

KEMIAN LAITOS
JYVÄSKYLÄN YLIOPISTO

***N*-asyylihemiaminaalit luonnonainesyntheseissä**

Kandidaatintutkielma
15.12.2015
Mona Cederström

Tiivistelmä

Monet *N*-asyylihemiaminaalin sisältävät luonnonaineet toimivat tai ovat potentiaalisia antimikrobisia tai kasvaimia inhiboivia yhdisteitä. *N*-asyylihemiaminaaliosat tuovat omat haasteensa luonnonaineiden synteeseihin. Niiden vuoksi synteeseissä täytyy kiinnittää erityistä huomiota reaktio-olosuhteiden happamuuteen, käytettyjen reagenssien regio- ja stereoselektiivisiin ominaisuuksiin sekä valmistettavan molekyylin muiden osien vaikutuksista hemiaminaaliosaan. Tässä tutkielmassa on esitelty muutamien luonnonaineiden synteesejä niiden hemiaminaaliosan kannalta sekä tehty havaintoja, kuinka ne käyttäytyvät synteeseissä.

Esipuhe

Tutkielman kirjallisuutena on käytetty internetistä löytyviä tieteellisiä julkaisuja. Julkaisut löydettiin pääasiassa SciFinder- ja Google Scholar -palveluiden sekä Reaxys-tietokannan välityksellä. Reaxys-tietokantaa hyödynnettiin myös *N*-asyylihemiaminaaleja sisältävien luonnonaineiden etsimiseen. Tutkielman aiheeseen syvennyttiin käytettyjen artikkeleiden lisäksi etsimällä aiheeseen liittyvää ja sitä sivuavaa tietoa orgaanisen kemian oppikirjoista sekä useilta eri internetsivuilta. Referaattijulkaisuissa esiintyvien reagenssien ominaisuuksiin tutustuttiin mm. laboratorioreagensseja ja -välineitä tuottavan Sigma Aldrichin sivujen sekä kemian oppikirjojen avulla.

Tutkielma oli osa LuK-opintojen päätteeksi suoritettavaa opinnäytetyötä ja se tehtiin vuoden 2015 aikana Jyväskylän yliopiston Kemian laitoksen Orgaanisen kemian osastolle. Kiitän Jyväskylän yliopiston professori Petri Pihkoa tutkielmani ohjaamisesta sekä kärsivällisyydestä tutkielman valmistumisen aikana. Lisäksi haluan kiittää tohtorikoulutettava Juha Siitosta avusta tutkielman kokoamisessa ja viimeistelyssä. Kiitos myös kaikille niille jotka ovat tukeneet tutkielmani valmistumista.

Sisällysluettelo

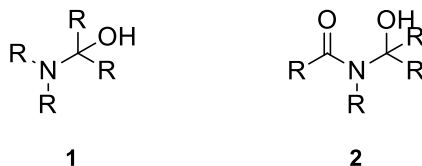
Tiivistelmä	i
Esipuhe	ii
Sisällysluettelo	iii
Lyhenteet	iv
1 Johdanto	1
2 <i>N</i>-asyylihemiaminaaleja sisältävien luonnonaineiden synteesejä	2
2.1 Amathaspiramidit A–F	2
2.2 Ekinokandiini C.....	7
2.3 Lusilaktaeni	9
2.4 Somamidi A.....	11
2.5 Spergualiini	14
2.6 (–)-Zampanolidi.....	15
3 Yhteenveto	18
4 Kirjallisuus	20

Lyhenteet

Alloc-suoja	allyylioksidikarbonyyli-suoja
Bn-suoja	bentsyylieetteri-suoja
Boc-suoja	<i>tert</i> -butyylioksidikarbonyyli-suoja
DEPBT	3-dietoksisoforyylioksi-1,2,3-bentsotriatsin-4(3 <i>H</i>)-oni
DIBAL	di-isobutyylialumiinihydridi
DIPEA	<i>N,N</i> -di-isopropylietyyliamiini
DMAP	4-dimetyyliaminopyridiini
HPLC	korkean erotuskyvyn nestekromatografia
<i>i</i> -BuOCOC <i>l</i>	isobutyylikloroformaatti
IBX	2-jodoksibentsoehappo
K ₂ CO ₃	kaliumkarbonaatti
LiHMDS	litiumbis(trimetyylisilyyli)amidi
NaBH ₄	natriumboorihydridi
NaBH ₃ CN	natriumboorisyanohydridi
<i>p</i> -TsOH	<i>p</i> -tolueenisulfonihappo
PDC	pyridiniumdikromaatti
(<i>S</i>)-TRIP	(<i>S</i>)-3,3-bis(2,4,6-tri-isopropyylifenyyli)-1,1-binaftyyli-2,2-diyylivetyfosfaatti
SEM-suoja	[2-(trimetyylisilyyli)etoksi]metyyliasetali-suoja
TBAF	tetrabutyyliammoniumfluoridi
TBS-suoja	<i>tert</i> -butyylidimetyylisilyyli-suoja
Teoc-suoja	2-trimetyylisilyylietyylikarbonaatti-suoja

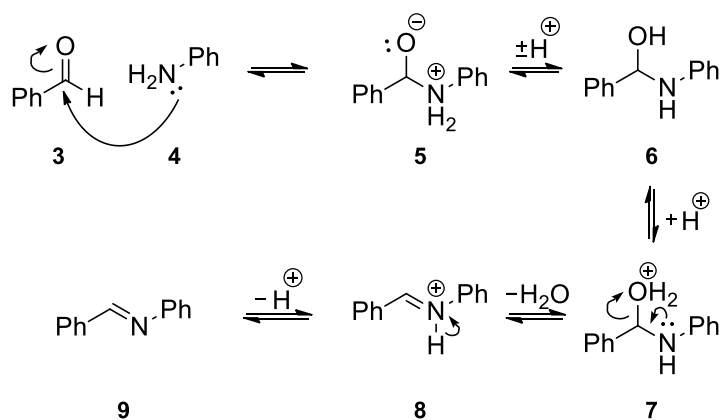
1 Johdanto

Hemiaminaalit (**1**) ovat orgaanisia molekyyliä, joissa typpiin sitoutuneeseen hiileen on sitoutunut hydroksyyliiryhmä. Orgaanisissa synteeseissä ne esiintyvät usein reaktiivisina ja epästabiileina välituotteina. Hemiaminaalin yleinen rakenne on esitetty kuvassa 1.



Kuva 1. Hemiaminaalin (**1**) ja *N*-asylihemiaminaalin (**2**) yleinen rakenne

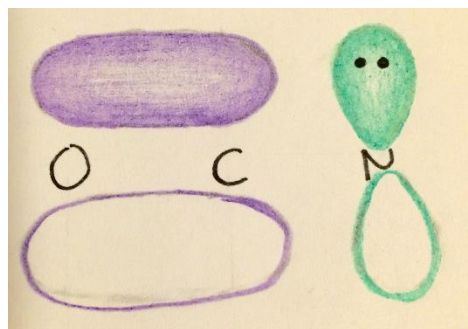
Imiinien ja enamiinien synteeseissä primäärinen tai sekundäärinen amiini reagoi karbonyyliyhdisteen kanssa muodostaen hemiaminaalin (**1**) välituotteena.¹ Iminin muodostuminen hemiaminaalivälivaiheen (yhdiste **6**) kautta on kuvattu kaaviossa 1. Välituotteina muodostuneet hemiaminaalit hajoavat usein takaisin lähtöaineikseen, mikäli reaktio ei etene dehydraatiolla (yhdisteen **7** esittämä vaihe).²



Kaavio 1. Reaktiomekanismi imiinin muodostumiselle aniliinista ja bentsaldehydistä hemiaminaalivälivaiheen kautta (yhdisteet **3–9**)¹

Hemiaminaalit (**1**) voivat olla stabiileja, mikäli niihin on liittynyt elektronitheyttä puoleensavetävä funktionaalinen ryhmä. Esimerkiksi *N*-asylihemiaminaaleissa (**2**, kuva 1) typpiin sitoutunut karbonyyliiryhmä toimii hemiaminaalia stabiloivana ryhmänä.

Karbonyyliryhmän happi ja hiili ovat sp^2 -hybridisoituneita ja niiden p-orbitaalit muodostavat kaksoissidoksen π -orbitaalin. Hiileen sitoutunut typpi on myös sp^2 -hybridisoitunut ja sen vapaa elektronipari sijaitsee p-orbitaalilla. Typen p-orbitaali on samassa tasossa karbonyyliryhmän π -orbitaalin kanssa, joten *N*-asyylihemiaminaalissa on kolme vierekkäistä p-orbitaalia. Typen p-orbitaalilla oleva vapaa elektronipari pystyy delokalisoitumaan π -systeemiin, mikä stabiloi rakennetta. Kuvassa 2 on havainnollistettu delokalisoitumiseen osallistuvia orbitaaleja.



Kuva 2. Karbonyyliryhmän π -orbitaali, typen p-orbitaali ja systeemiin delokalisoituva vapaa elektronipari.

