



Norges miljø- og  
biovitenskapelige  
universitet

**Masteroppgave 2020 30 stp**

Fakultet for kjemi, bioteknologi og matvitenskap

## **Syntese av 2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-glukopyranosyl-4-hydroxy-3-metoksibenzaldehyd**

Synthesis of 2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-4-hydroxy-3-metoksy benzaldehyde

**Henrik Myklestu**

Sivilingeniør i Kjemi og Bioteknologi – Organisk syntese



## Forord

Arbeidet med denne masteroppgaven ble utført på organisk kjemiavdelingen på Fakultet for Kjemi, Bioteknologi og Matvitenskap ved Norges miljø- og biovitenskapelige universitet.

Takk til hovedveilederen min, Professor Yngve H. Stenstrøm, som gav meg muligheten til å bidra i et spennende prosjekt, for å gi god veiledning og støtte under masteroppgaven. Jeg vil takke biveiledere mine doktor Jens M. J. Nolsøe og doktor Simen Antonsen for all hjelpen dere har gitt meg i det praktiske og teoretiske arbeidet med masteroppgaven, og gitt meg inspirasjon!

Takk til førsteamanuensis Bjørge Westereng, for utgangsstoffene og for å ha gitt meg muligheten til å bidra i et spennende prosjekt.

Takk til samtlige medstudenter på laboratoriet som har gjort semesteret til en fin og minnerik periode å se tilbake på.

Til slutt vil jeg takke familie og venner for all støtte og motivasjon dere har gitt meg. Det ville ikke vært mulig uten dere. Tusen takk til min kjære samboer, Christine Thormodsrud for behjelpelighet, oppmuntring underveis og korrekturlesing av oppgaven.

Ås, august 2020

Henrik Myklestu

## Sammendrag

Karbohydrater i glykosidbinding med en fenolisk forbindelse kan danne biokonjugater som er en essensiell del av medisinalkjemi. I trevirke finnes karbohydratene xylose, mannose og den fenoliske forbindelsen vanillin som kan bli utnyttet i dannelsen av glykosidbinding for potensielle helsefrembringende effekter.

De funksjonelle gruppene i et karbohydrat har ulike reaktivitet og i syntesen blir det vurdert to faktorer om reaktivitet. Reaktiviteten ved det anomere karbonet kan bli utnyttet av en glykosyldonor for å danne glykosidbinding. Den utgående gruppen fra en glykosyldonor kan føre til ulike mellomprodukter, og vil ha betydning for om anomerasistansen inntreffer på det anomere karbonet. Anomerasistansen kan derfor påvirke stereoselektiviteten i produktet. Andre faktorer som påvirker dannelsen av glykosidbinding er valg av løsningsmiddel og betydningen av lang-distanse effekt, kompleksitet og stereokonfigurasjonen i beskyttelsesgruppene.

I denne masteroppgaven ble målet om å utvikle en syntesestrategi av 2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-glukopyranosyl-4-hydroxy-3-metoksibenzaldehyd (**5**) oppnådd med et totalt utbytte på 60 % over tre syntesetrinn. Syntesen ble først utført ved å benytte acetyl beskyttelsesgrupper for å unngå uønskede reaksjoner og kontrollere stereoselektiviteten. Deretter ble to ulike glykosylhalider utprøvd som glykosyldonor og gir et utgangspunkt for å danne glykosidbinding med vanillin under bifasiske betingelser. Først ble **8** forsøkt dannet fra **6**, derimot ble syntesetrinnet vellykket i dannelsen av et mer stabilt **7**.

Glykosylbromidet ble utprøvd med to ulike PTC-er. Den første PTC-en var forsøkt med TBAHS, men gav ingen dannelsen av **5**. Videre ble PTC-en TBAB utprøvd, denne gangen med to ulike baser. Ved bruk av basen NaOH gav det ingen dannelsen av **5**, derimot ved bruk av basen  $K_2CO_3$  ble det dannet glykosidbinding i **5**.

Syntesestrategien utviklet i denne masteroppgaven tilsier at det er god mulighet for å oppnå glykosidbinding i hver av utgangsstoffene xylose og mannose i reaksjon med vanillin. Disse biokonjugatene kan dermed være verdifulle prebiotiske forbindelser i fremtiden.

## Abstract

The glycoside bond between carbohydrates and phenolic compound can form bioconjugates which are an essential part of medicinal chemistry. Wood exists of the carbohydrates xylose, mannose and the phenolic compound vanillin, which can be used to form glycoside bonds for potential health promoting effects.

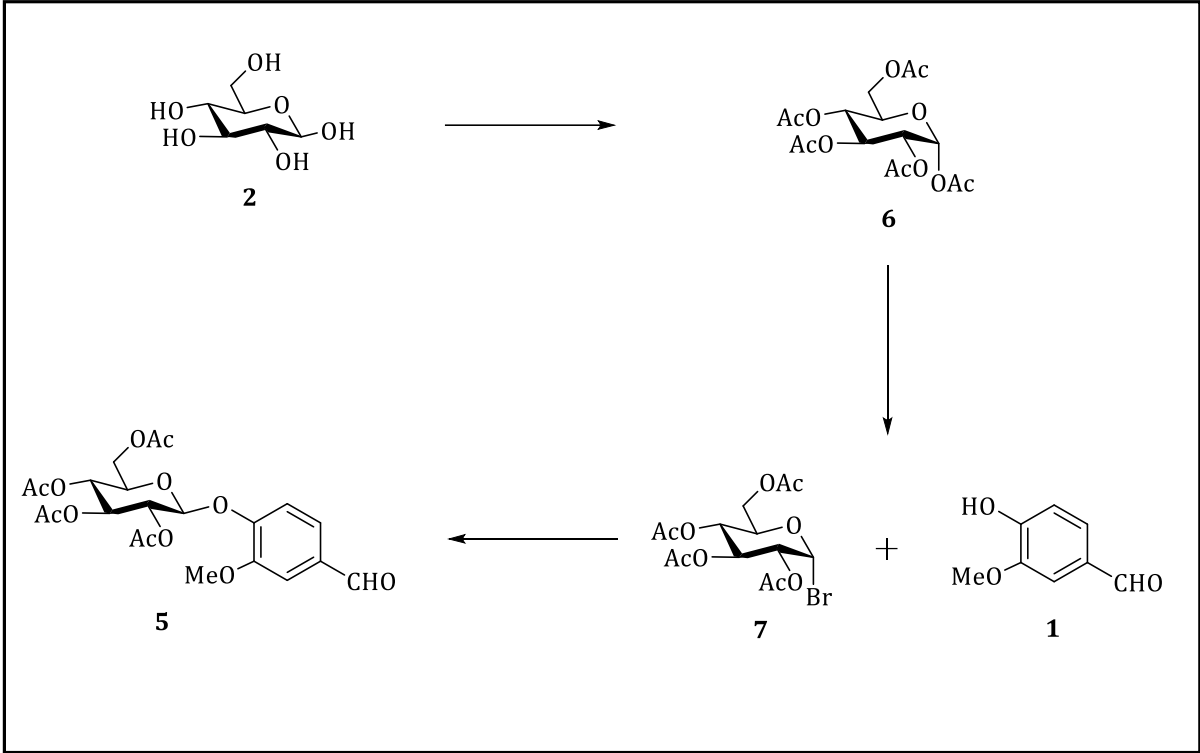
The functional groups in a carbohydrate have different reactivity. In the synthesis, two factors of the reactivity were considered. The reactivity at the anomeric carbon can be utilized by a glycosyl donor to easier form a glycoside bond. The leaving group at the glycosyl donor may lead to various intermediates and will impact whether anomer assistance occurs on the anomeric carbon. That makes anomer assistance may affect the stereoselectivity to the product. Other factors that influence the forming of glycoside bond are the choice of solvent in the synthesis and the importance of long distance effect, the complexity and stereoconfiguration of the protecting groups.

In this master's thesis, the aim of developing a strategy for synthesis of 2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde (**5**) was achieved with a total yield of 60% over three synthesis steps. The synthesis was first performed by using acetyl protecting groups to avoid unwanted reactions and to control the stereoselectivity. Then, two different glycosyl halides were tested as a glycosyl donor to prepare the forming of glycoside bond with vanillin under biphasic conditions. First, **8** were attempted to form from **6**, however, the step was successfully by forming a more stabilized **7**.

The glycosyl bromide was tested with two different PTCs. The first PTC attempt was using TBAHS, unfortunately this step gave no formation of **5**. Furthermore, the PTC of TBAB was attempted, this time with two different bases. Using NaOH gave no formation of **5**, whereas using K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> did successfully give a glycoside bond to form **5**.

The strategy of the synthesis developed in this master's thesis indicates that there is a good possibility of achieving glycoside bond in each of xylose and mannose in reaction with vanillin. Thus, the bioconjugates can be valuable prebiotic compounds in the future.

Grafisk sammendrag



## Innholdsfortegnelse

Forord .....	i
Sammendrag.....	ii
Abstract .....	iii
Grafisk sammendrag .....	iv
Innholdsfortegnelse.....	v
Forkortelser .....	vii
Generelle bemerkninger .....	viii
1. Målet med oppgaven.....	1
2. Innledning.....	2
2.1 Naturstoffer .....	4
2.2 Karbohydrater .....	8
2.2.1 Karbohydrater i naturstoffer .....	8
2.2.2 Stereokjemi.....	8
2.2.3 Ringkjedetautomerisering og konformasjoner .....	10
2.2.4 Anomerisk effekt i karbohydrater .....	12
2.3 Monosakkarider, oligosakkarider og polysakkarider .....	15
2.3.1 Hemicellulose .....	16
2.3.2 Enzymatisk nedbrytning av xylan og mannan.....	17
2.4 Reaktivitet i karbohydrat .....	19
2.4.1 Glykosyldonor og glykosylakseptor .....	19
2.4.2 Betydningen av mellomprodukter .....	20
2.4.3 Betydning av beskyttelsesgrupper.....	21
2.4.4 Stereoselektivitet i produkt .....	23
2.5 Aktiveringsstrategier .....	26
2.5.1 Halider som en syntesestrategi .....	28
2.5.2 Syntese av glykosylbromid ved bifasiske betingelser.....	30
2.5.3 Bruk av faseoverføringskatalysator for dannelsen av glykosidbinding.....	31
3. Resultater og diskusjon .....	34
3.1 Syntese av 1,2,3,4,6-penta-O-acetyl- $\alpha$ -D-glukopyranose .....	34
3.2 Syntese av 2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-glukopyranosylbromid .....	35
3.3 Syntese av 2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-glukopyranosyl-4-hydroxy-3- metoksibenzaldehyd .....	36

3.4 Syntese av 1,2,3,4,6-penta-O-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranose .....	39
4. Konklusjon og videre arbeid.....	41
5. Eksperimentelt.....	43
5.1 Syntese av 1,2,3,4,6-penta-O-acetyl- $\alpha$ -D-glukopyranose .....	43
5.2 Forsøkt syntese av 2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-glukopyranosyl-4-hydroxy-3- metoksibenzaldehyd .....	46
5.3 Forsøkt syntese av 2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-glukopyranosyljodid .....	46
5.4 Syntese av 2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-glukopyranosylbromid .....	46
5.5 Forsøkt syntese av 2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-glukopyranosyl-4-hydroxy-3- metoksibenzaldehyd .....	53
5.6 Forsøkt syntese av 2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-glukopyranosyl-4-hydroxy-3- metoksibenzaldehyd .....	53
5.7 Syntese av 2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-glukopyranosyl-4-hydroxy-3- metoksibenzaldehyd .....	53
5.8 Syntese av 1,2,3,4,6-penta-O-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranose .....	57
6. Referanser.....	60
7. Vedlegg.....	69



## Forkortelser

Ac	Acetyl
BIONÆR	Bærekraftig verdiskaping i mat og biobaserte næringer
Bn	Benzyl
D	<i>Dextro</i>
Da	Dalton
DCM	Diklormetan
Dig	Digonal
DMF	Dimetylformamid
DMSO	Dimetyl sulfoksid
HOMO	Høyest okkuperte molekylærorbital
IUPAC	The International Union of Pure and Applied Chemistry
L	<i>Levo</i>
LUMO	Lavest okkuperte molekylærorbital
NaHMDS	Natrium heksametyldisilazan
NBS	N-bromsuksinimid
NIS	N-jodsuksinimid
PTC	Faseoverføringskatalysator
PTS	Fosfotransferase systemer
R	<i>Rectus</i>
RPM	Runder per minutt
S	<i>Sinister</i>
TBAB	Tetrabutylammoniumbromid
TBAHS	Tetrabutylammoniumhydrogensulfat
TBAI	Tetrabutylammoniumjodid
TBDMSOTf	Tert-butyldimetylsilyl trifluormetansulfonat
TBDPSO	Tert-butyldifenylsilyl
Tet	Tetragonal
THF	Tetrahydrofuran
TMSI	Trimetylsilyljodid
Trig	Trigonal

## Generelle bemerkninger

IUPAC nomenklatur er benyttet for å navngi forbindelsene. Figurer og skjemaer har blitt tegnet i programmet ChemDraw Professional 19.0.

Laboratoriarbeidet ble brått avbrutt den 12.mars ved nedstengning av Norge grunnet Covid-19 pandemien, og det ble heller ikke anledning for undertegnede å fortsette laboratoriarbeidet ved et senere tidspunkt. De planlagte syntesereaksjonene med mannose og xylose som utgangsstoffer ble avbrutt og ikke utført grunnet den brå stengingen av Norge. Det er derfor beskrevet noen aspekter i teorien som er aktuelle for alle de planlagte utgangstoffene; glukose, mannose og xylose.

## 1. Målet med oppgaven

Karbohydrater og fenoliske forbindelser er utgangsstoffer for syntese av biokonjugater. Hovedmålet for denne oppgaven var å utvikle en syntesestrategi som danner glykosidbinding mellom vanillin (**1**) og hver av karbohydratene glukose (**2**), mannose (**3**) og xylose (**4**). Karbohydratene **3** og **4** er komponenter i trevirke og kan være nyttige for fordøyelsen til mennesket, fordi de selektivt stimulerer vekst av gunstige bakterier i tarmen. Samtidig har noen bakterier vist å kunne nyttiggjøre **1** og andre fenoliske forbindelser bundet til en sukkerenhet. Biokonjugater kan derfor være en nyttig kilde til nye typer prebiotika.<sup>1</sup>

Det ene delmålet var å utvikle en robust syntesestrategi for å danne glykosidbinding. Ved å benytte beskyttelsesgrupper kan de hindre uønskede reaksjoner og kontrollere stereoselektiviteten i syntesetrinnene. Videre kan en glykosyldonor være et godt utgangspunkt for å danne glykosidbindingen i glykosylvanillin (**5**).

Det andre delmålet var å undersøke mulighetene for bruk av katalytiske mengder aktivator i dannelsen av en glykosidbinding. For å unngå overstøkiometri kan glykosidbindingen bli dannet gjennom bruk av en faseoverføringskatalysator (PTC) i bifasisk løsning.

En vellykket syntese av **5** vil gi et godt utgangspunkt for at glykosider kan være verdifulle prebiotiske forbindelser i fremtiden.

## 2. Innledning

Kosthold og helse påvirker livskvaliteten til mennesker. Dermed er munnhullet "man er hva man spiser" igjen dagsaktuelt. En vitenskapelig sammenheng mellom kosthold og forbedret tarmhelse ble først lansert av russiske Élie Metchnikoff, en pioner innen immunologi.<sup>2</sup> Teorien om forbedret tarmhelse ble undersøkt ved å manipulere mikrobiomer med vertsvennlige bakterier fra yoghurt.<sup>3</sup> I senere tid har mikrobiomer blitt definert til å omfatte DNA-koden i tarmfloraen<sup>4</sup>, mens mikrobiota består av mikroorganismene som er nødvendige for å bryte ned sukker i tykktarmen.<sup>5</sup> Først på 1980-tallet økte interessen for hvordan mikrobiota muligens kunne gi positive effekter i menneskets tarmflora og en rekke undersøkelser for å forstå slike sammenhenger har siden blitt gjennomført.<sup>6</sup>

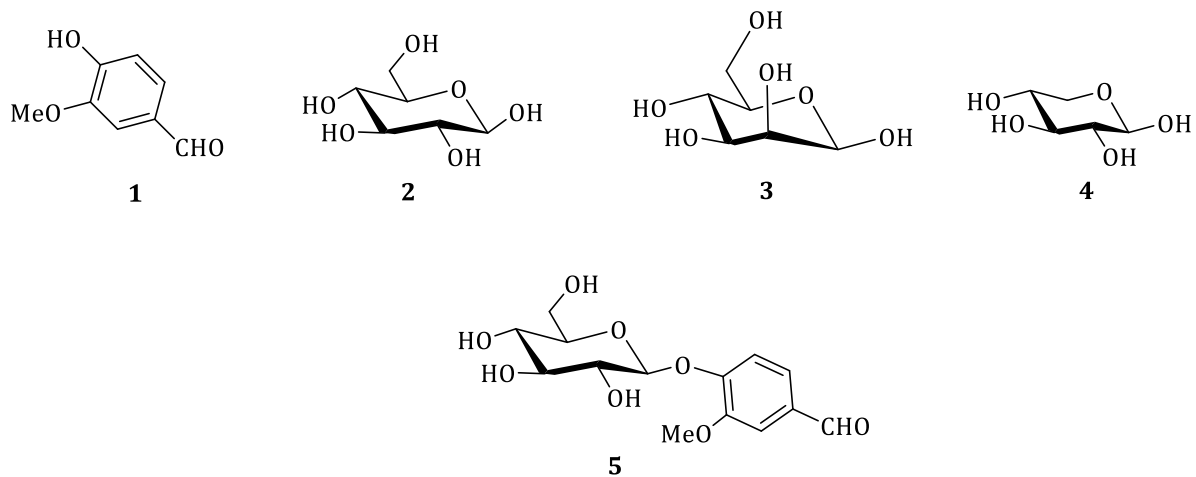
Bakterier tilført gjennom kostholdet blir omtalt som probiotika, og kan bryte ned kostfiber i tarmen.<sup>7</sup> Kostfibre er de karbohydratene som ikke kan bli brutt ned og omsatt av kroppens egne enzymer, men blir fermentert i tarmen av bakterier. Noen kostfibre blir omtalt som prebiotika, og gir en helsemessig gevinst ved å selektivt stimulere vekst av gunstige bakterier i tarmen.<sup>8</sup> Melkesyrebakterier og bifidobakterier er anerkjente bakterier<sup>6</sup>, men nyere forskning tyder på at noen bakterier fra bakteriegruppen Firmicutes som *F. prausnitzii*<sup>9</sup> og *R. intestinalis*<sup>10</sup> kan være potensielle probiotika.

De fleste bakterier har enzymer som kan bryte ned kostfiber til kortkjedete fettsyrer som for eksempel acetat, propionat og butyrat. Noen av bakteriene har nyttige egenskaper for kroppen og blir dermed ansett som probiotiske. De kortkjedete fettsyrene og flere andre metabolitter fra bakteriene, bidrar som viktige energikilder og påvirker en rekke biologiske prosesser i kroppen.<sup>11</sup> I de senere årene er det forsket på å forstå ulike sammenhenger mellom kosthold, mikrobiota og helsetilstander. Dette har ført til en økende forståelse for hvordan bakterier bryter ned komplekse karbohydrater, og i den seneste tiden hvordan den bakterielle sammensetningen blir påvirket av kostholdet for å gi helsemessig gevinst.<sup>10, 12</sup> Eksempelvis kan noen bakterier begrense tarmkreft<sup>13</sup>, gi antiinflammatoriske effekter<sup>14</sup>, eller forbedre mentale helsetilstander.<sup>11</sup>

Tremasse inneholder hemicellulose og cellulose (henviser til kapittel 2.3.1), samt lignin. Kostfibre utgjør en stor del av hemicellulose gjennom mannaner og xylaner. I norsk skog

er det store forekomster av xylaner i bjørk (*Betula pubescens*)<sup>15</sup> som har tilnærmet lik struktur som xylaner i korn.<sup>16</sup> Derimot i bartrær, slik som norsk gran (*Picea abies*), forekommer hemicelluloser som mannanner.<sup>17</sup> Disse har tilnærmet lik struktur som mannanner i nøtter og kaffe.<sup>10</sup> Med utgangspunkt i den reduserte etterspørselen av papir, ønsker treindustrien å finne nye løsninger for utnyttelse av ressursene gjennom bioraffinering. Et nytt prosjekt ble påbegynt i 2014 for å undersøke fremtidige muligheter for utnyttelse av kostfibrene mannan og xylan. Hensikten med prosjektet var å øke forståelsen om hvordan bakterier bryter ned komplekse karbohydrater og dermed få større innsikt i hvordan man rasjonelt kan endre bakteriesammensetningen i tarmfloraen og tilgjengeliggjøre kostfibrene for matvareproduksjon. Prosjektet «Exploring tree-derived hemicelluloses as a source for prebiotics» eller «Wood prebiotics», ble finansiert av Norges forskningsråd gjennom programmet BIONÆR. Kjennskapen til hvordan bakteriene bryter ned komplekse karbohydrater er relativt god, men derimot hvordan biokonjugater blir metabolisert er i mindre grad forstått.<sup>1</sup> Studier av Theilman tyder på at biokonjugater selektivt kan stimulere vekst av gode bakterier og dermed være en god kilde for nye typer av prebiotika.<sup>1</sup>

Lignin er en av hovedbestanddelene i tremasse, og er kjennetegnet ved at de er aromatiske og amorfe polymerer.<sup>15</sup> Eksempelvis kan den fenoliske forbindelsen vanillin bli produsert fra lignin.<sup>18</sup> Vanillin bundet til en sukkerenhet har vist antimikrobielle og antioksidant effekter,<sup>19</sup> også i likhet med polyfenoliske forbindelser.<sup>20-21</sup> Bakterien *Lactobacillus acidophilus* har utmerket seg ved å kunne nyttiggjøre planteglykosider som for eksempel vanillin.<sup>1</sup> Derfor kan det tenkes at polyfenoliske biokonjugater med tilsvarende struktur som planteglykosidene, er energikilder for enkelte bakterier som utøver samme metabolisme.<sup>22</sup> Slike planteglykosider kan derfor være potensielle nyttige kilder til nye typer prebiotika. Karbohydratene D-glukose, D-xylose og D-mannose er potensielle prebiotiske komponenter som er utgangsstoffer for syntese av biokonjugater (Figur 2.1).

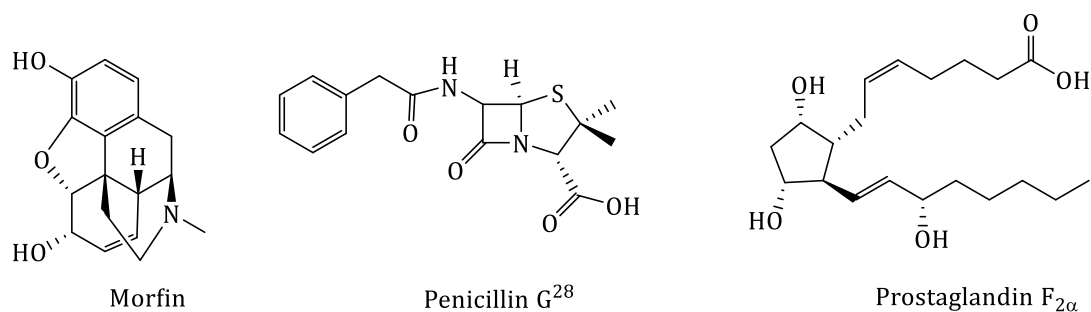


Figur 2.1: En fenolisk forbindelse og karbohydrater er utgangsstoffer for syntese av et biokonjugat.

## 2.1 Naturstoffer

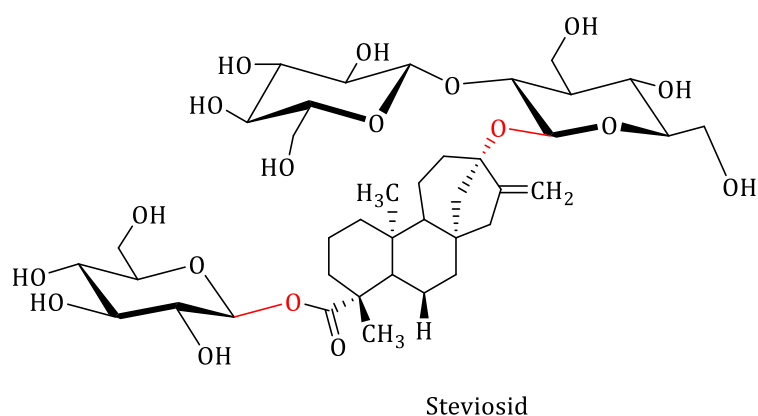
Naturstoffer utgjør kjemiske klasser av forbindelser produsert av levende organismer fra naturen.<sup>23</sup> I organisk kjemi kan forbindelsene overordnet bli inndelt i enkle og komplekse molekyler. De primære metabolittene kjennetegnes av at de er universelle og finnes i alle levende organismer. Karbohydrater, fett, nukleinsyrer og proteiner er blant de primære metabolittene og inngår i vekst, utvikling og reproduksjon. Derimot gir de sekundære metabolittene spesifisitet til organismer og er vitale for å regulere normal fysiologisk funksjon.<sup>24</sup> I mange tilfeller er den biokjemiske funksjonen ukjent, men ofte bidrar sekundære metabolitter med konkurransefortrinn ved for eksempel å beskytte og danne artsinteraksjoner.<sup>25</sup>

De sekundære metabolittene utøver biologisk aktivitet i organismene og består av relativt små molekyler, som regel med en molekylvekt lavere enn 500 Da. Medisinalkjemi utnytter disse små molekylene til å utvikle medisiner og kosttilskudd som er nyttige for helsen.<sup>26</sup> Om lag en tredjedel av medisiner er opprinnelig fra naturprodukter. Eksempler på sekundære metabolitter benyttet i medisinalkjemi er alkaloidet morfin,<sup>27</sup> antibiotikumet penicillin G<sup>27</sup> og fettsyren prostaglandin F<sub>2α</sub> (Figur 2.2).<sup>28</sup>



Figur 2.2: Strukturer av sekundære metabolitter benyttet i medisinalkjemii.

Sekundære metabolitter fra trevirke som terpenener, fenoliske forbindelser<sup>29</sup> og glykosider<sup>30</sup> blir benyttet i medisinalkjemii. Grunnlaget for terpenene er oppbygningen av isopren-enheter som består av 5 karboner kjedet sammen. Et monoterpen har 2 isoprenenheter fordi den består av 10 karboner. De isoprene enhetene kan utgjøre høyere ordens terpenoider ved sesqui-di, ses-triterpenener.<sup>31</sup> I naturen kan også flere ulike forbindelsesklasser være sammensatt for å danne forskjellige mer eller mindre komplekse strukturer. Disse biokonjugatene er viktige sekundære metabolitter som styrker plantecellevegger og kan fungere som for eksempel søtningsmidler i maten. Et eksempel på et biokonjugat er det steroidlignende plantetriterpenet stevia fra planten *Stevia rebaudiana*. Den ikke-sukkerderiverte komponenten (aglykonet) i stevia består av stevioler som blir dannet ved metabolisme av terpenener. Derfra kan stevioler konjugert med glykosider danne steviosider (Figur 2.3).<sup>32</sup>

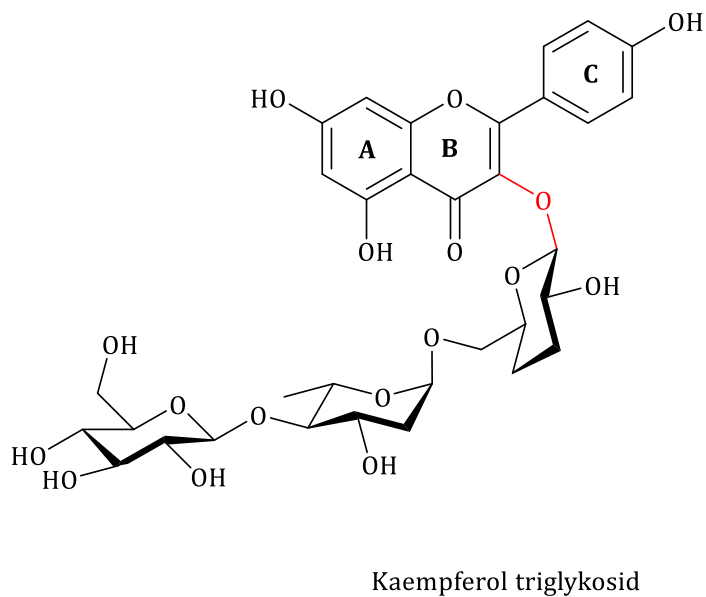
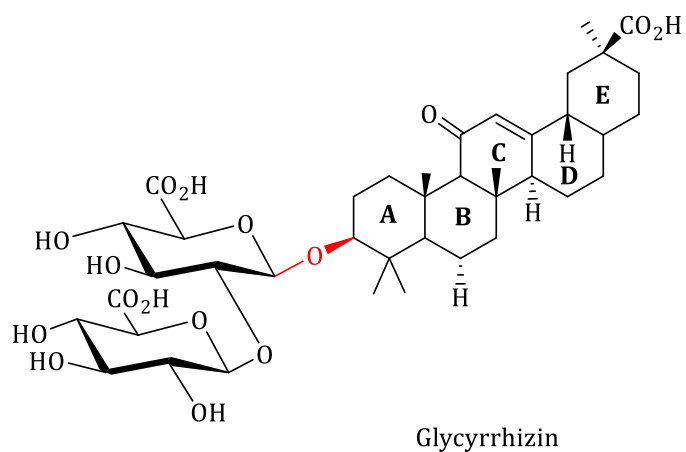
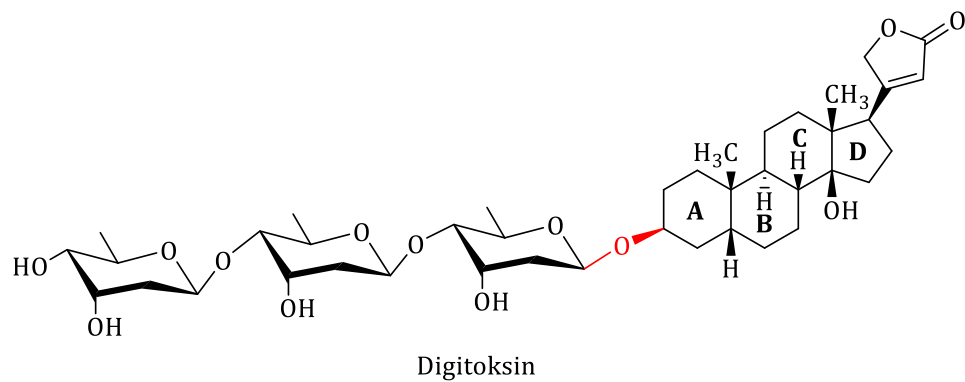


Figur 2.3: Steviosid er et planteglykosid med et diterpen og er søtstoffet i stevia.

