



**TURUN  
YLIOPISTO**

Matemaattis-luonnontieteellinen  
tiedekunta

# **TEC-reaktion ominaisuudet ja käyttö hiilihydraattikonjugaattien synteesissä**

Ylva Nordquist

Kemia (Bio-orgaaninen kemia)  
LuK-tutkielma  
Laajuus: 6 op

23.4.2026  
Turku

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu  
Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

LuK-tutkielma

**Pääaine:** Kemia

**Tekijä:** Ylva Nordquist

**Otsikko:** TEC-reaktion ominaisuudet ja käyttö hiilihydraattikonjugaattien synteesissä

**Ohjaaja:** Satu Mikkola

**Sivumäärä:** 27 sivua

**Päivämäärä:** 23.4.2026

---

### **Tiivistelmä/Abstract:**

2000-luvun aikana on etsitty tapoja tuottaa ja muokata biomolekyylejä tehokkaasti kustannus- ja ympäristöystävällisillä tavoilla. Klik-kemia käsittää joukon orgaanisia reaktioita, jotka selektiivisyytensä ansiosta eivät vaadi myrkyllisiä katalyyttejä tai liuottimia, ja tuottavat korkeita saantoja. Yksi tällainen, jo nyt laajasti sovellettu reaktio on TEC (engl. Thiol-ene coupling). Kyseessä on additioreaktio, jossa merkaptoradikaali reagoi alkeeniryhmän kanssa muodostaen tioeetterisidoksen. Reaktio sietää hyvin happea ja vettä, joten sitä voidaan käyttää kemiallisesti ja ympäristölle neutraaleissa olosuhteissa. Katalyyttinä reaktiossa toimii UV-valo tai näkyvä valo yhdistettynä fotoinitiaattoriin. Koska reaktiossa ei optimaalisissa olosuhteissa synny sivutuotteita, tuotetta ei myöskään tarvitse puhdistaa tai muulla tavoin jatkokäsitellä. Reaktion mekaanisia haasteita ovat sen reversiibeliys ja radikaalin mahdolliset sivureaktiot. Nämä ongelmat ovat kuitenkin vältettävissä kiinnittämällä huomiota kulloinkin sopiviin reaktio-olosuhteisiin ja lähtöaineiden rakenteeseen. Syntyvien radikaalien pysyvyyden vahvistamiseksi on kannattavaa käyttää poolitonta liuotinta, käyttää nollaa celsiusastetta matalampia reaktiolämpötiloja ja kiinnittää huomiota lähtöaineiden muihin funktionaalisiin ryhmiin ja niiden sijaintiin, jotta reaktio olisi mahdollisimman nopea ja tehokas.

TEC-reaktion hyödyllisimpiä käyttökohteita on hiilihydraattien, usein monosakkaridien additio muihin biomolekyyleihin. Näin voidaan luoda hyvin tarkasti ja luotettavasti suuriakin biomolekyylejä ilman myrkyllisiä reaktio-olosuhteita ja ei-toivottuja sivureaktioita, joita olisi vaikeaa korjata jälkikäteen. Reaktiossa käytettävien lähtöaineiden määrä on todella laaja ja reaktiolla on valmistettu muun muassa oligosakkarideja, glykopeptidejä ja glykodendrimeerejä. TEC-reaktiolla on useampi erilainen variaatio, jotka toimivat erilaisten lähtöaineiden kanssa lisäten sopivien lähtöaineiden kirjoa ja mahdollisia sovelluskohteita. Näistä tärkeimmät ovat TYC (thiol-yne coupling) ja TMC (thiol-Michael coupling). Jälkimmäisessä merkaptoryhmä toimii radikaalin sijaan nukleofiilinä.

Käytännön sovelluskohteita TEC-reaktiolle ja sillä valmistetuille hiilihydraattijohdannaisille on laajasti lääkekehityksen ja materiaalikemian saralla. Reaktio voi toimia biologisena koettimena, jolla voidaan esimerkiksi fluoresenssin avulla löytää taudinaiheuttajia ja proteiinien muutoksia. TEC-reaktiolla syntetisoituja, antigeenejä sisältäviä peptidijohdannaisia ja oligosakkarideja käytetään rokotteissa ja vasta-aineissa antigeenien kuljetukseen. Koska reaktio sietää hyvin vettä, happea ja monia yleisiä funktionaalisia ryhmiä, sitä käytetään hydro- ja nanogeeleissä haluttujen molekyylien varastointiin ja kuljetukseen. TEC-reaktiolla syntetisoituja biopolymeerejä käytetään esimerkiksi anti-bakteerisissa biomateriaaleissa. Reaktion soveltaminen käytännön innovaatioihin on hyvällä pohjalla ja tulevien vuosien aikana tutkimusta tulisi tehdä reaktion ja sen tuotteiden käytöstä erityisesti syöpärokotteissa ja älykkäissä materiaaleissa. Lisäksi olisi tärkeää tutkia enemmän reaktion käyttöä ja skaalaamista

kemianteollisuuden tarpeisiin, jotta valmistusprosesseista saataisiin nykyistä tehokkaampia ja kestävämpiä sekä taloudelle että ympäristölle.

---

**Avainsanat:** klik-reaktio, klik-kemia, TEC-reaktio, bio-ortogonaalinen, glykolyysi, hiilihydraattisynteesi, tioli, hiilihydraattijohdannainen

**Lyhenteet:**

Ac = acetyl group (asetyyliryhmä)  
AIBN = Azobisisobutyronitrile  
CuAAC = Copper(I)-catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition  
DMPA = dimethoxyphenyl acetophenone  
DMSO = Dimethyl sulfoxide  
DPAP = 2,2-dimethoxy-2-phenylacetophenone  
FTC = fluorescent-thio coupling  
NCL = native chemical ligation  
Ph = phenyl group (fenyyliryhmä)  
POSS = Polyhedral oligosilsesquioxanes  
SBL = Straudinger-Bertozzi ligation  
TEC = thiol-ene coupling  
TYC = thiol-yne coupling

**Sisällysluettelo:**

<b>1</b>	<b>Johdanto</b> .....	<b>4</b>
<b>2</b>	<b>TEC-reaktion ominaisuudet ja edut</b> .....	<b>6</b>
2.1	TEC-reaktion mekanismi ja ominaisuudet .....	6
2.2	TEC-reaktion etuja ja ongelmakohtia .....	8
<b>3</b>	<b>TEC-reaktio ja hiilihydraattisynteesi</b> .....	<b>10</b>
3.1	TEC ja sakkaridit .....	10
3.2	TEC ja aminohapot .....	12
3.3	Glykodendrimeerit ja glykoklusterit .....	12
<b>4</b>	<b>TEC-reaktion käytännön sovellukset</b> .....	<b>14</b>
4.1	Biopolymeerit .....	14
4.2	Lääketieteen sovellukset .....	14
4.3	Materiaalikemia .....	15
4.4	Muita tioli klik-reaktioita .....	15
<b>5</b>	<b>Johtopäätöksiä</b> .....	<b>17</b>
<b>6</b>	<b>Lähdeluettelo</b> .....	<b>18</b>



# 1 Johdanto

Erilaiset hiilihydraattikonjugaatit (engl. glycoconjugates) ovat yleinen ja laaja biomolekyylien ryhmä. Niiden käyttökohteita ja sovelluksia on lääketieteessä useita, kuten rokotteet, vasta-aineet ja terapeuttiset lääkehoidot. Elävissä olennoissa niitä on sitoutuneena solukalvoihin, jossa ne toimivat solukalvon tukirakenteena ja reseptoreina.<sup>1</sup> Fluoresenssisia hiilihydraattijohdannaisia käytetään biokuvantamiseen ja erilaisia koettimina.<sup>2</sup> Hiilihydraattikonjugaatteja käytetään myös biomateriaaleissa ja niiden sovelluksissa, sillä glykopolymeerit joista materiaalit koostuvat ovat hyvin selektiivisiä ja herkkiä.<sup>3</sup> Rakenteeltaan ne koostuvat hiilihydraattimolekyylistä, johon on sitoutunut yksi tai useampi muu biomolekyyli kovalenttisella sidoksella.<sup>4</sup> Usein nämä sidokset ovat erilaisia eetterisidoksia, kuten N-, O-, ja S-glykosididoksia. Hiilihydraattina toimivat sykliset mono-, di-, ja polysakkaridit, joihin sitoutuu muita hiilihydraatteja, lipidejä, aminohappoja ja nukleotidimäisiä. Niitä valmistetaan yleisesti glykosidaatio-reaktiolla.<sup>4,5</sup> Tässä valmistustavassa on kuitenkin bioyhteensopivuuteen ja reaktio-olosuhteisiin liittyviä ongelmia, jotka tuovat haasteita biomolekyylien muodostamiseen. Niitä ovat orgaanisten liuottimien ja metallia sisältävien katalyyttien välttämättömyys monissa reaktioissa, biomolekyylien muokkaus ennen synteisiä erilaisilla suojaryhmillä ja synteisiin sopivien lähtöaineiden rajallinen määrä sekä stereokemialliset haasteet.<sup>6</sup> Monet orgaaniset lähtöaineet ja katalyytit eivät ole vesiliukoisia, jolloin niiden hyödyntäminen käytännössä on vaikeaa. Lisäksi emäkset ja hapot vaurioittavat esimerkiksi proteiinien rakennetta ja voivat luoda ei-toivottuja vasteita eri funktionallisissa ryhmissä.<sup>7</sup> Myrkyllisten kemikaalien ja uusiutumattomien aineiden käyttö glykokonjugaattien valmistuksessa ei myöskään ole turvallista tai kestävä kehityksen mukaista.<sup>3</sup>

Vuonna 2001 esiteltiin klik-kemian termi Sharplessin, Kolbin ja Finnin toimesta. Kyseessä on reaktiokemian käsite, jolla viitataan reaktioihin, joissa lähtöaineet reagoivat keskenään vain tietyllä tavalla. Sitä voisi kuvailla palapeliksi, jossa palat napsahdavat paikoilleen tiettyyn kohtaan tietyllä tavalla. Artikkelissaan he listasivat ominaisuuksia, jotka reaktion mekanismin ja luonteen tulee täyttää jotta sitä voidaan kutsua click-reaktioksi.<sup>8</sup> Ominaisuudet ovat 1. Käytettävien lähtöaineiden määrä on laaja ja ne ovat helposti saatavilla. 2. Hyvin korkea saantoprosentti. 3. Joko ei lainkaan tai vain vaarattomia sivutuotteita. 4. Stereospeifinen (ei tarvitse olla enantiomeeri-spesifinen). 5. Yksinkertaiset ja helposti luotavat reaktio-olosuhteet. 6. Ei liuotinta tai kemiallisilta ominaisuuksiltaan neutraali liuotin. 7. Valmiin tuotteen puhdistukseen ei käytetä kromatografisia menetelmiä.<sup>8,9</sup> Klik-reaktiot ovat tyypiltään erilaisia additio- ja substituutioreaktioita ja ne on jaettu neljään pääkategoriaan reaktioissa käytettävien lähtöaineiden ja reaktiotyyppien mekanismien perusteella. Kategorioita ovat sykloadditiot, nukleofiilinen renkaanavaamisreaktio, epä-aldoli karbonyylireaktio ja additiot tyydyttämättömiin hiili-hiili-sidoksiin.<sup>8</sup>

