



Forord

Arbeidet med denne masteroppgaven ble utført ved Institutt for kjemi, bioteknologi og matvitenskap (IKBM) hos Norges miljø- og biovitenskapelige universitet (NMBU) på Ås i perioden februar 2013 til mai 2014 ved gruppen for naturstoffkjemi og organisk analyse.

I den anledning er det flere jeg ønsker å takke:

Veilederne mine førsteamanuensis Dag Ekeberg og professor Yngve Stenstrøm for å ha gitt meg god hjelp underveis og motivasjon til å fordype meg i organisk og analytisk kjemi. Jeg har satt stor pris på deres veiledning og hjelp både på laboratoriet og med skriving av oppgaven.

Kolleger ved avdelingene Kvalitet/laboratorium og Produktutvikling hos Arcus AS for hjelp med utstyr. Jeg vil spesielt takke Elisabeth Olsen, Trygve Brekke og Anne Lise Norbom for teoretiske og instrumentelle råd, og Ivan Abrahamsen for lån av utstyr.

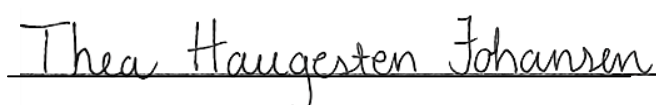
Harrison Gallantree-Smith, Simen Antonsen og Hanne Devle for teoretisk og praktisk hjelp på laboratoriet når det var nødvendig.

Medstudenter for et hyggelig miljø og godt samhold på laboratoriet, spesielt studentene i øverste del av gangen for mye latter og sang.

Familie, kjæreste Jean (som super IT-support) og gode venner for all hjelp og støtte gjennom utdanningen min.

Norges miljø- og biovitenskapelige universitet

Ås - mai 2014



Thea Haugesten Johansen

Sammendrag

Juvenilhormoner er naturlig produserte asykliske meroterpene molekyler (C_{12} -forbindelser med metyl- og etyl-sidegrupper) funnet i alle insekter som regulerer reproduksjon og utvikling. Det har blitt syntetisert flere ulike juvenilhormonanaloger som fungerer ved å forstyrre disse prosessene i insekter.

I denne oppgaven har det blitt syntetisert tre ulike juvenilhormonanaloger som tidligere er publiserte. De bestod av en monoterpen-sidekjede med ulikt antall dobbeltbindinger (0-2) koblet via en eterbinding til en metylert pyridinring. Analogene ble syntetisert med omtrent 50 % utbytter med Williamson etersyntese og målet med å få over 1 gram rent produkt av hver forbindelse ble nådd.

Flere ulike, hovedsakelig fotokjemiske, nedbrytningsforsøk har blitt gjennomført. For hver juvenilhormonanalog ble det valgt ut nedbrytningsprodukter som ble dannet i forsøkene og disse forble hovedfokus under resultat og diskusjon. Forsøkene utført var; 1) forsøk med lysboksen Atlas Suntest CPS+, 2) oksidasjonsforsøk med singlett-oksigen produsert fra H_2O_2 , 3) forsøk med høyintensiv UV-lampe, petriskål og kromatografisand og 4) forsøk med høyintensiv UV-lampe og oksygen- og nitrogengass. Det ble funnet at juvenilhormonanalogene var relativt stabile mot reaksjonsbetingelsene de ble utsatt for i disse forsøkene, og at maksimal total nedbrytning var under 30 % for alle forsøkene utført. Juvenilhormonanalogen med en mettet terpen-sidekjede var som forventet den minst reaktive av forbindelsene. Atlas Suntest CPS+ ble funnet å være den beste metoden da alle nedbrytningsproduktene ble dannet i større grad enn med de andre forsøkene, men omsetning av startmateriale til nedbrytningsprodukter var lave.

I tillegg til disse forsøkene ble de ulike nedbrytningsproduktene fra forsøk med Atlas Suntest CPS+ forsøkt kromatografisk separert for strukturbestemmelse av nedbrytningsproduktene. Dette ble utført med preparativ gasskromatografi, søylekromatografi og preparativ tynnsjikkromatografi.

Ingen av metodene fikk separert nedbrytningsproduktene fra hverandre, men for juvenilhormonanalogue 2 var det mulig å separere nedbrytningsproduktene fra resten av komponentene i prøven ved bruk av tynnsjikt-kromatografi. ^{13}C NMR av denne fraksjonen dokumenterte mange flere karbon-oksygen-bindinger i forhold til startmaterialet, men en fullstendig strukturbestemmelse av enkeltkomponenter ble ikke oppnådd.

Abstract

Juvenile hormones are naturally produced acyclic meroterpene molecules (C_{12} -compounds with methyl- and ethyl side groups) found in insects known to regulate reproduction and development. Many juvenile hormone analogues that disrupt these processes in insects have been synthesized.

In this thesis, three previously published similar juvenile hormone analogues have been synthesized. They consisted of a monoterpene side chain with a different number of double bonds (0-2) linked through an ether bond to a methylated pyridine ring. Each analogue was synthesized with Williamson ether synthesis and gave approximately a 50 % yield. The goal of having minimum 1 gram pure product of each compound was reached.

Many different degradation experiments, mainly photochemical, have been conducted. Degradation products were chosen for each juvenile hormone analogue and these products remained the main focus during results and discussion. The experiments conducted were; 1) experiments with the lightbox Atlas Suntest CPS+, 2) oxidation experiments with singlet-oxygen produced from H_2O_2 , 3) experiments with a highly intensive UV-lamp, petri dish and chromatography sand and 4) experiments with a highly intensive UV-lamp and oxygen gas and nitrogen gas. It was found that the juvenile hormone analogues were relatively stable compounds during exposure to the reaction conditions in these experiments, and that maximal total degradation was below 30 % for all of the experiments conducted. The juvenile hormone analogue with the saturated terpene side chain was the least reactive compound, as expected. Atlas Suntest CPS+ was found to be the best degradation method since all degradation products were produced in greater degree when compared to the other experiments, but turnover from starting materials to degradation products were low.

In addition to these experiments, the different components from the experiments with Atlas Suntest CPS+ were attempted to be separated chromatographically before structural determination of the selected degradation products. This was conducted with preparative gas chromatography, column chromatography and preparative thin-layer chromatography.

None of these methods accomplished single-component separation of the degradation products, but for juvenile hormone analogue 2 it was possible to separate the degradation products from the rest of the components in the sample with preparative thin-layer chromatography. ^{13}C NMR of this fraction documented many more carbon-oxygen-bonds in comparison to the starting material, but complete structural determination of the single components in the sample was not accomplished.

Generelle bemerkninger

IUPAC-nomenklatur er i størst mulig grad brukt for navnsetting av forbindelser, men trivialnavn kan forekomme.

Alle strukturer, om ikke andre kilder er oppgitt, er tegnet i ChemBioDraw Ultra 12.0.2 (PerkinElmer Inc., Waltham, MA, USA). ChemBioDraw ble også brukt til å sammenligne NMR-spektra etter syntese med estimerte spektra ut i fra strukturer tegnet inn i programmet. Figurene i teoridelen er tegnet på en enkel måte og representerer ikke molekylenes romlige orientering.

Synteseproduktene ble rensset ved enten destillasjon eller søylekromatografi. Hvilken metode som ble brukt er oppgitt i prosedyrene. Ved søylekromatografi ble det brukt silika som stasjonærfase og blandinger av heksan og etylacetat som mobilfase, samt kaliumpermanganat, jodkammer og UV-lys til deteksjon.

For δ -verdier og koblingskonstanter fra NMR-spektra benyttes punktum i stedet for komma.

Innholdsfortegnelse

Forord	I
Sammendrag	II
Abstract	IV
Generelle bemerkninger	VI
1. Innledning.....	1
1.1 Hensikt.....	1
1.2 Naturstoffer.....	2
1.3 Insekticider	2
1.4 Juvenilhormoner.....	3
1.5 Juvenilhormonanaloger.....	6
1.5.1 Pyriproxyfen	8
1.5.2 Metopren.....	9
1.6 Syntese av juvenilhormonanalogene	10
1.6.1 Appel-reaksjon.....	10
1.6.2 Williamson etersyntese	10
1.7 Nedbrytning av juvenilhormonanalogene.....	11
1.7.1 Fotokjemi.....	11
1.7.2 Oksidasjon	12
1.7.3 Oksidasjon ved bruk av singlett-oksygen	14
1.7.4 Oksidasjon av terpener.....	15
1.8 Vurdering av toksisitet	18
2. Kjemikalier, utstyr og instrumenter	20
2.1 Kjemikalier.....	20
2.2 Diverse produkter og utstyr	22
2.3 Instrumenter	23
2.3.1 Eksperimentelle data for gaskromatograf-massespektrometer (GC-MS)	23
2.3.2 Eksperimentelle data for preparativ gaskromatograf (preparativ GC).....	24
2.3.3 Eksperimentelle data for kjernemagnetisk resonans (NMR)	24
2.3.4 Diverse instrumenter.....	24

3. Eksperimentelt	26
3.1 Syntese av juvenilhormonanalogene	26
3.1.1 Syntese av 2-metyl-5-(3,7-dimetyloktyloksi)pyridin (JHA 1)	26
3.1.1.1 Syntese av 1-bromo-3,7-dimetyloktan	26
3.1.1.2 Syntese av 2-metyl-5-(3,7-dimetyloktyloksi)pyridin	27
3.1.2 Syntese av 2-metyl-5-(3,7-dimetyloktyl-6-enoksi)pyridin (JHA 2).....	30
3.1.2.1 Syntese av 3,7-dimetyl-6-okten-1-ol	30
3.1.2.2 Syntese av 1-bromo-3,7-dimetyl-6-okten	31
3.1.2.3 Syntese av 2-metyl-5-(3,7-dimetyloktyl-6-enoksi)pyridin	31
3.1.3 Syntese av 2-metyl-5-(3,7-dimetyloktyl-2,6-dienoksi)pyridin (JHA 3).....	35
3.1.3.1 Syntese av 1-bromo-3,7-dimetyl-2,6-oktadien	35
3.1.3.2 Syntese av 2-metyl-5-(3,7-dimetyloktyl-2,6-dienoksi)pyridin	36
3.2 Prosedyre for nedbrytningsforsøk med Atlas Suntest CPS+	39
3.3 Kromatografering av prøver fra nedbrytningsforsøk med Atlas Suntest CPS+	42
3.3.1 Preparativ gasskromatografi	42
3.3.2 Søylekromatografi	42
3.3.3 Preparativ tynnsjikt-kromatografi (preparativ TLC)	42
3.4 Nedbrytningsforsøk med høyintensiv UV-lampe, petriskål og kromatografisand.....	43
3.5 Nedbrytningsforsøk med singlett-oksygen produsert fra H ₂ O ₂	45
3.6 Nedbrytningsforsøk med høyintensiv UV-lampe og gass	45
4. Resultater og diskusjon	47
4.1 Syntese av juvenilhormonanalogene	47
4.2 Generelt om nedbrytningsforsøkene	53
4.3 Nedbrytningsforsøk med Atlas Suntest CPS+	57
4.4 Nedbrytningsforsøk med singlett-oksygen produsert fra H ₂ O ₂	67
4.5 Nedbrytningsforsøk med høyintensiv UV-lampe og gass	69
4.6 Sammenligning av nedbrytningsforsøk	73
4.7 Strukturbestemmelse av nedbrytningsprodukter fra nedbrytningsforsøk med Atlas Suntest CPS+	75
4.7.1 Kromatografering	75
4.7.2 Strukturbestemmelse av nedbrytningsprodukter	80
4.8 Feilkilder	86

5. Konklusjon	88
6. Videre arbeid	89
7. Referanser	92
Vedlegg 1. Beregninger	96
Beregning av forhold mellom synteseprodukter	96
Beregning av prosentvis omsetning av startmateriale til nedbrytningsprodukter	96
Vedlegg 2. Diverse spektra og kromatogrammer	97
Vedlegg 3. Data fra nedbrytningsforsøkene.....	103
Forhold mellom synteseprodukter.....	103
Nedbrytningsforsøk med Atlas Suntest CPS+	104
Nedbrytningsforsøk med høyintensiv UV-lampe, petriskål og kromatografisand.....	118
Nedbrytningsforsøk med singlett-oksygen produsert fra H ₂ O ₂	120
Nedbrytningsforsøk med høyintensiv UV-lampe og gass	121
Oversikt over fraksjoner fra preparativ tynnsjikt-kromatografi (juvenilhormonanalogue 2)	128

1. Innledning

1.1 Hensikt

Hensikten med denne oppgaven var å syntetisere og undersøke nedbrytning av tre ulike juvenilhormonanaloger tidligere publisert, med dokumentert forstyrrende effekt på utvikling hos blant annet lakselus (*Lepeophtheirus salmonis*) og ulike arter av rur (*Balanus balanoides*, *Balanus improvisus* og *Balanus amphitrite*) (Skattebøl et al. 2004; Skattebøl et al. 2006).

Juvenilhormoner klassifiseres som meroterpene molekyler og de er viktige i insektofysiologi, blant annet for å regulere reproduksjon og utvikling. Juvenilhormoner inneholder reaktive funksjonelle grupper og syntese av mindre reaktive juvenilhormonanaloger for bruk som insekticid er derfor interessant. Det har blitt utviklet flere juvenilhormonanaloger for bruk mot skadedyr, som de kommersielt anvendte pyriproxyfen og metopren. Analogene i denne oppgaven inneholder to ulike naturstoffklasser; terpener og alkaloider.

Det er interessant å utføre en karakterisering av juvenilhormonanalogs nedbrytning da det er viktig at slike molekyler har ikke-toksiske nedbrytningsprodukter dersom de brukes kommersielt som insekticider. Toksiske produkter kan ha både patogene og karsinogene skadevirkninger og slike forbindelser kan for eksempel i jordbrukssammenheng forurense mat- og drikkevannskilder for mennesker og andre organismer.

Det ble i denne oppgaven sett på fotokjemisk og oksidativ nedbrytning og vi ønsket å sammenligne forskjellige metoder for å se om noen var bedre enn andre, for deretter å sammenligne disse med metoden hvor kun sollys ble benyttet. Dette vil kunne gi indikasjoner på om man kan bruke noen av disse metodene for å simulere "naturlig" fotoinitiert oksidativ nedbrytning. I tillegg var målet med nedbrytningsforsøkene å få stor nok omsetning av startmateriale til nedbrytningsprodukter, for deretter å identifisere flest mulig av dem. En slik omsetning ville gitt store nok mengder til å få gode gasskromatogrammer og MS-, NMR-, IR- og UV-spektra, som videre ville blitt brukt til strukturbestemmelse av de utvalgte nedbrytningsproduktene.

1.2 Naturstoffer

Naturstoffer er definert som organiske molekyler som biosyntetisk produseres i levende organismer, som planter, dyr og mikroorganismer. Naturstoffkjemi er en viktig del av organisk kjemi, og store deler av legemiddelindustrien baserer seg på naturstoffer. Det finnes flere ulike klasser molekyler innen naturstoffkjemi, blant annet fettsyrer, terpener, alkaloider, karbohydrater, polyketider, proteiner og aminosyrederivater (aromatiske, sykliske og asykliske aminosyrer). Innen naturstoffkjemi skilles det også på primære og sekundære metabolitter; primære metabolitter er stoffer som syntetiseres, nedbrytes og omdannes i store mengder i alle organismer med samme type biologisk aktivitet, mens sekundære metabolitter produseres i små mengder i bestemte organismer og har ofte en spesifikk biologisk virkning i produsenten. Sekundære metabolitter kan også ha biologiske virkninger i andre organismer, som toksiner produsert som forsvar mot rovdyr (Dewick 2009b).

1.3 Insekticider

Insekticider er insektmidler som brukes for å drepe og bekjempe skadedyr, og dermed forhindre skade på ønskede produkter som matvarer og andre nytteplanter. Naturlig forekommende insekticider brukes av mange organismer, spesielt planter, som forsvarsmekanisme. Dessuten har det også blitt syntetisert mange insekticider.

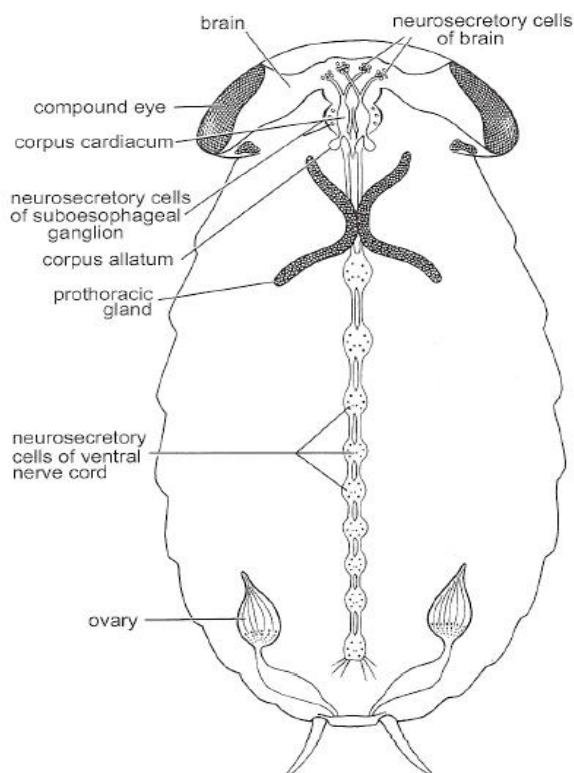
Flere insekticider dreper insekter ved å inhibere en viktig funksjon i nervesystemet, mens andre påvirker utviklingen av insektkroppen ved å etterligne eller påvirke hormonsystemet. Blant naturstoffer ekstrahert fra planter finnes flere alkaloider som effektive insekticider (eksempelvis nikotin fra *Nicotiana*-slekten). Klasser av syntetiske insekticider inneholder blant annet karbamater, organofosfater, organokloriner og fenylpyrazoler. Alkaloider som nikotin, organokloriner og organofosfater er meget giftige ovenfor mammalske celler, og bruken av disse har av miljømessige hensyn blitt begrenset av myndighetene. Dette gjelder spesielt organokloriner grunnet høy stabilitet og cellulær bioakkumulering. De fleste syntetiske insekticider fungerer med bredspektret aktivitet på nervesystemet, noe som betyr at de ikke er spesifikke med tanke på hvilke insekter de dreper. En type insekticid er

insektvekst-regulatorer (IGR), og i denne gruppen finnes blant annet juvenilhormonanaloger (JHA) som etterligner funksjonen til juvenilhormoner (JH) (Gullan & Cranston 2010a).

1.4 Juvenilhormoner

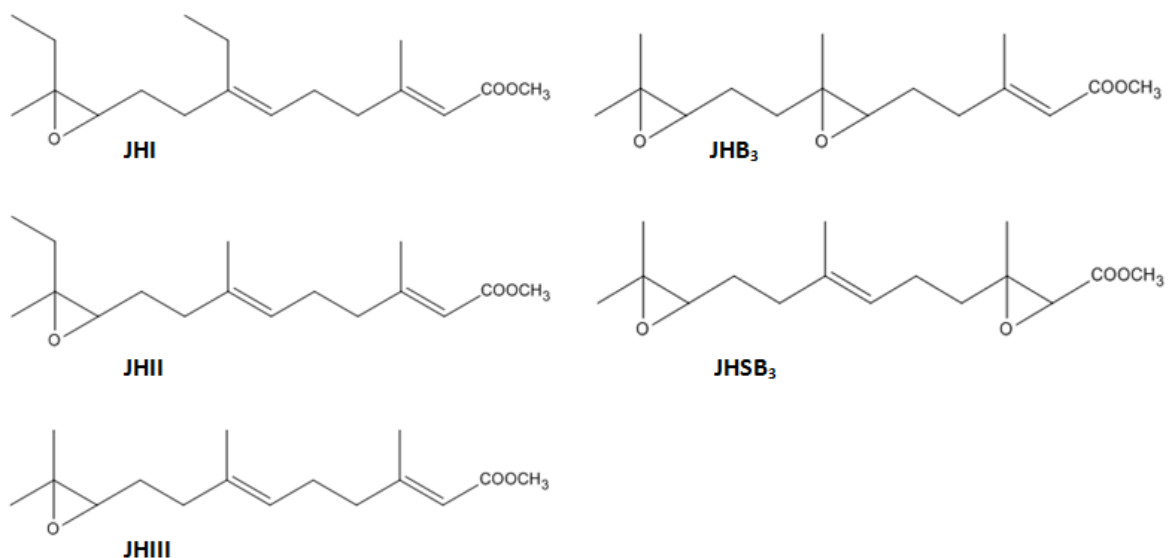
Hormoner er en klasse biokjemiske forbindelser som produseres inne i en organisme og som transporteres vekk fra produksjonsstedet til et målsted (celler, vev eller organer) over lengre avstander i organismen. De produseres i såkalte endokrine kjertler som finnes flere steder spredt gjennom organismen. Hormoner fungerer som kjemiske beskjeder da de binder seg til en reseptor på målstedet, og denne bindingen gjør at cellen uttrykker en spesifikk fysiologisk respons (Sletbakk 2007).

Hormoner er viktige med tanke på dyrets fysiologiske utvikling. Det blir antatt at insekthormoner har lignende produksjon og funksjon i alle insekter, selv om de kun har blitt studert i detalj hos noen insekter. Insekthormoner produseres i flere endokrine sentre og kjertler, som neuroutskillende celler, corpora cardiaca og corpora allata (figur 1.4.1) (Gullan & Cranston 2010b).



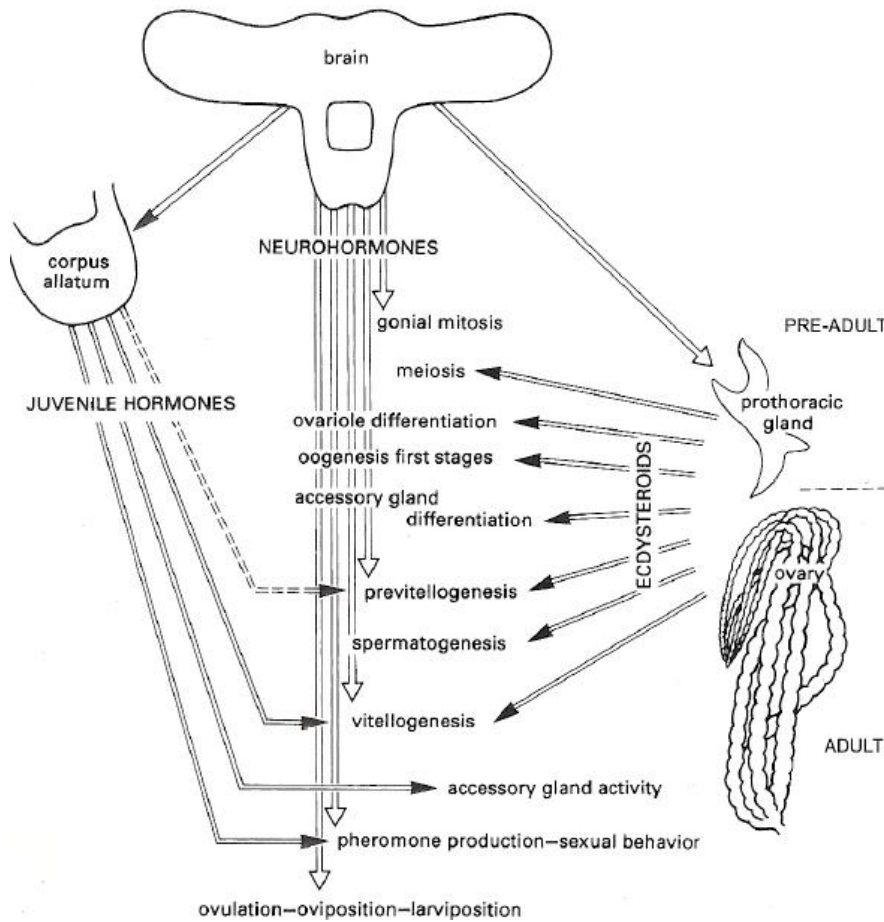
Figur 1.4.1: Oversikt over endokrine sentre i et generalisert insekt (Gullan & Cranston 2010b).

Juvenilhormoner (JH) produseres i corpus allatum (CA), en kjertel som ligger nær hjernen, og de er asykliske meroterpene molekyler med en reaktiv epoksid ringstruktur (Wimmer *et al.* 1997). Det er identifisert fem utbredte hovedjuvenilhormoner i insekter med ulike funksjoner (figur 1.4.2) (Jindra *et al.* 2013). Disse er universelt forekommende hos alle insekter, men kan forekomme i ulike mengder innenfor forskjellige arter. Juvenilhormoner blir etter produksjon i CA frigitt i hemolymfen, en vannholdende væske bestående av ulike ioner og molekyler, som transporterer hormoner rundt i kroppen og slik kobler insektvevet sammen. En type protein hemolymfen inneholder er proteinkomplekser med juvenilhormoner (juvenilhormon-bindende proteiner) (Goodman & Granger 2009; Gullan & Cranston 2010b).



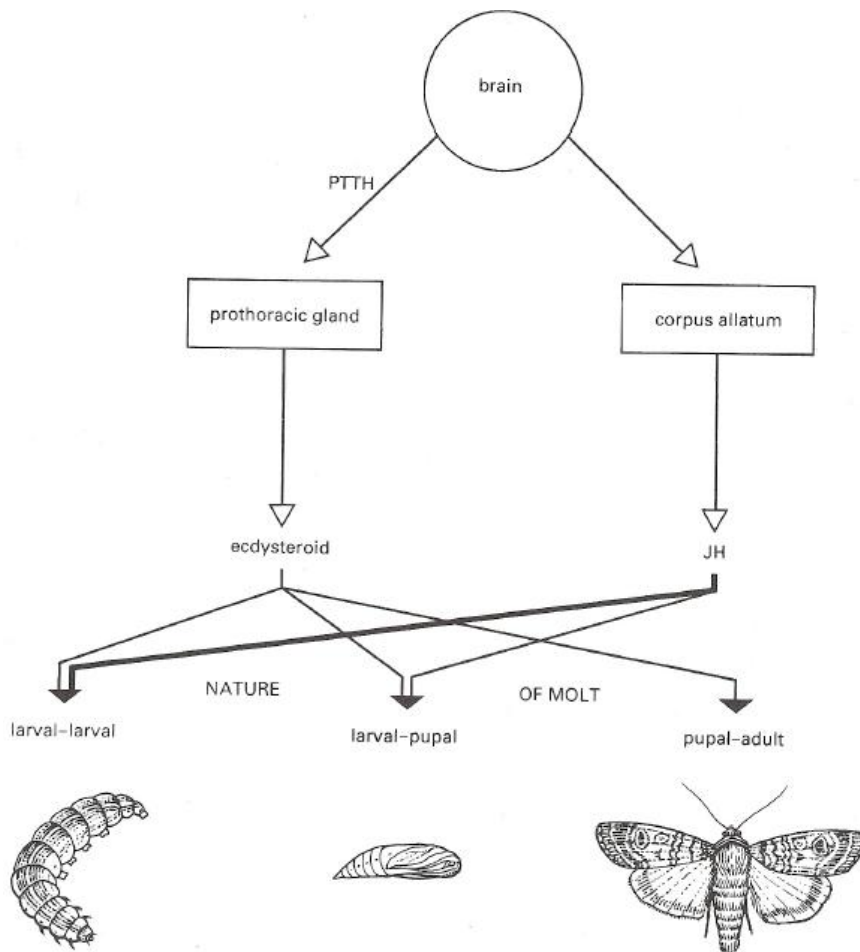
Figur 1.4.2: Strukturer av de fem hovedjuvenilhormonene (Jindra *et al.* 2013).

Juvenilhormoner har flere viktige roller i insektutvikling innen regulering av reproduksjon, sammen med steroider, neuropeptider og ecdysteroider. Flere av disse prosessene inkluderer feromonproduksjon, celledifferensiering og spesifikk proteinsyntese i fettceller, vekst av umodne eggceller (vitellogenese), DNA-syntese og proteinsyntese i follikler og frigjøring av neuropeptider i nervesystemet. Insekters reproduksjon er dermed i stor grad avhengig av juvenilhormoner og i flere prosesser virker de direkte på målvevet (figur 1.4.3) (Wyatt 1997) Insekter slutter å produsere juvenilhormoner i voksen tilstand, men CA vil ved kjønnsmodning produsere juvenilhormoner for å stimulere reproduksjonsprosessen (Meyer 2006).



Figur 1.4.3: Oversikt over hormonell kontroll av reproduksjon i insekter (Gullan & Cranston 2010c).

Juvenilhormoner er også essensielle i kontroll av hamskifte og metamorfose i insekter. Hamskifte er en kompleks delvis hormonregulert prosess som fører til felling av den gamle overhuden/eksoskjelettet, mens metamorfose er en forandring av insektets innvendige og utvendige struktur med tanke på overgang fra umodent til voksent insekt (figur 1.4.4). Metamorfose gjelder uavhengig om insektet har larve- eller nymfestadium. Juvenilhormoner blir hos umodne insekter utskilt før hver hamskifting, hvor det inhiberer uttrykket av trekkene til et voksent individ av arten. Når insektet er i ferd med å utvikle seg til et voksent individ vil CA krympe og slutte å produsere juvenilhormoner; insektet vil da utvikle de voksne trekkene som tilhører arten (Gullan & Cranston 2010d; Meyer 2006).



Figur 1.4.4: Oversikt over hvordan endokrine sentre kontrollerer hamskifting og metamorfose (Gullan & Cranston 2010d).

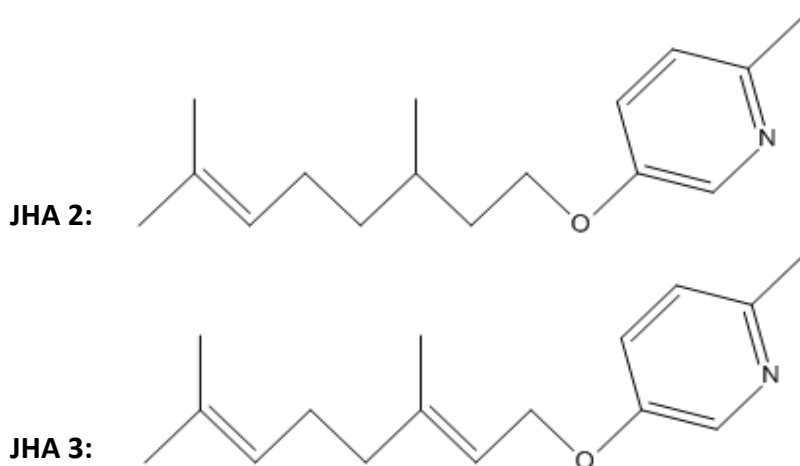
1.5 Juvenilhormonanaloger

Juvenilhormonanaloger (JHA, *juvenoids* eller *juvenile hormone mimics*, JHM) fungerer ved å forstyrre insektvekst og de tilhører stoffgruppen insektvekst-regulatorer (*insect growth regulators*, IGR). Juvenilhormonanaloger blir ansett som en stoffgruppe med lav toksisitet ovenfor mammalske celler (Forman *et al.* 2002; Gullan & Cranston 2010a; Novak *et al.* 2003).

Den viktigste effekten av IGRer er at de forhindrer kjønnsmodning av insekter og dermed umuliggjør reproduksjon. IGRer skal teoretisk sett fungere slik at de stanser insektets kroppslige utvikling før det når det fysiske utviklingsstadiet hvor insektet er i stand til å utføre skade, men dette blir ikke oppnådd i alle tilfeller. IGRer fungerer effektivt mot spesifikke stadier av vekst og utvikling hos mange skadedyr, og de to mest brukte

stoffgruppene er juvenilhormonanaloger og kitinsyntese-inhibitorer. JHAer fungerer ved å stanse utvikling av insektet slik at det enten ikke når voksent stadium, eller at insektet som voksent individ er sterilt eller misdannet. Ettersom JHAer påvirker de voksne individene istedenfor de umodne individene, fungerer JHAer bedre på insektarter hvor det voksne individet er skadedyret (som lopper, mygg og maur) (Gullan & Cranston 2010a). To kommersielt distribuerte og anvendte JHAer med JH-aktivitet er pyriproxyfen og metopren.

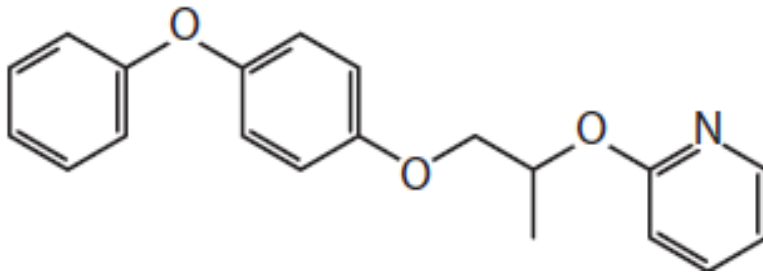
Det har blitt rapportert flere juvenilhormonanaloger med høy JH-aktivitet bestående av en fenyl-terpen eter-struktur. Juvenilhormonanaloger har deretter blitt laget med en heterosyklisk ring (som nitrogeninnholdende pyridin) koblet med en terpenoid gruppe via en eterbinding. Samme type syntese har også blitt utprøvd med andre typer alkaloider, men forbindelsene med pyridin var mer JH-aktive (Solli *et al.* 1976). JHA 2 og JHA 3 ble syntetisert i arbeidet av Solli *et al.* (1976) og begge stoffene viste en insekticidal effekt mot melbillen *Tenebrio molitor*, mens JHA 3 også viste effekt mot voksmøll *Galleria mellonella* og liten husmygg *Culex pipiens* (figur 1.5.1). Andre publikasjoner har undersøkt JHA 3s effekt mot terrestriske insekter, som ulike typer biller (*Coleoptera* og *Sitophilus oryzae*) og sommerfugler (*Lepidoptera*) som spiser av kornlagre samt leddyr som flått (*Boophilus decoloratus*, *Boophilus microplus* og *Amblyomma hebraeum*) (Kramer & McGregor 1978; Mkhize & Gupta 1983; Solomon & Evans 1978). En modifisert struktur av JHA 3 med en etylgruppe på pyridinringen istedenfor en metylgruppe i samme posisjon har også blitt undersøkt mot flere biller (*Rhyzopertha dominica*, *Oryzaephilus surinamensis* og *Sitophilus oryzae*) og møll (*Plodia interpunctella*, *Ephestia cautella* og *Sitotroga cerealella*) (Kramer *et al.* 1979).



Figur 1.5.1: Strukturer av juvenilhormonanalog 2 og juvenilhormonanalog 3.

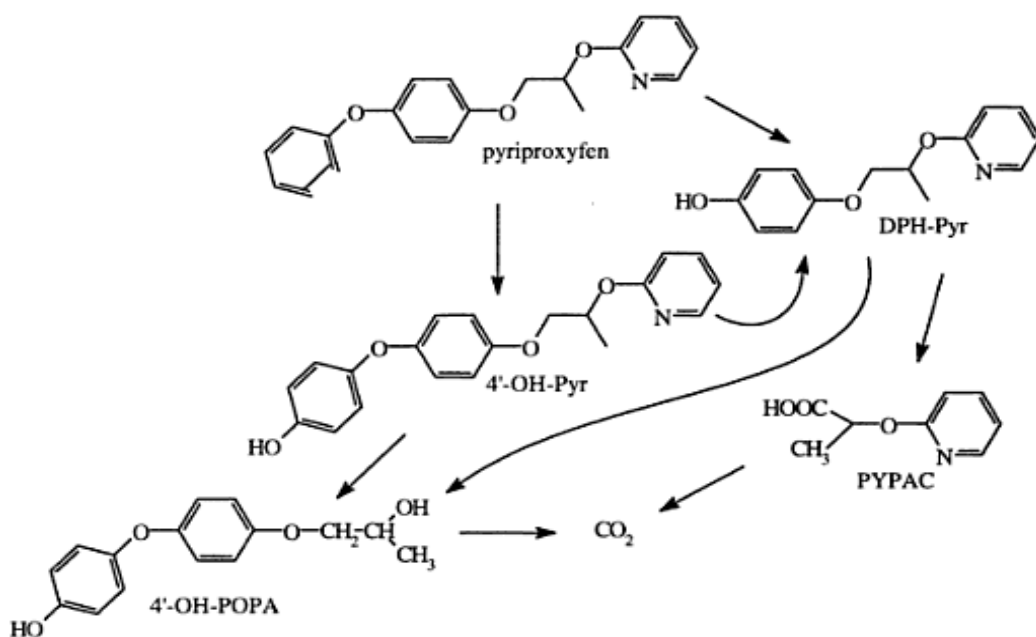
1.5.1 Pyriproxyfen

Pyriproxyfen (IUPAC navn: 4-fenoksyfenyl (*RS*)-2-(2-pyridyloksi)propyleter) er en juvenil-hormonanalogue med bredspektrert insekticidal aktivitet mot vanlige skadedyr som husfluer, mygg og kakerlakker. Pyriproxyfen brukes også i landbruksammenheng mot skadedyr som skjoldlus, mellus, bladlus og dvergsikader (figur 1.5.1.1) (World Health Organization 2008a).



Figur 1.5.1.1: Struktur av pyriproxyfen (Jindra *et al.* 2013).

Pyriproxyfen blir raskt brutt ned i jord under aerobe forhold med en halveringstid på 6,4-36 dager. Dersom pyriproxyfen utsettes for både nedbrytning i jord og lysindusert stress, er hovedproduktene karbondioksid og 2-(2-pyridyloksi)propionsyre (PYPAC) (World Health Organization 2000; World Health Organization 2008a).



Skjema 1.5.1.1: Oversikt over nedbrytning av pyriproxyfen i jord (World Health Organization 2000).

Data fra flere studier med drikkevann og frukt hvor pyriproxyfen ble brukt som sprøytemiddel viste at sannsynligheten for eksponering av forbindelsen ved inntak av kontaminerte kilder var lav. Studier med mus og rotter på undersøkelse av forbindelsens toksiske egenskaper viste at den har lav akutt toksisitet både ved svelging og absorpsjon i huden. Pyriproxyfen er heller ikke genotoksisk da forbindelsen ikke ga mutasjoner i arvematerialet hos forsøksorganismene, verken *in vivo* eller *in vitro*. Derimot ga pyriproxyfen ulike kroppslige forandringer hos mus, rotter og hunder både under kort- og langsiktig eksponering, og skadevirkningene inkluderte anemi, økt levervekt, økt dødelighetsrate og minsket kroppsvekt (World Health Organization 2008a).

1.5.2 Metopren

Metopren (IUPAC navn: Isopropyl (2*E*, 4*E*)-11-metoksi-3,7,11-trimetyl-2,4-dodekadienat) er en juvenilhormonanalogue som er mye brukt mot skadedyr og forbindelsen er spesielt effektiv mot fluer, lopper og flere arter av mygg (kommersielt anvendt som mygg-larvicid). Metopren har høy JH-aktivitet mot insekter samtidig som det er ugiftig ovenfor pattedyr (figur 1.5.2.1) (Henrick 2007; World Health Organization 2008b).



Figur 1.5.2.1: Struktur av metopren (Henrick 2007).

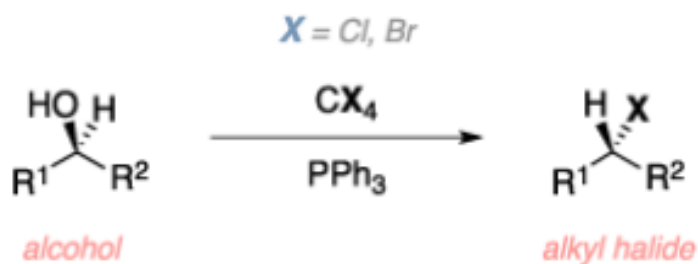
Større studier av metoprens nedbrytning både i miljøet og i levende organismer viste at forbindelsen er raskt nedbrytbar. Metopren blir lett brutt ned i både jord og vann når det samtidig blir eksponert for sollys. Forbindelsen blir raskt metabolisert i fisk, fugler og pattedyr, og i mikroorganismer, insekter og planter blir metopren både demetylert, hydrolysert og oksidativt spaltet. Studier i dyr som storfe og kylling viste at forbindelsen blir oksidert til karbondioksid og acetat, som igjen blir inkorporert i levende vev. Metopren har lav akutt toksisitet og studier i mus, rotter og hunder viste at metopren har lavt toksisk potensial (World Health Organization 2008b). Etter nesten 30 års bruk av metopren har det kun blitt funnet resistens mot forbindelsen hos to isolerte tilfeller av mygg (Henrick 2007).

1.6 Syntese av juvenilhormonanalogene

Ulike grupper av naturstoffer kan kobles sammen og modifiseres. Terpenskjelettet går igjen i mange naturprodukter, ikke kun som terpen, men også som delstrukturer. Dette finner vi igjen i for eksempel mange alkaloider (Dewick 2009a).

1.6.1 Appel-reaksjon

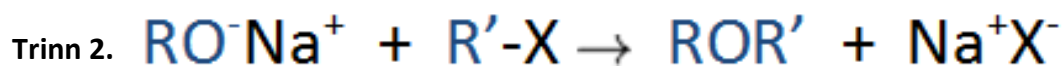
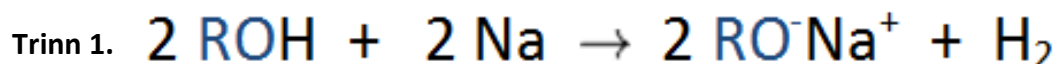
Appel-reaksjonen er en mye brukt organisk reaksjon for omsetning av alkoholer til alkylhalider ved bruk av tetrahalometan og trifenyfosfin. Reaksjonen starter med halogenering av trifenyfosfin til Ph_3PCl^+ og deretter dannelse av alkoksidet RO^- fra alkoholen. Alkoksidet vil angripe fosforatomet i trifenyfosfin og halidet frigjøres. I en $\text{S}_{\text{N}}2$ -reaksjon vil halidet som nukleofil angripe karbonatomet til den tidligere alkoholen, som videre omdannes til alkylhalidet (skjema 1.6.1.1) (Name-Reaction.com 2014).



Skjema 1.6.1.1: Reaksjonsligning for Appel-reaksjonen (Name-Reaction.com 2014).

1.6.2 Williamson etersyntese

Williamson etersyntese er en av de viktigste syntesene for dannelse av etere. Syntesen foregår via to trinn, hvor det første trinnet er konvertering av en alkohol til dets alkoksid-anion ved behandling med en reaktiv base. I det andre trinnet vil en $\text{S}_{\text{N}}2$ -reaksjon foregå mellom alkoksidet og et alkylhalid, som fungerer best dersom alkylhalidet er primært. I syntesen vil alkoksid-anionet fungere som en nukleofil og angripe alkylhalidet, som fører til dannelsen av eteren (skjema 1.6.2.1) (Hart & Craine 1991).

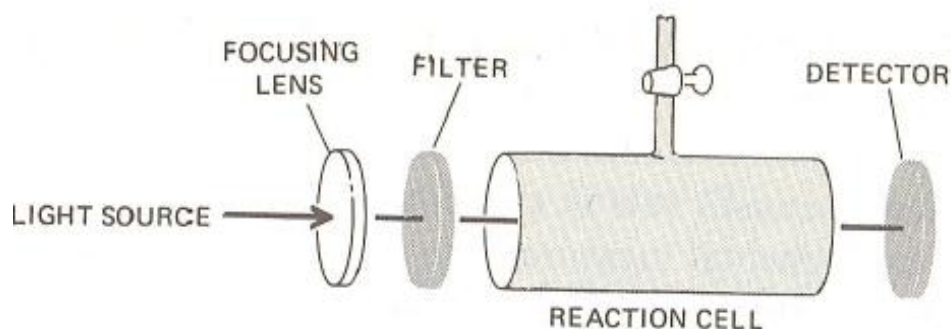


Skjema 1.6.2.1: Reaksjonsligninger for Williamson etersyntese (Hart & Craine 1991).

1.7 Nedbrytning av juvenilhormonanalogene

1.7.1 Fotokjemi

Fotokjemi er et utbredt felt og handler om hvordan lys påvirker kjemiske reaksjoner. Grunnlaget for fotokjemi er eksitasjon av elektroner i et molekyl og dette oppnås når molekyler absorberer elektromagnetisk stråling. Aktiveringsenergien nødvendig for å utføre en fotokjemisk reaksjon kommer fra molekylær absorpsjon av synlig (Vis) eller ultrafiolett (UV) lys. Slik absorpsjon av lys i synlig eller ultrafiolett område kan være sterk nok til å bryte en kjemisk binding eller danne høyenergetiske reaktive molekyler. Et mulig oppsett for undersøkelse av fotokjemiske reaksjoner er undersøkelse av hvor mye energi som absorberes under en reaksjon i et reaksjonskammer (figur 1.7.1.1) (Barrow 1988).



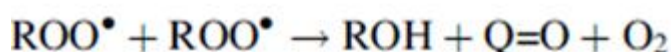
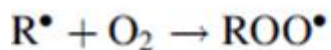
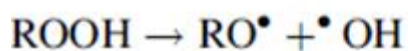
Figur 1.7.1.1: Fremstilling av et fotokjemisk eksperiment (Barrow 1988).

De fleste fotokjemiske reaksjoner kan deles inn i tre stadier; 1) absorpsjon av elektromagnetisk stråling for å produsere eksiterte tilstander, 2) primære fotokjemiske reaksjoner med eksiterte elektroniske tilstander og 3) sekundære reaksjoner, der produkter fra de primære reaksjonene omdannes til mer stabile produkter (Roberts & Caserio 1977c). I de primære reaksjonene kan absorpsjon av stråling føre til en eksitert tilstand hvor noen elektroner i molekylet ikke lenger er i en kjemisk binding; dette vil føre til dissosiasjon av bindinger i det absorberende molekylet. Ofte er produktene fra denne dissosiasjonen frie radikaler som kan undergå videre kjemiske reaksjoner (Barrow 1988).

