



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Masteroppgave 2018 30 stp

Fakultet for kjemi, bioteknologi og matvitenskap

Syntese av fettsyreamider med karbonyldiimidazol

Synthesis of fatty acid amides with
carbonyldiimidazole

Mali Schulstad Ristun

Kjemi og bioteknologi

Forord

Arbeidet med denne masteroppgaven ble utført ved Norges miljø- og biovitenskapelige universitet (NMBU) ved Fakultet for kjemi, bioteknologi og matvitenskap.

Takk til mine veiledere professor Yngve Stenstrøm, doktor Jens Mortansson Jelstrup Nolsøe og doktor Simen Gjølseth Antonsen for all hjelp til det praktiske arbeidet på laboratoriet og god veiledning i skriveprosessen.

Jeg vil også takke professor Dag Ekeberg for utføring av HR-MS analyser.

En stor takk rettes til min labpartner, Christiane Færestrand Ellefsen, for et godt samarbeid og trivelig selskap.

Til slutt vil jeg takke familie og venner som har vært til stor støtte gjennom hele masterstudiet.

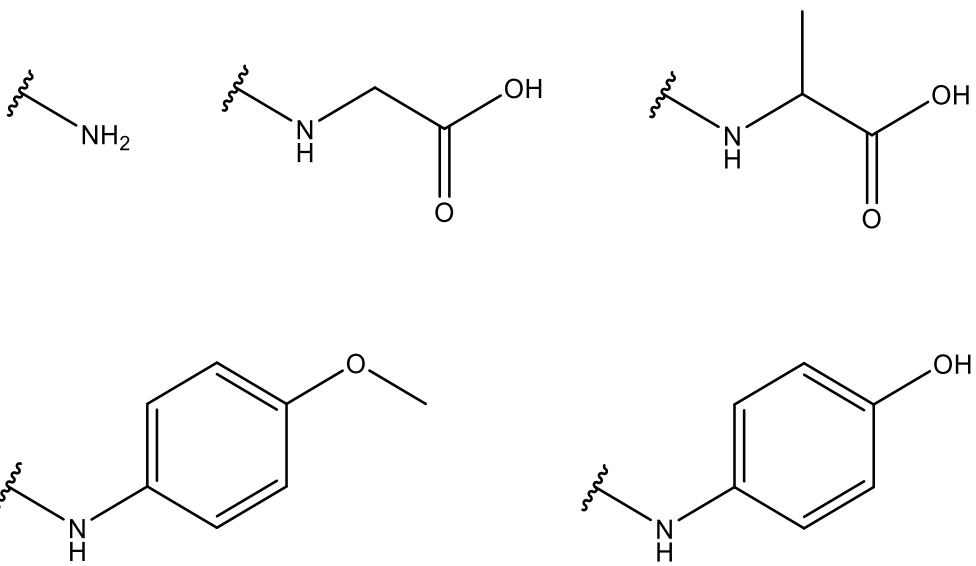
Ås, mai 2018

Mali Schulstad Ristun

Grafisk sammendrag



NHR':



Skjema 1 – Utvalgte fettsyreamider ble dannet med CDI som koblingsreagens.

Sammendrag

Hensikten med masterprosjektet var å lage et bibliotek av fettsyreamider og teste disse for biologisk aktivitet. Protokollen gikk ut på å benytte CDI (karbonyldiimidazol) som koblingsreagens. Denne protokollen har tidligere gitt gode resultater for dannelsen av en del sekundære og tertiære fettsyreamider fra flerumettede fettsyrer. Det var ønsket å teste ut omfang og begrensninger for denne protokollen.

Protokollen ble testet ut for å danne aminosyreamider med glysin, *L*-alanin og taurin.

Resultatene fra de fleste forsøkene var gode, med høye utbytter ($\geq 79\%$) og rene produkter.

Det ble videre dannet paracetamidderivater med 4-metoksyanilin og 4-hydroksyanilin.

Utbyttene fra disse reaksjonene var middels gode ($\geq 41\%$) og produktene var rene. Til slutt ble det dannet primære fettsyreamider med hovedsakelig lave utbytter ($\leq 35\%$).

Fordelen med CDI er at reaksjon kan utføres med milde betingelser. En ulempe er imidlertid at CDI er svært fuktsensitiv.

Abstract

The purpose of this master thesis was to create a library of fatty acid amides and test them for biological activity. The protocol was based on using CDI (carbonyldiimidazole) as coupling reagent. This protocol has previously yielded good results for synthesis of secondary and tertiary fatty acid amides from polyunsaturated fatty acids. It was desired to test the scopes and limitations for this protocol.

The protocol was tested for synthesis of amino acid amides with glycine, *L*-alanine and taurine. Most of the results from these reactions were good, with high yields ($\geq 79\%$) and pure products. In addition to the amino acids, 4-methoxyaniline and 4-hydroxyaniline was used to synthesize paracetamol amide derivatives. The yields from these reactions were moderate ($\geq 41\%$) and the products were pure. Eventually primary fatty acid amides were synthesized with mainly low yields ($\leq 35\%$).

The advantage of CDI is that reaction can be carried out with mild conditions. A disadvantage, however, is that the reagent is highly sensitive to moisture.

Forkortelser og trivialnavn

AM404	(5Z,8Z,11Z,14Z)- <i>N</i> -(4-hydroksyfenyl)-eikosa-5,8,11,14-tetraenamid
Anandamid	(5Z,8Z,11Z,14Z)- <i>N</i> -(2-hydroksyetyl)eikosa-5,8,11,14-tetraenamid
Arakidonsyre	(5Z,8Z,11Z,14Z)-eikosa-5,8,11,14-tetraensyre
CDI	Karboxyldiimidazol
DCC	<i>N,N'</i> -disykloheksylmetandiimin
DHA	(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-dokosa-4,7,10,13,16,19-heksaensyre
EDC	3-(etyliminometylenamino)- <i>N,N'</i> -dimetylpropan-1-amin
EDCI	<i>N</i> -(3-dimetylaminopropyl)- <i>N'</i> -etylkarbodiimid
EPA	(5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-eikosa-5,8,11,14,17-pentaensyre
Eq	Ekvivalent
Erucamid	(<i>Z</i>)-dokosa-13-enamid
FAAH	Fettsyrehydrolase
HATU	[dimetylamino(triazolo[4,5- <i>b</i>]pyridin-3-yloksy)metylen]-dimetyllazanium;heksafluorfosfat
HBTU	[benzotriazol-1-yloksy(dimetylamino)metylen]-dimetyllazanium;heksafluorfosfat
HMDS	1,1,1-trimetyl- <i>N</i> -(trimetylsilyl)silanamin
HOBt	<i>N</i> -hydroksybenzotriazol
Linolamid	(9Z,12Z)-oktadeka-9,12-dienamid
Linolsyre	(9Z,12Z)-oktadeka-9,12-diensyre
NAA'er	<i>N</i> -acylaminosyrer
NAE'er	<i>N</i> -acyletanolaminer
NAF'er	<i>N</i> -acylphenolaminer
Oljeamid	(<i>Z</i>)-oktadeka-9-enamid
Oljesyre	(<i>Z</i>)-oktadeka-9-ensyre
Palmeetanolamid	<i>N</i> -(2-hydroksyetyl)heksadekanamin
Palmesyre	Heksadekansyre
PFAM'er	Primære fettsyreamider
Stearinetanolamid	<i>N</i> -(2-hydroksyetyl)oktadekanamin

Stearinsyre	Oktadekansyre
Taurin	2-aminoetansulfonsyre
TES	Trietylsilikon
TLC	Tynnsjikt-kromatografi

Innholdsfortegnelse

Forord.....	I
Grafisk sammendrag.....	II
Sammendrag.....	III
Abstract.....	IV
Forkortelser og trivialnavn.....	V
1 Innledning.....	1
1.1 Naturstoffer.....	1
1.2 Lipider.....	2
1.3 Biologisk aktivitet hos fettsyreamider.....	3
1.3.1 <i>N</i> -acyletanolaminer (NAE'er).....	3
1.3.2 <i>N</i> -acylaminosyrer (NAA'er).....	5
1.3.3 <i>N</i> -acylfenolaminer (NAF'er).....	5
1.3.4 Primære fettsyreamider (PFAM'er).....	6
1.4 Amidkobling.....	6
1.4.1 Aktivering med acylhalider.....	7
1.4.2 Aktivering med anhydrider.....	8
1.4.3 Aktivering med acylimidazoler.....	8
1.4.4 Vanlige koblingsreagenser.....	9
1.5 Mål og bakgrunn for oppgaven.....	10
2 Resultat og diskusjon.....	11
2.1 Syntese av aminosyreamider.....	11
2.1.1 Amidkobling med glysin.....	11
2.1.2 Amidkobling med <i>L</i> -alanin.....	13
2.1.3 Hydrolyse av aminosyreamider.....	14
2.1.4 Amidkobling med taurin.....	14
2.2 Syntese av paracetamidderivater.....	16
2.3 Syntese av primære fettsyreamider.....	17
3 Konklusjon og veien videre.....	20
4 Eksperimentelt.....	21
4.1 Generelt.....	21
4.2 Generell prosedyre for amidkobling.....	21
4.3 Generell prosedyre for hydrolyse.....	22
4.4 Syntese av aminosyreamider.....	22
4.4.1 Syntese av metylglysinat.....	22
4.4.2 Syntese av metyl- <i>N</i> -dekanoylglysinat.....	24
4.4.3 Syntese av <i>N</i> -dekanoylglysin.....	26

4.4.4	Syntese av metyl- <i>N</i> -propanoylglysinat.....	28
4.4.5	Forsøk på syntese av <i>N</i> -propanoylglysin.....	30
4.4.6	Syntese av metyl- <i>N</i> -butanoylglysinat.....	30
4.4.7	Syntese av <i>N</i> -butanoylglysin	32
4.4.8	Syntese av heksansyre	34
4.4.9	Syntese av metyl- <i>N</i> -heksanoylglysinat.....	36
4.4.10	Forsøk på syntese av <i>N</i> -heksanoylglysin.....	38
4.4.11	Syntese av 2-acetoksypropansyre.....	39
4.4.12	Forsøk på syntese av metyl- <i>N</i> -(2-acetoksypropanoyl)glysinat.....	41
4.4.13	Syntese av metyl- <i>L</i> -alaninat	41
4.4.14	Syntese av metyl- <i>N</i> -dekanoylalaninat	43
4.4.15	Syntese av <i>N</i> -dekanoylalanin	45
4.4.16	Forsøk på syntese av 2-stearamidoetan-1-sulfonsyre	47
4.5	Syntese av paracetamidderivater	48
4.5.1	Syntese av <i>N</i> -(4-metoksyfenyl)heksadekanamid.....	48
4.5.2	Syntese av (9 <i>Z</i>)- <i>N</i> -(4-metoksyfenyl)-9-oktadekanamid.....	50
4.5.3	Syntese av (5 <i>Z</i> ,8 <i>Z</i> ,11 <i>Z</i> ,14 <i>Z</i>)- <i>N</i> -(4-hydroksyfenyl)-eikosa-5,8,11,14-tetraenamid	52
4.6	Syntese av primære fettsyreamider	54
4.6.1	Syntese av (5 <i>Z</i> ,8 <i>Z</i> ,11 <i>Z</i> ,14 <i>Z</i> ,17 <i>Z</i>)-eikosa-5,8,11,14,17-pentaensyre	54
4.6.2	Syntese av (4 <i>Z</i> ,7 <i>Z</i> ,10 <i>Z</i> ,13 <i>Z</i> ,16 <i>Z</i> ,19 <i>Z</i>)-dokosa-4,7,10,13,16,19-heksaensyre	56
4.6.3	Syntese av (5 <i>Z</i> ,8 <i>Z</i> ,11 <i>Z</i> ,14 <i>Z</i> ,17 <i>Z</i>)-eikosa-5,8,11,14,17-pentaenamid.....	58
4.6.4	Syntese av (4 <i>Z</i> ,7 <i>Z</i> ,10 <i>Z</i> ,13 <i>Z</i> ,16 <i>Z</i> ,19 <i>Z</i>)-dokosa-4,7,10,13,16,19-heksaenamid.....	60
4.6.5	Syntese av (9 <i>Z</i> ,12 <i>Z</i>)-oktadeka-9,12-dienamid.....	62
4.6.6	Syntese av (<i>Z</i>)-oktadeka-9-enamid.....	64
4.6.7	Syntese av oktadekanamid	66
4.6.8	Syntese av heksadekanamid	68
5	Referanser.....	70
6	Vedlegg	72
6.1	IR-spektre	72
6.2	MS-spektre	80

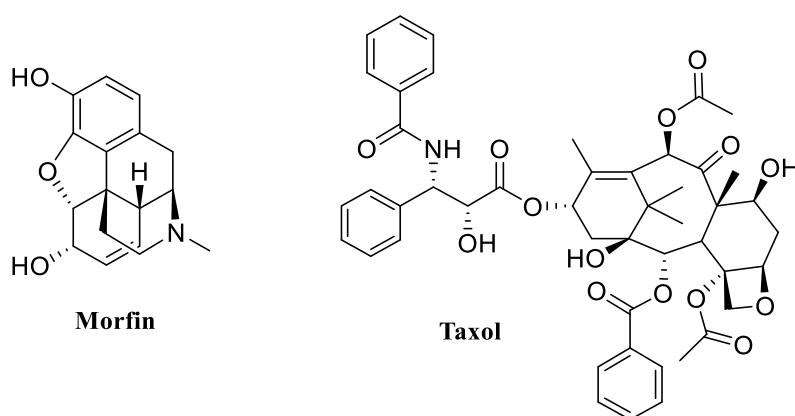
1 Innledning

1.1 Naturstoffer

Alle organiske forbindelser som blir syntetisert i levende systemer kalles naturstoffer. Naturstoffer, eller analoger av disse, brukes i stor grad i medikamenter og syntese av disse er en stor del av forskningen innen organisk kjemi. Av små molekyler godkjent av Food and Drug Administration (FDA) er 75 % naturstoffer eller naturstoffderivater.¹ Det er vanlig å dele naturstoffer i primære og sekundære metabolitter.

Primære metabolitter finnes i de fleste levende systemer og er essensielle forbindelser for å opprettholde normal vekst, utvikling og reproduksjon. Blant disse er aminosyrer, karbohydrater og fettsyrer.

Sekundære metabolitter finnes kun i spesifikke organismer og utfører ikke-essensielle oppgaver. Eksempelvis kan funksjonen være produksjon av giftstoffer som forsvar mot andre arter eller fargepigmenter eller lukt for å tiltrekke/frastøte andre individer. Mange sekundære metabolitter har fysiologisk aktivitet også utenfor cellen hvor den ble produsert og kan brukes spesifikt som blant annet pesticider eller medikamenter.² Kjente medisiner som morfin og taxol (figur 1) er opprinnelig isolert fra planter.^{3,4} Det er derfor stor forskningsmessig interesse knyttet til syntese av naturstoffer, sekundære metabolitter spesielt.

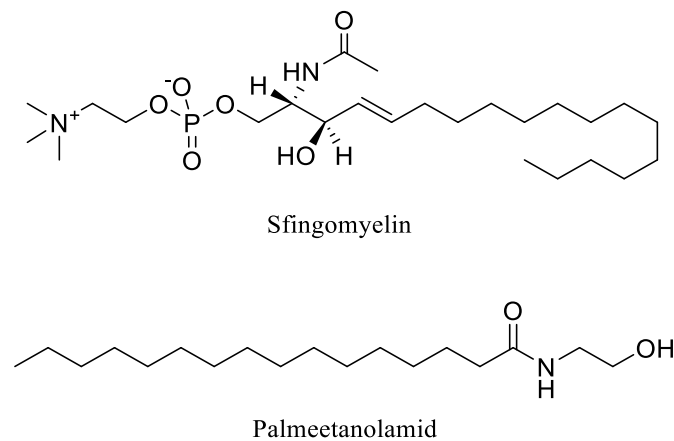


Figur 1 – Morfin og taxol er eksempler på planteisolerte sekundære metabolitter som brukes som medikamenter.

1.2 Lipider

Lipider er en stor gruppe naturstoffer som tradisjonelt er definert som biologiske forbindelser som kan løses i upolare løsemidler.⁵ Som undergruppe til lipider er fettsyrer. Fettsyrer er definert av IUPAC som «alifatiske monokarboksyliksyrer avledet fra eller beholdt i esterform i animalsk- eller vegetabilsk fett, olje eller voks».⁶ Ofte brukes betegnelsen om alle asykliske, alifatiske karboksylsyrer. Naturlige fettsyrer består ofte av uforgrenede karbonkjeder på 4-28 karboner med partall antall karboner. En annen undergruppe av lipider er fettsyreamider som er en stor gruppe lipider som finnes naturlig i mennesker og andre organismer.⁷

Fettsyreamider har vist bred industriell anvendelse, i blant annet vaskemidler og kosmetikk⁸, og viktig biologisk aktivitet⁹. En egenskap verdt å nevne er deres effekt på cellefornyelse som gjør at fettsyreamider kan ha en rolle i kampen mot kreft.^{10,11} Som en viktig del av strukturen i ceramider og sfingolipider har fettsyreamider lenge vært kjent i naturen.⁷ Sfingomyelin ble oppdaget allerede i 1884.^{12,13} Palmeetanolamid (*N*-(2-hydroksyetyl)heksadekanamin) var det første ikke-sfingosinbaserte fettsyreamidet isolert fra naturen og ble isolert fra eggeplommer i 1957.¹⁴

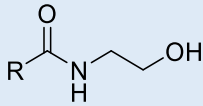
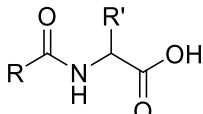
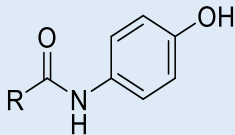
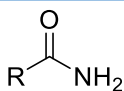


Figur 2 – Fettsyreamidene sfingomyelin og palmeetanolamid.

1.3 Biologisk aktivitet hos fettsyreamider

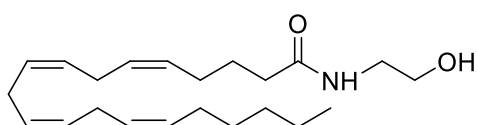
Det er flere ulike klasser av fettsyreamider, blant annet *N*-acyletanolaminer (NAE'er), *N*-acylaminosyrer (NAA'er), *N*-acylfenolaminer (NAF'er) og primære fettsyreamider (PFAM'er). Generell struktur er vist i tabell 1. Alle gruppene er funnet i biologiske systemer i pattedyr. Av disse gruppene er det NAE'er man vet mest om i dag.⁷ Disse er funnet i hjernen og det perifere vevet hos mennesker.¹⁵

Tabell 1 – Generell struktur for noen ulike grupper fettsyreamider.

Fettsyreamider	Struktur
<i>N</i>-acyletanolaminer (NAE'er)	
<i>N</i>-acylaminosyrer (NAA'er)	
<i>N</i>-acylphenolaminer (NAF'er)	
Primære fettsyreamider (PFAM'er)	

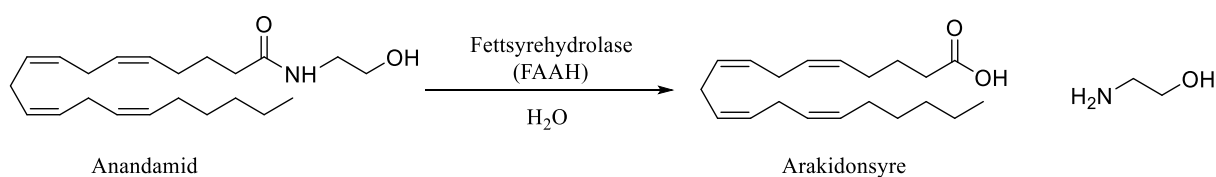
1.3.1 *N*-acyletanolaminer (NAE'er)

Det best kjente amidet i gruppen NAE'er er anandamid ((5*Z*,8*Z*,11*Z*,14*Z*)-*N*-(2-hydroksyetyl)eikosa-5,8,11,14-tetraenamid). Anandamid ble første gang funnet i hjernen til svin hvor det binder mot den proteinbindende reseptoren Cb1.¹⁵ Cb1 er en cannabinoid reseptor som finnes på overflatene til de fleste celler i kroppen. Aktivering av Cb1 induserer smertelindring og har også vist effekt på humør og matlyst.¹⁶ Anandamid er også involvert i regulering av kroppstemperatur, bevegelse og oppfatning av angst og frykt.¹⁷



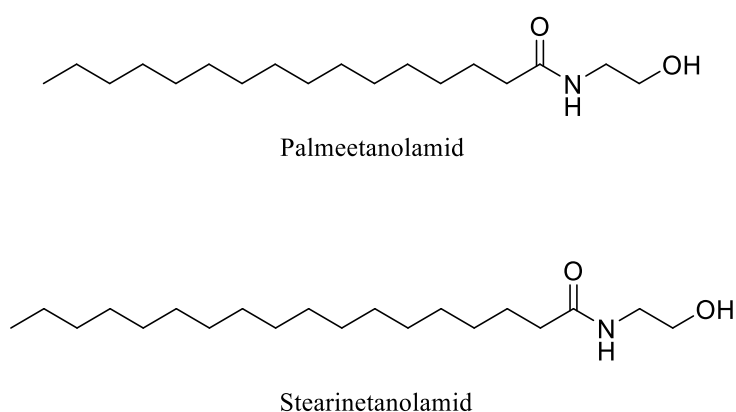
Figur 3 – Fettsyreamidet anandamid.

Fettsyrehydrolase (FAAH) hydrolyserer anandamid tilbake til arakidonsyre ((5Z,8Z,11Z,14Z)-eikosa-5,8,11,14-tetraensyre) og 2-aminoetanol (skjema 2).¹⁸ For å øke nivået av anandamid har det blitt forsket på inhibering av FAAH ved å bruke genmodifiserte mus uten gener som koder for FAAH. Det har blitt vist at mus som ikke har FAAH utviste økt nivå av effektene knyttet til aktivering av Cb1 med anandamid, i tillegg til høyere plasmakonsentrasjon av anandamid.¹⁹



Skjema 2 – Hydrolyse av anandamid til arakidonsyre og 2-aminoetanol.¹⁸

Andre NAE'er med biologisk aktivitet er palmeetanamid og stearinetanamid (*N*-(2-hydroksyetyl)oktadekanamin). Palmeetanamid regulerer smerte og inflammasjon, i tillegg til å ha nevrobeskyttende effekt²⁰. Stearinetanamid viser lignende aktivitet som anandamid, effekt på kroppstemperatur, bevegelse og smertelindring.²¹

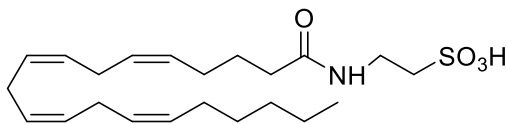


Figur 4 – Fettsyreamidene palmeetanamid og stearinetanamid.

1.3.2 N-acylaminosyrer (NAA'er)

NAA'er har lenge vært av forskningsmessig interesse på grunn av deres høye grad av biokompatibilitet og lave toksisitet som gjør at de er fordelaktige i bruk i biologien.²²

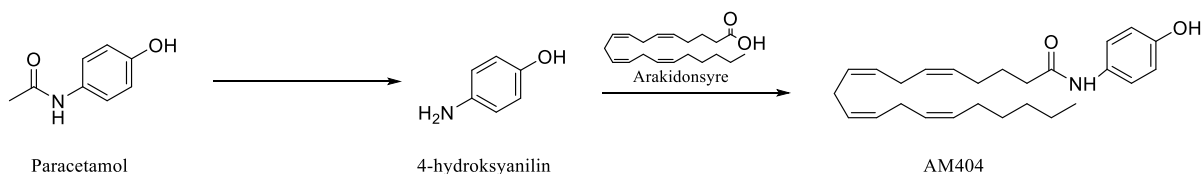
De mest vanlige NAA'er i pattedyr er konjugater av glutamin, glysin og taurin (2-aminoetansulfonsyre). Konjugater av glysin er spesielt viktig i metabolske prosesser som avgiftning og eliminering. Glysinamidet av arakidonsyre inhiberer FAAH.²³ Taurinamidet av arakidonsyre aktiverer TRPV1 og TRPV4 kalsiumkanalene i nyrene som begge regulerer kroppstemperatur og mistenkes å regulere osmotisk trykk i hjernen.²⁴ Taurin er kjent for å vise et stort spekter av fysiologiske funksjoner i lever, nyre, hjerte, bukspyttkjertel, retina og hjerne og det er høy konsentrasjon av taurin i plasma og vev i pattedyr.²⁵



Figur 5 - 2-((5Z,8Z,11Z,14Z)-eikosa-5,8,11,14-tetraenamido)etan-1-sulfonsyre dannet fra arakidonsyre og taurin.

1.3.3 N-acylfenolaminer (NAF'er)

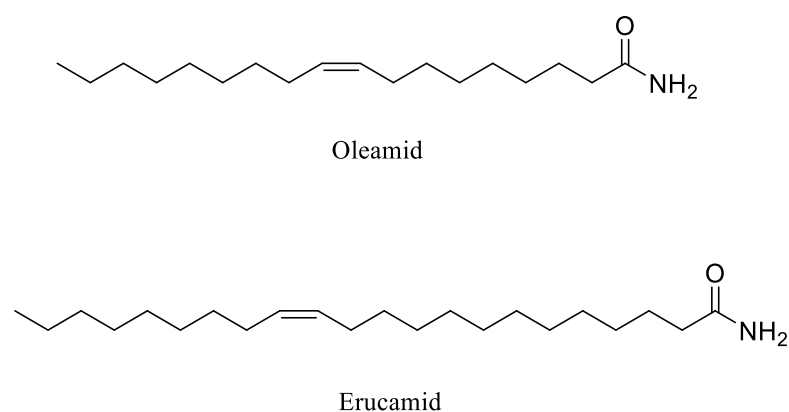
Et annet fettsyreamid av interesse er AM404 ((5Z,8Z,11Z,14Z)-N-(4-hydroksyfenyl)-eikosa-5,8,11,14-tetraenamid) som dannes fra paracetamol. Paracetamol blir deacetyllert i kroppen til 4-hydroksyanilin som danner en amidbinding til arakidonsyre og danner AM404.²⁶ AM404 virker på både vanillinoide og cannabinoide reseptorer (TRPV1 og Cb1).²⁷ Ved aktivering av Cb1 har den smertestillende effekt og ved aktivering av TRPV1 har den febernedsettende effekt.



Skjema 3 – Dannelse av AM404 fra paracetamol og arakidonsyre.²⁶

1.3.4 Primære fettsyreamider (PFAM'er)

PFAM'er ble først identifisert av Arafat *et al.* fra lutealfase plasma i 1989.²⁸ Da funksjonen fortsatt var ukjent var ikke interessen stor for amidene før Cravatt *et al.*²⁹ isolerte oleamid ((Z)-oktadeka-9-enamid) og erucamid ((Z)-dokosa-13-enamid) fra cerebrospinalvæske hos mennesker, katter og rotter og viste at oleamid induserer søvn hos rotter. Siden har det blitt forsket mye på oleamid og det er vist at amidet har påvirkning på flere biologiske prosesser, som hukommelse og regulering av kroppstemperatur.²⁹

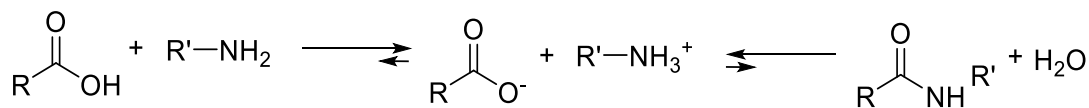


Figur 6 – De primære fettsyreamidene oleamid og erucamid.

Oleamid og anandamid er de to fettsyreamidene man har mest kunnskap om. De tilhører samme gruppe signalmolekyler og i likhet med anandamid bindes oleamid til Cb1 reseptoren, men med svært lav affinitet.³⁰ Andre primære fettsyreamider med kjent biologisk aktivitet er linolamid ((9Z,12Z)-oktadeka-9,12-dienamid) og erucamid som henholdsvis øker kalsiumstrøm og stimulerer vekst av blodårer.^{31,32}

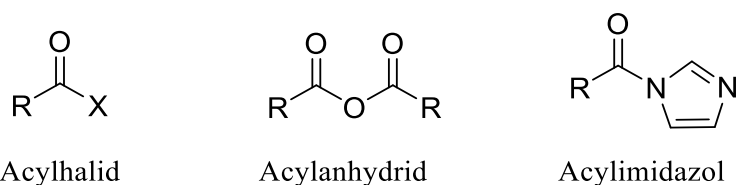
1.4 Amidkobling

Den enkleste metoden for amidkobling er direkte reaksjon mellom en karboksylsyre og et amin. Problemet med denne reaksjonen er at det dannes stabile ammoniumsalter i første trinn. Reaksjonen er vist i skjema 4. Direkte kondensasjon til amidet kan skje ved høy temperatur (160-180°C).³³



Skjema 4 – Amidbindingsdannelse.

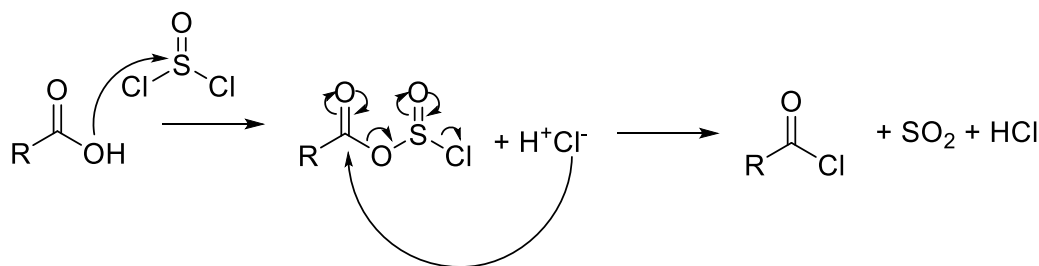
Siden mange forbindelser inneholder andre funksjonelle grupper som ikke tåler så høye temperaturer er det nødvendig å aktivere karboksylsyren slik at aminet kan angripe acylkarbonet. Det finnes mange ulike metoder for å aktivere karboksylsyren. Den kan aktiveres som blant annet acylhalid, acylanhydrid og acylimidazol, vist i figur 7.



Figur 7 – Karboksylsyrer kan aktiveres som blant annet acylhalid, acylanhydrid og acylimidazol før amidkobling.³⁴

1.4.1 Aktivering med acylhalider

Aktivering med acylklorider er en av de enkleste metodene og det finnes mange kommersielt tilgjengelige reaktanter. Acylklorider er enkle å fremstille og de er veldig reaktive. Aktivering med acylklorid er vist i skjema 5 med sulfinyldiklorid som eksempel.



Skjema 5 - Reaksjonsskjema for aktivering med sulfinyldiklorid.³⁴

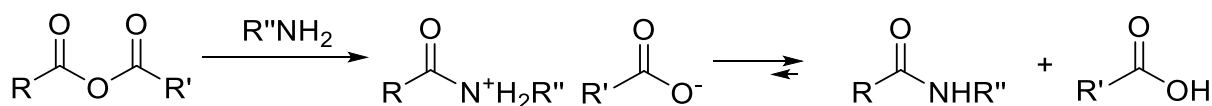
Ulempen med denne reaksjonen er at mange av de vanligste reagensene fører til dannelse av hydrogenkloridgass.³⁴ 2,4,6-triklor-1,3,5-triazin har ikke denne ulempen ved at den, i

motsetning til flere andre acylklorider, ikke er sensitiv for basiske betingelser og base kan tilsettes for å hindre syredannelse.³⁵ Acylklorider har begrensinger i peptidkobling på grunn av fare for rasemisering, hydrolyse og bireaksjoner som avspalting av beskyttelsesgrupper.³⁴

Disse problemene kan delvis unngås ved bruk av acylfluorider som er mer reaktive og mindre fuktsensitive enn acylklorider.³⁶ Acylbromider kan også brukes til aktivering av karboksylsyren, men de blir sjelden brukt da de er dyrere og har få fordeler i forhold til acylklorider.

1.4.2 Aktivering med anhydrider

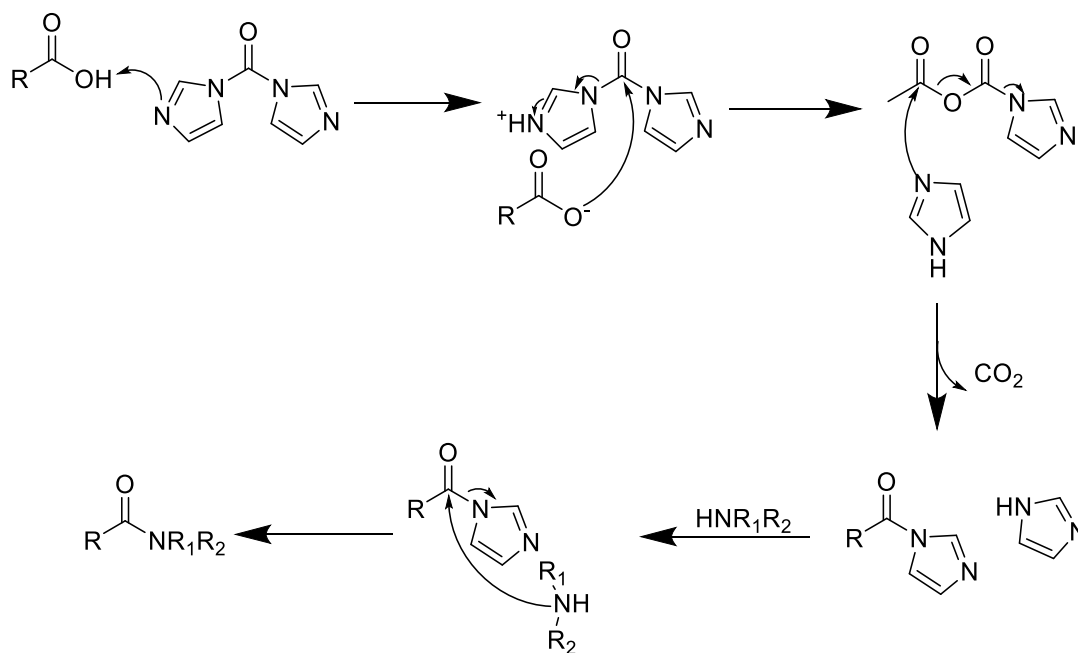
En annen metode for å aktivere fettsyrer er aktivering med anhydrider. Ulemper med denne metoden er at det er få kommersielt tilgjengelige anhydrider og kun den ene halvparten av anhydridet kan reagere.³⁷ For å unngå problemer som lavt utbytte, degradering, isoleringsvansker og rasemisering har det derfor blitt utviklet andre, milde koblingsreagenser og -metoder.³⁴



Skjema 6 –Amidkobling av fettsyre aktivert som anhydrid.³⁴

1.4.3 Aktivering med acylimidazoler

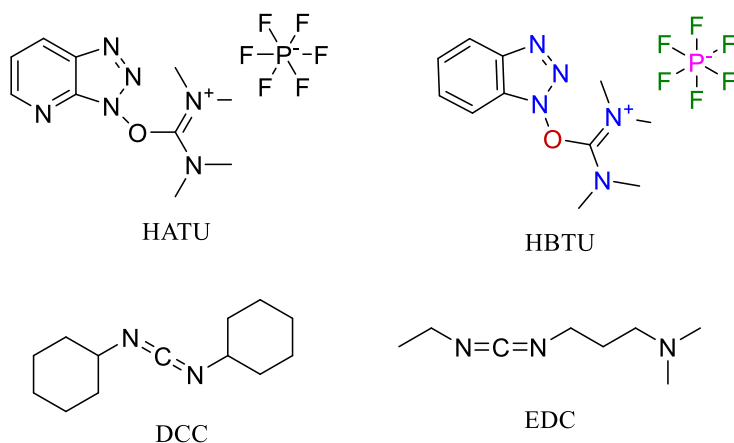
Koblingsreagenset i denne protokollen var CDI (karbonyldiimidazol). CDI fungerer ved å aktivere karboksylsyren som et acylimidazol. Dette skjer ved at en imidazolgruppe erstatter hydroksylgruppen på syren. Videre tilsettes aminet som igjen erstatter imidazolgruppen. Reaksjonen er vist i skjema 7. CDI er også kompatibel med hydrokloridsalter av aminene ved at imidazol, som er en svak base, vil reagere med eventuelle hydroklorider.^{38,39} En annen fordel er at CDI er et mildt reagens ved at reaksjonen skjer ved tilnærmet nøytrale betingelser. En ulempe er at CDI er veldig fuktsensitiv og reaksjon må skje under helt tørre betingelser.⁴⁰



Skjema 7 – Amidkobling med CDI som koblingsreagens.

1.4.4 Vanlige koblingsreagenser

Andre vanlige koblingsreagenser er HATU ([dimetylamino(triazolo[4,5-*b*]pyridin-3-yloksy)metylen]-dimetylazanium;heksafluorfosfat), HBTU ([benzotriazol-1-yloksy(dimetylamino)metylen]-dimetylazanium;heksafluorfosfat), DCC (*N,N'*-disykloheksylmetandiimin) og EDC (3-(etyliminometylenamino)-*N,N*-dimetylpropan-1-amin). Reagensene er vist i figur 8.



Figur 8 – Vanlige koblingsreagenser for amidkobling.

Disse er alle milde reagenser. HATU gir høye utbytter, men er kostbart og vanskelig å separere fra løsningen. HBTU er et billigere alternativ, men gir dårligere utbytter. Begge disse reagensene produserer potensielt eksplosive reagenser og må derfor behandles med forsiktighet.⁴¹ DCC er kjent for å være giftig og allergifremkallende. I tillegg produseres urea som er vanskelig å fjerne fra løsning. Det samme gjelder for EDC, som fungerer på lik måte som DCC.⁴² CDI er et billig alternativ til disse som tidligere har vist gode utbytter.⁴³

1.5 Mål og bakgrunn for oppgaven

Hensikten med oppgaven var å lage et bibliotek av fettsyreamider med en variasjon av fettsyrer og amider og teste disse for biologisk aktivitet. I et tidligere masterprosjekt ble CDI testet for dannelse av sekundære og tertiære fettsyreamider noe som ga veldig gode resultater.⁴³ Det var ønsket å teste ut omfang og begrensninger for denne protokollen. Fettsyreamidene som dannes vil sendes inn til testing for biologisk aktivitet.