Metallittomiksi klik-reaktioiksi määritellään ne reaktiot, joiden lähtöaineissa tai reaktiossa käytettävissä katalyyteissä ei ole metallia.<sup>10</sup> Ensimmäinen dokumentoitu metalliton klik-reaktio oli Staudinger-Bertozzin ligaatio (SBL) vuodelta 2000.<sup>11</sup> Tämän jälkeen on löydetty ja tutkittu useita muita

metallittomia klik-reaktioita, joista monet edellä mainitun tavoin ovat bio-ortogonaalisia, eli ne eivät häiritse luonnollisia biokemiallisia prosesseja.<sup>10-12</sup>

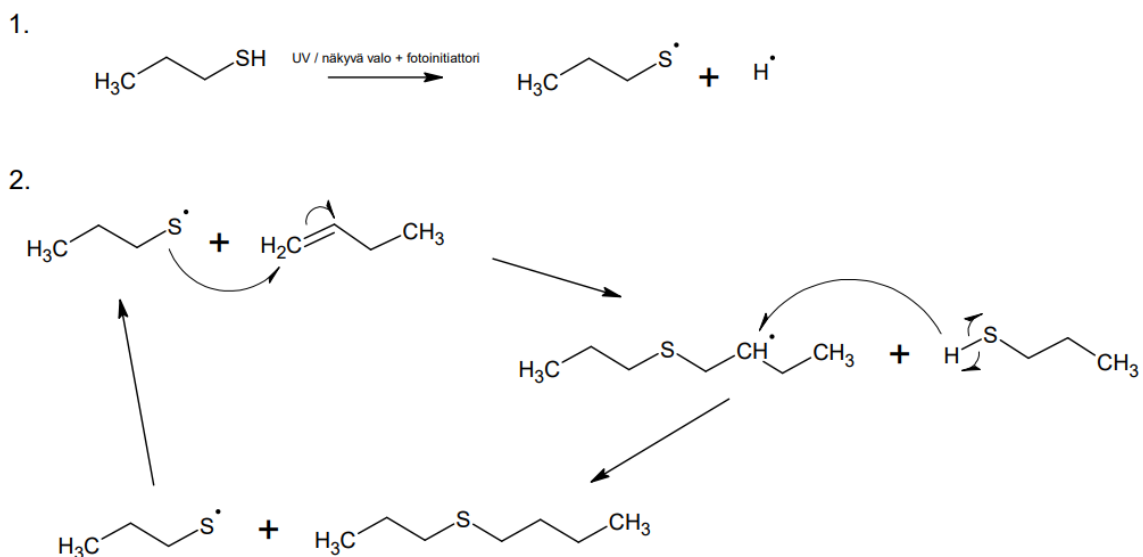
Thiol-ene coupling eli TEC-reaktio esiteltiin ensimmäisen kerran Posnerin artikkelissa vuonna 1905.<sup>9,10,13</sup> Kyseessä on metallittomiin klik-reaktioihin kuuluva additio. Eniten TEC-reaktiota käytetään glykokemiassa hiilihydraattijohdannaisten, kuten glykoproteiinien ja -lipidien konjugointiin ja sitä on käytetty niin mikro- kuin makrobiomolekyylien rakentamisessa ja modifioinnissa.<sup>10</sup> Tässä tutkielmassa tutustutaan TEC-reaktioon sekä teorian että käytännön tasolla. Ensin tutustutaan reaktion mekanismiin ja kemiallisiin ominaisuuksiin ja näiden aikaansaamiin hyötyihin ja ongelmakohtiin reaktion käytössä. Tämän jälkeen esitellään TEC-reaktion käyttö hiilihydraattijohdannaisten synteesissä. Lopuksi tutustutaan reaktion ja sillä valmistettujen tuotteiden käytännön sovellukseen lääke- ja materiaalikemiassa, sekä analysoidaan, miten reaktiota voidaan hyödyntää tulevaisuudessa.

## 2 TEC-reaktion ominaisuudet ja edut

Tässä kappaleessa käydään läpi TEC-reaktion mahdollisia reaktiomekanismeja, minkä lisäksi kerrotaan miksi TEC luokitellaan klik-reaktioihin. Lisäksi tutustutaan reaktion ominaisuuksiin, kuten siinä käytettyihin katalyytteihin ja millaiset olosuhteet ovat TEC-reaktiolle suotuisimpia reaktiomekanismin näkökulmasta. Kappaleessa tutustutaan myös reaktion mekanismin ongelmakohtiin ja esitetään keinoja niiden ratkaisemiseksi.

### 2.1 TEC-reaktion mekanismi ja ominaisuudet

TEC-reaktio perustuu vapaan radikaalin aikaansaamaan additioon merkptoradikaalin ja hiili-hiili-kaksoissidoksen välillä. Vapaan radikaalin reaktiossa muokataan merkptoryhmä ensin vapaaksi radikaaliksi hajottamalla merkptoryhmä radikalisoivan katalyytin avulla. TEC-reaktion mekanismi on vapaan radikaalin anti-Markonikov-additio, eli vapaa radikaali sitoutuu siihen kaksoissidoksen hiileen, johon on sitoutuneena enemmän vetyatomeja. Tämä johtuu siitä, että hiiliatomiin muodostuva sekundäärinen radikaali on stabiilimpi kuin primäärinen radikaali, joka muodostuisi jos radikaali merkptoryhmä sitoutuisi Markonikovin säännön mukaan. Reaktion lopussa on muodostunut uusi tioliradikaali, joka reagoi jälleen uuden alkeenin kanssa. Reaktio kulkee syklistä rataa, kunnes toinen lähtöaineista on kulunut loppuun. Tämän vuoksi vapaiden radikaalien alussa tarvittava määrä on pieni <sup>10,13</sup>. TEC voi tapahtua myös siten, että merkptoryhmä on nukleofiilin roolissa ja mekanismi on nukleofiilinen tai elektrofiilinen additio. Tämä vaikuttaa reaktiotuotteen stereoisomeriaan: nukleofiilin ja vapaan radikaalin reaktioissa tuote on lineaarinen ja elektrofiilisessä reaktiossa haaroittunut. Reaktiomekanismin ollessa elektrofiilinen additio lähtöaineet sitoutuvat Markonikovin säännön mukaisesti <sup>9</sup>. Tässä tutkielmassa keskitytään vapaan radikaalin reaktiomekanismiin, joka on esitetty kaaviossa 1.



**Kaavio 1.** 1. Tiolin merkaptoryhmän radikalisaatio UV-valon tai fotoinitiaattorin avulla. 2 Vapaan radikaalin TEC-additioreaktion mekanismi.

Käynnistyäkseen TEC-reaktio tarvitsee jonkin katalyytin, joka muokkaa tiolin merkaptoryhmän radikaaliksi. Katalyytti valitaan lähtöaineiden ja reaktio-olosuhteiden, kuten liuottimen perusteella<sup>9</sup>. Eniten tutkituimmat ja yleisimmät tavat reaktion käynnistämiseen ovat UV-valo tai näkyvä valo yhdistettynä johonkin fotoinitiaattoriin. Usein käytettyjä fotoinitiaattoreita ovat AIBN, DPAP ja DMPA<sup>10,14</sup>. Näkyvä valo voi myös pelkistää lisätyn katalyytin, jolloin pelkistynyt funktionaalinen ryhmä radikalisoii tiolin.<sup>15</sup> Limnios ja Kokotos<sup>16</sup> tutkivat vuonna 2017 erilaisten orgaanisten katalyyttien käyttöä reaktion tehostamiseksi. Parhaimman tuloksen he saavuttivat fenyyliglyoksyylilihapolla ja liuottimena he käyttivät tetrahydrofuraania. He tutkivat myös valon vaikutusta reaktion kulkuun ja havaitsivat, että kun valonlähde poistettiin reaktio lakkasi. Johtopäätöksenä voitiin todeta, että valonlähde on välttämätön reaktion aikaansaamiseksi.<sup>16</sup>

Munar ym. tutkivat liuottimen poolisuuden vaikutusta reaktion tehokkuuteen sen mekanismin eri vaiheissa.<sup>17</sup> Poolisena liuottimena he käyttivät vettä ja poolittomana diklorometaania. Kontrollimittauksen he suorittivat tyhjiössä. He tulivat siihen tulokseen, että liuottimen polaarisuudella on suurempi vaikutus hiiliradikaalin pysyvyyteen kuin radikaalin merkaptoryhmän pysyvyyteen ja reaktiivisuuteen, sillä muodostuneet varaukset vaikuttivat elektroninsiirtoon ja syntyneen hiiliradikaalin pysyvyyteen heikentävästi. Additioreaktion Gibbsin energia oli suurempi poolisessa liuottimessa, eli se vaatii enemmän ulkoista energiaa. Tästä voi päätellä, että kokonaisreaktio kannattaa suorittaa poolittomassa liuottimessa, koska tällöin ylimääräisiä varauksia syntyy vähemmän ja reaktio vaatii vähemmän ulkoista energiaa. Samassa artikkelissa Munar kollegoineen<sup>17</sup> tutki myös paikallisen ja ympäristön elektrofiilisyyden vaikutusta TEC-reaktion nopeuteen. Tulos oli hypoteesin mukainen, eli tioliradikaalin sitoutumista reaktiossa nopeutti radikaalin elektrofiilinen luonne ja nukleofiilinen vastaavasti hidasti sitä. Myös ympäristön elektrofiilisyyden kasvatti sitoutumisen nopeutta. Hiiliradikaalin kohdalla vaikutus oli päinvastainen: nukleofiilisyyden tehosti vetyradikaalin sitoutumista hiiliradikaaliin ja sekä ympäristön että hiiliradikaalin elektrofiilisyyden hidasti reaktiota.<sup>17</sup> Tämä tukee johtopäätöstä suorittaa reaktio poolittomassa liuottimessa, jotta radikaalien varaukselliset luonteet eivät heikkene ja reaktionopeus hidastu. Yleisiä TEC-reaktioissa käytettyjä liuottimia ovat esimerkiksi dikloorimetaani, tolueeni, vesi, metanoli ja DMSO.<sup>10,14</sup>

