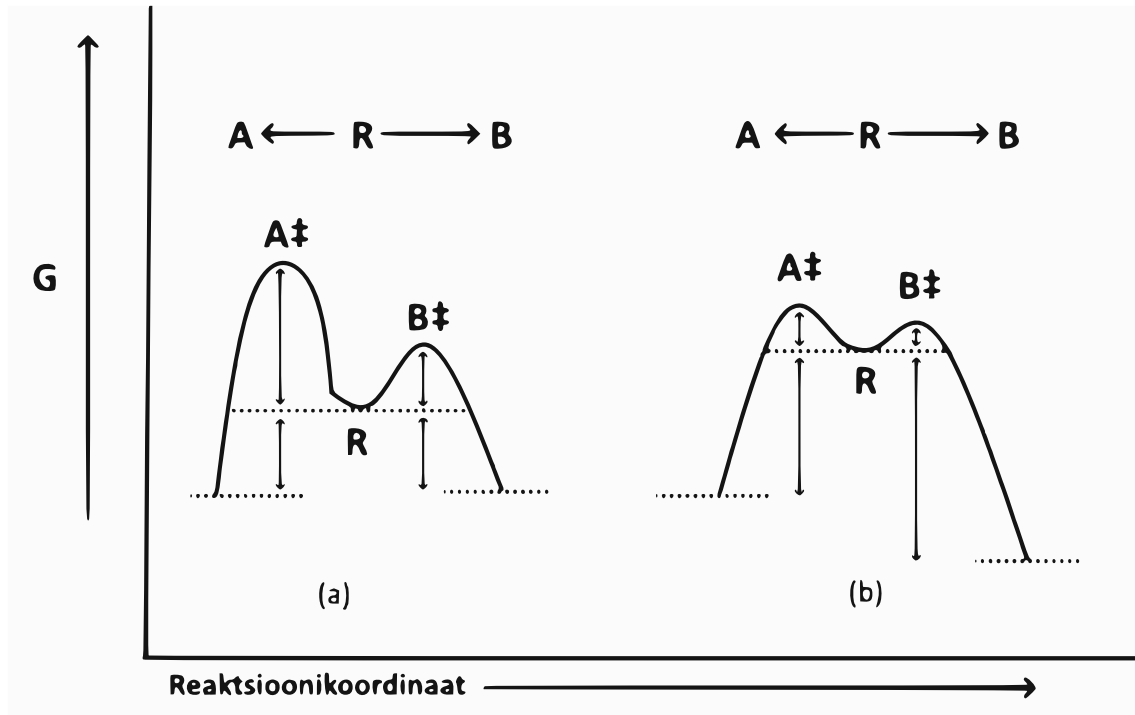
ja pikki sünteesiradu, et saada kõrge saagisega makrotsüklilisi ühendeid. Sellised sünteetilised piirangud on kompromissiks, mida tuleb teha lõpliku struktuuri suurema eelorganiseeruvuse saavutamiseks [11].

Varasemas uuringus [12] on võrreldud erinevaid tetra-, tri- ja bidentaatsed karbasoolil põhinevaid retseptoreid, mis erinevad üksteisest vesiniksideme doonorühmade arvu poolest. Seondumise efektiivsust ehk seondumisomadusi on hinnatud afiinsuskonstantide põhjal valitud karboksülaatioonide suhtes, mida mõõdeti tuumamagnetresonants-spektroskoopia meetodil. Selgus, et seondumise efektiivsust mõjutavad enim vesiniksidemete doonorite arv ning nende omavaheline ruumiline paigutus retseptormolekulis. Bi- ja tridentaatsed karbasool- ja indolokarbasoolretseptorid näitasid keskmisi seondumisomadusi kas ebasoodsa geomeetria või lämmastiku prootoni nõrga vesiniksideme-donoorsuse tõttu. Tetradentaatsed bis(karbasolüül) ja bis(indolüül) struktuurühikutel põhinevad molekulid näitasid hoopis tugevamaid seondumisi. Arvutuskeemilise meetodi COSMO-RS abil modelleerimine näitas, et sellised molekulid moodustasid karboksülaatioonidega planaarseid koordinatsioonühendeid minimaalse molekulisese takistusega [13]. Lisaks leiti, et nende molekulide afiinsused olid uuritud ionide suhtes kõrgeimad. Retseptori ja aniooni kompleksi moodustumist mõjutavad oluliselt ka mittepolaarsed asendusrühmad, mis võivad anda lisainteraktsioone seonduva molekuliga. See annab võimalusi bis(karbasolüül)uurea derivatiseerimiseks ning uute retseptorite loomiseks.

1.3 Supramolekulaarühendite süntees ja dünaamiline kovalentkeemia

Reaktsioonisegu lõppkoostis, st millised ained sünteesi käigus tekivad, on eelkõige määratud tekkivate ainete kahe omadusega: energeetiline stabiilsus ja reaktsioonivõime. Seega eristatakse keemilises sünteesis kahte strateegiat, mille järgi teostatakse reaktsioone: termodünaamiline ja kineetiline kontroll (**Skeem 1**). Kui reaktsioonisegu lõppkoostis on määratud eeskätt reaktsiooni vabaenergia vähenemisega ($\Delta G < 0$), räägitakse termodünaamilisest kontrollist. Termodünaamiline kontroll on võimalik pöörduvate reaktsioonide korral ehk nendel juhtudel, kui reaktsiooni siirdeseisundi energia on piisavalt madal. Sel juhul on võimalik kiire üleminek lähteainest saaduseni ja vastupidi. Lõppsegus domineerib sel juhul termodünaamiliselt kõige stabiilsem aine, ehk saadus millel on väikseim vabaenergia. Mittepöörduva reaktsiooni korral mängib reaktsiooni vabaenergia muutust olulisemat rolli pärisuunalise reaktsiooni

aktivatsioonienergia. Kineetilise kontrolli korral on reaktsioonisegu lõppkoostis määratud paralleelselt kulgevate pörsuunaliste reaktsioonide kiiruskonstantide suhtega ning segus domineerib saadus, mis tekib kõige kiiremini [14].



Skeem 1. (a) Reaktsiooni kineetiline kontroll, saaduste vabaenergiad on peaaegu samad ning protsesside aktivatsioonienergiad on suuremad. (b) Reaktsiooni termodünaamiline kontroll, siirdeoleku energiad on väikesed ning on olulised saaduste vabaenergiad.

Makrotsükliiliste ühendite sünteesis on enam levinud reaktsioonide kineetiline kontroll, mis saavutatakse näiteks makrotsükliilise ühendi moodustumisega ümber templatmolekuli või kasutades ülilahjasid reaktsioonisegusid [15]. Kõrgemate kontsentratsioonidega lahustes on rohkem soodustatud polümerisatsiooni produktide moodustumine. Seevastu tsükliiseerimisreaktsioone toimub rohkem madalamatel kontsentratsioonidel, mis on saavutatud kas suure solventikogusega või aeglase reagentide lisamisega segamisel [16]. Hoolimata selle meetodika laialdasest kasutamisest, on see madala saagise ja keeruliste puhastusprotsesside tõttu väheefektiivne [17].

Viimasel ajal järjest sagedamini [18–20] kasutatakse uut lähenemist supramolekulaarretseptorite sünteesis, mida nimetatakse dünaamiliseks kovalentkeemiaks. Dünaamilise kovalentkeemia

põhimõte on viia reaktsioon läbi termodünaamilise tasakaalu tingimustes, mille juures lähteaine ja saadused saavad pöörduvalt ja piisavalt kiiresti üksteiseks muunduda. Dünaamilise kovalentreaktsiooni eeltingimuseks on kiired kovalentsidemete moodustumise reaktsioonid, et protsess saaks olla dünaamiline. Samas peavad moodustuvad sidemed terveks jääma piisavalt kauaks, et tekkinud tasakaalutingimustes aineid saaks määrata ning eraldada reaktsioonisegust. Reaktsioon peab toimuma pehmetes tingimustes ja süsteemi dünaamilisus peab olema kergesti peatav. Peatamine võib toimuda näiteks keskkonna pH muutmise või mingi komponendi funktsionaalsuse muutmise kaudu, näiteks redoksreaktsiooni või hüdrolyüsi tagajärjena.

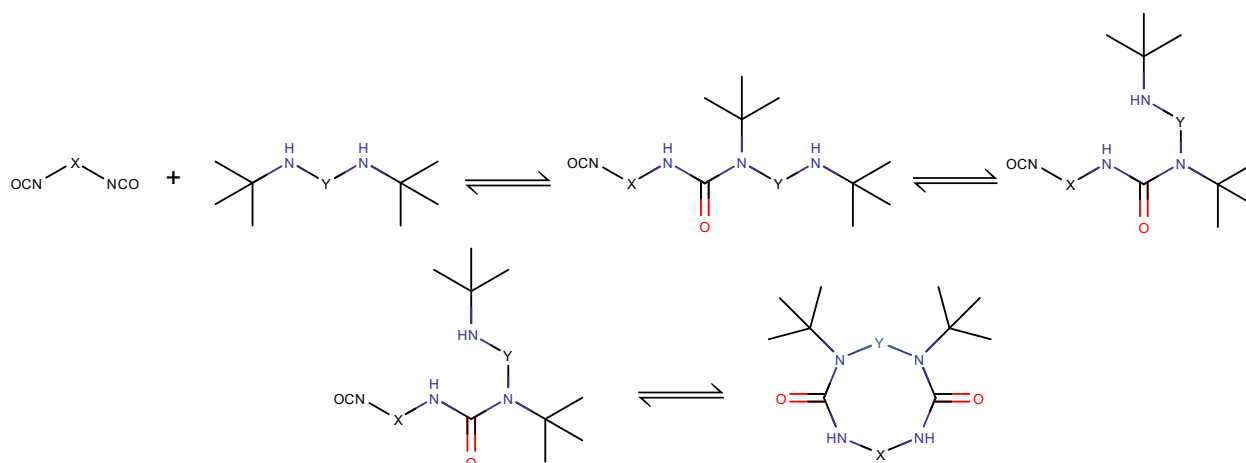
Dünaamilised kovalentreaktsioonid võivad olla kahte tüüpi. Esimene tüüp on vahetusreaktsioonid, kus kahe või enam komponendi sarnased osad üksteist välja vahetavad ning sidemetüübid ei muutu, näiteks estrite või amiidide vahetusreaktsioonid. Teine tüüp on uue dünaamilise kovalentsideme tekkereaktsioonid, mis võivad toimuda kondensatsiooni (aldoolkondensatsioon) või liitumisreaktsiooni (Diels-Alder'i reaktsioon) käigus. Käesolevas töös käsitletakse teist tüüpi dünaamilist kovalentreaktsiooni, kus moodustatakse uus dünaamiline C-N side [21].

Saaduste tekkimine toimub dünaamilises kovalentreaktsioonis termodünaamilise kontrolli all, seega reaktsioonisegu lõppkoostis sõltub segu komponentide termodünaamilisest stabiilsusest. Üheks võimaluseks, kuidas saab saaduste stabiilsust kontrollida on lisada lähteainetele selliseid struktuurelemente, mis stabiliseerivad eelistatud saadust ja samas nihutavad reaktsiooni tasakaalu selle saaduse tekkimise suunas [22]. Need elemendid võivad olla kas steriliselt mahukad asendajad, elektrondonoorsed ja aktseptoorsed funktsionaalrühmad või kaitsvad rühmad.

1.4 Takistatud ureasidemega makrotsükli (TUM) süntees

Yang *et al.* artiklis [23] tutvustatakse dünaamilise takistatud ureasideme (TUS) kasutamist urea-põhiste makrotsükli konstrueerimiseks kõrge efektiivsusega, saavutades peaaegu kvantitatiivsed saagised kõrgetel reagentide kontsentratsioonidel. *N-tert*-butüülrühm on protsessis kriitiline, kuna soodustab makrotsükli moodustumist ning pakub kineetilist kontrolli ja võimalikku termodünaamilist stabiliseerimist. Tänu sellele on võimalik saada makrotsükli peaaegu kvantitatiivse saagisega.

Vaatleme näitena uurearühma lihtsamat analoogi – amiidrühma. Amiidrühmas on lämmastikuaatomi vaba elektroonpaar delokaliseeritud ning C-N side on resonantsis karbonüülrühmaga. Tänu sellele on amiidsidemel kaksiksidemele iseloomulikke omadusi, näiteks raskendatud üleminek *cis*- ja *trans*- konformeeride vahel. Mono-*N*-asendatud amiidide puhul on energeetiliselt soodsam *trans*-vorm, kuna sel juhul on madalam steeriline pinge kahe alküülrühma vahel. *N,N*-diasendatud ühendite puhul võivad moodustuda nii *cis*- kui ka *trans*- konformeerid sõltuvalt asendusrühmade mõõtmetest [24]. Amiid- või uureasideme tekkimisel on võimalik kasutada steeriliselt mahukat *tert*-butüülrühma, mis soodustab *cis*-vaheühendi (**Skeem 2**) teket. Iga uureasideme lisandumise korral pöörab molekul end nii, et *tert*-butüülrühmad asetsevad moodustuva makrotsükli välimises osas. Selline intramolekulaarne vastastikmõju vähendab märkimisväärselt siirdeoleku energiat, mistõttu toimub makrotsükli moodustumine termodünaamilise kontrolli all ja lõpptulemusena moodustub tsükliline struktuur.



Skeem 2. TUS pööre.

Tert-butüülrühmade roll selles reaktsioonis ei piirdu ainult reaktsiooni kineetika modifitseerimisega, vaid need muudavad ka lõppsaaduse termodünaamiliselt stabiilseks. Artiklis esitatud eksperimentide kohaselt saadi termodünaamilise tasakaalu tingimustes peamiselt ühte tüüpi TUM-i, mis näitab, et reaktsiooni tasakaal nihkus selle makrotsükli tekkimise suunas. *Tert*-butüülrühma asendamine isopropüülrühmaga põhjustas oligomeersete molekulide segu tekkimist ilma ühe kindla makrotsüklilise saaduse moodustumiseta. See viitab, et *t*-Bu rühm võib anda unikaalseid soodustavaid omadusi makrotsüklite moodustumisel, mida steeriliselt vähem mahukad rühmad ei suuda pakkuda. Kontsentratsioonist sõltuva TMR-uuringu tulemused [23], mida kinnitas

ka NOESY eksperiment, näitasid makrotsükli dimeeride teket, mille käigus liikusid *tert*-butüülrühmade prootonite keemilised nihked madalamate väärtuste suunas, samal ajal urea prootonite signaalid dimeriseerumise käigus oluliselt ei muutunud. Seega stabiliseerib TUM-i molekulidevaheline dimeeride moodustumine, mis hõlmab *tert*-butüülrühmade vastastikmõju.

Dünaamilise kovalentkeemia oluliseks aspektiks on sidemete moodustumise reaktsiooni pöörduvus. See tähendab, et kuigi termodünaamiliselt moodustatud makrotsükkel on piisavalt stabiilne, ei pruugi ta kineetiliselt seda olla. Seetõttu võib toimuda makrotsükli uurearühma lagunemine tagasi diamiiniks ja dikarboksüülhappe derivaadiks, mis toimub kiiresti tänu protsessi madalale siirdeseisundi energiale ning süsteemi kõrgele dünaamilisusele. Kuna süsteemi dünaamilisus on põhjustatud *t*-Bu rühma poolt, siis stabiilsuse parandamiseks ning dünaamilisuse „välja lülitamiseks“ on vajalik makrotsükli dealküülimine. De-*tert*-butüülimisreaktsiooni käimapanemiseks kasutatakse tugevat hapet ($\text{pH}_{\text{vees}} < 3$), näiteks metaansulfoonhapet või trifluoroäädikhapet. Reaktsiooni käigus protoneeritakse uurearühma hapnik, seejärel *t*-Bu rühm vabastatakse lahusesse stabiilse tertsaarse karbokatiooni kujul. Elektronide ümberpaigutuse tulemusena tekib taas urea karbonüülrühm ning *tert*-butüüliumkatioon seondub lahuses oleva vaba nukleofiiliga või eraldub isobuteeni kujul elimineerimise käigus [25].

2. Eksperimentaalne osa

2.1 Kasutatud töövahendid

Spektromeetrid. TMR mõõtmistel kasutati Bruker Avance-III 700 MHz TMR spektromeetrit magnetvälja tugevusega 16,4 T. Struktuuranalüüsi teostamiseks kasutati mõõtmistel DMSO-d₆ solventi. Kõik spektrid kalibreeriti solventi jääksignaali suhtes. Spektrite töötlemiseks kasutati TopSpin 4.1.4 tarkvara.

Kõrglahutusega ja -massitäpsusega massispektri registreeris FT-ICR massi-spektromeetriga Varian 910 ESI-FT-ICR-MS Töiv Haljasorg.

Ülejäänud spektrid registreeriti Waters Micromass Quattro Micro API massispektromeetriga. ESI ionallikal kasutati positiivset režiimi järgmiste allika parameetritega: pihustuskapillaari pinge 4,00-4,07 kV, koonuspinge 33-47 V, desolvatatsioonigaasi (N₂) voolukiirus 300 L/h (T = 300 °C), koonusgaasi (N₂) voolukiirus 50 L/h (T = 150 °C). Spektrid salvestati 20 skaneeringu keskmisena. Ühe skaneeringu kestvus oli 3 s.

Proovilahused valmistati metanoolis (1 mg/ml), hapet ei lisatud. Saadud lahuseid sisestati massispektromeetrisse lahuse voolukiirusega 40 µl/min.

Kolonnkromatograafia. Enamiku reaktsioonisegude puhastamiseks kasutati silikageeliga täidetud klaaskolonne sisediameetriga 0,8 cm kuni 2,2 cm. Kolonni suurus valiti lähtudes kasutatava silikageeli kogusest. Ainete halva lahutumise korral kasutati toorsegu ja silikageeli masside suhet 1:100, keskmise lahutumise korral kasutati masside suhet 1:30. Silikageeli osakeste suurus oli 63-200 µm.

Statsionaarse faasi valmistamiseks suspendeeriti silikageel eluendis ja kolonn täideti märja sorbendiga vajaliku kõrguseni nii, et statsionaarses faasis ei tekkinud mulle. Sorbendi kiht kaeti filterpaberi ning tseliidi kihiga, et tagada ainesegu ühtlast adsorbeerumist statsionaarsele faasile. Kromatografeeritav segu lahustati väikeses koguses (8-10 ml) toluenis või diklorometaanis ning lahus lisati ettevaatlikult silikageelile. Kogutud fraktsioone analüüsiti planaarkromatograafia meetodil ning massispektromeetriselt. Mobiilne faas eraldati fraktsioonidest rotaatorauruti abil ja taaskasutati.

Planaarkromatograafia. Reaktsioonisegude ning kolonnkromatograafia fraktsioonide kvalitatiivseks analüüsiks kasutati ALUGRAM Xtra SIL G planaarkromatograafia plaate

silikageel-60 statsionaarse faasi ja UV markeriga (254 nm). Preparatiivseks planaarkromatograafiaks kasutati klaaspõhjaga PTLC plaate silikageel-60 statsionaarse faasi (kihi paksus 2 mm) ja UV markeriga (254 nm). Voolutussegudena kasutati EtOAc:Heksaan, CHCl₃:EtOAc ja MeOH:DCM segusid. Lahustite vahekorrad segus määrati eksperimentaalselt iga lahutatava segu jaoks eraldi.

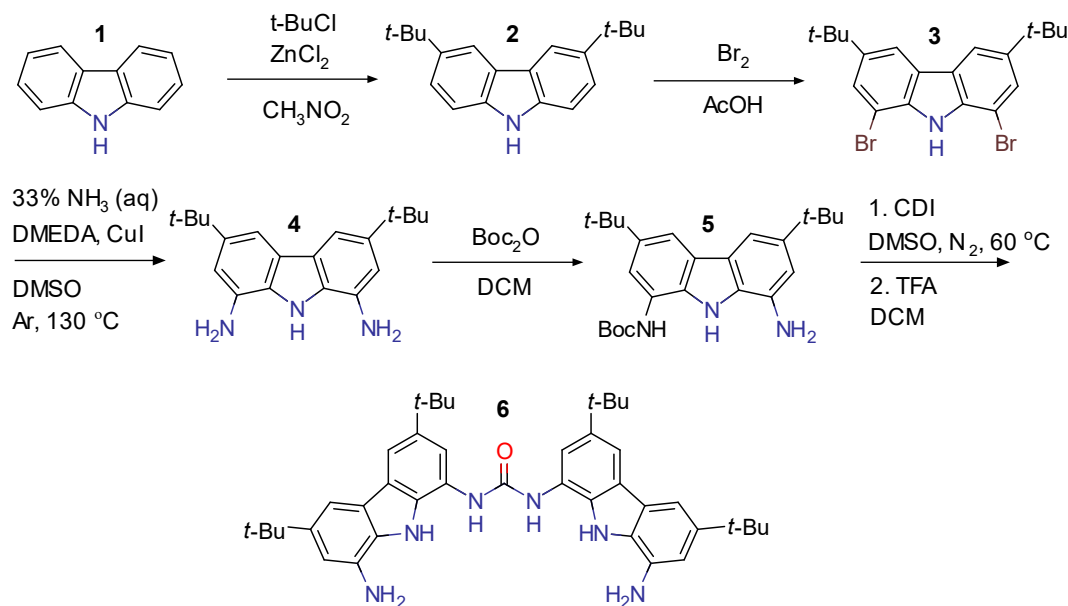
Kasutatud reagentid ja lahustid. Enamik reagente ning solvente telliti firmadest Merck, Thermo Fischer Scientific ja Lach-Ner. Sünteesis kasutatud kuivad solvendid kuivatati 3Å või 4Å poorisuurustega molekulaarsõeltel. Erandiks oli *tert*-butüülimesel kasutatud nitrometaan, mida kuivatati destilleerimisega kaltsiumhüdriidilt [26, 27]. Solvendil lasti kaks tundi kaltsiumhüdriidi peal püstjahutiga keeda argooni all. Seejärel saadud kuiv nitrometaan destilleeriti argooni all kaltsiumhüdriidi pealt 3Å molekulaarsõeltega täidetud ümarkolbi. Kolbi loodi eelnevalt argooni abil inertne atmosfäär.