Det utføres i tillegg et masterprosjekt i forskningsgruppen med amidkobling på mettede fettsyrer med CDI som koblingsreagens. Resultatene viser at dette fungerer bra for kobling av sekundære aminer. I dette prosjektet skal protokollen utprøves for syntese av aminosyre- og paracetamidderivater da det ikke på nåværende tidspunkt finnes en bra prosedyre for syntese av disse. Protokollen skal også utprøves for syntese av primære fettsyreamider i ønske om å utvikle en forbedret protokoll i forhold til de allerede eksisterende.

2 Resultat og diskusjon

Det er syntetisert fettsyreamid med ulike kombinasjoner av fettsyrer og aminer med CDI som koblingsreagens. Det ble utført flere reaksjoner parallelt og der det til tider ser ufullstendig ut, er det alltid på grunn av tidsmangel.

2.1 Syntese av aminosyreamid

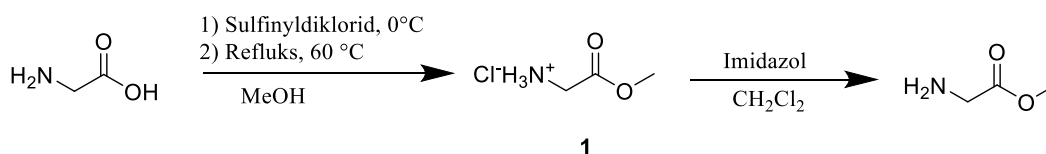
Det ble syntetisert, og forsøkt syntetisert, fettsyreamid med glysin, *L*-alanin og taurin som aminer.

Tabell 2 – Utbytter for aminosyreamidene som ble dannet.

Utgangsstoff	Amin	Forbindelse	Utbytte
Dekansyre	Metylglisinat	2	81 %
Propansyre		4	93 %
Butansyre		6	>96 %
Heksansyre		9	53 %
Dekansyre	Metyl- <i>L</i> -alaninat	14	79 %

2.1.1 Amidkobling med glysin

Glysin ble beskyttet som metylester før amidkobling for å hindre reaksjon med syregruppen. Forestring med påfølgende fribasing er vist i skjema 8.

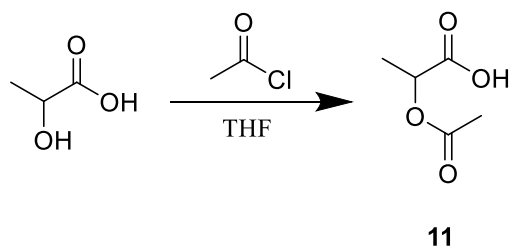


Skjema 8 – Reaksjonsskjema for dannelse av metylglisinat.

Forestring av glysin ga kvantitativt utbytte. Fribasing ble prøvd utført med vandig kaliumhydroksid, men ga lave utbytter. Dette er trolig på grunn av hydrolyse av

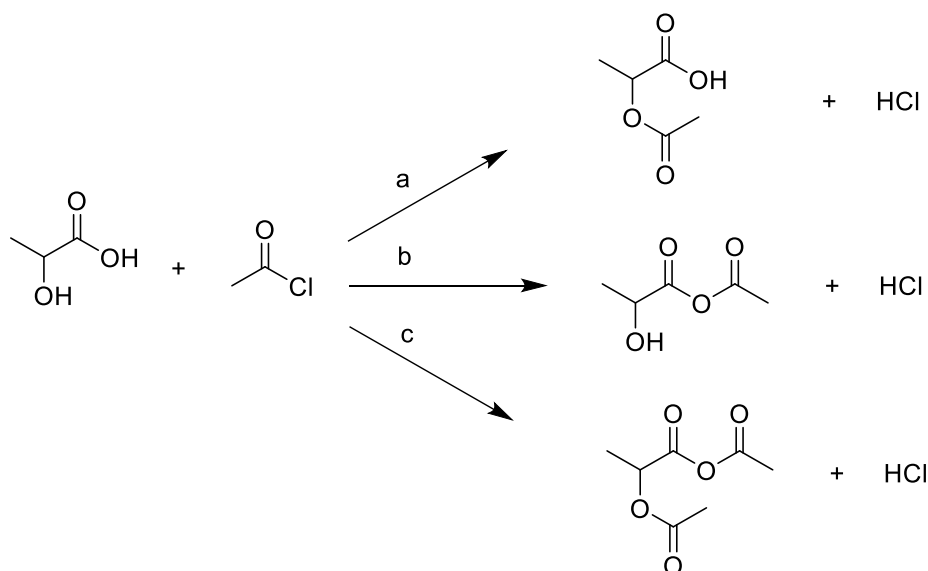
esterbindingen. Protokollen ble erstattet med en ny metode som gikk ut på å tilsette imidazol til metylglysinatsalt løst i CH_2Cl_2 og tilsette blandingen direkte til den aktiverte syren.

Metylglysinat ble koblet med dekansyre, propansyre, butansyre, melkesyre og heksansyre. I tilfellet med melkesyre ble hydroksylgruppen beskyttet som acetylderivatet. Dannelsen av denne er vist i skjema 9.



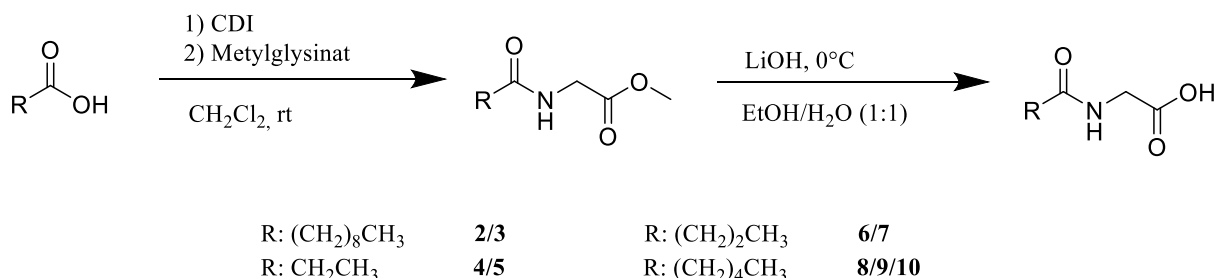
Skjema 9 – Beskyttelse av melkesyre med acetylklorid.

Utbyttet for beskyttelsen ble bare 29 % etter kromatografiske opprensning. Forsøket ble bare gjentatt én gang, og det ble ikke forsøkt å forbedre utbyttet da amidkoblingsreaksjon ikke gikk for denne fettsyren. En grunn til det lave utbyttet kan være mangel på base i reaksjonen. En svak base kan tilsettes for å reagere med α -hydroksylgruppen og hindre denne fra nukleofilt angrep på acetylklorid (reaksjon b og c i skjema 10).



Skjema 10 – Reaksjon mellom melkesyre og acetylklorid. a) Nukleofilt angrep fra β -hydroksylgruppen. b) Nukleofilt angrep fra α -hydroksylgruppen. c) Nukleofilt angrep fra både α - og β -hydroksylgruppene.

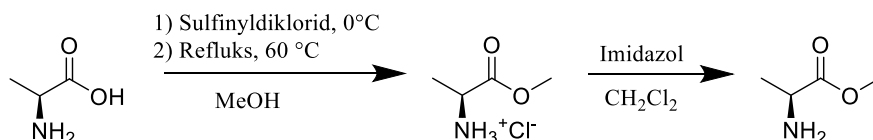
Amidkobling med påfølgende hydrolyse er vist i skjema 11. Utbyttene for amidkobling med metylglysinat er vist i tabell 2. Amidkobling av beskyttet melkesyre ga kun ureagert utgangsstoff tilbake.



Skjema 11 - Reaksjonsskjema for dannelse av glysinamider.

2.1.2 Amidkobling med *L*-alanin

I likhet med glysin ble *L*-alanin metylert før amidkobling. Dette ble gjort på samme måte som for glysin og reaksjonen er vist i skjema 12. Forestring av *L*-alanin ga kvantitativt utbytte.



13

Skjema 12 – Reaksjonsskjema for dannelse av metyl-*L*-alaninat.

Dekansyre ble brukt for amidkobling med metyl-*L*-alaninat. Reaksjonsskjema for *L*-alaninatamid er likt som for glysinamider vist i skjema 11. Utbytte for amidkobling med metyl-*L*-alaninat er vist i tabell 2.

Produktet ble analysert med polarimeter og den spesifikke rotasjonen ble bestemt til $[\alpha]_D^{20} = -2,43$. *L*-enantiomeren er altså foretrukket, men det er usikkert om produktet er optisk rent. Karabuga *et al.* har vist at løsemidlet som ble brukt i denne reaksjonen, CH₂Cl₂, påvirker enantioselektiviteten.⁴⁴ Det ble ikke funnet litteraturverdi for amidet, men det skal gjøres forsøk med *D*-alanin i tillegg for å bestemme optisk renhet på produktet.

2.1.3 Hydrolyse av aminosyreamider

Amid **5** og **7** ble forsøkt dannet ved hydrolyse (av henholdsvis **4** og **6**) med litiumhydroksid (LiOH) i en blanding av THF/MeOH/H₂O (2:2:1). Denne reaksjonen viste seg ikke å gå og NMR-spektrene viste kun metylerte amider. Protokollen ble derfor erstattet med protokollen i skjema 11 med en blanding av etanol/H₂O (1:1) som løsemiddel for de resterende amidene da hydrolyse av **2** (til amid **3**) i henhold til denne protokollen hadde gitt gode resultater.

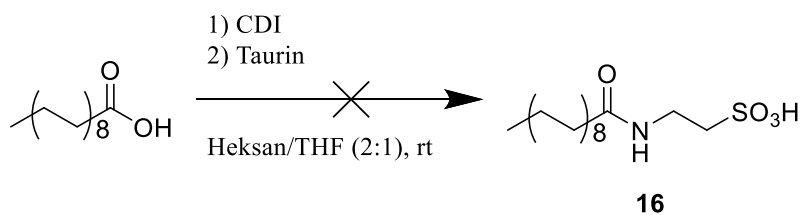
Denne hydrolysemetoden ga rene spektre uten opprensning også for **7** og **15** (fra henholdsvis **6** og **14**). Amid **5** og **10** ble forsøkt dannet med hydrolyse av **4** og **9**, men det ble ikke oppnådd rene produkter for noen av dem. Produktene inneholdt fortsatt ureagert utgangsstoff. Ved syntese av fettsyre **21** i henhold til denne protokollen ble hydrolyse gjentatt på produktet for å oppnå fullstendig reaksjon, da det fortsatt var betydelige mengder ester igjen i produktet. Sannsynligvis vil forlenget reaksjonstid på mer enn 24 timer i stedet for ca. 12 timer, eller økt mengde LiOH gi fullstendig reaksjon fra amid **4** og **9**. Utbyttene for hydrolyse av aminosyreamidene er vist i tabell 3.

Tabell 3 – Utbytter for hydrolyse med LiOH av beskyttede aminosyreamider.

Utgangsstoff	Forbindelse	Utbytte
Metyl- <i>N</i> -dekanoylglysinat	3	51 %
Metyl- <i>N</i> -propanoylglysinat	5	-
Metyl- <i>N</i> -butanoylglysinat	7	54 %
Metyl- <i>N</i> -heksanoylglysinat	10	-
Metyl- <i>N</i> -dekanoylalaninat	15	83 %

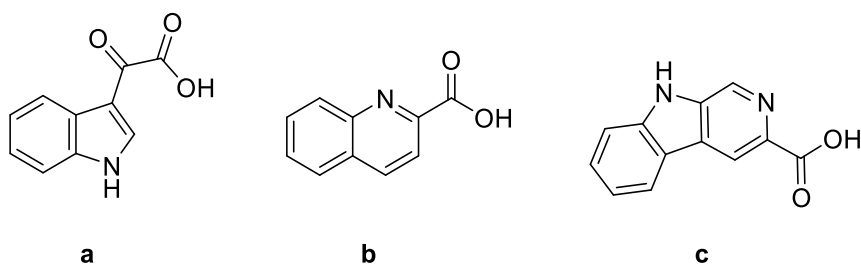
2.1.4 Amidkobling med taurin

Det ble gjort et forsøk å koble stearinsyre (oktadekansyre) med taurin. Reaksjonen er vist i skjema 13. Denne reaksjonen gikk ikke.



Skjema 13 - Reaksjonsskjema for dannelse av taurinamid.

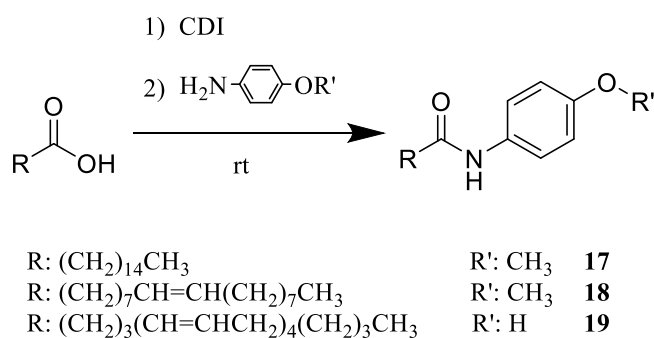
Det ble ikke forsøkt å endre betingelser for denne reaksjonen, da det allerede eksisterer gode metoder for denne koblingen. Taurin er tidligere koblet med 1*H*-indol-3-yl-(okso)eddiksyre (**a**), quinolin-2-karboksylysyre (**b**) og 9*H*-β-karbolin-3-karboksylysyre (**c**) med en kombinasjon av *N*-(3-dimetylaminopropyl)-*N'*-etylkarbodiimid (EDCI), *N*-hydroksybenzotriazol (HOBT) som koblingsreagens, med utbytter på henholdsvis 64 %, 75 % og 40 %.⁴⁵



Figur 9 - 1*H*-indol-3-yl-(okso)eddiksyre (**a**), quinolin-2-karboksylysyre (**b**) og 9*H*-β-karbolin-3-karboksylysyre (**c**).

2.2 Syntese av paracetamidderivater

Palmesyre (heksadekansyre) og oljesyre ((Z)-oktadeka-9-ensyre) ble koblet med 4-metoksyanilin, mens arakidonsyre ble koblet med 4-hydroksyanilin. Reaksjonen er vist i skjema 14 og utbytter i tabell 4.



Skjema 14 – Reaksjonsskjema for dannelse av paracetamidderivater. Forbindelse **17** og **18** ble amidert med 4-metoksyanilin og forbindelse **19** med 4-hydroksyanilin.

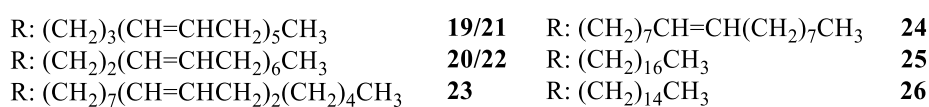
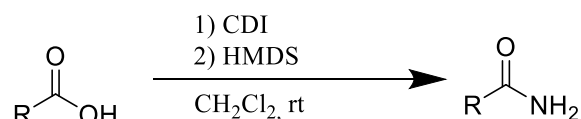
Det ble brukt en blanding av heksan/ CH_2Cl_2 (2:1) som løsemiddel til amidkoblingen med palmesyre og CH_2Cl_2 til reaksjon med oljesyre. Produktene ble renset kromatografisk. I et forsøk på å øke utbytter ble THF benyttet som løsemiddel. Dette ga økt utbytte for oljesyre og minket utbytte for palmesyre før opprensning. I mangel av tid ble ikke disse produktene opprenset. Økt utbytte av rent amid **18** fra oljesyre kan dermed sannsynligvis oppnås ved erstatning av CH_2Cl_2 med THF som løsemiddel.

Tabell 4 – Utbytter for paracetamidderivatene som ble dannet.

Utgangsstoff	Amin	Forbindelse	Utbytte
Palmesyre	4-metoksyanilin	17	62 %
Oljesyre		18	41 %
Arakidonsyre	4-hydroksyanilin	19	61 %

2.3 Syntese av primære fettsyreamider

EPA ((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-eikosa-5,8,11,14,17-pentaensyre), DHA ((4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-dokosa-4,7,10,13,16,19-heksaensyre), linolsyre ((9Z,12Z)-oktadeka-9,12-diensyre), oljesyre, stearinsyre og palmesyre ble koblet med HMDS (1,1,1-trimetyl-N-(trimetylsilyl)silanamin). Reaksjonen er vist i skjema 15.



Skjema 15 – Reaksjonsskjema for dannelse av primære fettsyreamider med HMDS.

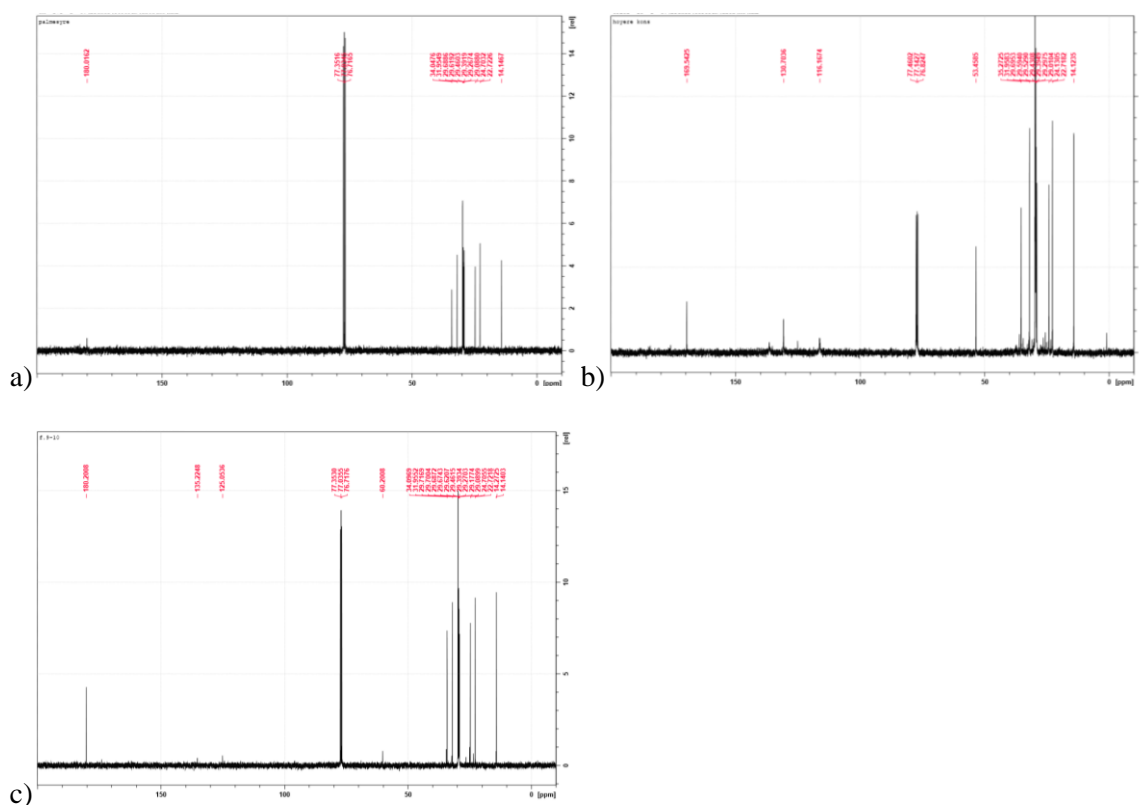
EPA og DHA ble først hydrolysert fra etylesterne med lik protokoll som for aminosyreamidene med kvantitativt utbytte for EPA og ≥ 30 % for DHA. Som nevnt tidligere besto produktet etter hydrolyse av DHA-etyleter av stor andel ureagert utgangsstoff, og for å oppnå fullstendig reaksjon ble hydrolysen foretatt en gang til. Fettsyrene ble rene og det var ikke nødvendig med opprensning før amidkobling ble utført.

Utbyttene for de primære fettsyreamidene er gitt i tabell 5.

Tabell 5 – Utbytter for de primære fettsyreamider som ble dannet.

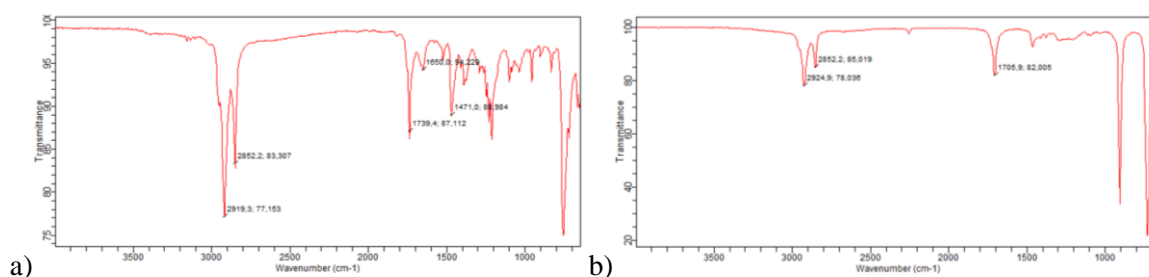
Utgangsstoff	Amin	Forbindelse	Utbytte
EPA	HMDS	22	>96 %
DHA		23	>96 %
Linolsyre		24	20 %
Oljesyre		25	10 %
Stearinsyre		26	35 %
Palmesyre		27	23 %

Amid **25** og **27** ble rensed kromatografisk og det viste seg at henholdsvis 73 % og 49 % av fettsyrene var ureagert. Mengden CDI ble derfor økt fra 1,1 til 1,5 eq i et forsøk på å øke utbyttene for amidkobling på palmesyre. Etter reaksjon ble amid påvist ved sammenligning av ^{13}C -spekteret for produktet med ^{13}C -spekter tatt opp for ren palmesyre. Amid ble påvist hovedsakelig med hensyn på endring i kjemisk skift for karbonylkarbonet fra δ 180,02 ppm for ren palmesyre til δ 169,54 ppm etter amidkobling. Se figur 10. I tillegg viste TLC at reaksjonen hadde gitt full omsetning til kun et produkt. Etter opprensning på silika var NMR-spektrene tilsynelatende like som spektrene for ren fettsyre.



Figur 10 – ^{13}C -spekter for a) ren palmesyre, b) produkt etter amidkobling og c) produkt etter kromatografisk opprensning.

Det ble tatt opp IR-spektre fra produktet før opprensning for å vise om det var dannet amid. IR-spekteret viste middels absorpsjon ved 1739 cm^{-1} som er typisk for C=O strekk i karboksylsyre/ester/aldehyd/keton-området, i tillegg til svak absorpsjon ved 1655 cm^{-1} som er typisk for C=O-strekk i amider. Det var derimot ingen absorpsjon i området for O-H strekk i karboksylsyre ($3500\text{--}2500\text{ cm}^{-1}$) eller N-H strekk i amidområdet ($3700\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$). IR-spektrene er vist i figur 11.



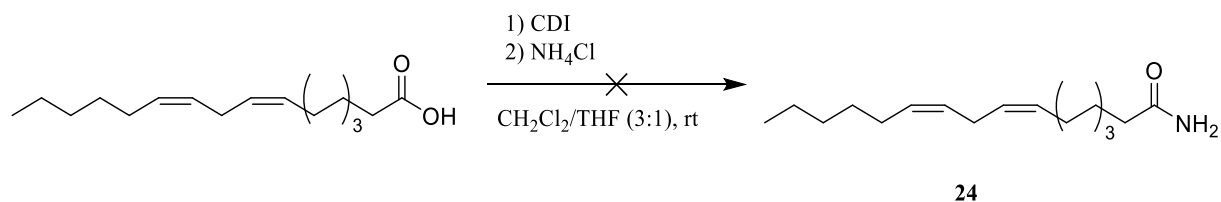
Figur 11 – IR-spekter a) før- og b) etter opprensning på silika.

IR-spekter tatt opp etter kromatografisk opprensning viste også absorpsjon for C=O strekk i karboksylsyre/ester/aldehyd/keton (1705 cm^{-1}), men ikke for O-H strekk. Det er videre verken absorpsjon for C=O strekk eller N-H strekk i amidområdet. Det er altså verken amid eller fettsyre, og det er usikkert hva som er dannet. Det kan i det minste konkluderes med at det ikke er oppnådd ønsket produkt. Det er trolig vann som er årsaken til dette, da CDI er svært fuktsensitiv og vann vil dermed forstyrre aktivering av fettsyren.

Det ble ikke gjort forsøk på å forbedre utbytter for de andre primære fettsyreamidene grunnet resultatene fra forsøket på palmesyre og at det allerede finnes gode protokoller for dette. Syntese av primært fettsyreamid fra palmesyre har tidligere gitt gode resultater med syreklorider som reagens. Srinivasan *et al.*⁴⁶ dannet primært amid fra palmesyre med utbytter på 88 %. Syreklorider har også blitt benyttet for å danne primært linolamid og primært oljeamid med > 96 % utbytte⁴⁷ og primært stearinamid med 70 % utbytte.⁴⁸

Et forsøk på å forbedre protokollen kan likevel være å endre betingelser med tanke på løsemiddel. Lv *et al.*⁴⁹ har undersøkt hvilket løsemiddel som er mest effektiv for ekstraksjon av blant annet palme-, stearin- og oljeamid og konkluderte med en blanding av isopropanol/klorofom (1:1). I vårt tilfelle ble CH_2Cl_2 og heksan benyttet som løsemiddel og CH_2Cl_2 til ekstraksjon. Denne blandingen er ikke undersøkt i forsøket av Lv *et al.*, men det kan være mulighet for forbedring ved endring av løsemiddel.

I et siste forsøk ble HMDS erstattet med ammoniumklorid i et forsøk på å danne linolamid (**24**). Denne reaksjonen gikk ikke.



Skjema 16 – Forsøk på syntese av **24** med ammoniumklorid.

3 Konklusjon og veien videre

Protokollen for amidkobling med fettsyrener fungerte bra for syntese av aminosyreamider med glysin (med unntak av melkesyre) og *L*-alanin, og for syntese av paracetamidderivater.

Amidkobling med taurin og stearinsyre fungerte ikke med denne protokollen. Det vil utføres forsøk på syntese av flere aminosyreamider og paracetamidderivater. Amidkobling med *D*-alanin skal utprøves for å bestemme optisk renhet for dekanoylalanin.

For syntese av primære fettsyreamider fungerte protokollen bra for testsyrener, EPA og DHA, og ble derfor prøvd ut på flere (mer mettede) fettsyrer. For disse fettsyrener ble utbyttene fra amidkobling dårlige. CDI er fordelaktig ved amidkobling med følsomme, umettede forbindelser som krever milde betingelser. Denne fordelene forsvinner imidlertid ved mindre følsomme, mettede fettsyrer. Protokollens kanskje største begrensning er at CDI er svært fuktsensitiv.

Videre vil amidene sendes inn for testing av biologisk aktivitet.

4 Eksperimentelt

4.1 Generelt

Alle reaksjoner er gjort under N₂-atmosfære. Alle løsemidlene som ble benyttet var av teknisk kvalitet. Der tørre løsemidler var nødvendig ble løsemidlene tatt ut med sprøyte fra flasker forseglet med septum.

Tynnsjiktskromatografi (TLC) ble tatt opp på plater av typen TLC Silica gel 60 F₂₅₄, og det ble brukt kaliumpermanganat for fremkalling. Ved opprensning med kolonnekromatografi ble det benyttet Silica gel 60 (0,040-0,063 mm) fra Merck. Optisk rotasjon ble målt med et PerkinElmer instrument, Model 341.

NMR-spektre ble tatt opp på et Bruker Ascend 400 instrument ved 25 °C. ¹H-spektre ble tatt opp med 400 MHz og ¹³C-spektre med 100 MHz. Prøvene ble løst i kloroform-d (CDCl₃), med mindre annet er presisert. HR-MS spektre ble tatt opp med et Autospec Ultima (EI/70 ev) fra Micromass Ltd og IR-spektre ble tatt opp på Agilent 5500 Series FTIR instrument med ATR diamantcelle.

4.2 Generell prosedyre for amidkobling

Fettsyren ble løst i 5 mL tørr CH₂Cl₂ og tilsatt CDI før løsningen ble satt til røring ved romtemperatur i 30 minutter. Kolben ble dekket med aluminiumsfolie for å beskytte mot lys. Deretter ble aminet tilsatt og reaksjonen sto til røring i > 12 timer. Reaksjonene ble fulgt med TLC.

For dannelse av aminosyreamidene ble aminosyresaltet fribaset ved å løse aminosyresaltet i 5 mL CH₂Cl₂ og tilsatt imidazol. Denne løsningen ble tilsatt direkte til den aktiverte syren.

Etter fullført reaksjon ble 25 mL CH₂Cl₂ tilsatt etterfulgt av 20 mL mettet ammoniumkloridløsning før løsningen ble surgjort med 37 % HCl til pH < 2. Fasene ble separert i skilletrakt og vannfasen ble ekstrahert med 10 mL CH₂Cl₂ i tre omganger. Det organiske ekstraktet ble deretter tørket i 30 minutter med dinatriumsulfat (Na₂SO₄) før løsningen ble dampet inn på rotavapor og NMR-spektre ble tatt opp.

4.3 Generell prosedyre for hydrolyse

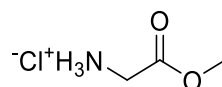
Esteren ble løst i en blanding av etanol/H₂O (1:1) og hydrolysert med LiOH. Reaksjonen ble satt til røring ved romtemperatur i > 12 timer og fulgt på TLC.

Løsningen ble surgjort med 37 % HCl til pH < 5 etter at reaksjonen var fullført, tilsatt 15 mL vann og mettet med NaCl. Vannfasen ble ekstrahert med 10 mL heksan i tre omganger. Den organiske fasen ble tørket med Na₂SO₄ og dampet inn på rotavapor. NMR-spektre ble tatt opp.

4.4 Syntese av aminosyreamider

4.4.1 Syntese av metylglysinat

Glysin (996 mg, 13,3 mmol) ble løst i 40 mL metanol og tilsatt dråpevis 3 ekvivalenter (eq) sulfinyldiklorid (SOCl₂, 2,9 mL, 40 mmol) ved 0 °C. Deretter ble løsningen satt til reflux ved 60°C i 4 timer. Prøven ble fulgt på TLC og dampet inn på rotavapor. Aminet fribases som en del av amidkoblingen da saltet har høyere stabilitet enn fribaset metylglysinat.



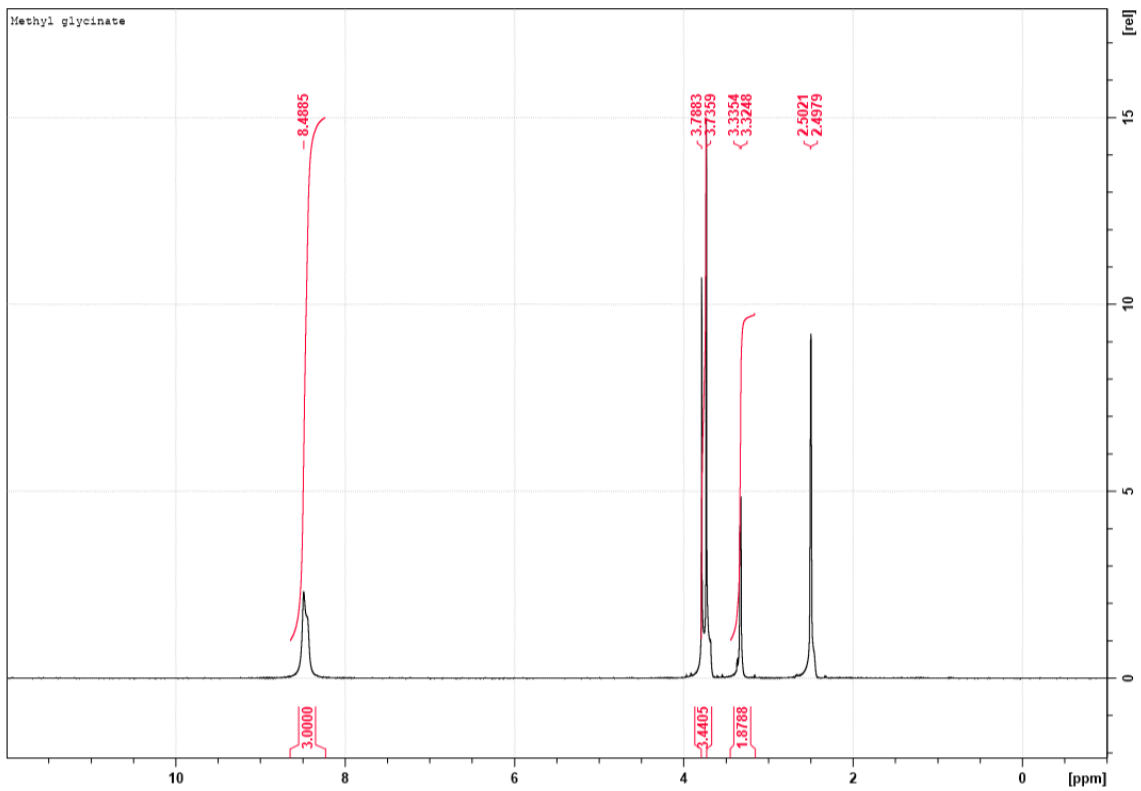
1

Utbytte: > 96 %

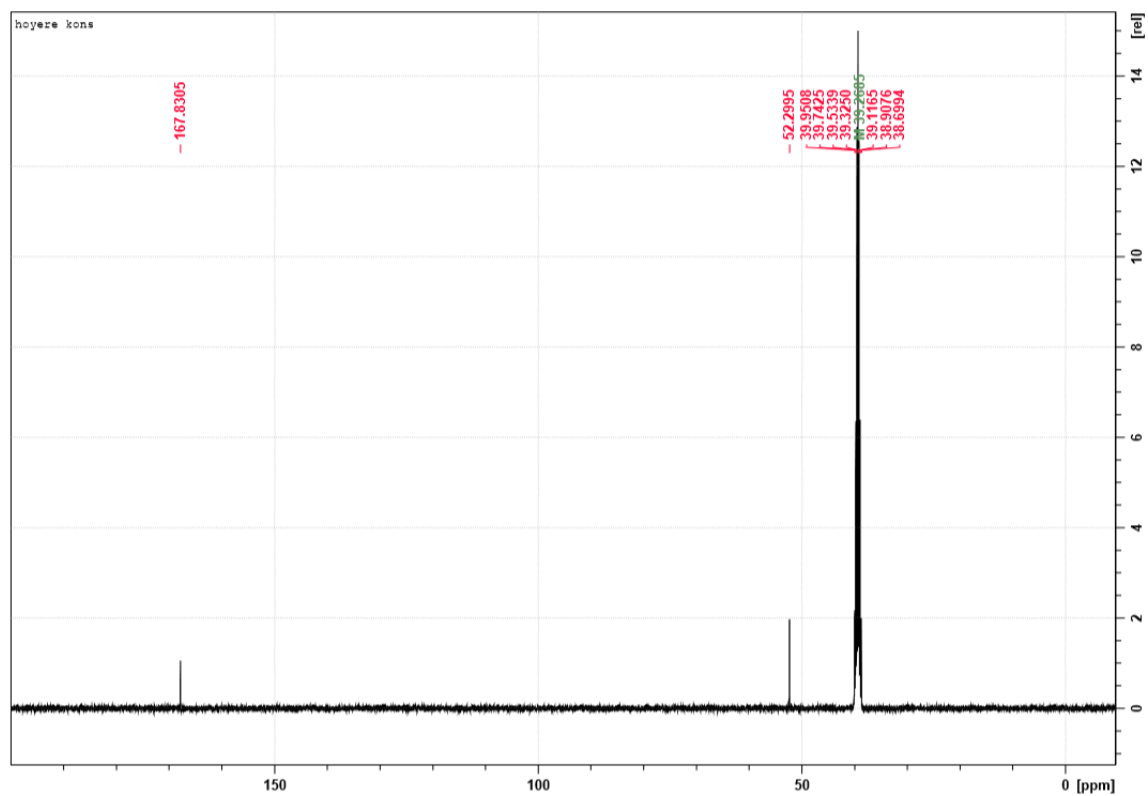
Data:

¹H-NMR (400 MHz, DMSO): δ 8,49 (s, 3H), δ 3,76 (d, *J* = 21,0 Hz, 3H), δ 3,33 (d, *J* = 4,2 Hz, 2H).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO): δ 167,83 (C), δ 52,30 (CH₃), δ 39,27 (CH₂).



Spekter 1 – $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO) spekter av forbindelse 1.



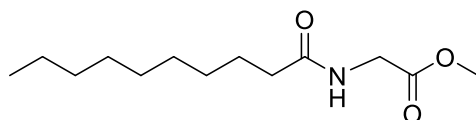
Spekter 2 - $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO) spekter av forbindelse 1.

4.4.2 Syntese av metyl-*N*-dekanoylglysinat

Forbindelse **2** ble laget fra dekansyre (188 mg, 1,1 mmol), amin **1** og CDI (195 mg, 1,2 mmol) i henhold til generell prosedyre for amidkobling. Amin **1** ble ikke fribaset som beskrevet i prosedyren. Fribaset amin **1** (62 mg, 0,7 mmol) ble tilsatt.

Fribasing ble utført ved å løse amin **1** (1,0 g, 8 mmol) i 20 mL CH₂Cl₂. KOH (524 mg, 9,3 mmol) i 40 mL vann ble tilsatt under kraftig røring. Fasene ble separert og vannfasen ble ekstrahert med CH₂Cl₂ (3x10 mL). Den organiske fasen ble tørket med NaSO₄ og dampet inn på rotavapor. Grunnet lave utbytter for denne reaksjonen ble det utprøvd en ny protokoll for fribasing som er brukt for de resterende amidene.

Amidet ble rensset kromatografisk og eluert med 10 % etylacetat i heksan.