Hemiaminaalien (**1**) on havaittu stabiloituvan myös vetysidosverkoston avulla. Tutkimuksessaan Troast ja Porco ovat selvittäneet vetysidosverkoston aiheuttamaa stabiloitumista zampanolidin *N*-asyylihemiaminaalisivunketjun malliyhdisteillä. Malliyhdisteiden vetysidokset muodostuvat pääasiassa molekyylien sisäisesti, mikä mahdollisesti aiheuttaa molekyylien jäykkyyttä sekä odotettua pidempiä varastointiaikoja.³

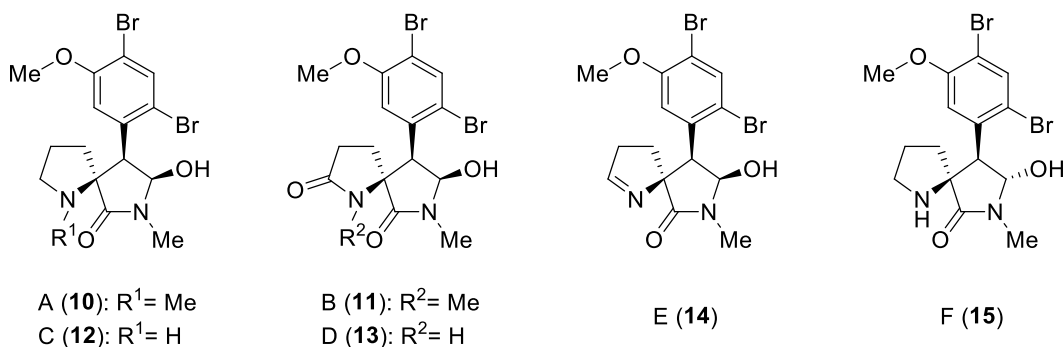
2 *N*-asyylihemiaminaaleja sisältävien luonnonaineiden synteesejä

2.1 Amathaspiramidit A–F

Amathaspiramidit A–F (**10–15**) eristettiin ensimmäistä kertaa Uusi-Seelantilaisesta *Amathia wilsoni* -sammaleläimestä 1999. Tutkimuksessaan Morris ja Prinsep havaitsivat näiden

dibrominoitujen alkaloidien häiritsevän polioviruksen, *Bacillus subtilis* -sauvabakteerin ja *Trichophyton mentagrophytes* -sienen toimintaa.⁴

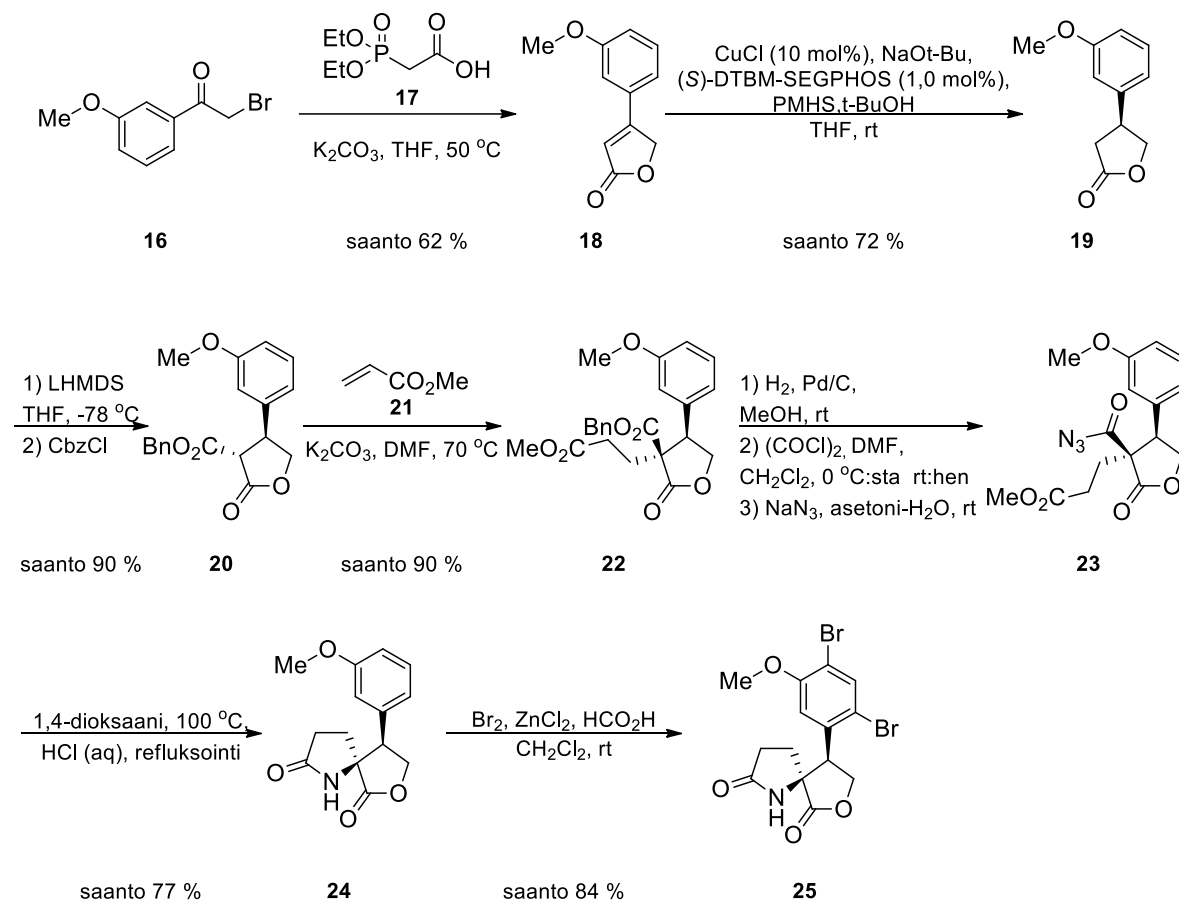
Kaikilla amathaspiramideilla on sama dibrominoidusta bentseenirenkaasta, substituoidusta pyrrolidiinirenkaasta ja siihen spirofuusioituneesta toisesta pyrrolidiinistä muodostuva perusrakenne. Bentseenirenkaaseen liittynyt pyrrolidiinirengas substituentteineen muodostaa amathaspiramidien *N*-asyylihemiaminaaliosan. Osa on sama amathaspiramideille A–E (**10**–**15**). Amathaspiramidi F:n (**15**) hemiaminaaliosa eroaa muista konfiguraatiollaan. Amathaspiramidi F:llä on *S*-konfiguraatio, kun muilla amathaspiramideilla ovat *R*-konfiguraatio kyseisessä kiraalisessa keskuksessa. Spirofuusioituneen pyrrolidiinin substituentit vaihtelevat amathaspiramidien välillä ja vain amathaspiramideilla C (**12**) ja F (**15**) on keskenään täysin samanlainen substituoinen pyrrolidiinirengas. Amathaspiramidien A–F (**10**–**15**) rakenteet on esitelty kuvassa 3.



Kuva 3. Morrisin ja Prinsepin eristämät Amathaspiramidit A–F (**10**–**15**).⁴

Chiyoda *et al.* ovat julkaisseet kaaviossa 3 esitetyn synteesireitin amathaspiramidien hemiaminaaliosalle. Synteesissä käytettävä yhdiste **26** valmistetaan muodostamalla substituoituun bentseenirenkaaseen tetrahydrofuraan-2-onirengas. Tämä voidaan toteuttaa esim. 3-metoksyfenasylibromidin (**16**) ja dietyylifosfonoetaanin (**17**) avulla, jolloin **17** liitetään yhdisteeseen **16** S_N2-substituutiolla. Yhdisteen **18** heterosyklisen rakenteen muodostuu molekyylin sisäisen Horner-Wadsworth-Emmons-reaktion kautta. Amathaspiramidien synteesissä rengasrakenteeseen liitetään substituentteja, joista muodostetaan amathaspiramideille tyypillinen spirofuusioitunut pyrrolidiinirengas. Spirofuusioituneen pyrrolidiinin muodostus on esitelty vaiheittain kaaviossa 2 yhdistettä **20** tuottavasta reaktiosta lähtien yhdistettä **24** tuottavaan reaktioon saakka. Yhdisteen **24**

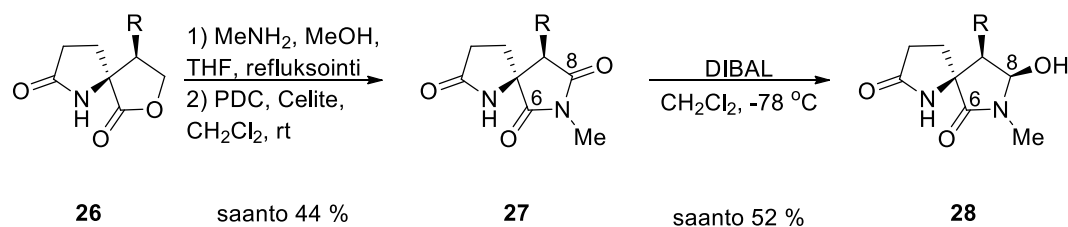
bentseenirengas brominoidaan ennen hemiaminaaliosan muodostusta. Amathaspiramidien synteesin alkuosa on esitelty kokonaisuudessaan kaaviossa 2.⁵



Kaavio 2. Amathaspiramidien synteesi ennen hemiaminaaliosan muodostusta. ((*S*)-DTBM-SEGPHOS = (*S*)-(+)-5,5'-bis[di(3,5-di-tert-butyyl-4-metoksifenyyl)fosfiino]-4,4'-bi-1,3-bentsoedioksoli, PMHS = polymetyylihydrosiloksaani, LHMDS = litiumheksametyylidisilatsidi, CbzCl = bentsyylikloroformaatti).⁵

