

Transannulaariset Mannich-reaktiot alkaloidisynteeseissä

Pro gradu -tutkielma

Jyväskylän Yliopisto

Kemian laitos

Rakenne- ja synteesikemia

29.5.2021

Julia Saarimäki

Tiivistelmä

Tässä pro gradu -tutkielmassa on tarkasteltu transannulaaristen Mannich-reaktioiden käyttöä osana alkaloidien synteesistrategiaa aiempien tutkimusten pohjalta. Tutkielman kirjallinen osa on rajattu tarkastelemaan polysyklisiä alkaloidoja kokeellisen työn kohdeyhdisteen perusteella. Alkaloideja ja niiden synteesiä käsittelevät luvut tutkielman alkuosassa on jaettu siten, että ensin esitellään alkaloidoja, niiden esiintymisiä ja ominaisuuksia ja tämän jälkeen on tarkasteltu näiden alkaloidien synteesiä eri synteesistrategioiden kuten intramolekulaaristen ja erityisesti transannulaaristen Mannich-reaktioiden näkökulmasta. Transannulaarisuutta ja Mannich-reaktioita on käsitelty omissa alaluvuissaan strategian selkeyttämiseksi. Aiempien sylindrisiinisynteesien tarkastelu liittyy kirjallisen osan kokeellisen työskentelyn raportointiin.

Tutkielman kokeellinen työskentely on raportoitu tutkielman jälkipuolella. Kokeellista työskentelyä innoitti sylindrisiiniyhdisteiden makrosyklille käyttökelpoiseksi ennustettu suoraketjuinen esiaste eli prekursori. Kyseisestä makrosyklistä voidaan valmistaa transannulaarisella Mannich-reaktiolla sylindrisiinin kolmirenkainen rakenne. Työssä keskityttiin sylindrisiini C:n suoraketjuisen prekursorin valmistamiseen, mutta vaiheet ovat potentiaalisia ja hyödynnettävissä myös muiden sylindrisiinien synteseissä. Lineaarisen prekursorin käytön potentiaali makrosyklien valmistamisessa näkyy siinä, että prekursori voidaan syntetisoida valmiiksi kaikkine sivuryhmineen ja stereokeskuksineen ennen renkaan sulkemista, sillä makrosyklien funktionaalisuuden muokkaus voi koitua jälkeinpäin haasteeksi. Onnistuneena prosessina tällainen strategia voi avata mahdollisuuksia entistä vaikeampien polysyklisten yhdisteiden synteseille.

Prekursori jaettiin suunnitelmassa oikeaan ja vasempaan puoliskoon, joista tässä tutkimuksessa onnistuttiin valmistamaan oikea puoli enantioselektiivisesti Boc-suojattuna ja diastereomeerien seoksena Ns-suojattuna. Vasemman puolen synteesiä kartoitettiin kahdella eri tavalla, mutta se jäi vallitsevan koronatilanteen ja siitä seuranneen aikarajoitteen vuoksi vielä kehitysasteelle. Vastaavasti oikean ja vasemman puolen yhdistämistä valmiiksi prekursoriksi ei onnistuttu tekemään, mutta suunnitelma tähän on esitetty tulevaisuuden näkymien yhteydessä osion lopussa. Kokonaisuutena tutkielman kokeellinen työ loi hyvän pohjan jatkoreaktioille ja on potentiaalinen pohja muillekin sylindrisiinien synteseille.

Esipuhe

Pro gradu -tutkielman kokeellinen osa suoritettiin tammikuun ja heinäkuun 2020 välisenä aikana ja kirjallinen osa seuraavan lukuvuoden aikana Jyväskylän yliopistossa kemian laitoksella professori Petri Pihkon tutkimusryhmässä. Tutkielman ohjaajina toimivat prof. Petri Pihko ja FaT Teppo Leino. Tiedonhaussa käytettiin pääasiassa Google Scholar -palvelua ja reaktiosuunnittelussa apuna oli Reaxys-tietokanta.

Tutkielman aiheen löytäminen kumpusi omasta mielenkiinnostani luonnonainesynteeseihin sekä enustetun sylindrisiini C:n prekursorin rakenteen valmistamiseen. Uuden luominen haastoi yliopistoaikana oppimaani toden teolla ja tutkielman tekeminen avasi jatkotutkimusmahdollisuuksia eteenpäin. Työskentely prof. Pihkon tutkimusryhmässä ja vapaat kädet tutkielman tekemisessä ovat kehittäneet minua orgaanisen synteetikemian alalla sekä antaneet uusia näkökulmia ja kiinnostuksenkohteita kemian saralla.

Haastava, mutta antoisa projekti on nyt lopuillaan ja haluan esittää kiitokset prof. Petri Pihkolle ja FaT Teppo Leinolle sekä ohjauksesta että matkan varrella kertyneistä opeista ja oivalluksista. Kiitos joustamisesta, joita opeopintojeni ja tutkielman kirjoittamisen yhteensovittaminen vaati. Kiitos myös muille Pihko Groupin jäsenille tuesta ja yhteisistä hetkistä työskentelyni aikana. Haluan kiittää FT Tanja Lahtista tutkielmani tarkastamisesta. Lisäksi haluan kiittää laboratorioteknikko Johanna Hiidenheimoa massaspektrien mittaamisesta ja Esa Haapaniemeä avusta NMR-mittausten kanssa. Ystävät ja lähipiiri, olette olleet korvaamaton tuki kirjoitusprosessin aikana.

Jyväskylässä

29.5.2021

Julia Saarimäki

Sisällysluettelo

Tiivistelmä	i
Esipuhe	ii
Sisällysluettelo	iii
Käytetyt lyhenteet	v
1. Johdanto	1
2. Polysykliset alkaloidit synteesikohteina.....	3
2.1. <i>Lycopodium</i> -alkaloidiperhe	6
2.2. <i>Clavelina</i> -suvun alkaloidiperhe	8
2.2.1. Lepadiformiinit	9
2.2.2. Sylindrisiinit	10
3. Transannulaarinen Mannich-strategia polysyklisten alkaloidien synteesissä.....	11
3.1. Mannich-reaktio	12
3.2. Intramolekulaariset Mannich-reaktiot	15
3.3. Transannulaariset reaktiot.....	21
3.3.1. Transannulaarisuus konseptina	21
3.3.2. Transannulaarinen Mannich-reaktio.....	26
3.4. Makrosyklit ja keskikokoiset renkaat prekursoreina	37
4. Sylindrisiinien synteesit.....	39
5. Kokeellisen työn lähtökohta ja tarkoitus.....	50
6. Tulokset	52
6.1. Oikean puolen synteesi	52
6.1.1. Mannich-reaktio ilman katalyyttia	52
6.1.2. Enantioselektiivinen Mannich-reaktio Boc-imiinillä.....	54
6.1.3. Dekarboksylointi.....	55
6.1.4. Enantioselektiivinen Mannich-reaktio Ns-imiinillä.....	56
6.2. Vasemman puolen synteesi.....	58
6.3. Jatkoreaktiot ja tulevaisuuden näkymiä.....	60
7. Yhteenveto	62

8. Synteesiohjeet	64
Kirjallisuusluettelo	72
Liitteet	81

Käytetyt lyhenteet

Ac	asetyyli
aq.	vesiliuos
Bn	bentsyyli
Boc	<i>tert</i> -butyloksikarbonyyli
Bu	butyyli
CDCl ₃	kloroformi- <i>d</i> ₃
C ₆ D ₆	bentseeni- <i>d</i> ₆
CSA	kamferisulfonihappo
d	dubletti
DCM	dikloorimetaani
DCE	dikloorietaani
DDQ	2,3-dikloori-5,6-disyano-1,4-bentsokinoni
DEAD	dietyyliatsodikarboksylaatti
DIBAL	di-isobutyylialumiinihydridi
DMAP	4-dimetyyliaminopyridiini
DMF	dimetyyliformamidi
DMP	Dess–Martin-periodinaani
DMS	dimetyylisulfidi
DMSO	dimetyylisulfoksidi
<i>er</i>	enantiomeerien suhde
engl.	englanniksi
Et	etyyli
HMPA	heksametyylifosforiamiini
HOMO	korkein miehitetty molekyyliorbitaali
HPLC	korkean erotuskyvyn nestekromatografia
HRMS	korkean resoluution massaspektrometria
<i>i</i> -Pr	isopropyyli
IBX	<i>o</i> -jodoksibentsoehappo
IR	infrapunaspektroskopia
kvant.	kvantitatiivinen saanto
LDA	litiumdi-isopropyliamidi
LUMO	alin miehittämätön molekyyliorbitaali

m	multipletti
<i>m</i> -CPBA	<i>m</i> -klooriperoksibentsoehappo
Me	metyyli
Ms	mesyyli
NCS	<i>N</i> -klooributaani-imidi
NMR	ydinmagneettinen resonanssispektroskopia
Ns	nosyyli
PG	suojaryhmä
Ph	fenyylili
PPTS	pyridiini- <i>p</i> -tolueenisulfonaatti
q	kvartetti
R	orgaaninen sivuketju
rt	huoneenlämpötila
s	singletti
t	tripletti
<i>t</i> -Bu	<i>tert</i> -butyyli
TBAF	tetrabutyyliammoniumfluoridi
TBDPS	<i>tert</i> -butyylidifenyylisilyyli
TBS	<i>tert</i> -butyylidimetyylisilyyli
Teoc-OSu	1-(2-(trimetyylisilyyli)etoksikarbonyloksi)sukkinimidi
Tf	Triflaatti
TFA	trifluoroetikkahappo
TFE	trifluoroetanoli
THF	tetrahydrofuraani
TIPS	tri-isopropyylisilyyli
TLC	ohutlevykromatografia
TMEDA	tetrametyylietyleenidiamiini
TMS	trimetyylisilyyli
Ts	tosyyli
TSA	tolueenisulfonihappo

1. Johdanto

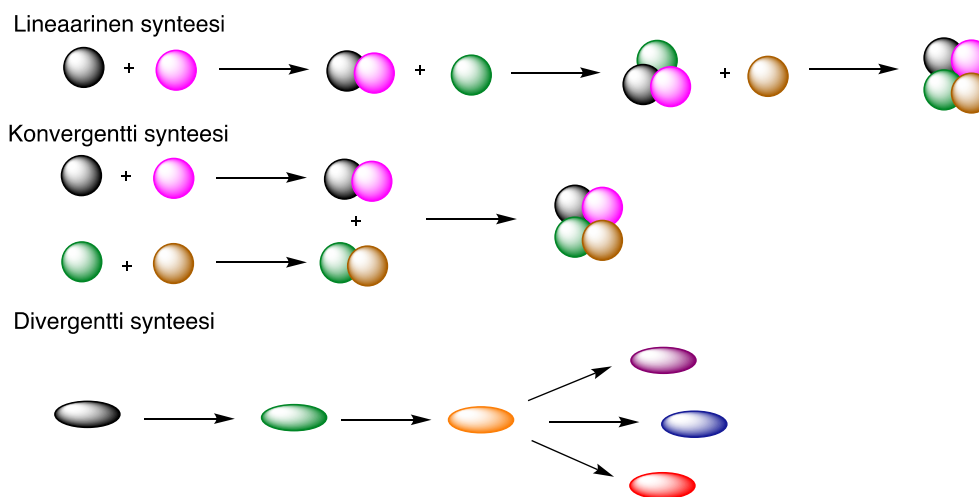
Kasveja on käytetty lääkinnällisiin tarkoituksiin ajan saatossa mm. puhdistusaineina, yskänlääkkeenä sekä hoitoina kuumeeseen ja jopa hulluuteen. Esimerkiksi oopiumunikon käyttö voidaan jäljittää 1400-luvulle eaa. ja morfiinin eristäminen unikosta 1800-luvulla antoi alkusysäyksen luonnonaineiden ja erityisesti alkaloidien tutkimukselle. Myöhemmin spektroskopisten ja kromatografisten menetelmien kehittyessä on pystytty tutkimaan luonnonaineiden vaikuttavien ainesosien rakenteita.¹

Luonnonaineilla tarkoitetaan kasveista tai eläimistä eristettyjä yhdisteitä, jotka voidaan jakaa primäärisiin, eli organismille elämisen kannalta välttämättömiin, ja sekundäärisiin, eli selviytymisen kannalta ei-välttämättömiin metaboliitteihin.² Vaikka primääristen metaboliittien merkitys yksittäiselle organismille on tärkeämpää, sekundääristen metaboliittien ekologinen tärkeys näkyy laajempänä kontekstina ympäristön kannalta ja sitä kautta tulee merkitykselliseksi myös yksittäiselle organismille.³ Luonnonaineet voidaan jaotella alkaloideihin steroideihin, terpenoideihin, aminohappoihin, proteiineihin, hiilihydraatteihin, nukleiinihappoihin, vitamiineihin sekä hormoneihin.

Luonnonainesynteesien toteuttaminen on ollut kemisteille haastavaa vuosien varrella, mistä esimerkkinä voidaan esittää edellä mainitun morfiinin kokonaissynteesi. Synteesiä on hiottu niin strategian ja metodien kuin reagenssien ja olosuhteidenkin osalta, mutta lähes 70 vuotta kestäneiden tutkimusten ja yli 30 totaalisynteesireitin jälkeenkin tämän polysyklisen alkaloidin eristäminen luonnosta on tehokkaampaa ja taloudellisesti kannattavampaa kuin syntetisoiminen.⁴ Morfiinin lisäksi muidenkin alkaloidien osalta kompleksiset rakenteet sekä funktionaalisten ryhmien ja useiden stereokeskusten luominen innostavat, mutta toisaalta myös haastavat kemistin tekemään kokonaissynteesin kannalta entistä parempia, tehokkaampia ja ekologisempia ratkaisuja. Kokonaissynteesien ala on ollut avainasemassa uusien strategioiden ja reaktioiden kehittämisessä erilaisten ongelmien ratkaisemiseksi.

Yleensä kokonaissynteesien strategia toteutetaan tavoiteorienteisesti joko lineaarisella tai konvergentilla synteesillä (kuva 1).⁵ Lineaarisessa strategiassa yhdisteeseen lisätään fragmentteja yksi kerrallaan ja konvergentissa eli haarautuneessa strategiassa kahdesta tai useammasta ennalta valmistetusta fragmentista syntetisoidaan kohdeyhdiste. Näistä jälkimmäisenä esitelty on vaiheiden määrän ja saannon kannalta kannattavampi, sillä tehokkaamman synteesin lisäksi se

yleensä säästää reaktioon tarvittavia lähtöaineita. Kolmanneksi on kuvattu divergentti synteesistrategia, joka on kehittynyt viime aikoina osaksi tehokasta orgaanista synteesikemiaa.⁶ Divergenttissä synteesissä on tavoitteena luoda vähillä ja erilaisilla vaiheilla yhdestä avainyhdisteestä (kuvassa oranssi) useita yhdisteitä kattava kirjasto, jossa yhdisteet poikkeavat toisistaan rakenteen perusteella. Tämä on potentiaalinen synteesistrategia esimerkiksi alkaloidiperheiden eri yhdisteiden synteesissä tai laajemman yhdistekirjaston luomiseen ja bioaktiivisuuden tarkasteluun lääkekehityksen yhteydessä. Vaikka divergentin strategian potentiaali on nousussa yhdistekirjastojen luomisen osalta, tavoiteorientoituneet synteesit mahdollistavat paremmin yksittäisten uusien ja kompleksisten yhdisteiden yksityiskohtaisen synteesisuunnittelun ja toteutuksen orgaanisessa kemiassa.⁷



Kuva 1. Erilaisia synteesistrategioita.

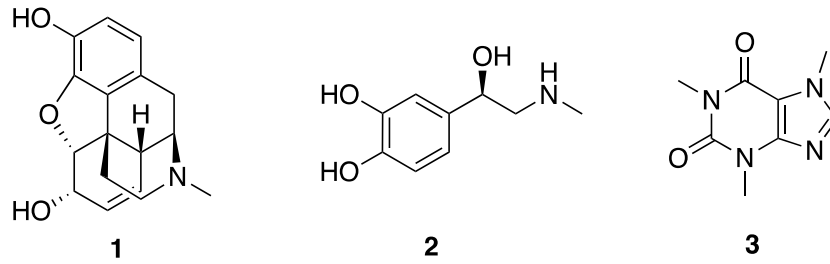
Vaikka luonnonaineiden synteesi on orgaanisessa kemiassa yksi ilmeisimmistä tavoitteista, sen saavuttamiseksi vaaditaan teoreettista ja rakenteellista analyysia.³ Eristettyjen luonnonaineiden rakennemääritys on esimerkiksi lääketieteellisestä näkökulmasta tärkeää, sillä luonnonaineilla on massiivinen rooli lääkkeiden kehityksessä sekä hyvät edellytykset uusien lääkkeiden pohjaksi. Vuosien 1981–2019 aikana uusia lääkeaineita on kehitetty miltei 1900 erilaista, joista noin kolmasosa on suoraan luonnonaineita tai niistä modifioituja versioita ja noin viidesosa luonnonaineiden rakennetta mukailevia synteettisesti valmistettuja lääkeaineita.²

Farmakologisesti tärkeiden yhdisteiden ja niiden johdannaisten synteesien osalta orgaanisessa kemiassa C–N- ja C–C-sidosten muodostaminen on ollut keskeinen haaste. Vuonna 1912 Carl Mannich totesi aminometylointireaktioiden potentiaalin ja kyseinen reaktio on edelleen yksi merkittävimmistä C–C-sidoksen muodostavista reaktioista. Mannich-reaktion merkitys sekä

C–C- että C–N-sidosten muodostamisessa on laajalti tunnettu ja se on avainasemassa luonnonaineiden, kuten alkaloidien kokonaissynteeseissä. Reaktiolla ja tuotteeksi saatavilla Mannich-emäksillä on laajat sovellusmahdollisuudet esimerkiksi lääkeaineina, polymeereina ja lannoiteteollisuudessa.⁸ Mannich-reaktiota on käytetty avainreaktioina biomimeettisissä luonnonainesynteeseissä, ja etenkin sellaisissa aminoalkylointireaktioissa, joissa muodostetaan asyklisestä yhdisteestä intramolekulaarisesti syklinen yhdiste. Mannich-reaktion potentiaali luonnonainesynteeseissä näkyy myös siinä, että yksinkertaisista ja edullisista lähtöaineista pystytään muodostamaan kompleksisia tuotteita.^{9,10} Tutkielman luvussa 2 esitellään alkaloidiperheitä ja alkaloideja, joiden kokonaissynteeseissä Mannich-reaktio on avainasemassa. Esiteltyjen alkaloidien synteesejä käsitellään puolestaan luvussa 3 ja samalla paneudutaan tarkemmin kyseisten synteisien Mannich-vaiheeseen.

2. Polysykliset alkaloidit synteesisikohteina

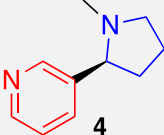
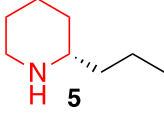
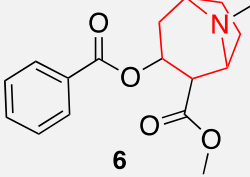
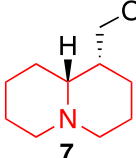
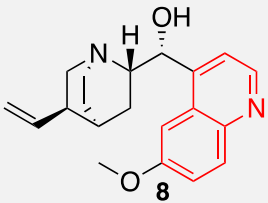
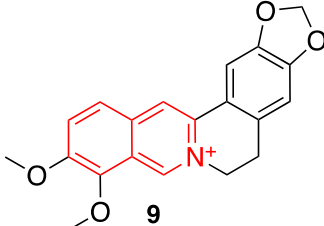
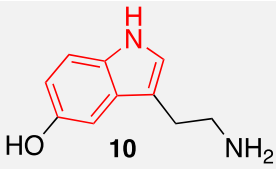
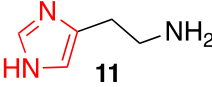
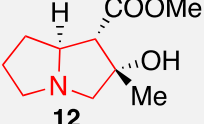
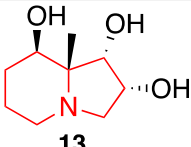
Kasvien osissa esiintyvät alkaloidit ovat vanhimpia lääkinnälliseen tarkoitukseen käytettyjä yhdisteitä, vaikka niiden tunnistaminen juuri alkaloideiksi on tapahtunut vasta myöhemmin.¹¹ Alkaloideilla tarkoitetaan usein rengasrakenteisia, emäksisen tyypiatomin sisältäviä yhdisteitä, jotka on eristetty kasveista¹², mutta näitä syntyy myös selkärankaisten ja selkärangattomien eliöiden metaboliassa¹¹. Luonnossa useimpien alkaloidien lähtöaineena toimivat erilaiset aminohapot, kuten tryptofaani, tyrosiini, lysiini, fenyylialaniini ja arginiini, joko yksin tai yhdessä steroidisten tai terpenoidityyppisten rakenneosien kanssa.¹ Tarkasteltaessa luonnonaineita jaoteltu alkaloideihin tapahtuu nimenomaan emäksisen tyypiatomin takia, ei niinkään renkaan koon tai tyypin mukaan. Alkaloidit voidaan luokitella biologisen ja ekologisen aktiivisuuden, biosynteesin tai kemiallisen rakenteen perusteella. Rakennejaottelun perusteella luokkia on karkeasti kolme: 1) heterosykliset alkaloidit (engl. true alkaloids), joissa typpi on osana rengasrakennetta ja jotka pohjautuvat aminohapporakenteeseen, 2) protoalkaloidit, joissa typpi on rengasrakenteen ulkopuolella, ja 3) pseudoalkaloidit, jotka eivät pohjautu aminohapporakenteeseen.^{13,14} Erilaisista rakenteista on esitetty esimerkkiyhdisteet kuvassa 2.



Kuva 2. Erilaisia alkaloideja: morfiini **1** kuuluu heterosyklisiin alkaloideihin, adrenaliini **2** protoalkaloideihin ja kofeiini **3** pseudoalkaloideihin.

Varsinaiset eli heterosykliset alkaloidit voidaan luokitella edelleen pienempiin ryhmiin sen perusteella, millaiseen rengasrakenteeseen typpi on yhdisteessä kiinnittynyt. Nämä alkaloidit esiintyvät luonnossa suoloina, amiinioksideina tai sellaisenaan vapaina yhdisteinä. Vapaina emäksinä ne kuitenkin reagoivat helposti happojen kanssa. Heterosyklisten alkaloidien rakenteista on koottu esimerkkiyhdisteitä taulukkoon 1.^{13,14} Rakenneluokittelua on havainnollistettu punaisella ja sinisellä värillä ja lisäksi taulukossa on esimerkkejä käyttökohteista tai esiintymisestä.

Taulukko 1. Rengasrakenteen perusteella luokiteltuja heterosyklisiä alkaloideja sekä esimerkkejä niiden esiintymisestä

Alkaloidirakenne	Yhdiste	Esiintyminen/ käyttö
pyrrolidiini (sinisellä), pyridiini (punaisella)	 4	nikotiini tupakkakasvit
piperidiini	 5	koniini myrkkukatko
tropaani	 6	kokaiini kokapensas, huumausaine
kinolitsidiini	 7	lupiniini lupiini
kinoliini	 8	kiniini malarialääke, tonic-vesi
isokinoliini	 9	berberiini väriaine, ravintolisä
indoli	 10	serotoniini välittäjäaine
imidatsoli	 11	histamiini välittäjäaine
pyrrolitsidiini	 12	tussilagiini leskenlehti
indolitsidiini	 13	swainsoniini α -mannosidaasin inhibiittori, anti- neoplastinen aine

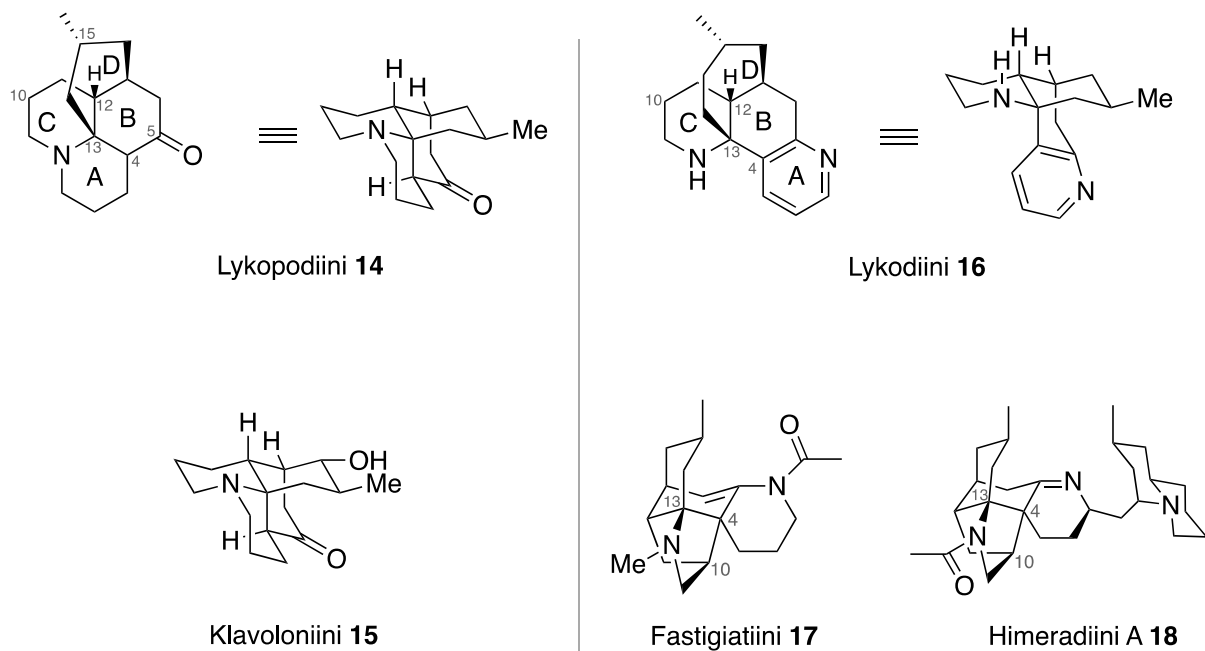
Alkaloidit ovat siis sekundäärisen metabolian tuotteita ja solutasolla biologisen ja fysiologisen aktiivisuutensa kannalta mielenkiintoisia. Mielenkiintoisuus näkyy siinä, että eräillä alkaloideilla on todettu olevan mm. tulehdusta estäviä ja kipua lievittäviä ominaisuuksia¹⁵ sekä HIV-viruksen käänteistranskriptaasiin vaikuttavia ominaisuuksia¹⁶. Biologisesti merkittävää on myös se, että suuri vaikutus saadaan aikaan jo pieninä annoksina. Fysiologisten vaikutusten seurauksena alkaloideista on johdettu lääkkeitä mm. malariaan, leukemiaan, Parkinsonin tautiin ja kipulääkkeiksi¹¹ sekä erilaisiin mielenterveyden ongelmiin¹³. Luonnonaineiden tai niiden johdannaisten kehittämistyö kokonaissynteetien osalta on tärkeää synteettisten yhdisteisen optimaalisemman biologisen aktiivisuuden kannalta. Luonnonaineet eivät aina ole sellaisenaan ihanteellisia lääkekäytössä fysiokemiallisten ominaisuuksiensa vuoksi ja saattavat aiheuttaa mm. farmakokineettisiä ongelmia.^{17,18} Synteettisillä johdannaisilla luonnonaineiden käytön sijaan pyritään esimerkiksi vähentämään sivuoireita, lisäämään selektiivisyyttä toivottuun vaikutuskohtaan, muokkaamaan liukoisuutta sekä lisäämään metabolista ja kemiallista stabiiliisuutta liian aikaisen hajoamisen välttämiseksi.¹⁸ Vaikka kehitystyö on haastavaa ja matka ideasta valmiiksi lääkkeeksi on pitkä, luonnonaineilla ja niiden johdannaisilla on kuitenkin potentiaalia toimia lääkeaineina.²

2.1. *Lycopodium*-alkaloidiperhe

Lycopodium-tähtäliekkojen sukuun kuuluu 15 lajia ja taksonomisesti ylempänä olevaan *Lycopodiaceae*-heimoon kuuluu arviolta 400–500 lajia. Taksonomisessa määrittelyssä on kuitenkin pitkään ollut ristiriitoja ja esimerkiksi samaan heimoon kuuluvien *Lycopodium*- ja *Huperzia*-sukujen lajeja on nimetty kuuluvaksi kahteen eri sukuun ja siten synonyymeiksi toisilleen.^{19,20} Näiden kummankin suvun kasveista kuitenkin löytyy lycopodiumalkaloideja.

Tähtäliekoista on eristetty ja tunnistettu alkaloideja ensimmäisen kerran jo 1880-luvulla. Määrä on kasvanut edelleen myös 2000-luvulla ja yhteensä lycopodiumalkaloideja on eristetty jo yli 500.^{21–23} Kiinnostaviksi nämä alkaloidit on tehnyt niiden kompleksinen polysyklinen rakenne sekä biologinen aktiivisuus. Merkittävin biologinen aktiivisuus eräiden lycopodiumalkaloidien osalta liittyy *in vivo* ja *in vitro* -tutkimuksissa havaittuihin vaikutuksiin sydämen ja verisuonten toiminnassa sekä lihasten ja hermojen välisissä toiminnoissa. Näiden lisäksi eräillä lycopodiumalkaloideilla, kuten hupertsiini A:lla, on havaittu vaikutuksia muistiin ja oppimiseen, Nämä vaikutukset ilmenivät hiirillä kasvaneena oppimisen tehokkuutena, ja kyseistä alkaloidia on tutkittu Alzheimerin tautiin soveltuvaksi lääkkeeksi.^{20,21}

Rakenteen osalta lykopodiumalkaloideilla on yleensä 16 hiilen polysyklinen rakenne, johon osalla yhdisteistä on liittynyt vielä sivuketjulla kiinni olevia renkaita. 1990-luvulla alkaloidit jaoteltiin neljään ryhmään: lykodiineihin, lykopodiineihin, fawsettimiineihin sekä sekalaisiin²⁴, joista tässä tutkimuksessa keskitytään pääasiassa näistä kahden suurimman rakenneryhmän, lykodiini- ja lykopodiiniryhmän, yhdisteiden tarkasteluun (kuva 3). Kummankin ryhmän yhdisteillä on sama B-C-D-rengasrakenne, mutta A-renkaan fuusioituminen muuhun rakenteeseen vaihtelee.



Kuva 3. *Lycopodium*-alkaloidien kaksi yleisintä rengasrakennetta lykopodiini ja lykodiini, ja esimerkkiyhdisteet näistä rakenteista.

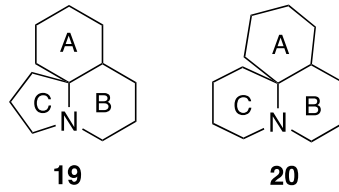
Lykopodiini **14** oli nimikkoryhmänsä ensimmäisenä eristetty alkaloidi, se eristettiin ensimmäisen kerran jo vuonna 1881 ja rakenne saatiin määritettyä 1938. Tämän perusteella vastaavan rakenteen omaavat yhdisteet luokitellaan lykopodiinien luokkaan. Lykopodiinirakenne on myös määrällisesti yleisimmin esiintyvä *Lycopodium*-liekojen suvusta eristetyistä alkaloidista. Rengasrakenne identifioidaan kinolitsidiiniksi A- ja C-renkaiden fuusion perusteella. Eri lykopodiinirakenteiden yhdisteet poikkeavat lähinnä D-renkaan substituenttien perusteella, josta esimerkkinä klavoloniinin rakenne.²¹ Klavoloniini **15** eristettiin vuonna 1960 *Lycopodium clavatum* -katinlieosta.²⁵ Rakenteellisesti se kuuluu lykopodiineihin ja eroaa ryhmän perusrungosta ainoastaan yhdellä D-renkaaseen kiinnittyneellä hydroksyyliyrhymällä.

Lykopodiumalkaloidien määrällisesti toiseksi suurin luokka on lykodiinit. Lykodiini **16** oli näistä ensimmäisenä eristetty yhdiste.²² Yhdisteillä on kaksi typpiä kiinnittyneenä perusrungon rakenteeseen ja A-rengas on pyridiini tai sen johdannainen, kuten fastigiatiinilla **17** ja himeradiini A:lla **18**. Lykodiineilla rakenteellista vaihtelua ilmenee enemmän kuin lykopodiineilla. Biologisen aktiivisuuden näkökulmasta kaikki ne lykopodiumalkaloidit, joilla on asetyylikoliiniesteraasia inhiboivia ominaisuuksia, kuuluvat rakenteeltaan lykodiinien luokkaan. Tämä vaikutus on liitännäinen edellä mainittuun muistin ja oppimisen tehokkuuteen ja mahdollisiin Alzheimerin taudin uusiin hoitomuotoihin

Fastigiatiinilla **17** ja himeradiini A:lla **18** on lykodiinien perusrakenteesta poiketen viisirenkainen rakenne, mutta keskenään sama polysyklinen runko. Rakenteet poikkeavat lykodiinista hiilien C4 ja C10 välillä olevan sidoksen perusteella ja tämä lisää rengasrakenteen jännitystä ja kompleksisuutta huomattavasti. Kompleksisuutta havainnollistaa hyvin myös stereokeskusten määrä: fastigiatiinilla niitä on kuusi, joista viisi on rakenteessa vierekkäin, ja himeradiini A:lla stereokeskuksia on peräti 10. Tämä tekee himeradiini A:sta yhden kompleksisimmista tunnetuista lykopodiumalkaloideihin kuuluvista yhdisteistä. MacLeanin ryhmä eristi fastigiatiinin ensimmäisen kerran vuonna 1986 *Lycopodium fastigatum* -tunturilieosta Uudesta-Seelannista. Se oli ensimmäinen lykopodiumalkaloideihin kuuluva yhdiste, jolla on pentasyklinen rakenne, eikä vastaavaa myöskään oltu havaittu aiemmin muissa tunnistetuissa alkaloideissa.²⁶ Himeradiini A on puolestaan eristetty *Lycopodium chinense* -lieosta 2003. Himeradiini A:lla on todettu olevan syöpää estäviä vaikutuksia hiirien lymfaattista leukemiaa aiheuttavaan solulinjaan IC₅₀-pitoisuudella 10 µg/ml *in vitro* -tutkimuksissa.²⁷

2.2. *Clavelina*-suvun alkaloidiperhe

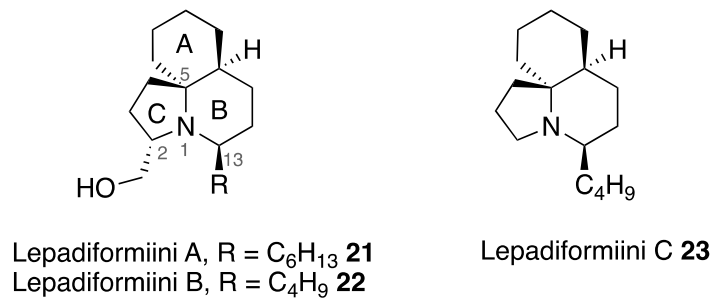
Clavelina-merituppilajeista on eristetty kolmirenkaisia alkaloideja, mm. Tasmanian ja Tunisian rannikoilta. Osalla näistä alkaloideista on todettu biologista aktiivisuutta, mikä viittaa potentiaaliin toimia uusina lääkeaineina. *Clavelina*-suvun alkaloidit kuuluvat joko kinolitsidiinien tai indolitsidiinien luokkaan, kuten lähes kaikki meritupista eristetyt alkaloidit, mutta perhydropyrrolo-[1,2-j]-kinoliini- **19** ja perhydropyrido-[1,2-j]-kinoliinirakennetta **20** vastaavia alkaloidirakenteita ei ole ennen näitä *Clavelina*-suvun alkaloideja raportoitu. Kyseisistä lajeista eristettyjen tarkasteltavien alkaloidien kolmirengasrakenteet on esitetty kuvassa 4.²⁸



Kuva 4. Perhydropyrrolo-[1,2-j]-kinoliini- ja perhydropyrido-[1,2-j]-kinoliinirakenne.

2.2.1. Lepadiformiinit

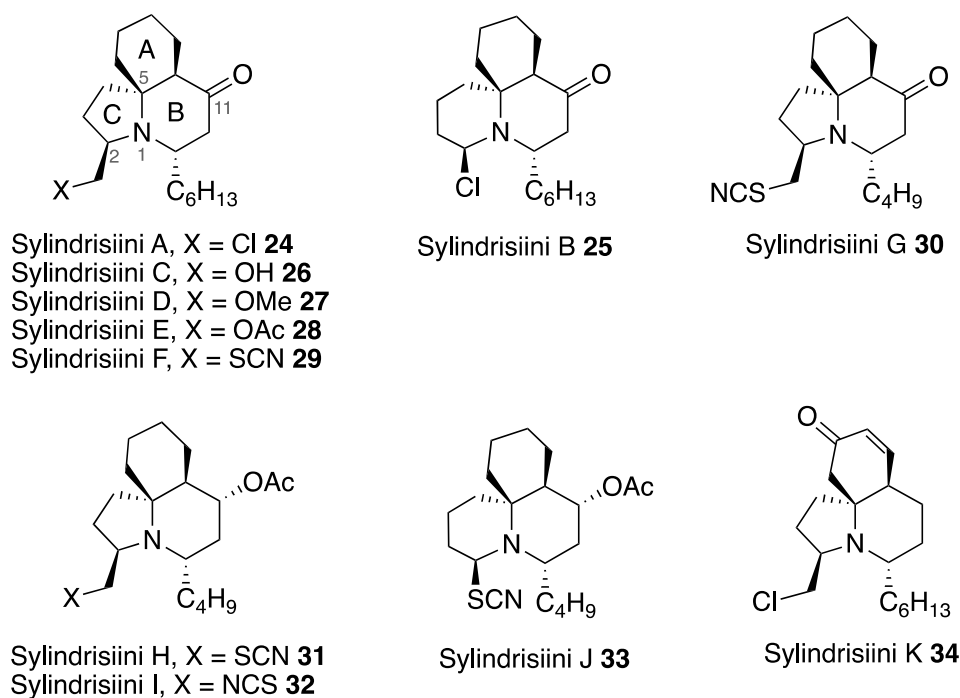
Lepadiformiini A **21** (kuva 5) eristettiin Tunisian pohjoisrannikolta *Clavelina Lepadiformis* -merituppilajista vuonna 1994. Rakenteen epäiltiin aluksi esiintyvän kahtaisionimuodossa, mutta kuusi vuotta löytämisen jälkeen havaittiin, että luonnollinen lepadiformiini A esiintyy vetykloridisuolana. Samalla selvitettiin lepadiformiini A:n absoluuttinen konfiguraatio, ja se on ainoa tässä luvussa esitellyistä *Clavelina*-suvun alkaloideista, jonka luonnossa esiintyvän muodon rakenne ja optinen kierto on täysin määritetty.^{29,30} Muutamaa vuotta myöhemmin *Clavelina Moluccensis* -lajista Djiboutin läheltä Afrikan itäosasta eristettiin lepadiformiinit B **22** ja C **23**. Jokaisella eristetyllä lepadiformiini-alkaloidilla on perhydropyrrolo-[1,2-j]-kinoliinirakenne. Lepadiformiinien bioaktiivisuus ilmenee *in vitro* -tutkimusten perusteella sytotoksisina ominaisuuksina ei-pienisoluista keuhkosityöpää vastaan ja *in vivo* -tutkimuksissa vaikuttaen sydänlihaksen kaliumkanaviin.³¹ Lepadiformiinit A ja B eroavat toisistaan aseman 13 sivuketjun pituudesta ja tämän lisäksi lepadiformiini C:n erottaa asemasta 2 puuttuvasta hydroksyyllisivuketjusta. Huomionarvoista on, että lepadiformiinien kolmirengsrakenteen A- ja B-renkaat ovat *trans*-fuusioituneet.



Kuva 5. Lepadiformiinit A-C.

2.2.2. Sylindrisiinit

Sylindrisiini-alkaloideja **24–34** (kuva 6) on eristetty *Clavelina cylindrica* -merituppilajista Tasmanian rannikolta ensimmäisen kerran 1990-luvun vaihteessa. Eri alueilta kerätyt näytteet sisälsivät sylindrisiini-alkaloideja hieman eri suhteissa, mutta sylindrisiinejä **A 24** ja **B 25** esiintyi huomattavasti muita laajemmin. Sylindrisiini-alkaloideilla on kuvassa 4 esitelty kolmirenkainen pyrrolo-[2,1-j]-kinoliinirakenne (A, C-I ja K) tai pyrido-[2,1-j]-kinoliinirakenne (B ja J). Sylindrisiinit A ja B olivat ensimmäiset alkaloidit, joilla edellä mainitut kolmirengasrakenteet havaittiin. Niiden rakennemääritys toteutettiin NMR-, MS- ja röntgenkristallografiamittauksilla yhdisteiden pikraattisuolamuodosta. Vapaina emäksinä omissa liuoksissaan sekä sylindrisiini A että sylindrisiini B konvertoituivat kuudessa vuorokaudessa tasapainoon, jossa kumpaakin alkaloidia esiintyi suhteessa 3:2. Tästä syystä yhdisteet olivat stabiilimpia mittauksille ja analyysille pikraattisuoloina.^{32–34}



Kuva 6. Sylindrisiinit (A-K).

Eri sylindrisiiniyhdisteet poikkeavat C-renkaan hiilten lukumäärän lisäksi aseman 2 substituentista ja aseman 11 hapetusasteesta, mutta kaikilla yhdisteillä A- ja B-renkaiden rakenne on sama, *cis*-muotoinen. Rakenneanalyysissa luonnosta eristettyjen sylindrisiinien absoluuttista konfiguraatiota ja optista rotaatiota ei selvitetty eristyksen yhteydessä,^{32–34} ja se on edelleen selvittämättä, mutta lepadiformiinin tutkimusten perusteella luonnosta eristetyt

syylindrisiinirungon on epäilty olevan (–)-enantiomeeri.³⁵ Synteettisesti sylindrisiinialkaloideja on kuitenkin onnistuttu valmistamaan ja analysoimaan sekä (+)- että (–)-enantiomeereina ja lisäksi raseemisina seoksina.

Verrattuna muihin meritupista eristettyihin kolmirenkaisiin alkaloideihin, sylindrisiineilla ei vielä ole varsinaisesti havaittua biologista aktiivisuutta. Bioaktiivisuuskokeissa niiden on ainoastaan todettu olevan myrkyllisa suolalehtijalkaisille.³² Rakenne kuitenkin on samanlainen lepadiformiinien rakenteen kanssa, joskin substituentit ja sivuryhmät poikkeavat asemien C2, C11 ja C13 osalta. Tama rakenteen samanlaisuus sekä lepadiformiinin bioaktiivisuus kardiovaskulaaristen ominaisuuksien osalta voisi viitata potentiaaliin myös sylindrisiinien mahdollisesta biologisesta aktiivisuudesta. Toisaalta myös kolmannen meritupialkaloidin, *Nephteis fascicularis*-merituppilajista eristetyn fasikulariinin **35** (kuva 7) DNA:n korjausvirheita vastaan todettu bioaktiivisuus sekä *Clavelina*-suvun alkaloideille tyypillinen rakenne³⁶ puoltavat myös sylindrisiinien potentiaalia toimia biologisen aktiivisuuden kannalta merkittävässä asemassa. Bioaktiivisuuden toteaminen lisäisi tehokkaiden kokonaissynteisien luomisen merkittavyyta.



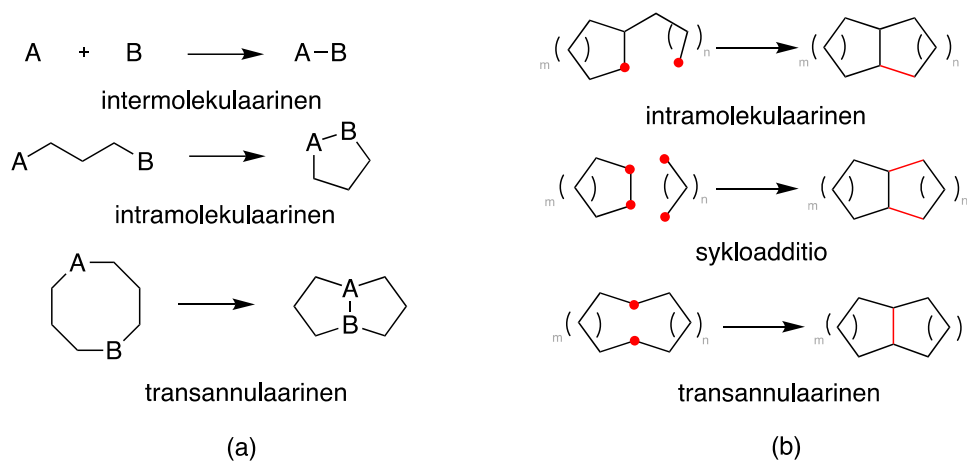
Fasikulariini **35**

Kuva 7. Fasikulariinin rakenne.