2

Utbytte: 81 %

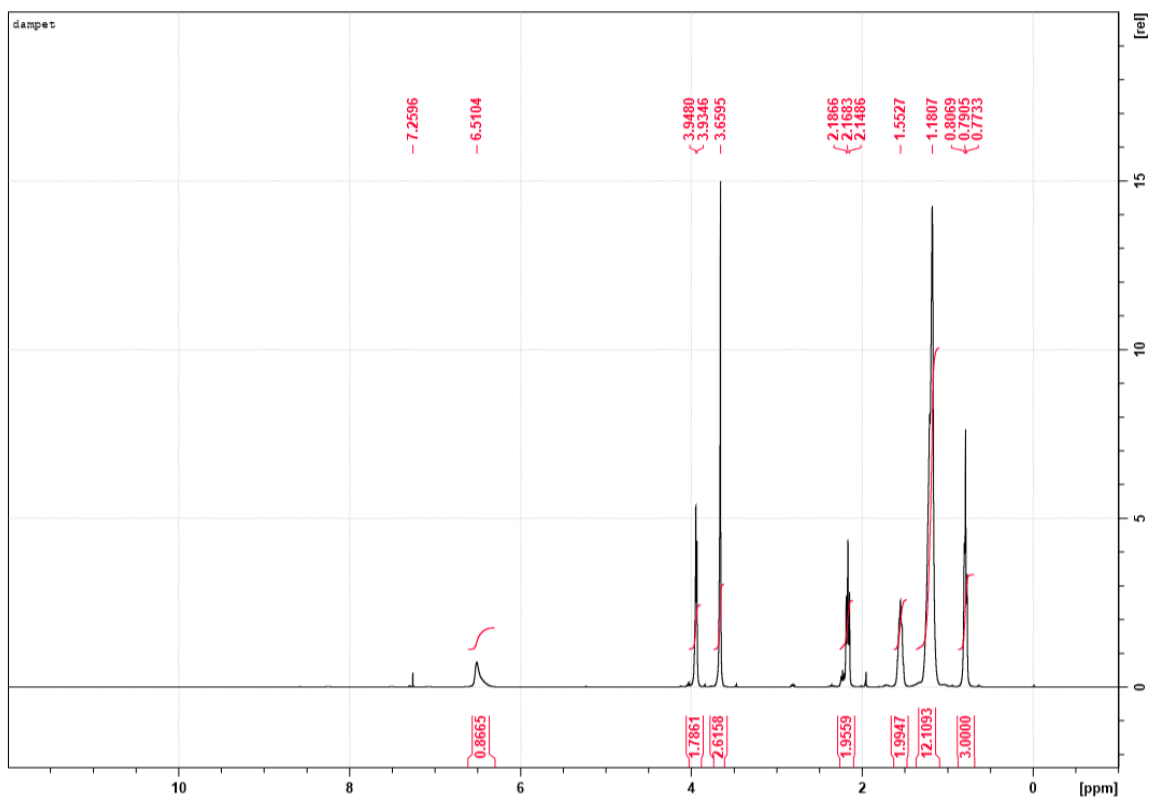
Data:

R_f: 0,40 (50 % etylacetat i heksan)

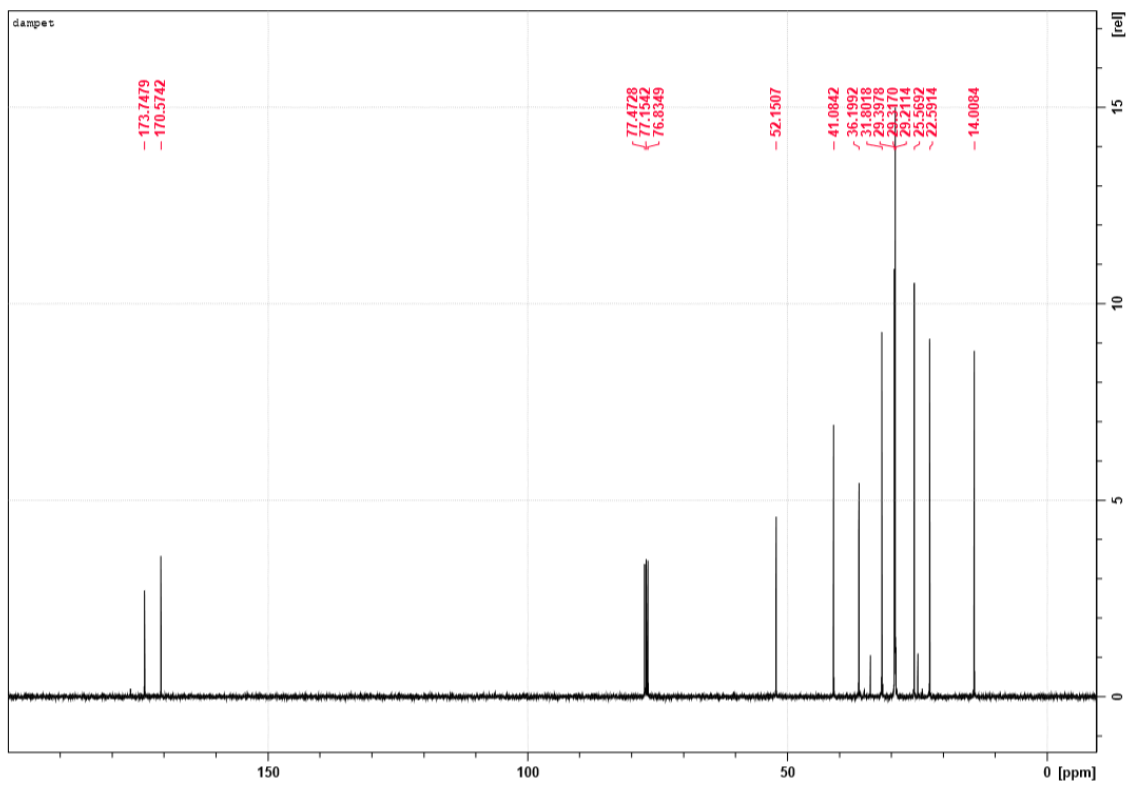
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 6,51 (s, 1H), δ 3,94 (d, *J* = 5,4 Hz, 2H), δ 3,66 (s, 3H), δ 2,17 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H), δ 1,55 (s, 2H), δ 1,18 (m/s, 12H), δ 0,80 (t, *J* = 6,7 Hz, 3H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 173,75 (C), δ 170,57 (C), δ 52,15 (CH₃), δ 41,08 (CH₂), δ 36,20 (CH₂), δ 31,80 (CH₂), δ 29,40 (CH₂), δ 29,32 (CH₂), δ 29,21 (CH₂), δ 25,57 (CH₂), δ 22,59 (CH₂), δ 14,01 (CH₃).

HR-MS: Funnet masse: 243,1832. Beregnet masse: 243,1834.



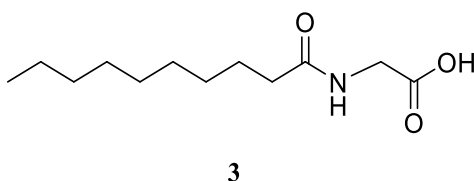
Spekter 3 – $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) spekter av forbindelse 2.



Spekter 4 - $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) spekter av forbindelse 2.

4.4.3 Syntese av *N*-dekanoylglysin

Forbindelse **3** ble laget i henhold til generell prosedyre for hydrolyse av amid **2** (100 mg, 0,4 mmol) med LiOH x H₂O (84 mg, 2,0 mmol) i 8 mL Etanol/H₂O (1:1). Amidet ble ekstrahert med etylacetat (5x10 mL) i stedet for heksan.



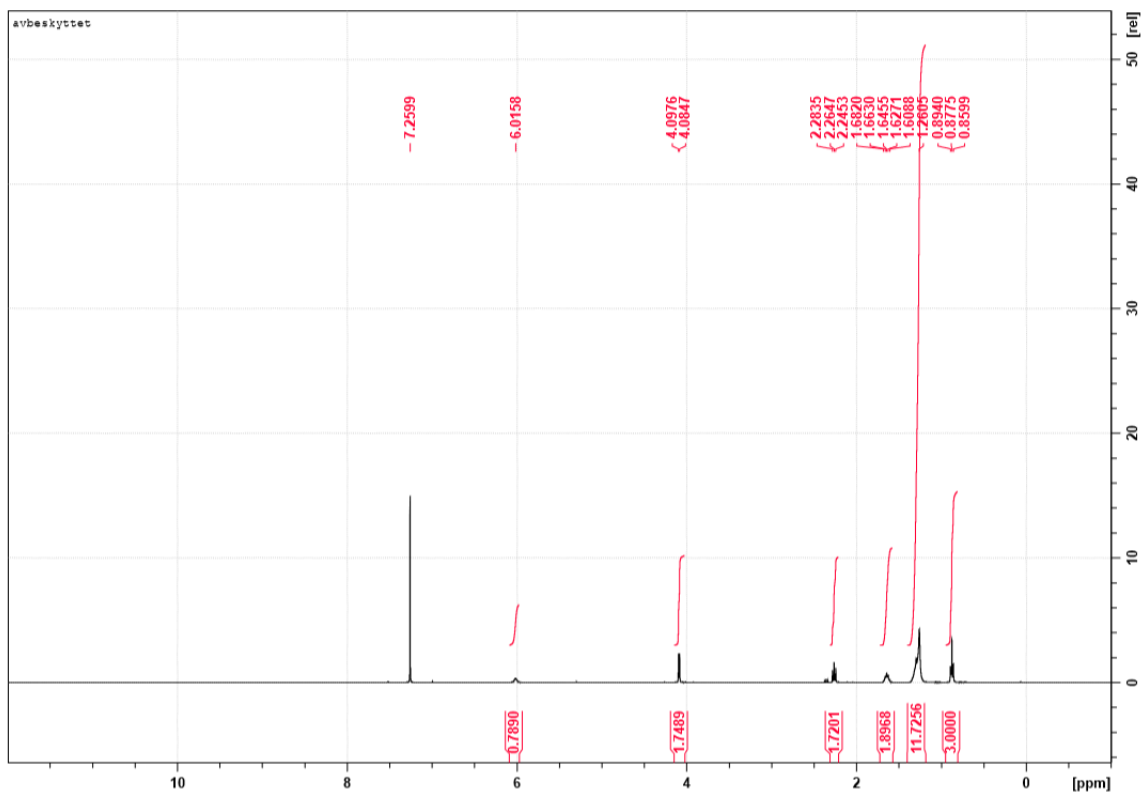
Utbytte: 51 %

Data:

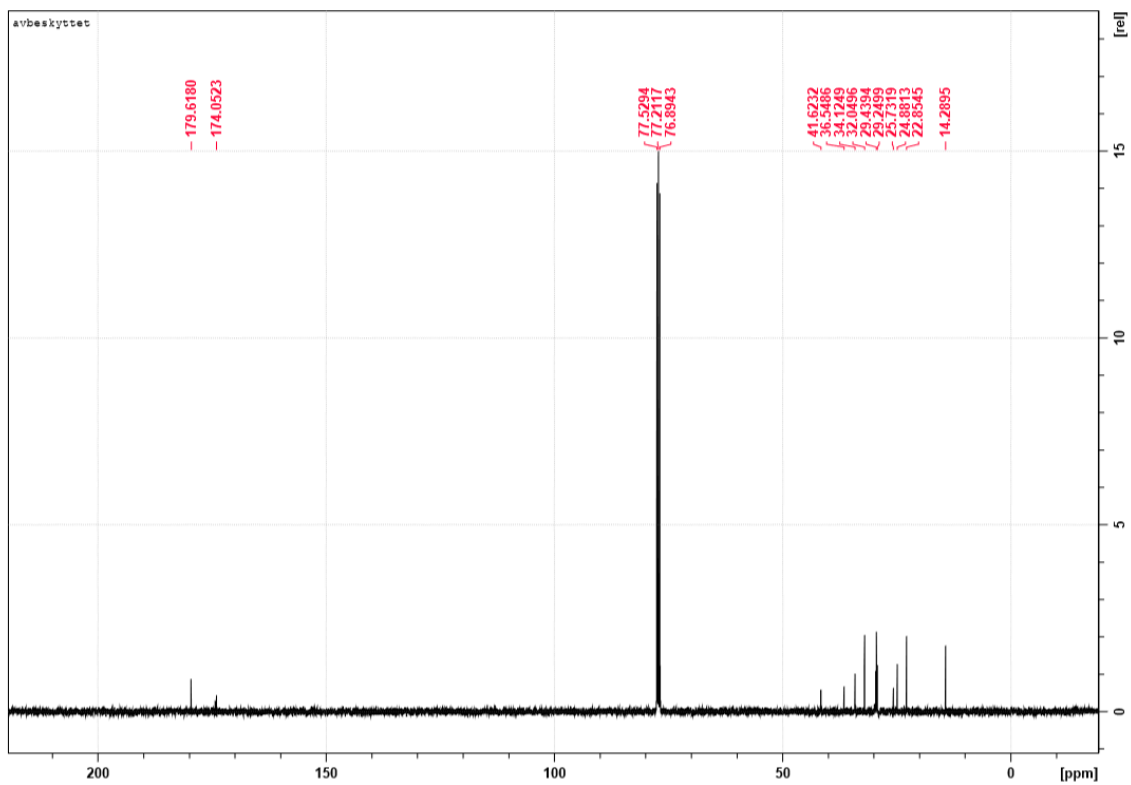
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 6,02 (s, 1H), δ 4,09 (d, J = 5,2 Hz, 2H), δ 2,26 (t, J = 15,3 Hz, 2H), δ 1,65 (p, J = 14,4 Hz, 2H), δ 1,26 (m/s, 12H), δ 0,88 (t, J = 6,8 Hz, 3H)

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 179,62 (C), δ 174,05 (C), δ 41,62 (CH₂), δ 36,55 (CH₂), δ 34,14 (CH₂), δ 32,05 (CH₂), δ 29,44 (CH₂), δ 29,25 (CH₂), δ 25,73 (CH₂), δ 24,88 (CH₂), δ 22,85 (CH₂), 14,29 (CH₃).

HR-MS: Funnet masse: 229,1693. Beregnet masse: 243,1678.



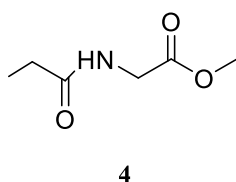
Spekter 5 – $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) spekter av forbindelse 3.



Spekter 6 - $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) spekter av forbindelse 3.

4.4.4 Syntese av metyl-*N*-propanoylglysinat

Forbindelse **4** ble laget fra propansyre (79 mg, 1,1 mmol), amin **1** (281 mg, 2,2 mmol) og CDI (286 mg, 1,8 mmol) i henhold til generell prosedyre for amidkobling. Aminet ble tilsatt som en løsning i CH₂Cl₂ tilsatt imidazol (755 mg, 11,1 mmol). Etylacetat (3x10 mL) ble benyttet i stedet for CH₂Cl₂ til ekstraksjon fra vannfasen. Produktet ble rensset kromatografisk og eluert med 25 % etylacetat i heksan.



Utbytte: 93 %

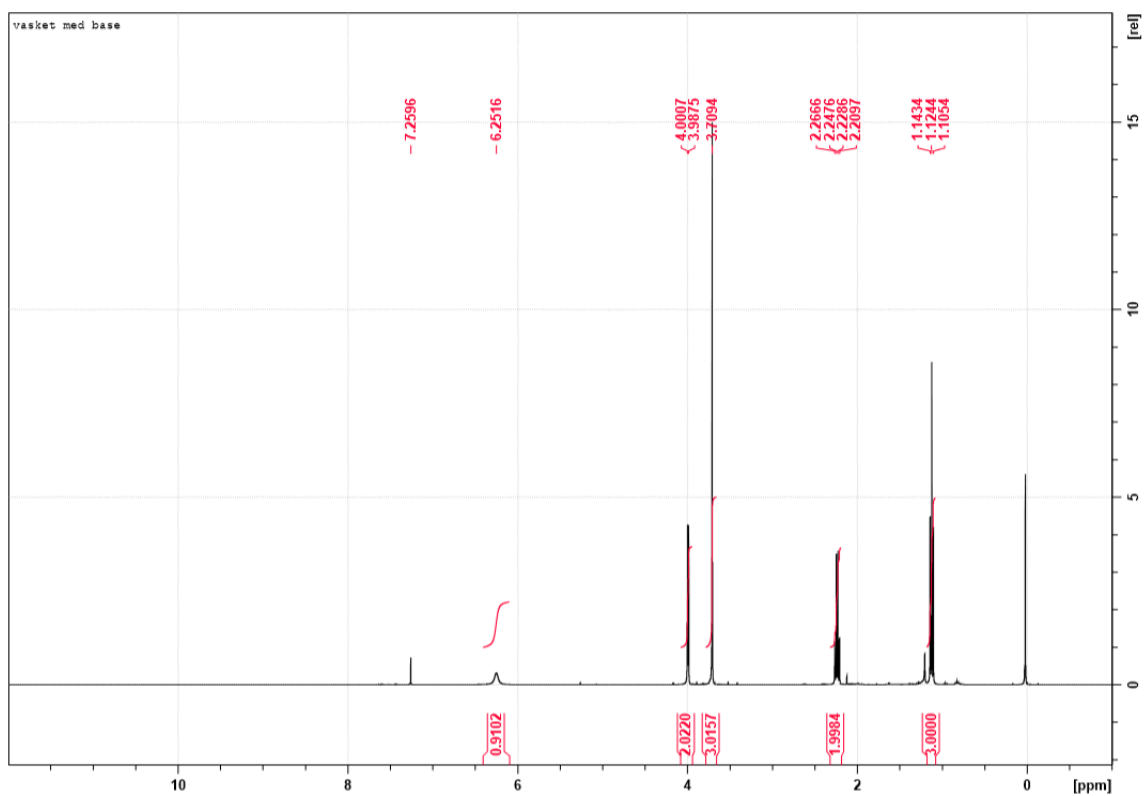
Data:

R_f: 0,14 (50 % etylacetat i heksan)

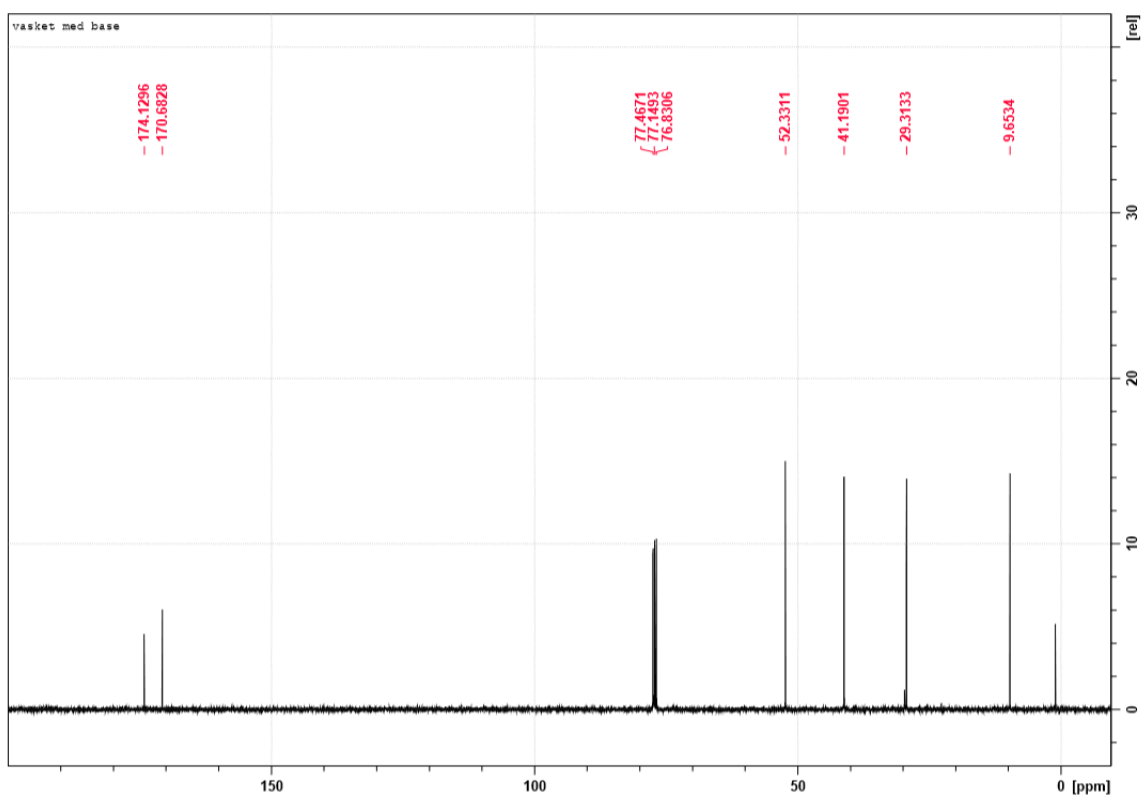
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 6,25 (s, 1H), δ 4,00 (d, *J* = 5,3 Hz, 2H), δ 3,70 (s, 3H), δ 2,24 (q, *J* = 7,6 Hz, 2H), δ 1,12 (t, *J* = 7,6 Hz, 3H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 174,13 (C), δ 170,68 (C), δ 52,33 (CH₃), δ 41,19 (CH₂), δ 29,31 (CH₂), δ 9,65 (CH₃).

HR-MS: Forbindelsen er kjent. ⁵⁰



Spekter 7 – $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) spekter av forbindelse 4.

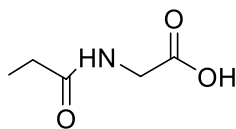


Spekter 8 - $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) spekter av forbindelse 4.

4.4.5 Forsøk på syntese av *N*-propanoylglysin

Forbindelse **5** ble forsøkt dannet i henhold til generell prosedyre for hydrolyse av amid **4** (33 mg, 0,23 mmol) med LiOH x H₂O (55 mg, 1,3 mmol) i 4 mL etanol/H₂O (1:1). Amidet ble ekstrahert med etylacetat (3x10 mL) i stedet for heksan.

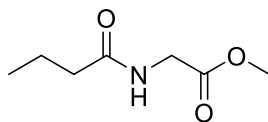
Det ble ikke oppnådd rent produkt, men en blanding av ureagert utgangsstoff og amid **5**.



5

4.4.6 Syntese av metyl-*N*-butanoylglysinat

Forbindelse **6** ble laget fra butansyre (176 mg, 2,0 mmol), amin **1** (757 mg, 6,0 mmol) og CDI (490 mg, 3,0 mmol) i henhold til generell prosedyre for amidkobling. Aminet ble tilsatt som en løsning i CH₂Cl₂ tilsatt imidazol (1,3 g, 19,1 mmol). Etylacetat (3x10 mL) ble benyttet i stedet for CH₂Cl₂ til ekstraksjon fra vannfasen. Produktet ble renset kromatografisk og eluert med 25 % etylacetat i heksan.



6

Utbytte: > 96 %

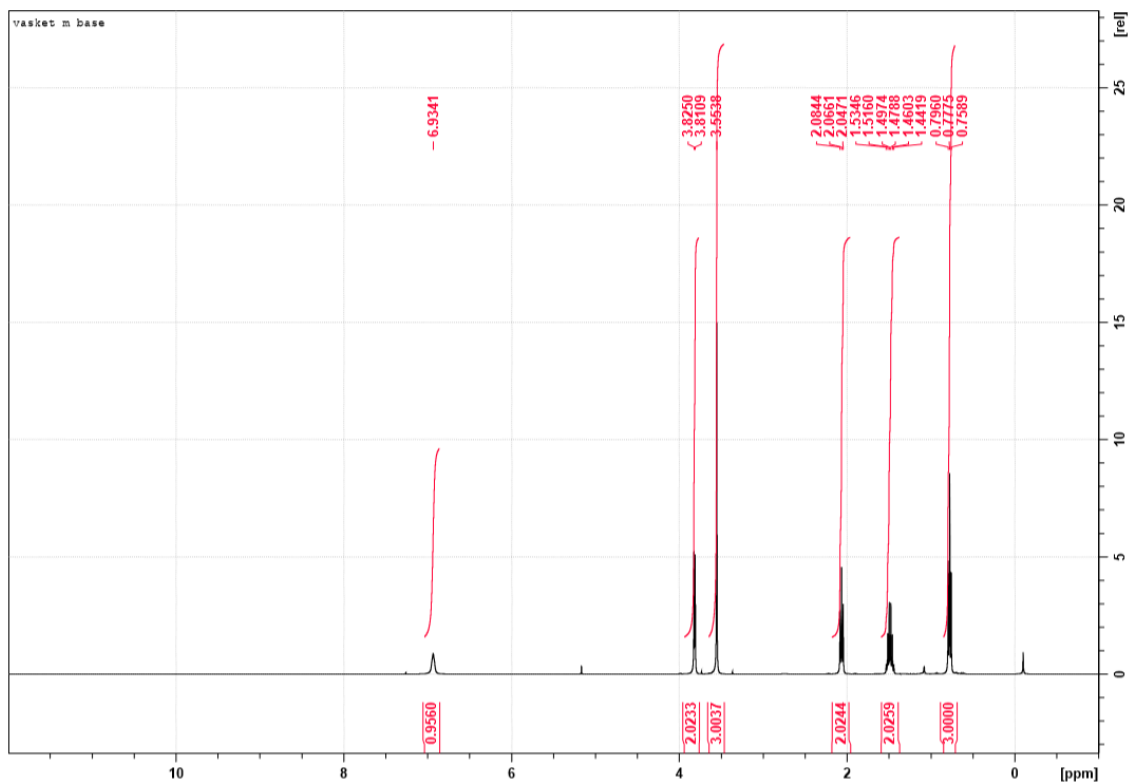
Data:

R_f: 0,34 (75 % etylacetat i heksan)

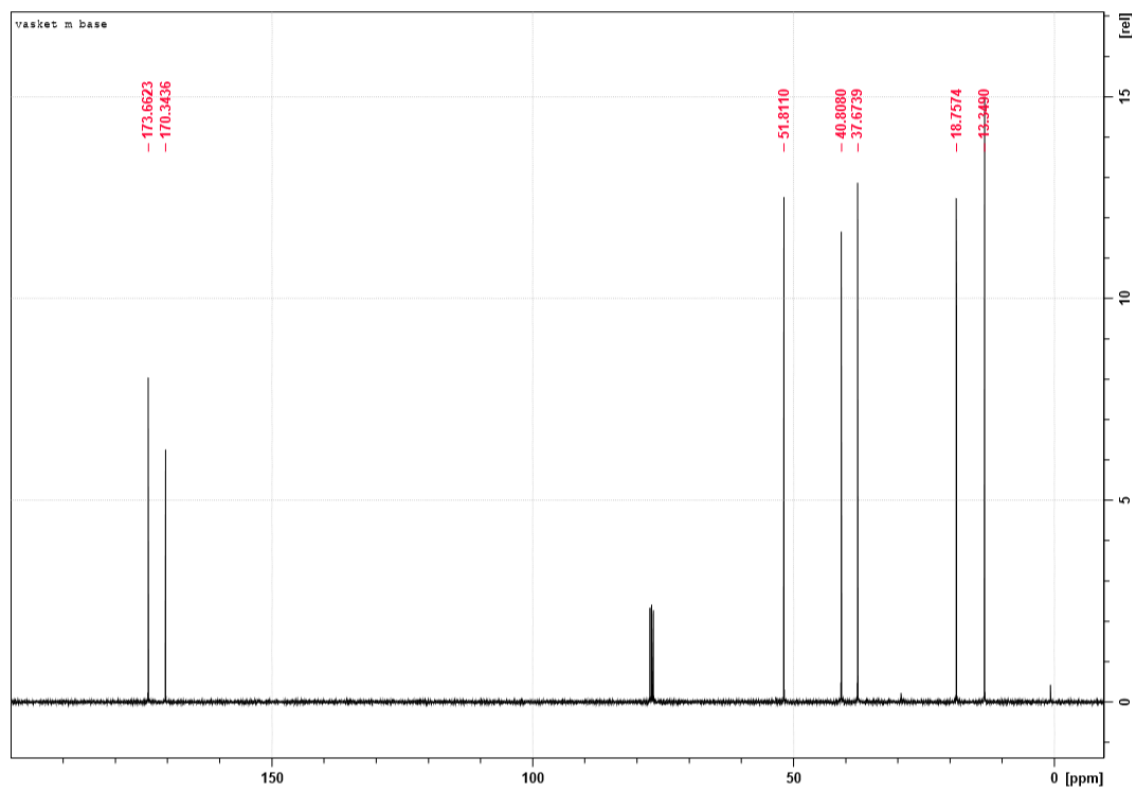
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 6,93 (s, 1H), δ 3,82 (d, *J* = 5,6 Hz, 2H), δ 3,55 (s, 3H), δ 2,07 (t, *J* = 14,9 Hz, 2H), δ 1,49 (m, 2H), δ 0,78 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 173,66 (C), δ 170,34 (C), δ 51,81 (CH₃), δ 40,80 (CH₂), δ 37,67 (CH₂), δ 18,76 (CH₂), δ 13,35 (CH₃).

HR-MS: Funnet masse: 159,0903. Beregnet masse: 159,0895.



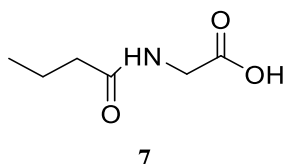
Spekter 9 – ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) spekter av forbindelse 6.



Spekter 10 – ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) spekter av forbindelse 6.

4.4.7 Syntese av *N*-butanoylglysin

Forbindelse **7** ble laget i henhold til generell prosedyre for hydrolyse av amid **6** (100 mg, 0,7 mmol) med LiOH x H₂O (150 mg, 3,6 mmol) i 8 mL etanol/H₂O (1:1). Amidet ble ekstrahert med etylacetat (4x10 mL) i tillegg til heksan (2x10 mL).



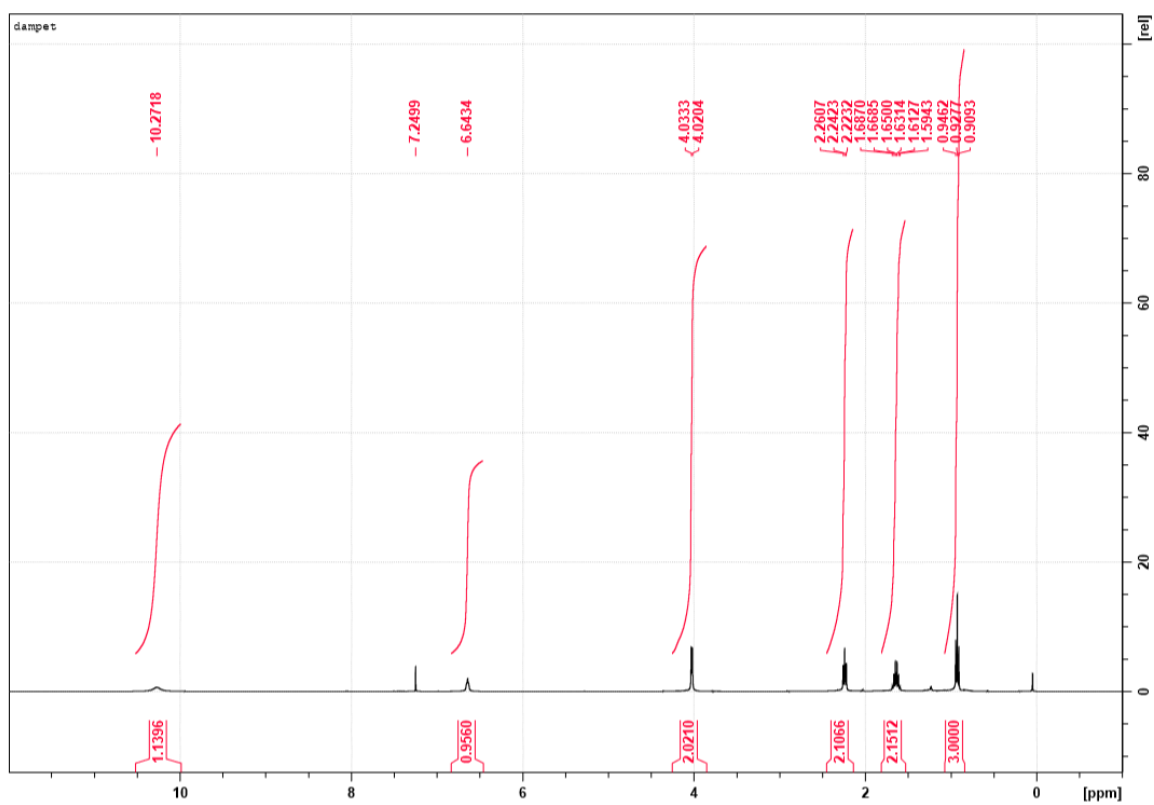
Utbytte: 54 %

Data:

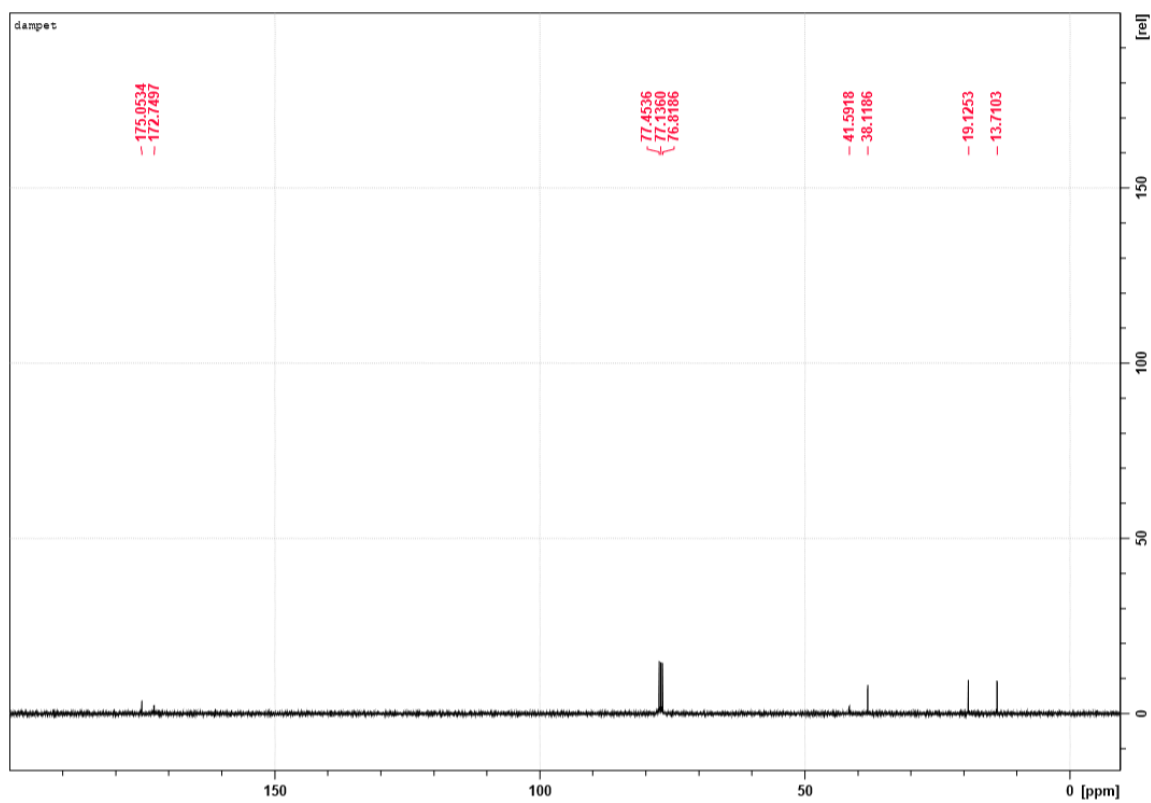
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 10,27 (s, 1H), δ 6,64 (s, 1H), δ 4,02 (d, *J* = 5,2 Hz, H), δ 2,24 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H), δ 1,64 (m, 2H), δ 0,93 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 175,05 (C), δ 172,75 (C), δ 41,59 (CH₂), δ 38,12 (CH₂), δ 19,13 (CH₂), δ 13,71 (CH₃).

HR-MS: Funnet masse: 145,0737. Beregnet masse: 145,0739.



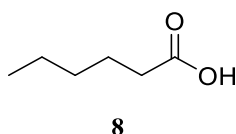
Spekter 11 – ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) spekter av forbindelse 7.



Spekter 12 - ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) spekter av forbindelse 7.

4.4.8 Syntese av heksansyre

Forbindelse **8** ble laget ved oksidering av heksanol. Svovelsyre (5 mL, 93 mmol) ble tilsatt 40 mL vann under røring ved 0°C. Heksanol (4,9 mL, 39 mmol) ble tilsatt ved romtemperatur og deretter tilsatt kaliumpermanganat (14 g, 89 mmol) gradvis over 30 minutter under kraftig røring. Løsningen ble satt til reflux ved 40°C i én time før 39 % natriumbisulfitt ble tilsatt til løsningen ble fargeløs. Fasene ble separert og vannfasen ble ekstrahert med 50 mL dietyleter. Den organiske fasen ble deretter ekstrahert tilbake til vannfasen med 5 M NaOH (20 mL). Vannfasen vaskes med 25 mL dietyleter og surgjort til pH < 2 med 37 % HCl. Produktet ble separert fra vannfasen som videre ble ekstrahert med dietyleter (2x15 mL). De samlede organiske fasene ble tørket med Na₂SO₄ i 30 minutter og dampet inn på rotavapor. Produktet ble rensset kromatografisk og eluert med 25 % etylacetat i heksan.



