

# SYNTESE AV OKSIDERTE DHA-ANALOGER MED POTENSIELLE ANTI-INFLAMMATORISKE EFFEKTER

SYNTHESIS OF OXIDIZED DHA-ANALOGUES WITH POTENTIAL  
ANTI-INFLAMMATORY EFFECTS

MARIANNE RABBen KJØDE

UNIVERSITETET FOR MILJØ- OG BIOVITENSKAP

INSTITUTT FOR KEMI, BIOTEKNOLOGI OG MATVITENSKAP  
MASTEROPPGAVE 30 STP. 2013



## FORORD

---

Denne oppgaven ble utført ved Institutt for Kjemi, Bioteknologi og Matvitenskap (IKBM) på Universitetet for Miljø- og Biovitenskap (UMB) og delvis ved Farmasøytisk Institutt på Universitet i Oslo (UiO), med professor Yngve Stenstrøm som veileder og professor Trond Vidar Hansen som ekstern veileder.

Jeg vil spesielt takke Yngve Stenstrøm og Trond Vidar Hansen for at de begge tok seg tid til å veilede, og svare på store og små spørsmål.

En takk til Anne Gravdahl for supplering av mine reagenser og Dag Ekeberg for massespektrometri-analyser.

Jeg vil takke alle stipendiatene, Liudmila Filipova, Harrison Gallantree-Smith og Simen Antonsen, på den organiske laboratorieavdelingen, for at de har vært tålmodige og tatt seg tid til å hjelpe med de mest trivielle problemer. Takk for oppmuntrende ord og hyggelig selskap på laboratoriet.

Takk til alle medstudenter for gode samtaler og mye latter.

Jeg vil også takke Pronova Biopharma for utgangsmaterialet mitt.

Til slutt vil jeg takke venner, familie og spesielt min samboer, for deres støtte.

Ås, mai 2013

Marianne Rabben Kjøde



## SAMMENDRAG

---

Omega-3 og -6 fettsyrer har vist at de har viktige biologiske aktiviteter. De siste tiårene har også deres derivater vist seg interessante, og de har gitt opphav til mange forbindelser som bidrar positivt helsemessig og kan forebygge sykdommer som blodpropp, hjerteinfarkt, astma, betennelser og lignede lidelser. Siden eikosapentaensyre (EPA) og dokosaheksaensyre (DHA) har vist seg å være viktig for menneskers kosthold, ville det være interessant å se om noen av deres derivater, (5*E*,7*Z*,10*Z*,13*Z*,16*Z*,19*Z*)-metyl-4-hydroksydokosa-5,7,10,13,16,19-heksaenat og (5*E*,7*Z*,10*Z*,13*Z*,16*Z*,19*Z*)-metyl-4-oksodokosa-5,7,10,13,16,19-heksaenat, også har noen interessante biologiske effekter.

Målet med oppgaven var å syntetisere to målmolekyler fra dokosaheksaensyre (DHA), (5*E*,7*Z*,10*Z*,13*Z*,16*Z*,19*Z*)-metyl-4-hydroksydokosa-5,7,10,13,16,19-heksaenat og (5*E*,7*Z*,10*Z*,13*Z*,16*Z*,19*Z*)-metyl-4-oksodokosa-5,7,10,13,16,19-heksaenat. Dette ble gjort med lineær syntese, der molekylene dihydro-5-((3*Z*,6*Z*,9*Z*,12*Z*,15*Z*)-1-jodoktadekapentaenyl)furan-2(3*H*)-on og 5-((1*E*,3*Z*,6*Z*,9*Z*,12*Z*,15*Z*)-oktadeka-1,3,6,9,12,15-heksaen-1-yl)dihydrofuran-2-(3*H*)-on ble brukt som intermediater for videre syntese. Målmolekylene ble syntetisert som rasemater og i ren kjemisk form.

Det ble videre prøvd å utvikle en analysemetode med HPLC for å separere enantiomerene av (5*E*,7*Z*,10*Z*,13*Z*,16*Z*,19*Z*)-metyl-4-hydroksydokosa-5,7,10,13,16,19-heksaenat, noe som ikke ga baselinjeseparasjon, men ga lovende resultater. Den foreløpige metoden og den fullstendige separasjonen av samme derivatet fra EPA, indikerer at det kan være mulig å få total baselinjeseparasjon også for dokosaheksaensyre-derivatet.

Derivatene, fra reaksjonen mellom Mosher's reagens med alkoholene nevnt over, (5*E*,7*Z*,10*Z*,13*Z*,16*Z*,19*Z*)-metyl 4-(((*R*)-3,3,3-trifluoro-2-metoksy-2-fenylpropanoyl))oksydokosa-5,7,10,13,16,19-heksaenat (*R*-MTPA ester) og (5*E*,7*Z*,10*Z*,13*Z*,16*Z*,19*Z*)-metyl 4-(((*S*)-3,3,3-trifluoro-2-metoksy-2-fenylpropanoyl))oksydokosa-5,7,10,13,16,19-heksaenat (*S*-MTPA ester) ble også syntetisert for å se om det ville være lettere å separere diastereomerene med HPLC. Betingelsene som ble utviklet for (5*E*,7*Z*,10*Z*,13*Z*,16*Z*,19*Z*)-metyl-4-hydroksydokosa-5,7,10,13,16,19-heksaenat, kunne ikke brukes på disse Mosher-derivatene, og ingen metode ble utviklet.

## ABSTRACT

---

Both omega-3 and omega-6 fatty acids have shown that they have biological activities. During the last decades their derivatives has also captured scientists interests, and they have given rise to many compounds that contributes to better health and preventing many diseases like asthma, coronary-, cardiovascular- and inflammatory diseases. Eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) are two of those fatty acids that have been shown to be important for human health. It would therefore be interesting to see if some of their derivatives, (5*E*,7*Z*,10*Z*,13*Z*,16*Z*,19*Z*)-methyl-4-hydroxydocosa-5,7,10,13,16,19-hexaenoate and (5*E*,7*Z*,10*Z*,13*Z*,16*Z*,19*Z*)-methyl-4-oxodocosa-5,7,10,13,16,19-hexaenoate, also show significance an activities.

The aim of this project was to synthesize two target molecules from docosahexaenoic acid (DHA), (5*E*,7*Z*,10*Z*,13*Z*,16*Z*,19*Z*)-methyl-4-hydroxydocosa-5,7,10,13,16,19-hexaenoate and (5*E*,7*Z*,10*Z*,13*Z*,16*Z*,19*Z*)-methyl-4-oxodocosa-5,7,10,13,16,19-hexaenoate. This was done with linear synthesis, where the compounds dihydro-5-((3*Z*,6*Z*,9*Z*,12*Z*,15*Z*)-1-iodoktadecapentaenyl)furan-2(3*H*)-one and 5-((1*E*,3*Z*,6*Z*,9*Z*,12*Z*,15*Z*)-octadeca-1,3,6,9,12,15-hexaen-1-yl)dihydrofuran-2-(3*H*)-one were used as intermediates for further synthesis. The target molecules were synthesized as racemates and with high chemical purity.

Furthermore an analytical method for separating the enantiomers of (5*E*,7*Z*,10*Z*,13*Z*,16*Z*,19*Z*)-methyl-4-hydroxydocosa-5,7,10,13,16,19-hexaenoate was developed. Although some separation could be seen, no baseline separation was achieved. However, the method did work for the same derivative of EPA, indicating that it should be possible to get total baseline-resolution for the docosahexanoic acid-derivative, as well.

The derivatives, made from the reaction of Mosher's reagent and the above mentioned alcohols, (5*E*,7*Z*,10*Z*,13*Z*,16*Z*,19*Z*)-methyl 4-(((*R*)-3,3,3-trifluoro-2-methoxy-2-phenylpropanoyl))oxy)docosa-5,7,10,13,16,19-hexaenoate (*R*-MTPA ester) and (5*E*,7*Z*,10*Z*,13*Z*,16*Z*,19*Z*)-methyl 4-(((*S*)-3,3,3-trifluoro-2-methoxy-2-phenylpropanoyl))oxy)docosa-5,7,10,13,16,19-hexaenoate (*S*-MTPA ester) were also synthesized to see if their diastereomers would be easier to separate with HPLC. The developed conditions for (5*E*,7*Z*,10*Z*,13*Z*,16*Z*,19*Z*)-methyl-4-hydroxydocosa-

5,7,10,13,16,19-hexaenoate did not give any satisfactory results, so no method was developed.

## **FORKORTELSER**

---

AA	Arakidonsyre
ATP	Adenosintrifosfat
COX	Syklooksygenaser
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene
DMP	Dess-Martin periodinan
DHA	(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-dokosa-4,7,10,13,16,19-heksaensyre
EE	Etylester
EPA	(5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-eikosa-5,8,11,14,17-pentaensyre
ETE	(6E,8Z,11Z,14Z)-5-oksoeikosa-6,8,11,14-tetraensyre
GLC	Gass-væske kromatografi
HETE	(6E,8Z,11Z,14Z)-5-hydroksyeikosa-6,8,11,14-tetraensyre
HPETE	(6E,8Z,11Z,14Z)-5-hydroperoksyecosa-6,8,11,14-tetraensyre
HPLC	«High-performance liquid chromatography»
LOX	Lipoksygenase
MTPA	2-fenyl-3,3,3,-trifluor-2metoksypropansyre
NSAIDs	Ikke-steriode anti-inflammatoriske legemidler
PUFAs	Flerumettede fettsyrer
THF	Tetrahydrofuran
TLC	Tynnsljikt-kromatografi

## GENERELLE BEMERKNINGER

---

For de fleste forbindelsene i oppgaven brukes IUPAC-nomenklatur bortsett fra i den eksperimentelle delen, der det brukes trivialnavn. Oppgaven har skrifttype «Times New Roman», skriftstørrelse 12 og linjeavstand på halvannen. De fleste strukturer og skjemaer er laget i ChemBioDraw om ikke annet er spesifisert. Om illustrasjoner er hentet fra internett eller litteratur, står dette i litteraturlisten.



# INNHALDSFORTEGNELSE

1. GENERELL INNLEDNING.....	1
1.1 Naturstoffer.....	1
1.2 Fettsyrer.....	1
1.2.1 Fettsyrer i menneskekroppen.....	3
1.2.2 Nedbrytning av fettsyrer.....	4
1.2.2.1 $\beta$ -Oksidasjon.....	4
1.2.2.2 Peroxisomal $\beta$ -oksidasjon.....	7
1.2.2.3 $\alpha$ -Oksidasjon.....	7
1.2.2.4 $\omega$ -Oksidasjon.....	9
1.2.3 Fettsyrer og helse.....	10
1.2.3.1 Lipoksygenaser og syklooksygenaser.....	12
1.2.3.2 Hydroksylerte og oksiderte fettsyrederivater.....	13
1.2.4 Marine fettsyrekilder.....	15
1.2.5 Auto-oksidasjon av fettsyrer.....	16
1.3 Kiralitet.....	16
1.4 Kjemisk syntese.....	17
1.4.1 Dess-Martin oksidasjon.....	17
1.4.2 Halolaktonisering.....	18
1.4.3 Moshers syreklorid.....	19
1.5 Mål og bakgrunn for oppgaven.....	20
2. RESULTATER OG DISKUSJON.....	22
2.1 Introduksjon.....	22
2.2 Syntese av dihydro-5-((3Z,6Z,9Z,12Z,15Z)-1-jodoktadekapentaenyl)furan-2(3H)-on..	23
2.3 Syntese av 5-((1E,3Z,6Z,9Z,12Z,15Z)-oktadeka-1,3,6,9,12,15-heksaen-1-yl)dihydrofuran-2-(3H)-on.....	24
2.4 Syntese av (5E,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-metyl-4-hydroksydokosa-5,7,10,13,16,19-heksaenat.....	26
2.5 Syntese av (5E,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-metyl-4-oksodokosa-5,7,10,13,16,19-heksaenat	28

2.6 Syntese av (5 <i>E</i> ,7 <i>Z</i> ,10 <i>Z</i> ,13 <i>Z</i> ,16 <i>Z</i> ,19 <i>Z</i> )-metyl 4-((( <i>R</i> )-3,3,3-trifluoro-2-metoksy-2-fenylpropanoyl))oksy)dokosa-5,7,10,13,16,19-heksaenat ( <i>R</i> -MTPA ester) og (5 <i>E</i> ,7 <i>Z</i> ,10 <i>Z</i> ,13 <i>Z</i> ,16 <i>Z</i> ,19 <i>Z</i> )-metyl 4-((( <i>S</i> )-3,3,3-trifluoro-2-metoksy-2-fenylpropanoyl))oksy)dokosa-5,7,10,13,16,19-heksaenat ( <i>S</i> -MTPA ester).....	29
3. OPPSUMMERING OG VEIEN VIDERE.....	32
4. KONKLUSJON.....	33
5. EKSPERIMENTELT .....	34
5.1 Generelle bemerkninger til forsøkene .....	34
5.2 Syntese av dihydro-5-((3 <i>Z</i> ,6 <i>Z</i> ,9 <i>Z</i> ,12 <i>Z</i> ,15 <i>Z</i> )-1-jodoktadepentaenyl)furan-2(3 <i>H</i> )-on..	36
5.3 Syntese av 5-((1 <i>E</i> ,3 <i>Z</i> ,6 <i>Z</i> ,9 <i>Z</i> ,12 <i>Z</i> ,15 <i>Z</i> )-oktadeka-1,3,6,9,12,15-heksaen-1-yl)dihydrofuran-2-(3 <i>H</i> )-on .....	39
5.4 Syntese av (5 <i>E</i> ,7 <i>Z</i> ,10 <i>Z</i> ,13 <i>Z</i> ,16 <i>Z</i> ,19 <i>Z</i> )-metyl-4-hydroksydokosa-5,7,10,13,16,19-heksaenat .....	42
5.5 Syntese av (5 <i>E</i> ,7 <i>Z</i> ,10 <i>Z</i> ,13 <i>Z</i> ,16 <i>Z</i> ,19 <i>Z</i> )-metyl-4-oksodokosa-5,7,10,13,16,19-heksaenat	45
5.6 Syntese av (5 <i>E</i> ,7 <i>Z</i> ,10 <i>Z</i> ,13 <i>Z</i> ,16 <i>Z</i> ,19 <i>Z</i> )-metyl 4-((( <i>R</i> )-3,3,3-trifluoro-2-metoksy-2-fenylpropanoyl))oksy)dokosa-5,7,10,13,16,19-heksaenat ( <i>R</i> -MTPA ester) med ( <i>S</i> )-Moshers syreklorid.....	48
5.7 Syntese av (5 <i>E</i> ,7 <i>Z</i> ,10 <i>Z</i> ,13 <i>Z</i> ,16 <i>Z</i> ,19 <i>Z</i> )-metyl 4-((( <i>S</i> )-3,3,3-trifluoro-2-metoksy-2-fenylpropanoyl))oksy)dokosa-5,7,10,13,16,19-heksaenat ( <i>S</i> -MTPA ester) med ( <i>R</i> )-Moshers syreklorid .....	51
6. APPENDIKS .....	54
6.1 Kromatogram, MS- og UV-spekter.....	54
LITTERATURLISTE.....	64

# 1. GENERELL INNLEDNING

---

## 1.1 Naturstoffer

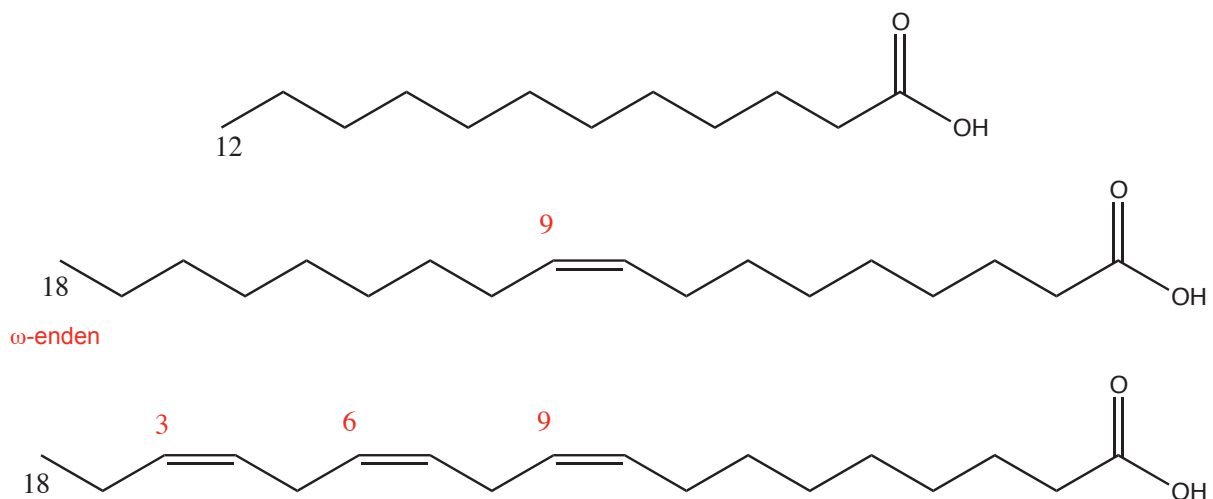
Naturstoffer er organiske forbindelser som produseres av en levende organisme. Selv om de syntetiseres i laboratoriet, kalles de fortsatt for naturstoffer, så lenge forbindelsen har vist seg å kunne isoleres fra en organisk kilde. Mange naturstoffer er livsnødvendige, som karbohydrater, proteiner, fett, og nukleinsyrer (Dewick 2009). Å isolere naturstoffer, som regel fra komplekse blandinger av kjemisk ganske like molekyler, kan ofte være en komplisert prosess der man ender opp med svært små mengder stoff. Derfor har det blitt mer interessant å syntetisere disse, noe som gir større mengder av forbindelser. Grunnen til at denne type forbindelser har blitt populære, er at mange av dem har gunstige farmakologiske egenskaper som kan forebygge og kurere sykdommer. I de siste årene har det også blitt interessant å se på deres derivater. Naturstoffkjemi er i dag svært utbredt, blant annet i den farmasøytiske industrien (Newman et al. 2000).