3. Transannulaarinen Mannich-strategia polysyklisten alkaloidien synteeseissä

Kemialliset reaktiot voidaan jakaa kolmeen ryhmaan, intermolekulaariin, intramolekulaariin ja transannulaariin reaktioihin, sen mukaan, miten reagoivat ryhmät ovat yhdessä tai useammassa yhdisteessä sijoittuneet (kuva 8, a). Intermolekulaarisilla reaktioilla tarkoitetaan kahden eri atomin tai yhdisteen valistsa reaktiota, intramolekulaarisilla molekyyllinsisaisia ja transannulaarisilla molekyylin läpi tapahtuvia reaktioita.

Renkaanmuodostusreaktioita tarkasteltaessa reaktiot voidaan jaotella karkeasti niin ikään kolmeen ryhmään: intramolekulaarisiin reaktioihin, sykloadditioihin ja transannulaarisiin reaktioihin (kuva 8 b). Intramolekulaarisissa reaktioissa sivuketjun funktionaalinen osa reagoi toiseen, mahdollisesti jo renkaassa olevaan funktionaaliseen osaan. Sykloadditioreaktioissa toinen osapuoli voi olla jo valmiiksi osana rengasrakennetta. Yleisesti tunnettu esimerkki sykloadditioreaktioista on Diels–Alder-reaktio, jossa tyydyttymättömät yhdisteet reagoivat keskenään muodostaen rengasrakenteen. Kolmantena reaktiona on esitetty transannulaarinen reaktio, jossa suuremman renkaan kaksi funktionaalista ryhmää reagoivat muodostaen sidoksen renkaan sisälle.³⁷

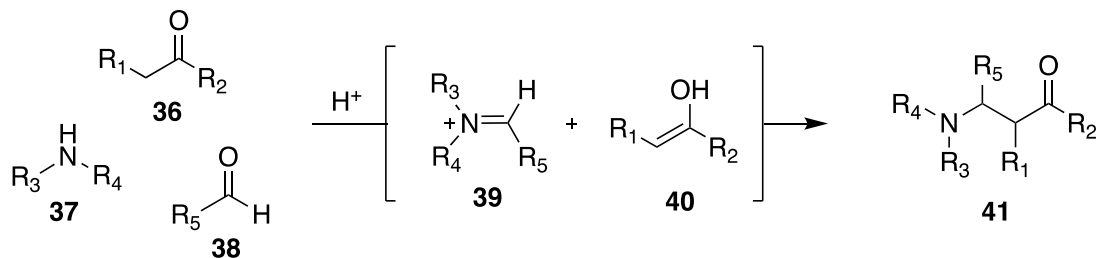


Kuva 8. Havainnekuvat reaktioista reagoivien ryhmien perusteella (a) ja renkaanmuodostuksen perusteella (b).^{37–39}

3.1. Mannich-reaktio

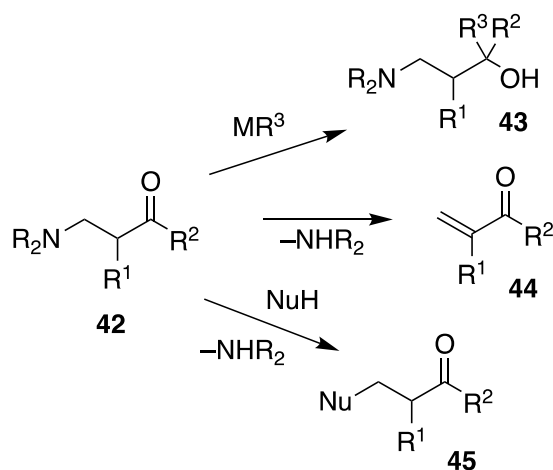
Mannich-reaktio on klassinen ja laajasti hyödynnetty orgaanisen kemian reaktiotyyppi, joka on potentiaalinen sekä C–C- että C–N-sidoksia muodostava reaktio ja kontrolloitavissa sekä enantio- että diastereoselektiivisyyden osalta.^{9,40} Mannich-reaktio on enolin tai enoliekvivalentin sekä imiinin tai iminiumionin välinen reaktio. Kaaviossa 1 reaktiota on havainnollistettu niin, että se sisältää enolisoituvan aldehydin tai ketonin, amiinin ja aldehydin. Nukleofiilina toimivan amiinin reagointi elektrofiiliseen karbonyyliin, kuten aldehydiin, muodostaa joko iminiumionin tai Schiffin emäkseksikin kutsutun imiinin. Tämän jälkeen happokatalyytilla enolisoitunut aldehydi tai ketoni reagoi imiinin tai iminiumionin hiileen ja tuotteena on β-

aminokarbonyyliyhdiste **41**.⁹ Tavallisesti Mannich-reaktio toteutetaan happokatalysoituna ja proottisessa liuottimessa, joka tukee etenkin iminiumionin muodostusta dielektrisyysvakionsa vuoksi. Imiinien muodostamisen osalta kevyt lämpötilan nosto on reaktiossa tarpeellinen.⁴¹



Kaavio 1. Mannich-reaktio.

Mannich-reaktion komponentteina käytetään riittävän happamia karbonyyliyhdisteitä, kuten β -ketoestereitä, malonaatteja tai ketoneja, joiden pK_a on joko 9–13 tai 16–20. Reaktiossa voidaan käyttää joko primäärisiä tai sekundäärisiä amiineja, joista sekundääriset amiinit reagoivat tertiäärisiksi Mannich-tuotteiksi hieman paremmilla saannoilla kuin mitä primääristen amiinien käytöllä saataisiin. Amiinien sivuryhmien koko vaikuttaa tapahtuvan reaktion kulkuun ja siksi käyttökelpoisimpia amiineja Mannich-reaktioihin ovat esimerkiksi dimetyyliamiinit tai sykliset amiinit.⁴¹



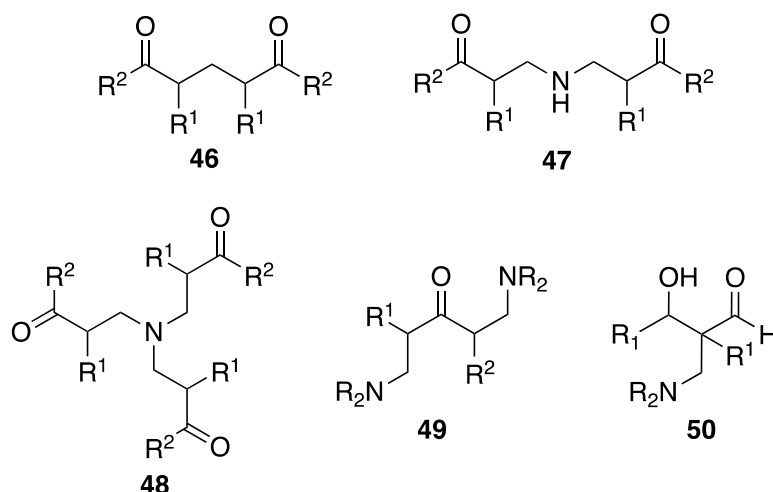
Kaavio 2. Mannich-tuotteen johdannaisia.^{8,9}

Mannich-reaktion tuotteena voi olla β -aminokarbonyyliyhdisteen **42** lisäksi myös β -aminoalkoholi **43**, Michael-akseptori **44**, tai substituutiolla funktionalisoitu yhdiste **45** (kaavio 2).^{8,9} Mannich-reaktion tuotteita hyödynnetään mm. farmaseuttisesti tärkeiden yhdisteiden synteesissä esimerkiksi tulehdusta estävien lääkkeiden, kipulääkkeiden, sienilääkkeiden, HIV- ja

muiden viruslääkkeiden osalta.⁴² Kaupallisessa käytössä olevia Mannich-emäksistä johdettuja lääkkeitä ovat esimerkiksi Venäjällä hengitystieinfektioihin käytetty umifenovir, jonka käyttöä on tutkittu myös koronavirusta vastaan,⁴³ malarialääkkeenä käytetty pyronaridiini sekä topotekaani, jota käytetään munasarjasyövän hoitoon.⁴⁴ Mannich-emäksien johdannaisia käytetään polymeeriteollisuudessa esimerkiksi epoksiliimojen valmistuksessa.⁴⁵ Valikoituja alkaloideja esiteltiin luvussa 2 ja niiden osalta Mannich-reaktioita tarkastellaan myöhemmin tässä tutkielmassa.

Mannich-reaktioita voidaan toteuttaa monin variaatioin, joista yksinkertaisin intermolekulaarinen reaktio kuvattiin edellä. Reaktiot voivat muodostaa renkaita intramolekulaarisesti, lähtöaineet voivat reagoida sekä katalysoidusti että ilman⁴⁰ ja yhdiste voi reagoida Mannich-tyyppisesti kahdesti⁴⁶. Dominoreaktioita, joissa peräkkäisissä vaiheissa syntyy useampi uusi sidos, voidaan hyödyntää ”one-pot”-prosesseissa. Nämä ovat käyttökelpoisia esimerkiksi farmaseuttisten tuotteiden valmistuksessa.⁹ One-pot-prosesseilla tarkoitetaan samassa reaktioastiassa tapahtuvaa reaktiota, jossa välituotteita ei erikseen eristetä. Menetelmällä pyritään tehostamaan synteesiä ja toisaalta esimerkiksi Mannich-reaktioita voidaan toteuttaa prosessilla ympäristöystävällisemmin käyttämällä liuottimena vettä orgaanisen liuottimen sijaan saaden reaktiot onnistumaan lähes 90 % saannoilla.⁴⁷ Intramolekulaariset Mannich-reaktiot ovat tehokkaita reaktioita renkaanmuodostukseen, ja ovat intermolekulaarisia tärkeämmässä asemassa alkaloidisynteeseissä. Renkaanmuodostuksen stereo- ja regioselektiivisyyden ennustamista voidaan parantaa esimerkiksi Baldwinin sääntöjen perusteella valituilla olosuhteilla.^{9,40}

Klassisen Mannich-reaktion haasteena on selektiivisyyden puute katalysoimattomissa reaktioissa, joskin regioselektiivisyyttä pystytään kontrolloimaan katalyyttien avulla. Toisena haasteena reaktioon käytettävät reaktioajat ja ei-haluttujen sivutuotteiden muodostuminen täytyy ottaa huomioon synteesiä suunniteltaessa. Mahdollisia reaktioissa esiintyviä sivutuotteita on esitetty kuvassa 9. Mannich-tuotteen deaminaation seurauksena tuotteena voi olla biskarboonyliyhdiste **46** Mikäli käytetään primäärisiä amiineja, reaktio voi edetä korvaten useampia amiinin vetyjä **47**, **48**, ja tämä johtaa halutun Mannich-tuotteen saannon laskuun. Ketonin, jolla on useampi hapan α -protoni, käyttö voi puolestaan johtaa useaan aminometylointiin ja bis-Mannich-emästen **49** muodostumiseen. Kyseinen sivureaktio on kuitenkin epätodennäköinen, sillä Mannich-tuotteen enolisaation nopeus on hitaampi verrattuna lähtöaineena toimivaan ketoniin. Lisäksi ketonien sijasta käytettävät aldehydit voivat tuottaa sivureaktion β -aminoaldehydien aldolikondensaatiotuotteita **50**.^{9,41}



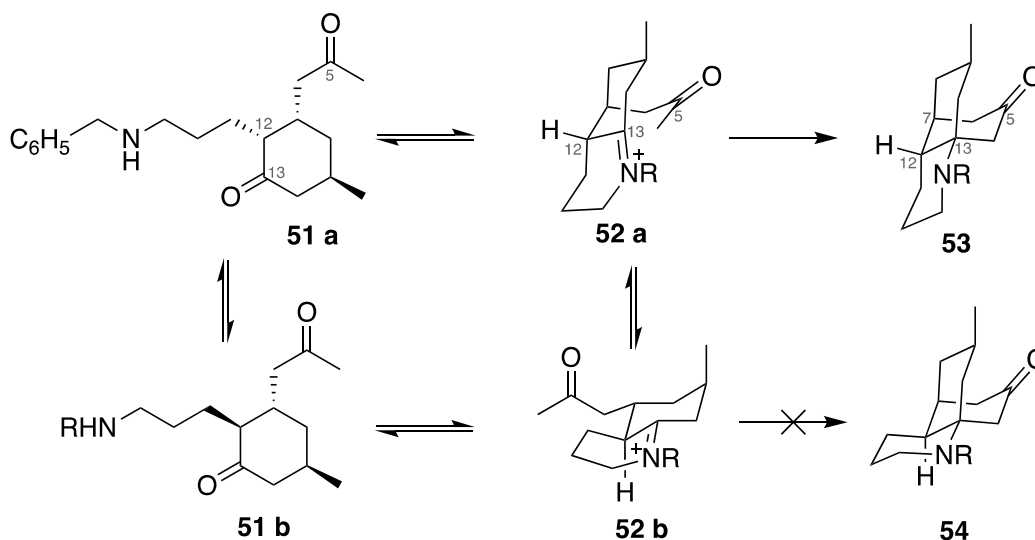
Kuva 9. Mannich-reaktion mahdollisia sivutuotteita.

Edellisten haasteiden lisäksi Mannich-reaktioiden kemoselektiivisyys voi häiriintyä useiden karbonyyliyhdisteiden käytön seurauksena⁴⁸, jolloin välituotteiden reaktiivisuus voi lisätä sivu-reaktioiden todennäköisyyttä ja siten alentaa saantoa. Asymmetrisissa reaktioissa yhdisteen steerinen este voi vaikuttaa nukleofiiliseen addition joko niin, että reagointi tapahtuu väärään kohtaan tai sitä ei tapahdu ollenkaan. Esimerkiksi käytettäessä alifaattista imiiniä yhdiste voi muodostaa enamiinin, eikä reaktio etene halutulla tavalla.^{49,50} Vaikka ennakointi ja huomion kiinnittäminen eri regiokontrolliin ja stereoselektiivisyyteen on tärkeää, voi pieleen mennyt strategia kuitenkin tarjota kemisteille tärkeää informaatiota synteesiin ja antaa ratkaisuja toisiin vastaaviin ongelmiin.^{51,52}

3.2. Intramolekulaariset Mannich-reaktiot

Intramolekulaarisia Mannich-reaktioita sisältäviä alkaloidien kokonaissynteesiä on raportoitu useita. *Lycopodium*-alkaloidiperheen yhdisteet ovat olleet mielenkiinnon kohteina biologisen aktiivisuutensa vuoksi, mitä avattiin tarkemmin luvussa 2. Vuonna 1982 Heathcockin ryhmä esitti loistavan esimerkin kyseisten alkaloidien stereokontrolloituun synteesiin, mikä inspiroi myös muita tutkimusryhmiä toteuttamaan rengasrakenteiden muodostumisen sisältäviä synteesiä, joissa Mannich-reaktio on avainasemassa. Heathcockin ryhmän synteesissä lykopodiinin kolmirengasrakenne saatiin muodostettua siten, että A- ja B-renkaat (vrt. kuva 3) muodostetaan intramolekulaarisella Mannich-reaktiolla ja lopuksi nelirengasrakenne suljetaan aldolikondensaatiolla.⁵³ Malliyhdisteen synteesissä Mannich-vaihe toimi hyvin saannon

suhteen ja termodynaaminen kontrolli johti stereoselektiivisesti haluttuun kolmirengasraken- teeseen (kaavio 3). Mannich-vaiheessa yhdisteen **51** diastereomeerit syklisoituvat tuolimutoisiksi ioneiksi, joissa kummassakin renkaan kulman vety on aksiaaliseen asemaan. Tämä johtaa siihen, että isomeerissa **52 a** ketonin sisältävä sivuketju jää aksiaaliseen asemaan ja isomeerissa **52 b** ekvatoriaaliseen. Vain **52 a** syklisoituu Mannich-reaktiolla suotuisan geo- metrian takia.

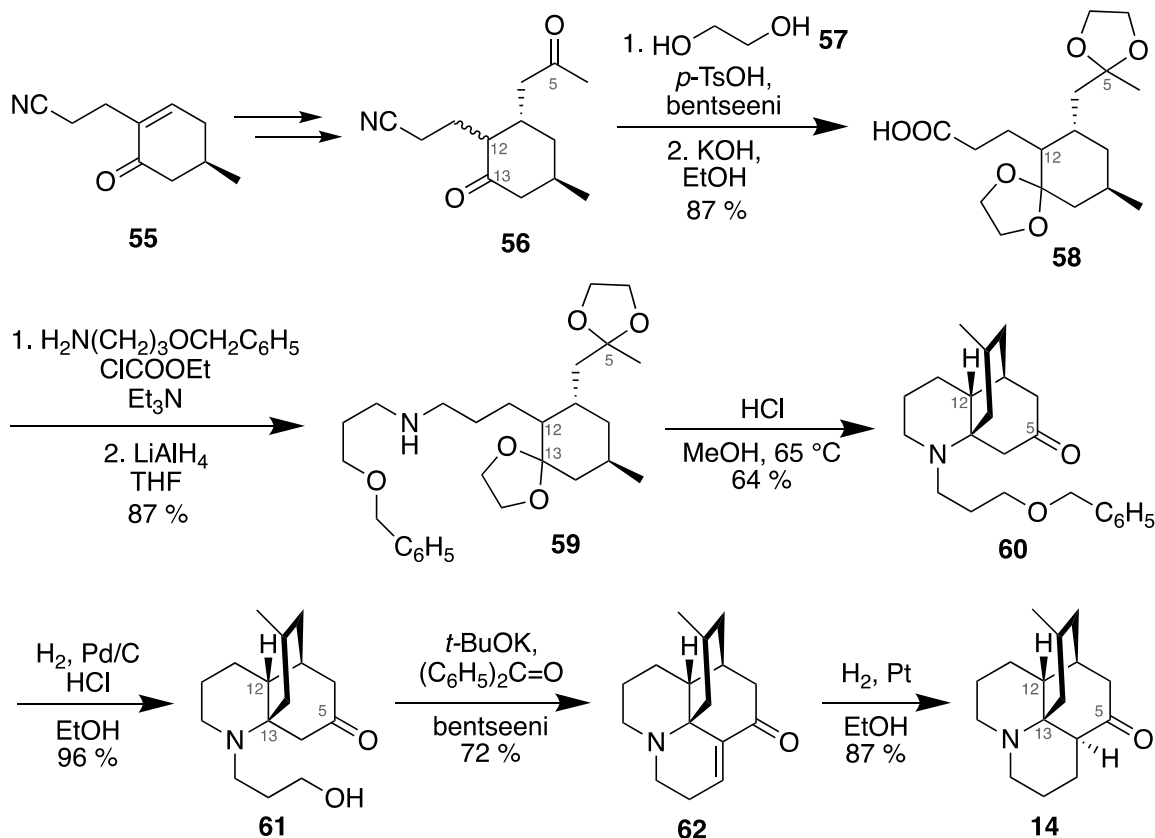


Kaavio 3. Heathcockin synteesin Mannich-vaihe malliaineella.⁵³

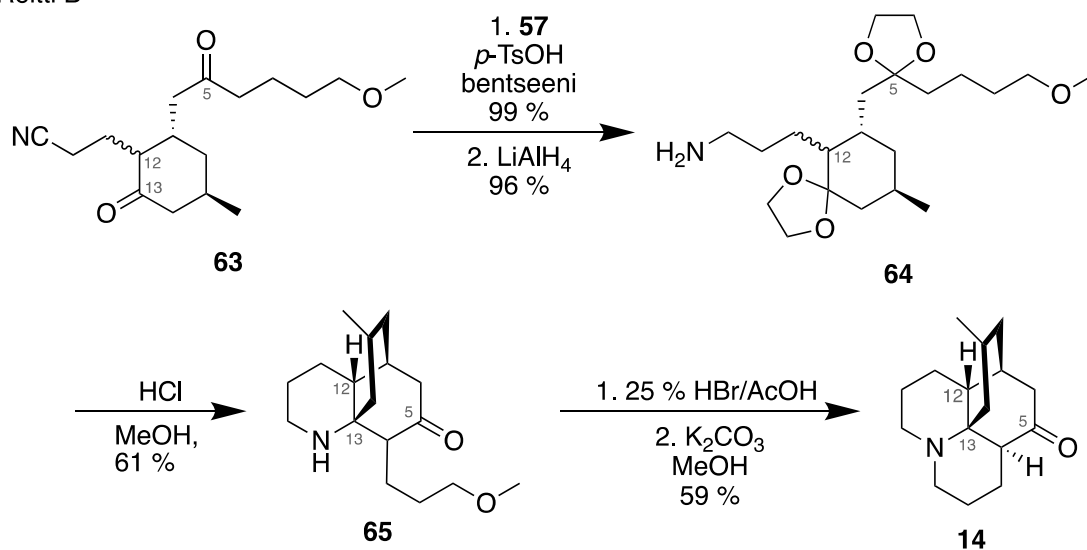
(±)-Lykopodiinin reaktiota tarkasteltiin kahdella lähestymistavalla. Ensimmäisessä reaktiossa (kaavio 4, Reitti A) lähtöaineena toimivaan syanoenoniin liitettiin sivuketju Mannich-reaktiota varten. Samoin malliaineeseen verrattuna yhdisteen **59** amiinista lähtevä ketju oli nyt funktio- nalisoidumpi. Tämän ja erilaisten reaktio-olosuhteiden seurauksena Mannich-vaiheen, jonka tuotteena oli yhdiste **60**, reaktioaika pidentyi kahden viikon mittaiseksi malliaineen synteesin kahden päivän sijaan. Toisella tavalla (kaavio 4, Reitti B) valmistaessa reaktio oli suoraviivai- sempi, mutta stereokemiallinen kontrolli oli ensiyrittämällä heikompi, jolloin tuotteeksi muodostui lykopodiinin **14** lisäksi C12-epimeeriä. Stereokontrollia ja siten myös saantoa pa- rannettiin vaihtamalla primäärisen alkoholin suojaryhmä metoksietyylimetoksiryhmästä metoksiryhmään. Toisessa synteesissä sivuketjua ei kasvatettu syanoryhmästä, kuten ensim- mäisessä synteesissä, mutta Mannich-vaiheen reaktioaika oli silti 18 vuorokautta. Pidempää Mannich-vaiheen reaktioaikoja perusteltiin sillä, että lykopodiinien synteesissä käytettiin hap- pamampia olosuhteita kuin malliaineen synteesissä, mikä vaikuttaa iminiumionien (vrt. kaavio 3, **52 a**, **52 b**) tasapainotilaan. Vaikka ajallisesti erot malliaineen ja varsinaisten syntee- sireittien Mannich-vaiheen osalta olivat suuret, saannollisesti vaiheen onnistuminen oli

tasavertaista niin malliaineella (66 %) kuin ensimmäisellä (64 %) ja toisella (61 %) lykopodii-
niin johtavalla tavalla.

Reitti A

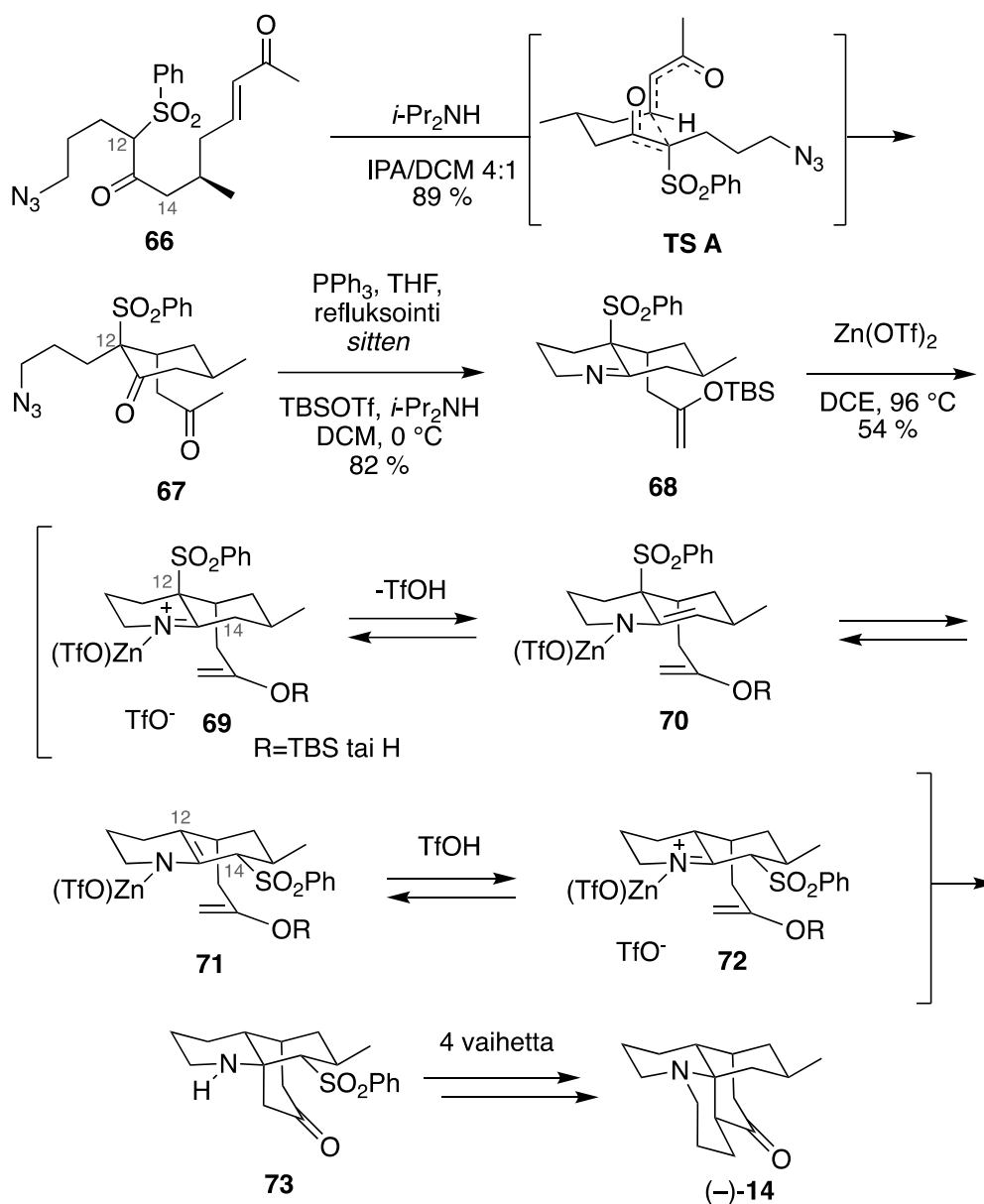


Reitti B



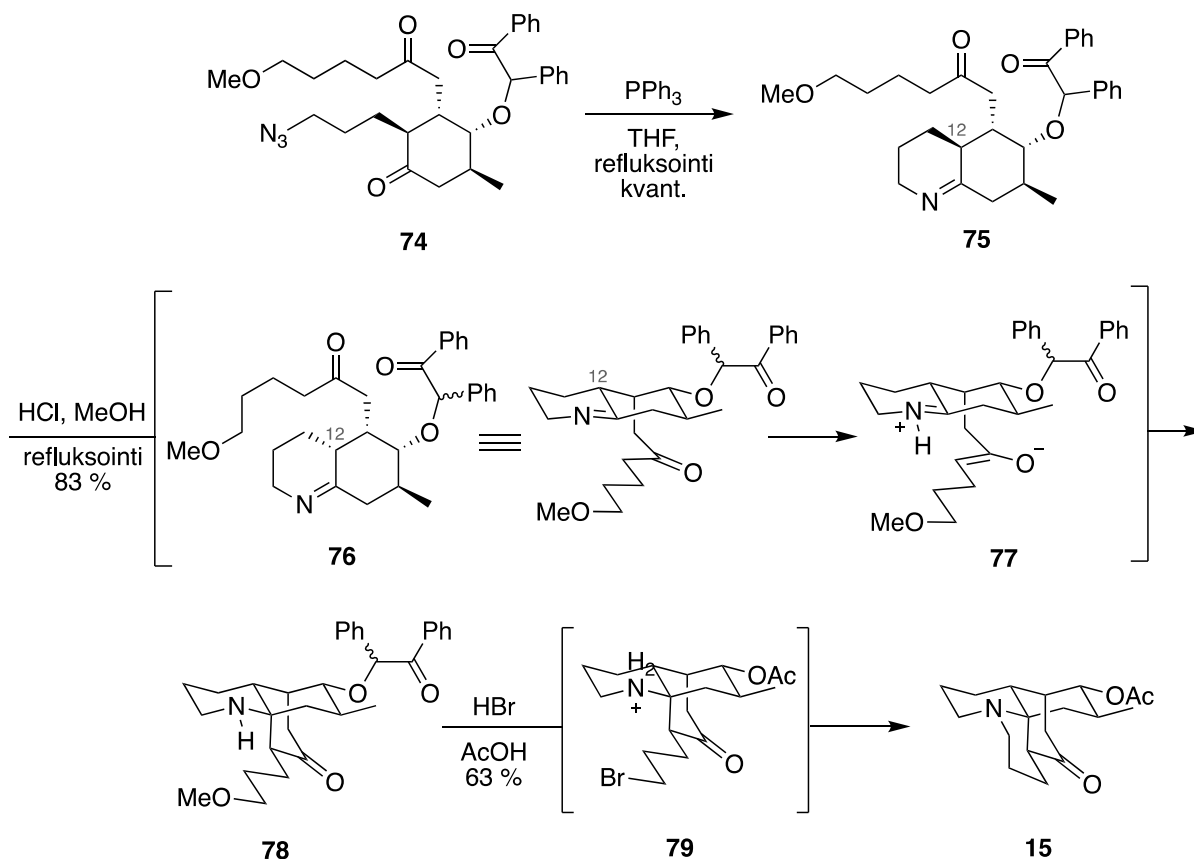
Kaavio 4. Heathcockin ryhmän synteesit lykopodiiinille **14**.⁵³

Carterin ryhmä esitti vaihtoehtoisen tavan hyödyntää Heathcockin ryhmän esittämää Mannich-reaktiota (–)-lykopodiinin synteesissä ja kyseistä reaktiovaihetta saatiin nopeutettua kahdesta viikosta 16 tuntiin, joskin vaiheen saanto laski 54 prosenttiin.⁵⁴ Mannich-reaktioon tarvittava prekursori **67** muodostettiin intramolekulaarisella Michael-reaktiolla ja imiini muodostettiin atsa-Wittig-reaktiolla. Seuraavassa vaiheessa käsittely Lewis-happona toimivalla sinkkitriflaattilla aktivoi yhdisteen **69** imiinikationiksi ja johti α -tertiääriseen amiinin muodostumiseen. Tämän lisäksi tapahtuu sulfonyylisiirtymä, kun metalloenamiinin tautomerisaation johtaa todennäköisesti sidoksen heterolyyttisen katkeamiseen ja siten mahdollistaa 1,3-sulfonyylisiirtymän tapahtumisen hiilestä C12 hiileen C14. On mielenkiintoista, että tässä reaktiossa sinkkiyhdistettä on käytetty aktivoimaan imiiniä, sillä aiemmin erilaisia sinkkiyhdisteitä on käytetty aldoli- ja Mannich-reaktioissa aktivoimaan happea sekä aldehydissä että ketonissa, jolloin muodostuu enolaatti.^{55,56} Alkuperäisessä julkaisussa TBS-suojauksen kuvattiin pysyvän viimeisiin vaiheisiin asti, mutta reaktio-olosuhteet saattavat aiheuttaa desilyloitumisen, jolloin todellisena reagenssina on enoli. Yhdisteestä **72** eteenpäin Mannich-reaktio kuitenkin tapahtuu vastaavalla tavalla kuin edellä kuvatuissa Heathcockin synteesissä.



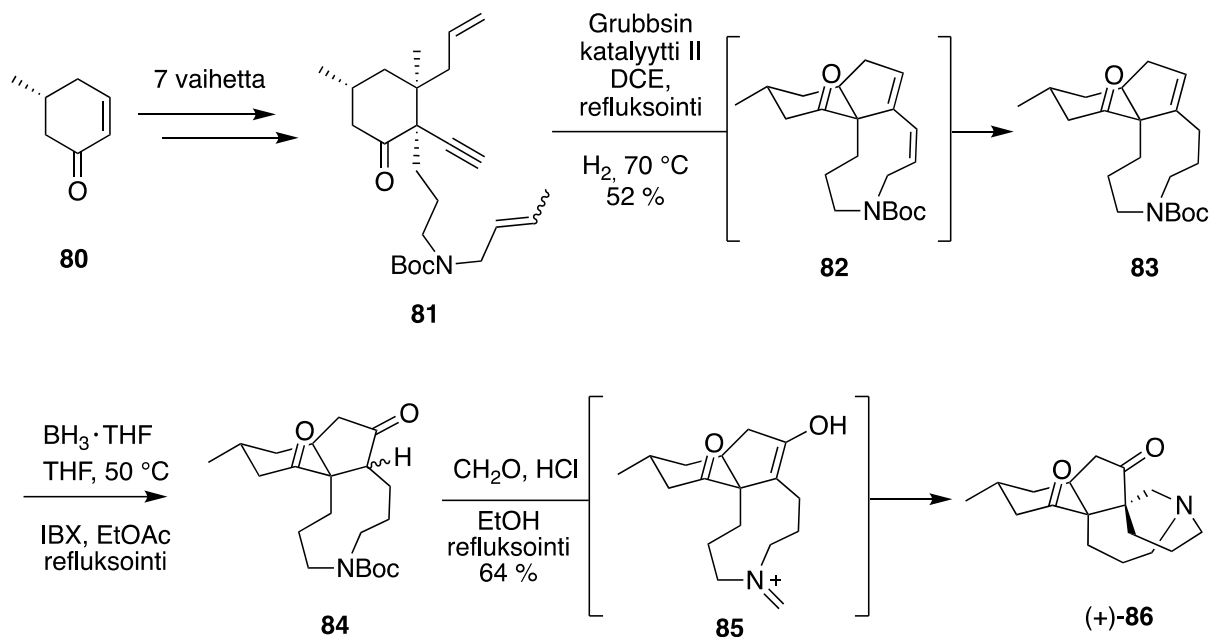
Kaavio 5. Carterin ryhmän synteesi (-)-lykopodiinille.⁵⁴

Samaan lykopodiinien ryhmään kuuluvan klavoloniinin synteesi on toteutettu niin ikään Heathcockin synteesistä inspiroituneena intramolekulaarisesta Mannich-reaktiota avainvälivaiheena käyttäen. Fujiokan ryhmän synteesissä (kaavio 6) atsidista **74** saatiin imiini **75** atsa-Wittig-reaktiolla muodostaen samalla C-renkaan. Synteesissä hiilen C12 konfiguraatio oli kuitenkin luonnosta eristetyille klavoloniinille vastakkainen, mutta se saatiin epimeroitua suolahappokäsittelyllä oikeaan suuntaan. Samainen suolahappokäsittely johti myös iminiumionin muodostumiseen ja sitä seuranneella intramolekulaarisella Mannich-reaktiolla suljettiin B-renkas onnistuneesti. Lopuksi metoksiyhmän korvaaminen bromilla mahdollisti nukleofiilisen substituution ja saippuointireaktio emäksisissä olosuhteissa viimeisteli klavoloniinin synteesin.⁵⁷



Kaavio 6. Fujiokan ryhmän synteysi klavoloniinille.

Lykopodiumalkaloidien kolmanteen luokkaan, fawsettimiineihin, kuuluvan lykofleksiinin **86** ensimmäinen kokonaissynteesi toteutettiin vuonna 2010 (kaavio 7). Kompleksinen nelirenkainen rakenne, joka sisältää kuusirenkaisen spiro syklin, syntetisoitiin ensimmäisellä kerralla 13 % kokonaissaannolla. Avainvaiheena synteesissä oli makrosyklisen prekursorin **82** muodostaminen renkaansulkumetateesilla käyttäen Grubbsin toisen polven katalyyttia sekä intramolekulaarinen Mannich-reaktio polysyklin viimeistelyssä. Alkuperäisessä artikkelissa reaktiota käsiteltiin transannulaarisena Mannich-reaktiona, joita tarkastellaan seuraavaksi tässä tutkielmassa. Todellisuudessa reaktio on intramolekulaarinen, sillä enolista muodostuu sidoksosykliseen imiiniin **85**. Reaktion merkitystä lisää se, että makrosyklistä voidaan valmistaa myös fawsettimiiniä. Mannich-vaiheessa formaldehydyylimäärän käyttö kuitenkin johtaa fawsettimiinin sijaan lykofleksiiniin imiininvälivaiheen kautta.⁵⁸



Kaavio 7. Ramharterin ym. synteesi (+)-lykofleksiinille ja oletettu Mannich-välivaihe **85**.⁵⁸

3.3. Transannulaariset reaktiot

3.3.1. Transannulaarisuus konseptina

Rengsrakenteet voidaan luokitella renkaassa olevien atomien lukumäärän mukaan: pienet renkaat ovat 3- ja 4-jäsenisiä, yleisimmät rengsrakenteet sisältävät 5–7 atomia, keskikokoiset rengsrakenteet 8–11 atomia ja suuret rengsrakenteet 12 atomia tai enemmän. Renkaan koko vaikuttaa myös renkaan ominaisuuksiin, joista jännitys on reaktioiden kannalta merkittävässä osassa. Yhdisteisiin kohdistuu jännitystä, mikäli sidokset pakotetaan normaalista poikkeaviin kulmiin, joten pienillä rengsrakenteilla jännitys kasvaa suureksi, kun taas keskikokoisilla ja suurilla renkailla konformaatiomuutokset pystyvät laskemaan jännitystä. 5–7-jäsenisillä renkailla tetraedrisen atomin siduskulma on lähimpänä ideaalia, jolloin näiden muodostuminen on suotuisinta.⁵⁹

Transannulaarisesta jännityksestä on puhuttu ensimmäisen kerran 1900-luvun puolivälissä, jolloin havaittiin renkaan sisäisiä tilan läpi tapahtuvia van der Waalsin vuorovaikutuksia. Vuorovaikutukset havaitaan, kun vedyt tai muut substituentit sijoittuvat renkaan sisällä avaruudellisesti lähemmäs toisiaan kuin mitä van der Waalsin säde sallisi.⁶⁰ 7–13-jäsenisten, enimmäkseen tyydyttyneiden renkaiden avaruudellinen geometria ja Gauche-repulsio siis johtavat renkaan sisällä olevien ei-vierekkäisten hiilten vetyjen sijoittumiseen liian lähelle toisiaan

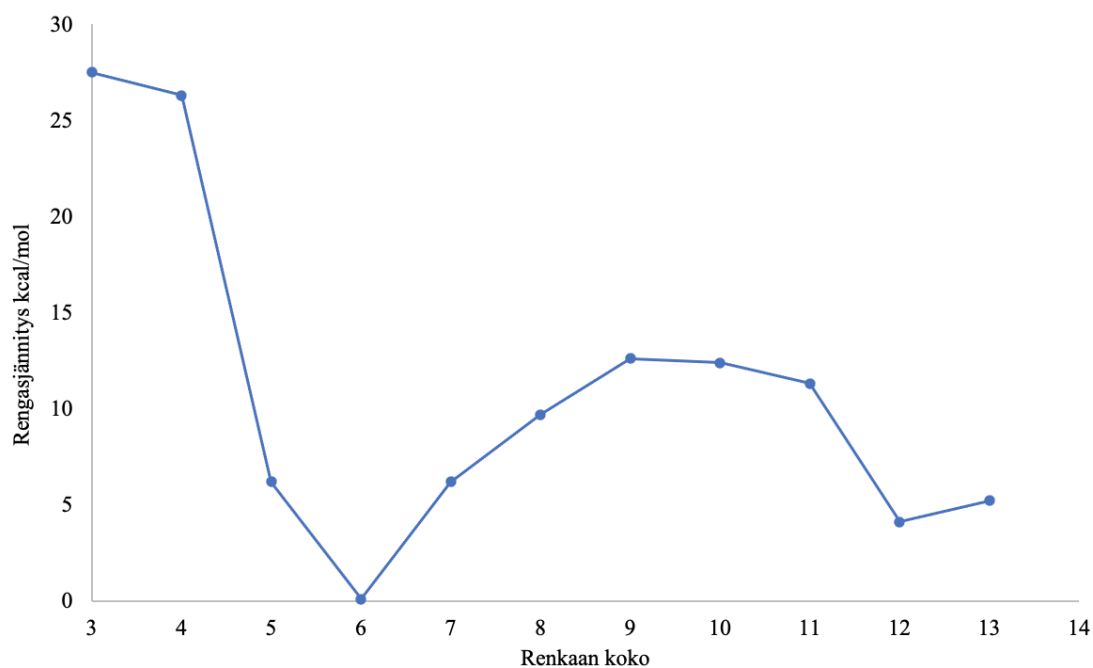
ja aiheuttavat repulsiivisen vuorovaikutuksen syntymisen. Tämä on epäedullinen ja kuormittava tila yhdisteen ja sen substituenttien kannalta.^{61,62}

Renkaassa muodostuvia jännityksiä on nimetty niitä tutkineiden tutkijoiden mukaan: Prelog tutki nimenomaan ei-sitovien molekyylien välistä vuorovaikutusta 8–11-jäsenisissä sykloalkaaneissa ja keskittyi uraauurtavaan tutkimukseen transannulaarisista hybridisiirtymistä. Baeyerin ja suuren kulman tuomaa jännitystä aiheutuu, kun sp^3 -hybridisoituneen hiilen sidoskulma renkaassa poikkeaa 109,5 asteesta. Baeyerin jännitys kuvattiin ensin 3–7-jäsenisille renkaille, joskin perustavanlaatuisena virheenä kaikki renkaat kuvattiin tasomaisiksi. 3- ja 4-jäsenisille tasossa oleville renkaille jännitys ja epästabiilius kyllä syntyy pienistä kulmista, mutta rengaskoon kasvaessa muoto ei ole enää tasomainen. Teorian ensimmäisen version mukaan viisijäsenisen renkaan jännitys olisi pienin: hiilistä koostuvan viiden atomin renkaan sidoskulmat olisivat alkuperäisen teorian mukaan 108° , ja verrattuna tasomaiseen kuusirenkaan kulmaan 120° , viisirenkaan kulman suuruus poikkeaisi tetraedrin ideaalisesta sidoskulmasta 109,5 asteesta vähiten. Teoria kuitenkin kehittyi huomioimaan suurempien renkaiden tasosta poikkeavat konformaatiomuodot. Renkaan kasvaessa yli 12-jäseniseksi lisääntyvät mahdolliset konformaatiot laskevat Baeyerin jännityksen osuutta renkaan kokonaisjännityksestä.⁶³

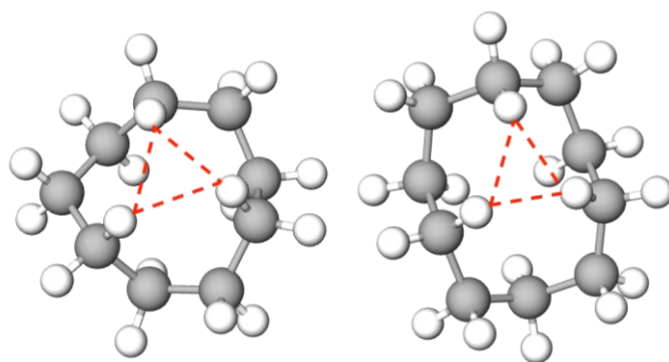
Konformaatiota muuttamalla sidoskulmista aiheutunut kuormitus vähenee, mutta kuormitus C–C-sidosten kääntymisestä johtuen lisääntyy. Tätä kutsutaan Pitzer- tai vääntöjännitykseksi. Vääntöjännitys syntyy, kun rengasrakenne pyrkii hakeutumaan tilaan, jossa substituentit olisivat mahdollisimman kaukana toisistaan, muttei tällaista pysty saavuttamaan rakenteensa puolesta ja substituentit jäävät varjostamaan toisiaan.⁶³ Tätä voisi verrata Newman-projektioon: kun ryhmät ovat kohdakkain, ne varjostavat toisiaan ja pyrkiessään energeettisesti edullisempaan konformaatioon, vääntöjännitys kasvaa. Rengasrakenteisiin vaikuttava kokonaisjännitys on näiden edellä mainittujen kolmen jännityksen summa (kuva 10).