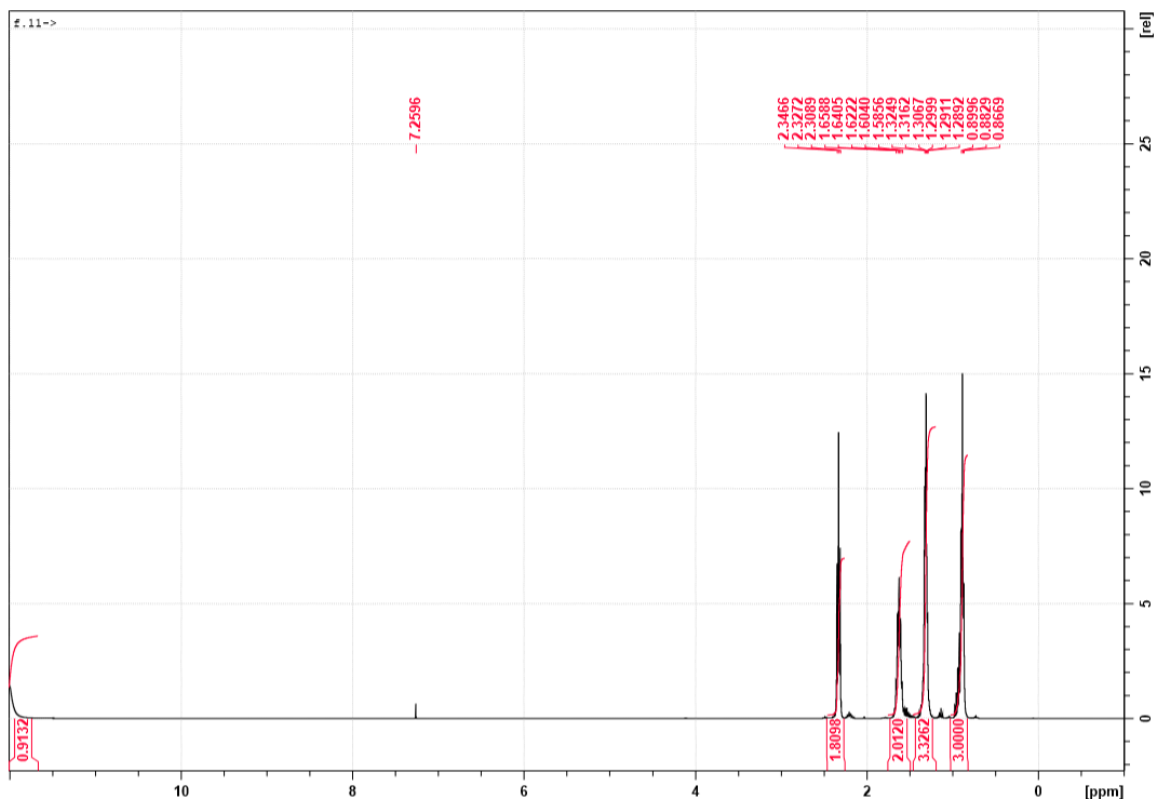
Utbytte: 73 %

Data:

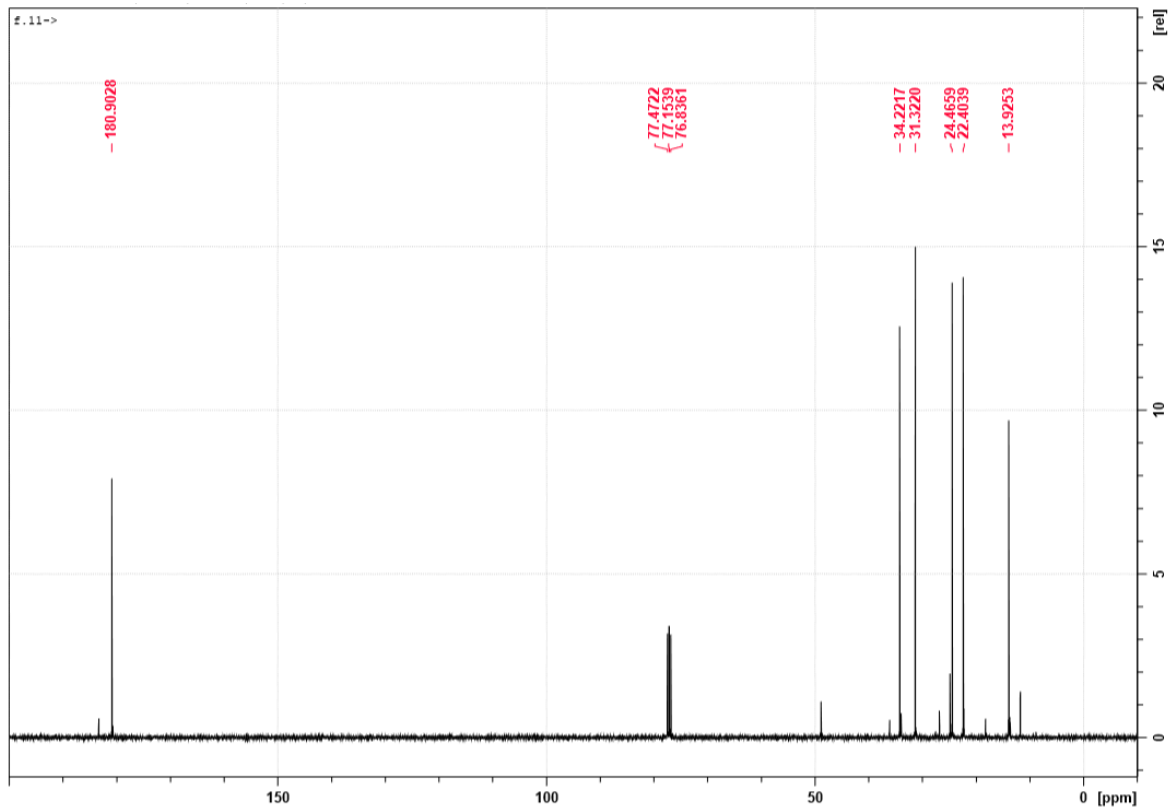
R_f: 0,71 (25 % etylacetat i heksan)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 12,0 (s, 1H), δ 2,33 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H), δ 1,62 (p, *J* = 14,6 Hz, 2H), δ 1,32 (m, 4H), δ 0,88 (t, *J* = 6,5 Hz, 3H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 180,90 (C), δ 34,22 (CH₂), δ 31,32 (CH₂), δ 24,47 (CH₂), δ 22,40 (CH₂), δ 13,93 (CH₃).



Spekter 13 – ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) spekter av forbindelse 8.

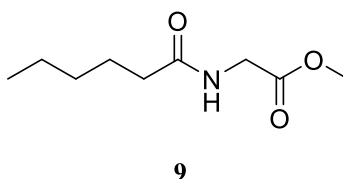


Spekter 14 - ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) spekter av forbindelse 8.

4.4.9 Syntese av metyl-*N*-heksanoylglysinat

Forbindelse **9** ble laget med heksansyre (**8**, 109 mg, 0,9 mmol), amin **1** (178 mg, 1,4 mmol) og CDI (233 mg, 1,4 mmol) i henhold til generell prosedyre for amidkobling. Aminet ble tilsatt som en løsning i CH₂Cl₂ tilsatt imidazol (292 mg, 4,3 mmol).

Produktet ble løst i 20 mL CH₂Cl₂ og vasket med 10 % NaOH (3x10 mL) for å bli kvitt rester av heksansyre. Den organiske fasen ble tørket med Na₂SO₄ og dampet inn på rotavapor.



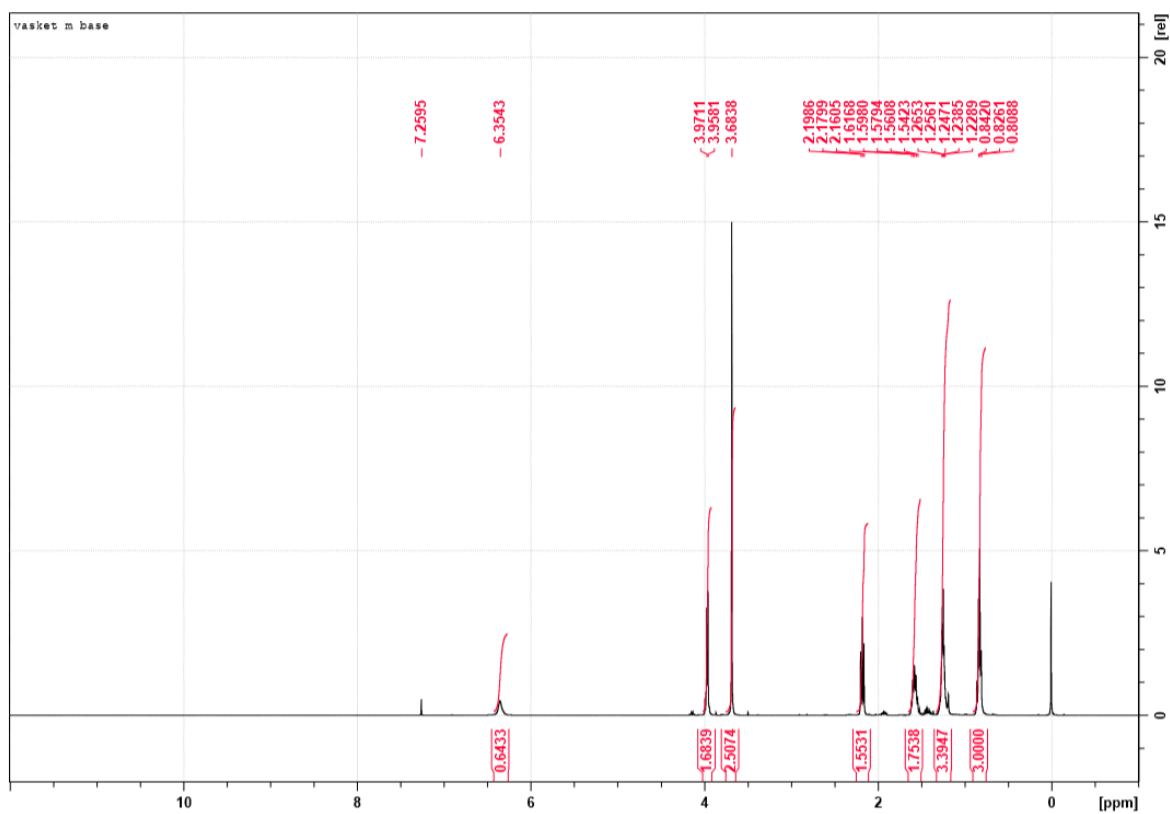
Utbytte: 53 %

Data:

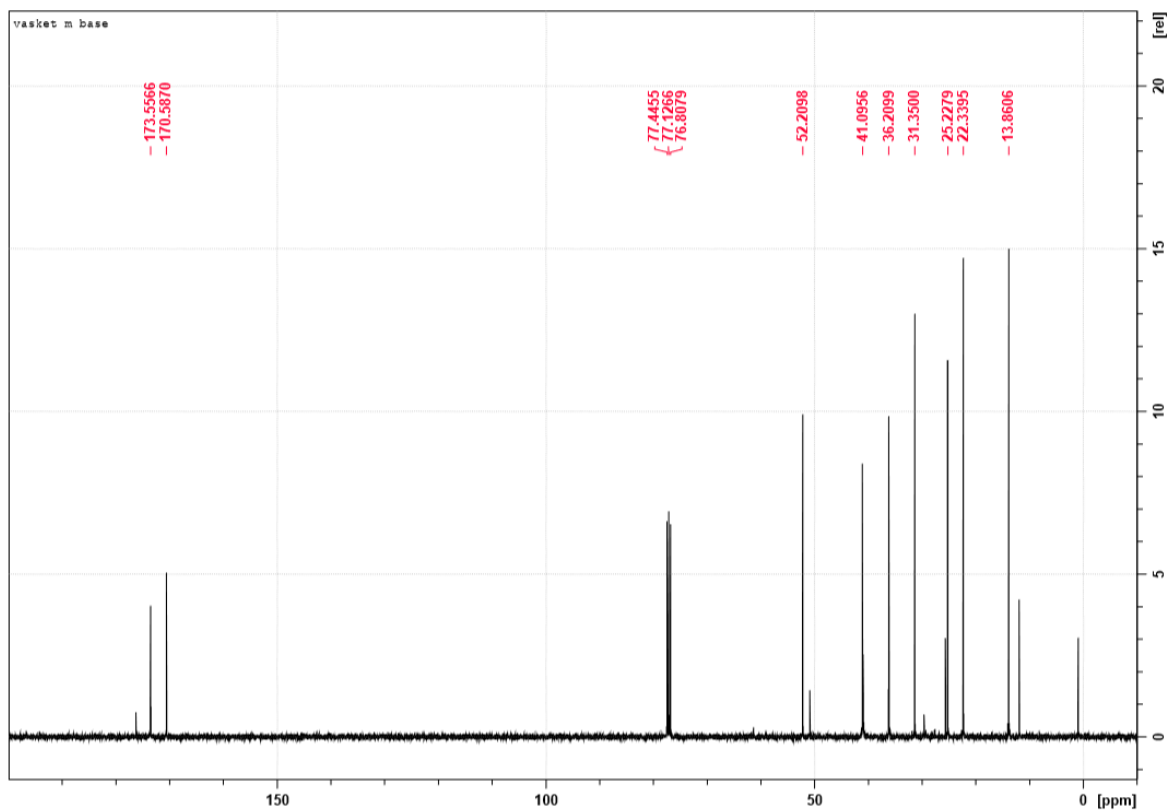
R_f: 0,25 (50 % etylacetat i heksan)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 6,35 (s, 1H), δ 3,96 (d, *J* = 5,2 Hz, 2H), δ 3,68 (s, 3H), δ 2,18 (t, *J* = 15,2 Hz, 2H), δ 1,58 (t, *J* = 14,9 Hz, 2H), δ 1,25 (m, 4H), δ 0,83 (t, *J* = 6,6 Hz, 3H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 173,56 (C), δ 170,59 (C), δ 52,21 (CH₃), δ 41,10 (CH₂), δ 36,21 (CH₂), δ 31,35 (CH₂), δ 25,23 (CH₂), δ 22,34 (CH₂), δ 13,86 (CH₃).



Spekter 15 – $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) spekter av forbindelse 9.

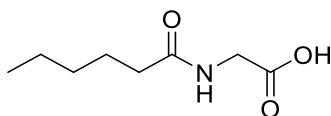


Spekter 16 - $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) spekter av forbindelse 9.

4.4.10 Forsøk på syntese av *N*-heksanoylglysin

Forbindelse **10** ble forsøkt dannet i henhold til generell prosedyre for hydrolyse av amid **9** (86 mg, 0,5 mmol) med LiOH x H₂O (99 mg, 2,3 mmol) i 8 mL etanol/H₂O (1:1). Amidet ble ekstrahert med 75 % etylacetat i heksan (3x10 mL).

Det ble ikke oppnådd rent produkt, men en blanding av ureagert utgangsstoff og amid **10**.



10

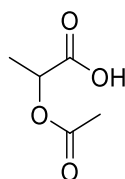
Data:

HR-MS: Forbindelsen er kjent. ⁵¹

4.4.11 Syntese av 2-acetoksypropansyre

Forbindelse **11** ble laget ved å løse melkesyre (1,27 g, 14,1 mmol) i 2 mL THF under røring ved romtemperatur. Acetylklorid (4 mL, 56,3 mmol) ble tilsatt og løsningen ble satt til røring i > 2 timer og fulgt på TLC. Løsemiddel ble dampet bort på rotavapor og NMR-spektre ble tatt opp. Spektrene viste at produktet inneholdt rester av ubeskyttet melkesyre.

Produktet ble derfor destillert (117 °C), deretter renset kromatografisk og eluert med CHCl₃/metanol (50:1) for å fjerne restene av melkesyre.



11

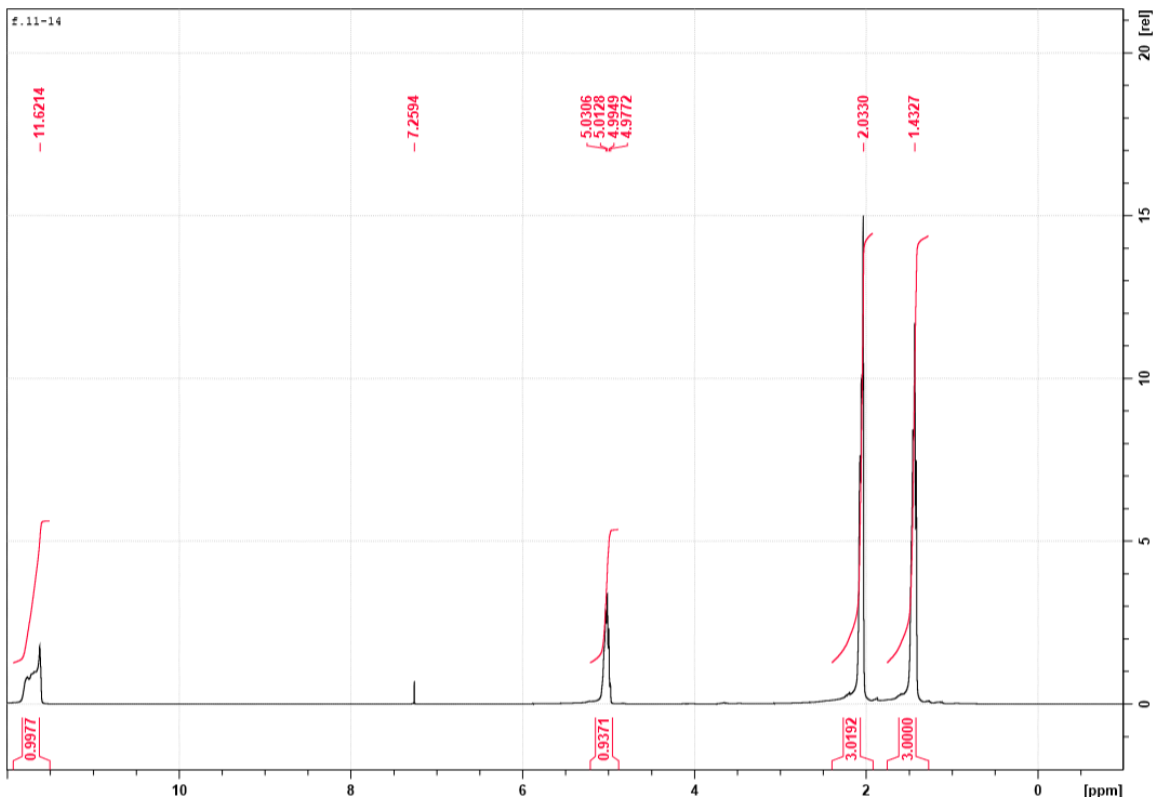
Utbytte: 29 %

Data:

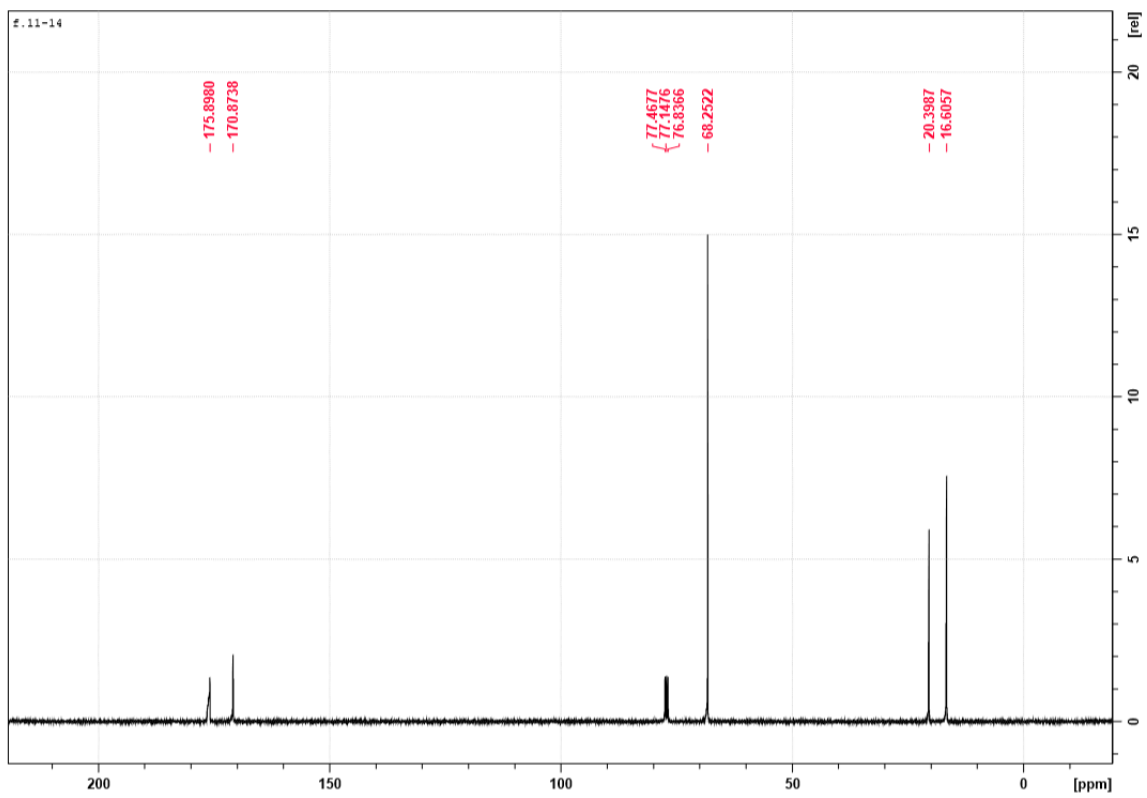
R_f: 0,33 (50 % etylacetat i heksan)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 11,62 (s, 1H), δ 5,02 (m, 1H), δ 2,03 (s, 3H), δ 1,43 (s, 3H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 175,90 (C), δ 170,87 (C), δ 68,25 (CH), δ 20,40 (CH₃),
δ 16,61 (CH₃).



Spekter 17 – ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) spekter av forbindelse 11.

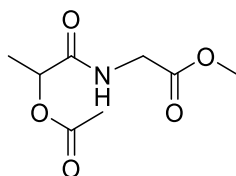


Spekter 18 - ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) spekter av forbindelse 11.

4.4.12 Forsøk på syntese av metyl-*N*-(2-acetoksypropanoyl)glysinat

Forbindelse **12** ble forsøkt dannet med fettsyre **11** (256 mg, 1,9 mmol), amin **1** og CDI (478 mg, 2,9 mmol) i henhold til generell prosedyre for amidkobling. Amin **1** ble fribaset i 4.4.2 med KOH (aq). På grunn av lavt utbytte ble kun 1,3 mmol metylglysinat (115 mg) tilsatt. Aminet ble tilsatt som en løsning i CH₂Cl₂.

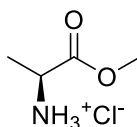
Denne reaksjonen gikk ikke.



12

4.4.13 Syntese av metyl-*L*-alaninat

L-alanin (995 mg, 11,2 mmol) ble løst i 40 mL metanol og tilsatt dråpevis SOCl₂ (2,4 mL, 33,6 mmol) ved 0 °C. Deretter ble løsningen satt til reflux ved 60°C i 4 timer. Prøven ble fulgt på TLC og dampet inn på rotavapor. Aminet fribases som en del av amidkoblingen da saltet har høyere stabilitet enn fribaset metyl-*L*-alaninat.



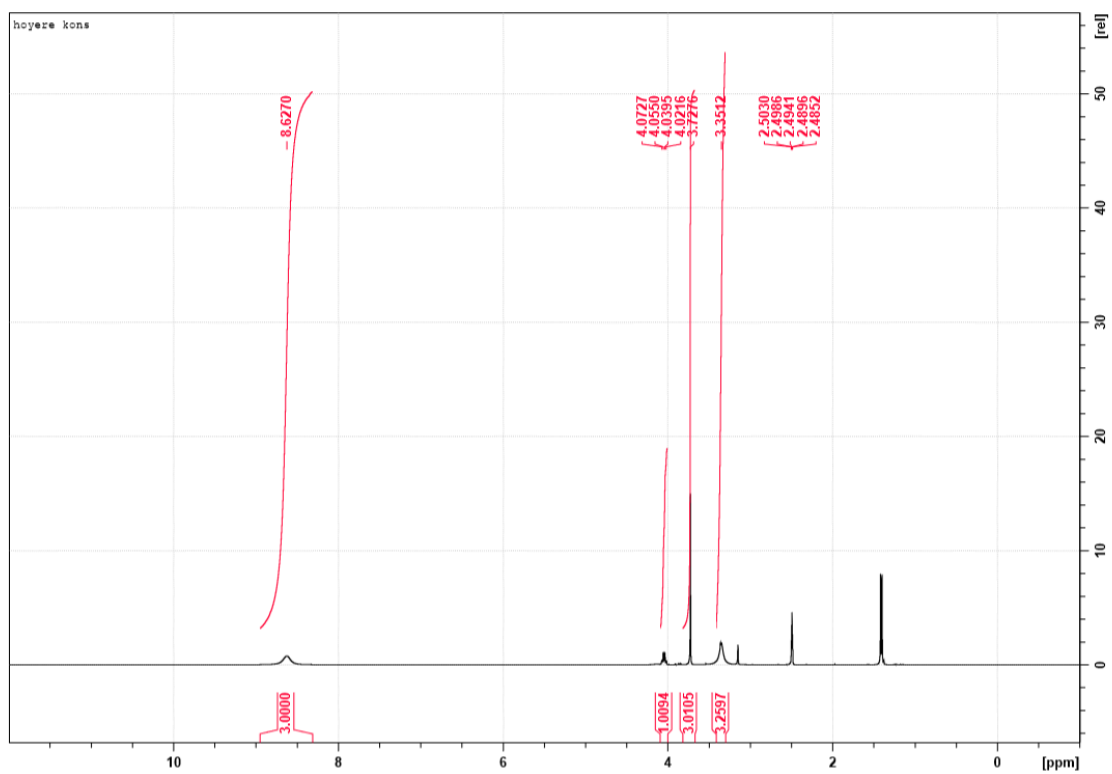
13

Utbytte: > 96 %

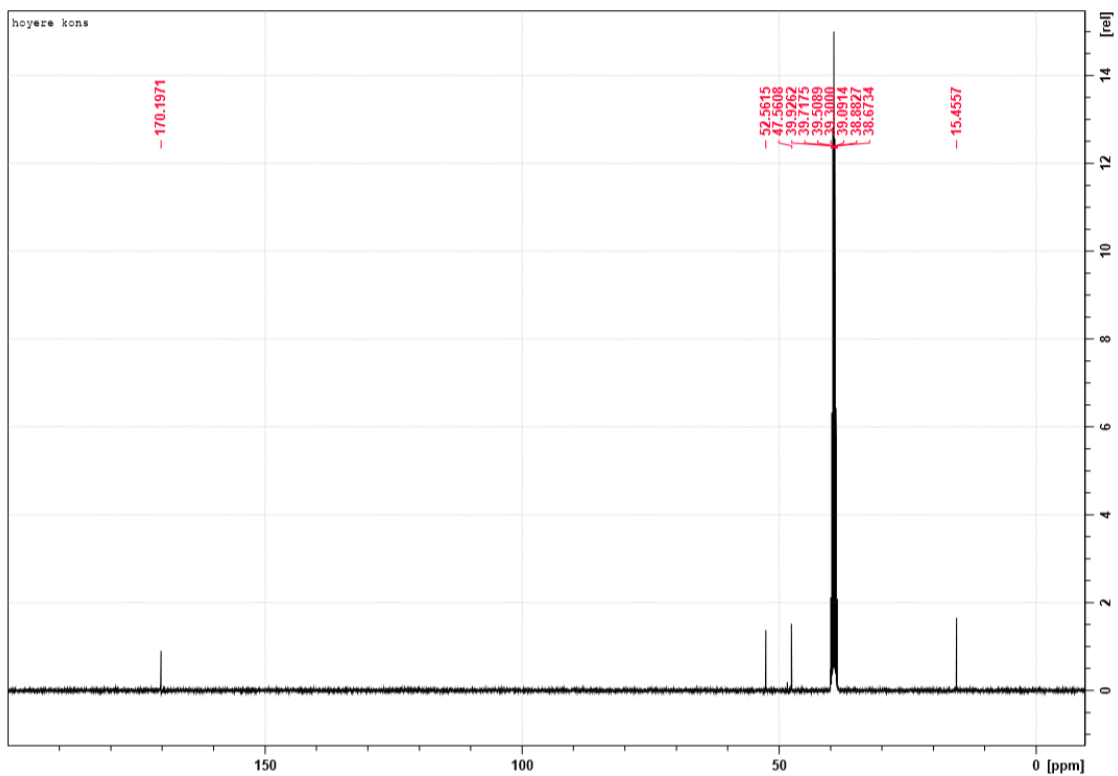
Data:

¹H-NMR (400 MHz, DMSO): δ 8,63 (s, 3H), δ 4,05 (q, *J* = 6,2 Hz, 1H), δ 3,72 (s, 3H), δ 3,35 (s, 3H).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO): δ 170,20 (C), δ 52,56 (CH₃), δ 47,56 (CH), δ 15,46 (CH₃).



Spekter 19 – ^1H -NMR (400 MHz, DMSO) spekter av forbindelse 13.



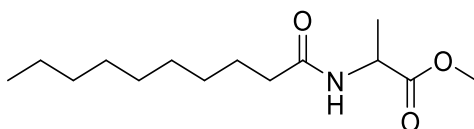
Spekter 20 - ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO) spekter av forbindelse 13.

4.4.14 Syntese av metyl-*N*-dekanoylalaninat

Forbindelse **14** ble laget fra dekansyre (177 mg, 1,0 mmol), amin **13** (420 mg, 3,0 mmol) og CDI (334 mg, 2,1 mmol) i henhold til generell prosedyre for amidkobling. Aminet ble tilsatt som en løsning i CH₂Cl₂ tilsatt imidazol (681 mg, 10,0 mmol). Amidet ble ekstrahert med etylacetat (3x10 mL) i stedet for CH₂Cl₂.

NMR-spektrene viste at produktet inneholdt imidazol og rester av ureagert dekansyre.

Produktet ble løst i 25 mL CH₂Cl₂, surgjort til pH < 2 og satt til røring i > 12 timer. Løsningen ble vasket med 10 % HCl (3x10 mL), deretter 10 % NaOH (3x10 mL), tørket med MgSO₄ og dampet inn på rotavapor.



14

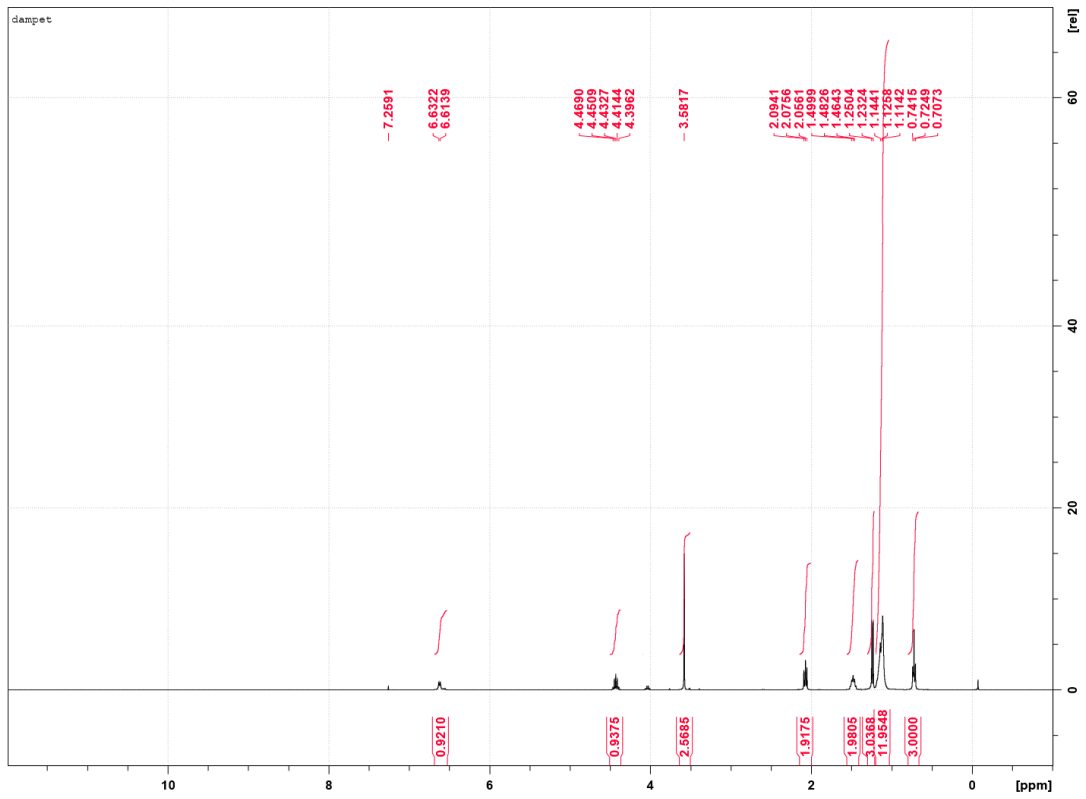
Utbytte: 79 %

Data:

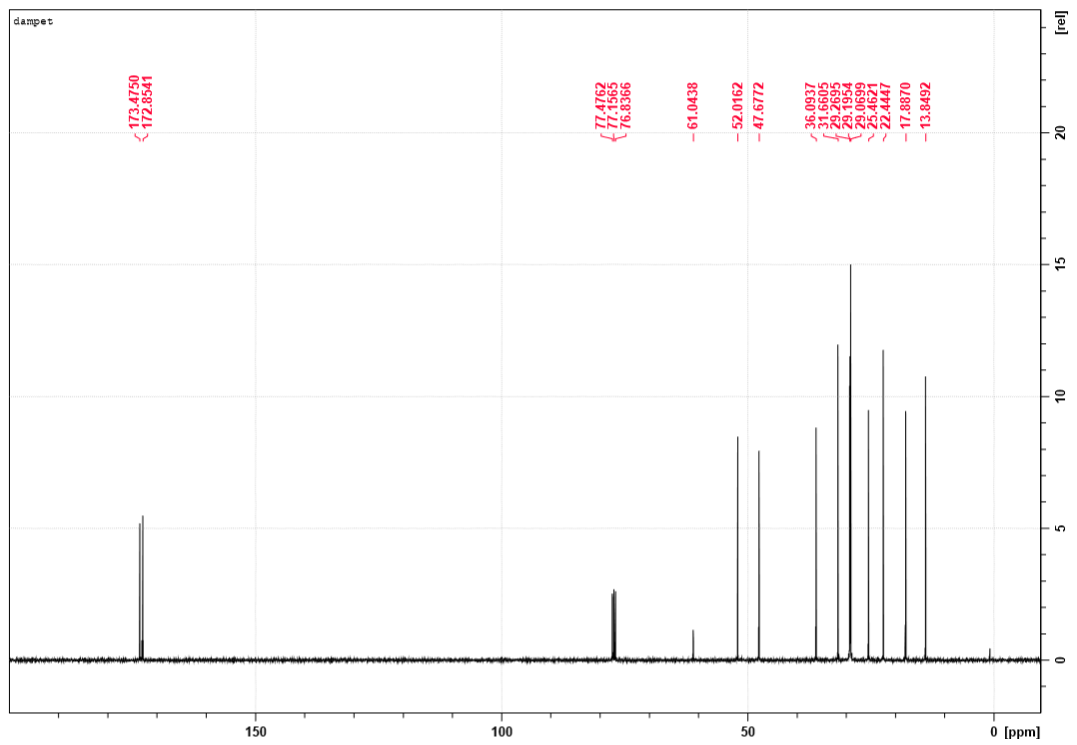
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 6,62 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H), δ 4,43 (m, 1H), δ 3,58 (s, 3H), δ 2,07 (t, *J* = 15,2 Hz, 2H), δ 1,48 (m, 2H), δ 1,24 (d, *J* = 7,2 Hz, 3H), δ 1,11 (s, 12H), δ 0,72 (t, *J* = 6,8 Hz, 3H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 173,30 (C), δ 172,67 (C), δ 51,84 (CH₃), δ 47,50 (CH), δ 35,91, δ 31,48, δ 29,09, δ 29,02, δ 28,89, δ 25,28, δ 22,27 (CH₂ x 8), δ 17,71 (CH₃), δ 13,67 (CH₃).

HR-MS: Funnet masse: 257,2007. Beregnet masse: 257,1991.



Spekter 21 - $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) spekter av forbindelse **14**.

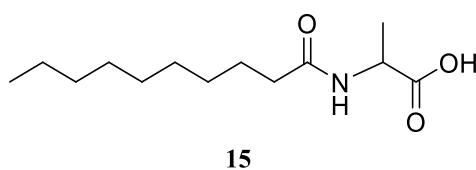


Spekter 22 - $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) spekter av forbindelse **14**.

4.4.15 Syntese av *N*-dekanoylalanin

Forbindelse **15** ble laget i henhold til generell prosedyre for hydrolyse av amid **14** (169 mg, 0,7 mmol) med LiOH x H₂O (139 mg, 3,3 mmol) i 4 mL etanol/H₂O (1:1). Amidet ble ekstrahert med etylacetat (3x10 mL) i stedet for heksan.

Spesifikk rotasjon ble bestemt med polarimeter ved å analysere 1 mL løsning av amidet i CHCl₃ (18,5 mg/mL).



Utbytte: 83 %

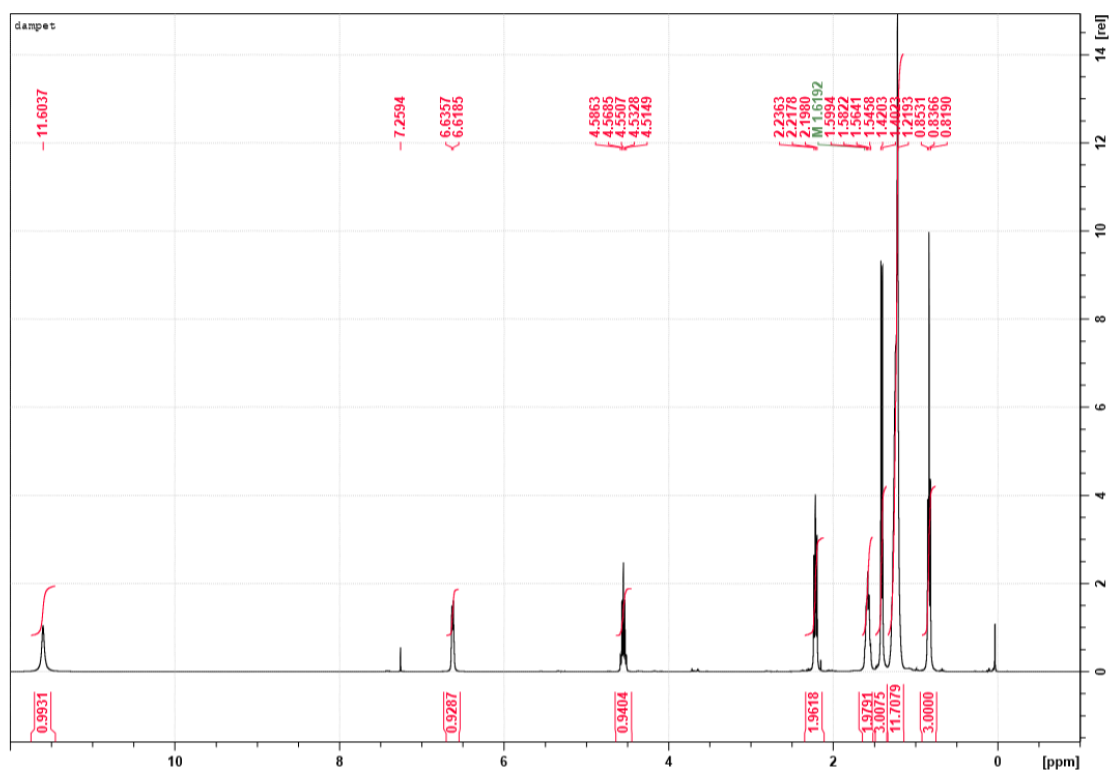
Data:

Spesifikk rotasjon: $[\alpha]_D^{20} = -2,43$

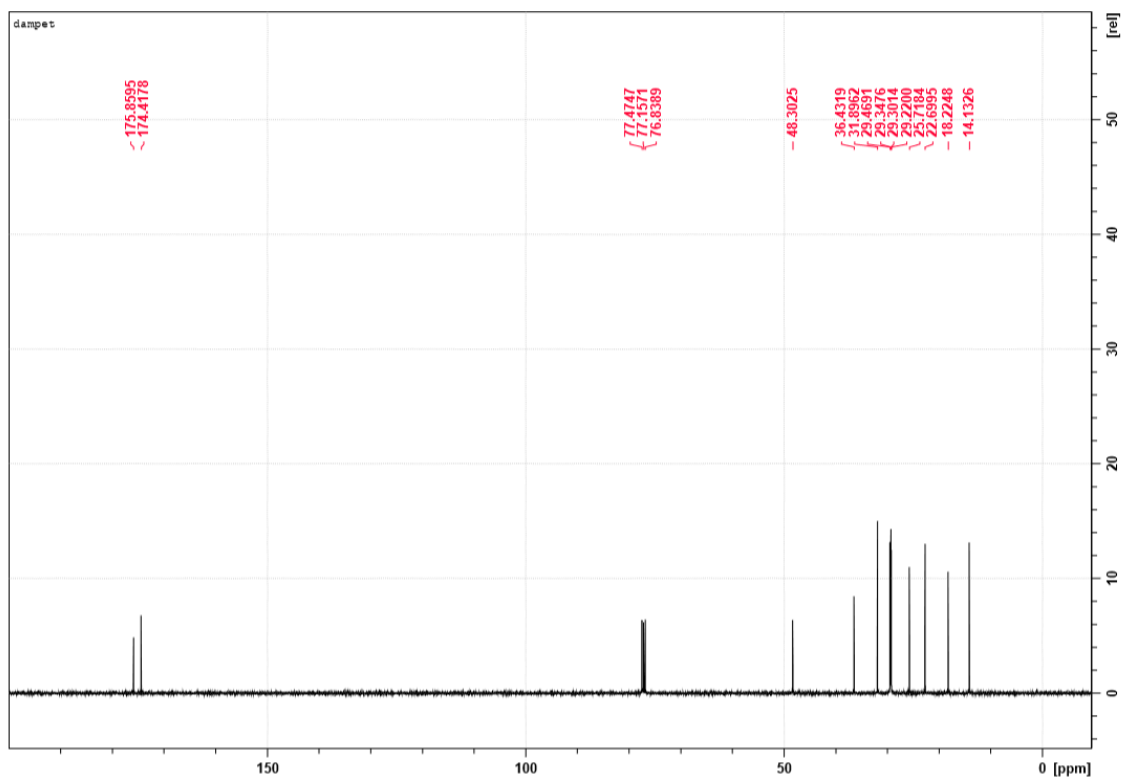
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 11,60 (s, 1H), δ 6,62 (d, *J* = 6,9 Hz, 1H), δ 4,55 (p, *J* = 14,3 Hz, 1H), δ 2,22 (t, *J* = 15,3 Hz, 2H), δ 1,58 (p, *J* = 14,1 Hz, 2H), δ 1,41 (d, *J* = 7,2 Hz, 3H), δ 1,22 (s, 12H), δ 0,84 (t, *J* = 6,8 Hz, 3H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 175,86 (C), δ 174,42 (C), δ 48,30 (CH), δ 36,43 (CH₂), δ 31,90 (CH₂), δ 29,47 (CH₂), δ 29,35 (CH₂), δ 29,30 (CH₂), δ 29,22 (CH₂), δ 25,72 (CH₂), δ 22,70 (CH₂), δ 18,22 (CH₃), δ 14,13 (CH₃).