N-asyylihemiaminaaliosan kannalta seuraava merkittävä vaihe synteesissä on tetrahydrofuraan-2-onirenkaan aminolyysi. Aminolyysissä yhdisteen **26** renkaan osana oleva happi korvataan tyrellä. Aminolyysi voidaan toteuttaa MeNH₂:n ja THF:n avustuksella metanolissa. Aminolyysin jälkeen yhdiste hapetetaan pyridiniumdikromaatilla (PDC), jolloin saadaan aikaiseksi syklinen imiini **27**. Hapetusta seuraa imiinin toisen karbonyyliryhmän regio- ja stereoselektiivinen pelkistäminen. Imiinin selektiivinen pelkistäminen on osoittautunut haastavaksi. Monet orgaanisessa kemiassa käytettävistä pelkistimistä kuten

natriumboorihydridi (NaBH_4) ja litiumalumiinihydridi (LiAlH_4) pelkistävät C6 karbonyyliryhmän. Tällöin synteesin tuotteena saadaan yhdisteen 6*S*-isomeeri halutun 8*R*-isomeerin (yhdiste **28**) sijaan. Di-isobutyryyalumiinihydridin (DIBAL) on havaittu pelkistävän C8 karbonyyliryhmä ilman, että reaktiossa muodostuu *S*-isomeeriä. Reaktion regioselektiivisyys johtuu siitä, että yhdisteen **27** muut karbonyyliryhmät ovat steerisesti liian estyneitä. Lisäksi DIBAL:n liittyminen molekyyliin tuottaa typen ja alumiinin välisen sidoksen, jonka muodostuminen pienentää molekyylin induktiivista efektiä. Tämä kasvattaa C8 karbonyyliryhmän reaktiivisuutta.⁵

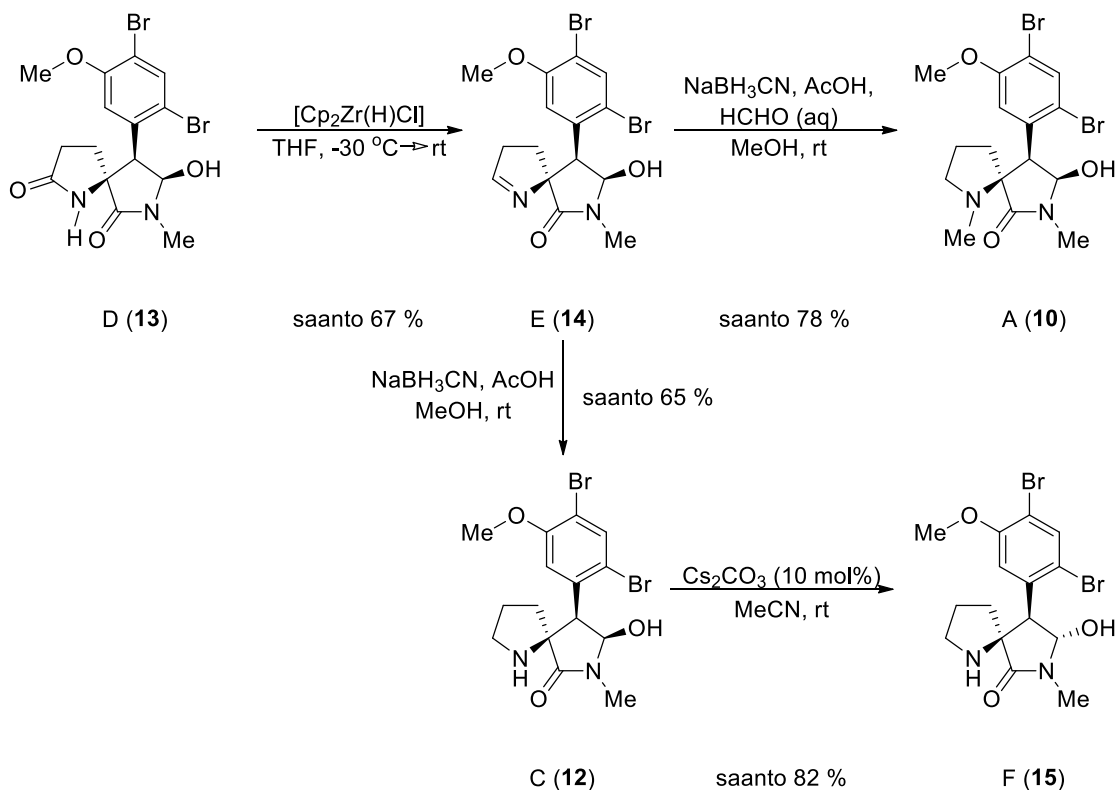


Kaavio 3. Amathaspiramidien *N*-asyylihemiaminaaliosan synteesi (R=metoksiryhmän sisältävä dibrominoitu bentseenirengas)⁵

N-asyylihemiaminaaliosan synteesistä saadusta amathaspiramidi D:sta (**13**) voidaan pelkistämällä valmistaa amathaspiramidi E (**14**) käyttäen Schwartzin reagenssia ($\text{Cp}_2\text{Zr}(\text{H})\text{Cl}$). Amathaspiramidista E (**14**) saadaan valmistettua amathaspiramidi A (**10**) imiinin pelkistävällä metyloinnilla altistamalla se formaldehydille natriumboorisyanohydridin (NaBH_3CN) ja etaanihapon läsnä ollessa. Amathaspiramidi C (**12**) saadaan käsittelemällä amathaspiramidia E (**14**) NaBH_3CN :llä ja etaanihapolla metanolissa. Amathaspiramidien A (**10**), C (**12**) ja E (**14**) synteesit on esitelty kaaviossa 4. Amathaspiramidien *N*-asyylihemiaminaaliosa on stabiili heikosti happamissa reaktioolosuhteissa, minkä takia etaanihappo ei aiheuta *N*-asyylihemiaminaaliosan hydroksyyliiryhmän eliminaatiota. Amathaspiramidien A (**10**), C (**12**) ja E (**14**) synteesien reaktio-olosuhteet ovat neutraalit tai heikosti happamat, minkä takia *N*-asyylihemiaminaalia ei tarvitse erikseen suojata.⁵

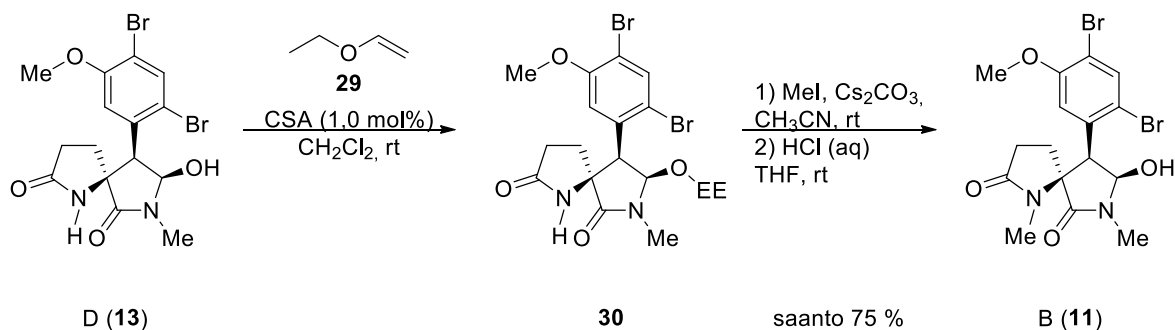
N-asyylihemiaminaalit ovat voimakkaasti happamien olosuhteiden lisäksi herkkiä myös emäksisille olosuhteille. Amathaspiramidi F:n (**15**) synteesissä voidaan hyödyntää hemiaminaaliosan emäsherkkyttä. Amathaspiramidi F (**15**) eroaa amathaspiramidi C:stä

(12) hemiaminaaliosan konfiguraatiolla, joten Chiyoda *et al.* ovat ehdottaneet hydroksyyliiryhmän epimerisointia amathaspiramidi F:n (15) valmistamiseksi. Altistamalla amathaspiramidi C (12) emäksisille olosuhteille Cs_2CO_3 :n läsnä ollessa, saadaan syntetisoitua amathaspiramidi F (15) (kaavio 4).⁵



Kaavio 4. Amathaspiramidien A (10), C (12), E (14) ja F (15) synteesit.⁵

Amathaspiramidi B (11) saadaan metyloimalla amathaspiramidi D:n (13) spirofuusioituneen pyrrolidiinin tyyppi. Synteesiin käytetään Cs_2CO_3 :a, joka tekee reaktio-olosuhteista emäksiset. Emäksisten reaktio-olosuhteiden takia hemiaminaaliosan hydroksyyliiryhmä täytyy suojata amathaspiramidi B:n (11) synteesiä varten. Suojaamiseen voidaan käyttää esim. etoksietyyliä (EE), kuten Chiyoda *et al.* ovat käyttäneet. Etoksietyylin etuna on se, että suojaryhmä voidaan poistaa heikolla hapolla ilman hemiaminaalin hydroksyyliiryhmän eliminaatiota. Amathaspiramidi B:n (11) synteesi on esitelty kaaviossa 5.⁵