Baeyerin jännitys on merkittävässä roolissa pienillä renkailla, joten rengasjännitys moolia kohti on korkea. Rengaskoon kasvaessa Baeyerin jännitys vähenee, joten Pitzer-jännitys ja transannulaarinen jännitys kattavat suurimman osan kokonaisjännityksestä keskikokoisilla ja sitä suuremmilla rengasrakenteilla.⁶⁰ Suhteellinen jännitys on suurimmillaan yhdeksänjäsenisillä renkailla ja tästä suurempien renkaiden konformaatiomuutosten mahdollistuminen laskee jännitystä kuten kuvan 10 kuvaajasta nähdään. Yhdeksän- ja kymmenenjäsenisten renkaiden osalta suurimmiksi transannulaarisiksi jännityksiksi on laskettu 1,4- ja 1,5-asemissa olevien vetyjen välinen vuorovaikutus (kuva 11). Konformaation stabiilein tila riippuu kaikista kolmesta edellä

mainitusta toisistaan riippumattomista jännitystyypeistä. Ilmiötä pystyttiin arvioimaan myös vetyjen välisellä etäisyydellä: syklononaanissa ja -dekaanissa vetyjen väliseksi etäisyydeksi jäi ainoastaan 1,8 Å, jolloin repulsio on suuri, kun taas esimerkiksi sykloodekaanilla lähimpien vetyjen etäisyys oli n. 2,1 Å.⁶⁴



Kuva 10. Rengasjännityksen kokonaisenergian suuruus erikokoisilla renkailla.⁶⁰

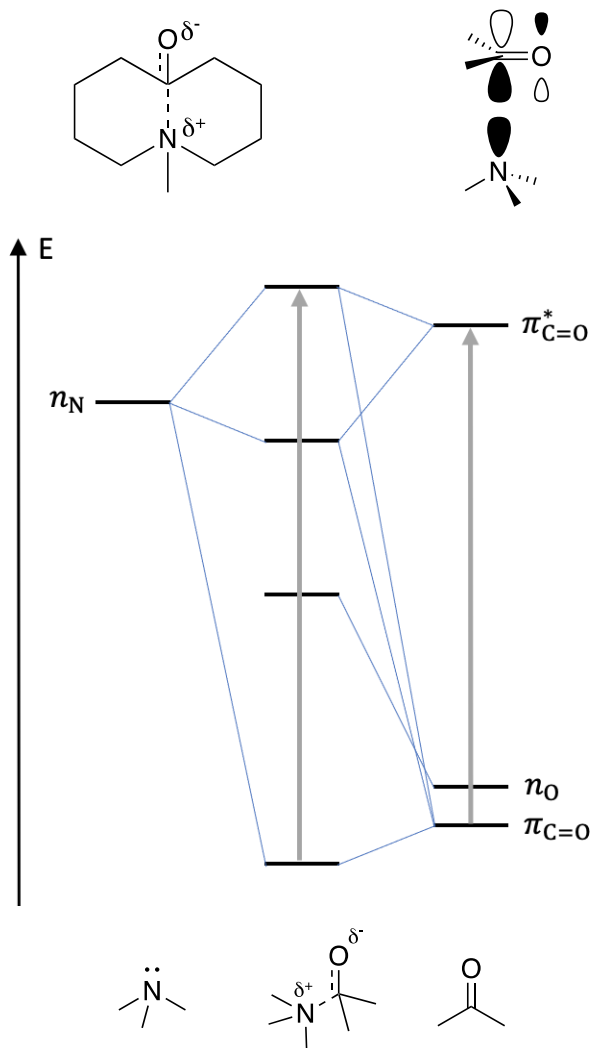


Kuva 11. Transannulaariset vuorovaikutukset 9- ja 10-jäsenisten renkaiden 1,4- ja 1,5-aseissa olevien vetyjen välillä.

Transannulaarinen repulsio aiheutuu renkaan poikki tapahtuvasta ei-vierekkäisten CH₂-ryhmien vetyjen välisestä vuorovaikutuksesta ja siten on pääasiallinen lähde keskikokoisten

renkaiden jännitykseen. Jännitystä voidaan laskea vaihtamalla vety heteroatomiin tai sp^3 -hybridisoitunut hiili sp^2 -hybridisoituneeseen hiileen, mikä myös mahdollistaa reagoinnin renkaan läpi.⁶⁰ Mikäli molekyylin rengas on sopivan kokoinen, riittävän joustava ja sallii avaruudellisen konformaatioiden vaihtelun, transannulaarinen vuorovaikutus sopivien funktionaalisten ryhmien välillä voi johtaa renkaan keskeltä tapahtuvaan supistumisreaktioon. Vuorovaikutusta on todistettu erityisesti typen ja karbonyylihiilen välillä ja vertailtu kyseisten komponenttien aseman vaikutusta transannulaarisen vuorovaikutuksen suuruuteen sekä kahdeksan- että kymmenenjäsenisillä renkailla.⁶⁵ Transannulaariset vuorovaikutukset ovat tärkeitä renkaan konformaatioiden määrityksessä,⁶⁶ jolloin molekyyllinsisäisiä fysikaalisia muutoksia voidaan havainnoida mm. NMR- ja IR-spektroskopiolla sekä röntgenkristallografiolla.⁶⁷

Leonard ym. havaitsi infrapunaspektroskopiolla heikkoa vuorovaikutusta typen ja karbonyylihiilen välillä tutkiessaan syklisiä aminoketoneja, erityisesti sellaisia, jotka suosivat 5- tai 6-jäsenisten renkaiden muodostumista.⁶⁸ Tässä transannulaarisessa vuorovaikutuksessa elektronitiheyden luovutus tapahtuu esimerkiksi $N \rightarrow C=O$ -tapauksessa typen ei-sitovalla n -orbitaalilta karbonyylin hajottavalle π^* -orbitaalille. Vertaamalla spektridataa eri funktionaalisten ryhmien signaalien osalta, voidaan määrittää transannulaarisen vuorovaikutuksen todennäköisyys ja suuruus.⁶⁹ Karbonyylin ja amiinin välille muodostuu siis $N^+ - C - OH$ -kokonaisuus, mikä pienentää $C=O$ -signaalia ja vastaavasti kasvattaa spektreissä helposti havaittavaa OH -signaalia. Kirbyn tutkimusryhmä⁷⁰ esitti käänteiseen reaktioon havainnon, että n_O - ja σ^*_{C-N} -orbitaalien vuorovaikutuksessa $C-N$ -sidoksen pituus kasvaa ja $C-O$ -sidoksen pituus lyhentyy. Sidoksen muodostuminen tertiääriseen amiinin ja karbonyylihiilen välille on esitetty kuvassa 12. Lisäksi kuvassa on esitetty tilanne, jossa orbitaalien päällekkäisyys maksimoituu, kun typen vapaa elektronipari reagoi karbonyylihiileen oikeasta kulmasta. Typen HOMO-orbitaalin ja karbonyylin LUMO-orbitaalin vuorovaikutus on siis merkittävä sidoksen muodostumisen kannalta.



Kuva 12. Transannulaarisen sidoksen muodostuminen $N \rightarrow C=O$ -tilanteessa, kun tyypin n -orbitaali ja karbonyylin π -orbitaali vuorovaikuttavat keskenään.⁶⁹

Eräs keskikokoisten renkaiden ominaisuuksista on niiden reagoinnin helppous ei-klassisella tavalla transannulaarisen hydridisiirtymän kautta esimerkiksi substituutioissa ja eliminaatioissa. Nämä hydridisiirtymät tapahtuvat kationisten välivaiheiden kautta. Käytännössä se renkaan sisällä oleva vety, joka vuorovaikuttaa vahvimmin karbokationisen hiilen tyhjän p -orbitaalin kanssa, siirtyy. Karboniumioneilla on reaktion jälkeen sama avaruusrakenne kuin alkuperäisellä ja siirtymätilan rakenne poikkeaa tästä karbokationien rakenteesta vain vähän, mikä selittää transannulaaristen reaktioiden vähäisen aktivointienergiatarpeen.⁶⁴

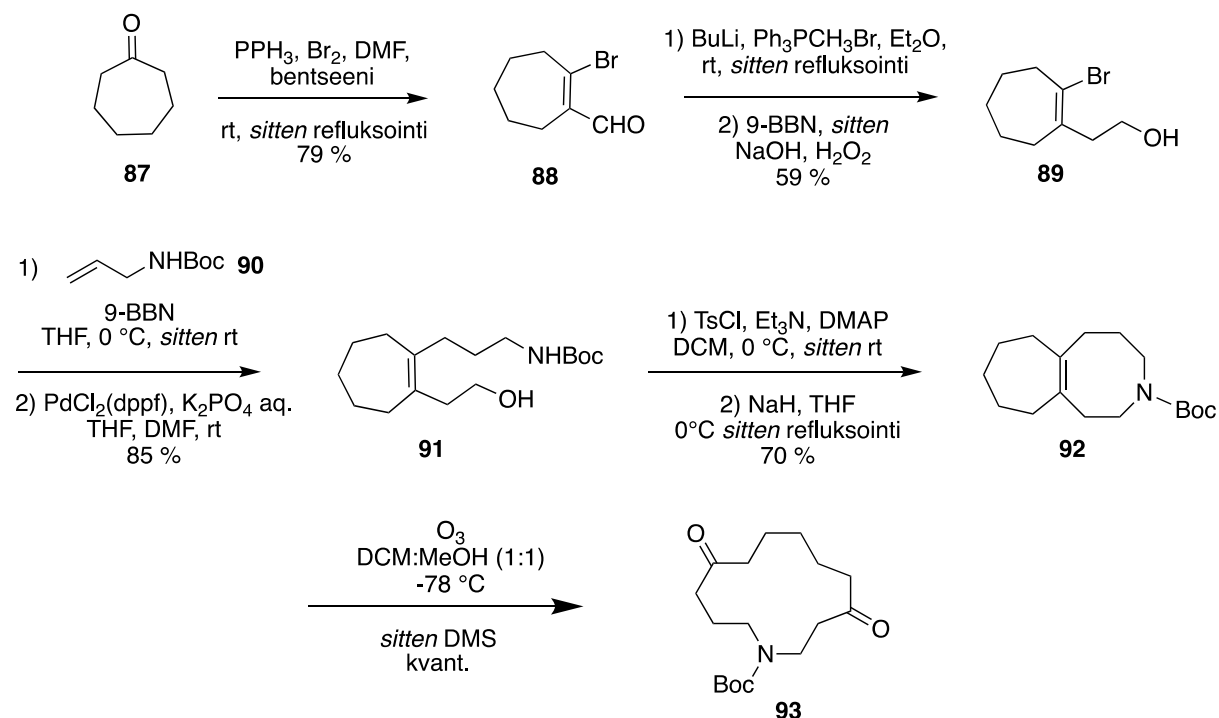
Transannulaaristen mekanismien tutkimus on kuitenkin muiden renkaanmuodostusreaktioiden, kuten intramolekulaaristen reaktioiden ja sykloadditioiden kehitystä jäljessä. Perinteisesti sykloadditiot on toteutettu rengas kerrallaan oletettavasti siksi, että makrosyklisen tai keskikokoisen renkaan sisältävän lähtöaineen valmistus saattaa jo itsessään olla haastavampi syntetisoida.

Makrosyklejä ja keskikokoisia renkaita tarkastellaan myöhemmin tässä luvussa. Toisaalta transannulaariset reaktiot ovat strategian osalta enenevässä määrin haastaneet kahta edellä mainittua renkaanmuodostusreaktiota

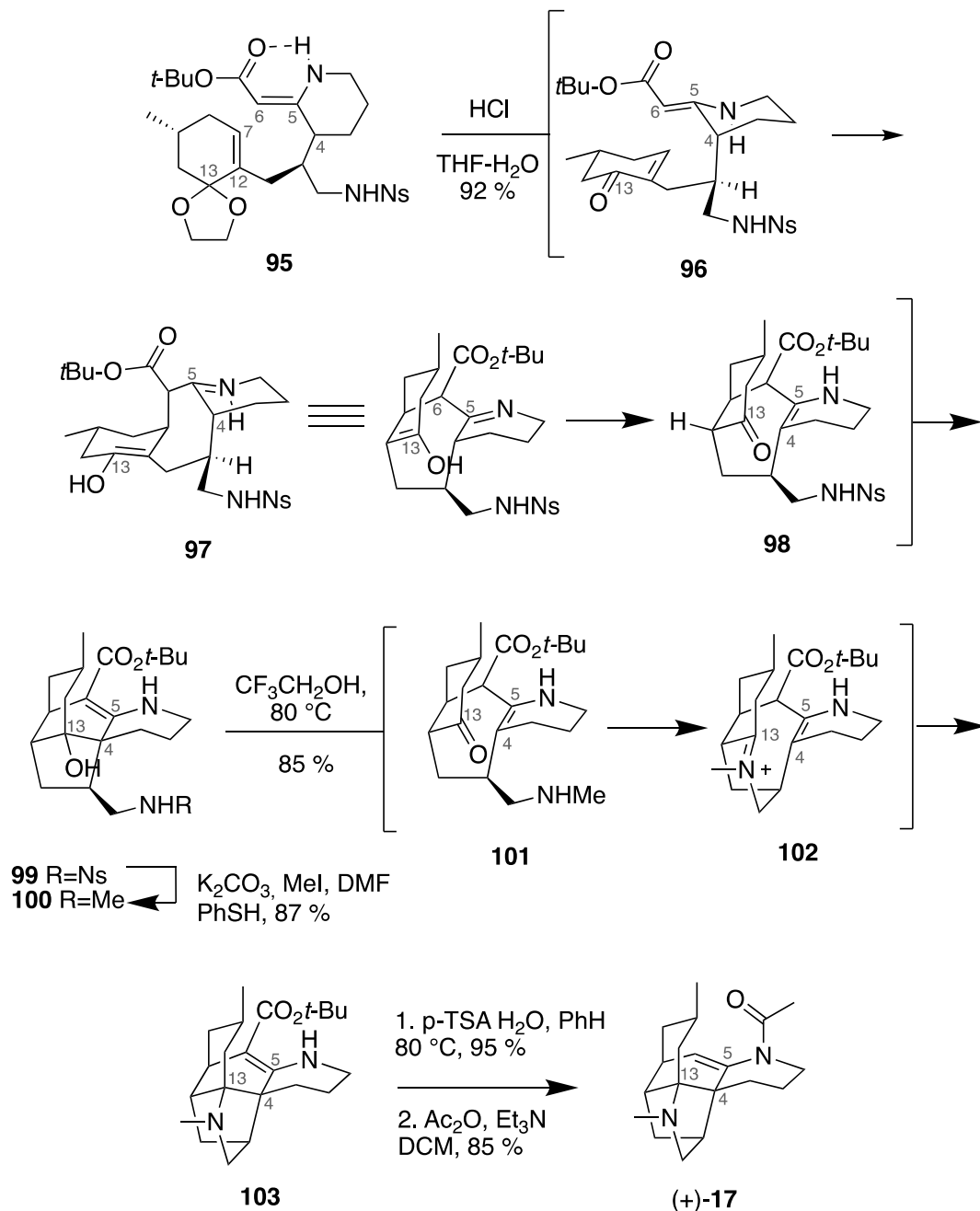
3.3.2. Transannulaarinen Mannich-reaktio

Transannulaarinen Mannich-reaktio on eräs intramolekulaarisen Mannich-reaktion erikoismuoto, jossa aiemmin esitetyt Mannich-reaktion vaiheet, iminiumionin tai imiinin muodostuminen sekä sidoksen muodostuminen enolista, tapahtuvat transannulaarisesti suljetun renkaan poikki. Transannulaarisella Mannich-reaktiolla on valmistettu yhdisteitä sekä niin, että vaihe on osana dominoreaktiota kuin myös omana avainvaiheena reaktion stereokemian, selektiivisyyden ja funktionaalisuuden säilyttämiseksi.

Transannulaarinen Mannich-reaktio oli avainvaiheena Tannerin tutkimusryhmän synteesissä sylindrisiinien rungolle (kaaviot 8 ja 9).⁷¹ Strategiassa luotiin ensin makrosykli **93**, joka puolestaan saatiin onnistuneesti reagoimaan transannulaarisella Mannich-reaktiolla kolmirenkaiseksi sylindrisiinien runkorakenteeksi **94**. Synteesillä ei vielä ole toteutettu sylindrisiinialkaloidien kokonaissynteesiä, mutta onnistunut polysyklisaatioavainvaihe ennustaa onnistuvaa kokonaissynteesiä myös alkaloidiperheen eri yhdisteille.



Mannich-reaktion dominoprosessia (kaavio 10).⁷² Reaktiossa sidosten muodostamisessa on haettu inspiraatiota sekä fastigiatiinin että himeradiini A:n biosynteeseistä.²⁷ Reaktiion toteuttamisen haasteet ilmenivät viisirenkaisen pakkautuneen ja jännittyneen rungon muodostamisessa.



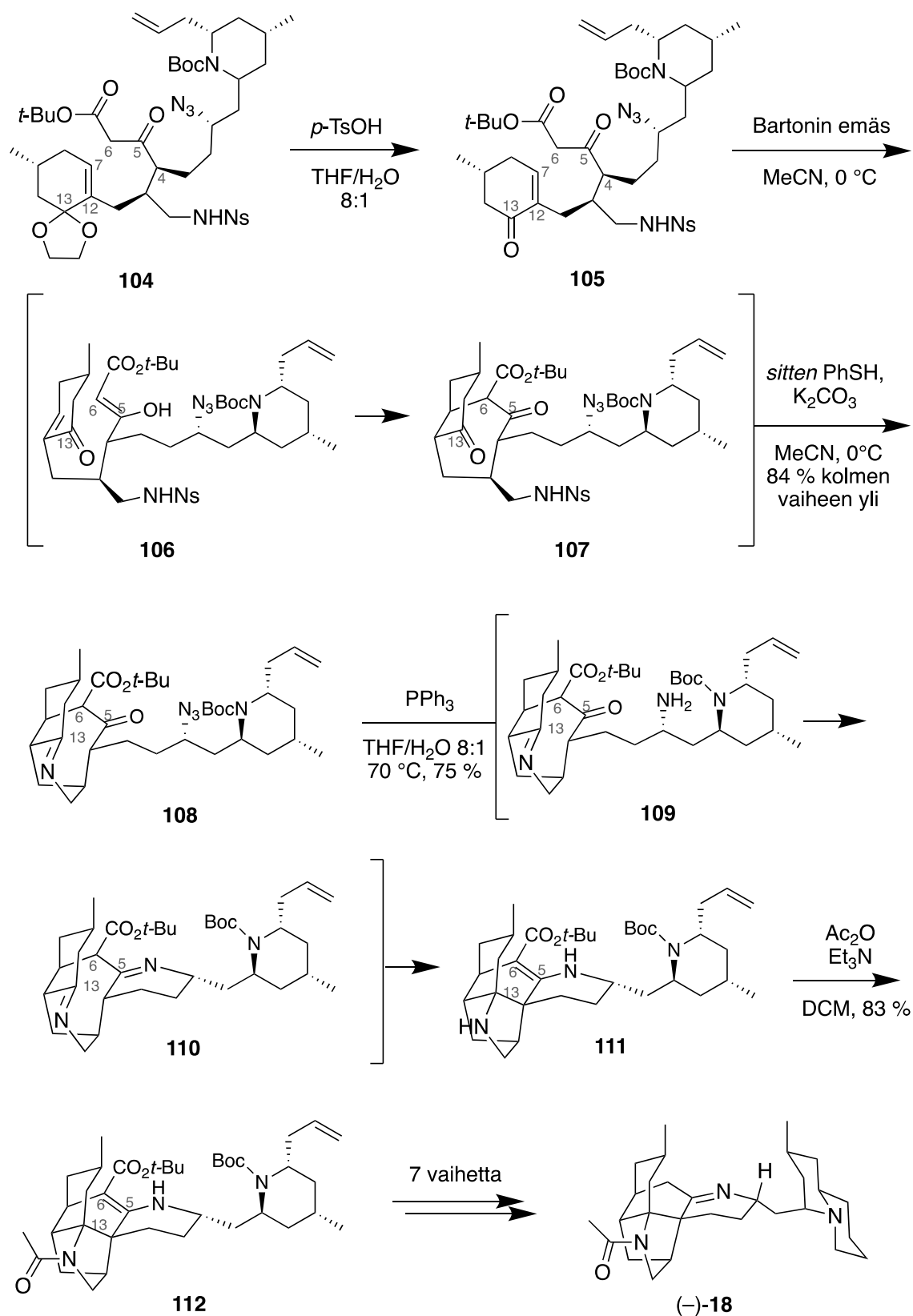
Kaavio 10. Shairin ryhmän synteesi (+)-fastigiatiinille.⁷²

Tässä kuvattua lähtöainetta edeltää 7-vaiheinen synteesi, josta viimeisessä vaiheessa Staudingerin pelkistyksellä saadaan vinyylinen uretaani **95**. Reaktio aloitetaan suolahappokäsittelyllä, joka johtaa [3+3]-sykloadditioon. Reaktiossa tapahtuu ensin dioksalaanisuojarahmian irroitus, jonka seurauksena muodostuneeseen enoniin **96** tapahtuu intramolekulaarinen 1,4-

konjugaattiadditio. Reaktion konformaatio suosii Baldwinin sääntöjä noudattavaa *7-endo-trig*-muotoista sidosten muodostumista. C6–C7-sidos muodostuu suotuisammin aksiaalisesti ja vastakkaiseen suuntaan verrattuna D-renkaan metyyliryhmään. *Syn*-muotoisessa reaktiossa suhteessa kyseiseen metyyliryhmään ja muodostuvan C6–C7-sidoksen muodostuisi epäsuotuisia vuorovaikutuksia, koska sidokset suuntautuisivat molemmat aksiaalisesti. Tämän jälkeen enolista **97** muodostuva ketoni ja vastaavasti toiselta puolelta yhdistettä tautoimerisoitunut enamiini siis mahdollistavat transannulaarisen aldolireaktion, jolloin sidos muodostuu C13 ja C4:n välille valmistuen nelirenkaisen rungon **99**.

Viidennen renkaan muodostaminen vaatii sivuketjussa olevan typen metyloinnin ja nosyyliuojauksen poistamisen. Tästä trifluoroetanolin vaikutuksesta tapahtuva retroaldolireaktio katkaisee ensin C4–C13-sidoksen muodostaessaan ketonin **101**, ja tämä mahdollistaa imiinin **102** muodostumisen. Vaihe on merkittävässä osassa reaktiopolkua, sillä nyt synteesi voidaan saattaa loppuun biosynteesin reittiä vastaavalla transannulaarisella Mannich-reaktiolla. Typen vapaasta elektroniparista alkunsa saava transannulaarinen Mannich-reaktio muodostaa C4–C13-hiiltien välille sidoksen edellisessä vaiheessa katkenneen tilalle ja viisirenkainen rakenne dominoreaktiolla valmistuu. Lopullisesti (+)-fastigiatiinin **17** synteesi viimeistellään Boc-suojaryhmän poistolla sekä asetyloinnilla.

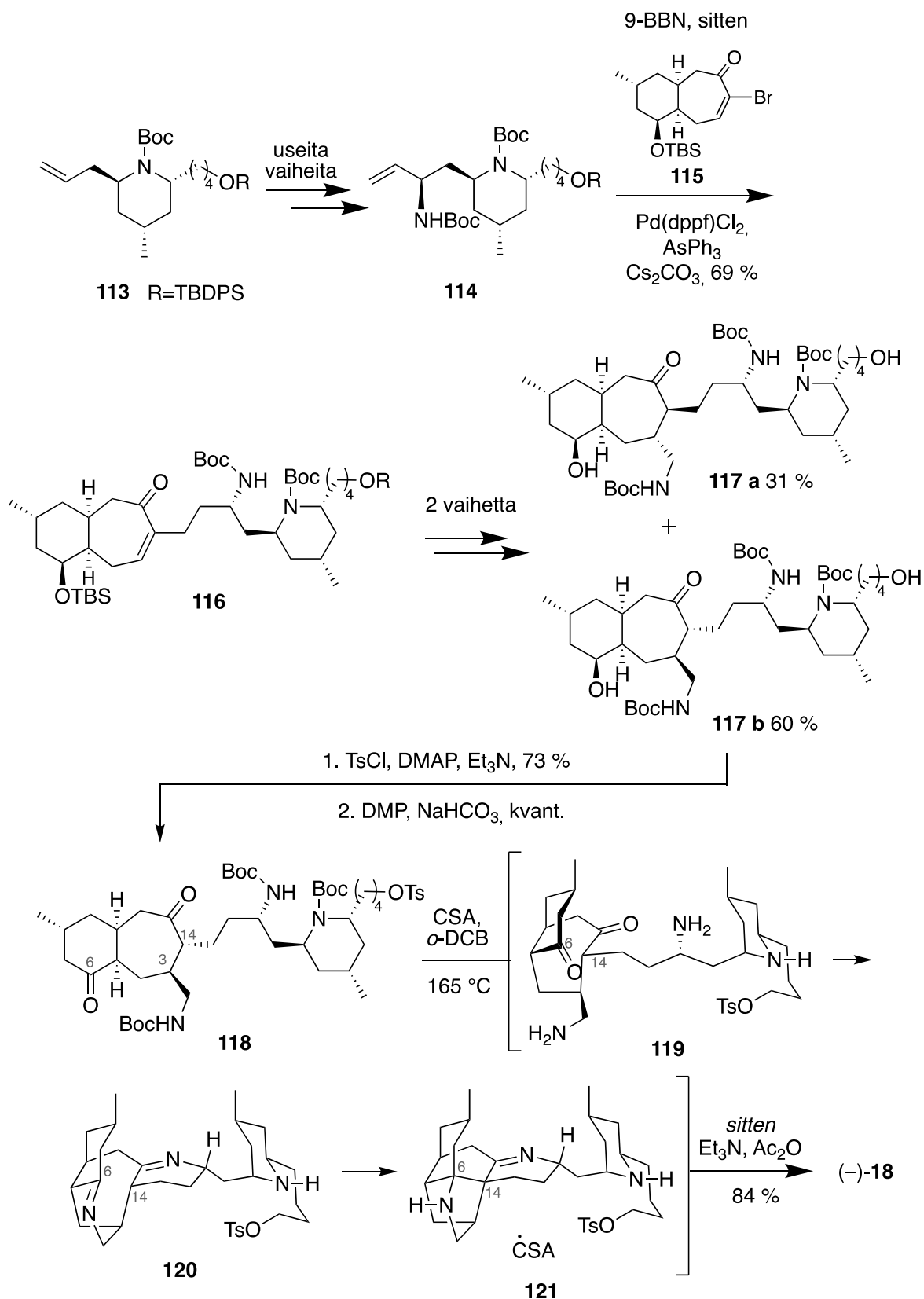
Himeradiini A:n **18** kompleksisuudesta kerrottiin luvussa 2, ja sitä kuvaa hyvin myös se, ettei kokonaissynteesejä ole julkaistu kuin kaksi. Ensimmäinen näistä on Shairin ryhmän julkaisussa vuodelta 2014. Kokonaissynteisiin on haettu hyvin paljon vaikutteita edellä esitetystä (+)-fastigiatiinin **17** synteesistä ja Mannich-vaihe on vastaavalla tavalla toteutettu. (–)-Himeradiini A:n **18** synteesin avainvaiheet on toteutettu one-pot-prosessilla.



Kaavio 11. Shairin ryhmän syntesi (-)-himeradiini A:lle.⁷³

Shairin ryhmän tavoitteena oli rakentaa himeradiini A **18** käyttäen fastigiatiinin runkoa välivaiheena.⁷³ Fastigiatiinin synteesissä valmistettu iminiumioni **102** ei odotuksista huolimatta

onnistunut sellaisenaan toimimaan pohjana himeradiini A:n synteisiin, sillä välituotetta ei onnistuttu eristämään. Reaktiossa ei muodostettu uretaaniyhdistettä, kuten fastigiatiinilla, vaan dioksalaanisuojaus poistettiin ensin. Emäksisissä olosuhteissa enolisoidun β -ketoesterin **106** muodostumisen jälkeen saatiin toteutettua *7-endo-trig*-syklisaatio ja imiinin **108** muodostaminen fastigiatiinin tyyliin, kuitenkin ilman metylointia. Seuraavassa vaiheessa Staudingerin pelkistys johti vinyylisen uretaanin **111** muodostumiseen ja mahdollisti biomimeettisellä transannulaarisella Mannich-reaktiolla sidoksen muodostumisen hiilten C4 ja C13 välille. Verattuna edellä esitettyyn (+)-fastigiatiinin synteisiin retroaldolireaktio jäi tästä vaiheesta kokonaan pois. Sekundäärisen amiinin asetyloinnin jälkeen viisirengasrakenne oli onnistuneesti valmistettu. Himeradiini A:n **18** seitsemännen renkaan ja samalla kinolitsidiinirengaskokonaisuuden valmistaminen toteutettiin 7-vaiheisella synteesillä. Himeradiinin ensimmäinen kokonaissynteesi oli 33-vaiheinen ja sen kokonaissaanto oli 1,9 %.

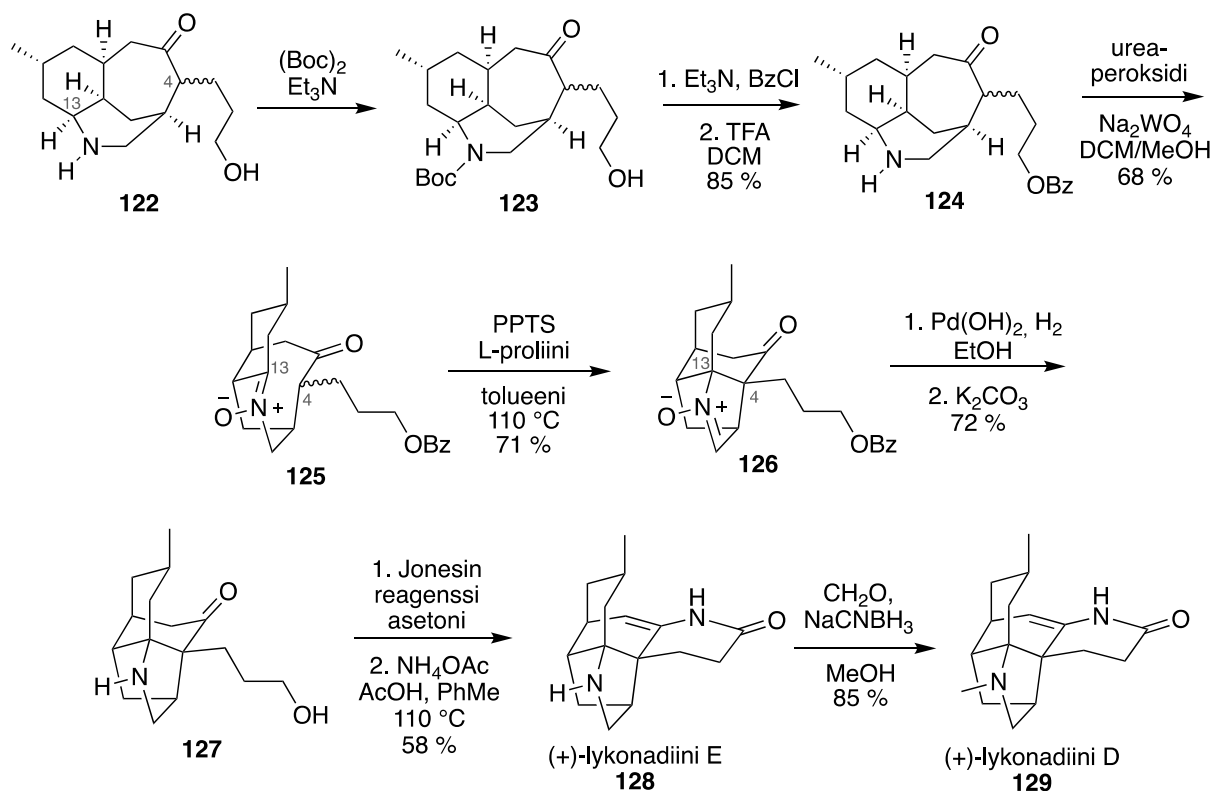


Kaavio 12. Rychnovskyn ryhmän synteesi (-)-himeradiini A:lle.⁷⁴

(+)-Fastigiatiinin **17** Mannich-vaihetta on sovellettu myös toisessa (-)-himeradiini A:n **18**, kokonaissynteesissä (kaavio 12).⁷⁴ Kokonaisuudessaan synteesissä saadaan yhdessä vaiheessa

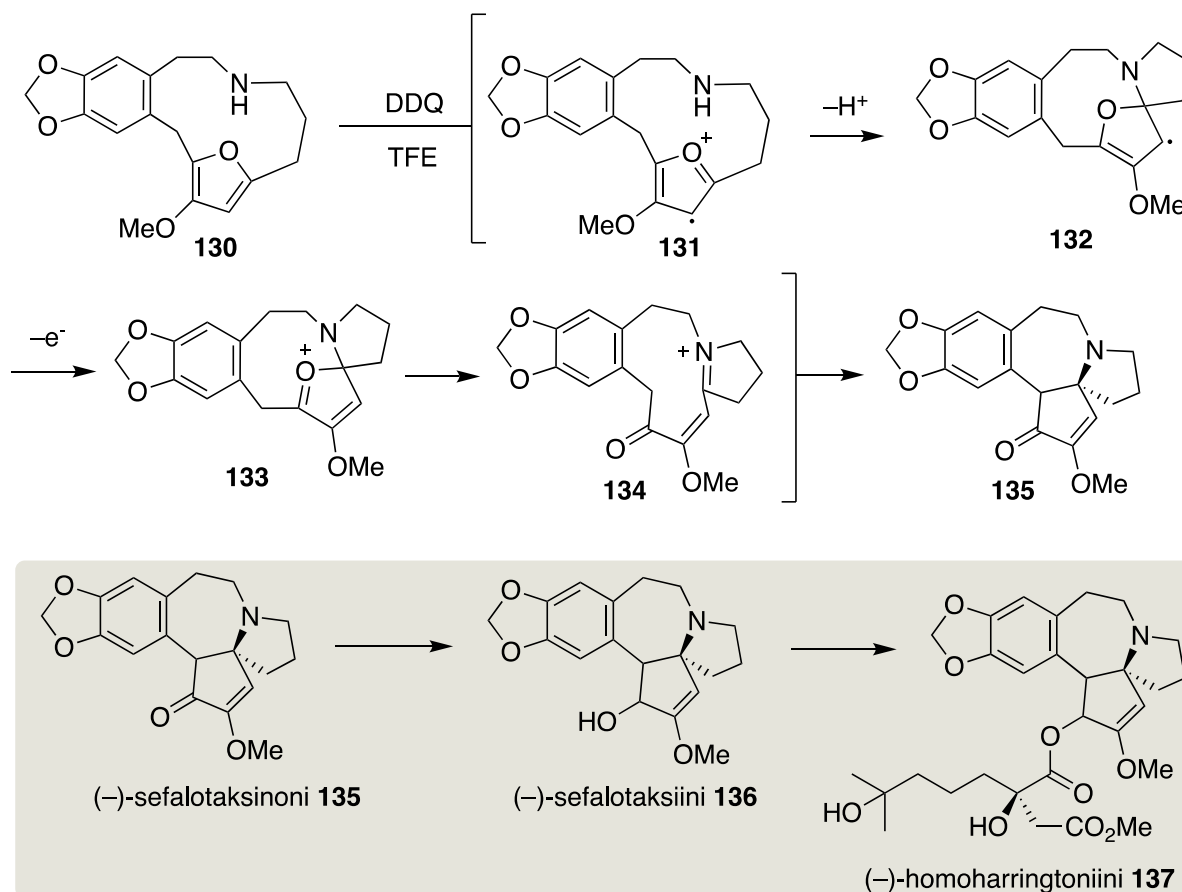
one-pot-prosessilla aikaan viisi uutta sidosta ja yhdisteeseen neljä uutta rengasta. Tämä himeradiini A:n synteesi pohjautuu ensimmäisen⁷⁵ ja toisen⁷⁶ sukupolven fastigiatiinin synteeseihin ja niiden Mannich-reaktiosta on haettu vaikutteita myös tähän synteesiin. Piperidiinin **114** ja bromoenonin **115** välinen B-alkyyli-Suzuki-reaktio tuottaa prekursorin **116** himeradiinin rakenteelle. C3-aseman aminometylointi toteutettiin fotokemiallisesti iridiumkatalyytilla ja tämä johti kahden diastereomeerin muodostumiseen suhteessa 2:1. Kamferisulfonihappo (CSA) 1,2-diklooribentseenissä poistaa Boc-suojaryhmät. Reaktion oletetussa välivaiheessa amiinien reagoitua karbonyylien kanssa muodostuu imiinit kumpaankin asemaan. Imiinistä **120** muodostuu enamiini todennäköisesti kohti C14-asemaa, jolloin C6–C14-sidos pääsee muodostumaan Mannich-reaktiolla, kuten edellisissäkin synteeseissä. Vapaaksi jäänyt amiini korvasi tosyylin viimeistellen sivuketjun kinolitsidiinirenkään, kuitenkin vasta trietyyliamiinikäsittelyn yhteydessä.

Fastigiatiinin **17** ja himeradiini A:n **18** lisäksi samanlaista Mannich-vaihetta on sovellettu myös lykonadiinien D **128** ja E **129** synteeseissä. Kaaviossa 13 esitetyn synteessin lähtöaine toimii alkuperäisessä julkaisussa välituotteena, josta voidaan syntetisoida divergentillä strategialla lykonadiinit A–C sekä lisäksi kaksi muuta alkaloidia, lykopekuriini ja dehydrolykopekuriini. Tarkasteltaessa transannulaarista Mannich-vaihetta tämä lykonadiinien synteesi poikkeaa fastigiatiinin ja himeradiini A:n synteeseistä siinä, että Mannich-vaiheessa käytetään syklistä nitronia imiininvälivaiheen sijaan. Ennen Mannich-vaihetta synteessin avainvaiheena on palladiumkatalysoitu Heck-tyyppinen reaktio (ei kuvattuna), josta johdetaan prekursori **122**. Boc-suojaryhmän poiston jälkeen yhdiste **125** hapetetaan nitroniksi **126**. PPTS:n ja L-proliinin läsnäollessa Mannich-vaihe toteutui 71 % saannolla, mikä on hieman fastigiatiinin vastaavaa vaihetta heikompi.⁷⁷



Kaavio 13. Yangin ryhmän synteesi lykonadiineille D ja E.⁷⁷

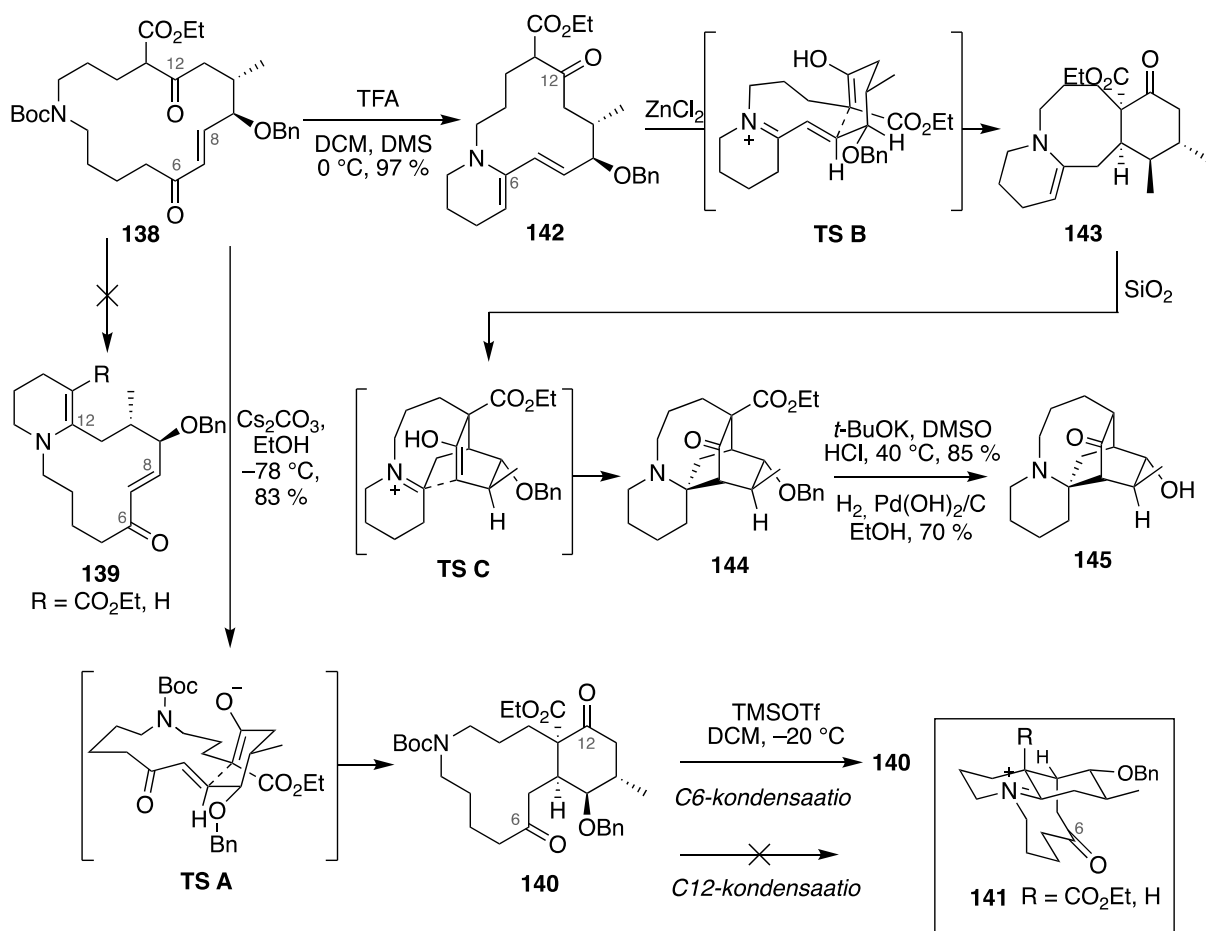
Eräs uusimmista julkaisuista, jossa käytetään transannulaarista Mannich-reaktiota on Jun ja Beaudryn synteesi (–)-sefalotaksinonille **135**, (–)-sefalotaksiinille **136** ja (–)-homoharringtoniinille **137** (kaavio 14).⁷⁸ Reaktioyhtenä avainvaiheena käytetään furanin hapettavaa avautusta, joka etenee radikaalivälivaiheen kautta transannulaariseen Mannich-reaktioon. Radikaalikationin muodostumisen ja tästä seuranneen oksokarbeniumionin hapetuksen jälkeen fragmentoinnin tuotteena on oiva iminiumioni **134** Mannich-vaihetta ajatellen. Mannich-sykliisaation tuotteena on sefalotaksinoni **135**, joka voidaan edelleen parin vaiheen kautta muuntaa ensin sefalotaksiiniksi **136** ja sitten homoharringtoniiniksi **137**.



Kaavio 14. (-)-sefalotaksinonin ja sen johdannaisten synteesin transannulaarinen Mannich-vaihe.⁷⁸

Evans ja Scheerer tarkastelivat klavoloniinin kokonaissynteesiä sekä lycopodiumalkaloidien perusrungon synteesiä lineaarisen prekursorin ja makrosyklin kautta (kaavio 15).⁷⁹ Makrosyklistä ei saatu muodostettua syklistä enamiinia **139**. Avainreaktioiksi polysyklisen lycopodiumrakenteeseen pyrittiin hyödyntämään transannulaarisia Michael- ja Mannich-reaktiota. 16-jäsenisen makrosyklin selektiivinen transannulaarinen Michael-reaktio onnistui emäksisissä olosuhteissa hyvällä saannolla. Boc-suojauksen poisto ei kuitenkaan johtanut haluttuun C–N-sidoksen muodostavaan reaktioon kohti C12-asemaa **140**, vaan reagoi C6-asemaan muodostaen yhdisteen **143**. C6-aseman karbonyylihappea pyrittiin myös suojaamaan, mutta reaktio ei siltikään toteutunut halutulla tavalla C12-asemaan yhdisteeksi **141**. Syynä C–N-sidoksen epäonnistumiseen oli tekijöiden mukaan todennäköisesti joko epäsuotuisa entalpia tai steerisyys. Renkaan transannulaarinen jännitys on pienempi 12-jäsenisillä makrosykleillä kuin keskikokoisilla renkailla, mikä voisi osaltaan vaikuttaa reaktioon epäsuotuisasti. Koska tämä vaihe ei onnistunut, myöskään seuraavaksi vaiheeksi suunniteltua transannulaarista Mannich-reaktiota ei pystytty toteuttamaan.

Kaavion 15 toisella polulla makrosyklin **138** TFA-happokäsittely ja karbamaatin lohkaus johti välittömästi saman enamiinin **142** muodostumiseen. Seuraavaksi proottisella liuottimella tai Lewis-hapolla aktivoitu transannulaarinen Michael-additio johti iminiumionivälivaiheeseen ja kolmirenkaisen enamiinin **143** muodostumiseen. Sama kolmirenkainen enamiini oli tuotteena myös ensimmäisen polun viimeisessä vaiheessa. Yhdiste saatiin reagoimaan transannulaarisella Mannich-reaktiolla, kun aseman C12 ketoni enolisoituu. Mannich-reaktiossa muodostuu neljäs rengas. Yhdiste **145** ei ole kuitenkaan haluttu lykopodiinirakenne eikä klavoloniini **15**, vaan muistuttaa enemmänkin lykopladiinin rakennetta.