Naturstoffene deles inn i to grupper, primær- og sekundærmetabolitter. Primære metabolitter finnes i de fleste levende organismer og uavhengig av hvor de finnes så har de ganske like biosynteseveier og samme type funksjoner. Eksempler er polysakkarider, aminosyrer, og proteiner. Sekundære metabolitter er forbindelser som er begrenset til spesifikke organismer. De er som regel unike for akkurat denne arten eller svært få arter, og har en spesifikk biologisk funksjon. Eksempler på sekundære metabolitter er feromoner, som har til hensikt å for eksempel tiltrekke seksualpartnere eller avskrekke fiender. De sekundære metabolittene utgjør en stor og strukturelt variert gruppe, som omfatter strukturer som kumariner, kinoner, flavonoider, terpenener, steroider, lignaner, alkaloider, garvestoffer og antibiotika (*Naturstoffer*). Det er de sekundære metabolittene som er mest interessante for kjemien og farmasien siden hver forbindelse representerer nye egenskaper og muligheter (Dewick 2009). Eksempler på naturstoffer som har blitt isolert fra en naturlig kilde og er integrert i hverdagen er koffein og nikotin.

## 1.2 Fettsyrer

En fri fettsyre består av en lang karbonkjede med en karboksylsyregruppe i den ene enden. Lengden på karbonkjeden varierer, men de mest vanlige fettsyrene inneholder 4-28

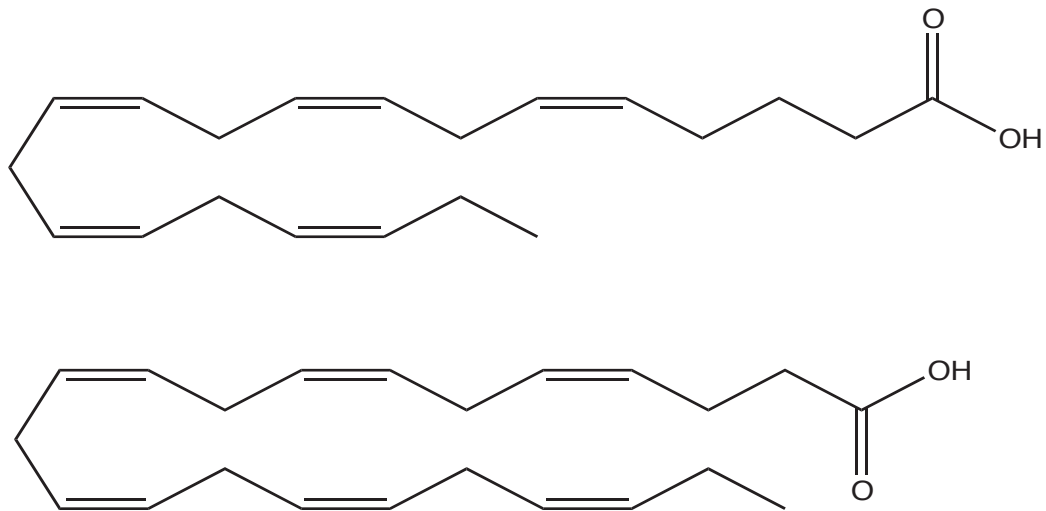
karbonatomer. De fleste frie fettsyrene er uforgrenede og inneholder et partall av karbonatomer (Hart et al. 2007), inkludert syrekarbonatomet. En fettsyre kan ha bare enkeltbindinger eller en kombinasjon av enkelt-, dobbelt- og trippeldobbeltbindinger. Når bare enkeltbindinger er tilstede kalles fettsyren mettet, mens fettsyrer som inneholder minst én dobbeltbinding kalles umettede. Med bare en dobbeltbinding, blir fettsyren kalt énumettet og med flere kalles den flerumettet, eller man bruker samlebegrepet PUFA («polyunsaturated fatty acid»). Konfigurasjonen til dobbeltbindingen kan være *Z* (*cis*) eller *E* (*trans*), men de naturlig forekommende fettsyrene har *Z*-konfigurasjon og er ikke-konjugert, med noen få unntak. Antall dobbeltbindinger avgjør om fettsyren opptrer i fast form eller som olje ved romtemperatur. Umettede fettsyrer klassifiseres ut fra hvor deres første dobbeltbinding er plassert fra omega-enden på karbonkjeden. Fettsyrene som har første dobbeltbinding på karbonatom nummer tre fra omega-enden omtales som en omega-3 fettsyre ( $\omega$ -3). Er dobbeltbindingen plassert på karbonatom nummer 6 kalles den for en omega-6 fettsyre ( $\omega$ -6), og så videre. De mest populære og kjente omega-3 fettsyrene er eikosapentaensyre (EPA) og dokosaheksaensyre (DHA).



**Figur 1.1** – En mettet fettsyre, laurin (øverst), en énumettet  $\omega$ -9 fettsyre, oljesyre (i midten) og en flerumettet  $\omega$ -3 fettsyre, linolsyre (nederst).

Fett og oljer finnes som regel i triesterform av glyserol og kalles triglyserider (Hart et al. 2007). Ulike oljer og fett kan bestå av mange forskjellige typer triglyserider, slik som eksempelvis fiskeolje gjør. Fettsyrer er utgangspunktet for videre metabolisme til en rekke

biologiske viktige produkter som prostaglandiner og leukotriener (Dewick 2009). Et felles navn på forskjellige fettsyrestrukturer og fettlignende forbindelser er lipider.



*Figur 1.2 – Omega-3 fettsyrene, EPA (øverst) og DHA (nederst).*

### 1.2.1 Fettsyrer i menneskekroppen

Lipider er ikke løselig i vann, men løselig i upolare organiske løsningsmidler, noe som gjør det lett å skille dem fra andre vannløselige naturstoffer som karbohydrater, proteiner og nukleinsyrer (Hart et al. 2007). Lipider har mange ulike roller i kroppen, for eksempel brukes de til å lagre energi, samtidig som de er hovedbestanddelen i cellemembraner og har mange roller i celledisignalisering (Tymoczko et al. 2013). Lipider er hydrofobiske eller amfifiliske.

De to viktigste rollene til frie fettsyrer er at de gir energi og at de er byggesteinene i cellemembranene i menneskekroppen. De gir mer energi enn karbohydrater siden de er mer reduserte. Mer energi frigjøres derfor under nedbrytingen til karbondioksid og vann. Selv om det er de frie fettsyrene som gir energi, er konsentrasjonen av dem lav i cellene og blodet, fordi de lagres som triglyserider. De frie fettsyrene er moderat sterke syrer og gjør det umulig for dem å lagres i fri tilstand, siden det vil forstyrre pH-balansen til cellene (Tymoczko et al. 2013).

De mest forekommende lipidgruppene i cellemembranene er fosfolipider, glycolipider og steroider (Tymoczko et al. 2013). Disse og andre komponenter kontrollerer og bestemmer

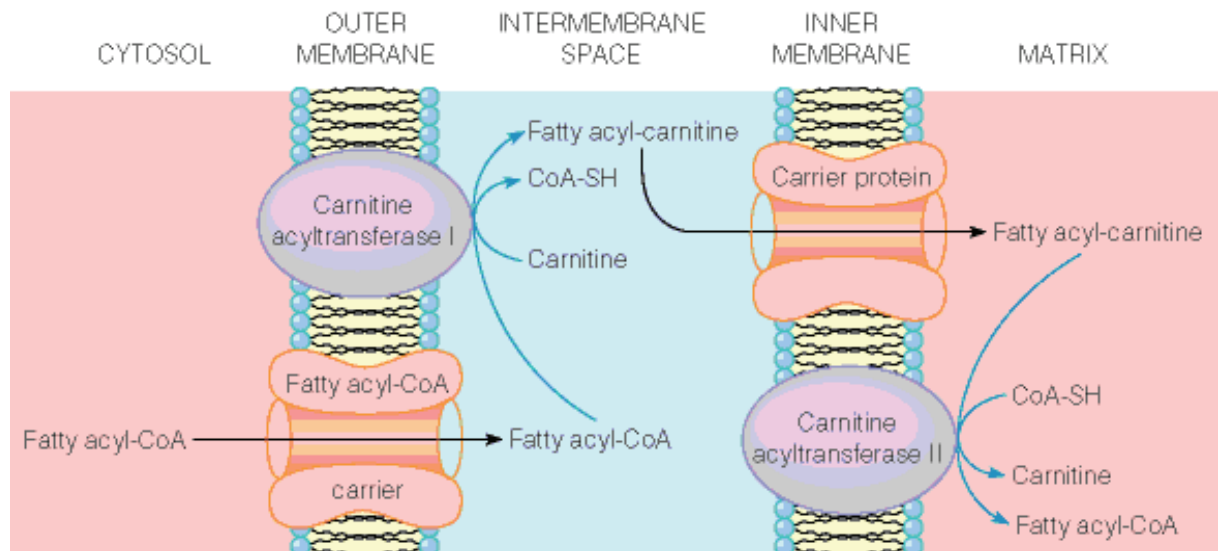
transporten inn og ut av cellen. Fosfolipider har samme struktur som et triglyserid, men har en fosfatgruppe og to fettsyrer i stedet for tre fettsyrer, noe som gir forbindelsen både en hydrofob og hydrofil del. Glycolipider er lipider som er bundet til sukkerstrukturer, mens steroider er molekyler som består av et kondensert og redusert 4-ringsystem bestående av 17 karbonatomer, og har ofte funksjonelle grupper bundet til seg.

### **1.2.2 Nedbrytning av fettsyrer**

Fettsyrer lagres som triglyserider i kroppen, og hydrolysering av disse frigir frie fettsyrer som kan brytes ned, via forskjellige katabolske prosesser ved hjelp av spesifikke enzymer. Den mest kjent prosessen er  $\beta$ -oksidasjon.

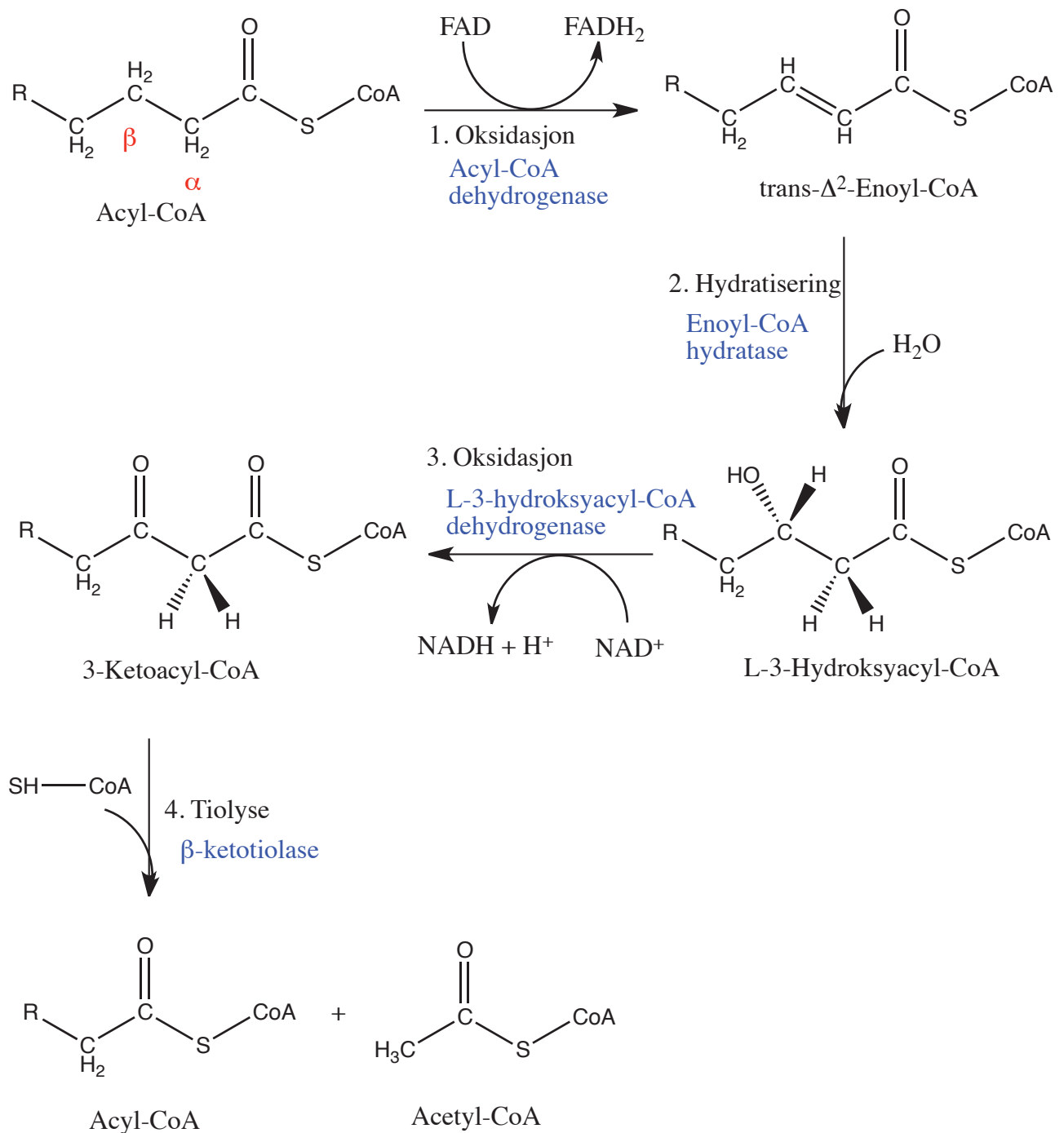
#### **1.2.2.1 $\beta$ -Oksidasjon**

Denne prosessen finner sted i mitokondriens matriks, og den oksiderer fettsyren to karbonatomer av gangen. De frie fettsyrene kan ikke på egen hånd krysse mitokondriets membraner, og må derfor ha assistanse av fettsyre-bindende proteiner. Først aktiveres fettsyrene ved å reagere med coenzym A og danne acyl-CoA. Dette skjer i den ytterste membranen til mitokondriet, hvor reaksjonene katalyseres av acyl-CoA syntetase. Aktiveringen skjer i to trinn der fettsyren først reagerer med ATP for å danne acyladenylat, for deretter å bli angrepet av tiogruppen på coenzym-A som gir acyl-CoA. For å kunne passere den indre membranen, må acyl-CoA reagere med alkoholen karnitin. Acylgruppen overføres fra svovelatomet til hydroksygruppen i karnitin-molekylet for å danne acyl-karnitin. Reaksjonen katalyseres av karnitin acyltransferase. Acyl-karnitin kan migrere gjennom den indre membranen ved hjelp av en translocase. Acylgruppen overføres tilbake til coenzym-A og er klar for oksidasjon. Hele prosessen refereres til som karnitin-syklusen (Tymoczko et al. 2013).



**Figur 1.3** – Karnitinsyklusen (*The Carnitine Cycle*)

Når fettsyrene har passert den indre membranen, oksideres den mettede fettsyren i flere trinn. To karbonatomer frigjøres i hver runde i form av acetyl-CoA, og disse transporteres til sitronsyresyklusen for å oksideres videre til CO<sub>2</sub>. Oksidasjonen skjer på β-karbonatomet i fettsyren, og kalles derfor for β-oksidasjon. Det første steget i hver runde av oksidasjonen er dehydrogeneringen av acyl-CoA til enoyl-CoA som resulterer i en *trans*-dobbeltbinding mellom karbonatom 2 og 3. Det neste steget er hydratisering av *trans*-dobbeltbindingen, og oksidering av hydroksygruppen på β-karbonatomet til en karbonylgruppe. I det siste trinnet angriper tiogruppen på coenzym-A den nye karbonylgruppen, bryter den tidligere α,β-bindingen og acetyl-CoA frigjøres. Denne prosessen gjentas helt til det siste produktet er to acetyl-CoA (Tymoczko et al. 2013).