1.7.2 Oksidasjon

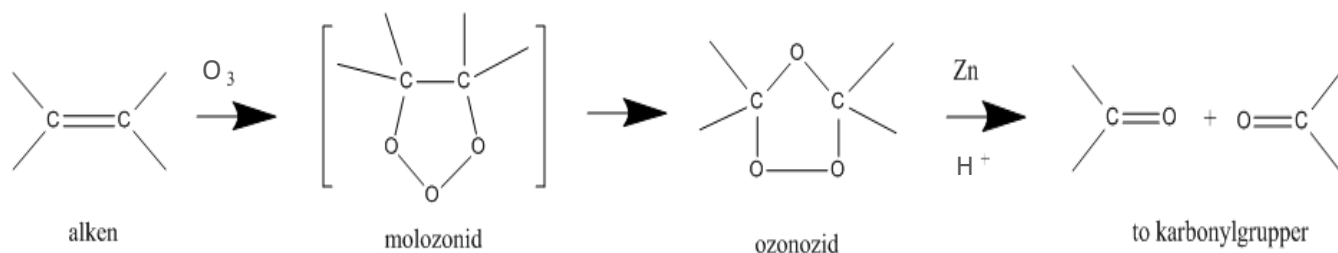
Oksidasjon har flere definisjoner i organisk kjemi; 1) tap av et eller flere elektroner hos et molekyl, 2) økning i oksidasjonstall hos et atom i et molekyl og 3) tap av hydrogen eller opptak av oksygen i et organisk molekyl (McNaught & Wilkinson 1997a). En form for oksidasjon er fotooksidasjon, som er oksidasjonsprosesser induisert av lys. Vanlige prosesser her er tap av elektroner grunnet fotoeksitasjon av et molekyl og videre reaksjon mellom substrat og oksygen under lysforhold. Dersom oksygen er en del av produktet kalles prosessen også for fotooksydering (McNaught & Wilkinson 1997b). Fotooksydering foregår ved tre ulike mekanismer; 1) reaksjon mellom triplett-oksygen og fotokjemisk dannede radikaler, 2) reaksjon mellom fotokjemisk dannet singlett-oksygen og molekyler for å danne oksygenerte produkter og 3) dannelselse av det reaktive superoksidanionet O_2^- ved elektronoverføring (McNaught & Wilkinson 1997c). En annen viktig oksidativ prosess er autoksidasjon, som er en spontan oksidasjon av molekyler, med en eventuell oppvarming, i nærvær av oksygen (Neuenschwander 2011).

Autoksidasjon av hydrokarboner er en kompleks oksidativ prosess som foregår gjennom flere trinn med frie radikaler (skjema 1.7.2.1). Oksidasjon av hydrokarboner (RH) skjer ofte ved høye temperaturer og det reaktive spesiet er som regel peroksidradikalet ($RO\cdot_2$) istedenfor O_2 , med reaksjonsprodukter som hydroperoksider, alkoholer, ketoner og aldehyder. Hydrokarboner med dobbeltbindinger er betydelig mer reaktive enn mettede hydrokarboner, blant annet på grunn av bedre resonansstabilisering av de elektronfattige R \cdot -radikalene som dannes (Hermans *et al.* 2008; Neuenschwander & Hermans 2012).



Skjema 1.7.2.1: Forenklet mekanisme for autoksidasjon (Hermans *et al.* 2008; Jones & Pickard 1998).

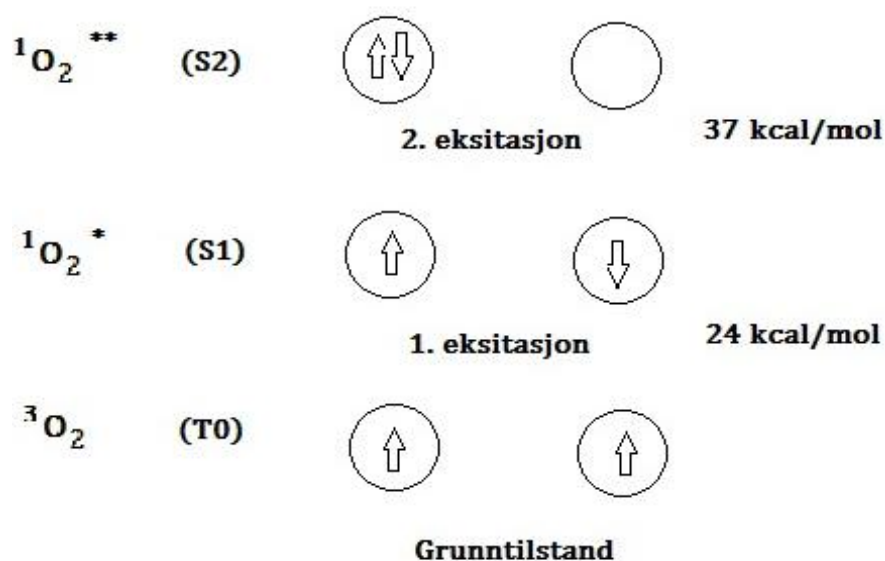
Funksjonelle grupper som dobbeltbindinger er mer utsatte for oksidasjonsprosesser enn enkeltbindinger mellom karbonatomer. Dobbeltbindinger hos alkener består av π -elektroner og de er både mer reaktive og mer eksponerte i molekylene enn σ -elektroner hos alkaner. Alkener er dermed generelt lettere å oksidere enn alkaner med oksidasjonsmidler. Alkener kan via oksidasjon danne flere ulike produkter, eksempelvis en diol ved oksidasjon med kaliumpermanganat eller to produkter med karbonylgrupper ved reaksjon med ozon (O_3), også kalt ozonolyse (skjema 1.7.2.2). Alkener kan også omsettes til epoksider ved behandling med ulike oksidasjonsmidler i tillegg til autoksidasjon med molekylært oksygen (Hart *et al.* 2003; Roberts & Caserio 1977a).



Skjema 1.7.2.2: Ozonolyse: reaksjon mellom et alken og ozon (Hart *et al.* 2003).

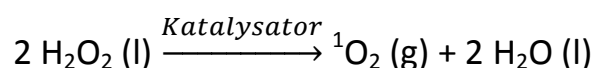
1.7.3 Oksidasjon ved bruk av singlett-oksygen

Vanlig molekylært dioksygen har en stabil triplett grunntilstand som betegnes $^3\text{O}_2$ med to uparede elektroner med parallelle spinn. Triplett-oksygen kan gjennom to trinn eksiteres ved tilføring av energi til to eksiterte tilstander som kalles for singlett-oksygen ($^1\text{O}_2$) (figur 1.7.3.1) Singlett-oksygen kan enkelt dannes via flere ulike typer kjemiske reaksjoner (Roberts & Caserio 1977b).



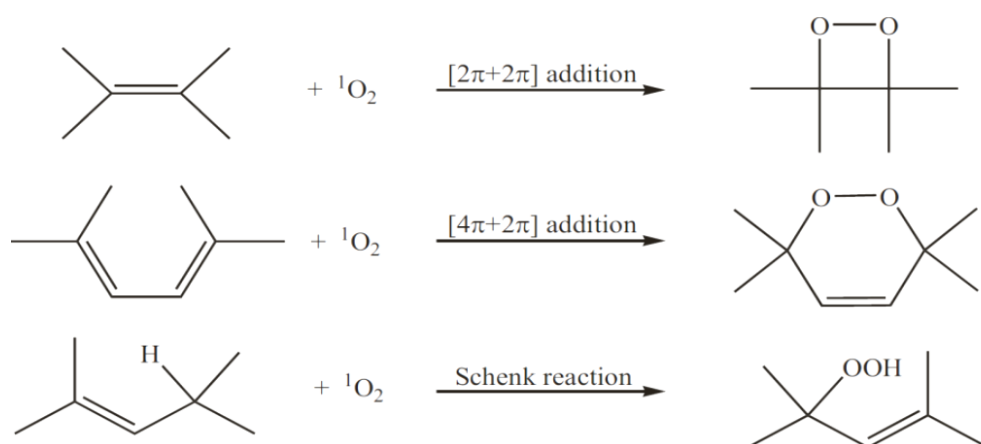
Figur 1.7.3.1: Oversikt over singlett- og triplett-tilstandene til molekylært oksygen (Roberts & Caserio 1977b).

Et kjent, lett tilgjengelig, billig og mye brukt oksidasjonsmiddel er hydrogenperoksid (H_2O_2). Hydrogenperoksid kan dekomponere til vann og singlett-oksygen via følgende reaksjonsligning (Moiseeva *et al.* 2000):



Hvor katalysator kan være NaMoO_4 , $\text{Ca}(\text{OH})_2$, H_2TiO_3 , NaVO_3 , Na_2WO_4 m.m.

Singlett-oksygen er meget reaktiv ovenfor mange organiske molekyler og vil danne oksygenerte addisjons- og substitusjonsprodukter som hydroperoksider (ROOH). Singlett-oksygen kan for eksempel reagere med dobbeltbindinger på flere ulike måter (skjema 1.7.3.1) (Neuenschwander 2011). Reaksjoner som disse kan oppnås mellom organiske molekyler og singlett-oksygen i nærvær av et lysabsorberende og lysfølsomt fargestoff. Her vil fargestoffet eksiteres som deretter vil føre til eksitasjon av $^3\text{O}_2$ til $^1\text{O}_2$, som til slutt vil reagere med substrat og danne et oksygenert produkt. Singlett-oksygen kan produseres kjemisk i tillegg til fotokjemisk, men uansett hvilken metode som brukes, er produktene etter reaksjon mellom $^1\text{O}_2$ og alkener hovedsakelig de samme (Roberts & Caserio 1977b). Det er dokumentert at oksygenering av substrat med singlett-oksygen fra reaksjon med H_2O_2 og NaOCl ga identiske produkter og mengder (med eksperimentell feil) som fotooksidasjon. Derimot, i tilfellet med limonen, er produktene etter kjemisk oksidasjon og fotooksidasjon ulike sammenlignet med autoksidasjon (Foote 1968).

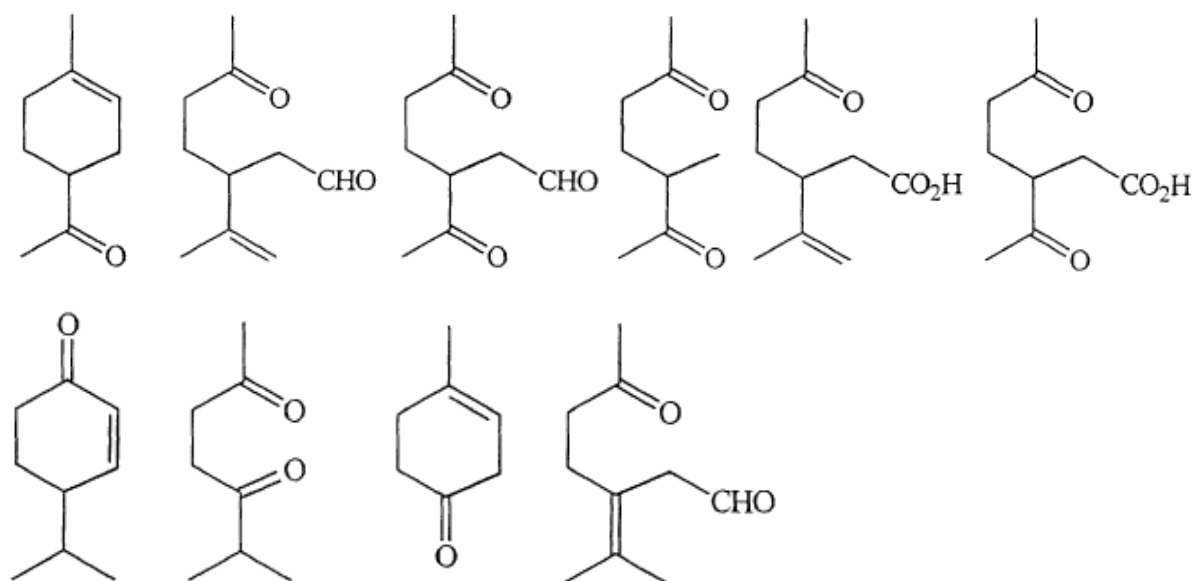


Skjema 1.7.3.1: Ulike reaksjoner mellom singlett-oksygen og alkener (Neuenschwander 2011).

1.7.4 Oksidasjon av terpener

Oksidasjon av forbindelser som terpener har blitt undersøkt av flere forskningsgrupper. Dette har vært av spesiell interesse siden noen terpener er kraftige allergener og undersøkelse av oksidasjonsprodukter er interessant i denne sammenhengen. Eksempler på terpener som har blitt undersøkt i stor grad er α -pinen, β -pinen, β -myrcen, limonen, geraniol, citronellol, linalool og isopren.

Siden mange terpen er flyktige og ofte har reaktive dobbeltbindinger i sine strukturer, kan de i stor grad reagere med oksidasjonsmidler i atmosfæren som oksygen, ozon, nitrat og hydroksylradikaler. Addisjon av hydroksylradikaler er den dominerende reaksjonen som skjer i atmosfæren under dagtid, og produktene fra denne reaksjonen er β -hydroksylalkylradikaler. Denne typen produkter kan isomerisere, dekomponere eller raskt reagere videre med oksygen for å danne produkter som peroksider. Reaksjoner mellom ozon og terpene dobbeltbindinger fører til ulike forbindelser med tilhørende karbonylgrupper (ozonolyse). Nitratradikaler er de viktigste oksidative spesiene under nattid hvor radikaler kan adderes til dobbeltbindinger og føre til dannelse av β -nitroalkylradikaler (Calogirou *et al.* 1999). Etter slike reaksjoner har terpene oksidasjonsprodukter blitt identifisert med hovedsakelig funksjonelle syre- og karbonylgrupper. Andre produkter som mindre bestanddeler har også blitt identifisert og de inneholdt funksjonelle grupper som alkoholer, epoksider, estere, nitrater og peroksynitrater; noen av disse kan påvirke respirasjon (figur 1.7.4.1) (Calogirou *et al.* 1999; Rohr 2013).



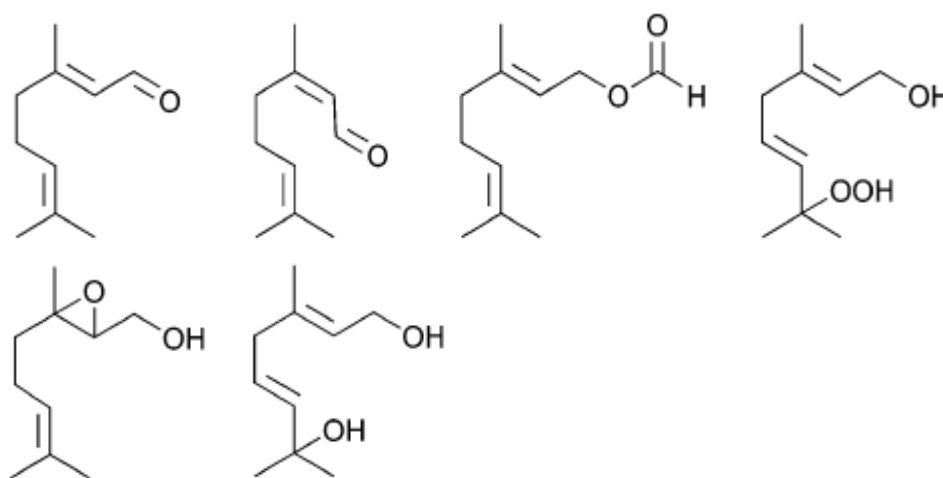
Figur 1.7.4.1: Oksidasjonsprodukter etter reaksjon mellom monosykliske terpen og hydroksylradikaler og ozon i gassfase (Calogirou *et al.* 1999).

Ifølge Chiron *et al.* (1997) kan terpene hydroperoksider lett dannes ved fotokjemisk oksidasjon av startmaterialet. Slik dannelse kan foregå ved bruk av både lysfølsomme forbindelser og fotokatalysatorer (som zinkoksid). I tillegg til hydroperoksider vil det ved bruk av zinkoksid dannes alkoholer og karbonylgrupper.

Det har også blitt utviklet en enkel og sensitiv metode for deteksjon av terpene hydroperoksider med LC/ESI-MS/MS utprøvd på linalool, linalyl acetat og limonen (Rudback *et al.* 2013). Det er viktig med en god metode for deteksjon av oksidasjonsprodukter fra terpene forbindelser; selv om det er oppgitt visse grenser for terpenener i ulike skjønnhetsprodukter og de er overholdt, kan det være hudfølsomme oksidasjonsprodukter tilstede. For eksempel vil autoksidasjon av terpenene linalool og limonen føre til oksidasjonsprodukter som er mer hudfølsomme enn utgangsstoffene (Christensson *et al.* 2009).

Terpenene citronellol og geraniol er viktige luktstoffer, som også er kjent for å være menneskelige allergener, ofte tilsatt parfymen, såper og andre skjønnhetsprodukter (Gilpin *et al.* 2010; Hagvall *et al.* 2007). De er kjent for å kunne utløse allergiske reaksjoner og for å irritere hud ved kontakt, hvor citronellol fører til moderate hudirritasjoner i mennesker mens geraniol fører til alvorlige hudirritasjoner i mennesker. Både citronellol og geraniol blir ansett som raskt nedbrytbare i biologisk sammenheng, og de undergår rask atmosfærisk fotooksidasjon (halveringstid henholdsvis 1,3 timer for citronellol og 0,71 timer for geraniol). Studier har vist at de har lave potensialer for bioakkumulering i levende organismer, og verken citronellol eller geraniol fører til mutasjoner *in vivo* i mus eller *in vitro* i bakterier (U. S. Environmental Protection Agency 2009).

Geraniol vil autoksidere når det blir eksponert for og lys, og danne en rekke oksidasjonsprodukter, hvor noen er hudfølsomme. Geraniol kan danne en blanding av ulike molekyler, inkludert epoksider, hydroperoksider, alkoholer og aldehyder (figur 1.7.4.2) (Backtorp *et al.* 2008; Hagvall *et al.* 2007).



Figur 1.7.4.2: Identifiserte oksidasjonsprodukter av *E*-geraniol (Hagvall *et al.* 2007).

1.8 Vurdering av toksisitet

Det er veldig viktig at insekticider som brukes kommersielt er lite toksiske ovenfor organismer som ikke er tiltenkt forbindelsene, som mennesker, dyr, planter og andre nytteinsekter, både i store og små mengder.

Toksisitet blir definert som en forbindelses evne til å skade levende organismer med hensyn på mengde av forbindelsen, hvordan forbindelsen blir administrert og distribuert, samt hvilke typer skader som oppstår og andre relevante forhold (McNaught & Wilkinson 1997d). Toksisitet blir vurdert for å undersøke kjemiske forbindelsers potensial til å føre til skadevirkninger hos individer som utsettes for denne forbindelsen samt, hvor det er mulig, å estimere forholdet mellom mengde eksponering og risiko for slike skadevirkninger. Vurdering av toksisitet består av flere trinn; 1) bestemmelse av kvalitativ og kvantitativ toksisk informasjon for forbindelsen som vurderes, 2) og 3) toksisk verdi for karsinogene og ikke-karsinogene skadevirkninger av forbindelsen, 4) identifikasjon av perioder hvor toksiske verdier er nødvendige og 5) oppsummering av toksisk informasjon. For å innhente data om toksisitet blir det brukt ulike dyremodeller (rotte, mus, marsvin, hamster, hund og ape), cellekulturer og mikroorganismer, samt forutsigelse av forbindelsens toksiske egenskaper basert på molekylær struktur (U. S. Environmental Protection Agency 1989).

En rapport fra U. S. Environmental Protection Agency (2009) omhandler karakterisering av toksiske effekter for noen monoterpener, inkludert citronellol og geraniol. I den forbindelse ble det utført flere forsøk på mus og bakterier for å estimere deres eventuelle toksiske og mutagene effekter. Det har også blitt utført biologiske forsøk på lymfekjertler i mus for å undersøke hudfølsomheten av *E*-geraniol og dets oksidasjonsprodukter (figur 1.7.3.2) (Hagvall *et al.* 2007). Til slutt har det også blitt brukt menneskelige HeLa-cellelinjer for å bedømme toksisiteten til ulike juvenilhormonanaloger, samt om de var nedbrytbare av ulike jordisolater (både gjær og sopp) (Forman *et al.* 2002).

Andre undersøkelser er viktige for å se om eventuelle toksiske metabolitter produseres i bakterier, sopp, planter og dyr. For å undersøke om bakterier, sopp og gjær kan metabolisere og bryte ned en forbindelse, kan den tilsettes som eneste tilgjengelige karbonkilde til et næringsmedium med et rent isolat av mikroorganismen man vil undersøke.

Dersom mikroorganismen vokser og danner kolonier, blir substratet brutt ned. I tillegg til substrat må næringsmediet inneholde andre nødvendige mikro- og makronæringsstoffer. Effekt av tilsetning av andre karbonkilder (som glukose) og forandring av temperatur og pH kan undersøkes for å optimalisere nedbrytningen (Novak *et al.* 2003). Til slutt, ved å merke forbindelsene med enten radioaktive eller ikke-radioaktive, stabile isotoper er det mulig å undersøke hvordan ulike forbindelser blir brutt ned og deretter undersøke strukturene til metabolittene, samt finne mekanismer og nedbrytningsveier (Forman *et al.* 2002).

2. Kjemikalier, utstyr og instrumenter

2.1 Kjemikalier

Produsent, sted og annen informasjon er oppgitt for kjemikalier, utstyr og instrumenter brukt i oppgaven.

– Sigma-Aldrich-produkter: Sigma-Aldrich Chemie GmbH, *Steinheim, Tyskland*.

– Merck-produkter: Merck KGaA, *Darmstadt, Tyskland*.

Tabell 2.1.1 viser alle kjemikalier (inkludert kvalitet, CAS-NR og produsent) brukt i forbindelse med syntesene og oksidasjonsforsøkene.

Tabell 2.1.1: Kjemikalier brukt i syntesene og oksidasjonsforsøkene.

Produktnavn	Kvalitet	CAS-NR	Produsent
3,7-dimetyl-okta-1-ol	99 %	106-21-8	Aldrich chemical company, Inc., <i>Milwaukee, WI, USA</i>
3-hydroksy-6-metylpyridin	99 %	-	Janssen Chimica, <i>Beerse, Belgia</i>
(+)-Citronellal	> 80 % (GC)	106-23-0	Fluka Chemika/Sigma-Aldrich
CBr₄	99 %, ReagentPlus®	558-13-4	Sigma-Aldrich
Geraniol	-	-	-
H₂O₂	50 % H ₂ O ₂ i vann	7722-84-1	Sigma-Aldrich
KI	≥ 99,5 %, puriss. p.a., reag. ISO, reag. Ph. Eur.	7681-11-0	Sigma-Aldrich
Na	Purum	-	Merck
Na₂SO₃	> 98 %, Pro analysi	-	Merck
NaBH₄	99 %, ReagentPlus®	16940-66-2	Sigma-Aldrich
NaCl	≥ 99,8 %, ACS reagent	7647-14-5	Sigma-Aldrich
NaMoO₄·2H₂O	Pro analysi	-	Merck
NaOH	≥ 97,0 %, ACS reagent	1310-73-2	Sigma-Aldrich
PPh₃	~ 97 %, HPLC grade	603-35-0	Fluka Chemie, <i>Buchs, Sveits</i>

Tabell 2.1.2 viser alle løsningsmidler (inkludert kvalitet, CAS-NR og produsent) brukt i forbindelse med oppgaven.

Tabell 2.1.2: Løsningsmidler brukt i oppgaven.

Produktnavn	Kvalitet	CAS-NR	Produsent
Benzen	99,8 %, anhydrous	71-43-2	Sigma-Aldrich
Deuterert kloroform	99,8 % atom D	865-49-6	Sigma-Aldrich
Dietyleter	≥ 99,8 %, ACS reagent, * contains BHT as inhibitor, puriss. p.a., ACS reagent, reag. ISO, reag. Ph. Eur.	60-29-7	Sigma-Aldrich
Dimetylformamid	99,8 %, anhydrous	68-12-2	Sigma-Aldrich
Etanol	96 % (sprit fra Arcus AS)	-	Maissprit <i>Polen/USA</i>
Etanol	96 %, GPR RECTAPUR®, AnalaR NORMAPUR®	64-17-5	VWR International <i>S.A.S, Fontenay-sous-Bois, Frankrike</i>
Etylacetat	> 99,5 %, ACS Reagent, puriss. p. a. ACS, Reag. Ph. Eur., Reag. ISO	141-78-6	Sigma-Aldrich
Heksan	> 97,0 %, CHROMASOLV® for HPLC	110-54-3	Sigma-Aldrich
Isooktan (2,2,4-trimetylpentan)	≥ 99,5 %	540-84-1	VWR International <i>S.A.S, Fontenay-sous-Bois, Frankrike</i>
Kloroform	≥ 99,8 %, CHROMASOLV® for HPLC	67-66-3	Sigma-Aldrich
Metanol	≥ 99,9 %, CHROMASOLV® for HPLC	67-56-1	Sigma-Aldrich
Metyl tert-butyleter	HPLC Grade	-	Rathburn Chemicals <i>LTD., Walkerburn, Skottland</i>
Tetrahydrofuran	≥ 99,9 %, anhydrous, inhibitor-free	109-99-9	Sigma-Aldrich

2.2 Diverse produkter og utstyr

Tabell 2.2.1 viser diverse produkter (inkludert produsent og spesifikasjoner) brukt i forbindelse med oppgaven.

Tabell 2.2.1: Diverse produkter brukt i oppgaven.

Navn	Produsent	Spesifikasjoner
Celite® 545 Coarse	Sigma-Aldrich	CAS-NR 68855-54-9
Helium	AGA AS, Oslo, Norge	Renhet 6.0
Kromatografisand	Sigma-Aldrich	CAS-NR 14808-60-7, 50-70 mesh particle size
MgSO₄	Sigma-Aldrich	CAS-NR 7487-88-9, puriss. p.a., drying agent, anhydrous, ≥ 98,0 % (KT), powder (very fine)
Nitrogen	AGA AS, Oslo, Norge	Renhet 5.0
Oksygen	AGA AS, Oslo, Norge	Renhet 6.0
Preparativ TLC-plater	Merck	Silika-gel 60 F ₂₅₄ , 20 x 20 cm (glass)
Silikagel 60	Merck	CAS-NR 7631-86-9, partikkelstørrelse 0,040-0,063 mm
TLC-plater	Merck	Silika-gel 60, 20 x 20 cm (aluminium)

Tabell 2.2.2 viser diverse utstyr (inkludert produsent og spesifikasjoner) brukt i forbindelse med oppgaven.

Tabell 2.2.2: Diverse utstyr brukt i oppgaven.

Type utstyr	Navn	Produsent	Spesifikasjoner
Filter	Acrodisc® GHP syringe filter	Pall Gelman Sciences, Ann Arbor, MI, USA	NY 0,20 µm
Filter	Folded qualitative filter paper (303)	VWR International, Leuven, Belgia	European Cat. No. 516-0297
Filter	Syringe filter	Heco Laboratorieutstyr, Oslo, Norge	NY 0,45 µm
GC-prøveglass	Vial cr 1,5 mL cl. gl.	VWR International, Leuven, Belgia	Cat. No 548-0004
GC-septumlokk	Cap alu cl 11 mm	VWR International, Leuven, Belgia	Cat. No 548-0010
Petriskål	Petriskål	Heger A.S., Rjukan, Norge	90 mm klar, PS (polystyren)
Prøverør	Cellstar® Tubes	Greiner Bio-One, Frickenhausen, Tyskland	50 mL, Cat. No.: 227 261

2.3 Instrumenter

2.3.1 Eksperimentelle data for gaskromatograf-massespektrometer (GC-MS)

Søk i MS-database under tolking av massespektra foregikk i NIST MS Search 2.0 (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA). Programvaren brukt for innhenting av kromatogrammer og massespektra var MassLynx 4.0 (Waters Corporation, Milford, MA, USA).

Gaskromatograf: Instrumenter og betingelser har blant annet blitt beskrevet av Devle *et al.* (2012). Analyse av prøver ble utført på en Agilent 6890 Series gaskromatograf (Agilent Technology, Wilmington, DE, USA) utstyrt med en CTC PAL autosampler (CTC Analytics AG, Zwingen, Sveits). Kolonnen var en 50 meter lang polar CP-Sil 88 kapillær wall-coated open tubular (WCOT) fused silica kolonne fra Agilent J&W med en indre diameter på 0,25 mm og 0,20 µm filmtykkelse (Varian, Middelburgh, Nederland). Det ble brukt en splitinjektor med en split-ratio på 1:10, injektortemperatur på 245 °C og injeksjonsvolum på 1 µL. Helium var bæregassen som ble benyttet med en konstant hastighet på 1 mL/min.

Temperaturprogram GC: GC-ovntemperaturen var programmert til 65 °C (3 minutter) til 155 °C (13 minutter) med en hastighet på 40 °C/minutt. Deretter ble temperaturen økt til 160 °C (15 minutter) med en hastighet på 2 °C/minutt. Deretter med 3 °C/minutt ble temperaturen økt til 230 °C (2,5 minutter) og tilslutt til 240 °C med 50 °C/minutt og holdt i 0,5 minutt.

Massespektrometer: Tilkoblet GCen var et Autospec Ultima massespektrometer (Micromass Ltd., Manchester, England). Massespektrometeret var et trippelsektor-instrument med geometri tilsvarende elektrisk sektor, magnetisk sektor og elektrisk sektor (EBE), og hadde en oppløsning på 1200. Den var utstyrt med en elektronionisasjonskilde (EI) og den produserte 70 eV elektroner, samt hadde en akselerasjonsspenning på 8 kV. Analysatoren hadde et masseområde på m/z 40-600. Skanntiden var 0,3 sekunder og forsinkelsestid mellom hvert skann var 0,2 sekunder.

2.3.2 Eksperimentelle data for preparativ gasskromatograf (preparativ GC)

Analyse av prøver ble utført på en Varian 3400 gasskromatograf (Varian Instrument Group, *Walnut Creek, CA, USA*). Nitrogen var bæregassen som ble benyttet og kolonnen var en pakket 2,2 meter lang 10 % SP-2100 CHROM W-HP 60/80 med maksimal temperatur på 350 °C. Gass fra kolonnen ble splittet; en del gikk til detektoren, en flammeionisasjons-detektor (FID), mens den andre delen gikk til manuell oppsamling. Deteksjon av analytt ble registrert på en printer av typen Hewlett-Packard 3390A Integrator (Hewlett-Packard Company, *Palo Alta, CA, USA*).

Temperaturprogram GC: Programmet startet 2 minutter etter ferdigstilling av programmet og kolonnetemperatur ved start var 50 °C. Temperaturen økte med 0,5 °C/minutt og sluttemperatur på kolonnen var 240 °C. Temperatur i både injektor og detektor var 250 °C.

2.3.3 Eksperimentelle data for kjernemagnetisk resonans (NMR)

NMR-spektra ble tatt opp på et Bruker Ascend 400-instrument med henholdsvis feltstyrke på 400 MHz for ^1H og 100 MHz for ^{13}C (Bruker Corporation, *Billerica, MA, USA*). Spektra ble tatt opp ved 25 °C.

Alle ^1H NMR- og ^{13}C NMR-spektra ble tatt opp med deuterert kloroform (CDCl_3) som løsningsmiddel, og denne løsningsmiddeltoppen vises som én topp ved δ 7.26 i ^1H NMR-spektra og som tre topper ved δ 77.16 i ^{13}C NMR-spektra (Gottlieb *et al.* 1997).

2.3.4 Diverse instrumenter

Atlas Suntest CPS+ og SunCool: ATLAS Material Testing Technology GmbH, *Linsengericht-Altenhaßlau, Tyskland*.

UV/Vis-spektrofotometer: DU800 spektrofotometer med tilhørende kvartskyvetter, Beckman Coulter Spectrophotometer Inc., *Fullerton, CA, USA*.

Høyintensiv UV-lampe: Modell HP3202 og pære 57265F/28 Ultraviolet MLU 300 W, Philips, *Amsterdam, Nederland.*

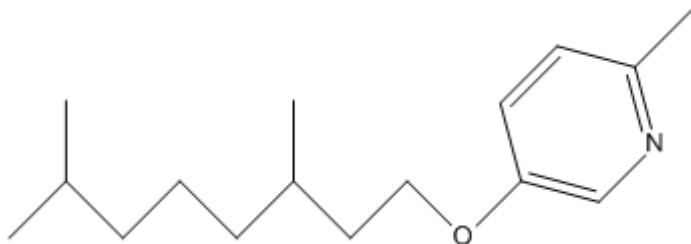
Infrarød (IR) spektrometer: FT-IR System, Spectrum Bx, 50/60 Hz, HATR-celle, PerkinElmer Inc., *Waltham, MA, USA.*

UV-lampe (deteksjon v/ søylekromatografering): UVP UVGL-25 Mineralight lamp, *Upland, CA, USA.*

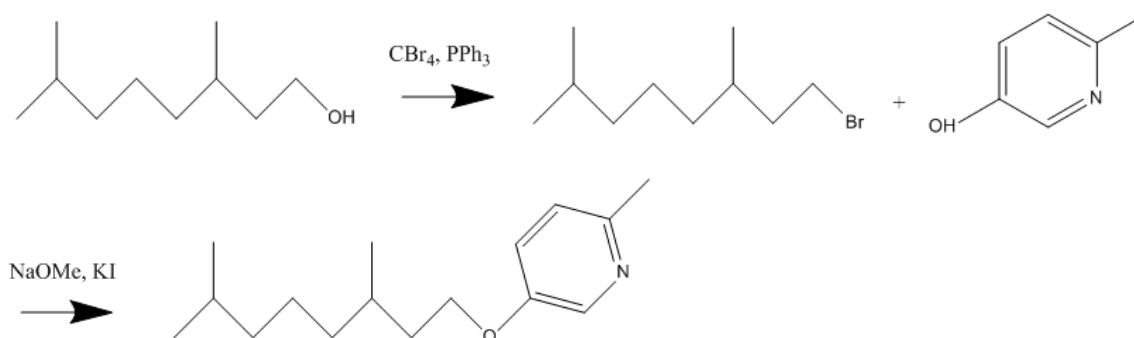
3. Eksperimentelt

3.1 Syntese av juvenilhormonanalogene

3.1.1 Syntese av 2-metyl-5-(3,7-dimetyloktyloksi)pyridin (JHA 1)



Figur 3.1.1.1: Struktur av juvenilhormonanalogue 1.



Skjema 3.1.1.1: Reaksjonsskjema over syntesene for å lage juvenilhormonanalogue 1.

3.1.1.1 Syntese av 1-bromo-3,7-dimetyloktan

Metoden er basert på tidligere arbeid av Kobayashi *et al.* (2011).

En løsning av 100 mL benzen i en trehalset rundkolbe ble tilsatt CBr_4 (21,5 g; 64,8 mmol) under nitrogenatmosfære. Til løsningen ble deretter 3,7-dimetyl-1-oktanol (5,1 g; 32,4 mmol) tilsatt og videre ble PPh_3 (17,0 g; 64,8 mmol) tilsatt i små mengder over 15-20 minutter under konstant røring på isbad (0 °C). Løsningen ble rørt i 3 timer før den ble fortynnet med 150 mL heksan. Bunnfallet ble fjernet ved å filtrere løsningen gjennom Celite. Løsningsmiddel ble fjernet på rotavapor og produkt ble løst tre ganger i heksan og filtrert

med filterpapir for å fjerne ekstra bunnfall. Blandingen ble så destillert uten løsningsmiddel i en Claisen-Vigreux-opsats. Produktet ble destillert som en fargeløs olje (6,1 g; 86 %). Kp. 110 °C/10 Torr.

3.1.1.2 Syntese av 2-metyl-5-(3,7-dimetyloktyloksi)pyridin

Metoden er basert på tidligere arbeid av Skattebøl *et al.* (2004).

Natrium (0,46 g; 20 mmol) ble veid ut og kuttet i små biter, som så ble tilsatt 10 mL metanol i en trehalset rundkolbe på vannbad ved romtemperatur under nitrogenatmosfære. Til natriummetanolat-løsningen ble 3-hydroksey-6-metylpyridin (2,18 g; 20 mmol) tilsatt og deretter rørt i 30 minutter. Etter reaksjon ble løsningsmiddel fjernet på rotavapor. Blandingen ble løst i 30 mL DMF og deretter tilsatt én krystall KI og 1-bromo-3,7-dimetyloktan (4,42 g; 20 mmol), hvor løsningen ble rørt ved romtemperatur i 20 timer. Deretter ble blandingen tilsatt 200 mL dietyleter og vasket med 40 mL vann, 50 mL 10 % NaOH, 50 mL vann og 50 mL mettet NaCl. Eterfasen ble tørket (MgSO_4) og løsningsmiddel ble fjernet på rotavapor. Prøven ble rensset (silika/heksan:etylacetat) og dette ga produkt, en gul olje (2,9 g; 59 %). Produkt ble lagret i kjøleskap under nitrogenatmosfære.

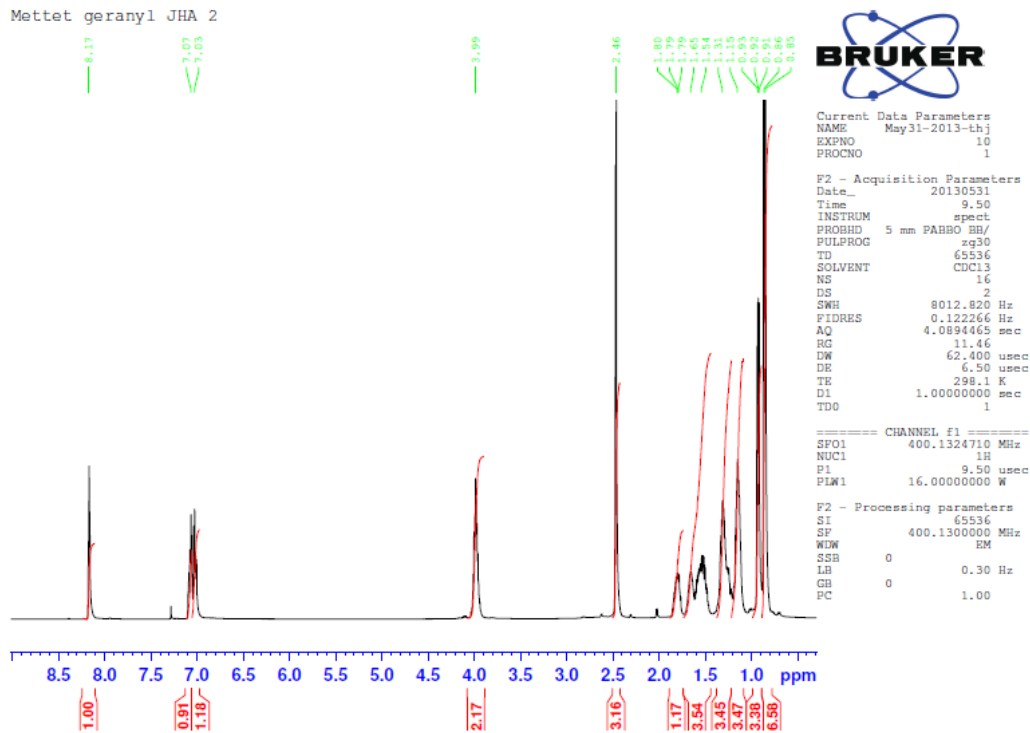
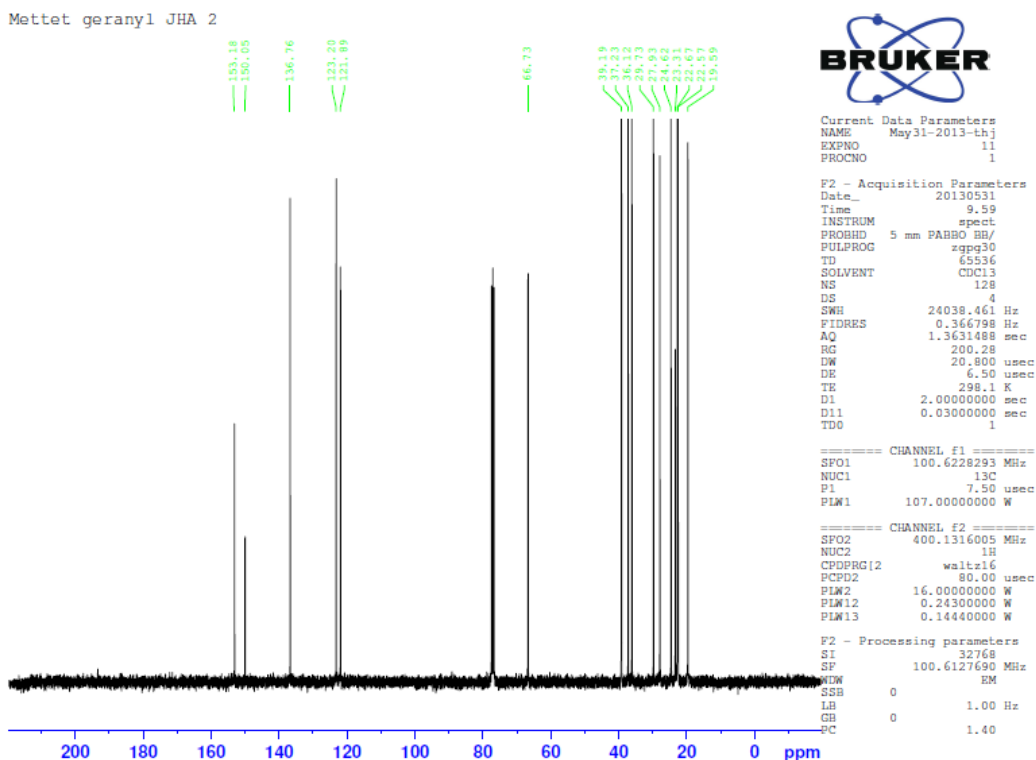
GC-MS-analyse av produktet viste et hovedprodukt ved 23,37 minutter og tilhørende massespekter med masse til molekylion på m/z 249. Dette stemmer overens med molekylmassen til forbindelsen.

NMR-data

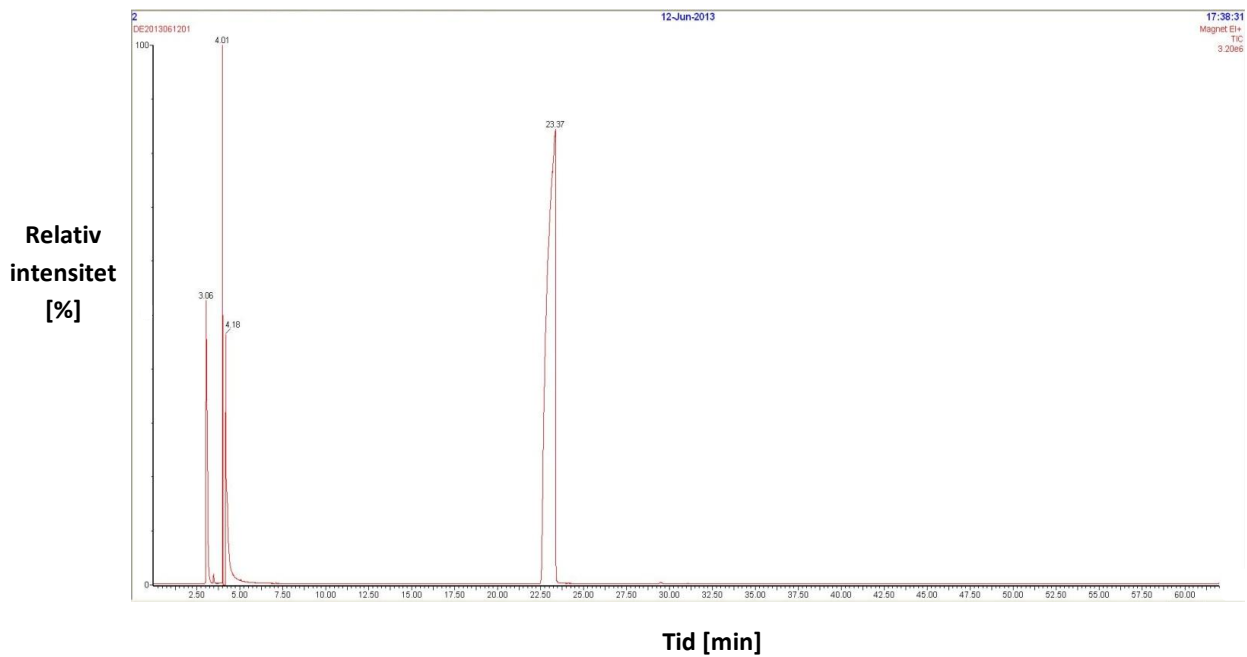
$^1\text{H NMR}$: δ 0.86 (dd, $J = 3.1, 6.6$ Hz, 6H), δ 0.93 (dd, $J = 3.3, 6.4$ Hz, 3H), δ 1.10-1.18 (m, 3H), δ 1.24-1.36 (m, 3H), δ 1.46-1.72 (m, 3H), δ 1.77-1.86 (m, 1H), δ 2.46 (d, $J = 3.6$ Hz, 3H), δ 3.93-4.04 (m, 2H), δ 7.00-7.10 (m, 2H), δ 8.17 (t, $J = 5.6$ Hz, 1H).

$^{13}\text{C NMR}$: δ 19.6 (CH_3), δ 22.6 (CH_3), δ 22.7 (CH_3), δ 23.3 (CH_3), δ 24.6 (CH_2), δ 27.9 (CH), δ 29.7 (CH), δ 36.1 (CH_2), δ 37.2 (CH_2), δ 39.2 (CH_2), δ 66.7 (CH_2), δ 121.9 (CH), δ 123.2 (CH), δ 136.8 (CH), δ 150.0 (C), δ 153.2 (C).