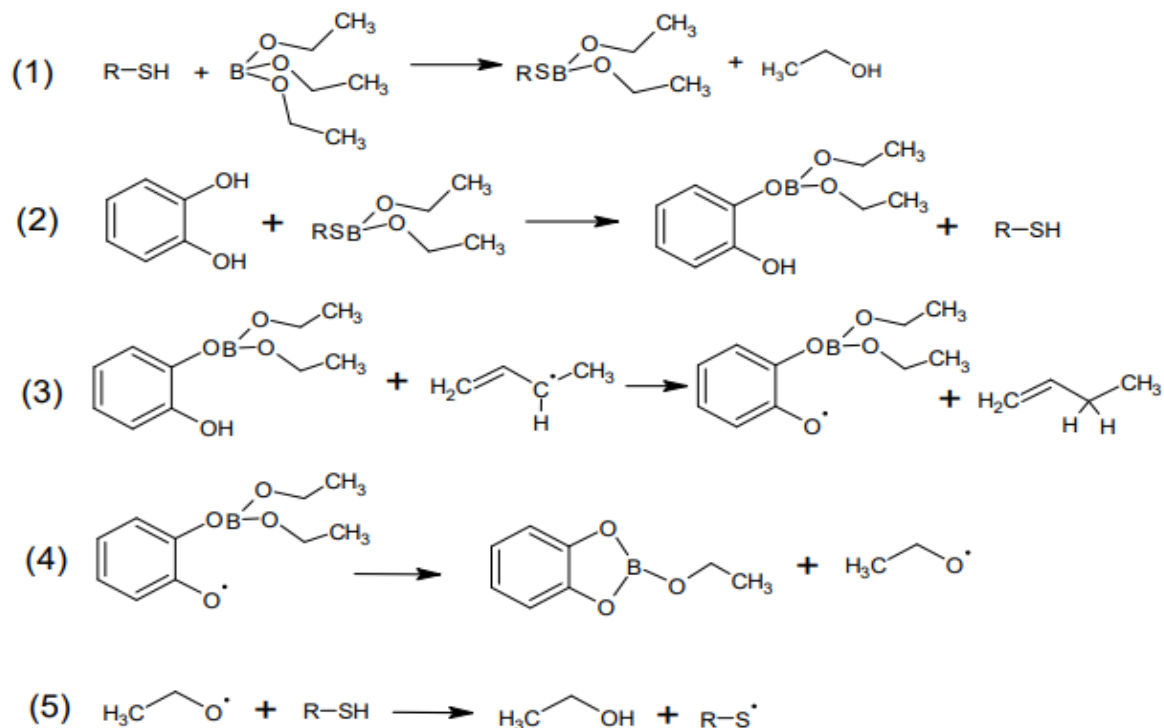
Vaikka TEC-reaktio tuottaa hyviä saantoja myös huoneenlämpötilassa, Borbás ym.<sup>18</sup> tekivät tutkimuksissaan johtopäätöksen, että alhainen reaktiolämpötila kasvattaa TEC-reaktion saantoprosenttia (suurimmat saannot tutkijoiden suorittamissa reaktiossa > 90 % saavutettiin noin -80 °C lämpötilassa) ja korkeassa lämpötilassa (kokeissa 50 °C) saanto oli alle 20 %, matalimmillaan 9 %. Tämä johtuu heidän mukaansa siitä, että hiiliradikaali on pysyvämpi matalammassa lämpötiloissa, jolloin vetyatomien todennäköisemmin sitoutuu toivotulla tavalla hiileen. Lämpötila, jossa reaktio suoritetaan vaikuttaa

myös stereoselektiivisyyteen. Alhaisissa lämpötiloissa stereoselektiivisyys oli suurempaa ja tähän samaa tulokseen päätyivät myös Kelemen ym.<sup>19</sup>, jotka tutkivat erityisesti 2,3 -tyydyttymättömien glykaanien TEC-reaktioita. Optimaalinen lämpötila ei kuitenkaan ole aina alin mahdollinen, vaan joissakin tapauksissa 0 °C tai huoneenlämpötila havaittiin reaktiolle sopivimmaksi. Huoneenlämpötilaa korkeampi lämpö johti kuitenkin poikkeuksetta alhaisiin saantoprosentteihin.

## 2.2 TEC-reaktion etuja ja ongelmakohtia

TEC-reaktion käyttöön liittyvät edut ovat suurilta osin yhteneväiset muiden metallivapaiden klick-reaktioiden kanssa. TEC:llä on myös tiettyjä etuja, jotka antavat sille sen maineen hyvin tehokkaana ja ”vihreän kemian” reaktiona. Ensimmäinen suuri etu on että se sietää happea ja vettä, jonka vuoksi reaktiosysteemiä ei tarvitse eristää eikä muutenkaan luoda poikkeuksellisia ääripään reaktio-olosuhteita, kuten täydellisen puhtaita ja kuivia astioita tai NTP-olosuhteista poikkeavaa painetta.<sup>12</sup> Toiseksi, se sietää hyvin useita reaktiivisia funktionaalisia ryhmiä, kuten OH-, COOH-, eetteri ja aminoryhmiä joita esiintyy paljon hiilihydraateissa ja aminohapoissa.<sup>20</sup> Tämän vuoksi lähtöaineisiin ei tarvitse lisätä suojarahmiä, kuten glykosidaatioissa. Hydroksiryhmien asetylaatio on kuitenkin yleinen toimenpide reaktiossa käytetyille hiilihydraateille. Kolmanneksi TEC:n reaktioajat ovat hyvin lyhyet, joissakin tapauksissa puhutaan muutamista minuuteista. Reaktio-olosuhteet ja lähtöaineiden funktionaalisten ryhmien tyypit ja sijainnit vaikuttavat reaktion nopeuteen. Reaktion nopeus määrittäytyy pitkälti sen perusteella kumpi reaktiomekanismin vaiheista kestää kauemmin, tämä on minuuttitaso vaikutus.<sup>17</sup> Lähtöaineiden rakenteen vaikutus reaktionopeuteen voi luoda tuntitaso eroja. Usein näissäkin tapauksissa reaktio ei kestä 6 tuntia kauempaa.<sup>10,21</sup>

TEC-reaktiolla, kuten muillakin reaktioilla, on rakenteellisia ja mekanismin liittyviä haasteita. Tioliradikaalien vapaa elektroni pyrkii vahvasti reagoimaan, mikä voi aiheuttaa ei-toivottuja sivureaktioita. Povie ym.<sup>22</sup> havaitsivat tilanteen, jossa vapaa tioliradikaali reagoi helposti irtoavien allyylivetyjen ja bentseenirenkaaseen sitoutuneiden vetyatomien kanssa alkeeniryhmään liittyneiden vetyatomien sijaan. Tämä katkaisee TEC-reaktioiden ketjun ja voi johtaa epätoivottuihin reaktiotuotteisiin. He kehittivät korjausprosessin, jossa he lisäsivät seokseen trietyliboraania ja katekolia (1,2-fenoli), jotka auttavat muodostamaan merkptoradikaalin uudelleen ja palauttavat sen irrottaman vetyatomien takaisin välituotteen radikaalihiileen. Tämän prosessin synteesireitti on esitetty kaaviossa 2.



Kaavio 2. Povie ym. kehittämä TEC-reaktion korjausprosessi trietyliboraanin ja katekolin avulla.<sup>22</sup>

Toinen TEC-reaktion mekanismiin liittyvä ongelma on, että tioliradikaalin additio on reversiibeli. Tämän seurauksena voi syntyä sivutuotteita vapaiden radikaalien reagoidessa toistensa kanssa.<sup>10</sup> Northropin ja Coffeyn<sup>21</sup> kokeiden mukaan tähän vaikuttaa additiossa muodostuneen radikalisoituneen hiilen sisältämän välituotteen stabiilius. He selvittivät, että reversiibelin reaktion mahdollisuus on suurempi, jos lähtöaine on konjugoitunut ja/tai kaksoissidoksen lisäksi yhdisteessä on muita reagoivia funktionaalisia ryhmiä sijainneissa, joissa ne voivat vaikuttaa radikaalien pysyvyyteen. Vaikka itse TEC-reaktio on immuuni hapelle ja vedelle, happi ja voimakkaasti hapettavat olosuhteet voivat hapettaa lähtöaineina toimivien biomolekyylien muita funktionaalisia ryhmiä, jolloin voi syntyä kilpailevia reaktioita.<sup>7</sup>

### 3 TEC-reaktio ja hiilihydraattisynteesi

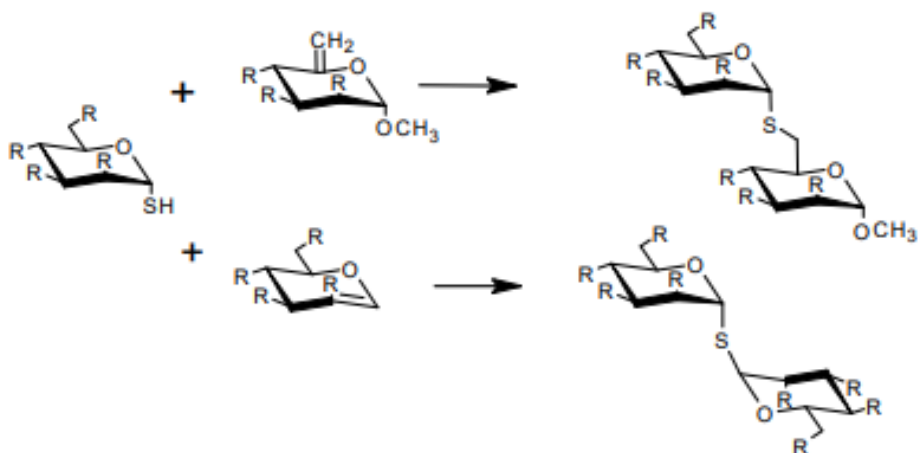
Ensimmäinen raportoitu kerta kun TEC-reaktiota käytettiin hiilihydraattikonjugaattien synteesissä oli vuonna 1988 Pavian ym. toimesta suoritettu koe, jossa he tutkivat viiden eri 1-tioglykosidin ja kuuden erilaisen alkeenin TEC-synteesiä ja saantoprosentit olivat 50-93 % välillä.<sup>10</sup> TEC-reaktio soveltuu hiilihydraattijohdannaisien synteesiin erityisesti selektiivisyytensä vuoksi.