Flere ulike kombinasjoner av glykosylerte naturstoffer betegnes som hjerteglykosider fordi de kan fungere som hjertemedisiner.<sup>33</sup> Kjentegnet til hjerteglykosidene er aglykoner som består av triterpenoider hvilke er bundet til en eller flere sukkerenheter.<sup>33</sup> Eksempel på et hjerteglykosid er plantesteroidet digitoksin. Strukturen er satt sammen

av ringer som er fusjonert gjennom *cis*- og *trans*-bindinger i steroidet. En *cis*-binding forekommer mellom A- og B-ringen, og en *trans*-binding mellom C- og D-ringen i steroidet (Figur 2.4). I tillegg kjennetegner digitoksin et lakton og  $\beta$ -glykosidbinding til trisakkarid analoger.<sup>34</sup> Et eksempel på et biokonjugat fra klassen triterpene saponiner (A-, B-, C-, D-, E-ringen) sammen med sukkerenheter utgjør naturstoffet glycyrrhizin (Figur 2.4), og er en bidragsyter i søtningsmiddel.<sup>35</sup> Et biokonjugat som er fenolisk aromatisk er eksempelvis naturstoffet Kaempferol triglykosid (A-, B-, C-ringen) isolert fra planten *Aristolochia trulliformis*, som blant annet gir antiastmatiske, slimløsende og antiinflammatoriske effekter.<sup>36</sup>



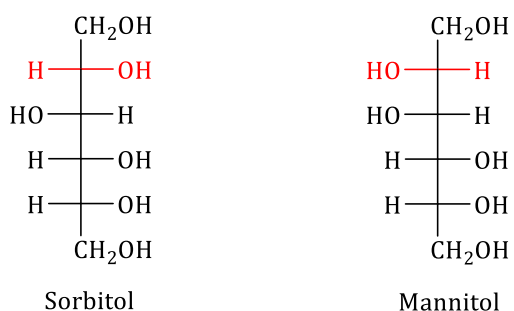


Figur 2.4: Flere eksempler på planteglykosider. Digitoksin er et biokonjugat med et steroid, mens Glycyrrhizin er et biokonjugat med et triterpen. Kaempferol triglykosid er et fenolisk aromatisk biokonjugat.

## 2.2 Karbohydrater

### 2.2.1 Karbohydrater i naturstoffer

Karbohydrater er en primær metabolitt og består av polyhydroksylerte hydrokarboner. Den presise definisjonen for å beskrive karbohydrat er polyhydroksyaldehyd og polyhydroksyketon.<sup>37</sup> Karbohydratene er reduserte sukkere og kjennetegner at samtlige karbonatomer som har sidegrupper bærer en hydroksylgruppe. For sukkeralkoholer er polyoler en mer generell betegnelse. Den enkleste formen for polyoler er glyserin som er navngitt propan-1,2,3-triol. Eksempler på trivialnavn som er vanlig og innarbeidede IUPAC navn i organisk kjemi er de høyere sukkeralkohol-homologene sorbitol ((2*S*,3*R*,4*R*,5*R*)-hexane-1,2,3,4,5,6-hexol) og mannitol ((2*R*,3*R*,4*R*,5*R*)-hexane-1,2,3,4,5,6-hexol) (Figur 2.5). Sorbitol og mannitol blir benyttet som kunstig søtningsmidler og sukkererstatning i mat med lavt kaloriinnhold. Sukkeralkoholene inhiberer vekst og metabolisme av bakterier slik at risikoen for tannråte blir mindre.<sup>38</sup> For eksempel inneholder frukt sorbitol, mens mannitol oftest finnes i grønnsaker.<sup>39</sup> Hovedutfordringen med sukkeralkoholene som energikilde er fordøyelsesproblemer de gir i tarmen ved at førstnevnte har lav metabolisme i mange bakterier og forårsaker metabolisme i tykktarmen.<sup>40</sup> Derimot gjennomgår sistnevnte en langsom absorpsjonsprosess i menneskets tynntarm.<sup>41</sup>



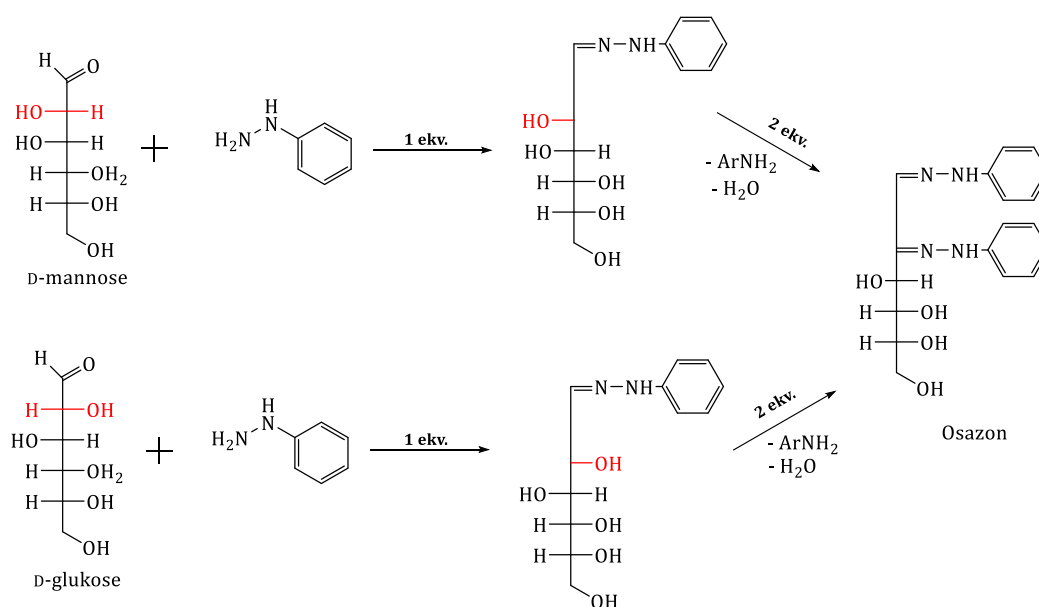
Figur 2.5: En Fischer-prosjeksjon av sorbitol og mannitol viser ulik stereoselektivitet til hydroksylgruppene som er markert i rødt.

### 2.2.2 Stereokjemi

Stereokjemi handler om hvordan et atom eller en funksjonell gruppe er orientert i rommet på molekylstrukturen. Eksempelvis har utgangsstoffene D-mannose og D-glukose en hydroksylgruppe orientert i henholdsvis et aksialt og et ekvatorialt plan. Likhetene i strukturene er innholdet av sekundære alkoholer, som gir opphav til et eller flere

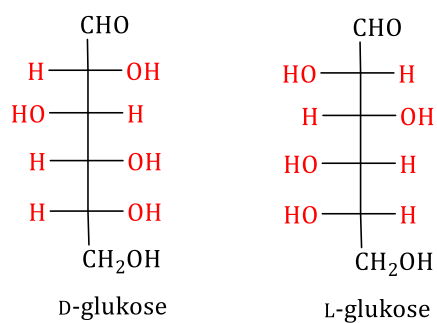
stereosentre. Basert på stereosentre utviklet Emil Fischer grunnlaget for nomenklaturet som benyttes i dag.<sup>42</sup>

Fischer benyttet de ulike stereokonfigurasjonene D-mannose og D-glukose som er adskilt med et kiralt karbon. Disse ble behandlet med et arylhydrazin i nærvær av vandig eddiksyre (Skjema 2.1), og til tross for ulikhetene i stereokjemien for D-glukose og D-mannose, gav behandlingen det samme oksiderte osazonet.<sup>43</sup> Gjennom oksidasjon ble det vist tap av asymmetri på C-2. Basert på forskningen til Fisher kan trolig glykosidbinding i et biokonjugat bli dannet selv om utgangsstoffene har ulik stereoselektivitet.



Skjema 2.1: Dannelse av osazon fra D-glukose og D-mannose ved å benytte ArNH<sub>2</sub> i eddiksyre.

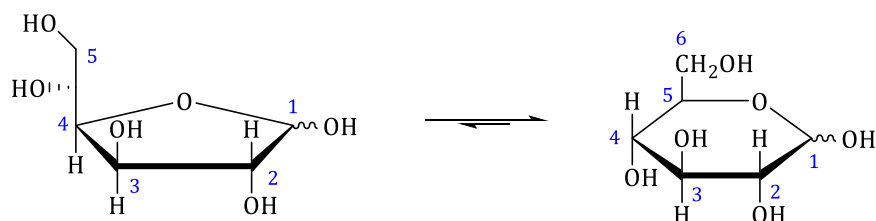
Nomenklatur i stereokjemi kan bli visualisert gjennom en kiral asymmetrisk D-glukose (Figur 2.6). Karbohydratet viser optisk isomeri og eksisterer derfor som enantiomer.<sup>44</sup> For å identifisere kiraliteten i forbindelsen, blir den optiske aktiviteten undersøkt gjennom planpolarisert lys som vibrerer i et plan. Det planpolariserte lyset roterer mot høyre eller venstre når lyset passerer gjennom en enantiomer forbindelse. Om lyset er dreid mot høyre angis symbolet (D), derimot en rotasjon mot venstre angis symbolet (L).<sup>45</sup> Når like mange molekyler dreier det planpolariserte lyset mot høyre som mot venstre blir likevekten av retningen kansellert og det oppstår det en rasemisk blanding av forbindelsen.<sup>46</sup>



Figur 2.6: To enantiomerer av glukose.

### 2.2.3 Ringkjedetautomerisering og konformasjoner

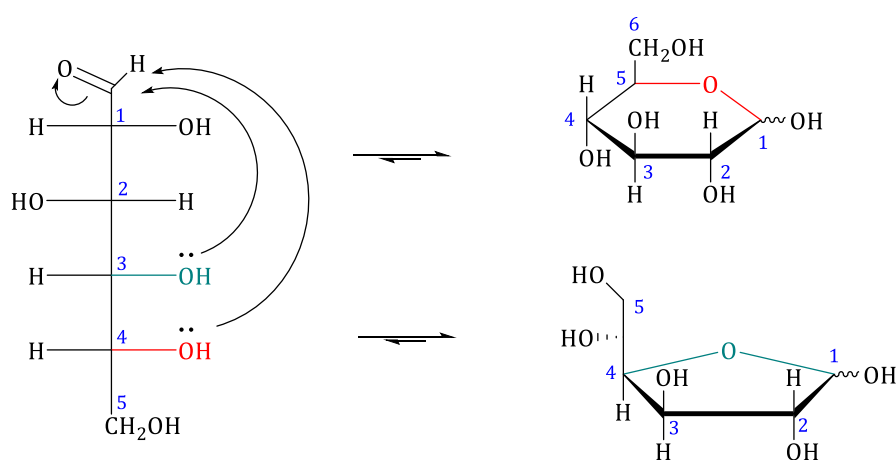
Ved ringkjedetautomerisering kan likevekter oppstå når en ringstørrelse blir forandret til en annen ringstørrelse. Da forekommer enten reversible bindingsbrudd eller bindingsdannelse. Likevektene går alltid gjennom en åpen struktur og binder ringstørrelsene med hverandre gjennom ringisomeri. Karbohydrater inneholder nukleofile og elektrofile motiver i et og samme molekyl, og derfor inntreffer en intramolekylær reaksjon som forårsaker ringkjedetautomerisering. Geometrien til ringen påvirker funksjonen til den elektrofile gruppen og er utgangspunktet for sykliseringen.



Figur 2.7: Seksringen er termodynamisk favorisert og forekommer derfor oftere i naturen. Femringen er kinetisk favorisert som gjør den mindre stabil, og forekommer sjeldnere i naturen.

Ringstørrelsen som overveiende blir dannet er basert på generelle regler for polare og radikale reaksjoner (Figur 2.7).<sup>47</sup> Den funksjonelle gruppen kan ha  $sp^3$ -,  $sp^2$ - eller  $sp$ -hybridisering, som henholdsvis gir tetragonal (tet), trigonal (trig) eller digonal (dig) geometri. Hybridisering og polaritet bidrar til en elektrofil ambivalent gruppe som gjennom et nukleofilt angrep kan gi opphav til to regioisomere produkter, og korresponderer til to ulike ringstørrelser.<sup>48</sup> I den større ringen inngår hele den elektrofile gruppen, og blir betegnet *endo*-produkt. Når deler av den elektrofile gruppen er på utsiden, blir ringen mindre og betegnet *exo*-produkt.

Et syklisk hemiacetal blir dannet når et  $sp^2$ -hybridisert aldehyd eller keton reagerer med proksimale alkoholer ved nukleofil addisjon.<sup>49</sup> Reaksjonen er reversibel, fordi det oppstår en likevekt mellom den åpne og den sykliske strukturen. Siden ketoner og aldehyder er diastereotope, kan det føre til dannelse av to ulike diastereomere produkter. Ringstørrelser med 3-7 karboner som har trigonal geometri, blir derfor *exo*-syklisering overveiende dannet. På grunn av at aldehyder og ketoner er polare, kan bare *exo*-syklisering inntreffe (Skjema 2.2).<sup>50</sup> Monosakkarider av 5-ringer er kinetisk gunstige, mens 6-ringer er termodynamisk gunstige.<sup>51</sup>

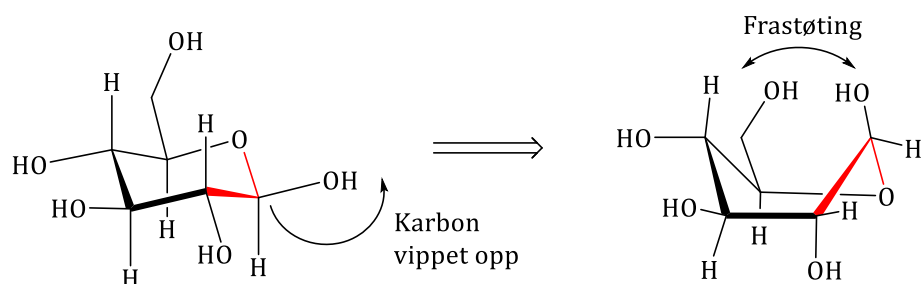


Skjema 2.2: Fra et åpent ringkjedet karbohydrat blir 6-*exo-trig* og 5-*exo-trig* dannet.

Karbohydrater har flere ikke-plane konformasjoner, hvor enkeltbindingene er i kontinuerlig bevegelse som gir varierende stabilitet av konformasjonen.<sup>52</sup> Det forekommer ingen bindingsbrudd mellom konformasjonene, men forandringer i orienteringen mellom de ekvatoriale og de aksiale bindingene. Forandringene utgjør mindre stabile konformasjoner som ofte er mellomprodukter i organisk syntese. Formene har ulik stabilitet, og to ekstreme former av ikke-plane konformasjoner er stol- og båtkonformasjon.

Stabilitet i konformasjonen avhenger av ringspenningen mellom karbon- og hydrogenatomene. Når monosakkarider er i sin mest stabile form, blir de uttrykt ved stolkonformasjon. Da er det ingen vinkelspenning mellom karbonatomene i stolformen, og hydrogenatomene er plassert staggered til nabokarbonene som gir konformasjonen lav dreiespenning (Figur 2.8). Disse faktorene gir mest stabilitet til konformasjonen og blir derfor foretrukket av naturen. I noen tilfeller står karbonene eclipsed til hverandre, og det anomere karbonet er vippet opp som gir høy dreie- og vinkelspenning i den mindre

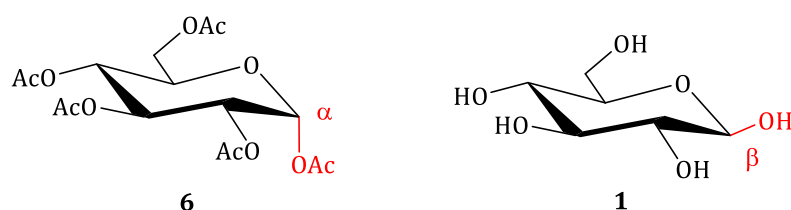
stabile båtikonformasjonen. Mellom karbonene C-1 og C-4 vil det oppstå frastøtende effekt som fører til økt ringspenning og mindre stabilitet i konformasjonen.<sup>53</sup>



Figur 2.8: En stabil stolkonformasjon til venstre og en mindre stabil båtikonformasjon til høyre.

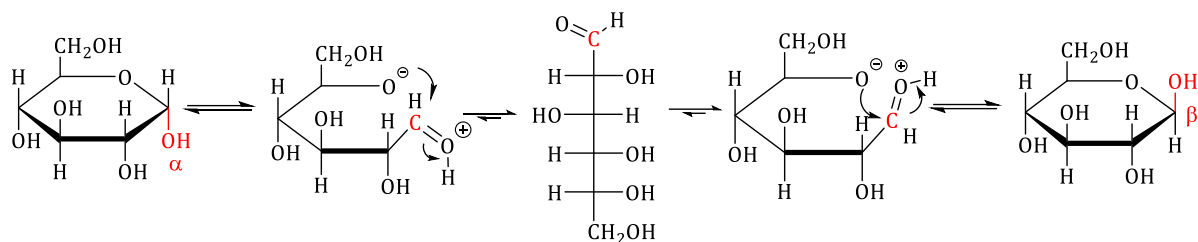
### 2.2.4 Anomerisk effekt i karbohydrater

Stabiliteten i karbohydratet avhenger av om sidegruppen på det anomere karbonet er orientert i aksial eller ekvatorial posisjon.<sup>54</sup> Dersom gruppen på det anomere karbonet peker opp er betegnelsen  $\beta$ , mens hvis gruppen peker nedover blir symbolet  $\alpha$  benyttet. Et karbohydrat med hydroksylgrupper er mest stabilt i  $\beta$ -posisjon, mens eksempelvis peracetylert glukose (**6**) med acetyl som sidegrupper bidrar den anomeriske effekten til mer stabilitet i  $\alpha$ -posisjon (Figur 2.9). Anomerisk effekt som forklarer stabilitet i et karbohydrat kan bli forklart ved repulsjoner, dipol minimalisering og hyperkonjugasjon, hvor sistnevnte blir forklart i denne masteroppgaven.<sup>55</sup>



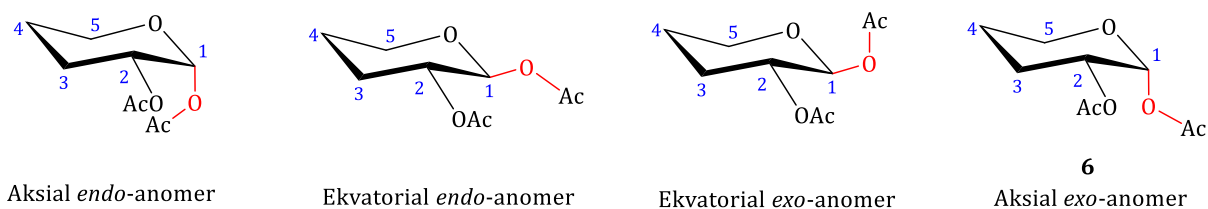
Figur 2.9: Peracetylert glukose er stabilt når acetylgruppen på det anomere karbonet er bundet i aksial posisjon. Glukose er stabilt når hydroksylgruppen er på det anomere karbonet er bundet i ekvatorial posisjon.

Ved dannelse av ringstruktur vil det *endo*-sykliske oksygenet angripe karbonylgruppen, og medfører en rehybridisering fra  $sp^2$  til  $sp^3$  (Skjema 2.3). Grunnet rehybridiseringen blir karbonylgruppen diastereotop. Dermed oppstår et nytt stereosenter med både  $\alpha$ - og  $\beta$ -konfigurasjon som gir en mutarotasjon av forbindelsen. Gjennom den åpne strukturen er disse sykliske konfigurasjonene i gjensidig likevekt og det kan oppstå en rasemisk blanding.<sup>54, 56</sup>



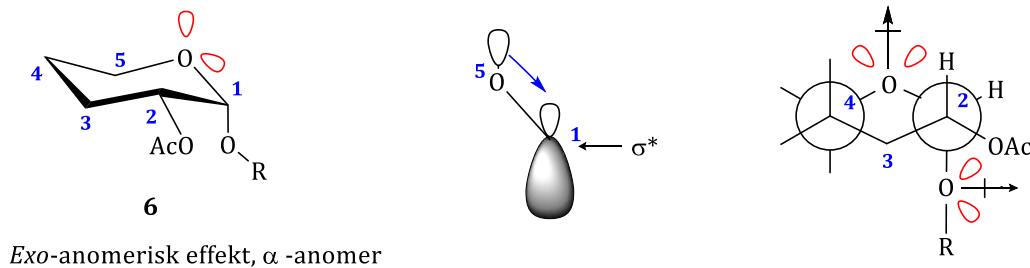
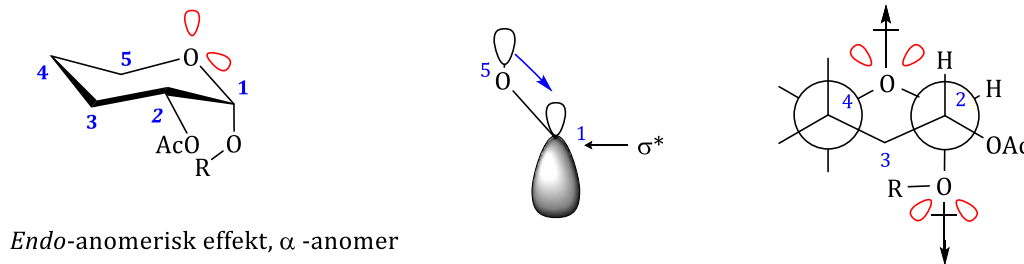
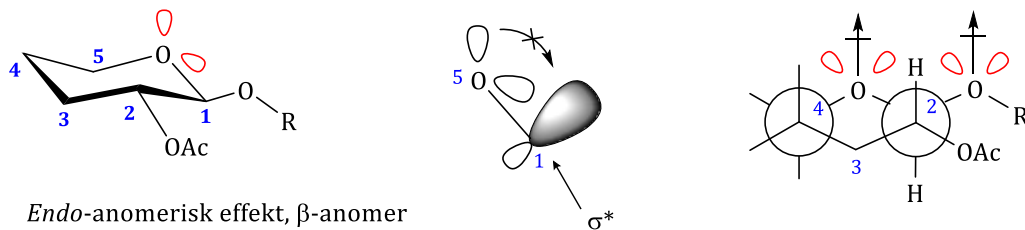
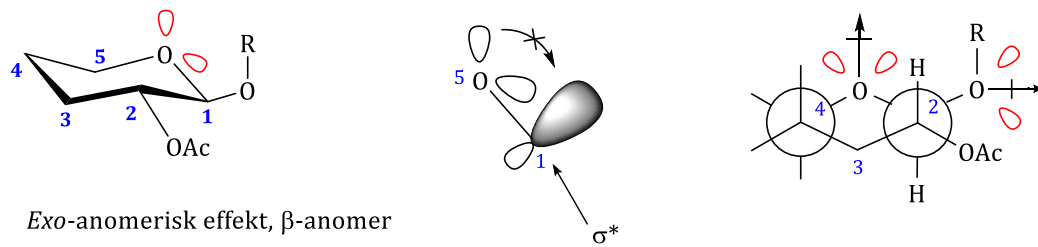
Skjema 2.3: Fra Fischer-projeksjon kan en likevekts reaksjon i vandig løsning føre til at hydroksylgruppen på det anomere karbonet kan være i  $\alpha$ -posisjon eller  $\beta$ -posisjon.

Intramolekylære interaksjoner kan forekomme mellom det anomere karbonet og ringoxygenet som medfører en forskjøvet likevekt mot aksial eller ekvatorial binding. Den anomerske effekten utøver en forskjøvet likevekt ved å stabilisere den *exo*-sykliske gruppen aksialt i pyranose (Figur 2.10).<sup>57</sup>



Figur 2.10: Sidegruppen på det anomere karbonet kan ha ulik orientering.

Den anomerske effekten er et stereoelektronisk fenomen som forutsetter en synperiplanær vinkel mellom et ikke-bindende elektronpar, fra det *endo*-sykliske oxygenet, og  $\sigma^*$ -orbitalen tilknyttet karbonylgruppen fra det anomere karbonet (Figur 2.11). Interaksjonen forekommer mellom ringoxygenet som har det høyeste okkuperte molekylørorbitalen (HOMO) og  $\sigma^*$ -orbitalen som har det laveste okkuperte molekylørorbitalen (LUMO). Dette gir ekstra stabilitet til konfigurasjonen når det *exo*-sykliske oxygenet står aksialt.<sup>58</sup>



Figur 2.11: Interaksjoner og orientering mellom orbitalene tilhørende ringoksygenet og  $\sigma^*$  i C-1 gir redusert bindingslengde. De to øverste karbohydratene er mindre stabile  $\beta$ -anomerer. De to nederste karbohydratene viser stabile  $\alpha$ -anomerer.

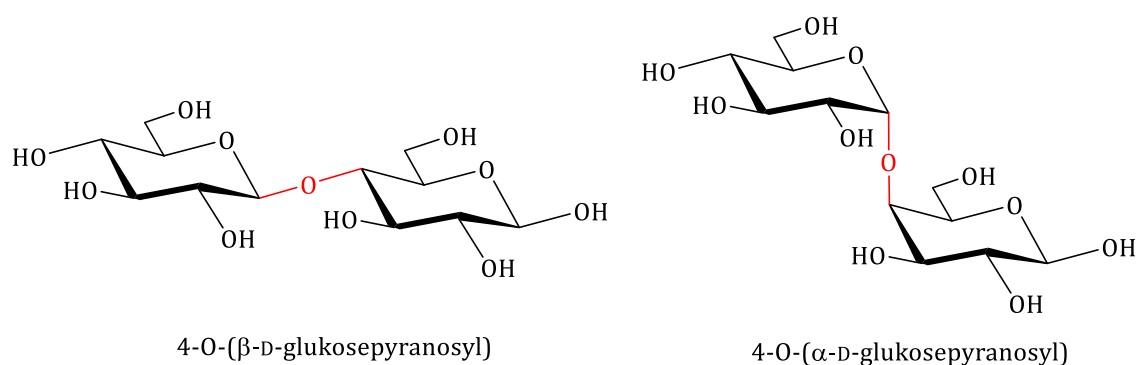
Det *endo*- og *exo*-sykliske oksygenet kan interagere med hverandre gjennom gjensidig donering av elektrontetthet til det anomere karbonet som følge av geometri ( $n \rightarrow \sigma^*$ ). Elektrostatiske interaksjoner mellom det *endo*- og *exo*-sykliske oksygenet blir mindre når ladningene er orientert fra hverandre, og blir forklart som hyperkonjugasjon. Effekten medfører at bindingen mellom det *endo*-sykliske oksygenet og det anomere karbonet blir kortere og dermed av mer  $sp^2$ -karakter. Derimot i bindingen mellom det *exo*-sykliske oksygenet og det anomere karbonet blir denne bindingen lengre og mindre stabil.



Eksempelvis gir halogener, metoksi- og acetylgrupper i aksial posisjon mest stabilitet til karbohydratet. Derimot i en vandig løsning bidrar steriske effekter til at ekvatorial binding forekommer oftere.<sup>57</sup>

### 2.3 Monosakkarider, oligosakkarider og polysakkarider

Overordnet sett er karbohydrater inndelt i monosakkarider, oligosakkarider og polysakkarider. Monosakkaridene utgjør byggeklossene for komplekse strukturer og er bundet sammen via dannelsen av en glykosidbinding mellom det anomere karbonet på en monomer, og en hydroksylgruppe tilhørende en annen monomer. Som regel er monomerene bundet sammen via hydroksylgruppen som tilhører C-1 og C-4 (Figur 2.12). Avhengig av hvilken hydroksylgruppe som deltar, kan disakkarider danne binding fra de ulike hydroksylgruppene.<sup>37</sup> Dersom flere like monosakkarider inngår for å danne disakkarider er betegnelsen homopolymer, mens om ulike monosakkarider inngår er betegnelsen heteropolymer. I naturen er amylose et eksempel på en homopolymer gjennom  $\alpha$ -(1,4)-bindingsstruktur.<sup>59</sup> Avhengig av om samme type monosakkarid eller ulike monosakkarider er koblet sammen, kan et disakkarid være betegnet som en homodimer eller en heterodimer.