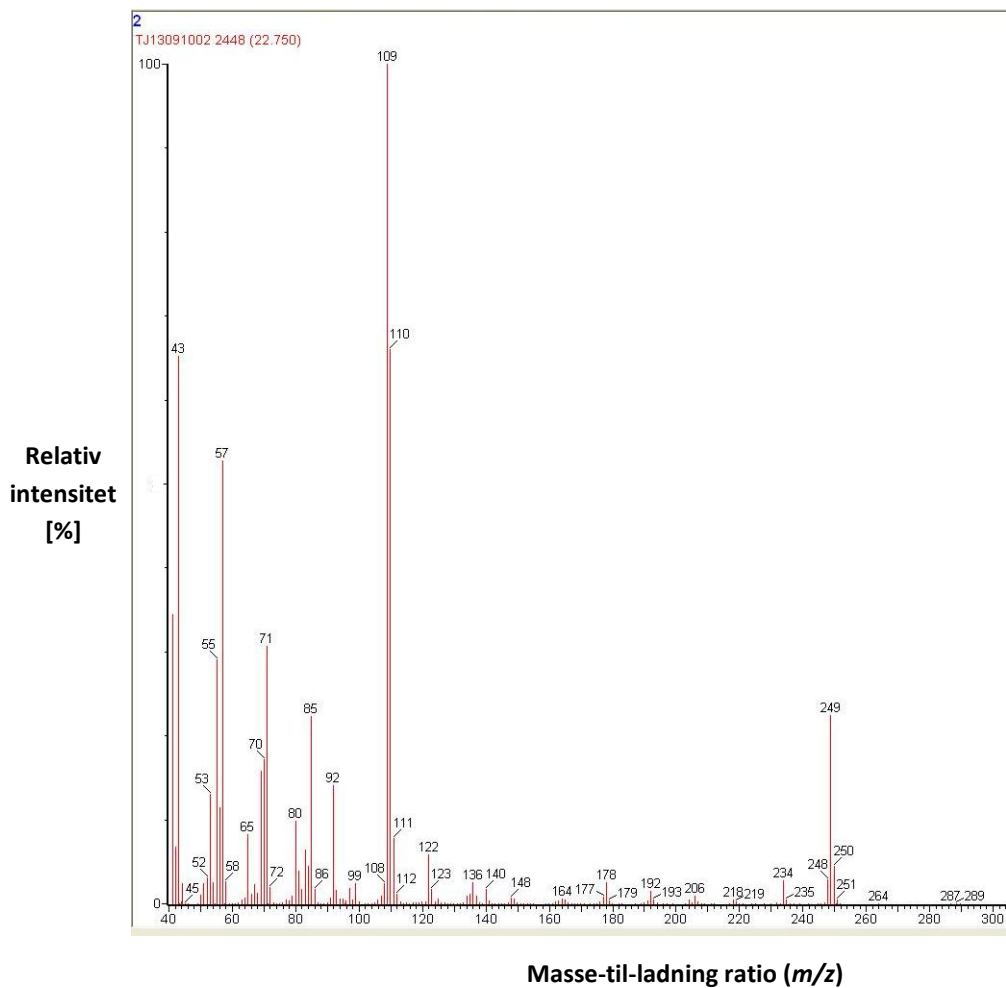
Diverse spektra og kromatogrammer for JHA 1

 ^1H NMR-spekter: ^{13}C NMR-spekter:

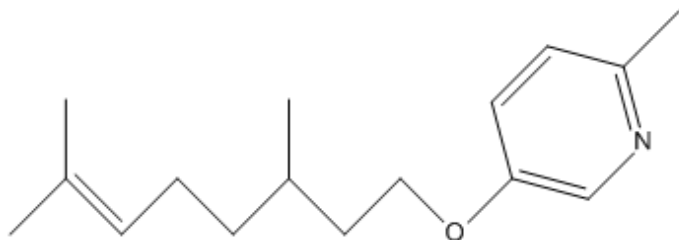
Gasskromatogram etter syntese med hovedprodukt på 23,37 minutter:



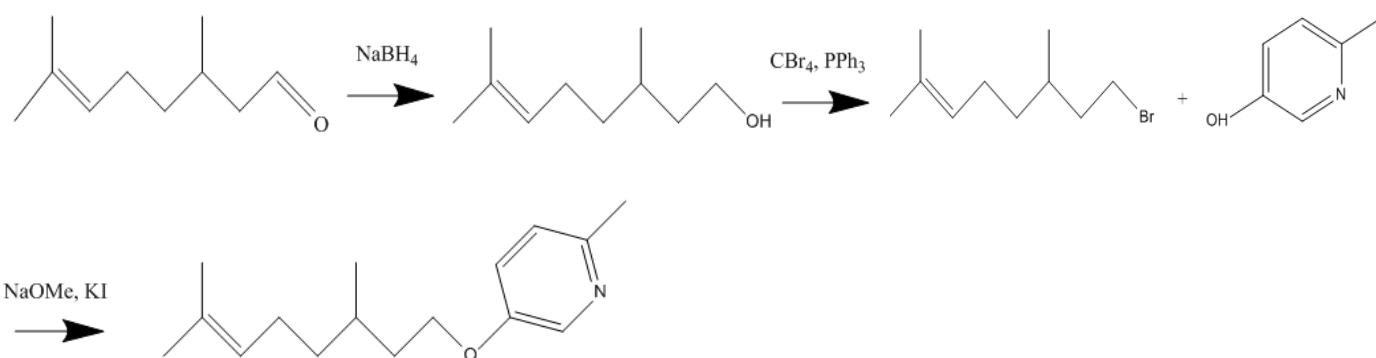
Massespekter tilhørende hovedprodukt (m/z intervall fra 40-300):



3.1.2 Syntese av 2-metyl-5-(3,7-dimetyloktyl-6-enoksi)pyridin (JHA 2)



Figur 3.1.2.1: Struktur av juvenilhormonanalogue 2.



Skjema 3.1.2.1: Reaksjonsskjema over syntesene for å lage juvenilhormonanalogue 2.

3.1.2.1 Syntese av 3,7-dimetyl-6-okten-1-ol

Metoden er basert på tidligere arbeid av Taber og Raciti (2011).

Under røring på isbad (0 °C) ble 200 mL vannfri THF målt ut og tilsatt under røring ved nitrogenatmosfære. Først ble NaBH₄ (1,25 g; 33 mmol) tilsatt og videre (+)-citronellal (10,0 g; 65 mmol) i løpet av 10 minutter. Løsningen ble rørt på isbad (0 °C) i 1 time. Reaksjonen ble stoppet ved tilsetning av 10 mL vann, 10 mL 15 % NaOH og 10 mL vann dråpevis under røring. Blandingen ble filtrert gjennom et tykt lag MgSO₄, som ble vasket med MTBE og løsningsmiddel ble fjernet på rotavapor. Dette ga råprodukt, en fargeløs olje (10,9 g). Ved undersøkelse av ¹H og ¹³C NMR-spektra ble det klart at råproduktet var noe urent, men det ble brukt videre i neste reaksjon uten opprensing.

3.1.2.2 Syntese av 1-bromo-3,7-dimetyl-6-okten

Metoden er basert på tidligere arbeid av Kobayashi *et al.* (2011).

En løsning av 100 mL benzen i en trehalset rundkolbe ble tilsatt CBr_4 (21,5 g; 64,8 mmol) under nitrogenatmosfære. Til løsningen ble deretter ble citronellol (5,1 g; 32,4 mmol) tilsatt og videre ble PPh_3 (17,0 g; 64,8 mmol) tilsatt i små mengder over 15-20 minutter under konstant røring på isbad (0 °C). Løsningen ble rørt i 3 timer før den ble fortynnet med 150 mL heksan. Bunnfallet ble fjernet ved å filtrere løsningen gjennom Celite. Løsningsmiddel ble fjernet på rotavapor og produkt ble løst tre ganger i heksan og filtrert med filterpapir for å fjerne ekstra bunnfall. Blandingen ble så destillert uten løsningsmiddel i en Claisen-Vigreux-opsats. Produktet ble destillert som en fargeløs olje (3,8 g; 53 %). Kp. 105 °C/10 Torr.

3.1.2.3 Syntese av 2-metyl-5-(3,7-dimetyloktyl-6-enoksi)pyridin

Metoden er basert på tidligere arbeid av Skattebøl *et al.* (2004).

Natrium (0,35 g; 15 mmol) ble veid ut og kuttet i små biter og tilsatt 10 mL metanol i en trehalset rundkolbe på vannbad ved romtemperatur og nitrogenatmosfære. Til natriummetanolat-løsningen ble 3-hydrokxy-6-metylpyridin (1,63 g; 15 mmol) tilsatt og rørt i 30 minutter. Etter reaksjon ble løsningsmiddel fjernet på rotavapor. Blandingen ble løst i 23 mL DMF og tilsatt én krystall KI og 1-bromo-3,7-dimetyl-6-okten (3,3 g; 15 mmol). Løsningen ble rørt ved romtemperatur i 20 timer. Deretter ble løsningen tilsatt 200 mL dietyleter som ble vasket med 40 mL vann, 50 mL 10 % NaOH, 50 mL vann og 50 mL mettet NaCl. Eterfasen ble tørket (MgSO_4) og løsningsmiddel ble fjernet på rotavapor. Prøven ble rensset (silika/heksan:etylacetat) og dette ga produkt, en gul olje (1,9 g; 50 %). Produkt ble lagret i kjøleskap under nitrogenatmosfære.

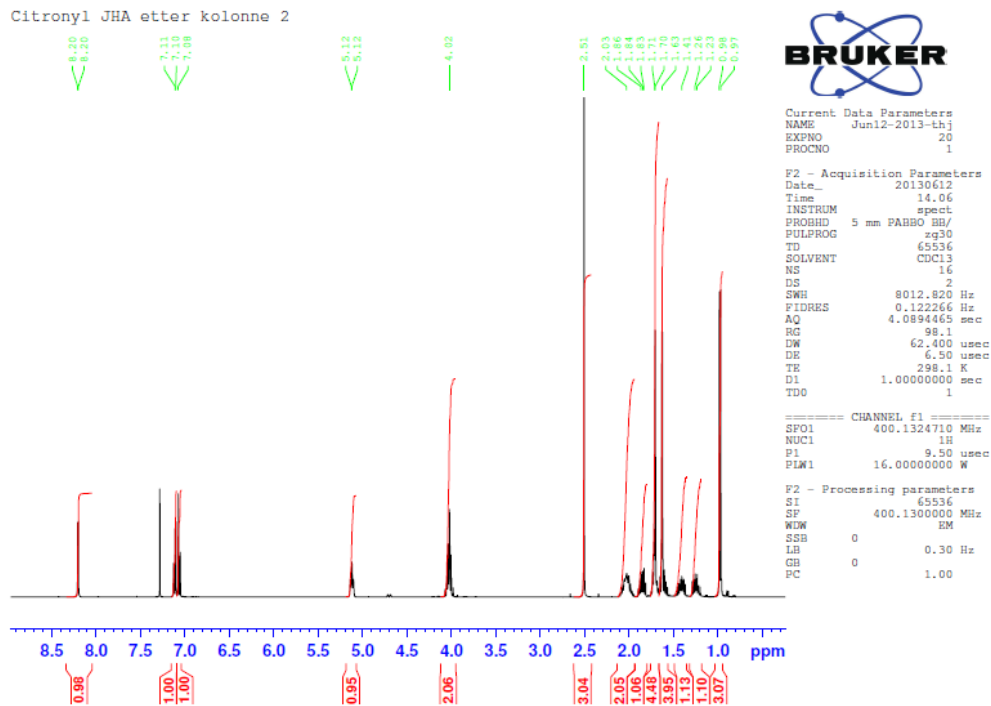
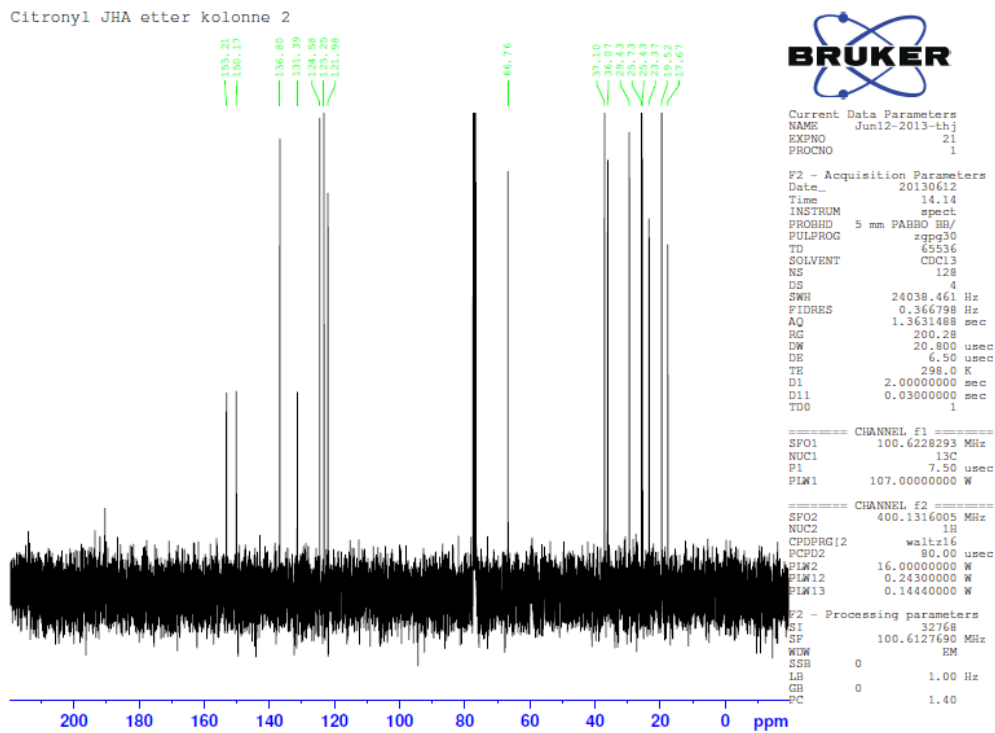
GC-MS-analyse av produktet viste et hovedprodukt ved 30,45 minutter og tilhørende massespekter med masse til molekylion på m/z 247. Dette stemmer overens med molekylmassen til forbindelsen.

NMR-data

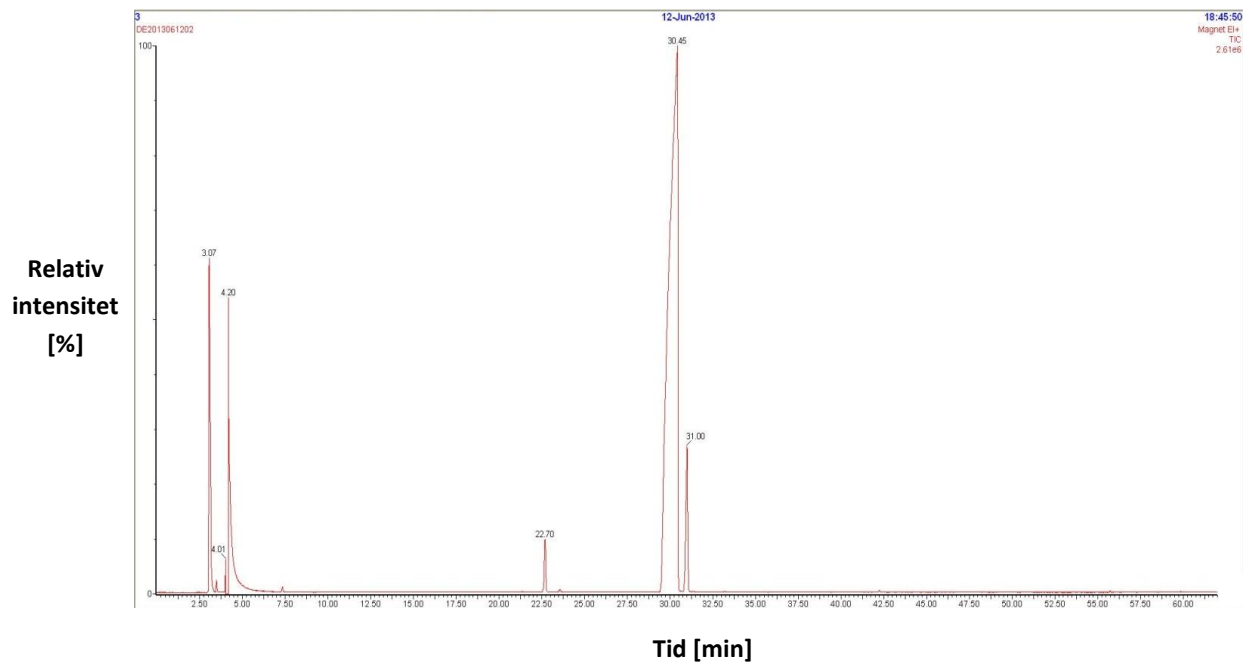
^1H NMR: δ 0.97 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H), δ 1.19-1.30 (m, 1H), δ 1.36-1.48 (m, 1H), δ 1.55-1.75 (m, 8H), δ 1.80-1.90 (m, 1H), δ 1.94-2.11 (m, 2H), δ 2.50 (s, 3H), δ 3.97-4.07 (m, 2H), δ 5.09-5.16 (m, 1H), δ 7.07 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), δ 7.12 (dd, $J = 2.8, 8.9$ Hz, 1H), δ 8.20 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H).

^{13}C NMR: δ 17.7 (CH₃), δ 19.5 (CH₃), δ 23.4 (CH₃), δ 25.4 (CH₃), δ 25.7 (CH₂), δ 29.4 (CH), δ 36.1 (CH₂), δ 37.1 (CH₂), δ 66.8 (CH₂), δ 122.0 (CH), δ 123.3 (CH), δ 124.6 (CH), δ 131.4 (CH), δ 136.8 (C), δ 150.2 (C), δ 153.2 (C).

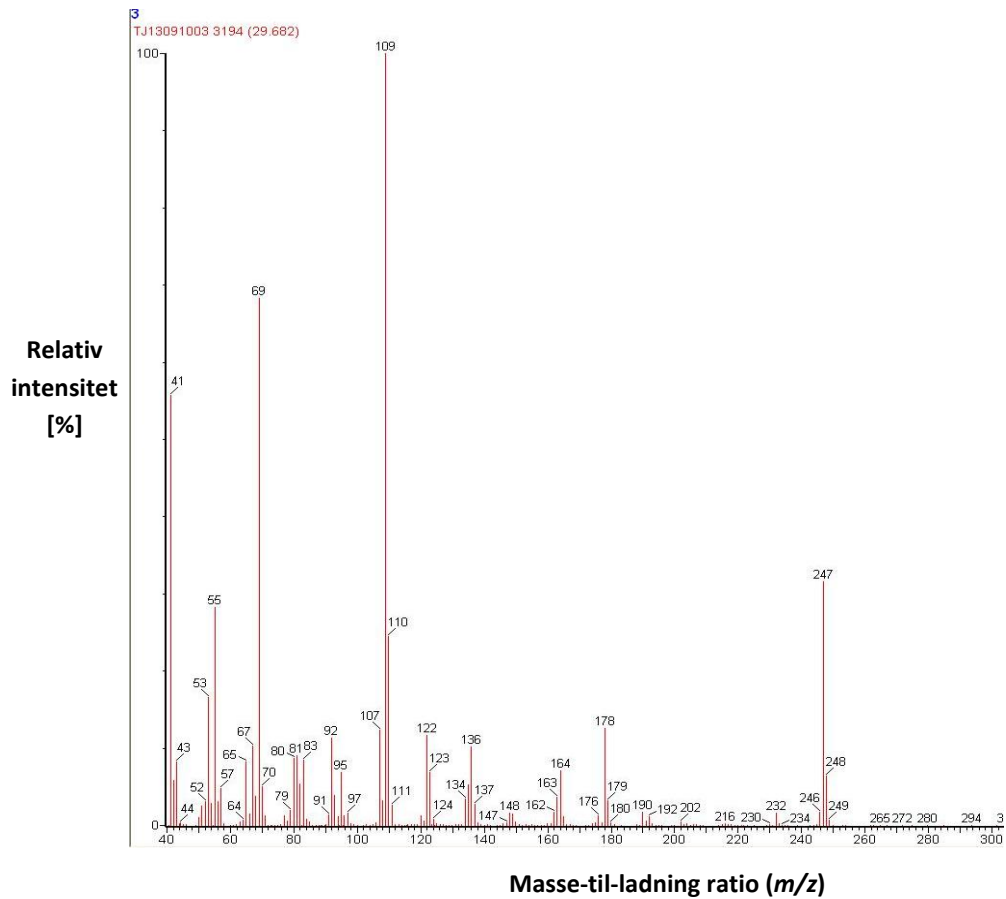
Diverse spektra og kromatogrammer for JHA 2

¹H NMR-spekter:¹³C NMR-spekter:

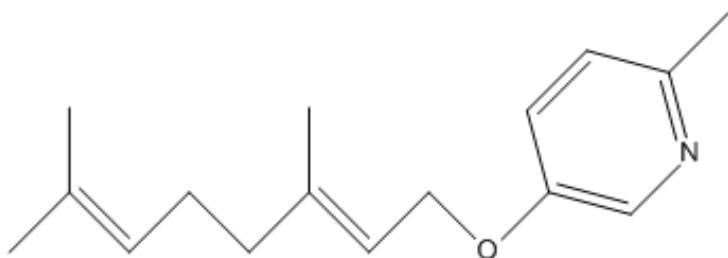
Gasskromatogram etter syntese med hovedprodukt på 30,45 minutter:



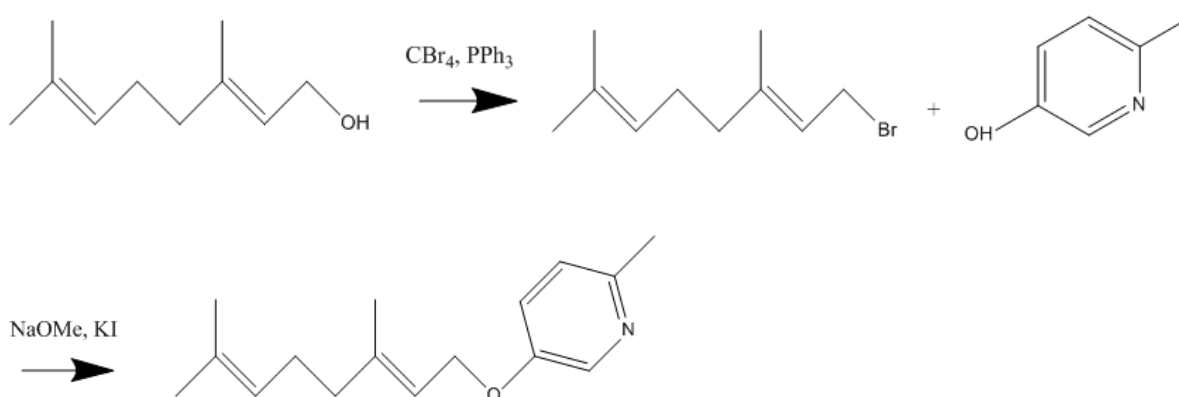
Massespekter tilhørende hovedprodukt (m/z intervall fra 40-300):



3.1.3 Syntese av 2-metyl-5-(3,7-dimetyloktyl-2,6-dienoksi)pyridin (JHA 3)



Figur 3.1.3.1: Struktur av juvenilhormonanalogue 3.



Skjema 3.1.3.1: Reaksjonsskjema over syntesene for å lage juvenilhormonanalogue 3.

3.1.3.1 Syntese av 1-bromo-3,7-dimetyl-2,6-oktadien

Metoden er basert på tidligere arbeid av Kobayashi *et al.* (2011).

En løsning av 100 mL benzen i en trehalset rundkolbe ble tilsatt CBr_4 (21,5 g; 64,8 mmol) under nitrogenatmosfære. Til løsningen ble deretter geraniol (5,0 g; 32,4 mmol) tilsatt og videre ble PPh_3 (17,0 g; 64,8 mmol) tilsatt i små mengder over 15-20 minutter under konstant røring på isbad (0 °C). Løsningen ble rørt i 3 timer før den ble fortynnet med 150 mL heksan. Bunnfallet ble fjernet ved å filtrere løsningen gjennom Celite. Løsningsmiddel ble fjernet på rotavapor og produkt ble løst tre ganger i heksan og filtrert med filterpapir for å fjerne ekstra bunnfall. Blandingen ble så destillert uten løsningsmiddel i en Claisen-Vigreux-opsats. Produktet ble destillert som en fargeløs olje (4,9 g; 73 %). Kp. 110 °C/10 Torr.

3.1.3.2 Syntese av 2-metyl-5-(3,7-dimetyloktyl-2,6-dienoksi)pyridin

Metoden er basert på tidligere arbeid av Skattebøl *et al.* (2004).

Natrium (0,46 g; 20 mmol) ble veid ut og kuttet i små biter som så ble tilsatt 10 mL metanol på vannbad ved romtemperatur og nitrogenatmosfære. Til natriummetanolat-løsningen ble 3-hydroksy-6-metylpyridin (2,18 g; 20 mmol) tilsatt og rørt i 30 minutter. Etter reaksjon ble løsningsmiddel fjernet på rotavapor. Blandingen ble løst i 30 mL DMF og så tilsatt én krystall KI og 1-bromo-3,7-dimetyl-2,6-oktadien (4,34 g; 20 mmol). Løsningen ble rørt ved romtemperatur i 20 timer. Deretter ble løsningen tilsatt 200 mL dietyleter som ble vasket med 40 mL vann, 50 mL 10 % NaOH, 50 mL vann og 50 mL mettet NaCl. Eterfasen ble tørket (MgSO_4) og løsningsmiddel ble fjernet på rotavapor. Prøven ble rensert (silika/heksan:etylacetat) og dette ga produkt, en oransje olje (2,2 g; 47 %). Produkt ble lagret i kjøleskap under nitrogenatmosfære.

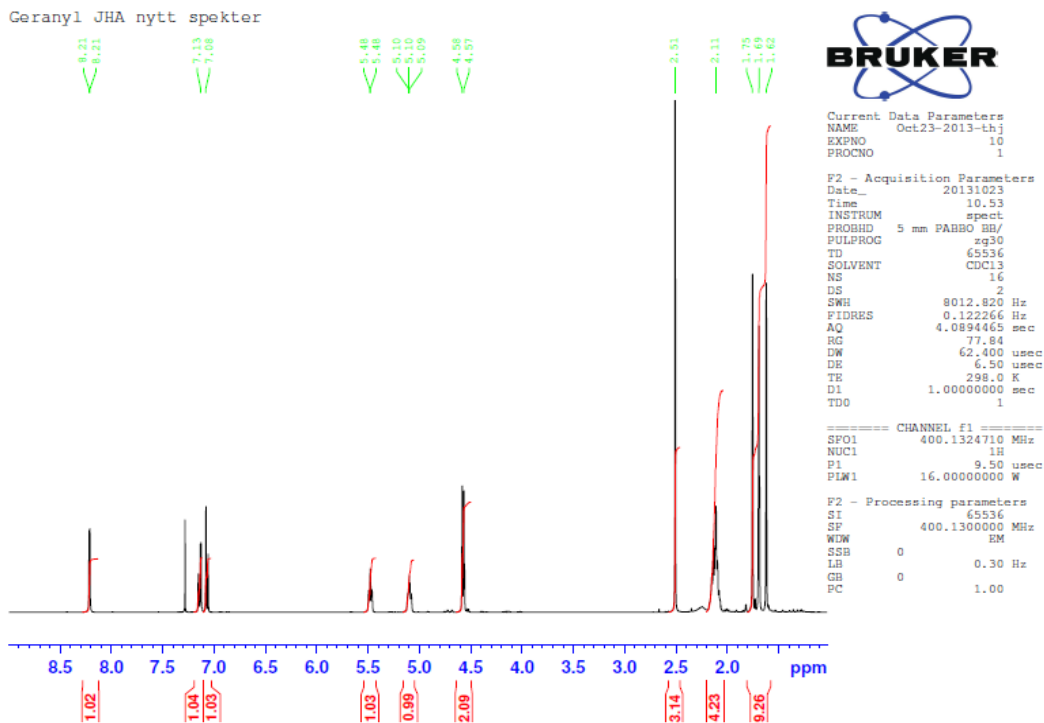
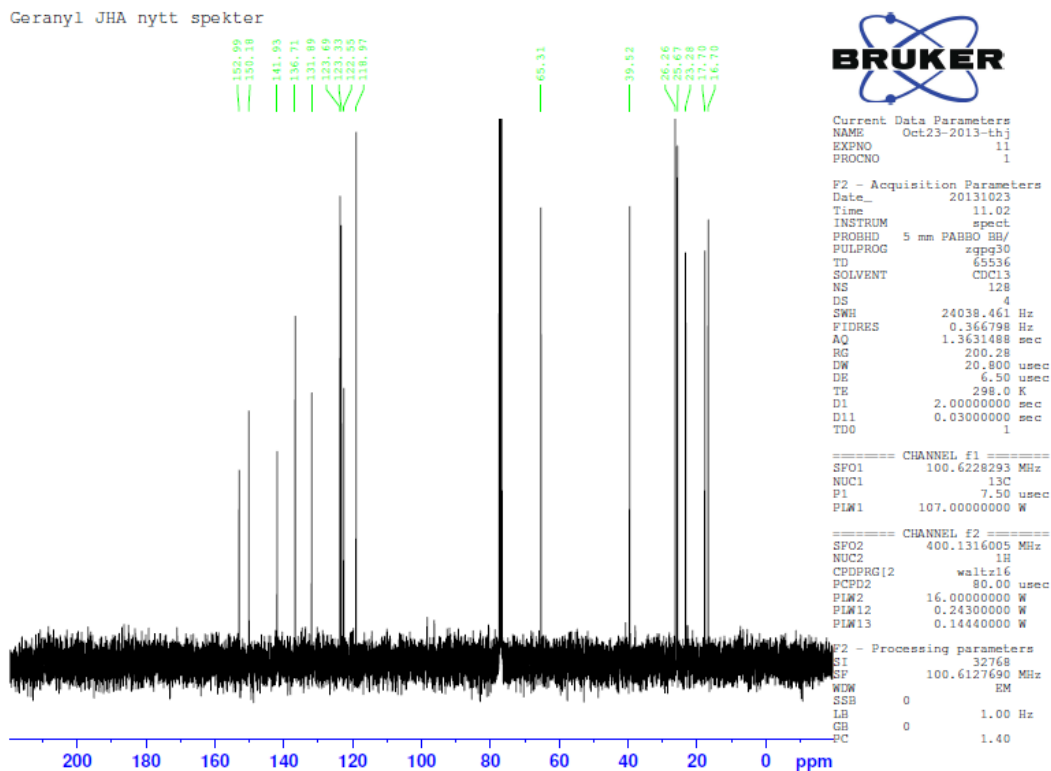
GC-MS-analyse av produktet viste et hovedprodukt ved 39,18 minutter og tilhørende massespekter med masse til molekylion på m/z 245. Dette stemmer overens med molekylmassen til forbindelsen.

NMR-data:

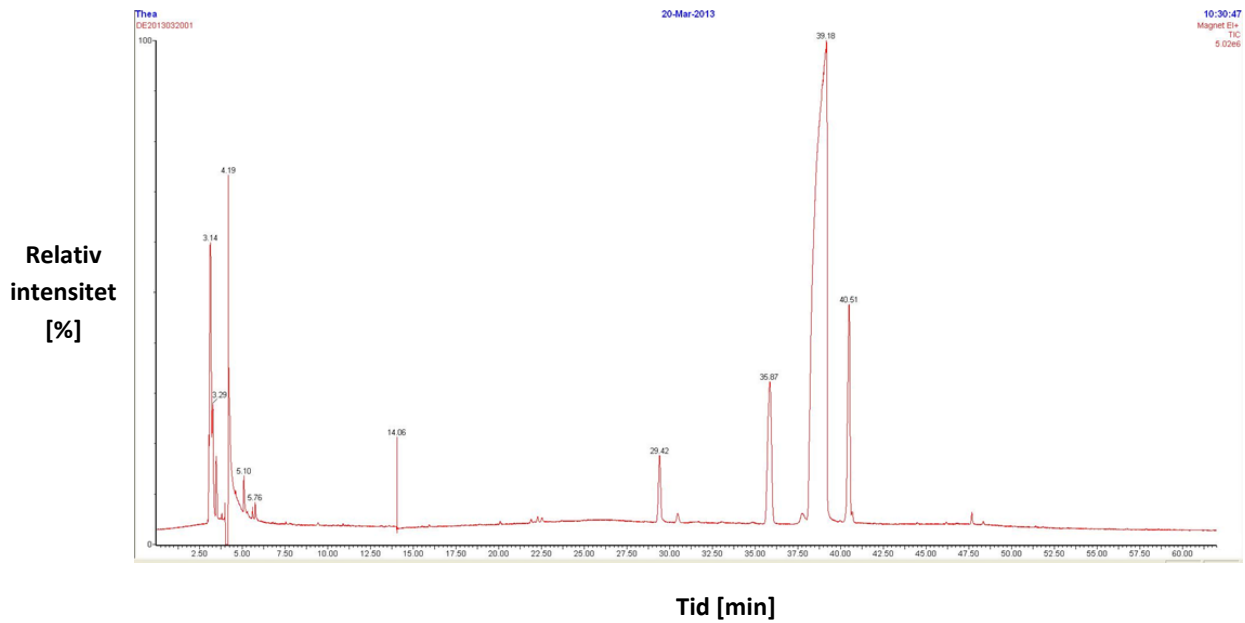
$^1\text{H NMR}$: δ 1.62 (s, 1H), δ 1.69 (s, 1H), δ 1.75 (s, 1H), δ 2.06-2.18 (m, 4H), δ 2.50 (s, 1H), δ 5.06-5.16 (m, 1H), δ 5.48 (dt, $J = 1.1, 6.6$ Hz, 1H), δ 7.07 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), δ 7.14 (dd, $J = 3.0, 8.5$ Hz, 1H), δ 8.21 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H).

$^{13}\text{C NMR}$: δ 16.7 (CH_3), δ 17.7 (CH_3), δ 23.3 (CH_3), δ 25.7 (CH_3), δ 26.3 (CH_2), δ 39.5 (CH_2), δ 65.3 (CH_2), δ 119.0 (CH), δ 122.6 (CH), δ 123.3 (CH), δ 123.7 (CH), δ 131.9 (CH), δ 136.7 (C), δ 141.9 (C), δ 150.2 (C), δ 153.0 (C).

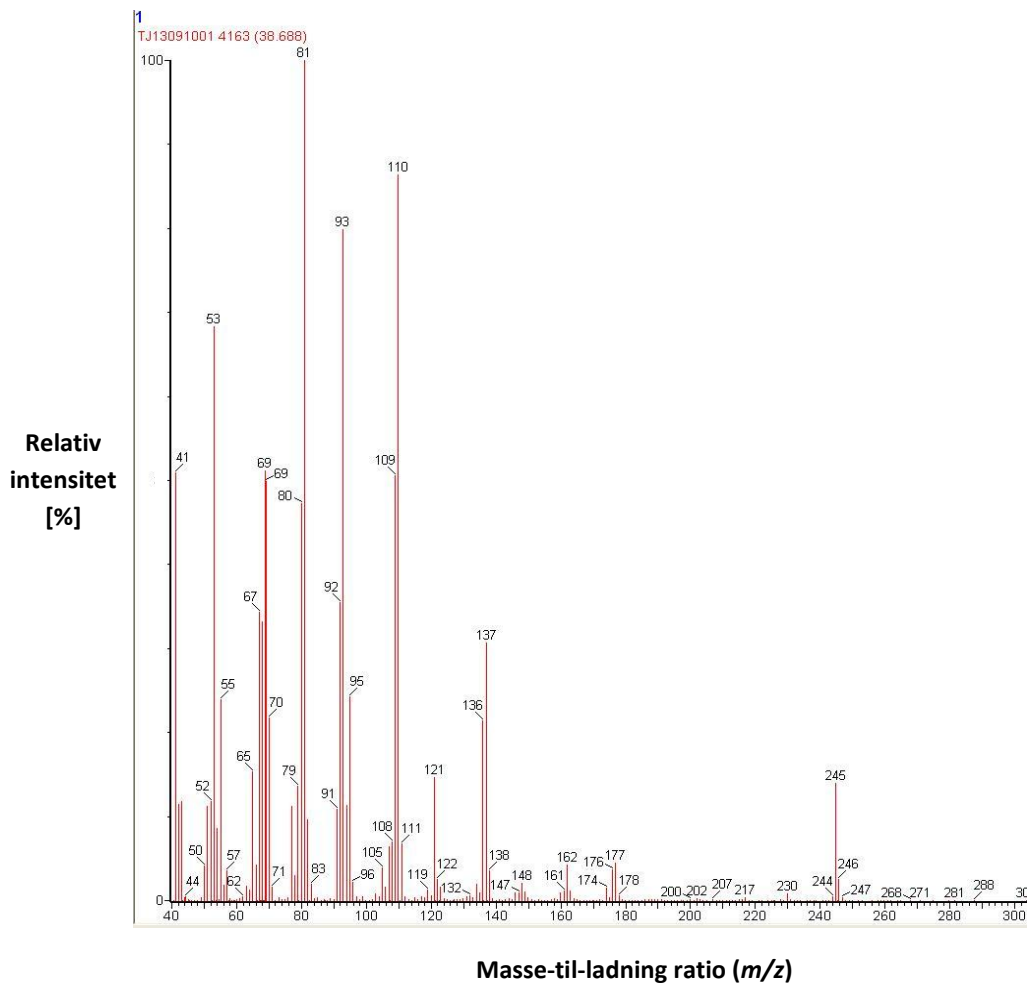
Diverse spektra og kromatogrammer for JHA 3

 ^1H NMR-spekter: ^{13}C NMR-spekter:

Gasskromatogram etter syntese med hovedprodukt på 39,18 minutter:



Massespekter tilhørende hovedprodukt (m/z intervall fra 40-300):



3.2 Prosedyre for nedbrytningsforsøk med Atlas Suntest CPS+

Forsøk 1-7

Sterile petriskåler ble først tilsatt kromatografisand (4,2 g) og deretter utveid mengde JHA med 5 mL valgt løsningsmiddel (tabell 3.2.1). Lokk og bunn på petriskålene ble teipet sammen før de ble satt inn i Atlast Suntest CPS+ lysboks med xenonlampe som strålingskilde og tilhørende kjøleanlegg SunCool (figur 3.2.1). Petriskålene ble rørt rundt i et par minutter for å forsikre homogen fordeling av analytt. Parametere som eksponeringstid, temperatur og innstrålingstetthet ble så stilt inn ved å følge protokollen til Arcus AS (Olsen 2011), og lysboksen ble satt på (tabell 3.2.1). Nullprøven ble laget ved samme fremgangsmåte, men inneholdt ikke juvenilhormonanaløg.



Figur 3.2.1: Bilde av Atlas Suntest CPS+ med kontrollpanel og åpent prøvekammer.

Etter at programmet var ferdigstilt ble kromatografisanden med startmateriale og nedbrytningsprodukter skrapet ut av petriskålene og overført til sterile prøverør. Petriskålene ble vasket ut med 25 mL valgt løsningsmiddel (for forsøk 3-7 var løsningsmiddelet heksan) og prøvene ble så oppbevart én natt i kjøleskap før videre behandling. For forsøk 1 og 2 ble prøvene først løst i 25 mL 96 % etanol og deretter ekstrahert med 50 mL heksan. Videre ble prøvene filtrert med 0,45 µm filter for å fjerne all kromatografisand og heksanfasen ble

overført til rene prøverør. Kromatografisanden ble så vasket en gang til med 5 mL heksan, som også ble filtrert av og overført til samme prøverør. Prøvene ble deretter oppkonsentrert ved blåsing av nitrogengass stående på varmeblokk (40-50 °C). Når det var omtrent 1,0-1,5 mL væske igjen ble den overført til GC-prøveglass med septumlukk og analysert med GC-MS.

Hvis det fortsatt var synlige partikler i heksanfasen etter filtrering med 0,45 µm filter, ble heksanfasen overført til sentrifugerør som ble sentrifugert i 1 minutt på 10,000 rpm. Dersom partikler fortsatt var spredt i løsningen ble heksanfasen filtrert med 0,20 µm filter over i GC-prøveglass med septumlukk før analyse med GC-MS. Prøvene ble etter analysering oppbevart i kjøleskap for eventuelle senere forsøk.

Forsøk 8

Dette forsøket ble utført uten bruk av Atlas Suntest CPS+ hvor strålingskilden istedenfor var sola. Sterile petriskåler ble først tilsatt kromatografisand (4,2 g) og deretter utveid mengde JHA med 5 mL 96 % etanol som løsningsmiddel (tabell 3.2.1). Lukk og bunn ble teipet sammen før eksponering av sollys. Petriskålene ble rørt rundt for å forsikre homogen fordeling av analytt. Petriskålene ble plassert i et solrikt vindu (Kurssal for kjemi i Bioteknologibygningen, NMBU) for eksponering tre uker i november. Prøvene ble flere ganger i uken rørt på for å forsikre fortsatt homogen fordeling av analytt. Nullprøven ble laget ved samme fremgangsmåte, men inneholdt ikke juvenilhormonanalogue.

Etter eksponeringen var ferdig ble kromatografisanden med startmateriale og nedbrytningsprodukter skrapet ut av petriskålene og overført til sterile prøverør. Petriskålene ble vasket ut med 25 mL heksan og prøvene ble så oppbevart én natt i kjøleskap før videre behandling. Videre ble prøvene filtrert med 0,45 µm filter for å fjerne all kromatografisand og heksanfasen ble overført til rene prøverør. Kromatografisanden ble så vasket en gang til med 5 mL heksan, som også ble filtrert av og overført til samme prøverør. Prøvene ble oppkonsentrerte ved blåsing av nitrogengass stående på varmeblokk (40-50 °C). Når det var omtrent 1,0-1,5 mL væske igjen ble væsken overført til GC-prøveglass med septumlukk og analysert med GC-MS. Prøvene ble etter analysering oppbevart i kjøleskap for eventuelle senere forsøk.

Tabell 3.2.1: Ulike sammensetninger av parametere brukt med Atlas Suntest CPS+.

Forsøk	Eksponeerings- tid	Innstrålings- tetthet, temperatur [W/m ² , °C]	Mengde JHA [mg]		Løsningsmiddel ved nedbrytning	Løsningsmiddel ved ekstraksjon
			JHA 1	JHA 2		
1	6 timer (parallell 1)	765, 35	JHA 1	56	96 % etanol	96 % etanol + Heksan
			JHA 2	57		
			JHA 3	57		
2	18 timer (parallell 1)	765, 35	JHA 1	61	96 % etanol	96 % etanol + Heksan
			JHA 2	58		
			JHA 3	58		
3	6 timer (parallell 2)	765, 35	JHA 1	60	96 % etanol	Heksan
			JHA 2	63		
			JHA 3	59		
4	6 timer	765, 35	JHA 1	59	Isooktan (2,2,4- trimetylpentan)	Heksan
			JHA 2	63		
			JHA 3	62		
5	18 timer (parallell 2)	765, 35	JHA 1	63	96 % etanol	Heksan
			JHA 2	61		
			JHA 3	59		
6	30 timer	765, 35	JHA 1	64	96 % etanol	Heksan
			JHA 2	66		
			JHA 3	57		
7	6 timer	765, 35	JHA 1	425	96 % etanol	Heksan
			JHA 2	437		
			JHA 3	412		
8*	3 uker	-, rom- temperatur	JHA 1	58	96 % etanol	Heksan
			JHA 2	57		
			JHA 3	57		

* Dette forsøket ble utført uten bruk av Atlas Suntest CPS+.

3.3 Kromatografering av prøver fra nedbrytningsforsøk med Atlas Suntest CPS+

3.3.1 Preparativ gasskromatografi

To av prøvene som ble applisert på kolonnen var på forhånd oppkonsentrert med nitrogen-gass stående på varmeblokk (40-50 °C). 200 µL prøve ble injisert manuelt på kolonnen med Hamilton-sprøyte. Preparativ gasskromatografi ble testet på flere prøver av JHA 1 sammenslåtte for å få mengdemessig nok prøvemateriale til analysen.

3.3.2 Søylekromatografi

Det ble brukt en omtrent 20 cm lang silikakolonne med diameter på 2 cm, og en løsningsmiddelgradient bestående av heksan og etylacetat. Kolonnen ble alltid kondisjonert med 100 % heksan. Start sammensetning av løsningsmiddel var alltid 100 % heksan, og det ble tilsatt økende mengder etylacetat som polar komponent til stoffene eluerte fra søylen. Dersom ingen komponenter eluerte, ble 100 % etylacetat brukt som elueringsmiddel. Eluering av forbindelser fra søylen ble detektert på tynnsjiktplatene med både UV-lys og tilsetning av kaliumpermanganat. Søylekromatografi ble testet på flere prøver av JHA 2 og JHA 3 sammenslåtte for å få mengdemessig nok prøvemateriale til analysen.

3.3.3 Preparativ tynnsjikt-kromatografi (preparativ TLC)

Preparativ TLC ble utført på prøver som var blitt eksponert for lys i Atlas Suntest CPS+ i forsøk 7 (tabell 3.2.1). Det ble utprøvd flere sammensetninger av heksan og etylacetat som mobilfase; 1) 90/10 heksan/etylacetat, 2) 80/20 heksan/etylacetat, 3) 60/40 heksan/etylacetat og 4) 40/60 heksan/etylacetat. 40/60 heksan/etylacetat ga best separasjon av komponentene i prøvene, og denne sammensetningen ble brukt til videre separasjon av prøver. Det ble utført tynnsjiktplater med JHA-prøver for hver blanding av mobilfase for å undersøke hvilken som ga best separasjon. UV-lys og kaliumpermanganat ble brukt til deteksjon.

For én plate ble 200 mL mobilfase blandet og tilsatt tynnsjiktet til metning. Preparative tynnsjiktplater ble preparert ved tilsetning av omtrent 0,5 mL JHA-prøve løst i heksan. Prøvene ble applisert på platene med pasteurpipetter omtrent 1 cm fra bunnen av platen, og plassert i karet til mobilfasen hadde vandret omtrent 1 cm fra toppen av platen (omlag 3 timer).

UV-lys ble brukt for å detektere de ulike fraksjonene, som ble avmerket med blyant. Silikaen ble skrapet av med spatel og løst i 300 mL etylacetat. Blandingen stod på røring i 60 minutter og silikaen ble filtrert vekk. Løsningsmiddelet ble fjernet på rotavapor og NMR-spektra ble tatt opp av produktet. Dersom NMR-spektra viste lite produkt og mye løsningsmiddel ble alternativt løsningsmiddel prøvd ut (som metanol, heksan og ekstra vask med etylacetat) med samme utførelse. Etter NMR-spektra var tatt opp av fraksjonene, ble de overført til GC-prøveglass med septumlokk og analysert med GC-MS. Dersom spektrale data fortsatt ga lite informasjon, ble prøvene tørket i eksikator koblet til vakumpumpe over natt.

Fraksjoner av prøvene av JHA 2 og JHA 3 ble preparert ved å sette kolber med løsningsmiddel på røring i 60 minutter, og deretter lot kolbene stå over natt. Resten av prøveopparbeidingen var lik beskrivelsen ovenfor.

