

KEMIAN LAITOS JYVÄSKYLÄN YLIOPISTO

Syklobutaanirenkaan sisältävien terpenoidien synteesi

Pro Gradu -tutkielma

Jyväskylän yliopisto

Kemian laitos

Rakenne- ja synteetikemia

15.6.2022

Eeki Tarkkonen



JYVÄSKYLÄN YLIOPISTO

TIIVISTELMÄ

Tämän *pro gradu* -tutkielman kirjallisessa osassa tutustutaan luonnossa esiintyviin syklobutaanirenkaan sisältäviin yhdisteisiin biokemiallisesta ja synteettisestä näkökulmasta. Aihe on rajattu laajuutensa takia käsittelemään pääsääntöisesti terpeenien funktionalisoituja johdannaisia, eli terpenoideja. Kirjallisen osan aiheen rajauksen perustana toimi kokeellisessa osassa tehdyn tutkimuksen aihe, jota valittu kirjallisuuskatsaus pohjustaa oleellisesti.

Syklobutaanirenkaan sisältäviä terpenoideja on löydetty luonnollisista olosuhteista monista erityyppisistä organismeista. Syklobutaanijohdannaiset ovat syklobutaanin reaktiivisuudesta johtuen hyviä lähtöaineita reaktioille, mutta samasta syystä myös mielenkiintoisia kohteita luonnonainesynteesissä. Kirjallisessa osassa pohjustetaan ensin syklobutaanin ominaisuuksia ja tyypillisiä menetelmiä syklobutaanirenkaan muodostamiselle. Tämän jälkeen kirjallisessa osassa käsitellään tarkasti syklobutaanirenkaan sisältävien terpeenien ja terpenoidien luonnollisia biosynteesejä, sekä syklobutaanirenkaan sisältävien terpenoidien synteesiä, huomioiden tyypillisimpiä syklobutaanin muodostamisen menetelmiä.

Työn kokeellisessa osassa tutkitaan syklobutaanirenkaan sisältävän diterpenoidin, humilisiini E:n, erään mahdollisen synteesistrategian käyttökelpoisuutta. Humilisiini E sisältää 9- ja 4-renkaan bisyklin, jonka mahdolliseksi synteesistrategiaksi ehdotettiin 9-renkaan muodostamista liittämällä valmiiseen 4-renkaaseen sopiva sivuketju. Työssä pyrittiin valmistamaan 9-renkaan muodostusta varten tarkoitetun sivuketjun mallireaktio. Reaktioyritykseksi valikoitui konjugaattiadditio α,β -tyydyttymättömään syklobutaaniseen esteriin. Onnistuimme α,β -tyydyttymättömän syklobutaanisen esterin allylaatiolla β -asemaan käyttäen menetelmänä fluoridi-ioni-indusoitua allylaatiota, mutta kaavailun 9-renkaan muodostavaa sivuketjua mallintava metallylaatio ei onnistunut samalla menetelmällä. Kokeellisen osan lopussa on esitetty vaihtoehtoisia menetelmiä, joita voitaisiin käyttää 9-renkaan muodostavan sivuketjun liittämässä α,β -tyydyttymättömään syklobutaaniseen esteriin.

ESIPUHE

Tämä opinnäytetyö suoritettiin Jyväskylän yliopiston kemian laitoksen rakenne- ja synteetikemian osastolla syksyn 2021 ja kevään 2022 välisenä aikana. Työtäni ohjasi professori Petri Pihko, jonka tutkimusryhmässä työ suoritettiin.

Kemia ei ole tullut minulle aina itsestäänselvyytenä, vaikka sitä aikanani innostuinkin opiskelemaan. Vasta orgaanisen kemian syventävissä kursseissa löysin vilpittömän kiinnostuksen alaani kohtaan, ja tämä kiinnostus on saanut minut käyttämään ison osan vapaa-ajastanikin orgaanisen kemian opiskeluun. Olen kiitollinen siitä, että löysin lopulta polkuni. Nyt voin aidosti sanoa valmistuneeni alalta, jota rakastan. Tästä kuuluu iso kiitos tyttöystävälleni, joka puski minua eteenpäin vaikeimpinakin hetkinä.

Haluan kiittää kaikkia Pihkon työryhmässä työskenteleviä ja työskennelleitä avunannosta laboratoriossa, sekä opetuksesta talon tavoille. Erityiskiitos Rajanish Pallerlalle kokeellisen osan ohjauksestani, ja siitä että löysit aikaa ohjata haastavampiakin koejärjestelyitä ja vastata kiperimpiinkin kysymyksiini. Kiitos Anniina Kiesilälle massaspektrien mittaamisesta. Kiitos Prachi Vermalle ja Petri Pihkolle avusta NMR-spektrien tulkitsemisessä.

Työni kokeellinen vaihe on opettanut minulle, että orgaaninen synteesi vaatii kärsivällisyyttä. Kiitos koko työryhmälle kuuntelusta ja neuvoista siihen, miten synteetikemiaa käsitellään myös mentaalisisällä tasolla.

SISÄLLYSLUETTELO

TIIVISTELMÄ.....	i
ESIPUHE	ii
Käytetyt lyhenteet.....	v
2 Syklobutaani ja substituoidut syklobutaanit	3
2.1 Syklobutaanin energia ja ominaisuudet	3
2.2 Substituenttien merkitys syklobutaanin stabiilisuuteen	5
3 Strategioita syklobutaanijohdannaisten synteisiin	9
3.1 [2+2] -sykloadditiot	9
3.1.1 Valokemialliset [2+2] -sykloadditiot	12
3.1.2 Termiset [2+2] -sykloadditiot	14
3.2 Avoketjuisten lähtöaineiden syklisaatio	16
3.3 Syklopropanin laajennus	18
4 Syklobutaanirenkaan sisältävien terpenoidien biosynteesi	19
4.1 Terpeenisynteesi.....	23
4.2 Terpenien syklisaation mekanismi.....	28
4.3 Syklobutaaniosan sisältävien terpenien ja terpenoidien syklisaatio	30
4.4 Syklobutaanisten terpenoidien biosyntesejä	38
4.4.1 (-)- <i>trans</i> - β -bergamoteneenin soluvapaa biosynteesi	38
4.4.2 Sterpureeni.....	40
5 Syklobutaanirenkaan sisältävien terpenoidien synteesejä.....	42
5.1 (+) -Atlantikoni C	43
5.2 (\pm) -Aplydaktoni	45
5.3 (+) -Dendrowardoli C.....	49
5.4 Solanoeklepiini A.....	51
5.5 (+) -Grandisoli ja (\pm) -grandisoli.....	53
KOKEELLINEN OSA	57
6 Johdanto ja työn tarkoitus.....	58
6.1 Humilisiini E	58
6.2 Kokeellisen osan tausta	59
6.3 α,β -tyydyttymättömän esterin synteesi.....	61
6.4 Konjugaattiadditio	64
6.5 Vaihtoehtoiset ideat.....	70
7 Yhteenveto.....	73
8 Kokeelliset menetelmät	74
8.1.1 Syklobut-1-ene-1-karboksylihappo.....	75

8.1.2 Bentsyylisyklobut-1-eeni-1-karboksylaatti.....	76
8.2 Metallylaatioreagenssien valmistus	77
8.2.1 Trimetyyli-(2-metallyyli)-silaani	77
8.2.2 Trifenyli-(2-metallyyli)-silaani	78
8.3 Fluoridi-ionilla indusoitu allylaatio	79
8.3.1 Bentsyyli-2-allyylisyklobutaani-1-karboksylaatti.....	79
8.4 Yritetyt fluoridi-ioni indusoidut metallylaatiot	80
8.4.1 Trimetyyli-(2-metallyyli)-silaanin avulla.....	80
8.4.2 Trifenyli-(2-metallyyli)-silaanin avulla.....	80
Kirjallisuusluettelo	82
Liitteet	91

Käytetyt lyhenteet

Ac	asettaatti
AIBN	atsobisisobutyronitriili
d.r	diastereomeerinen suhde
DBU	1,8-diatsabisyklo[5.4.0]undek-7-eeni
DCC	disykloheksyylikarbodi-imidi
DCM	dikloorimetaani
DMAP	4-dimetyyliaminopyridiini
DMAPP	dimetyyliallylidifosfaatti
DMF	dimetyyliformamidi
DMSO	dimetyylisulfoksidi
ekviv.	ekvivalentti
<i>engl.</i>	englanniksi
Et	etyyli
<i>et al.</i>	ja muut
EtOAc	etyliasetaatti
FPP	farnesyylipyrofosfaatti
Gem	geminaalinen
GGPP	geranyyligeranyylipyrofosfaatti
GPP	geranyylipyrofosfaatti
His	histidiini
HMPA	heksametyylifosforiamidi
HOMO	korkein miehitetty molekyyliorbitaali, <i>Highest occupied molecular orbital</i>
<i>in situ</i>	alkuperäisessä paikassa
IPP	isopentenyylidifosfaatti
ISC	systemien välinen siirtymä, <i>intersystem crossing</i>
kcal	kilokalori
LDA	litiumdiisopropyyliamiini
LUMO	alin miehittämätön molekyyliorbitaali, <i>Lowest unoccupied molecular orbital</i>
lkm.	lukumäärä
Me	metyyli
MEP	2-C-metyyli-D-erytritoli 4-fosfaatti

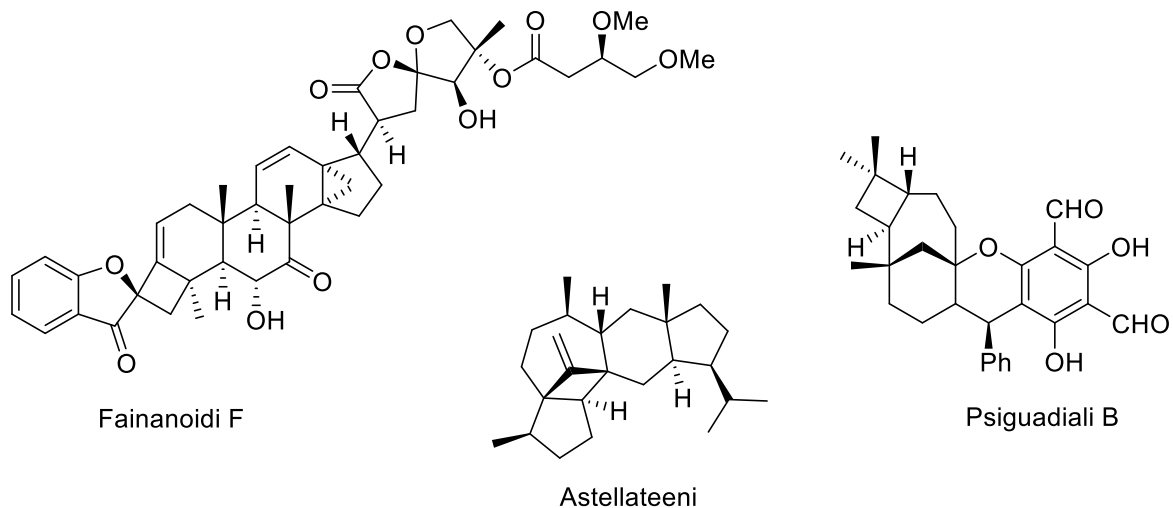
MeOH	metanoli
mol	mooli
<i>n</i> -BuLi	<i>n</i> -butyyllitium
NMR	ydinmagneettinen resonanssi, <i>nuclear magnetic resonance</i>
NOE	ytimien Overhauser-efekti, <i>nuclear Overhauser effect</i>
NPP	neryylipyrofosfaatti
OPP	pyrofosfaatti
OTf	triflaatti
p-ABSA	4-asetamidobentseenisulfonyyliatsidi
Ph	fenyyl
RCM	renkaansulkumetaatesi, <i>ring-closing metathesis</i>
r.t	huoneenlämpötila, <i>room temperature</i>
SOMO	yhden elektronin molekyyliorbitaali, <i>singly occupied molecular orbital</i>
TBS	<i>tert</i> -butyylidimetyylisilyyli
TBSCl	<i>tert</i> -butyylidimetyylisilyylikloridi
<i>t</i> -BuOK	kalium- <i>tert</i> -butoksidi
THF	tetrahydrofuraani
TLC	ohutlevykromatografia, <i>thin-layer chromatography</i>
TMS	trimetyylisilyyli
TPS	terpeenisyntaasi (geneerinen)
vert.	vertaa

KIRJALLINEN OSA

1 Johdanto

Kompleksien molekyylien ja luonnonaineiden valmistaminen vaatii tehokkaita regio- ja stereoselektiivisiä strategioita käytännöllisen synteesin toteuttamiseen. Pienet syklistet rakenteet, kuten syklopropanin ja syklobutaanin johdannaiset, ovat nousseet vuosien saatossa tähän asemaan. Näiden syklisten rakenteiden valmistukselle on löydetty useita erilaisia menetelmiä, ja niiden arvo orgaanisten synteesien lähtöaineena on noussut korkeaksi. Pienet sykloalkaanit ja niiden johdannaiset ovat epäedullisten sidoskulmien takia reaktiivisia, ja ne kykenevät tästä syystä monenlaisiin erilaisiin reaktioihin, joita orgaaniset kemistit kaipaavat synteesin työkaluiksi.¹

Sidoskulmien aiheuttamasta jännityksestä huolimatta syklobutaanisia yksiköitä osana hiilirunkoa on löydetty useista erilaisista luonnonaineista (kuva 1). Terpeenit, ja eritoten terpenoidit ovat laaja luonnonaineiden joukko, joilla on usein kemiallisesti monimutkainen rakenne. Terpeenit ja terpenoidit kiinnostavat sekä synteettisten haasteiden, että potentiaalisten biologisten aktiivisuuksiensa vuoksi synteesikemistejä.^{2,3}



Kuva 1: Esimerkkejä luonnosta löydetystä syklobutaaniosan sisältävistä luonnonaineista; sesterterpeni astellateeni, triterpenoidi fainanoidi F ja meroterpenoidi psigudiali B.^{2,4}

Tämän *pro gradu* -tutkielman kirjallisessa osassa perehdytään lyhyesti syklobutaanin johdannaisten ominaisuuksiin, ja syvemmin syklobutaanirenkaan muodostumiseen ja syklobutaanirenkaita sisältävien luonnonaineiden biosynteesiin. Viimeisessä luvussa on useita esimerkkejä kirjallisuudesta, joissa on raportoitu syklobutaanisten terpenoidien kokonais- tai

muodollisia synteesejä, ja niitä käsitellään tarkasti reaktiomekanismien avulla. Tämä aihekokonaisuus pohjustaa kokeellista osuutta, jossa syklobutaanisesta lähtöaineesta pyritään kartoittamaan mahdollisuuksia seskviterpenoidi humilisiini E:n synteesistrategioihin.

2 Syklobutaani ja substituoidut syklobutaanit



Syklobutaanin käyttäminen lähtöaineena suurien ja kompleksien molekyylien synteeseille on herättänyt viime vuosikymmeninä huomiota synteesikemistien keskuudessa. Tämä selittyy kehittyneillä metodeilla syklobutaanin muodostamiselle sekä sillä, että syklobutaanirengas on luonnostaan jännittynyt ja reaktiivinen.¹

Useissa luonnonaineissa, kuten terpenoideissa, esiintyy syklobutaanirengas molekyylin rungossa huolimatta siitä, että syklobutaani on jännittynyt, korkeaenerginen rakenne.³ Tämä aiheutuu osin siitä, että erilaiset substituentit renkaassa vaikuttavat syklobutaanirenkään stabiilisuuteen.¹ Tässä luvussa tarkastellaan syklobutaanin ja sen johdannaisten sisäisiä ominaisuuksia, sekä esitellään miten tietyt ominaisuudet vaikuttavat syklobutaanijohdannaisten muodostumiseen.

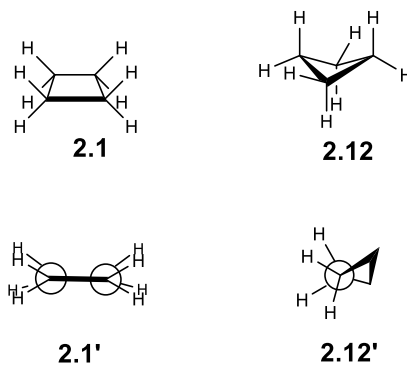
2.1 Syklobutaanin energia ja ominaisuudet

Sykloalkaanien homologisessa sarjassa eri kokoisten renkaiden välillä on eroja sekä sidoskulmien jännitysenergioissa että muodostumisentalpioissa. Taulukosta 2.1 huomataan, kuinka syklobutaanin muodostumisentalpia, sekä sidoskulmien jännitysenergia poikkeavat huomattavasti yleisemmistä homologeista, syklopentaanista ja sykloheksaanista.³

Taulukko 2.1: Esimerkkejä sykloalkaanien kokeellisista muodostumisentalpioista, sekä laskennallisista sidoskulmien jännitysenergioista^{1,5}

Sykloalkaani	ΔH_f°	Jännitysenergia, (kcal/mol)
	6,78	26,3
	- 18,44	7,28
	- 29,5	1,43

Tetraedrisen sp^3 -hybridisoituneen hiilen sidoskulmat ovat $109,5^\circ$. Sykloalkaanit eivät kuitenkaan syklisen rakenteensa johdosta kykene muodostamaan täydellistä tetraedristä sidoskulmaa jokaiseen substituenttiin nähden, joten sykloalkaanien sidoskulmat ovat jännittyneitä. Tasomaisena syklobutaani olisi neliö, jolloin hiilien väliset sidoskulmat olisivat 90° . Tämä ei kuitenkaan vastaa todellisuutta, sillä kolmiulotteisesti tarkasteltuna syklobutaani ei ole tasomainen, vaan poimuttunut (*engl. puckered*). Rengas poimuttuu eli rypistyy siitäkin huolimatta, että rypistyneen syklobutaanin hiilien väliset sidoskulmat ovat vielä tasoneliön sidoskulmia pienemmät, vain 88° . Rypistyminen lievittää torsiojännitystä hiilien sidoskulmien kustannuksella (kuva 2.1).⁶

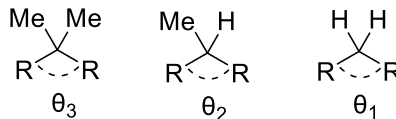


Kuva 2.1: Teoreettinen tasomainen syklobutaani (**2.1**) ja sen Newmanprojektiio (**2.1'**), sekä todellinen syklobutaanin poimuttunut konformaatio (**2.12**) ja sen Newmanprojektiio (**2.12'**).⁶

2.2 Substituenttien merkitys syklobutaanin stabiilisuuteen

Gem-disubstituuttiefekti on ilmiö, jota voidaan hyödyntää syklisten rakenteiden synteesissä. Kaksi metyyliisubstituenttia yhden hiilen päässä, eli α -asemassa siitä hiilestä, joka osallistuu intramolekulaarisessa syklosaatiossa sidoksen muodostamiseen nopeuttaa renkaanmuodostumisreaktiota. Gem-disubstituoidun molekyylin intramolekulaarinen syklosaatio on helpompaa verrattuna vetysubstituoituun molekyyliin. Tämän lisäksi gem-disubstituutio lisää stabiilisuutta muodostuneeseen renkaaseen.

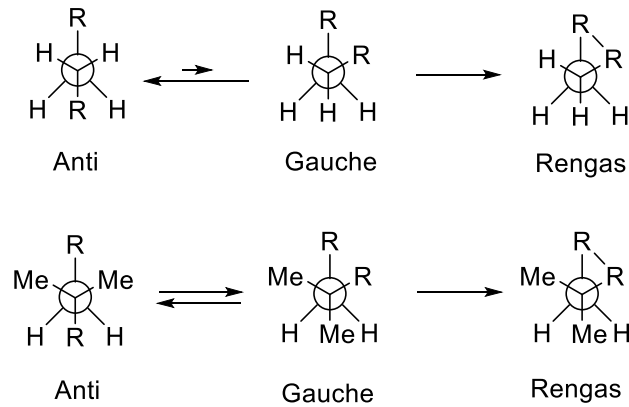
Gem-disubstituuttiefektin kuvailivat ensimmäisenä Beesley, Ingold, ja Thorpe vuonna 1915. He esittivät, että efekti voidaan selittää kineettisesti: kahden geminaalisen metyyliisubstituentin välinen repulsio α -hiilessä suurentaa substituenttien ja hiiliatomin välistä sidoskulmaa. Sidoskulma on suurempi kuin vastaavien C-H-sidosten välinen kulma α -asemassa, koska C-H-sidosten välinen repulsio ei ole yhtä voimakasta. Metyyliisubstituenttien keskinäinen repulsio puolestaan pienentää muodostuvan renkaan sisäistä kulmaa (kuva 2.2). Gem-disubstituuttiefektin aiheuttama θ -kulman pieneneminen tuo renkaan sulkeutumisessa reagoivat funktionaaliset ryhmät lähemmäksi toisiaan, jolloin molekyylin sisäinen reaktio nopeutuu.⁷



$$\theta_3 < \theta_2 < \theta_1$$

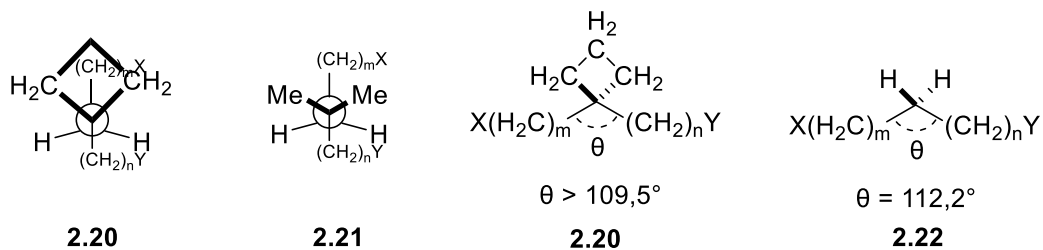
Kuva 2.2: Gem-disubstituuttiefekti havainnollistettu metyyliiryhmien aiheuttaman sisäisen sidoskulman, θ , pienenemisenä.^{7,8}

Bruice ja Pandit ehdottivat ilmiölle vaihtoehoiseksi selitykseksi reaktiivista rotameeria. Heidän havaintonsa oli, että dimetyyliisubstituutio reaktiivisen hiilen α -asemassa suosii syklistoituvassa systeemissä *gauche*-konformaatiota *anti*-konformaatiota sijaan. Tämä aiheutuu kahden metyyliiryhmän toisilleen aiheuttamasta steerisestä hylkimisestä. Tämäkin hypoteesi perustuu kineettisyyteen, mutta syynä tähän olisi pääosin *gauche*-konformaatio, joka pakottaa reagoivat yksiköt molekyylin sisällä lähestymään toisiaan (kuva 2.21).⁹



Kuva 2.21: *Gauche*-konformaatio on esitetty olevan todennäköinen syy gem-disubstituutitiefektille intramolekulaarisessa syklistaatioissa.^{8,9}

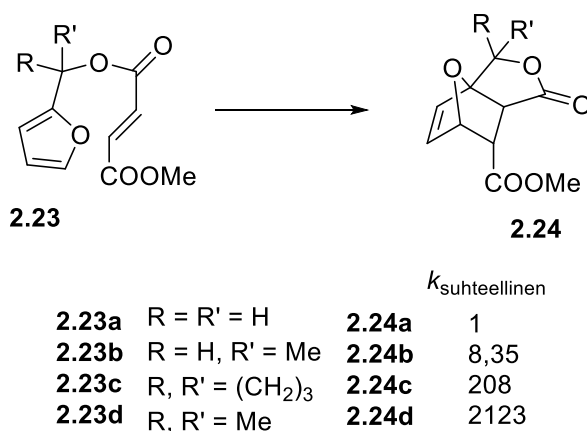
Vuonna 1991, Jung ja Gervay julkaisivat koesarjan, jossa he kykenivät vertailemaan Beesleyn, Thorpen ja Ingoldin (θ -kulman pieneneminen) sekä Bruicen ja Panditin (reaktiivinen rotameeri) esityksiä gem-disubstituutioefektille. Jung ja Gervay rakensivat kokeellisen systeemin, jolla he esittivät gem-disubstituutitiefektin olevan peräisin vain toisesta edellä mainituista syistä. Jos reaktiivinen rotameeri on vallitseva tekijä gem-disubstituutitiefektille, niin gem-asetusta syklisesti lukittu systeemi **2.20** syklisoituisi yhtä nopeasti kuin gem-dimetyylisubstituoitu yhdiste **2.21**. Toisaalta, jos **2.20** syklisoituu yhtä nopeasti tai hitaammin kuin gem-dihydrosuostuoitu **2.22**, niin θ -kulman pieneneminen on suuremmissa roolissa kuin reaktiivinen rotameeri (kuva 2.22).⁸



Kuva 2.22: Gem-disubstituutio pienellä renkaalla kuten **2.20**:lla on samanlainen vaikutus reaktiivisessa rotameerissa kuin gem-dimetyylisubstituoidussa **2.21**. Sisäinen kulma, θ , on yhdisteessä **2.20** suurempi kuin gem-dihydrosuostuoidun **2.22** sisäinen kulma.⁸

Jung ja Gervay käyttivät 2-furfuryylimetyylifumaraatteja **2.23** Diels-Alder-reaktiossa, jossa muodostui yhdisteitä **2.24** (kaavio 2.2). Jung ja Gervay määrittivät muodostumisvakioita useille

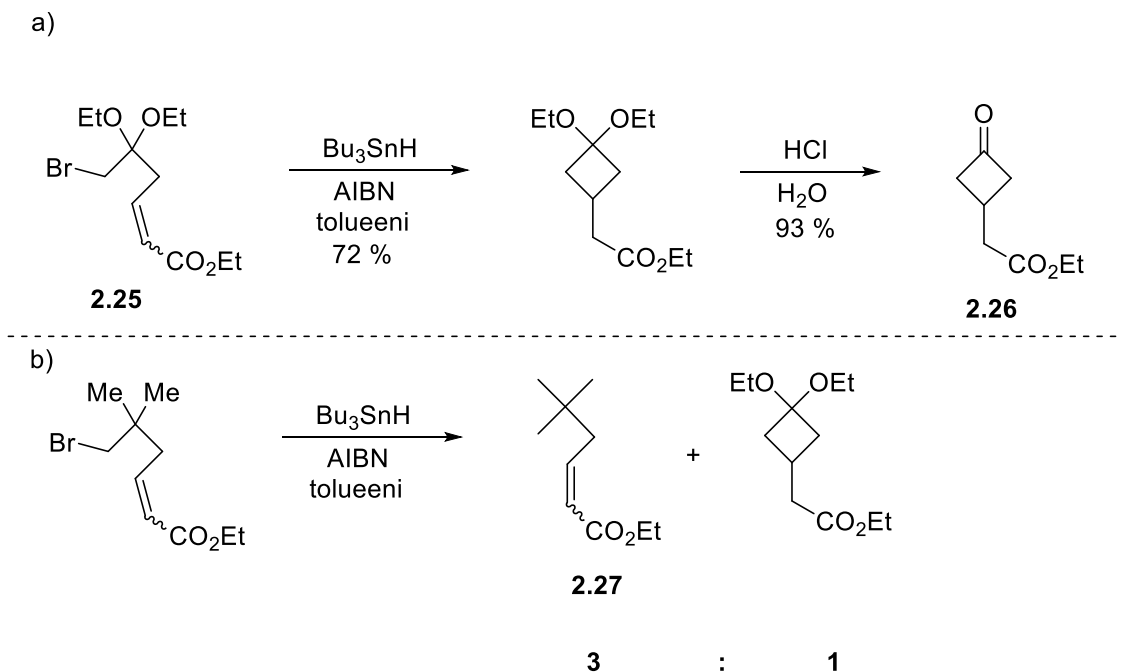
eri gem-disubstituutiovarianteille, ja havaitsivat että 2-furfuryylimetyylifumaraattien molekyyllinsisäinen Diels-Alder-reaktio lukitulla gem-syklobutaanilla **2.23c** tapahtui 100 kertaa nopeammin kuin vastaavalla gem-dihydrosubstituoidulla yhdisteellä **2.23a** ja 20 kertaa nopeammin kuin monometyylisubstituoidulla yhdisteellä **2.23b**. Lisäksi he havaitsivat, että yhdisteen **2.23c** syklisaation nopeusvakio on vain kymmenesosa vastaavan gem-dimetyylisubstituoidun 2-furfuryylimetyylifumaraatin **2.23d** syklisaation nopeusvakiosta. Kokeen tulokset tukevat hypoteesia, jossa reaktiivinen rotameeri gem-disubstituenttiefektin takana on suuressa roolissa ainakin 5-renkaiden muodostumisessa.⁸



Kaavio 2.2: Jungin ja Gervayn 2-furfuryylimetyylifumaraattien Diels-Alder-kokeet. **2.23c** syklisaatio tuotteeksi **2.24c** oli huomattavasti nopeampi kuin **2.23b** → **2.24b** ja **2.23a** → **2.24a**.⁸

Jung ja Gervay havaitsivat myös, että furfuryylimetyylifumaraattien syklisaationopeus kasvoi liuottimien poolisuuden noustessa. Syy syklisaation nopeutumiselle poolisuuden kasvaessa johtui 2-furfuryylimetyylifumaraattien esterikytköksestä gem-substituoidussa hiilessä. Syklisaatiota edeltävän siirtymätilan *s-cis*-konformeeri on dipolimomentiltaan suurempi kuin lähtöaineen stabiili *s-trans*-konformeeri, joten 2-furfuryylimetyylifumaraattien polaarinen Diels-Alder-siirtymätila on stabiloitu poolisissa liuottimissa ja täten poolinen liuotin lisää syklisaationopeutta. Havainto sai Jungin työryhmän kiinnostumaan gem-dialkoksisubstituoiduista systeemeistä, ja testaamaan gem-dialkoksisubstituution vaikutusta intramolekulaariseen syklisaation. Jungin työryhmä teettivät koejärjestelyn tämän nk. gem-dialkoksiefektin tutkimiselle. Kokeessa muodostettiin syklobutanoni **2.26** radikaalisyklisaatiolla gem-dialkoksisubstituoidusta yhdisteestä **2.25** (kaavio 2.21 a). Gem-dietoksisubstituoitu bromiheksanoaatti **2.25** syklisoitui selektiivisesti ketaaliksi 72 % saannolla.

Ketaalin käsittely hapolla johti puhtaaseen syklobutanoniin **2.26**. Vastaava bromiheksanoaatti, jossa alkoksiryhmien tilalla oli kaksi geminaalista metyyliiryhmää, tuotti samoissa reaktioolosuhteissa suurimmaksi osin avoketjuista sivutuotetta **2.27** (kaavio 2.21 b).¹⁰



Kaavio 2.21: Jungin työryhmän radikaalisyklisaatiokokeita gem-dialkoksiefektin havainnollistamiseksi. A) **2.25** radikaalisyklisaatio ketaaliksi ja edelleen syklobutaanijohdannaiseksi **2.26** b) Gem-dimetyylisubstituoitujen bromiheksanoaatin radikaalireaktion avoketjuisen tuotteen **2.27** ja ketaalituotteen suhde.¹⁰

Entalpisia selityksiä gem-disubstituenttiefektille on pyritty esittämään nimenomaisesti syklobutaanien muodostumisen kannalta käyttäen myös laskennallisia menetelmiä. Vuonna 2007 Ringer & Mager¹¹ laskivat CCSD(T)-metodilla nolla-piste- ja elektronisia energioita hyperhomodesmoottiselle syklobutaanien muodostumismallille. He tulivat tulokseen, joka ennakoiti 1,1-dimetyylisubstituoitujen syklobutaanin olevan rengasjännitykseltään jopa vain 18,2 kcal·mol⁻¹. Tämä olisi merkittävä muutos verrattuna vetysubstituoitujen syklobutaanin rengasjännitykseen 26,3 kcal·mol⁻¹ (alaluku 2.1, taulukko 2.1). Tähän tutkimukseen Bachrach¹² vastasi omalla laskennallisella tutkimuksellaan. Hän laski energioita syklobutaanin, 1-metyylisyklobutaanin, sekä 1,1-dimetyylisyklobutaanin ryhmäekvivalenttisille reaktioille käyttäen erilaisia laskennallisia menetelmiä. Hän myös vertaili Ringer & Magerin käyttämää CCSD(T)-menetelmää laskeakseen syklobutaaneja vastaavien syklopropanien ja

syklopentaanien rengasjännityksiä. Tulokset osoittivat, että rengasjännitysenergian ero 1,1-dimetyylisubstituoidun syklobutaanin ja vetysubstituoidun syklobutaanin välillä on alle 2 kcal·mol⁻¹.¹²

On selvää, että gem-disubstituenttiefekti nopeuttaa intramolekulaarista syklisaatiota. Tämänhetkisen tiedon valossa, gem-disubstituenttiefektin takana ovat suuressa määrin entalpiset tekijät, vaikka usein kirjallisuudessa puhutaankin myös Thorpe-Ingold-efektistä (sisäisen kulman pieneneminen). On myös mahdollista, että molemmilla tekijöillä on oma vaikutuksensa.

3 Strategioita syklobutaanijohdannaisten synteisiin

Avoketjuisten lähtöaineiden syklisaatio, [2+2] -sykloadditio sekä syklopropanin laajentaminen ovat pääsääntöiset strategiat syklobutaanijohdannaisten syntetisoimiselle. Kutakin strategiaa voidaan toteuttaa useilla eri menetelmillä ja kaikkia näitä on käytetty hyväksi luonnonainesynteeseissä, jossa rakenteisiin kuuluu syklobutaaniyksikkö.¹³ Tulevissa alaluvuissa (3.1, 3.1.1, 3.1.2, 3.2, 3.3) perehdytään syvemmin jokaiseen erilaiseen strategiaan ja niihin sisältyviin menetelmiin esittäen niitä reaktiomekanismeilla.

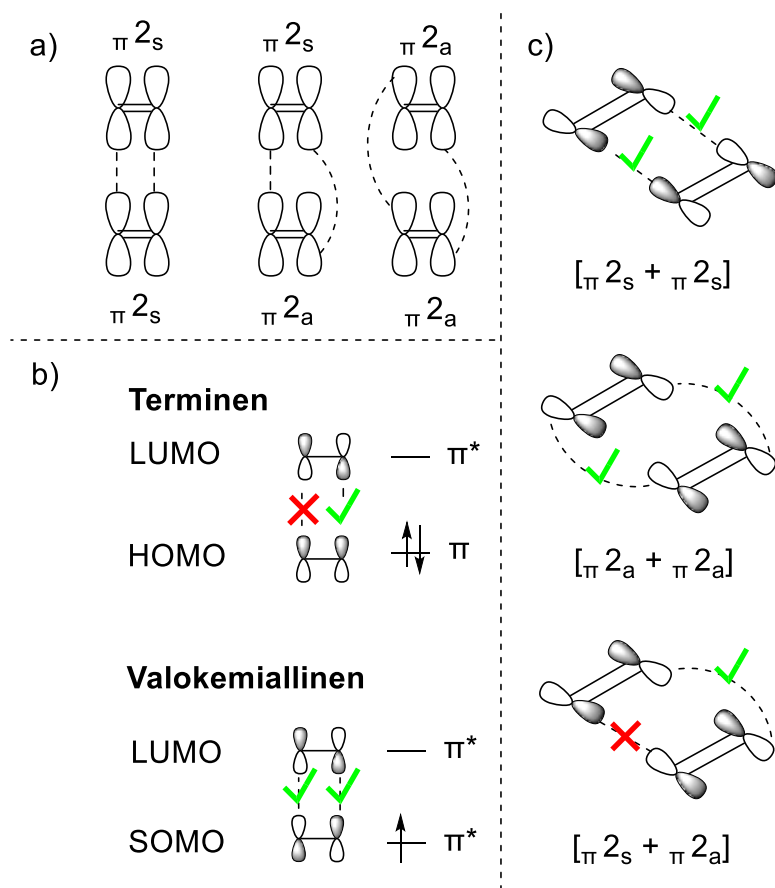
3.1 [2+2] -sykloadditiot

Yksi orgaanisen synteessin tunnetuimpia ja käytetyimpiä synteessimenetelmiä on [2+2] -sykloadditio. Tämä reaktio tapahtuu yleisesti kahden hiili-hiili-kaksoissidoksen välillä, jolloin ne muodostavat neljän hiilen rengasrakenteen. Kyseessä on siis kahden uuden σ -sidoksen muodostuminen kahdesta π -sidoksesta. [2+2] -sykloadditioita voi tapahtua termisesti, valokemiallisesti sekä valokemiallisella siirtymämetallikatalyysillä.¹⁴

[2+2] -sykloadditio voi teoriassa tapahtua erilaisilla tavoilla, jotka perustuvat rintamaorbitaalien symmetriaan. Kuvassa 3.1 a on havainnollistettu yksinkertaisten alkeiden supra/supra eli [$\pi 2_s + \pi 2_s$], antara/antara eli [$\pi 2_s + \pi 2_a$] sekä supra/antara eli [$\pi 2_a + \pi 2_a$] -sykloadditiotavat, jotka voivat teoriassa johtaa [2+2] -syklisaatioon.¹⁴

Termisesti, sekä valokemiallisesti tapahtuvat [2+2] -sykloadditiot kahden alkeenin välillä ohjautuvat Woodward-Hoffmann-sääntöjen¹⁵ puitteissa eri tavoin. Valokemiallisessa [2+2] -sykloadditiossa toinen reagoivista komponenteista polarisoituu, ja tämän virittyvän kaksoissidoksen perustilalla oleva elektroni nousee π^* -orbitaalille (SOMO) (Kuva 3.1 b). Valokemiallisesti viritetyn alkeenin (SOMO) ja perustilalla olevan alkeenin (LUMO) välillä tapahtuva syklistaatio on virityksestä aiheutuvan molekyyliorbitaalien symmetrian vuoksi mahdollista sekä $[\pi 2_s^+ \pi 2_s]$ - ja $[\pi 2_a^+ \pi 2_a]$ -tavoilla. Kuitenkaan $[\pi 2_s^+ \pi 2_a]$ -tavalla orbitaalisymmetria ei täsmää, joten reaktio ei voi tapahtua tällä tavoin valokemiallisesti (kuva 3.1 c). Useimmin valokemiallista [2+2] -sykloadditiota hyödynnetään silloin, kun toinen tai molemmat reagoivista komponenteista ovat helposti polarisoituvia, kuten enoneja¹⁴. Näitä tarkastellaan tarkemmin seuraavassa alaluvussa (3.1.1).^{16,17}

Termisesti tapahtuva [2+2] -sykloadditio ei ole sallittu orbitaalisymmetrian perusteella $[\pi 2_s^+ \pi 2_s]$ - tai $[\pi 2_a^+ \pi 2_a]$ tyyppisinä reaktioina. Kuvassa 3.1 b on havainnollistus käytännössä mahdottomasta $[\pi 2_s^+ \pi 2_s]$ -sykloadditiotavasta termisessä prosessissa. Termisessä prosessissa mahdollinen sykloadditiotapa on sen sijaan $[\pi 2_s^+ \pi 2_a]$, koska tämä tapa on orbitaalisymmetrian kannalta mahdollinen virittymättömille alkeeneille. Termisestä [2+2] -sykloadditiosta kerrotaan myöhemmin niille tarkoitettussa alaluvussa (3.1.2).^{16,17}



Kuva 3.1: a) Yksinkertaisten alkeenen mahdollisia tapoja reagoida [2+2]-sykloadditiolla.¹⁴

b) Valokemiallisessa supra/supra [2+2]-sykloadditiiossa HOMO:n elektroni virittyy π^* -orbitaalille (SOMO), jolloin orbitaalisymmetria täsmää. Termisessä [2+2]-sykloadditiiossa

HOMO säilyy ennallaan, joten supra/supra ei ole sallittu.¹⁶ c) Valokemiallisessa [2+2]-sykloadditiiossa supra/supra, sekä antara/antara -reaktiot ovat orbitaalisymmetrian perusteella sallittuja, mutta supra/antara vain termisessä [2+2]-sykloadditiiossa.¹⁶

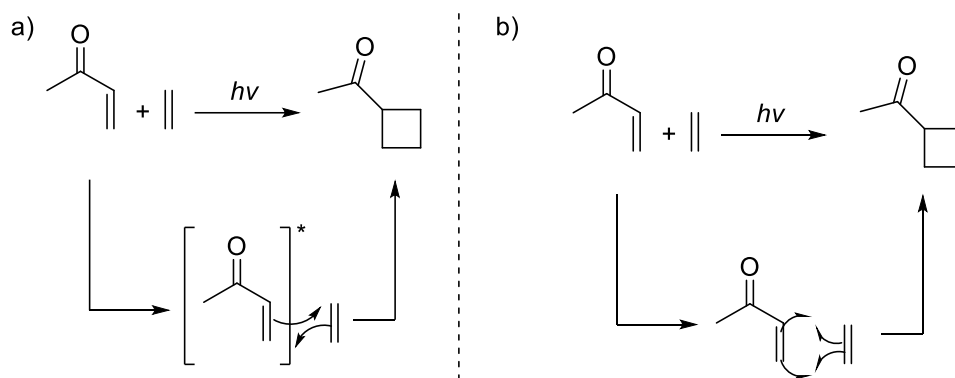
Riippumatta siitä, tapahtuuko reaktio valokemiallisesti vai termisesti, [2+2]-sykloaddition on tapahduttava jollakin näistä yllä esitetystä tavoista. Termisen prosessin reaktiot eivät ole sallittuja orbitaalisymmetrian perusteella valokemiallisessa prosessissa, eikä valokemiallisen prosessin reaktiot ole sallittuja termisessä prosessissa (taulukko 3.1).