*Skjema 1.1 -  $\beta$ -Oksidasjon av mettede fettsyrer*

Den vanlige  $\beta$ -oksidasjonen inntreffer bare når fettsyren er mettet og har karbonatomer i partall. Hvis fettsyren har karbonatomer i oddetall, kreves det ytterlige enzymatiske reaksjoner, der sluttproduktene blir propionyl-CoA og acetyl-CoA, i stedet for to acetyl-CoA molekyler. Propionyl-CoA blir omdannet til succinyl-CoA ved hjelp av ulike enzymer, og brytes videre ned i sitronsyresyklusen.



Umettede fettsyrer gjennomgår også  $\beta$ -oksidasjon, men krever flere trinn. Prosessen er helt lik som for mettede fettsyrer bortsett fra noen ekstra trinn når oksidasjonen når første dobbeltbinding som sitter på  $\gamma$ -karbonatomet. Hvis den umettede fettsyren har karbonatomer i oddetall så behandles dobbeltbindingene bare med isomerase, og hvis den har karbonatomer i partall må både isomerase og reduktase være tilstede i prosessen. Enzymene flytter dobbeltbindingen mellom C-4 og C-3 til C-3 og C-2, slik at det dannes en *trans*-dobbeltbinding og oksidasjonen kan fortsette. Prosessen fortsetter normalt til den eventuelt møter en ny *cis*-dobbeltbinding, hvor de ekstra trinnene gjentas.

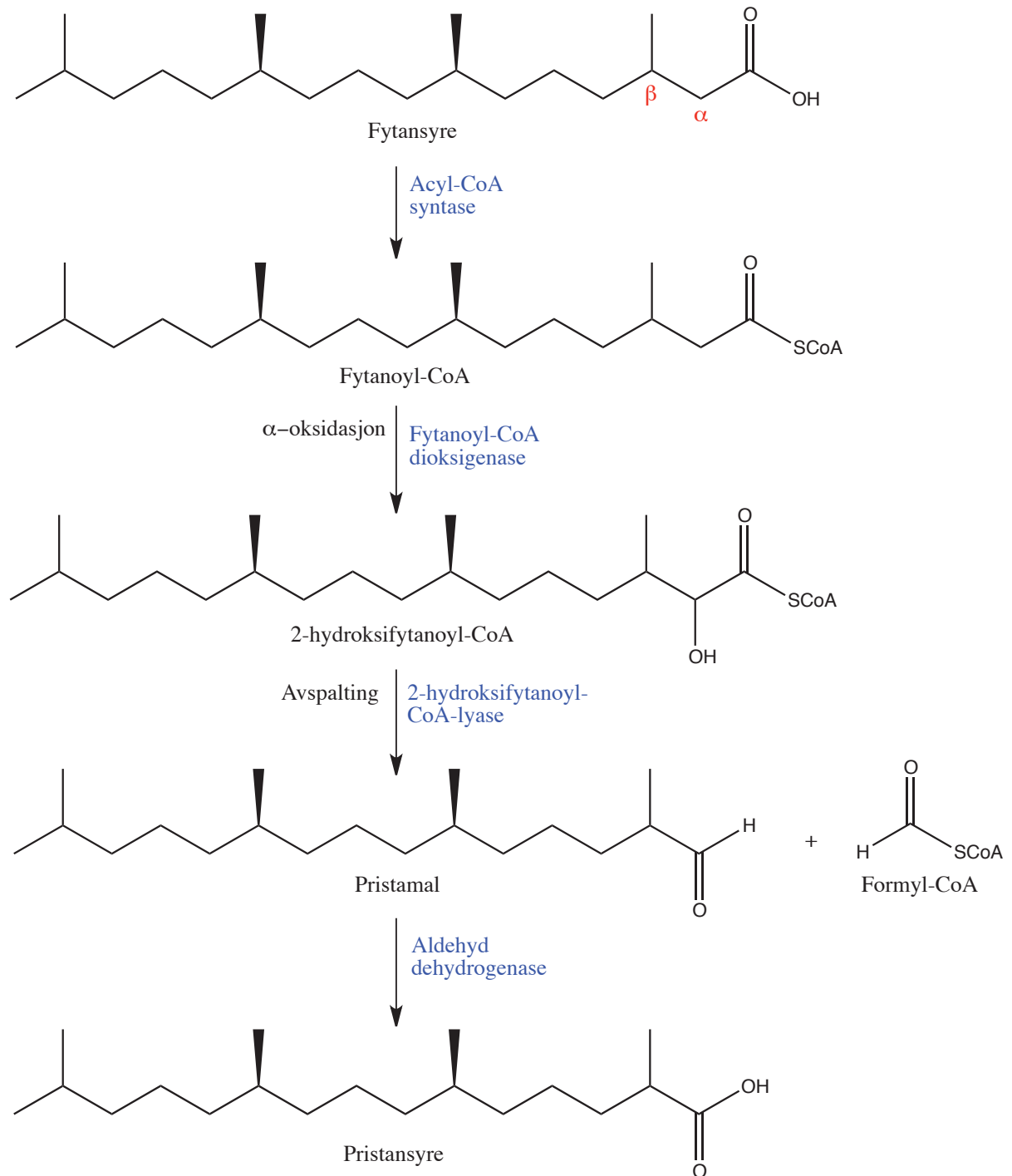
### 1.2.2.2 Peroxisomal $\beta$ -oksidasjon

$\beta$ -Oksidasjon skjer også i organeller kalt peroksisomer (Wanders et al. 2001), som man finner i cytoplasmaen til cellen. Oksidasjonen i peroksisomer har den samme mekanisme som oksidasjonen i mitokondriene: 1) dehydrogenering, 2) hydratisering, 3) dehydrogenering og 4) tiolyse. Selv om det er den samme mekanismen i begge organismene, har oksidasjonen to ulike hensikter. Som nevnt tidligere så bryter  $\beta$ -oksidasjonen i mitokondriene fettsyrene helt ned til acetyl-CoA, slik at de kan brukes videre i sitronsyresyklusen og frigjøre energi, mens oksidasjonen i peroksisomene har til hensikt å korte ned fettsyren med et begrenset antall gjentakelser (Mannaerts et al. 2000). Fettsyrene som forkortes er ofte komplekse og lange (>22 karbonatomer), og etter noen runder med oksidasjon, sendes de videre til mitokondriet for videre nedbrytning i  $\beta$ -oksidasjonen. Eksempler på komplekse fettsyrer er forgrenede fettsyrer, prostaglandiner og leukotriener (Le Borgne & Demarquoy 2012). Peroxisomal oksidasjon frigjør ikke energi, men linkes til mekanismer i avgiftning og biosynteser av biomolekyler.

### 1.2.2.3 $\alpha$ -Oksidasjon

Fettsyrer som har metylgrupper festet til  $\beta$ -karbonatomet undergår ikke  $\beta$ -oksidasjon på grunn av sterisk hindring (Casteels et al. 2003). Disse fettsyrene brytes først ned ved hjelp av  $\alpha$ -oksidasjon og prosessen foregår i peroksisomene. Siden  $\beta$ -karbonatomet er substituert, blir oksidasjonen gjort på  $\alpha$ -karbonatomet og gir avspaltning av et karbon i form av formyl-CoA, som igjen brytes ned til format og karbondioksid (Casteels et al. 2003). Prosessen er

enzymatisk katalysert. Fettsyren vil oksideres videre av  $\beta$ -oksidasjonen når fettsyren ikke inneholder steriske hindringer lenger.

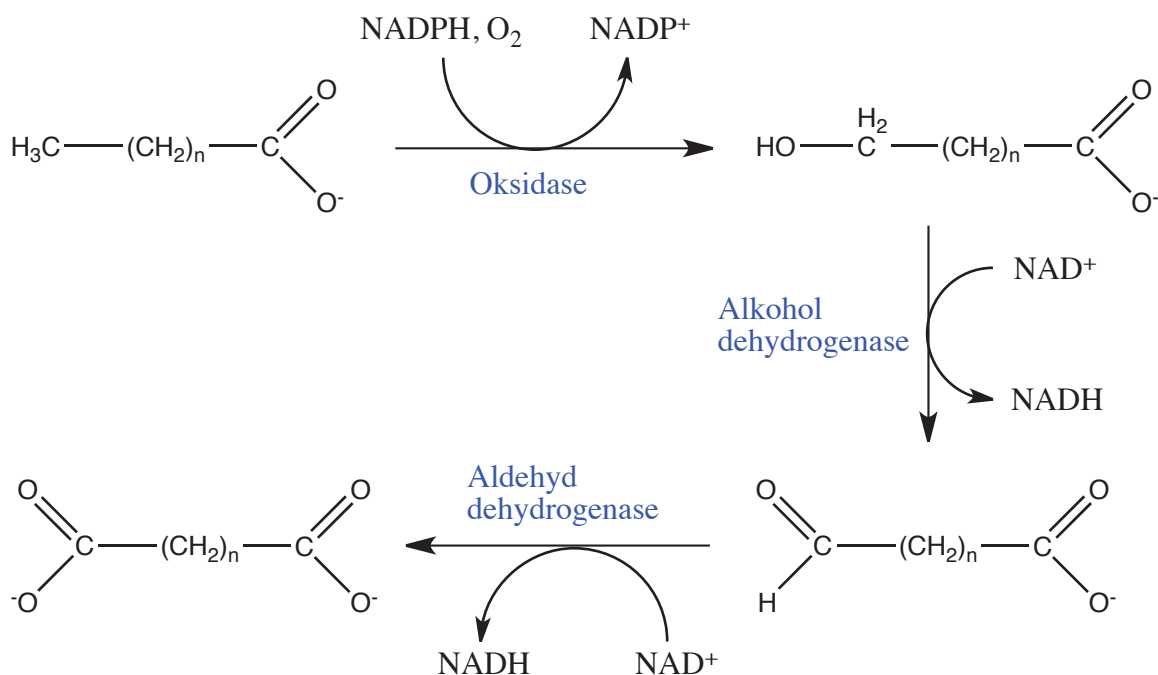


*Skjema 1.2 -  $\alpha$ -Oksidasjon av fytansyre, en terpensyre som brytes ned likt som forgrenede fettsyrer*

### 1.2.2.4 ω-Oksidasjon

En mindre, men viktig oksidasjonsprosess av fettsyrer er ω-oksidasjon. Prosessen skjer i endoplasmatisk retikulum (ER) og starter fra omega-enden på fettsyren (King 2013). Omega-oksidasjon er spesielt viktig for mennesker med Refsums sykdom og "X-linked adrenoleukodystrophy (X-ALD)", siden andre oksidasjonsveier ikke fungerer slik som i friske mennesker (Wanders et al. 2011). Medium- og langkjedete fettsyrer er foretrukket i denne prosessen.

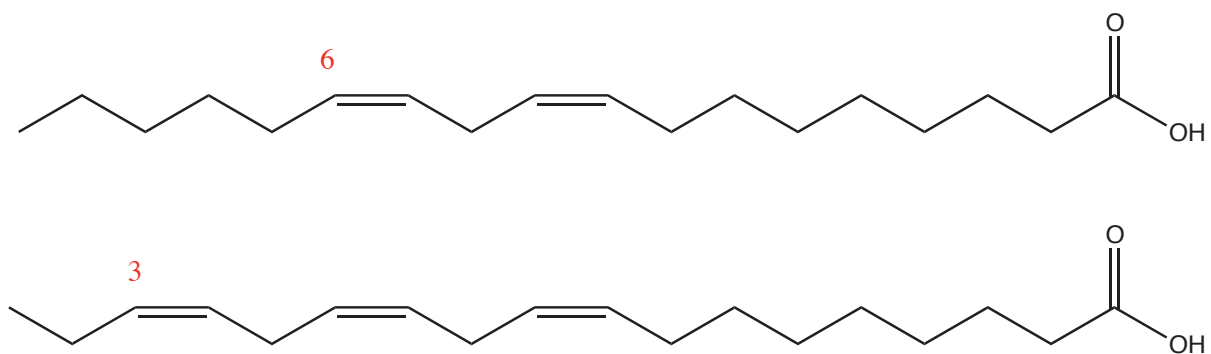
Som nevnt begynner oksidasjonen i omega-enden og skjer i tre trinn; 1) Hydroksylering av ω-karbonet, 2) oksidasjon av hydroksygruppen til et aldehyd, og 3) oksidasjon av aldehyd til karboksylsyre-gruppe. Karboksylsyregruppene i begge ender reagerer med coenzym-A og oksideres videre i β-oksidasjonen (Voet & Voet 1995). Prosessen er katalysert av enzymene oksygenase og to dehydrogenaser.



*Skjema 1.3 – De første trinnene i ω-oksidasjonen (Croston 2001).*

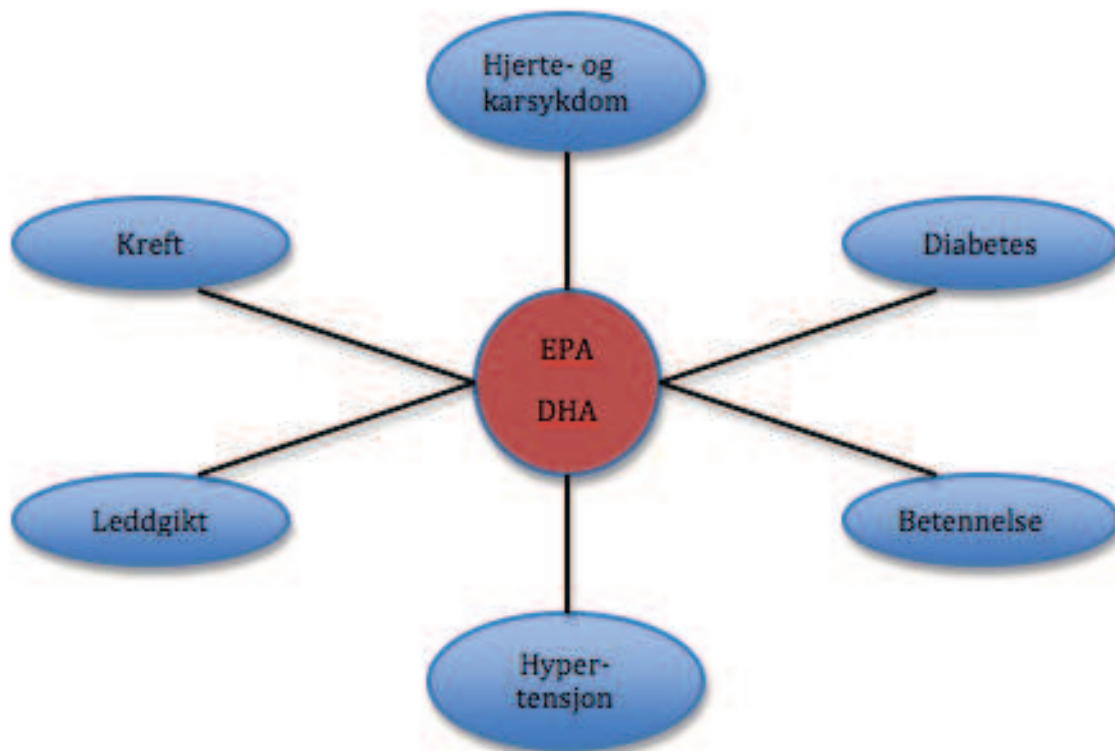
### 1.2.3 Fettsyrer og helse

Fett er en essensiell komponent i menneskers diett (Burr & Burr 1929), og menneskekroppen kan selv produsere de fettsyrene den trenger med unntak av linolsyre (18:2n-6) og linolensyre (18:3n-3) (Roche 1999). Linolsyre (18:2n-6) og linolensyre (18:3n-3) er essensielle fettsyrer fordi de er forløpere for dannelsen av andre viktige flerumettede fettsyrer, som blant annet eikosapentaensyre (EPA, 20:5n-3) og dokosaheksaensyre (DHA, 22:6n-3) som kroppen trenger. Biosyntesene av EPA og DHA er imidlertid svært lav i kroppen, noe som gjør at det er viktig å få tilført større mengder av dem gjennom kosten.



*Figur 1.4 – De essensielle fettsyrene, linolsyre (øverst) og linolensyre (nederst)*

I de siste tiårene har interessen for flerumettede fettsyrer økt betydelig og det er veletablert at PUFAer er essensielle for normal vekst og utvikling, blant annet ved at de spiller en viktig rolle i å forhindre og behandle hjerteinfarkt (Harper & Jacobsen 2001; Hu et al. 2001), hypertensjon (Liu et al. 2011), diabetes (Itoh et al. 2006), leddgikt (Greuenwald et al. 2002), kreft (Dyck et al. 2011), og andre inflammatoriske og autoimmune sykdommer (Jones et al. 2003). De umettede fettsyrene som har fått mest oppmerksomhet er DHA og EPA. Som nevnt tidligere klassifiseres begge som omega-3 fettsyrer og kommer primært fra fiskeoljer fra fet fisk (Covington 2004).