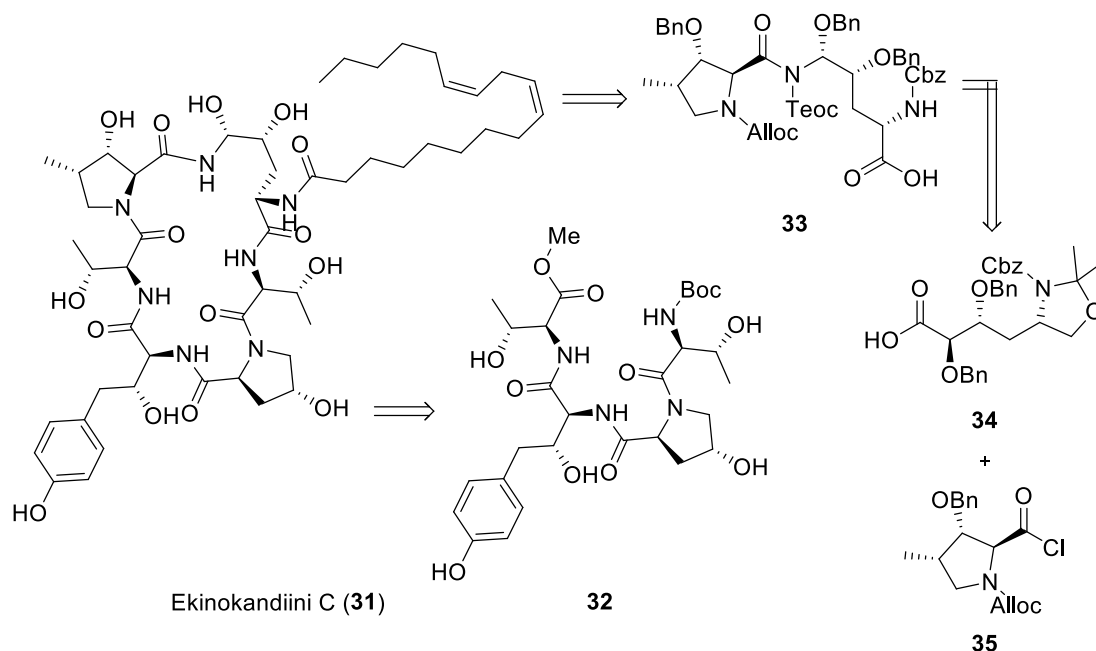


Kaavio 5. Amathaspiramidi D:n (**13**) suojaus ja B:n (**11**) synteesi. (CSA = kamferisulfonihappo)⁵

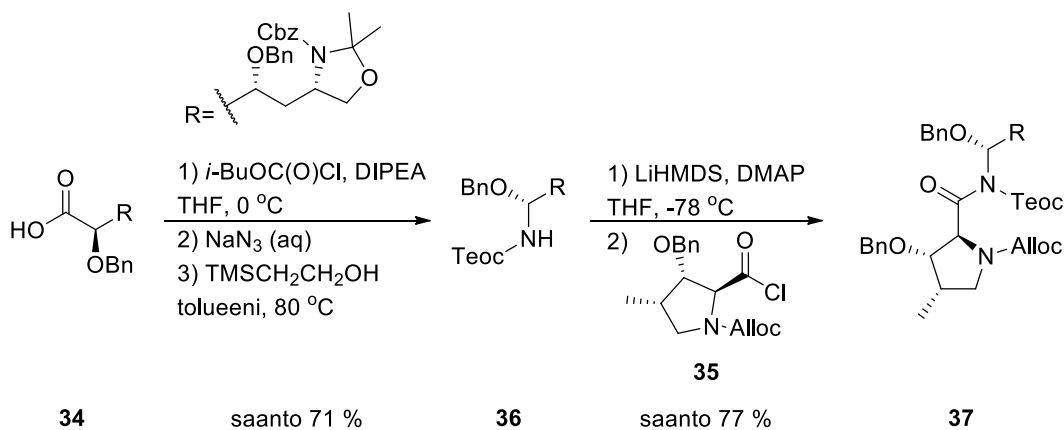
2.2 Ekinokandiini C

Ekinokandiinit ovat bioaktiivisia molekyyliä ja niiden on todettu toimivan lääkeaineina mm. *Aspergillus* ja *Candida* sukuisten sienien aiheuttamiin infektoihin.⁶ Ekinokandiini C:n (**31**) rakenne muodostuu useita stereokeskuksia sisältävästä makrosyklisestä peptidistä. Lisäksi molekyylissä on monia sivuketjuja, joista huomattavimmat ovat pitkä tyydyttymätön hiiliketju, fenolin sisältämä sivuketju sekä useat hydroksyyliiryhmät. Ekinokandiini C:n (**31**) rakenne on esitelty tarkemmin kuvassa 4.

Toisin kuin monien muiden hemiaminaaliosia sisältävien molekyylien kohdalla, ekinokandiini C:lle (**31**) on esitetty synteesireitti (kaavio 6), joka lähtee liikkeelle *N*-asyylihemiaminaaliosan muodostuksesta. Messik ja Oberthür aloittavat hemiaminaaliosan kokoamisen altistamalla karboksyylihapon **34** isobutyrylikloroformaatille (*i*-BuOCOC_l) ja natriumatsidille (NaN₃), mikä mahdollistaa atsidin liittymisen muodostuneeseen yhdisteeseen. Alkoholissa tehdyssä Curtius toisiintumisessa muodostuva isosyanaatti muuttuu karbamaatiksi, joka sisältää esteriryhmän sekä alkoholin hiiliketjun. Käyttämällä alkoholina 2-trimetyylisilyylianolia Messik ja Oberthür onnistuivat suojaamaan yhdisteen **36** typen 2-trimetyylisilyylietoksykarbonyyli (Teoc) suojaryhmällä Curtius toisiintumisen yhteydessä. Yhdisteen **36** Teoc-suojattu tyyppi deprotonoidaan litiumbis(trimetyylisilyyli)amidilla (LiHMDS), jonka jälkeen se käsitellään happokloridilla **35**, mikä tuottaa halutun *N*-asyylihemiaminaalin **37**.⁷



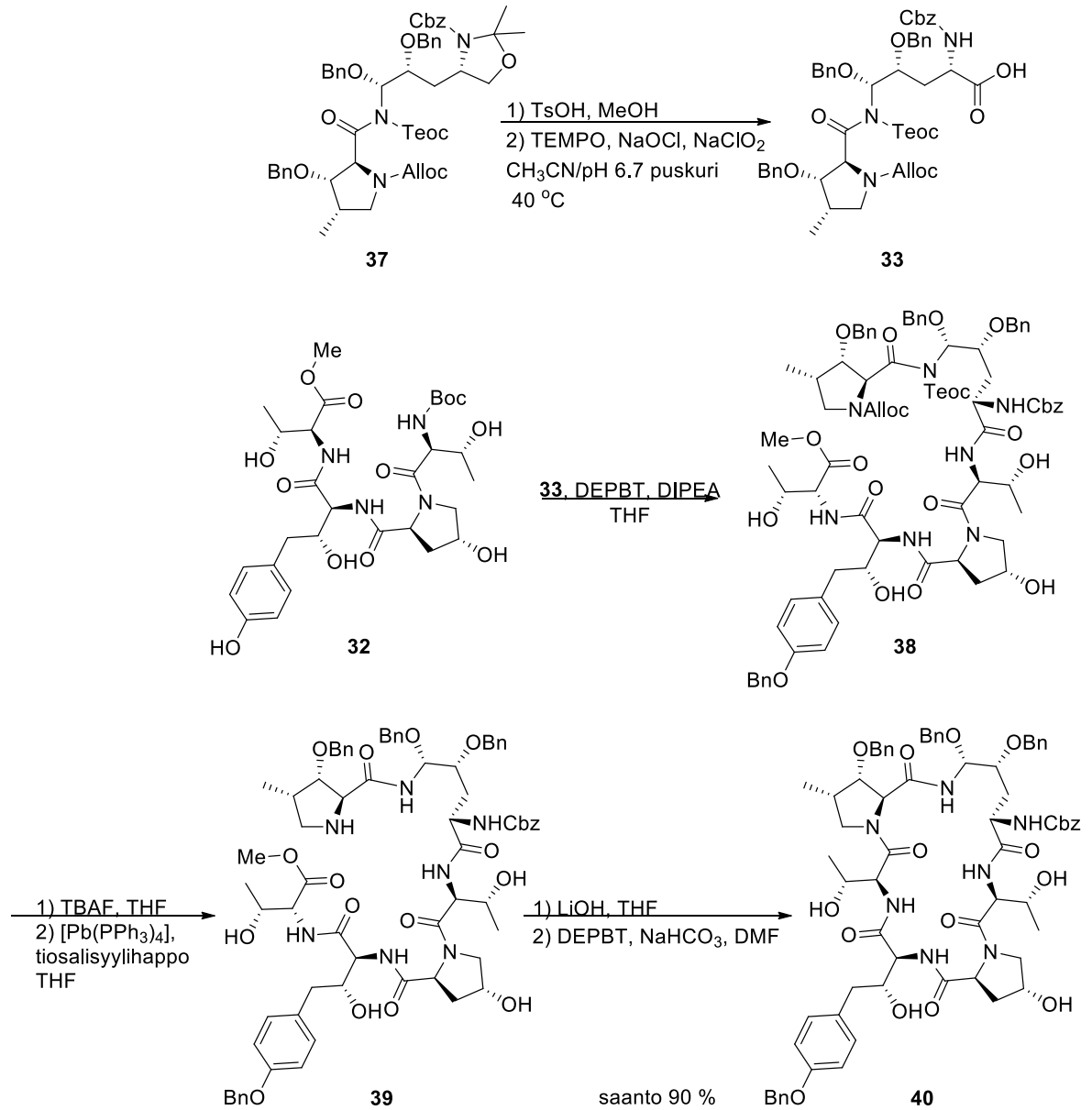
Kuva 4. Ekinokandiini C:n (**31**) rakenne sekä Messik ja Oberthürin esittämä retrosynteesi ekinokandiini C:lle pitkän tyydyttymättömän hiiliketjun liittämistä lukuunottamatta.⁷



Kaavio 6. *N*-asyylihemiaminaaliosan synteesi kuten Messik ja Oberthür ovat sen esittäneet osana ekinokandiini C:n (**31**) synteesiä.⁷