Taulukko 3.1. Säännöt erilaisten π -elektronirakenteiden sallituille reaktioille kahden komponentin sykloadditiossa¹⁶

Elektronien lkm.	Termisesti sallittu	Valokemiallisesti sallittu
$4n + 2$	Supra/supra Antara/antara	Supra/antara Antara/supra
$4n$	Supra/antara Antara/supra	Supra/supra Antara/antara

3.1.1 Valokemialliset [2+2] -sykloadditiot

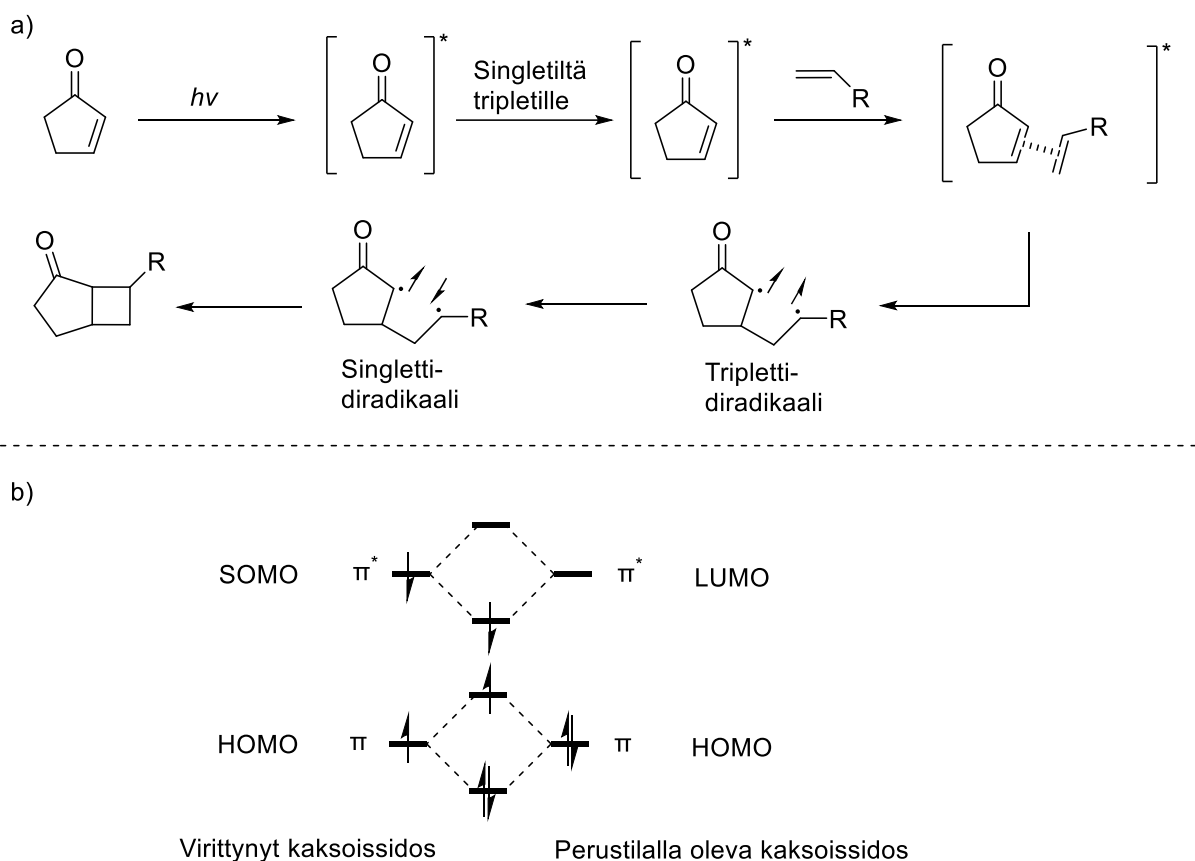
Valokemialliselle [2+2] -sykloadditiolle on erilaisia lähtökohtia syklisen nelirenkaan muodostamiseksi. Malliesimerkkinä valokemiallisessa [2+2] -sykloadditiossa voidaan käyttää helposti polarisoituvaa enonia ja yksinkertaista alkeenia. Valokemiallisen [2+2] -sykloaddition reaktiomekanismin voi piirtää kahdella eri tavalla (kaavio 3.1.10).



Kaavio 3.1.10: Valokemiallisen [2+2] -sykloaddition reaktiomekanismi piirrettynä a) välivaiheen radikaali hakasulkeissa ja tähdellä yläindeksissä tai b) diradikaalin kaarinuolihahmotelmana.¹⁸

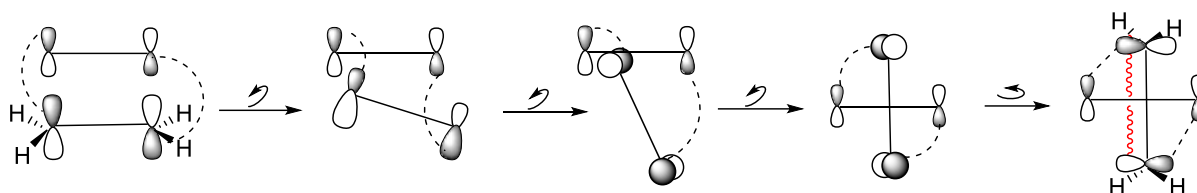
Yleisesti ottaen tämän kaltaiset reaktiot eivät välttämättä ole perisyklisiä, vaan voi tapahtua myös vaiheittain diradikaalisten välivaiheiden kautta. Ensin virittynyt enoni siirtyy singlettitilalta triplettitilalle, ja tätä prosessia kutsutaan systeemien väliseksi siirtymäksi (*engl. intersystem crossing*, ISC). ISC johtaa enonin ja perustilalla olevan kaksoissidoksen väliseen triplettidiradikaaliin. Tämän triplettidiradikaalivälivaiheen spinin inversio muuttaa systeemin

singlettidiradikaaliksi, jonka jälkeen singlettidiradikaalin rekombinaatio muodostaen uuden σ -sidoksen (kuva 3.1.10 a). Kuvassa 3.1.10 b on orbitaalidiagrammi, joka havainnollistaa toisen kaksoissidoksen virittymisestä johtuvan elektronin nousun π^* -orbitaalille (SOMO). SOMO pystyy vuorovaikuttamaan alkeenin kaksoissidoksen π^* -orbitaalin kanssa (LUMO). Sekä HOMO-HOMO- että SOMO-LUMO-vuorovaikutukset ovat energiaa laskevia valokemiallisessa [2+2]-sykloadditiossa.^{16,19}



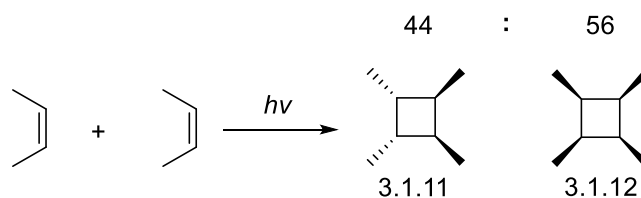
Kuva 3.1.10: a) Välivaiheet valokemiallisessa [2+2]-sykloadditiossa¹⁹ ja b) rintaorbitalien energiadiagrammi valokemialliselle [2+2]-sykloadditiolle.¹⁶

Kuvassa 3.1.11 on esitetty $[\pi 2_a^+ \pi 2_a]$ -sykloaddition teoreettinen kulku. Vaikka tällainen sykloadditio on orbitaalisymmetrian perusteella sallittu, se ei onnistu geometrisista syistä. Kaksoissidoksen hiilten substituentit ja C-H-sidokset estävät $[\pi 2_a^+ \pi 2_a]$ -sykloadditioon vaadittavan siirtymätilan muodostumisen (kuva 3.1.11).^{15,16}



Kuva 3.1.11: $[\pi 2_a + \pi 2_a]$ -sykloadditio tapahtuu alkeenisten komponenttien suorakulmaisessa siirtymätilassa, mutta vetysubstituentit häiritsevät siirtymätilan muodostumista (punaiset aaltoviivat).^{15,16}

Todellisuudessa suotuisin reaktio valokemiallisessa $[2+2]$ -sykloadditiossa on tasomainen $[\pi 2_s + \pi 2_s]$,¹⁶ joka mahdollistaa stereospesifisen syklobutaanijohdannaisen muodostamisen.¹⁷ Esimerkiksi (*Z*)-2-buteeni dimerisoituu lyhyillä reaktioajoilla joko ($1R^*, 2R^*, 3S^*, 4S^*$)-1,2,3,4-tetrametyylisyklobutaaniksi (**3.1.11**), tai (1*s*,2*s*,3*s*,4*s*)-1,2,3,4-tetrametyylisyklobutaaniksi (**3.1.12**) (kaavio 3.1.11). Jotta reaktiosta saadaan hyvä saanto, on (*Z*)-2-buteenin lähtökonsentraation oltava korkea. Laimea reaktioseos huonontaa isomeerien **3.1.11** ja **3.1.12** saantoa, sillä (*Z*)-2-buteenin isomerisoituminen saattaa tapahtua ennen dimerisoitumista.²⁰

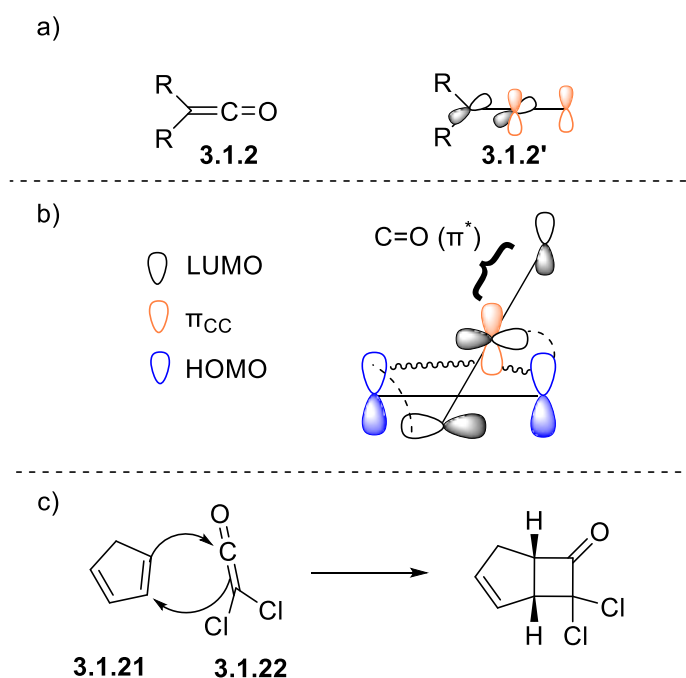


Kaavio 3.1.11: (*Z*)-2-buteenin $[2+2]$ valokemiallisen syklistaatio tuotteiden stereokemia ja dimeerien suhde 24 tunnin reaktioajalla.²⁰

3.1.2 Termiset $[2+2]$ -sykloadditiot

Aiemmin mainittiin (luku 3.1), että orbitaalisymmetria ei salli $[2+2]$ -sykloaddition muodostumista syklobutaaniksi supra/supra – tai antara/antara -syklistaatitavoilla ilman, että toisen komponentin elektronit virittyvät π^* -orbitaalille. Jotkin tietyt yhdisteet voivat kuitenkin sallia syklobutaanin muodostumisen $[2+2]$ -sykloadditiossa supra/antara -tavoilla termisessä prosessissa.

Tyypillisin esimerkki, jolla tämän kaltainen [2+2]-sykloadditio voidaan muodostaa, on keteeni. Geneerinen keteeni **3.1.2** ja sen molekyyliorbitaalit **3.1.2'** on havainnollistettu kuvassa 3.1.2 a. Jokaiseen termiseen [2+2]-sykloadditioon vaaditaan keteenin tapaan hiili, jossa on kaksi kaksoissidosta. Tämän hiilen on oltava myös elektrofiilinen, jotta tyypillinen alkeeni pystyy hyökkäämään siihen (kuva 3.1.1 c). Jotta reaktio voi tapahtua, täytyy nukleofiilina toimivan alkeenin asettua oikeaan asentoon elektrofiilisen keteenin orbitaalien suhteen. Tällä tavoin nukleofiilin HOMO pystyy vuorovaikuttamaan kuvan 3.1.1 b (katkoviivat) tapauksessa keteenin π^* -orbitaalin kanssa (LUMO). Woodward ja Hoffmann¹³ ehdottivat tähän, että siirtymätila on stabiloitu myös sekundaarisilla vuorovaikutuksilla alkeenin HOMO:n ja keteenin π_{CC} -orbitaalin välillä (kuva 3.1.1 b aaltoviivat). Tämän tyyppinen asetelma sisältää enemmän rakentavia vuorovaikutuksia kuin hajottavia, suosien syklisaation tapahtumista siirtymätilasta tuotteeksi. Tyypillinen [2+2]-sykloadditio on mahdollinen esimerkiksi syklopenta-1,3-dieenin (**3.1.21**) ja diklooriketeein (**3.1.22**) välillä, jonka kaarinuolilla kuvattu mekanismi on esitetty kuvassa 3.1.1 c.^{14,15}



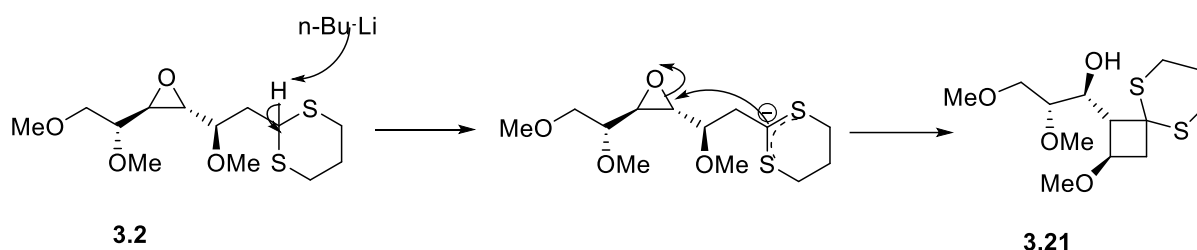
Kuva **3.1.1**: a) Geneerinen keteeni **3.1.1** ja sen molekyyliorbitaalit **3.1.1'**. b) Esitys termisesti reagoivien yksiköiden kolmiulotteisesta asetelmasta orbitaalien suhteen sekä HOMO-LUMO vuorovaikutukset. c) Malliesimerkki termisestä [2+2]-sykloadditiosta syklobutaanin johdannaiseksi.^{16,17}

3.2 Avoketjuisten lähtöaineiden syklistaatio

Syklobutaanin muodostaminen avoketjuisista lähtöaineista on mahdollista 1,4-syklisaatiolla. Tämä voi tapahtua, jos lähtöaine sisältää nelirenkaan muodostumista varten sopivasti ionisoituvat tai radikalisoituvat hiilet, jotka voivat muodostaa kovalenttisen sidoksen. Radikaalirekombinaation kautta tapahtuvat 1,4-syklisaatioprosessit usein löytävät jonkin stereoselektiivisen tasapainon stereogeenisen hiilen suhteen. Kuitenkin joissain tapauksissa stereoelektroniset muutokset molekyylin syklistaation aikana voivat aiheuttaa huomattavaa spesifisyyttä tietyn enantiomeerin muodostumiselle.¹³

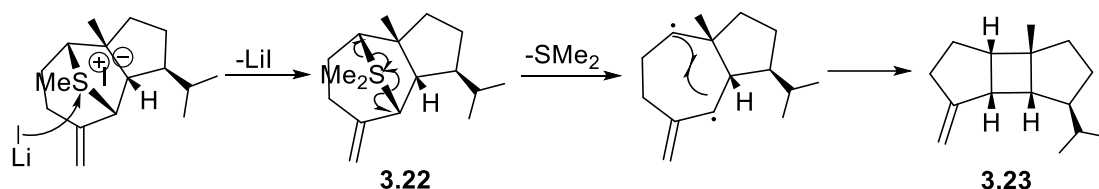
Syklobutaanijohdannaisen muodostuminen 1,4-syklisaatiossa säilyttää stereokemian renkaan sisältävien 2- ja 3-hiilien kesken, jotka eivät osallistu sidoksen muodostamiseen. Enantiomeeristen syklobutaaniyksiköiden muodostuminen on tutkittua. Tutkimuksissa käytetään usein luonnonaineista johdettuja, enantiomeerisesti puhtaita substraatteja.¹³ Luvussa 5 esitellään töitä, joissa syklobutaaniyksikön sisältäviä luonnonaineita on muodostettu avoketjuisten välivaiheiden syklistaatioilla.

Intramolekulaarinen S_N2 -reaktio ditianyyliepoksidissa **3.2** voidaan aikaansaada deprotonoimalla hapan protoni rikkien välissä olevalta hiileltä (nukleofiilinen syklistaatio). Muodostuva karbanioni hyökkää epoksidin hiileen intramolekulaarisesti aiheuttaen syklistaation ja 4-renkaan **3.21** muodostumisen täydellisellä stereokemian inversiolla (kaavio 3.2).²¹



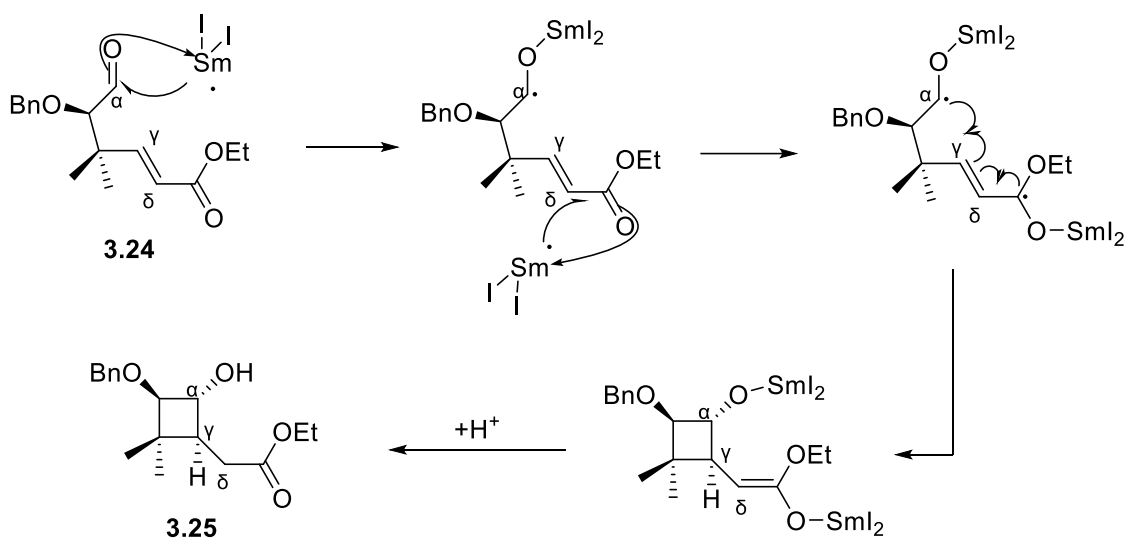
Kaavio 3.2: Ditianyyliepoksidin **3.2** ioninen intramolekulaarinen S_N2 -syklisaatio 4-renkaaksi **3.21**.²¹

Intramolekulaarinen radikaalirekombinaatio jossa muodostuu syklobutaanirengas on havainnollistettu kaaviossa 3.21. Dimetyylimintisulfidinin pilkkoutuminen muodostaa 7-renkaaseen radikaalit, jotka voi yhä rekombinaation kautta muodostaa nelirenkaan sisältävän trisyklin **3.23**.²²



Kaavio 3.21: Intramolekulaarinen radikaalisyklisaatio syklobutaaniyksikön muodostumiselle.²²

Radikaalisyklisaatiota voi käyttää myös avoketjuisen lähtöaineen, kuten aldehydin **3.24** stereoselektiiviseen intramolekulaariseen syklisaatioon. Esimerkiksi samarium(II)jodidilla voidaan pelkistää karbonyyliryhmiä vastaaviksi ketyyliradikaaleiksi. Nämä radikaalit voivat edelleen syklisoitua radikaaliadditiolla. Aldehydin **3.24** tapauksessa ketyyli-alkeenisyklisaatio tapahtuu samarium(II)jodidilla pelkistetyn karbonyylin (α -asema) ja tyydyttymättömän γ -aseman välillä. Tämä johtaa stereoselektiiviseen 4-*ekso*-trig-syklisaatioon alkoholiksi **3.25**, jossa on kaksi uutta stereokeskusta (kaavio 3.22).²³



Kaavio 3.22: Samarium(II)jodidin yhden elektronin siirrot karbonyyleille aldehydissä **3.24**, ja sitä seuraava intramolekulaarinen 4-*ekso*-trig-syklisaatio alkoholiksi **3.25**.²³

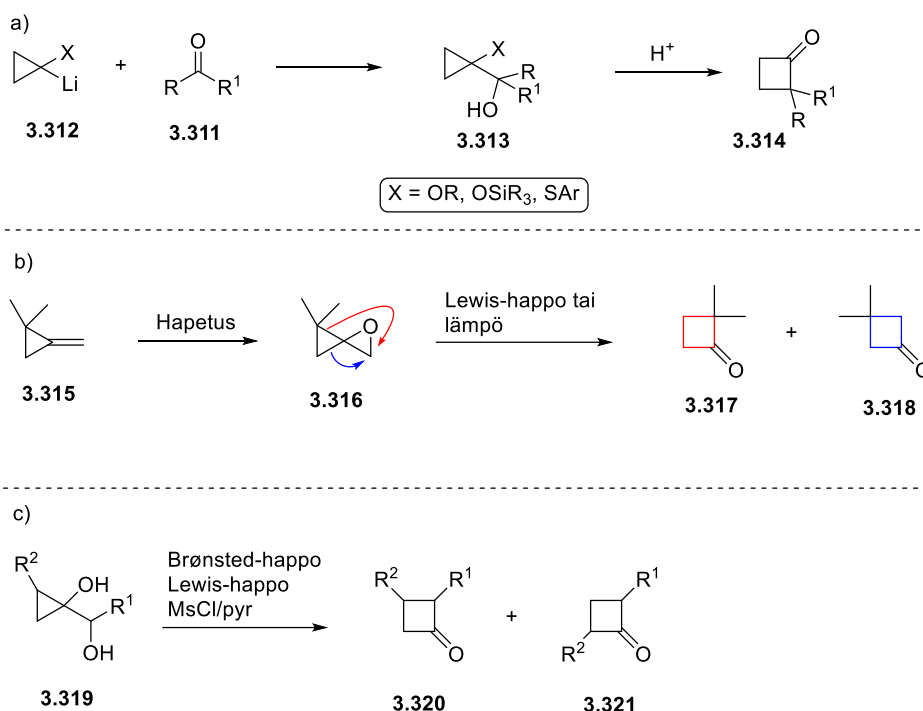
3.3 Syklopropanin laajennus

Renkaan supistamisen lisäksi syklobutaanirengas voidaan valmistaa laajentamalla syklopropanirengasta. Laajentaminen voidaan tehdä syklobutaaniksi vain syklopropanista, mutta tähän laajennukseen on useita erilaisia menetelmiä.¹¹

Esimerkiksi heteroatomisubstituoituja syklopropyylikarbinoleja voidaan hyödyntää happokatalysoidussa toisiintumisessa. Kaaviossa 3.3 a on malliesimerkki tämän kaltaisen karbinolin **3.313** synteisistä lähtien geneerisestä ketonista **3.311** ja litioidusta syklopropyylistä **3.312**. Protonoituva hydroksyyli lohkeaa vetenä, ja aiheuttaa syklopropanirengaan toisiintumisen syklobutaanirengaksi. Toisiintumista stabiloi heteroatomi, X, jonka jälkeen heteroatomin hydrolysaatio muodostaa syklobutanonin **3.314**.²⁴

Oksaspiro-[2,2]-pentaanisysteemit, kuten **3.315** voivat hapettua, ja tämä hapetustuote **3.316** voi toisiintua Lewis-hapon tai lämmön avulla (kaavio 3.3 b). Toisiintuminen voi muodostaa kaksi rakenneseeriä **3.317** tai **3.318** riippuen siitä, kumpi hiilidoksista värikoodattujen sidosten siirtyessä muodostaa nelirenkaan.²⁵

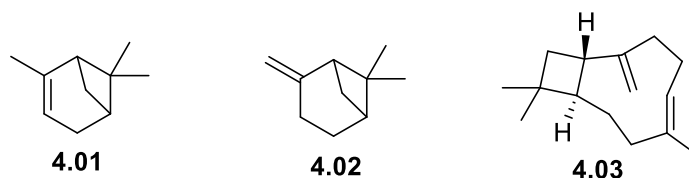
Kaaviossa 3.3 c on mallitapaus pinakolitoisiintumisen aiheuttamasta syklopropanin laajentumisesta. Kuten heteroatomisubstituoitussa syklopropanissa (kaavio 3.3 a), myös pinakolitoisiintumisessa heteroatomisubstituentti (hydroksyyli) hydrolysoituu, muodostaen karbokationin. Syklopropanirengas voi toisiintua kahdeksi eri rakenneseeriksi **3.320** tai **3.321**.²⁶



Kaavio 3.3: Erilaisia ratkaisuja syklobutaanirenkaan syntetisoimiselle syklopropania laajentamalla.^{24,25,26}

4 Syklobutaanirenkaan sisältävien terpenoidien biosynteesi

Yhden tai useamman syklobutaaniyksikön sisältäviä luonnonaineita on löydetty lukuisia määriä analyttisten tekniikoiden ja eristysmetodien kehittyessä 1890-luvulta alkaen. Vaikka syklobutaanit ovat jännittyneitä ja suhteellisen korkeaenergisää, niitä esiintyy silti useissa luonnonaineissa. Ensimmäisinä löydetyt syklobutaaniset terpenit (kuva 4) ovat α - ja β -pineenit (**4.01**, **4.02**), sekä pian niiden jälkeen löydetty (-)- β -karyofylleeni (**4.03**).²⁷



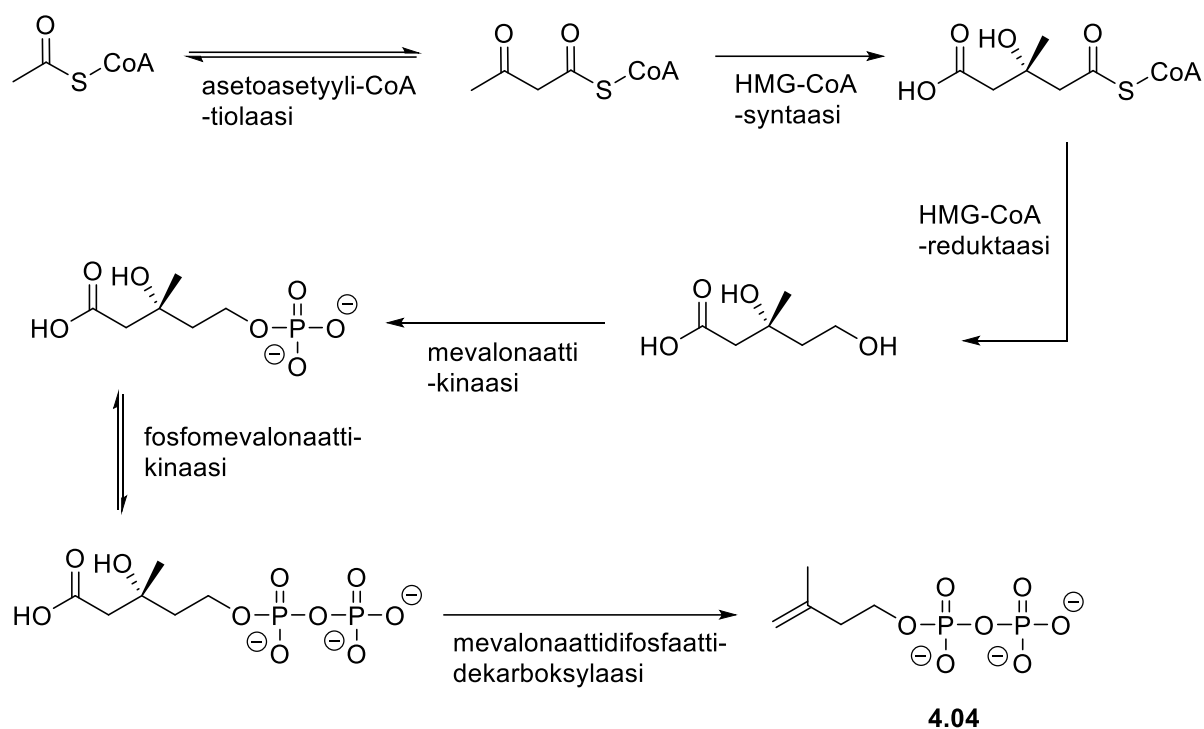
Kuva 4: Ensimmäiset löydetyt syklobutaanirenkaan sisältävät terpenit; α -pineeni **4.01**, β -pineeni **4.02** ja (-)- β -karyofylleeni **4.03**.^{28,29}

Terpeenit luokitellaan eri kategorioihin riippuen siitä, mikä on kyseiseen terpeeniin sisältyvien isopreeniyksiköiden lukumäärä. Isopreeniyksiköt puolestaan ovat viisihiilisiä rakennuspalikoita terpeeneille. Toisin sanoen, isopreeniyksikön lisääminen terpeeniin tuo viisi hiiltä, ja nostaa muodostuvan terpeenin kategorian yhden pykälän korkeammaksi (taulukko 4).³⁰

Taulukko 4: Terpeenien kategorisoimiseen liittyvät säännöt³⁰

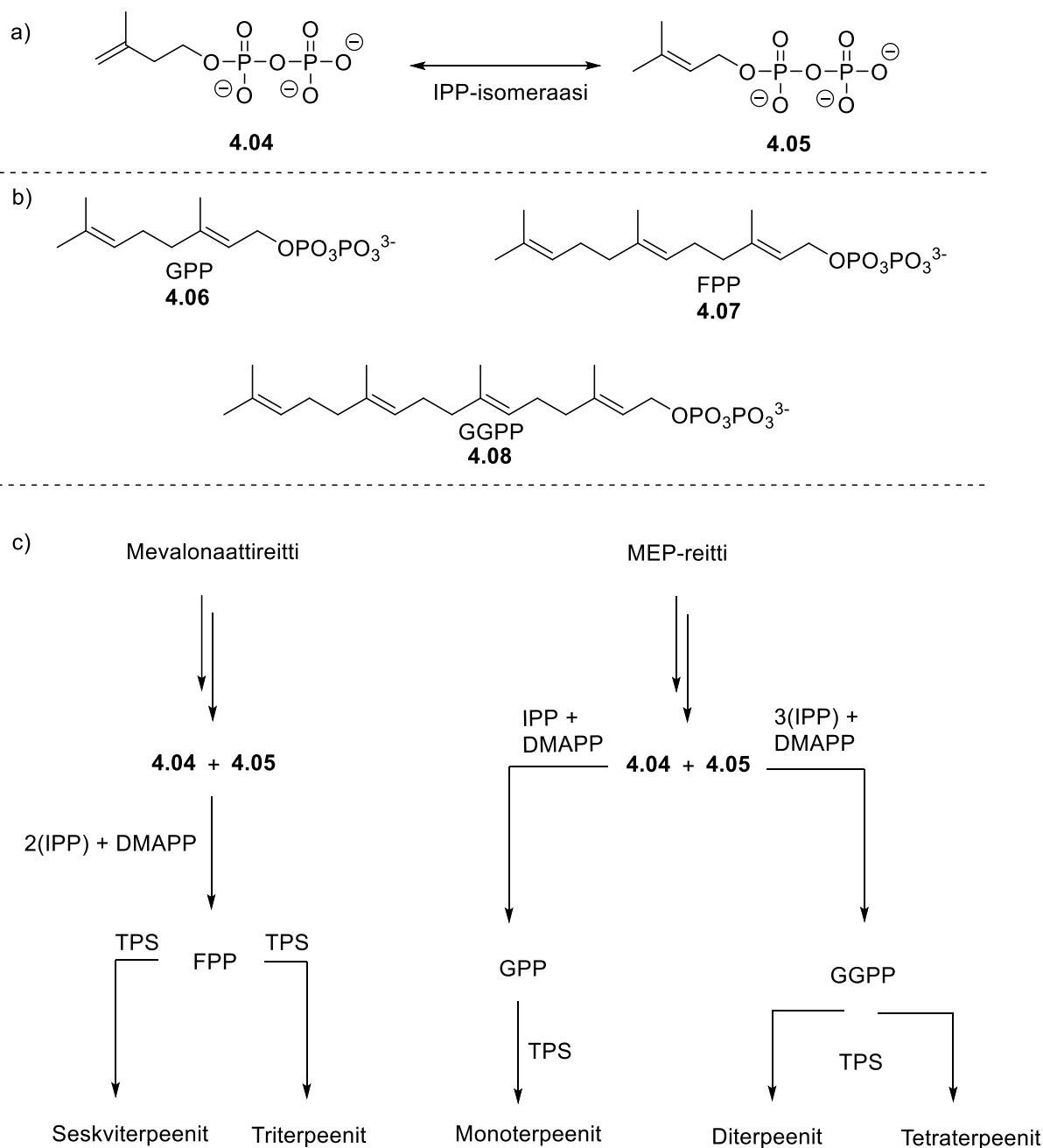
Terpeeni	Isopreenien lkm.	Hiiliatomien lkm.
Hemiterpeeni	1	5
Monoterpeeni	2	10
Seskviterpeeni	3	15
Diterpeeni	4	20

Leopold Ruzicka oli pioneeri terpeenien rakennetutkimuksessa. Hän kehitti havaintojensa kautta biogeneettisen isopreenisäännön, jonka mukaan terpeenit muodostuvat entsyymaattisen syklisaation kautta pienemmistä 5-hiilen isopreeniyksiköistä *head-to-tail* tyyllillä.²⁹ Nämä isopreeniyksiköt vastaavat biosynteesissä keskenään isomeerisiä rakennuspalikoita eli isopentenyylipyrofosfaattia (IPP, **4.04**), sekä dimetyyliallyylipyrofosfaatti (DMAPP, **4.05**). Isoprenoidit muodostuvat biosynteettisesti joko sytosolissa mevalonaattireitistä, tai plastideissa metyylierytriolifosfaatti-reiteistä (MEP-reitti). Kaaviossa 4 on tarkempi kuvaus mevalonaattireitissä muodostuvasta IPP:stä.³¹



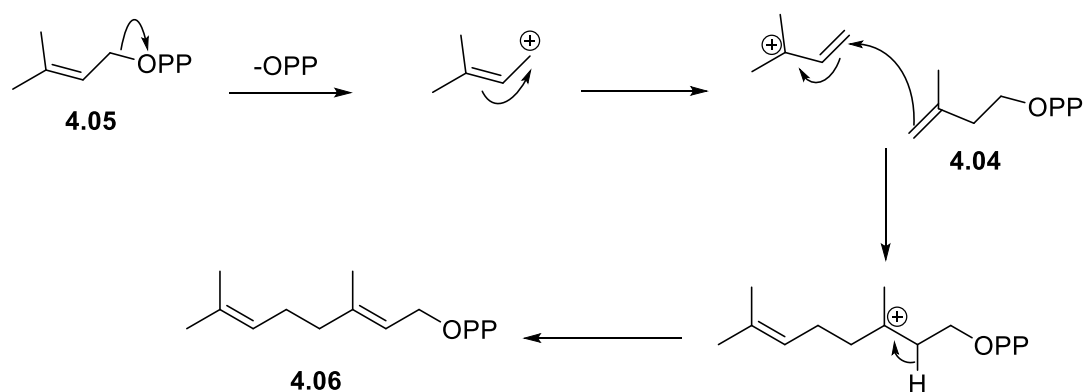
Kaavio 4: Isopentenyylipyrofosfaatin **4.04** biosynteesi mevalonaattireitistä.³²

Isopentenyylidifosfaatti-isomeraasi on entsyymi, joka pystyy katalysoimaan IPP:n isomerisointumista DMAPP:ksi (kuva 4.01 a).³³ Sekä mevalonaatti- että MEP-reiteissä muodostuu näitä kahta lähtöainetta, joten molemmat reitit ovat osana terpeenien biosynteesireittiä (kaavio 4.01 c). Mevalonaattireitissä muodostuu seskvi- ja triterpeenien synteesit aloittavaa farnesyylipyrofosfaattia **4.07** (FPP). MEP-reitissä taas muodostuu mono-, di- ja tetraterpeenien synteesien aloittavaa geranyylipyrofosfaattia **4.06** (GPP) ja geranyyligeranyylipyrofosfaattia **4.08** (GGPP) (Kaavio 4, kuva b). FPP, GPP ja GGPP ovat tyypillisiä esimerkkejä isopreeniyksiköiden johdannaisista (isoprenoideista), jotka toimivat lähtöaineina terpeeneille.³¹



Kaavio 4.01: a) IPP-isomeraasin katalysoima IPP:n isomeroituminen DMAPP:ksi.³³ b) Esimerkkejä isoprenoideista. c) Pääpiirteinen mevalonaatti- sekä MEP-reitti, ja niistä muodostuvat terpeenit yleistettyjen terpeenisyntaasien (TPS) katalysoimina.³¹

GPP:n, FPP:n ja GGPP:n muodostuminen tapahtuu kullekin ominaisella transferaasilla, eli entsyymillä, joka katalysoi näiden muodostumista IPP:stä ja DMAPP:sta. Vaikka jokaisella on eri entsyymi, on näiden isoprenoidien muodostumista kuvaava biosynteettinen reaktiomekanismi periaatteeltaan sama. Kaaviossa **4.02** on kuvattu GPP:n biosynteesin reaktiomekanismi. Samaa voi soveltaa FPP:lle ja GGPP:lle vaihtamalla DMAPP pidemmäksi isoprenoidiketjuksi.³⁴



Kaavio 4.02: Geranyylipyrofosfaatin **4.06** biosynteettinen reaktiomekanismi DMAPP:sta **4.05** ja IPP:stä **4.04**.³⁴

Kirjallisuudessa on usein virheellisesti käytetty sanoja terpeeni ja terpenoidi samaa tarkoittavina sanoina. Todellisuudessa terpeenit ovat aiemmin mainittujen isoprenoidien muodostamia perusrakenteita, jotka ovat muotoa C_xH_y . Terpenoidit ovat sen sijaan terpeenien funktionalisoituja johdannaisia. Tyypillisesti terpenoidien funktionalisuudesta vastaa sytokromi P450-entsyymiheimo (esiintyy jokaisessa eliökunnassa), joka voi useilla erilaisilla metabolisilla reaktioilla muokata terpeenejä. Funktionaalisuudet voivat aiheutua esimerkiksi hydroksylaatiosta, epoksidaatiosta, isomerisaatiosta tai hiili-hiili-sidoksen halkaisusta.^{35,36}

Tulevissa alaluvuissa (4.1–4.4) tarkastellaan terpeenien biosynteettistä muodostumista isoprenoideista. Tämän lisäksi tarkastellaan sekä terpeenien muodostumista katalysoivien entsyymien toimintaperiaatteita, että syklobutaanirenkaan sisältävien terpeenien ja terpenoidien biosynteettistä muodostumista reaktiomekanismein.

4.1 Terpeenisyntaasit

Mevalonaatti- ja MEP-reaktioissa terpeenien syklisoituminen isoprenoideista (esim. FPP, GPP, GGPP ja näiden yhdistelmät) tapahtuu terpeenisyntaaseiksi (TPS) kutsuttujen entsyymien katalysoimana. Nämä ovat usein monimutkaisia reaktiosarjoja, joissa hiiliatomien stereokemia ja hybridisaation taso vaihtelevat useissa välivaiheissa. Tyypillisesti näissä syklisaatioissa on oleellisena osana karbokationivälivaiheiden muodostuminen. Karbokationivälivaiheiden muodostuminen tapahtuu joko difosfaattiryhmän dissosioituessa, tai kaksoissidoksen protonoitua, jotka johtavat avoketjuisen isoprenoidin intramolekulaariseen syklisaatioon.