**Figur 1.5** – Helsemessige forbedringer ved inntak av EPA og DHA

Både omega-3 og omega-6 er viktig for menneskers helse, og som allerede nevnt har de positive virkninger i menneskekroppen, men forholdet mellom disse må korrespondere med hverandre. Forholdet mellom omega-6 og -3 i inntak har endret seg betydelig de siste hundre årene, og forholdet har gått fra ca. 1:1 til 15-17:1 (Simopoulos 2002). Denne endringen skyldes nye produkter med høyt innhold av omega-6 fettsyrer og endringer i menneskers matvaner. Det er bevist at høyt inntak av omega-6 fettsyrer kan øke sjansene for kroniske lidelser, hjerte- og karsykdommer, kreft, overvekt, autoimmune sykdommer, leddgikt, astma og depresjon (Simopoulos 2002). Anbefalt forhold mellom omega-6 og omega-3 er 1:1 til 4:1 avhengig av hvilke helseforutsetninger man har.

Helseeffekten av omega-3 fettsyrene DHA og EPA omtales ofte generelt der fordelene ved inntak inntreffer når begge fettsyrene konsumeres, men det er ikke nødvendigvis tilfellet. DHA har vist seg viktig for vekst og utvikling av hjernen hos spedbarn (Horrocks & Yeo 1999), og klassifiseres som en nødvendig fettsyre i spedbarns kost (Makrides et al. 1993). DHA er den dominerende fettsyrekomponenten i den grå materien i hjernen og i retinalvevet, og det har derfor vært nærliggende å tro at DHA er viktig for celledisfunksjon og mental helse. Flere

studier har blitt gjennomført og det har blitt påvist med tester på spedbarn at DHA alene forbedrer den mentale utviklingen, og læringsvansker reduseres (Stordy 2000). Hos voksne mennesker assosieres et for lavt inntak av DHA med Alzheimer sykdom og Schizofreni (Horrocks & Yeo 1999), og ved et tilstrekkelig inntak virker det som unipolar depresjon reduseres kraftig (Hibbeln & Salem 1995).

### **1.2.3.1 Lipoksygenaser og syklooksygenaser**

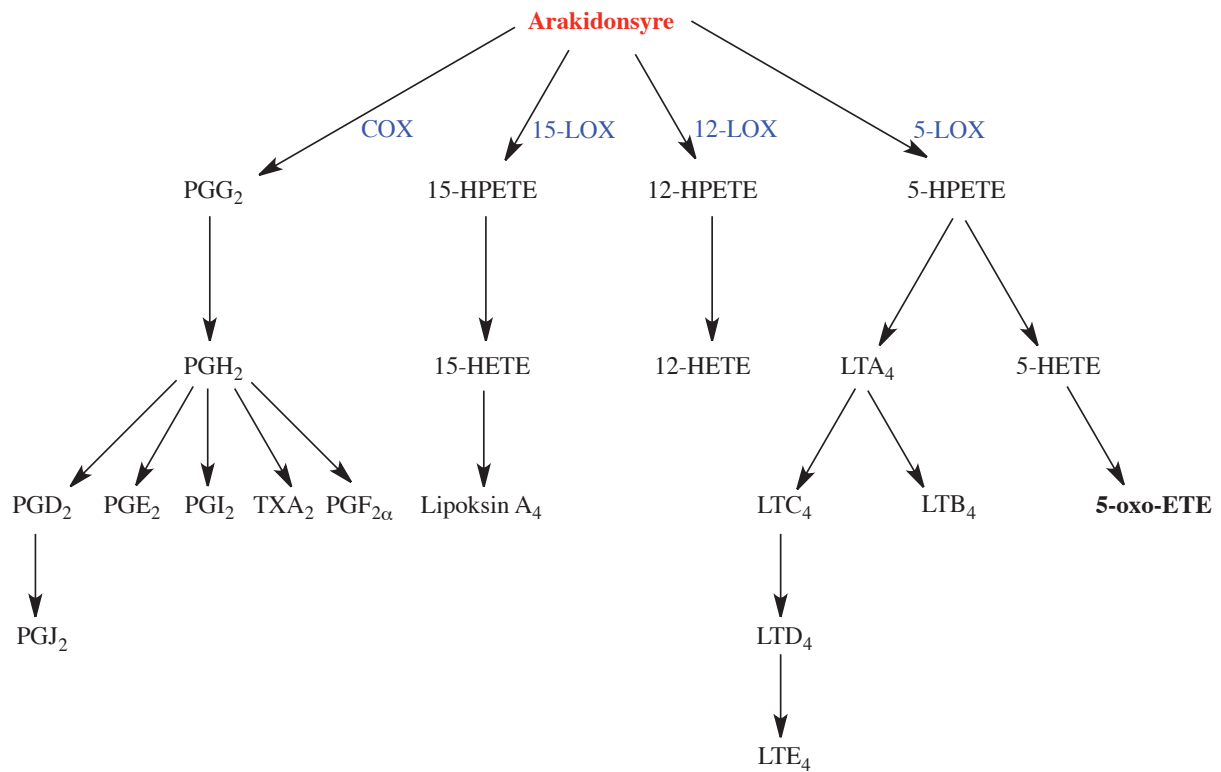
Lipoksygenaser (LOX) og syklooksygenaser (COX) er to enzymfamilier som er involvert i initiering, vedlikehold og modulering av inflammatoriske prosesser, samt i aldring, apoptose og synaptisk aktivitet (Chabot et al. 1998; Gilroy et al. 2004; Li et al. 1997; Maccarrone et al. 2001; Manev 2000; Uz et al. 1998). De katalyserer dannelsen av ulike forbindelser fra fettsyrer, som eikosanoider (Phillis et al. 2006).

Lipoksygenaser er enzymer av ikke-hem jernholdige dioksygenaser som katalyserer oksidasjon av flerumettede fettsyrer som inneholder en pentadien-struktur (Li et al. 2007). De finnes allment i planter, fungi og dyr. Lipoksygenasene i planter varierer fra de i dyr, men nomenklaturen er den samme, der enzymene gis nummer etter hvilke karbonatom som får tilført oksygenet (nummerering fra alfa-enden) og LOX tilføyes i slutten av navnet. Stereokonfigurasjon henvises til ved å bruke *R* eller *S*. Eksempelvis katalyserer 12-LOX reaksjonen på karbonatom 12 i arakidonsyre (Brash 1999). Lipoksygenasene gir blant annet opphav til hydroksylerte derivater, som leukotriener og lipoksiner, som har vist seg å ha anti-inflammatorisk effekter i menneskekroppen. De mest kjente lipoksygenasene i kroppen er 5-LOX, 12-LOX og 15-LOX (Phillis et al. 2006).

Syklooksygenaser er hem-holdige bifunksjonelle enzymer med to katalytiske sentra. De finnes i pattedyr og deles inn i tre grupper; COX-1, COX-2 og COX-3 (Phillis et al. 2006).

Syklooksygenaser katalyserer dannelsen av hovedsakelig prostaglandiner og tromboksaner. Sammenlignet med lipoksygenasene katalyserer syklooksygenasene forbindelser som gir farmakologiske virkninger, men mange av de induserer betennelse, feber og allergi i stedet for å motvirke dem. Biosyntesen og aktiviteten av prostaglandinene kan lett hindres av ikke-steriode anti-inflammatoriske legemidler (NSAIDer), som aspirin og ibuprofen (Dewick 2009). Ulempen med disse stoffene er at de ikke diskriminerer mellom COX-1 og COX-2, og siden begge typene deltar i mange normale fysiologiske prosesser gir blokkeringen av

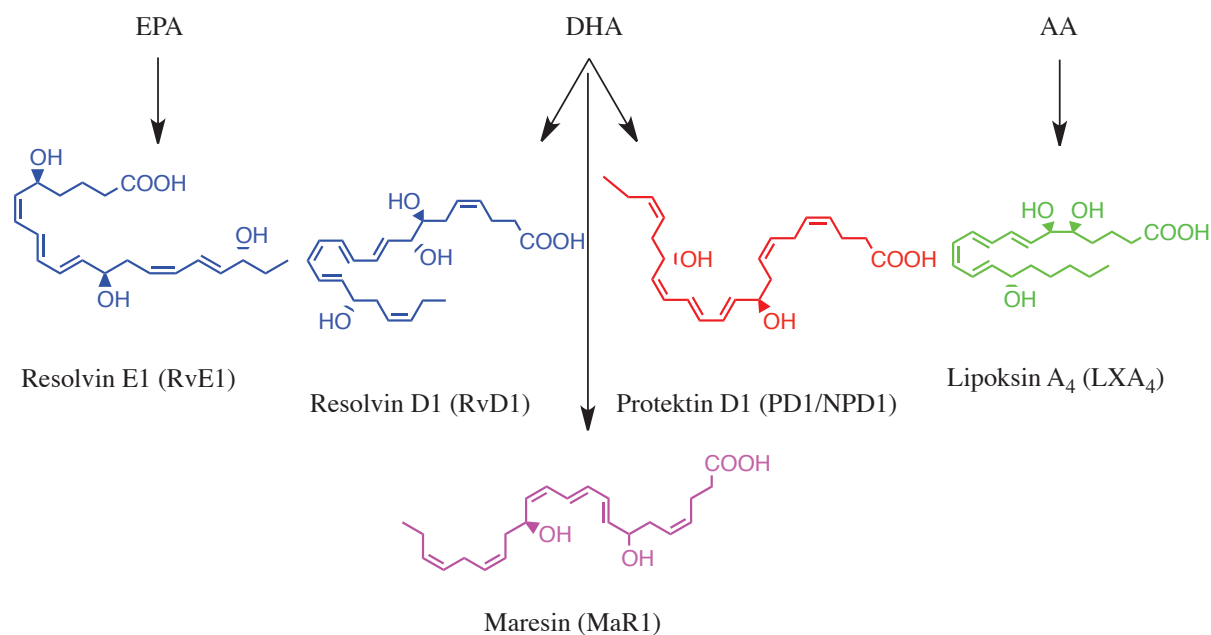
produksjonen av prostaglandiner mange bivirkninger som sår dannelse, blødning og perforering i mageregionen (Williams et al. 1999).



**Skjema 1.4** – Produkter fra biosyntesen av arakidonsyre, PG-prostaglandiner, TX-tromboksaner, HPETE-hydroksyperoksyekosatetraensyre, HETE-hydroksyeikosatetraensyre, ETE-eikosatetraensyre, LT-leukotriener (Calder 2006), med LOX og COX som katalysatorer.

### 1.2.3.2 Hydroksylerte og oksiderte fettsyrederivater

Som allerede nevnt så innehar EPA- og DHA-fettsyrene positive helsemessige egenskaper for oss mennesker. I senere tid har det også vist seg at deres oksiderte derivater spiller en signifikant rolle i menneskers helse, siden de har anti-inflammatoriske og immunregulerende egenskaper (Christie 2013). EPA er forløper for resolviner og DHA er forløper for både resolviner og protektiner/neuroprotektiner, i tillegg til maresiner (se skjema 1.5). Omega-6 fettsyren arakidonsyre (AA) gir opphav til anti-inflammatoriske derivater kalt lipoksiner. Et felles begrep for disse fettsyrederivatene er lipid-mediatorer.

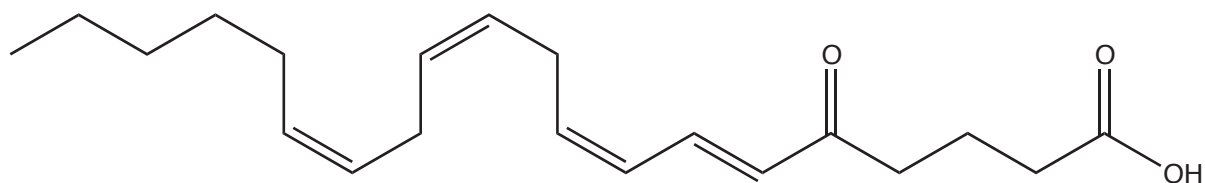


**Skjema 1.5** – Eksempler på fettsyrederivater (Bannenberg & Serhan 2010).

Disse lipid-mediatorene aktiverer en rekke biosyntetiske reaksjonsveier hvor lipoksygenaser og syklooksigenaser er involvert (Serhan & Petasis 2011), der de forebygger og gir en anti-inflammatorisk effekt i menneskekroppen. Det har blitt forsket mye på enzymatisk oksidasjon av fettsyrer (Bannenberg et al. 2007; Bannenberg & Serhan 2010) noe som har ledet til identifikasjon av nye forebyggende lipid-mediatorer, som E-serie-resolvinene derivert fra EPA (RvE1 og RvE2), D-serie-resolvinene (RvD1, RvD2, RvD3, RvD4) og protektiner (PD1) derivert fra DHA (Serhan & Petasis 2011).

En av de viktigste og mest aktive lipid-mediatorene er 5-okso-ETE ((6*E*,8*Z*,11*Z*,14*Z*)-5-oksoeikosa-6,8,11,14-tetraensyre) som stammer fra oksidasjonen av 5-lipoksygenaseproduktet 5-HETE (5*S*-hydroksey-6,8,11,14-eikosatetraensyre) (Erlemann et al. 2004), der forløperen er arakidonsyre. 5-okso-ETE produseres under forhold med inflammatorisk stress, og forbindelsen knyttes til behandling av den inflammatoriske sykdommen astma (Jones 2005). Forbindelsen har flere viktige effekter, den forhindrer blant annet celledød og økt celledeling i enkelte kreftceller (Grant et al. 2009; O'Flaherty et al. 2005), og den utøver kjemotaktisk effekt på inflammatoriske leukocytter, inkludert eosinofile, nøytrofile og basoile granulocytter (Powell et al. 1993; Sturm et al. 2005). Professor Trond Ulven har rapportert en vellykket prosedyre for syntese av 5-okso-ETE, med relative gode utbytter (Tyagi et al. 2012).





**Figur 1.6** – Forbindelsen 5-okso-EETE fra arakidonsyre

#### 1.2.4 Marine fettsyrekilder

Umettede fettsyrer finner man både i vegetabiliske og animalske organismer, men hovedsakelig blir omega-3 fettsyrene konsumert gjennom fisk og sjømat (Meyer et al. 2003). Marine organismer inneholder mange varianter av lipider, noe som skyldes deres karakteristiske leveforhold (Berge & Barnathan 2005).

Marine svamper er rike fettsyrekilder og inneholder mange C24-C30 fettsyrer (Bergquist et al. 1984; Lawson et al. 1984; Litchfield et al. 1976), i tillegg til de kortere fettsyrene C14-C22, som man typisk finner i andre organismer. Det ser ut som det er bakterier som syntetiserer de lange fettsyrene fra de kortere. Opprinnelsen til disse bakteriellagde fettsyrene kommer fra deres diett eller de store populasjonene av mikroorganismer som lever i symbiose i kroppen til svampen (Gillan et al. 1988). Disse fettsyrene er gjerne noe uvanlig forgrenet og mange av dem opptrer med fosfatgrupper.

Fisk er hovedkilden til DHA og EPA, men mengden av de ulike fettsyrene varierer mye fra art til art. Fettsyreinnholdet er høyt i fet fisk som makrell, sild og laks, mens i mager fisk som flyndre og torsk er innholdet lavere (Schmidt et al. 2001). Få av disse fiskesortene brukes til å lage tran og kapsler til kommersielt bruk, på grunn av at det sees på som sløsing med ressurser, siden man ikke kan bruke restene av fisken til noe, etter pressing. I dag er det derfor vanlig å bruke småfisk, som ansjos og sardiner (*Möller's Fiskeolje*), og ikke torskelever som man opprinnelig brukte først i tran. Oljen oppkonsentreres og gir høy og ren konsentrasjon av omega-3 fettsyrene (*About Epax AS*).

I det siste tiåret har krill blitt populært som kilde for omega-3 fettsyrer, på grunn av mengden krill tilgjengelig i havene og siden det regnes som bærekraftig fangst. Samtidig viser det seg at innholdet av EPA er mye høyere i krill på grunn av at dietten er forskjellig (Tou et al. 2007). En stor del av fettsyrene i krillen opptrer som fosfolipider (vannløselig), istedenfor

triglyserider som i fisk, og det spekuleres i om dette kan være en fordel når det kommer til opptak av fettsyrene i kroppen selv om studiene som hittil er presentert ikke gir noen endelig konklusjon på dette (Massrieh 2008).