Synteesin alussa valmistettua *N*-asyylihemiaminaaliosaa suojataan sitä hajottavilta reaktio-olosuhteilta jakamalla ekinokandiini C:n (**31**) synteesi osiin. Lisäksi *N*-asyylihemiaminaaliosa on suojattu bentsyylieetteri (Bn) ja Teoc-suojaryhmillä. Näin valmis hemiaminaaliosa altistuu vain ekinokandiini C:n (**31**) kokoamisesta aiheutuville heikosti happamille tai emäksisille reaktio-olosuhteille. Kaaviossa 7 on esitetty yhdisteen **37** liittäminen osaksi ekinokandiini C:n (**31**) rakennetta. Yhdiste muutetaan ensin hapoksi **33**,

jonka jälkeen sillä käsitellään yhdistettä **32**. Yhdisteessä **33** olleiden tyyppien Alloc- ja Teoc-suojat puretaan tetrabutyyliammoniumfluoridin (TBAF) ja $[\text{Pb}(\text{PPh}_3)_4]$:n avulla. Synteesin viimeisissä vaiheissa ekinokandiini C:n rengasrakenne suljetaan, jolloin saadaan yhdiste **40**.⁷

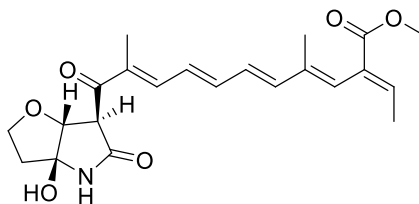


Kaavio 7. Yhdisteen **37** muokkaus ja *N*-asyylihemiaminaaliosan liittäminen ekinokandiini C:n (**31**) rakenteeseen.⁷

2.3 Lusilaktaeni

Japanissa vuonna 2001 *Fusarium*-suvun sienistä eritetyn lusilaktaenin (**41**) on havaittu toimivan soluissa kasvunrajoitegeenin p53 tavoin. Kasvunrajoitegeeni p53 vastaa mm. solusyklin pysäyttämistä tarvittaessa sekä vaikuttaa solun apoptoosiin, DNA:n korjaukseen ja rekombinaatioon. Monissa syöpätapauksissa p53-geeni on mutatoitunut tai sen toiminta on muuten häiriintynyt. Lusilaktaenia (**41**) tutkitaan mahdollisena syöpälääkkeenä, sillä se kykenee toimimaan soluissa p53-geenin tavoin.⁸

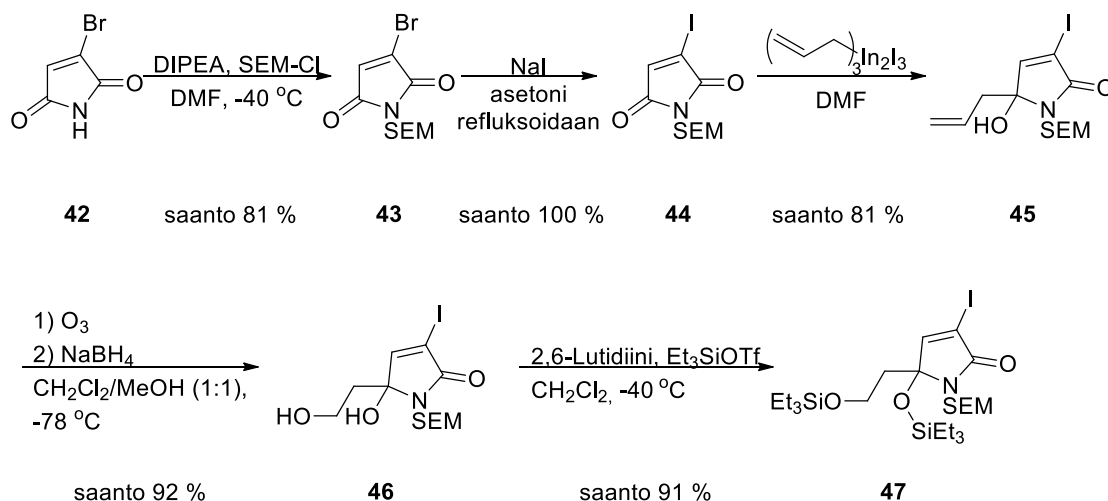
Lusilaktaenin (**41**) rakenne muodostuu tetrahydrofuraanirenkaan ja *N*-asyylihemiaminaaliosan muodostamista rengasrakenteista sekä karbonyyliryhmän välityksellä rengasrakenteisiin liittyneestä pitkästä tyydyttymättömästä hiiliketjusta. Rengasrakenteissa on kolme stereogeenistä keskusta. Hiiliketjussa on kiinnittyneenä esterisivuketju sekä metyyliiryhmiä. Lusilaktaenin (**41**) rakenne on esitelty tarkemmin kuvassa 5.



Lusilaktaeni (**41**)

Kuva 5. Lusilaktaenin (**41**) rakenne⁹

Coleman *et al.*⁹ julkaisema ja kaaviossa 8 esitetty, lusilaktaenin (**41**) *N*-asyylihemiaminaaliosan synteesi lähtee liikkeelle 3-bromo-*1H*-pyrrole-2,5-dionin (yhdiste **42**) typen SEM-suojauksesta. Suoja saadaan altistamalla yhdiste **42** 2-trimetyylisilylietoksymetyylikloridille (SEM-Cl) *N,N*-di-isopropylietyyliamiinin (DIPEA) läsnä ollessa. Typen suojaamisen jälkeen renkaaseen kiinnittynyt bromi vaihdetaan reaktiivisempaan jodiin natriumjodidin (NaI) avulla Finkelstein reaktiossa. Tämä edesauttaa lusilaktaenin (**41**) pitkän sivuketjun liittämistä synteesin myöhemmissä vaiheissa. Näin valmistettuun yhdisteen **44** toiseen karbonyyliryhmään liitetään allyylisivuketju indiumvälitteisellä allyloinnilla. Indiumyhdistettä ((CH₂=CHCH₂)₃In₂I₃) hyödyntämällä reaktiosta saadaan regioselektiivisempi, jolloin allylointi kohdistuu suurimmaksi osaksi vain toiseen karbonyyliryhmään.⁹

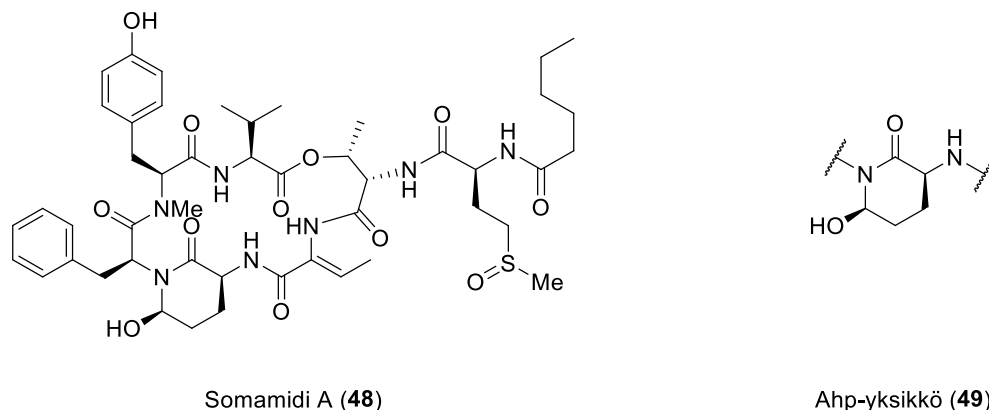


Kaavio 8. Lusilaktaenin *N*-asyylihemiaminaaliosan synteesi ja suojaaminen.⁹

N-asyylihemiaminaalin sisältävän osan synteesi jatkuu allyylisivuketjun muokkaamisella, jolloin yhdistettä **45** käsitellään otsonilla (O₃) ja natriumboorihydridillä (NaBH₄). Näin saadaan aikaan sivuketju, jonka päässä on hydroksyyliiryhmä (yhdiste **46**). Molempien hydroksyyliiryhmien suojaamiseen synteesin myöhemmiltä vaiheilta voidaan käyttää trietyylisilyylitriflaatti (Et₃SiOTf). *N*-asyylihemiaminaaliosan etyylisilyyli ja SEM-suojat puretaan vasta synteesin viimeisessä vaiheessa, jossa syntetisoitu yhdiste altistetaan trifluorietaanihapolle (CF₃COOH). Happo poistaa samalla kaikki molekyyliin liittyneet suojaryhmät.⁹

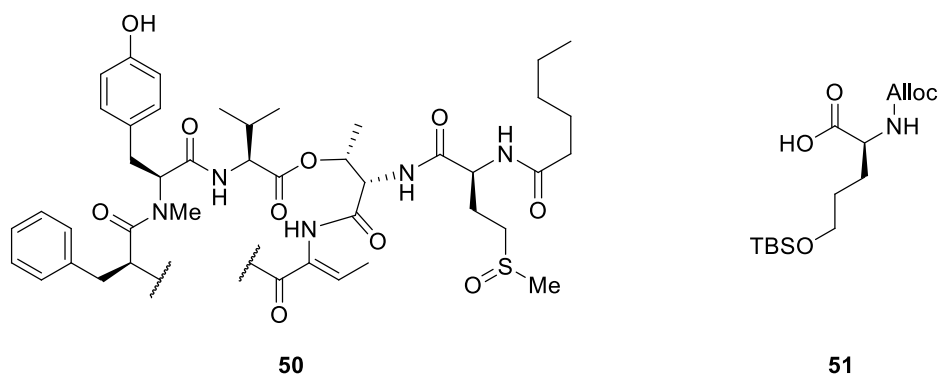
2.4 Somamidi A

Nogle *et al.* eristivät somamidia A (**48**) Fiji saarilla esiintyvistä *Lyngbya majuscula* ja *Schizothrix sp* syanobakteereista vuonna 2000.¹⁰ Somamidi A (**48**) on depsipeptidi, jonka rakenne muodostuu rengasmaisesta polypeptidiketjusta, johon on liittynyt useita substituentteja. Rakenteen kannalta huomattavimmat substituentit ovat pitkä rikkiä sisältävä dipeptidinen ja aromaattiset sivuketjut sekä rengasrakenteen muodostava Ahp-yksikkö (**49**). Somamidi A:n (**48**) rakenne on esitelty tarkasti kuvassa 6. Ahp-yksikkö (**49**) on molekyylin *N*-asyylihemiaminaaliosa ja sen on havaittu olevan biologisesti aktiivinen.¹¹ Monissa somamidi A:n (**48**) kaltaisissa depsipeptideissä, joiden on todettu toimivan proteaasi-inhibiittoreina, on Ahp-yksikkö (**49**).¹²