Yleisin TEC-reaktion käyttökohde on erilaisten biomolekyylien valmistus ja muokkaus. Sen avulla pystytään valmistamaan niin monosakkarideja kuin monimutkaisia makromolekyyliä. Merkaptoryhmiä esiintyy luonnostaan joissakin hiilihydraateissa (tiosokereissa) ja aminohapoissa. Tioeetterisidos, joka reaktiossa muodostuu lähtöaineiden välille on havaittu olevan pysyvämpi happojen tai entsyymien läsnäollessa kuin perinteinen O-eetterisidos.<sup>10,23</sup>

#### 3.1 TEC ja sakkariidit

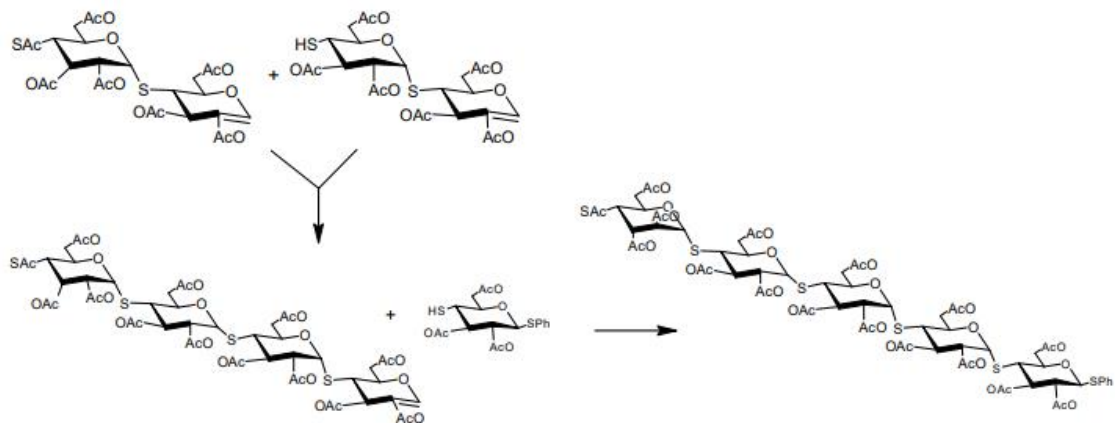
Yksi rakenteellisesti yksinkertaisimpia tuotteita, joita TEC-reaktiolla valmistetaan, ovat S-glykosididoksen kautta linkittyneet disakkaridit. Ne koostuvat kahdesta syklisestä monosakkaridista, jotka ovat sitoutuneet tioasetaalidoksella. Esimerkki disakkaridien muodostumisesta TEC-reaktiolla esitetään kaaviossa 3.

Di- ja oligosakkareiden synteesissä monosakkareiden funktionaalisia ryhmiä voidaan joutua muokkaamaan, jotta saadaan muodostettua TEC-reaktiossa reagoivat funktionaaliset ryhmät liitettäviin monosakkarideihin ja valmistetun ketjun päihin. Lázár ym.<sup>24</sup> kuvasivat, miten monosakkarideihin muodostetaan merkapto- ja alkeeniryhmiä sakkariideissa olevissa AcS- ja PhS-ryhmistä. C4-hiileen sitoutuneista AcS-ryhmistä tehtiin deasetylaation avulla merkaptoryhmiä erinomaisella > 90 % saannolla. C1-hiileen sitoutuneiden PhS-ryhmien muokkaaminen alkeeniryhmiksi suoritettiin kaksivaiheisella eliminaatioreaktiolla bromin ja DBU:n kanssa, puhdistuen tuote välissä kromatografisesti. Tässä reaktiossa halutun tuotteen saanto oli huomattavasti pienempi, noin 50 %. He suorittivat nämä samat reaktiot myös edellä muokatuista monosakkarideista TEC-reaktion avulla muodostetulle disakkaridille. Deasetyloidun disakkaridin saanto oli 78 % ja eliminaatioreaktiolla käsitellyn disakkaridin vain 25 %. Endosyklisen alkeeniryhmän muodostaminen käytettävään monosakkaridiin ei siis ole läheskään yhtä tehokas ja taloudellinen tapa luoda TEC-reaktiolle sopivia lähtöaineita.



Kaavio 3. Disakkaridien muodostus monosakkarideista TEC-reaktiolla, kun reagoiva alkeeni ryhmä on endo/eksosyklinen. R = AcO-ryhmä.

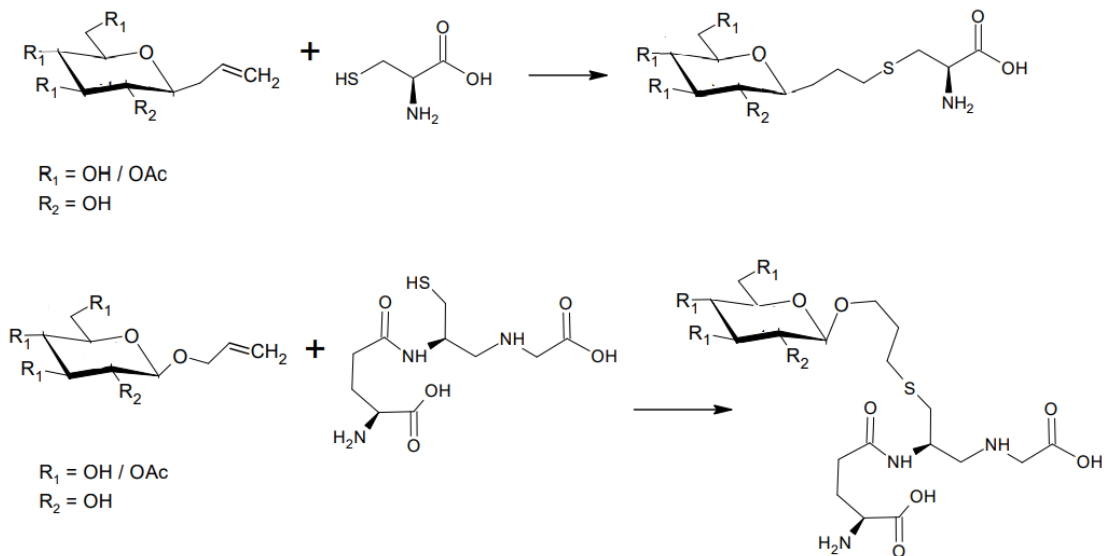
Sakkaridiketjuja voidaan kasvattaa TEC-reaktion avulla sekä mono- että disakkarideilla, kuten kaaviossa 4 on esitetty. Tämä mahdollistaa rakenteeltaan monipuolisten oligosakkaridien synteesin.<sup>10,23,24</sup> Myös valmiiden oligosakkaridien modifikaatiota TEC-reaktion avulla on tutkittu. Xia ym.<sup>25</sup> suorittivat COS-oligosakkaridin modifikaation kahdessa vaiheessa: 1. 3-bromipropreenin nukleofiilinen additio ja 2. tiopromiinin liittäminen TEC-reaktiolla, jolloin muodostui tehokkaampia antibakteerisia ominaisuuksia omaava COS-All-Tio -oligosakkaridi. Vaikka reaktiossa ei tarvitse käyttää suojaryhmiä, lähtöaineina toimivien sakkaridien rakenne ja funktionaaliset ryhmät vaikuttavat reaktion tehokkuuteen. Esimerkiksi Kelemen ym.<sup>19</sup> tutkivat miten monosakkaridin 1-hiilen sitoutuneet erilasten sidosmolekyylien asetaalisidokset vaikuttavat TEC-reaktion saantoon ja kinetiikkaan, kun samassa monosakkaridissa oleva TEC-reaktiossa reagoiva alkeeniryhmä sijoittuu monosakkaridin 2- ja 3-hiiliin. Kokeissa tämä monosakkaridi reagoi toisen monosakkaridin kanssa, jonka 1-hiileen oli sitoutunut merkatoryhmä, joka reagoi TEC-reaktiossa. He havaitsivat, että O- ja N-asetaalisidokset saivat aikaan stereoselektiivisyyttä kun taas C-asetaalisidos esti reaktion ja S-asetaalisidoksen tapauksessa tapahtui vääränlainen reaktio. Tästä voidaan päätellä, että reaktio on tehokkain silloin kun alkeeniryhmän omaavassa monosakkaridissa 1-hiileen on sitoutunut joko happi- tai typpi-atomi ja siihen liittynyt mahdollinen hiiliketju.



Kaavio 4. Oligosakkaridien muodostus mono- ja disakkaridesta TEC-reaktion avulla.

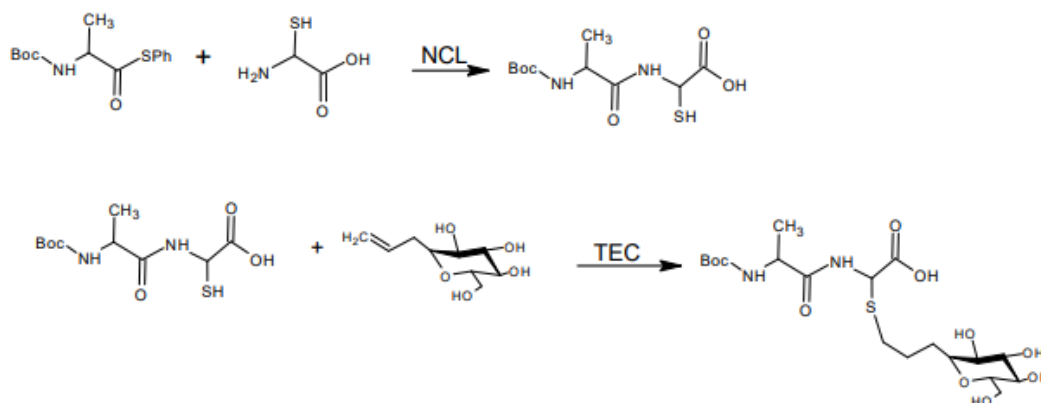
### 3.2 TEC ja aminohapot

TEC:n käyttö aminohappojen ja proteiinien modifikaatiossa hiilihydraateilla tai muilla pienikokoisilla molekyyileillä on reaktiomekanismin eniten käytännössä sovellettu käyttökohde. Glykopeptidejä käytetään monissa lääketieteen sovelluksissa, kuten vasta-aineissa ja koettimissa joilla tunnistetaan soluja ja taudiaiheuttajia.<sup>10</sup> Luonnon aminohapoista vain kysteini sisältää merkaptoryhmän ja tämä reagoi esimerkiksi monosakkaridin kanssa. Kaaviossa 5 on esitetty yksittäisen kysteiniin ja suuremman glutationin modifikaatio. Näissä esimerkeissä merkaptoryhmä on kiinni peptidiketjussa, mutta reagoivat funktionaaliset ryhmät voivat olla sijoittuneena myös toisinpäin. Zhang ym.<sup>6</sup> kuvaavat artikkelissaan esimerkkejä, jossa merkaptoryhmä on kiinni hiilihydraatissa ja modifioituihin peptideihin on liitetty alkeeniryhmä. Myös Kaur ym.<sup>15</sup> suorittivat TEC-reaktioita tiosokerin ja erilaisten asparagiinihappojohdannaisien välillä ja saadut saannot olivat jokaisessa synteesissä yli 70 %. Kaaviossa 5 on esimerkki tiosokerin ja alkeeniryhmän sisältävän peptidijohdannaisen TEC-reaktiosta.