### **1.2.5 Auto-oksidasjon av fettsyrer**

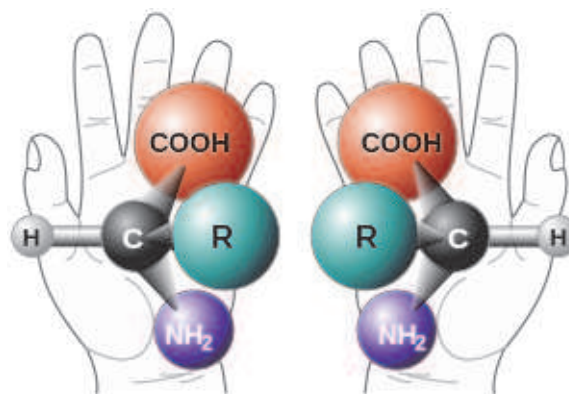
Umettede fettsyrer er følsomme overfor luft, så ved direkte eller indirekte kontakt med molekylært oksygen, undergår fettsyren en radikalprosess, en prosess som ofte omtales som auto-oksidasjon. Selve prosessen skjer i tre trinn. I det første trinnet dannes reaktivt oksygen ved at oksygen i grunntilstand (triplett-oksygen) absorberer UV-lys og blir eksitert til det reaktive singlett-oksygenet. Dette regnes som et diradikal og reagerer med den umettede fettsyren oftest på metylengruppen mellom to dobbeltbindinger. Da dannes hydroperoksider og peroksyfrie radikaler, noe som kalles startfasen. Det andre trinnet kalles formeringsfasen, og her reagerer de ustabile produktene, dannet i første trinn med de andre lipidene. Dette skaper en friradikal-kjedereaksjon hvor fettsyren brytes ned. I det sistes trinnet, termineringen, stopper reaksjonen opp, siden de konverterte fettsyrene har blitt ikke-reaktive forbindelser som amider, alkoholer, hydrokarboner, aldehyder, ketoner og lignende (Koon 2009).

For å unngå auto-oksidasjon av umettede fettsyrer, tilsettes ofte antioksidanter. De oppfører seg som antagonister i oksidasjonen, og de kan fungere på forskjellige måter; de kan være reduserende reagenser, forhindre frie radikal-reaksjonen, stoppe dannelsen av singlett oksygen eller de kan inaktivere metaller som favoriserer prosessen (Simic 1981). Enklere tiltak for å redusere nedbrytningen av fettsyrene, er å lagre fettsyrene i en lukket beholder et mørkt og kaldt sted der de blir utsatt for minimalt med lys, luft og varme, siden disse komponentene akselererer nedbrytningsprosessen dramatisk (*Rancidity in Foods* 2009).

## **1.3 Kiralitet**

Kiralitet er fenomenet der et molekyl opptrer i to former som er hverandres speilbilder og molekylene kalles da for enantiomerer (Delphin), og de forholder seg til hverandre som en høyre og venstre hånd. Disse molekylene har ulik struktur i et av sine stereogene senter, der det ene har *R*-konfigurasjon og det andre *S*-konfigurasjon. Den lille ulikheten i molekylene kan gjøre at de innehar ulike egenskaper og oppførsel. En blanding av disse med forholdet 1:1 kalles rasemat.

Menneskekroppen har evnen til å skille mellom to enantiomerer, noe som skyldes at levende organismer er bygd opp av kirale byggesteiner som aminosyrer og karbohydrater som i naturen eksisterer i bare én enantiomerform (Andersen et al. 2003). Dette gir reseptorer og enzymer en spesifikk tredimensjonal struktur, som kan ha ulik kompatibilitet med de to enantiomerene.



**Figur 1.7** – Kirale forbindelser  
(Chirality (chemistry) 2013)

Av legemidlene som finnes på markedet i dag, er 55 %

kirale. Klinisk gevinst av enantiomerform fremfor rasemat kan være minimal for enkelte kirale legemidler, men svært viktig for andre. I beste fall er kun den ene formen aktiv, mens enantiomeren er helt inaktiv. Rene enantiomere former gir uansett da mulighet for reduksjon av total dose legemiddel. I tillegg får man ofte mindre bivirkninger, færre interaksjoner, økt farmakodynamisk og farmakokinetisk forutsigbarhet og bedre samsvar mellom serumkonsentrasjon og effekt (Stephen 2002; Wainer 2001). Eksempler på enantiomerer i legemidler som har vist seg å ha ulike effekter i menneskekroppen er ketamin hvor S-enantiomeren er har en bedøvende effekt, mens R-enantiomeren forårsaker hallusinasjoner. Et annet eksempel er penicillamine der S-enantiomeren virker mot artritt mens R-enantiomeren er et mutagen (Wainer 2001).

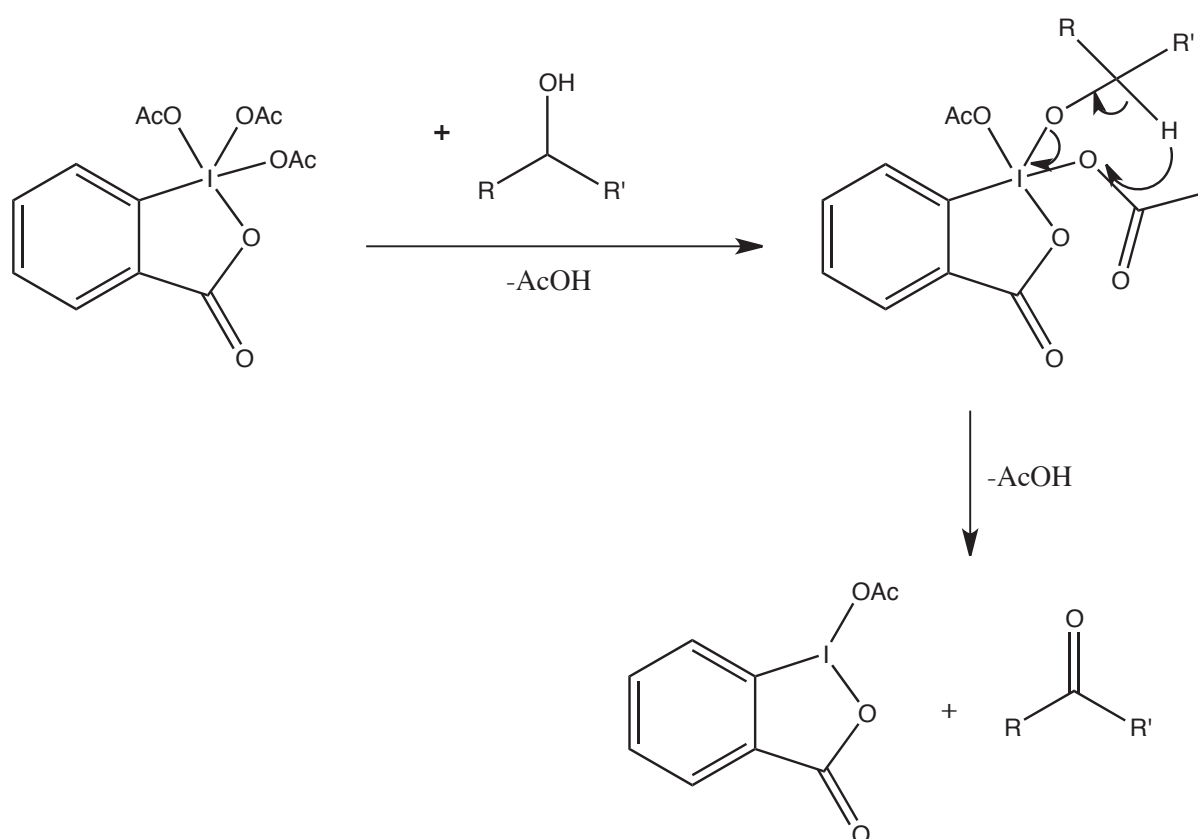
## 1.4 Kjemisk syntese

Kjemisk syntese er all kunstig framstilling av kjemiske forbindelser, fra enkle til mer kompliserte molekyler. Mange reaksjoner er allment kjent blant kjemikere og brukes når man skal syntetisere kjente eller ukjente forbindelser.

### 1.4.1 Dess-Martin oksidasjon

Oksidasjon er en reaksjon som øker oksidasjonstallet av et atom i et molekyl eller ion. I organisk kjemi innebærer dette for eksempel reaksjoner hvor C-H-bindinger erstattes av C-O-bindinger (Hart et al. 2007). Hvis ett atom/molekyl oksideres, blir et annet redusert, det vil minke oksidasjonstallet til det andre reagenset. Et felles navn på oksidasjons og reduksjons reaksjoner, er redoksreaksjoner.

Dess-Martin oksidasjon er kalt opp etter to amerikanske kjemikere, Daniel Benjamin Dess og James Cullen Martin. Dess og Martin utviklet reagenset som brukes i oksidasjonsreaksjonen, som logisk nok også er oppkalt etter dem selv, Dess-Martin-periodinan. Periodinan er en bisyklisk jodforbindelse, og er et mildt og selektivt reagens for oksidasjon av primære og sekundære alkoholer til henholdsvis aldehyder og ketoner (Dess & Martin 1983). Reaksjonen er favorisert i forhold til lignende reaksjoner siden man unngår problemer som lang reaksjonstid, vanskelig opparbeiding av forbindelsen og store mengder med overskudd av oksidanten.



*Skjema 1.6 – Dess-Martin-oksidasjon*

### 1.4.2 Halolaktonisering

Halolaktonisering er en reaksjon som gir ringdannelse og addisjon av et halogen. Jodlaktonisering er en slik type reaksjon som danner et lakton ved addisjon av oksygen og jod. Den første som fant ut hvilke fordeler halolaktonisering hadde, var M. J. Bougault (Bougault 1904; Bougault 1908a; Bougault 1908b; Bougault 1911) og etter hvert Corey (Corey & Wright 1988; Wright et al. 1987), der begge forstod at jodlaktoner var nyttige

intermediater for videre synteser. Tradisjonelt sett brukes  $KI_3$  eller  $I_2$  og  $NaI$  eller  $KI$  sammen med  $NaHCO_3/KHCO_3$  (Corey et al. 1980; Corey et al. 1983). Nylig har det blitt rapportert en mindre tidkrevende modifikasjon hvor man bruker  $I_2$  og  $\gamma$ -collidine (Itoh et al. 2006).

Halolaktonisering er en spesifikk sykliseringsreaksjon og det noe uventede er at jodkomplekset adderes kun til dobbeltbindingen som står nærmest syregruppen når flere dobbeltbindinger er til stede i molekylet. Grunnen til det er mest sannsynlig karboksylsyregruppen, for når dobbeltbindingen flyttes lenger vekk fra syregruppen, så skjer det ingen reaksjon (Ranganathan et al. 2004). Reaksjonsbetingelsene er enten kinetisk eller termodynamisk kontrollert.



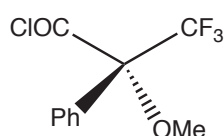
**Skjema 1.7** – Jodlaktonisering av en 4,5-umettet fettsyre

### 1.4.3 Moshers syreklorid

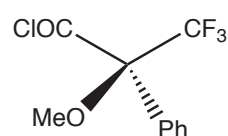
Ved syntetisering av forbindelser med akirale reagenser får man en rasemisk blanding der både *R*- og *S*-konfigurasjonen er til stede (1:1) (Hart et al. 2007). Med begge to formene til stede er det umulig å bestemme hvilke biologiske egenskaper de forskjellige enantiomerene eller diastereomerene har. Derfor er det ønskelig å få en stereospesifikk reaksjon, slik at forbindelsen kan analyseres ordentlig og egenskaper kan utredes. For alkoholer (og aminer) er Moshers syreklorid,  $\alpha$ -Metoksy- $\alpha$ -(trifluorometyl)fenylacetyl klorid (*R* eller *S*) et reagens som er utviklet for å kunne bestemme mengden av enantiomerer i en blanding. Denne er derivert fra Moshers syre,  $\alpha$ -Metoksy- $\alpha$ -trifluorometylfenyl syre (*R* eller *S*). Syrekloridet av Mosher-syren foretrekkes siden den har bedre reaktivitet enn selve Mosher-syren (Ward & Rhee 1991). Disse forbindelsene er ment for analyse med  $^1H$  eller  $^{19}F$  NMR.

Fordelene med å bruke Moshers syre til å bestemme forholdet mellom enantiomerer av en alkohol er mange; 1) utmerket separasjon av både proton- og fluor-NMR-signal av diastereomerene, 2) tilstedeværelsen av fluor tillater bruk av fluor NMR, som vises i en del

av spekteret med få eller ingen andre resonanser, 3) den er stabil, selv under varierte forhold, som surt og basisk miljø, eller temperatur, 4) lett å danne derivater med påfølgende rasematopløsning, 5) dens flyktighet gjør det mulig for små molekyler å bli isolert med preparativ GLC, og 6) den kan eventuelt bestemme absolutt konfigurasjon av primære og sekundære aminer og karbinoler (Dale et al. 1969).



(*S*)-3,3,3-trifluoro-2-metoksy-2-fenylpropanoyl klorid,  
(*S*)-Moshers syreklorid

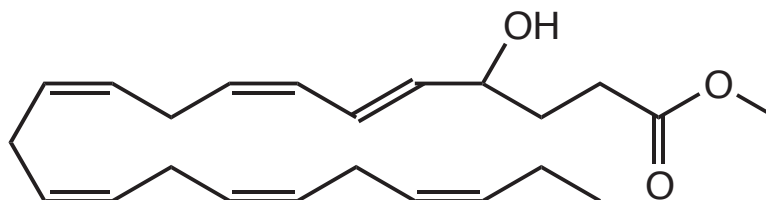


(*R*)-3,3,3-trifluoro-2-metoksy-2-fenylpropanoyl klorid,  
(*R*)-Moshers syreklorid

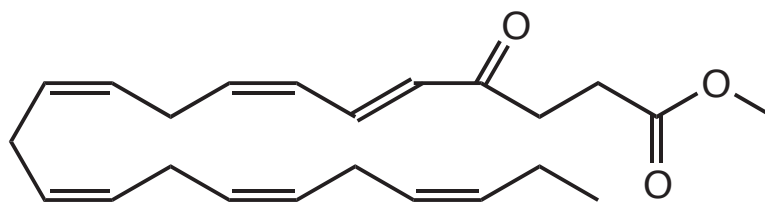
**Figur 1.8** – Moshers syreklorider

## 1.5 Mål og bakgrunn for oppgaven

Målene for masteroppgaven var å lage det ene målmolekylet (*5E,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z*)-metyl-4-hydroksydokosa-5,7,10,13,16,19-heksaenat (**4**) som rasemat og som ren forbindelse. Etter dette ønsket vi å oksidere forbindelsen **4** til det andre målmolekylet (*5E,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z*)-metyl-4-oksodokosa-5,7,10,13,16,19-heksaenat (**5**) og dermed utvikle en syntesemetode også for denne forbindelsen, og videre lage forbindelse **5** som rasemat og kjemisk rent stoff. Det siste målet vårt var å utvikle en HPLC-analysemetode for å skille de to enantiomerene av forbindelse **4**, enten ved å derivatisere med Moshers syreklorid eller ikke, avhengig av hvor god separasjonene av enantiomerene ble uten derivatisering.



**Figur 1.9** – Målmolekyl **4**, (*5E,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z*)-metyl-4-hydroksydokosa-5,7,10,13,16,19-heksaenat



**Figur 1.10** – Målmolekyl **5**, (5E,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-metyl-4-oksodokosa-5,7,10,13,16,19-heksaenat

Bakgrunnen for oppgaven er kjenneskapen til flere oksiderte forbindelser av umettede fettsyrer, som innehar ulike anti-inflammatoriske egenskaper, slik som (6E,8Z,11Z,14Z)-5-oksoeikosa-6,8,11,14-tetraensyre (5-okso-ETE) fra arakidonsyre. Dokosaheksaensyre er forløperen til flere molekyler som resolviner, protektiner og maresiner, som innehar nyttige farmakologiske egenskaper, og kan virke betennelsesdempende. Det er derfor interessant å se om (5E,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-metyl-4-oksodokosa-5,7,10,13,16,19-heksaenat (**5**) kan ha lignende egenskaper. Det er også interessant å se om (5E,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-metyl-4-hydroksydokosa-5,7,10,13,16,19-heksaenat (**4**) og 5-((1E,3Z,6Z,9Z,12Z,15Z)-oktadeka-1,3,6,9,12,15-heksaen-1-yl)dihydrofuran-2-(3H)-on (**3**) kan ha noen biologiske aktiviteter.

## 2. RESULTATER OG DISKUSJON

---

### 2.1 Introduksjon

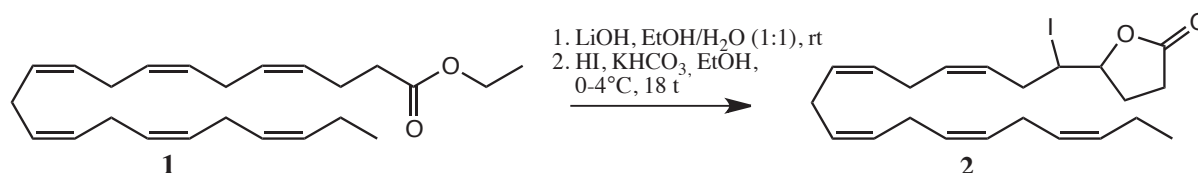
Denne oppgaven omhandler fem ulike reaksjoner og prosedyrer, der målet er å syntetisere forbindelsene **4** og **5**. Utgangsmaterialet er fettsyren DHA, og forbindelsene **2** og **3** brukes som intermediater for videre syntese. Målmolekyl **5** syntetiseres ved oksidasjon av målmolekyl **4**, samtidig som målmolekyl **4** er utgangspunktet for Mosher-derivatiseringen.