Kaavio 15. Evansin ja Scheererin yritetty synteesi klavoloniinille.⁷⁹

Tutkimusryhmä onnistui syntetisoimaan klavoloniinin suoraketjuisesta prekursorista strategialla, jossa runko rakentuu rengas kerrallaan.⁷⁹ Reaktiota ei kuitenkaan toteutettu transannulaarisella Mannich-reaktiolla, joten sitä ei tässä tutkimuksessa tarkastella. Epäonnistuminen makrosyklisen rakenteen syntetisoinnista polysykliseksi on kuitenkin oiva esimerkki siitä, miten paljon makrosyklisen rakenteen vaikutus todellisuudessa polysyklisen rakenteen muodostumiseen, eikä lyhyeksi suunniteltu reaktio onnistu. Lineaarinen prekursori ja siitä

muodostettu makrosykli oli kuitenkin onnistuneesti valmistettu, mikä puolestaan laskee aiemmin ennakoitun makrosyklin muodostamisen haastellisuutta.

3.4. Makrosyklit ja keskikokoiset renkaat prekursoreina

Transannulaariset reaktiot tapahtuvat renkaan läpi, joten rengasrakenne ja sen ominaisuudet ovat avainasemassa transannulaarisen reaktion toteutumisen kannalta. Transannulaarisissa reaktioissa toimivia makrosyklisiä lähtöaineita ei juurikaan ole tutkittu, mutta niiden ominaisuuksiin todennäköisesti tullaan kiinnittämään jatkossa enemmän huomiota.³⁷ Makrosykleillä tarkoitetaan 12-jäsenisiä tai sitä suurempia rengasrakenteita ja ne voivat toimia niin synteetikohteina kuin lähtöaineina polysyklisille yhdisteille³⁷. Koska transannulaariset vuorovaikutukset ovat suurimmillaan 8–12-jäsenisillä renkailla, on syytä vielä tarkastella lyhyesti näiden keskikokoisten renkaiden ominaisuuksia ja valmistusta yhdessä makrosyklien kanssa. Makrosyklien ominaisuuksia tarkasteltaessa transannulaaristen reaktioiden toteutumisen näkökulmasta reaktiiviset kohdat saadaan suuremmissa rengasrakenteissa tasaisesti lähemmäs toisiaan verrattuna lineaarisiin yhdisteisiin. Lisäksi entropian näkökulmasta makrosyklit ovat aktiivisemmin reagoivia kuin vastaavat lineaariset yhdisteet. Makrosyklien reaktioissa konformaatioihin liittyvien ominaisuuksien perusteella myös syntyvien tuotteiden konformaatiot ja sidosten suunnat ovat ennustettavissa. Enantio- ja diastereoselektiivisyyden ohjaus lisää synteessin tehokkuutta ja tekee makrosyklien reaktioista myös paremmin ennustettavia.^{37,39}

Keskikokoisilla renkailla syklisaatioihin liittyvät kineettiset ja termodynaamiset energiavallit ovat korkeampia muihin rengaskokoihin verrattuna. Entropia vähenee, kun lineaarisesta prekursorista syklisoidaan rengas, mutta rengaskoon ja siten konformaatiomahdollisuuksien kasvaessa myös entropia kasvaa. Entalpiatekijöiden osalta keskikokoisten renkaiden muodostuminen on epäsuotuisaa, mikä johtuu pääasiassa transannulaarisista vuorovaikutuksista ja rengasjännityksestä.⁸⁰ Transannulaariset vuorovaikutukset ovat siis yksi keskikokoisten renkaiden syntetisointia hankaloittava syy. Keskikokoisten renkaiden syntetisoinnin haastavuutta osoittaa myös synteisien määrän vähyys. Muutamia keskikokoisia renkaita sisältäviä indolialejoideja on onnistuttu syntetisoimaan, joissa rakenteet ovat sellaisenaan valmiita alkoideja, eikä rengasrakenteen osalta synteisiä jatketa siten, kuin tässä tutkimuksessa olisi mielekästä analysoida.⁸¹ Tämä kuitenkin kuvaa hyvin keskikokoisten renkaiden muodostamisen haastavuutta ja sitä puoltaa myös se, että nämä rengasrakenteet on syntetisoitu pääosin viimeisissä vaiheissa ennen valmista tuotetta.

Makrosyklejä voidaan muodostaa lineaarisista prekursoreista esimerkiksi renkaansulkumeta-teesilla, laktamisaatiolla tai laktonisaatiolla. Eräs yksinkertaisimmista menetelmistä makrosyklisaatioon on ikään kuin kasvattaa rengasta katkaisemalla sidoksia olemassa olevien rengasrakenteiden sisältä. Esimerkiksi Tannerin ryhmän synteessissä sylindrisiinirungon prekursoria valmistettaessa katkaistiin kaksirenkaisesta amiinista renkaat yhdistävä sidos (vrt. kaavio 8).⁷¹ Menetelmä on suora ja suhteellisen tehokas makrosyklin muodostamiseen.⁸²

Idea lineaarisen prekursorin käytöstä makrosyklin muodostamisessa on potentiaalinen, joskin vielä vähän hyödynnetty. Polysyklisten alkaloidien synteeseissä lähtöaineina on tähän asti pitkälti käytetty syklisiä yhdisteitä, joiden sivuketjuilla rakennetaan loput renkaat rakenteeseen. Tämä havaitaan esimerkiksi seuraavassa luvussa esitetyissä sylindrisiinisynteeseissä. Tätä voidaan selittää sillä, että syklisaatio makrosykliksi voi osoittautua haasteelliseksi epäedullisen entropian takia ja tästä johtuen reaktio jää toimimattomaksi. Lineaarinen yhdiste voi syklisaation sijaan muodostaa dimeerejä, eli reagoida toiseen vastaavan molekyyliin. On siis tärkeää luoda sellaiset olosuhteet, että intramolekulaarinen syklisaatioreaktio on suotuisampi kuin intermolekulaarinen dimerisoituminen. Dimerisoitumista voi toki välttää esimerkiksi suurella laimennoksella, jolloin dimerisoitumiseen johtavat törmäykset vähenevät ja syklisaatioon johtavat intramolekulaariset törmäykset ovat todennäköisempiä. Suuren mittakaavan synteeseissä tällaisen reaktion käytännöllisyys kuitenkin heikentyy. Syklisoitumisreaktio on myös hyvin substraattiriippuvainen.⁸³ Lineaarisen prekursorin etu on kuitenkin se, että rakenne voidaan valmistaa tehokkaasti konvergenttia strategiaa suosien täysin valmiiksi sivuryhmien ja muiden funktionaalisuuksien osalta ennen varsinaista syklisaatioreaktiota. Joillain prekursoreilla lineaarisen rakenteen luontainen taipuminen suotuisiin konformaatioihin on myös reagointia edistävä tekijä.⁸⁴ Tässä tutkimuksessa käsitellyistä synteeseistä makrosykliden ja keskikokoisten renkaiden muodostamiset toteutettiin kahden renkaan välisen sidoksen katkaisulla, retroaldoli-reaktiolla, *endo-trig*-syklisaatiolla, renkaansulkumeta-teesilla, nukleofiilisella substituutiolla ja hydroksyyliiryhmän aktivointia seuranneella alkyloinnilla. Täysin lineaarista prekursoria polysyklisten alkaloidien synteeseissä kuitenkin käytettiin ainoastaan klavoloniinin **15** yritetyssä reaktiossa, joten käyttö on tähän asti ollut vähäistä. Klavoloniinin **15** synteesi⁷⁹ on mielenkiintoinen transannulaarisen reaktiostrategian osalta, sillä Michael-vaihe ja siinä syntyvä kuusirengas onnistuvat halutusti, mutta jäljelle jäävä 12-jäseninen makrosykli ei kuitenkaan pääse konformaatiotilaan, jossa Mannich-vaihe amiinista C12-hiileen olisi suotuisampi kuin C6-hiileen. Makrosykleillä vapaammat konformaatiotilat kuitenkin pitäisi olla reaktiota

edistävä ominaisuus, mutta toki koon puolesta suuremmilla makrosykleillä tämä vaikuttanee edistävästi enemmän.

Funktionaalisuuden osalta makrosyklin reagoivien ryhmien tulisi olla joko vastakkaisilla puolilla rengasta, tai vähintäänkin niin, että syklistaatioreaktiossa suotuisia 5–7-jäsenisiä renkaita pääsee muodostumaan. Tässä tutkimuksessa käsiteltyjen transannulaaristen Mannich-reaktioiden nukleofiilina toimiva enoli ja elektrofiilina toimiva imiini sijoittuvat sopivien välimatkojen päähän eri puolille rengasta. Tannerin tutkimuksessa⁷¹ typen ja karbonyylihiilen välille jää kolme hiiltä, joten reagointi ja imiinin muodostuminen tähän suuntaan viisirenkaaksi on suotuisampaa kuin kahden hiilen päässä olevaan karbonyylihiileen, jolloin tuloksena olisi jännittynyt nelirengas. Fastigiatiinin **17** ja himeradiini A:n **18** synteeseissä Vastaavasti muilla transannulaarisilla reaktioilla, kuten Diels–Alderilla dieenin ja dienofiilin *cis-trans*-isomeria ja asettuminen transitiotilassa vaikuttavat muodostuvan polysyklin renkaiden suuntautumiseen toisiinsa nähden. Suuntautuminen voi vaikuttaa myös reaktion toteutumiseen.⁸⁵ Diels–Alder-reaktioita vastaavasti kaksoissidosten isomeria vaikuttaa myös transannulaaristen Michael-reaktioiden toteutumisessa. 1,7-bisenoneille toteutetussa synteessissä *E,Z*- ja *E,E*-1,7-bisenonit saatiin syklistoitua transannulaarisesti, mutta vastaavissa olosuhteissa *Z,Z*- ja *Z,E*-1,7-bisenonit eivät.⁸⁶

4. Sylindrisiinien synteetit

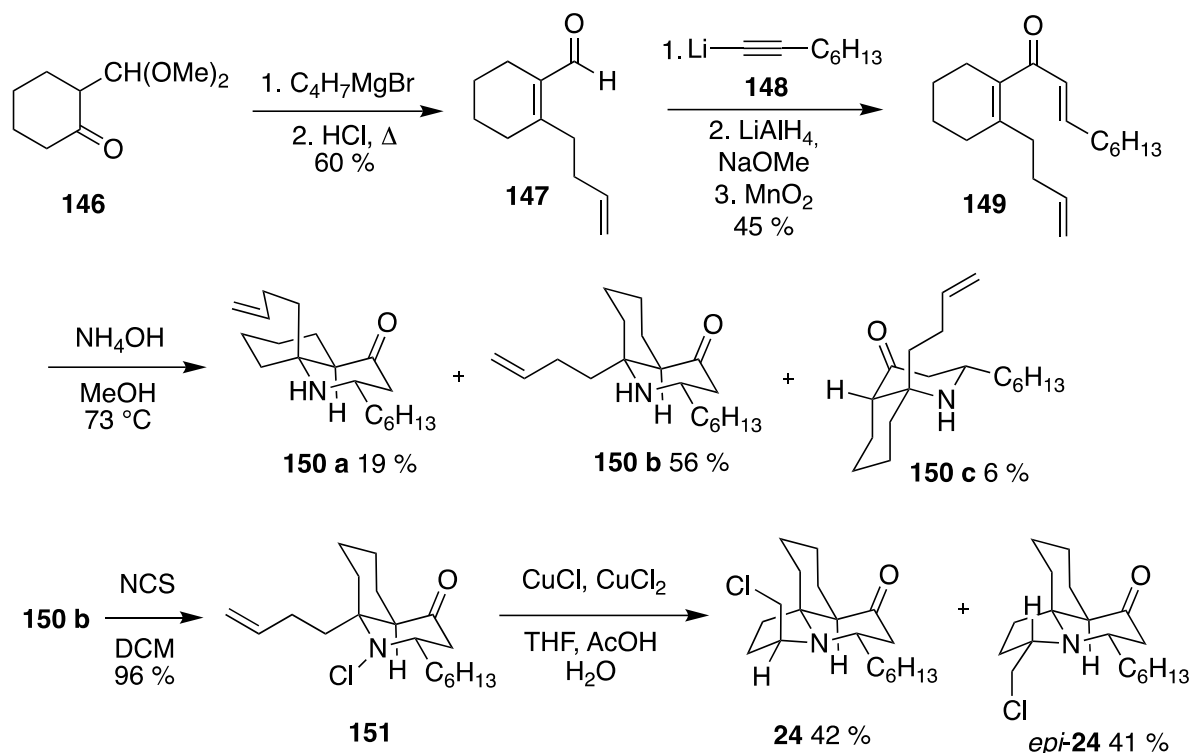
Sylindrisiineille on julkaistu 18 kokonaissynteisiä. Suurimman mielenkiinnon toteutettujen synteisien määrän perusteella on saanut tämänkin tutkielman kokeellisen työskentelyn kohteena oleva sylindrisiini C **26**. Sylindrisiinien A **24** ja B **25** kokonaissynteesejä on toteutettu neljässä eri julkaisussa, kun taas sylindrisiini C:n kokonaissynteesejä peräti 12 julkaisussa. Sylindrisiinien D ja E kokonaissynteetit on julkaistu pääosin yhdessä sylindrisiini C:n kanssa pois lukien ensimmäinen Sniderin ja Liun julkaisu, jossa sylindrisiinit D ja E syntetisoitiin yhdessä sylindrisiini A:n kanssa. Sylindrisiineille F–K ei ole julkaistu vielä ollenkaan kokonaissynteesejä. Tiettyihin sylindrisiineihin johtavien kokonaissynteisien lisäksi synteesejä on toteutettu eri menetelmillä myös pelkästään kolmirenkaiselle rungolle, mistä Tannerin ryhmän synteesi on tämän tutkimuksen kannalta merkittävin (kaaviot 8 ja 9). Tässä luvussa tarkastellaan erilaisia sylindrisiinien synteestistrategioita aiempien julkaisujen lähestymistapoihin

pohjautuen. Taulukkoon on koostettu vuosien 1997 ja 2019 välillä julkaistut sylindrisiinien kokonaissynteetit, niiden tekijät ja synteetien lähestymistavat.

Taulukko 2. Sylindrisiinien kokonaissynteetit 1997–2019

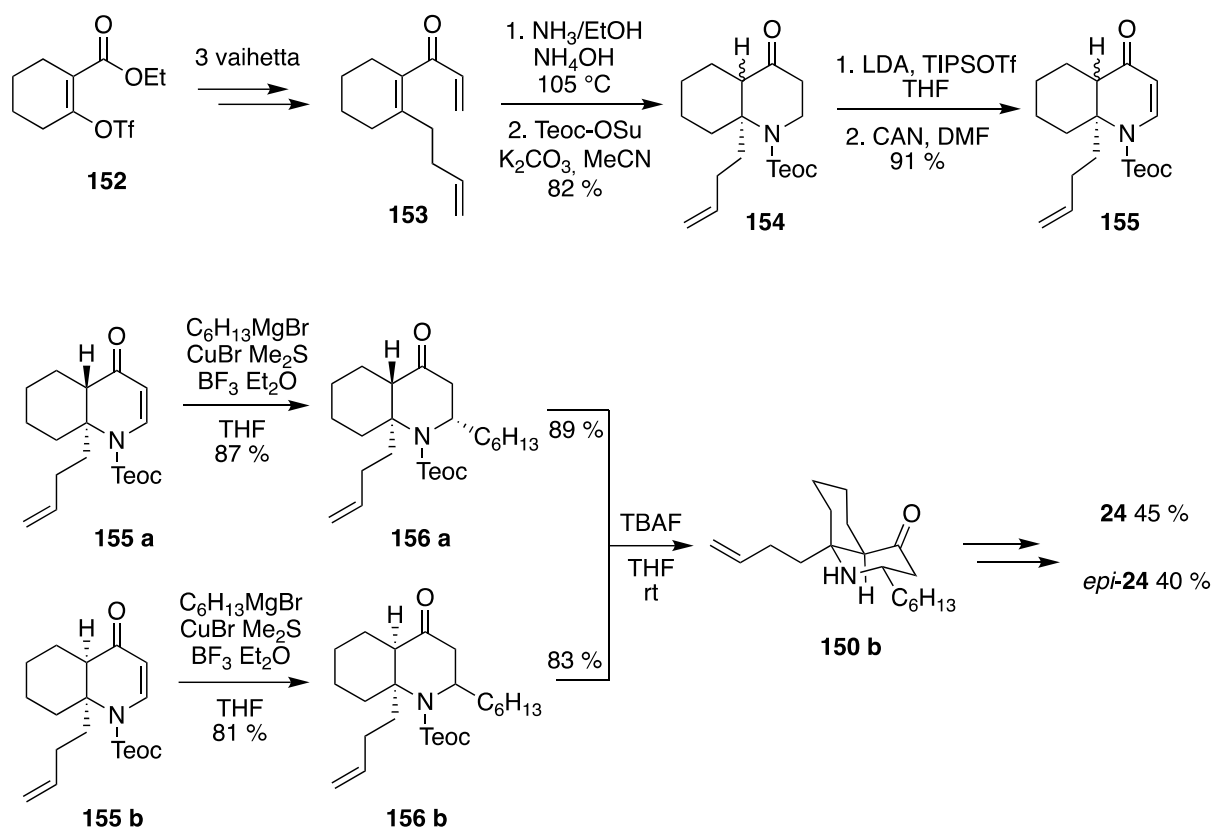
Tekijä	Vuosi	Yhdiste	Lähestymistapa
Snider	1997	A, D, E	Atsadekaliini
Heathcock	1999	A, B	Atsadekaliini
Molander	1999	C	Dominoreaktio
Trost	2003	C, D, E	Dominoreaktio
Ciufolini	2004	C	Atsapiroosykli
Hsung	2004	C, D, E	Atsapiroosykli
Kibayashi	2004, 2005	C	Atsapiroosykli
Hsung	2005, 2006	C	Dominoreaktio
Shibasaki	2006, 2007	C	Dominoreaktio
Padwa	2008, 2010	C	Indolitsidiini
Donohoe	2010	A, C	Atsadekaliini
Renaud	2011	C	Dominoreaktio
Pandey	2015	C, D, E	Dominoreaktio
Chida	2019	C	Atsapiroosykli

Liun ja Sniderin⁸⁷ sekä Liun ja Heathcockin⁸⁸ synteetit noudattivat aluksi samaa ja myöhemmin keskenään samankaltaista strategiaa. Molemmissa synteeseissä hyödynnettiin A-B-renkaan fuusiossa tupla-Michael-additiota, jossa tuotteeksi saatiin atsadekaliinien seos **150 a-c**. Liu ja Snider yrittivät vähentää ei-halutun *trans*-atsadekaliinin **150 a** määrää pH-muutoksilla siinä onnistumatta. Synteesiä jatkettiin antamalla halutun atsadekaliinin **150 b** reagoida NCS:n kanssa *N*-klooriamiiniksi **151** ja tämän jälkeen Stella-olosuhteissa 5-*exo*-syklisaatiolla sylindrisiini A:n **24** ja sen C2-epimeerin seokseksi.



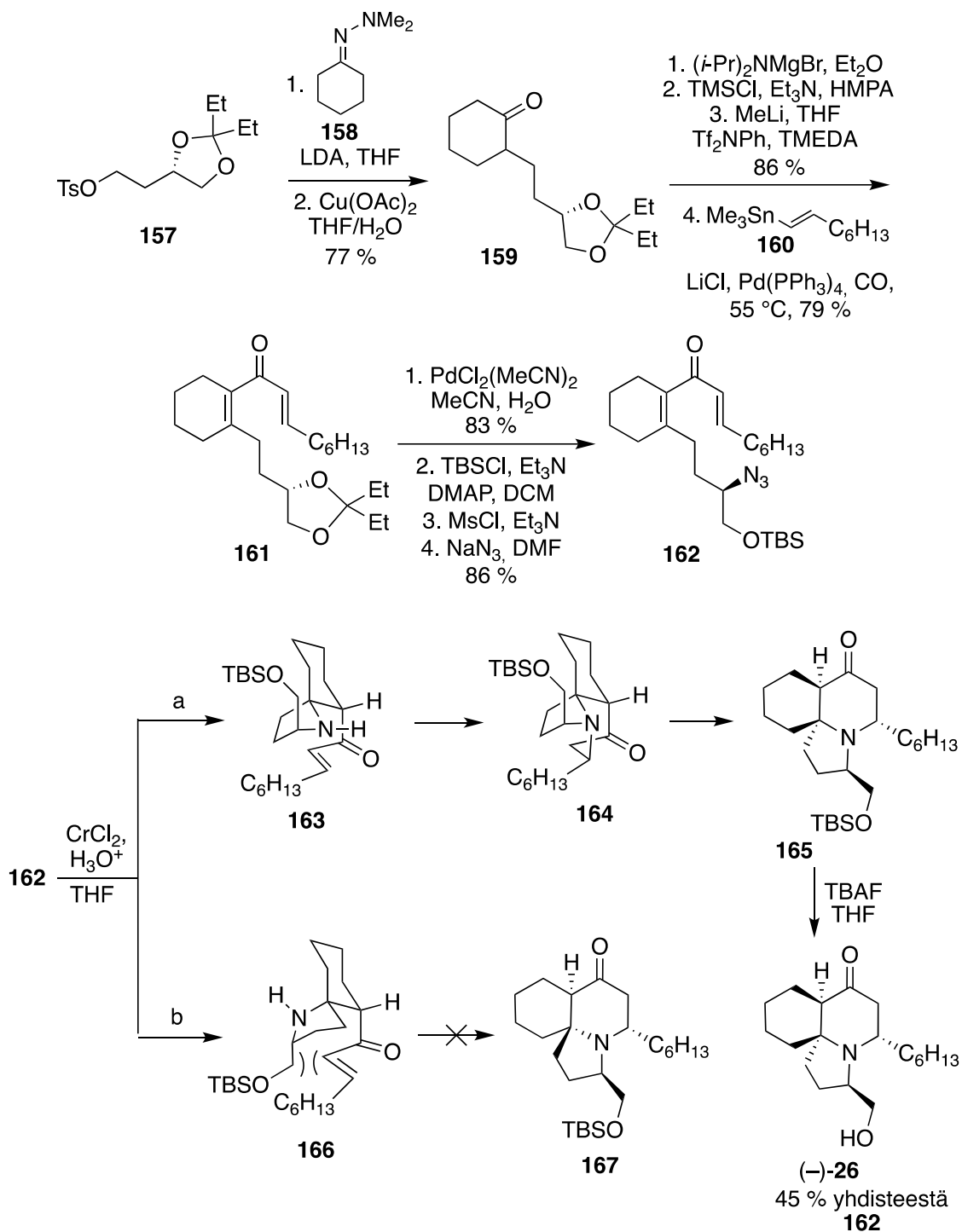
Kaavio 16. Liun ja Sniderin synteesi sylindrisiini A:lle.⁸⁷

Liu ja Heathcock onnistuivat lisäämään stereoselektiivisyyttä atsadekaliinien seoksen muodostumisvaiheeseen.⁸⁸ Sen sijaan, että dienonia olisi kasvatettu aldehydistä sivuketjulla jo reaktiosarjan alkuvaiheessa, toteutettiin tupla-Michael-reaktio atsadekaliiniksi **154** jo ensin ja suojattiin samalla typpi (kaavio 17). Vaikka tämäkin Michael-reaktiovaihe antoi mahdollisuuden *cis-trans*-atsadekaliinien seokselle, saatiin loppuvaiheessa heksyyllisivuketjun stereoselektiivisesti onnistuneen kupraattiaddition ja suojaryhmän poiston jälkeen tuotteeksi stabiilimpaa *cis*-atsadekaliinia **150 b**. C-renkaan sulkeminen tapahtui samoin kuin Liu ja Snider olivat tehneet yhdisteestä **150 b** alkaen (kaavio 16), ja tuotteeksi saatiin vastaava epimeerien seos. Donohoen ym. myöhemmin toteutettu atsadekaliinipohjainen reaktio noudatti pääosin kahden edellä esitellyn reaktion viimeisten vaiheiden kulkua, mutta synteesin tuloksena oli edelleen vastaava epimeerien seos.⁸⁹



Kaavio 17. Liun ja Heathcockin synteesi sylindrisiini A:lle.⁸⁸

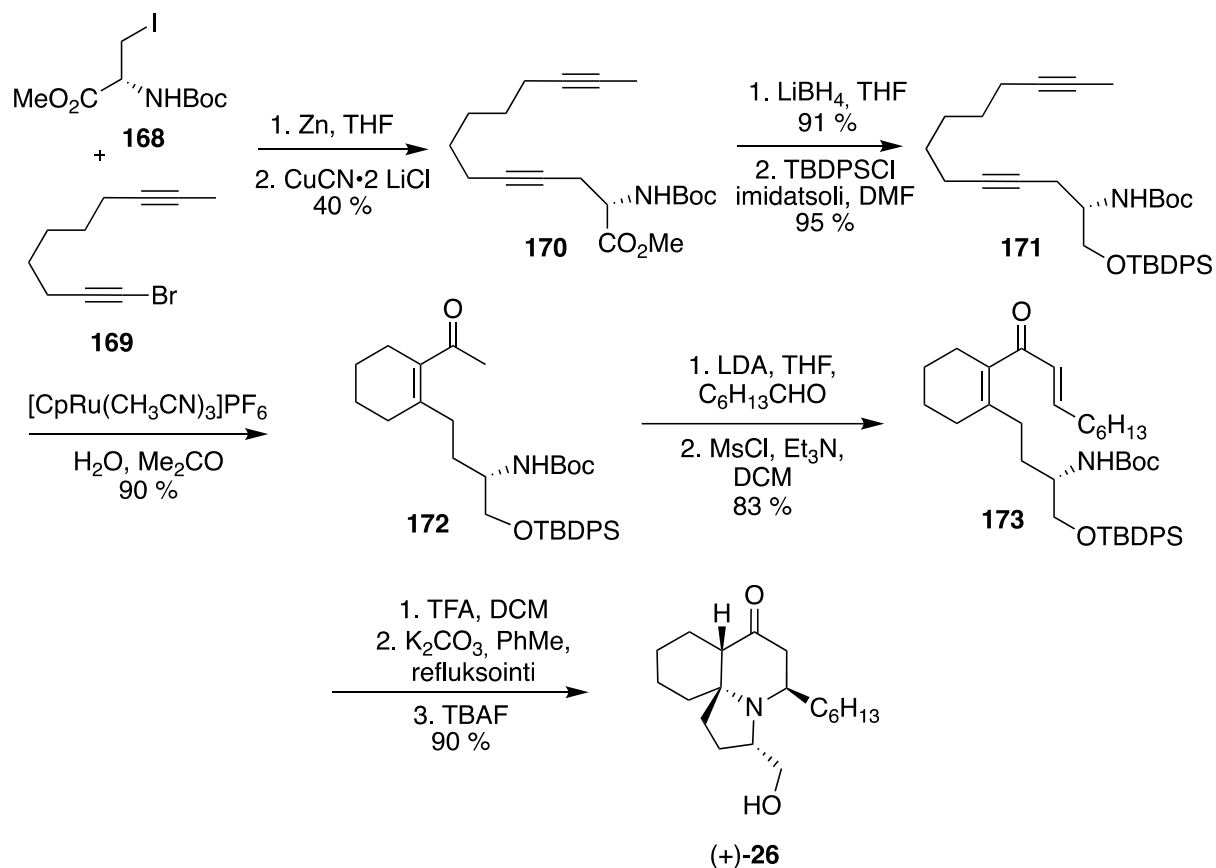
Molander ja Rönn toteuttivat ensimmäisen synteesin sylindrisiini C:lle.⁹⁰ Lähtöaineena oli kaupallisesti saatava *S*-(-)-1,2,4-butaanitriolin tosylaatijohdannainen **157**. Avainreaktiona tässä synteesissä oli atsidin **162** pelkistys amiiniksi ja sitä seuraava molekyyllinsäinen tupla-Michael-additio, kuten edellä esitetyissä synteesissä. Michael-reaktion ensimmäinen vaihe tuottaa spirosykliset diastereomeerit **163** ja **166**. C-renkaan syklistoimisen seurauksena OTBS-ryhmän suuntautuminen vaikuttaa seuraavan syklistoitovaiheen onnistumiseen. Mikäli ryhmä on eri puolella kuin enonin sivuketju (polku a), steerisyys ei estä seuraavan vaiheen reagointia. Seuraava Michael-vaihe ohjaa heksyyllisivuketjun haluttuun suuntaan. Spirosyklin diastereomeerivaihe, johti viimeisessä vaiheessa keskinkertaiseen 45 % saantoon yhdisteestä **162** sylindrisiinin **26** kokonaissaannon ollessa kuitenkin 12 %.



Kaavio 18. Molanderin ja Rönningin synteesi (-)-sylindrisiini C:lle.⁹⁰

Spirosyklisen C-renkaan muodostuminen etenkin stereokeskuksen selektiivisyyden osalta on osoittautunut haastavaksi edellä esitettyjen synteisien perusteella. Trostin ja Ruddin synteesi (+)-sylindrisiini C:lle pohjautui ruteniumkatalysoituun diyyinin reaktioon, josta tuotteeksi muodostunut dienoni **173** muistutti edellisen synteisin välituotetta **162** (kaavio 19).⁹¹ Dienonin **173** syklisaation mekanismi on todennäköisesti verrattavissa edellä kuvattuun Molanderin ja Rönningin synteisin syklisaatioon. Tämän synteisin syklisaatiiovaiheessa käytettiin erilaisia

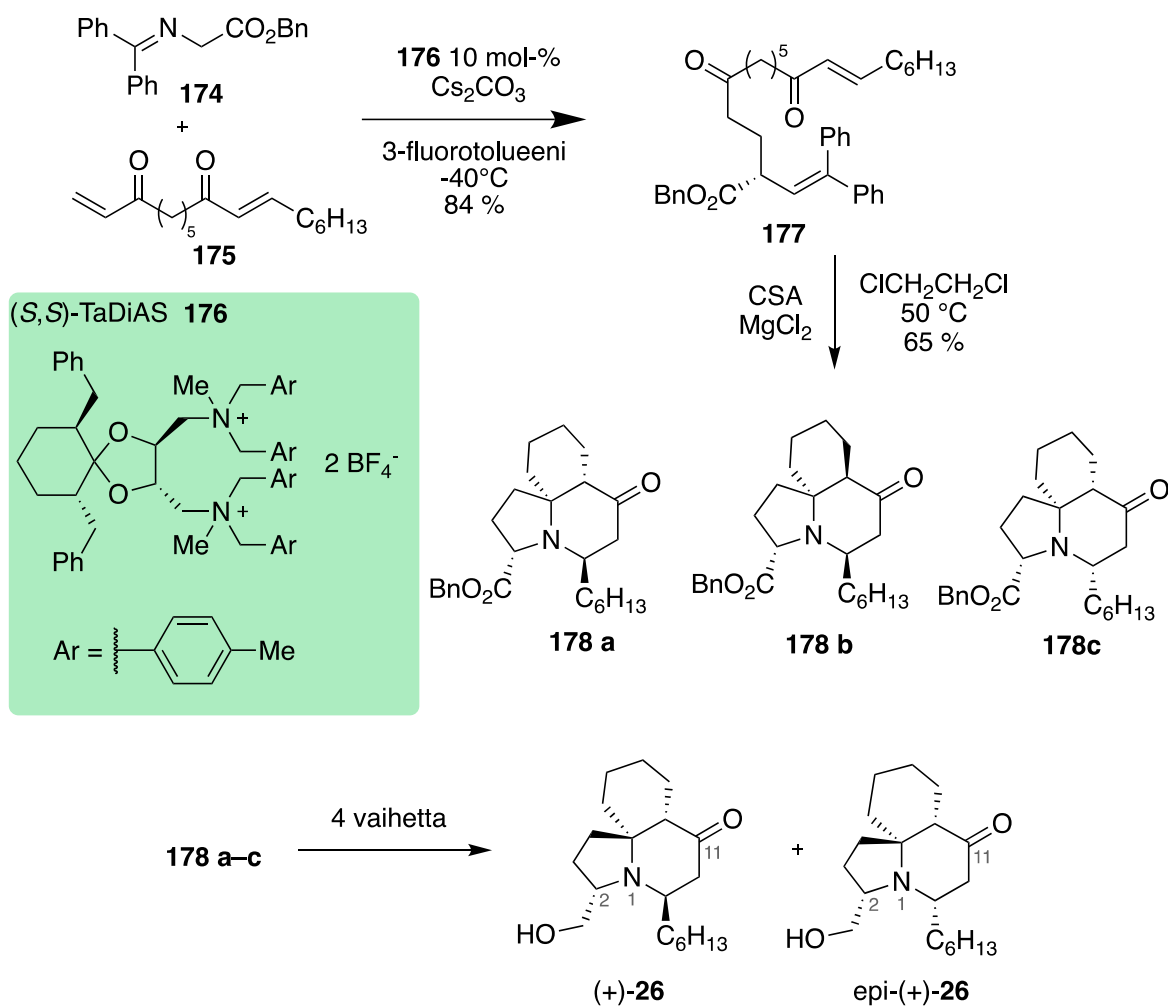
olosuhteita, joilla mahdollistettiin tasapainon muodostuminen spiroosyklien välille (vrt. kaavio 18, yhdisteet **163** ja **166**). Spirosyklin tasapainoreaktiolla voitiin taata, että C-rengas muodostui halutuksi isomeeriksi stereoselektiivisesti. Tämä on havaittavissa myös viimeisen vaiheen jopa 90 % saannolla verrattuna Molanderin ja Rönningin viimeisen vaiheen 45 % saantoon.



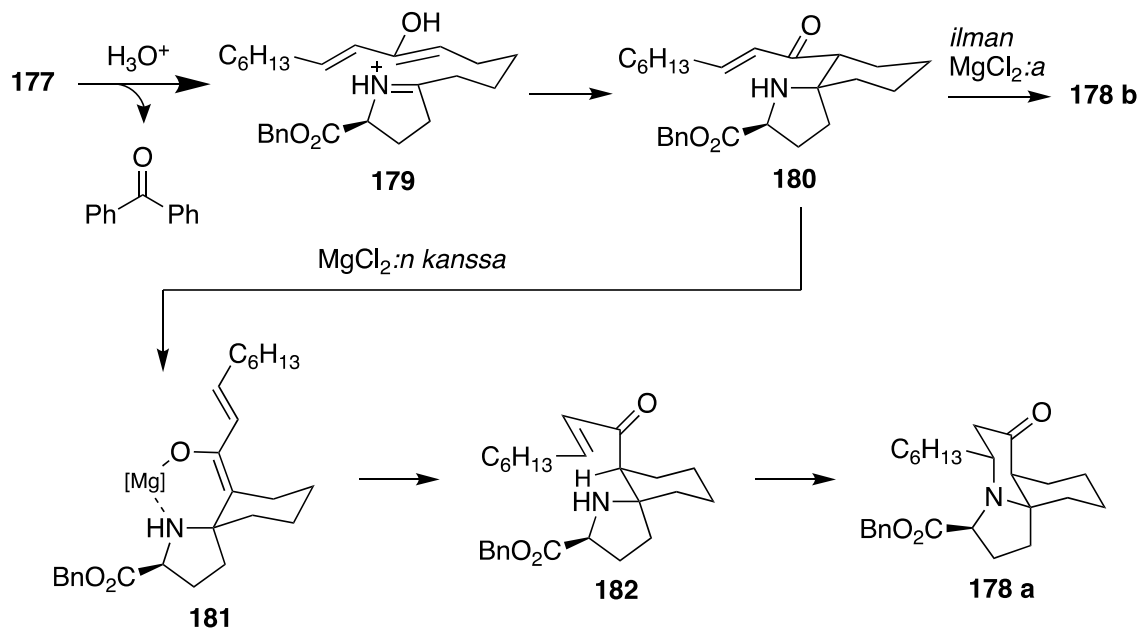
Kaavio 19. Trostin ja Ruddin synteesi (+)-sylindrisiini C:lle.⁹¹

Shibasakin ryhmän toteutti sylindrisiini C:n synteessin dominoreaktiolla, jota edelsi Michael-reaktio tuotteenaan diastereomeerien seos (kaavio 20). Reaktiota onnistuttiin synteisivaiheessa optimoimaan sekä enantioselektiiviseksi että hyväsaantoiseksi niin, että diastereomeerejä **178 b** ja **178 c** muodostui vähemmän.⁹² Michael-välituotteen syklisoinnissa tapahtui ensin intramolekulaarinen Mannich-reaktio C-renkaan muodostamiseksi ja lisäaineena toimivan MgCl₂:n läsnä ollessa mahdollistettiin atsa-Michael-additiolla, jossa haluttua tuotetta **178 a** saatiin diastereomeerisuhteella 84:9:7. MgCl₂:n lisäyksen seurauksena muodostuva enoli **181** kelatoitui ja siten stabiloitui magnesiumilla ja C5-aseman epimerisoinnisen seurauksena tuotteeksi muodostuva atsadekaliini on sylindrisiinille haluttu *cis*-muotoinen. Syklisaation oletettu kulku lisäaineen kanssa on esitetty kaaviossa 21. Lisäaineen käyttämättä jättämisen seurauksena

tuotteena oli diastereomeerien ja epimeerien seos, **178 a-c** suhteessa 33:63:4 päätuotteena *trans*-atsadekaliinia **178 b**.

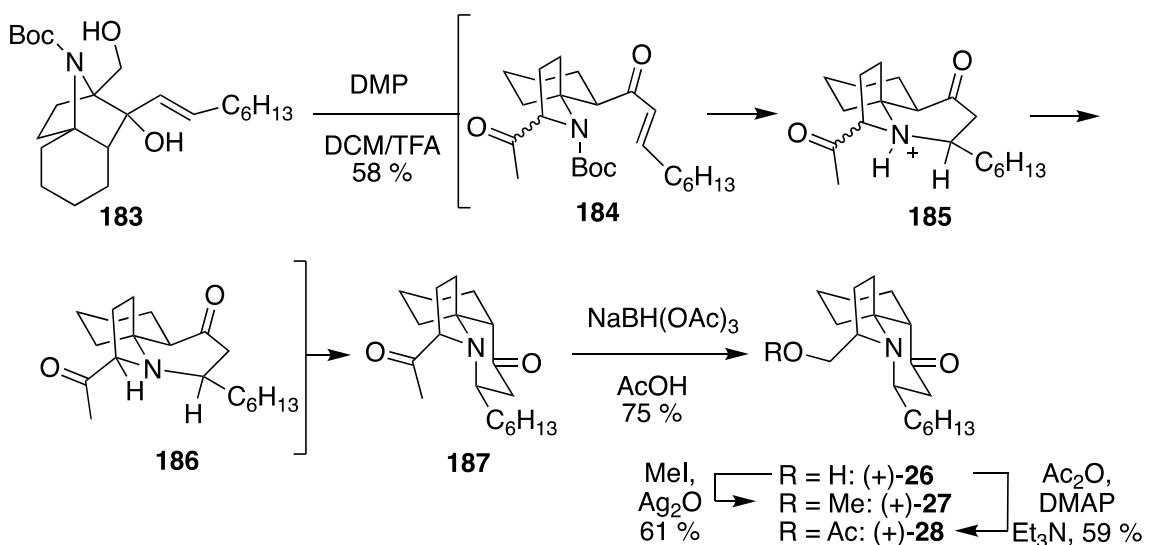


Kaavio 20. Shibasakin ryhmän synteesi (+)-sylindrisiini C:lle.



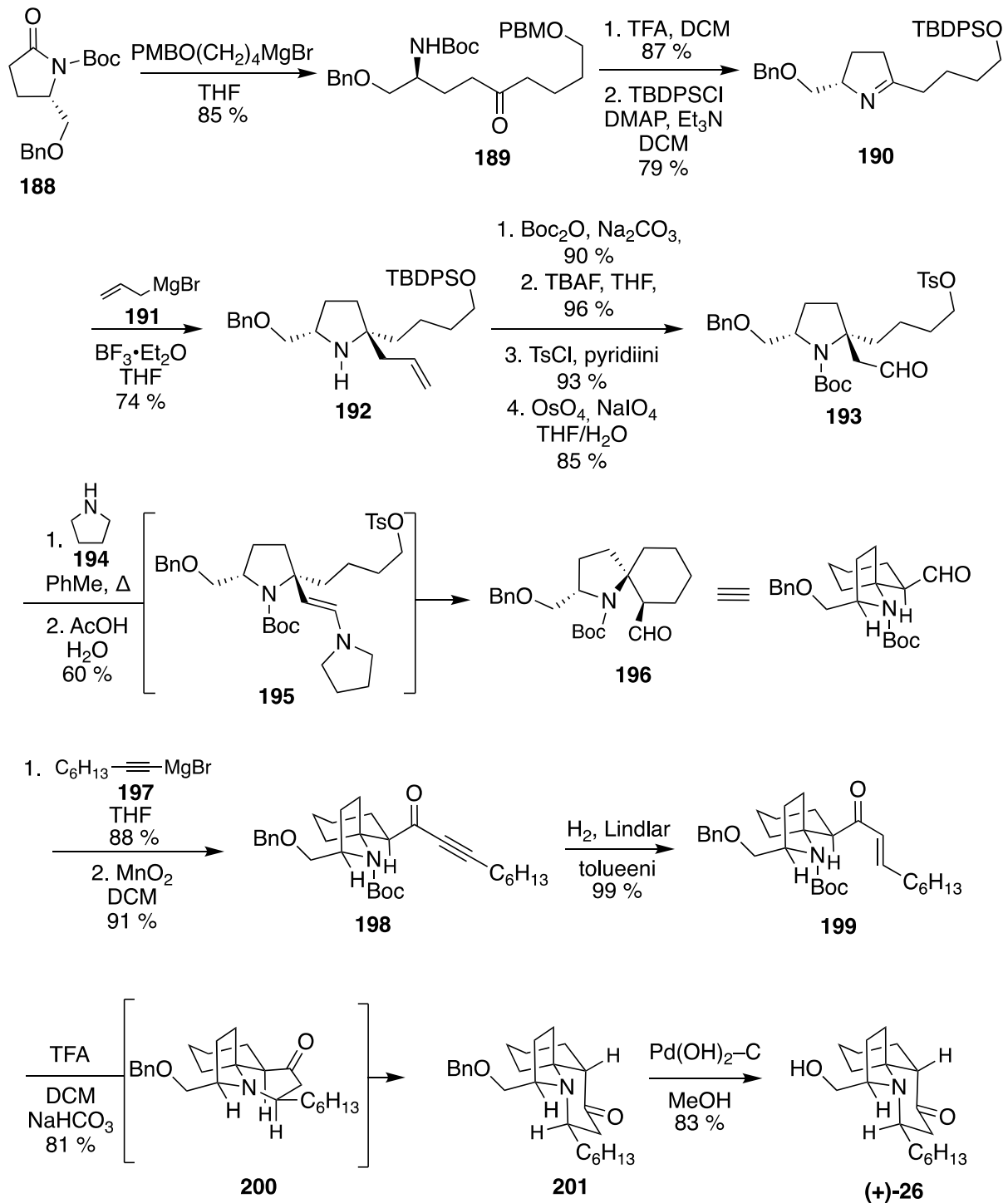
Kaavio 21. Shibasakin ryhmän oletettu dominosyklisaatio ja päätuotteiden muodostuminen lisäaineen kanssa ja ilman.⁹³

Uudemmissa dominoprosessilla toteutetuista synteeseistä esitellään vielä lyhyesti Pandeyn ja Janakiramin synteesi sylindrisiineille C–E.⁹⁴ Avainreaktioina synteessissä toimi yhdisteen **183** hapetusta seurannut atsa-Michael-reaktio, jolla muodostui enoni **184**. Suojaryhmän poisto johti uuteen atsa-Michael-reaktioon ja epimerisaation tuloksena oli kolmirenkainen rakenne **187**. Pelkistämällä aldehydi hydroksyyliiryhmäksi, saadaan sylindrisiini C **26**, josta voidaan valmistaa yhdellä vaiheella sekä sylindrisiini D **27** että sylindrisiini E **28**.