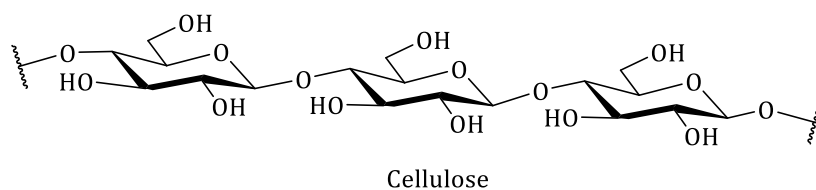
Figur 2.12: To monosakkarider er bundet via en  $\beta$ -binding og to monosakkarider er bundet via en  $\alpha$ -binding.

I takt med at flere monosakkarider er knyttet sammen øker kompleksiteten. Utover mulige variasjoner i konfigurasjonen på det anomere karbonet, kan det i tillegg oppstå regiokjemiske variasjoner. De regiokjemiske variasjonene er avhengig av posisjonen til hydroksylgruppen på monosakkaridet som inngår i acetalbindingen. Normalt blir forbindelser som har mellom 2 og 10 monosakkarider betegnet oligosakkarider, mens om flere enn 10 monosakkarider er sammenknyttet blir vanligvis betegnelsen polysakkarider benyttet. I naturen forekommer også forgrenede homopolymere som for eksempel

amylopektin i stivelse, og forgrenede heteropolymere som for eksempel hemicellulose.<sup>60</sup> Flere av hydroksylgruppene i et monosakkarid kan dermed være funksjonalisert.

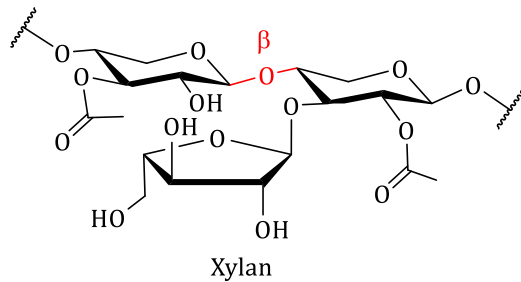
### 2.3.1 Hemicellulose

Hemicellulose er forgrenede heteropolymere bygget opp av karbohydratene xylose, mannose, glukose, arabinose og rhamnose, samt avledede uronsyrer. Hver av disse har karakteristiske strukturer basert på forgrenede sukkerkjeder. Likheten mellom cellulose og hemicellulose er at det forekommer intermolekylære hydrogenbindinger mellom oksygenatomene og hydrogenatomene, samt intramolekylære bindinger mellom monosakkaridene. Dermed dannes det  $\beta$ -(1,4)- og  $\beta$ -(1,6)-bindingsstruktur.<sup>61</sup> Cellulose er en rettkjedet homopolymer og bygget opp av  $\beta$ -glukoseenheter (Figur 2.13) som danner en krystallinsk struktur. I motsetning er hemicellulose sammensatt av flere ulike monosakkarider ved heksoser- og pentoseform. Disse er bundet av glykosidbindinger i ulike posisjoner på monosakkaridet. Dette utgjør en amorf struktur som kan bli utsatt for hydrolyse med fortynnet syre eller base, og resulterer i hyppigere reaksjoner.<sup>62</sup>



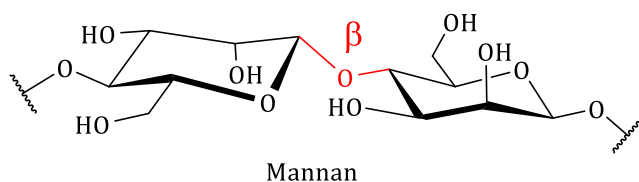
Figur 2.13: En generell oppbygning av cellulose bundet via  $\beta$ -bindinger for dannelse av krystallinsk struktur.

Den amorf bindingsstrukturen gjør hemicellulosen dietær, og kan fungere som prebiotika i et menneskelig fordøyelsessystem.<sup>63</sup> En av hovedkomponentene i hemicellulose fra løvtrær er xylan (Figur 2.14).<sup>15</sup> Enheter av xylose blir bundet sammen via  $\beta$ -(1,4)-bindinger til den større strukturen xylan. I naturen forekommer polysakkaridet som regel i forgrenet tilstand. De ulike substituentene kan være acetylgrupper, 4-O-metylglukuronid grupper eller arabinoser. Acetylgruppene er vanligvis bundet til C-3, og noen tilfeller til C-2.<sup>61</sup> Løseligheten av xylose blir påvirket av acetylgrupper tilknyttet karbohydrat skjelettet i xylaner og løseligheten i vann øker med antall acetylgrupper.<sup>64</sup>



Figur 2.14: To xyloseenheter er bundet via  $\beta$ -(1,4)-binding og utgjør sammen med substituenten arabinose tilknyttet C-3 karbohydratkjeden xylan. Substituenten på xyloseenhetene tilknyttet C-2 og C-3 er en acetylgruppe.

En annen type hemicellulose er mannaner som består av sammenkoblet  $\beta$ -(1,4)-mannoseenheter (Figur 2.15). I forgrenet tilstand forekommer mannaner ofte som glukomannaner, galactomannaner og galactoglukomannaner.<sup>65</sup> En tredjedel av mannoseenhetene kan være substituert med tilnærmet lik fordeling av karbinol tilknyttet acetylgrupper på C-2 og C-3, mens i gran er acetylergrupper tilknyttet C-2 dominerende.<sup>66</sup>



Figur 2.15: To mannoseenheter er bundet via  $\beta$ -(1,4)-binding for å danne mannan.

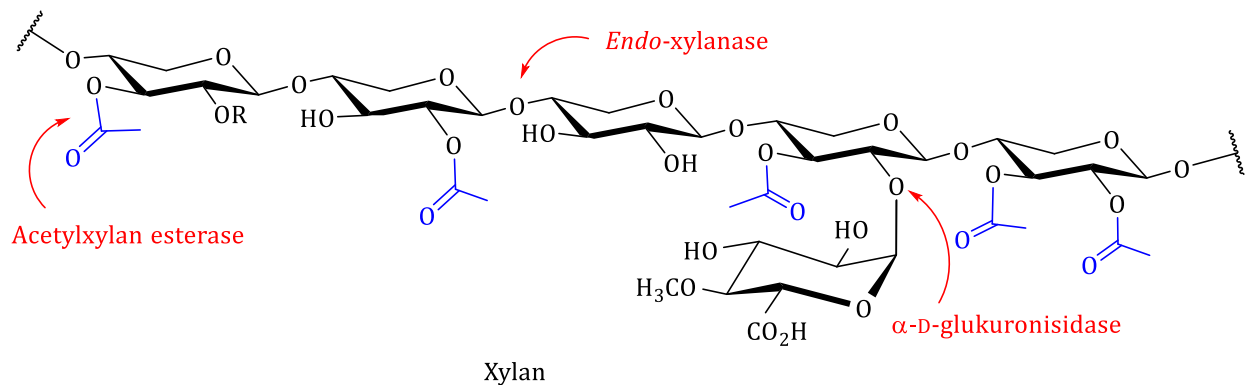
### 2.3.2 Enzymatisk nedbrytning av xylan og mannan

Ulike bakterier har en unik evne til å bryte ned prebiotika i menneskets tarmsystem. Derfor er det av interesse å undersøke hvilke enzymer som kan bryte ned de prebiotiske karbohydratene mannan og xylan.

I og med at karbohydrater kan tas opp under fordøyelsen, blir fibre depolymerisert ved hjelp av enzymer fra spesifikke bakterier hos mennesker. Disse bakteriene må tilføres gjennom kostholdet fordi de eksisterer ikke naturlig i menneskets fordøyelsessystem.<sup>67</sup> Probiotiske bakterier består av enzymer som kan hydrolysere dietære karbohydrater som tarmen selv ikke kan hydrolysere. Den unike bakterien *Lactobacillus acidophilus* har vist probiotisk effekt på fordøyelige karbohydrater i sammenheng med aromatiske biokonjugater.<sup>1</sup> Bakterien har vist positiv effekt når mannose og xylose er sammenkoblet med flere ulike fenoliske planteglykosider som for eksempel vanillin.<sup>68</sup> I tillegg har bakterien *Roseburia intestinalis* vist positiv effekt i nedbrytning av mannan<sup>69</sup> og xylan.<sup>70</sup>

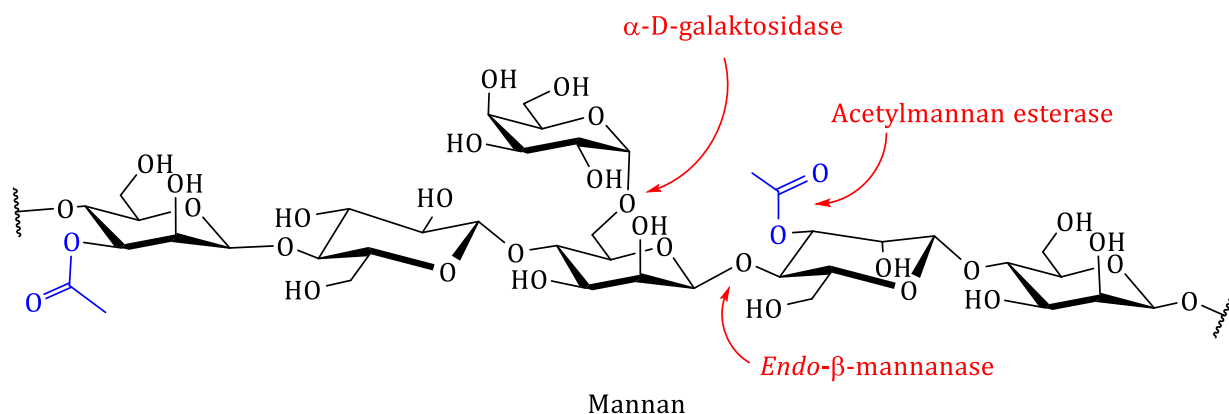
Under fordøyelsen av biokonjugater, utfører bakteriene fosfotransferase systemer (PTS) som kan transportere biokonjugatet gjennom celleveggen til cytoplasma.<sup>71</sup> Derfra blir karbohydratkjedene som er sammenkoblet i biokonjugatene hydrolysert av fosfo- $\beta$ -glukosidaser ned til monosakkarider. Videre kan monosakkaridet og fenoliske forbindelsen bli utnyttet til metabolisme av bakterien.<sup>72</sup>

Xylaner blir brutt ned til monosakkarider ved hjelp av forskjellige enzymer som esteraser og hydrolaser (Figur 2.16). Enzymer som kan bryte ned xylan til xylose avhenger av substituerte sidegrupper og kan derfor deles inn i to grupper. Den ene gruppen er *endo*-enzymer som katalyserer reaksjoner på karbohydrat skjelettet, mens den andre gruppen er *exo*-enzymer som katalyserer reaksjoner på sidegruppene.<sup>73</sup> *Endo*-enzymene for xylan er  $\beta$ -(1,4)-xylanaser og  $\beta$ -D-(1,4)-xylosidaser. Derimot finnes det flere *exo*-enzymer som kutter på sidekjedene til xylan;  $\alpha$ -L-arabinosefuranosidase,  $\beta$ -D-(1,2)-xylosidaser,  $\alpha$ -galaktosidaser,  $\alpha$ -(1,2)-glukuronosidaser, acetylxylanesteraser, ferylesteraser og p-kumarylesteraser på ikke-reduserende ende.<sup>74</sup>



Figur 2.16: Enzymer bryter ned bindingene i xylan som finnes i løvtreet *Betula pubescens*

I likhet med xylan er enzymer også nødvendig for å bryte ned mannener til monosakkarider (Figur 2.17). Mannolytiske enzymer kan bli delt inn i *endo*- $\beta$ -1,4-mannaser og *exo*- $\beta$ -(1,4)-mannosidaser.  $\beta$ -(1,4)-glykosidaser kan hydrolysere mannose karbohydrat skjelettet, mens  $\alpha$ -D-galaktosidaser og acetylesteraser kan kløve sidekjedene bort fra karbohydrat skjelettet.<sup>75</sup>



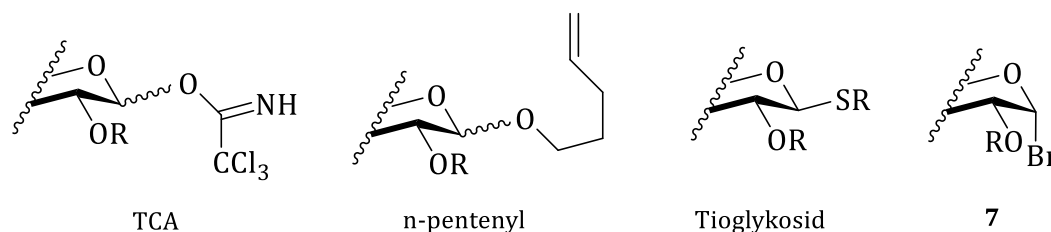
Figur 2.17: Enzymer bryter ned bindingene i mannan som finnes i bartreet *Picea abies*

## 2.4 Reaktivitet i karbohydrat

I denne masteroppgaven, sett fra et syntetisk perspektiv, blir det vurdert to faktorer i sammenligningen av reaktivitet til de funksjonelle gruppene i et karbohydrat. En faktor omhandler hvordan kontrollere reaktiviteten og stereokjemien på det anomere karbonet, og den andre omhandler hvordan kontrollere reaktiviteten til de øvrige hydroksylgruppene.

### 2.4.1 Glykosyldonor og glykosylakseptor

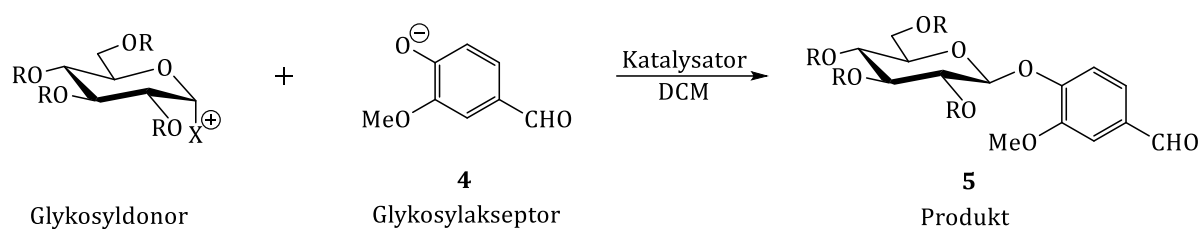
Monosakkarider er bundet sammen gjennom glykosidbindinger, og reaktivitet er derfor av betydning i karbohydratet. Den utgående gruppen i karbohydratet er en elektrofil glykosyldonor som kan reagere med en glykosylakseptor. Eksempler på utbredte glykosyldonorer er trikloracetat imidater (TCA)<sup>76</sup>, n-pentenyl<sup>77</sup>, tioglykosider<sup>78</sup> og halider eksempelvis ved glykosylbromid (**7**) som ofte, i takt med en katalysator, danner en glykosidbinding (Figur 2.18).<sup>79</sup>



Figur 2.18: Vanlige benyttede glykosyldonorer. R = Acetylgruppe

Glykosylakseptor er en nukleofil som reagerer med donor ved dannelse av glykosidbinding (Skjema 2.4). Reaktiviteten blir lavere ved å benytte en hydroksylgruppe, som er svakt nukleofilt, og gir et bedre utgangspunkt for å kontrollere reaksjonen.<sup>80-81</sup>

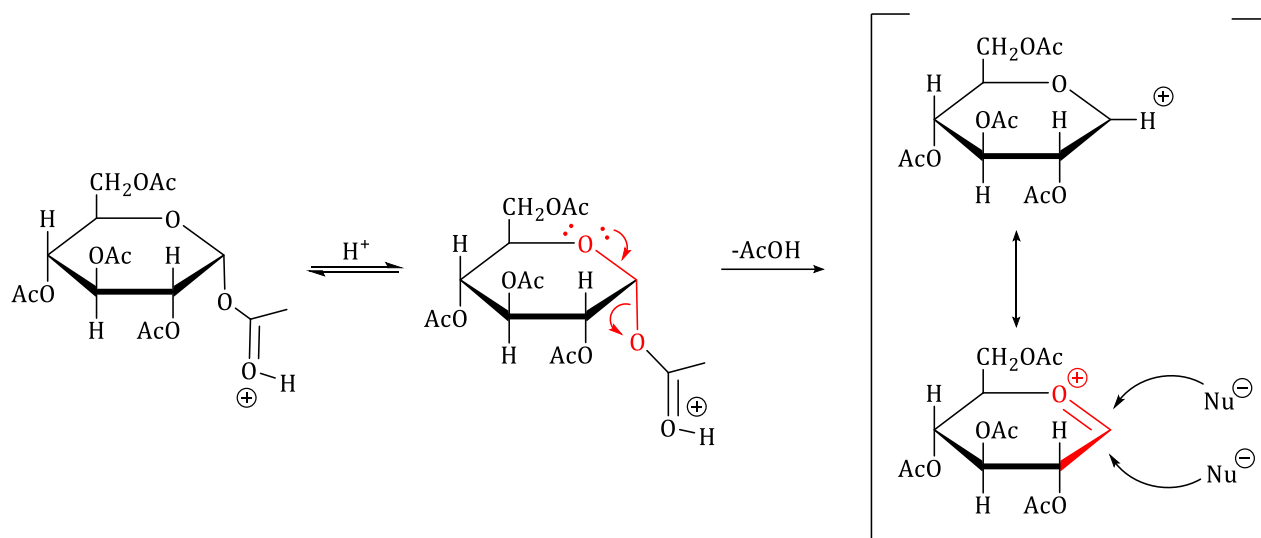
Den lave reaktiviteten til en nukleofil kan danne mellomprodukter som for eksempel oksokarbenium-ion før en glykosidbinding inntreffer.<sup>81</sup>



Skjema 2.4: En glykosyldonor i reaksjon med en glykosylakseptor danner glykosidbinding.

#### 2.4.2 Betydningen av mellomprodukter

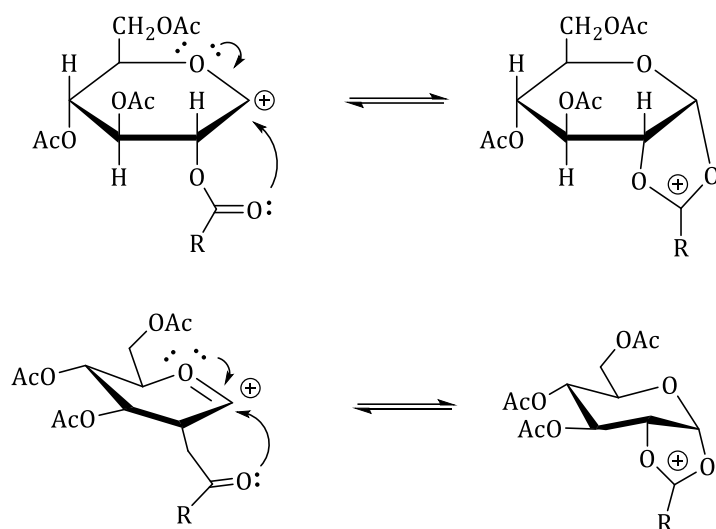
Mellomprodukter kjennetegner at et karbonatom er kovalent bundet til oksygen som har et positivt ladd ion, derfor er mellomproduktet  $sp^2$  hybridisert. Den positive ladningen er delokalisert mellom ring-oksygenet og C-1 som fører til et stabilt intramolekylært mellomprodukt. Dette kalles også oksokarbenium-ion<sup>82</sup> og dannelse av mellomproduktet er vist gjennom pyranoseform (Skjema 2.5).



Skjema 2.5: En utgående gruppe kan føre til dannelse av oksokarbenium-ion mellomprodukt.

En annen form for mellomprodukt kan oppstå når en interaksjon mellom donor og akseptor skjer gjennom deltagelse fra en substituent orientert mot nabokarbonet til C-1. Når en interaksjon inntreffer fra substituenten tilknyttet C-2 og det anomere senteret blir dette omtalt som anomerassistanse (Skjema 2.6). Denne interaksjonen kan føre til en ekstra ringdannelse og et stabilt karbokation.<sup>83</sup> Den nye ringdannelsen i

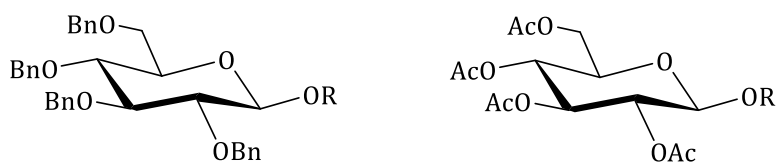
mellomproduktet kalles acyloksonium-ion, men siden karbohydratet er bisyklisk, blir også betegnelsen dioksokarbenium-ion benyttet i litteraturen.<sup>84-86</sup>



Skjema 2.6: Anomerassistanse fører til dannelse av et acyloksonium-ion, vist øverst som pyranoseform og nederst som stolform  $R = H, Ph, CH_3$

### 2.4.3 Betydning av beskyttelsesgrupper

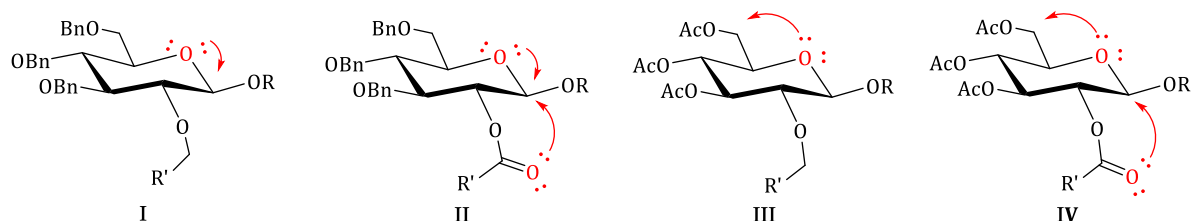
I utgangspunktet kan reaksjoner inntreffe på samtlige hydroksylgrupper i et karbohydrat, men bruk av beskyttelsesgrupper kan hindre uønskede reaksjoner og kontrollere stereoselektiviteten. Beskyttelsesgruppene som danner interaksjoner med det anomere senteret kalles deltagende nabogrupper, og et mye benyttet alternativ er estergrupper i et peracetylert karbohydrat. Denne nabogruppen kan redusere reaktiviteten til glykosyldonor og blir derfor omtalt som «disarmed» (Figur 2.19).<sup>87</sup> Når det ikke forekommer interaksjoner mellom beskyttelsesgrupper på det anomere karbonet, blir glykosyldonoren omtalt som «armed». Eksempelvis er perbenzylert karbohydrat mye benyttet som en «armed» beskyttelsesgruppe.<sup>77, 87</sup>



Figur 2.19: Beskyttelsesgruppene til venstre er omtalt som «armed» og til høyre «disarmed».  $R =$  Utgående gruppe

Overføring av ladninger mellom «disarmed» nabogrupper og ring-oksygenet kan i høy grad danne interaksjoner som følge av induktiv effekt. Denne effekten øker desto flere estergrupper som har elektrontiltrekning med ring-oksygenet (Figur 2.20), dermed synker elektrontettheten og den utgående gruppen blir mindre nukleofil.<sup>77</sup> Den utgående

gruppen bidrar til en langsommere reaksjon, men elektrontil trekningen fra nabogruppene fører til et destabilisert oksokarbenium-ion, som resulterer i raskere dannelse av glykosidbinding.

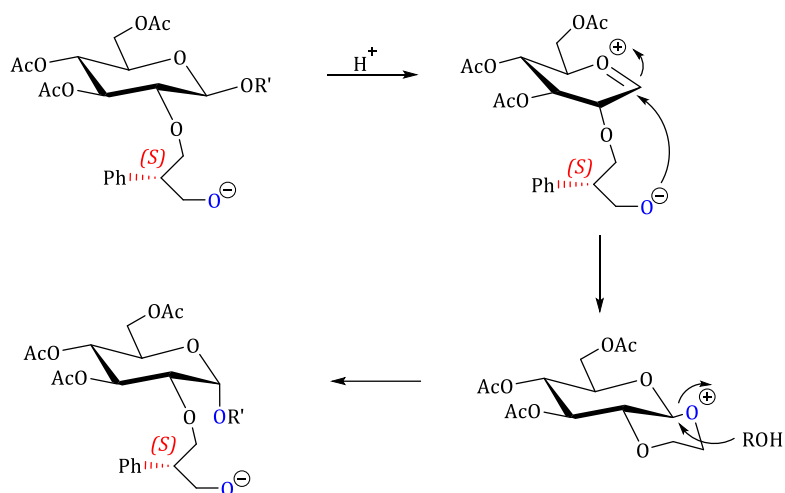


Figur 2.20: Karbohydrater med svak induktiv effekt er vist ved I og II. Karbohydrater med sterk induktiv effekt er vist ved III og IV. R = Utgående gruppe R' = Ph, H, CH<sub>3</sub>

Anomerassistansen kan bli styrket når en ester-beskyttelsesgruppe tilhører C-2, og de andre nabogruppene på glykosyldonor er etergrupper (II Figur 2.20).<sup>88</sup> Det oppstår en induktiv effekt fra bare én estergruppe som i samarbeid med ring-oksygenet kan føre til at utgående gruppe blir mer reaktiv enn IV (Figur 2.20).<sup>89</sup> Dermed blir acyloksonium-ion overveiende dannet fremfor oksokarbenium-ion. Likevel har forbindelse I og II (Figur 2.20) svak induktiv effekt fordi karbohydratet er beskyttet med eter-nabogrupper.<sup>90</sup>

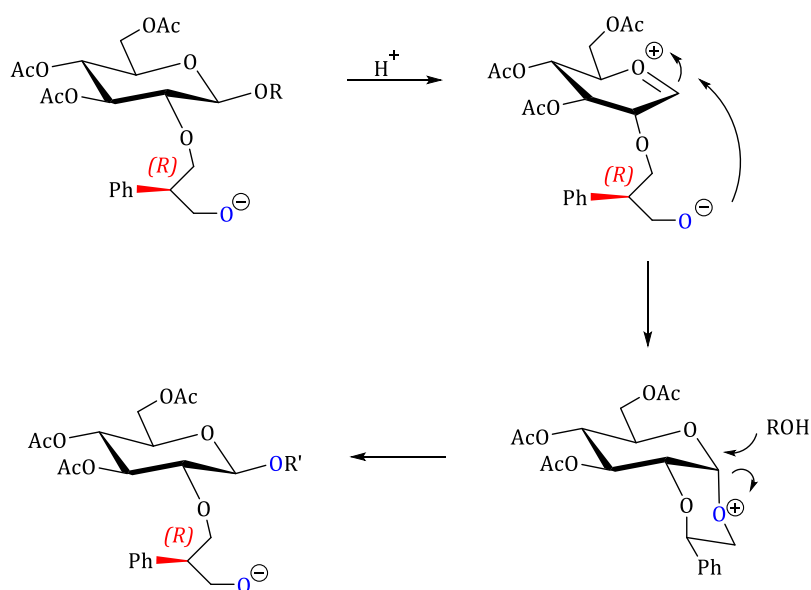
Beskyttelsesgrupper som er mindre komplekse, eksempelvis acetylgrupper, kan reagere med det anomere senteret og potensielt danne et stabilt acyloksonium-ion mellomprodukt. Derimot er kiraliteten av betydning for komplekse beskyttelsesgrupper bundet til C-2 (Skjema 2.7). Når komplekse beskyttelsesgrupper har tilhørende nukleofilt oksygen ende kan stereokonfigurasjonen avgjøre om et *cis*- eller *trans*-produkt blir dannet. I noen tilfeller kan *S*-konfigurasjon i beskyttelsesgruppen gi sterisk hindring av glykosylakseptoren og beskyttelsesgruppen blir tvunget til å binde i *cis*-posisjon.<sup>91</sup>





Skjema 2.7: Når stereokjemien til beskyttelsesgruppen er i *S*-konfigurasjon kan det danne et 1,2-*cis*-glykosid.

I tilfeller ved *R*-konfigurasjon i komplekse beskyttelsesgrupper, kan den nukleofile enden danne interaksjon med det anomere senteret i oksokarbenium ionet (Skjema 2.8). Denne konfigurasjonen gir glykosylakseptoren bare mulighet til å danne produkt gjennom *trans*-binding.<sup>91</sup> Dermed kan *S*- og *R*-stereokonfigurasjonene føre til henholdsvis glykosidbinding i  $\alpha$ - og  $\beta$ -posisjon i produktet.