Begge målmolekylene består av en karbonkjede med 22 karbonatomer, med en metylgruppe i omega-enden og en estergruppe i alfa-enden, i stedet for den opprinnelige karboksylsyregruppen. Molekylene består av seks dobbeltbindinger der den ene har *E*-, mens de resterende har *Z*-konfigurasjon.



## 2.2 Syntese av dihydro-5-((3Z,6Z,9Z,12Z,15Z)-1-jodoktadekapentaenyl)furan-2(3H)-on

### Reaksjonsskjema



### Resultater og diskusjon

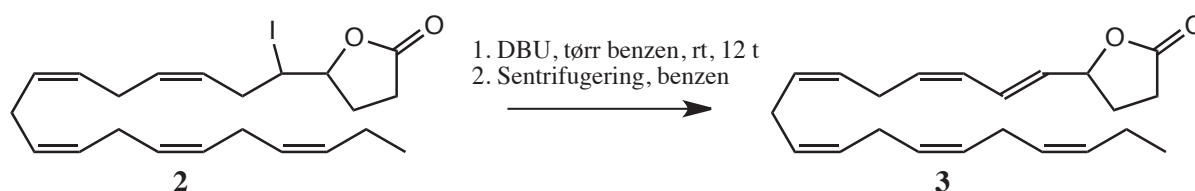
Syntesen av dihydro-5-((3Z,6Z,9Z,12Z,15Z)-1-jodooctadekapentaenyl)furan-2(3H)-on er basert på en allerede publisert metode (Langseter et al.), hvor man bruker vanlig hydrolyse først, og deretter addisjon av et jodkompleks, som til slutt gir jodlakton **2**.

Reaksjonen ble utført flere ganger og det beste utbyttet ble 93%. Det var ingen store problemer som oppstod underveis, bortsett fra at reaksjonen var tidkrevende.

Prosedyren bruker større mengder av reagenser enn det ble brukt i dette forsøket. Grunnen til dette er at vi opplevde jodlaktonet som forholdsvis ustabil og vanskelig å lagre over lengre perioder.

## 2.3 Syntese av 5-((1E,3Z,6Z,9Z,12Z,15Z)-oktadeka-1,3,6,9,12,15-heksaen-1-yl)dihydrofuran-2-(3H)-on

### Reaksjonsskjema



### Resultater og diskusjon

Prosedyren for syntesen av 5-((1E,3Z,6Z,9Z,12Z,15Z)-oktadeka-1-yl,3,6,9,12,15-heksaen-1-yl)dihydrofuran-2-(3H)-on er basert på en allerede publisert metode (Tyagi et al. 2012). DBU ble brukt som base og ga en eliminasjonsreaksjon, slik at en *trans*-dobbeltbinding ble dannet. På grunn av problemer med NMR-instrumentet er det ikke mulig å stadfeste koblingskonstantene til protonene i *trans*-dobbeltbindingen, men fra spektrene av alkoholester **4** og ketoester **5** har dobbeltbindingen en koblingskonstant på 15,1 Hz, noe som også gjelder for lakton **3**.

På grunn av lave utbytter av forbindelse **3** ble ulike modifikasjoner prøvd. Først ble Itohs metode forsøkt (Itoh et al. 2006). De benytter 10 % vandig HCl og vasking med etylacetat, men det viste seg at denne metoden ikke ga noe særlig forbedrede resultater (43 % utbytte), samtidig som det ble mer tidkrevende på grunn av flere trinn. Derfor gikk vi tilbake til den opprinnelige prosedyren med bare DBU og tørr benzen.

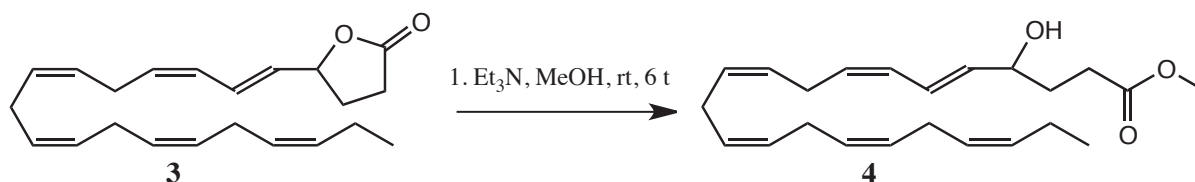
Det ble også prøvd å gå direkte videre til syntesen av 4-hydroksy-metylesteren, uten flashkromatografi, fordi det var nærliggende å tro at forbindelsen satt igjen på kolonnen eller reagerte til andre forbindelser siden det isolerte utbyttet etter kromatograferingen ble kraftig redusert sammenlignet med et ganske bra råutbytte og tidligere rapportert utbytte (Itoh et al. 2006). Dessverre virket det utifra NMR-spektrene som om reaksjonene videre da ble ufullstendige siden karakteristiske topper for forbindelsene manglet. Derfor bestemte vi oss for å gå tilbake til den opprinnelige prosedyren, der det endelige utbyttet ble på 62 %.

Etter reaksjonen ble avsluttet og løsningsmiddelet ble dampet av, ble forbindelse **3** rensset med flashkromatografi (silica), siden man så i NMR-spektrene at der var en del biprodukter og forurensninger før rensing. Opprinnelig ble det brukt 10-15 % etylacetat i heksan, men 10-15 % etylacetat i benzen ble også prøvd i håp om at utbyttet skulle øke. Resultatene viste at det ikke ble noen stor forskjell i utbytteverdiene, så det ble bestemt å gjøre rensingen med heksan, siden det er mindre helsefarlig enn benzen.  $R_f$ -verdien ble målt til 0,29 i 15 % etylacetat i heksan.

Analyse av lakton **3** på HPLC med C18- kolonne ga en retensjonstid på ca. 8 minutter og en renhet på 65 %.

## 2.4 Syntese av (5*E*,7*Z*,10*Z*,13*Z*,16*Z*,19*Z*)-metyl-4-hydroksydokosa-5,7,10,13,16,19-heksaenat

### Reaksjonsskjema



### Resultater og diskusjon

Prosedyren for syntesen av (5*E*,7*Z*,10*Z*,13*Z*,17*Z*,19*Z*)-4-hydroksydokosa-5,7,10,13,16,19-heksaensyre er basert på en allerede publisert metode (Itoh et al. 2006). Metoden bruker basen Et<sub>3</sub>N for å hydrolysere og åpne ringen i lakton **3**.

Opprinnelig ble prosedyren (Tyagi et al. 2012) for karboksylsyren brukt, men etter gjentatte mislykkede forsøk, med lave utbytter, byttet vi prosedyre. Vi fant ut at metylesteren ville være mer stabil enn hydroksysyren, siden sistnevnte lettere vil omdannes tilbake til  $\gamma$ -laktonet. Det viste seg at molekylet med ester-gruppen ga bedre resultater (48 % utbytte) enn forbindelsen med syregruppen (33 % utbytte).

Ut ifra NMR-spektrene så vi at det var mange biprodukter og forurensninger i reaksjonsblandingen før rensing. Dette var på forhånd antatt siden det var nevnt i litteraturen. Blandingen ble testet med tynnsjikt-kromatografi, med heksan eller benzen som løsningsmiddel, og det var tydelig at benzen ville være best til flashkromatografi av forbindelse **4**. Det ble også prøvd å deaktivere kolonnen med 3% Et<sub>3</sub>N, men det viste seg at det ikke gjorde noe stor forskjell for utbyttet, da mye stoff ble dessverre igjen på kolonnen likevel.

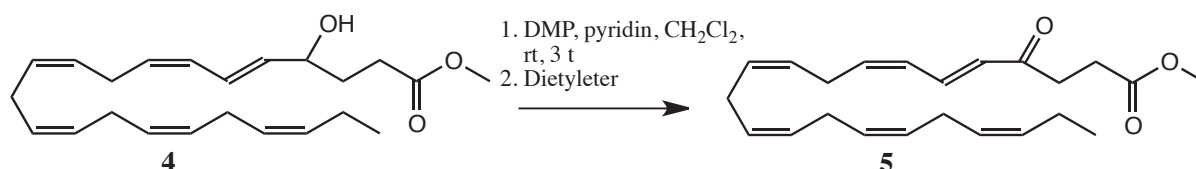
Analyse av alkoholesteren på HPLC med C18-kolonne ga en retensjonstid på nesten 9 minutter og renhet på 95 %. Etter C18-kolonnen ble en kiralt OD-H kolonne og heksan/isopropanol brukt for å se om vi kunne separere de to enantiomerene av alkoholesteren **4**. Først prøvde vi uten gradientløsning, og varierte bare prosenten av isopropanolen og

flowen. Det ble prøvd med 0,9 mL/min og 0,8 % iPrOH, 1 mL/min og 1 % iPrOH, og 0,5 mL/min og 1 % iPrOH. Ingen av disse betingelsene ga den ønskede baselinjeseparasjonen så vi bestemte oss for å prøve den samme kolonnen med gradientløsning, med stigende prosent av isopropanol. Flere ulike gradientløsninger ble prøvd med forskjellig «flow», og det mest vellykkede resultatet var hvor %-arealet av toppene ble 44:46. Metoden ga ikke baselinjeseparasjon, men med mer tid og forbedring av betingelsene, er det sannsynlig at det er vil være mulig å få den ønskede baselinjeseparasjonen. De samme parameterne ble brukt på alkoholesteren av EPA, hvor de ga full baselinjeseparasjon (Primdahl 2013).

Den kirale kolonnen, AD-H, ga ikke noen bedre resultater. Faktisk var det tvert imot. Det samme oppsettet for gradientløsning ble brukt, og det ga lenger retensjonstid og dårligere separasjon. To hastigheter ble brukt, 1 mL/min og 0,7 mL/min, der forskjellen i «flow» ikke ga noe veldig forbedrende resultat.

## 2.5 Syntese av (5E,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-metyl-4-oksodokosa-5,7,10,13,16,19-heksaenat

### Reaksjonsskjema



### Resultater og diskusjon

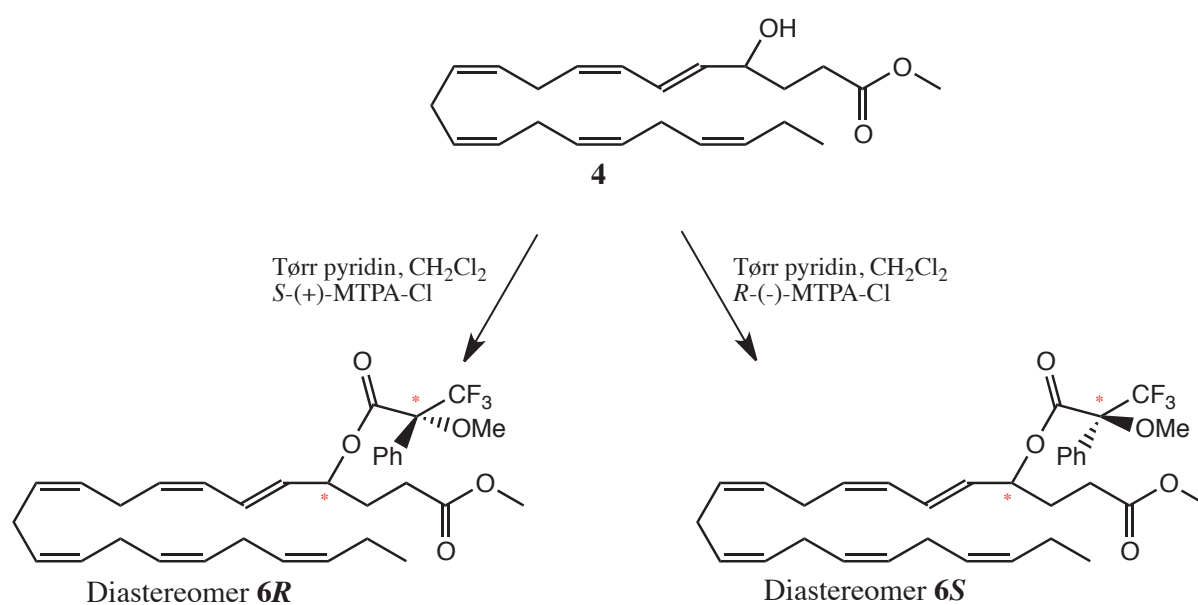
Prosedyrer for syntesen av (5E,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-metyl-4-oksodokosa-5,7,10,13,16,19-heksaenat er basert på en publisert metode for arakidonsyre (Tyagi et al. 2012), hvor man bruker Dess-Martin periodinan til å oksidere alkoholgruppen i forbindelse **4**.

Forsøket gikk bra uten store problemer, og ingen andre prosedyrer ble prøvd. Det eneste som var problematisk var rensingen med flashkromatografi, siden vi også her fikk lave utbytter sammenlignet med råutbyttet, og problemet ser ut til å ligge i selve kolonnerensingen. Det ble brukt tyynsjiktkromatografi for å teste hvilket løsningsmiddel som egnet seg best av heksan og benzen, og det viste seg at heksan klart var best, og med en R<sub>f</sub>-verdi på 0,25. Ulike prosent av etylacetat i heksan ble prøvd, og det viste seg at det var 0-15 % etylacetat i heksan som ga best separasjon. Det endelige utbyttet ble på 35 %.

Analyse av ketoester **5** på HPLC med C18- kolonne ga en retensjonstid på ca. 10 minutter og renhet på 98 %.

## 2.6 Syntese av (5*E*,7*Z*,10*Z*,13*Z*,16*Z*,19*Z*)-metyl 4-(((*R*)-3,3,3-trifluoro-2-metoksy-2-fenylpropanoyl))oksy)dokosa-5,7,10,13,16,19-heksaenat (*R*-MTPA ester) og (5*E*,7*Z*,10*Z*,13*Z*,16*Z*,19*Z*)-metyl 4-(((*S*)-3,3,3-trifluoro-2-metoksy-2-fenylpropanoyl))oksy)dokosa-5,7,10,13,16,19-heksaenat (*S*-MTPA ester)

### Reaksjonsskjema



### Diskusjon og resultater

Prosedyren for syntesen av (5*E*,7*Z*,10*Z*,13*Z*,16*Z*,19*Z*)-metyl 4-(((*R*)-3,3,3-trifluoro-2-metoksy-2-fenylpropanoyl))oksy)dokosa-5,7,10,13,16,19-heksaenat og (5*E*,7*Z*,10*Z*,13*Z*,16*Z*,19*Z*)-metyl 4-(((*S*)-3,3,3-trifluoro-2-metoksy-2-fenylpropanoyl))oksy)dokosa-5,7,10,13,16,19-heksaenat er hentet fra publisert litteratur hvor prosedyren utføres på forbindelsen (1*R*,2*S*,5*R*)-2-isopropyl-5-methylcyclohexanol (Hoye et al. 2007), hvor man derivatiserer alkoholgruppen til en Mosher-ester.

Syntesen av diastereomer **6R** og diastereomer **6S** ble forsøkt én gang, og det så ut som reaksjonene hadde vært vellykkede etter første forsøk. Forbindelsene ble renset med flashkromatografi (silica, 2,5 % etylacetat i heksan). Fraksjonene ble undersøkt ved hjelp av

tynnsjikt-kromatografi underveis, med 25 % etylacetat i heksan.  $R_f$ -verdien for *R*-Mosher-esteren var 0,63 og 0,64 for *S*-Mosher-esteren. Utbyttet for *R*-Mosher-esteren ble 57 % og for *S*-Mosher-esteren ble det 67 %.

Som allerede nevnt, er den mest vanlige analysemetode av Mosher-derivatene  $^1\text{H}$  NMR og  $^{19}\text{F}$  NMR, men vi prøvde også å analysere forbindelsen med HPLC og UV-spektrofotometer.

$^1\text{H}$  og  $^{13}\text{C}$  NMR-spektrene tyder på at reaksjonen har vært vellykket. Dette var spesielt tydelig i  $^{13}\text{C}$  NMR-spekteret som viste omtrent dobbelt så mange topper som alkoholester **4**, og man ser karbonatomene i esterbindingene ved ca. 165,8 ppm og 172,9 ppm som fire topper. Disse refererer til henholdsvis Mosher-esterbindingen og esterbindingen i alfa-enden av fettsyren, noe som tyder på diastereomerer. Vi håpet at vi skulle se protonet bundet til samme karbonatomet som Moshergruppen ved ca. 4,5 ppm i protonspekteret, men det gjør vi dessverre ikke. Derfor kan man ikke si med full sikkerhet at reaksjonen faktisk var vellykket. Protonet har fått et mye høyere skift enn antatt, og mest sannsynlig har det et like høyt skift som alkenprotonene, og er integrert i multipletten ved 5,2-5,6 ppm. Ved å sammenligne spekteret med spekteret av alkoholester **4** ser man at antallet protoner i multipletten har økt med ett proton.