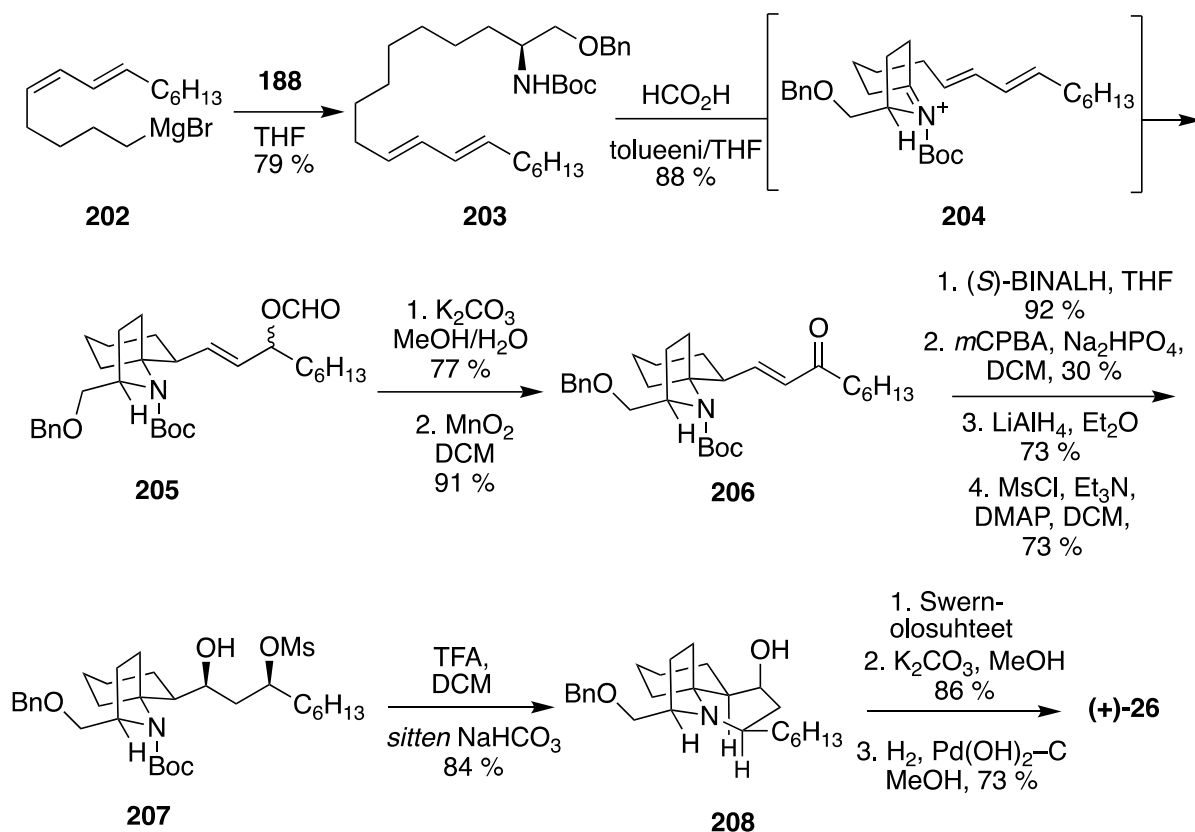


Kaavio 22. Pandeyn ja Janakiramin synteesi (+)-sylindrisiineille C–E.⁹⁴

Renkaita on rakennettu myös C-A-B-järjestyksessä, jolloin spirosykli muodostetaan vastakkaisesta suunnasta verrattuna Molanderin ja Trostin ryhmien synteeseihin. Kibayashin ryhmä onnistui valmistamaan (+)-syylindrisiiniä kahdella eri tavalla alkaen *S*-pyroglutamiinihaposta johdetusta lähtöaineesta **188**.^{35,95} Ensimmäisessä synteessissä (kaavio 23) hyödynnettiin BF₃-välitteistä Grignard-reagenssin additiota ja atsaspirosyklin **196** muodostamisen jälkeen syklisaatio kolmirenkaksi **200** onnistui Michael-additiolla. Atsaspirosyklin muodostusta yritettiin tosyyliryhmän sijaan jodattuna, mutta oletettavasti epästabiilin enolaatin takia sen käyttäminen syklisaatiossa ei onnistunut. Tosyyliryhmän lisäksi emäksisemmät olosuhteet mahdollistivat spirosyklin muodostumisen. Jälkimmäisessä synteessissä (kaavio 24) atsaspirosykli **205** sen sijaan onnistuttiin valmistamaan onnistuneesti hyödyntämällä π -kompleksiteoriaa kaksoissidoksen ja tyypellä stabiloidun karbokationin välillä. Syklisaatio saatiin aikaan mesyloimalla hydroksyyli- ja Boc-suojaryhmän poiston jälkeen syklisaatio onnistui halutusti yhdisteeksi **208**. Jälkimmäisen synteessin avainväliaine **205** oli käyttökelpoinen (+)-syylindrisiinin valmistuksen lisäksi myös *Clavelina*-suvun alkaloidiperheen muille jäsenille (-)-fasikulariinille ja (-)-lepadiformiinille, mikä mahdollistaa käytön divergenteissä synteeseissä.



Kaavio 23. Kibayashin ryhmän ensimmäinen synteesi (+)-sylimdrisiini C:lle.⁹⁵



Kaavio 24. Kibayashin ryhmän toinen synteesi (+)-sylindrisiini C:lle.³⁵

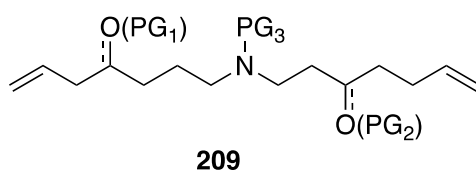
Kibayashin ryhmän lisäksi on raportoitu pari muuta julkaisua, joissa lähestyttiin rakennetta muodostamalla renkaat yksitellen kyseisessä C-A-B-järjestyksessä.^{96,97} Ishibashin ja Hunterin ryhmät lähestyivät synteisiä samalla rengasjärjestyksellä, joskin synteetit kohdistuivat ainoastaan rengassysteemin valmistukseen. Ishibashin ryhmällä avainreaktiona käytettiin radikaalien dominoreaktiota ja Hunterin ryhmän työssä spirosykli muodostettiin renkaansulkumetateesillä. Selektiivisyyden puutteen vuoksi Hunterin ryhmän synteesi antaa mahdollisuuden käyttää reaktiota myös lepadiformiinirakenteen muodostamiseen. Uusimmassa sylindrisiini C:n synteessissä hyödynnettiin nukleofiilistä sykliisaatiota sykliisiin nitroneihin ja tätä voitaisiin niin ikään hyödyntää myös muiden kompleksisten alkaloidien totaalisynteeseissä.⁹⁸

Polysyklisen yhdisteen valmistaminen makrosyklillä transannulaarisella Mannich-reaktiolla on uusi ja merkittävä askel sylindrisiinirunkojen kokonaissynteisien kannalta. Spirosyklin muodostumisen haasteet sivuutettiin Tannerin synteessissä jossa makrosyklin reaktio transannulaarisella Mannich-reaktiolla yhdisti C-renkaan jälkeen A- ja B-renkaiden samanlaisen muodostamisen.⁷¹ Synteestistä jäädyään odottamaan mielenkiinnolla onnistuneita jatkoreaktioita. Tannerin ryhmän julkaisussa kiinnitettiin huomiota myös lepadiformiinirungon valmistukseen samalla menetelmällä, mutta transitiotila puolsi *cis*-fuusioituneen A-B-

atsadekaliinirenkaan muodostumista, mikä on ominainen sylindrisiinirungolle (kuva 6). Lisäksi tällä reaktiolla pystyttäisiin mahdollisesti valmistamaan muitakin haastavampia polysyklisiä alkaloidiyhdisteitä, mikä lisää strategian potentiaalia.

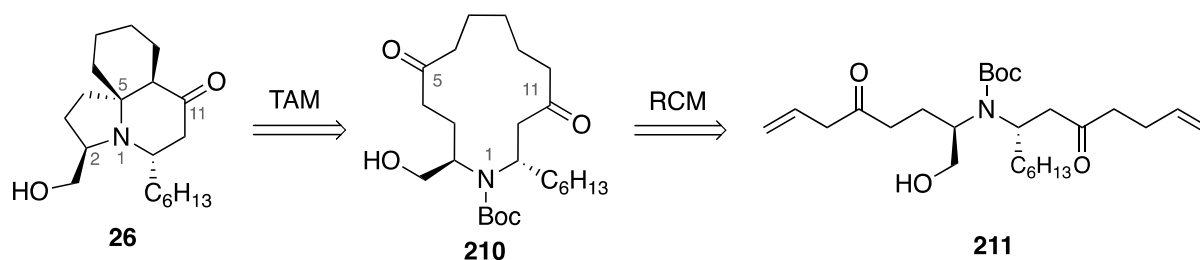
5. Kokeellisen työn lähtökohta ja tarkoitus

Makrosyklin muodostamisen haasteisiin perehdyttiin kirjallisessa osassa, ja Tannerin ryhmä ennakoi tämän ennustamalla sylindrisiinin makrosyklille myös vaihtoehdoisen prekursorin kaksoisrenkaisen amiinin **92** lisäksi.⁷¹ Tämä lähtöaine **209** olisi suoraketjuinen dieeni ja kaksoissidokset yhdistetään renkaansulkumetateesilla suoraan edellä esitetyn makrosykliksi **93**, josta transannulaarisella Mannich-reaktiolla saadaan kolmirengsrakenne.

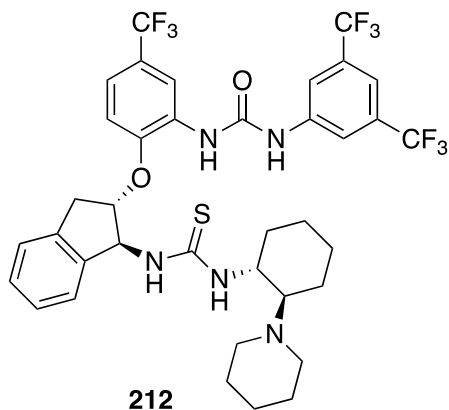


Kuva 13. Makrosyklin vaihtoehdoisen lähtöaineen perusrunko.⁷¹

Tämän tutkielman kokeellisen työskentelyn tarkoituksena oli löytää synteisireitti (–)-sylindrisiini C:n vaihtoehdoiselle lähtöaineelle ja valmistaa sitä enantioselektiivisesti Jyväskylän yliopistossa aiemmin syntetisoidun, ja Mannich-reaktioon sopivaksi todetun foldameerikatalyytin avulla.^{49,99} Sylindrisiini C:lle kyseinen prekursori **211** sivuryhmineen on esitetty retrosynteesin kanssa kaaviossa 25. Reaktion avainvaiheina on transannulaarinen Mannich-reaktio (TAM) ja renkaansulkumetateesi (RCM). Reaktiossa käytetty katalyytti on esitetty kuvassa 14.

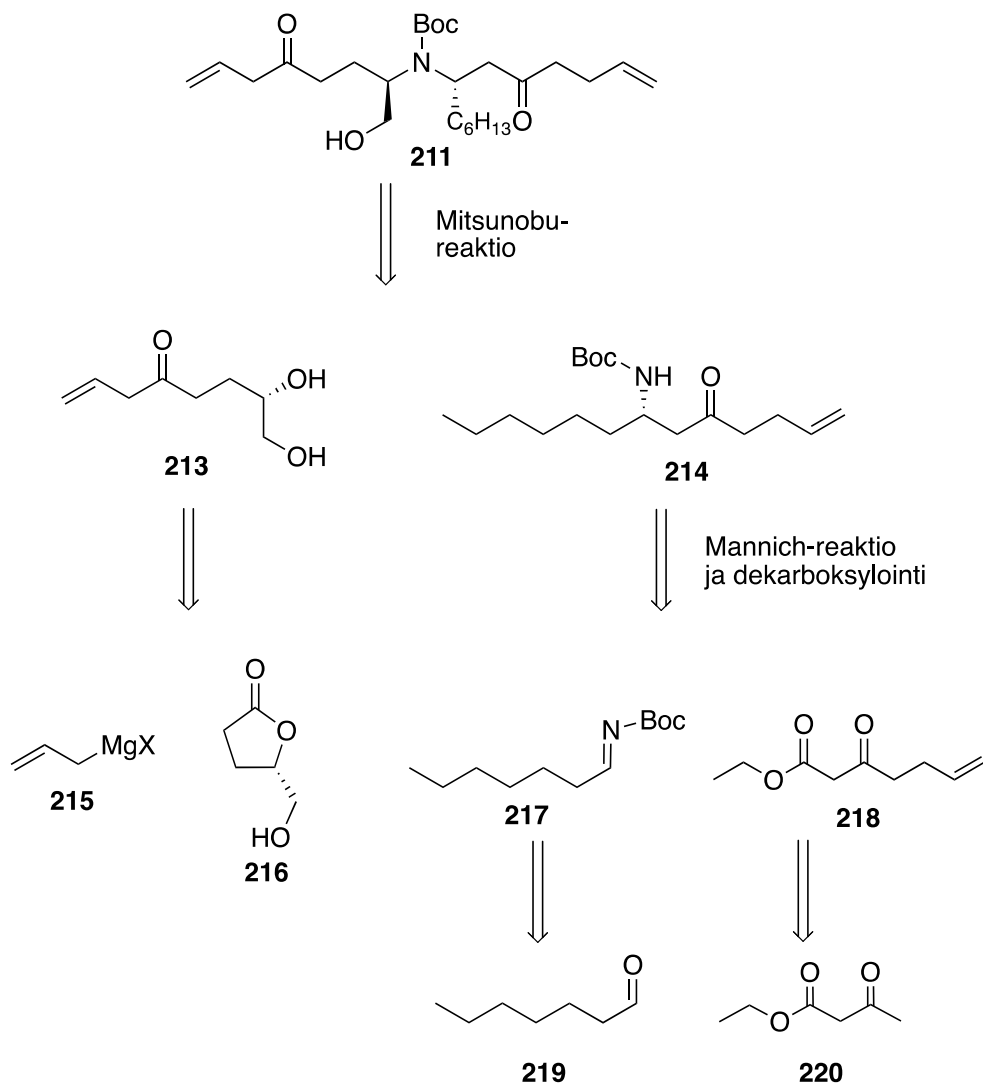


Kaavio 25. (–)-Sylindrisiini C:n retrosynteesi prekursoriksi



Kuva 14. Reaktiossa käytetty foldameerikatalyytti.

Synteesireitti suunniteltiin konvergentiksi, eli reitti on haarautuva ja seuraavan vaiheen kohde-
molekyylä valmistetaan kahdesta, tai mahdollisesti useammasta fragmentista. Prekursori
jaettiin retrosynteesissä ensin oikeaan ja vasempaan puoliskoon. Avainvaiheena puolet oli tar-
koitus yhdistää Mitsunobu-reaktiolla. Oikean puolen reaktiossa hyödynnettäisiin tärkeimpänä
vaiheena Mannich-reaktiota β -ketoesterin ja suoraketjuisen Boc-suojatun imiinin välisessä
enantioselektiivisessä foldameerikatalysoidussa reaktiossa. Vasemman puolen reaktiossa läh-
töaineena käytettäisiin (S)- γ -hydroksimetyyli- γ -butyrolaktonia yhdessä Grignard-reagenssin
kanssa. Sekä oikean että vasemman puolen synteesipolun lähtöaineina toimisivat kaupallisesti
saatavilla olevat yhdisteet. (-)-Sylindrisiini C:n prekursorin **211** retrosynteesi on esitetty kaa-
viossa 26.



Kaavio 26. (-)-Sylindrisiini C:n prekursorin retrosynteesi.

6. Tulokset

6.1. Oikean puolen synteesi

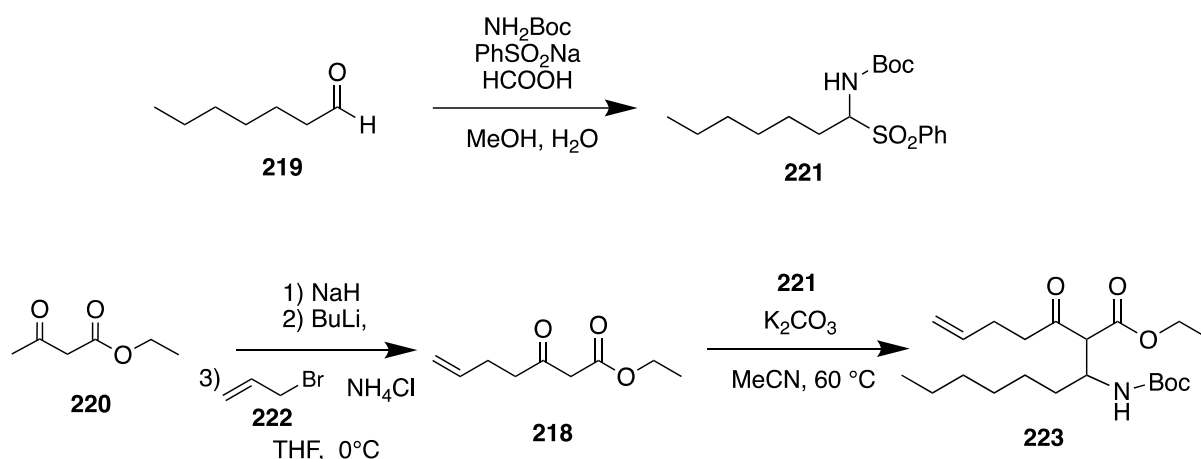
6.1.1. Mannich-reaktio ilman katalyyttia

Oikean puolen synteesireitti aloitettiin konvergentilla synteesillä kahta polkua pitkin (kaavio 27). Mannich-tuotteen reaktiossa toinen polku aloitettiin heptanaalista **219**. Tästä valmistettiin Boc-amiinin ja bentseenisulfiinihapon natriumsuolan läsnä ollessa *N*-Boc-sulfonia **221** mukaillemalla aiemmin julkaistuja menetelmiä.^{100–102} Aikaisemmissa julkaisuissa, joissa *N*-

Boc-sulfonia oli valmistettu, käytettiin pääasiassa aromaattisia tai rengasrakenteisia aldehydejä, mutta vähemmän käytettyjen alifaattisten ketjujen osalta oli onnistuttu samoilla reagenssisuhteilla. Aiempien synteesien reagenssisuhteita käyttämällä reaktio ei kuitenkaan jostain syystä tässä onnistunut, eikä reaktio muodostanut välituotteeksi odotettua sakkaa. Reagenssien suhteellisia ekvivalenttimääriä muuttamalla tuotetta saatiin hyvällä saannolla (73 %), joka vastasi aromaattisilla yhdisteillä tehtyjen vastaavien reaktioiden saantoja (75 %¹⁰¹ – 80 %¹⁰²).

Mannich-reaktion toiseksi reagenssiksi valmistettiin toista polkua pitkin β -ketoesteriä **218**. Tämä reaktio toteutettiin täysin aiemmin valmistetun synteesin mukaisesti.^{103,104} β -ketoesterien dianionien alkylointi on todettu toimivaksi erilaisilla alkyloivilla yhdisteillä ja γ -alkyloidut tuotteet on syntetisoitu hyvillä saannoilla kaupallisesti saatavilla olevista lähtöaineista. Tässä työssä etyyliasetoasetaatista **220** muodostettiin dianioni antamalla sen reagoida ensimmäisessä vaiheessa natriumhydridin ja toisessa vaiheessa butyyllitiumin kanssa. Dianionin Michael-additioreaktio alkylointiagenttina toimineen vinyylibromidin kanssa antoi haluttua β -ketoesteriä **218**. Saannoksi saatiin 64 %, mikä oli kirjallisuusarvoa 77 %¹⁰³ hieman alhaisempi.

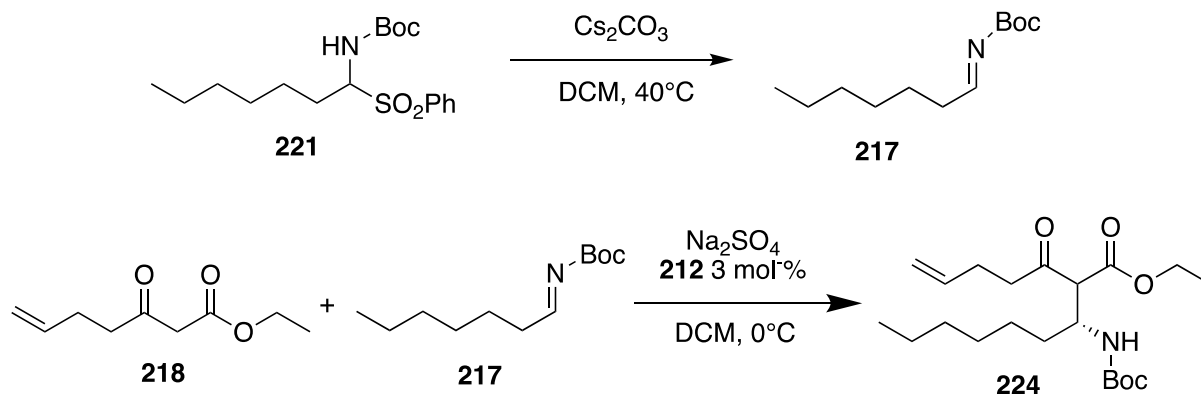
Mannich-reaktio toteutettiin Neuvosen tutkimusta mukailien verrokiksi vastaavalle enantioselektiiviselle vaiheelle, jotta enantioselektiivisen C–N-sidoksen suuntautuminen pystytään analysoimaan HPLC:lla.⁹⁹ Ylimäärä sulfonia **221** annettiin reagoida β -ketoesterin **218** kanssa Mannich-tuotteeksi **223** kaliumkarbonaatin läsnä ollessa. Reaktion kokonaissaanto etyyliasetoasetaatista Mannich-tuotteeksi oli 50 %.



Kaavio 27. Mannich-tuotteen reaktio ilman katalyyttia.

6.1.2. Enantioselektiivinen Mannich-reaktio Boc-imiinillä

Enantioselektiivistä reaktiota varten heptanaalista valmistettu *N*-Boc-sulfonyli 221 jatkettiin edelleen imiiniksi 217 cesiumkarbonaatin läsnä ollessa (kaavio 28).^{99,100} Imiinin epästabiiliuden vuoksi valmistusvaiheessa kiinnitettiin huomiota hallittuun lämmitykseen ja raakatuotteen suodattamiseen Na₂CO₃-käsittelyn Hyflo Super Cel -celiten läpi, sillä käsittelemätön celite oli edesauttanut imiinin isomeroitumista. Isomeroitumisen välttämiseksi seuraavana vuorossa ollut Mannich-reaktio toteutettiin mahdollisimman nopeasti imiinin valmistuksen jälkeen, eikä imiiniä siksi myöskään erikseen puhdistettu. Imiinivälivaiheen massaprosenttinen saanto oli järjestään yli 100 %, mikä viittaa epäpuhtaaseen tuotteeseen, mutta tätä pyrittiin kompensoimaan käyttämällä sitä seuraavassa vaiheessa reilu ylimäärä. Imiinin epästabiilius on myös todennäköinen syy sille, että sulfonylien synteetit oltiin toteutettu aiemmissa synteeseissä käyttäen aromaattisia yhdisteitä,^{100–102} jolloin estettiin enamiinimuodon esiintymistä ja siten reaktion saantojen laskemista. Vaiheeseen liittyy epävarmuutta verrokkien puutteesta, sillä imiinivälivaiheesta ei ole raportoituja tuloksia, saantoja tai NMR-spektrejä.



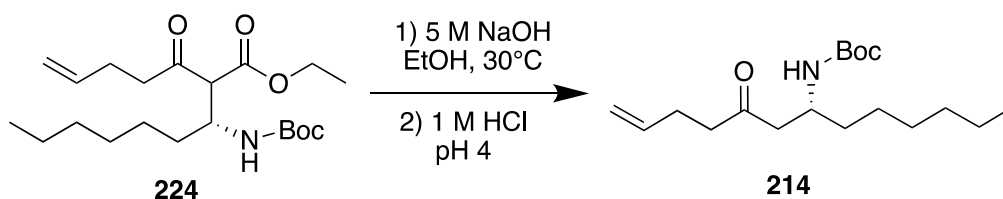
Kaavio 28. Enantioselektiivinen Mannich-reaktio.

Enantioselektiivinen Mannich-reaktio tehtiin niin ikään Neuvosen tutkimuksen mukaisesti.⁹⁹ Imiinin ja β -ketoesterin välisessä reaktiossa käytettiin kolme mooliprosenttia katalyyttia 212 suhteessa β -ketoesterin määrään, mikä oli todettu toimivaksi aiemmassa synteessissä. Kaaviossa 28 esitetyn Mannich-vaiheen saanto oli ainoastaan 56 %, kun taas aiemmin Neuvosen artikkeleissa raportoitujen Mannich-vaiheen synteetitulos saannot olivat yli 80 %. Raseemisen tuotteen valmistusvaiheeseen verrattuna tämän reaktion saanto oli matalampi. Toisaalta reaktiossa sekä β -ketoesterin 218 että imiinin 217 hiiliketjut poikkesivat aiemmin syntetisoiduista tuotteista, joten reaktiot eivät ole täysin vertailukelpoisia. Vaikka aiemmissa julkaisuissa imiiniyhdiste oli usein aromaattinen, näiden lisäksi yhdisteiden synteetit alifaattisilla sivuketjuilla

tulisi onnistua. Neuvosen tutkimuksessa oli käytetty suoraketjuista imiiniä, joskin sivuketju oli kaksi hiiltä lyhyempi. Reaktion saantoa pyrittiin parantamaan käyttämällä ylimäärää imiiniä, mutta sillä ei ollut huomattavaa merkitystä lopputuloksen kannalta. Reaktion edetessä imiinin hajoamista enamiinimuotoon ei voida myöskään täysin sulkea pois, mikä voisi osaltaan selittää alhaista saantoa. Reaktio kuitenkin saatiin toimimaan hyvällä enantioselektiivisyydellä mietoissa olosuhteissa ja pienellä katalyyttimäärällä.

6.1.3. Dekarboksylointi

Mannich-tuotteet dekarboksyloitiin saippuointireaktiolla käyttäen ensimmäisessä vaiheessa natriumhydroksidia etanolin toimiessa liuottimena ja toisessa vaiheessa suolahappoa. Dekarboksylointi toimii tällaisille β -aminoketoneille lähtökohtaisesti hyvin, eikä reaktio vaikuta enantiopuhtauteen.⁹⁹ Vaihe toteutettiin täysin samanlaisena sekä raseemiselle **223** että enantioselektiivisesti valmistetulle Mannich-tuotteelle **224**.



Kaavio 29. Mannich-tuotteen dekarboksylointi.

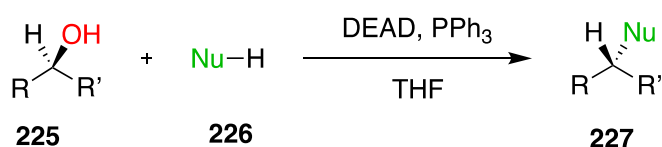
Tässä vaiheessa saanto jäi jatkuvasti keskinertaiseksi, raakatuotteilla n. 45 %. Aiempien vastaavanlaisten reaktioiden saannot olivat yli 70 % ja reaktion mainittiin toimineen nimenomaisille yhdisteille hyvin. Reaktion raakatuotteiden saannot olivat samaa luokkaa sekä katalyytin kanssa että ilman valmistetun Mannich-tuotteen dekarboksyloinnin osalta. Tämän vaiheen saantoa voisi parantaa esimerkiksi käyttämällä β -ketoesterin esteriryhmässä metyyli-ryhmää etyyli-ryhmän sijaan. Huonoa saantoa voidaan selittää myös sillä, että sivureaktiona todennäköisesti tapahtui retro-Mannich-reaktiota, jossa yhdiste hajosi β -ketoesteriksi ja Boc-imiiniksi, sekä näiden hydrolyysi- ja dekarboksylaatiotuotteiksi.⁹⁹ Reaktion olosuhteet pyrittiin lisäksi pitämään suhteellisen mietoina: reaktioliuoksen happamuutta ei säädetty kovin matalalle eikä reaktiota lämmitetty kuin hieman huoneenlämpötilan yläpuolelle, joten Boc-ryhmän irtoaminen ja siten mahdolliset ei-toivotut sivureaktiot olisi pitänyt välttää. Enantioselektiivisesti valmistetun tuotteen puhdistuksessa kuitenkin kohdattiin ongelmia ja puhdasta tuotetta saatiin

eristettyä ainoastaan 5–6 %, vaikka raakatuotteen saanto oli samaa luokkaa raseemisen yhdisteen kanssa. Ongelmista olisi voitu selvittää esimerkiksi valmistamalla suurempi määrä yhdistettä ja valitsemalla parempi eluenttisuhde flash-kromatografiaan. Tutkielman yhdisteiden puhdistuksen parantamiseksi yleisestikin perinteisen flash-kromatografian käyttämisen sijaan CombiFlash-laitteiston käyttö puhdistuksessa UV-aktiivisille tuotteille olisi saattanut vähentää puhdistusvaiheen häviöitä. Puhdistuksessa syntyneet häviöt eivät tällöin olisi olleet niin merkittäviä ja mahdollisilta inhimillisiltä virheiltä olisi välttytty paremmin.

HPLC-analyysilla ja vertaamalla dekarboksyloituja raseemista ja enantioselektiivisesti valmistettua tuotetta, Mannich-reaktion todettiin onnistuneen enantioselektiivisesti (*er* 92:8) ja katalyytin voidaan todeta toimineen. Mannich-reaktiossa katalyytin vaikutuksesta syntyi kuitenkin (–)-sylindrisiinien rakenteeseen verrattuna vastakkainen enantiomeeri, sillä HPLC-kromatogrammit vastasivat aiemman tutkimuksen vastaavan kaltaisille yhdisteille toteutettuja HPLC-mittauksia.⁹⁹ Jatkossa tulisi siis käyttää katalyytin sellaista muotoa, joka tuottaisi haluttua enantiomeeriä.

6.1.4. Enantioselektiivinen Mannich-reaktio Ns-imiinillä

Vaikka Mannich-reaktiot onnistuivat sekä katalyytillä että ilman, Boc-suojauksen käyttöön liittyy epävarmuutta seuraavaan vaiheeseen suunnitellun Mitsunobu-reaktion osalta. Boc-ryhmä tekee tyypen kiinnittyneen protonin vähemmän happamaksi, mikä puolestaan vaikuttaa negatiivisesti siihen, että reaktiossa käytettävä atsoyhdiste, esimerkiksi DEAD, protonoituisi nukleofiilina toimivan yhdisteen protonista. Mikäli protonoituminen ei tapahdu odotetusti, reaktiovaihe voi jäädä kokonaan tapahtumatta tai reaktiosta syntyy tuotetta huomattavasti pienempi määrä.

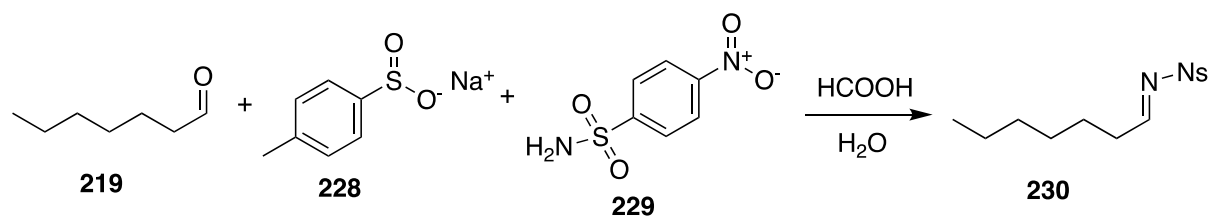


Kaavio 30. Mitsunobu-reaktion peruseriaate.

Mitsunobu-reaktiossa voitaisiin kuitenkin hyödyntää nosyyliuojattuja yhdisteitä, jolloin tyypen kiinnittynyt protoni pysyisi happamana ja helpommin reagoivana. Tämä lisäisi varmuutta

Mitsunobu-reaktion onnistumiseen.^{105,106} Tästä syystä Mannich-reaktiota kokeiltiin myös nosyyliuojatulla imiinillä. Valmiista dekarboksyloidusta yhdisteestä **214** Boc-suojauksen vaihto nosyyliryhmäksi voisi onnistua, mutta riskinä tässä on ei-toivottujen sivutuotteiden tai mahdollisen syklisaation muodostuminen ennen kuin nosyyliryhmä saadaan paikoilleen.

Mannich-reaktiota varten kokeiltiin valmistaa ensin heptanaalista **219** nosyyliuojattua imiiniä edellä esitettyä Boc-suojauksella muistuttavalla ja aiempaa vastaavaa synteesiä¹⁰⁷ mukailevalla reaktiolla (kaavio 31). Synteesissä hyödynnettiin natrium-*p*-tolueenisulfinaattia **228** ja nosyylikloridista ammoniakkin avulla valmistettua 4-nitrobenseenisulfonamidia **229**. Reaktio tuotti NMR:n mukaan pääasiassa haluttua imiiniä **230**, mutta saannot jäivät heikoiksi aikaoptimoinnista (taulukko 3) huolimatta.

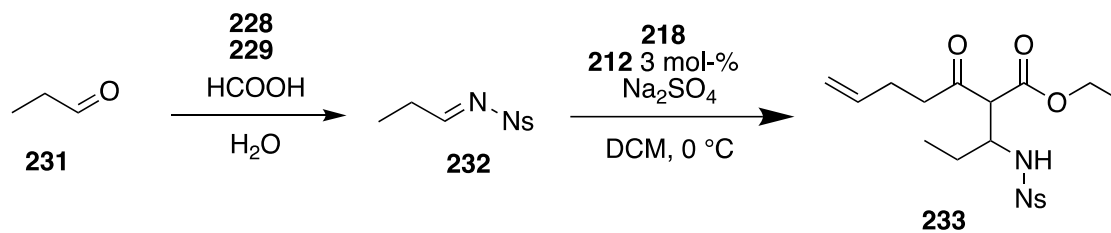


Kaavio 31. Nosyyli-imiini heptanaalista.

Taulukko 3. Nosyyli-imiini heptanaalista, aikaoptimointi

Rivi	Aika	Saanto-%
1	5 h	6 %
2	29 h	11 %
3	73 h	15 %

Koska aikaoptimointi ei tuottanut tulosta, reaktiota päätettiin tutkia muuttamalla aldehydin hiiliketjun pituutta. Mallireaktio toteutettiin heptanaalin sijaan propanaalilla **231**, jolla oli aiemmin vastaavassa nosyyliryhmän kiinnityksessä onnistuttu.¹⁰⁷ Reaktio tehtiin täysin samalla tavalla kuin kaaviossa 31 on kuvattu, mutta se onnistui lyhyemmällä hiiliketjulla huomattavasti paremmalla saannolla (66 %). Imiini **232** käytettiin välittömästi seuraavaan vaiheeseen, jotta mahdollinen hajoaminen enamiinimuotoon vältettäisiin.



Kaavio 32. Mannich-reaktio nosyyli-imiinillä.

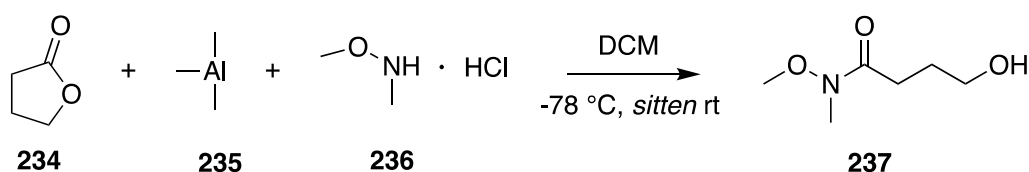
Katalyytin **212** kanssa kokeiltu reaktio enantioselektiivisen sidoksen muodostamiseksi tehtiin täysin samalla tavalla kuin Boc-suojatullakin aiemmin (kaavio 32, vrt kaavio 28). Tämä onnistui keskiverrolla saannolla (35 %). HPLC-mittaus antoi kuitenkin neljä suunnilleen samaalaista signaalia (28:26:30:16), mikä viittaa neljän diastereomeerin seokseen. Diastereomeerit muodostuvat kahden vierekkäisen stereokeskuksen osalta, joskin seuraavan vaiheen dekarboksyloinnin seurauksena yhden stereokeskuksen vähentäminen olisi voinut antaa tarkempaa dataa C–N-sidoksen suuntautumisesta ja eri diastereomeerien suhteista. Reaktiokokonaisuus siis voisi toimia myös nosyyli-suojattuna, mutta kyseinen katalyytti ei tuota enantiopuhdasta tuotetta.

Reaktiota kokeiltiin myös ilman katalyyttia, tavoitteena saada raseemista Mannich-tuotetta, mahdollisesti jopa suuremmalla saannolla. Tämä reaktio kuitenkin tuottanut lainkaan haluttua tuotetta oletettavasti imiinin hajoamisen seurauksena. Tähän reaktioon ei näillä olosuhteilla käytetty aikaa enempää, sillä kaavion 32 mukaan toteutettu reaktio tuotti jo diastereomeerien seoksen. Olosuhteet, joita käytettiin enantioselektiivisen reaktion yrityksessä, toimivat siis raseemisessa reaktiossa ja tästä syystä enantioselektiiviseen reaktioon tulisi seuraavaksi kokeilla uutta katalyyttia ja mahdollisesti erilaisia reaktio-olosuhteita.

6.2. Vasemman puolen synteesi

Vasemman puolen synteesi ajateltiin tehdä aluksi *S*- γ -hydroksi- γ -abutyrolaktonilla. Sivuketjussa oleva hydroksyyli-ryhmä vaatisi kuitenkin suojauksen jo tässä vaiheessa, jotta myöhemmin tapahtuva puolet yhdistävä Mitsunobu-reaktio tapahtuisi oikeaan hydroksyyli-ryhmään (vrt. retrosynteesi, kaavio 26). Reaktiota päädyttiin kokeilemaan malliaineena toimivalla kaupallisesti saatavissa olevalla γ -butyrolaktonilla **234**, jotta Mitsunobu-reaktion toimivuutta päästäisiin testaamaan nopeammin. Laktonin avaus oli tarkoitus toteuttaa Grignard-reagenssilla, mutta mikäli Grignard-reagenssi reagoi kahdesti karbonyylihiileen, muodostuu ei-toivottu

tertiäärinen alkoholi. Jotta laktoni saataisiin avattua hallitusti, eikä mainittua alkoholia muodostu, reaktioon valittiin käytettäväksi Weinrebin amiini **236** ennen Grignard-reagenssia. Amiini muodostaa laktonin kanssa Weinrebin amidin **237**, jonka on todettu reagoivan Grignard- ja organolitiumreagenssien kanssa THF:ssa muodostaen ketonin, ja tässä työssä vasemman puolen tavoiteyhdiste vaatisi nimenomaan tällaisen reaktion.



Kaavio 33. Laktonin reaktio Weinrebin amidiksi

Reaktio tehtiin kahdessa vaiheessa, joista ensimmäisessä *N,O*-dimetyylihydroksyyliamiinihydrokloridi **236**, eli Weinrebin amiini, ja organoalumiiniyhdiste, tässä trimetyyli-alumiini **235** muodostavat kompleksin. Toisessa vaiheessa kompleksin annettiin reagoita γ -butyrolaktonin **234** kanssa avaten rengasrakenteen, ja muodostaen Weinrebin amidin **237**. Reaktio onnistui kuitenkin vain keskiverroilla saannolla (raakatuote 34 %), vaikka reaktio oli aiemmin onnistunut erittäin hyvillä saannoilla.¹⁰⁸ NMR:n mukaan tuote oli kuitenkin niin puhdasta, että se voitaisiin käyttää sellaisenaan jatkoreaktioon. Tätä reaktiota kokeiltiin trimetyyli-alumiinin lisäksi myös DIBAL:lla korkeamman saannon toivossa. Saanto jäi kuitenkin keskimäärin samalle tasolle, vaikka reaktio oli todettu toimivaksi jopa erittäin hyvillä saannoilla tälläkin tavalla.¹⁰⁹ Jälkimmäisenä mainittu reaktiotuote sisälsi NMR:n mukaan pieniä määriä epäpuhtauksia. Reaktioajan vaikutusta tutkittiin DIBAL:n avulla toteutettuun reaktioon. Kummankin vaiheen reaktioaikojen pidennys ei kuitenkaan lisännyt saantoa, vaikka alkuperäisessä julkaisussa organoalumiinireagenssin ja Weinrebin amiinin HCl-suolan muodostaman kompleksin käyttö nopeutti laktonin aminolyysia ja paransi saantoa verrattuna primääristen ja sekundääristen amiinien käyttöön.¹⁰⁹ Trimetyyli-alumiinilla reaktio olisi vielä myös optimoitavissa mm. ajan ja ekvivalenttisuhteiden osalta. Kokonaisuuden kannalta toimivan ja jatkoreaktiossa hyödynnettävän reaktion löytäminen oli kuitenkin tärkeää ja koska raakatuote oli puhtaampaa, trimetyyli-alumiinin avulla toteutettu reaktio osoittautui tässä vaiheessa käyttökelpoisemmaksi.

6.3. Jatkoreaktiot ja tulevaisuuden näkymiä

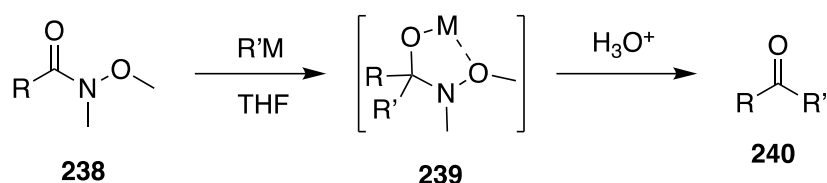
Tässä tutkimuksessa katalyytin **212** käyttö Mannich-reaktiossa johti tuotteeseen **214**, joka on (–)-syylindrisiini C:n tarvittavan tuotteen enantiomeeri. Tämän voisi korjata käyttämällä yksinkertaisesti katalyytin toista enantiomeeria tai diastereomeeria.^{99,110} Tähän tarvittava katalyytti olisi pitänyt valmistaa erikseen, eikä siihen käytetty tämän tutkimuksen puitteissa aikaa. Toisaalta tässä tutkimuksessa käytetyllä katalyytillä syntetisoidulla Mannich-tuotteen muodolla voitaisiin mahdollisesti rakentaa tavoiteltu prekursori (+)-syylindrisiinille, eli tavoitellun (–)-syylindrisiinin enantiomeerille. Mikäli synteisiä jatkettaisiin tällä strategialla, on kuitenkin selvitettävä transannulaarisen Mannich-reaktion toimivuus ja synteessin mahdolliset steeriset haasteet etukäteen.

Oikean puolen synteeseistä mm. Mannich-vaihe tarvitsee optimointia erityisesti imiinin mahdollisen hajoamisen osalta. Dekarboksyylaation saantoa voitaisiin parantaa β -ketoesterin **218** esteriosan hiiliketjun pituutta lyhentämällä, jolloin lähtöaineena toimisi metyyliasetoasettaatti ja muuten reaktio toteutettaisiin samoin, kuin tässä työssä. Saman reaktion puhdistusvaihe voitaisiin toteuttaa eluentin suhteita muuttamalla, jotta tuotteen eristys onnistuisi paremmin. Mikäli dekarboksylaatiovaiheesta eteenpäin tarkasteltaessa Mitsunobu-reaktio Boc-suojatulla Mannich-tuotteella **214** ei toimi halutusti tai saannot jäävät mataliksi, nosyyliuojattu Mannich-tuote **233** on yrittämisen arvoinen Mitsunobu-reaktioon. Jotta Mitsunobu-reaktio olisi mahdollinen, tämä nosyyliuojattu Mannich-tuote **233** vaatii vielä dekarboksylaation, jota tämän tutkimuksen puitteissa ei kuitenkaan ehditty toteuttamaan. Nosyyliuojaus kuitenkin pysyy stabiilina dekarboksylointireaktion (kaavio 29) emäksisissä sekä happamissa olosuhteissa ja suojauksen poistoon vaaditaan tiyohdiste, joten näillä perusteilla tässä tutkimuksessa toteutettu dekarboksylaatio todennäköisesti onnistuu myös nosyyliuojatulle Mannich-tuotteelle.¹¹¹

Vasemman puolen polulla aloitettu Weinrebin amidin reaktio onnistui, mutta reaktion ensimmäisen ja toisen vaiheen reaktioaikojen muuttaminen voisi parantaa saantoja kummankin alumiiniyhdisteen osalta. DIBAL-avusteiselle reaktiolle reaktioaikojen muuttamista voisi yrittää vielä siten, että toisen vaiheen, eli laktonin avauksen, aikaa pidennettäisiin. Vastaavasti trimetyylialumiiniavusteista reaktiota tulisi kokeilla kummankin reaktiovaiheen aikaa muuttamalla. Mikäli Mitsunobu-reaktio onnistuu γ -butyrolaktonista syntetisoidun malliyhdisteen kautta, avaa se mahdollisuuden osan laajentamiselle kohti haluttua yhdistettä (vrt. kaavio 26, **216**). *S*- γ -hydroksi- γ -butyrolaktonin OH-ryhmä vaatinee suojauksen Mitsunobu-reaktioon, kuten aiemmin todettiin, mutta mikäli lähtöaineen laktonissa käytettäisiinkin hydroksyyli-ryhmän

sijasta hiiliketjun sisältävää OR-muotoista sivuketjua, voitaisiin saada aikaan sylindrisiini E tai D.

Weinrebin amidin **233** jatkaminen Grignard-reagenssilla viimeisteltyyn muotoon jäi tässä tutkimuksessa toteuttamatta. Reaktio olisi tehtävissä allyylisen Grignard-reagenssin lisäyksen ja sen jälkeisen happohydrolyysin kautta. Tapahtuva reaktio on kuvattu kaaviossa 34. Metallike-latoituneen välivaiheen on oletettu olevan syy siihen, että Grignard- tai organometalliyhdiste reagoi vain kerran.¹¹² Tämän ja dekarboksyloidun Mannich-tuotteen välinen jatkoreaktio toteutettaisiin Mitsunobu-olosuhteissa (vrt. kaavio 30).