HR-MS: Funnet masse: 243,1819. Beregnet masse: 243,1821.



Spekter 23 – $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) spekter av forbindelse 15.

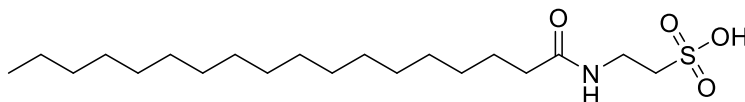


Spekter 24 – $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) spekter av forbindelse 15.

4.4.16 Forsøk på syntese av 2-stearamidoetan-1-sulfonsyre

Forbindelse **16** ble forsøkt dannet med stearinsyre (292 mg, 1 mmol), taurin (142 mg, 1,1 mmol) og CDI (187, 1,2 mmol) i henhold til generell prosedyre for amidkobling. Fettsyren ble løst i 15 ml heksan/THF (2:1) i stedet for CH₂Cl₂.

Denne reaksjonen gikk ikke.



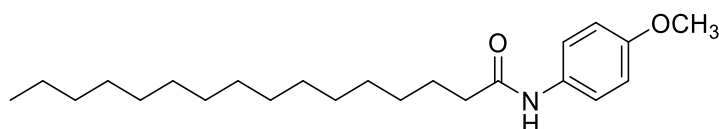
16

4.5 Syntese av paracetamidderivater

4.5.1 Syntese av *N*-(4-metoksyfenyl)heksadekanamid

Forbindelse **17** ble laget med palmesyre (367 mg, 1,4 mmol), 4-metoksyanilin (194 mg, 1,6 mmol) og CDI (255 mg, 1,6 mmol) i henhold til prosedyre for amidkobling. Fettsyren ble løst i 10 mL heksan i tillegg til 5 mL CH₂Cl₂.

Amidet ble rensed kromatografisk og eluert med 20 % etylacetat i heksan.



17

Utbytte: 62 %

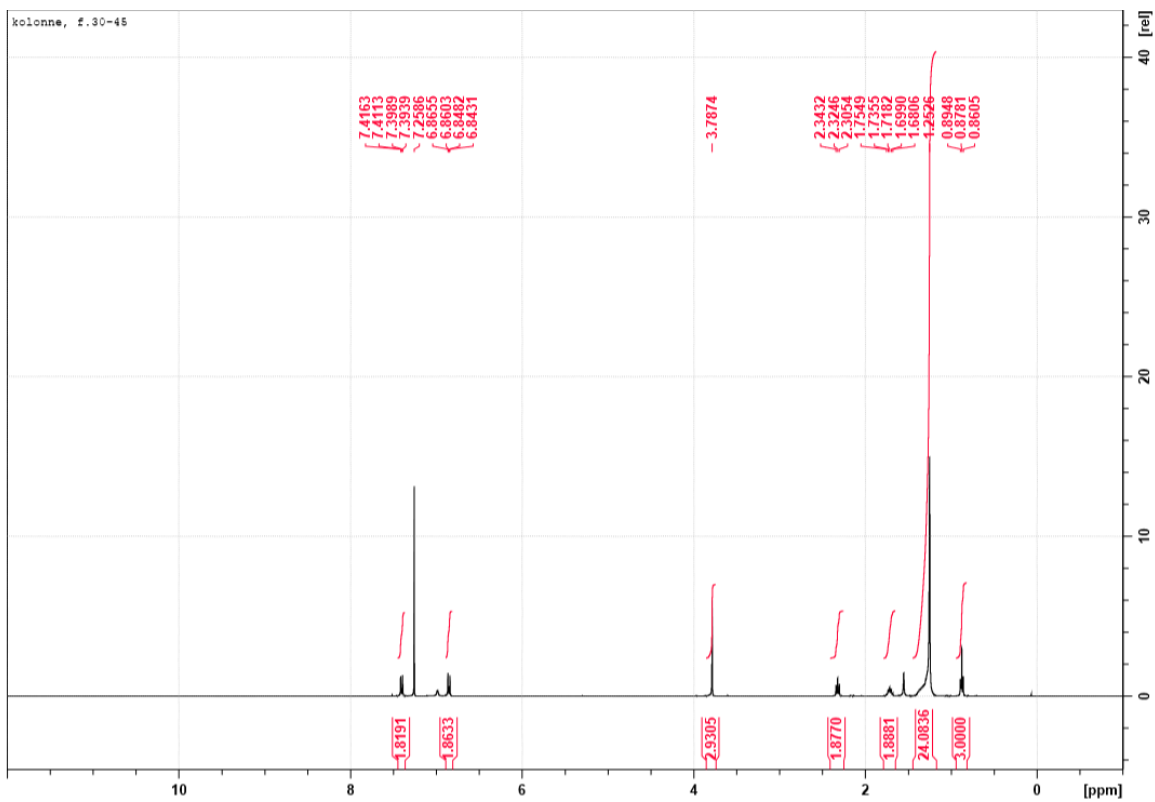
Data:

R_f: 0,61 (50 % etylacetat i heksan)

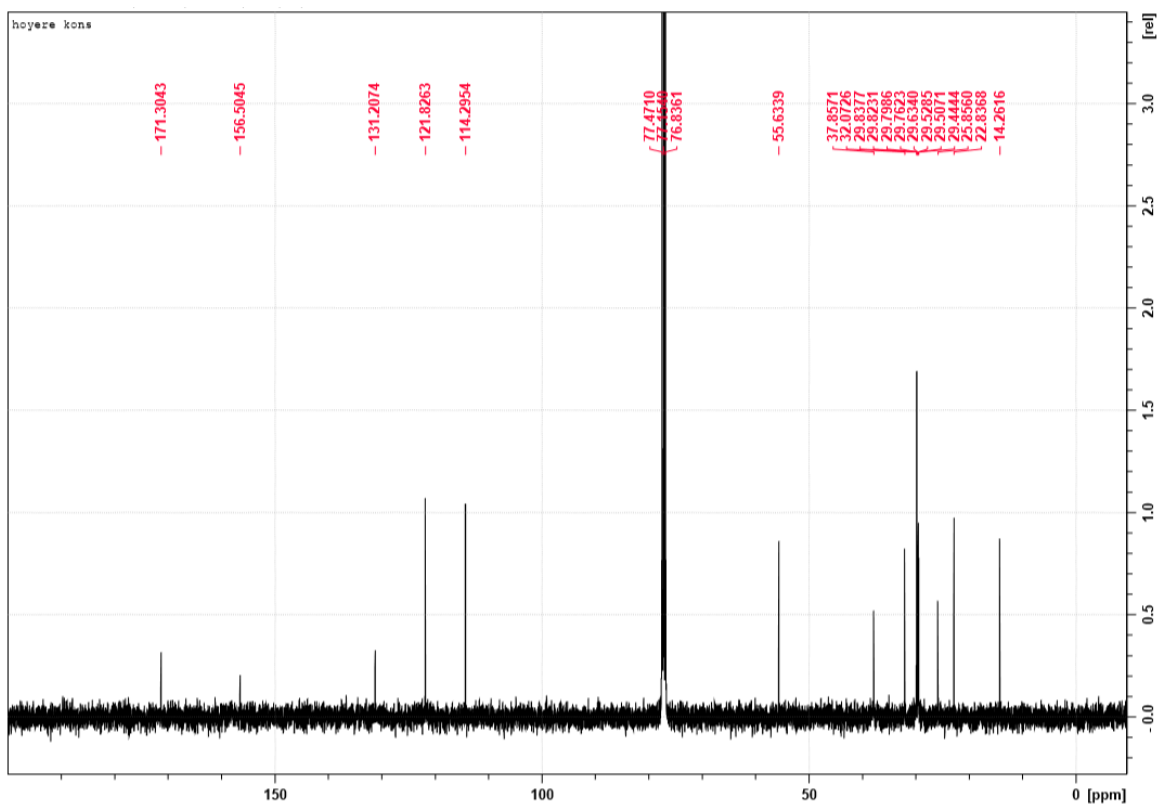
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,41 (dd, *J*₁ = 9,0 Hz & *J*₂ = 5,0 Hz, 2H), δ 6,85 (dd, *J*₁ = 9,0 Hz & *J*₂ = 4,8 Hz, 2H), δ 3,78 (s, 3H), δ 2,32 (t, *J* = 15,1 Hz, 2H), δ 1,72 (p, *J* = 14,6 Hz, 2H), δ 1,25 (s, 24H), δ 0,88 (t, *J* = 13,7 Hz, 3H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 171,30 (C), δ 156,50 (C), δ 131,20 (C), δ 121,83 (CH_x2), δ 114,30 (CH_x2), δ 55,63 (CH₃), δ 37,86 (CH₂), δ 32,07 (CH₂), δ 29,84 (CH₂), δ 29,82 (CH₂), δ 29,80 (CH₂), δ 29,76 (CH₂), δ 29,63 (CH₂), δ 29,53 (CH₂), δ 29,50 (CH₂), δ 29,44 (CH₂), δ 25,86 (CH₂), δ 22,84 (CH₂), δ 14,26 (CH₃).

HR-MS: Funnet masse: 361,2997. Beregnet masse: 361,2981.



Spekter 25 – $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) spekter av forbindelse 17.

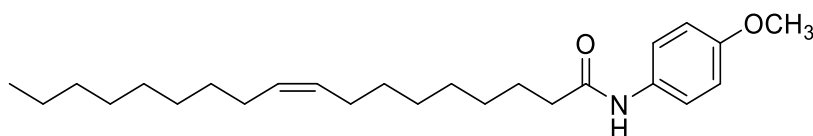


Spekter 26 - $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) spekter av forbindelse 17.

4.5.2 Syntese av (9Z)-N-(4-metoksyfenyl)-9-oktadekanamid

Forbindelse **18** ble laget fra oljesyre (303 mg, 1,1 mmol), 4-metoksyanilin (181 mg, 1,5 mmol) og CDI (212 mg, 1,3 mmol) i henhold til generell prosedyre for amidkobling.

Amidet ble rensset kromatografisk og eluert med 10 % etylacetat i heksan.



18

Utbytte: 41 %

Det ble også testet ut THF som løsemiddel. Dette ga økt utbytte i forhold til CH₂Cl₂, før opprensning.

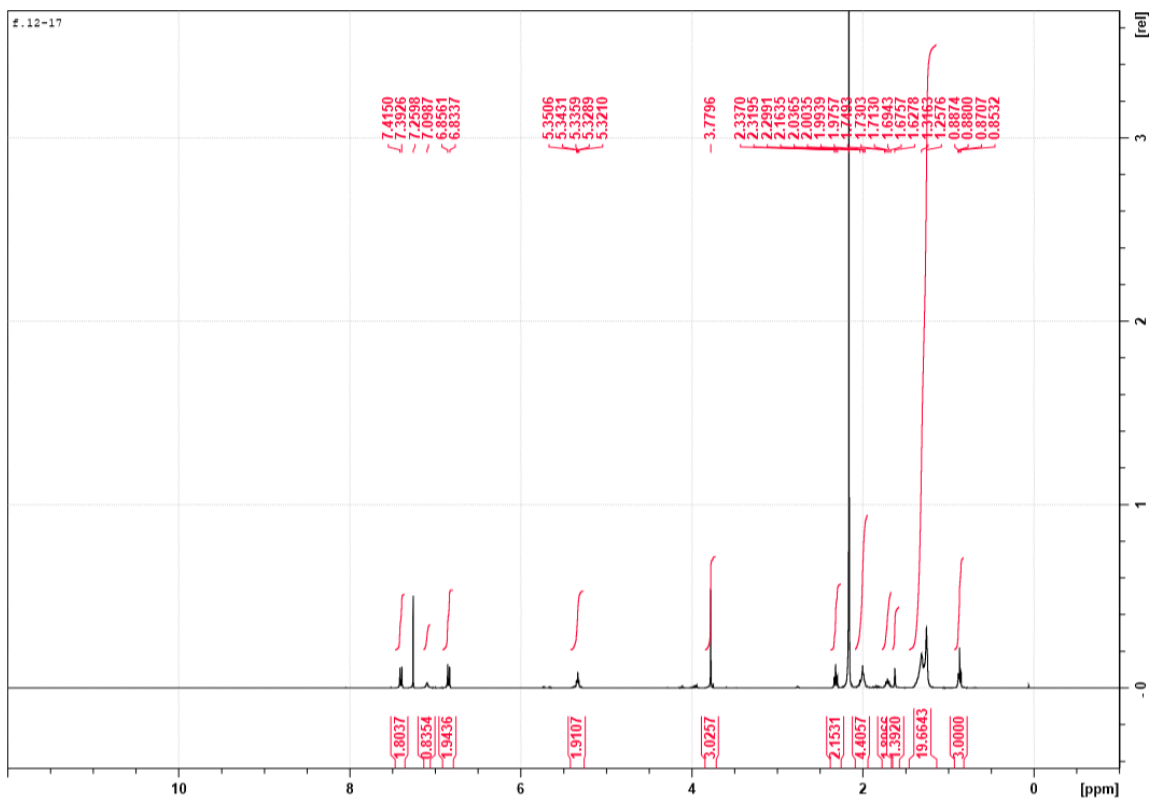
Data:

R_f: 0,93 (50 % etylacetat i heksan)

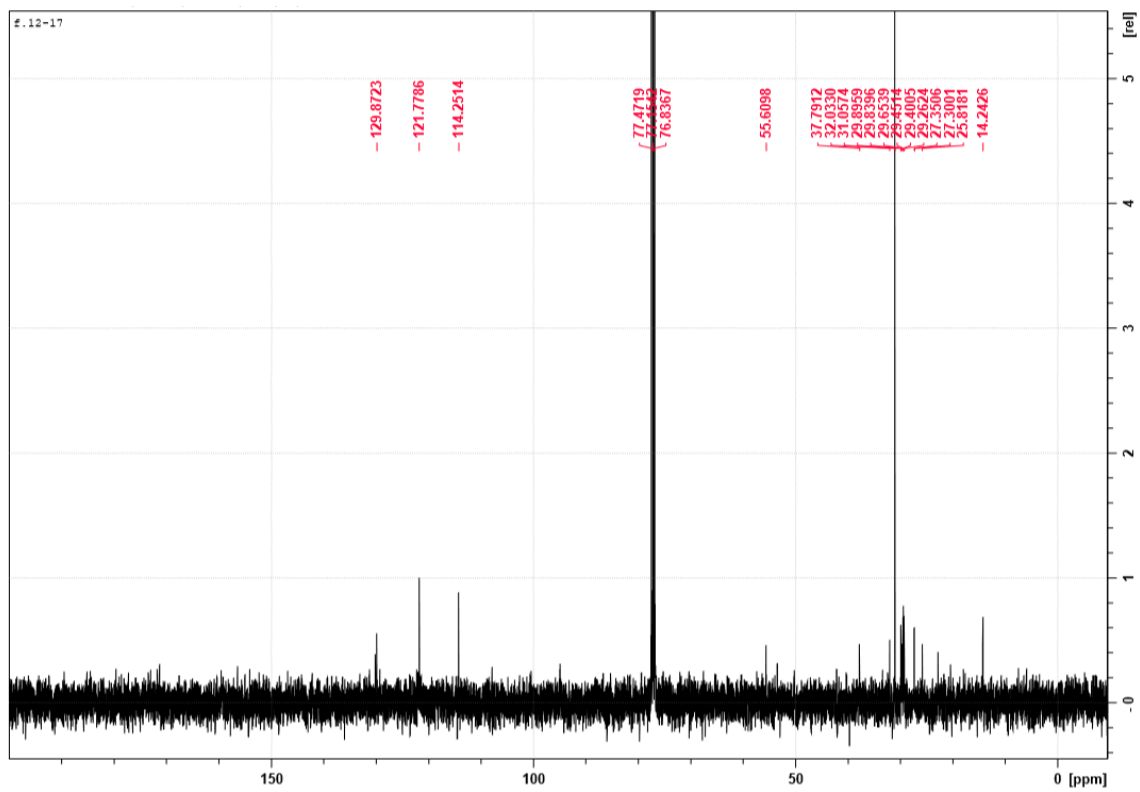
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,40 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), δ 7,10 (s, 1H), δ 6,84 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), δ 5,34 (m, 2H), δ 3,78 (s, 3H), δ 2,32 (t, *J* = 15,2 Hz, 2H), δ 2,00 (m, 4H), δ 1,72 (t, *J* = 14,4 Hz, 2H), δ 1,63 (s, 1H), δ 1,29 (ds, 20H), δ 0,87 (t, *J* = 6,8 Hz, H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 207,08 (C), δ 129,87 (CH_x2), δ 121,78 (CH_x2), δ 114,25 (CH_x2), δ 55,61 (CH₃), δ 37,79 (CH₂), δ 32,03 (CH₂), δ 31,06 (CH₂), δ 29,90 (CH₂), δ 29,84 (CH₂), δ 29,65 (CH₂), δ 29,45 (CH₂), δ 29,40 (CH₂), δ 29,26 (CH₂), δ 27,35 (CH₂), δ 27,30 (CH₂), δ 25,81 (CH₂), δ 14,24 (CH₃).

HR-MS: Funnet masse: 387,3138. Beregnet masse: 387,3137.



Spekter 27 - $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) spekter av forbindelse 18.

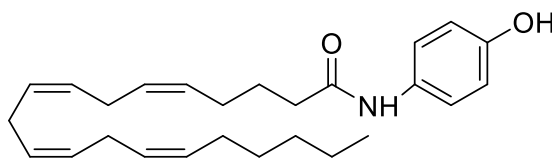


Spekter 28 - $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) spekter av forbindelse 18.

4.5.3 Syntese av (5Z,8Z,11Z,14Z)-N-(4-hydroksyfenyl)-eikosa-5,8,11,14-tetraenamid

Forbindelse **19** ble laget fra arakidonsyre (215 mg, 0,7 mmol), 4-hydroksyanilin (161 mg, 1,5 mmol) og CDI (182 mg, 1,1 mmol) henhold til generell prosedyre for amidkobling.

Amidet ble rensed kromatografisk og eluert med 25 % etylacetat i heksan.



19

Utbytte: 61 %

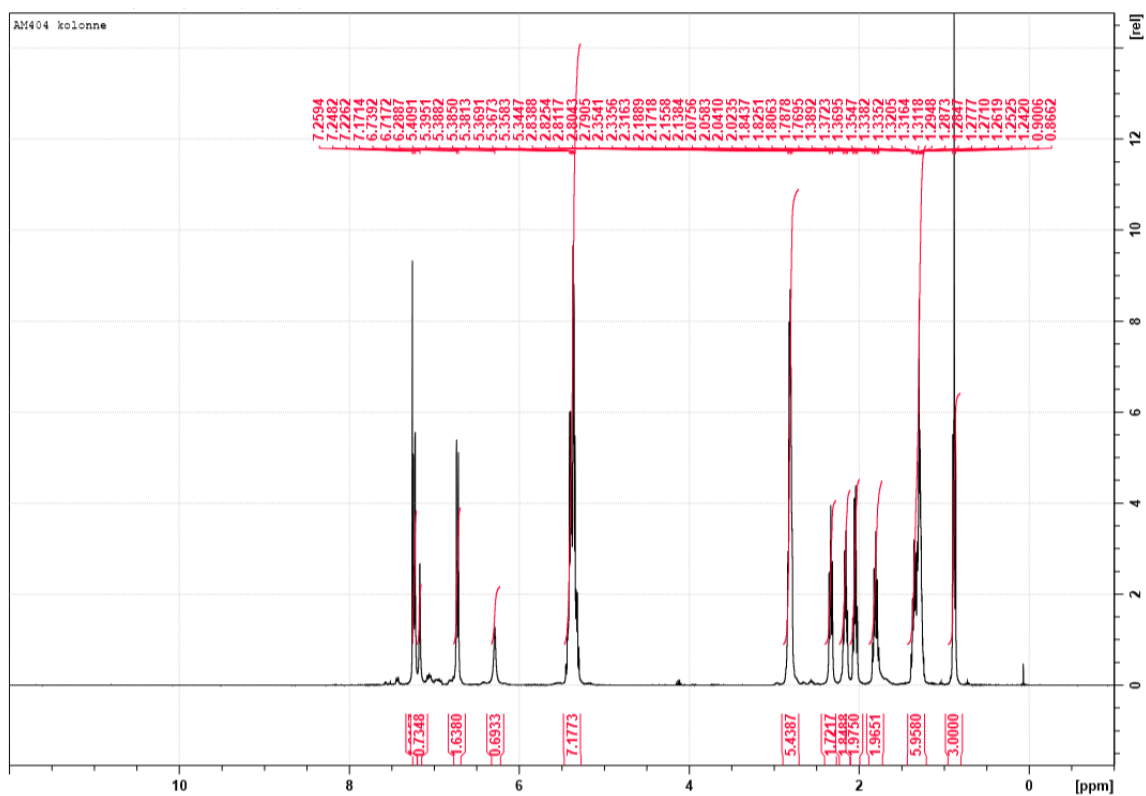
Data:

R_f: 0,68 (50 % etylacetat i heksan)

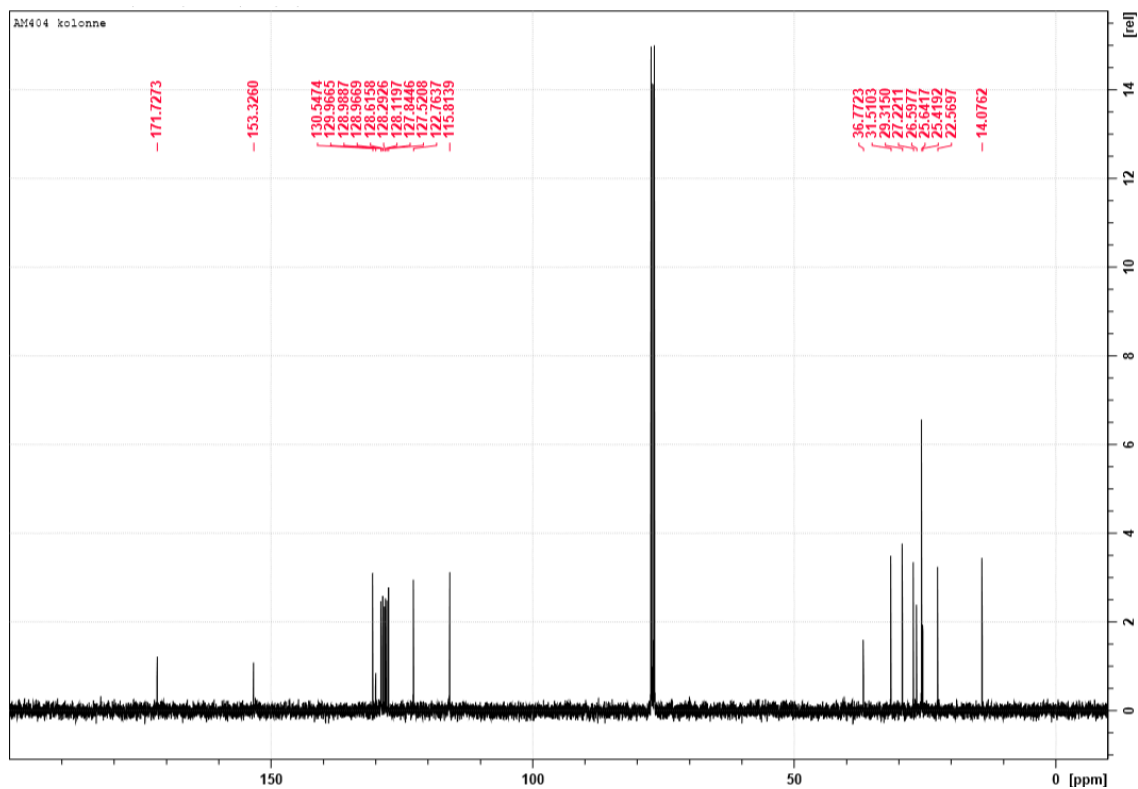
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,24 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), δ 7,17 (s, 1H), δ 6,73 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), δ 6,29 (s, 1H), δ 5,37 (m, 7H), δ 2,81 (m, 5H), δ 2,34 (t, *J* = 15,1 Hz, 2H), δ 2,16 (q, *J* = 6,4 Hz, 2H), δ 2,05 (q, *J* = 6,9 Hz, 2H), δ 1,81 (p, *J* = 14,9 Hz, 2H), δ 1,32 (m, 6H), δ 0,89 (t, *J* = 13,7 Hz, 3H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 171,73 (C), δ 153,33 (C), δ 130,55 (C), δ 129,97 (CH), δ 128,99 (CH), δ 128,97 (CH), δ 128,62 (CH), δ 128,29 (CH), δ 128,12 (CH), δ 127,84 (CH), δ 127,52 (CH), δ 122,76 (CH x 2), δ 115,81 (CH x 2), δ 36,77, δ 31,51, δ 29,32, δ 27,22, δ 26,60, δ 25,64, δ 25,42, δ 22,57 (CH₂ x 10), δ 14,08 (CH₃).

HR- MS: Funnet masse: 395,2818. Beregnet masse: 295,2824.



Spekter 29 - $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) spekter av forbindelse 19.

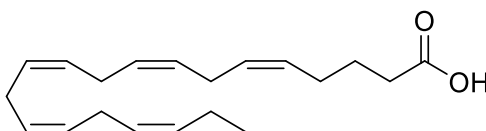


Spekter 30 - $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) spekter av forbindelse 19.

4.6 Syntese av primære fettsyreamider

4.6.1 Syntese av (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-eikosa-5,8,11,14,17-pentaensyre

Forbindelse **20** ble laget i henhold til generell prosedyre for hydrolyse av EPA-etylester (1,05 g, 3,2 mmol) med LiOH x H₂O (630 mg, 15 mmol) i 10 mL etanol/H₂O (1:1).



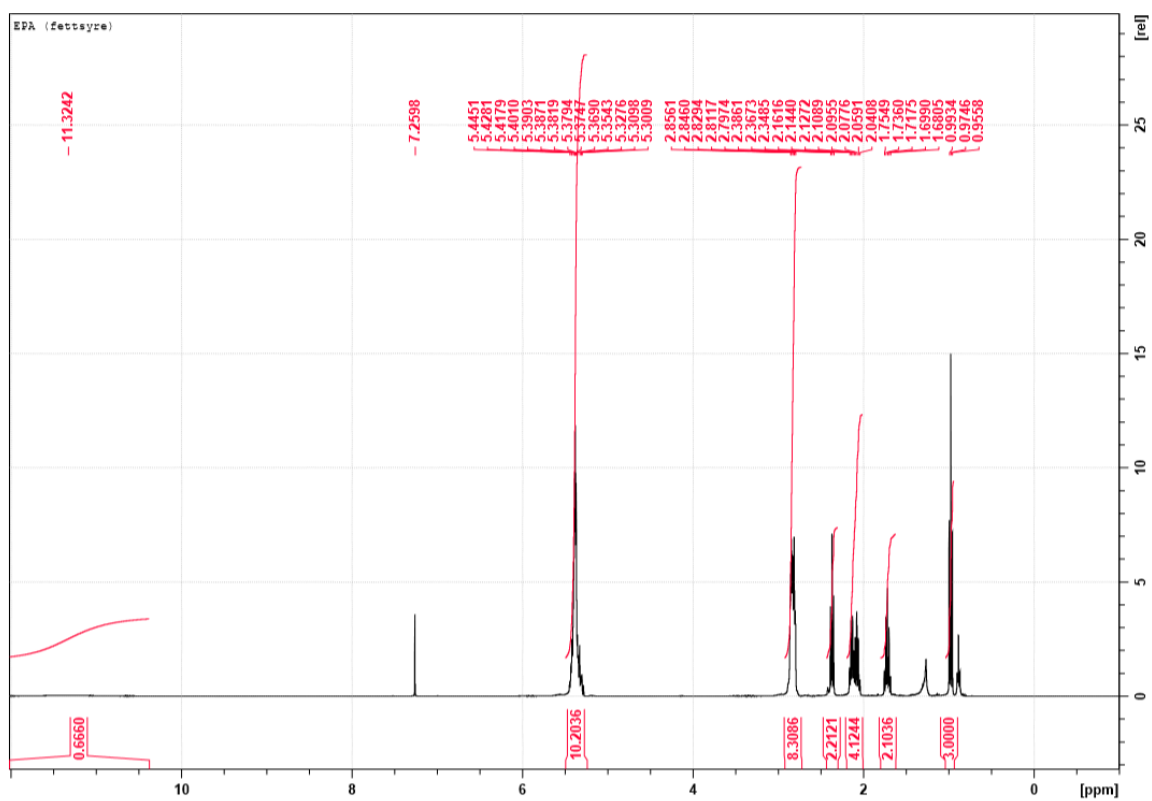
20

Utbytte: > 96 %

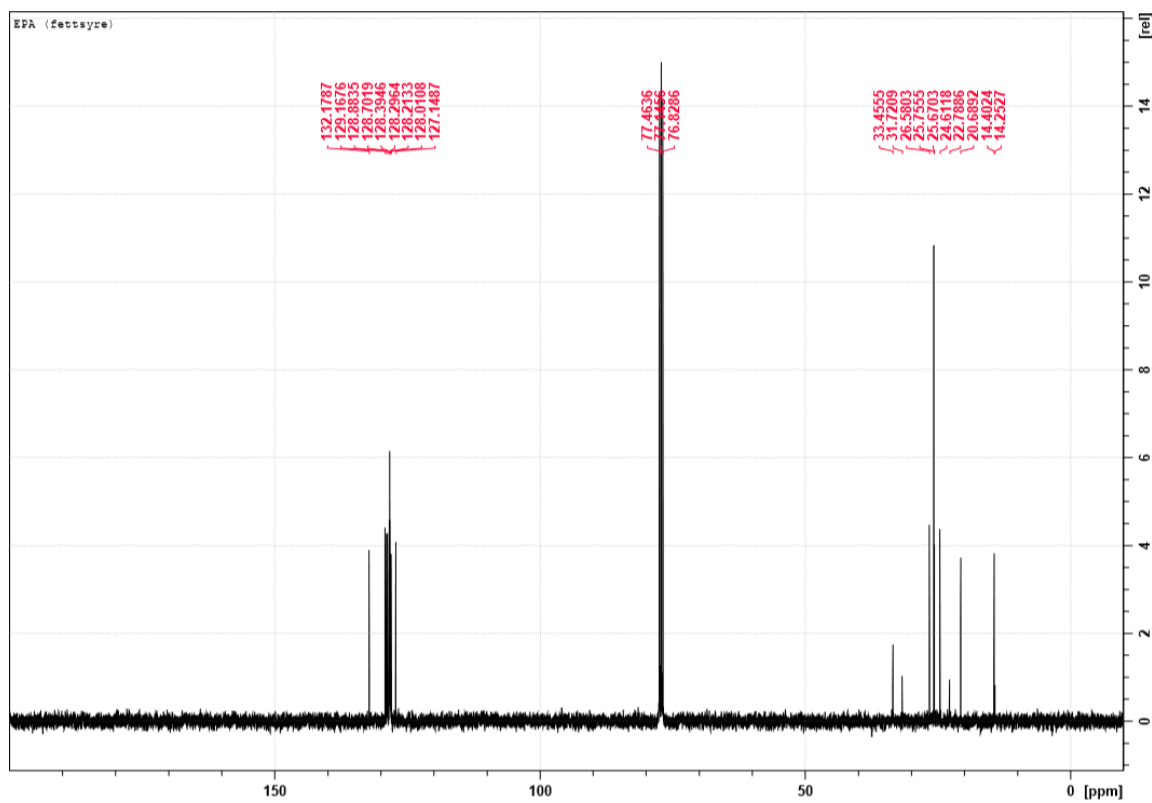
Data:

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 11,32 (s, 1H), δ 5,38 (m, 10H), δ 2,83 (dt, $J_1 = 10,7$ Hz & $J_2 = 13,7$ Hz, 8H), δ 2,37 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H), δ 2,10 (dq, $J_1 = 14,6$ Hz & $J_2 = 19,8$ Hz, 4H), δ 1,72 (p, $J = 14,8$ Hz, 2H), δ 0,97 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 132,18 (CH), δ 129,17 (CH), δ 128,88 (CH), δ 128,70 (CH), δ 128,39 (CH), δ 128,30 (CH), δ 128,21 (CH), δ 128,01 (CH), δ 127,15 (CH), δ 33,46 (CH₂), δ 31,72 (CH₂), δ 26,58 (CH₂), δ 25,76 (CH₂), δ 25,67 (CH₂), δ 24,61 (CH₂), δ 22,79 (CH₂), δ 20,69 (CH₂), δ 14,40 (CH₂), δ 14,25 (CH₃).



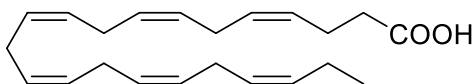
Spekter 31 – $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) spekter av forbindelse 20.



Spekter 32 - $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) spekter av forbindelse 20.

4.6.2 Syntese av (4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-dokosa-4,7,10,13,16,19-heksaensyre

Forbindelse **21** ble laget i henhold til generell prosedyre for hydrolyse av DHA-etyleter (388 mg, 1,1 mmol) med LiOH x H₂O (308 mg, 7,3 mmol) i 6 mL etanol/H₂O (1:1). Kolben knuste under røring. Kolben, opptøringspapir og glasskår ble ekstrahert med dietyleter. For å unngå urenheter ble det kun opptørket fra magnetrøreren, ikke resten av avtrekkskapet. Da det fortsatt var en god del fettsyreester igjen ble det satt i gang en ny hydrolyse på produktet. DHA-etyleter/DHA (mg) ble løst i 6 mL etanol/H₂O (1:1) og tilsatt LiOH x H₂O (250 mg, 6,0 mmol) i henhold til prosedyren.