Kaavio 5. Yllä kysteiinin ja monosakkaridin TEC-reaktio, jossa muodostuu glykolysoitu aminohappo. Alla sama reaktio, jossa lähtöaineena on glutationi.

Hyvin spesifejä glykopeptidejä saadaan tehtyä yhdistämällä TEC natiiviligaatioon NCL (eng. native chemical ligation).<sup>26</sup> Reaktiossa yhden lähtöaineena toimivan peptidin tioesteröitynyt ryhmä sitoutuu toisen peptidin kysteiinin vapaaseen aminoryhmään muodostaen amidisidoksen ja siten suuremman peptidin, jonka kysteiinin merkaptoryhmä reagoi TEC:ssä hiilihydraatin kanssa. Esimerkki reaktion kulusta on esitetty kaaviossa 6. Markey ym.<sup>26</sup> esittivät artikkelissaan myös NCL-TEC-reaktiosyklin, jossa glykopeptidin vapaasta karboksyylihapporyhmästä tehdään tioesteri, johon uusi oligopeptidi sitoutuu natiiviligaatiossa. Tämä mahdollistaa suurien modifioitujen oligopeptidien synteesin kiinteän faasin peptidisynteesin kautta.



Kaavio 6. Glykopeptidin valmistus käyttäen NCL- ja TEC-reaktioita.

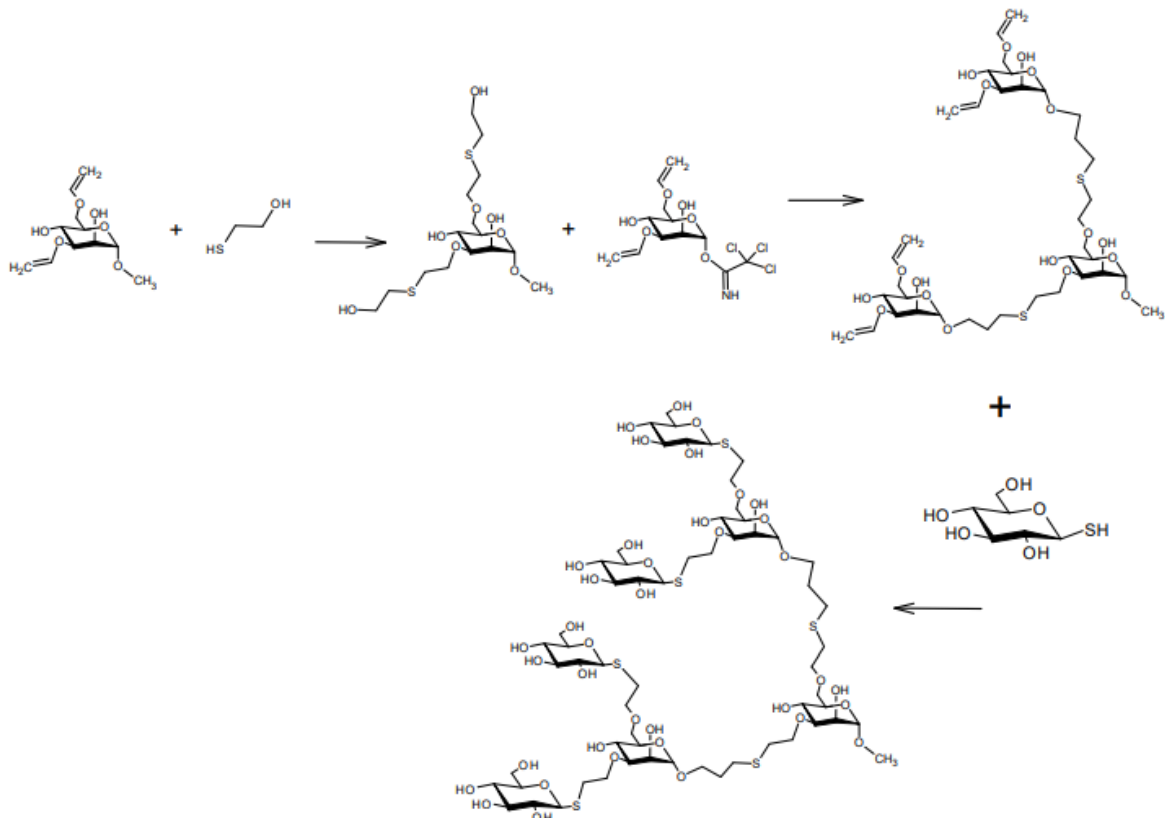
Peptidien glykosylaation lisäksi proteiineja voidaan modifioida muillakin tavoilla TEC-reaktiota käyttäen. Nolan ja Scalan<sup>27</sup> listaavat artikkelissaan TEC:n avulla tehtäviä proteiinien modifikaatioita,

kuten syklisaatio ja silloittaminen, lipopeptidien synteesi ja fluorensensoivien ryhmien liittämisen merkitseväksi leimaksi proteiiniin.

### 3.3 Glykodendrimeerit, -klusterit ja -nukleosidit

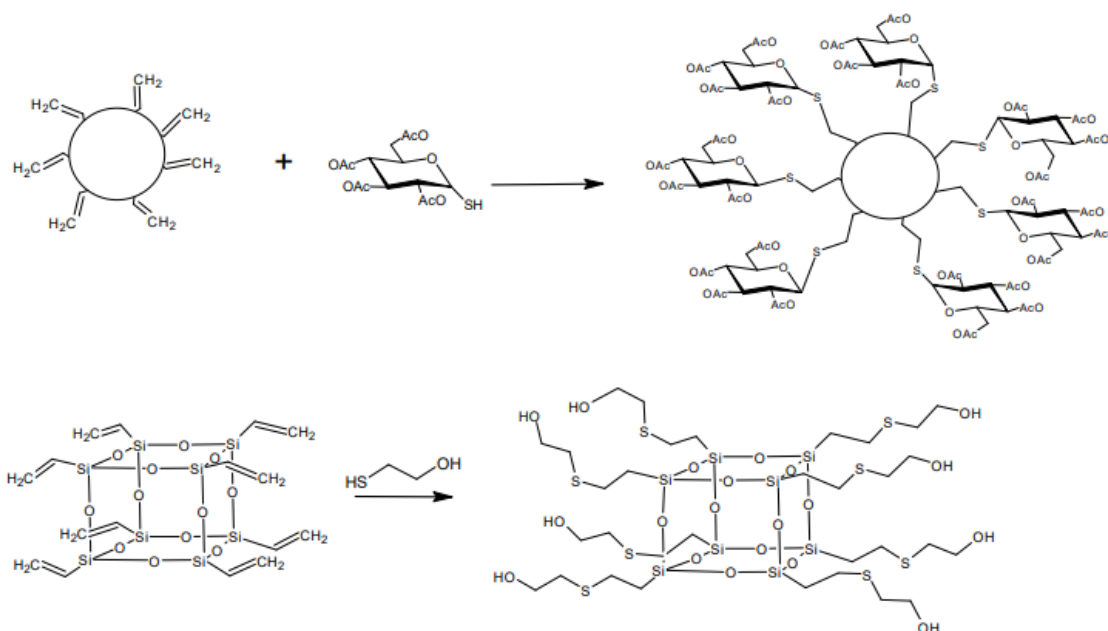
Glykodendrimeerit ovat rakenteeltaan voimakkaasti haaroittuneita, yhdestä ydinmolekyylistä laajenevia makromolekyyliä. Glykodendrimeerejä käytetään lääkkeiden kuljetukseen ihmiskehossa. Tämä perustuu siihen, että dendrimeerit imitoivat soluseinän pinnalla olevaa glykokalyksiä.<sup>23</sup> Koska dendrimeerit ovat usein sisältä hydrofobisia ne ovat todella hyödyllisiä suurien ja niukkaliukoisten lääkemolekyylien pakkaamiseen ja kuljetukseen.<sup>10</sup> TEC-reaktion avulla dendrimeereihin kiinnitetään sakkarideja ja pidennetään sakkaridien välistä hiiliketjua (kaavio 7).<sup>10,23</sup>

Killops ym.<sup>28</sup> syntetisoivat viisi erikokoista dendrimeeriä joissa 2,4,6-triallyylioksi-1,3,5-triatsiiniin sitoutui TEC-reaktiolla 1-tioglyseroleja ja muodostunutta dendrimeeriä kasvatettiin 4-penteenihappoanhydridillä käyttäen esterifikaatiota, jolloin alkeeniryhmiin sitoutui TEC-reaktiolla lisää 1-tioglyseroleja. He lisäsivät dendrimeerin ketjujen päihin onnistuneesti erikokoisia biomolekyyliä. TEC-reaktion käyttö sekä dendrimeerin kerroksittaisessa rakennuksessa että sen viimeistelyssä luo mahdollisuuksia syntetisoida laajasti ja tehokkaasti uusia kantajamolekyyliä lääketieteellisuuden tarpeisiin.<sup>29</sup>



Kaavio 7. Glykodendrimeerihaarakkeen synteesi ja kasvatus TEC-reaktion ja trikloridiamidiryhmän substituution avulla.