Kaavio 34. Weinrebin amidin reagointi ketoniksi.¹¹²

Prekursorin valmistusreaktion onnistuminen ei kuitenkaan vielä riitä sylindrisiinirakenteen kokonaisreaktion kannalta. Mikäli prekursori onnistuu, on seuraavana tavoitteena löytää optimaaliset olosuhteet renkaansulkumetateesille ja vasta tämän jälkeen päästään toteuttamaan Tannerin tutkimuksen mukaista transannulaarista Mannich-reaktiota kohti sylindrisiinin kolmi-rengasrakennetta. Nosyyli suojausten poistoon käytetään yleensä tioyhdisteitä emäksisissä olosuhteissa, joten täytyy varmistaa, että suojarahman poisto johtaa makrosyklin polysyklisaa-tioon. Luvussa 3.4 pohdittiin makrosyklien syntetisoinnin haastavuutta ja mahdollista dimerisoitumista makrosyklisaa-tion sijaan, mutta renkaansulkumetateesi on yleensä onnistunut syklisaa-tiomenetelmä tämän kokoisille makrosykleille. Kokeellisessa tutkimuksessa ei päästy loppuun, joten tässä vaiheessa on vielä epäselvää, kummalla tavalla makrosyklin synteesi koi-tuu todellisuudessa suoraviivaisemmaksi ja tehokkaammaksi, suoraketjuisen yhdisteen **211** vai kaksirenkaisen aminiin **92** valmistaminen, joista kummastakin seuraava vaihe olisi makrosykli **93**.

7. Yhteenveto

Mannich-reaktiot ovat merkittäviä C–N- ja C–C-sidoksen muodostavia reaktioita orgaanisessa kemiassa. Intermolekulaarisen reaktion lisäksi sitä on hyödynnetty monissa intramolekulaarisissa syklisaatioissa. Intramolekulaarisen Mannich-reaktion erikoistyyppi transannulaarinen Mannich-reaktio tapahtuu renkaan läpi ja tämä on osoittautunut potentiaaliseksi, joskin vielä vähän käytetyksi strategiaksi polysyklisten alkaloidien synteeseissä. Verrattuna intramolekulaarisiin suoraketjuisten yhdisteiden reaktioihin transannulaariset reaktiot johtavat yleensä korkeampaan reaktioaktiivisuuteen etenkin keskikokoisilla 8–12-jäsenisillä renkailla johtuen renkaan poikki tapahtuvasta vuorovaikutuksesta. Rengasrakenteessa reagoivat kohdat saadaan lähemmäksi toisiaan, mikä tekee reaktioista todennäköisempiä kuin suoraketjuisten rakenteiden intramolekulaariset versiot. Strategian ja sen tutkimuksen kehittyessä synteisien kulkua pystytään ennustamaan myös entistä paremmin, jolloin transannulaarisuuden käyttö sovelluksissa laajenee ja tehostuu.

Transannulaaristen Mannich-reaktioiden synteessin onnistuminen riippuu pitkälti käytettävissä olevasta makrosyklisestä tai keskikokoisesta renkaasta. Reaktioihin vaadittavien keskikokoisten renkaiden syntetisointi on osoittautunut haastavaksi niin entalpian kuin entropiankin osalta. Reagoiva rengasrakenne on siis syytä valmistaa makrosyklin kautta joko katkaisemalla esimerkiksi kaksirenkaisissa välituotteissa yhdistävä sidos tai muodostaa makrosykli lineaarisesta prekursorista, jolloin funktionaalisuus ja sivuryhmät voidaan valmistaa loppuun asti ennen renkaan sulkemista. Makrosyklin transannulaariset reaktiot suosivat entropian ja entalpian osalta stabiilimpia viisi- ja kuusijäsenisiä renkaita, mikä tulee huomioida prekursorin syntetisointivaiheessa. Evansin ja Scheererin epäonnistunut synteesi suoraketjuisesta prekursorista klavoloniiniksi oli oiva esimerkki siitä, ettei paperilla hyväksi todettu suunnitelma aina onnistu käytännössä renkaan ominaisuuksien vuoksi. Reagoinnin osalta amiinin sijainti olisi ollut optimaalinen kummankin karbonyylin suhteen. Vaikka lineaarisia prekursoreita ei ole vielä kovin onnistuneesti käytetty polysyklisten alkaloidien synteeseissä, makrosyklisaation ja sitä seuraavan transannulaarisen reaktion käytön potentiaali voisi mahdollisesti mullistaa orgaanisen synteetikemian strategiasuunnittelun ja synteisien toteutuksen. Tämä johtaisi siihen, että entistä useampia ja haastavampia, alkaloideja ja muita luonnonaineita voitaisiin syntetisoida suoraviivaisemmin ja tehokkaammin paremmilla saannoilla ja ennustettavuudella.

Aiemmat sylindrisiiniinien rakenteet on syntetisoitu pääosin rengas kerrallaan ja useimmat totaalisynteetit pitivät sisällään spirosyklisen vaiheen A- ja C-renkaiden syklisaatiovaiheissa.

Suurimmassa osassa edellä mainituista synteeseistä haasteeksi koitui tiettyjen yksittäisten sidosten osalta epimeerien muodostuminen. Osassa reaktioista haasteeksi osoittautui atsadekaliinin *cis-trans*-fuusioituminen, mikä laskee saantoa sylindrisiinirungon osalta, mutta toisaalta johtaa käyttökelpoisuuteen esimerkiksi lepadiformiinien synteeseissä, mikäli strategiaa kehitetään divergenttiin muotoon. Sylindrisiinien rengas kerrallaan -tyyppiseen rakentumiseen saatiin poikkeus, kun perusrungon kolmirengasrakenne syntetisoitiin hyödyntämällä transannulaarista sykliisaatiota. Tannerin ryhmän sylindrisiinirakenteeseen johtavaa reaktiota tarkasteltiin yksityiskohtaisesti luvussa 3.3.2. ja sillä pystyttiin ohittamaan aiemmissa synteeseissä haasteeksi osoittautunut spiro sykliivälivaihe. Reaktio toimi innoittajana tutkielman kokeelliseen työskentelyyn.

Pro gradu -tutkielman kokeellisessa osassa onnistuttiin syntetisoimaan sylindrisiini C:n prekursorina käytettävän suoraketjuisen yhdisteen oikea puoli enantioselektiivisesti Boc-suojattuna. Vasemman puolen synteesiä aloitettiin malliaineella ja reaktio toimi kahdella eri tekniikalla kohtalaisilla saannoilla. Kokeellisen työskentelyn merkittävimpana tuloksena oli uusien Mannich-tuotteiden **223** ja **224** sekä dekarboksyloidun yhdisteen **214** onnistuneet synteesit.

Työssä keskityttiin enimmäkseen oikean puolen synteesiin. β -ketoesterin synteesi onnistui hyvin, lähes samoilla saannoilla, kuin aiemmassa tutkimuksessa, eikä synteesissä havaittu ongelmia. Boc-suojatut Mannich-reaktiot onnistuivat sekä katalyytilla että ilman vähintäänkin kohtalaisesti. Raseeminen menetelmä tuotti puhdasta tuotetta hyvin, eikä synteesissä sinänsä havaittu ongelmia. Katalyytin avulla Mannich-tuotteen C–N-sidos saatiin enantioselektiivisesti (*er* 92:8) muodostettua, joskin alkuperäiseen suunnitelmaan ja tavoitteeseen verrattuna vastakkaiseen suuntaan. Seuraavassa vaiheessa toteutettu dekarboksylointi onnistui odotettua heikommin. Dekarboksyloinnin saanto jäi heikoksi sekä raseemisella että enantioselektiivisellä polulla, joten jatkossa dekarboksyloinnin saantoa voisi parantaa käyttämällä β -ketoesterinä etyyliesterin sijasta metyyliesteriä. Heikosta saannosta huolimatta tuotteet saatiin eristettyä ja karakterisoitua.

Lopuksi kokeiltu Ns-suojattu menetelmä Mannich-reaktion osalta onnistui kohtalaisella saannolla malliaineella syntetisoituna ja on siten potentiaalinen vaihtoehto jatkon kannalta Boc-suojatun Mannich-tuotteen rinnalla kohti Mitsunobu-reaktiota. Malliaine on kokeilemisen arvoinen seuraavaan vaiheeseen ja onnistuneen reaktion jälkeen nosyyliisuojatun Mannich-tuotteen synteesin kehitystyötä sivuketjun pituuden osalta kannattaa jatkaa.

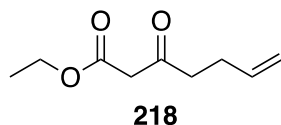
Kokeellisessa työskentelyssä saadut tulokset viittaavat potentiaaliseen synteesis strategiaan sylindrisiinien suoraketjuisen prekursorin synteessissä. Vaikka prekursoria ei saatu toteutettua valmiiksi asti, kokeellisen osan lopussa pohdittiin jatkoreaktioita synteessille, mikä helpottaa tutkimuksen jatkoa. Tutkimuksen jatkuessa on mielenkiintoista selvittää renkaansulkumetateetin jälkeisen transannulaarisen Mannich-reaktion toimivuus. Lineaaristen prekursorien käyttö polysyklisten alkaloidien transannulaarisella tavalla toteutetuissa synteeseissä on vielä vähäistä, mutta mikäli synteesi onnistuu, voi se toimia suunnannäyttäjänä Mannich-reaktioiden osalta.

8. Synteesiohjeet

Reaktiot tehtiin argonatmosfäärissä, mikäli toisin ei ole mainittu, ja astioina käytettiin uunissa kuivattuja lasiastioita. Kuivat liuottimet, DCM, THF ja MeCN, olivat MBraun SPS-800 -liuotinkuivausjärjestelmästä, muut käytetyt reagenssit ja HPLC-laatuiset liuottimet käytettiin sellaisenaan, kuin ne oli toimittajilta saatu, ellei toisin ole mainittu. TLC-seuranta suoritettiin Merck silica gel F254 (200–400 mesh) -levyillä, ja värjäykseen käytettiin vanilliinia, ninhydriinia sekä kaliumpermanganaattia. Tuotteiden puhdistukseen käytettiin flash-kromatografiaa Merck silica gel 60 (230–400 mesh) -silikalla.

NMR-spektrit mitattiin Bruker Avance III 300 MHz sekä Bruker Avance III 500 MHz -spektrometreilla. Spektrien kemialliset siirtymät on ilmoitettu ppm-asteikolla suhteessa jäännösluottimeen, joka oli kalibroitu sisäisen standardin suhteen (^1H NMR CDCl_3 : $\delta = 7,26$ ppm ja ^{13}C NMR CDCl_3 $\delta = 77,16$ ppm; ^1H NMR C_6D_6 : $\delta = 7,16$ ppm ja ^{13}C NMR C_6D_6 : $\delta = 128,39$ ppm; ^1H NMR DMSO $\delta = 2,50$ ja ^{13}C NMR DMSO $\delta = 39,51$ ppm). Yhdisteiden tarkat massat mitattiin Agilent 6560 Ion Mobility Q-TOF -massaspektrometrillä.

Etyyli-3-oksohept-6-enoaatti

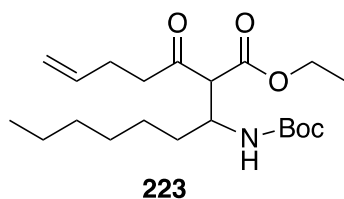


Natriumhydridi (60 % mineraaliöljyssä, 330 mg, 8,3 mmol, 1,1 ekv) suspensoitiin THF:iin (25 ml) jäähauhteessa. Tähän suspensioon lisättiin argonin alla THF:iin (1 ml) liuotettua etyyliasetoasetaattia **220** (980 mg, 7,5 mmol, 1,0 ekv) tipoittain n. 10 minuutin aikana ja sekoitettiin 20 minuuttia edelleen jäähauhteessa. Seokseen lisättiin *n*-BuLi:a (3,5 ml, 8,3 mmol, 1,1 ekv, 2,4 M) tipoittain ja tämän seurauksena väri muuttui keltaisesta ruskeaksi. Lisäyksen alusta mitattuna reaktiota sekoitettiin yhteensä 30 minuuttia jäähauhteessa. Allyylibromidi **222** (0,72 ml, 8,3 mmol, 1,1 ekv) lisättiin reaktioseokseen jäähauhteessa, jonka seurauksena seos muuttui keltaiseksi ja sakeaksi. Lämpötila nostettiin huoneenlämpöön ja sekoittamista jatkettiin 1,5 h. Reaktio sammutettiin kylläisellä NH₄Cl:n vesiliuoksella. Reaktioseos uutettiin EtOAc:lla (3 × 10 ml), yhdistetyt orgaaniset faasit pestiin vielä kylläisellä suolaliuoksella (15 ml), kuivattiin kidevedettömällä Na₂SO₄:lla ja liuottimet haihdutettiin alipaineessa. Raakatuote (1,3 g) tislattiin vakuumitislauksella Kügelrohr-laitteella, josta kirkasta öljymäistä yhdistettä **218** saatiin 820 mg (64 %). Spektridata vastasi kirjallisuusarvoja.¹⁰³

R_f (*n*-heksaani/EtOAc 9:1): 0,35

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 5,80 (ddt, 1 H, $J=21,7$ Hz, 10,3 Hz, 6,5 Hz), 5,08–4,97 (m, 2 H), 4,19 (q, 2 H, $J=7,1$ Hz), 3,43 (s, 2H), 2,65 (t, 2 H, $J=7,3$ Hz), 2,39–2,32 (m, 2 H), 1,28 (t, 3 H, $J=7,1$ Hz)

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 202,1, 167,3, 136,7, 115,7 61,5, 49,5, 42,2, 27,6, 14,2

Etyyli-3-((*tert*-butoksikarbonyyli)amino)-2-(pent-4-enoyyli)nonanoaatti

Reaktion lähtöaineena toimiva α -sulfonyyliamiini **221** valmistettiin liuottamalla bentseenisulfiinihapon natriumsuolaa (3,7 g, 23 mmol, 1,5 ekv) ja tert-butyylkarbamaattia (2,6 g, 23 mmol, 1,5 ekv) 1:2 metanoli-vesiseokseen (45 ml) huoneenlämmössä. Reaktioseokseen lisättiin tislauksella puhdistettua heptanaalia **219** (2,1 ml, 15 mmol, 1,0 ekv) ja muurahaishappoa (1,1 ml). Reaktiota seurattiin TLC:lla ja sekoitettiin 24 h.

Reaktioseos uutettiin DCM:lla (2 \times 20 ml), yhdistetyt orgaaniset faasit pestiin vielä kylläisellä suolaliuoksella (15 ml) ja kuivattiin kidevedettömällä Na₂SO₄:lla. Raakatuotteen annettiin kiteytyä huoneenlämmössä. Kiteytyneeseen raakatuotteeseen lisättiin vettä (20 ml), sitä sekoitettiin ensin huoneenlämmössä 20 min ja sitten jäähauteessa 20 min. Lopuksi raakatuote suodatettiin sintterin läpi. Tämän jälkeen se pestiin vielä pienellä määrällä 10 % dietyylieetteri-heksaaniliuosta ja liuottimet haihdutettiin alipaineessa.

α -sulfonyyliamiinia **221** (840 mg, 2,4 mmol, 2,0 ekv) ja kaliumkarbonaattia (340 mg, 2,4 mmol, 2,0 ekv) liuotettiin asetonitriiliin (10 ml) ja sekoitettiin 60 °C:ssa 10 min. Tähän lisättiin argonin alla asetonitriiliin (1 ml) liuotettu β -ketoesteri **218** (200 mg, 1,2 mmol, 1,0 ekv). Reaktiota sekoitettiin pallojäähdyttäjän alla 60°C:ssa ensin 6 h ja yön yli huoneenlämmössä. Kokonaisuudessaan sekoitusaika oli 22 h. Vaaleaan sakeahkoon seokseen lisättiin vettä (15 ml) ja seos uutettiin DCM:lla (2 \times 15 ml). Yhdistetyt orgaaniset faasit pestiin kylläisellä suolaliuoksella (20 ml) ja kuivattiin kidevedettömällä Na₂SO₄:lla. Liuotin haihdutettiin alipaineessa. Raakatuote puhdistettiin flash-kromatografialla käyttämällä eluenttina 9:1 heksaani-etyyliasettaattiliuosta. Kirkasta öljymäistä tuotetta **223** saatiin 360 mg (78 %).

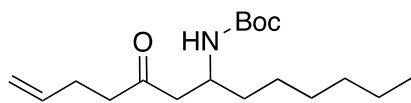
R_f (*n*-heksaani/EtOAc 9:1): 0,31

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): 5,79 (ddt, 1 H, $J=21,7$ Hz, 10,4 Hz, 6,6 Hz), 5,44–4,96 (m, 3 H), 4,24–4,16 (m, 3 H), 3,72–3,66 (m, 1 H), 2,81–2,47 (m, 2 H), 2,32 (näenn. q, 2 H), 1,4 (m, 11 H), 1,30–1,24 (m, 11 H), 0,87 (näenn. t, 3 H)

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): 203,9, 169,3, 155,7, 136,9, 115,6, 79,5, 62,1, 61,4, 50,1, 40,9, 34,4, 31,8, 29,0, 28,4 (3 C), 27,6, 26,5, 22,7, 14,2 (2 C)

HRMS (ESI+): m/z [M+Na]⁺ laskettu [C₂₁H₃₇NO₅]⁺ 383,2666; mitattu 383,2668; $\Delta = -0,2$ mDa

Tert-butyyl-(5-oksotridek-1-en-7-yyli)karbamaatti

**241**

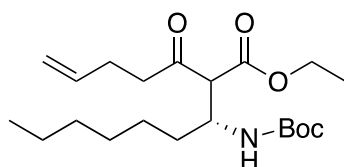
Mannich-tuotetta **223** (340 mg, 0,87 mmol, 1,0 ekv) liuotettiin etanoliin (3,5 ml) ilman argonvirtausta. Tähän lisättiin natriumhydroksidin vesiliuos (0,87 ml, 5 M). Reaktiota sekoitettiin 30 °C:ssa 6 h ja etenemistä seurattiin TLC:lla. Reaktion päätyttyä kolviin lisättiin 1 M HCl:aan, että seoksen pH laski neljään. Seoksen sekoitusta jatkettiin vielä tunnin verran. Seos uutettiin dietyylieetterillä (15 ml) ja pestiin kylläisellä NaHCO₃:n vesiliuoksella (2 × 10 ml), vedellä (1 × 10 ml) ja kylläisellä suolaliuoksella (1 × 10 ml). Orgaaninen faasi kuivattiin kidevedettömällä Na₂SO₄:lla ja liuotin haihdutettiin alipaineessa. Raakatuote puhdistettiin flash-kromatografialla käyttämällä eluenttina 9:1 heksaani-etyyliasetaatiliuosta. Kirkasta öljymäistä tuotetta **241** saatiin eristettyä ainoastaan 16 mg (5,9 %).

R_f (*n*-heksaani/EtOAc 9:1) 0,32

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): 5,79 (ddt, 1 H $J=21,7$ Hz, 10,4 Hz, 6,6 Hz), 5,05–4,95 (m, 2 H), 3,92–3,80 (m, 1 H) 2,62–2,48 (m, 2 H) 2,5 (q, 2 H, $J=6,7$ Hz), 2,3 (q, 2 H, $J=7,2$ Hz), 1,4, (m, 12 H), 1,26 (m 8 H), 0,87 (näenn. t, 3 H)

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): 209,5, 155,6, 137,1, 115,5, 79,3, 47,8, 47,4, 42,4, 34,9, 31,9, 29,2, 28,5 (3 C), 27,7, 26,4, 22,7, 14,2

HRMS (ESI⁺): m/z [M+Na]⁺ laskettu [C₁₈H₃₃NO₃]⁺ 311,2455; mitattu 311,2444; $\Delta = 1,1$ mDa

Etyyli-(3 *R*)-3-((*tert*-butoksykarbonyyli)amino)-2-(pent-4-enoyyli)nonanoaatti**224**

Reaktio aloitettiin imiinin **217** valmistuksella. Ennalta valmistettua α -sulfonyyliamiinia **221** (600 mg, 1,7 mmol, 1,0 ekv), ja Cs₂CO₃:a (1,7 g, 5,1 mmol, 3,0 ekv) kuivattiin vakuumissa 1 h.

Tähän lisättiin kuivaa DCM:a (8,5 ml) ja sekoitettiin 40 °C:ssa pystyjäähdyttäjän alla tunnin ajan. Reaktioseos jäähdytettiin takaisin huoneenlämpöön ja siihen lisättiin kylmää heksaania (6 ml). Tuote suodatettiin Hyflo Super Cel -celiten läpi ja pestiin heksaanilla (3 × 2 ml). Liuotimet haihdutettiin alipaineessa. Tuotteeksi saatu imiini käytettiin välittömästi seuraavaan vaiheeseen.

Kolviin lisättiin imiiniylimäärän (145 mg, 0,68 mmol, 2,3 ekv) lisäksi katalyyttia **212** (7,4 mg, 3 mol-%) ja Na₂SO₄:a (60,3 mg). Kolvi huuhdeltiin argonilla. Tämän jälkeen kolviin lisättiin 0,5 ml DCM:a ja sekoitettiin jäähauteessa 15 minuuttia. β-ketoesteriä **218** (51 mg, 0,30 mmol, 1,0 ekv) liuotettiin viallissa 0,5 ml:aan DCM:a ja siirrettiin argonin alla reaktiokolviin. Reaktioseosta sekoitettiin jäähauteessa ensin 5 h ja yön yli huoneenlämmössä. Reaktiota seurattiin TLC:lla. Reaktion loputtua liuotin haihdutettiin alipaineessa ja tuote puhdistettiin flash-kromatografialla. Eluentina käytettiin 9:1 heksaani-etyyliasetatiliuosta. Kirkasta öljymäistä tuotetta **224** saatiin 65 mg (57 %).

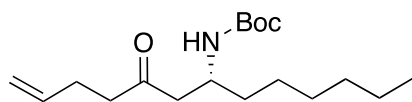
R_f (*n*-heksaani/EtOAc 9:1): 0,30

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): 5,79 (ddt, 1 H $J=21,4$ Hz, 10,1 Hz, 6,6 Hz) 5,42–4,96 (m, 3 H), 4,24–4,16 (m, 3 H), 3,72–3,67 (m, 1 H), 2,83–2,47 (m, 2 H), 2,3 (näenn. q, 2 H), 1,44 (m, 8 H), 1,27 (m, 14 H), 0,89 (näenn. t, 4 H)

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): 203,9, 169,3, 155,7, 136,9, 115,6, 79,5, 62,1, 61,4, 50,1, 40,9, 34,4, 31,8, 29,0, 28,4, (3 C) 27,6, 26,5, 22,7, 14,2 (2 C)

HRMS (ESI⁺): m/z [M+Na]⁺ laskettu [C₂₁H₃₇NO₅]⁺ 383,2666; mitattu 383,2656; $\Delta = 1,0$ mDa.

Tert-butyyli-*(R)*-(5-oksotridek-1-en-7-yyli)karbamaatti



214

Mannich-tuotetta **224** (140 mg, 0,37 mmol, 1,0 ekv) liuotettiin etanoliin (1,5 ml) ja tähän lisättiin natriumhydroksidin vesiliuosta (0,37 ml, 5 M). Reaktiota sekoitettiin ilman argonvirtausta 30 °C:ssa 6 h. Tämän jälkeen kolviin lisättiin 1 M HCl:a niin, että pH laski neljään, ja reaktiota sekoitettiin vielä 30 min. Lopuksi reaktioseos uutettiin dietyylieetterillä (8 ml), pestiin

NaHCO₃:lla (8 ml), vedellä (8 ml) ja kylläisellä suolaliuoksella (2 × 8 ml). Orgaaninen faasi kuivattiin kidevedettömällä Na₂SO₄:lla ja liuotin haihdutettiin alipaineessa. Tuote puhdistettiin flash-kromatografialla, jossa eluenttina oli 9:1 heksaani-etyyliasetaatiliuos. Kirkasta öljymäistä tuotetta **214** saatiin eristettyä vain 6,2 mg (5 %). Tuotteen kiertokulmaa ei voitu määrittää alhaisen saannon takia.

R_f (*n*-heksaani/EtOAc 9:1): 0,29

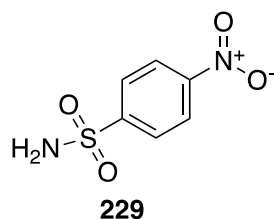
¹H NMR (300 MHz CDCl₃): 5,79 (ddt, 1 H, $J=21,8$ Hz, 10,1 Hz, 6,5 Hz), 5,05–4,95 (m, 2 H), 3,92–3,81 (m, 1 H), 2,62–2,60 (m, 2 H), 2,5 (q, 2 H, $J=6,8$ Hz) 2,3 (q, 2 H, $J=7,2$ Hz), 1,42 (m, 10 H), 1,26 (m, 10 H), 0,87 (näenn. t, 4 H)

¹³C NMR (125 MHz CDCl₃): 209,5, 155,8, 137,1, 115,4, 79,3, 47,8, 47,4, 42,4, 34,9, 31,9, 29,2 28,5 (3 C), 27,7 26,4, 22,7, 14,2

HRMS (ESI+): m/z [M+Na]⁺ laskettu [C₁₈H₃₃NO₃]⁺ 311,2455; mitattu 383,2460; $\Delta = -0,5$ mDa

Enantiopuhtaus määritettiin HPLC:lla (Chiralpack IC-kolonne, *n*-heksaani:*i*-PrOH=90:10, 1 ml/min, $\lambda=210/254$ nm, rt) retentioajoiksi saatiin pääenantiomeerille $t_1=5,2$ min ja sivuenantiomeerille $t_2=6,2$ min, *er* 92:8.

4-nitrobentseenisulfonamidi



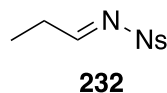
4-nitrobentseenisulfonylikloridia (440 mg, 2 mmol, 1,0 ekv) liuotettiin 22 ml:aan kuivaa THF:a. Tähän lisättiin tipoitain 25 % ammoniakkaa (0,62 ml, 4,0 ekv). Reaktioseosta sekoitettiin jäähauteessa ilman argonvirtausta 1 h ja reaktiota seurattiin TLC:lla. Lähtöaineen kuluttua loppuun kolviin lisättiin HCl:n vesiliuosta (15 ml, 1 M) ja uutettiin etyyliasetaatilla (4 × 15 ml). Yhdistetyt orgaaniset faasit pestiin kylläisellä suolaliuoksella (25 ml), kuivattiin Na₂SO₄:lla ja liuottimet haihdutettiin alipaineessa. Tuotteeksi saatiin vaaleankeltaista sakkaa 405 mg (kvant.). Saatu NMR-data vastasi kirjallisuusarvoja.¹¹³

R_f (*n*-heksaani/EtOAc 9:1): 0,35

^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6): 8,41 (d, 2 H), 8,07 (d, 2 H), 7,71 (s, 1 H)

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6): 149,4, 149,2, 127,2 (2 C), 124,4 (2 C)

4-nitro-*N*-propylideenibentseenisulfonamidi



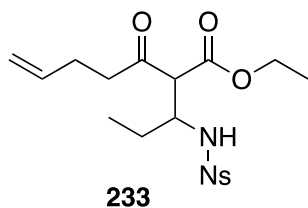
Kolvissa sekoitettiin 4-nitrobentseenisulfonamidia **229** (200 mg, 1,0 mmol, 1,0 ekv) ja natrium-*p*-tolueenisulfinaattia **228** (180 mg, 1,0 mmol, 1,0 ekv). Tähän lisättiin propanaalia **231** (0,07 ml, 1,0 mmol, 1,0 ekv), 1,5 ml vettä ja 1,5 ml muurahaishappoa. Reaktioseosta sekoitettiin huoneenlämmössä 27 h, jonka aikana kiinteää tuotetta muodostui.

Reaktioseos suodatettiin sintterin läpi, jolloin reaktiossa kulumattoman 4-nitrobentseenisulfonamidin ja muodostuneen tuotteen muodostama kiinteä seos jäi sintteriin. Tämä pestiin vedellä (5 ml) ja heksaanilla (5 ml). Tuote liuotettiin DCM:iin ja kerättiin omaan kolviin, jolloin liukenematon lähtöaine jäi sintteriin. Orgaaninen faasi pestiin kylläisellä NaHCO_3 :lla (3 \times 20 ml) ja vesifaasi vielä DCM:lla (20 ml). Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivattiin kidevedettömällä Na_2SO_4 :lla ja liuottimet haihdutettiin alipaineessa. Raakatuotteeksi saatiin valkoista sakkua 160 mg (66 %) ja se käytettiin puhdistamattomana seuraavassa vaiheessa. NMR-data oli verrattavissa kirjallisuuteen.^{107,114}

^1H NMR (300 MHz, C_6D_6): 8,27 (t, 1 H, $J = 3,6$ Hz) 7,60 (d, 2 H, $J = 8,9$ Hz), 7,47 (d, 2 H, 8,9 Hz), 1,67–1,58 (m, 2 H), 0,58 (t, 3 H, $J = 7,2$ Hz)

^{13}C NMR (75 MHz, C_6D_6): 180,6, 168,6, 144,0, 129,1, 124,0, 29,1, 8,0

Etyyli-2-(1-((4-nitrofenyyli)sulfonamido)propyyli)-3-oksohept-6-enoaatti



Kolviin punnittiin Na₂SO₄:a (49 mg) katalyyttia **212** (5 mg, 3 mol-%) ja imiiniä **232** (96 mg, 0,4 mmol, 2,0 ekv) ja huuhdottiin argonilla. Kolviin lisättiin kuivaa DCM:aa (0,5 ml) ja sekoitettiin 15 min huoneenlämmössä, jonka jälkeen se jäähdytettiin jäähauteella 0 °C:een. β-ketoesteri **218** (34,9 mg, 0,2 mmol, 1,0 ekv) liuotettiin argonin alla 0,5 ml:aan DCM:a viallissa ja siirrettiin reaktiokolviin. Reaktiota sekoitettiin jäähauteessa 5 h, jonka jälkeen jätettiin sekoittumaan huoneenlämpöön yön yli.

Reaktioseosta sekoitettiin seuraavana aamuna jäähauteessa vielä 3 h, jotta reaktio eteni loppuun. Kokonaisuutena reaktioseosta sekoitettiin 24 h, josta 8 h jäähauteessa. Reaktion päätyttyä liuotin haihdutettiin alipaineessa. Raakatuote puhdistettiin flash-kromatografialla, eluenttina ensin 9:1 ja lopuksi 4:1 *n*-heksaani/etyyliasetatti. Öljymäistä vaaleaa tuotetta **233** saatiin 29 mg (35 %).

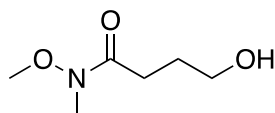
R_f (*n*-heksaani/EtOAc 4:1): 0,28

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): 8,33 (dd, 2 H *J* = 8,5, 2,0 Hz), 8,03 (dd, 2 H, *J*=9,0, 3,5 Hz), 5,79–5,65 (m, 1 H), 5,04–4,95 (m, 2 H), 4,20 (q, 1 H, *J*=7,2 Hz), 4,02, (näenn. q, 1 H), 3,87 (m, 1 H), 3,68 (dd, 1 H, *J* = 41,3, 3,8 Hz), 2,72–2,45 (m, 2 H) 2,30 (q, 1 H, *J*=6,8 Hz) 2,17 (q, 1 H, *J*=7,0 Hz), 1,57–1,50 (m, 1 H), 1,24 (dt, 3 H *J*=28,3, 7,1 Hz), 0,77 (dt, 3 H *J* = 20,0, 7,5 Hz)

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): 205,1, 169,1, 150,0, 147,4, 136,3, 128,3 (2 C) 124,3 (2 C), 115,9, 62,2, 59,7, 55,53, 43,2, 41,4, 27,3, 14,1, 10,9

HRMS (ESI+): *m/z* [M+Na]⁺ laskettu [C₁₈H₂₄N₂O₇S]⁺ 412,1299; mitattu 412,1288; Δ = 1,1 mDa

4-hydroksi-*N*-metoksi-*N*-metyylibutanamidi



237

2-kaulakolviin punnittiin *N,O*-dimetyylihydroksyyliamiini-hydrokloridia **236** (240 mg, 2,4 mmol, 2,4 ekv) ja se liuotettiin 0,86 ml:aan DCM:a. Reaktioseos jäähdytettiin nestetyypitetanoliseoksessa -78 °C:een. Tähän lisättiin pisaroitain trimetyylialumiinia **235** (2 M

tolueenissa 1,2 ml, 2,3 mmol, 2,3 ekv) ja sekoitettiin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa, kunnes reagoi loppuun. Rea-goinnin jälkeen lämpötila nostettiin hitaasti huoneenlämpöön ja sekoitettiin 5 h.

Ruiskussa punnittiin γ -butyrolaktonia **234** (86 mg, 1,0 mmol, 1,0 ekv), joka lisättiin reaktiokol-viin $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa ja sekoitusta jatkettiin $0\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa 2 h. Reaktio sammutettiin 3 ml:lla natriumkaliumtartraattiliuosta (8 g / 10 ml vettä) ja jätettiin yön yli sekoittumaan huoneenläm-pöön ja tuloksena oli valkoinen sakeahko seos.

Tuote suodatettiin Hyflo Super Cel:n läpi ja pestiin vedellä ($2 \times 3\text{ ml}$). Seos uutettiin DCM:lla ($3 \times 15\text{ ml}$) ja yhdistetyt orgaaniset faasit pestiin vielä kylläisellä suolaliuoksella (15 ml). Or-gaaninen faasi kuivattiin Na_2SO_4 :lla ja liuotin haihdutettiin alipaineessa. Raakatuotteeksi saatiin kirkasta öljyä 49 mg (34 %). NMR-data oli verrattavissa kirjallisuuteen.¹⁰⁸

R_f (n -heksaani/EtOAc 9:1): 0,51

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): 3,69 (näenn, t ja s, 5 H), 3,19 (s, 3 H), 2,59 (t, 3H, $J=6,8\text{ Hz}$) 1,90 (kvintetti, 2 H, $J=6,4\text{ Hz}$)

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3): 174,9, 62,3, 61,3, 32,2, 29,1, 27,3

Kirjallisuusluettelo

1. Croteau, R.; Kutchan, T. M. ja Lewis, N. G., Natural products (Secondary metabolites). Teoksessa: Buchanan, B.; Gruissem, W. ja Jones, R. (toim.), *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*, 2000, ss. 1250–1318.
2. Newman, D. J. ja Cragg, G. M., Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019, *J. Nat. Prod.*, **2020**, 83, 770–803.
3. Bhat, S. V.; Nagasampagi, B. A. ja Sivakumar, M., *Chemistry of natural products*, Springer, Berliini, 2005.
4. Rinner, U. ja Hudlicky, T., Synthesis of morphine alkaloids and derivatives, *Top. Curr. Chem*, **2011**, 309, 33–66.
5. Smith, M. B., *Organic synthesis*, 3. painos, Academic Press, Boston, 2011.
6. Jones, S. B.; Simmons, B.; Mastracchio, A. ja MacMillan, D. W. C., Collective synthesis of natural products by means of organocascade catalysis, *Nature*, **2011**, 475, 183–188.

7. Spandl, R. J.; Bender, A. ja Spring, D. R., Diversity-oriented synthesis; A spectrum of approaches and results, *Org. Biomol. Chem.*, **2008**, *6*, 1149–1158.
8. Tramontini, M. ja Angiolini, L., *Mannich bases chemistry and uses*, 5. painos, CRC Press, Boca Raton, 1994.
9. Arend, M.; Westermann, B. ja Risch, N., Modern variants of the Mannich reaction, *Angew. Chemie Int. Ed.*, **1998**, *37*, 1044–1070.
10. Shi, Y.; Wang, Q. ja Gao, S., Recent advances in the intramolecular Mannich reaction in natural products total synthesis, *Org. Chem. Front.*, **2018**, *5*, 1049–1066.
11. Waller, G. ja Nowacki, E. K., *Alkaloid biology and metabolism in plants*, Plenum Press, New York, 1978.
12. IUPAC Gold Book - alkaloids, <https://goldbook.iupac.org/terms/view/A00220> (8.8.2020).
13. Aniszewski, T., *Alkaloids - secrets of life: Alkaloid chemistry, biological significance, applications and ecological role*, Elsevier, 2007.
14. Aniszewski, T., *Alkaloids: Chemistry, biology, ecology and applications*, 2. painos, Elsevier, Boston, 2015.
15. Singh, T. P. ja Singh, O. M., Recent progress in biological activities of indole and indole alkaloids, *Mini-Reviews Med. Chem.*, **2017**, *18*, 9–25.
16. Kashiwada, Y.; Aoshima, A.; Ikeshiro, Y.; Chen, Y. P.; Furukawa, H.; Itoigawa, M.; Fujioka, T.; Mihashi, K.; Cosentino, L. M.; Morris-Natschke, S. L. ja Lee, K. H., Anti-HIV benzylisoquinoline alkaloids and flavonoids from the leaves of *Nelumbo nucifera*, and structure-activity correlations with related alkaloids, *Bioorganic Med. Chem.*, **2005**, *13*, 443–448.
17. Harvey, A. L., Natural products in drug discovery, *Drug Discov. Today*, **2008**, *13*, 894–901.
18. Guo, Z., The modification of natural products for medical use, *Acta Pharm. Sin. B*, **2017**, *7*, 119–136.
19. PPG I, A community-derived classification for extant lycophytes and ferns, *J. Syst. Evol.*, **2016**, *54*, 563–603.
20. Kobayashi, J. ja Morita, H., The Lycopodium alkaloids. Teoksessa: Cordell, G. A. (toim.), *The Alkaloids*, vol. 61, Elsevier, Amsterdam, 2005, ss. 1–57.
21. Ma, X. ja Gang, D. R., The Lycopodium alkaloids, *Nat. Prod. Rep.*, **2004**, *21*, 752–772.
22. Patil, S. P., Recently isolated lycodine-type Lycopodium alkaloids and their total synthesis: a review, *Futur. J. Pharm. Sci.*, **2020**, *6*.