Ülejäänud töövahendid. Sünteesis kasutatud lähteainete ning saaduste kaalumiseks kasutati Oertling YA124 analüütilised kaalud lahutusvõimega 0,0001 g.

Töös kasutati 5.0 puhtusega lämmastikku ning argooni.

2.2 Sünteesistrateegia

Makrotsükliite sünteesimiseks dünaamiliselt TUS meetodil valmistati kõigepealt 1,3-bis(8-amino-3,6-di-*tert*-butüül-9H-karbasool-1-üül)uurea (**6**). Sünteesi esimene osa viidi läbi **Skeemi 3** järgi.

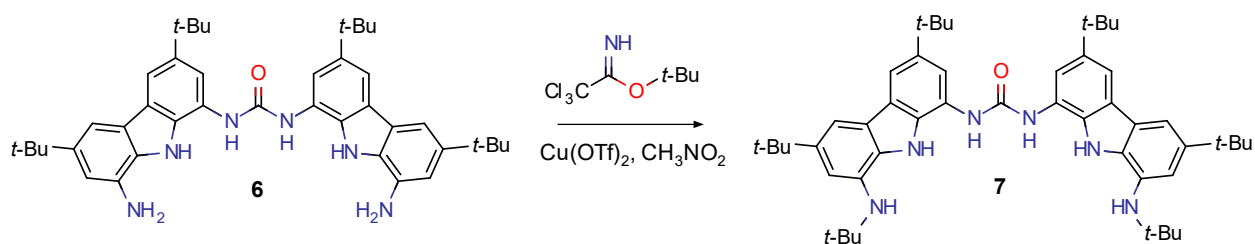


Skeem 3. Asendatud bis(karbasolüül)uurea **6** sünteesirada.

Asendatud bis(karbasolüül)uurea **6** sünteesistrateegia põhineb Rüütel *et al.* [28] artiklil. Sünteesi kolm esimest etappi põhinesid vastavalt Liu *et al.* [29], Gibson *et al.* [30] ja Jung *et al.* [31] protokollide samasugustel reaktsioonidel koos muudatustega (**Lisa 1**). Meetodite hulgas on karbasooli **1** Friedel-Craftsi alküülimine 3- ja 6- ning järgnev ühendi **2** bromeerimine 1- ja 8-asenditesse. Seejärel toimub ühendi **3** bromorühmade aromaadne asendus vask(I) katalüütilisel toimel ning ühendi **4** ühe aminorühma asümmeetriline monokaitsmine. Viimases etapis toimub kahe kaitstud diamiini **5** kondenseerumine koos ühe karbonüüldiimidiasooli molekuliga ning kaitserühmade mahavõtmine kasutades tugevat hapet.

Järgmiseks etapiks on vaja bis(karbasolüül)uurea derivaadi **6** sisse viia steriilselt mahukad *tert*-butüül rühmad. Erinevalt originaalartiklist [23] ei olnud kasutatud tingimustes võimalust läbi viia

bimolekulaarsed nukleofiilset asendusreaktsiooni alküülhalogeniidi ja 2-metüülpropan-2-amiini vahel, mistõttu otsene alküülimine oli ainuke võimalus sünteesiraja jätkamiseks. Asendatud bis(karbasolüül)uurea **6** aminorühmade alküülimiseks (**Skeem 4**) valiti Cran *et al.* [32] artiklis kirjeldatud meetod Cu^{2+} katalüüsitud aromaatsete aminorühmade *N-tert*-butüülimiseks. Antud reaktsioonis on *tert*-butüülrühmade allikaks *tert*-butüül 2,2,2-trikloroatsetimidaat (TBTA), mis dissotsieerub Lewisi happe katalüütilisel toimel *tert*-butüüliumkatiooniks. Seega kuulub käesolev reaktsioon monomolekulaarse nukleofiilse asenduse reaktsioonide hulka, kus elementaarakti kiirus sõltub ainult *tert*-butüüliumkatioonide tekkimiskiirusest. Sellised tingimused sobivad olukorras, kus steeriliste takistuste tõttu on tegemist nõrga nukleofiiliga, nagu see on vaadeldavas reaktsioonis.



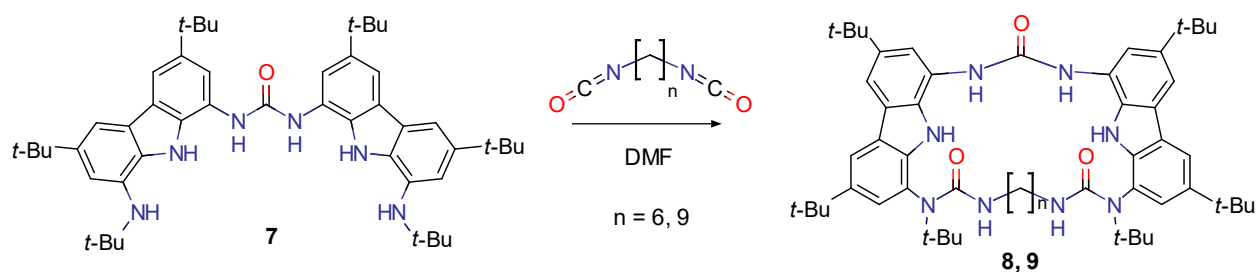
Skeem 4. Asendatud bis(karbasolüül)uurea **6** *tert*-butüülimine.

Aine 7 - 1,3-bis[3,6-di-*tert*-butüül-8-(*tert*-butüülamino)-9H-karbasol-1-üül]uurea. Üldine sünteesiprotokoll

Ahjus kuivatatud ja lämmastiku voolus jahutatud ümarkolbi lisati argooni atmosfääris asendatud bis(karbasolüül)uurea **6** (90,1 mg, 139,8 μmol) ja $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ (3,67 mg, 10,1 μmol , 7 mol-%) ning need lahustati 1,5 ml veevabas värskelt destilleeritud (**Kas. töövahendid**) nitrometaanis. *Tert*-Butüül 2,2,2-trikloroatsetimidaat (214,5 mg, 981,7 μmol , 7 ekv) lisati süstlast tilkhaaval ning reaktsioonil lasti toimuda 21 tundi. Reaktsioonisegu massispektromeetiline analüüs näitas, et segus oli jäänud reageerimata suur kogus lähteainet, seega lisati veel *tert*-butüül 2,2,2-trikloroatsetimidaati (72,2 mg, 330,4 μmol , 2,5 ekv). Veel 2 tunni pärast reaktsioonilahust lahjendati 30 ml tolueniga ning reaktsioonisegu aurutati kokku rotaatoraurutiga (50 °C vannitemperatuur). Reaktsiooni toorsegu lahustati 25 ml diklorometaanis ning pesti 20 ml 1 M K_2CO_3 lahusega. Eraldunud veekihti ekstraheeriti täiendavalt 20 ml diklorometaaniga ning ühendatud orgaanilised kihid kuivatati 30 ml küllastunud NaCl lahusega ja seejärel veevaba magneesiumsulfaadiga. Orgaaniline faas aurutati kokku rotaatoraurutiga ning saadi aine **7**

toorkujus (297,7 mg). 143,0 mg ainet puhastati kolonnkromatograafia meetodil. Eluendiks kasutati isokraatilist MeOH ja DCM 1:16 segu. Saaduseks oli monoalküülitud ja dialküülitud produktide segu musta tahkise kujul, mida kuivatati vaakumis (20,2 mg, 40%).

Makrotsüklikeerimiseks valiti mõned diisotsüanaadid, et võrrelda makrotsüklikeerimise etapi efektiivsust koos Rüütel *et al.* artiklis [28] esitatud andmetega.



Skeem 5. Makrotsüklikeerimise reaktsioonid **8** ja **9** tekkereaktsioon.

Artiklis viidi läbi reaktsioonid, kasutades erinevate metüleensilla pikkustega diatsüülkloriide ja dikarboksüülhappeid. Tulemused näitasid, et kuue ja üheksa –CH₂– lüliga makrotsüklikud tulid saagistega vastavalt 48% ja 29%. Need väärtused olid madalamad võrreldes teiste teostatud reaktsioonidega, seega võrdluseks valiti sama pikkusega diisotsüanaadid. Siiski eelmisel etapil saadud vaheühendi **7** madala puhtuse tõttu ei olnud võimalik makrotsüklikeerimist läbi viia.

3. Tulemused ja arutelu

3.1 Asendatud bis(karbasolüül)uurea sünteesiraja optimeerimine

Asendatud bis(karbasolüül)uurea **6** sünteesirada teostati edukalt ning mõnede etappide sünteesi ning järgneva toorprodukti eraldamise ja puhastamise protseduurid said täiendatud. Aine **2** sünteesi käigus esinesid raskused solvendi eemaldamisega puhastusetapis. Nitrometaan, mis pärines reaktsioonisegust, viibis veefaasis, põhjustades saaduse suuremat lahustuvust veefaasis võrreldes puhta veega. Selle tulemusena liikus ekstraheerimise käigus orgaanilisse faasi vähene kogus saadust ning originaalse eeskirja järgi teostatud sünteesi käigus ei saadud produkti kätte. Algses meetodikas lisati lahendusena suurtes kogustes vett, et vähendada nitrometaani osakaalu veefaasis ja seeläbi saaduse lahustuvust. Käesolevas töös aurustati nitrometaan enne puhastusprotsessi, mis tunduvalt tõstis kogu protseduuri reprodutseeritavust. Lisaks rakendati puhastusetapina lõppjärgus pentaaniga pesemise asemel ümberkristalliseerimist heksaanis, mis andis tulemuseks ^1H TMR spektri järgi (**Spekter 7**) märgatavalt puhtama saaduse.

Aine **5** puhul selgus, et kloroformi ja etüülatsetaadi segu pakub kolonnkromatograafias paremat lahutusvõimet võrreldes varem kasutatud heksaani ja etüülatsetaadi seguga. Kuna selle aine sünteesi käigus tekib korraga kaks saadust – ühe ja kahe kaitserühmaga modifitseeritud diamiin – oli nende ühendite ülekattumine kromatograafilise lahutamise käigus oluline kadude allikas. Kloroformi ja etüülatsetaadi segu kasutamine eluendina võimaldas märgatavalt tõsta saagist, peaaegu 70%-ni, mis on seni saadud saagistest (enamasti vahemikus 40% kuni 56%) kõrgeim.

Ainega **5** paralleelselt läbi viidud sünteesikatse (kondensatsioon CDI-ga) tulemused viitavad, et reaktsiooni saagis on oluliselt seotud reaktsioonisegu kontsentratsiooniga. Originaalprotokollis kirjeldatud meetodika järgi ei saavutatud täielikku konversiooni isegi CDI lisamise või temperatuuri tõstmise korral. Lähteainete kontsentratsiooni suurendamine 1,5 korda tõi kaasa saagise tõusu 39 protsendipunkti võrra (seni saadud saagiselt 52% saagiseni 91%), kuna konversioon toimus peaaegu täiel määral.

Skeemil 3 toodud sünteesiraja viiest etapist õnnestus oluliselt tõsta kahe etapi saagiseid. Kuid amineerimise etapi reprodutseerimine sama saagise väärtusega ei õnnestunud, mis läbi kogu sünteesi summaarne saagis jäi muutmata. Sünteesi potentsiaalne saagis kasvas siiski varasema 25% pealt 32% peale. Täiendatud puhastusprotseduur esimeses etapis suurendas kõikide vaheühendite

puhtust (**Pilt 1**, **Pilt 3**). See on kriitilise tähtsusega järgnevate makrotsükliiseerimisreaktsioonide jaoks, kuna lisandite olemasolu võib märkimisväärselt häirida reaktsiooni kulgemist.

3.2 Bis(karbasolüül)uurea N-alküülimine

Enne makrotsükli sünteesimist dünaamilise kovalentkeemia meetodil oli vaja valmistada *tert*-butüülrühmaga *N,N'*-diasendatud bis(karbasolüül)uureat **7**. Võrreldes kirjanduses avaldatud sünteesimeetodiga [23], kus diamiinid saadi alküülhalogeniidide ja 2-metüülpropan-2-amiini vahelises reaktsioonis, oli töös vaja rakendada aromaatsete amiinide alküülimismetoodikat.

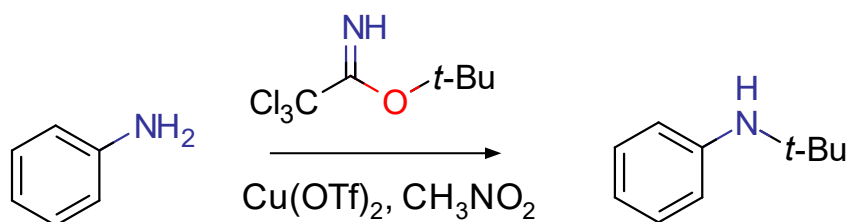
Aniliinide *N-tert*-butüül derivaatide saamine on keeruline protsess [33, 34]. See nõuab sageli pikki reaktsiooniaegu ja karme reaktsioonitingimusi, kuid tulemuseks on tihti vaid tagasihoidlik kuni keskmine saagis. Praeguseks pole veel leitud üldist, efektiivset protokollit selle probleemi lahendamiseks ning käesolevas töös valitud meetodika oli olemasoleva info põhjal kõige perspektiivsem. Seega otsustati leida optimaalseid tingimused *tert*-butüül 2,2,2-trikloroatsetimidaadi ja vask(II)triflaadi vahelise reaktsiooni jaoks.

Eksperimentaalselt raames viidi läbi seitse eksperimenti, kus prooviti erinevaid reaktsioonitingimusi ja puhastamisprotseduure. Eesmärgiks oli saada piisav kogus võimalikult puhas *N,N'*-diasendatud bis(karbasolüül)uureat **7**, et oleks võimalik järgmist ainet sünteesida. Kõikides eksperimentides kasutati sama lahustit ning Lewisi hapet, kuna need on kirjanduses määratletud kui kõige sobivamad just selle konkreetse reaktsiooni jaoks. Kõik kordussünteesid toimusid vähemalt 24 tundi. Eksperimentide käigus kasutatud ainekogused on toodud tabelis (**Lisa 2**).

Eksperimentaalse töö algusfaasis viidi läbi kaks katset, mille käigus uuriti reaktsiooni toimumist erineva kuivusega keskkonnas. Esimene eksperiment toimus ahjus kuivatatud klaasnõus lämmastiku atmosfääri all, kuid solventi kuivatamata. Pärast reaktsioonisegu puhastamist saadi produkt, mis sarnanes oma omadustelt mustale, söetolisele materjalile (**Pilt 2**) ning ei lahustunud üheski orgaanilises lahustis. Seetõttu otsustati teise eksperimendi puhul kasutada 4 Å molekulaarsõeltega kuivatatud nitrometaani ning asendada lämmastiku atmosfäär õhust raskema argooniga. Selles katsetuses saadi samuti must, kuid juba lahustuv aine. Mõlema sünteesi saadused prooviti analüüsida TLC abil, kasutades erinevaid etüülatsetaadi ja heksaani segusid. Siiski ei

suudetud saavutada rahuldavat eraldumist (**Pilt 4**) ega jälgida reaktsiooni kulgu TLC abil. Mõõdetud saaduse ^1H TMR spekter (**Spekter 8**) näitas, et proov sisaldas kõrvalsaadusena 2,2,2-trikloroatsetamiidi. Samas, ^1H TMR spektri aromaatses piirkonnas ei olnud näha mingeid signaale.

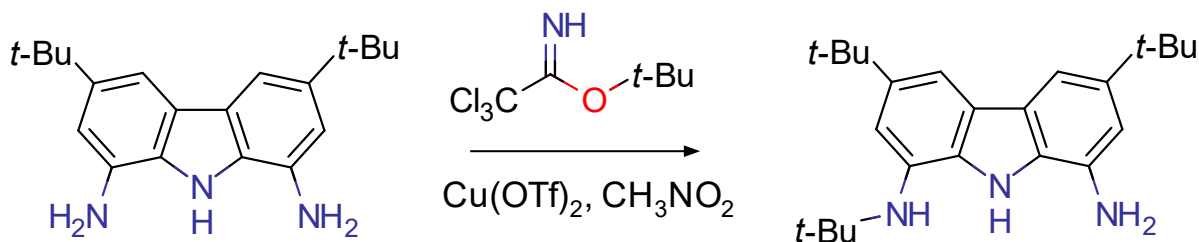
Lisaks viidi läbi üks kontrollkatse (**Skeem 6**), kasutades lähteainena aniliini, eesmärgiga kontrollida originaalartiklis kirjeldatud protokollu reprodutseeritavust. Reaktsioonisegust ekstraheeritud saadus kontsentreeriti etüülatsetaadis ja mõõdeti lahuse ^1H TMR spektrit deuteeritud dimetüülsulfoksiidis (DMSO- d_6). Saadud spektris (**Spekter 9**) pandi tähele, et aniliinist tulenevate aromaatsete prootonite signaalide kõrval ilmnis kõrgemate keemiliste nihetega signaalide koopia. Samas oli peaaegu kadunud aniliini aminorühma prootonite signaal, mis tähendas, et lähteaine oli reageerinud suuremas ulatuses. See näitas, et konversioon aniliiniga toimus edukalt, mis on oluline võrdlusmaterjal, mida oli vaja kontrollida ka aine **6** puhul.



Skeem 6. Kontrollkatse. Aniliini Cu^{2+} katalüüsitud *tert*-butüülimine.

Alternatiivse lähenemisena viidi läbi katseid asendatud karbasooli lähteainega **4**, et hinnata, kas vähem steeriliselt takistatud aminorühmad võivad olla paremini alküülitavad (**Skeem 7**). Saadud reaktsioonisegu analüüsiti FT-ICR massispektromeetriga. Massispektromeetria andmete põhjal tekkis reaktsiooni käigus aine, mille molekulaarioon (m/z 366) vastas monoalküülimise tulemusena saadud ühendile (**Spekter 11**), puhast produkti siiski kätte saada ei õnnestunud. Pärast ekstraheerimist saadud toorsegu ^1H TMR spektrid viitasid aga sellele, et orgaaniline faas ei sisaldanud ühtegi aromaatsset ainet. See viis hüpoteesini, et kogu reaktsiooni saadus jääb ekstraheerimisel veefaasi, kuna nitrometaan ja vesi segunevad, luues keskkonna, mis saadust piisavalt hästi lahustab. Selle hüpoteesi kinnitamiseks aurustati järgneva ainega **6** teostatud katse korral nitrometaan reaktsioonisegust välja enne kui reaktsioonisegu lahjendati veega. Ekstraheerimisel asendati etüülatsetaat diklorometaaniga, milles bis(karbasolüül)uurea derivaadid

näitasid paremat lahustuvust. Tõepoolest, nüüd näitasid orgaanilisest faasist saadud aine massi- ja ^1H TMR spektrid, et segus on olemas alküülitud bis(karbasolüül)uurea **6** derivaadid (**Spekter 12**).



Skeem 7. Aine **4** *tert*-butüülimine. Reaktsioonis kasutati ainult 2,5 ekv TBTA-d, seega peaaegu ei tekkinud dialküülitud saadust.

Kuuenda eksperimendi raames prooviti veel vähendada vee sisaldust reaktsioonisegus. Eesmärk oli tõsta vask(II)triflaadi katalüütilist aktiivsust ning suurendada dialküülitud saaduse osakaalu lõppsegus. Selle saavutamiseks kuivatati nitrometaani keetes seda tagasivoolu all kaltsiumhüdrüüdi peal ja destilleeriti saadud kuiv lahusti, mida seejärel kasutati reaktsioonis. Mõlemad protseduurid teostati inertgaasi all. Puhastamata reaktsioonisegu jaoks leiti optimaalne metanooli ja diklorometaani segu, mis võimaldas lahutada alküülamise tulemusel tekkinud saadusi TLC abil. Orgaanilisest faasist saadud aine puhastati kasutades kolonnkromatograafiat. Saadud ainesegu sisaldas kolme erinevat komponenti – mono- ja dialküülitud saadusi ning reageerimata lähteainet **6**, millele viitas massispektromeetiline analüüs (**Spekter 13**). Kuigi massispektromeetria ei võimalda segu täpset kvantitatiivset koostist määrata, hinnati, et dialküülitud aine **7** oli segu põhikomponent.