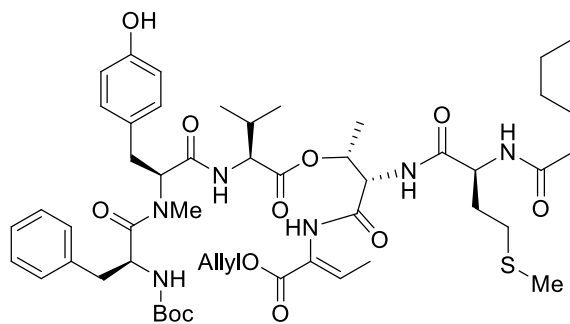


Kuva 6. Somamidi A:n (**48**)¹⁰ ja Ahp-yksikön (**49**)¹¹ rakenteet

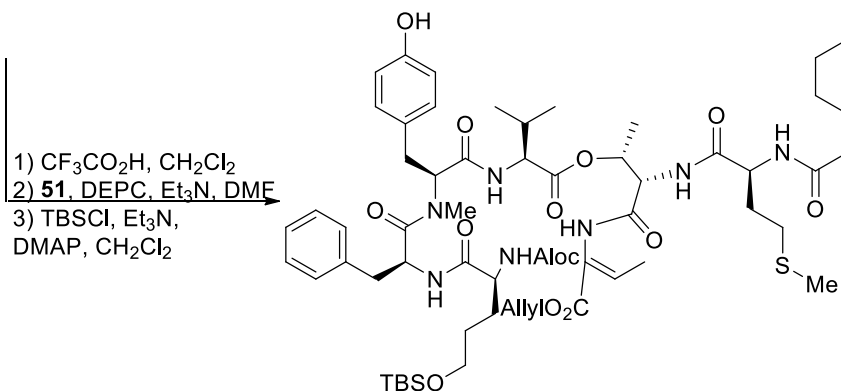
Somamidi A:n (**48**) synteesissä *N*-asyylihemiaminaaliosan muodostus tapahtuu synteesin viimeisissä vaiheissa hemiaminaalin epästabiiliuden takia. Ahp-yksikön (**49**) synteesissä yhdiste **51** on liitetään osaksi muuten lähes valmiista somamidi A:n rakennetta (kaavio 9). Yhdisteen **52** Boc-suojaryhmä poistetaan happamissa olosuhteissa CF₃COOH:n avulla. Tämän jälkeen se altistetaan yhdisteelle **51** käyttäen hyväksi dietyylipyrokarbonaattia (DEPC) ja trietyyliaminia (Et₃N). Yhdisteen **51** hydroksyyli ryhmän *t*-butyylidimetyylisilyylisuoja (TBS-suoja) purkautuu osittain reaktiossa, minkä takia se uudelleen suojataan seuraavaa reaktiota varten. Yhdisteen **53** allokyykarbonyylisuoja (Alloc-suojattu) ja allyylisuoja (Allyl-suoja) poistetaan samanaikaisesti. Somamidin A (**48**) polypeptidirengas suljetaan pentafluorofenyylidifenyylifosfinaatin (FDPP) avulla.¹¹



Kuva 7. Rakenne **50**, joka osoittaa kaaviossa 10 esitettyjen rakenteiden sijainnin lähes valmiissa somamidia A:n rakenteessa sekä yhdisteen **51** rakenne.

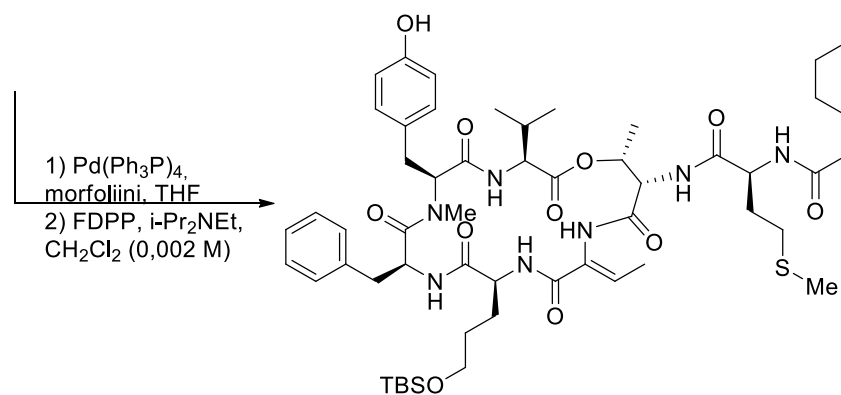


52



53

saanto 59 %

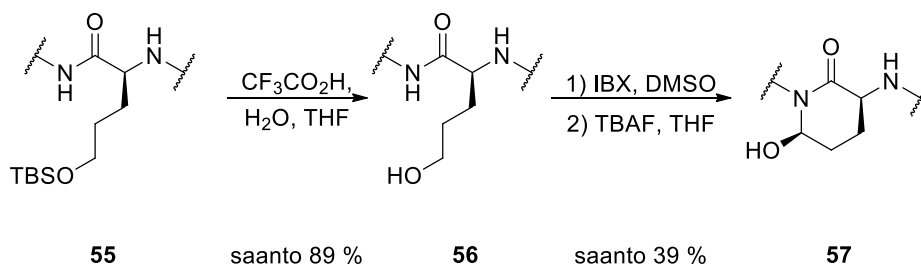


54

saanto 64 %

Kaavio 9. Yhdisteen **51** liittäminen somamidi A:n muuten lähes valmiiseen rakenteeseen.¹¹

Kaaviossa 10 on esitetty Yokokawan ja Shiorin Ahp-yksikön synteysi rakenteiden **55–57** avulla. Rakenteet **55–57** ovat kiinnittyneet kuvan 7 rakenteen **50** esittämään kohtaan ja kuvaavat vain Ahp-yksikön muodostamiseen osallistuvan osan somamidi A:sta. Rakenteessa **55** näkyvän hydroksyyliiryhmän TBS-suojia puretaan CF_3COOH :lla ja saadaan yhdiste **56**. Hapettamalla yhdiste **56** 2-jodoksibentsoehapolla (IBX) saadaan muodostettua aldehydi, joka altistetaan syklisaatiota katalysoivalle tetra-n-butyylimmoniumfluoridille (TBAF), mikä tuottaa yhdisteen **57**.¹¹

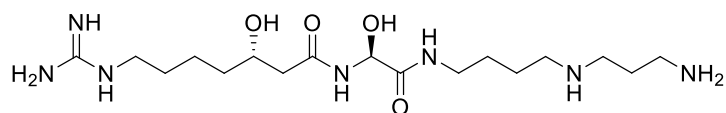


Kaavio 10. Ahp-yksikön muodostuminen osana somamidi A:n synteesiä

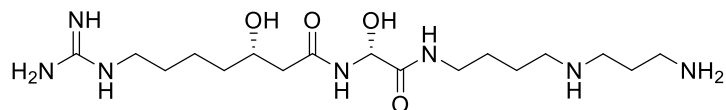
Ahp-yksikkö on *N*-asyylihemiaminaalien tavoin epästabiili sekä voimakkaasti happamissa että emäksisissä olosuhteissa. Ahp-yksikön muodostaminen on osoittautunut ongelmalliseksi, sillä reaktio-olosuhteiden lisäksi molekyylin muiden sivuketjujen on havaittu vaikuttavan Ahp-yksikön synteesin välivaiheena muodostuvan aldehydin stabiilisuuteen.¹³

2.5 Spergualiini

Spergualiini on *Bacillus* suvun bakteereista eristetty kasvaimia inhiboiva antibiootti.¹⁴ Spergualiinin rakenteen huomattavampia piirteitä ovat molekyylin keskellä sijaitsevat *N*-asyylihemiaminaali ja amidiryhmä sekä päissä sijaitsevat amiinit. Nämä funktionaaliset ryhmät ovat liittyneet toisiinsa tyydyttyneiden hiilivetyketjujen välityksellä. Kuvassa 8 on esitelty spergualiinin rakenne tarkemmin epimeerien **58** ja **59** avulla.