Reaktion päätepisteenä on joko protonin eliminaatio, tai veden aiheuttama reaktion sammuminen. Entsyymit pystyvät usein säätelemään sammuttamiseen vaaditun veden läsnäoloa siten, ettei reaktio sammu liian aikaisin. Terpeenisyntaaseissa syklisaatio tapahtuu poolittomassa taskussa. Taskun ympäristö ei vain siedä, vaan voi myös stabiloida syklisaatioreaktiossa muodostuvia isoprenoidin karbokationivälivaiheita.³⁷

Erilaisia terpeenisyntaaseja on lukuisa määrä. Terpeenisyntaasit jaetaan kahteen eri luokkaan (I, II), jotka puolestaan katalysoivat yhtä tai useampaa erilaista terpeeniluokkaa. Jokaista terpeenisyntaasia yhdistää sama toiminnallinen peruseriaate, joka on divalenttisen metalli-ionin toimiminen kofaktorina katalyysissä. Divalenttinen metalli-ioni on myös ainoa kofaktori, jota nämä entsyymit tarvitsevat syklisaation aloitusta varten. Kuitenkin isoprenoideista muodostuvat karbokationiset välivaiheet, toisiintumiset ja protoninsiirrot mahdollistavat kymmenien tuhansien erilaisten terpeenien ja terpenoidien esiintymisen luonnossa.³⁸

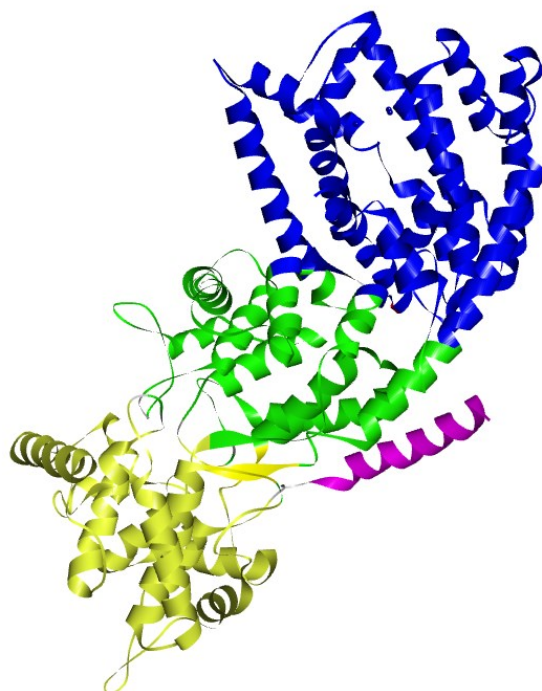
Terpeenisyntaasien luokkajako perustuu niiden tapaan aktivoida isoprenoidien syklisoituminen. Luokan I terpeenisyntaasit ionisoivat isoprenoidin difosfaattiryhmän, joka sen jälkeen dissosioituu, tehden isoprenoidista karbokationin. Nämä karbokationit voivat sen jälkeen syklisoitua erilaisten karbokationisten välivaiheiden kautta, riippuen terpeenisyntaasista. Luokan II terpeenisyntaasit niin ikään tuottavat karbokationin isoprenoidiketjuun, mutta karbokationin muodostuminen tapahtuu isoprenoidin prenyyliryhmän protonoitumisen kautta. Taulukossa 4.1 on listattu esimerkkejä erilaisten terpeenisyntaasien luokkajaoista ja luokkiin kuuluvista syntaaseista.³⁸

Taulukko 4.1: Erilaisia terpeenisyntaaseja ja niiden luokittelu, sekä niiden niihin kuuluvia nimettyjä esimerkkisyntaaseja³⁸

TPS	Luokka	Esimerkki
Monoterpeenisyntaasit	Luokka I	(+)-bornyylidifosfaattisyntaasi
Seskviterpeenisyntaasit	Luokka I	Pentaleneenisyntaasi
Diterpeenisyntaasit	Luokka I/II	<i>ent</i> -kaureenisyntaasi
Triterpeenisyntaasit	Luokka II	Skvaleeni-hopeiinisyntaasi

Luokkien I ja II terpeenisyntaaseissa on myös rakenteellisia eroja. Luokan I terpeenisyntaasien proteiinirakenne koostuu pääsääntöisesti α - ja β -domeeneista, mutta on olemassa myös α , β - ja $\beta\gamma$ -domeenit omaavia luokan I terpeenisyntaaseja. Diterpeenisyntaasit, kuten taulukosta 4.1 on

tulkittavissa, ovat luokkien I ja II syntaaseja. Tyynenmeren marjakuusista on löydetty taksadieenisyntaasi, joka katalysoi diterpeeniksi luokiteltavan taksadieenin syklisaatiota. Tämä syntaasi koostuu $\alpha\beta\gamma$ -domeenisesta proteiinirakenteesta (kuva 4.1).³⁹

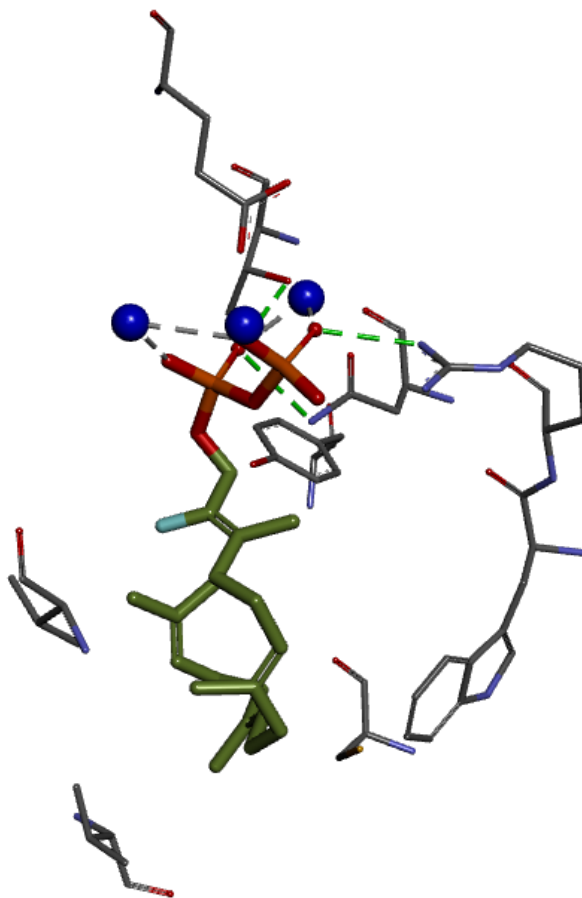


Kuva 4.1: Taksadieenisyntaasin domeenit: α -domeeni on katalyyysin aktiivinen keskus (sininen). Vihreä β -domeeni ja keltainen γ -domeeni eivät osallistu katalyyysiin, mutta niiden epäillään ohjaavan violettia N-terminaalia (*capping*-domeeni) ligandin koordinoituessa (3P5R) (Kuva tehty Discovery Studio 2021 -ohjelmalla).³⁹

Terpeenisyntaaseja voidaan kiteyttää kuvitteellisen ligandin kanssa, jos ligandi suunnitellaan siten, että se tarttuu katalyyttiseen taskuun, mutta ei ole reaktiivinen. Näin voidaan tehdä taksadieenisyntaasin tapauksessa lisäämällä fluori GGPP-ligandiin ennen koordinoitumista syntaasiin.³⁹

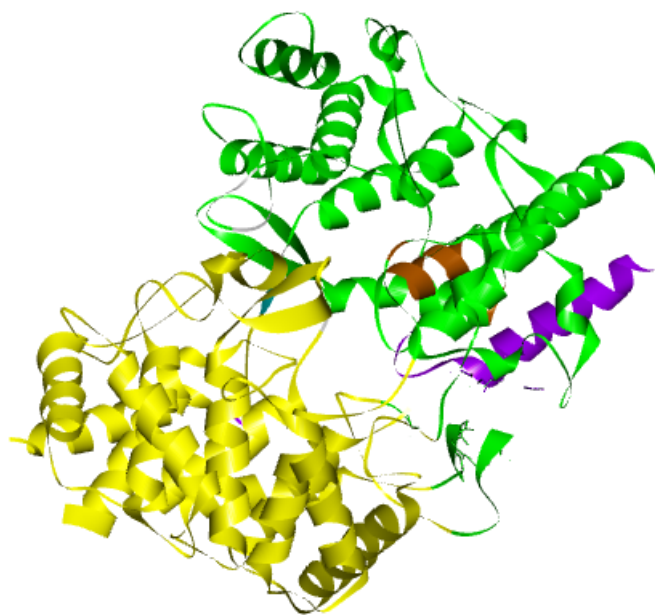
Taksadieenisyntaasin α -domeenin katalyyttisessä taskussa on kolme divalenttista magnesiumionia, jotka vuorovaikuttavat difosfaattiryhmän kanssa, ja toimivat kofaktoreina difosfaattiryhmän lohkeamisessa. Näiden lisäksi taskussa ovat ligandin difosfaattiin vetysidoksin koordinoituneet treoniini, asparagiini ja arginiini (kuva 4.12). Luokan I terpeenisyntaasit muuttuvat konformaatioiltaan magnesiumionien ja ligandin koordinoituessa siten, että terpeenin syklisoitumista suosiva ligandin asento on oikea. Tämän lisäksi ligandista

muodostuvan karbokationin ennenaikainen sammuminen estyy syntaasin konformaation muutoksesta johtuen.³⁹



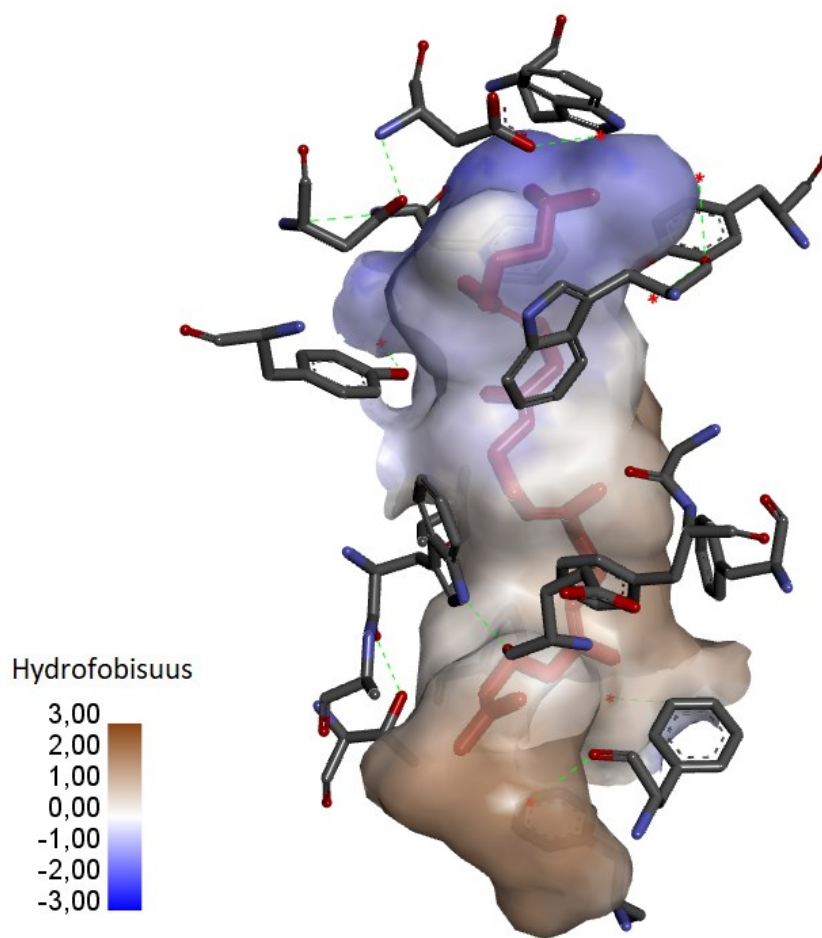
Kuva 4.12: Taksadieenisyntaasin katalyyttinen tasku, jossa 2-fluorogeranyyligeranylidifosfaatti (tummanvihreä ketju + punainen difosfaattiryhmä) on koordinoituneena kolmeen magnesiumiumioniin (siniset pallot). Vihreät katkoviivat: vetysidos difosfaatin, sekä arginiinin, asparagiinin ja treoniinin välillä (3P5R) (Kuva tehty Discovery Studio 2021 -ohjelmalla).³⁹

Ensimmäinen luokkaan II määritetty terpeenisyntaasi oli skvaleeni-hopeeni-syntaasi, joka löydettiin *Alicyclobacillus acidocaldarius* nimisestä bakteerista (kuva 4.13). Luokan II terpeenisyntaaseissa esiintyy pääsääntöisesti $\beta\gamma$ -domeeni, ja näiden domeenien välissä sijaitsee katalysin aktiivinen keskus. Näin on myös skvaleeni-hopeiini-syntaasissa, jossa β - sekä γ -domeenit koostuvat kahdesta α -tynnyristä siten, että koko γ -domeeni on kiinnittyneenä β -domeeniin sen kahden α -tynnyrin väliin.⁴⁰



Kuva 4.13: Skvaleeni-hopeiini-syntaasi: Keltaisella γ -domeeni, vihreällä β -domeeni javioletilla N-terminaali. Ruskealla värjätty alue on aspartaattirikas aminohappoketju, joka aloittaa syklisaation (1UMP) (Kuva tehty Discovery Studio 2021 -ohjelmalla).⁴⁰

Skvaleeni-hopeiini-syntaasi pystyy syklisoimaan skvaleenia, sekä 2,3-oksidoskvaleenia. On huomioitavaa, että esimerkiksi skvaleeni on muodostunut kahdesta FPP-molekyylistä. Fosfaattiryhmät ovat poistuneet ennen kuin ligandi siirtyy skvaleeni-hopeiini-syntaasin sisään. Skvaleeni on hydrofobinen avoketjuinen yhdiste, joka kulkeutuu syntaasin sisään hydrofobista kanavaa pitkin. Kanavan toinen pää on hydrofiilinen, ja tässä päässä on syklisaation päätepiste, jossa reaktio sammuu (kuva 4.14). Katalyyttinen keskus on putkimainen tasku, johon pitkä skvaleeniketju asettuu hyvin. Taskun sisäseinien pintaan on asettunut useita aromaattisia aminohappoja siten, että ne stabiloivat skvaleenissa tapahtuvaa karbokationista kaskadia syklisaation aikana. Tämän lisäksi katalyyttinen tasku pakottaa skvaleenin asettumaan sisäänsä tarpeeksi mutkittuneena, jolloin skvaleenista muodostuvien 6-renkaiden syklisaatio on suotuisaa.⁴¹



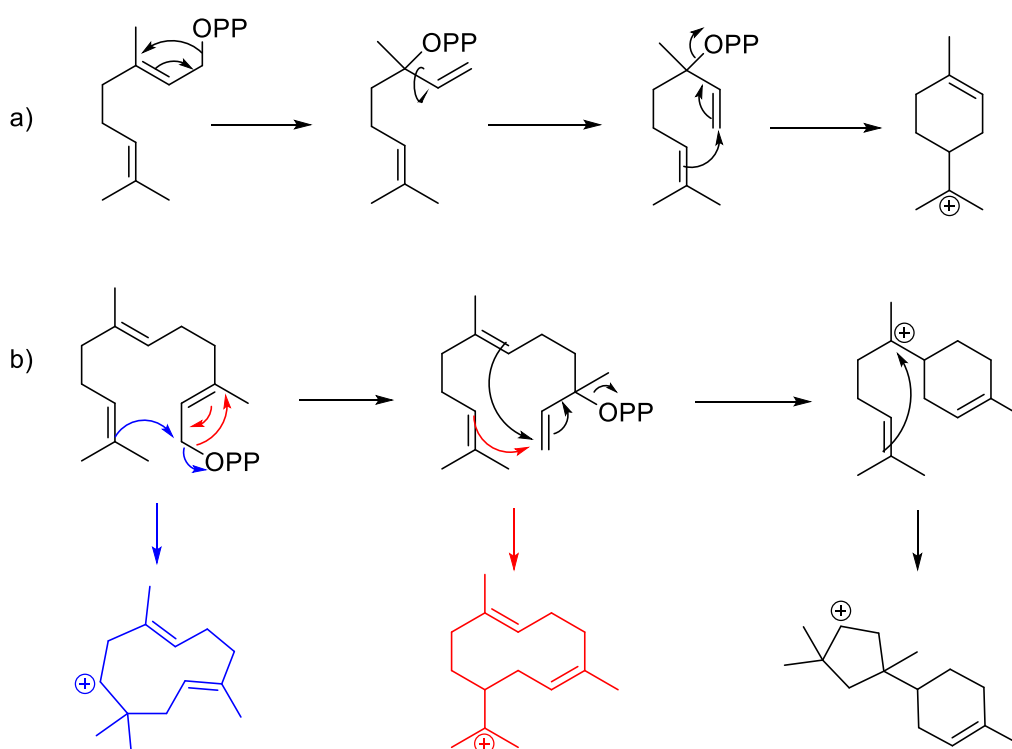
Kuva 4.14: Skvaleeni-hopeiini-syntaasin katalyyttinen tasku. Kuvassa taskun sisällä on 2-atsaskvaleeni (punaisella), jonka ympärille on kuvitettu taskun hydrofobisuusaste taskun ympäristön suhteen (1UMP) (Kuva tehty Discovery Studio 2021 -ohjelmalla).⁴²

4.2 Terpeenien syklisaation mekanismi

Terpeenien syklisaatiossa muodostuva karbokationi yhdistettynä isopreenien rakenteellisiin ominaisuuksiin, kuten metyyliryhmiin ja kaksoissidoksiin, tekee terpeenien syklisoitumisista yhden monimutkaisimmista biosynteettisistä reaktiosarjoista. Syntaasien katalyyttisen keskuksen tuottaman stabilisaation lisäksi karbokationiset välivaiheet on stabiloitu myös delokalisaaation kautta karbokationin ja kaksoissidoksen välisellä hyperkonjugaatiolla. Hyperkonjugaatio tukee myös rakenteellisesti oikean syklisaatiotuotteen muodostumista. Usein karbokationinen välivaihe päättyykin isopreenissä tertiääriseen positioon, vaihtaan kaksoissidoksen paikan alkuperäisen karbokationin tilalle.⁴³

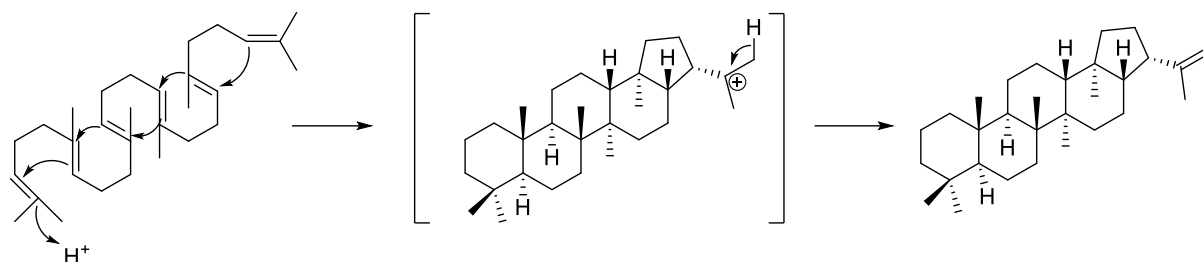
Luokan I terpeenisyntaasien (mono- ja seskviterpeenisyntaasit) katalysoimat mono- ja seskviterpeenien syklisaatiot muistuttavat mekanismiltaan paljon prenyylitransferaasien muodostamien isoprenoidien muodostumista. Monoterpeenisyntaasien katalysoimaa GPP:n ionisoitumista seuraa kaksoissidoksen siirtyminen karbokationiseen positioon, siirtäen samalla positiivisen varauksen tertiääriseen hiileen. Toinen mahdollisuus on difosfaattiryhmän toisiintuminen tertiääriseen karbokationikeskukseen (kuva 4.2 a). Molemmissa tapauksissa syklisaation päätteeksi difosfaattiryhmä on irronnut, ja karbokationi on siirtynyt syklisaatiossa hyökkäneen hiileen viereen tertiääriseen positioon. Reaktioiden viimeinen karbokationi voi sammua deprotonoitumisella, veden additiolla, tai jopa dissosioituneen difosfaatin additiolla, riippuen monoterpeenisyntaasista.⁴⁴

Seskviterpeenisyntaasit syklisoivat samalla periaatteella FPP:tä seskviterpeeneiksi. FPP:ssä on pidempi isoprenoidiketju kuin GPP:ssä, joten reaktiot ovat yhä monimutkaisempia. Mahdollisia karbokationeita ja niiden toisiintumisia, sekä kaksoissidosten hyökkäysvaihtoehtoja on siis enemmän (kaavio 4.2 b).⁴⁴



Kaavio 4.2: a) Tyypillinen mekanistinen esitys monoterpeenisyntaasin muodostamalle karbokationille, sekä b) seskviterpeenisyntaasin mahdollisille karbokationin muodostumisen reiteille.^{44,37}

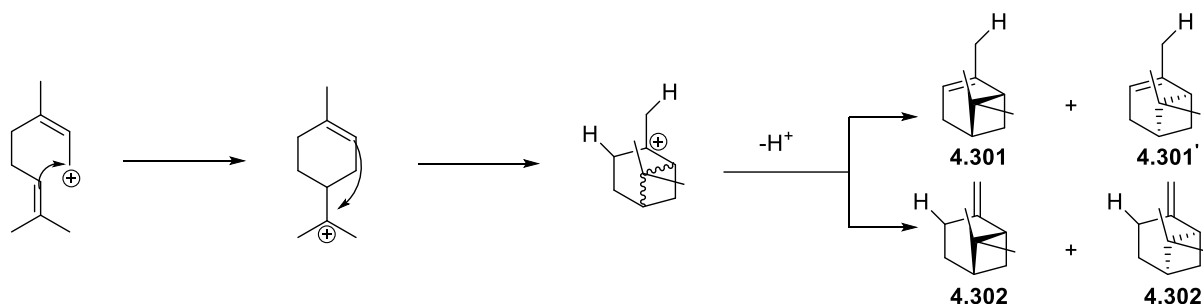
Luokan II terpeenisyntaasit poikkeavat luokan I substraattien syklisaatiomekanismista. Tyypillisesti luokan II terpeenisyntaasit aloittavat syklisaation protonoimalla kaksoissidoksen (esim. skvaleeni-hopeenisyntaasi) tai avaamalla epoksidin protonoimalla epoksidin hapen (esim. oksidoskvaleenisyntaasi). Näistä seuraa karbokationinen välivaihe, joka aloittaa kaksoissidosten hyökkäyskaskadin (kaavio 4.2).⁴⁵



Kaavio 4.2: Skvaleeni-hopeiinisyntaasin syklisaation reaktiomekanismi.⁴⁵

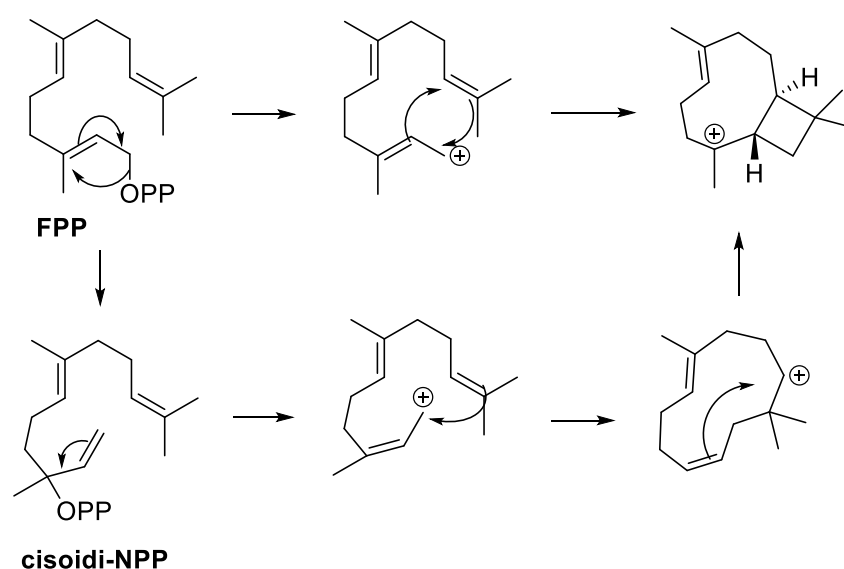
4.3 Syklobutaaniosan sisältävien terpeenien ja terpenoidien syklisaatio

Syklobutaanien johdannaisia on havaittu luonnossa korkeasta sidoskulmien jännitysenergiasta ja reaktiivisuudesta huolimatta. Esimerkiksi tietyt terpeenisyntaasit syklisoivat syklobutaanirenkaan sisältäviä terpeenejä. Eräs tyypillisimmistä esimerkeistä syklobutaanisten monoterpeenien syklisaatioista on α - ja β -pineenin syklisaatio. Kaaviossa 4.30 on kuvattuna reaktiomekanismi Ruzickan ehdottamille pineenien muodostumisille ionisella syklisaatiolla. Kyseessä on monoterpeeni, ja syklisaation lähtöaineena toimii kymmenhiilinen neryylikationi (IPP + DMAPP).²⁹



Kaavio 4.30: Malliesimerkki biosynteettisestä terpeenin muodostumisesta (\pm)-pineenille (4.301 ja 4.301', 4.302 ja 4.302') Ruzickan ehdottamalla mekanismilla.²⁹

Vastaavasti seskviterpeenien syklisaation malliesimerkkinä on karyofylleeni. Karyofylleeni on seskviterpeeni, ja tästä johtuen FPP:n syklisaatiotuote. Kaaviossa 4.31 on esitetty mahdollisia syklisaatioreittejä karyofylleenien viimeistä välivaihetta kohti. Farnesyylidikationi muodostuu, kun difosfaatti dissosioituu rakenteesta, ja tämän 1,11-syklisaatiot mahdollistavat erilaisia reittejä karyofylleenin muodostumiseksi. Farnesyylidifosfaatista muodostunut karbokationi voi syklisoitua muodollisella [2+2] -sykloadditiolla. Vaihtoehtoisesti, nelirengas voi muodostua cisoidisen neryylipyrofosfaatin (NPP) kautta, jossa difosfaatti siirtyy ennen sen dissosioitumista tertiääriseen positioon.⁴⁶

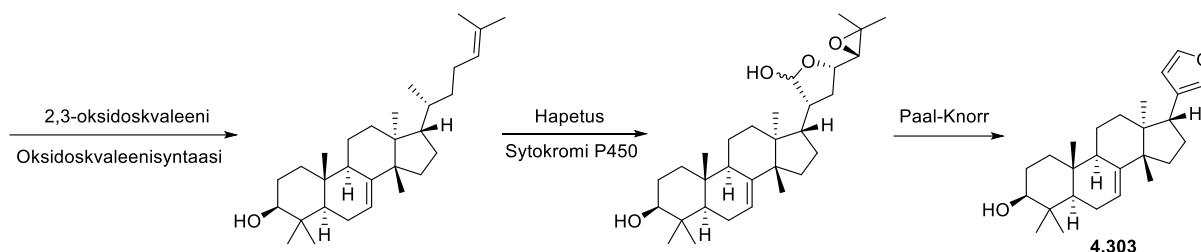


Kaavio 4.31: FPP:n mahdollisia syklisaatiomekanismeja karyofylleeneiksi.⁴⁶

Syklobutaanit voivat muodostua myös valmiista terpenoideista. Kuten aiemmin mainittiin, terpenoidit ovat funktionalisoituneita terpeeneitä (usein hapetettuja), ja syklobutaani voi myös muodostua näiden funktionalisuuksien avulla. Fossen *et. al* eristivät syklobutaaniyksikön sisältävän triterpenoidin Madagaskarin eteläosissa esiintyvistä *Capurionanthus mahafalensis* puulajista. He nimesivät tämän protolimonoidiksi luokiteltavan triterpenoidin kapuliiniksi **4.301**.

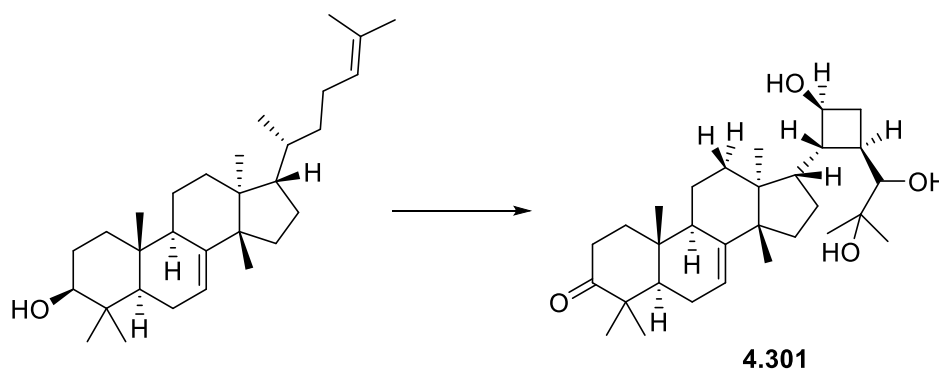
Protolimonoidit, kuten kapuliini **4.301**, saavat alkunsa 2,3-oksidoskvaleenista, jota seuraa erilaisten funktionalisuuksien asentuminen ja niiden aiheuttamat rakennemuutokset. Limonoidit ovat protolimonoidien hapettumisesta aiheutuneita johdannaisia. Protolimonoidin

30 hiilen sijaan limonoideissa on 26 hiiltä. Kaaviossa 4.32 on havainnollistettu tyypillisen limonoidin **4.303** muodostuminen.^{47,48}



Kaavio 4.32: Geneerinen limonoidin reaktiokaavio, jossa neljä hiiltä häviää triterpenoidisesta lähtöaineesta Paal-Knorr-tyyppisessä furanin muodostuksessa.⁴⁸

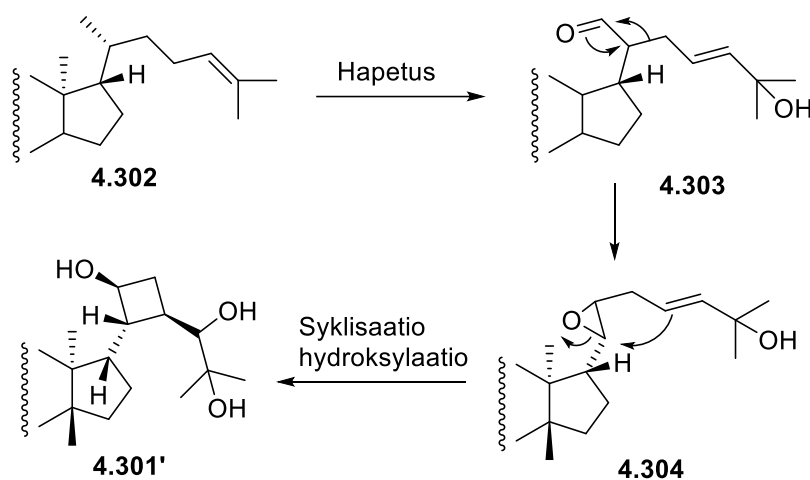
Kapuliinissä **4.301** on limonoidista poiketen furanin tilalla syklobutaaninen yksikkö. Tämän lisäksi kapuliinissa on säilynyt alkuperäinen triterpenoidinen 30 hiilen runko. Tämä tarkoittaa sitä, että syklobutaani muodostuu kapuliinin biosynteesissä oksidoskvaleenisyntaasin muodostamasta triterpenoidista eri tavalla, kuin miten limonoidit muodostuvat (kaavio 4.33).⁴⁷



Kaavio 4.33: Fossen *et. al* eristivät syklobutaanin sisältävän triterpenoidin **4.301** joka nimettiin kapuliiniksi. Todennäköinen lähtöaine on oksidoskvaleenisyntaasin muodostama triterpenoidi.⁴⁷

Fossen *et. al* ehdottivat biosynteettistä reaktiomekanismia kapuliinin muodostumiselle (kaavio 4.34) lähtien triterpenoidista **4.302** (esillä vain itäosa). Ensimmäinen vaihe on syklopentaanissa kiinni olevan 8-hiilen ketjun alkeenin hapettaminen (vrt. kaavio 4.32 protolimonoidin

muodostuminen). Tämä ei kuitenkaan muodosta heti epoksidia eikä furanolista yksikköä, vaan hapettuminen tapahtuu alkoholin additiolla tertiääriseen asemaan hiiliketjun päähän (siirtäen kaksoissidosta), ja furanolin sijaan metyyli hapettuu aldehydiksi **4.303**. Seuraavaksi Wagner-Meerwein-toisiintuminen tuottaa epoksidin **4.304**, johon kohdistuu nyt intramolekulaarinen hyökkäys aiemmin siirtyneestä kaksoissidoksesta, muodostaen valmiin itäosan ja kapuliinin **4.301'**.⁴⁷

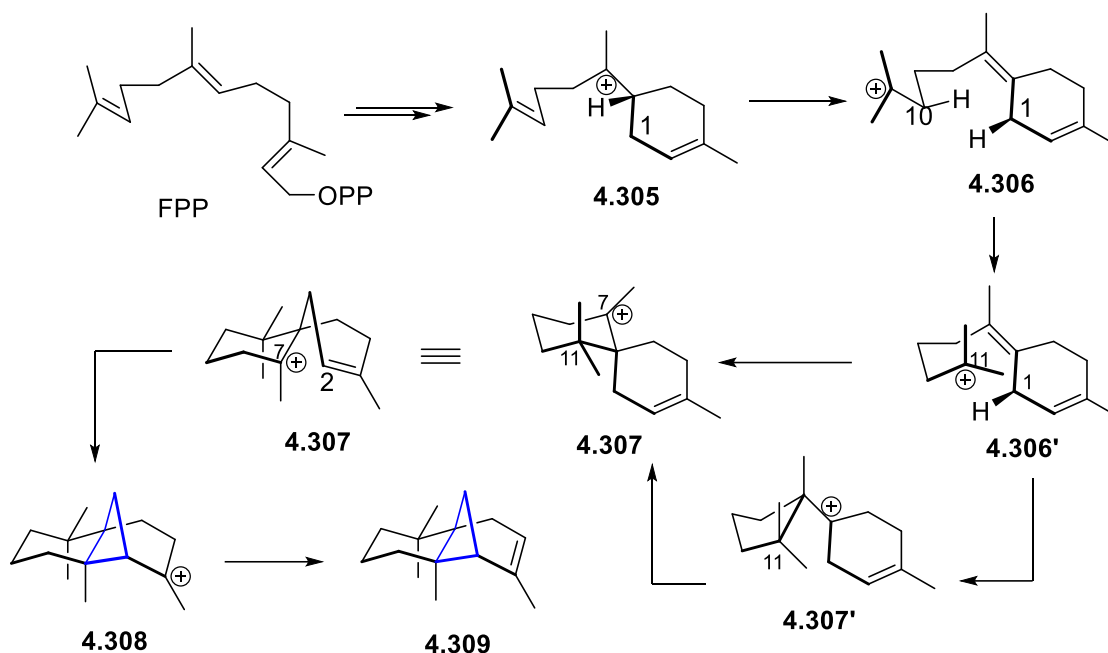


Kaavio 4.34: Fossen *et al.* Esittämä biosynteettinen reaktiomekanismi kapuliinin syklobutaaniosan muodostumiselle.⁴⁷

Aiemmassa mainittujen (luku 4.2) terpeenisyntaasien katalyyttisten taskujen muodot ja tapa, jolla taskut koordinoivat substraattia vaikuttavat syklisaatiotuotteisiin. Näiden lisäksi myös muun kaltaiset elektroniset tekijät katalyyttisissä taskuissa suuntaavat syklisaatiota havaittujen tuotteiden puolelle. Yleisellä tasolla syklobutaanisten terpenoidien muodostumista näissä reaktioissa suosii π -sidosten muuttuminen σ -sidoksiksi, sekä useampi erilainen välivaihe, jotka tarjoavat mahdollisuuden syklobutaanisen yksikön syklisoitumiselle.^{49,50}

Hong & Tantillo tutkivat laskennallisesti muun muassa bisabolylikationin **4.305** reaktioreittiiä karbokationisten välivaiheiden osalta, sekä mallinsivat niiden mahdollisuuksia erilaisille syklisaatioille ja toisiintumisille. Laskuissa käytettiin Gaussian03:sta ja geometrioiden osalta tiheysfunktioiteoriaa (B3LYP/6-31+G(d,p)). Hong & Tantillo havaitsivat, että α -shamipineenin syklisaatioreitissä syklisaatiota edeltävä välivaihe, shamigryylikationi **4.308**, voi muodostua kahdella tavalla. **4.306'** voi syklisoitua suoraan välivaiheeksi **4.307** tai toisiintua ensin kupranyylikationiksi **4.307'**, jota seuraa 1,2-alkyyli siirto. **4.307** intramolekulaarinen π -sidoksen hyökkäys karbokationiin on laskennallisesti energiamuuriton, eli aktivaatioenergia ei ole

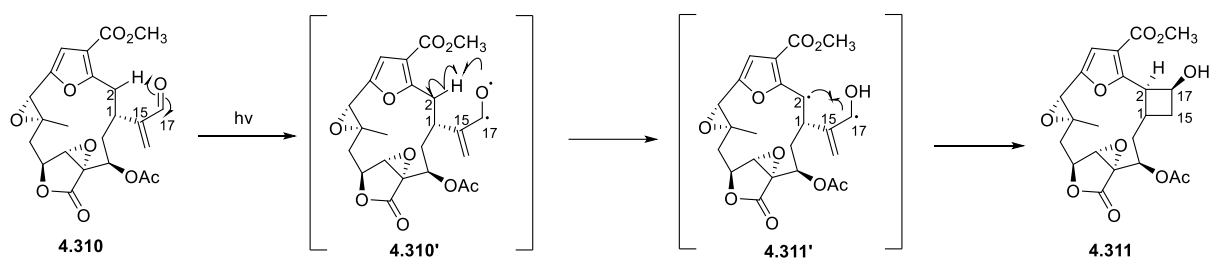
sidonnainen tähän syklisaatioon, vaan **4.307** konformaation muutos syklisaation aikaansaamiseksi tuottaa energiamuurin.⁵¹



Kaavio 4.35: Shampineenin (**4.309**) muodostumiselle ehdotettu biosynteettinen mekanismi.⁵¹

Aivan kaikki syklobutaanien biosynteetit eivät tapahdu syntaasien aiheuttamana kationisena syklisaationa tai muiden metaboliareaktioiden tuotteina. Luvussa 3 käsiteltyjä valokemiallisia [2+2] -sykloadditioita tapahtuu myös luonnossa, jolloin terpenoidien syklisoituminen voi polarisoituvien kaksoissidosten ja substituenttien ansiosta saada lisää käännteitä.