Selv om det ene protonet ikke er synlig i protonspekteret, så kan man se på toppene som tilhører protonene i *trans*-dobbeltbindingen ved 5,9 ppm og 6,6 ppm at det er en annerledes splitting i multiplisiteten og der er flere topper tilstede sammenlignet med protonspekteret til alkoholesteren. Ved 6,6 ppm ser det ut som multiplisiteten er to doble dubletter, mens det ved 5,9 ppm er to tripletter. Dublettene ved 6,6 ppm representerer hvert av protonene bundet til karbonatomene i *trans*-dobbeltbindingen som er nærmest *cis*-dobbeltbindingen, mens de to triplettene representerer protonene bundet til karbonatomene i *trans*-dobbeltbindingen nærmest Mosher-estergruppen. Man har altså to forbindelser tilstede, én for hver av diastereomerene. Man kan ikke bestemme hvem av dem som har hvilke konfigurasjon, uten videre analyse. Hver av gruppene i de to multipliettene har et forhold på omtrent 1:1, noe som er forventet siden vi burde ha like mengder av hver diastereomer. Koblingskonstanten til protonene i *trans*-dobbeltbindingen er 15,1 Hz, noe som bekrefter at det er en *trans*-dobbeltbinding tilstede i molekylet.



HPLC-parameterne for alkoholester **4** på C18-kolonne ble prøvd ut på den Mosher-deriverte forbindelsen diastereomer **6R**. Disse betingelsene fungerte ikke i det hele tatt, og det Mosher-deriverte molekylet ville ikke eluere selv etter lenger tid og måtte til slutt vaskes ut. Den samme forbindelsen ble også prøvd på den kirale kolonnen OD-H, hvor den eluerte allerede etter seks minutter, og ga en altfor bred og ”tailed” topp. Dette kan tyde på at disse molekylene ikke egner seg til analyse på HPLC med C18-kolonne, eller at en helt ny metode må utvikles.

I HPLC-spektrene av alkoholester **4** ser man ofte en liten topp rett før selve alkoholesteren kommer ut. Det er vanskelig å si hva dette er, siden det ikke har blitt gjort noe ordentlig analyse på den, men det kan være at noe av forbindelse **4** har *cis*-dobbelbinding og ikke *trans*-dobbelbinding på karbon 5 og 6. Den lille toppen kan også skyldes urenheter fra utgangsstoffet, DHA-EE, siden det har en renhet på 97%. Den samme toppen finner man i spekteret for ketoester **5** også. Lakton **3** har ingen synlig topp, men det kan være at mengden er så liten, og at den blir oppkonsentrert i de senere reaksjonene.

UV-spekter for forbindelsene **4**, **6** og Moshers syreklorid ble tatt opp for å bekrefte at reaksjonen hadde vært vellykket, siden det er en sjansen for at en eliminasjonsreaksjon kan skje i stedet for derivatisering. Verdien på  $\lambda_{\max}$  for Mosher-derivatet var 238 nm, noe som tyder på to konjugerte dobbelbindinger (diene) i stedet for tre konjugerte dobbelbindinger (triene), som ville gitt en høyere  $\lambda_{\max}$ . En eliminasjonsreaksjon kan derfor utelukkes.

### 3. OPPSUMMERING OG VEIEN VIDERE

---

Jeg fikk syntetisert de to forbindelsene **4** og **5** som rasemater, og ut i fra spektrene ser det ut som derivatiseringen av (5*E*,7*Z*,10*Z*,13*Z*,16*Z*,19*Z*)-metyl-4-hydroksydokosa-5,7,10,13,16,19-heksaenoat med Moshers syreklorid var vellykket. Videre skal rasematene av forbindelsene **3**, **4** og **5** sendes til biologisk testing i Boston, USA, for å se om de kan ha biologiske aktiviteter.

Det ble dessverre for liten tid til å utvikle en vellykket analysemetode på HPLC til forbindelse **4**, siden det viste seg å ta mye lenger tid enn antatt. Metoden burde definitivt brukes mer tid på og andre parametere burde testes ut. Flere ulike kirale kolonner burde benyttes, noen som ikke er altfor lipofile. I tillegg bør man prøve andre løsningsmidler enn heksan/isopropanol, der man bytter ut n-heksan med sykloheksan, heptan eller/og pentan. Det burde også prøves ut om det blir bedre separasjon ved å løse forbindelsen i det minst polare løsningsmiddelet, i dette tilfellet heksan. En analytisk metode for alkoholsyren burde også undersøkes og sammenlignes for å se om det er lettere å separere den enn alkoholester **4**.

En ny HPLC-metode må utvikles for å kunne skille diastereomer **6*R*** og diastereomer **6*S***, siden parameterne for forbindelse **4**, med både kiral- og C18-kolonne, ikke fungerte for dem. Derimot hvis en metode for separasjon av enantiomerene av **4** utvikles, vil det ikke være nødvendig å bruke derivatisering i det hele tatt og en metode trenger heller ikke da å bli utviklet.

## 4. KONKLUSJON

---

Syntesene av forbindelse **4** og **5** var vellykket og begge ble laget med kjemisk renhet på henholdsvis 95 % og 98 %. Det eneste problemet som oppstod underveis var mindre utbytter enn ønsket etter rensing. En vellykket analysemetode med HPLC med C18-kolonne for lakton **3**, alkoholester **4** og ketoester **5**, med optimale betingelser og retensjonstider, ble utviklet. Disse parameterne kunne derimot ikke brukes på den Mosher-deriverte alkoholesteren, diastereomer **6R**. Metoden for separasjon av enantiomerene av alkoholester **4** ble ikke ferdigutviklet, men ga en indikasjon på at de antagelig kan separeres på en kirale kolonne, under de rette forholdene. Det ble forsøkt å separere Mosher-derivatet, diastereomer **6R**, med både en kirale- og C18-kolonne, men det ga ingen gode resultater. På C18-kolonne ville ikke Mosher-derivatet eluere, og med den kirale kolonne OD-H eluerte forbindelsen altfor tidlig, allerede etter seks minutter, og ga en bred og ”tailed” topp. Det er det mulig at HPLC er en egnet analysemetode for Mosher-derivater av fettsyrer, men en ny og annerledes HPLC-metode må i så fall utvikles fra bunnen av for å oppnå bedre resultater.

## 5. EKSPERIMENTELT

---

### 5.1 Generelle bemerkninger til forsøkene

Løsningsmidlene som ble benyttet var av teknisk kvalitet, og ved behov for tørre løsningsmidler ble forseglete flasker med septum benyttet, og løsningsmiddelet ble tatt ut med sprøyte. Det viste seg etter hvert at ikke alle løsningsmidlene var like enkle å dampe av. Spektrene vil derfor vise antydninger til forurensninger av heksan ( $^1\text{H}$  NMR  $\delta$  0,88 og 1,26, og  $^{13}\text{C}$  NMR  $\delta$  14,14 , 22,70 og 31,64) og etylacetat ( $^1\text{H}$  NMR  $\delta$  2,05 , 4,14 og 1,26, og  $^{13}\text{C}$  NMR  $\delta$  21,04 , 171,36 , 60,49 ,14,19).

Som allerede nevnt tidligere, er fettsyren DHA og dens derivater sensitive ovenfor lys, luft og varme. Enkle forhåndsregler ble tatt ved å tilføre nitrogen, pakke aluminiumsfolie rundt kolbene med reaksjonsblanding, og å oppbevare løsningene i tette flasker i kjøleskap ved ca. 4°C. Alkoholesteren ble oppbevart i fryser ved -80°C, siden den er meget ustabil og lett omdannes tilbake til  $\gamma$ -lakton.

Til tynnsjikt-kromatografi ble Merck TLC Silica-gel 60 F254 benyttet, og UV-lys og kaliumpermanganatløsning ble brukt til framkalling av platene.

Til søylekromatografien ble Silica-gel 60 (0,040-0,063 mm) fra Merck benyttet.

I forsøkene ble det brukt ulike instrumenter for å verifisere at riktig forbindelse hadde blitt syntetisert. HPLC-analysene ble utført ved Universitetet i Oslo, mens NMR-spektrene ble tatt opp på Universitetet for Miljø- og Biovitenskap. Instrumentene som ble brukt var:

Proton- og karbonspektrene ble i hovedsak tatt opp med et Bruker Ascend 404-instrument. Det ble brukt like betingelser for alle forsøkene; 25 °C,  $\text{CDCl}_3$  som løsningsmiddel, 400 MHz for  $^1\text{H}$  NMR og 100 MHz for  $^{13}\text{C}$  NMR.

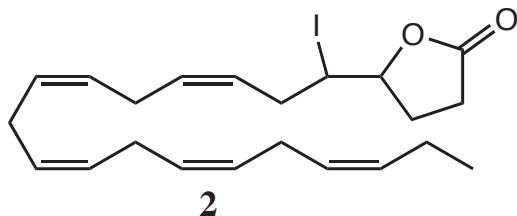
Instrumentet som ble brukt til å separere og måle retensjonstid, var Agilent Technologies 1200 Series Instrument med diode array detector set ved 254 nm. Det ble brukt en C18-stasjonærfase-kolonne (Eclipse XDB-C18 5µm 4,6mm × 150mm), og to kirale kolonner (Chiralcel OD-H 4,6mm × 250mm og Chiralpak AD-H 5µm 4,6mm × 250mm).

IR-spektrene ble tatt opp på et Perkin-Elmer FT-IR instrument (Spectrum BX, 50/60 Hz).

For massespektrometrianalyser, vanlig- og høyttopløslige spekter, ble Autospec Ultima-instrumentet fra Micromass Ltd. brukt.

UV-spektrene ble tatt opp med instrumentet Biochrom Libra S32PC.

## 5.2 Syntese av dihydro-5-((3Z,6Z,9Z,12Z,15Z)-1-jodoktadekapentaenyl)furan-2(3H)-on

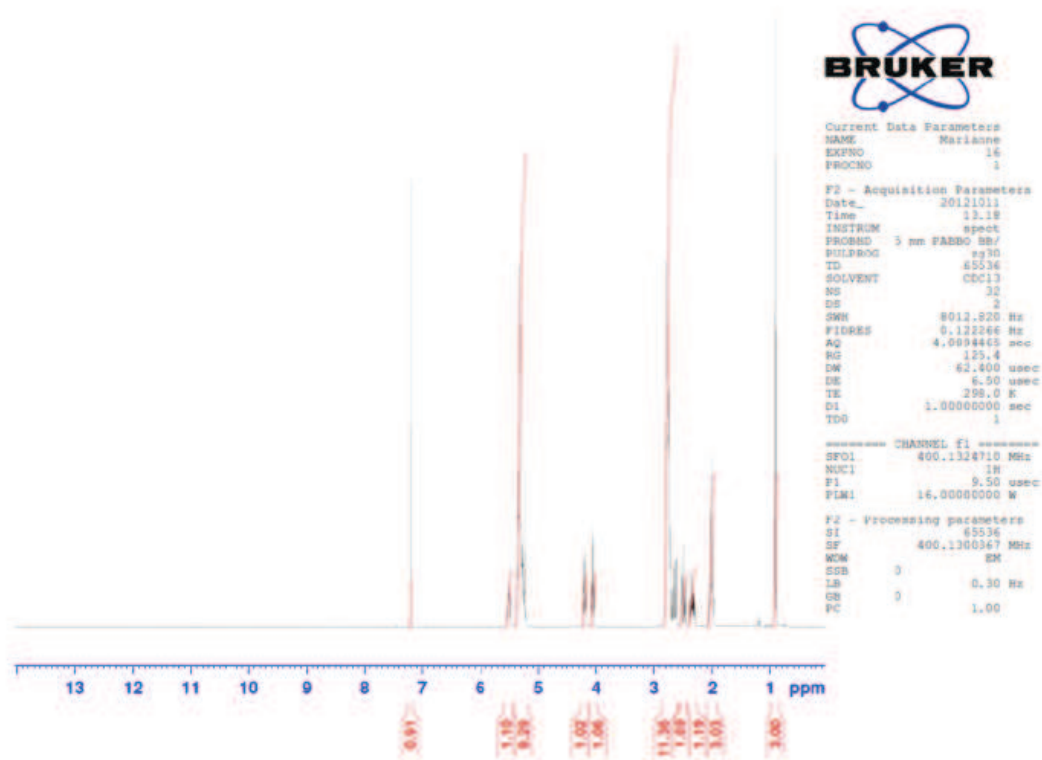


En blanding av DHA-etylester **1** (2,5 g, 7 mmol), LiOH•H<sub>2</sub>O (1,5 g, 35 mmol) EtOH•H<sub>2</sub>O (1:1) (15 mL) ble satt på røring ved romtemperatur i 4 timer. Prøven ble testet med TLC for å sjekke om etylesteren hadde blitt omdannet. Vann (22,5 mL) ble tilsatt, rundkolben ble dekket med aluminiumsfolie og kjølt ned til 0 °C i isbad. HI (2,5 mL) ble tilsatt til løsningen, etterfulgt av mettet KHCO<sub>3</sub> (0,5-2 mL) for å gjøre løsningen nøytral. I<sub>2</sub> (5,3 g, 21 mmol) ble løst i EtOH (8,8 mL) og tilsatt dråpevis til reaksjonsblandingen. Prøven ble satt på røring i mørket i 18 timer ved en temperatur på 0-4 °C. Reaksjonen ble stoppet ved å tilsette en mettet vandig løsning av Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (25 mL). Fast NaCl ble tilsatt til metning og produktet ble ekstrahert med heksan (3×15 mL). Deretter ble produktet vasket med saltvann (2×15 mL), tørket (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), og evaporert under redusert trykk for å gi forbindelse **2** som en gul olje (3,0 g, 93 %).

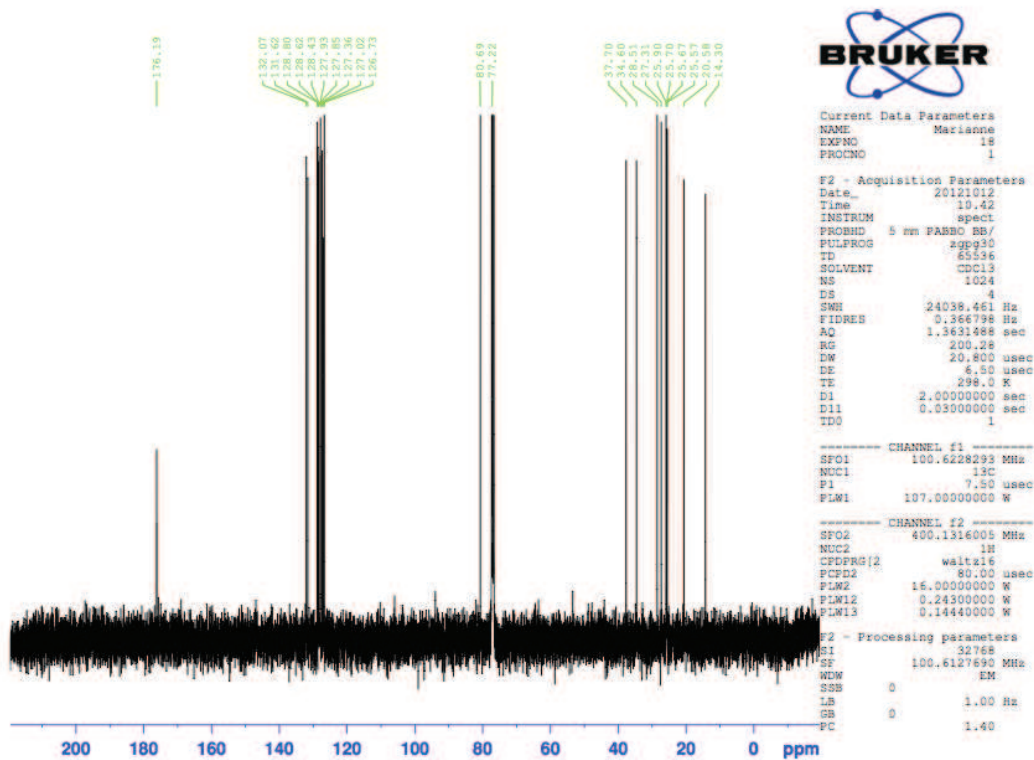
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0,91 (3H, t, J=7,5 Hz), 2,02 (3H, m), 2,34 (1H, m), 2,51 (1H, m), 2,78 (11H, m), 4,05 (1H, m, J=3 Hz), 4,20 (1H, m, J=3 Hz), 5,24 (9H, m), 5,50 (1H, m)

<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 14,30 (CH<sub>3</sub>), 20,58 (CH<sub>2</sub>), 25,57 (CH<sub>2</sub>), 25,67 (CH<sub>2</sub>), 25,70 (CH<sub>2</sub>), 25,90 (CH<sub>2</sub>), 27,31 (CH<sub>2</sub>), 28,51 (CH<sub>2</sub>), 34,60 (CH), 37,70 (CH<sub>2</sub>), 80,69 (CH), 126,73 (CH), 127,02 (CH), 127,36 (CH), 127,85 (CH), 127,93 (CH), 128,43 (CH), 128,62 (CH), 128,80 (CH), 131,62 (CH), 132,07 (CH), 176,19 (C)