3.4 Nedbrytningsforsøk med høyintensiv UV-lampe, petriskål og kromatografisand

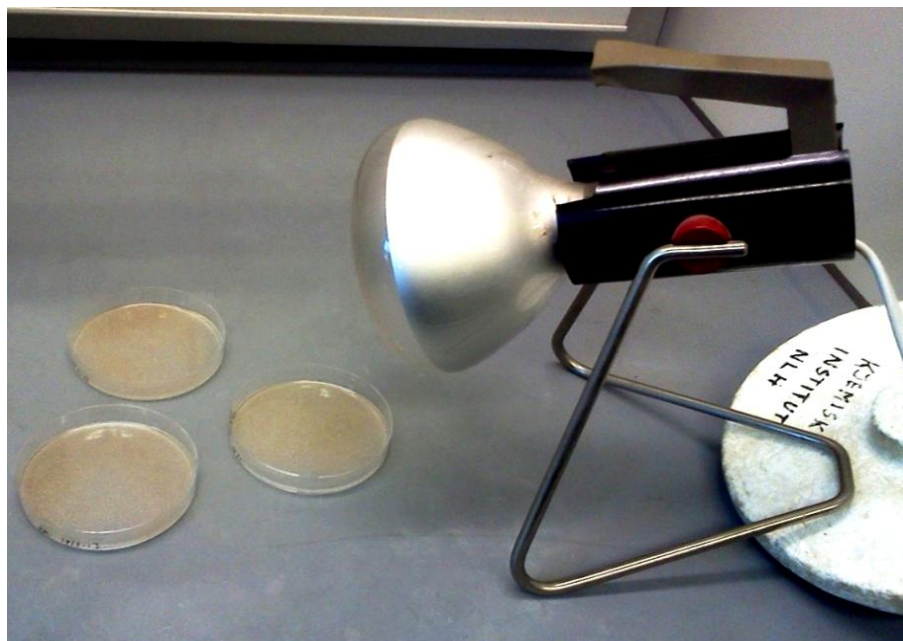
Sterile petriskåler ble tilsatt kromatografisand (4,2 g) og deretter utveid mengde JHA med 5 mL 96 % etanol (tabell 3.4.1). Petriskålene ble rørt rundt for å oppnå en homogen fordeling av analytt. Prøvene stod 6 timer eksponert for den høyintensive UV-lampen med temperatur rundt 60-65 °C målt med termometer (figur 3.4.1). Temperaturen ble målt mellom petriskålene og avtrekkskapet ble dekket fullstendig med aluminiumsfolie for å minke mengden lys som slapp ut. Forsøket ble ikke utført på JHA 2 da det ikke var nok prøvemateriale til å gjøre forsøket.

Etter eksponeringen var ferdig, ble kromatografisanden med startmateriale og nedbrytningsprodukter skrapet ut av petriskålene og overført til sterile prøverør. Petriskålene ble vasket med 25 mL heksan og prøvene ble så oppbevart én natt i kjøleskap før videre

behandling. Videre ble prøvene filtrert med 0,45 µm filter for å fjerne all kromatografisand fra prøvene og heksanfasen ble overført til rene prøverør. Kromatografisanden ble så vasket en gang til med 10 mL heksan, som også ble filtrert av og overført til samme prøverør. Prøvene ble oppkonsentrert ved blåsing av nitrogengass stående på varmeblokk (40-50 °C). Når det var omtrent 1,0-1,5 mL væske igjen ble den overført til GC-prøveglass med septumlokk og analysert med GC-MS.

Tabell 3.4.1: Mengder av juvenilhormonanalogene brukt samt om forsøket ble utført med eller uten petriskållokk.

Forsøk	Mengde JHA [mg]		Merknad
	JHA 1	JHA 3	
1	JHA 1	71	Uten petriskållokk
	JHA 3	77	
2	JHA 1	74	Med petriskållokk
	JHA 3	68	



Figur 3.4.1: Oppsettet for forsøket med høyintensiv lampe, petriskål og kromatografisand.

3.5 Nedbrytningsforsøk med singlett-oksygen produsert fra H₂O₂

Metoden er basert på tidligere arbeid av Alsters *et al.* (2010).

Til en trehalset rundkolbe ble det tilsatt forbindelse som skulle oksideres (1,54 mmol), Na₂MoO₄·2H₂O (16,7 mg; 0,007 mmol) og 50 mL metanol under sterk røring. Blandingen ble varmet opp til 55 °C og deretter tilsatt 50 % vandig H₂O₂ (313,1 mg; 4,60 mmol) dråpevis. Reaksjonen var ferdig etter 24 timer og det ble tilsatt en blanding av Na₂SO₃ (193,5 mg; 1,54 mmol) i 55 mL MilliQ-vann varmet ved 60 °C. Utfelt Na₂SO₄ ble filtrert av med filterpapir og filtratet ble ekstrahert med 200 mL MTBE og deretter tørket (MgSO₄). Inndamping av MTBE på rotavapor ga vannfase som så ble ekstrahert med 200 mL dietyleter og tørket (MgSO₄). Løsningsmiddel ble fjernet på rotavapor. Hvis det fortsatt var vann i kolben etter ekstraksjon ble 200 mL etylacetat og MgSO₄ tilsatt under røring. Løsningsmiddel ble fjernet på rotavapor og produkt ble undersøkt ved at prøven ble løst i 1 mL kloroform og analysert med GC-MS.

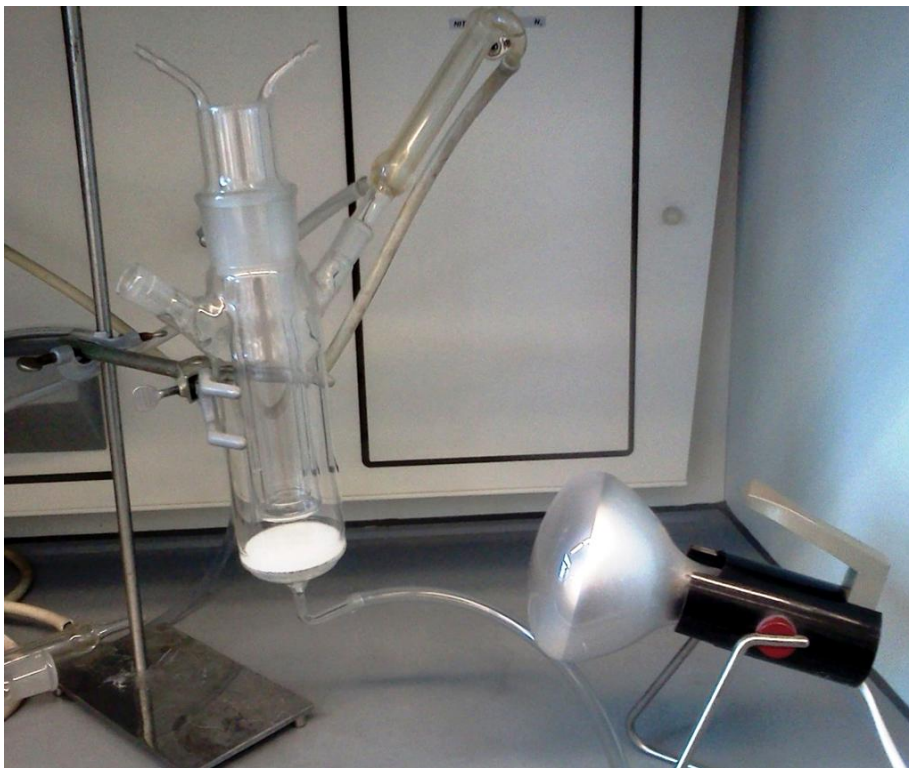
I en modifikasjon av metoden ble 50 % vandig H₂O₂ tilsatt totalt fem porsjoner, hvor én porsjon var 313,1 mg (4,60 mmol), én gang hvert femte minutt.

3.6 Nedbrytningsforsøk med høyintensiv UV-lampe og gass

Det ble satt opp en fotokjemisk oppsats komplett med den høyintensive UV-lampen, kjøler og tilkobling til gass (oksygen og nitrogen). Utveid mengde forbindelse ble tilsatt oppsatsen med 150 mL heksan, og valgt gass ble blåst gjennom blandingen med konstant tilførsel og overskudd (tabell 3.6.1). Det ble tilsatt nok heksan til at væsknivået hele tiden var over det innerste røret (figur 3.6.1). Fraksjoner (omtrent 100 mL løsning) ble hentet ut fra oppsatsen med 1,5-timers, 3-timers og 4,5-timers intervaller, og løsningsmiddel ble fjernet på rotavapor. Produktet ble løst i 1 mL kloroform og løsningen ble overført til GC-prøveglass med septumlukk før analyse med GC-MS.

Tabell 3.6.1: Mengder av juvenilhormonanalogene samt hvilken type gass som ble brukt.

Forsøk	Mengde JHA [g]		Type gass
1	JHA 1	0,3	Oksygen
	JHA 2	0,2	
	JHA 3	1,0	
2	JHA 1	0,3	Nitrogen
	JHA 3	0,5	



Figur 3.6.1: Oppsettet for forsøket med fotokjemisk oppsats og høyintensiv UV-lampe.

4. Resultater og diskusjon

4.1 Syntese av juvenilhormonanalogene

Alle reaksjonene som ble utført var vellykkede og strukturer ble dokumentert ved analyse med ^1H og ^{13}C NMR. Tabell 4.1.1 viser utbyttene for hvert syntesetrinn som ble utført for de ulike produktene.

Tabell 4.1.1: Oversikt over syntesetrinnene med tilhørende utbytter.

Synteseprodukt	Antall syntesetrinn	Utbytte [%]	Mengde [g]
Juvenilhormonanalogue 1			
1-bromo-3,7-dimetyloktan	1	86	6,1
2-metyl-5-(3,7-dimetyloktyloksi)pyridin	2	59	2,9
Juvenilhormonanalogue 2			
3,7-dimetyl-6-okten-1-ol	1	– *	10,9
1-bromo-3,7-dimetyl-6-okten	2	53	3,8
2-metyl-5-(3,7-dimetyloktyl-2-enoksi)pyridin	3	50	1,9
Juvenilhormonanalogue 3			
1-bromo-3,7-dimetyl-2,6-oktadien	1	73	4,9
2-metyl-5-(3,7-dimetyloktyl-2,6-dienoksi)pyridin	2	47	2,2

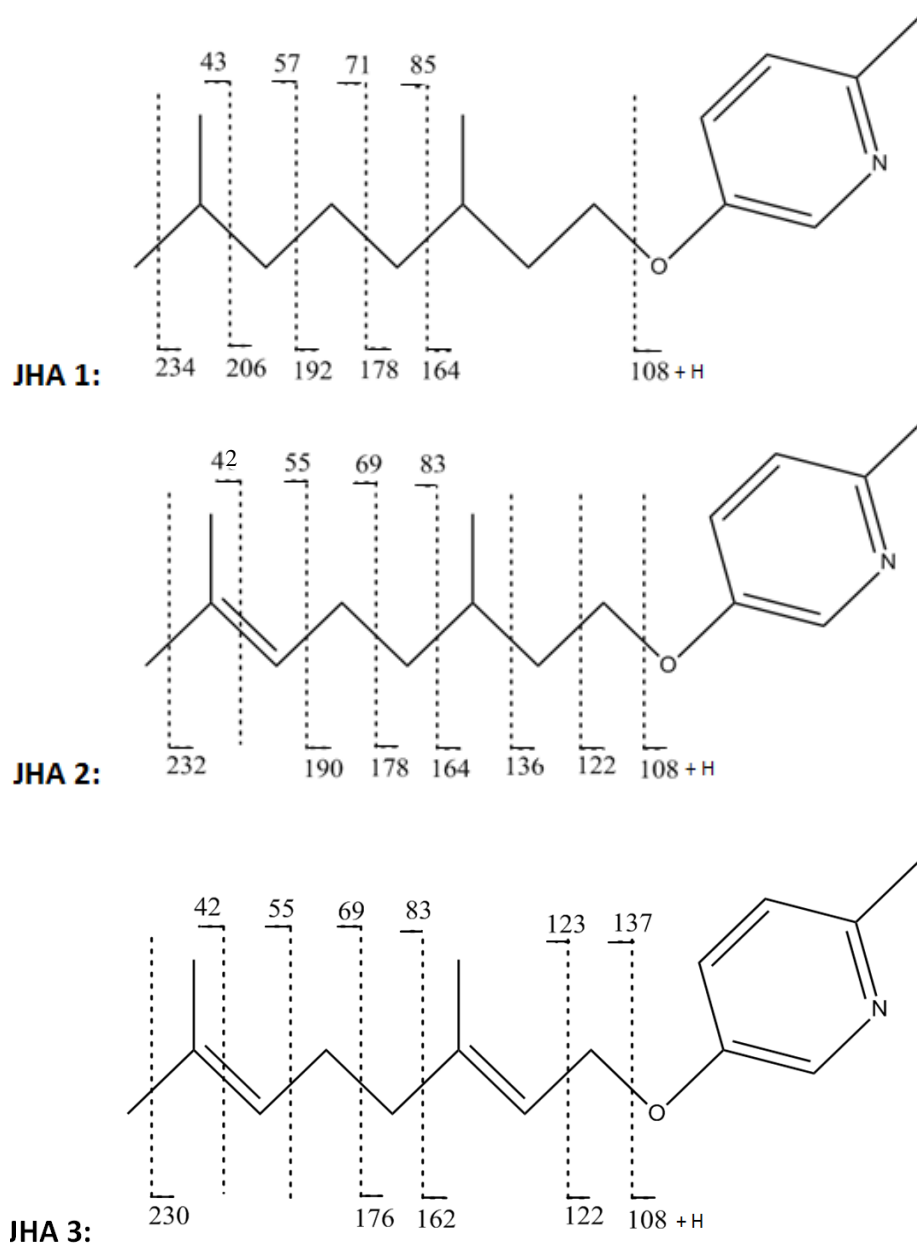
* Resultatet av denne reaksjonen var et råprodukt som ble brukt videre uten opprensing.

Målet med syntesene var å få mer enn 1 gram rent produkt av hver forbindelse. Dette målet ble nådd, selv om utbyttene etter syntese av de tre juvenilhormonanalogene med Williamson etersyntese var rundt 50 %. Siden vi fikk tilstrekkelige mengder av juvenilhormonanalogene ble det ikke gjort forsøk på å forbedre utbyttene.

Produktene etter Williamson syntese ble rensert med kromatografering på silikakolonne. For å få rent produkt ble første og siste fraksjon kastet selv om dette ga dårligere utbytter. Råproduktet etter første syntese av JHA 2 inneholdt løsningsmidler og mindre mengder udefinerte forurensinger, men ble brukt direkte videre siden sluttproduktet uansett skulle destilleres, noe vi antok ville være tilstrekkelig for å få rent produkt.

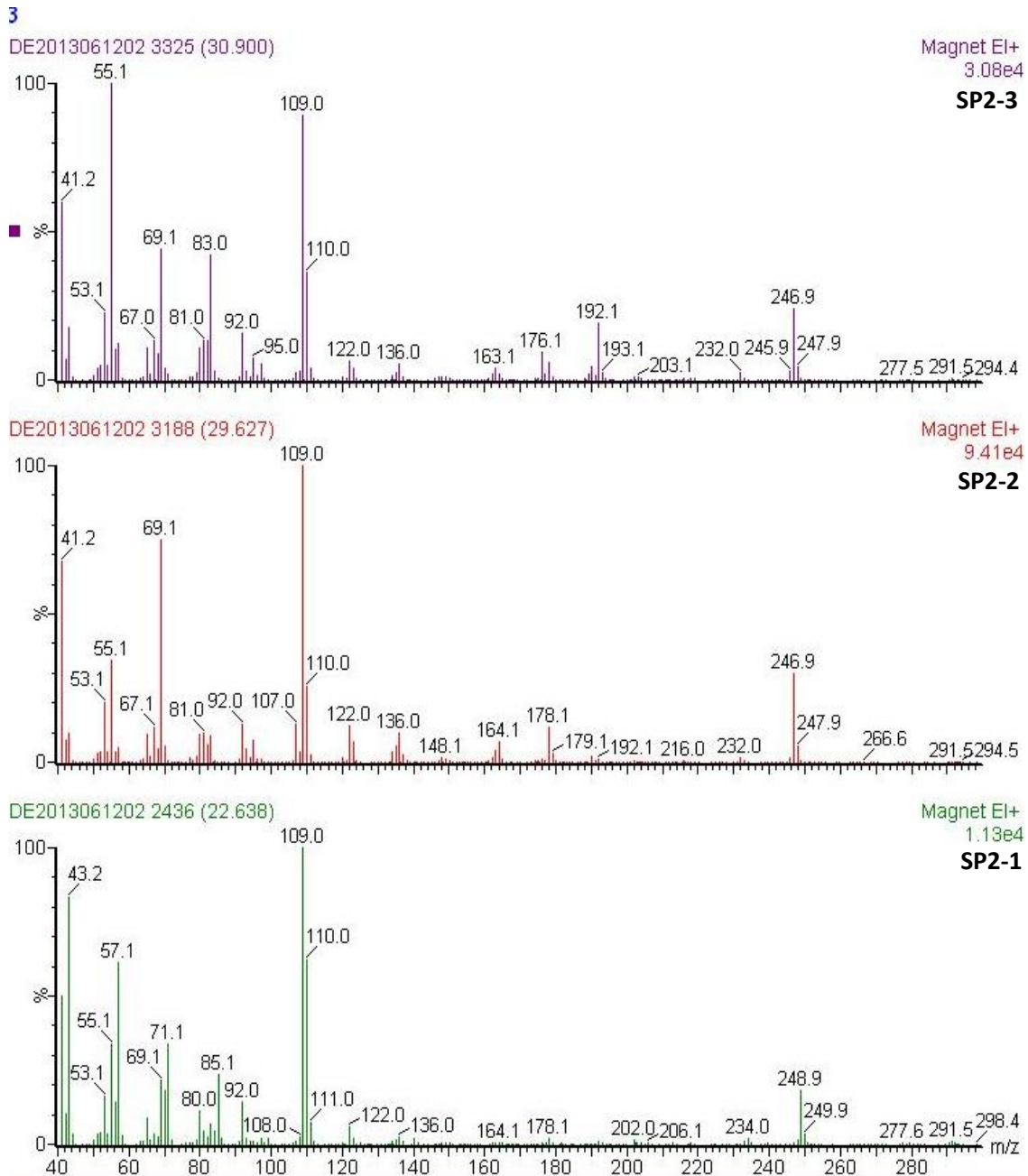
Etter syntese ble prøvene analysert med GC-MS for å undersøke renhet og om riktig forbindelse hadde blitt syntetisert, i tillegg til analyse med NMR. Gasskromatogrammene viste at det var små mengder biprodukter tilstede i prøvene til JHA 2 og JHA 3 (figurer 4.2.1-6). Disse stoffene må ha koeluert med hovedproduktene under søylekromatograferingen, selv om deteksjon med UV-lys og kaliumpermanganat på tynnsjiktplatene kun viste én flekk. Disse biproduktene ble ikke observert i NMR-spektra. Det var kun én topp i gasskromatogrammet til JHA 1 og denne fraksjonen var dermed ren. Biproduktene i prøvene til JHA 2 og JHA 3 viste hovedsakelig samme type molekylvekt og fragmenteringer som hovedproduktene, men de relative intensitetene av fragmenteringene varierte (figurer 4.1.2-3).

Massespektra av forbindelsene etter syntese viste fragmenteringer som stemte overens med molekylstrukturene (kapittel 3.1.1-3). Dette gjaldt for eksempel at molekylion M^+ hos JHA 1 er m/z 249, hos JHA 2 er m/z 247 og hos JHA 3 er m/z 245, som stemte overens med summeformelen til forbindelsene. I tillegg viste alle forbindelsene sterke avspaltninger ved m/z 109 ($108 + H$), som hos JHA 1 er hovedtoppen ("basepeak"). Dette stemte overens med massen til en fragmentering ved eterbindingen mellom monoterpen og den metylerte pyridinringen. Andre topper som utmerket seg viste hydrokarbonmønstre som for eksempel hos JHA 1 inkluderer henholdsvis m/z 43, 57, 71 og 85. Figur 4.1.1 viser ulike masser ved fragmenteringer hos JHA 1-3.



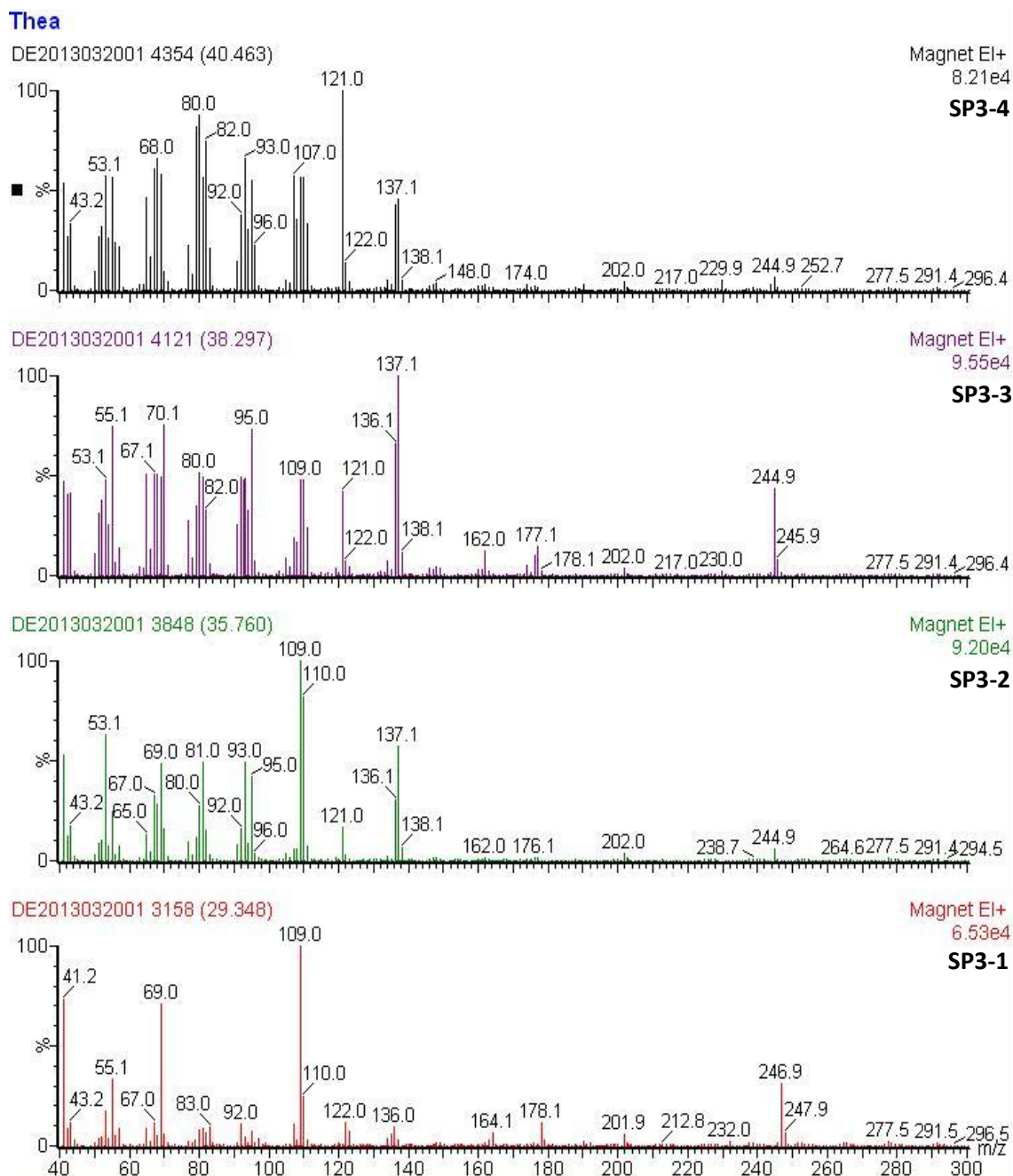
Figur 4.1.1: Massene til fragmenteringer hos juvenilhormonanalogene 1-3.

Til observasjon blir gasskromatogrammene og massespektra fra syntese- og nedbrytningsforsøk omtalt med hensyn på utvalgte synteseprodukter og nedbrytningsprodukter. Massespektra fra syntesene vises i figurene under og de individuelle massespektra navngis som synteseprodukt (SP) 1 hos JHA 1 (= SP1-1) etc. For eksempel blir SP2-2 synteseprodukt 2 hos JHA 2 (figurer 4.2.1-6).



Figur 4.1.2: Massespektra fra de tre synteseproduktene av juvenilhormonanalogue 2 (SP2-1 – 3).

I figur 4.1.2 stammer spekteret navngitt SP2-2 fra hovedproduktet i gaskromatogrammet etter syntese (retensjonstid = 30,45 minutter), og her var molekylionet M^+ m/z 246,9. Det samme ble observert for spekteret tilhørende SP2-3 (retensjonstid = 31,00 minutter), men i spekteret tilhørende SP2-1 (retensjonstid = 22,70 minutter) var M^+ to masseenheter tyngre. M/z 109 ($108 + H$) er blant de største toppene i alle massespektrene.



Figur 4.1.3: Massespektra fra de fire synteseproduktene av juvenilhormonanalogue 3 (SP3-1 – 4).

I figur 4.1.3 stammer spekteret SP3-3 fra hovedproduktet i gasskromatogrammet etter syntese (retensjonstid = 39,18 minutter), og her var molekylionet M^+ m/z 244,9. Det samme ble observert i spekteret tilhørende SP3-4 (retensjonstid = 40,51 minutter) og SP3-2 (retensjonstid = 35,87). I spekteret som tilhørte SP3-1 (retensjonstid = 29,42 minutter) var molekylionet M^+ to masseenheter tyngre. Både m/z 109 ($108 + H$) og m/z 137 var blant de største toppene i massespektrene.

De ulike biproduktene som ble syntetisert i tillegg til hovedproduktene i gasskromatogrammene kan komme fra *E/Z*-isomeri av dobbeltbindingene i den monoterpene sidekjeden. For eksempel kan *E/Z*-isomeri av dobbeltbindingen nærmest eterbindingen føre til to produkter, geraniol (*E*) og nerol (*Z*). For JHA 1, med en mettet terpen-sidekjede, vil det ikke være mulig for geometrisk isomeri og det blir dermed kun dannet et produkt. Det var viktig at disse forbindelsene ble utelukket som nedbrytningsprodukter senere i oppgaven.

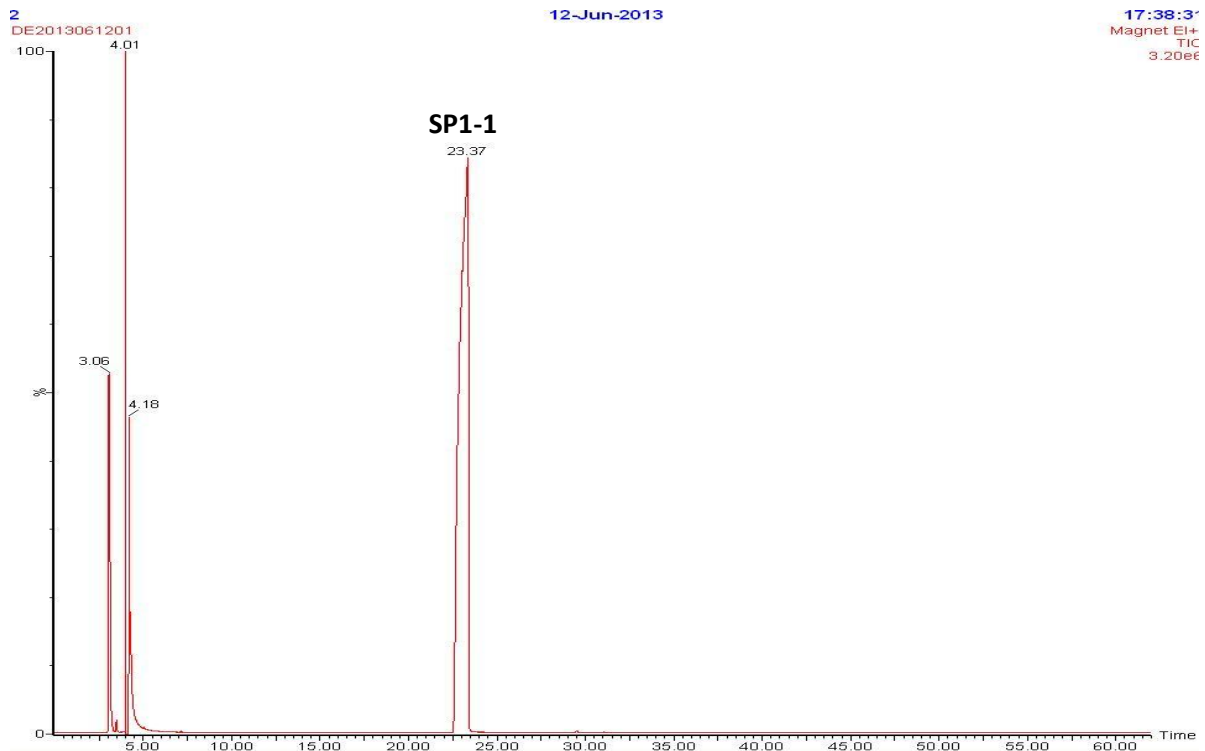
Produktene etter syntese ble analysert med GC-MS for å undersøke grad av dekomponering etter at prøvene hadde stått over lengre tid i kjøleskap med nitrogenatmosfære (omtrent 6 måneder). Det var få synlige forandringer i gasskromatogrammene tilhørende JHA 1 og JHA 2, men for JHA 3, hvor startmaterialet i syntesen var geraniol, var det to ekstra topper med retensjonstid på 10,32 minutter og 10,92 minutter (vedlegg 2, figurer 3 og 4). Søk i database ga et forslag på 3,7-dimetyl-2,6-oktadienal (trivialnavn citral; om det er *E*- eller *Z*-isomer er ikke bestemt) med en match-faktor på over 800/1000 for begge toppene. En så høy match-faktor tilsier at det var stor sannsynlighet for at massespektra tilhørte disse forslagene.

4.2 Generelt om nedbrytningsforsøkene

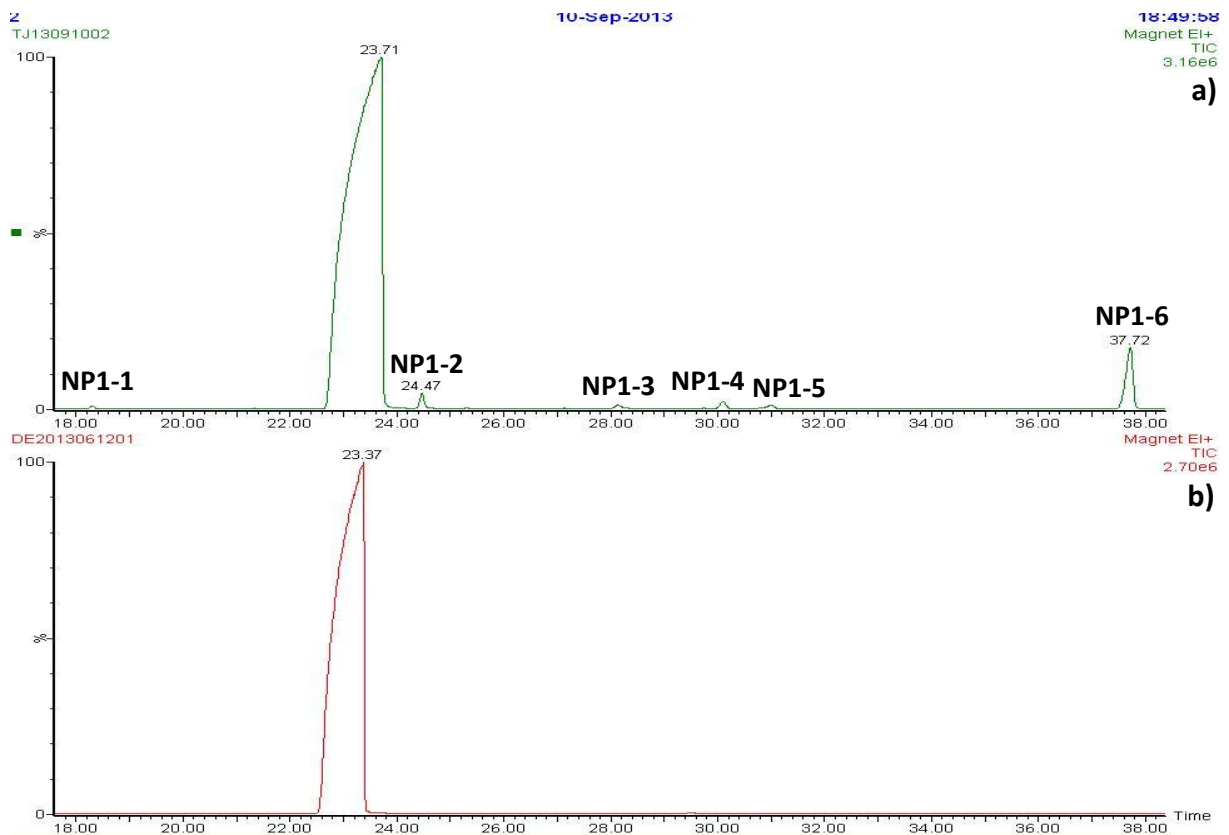
For Atlas Suntest CPS+-prøvene ble det laget nullprøver, som var prøver som ble opparbeidet på eksakt samme måte som JHA-prøvene men uten tilsetning av juvenilhormonanalogue. Dette ble gjort for å undersøke om topper i gasskromatogrammene var forurensninger, fra for eksempel kontaminert utstyr eller forbindelser tilstede i kromatografisanden, og kunne sees bort ifra som bakgrunnsstøy. GC-MS-analyse av nullprøvene viste at fra omtrent 0-13 minutter (retensjonstid) var det flere topper som gikk igjen i både JHA-prøvene og nullprøvene (vedlegg 2, figur 1). Disse forbindelsene var tilstede i både nullprøver som var blitt lyseksonert og i prøven som ikke var lyseksonert. Disse toppene ble dermed ikke valgt ut som nedbrytningsprodukter selv om de var av betydelig størrelse i gasskromatogrammene, og blir sett bort ifra under resultater og diskusjon.

Figurer 4.2.1-6 viser gasskromatogrammer av synteseprodukter og nedbrytningsprodukter. Da det var mange topper i gasskromatogrammene etter nedbrytning og begrenset tid til å utføre oppgaven, ble de største, nye toppene etter nedbrytning valgt ut. De ble valgt ut fra forsøk 1 med Atlas Suntest CPS+ (tabell 3.2.1). Nedbrytningsproduktene er navngitt som nedbrytningsprodukt (NP) 1 hos JHA 1 (NP1-1) etc. Disse toppene forble hovedfokuset under resultat og diskusjon. Synteseproduktene er navngitt som synteseprodukt (SP) 1 hos JHA 1 (= SP1-1) etc.

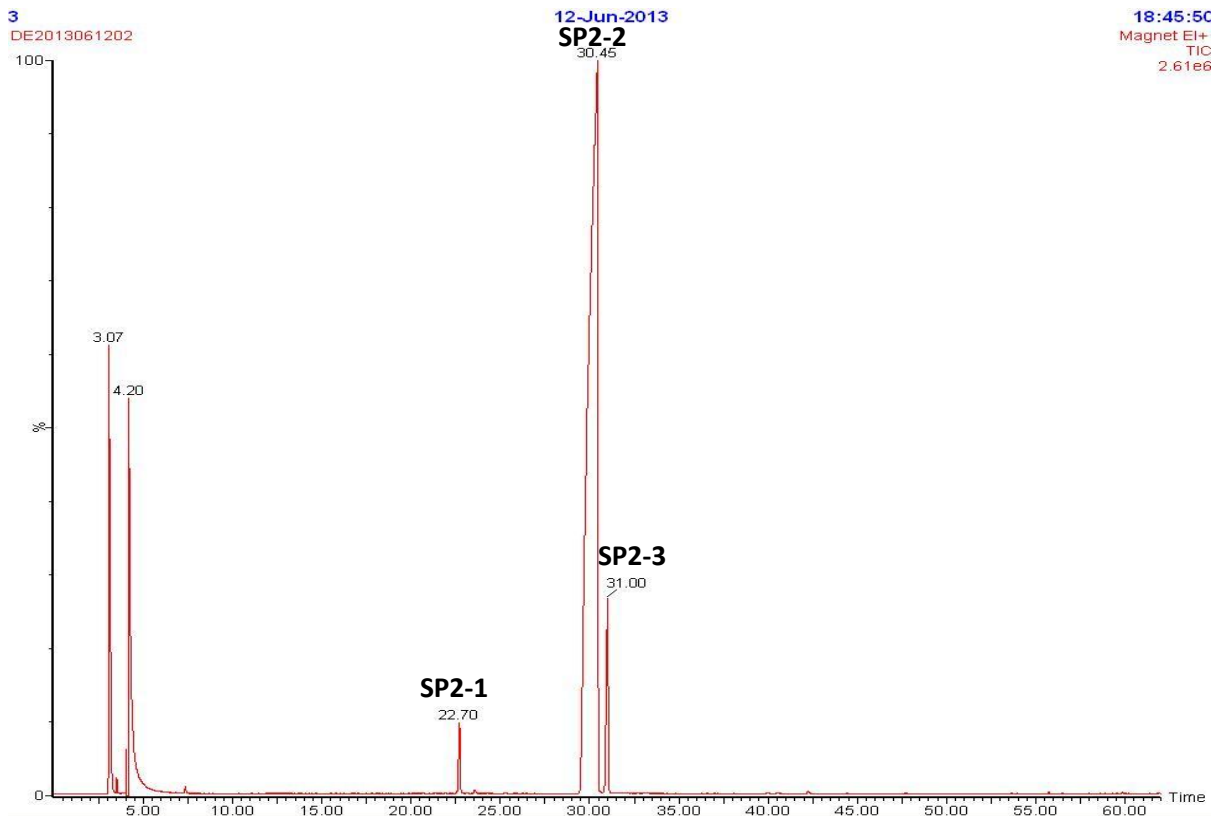
Tabeller 1 og 2 i vedlegg 3 har verdier for forhold mellom synteseproduktene for JHA 2 og JHA 3 (disse forholdene har også blitt beregnet i de andre datasettene (vedlegg 3)). Disse forholdene kunne blitt brukt til å vurdere nedbrytningene og en mulighet er at nedbrytningsproduktene kommer fra nedbrytning av disse biproduktene i tillegg til hovedproduktet. For eksempel, hvis forholdene var konstante kunne det tyde på at alle synteseproduktene var med på å danne nedbrytningsproduktene. Eventuelt, hvis kun hovedproduktet ble omsatt ville forholdene mellom biproduktene og hovedproduktet øke. Dette er en mulighet som ikke har blitt undersøkt grunnet mangel på tid.



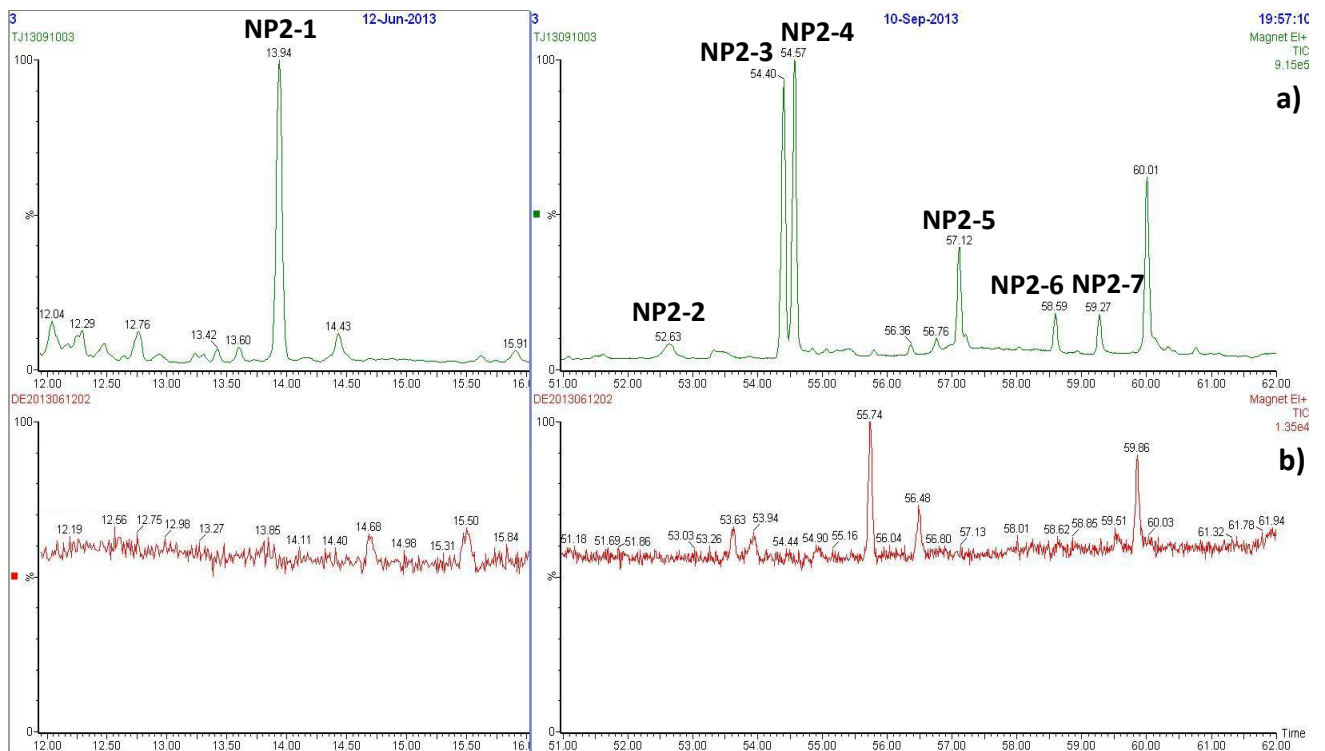
Figur 4.2.1: Gasskromatogram av juvenilhormonanalogue 1 etter syntese med ett synteseprodukt (SP1-1).



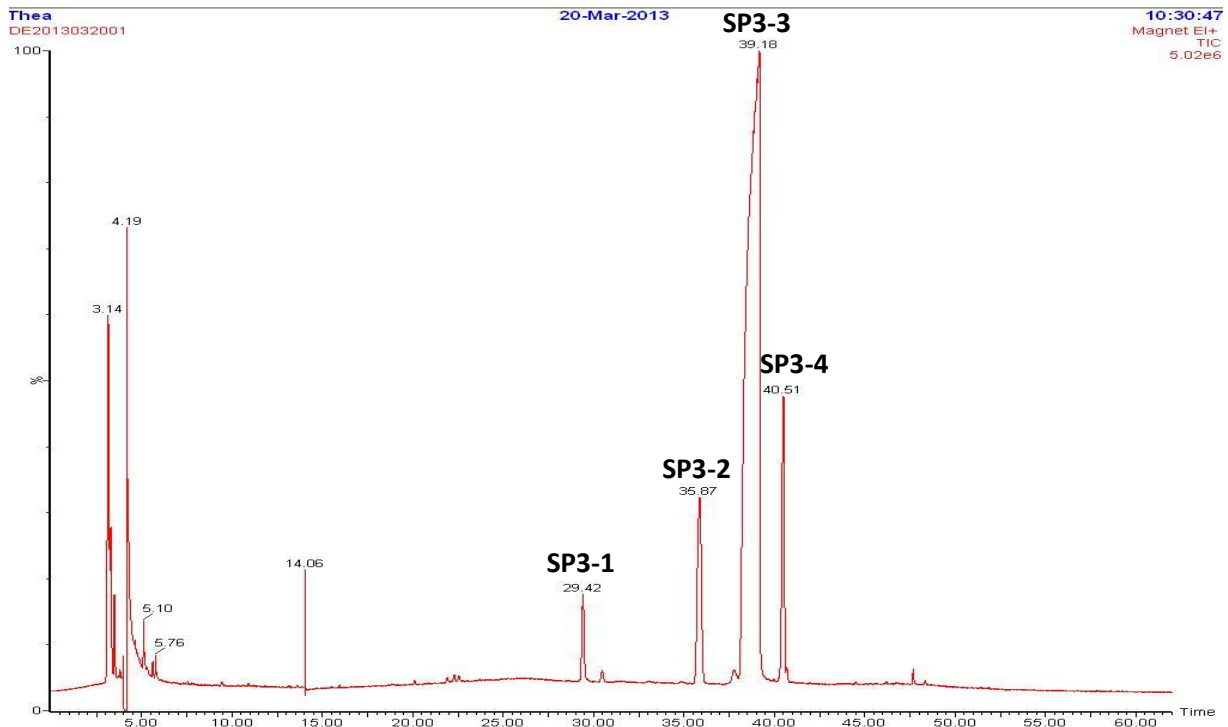
Figur 4.2.2 Gasskromatogrammer av juvenilhormonanalogue 1 med a) utvalgte nedbrytningsprodukter (NP1-1 – 6) og b) etter syntese.



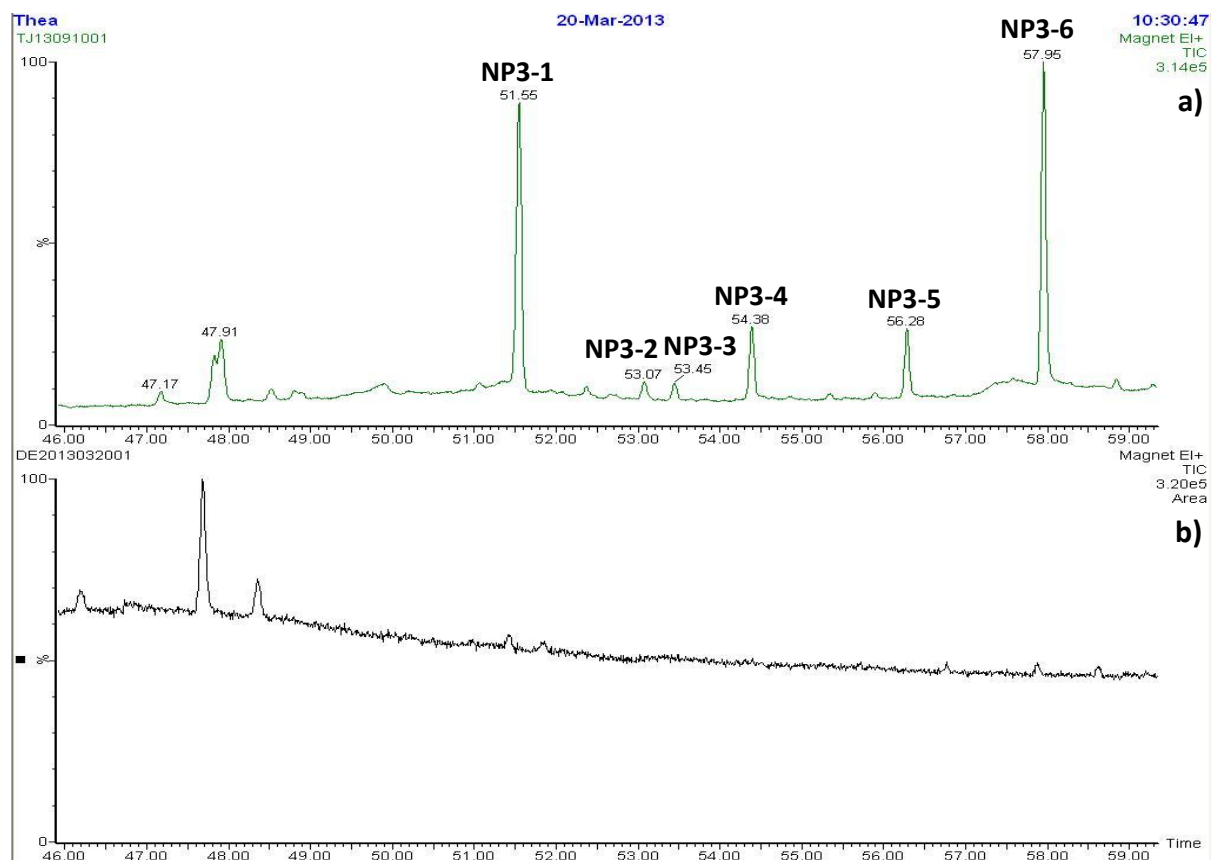
Figur 4.2.3: Gasskromatogram av juvenilhormonanalogue 2 etter syntese med tre synteseprodukter (SP2-1 – 3), med hovedproduktet SP2-2.