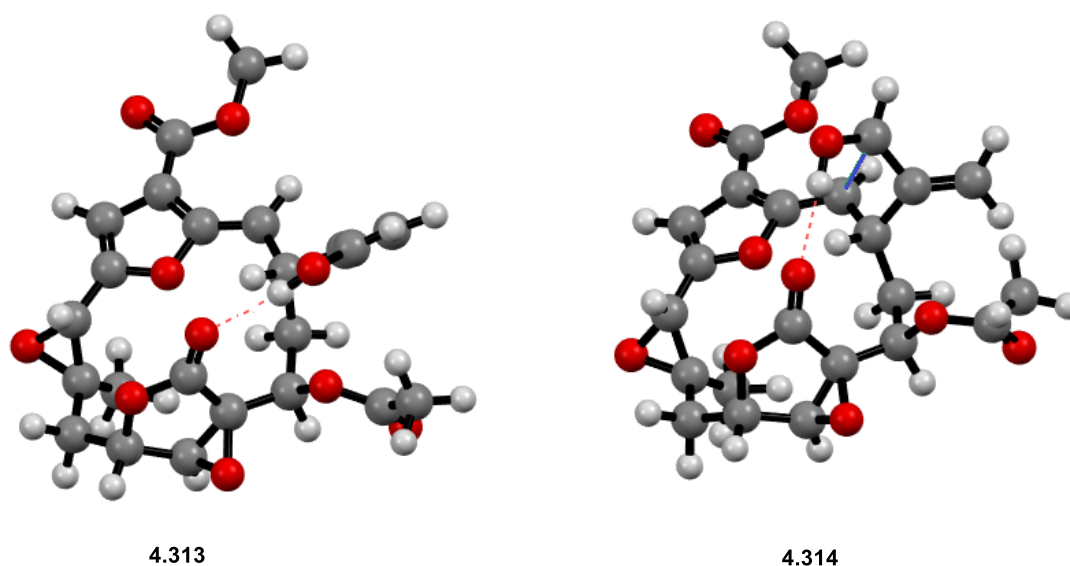
Yksi esimerkki valokemiallisesta reaktiosta luonnollisissa olosuhteissa on diterpenoidi providensiinin (**4.311**) nelirenkaan muodostuminen (kaavio 4.36). Tämän furanosemraanin biosynteettisen muodostumisen oletetaan olevan peräisin bipinnatiini E:n (**4.310**) valokemiallisesta Norrish-Yang-reaktiosta Pattendenin ehdottamana.⁵² Tangin & Patonin tekemien kvanttikemiallisten mallinnuksien nojalla ehdotus sai laskennallista tukea, ja tuloksien avulla pystyttiin selittämään myös providensiinin syklobutaanirenkaassa esiintyvää stereokemiallisuutta.⁵³



Kaavio 4.36: Providensiini **4.311** ja sen oletettu lähtöaine bipinnatiini E **4.310** biradikaalisten välivaiheiden **4.310'** ja **4.311'** kautta.⁵³

Yllä oleva reaktio perustuu valokemialliseen biradikaalin muodostumiseen hiilien 17 ja 2 välillä, kun aldehydi virittyy valon vaikutuksesta. Singlettitilalle virittynyt happi riistää protonin hiilestä 2, jonka seurauksena muodostuu alkoholi ja radikaalihiili. Tämä aiheuttaa biradikaalin (hiili 17, hiili 2) systeemien välisen siirtymän (*engl. Intersystem crossing, ISC*) triplettitilalta singlettitilalle, jota seuraa nelirenkaan muodostava radikaalirekombinaatio.⁵³

Tangin & Patonin tutkimuksessa hyödynnettiin tiheysfunktioiteoriaa, ja kaikki laskut tehtiin Gaussian09:ssä. Heidän tuloksistansa kävi ilmi, että hapen riistämä protoni (muodostunut alkoholi) muodostaa siirtymätilan **4.312**, joka on vetysitoutunut laktaanirenkaan happeen (kuva 4.3). Tämä on tarpeeksi matalaenerginen siirtymätila tekemään muista laskennallisesti mahdollisista välitiloista verrattaen epäsuotuisia. Biradikaalin välinen rekombinaatio on nopeampi tapahtuma, kuin tämän siirtymätilan muutos joksikin toiseksi siirtymätilaksi hiilien 1 ja 17 kulmaa kiertämällä. Kulman kiertäminen katkaisisi vetysidoksen ja häiritsisi konjugaatiota hapelta radikaalille. Koska siirtymätila **4.313** ei salli hiilten 1 ja 17 välistä kiertoa, jää stereokemian määrittäväksi askeleeksi protonin riistäminen. Radikaalirekombinaation aiheuttava siirtymätila **4.314** muodostuu **4.313** kautta, jolloin hiilien 2 ja 17 stereokonfiguraatiot ilmentävät providensiinin luonnollista stereokemiaa.⁵³

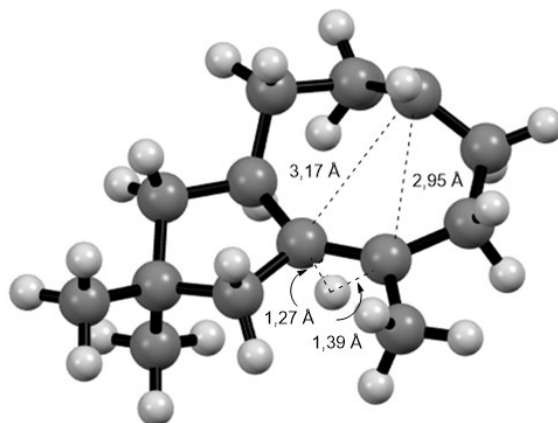


Kuva 4.3: Tangin & Patonin laskennallisesti suotuisimmat siirtymätilasarjat **4.313** → **4.314** providensiinin nelirenkaan radikaalirekombinaatiolle (sininen sidos siirtymätilassa **4.314** on nelirenkaan muodostava).⁵³ (Kuva tehty ohjelmalla Mercury 2020.3.0)

Kuten aiemmin mainittiin, syklobutaanien luonnollista muodostumista ajaa useat seikat. Pääsääntöisesti terpenoidisten syklobutaanien muodostumista ajava voima tulee π -sidosten vaihtumisesta σ -sidoksiksi syklisaation lopussa. Tämän lisäksi muodostuvan syklobutaanin ja karbokationin hyperkonjugoituminen vakauttaa rakennetta.

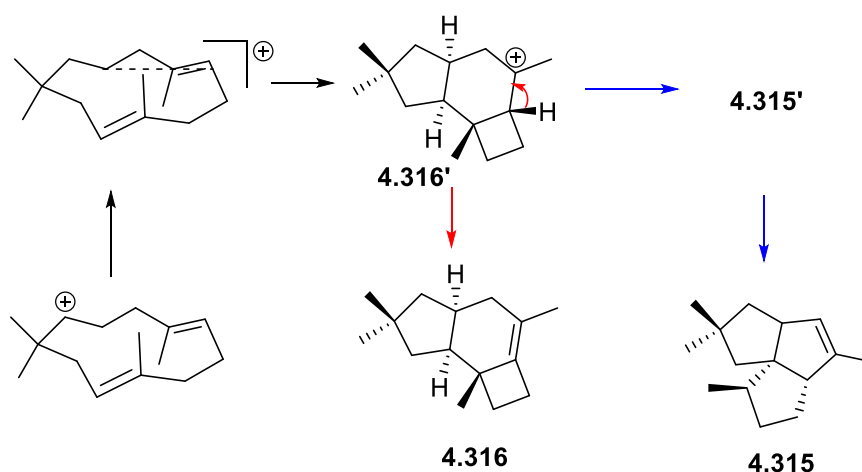
Syklobutaanin ja esimerkiksi syklopentaanin muodostuminen ovat kemiallisesta näkökulmasta kuitenkin kilpailtuja, edellä mainituista syklobutaanin muodostumista tukevista tapahtumista huolimatta. Isossa roolissa on myös terpenoidisyntaasin katalyyttisen taskun kemiallinen ympäristö, ja se kolmiulotteinen muoto, johon taskuun istuva isoprenoidiketju asettuu. Isoprenoidiketjujen vaihteleva substituution taso, sekä syntaasien ominaisuudet määrittävät itsessään tiettyjen syklisaatioreittien mahdollisuudet.^{54,50}

Esimerkiksi pentaleneeni **4.315** on pentaleneenisyntaasin syklisoima seskviterpeeni, joka muodostuu farnesyylidifosfaatista kaavion 4.316 osoittamalla tavalla. Protoilludyylikationi **4.317** voi toisiintua siirtymätilan **4.318** kautta pentaleneeniksi. Kuvassa 4.31 on Guttan & Tantillon laskennallinen mallinnus siirtymätilan **4.04'** muodosta. Tätä siirtymätilaa stabiloii mahdollisesti syntaasin aktiivisessa keskuksessa sijaitseva histidiini (His309).^{55,56}



Kuva 4.31: Todennäköinen pentaleneenin syklisaatiota edeltävä siirtymätila **4.315'** (Gaussian03, B3LYP/6-31+G(d,p)).⁵⁵ (Kuva tehty ohjelmalla Mercury 2020.3.0)

Jos kuitenkin mutatoitunut pentaleneenisyntaasi, jonka aktiivisessa keskuksessa oleva histidiini (His309) on vaihtunut esimerkiksi alaniiniksi, syklisoi farnesyylidifosfaattia, pentaleneenin lisäksi muodostuu myös germasereenia, sekä nelirenkaan sisältävää Δ^6 -protoilludeeniä (**4.316**). Kaaviossa 4.37 on havaittavissa yksinkertainen, suora deprotonaatio protoilludylikationista **4.316'** Δ^6 -protoilludeeniksi (**4.316**). Jo pienellä aktiivisen keskuksen muutoksella, pentaleneenisyntaasi saattaa menettää hienovaraisen ja selektiivisen kyvyn syklisoida pentaleneenia.⁵⁵



Kaavio 4.37: Pentaleneenin **4.315** muodostuminen siirtymätilan **4.315'** (Kuva 4) kautta Tanttillon ja Guttan laskennallisten tuloksien ehdottamana.⁵⁵

4.4 Syklobutaanisten terpenoidien biosynteesijä

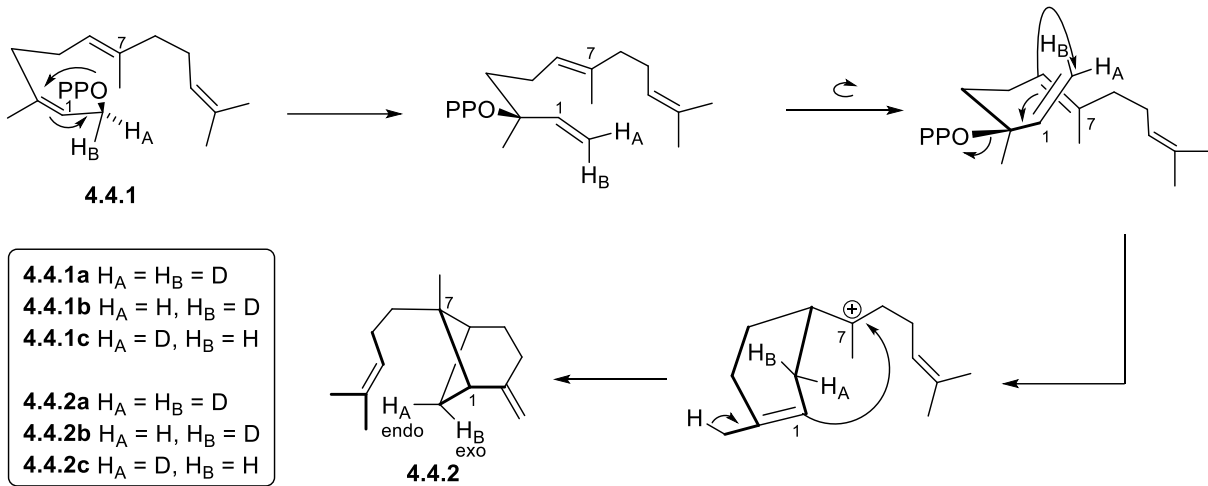
Terpenoidien pienet pitoisuudet luonnossa tekevät niiden eristämisestä tietyissä tapauksissa epätehokasta. Vaihtoehtoisesti, terpenoideja voidaan biologisesti syntetisoida, ja se onkin enenevässä määrin kasvanut terpenoidien synteesimenetelmä. Kuten aiemmin tässä luvussa käsiteltiin, jotkin mikro-organismit ja niiden terpeenisyntaasit kykenevät muodostamaan tuhansia erilaisia terpeenejä. Näiden syntaasien katalysoimien reaktioreittien ja organismien valjastaminen olisi mielekäs tapa valmistaa terpeenejä ja terpenoideja synteettisesti, ja niiden metaboliareittien tuntemus voi mahdollistaa korkean tehokkuuden tuotannossa. Tuntemalla biosynteettisten reaktioreittien rajoittavat tekijät, sekä ymmärtämällä sivutuotteiden muodostumismekanismeja, voidaan tuotteita valmistavia organismikantoja manipuloida haluttujen tuotteiden kulkusuuntaan.⁵⁷

Soluvapaa kemiallinen biosynteesi on myös herättänyt kiinnostusta. Tällä tarkoitetaan entsyymien hyväksikäyttöä niitä tuottavien mikro-organismien ulkopuolella. Toisin sanoen on mahdollista ottaa käyttöön luonnon tuottamia biologisia katalyyttejä suoraan liuokseen. Tällä tavoin on mahdollista sovittaa halutun tuotteen katalyyysiä tiettyihin olosuhteisiin, ja saada pääsy suoraan reaktioympäristöön johon tuote vapautuu.^{57,58}

4.4.1 (-)-*trans*- β -bergamoteneenin soluvapaa biosynteesi

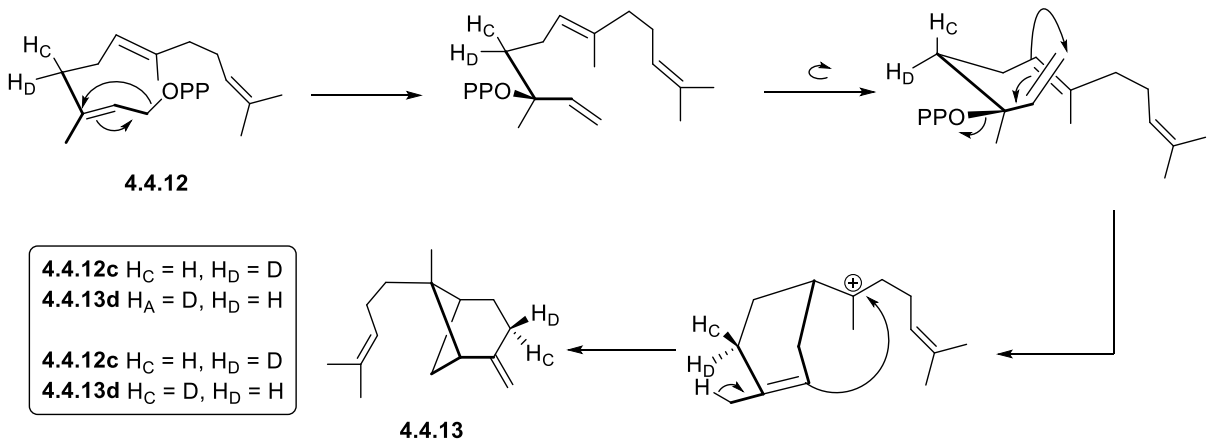
Käyttämällä soluista (*Pseudeurotium ovalis*) eristettyjä bergamoteneenisyntaaseja, Cane *et. al* tutkivat syklisaation stereokemiaa deuteriumilla merkityillä farnesyylidifosfaateilla. Syklisaatio tehtiin (1*R*) - ja (1*S*) -[1-²H] -FPP:lle (**4.4.1a**, **4.4.1b**) sekä [1,1-²H₂]-FPP:lle (**4.4.1c**). Jokainen näistä substraateista inkuboitii bergamoteneenisyntaasilla erikseen.⁵⁹

H-6 protonit määritettiin endo- ja eksoprotoneiksi (δ 2,31, δ 1,43) ¹H-¹H COSY:n, NOE:n ja heteronukleaarisen ¹³C-¹H:n avulla. **4.4.1a** deuteriumsignaalit (61,4 MHz 2H NMR) näyttäytyivät δ 1,41 ja δ 2,30. Vastaavasti (*S*)-konfiguraatiolta odotetun eksotuotteen **4.4.1b** deuterium näyttäytyi δ 1,41, ja **4.4.1a** odotettu endotuote antoi deuteriumsignaalin δ 2,30 (kaavio 4.4.1).⁵⁹



Kaavio 4.4.1: Cane *et. al* deuteroidut FPP-syklisaatiokokeet bergamoteneenin muodostumismekanismin tueksi.⁵⁹

Absoluuttinen stereokonfiguraatio (-)-*trans*- β -bergamoteneenille määritettiin lopulta Cane *et. al* toimesta, kun he tekivät vastaavat kokeet (4*R*) - ja (4*S*) -[1-²H]-FPP:lle (4.4.12c, 4.4.13d). Kiraaliset deuteroidut hiilet eivät muutu syklisaation vaikutuksesta, joten näiden kiraalisten hiilien suhteellisten stereokemioiden avulla voidaan määrittää (-)-*trans*- β -bergamoteneenin absoluuttinen stereokonfiguraatio.⁶⁰



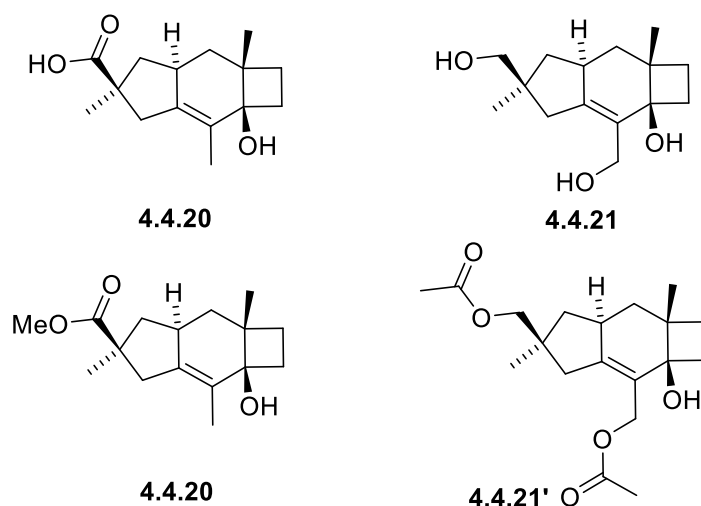
Kaavio 4.4.12: Cane *et. al* deuteroidut FPP-syklisaatiokokeet bergamoteneenin muodostumismekanismin tueksi.⁶⁰

Onnistuneen soluvapaan bergamoteneenin biosynteesin lisäksi havaittiin, että kiraalisten deuteroidujen hiilien konfiguraatiot ovat säilyneet syklisaatioiden loputtua. Havainnot tukevat

ionisaatio-syklisaatio-mekanismia, jonka (-)-*trans*- β -bergamoteneenin on ehdotettu muodostuvan FPP:stä kaavioiden 4.4.1 ja 4.4.12 mukaan.^{59,60}

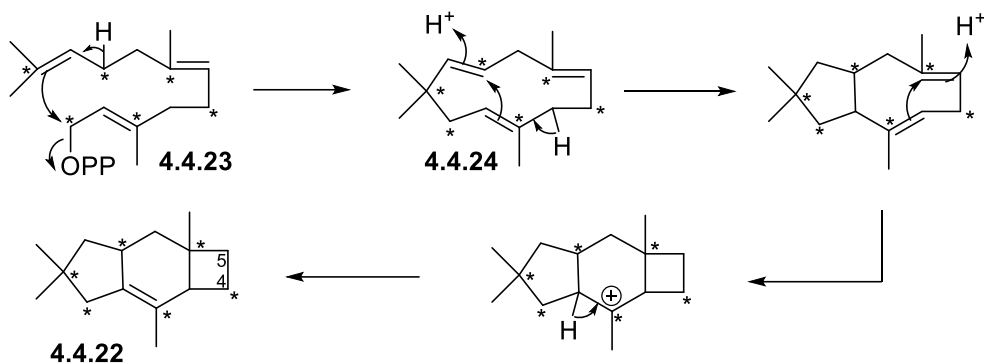
4.4.2 Sterpureeni

Saeedi-Ghomi työryhmineen tutkivat sterpureenin **4.4.22** mahdollista syklisaatiomekanismia ¹³C-asetaatileimauskokeilla. Teoriassa sterpureeni ja sen johdannaiset voivat syklisoitua kaavion 4.4.2 mukaisesti ilman toisiintumista farnesyylidifosfaatista **4.4.23** ja humuleenista **4.4.24**. Testatakseen, onko tämä todellisuutta sterpureenijohdannaisten tapauksessa Saeedi-Ghomin työryhmä lisäsivät [1-¹³C] -asetaatit ja [2-¹³C] -asetaatit *Stereum purpureum* -kasvatukseen, joiden on normaalisti havaittu tuottavan pääsääntöisesti sterpureenihappoa **4.4.20** ja sterpureenitriolia **4.4.21** (kuva 4.4.2).⁶¹



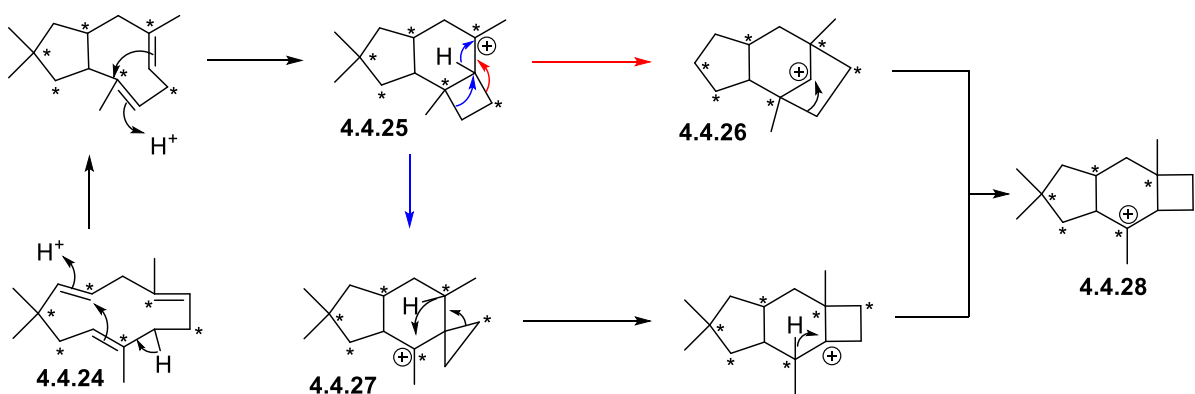
Kuva 4.4.2: Sterpureenihappo **4.4.20**, sterpureenitrioli **4.4.21**, metyylisterpuraatti **4.4.20'** ja diasetyylitrioli **4.4.21'**.⁶¹

Jos teoreettinen toisiintumaton syklisaatiomekanismi pitää paikkansa, täytyy sterpureenijohdannaisten ilmentää ¹³C-spektrillä kaavion 4.3.2 mukaista hiilien isotooppijärjestystä kaavion 4.4.2 mukaisesti.⁶¹



Kaavio 4.4.2: Farnesyylidifosfaatin (4.4.23) syklistoituminen sterpureeniksi (4.4.22) ilman toisiintumista (Tähdellä merkatut hiilet ovat ^{13}C -isotooppeja).⁶¹

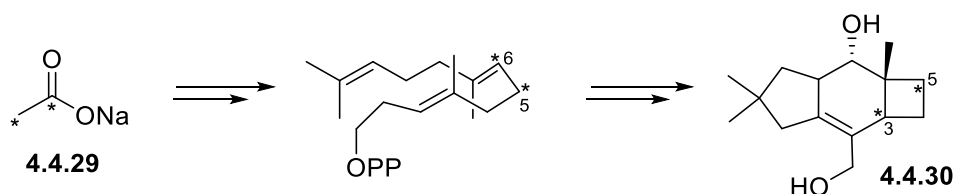
Saeed-Ghomi työryhmineen onnistuivat eristämään tarvittavat määrät $[1-^{13}\text{C}]$ -asetaatitileimattua metyylisterpuraattia 4.4.20' sekä $[1-^{13}\text{C}]$ - ja $[2-^{13}\text{C}]$ -asetaatitileimattuja diasetyylitrioleja 4.4.21' (Kuva 4.4.2). ^{13}C -nmr:n tuloksista kävi ilmi, että isotoopilla rikastuneiden hiilien paikat täsmäivät toisiintumattoman syklistoitumisen mekanismin kanssa muilta osin, paitsi hiilen 5, jonka havaittiin olevan ^{13}C -rikastunut jokaisessa kokeessa. Tämä tarkoittaa, että sterpureenien syklistoitiossa tapahtuu toisiintuminen, kuten esimerkiksi monien kantasienien seskviterpenoidimetaboliiteilla. Kaaviossa 4.3.21 on kuvattu tämä vaihtoehtoinen reaktioreitti, joka täsmäisi Saeedi-Ghomin työryhmän saamia hiili-isotooppileimakokeiden tuloksia.⁶¹



Kaavio 4.4.21: Toisiintuminen humuleenin (4.4.24) syklistoitumisessa sterpureenikationiksi (4.3.28) (Tähdellä merkatut hiilet ovat ^{13}C -isotooppeja).⁶¹

Kaavion 4.4.21 reitissä protoilludaanikationi **4.4.25** voi punaisten kaari- ja reaktionuolten tavoin toisiintua bisyklo-[3.2.1]-oktaaniksi **4.4.26**, ja edelleen sterpureenikationiksi **4.4.28**. Vaihtoehtoinen reitin kautta (siniset kaari- ja reaktionuolet) protoilludaanikationi voi toisiintua illudaanikationiksi **4.4.27** ja edelleen renkaan kasvatuksella ja protonin siirrolla sterpureenikationiksi **4.4.28**.⁶¹

Kaavion 4.4.21 ylempi reitti sai tukea Abellin & Leechin tutkimuksesta, jossa farnesyylidifosfaatti muodostettiin [1,2-¹³C] -asetaatilla **4.4.29** 7,12-dihydroksisterpureeniksi **4.4.30**. Syklisoitumisen jälkeen ¹³C-NMR-analyysi paljasti, että isotoopit hiilissä 5 ja 6 eivät olleet enää sitoutuneet toisiinsa. Katkennut C-6 on päätnyt uuteen asemaan C-3 (kaavio 4.4.22), ja tämä tukee vahvasti toisiintumisen puolesta puhuvaa reaktioreittiä.⁶²



Kaavio 4.3.22: Abellin & Leechin [1,2-¹³C] -asetaatilla muodostettu **4.4.29** ja katkennut C-5 ja C-6 sidos.⁶²

5 Syklobutaanirenkaan sisältävien terpenoidien synteesejä

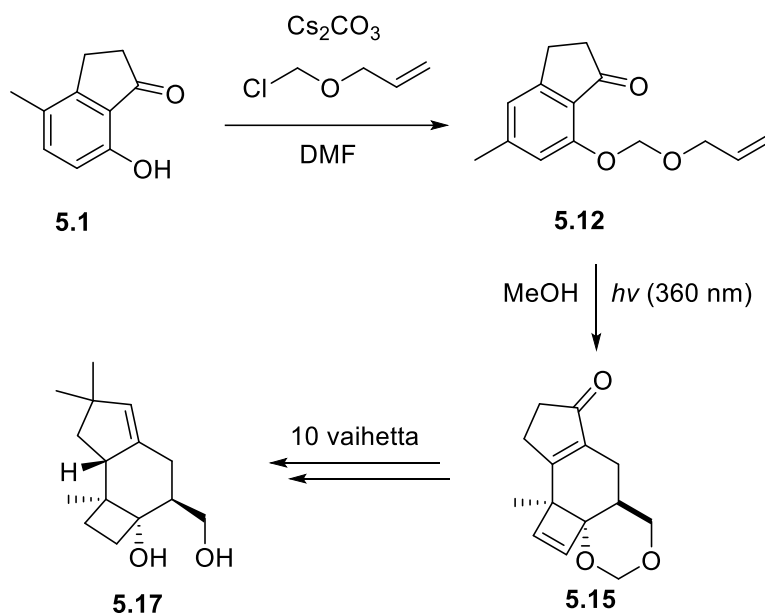
Kuten luvussa 4 todettiin, syklobutaaneja sisältäviä terpenoideja on havaittu esiintyvän luonnossa. Nämä havainnot ovat saaneet synteetikemistit kiinnostumaan näistä luonnonaineista synteisien lähtöaineina. Tämän lisäksi näiden luonnonaineiden varsinaiset kokonaissynteetit tai muodolliset synteetit houkuttelevat synteetikemistejä. Tiedämme myös luvusta 2, että syklobutaanit eivät ole kovinkaan stabiileita itsessään, ja syklobutaaniyksiköiden sisäinen jännitysenergia tuo mielekkäitä haasteita nykypäiväiseen synteisiin.

Tässä luvussa tutustutaan erilaisilla metodeilla tehtyihin syklobutaanisten terpenoidien kokonaissynteeseihin, ja tarkastellaan jokaista kirjallisuudesta poimittua synteisiä reaktiomekanismien avulla. Seuraavien alalukujen (5.1, 5.2, 5.3, 5.4 ja 5.5) kaavioissa kaikki punaiset kaarinuolet tarkoittavat syklobutaanirenkaan muodostumisen kannalta epäsuotuisaa vaihtoehtoista reaktioreittiä, ja punaiset sidokset epäsuotuisaa sivutuotetta. Siniset sidokset ja kaarinuolet ovat toivotun tuotteen muodostumista kuvaavia.

5.1 (+) -Atlantikoni C

Vidari työryhmineen eristivät seskviterpeeneihin kuuluvat atlantikoni välimerellisissä rautatammi- ja mäntymetsissä kasvavista *Lactarius atlanticus* -sienistä. Nämä yhdisteet ovat protoilludaaneja, eli [5.6.4] -trisyklisestä perusrakenteesta muodostuvia seskviterpeenejä, ja tästä rakenteesta johtuen kiinnostavia haasteita synteesille.⁶³

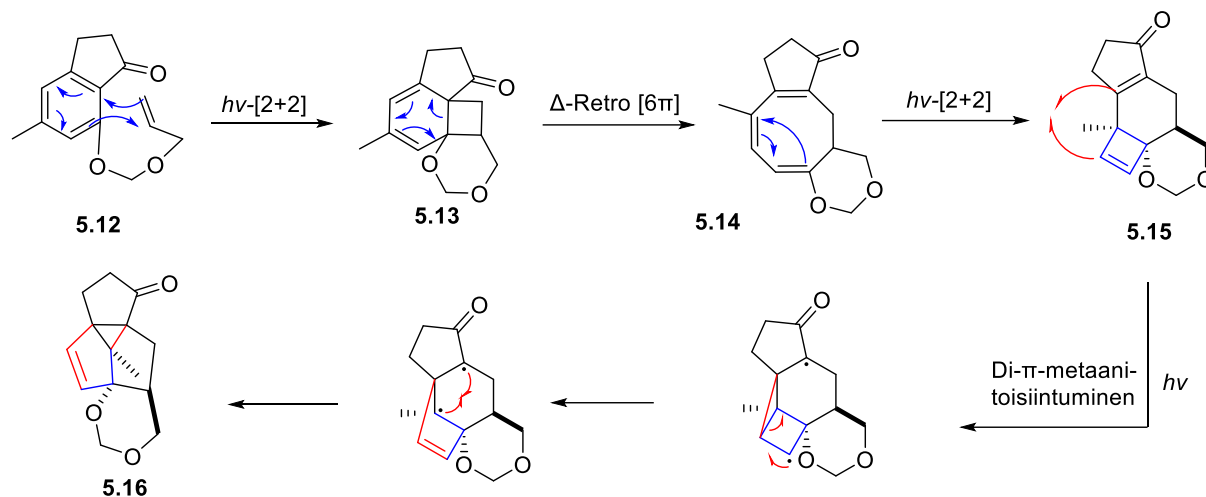
Bach työryhmineen syntetisoivat ensimmäisenä ryhmänä enantioselektiivisesti (+) -atlantikoni C:n **5.17**. Synteesi aloitettiin ketonista **5.1**, joka muodosti avainvaiheen aloittavan yhdisteen **5.12**, kun se alkyloitiin kloorimetyyliallylieetterin ja cesiumkarbonaatin avulla. Avainvaihe oli valokemiallinen kaskadi, jonka päätteeksi saatiin raseeminen seos tuotteesta **5.15** 48 % saannolla. (+) -atlantikoni C (**5.17**) saatiin muodostettua välituotteesta **5.15** kymmenellä vaiheella ja 18 % kokonaissaannolla (kaavio 5.1).⁶⁴



Kaavio 5.1: Bach työryhmineen onnistuivat tekemään lyhyen kokonaissynteesin (+) -atlantikoni C:lle (**5.17**).⁶⁴

Tässä synteesissä käytetty valokemiallinen kaskadi alkoi yhdisteen **5.12** intramolekulaarisella [2+2]-sykloadditiolla muodostaen välivaiheen **5.13**. Välivaiheen **5.13** vastakiertoinen renkaan aukeaminen lämmön vaikutuksesta muodosti trieenin **5.14**. Trieeni **5.14** jatkoi valokemiallista kaskadia uudella [2+2]-sykloadditiolla, muodostaen halutun välituotteen **5.15**. Jos säteilytystä jatkettiin tarpeeksi kauan, kaskadi jatkui yhä pidemmälle muodostaen sivutuotetta **5.16**

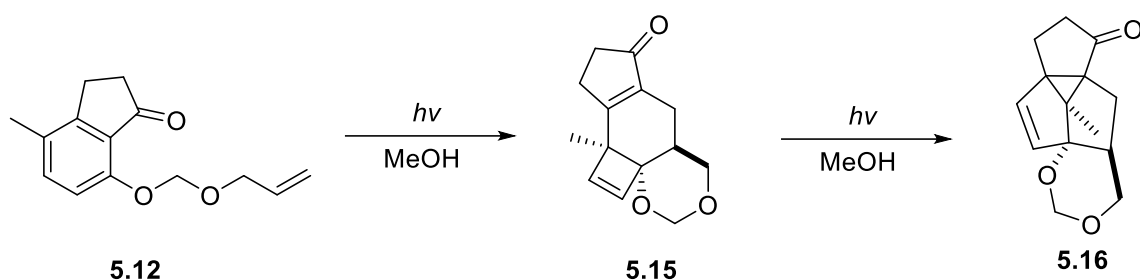
suuremmissa määrin kuin lyhyemmissä säteilytysajoissa. Taulukossa 5 on listattu optimoidut säteilytysajat ja aallonpituudet.⁶⁴



Kaavio 5.12: Valokemiallisen kaskadin välivaiheiden mekanismit ja tuotteet Bachin työryhmän tekemän (+)-atlantikonin kokonaissynteisissä.⁶⁴

Mielenkiintoisena havaintona pitkitettyjen säteilytysaikojen yhteydessä on todettu tuotteelle **5.15** tapahtunut ns. di- π -metaani-toisiintuminen. Tämä reaktio voi tapahtua, kun sp^3 -hybridisoitu hiili on vinyylisessä positiossa kahteen sp^2 -hiileen nähden (divinyyli).⁶⁵ Samanlainen asetelma on havaittavissa välivaiheessa **5.15**, joka säteilyajan pidentyessä muuttuu di- π -metaani-toisiintumisella sivutuotteeksi **5.16**.⁶⁴

Taulukko 5: Bachin työryhmän kokeet säteilytysajan ja aallonpituuden suhteen atlantikonin synteesissä: saannot ja tuotesuhteet⁶⁴

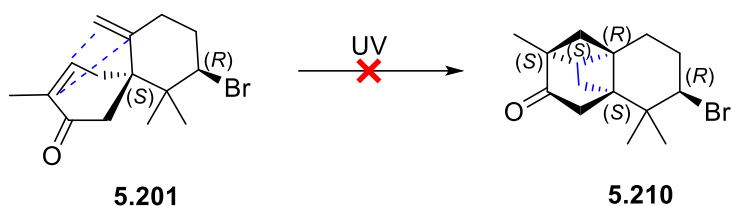


Koe	λ (nm)	aika (h)	5.12 / (\pm)- 5.15 / (\pm)- 5.16	saanto (%) (\pm)- 5.15
1	300	2,0	64:26:10	25
2	350	2,0	59:34:7	27
3	350	5,5	6:56:38	48
4	350	14	0:27:73	26

5.2 (\pm)-Aplydaktoni

Stonik työryhmineen eristivät Madagaskarin pohjoisrannikon meressä elävästä merijäniksestä seskviterpenoideihin kuuluvan aplydaktonin (**5.210**). Samasta eliöstä löytyi myös seskviterpenoidi **5.201**, jonka epäillään olevan lähtöaine aplydaktonin muodostumiselle. Aplydaktoni on mielenkiintoinen ja synteettisesti haastava yhdiste, jonka rakenteeseen kuuluu kolme fuusioitunutta 6-rengasta sekä bromi, joista jälkimmäinen on harvinainen atomi seskviterpeeneissä.

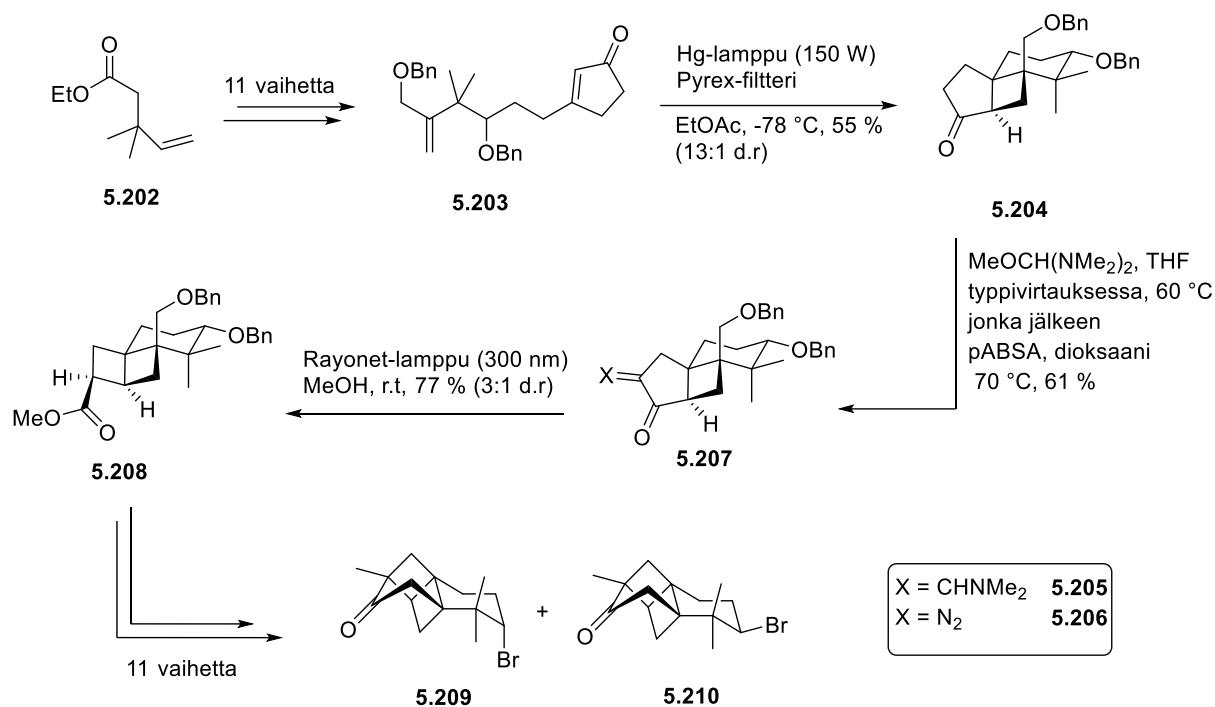
Yhdisteessä on yllä mainittujen rakenteellisuuksien lisäksi kaksi fuusioitunutta 4-rengasta, eli [2] -ladderaaniyksikkö. Koska yhdiste on löydetty noin kolmen metrin syvyydestä elävästä organismista, on perusteltua olettaa ladderaanin muodostuvan valokemiallisesta [2+2] -sykloadditiosta. Stonik työryhmineen ei kuitenkaan onnistunut pitkäkestoisellakaan UV-säteilytyksellä (kuva 5.2) tuottamaan laboratorio-olosuhteissa aplydaktonia käyttämällä yhdistettä **5.201** lähtöaineena.⁶⁶



Kuva 5.2: Aplydaktonin hypoteettinen lähtöaine sekä biosynteesi.⁶⁶

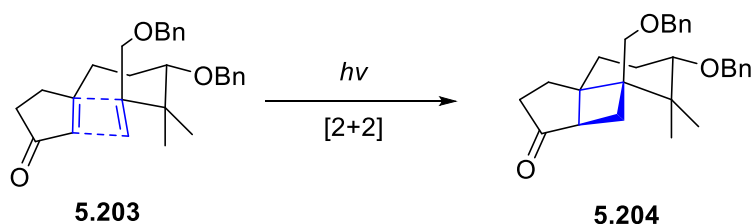
Vuonna 2016 Meier & Trauner julkaisivat ensimmäisenä aplydaktonin kokonaissynteesin. Tämän synteesin avainvaiheita ovat kaksi peräkkäistä valokatalysoitua syklobutaaniyksikön muodostusta, joista ensimmäinen on [2+2]-sykloadditio ja toinen on Wolff-toisiintuminen.⁶⁷

Meierin & Traunerin kokonaissynteesi alkoi tunnetusta esteristä **5.202**.⁶⁸ Tämä saatiin muunnettua avainvaiheet aloittavaksi yhdisteeksi **5.203** yhdentoista vaiheen jälkeen. Ensimmäisen syklobutaaniyksikön sisältävä yhdiste **5.204** muodostui 55 % saannolla ja 13:1 diastereomeerisella suhteella valokemiallisessa [2+2]-sykloadditiossa. [2]-ladderaaniyksikkö muodostui, kun syklopentanonirengas supistettiin syklobutaaniksi Wolff-toisiintumisella yhdisteestä **5.206**. Toisiintumisessa havaittiin ongelmia, kun α -diatsovälivaihe pyrittiin toteuttamaan hydroformylaatiolla tai trifluoroasetoksyylaatiolla. Sittenkin tämä kuitenkin onnistui, kun syklopentaani muunnettiin ensin enamioniksi **5.205**. Enaminonin avulla toisiintuminen onnistuttiin tuottamaan hyvällä saannolla (77 %), ja 3:1 diastereomeerisellä suhteella Rayonet-lampun alla [2]-ladderaaniksi **5.208**. Näistä avainvaiheista eteenpäin tarvittiin vielä yksitoista vaihetta, jonka jälkeen lopputuloksena oli aplydaktoni (**5.210**) 1,6:1 diastereomeerisella suhteella (kaavio 5.2).⁶⁷



Kaavio 5.2: Meier & Trauner suorittivat ensimmäisinä (\pm)-aplydaktonin (5.28 ja 5.27, 1,6:1 d.r) kokonaissynteesin.⁶⁷

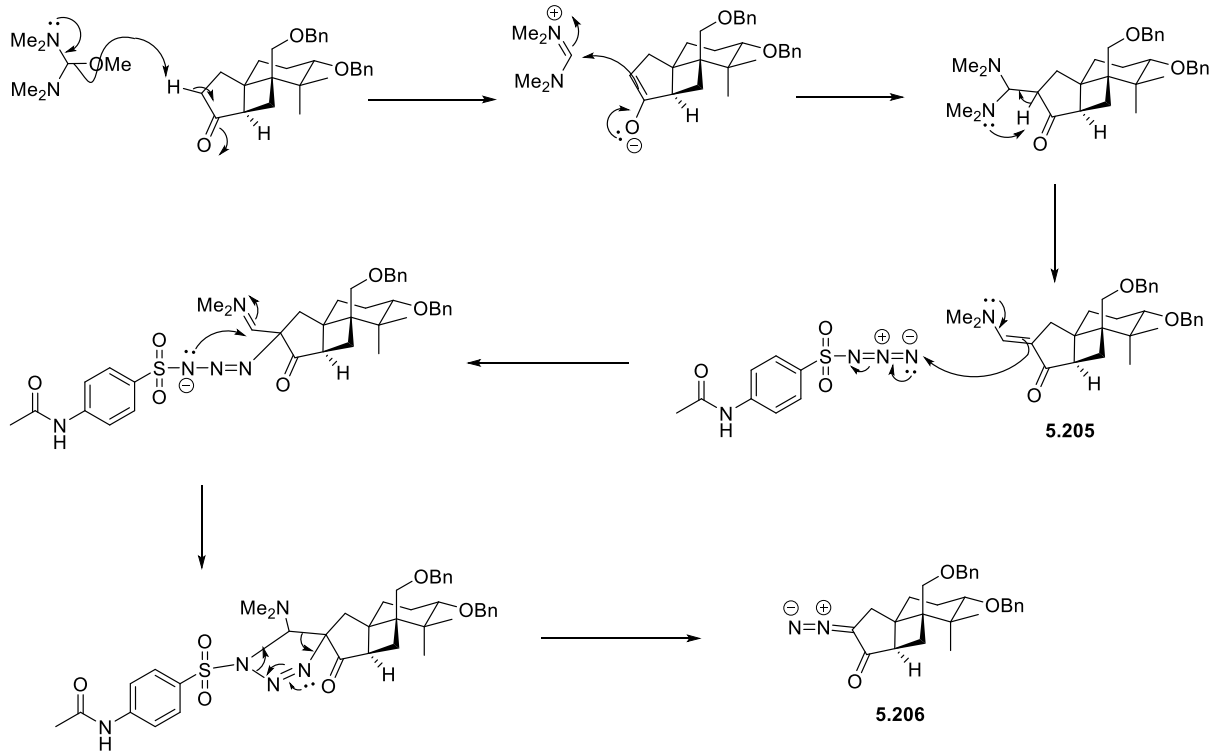
Meierin & Traunerin aplydaktonin kokonaissynteesissä ensimmäinen syklobutaaniyksikkö rakentuu valokemiallisella [2+2]-sykloadditiolla, joka on havainnollistettu kaaviossa 5.21.