Lõppkatse raames võeti kasutusele PTLC meetod reaktsioonisegu puhastamiseks ning aine **7** eraldamiseks. Elueerimiseks kasutati kahefaasilist segu kloroformist, metanoolist ja ammoniaagi vee lahusest (33%) suhtes 10:1:1, mis näitas mono- ja dialküülitud komponentide efektiivset eraldumist (**Pilt 5**). PTLC plaadi elueerimise tulemusena tekkis kaks selget tsooni (**Pilt 6**). Mõlema tsooni ained koguti ning mõõdeti nende massispektreid (**Spekter 14**, **Spekter 15**). Madalam tsoon näitas massispektri põhjal suure puhtusega dialküülitud saaduse olemasolu. Kogutud aine kogus ei olnud siiski piisav, et valmistada proovi vajaliku kontsentratsiooniga ^1H TMR spektri mõõtmiseks (**Spekter 10**).

Tert-butüülühenditega asendusreaktsioonid järgivad enamasti monomolekulaarse nukleofiilse asenduse mehhanismi, mis on vähetundlik nukleofiili tugevuse suhtes. Reaktsiooni kiirust piirab *tert*-butüüliumkarbokatiooni moodustumine, mis toob endaga kaasa mitmeid kõrvalprotsesse. Nendeks on elimineerimisreaktsioonid, nagu isobuteeni eraldumine, ja kõrvalasendused teiste nukleofiilidega, näiteks reaktsioonisegus sisalduva vee jälgedega. Samas on varasem uuring näidanud [32], et vask(II) ioonidega katalüüsitud *tert*-butüülimise puhul mõjutab reaktsiooni kiirust olulisemal määral kasutatud nukleofiil. Amiinid, mille lämmastiku aatomid on suurema nukleofiilsusega, andsid madalamaid saagiseid. Eriti märgatav oli see keerukamate aromaatsete amiinide puhul, nagu naftüülamiin, või amiinid, millel on elektronaktseptoorsed rühmad. Teatud juhtudel võivad sellised ühendid tekitada keerukaid lõppsegusid, mida ei ole võimalik lahutada. Lisaks on ühendi **6** aminorühma lämmastiku vaba elektronpaar molekuli kõverdunud kuju tõttu steriliselt takistatud, mis veelgi vähendab asenduse tõenäosust lämmastiku aatomil. Kui üks *tert*-butüülrühm on juba kinnitatud muutub samal põhjusel ka teise lämmastikuaatomi alküülimine raskendatuks.

Selleks, et reaktsioonisegus oleks kogu aeg piisav hulk *tert*-butüüliumkatioone, on üks lahendus kasutada tugevaid Lewisi happeid, mis moodustuvad hea lahkuva rühma seondudes karbokatiooni moodustava lähtemolekuliga. Töös kasutatud vask(II)triflaat katalüsaator on tugev Lewisi hape ainult veevabas keskkonnas ning isegi vähene niiskuse sisaldus lahustis võib põhjustada saagise langust kuni 20 protsendipunkti võrra. Alküülimisreaktsioon on eriti tundlik vee mõjule ning reaktsiooni läbiviimiseks võib kasutada ainult värskest kuivatatud ning destilleeritud solvente.

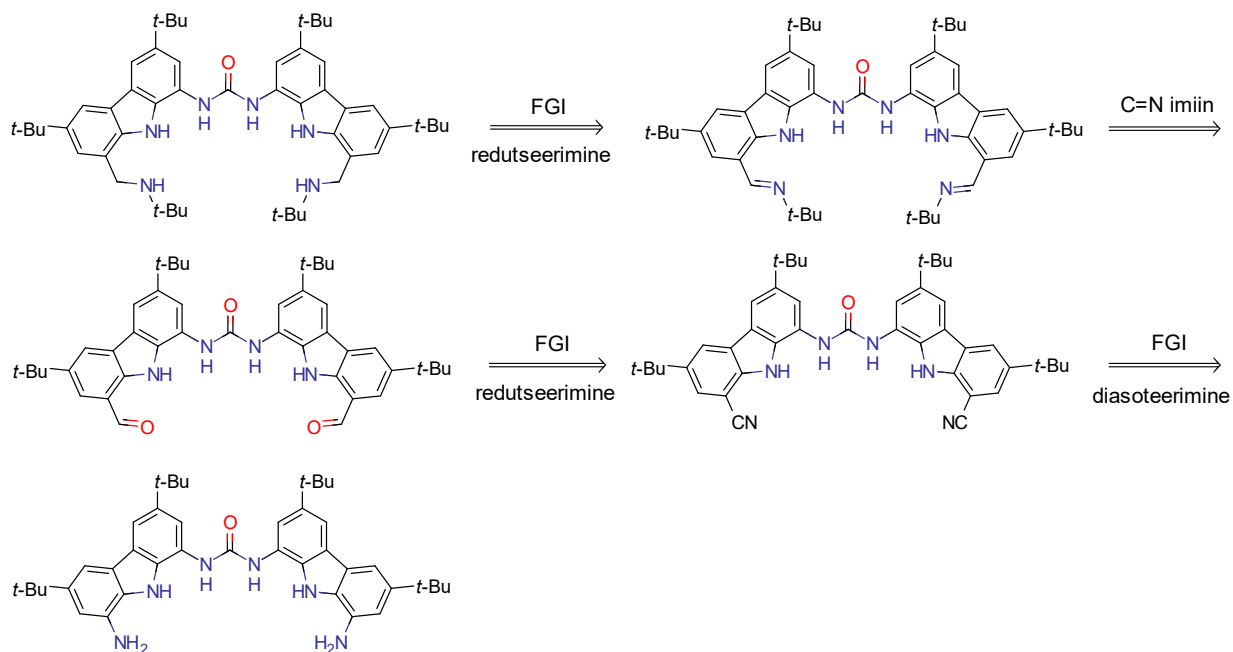
Reaktsiooni ajal moodustuv sekundaarne aminorühm on tundlik happelise keskkonna suhtes. Isegi kui lisatakse suhteliselt madala happelisusega lahust, näiteks 0,1% TFA või metaanhappe lahust, käivitub pöördprotsess, mille käigus *tert*-butüülrühmad eemalduvad. Kuigi see omadus on kasulik makrotsükliiliste struktuuride stabiliseerimisel, võib see dialküülitud aine **7** puhul takistada mõningate puhastus- või analüüsiprotseduuride läbiviimist, nagu pöördfaasiline HPLC või teatud määral ESI ionallikaga MS.

3.3 Alternatiivsed sünteesirajad

Aine **6** otsene *tert*-butüülimine põhjustab probleeme, mis viitavad sellele, et kavandatud sünteesistrateegia ei pruugi olla kõige tõhusam. Lisaks ei näita strateegia olulist paranemist sünteesiaegade või saagiste osas võrreldes varem töörühmas kasutatud meetoditega. Alküülimise

lisaetapi teostamine pikendab kogu sünteesiteerada vähemalt ühe päeva võrra ning selle saagis oli parimal juhul 40%. Saadud arv vastab mono- ja dialküülitud ainete segule, seega on tegelik saagis veel madalam. See ei ole märgatavalt suurem kui makrotsükliiseerimise saagised, mis on vahemikus 29-87% [28]. Need faktid lähevad vastuollu bakalaureusetöö kolmanda eesmärgiga ning osutavad vajadusele, et makrotsükliite sünteesiks TUS meetodil tuleb leida uus lähenemine steriliselt takistatud diamiinide sünteesile.

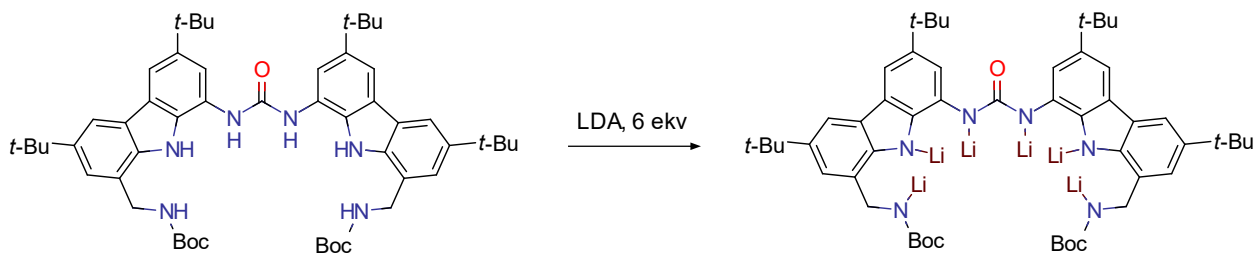
Ühe võimaliku lahendusena võib kaaluda sünteesistrateegiat, mida kasutati Yang *et al.* [23] artiklis takistatud diamiinide saamiseks. Selles strateegias kasutatakse nukleofiilset asendusreaktsiooni alküülhalogeniidi ja 2-metüülpropan-2-amiini vahel. Töös uuritud sünteesirajaga sobitumiseks võivad olla vajalikud muudatused, kuna aminorühm aine **6** puhul on otseselt seotud aromaatses tuumaga ilma *tert*-butüül rühmata. Struktuurilise piirangu ületamiseks võiks pakkuda metüüleensüsteemi sisseviimise võimalust ühendisse **6**, kasutades diasoteerimist ja järgnevat Sandmeyerit reaktsiooni (**Skeem 8**). Sellisel viisil lisatud nitrilrühma saab redutseerida madalal temperatuuril kasutades nõrka redutseerijat (näiteks diisobutüül-alumiiniumhüdriid) imiiniks, mis seejärel hüdrolyüsitakse aldehüdiks. Aldehüdi ja 2-metüülpropan-2-amiini vahel võiks toimuda redutseeriv amineerimine, kasutades $\text{Na}(\text{CN})\text{BH}_3$ [24].



Skeem 8. Täiendava metüleenrühmaga aine **6** retrosünteesiskeem.

Väljapakutud meetodil on samuti mõned puudused. Üheks neist on vajadus kasutada redutseerivat ainet, mis võib kaasa tuua ureearühma lagunemise või mõne karbasoolist tuleneva sideme redutseerumise. Kuid, arvestades, et ureearühm on steeriliselt varjatud ja konjugeeritud kahe karbasolüülrühmaga ning välja pakutud redutseeriv aine on steeriliselt samuti mahukas, võib selles olukorras pidada ureearühma stabiilsust redutseerimise suhtes suhteliselt kõrgeks.

Veel üks võimalus on kasutada *tert*-butüülrühma asemel teisi steeriliselt mahukaid rühmi, et põhjustada TUS pööret. Potentsiaalne rühm võib olla olemasolev *tert*-butoksükarbonüülrühm ühendis **6** enne selle eemaldamist. Probleemiks on, et amiidrühma lämmastikuaatomid ei ole konjugatsiooni tõttu piisavalt nukleofiilsed, et reageerida isotsüanorühmaga. Selle probleemi lahendamiseks võib amiidseid lämmastikuaatomeid deprotoneerida kasutades tugevat alust, nagu *n*-BuLi või liitiumdiisopropüülamiid (**Skeem 9**). Sellisel juhul deprotoneeruvad kõigepealt kõrgema happelisusega ureearühmad ning karbasooli lämmastikud, seega tuleb arvestada, et on vaja kasutada vähemalt 6 ekvivalenti alust. *Tert*-butoksükarbonüülrühm säilitab esialgu kavandatud *tert*-butüülrühmad ning deprotoneerimisel saadavad laengud on stabiliseeritud amiidrühmaga.



Skeem 9. Kahe kaitstud aminorühmaga asendatud bis(karbasolüül)uurea deprotoneerimine.

Kõik pakutud lähenemised põhinevad üldistel funktsionaalsete rühmade omadustel, mis võivad aga sõltuvalt konkreetsest ühendist oluliselt varieeruda. Kuna teaduskirjandusest leidub vähe reaktsiooniprotokolle töös käsitletud ühenditega, tuleb sageli välja töötada uusi sünteesiprotseduure ja ekstrapoleerida oma töös kirjandusest saadud analoogseid meetodikaid. Seega tuleb iga reaktsiooni puhul individuaalselt kindlaks määrata optimaalsed tingimused ja puhastusmeetodikad. Peale selle tuleb olla valmis, et ühendid võivad käituda erinevalt võrreldes sarnaste artiklites või õpikutes olevate reaktsioonidega. Seega mitme täiendava sünteesietapi lisandumine on täiendav puudujääk, mis tõstab sünteesi ebaõnnestumise tõenäosust.

4. Kokkuvõte

Makrotsüklilised karbasoolretseptorid on seondumisomaduste poolest üks perspektiivsemaid karboksülaatanioone siduvate retseptorite tüüpe. Praeguses seisus on nende süntees keeruline, nõudes pikkasid sünteesiaegu, andes madalaid saagiseid ning kasutades väheefektiivseid puhastusprotseduure.

Käesoleva töö eesmärk oli hinnata uue bis(karbasolüül)uureal põhinevate makrotsüklite sünteesistrateegia sobivust selliste retseptorite sünteesiks. See strateegia kasutab dünaamilise kovalentkeemia reaktsioone, sealhulgas takistatud uuresideme meetodit. Töö eesmärk oli ka hinnata, kui palju paremini see strateegia võiks sobida retseptorite sünteesiks võrreldes varasemalt tööühmas kasutatud meetoditega.

Töö käigus sünteesiti kuus ainet kasutades eelnevalt tööühmas väljatöötatud protseduuri, mille mitmed etapid parandati oluliselt. See tõi kaasa kõrgema vaheühendite puhtuse ning suuremad vaheetappide saagised. Kahe etapi saagiseid õnnestus kasvatada vastavalt 12 ja 39 protsendipunkti võrra.

Makrotsükli sünteesiks kasutati eelneva sünteesi käigus saadud bis(karbasolüül)uureat. Dünaamilisel kovalentkeemial põhinevat protsessi siiski ei õnnestunud realiseerida kuna ei õnnestunud saada piisavas koguses ja piisava puhtusega di-*tert*-butüülitud vaheühendit. Erinevatel tingimustel viidi läbi seitse korduskatset, millega prooviti saavutada asendatud bis(karbasolüül)uurea *tert*-butüülimist. Seda tehti vask(II) katalüüsitud reaktsiooniga *tert*-butüül 2,2,2-trikloroatsetimidaadiga. Korduskatsete käigus varieeriti selliseid parameetreid, nagu reaktsioonikeskkonna kuivus, lähteaine, alküüliva aine ekvivalent, temperatuur. Katsetati ka erineva pH-ga ekstraheerimist kasutades orgaanilise lahustina etüülatsetaati ja diklorometaani. Reaktsioonisegu puhastamiseks prooviti gravimeetrilist kolonnkromatograafiat, HPLC-d, preparatiivset TLC-d ja ümberkristalliseerimist. Struktuuranalüüsiks kasutati peamiselt ¹H TMR spektroskoopiat ja massispektromeetriat. Parima katse tulemusena saadi mono- ja di-*tert*-butüülitud ainete segu saagisega 40%.

Töö jooksul uuriti ka alternatiivseid sünteesistrateegiaid. Nende hulgas oli metüleenfragmendi lisamine bis(karbasolüül)uurea juurde, millele järgnes redutseeriv amineerimine *tert*-

butüülamiiniga. Lisaks pakuti välja kaitstud aminorühmadega bis(karbasolüül)uurea deprotoneerimine ja saadud ühendi dünaamiline liitmine isotsüanorühmaga.

Bakalaureusetöö tulemused näitasid, et makrotsükliliste ühendite sünteesiraja parandamine on keeruline protsess, mis nõuab põhjalikku uurimist ja mitmekülgset lähenemist. Iga reaktsiooni jaoks tuleb leida optimaalsed tingimused, arvestades funktsionaalsete rühmade omadusi, mis võivad sõltuvalt ühendist oluliselt erineda.

5. Summary

Macrocyclic carbazole receptors are one of the most promising types of carboxylate receptors in terms of binding properties, but their synthesis can be challenging. It requires long synthesis times, results in low yields, and makes use of ineffective purification procedures.

The aim of this work was to develop a new synthesis strategy for macrocycles based on bis(carbazolyl)urea moiety. This strategy utilizes dynamic covalent chemistry reactions, including the hindered urea bond method. The work also aimed to assess how much better this strategy fits the synthesis of receptors compared to the methods previously used in our working group.

In the course of the work, six compounds were synthesized using a procedure previously developed in the working group. Some stages of the procedure were improved, which led to higher purity intermediate products and increased yields in intermediate stages. The yields of two stages were increased by 12 and 39 percentage points, respectively.

The substituted bis(carbazolyl)urea obtained from the route was used for the synthesis of the macrocycle. However, the process was halted at the stage of developing the synthesis methodology for the di-*tert*-butylated intermediate. The alkylation of substituted bis(carbazolyl)urea has been performed throughout seven experiments. To do this, a reaction with *tert*-butyl 2,2,2-trichloroacetimidate was carried out with a copper(II) salt catalyst. During the experiments, parameters such as the dryness of the reaction environment, the starting material, the equivalent of the alkylating agent, and temperature were varied. Extraction was also attempted at different pH levels using ethyl acetate and dichloromethane as organic solvents. Gravimetric column chromatography, HPLC, preparative TLC, and recrystallization were attempted to purify the reaction mixture. For structural analysis, mainly ¹H NMR spectroscopy and mass spectrometry were used.

Alternative synthesis strategies were also examined during the work. These included the addition of a methylene fragment to substituted bis(carbazolyl)urea, followed by reductive amination with *tert*-butylamine. In addition, deprotonation of substituted bis(carbazolyl)urea with protected amino groups and dynamic coupling of the resulting compound with an isocyanate group was suggested.

6. Kasutatud kirjandus

1. Anslyn, E. V. Supramolecular Analytical Chemistry. *J. Org. Chem.*, **2007**, 72 (3), 687–699.
2. Steed, J. W.; Atwood, J. L. Concepts. In *Supramolecular Chemistry*; John Wiley & Sons, Ltd, 2009; pp 1–48.
3. Gokel, G. W. 1.01 - Introduction and Overview of Supramolecular Receptor Types. In *Comprehensive Supramolecular Chemistry II*; Atwood, J. L., Ed.; Elsevier: Oxford, 2017; pp 1–10.
4. Meisel, J. W.; Negin, S.; Gokel, M. R.; Gokel, G. W. 1.21 - Overview of Anion Receptor Chemistry. In *Comprehensive Supramolecular Chemistry II*; Atwood, J. L., Ed.; Elsevier: Oxford, 2017; pp 495–520.
5. Nelson, D. L.; Cox, M. M.; Hoskins, A. A. *Lehninger Principles of Biochemistry*, Eighth edition.; Macmillan Learning: Austin, 2021.
6. Izatt, R. M.; Oscarson, J. L. 1.08 - Binding Constants and Related Thermodynamic Quantities: Significance to Supramolecular Chemistry. In *Comprehensive Supramolecular Chemistry II*; Atwood, J. L., Ed.; Elsevier: Oxford, 2017; pp 185–201.
7. Rüttel, A.; Tshepelevitsh, S.; Leito, I. One Hundred Carboxylate Receptors. *J. Org. Chem.*, **2022**, 87 (21), 14186–14193.
8. Gale, P. A. Synthetic Indole, Carbazole, Biindole and Indolocarbazole-Based Receptors: Applications in Anion Complexation and Sensing. *Chem. Commun.*, **2008**, No. 38, 4525–4540.
9. Cram, D. J.; Kaneda, T.; Helgeson, R. C.; Brown, S. B.; Knobler, C. B.; Maverick, E.; Trueblood, K. N. Host-Guest Complexation. 35. Spherands, the First Completely Preorganized Ligand Systems. *J. Am. Chem. Soc.*, **1985**, 107 (12), 3645–3657.
10. Cram, D. J.; Cram, J. M. *Container Molecules and Their Guests*; Royal Society of Chemistry: Cambridge, 1997.
11. Martí-Centelles, V.; Pandey, M. D.; Burguete, M. I.; Luis, S. V. Macrocyclization Reactions: The Importance of Conformational, Configurational, and Template-Induced Preorganization. *Chem. Rev.*, **2015**, 115 (16), 8736–8834.
12. Kadam, S. A.; Martin, K.; Haav, K.; Toom, L.; Mayeux, C.; Pung, A.; Gale, P. A.; Hiscock, J. R.; Brooks, S. J.; Kirby, I. L.; et al. Towards the Discrimination of Carboxylates by Hydrogen-Bond Donor Anion Receptors. *Chemistry – A European Journal*, **2015**, 21 (13), 5145–5160.