21

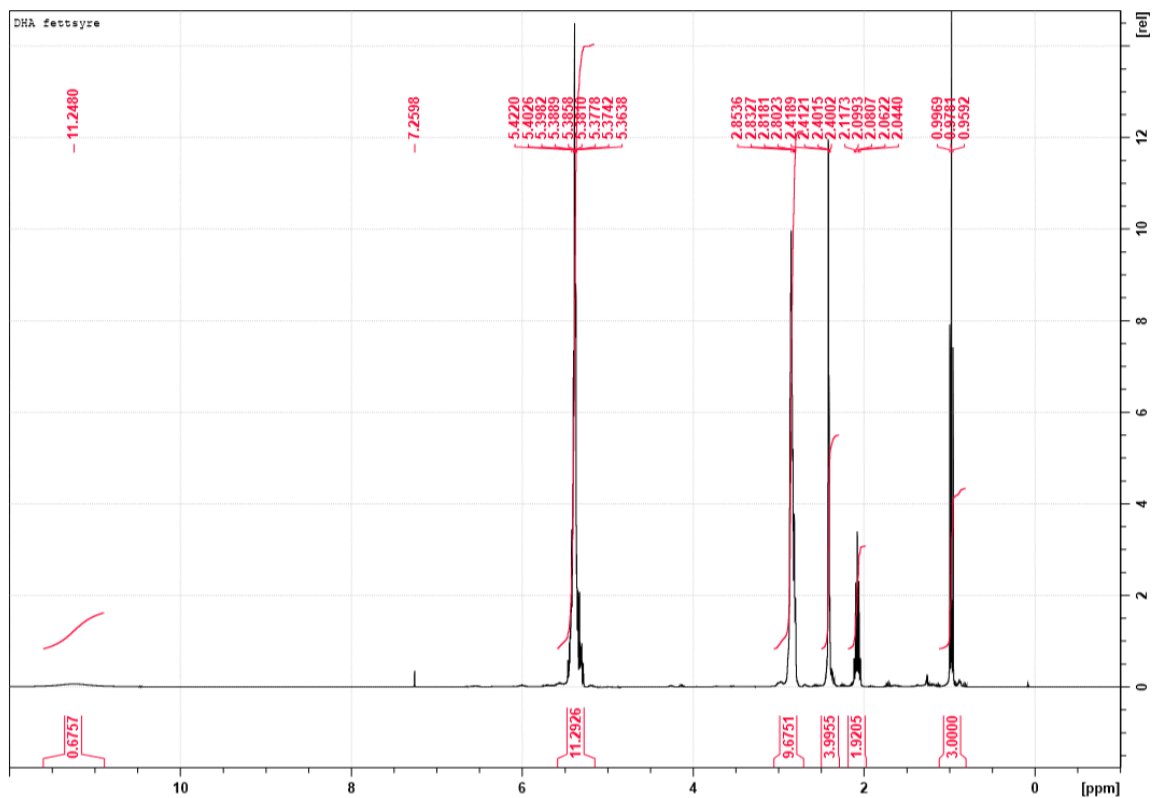
Utbytte: $\geq 30\%$

Data:

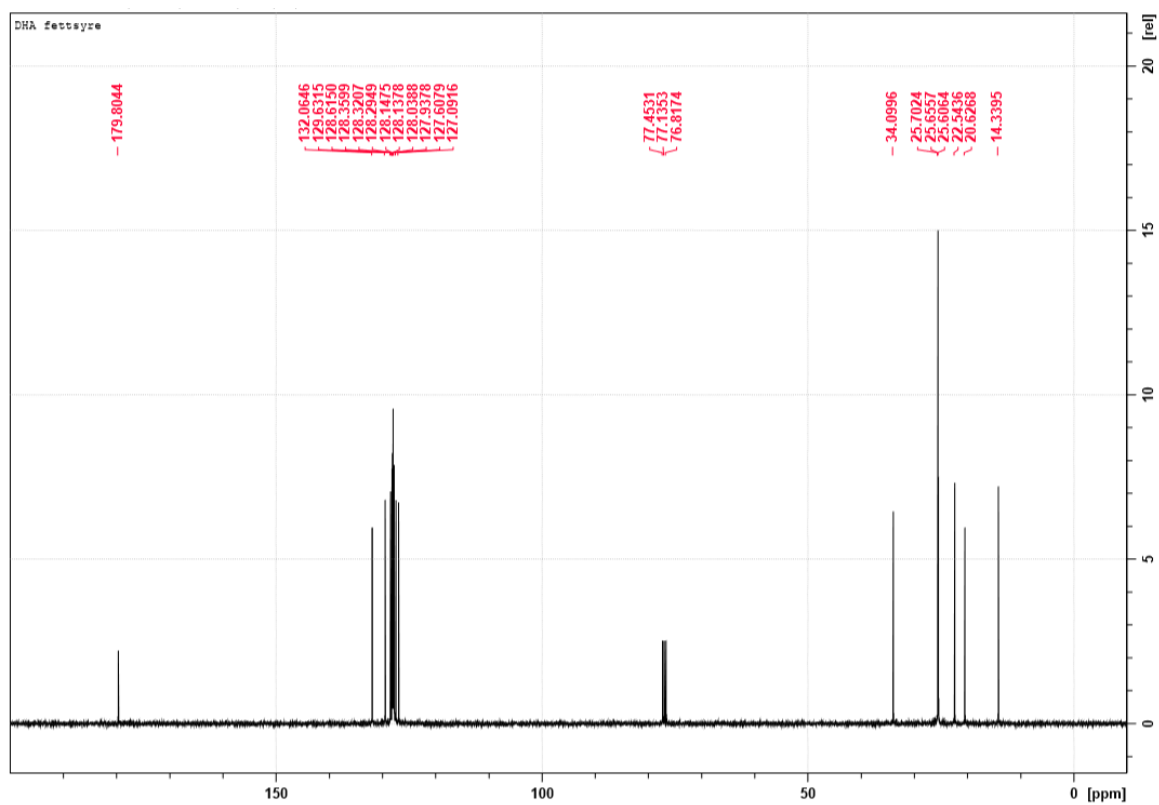
R_f: 0,69 (25 % etylacetat i heksan)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 11,25 (s, 1H), δ 5,38 (m, 11H), δ 2,82 (m, 10H), δ 2,41 (m, 4H), δ 2,08 (p, $J = 14,8$ Hz, 2H), δ 0,98 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 179,80 (C), δ 132,06 (CH), δ 129,63 (CH), δ 128,62 (CH), δ 128,36 (CH), δ 128,32 (CH), δ 128,29 (CH), δ 128,15 (CH), δ 128,14 (CH), δ 128,04 (CH), δ 127,94 (CH), δ 127,61 (CH), δ 127,09 (CH), δ 34,10, δ 25,70, δ 25,66, δ 25,61, δ 22,54, δ 20,63 (CH₂ x 8), δ 14,34 (CH₃).



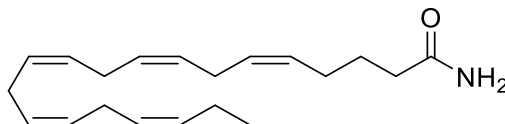
Spekter 33 – $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) spekter av forbindelse 21.



Spekter 34 - $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) spekter av forbindelse 21.

4.6.3 Syntese av (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-eikosa-5,8,11,14,17-pentaenamid

Forbindelse **22** ble laget fra EPA (**21**, 298 mg, 1,0 mmol), HMDS (0,46 mL, 2,2 mmol) og CDI (360 mg, 2,2 mmol) i henhold generell prosedyre for amidkobling.



22

Utbytte: > 96 %

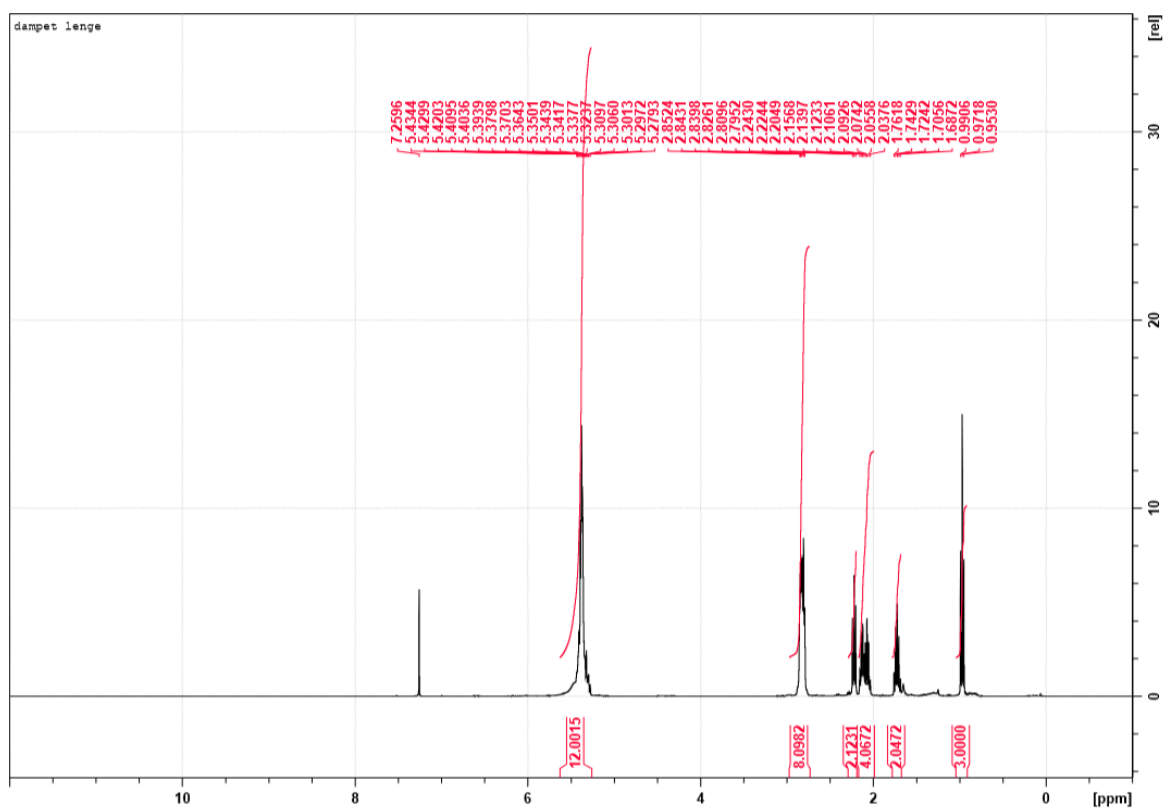
Til slutt ble forbindelsen rensert ved hjelp av mikrokolonne og eluert med 50 % etylacetat i heksan.

Data:

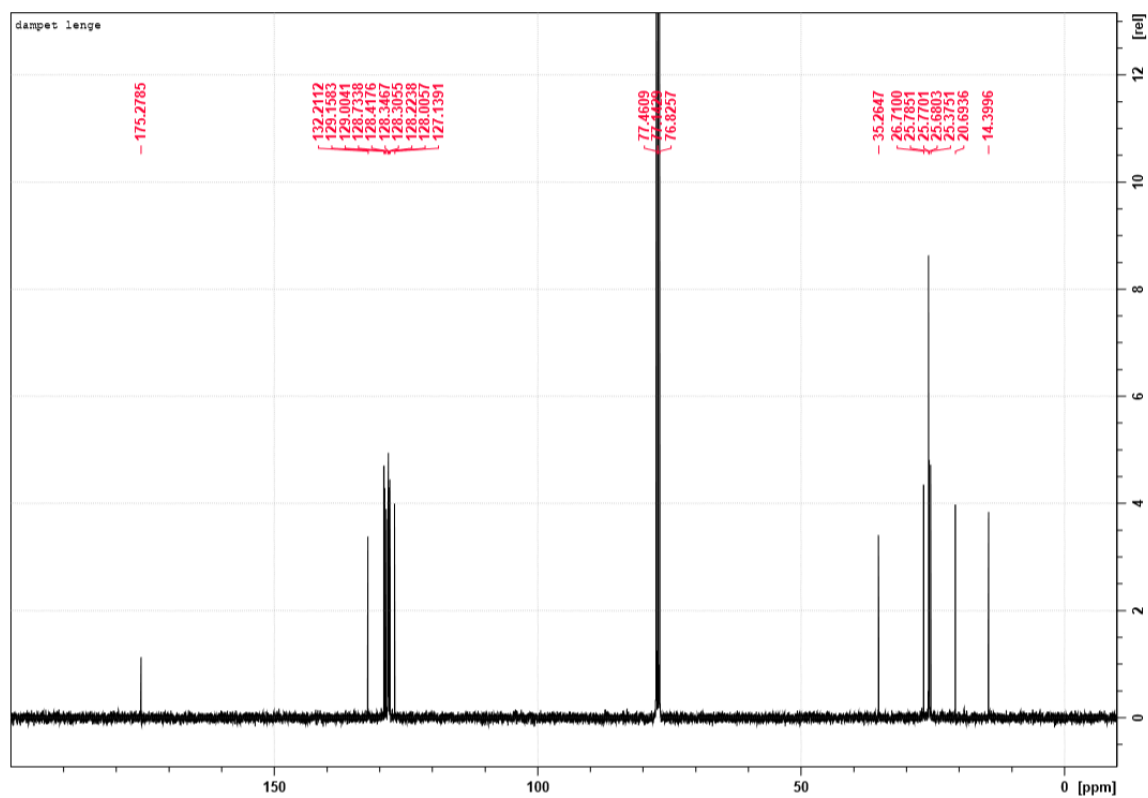
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 5,38 (m, 12H), δ 2,83 (m, 8H), δ 2,22 (t, $J = 15,2$ Hz, 2H), δ 2,10 (dq, $J_1 = 19,6$ Hz & $J_2 = 14,7$ Hz, 4H), δ 1,72 (p, $J = 14,9$ Hz, 2H), δ 0,97 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ 175,28 (C), δ 132,21 (CH), δ 129,16 (CH), δ 129,00 (CH), δ 128,74 (CH), δ 128,42 (CH), δ 128,35 (CH), δ 128,31 (CH), δ 128,22 (CH), δ 128,01 (CH), δ 127,14 (CH), δ 35,26, δ 26,71, δ 25,79, δ 25,77, δ 25,68, δ 25,38, δ 20,69 ($\text{CH}_2 \times 8$), δ 14,40 (CH_3).

HR-MS: Funnet masse: 301,2414. Beregnet masse: 301,2406.



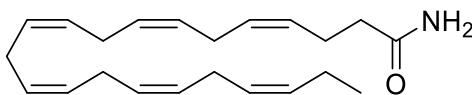
Spekter 35 – $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) spekter av forbindelse 22.



Spekter 36 - $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) spekter av forbindelse 22.

4.6.4 Syntese av (4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-dokosa-4,7,10,13,16,19-heksaenamid

Forbindelse **23** ble laget fra DHA (**22**, 40 mg, 0,12 mmol), HMDS (0,05 mL, 0,24 mmol) og CDI (29 mg, 0,18 mmol) i henhold generell prosedyre for amidkobling.



23

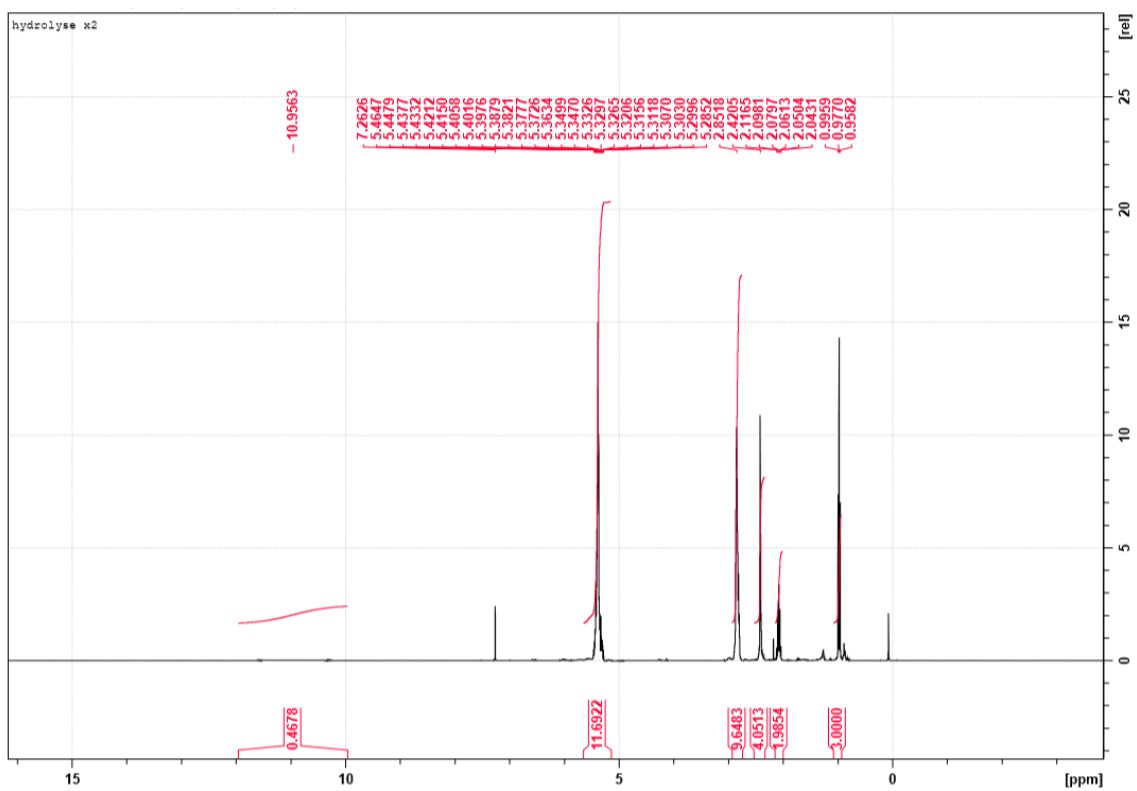
Utbytte: > 96 %

Data:

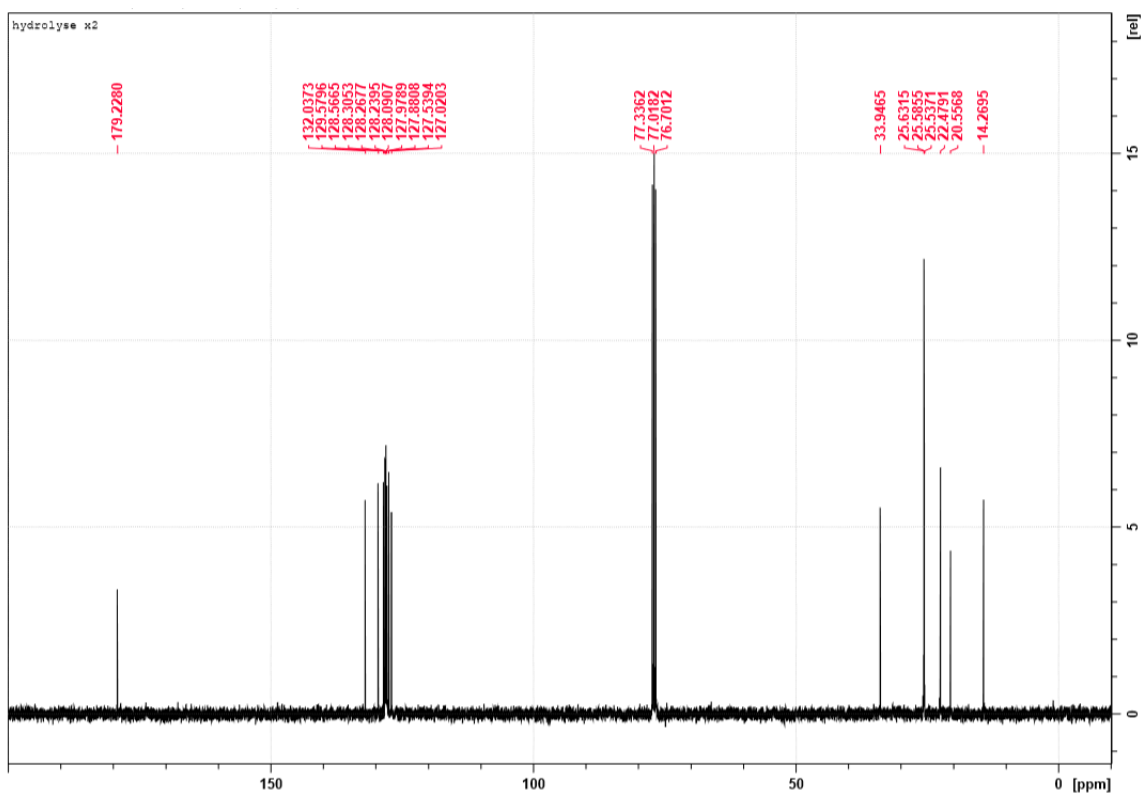
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 10,96 (s, 1H), δ 5,39 (m, 12H), δ 2,85 (s, 10H), δ 2,42 (s, 4H), δ 2,07 (p, $J = 14,7$ Hz, 2H), δ 0,98 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ 174,86 (C), δ 132,20, δ 129,67, δ 128,73, δ 128,48, δ 128,44, δ 128,42, δ 128,22, δ 128,20, δ 128,14, δ 128,02, δ 127,16, (CH x 12), δ 35,78, δ 25,79, δ 25,77, δ 25,69, δ 23,34, δ 20,70 (CH_2 x 8), δ 14,41 (CH_3).

HR-MS: Funnet masse: 327,2545. Beregnet masse: 327,2562.



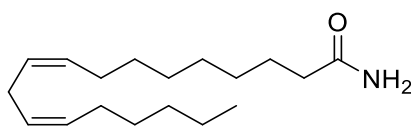
Spekter 37 – $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) spekter av forbindelse 23.



Spekter 38 - $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) spekter av forbindelse 23.

4.6.5 Syntese av (9Z,12Z)-oktadeka-9,12-dienamid

Forbindelse **24** ble laget fra linolsyre (281 mg, 1,0 mmol), HMDS (0,46 mL, 2,2 mmol) og CDI (357 mg, 2,2 mmol) i henhold til generell prosedyre for amidkobling. NMR-spektrene viste rester av imidazol og ureagert linolsyre. Produktet ble derfor løst i CH₂Cl₂, surgjort til pH < 2 og satt til røring i > 12 timer. Løsningen ble vasket med 10 % HCl (3x10 mL), deretter 10 % NaOH (3x10mL), tørket med Na₂SO₄ og dampet inn på rotavapor.



24

Utbytte: 20 %

Til slutt ble forbindelsen rensert ved hjelp av mikrokolonne og eluert med 50 % etylacetat i heksan.

Forbindelse **24** ble i tillegg forsøkt dannet fra linolsyre (287 mg, 1,0 mmol), NH₄Cl (107 mg, 2,0 mmol) og CDI (329 mg, 2,0 mmol) i henhold til generell prosedyre for amidkobling. Fettsyren ble løst i 1,5 mL THF i tillegg til 5 mL CH₂Cl₂. Denne reaksjonen gikk ikke.

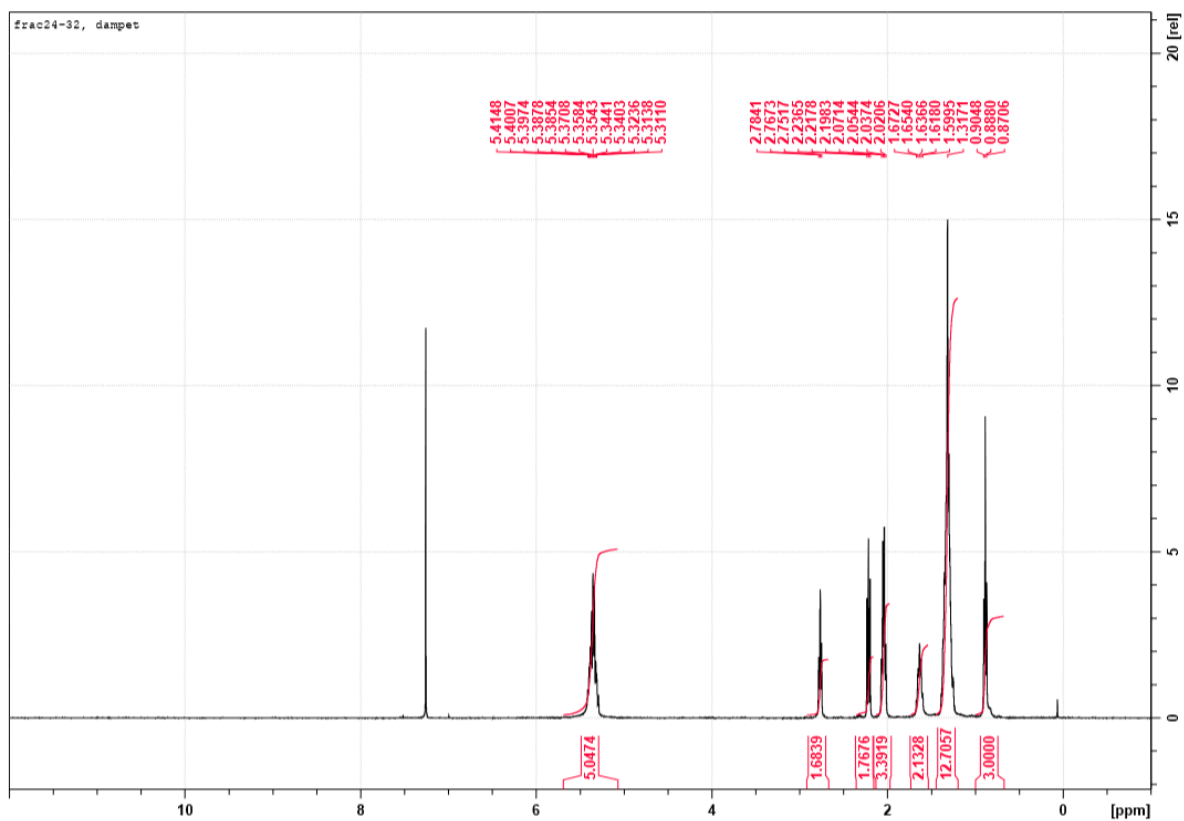
Data:

R_f: 0,32 (50 % etylacetat i heksan)

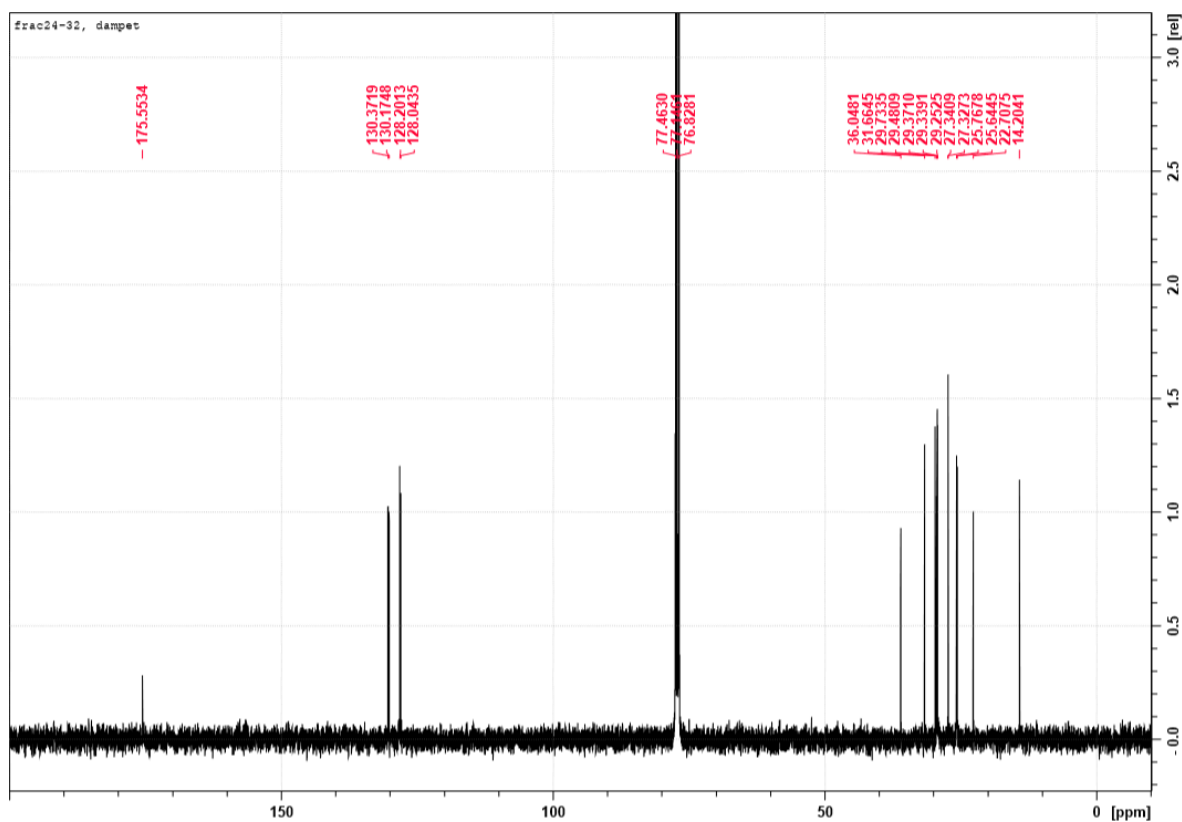
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 5,05 (m, 5H), δ 2,77 (t, *J* = 6,5 Hz, 2H), δ 2,22 (t, *J* = 15,3 Hz, 2H), δ 2,05 (q, *J* = 6,8 Hz, 3H), δ 1,64 (m, 2H), δ 1,32 (m, 13H), δ 0,89 (t, *J* = 6,8 Hz, 3H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 175,55 (C), δ 130,37 (CH), δ 130,17 (CH), δ 128,20 (CH), δ 128,04 (CH), δ 36,05 (CH₂), δ 31,66 (CH₂), δ 29,73 (CH₂), δ 29,48 (CH₂), δ 29,37 (CH₂), δ 29,34 (CH₂), δ 29,25 (CH₂), δ 27,34 (CH₂), δ 27,33 (CH₂), δ 25,77 (CH₂), δ 25,64 (CH₂), δ 22,71 (CH₂), δ 14,20 (CH₃).

HR-MS: Funnet masse: 279,2574. Beregnet masse: 279,2562.



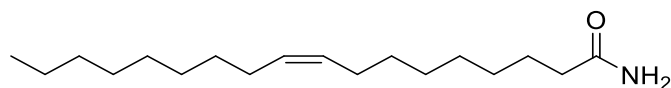
Spekter 39 – $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) spekter av forbindelse 24.



Spekter 40 - $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) spekter av forbindelse 24.

4.6.6 Syntese av (*Z*)-oktadeka-9-enamid

Forbindelse **25** ble laget fra oljesyre (860 mg, 3,0 mmol), HMDS (1,24 mL, 6,0 mmol) og CDI (535 mg, 3,3 mmol) i henhold til generell prosedyre for amidkobling. Produktet ble rensset kromatografisk og eluert med 50 % etylacetat i heksan.



25

Utbytte: 10 %

TLC viste at det var oljesyre i flere av fraksjonene fra opprensningen. Disse ble dampet inn og viste at det var det minst 73 % oljesyre som ikke hadde reagert.

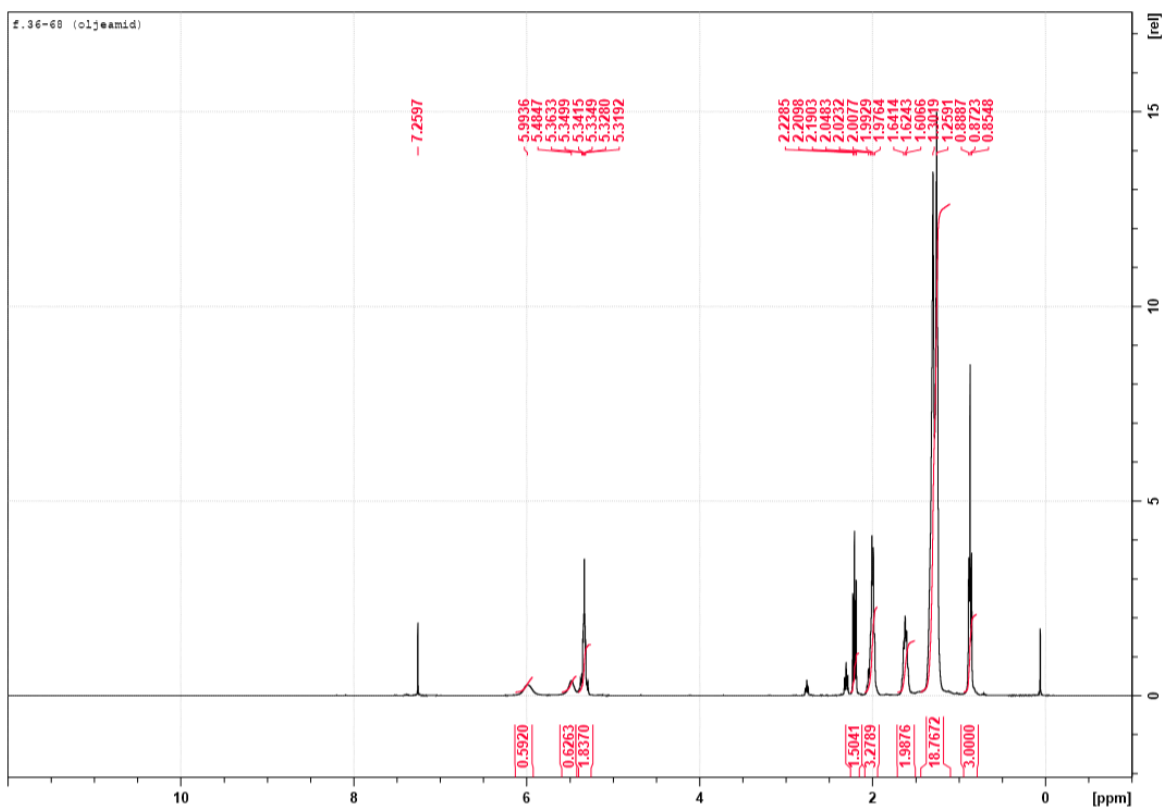
Data:

R_f: 0,41 (50 % etylacetat i heksan)

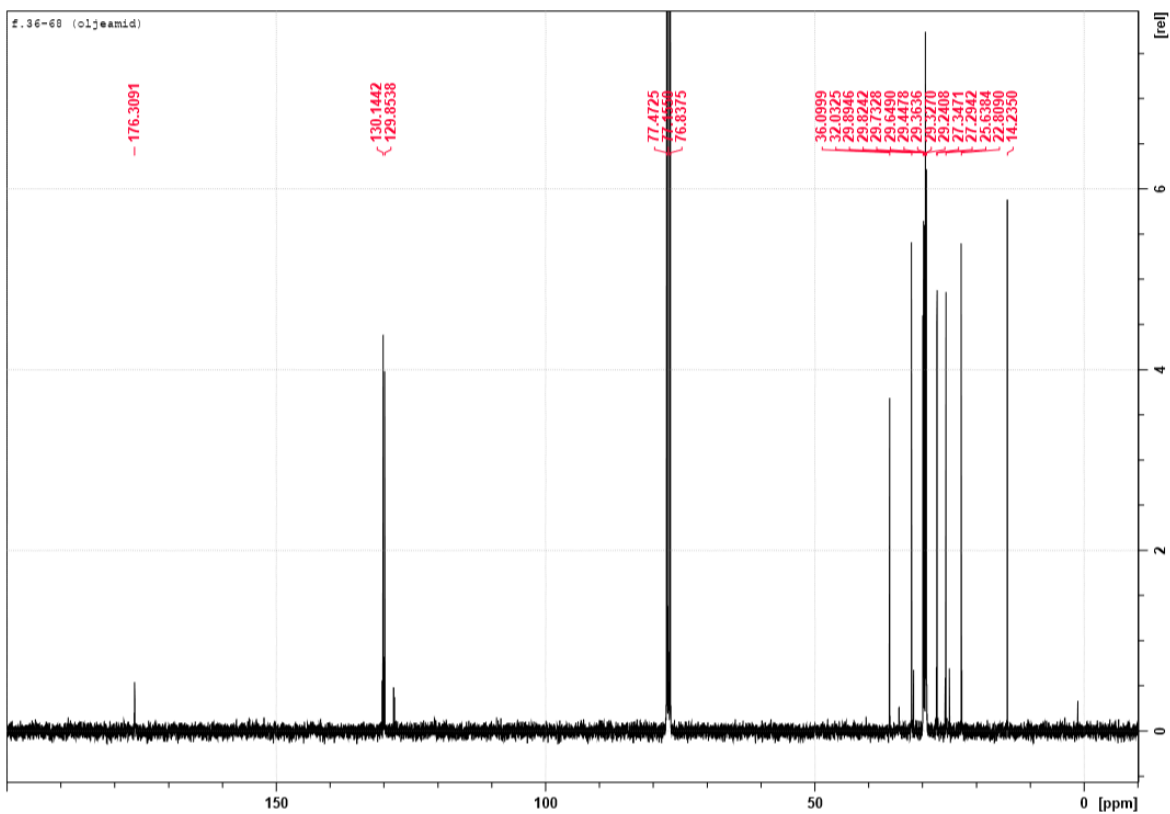
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 5,99 (s, 1H), δ 5,48 (s, 1H), δ 5,33 (m, 2H), δ 2,21 (t, *J* = 15,3 Hz, 2H), δ 2,00 (p, *J*₁ = 18,7 Hz & *J*₂ = 5,9 Hz, 3H), δ 1,62 (t, *J* = 7,0 Hz, 2H), δ 1,28 (d, *J* = 17,1 Hz, 19H), δ 0,87 (t, *J* = 6,8, 3H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 176,31 (C), δ 130,14 (CH), δ 129,85 (CH), δ 36,10 (CH₂), δ 32,03 (CH₂), δ 29,89 (CH₂), δ 29,82 (CH₂), δ 29,73 (CH₂), δ 29,65 (CH₂), δ 29,44 (CH₂), δ 29,36 (CH₂), δ 29,33 (CH₂), δ 29,24 (CH₂), δ 27,35 (CH₂), δ 27,29 (CH₂), δ 25,64 (CH₂), δ 22,81 (CH₂), δ 14,24 (CH₃).

HR-MS: Funnet masse: 281,2718. Beregnet masse: 281,2719.



Spekter 41 – $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) spekter av forbindelse 25.

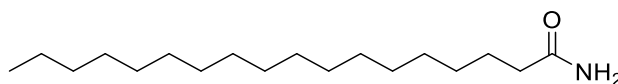


Spekter 42 – $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) spekter av forbindelse 25.

4.6.7 Syntese av oktadekanamid

Forbindelse **26** ble laget fra stearinsyre (864 mg, 3,0 mmol), HMDS (1,24 mL, 6,0 mmol) og CDI (535 mg, 3,3 mmol) i henhold til generell prosedyre for amidkobling. Stearinsyre ble løst i 10 mL heksan i tillegg til 5 mL CH₂Cl₂. Etter fullført reaksjon ble 5 mL heksan tilsatt i tillegg til 25 mL CH₂Cl₂ og 20 mL NH₄Cl.

NMR-spektrene viste rester av imidazol og ureagert stearinsyre. Produktet ble derfor løst i CH₂Cl₂ og surgjort til pH < 2 og satt til røring i > 12 timer. Løsningen ble vasket med 10 % HCl (3x10 mL), deretter 10 % NaOH (3x10mL), tørket med Na₂SO₄ og dampet inn på rotavapor.



26

Utbytte: 35 %

Til slutt ble forbindelsen rensert ved hjelp av mikrokolonne og eluert med 50 % etylacetat i heksan.