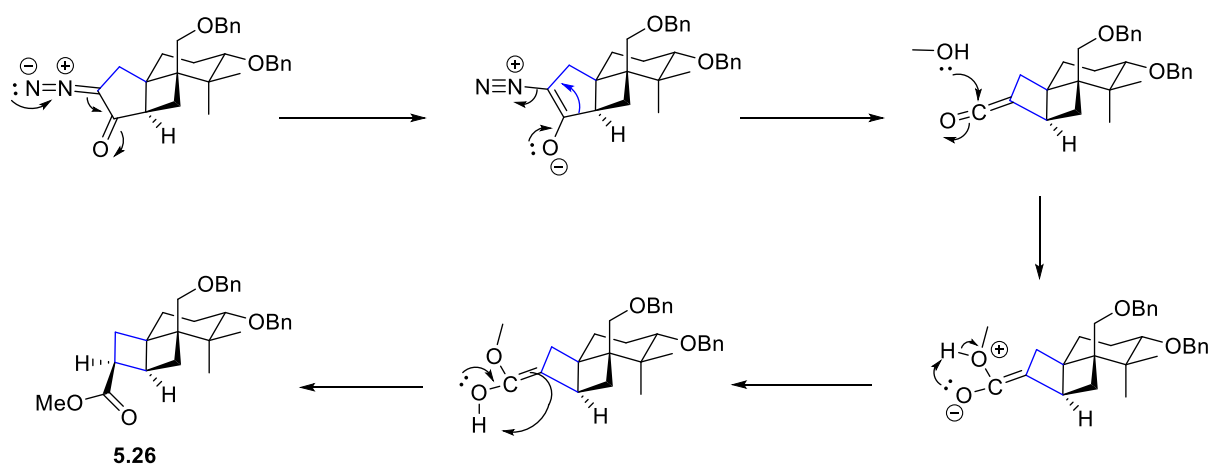
Kaavio 5.21: Meierin & Traunerin ensimmäisen syklobutaaniyksikön muodostuminen intramolekulaarisella valokemiallisella [2+2]-sykloadditiolla (\pm)-aplydaktonin kokonaissynteesissä.⁶⁷

Toista syklobutaaniyksikköä rakentaessa, Trauner & Meier huomasivat parhaimmaksi ratkaisuksi tehdä ensin enamionin 5.24, joka saatiin vaihdettua hyvin Regitz diatsovaihtoreaktiolla välituotteeksi 5.25. Regitz-diatsovaihdossa enamionin 5.24 enamiinisubstituentti α -hiilessä saatiin vaihdettua α -diatsoyhdisteeksi järkevällä saannolla. Reaktiomekanismin kulku on kuvattuna kaaviossa 5.22. Tätä seurasi valokemiallinen Wolff-

toisiintuminen (kaavio 5.33). Wolff-toisiintumisen päätteeksi esteriä **5.26** muodostui 3:1 diastereomeerisellä suhteella.⁶⁷



Kaavio 5.22: Traunerin & Meierin diatsovälivaiheen muodostumisen reaktiomekanismi, mukailleen Regitzin⁶⁹ diatsovaihtoreaktion ehdotettua mekanismia.⁶⁷



Kaavio 5.23: Reaktiomekanismi Wolff- toisiintumiselle valokemiallisesti Traunerin & Meierin (±) -aplydaktonin kokonaissynteesissä: esteriä **5.26** muodostui 3:1 diastereomeerisellä suhteella.⁶⁷

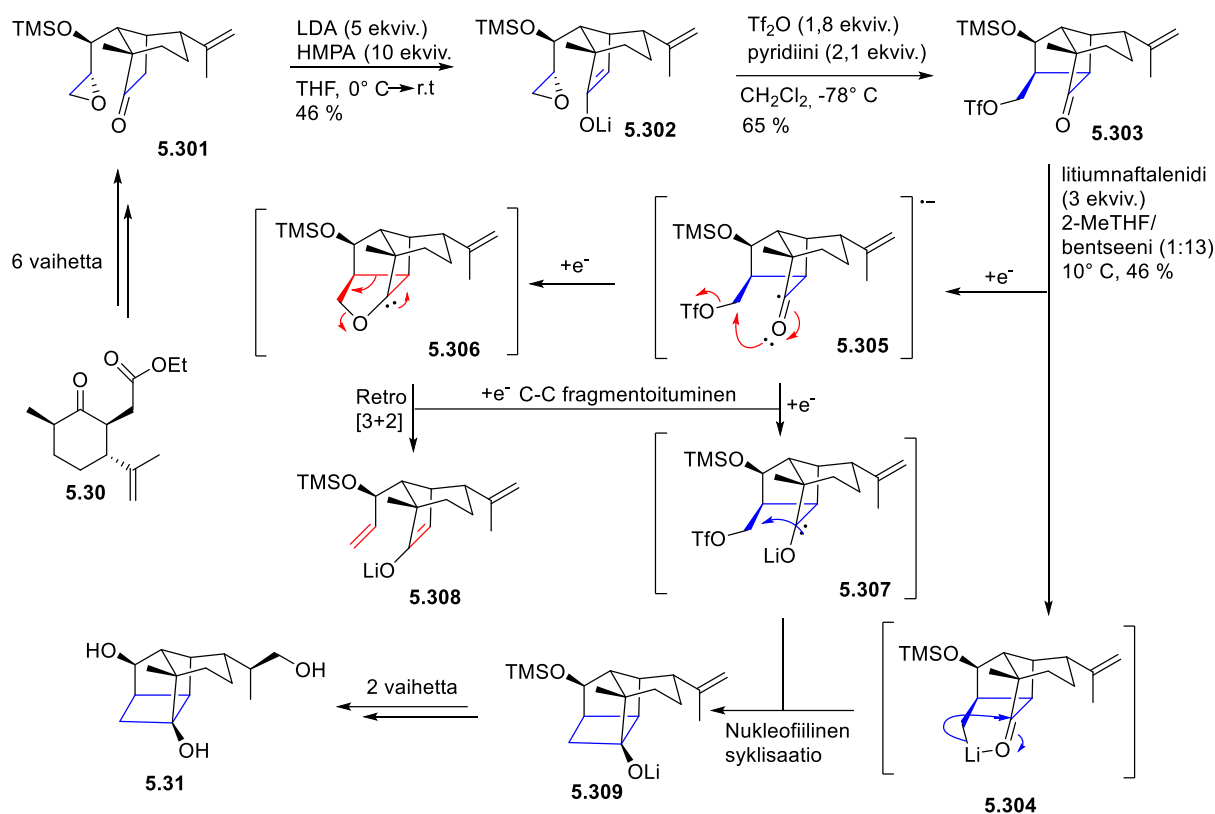
5.3 (+) -Dendrowardoli C

Dendrobium wardianum Warner on Yunnanin provinssissa Kiinassa sekä Kaakkois-Aasiassa kasvava orkidealajike, jota on käytetty perinteisessä kiinalaisessa lääketieteessä kuumeen alentamista varten. Fan *et. al* eristivät tästä kasvista vuonna 2013 seskviterpenoidin, dendrowardoli C:n, jolla on synteettisesti erityisen mielenkiintoinen tetrasyklinen rakenne, jossa on jopa yhdeksän stereogeenistä hiiliatomia.⁷⁰

Ensimmäisen (+) -dendrowardoli C:n kokonaissynteesin suorittivat Carreira & Wolleb vuonna 2017. Tässä synteesissä syklobutaaniosa rakennettiin triflaatin litoimisella, joka johti intramolekulaariseen nukleofiiliseen additioreaktioon.⁷¹

Kokonaissynteesi alkoi esteristä **5.30**, joka muokattiin kuuden vaiheen jälkeen epoksiketoniksi **5.301**. Syklobutaanirenkaan muodostamisen ensimmäinen vaihe oli litiumenolaatin **5.302** muodostaminen LDA:lla. Tämä johti intramolekulaariseen epoksidin avaamiseen triflaamalla epoksidi, jolloin muodostui välituote **5.303**, jossa muodostunut sidos hiilten välillä on ensimmäinen pala muodostettavaa syklobutaaniyksikköä. Välituote **5.303** aloitti synteesin avainvaiheen.⁷¹

Alkyylitriflaattien litoimisella voidaan tehdä intramolekulaarisia syklisaatioreaktioita. Tämän synteesin avainvaiheena käytettiin samaa metodia, mutta ensimmäistä kertaa syklobutaanin muodostumista varten. Käsittelemällä välituotetta **5.303** kolmella ekvivalentilla litiumnaftalenidia, saatiin muodostettua syklobutaaniyksikön sisältävä litiumsuola **5.309**, sekä litiumenolaatti **5.308** sivutuotteena (kaavio 5.3).⁷¹



Kaavio 5.3: Carreiran & Wollebin toteuttama (+)-dendrowardoli C:n kokonaissynteesi.⁷¹

Reaktiomekanistisesti tarkasteltuna, sekä tuotteen että sivutuotteen muodostuminen voi tapahtua eri tavoilla. Suurin reitti tuotteeseen on kaavion 5.3 oikeassa laidassa. Nopeimmassa reitissä tapahtuu suora triflaatin litoiminen, ja heti perään intramolekulaarinen nukleofiilinen additio litiodulta hiieleltä **5.304**. Hapen koordinaatio litiumiin lukitsee addition päätteeksi litiumsuolan.⁷¹

On myös mahdollista, että litiumnaftalenidi tuottaa yhden elektronin additiolla ketyyliin **5.305**. Ketyylin muodostuminen johtaa kolmeen erilaiseen vaihtoehtoon; 1) triflaatin irtoaminen intramolekulaarisella karbonyylihapen *S_N2*-hyökkäyksellä jolloin muodostuu eetteri **5.306**, 2) triflaatin eliminoituminen pilkkoutumisen kautta sivutuotteeksi, tai 3) tilanne, jossa happi koordinoituu litiumiin, ja uuden elektronin tuominen aikaansaa karbonyylihiilen *S_N2*-hyökkäyksen, jolloin muodostuu syklobutaani **5.309**.⁷¹

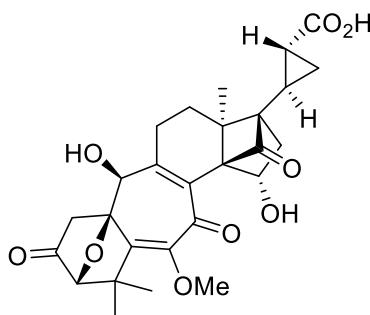
Tämä reaktiosarja ja sen vaihtoehdot reitit tuotteelle eivät olleet yksinkertaisia tuotteen järkevän saannon kannalta. Carreira & Wolleb seuloivat erilaisia reaktio-olosuhteita, jotta tuotteelle voitiin optimoida paras mahdollinen saanto. Saantoon vaikuttivat eniten liuottimet ja liuottimien suhteet, sekä pelkistimen valinta (taulukko 5.3). Mielenkiintoista oli, ettei natriumnaftalenidi tuottanut reaktiota ollenkaan.⁷¹

Taulukko 5.3: Optimoidut reaktio-olosuhteet, reagenssit ja liuottimet Carreiran ja Wollebin (+)-dendrowardolin kokonaissynteeseissä⁷¹

Koe	Pelkistin	Liuotin	T(°C)	5.309 : 5.308	Saanto (5.309)
1	LiNp	THF	-78	37:63	16 %
2	LiBp	THF	-78	19:81	-
3	NaNp	THF	-78	vain 5.309	-
4	LiNp	THF/Bentseeni (1:10)	10	53:47	27 %
5	LiNp	2-MeTHF/bentseeni (1:10)	10	46:54	40 %

5.4 Solanoeklepiini A

Perunoiden juurissa elävät sukkulamadot, *Globodera rostochiensis* ja *Globodera pallida*, käyttävät kasvin tuottamaa solanoeklepiini A:ta (kuva 5.4, **5.401**) jälkikasvun kuoriutumisen edistämiseksi. Suuremmissa määrässä yhdiste aiheuttaa aikaisen kuoriutumisen sukkulamadoille, mutta tarpeeksi suuria pitoisuuksia ei löydy luonnollisista olosuhteista. Nämä sukkulamadot aiheuttavat vahinkoa perunasadoille, jonka vuoksi solanoeklepiini A on mielenkiintoinen synteesikohde.⁷²



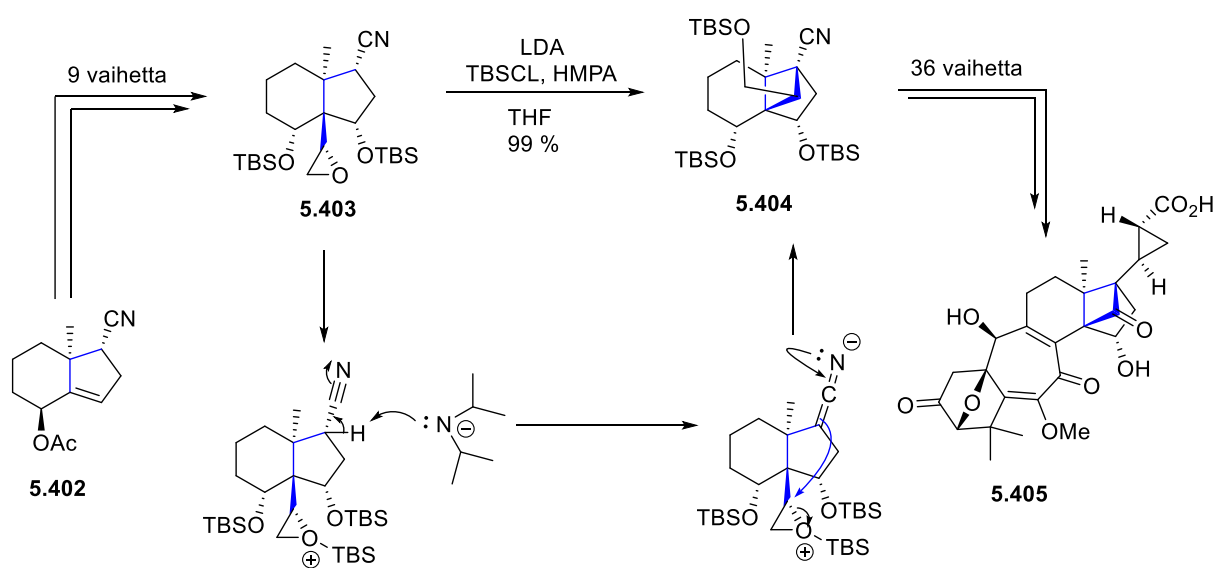
5.401

Kuva 5.4: Mulder eristi solanoeklepiini A:n (**5.401**) vuonna 1986.⁷²

Solanoeklepiini A sisältää rakenteessaan kolme kvaternäärisen hiilen stereokeskusta hyvin monimutkaisessa trisyklo[5.2.1.0^{1,6}]dekaanirakenteessa, ja tähän kiinnittyneen 6,6-dimetyyli-

7-oksabisyklo[2.2.1]-2-heptanonin. Tämän triterpenoidin eristi ensimmäisenä Mulder⁷² vuonna 1986. Yhdisteen monimutkaisesta rakenteesta, sekä yhdisteen konkreettisesta käyttökohteesta inspiroituneet Miyashita työryhmineen onnistuivat ensimmäisen solanoeklepiini A:n kokonaissynteessissä vuonna 2011.⁷³

Kokonaissynteesi alkoi aiemmin tehdystä asetoksinitriilistä **5.402**. Tämä saatiin muutettua yhdeksän vaiheen jälkeen epoksinitriiliksi **5.403**. Epoksinitriilillä **5.403** voitiin käynnistää nukleofiilinen nelirenkaan intramolekulaarinen syklisaatio, joka oli synteesin ensimmäinen avainvaihe. Nitriiliryhmän viereisellä α -hiilellä on hapan protoni, joka deprotonoitiin LDA:lla. Tämä aiheutti α -hiilen hyökkäyksen silyyliryhmällä aktivoituun epoksidirenkaaseen, jolloin epoksidirengas aukesi ja muodostui TBS-suojattu alkoholi **5.404**. Tätä avainvaihetta seurasi 36 vaihetta, ja lopputuloksena oli onnistunut solanoeklepiini A:n **5.401** kokonaissynteesi (kaavio 5.4).⁷³

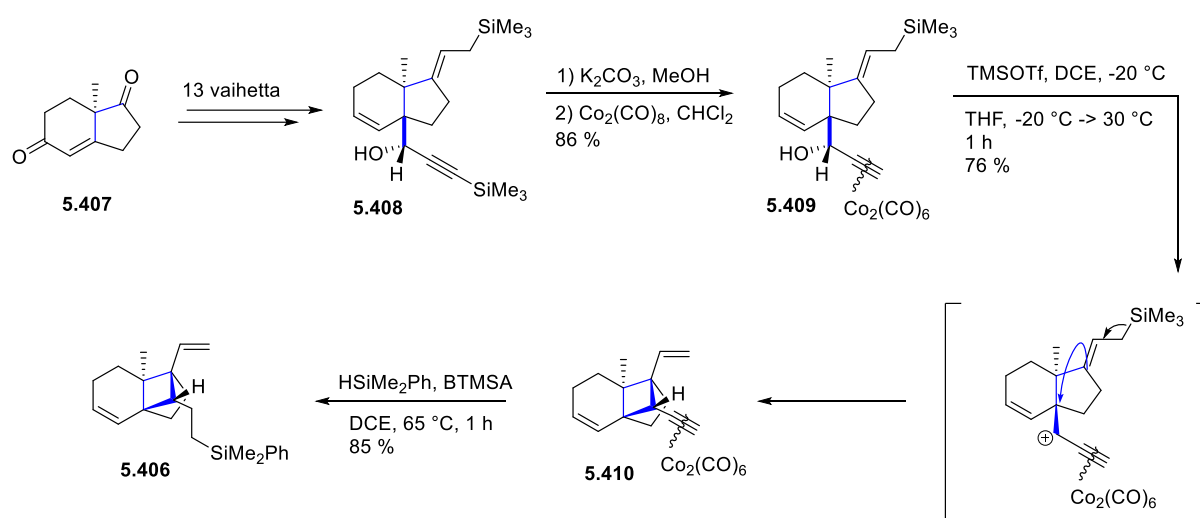


Kaavio 5.4: Intramolekulaarinen nukleofiilinen nelirenkaan syklisaatio Miyashitan työryhmän tekemässä solanoeklepiini A:n kokonaissynteessissä.⁷³

Solanoeklepiini A:n parissa on työskennellyt muitakin työryhmiä. Vuonna 2012 Isobe työryhmineen valmistivat solanoeklepiini A:n trisyklo- [5.2.1.0^{1,6}]-dekaanirungon johdannaisen **5.406** käyttämällä intramolekulaarista kationista syklisaatiota. He tekivät tämän koboltin katalysoimalla Hosomi-Sakurai-reaktiolla.⁷⁴

Synteesi aloitettiin tunnetusta *ent*-Hajos-Parrish-ketonista⁷⁵ **5.407**, joka saatiin 13 vaiheen jälkeen muunnettua β -propargyylialkoholiksi **5.408**. Propargyylin TMS-ryhmän poistamista

seurasi dikobolttiheksakarbonyylin koordinoituminen tämän yhdisteen alkyyniin, josta muodostui avainvaiheen aloittava kobolttikompleksi **5.409**. Alkoholi käsiteltiin TMS-triflaatilla, jolloin alkoholi saatiin lähteväksi ryhmäksi, ja muodostui karbokationinen välivaihe. Nyt Hosomi-Sakurai-reaktio tapahtui intramolekulaarisesti pohjoisen TMS-ryhmän eliminoituessa aiemmin dissosioituneen triflaatin avulla, ja mahdollistaen kaksoissidoksen hyökkäyksen karbokationiin. Tämän jälkeen tarvittiin vielä yksi vaihe, josta saatiin solanoeklepiini A:n trisyklo- [5.2.1.0^{1,6}] -dekaanirungon johdannainen **5.406** (kaavio 5.41).⁷⁴



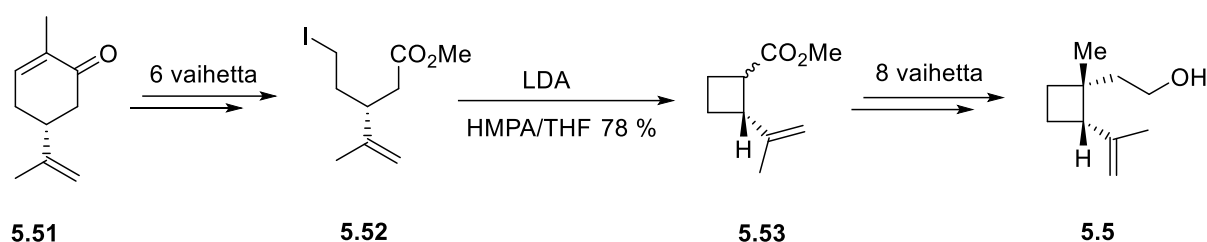
Kaavio 5.41: Isobe työryhmineen tekivät solanoeklepiini A:n trisyklo- [5.2.1.0^{1,6}] -dekaanirungon johdannaisen **5.406** intramolekulaarisella kationisella syklosaatiolla.⁷⁴

5.5 (+)-Grandisoli ja (±)-grandisoli

(+)-Grandisoli (**5.5**) on puuvillakärsäkäsurosten tuottama feromoni, joka houkuttelee paikalle muita puuvillakärsäkkäitä. Tämä monoterpenoidi on ympäristöystävällinen vaihtoehto myrkyille, joilla pyritään estämään kärsäkkäiden aiheuttamia tuhoja. Useat työryhmät ovat pyrkinet syntetisoimaan (+)-grandisolia siitä lähtien, kun Tumlinson työryhmineen⁷⁶ eristivät sitä ensimmäisen kerran 1967. Selvän käyttökohteen lisäksi, (+)-grandisoli on myös synteettisesti kiinnostava, sillä sen rakenne on hyvin epätavallinen luonnonaineeksi.^{77,78}

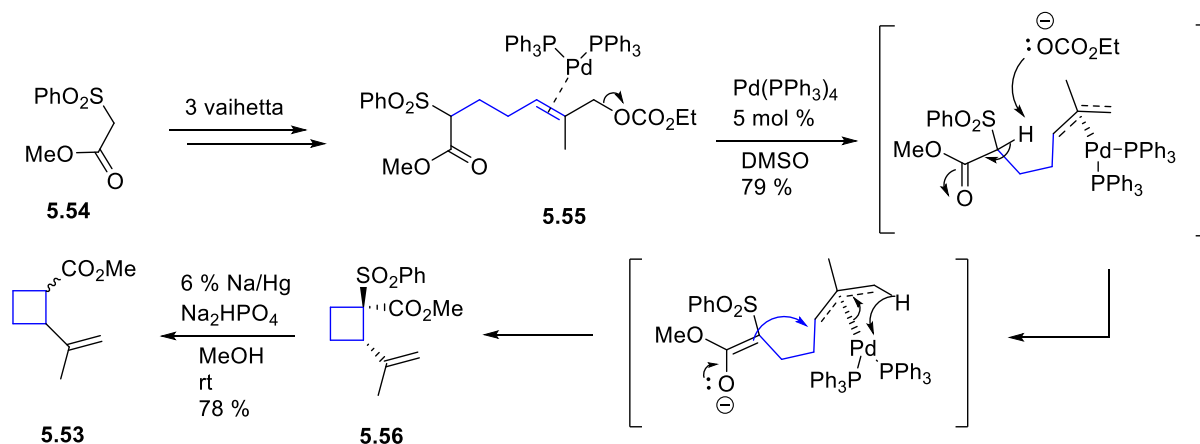
Yksi onnistuneen (+)-grandisolin kokonaissynteesin tehneistä työryhmistä oli Mori ja Fukamatsu. He käyttivät (+)-grandisolin syklobutaaninyksikön sulkemisessa intramolekulaarista nukleofiilista sykloadditiota taktiikkana (vrt. solanoeklepiini A, luku 5.4). Synteesi alkoi tunnetusta ja runsaasti esiintyvistä monoterpeenistä (–)-karvonista (**5.51**), joka kuuden vaiheen jälkeen jodiesteriksi **5.52**. Synteesin avainvaiheessa hapan α -protoni

karbonyyliryhmän vieressä deprotonoituu LDA:n toimesta, jonka jälkeen hiilelle jäänyt elektronipari hyökkää jodattuun hiileen jodin samalla dissosioituessa. Tästä avainvaiheesta muodostuva syklobutaaniesteri **5.53** jäljentää haluttua lopputuotetta. Mori ja Fukamatsu joutui käyttämään vielä kahdeksaa vaihetta lopullisen (+)-grandisolin (**5.5**) saavuttamiseksi 2,6 % kokonaissaannolla (kaavio 5.5).⁷⁷



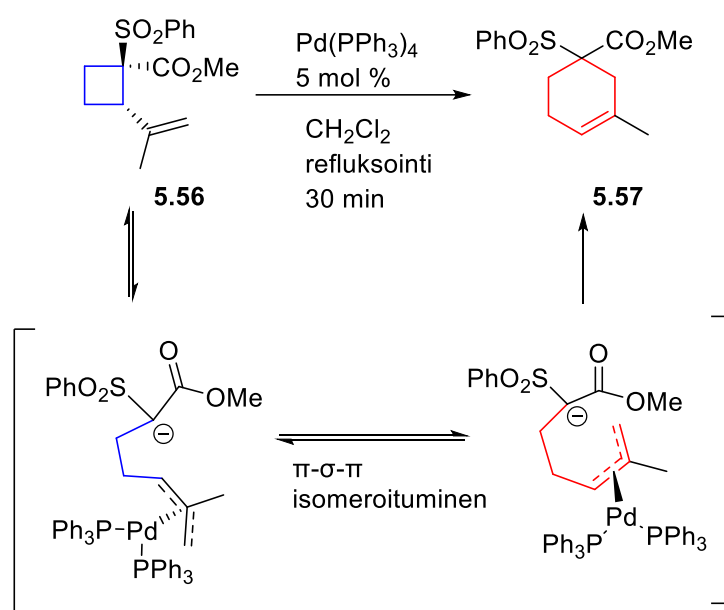
Kaavio 5.5: Morin & Fukamatsun (+)-grandisolin kokonaissynteesi ja syklobutaanin sulkemiseen käytetty taktiikka.⁷⁷

Suh työryhmineen ovat työskennelleet palladium(0) katalysoitujen allyylisten karbonaattien intramolekulaaristen syklistaatioiden parissa 5- ja 6-renkailla. Nelirenkaiden osalta he kiinnostuivat nimenomaisesti Morin ja Fukamatsun avainvaiheesta muodostuvasta syklobutaaniesteristä **5.53**, jolle Suhin työryhmä löysi keinon toteuttaa nelivaiheisella synteesillä raseemiseksi seokseksi. Tämä (±)-grandisolin muodollinen synteesi aloitettiin kaupallisesti saatavasta metyyli(bentseenisulfonyyli)asetaatista (**5.54**), joka saatiin kolmen vaiheen jälkeen avoketjuiseksi etyylikarbonaatiksi **5.55**. **5.55** käsittely 5 mol % tetrakis(trifenyylifosfiini)palladium(0):lla aiheutti intramolekulaarisen syklistaation 79 % saannolla (DMSO, rt, 3 h) sulfonyyliseksi syklobutaaniksi **5.56** kaavion 5.51 mukaisesti.⁷⁸



Kaavio 5.51: Suhin työryhmän muodollinen (\pm)-grandisolin synteisi palladium(0) katalysoidulla allyyilisen karbonaatin intramolekulaarisella syklistaatiolla.⁷⁸

Edellä mainitut olosuhteet tuottivat parhaimman saannon **5.56**:lle. Pitkittyneillä reaktioajoilla tai refluksioimalla (kaavio 5.52) Suhin työryhmä havaitsi muodostuvaksi kuusirenkaista isomeeriä **5.57**.⁷⁸



Kaavio 5.52: Suh työryhmineen havaitsi sulfonyylisen välituotteen **5.56** isomeroituvan sulfonyyliseksi kuusirenkaaksi **5.57**.⁷⁸

6 Yhteenveto

Pienet ja jännittyneet sykliset orgaaniset rakenteet kiinnostavat synteetikemistejä sekä teoreettisella, että käytännöllisellä tasolla. Syklopropanin ja syklobutaanin johdannaiset ovat hiilirenkaiden homologisen sarjan ensimmäiset syklit, jotka ovat korkeasti jännittyneet, ja täten reaktiivisia. Näistä kahdesta renkaasta syklobutaani ja sen johdannaiset, esimerkiksi syklobutanoni tai 1,1-dimetyylisyklobutaani, ovat stabiilimpia kuin vastaavat syklopropanit. Tästä johtuen syklobutaanin johdannaiset ovat tietyissä tilanteissa käytännöllisempiä, koska ne

eivät välttämättä ole vain reaktiivisia, muotoa muuttavia substraatteja, vaan myös mahdollisesti pysyviä rakennuspalikoita suunnitellussa synteesissä.

Syklobutaaniyksiköt ovat reaktiivisuudestaan huolimatta esillä monissa luonnonaineissa. Niitä esiintyy huomattavasti enemmän, kuin mitä intuitiivisesti niin jännittyneistä renkaista voisi kuvitella. Monet luonnolliset lähteet, kuten esimerkiksi sienet, bakteerit, kasvit, merelliset selkärangattomat sekä korallit tuottavat syklobutaaniyksikön sisältäviä terpenoideja. Nämä terpenoidit ovat usein bioaktiivisia, ja potentiaalisesti hyödyllisiä esimerkiksi uusien lääkeaineiden valmistuksessa ja antibioottien kehityksessä. Monista luonnollisista lähteistä on onnistuttu eristämään rakenteiden muodostumisesta vastuussa olevia syntaaseja, ja niitä voidaan hyödyntää näiden rakenteiden biosynteettisessä valmistuksessa.

Syklobutaanisten terpenoidien synteettinen tutkimus on edellä mainituista syistä tärkeää, mutta myös yhdisteiden monimutkaiset rakenteet ja jännitysenergioista aiheutuvat synteettiset haasteet inspiroivat työryhmiä ympäri maailman klassisemmissä kokonaissynteeseissä. Monia syklobutaanisten terpenoidien kokonaissynteesejä on tehty eri tutkimusryhmien toimesta niiden tarjoamien haasteiden johdosta. Tutkimuksista syntynyt data reaktiivisuuksista ja mahdollisista menetelmistä ovat erittäin tärkeitä orgaanisen kemian kehitykselle. Yleisimmin käytettyjä metodeja ovat valokemialliset [2+2]-sykloadditiot ja muiden renkaiden muodonmuutokset 4-renkaiksi, jotka ovat jo itsessään käytännöllisiä menetelmiä. Tulevaisuuden kannalta on mielenkiintoista nähdä, kuinka tämän kaltaisten rakenteiden synteettiset metodit ja ratkaisut kehittyvät, ja onko tiettyjen hyödyllisiksi todettujen terpenoidien tapauksissa mahdollista kehittää tuotanto teolliselle tasolle.

KOKEELLINEN OSA

6 Johdanto ja työn tarkoitus

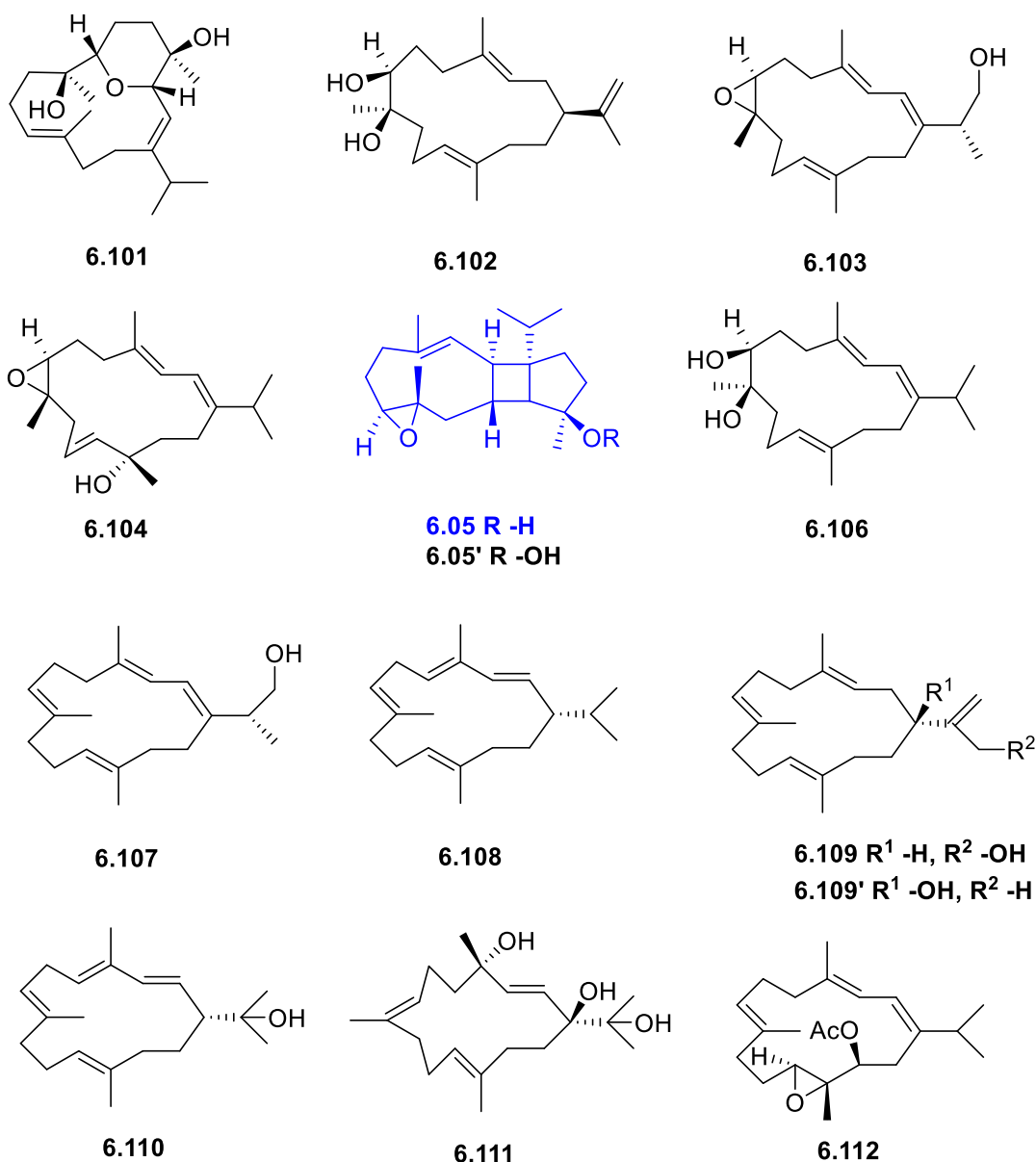
Tämän *pro gradu* -tutkielman kokeellinen osa perustuu professori Petri Pihkon työryhmässä työnalla olevalle seskviterpenoidin humilisiini E:n kokonaissynteetille (**6.05**). Tämän seskviterpenoidin kokonaissynteesi on väitöskirjatutkija Rajanish Pallerlan tutkimusaihe, ja hänen työtään tukee tämän *pro gradun* kokeellisen osan lisäksi myös B.Sc Veera Brucen *pro gradu* -tutkielman kokeellinen osuus, sekä tohtori Verma Prachin taustoitus mahdollisista synteesistrategioista sekä teoriassa, että käytännössä.

Tämän *pro gradu* -tutkielman kokeellisessa osassa pyritään ottamaan selvää humilisiini E:n avainasemassa olevan nelirenkaan reaktiivisesta profiilista selvittämällä, onko olemassa käytännöllisiä vaihtoehtoja lisätä siihen kokonaissynteesin kannalta hyödyllisiä substituentteja.

6.1 Humilisiini E

Sun *et. al* analysoivat pehmytkorallinäytettä, *Sinularia humilis*, joka on peräisin Kiinan Hainanin provinssissa olevalta Ximaon saarelta. He löysivät kuusi uutta diterpenoidia **6.01–6.05**, sekä jo tunnetut diterpenoidit **6.106–6.112** (kuva 6.1). Nämä *Sinularia humilisinin* sekundaariset metaboliitit ovat bioaktiivisia, ja niiden epäillään olevan tarkoitettuja toimimaan puolustussysteeminä isäntäeliölle. Yhdisteitä on biotestattu tulehduksen ehkäisijöinä BV-2 mikroglia soluilla, jotka olivat stimuloitu lipopolysakkaridilla (LPS). Näistä yhdisteistä humilisiini E (**6.05**) on osoittanut merkittävästi muita paremman anti-inflammatorisen efektin LPS:n aiheuttamaan mikroglia solujen tulehdustilaan. Tulehdusta voidaan mitata solukon typpioksidin tuotannossa, jota vapautuu tulehdustilassa. Humilisiini E:n käytössä vapautuvan typpioksidin määrä oli 2,4-prosenttiyksikköä alhaisempi verrattuna kontrollina käytetyn resveratrolin vapauttamaan typpioksidin määrään, implikoiden humilisiini E:n ehkäisevän tulehdusta paremmin kuin resveratrolin mikroglia soluilla. Tämän lisäksi havaittiin, että humilisiini E ei ole sytotoksinen mikroglia soluille.⁷⁹

Humilisiini E:n trisyklinen tetradekahydrosyklopenta[3',4']syklobuta[1',2':4,5]syklonona[1,2-b]-oksiraani rengasrakennelma on hyvin epätavallinen terpenoideille. Tämä diterpenoidi on erittäin mielenkiintoinen kokonaissynteesikohde edellä mainitun hyödyllisen käyttökohteen, sekä hyvin haastavan rakenteen vuoksi.⁷⁹



Kuva 6.1: *Sinularia humilis* -pehmytkorallista eristetyt uudet diterpenoidit **6.101-6.05'**, sekä jo tunnetut **6.106-6.112**.⁷⁹ Prof. Pihkon työryhmässä työskentelevän väitöskirjatutkijan Rajanish Pallerlan tutkimusaiheena on kokonaissynteesi humilisiini E:lle (**6.05**).