(-)-Spergualiini (**58**)

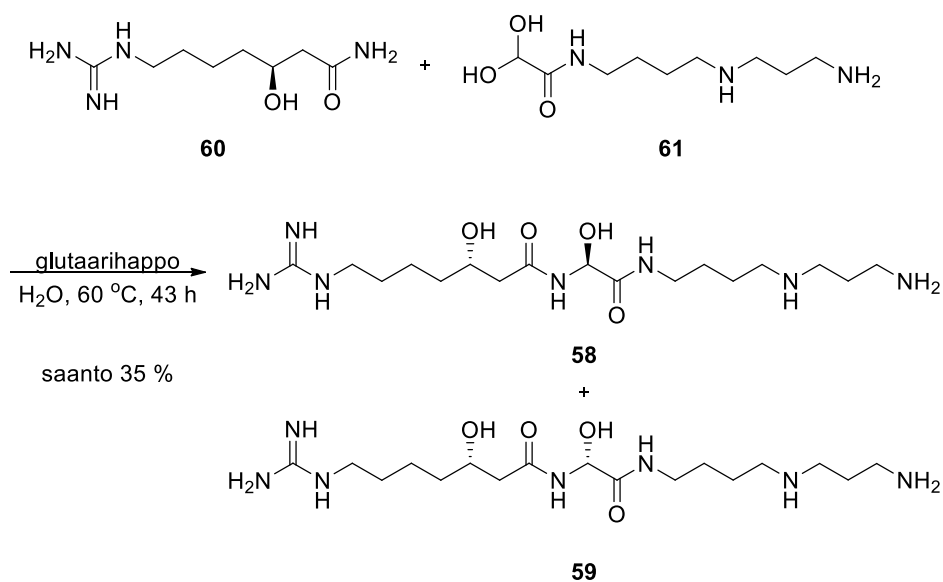


(+)-Spergualiini (**59**)

Kuva 8. (-)-Spergualiinin (**58**) ja (+)-spergualiinin (**59**) rakenteet¹⁴

Shinichi *et al.* esittämässä spergualiinin synteesireitissä *N*-asyylihemiaminaaliosa muodostuu synteesin viimeisessä vaiheessa. Spergualiinin hemiaminaaliosan

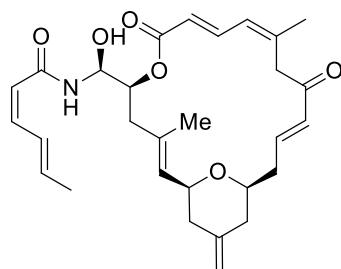
muodostukseen käytetään yhdisteitä **60** ja **61** (kaavio 11). *N*-asyylihemiaminaaliosan muodostamiseksi yhdiste **60** lämmitetään 60 °C lämpötilaan, jossa se altistetaan yhdisteelle **61** sekä glutaarihapolle ja vedelle. Lämpötilaa pidetään yllä 43 tuntia, jonka jälkeen muodostunut spergualiini erotetaan reaktioseoksesta pylväskromatografialla. Tuotteeksi saadaan luonnossa esiintyvää (–)-spergualiinia **58** sekä sen epimeeriä (+)-spergualiinia **59**, jotka voidaan erottaa toisistaan korkean erotuskyvyn nestekromatografialla (HPLC). Shinichi *et al.* eivät kuitenkaan ole julkaisseet epimeerien **58** ja **59** määrien suhdetta puhdistetussa tuotteessa.¹⁴



Kaavio 11. Spergualiinin synteisi yhdisteistä **60** ja **61**.¹⁴

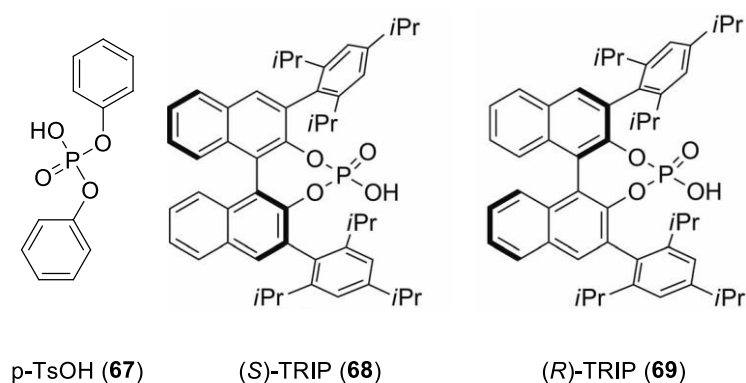
2.6 (–)-Zampanolidi

Kasvaimia inhiboiva (–)-zampanolidi (**62**) eristettiin ensimmäisen kerran *Fasciospongia rimosa* sienieläimestä (Tanaka ja Higa, 1996)¹⁵ sekä myöhemmin *Cacospongia mycofijiensis* sienieläimestä (Field *et al.*, 2009)¹⁶. (–)-Zampanolidin (**62**) on havaittu inhiboivan kasvaimia, jonka Field *et al.* havaitsivat johtuvan syöpäsolujen mikrotubuluksien stabilisoitumisesta.¹⁶ Zampanolidin (**62**) rakenteen huomattavampia piirteitä ovat substituoidun tetrahydropyraanirenkaan sisältävä suuri tyydyttymätön rengasrakenne sekä tyydyttymätön *N*-asyylihemiaminaalisivuketju. (–)-Zampanolidin (**62**) rakenne on esitelty tarkemmin kuvassa 9.

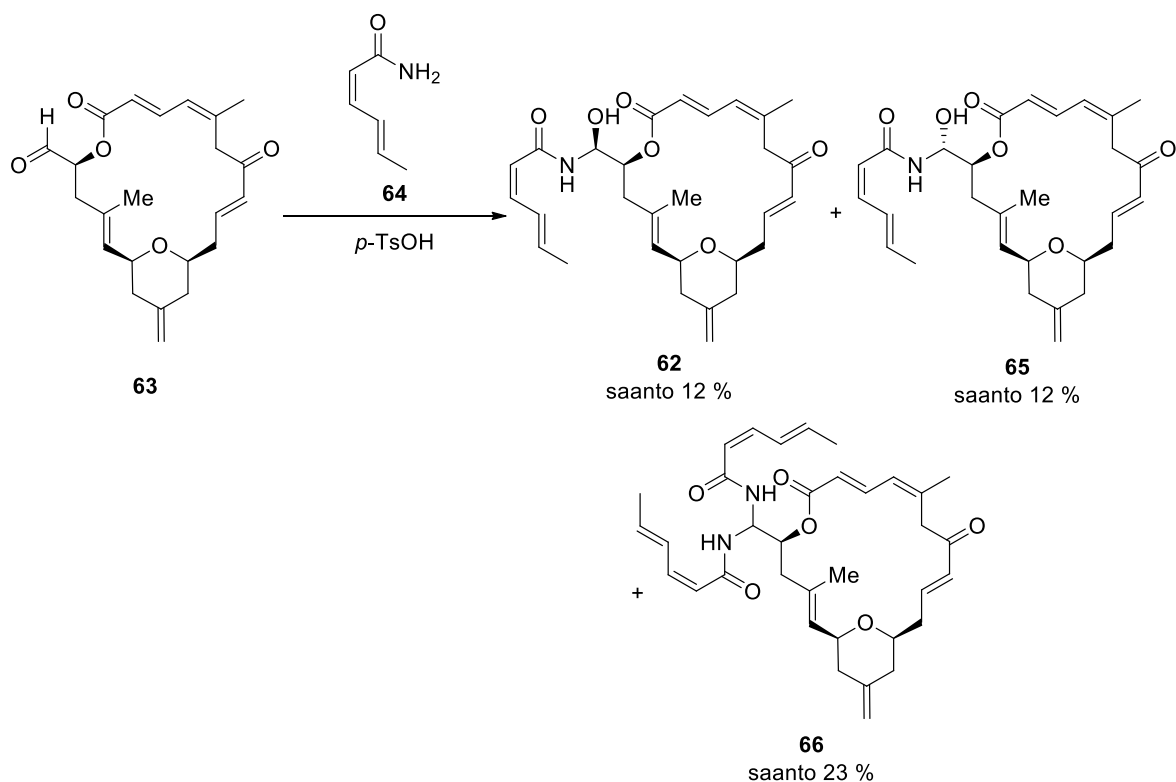


Kuva 9. (-)-Zampanolidin rakenne (**62**)

Kuten monien muiden hemiaminaalien kohdalla, (-)-zampanolidin (**62**) *N*-asyylihemiaminaaliosa muodostetaan synteisin viimeisissä vaiheissa. Ghosh *et al.* ovat esittäneet, että *N*-asyylihemiaminaaliketju muodostetaan hyödyntämällä (2*Z*,4*E*)-heksa-2,4-dienamidia (yhdiste **64**.) Muuten valmiiksi syntetisoitu molekyyli (**63**) altistetaan yhdisteelle **64** ja *p*-tolueenisulfonihapolle **67** (*p*-TsOH). Reaktion ongelmaksi muodostuu sen selektiivisyyden puute, minkä vuoksi (-)-zampanolidia (**62**) muodostuu vähän ja sivutuotteina muodostuu (-)-zampanolidin epimeeriä (**65**) sekä bis-amidia (**66**). Tuotteet saadaan erotettua toisistaan HPLC:lla. Synteesi ja tuotteiden rakenteet on kuvattu kaaviossa 12.¹⁷

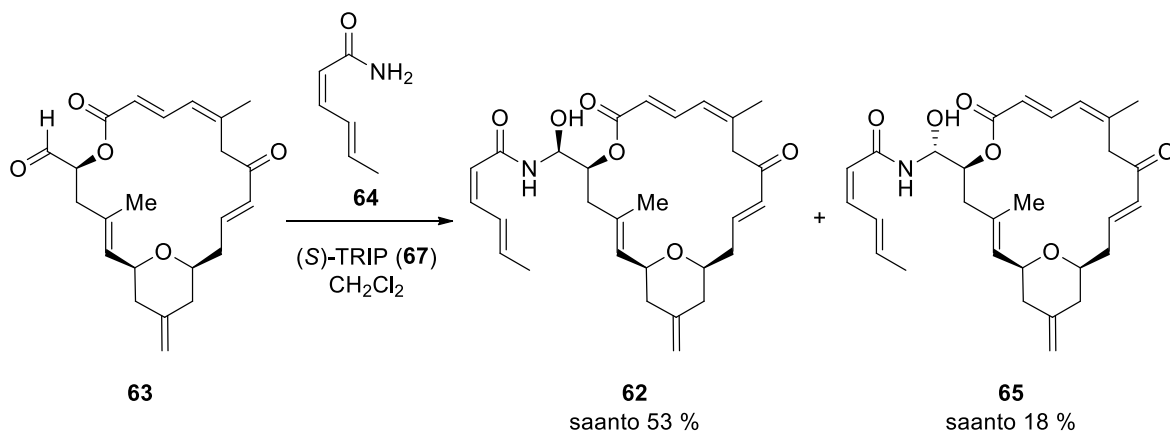


Kuva 10. (-)-Zampanolidin (**62**) hemiaminaaliosan synteesissä käytetyt katalyytit *p*-TsOH (**67**), (*S*)-TRIP (**68**) ja (*R*)-TRIP (**69**)