Figur 4.2.4: Gasskromatogrammer av juvenilhormonanalogue 2 med a) utvalgte nedbrytningsprodukter (NP2-1 – 7) og b) etter syntese.



Figur 4.2.5: Gasskromatogram av juvenilhormonanalogue 3 etter syntese med fire syntese produkter (SP1 – 4), med hovedproduktet SP3-3.



Figur 4.2.6: Gasskromatogrammer av juvenilhormonanalogue 3 med a) utvalgte nedbrytningsprodukter (NP3-1 – 6) og b) etter syntese.

4.3 Nedbrytningsforsøk med Atlas Suntest CPS+

I denne delen av oppgaven blir resultater og diskusjon fremlagt for tre ulike, men lignende fotokjemiske forsøk:

- Bruk av lysboksen Atlas Suntest CPS+ med juvenilhormonanalogue og kromatografisand
- Bruk av sollys fra et solrikt vindu med juvenilhormonanalogue og kromatografisand
- Bruk av høyintensiv UV-lampe med juvenilhormonanalogue, petriskål og kromatografisand

Bruk av Atlas Suntest CPS+ (forsøk 1-7)

Instrumentet brukes ofte når det er ønskelig å fremskynde lysinduserte prosesser som ellers ville tatt lengre tid utenom. Det er hovedsakelig tre parametere som kan kontrolleres når det utarbeides forsøk med dette instrumentet; 1) eksponeringstid [timer], 2) temperatur [°C] og 3) lysintensitet [W/m^2]. Det er viktig å kontrollere de parameterene som vil være med å påvirke resultatene best mulig, og instrumentet gjør dette mulig på en lett og reproducerbar måte. I våre forsøk ble det valgt lik temperatur og lysintensitet, mens andre parametere som eksponeringstid, løsningsmiddel og mengde startmateriale ble variert.

Bruk av solrikt vindu (forsøk 8)

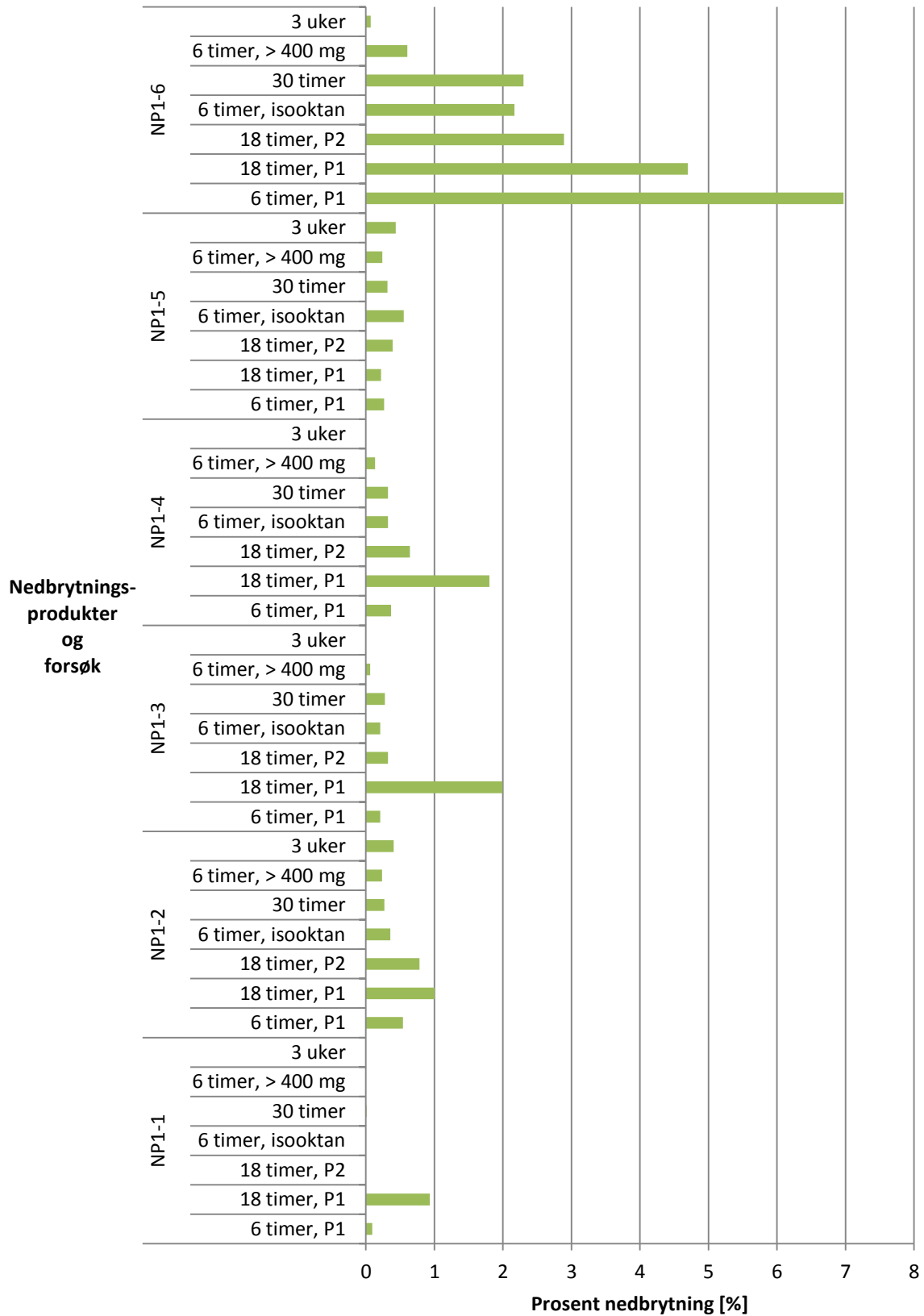
Et slikt forsøk ga grunnlag for sammenligning med Atlas Suntest CPS+ og mulighet for å si noe om samme resultater kunne blitt oppnådd under mer "naturlige" forhold, spesielt da ikke alle vil ha tilgang på et slikt instrument. Her var det færre parametere som kunne kontrolleres og dermed større usikkerhet i forsøket, i tillegg til at kun én parallell ble utført. Prøvene ble eksponert i tre uker for sollys, men lysintensiteten under eksponeringen vil ha variert i løpet av denne tiden. Prøvene hos Atlas Suntest CPS+ vil ha undergått kontinuerlig belysning med konstant lysintensitet i en kortere periode, mens prøvene i vinduet ble påvirket med både varierende belysning og lysintensitet over en lengre periode.

Dette forsøket ble utført på høsten med ulike værforhold, og lysintensitet og vær vil være ulikt fra sommerforhold, som ville vært mer relevant for oppgaven. Det vil også ha vært temperatursvingninger i rommet hvor prøvene ble oppbevart mens temperaturen skal ha vært konstant i lysboksen. Til slutt var prøvene dekket med lokk fra petriskål som absorberer UV-lys, sammen med vindu mellom prøve og strålingskilde (sola), som også trolig ville absorbere/reflektere noe stråling.

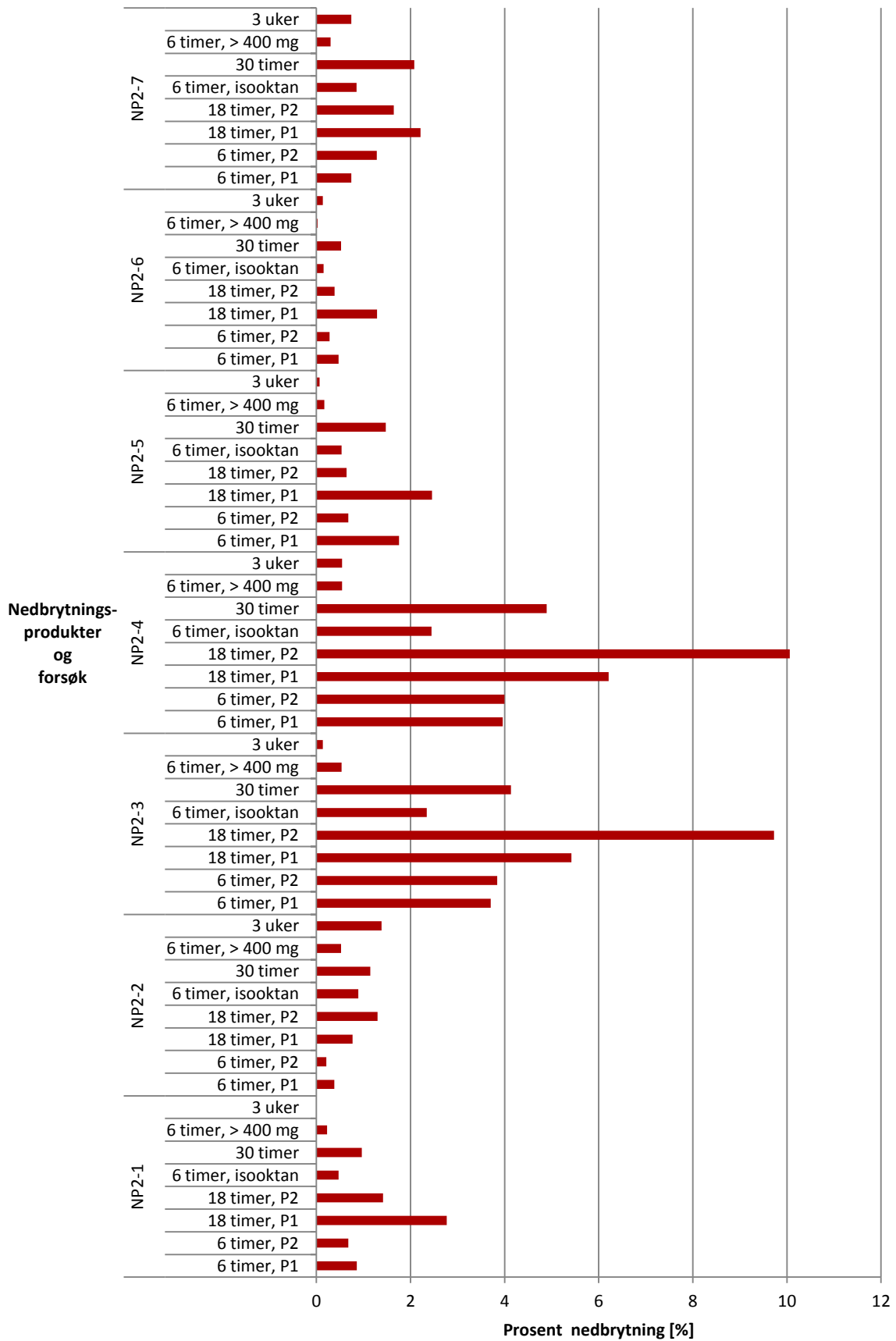
Bruk av høyintensiv lampe, petriskål og kromatografisand

Dette forsøket ble også utført for å undersøke resultatene opp mot resultatene fra Atlas Suntest CPS+. Her ble det utført ulike varianter av forsøket hvor forskjellen var eksponering med og uten petriskållokk da plastikken absorberer UV-stråling. Her var det mulig å se både om mangel på UV-lys og om antall dobbeltbindingene i sidekjeden hadde en innvirkning på resultatene. Temperaturen her var om lag 60-65 °C, som var nesten dobbelt så høy temperatur som det var i Atlas Suntest CPS+. Om nedbrytningen var stor i dette forsøket i forhold til forsøkene med lysboksen kan temperatur være en medvirkende faktor. Dette forsøket ble ikke utført på JHA 2 da det ikke var mer prøvemateriale å bruke i forsøket.

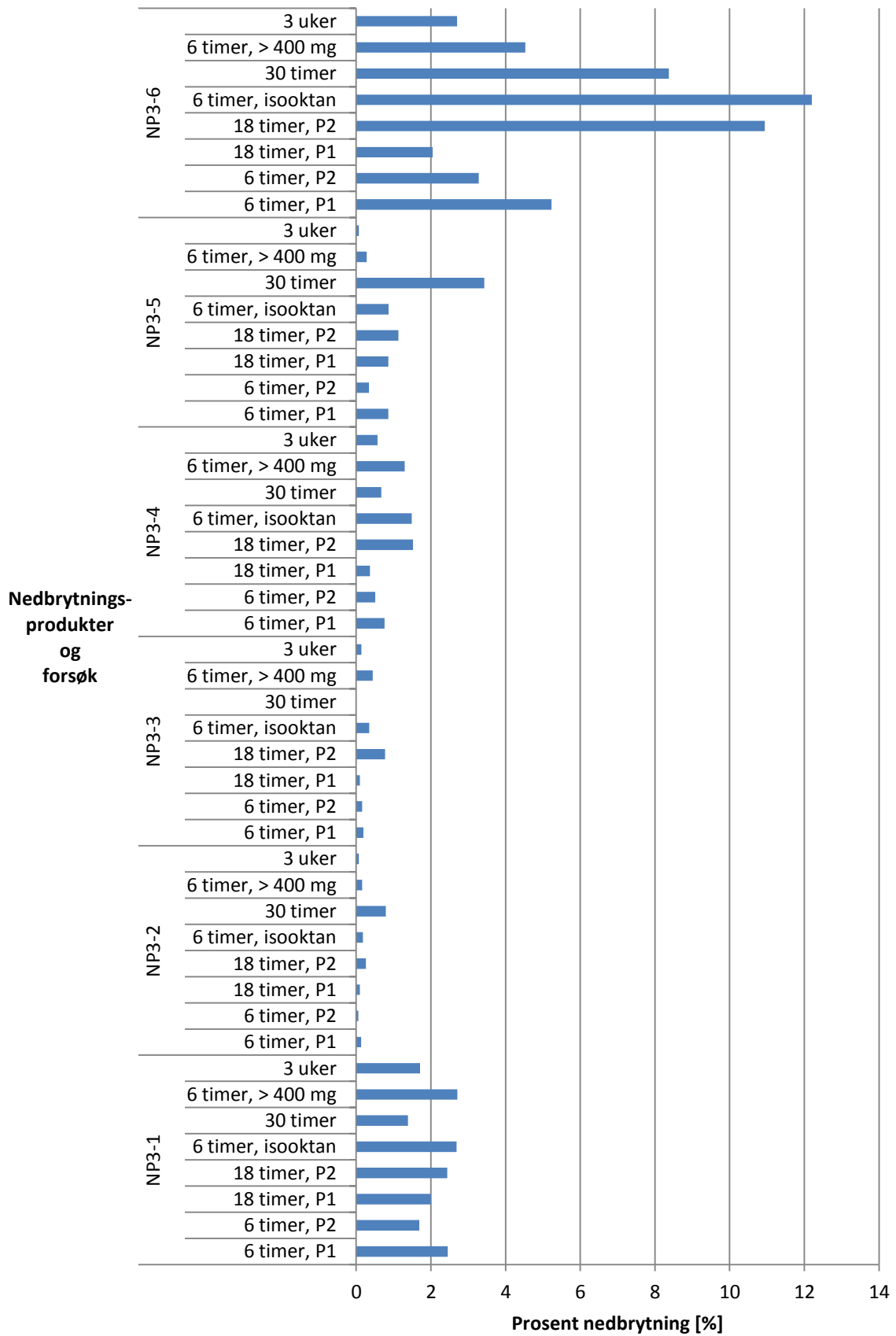
Alle resultatene fra eksponering med Atlas Suntest CPS+ har blitt samlet for lettere sammenligning; forsøkene har blitt beskrevet ut i fra de ulike parameterene og ikke fra forsøksnummer 1-8 (tabell 3.2.1). Det har blitt beregnet prosentvis nedbrytning av de ulike nedbrytningsproduktene valgt ut og blitt laget figurer som illustrerer dette. Parallell 2 (P2) for 6-timers eksponering av JHA 1 er ikke tilstede da gasskromatogrammet ikke var tilgjengelig på GC-MSen etter analyse.



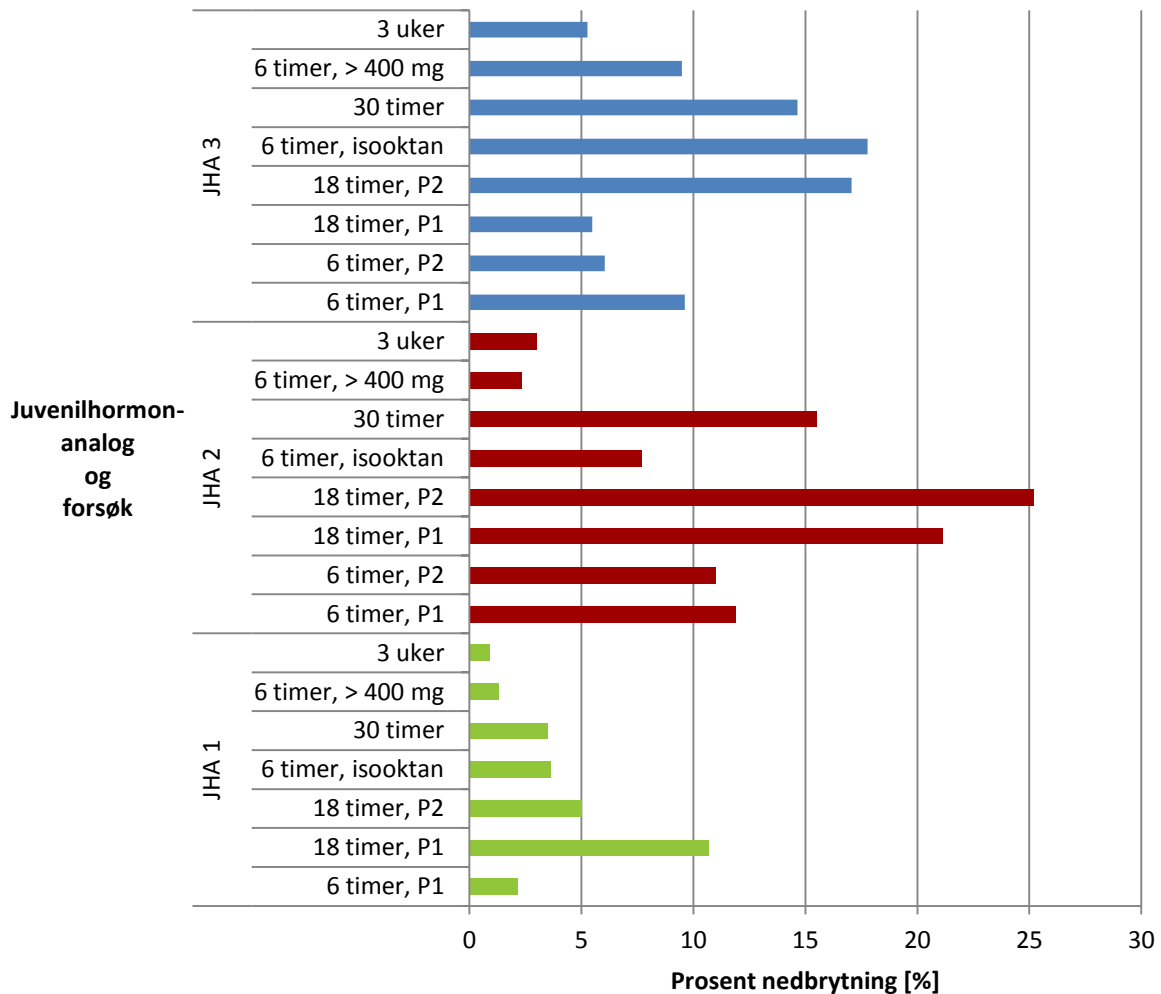
Figur 4.3.1: Prosentvis nedbrytning fra forsøk 1-8 med Atlas Suntest CPS+ for juvenilhormonanalogue 1 basert på tall fra vedlegg 3 (figur 3-11).



Figur 4.3.2: Prosentvis nedbrytning fra forsøk 1-8 med Atlas Suntest CPS+ for juvenilhormonanalogue 2 basert på tall fra vedlegg 3 (figurer 12-21).



Figur 4.3.3: Prosentvis nedbrytning fra forsøk 1-8 med Atlas Suntest CPS+ for juvenilhormonanalogs 3 basert på tall fra vedlegg 3 (figurer 22-31).



Figur 4.3.4: Total prosentvis nedbrytning av de ulike juvenilhormonanalogene for forsøk 1-8 med Atlas Suntest CPS+.

Resultatene viste at omsetning av startmateriale til de ulike nedbrytningsproduktene varierte mellom forsøkene, i tillegg til store variasjoner mellom parallellene som ble utført (P1 og P2 for nedbrytningsforsøkene 6-timers og 18-timers eksponering, spesielt for JHA 1 og JHA 3). For JHA 1 var det 5 % forskjell mellom P1 og P2 for 18-timers eksponering, og for JHA 3 var det over 10 % forskjell mellom P1 og P2 for 18-timers eksponering (figurer 4.3.1-3). Resultatene viste også at det var variasjoner i de totale prosentvise nedbrytningene under de ulike forsøkene (figur 4.3.4). Det var derimot generelle trender for de ulike nedbrytningsproduktene, som at noen produkter ble dannet i større og mindre grad enn andre.

Den maksimale totale nedbrytningen for de ulike forbindelsene var rundt 10 % for JHA 1, 25 % for JHA 2 og 17 % for JHA 3 (figur 4.3.4). Det var ønskelig med større omsetning av startmateriale til nedbrytningsprodukter; disse metodene ga ikke dette under de utprøvde forholdene.

Det ble utført tre eksponeringsforsøk hvor den eneste forskjellen var hvor lenge prøvene ble eksponert; 6-, 18- og 30-timer. Det virker ikke som om forlenging av tiden påvirket resultatene mye, spesielt ikke da økning av tid fra 18 timer til 30 timer (figur 4.3.4). Det var forventet at lengre eksponeringstid vil føre til økt nedbrytning, men det er det ikke grunnlag til å påstå i denne oppgaven; men på grunn av få paralleller er det heller ikke grunnlag til å påstå at økt tid ikke fører til økt nedbrytning. Summen av arealene under toppene i gasskromatogrammene hos prøvene tilhørende 30-timers eksponeringslengde viste at, til sammenligning med 6-timers eksponering (vedlegg 3), de er mindre. Det kan dermed virke som om analytt forsvant fra mediet med økt eksponeringslengde, og at sterkt forlenget tid ville ført til tap av analytt og at prøveoppbeiring ikke ville gitt resultater.

I forsøkene ble det brukt den sterkeste innstrålingstettheten som xenonlampen i lysboksen kunne produsere. Dermed var det kun eksponeringstid og temperatur som ble forandret ved innstilling av parameterene. Temperaturen kunne blitt økt for å se om det ville påvirket i større grad da alle forsøkene ble utført ved 35 °C (3-ukers forsøket ble utført ved romtemperatur, men temperaturen vil ha vært høyere under solrike dager). Ellers ga isooktan som løsningsmiddel for JHA 3 den høyeste totale prosentvise nedbrytning, men omsetningen var likevel ikke større enn 20 %.

JHA 1 hadde en mettet terpen-sidekjede og enkeltbindinger er som kjent mindre reaktive enn dobbeltbindinger og trippelbindinger. Hos denne forbindelsen ble det observert fem nedbrytningsprodukter (NP1-1 – 5) hvor nedbrytningsprosenten var under 2 % for alle forsøkene utført i lysboksen (figur 4.3.1). Kun NP1-6 hadde relativt høy prosentvis nedbrytning i forhold til de andre produktene, som strakk seg fra under 1 % til nesten 7 %. Det var heller ikke alle produktene som ble dannet under alle eksponeringene, og når de ble produsert skjedde det med varierende resultat, som for eksempel at NP1-1 ble dannet opp mot nesten 1 % under 18-timers eksponering P1 og 0 % under P2 av samme type forsøk.

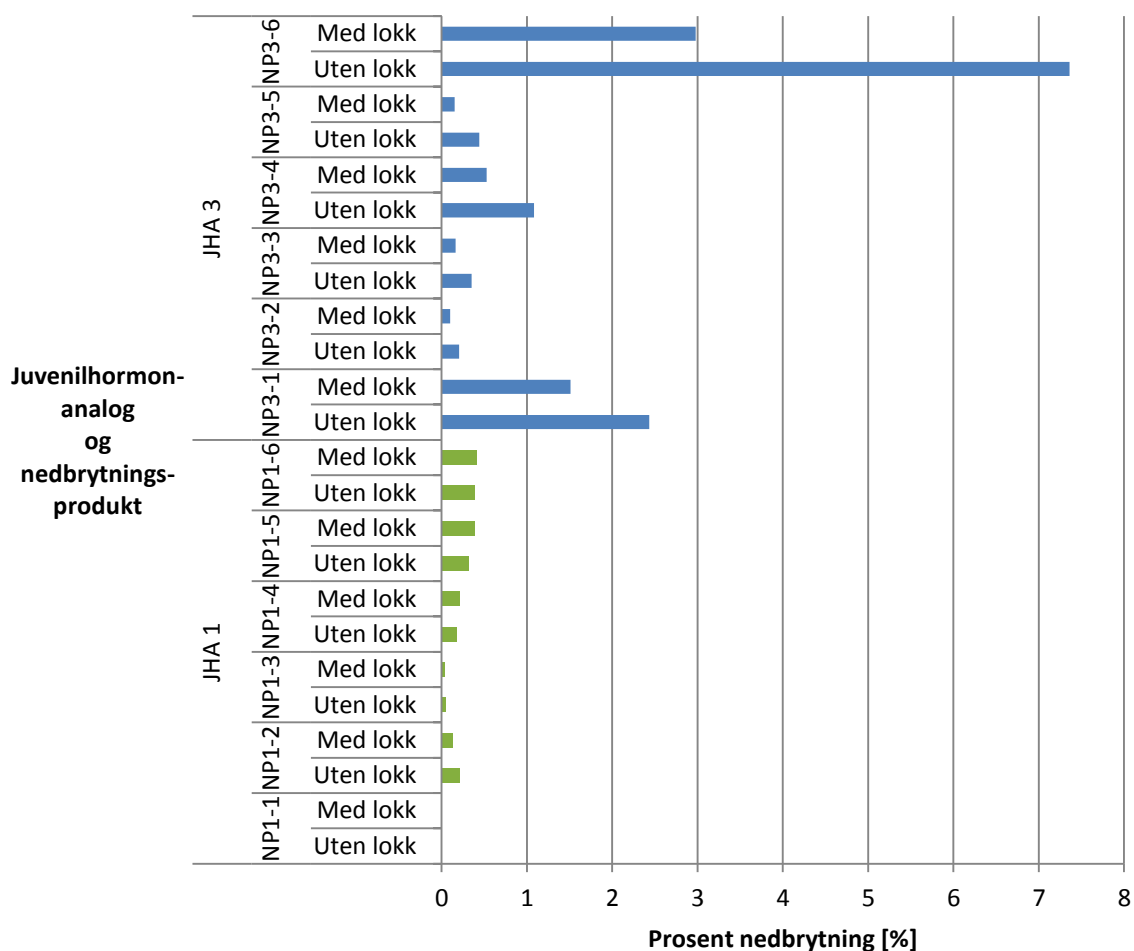
JHA 2 hadde en énumettet terpen-sidekjede. Fra resultatene i figur 4.3.2 kan det observeres at NP2-3 og NP2-4 var de to nedbrytningsproduktene som ble dannet i størst grad under eksperimentene utført. Størst prosentvis nedbrytning av forbindelsene ble oppnådd med 18-timers eksponeringstid (både P1 og P2).

JHA 3 hadde en terpen-sidekjede med to dobbeltbindinger. Det kunne også her observeres varierende prosentvis nedbrytning, men antydninger til at NP3-2 – 5 ble brutt ned i mindre grad (under 2 %) enn NP3-1 og NP3-6 (figur 4.3.3). Dannelse av NP3-1 var også relativt lik i alle forsøkene med nedbrytningsprosent på rundt 2 %. Omsetting av startmateriale til NP3-6 varierte fra omlag 2 % til 12 %.

I figur 4.3.4 kan det observeres at, til sammenligning med JHA 2 og JHA 3, JHA 1 hadde lavere total prosentvis nedbrytning for de ulike forsøkene. Den eneste forskjellen mellom stoffene var antall dobbeltbindinger i sidekjeden og det kan dermed antas at det er sidekjedene som er de reaktive komponentene i forbindelsene, og ikke den metylerte pyridinringen. Flere av nedbrytningsproduktene for de ulike JHAene viste høy intensitet av et fragmention med m/z 109 ($108 + H$) i massespektrene, som kan tyde på at pyridinringen var intakt. Forsøkene som hadde blant de dårligste nedbrytningene var 3-ukers eksponering med sollyskilde samt 6-timers eksponering med over 400 mg startmateriale. Dårlig omsetning med 3-ukers eksponeringsforsøket kan være grunnet for lite intensiv bestråling og varierende forhold.

Det er vanskelig å si om noen eksperimenter fungerte bedre enn andre med tanke på forsøksoppsettene med Atlas Suntest CPS+. Dette var grunnet stor variasjon mellom de parallellene som ble gjort og at det så ut til at forventning om at forlenget eksponeringstid vil føre til større dannelse av nedbrytningsprodukter, ikke stemte. Det som derimot kan slutes fra disse forsøkene er at det ikke var tilstrekkelig nedbrytning av juvenilhormon-analogene med denne metoden, men at mange av nedbrytningsproduktene ble dannet. Den totale prosentvise nedbrytningen for de ulike forbindelsene var lav i forhold til ønsket total omsetning.

Figur 4.3.5 viser resultatene fra eksponering med den høyintensive UV-lampen, petriskål og kromatografisand. Det er interessant å se om UV-lys ville påvirke den prosentvise nedbrytningen av juvenilhormonanalogene. Dermed ble det utført to forsøk med identisk prøveopparbeiding, 6-timers eksponeringstid og lignende mengder stoff hvor den eneste forskjellen mellom forsøkene var at det ene var utført med petriskållokk og det andre uten.



Figur 4.3.5: Nedbrytning av juvenilhormonanalogue 1 og juvenilhormonanalogue 3 etter eksponering med og uten petriskållokk med høyintensiv lampe basert på tall fra vedlegg 3 (figurer 32-35).

UV/Vis-spektrofotometri dokumenterte at petriskållokket brukt i forsøkene absorberte stråling kraftig i UV-området (mellom 200-300 nm) (vedlegg 2, figur 2). Prøvene i Atlas Suntest CPS+ ble analysert med petriskållokk som absorberer i UV-området, men siden xenonlampen hadde bølgelengdeintervall på 300-800 nm, bør ikke dette ha påvirket forsøkene. Derimot kan denne absorpsjonen av petriskålen påvirke resultatene dersom det i andre forsøk blir brukt samme type petriskål og lamper med andre bølgelengdeintervall.

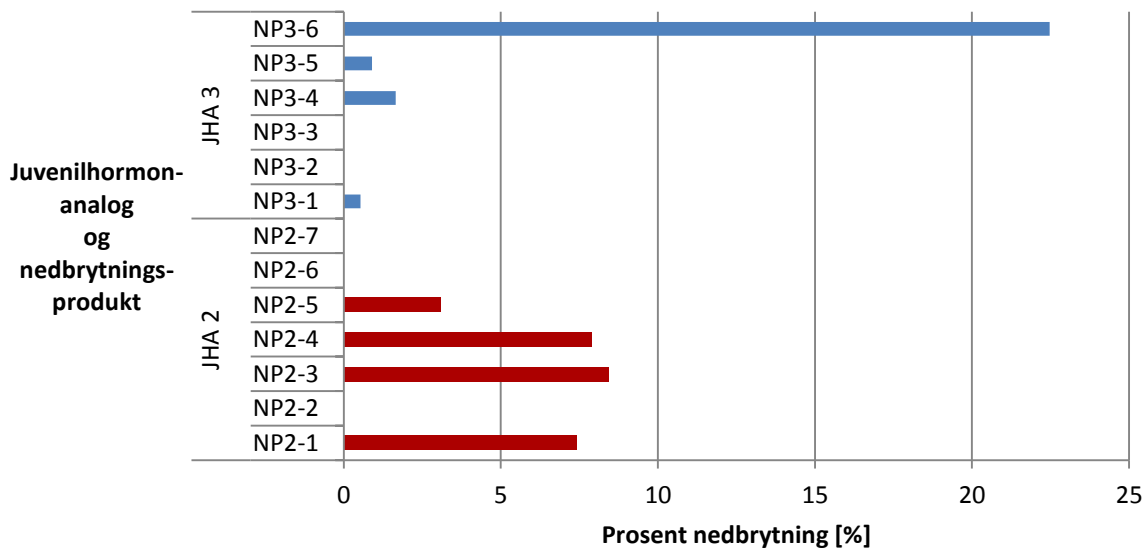
For JHA 1 var det lav prosentvis nedbrytning både med og uten petriskållokk. Total nedbrytning for JHA 1 uten petriskållokk var 1,1 % og med petriskållokk var 1,2 %. Det så dermed ikke ut at tilførsel av mer energi påvirket denne nedbrytningen i stor grad. Fra resultatene med lysboksen var det liten prosentvis nedbrytning av NP1-1, og størst nedbrytning av NP1-6. Mengdemessig ble det dannet under 0,5 % av hvert nedbrytningsprodukt, som er et dårlig resultat. Disse resultatene korrelerer med forsøkene fra Atlas Suntest CPS+ og indikerer at JHA 1 er den minst reaktive juvenilhormonanalogen i forhold til de andre forbindelsene.

Forsøkene med JHA 3 viste at det var prosentvis omtrent dobbelt så store mengder av nedbrytningsprodukter i forsøket uten petriskållokk enn med petriskållokk; total nedbrytning av JHA 3 for forsøk uten lokk var 11,9 % og med lokk var 5,4 %. Nedbrytningsproduktene ble altså dannet uten tilførsel av mer energirik UV-stråling, men det ble dannet større mengder ved denne tilførselen for denne juvenilhormonanalogen. Til sammenligning med forsøkene fra Atlas Suntest CPS+ ble det også dannet mest av nedbrytningsproduktene NP3-1 og NP3-6. Nedbrytningsprosentene til nedbrytningsproduktene ved sammenligning mellom eksponering uten petriskållokk og for Atlas Suntest CPS+-forsøkene var relativt like for denne JHAen. Dette kan indikere at, dersom det ble brukt en lampe med større bølglengdeintervall ned i UV-området og et medium som ikke absorberer disse bølglengdene, at nedbrytningen med Atlas Suntest kunne vært større.

Det var nesten dobbelt så høy temperatur under disse forsøkene (60-65 °C) som forsøkene med Atlas Suntest CPS+ (35 °C), og derfor vanskelig å si noe om temperatur vil ha påvirket nedbrytningen. Dersom nedbrytningen hadde vært mye større kunne det tenkes at høyere temperatur hadde hatt en innvirkning. Det kunne blitt brukt en vifte for å kjøle ned systemet og gjøre disse forsøkene mer likt forsøkene med Atlas Suntest CPS+ for å se på hvor mye temperaturen påvirket resultatene. Målet om fullstendig omsetning ble heller ikke nådd med denne metoden.

4.4 Nedbrytningsforsøk med singlett-oksygen produsert fra H₂O₂

I dette forsøket ble juvenilhormonanalogene forsøkt oksidert med singlett-oksygen produsert fra katalysatorassistert dekomponering av H₂O₂. Ifølge prosedyren til Alsters *et al.* (2010) ble det først gjort én tilsetning av omtrent 0,3 gram H₂O₂, og i et annet forsøk tilsatt omtrent 0,3 gram i porsjoner fem ganger. Figur 4.4.1 viser nedbrytning av JHA 2 og JHA 3 etter oksidasjon med omtrent 1,5 gram H₂O₂.



Figur 4.4.1: Nedbrytning av juvenilhormonanalogue 2 og juvenilhormonanalogue 3 etter oksidasjon med omtrent 1,5 gram hydrogenperoksid basert på tall fra vedlegg 3 (figurer 36 og 37).

Tidligere forsøk utført på JHA 1 viste at den var den minst reaktive av juvenilhormonanalogene. Analyse av JHA 1-prøve med GC-MS etter tilsetning av omtrent 0,3 gram H₂O₂ og videre prøveopparbeiding viste ingen form for omsetning til nedbrytningsprodukter. Det ble derfor gjort enda et forsøk hvor omtrent 1,5 gram H₂O₂ ble tilsatt i porsjoner. Analyse av JHA 1-prøve med GC-MS viste fortsatt ingen omdannelse til nedbrytningsprodukter. Total omsetning av startmateriale til nedbrytningsprodukter var for JHA 2 26,8 % og for JHA 3 25,6 % ved tilsetning av omtrent 1,5 gram H₂O₂.

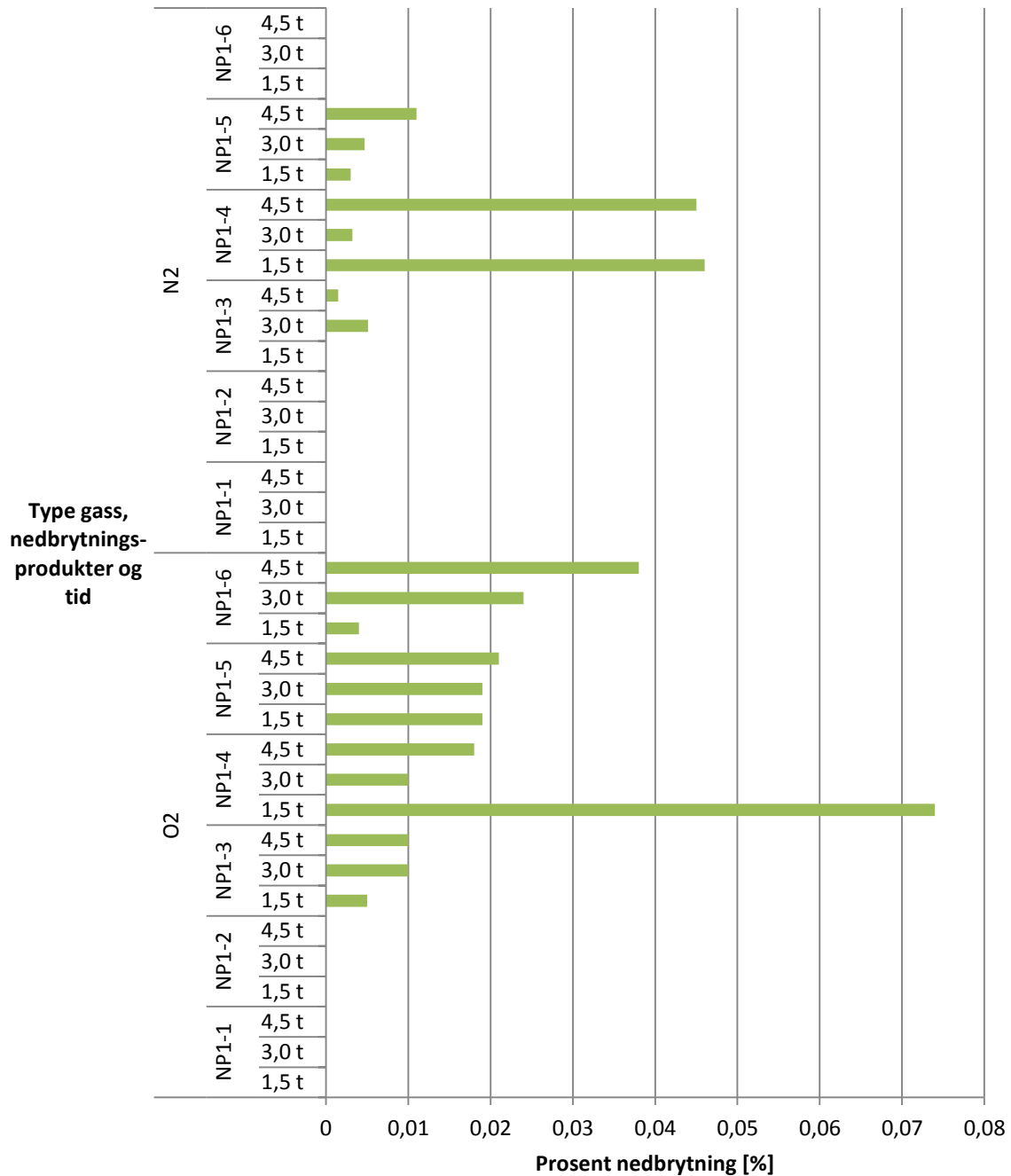
For JHA 2 var det høy prosentvis omsetning til NP2-1, noe som ikke ble observert for nedbrytningsforsøkene med Atlas Suntest CPS+. Omsetningen til nedbrytningsproduktene som fant sted under disse forsøkene var bedre her, til sammenligning med resultatene fra Atlas Suntest CPS+, for de produktene som faktisk ble dannet for JHA 2.

Nedbrytning av startmateriale til NP3-6 hos JHA 3 var nesten dobbelt så stor som det beste nedbrytningsresultatet for dette produktet fra Atlas Suntest CPS+ (forsøk 6-timers eksponering med isooktan som løsningsmiddel hadde det beste resultatet). Det så ut til at denne oksidasjonsprosessen fungerte godt på dannelse av noen av nedbrytningsprodukter, som NP3-6 hos JHA 3 med nedbrytning på over 20 %, men dårlig/ikke i det hele tatt på andre.

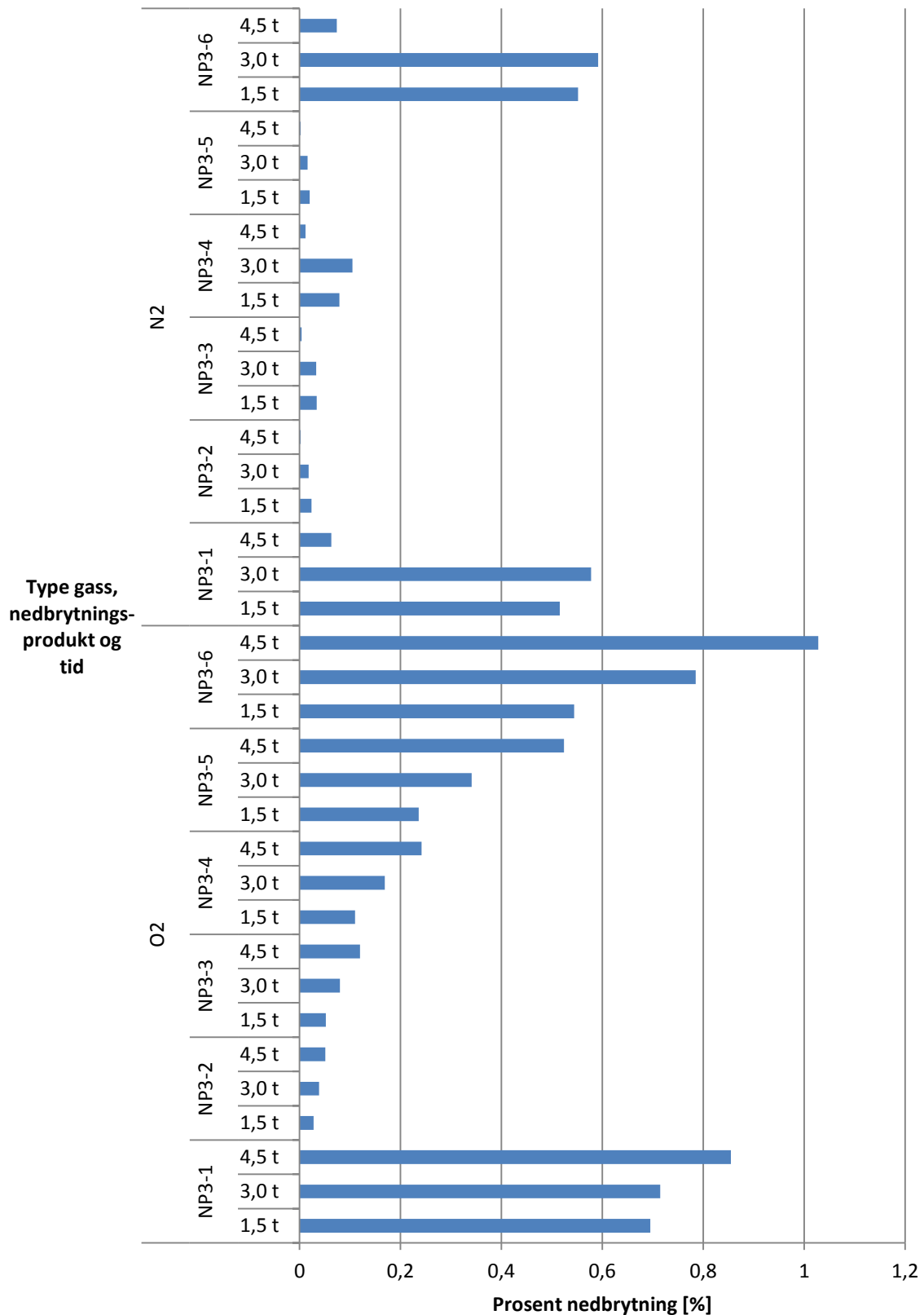
Det var ingen form for lys under dette forsøket unntatt lyset som var tilstede i avtrekkskapet og sollys gjennom vinduene, som var svake former for lys i forhold til xenonlampen brukt i Atlas Suntest CPS+ og den høyintensive UV-lampen. Det er lite trolig at noen av formene for lys vil ha påvirket disse forsøkene. Dette er rimelig å anta at dersom lys ville påvirket nedbrytningen i dette forsøket, burde alle nedbrytningsproduktene bli dannet og observert, selv med meget lave prosentener slik som hos forsøkene med høyintensiv lampe og gass (kapittel 4.5). Forsøket med nitrogengass viste at for JHA 3 ble alle nedbrytningsproduktene dannet kun ved hjelp av lys uten oksidative midler. Siden ikke alle nedbrytningsproduktene blir observert under disse forsøkene er det rimelig å anta at lys ikke har vært en gjeldende faktor.