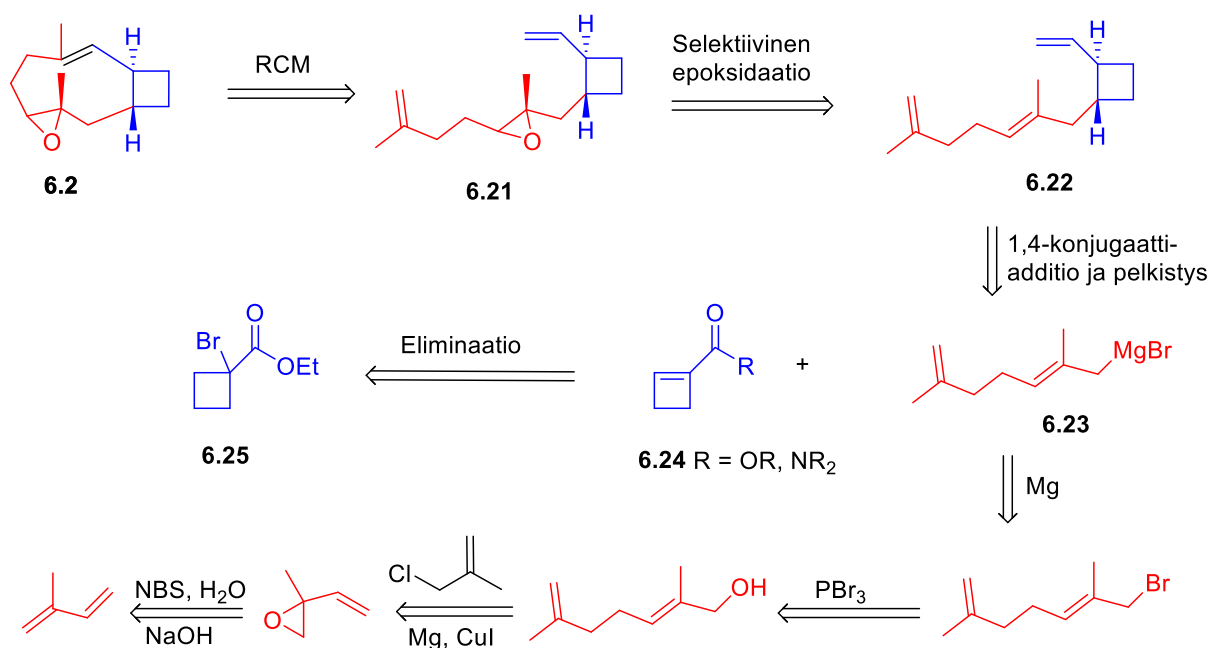
6.2 Kokeellisen osan tausta

Tämän *pro gradum* kokeellisen työn tarkoituksena oli kartoittaa mahdollisuuksia humilisiini E:n (**6.05**) 9-renkaan rakentamiseen liittämällä lähtöaineena käytettävään valmiiseen nelirenkaaseen **6.25** tarvittavat yksiköt 9-renkaan **6.2** sulkemista varten. Kaaviossa 6.2 on retrosynteettinen havainnollistus ideaalisesta kohdemolekyylistä, jonka valmistaminen tukisi

kaavion kaltaista strategiaa myös humilisiini E:n 9-renkaan järjestämiseksi. Työn haastavuuden vuoksi stereokemian kontrolli jätettiin alustavasti pois tavoitteista.

Tämän mallimolekyylin avainvaiheet ovat selektiivinen epoksidaatio tuotteeksi **6.21**, sekä renkaansulkumetateesi valmiiksi malliaineeksi humilisiini E:n 9- ja 4-renkaan bisyklistä **6.2**. Pääsy näihin avainvaiheisiin on jo itsessään vaativa saavutus, ja ovat täten tämän *pro gradun* kokeellisen osan laajuuden ulkopuolella.

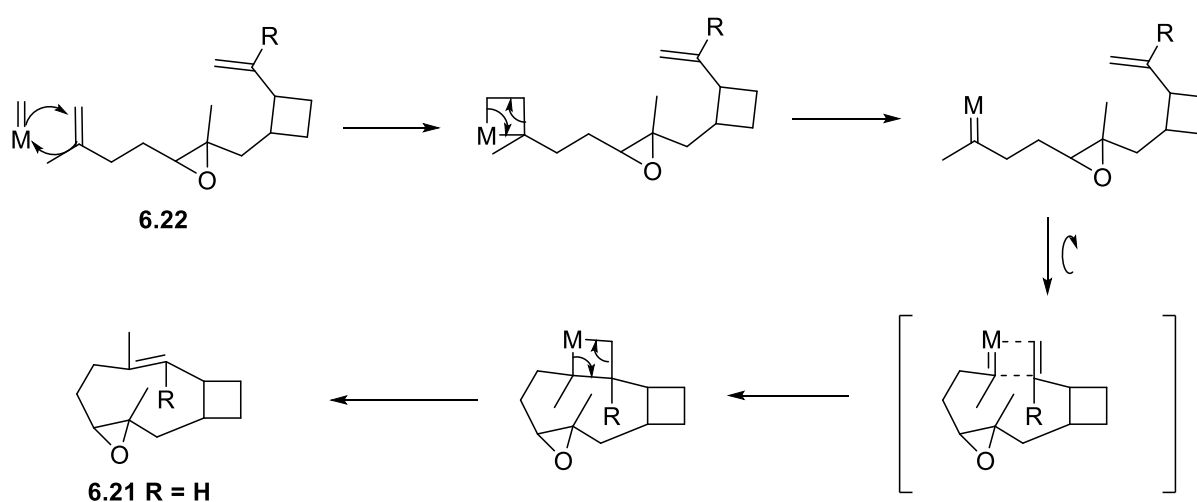
Tutkimuskysymys kaventui ensimmäiseen ja ehkä tärkeimpään avainvaiheeseen, 1,4-konjugaattiadditioon, joka määrittää lähtökohtaisesti koko kyseisen suunnitelman toimivuuden humilisiini E:n synteesin kannalta. Koska ajatuksena on sisällyttää kustomoitu sivuketju **6.23** nelirenkaaseen (tai jokin muu sivuketju, jonka additiotuote on **6.22**), on tämän ketjun konjugaattiaddition toimittava välituotteeseen **6.24**. Tästä syystä työssä lähdettiin liikkeelle syklobutaanisen bromiesterin **6.25** muuttamisesta hyödylliseksi välituotteeksi suunniteltua konjugaattiadditiota ajatellen (kaavio 6.2).



Kaavio 6.2: Alkuperäinen synteesistrategia bisyklin **6.2** valmistamiselle.

Tässä vaiheessa on tärkeää huomioida, että konjugaattiadditiossa elektrofiilinä ei suunniteltu käytettäväksi organokupraattiadditioissa yleisempää α,β -tyydyttymätöntä ketonia.⁸⁰ Mahdollisina vaihtoehtoina karbonyyliksi pidettiin esimerkiksi esteriä tai amidia **6.24**. Tämä johtuu siitä, että työn tarkoitus on tukea sekä renkaansulkumetateesia⁸¹, että selektiivistä

epoksidaatiota. Suunnitellun reitin kannalta kaaviossa 6.21 esitetyn **6.22** renkaansulkumetateesin on tapahduttava terminaalisen alkeenin kanssa, jossa R:n on oltava protoni. Jos terminaalinen alkeeni olisi muodostettu ketonista, niin R olisi jokin alkyyliiryhmä, eikä täten vastaisi humilisiini E:n malliainetta **6.21**. Tämän lisäksi, selektiivisen epoksidaation oletetaan suosivan eniten substituotua alkeenia välituotteessa **6.22**. Ketonista johdetun terminaalisen alkeenin substituutiotaso olisi sama kuin sivuketjun terminaalisen alkeenin substituutiotaso. Sama substituutiotaso yhä vähentäisi epoksidaatiossa halutun epoksidin **6.21** saantoa, sillä tässä tapauksessa ei epoksidaatiolle ei löytyisi regioselektiivisyyttä.



Kaavio 6.21: Reaktiomekanismi suunnitellulle renkaansulkumetateesille, joka muuntaa epoksidin **6.22** bisykliseksi humilisiini E:n malliaineeksi **6.21**.⁸¹

Epävarmuus konjugaattiadditioiden toimivuudesta syklobutaaniseen α,β -tyydyttymättömään esteriiin johti tutkimuskysymyksen kaventumiseen; mikä menetelmä sallii konjugaattiaddition α,β -tyydyttymättömään syklobutaaniseen esteriiin? Tämän avainvaiheen toimivuutta päätettiin lähteä kokeilemaan valmistamalla ensin esteri **6.24**, jossa R = OBn, jonka jälkeen voitaisiin alkaa etsimään toimivia konjugaattiadditiomenetelmiä tähän rakenteeseen.

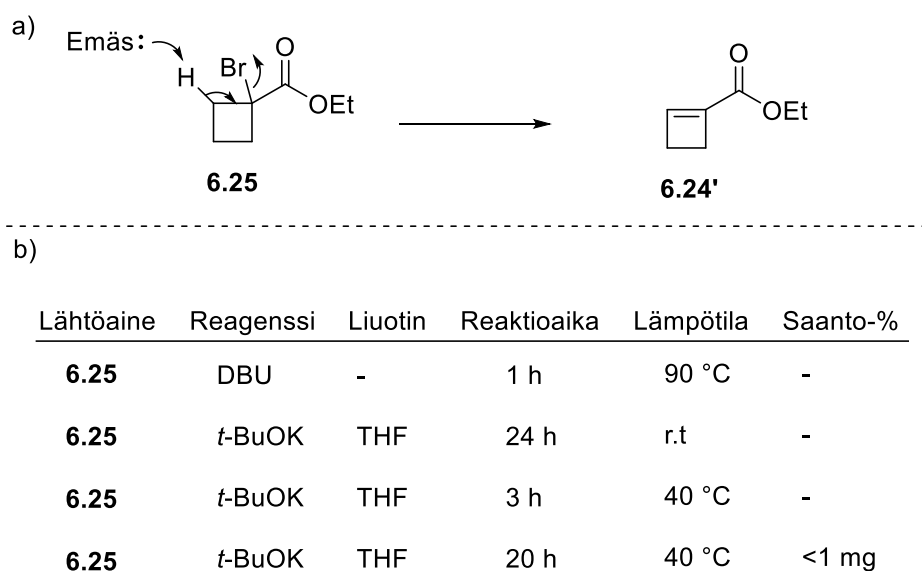
6.3 α,β -tyydyttymättömän esterin synteesi

Koska lähtöaineessa **6.25** on esteriryhmä valmiin, ensimmäinen ja loogisin idea oli eliminoida HBr ja muodostaa renkaaseen kaksoissidos. Näin voitaisiin muodostaa lähtöaineesta

yksinkertaisesti konjugaattiadditiotestejä varten α,β -tyydyttymätön esteri **6.24'** kuvan 6.3 a mukaisesti.

Eliminaatioreaktiota testattiin ensimmäiseksi kirjallisuudesta etsityllä vastaavalla reaktiolla, jossa emäksenä käytettiin 1,8-diatsabisyklo[5.4.0]undek-7-eenia (DBU)⁸². Reaktiossa noudatettiin kirjallisuudessa raportoituja reaktio-olosuhteita. DBU:in ja bromiesterin **6.25** seosta lämmitettiin 90 °C ilman liuotinta, ja reaktioseos muuttui heti oranssiksi ja tahmeaksi. Tällaista seosta oli hyvin vaikea monitoroida TLC:llä koostumuksen vuoksi, joten reaktio sammutettiin tunnin kuluttua reaktion aloittamisesta. Seos kuitenkin liukeni hyvin DCM:iin, mutta raakatuotteen protonispektristä ei ollut havaittavissa tuotteen piikkejä.

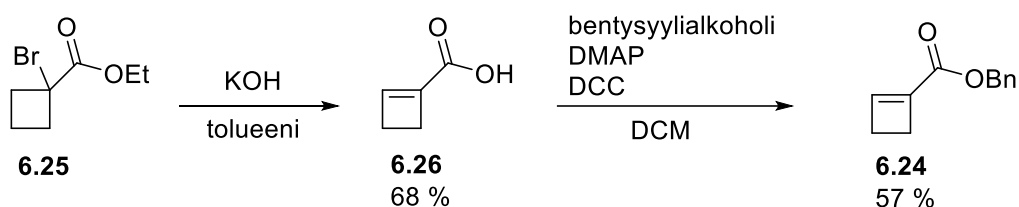
Emäs vaihdettiin kaliumtertbutoksidiksi, (*t*-BuOK), jota testattiin kolme kertaa erilaisilla asetuksilla. Koska *t*-BuOK on hygroskooppinen, punnittiin tätä nopeasti kolviin noin 1 ekvivalentti. Liuottimena käytettiin jokaisessa reaktiossa tetrahydrofuraania (THF), mutta reaktioaika ja lämpötila vaihteli. Valitettavasti vain yksi kokeista (kuva 6.3 b) tuotti TLC:lle haalean täplän, joka olisi saattanut olla tuotetta. Eristyksen ja konsentroidin jälkeen tämä kuitenkin katosi käytännössä kokonaan (<1 mg), eikä tuotetta jäänyt riittävästi sen karakterisoimiseksi.



Kuva 6.3: a) Suunniteltu HBr:n eliminaatio lähtöaineesta esterin **6.24'** muodostamiseksi ja b) taulukko kokeellisista yrittämisistä eliminaatioreaktiolle.

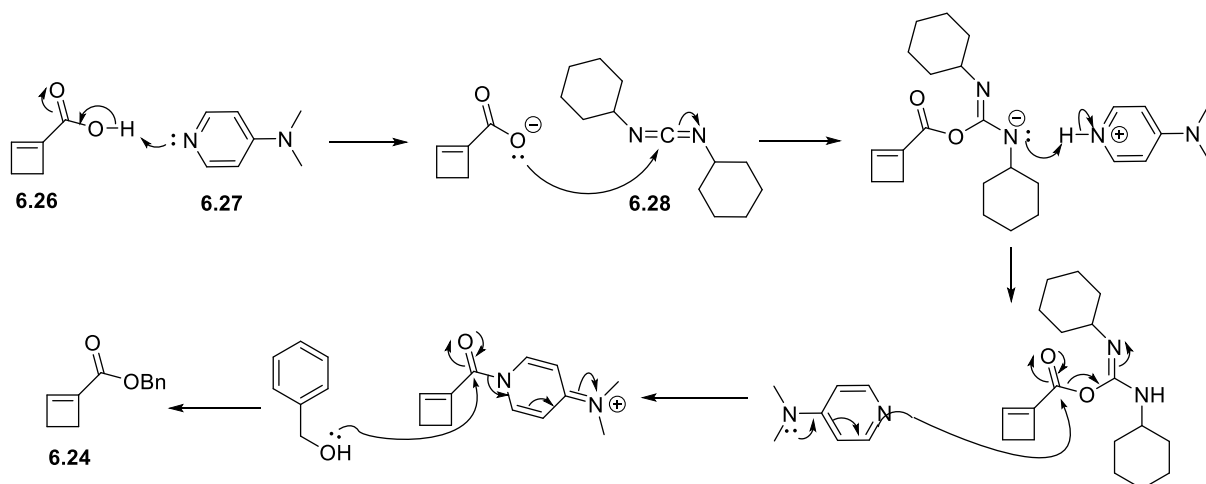
Tehokkaimmaksi tavaksi bromiesterin **6.25** muuttamiselle α,β -tyydyttömättömäksi esteriksi löytyi kaksivaiheinen synteesi (kaavio 6.31). Lähtöaine **6.25** hapetettiin karboksyylihapoksi

6.26 hyvällä saannolla (80 %) käyttämällä kaliumhydroksidia ja refluksoimalla tätä tolueenissa noudattamalla kirjallisuuden reseptiä.⁸³ Bromiesterin **6.5** tipoittainen lisäys kaliumhydroksidin tolueeniliuokseen aiheutti 0,5 ekviv. jälkeen eksotermisen reaktion, ja reaktioseos muuttui vaalean keltaiseksi. Reaktio toimi niin hyvin, että se pystyttiin nopeasti skaalaamaan grammamittakaavaan, eikä saantokaan jäänyt kuin 4 prosenttiyksikköä pienemmäksi verrattuna kirjallisuudessa raportoituun saantoon. Tuote uutettiin aina heksaani/etyyliasetatti -seoksella (15 % EtOAc), ja orgaanisten faasien konsentroiminen rotavaporilla kiteytti hapon nopeasti ja vaivattomasti. Tätä happoa voitiin käyttää esterin **6.24** valmistamisessa, joita testattiin kahdella eri reagenssilla ja erilaisilla reaktio-olosuhteilla.



Kaavio 6.31: Käytetty reaktioreitti α,β -tyydyttymättömälle bentsyylesterille **6.24**

Karboksylihapon **6.26** muutos esteriksi **6.24** kaavion 6.31 tapaan on nk. Steglich-esterifikaatio. Steglich-esterifikaatio on kytkentäreaktio, jossa käytetään disykloheksyylikarbodi-imidiä (**6.28**), sekä 4-dimetyyliaminopyridiiniä (**6.27**) alkoholin liittämässä karbonyylihiileen.⁸⁴ Reaktiomekanismi on havainnollistettu kaaviossa 6.32.



Kaavio **6.32**: Työssä käytetyn bentsyyliesterin **6.24** muodostuminen Steglich-esterifikaatiolla.⁸⁴

Reaktiossa seurattiin kirjallisuutta⁸⁵, mutta parhaimmat saannot saatiin muutetuilla reagenssien suhteilla, konsentraatiolla ja reaktioajalla. Reaktiota kokeiltiin sekä asetonitriilissä (ACN), että dikloorimetaanissa (DCM). Optimointitestit esterin valmistamiselle on listattu taulukkoon **6.31**. Saannon ja puhtauden kannalta tehokkaimmaksi menetelmäksi osoittautui 1 ekviv. DCC:tä, 0,1 ekviv. DMAP:ia, 1,5 ekviv. bentsyylialkoholia sekä DCM liuottimena. Parhaimman saannon tuottavissa reaktioissa liuotinta lisättiin tarvittava määrä, jotta happoon suhteutettuna liuoksen konsentraatio oli n. 0,5 M. Reaktiossa muodostui kiinteää disykloheksyyliureaa (DCU). Esterin puhdistusvaiheessa kokeiltiin sekä menetelmää, jossa kiteytynyt DCU suodatettiin pois ennen flash-kromatografiaa että myös konsentroidun, suodattamattoman reaktioseoksen suoraa puhdistamista. DCU:n suodatus tuotti parhaimman saannon. Combiflash-laitteistolla toteutettu kromatografinen puhdistus osoittautui huomattavasti selkeämmäksi kuin puhdistaminen pylväskromatografialla ja paransi saantoa ja tuotteen puhtautta aiempiin pylväspuhdistuksiin verrattuna. Eluenttiseoksena käytettiin pentaania ja dietyylieetteriä, joka aloitettiin 5 % ja nostettiin 20 % 20 minuutin ajossa (5 % → 20 % Et₂O). Karboksyylihapon esteröintiä yritettiin myös 2-metyyli-2-butanolilla sekä ACN:ssä että DCM:ssä, mutta tuotefraktioista ei jäänyt tarpeeksi analysoitavaksi. Oletettavasti tertiäärinen alkoholi reagoi näissä olosuhteissa huomattavasti hitaammin kuin primäärinen alkoholi.

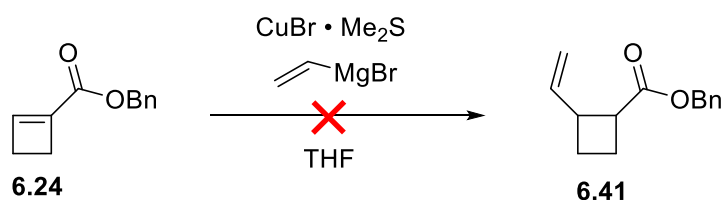
6.4 Konjugaattiadditio

Ensimmäinen idea konjugaattiadditiolle oli käyttää organokupraattia. Näiden reagenssien toimivuutta 1,2- ja 1,4-additioissa erilaisiin elektrofiileihin, kuten karbonyyleihin on tutkittu paljon, ja ne ovat integroituneet tärkeäksi osaksi orgaanista synteesiä.^{80,86}

Alkuperäisenä ajatuksena oli hieman toiveikkaasti testata ensin vinyylisen kupraatin konjugaattiadditiota, vaikka se ei johdakaan haluttuun välituotteeseen. Tämä ajatus lähti siitä, että vinyylisen kupraatin valmistaminen on helpompaa kuin allyylisen tai metalliylisen kupraatin. Tällä tavalla voitaisiin sivuuttaa hyvin todennäköinen turha työ, jos vinyylinen konjugaattiadditio ei toimi.

Organokupraatin muodostaminen voidaan tehdä reagoittamalla matalassa lämpötilassa Grignardin reagenssia (kuten vinyylimagnesiumbromidia) ja kupari(I)halidia. Muodostuva alkyyli-CuMgBr-kompleksi toimii pehmeänä nukleofiilinä, mahdollistaen selektiivisen 1,4-konjugaattiaddition α,β -tyydyttymättömään karbonyyliin. Vinyylinen kupraatti tehtiin kosteudelta ja ilmalta suojattuna argonin alla, ottaen esimerkkiä kirjallisuudesta.⁸⁷

Reaktio tehtiin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ lämpötilassa käyttäen liuottimena THF:ia. Yllätykseksemme, bentsyyliesterin **6.24** tapauksessa konjugaattiadditiota ei tapahtunut ollenkaan (kaavio 6.4), ja **6.24** säilyi sammutuksen ja eristämisen jälkeen protonispektrin perusteella täysin koskemattomana. Reaktiota yritettiin kaksi kertaa, toisella kerralla kuivaamalla kuparibromidikompleksia huolellisemmin ennen liuottimen ja vinyylimagnesiumbromidin lisäämistä. Tästäkään huolimatta reaktiota ei saatu käynnistettyä.

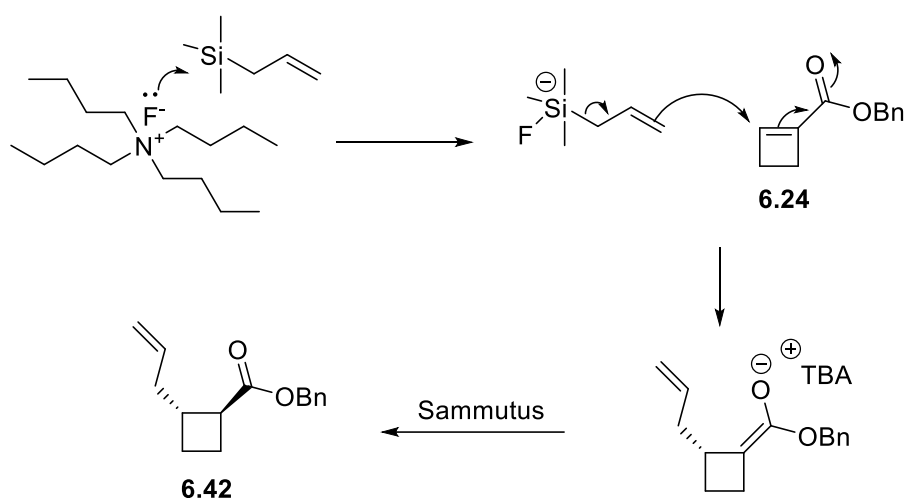


Kaavio 6.41: Esterin **6.24** 1,4-vinylaatioyritys vinylikupraatin konjugaattiadditiolla tuotteeksi **6.41**.

Organokupraattiadditiot ovat suhteellisen hyvin tunnettuja ja yleisesti ottaen toimivia.⁸⁰ Koska esterin **6.24** tapauksessa tämä ei kuitenkaan toiminut, päätimme laittaa koko ajatuksen kupraattiadditiosta sivuun.

Tarkemman kirjallisuuskatsauksen jälkeen löytyi fluoridi-ioni-indusoitu allylaatio käyttäen allyylistä silaania lähtöaineena. Reaktiota on tutkittu useilla erilaisilla α,β -tyydyttymättömillä ketoneilla, estereillä ja ketoestereillä.⁸⁸ Tätä päätettiin kokeilla, koska se vaikutti reaktiivisesti lupaavalta α,β -tyydyttymättömän esterin kanssa, ja se olisi mahdollisesti käytännöllinen keino liittää tulevaisuudessa myös kustomoitu sivuketju esteriin.

Reaktiossa muodostetaan pentavalenttinen allyylinen silaani koordinoimalla fluorianioni piihin. Tämä rakenne toimii pehmeänä nukleofiilinä ja hyökkää 1,4-additiolla tetrabutyyliammoniumenolaattiin, jonka jälkeen reaktio sammutetaan ja saadaan haluttu tuote (kaavio 6.42).⁸⁸



Kaavio 6.42: Fluoridi-indusoitu esterin **6.24** 1,4-allyloinnin mekanismi.⁸⁸

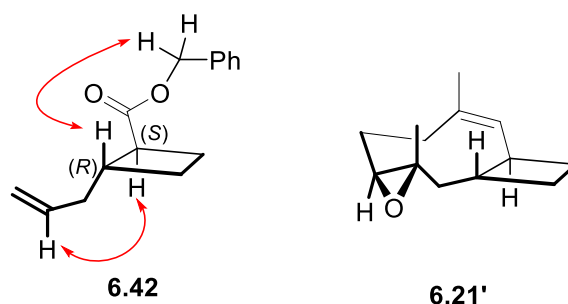
Kuten aiempien välituotteiden valmistamisessa, tässäkin reaktiossa seurattiin kirjallisuutta⁸⁸, mutta kuten esterin **6.24** valmistuksessa, parhaimmat tulokset saannon kannalta tulivat muunnelluilla reagenssimäärillä ja reaktioajoilla. Tämän lisäksi käytössä ollut tetrabutyyliammoniumfluoridi (TBAF) ei ollut kiinteässä muodossa, vaan 1 M THF:ssä. Reaktiot tehtiin huolellisesti kosteudelta suojattuna, lisäten jokainen reagenssi omasta 2-kaulaisesta kolvistä, jotka olivat uunikuivattu ja huuhdeltu vakuuissa ja argonissa. Liuottimena käytettiin kuivaa dimetyyliformamidia (DMF). Heksametyylifosforiamidi (HMPA) jätettiin pois ensimmäisen yrityksen jälkeen, koska se on herkkä kosteudelle eikä sen roolista reaktiossa ollut varmuutta. Parhain saanto saatiin koenumerossa 3 (taulukko 6.42), jossa TBAF kuivattiin molekyyliseuloilla (4 Å). Tämän lisäksi reaktiokolvi sisälsi molekyyliseuloja. TBAF:n määrä vaikutti positiivisesti saantoon, nostamalla kirjallisuudessa raportoidun 0,1 ekviv. katalyyttisen määrän stoikiometriseen määrään. Reaktioseos muuttui keltaisesta viininpunaiseksi, kun trimetyyliallyylisilaaania alettiin lisätä reaktioseokseen tipoitain. Reaktioissa muodostui nopeasti täplät TLC-levyille, joissa oli havaittavissa lähtöaine himmeästi, sekä juuri sen yläpuolella tuote. Reaktioaika ei tuntunut vaikuttavan tuotteen määrään, sillä tunnin reaktioajan jälkeenkin TLC:llä ei tapahtunut merkittäviä muutoksia verrattuna 10 minuutin TLC-näytteeseen. Valitettavasti reaktion saanto jäi parhaimmassakin tapauksessa vain 15 %. Tämä saattaa johtua siitä, että kirjallisuudessa käytettiin kiinteää TBAF:ia, ja meidän kokeessamme käytetty TBAF:n THF-liuos saattoi vaikuttaa allyylaatioon, sillä osa liuottimesta oli tässä tapauksessa THF:ää.

Taulukko 6.42: Koejärjestelyt jokaiselle kokeillulle allylointireaktiolle tuotteeksi **6.42**

Koe #	TBAF	Allyyli-TMS	Aika	Saanto (6.42)
1 ^a	0,1 ekviv.	3 ekviv.	30 min	2,8 %
2	1 ekviv.	3 ekviv	45 min	6,3 %
3 ^b	1 ekviv.	3 ekviv	45 min	~15 %
4	2 ekviv.	3 ekviv	1 h	-

a: HMPA 3 ekviv. lisäys reaktioseokseen
 b: molekyyliisulat TBAF:ssa sekä reaktiokolvissa

Matalasta saantoprosentista huolimatta positiivista tässä tuloksessa on se, että reaktio toimii. Vaikka stereokemian kontrolli ei ollut kuulunut alkuperäiseen suunnitelmaan, oli mielenkiintoista havaita, että muodostunut allylaatiotuote **6.42** ilmensi humilisiini E:n 9- ja 4-renkaan stereokemiaa. Suhteellinen stereokemia määritettiin 1D-NOE ja 2D NOESY-kokeilla. Kuvassa 6.4 on havainnollistettu allylaatiotuotteen **6.42**:n diastereomeria protonikorrelaatioina ja vertailupohjana on humilisiini E:n länsiosan kolmiulotteinen rakenne.



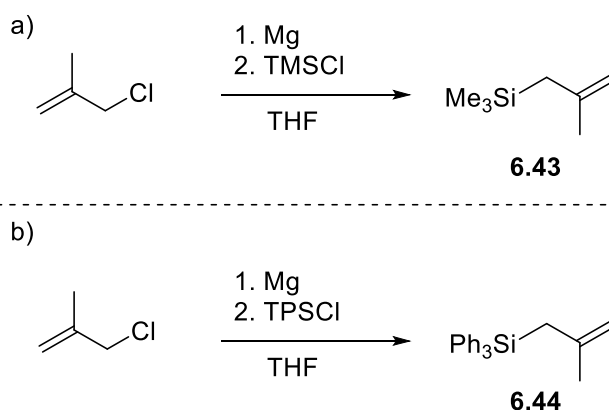
Kuva 6.4: Allyloituneen tuotteen **6.42** stereokemia ja NOE-korrelaatiot. Vertailupohjana myös humilisiini E:n länsiosan **6.21'** kolmiulotteinen malli.

Tulokset motivoivat kokeilemaan vastaavaa reaktiota metallilyylisellä silaanilla. Metallilylointi simuloisi oikeanlaista liitoskohtaa metallilylaatiotuotteessa, joka olisi esterin **6.24** ja kaavaillun sivuketjun välillä.

Trimetyyli-(2-metallyyli)-silaani (**6.43**) valmistettiin noudattamalla kirjallisuutta⁸⁹ kaavion 6.43 a mukaisesti. Reaktiossa muodostettiin metallyylinen Grignard lisäämällä tämän kanssa

reagoiva yhdiste, trimetyylisilylikloridi (TMSCl), *in situ* huoneenlämmössä argonin alla. Reaktioon annettiin edetä yön yli ennen sammutusta. Tuote pestiin vedellä ja heksaanilla. Tämä reaktio onnistui kohtuullisen hyvin, vaikka hieman hankala ja työläs tuotteen tislauksen jälkeen tuotteen protonispektriin heksaanijäämiä.

Samalla reaktiolla, mutta hieman erilaista kirjallisuusohjetta noudattaen⁹⁰, valmistettiin trifenyylisilyli-(2-metallyyli)-silaani (**6.44**) kaavion 6.43 b) tapaan. Suurin ero **6.43** valmistuksessa kirjallisuuteen verrattuna oli reaktioajassa ja lämpötilassa. **6.44**:n synteesi käynnistettiin 0 °C lämpötilassa, ja 30 minuutin kuluttua käynnistyksestä lämpötila nostettiin 45 °C. Reaktio sammutettiin 4 tunnin kuluttua käynnistyksestä. Tislauksen onnistui paljon helpommin, sillä tuote oli kiinteä vielä reilusti yli liuotimien kiehumispisteiden. Loppuen lopuksi havaittiin, että tuote kesti hyvin myös vesikiertovakuumia, jolla loputkin liuotinjäämät saatiin kuivattua.



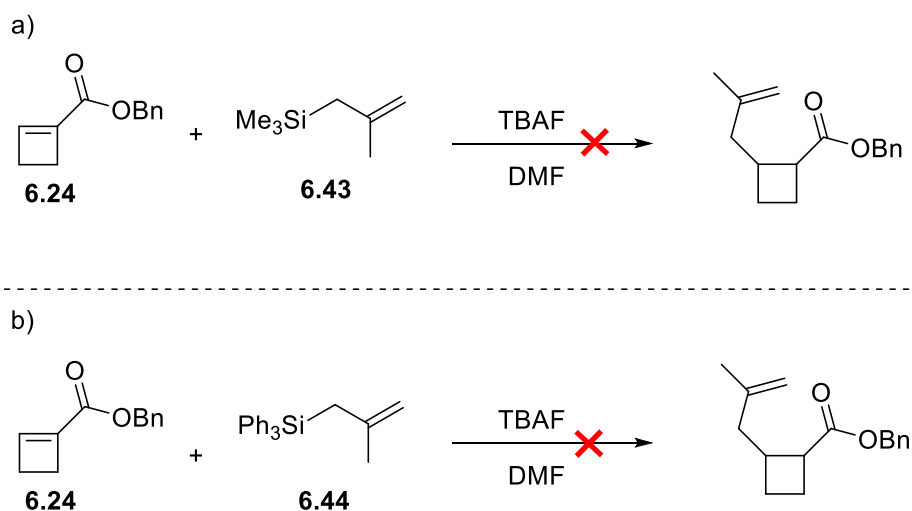
Kaavio 6.43: a) Trimetyyli- (**6.43**) ja b) trifenyylisilyli-(2-metallyyli)-silaanin (**6.44**) syntetisointi.^{89,90}

Valmistetuilla metallyylisilaaneilla **6.43** ja **6.44** yritettiin kaavion 6.44 mukaista reaktiota. Tämä oli vastaavanlainen kuin kaavion 6.42 allylaatio, mutta uusien lähtöaineiden **6.43** ja **6.44** tapauksessa reaktiota voidaan kutsua fluoridi-ioni-indusoiduksi metallylaatioksi.

Reaktioiden kokeelliset olosuhteet kopioitiin fluoridi-ioni-indusoidulle allylaatiolle raportoidusta kirjallisuudesta käyttäen optimointeja, jotka takasivat parhaan allylaatiossaannon (taulukko 6.42). Kaavion 6.44 molempia reaktiota a) ja b) seurattiin TLC:llä noin 45 minuutin ajan. Trimetyyli-(2-metallyyli)-silaanilla (**6.43**) yritetty metallylaatio muuttui väriltään tummaksi lähes heti silaanin tipoitaisen lisäyksen jälkeen. Kaavion 6.44 a) reaktiossa 10 minuutin ja 45 minuutin jälkeen lähtöaine **6.24** näkyi TLC-levyllä yhtä himmeänä täplänä

kummallakin TLC-analyysikerralla, mikä johti päätökseen sammuttaa reaktio. Oletettua tuotetta ilmestyi TLC-levylle hyvin ohuena ja himmeänä täplänä juuri lähtöaineen yläpuolelle. Konsentroidin jälkeen pylvällä eristetyt fraktiot esterin ja oletetun tuotteen välillä olivat peräkkäin, mutta silti siististi erillään. Valitettavasti näiden fraktioiden konsentroidin jälkeen vain esteristä **6.24** jäi tarpeeksi sen karakterisoimiseksi. Oletettu metallyloitu tuote katosi käytännössä kokonaan.

Samaa menetelmää mallintaen tehtiin myös kaavion 6.44 b metallylointi. Tässä reaktiossa erilaista oli DMF-ylimäärä, sillä kiinteä **6.44** liukeni DMF:iin heikosti. Kun **6.24** ja TBAF:in DMF liukseen lisättiin tipoitain **6.44**, reaktio muuttui keltaisesta viinipunaiseksi (kuten fluoridi-ioni-indusoiduissa allylaatioissa). Väri vaikutti lupaavalta, mutta reaktiota ei silti tapahtunut. Reaktio sammutettiin, kun havaittiin esterin **6.24** täplän TLC:llä kadonneeksi. Sen tilalle muodostui täplä hieman reaktion alussa näkyneen **6.24** täplän yläpuolelle. Tämän lisäksi muodostui TLC:llä täplä **6.24** alapuolelle, joka oli oletettavasti reaktion sivutuotteena muodostuvaa fluoritrifenyylisilaania. Raakatuote puhdistettiin Combiflash-laitteistolla käyttäen pentaani/dietyylieetterin ajoliuosta. Valitettavasti fraktioista löytyi, vasten odotusta TLC:n perusteella, lähtöaine **6.24**. Tämän lisäksi eluotui myös trifenyylisilanoli, joka oletettavasti muodostui reaktion sammutuksessa fluorotrifenyylisilaanista.



Kaavio 6.44: Reaktiokaaviot fluoridi-ioni indusoidulle metallylaatiolle a) trimetyylisellä silaanilla **6.43** ja b) trifenyylisellä silaanilla **6.44**.

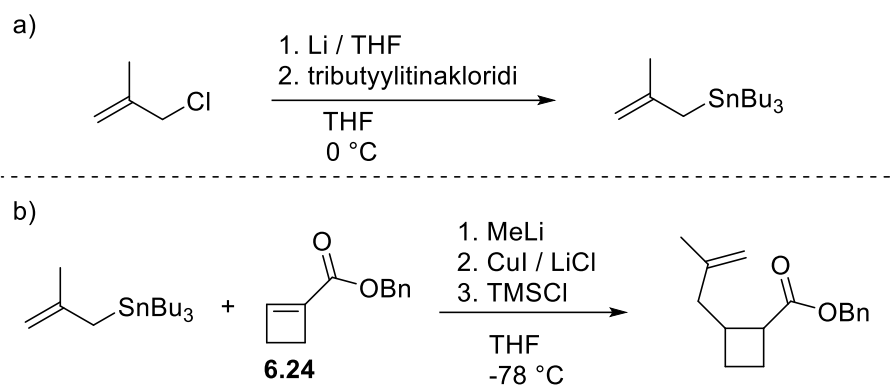
6.5 Vaihtoehtoiset ideat

Tämän *pro gradun* aikana on pohdittu useita vaihtoehtoisia reittejä humilisiini E:n malliaineen valmistamiseksi. Kuten aiemmin mainittiin, bromiesteri **6.25** muutettiin käyttökelpoiseen muotoon 1,4-konjugaattiadditiota varten, joka valikoitui erilaisten kokeiden jälkeen bentsyyliesteriksi **6.24**.

Yksi potentiaalisista vaihtoehdoista konjugaattiadditiolle olisi voinut olla kupraattiadditio α,β -tyydyttymättömään esteriin **6.24** TMSCl:in läsnäollessa, tai vaihtoehtoisesti kupraattiadditio amidiin. Kaavion 6.4 vinyylukupraatin konjugaattiaddition epäonnistuminen oli kiinnostava havainto, joka johti syiden etsimiseen kirjallisuudesta. Aleksakis työryhmineen tutkivat useiden erilaisten α,β -tyydyttymättömien esterien ja amidien reaktioita organokupraattien kanssa. He mainitsivat, että α,β -tyydyttymättömät esterit eivät reagoi toivotulla 1,4-konjugaattiadditiolla lähes minkään organokupraatin kanssa. Näissä reaktioissa esterit muuttuvat tuntemattomiksi korkean molekyylipainon tuotteiksi. α,β -tyydyttymättömät amidit eivät reagoi 1,4-additiolla ollenkaan. Tämän pohjalta ei ole edes oletettavissa, että vinyylukupraattiadditio kaavion 6.4 mukaisesti voisi toimia. He kuitenkin raportoivat, että TMSCl:in lisäys näiden α,β -tyydyttymättömien esterien ja amidien reaktioseoksiin muodostaa 1,4-addukteja hyvällä saannolla, ja sivutuotteiden määrä on hyvin pieni.⁹¹ Tämä perustuu Normantin työryhmän tutkimukseen, jossa he havaitsivat, että α,β -tyydyttymättömän aldehydin enolaatin voi lukita TMSCl:lla, jos se lisätään reaktioseokseen ennen enolia.⁹²

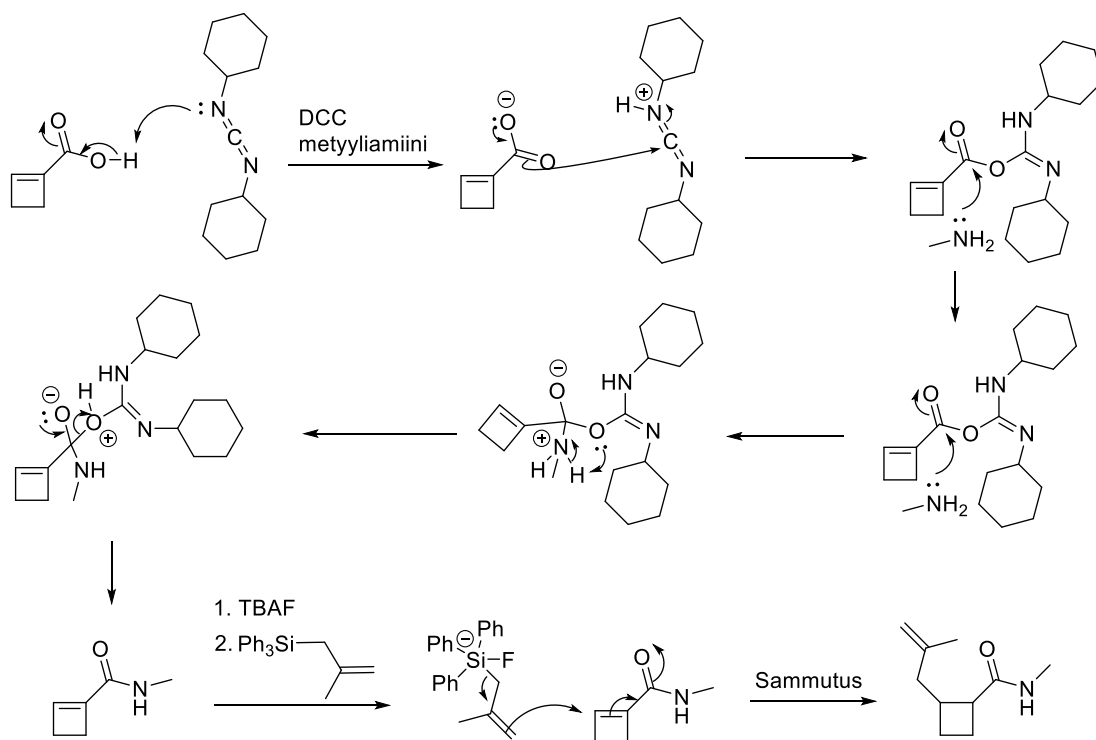
On siis erittäin mahdollista, että tässä työssä yritetty konjugaattiadditio vinyylukupraatilla olisi voinut onnistua TMSCl:ia käyttämällä. Tämän lisäksi, jokin amidi näissä olosuhteissa olisi voinut tuottaa myös 1,4-adduktin.