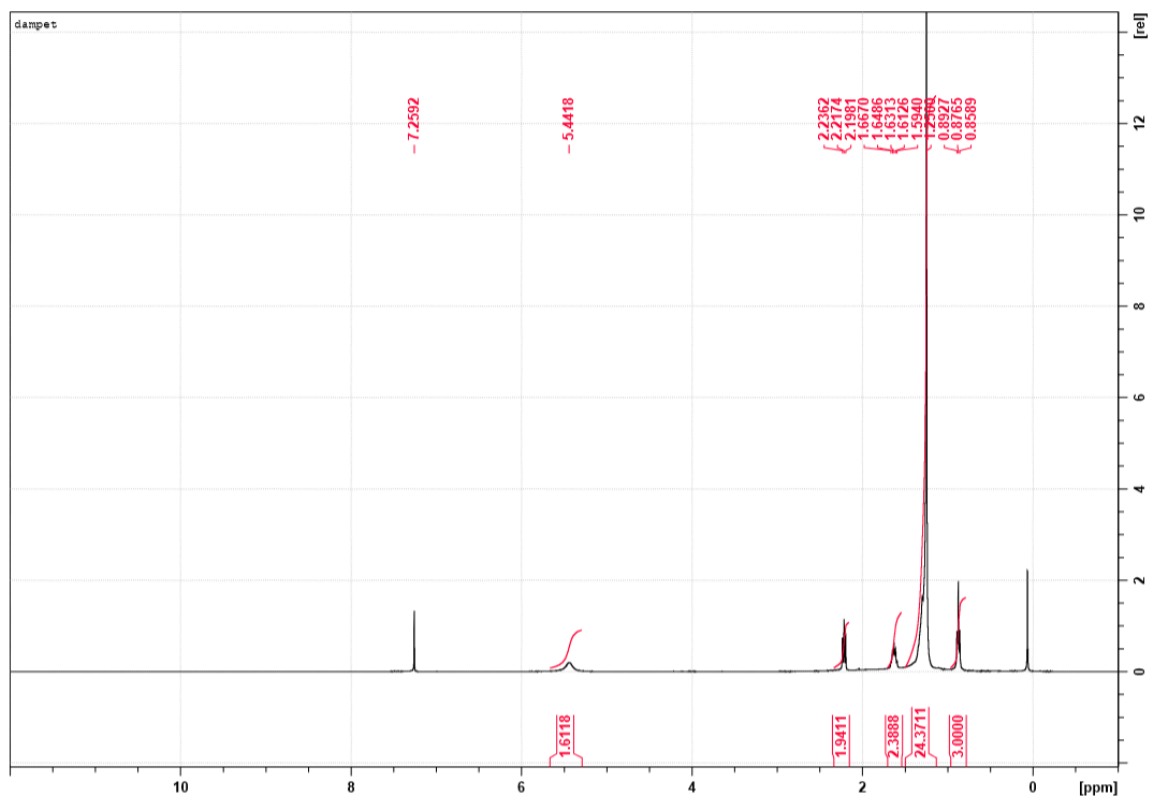
Data:

R_f: 0,36 (50 % etylacetat i heksan)

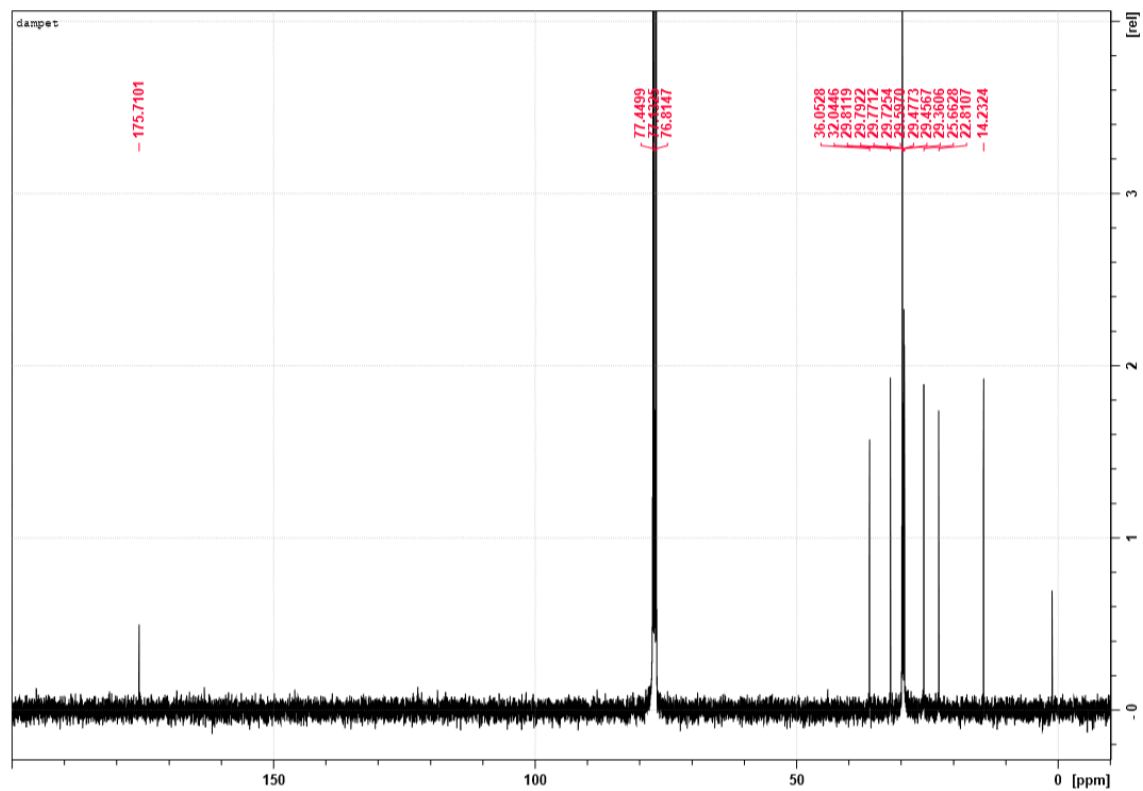
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 5,44 (s, 2H), δ 2,22 (t, *J* = 15,2 Hz, 2H), δ 1,63 (p, *J* = 14,4 Hz, 2H), δ 1,25 (s, 24H), δ 0,88 (t, *J* = 6,8 Hz, 3H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 175,71 (C), δ 36,05 (CH₂), δ 32,04 (CH₂), δ 29,81 (CH₂), δ 29,79 (CH₂), δ 29,77 (CH₂), δ 29,73 (CH₂), δ 29,60 (CH₂), δ 29,48 (CH₂), δ 29,46 (CH₂), δ 29,36 (CH₂), δ 25,66 (CH₂), δ 22,81 (CH₂), δ 14,23 (CH₃).

HR-MS: Funnet masse: 283,2877. Beregnet masse: 283,2875.



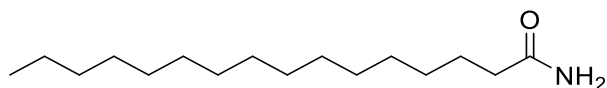
Spekter 43 – $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) spekter av forbindelse 26.



Spekter 44 - $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) spekter av forbindelse 26.

4.6.8 Syntese av heksadekanamid

Forbindelse **27** ble laget fra palmesyre (773 mg, 3,0 mmol), HMDS (1,24 mL, 6,0 mmol) og CDI (535 mg, 3,3 mmol) i henhold til generell prosedyre for amidkobling. Fettsyren ble løst i 10 mL heksan i tillegg til 5 mL CH₂Cl₂. Produktet ble rensset kromatografisk og eluert med 50 % etylacetat i heksan.



27

Utbytte: 23 %

TLC viste at det var palmesyre i flere av fraksjonene fra opprensningen. Disse ble dampet inn og viste at det var det minst 49 % palmesyre som ikke hadde reagert.

Det ble gjort et nytt forsøk hvor mengden CDI ble økt fra 1,1 til 1,5 eq. Denne reaksjonen gikk ikke. Årsaken til dette var trolig at CDI reaksjon med vann. Det ble ikke gjort videre forsøk på å øke utbytte.

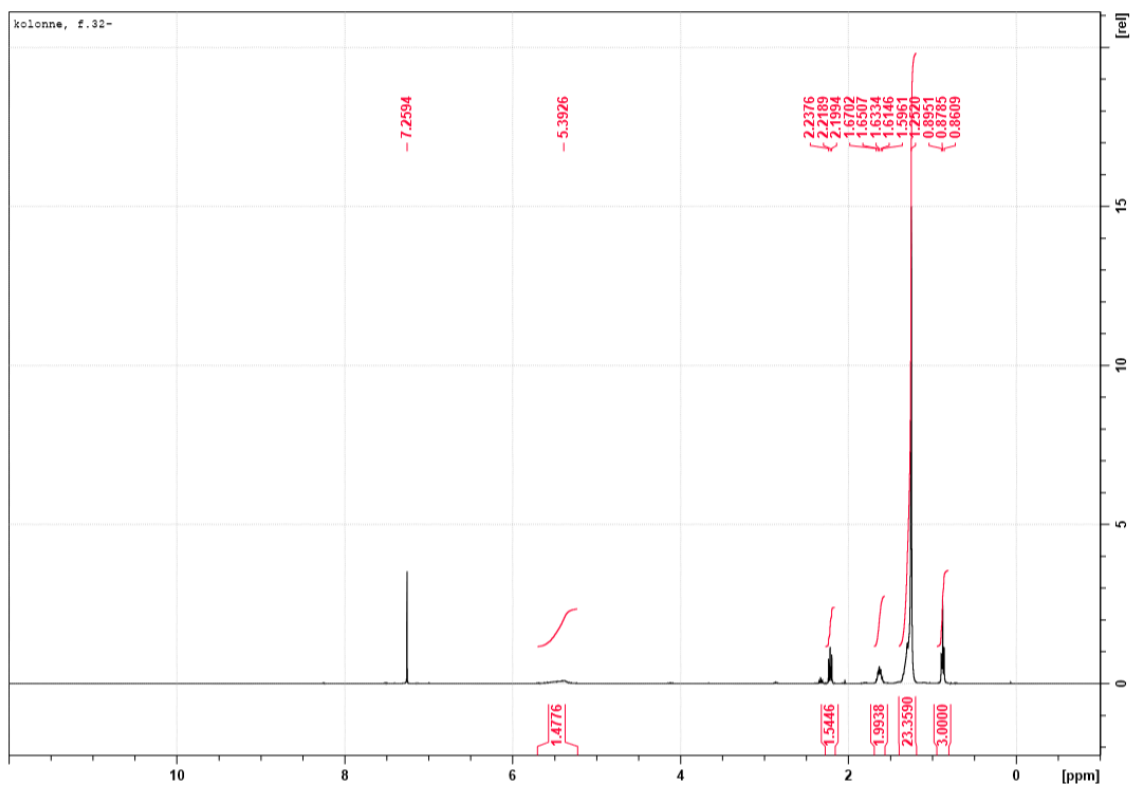
Data:

R_f: 0,34 (50 % etylacetat i heksan)

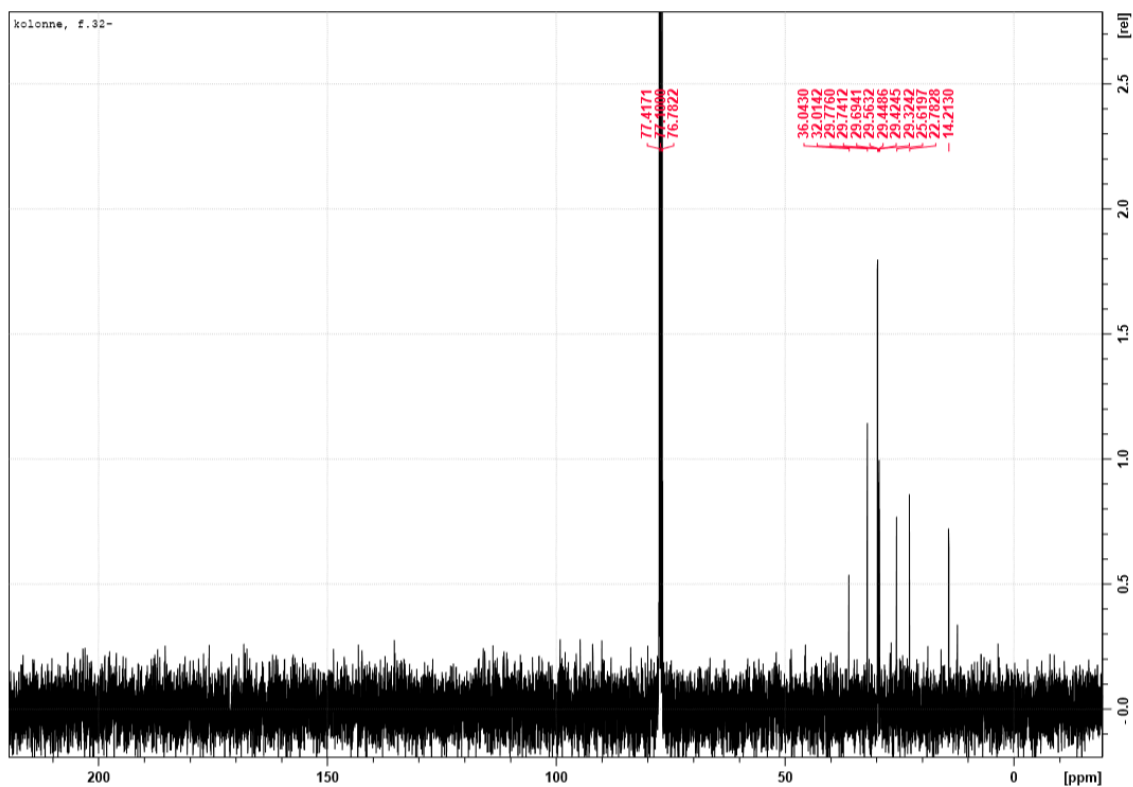
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 5,39 (s, 2H), δ 2,22 (t, *J* = 15,3 Hz, 2H), δ 1,63 (p, *J* = 14,4 Hz, 2H), δ 1,25 (s, 24H), δ 0,88 (t, *J* = 6,8 Hz, 3H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ - (C), δ 36,04 (CH₂), δ 32,01 (CH₂), δ 29,77, δ 29,74, δ 29,69, δ 29,56, δ 29,45, δ 29,42, δ 29,32 (12 x CH₂), δ 25,62 (CH₂), δ 22,78 (CH₂), δ 14,21 (CH₃).

HR-MS: Forbindelsen er kjent. ⁵².



Spekter 45 - $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) spekter av forbindelse 27.



Spekter 46 - $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) spekter av forbindelse 27.

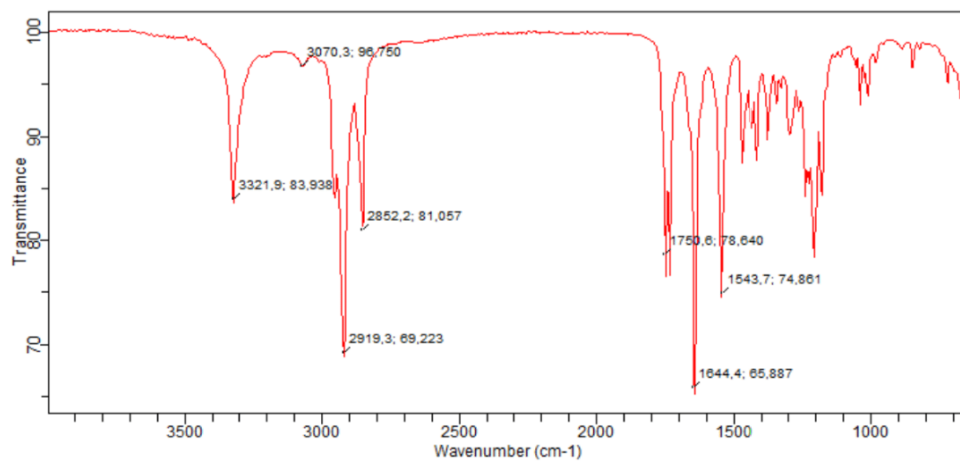
5 Referanser

1. Newman, D. J.; Cragg, G. M. *J. Nat. Prod.* **2012**, *75*, 311-335.
2. Dewick, P. M. *Medicinal Natural Products - A Biosynthetic Approach*, 3rd edition ed.; John Wiley & sons Ltd., **2009**.
3. Gates, M.; Tschudi, G. *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, *74*, 1109-10.
4. Dewick, P. M. *Medicinal Natural Products - A Biosynthetic Approach*, 3rd edition ed.; John Wiley & Sons Ltd, **2009**.
5. Merriam-Webster. Merriam-Webster: <https://www.merriam-webster.com/dictionary/lipid>, **2018**.
6. *Pure Appl. Chem.* **1995**, *67*, 1307-75.
7. Farrell, E. K.; Merkler, D. J. *Drug Discovery Today* **2008**, *13*, 558-568.
8. Khare, S. K.; Kumar, A.; Kuo, T. M. *Bioresource Technology* **2009**, *100*, 1482-1485.
9. Pacher, P.; Batkai, S.; Kunos, G. *Pharmacol. Rev.* **2006**, *58*, 389-462.
10. Burstein, S.; Salmonsén, R. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2008**, *16*, 9644-9651.
11. Anderson, G. W.; Paul, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 4423.
12. Levene, P. A. *J. Biol. Chem.* **1916**, *24*, 69-89.
13. Merrill, A. H., Jr.; Sandhoff, K. *New Compr. Biochem.* **2002**, *36*, 373-407.
14. Kuehl, F. A., Jr.; Jacob, T. A.; Ganley, O. H.; Ormond, R. E.; Meisinger, M. A. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 5577-8.
15. Devane, W. A.; Hanus, L.; Breuer, A.; Pertwee, R. G.; Stevenson, L. A.; Griffin, G.; Gibson, D.; Mandelbaum, A.; Etinger, A.; Mechoulam, R. *Science (Washington, D. C., 1883-)* **1992**, *258*, 1946-9.
16. Cedernaes, J.; Fanelli, F.; Fazzini, A.; Pagotto, U.; Broman, J.-E.; Vogel, H.; Dickson, S. L.; Schioeth, H. B.; Benedict, C. *Psychoneuroendocrinology* **2016**, *74*, 258-268.
17. Kathuria, S.; Gaetani, S.; Fegley, D.; Valiño, F.; Duranti, A.; Tontini, A.; Mor, M.; Tarzia, G.; Rana, G. L.; Calignano, A.; Giustino, A.; Tattoli, M.; Palmery, M.; Cuomo, V.; Piomelli, D. *Nature Medicine* **2002**, *9*, 76.
18. Deutsch, D. G.; Ueda, N.; Yamamoto, S. *Prostaglandins, Leukotrienes Essent. Fatty Acids* **2002**, *66*, 201-210.
19. Cravatt, B. F.; Saghatelian, A.; Hawkins, E. G.; Clement, A. B.; Bracey, M. H.; Lichtman, A. H. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2004**, *101*, 10821-10826.
20. Scuderi, C.; Valenza, M.; Stecca, C.; Esposito, G.; Carratù, M. R.; Steardo, L. *Journal of Neuroinflammation* **2012**, *9*, 49.
21. Maccarrone, M.; Cartoni, A.; Parolaro, D.; Margonelli, A.; Massi, P.; Bari, M.; Battista, N.; Finazzi-Agrò, A. *Molecular and Cellular Neuroscience* **2002**, *21*, 126-140.
22. Qiao, W.; Qiao, Y. *J. Surfactants Deterg.* **2013**, *16*, 821-828.
23. Grazia Cascio, M.; Minassi, A.; Ligresti, A.; Appendino, G.; Burstein, S.; Di Marzo, V. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **2004**, *314*, 192-196.
24. Saghatelian, A.; McKinney, M. K.; Bandell, M.; Patapoutian, A.; Cravatt, B. F. *Biochemistry* **2006**, *45*, 9007-9015.
25. Bittner, S.; Win, T.; Gupta, R. *Amino Acids* **2005**, *28*, 343-356.
26. Anderson, B. J. *Paediatr Anaesth* **2008**, *18*, 915-21.
27. Hoegestaett, E. D.; Joensson, B. A. G.; Ermund, A.; Andersson, D. A.; Bjoerk, H.; Alexander, J. P.; Cravatt, B. F.; Basbaum, A. I.; Zygmunt, P. M. *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 31405-31412.
28. Arafat, E. S.; Trimble, J. W.; Andersen, R. N.; Dass, C.; Desiderio, D. M. *Life Sci.* **1989**, *45*, 1679-87.
29. Cravatt, B. F.; Prospero-Garcia, O.; Siuzdak, G.; Gilula, N. B.; Henriksen, S. J.; Boger, D. L.; Lerner, R. A. *Science (Washington, D. C.)* **1995**, *268*, 1506-9.
30. Leggett, J. D.; Aspley, S.; Beckett, S. R. G.; D'Antona, A. M.; Kendall, D. A.; Kendall, D. A. *Br. J. Pharmacol.* **2004**, *141*, 253-262.
31. Lo, Y.-K.; Tang, K.-Y.; Chang, W.-N.; Lu, C.-H.; Cheng, J.-S.; Lee, K.-C.; Chou, K.-J.; Liu, C.-P.; Chen, W.-C.; Su, W.; Law, Y.-P.; Jan, C.-R. *Biochemical Pharmacology* **2001**, *62*, 1363-1369.

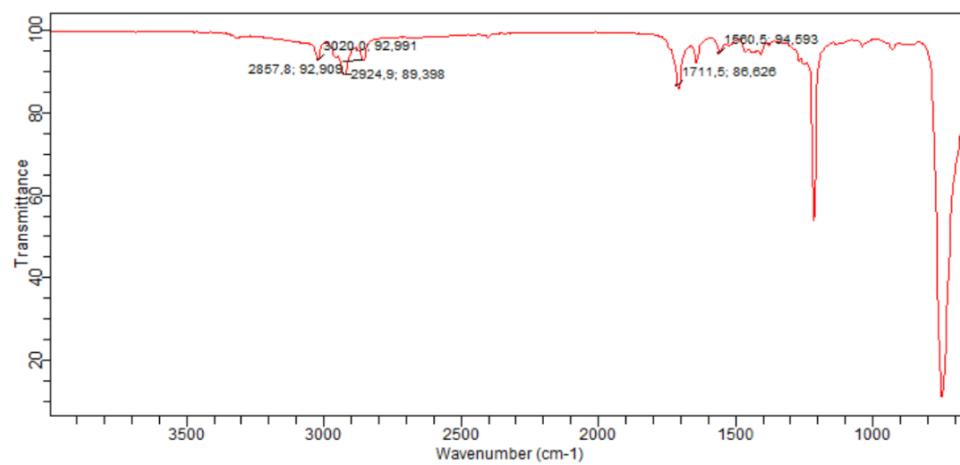
32. Wakamatsu, K.; Masaki, T.; Itoh, F.; Kondo, K.; Sudo, K. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **1990**, *168*, 423-429.
33. Jursic, B. S.; Zdravkovski, Z. *Synthetic Communications* **1993**, *23*, 2761-2770.
34. Montalbetti, C. A. G. N.; Falque, V. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 10827-10852.
35. Venkataraman, K.; Wagle, D. R. *Tetrahedron Letters* **1979**, *20*, 3037-3040.
36. Carpino, L. A.; Beyermann, M.; Wenschuh, H.; Bienert, M. *Acc. Chem. Res.* **1996**, *29*, 268-274.
37. Joullie, M. M.; Lassen, K. M. *ARKIVOC (Gainesville, FL, U. S.)* **2010**, 189-250.
38. Staab, H. A. *Liebigs Ann. Chem.* **1957**, *609*, 75-83.
39. Staab, H. A.; Lüking, M.; Dürr, F. H. *Chemische Berichte* **1962**, *95*, 1275-1283.
40. Staab, H. A. *Angew. Chem.* **1956**, *68*, 754.
41. El-Faham, A.; Albericio, F. *Chem. Rev. (Washington, DC, U. S.)* **2011**, *111*, 6557-6602.
42. Valeur, E.; Bradley, M. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 606-631.
43. Johansson, S. J. R., Norges miljø- og biovitenskapelige universitet, **2017**.
44. Karabuga, S.; Karakaya, I.; Ulukanli, S. *Tetrahedron: Asymmetry* **2014**, *25*, 851-855.
45. Tran, T. D.; Pham, N. B.; Ekins, M.; Hooper, J. N. A.; Quinn, R. J. *Mar. Drugs* **2015**, *13*, 4556-4575.
46. Srinivasan, S.; Manisankar, P. *Synth. Commun.* **2010**, *40*, 3538-3543.
47. Xu, M.-Z.; Lee, W. S.; Kim, M. J.; Park, D.-S.; Yu, H.; Tian, G.-R.; Jeong, T.-S.; Park, H.-Y. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2004**, *14*, 4277-4280.
48. Weiss, R. G.; Viswanatha Mallya, A. M.; Georgetown University, USA . **2012**; p. 131pp.
49. Lv, G.; Wang, L.; Liu, J.; Li, S. *Journal of Chromatography A* **2009**, *1216*, 8545-8548.
50. Scapecchi, S.; Martelli, C.; Ghelardini, C.; Guandalini, L.; Martini, E.; Gualtieri, F. *Farmaco* **2003**, *58*, 715-722.
51. Tyburski, J. B.; Patterson, A. D.; Krausz, K. W.; Slavik, J.; Fornace, A. J., Jr.; Gonzalez, F. J.; Idle, J. R. *Radiat. Res.* **2008**, *170*, 1-14.
52. Su, Z.-H.; Zou, G.-A.; Preiss, A.; Zhang, H.-W.; Zou, Z.-M. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2010**, *53*, 454-461.

6 Vedlegg

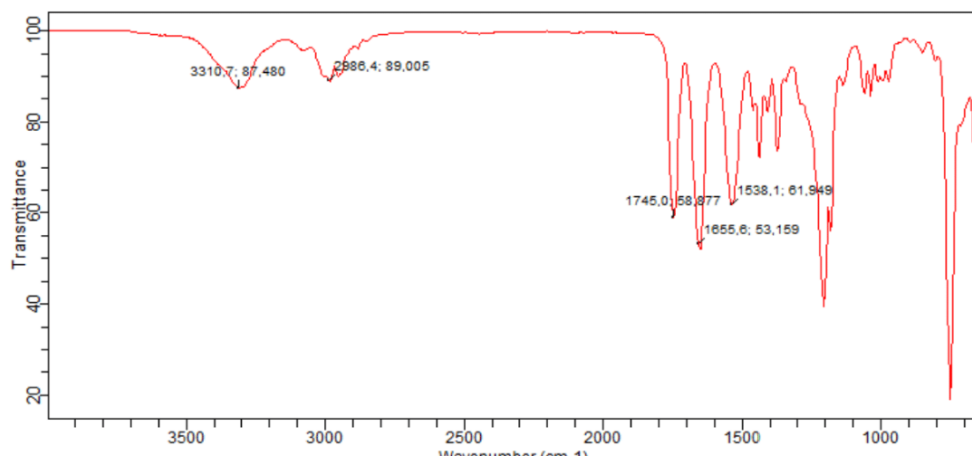
6.1 IR-spektre



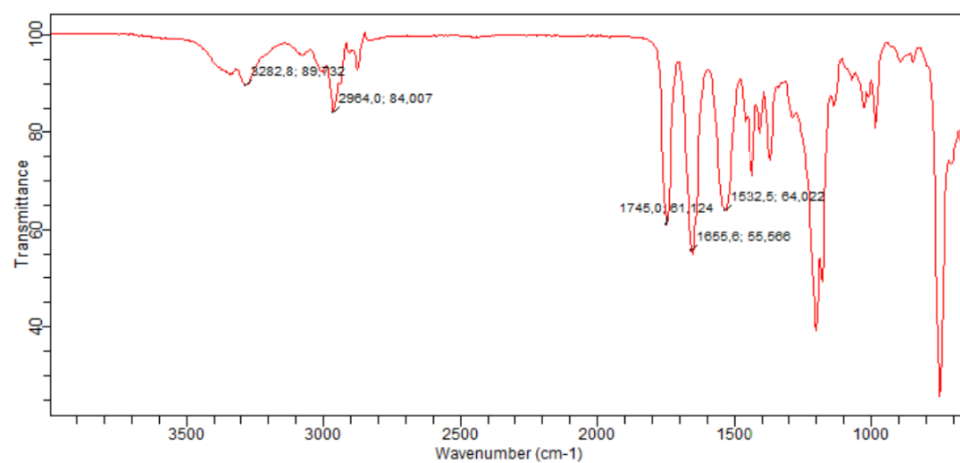
Spekter A1 – IR-spekter av forbindelse 2.



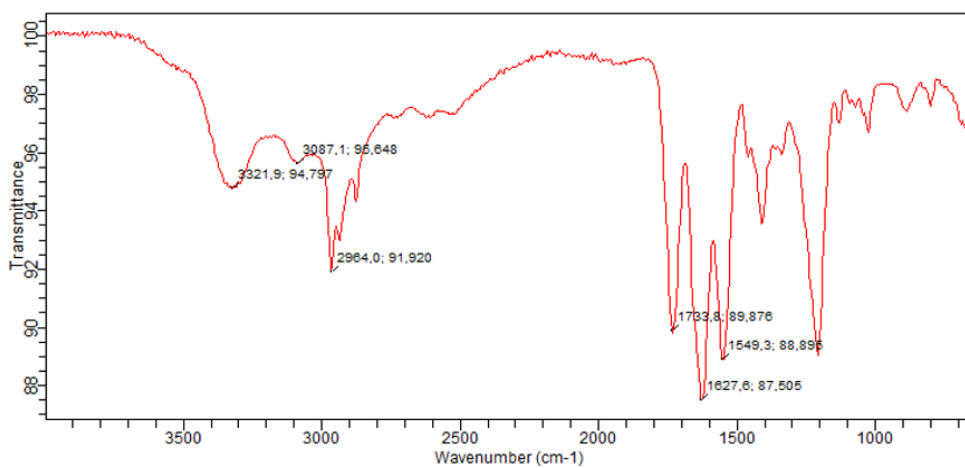
Spekter A2 – IR-spekter av forbindelse 3.



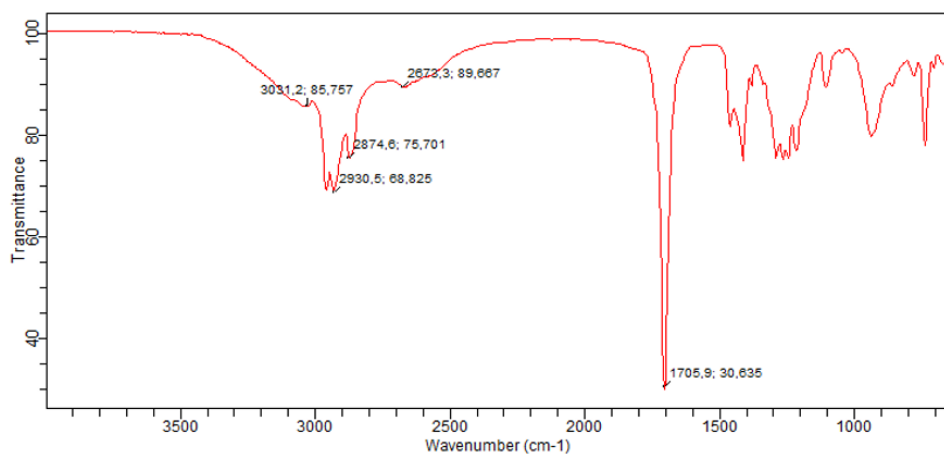
Spekter A3 – IR-spekter av forbindelse 4.



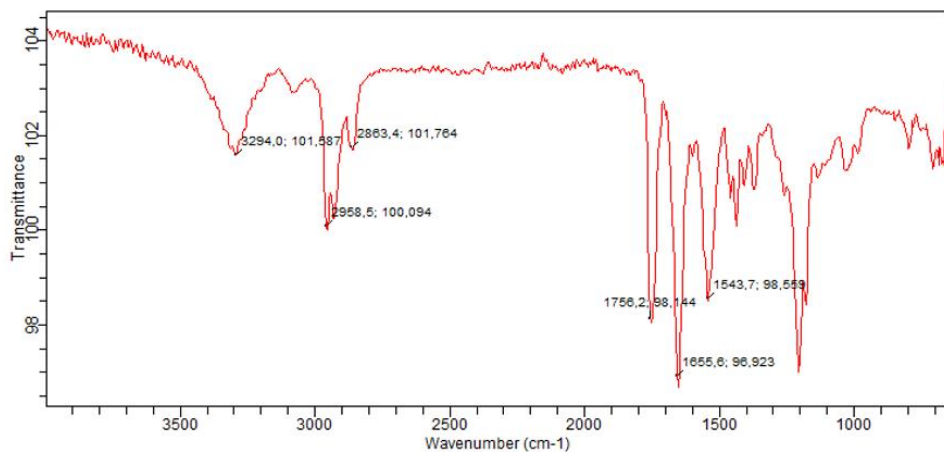
Spekter A4 – IR-spekter av forbindelse 6.



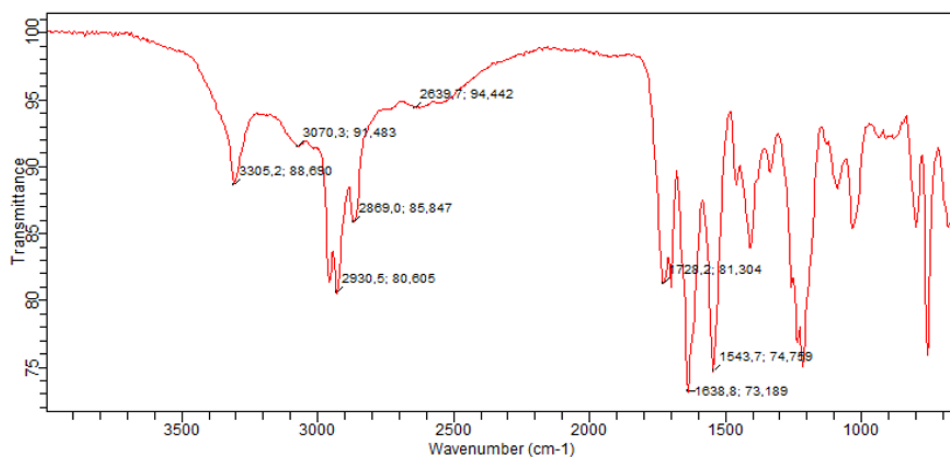
Spekter A5 – IR-spekter av forbindelse 7.



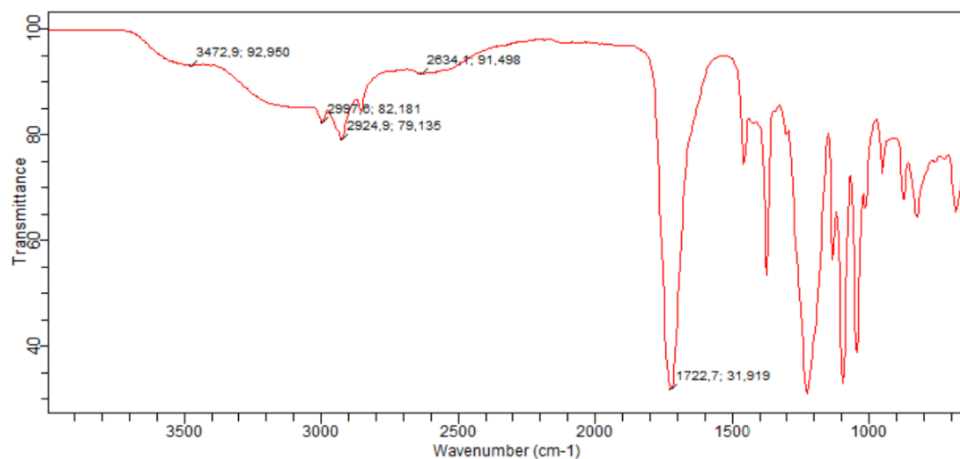
Spekter A6 – IR-spekter av forbindelse 8.



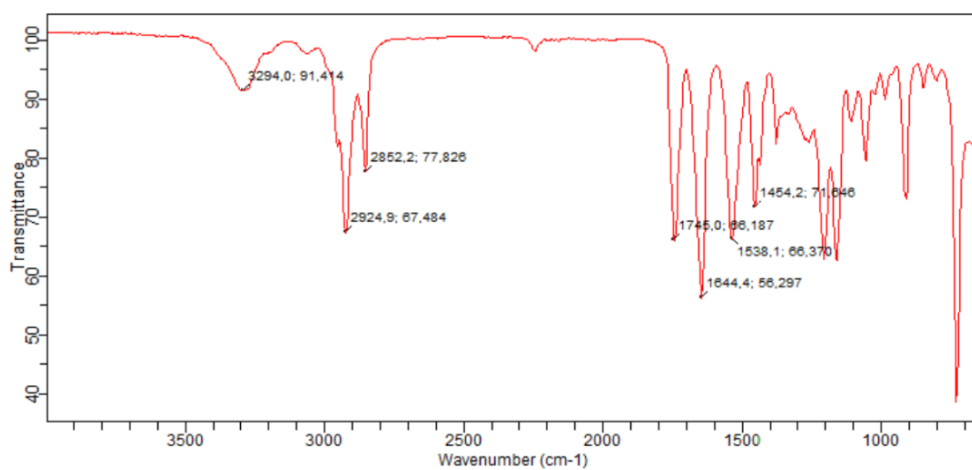
Spekter A7 – IR-spekter av forbindelse 9.



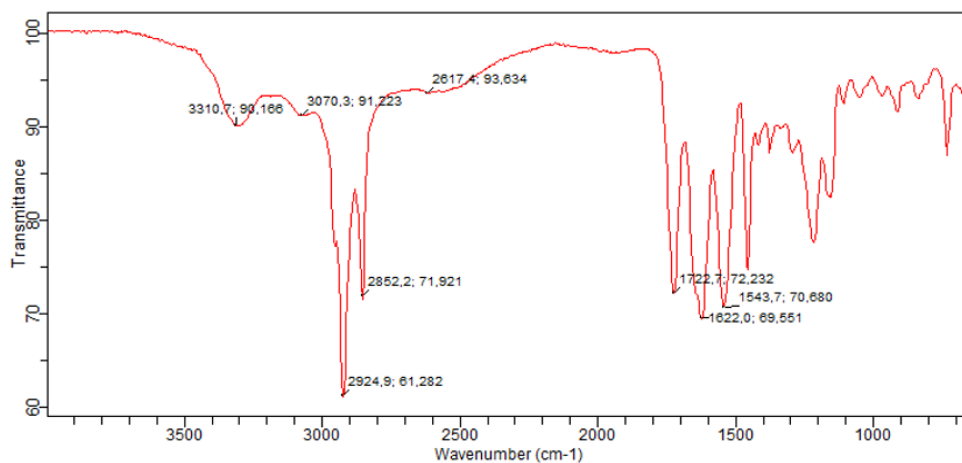
Spekter A8 – IR-spekter av forbindelse 10.