4.5 Nedbrytningsforsøk med høyintensiv UV-lampe og gass

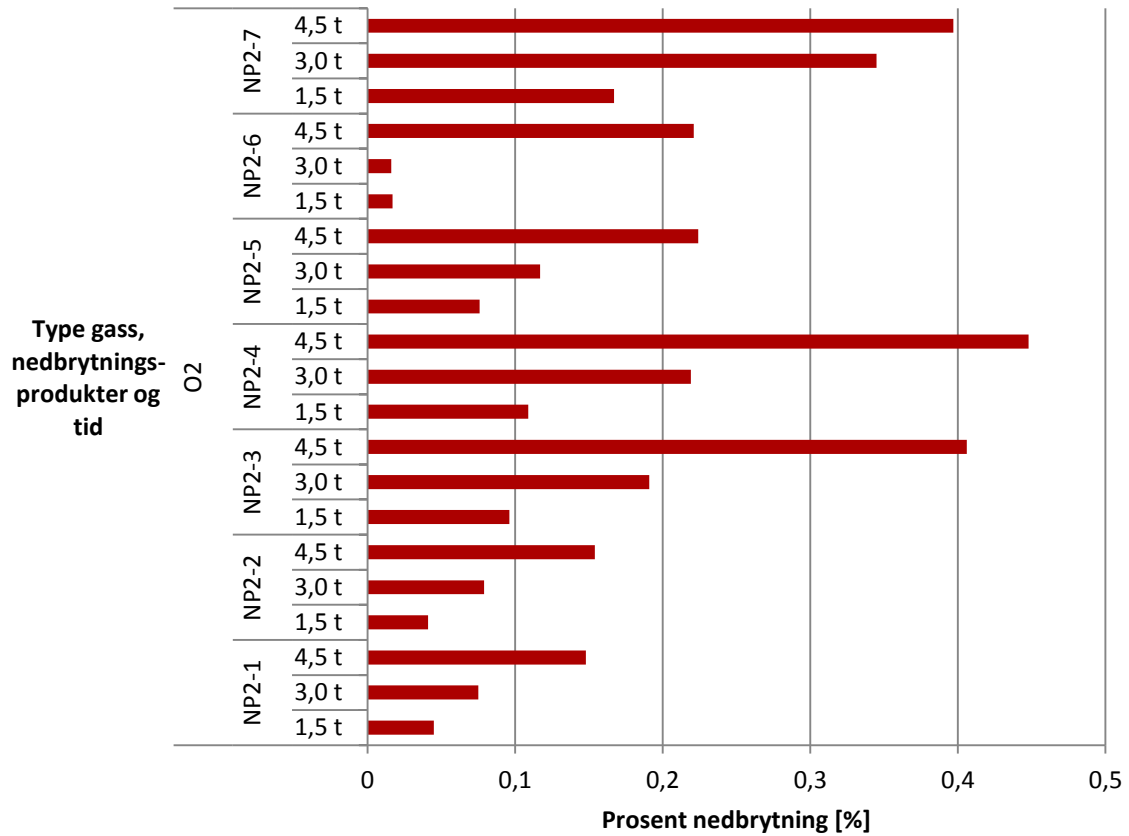
I dette forsøket ble juvenilhormonanalogene forsøkt nedbrutt med bruk av den høyintensive UV-lampen samt bobling av både oksyngengass og nitrogengass. Resultatene fremvises i figurer 4.5.1-4.



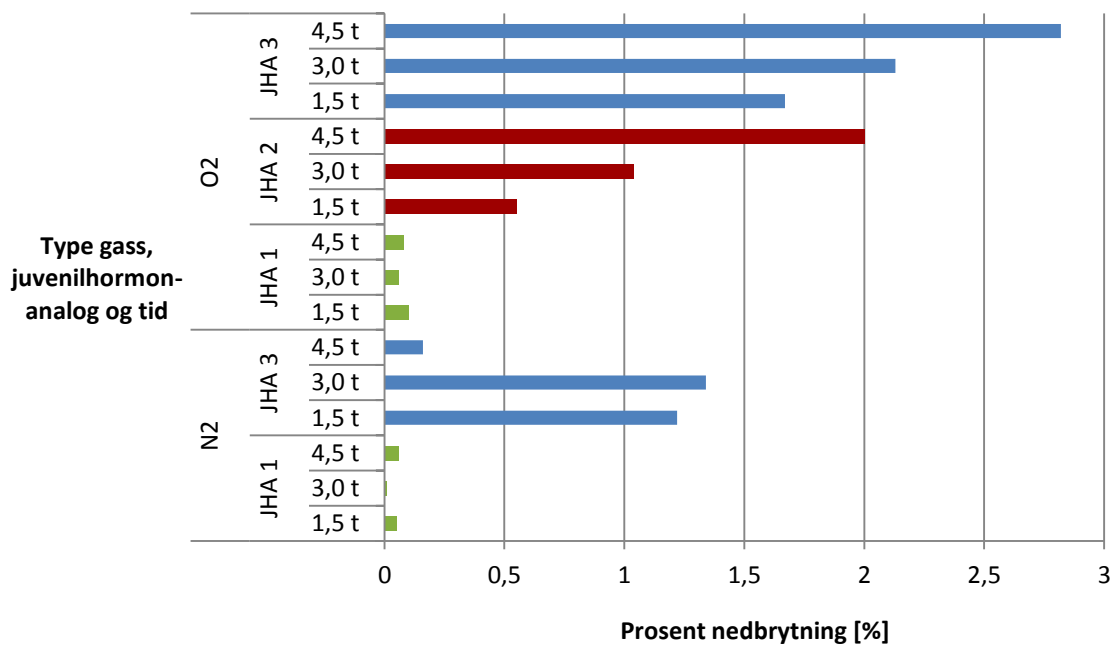
Figur 4.5.1: Nedbrytning av juvenilhormonanalogue 1 etter eksponering for høyintensiv lampe og oxygen- og nitrogengass basert på tall fra vedlegg 3 (figurer 38-43).



Figur 4.5.2: Nedbrytning av juvenilhormonanalogue 3 etter eksponering for høyintensiv lampe og oksygen- og nitrogengass basert på tall fra vedlegg 3 (figurer 47-52).



Figur 4.5.3: Nedbrytning av juvenilhormonanalogue 2 etter eksponering for høyintensiv lampe og oksygen-gass basert på tall fra vedlegg 3 (figurer 44-46).



Figur 4.5.4: Total nedbrytning av juvenilhormonanalogue 1-3 etter eksponering for høyintensiv lampe og oksygen- og nitrogen-gass.

Forsøket med nitrogengass ble utført for å se ren fotokjemisk effekt versus både oksidativ og fotokjemisk effekt med oksyngengass. Nitrogengass er inert uten oksidative evner og oksyngengassen var forventet å bli reaktiv etter bestråling med den høyintensive UV-lampen, som må til for å gi det reaktive spesiet singlett-oksygen.

Omsetning av startmateriale til nedbrytningsprodukter i disse forsøkene var totalt sett lav, både for bruk av oksyngengass og nitrogengass. Figur 4.5.4 viser at for oksyngengass-forsøkene var det hos JHA 2 og JHA 3 en trend at økt eksponeringstid fører til økt total nedbrytning. Denne trenden var ikke tilstede under bruk av nitrogengass. For JHA 1 og JHA 3 var det forventet mindre nedbrytning med nitrogengass enn med oksyngengass, og dette observeres også.

For JHA 1 ble ikke NP1-1 og NP1-2 dannet ved bruk av oksyngengass, og NP1-6 ble ikke dannet ved bruk av nitrogengass (figur 4.5.1). Det var få mønstre som tilsa at økt eksponeringslengde ville påvirke nedbrytningen i forsøkene med denne juvenilhormonanalogen, som for eksempel nedbrytning med oksyngengass hos NP1-4 hvor det er større nedbrytning ved 1,5 timer enn ved 3 timer. Det var denne JHAen som ble minst nedbrutt (under 0,1 % for både oksyngengass og nitrogengass), som korrelerte best med de andre forsøkene. Det var dog noe mer nedbrytning med oksyngengass.

JHA 2 hadde jevnt over lik nedbrytning til de ulike nedbrytningsproduktene (figur 4.5.3). Her kunne det observeres en tendens at forlenget tid fører til større grad av nedbrytning. Det ble dessverre ikke gjort forsøk med JHA 2 og nitrogengass da det ikke var mer prøvemateriale igjen å bruke til flere forsøk.

JHA 3 ble brutt ned til sine nedbrytningsprodukter i varierende grad (figur 4.5.2). For forsøkene med oksyngengass kunne det observeres størst nedbrytning i tillegg til at det observerte en økende grad av nedbrytning i forhold til økt tid. NP3-1 og NP3-6 ble brutt ned i størst grad og dette korrelerte best med resultatene fra Atlas Suntest CPS+.

Det hadde vært interessant å utføre forsøket over lengre tid (som flere dager), men prosentvise økningen i omsetning fra 1,5 timer til 4,5 timer (rundt 0,5 % per 1,5 time) var ikke stor nok til at dette ser ut til å være en metode å gå videre med. I forhold til ønsket om total omsetning ble ikke målet nådd med denne metoden heller.

4.6 Sammenligning av nedbrytningsforsøk

I denne oppgaven ble flere ulike fotokjemiske metoder sammenlignet med tanke på prosentvis omsetning av tre juvenilhormonanaloger til deres respektive nedbrytningsprodukter, dog med varierende resultater.

JHA 1 var den juvenilhormonanalogen som ble brutt dårligst ned i alle forsøkene, og dette var forventet da teorien tilsier at den er minst reaktiv med en mettet terpen sidekjede. JHA 2 og JHA 3 ble brutt ned i større grad enn JHA 1, noe som trolig er grunnet dobbeltbindingene i sidekjedene deres da dette var den eneste strukturelle forskjellen mellom molekylene.

Nedbrytning av juvenilhormonanalogene med Atlas Suntest CPS+ var tilfredsstillende i og med at de fleste produktene ble dannet under alle forsøkene utført, selv om nedbrytningsprosent var varierende og lavere enn 30 %. Denne metoden fungerte best da flest nedbrytningsprodukter ble dannet, men den fungerte ikke bra nok da prosent nedbrytning var lav i forhold til total omsetning av startmateriale.

I forsøkene med petriskål, kromatografisand og den høyintensive UV-lampen kunne det for JHA 3 observeres omtrent dobbelt så stor omsetning av JHA 3 til nedbrytningsprodukter under eksponering uten petriskållokk enn med petriskållokk. Det kunne ikke observeres noen relevant forskjell for samme forsøk med JHA 1. Dette indikerer at UV-stråling øker nedbrytningen hos de juvenilhormonanalogene med dobbeltbindinger tilstede i deres strukturer. Omsetning av startmateriale til nedbrytningsproduktene var lav også for denne metoden, og total nedbrytning for JHA 1 og JHA 3 var under 15 %.

Dekomponering av H_2O_2 til singlett-oksygen ga høy prosentvis omsetning til noen nedbrytningsprodukter av JHA 2 og JHA 3. Det virket som denne metoden fungerte godt til å produsere de produktene som ble dannet, men det var flere nedbrytningsprodukter som ikke ble dannet i det hele tatt. Det var ingen registrerbar nedbrytning av JHA 1 med denne metoden, og total nedbrytning med denne metoden var for både JHA 2 og JHA 3 under 30 %.

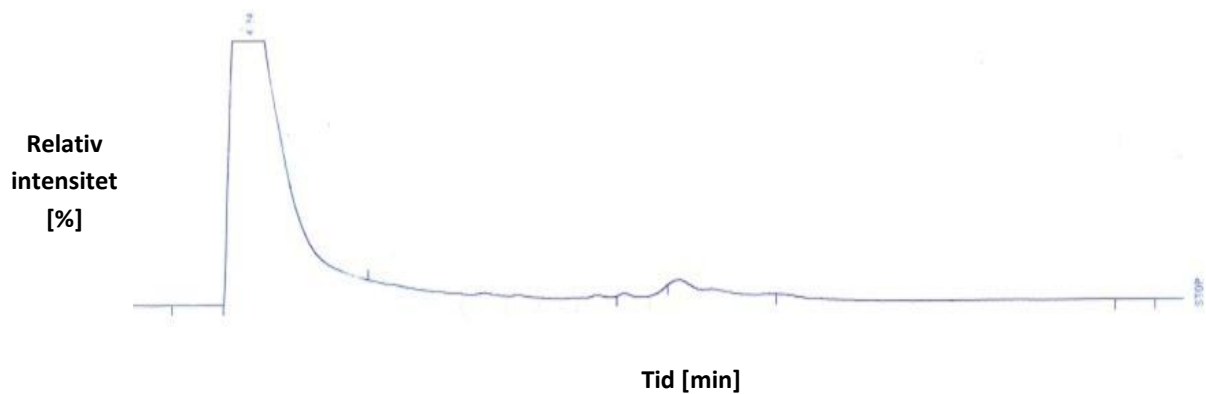
Eksponering av stoffene for oksygen- og nitrogengass og den høyintensive UV-lampe ga dårlige resultater da maksimal nedbrytning for alle forbindelsene var under 3 %. Det kunne derimot dokumenteres at, med oksyngengass, økte prosentvis nedbrytning med forlenget eksponeringstid. Det var dårligst nedbrytning av JHA 1 for dette forsøket også.

Totalt sett har det i alle forsøkene vært mest startmateriale igjen (> 50 %), som viser at forbindelsene var relativt stabile mot reaksjonsbetingelsene de har blitt utsatt for i disse forsøkene. Dette er en ønsket egenskap for forbindelser som skal brukes som juvenilhormonanaloger da naturlige juvenilhormoner er reaktive og raskt reagerer med andre molekyler. Det er ønsket at juvenilhormonanalogene er mer stabile enn naturlige juvenilhormoner, men de må ikke være for stabile med tanke på lang levetid. JHA 1 var den minst reaktive forbindelsen av de syntetiserte juvenilhormonanalogene, og det kan da diskuteres om dette vil være forbindelsen som er dårligst å bruke fra et miljømessig hensyn da den har lang levetid.

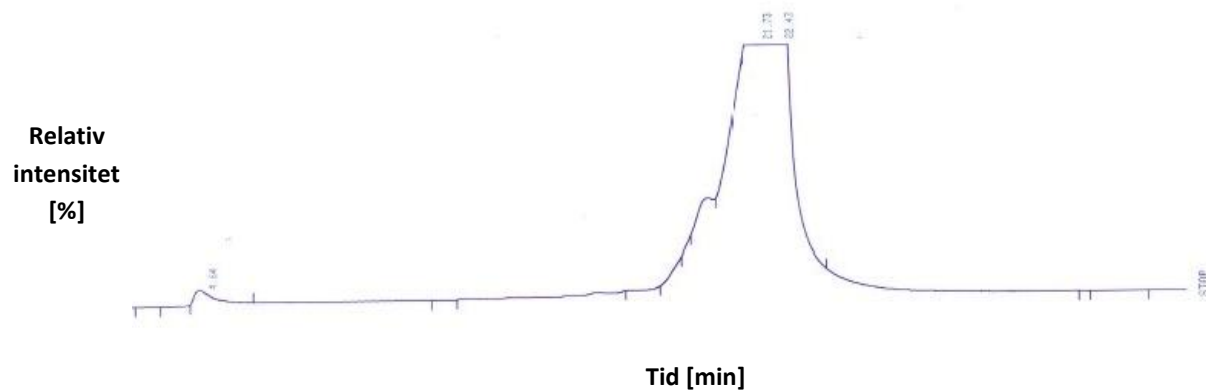
4.7 Strukturbestemmelse av nedbrytningsprodukter fra nedbrytningsforsøk med Atlas Suntest CPS+

4.7.1 Kromatografering

Preparativ GC med de betingelser som i denne oppgaven ble benyttet viste seg og ikke å fungere. Figur 4.7.1.1 og 4.7.1.2 viser kromatogrammer fra separasjon av samme prøve av JHA 1; eneste forskjell mellom prøvene var grad av oppkonsentrering.



Figur 4.7.1.1: Preparativt gasskromatogram fra separasjon av fortynnet prøve av juvenilhormonanalogue 1.

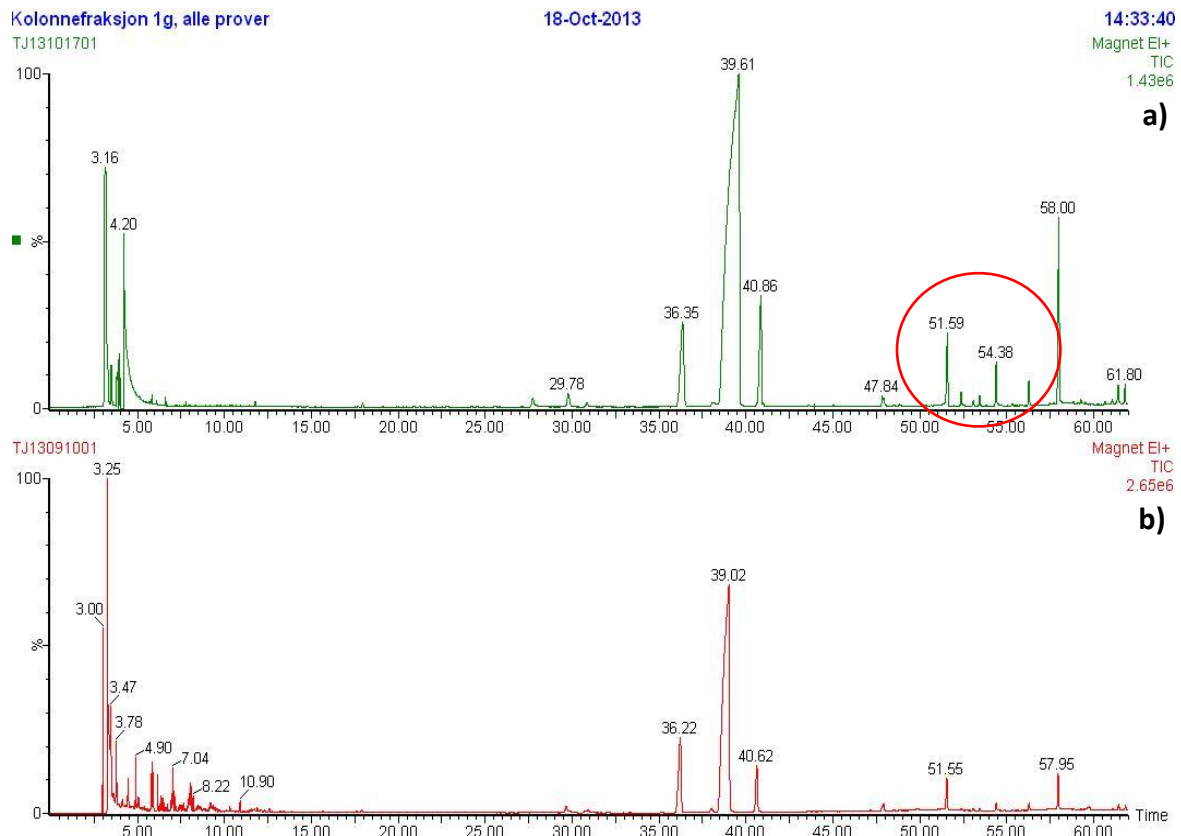


Figur 4.7.1.2: Preparativt gasskromatogram fra separasjon av konsentrert prøve av juvenilhormonanalogue 1.

Den første toppen som eluerte i begge gaskromatogrammene var løsningsmiddelet, deuterert kloroform. I figur 4.7.1.1 kan det observeres flere mindre topper (ser ut som 7 stykk) etter løsningsmiddelet for den fortynnete prøven. I figur 4.7.1.2 kan det observeres kun ett hovedprodukt som koeulerer med en annen topp for den oppkonsentrerte prøven. Figur 4.7.1.2 viser at denne separasjonsmetoden ikke var optimal da ingen flere komponenter eluerte etter den største toppen til programmet var ferdigstilt. Denne metoden var dermed ikke optimal for kromatografering av denne prøven da det kun var ett produkt som eluerte fra kolonnen etter oppkonsentrering av prøven, i forhold til prøven før oppkonsentrering.

Separasjon ble ikke prøvd ut på JHA 2 og JHA 3 da det ville vært unødig å bruke prøvemateriale på denne analysen da det ikke var garantert at resultatet ville vært bedre. Prøven som vises i figur 4.7.1.2 ble analysert to ganger og kromatogrammene var identiske. I forhold til bruk av preparativ GC er det mest sannsynlig at det ble analysert med et ikke-optimalt temperatur- og tidsprogram med en ikke-optimal kolonne. I tillegg, for at denne separasjonsmetoden skulle fungert bedre, hadde det vært nødvendig med en større mengde prøvemateriale enn det som var tilgjengelig på tidspunktet. Det kunne blitt brukt lengre tid på optimalisering av denne separasjonsmetoden dersom tiden hadde strukket til.

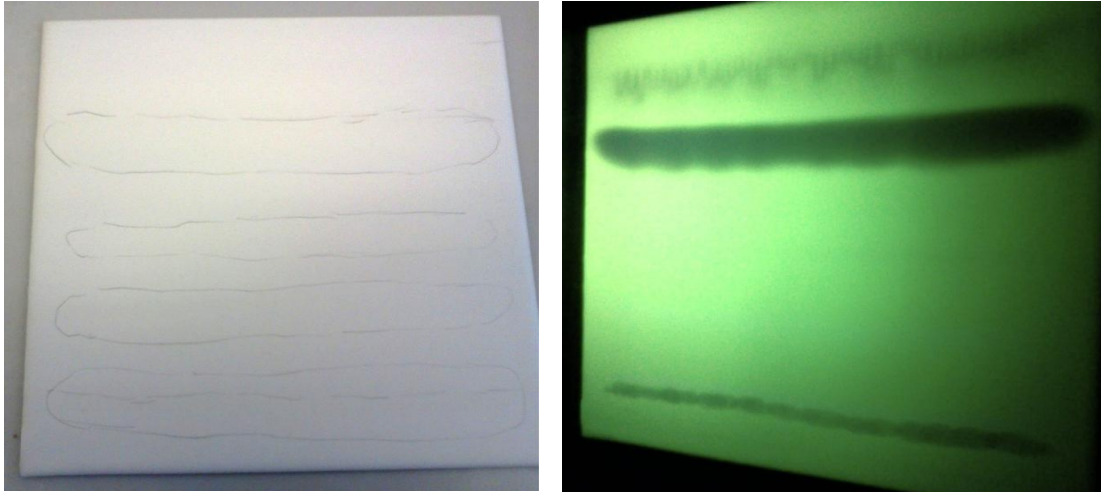
Søylekromatografi med en heksan/etylacetat-gradient ble også prøvd ut for å separere de ulike forbindelsene. Denne typen separasjon fungerte ikke på JHA 2 og JHA 3 (figur 4.7.1.3), og ble derfor ikke prøvd ut på JHA 1 grunnet mangel på prøvemateriale (som ble brukt i den preparative GC-analysen).



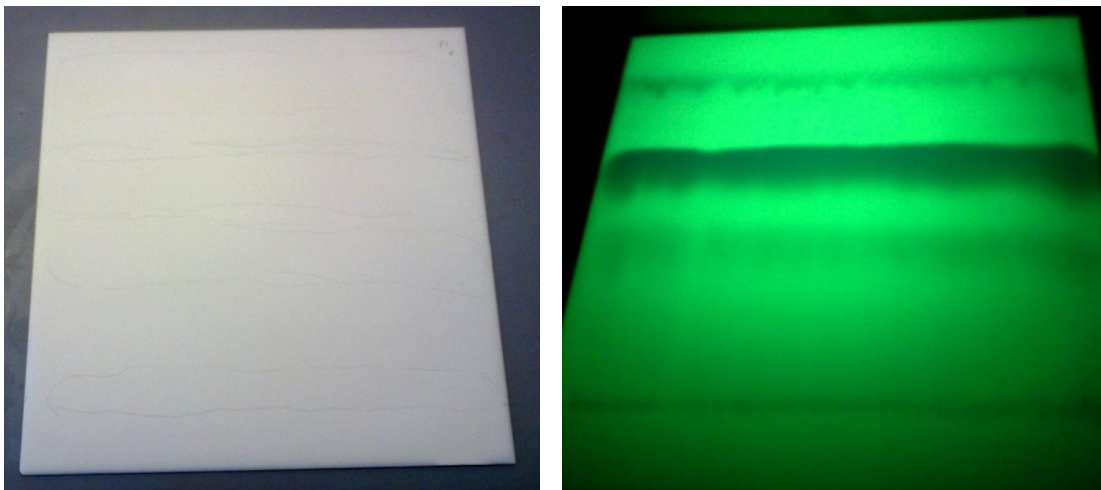
Figur 4.7.1.3: Gasskromatogrammer av juvenilhormonanalogue 3 hvor a) er etter søylekromatografi (ring rundt nedbrytningsproduktene) og b) er etter nedbrytning med Atlas Suntest CPS+ (forsøk 1).

Figur 4.7.1.3 viser at prøvene før og etter søylekromatografien var like i forhold til tilstedeværelse av nedbrytningsprodukter og startmateriale. Prøven etter søylen var renere da flere av toppene fra 0-13 minutter (retensjonstid) var borte som tidligere hadde blitt fastslått som forurensninger. Fire prøver ble slått sammen for å ha mer stoff å utføre søylekromatografi på da det var mindre nedbrytningsprodukter enn startmateriale. Alt stoff eluerte samtidig i én fraksjon og det var ingen form for synlig separasjon på tynnsjiktplatene ved deteksjon. I gasskromatogrammet tilhørende JHA 2 ble det kun observert startmateriale og ingen nedbrytningsprodukter (vedlegg 2, figur 6).

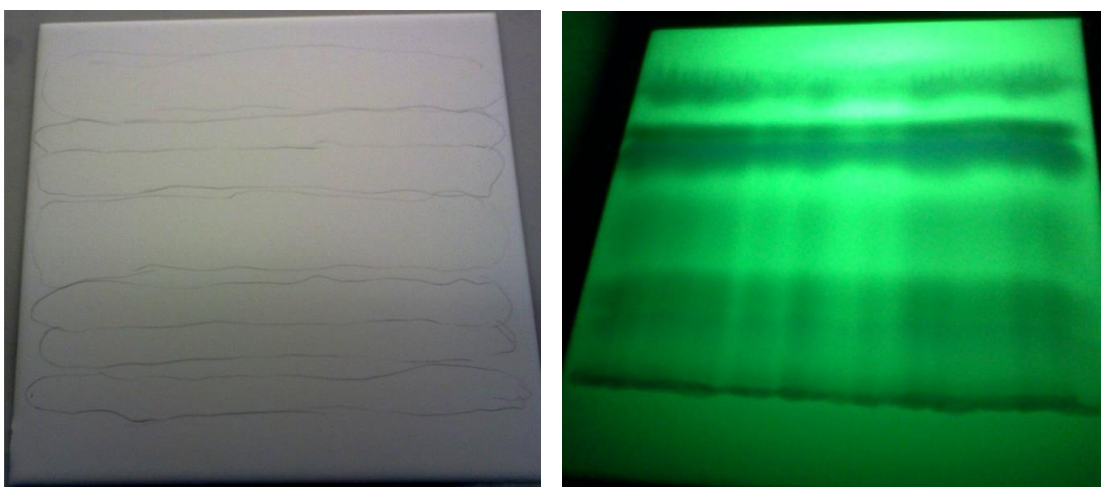
Tilslutt ble preparativ tynnsjikt-kromatografi prøvd ut for å separere forbindelsene, som var den metoden som fungerte best av de tre metodene prøvd ut. Preparativ TLC fikk til en viss grad separert de ulike produktene fra forsøk 7 (> 400 mg startmateriale) fra Atlas Suntest CPS+-forsøkene (figur 4.7.1.4-6).



Figur 4.7.1.4: Preparativ tynnsjikt-kromatografi av produkter (5 bånd) fra forsøk 7 av juvenilhormonanalogue 1 (kortbølget UV-bestrålt tynnsjiktplate til høyre).



Figur 4.7.1.5: Preparativ tynnsjikt-kromatografi av produkter (5 bånd) fra forsøk 7 av juvenilhormonanalogue 2 (kortbølget UV-bestrålt tynnsjiktplate til høyre).



Figur 4.7.1.6: Preparativ tynnsjikt-kromatografi av produkter (7 bånd) fra forsøk 7 av juvenilhormonanalogue 3 (kortbølget UV-bestrålt tynnsjiktplate til høyre).

Ulike blandinger av heksan og etylacetat ble prøvd for å se hvilken som ga best separasjon. Det viste seg at det beste blandingsforholdet var 40/60 heksan/etylacetat, som var den mest polare kombinasjonen. TLC-platene ble testet med både kaliumpermanganat og UV-lys som deteksjonsmidler. Dersom noen nedbrytningsprodukter ikke hadde konjugerte π -bindinger og ble ikke observert på platene kan dette for eksempel skyldes for lite mengde av forbindelsene til at det kunne detekteres med kaliumpermanganat, eller at de koeluerte med andre forbindelser og derfor ikke kunne skilles visuelt. Noen av båndene kunne ikke observeres med mer energirik kortbølget UV-bestråling, men med mindre energirik langbølge UV-bestråling. Noen fraksjoner kunne observeres under begge type bestrålinger. Dette indikerer at det er forskjellig antall konjugerte dobbeltbindinger i forbindelsene, siden teorien tilsier at jo lengre konjugert π -system, jo lengre bølgelengde absorberer molekylet (forutsatt sammenligning av like typer π -systemer) (Williams & Fleming 2008).

Fra UV-bestråling av tynnsjiktplatene var det flere forbindelser som eluerte så nært at det var vanskelig å skille dem ved avskrapingen av silikaen fra glasset. Forbindelser som eluerte nesten likt ville da bli med som forurensning i hver fraksjon, og NMR-spektra vil komme fra en blanding av stoffene. Dette gjaldt spesielt fraksjonene som eluerte ved siden av startmaterialet, hvor de fleste toppene i disse NMR-spektrene tilhører synteseproduktene.

Ettersom flesteparten av komponentene i prøvene etter nedbrytningsprosessene var startmateriale, var det rimelig å anta at de største og mørkeste båndene var startmateriale. Dette ble bekreftet med retensjonstider, areal under toppene fra GC-MS-analysene av fraksjonene og NMR-spektra. Disse stoffene vandret relativt langt på platen i forhold til start, som forventet. Det var flere bånd som vandret kortere enn startmateriale, som betyr at disse forbindelsene var mer polare enn startmaterialet. Dette er rimelig å anta da stasjonærfasen var polar og at nedbrytningsproduktene var oksygenerte, som ville føre til at de bandt seg sterkere til stasjonærfasen og dermed vandret kortere på platen. I tillegg absorberte alle fraksjonene i UV-området, så de må ha hatt konjugerte π -bindinger i deres struktur. Det var fra før av en stabil aromatisk pyridinring (m/z 108 + H i massespektra) i startmaterialet, så for flere av forbindelsene kan det tenkes at denne ringen hadde bestått nedbrytningsparameterene molekylene ble utsatt for.

Nedbrytningsproduktene ble delvis separert på preparativ TLC, men ikke ved søylekromatografi. Dette i seg selv var ikke forventet da det ble brukt samme type kolonnemateriale (silika) og løsningsmiddelgradient (heksan/etylacetat). Separasjon kunne ha blitt påvirket av forskjell i mobilfasehastighet; med søylekromatografi ble det brukt nitrogengass til å skylle stoffene igjennom søylene, mens kapillærkrefter ble brukt på TLCene. I tillegg var det forholdsvis mer stasjonærfase per mengde forbindelse som skulle separeres under søylekromatograferingen enn under tynnsjikt-kromatograferingen.

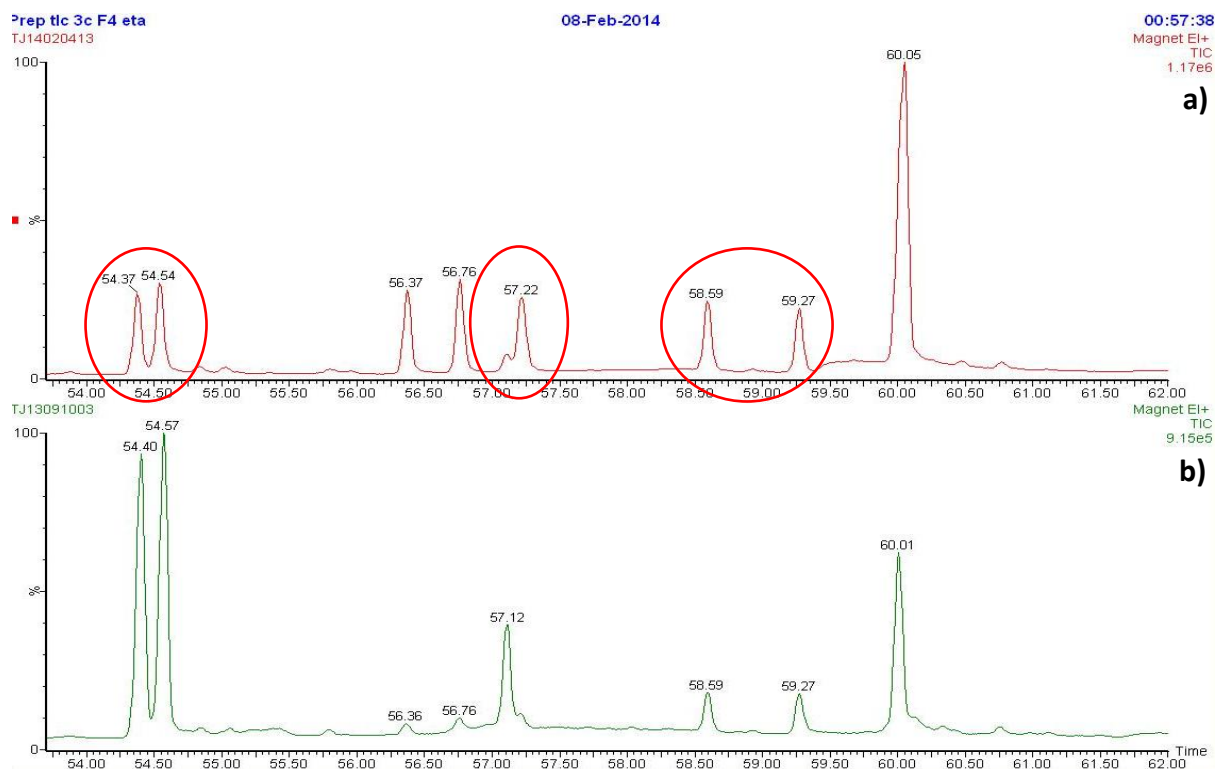
4.7.2 Strukturbestemmelse av nedbrytningsprodukter

Det var ønskelig med flere typer spektroskopisk informasjon for å strukturbestemme nedbrytningsproduktene. Massespektra alene ville gi for lite informasjon og dårlige indikasjoner på strukturer ble gitt ved søk i NIST sin database (treff som virker usannsynlige i forhold til startmaterialet). GC-MS-analyse ble brukt for å undersøke hvilke fraksjoner som inneholdt nedbrytningsproduktene, mens NMR ga informasjon om nye topper som kunne observeres i de ulike spektrene. IR-spektroskopi ble brukt for å få informasjon om funksjonelle grupper.

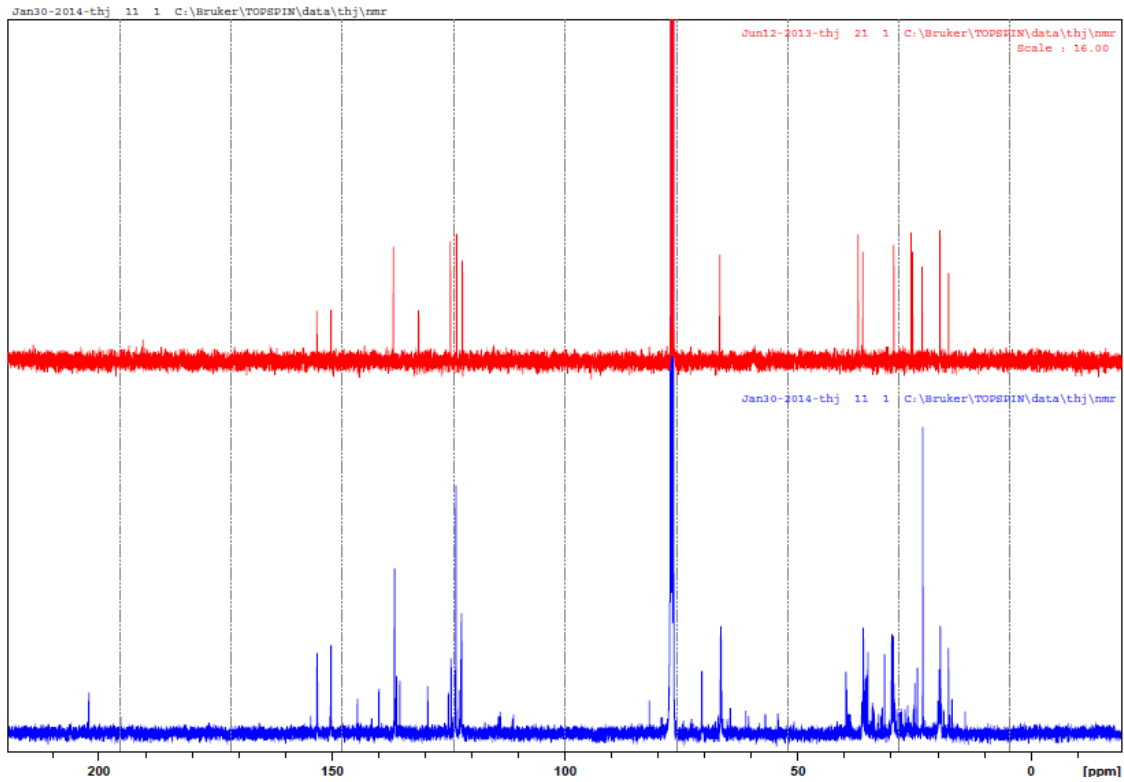
Det var flere fraksjoner fra tynnsjikt-kromatograferingen som ga lite strukturell informasjon. Blant annet viste gasskromatogrammer av noen fraksjoner fra JHA 1 at det ikke var noen signifikante topper tilstede i prøven, og dermed at løsningsmiddel trolig ikke fikk ekstrahert forbindelsene fra silikaen. I tillegg var både ^1H og ^{13}C NMR-spektra av flere fraksjoner for dårlige til å tolkes på grunn av for lite prøvemateriale til at toppene ble vist rett over støyen, for mange topper og for mye støy i grunnlinjen. Flere av prøvene ble analysert over natt med NMR for å få bedre oppløsning, men hos noen fraksjoner ble det ikke registrert forbedringer i spektrene. I noen av disse fraksjonene var det ingenting i NMR-spektra bortsett fra løsningsmiddel som heksan og etylacetat. Tabell 53 i vedlegg 3 viser en oversikt over de ulike fraksjonene og om de var brukbare (oversikt over fraksjoner fra preparativ tynnsjikt-kromatografi (juvenilhormonanalogue 2)).

Etter å ha undersøkt alle de ulike fraksjonene med NMR- og GC-MS-analyser viste det seg at mesteparten av fraksjonene ga lite strukturell informasjon. Det var kun én fraksjon som var av spesiell interesse å undersøke, og dette var fraksjon 4 etter preparativ TLC av JHA 2-prøve, som inneholdt alle nedbrytningsproduktene valgt ut for denne juvenilhormon-analogen (figur 4.7.2.1).

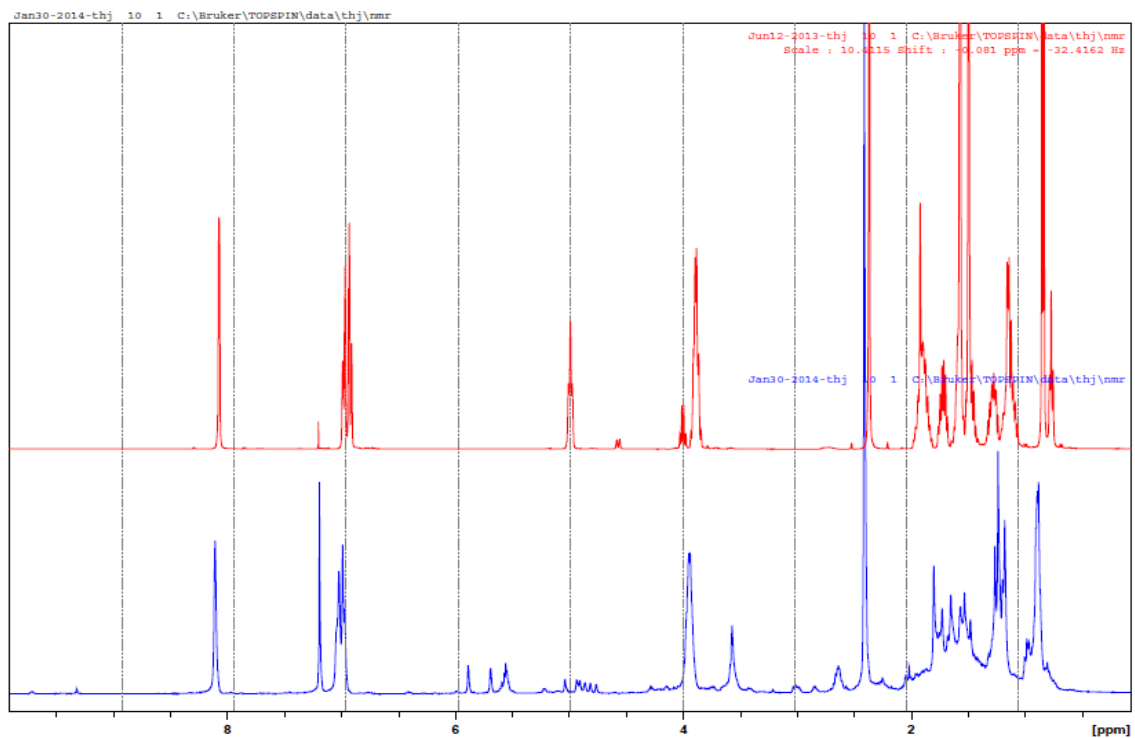
Dette betydde at det ikke var noen separasjon av disse produktene fra hverandre som ønskelig, men at det ble oppnådd en separasjon av nedbrytningsprodukter og synteseproduktene. ^1H og ^{13}C NMR-spektra ga fortsatt strukturell informasjon (figurer 4.7.2.2-3), men strukturbestemming av enkeltkomponentene var ikke mulig. Dette var derimot den beste fraksjonen fra de preparative TLCene da det ikke var startmateriale tilstede som gjorde spektrene vanskeligere å tolke. Ettersom startmateriale var den største komponenten i de fleste fraksjonene som hadde brukbare NMR-spektra ble ikke disse tolket da de største toppene kom nettopp fra disse synteseproduktene.



Figur 4.7.2.1: Gasskromatogrammer av juvenilhormonanalogen 2 hvor a) er fraksjon 4 etter preparativ tynnsjikt-kromatografi (ring rundt nedbrytningsproduktene) og b) er etter nedbrytning med Atlas Suntest CPS+ (forsøk 1).



Figur 4.7.2.2: ^{13}C NMR-spektra hvor rødt er prøve av juvenilhormonanalogue 2 etter syntese og blått er fraksjon 4 etter tynnsjikt-kromatografering av juvenilhormonanalogue 2-prøve.



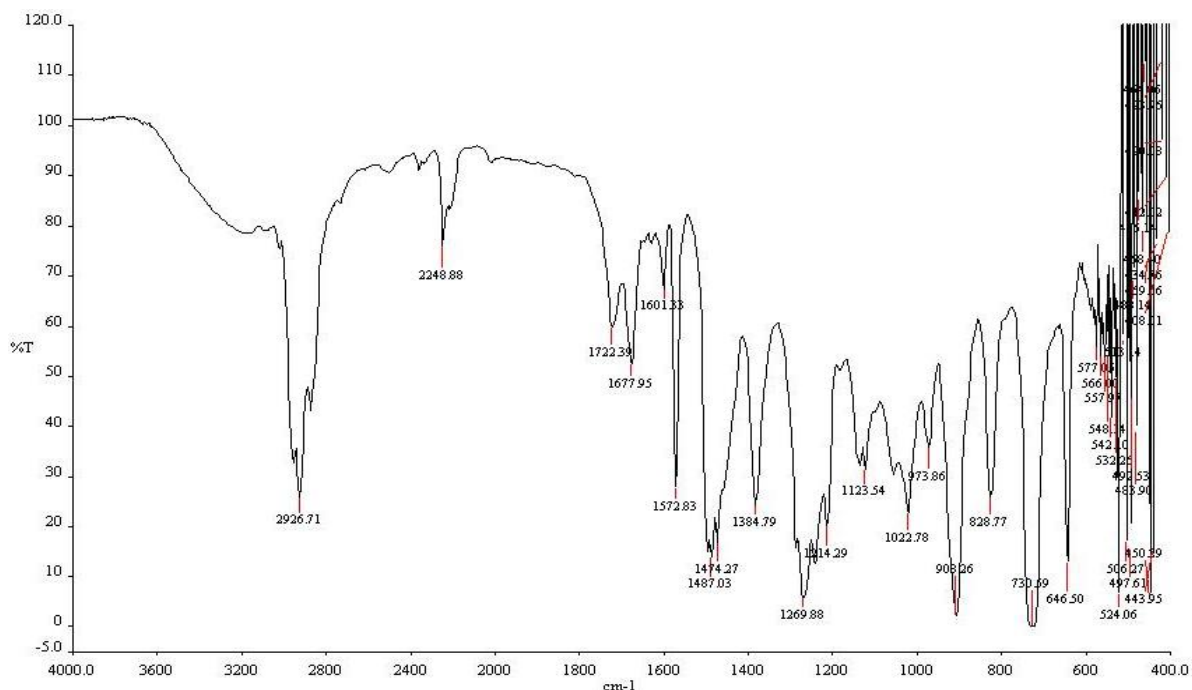
Figur 4.7.2.3: ^1H NMR-spektra hvor rødt er prøve av juvenilhormonanalogue 2 etter syntese og blått er fraksjon 4 etter tynnsjikt-kromatografering av juvenilhormonanalogue 2-prøve.

Fra NMR-spektra var det, til sammenligning med startmaterialet, mulighet for observasjon av flere nye topper. Tabell 4.7.2.1 viser oversikt over hvor mange topper som fantes ved ulike kjemiske skift i ^{13}C NMR-spektra av startmaterialet etter syntese og fraksjon 4 av JHA 2 etter tynnsjikt-kromatograferingen.

Tabell 4.7.2.1: Oversikt over antall topper tilhørende ulike kjemiske skift i ^{13}C NMR fra fraksjon 4 av juvenilhormonanalogue 2 og startmateriale (juvenilhormonanalogue 2-prøve etter syntese).

Kjemisk skift [ppm]	Antall topper (fraksjon 4)	Antall topper (startmateriale)
0-50	63	8
50-100	16	1
100-160	23	7
190-210	2	0

Det var flest topper i alkanområdet, noe som var forventet. Det var derimot flere nye topper i karbon-oksygen-området i forhold til startmaterialet, som kun hadde én topp ved 66.7 ppm. Det var også flere topper i aromat-området og tilslutt var det to topper i karbonyl-området. Figur 4.7.2.4 viser IR-spekter av fraksjon 4.