Ongelmallista yllä mainitussa ideassa on haluttu *metallyylisten* sivuketjun liittäminen, sillä metallyyiset ja allyyiset organokupraatit ovat kovempia nukleofiilejä kuin alkyylukupraatit, ja siten kasvattaa riskiä 1,2-additioon. Lipshutz työryhmineen ovat tehneet töitä selvittääkseen regioselektiivisyyttä allyylisten ja metallyylisten organokupraattien additiossa α,β -tyydyttymättömiin ketoneihin.^{93,86} Lipshutzin työryhmän käyttämän menetelmän hyödyntäminen metallyyisen organokupraatin kanssa saattaa olla toimiva ratkaisu esterin **6.24** metallyloimiselle. Esteri **6.24** on myös vähemmän elektrofiilinen kuin ketonit, joita Lipshutzin työryhmä käytti, mikä tekee esteristä vielä todennäköisemmin regioselektiivisen 1,4-kupraattiaddition vastaanottajan. Aleksakisin työryhmän sekä Lipshutzin työryhmän tulosten pohjalta kaaviossa 6.5 a ja b on esitetty ajatukset, jotka vaikuttaisivat lupaavalta tulevaisuuden suunnitelmalta esterin **6.24** metallylaatiolle.



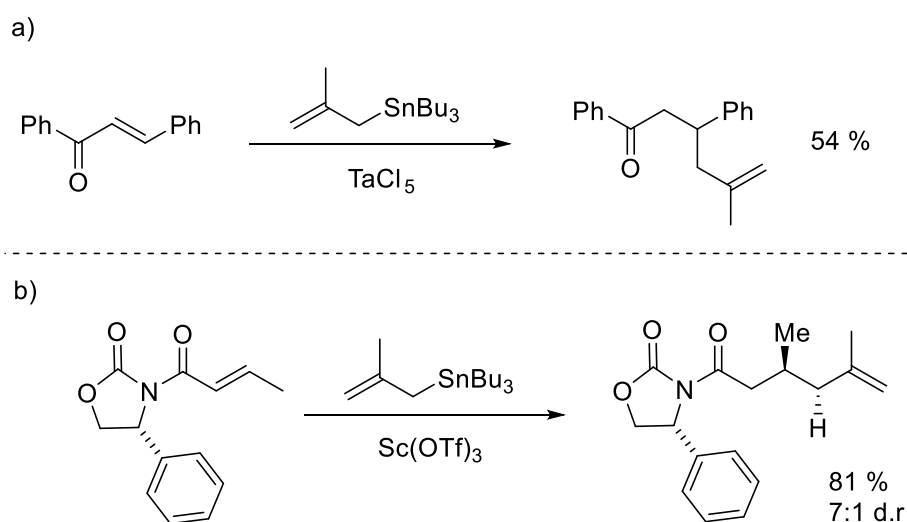
Kaavio 6.5: a) Esimerkki metallilyyisen tributyyliinän valmistusolosuhteista⁹⁴ ja b) sen käyttö potentiaalisesti tehokkaana metallilyyisenä 1,4-additioreagenssina esterin **6.24** kanssa.⁸⁶

α,β -tyydyttymätön amidi oli vaihtoehto myös muiden konjugaattiadditioiden pohdinnoissa. Olisi mielenkiintoista tietää, kuinka fluoridi-ioni-indusoitu allylaatio toimisi amidin tapauksessa, ja voisiko metallilyaatio toimia α,β -tyydyttymätön amidin kanssa. Tätä olisi voitu kokeilla tekemällä jokin amidi karboksyylihaposta, esimerkiksi DCC-kytkennällä tai happokloridivälituotteen kautta. Kaaviossa 6.51 on esitetty mahdollisen amidin valmistus, sekä sen hypoteettisen fluoridi-ioni-indusoidun metallilyaation reaktiomekanismi.



Kaavio 6.51: Reaktiomekanismi vaihtoehtoisen amidin valmistukselle sekä sitä seuraavalle mahdolliselle fluoridi-ioni-indusoidulle metallilyaatiolle.^{84,88}

On myös mahdollista, että käytetyt metallylaatioreagenssit **6.43** ja **6.44** fluoridi-ioni-indusoidussa 1,4-additiossa eivät ole tarpeeksi reaktiivisia. Ryhmän 14 heteroatomien vaihtaminen metallyylisessä reagenssissa piistä joksikin muuksi saattaa vaikuttaa reaktion käynnistymiseen, jos yhdiste olisi silaania reaktiivisempi. Erilaisille α,β -tyydyttymättömille ketoneille ja fenoneille on raportoitu toimivia allylointeja ja metallylointeja β -asemaan käyttämällä allyylisia- ja metallyylisiä tributyyliytinayhdisteitä. Enoni voidaan aktivoida tässä tapauksessa tantaalipentakloridilla. Kaaviossa 6.52 a on kokeellinen esimerkki kirjallisuudesta.⁹⁵

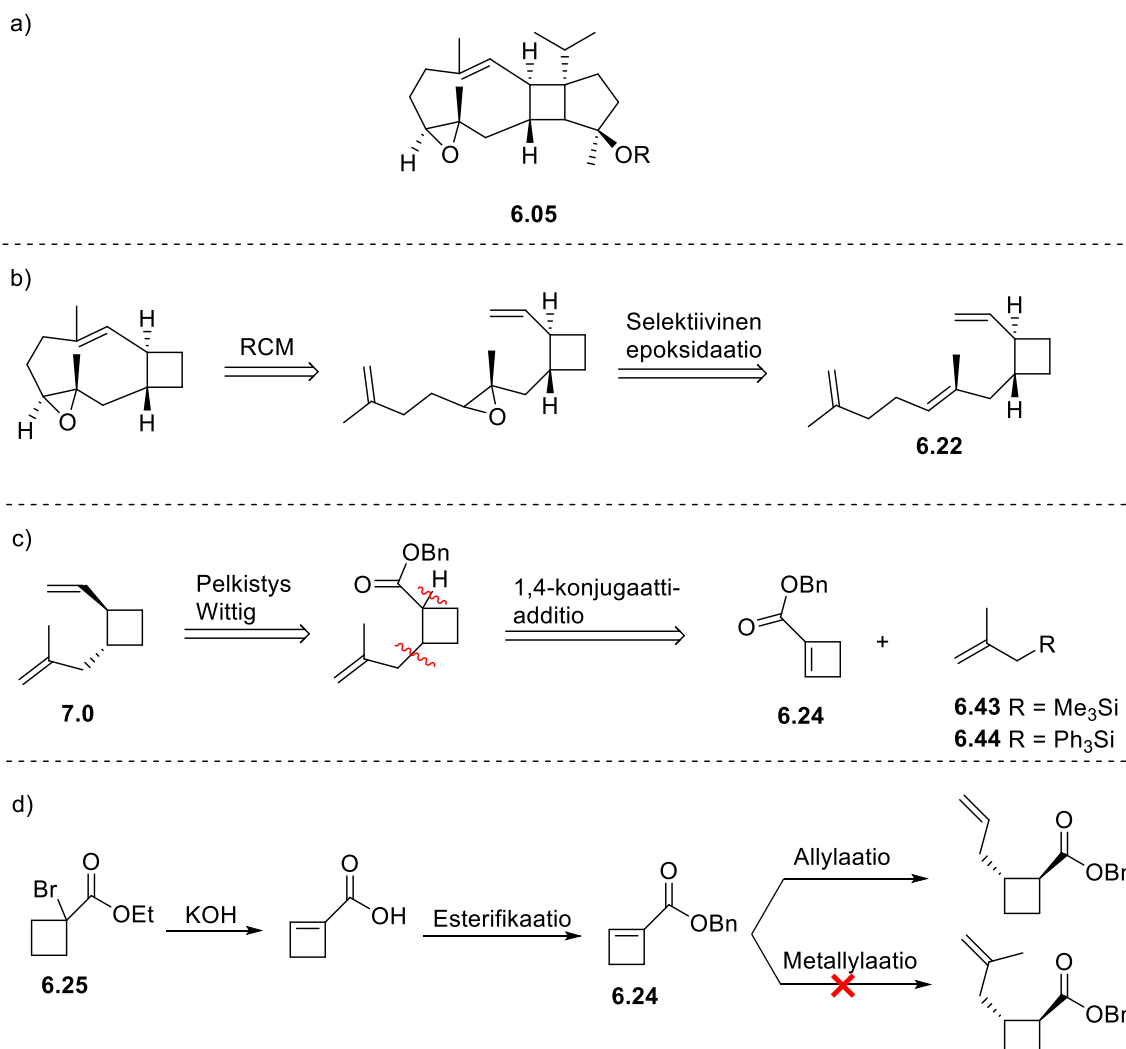


Kaavio 6.52: a) Metallylaatio α,β -tyydyttymättömille fenonille metallyylisellä tributyylisilaanilla⁹⁵. b) α,β -tyydyttymättömän *N*-enyyli-4-fenyyli-1,3-oksatsolidinonin konjugaattiadditio stereoselektiivisesti.⁹⁶

Amidille lupaavan oloinen mahdollisuus on myös 4-fenyylioksatsolidinonien (*R*)- ja (*S*)-enantiomeerit, joita voidaan käyttää stereoselektiivisessä metallylaatiossa hyvällä saannolla. Tässä reaktiossa voidaan käyttää erilaisia Lewis-happoja, kuten skandiumtriflaattia jota käyttäessä on raportoitu hyvä saanto ja diastereomeerinen suhde metallylaatiotuotteelle (kaavio 6.52 b).⁹⁶

7 Yhteenveto

Tämän *pro gradu* -tutkielman kokeellisessa osassa kartoitettiin vaihtoehtoja humilisiini E:n (**6.05**, kaavio 7 a) länsiosan synteesiin lähtien valmiista syklobutaanista **6.25** (kaavio 7 d). Tarkoituksena oli selvittää, voiko α,β -tyydyttymättömän karbonyylin sisältävästä syklobutaaniyksiköstä valmistaa 1,4-konjugaattiadditiolla syklobutaanijohdannaista **6.22** (kaavio 7 b) mallintava 1,4-additiotuote **7.0** (kaavio 7 c). Kokeellisessa osassa onnistuttiin valmistamaan bentsyyliesteristä **6.24** allyloitu tuote trimetyyliallyylisilaanilla, mutta metalliyliset silaanit **6.43** ja **6.44** eivät onnistuneet bentsyyliesterin metalliloinnissa.



Kaavio 7: a) Humilisiini E. b) Suunnitellun strategian retrosynteesin avainvaiheet humilisiini E:n länsiosalle **6.22**. c) Tämän *pro gradun* kokeellisen osan tavoite; selvitettiin voiko retrosynteesikaavion mukaisesti valmistaa humilisiini E:n länsiosaa mallintavaa yhdistettä **7.0**. d) Kokeellisen osan tulokset kuvattu eteenpäin menevällä synteesillä.

Onnistunut allylaatio kuitenkin rohkaisee tutkia metallylaation mahdollisuuksia tulevaisuudessa tarkemmin. Jos metallylaatiolle löytyy keino, jolla dieeniä **7.0** saisi hyvällä saannolla valmistettua, on hyvät mahdollisuudet valmistaa trieni **6.22**.

Tämän *pro gradun* kokeellisen osan pohjalta voisi olla järkevää kokeilla joitain silaaneja reaktiivisempia nukleofiiliä 1,4-additiolle. Silaanien sijaan on mahdollista, että esimerkiksi metallyyliset tinayhdisteet voisivat reagoida 1,4-additiolla. Potentiaalinen vaihtoehto on myös metallyylisen kupraatin käyttäminen, lisäten TMSCl :ia reaktioseokseen ennen esteriä **6.24**.

Näiden lisäksi karbonyylin vaihtaminen esteriä elektrofiilisemmäksi amidiksi voi auttaa. Amidia olisi syytä testata sekä tässä työssä kokeilluilla reaktioilla, että luvussa 6.5 mainituilla ehdotuksilla. Stereokontrollin näkökulmasta potentiaalisesti hyvä ajatus seuraaville kokeille on hyödyntää haposta **6.26** valmistettua 4-fenyylisatsolidinin amidia.

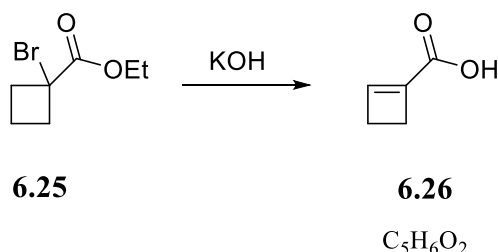
8 Kokeelliset menetelmät

Kaikki reaktiot suoritettiin ilmalta ja kosteudelta suojattuna. Kosteuserkissä reaktioissa käytettiin uunilla (120 °C) ja kuumailmapuhaltimella kuivattuja lasitavaroita. Synteeseissä käytettiin kuivia liuottimia (THF, tolueni, ACN, DCM) jotka otettiin MBraun SPS-800 -liuotinkuivausjärjestelmästä. Muut reagenssit ja liuottimet (HPLC-laatu) käytettiin valmistajien toimittamassa muodossa. Reaktioiden seurantaan ja R_f -arvojen määrittämiseen käytettiin Merck silica gel F254 (200–400 mesh) TLC-levyjä. Väriaineina käytettiin kaliumpermanganaatin (4 g KMnO_4 , 30 g K_2CO_2 , 7,5 ml 1 M NaOH, 450 ml H_2O) liuosta. Tuotteiden puhdistukset tehtiin käsin flash-kromatografisesti käyttäen Merck silica gel 60 (230–400 mesh) -silikaa tai Teledyne Isco Combiflash R_f -laitteella käyttäen RediSep R_f Gold (400–632 mesh) -silikakolonnia.

Tuotteiden sulamispisteet määritettiin Bibby-Stuart Scientific SMP3 -sulamispistelaitteella. IR-spektrit mitattiin Bruker Tensor 27 FTIR -spektrometrillä. Tarkan massan määrittämiseen käytettiin Agilent 6560 Ion Mobility Q-TOF-massaspektrometriä. Yhdisteiden NMR-mittaukset tehtiin Bruker Avance III HD 300 MHz -spektrometrillä ja Bruker Avance III HD 500 MHz -spektrometrillä. Spektrien siirtymät on ilmoitettu ppm-asteikolla suhteutettuna CDCl_3 :n jäännösprotinin ($\delta_{\text{H}} = 7,26$ ppm) tai jäännöshiilen ($\delta_{\text{H}} = 77,16$ ppm) siirtymiin.

8.1 α,β -tyydyttymättömän karbonyylin valmistus

8.1.1 Syklobut-1-eeni-1-karboksylihappo



Kaliumhydroksidin (4,7 g, 83 mmol, 4,5 ekviv.) ja kuivan tolueenin (50 ml) seos nostettiin refluksointilämpötilaan (110 °C). Seokseen lisättiin tipoitain etyyli-1-bromisyklobutaani-1-karboksyylaattia (**6.26**) (3,0 ml, 19 mmol, 1 ekviv.) Reaktio annettiin edetä 1 h refluksointilämpötilassa. Reaktio sammutettiin vedellä (50 ml) ja eristettiin etyyliasetaatilla (30 ml) ja dietyylieetterillä (30 ml). Vesifaasin tehtiin happamaksi 1 M HCl-liuoksella, ja pestiin etyyliasetaatilla (3x15 ml). Orgaaniset faasit yhdistettiin ja pestiin kylläisellä suolaliuoksella (50 ml) ja kuivattiin kidevedettömällä Na_2SO_4 :lla. Raakatuote konsentroidtiin ja puhdistettiin flash-kromatografiolla (EtOAc / *n*-heksaani 17:100). Tuotetta sisältävät fraktiot haihdutettiin alipaineessa ja vakuuissa.

Valkoinen kiinteä aine, (1,2 g, 68 %);

Sp. 68–70 °C;

R_f (MeOH/DCM 5:100): 0,25 ($KMnO_4$)

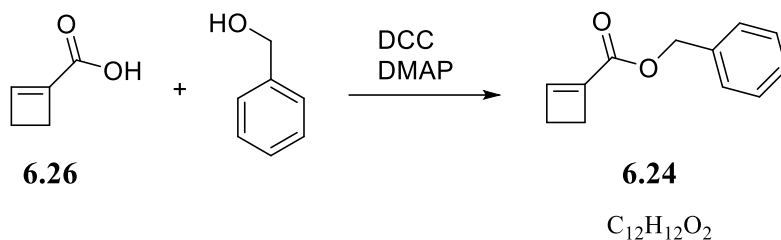
IR (filmi, cm^{-1}): 2974, 2925, 2611, 2544, 1662, 1593, 1412, 1307, 1244, 1202, 1124, 909, 882, 807, 742, 694, 557, 431;

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 10,4 (s, OH), 6,92 (t, $J = 1.1$ Hz, 1H), 2,65 (t, $J = 3.2$ Hz, 2H), 2,5 (td, $J = 3.8, 1.2$ Hz, 2H);

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ 166.9, 149.9, 138.3, 29.1, 27.4;

Yhdisteestä mitattu data vastasi kirjallisuusarvoja.^{97,83}

8.1.2 Bentsyylisyklobut-1-eeni-1-karboksylaatti



Karboksyylihapon **6.26** (490 mg, 4,1 mmol, 1 ekviv.) DCM-liuokseen (40 ml) lisättiin fenyyliimetanolia (0,64 ml, 6,1 mmol, 1,5 ekviv.). Seoksen annettiin jäähtyä 0 °C 30 min ajan. Seokseen lisättiin peräkkäin DMAP (50 mg, 0,4 mmol, 0,1 ekviv.) ja DCC (1 g, 4,9 mmol, 1,2 ekviv.). Reaktioon annettiin edetä 72 h, jonka jälkeen raakatuote suodatettiin ja puhdistettiin CombiFlash-laitteistolla (Et₂O/pentaani 5:100 → 20:100). Tuotteen sisältänyt fraktio konsentroidtiin.

Kirkas öljy, (510 mg, 57 %);

R_f (EtOAc/*n*-heksaani 40:100): 0,7 (KMnO₄)

IR (filmi, cm⁻¹): 3066, 3034, 2930, 2118, 1713, 1608, 1498, 1455, 1418, 1376, 1315, 1278, 1238, 1186, 1107, 1046, 1029, 964, 907, 866, 825, 799, 779, 735, 691, 601, 588, 533, 461;

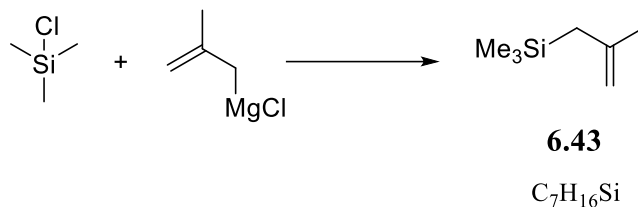
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,33-7,37 (m, 5H), 6,80 (d, $J = 1.0$ Hz, 1H), 5,18 (s, 2H), 2,75 (t, $J = 3.2$, 2H), 2,48 (td, $J = 3.6, 1.1$, 2H);

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 162.0, 147.0, 138.5, 136.1, 128.5, 128.2, 65.8, 29.2, 27.2;

Yhdisteestä mitattu data vastasi kirjallisuusarvoja.⁹⁸

8.2 Metallylaatioreagenssien valmistus

8.2.1 Trimetyyli-(2-metallyyli)-silaani



Magnesiumjauheen (740 mg, 30 mmol, 1,3 ekviv.) ja kuivan THF:n (7 ml) reaktioseokseen lisättiin 3 tippaa 1,2-dibromietaania ja pala jodia. Reaktioseos nostettiin refluksointilämpöön (70 °C). Seuraavaksi valmistettiin metallyylikloridin (3 ml, 31 mmol, 1,3 ekviv.) ja trimetyylisilyylikloridin (3 ml, 24 mmol, 1 ekviv.) liuos THF:iin (15 ml) ja lisättiin tämä liuos tipoitain reaktioseokseen. Reaktio annettiin edetä 24 tuntia, jonka jälkeen reaktio sammutettiin vedellä (10 ml). Seos eristettiin heksaanilla (10 ml) ja vesifaasi puhdistettiin heksaanilla (3x5 ml). Orgaaniset faasit yhdistettiin ja kuivattiin Na₂SO₄:lla ja suodatettiin. Suodos tislattiin, jolloin tuote tislautui 90 °C:ssa.

Kirkas öljy, (2 g, 66 %);

R_f(*n*-heksaani): 0,73 (KMnO₄)

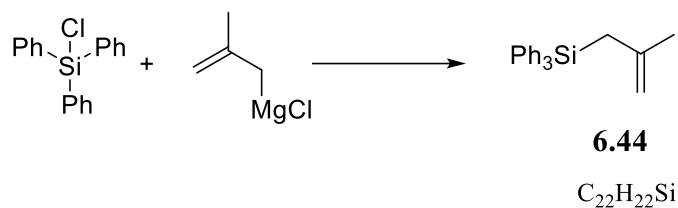
IR (filmi, cm⁻¹): 3076, 2957, 1638, 1450, 1375, 1280, 1248, 1163, 999, 973, 839, 769, 714, 693, 656, 595, 492, 424;

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 4,58 (m, 1H, =CH^aH^b), 4,47 (m, 1H, CH^aH^b), 1,71 (m, 3H, CH₃), 1,54 (m, 2H, CH₂Si), 0,03 (s, 9H, (CH₃)₃Si);

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 144.0, 108.1, 28.8, 25.3, -1.2;

Yhdisteestä mitattu data vastaa kirjallisuusarvoja.⁹⁹

8.2.2 Trifenyyli-(2-metallyyli)-silaani



Magnesiumjauheeseen (425 mg, 18 mmol, 3 ekviv.) ja pieneen jodikiteeseen lisättiin TPSCl (1,7 g, 5,8 mmol, 1 ekviv.) THF:ssa (6 ml). Reaktioseosta sekoitettiin 0 °C 30 min samalla lisäten tipoittain metallyylikloridia (1,2 ml, 12 mmol, 2 ekviv.) THF:ssa (12 ml). Reaktio annettiin edetä 0 °C 30 min, jonka jälkeen lämpötila nostettiin 45 °C ja annettiin edetä 4 h. Reaktio sammutettiin kylläisellä NH₄Cl:n vesiliuoksella (20 ml). Seos eristettiin Et₂O:llä (10 ml) ja vesifaasi puhdistettiin Et₂O:llä (3x5 ml). Orgaaniset faasit yhdistettiin ja kuivattiin Na₂SO₄:lla sekä suodatettiin. Näin saatu liuos ja konsentroitettiin alipaineessa, jolloin saatiin tuote **6.44**.

Valkoinen kiinteä, (1,4 g, 72 %);

R_f (EtOAc/*n*-heksaani 15:100): 0,55 (KMnO₄)

IR (filmi, cm⁻¹): 3068, 2127, 1959, 1890, 1638, 1589, 1485, 1449, 1427, 1375, 1276, 1115, 1027, 997, 871, 832, 770, 736, 695, 641, 511, 478, 433;

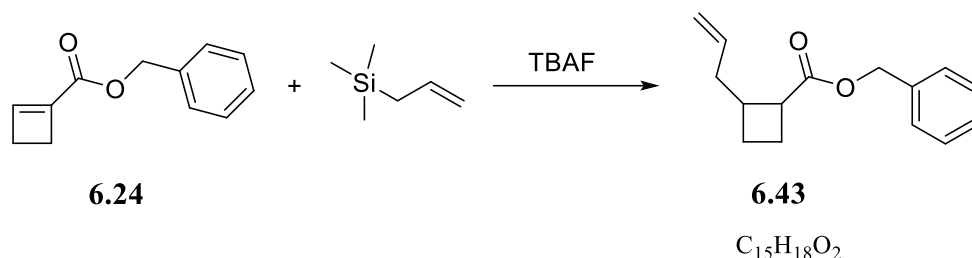
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7.39-7.60 (m, 15H), 4,69 (s, 1H), 4.61 (s, 1H), 2,45 (s, 2H), 1.56 (s, 3H);

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 142.4, 136.0, 135.0, 129.6, 127.9, 111.2, 25.8, 25.1;

Yhdisteestä mitattu data vastasi kirjallisuusarvoja.⁹⁰

8.3 Fluoridi-ionilla indusoitu allylaatio

8.3.1 Bentsyyli-2-allyylisyklobutaani-1-karboksylaatti



Kuivaan TBAF:iin (1 M THF:ssa) (1,1 ml, 1,1 mmol, 1 ekviv.) lisättiin kuivaa DMF:ia (1 ml) huoneenlämmössä. Reaktioseoksen annettiin sekoittua 30 min, jonka jälkeen seokseen lisättiin bentsyyli-2-allyylisyklobutaani-1-karboksylaatti (**6.24**) (200 mg, 1,1 mmol, 1 ekviv.) kuivassa DMF:ssa (1 ml). Reaktioseokseen lisättiin tipoitain trimetyyliallyylisilanaa (0,5 ml, 3,2 mmol, 3 ekviv.) kuivassa DMF:ssa (2 ml). Reaktioon annettiin edetä 45 min, jonka jälkeen reaktio sammutettiin vedellä (10 ml). Raakatuote eristettiin EtOAc:lla (15 ml) ja vesifaasi pestiin EtOAc:lla (3x5 ml). Orgaaninen faasi pestiin ylikylläisellä NaCl-vesiliuoksella, kuivattiin Na_2SO_4 :lla ja suodatettiin. Raakatuote konsentroidtiin vakuumissa ja puhdistettiin flash-kromatografialla (Et_2O /pentaani 5:100 \rightarrow 15:100). Tuotteen sisältävä fraktio konsentroidtiin vakuumissa ja alipaineessa.

Kirkas öljy, (39 mg, 16 %);

$R_f(\text{EtOAc}/n\text{-heksaani } 40:100)$: 0,75 (KMnO_4)

IR (filmi, cm^{-1}): 3067, 3034, 2942, 1723, 1640, 1608, 1498, 1454, 1381, 1317, 1278, 1239, 1212, 1161, 1115, 1026, 993, 909, 866, 799, 779, 733, 694, 600, 533, 504, 454;

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 7.29-7.43 (m, 5H), 5.71 (ddd, $J = 10.1, 6.0, 4.2$, 1H), 5.11 (s, 2H), 4.97 (dd, $J = 16.2, 12.0$, 2H), 2,80 (q, $J = 5.2$, 1H), 2,64 (q, $J = 4.7$, 1H), 2.3-1.94 (m, 5H), 1.61 (quint., 1H);

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): δ 142.4, 136.0, 135.0, 129.6, 127.9, 111.2, 25.8, 25.1;

HRMS (ESI+): m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ laskettu ionille $[\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_2\text{Na}]^+$ 253,1199; mitattu 253,1186; $\Delta = 1,3$ mDa

8.4 Yritetyt fluoridi-ioni indusoidut metallylaatiot

8.4.1 Trimetyyli-(2-metallyyli)-silaanin avulla

Kuivaan TBAF:iin (1 M THF:ssa) (1,1 ml, 1,1 mmol, 1 ekviv.) lisättiin kuivaa DMF:ia (1 ml). Seoksen annettiin sekoittua 30 min, jonka jälkeen tähän lisättiin bentsyylysyklobut-1-eeni-1-karboksylaatti (**6.24**) (200 mg, 1,1 mmol, 1 ekviv.) kuivassa DMF:ssa (1 ml). Reaktioseokseen lisättiin tipoitain trimetyyli-(2-metallyyli)-silaania (**6.43**) (500 mg, 3,9 mmol, 3,7 ekviv.) kuivassa DMF:ssa (2 ml). Reaktio annettiin edetä 45 min, jonka jälkeen reaktio sammutettiin vedellä (10 ml). Raakatuote eristettiin EtOAc:lla (15 ml) ja vesifaasi pestiin EtOAc:lla (3x5 ml). Orgaaninen faasi pestiin ylikylläisellä NaCl-vesiliuoksella ja kuivattiin Na₂SO₄:lla. Raakatuote konsentroidtiin vakuuissa ja puhdistettiin flash-kromatografialla (Et₂O/pentaani 5:100 → 15:100). Tuotteen sisältävä fraktio konsentroidtiin vakuuissa ja alipaineessa. Konsentroidin jälkeen tuotefraktiosta jäi jäljelle alle 1 mg, jota ei kyetty analysoidaan tarkemmin. Myös lähtöaineen **6.24** fraktio konsentroidtiin ja sen massaksi saatiin noin 240 mg. Oletettavasti reaktioon punnittua lähtöainetta oli enemmän kuin 200 mg, joka on mahdollista, sillä esteri **6.24** tuotiin seokseen bentseenistä varovasti konsentroituneena, joten täysin tarkkaa lukemaa lähtöaineen massalle ei ollut tiedossa. Todennäköisesti esteri **6.24** ei reagoanut ollenkaan, josta syystä esteri palautui konsentroidin jälkeen puhtaana takaisin.

8.4.2 Trifenyli-(2-metallyyli)-silaanin avulla

Kuivaan TBAF:iin (1 M THF:ssa) (1,1 ml, 1,1 mmol, 1 ekviv.) lisättiin kuivaa DMF:ia (1 ml). Seoksen annettiin sekoittua 30 min, jonka jälkeen tähän lisättiin bentsyylysyklobut-1-eeni-1-karboksylaatti (**6.24**) (200 mg, 1,1 mmol, 1 ekviv.) kuivassa DMF:ssa (1 ml). Reaktioseokseen lisättiin tipoitain trifenyli-(2-metallyyli)-silaania (**6.43**) (1,1 g, 3,4 mmol, 3,2 ekviv.) kuivassa DMF:ssa (7 ml). Reaktio annettiin edetä 45 min, jonka jälkeen reaktio sammutettiin vedellä (10 ml). Raakatuote eristettiin EtOAc:lla (15 ml) ja vesifaasi pestiin EtOAc:lla (3x5 ml). Yhdistetyt orgaaniset faasit konsentroidtiin vakuuissa. Raakatuote pestiin kertaalleen kylmällä vedellä ja Et₂O:llä ja kuivattiin Na₂SO₄:lla. Raakatuote konsentroidtiin vakuuissa ja puhdistettiin Combiflash-laitteistolla (Et₂O/pentaani 5:100 → 20:100). Tuotteen sisältävä fraktio konsentroidtiin vakuuissa ja alipaineessa. Tuotteen fraktio haihtui käytännössä kokonaan (>>0 mg), ja lähtöaineen **6.24** fraktion massaksi saatiin noin 80 mg. Tämän lisäksi

eluoitui 200 mg trifenyylisilanolia, joka on reaktiossa muodostuneen fluoritriphenyylisilaanin hydrolyysituote.

Kirjallisuusluettelo

1. Namyslo, J. C. ja Kaufmann, D. E., The Application of Cyclobutane Derivatives in Organic Synthesis, *Chem. Rev.*, **2003**, *103*, 1485–1538.
2. Li, J.; Gao, K.; Bian, M. ja Ding, H., Recent advances in the total synthesis of cyclobutane-containing natural products, *Org. Chem. Front.*, **2019**, *7*, 136–154.
3. Fan, Y.-Y.; Gao, X.-H. ja Yue, J.-M., Attractive natural products with strained cyclopropane and/or cyclobutane ring systems, *Sci. China Chem.*, **2016**, *59*, 1126–1141.
4. Wang, M. ja Lu, P., Catalytic approaches to assemble cyclobutane motifs in natural product synthesis, *Org. Chem. Front.*, **2018**, *5*, 254–259.
5. Engler, E. M.; Andose, J. D. ja Schleyer, P. V. R., Critical evaluation of molecular mechanics, *J. Am. Chem. Soc.*, **1973**, *95*, 8005–8025.
6. Ouellette, R. J. ja Rawn, J. D., Alkanes and Cycloalkanes: Structures and Reactions, *Org. Chem.*, **2018**, 87–133.
7. Beesley, R. M.; Ingold, C. K. ja Thorpe, J. F., CXIX.—The formation and stability of spiro-compounds. Part I. spiro-Compounds from cyclohexane, *J. Chem. Soc., Trans.*, **1915**, *107*, 1080–1106.
8. Jung, M. E. ja Gervay, J., gem-Dialkyl effect in the intramolecular Diels-Alder reaction of 2-furfuryl methyl fumarates: the reactive rotamer effect, the enthalpic basis for acceleration, and evidence for a polar transition state, *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, *113*, 224–232.
9. Bruice, T. C. ja Pandit, U. K., The Effect of Geminal Substitution Ring Size and Rotamer Distribution on the Intramolecular Nucleophilic Catalysis of the Hydrolysis of Monophenyl Esters of Dibasic Acids and the Solvolysis of the Intermediate Anhydrides, *J. Am. Chem. Soc.*, **1960**, *82*, 5858–5865.
10. Jung, M. E.; Trifunovich, I. D. ja Lensen, N., Easy preparation of a cyclobutanone ketal via a radical cyclization. The gem-dialkoxy effect, *Tetrahedron Lett.*, **1992**, *33*, 6719–6722.
11. Ringer, A. L. ja Magers, D. H., Conventional Strain Energy in Dimethyl-Substituted Cyclobutane and the gem -Dimethyl Effect, *J. Org. Chem.*, **2007**, *72*, 2533–2537.

12. Bachrach, S. M., The *gem*-Dimethyl Effect Revisited, *J. Org. Chem.*, **2008**, *73*, 2466–2468.
13. Lee-Ruff, E. ja Mladenova, G., Enantiomerically Pure Cyclobutane Derivatives and Their Use in Organic Synthesis, *Chem. Rev.*, **2003**, *103*, 1449–1484.
14. Sarkar, D.; Bera, N. ja Ghosh, S., [2+2] Photochemical Cycloaddition in Organic Synthesis, *European J. Org. Chem.*, **2020**, *2020*, 1310–1326.
15. Woodward, R. B. ja Hoffmann, R., The Conservation of Orbital Symmetry, *Angew. Chemie Int. Ed. English*, **1969**, *8*, 781–853.
16. Mandal, D. K., Pericyclic Reactions: Introduction, Classification and the Woodward–Hoffmann Rules, *Pericyclic Chem.*, **2018**, 63–106.
17. Mandal, D. K., Cycloadditions 2: Stereochemistry of [4 + 2] and [2 + 2] Cycloadditions. Teoksessa: *Pericyclic Chemistry*, Elsevier, 2018, ss. 191–268.
18. Clayden, J.; Greeves, N. ja Warren, S., *Organic Chemistry*, Toinen painos, Oxford University Press, 2012.
19. Loutfy, R. O. ja Mayo, P. De, Primary Bond Formation in the Addition of Cyclopentenone to Chloroethylenes, *Can. J. Chem.*, **1972**, *50*, 3465–3471.
20. Yamazaki, H. ja Cvetanovic, R. J., Stereospecific photochemical cyclodimerization of 2-butene in the liquid phase, *J. Am. Chem. Soc.*, **1969**, *91*, 520–522.
21. Krohn, K. ja Boerner, G., From Sugars to Carbocycles. 2. Three- to Seven-Membered Rings from Mannose by Addition of 1,3-Dithiane Followed by Intramolecular Displacement Reaction, *J. Org. Chem.*, **1994**, *59*, 6063–6068.
22. Uyehara, T.; Ohnuma, T.; Saito, T.; Kato, T.; Yoshida, T. ja Takahashi, K., Sulphide extrusion from methyl sulphonium salts of the sulphur-bridged sesquiterpenes, mintsulphide and isomintsulphide by alkyl-lithium, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1981**, 127.
23. Johnston, D.; McCusker, C. M. ja Procter, D. J., Samarium(II)-mediated 4-exo trig ketyl-olefin cyclisation of unsaturated aldehydes. A general, stereoselective synthesis of functionalised cyclobutanols, *Tetrahedron Lett.*, **1999**, *40*, 4913–4916.
24. Cho, S. Y. ja Cha, J. K., Enantioselective Synthesis of 2-Substituted Cyclobutanones, *Org. Lett.*, **2000**, *2*, 1337–1339.

25. Salaun, J.; Garnier, B. ja Conia, J. M., Etude des petits cycles—XXX, *Tetrahedron*, **1974**, *30*, 1413–1421.
26. Krief, A.; Ronvaux, A. ja Tuch, A., Syntheses of rac- and optically active 2-alkyl- γ -butyrolactones and 2 -alkyl-cyclobutanones, *Tetrahedron*, **1998**, *54*, 6903–6908.
27. Antonsen, S.; Østby, R. B. ja Stenstrøm, Y., Naturally Occurring Cyclobutanes: Their Biological Significance and Synthesis. 2018, ss. 1–40.
28. Hillier, S. G. ja Lathe, R., Terpenes, hormones and life: isoprene rule revisited, *J. Endocrinol.*, **2019**, *242*, R9–R22.
29. Ruzicka, L., The isoprene rule and the biogenesis of terpenic compounds, *Experientia*, **1953**, *9*, 357–367.
30. Dubey, V. S.; Bhalla, R. ja Luthra, R., An overview of the non-mevalonate pathway for terpenoid biosynthesis in plants, *J. Biosci.*, **2003**, *28*, 637–646.
31. Aharoni, A.; Jongsma, M. A.; Kim, T.-Y.; Ri, M.-B.; Giri, A. P.; Verstappen, F. W. A.; Schwab, W. ja Bouwmeester, H. J., Metabolic Engineering of Terpenoid Biosynthesis in Plants, *Phytochem. Rev.*, **2006**, *5*, 49–58.
32. Mizioro, H. M., Enzymes of the mevalonate pathway of isoprenoid biosynthesis, *Arch. Biochem. Biophys.*, **2011**, *505*, 131–143.
33. Kaneda, K., An unusual isopentenyl diphosphate isomerase found in the mevalonate pathway gene cluster from *Streptomyces* sp. strain CL190, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **2001**, *98*, 932–937.
34. Ogura, K. ja Koyama, T., Enzymatic Aspects of Isoprenoid Chain Elongation, *Chem. Rev.*, **1998**, *98*, 1263–1276.
35. Chang, M. C. Y.; Eachus, R. A.; Trieu, W.; Ro, D.-K. ja Keasling, J. D., Engineering *Escherichia coli* for production of functionalized terpenoids using plant P450s, *Nat. Chem. Biol.*, **2007**, *3*, 274–277.
36. Sono, M.; Roach, M. P.; Coulter, E. D. ja Dawson, J. H., Heme-Containing Oxygenases, *Chem. Rev.*, **1996**, *96*, 2841–2888.
37. Christianson, D. W., Structural and Chemical Biology of Terpenoid Cyclases, *Chem. Rev.*, **2017**, *117*, 11570–11648.
38. Trapp, S. C. ja Croteau, R. B., Genomic Organization of Plant Terpene Synthases and

- Molecular Evolutionary Implications, *Genetics*, **2001**, *158*, 811–832.
39. Köksal, M.; Jin, Y.; Coates, R. M.; Croteau, R. ja Christianson, D. W., Taxadiene synthase structure and evolution of modular architecture in terpene biosynthesis, *Nature*, **2011**, *469*, 116–120.
 40. Dang, T. ja Prestwich, G. D., Site-directed mutagenesis of squalene–hopene cyclase: altered substrate specificity and product distribution, *Chem. Biol.*, **2000**, *7*, 643–649.
 41. Wendt, K. U.; Poralla, K. ja Schulz, G. E., Structure and Function of a Squalene Cyclase, *Science (80-.)*, **1997**, *277*, 1811–1815.
 42. Reinert, D. J.; Balliano, G. ja Schulz, G. E., Conversion of Squalene to the Pentacarbocyclic Hopene, *Chem. Biol.*, **2004**, *11*, 121–126.
 43. Christianson, D. W., Structural Biology and Chemistry of the Terpenoid Cyclases, *Chem. Rev.*, **2006**, *106*, 3412–3442.
 44. Steele, C. L.; Crock, J.; Bohlmann, J. ja Croteau, R., Sesquiterpene Synthases from Grand Fir (*Abies grandis*), *J. Biol. Chem.*, **1998**, *273*, 2078–2089.
 45. Siedenburg, G.; Jendrossek, D.; Breuer, M.; Juhl, B.; Pleiss, J.; Seitz, M.; Klebensberger, J. ja Hauer, B., Activation-Independent Cyclization of Monoterpenoids, *Appl. Environ. Microbiol.*, **2012**, *78*, 1055–1062.
 46. Dehal, S. S. ja Croteau, R., Partial purification and characterization of two sesquiterpene cyclases from sage (*Salvia officinalis*) which catalyze the respective conversion of farnesyl pyrophosphate to humulene and caryophyllene, *Arch. Biochem. Biophys.*, **1988**, *261*, 346–356.
 47. Fossen, T.; Rasoanaivo, P.; Manjovelo, C. S.; Raharinjato, F. H.; Yahorava, S.; Yahorau, A. ja Wikberg, J. E. S., A new protolimonoid from *Capuronianthus mahafalensis*, *Fitoterapia*, **2012**, *83*, 901–906.
 48. Hodgson, H.; De La Peña, R.; Stephenson, M. J.; Thimmappa, R.; Vincent, J. L.; Sattely, E. S. ja Osbourn, A., Identification of key enzymes responsible for protolimonoid biosynthesis in plants: Opening the door to azadirachtin production, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **2019**, *116*, 17096–17104.
 49. Weitman, M. ja Major, D. T., Challenges Posed to Bornyl Diphosphate Synthase: Diverging Reaction Mechanisms in Monoterpenes, *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, *132*, 6349–6360.