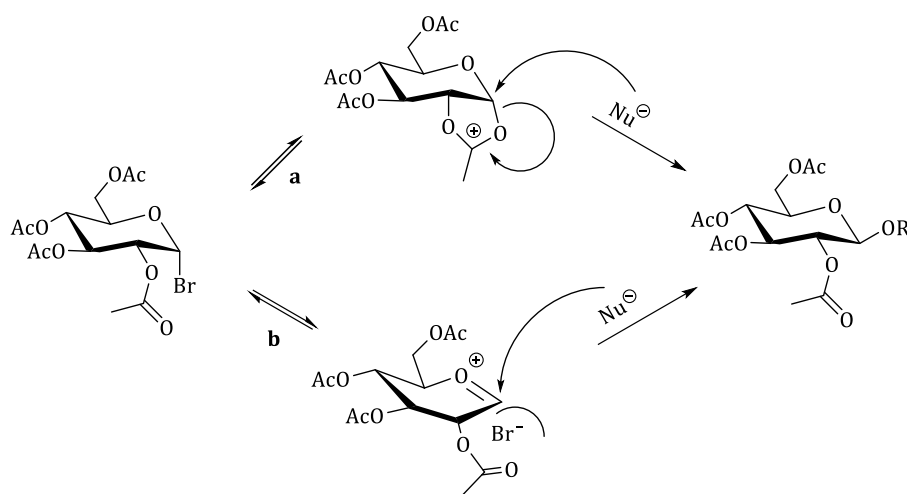


Skjema 2.8: Når stereokjemien til beskyttelsesgruppen er i *R*-konfigurasjon kan det danne 1,2-*trans*-glykosid.

#### 2.4.4 Stereoselektivitet i produkt

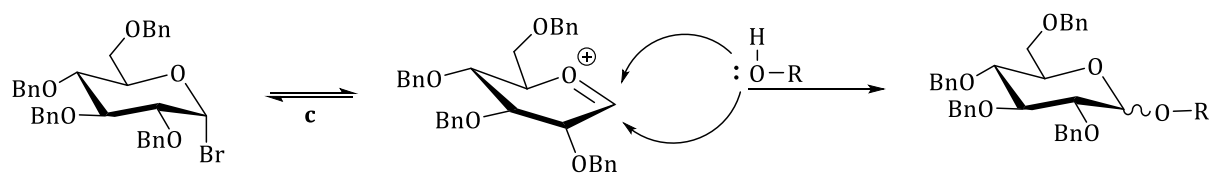
Stereoselektiviteten på det anomere senteret er ofte en utfordring, og valg av glykosylakseptor og glykosyldonor er nødvendig fordi en glykosyleringsreaksjon kan lede til en blanding av  $\alpha$ - og  $\beta$ -binding i produktet.

I de tilfellene der ester-beskyttelsesgrupper på C-2 danner interaksjoner med det anomere senteret, kan det føre til dannelse av et stabilt acyloksonium-ion (**a** Skjema 2.9). Det stabile mellomproduktet bidrar til at en reaksjon bare kan inntreffe direkte ovenfra ved  $S_N2$  mekanisme, og dermed danne *trans*-binding i produkt.<sup>92</sup> Ester-beskyttelsesgrupper kan også danne interaksjoner med den utgående gruppen ved anomerassistanse. Dermed kan den utgående gruppen blokkere for glykosidbinding på samme siden som den forlater (**b** skjema 2.9). Fra oksokarbenium ionet er det mest tilgjengelig å danne *trans*-glykosidbinding i produktet som inntreffer raskt ved en  $S_N2$  reaksjon.<sup>86</sup>



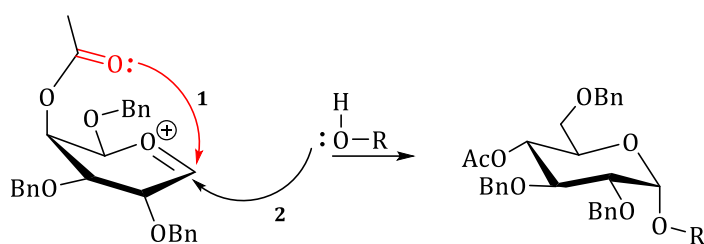
Skjema 2.9: To reaksjonsveier for å danne *trans*-produkt. I reaksjonsveien **a** fører mellomproduktet acyloksonium-ion til dannelse av *trans*-binding i produkt. I reaksjonsvei **b** blokkerer bromidet for *cis*-binding og dermed blir *trans*-binding tilgjengelig for dannelse i produkt. R = glykosylakseptor

En sammenkobling mellom glykosyldonor og glykosylakseptor kan danne *cis*-binding. Eter-beskyttelsesgrupper gir større sannsynlighet for dannelse av et resonansstabilisert oksokarbenium-ion som kan inntreffe når ingen nabogrupper deltar i interaksjon med det anomere karbonet (**c** Skjema 2.10).<sup>83</sup> Dermed inntreffer  $S_N1$  reaksjon som gir svak stereoselektiv kontroll. Dannelse av *cis*-binding er termodynamisk stabilt, men likevel kan *trans*-binding dannes raskere.<sup>93</sup> Binding i *cis*-posisjon ved direkte glykosylering kan være utfordrende, fordi både *cis*- og *trans*-binding i produkt kan inntreffe.



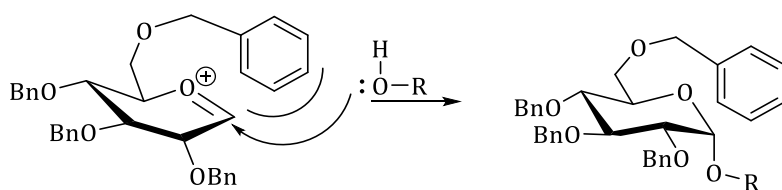
Skjema 2.10: En reaksjonsvei for å danne *cis*-binding i produkt. I reaksjonsvei **c** fører mellomproduktet oksokarbenium-ion til dannelse av *cis*-binding kan inntreffe i produkt.

En annen effekt som påvirker stereoselektiviteten, er lang-distanse effekten fra nabogrupper (Skjema 2.11). Ester-nabogrupper kan være plassert langt fra C-1, men likevel danne interaksjoner med det anomere karbonet. Dette fenomenet er omtalt som lang-distanse effekt og fremtvinger *cis*-binding.<sup>94</sup> Lang-distanse effekten kan oppstå fra C-4 som hinder *trans*-binding, og dermed fremtvinger glykosidbinding gjennom *cis*-binding.<sup>95</sup> Nylige studier har vist at lang-distanse effekt også kan oppstå fra C-3 eller C-6.<sup>96</sup>



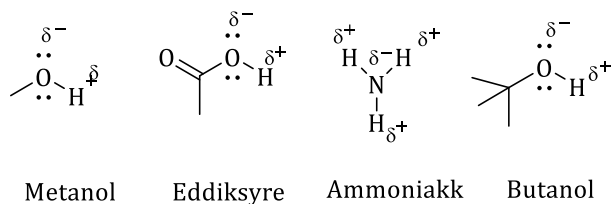
Skjema 2.11: En lang-distanse effekt fra acetyl beskyttelsesgruppe tilhørende C-4 kan danne interaksjon med det anomere karbonet. I steg 1 danner acetylgruppe en interaksjon, og i steg 2 blir glykosylakseptor tvunget i *cis*-binding

En kompleks beskyttelsesgruppe tilhørende C-6 kan være orientert mot det anomere senteret og sterisk hindre *trans*-binding. Den steriske hindringen vil med større sannsynlighet danne *cis*-binding i produkt (Skjema 2.12).<sup>97</sup> Steriske effekter i beskyttelsesgrupper kan også gjennom metaller danne *cis*-glykosidbinding. For eksempel kan metaller reagere med samtidig med en benzylgruppe tilhørende C-6 og den utgående gruppen, denne interaksjonen fremtvinger *cis*-binding.<sup>98</sup>



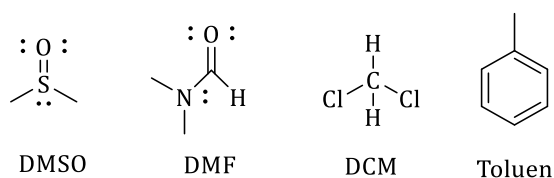
Skjema 2.12: En sterisk effekt fra en kompleks beskyttelsesgruppe tilhørende C-6 kan blokkere for *trans*-binding i produkt. R = glykosylakseptor

Stereoselektiviteten kan i tillegg bli påvirket av polare løsningsmidler i reaksjonen. Et protisk løsningsmiddel har hydrogenatomer bundet til oksygen som gir delvis positive og negative ladet atomer. Dette kan begrense dannelsen av glykosidbinding. Eksempler på vanlige protiske løsningsmidler er metanol, eddiksyre, ammoniakk og butanol (Figur 2.21).<sup>99-100</sup>



Figur 2.21: Polare protiske løsningsmidler.

Derimot har aprotiske løsningsmidler ingen atomer som er delvis positiv eller negativ ladet (Figur 2.22). Dermed kan nukleofilen i glykosylakseptoren reagere fullstendig med glykosyldonoren, og en  $S_N2$  reaksjon kan inntreffe.<sup>101-102</sup> Eksempler på vanlige aprotiske løsningsmidler er dimetyl sulfoksid (DMSO), dimetylformamid (DMF), diklormetan (DCM) og toluen.<sup>103</sup>

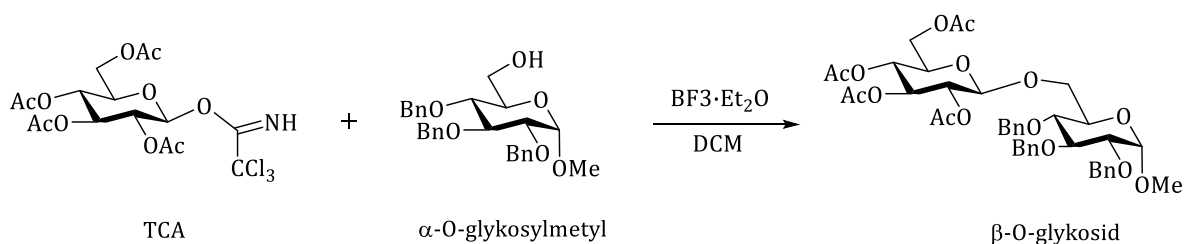


Figur 2.22: Polare aprotiske løsningsmidler.

## 2.5 Aktiveringsstrategier

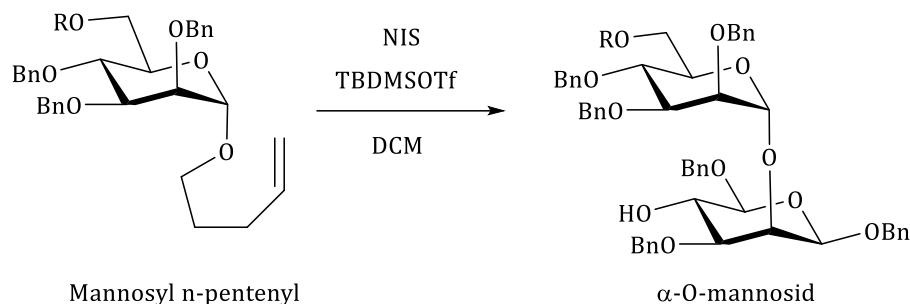
I karbohydratsyntese finnes det utallige strategier for å oppnå ønsket produkt. Valget av glykosyldonor bør vurderes nøye med hensyn til om denne kan reagere med katalysatoren for å danne glykosidbinding. Syntesen kan inntreffe gjennom et eller flere syntesetrinn.

TCA er utbredt glykosyldonor som i reaksjon med Lewis-syren  $BF_3 \cdot Et_2O$  kan danne glykosidbinding (Skjema 2.13). TCA har hverken syre- eller base-egenskaper, derfor kan sterke syrer egne seg godt til å aktivere glykosyldonoren. Dessuten har TCA høy stabilitet som gjør den godt egnet til å danne glykosidbinding under basiske betingelser.<sup>76</sup>



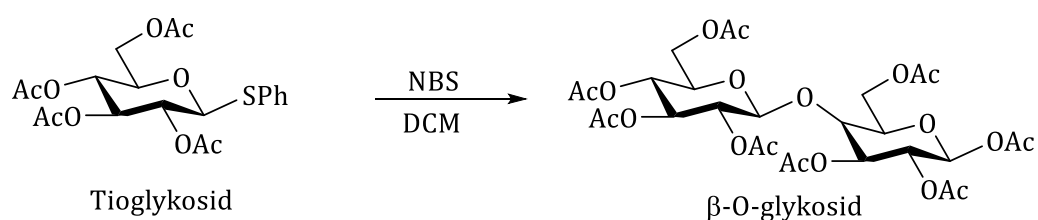
Skjema 2.13: TCA og  $\alpha$ -O-glykosyl kan ved å benytte  $BF_3 \cdot Et_2O$  i DCM danne et disakkarid.

En utbredt strategi for å oppnå glykosidbinding i oligosyntese er ved bruk av n-pentenyl (Skjema 2.14). Skjemaet viser dannelse av glykosidbinding ved å tilsette N-jodsuksinimid (NIS) og tert-butyldimetylsilyl trifluormetansulfonat (TBDMSOTf) i DCM.<sup>104</sup> C-2 beskyttelsesgruppen til mannose styrker muligheten for at glykosidbindingen inntreffer i  $\alpha$ -posisjon.



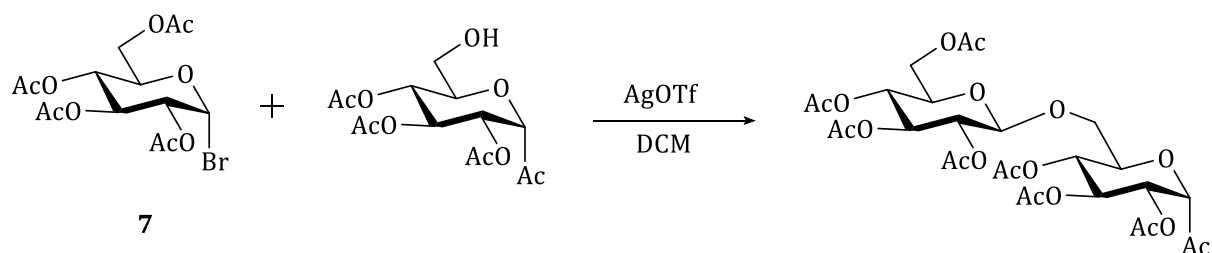
Skjema 2.14: Mannosyl n-pentenyl kan ved å benytte TBDMSOTf og NIS i DCM dannet et disakkarid. R = tert-butyldifenylsilyl (TBDPSO)

Under milde betingelser er tioglykosider godt egnet til å danne disakkarider gjennom  $\alpha$ -(1,6)-binding. Eksempelvis blir dette dannet ved bruk av tiofenyler sammen med katalytiske mengder av N-bromsuksinimid (NBS) (Skjema 2.15). I tillegg kan tioglykosider danne disakkarid med bruk av for eksempel Lewis-syre katalysatoren trimetylsilyljodid (TMSI) eller ved bruk av tetrabutylammoniumjodid (TBAI) under basiske betingelser.<sup>78</sup>



Skjema 2.15: Tioglykosid kan ved å benytte NBS i DCM danne et disakkarid. R = Acetyl

Halider som glykosyldonor for å danne glykosidbinding ble i 1901 utviklet samtidig av Koenigs og Knorr, Fischer og Armstrong.<sup>79</sup> Katalysatorene bestod av ulike sølvsalter:  $\text{Ag}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{Ag}_2\text{O}$ ,  $\text{AgNO}_3$  og  $\text{AgOTf}$ . Under milde betingelser kan for eksempel  $\text{AgOTf}$  bli benyttet i DCM for å danne glykosidbinding (Skjema 2.16).

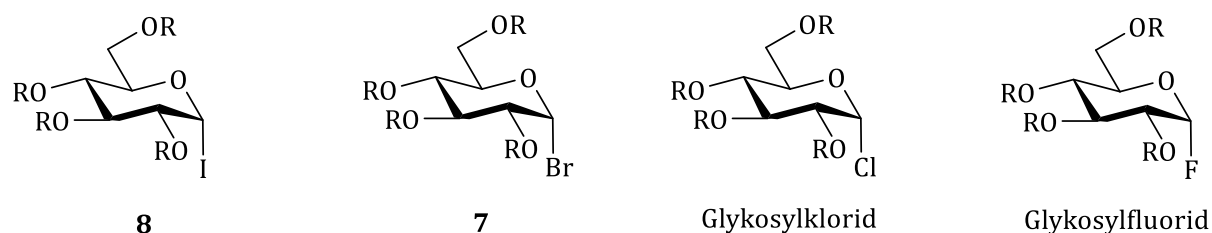


Skjema 2.16: Glykosylbromid og en glykosylenhet kan med AgOTf i DCM danne glykosidbinding. R = Glykosylakseptor

Glykosidbinding kan også bli dannet ved en-trinnsyntese eksempelvis ved Lewis-syren  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  og en fenol.<sup>105</sup> Strategien benytter lite løsningsmidler, men ulempen er at syren er toksisk. I tillegg kan det være utfordrende å danne glykosidbinding på det anomere karbonet hvis den inneholder en beskyttelsesgruppe istedenfor en glykosyldonor. Siden glykosyldonorer er elektrofile, kan glykosyldonoren enklere reagere med en glykosylakseptor.

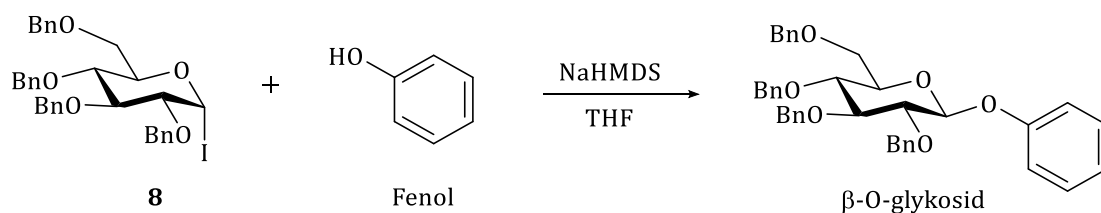
### 2.5.1 Halider som en syntesestrategi

Reaktivitet i glykosylhalidet bidra til at reaksjoner kan inntreffe effektivt. Under bifasiske reaksjoner kan basiske betingelser inntreffe, og dermed utnytte egenskapene til glykosylhalider for å danne reaksjon. I disse tilfellene er det nødvendig å vite at reaktiviteten er ulik for hver av glykosylhalidene (Figur 2.23). Ulik elektrofil karakter for glykosylhalidene resulterer at stabiliteten kan variere.<sup>106</sup>



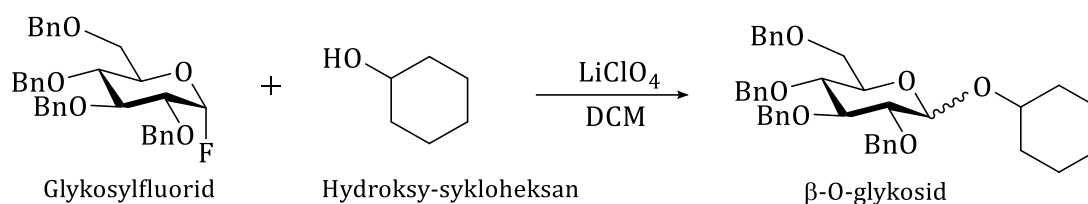
Figur 2.23: Halider med stigende reaktivitet fra høyre der glykosylfluorid har lavest reaktivitet. R = Benzyl, acetyl

Glykosidjodider er svært reaktive, og kan under både nøytrale og basiske betingelser danne glykosidbinding i biokonjugater.<sup>107</sup> Reaktiviteten til glykosyljodid (**8**) bidrar til å kontrollere stereoselektiviteten i produktet. For eksempel kan basen natrium heksametyldisilazan ( $\text{NaHMDS}$ ) i tetrahydrofuran (THF) bli benyttet for å deprotonere fenolen i dannelsen av *trans*-glykosidbinding (Skjema 2.17).<sup>108</sup>



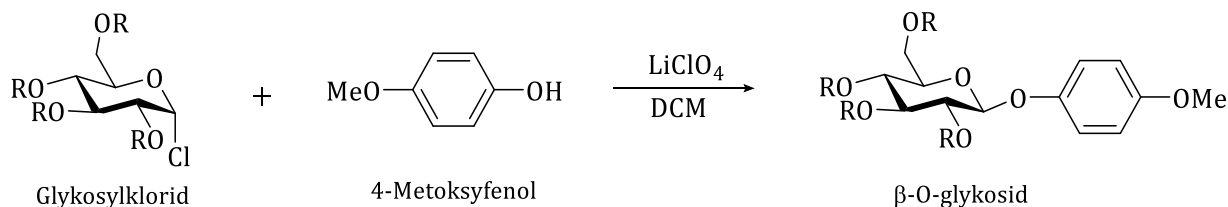
Skjema 2.17: Forbindelse **8** og en fenol kan med NaHMDS i THF danne glykosidbinding.

Det minst reaktive glykosylhalidet er glykosylfluorid. Denne er utbredt i syntesereaksjoner knyttet til  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ <sup>109</sup>, og kan bli benyttet som glykosyldonor. Glykosylfluorid i reaksjon med en seksring kan  $\text{LiClO}_4$  bli benyttet som katalysator for å danne glykosidbinding (Skjema 2.18).<sup>110</sup>



Skjema 2.18: Glykosylfluorid og en hydroksyl sykloheksan kan med  $\text{LiClO}_4$  i DCM danne glykosidbinding.

Glykosylklorid er mer reaktivt enn glykosylfluorid, og kan derfor enklere danne binding med glykosylakseptor. Glykosylklorid kan for eksempel danne glykosidbinding med en fenolisk forbindelse i reaksjon med Lewis-syre katalysatoren  $\text{LiClO}_4$  (Skjema 2.19).<sup>111</sup>



Skjema 2.19: Glykosylklorid og en fenolisk forbindelse kan i reaksjon med  $\text{LiClO}_4$  i DCM danne glykosidbinding. R = benzyl

For å danne et disakkarid kan glykosidklorid bli benyttet med katalysatoren  $\text{Et}_4\text{NBr}$ .<sup>112</sup> Samme syntese strategi kan bli utført ved å benytte et mer reaktivt glykosylbromid som glykosyldonor for å oppnå glykosidbinding. Glykosylbromid er mindre stabil enn glykosylklorid og glykosylfluorid, samt har lavere reaktivitet enn glykosyljodid. Kombinasjonen av stabilitet og reaktivitet i glykosylbromidet gjør den godt egnet som glykosyldonor i glykosyleringsreaksjoner.

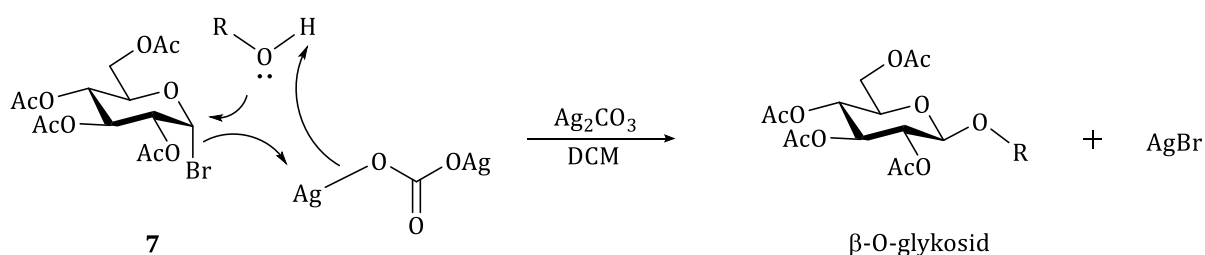
I denne masteroppgaven ble syntesen utført med vanillin som glykosylakseptor. Denne aromatiske ringen er elektrontiltrekkende som både i surt<sup>113</sup> og basisk miljø<sup>114-115</sup> kan

fungere som en svak nukleofil. Den aromatiske ringen kan derfor effektivt danne glykosidbinding med en elektrofil glykosyldonor, men reaksjonen krever også en stabil glykosyldonor. Glykosyljodid er svært reaktivt, og kan i utgangspunktet være godt egnet som glykosyldonor, men siden glykosylbromid er mer stabilt utgjør den et sikrere alternativ for å danne glykosidbinding.

### 2.5.2 Syntese av glykosylbromid ved bifasiske betingelser

Glykosylbromid kan danne glykosidbinding med vanillin ved å benytte katalysator. Nedenfor er det derfor vist flere strategier med ulike katalysatorer for å danne glykosidbinding mellom beskyttet glykosylbromid og fenoliske forbindelser.

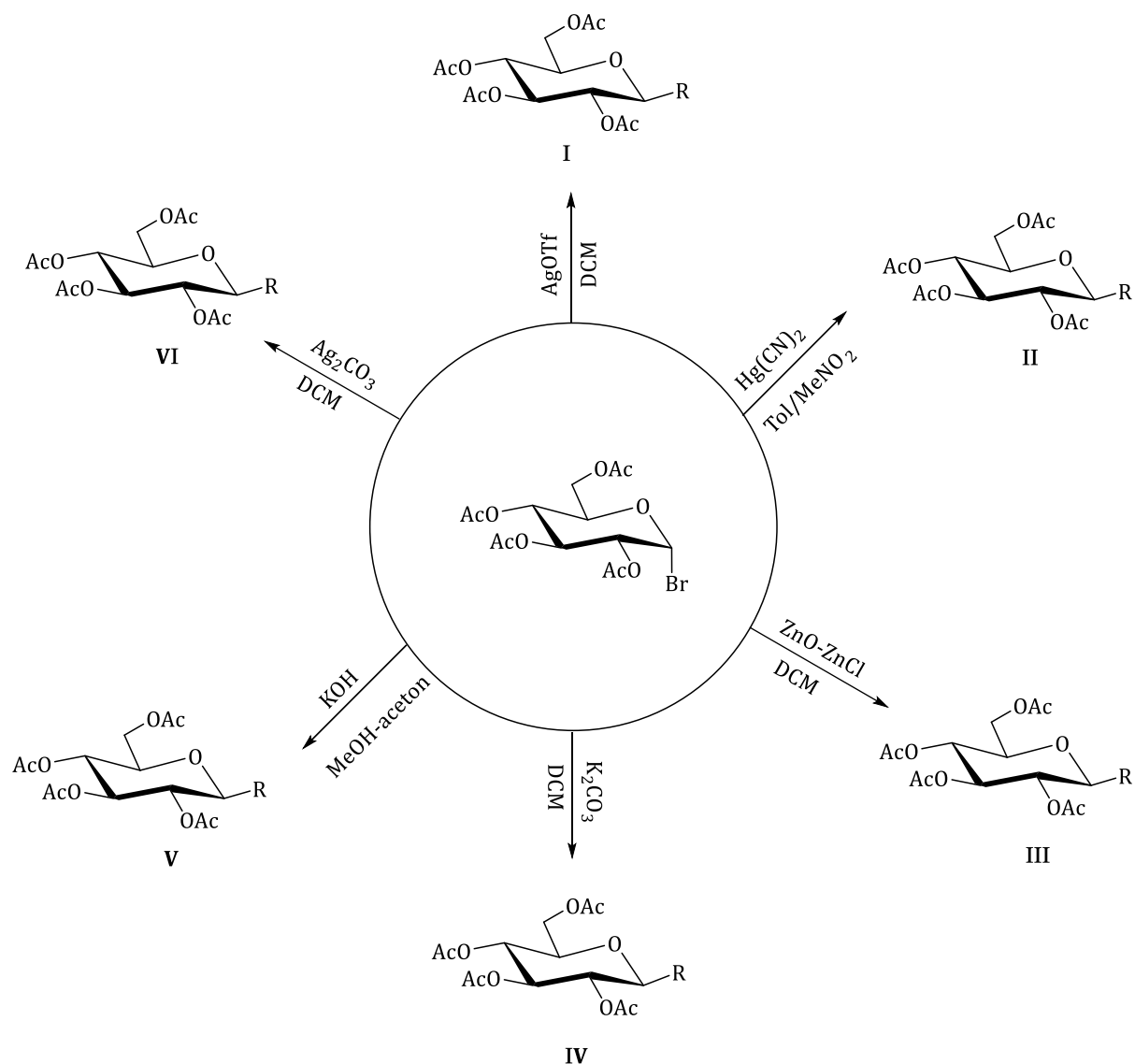
En vanlig reaksjon er bruk av forskjellige salter i kombinasjon med sølv.<sup>116</sup> Sølv er elektrofil og kan reagere med nukleofil akseptor, og kan dermed bidra til dannelsen av glykosidbinding i en to-fase reaksjon.<sup>79</sup> Skjemaet viser en mekanisme for Lewis-syre der glykosylbromidet interagerer med sølv og tilgjengeliggjør at glykosylakseptor kan danne glykosidbinding (Skjema 2.20).