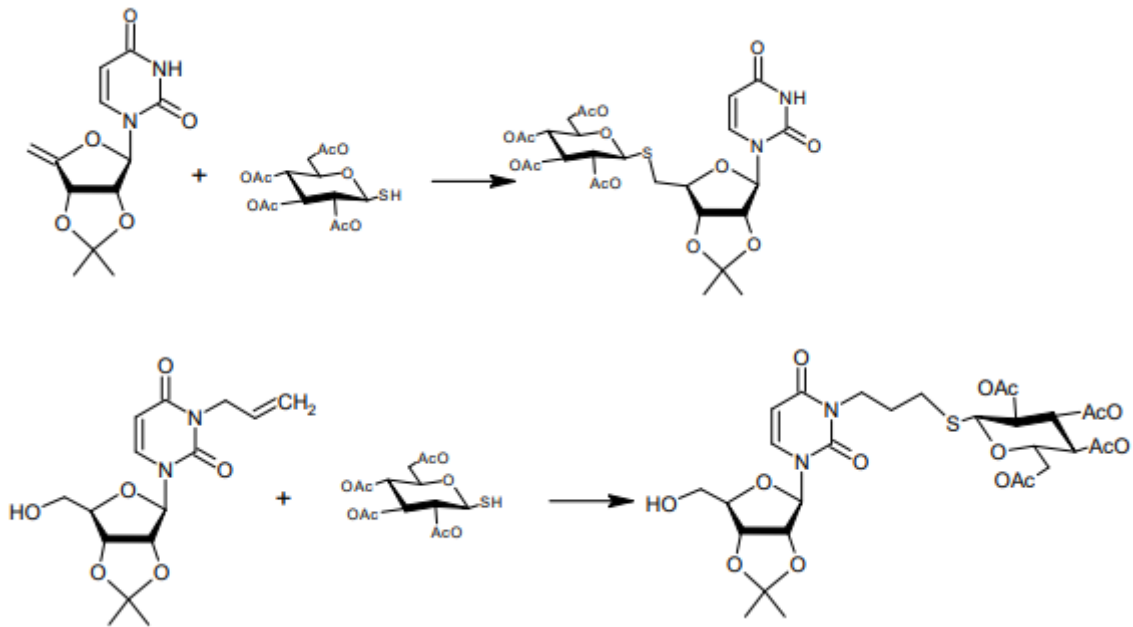
Glykoklusterit ovat tasamuotoisia ja usein pienikokoisempia verrattuna dendrimeereihin. Ne koostuvat jäykästä ydinrakenteesta ja siihen sitoutuneista lyhyistä haaroista. Eräs TEC-reaktion avulla modifioitava glykoklusteri on syklodekstriini. McSweeney ym.<sup>20</sup> esittelivät artikkelissaan syklodekstriinien funktionalisaation TEC-reaktion avulla, sillä se oli havaittu muilla synteesireiteillä epätoimivaksi (kaavio 8.). TEC-reaktion avulla esimerkiksi merkaptoryhmän sisältäviä monosakkarideja ja pieniä tioleja sitoutui syklodekstriiniin. Toinen useasti valmistettu glykoklusteri on polyedrinen oligosilsekskvioksaani (POSS), jossa ydinrakenne on piistä ja hapesta muodostuva kuutio, jonka kulmiin voi sitoutua monipuolisesti erilaisia molekyyliä, kuten sakkkarideja.<sup>10</sup> Dondoni ja Marra<sup>23</sup> sekä McSweeney<sup>20</sup> ovat raportoineet menetelmistä, joilla POSS-rakenteeseen on liitetty sakkkarideja TEC-reaktiolla. Esimerkki POSS-rakenteen modifikaatiosta monosakkarideilla on esitetty kaaviossa 8.



Kaavio 8. Yksinkertaistetun syklodekstriinin (yllä) modifikaatio monosakkaridilla ja POSS-rakenteen (alla) modifikaatio 2-merkaptotaanolilla.

Sokerien liittäminen nukleosideihin voi tapahtua joko sokeriosaan tai emäksen aminoryhmään. Monosakkardi on kyetty sitomaan TEC-reaktiolla esimerkiksi uridiinin furanoosisokeriin liitettyyn eksosykliseen kaksoissidokseen.<sup>18</sup> Kaur ym.<sup>15</sup> artikkelissa esitetään myös, kuinka tiosokeri ja kysteiinijohdannainen ovat sitoutuneet TEC-reaktiolla modifikoitun uridiinin emäosan N3-ryhmän alkeeniketjuun (kaavio 9). Tämän lisäksi myös muitakin nukleosideja voidaan modifikoida TEC-reaktiolla. Bege ym.<sup>30</sup> syntetisoivat ribotymidiinin ja uridiinin johdannaisia suurella määrällä erilaisia TEC-reaktioon sopivilla, merkaptoryhmän omaavilla yhdisteillä. Synteesien saannot olivat lähes aina yli 50 %, erityisesti reaktiot jotka suoritettiin -80 °C lämpötilassa tuottivat suuremman saannon verrattuna huoneenlämpötilassa suoritettuun vastaavaan synteesiin. TEC-reaktiossa reagoiva

alkeeniryhmä sijaitisi aina furanoosiryhmässä-. Kaurin ym. suorittamissa reaktioissa, joissa nukleosidin emäsosaan liitettyyn alkeeniin sitoutui TEC-reaktiolla monosakkaridi ja aminohappo saannot olivat 78 ja 86 %. Tämä viittaisi siihen, että sopivilla modifikaatiolla myös nukleosidien emäsosaan voisi liittää pieniä biomolekyyliä TEC-reaktion avulla. Tämä voisi mahdollistaa uudenlaisten biomolekyylien luomisen esimerkiksi geeniterapian käyttöön.



Kaavio 9. Urasidiinijohdannaisten modifikaatio monosakkaridilla käyttäen TEC-reaktiota.

## 4 TEC-reaktion käytännön sovellukset

TEC-reaktiota ja sillä valmistettuja molekyyliä on sovellettu moniin innovaatioihin niin materiaalikemiassa kuin lääketieteessä.<sup>13</sup> Seuraavaksi esitellään muutamia esimerkkejä siitä, miten TEC-reaktiota ja sillä luotuja biomolekyyliä on käytännössä sovellettu lääketieteessä ja materiaaliteknologiassa. Lisäksi osiossa esitellään lyhyesti muita tioli-klik-kemian reaktioita, joita TEC-reaktion ohella on löydetty ja tutkittu.

### 4.1 Lääketieteen sovellukset

Yksi tärkeimpiä sovelluskohteita TEC-reaktiolle on lääkemolekyylien synteettinen valmistus ja muokkaus. Reaktion avulla on muodostettu makrobiomolekyyliä, joita on käytetty rokoteaineiden kehittämisessä ja parantelussa. Wright ja hänen kollegansa<sup>31</sup> syntetisoivat itseadjuvoivissa rokotteissa (eng. self-adjuvanting vaccines) käytettyjä lipopeptidejä TEC-reaktion avulla yksinkertaisesti ja tehokkaasti ilman suojaryhmien tai myrkyllisten katalyyttien käyttöä. He säätivät reaktio-olosuhteita kuten käytettyä liuotinta ja reaktion katalyyttejä ja saivat tulokseksi 90-95 % saannon lipopeptidejä, joilla oli suuri bioaktiivisuus verinäytteissä. TEC-reaktio ei myöskään tuhoa lipopeptidien sisältämiä antigeenejä, jotka luovat elimistössä rokotteen immuunivasteen.<sup>31</sup> Toinen rokotteissa käytetty johdannaisten ryhmä on polysakkaridijohdannaiset, joissa antigeenin sisältävät peptidit reagoivat TEC-reaktiossa polysakkaridien kanssa suurella tarkkuudella. Tämä poistaa epävarmuuden rokotteiden rakenteen oikeasta muodosta ja tekee niiden käytöstä ja saaduista tuloksista luotettavampia.<sup>39</sup>

Iwasaki ym. tutkivat kahden toisistaan vain metyyliiryhmän verran poikkeavien nisäkässolun pinnan hiilihydraattien vastetta TEC-reaktiolle käyttäen fluoresenssia.<sup>32</sup> He tulivat siihen tulokseen, että TEC-reaktio on toimiva työkalu solun pintamolekyylien muokkaamiseen, mikä mahdollistaa sen hyödyntämisen lääketieteessä esimerkiksi syöpien hoidossa ja biokuvantamisessa. TEC-reaktiota ja sillä valmistettuja yhdisteitä voidaan käyttää koettimina ja biomarkkereina, jolloin niillä voidaan havaita merkkejä eri sairauksista ja niiden aiheuttajista. Choi ym. syntetisoivat kysteiinin vapaan merkaptoryhmän sisältäviä polypeptidejä ja analysoivat niissä TEC-reaktion aikaansaamaa fluoresenssia.<sup>7</sup> Reaktion luonne ja laaja mahdollisten lähtöaineiden kirjo mahdollistaa uusien biomarkkereiden kehittämisen ja TEC:n regioselektiivisuus tekee markkereista luotettavia.<sup>27</sup>

TEC-reaktiolla valmistettuja glykopeptidejä käytetään synteettisten rokotteiden valmistuksessa ja oligosakkarideja terapeuttisiin hoitoihin.<sup>23</sup> Yksi keskeinen tutkimuskohde on valmistettujen glykopeptidien käyttö syöpää hoitavissa rokotteissa. TEC:n avulla kantajaproteiineihin liitetyt, kasvainsolun hiilihydraatteja mallintavat glykopeptidit voidaan kuljettaa ihmiskehoon, jossa ne vahvistavat kehon immuunijärjestelmää syöpäsoluja vastaan.<sup>20</sup> Yksi TEC-reaktion heikkous sen

soveltamisessa on, että reaktio ei ole täysin bio-ortogonaalinen. Sitä ei siis voi suorittaa elävissä eliöissä. Tämä johtuu vapaista radikaaleista, jotka esimerkiksi ihmisen elimistöön joutuessa olisivat karsinogeenisiä ja voisivat alkaa reagoida ei-toivotulla tavalla. Tämä vaikeuttaa reaktion suorittamista *in vivo* mutta reaktion käyttö *in vitro* tulee varmasti kehittymään entisestään<sup>10,32</sup>.