23. Zhu, X.; Xia, D.; Zhou, Z.; Xie, S.; Shi, Z.; Chen, G.; Wang, L. ja Pan, K., Lycosquarrines A-R, Lycopodium alkaloids from *Phlegmariurus squarrosus*, *J. Nat. Prod.*, **2020**, *83*, 2831–2843.
24. Ayer, W. A. ja Trifonov, L. S., Lycopodium alkaloids. Teoksessa: *The Alkaloids vol. 45*, Academic Press, San Diego, 1994, ss. 233–266.
25. Burnell, R. H. ja Taylor, D. R., The structure and stereochemistry of fawcettiine, clavolonine and related alkaloids, *Tetrahedron*, **1961**, *15*, 173–182.
26. Gerard, R. V.; Maclean, D. B.; Fagianni, R. ja Lock, C. J., Fastigiatine, a lycopodium alkaloid with a new ring system, *Can. J. Chem.*, **1986**, *64*, 943–949.
27. Morita, H.; Hirasawa, Y. ja Kobayashi, J. I., Himeradine A, a novel C₂₇N₃-type alkaloid from *Lycopodium chinense*, *J. Org. Chem.*, **2003**, *68*, 4563–4566.
28. Weinreb, S. M., Studies on total synthesis of the cylindricine/fasicularin/lepadiformine family of tricyclic marine alkaloids, *Chem. Rev.*, **2006**, *106*, 2531–2549.
29. Abe, H.; Aoyagi, S. ja Kibayashi, C., First total synthesis of the marine alkaloids (±)-fasicularin and (±)-lepadiformine based on stereocontrolled intramolecular acylnitroso-Diels-Alder reaction, *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, *122*, 4583–4592.
30. Abe, H.; Aoyagi, S. ja Kibayashi, C., Total synthesis of the natural enantiomer of (-)-lepadiformine and determination of its absolute stereochemistry, *Angew. Chemie - Int. Ed.*, **2002**, *41*, 3017–3020.
31. Sauviat, M. P.; Vercauteren, J.; Grimaud, N.; Jugé, M.; Nabil, M.; Petit, J. Y. ja Biard, J. F., Sensitivity of cardiac background inward rectifying K⁺ outward current (IK1) to the alkaloids lepadiformines A, B, and C, *J. Nat. Prod.*, **2006**, *69*, 558–562.
32. Blackman, A. J.; Li, C.; Hockless, D. C. R.; Skelton, B. W. ja White, A. H., Cylindricines A and B, novel alkaloids from the ascidian *clavelina cylindrica*, *Tetrahedron*, **1993**, *49*, 8645–8656.
33. Li, C. ja Blackman, A. J., Cylindricines C-G, perhydropyrrolo[2,1-j]quinolin-7-one alkaloids from the ascidian *Clavelina cylindrica*, *Aust. J. Chem.*, **1994**, *47*, 1355.
34. Li, C. ja Blackman, A. J., Cylindricines H-K, novel alkaloids from the ascidian *Clavelina cylindrica*, *Aust. J. Chem.*, **1995**, *48*, 955–965.
35. Abe, H.; Aoyagi, S. ja Kibayashi, C., Total synthesis of the tricyclic marine alkaloids (-)-lepadiformine, (+)-cylindricine C, and (-)-fasicularin via a common intermediate formed by formic acid-induced intramolecular conjugate azaspirocyclization, *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 1473–1480.
36. Patil, A. D.; Freyer, A. J.; Reichwein, R.; Carte, B.; Killmer, L. B.; Faucette, L.; Johnson, R. K. ja Faulkner, D. J., Fasicularin, a novel tricyclic alkaloid from the

- ascidian *Nephteis fascicularis* with selective activity against a DNA repair deficient organism, *Tetrahedron Lett.*, **1997**, *38*, 363–364.
37. Reyes, E.; Uria, U.; Carrillo, L. ja Vicario, J. L., Transannular reactions in asymmetric total synthesis, *Tetrahedron*, **2014**, *70*, 9461–9484.
38. Yang, J. ja Xue, H., Transannular cyclization in natural product total synthesis, *Stereoselective Synth. Drugs Nat. Prod.*, **2013**, 1–30.
39. Balskus, E. P. ja Jacobsen, E. N., Asymmetric catalysis of the transannular Diels-Alder reaction, *Science (80-.)*, **2007**, *317*, 1736–1740.
40. Verkade, J. M. M.; Van Hemert, L. J. C.; Quaedflieg, P. J. L. M. ja Rutjes, F. P. J. T., Organocatalysed asymmetric Mannich reactions, *Chem. Soc. Rev.*, **2008**, *37*, 29–41.
41. Kleinman, E. F., The Bimolecular aliphatic Mannich and related reactions. Teoksessa: Trost, B. . ja Fleming, I. (toim.), *Comprehensive Organic Synthesis*, Pergamon Press, Oxford, 1991, ss. 893–951.
42. Roman, G., Mannich bases in medicinal chemistry and drug design, *Eur. J. Med. Chem.*, **2015**, *89*, 743–816.
43. Li, H.; Zhou, Y.; Zhang, M.; Wang, H. ja Zhao, Q., Updated approaches against SARS-CoV-2, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2020**, *64*, 1–7.
44. Biersack, B.; Ahmed, K.; Padhye, S. ja Schobert, R., Recent developments concerning the application of the Mannich reaction for drug design, *Expert Opin. Drug Discov.*, **2018**, *13*, 39–49.
45. Zhou, J.; Wan, Y.; Liu, N.; Yin, H.; Li, B.; Sun, D. ja Ran, Q., Epoxy adhesive with high underwater adhesion and stability based on low viscosity modified Mannich bases, *J. Appl. Polym. Sci.*, **2018**, *135*, 1–9.
46. Halliday, J. I.; Chebib, M.; Turner, P. ja McLeod, M. D., Double-Mannich annulation of cyclic ketones using N,N-bis(ethoxymethyl) alkylamine reagents, *Org. Lett.*, **2006**, *8*, 3399–3401.
47. Neochoritis, C. G.; Stephanidou-Stephanatou, J. ja Tsoleridis, C. A., One-pot regioselective double-Mannich annulations affording azabicyclononanones as a key step in the synthesis of natural products, *European J. Org. Chem.*, **2011**, 5336–5346.
48. Touré, B. B. ja Hall, D. G., Natural product synthesis using multicomponent reaction strategies, *Chem. Rev.*, **2009**, *109*, 4439–4486.
49. Neuvonen, A. J.; Földes, T.; Madarász, Á.; Pápai, I. ja Pihko, P. M., Organocatalysts fold to generate an active site pocket for the Mannich reaction, *ACS Catal.*, **2017**, *7*, 3284–3294.
50. Song, J.; Shih, H. W. ja Deng, L., Asymmetric Mannich reactions with in situ

- generation of carbamate-protected imines by an organic catalyst, *Org. Lett.*, **2007**, *9*, 603–606.
51. Bai, W. J. ja Wang, X., Appreciation of symmetry in natural product synthesis, *Nat. Prod. Rep.*, **2017**, *34*, 1345–1358.
 52. Sherwood, T. C.; Trotta, A. H. ja Snyder, S. A., A strategy for complex dimer formation when biomimicry fails: Total synthesis of ten coccinellid alkaloids, *J. Am. Chem. Soc.*, **2014**, *136*, 9743–9753.
 53. Heathcock, C. H.; Kleinman, E. F. ja Binkley, E. S., Total synthesis of Lycopodium alkaloids: (\pm)-lycopodine, (\pm)-lycodine, and (\pm)-lycodoline, *J. Am. Chem. Soc.*, **1982**, *104*, 1054–1068.
 54. Yang, H. ja Carter, R. G., Development of an enantioselective route toward the Lycopodium alkaloids: Total synthesis of lycopodine, *J. Org. Chem.*, **2010**, *75*, 4929–4938.
 55. Trost, B. M. ja Ito, H., A direct catalytic enantioselective aldol reaction via a novel catalyst design [5], *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, *122*, 12003–12004.
 56. Trost, B. M.; Jaratjaroonphong, J. ja Reutrakul, V., A direct catalytic asymmetric Mannich-type reaction via a dinuclear zinc catalyst: Synthesis of either anti- or syn- α -hydroxy- β -amino ketones, *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, *128*, 2778–2779.
 57. Nakahara, K.; Hirano, K.; Maehata, R.; Kita, Y. ja Fujioka, H., Asymmetric total synthesis of clavolonine, *Org. Lett.*, **2011**, *13*, 2015–2017.
 58. Ramharter, J.; Weinstabl, H. ja Mulzer, J., Synthesis of the Lycopodium alkaloid (+)-lycoflexine, *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, *132*, 14338–14339.
 59. Dragojlovic, V., Conformational analysis of cycloalkanes, *ChemTexts*, **2015**, *1*, 1–30.
 60. Eliel, E. L. ja Wilen, S. H., *Stereochemistry of organic compounds*, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1995.
 61. Cope, A. C.; Martin, M. M. ja McKervey, M. A., Transannular reactions in medium-sized rings, *Q. Rev. Chem. Soc.*, **1966**, *20*, 119–152.
 62. Smith, M. B., *March's advanced organic chemistry: Reactions, mechanisms and structure*, 8. painos, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, 2020.
 63. Wiberg, K. B., The Concept of strain in organic chemistry, *Angew. Chemie Int. Ed. English*, **1986**, *25*, 312–322.
 64. Dunitz, J. D. ja Prelog, V., Röntgenographisch bestimmte Konformationen und Reaktivität mittlerer Ringe, *Angew. Chemie*, **1960**, *72*, 896–902.
 65. Leonard, N. J.; Ōki, M. ja Chiavarelli, S., Cyclic aminoacyloins and aminoketones. IV. dependence of transannular interaction upon the relative location of N and C(CO), *J.*

- Am. Chem. Soc.*, **1955**, *77*, 6234–6237.
66. Prelog, V., Conformation and Reactivity of Medium-Sized Ring Compounds, *Pure Appl. Chem.*, **1963**, *6*, 545–560.
67. Griffith, R.; Bremner, J. B. ja Titmuss, S. J., Molecular Mechanics Study of Transannular Amine-Ketone (N-C=O) Interaction in Medium-Sized Heterocycles, *J. Comput. Chem.*, **1997**, *18*.
68. Leonard, N. J.; Ōki, M.; Brader, J. ja Boaz, H., Cyclic aminoacyloins and aminoketones. V. Detailed infrared spectral study of transannular interaction between N and C(CO), *J. Am. Chem. Soc.*, **1955**, *77*, 6237–6239.
69. Hasserodt, J.; Gautier, A.; Barbe, R. ja Waibel, M., The N→C=O interaction: A weak bond with attractive properties for the deliberate exploitation in medicinal and supramolecular chemistry. Teoksessa: Attanasi, O. A. ja Spinelli, D. (toim.), *Targets in Heterocyclic systems*, Societa Chimica Italiana, Rooma, 2009.
70. Kirby, A. J.; Komarov, I. V.; Bilenko, V. A.; Davies, J. E. ja Rawson, J. M., Structure and chemistry of a zwitterionic amine-aldehyde adduct, *Chem. Commun.*, **2002**, *2*, 2106–2107.
71. Vital, P.; Hosseini, M.; Shanmugham, M. S.; Gotfredsen, C. H.; Harris, P. ja Tanner, D., Polycyclic alkaloids via transannular Mannich reactions, *Chem. Commun.*, **2009**, 1888–1890.
72. Liau, B. B. ja Shair, M. D., Total synthesis of (+)-fastigiatine, *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, *132*, 9594–9595.
73. Lee, A. S.; Liau, B. B. ja Shair, M. D., A unified strategy for the synthesis of 7-membered-ring-containing Lycopodium alkaloids, *J. Am. Chem. Soc.*, **2014**, *136*, 13442–13452.
74. Burtea, A.; DeForest, J.; Li, X. ja Rychnovsky, S. D., Total synthesis of (–)-himeradine A, *Angew. Chemie - Int. Ed.*, **2019**, *58*, 16193–16197.
75. Samame, R. A.; Owens, C. M. ja Rychnovsky, S. D., Concise synthesis of (+)-fastigiatine, *Chem. Sci.*, **2016**, *7*, 188–190.
76. DeForest, J. C.; Samame, R. A.; Suryan, G.; Burtea, A. ja Rychnovsky, S. D., Second-generation synthesis of (+)-fastigiatine inspired by conformational studies, *J. Org. Chem.*, **2018**, *83*, 8914–8925.
77. Zhang, J.; Yan, Y.; Hu, R.; Li, T.; Bai, W. ja Yang, Y., Enantioselective total syntheses of lyconadins A–E through a palladium-catalyzed Heck-type reaction, *Angew. Chemie*, **2020**, *132*, 2882–2888.
78. Ju, X. ja Beaudry, C. M., Total synthesis of (–)-cephalotaxine and (–)-

- homoharringtonine via furan oxidation–transannular Mannich cyclization, *Angew. Chemie - Int. Ed.*, **2019**, *58*, 6752–6755.
79. Evans, D. A. ja Schreerer, J. R., Polycyclic molecules from linear precursors: stereoselective synthesis of clavolonine and related complex structures, *Angew. Chemie*, **2005**, *117*, 6192–6196.
80. Illuminati, G. ja Mandolini, L., Ring closure reactions of bifunctional chain molecules, *Acc. Chem. Res.*, **1981**, *14*, 95–102.
81. Huang, L.; Dai, L. X. ja You, S. L., Enantioselective synthesis of indole-annulated medium-sized rings, *J. Am. Chem. Soc.*, **2016**, *138*, 5793–5796.
82. Donald, J. R. ja Unsworth, W. P., Ring-expansion reactions in the synthesis of macrocycles and medium-sized rings, *Chem. - A Eur. J.*, **2017**, *23*, 8780–8799.
83. Collins, J. C. ja James, K., Emac - A comparative index for the assessment of macrocyclization efficiency, *Medchemcomm*, **2012**, *3*, 1489–1495.
84. Yudin, A. K., Macrocycles: Lessons from the distant past, recent developments, and future directions, *Chem. Sci.*, **2015**, *6*, 30–49.
85. Marsault, E.; Toró, A.; Nowak, P. ja Deslongchamps, P., The transannular Diels-Alder strategy: Applications to total synthesis, *Tetrahedron*, **2001**, *57*, 4243–4260.
86. Xue, H.; Gopal, P. ja Yang, J., Stereochemical study of a transannular michael reaction cascade, *J. Org. Chem.*, **2012**, *77*, 8933–8945.
87. Snider, B. B. ja Liu, T., Synthesis of (±)-cylindricines A, D, and E, *J. Org. Chem.*, **1997**, *62*, 5630–5633.
88. Liu, J. F. ja Heathcock, C. H., Total synthesis of (±)-cylindricines A and B, *J. Org. Chem.*, **1999**, *64*, 8263–8266.
89. Donohoe, T. J.; Brian, P. M.; Hargaden, G. C. ja O’Riordan, T. J. C., Synthesis of cylindricine C and a formal synthesis of cylindricine A, *Tetrahedron*, **2010**, *66*, 6411–6420.
90. Molander, G. A. ja Rönn, M., Total synthesis of (–)-cylindricine C, *J. Org. Chem.*, **1999**, *64*, 5183–5187.
91. Trost, B. M. ja Rudd, M. T., Chemoselectivity of the ruthenium-catalyzed hydrative diyne cyclization: Total synthesis of (+)-cylindricine C, D, and E, *Org. Lett.*, **2003**, *5*, 4599–4602.
92. Shibusuchi, T.; Mihara, H.; Kuramochi, A.; Sakuraba, S.; Ohshima, T. ja Shibasaki, M., Short synthesis of (+)-cylindricine C by using a catalytic asymmetric Michael reaction with a two-center organocatalyst, *Angew. Chemie*, **2006**, *118*, 4751–4753.
93. Kaga, A. ja Chiba, S., Synthesis of tricyclic marine alkaloids, cylindricines,

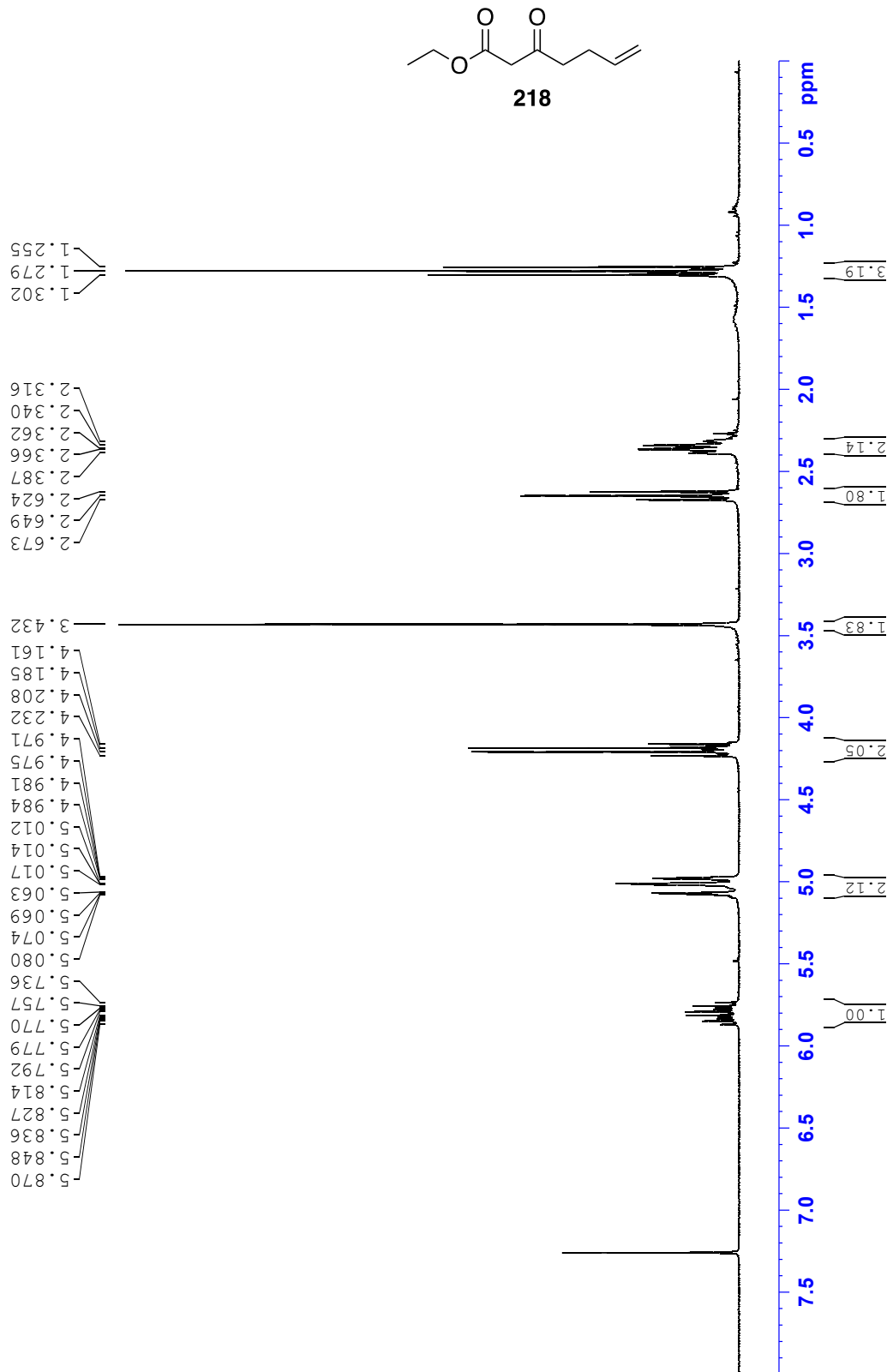
- lepadiformines, fascicularin, and polycitorols: A recent update, *Synthesis (Stuttg.)*, **2018**, *50*, 685–699.
94. Pandey, G. ja Janakiram, V., Aza-quaternary scaffolds from selective bond cleavage of bridgehead-substituted 7-azabicyclo[2.2.1]heptane: Total synthesis of (+)-cylindricines C-E and (-)-lepadiformine A, *Chem. - A Eur. J.*, **2015**, *21*, 13120–13126.
95. Arai, T.; Abe, H.; Aoyagi, S. ja Kibayashi, C., Total synthesis of (+)-cylindricine C, *Tetrahedron Lett.*, **2004**, *45*, 5921–5924.
96. Taniguchi, T.; Tamura, O.; Uchiyama, M.; Muraoka, O.; Tanabe, G. ja Ishibashi, H., Concise synthesis of the tricyclic skeleton of cylindricines using a radical cascade involving 6-endo selective cyclization, *Synlett*, **2005**, 1179–1181.
97. Hunter, R. ja Richards, P., Synthesis of the tricyclic core of the marine alkaloid lepadiformine, *Synlett*, **2003**, 271–273.
98. Hiraoka, S.; Matsumoto, T.; Matsuzaka, K.; Sato, T. ja Chida, N., Approach to fully substituted cyclic nitrones from N-hydroxylactam derivatives: Development and application to the total synthesis of cylindricine C, *Angew. Chemie - Int. Ed.*, **2019**, *58*, 4381–4385.
99. Neuvonen, A. J. ja Pihko, P. M., Enantioselective Mannich reaction of β -keto esters with aromatic and aliphatic imines using a cooperatively assisted bifunctional catalyst, *Org. Lett.*, **2014**, *16*, 5152–5155.
100. Trost, B. M. ja Hung, C. I., Broad spectrum enolate equivalent for catalytic chemo-, diastereo-, and enantioselective addition to N-Boc imines, *J. Am. Chem. Soc.*, **2015**, *137*, 15940–15946.
101. Huang, L. ja Wulff, W. D., Catalytic asymmetric synthesis of trisubstituted aziridines, *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, *133*, 8892–8895.
102. Wenzel, A. G. ja Jacobsen, E. N., Asymmetric catalytic Mannich reactions catalyzed by urea derivatives: Enantioselective synthesis of β -aryl- β -amino acids, *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *124*, 12964–12965.
103. Huckin, S. N. ja Weiler, L., Alkylation of Dianions of 3-Keto Esters, *J. Am. Chem. Soc.*, **1974**, *96*, 1082–1087.
104. Miyagi, T.; Okada, S.; Tada, N.; Sugihara, M.; Kagawa, N.; Takabatake, T. ja Toyota, M., Pd(OAc)₂-catalyzed orthogonal synthesis of 2-hydroxybenzoates and substituted cyclohexanones from acyclic unsaturated 1,3-carbonyl compounds, *Tetrahedron Lett.*, **2019**, *60*, 1653–1657.
105. Fletcher, S., The Mitsunobu reaction in the 21st century, *Org. Chem. Front.*, **2015**, *2*, 739–752.

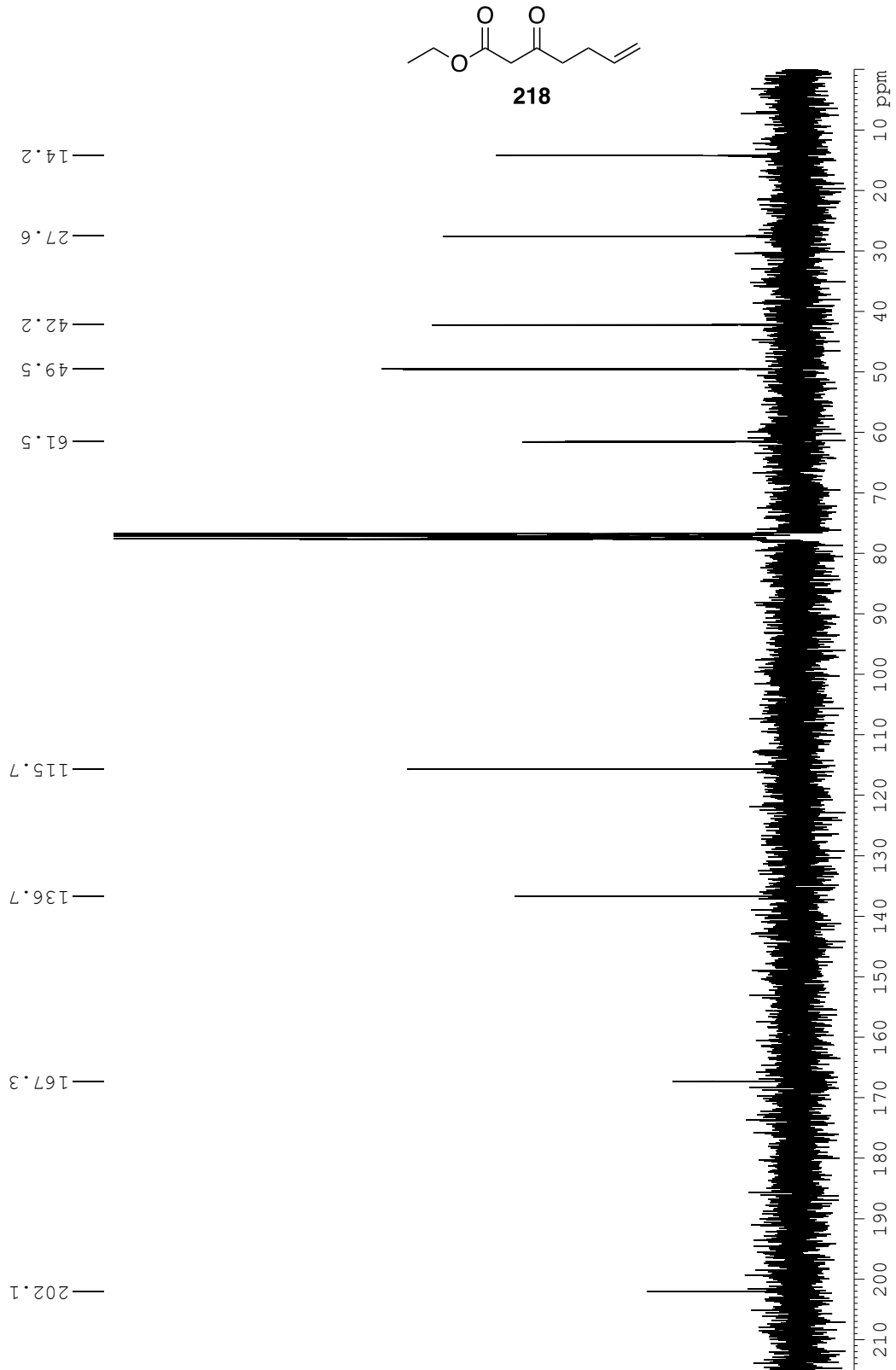
106. Hada, N.; Shida, Y.; Negishi, N.; Schweizer, F. ja Takeda, T., Syntheses of glycoclusters containing a phosphocholine residue related to a glycosphingolipid from the earthworm *Pheretima hilgendorfi*, *Chem. Pharm. Bull.*, **2009**, *57*, 1081–1088.
107. Qian, X. W.; Xue, Z. J.; Zhao, Q.; Cui, Z.; Chen, Y. J.; Feng, C. G. ja Lin, G. Q., Enantioselective rhodium-catalyzed alkenylation of aliphatic imines, *Org. Lett.*, **2017**, *19*, 5601–5604.
108. Kerr, W. J.; Morrison, A. J. ja Paterson, L. C., Synthesis of α -methylene propellanone via the strategic employment of metal-mediated cyclisation chemistry, *Tetrahedron*, **2015**, *71*, 5356–5361.
109. Huang, P. Q.; Zheng, X. ja Deng, X. M., DIBAL-H-H₂NR and DIBAL-H-HNR₁R₂·HCl complexes for efficient conversion of lactones and esters to amides, *Tetrahedron Lett.*, **2001**, *42*, 9039–9041.
110. Probst, N.; Madarász, Ú.; Valkonen, A.; Pápai, I.; Rissanen, K.; Neuvonen, A. ja Pihko, P. M., Cooperative assistance in bifunctional organocatalysis: Enantioselective Mannich reactions with aliphatic and aromatic imines, *Angew. Chemie - Int. Ed.*, **2012**, *51*, 8495–8499.
111. Kan, T. ja Fukuyama, T., Ns strategies: A highly versatile synthetic method for amines, *Chem. Commun.*, **2004**, *4*, 353–359.
112. Nahm, S. ja Weinreb, S. M., N-methoxy-N-methylamides as effective acylating agents, *Tetrahedron Lett.*, **1981**, *22*, 3815–3818.
113. De Marco, R.; Spinella, M.; De Lorenzo, A.; Leggio, A. ja Liguori, A., C \rightarrow N and N \rightarrow C solution phase peptide synthesis using the N-acyl 4-nitrobenzenesulfonamide as protection of the carboxylic function, *Org. Biomol. Chem.*, **2013**, *11*, 3786–3796.
114. Cui, Z.; Yu, H. J.; Yang, R. F.; Gao, W. Y.; Feng, C. G. ja Lin, G. Q., Highly enantioselective arylation of N-tosylalkylaldimines catalyzed by rhodium-diene complexes, *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, *133*, 12394–12397.

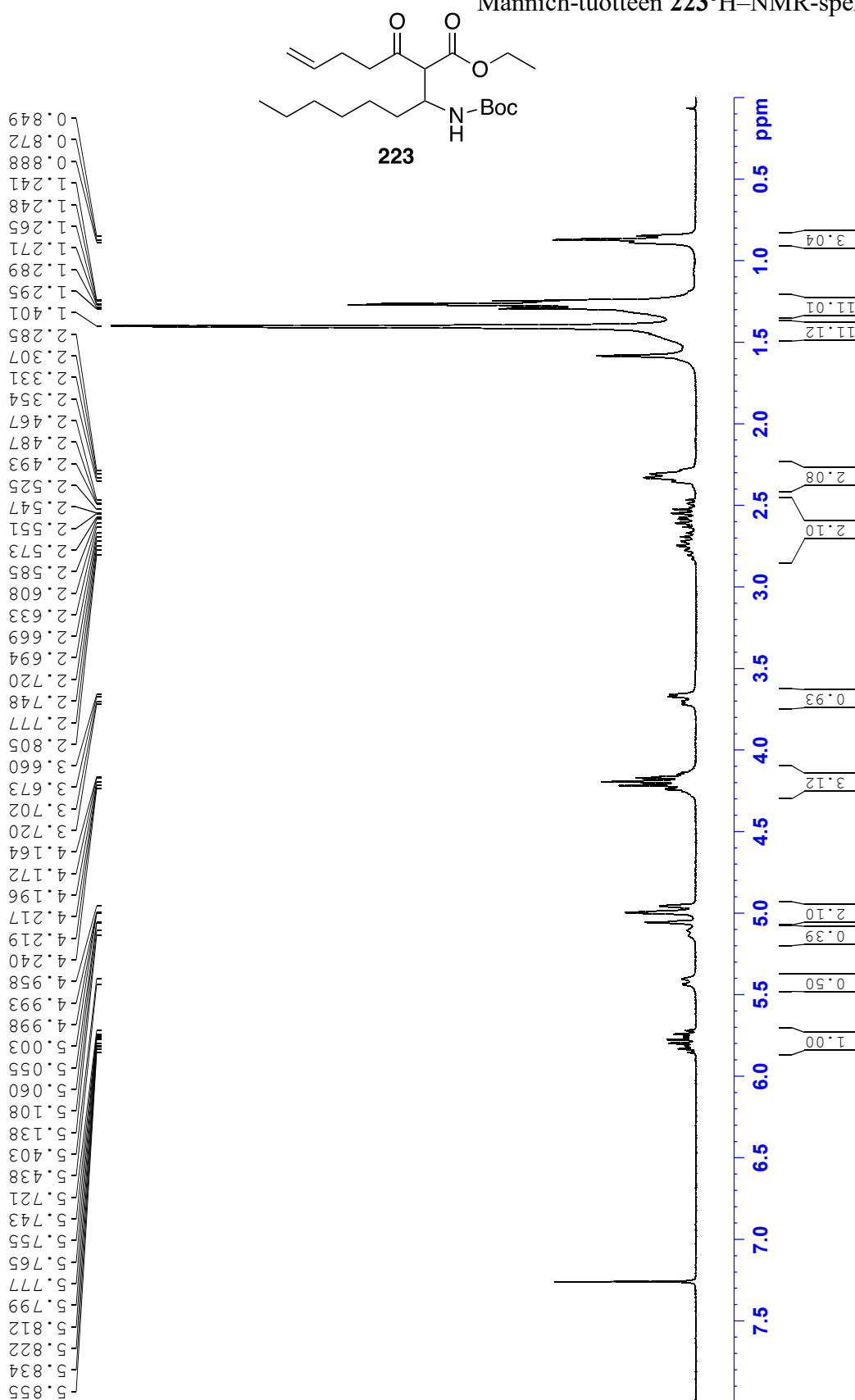
Liitteet

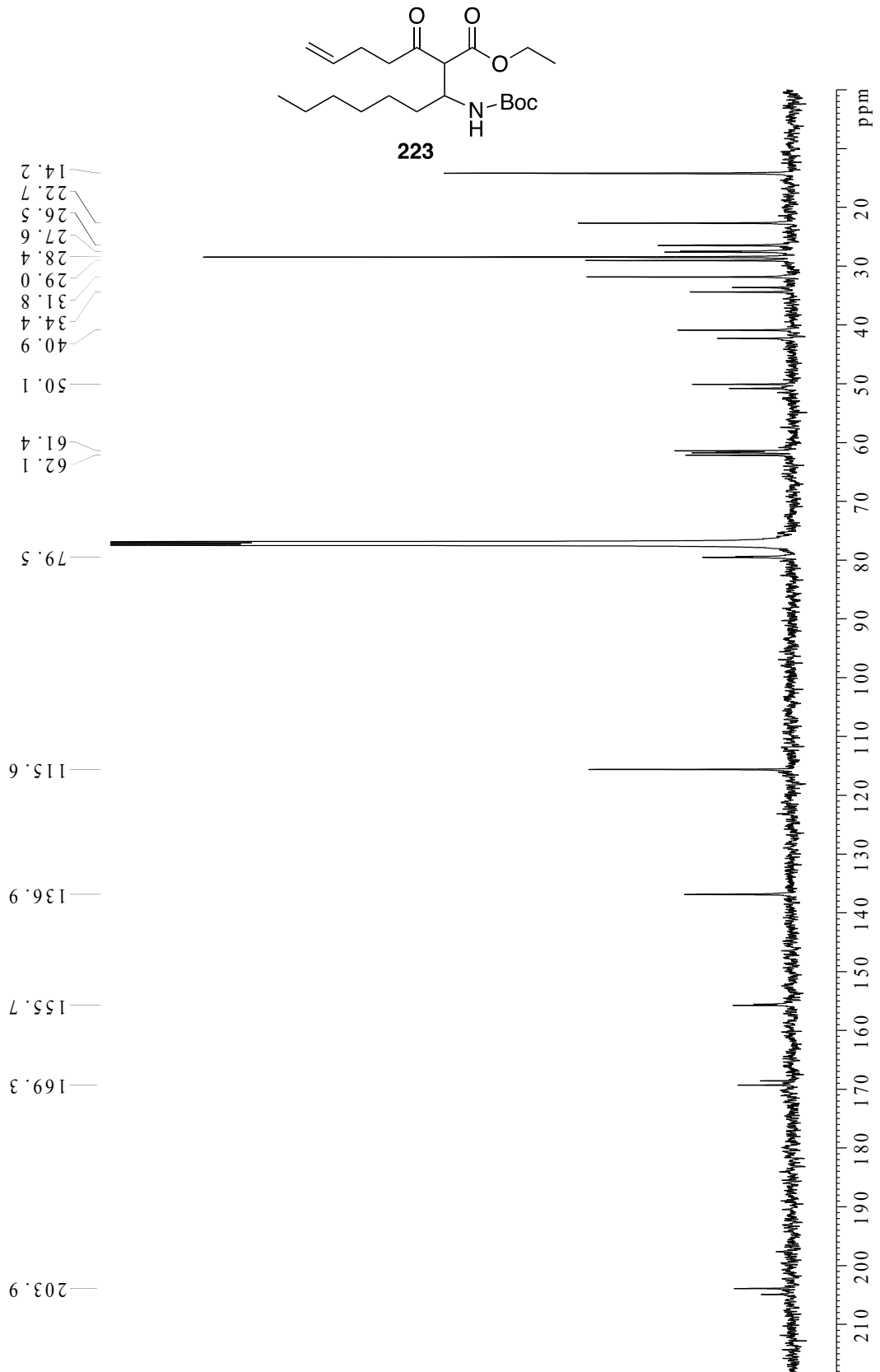
- Liite 1 β -ketoesterin **218** ^1H NMR-spektri
- Liite 2 β -ketoesterin **218** ^{13}C NMR-spektri
- Liite 3 Mannich-tuotteen **223** ^1H NMR-spektri
- Liite 4 Mannich-tuotteen **223** ^{13}C NMR-spektri
- Liite 5 Dekarboksyloidun Mannich-tuotteen **241** ^1H NMR-spektri
- Liite 6 Dekarboksyloidun Mannich-tuotteen **241** ^{13}C NMR-spektri
- Liite 7 Mannich-tuotteen **224** ^1H NMR-spektri
- Liite 8 Mannich-tuotteen **224** ^{13}C NMR-spektri
- Liite 9 Dekarboksyloidun Mannich-tuotteen **214** ^1H NMR-spektri
- Liite 10 Dekarboksyloidun Mannich-tuotteen **214** ^{13}C NMR-spektri
- Liite 11 Nitrobentseenisulfonamidin **229** ^1H NMR-spektri
- Liite 12 Nitrobentseenisulfonamidin **229** ^{13}C NMR-spektri
- Liite 13 Nosyyli-imiinin **232** ^1H NMR-spektri
- Liite 14 Nosyyli-imiinin **232** ^{13}C NMR-spektri
- Liite 15 Mannich-tuotteen **233** ^1H NMR-spektri
- Liite 16 Mannich-tuotteen **233** ^{13}C NMR-spektri
- Liite 17 Weinrebin amidin **237** ^1H NMR-spektri
- Liite 18 Weinrebin amidin **237** ^{13}C NMR-spektri
- Liite 19 Yhdisteiden **241** ja **214** HPLC-kromatogrammit

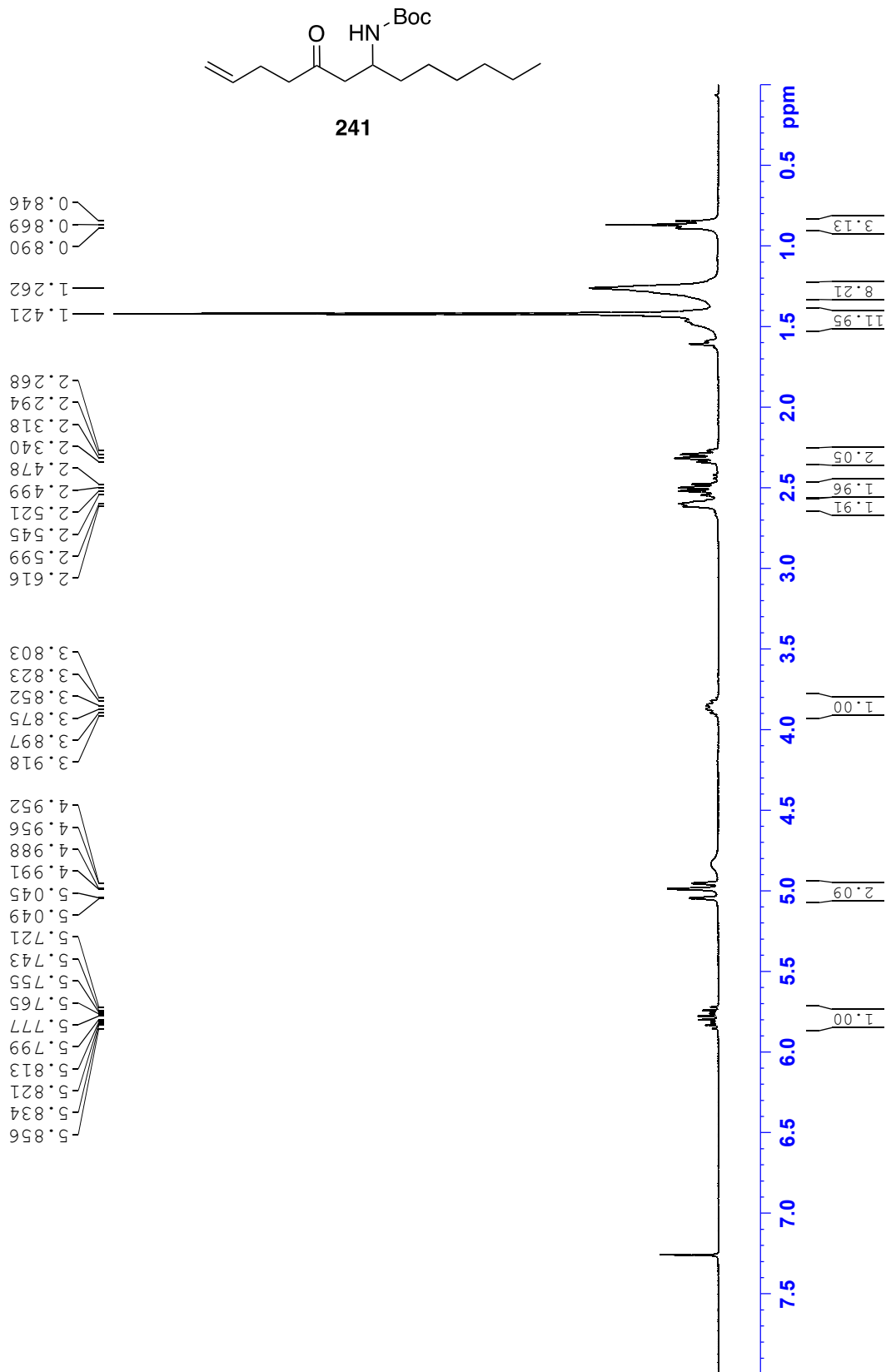
LIITE 1

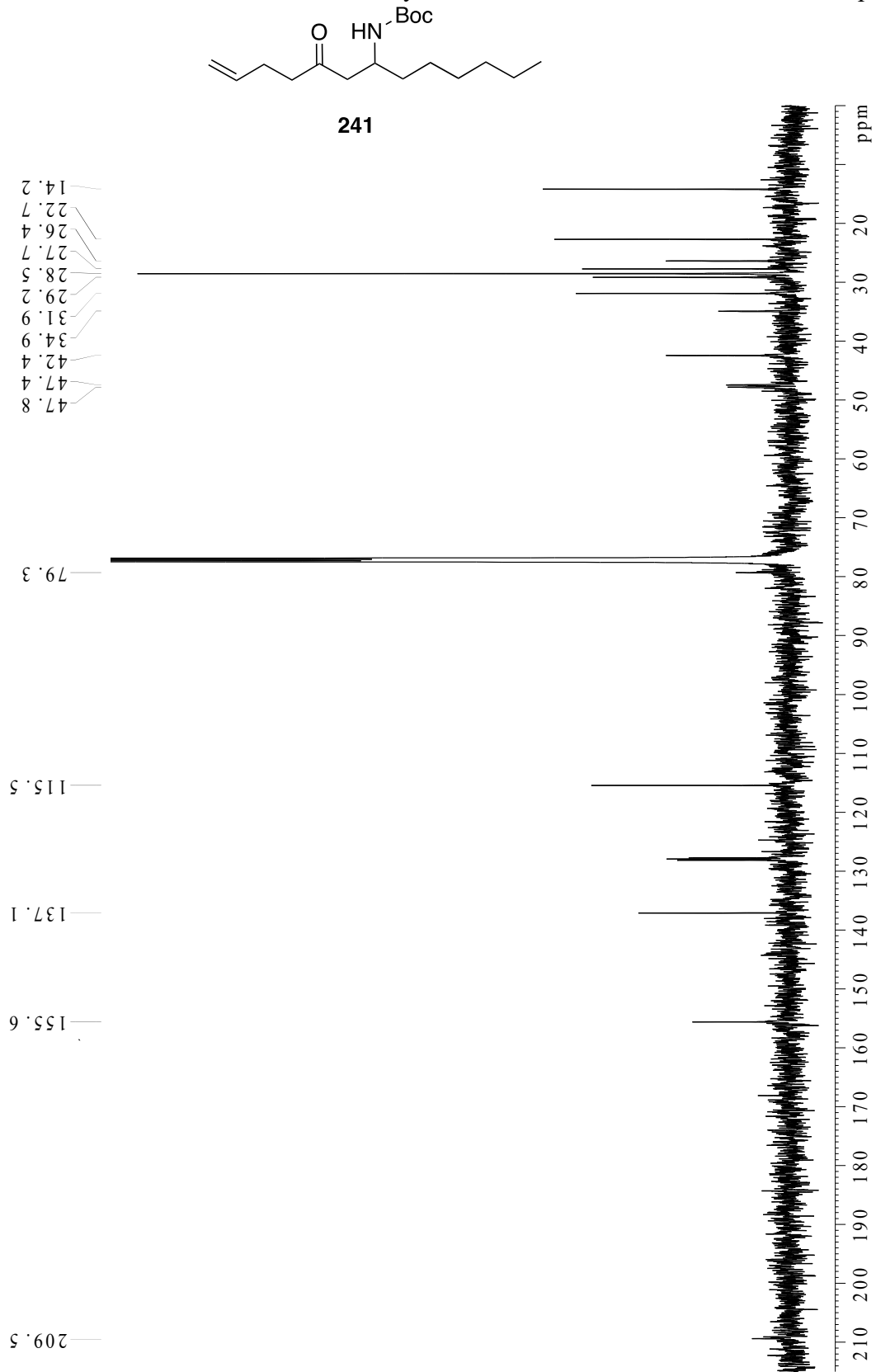
 β -ketoesterin 218 $^1\text{H-NMR}$ -spektri

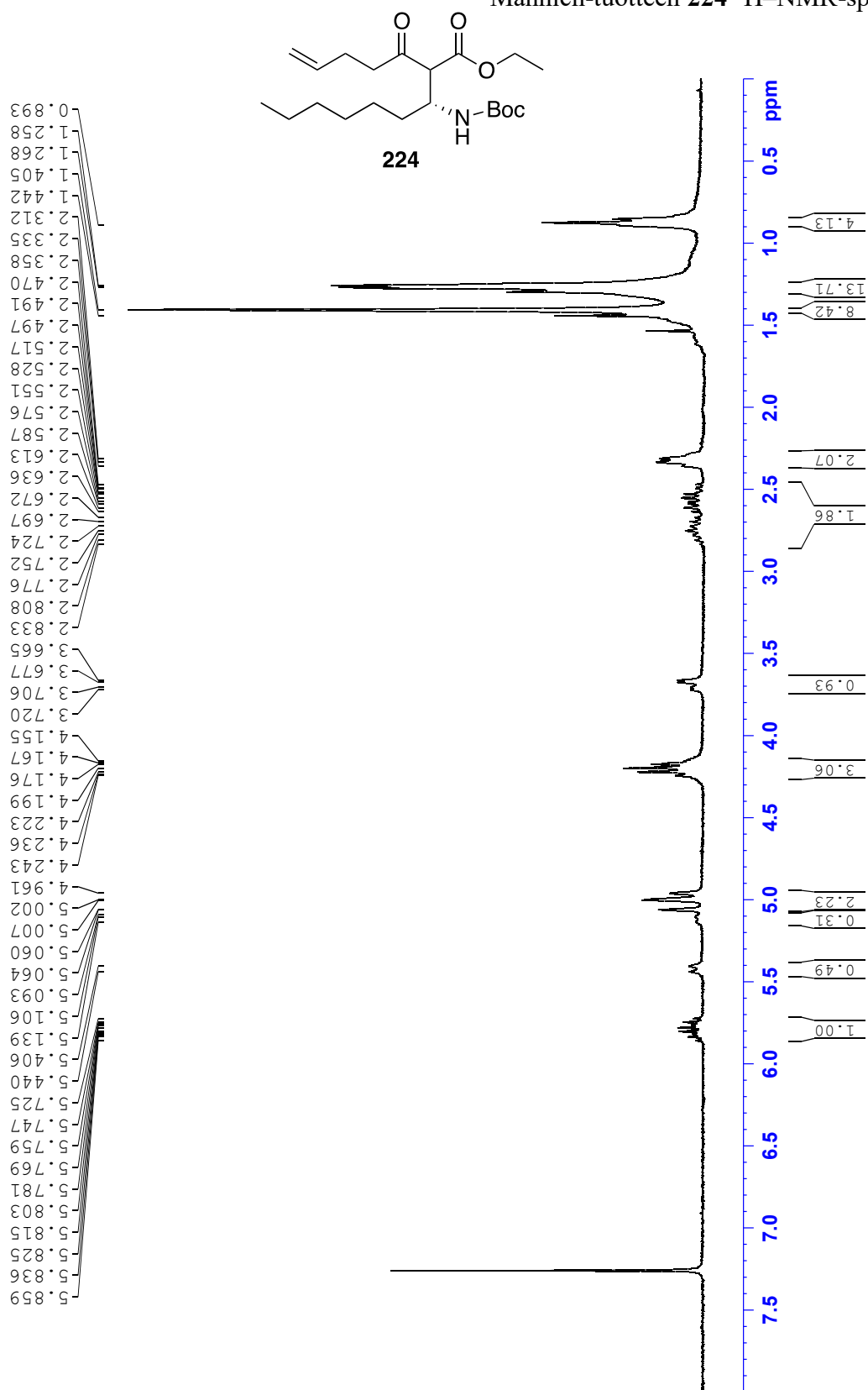
β -ketoesterin 218 ^{13}C -NMR-spektri

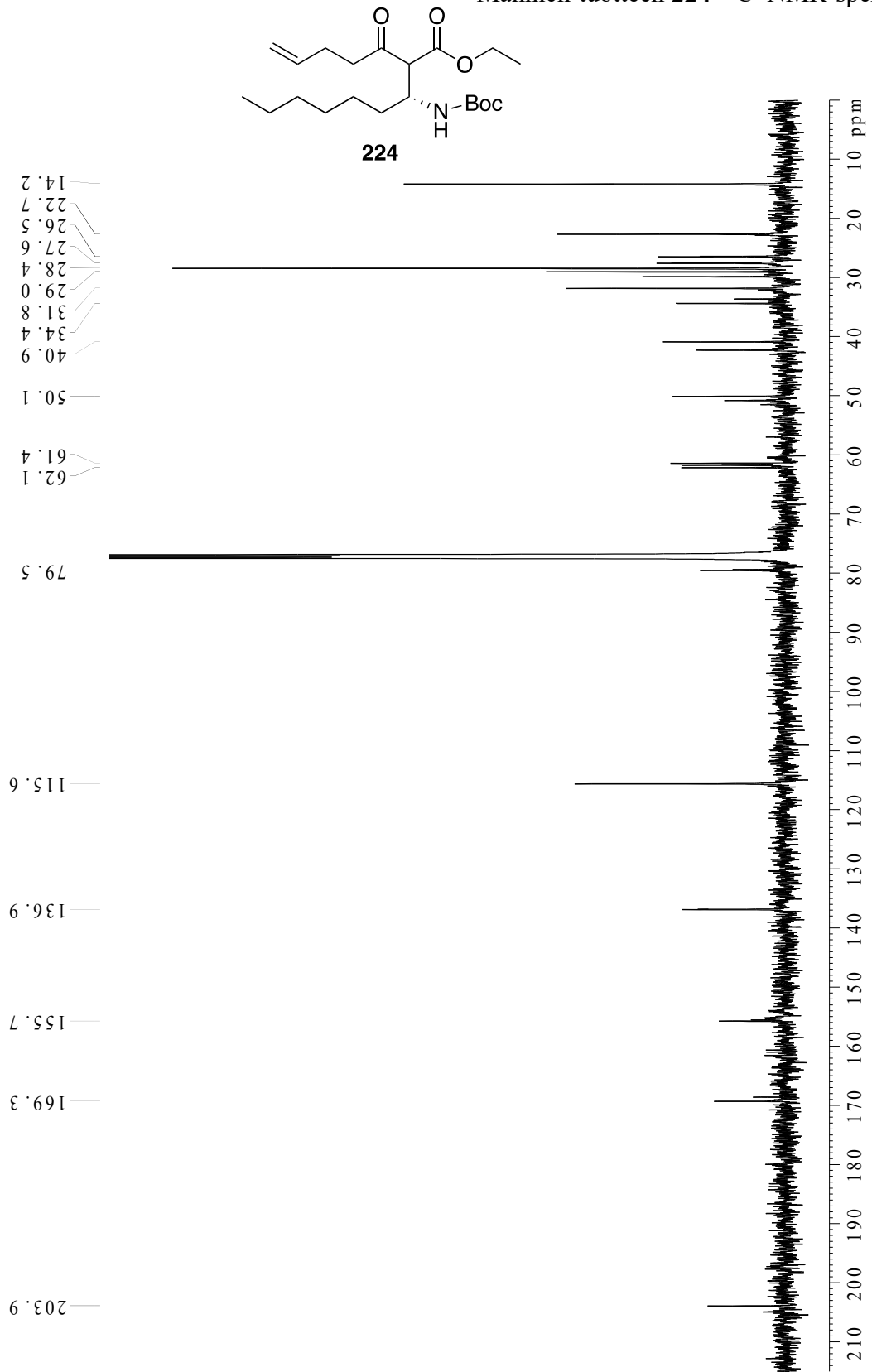
Mannich-tuotteen 223 ^1H -NMR-spektri

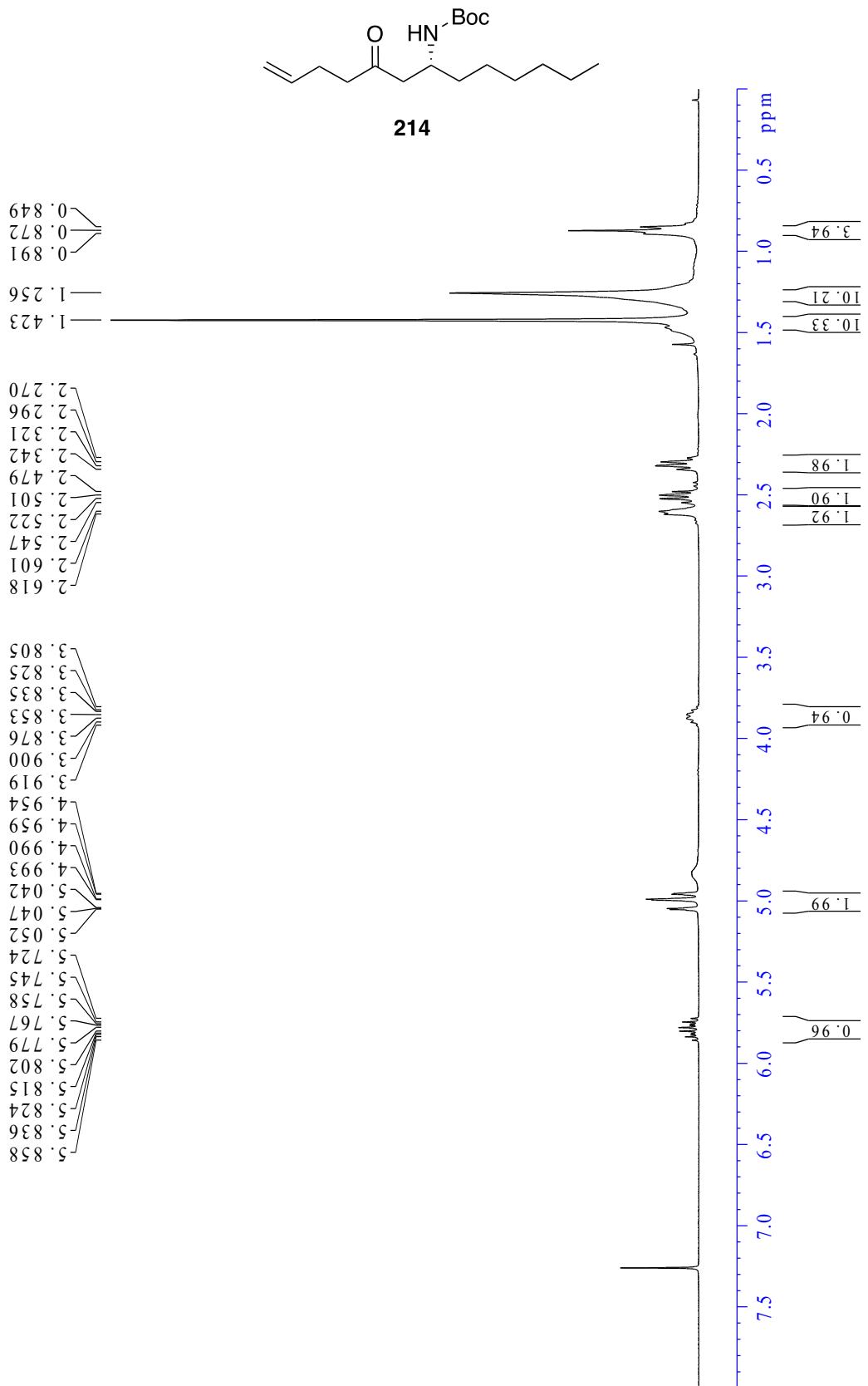
Mannich-tuotteen **223** ^{13}C -NMR-spektri