50. Hong, Y. J. ja Tantillo, D. J., How cyclobutanes are assembled in nature – insights from quantum chemistry, *Chem. Soc. Rev.*, **2014**, *43*, 5042.
51. Hong, Y. J. ja Tantillo, D. J., Branching Out from the Bisabolyyl Cation. Unifying Mechanistic Pathways to Barbatene, Bazzanene, Chamigrene, Chamipinene, Cumacrene, Cuprenene, Dunningene, Isobazzanene, Iso- γ -bisabolene, Isochamigrene, Laurene, Microbiotene, Sesquithujene, Sesquisabinene, Thujopsene, Trichodiene, and Widdradiene Sesquiterpenes, *J. Am. Chem. Soc.*, **2014**, *136*, 2450–2463.
52. Bray, C. D. ja Pattenden, G., A biogenetically patterned synthetic approach to the unusual furan methylenecyclobutanol moiety in providencin, *Tetrahedron Lett.*, **2006**, *47*, 3937–3939.
53. Tang, B. ja Paton, R. S., Biosynthesis of Providencin: Understanding Photochemical Cyclobutane Formation with Density Functional Theory, *Org. Lett.*, **2019**, *21*, 1243–1247.
54. Deligeorgopoulou, A. ja Allemann, R. K., Evidence for Differential Folding of Farnesyl Pyrophosphate in the Active Site of Aristolochene Synthase: A Single-Point Mutation Converts Aristolochene Synthase into an (*E*)- β -Farnesene Synthase, *Biochemistry*, **2003**, *42*, 7741–7747.
55. Gutta, P. ja Tantillo, D. J., Theoretical Studies on Farnesyl Cation Cyclization: Pathways to Pentalenene, *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, *128*, 6172–6179.
56. Seemann, M.; Zhai, G.; de Kraker, J.-W.; Paschall, C. M.; Christianson, D. W. ja Cane, D. E., Pentalenene Synthase. Analysis of Active Site Residues by Site-Directed Mutagenesis, *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *124*, 7681–7689.
57. Wilding, K. M.; Schinn, S. M.; Long, E. A. ja Bundy, B. C., The emerging impact of cell-free chemical biosynthesis, *Curr. Opin. Biotechnol.*, **2018**, *53*, 115–121.
58. Beale, M. H., The biosynthesis of C₅—C₂₀ terpenoid compounds, *Nat. Prod. Rep.*, **1990**, *7*, 387–407.
59. Cane, D. E.; McIlwaine, D. B. ja Harrison, P. H. M., Bergamotene biosynthesis and the enzymic cyclization of farnesyl pyrophosphate, *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, *111*, 1152–1153.
60. Cane, D. E.; McIlwaine, D. B. ja Oliver, J. S., Absolute configuration of (-)- β -trans-bergamotene, *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, *112*, 1285–1286.

61. Ayer, W. A.; Nakashima, T. T. ja Saeedi-Ghomi, M. H., Studies on the biosynthesis of the sterpurenes, *Can. J. Chem.*, **1984**, *62*, 531–533.
62. Abell, C. ja Leech, A. P., Evidence for consecutive 1,2-alkyl shifts in sterpurene biosynthesis: Isolation and characterisation of 7,12-dihydroxysterpurene, *Tetrahedron Lett.*, **1987**, *28*, 4887–4890.
63. Clericuzio, M.; Mella, M.; Toma, L.; Finzi, P. V. ja Vidari, G., Atlanticones, New Protoilludane Sesquiterpenes from the Mushroom *Lactarius atlanticus* (Basidiomycetes, *European J. Org. Chem.*, **2002**, *2002*, 988–994.
64. Zech, A.; Jandl, C. ja Bach, T., Concise Access to the Skeleton of Protoilludane Sesquiterpenes through a Photochemical Reaction Cascade: Total Synthesis of Atlanticone C, *Angew. Chemie - Int. Ed.*, **2019**, *58*, 14629–14632.
65. Zimmerman, H. E. ja Armesto, D., Synthetic Aspects of the Di- π -methane Rearrangement, *Chem. Rev.*, **1996**, *96*, 3065–3112.
66. Fedorov, S. N.; Radchenko, O. S.; Shubina, L. K.; Kalinovskiy, A. I.; Gerasimenko, A. V.; Popov, D. Y. ja Stonik, V. A., Aplydactone, a New Sesquiterpenoid with an Unprecedented Carbon Skeleton from the Sea Hare *Aplysia dactylomela*, and Its Cargill-Like Rearrangement, *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, *123*, 504–505.
67. Meier, R. ja Trauner, D., A Synthesis of (\pm)-Aplydactone, *Angew. Chemie Int. Ed.*, **2016**, *55*, 11251–11255.
68. Kleschick, W. A., Stereoselective synthesis of cis-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylic acid, *J. Org. Chem.*, **1986**, *51*, 5429–5433.
69. Regitz, M. ja Himbert, G., Untersuchungen an Diazoverbindungen und Aziden, IX1,2) Diazosynthese über Enamine, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **1970**, *734*, 70–85.
70. Fan, W.-W.; Xu, F.-Q.; Dong, F.-W.; Li, X.-N.; Li, Y.; Liu, Y.-Q.; Zhou, J. ja Hu, J.-M., Dendrowardol C, a novel sesquiterpenoid from *Dendrobium wardianum* Warner, *Nat. Products Bioprospect.*, **2013**, *3*, 89–92.
71. Wolleb, H. ja Carreira, E. M., Total Synthesis of (+)-Dendrowardol C, *Angew. Chemie Int. Ed.*, **2017**, *56*, 10890–10893.
72. Mulder, J. G.; Diepenhorst, P.; Plieger, P. ja Bruggemann-Rotgans, I. E. M., Hatching agent for the potato cyst nematode, 1996.

73. Tanino, K.; Takahashi, M.; Tomata, Y.; Tokura, H.; Uehara, T.; Narabu, T. ja Miyashita, M., Total synthesis of solanoeclepin A, *Nat. Chem.*, **2011**, *3*, 484–488.
74. Tsao, K.-W.; Cheng, C.-Y. ja Isobe, M., Cobalt-Mediated Synthesis of the Tricyclo[5.2.1.0^{1,6}]decene Framework in Solanoeclepin A, *Org. Lett.*, **2012**, *14*, 5274–5277.
75. Hajos, Z. G. ja Parrish, D. R., Asymmetric synthesis of bicyclic intermediates of natural product chemistry, *J. Org. Chem.*, **1974**, *39*, 1615–1621.
76. Gueldner, R. C.; Tumlinson, J. H.; Hardee, D. D.; Thompson, A. C.; Hedin, P. A. ja Minyard, J. P., Identification and synthesis of the four compounds comprising the boll weevil sex attractant, *J. Org. Chem.*, **1971**, *36*, 2616–2621.
77. Mori, K. ja Fukamatsu, K., Pheromone Synthesis, CXXXVII. A New Synthesis of (+)-Grandisol, *Liebigs Ann. der Chemie*, **1992**, *1992*, 489–493.
78. Han, Y. T.; Kim, N.-J.; Jung, J.-W.; Yun, H.; Lee, S. ja Suh, Y.-G., A versatile synthetic approach to grandisol monoterpene pheromone, *Arch. Pharm. Res.*, **2011**, *34*, 1437–1442.
79. Sun, L.-L.; Li, W.-S.; Li, J.; Zhang, H.-Y.; Yao, L.-G.; Luo, H.; Guo, Y.-W. ja Li, X.-W., Uncommon Diterpenoids from the South China Sea Soft Coral *Sinularia humilis* and Their Stereochemistry, *J. Org. Chem.*, **2021**, *86*, 3367–3376.
80. Posner, G. H., Conjugate Addition Reactions of Organocopper Reagents. Teoksessa: *Organic Reactions*, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, 2011, ss. 1–114.
81. Tsuji, J. ja Hashiguchi, S., Application of olefin metathesis to organic synthesis. Syntheses of civetone and macrolides, *Tetrahedron Lett.*, **1980**, *21*, 2955–2958.
82. Mori, M.; Wakamatsu, H.; Tonogaki, K.; Fujita, R.; Kitamura, T. ja Sato, Y., Synthesis of Isoquinoline Derivatives Using ROM–RCM of Cyclobutene-yne, *J. Org. Chem.*, **2005**, *70*, 1066–1069.
83. Jung, M. E. ja Deng, G., Synthesis of the 1-Monoester of 2-Ketoalkanedioic Acids, for Example, Octyl α -Ketoglutarate, *J. Org. Chem.*, **2012**, *77*, 11002–11005.
84. Neises, B. ja Steglich, W., Simple Method for the Esterification of Carboxylic Acids, *Angew. Chemie Int. Ed. English*, **1978**, *17*, 522–524.
85. Collon, S.; Kouklovsky, C. ja Langlois, Y., Oxazoline N-Oxide-Mediated [2+3]

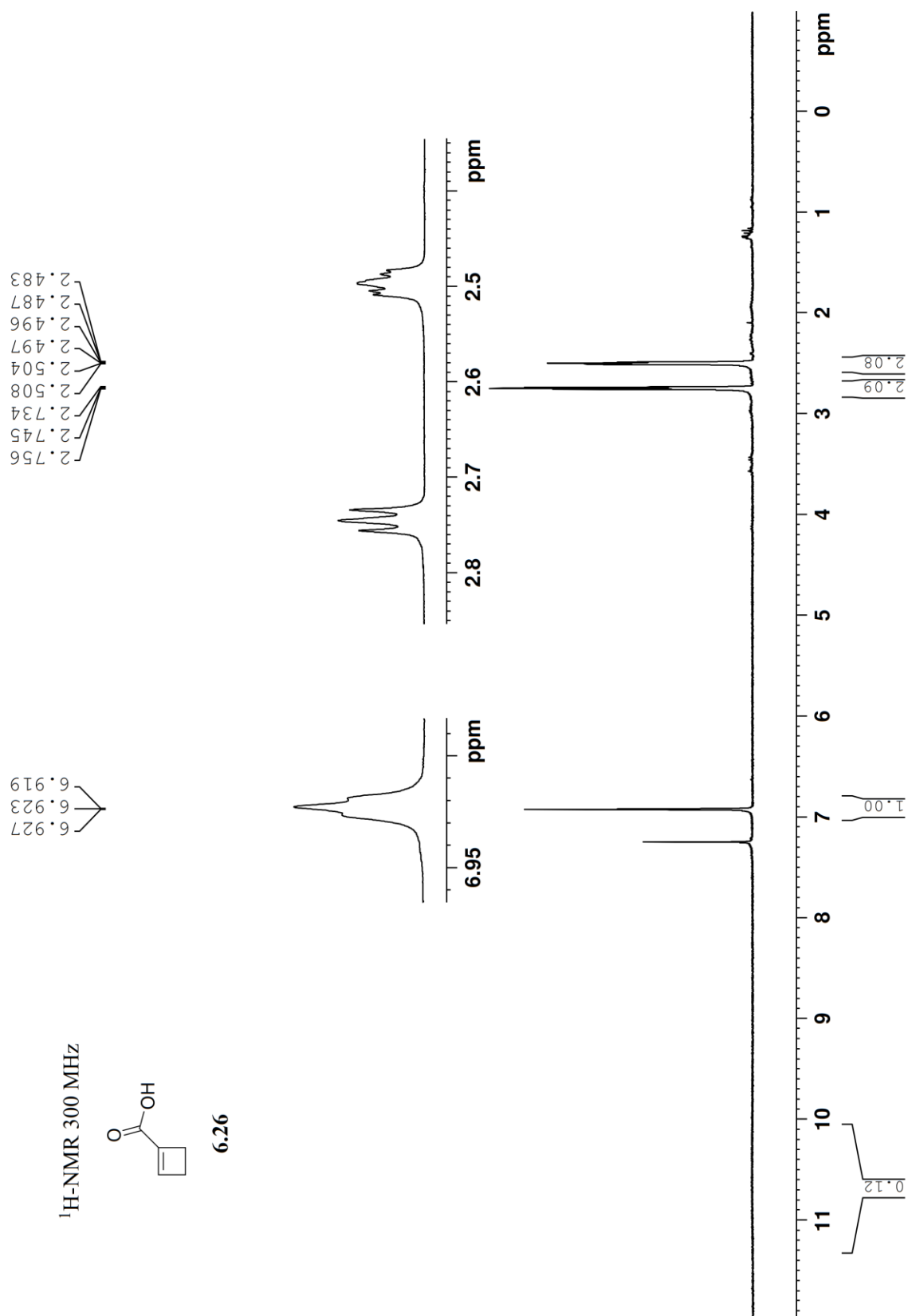
- Cycloadditions: New Access to Quaternary Asymmetric Centres, *European J. Org. Chem.*, **2002**, 2002, 3566–3572.
86. Lipshutz, B. H.; Wilhelm, R. S. ja Kozlowski, J. A., The chemistry of higher order organocuprates, *Tetrahedron*, **1984**, 40, 5005–5038.
87. Totani, K.; Nagatsuka, T.; Takao, K.; Ohba, S. ja Tadano, K., Highly Stereoselective 1,4-Conjugate Addition of Organocopper Reagents to Methyl α - d - Glucopyranoside Derivatives Tethering an Unsaturated Ester Moiety at C-4 or C-6¹, *Org. Lett.*, **1999**, 1, 1447–1450.
88. Majetich, G.; Casares, A.; Chapman, D. ja Behnke, M., A general allylation procedure using trimethylallylsilane and fluoride catalysis, *J. Org. Chem.*, **1986**, 51, 1745–1753.
89. Li, L.-H.; Wang, D. ja Chan, T. H., Regioselective alkylation of 1-silyl-2-methylallyl carbanions, *Tetrahedron Lett.*, **1991**, 32, 2879–2882.
90. Hagen, G. ja Mayr, H., Kinetics of the reactions of allylsilanes, allylgermanes, and allylstannanes with carbenium ions, *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, 113, 4954–4961.
91. Alexakis, A.; Berlan, J. ja Besace, Y., Organocopper conjugate addition reaction in the presence of trimethylchlorosilane, *Tetrahedron Lett.*, **1986**, 27, 1047–1050.
92. Chuit, C.; Foulon, J. P. ja Normant, J. F., Action des dialkylcuprates de lithium sur les aldéhydes α,β -éthyléniques, *Tetrahedron*, **1980**, 36, 2305–2310.
93. Lipshutz, B. H.; Crow, R.; Dimock, S. H.; Ellsworth, E. L.; Smith, R. A. J. ja Behling, J. R., Ligand exchange between cyanocuprates and allylic stannanes: a novel, direct route to allylic cuprates possessing remarkable reactivity and stability, *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, 112, 4063–4064.
94. Hoffmann, R. W.; Feussner, G.; Zeiss, H.-J. ja Schulz, S., Allylboronsäureester aus allylzinn-verbindungen, *J. Organomet. Chem.*, **1980**, 187, 321–329.
95. Shibata, I.; Kano, T.; Kanazawa, N.; Fukuoka, S. ja Baba, A., Generation of Organotantalum Reagents and Conjugate Addition to Enones, *Angew. Chemie Int. Ed.*, **2002**, 41, 1389–1392.
96. Williams, D. R.; Mullins, R. J. ja Miller, N. A., Asymmetric conjugate addition reactions of allyl- and crotylstannanes, *Chem. Commun.*, **2003**, 2220.
97. Chen, Y.-J.; Hu, T.-J.; Feng, C.-G. ja Lin, G.-Q., Synthesis of chiral cyclobutanes via

rhodium/diene-catalyzed asymmetric 1,4-addition: a dramatic ligand effect on the diastereoselectivity, *Chem. Commun.*, **2015**, *51*, 8773–8776.

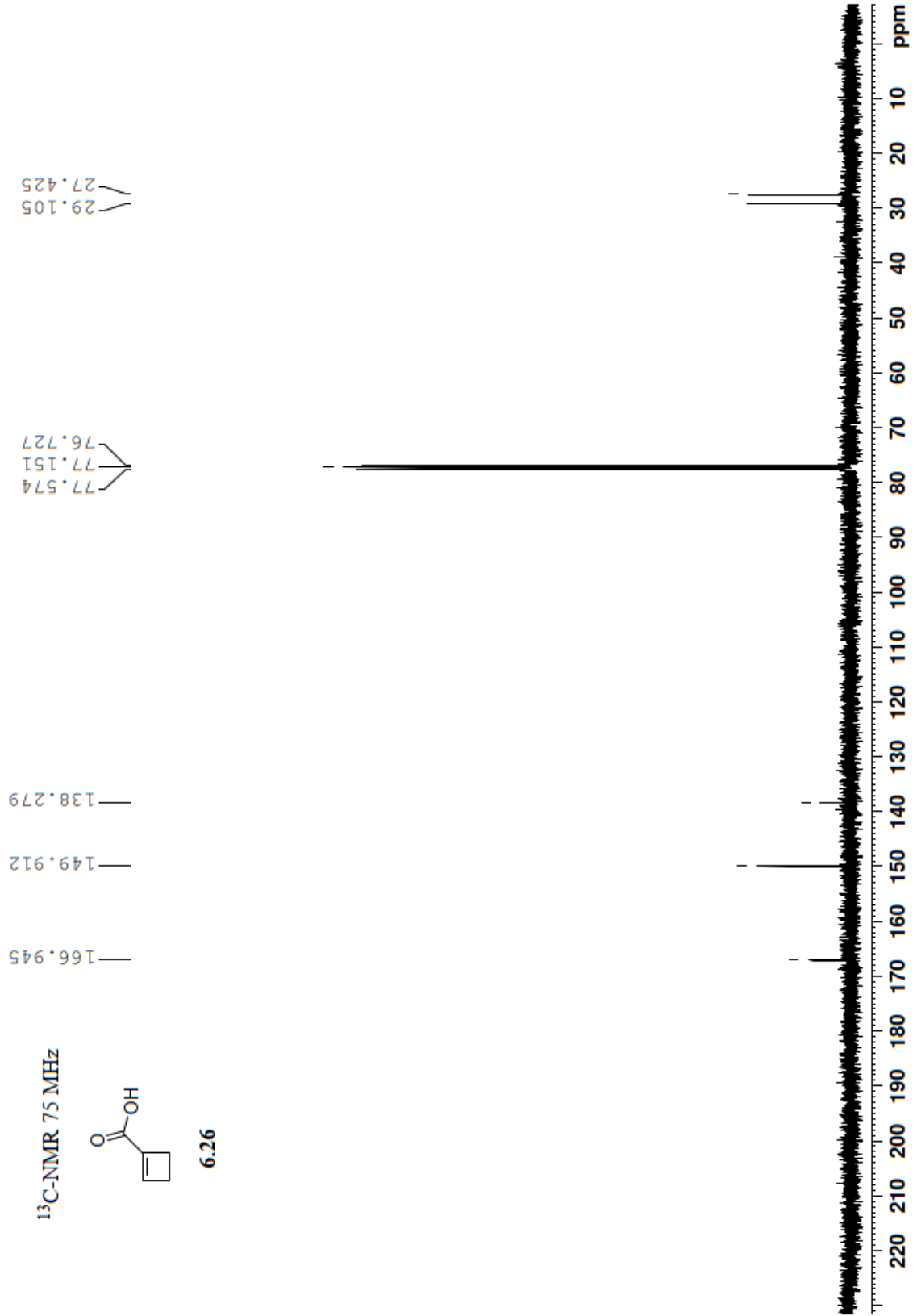
98. Li, M.; Zheng, Q.; Jin, W.; Liu, S. ja Hu, W., A transformation of cyclopropyl carbene: a highly enantioselective three-component reaction via trapping oxonium ylide by imine, *Tetrahedron*, **2016**, *72*, 2929–2934.
99. Cerfontain, H.; Kramer, J. B.; Schonk, R. M. ja Bakker, B. H., Reactivity and regioselectivity in the reaction of allylsilanes and some analogous all-carbon alkenes with sulfur trioxide, *Recl. des Trav. Chim. des Pays-Bas*, **2010**, *114*, 410–420.

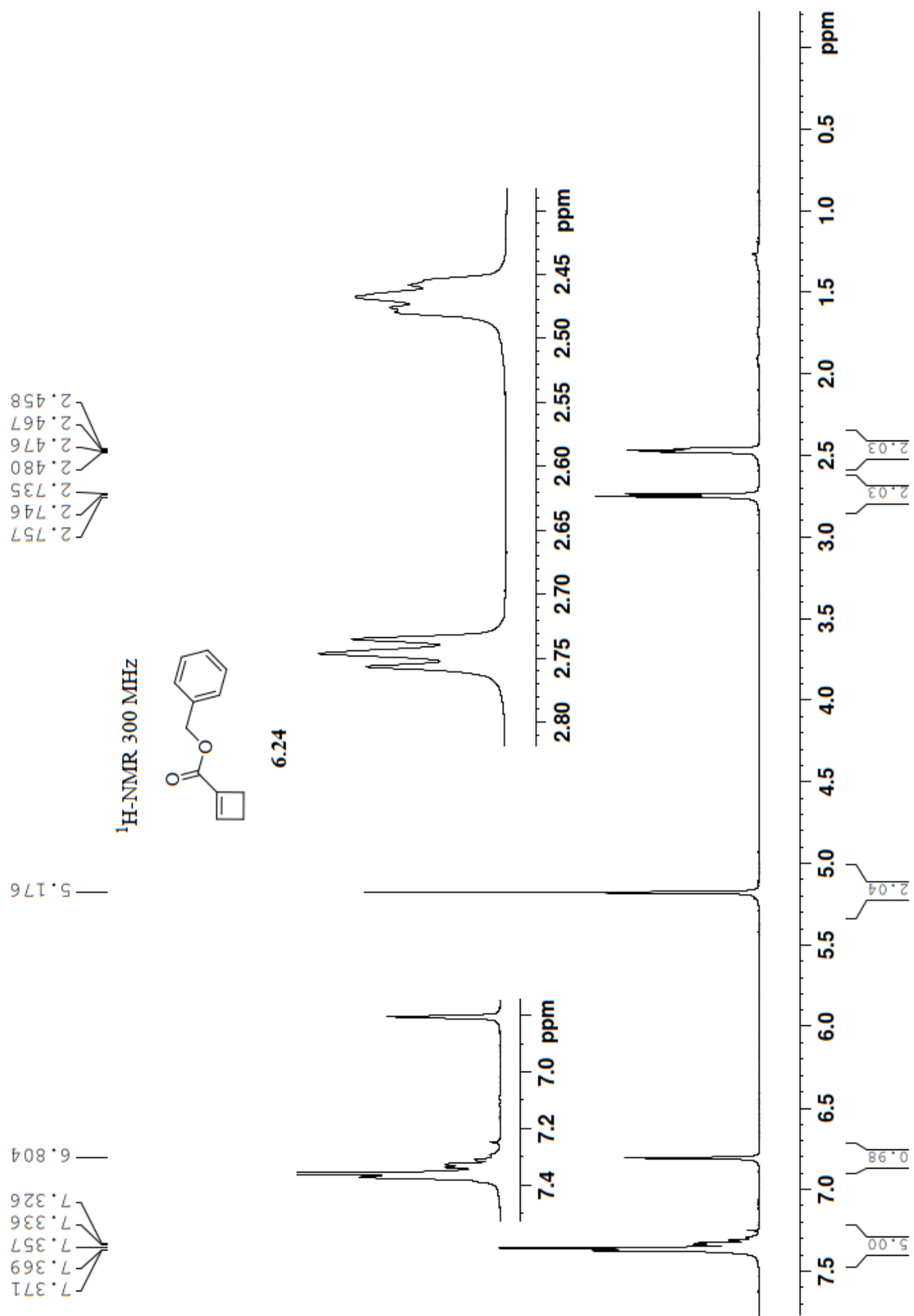
Liitteet

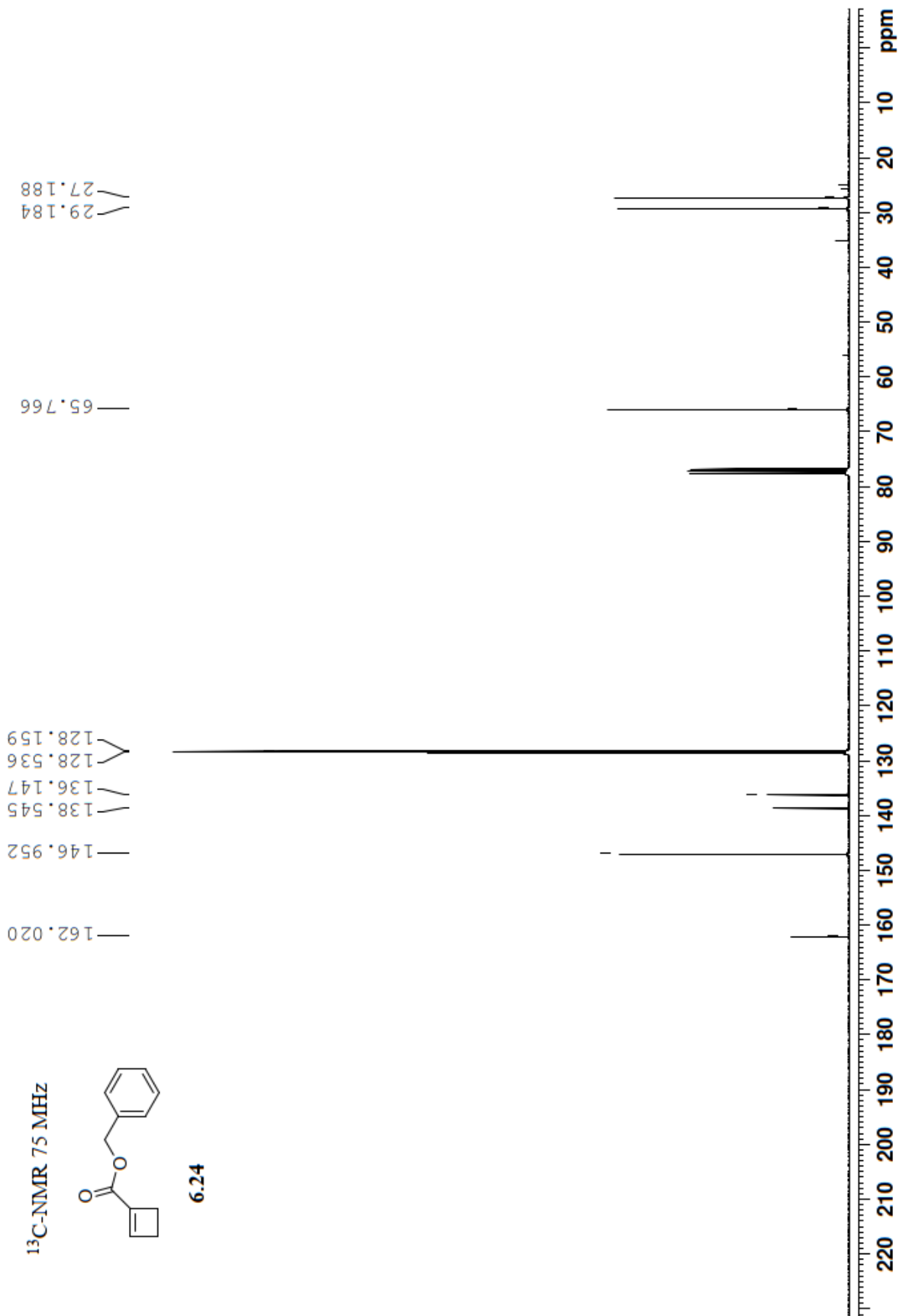
- LIITE 1: Karboksyylihapon **6.26** ^1H NMR-spektri
- LIITE 2: Karboksyylihapon **6.26** ^{13}C NMR-spektri
- LIITE 3: Esterin **6.23** ^1H NMR-spektri
- LIITE 4: Esterin **6.23** ^{13}C NMR-spektri
- LIITE 5: Trimetyyli-(2-metallyyli)-silaanin **6.43** ^1H NMR-spektri
- LIITE 6: Trimetyyli-(2-metallyyli)-silaanin **6.43** ^{13}C NMR-spektri
- LIITE 7: Trifenyyli-(2-metallyyli)-silaanin **6.44** ^1H NMR-spektri
- LIITE 8: Trifenyyli-(2-metallyyli)-silaanin **6.44** ^{13}C NMR-spektri
- LIITE 9: Allyylisen syklobutaanin **6.42** ^1H NMR-spektri
- LIITE 10: Allyylisen syklobutaanin **6.42** ^{13}C NMR-spektri
- LIITE 11: Allyylisen syklobutaanin **6.42** 1D-NOE-spektri
- LIITE 12: Allyylisen syklobutaanin **6.42** 1D-NOE-spektri
- LIITE 13: Allyylisen syklobutaanin **6.42** HRMS-profiilispektri

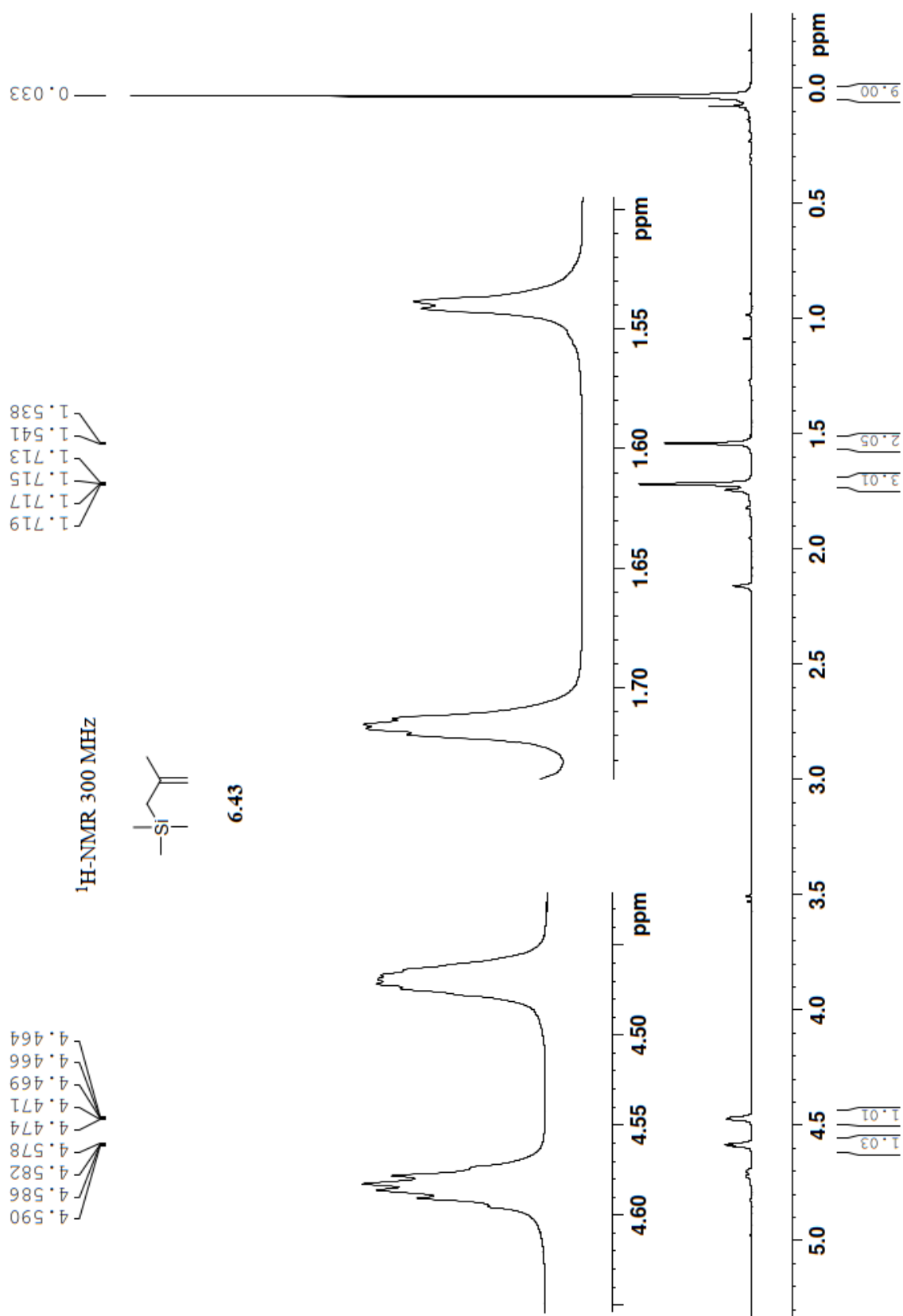


LIITE 2

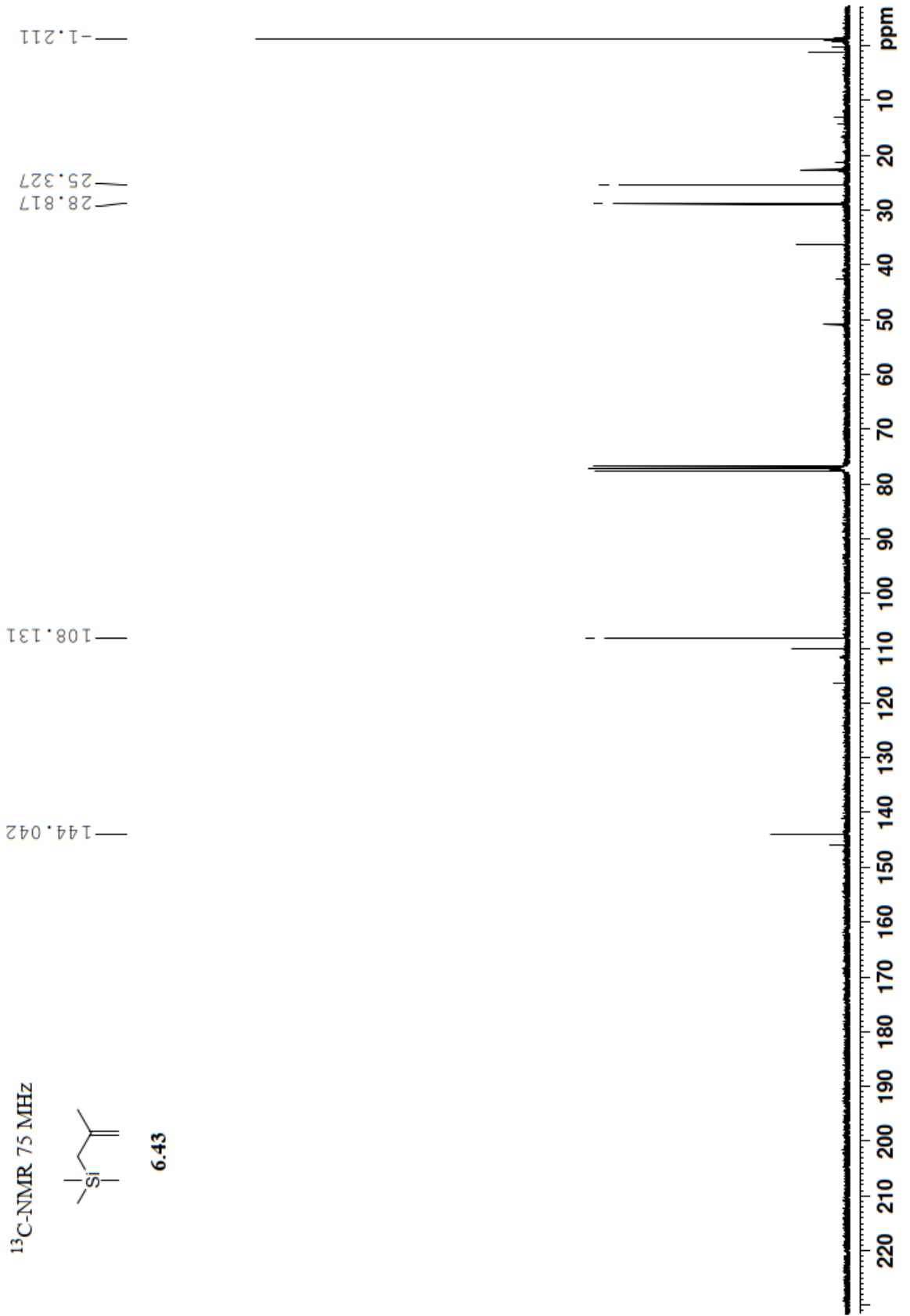


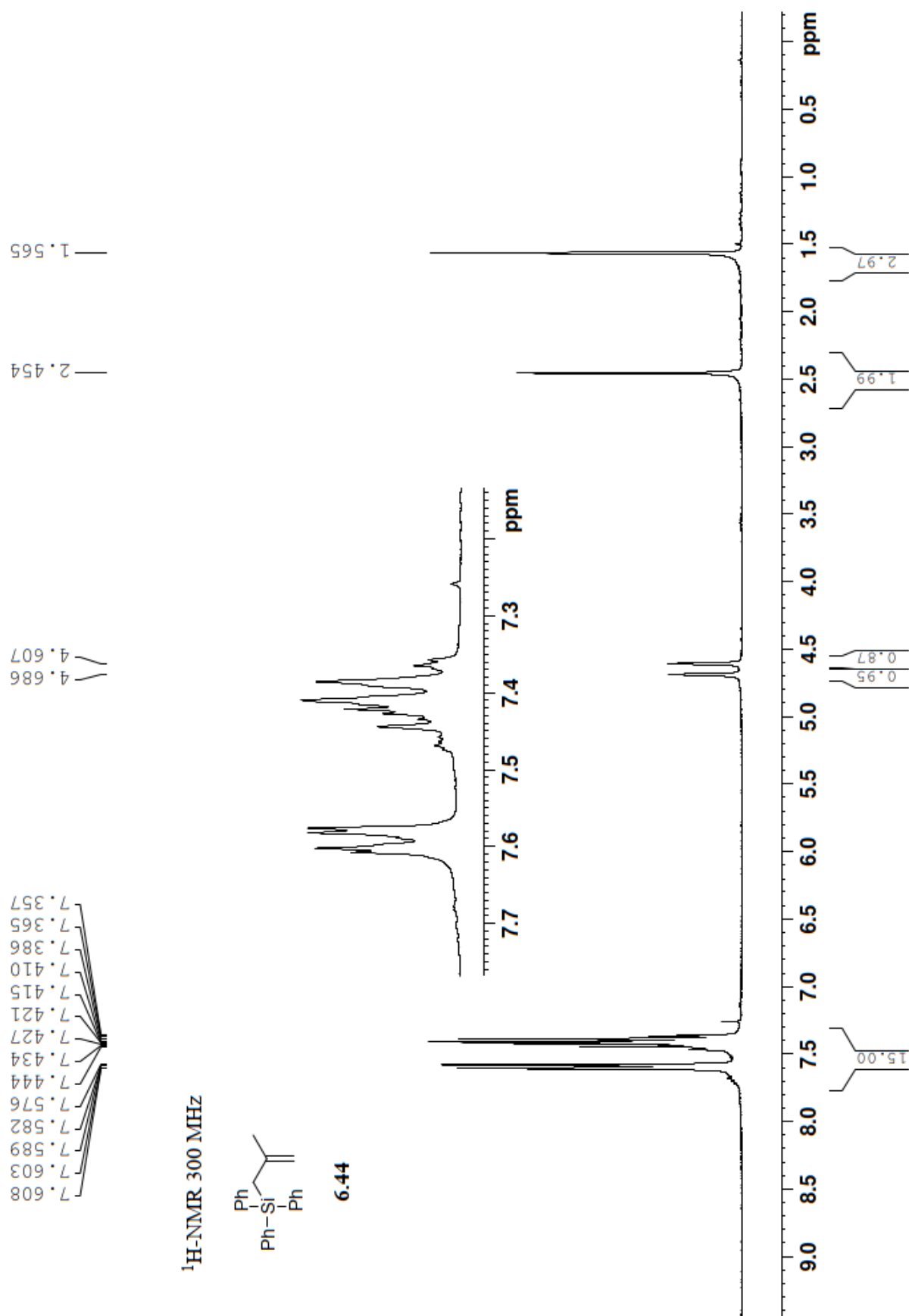






LIITE 6





LIITE 8