Skjema 2.20: Glykosylbromid og glykosylakseptor kan i reaksjon med  $Ag_2CO_3$  i DCM danne glykosidbinding. R = glykosylakseptor

Eksempelvis kan glykosylbromid med  $Ag_2CO_3$  i DCM være en strategi for å oppnå stereoselektivitet i produktet (VI Skjema 2.21), men en mer utbredt strategi er å benytte  $AgOTf$  som katalysator (I Skjema 2.21). En tidligere mye benyttet katalysator er  $Hg(CN)_2$  (II Skjema 2.21) for å danne O-glykosider.<sup>117</sup> Kvikksølv er svært toksisk og er i dag ilagt restriksjoner ved bruk i synteser. Mindre toksisk er sink som har vist å danne glykosidbinding ved kombinasjon av ZnO-ZnCl til ulike monofenoliske forbindelser (III Skjema 2.21).<sup>118</sup>





Skjema 2.21: Glykosylbromid kan danne glykosidbinding med fenoliske forbindelser ved hjelp av ulike aktiveringsstrategier og danne forskjellige biokonjugater (I, II, III, IV, V, VI). R = fenolisk forbindelse

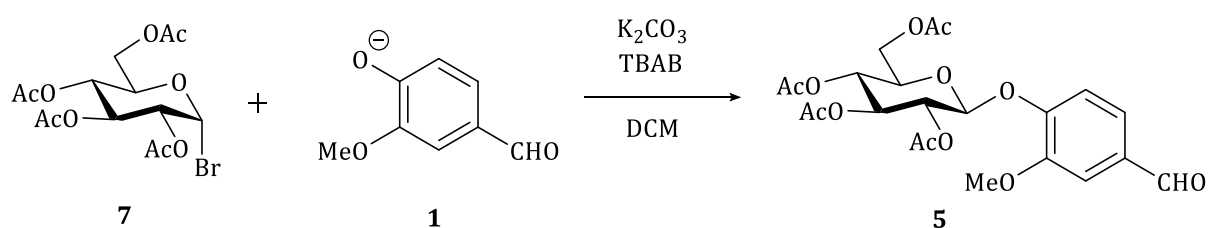
En mild syntesestrategi er å utføre reaksjonen med basen  $K_2CO_3$  i DCM for å danne glykosidbinding (IV Skjema 2.21).<sup>119</sup> I en vandig to-fase blanding kan glykosylbromidet reagere med en fenolisk forbindelse. Tidlig ble også en annen strategi under vandige basiske betingelser utviklet, omtalt som Helferich-metoden.<sup>120</sup> Denne kinetiske reaksjonen benytter KOH med løsningsmidlene metanol og aceton for å danne glykosidbinding med fenoler (V Skjema 2.21).

### 2.5.3 Bruk av faseoverføringskatalysator for dannelse av glykosidbinding

Forskeren Arthur Michael utførte den første glykosyleringen ved å benytte glykosylklorid i blanding med basiske kalium fenolat i vandig løsning.<sup>79</sup> I Koenigs-Knorr reaksjonen blir

også glykosylhalid benyttet, men dannelse av glykosidbinding inntreffer raskere ved bruk av katalysatoren  $\text{Ag}_2\text{O}$  eller  $\text{AgOTf}$ .<sup>79</sup> Dannelse av glykosidbinding ved hjelp av katalysator under milde betingelser er videre utforsket til å inkludere bruk av PTC i aprotiske løsningsmidler. Denne typen katalysator kan effektivt binde glykosylbromidet til en fenolisk forbindelse og danne et biokonjugat.<sup>121</sup>

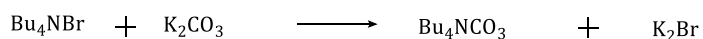
Dannelse av glykosidbinding har tidligere også vært ved bruk av PTC-en tetrabutylammoniumbromid (TBAB) (Skjema 2.22).<sup>121</sup> Utenom TBAB er også tetrabutylammoniumhydrogensulfat (TBAHS) benyttet og forsøk med denne har vist mindre selektivitet i produktet og dermed et lavere utbytte.<sup>122</sup> TBAHS er mindre reaktivt enn TBAB, men er benyttet for å unngå risikoen for å danne to bromider fremfor en glykosidbinding i produktet.<sup>123</sup>



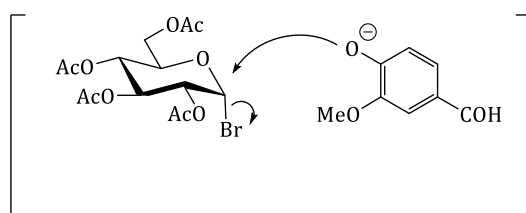
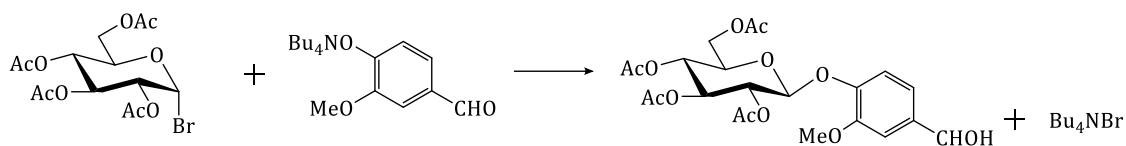
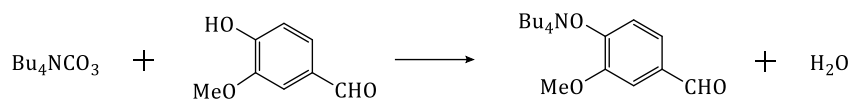
Skjema 2.22: Glykosylbromid i reaksjon med nukleofilt vanillin og  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , samt bruk av TBAB som katalysator i DCM kan danne glykosidbinding.

I bifasiske glykosyleringsreaksjoner er bruk av faseoverføringsbetingelser en strategi, og kan ved bruk av katalytiske mengder danne glykosidbinding. I tillegg må en lipofil base som for eksempel  $\text{K}_2\text{CO}_3$  eller  $\text{NaOH}$  være tilstede i vannfasen for å danne reaksjon med en PTC, men samtidig ikke konkurrere med fenolat anionet.<sup>124</sup> Basene kan reagere med TBAB med tilhørende positiv ladning. Katalysatorene kjennetegner ulike salter som kan danne binding med anionisk vanillin i den vandige fasen og deretter transportere vanillin over til den organiske fasen.<sup>125</sup> Da blir den pro-nukleofile fenolen deprotonert av den kvaternære basen, og danner en aktiv nukleofil. Reaksjonen foregår raskt når fenolen blir transport til glykosylbromidet, det tillater at anionet i fenolen kan reagere med det anomere karbonet for å danne glykosidbinding (Skjema 2.23).<sup>126-127</sup>

Vannfase



Organisk fase



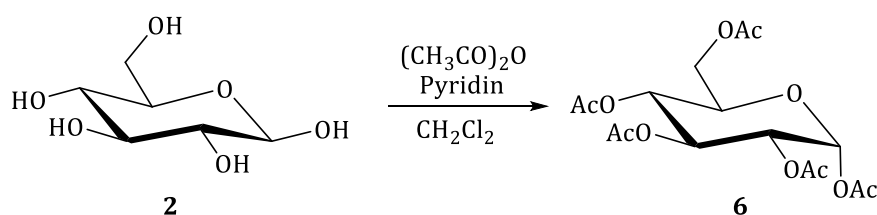
Skjema 2.23: En bifasisk reaksjon mellom  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , TBAB, glykosylbromid og anionisk vanillin gir dannelse av glykosidbinding.

Når det anioniske vanillinet reagerer på glykosylbromidet blir det dannet et oksokarbenium-ion. Katalysatoren aktiverer glykosylhalidet i donorgruppen og blir den utgående gruppen i reaksjon med glykosylakseptor. Elektronparet i den utgående gruppen kan blokkere for glykosidbinding på samme siden som den forlater. Det bidrar til stereoselektivitet ved å reagere direkte ovenfra for å danne  $\beta$ -glykosidbinding i produkt.

### 3. Resultater og diskusjon

#### 3.1 Syntese av 1,2,3,4,6-penta-O-acetyl- $\alpha$ -D-glukopyranose

Det første trinnet var å beskytte forbindelse **2** med acetylgrupper. I trinnet ble 1,2,3,4,6-penta-O-acetyl- $\alpha$ -D-glukopyranose (**6**) dannet fra **2** (Skjema 3.1).<sup>128</sup> Reaksjonen gav et utbytte på 86 %, mot et kvantitativt utbytte rapportert i litteraturen.<sup>128</sup> Spektrale data stemmer overens med rapportert data.<sup>129</sup> Ved undersøkelser av  $^1\text{H}$  NMR og  $^{13}\text{C}$  NMR spektrale data, indikeres det at riktig forbindelse ble dannet.



Skjema 3.1: Syntese av **6** fra **2** i reaksjon med pyridin og eddiksyre anhydrid.

Under forsøket av dannelse **6** kan det ha oppstått biprodukter som har forurenset forbindelsen, og dermed bør denne bli rensset ytterligere. En måte å separere forurensninger fra ønsket stoff på er ved flashkolonne kromatografering. Utfordringen med separasjon ved flashkromatografi er gjennomførelse med minimalt tap av ønsket stoff. Selv om uttak i reagensrør ble overvåket med tynnsljikt-kromatografi (TLC), kan det være rester som til sammen har redusert andel utbytte.

Forbindelsen ble rensset på en silika-kolonne med heksan/EtOAc i forholdet 6:4 og  $R_f$ -verdier ble målt til henholdsvis 0,59 og 0,41. Dette gav et godt utgangspunkt for separasjon av forbindelsen, men trolig har lengden på kolonnen inneholdt et annet forhold fordi et tap av forbindelse **6** ble målt etter inndamping på rotavapor.

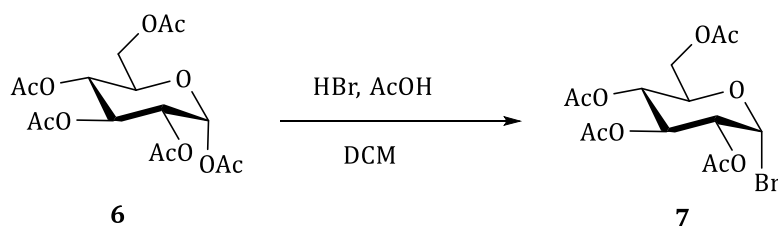
$^1\text{H}$  NMR spekteret viser alkylgrupper som singletter i området 2,17 – 2,01 ppm (Figur 5.1). Singlettene karakteriserer protonene i acetylgruppene som er de eneste mettede hydrokarbonene og utgjør 15 protoner i forbindelsen.<sup>129</sup> Spektrale data viser 14 og 3 protoner i det alifatiske området. Sammenlignet med litteraturen har spekteret to protoner mer enn forventet som kan skyldes forurensning.  $^{13}\text{C}$  NMR spekteret viser karbonylgrupper som har karakteristiske signaler ved 170-168 ppm (Figur 5.2). Fem tydelige signaler i dette området betyr at samtlige hydroksylgrupper er acetyleret i denne syntesereaksjonen.

Øvrige resonanser som indikerer riktig forbindelse i  $^1\text{H}$  NMR er en multipllett ved 4,13-4,07 ppm er ett proton knyttet til C-5. To protoner er bundet til C-6 og er vist som dobbel dublett ved 4,28-4,24 ppm. Multipletten ved 5,16-5,07 ppm viser to protoner hvor ett er bundet til C-2, og ett til C-4. Siden protonene blir påvirket av reaktiviteten i oksygenet, er protonet knyttet til C-3 vist ved multipletten i området 5,49-5,44 ppm,

### 3.2 Syntese av 2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-glukopyranosylbromid

Først ble det utprøvd å danne glykosidbinding fra **6** for oppnåelse av 2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-glukopyranosyl-4-hydroxy-3-metoksibenzaldehyd (**5**) ved bruk av Lewis-syren  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  som reagens. Dessverre viste ikke spektrene dannelsen av **5**, og derfor ble det utprøvd en ny og mer robust strategi for å danne **5** ved hjelp av glykosyldonor. Hensikten med dette syntesetrinnet var å danne en glykosyldonor, og det ble utprøvd to glykosylhalider. Mulighetene for å utnytte reaktiviteten i glykosylhalider ble undersøkt nøyer og er hensiktsmessige å benytte i neste syntesetrinn (Kapittel 3.3) med en PTC for å danne **5**.

Lemieux *et al.*<sup>112</sup> viste at elektrofile glykosylhalider fungerer godt med en katalysator for å danne glykosidbinding. Først ble glykosyljodid forsøkt dannet fra **6**, dessverre viste ikke spektrene dannelsen av **8**. Reaktiviteten i glykosylhalider ble videre utprøvd ved å danne **7** fra **6** (Skjema 3.2). Forbindelse **7** ble bekreftet av  $^1\text{H}$  NMR og  $^{13}\text{C}$  NMR, og gav et utbytte på 82 %. Spekteret stemmer godt overens med litteraturen, der ble det rapportert 90 % utbytte.<sup>130</sup>



Skjema 3.2: Syntese av **7** fra **6** i reaksjon med HBr og AcOH.

$^1\text{H}$  NMR spekteret for forbindelse **7** (Figur 5.3) viser i likhet med forbindelse **6** (Figur 5.1) alkylgrupper i området 2,09-2,03 ppm som singletter. Integralet er 12 og tilhører protonene til hver av acetylgruppene, dermed er det sannsynligvis fire acetylgrupper til stede i forbindelsen. En karakteristisk resonans i  $^1\text{H}$  NMR er dubletten ved 6,61 ppm. Dette kjemiske skiftet er noe høyere enn i litteraturen<sup>130</sup>, men det er overveiende

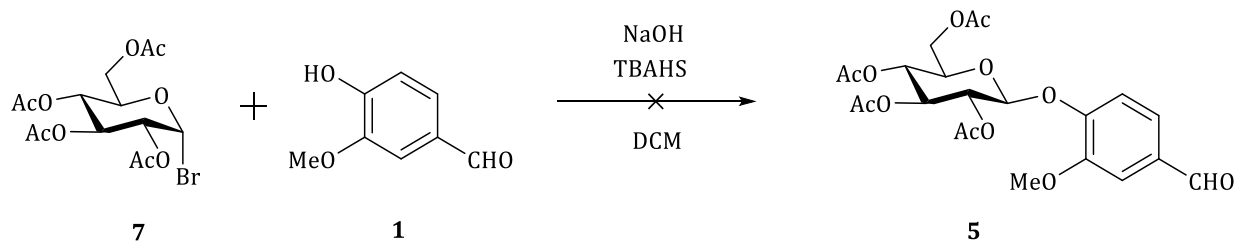
sannsynlig at bromidet er bundet til karbohydratet. Dubletten har en relativt lav koblingskonstant på 4,0 Hz som antakeligvis er en vicinal kobling, og medfører at bromidet er bundet aksialt i  $\alpha$ -posisjon. Fra karbonspekteret er fire signaler gitt ved 168,5-170,5 ppm (Figur 5.4). Det bekrefter at fire acetylgrupper er bundet til karbohydratet. Spekteret stemmer overens med litteraturen<sup>130</sup>, og fem signaler i området 72,1-60,9 ppm utgjør karbohydratskjelletet. Et kjemisk skift ved 86,6 ppm styrker antagelsen om at bromidet er bundet til det anomere karbonet, og blir bekreftet av <sup>13</sup>C NMR spekteret som viser ringdannelse (Figur 5.4). Derimot viser <sup>13</sup>C NMR spekteret et signal i karbonylområdet på 206,9 ppm, og fire signaler i området 20,7-20,6 som er metylgrupper (Figur 5.6). Dette tyder på en åpen ringstruktur av glykosylbromidet, og styrker antagelsen om at det er dannet ringstruktur i forbindelse **7**.

Syntesetrinnet av glykosylbromid gav et rent produkt og høyt utbytte som bidro til et godt utgangspunkt for neste syntesetrinn av forbindelse **5** (Figur 3.2). Til tross for et høyt utbytte, ble antakeligvis noe av produktet dekantert bort etter omkrystallisering.

### 3.3 Syntese av 2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-glukopyranosyl-4-hydroxy-3-metoksibenzaldehyd

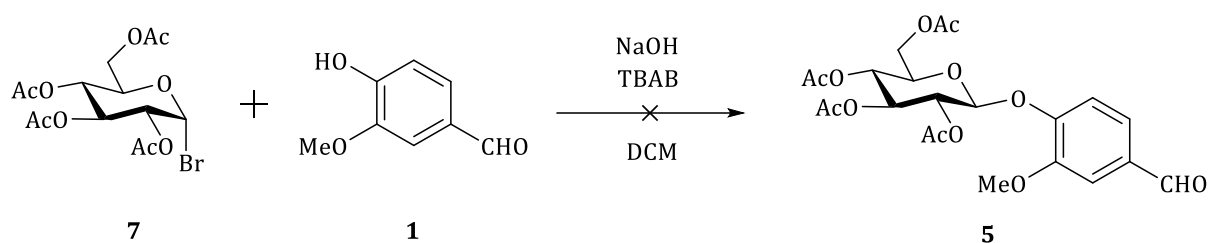
Hensikten med dette syntesetrinnet var å danne glykosidbinding, og det ble utprøvd flere PTC-er. Ved bruk av aktiveringsstrategier i dette trinnet ble **5** dannet fra **7** i reaksjon med **1**. I forsøket med TBAB og K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> gav reaksjonen et utbytte på 84 % mot et utbytte på 91 % i litteraturen.<sup>128</sup> Spektrale data stemmer overens med rapportert data<sup>128</sup>, og indikerer at forbindelse **5** ble dannet. Det ble også undersøkt om anomerasistans hadde ført til  $\beta$ -binding i produktet.

I det første forsøket for å danne **5** ble det benyttet TBAHS som PTC i blanding med NaOH (Skjema 3.3). Studier har vist at denne katalysatoren er mindre reaktiv enn TBAB.<sup>122-123</sup> Dessverre viste ikke spektrene dannelse av **5**, og kan skyldes at TBAHS i reaksjon med NaOH gir biproduktene Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> og polar protisk H<sub>2</sub>O. Derfor har antagelig H<sub>2</sub>O hindret dannelse av glykosidbinding ved å reagere med glykosylbromidet. En mulighet er å øke omrøringshastigheten for å minske kontakt mellom glykosylbromidet og H<sub>2</sub>O. Det vil føre til at NaOH, som er lipofilt, danner miceller i den vandige løsningen slik at TBAHS kan reagere som nukleofil og angripe glykosylbromidet.



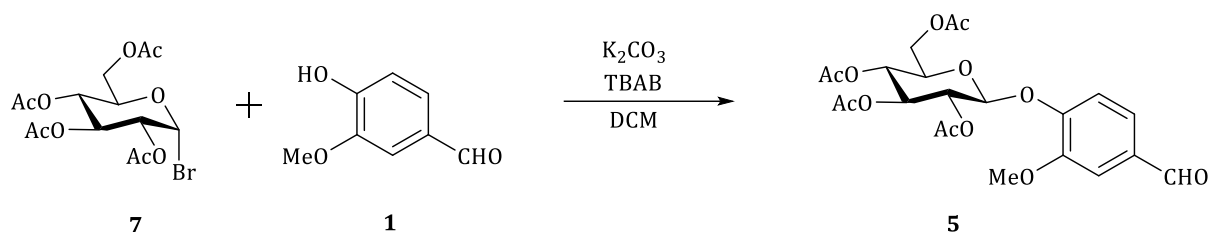
Skjema 3.3: Glykosylbromid og vanillin i blanding med NaOH og TBAHS gav ingen dannelse av **5**.

I neste forsøk ble PTC-en TBAB utprøvd ved to ulike baser. Den første reaksjonen med TBAB ble utprøvd med NaOH i DCM. Dannelse av glykosidbinding med varierende fenoliske forbindelser har tidligere blitt utført ved bruk av TBAB i blanding med NaOH.<sup>121</sup> I dette forsøket viste spektrene ingen dannelse av **5** (Skjema 3.4).



Skjema 3.4: Glykosylbromid og vanillin i blanding med NaOH og TBAB gav ingen dannelse av **5**.

Den andre reaksjonen med TBAB ble utført i blanding med  $K_2CO_3$  (Skjema 3.5). Basen inneholder karbonat istedenfor hydroksylgruppe, og har derfor ingen konkurrerende molekyler som kan reagere med glykosylbromidet. Denne reaksjonen gav 84 % utbytte.



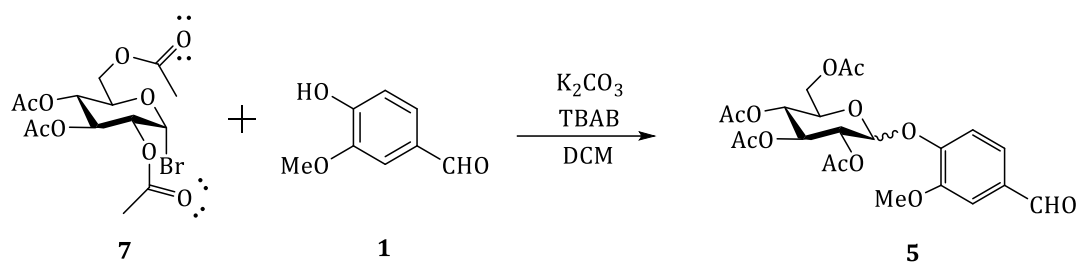
Skjema 3.5: Syntese av **5** fra **7** og **1** i blanding med  $K_2CO_3$  og TBAB.

I den førstnevnte reaksjonen med TBAB som PTC, konkurrerer hydroksylgruppen i NaOH med det pro-nukleofile vanillin<sup>124</sup>, dette medfører at færre molekyler reagerer med glykosylbromidet. Derimot ved å benytte  $K_2CO_3$  som base, er ikke  $CO_3^{2-}$  en kompetent nukleofil, og vil ikke reagere med glykosylbromidet. TBAB kan dermed overføre vanillin til den organiske fasen, og gir fenolat anionet mulighet til å reagere med glykosidbromidet i dannelse av forbindelse **5**.

$^1\text{H}$  NMR spekteret viser fire acetylgrupper grunnet 12 protoner som singletter ved 2,09-2,06 ppm. Den karakteristiske resonansen ved 3,88 ppm er vist som en singlett og kjennetegner metylgruppen tilhørende vanillinet. Et proton ved 5,11 ppm karakteriserer protonet bundet til det anomere karbonet. Spektrale data viser ingen tydelig epimer og betyr derfor at hverken en  $\alpha$ - eller  $\beta$ -binding dominerer. Videre viser spektrale data for vanillin-derivatet et proton som dublett ved 7,22 ppm og to protoner som multipllett ved 7,43-7,40 ppm. Ved 9,9 ppm er et proton vist som en singlett, og indikerer et aldehyd tilknyttet fenolen.  $^{13}\text{C}$  NMR spekteret viser det anomere karbonet ved 151,1 ppm og bekrefter at glykosidbinding er blitt dannet. Spekteret viser fire karbonyler ved 170,0-169,2 ppm, noe som stemmer overens med litteraturen.<sup>128</sup> Det var forventet fire signaler fra protonene som er karakteristisk for metylgrupper ved 20,7-20,6 ppm, men spekteret viser bare tre signaler i dette området. Som nevnt over viser  $^1\text{H}$  NMR spekteret 12 protoner ved det alifatiske området, som antakeligvis er fire acetylgrupper i forbindelse **5**, selv om et signal mangler i  $^{13}\text{C}$  NMR spekteret.

I syntesen av forbindelse **5**, kan anomerassistanse bidra til dannelse av glykosidbinding i  $\beta$ -posisjon gjennom acyloksonium-ion<sup>86</sup> eller gjennom oksokarbenium-ion.<sup>77</sup> Ved bruk av ester-beskyttelsesgrupper viste Fraser-Reid<sup>77</sup> overveiende dannelse av glykosidbinding i  $\beta$ -posisjon. Data fra  $^1\text{H}$  NMR spekteret (Figur 5.7) viser ingen tydelig epimer som tyder på at anomereassistansen ikke har inntruffet. Dette kan skyldes en lang-distanse effekt fra beskyttelsesgruppen tilhørende C-4, som har hindret vanillinet å binde ved  $\beta$ -posisjon.<sup>97</sup> Lang-distanse effekt fra C-4 kan påvirke glykosidbindingen i dannelse av dominerende epimer.<sup>95</sup> Hansen *et al.*<sup>96</sup> har nylig vist at effekten også kan inntreffe fra C-3 og C-6. I syntese av forbindelse **5**, kan derfor både anomerassistansen og lang-distanse effekten ha påvirket stereoselektiviteten i glykosidbindingen (Skjema 3.6). Det er også sannsynlig at hverken anomerassistanse eller en lang-distanse effekt har påvirket det anomere karbonet. Følgelig blir et oksokarbenium-ion dannet, fremfor et acyloksonium-ion, og resulterer i både  $\alpha$ - og  $\beta$ -binding i forbindelse **5**.



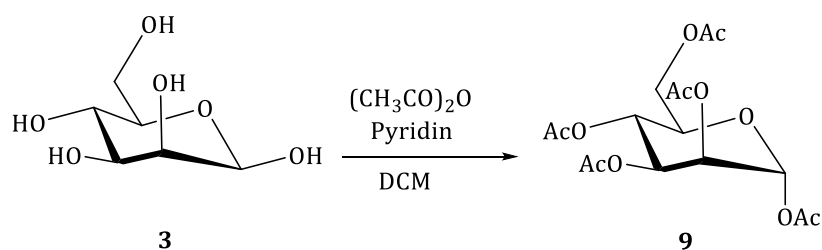


Skjema 3.6: Syntese av **5** fra **7** og **1** når både lang-distanse effekt og anomerasistansen interagerer på det anomere karbonet.

For oppnåelse av produkt utførte Yan<sup>128</sup> to omkrystalliseringer. Syntesetrinnet gav en ren forbindelse etter én omkrystallisering, likevel ble utbyttet marginalt lavere enn rapportert i litteraturen.<sup>128</sup> Et lavere utbytte kan skyldes for høy konsentrasjon av den lipofile basen  $K_2CO_3$ . Basen kan ha konkurrert med fenolat anionet, selv om  $CO_3^{2-}$  ikke er en kompetent nukleofil, og dermed ført til noe tap av forbindelse **5**.

### 3.4 Syntese av 1,2,3,4,6-penta-O-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranose

Hensikten med dette syntesetrinnet var å beskytte **3** med acetylgrupper, ved tilsvarende metode som ble benyttet i 5.1. I syntesetrinnet ble 1,2,3,4,6-penta-O-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranose (**9**) dannet fra **3**.<sup>128</sup> Reaksjonen gav et utbytte på 78 %, mot et utbytte på 100 % i litteraturen.<sup>128</sup> Spektrale data stemmer overens med rapportert data.<sup>128</sup> Undersøkelser av spektra data fra  $^1H$  NMR og  $^{13}C$  NMR indikerer at forbindelse **9** ble dannet.



Skjema 3.7: Syntese av **9** fra **3** i reaksjon med pyridin og eddiksyre anhydrid.

$^1H$  NMR spekteret viser alkylgrupper som singletter i området 2,21 – 2,00 ppm. Singlettene karakteriserer protonene i acetylgruppene. Det er forventet 15 protoner i det alifatiske området<sup>128</sup>, men spekteret viser 20 protoner. Flere protoner kan skyldes forurensning. De øvrige resonansene indikerer riktig forbindelse sammenlignet med spektrale data i litteraturen.<sup>128</sup>  $^{13}C$  NMR spekteret viser acetylgruppene som karakteristiske signaler ved 170-168 ppm. Spekteret viser forurensning gjennom et svakt

signal ved 175 ppm. Det er fem tydelige signaler i området 20,9-20,6 ppm som kan tyde på at samtlige hydroksylgrupper er acetyleret i denne syntesereaksjonen.

Spektrene for syntese av **9** er inkludert for å vise at peracetylering av mannose fungerte ved bruk av samme metode benyttet for peracetylering av glukose. Forbindelse **9** burde blitt rensset ytterligere, men på grunn av Covid-19 pandemien ble laboratoriarbeidet avbrutt i dette syntesetrinnet.

## 4. Konklusjon og videre arbeid

Syntesen av **5** var vellykket, med et totalt utbytte på 60 % over tre syntesetrinn. Reaksjonene som ledet frem til glykosidbinding under basiske betingelser er tidligere utført, og gav marginalt lavere utbytte enn rapport i litteraturen. Dannelse av **6** gav et utbytte på 86 %, og oppnådde en ren forbindelse som ble benyttet til videre syntese. Dannelse av **7** gav også en ren forbindelse, med et utbytte på 82 %. Det siste syntesetrinnet ble **5** dannet, og gav et utbytte på 84 %.

Syntesestrategien benytter glykosylbromid som er både stabilt og elektrofilt. Derfor, under bifasiske betingelser kan **7** i reaksjon med **1** danne glykosidbinding. Denne reaksjonen inntreffer i en og samme kolbe, benytter en effektiv katalysator og en lav mengde av toksiske kjemikalier som gir robusthet til syntesestrategien.

For å undersøke katalytiske mengder av en aktivator ble flere PTC-er utprøvd. Nøkkeltrinnet i den totale syntesen var å danne glykosidbinding i **5**. I denne syntesen ble **7** i reaksjon med **1** utført ved katalytisk mengde av PTC-en TBAB og  $K_2CO_3$ . Syntesetrinnet var vellykket, men ble bare utført en gang, og et høyere utbytte kunne blitt oppnådd ved flere utførelser.

Syntesestrategien utviklet i denne masteroppgaven tilsier at det er god mulighet for å oppnå glykosidbinding i hver av utgangsstoffene xylose og mannose i reaksjon med vanillin. Disse biokonjugatene kan dermed være verdifulle prebiotiske forbindelser i fremtiden. Om forsøkene blir vellykket kan stereoselektiviteten til forbindelsene bli undersøkt ved utførelse av 2-D spektrene NOESY og COSY. Spektrene gir et utgangspunkt for å fastslå om anomerassistanse fører til dannelse av  $\beta$ -glykosidbinding til mannose sammenlignet med xylose. Mannose har sidegruppe tilknyttet C-5, i motsetning til xylose. Det kan derfor være interessant å undersøke om lang-distans effekt fra C-6 påvirker stereoselektiviteten i dannelse av glykosidbinding.