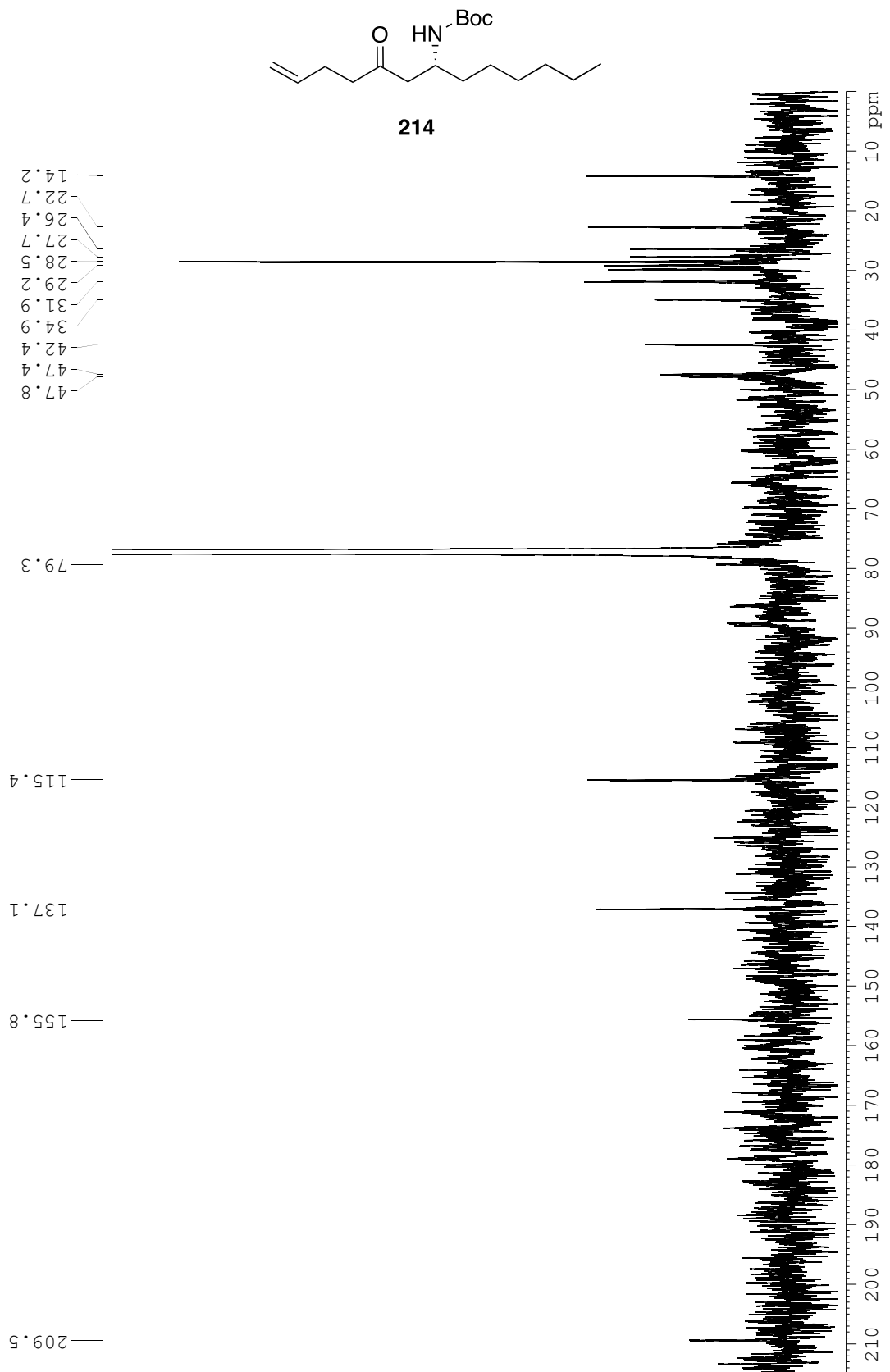
Dekarboksyloidun Mannich-tuotteen **241** ^1H -NMR-spektri

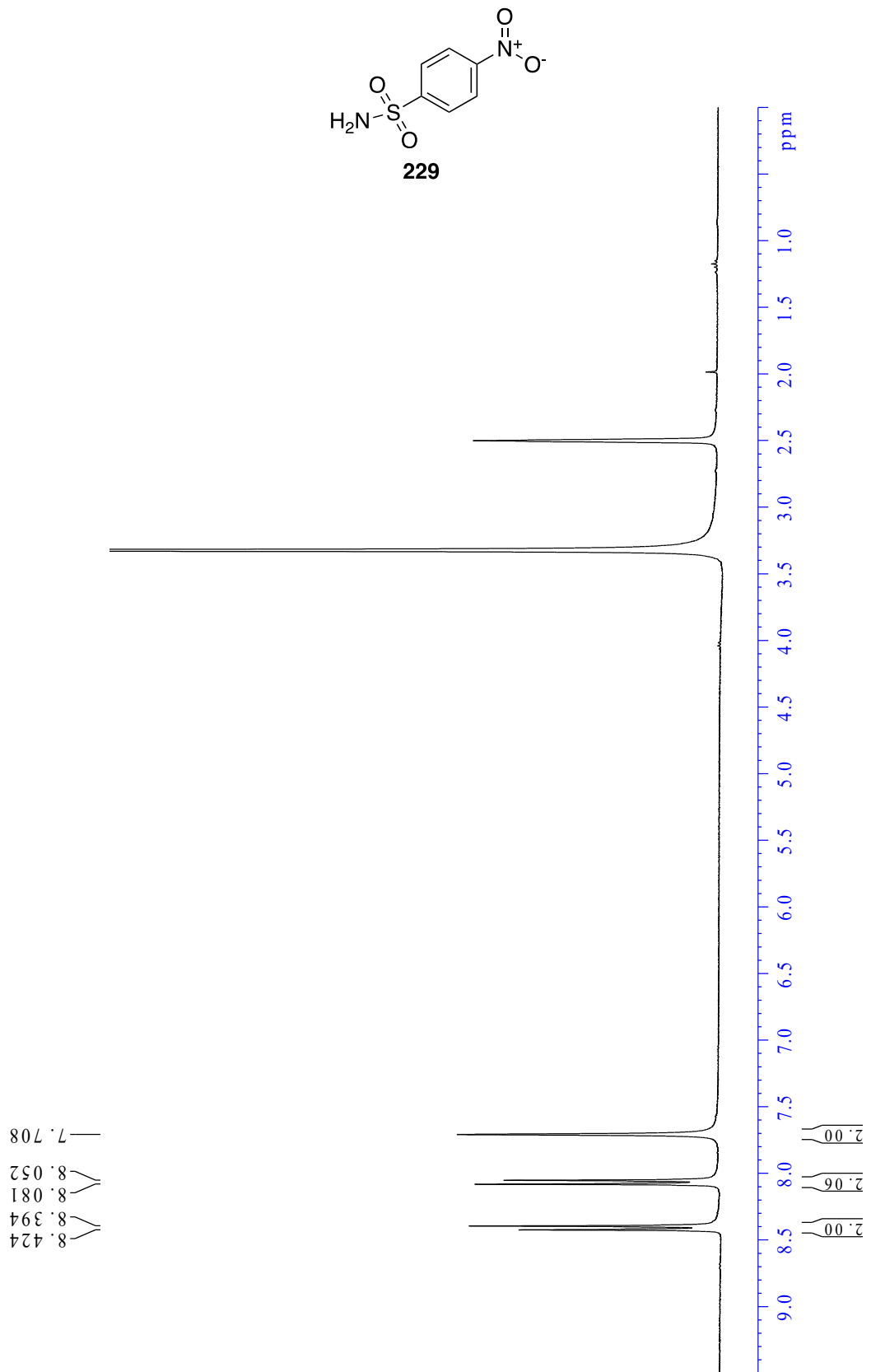
Dekarboksyloidun Mannich-tuotteen **241** ^{13}C -NMR-spektri

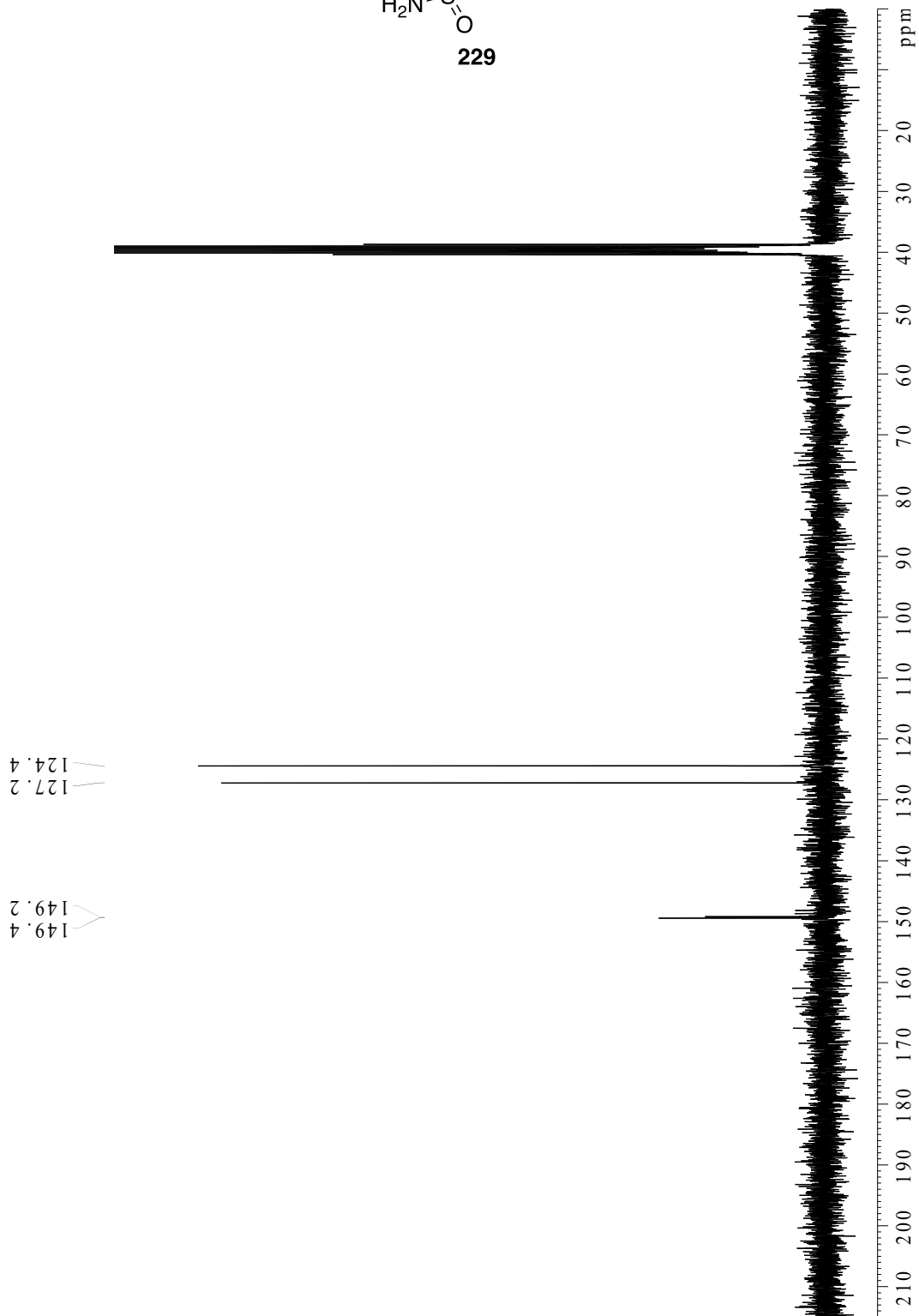
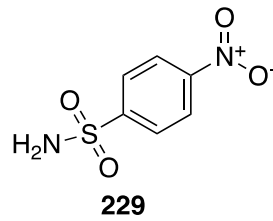
Mannich-tuotteen 224 ^1H -NMR-spektri

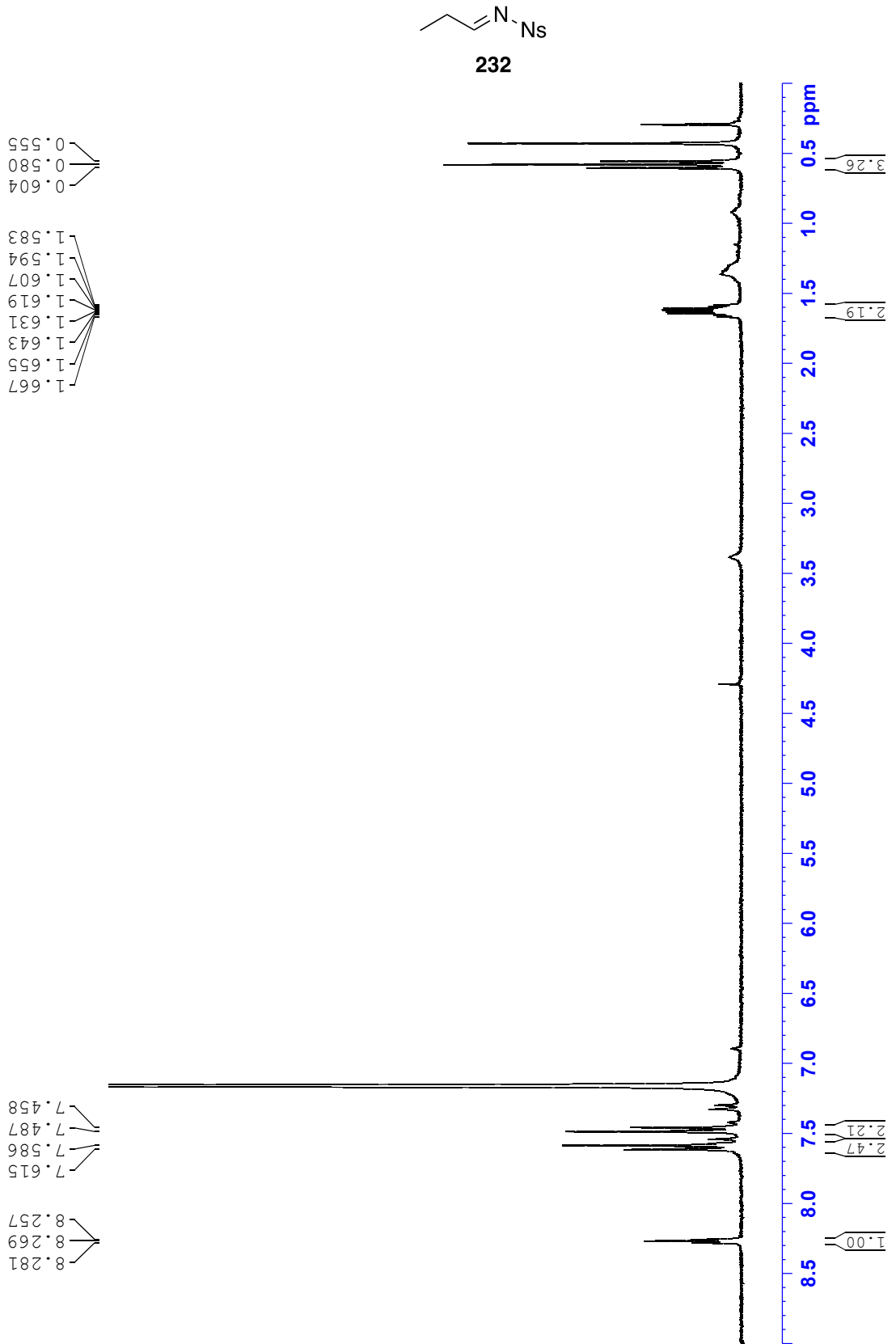
Mannich-tuotteen **224** ^{13}C -NMR-spektri

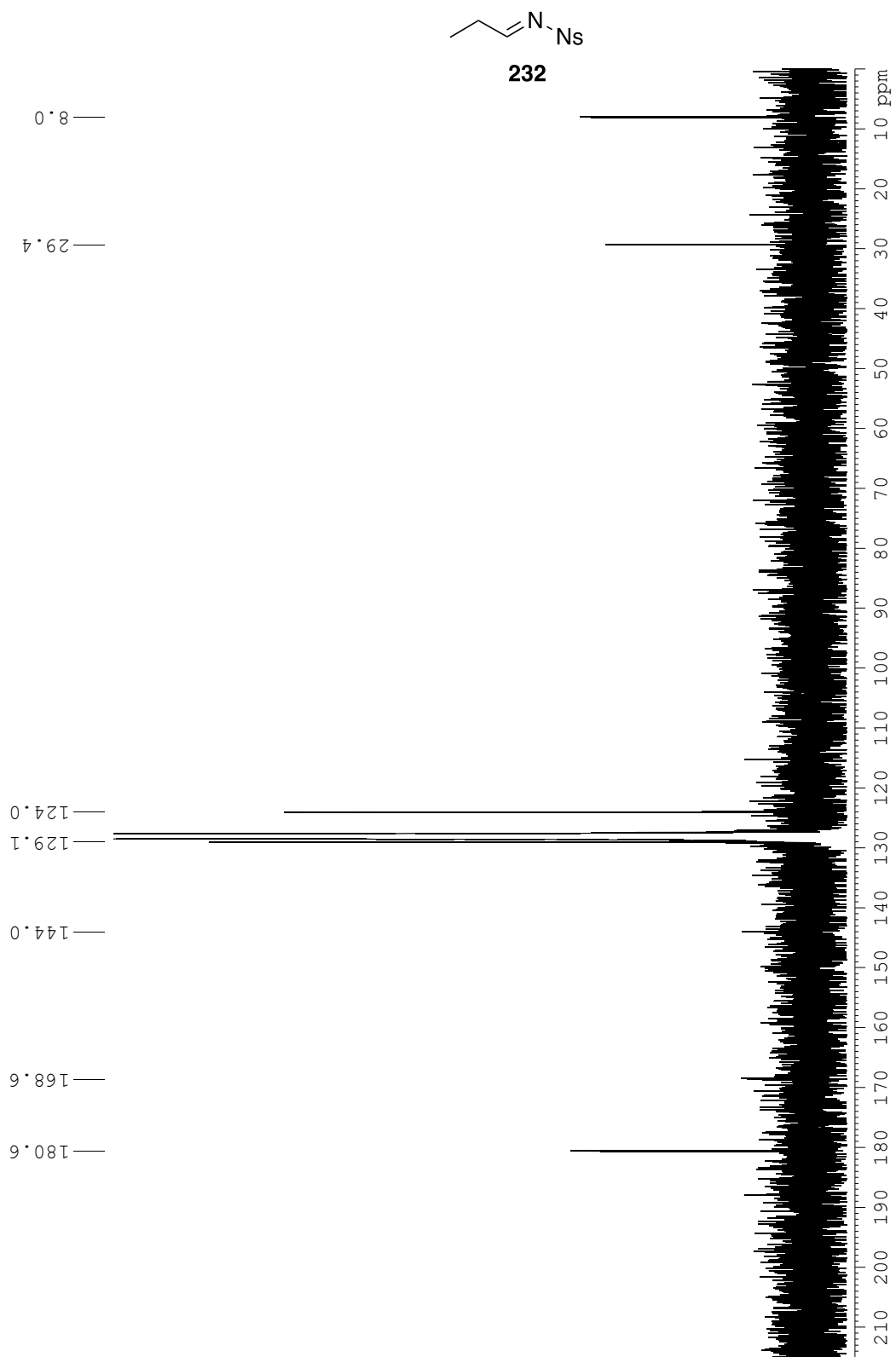
Dekarboksyloidun Mannich-tuotteen **214** ^1H -NMR-spektri

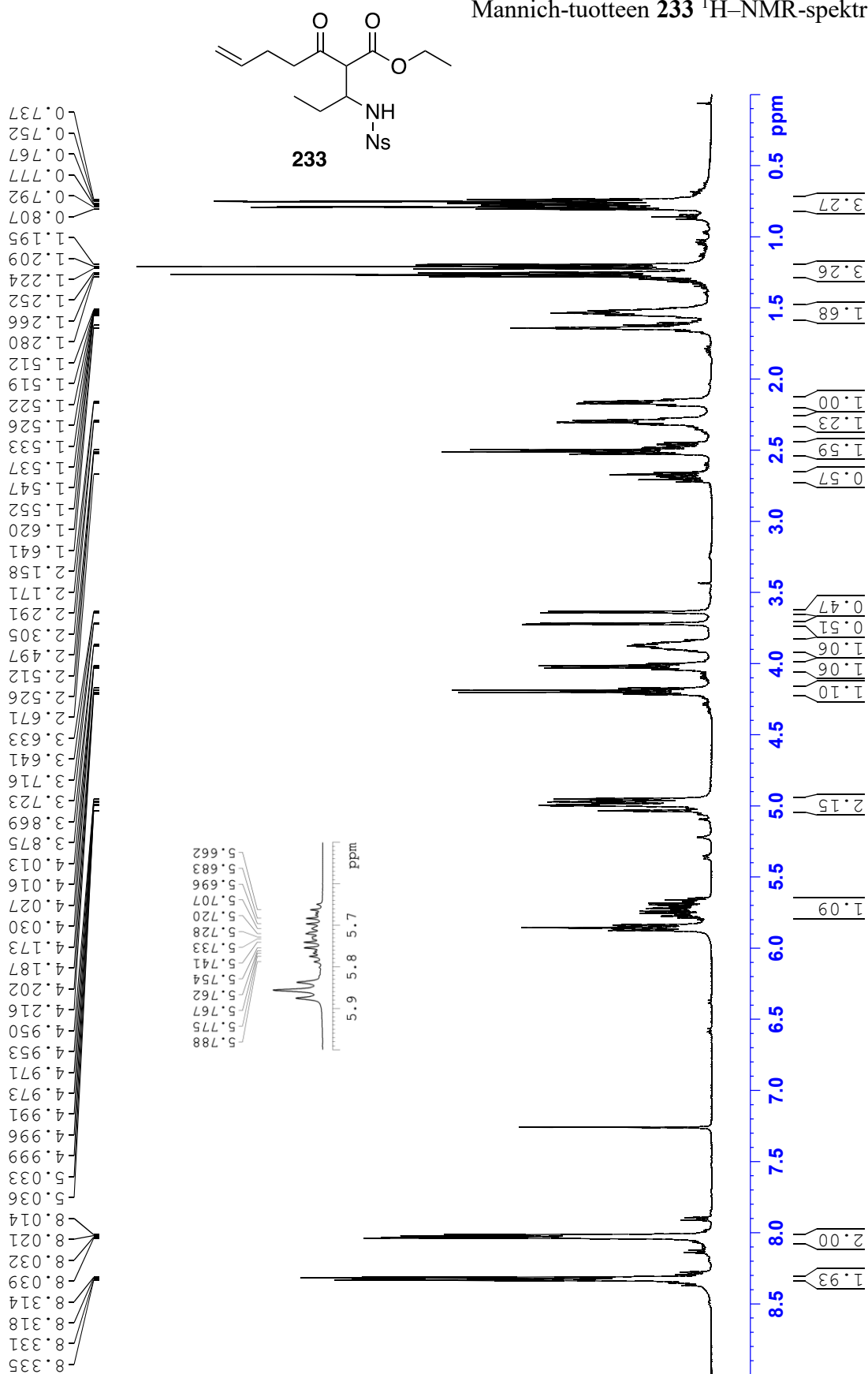
De-kar-bok-sy-loi-dun Mannich-tuo-tteen 214 ^{13}C -NMR-spektri

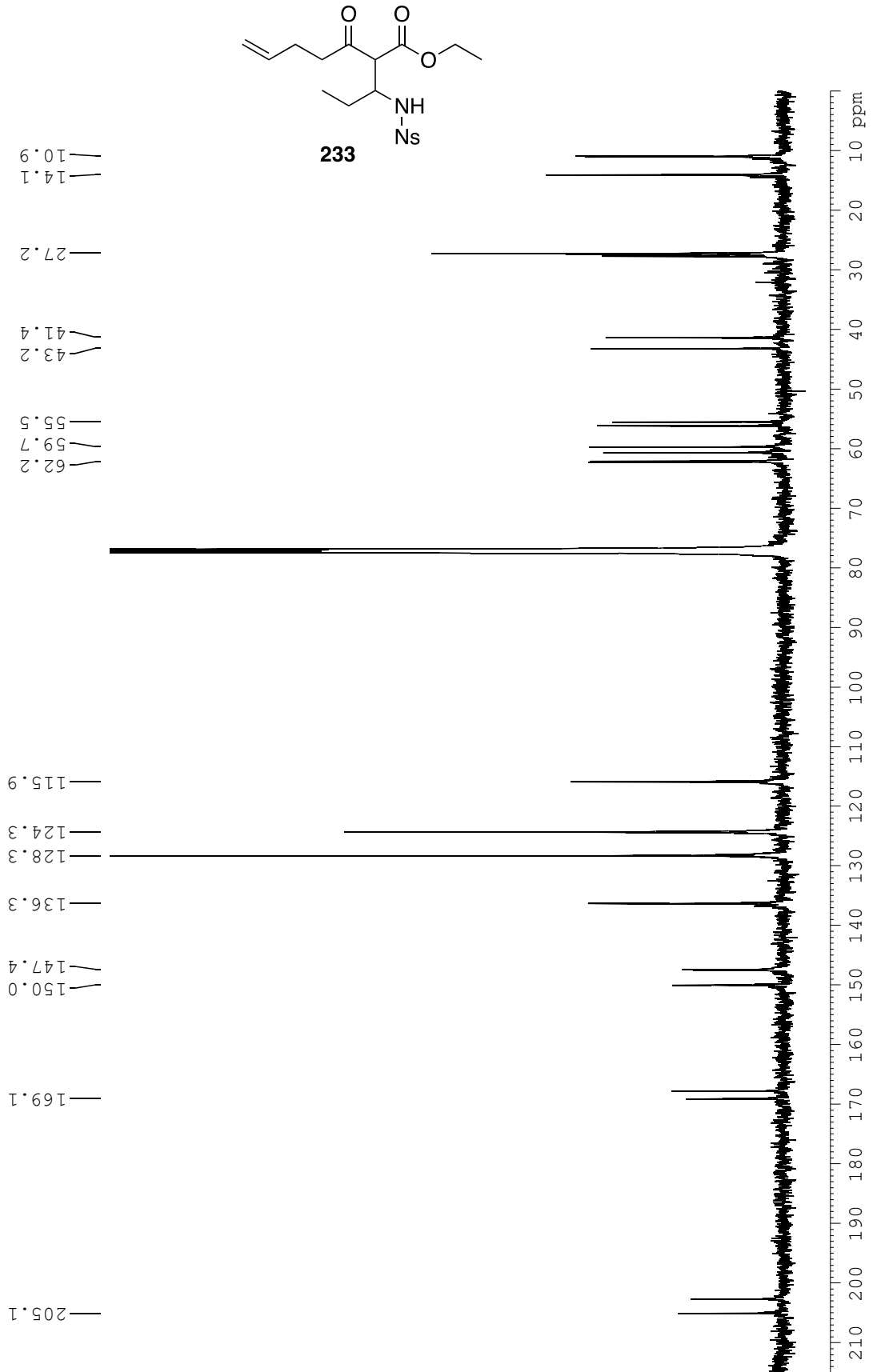
Nitrobenseenisulfonamidin **229** ^1H -NMR-spektri

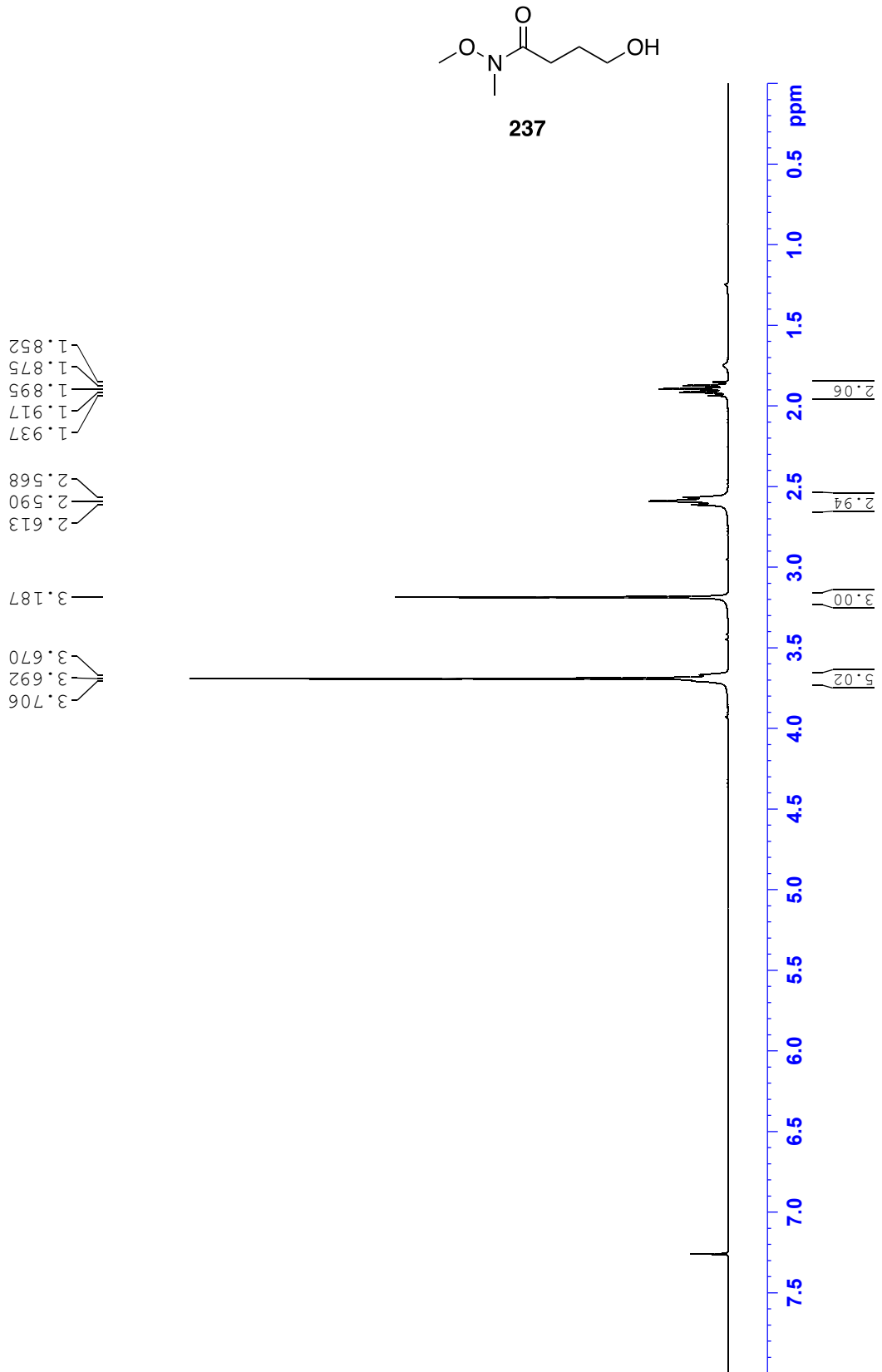
Nitrobenseenisulfonamidin **229** ^{13}C -NMR-spektri

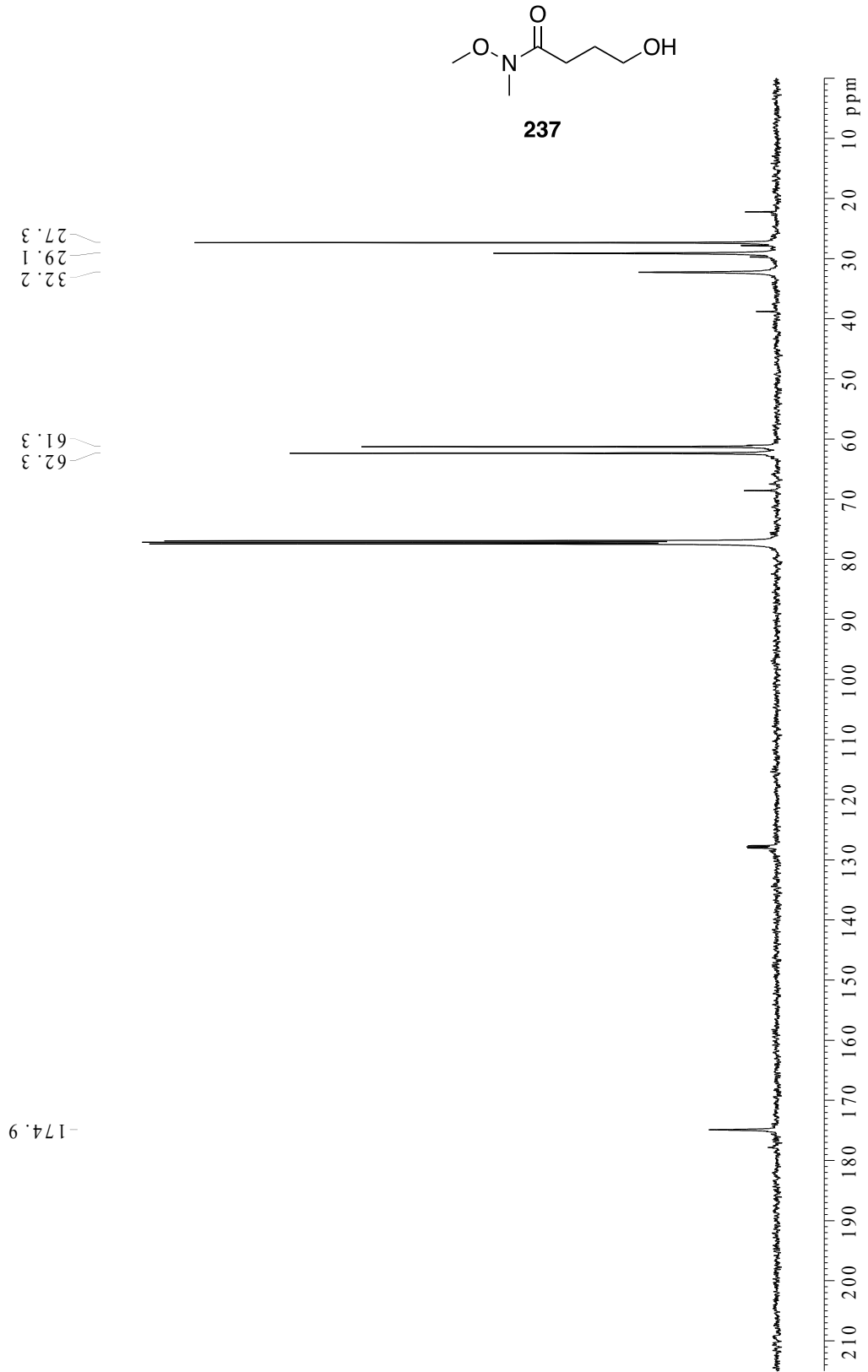
Nosyyli-imiinin 232 $^1\text{H-NMR}$ -spektri

Nosyyli-imiinin 232 ^{13}C -NMR-spektri

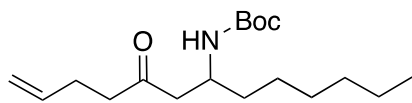
Mannich-tuotteen **233** ^1H -NMR-spektri

Mannich-tuotteen **233** ^{13}C -NMR-spektri

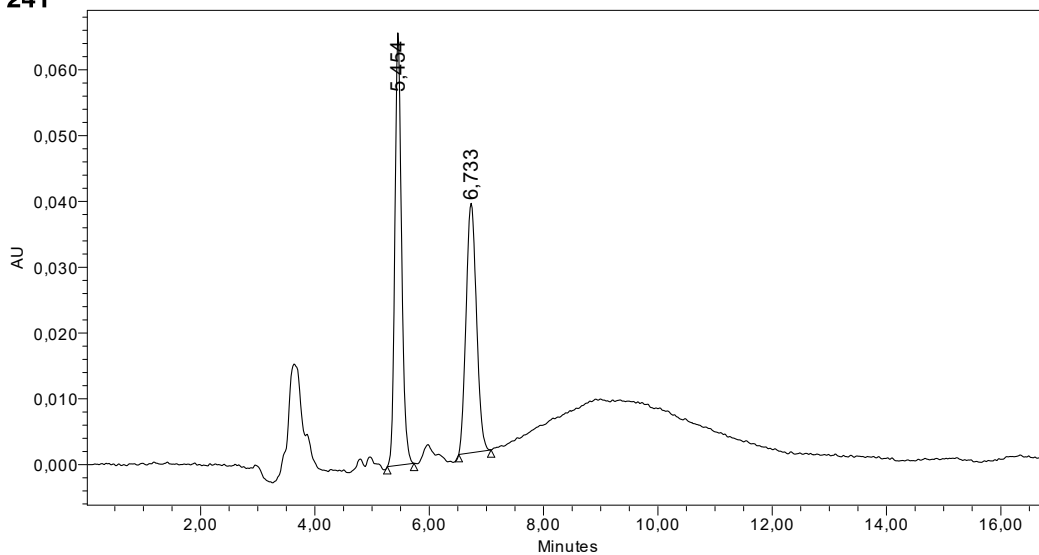
Weinrebin amidin **237** ^1H -NMR-spektri

Weinrebin amidin **237** ^1H -NMR-spektri

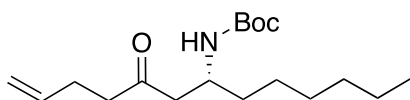
Yhdisteiden 241 ja 214 HPLC-kromatogrammit



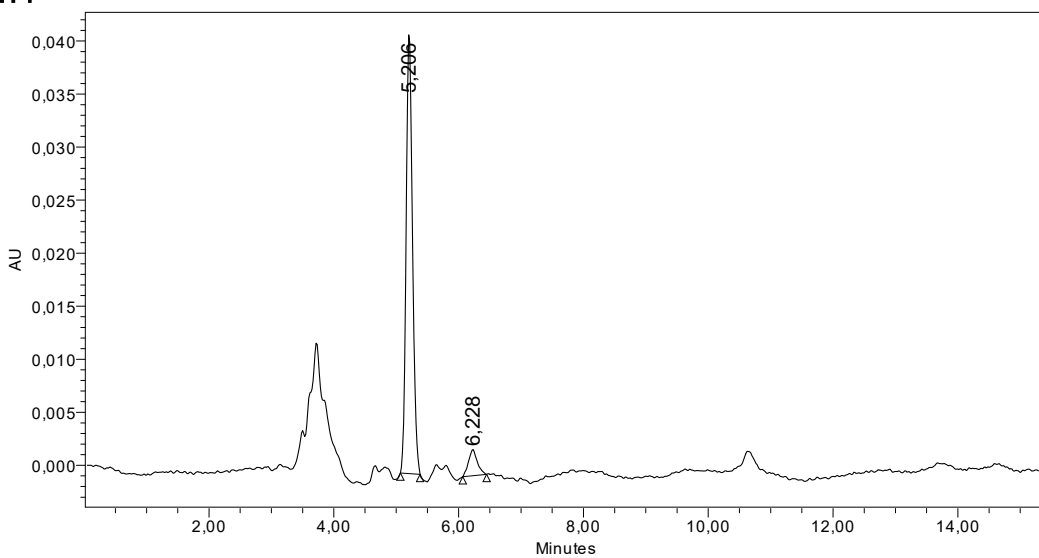
241



	RT	Area	%Area	Height
1	5,454	535317	52,73	65682
2	6,733	479908	47,27	37919



214



	RT	Area	%Area	Height
1	5,206	294672	92,41	41542
2	6,228	24201	7,59	2459