Figur 4.7.2.4: Infrarødt spekter av fraksjon 4 etter preparativ tynnsjikt-kromatografi av juvenilhormonanalogue 2.

Oppsummering av spektroskopisk data (juvenilhormonanalogue 2 – fraksjon 4 etter preparativ TLC)

^{13}C NMR: Dette spekteret viste flere nye topper i karbon-oksygen-området (50-85 ppm), som betydde at mange oksygenatomer var inkorporert i nedbrytningsproduktene. De to toppene mellom 190-210 ppm tilhørte keton/aldehyd-karbonylgrupper. Det var dessuten mange flere topper i alkan- og aromat-området i forhold til startmaterialet.

^1H NMR: Det var antydning til to meget små topper i ^1H NMR rundt 9,5-10 ppm som tyder på aldehydproton. Spekteret viste også at, til sammenligning med spektra etter syntese, pyridinringen var hovedsakelig intakt i stor grad. I tillegg kunne det observeres flere topper i alkenområdet mellom 4,5-6 ppm.

Flere av toppene i alkenområdet var interessant da det var flere topper her til sammenligning med den ene toppen som var tilstede i ^1H NMR-spektra av startmaterialet (som hadde én alkengruppe). Hvis disse nedbrytningsforsøkene induserer dannelse av denne typen funksjonelle grupper vil dette i stor grad påvirke videre nedbrytning og halveringstiden til nedbrytningsproduktene.

IR: Det var antydninger til karbonylgrupper med absorpsjon ved 1722 cm^{-1} og 1677 cm^{-1} , men molekylene de tilhørte var trolig ikke tilstede i stor grad da toppene ikke var veldig kraftige. Det var en bred absorpsjon som kunne tilhøre en syregruppe rundt $3700\text{-}2500\text{ cm}^{-1}$. For å teste om fraksjonen inneholdt en organisk syre kunne syren blitt ekstrahert ut av blandingen med en base, gjenvunnet som en syre og strukturbestemt. Absorpsjonen ved 2926 cm^{-1} var for sp^3 -hybridiserte karbonatomer.

MS: En stor m/z 109 ($108 + \text{H}$) topp var karakteristisk for den metylerte pyridinringen med eter-oksygenet intakt. Alle de relevante nedbrytningsproduktene i gasskromatogrammet har denne toppen til stede med sterk intensitet, hvor noen også hadde den som hovedtopp ("basepeak") (figur 4.7.2.1). Molekylionenes m/z -verdier varierer fra mellom 200-270. Søk i database ga ingen fornuftige strukturer med tanke på startmaterialet.

Oppsummering av nedbrytning av juvenilhormonanalogene

Resultatene fra analyse av fraksjon 4 fra preparativ TLC av juvenilhormonanalogue 2 viser at nedbrytningsproduktene var mye mer oksygenerte i forhold til startmaterialet, som forventet. Disse prosessene må være som følge av autoksidasjon og fotooksidasjon. Det var tre fotokjemiske nedbrytningsforsøk hvor de fleste produktene ble dannet i motsetning til det kjemiske oksidative forsøket med singlett-oksygen, hvor kun noen produkter ble dannet hos JHA 2 og JHA 3 (JHA 1 ble ikke oksidert i det hele tatt). Det er også tillegg indikasjoner på at UV-belysning øker nedbrytningen, i hvert fall for juvenilhormonanalogene med dobbeltbindinger i terpen-sidekjeden. Dette kan tyde på at noen produkter kan lett dannes uten tilføring av lys, men at andre produkter krever mer energi eller andre oksidasjonsmetoder for å dannes, spesielt for den mindre reaktive JHA 1.

4.8 Feilkilder

En stor begrensning med denne oppgaven var antall paralleller som ble utført hvert forsøk. Hos alle forsøkene, bortsett fra to forsøk utført med Atlas Suntest CPS+, ble det kun gjort én parallell ettersom det ikke var nok startmateriale til å gjøre flere. Dermed ble det i oppgaven et valg mellom flere paralleller og få forsøk, eller flere ulike forsøk med få paralleller grunnet lite startmateriale. Det hadde vært ønskelig med så mange paralleller som mulig, spesielt da de parallellene som faktisk ble gjort varierer stort (figurer 4.3.2.1 og 4.3.2.3, P1 og P2 for 6-timers og 18-timers eksponering). Et lite antall paralleller øker usikkerheten i forsøkene drastisk. Selv om det ikke kan fastslås nedbrytningsprosenten for noen av juvenilhormonanalogene i noen av forsøkene, indikerer forsøkene at disse juvenilhormonanalogene er relativt stabile forbindelser i disse nedbrytningssammenhengene.

Flere av toppene i de ulike gasskromatogrammene viste at kolonnen var overbelastet; dette ble observert ved stygg form på toppene (som et knivblad). Større splitt enn 1:10 kunne blitt brukt for å ha gjort toppene og gasskromatogrammene penere, men da kunne det blitt et problem at nedbrytningsproduktene ikke ble detektert grunnet for lav følsomhet hos instrumentet. I tillegg har toppene blitt forskjøvet i retensjonstid hvis prøvene var for oppkonsentrerte. Nedbrytningsproduktene til JHA 3 eluerer fra 50 minutter og utover med mindre god separasjon. Forlenging av analysetid og forandring av parametere kunne optimalisert separasjon for å se om flere nedbrytningsprodukter ville eluert.

Det ble ikke tilsatt internstandard til prøvene så det var ikke mulig å kvantifisere mengdene av nedbrytningsprodukter. Det var heller ikke interessant i denne omgang; det som var interessant var hvor stor prosent av startmaterialet som hadde blitt omdannet.

I forsøkene med høyintensiv lampe og oksygen- og nitrogengass ble ikke avtrekkskapet dekket med aluminiumsfolie. Dette ville ha sluppet lys ut av avtrekkskapet og mulig påvirket resultatet i form av mindre nedbrytning.

Det kan generelt observeres bedre resultater for analyse av fraksjoner fra preparativ TLC hos JHA 2 og JHA 3. Disse fraksjonene stod over natt med etylacetat som løsningsmiddel for ekstraksjon i motsetning til JHA 1 som kun stod 60 minutter. Dette kan indikere at forlenget tid med denne typen ekstraksjon forbedret både gasskromatogrammer og NMR-spektra.

I forsøkene med den høyintensive UV-lampen og nitrogengass ble det også observert nedbrytningsprodukter av både JHA 1 og JHA 3. Det var trolig oksygen tilstede i heksanen som ble brukt som løsningsmiddel og atmosfæren generelt i systemet. Vi burde vært nøyere med deoksygenering i disse forsøkene før lampen ble satt på, og dette vil ha påvirket forsøkene i form av dannelse av oksygenererte produkter.

5. Konklusjon

Våre forsøk i denne oppgaven viste at de tre syntetiserte juvenilhormonanalogene var relativt stabile mot reaksjonsbetingelsene vi utsatte de for, i forhold til målet om total omsetning, og ingen halveringstid ble funnet. Ingen av nedbrytningsforsøkene ga optimale resultater, som var total omsetning av startmateriale til nedbrytningsprodukter for best mulig strukturbestemming av nedbrytningsproduktene. Juvenilhormonanalogue 1 var den mest stabile av de syntetiserte JH-analogene mens det var større nedbrytning for juvenilhormonanalogue 2 og 3. Lysboksen Atlas Suntest CPS+ ga best resultater nedbrytningsmessig, selv om nedbrytningsprosent var lav (under 30 %). Til sammenligning ga forsøket hvor sola ble brukt som strålingskilde for omdannelse av startmateriale til nedbrytningsprodukter dårligere resultater enn metoden med lysboksen (total nedbrytning var lavere enn 10 %). Ingen av separasjonsmetodene som ble brukt ga ønsket separasjon, men etter kromatografering med preparativ tynnsjikkromatografi viste et ^{13}C NMR-spekter av en fraksjon av juvenilhormonanalogue 2 seksten karbon-oksygen-bindinger i blandingen med nedbrytningsproduktene. Strukturbestemmelse av enkeltkomponenter ble dessverre ikke oppnådd.

6. Videre arbeid

Anvendelsesområde

Juvenilhormonanalogene i denne oppgaven bør testes om de har en insekticidal effekt på andre terrestriske insekter og skadedyr med stort potensial for ødeleggelse, som potet-cystnematoden (*Globodera sp.*). Dersom juvenilhormonanalogene i denne oppgaven blir prøvd ut på slike terrestriske skadedyr og utøver god effekt, burde andre egenskaper (som toksisitet) blitt undersøkt. Det kunne blitt dannet et tverrfaglig prosjekt med andre forskningsgrupper for å undersøke stoffenes mutagene og toksiske skadevirkninger. Som skrevet innledningsvis kan toksiske effekter bestemmes i forsøk med dyr, bakterier og HeLa-cellelinjer. For eksempel har autoksidasjonsprodukter fra dieseleksos blitt undersøkt for mutagene egenskaper ved bruk av Ames test på flere stammer av arten *Salmonella typhimurium* (Stock *et al.* 1998). Juvenilhormonanalogene kan etter syntese undersøkes om de kan metaboliseres av mikroorganismer og andre organismer, og dermed gi et bilde av ulike nedbrytningsveier (startmateriale kunne isotopmerkes med for eksempel ^{13}C , ^{14}C eller ^{18}O). Med slike forsøk hadde det også, i tillegg til å bruke "rene" juvenilhormonanaloger etter syntese, vært interessant å bruke de ulike blandingene med nedbrytningsproduktene for å se om det er noen signifikant forskjell i respons. Det hadde vært nyttig å se videre på nedbrytning av de primære nedbrytningsproduktene, muligens helt til CO_2 og H_2O , både i levende organismer og i terrestriske omgivelser.

Et viktig punkt med denne oppgaven er at kun de største nedbrytningsproduktene arealmessing har blitt undersøkt. Hvis en eller flere av disse JH-analogene skulle blitt brukt i større skala bør også de mindre toppene undersøkes. Dette burde blitt lettere dersom total omsetning av startmaterialet til nedbrytningsproduktene hadde blitt oppnådd. Selv om de produseres i mindre mengder enn de andre vil det selv gi betydelige mengder hvis forsøket ble utført i storskala. Slike undersøkelser og spesielt strukturbestemming vil være vesentlig og en viktig del av et eventuelt videre arbeid. I tillegg ville strukturbestemming av andre biproduktene som oppstod under syntese av JHA 2 og JHA 3 vært interessant. Å se om den insekticidale effekten kommer fra hovedproduktet eller blandingen av synteseproduktene kunne også blitt undersøkt dersom disse komponentene ble kromatografisk separert.

Nedbrytningsforsøk

Flere parametere med lysboksen Atlas Suntest CPS+ kunne blitt forandret for å forsøke å optimalisere nedbrytningen av forbindelsene da denne metoden fungerte best. Noen forslag er; 1) en sterkere lampe kunne blitt brukt til bestråling, også i UV-området, 2) konstant røring av prøvene og dermed homogen bestråling (ikke kun overflatebestråling), 3) annet materiale å ha prøvene i som ikke absorberer stråling og som er tett for å forhindre fordamping av analytt og 4) annet materiale enn kromatografisand å utføre nedbrytningene på, helst uten betydelige forurensninger.

Andre typer oksidasjonsforsøk kunne blitt prøvd ut for å øke nedbrytning av juvenilhormon-analogene, som for eksempel modifikasjon av forsøkene til Neuenschwander og Hermans (2012) utført på terpenet α -pinen. De brukte en autoksidasjonskatalysator, kobolt (II)-acetylacetonate ($\text{Co}(\text{acac})_2$), i tillegg til termisk dekomponering. Ulike typer hydrokarboner har også blitt autoksidert med katalysatorer som var blandinger av metaller (kobolt, mangan og zirkonium) med brom; dette har blitt utprøvd (Amoco MC-metode) og oppsummeres i oversiktsartikkelen til Partenheimer (1995). Det har også blitt syntetisert og testet tri-kobber-komplekser av Chan *et al.* (2012) som er effektive for oksidasjon av hydrokarboner. Forsøkene foreslått her utføres med trikobber-kompleksene med forbindelsen som skal oksideres og H_2O_2 i acetonitril som løsningsmiddel. Dette ga stor omsetning av start-materialet (sykloheksan) til oksidasjonsprodukter (sykloheksanol og sykloheksanon).

De tre juvenilhormonanalogene i denne oppgaven har dokumentert effekt mot både rur og lakselus, som er vannlevende organismer; dermed ville det vært interessant å se på nedbrytningen av disse i vandig miljø. Et problem med disse analogene er at de er lite løselige i vann. Et mulig forsøk er å tilsette de til vann med en emulgator under røring. Flere parametere kan forandres, som temperatur-, pH- og lysgradient. Med riktig prøve-preparering og analysemetode kunne eventuelle nedbrytningsprodukter blitt undersøkt.

Kromatografisk separasjon og syntese av juvenilhormonanalogene

Ingen av separasjonsteknikkene prøvd ut i denne oppgaven var tilfredsstillende; det kreves mer arbeid med optimalisering. Optimalisering av separasjon med preparativ GC ved forandring av betingelser som temperaturprogram, kjøretid og valg av kolonne kunne blitt undersøkt. I tillegg hadde det vært mulig å prøve væskechromatografi (HPLC) eller et annet væskebasert preparativt separasjonssystem med ulike løsningsmidler, kolonnetyper, gradienteluering m.m. Til slutt kunne søylechromatografi blitt prøvd ut med en mindre kolonne (eksempelvis sprøytehylster) fylt med silika og langsommere hastighet på elueringsmiddel, til en forandring med kolonnestørrelsen og hastighet brukt i denne oppgaven.

Til slutt kan det sterkt anbefales å øke mengden stoff under syntesene for å lage mer startmateriale; det forsvinner raskere enn antatt. Med lengre tid på å gjennomføre forsøkene bør også økte utbytter av syntesene være mulig.

7. Referanser

- Alsters, P. L., Jary, W., Nardello-Rataj, V. & Aubry, J. M. (2010). "Dark" singlet oxygenation of beta-citronellol: a key step in the manufacture of rose oxide. *Organic Process Research & Development*, 14 (1): 259-262.
- Backtorp, C., Hagvall, L., Borje, A., Karlberg, A. T., Norrby, P. O. & Nyman, G. (2008). Mechanism of air oxidation of the fragrance terpene geraniol. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 4 (1): 101-106.
- Barrow, G. M. (1988). *Physical chemistry*. New York, NY, USA: McGraw-Hill. ISBN: 0070039054. XIV, 859 s. : 712-713 s.
- Calogirou, A., Larsen, B. R. & Kotzias, D. (1999). Gas-phase terpene oxidation products: a review. *Atmospheric Environment*, 33 (9): 1423-1439.
- Chan, S. I., Chien, C. Y. C., Yu, C. S. C., Nagababu, P., Maji, S. & Chen, P. P. Y. (2012). Efficient catalytic oxidation of hydrocarbons mediated by tricopper clusters under mild conditions. *Journal of Catalysis*, 293: 186-194.
- Chiron, F., Chalchat, J. C., Garry, R. P., Pilichowski, J. F. & Lacoste, J. (1997). Photochemical hydroperoxidation of terpenes I. Synthesis and characterization of alpha-pinene, beta-pinene and limonene hydroperoxides. *Journal of Photochemistry and Photobiology a-Chemistry*, 111 (1-3): 75-86.
- Christensson, J. B., Forsstrom, P., Wennberg, A. M., Karlberg, A. T. & Matura, M. (2009). Air oxidation increases skin irritation from fragrance terpenes. *Contact Dermatitis*, 60 (1): 32-40.
- Devle, H., Vetti, I., Naess-Andresen, C. F., Rukke, E. O., Vegarud, G. & Ekeberg, D. (2012). A comparative study of fatty acid profiles in ruminant and non-ruminant milk. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 114 (9): 1036-1043.
- Dewick, P. M. (2009a). *Medicinal natural products: a biosynthetic approach*. Chichester, U.K.: John Wiley & Sons, Ltd. ISBN: 9780470741689. 539 s. : 187 & 311 s.
- Dewick, P. M. (2009b). *Medicinal natural products: a biosynthetic approach*. Chichester, U.K.: John Wiley & Sons, Ltd. ISBN: 9780470741689. 539 s. : 7-8 s.
- Foote, C. S. (1968). Photosensitized oxygenations and role of singlet oxygen. *Accounts of Chemical Research*, 1 (4): 104-110.
- Forman, S., Novak, J., Tykva, R., Kas, J., Wimmer, Z. & Ruml, T. (2002). Evaluation of toxicity of pesticides and their biodegradation products using human cells. *Chemosphere*, 46 (2): 209-217.
- Gilpin, S., Hui, X. Y. & Maibach, H. (2010). In vitro human skin penetration of geraniol and citronellol. *Dermatitis*, 21 (1): 41-48.
- Goodman, W. G. & Granger, N. A. (2009). The juvenile hormones. I: Lawrence, I. G. (red.) *Insect development: morphogenesis, molting and metamorphosis*. ISBN: 9780123751362. 777 s. : 306. London, U.K.: Academic Press.
- Gottlieb, H. E., Kotlyar, V. & Nudelman, A. (1997). NMR chemical shifts of common laboratory solvents as trace impurities. *Journal of Organic Chemistry*, 62 (21): 7512-7515.
- Gullan, P. J. & Cranston, P. S. (2010a). *The insects: an outline of entomology*. Chichester, U.K.: John Wiley & Sons, Ltd. ISBN: 9781444317671. 589 s. : 419-421 s.
- Gullan, P. J. & Cranston, P. S. (2010b). *The insects: an outline of entomology*. Chichester, U.K.: John Wiley & Sons, Ltd. ISBN: 9781444317671. 589 s. : 63-67 s.
- Gullan, P. J. & Cranston, P. S. (2010c). *The insects: an outline of entomology*. Chichester, U.K.: John Wiley & Sons, Ltd. ISBN: 9781444317671. 589 s. : 148-149 s.
- Gullan, P. J. & Cranston, P. S. (2010d). *The insects: an outline of entomology*. Chichester, U.K.: John Wiley & Sons, Ltd. ISBN: 9781444317671. 589 s. : 164-168 s.

- Hagvall, L., Backtorp, C., Svensson, S., Nyman, G., Borje, A. & Karlberg, A. T. (2007). Fragrance compound geraniol forms contact allergens on air exposure. Identification and quantification of oxidation products and effect on skin sensitization. *Chemical Research in Toxicology*, 20 (5): 807-814.
- Hart, H. & Craine, L. E. (1991). *Organic chemistry: a short course*. Boston, MA, USA.: Houghton Mifflin Co. ISBN: 0395433363. XX, 519 s. : 227-228 s.
- Hart, H., Hart, D. J. & Craine, L. E. (2003). *Organic chemistry: a short course*. Boston, MA, USA.: Houghton Mifflin Co. ISBN: 0618215360. XXIV, 566 s. : 101-104 s.
- Henrick, C. A. (2007). Methoprene. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 23 (2): 225-239.
- Hermans, I., Peeters, J. & Jacobs, P. A. (2008). Autoxidation of hydrocarbons: from chemistry to catalysis. *Topics in Catalysis*, 50 (1-4): 124-132.
- Jindra, M., Palli, S. R. & Riddiford, L. M. (2013). The juvenile hormone signaling pathway in insect development. *Annual Review of Entomology*, 58: 181-204.
- Jones, E. G. & Pickard, J. M. (1998). Liquid-phase oxidation kinetics of aviation fuels. *Preprints of Symposia - American Chemical Society, Division of Fuel Chemistry*, 43 (1): 53-59.
- Kobayashi, S., Ando, A., Kuroda, H., Ejima, S., Masuyama, A. & Ryu, I. (2011). Rapid access to 6-bromo-5,7-dihydroxyphthalide 5-methyl ether by a CuBr₂-mediated multi-step reaction: concise total syntheses of hericenone J and 5'-deoxyhericenone C (hericene A). *Tetrahedron*, 67 (47): 9087-9092.
- Kramer, K. J. & McGregor, H. E. (1978). Activity of pyridyl and phenyl ether analogs of juvenile hormone against Coleoptera and Lepidoptera in stored grain. *Journal of Economic Entomology*, 71 (1): 132-134.
- Kramer, K. J., McGregor, H. E. & Mori, K. (1979). Susceptibility of stored-product insects to pyridyl ether analogs of juvenile-hormone. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 27 (6): 1215-1217.
- McNaught, A. D. & Wilkinson, A. (1997a). *IUPAC. Compendium of chemical terminology*. 2nd ed (the "Gold Book") utg. Oxford, U.K.: Blackwell Scientific Publications. Tilgjengelig fra: <http://goldbook.iupac.org/O04362.html> (lest 21.03.2014).
- McNaught, A. D. & Wilkinson, A. (1997b). *IUPAC. Compendium of chemical terminology*. 2nd ed (the "Gold Book") utg. Oxford, U.K.: Blackwell Scientific Publications. Tilgjengelig fra: <http://goldbook.iupac.org/P04640.html> (lest 21.03.2014).
- McNaught, A. D. & Wilkinson, A. (1997c). *IUPAC. Compendium of chemical terminology*. 2nd ed (the "Gold Book") utg. Oxford, U.K.: Blackwell Scientific Publications. Tilgjengelig fra: <http://goldbook.iupac.org/P04641.html> (lest 21.03.2014).
- McNaught, A. D. & Wilkinson, A. (1997d). *IUPAC. Compendium of chemical terminology*. 2nd ed (the "Gold Book") utg. Oxford, U.K.: Blackwell Scientific Publications. Tilgjengelig fra: <http://goldbook.iupac.org/T06414.html> (lest 21.03.2014).
- Meyer, J. R. (2006). *The endocrine system: hormonal control of molting and metamorphosis*. General Entomology. Raleigh, NC, USA: North Carolina State University. Tilgjengelig fra: <http://www.cals.ncsu.edu/course/ent425/tutorial/endocrine2.html> (lest 21.11.13).
- Mkhize, J. M. & Gupta, A. P. (1983). Effects of 5 insect growth-regulators on progeny production, productivity index, development, and adult emergence of the rice weevil, *Sitophilus-Oryzae* (l) (Coleoptera, Curculionidae). *Applied Entomology and Zoology*, 18 (2): 281-283.
- Moiseeva, N. I., Gekhman, A. E., Minin, V. V., Larin, G. M., Bashtanov, M. E., Krasnovskii, A. A. & Moiseev, I. (2000). Free radical/singlet dioxygen system under the conditions of catalytic hydrogen peroxide decomposition. *Kinetics and Catalysis*, 41 (2): 170-182.
- Name-Reaction.com. (2014). *Apple Reaction*. Tilgjengelig fra: <http://www.name-reaction.com/apple-reaction> (lest 28.01.2014).
- Neuenschwander, U. (2011). *Aerobic oxidation of olefins, in particular terpenes*. Zurich, Switzerland: Swiss Federal Institute of Technology in Zurich (ETHZ), Institute of Chemical and Bioengineering (ICB). 157 s.

- Neuenschwander, U. & Hermans, I. (2012). Thermal and catalytic formation of radicals during autoxidation. *Journal of Catalysis*, 287: 1-4.
- Novak, J., Vlasakova, V., Tykva, R. & Ruml, T. (2003). Degradation of juvenile hormone analog by soil microbial isolates. *Chemosphere*, 52 (1): 151-159.
- Olsen, E. (2011). *Kvalitetshåndbok for laboratoriet: prosedyre for bruk av Atlas Suntest CPS+ lysboks*. Upublisert manuskript.
- Partenheimer, W. (1995). Methodology and scope of metal/bromide autoxidation of hydrocarbons. *Catalysis Today*, 23 (2): 69-157.
- Roberts, J. D. & Caserio, M. C. (1977a). *Basic principles of organic chemistry*. Menlo Park, CA, USA.: W. A. Benjamin. ISBN: 0805383212. XIX, 1596 s. : 431-437, 662 s.
- Roberts, J. D. & Caserio, M. C. (1977b). *Basic principles of organic chemistry*. Menlo Park, CA, USA.: W. A. Benjamin. ISBN: 0805383212. XIX, 1596 s. : 1391-1393 s.
- Roberts, J. D. & Caserio, M. C. (1977c). *Basic principles of organic chemistry*. Menlo Park, CA, USA.: W. A. Benjamin. ISBN: 0805383212. XIX, 1596 s. : 1371-1375 s.
- Rohr, A. C. (2013). The health significance of gas- and particle-phase terpene oxidation products: a review. *Environment International*, 60: 145-162.
- Rudback, J., Islam, N., Nilsson, U. & Karlberg, A. T. (2013). A sensitive method for determination of allergenic fragrance terpene hydroperoxides using liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Journal of Separation Science*, 36 (8): 1370-1378.
- Skattebøl, L., Stenstrøm, Y. & Syvertsen, C. (2004). Insect juvenile hormone analogues and their biological activity on sea lice (*Lepeophtheirus salmonis*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (23): 6944-6949.
- Skattebøl, L., Nilsen, N. O., Stenstrøm, Y., Andreassen, P. & Willemsen, P. (2006). The antifouling activity of some juvenoids on three species of acorn barnacle, *Balanus*. *Pest Management Science*, 62 (7): 610-616.
- Sletbakk, M. (2007). *Bios biologi 1: studiespesialiserende utdanningsprogram Vg2*. Oslo, Norway: Cappelen. ISBN: 9788202370893. 400 s. : 76-79 s.
- Solli, H., Madsen, H. B., Holst, P. L. & Klemmensen, D. (1976). Pyridyl terpenoid ethers with high juvenile hormone activity. *Pesticide Science*, 7 (5): 503-511.
- Solomon, K. R. & Evans, A. A. (1978). Activity of juvenile hormone mimics in egg-laying ticks. *Journal of Medical Entomology*, 14 (4): 433-436.
- Stock, S., Esser, G., Klockow, D., Bolt, H. M. & Degen, G. H. (1998). Mutagenic properties of 1,2,3,4-tetrahydronaphthalene-1-hydroperoxide, a model compound for organic peroxides in Diesel exhaust. *Archives of Toxicology*, 72 (6): 342-346.
- Taber, D. F. & Raciti, D. M. (2011). Synthesis of (-)-astrogorgadiol. *Tetrahedron*, 67 (52): 10229-10233.
- U. S. Environmental Protection Agency. (1989). *Risk assessment guidance for superfund volume I human health evaluation manual (part A)* Washington, DC, USA. Tilgjengelig fra: http://www.epa.gov/oswer/riskassessment/ragsa/pdf/rags_a.pdf (lest 14.04.2014).
- U. S. Environmental Protection Agency. (2009). *Screening-level hazard characterization: terpenoid primary alcohols and related esters category*. Washington, DC, USA. Tilgjengelig fra: http://www.epa.gov/hpvis/hazchar/Category_Terpenoid%20Primary%20Alcohols%20And%20Related%20Esters_Sept2009.pdf (lest 25.11.2013).
- Williams, D. H. & Fleming, I. (2008). *Spectroscopic methods in organic chemistry*. London, U. K.: McGraw-Hill. ISBN: 9780077118129. X, 291 s. : 2 s.
- Wimmer, Z., Rejzek, M., Zarevucka, M., Kuldova, J., Hrdy, I., Nemeč, V. & Romanuk, M. (1997). A series of bicyclic insect juvenile hormone analogs of Czech origin: twenty years of development. *Journal of Chemical Ecology*, 23 (3): 605-628.
- World Health Organization. (2000). *Pesticide residues in food - 1999: toxicological evaluations*. Geneva, Switzerland. Tilgjengelig fra: http://books.google.no/books?id=pbbzLqq4sCgC&dq=pyriproxyfen+pypac&hl=no&source=gs_navlinks_s (lest 09.04.2014).

- World Health Organization. (2008a). *Pyriproxyfen in drinking-water: use for vector control in drinking-water sources and containers*. Geneva, Switzerland. Tilgjengelig fra: http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/pyriproxyfen_2add_feb%202008.pdf (lest 27.11.13).
- World Health Organization. (2008b). *Methoprene in drinking-water: use for vector control in drinking-water sources and containers*. Geneva, Switzerland. Tilgjengelig fra: http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/methoprene_2add_feb2008.pdf (lest 28.11.13).
- Wyatt, G. R. (1997). Juvenile hormone in insect reproduction - a paradox? *European Journal of Entomology*, 94 (3): 323-333.

Vedlegg 1. Beregninger

Beregning av forhold mellom synteseprodukter

Arealene ble hentet fra integrering av topper i massespektra. Beregning av forhold mellom synteseprodukter ble utført ved hjelp av denne ligningen:

$$\text{Forhold} = \frac{\text{Areal biprodukt}}{\text{Areal hovedprodukt}}$$

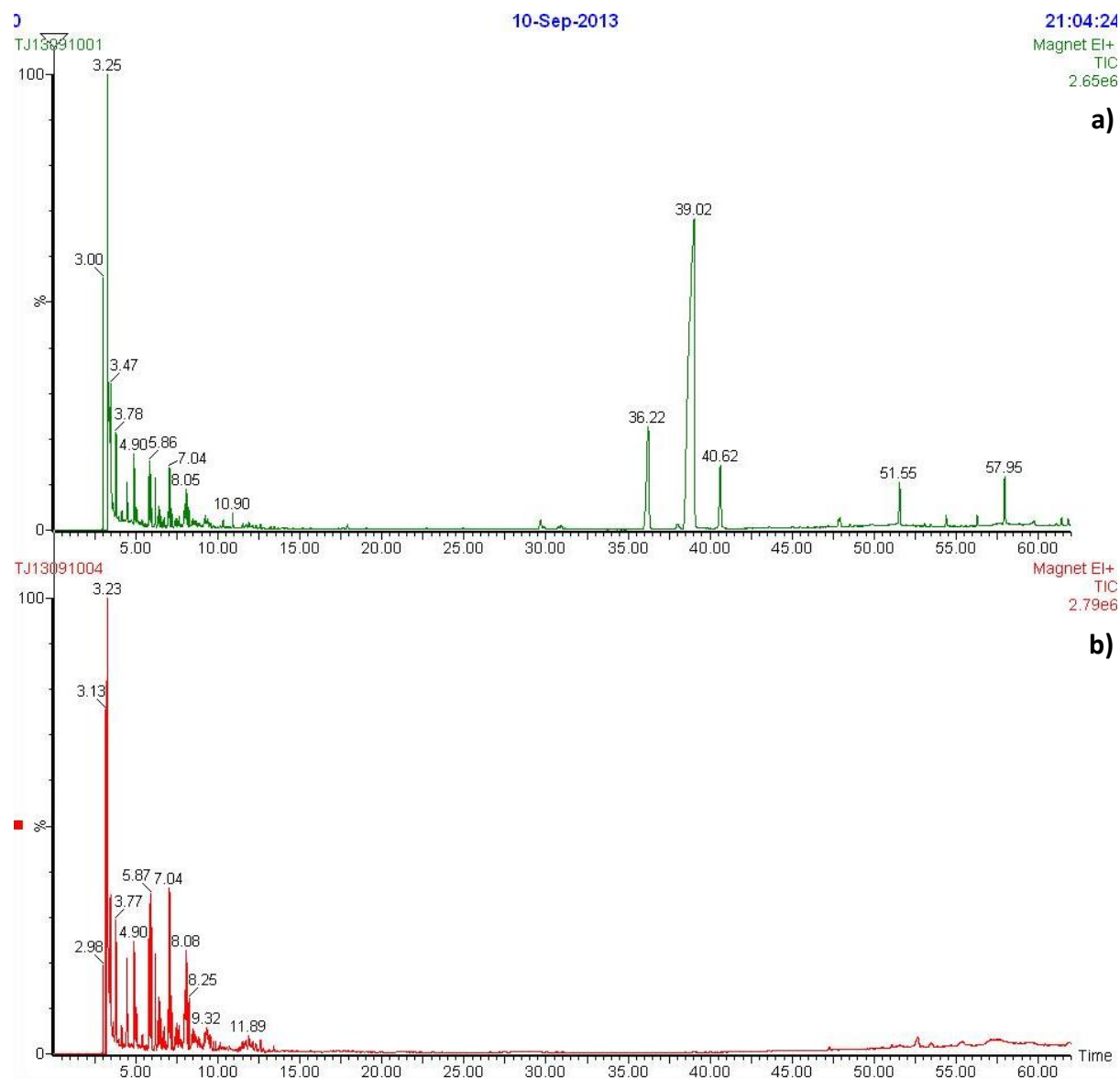
Beregning av prosentvis omsetning av startmateriale til nedbrytningsprodukter

Arealene ble hentet fra integrering av topper i massespektra. Beregning av prosentvis nedbrytning ble utført ved hjelp av denne ligningen:

$$\text{Prosentvis nedbrytning} = \frac{\text{Areal nedbrytningsprodukt}}{\text{Areal total}} \cdot 100 \%$$

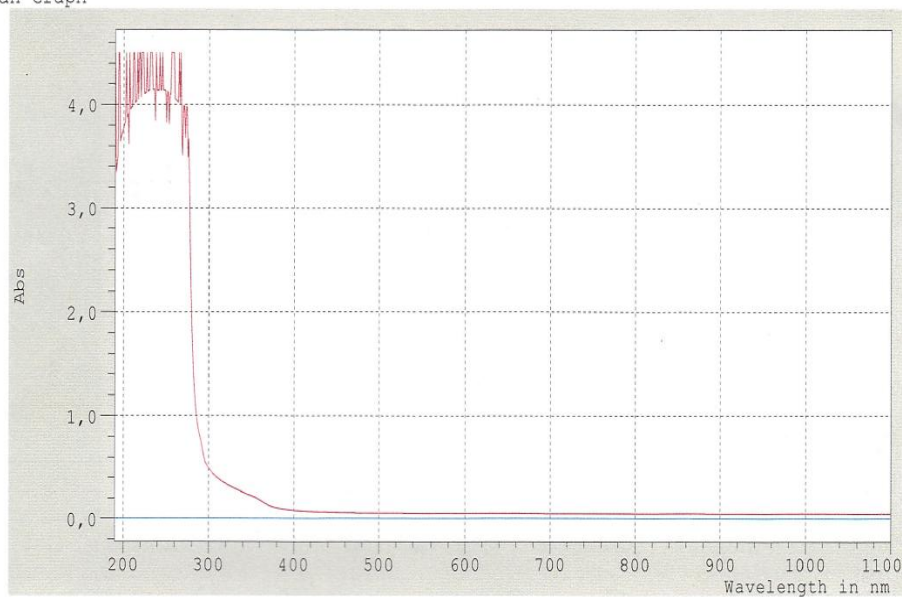
Hvor areal total er areal lagt sammen for alle de signifikante toppene utpekt i gaskromatogrammene til juvenilhormonanalogen.

Vedlegg 2. Diverse spektra og kromatogrammer

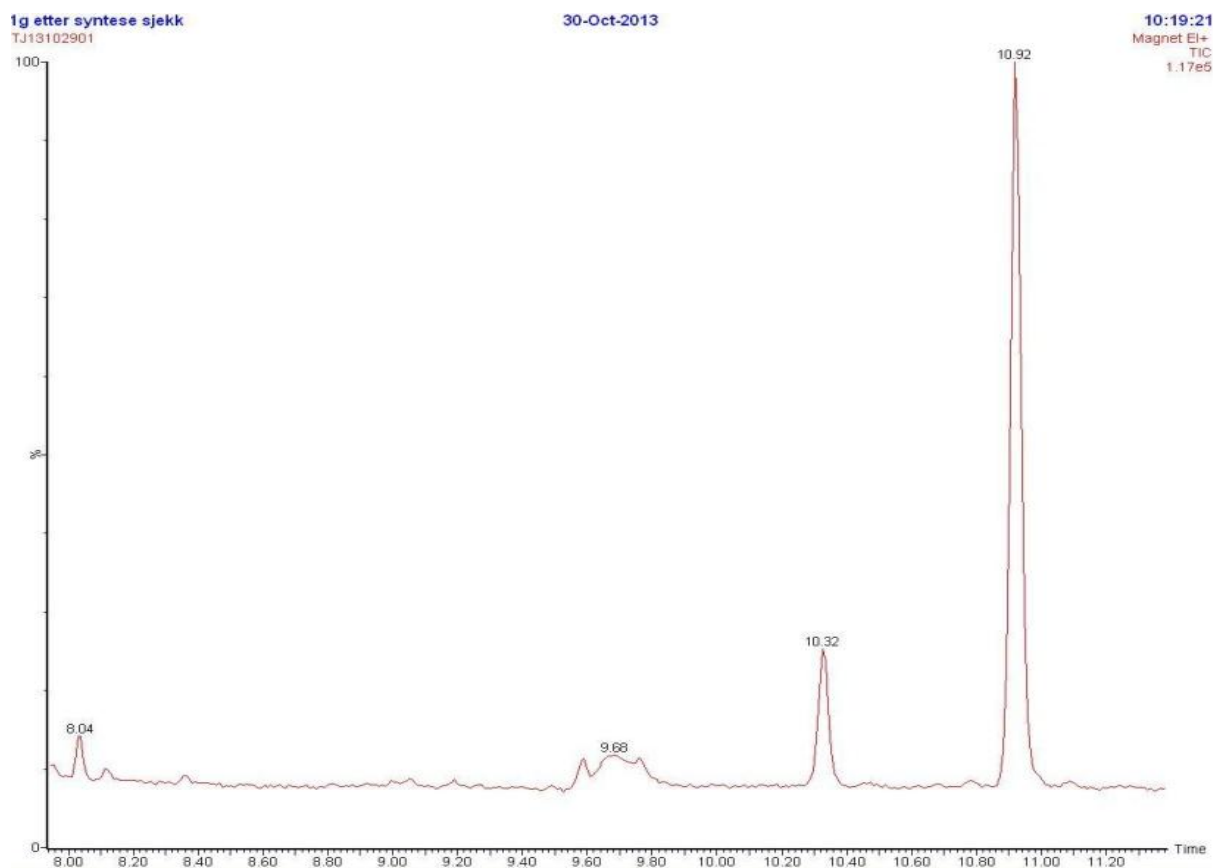


Figur 1: Gasskromatogrammer hvor a) er juvenilhormonanalogue 3 etter nedbrytning med Atlas Suntest CPS+ (forsøk 1) og b) er nullprøve etter nedbrytning med Atlas Suntest CPS+ (forsøk 1).

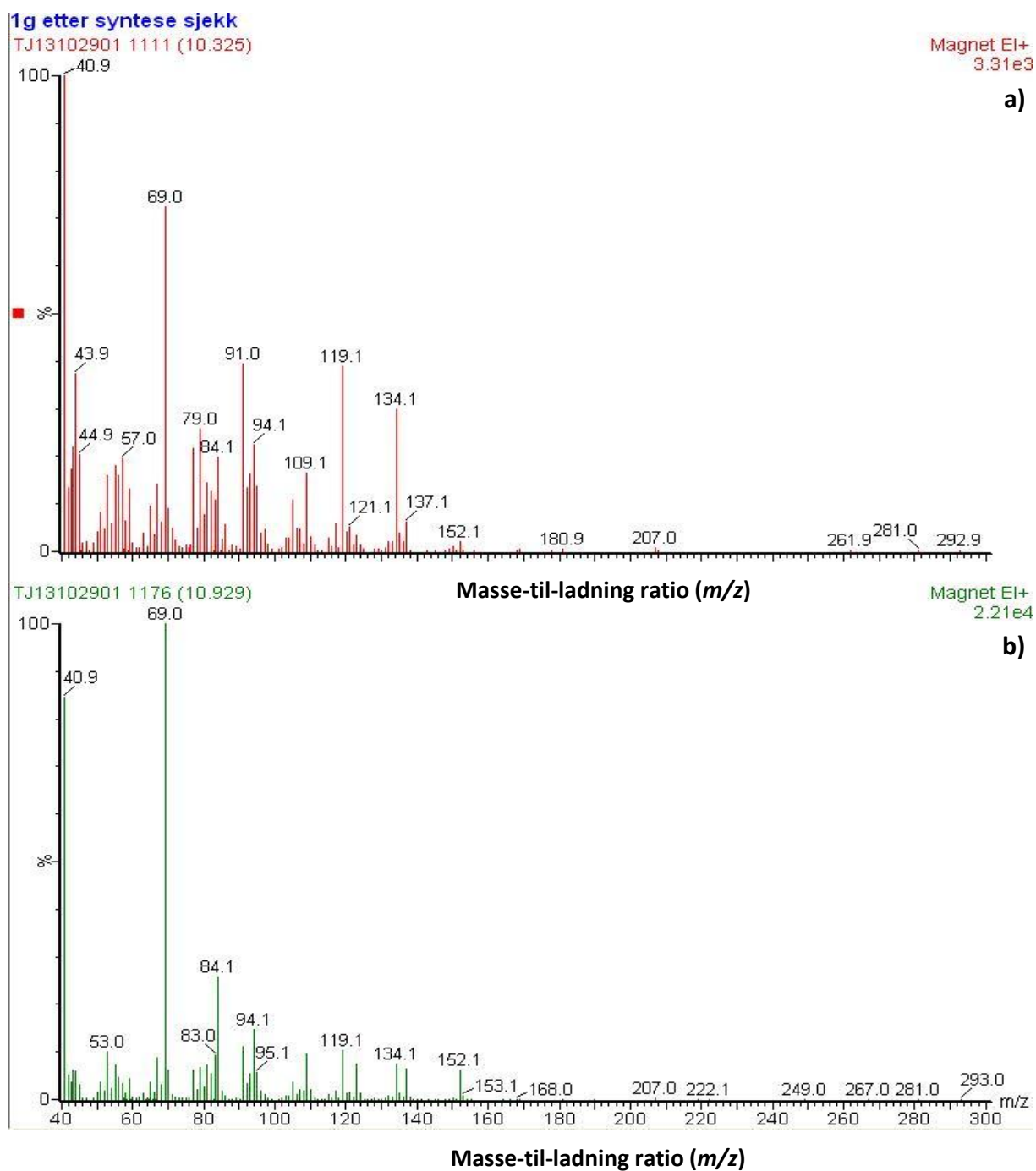
Scan Graph



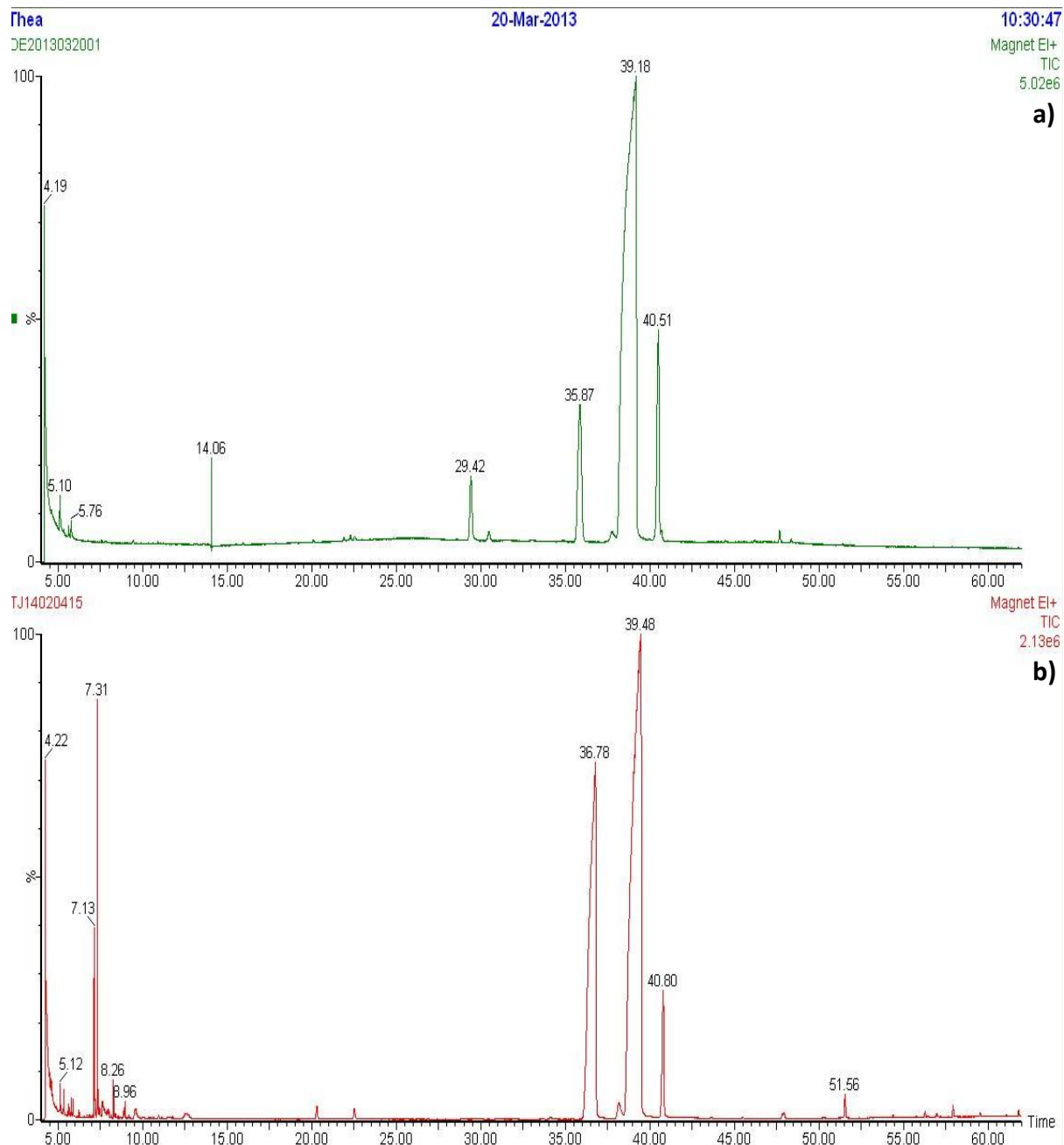
Figur 2: UV/Vis-spekter til et petriskålløkk (rød linje) brukt i forsøkene med luft som nullprøve (blå linje).



Figur 3: Gasskromatogram av juvenilhormonanalogue 3-prøve etter lagring i kjøleskap (6 måneder) med de nye toppene med retensjonstid på 10,32 minutter og 10,92 minutter.



Figur 4: Massespektra tilhørende toppene i figur 3 hvor a) tilhører topp med retensjonstid på 10,32 minutter og b) tilhører topp med retensjonstid på 10,92 minutter.



Figur 5: Gasskromatogrammer hvor a) er vår prøve av juvenilhormonanalogs 3 etter syntese og b) er Yngve Stenstrøms prøve av juvenilhormonanalogs 3.