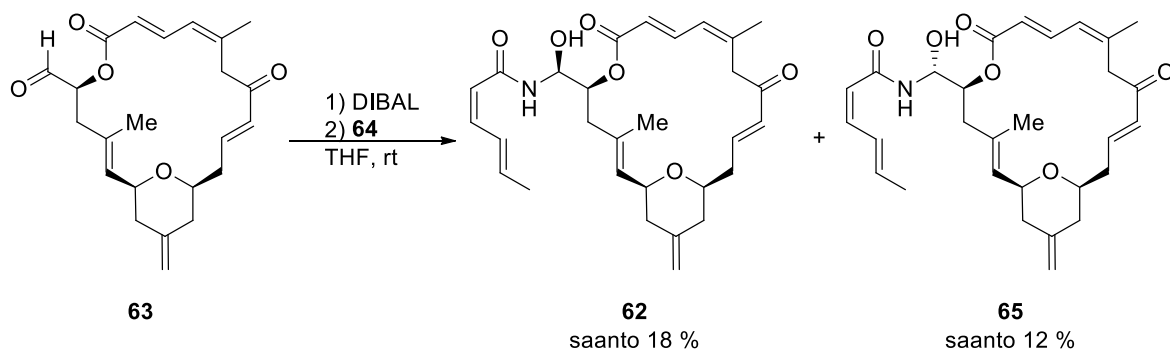
Kaavio 12. (-)-Zampanolidin (**62**) *N*-asyylihemiaminaaliosan muodostus käyttäen *p*-TsOH:ta (**67**) katalyyttinä.¹⁷

Tämä voidaan korjata vaihtamalla *p*-TsOH fosforihappokatalyytiksi **68** ((*S*)-TRIP). Tällä saadaan vähennettyä reaktiossa muodostuvan epimeerin **65** määrää sekä estettyä bis-amidin **66** muodostumisen kokonaan. Lisäksi (-)-zampanolidin (**62**) saanto kasvaa huomattavasti katalyytin vaihdon myötä (kaavio 13). Käyttämällä katalyyttinä fosforihapon toista isomeeriä **69** ((*R*)-TRIP) saadaan estettyä bis-amidin **66** muodostumisen, mutta tällöin (-)-zampanolidin epimeeriä **65** muodostuu yhtä paljon kuin itse tuotetta **62**.¹⁷



Kaavio 13. (-)-Zampanolidin (**62**) hemiaminaaliosan synteysi käyttäen fosforihappokatalyyttia (*S*)-TRIP. Vastaavasti (*R*)-TRIP:ä käytettäessä yhdisteitä **62** ja **65** saadaan 1:1.

Samaa reaktiota hyödyntävät Zurwerra *et al.*, jotka muodostavat *N*-asyylihemiaminaalisivuketjun atsa-aldolireaktiossa altistamalla muuten valmiin molekyylin yhdisteelle **64** ja (*S*)-TRIP:lle. Zurwerra *et al.* havaitsivat, että katalyyttinä voidaan käyttää vaihtoehtoisesti DIBAL:a (kaavio 14), vaikka tällöin reaktion selektiivisyys kärsii ja (-)-zampanolidia muodostuu vähemmän.¹⁸



Kaavio 14. (-)-Zampanolidin (**62**) hemiaminaaliosan synteysi käyttäen DIBAL:a

3 Yhteenveto

Monet *N*-asyylihemiaminaalin sisältävät luonnonaineet ovat biologisesti aktiivisia ja niitä sekä niiden johdannaisia tutkitaan potentiaalisina lääkeaineina. *N*-asyylihemiaminaalin sisältäviin luonnonaineisiin kuuluvat amathaspiramidit A–F, ekinokandiini C ja spergualiini,

joilla on havaittu olevan antimikrobiallisia ominaisuuksia.^{4,6,14} Lisäksi näihin luonnonaineisiin lukeutuvat myös mm. lusilaktaeni, somamidi A ja (-)-zampanolidi, joita tutkitaan potentiaalisina syöpälääkkeinä.^{8,10,16}

N-asyylihemiaminaaliosa tuottaa oma haasteensa molekyylien synteeseille. Eräs näistä johtuu hemiaminaalien epästabiiliudesta. *N*-asyylihemiaminaalit ovat hemiaminaalien tavoin herkkiä voimakkaasti happamille ja emäksisille olosuhteille.^{5,13} Happamat reaktioolosuhteet voivat aiheuttaa dehydraatiota, kun emäksiset olosuhteet voivat epimerisoida hemiaminaalin hydroksyyli­ryhmän. *N*-asyylihemiaminaalien herkkyyttä reaktio-olosuhteille voidaan myös käyttää hyväksi, kuten Chiyoda *et al.*⁵ ovat tehneet amathaspiramidi F:n synteeseissä. *N*-asyylihemiaminaalit ovat stabiilimpia kuin hemiaminaalit p-orbitaalien elektronien delokalisaation ansiosta ja kestävät siten lievästi happamia olosuhteita.

Hemiaminaaliosan herkkyyden takia se muodostetaan usein vasta synteisien viimeisissä vaiheissa. Tämä voidaan kuitenkin kiertää suojaamalla hemiaminaaliosa eri tavoilla. Hemiaminaalin hydroksyyli­ryhmää voidaan suojata esim. Bn- tai TBS-suojaryhmällä. Lisäksi joissain reaktioissa on tarpeellista suojata *N*-asyylihemiaminaalin tyyppi esim. Boc- tai Alloc-suojaryhmällä. Suojaryhmien lisäksi *N*-asyylihemiaminaalia voidaan suojata jakamalla molekyylin kokonaissynteesi osiin. Näin hemiaminaaliosa voi välttää altistumisen sitä hajottaville reaktio-olosuhteille.

N-asyylihemiaminaaleja sisältävien luonnonaineiden synteeseissä täytyy usein ottaa huomioon myös hemiaminaaliosan hydroksyyli­ryhmän stereokemia. (-)-Zampanolidin synteeseissä *N*-asyylihemiaminaalin hydroksyyli­ryhmän suuntautuminen riippuu vahvasti reaktiossa käytetystä katalyytistä.¹⁷ Tästä syystä *N*-asyylihemiaminaalien synteeseissä pyritään käyttämään katalyyttejä, jotka tuottavat selektiivisen reaktion. Selektiivisyyden tärkeys käy ilmi myös *N*-asyylihemiaminaalien muodostuksesta. Monissa molekyyleissä *N*-asyylihemiaminaali muodostetaan imiinistä, jonka toinen karbonyyli­ryhmä pelkistetään. Esim. amathaspiramidien ja lusilaktaenin synteeseissä pelkistämisen regioselektiivisyys täytyy ottaa huomioon.^{5,9}

4 Kirjallisuus

- (1) Clayden, J.; Greeves, N.; Warren, S. *Organic Chemistry*; Oxford University Press Inc.: New York, 2012.
- (2) Iwasawa, T.; Hooley, R. J.; Rebek, J. J. *Science (80-.)*. **2007**, *317*, 493.
- (3) Troast, D. M.; Porco, J. A. *Org. Lett.* **2002**, *4* (3), 991.
- (4) Morris, B. D.; Prinsep, M. R. *J. Nat. Prod.* **1999**, *62*, 688.
- (5) Chiyoda, K.; Shimokawa, J.; Fukuyama, T. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2012**, *124*, 2555.
- (6) Denning, D. W. *Lancet* **2003**, *362*, 1142.
- (7) Messik, F.; Oberthür, M. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2013**, *52*, 5871.
- (8) Kakeya, H.; Kageyama, S.-I.; Nie, L.; Onose, R.; Okada, G.; Beppu, T.; Norbury, C. J.; Osada, H. *J. Antibiot. (Tokyo)*. **2001**, *54* (10), 850.
- (9) Coleman, R. S.; Walczak, M. C.; Campbell, E. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 16038.
- (10) Nogle, L. M.; Williamson, R. T.; Gerwick, W. H. *J. Nat. Prod.* **2001**, *64*, 716.
- (11) Yokokawa, F.; Shioiri, T. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 8673.
- (12) Hamada, Y.; Shioiri, T. *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 4441.
- (13) Yokokawa, F.; Inaizumi, A.; Shioiri, T. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 1459.
- (14) Shinichi, K.; Hiroyuki, I.; Daishiro, I.; Yoshihisa, U.; Yoko, I.; Hironobu, I.; Hamao, U. *J. Antibiot. (Tokyo)*. **1981**, *XXXIV* (12), 1625.
- (15) Tanaka, J.; Higa, T. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37* (31), 5535.
- (16) Field, J. J.; Singh, A. J.; Kanakkanthara, A.; Halafihi, T.; Northcote, P. T.; Miller, J. H. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 7328.
- (17) Ghosh, A. K.; Cheng, X.; Bai, R.; Hamel, E. *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, *2012*, 4130.
- (18) Zurwerra, D.; Glaus, F.; Betschart, L.; Schuster, J.; Gertsch, J.; Ganci, W.; Altmann, K. H. *Chem. - A Eur. J.* **2012**, *18*, 16868.