13. Klamt, A.; Eckert, F.; Arlt, W. COSMO-RS: An Alternative to Simulation for Calculating Thermodynamic Properties of Liquid Mixtures. *Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering*, **2010**, *1* (1), 101–122.
14. Carey, F. A.; Sundberg, R. J. *Advanced Organic Chemistry*, 5th ed.; Springer: New York, 2007.
15. Dalla Cort, A.; Ercolani, G.; Iamiceli, A. L.; Mandolini, L.; Mencarelli, P. Macrocyclization under Kinetic Control. A Theoretical Study and Its Application to the Synthesis of Macrocyclic Poly(Thiolactones). *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, *116* (16), 7081–7087.
16. Rossa, L.; Vögtle, F. Synthesis of Medio- and Macrocyclic Compounds by High Dilution Principle Techniques. In *Cyclophanes I*; Vögtle, F., Ed.; Topics in Current Chemistry; Springer: Berlin, Heidelberg, 1983; pp 1–86.
17. White, C. J.; Yudin, A. K. Contemporary Strategies for Peptide Macrocyclization. *Nature Chem*, **2011**, *3* (7), 509–524.
18. Hollstein, S.; Shyshov, O.; Hanževački, M.; Zhao, J.; Rudolf, T.; Jäger, C. M.; von Delius, M. Dynamic Covalent Self-Assembly of Chloride- and Ion-Pair-Templated Cryptates. *Angewandte Chemie International Edition*, **2022**, *61* (28), e202201831.
19. Wanasinghe, S. V.; Dodo, O. J.; Konkolewicz, D. Dynamic Bonds: Adaptable Timescales for Responsive Materials. *Angewandte Chemie International Edition*, **2022**, *61* (50), e202206938.
20. Liu, W.; Yang, S.; Huang, L.; Xu, J.; Zhao, N. Dynamic Covalent Polymers Enabled by Reversible Isocyanate Chemistry. *Chem. Commun.*, **2022**, *58* (89), 12399–12417.
21. Jin, Y.; Yu, C.; Denman, R. J.; Zhang, W. Recent Advances in Dynamic Covalent Chemistry. *Chem. Soc. Rev.*, **2013**, *42* (16), 6634.
22. Rowan, S. J.; Cantrill, S. J.; Cousins, G. R. L.; Sanders, J. K. M.; Stoddart, J. F. Dynamic Covalent Chemistry. *Angewandte Chemie International Edition*, **2002**, *41* (6), 898–952.
23. Yang, Y.; Ying, H.; Li, Z.; Wang, J.; Chen, Y.; Luo, B.; Gray, D. L.; Ferguson, A.; Chen, Q.; Z, Y.; et al. Near Quantitative Synthesis of Urea Macrocycles Enabled by Bulky N-Substituent. *Nat Commun*, **2021**, *12* (1), 1572.
24. Clayden, J.; Greeves, N.; Warren, S. *Organic Chemistry*, (2nd ed.); 2012.
25. Yang, Y.; Ying, H.; Jia, Y.; Chen, Y.; Cheng, J. Stabilization of the Hindered Urea Bond through De-Tert-Butylation. *Chem. Commun.*, **2021**, *57* (31), 3812–3815.
26. Armarego, W. L. F. *Purification of Laboratory Chemicals*, Eighth edition.; Butterworth-Heinemann is an imprint of Elsevier: Amsterdam, 2017.

27. Kinard, L. A.; Kasper, F. K.; Mikos, A. G. Synthesis of Oligo(Poly(Ethylene Glycol) Fumarate). *Nat Protoc*, **2012**, 7 (6), 1219–1227.
28. Rüütel, A.; Yrjänä, V.; Kadam, S. A.; Saar, I.; Ilisson, M.; Darnell, A.; Haav, K.; Haljasorg, T.; Toom, L.; Bobacka, J.; et al. Design, Synthesis and Application of Carbazole Macrocycles in Anion Sensors. *Beilstein J. Org. Chem.*, **2020**, 16 (1), 1901–1914.
29. Liu, Y.; Nishiura, M.; Wang, Y.; Hou, Z. π -Conjugated Aromatic Enynes as a Single-Emitting Component for White Electroluminescence. *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 128 (17), 5592–5593.
30. Gibson, V. C.; Spitzmesser, S. K.; White, A. J. P.; Williams, D. J. Synthesis and Reactivity of 1,8-Bis(Imino)Carbazolide Complexes of Iron, Cobalt and Manganese. *Dalton Trans.*, **2003**, No. 13, 2718–2727.
31. Jung, H. S.; Yun, T.; Cho, Y.; Jeon, H. B. Simple and Convenient Copper-Catalyzed Amination of Aryl Halides to Primary Arylamines Using NH₄OH. *Tetrahedron*, **2016**, 72 (40), 5988–5993.
32. Cran, J. W.; Vidhani, D. V.; Krafft, M. E. Copper-Catalyzed N-Tert-Butylation of Aromatic Amines under Mild Conditions Using Tert-Butyl 2,2,2-Trichloroacetimidate. *Synlett*, **2014**, 25 (11), 1550–1554.
33. Gage, J. R.; Wagner, J. M. A Convenient Method for Direct N-Tert-Butylation of Aromatic Amines. *J. Org. Chem.*, **1995**, 60 (8), 2613–2614.
34. Hartwig, J. F. Carbon-Heteroatom Bond Formation Catalysed by Organometallic Complexes. *Nature*, **2008**, 455 (7211), 314–322.
35. Jung, H. S.; Yun, T.; Cho, Y.; Jeon, H. B. Simple and Convenient Copper-Catalyzed Amination of Aryl Halides to Primary Arylamines Using NH₄OH. *Tetrahedron*, **2016**, 72 (40), 5988–5993.
36. Sanchez, G.; Espinosa, A.; Curiel, D.; Tarraga, A.; Molina, P. Bis(Carbazoly)Ureas as Selective Receptors for the Recognition of Hydrogenpyrophosphate in Aqueous Media. *J. Org. Chem.*, **2013**, 78 (19), 9725–9737.

7. Lisad

Lisa 1. Sünteesiprotokollid

3,6-di-*tert*-butüül-9H-karbasooli (aine 2) süntees

Süntees teostati Liu *et al.* artiklis toodud protokoll järgi koos muudatustega [29].

Karbasool (5,030 g, 30,08 mmol) kaaluti ümarkolvis ning kolb puhuti läbi argoonivooluga. Valati 100 ml CH₃NO₂ ning järsult lisati eelnevalt kaalutud kaaluklaasis argoonikapis ZnCl₂ (9,184 g, 67,39 mmol, 2,2 ekv). *Tert*-Butüülkloriid (11,5 ml, 91,6 mmol, 3 ekv) lahustati 35 ml nitrometaanis ning lisati aeglaselt segades reaktsioonisegule. Kolb varustati kummiseptumi ja argooniga täiedatud õhupalliga ning segati toatemperatuuril 12 tundi. Reaktsioonisegu aurutati kokku rotaatoraurutiga (50 °C vannitemperatuur) ning saadud kuivale jäägile lisati 200 ml DCM-i (diklorometaani). Zn soolade hüdrolüüsimiseks toorsegu segati 200 ml Milli-Q veega ning tekkinud kihid eraldati jaotuslehtis. Veefaas ekstraheeriti 80 ml DCM-iga ning ühendatud orgaanilised faasid pesti 3 korda 200 ml Milli-Q veega, seejärel 200 ml küllastunud NaCl lahusega. Saadud orgaanilist faasi kuivatati veevaba magneesiumsulfaadiga ning aurutati kokku. Saadi toorprodukt (8,510 g, 30,46 mmol), mida kristalliseeriti ümber heksaanis (1 g toorprodukti – 22,5 ml heksaanis). Saadud küllastatud lahust jahutati kõigepealt toatemperatuurini ning hoiti sama temperatuuri juures (17 h), selle aja jooksul toimus aeglane kristallide kasv. Seejärel jahutati segu külmikus (7 h, 4 °C) ja viimasena sügavkülmkapis (17 h, -20 °C). Tuhmvalged kristallid filtreeriti, pesti jääkülma heksaaniga ning kuivatati vaakumis (5,251 g, 62%).

¹H TMR (700 MHz, DMSO-d₆): δ 10,92 (bs, NH, 1H) 8,15 (d, *J* = 1,76 Hz, Ar(H), 2H), 7,43 (dd, *J* = 1,76, 8,45 Hz, Ar(H), 2H), 7,38 (d, *J* = 8,45 Hz, Ar(H), 2H), 1,41 (s, 6xCH₃, 18H) ppm.

R_f: 0,76 (3:1, Hex:EtOAc)

1,8-dibromo-3,6-di-*tert*-butüül-9H-karbasooli (aine 3) süntees

Protseduur on teostatud Gibson *et al.* artiklis toodud sünteesiprotokoll järgi [30].

Aine 2 (5,092 g, 18,22 mmol) lahustati 500 ml etaanhappes. 10 ml hapet kanti üle viaali, tõmbekapis lahustati broom ning lisatud broomikogus arvutati viaali masside vahest (9,413 g,

58,90 mmol, 3,2 ekv). Broomilahus äädikhappes lisati klaaspiipetiga tilkhaaval pidevalt segatavale reaktsiooniseerule ning pärast kogu broomilahuse lisamist reaktsiooniseegu segati toatemperatuuril 1 tund. Seejärel reaktsiooniseegu aurutati kokku kogu ning kuiv produkt lahustati 300 ml EtOAc-is (etüülatsetaadis). Lahus pesti 100 ml 1 M NaOH, 100 ml 1 M NaHCO₃ ja 100 ml küllastunud NaCl lahustega ning kuivatati veevaba MgSO₄ abil. Orgaaniline faas aurutati kokku ning saadi helekollased kristallid (7,817 g, 98%).

¹H TMR (700 MHz, DMSO-d₆): δ 10,82 (bs, NH, 1H) 8,24 (s, Ar(H), 2H), 7,63 (s, Ar(H), 2H), 1,40 (s, 6xCH₃, 18H) ppm.

R_f: 0,70 (40:1, Hex:EtOAc)

3,6-di-*tert*-butüül-9H-karbasool-1,8-diamiini (aine 4) süntees

Süntees koos väikeste muudatustega on teostatud Jung *et al.* artiklis toodud meetodika järgi [35].

50 ml Ace surveanumat puhuti läbi argooniga ning lisati kuivad CuI (0,301 g, 1,580 mmol, 34 mol-%) ja aine **3** (2,007 g, 4,590 mmol). Argooni voolus lisati 24 ml dimetüülsulfoksiidi ning pealepandud korgiga reaktsioonianumat puhuti läbi argooniga 5 min vältel. Argooniga läbipuhumise ajal jätkati reaktsiooniseegu pidevat segamist. Seejärel süstiti argooni voolus segusse *N,N'*-dimetüületüleendiamiini (260 µl, 2,416 mmol, 0,5 ekv). Saadud reaktsiooniseegu segati ning puhuti argooniga läbi õrnalt pealepandud korgiga veel 1 min. Siis kork keerati kinni ning suspensiooni segati 20 min toatemperatuuril. Reaktsiooniseegu jahutati külmas veevannis ja lisati ettevaatlikult, ilma segamiseta, külma ammoniaagi (12 ml 33%, 204 mmol, 44,6 ekv) vesilahust argooni voolus. Seejärel kork keerati kinni, segamine pandi tööle ning reaktsiooniseegu kuumutati 130 °C õlivannis 19 tundi. Suspensioon jahutati toatemperatuurini ning kanti üle ümarkolbi 100 ml EtOAc-iga ja filtreeriti. Filtraati pesti 250 ml küllastunud NaCl lahusega ning veefaasist ekstraheeriti produkti 3 korda 50 ml EtOAc-iga. Ühendatud orgaanilised faasid kuivatati küllastunud NaCl lahuse ja veevaba MgSO₄-ga ning orgaaniline faas aurutati kokku rotaatoraurutiga, kuni saadi puhastamata saadus kristalsel kujul (1,524 g, 4,925 mmol). Ainet puhastati kolonnkromatograafia meetodil. Eluendiks kasutati alguses EtOAc ja heksaani 5:1 segu ning pärast puhast EtOAc-i. Saaduseks oli punakas tahkis, mida kuivatati vaakumis (0,908 g, 64%).

¹H TMR (700 MHz, DMSO-d₆): δ 10,07 (bs, NH, 1H) 7,26 (d, *J* = 1,60 Hz, Ar(H), 2H), 6,71 (d, *J* = 1,60 Hz, Ar(H), 2H), 4,83 (bs, 2xNH₂, 4H), 1,35 (s, 6xCH₃, 18H) ppm.

R_f: 0,37 (1:5, Hex:EtOAc)

***tert*-butüül(8-amino-3,6-di-*tert*-butüül-9H-karbasol-1-üül)karbamaadi (aine 5) süntees**

Süntees teostati Sanchez *et al.* artiklis toodud protokoll järgi koos muudatustega kromatograafia osas [36].

2 kaelaga 250 ml ümarkolbi kaaluti aine **4** (0,859 g, 2,78 mmol) ning lisati 40 ml DCM-i. Lähteaine moodustas suspensiooni. Alustati segamist ning 5 tunni jooksul lisati tilklehtrist 30 ml lahjat di-*tert*-butüüldikarbonaadi (0,613 g, 2,809 mmol, 1 ekv) lahust DCM-is. Pärast lähteainete kokkusegamist kolb suleti kummiseptumitega ning reaktsioonilahust segati üks ööpäev (~26 h). Järgmisel päeval aurutati rotaatoraurutiga reaktsioonisegu kokku ning toorprodukt (1,192 g, 2,910 mmol) lahustati 13 ml kloroformis. Ainet puhastati kolonnkromatograafia meetodil. Eluendiks kasutati isokraatilist CHCl₃ ja EtOAc 5:1 segu. Saaduseks oli roosa värvi tahkis, mida kuivatati vaakumis (0,770 g, 68%).

¹H TMR (700 MHz, DMSO-d₆): δ 10,15 (bs, karb. NH, 1H) 8,86 (bs, Boc NH, 1H), 7,74 (d, *J* = 1,21 Hz, Ar(H), 1H), 7,61 (bs, Ar(H), 1H), 7,35 (d, *J* = 1,07 Hz, Ar(H), 1H), 6,74 (d, *J* = 1,21 Hz, Ar(H), 1H), 5,00 (bs, NH₂, 2H), 1,52 (s, 3xCH₃, 9H), 1,37 (s, 3xCH₃, 9H), 1,35 (s, 3xCH₃, 9H) ppm.

R_f: 0,35 (5:1, CHCl₃:EtOAc)

1,3-bis(3,6-di-*tert*-butüül-8-(*tert*-butoksükarbonüülamino)-9H-karbasol-1-üül)uurea süntees

Süntees teostati Sanchez *et al.* artiklis toodud protokoll järgi koos muudatustega [8].

Aine **5** (0,752 g, 1,840 mmol) ja karbonüül-diimidiasooli (CDI) (0,202 g, 1,246 mmol, 0,7 ekv) kanti üle 100 ml ahjukuiva, lämmastikujooas jahutatud ümarkolbi koos 30 ml kuiva DMF-iga (*N,N*-dimetüülformamiidiga). Kolvi sisu vakumeeriti vaakumpumbaga, täideti lämmastikuga kolme tsükli käigus ja pärast suleti kummiseptumiga. Reaktsioonisegu segati 65 °C õlivannis üleöö (20 h).

Järgmisel päeval teostatud TLC analüüs näitas, et suur osa algainest jäi reageerimata ning lisati veel CDI-d (0,050 g, 0,308 mmol, 0,2 ekv) koos 15 ml DMF-iga. Kõik vakumeerimis- ja täitmisetapid korrati üle ning reaktsioonisegu segati veel 4 tundi. TLC analüüsi järgi CDI lisamine ei mõjutanud olukorda, seega temperatuur tõsteti 80 °C peale ning lasti reaktsioonil käia veel üleöö. TLC analüüsi järgi olukord jälle ei muutunud ning reaktsioon lõpetati 500 ml Milli-Q vee lisamisega, mille tulemusel moodustus peen sade. Saadud suspensiooni jahutati külmkapis, sade filtreeriti välja ja pesti mitu korda toatemperatuuril oleva Milli-Q veega. Saadud tahke aine lahustati DCM-is, orgaanilist faasi pesti 100 ml küllastunud NaCl lahusega ning kuivatati veevaba MgSO₄-ga. Orgaaniline faas aurutati kokku ning saadi kristallid (0,707 g, 0,837 mmol). Ainete puhastati kolonnkromatograafia meetodil. Eluendiks kasutati isokraatilist heksaani ja EtOAc 5:1 segu. Saaduseks oli pruun tahkis, mida kuivatati vaakumis (0,367 g, 47%).

¹H TMR (700 MHz, DMSO-d₆): δ 10,24 (bs, karb. 2xNH, 2H), 9,28 (bs, Boc 2xNH, 2H), 8,78 (bs, uurea NH, 2H), 7,92 (d, *J* = 0,84 Hz, Ar(H), 2H), 7,86 (d, *J* = 0,81 Hz, Ar(H), 2H), 7,80 (bs, Ar(H), 2H), 7,50 (d, *J* = 0,84 Hz, Ar(H), 2H), 1,45 (s, 6xCH₃, 18H), 1,42 (s, 6xCH₃, 18H), 1,39 (s, 6xCH₃, 18H) ppm.

R_f: 0,78 (2:1, Hex:EtOAc)

1,3-bis(3,6-di-*tert*-butüül-8-(*tert*-butoksükarbonüülamino)-9H-karbasol-1-üül)uurea paralleelkatse

Aine **5** (0,213 g, 0,520 mmol) ja karbonüüldiimidiasool (CDI) (0,047 g, 0,290 mmol, 0,6 ekv) kanti üle 10 ml ümarkolbi koos 6 ml kuiva DMF-iga. Kolvi sisu vakumeeriti vaakumpumbaga, täideti lämmastikuga kolme tsükli käigus ja pärast suleti kummiseptumiga. Reaktsioonisegu segati 65 °C õlivannis üleöö (20 h). Järgmisel päeval teostatud TLC analüüsi järgi reageeris algaine peaaegu täielikult ära. Reaktsioon lõpetati 60 ml Milli-Q vee lisamisega, mille tulemusel tekkis kolloidsüsteem. Kolb jahutati külmkapis ning kanti üle jaotuslehtrisse koos 50 ml DCM-iga, nii et veekiht muutus läbipaistvaks ja kogu saadus oli lahustatud DCM-i kihis. Veekihti ekstraheeriti täiendavalt 20 ml DCM-iga, ühendatud orgaanilised faasid pesti 2 korda 100 ml Milli-Q vee ning 100 ml küllastunud NaCl lahusega. Seejärel lahus kuivatati veevaba MgSO₄-ga ning orgaaniline faas aurutati kokku, et saada kristallid (0,212 g, 0,251 mmol). ¹H TMR spektrist võib järeldada

(kaitstud ühendi **6** ja ühendi **5** karbasooli NH prootonite signaalide normaliseeritud integraalväärtuste suhe on 9:1), et hinnatav urea kogus on 0,207 g (0,245 mmol, 91%).

1,3-bis(8-amino-3,6-di-*tert*-butüül-9H-karbasool-1-üül)uurea (aine 6) süntees

Protseduur on teostatud Sanchez *et al.* artiklis toodud sünteesiprotokolli järgi [36].

1,3-bis(3,6-di-*tert*-butüül-8-(*tert*-butoksükarbonüülamino)-9H-karbasool-1-üül)uurea (0,236 g, 0,279 mmol) lahustati 20 ml DCM-is 100 ml ümarkolvis lämmastiku atmosfääri all. Pideval segamisel lisati läbi kummiseptumi süstlast tilkhaaval trifluoroäädikhappe (1,29 ml, 16,8 mmol, 60,4 ekv), mille tulemusel muutus lahus tumedaks. Lahust segati üleöö toatemperatuuril. TLC järgi kogu lähteaine reageeris ära ning seejärel reaktsioonisegu neutraliseeriti 50 ml 1 M NaHCO₃ lahusega ning veekiht ekstraheeriti täiendavalt 20 ml DCM-iga. Ühendatud orgaanilised kihid pesti 2 korda 50 ml Milli-Q vee, 50 ml küllastunud NaCl lahusega ja kuivatati veevaba MgSO₄-ga. Orgaanilist faasi aurutati kokku rotaatoraurutiga ning saadi tumepruuni tahkist (0,179 g, 99%).

¹H TMR (700 MHz, DMSO-d₆): δ 10,04 (bs, karb. 2xNH, 2H), 8,73 (bs, urea NH, 2H), 7,81 (d, *J* = 1,32 Hz, Ar(H), 2H), 7,37 (d, *J* = 1,18 Hz, Ar(H), 4H), 6,74 (d, *J* = 1,52 Hz, Ar(H), 2H), 5,17 (bs, 2xNH₂, 4H), 1,41 (s, 6xCH₃, 18H), 1,36 (s, 6xCH₃, 18H) ppm.