I denne masteroppgaven har det blitt dannet glykosidbinding i **5**, og det neste laboriearbeidet hadde vært å avbeskytte **5**. En syntesestrategi for å avbeskytte et biokonjugat med godt resultat, utført av Organisk syntesegruppen ved NMBU, er å løse biokonjugatet ved røring (1t) i metanol og natrium metoksid. For deretter å nøytralisere

forbindelsen med ionebyttet polymer, filtrere forbindelsen og dampe den inn under vakuum ved redusert trykk. Til slutt kan forbindelsen bli rensset ved flash-kolonne kromatografi.<sup>131</sup>

Strategien benyttet for dannelsen av **5** kan også bli utprøvd med andre tilsvarende biokonjugater for potensielt å utvikle eksempelvis hjertemedisiner.

## 5. Eksperimentelt

Alle reaksjoner ble utført under nitrogenatmosfære.

Alle reagenser som ble benyttet er kjøpt fra en kommersiell aktør eller egenprodusert.

NMR spektre ble tatt på instrumentet Bruker Ascend™ 400, 25 °C ved 400 MHz for <sup>1</sup>H NMR og ved 100 MHz for <sup>13</sup>C NMR. Koblingskonstanter er angitt i hertz og kjemiske skift er angitt i deler per million relativt til løsningsmiddelet. Deuterert kloroform (CDCl<sub>3</sub>) ble benyttet som løsningsmiddel.

TLC ble utført på aluminiumsplater med silikagel, type 60 F<sub>254</sub> produsert av Merck. Oksidasjonsmiddelet kaliumpermanganat ble brukt for å fremkalle TLC-platene. Det ble benyttet kolonnekromatografi for å separere stoff, våtpakket med silikagel type 60 (40-63 μm) produsert av Merck.

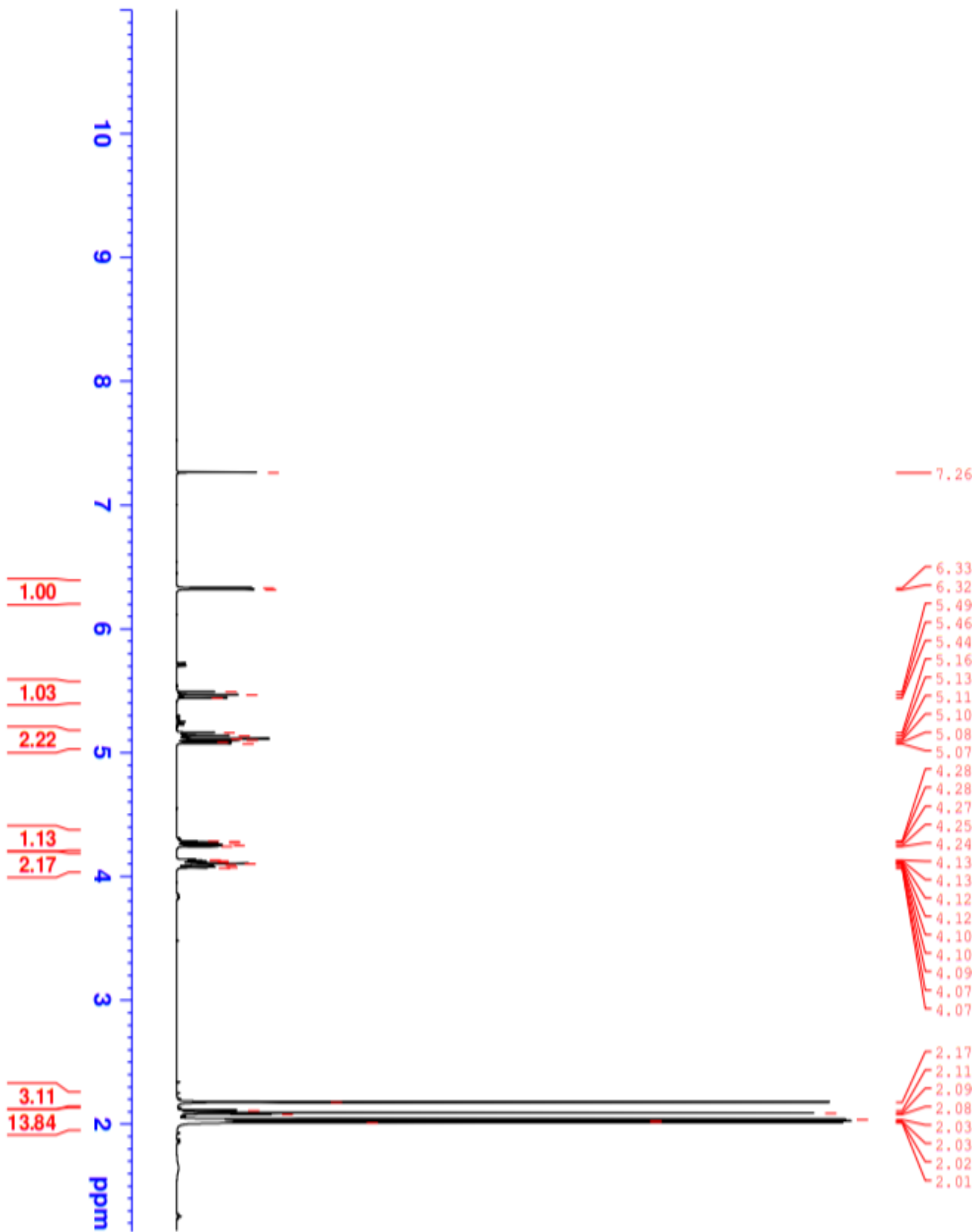
### 5.1 Syntese av 1,2,3,4,6-penta-O-acetyl-α-D-glukopyranose

Forbindelse **2** (3 g; 16,65 mmol,) ble løst opp i pyridin (64 mL). Videre ble eddiksyre anhydrid (333,04 mmol; 32 mL) tilsatt i en rundkolbe under N<sub>2</sub> atmosfære. Reaksjonen rørte på svak varme (30 °C) i 24 t og deretter dampet inn under vakuum. Blandingen ble fortynnet med DCM (50 mL) og videre ble væske ekstraksjon utført ved 5 % NaHCO<sub>3</sub> (3 x 100 mL) før ny ekstraksjon med 1M aq HCl (3 x 100 mL). Den organiske fasen ble tørket (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). DCM ble tilsatt for å ekstrahere ut mer av den organiske fasen fra tørkemiddelet, videre ble prøven filtrert og inndampet under vakuum. Til slutt ble prøven rensert (silikagel, heksan/EtOAc 6:4). Syntesetrinnet resulterte i 5,65 g (86 % utbytte) hvitt pulver av **6**.

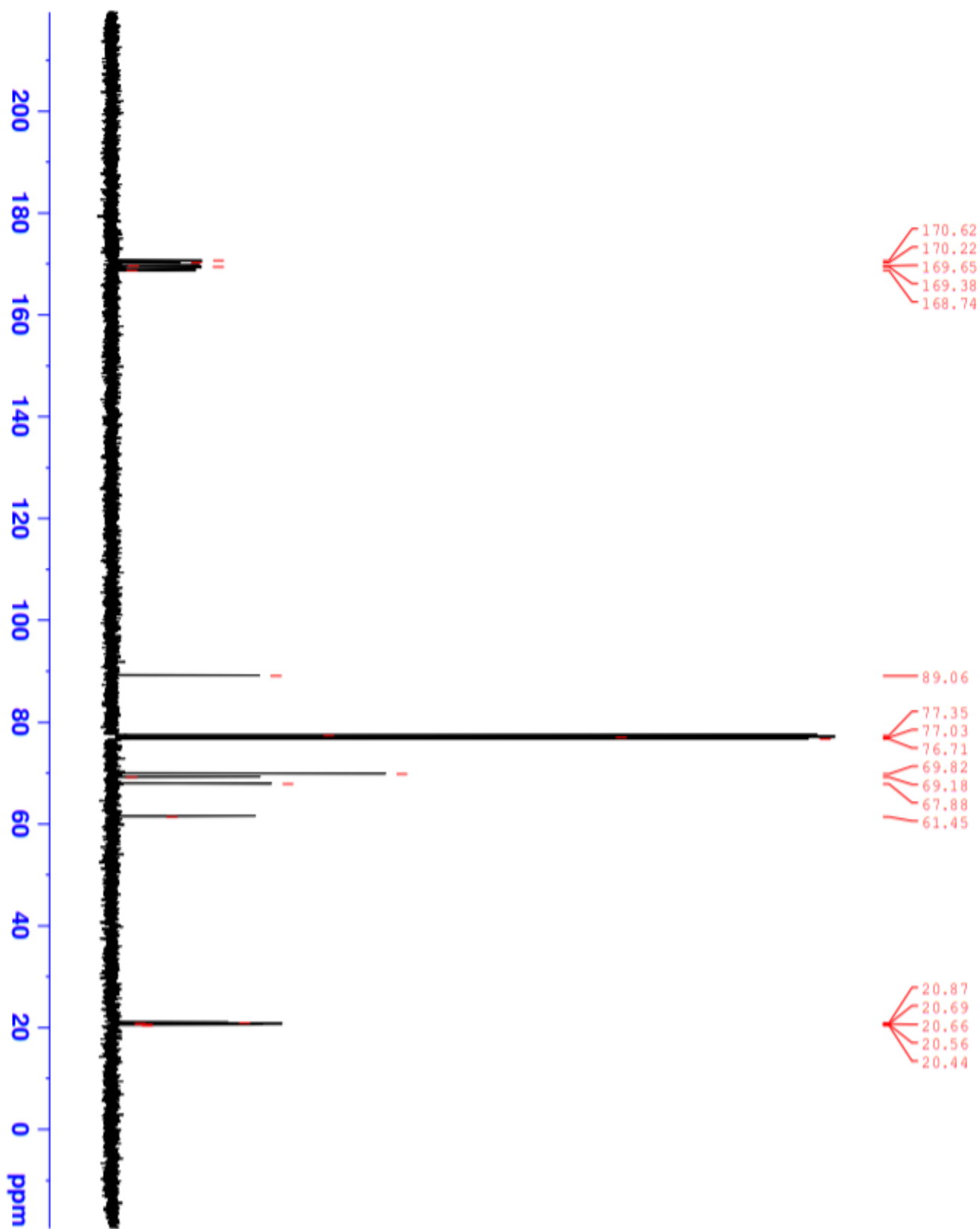
Data:

**<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 6,32-6,33 (d, 1H); 5,49-5,44 (m, 1H); 5,16-5,07(m, 2H); 4,28-4,24 (dd, 1H); 4,13-4,07 (m, 2H); 2,17(s, 3H); 2,11-2,01 (s, 3H)

**<sup>13</sup>C NMR (100MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 170,6 (C); 170,2 (C); 169,7 (C); 169,4 (C); 168,7 (C); 89,1 (O-CH-O); 69,8 (CH-O); 69,2 (2xCH); 67,9 (CH); 61,5 (CH); 20,9 (CH<sub>3</sub>); 20,7 (5x CH<sub>3</sub>)



Figur 5.1:  $^1\text{H}$  NMR spekter av 6.



Figur 5.2:  $^{13}\text{C}$  NMR spekter av 6.

## 5.2 Forsøkt syntese av 2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-glukopyranosyl-4-hydroxy-3-metoksibenzaldehyd

I en brun rundkolbe ble **6** (1,17 g; 3,0 mmol; 1,5 ekvivalenter) fortynnet med 25 mL DCM i romtemperatur. Deretter ble vanillin (0,3045 g; 2,0 mmol; 1 ekvivalent) tilsatt. Under omrøring ble  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  (0,25 mL; 2,0 mmol; 1 ekvivalent) tilsatt dråpevis under  $\text{N}_2$  atmosfære. Reaksjonen sto til røring i 24 t ved 30 °C. Deretter ble den organiske fasen væskeseparert med mettet  $\text{NaHCO}_3$  (3 x 100 mL) og  $\text{H}_2\text{O}$  (3 x 100 mL), videre tørket ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) og inndampet under vakuum før tillaging av kolonne ble TLC utført. Det brune sukkeret ble rensert (silikagel, Heksan/ $\text{EtOAc}$ , silikagel, 6:4), tørket ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) og dampet inn under vakuum. NMR spektrene viste ingen dannelse av **5**. Derfor ble det tilsatt  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  (0,125 mL; 1,0 mmol; 0,5 ekvivalent) som gav mørk lilla farge. NMR spektrene viste fremdeles ingen dannelse av **5**.

## 5.3 Forsøkt syntese av 2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-glukopyranosyljodid

I en brun rundkolbe ble **6** (0,7237 g; 1,85 mmol; 1 ekvivalent) blandet med jodid (0,5 g; 0,196 mmol; 1 ekvivalent). Blandingen ble fortynnet med DCM (5 mL) under  $\text{N}_2$  atmosfære. Tilsatsen ble beskyttet mot lys før  $\text{EtSiH}$  (0,23 g; 1,96 mmol; 1 ekvivalent) ble tilsatt. Reaksjonen ble fortynnet med DCM (2 x 2,5 mL) og satt på reflux i 30 minutter. Deretter ble fasene væskeseparert med 1 M 10 %  $\text{NaHCO}_3$  (3 x 100 mL) og  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  (3 x 100 mL). Den organiske fasen ble tørket ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), filtrert og inndampet under vakuum. NMR spektrene viste ingen dannelse av **8**.

## 5.4 Syntese av 2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-glukopyranosylbromid

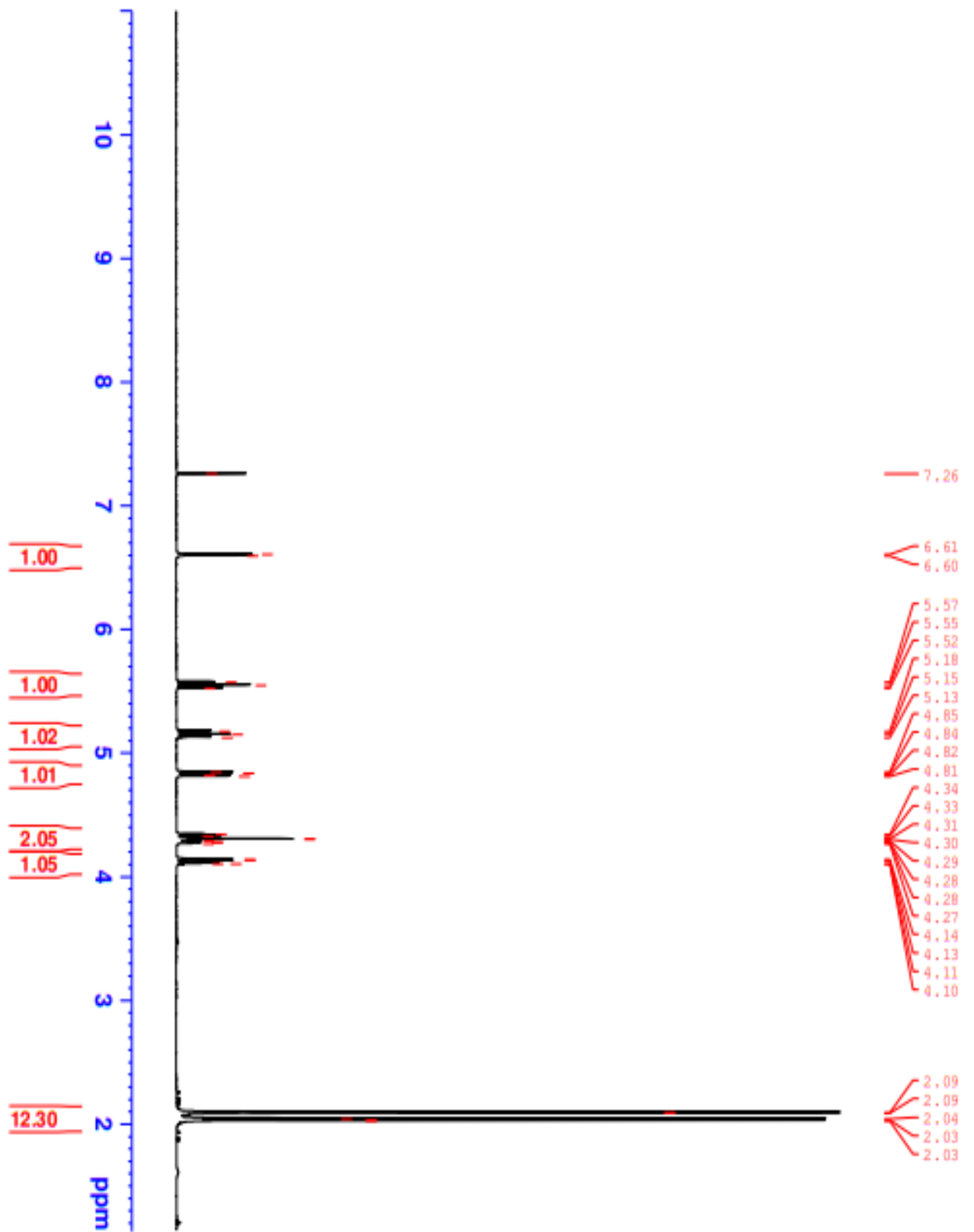
En brun kolbe ble på forhånd varmet opp ved bruk av varmeskap (105 °C) i 45 minutter og avkjølt til romtemperatur. Forbindelse **6** (5,0 g; 12,81 mmol) ble løst opp i  $\text{HBr}$  (30 mL) i eddiksyreløsning (33 %) ved romtemperatur. Under omrøring med eggemagnet i 40 minutter ble reaksjonen beskyttet mot lys. Blandingen ble fortynnet med DCM (100 mL). Løsningen ble deretter overført til en separasjonsfunnel bestående av  $\text{H}_2\text{O}$  og is. Den organiske fasen ble ekstrahert til nøytral pH. Deretter ble løsningen tørket ( $\text{MgSO}_4$ ), filtrert og inndampet under vakuum. Løsningen ble videre omkrystallisert med dietyl eter. Fem dråper ble tilsatt før blandingen ble avkjølt i romtemperatur og ytterligere nedkjølt i kjøleskap over natten. Syntesetrinnet gav 3,65 g (82 % utbytte) hvitt pulver av **7**.



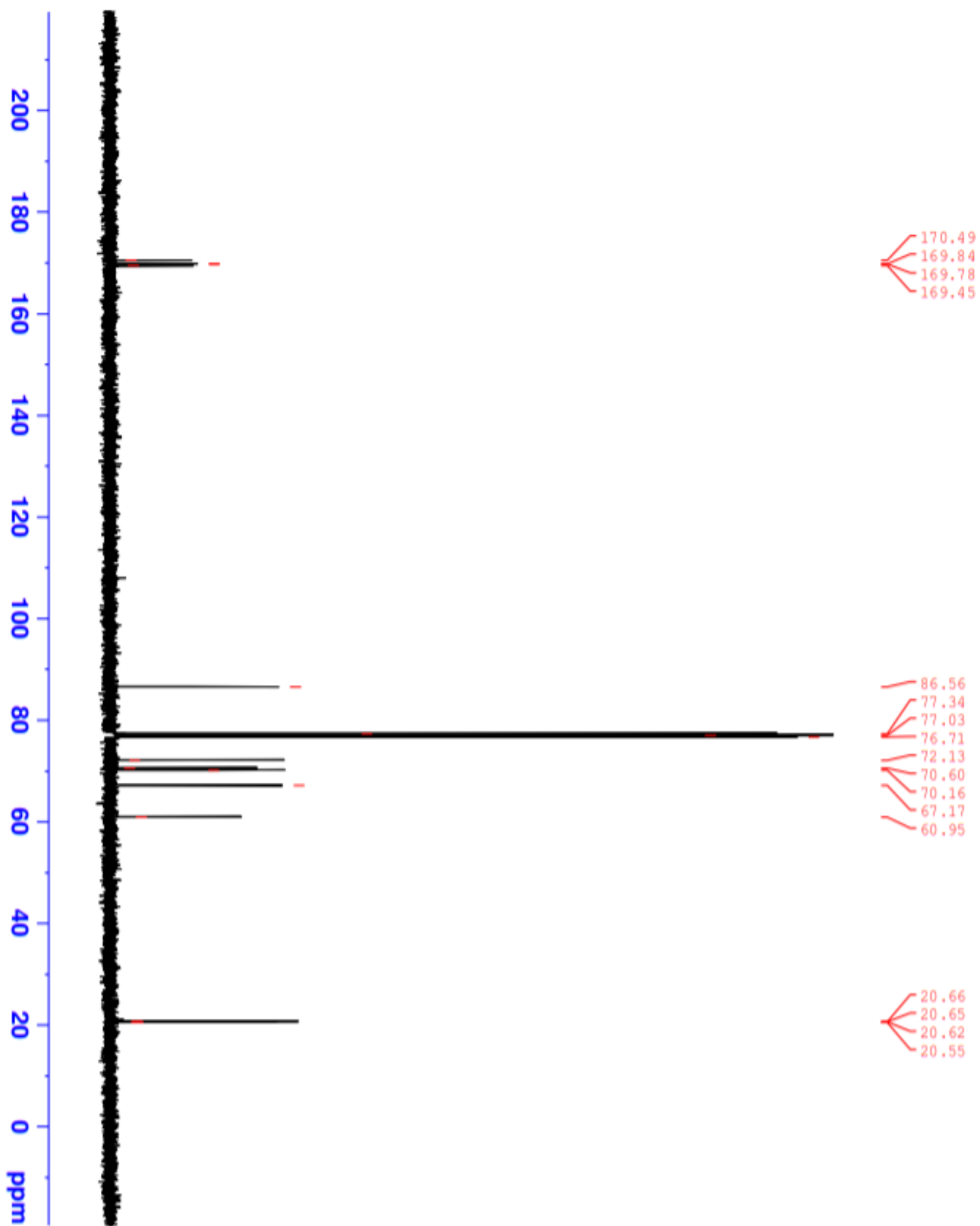
Data:

**$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  6,61 (d,  $J = 4,0$  Hz; 1H); 5,57-5,52 (m, 1H); 5,18-5,13 (m, 2H); 4,85 (dd, 1H); 4,34-4,27 (m, 1H); 4,14 (dd, 1H); 2,09 2x(s, 3H); 2,03 2x(s, 3H)

**$^{13}\text{C}$  NMR (100MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  170,5 (C); 169,8 (C); 169,8 (C); 168,5 (C); 86,6 (O-CH-O); 72,1 (CH-O); 70,6 (CH); 70,1 (CH); 67,2 (CH); 60,9 (CH); 20,7 (4x  $\text{CH}_3$ )



Figur 5.3:  $^1\text{H}$  NMR spekter av lukket 7.

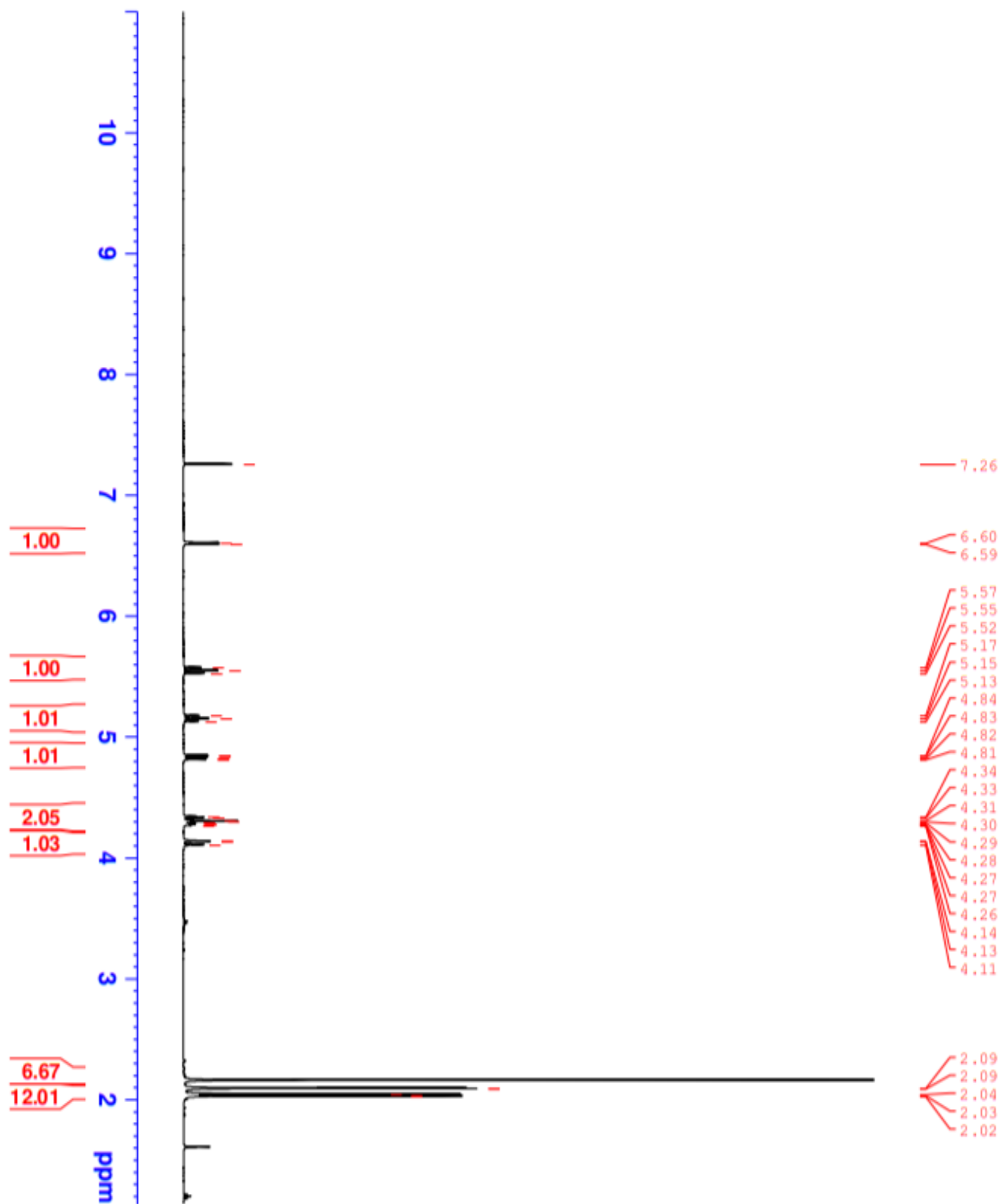


Figur 5.4:  $^{13}\text{C}$  NMR spekter av lukket 7.

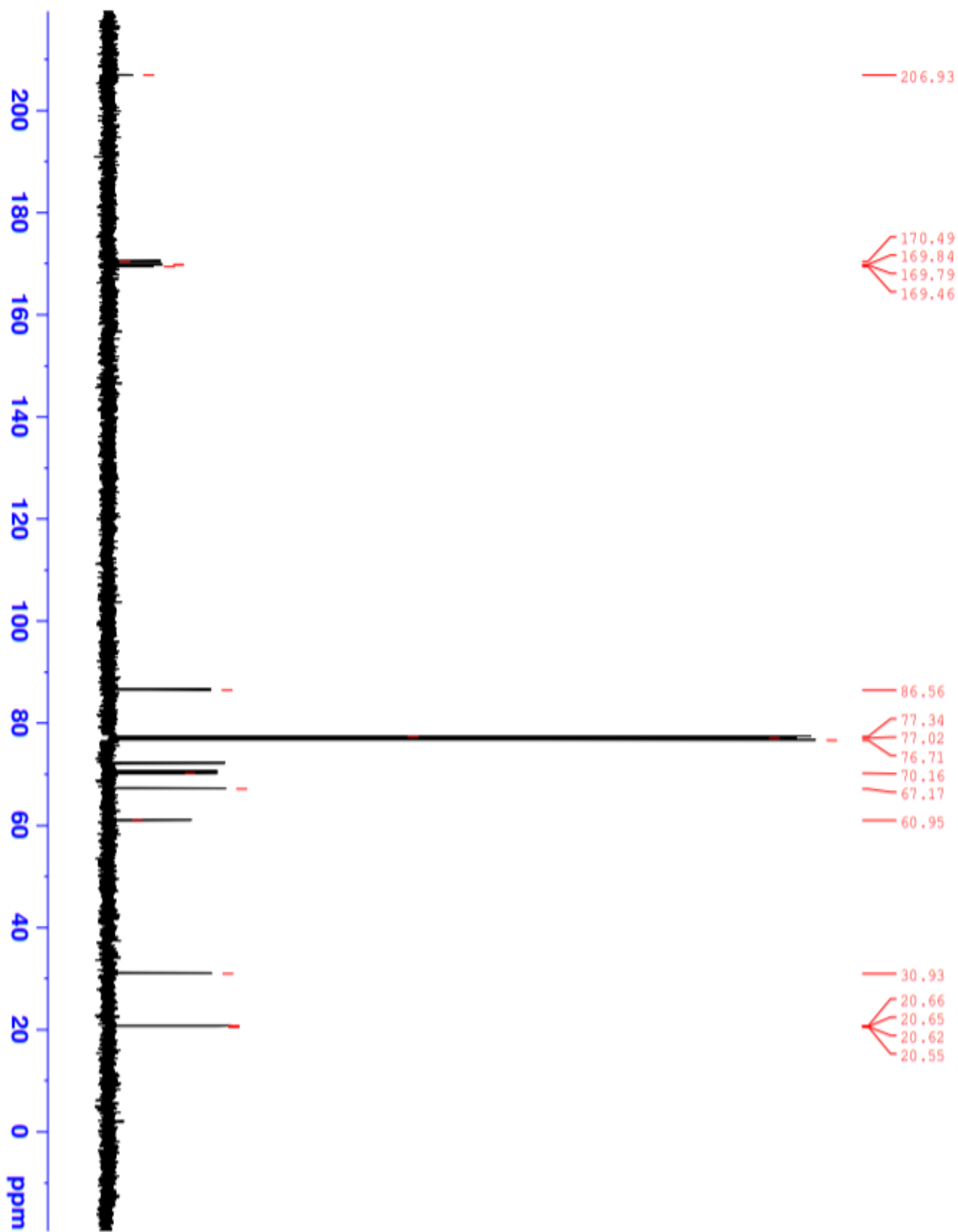
Data:

**$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  6,60 (d,  $J = 4,0$  Hz; 1H); 5,57-5,52 (m, 1H); 5,17-5,13 (m, 2H); 4,84 (dd, 1H); 4,34-4,26 (m 1H); 4,14 (dd, 1H); 2,11 2x(s, 3H); 2,09 2x(s, 3H); 2,03 2x(s, 3H)

**$^{13}\text{C}$  NMR (100MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  206,9 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ); 170,5 (C); 169,8 (C); 169,8 (C); 169,5 (C); 86,6 (O-CH-O); 70,2 (CH-O); 67,2 (CH); 61,0 (CH); 30,9 (CH); 20,7 (4x  $\text{CH}_3$ )



Figur 5.5:  $^1\text{H}$  NMR spekter av åpent glykosylbromid



Figur 5.6:  $^{13}\text{C}$  NMR spekter av åpent glykosylbromid

### 5.5 Forsøkt syntese av 2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-glukopyranosyl-4-hydroxy-3-metoksibenzaldehyd

En brun rundkolbe ble varmet opp ved bruk av varmeskap (105 °C) i 45 minutter og deretter avkjølt til romtemperatur. I rundkolben ble det tilsatt **7** (1,439 g; 3,5 mmol; 1 ekvivalent) og **1** (1,07 g; 7,0 mmol; 2 ekvivalenter). TBAHS (1,188 g; 35 mmol; 1 ekvivalent) ble tilsatt under omrøring og fortynnet med DCM (15 mL) på isbad ved 0 °C. Deretter ble NaOH (2,5 x 5 mL) tilsatt i reaksjonen. Etter omrøring i 36 t ble blandingen fortynnet med DCM og væske-separert med 1 M NaOH (2 x 15 mL). Den organiske fasen ble tørket (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) og inndampet under vakuum. Prøven ble rensset med flash kromatografi (silikagel, heksan/EtOAc, 7:3). NMR spektrene viste ingen dannelse av forbindelse **5**.