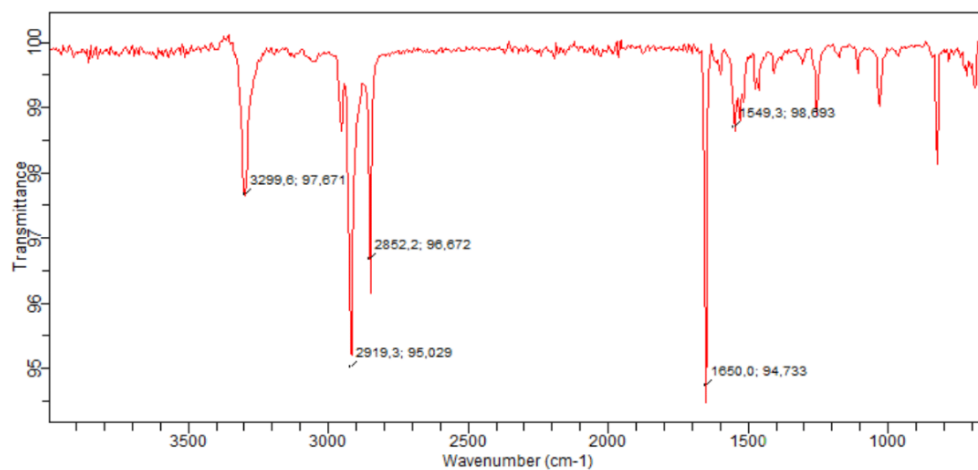
Spekter A9 – IR-spekter av forbindelse 11.



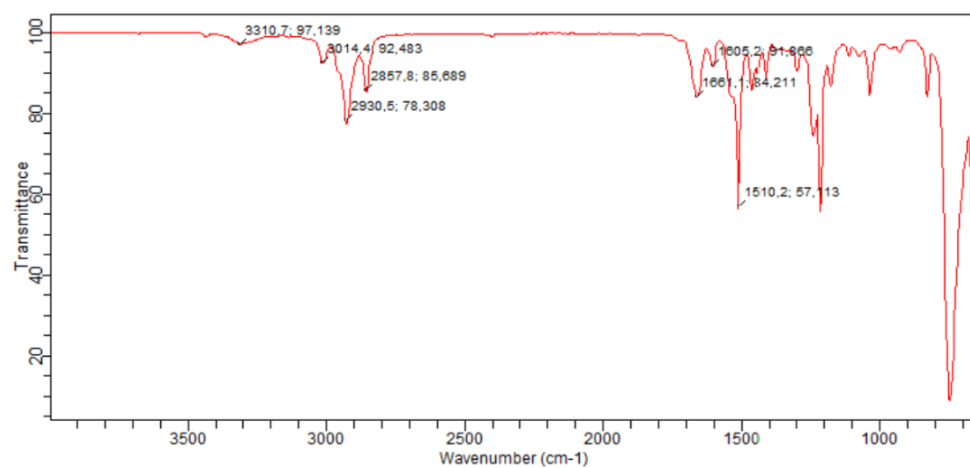
Spekter A10 - IR-spekter av forbindelse 14.



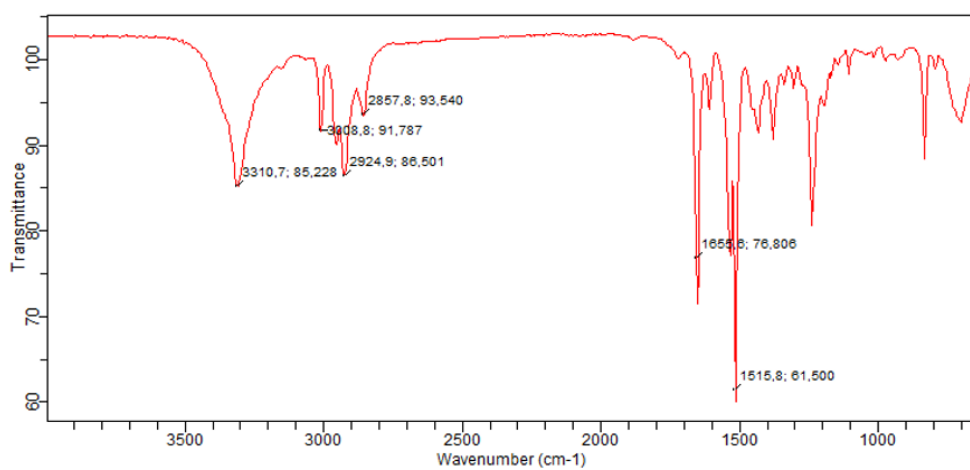
Spekter A11 – IR-spekter av forbindelse 15.



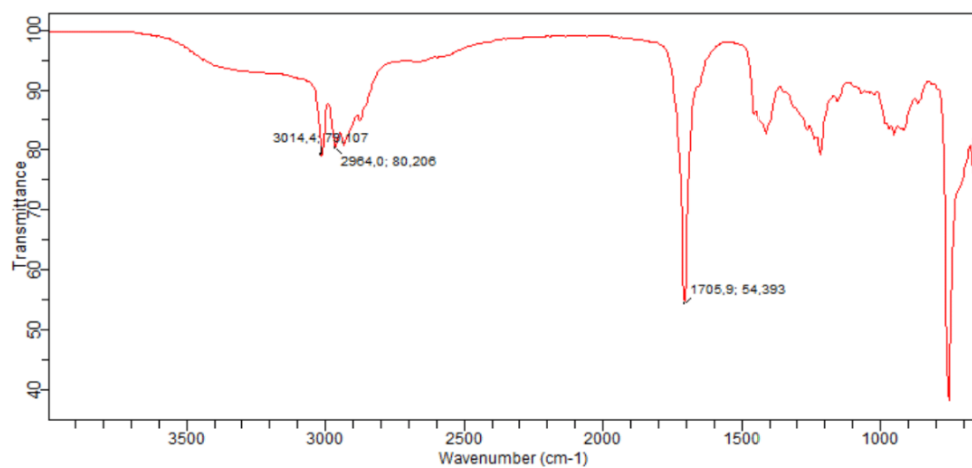
Spekter A12 – IR-spekter av forbindelse 17.



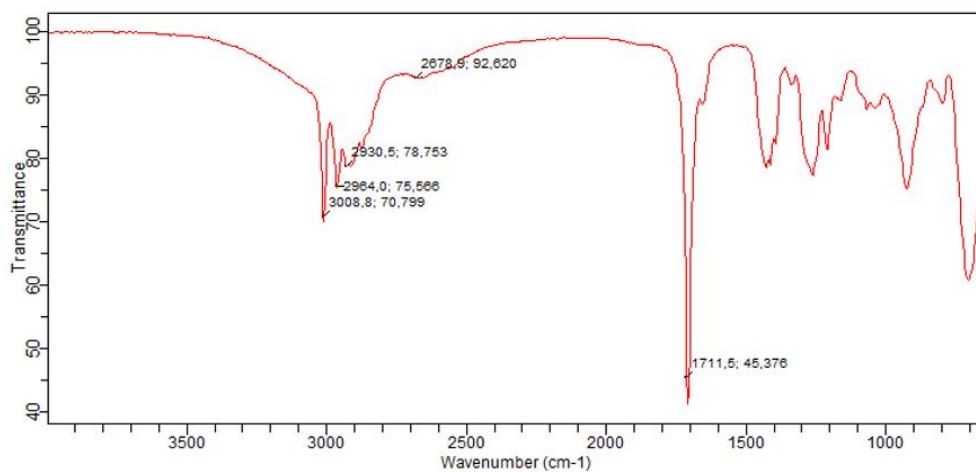
Spekter A13 – IR-spekter av forbindelse 18.



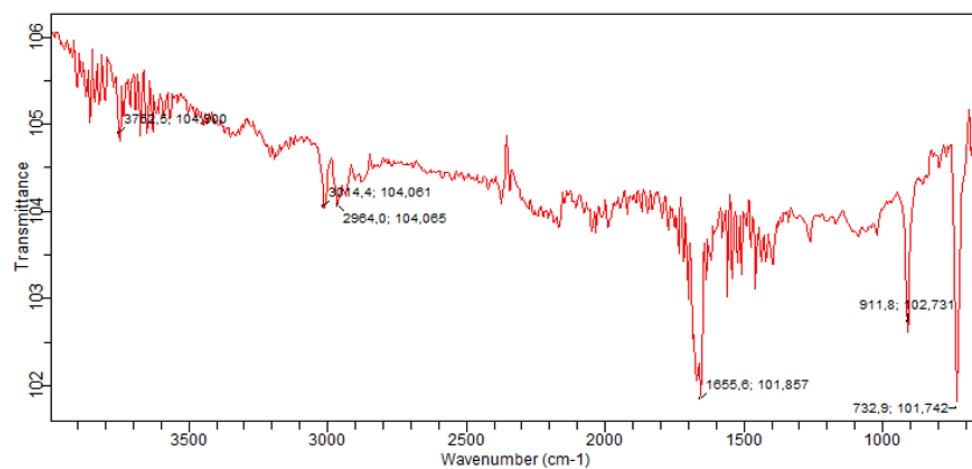
Spekter A14 – IR-spekter av forbindelse 19.



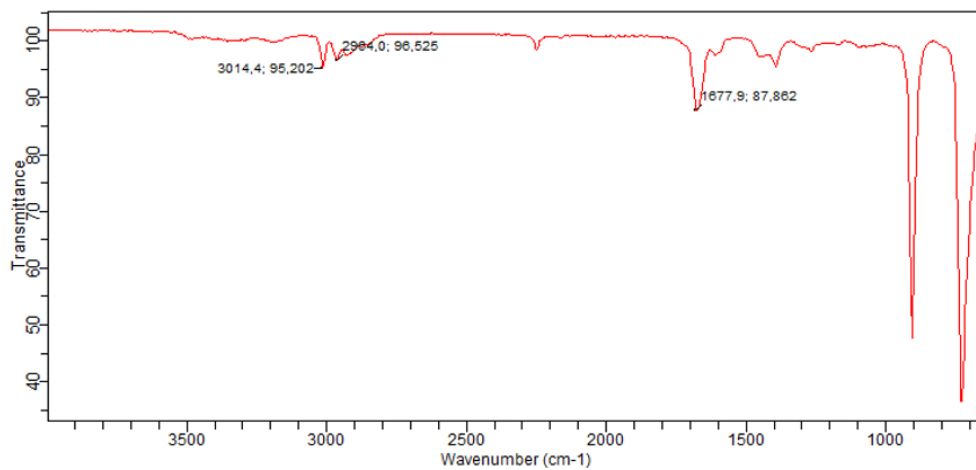
Spekter A15 – IR-spekter av forbindelse 20.



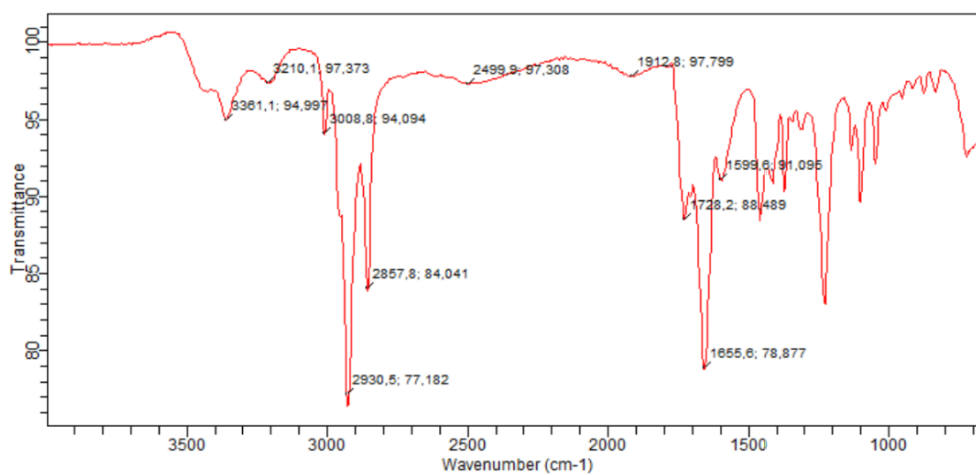
Spekter A16 – IR-spekter av forbindelse 21.



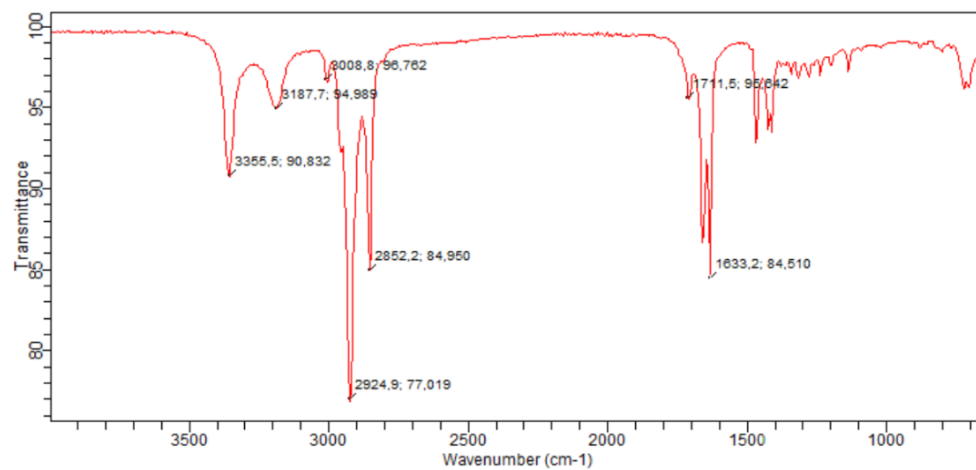
Spekter A17 – IR-spekter av forbindelse 22.



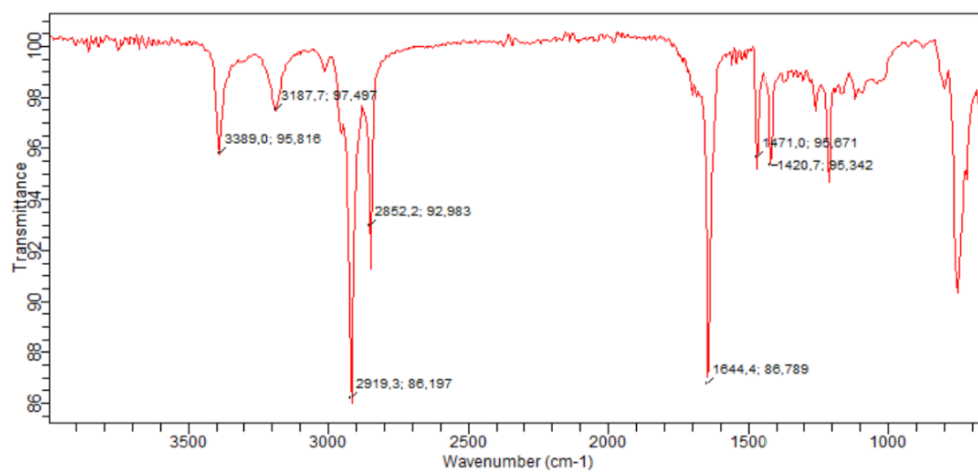
Spekter A18 – IR-spekter av forbindelse 23.



Spekter A19 – IR-spekter av forbindelse 24.



Spekter A20 – IR-spekter av forbindelse 25.



Spekter A21 – IR-spekter av forbindelse 26.

6.2 MS-spektre

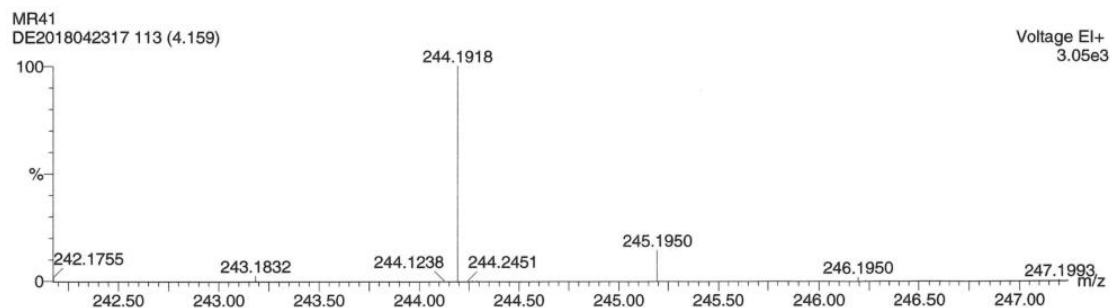
Single Mass Analysis

Tolerance = 10.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0

Isotope cluster parameters: Separation = 1.0 Abundance = 1.0%

Monoisotopic Mass, Odd and Even Electron Ions

70 formula(e) evaluated with 1 results within limits (up to 50 closest results for each mass)



Minimum:

Maximum: 200.0 10.0 -1.5

Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Score	Formula
243.1832	243.1834	-0.2	-1.0	2.0	1	C13 H25 N O3

Spekter A22 – HR-MS spekter av forbindelse 2.

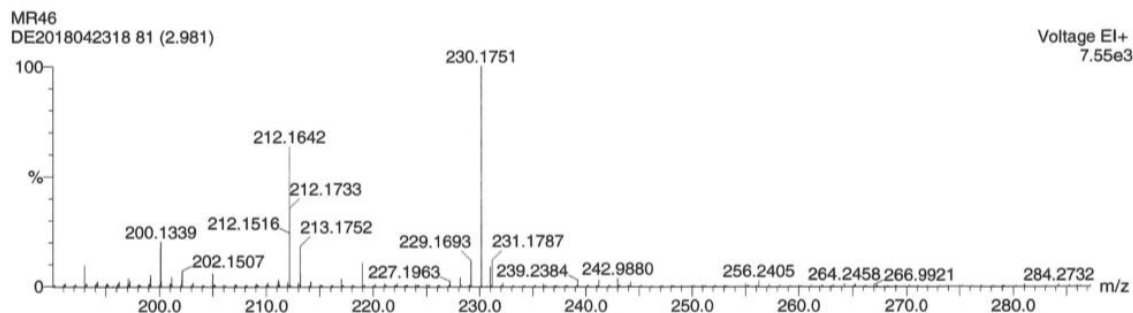
Single Mass Analysis

Tolerance = 10.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0

Isotope cluster parameters: Separation = 1.0 Abundance = 1.0%

Monoisotopic Mass, Odd and Even Electron Ions

23 formula(e) evaluated with 1 results within limits (up to 50 closest results for each mass)



Minimum:

Maximum: 200.0 10.0 -1.5

Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Score	Formula
229.1693	229.1678	1.5	6.6	2.0	1	C12 H23 N O3

Spekter A23 – HR-MS spekter av forbindelse 3.

Single Mass Analysis

Tolerance = 10.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0

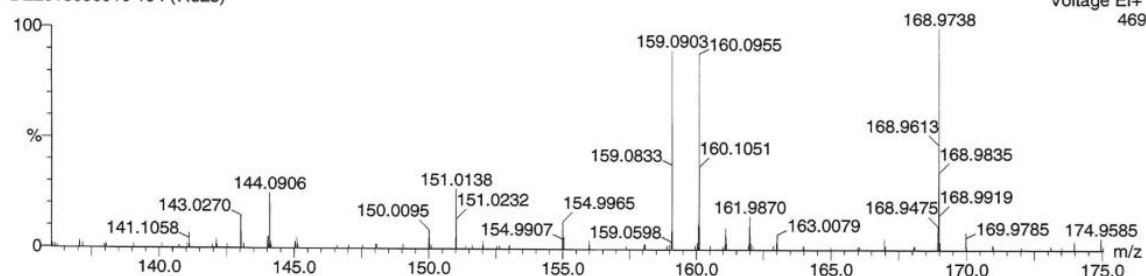
Isotope cluster parameters: Separation = 1.0 Abundance = 1.0%

Monoisotopic Mass, Odd and Even Electron Ions

77 formula(e) evaluated with 1 results within limits (up to 50 closest results for each mass)

CFE58

DE2018050910 194 (7.325)



Minimum: -1.5
Maximum: 200.0 10.0 50.0

Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Score	Formula
159.0903	159.0895	0.8	4.8	2.0	1	C7 H13 N O3

Spekter A24 – HR-MS spekter av forbindelse 6.

Single Mass Analysis

Tolerance = 10.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0

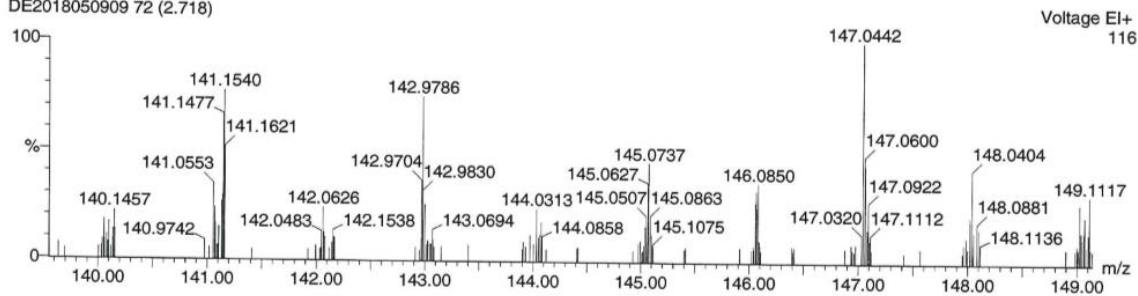
Isotope cluster parameters: Separation = 1.0 Abundance = 1.0%

Monoisotopic Mass, Odd and Even Electron Ions

69 formula(e) evaluated with 2 results within limits (up to 50 closest results for each mass)

CFE64

DE2018050909 72 (2.718)



Minimum: -1.5
Maximum: 200.0 10.0 50.0

Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Score	Formula
145.0737	145.0739	-0.2	-1.3	2.0	1	C6 H11 N O3
	145.0726	1.1	7.9	2.5	2	C4 H9 N4 O2

Spekter A25 – HR-MS spekter av forbindelse 7.

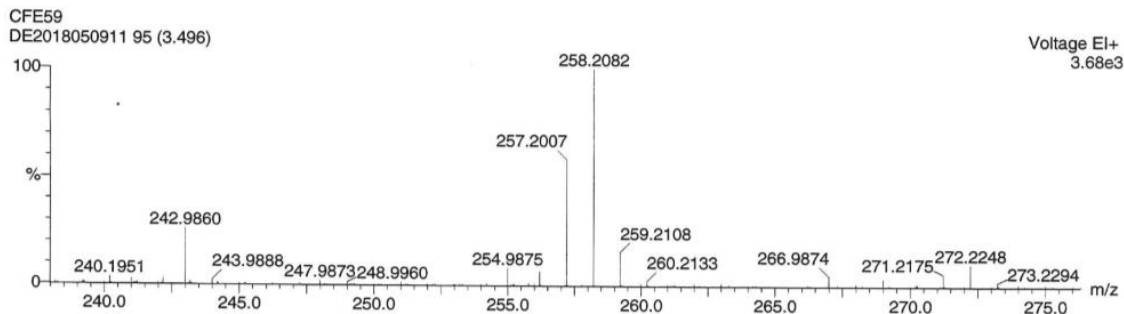
Single Mass Analysis

Tolerance = 10.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0

Isotope cluster parameters: Separation = 1.0 Abundance = 1.0%

Monoisotopic Mass, Odd and Even Electron Ions

117 formula(e) evaluated with 2 results within limits (up to 50 closest results for each mass)



Minimum:

Maximum: 200.0 10.0 -1.5

Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Score	Formula
257.2007	257.2018	-1.1	-4.2	6.5	2	C17 H25 N2
	257.1991	1.6	6.2	2.0	1	C14 H27 N O3

Spekter A26 – HR-MS spekter av forbindelse 14.

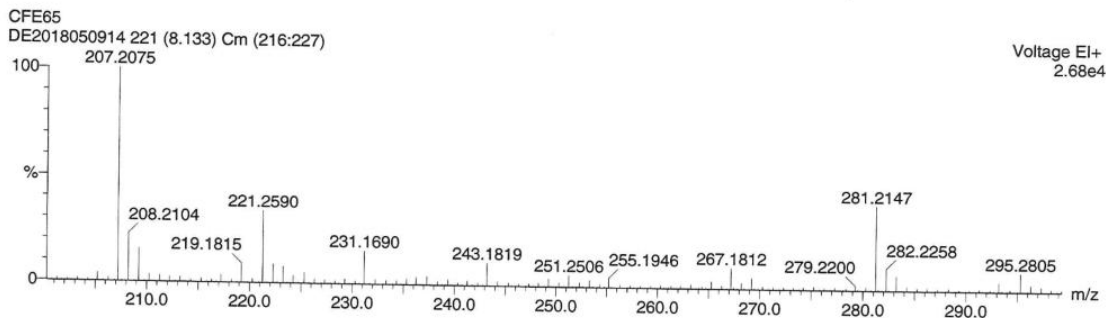
Single Mass Analysis

Tolerance = 10.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0

Isotope cluster parameters: Separation = 1.0 Abundance = 1.0%

Monoisotopic Mass, Odd and Even Electron Ions

112 formula(e) evaluated with 2 results within limits (up to 50 closest results for each mass)



Minimum:

Maximum: 200.0 10.0 -1.5

Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Score	Formula
243.1819	243.1821	-0.2	-0.8	2.5	2	C11 H23 N4 O2
	243.1834	-1.5	-6.3	2.0	1	C13 H25 N O3

Spekter A27 – HR-MS spekter av forbindelse 15.

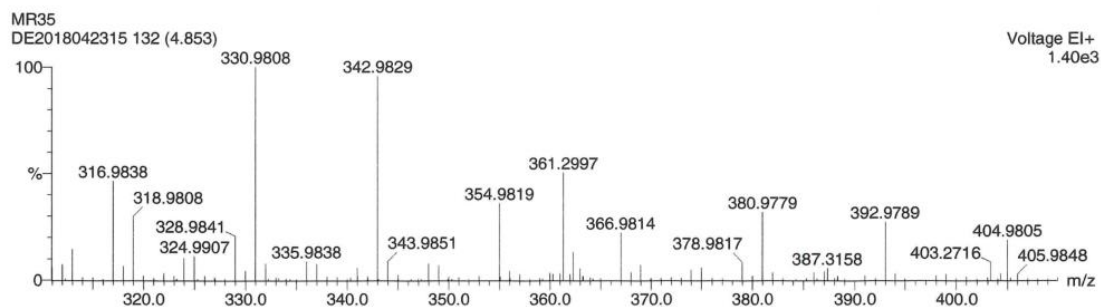
Single Mass Analysis

Tolerance = 10.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0

Isotope cluster parameters: Separation = 1.0 Abundance = 1.0%

Monoisotopic Mass, Odd and Even Electron Ions

97 formula(e) evaluated with 1 results within limits (up to 50 closest results for each mass)



Minimum: -1.5
Maximum: 200.0 10.0 50.0

Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Score	Formula
361.2997	361.2981	1.6	4.5	5.0	1	C23 H39 N O2

Spekter A28 – HR-MS spekter av forbindelse 17.

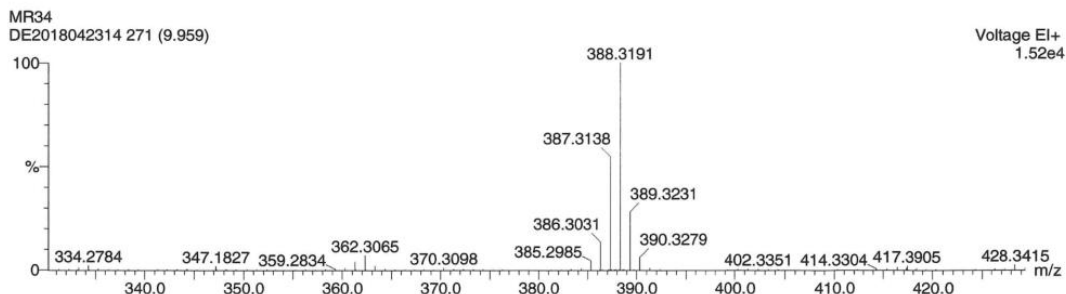
Single Mass Analysis

Tolerance = 10.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0

Isotope cluster parameters: Separation = 1.0 Abundance = 1.0%

Monoisotopic Mass, Odd and Even Electron Ions

106 formula(e) evaluated with 2 results within limits (up to 50 closest results for each mass)



Minimum: -1.5
Maximum: 200.0 10.0 50.0

Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Score	Formula
387.3138	387.3137	0.1	0.2	6.0	1	C25 H41 N O2
	387.3110	2.8	7.1	1.5	2	C22 H43 O5

Spekter A29 – HR-MS spekter av forbindelse 18.

Single Mass Analysis

Tolerance = 10.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0

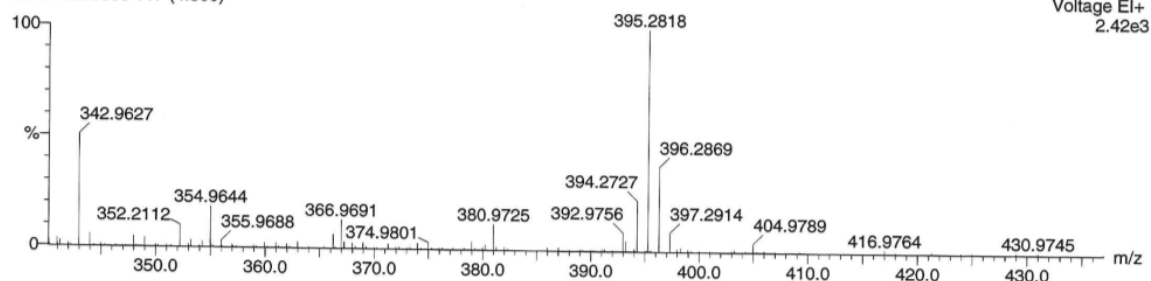
Isotope cluster parameters: Separation = 1.0 Abundance = 1.0%

Monoisotopic Mass, Odd and Even Electron Ions

175 formula(e) evaluated with 4 results within limits (up to 50 closest results for each mass)

CFE53

DE2018050908 117 (4.300)



Minimum: -1.5
Maximum: 200.0 10.0 50.0

Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Score	Formula
395.2818	395.2824	-0.6	-1.6	9.0	1	C26 H37 N O2
	395.2811	0.7	1.8	9.5	2	C24 H35 N4 O
	395.2797	2.1	5.2	4.5	3	C23 H39 O5
	395.2784	3.4	8.6	5.0	4	C21 H37 N3 O4

Spekter A30 – HR-MS spekter av forbindelse 19.

Single Mass Analysis

Tolerance = 10.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0

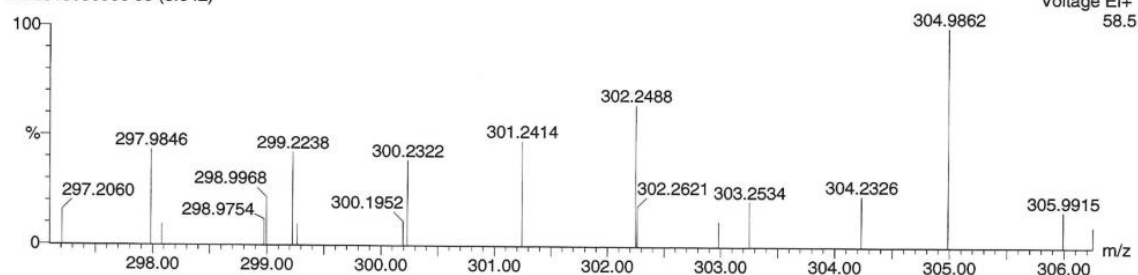
Isotope cluster parameters: Separation = 1.0 Abundance = 1.0%

Monoisotopic Mass, Odd and Even Electron Ions

135 formula(e) evaluated with 2 results within limits (up to 50 closest results for each mass)

EPA amid

DE2018050906 99 (3.642)



Minimum: -1.5
Maximum: 200.0 10.0 50.0

Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Score	Formula
301.2414	301.2406	0.8	2.8	6.0	1	C20 H31 N O
	301.2392	2.2	7.2	6.5	2	C18 H29 N4

Spekter A31 – HR-MS spekter av forbindelse 22.

Single Mass Analysis

Tolerance = 10.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0

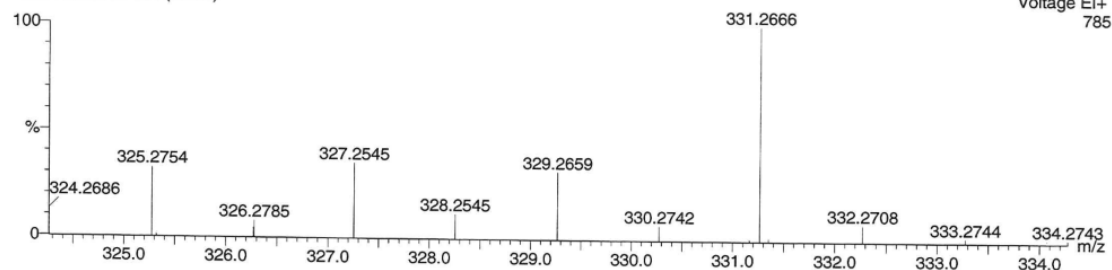
Isotope cluster parameters: Separation = 1.0 Abundance = 1.0%

Monoisotopic Mass, Odd and Even Electron Ions

147 formula(e) evaluated with 4 results within limits (up to 50 closest results for each mass)

CFE12

DE2018050912 164 (6.031)



Minimum: -1.5
Maximum: 200.0 10.0 50.0

Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Score	Formula
327.2545	327.2549	-0.4	-1.1	7.5	3	C20 H31 N4
	327.2535	1.0	2.9	2.5	2	C19 H35 O4
	327.2562	-1.7	-5.2	7.0	1	C22 H33 N O
	327.2522	2.3	7.1	3.0	4	C17 H33 N3 O3

Spekter A32 – HR-MS spekter av forbindelse 23.

Single Mass Analysis

Tolerance = 10.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0

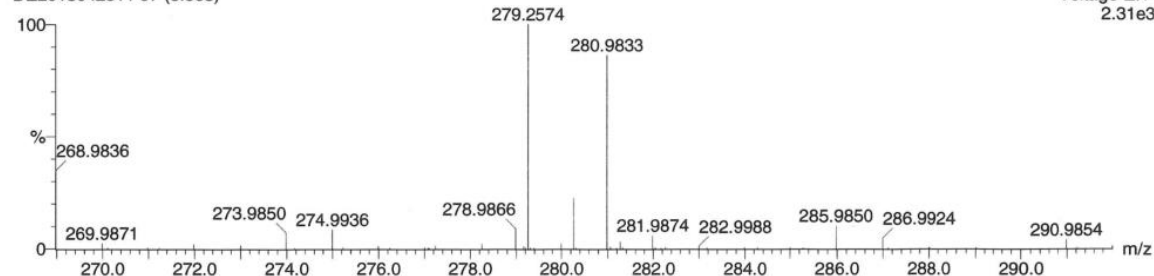
Isotope cluster parameters: Separation = 1.0 Abundance = 1.0%

Monoisotopic Mass, Odd and Even Electron Ions

79 formula(e) evaluated with 1 results within limits (up to 50 closest results for each mass)

MR09

DE2018042311 97 (3.568)



Minimum: -1.5
Maximum: 200.0 10.0 50.0

Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Score	Formula
279.2574	279.2562	1.2	4.2	3.0	1	C18 H33 N O

Spekter A33 – HR-MS spekter av forbindelse 24.

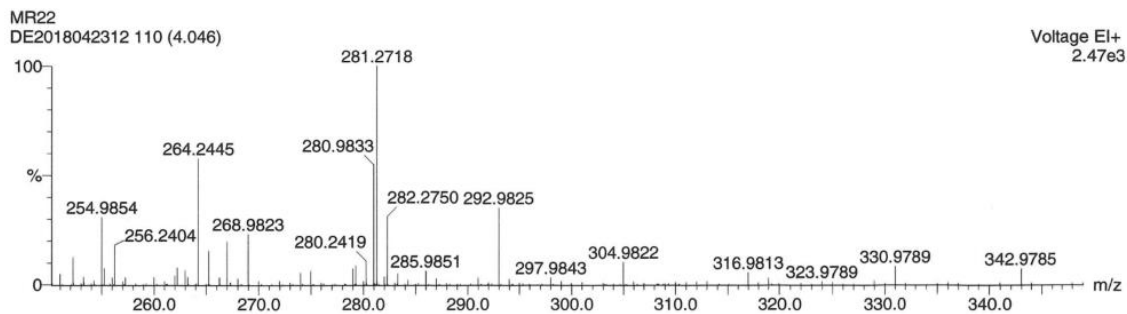
Single Mass Analysis

Tolerance = 10.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0

Isotope cluster parameters: Separation = 1.0 Abundance = 1.0%

Monoisotopic Mass, Odd and Even Electron Ions

78 formula(e) evaluated with 1 results within limits (up to 50 closest results for each mass)



Minimum: -1.5
Maximum: 200.0 10.0 50.0

Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Score	Formula
281.2718	281.2719	-0.1	-0.2	2.0	1	C18 H35 N O

Spekter A34 – HR-MS spekter av forbindelse 25.

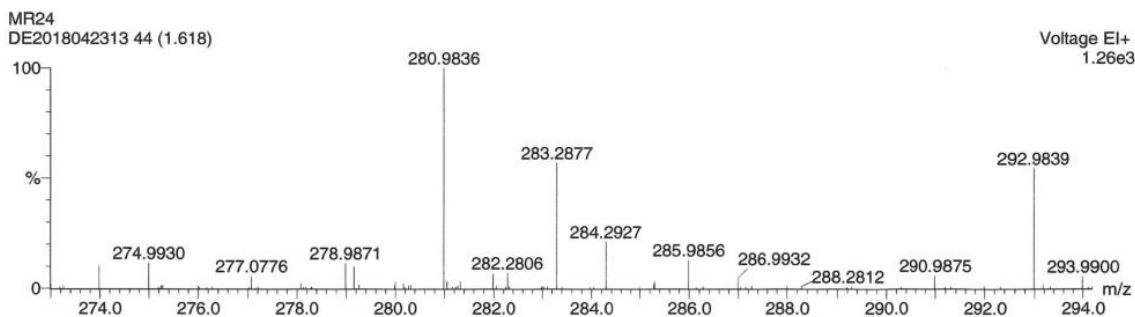
Single Mass Analysis

Tolerance = 10.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0

Isotope cluster parameters: Separation = 1.0 Abundance = 1.0%

Monoisotopic Mass, Odd and Even Electron Ions

79 formula(e) evaluated with 1 results within limits (up to 50 closest results for each mass)



Minimum: -1.5
Maximum: 200.0 10.0 50.0

Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Score	Formula
283.2877	283.2875	0.2	0.7	1.0	1	C18 H37 N O

Spekter A35 – HR-MS spekter av forbindelse 26.



Norges miljø- og biovitenskapelige universitet
Noregs miljø- og biovitenskapelige universitet
Norwegian University of Life Sciences

Postboks 5003
NO-1432 Ås
Norway