R_f: 0,49 (EtOAc)

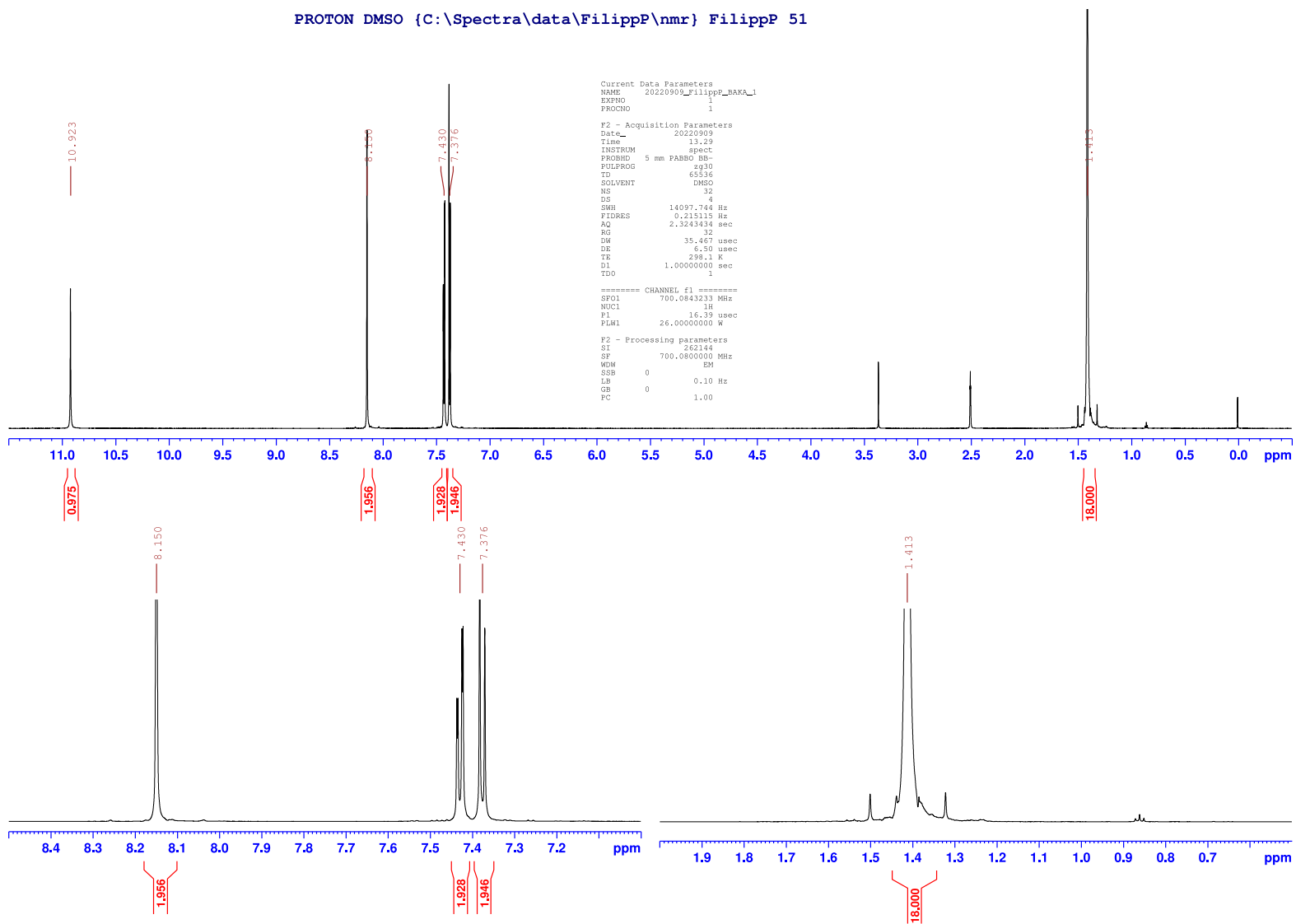
Lisa 2. *Tert*-butüülimisreaktsioonide lisaandmed

Katse nr	m _{amiin} , g	m _{MTBTA} , g	m _{kat} , g
1	0,0460	0,1099 (7 ekv)	0,0013
2	0,0489	0,1165 (7 ekv)	0,0066
3	0,0962	0,5495 (2,5 ekv)	0,0180
4	0,1550	0,2780 (2,5 ekv)	0,0165
5	0,0409	0,1004 (7 ekv)	0,0033
6	0,0901	0,2867 (9,5 ekv)	0,0037
7	0,0953	0,3078 (9,5 ekv)	0,0060

Tabelis on toodud: katse nr – teostatud di-*tert*-butüülimisreaktsiooni järjekorranumber; m_{amiin} – lähteainena kasutatud aniliini (katse nr 3), aine **4** (katse nr 4) või aine **6** (ülejäanud katsed) mass; m_{MTBTA} – lähteainena kasutatud *tert*-butüül 2,2,2-trikloroatsetimidaadi mass; m_{kat} – katalüsaatorina kasutatud vask(II)triflaadi mass.

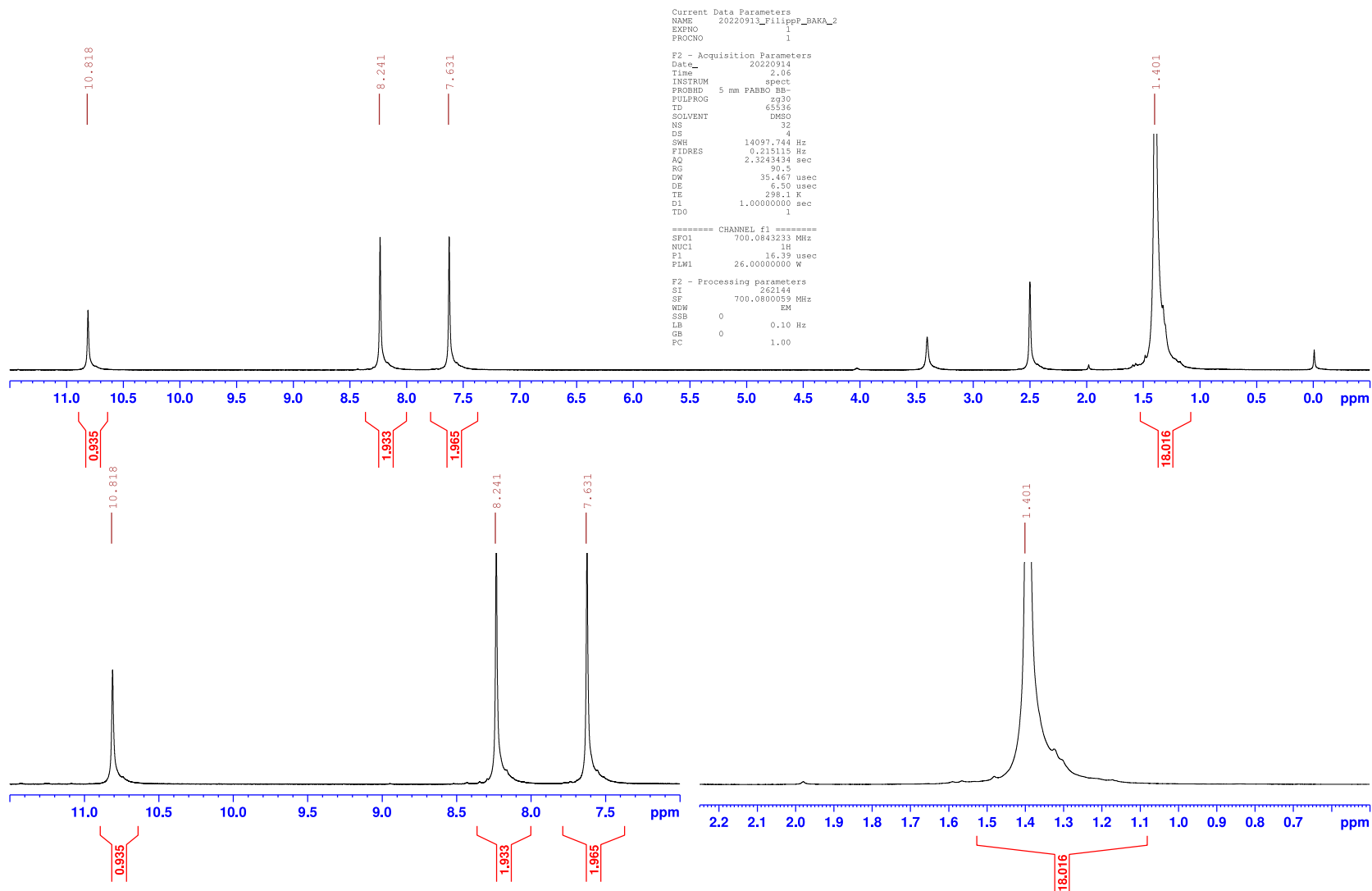
Lisa 2. ¹H TMR spektrid

PROTON DMSO (C:\Spectra\data\FilippP\nmr} FilippP 51



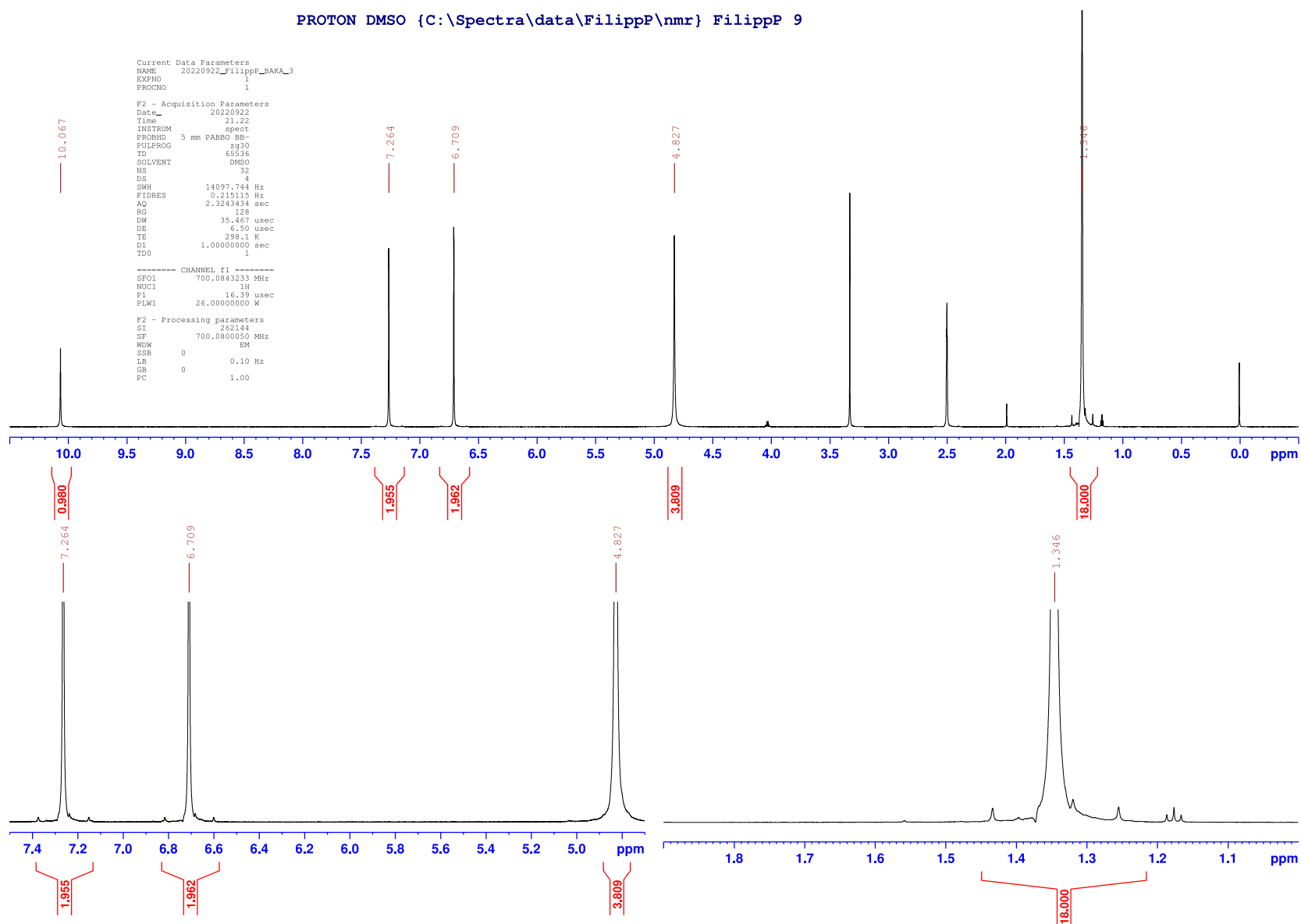
Spekter 1. Aine 2 ¹H TMR spekter.

PROTON DMSO {C:\Spectra\data\FilippP\nmr} FilippP 32



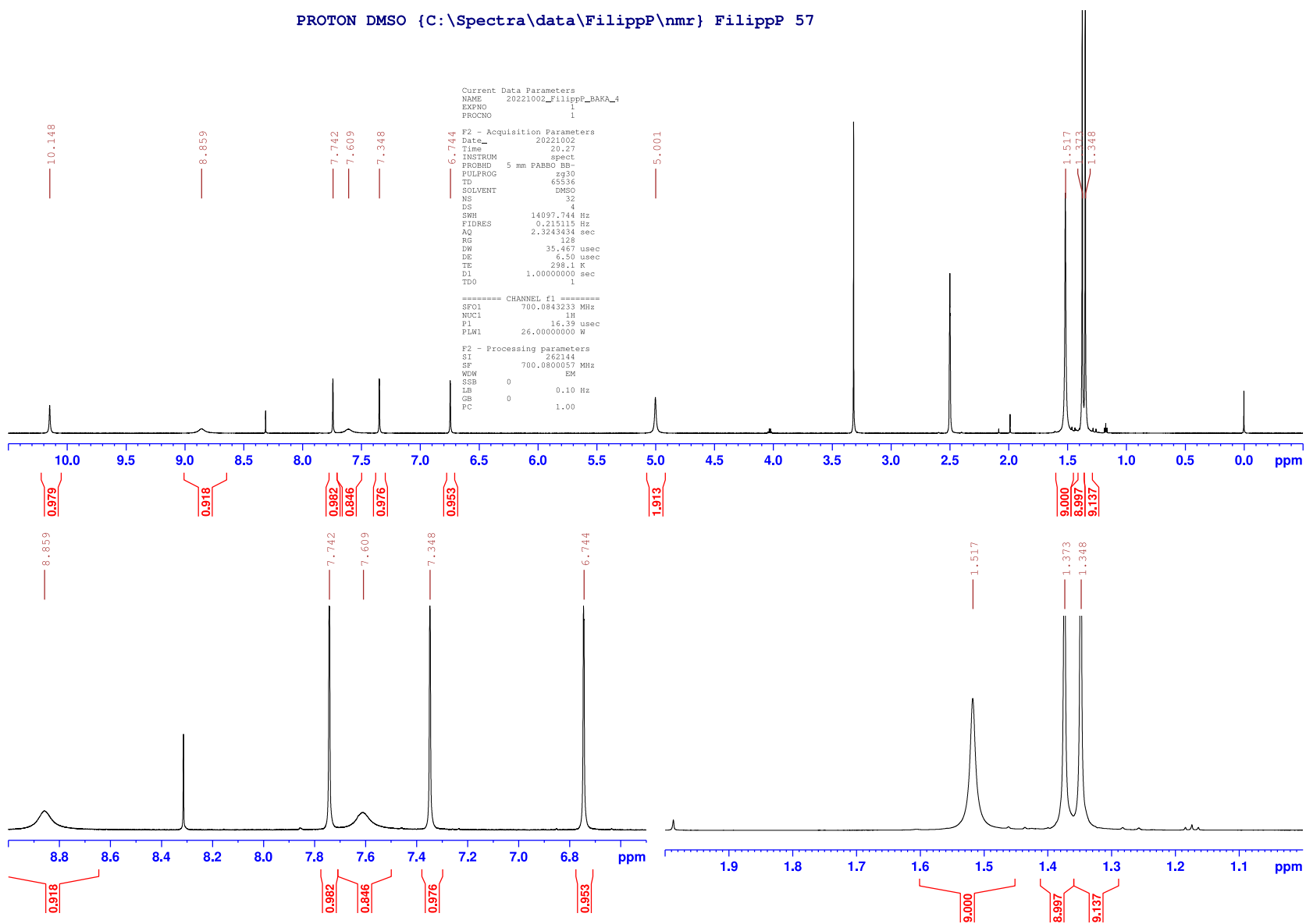
Spekter 2. Aine 3 ¹H TMR spekter.

PROTON DMSO {C:\Spectra\data\FilippP\nmr} FilippP 9



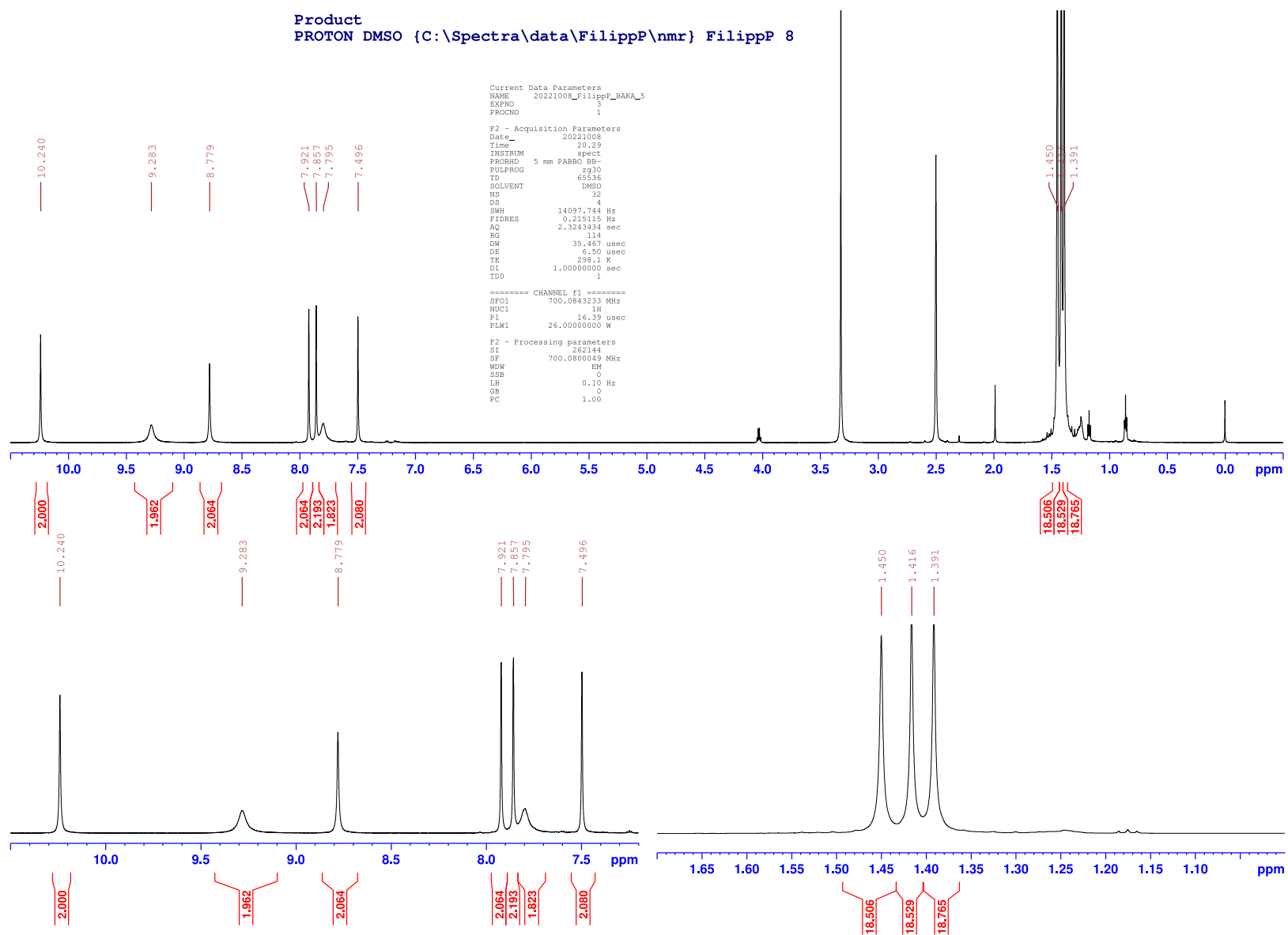
Spekter 3. Aine 4 ¹H TMR spekter.