### 5.6 Forsøkt syntese av 2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-glukopyranosyl-4-hydroxy-3-metoksibenzaldehyd

I en brun rundkolbe ble **1** (0,342 g; 2,25 mmol; 5,9 ekvivalenter) fortynnet med DCM (5 mL). Deretter ble 5 % NaOH (10 mL) tilsatt under kraftig omrøring (800 RPM). I blandingen ble TBAB (0,121 g; 0,38 mmol; 1 ekvivalent) tilsatt dråpevis. Til slutt ble **7** (0,84 g; 1,52 mmol; 4 ekvivalenter) oppløst i DCM (2 x 2,5 mL) ved romtemperatur. Den bifasiske blandingen sto til omrøring i tre dager og overvåket av TLC. Etter separasjon ble den organiske fasen væske-separert med 5 % NaOH (2 x 20 mL) og H<sub>2</sub>O (2 x 20 mL). Deretter ble prøven tørket (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), filtrert og inndampet under vakuum. Dette ble forsøkt to ganger. NMR spektrene viste ingen dannelse av forbindelse **5**.

### 5.7 Syntese av 2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-glukopyranosyl-4-hydroxy-3-metoksibenzaldehyd

En brun rundkolbe ble varmet opp ved bruk av varmeskap (105 °C) i 45 minutter og deretter avkjølt til romtemperatur. I rundkolben ble **7** (2,93 g; 7,1 mmol; 1 ekvivalent) tilsatt sammen med **1** (0,73 g; 4,8 mmol; 1,5 ekvivalenter). Deretter ble TBAB (0,76 g, 2,4 mmol; 0,5 ekvivalent) tilsatt. Blandingens ble fortynnet med DCM (15 mL). Deretter ble 15 mL (3 x 5 mL) av 0,5 M K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> tilsatt ved 45 °C. Den bifasiske blandingen stod 3 t under kraftig omrøring (800 RPM). TLC med KMnO<sub>4</sub> og dinitrobenzyl ble utført under oppsyn av forbindelsen. Etter omrøring ble løsningen fortynnet med etylacetat (6 x 5 mL). Deretter ble den organiske fasen væske-separert med H<sub>2</sub>O (3x) og saltvann (1x). Prøven

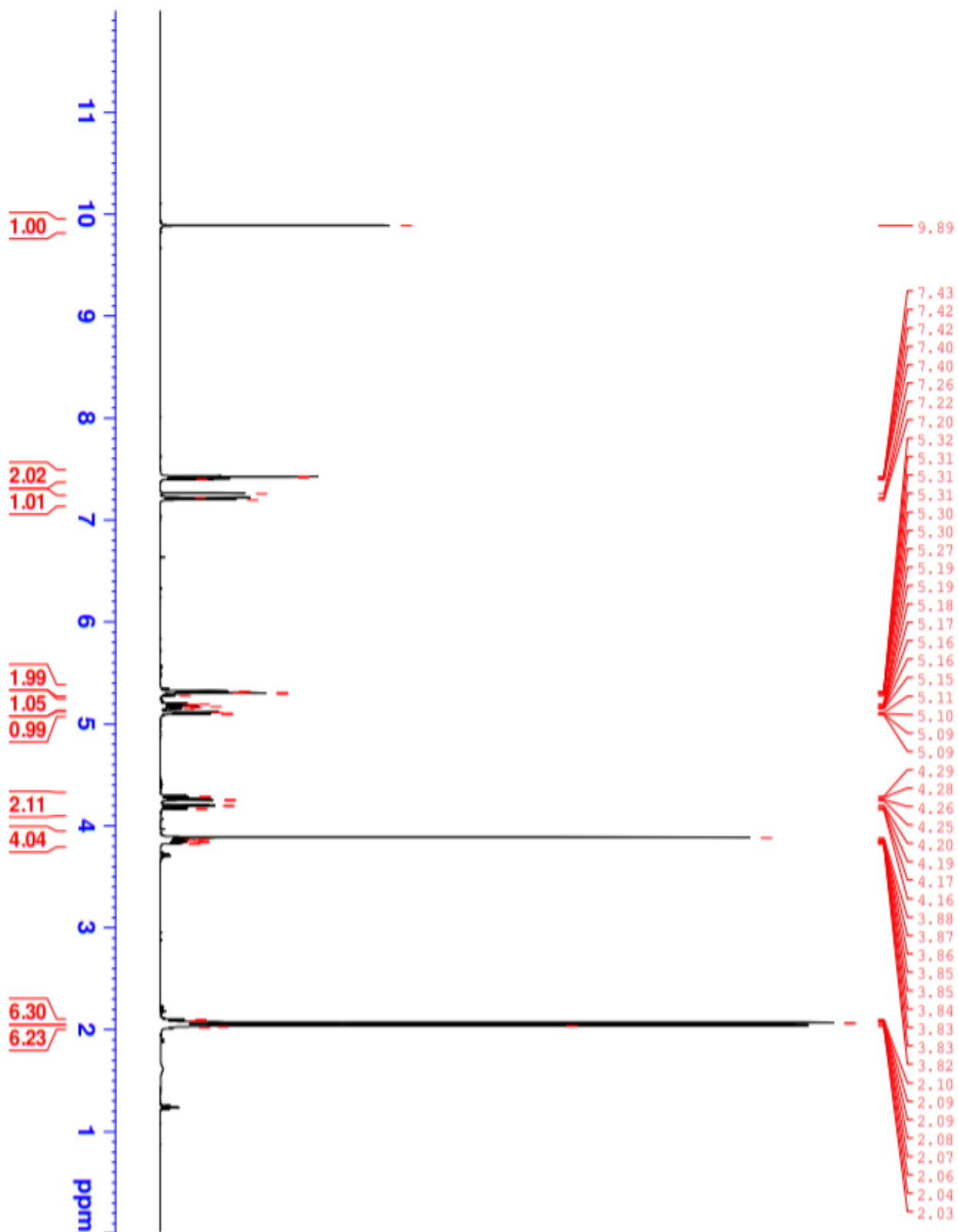
ble tørket ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) og inndampet under vakuu. Løsningen ble rensset (1x) ved omkrystallisering i etanol. Ved  $67\text{ }^\circ\text{C}$  og etter fem pipetter løste prøven seg opp. Deretter ble prøven avkjølt 1 t i romtemperatur og ytterligere nedkjølt i kjøleskap over natten. Syntesetrinnet resulterte i 2,872 g (84 % utbytte) hvitt pulver av forbindelse 5.

Data:

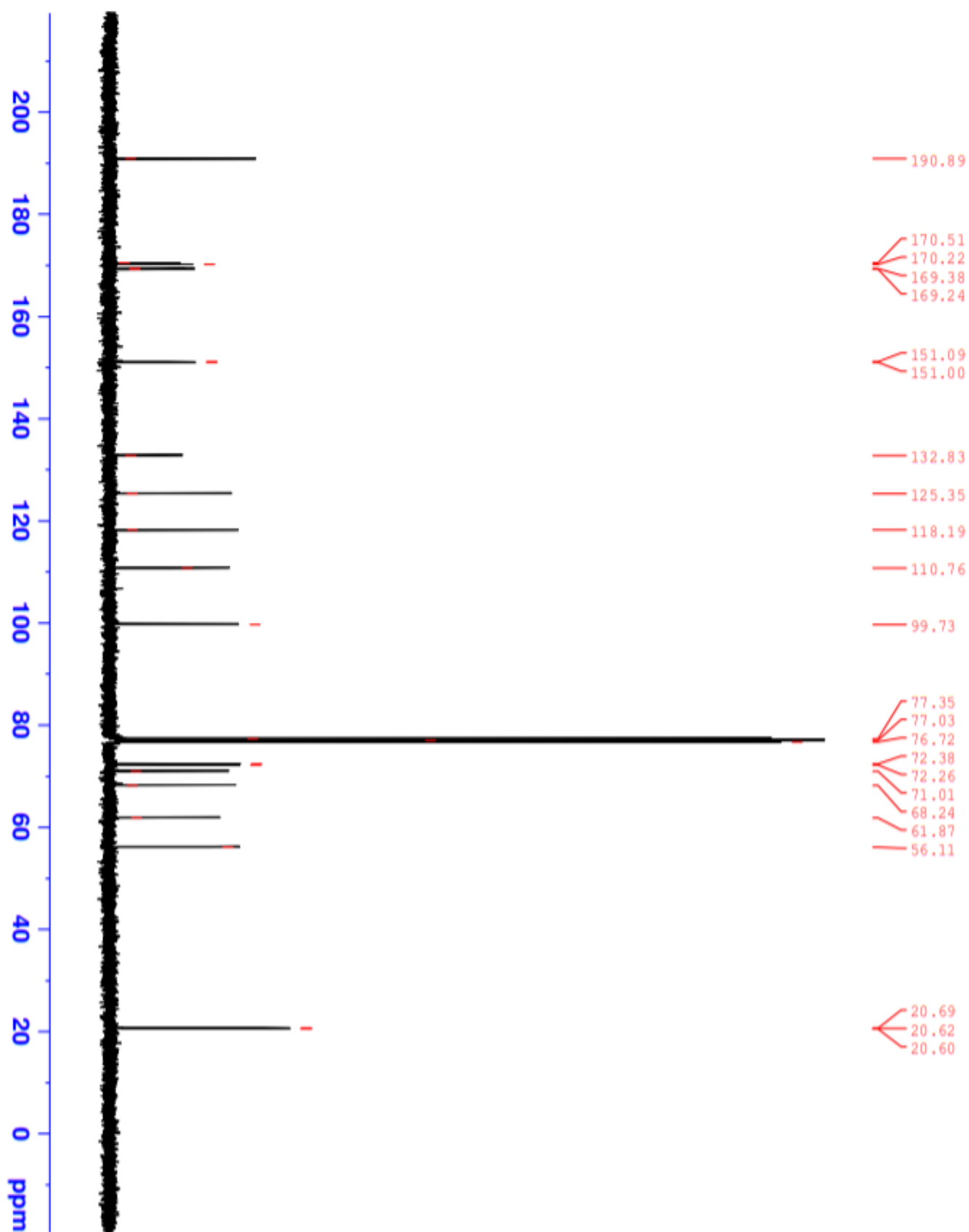
**$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):** 9,9 (s, 1H); 7,43-7,40 (m, 2H); 7,22 (d, 1H); 5,32-5,27 (m, 2H); 5,19-5,15 (m, 1H); 5,11 (d, 1H); 4,29 (dd, 1H); 4,20 (m, 1H,); 3,88 (s, 3H,); 3,87-3,82 (m, 1H); 2,09 2x(s, 3H); 2,06 2x(s,3H)

**$^{13}\text{C NMR}$  (100MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  190,9 (CHO); 170,5 (COCH<sub>3</sub>); 170,2 (COCH<sub>3</sub>); 169,4 (COCH<sub>3</sub>); 168,1 (C); 151,1 (C); 151,0 (C); 132,8 (C); 125,4(C); 118,2 (C); 110,8 (C); 99,7 (C); 72,4 (CH); 72,3 (CH); 71,0 (CH); 68,3 (CH); 61,9(CH); 56,1 (CH); 20,7 (3xCOH<sub>3</sub>).





Figur 5.7:  $^1\text{H}$  NMR spekter av 5.



Figur 5.8:  $^{13}\text{C}$  NMR spekter av 5.

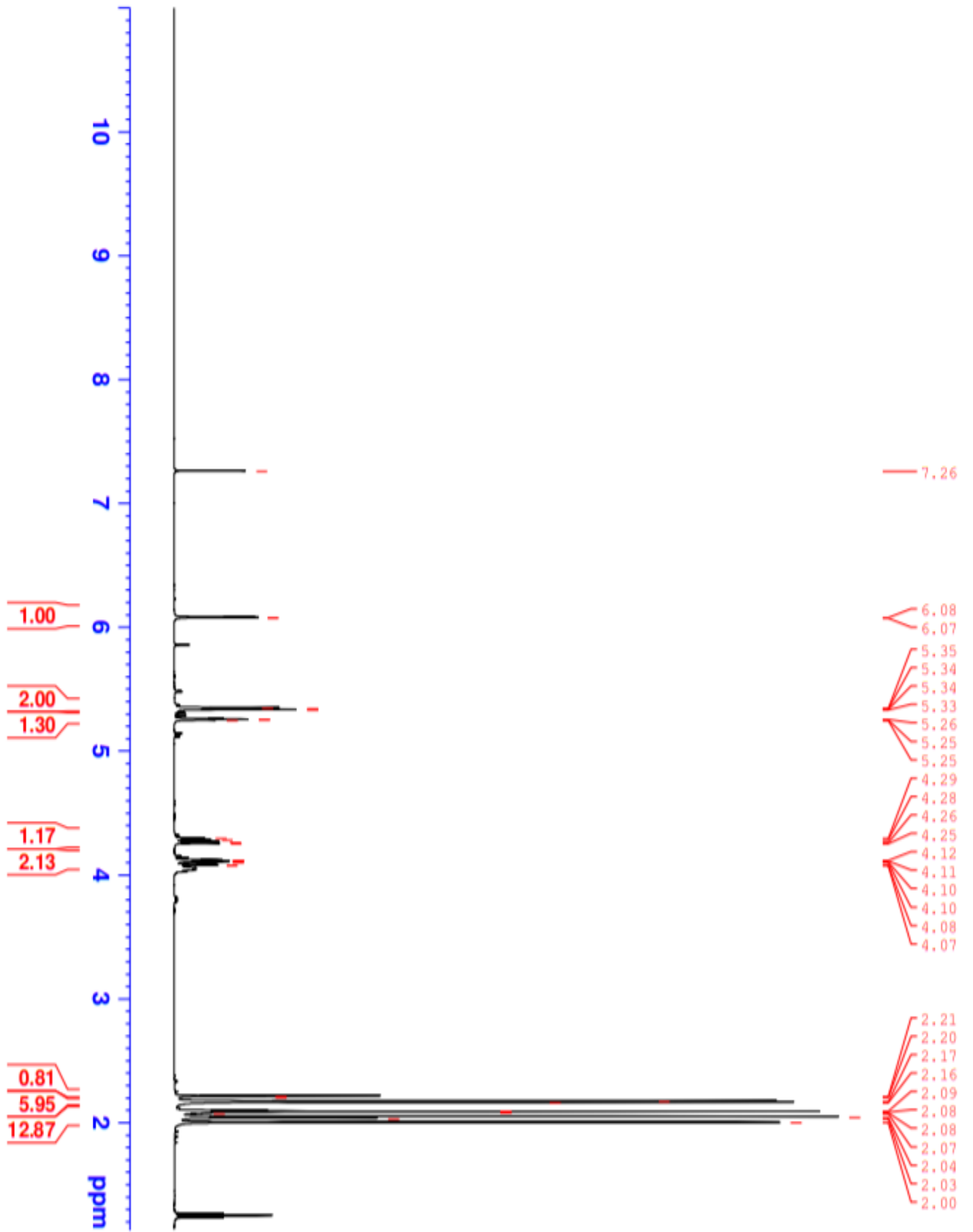
## 5.8 Syntese av 1,2,3,4,6-penta-O-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranose

Forbindelse **3** (3 g; 16,65 mmol,) ble løst opp i pyridin (64 mL). Deretter ble eddiksyre anhydrid (333,04 mmol; 32 mL) tilsatt i en rundkolbe under N<sub>2</sub> atmosfære. Reaksjonen rørte på svak varme i 24 t og deretter dampet inn under vakuum. Blandingen ble fortynnet med DCM (50 mL) og væske ekstraksjon ble utført ved først å tilsette 5 % NaHCO<sub>3</sub> (3 x 100 mL) før det ble tilsatt 1M aq HCl (3 x 100 mL). Til slutt ble den organiske fasen tørket (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). DCM ble tilsatt som løsemiddel før prøven ble filtrert og dampet inn under vakuum. Prøven ble rensert (silikagel, heksan/EtOAc 7:3). Syntesetrinnet resulterte i 5,14 g (78 % utbytte) hvitt pulver av **9**.

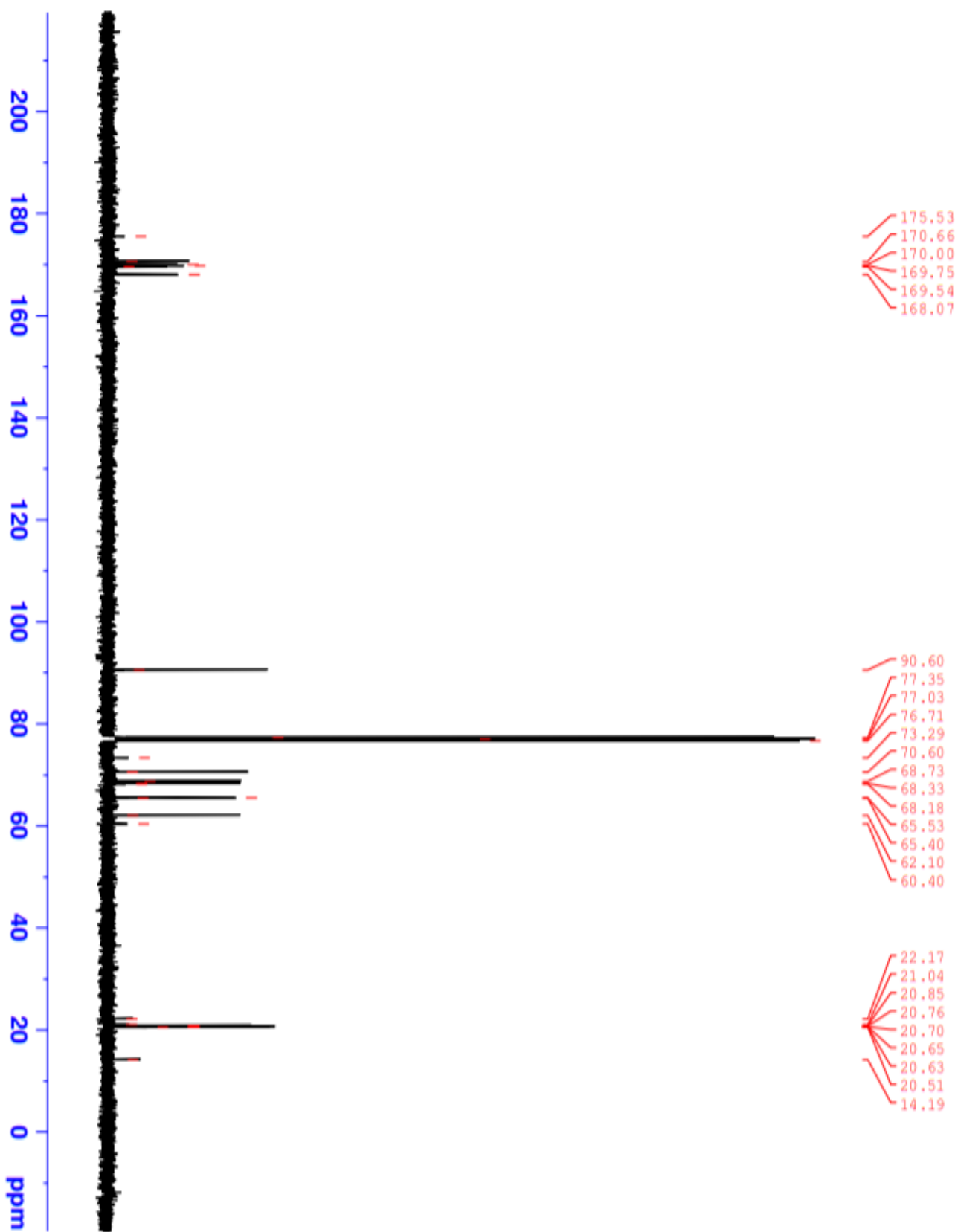
Data:

**<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  6,08-6,07 (d, 1H); 5,35-5,33 (m, 2H); 5,26 (t, 1H); 4,29 (dd, 1H); 4,12 (dd, 1H); 4,11-4,07 (m, 1H); 2,21-2,08 (m, 6H); 2,08 (s, 3H)

**<sup>13</sup>C NMR (100MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  190,9 (CHO); 170,5 (COCH<sub>3</sub>); 170,2 (COCH<sub>3</sub>); 169,4 (COCH<sub>3</sub>); 168,1 (C); 151,1 (C); 151,0 (C); 132,8 (C); 125,4(C); 118,2 (C); 110,8 (C); 99,7 (C); 72,4 (CH); 72,3 (CH); 71,0 (CH); 68,3 (CH); 61,9(CH); 56,1 (CH); 20,7 (3xCH<sub>3</sub>).



Figur 5.9:  $^1\text{H}$  NMR spekter av 9.



Figur 5.10:  $^{13}\text{C}$ NMR spekter av 9.

## 6. Referanser

### Uncategorized References

1. Theilmann, M. C.; Goh, Y. J.; Nielsen, K. F.; Klaenhammer, T. R.; Barrangou, R.; Hachem, M. A., Lactobacillus acidophilus metabolizes dietary plant glucosides and externalizes their bioactive phytochemicals. *mBio* **2017**, *8* (6), e01421-17/1-e01421-17/15.
2. Gogineni, V. K.; Morrow, L. E.; Gregory, P. J.; Malesker, M. A., Probiotics: history and evolution. *J Anc Dis Prev Rem* **2013**, *1* (2), 1-7.
3. Metchnikoff, E.; Mitchell, P. C., *The prolongation of life; optimistic studies*. G.P. Putnam's Sons: New York & London, 1910.
4. Cresci, G. A. M.; Izzo, K., Chapter 4 - Gut Microbiome. In *Adult Short Bowel Syndrome*, Corrigan, M. L.; Roberts, K.; Steiger, E., Eds. Academic Press: 2019; pp 45-54.
5. Huttenhower, C.; Gevers, D.; Knight, R.; Abubucker, S.; Badger, J. H.; Chinwalla, A. T.; ...; White, O., Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* **2012**, *486* (7402), 207-214.
6. Zmora, N.; Suez, J.; Elinav, E., You are what you eat: diet, health and the gut microbiota. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology* **2019**, *16* (1), 35-56.
7. Gibson, G. R.; Roberfroid, M. B., Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr* **1995**, *125* (6), 1401-12.
8. Gibson, G. R.; Hutkins, R.; Sanders, M. E.; Prescott, S. L.; Reimer, R. A.; Salminen, S. J.; Scott, K.; Stanton, C.; Swanson, K. S.; Cani, P. D.; Verbeke, K.; Reid, G., Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* **2017**, *14* (8), 491-502.
9. Lopez-Siles, M.; Khan, T. M.; Duncan, S. H.; Harmsen, H. J. M.; Garcia-Gil, L. J.; Flint, H. J., Cultured representatives of two major phylogroups of human colonic Faecalibacterium prausnitzii can utilize pectin, uronic acids, and host-derived substrates for growth. *Appl Environ Microbiol* **2012**, *78* (2), 420-428.
10. La Rosa, S. L.; Leth, M. L.; Michalak, L.; Hansen, M. E.; Pudlo, N. A.; Glowacki, R.; Pereira, G.; Workman, C. T.; Arntzen, M. Ø.; Pope, P. B.; Martens, E. C.; Hachem, M. A.; Westereng, B., The human gut Firmicute Roseburia intestinalis is a primary degrader of dietary  $\beta$ -mannans. *Nature Communications* **2019**, *10* (1), 905.
11. Flint, H. J.; Bayer, E. A.; Rincon, M. T.; Lamed, R.; White, B. A., Polysaccharide utilization by gut bacteria: potential for new insights from genomic analysis. *Nat Rev Microbiol* **2008**, *6* (2), 121-31.
12. Turnbaugh, P. J.; Ley, R. E.; Mahowald, M. A.; Magrini, V.; Mardis, E. R.; Gordon, J. I., An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* **2006**, *444* (7122), 1027-1031.
13. Cockburn, D. W.; Koropatkin, N. M., Polysaccharide Degradation by the Intestinal Microbiota and Its Influence on Human Health and Disease. *J Mol Biol* **2016**, *428* (16), 3230-3252.
14. Wang, H. B.; Wang, P. Y.; Wang, X.; Wan, Y. L.; Liu, Y. C., Butyrate enhances intestinal epithelial barrier function via up-regulation of tight junction protein Claudin-1 transcription. *Dig Dis Sci* **2012**, *57* (12), 3126-35.
15. Timell, T. E., Recent progress in the chemistry of wood hemicelluloses. *Wood Science and Technology* **1967**, *1* (1), 45-70.

16. Leth, M. L.; Ejby, M.; Workman, C.; Ewald, D. A.; Pedersen, S. S.; Sternberg, C.; Bahl, M. I.; Licht, T. R.; Aachmann, F. L.; Westereng, B.; Abou Hachem, M., Differential bacterial capture and transport preferences facilitate co-growth on dietary xylan in the human gut. *Nat Microbiol* **2018**, *3* (5), 570-580.
17. Polari, L.; Ojansivu, P.; Mäkelä, S.; Eckerman, C.; Holmbom, B.; Salminen, S., Galactoglucomannan Extracted from Spruce (*Picea abies*) as a Carbohydrate Source for Probiotic Bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2012**, *60* (44), 11037-11043.
18. Wang, Y.; Sun, S.; Li, F.; Cao, X.; Sun, R., Production of vanillin from lignin: The relationship between  $\beta$ -O-4 linkages and vanillin yield. *Industrial Crops and Products* **2018**, *116*, 116-121.
19. Walton, N. J.; Mayer, M. J.; Narbad, A., Vanillin. *Phytochemistry* **2003**, *63* (5), 505-515.
20. Manach, C.; Scalbert, A.; Morand, C.; Rémésy, C.; Jiménez, L., Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr* **2004**, *79* (5), 727-47.
21. Scalbert, A.; Andres-Lacueva, C.; Arita, M.; Kroon, P.; Manach, C.; Urpi-Sarda, M.; Wishart, D., Databases on food phytochemicals and their health-promoting effects. *J Agric Food Chem* **2011**, *59* (9), 4331-48.
22. La Rosa, S. L.; Kachrimanidou, V.; Buffetto, F.; Pope, P. B.; Pudlo, N. A.; Martens, E. C.; Rastall, R. A.; Gibson, G. R.; Westereng, B., Wood-Derived Dietary Fibers Promote Beneficial Human Gut Microbiota. *mSphere* **2019**, *4* (1), e00554-18.
23. Butler, M. S., The Role of Natural Product Chemistry in Drug Discovery. *Journal of Natural Products* **2004**, *67* (12), 2141-2153.
24. Dewick, P. M., Secondary metabolism: the building blocks and construction mechanisms In *Medicinal Nature Products: A Biosynthetic Approach*, 3rd ed.; John Wiley and Sons, Ltd: 2009; pp 7-8.
25. Demain, A. L.; Fang, A., The natural functions of secondary metabolites. In *History of modern biotechnology I*, Springer: 2000; pp 1-39.
26. Ohlmeyer, M.; Zhou, M.-M., Integration of small-molecule discovery in academic biomedical research. *The Mount Sinai journal of medicine, New York* **2010**, *77* (4), 350-357.
27. Dias, D. A.; Urban, S.; Roessner, U., A historical overview of natural products in drug discovery. *Metabolites* **2012**, *2* (2), 303-336.
28. Corey, E. J.; Weinshenker, N. M.; Schaaf, T. K.; Huber, W., Stereo-controlled synthesis of dl-prostaglandins F2.alpha. and E2. *Journal of the American Chemical Society* **1969**, *91* (20), 5675-5677.
29. Kanerva, S.; Kitunen, V.; Loponen, J.; Smolander, A., Phenolic compounds and terpenes in soil organic horizon layers under silver birch, Norway spruce and Scots pine. *Biology and Fertility of Soils* **2008**, *44* (4), 547-556.
30. Palo, R. T., Distribution of birch (*Betula* SPP.), willow (*Salix* SPP.), and poplar (*Populus* SPP.) secondary metabolites and their potential role as chemical defense against herbivores. *Journal of Chemical Ecology* **1984**, *10* (3), 499-520.
31. Dewick, P. M., The mevalonate and methylerythritol phosphate pathways: terpenoids and steroids In *Medicinal Natural Products : A Biosynthetic Approach* 3rd ed.; John Wiley and Sons, Ltd: 2009; pp 187-188.
32. Chaturvedula, V. S. P.; Prakash, I., Structures of the novel diterpene glycosides from *Stevia rebaudiana*. *Carbohydr Res* **2011**, *346* (8), 1057-1060.