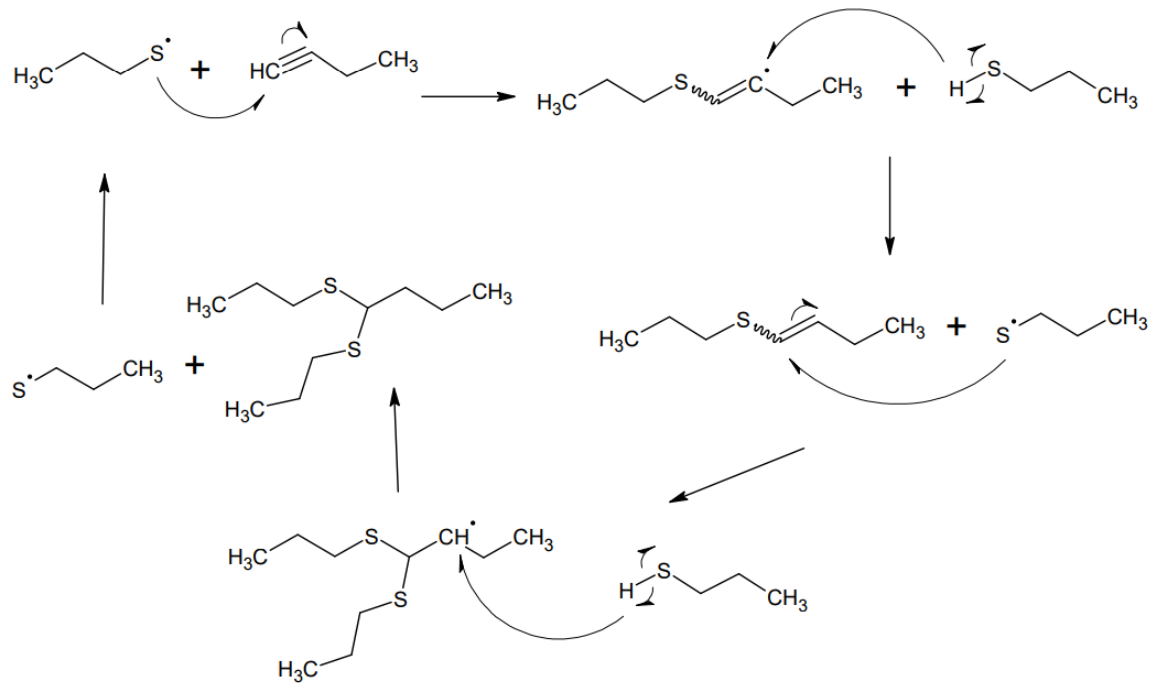
## 4.2 Materiaalikemia

TEC-reaktion käyttöä erilaisten biomateriaalien valmistukseen on tutkittu monipuolisesti. Tällaisia materiaaleja ovat erilaiset älykkäät pinnoitteet. Hiilihydraatit ovat biologisesti ja reaktiivisesti monipuolisia yhdisteitä, minkä lisäksi ne ovat ympäristöystävällisiä.<sup>33</sup> Esimerkki TEC-reaktion avulla valmistettavasta älykkästä materiaalista ovat hydrogeelit. Siinä reaktion etuja ovat nopea faasinmuutos geelimäiseksi ja mahdollisten lähtötuotteiden laaja kirjo, sillä radikaali ei reagoi muiden funktionaalisten ryhmien kanssa.<sup>34</sup> Sanz del Olmo ym. syntetisoivat hydrogeelissä käytettäviä glykodendrimeerejä TEC-reaktiota käyttäen. Näin hydrogeelistä tuli rakenteeltaan helposti uusiutuva ja ominaisuuksiltaan muokattava. Antibakteerisia ominaisuuksia ja mikrobien varastointikykyä tehostettiin lisäämällä rakenteeseen kysteiniä. Niiden havaittiin myös olevan bioyhteensopivia ihmisen ihosolujen kanssa, mikä tekee niistä kiinnostavia lääkekehityksessä.<sup>35</sup> Toinen laajasti hyödynnettävä aine jota TEC-reaktion avulla valmistetaan ovat nanogeelit, joilla on useita käyttökohteita kliinisessä lääketieteessä, kuten lääke- ja biomolekyylien kuljetus, nanorokotteet ja anti-mikrobiset aineet.<sup>36</sup> Nanogeelien valmistuksessa TEC-reaktion etuna on sen selektiivisyys mikä mahdollistaa halutun rakenteen synteessin tarkasti ja luotettavasti. TEC:n avulla voidaan valmistaa monimutkaista molekyyliverkostoja eikä lopputuotteita tarvitse puhdistaa pitkällä ja monivaiheisilla metodeilla.<sup>36,37</sup>

TEC-reaktiolla voidaan syntetisoida biomolekyyleistä valmistettuja pinnoitteita joiden rakenne on helposti muokattavissa, minkä ansiosta pinnoitteisiin on mahdollista tuoda erilaisia ominaisuuksia. Boyère ym. valmistivat TEC- ja TYC-reaktioilla hiilihydraattijohdannaisia, joissa hiilihydraattina toimi 6-O-(3-merkaptopropanyyli)-D-mannopyranoosi, johon liitettiin pitkäketjuisia alkeeneja ja alkyynejä. Näin muodostui glykolipidejä, joilla oli hydrofiilinen sokeriosa ja hydrofobinen lipidiosa. Valmistettuja molekyylien jännitettä veden ja ilman rajapinnassa tutkittiin ”nousevan kuplan tekniikalla”. Johtopäätöksissä todettiin TEC-mekanismilla valmistettujen glykolipidien olevan pinnoitteena olosuhteisiin mukautuvaisia ja ominaisuuksiltaan helposti muokattavia verrattuna CuAAC-reaktiolla valmistettuihin verrokkimolekyyliihin.<sup>38</sup> Pinnoitteissa voi olla joko alkeeni- tai merkaptoryhmiä, jotka reagoivat UV-valon tai näkyvän valon vaikutuksesta. Tätä käytetään esimerkiksi biologisissa koettimissa.<sup>13</sup>

### 4.3 Muita tioli-klik-reaktioita

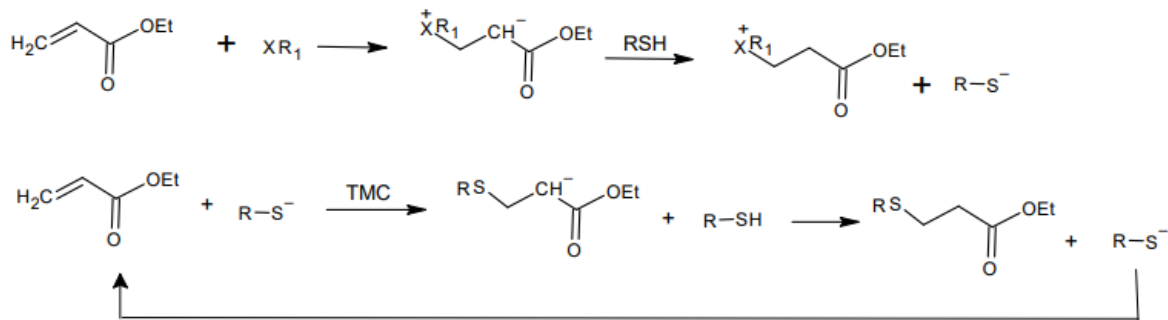
Tioli-klik-reaktioita on monenlaisia, sillä tioliradikaali on hyvin reaktiivinen, mutta kuitenkin valikoiva. TEC-reaktiosta on olemassa erilaisia variaatioita, joissa mekanismi vaihtelee hieman lähtöaineiden funktionaalista ryhmistä ja niiden sijainnista riippuen. TYC-reaktio on tästä esimerkki (kaavio 10). Se noudattaa samaa mekanismia kuin TEC-reaktio, mutta hajotettavana sidoksena toimii alkeenin sijasta alkyyni. Näin samaan sidokseen voi reagoida kaksi tioliradikaalia.



Kaavio 10. TYC-reaktion reaktiomekanismi.

Toinen variaatioesimerkki on, kun hiili-hiili-kaksoissidos on konjugoitunut karbonyyliryhmän kanssa. Tällöin reaktiomekanismina toimii anti-Markonikov-Michaelin additio<sup>33</sup>. Tätä reaktiota katalysoi jokin nukleofiili, joista usein käytettyjä metallivapaita nukleofiileja ovat esimerkiksi emäkset.

Kun nukleofiili hyökkää beta-hiileen, muodostuu enolaatti-ioni, joka deprotoi tiolin. Tiolin hyökkäys toisen molekyylin beta-hiileen saa aikaan samanlaisen nukleofiilin. Syntynyt nukleofiili hyökkää toiseen kaksoissidokseen ja syntyy samanlainen reaktiosykli kuin TEC-reaktiossa (kaavio 11).<sup>13</sup> Reaktio ei kuitenkaan ole yhtä laajasti sovellettavissa kuin TEC sillä muiden nukleofiilien, erityisesti aminohappojen läsnä ollessa kemoselektiivisyys laskee ja muodostuu sivutuotteita <sup>7</sup>.



Kaavio 11. Tioli-Michaelin addition reaktiokaavio.

Fluori-tioli-reaktiossa klik-reaktio tapahtuu merkaptoryhmän ja *para*-asemassa olevan fluoriatomin kesken 2,3,4,5,6-pentafluoridibentseenissä. Rengas on tällöin sitoutuneena funktionaalisenä ryhmänä johonkin orgaaniseen molekyyliin, esimerkiksi pitkäketjuiseen karboksyylihappoon. Myös tämä reaktion mekanismi on nukleofiilinen additio.<sup>11,14</sup> Tioli-klik-reaktioita voi tapahtua myös muiden halogeenien, kuten kloorin ja bromin kanssa. Muitakin klik-reaktion kriteerit täyttäviä tiolireaktioita on mutta niiden sovellusta glykokonjugaattien synteisiin ei ole riittävän laajasti tutkittu.<sup>14</sup>

## 5 Johtopäätöksiä

TEC-reaktion kaksi selkeästi suurinta hyötyä, jotka nousevat esiin kaikissa tutkimuksissa, ovat reaktion selektiivisyys ja kemiallisesti neutraalit, helposti ja edullisesti toteutettavat reaktio-olosuhteet. Reaktiolla valmistettujen hiilihydraattijohdannaisten ja niiden valmistuksessa käytettävien lähtöaineiden laaja kirjo osoittaa TEC-reaktion monipuolisuuden ja sopeuttamiskyvyn biokemian tarpeisiin. Tutkimusten perusteella TEC-reaktiolla voidaan syntetisoida hiilihydraattijohdannaisia paljon monipuolisemmin kuin glykolyysillä, sillä se mahdollistaa neoglykojohdannaisten, eli pelkästään synteettistä aineista valmistettavien hiilihydraattijohdannaisten valmistuksen. Tämä luo mahdollisuuden valmistaa tarkasti ja tehokkaasti molekyyliä halutulla rakenteella ja ominaisuuksilla.