PROTON DMSO {C:\Spectra\data\FilippP\nmr} FilippP 57



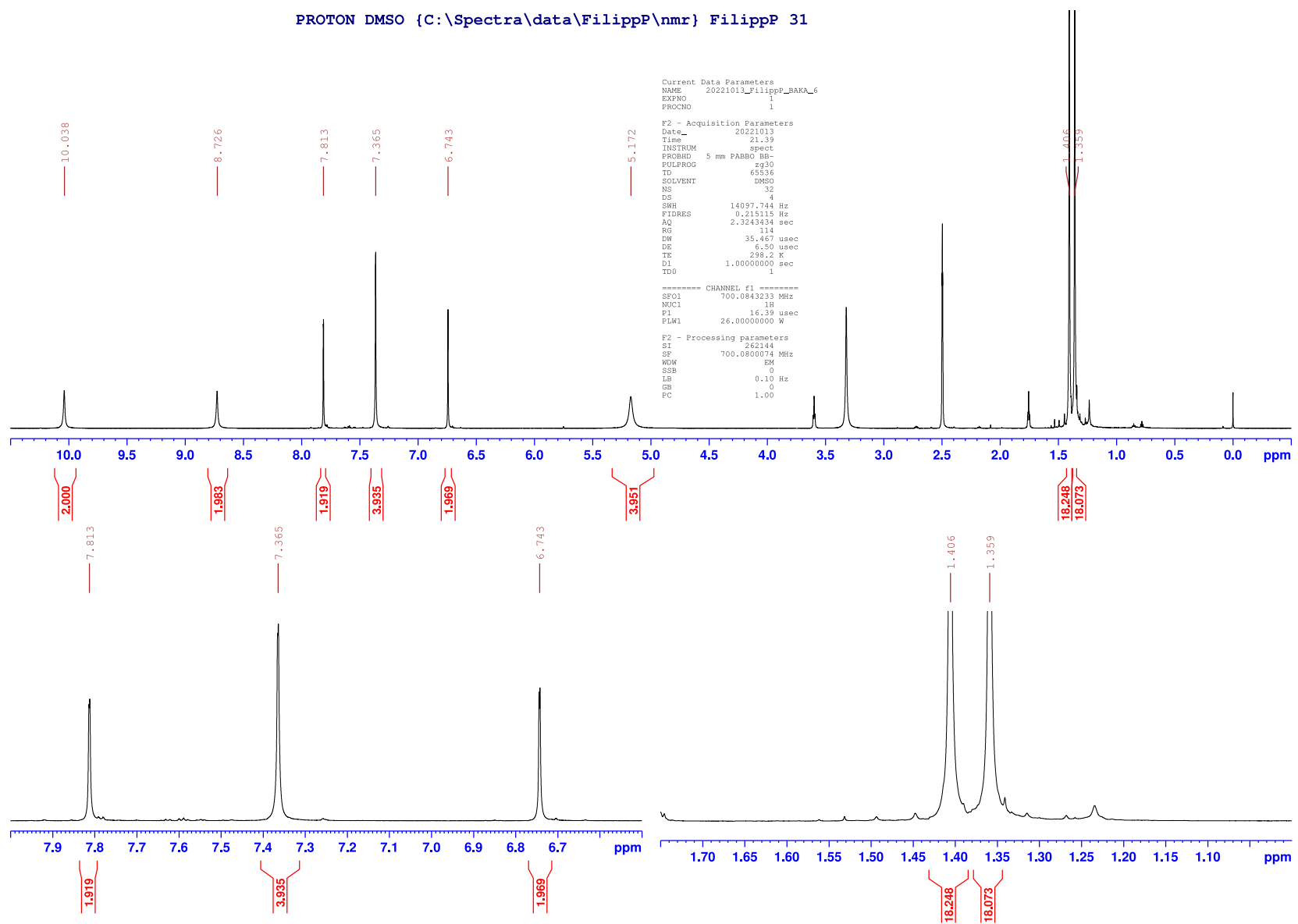
Spekter 4. Aine 5 ¹H TMR spekter.

Product
 PROTON DMSO {C:\Spectra\data\FilippP\nmr} FilippP 8



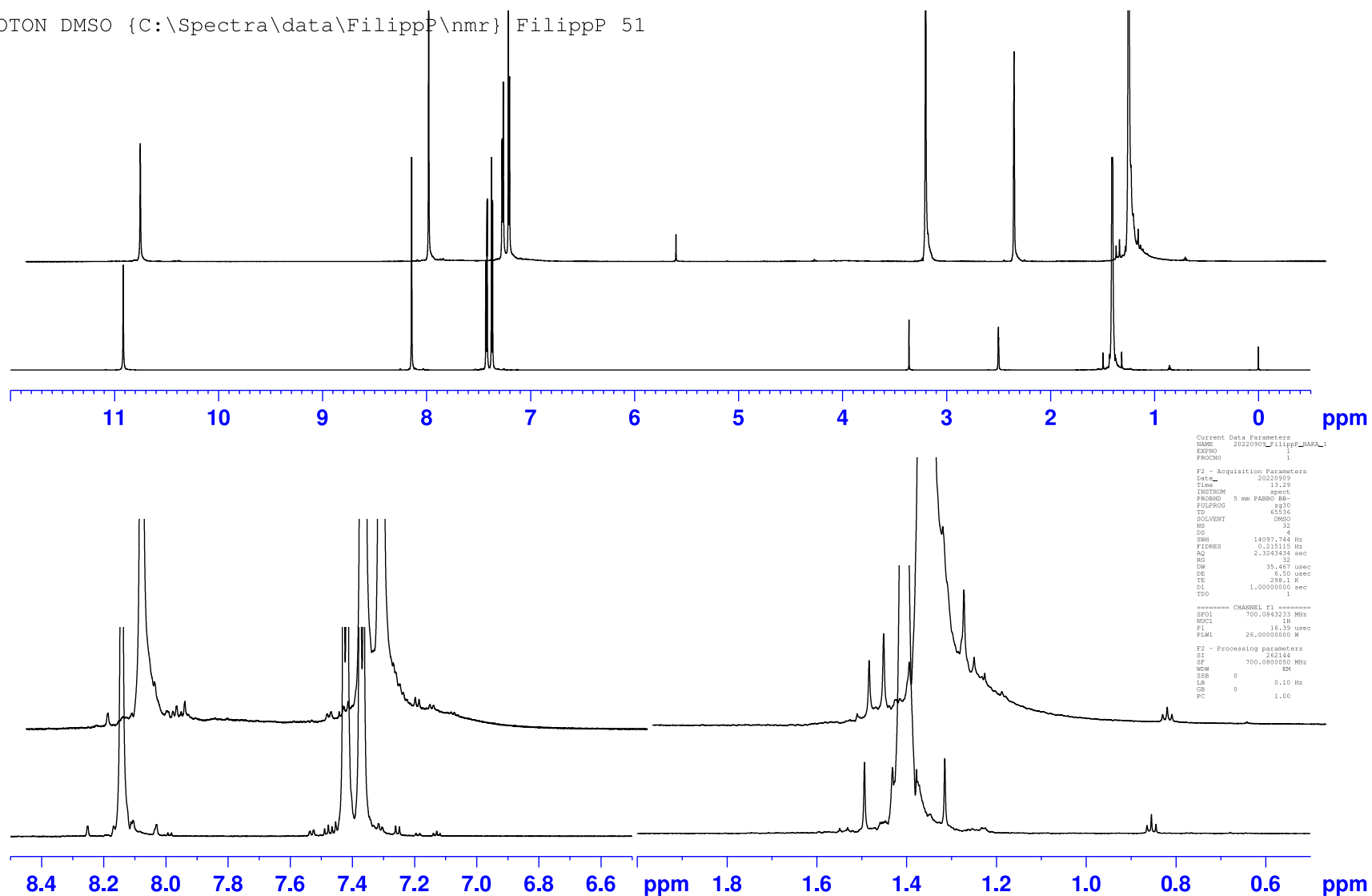
Spekter 5. Aine 6 (*tert*-butoksükarbonüül kaitserühmadega) ¹H TMR spekter.

PROTON DMSO (C:\Spectra\data\FilippP\nmr} FilippP 31



Spekter 6. Aine 6 ¹H TMR spekter.

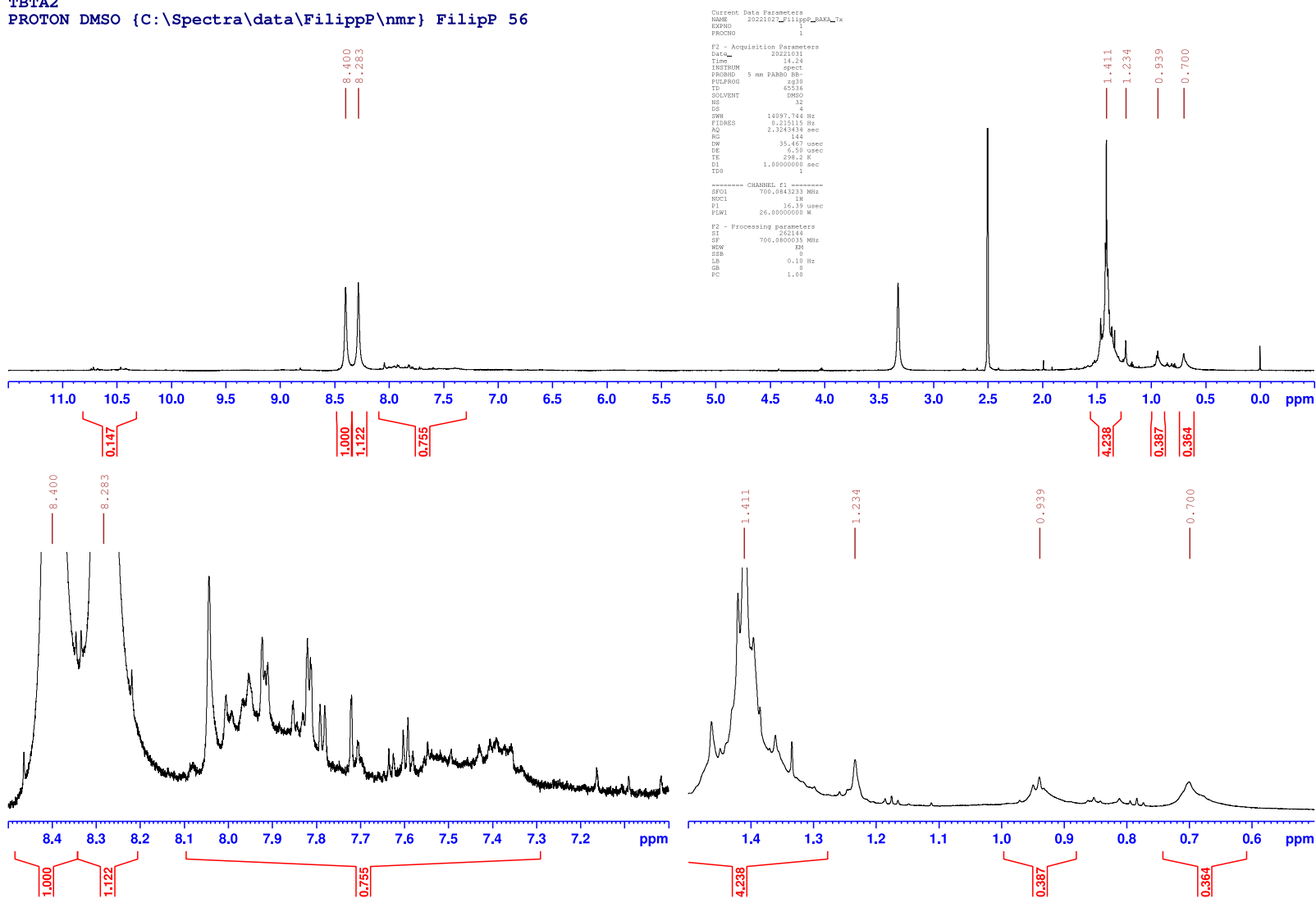
PROTON DMSO {C:\Spectra\data\FilippP\nmr} FilippP 51



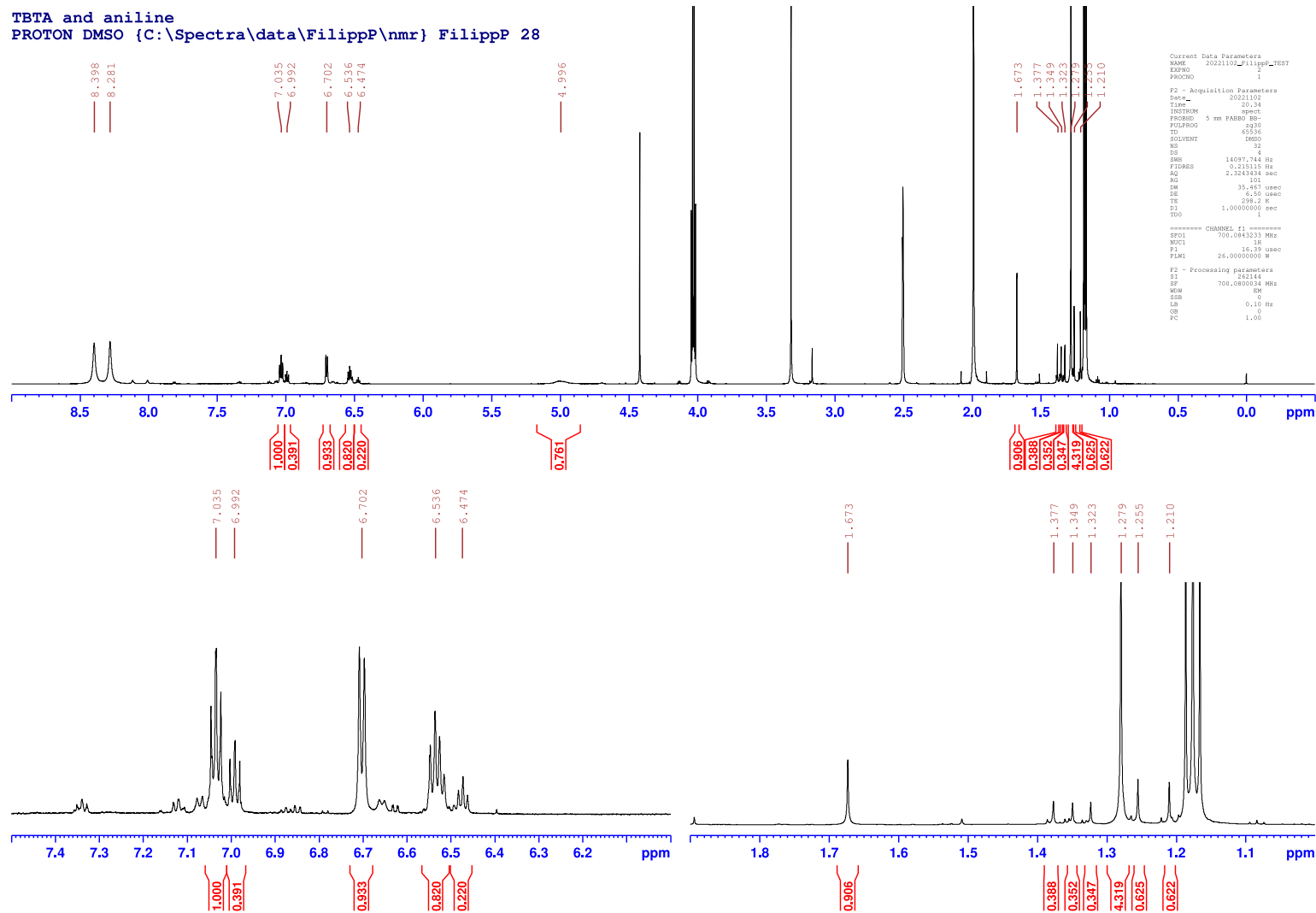
Spekter 7. Pentaaniga pestud (üleval) ning ümberkristalliseerimisega (all) puhastatud aine **2**. Pestud aine spektril on näha lisandeid nii alifaatses (1,2-1,6 ppm) ning kui aromaatses (7,0-8,3 ppm) piirkonnas.

TBTA2

PROTON DMSO {C:\Spectra\data\Filipp\NMR} Filip 56

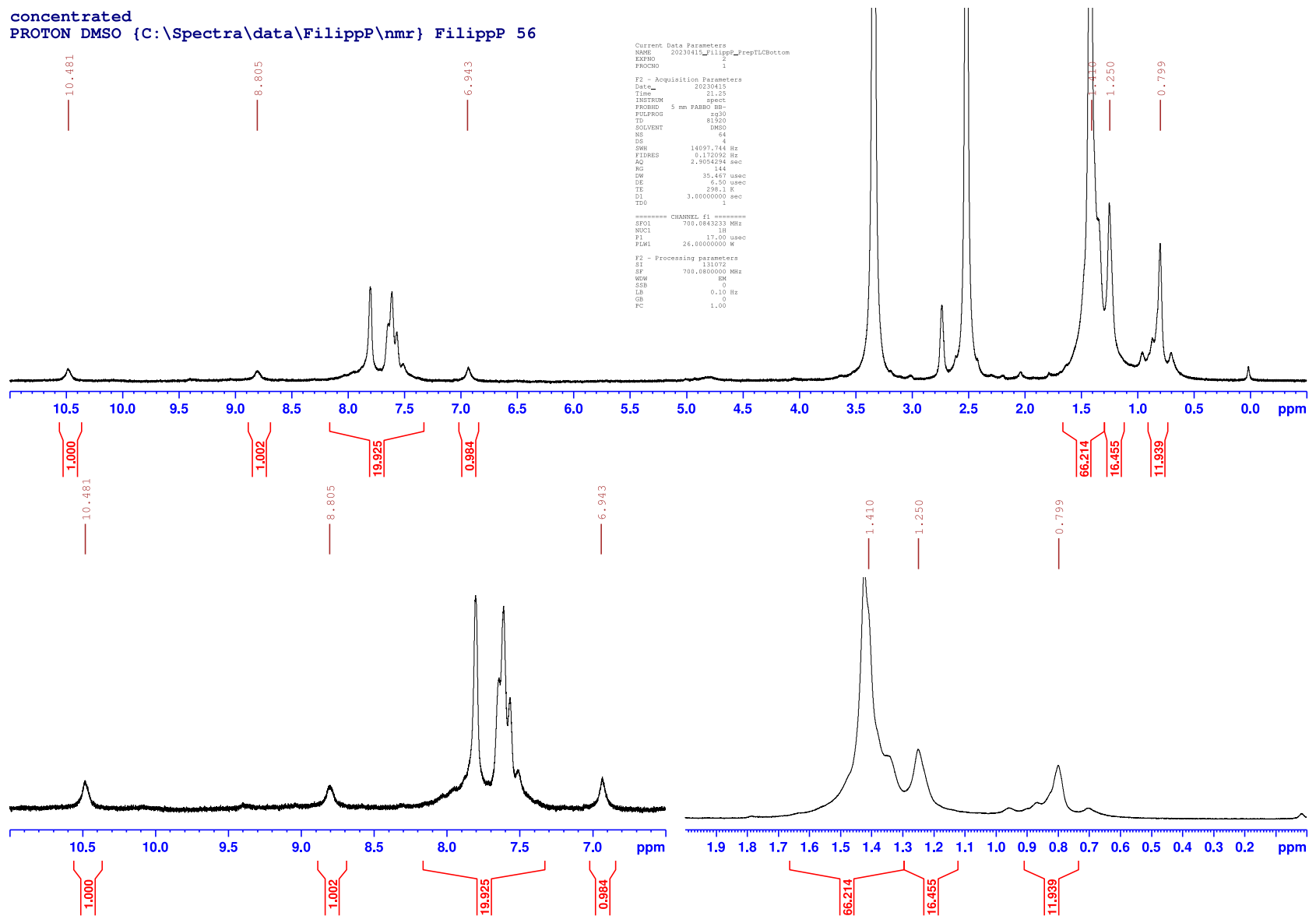


Spekter 8. Esimese eksperimendi tulemusena saadud *tert*-butüülimisreaktsiooni saaduse ¹H TMR spekter. δ 8,40 (s) ja 8,28 (s) ppm signaalidele vastavad kaks 2,2,2-trikloroatsetamiidi prootonit. Aromaatsetes alades on signaal peaaegu müratasemel.



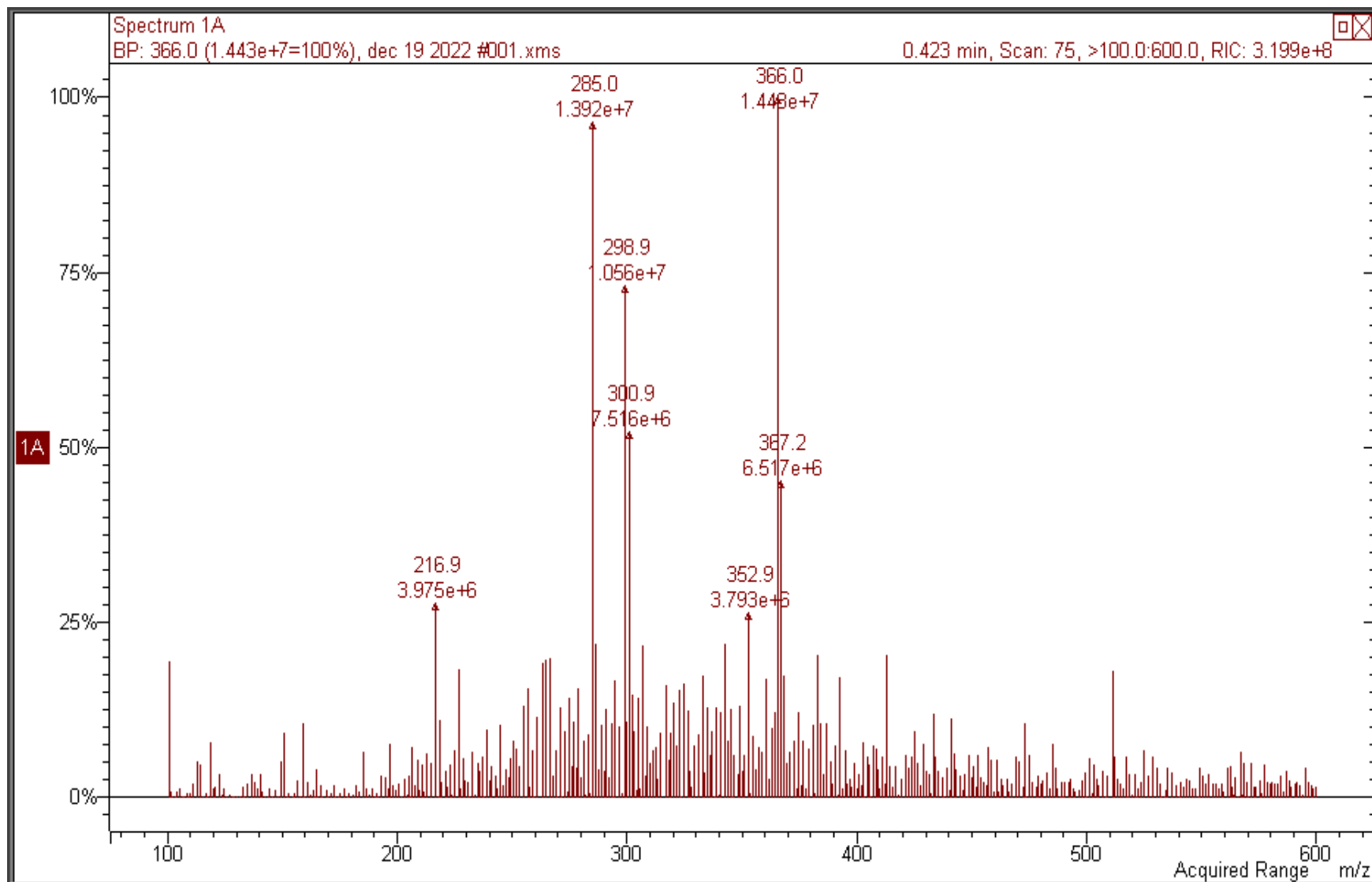
Spekter 9. Aniliini *tert*-butüülimise käigus saadud segu ^1H TMR spekter. Proov kontsentreeriti etüülatsetaadis ja siis lahustati DMSO- d_6 -s. Aromaatse alas ilmub iga aniliini signaali juures veel sarnase struktuuriga aine signaal. Aniliini NH_2 prootonite signaal δ 5,00 (s) on peaaegu kadunud.

concentrated
 PROTON DMSO {C:\Spectra\data\FilippP\nmr} FilippP 56



Spekter 10. PTLC käigus eraldatud alumise tsooni ¹H TMR spekter. Proovi kontsentratsioon 12 mg/ml.