33. Dewick, P. M., The mevalonate and methylerythritol phosphate pathways: terpenoids and steroids. In *Medicinal Natural Products A Biosynthetic Approach*, 3rd ed.; John Wiley and Sons, Ltd: 2009; pp 265-275.
34. Wang, H.-Y. L.; Xin, W.; Zhou, M.; Stueckle, T. A.; Rojanasakul, Y.; O'Doherty, G. A., Stereochemical Survey of Digitoxin Monosaccharides. *ACS Medicinal Chemistry Letters* **2011**, *2* (1), 73-78.
35. Rossum, T. G. J. V.; Vulto; Man, R. A. D.; Brouwer; Schalm, glycyrrhizin as a potential treatment for chronic hepatitis C. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* **1998**, *12* (3), 199-205.
36. Holzbach, J. C.; Soares Filho, W. A.; Cunha, C. L.; Nascimento, I. R., Flavonol Tri-O-glycoside and Other Chemical Constituents from Flowers of *Aristolochia trulliformis*. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2019**, *30*, 1103-1107.
37. Pigman, W.; Horton, D., 1 - INTRODUCTION: STRUCTURE AND STEREOCHEMISTRY OF THE MONOSACCHARIDES. In *The Carbohydrates (Second Edition)*, Pigman, W.; Horton, D., Eds. Academic Press: 1972; pp 1-67.
38. Mäkinen, K. K., Sugar alcohols, caries incidence, and remineralization of caries lesions: a literature review. *Int J Dent* **2010**, *2010*, 981072-981072.
39. Yao, C. K.; Tan, H. L.; van Langenberg, D. R.; Barrett, J. S.; Rose, R.; Liels, K.; Gibson, P. R.; Muir, J. G., Dietary sorbitol and mannitol: food content and distinct absorption patterns between healthy individuals and patients with irritable bowel syndrome. *Journal of Human Nutrition and Dietetics* **2014**, *27* (s2), 263-275.
40. Li, M.; Li, P.; Ma, F.; Dandekar, A. M.; Cheng, L., Sugar metabolism and accumulation in the fruit of transgenic apple trees with decreased sorbitol synthesis. *Horticulture Research* **2018**, *5* (1), 60.
41. Laker, M. F.; Bull, H. J.; Menzies, I. S., Evaluation of mannitol for use as a probe marker of gastrointestinal permeability in man. *Eur J Clin Invest* **1982**, *12* (6), 485-91.
42. Freudenberg, K., Emil Fischer and his Contribution to Carbohydrate Chemistry. In *Advances in Carbohydrate Chemistry*, Wolfrom, M. L.; Tipson, R. S., Eds. Academic Press: 1967; Vol. 21, pp 1-38.
43. El Khadem, H., Chemistry of Osazones. In *Advances in Carbohydrate Chemistry*, Wolfrom, M. L., Ed. Academic Press: 1965; Vol. 20, pp 139-181.
44. Nguyen, L. A.; He, H.; Pham-Huy, C., Chiral drugs: an overview. *International journal of biomedical science : IJBS* **2006**, *2* (2), 85-100.
45. Brewster, J. H., The Optical Activity of Saturated Cyclic Compounds<sup>1</sup>. *Journal of the American Chemical Society* **1959**, *81* (20), 5483-5493.
46. Gil-Av, E.; Schurig, V., Resolution of non-racemic mixtures in achiral chromatographic systems: A model for, the enantioselective effects observed. *Journal of Chromatography A* **1994**, *666* (1), 519-525.
47. Baldwin, J. E., Rules for ring closure. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* **1976**, (18), 734-736.
48. Gilmore, K.; Mohamed, R. K.; Alabugin, I. V., The Baldwin rules: revised and extended. *WIREs Computational Molecular Science* **2016**, *6* (5), 487-514.
49. Guthrie, J. P., Carbonyl addition reactions: factors affecting the hydrate-hemiacetal and hemiacetal-acetal equilibrium constants. *Canadian Journal of Chemistry* **1975**, *53* (6), 898-906.
50. Alabugin, I. V.; Gilmore, K., Finding the right path: Baldwin "Rules for Ring Closure" and stereoelectronic control of cyclizations. *Chemical Communications* **2013**, *49* (96), 11246-11250.



51. Chatgililoglu, C.; Ferreri, C.; Guerra, M.; Timokhin, V.; Froudakis, G.; Gimisis, T., 5-Endo-trig Radical Cyclizations: Disfavored or Favored Processes? *Journal of the American Chemical Society* **2002**, *124* (36), 10765-10772.
52. Barton, D. H. R.; Cookson, R. C., The principles of conformational analysis. *Quarterly Reviews, Chemical Society* **1956**, *10* (1), 44-82.
53. Tokatli, A.; Uzun, F.; Sütçü, K.; Osmanoglu, Y. E.; Osmanoglu, S., Spectral analysis and quantum chemical studies of chair and twist-boat conformers of cycloheximide in gas and solution phases. *Journal of Molecular Structure* **2018**, *1154*, 428-436.
54. Isbell, H. S.; Wade, C. W. R., Deuterium Isotope Effects in  $\alpha$  -  $\beta$  Pyranose and in Pyranose-Furanose Interconversions. *Journal of research of the National Bureau of Standards. Section A, Physics and chemistry* **1967**, *71A* (2), 137-148.
55. Huang, Y.; Zhong, A. G.; Yang, Q.; Liu, S., Origin of anomeric effect: a density functional steric analysis. *The Journal of chemical physics* **2011**, *134* (8), 084103.
56. Ha, S.; Gao, J.; Tidor, B.; Brady, J. W.; Karplus, M., Solvent effect on the anomeric equilibrium in D-glucose: a free energy simulation analysis. *Journal of the American Chemical Society* **1991**, *113* (5), 1553-1557.
57. Lemieux, R. U.; Pavia, A. A.; Martin, J. C.; Watanabe, K. A., Solvation effects on conformational equilibria. Studies related to the conformational properties of 2-methoxytetrahydropyran and related methyl glycopyranosides. *Canadian Journal of Chemistry* **1969**, *47* (23), 4427-4439.
58. Cocinero, E. J.; Carçabal, P.; Vaden, T. D.; Simons, J. P.; Davis, B. G., Sensing the anomeric effect in a solvent-free environment. *Nature* **2011**, *469* (7328), 76-9.
59. Lim, M.-C.; Seo, D.-H.; Jung, J.-H.; Park, C.-S.; Kim, Y.-R., Enzymatic synthesis of amylose nanocomposite microbeads using amylosucrase from *Deinococcus geothermalis*. *RSC Advances* **2014**, *4* (50), 26421-26424.
60. Livesey, G., Carbohydrate Digestion, Absorption, and Fiber. In *Reference Module in Biomedical Sciences*, Elsevier: 2014.
61. Scheller, H. V.; Ulvskov, P., Hemicelluloses. *Annual review of plant biology* **2010**, *61*, 263-89.
62. Taherzadeh, M. J.; Karimi, K., Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: a review. *Int J Mol Sci* **2008**, *9* (9), 1621-1651.
63. Verspreet, J.; Damen, B.; Broekaert, W. F.; Verbeke, K.; Delcour, J. A.; Courtin, C. M., A Critical Look at Prebiotics Within the Dietary Fiber Concept. *Annu Rev Food Sci Technol* **2016**, *7*, 167-90.
64. Beg, Q.; Kapoor, M.; Mahajan, L.; Hoondal, G. S., Microbial xylanases and their industrial applications: A review. *Applied microbiology and biotechnology* **2001**, *56*, 326-38.
65. Reid, J. S. G., Cell Wall Storage Carbohydrates in Seeds—Biochemistry of the Seed “Gums” and “Hemicelluloses”. In *Advances in Botanical Research*, Callow, J. A.; Woolhouse, H. W., Eds. Academic Press: 1985; Vol. 11, pp 125-155.
66. Lundqvist, J.; Teleman, A.; Junel, L.; Zacchi, G.; Dahlman, O.; Tjerneld, F.; Stålbrand, H., Isolation and characterization of galactoglucomannan from spruce (*Picea abies*). *Carbohydrate Polymers* **2002**, *48*, 29-39.
67. Oliphant, K.; Allen-Vercoe, E., Macronutrient metabolism by the human gut microbiome: major fermentation by-products and their impact on host health. *Microbiome* **2019**, *7* (1), 91.

68. Nakai H, B. M., Petersen BO, Westphal Y, Schols H, Dilokpimol A, Abou Hachem M, Lahtinen SJ, Duus JO, Svensson B, The maltodextrin transport system and metabolism in *Lactobacillus acidophilus* NCFM and production of novel  $\alpha$ -glucosides through reverse phosphorolysis by maltose phosphorylase. **2009**.
69. Desai, M. S.; Seekatz, A. M.; Koropatkin, N. M.; Kamada, N.; Hickey, C. A.; Wolter, M.; Pudlo, N. A.; Kitamoto, S.; Terrapon, N.; Muller, A.; Young, V. B.; Henrissat, B.; Wilmes, P.; Stappenbeck, T. S.; Núñez, G.; Martens, E. C., A Dietary Fiber-Deprived Gut Microbiota Degrades the Colonic Mucus Barrier and Enhances Pathogen Susceptibility. *Cell* **2016**, *167* (5), 1339-1353.e21.
70. Duncan, S. H.; Aminov, R. I.; Scott, K. P.; Louis, P.; Stanton, T. B.; Flint, H. J., Proposal of *Roseburia faecis* sp. nov., *Roseburia hominis* sp. nov. and *Roseburia inulinivorans* sp. nov., based on isolates from human faeces. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* **2006**, *56* (Pt 10), 2437-2441.
71. Lorca, G. L.; Barabote, R. D.; Zlotopolski, V.; Tran, C.; Winnen, B.; Hvorup, R. N.; Stonestrom, A. J.; Nguyen, E.; Huang, L. W.; Kim, D. S.; Saier, M. H., Jr., Transport capabilities of eleven gram-positive bacteria: comparative genomic analyses. *Biochim Biophys Acta* **2007**, *1768* (6), 1342-66.
72. Martens, E. C.; Kelly, A. G.; Tauzin, A. S.; Brumer, H., The devil lies in the details: how variations in polysaccharide fine-structure impact the physiology and evolution of gut microbes. *J Mol Biol* **2014**, *426* (23), 3851-65.
73. Davies, G.; Henrissat, B., Structures and mechanisms of glycosyl hydrolases. *Structure* **1995**, *3* (9), 853-859.
74. Collins, T.; Gerday, C.; Feller, G., Xylanases, xylanase families and extremophilic xylanases. *FEMS Microbiology Reviews* **2005**, *29* (1), 3-23.
75. Moreira, L. R. S.; Filho, E. X. F., An overview of mannan structure and mannan-degrading enzyme systems. *Applied Microbiology and Biotechnology* **2008**, *79* (2), 165-178.
76. Schmidt, R. R.; Michel, J., Facile Synthesis of  $\alpha$ - and  $\beta$ -O-Glycosyl Imidates; Preparation of Glycosides and Disaccharides. *Angewandte Chemie International Edition in English* **1980**, *19* (9), 731-732.
77. Fraser-Reid, B.; Wu, Z.; Udodong, U. E.; Ottosson, H., Armed/disarmed effects in glycosyl donors: rationalization and sidetracking. *The Journal of Organic Chemistry* **1990**, *55* (25), 6068-6070.
78. Nicolaou, K. C.; Seitz, S. P.; Papahatjis, D. P., A mild and general method for the synthesis of O-glycosides. *Journal of the American Chemical Society* **1983**, *105* (8), 2430-2434.
79. Igarashi, K., The Koenigs-Knorr Reaction. In *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, Stuart Tipson, R.; Horton, D., Eds. Academic Press: 1977; Vol. 34, pp 243-283.
80. Yasomanee, J. P.; Demchenko, A. V., Effect of Remote Picolinyl and Picoloyl Substituents on the Stereoselectivity of Chemical Glycosylation. *Journal of the American Chemical Society* **2012**, *134* (49), 20097-20102.
81. van der Vorm, S.; Hansen, T.; Overkleeft, H. S.; van der Marel, G. A.; Codée, J. D. C., The influence of acceptor nucleophilicity on the glycosylation reaction mechanism. *Chem Sci* **2017**, *8* (3), 1867-1875.
82. Rhind-Tutt, A. J.; Vernon, C. A., 896. Mechanisms of reactions in the sugar series. Part II. Nucleophilic substitution in 2,3,4,6-tetra-O-methylglycopyranosyl chlorides. *Journal of the Chemical Society (Resumed)* **1960**, (0), 4637-4644.

83. Isbell, H. S., Chemistry of the Carbohydrates and Glycosides. *Annual Review of Biochemistry* **1940**, *9* (1), 65-92.
84. Chamberland, S.; Ziller, J. W.; Woerpel, K. A., Structural Evidence that Alkoxy Substituents Adopt Electronically Preferred Pseudoaxial Orientations in Six-Membered Ring Dioxocarbenium Ions. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *127* (15), 5322-5323.
85. Mohamed, S.; He, Q. Q.; Lepage, R. J.; Krenske, E. H.; Ferro, V., Glycosylations of Simple Acceptors with 2-O-Acyl l-Idose or l-Iduronic Acid Donors Reveal Only a Minor Role for Neighbouring-Group Participation. *European Journal of Organic Chemistry* **2018**, *2018* (19), 2214-2227.
86. Paulsen, H., Cyclic Acyloxonium Ions in Carbohydrate Chemistry\*\*Translated from the German by D. Horton. In *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, Tipson, R. S.; Horton, D., Eds. Academic Press: 1971; Vol. 26, pp 127-195.
87. Mootoo, D. R.; Konradsson, P.; Udodong, U.; Fraser-Reid, B., Armed and disarmed n-pentenyl glycosides in saccharide couplings leading to oligosaccharides. *Journal of the American Chemical Society* **1988**, *110* (16), 5583-5584.
88. Boons, G.-J., Strategies in Oligosaccharide Synthesis. *Tetrahedron* **1996**, *52* (4), 1095-1121.
89. Mydock, L. K.; Demchenko, A. V., Application of the Superarmed Glycosyl Donor to Chemoselective Oligosaccharide Synthesis. *Organic Letters* **2008**, *10* (11), 2107-2110.
90. Crich, D.; Li, M., Revisiting the Armed–Disarmed Concept: The Importance of Anomeric Configuration in the Activation of S-Benzoxazolyl Glycosides. *Organic Letters* **2007**, *9* (21), 4115-4118.
91. Kim, J. H.; Yang, H.; Boons, G. J., Stereoselective glycosylation reactions with chiral auxiliaries. *Angew Chem Int Ed Engl* **2005**, *44* (6), 947-9.
92. Crich, D.; Sun, S., Are Glycosyl Triflates Intermediates in the Sulfoxide Glycosylation Method? A Chemical and <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, and <sup>19</sup>F NMR Spectroscopic Investigation. *Journal of the American Chemical Society* **1997**, *119* (46), 11217-11223.
93. Hansen, T.; Lebedel, L.; Remmerswaal, W. A.; van der Vorm, S.; Wander, D. P. A.; Somers, M.; Overkleeft, H. S.; Filippov, D. V.; Désiré, J.; Mingot, A.; Bleriot, Y.; van der Marel, G. A.; Thibaudeau, S.; Codée, J. D. C., Defining the S(N)1 Side of Glycosylation Reactions: Stereoselectivity of Glycopyranosyl Cations. *ACS central science* **2019**, *5* (5), 781-788.
94. Tokimoto, H.; Fujimoto, Y.; Fukase, K.; Kusumoto, S., Stereoselective glycosylation using the long-range effect of a [2-(4-phenylbenzyl)oxycarbonyl]benzoyl group. *Tetrahedron: Asymmetry* **2005**, *16* (2), 441-447.
95. Kochetkov, N. K.; Klimov, E. M.; Malysheva, N. N.; Demchenko, A. V., A new stereospecific method for 1,2-cis-glycosylation. *Carbohydr Res* **1991**, *212*, 77-91.
96. Hansen, T.; Elferink, H.; van Hengst, J. M. A.; Houthuijs, K. J.; Remmerswaal, W. A.; Kromm, A.; Berden, G.; van der Vorm, S.; Rijs, A. M.; Overkleeft, H. S.; Filippov, D. V.; Rutjes, F. P. J. T.; van der Marel, G. A.; Martens, J.; Oomens, J.; Codée, J. D. C.; Boltje, T. J., Characterization of glycosyl dioxolenium ions and their role in glycosylation reactions. *Nature Communications* **2020**, *11* (1), 2664.
97. Lipták, A.; Kerékgyártó, J.; Szurmai, Z.; Duddeck, H., Synthesis of the tetrasaccharide core region of antigenic lipo-oligosaccharides characteristic of mycobacterium kansasii. *Carbohydr Res* **1988**, *175* (2), 241-248.
98. Pornsuriyasak, P.; Vetter, C.; Kaeothip, S.; Kovermann, M.; Balbach, J.; Steinborn, D.; Demchenko, A. V., Coordination chemistry approach to the long-standing challenge

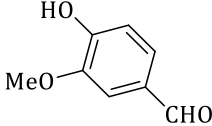
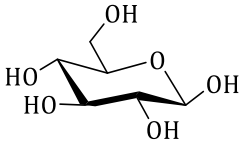
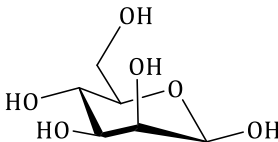
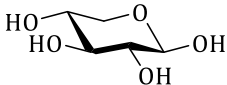
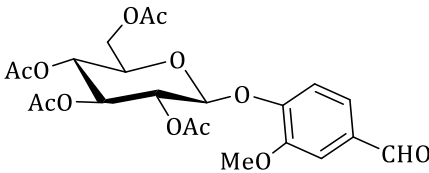
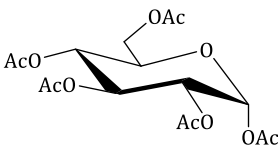
- of stereocontrolled chemical glycosylation. *Chem Commun (Camb)* **2009**, (42), 6379-81.
99. Wulff, G.; Rohle, G., Results and problems of O-Glycoside synthesis. *Angew Chem Int Ed Engl* **1974**, *13* (3), 157-70.
  100. Eby, R.; Schuerch, C., The use of 1-O-tosyl-d-glucopyranose derivatives in  $\alpha$ -d-glucoside synthesis. *Carbohydr Res* **1974**, *34* (1), 79-90.
  101. Abbas, S. A.; Matta, K. L., Use of 3-O-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-deoxy- $\beta$ -d-glucopyranosyl)-2,4,6-tri-O-acetyl- $\alpha$ -d-galactopyranosyl bromide as a glycosyl donor: Synthesis of p-nitrophenyl 3-O-(2-acetamido-2-deoxy- $\beta$ -d-glucopyranosyl)- $\beta$ -d-galactopyranoside. *Carbohydr Res* **1983**, *124* (1), 115-121.
  102. Elferink, H.; Pedersen, C. M., l-Rhamnosylation: The Solvent is the Solution. *European Journal of Organic Chemistry* **2017**, *2017* (1), 53-59.
  103. Forsgren, M.; Norberg, T., Syntheses of the p-trifluoroacetamidophenyl glycosides of 2-acetamido-2-deoxy-4-O- $\alpha$ -d-glucopyranosyl- $\beta$ -d-glucopyranose and 2-acetamido-2-deoxy-6-O- $\alpha$ -d-glucopyranosyl- $\beta$ -d-glucopyranose. *Carbohydr Res* **1983**, *116* (1), 39-47.
  104. Anilkumar, G.; Nair, L. G.; Fraser-Reid, B., Targeted Glycosyl Donor Delivery for Site-Selective Glycosylation,1. *Organic Letters* **2000**, *2* (17), 2587-2589.
  105. Lee, Y. S.; Rho, E. S.; Min, Y. K.; Kim, B. T.; Kim, K. H., PRACTICAL  $\beta$ -STEREOSELECTIVE O-GLYCOSYLATION OF PHENOLS WITH PENTA-O-ACETYL- $\beta$ -D-GLUCOPYRANOSE. *Journal of Carbohydrate Chemistry* **2001**, *20* (6), 503-506.
  106. Williams, S. J.; Withers, S. G., Glycosyl fluorides in enzymatic reactions. *Carbohydr Res* **2000**, *327* (1-2), 27-46.
  107. Schmid, U.; Waldmann, H., Activation of glycosyl phosphates by in situ conversion to glycosyl iodides under neutral conditions in concentrated solutions of lithium perchlorate in organic solvents. *Tetrahedron Letters* **1996**, *37* (22), 3837-3840.
  108. Gervay, J.; Hadd, M. J., Anionic Additions to Glycosyl Iodides: Highly Stereoselective Syntheses of  $\beta$  C-, N-, and O-Glycosides1. *The Journal of Organic Chemistry* **1997**, *62* (20), 6961-6967.
  109. Oyama, K.-i.; Kondo, T., Highly Efficient  $\beta$ -Glucosylation of the Acidic Hydroxyl Groups, Phenol and Carboxylic Acid, with an Peracetylated Glucosyl Fluoride Using a Combination of  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  and DTBMP as a Promoter. *Synlett* **1999**, *1999* (10), 1627-1629.
  110. Toshima, K., Glycosyl fluorides in glycosidations. *Carbohydr Res* **2000**, *327* (1-2), 15-26.
  111. Böhm, G.; Waldmann, H., O-Glycoside Synthesis under Neutral Conditions in Concentrated Solutions of  $\text{LiClO}_4$  in Organic Solvents Employing Benzyl-Protected Glycosyl Donors. *Liebigs Annalen* **1996**, *1996* (4), 613-619.
  112. Lemieux, R. U.; Hendriks, K. B.; Stick, R. V.; James, K., Halide ion catalyzed glycosidation reactions. Syntheses of  $\alpha$ -linked disaccharides. *Journal of the American Chemical Society* **1975**, *97* (14), 4056-4062.
  113. Wadzinski, T. J.; Steinauer, A.; Hie, L.; Pelletier, G.; Schepartz, A.; Miller, S. J., Rapid phenolic O-glycosylation of small molecules and complex unprotected peptides in aqueous solvent. *Nat Chem* **2018**, *10* (6), 644-652.
  114. Mahling, J.-A.; Schmidt, R. R., Aryl C-Glycosides from O-Glycosyltrichloroacetimidates and Phenol Derivatives with Trimethylsilyl Trifluoromethanesulfonate ( $\text{TMSOTf}$ ) as the Catalyst. *Synthesis* **1993**, *1993* (03), 325-328.

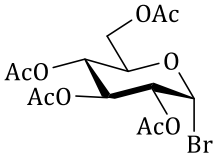
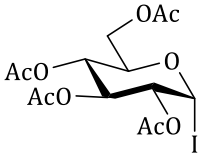
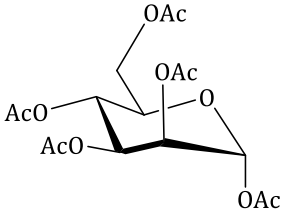
115. Yamaguchi, M.; Horiguchi, A.; Fukuda, A.; Minami, T., Novel synthesis of aryl 2,3,4,6-tetra-O-acetyl-D-glucopyranosides. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1* **1990**, (4), 1079-1082.
116. Lemieux, R., Effects of unshared pairs of electrons and their solvation on conformational equilibria. *Pure and Applied Chemistry* **1971**, 25 (3), 527-548.
117. Wallace, J. E.; Schroeder, L. R., Koenigs-Knorr reactions. Part 1. Effects of a 2-O-acetyl substituent, the promoter, and the alcohol concentration on the stereoselectivity of reactions of 1,2-cis-glucopyranosyl bromide. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1* **1976**, (18), 1938-1941.
118. Mastihubová, M.; Poláková, M., A selective and mild glycosylation method of natural phenolic alcohols. *Beilstein journal of organic chemistry* **2016**, 12, 524-530.
119. Bliard, C.; Massiot, G.; Nazabadioko, S., Glycosylation of acids under phase transfer conditions. Partial synthesis of saponins. *Tetrahedron Letters* **1994**, 35 (33), 6107-6108.
120. De Bruyne, C. K.; Vervoort, A., Synthesis of Substituted Phenyl- $\beta$ -D-xylopyranosides (II). *Nature* **1966**, 211 (5055), 1292-1293.
121. Halazy, S.; Berges, V.; Ehrhard, A.; Danzin, C., Ortho- and para-(difluoromethyl)aryl- $\beta$ -d-glucosides: A new class of enzyme-activated irreversible inhibitors of  $\beta$ -glucosidases. *Bioorganic Chemistry* **1990**, 18 (3), 330-344.
122. Kameda, T.; Ono, M.; Grause, G.; Mizoguchi, T.; Yoshioka, T., Effect of a phase-transfer catalyst on the chemical modification of poly(vinyl chloride) by substitution with thiocyanate as a nucleophile. *Materials Chemistry and Physics* **2009**, 118 (2), 362-366.
123. Yang, H.-M.; Wu, H.-S., Interfacial Mechanism and Kinetics of Phase-Transfer Catalysis. *Catalysis Reviews* **2003**, 45 (3-4), 463-540.
124. Simion, A. M.; Hashimoto, I.; Mitoma, Y.; Egashira, N.; Simion, C., O-Acylation of Substituted Phenols with Various Alkanoyl Chlorides Under Phase-Transfer Catalyst Conditions. *Synthetic Communications* **2012**, 42 (6), 921-931.
125. Starks, C. M., Phase-transfer catalysis. I. Heterogeneous reactions involving anion transfer by quaternary ammonium and phosphonium salts. *Journal of the American Chemical Society* **1971**, 93 (1), 195-199.
126. Kumar, V.; Jamie Talisman, I.; Bukhari, O.; Razzaghy, J.; Malhotra, S. V., Dual role of ionic liquids as phase transfer catalyst and solvent for glycosidation reactions. *RSC Advances* **2011**, 1 (9), 1721-1727.
127. Brewster, K.; Harrison, J. M.; Inch, T. D., Synthesis of aryl  $\beta$ -D-glucopyranosides and aryl  $\beta$ -D-glucopyranosiduronic acids. *Tetrahedron Letters* **1979**, 20 (52), 5051-5054.
128. Yan, S.; Ren, S.; Ding, N.; Li, Y., Concise total synthesis of acylated phenolic glycosides vitexnegheteroin A and ovatoside D. *Carbohydr. Res.* **2018**, 460, 41-46.
129. Wahler, D.; Boujard, O.; Lefèvre, F.; Reymond, J.-L., Adrenaline profiling of lipases and esterases with 1,2-diol and carbohydrate acetates. *Tetrahedron* **2004**, 60 (3), 703-710.
130. Czechura, P.; Tam, R. Y.; Dimitrijevic, E.; Murphy, A. V.; Ben, R. N., The Importance of Hydration for Inhibiting Ice Recrystallization with C-Linked Antifreeze Glycoproteins. *Journal of the American Chemical Society* **2008**, 130 (10), 2928-2929.
131. Zuffo, M.; Stucchi, A.; Campos-Salinas, J.; Cabello-Donayre, M.; Martínez-García, M.; Belmonte-Reche, E.; Pérez-Victoria, J. M.; Mergny, J. L.; Freccero, M.; Morales, J. C.; Doria, F., Carbohydrate-naphthalene diimide conjugates as potential antiparasitic

drugs: Synthesis, evaluation and structure-activity studies. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2019**, *163*, 54-66.

## 7. Vedlegg

Tabell 7.1: Forbindelser benyttet i synteser er navngitt og vist ved molekylstruktur

IUPAC navn	Molekylstruktur	Nummer
Vanillin		1
D-glukose		2
D-mannose		3
D-xylose		4
2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-glukopyranosyl-4-hydroxy-3-metoksibenzaldehyd		5
1,2,3,4,6-penta-O-acetyl- $\alpha$ -D-glukopyranose		6

<p>2,3,4,6-tetra-O-acetyl-<math>\alpha</math>-D-glukopyranosylbromid</p>		<p>7</p>
<p>2,3,4,6-tetra-O-acetyl-<math>\alpha</math>-D-glukopyranosyljodid</p>		<p>8</p>
<p>1,2,3,4,6-penta-O-acetyl-<math>\alpha</math>-D-mannopyranose</p>		<p>9</p>





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

Postboks 5003  
NO-1432 Ås  
Norway