Lähtöaineet reagoivat toistensa kanssa hyvin tarkasti, mutta reaktion tehokkuutta voi lisätä säätämällä olosuhteet mahdollisimman edullisiksi. Liuottimen ja mahdollisten fotoinitiaattoreiden polaarisuus, lähtöaineiden stereokemiallinen rakenne ja funktioisomeria luovat ryhmien välisiä varauksia, jotka hidastavat reaktiota ja voivat vähentää saantoa. Myös reaktiolämpötila vaikuttaa saannon suuruuteen, joissakin tapauksissa hyvin voimakkaasti. Reaktiolle optimaalisista olosuhteista kertova tieto on hajanaista, vaikka sitä on tutkittu laajasti koko 2000-luvun ajan. Olosuhteiden vaikutuksesta ja reaktion mekanismin heikoista kohdista olisi hyvä laatia kattava kokonaisvaltainen selvitys, joka helpottaisi reaktion käyttöä käytännön sovelluksissa.

TEC-reaktion käyttö biopolymeerien valmistuksessa on laajasti tutkittu ja sen avulla pystytään valmistamaan suuria ja monimutkaisia molekyyliarakenteita ilman monivaiheisia synteeseireittejä ja kalliita, myrkyllisiä katalyyttejä. Valmistettujen biopolymeerien ja muiden makromolekyylien käyttöä eri kemian osa-alueilla on tutkittu paljon ja hyvällä menestyksellä viime vuosina. Sovelluskohteita on laajasti lääketieteessä ja tulevaisuuden materiaalien valmistuksessa. Lähitulevaisuudessa tutkimus jatkuu ja reaktiota toivottavasti aletaan enenevässä määrin käyttää suuremmalla skaalalla teollisuuden eri aloilla tehden monien tuotteiden valmistusprosesseista taloudellisesti ja ekologisesti kestävämpiä.

## 6 Lähdeluettelo

1. Rodrigues Reis, C. E. *et al.* Lignocellulosic biomass-based glycoconjugates for diverse biotechnological applications. *Biotechnol. Adv.* **68**, 108209 (2023).
2. Thomas, B. *et al.* Fluorescent glycoconjugates and their applications. *Chem. Soc. Rev.* **49**, 593–641 (2020).
3. Malviya, H., Thapa, S. & Singh, J. Recent advancements in glycopolymer-based sustainable biomaterials for biomedical sensing. *Carbohydr. Res.* **555**, 109561 (2025).
4. Shivatare, S. S., Shivatare, V. S. & Wong, C.-H. Glycoconjugates: Synthesis, Functional Studies, and Therapeutic Developments. *Chem. Rev.* **122**, 15603–15671 (2022).
5. Chui, K., Yen, S.-C., Chen, T. & Christiansen, C. Impaired Joint Mobility in Older Adults. in *Guccione's Geriatric Physical Therapy* 344–364 (Elsevier, 2020). doi:10.1016/B978-0-323-60912-8.00015-4.
6. Zhang, L., Zeng, Z., Wang, Q. & Wang, J. Photocatalytic glycosylation of peptides, proteins, and nucleic acids. *Org. Biomol. Chem.* **23**, 5728–5746 (2025).
7. Choi, H., Kim, M., Jang, J. & Hong, S. Visible-Light-Induced Cysteine-Specific Bioconjugation: Biocompatible Thiol–Ene Click Chemistry. *Angew. Chem. Int. Ed.* **59**, 22514–22522 (2020).
8. Kolb, H. C., Finn, M. G. & Sharpless, K. B. Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. *Angew. Chem. Int. Ed.* **40**, 2004–2021 (2001).
9. Sinha, A. K. & Equbal, D. Thiol–Ene Reaction: Synthetic Aspects and Mechanistic Studies of an Anti-Markovnikov-Selective Hydrothiolation of Olefins. *Asian J. Org. Chem.* **8**, 32–47 (2019).
10. Ramírez-López, P., Suárez, J. R., Flores, A. & Hernáiz, M. J. Exploring Metal-Free Click Reactions: New Frontiers in Glycochemistry and Bioconjugation. *Bioconjug. Chem.* **36**, 1553–1581 (2025).
11. Ostrovskis, P., M. R. Volla, C., Turks, M. & Markovic, D. Application of Metal Free Click Chemistry in Biological Studies. *Curr. Org. Chem.* **17**, 610–640 (2013).
12. Luu, T., Gristwood, K., Knight, J. C. & Jörg, M. Click Chemistry: Reaction Rates and Their Suitability for Biomedical Applications. *Bioconjug. Chem.* **35**, 715–731 (2024).

13. Hoyle, C. E. & Bowman, C. N. Thiol–Ene Click Chemistry. *Angew. Chem. Int. Ed.* **49**, 1540–1573 (2010).
14. Slavin, S., Burns, J., Haddleton, D. M. & Becer, C. R. Synthesis of glycopolymers via click reactions. *Eur. Polym. J.* **47**, 435–446 (2011).
15. Kaur, S., Zhao, G., Busch, E. & Wang, T. Metal-free photocatalytic thiol–ene/thiol–yne reactions. *Org. Biomol. Chem.* **17**, 1955–1961 (2019).
16. Limnios, D. & Kokotos, C. G. Photoinitiated Thiol-Ene “Click” Reaction: An Organocatalytic Alternative. *Adv. Synth. Catal.* **359**, 323–328 (2017).
17. Munar, I., Fındık, V., Degirmenci, I. & Aviyente, V. Solvent Effects on Thiol–Ene Kinetics and Reactivity of Carbon and Sulfur Radicals. *J. Phys. Chem. A* **124**, 2580–2590 (2020).
18. Borbás, A. Photoinitiated Thiol-ene Reactions of Enoses: A Powerful Tool for Stereoselective Synthesis of Glycomimetics with Challenging Glycosidic Linkages. *Chem. – Eur. J.* **26**, 6090–6101 (2020).
19. Kelemen, V. *et al.* Photoinitiated Thiol–Ene Reactions of Various 2,3-Unsaturated *O* -, *C* - *S* - and *N* -Glycosides – Scope and Limitations Study. *Chem. – Asian J.* **15**, 876–891 (2020).
20. McSweeney, L., Dénès, F. & Scanlan, E. M. Thiyl-Radical Reactions in Carbo-hydrate Chemistry: From Thiosugars to Glycoconjugate Synthesis. *Eur. J. Org. Chem.* **2016**, 2080–2095 (2016).
21. Northrop, B. H. & Coffey, R. N. Thiol–Ene Click Chemistry: Computational and Kinetic Analysis of the Influence of Alkene Functionality. *J. Am. Chem. Soc.* **134**, 13804–13817 (2012).
22. Povie, G. *et al.* Repairing the Thiol-Ene Coupling Reaction. *Angew. Chem. Int. Ed.* **53**, 3894–3898 (2014).
23. Dondoni, A. & Marra, A. Recent applications of thiol–ene coupling as a click process for glycoconjugation. *Chem Soc Rev* **41**, 573–586 (2012).
24. Lázár, L., Borbás, A. & Somsák, L. Synthesis of thiomaltooligosaccharides by a thio-click approach. *Carbohydr. Res.* **470**, 8–12 (2018).
25. Xia, W., Wei, X.-Y., Xie, Y.-Y. & Zhou, T. A novel chitosan oligosaccharide derivative: Synthesis, antioxidant and antibacterial properties. *Carbohydr. Polym.* **291**, 119608 (2022).

26. Markey, L., Giordani, S. & Scanlan, E. M. Native Chemical Ligation, Thiol–Ene Click: A Methodology for the Synthesis of Functionalized Peptides. *J. Org. Chem.* **78**, 4270–4277 (2013).
27. Nolan, M. D. & Scanlan, E. M. Applications of Thiol-Ene Chemistry for Peptide Science. *Front. Chem.* **8**, 583272 (2020).
28. Killops, K. L., Campos, L. M. & Hawker, C. J. Robust, Efficient, and Orthogonal Synthesis of Dendrimers via Thiol-ene “Click” Chemistry. *J. Am. Chem. Soc.* **130**, 5062–5064 (2008).
29. Conte, M. L. *et al.* Exhaustive glycosylation, pegylation, and glutathionylation of a [G4]-ene<sub>48</sub> dendrimer via photoinduced thiol-ene coupling. *J. Polym. Sci. Part Polym. Chem.* **49**, 4468–4475 (2011).
30. Bege, M. *et al.* A low-temperature, photoinduced thiol–ene click reaction: a mild and efficient method for the synthesis of sugar-modified nucleosides. *Org. Biomol. Chem.* **15**, 9226–9233 (2017).
31. Wright, T. H. *et al.* Direct Peptide Lipidation through Thiol–Ene Coupling Enables Rapid Synthesis and Evaluation of Self-Adjuvanting Vaccine Candidates. *Angew. Chem. Int. Ed.* **52**, 10616–10619 (2013).
32. Iwasaki, Y., Tabe, Y., Tanaka, R. & Okuno, Y. Efficient thiol–ene click reactions of acryloyl-labeled carbohydrates on mammalian cell surfaces. *Org. Biomol. Chem.* **23**, 4893–4896 (2025).
33. Gu, W., Chen, G. & Stenzel, M. H. Synthesis of glyco-microspheres via a thiol-ene coupling reaction. *J. Polym. Sci. Part Polym. Chem.* **47**, 5550–5556 (2009).
34. Degirmenci, A., Sanyal, R. & Sanyal, A. Metal-Free Click-Chemistry: A Powerful Tool for Fabricating Hydrogels for Biomedical Applications. *Bioconjug. Chem.* **35**, 433–452 (2024).
35. Sanz Del Olmo, N. *et al.* Antibacterial Hydrogel Adhesives Based on Bifunctional Telechelic Dendritic-Linear–Dendritic Block Copolymers. *J. Am. Chem. Soc.* **146**, 17240–17249 (2024).
36. Narayanan, K., Bhaskar, R. & Han, S. Recent Advances in the Biomedical Applications of Functionalized Nanogels. *Pharmaceutics* **14**, 2832 (2022).
37. Mauri, E., Perale, G. & Rossi, F. Nanogel Functionalization: A Versatile Approach To Meet the Challenges of Drug and Gene Delivery. *ACS Appl. Nano Mater.* **1**, 6525–6541 (2018).

38. Boyère, C., Broze, G., Blecker, C., Jérôme, C. & Debuigne, A. Monocatenary, branched, double-headed, and bolaform surface active carbohydrate esters via photochemical thiol-ene/-yne reactions. *Carbohydr. Res.* **380**, 29–36 (2013).
39. Youngpeng, Y., Huang, J., Wei, X., Xu, K., Zhang, Z. & Zhu, H., Method for preparing polysaccharide conjugate vaccine based on thiol click chemistry and product thereof (2024)