Lisa 3. Massispektrid



Spekter 11. Aine 4 *tert*-butüülamise reaktsioonisegu massispekter.

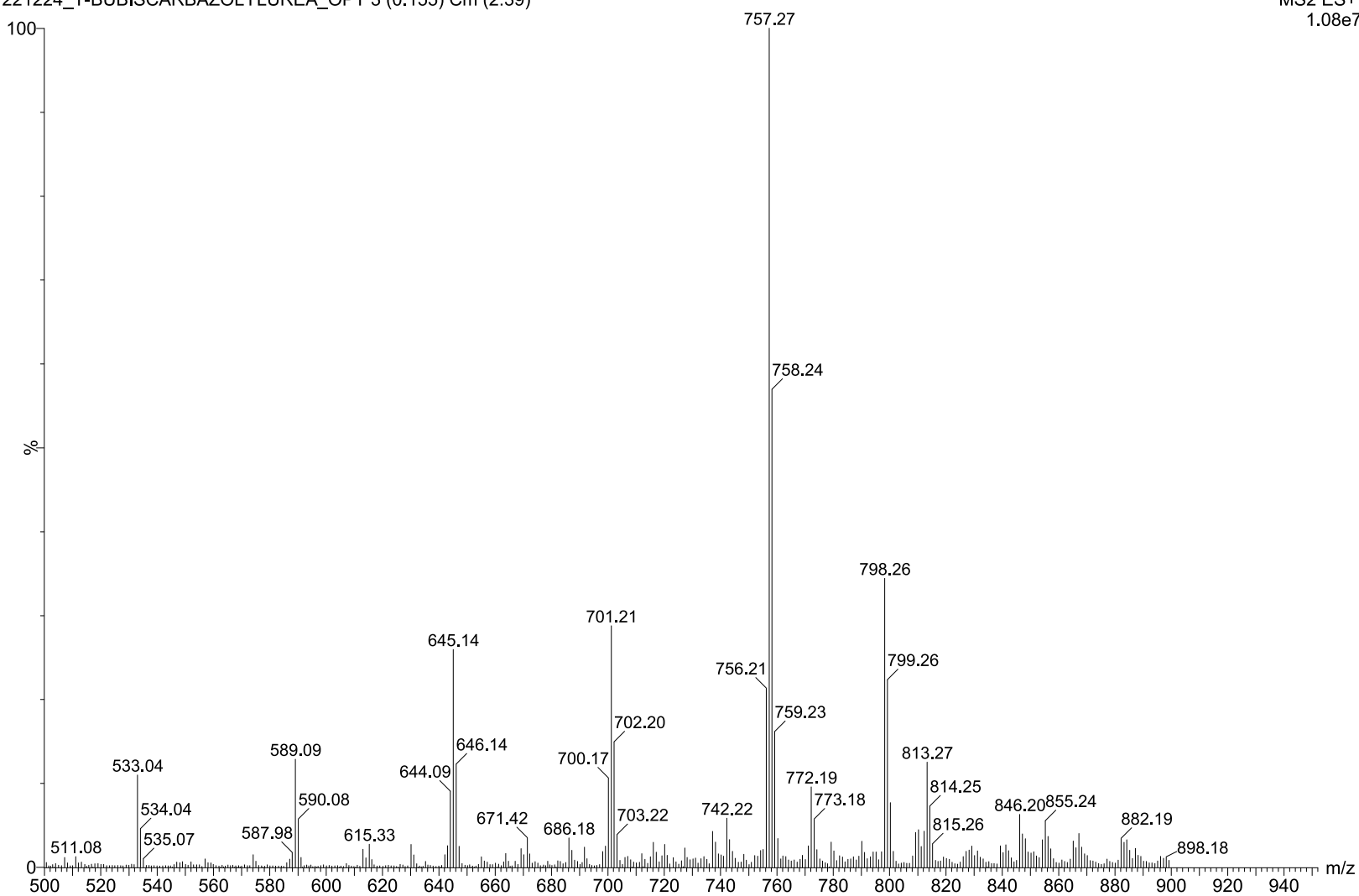
optimized cone 40

221224_T-BUBISCARBAZOLYLUREA_OPT 3 (0.155) Cm (2:39)

QAA855

24-Dec-2022 12:55:25

MS2 ES+
1.08e7



Spekter 12. Aine **6** *tert*-butüülimise reaktsioonisegu massispekter. Spektril on näha reageerimata läteaine signaal (m/z 645), monoalküülitud aine **6** signaal (m/z 701) ning aine **7** signaal (m/z 757).

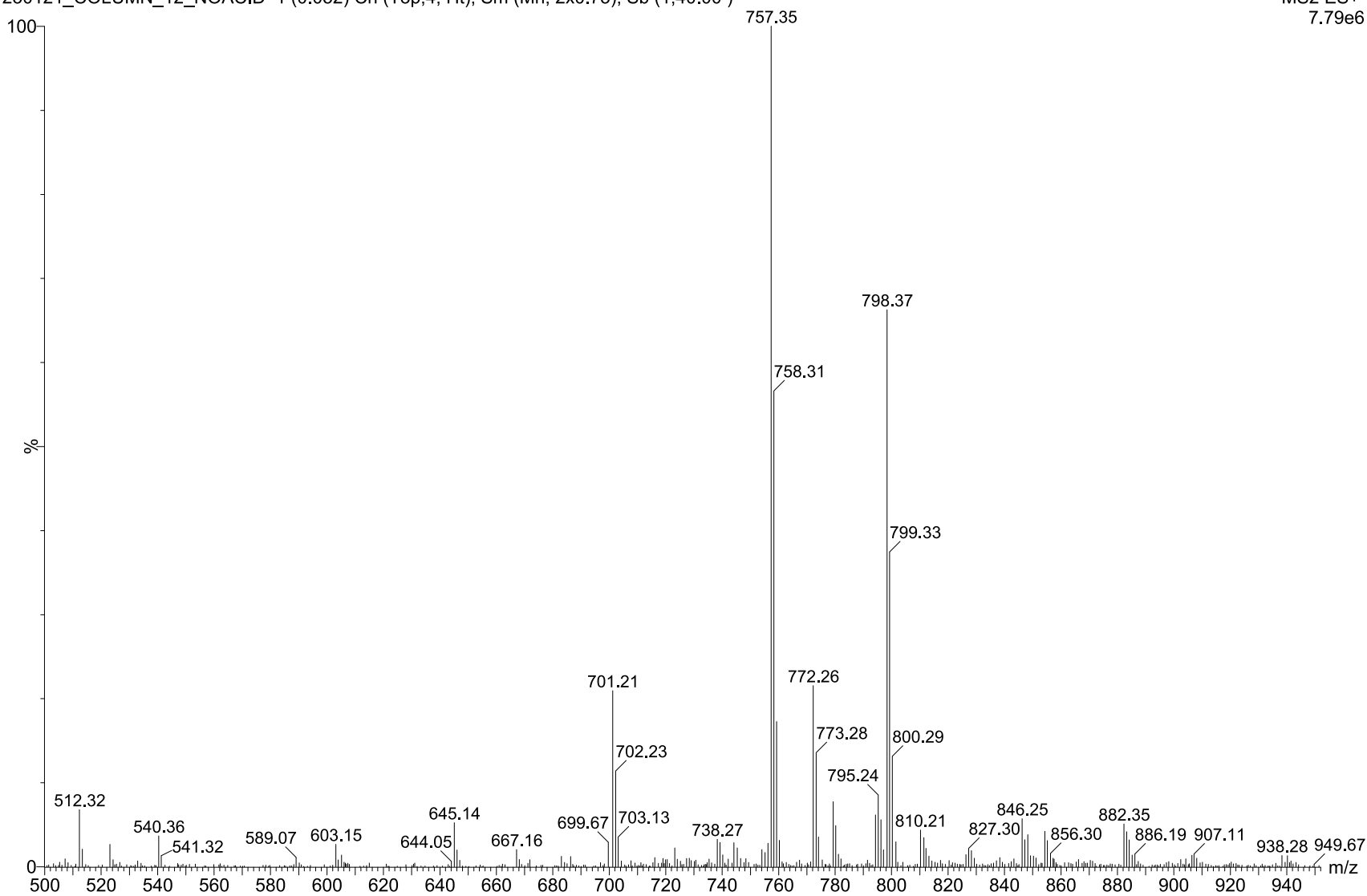
Cone 30 V

230121_COLUMN_12_NOACID 1 (0.052) Cn (Top,4, Ht); Sm (Mn, 2x0.75); Sb (1,40.00)

QAA855

21-Jan-2023 15:39:36

MS2 ES+
7.79e6

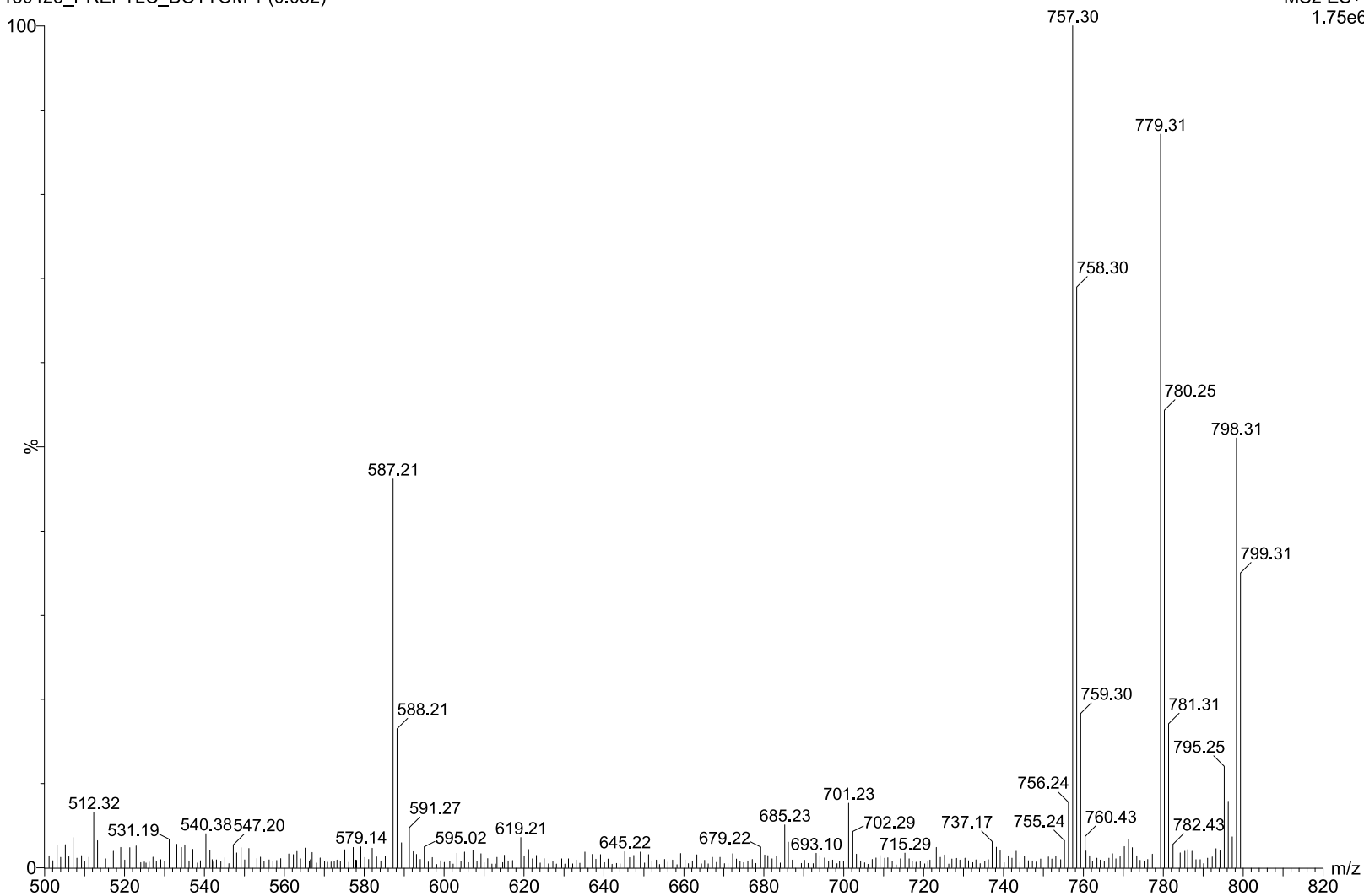


Spekter 13. Pärast gravimeetrilise kolonnkromatograafia puhastust saadud aine 7 massispekter.

cone 33V
150423_PREPTLC_BOTTOM 1 (0.052)

QAA855

15-Apr-2023 15:55:13
MS2 ES+
1.75e6



Spekter 14. PTLC-ga eraldatud aine **6** *tert*-butüülamise reaktsioonisegu alumise tsooni massispekter. Molekulaarioonile m/z 779 vastab ühendi **7** adukt naatriumkatiooniga [M+Na⁺].

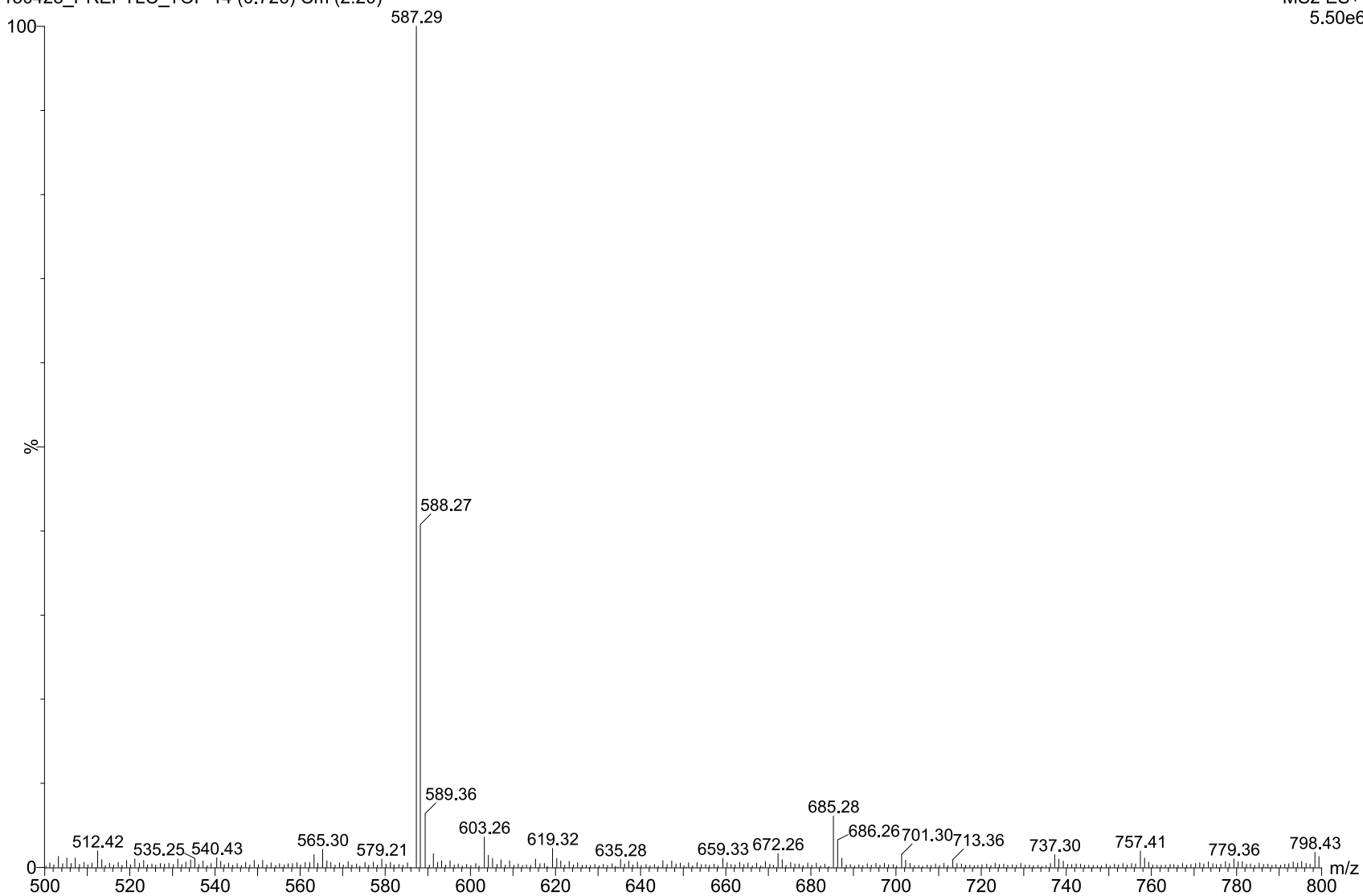
cone 33V

150423_PREPTLC_TOP 14 (0.726) Cm (2:20)