3c etter kolonne, alle prøver

30-Oct-2013

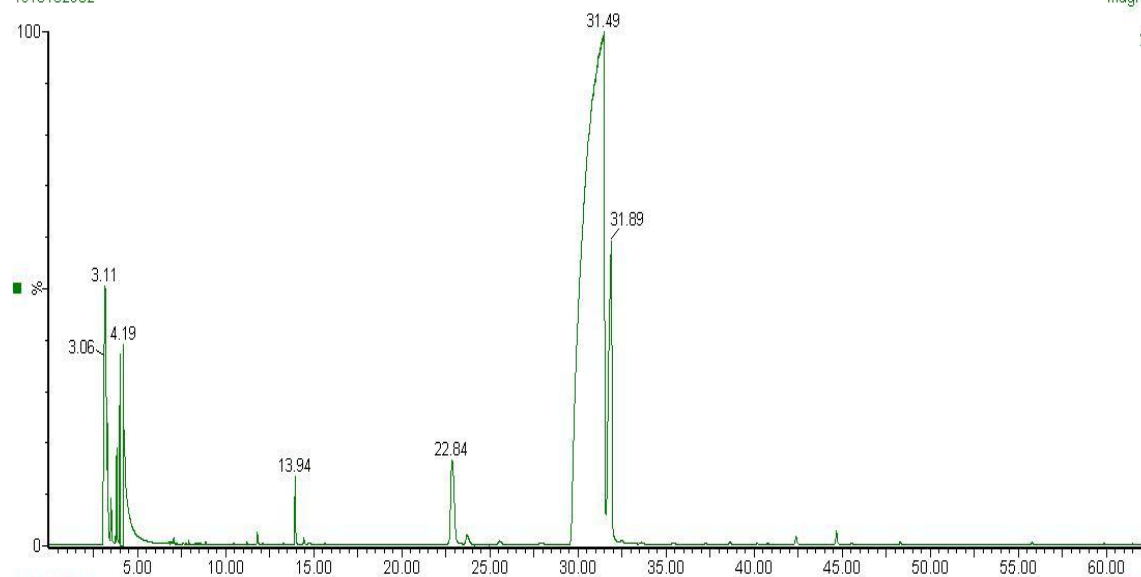
15:20:45

TJ13102902

Magnet EI+

TIC

2.91e6



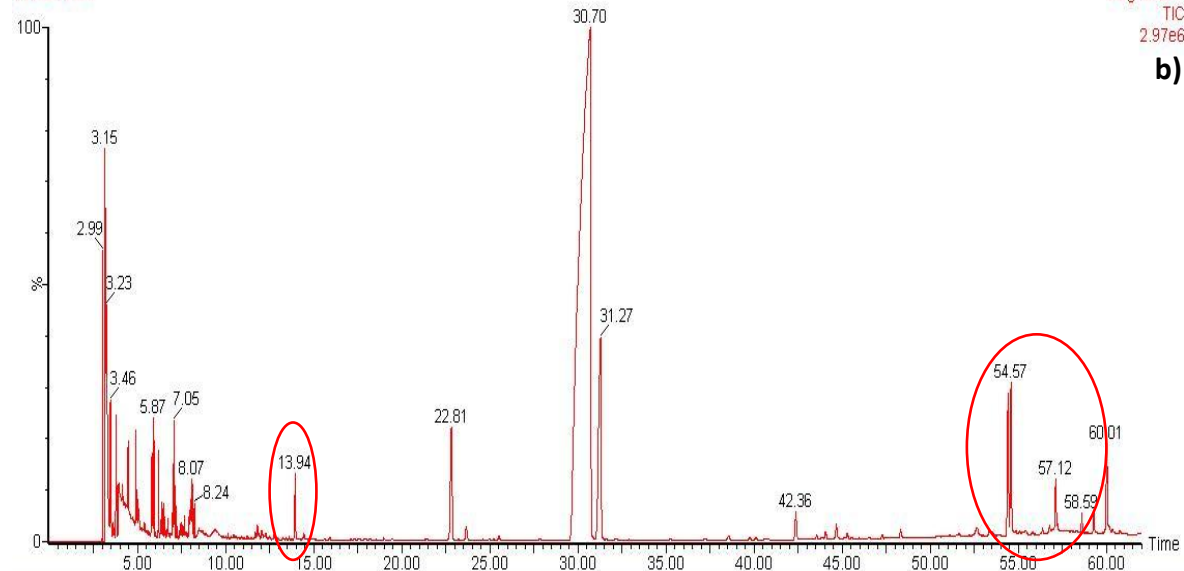
a)

TJ13091003

Magnet EI+

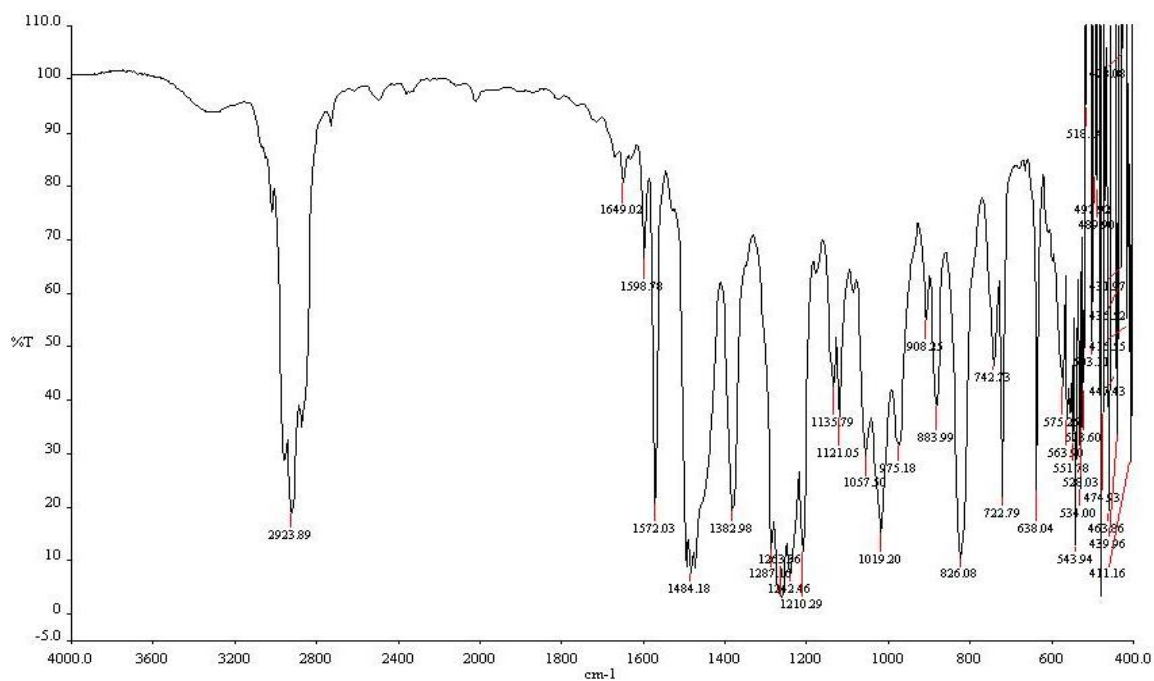
TIC

2.97e6

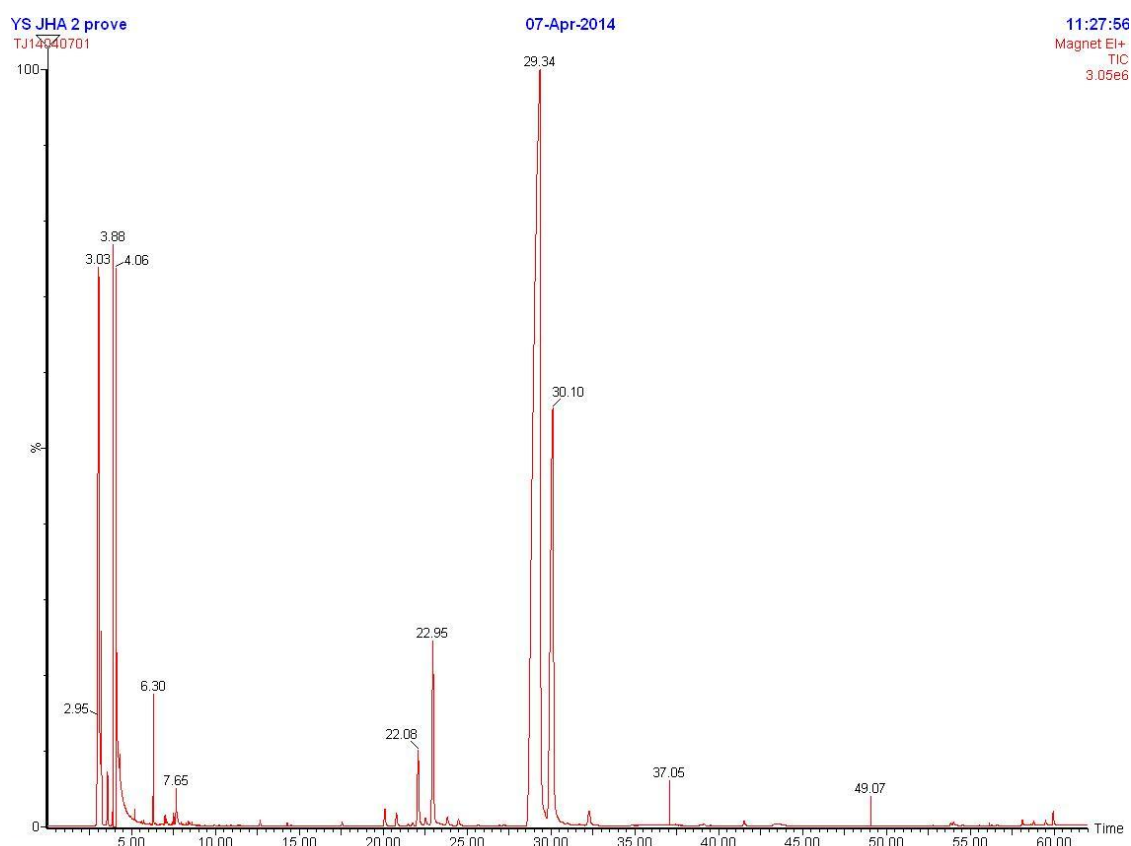


b)

Figur 6: Gasskromatogrammer av juvenilhormonanalogue 2 hvor a) er etter søylekromatografi og b) er etter nedbrytning med Atlas Suntest CPS+ (forsøk 1) (ring rundt nedbrytningsproduktene).



Figur 7: IR-spekter av Yngve Stenstrøms prøve av juvenilhormonanalogue 2.



Figur 8: Gasskromatogram av Yngve Stenstrøms prøve av juvenilhormonanalogue 2.

Vedlegg 3. Data fra nedbrytningsforsøkene

Forhold mellom synteseprodukter

Tabell 1 og 2 viser forholdene mellom synteseproduktene for JHA 2 med hovedprodukt SP2-2 og JHA 3 med hovedprodukt SP3-3. Forholdene ble beregnet ved ligningen oppgitt i vedlegg 1.

Tabell 1: Viser forhold mellom synteseproduktene for juvenilhormonanalogue 2.

Navn	Retensjonstid [min]	Areal	Forhold til SP2-2
SP2-1	22,70	25305	0,017
SP2-2	30,45	1528288	-
SP2-3	31,00	88561	0,058

Tabell 2: Viser forhold mellom synteseproduktene for juvenilhormonanalogue 3.

Navn	Retensjonstid [min]	Areal	Forhold til SP3-3
SP3-1	29,42	98232	0,027
SP3-2	35,87	361461	0,100
SP3-3	39,18	3594552	-
SP3-4	40,51	311794	0,087

Nedbrytningsforsøk med Atlas Suntest CPS+

Oppsummering av data fra forsøk 1-8 med Atlas Suntest CPS+.

Tabeller 3-11 er data fra integrasjon av massespektra fra forsøk 1-8 for JHA 1. De ble brukt til å lage figur 4.3.1.

Tabell 3: Data for juvenilhormonanalogue 1, forsøk 1 med Atlas Suntest CPS+.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Retensjonstid etanolfase [min]	Areal etanolfase
SP1-1	23,71	2168290	22,90	57971
NP1-1	18,30	2200	18,08	16
NP1-2	24,47	13011	24,35	146
NP1-3	28,13	5063	28,16	51
NP1-4	30,09	8841	30,15	73
NP1-5	30,98	6224	30,93	219
NP1-6	37,72	84706	37,75	84706
Sum	-	2288335	-	143182

Tabell 4: Data for juvenilhormonanalogue 1, forsøk 1 med Atlas Suntest CPS+.

Navn	Totalt areal (heksanfase + etanolfase)	Prosent nedbrytning [%]
SP1-1	2226261	-
NP1-1	2216	0,091136521
NP1-2	13157	0,54110253
NP1-3	5114	0,210321376
NP1-4	8914	0,366602413
NP1-5	6443	0,264978612
NP1-6	169412	6,967337674
Sum	2431517	8,441479126

Tabell 5: Data for juvenilhormonanalogue 1, forsøk 2 med Atlas Suntest CPS+.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Retensjonstid etanolfase [min]	Areal etanolfase
SP1-1	23,24	756546	22,82	12909
NP1-1	18,36	7570	18,29	473
NP1-2	24,36	8014	24,22	652
NP1-3	28,18	14948	28,04	2232
NP1-4	30,17	14674	30,01	856
NP1-5	31,06	1915	Ikke tilstede	0
NP1-6	37,75	38720	37,54	1773
Sum	-	842387	-	18895

Tabell 6: Data for juvenilhormonanalogue 1, forsøk 2 med Atlas Suntest CPS+.

Navn	Totalt areal (heksanfase + etanolfase)	Prosent nedbrytning [%]
SP1-1	769455	-
NP1-1	8043	0,933840484
NP1-2	8666	1,006174517
NP1-3	17180	1,994700923
NP1-4	15530	1,803126038
NP1-5	1915	0,222342972
NP1-6	40493	4,701479887
Sum	861282	10,66166482

Tabell 7: Data for juvenilhormonanalogue 1, forsøk 4 med Atlas Suntest CPS+.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Prosent nedbrytning [%]
SP1-1	23,86	2971039	-
NP1-1	Ikke tilstede	0	0
NP1-2	24,50	11004	0,357003815
NP1-3	28,07	6423	0,208381998
NP1-4	30,17	9970	0,323457655
NP1-5	30,90	17010	0,551857043
NP1-6	37,61	66874	2,169599522
Sum	-	3082320	3,610300034

Tabell 8: Data for juvenilhormonanalogue 1, forsøk 5 med Atlas Suntest CPS+.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Prosent nedbrytning [%]
SP1-1	23,56	895034	-
NP1-1	Ikke tilstede	0	0
NP1-2	24,41	7372	0,782224033
NP1-3	28,15	3052	0,323839901
NP1-4	30,11	6052	0,642162215
NP1-5	31,00	3696	0,392173091
NP1-6	37,72	27235	2,889836075
Sum	-	942441	5,030235314

Tabell 9: Data for juvenilhormonanalogue 1, forsøk 6 med Atlas Suntest CPS+.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Prosent nedbrytning [%]
SP1-1	23,60	1424623	-
NP1-1	18,37	1349	0,091266432
NP1-2	24,50	4006	0,271025445
NP1-3	28,20	4087	0,27650549
NP1-4	30,17	5362	0,362765461
NP1-5	31,08	4668	0,315812975
NP1-6	37,76	33995	2,299927609
Sum	-	1478090	3,617303412

Tabell 10: Data for juvenilhormonanalogue 1, forsøk 7 med Atlas Suntest CPS+.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Prosent nedbrytning [%]
SP1-1	25,35	6573779	-
NP1-1	Ikke tilstede	0	0
NP1-2	25,58	15644	0,234942166
NP1-3	28,64	4139	0,062159654
NP1-4	30,49	8841	0,132774462
NP1-5	31,33	15907	0,238891909
NP1-6	38,04	40350	0,605977779
Sum	-	6658660	1,27474597

Tabell 11: Data for juvenilhormonanalogue 1, forsøk 8 med Atlas Suntest CPS+.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Prosent nedbrytning [%]
SP1-1	23,42	1428362	-
NP1-1	Ikke tilstede	0	0
NP1-2	23,74	5855	0,406163699
NP1-3	Ikke tilstede	0	0
NP1-4	Ikke tilstede	0	0
NP1-5	30,81	6277	0,435438008
NP1-6	37,47	1043	0,072353328
Sum	-	1441537	0,913955035

Tabeller 12-21 er data fra integrasjon av massespektra fra forsøk 1-8 for JHA 2. De ble brukt til å lage figur 4.3.2.

Tabell 12: Data for juvenilhormonanalogue 2, forsøk 1 med Atlas Suntest CPS+.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Retensjonstid etanolfase [min]	Areal etanolfase
SP2-1	22,81	75541	22,85	2233
SP2-2	30,70	1965448	30,02	215302
SP2-3	31,27	194660	30,95	12807
NP2-1	13,94	22076	14,00	1986
NP2-2	52,63	10245	52,76	331
NP2-3	54,40	56853	54,47	46762
NP2-4	54,57	58957	54,64	51781
NP2-5	57,12	34262	57,29	14902
NP2-6	58,59	7865	58,67	5360
NP2-7	59,27	8246	59,35	12483
Sum	-	2434153	-	363947

Tabell 13: Data for juvenilhormonanalogue 2, forsøk 1 med Atlas Suntest CPS+.

Navn	Totalt areal (heksanfase + etanolfase)	Prosent nedbrytning [%]	Forhold synteseprodukter
SP2-1	77774		0,035663877
SP2-2	2180750	-	-
SP2-3	207467		0,095135618
NP2-1	24062	0,859940674	
NP2-2	10576	0,377970766	
NP2-3	103615	3,703048497	
NP2-4	110738	3,957614095	-
NP2-5	49164	1,757049426	
NP2-6	13225	0,47264215	
NP2-7	20729	0,740824131	
Sum	2798100	11,86908974	

Tabell 14: Data for juvenilhormonanalogue 2, forsøk 2 med Atlas Suntest CPS+.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Retensjonstid etanolfase [min]	Areal etanolfase
SP2-1	22,85	29741	22,72	928
SP2-2	30,44	105807	29,75	125235
SP2-3	31,12	81987	30,73	5214
NP2-1	13,99	11083	13,92	1170
NP2-2	52,80	3295	52,66	111
NP2-3	54,44	15187	54,35	8777
NP2-4	54,61	16616	54,51	10868
NP2-5	57,16	4240	57,19	6622
NP2-6	58,65	3149	58,57	2554
NP2-7	59,34	3701	59,24	6083
Sum	-	274806	-	167562

Tabell 15: Data for juvenilhormonanalogue 2, forsøk 2 med Atlas Suntest CPS+.

Navn	Totalt areal (heksanfase + etanolfase)	Prosent nedbrytning [%]	Forhold synteseprodukter
SP2-1	30669		0,132742099
SP2-2	231042	-	-
SP2-3	87201		0,377424884
NP2-1	12253	2,769865813	
NP2-2	3406	0,769947193	
NP2-3	23964	5,417209201	
NP2-4	27484	6,212926794	-
NP2-5	10862	2,45542173	
NP2-6	5703	1,289198134	
NP2-7	9784	2,211733218	
Sum	442368	21,12630208	

Tabell 16: Data for juvenilhormonanalogue 2, forsøk 3 med Atlas Suntest CPS+.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Prosent nedbrytning [%]	Forhold synteseprodukter
SP2-1	22,71	58129		0,028417477
SP2-2	30,56	2045537	-	-
SP2-3	31,12	180378		0,088181245
NP2-1	13,88	17348	0,676245644	
NP2-2	52,51	5326	0,207613806	
NP2-3	54,36	98561	3,842024839	
NP2-4	54,53	102497	3,995454794	-
NP2-5	57,15	17388	0,677804891	
NP2-6	58,53	7213	0,281171307	
NP2-7	59,22	32963	1,284936889	
Sum	-	2565340	10,96525217	

Tabell 17: Data for juvenilhormonanalogue 2, forsøk 4 med Atlas Suntest CPS+.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Prosent nedbrytning [%]	Forhold synteseprodukter
SP2-1	22,75	86679		0,027338341
SP2-2	30,99	3170602	-	-
SP2-3	31,45	232170		0,073225842
NP2-1	13,88	17848	0,472134214	
NP2-2	52,54	33721	0,892023635	
NP2-3	54,36	88590	2,343476583	
NP2-4	54,63	92485	2,446511251	-
NP2-5	57,15	20231	0,535171856	
NP2-6	58,53	5764	0,152475438	
NP2-7	59,22	32191	0,851550454	
Sum	-	3780281	7,693343431	

Tabell 18: Data for juvenilhormonanalogue 2, forsøk 5 med Atlas Suntest CPS+.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Prosent nedbrytning [%]	Forhold synteseprodukter
SP2-1	22,81	7839		0,02112067
SP2-2	30,25	371153	-	-
SP2-3	30,98	34964		0,094203738
NP2-1	13,94	7839	1,417128106	
NP2-2	52,66	7175	1,29709072	
NP2-3	54,41	53788	9,723751313	
NP2-4	54,59	55647	10,05981984	-
NP2-5	57,09	3528	0,637788998	
NP2-6	58,58	2133	0,385602022	
NP2-7	59,25	9095	1,644186774	
Sum	-	553161	25,16536777	

Tabell 19: Data for juvenilhormonanalogue 2, forsøk 6 med Atlas Suntest CPS+.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Prosent nedbrytning [%]	Forhold synteseprodukter
SP2-1	22,84	24190		0,034917542
SP2-2	30,34	692775	-	-
SP2-3	31,08	76703		0,110718487
NP2-1	13,98	9054	0,964121764	
NP2-2	52,72	13298	1,416047186	
NP2-3	54,41	38822	4,133988859	
NP2-4	54,58	45972	4,895361801	-
NP2-5	57,11	13833	1,473017049	
NP2-6	58,59	4932	0,525187601	
NP2-7	59,28	19514	2,07796246	
Sum	-	939093	15,48568672	

Tabell 20: Data for juvenilhormonanalogue 2, forsøk 7 med Atlas Suntest CPS+.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Prosent nedbrytning [%]	Forhold synteseprodukter
SP2-1	22,90	307704		0,035263487
SP2-2	33,08	8725853	-	-
SP2-3	33,33	472994		0,054206047
NP2-1	13,97	21834	0,22432824	
NP2-2	52,75	50979	0,523771612	
NP2-3	54,43	52136	0,535658933	
NP2-4	54,61	53182	0,546405811	-
NP2-5	57,23	16299	0,167460199	
NP2-6	58,59	2541	0,0261069	
NP2-7	59,29	29537	0,303470882	
Sum	-	9733059	2,327202578	

Tabell 21: Data for juvenilhormonanalogue 2, forsøk 8 med Atlas Suntest CPS+.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Prosent nedbrytning	Forhold synteseprodukter
SP2-1	22,67	18897		0,019607782
SP2-2	30,20	963750	-	-
SP2-3	30,84	60141		0,062403113
NP2-1	Ikke tilstede	0	0	
NP2-2	52,36	14896	1,385461766	
NP2-3	54,24	1475	0,137188246	
NP2-4	54,40	5858	0,544846605	-
NP2-5	56,97	739	0,068733636	
NP2-6	58,46	1466	0,136351165	
NP2-7	59,14	7943	0,738770328	
Sum	-	1075165	3,011351746	

Tabeller 22-31 er data fra integrasjon av massespektra fra forsøk 1-8 for JHA 3. De ble brukt til å lage figur 4.3.3.

Tabell 22: Data for juvenilhormonanalogue 3, forsøk 1 med Atlas Suntest CPS+.

Navn produkt	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Retensjonstid etanolfase [min]	Areal etanolfase
SP3-1	29,66	7026	29,8	561
SP3-2	36,22	109526	36,29	11949
SP3-3	39,02	711100	38,81	149720
SP3-4	40,62	44701	40,68	5933
NP3-1	51,55	23899	51,61	4295
NP3-2	53,07	1211	53,16	289
NP3-3	53,45	1224	53,51	944
NP3-4	54,38	4337	54,47	4409
NP3-5	56,28	3999	56,35	5907
NP3-6	57,95	18362	58,04	41907
Sum	-	925385	-	225914

Tabell 23: Data for juvenilhormonanalogue 3, forsøk 1 med Atlas Suntest CPS+.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Retensjonstid etanolfase [min]	Areal etanolfase
SP3-1	29,78	5333	27,68	1350
SP3-2	36,29	37638	36,05	2799
SP3-3	39,05	563208	38,55	90629
SP3-4	40,69	26248	40,51	2426
NP3-1	51,61	13308	51,52	2016
NP3-2	53,14	589	53,05	156
NP3-3	53,52	468	53,42	261
NP3-4	54,45	1832	54,37	979
NP3-5	56,34	1165	56,27	941
NP3-6	58,01	8715	57,93	7046
Sum	-	658504	-	108603

Tabell 24: Data for juvenilhormonanalogue 3, forsøk 2 med Atlas Suntest CPS+.

Navn	Totalt areal (heksanfase + etanolfase)	Prosent nedbrytning [%]	Forhold synteseprodukter
SP3-1	7587		0,008813689
SP3-2	121475		0,141115448
SP3-3	860820	-	-
SP3-4	50634		0,058820659
NP3-1	28194	2,448885997	
NP3-2	1500	0,130287614	
NP3-3	2168	0,188309032	
NP3-4	8746	0,759663649	-
NP3-5	9906	0,860419405	
NP3-6	60269	5,234869482	
Sum	1151299	9,62243518	

Tabell 25: Data for juvenilhormonanalogue 3, forsøk 2 med Atlas Suntest CPS+.

Navn	Totalt areal (heksanfase + etanolfase)	Prosent nedbrytning [%]	Forhold synteseprodukter
SP3-1	6683		0,010221202
SP3-2	40437		0,061845689
SP3-3	653837	-	-
SP3-4	28674		0,043854967
NP3-1	15324	1,997635271	
NP3-2	745	0,097118133	
NP3-3	729	0,095032375	
NP3-4	2811	0,366441709	-
NP3-5	2106	0,274537972	
NP3-6	15761	2,054602552	
Sum	767107	4,885368013	

Tabell 26: Data for juvenilhormonanalogue 3, forsøk 3 med Atlas Suntest CPS+.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Prosent nedbrytning [%]	Forhold synteseprodukter
SP3-1	29,57	15137		0,011816743
SP3-2	36,08	101870		0,079522113
SP3-3	39,18	1280979	-	-
SP3-4	40,61	76009		0,059336648
NP3-1	51,50	26571	1,69369119	
NP3-2	53,03	957	0,061001184	
NP3-3	53,40	2510	0,159992657	
NP3-4	54,34	7995	0,509618045	-
NP3-5	56,23	5387	0,343378662	
NP3-6	57,92	51407	3,276789846	
Sum	-	1568822	6,044471584	

Tabell 27: Data for juvenilhormonanalogue 3, forsøk 4 med Atlas Suntest CPS+.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Prosent nedbrytning [%]	Forhold synteseprodukter
SP3-1	29,56	9559		0,018882721
SP3-2	36,00	33195	-	0,065572961
SP3-3	38,81	506230		-
SP3-4	40,50	30501		0,060251269
NP3-1	51,49	18957	2,689229888	
NP3-2	53,03	1267	0,179735943	
NP3-3	53,39	2463	0,349399864	
NP3-4	54,34	10484	1,487254636	-
NP3-5	56,23	6115	0,867470632	
NP3-6	57,93	86152	12,22147667	
Sum	-	704923	17,79456763	

Tabell 28: Data for juvenilhormonanalogue 3, forsøk 5 med Atlas Suntest CPS+.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Prosent nedbrytning [%]	Forhold synteseprodukter
SP3-1	29,69	1693		0,01276012
SP3-2	36,15	9404	-	0,070877833
SP3-3	38,78	132679		-
SP3-4	40,57	6954		0,052412213
NP3-1	51,55	4434	2,439722244	
NP3-2	53,07	470	0,258608357	
NP3-3	53,46	1402	0,771423226	
NP3-4	54,38	2771	1,524688845	-
NP3-5	56,28	2052	1,129073082	
NP3-6	57,95	19883	10,94023396	
Sum	-	181742	17,06374971	

Tabell 29: Data for juvenilhormonanalogue 3, forsøk 6 med Atlas Suntest CPS+.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Prosent nedbrytning [%]	Forhold synteseprodukter
SP3-1	29,68	7964		0,483457779
SP3-2	36,20	4630	-	0,281065987
SP3-3	38,59	16473		-
SP3-4	40,59	2653		0,161051417
NP3-1	51,59	517	1,391131202	
NP3-2	53,14	292	0,785706598	
NP3-3	Ikke tilstede	0	0	
NP3-4	54,39	250	0,672694005	-
NP3-5	56,29	1276	3,433430201	
NP3-6	57,95	3109	8,365622646	
Sum	-	37164	14,64858465	

Tabell 30: Data for juvenilhormonanalogue 3, forsøk 7 med Atlas Suntest CPS+.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Prosent nedbrytning [%]	Forhold synteseprodukter
SP3-1	29,90	68799		1,848796854
SP3-2	36,44	417552	-	0,112206402
SP3-3	40,56	3721285		-
SP3-4	41,42	302339		0,08124586
NP3-1	51,72	135010	2,711414955	
NP3-2	53,14	8149	0,163656918	
NP3-3	53,50	22057	0,442972222	
NP3-4	54,45	64615	1,297667412	-
NP3-5	56,31	13844	0,278029988	
NP3-6	58,08	225669	4,532125779	
Sum	-	4979319	9,425867272	

Tabell 31: Data for juvenilhormonanalogue 3, forsøk 8 med Atlas Suntest CPS+.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Prosent nedbrytning [%]	Forhold synteseprodukter
SP3-1	29,51	8270		0,009307445
SP3-2	35,94	29932	-	0,033686874
SP3-3	39,02	888536		-
SP3-4	40,48	44723		0,050333357
NP3-1	51,43	17524	1,708824963	
NP3-2	52,96	753	0,073427596	
NP3-3	53,32	1475	0,143832277	
NP3-4	54,26	5858	0,571233545	-
NP3-5	56,15	739	0,072062409	
NP3-6	57,83	27690	2,70014627	
Sum	-	1025500	5,26952706	

Nedbrytningsforsøk med høyintensiv UV-lampe, petriskål og kromatografisand

Tabeller 32 og 33 er data fra integrasjon av massespektra fra forsøk med den høyintensive UV-lampen, petriskål og kromatografisand for JHA 1. De ble brukt til å lage figur 4.3.5.

Tabell 32: Data for juvenilhormonanalogue 1, uten petriskållokk.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Prosent nedbrytning [%]
SP1-1	23,96	3076714	-
NP1-1	Ikke tilstede	0	0
NP1-2	24,52	6462	0,20764241
NP1-3	28,04	1480	0,047556603
NP1-4	29,94	5605	0,180104567
NP1-5	30,85	9940	0,319400427
NP1-6	37,51	11880	0,381738136
Sum	-	3112081	1,136442143

Tabell 33: Data for juvenilhormonanalogue 1, med petriskållokk.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Prosent nedbrytning [%]
SP1-1	23,58	1926949	-
NP1-1	Ikke tilstede	0	0
NP1-2	24,31	2604	0,133538941
NP1-3	27,95	657	0,033692429
NP1-4	29,88	4121	0,211334092
NP1-5	30,81	7649	0,392257818
NP1-6	37,47	8013	0,410924552
Sum	-	1949993	1,181747832

Tabeller 34 og 35 er data fra integrasjon av massespektra fra forsøk med den høyintensive UV-lampen, petriskål og kromatografisand for JHA 3. De ble brukt til å lage figur 4.3.5.

Tabell 34: Data for juvenilhormonanalogue 3, uten petriskållokk.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Prosent nedbrytning [%]	Forhold synteseprodukter
SP3-1	29,51	10138		0,008540852
SP3-2	35,98	67742	-	0,057069876
SP3-3	39,12	1187001		-
SP3-4	40,54	61672		0,051956148
NP3-1	51,44	36630	2,433248417	
NP3-2	52,95	3105	0,206258158	
NP3-3	53,31	5287	0,351203505	
NP3-4	54,26	16329	1,0846987	-
NP3-5	56,15	6661	0,442475231	
NP3-6	57,89	110830	7,362187333	
Sum	-	1505395	11,88007134	

Tabell 35: Data for juvenilhormonanalogue 3, med petriskållokk.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Prosent nedbrytning [%]	Forhold synteseprodukter
SP3-1	29,51	12619		0,009973231
SP3-2	36,01	93136	-	0,073608596
SP3-3	39,17	1265287		-
SP3-4	40,54	61601		0,048685397
NP3-1	51,42	22887	1,510623272	
NP3-2	52,95	1541	0,101711472	
NP3-3	53,31	2518	0,166196941	
NP3-4	54,26	8031	0,530074518	-
NP3-5	56,15	2309	0,152402199	
NP3-6	57,84	45141	2,979466295	
Sum	-	1515070	5,440474698	

Nedbrytningsforsøk med singlett-oksygen produsert fra H₂O₂

Tabell 36 er data fra integrasjon av massespektra fra forsøk med bruk av 1,5 gram hydrogenperoksid på JHA 2. Den ble brukt til å lage figur 4.4.1.

Tabell 36: Data for juvenilhormonanalogue 2, oksidasjon med hydrogenperoksid.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Prosent nedbrytning [%]	Forhold synteseprodukter
SP2-1	22,81	14585		0,074207
SP2-2	30,70	1965448	-	-
SP2-3	31,27	194660		0,099041033
NP2-1	14,04	219778	7,401724525	
NP2-2	Ikke tilstede	0	0	
NP2-3	54,47	250077	8,422139905	
NP2-4	54,65	233757	7,872511898	-
NP2-5	57,23	90976	3,063906717	
NP2-6	Ikke tilstede	0	0	
NP2-7	Ikke tilstede	0	0	
Sum	-	2969281	26,7028304	

Tabell 37 er data fra integrasjon av massespektra fra forsøk med bruk av 1,5 gram hydrogenperoksid på JHA 3. Den ble brukt til å lage figur 4.4.1.

Tabell 37: Data for juvenilhormonanalogue 3, oksidasjon med hydrogenperoksid.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Prosent nedbrytning [%]	Forhold synteseprodukter
SP3-1	29,77	7831		0,004622284
SP3-2	36,31	89331		0,052728039
SP3-3	39,64	1694184	-	-
SP3-4	40,87	127593		0,075312363
NP3-1	51,44	13691	0,53111963	
NP3-2	Ikke tilstede	0	0	
NP3-3	Ikke tilstede	0	0	
NP3-4	54,39	42887	1,663730011	-
NP3-5	56,27	23118	0,896824455	
NP3-6	58,18	579127	22,46627113	
Sum	-	2577762	25,55794523	

Nedbrytningsforsøk med høyintensiv UV-lampe og gass

Tabeller 38-43 er data fra integrasjon av massespektra fra forsøk med den høyintensive UV-lampen og både oksyngengass og nitrogengass for JHA 1. De ble brukt til å lage figur 4.5.1.

Tabell 38: Data for juvenilhormonanalogue 1, 1,5-timers eksponering og oksyngengass.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Prosent nedbrytning [%]
SP1-1	24,74	5332423	-
NP1-1	Ikke tilstede	0	0
NP1-2	Ikke tilstede	0	0
NP1-3	28,33	287	0,005376673
NP1-4	29,92	3941	0,073830906
NP1-5	31,60	991	0,018565447
NP1-6	37,75	231	0,004327566
Sum	-	5337873	0,102100593

Tabell 39: Data for juvenilhormonanalogue 1, 3-timers eksponering og oksyngengass.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Prosent nedbrytning [%]
SP1-1	24,60	5023678	-
NP1-1	Ikke tilstede	0	0
NP1-2	Ikke tilstede	0	0
NP1-3	28,29	515	0,010244976
NP1-4	30,17	491	0,00976754
NP1-5	31,54	969	0,01927647
NP1-6	37,71	1201	0,023891683
Sum	-	5026854	0,063180669

Tabell 40: Data for juvenilhormonanalogue 1, 4,5-timers eksponering og oksyngengass

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Prosent nedbrytning [%]
SP1-1	24,78	5523267	-
NP1-1	Ikke tilstede	0	0
NP1-2	Ikke tilstede	0	0
NP1-3	28,34	532	0,00962361
NP1-4	30,29	981	0,017745792
NP1-5	31,57	1188	0,021490317
NP1-6	37,74	2103	0,038042203
Sum		5528071	0,086901923

Tabell 41: Data for juvenilhormonanalogue 1, 1,5-timers eksponering og nitrogengass.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Prosent nedbrytning [%]
SP1-1	24,19	3673235	-
NP1-1	Ikke tilstede	0	0
NP1-2	Ikke tilstede	0	0
NP1-3	Ikke tilstede	0	0
NP1-4	29,68	1696	0,046148957
NP1-5	30,75	125	0,003401309
NP1-6	Ikke tilstede	0	0
Sum	-	3675056	0,049550265

Tabell 42: Data for juvenilhormonanalogue 1, 3-timers eksponering og nitrogengass.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Prosent nedbrytning [%]
SP1-1	23,88	2906682	-
NP1-1	Ikke tilstede	0	0
NP1-2	Ikke tilstede	0	0
NP1-3	28,02	150	0,00515985
NP1-4	29,62	92	0,003164708
NP1-5	31,49	137	0,004712663
NP1-6	Ikke tilstede	0	0
Sum	-	2907061	0,013037222

Tabell 43: Data for juvenilhormonanalogue 1, 4,5-timers eksponering og nitrogenengass.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Prosent nedbrytning [%]
SP1-1	24,41	4586107	-
NP1-1	Ikke tilstede	0	0
NP1-2	Ikke tilstede	0	0
NP1-3	28,10	68	0,001481848
NP1-4	29,77	2202	0,047985732
NP1-5	31,43	487	0,010612648
NP1-6	Ikke tilstede	0	0
Sum	-	4588864	0,060080229

Tabeller 44-46 er data fra integrasjon av massespektra fra forsøk med den høyintensive UV-lampen, løsningsmiddel og oksygenengass for JHA 2. De ble brukt til å lage figur 4.5.3.

Tabell 44: Data for juvenilhormonanalogue 2, 1,5-timers eksponering og oksygenengass.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Prosent nedbrytning [%]	Forhold synteseprodukter
SP2-1	22,91	122169		0,026266091
SP2-2	32,00	4651206	-	-
SP2-3	32,31	283714		0,060997943
NP2-1	14,01	2305	0,045328749	
NP2-2	53,31	2064	0,040589388	
NP2-3	54,37	4867	0,095711507	
NP2-4	54,53	5561	0,109359295	-
NP2-5	57,19	3849	0,075692129	
NP2-6	58,58	868	0,017069568	
NP2-7	59,26	8470	0,166565947	
Sum	-	5085073	0,550316583	

Tabell 45: Data for juvenilhormonanalogue 2, 3-timers eksponering og oksygen-gass.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Prosent nedbrytning [%]	Forhold synteseprodukter
SP2-1	22,94	122112		0,026526722
SP2-2	31,96	4603358	-	-
SP2-3	32,26	281451		0,061140368
NP2-1	14,01	3782	0,074747692	
NP2-2	53,31	4010	0,079253899	
NP2-3	54,38	9677	0,191256852	
NP2-4	54,54	11085	0,219084655	-
NP2-5	57,21	5942	0,117438071	
NP2-6	58,59	823	0,016265825	
NP2-7	59,27	17448	0,344843397	
Sum	-	5059688	1,042890392	

Tabell 46: Data for juvenilhormonanalogue 2, 4,5-timers eksponering og oksygen-gass.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Prosent nedbrytning [%]	Forhold synteseprodukter
SP2-1	22,90	145641		0,028986358
SP2-2	32,13	5024467	-	-
SP2-3	32,45	305961		0,06089422
NP2-1	14,00	8276	0,148108936	
NP2-2	53,31	8626	0,154372605	
NP2-3	54,39	22709	0,406404763	
NP2-4	54,56	25038	0,448085008	-
NP2-5	57,21	12536	0,22434674	
NP2-6	59,00	12333	0,220713811	
NP2-7	59,28	22192	0,397152429	
Sum	-	5587779	1,999184291	

Tabeller 47-52 er data fra integrasjon av massespektra fra forsøk med den høyintensive UV-lampen, løsningsmiddel og både oksyngass og nitrogengass for JHA 3. De ble brukt til å lage figur 4.5.2.

Tabell 47: Data for juvenilhormonanalogue 3, 1,5-timers eksponering og oksyngass.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Prosent nedbrytning [%]	Forhold synteseprodukter
SP3-1	Ikke tilstede	0		0
SP3-2	38,40	4383156	-	0,69863372
SP3-3	41,38	6273897		-
SP3-4	41,97	461139		0,073501207
NP3-1	51,67	78626	0,695406405	
NP3-2	53,13	3184	0,028160837	
NP3-3	53,48	5881	0,052014411	
NP3-4	54,41	12405	0,109715825	-
NP3-5	56,30	26688	0,236041591	
NP3-6	57,97	61506	0,543988838	
Sum	-	11306482	1,665327907	

Tabell 48: Data for juvenilhormonanalogue 3, 3-timers eksponering og oksyngass.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Prosent nedbrytning [%]	Forhold synteseprodukter
SP3-1	Ikke tilstede	0		0
SP3-2	38,06	3470780	-	0,656775243
SP3-3	41,02	5284578		
SP3-4	41,70	371610		0,070319711
NP3-1	51,63	66636	0,714563603	
NP3-2	53,10	3625	0,038872277	
NP3-3	53,45	7422	0,079588977	
NP3-4	54,39	15737	0,168753938	-
NP3-5	56,28	31826	0,341282508	
NP3-6	57,96	73198	0,784930467	
Sum	-	9325412	2,127991771	

Tabell 49: Data for juvenilhormonanalogue 3, 4,5-timers eksponering og oksyngass.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Prosent nedbrytning [%]	Forhold synteseprodukter
SP3-1	Ikke tilstede	0		0
SP3-2	38,43	4359024	-	0,694909699
SP3-3	41,46	6272792		-
SP3-4	42,06	496657		0,079176386
NP3-1	51,72	97858	0,854560983	
NP3-2	53,16	5830	0,050911428	
NP3-3	53,51	13723	0,119838341	
NP3-4	54,44	27677	0,241693927	-
NP3-5	56,34	59973	0,523724027	
NP3-6	58,02	117726	1,028061541	
Sum	-	11451260	2,818790247	

Tabell 50: Data for juvenilhormonanalogue 3, 1,5-timers eksponering og oksyngass.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Prosent nedbrytning [%]	Forhold synteseprodukt
SP3-1	29,69	74357		0,014625821
SP3-2	36,54	367388	-	0,072264226
SP3-3	40,59	5083954		-
SP3-4	41,35	328440		0,06460326
NP3-1	51,49	30555	0,515552283	
NP3-2	53,01	1414	0,023858319	
NP3-3	53,35	1999	0,033728981	
NP3-4	54,30	4665	0,078712204	-
NP3-5	56,17	1195	0,020163148	
NP3-6	57,86	32687	0,551525363	
Sum	-	5926654	1,223540298	

Tabell 51: Data for juvenilhormonanalogue 3, 3-timers eksponering og nitrogengass.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Prosent nedbrytning [%]	Forhold synteseprodukter
SP3-1	30,00	96770		0,016380364
SP3-2	36,83	521056	-	0,088199722
SP3-3	40,89	5907683		-
SP3-4	41,56	392714		0,066475131
NP3-1	51,52	40545	0,578191135	
NP3-2	53,03	1264	0,018025246	
NP3-3	53,38	2336	0,03331248	
NP3-4	54,32	7392	0,105413463	-
NP3-5	56,20	1111	0,015843393	
NP3-6	57,88	41516	0,592038061	
Sum	-	7012387	1,342823777	

Tabell 52: Data for juvenilhormonanalogue 3, 4,5-timers eksponering og nitrogengass.

Navn	Retensjonstid heksanfase [min]	Areal heksanfase	Prosent nedbrytning [%]	Forhold synteseprodukter
SP3-1	30,17	147266		0,190924192
SP3-2	37,30	8951137	-	0,116047737
SP3-3	41,36	77133232		-
SP3-4	41,90	515615		0,006684732
NP3-1	51,57	54910	0,063198745	
NP3-2	53,03	1975	0,002273129	
NP3-3	53,41	3509	0,004038689	
NP3-4	54,35	10782	0,012409559	-
NP3-5	56,21	1949	0,002243204	
NP3-6	57,91	64262	0,073962443	
Sum	-	86884637	0,158125769	

Oversikt over fraksjoner fra preparativ tynnsjikt-kromatografi (juvenilhormonanalogue 2)

Tabell 53: Oversikt over de ulike fraksjonene fra preparativ tynnsjikt-kromatografi av prøve av juvenilhormonanalogue 2 fra forsøk 7 med Atlas Suntest CPS+.

Juvenil-hormonanalogue	Fraksjon*	UV-absorbans	Merknad
JHA 1	1	Kortbølge	Startmaterial
	2	Langbølge	Dårlige NMR- og GC-MS-data Dårlige NMR- og GC-MS-data; flere mindre
	3	Langbølge	ukjente topper i GC-MS-spektra ***
	4	Langbølge	Dårlige NMR- og GC-MS-data Dårlige NMR- og GC-MS-data; flere mindre
	5	Kortbølge/langbølge	ukjente topper i GC-MS-spektra ***
JHA 2	1	Kortbølge/langbølge	Dårlige NMR- og GC-MS-data
	2	Langbølge	Noe startmaterial + noe nedbrytningsprodukter
	3	Kortbølge	Noe startmaterial + noe nedbrytningsprodukter
	4	Kortbølge	Kun nedbrytningsprodukter (GC-MS)
	5	Kortbølge/langbølge	Dårlige NMR- og GC-MS-data Dårlig NMR- og GC-MS-data; flere mindre
JHA 3	1	Kortbølge/langbølge	ukjente topper i GC-MS-spektra***
	2	Kortbølge/langbølge	Noe startmaterial + noe nedbrytningsprodukter
	3	Kortbølge	Mye startmaterial + noe nedbrytningsprodukter
	4	Kortbølge	Noe startmaterial + noe nedbrytningsprodukter
	5	Kortbølge	Nedbrytningsprodukt, retensjonstid 57,98 minutter**
	6	Kortbølge	Dårlige NMR- og GC-MS-data
	7	Kortbølge/langbølge	Dårlige NMR- og GC-MS-data

* Hvor fraksjon 1 var den fraksjonen vandret lengst fra applikasjonssted.

** Nedbrytningsprodukt fra forsøk 1 med Atlas Suntest CPS+ med retensjonstid på 57,95 minutter. Gass-kromatogrammet viste et annet produkt i tillegg i fraksjonen. Ble ikke analysert grunnet mangel på tid.

*** Ukjent i den betydning at retensjonstider og massespektra ikke matchet topper valgt ut for de ulike juvenilhormonanalogue.



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Postboks 5003
NO-1432 Ås
67 23 00 00
www.nmbu.no