QAA855

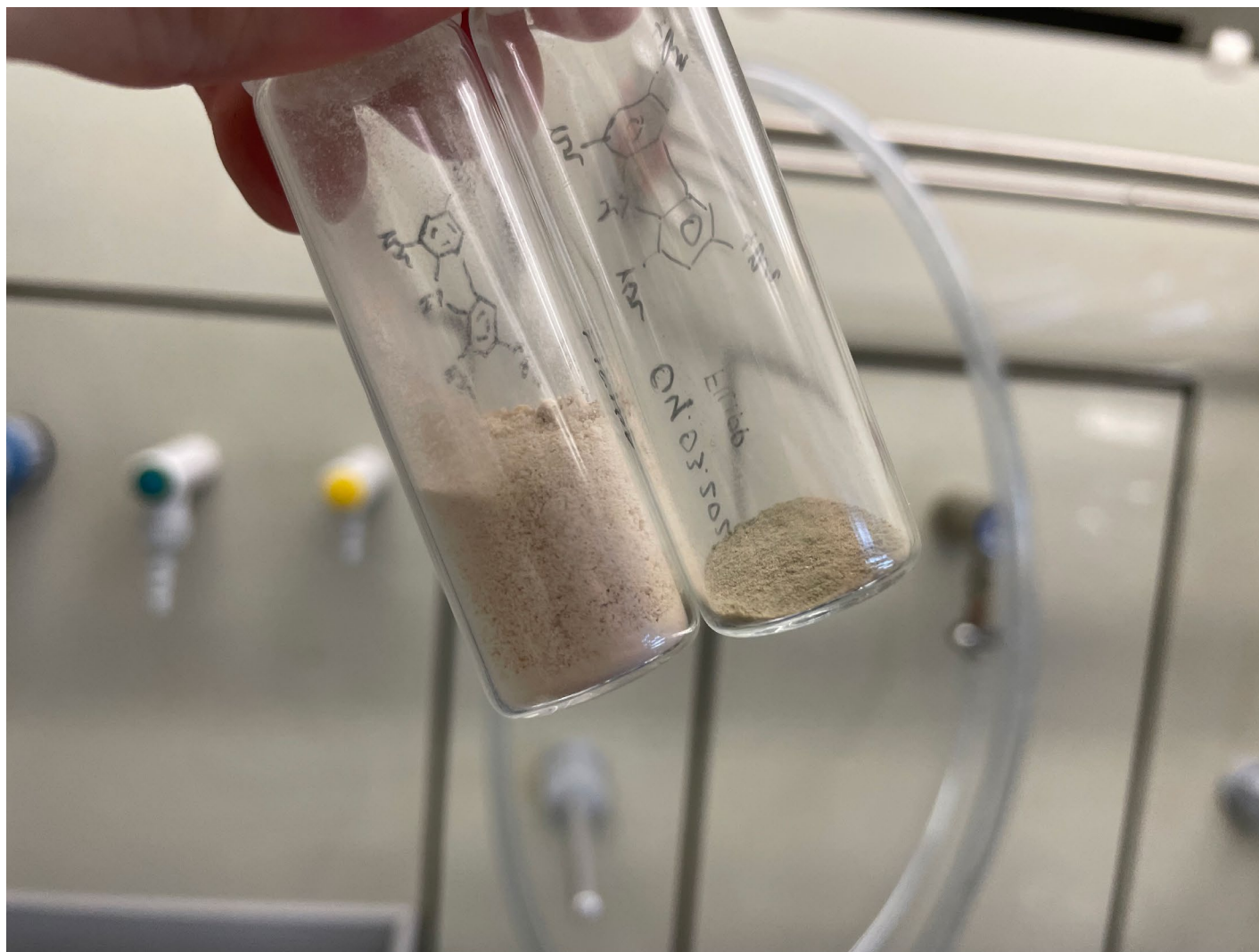
15-Apr-2023 17:30:20

MS2 ES+
5.50e6

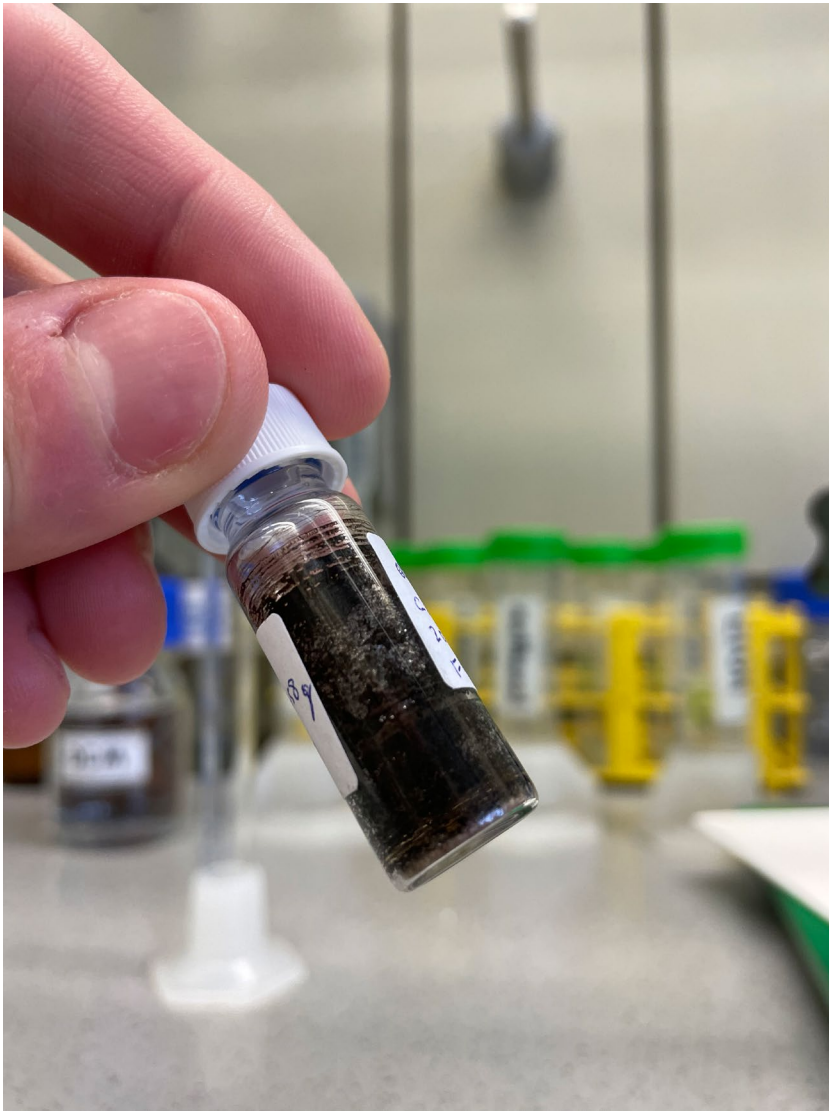


Spekter 15. PTLC-ga eraldatud aine 6 *tert*-butüülamise reaktsioonisegu ülemise tsooni massispekter.

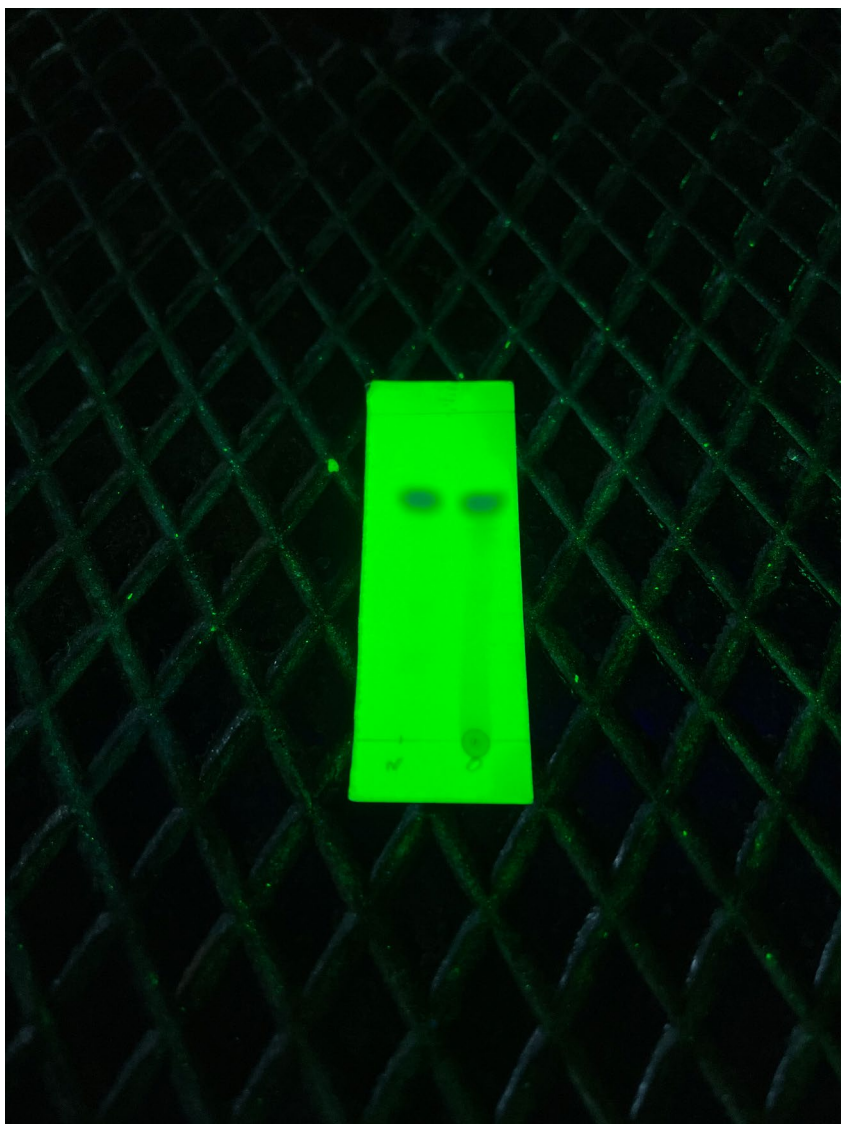
Lisa 4. Pildid



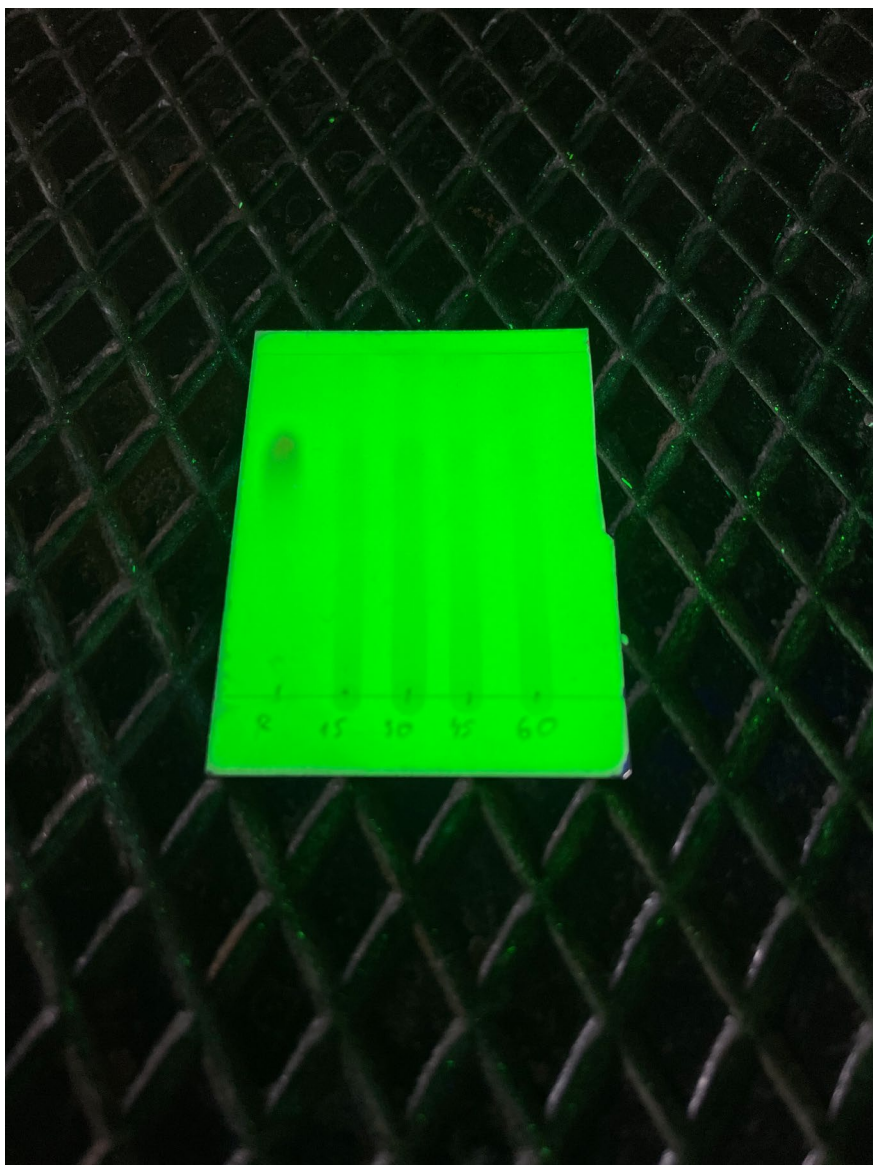
Pilt 1. Ümberkristalliseeritud aine **2** (vasakul) ning pentaaniga pestud aine **2** (paremal) sünteesitud aine **3**. Algse sünteesiartikli järgi on aine **3** „kollane tahkis“.



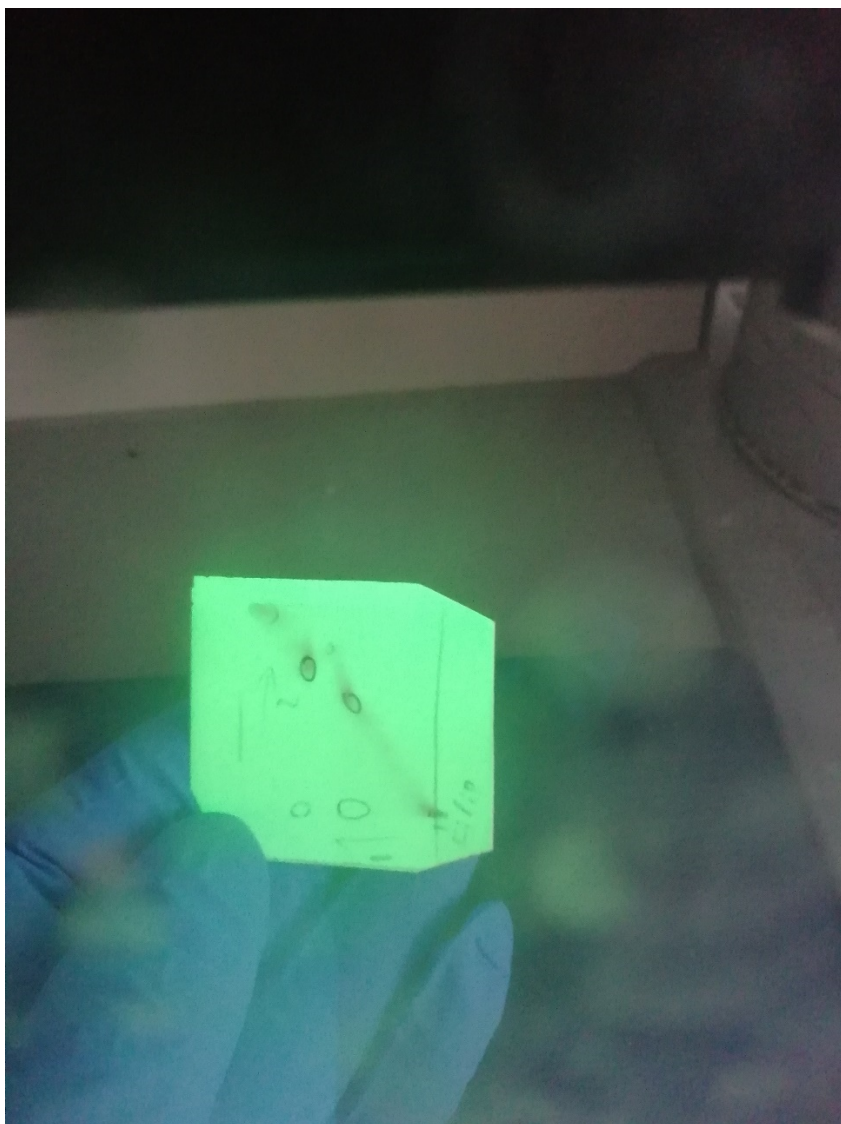
Pilt 2. Aine 6 *tert*-butüülamise puhastamata saadus.



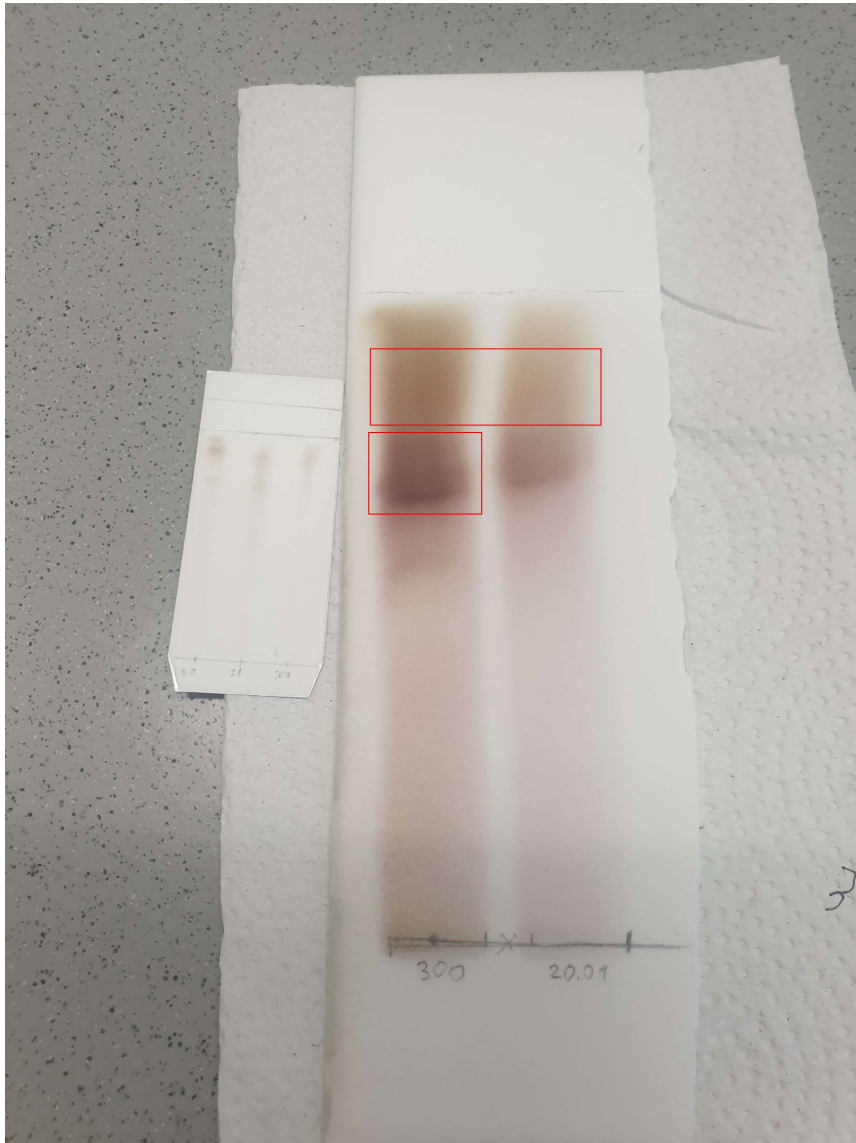
Pilt 3. Ümberkristalliseeritud ainest **2** (vasakul) ning pentaaniga pestud ainest **2** (paremal) sünteesitud aine **3**. Paremal on näha lisandeid plaadi stardijoonel.



Pilt 4. *Tert*-butüülimisreaktsiooni jälgimine. Esimene täpp vastab ainele **6**, edasised proovid võeti iga 15 minuti pärast.



Pilt 5. 2D TLC abil analüüsitud aine **6** *tert*-butüülimisel saadud segu. Analüüsi tulemus näitab, et aine ei lagune silikageelil ning segus esineb kaks põhikomponenti.



Pilt 6. PTLC plaat pärast elueerimist. On eraldunud kaks tsooni.

8. Infoleht

Karbasoolil põhinevate makrotsükliliste retseptorite süntees kasutades takistatud uureasideme dünaamilist meetodit

Käesoleva töö eesmärk oli arendada uus bis(karbasolüül)uureal põhinevate makrotsüklite sünteesistrateegia, mis kasutab dünaamilise kovalentkeemia reaktsioone, sealhulgas takistatud uureasideme meetodit. Töö käigus sünteesiti kuus ainet olemasoleva protokoll järgi, mille käigus täiustati mitmeid protseduuri etappe, mis parandas vaheühendite puhtust ja suurendas nende saagist. Süntees peatus di-*tert*-butüülitud vaheühendi sünteesimetoodika arendamise staadiumis. Teostati seitse korduskatset, millega prooviti läbi viia asendatud bis(karbasolüül)uurea *tert*-büülimist vask(II) katalüüsitud reaktsiooniga *tert*-butüül 2,2,2-trikloroatsetimidaadiga. Kasutati erinevaid puhastus- ja struktuuranalüüsi meetodeid.

Märksõnad: dünaamiline kovalentkeemia, takistatud uureaside, supramolekulaarkeemia, karbasoolretseptorid, orgaaniline süntees.

CERCS: P390 Orgaaniline keemia

Synthesis of carbazole-based macrocyclic receptors using dynamic hindered urea bond method

The objective of this study was to develop a new synthesis strategy for bis(carbazolyl)urea-based macrocycles that utilizes dynamic covalent chemistry reactions, including the hindered urea bond method. Throughout the work, six compounds were synthesized following an existing protocol, during which several procedural steps were improved, enhancing the purity of intermediates and their yield. The synthesis halted at the development stage of di-*tert*-butylated intermediate synthesis methodology. Seven experiments were conducted, attempting to carry out the *tert*-butylation of substituted bis(carbazolyl)urea using a copper(II) catalyzed reaction with *tert*-butyl 2,2,2-trichloroacetimidate. Various cleaning and structural analysis methods were used.

Keywords: dynamic covalent chemistry, hindered urea bond, supramolecular chemistry, carbazole receptors, organic synthesis.

CERCS: P390 Organic Chemistry

9. Lihtlitsents

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Filips Petuhovs

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) minu loodud teose „Karbassoolil põhinevate makrotsükliiliste retseptorite süntees kasutades takistatud ureasideme dünaamilist meetodit“ mille juhendajad on Prof Ivo Leito, PhD Alo Rüütel ja PhD Anton Mastitski reprodutseerimiseks eesmärgiga seda säilitada, sealhulgas lisada digitaalarhiivi DSpace kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.
2. Annan Tartu Ülikoolile loa teha punktis 1 nimetatud teos üldsusele kättesaadavaks Tartu Ülikooli veebikeskkonna, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace kaudu Creative Commons'i litsentsiga CC BY NC ND 4.0, mis lubab autorile viidates teost reprodutseerida, levitada ja üldsusele suunata ning keelab luua tuletatud teost ja kasutada teost ärieesmärgil, alates **24.05.2023** kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.
3. Olen teadlik, et punktides 1 ja 2 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
4. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei riku ma teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse õigusaktidest tulenevaid õigusi.

Filips Petuhovs

24.05.2023