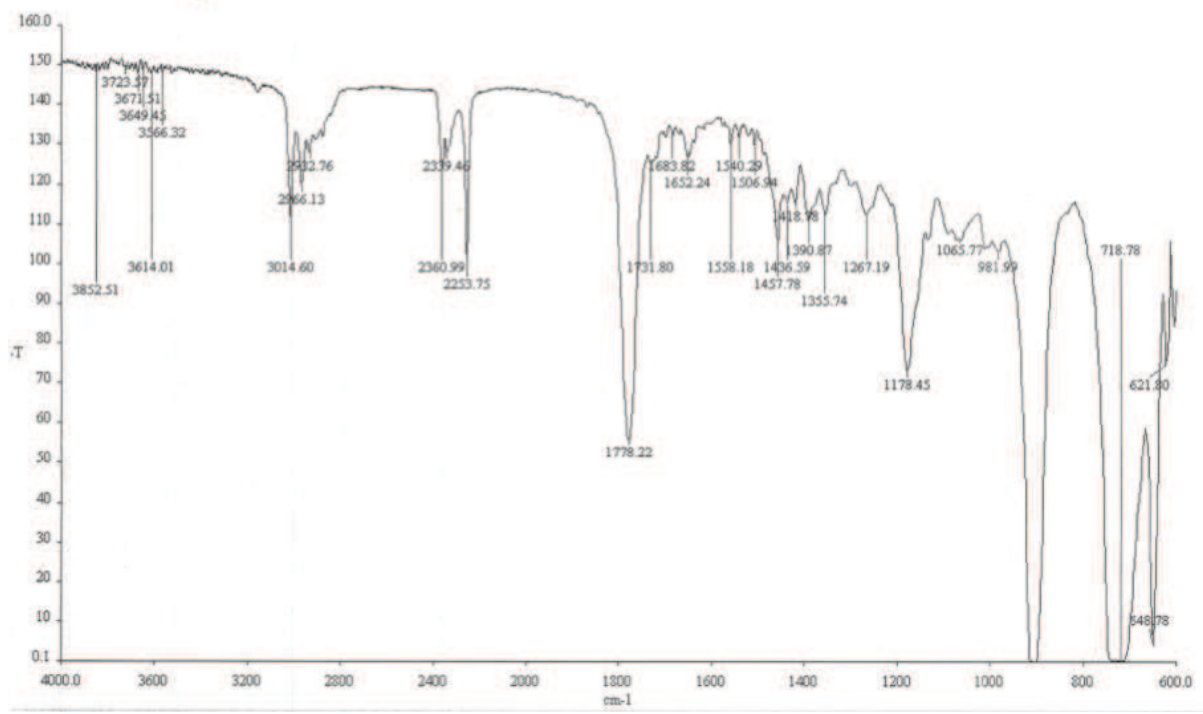
IR 3014 , 1778 cm<sup>-1</sup>



Spekter 5.1 –  $^1\text{H}$  NMR-spekter av jodlakton 2



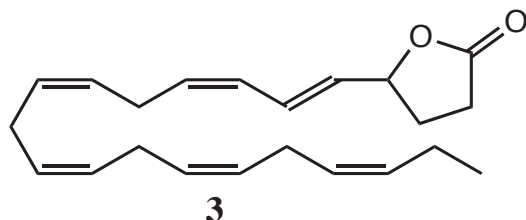
Spekter 5.2 –  $^{13}\text{C}$  NMR-spekter av jodlakton 2



*Spekter 5.3 – IR-spekter av jodlakton 2*



### 5.3 Syntese av 5-((1E,3Z,6Z,9Z,12Z,15Z)-oktadeka-1,3,6,9,12,15-heksaen-1-yl)dihydrofuran-2-(3H)-on



#### Metode 1

DBU (0,5 g, 3,3 mmol) ble tilsatt til en blanding av jodlakton **2** (1,0 g, 2,2 mmol) og tørr benzen (15 mL). Reaksjonsblandingen rørte over natten (minimum 12 timer) ved romtemperatur, deretter ble den sentrifugert i 5 minutter. Den blanke brune løsningen ble dekantert av, bunnfallet ble løst med tørr benzen (20 mL) og sentrifugert igjen. Den blanke lysbrune løsningen ble dekantert av og blandet med den første løsningen. Løsningsmiddelet ble dampet bort, og den brune resterende væsken ble rensset med flashkromatografi (silica, 0-15 % etylacetat i heksan,  $R_f=0,29$ ), og ga forbindelse **3** som en gul olje (400 mg, 62 %).

#### Metode 2

En løsning av jodlakton **2** (2,6 g, 5,7 mmol) og DBU (1,0 mL, 6,9 mmol) i benzen (26 ml) rørte ved romtemperatur over natten (minimum 12 timer). Reaksjonsblandingen ble stoppet med 10 % vandig HCl og ekstrahert med etylacetat. Den organiske fasen ble vasket med saltvann, tørket ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) og løsningsmiddelet dampet bort. Det gjenværende løsningen ble rensset med flashkromatografi (silica, 20 % etylacetat-benzen,  $R_f=0,29$ ) og ga forbindelse **3** som en gul olje (916 mg, 49 %).

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1,00 (3H, t,  $J=7,5$  Hz), 2,02 (3H, m), 2,44 (1H, m), 2,53 (2H, m), 3,00 (8H, m), 5,03 (1H, q,  $J=6,9$ ), 5,45 (9H, m), 5,71 (1H, dd,  $J=15,1, 6,9$  Hz), 6,04 (1H, t,  $J=11,0$ , Hz), 6,65 (1H, dd,  $J=15,1, 11,0$  Hz)

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  14,28 ( $\text{CH}_3$ ), 20,57 ( $\text{CH}_2$ ), 25,55 ( $\text{CH}_2$ ), 25,65 ( $\text{CH}_2$ ), 25,68 ( $\text{CH}_2$ ), 26,16 ( $\text{CH}_2$ ), 28,61 ( $\text{CH}_2$ ), 28, 88 ( $\text{CH}_2$ ), 80,59 (CH), 126,99 (CH), 127,16 (CH), 127,20 (CH), 127,82 (CH), 127,86 (CH), 128,07 (CH), 128,44 (CH), 128,63 (CH), 128,94 (CH), 130,01 (CH), 132,02 (CH), 132,49 (CH), 176,83 (C)

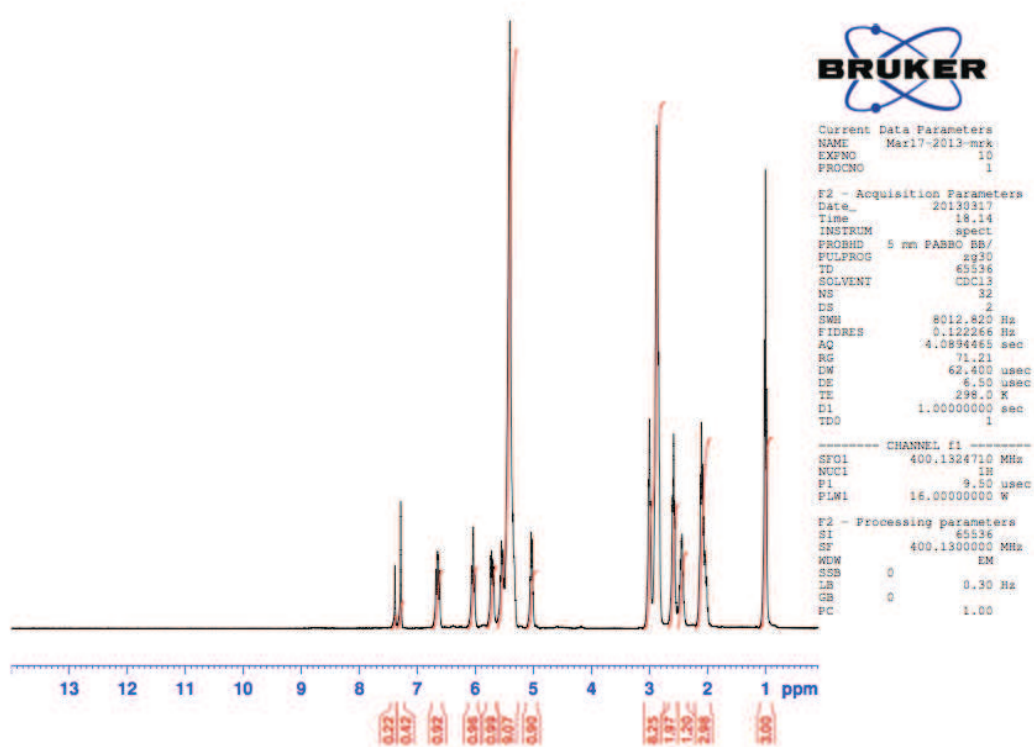
IR 3015, 1770  $\text{cm}^{-1}$

### HPLC-betingelser

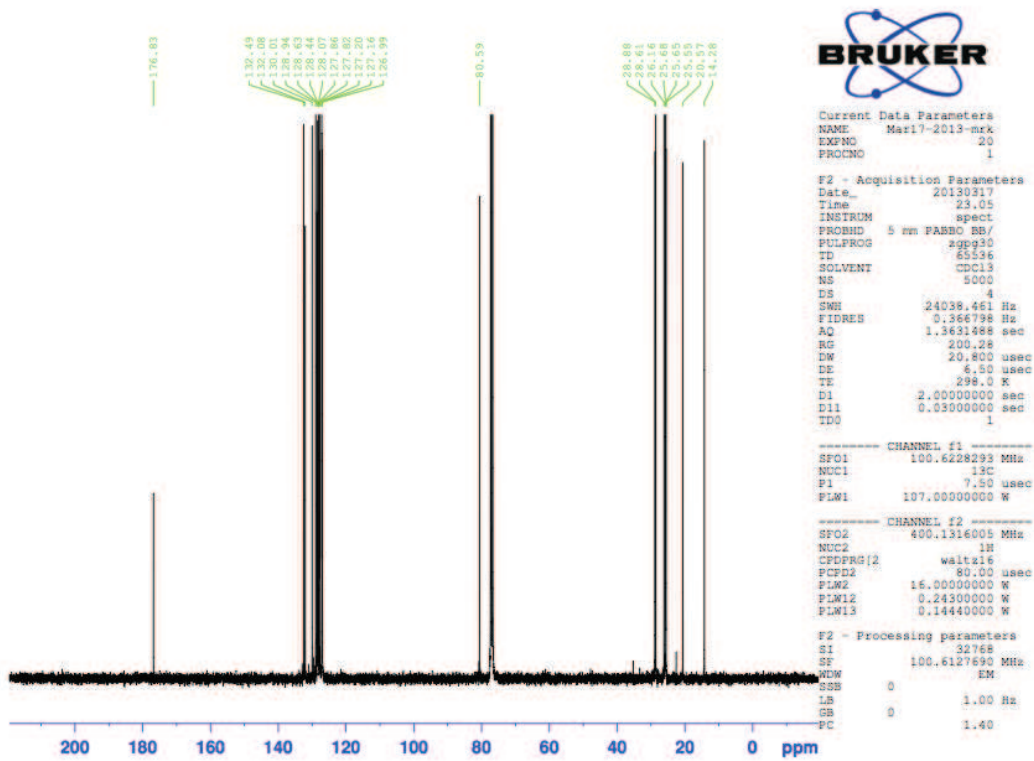
Ved analyse med C18-kolonnen ble forbindelsen løst i metanol.

**Tabell 5.1** – De beste betingelsene for C-18 kolonne ved 30 °C, med metanol/H<sub>2</sub>O som løsningsmiddel

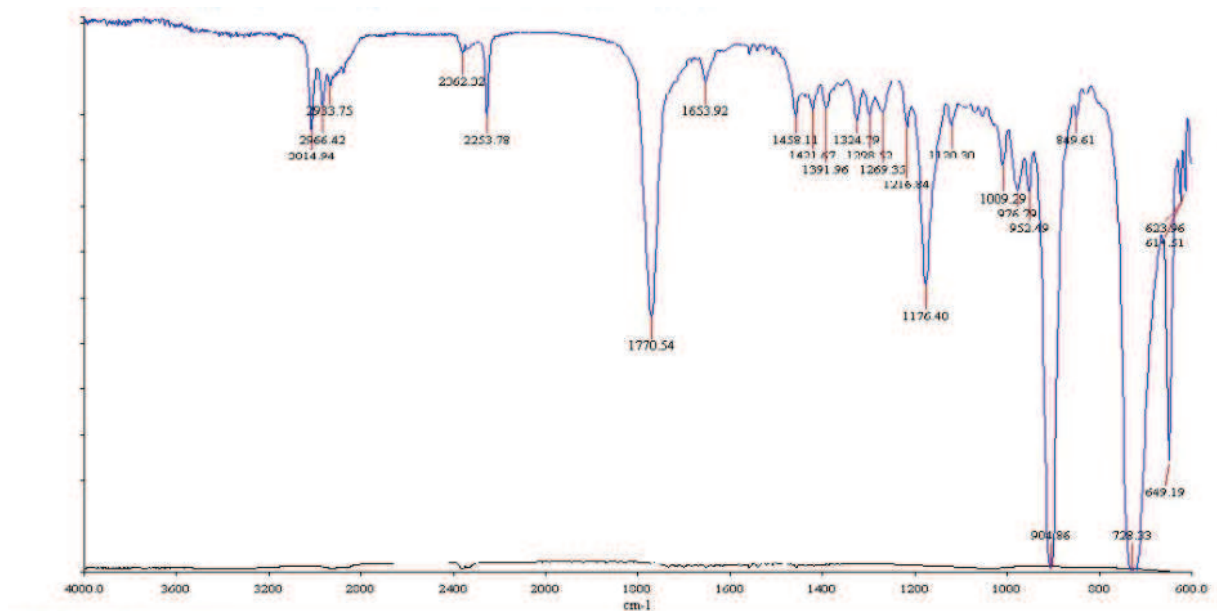
«Flow» (mL/min)	% metanol	Retensjonstid (min)
1,0	85	8,2



**Spekter 5.4** - <sup>1</sup>H NMR-spekter av lakton 3

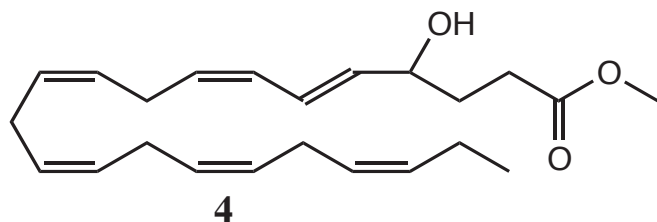


Spekter 5.5 - <sup>13</sup>C NMR-spekter av lakton 3



Spekter 5.6 – IR-spekter av lakton 3

## 5.4 Syntese av (5*E*,7*Z*,10*Z*,13*Z*,16*Z*,19*Z*)-metyl-4-hydroksydokosa-5,7,10,13,16,19-heksaenat



### Metode 1, (4-hydroksysyre)

En løsning av lakton **3** (262 mg, 0,8 mmol) og THF (5,4 mL) ble tilsatt en vandig løsning av LiOH·H<sub>2</sub>O (55 mg, 1,3 mmol) i vann (2,6 mL). Blandingen rørte over natten ved romtemperatur. Vann (10 mL) ble tilsatt og løsningen ble surgjort med 1,0 M vandig HCl til pH 5 ved 0 °C og ekstrahert med dietyleter (3×20 mL). Den organiske fasen ble vasket med saltvann og tørket (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Løsningen ble filtrert, løsningsmiddelet dampet bort og rensset med flashkromatografi (silica, 10-50 % dietyleter i heksan). Etter rensing fikk man **4** som en lysgul olje (97 mg, 33 %).

### Metode 2, (4-hydroksy-metylester)

En blanding av lakton **3** (170 mg, 0,5 mmol) og Et<sub>3</sub>N (217 µL) i metanol (10 mL) rørte ved romtemperatur over natten. Løsningsmiddelet ble dampet av og den resterende løsningen ble rensset med flashkromatografi (silica, 7,5-10 % etylacetat-benzen, R<sub>f</sub>=0,26), og ga **4** som en lysgul olje (86 mg, 48 %).

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0,97 (3H, t, J=7,5 Hz), 1,88 (3H, m), 2,01 (2H, kvint, J=7,4 Hz), 2,38 (2H, t, J=7,3 Hz), 2,76 (6H, m), 2,90 (2H, t, J=6,6 Hz), 3,61 (3H, s), 4,17 (1H, m), 5,27 (9H, m), 5,61 (1H, dd, J=15,1, 6,5 Hz), 5,93 (1H, t, J=11 Hz), 6,47 (1H, dd, J=15,1, 11,0 Hz)

**<sup>13</sup>C NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 14,28 (CH<sub>3</sub>), 20,56 (CH<sub>2</sub>), 25,54 (CH<sub>2</sub>), 25,64 (CH<sub>2</sub>), 25,67 (CH<sub>2</sub>), 26,10 (CH<sub>2</sub>), 30,05 (CH<sub>2</sub>), 30,93 (CH<sub>2</sub>), 31,94 (CH<sub>2</sub>), 51,71 (CH<sub>3</sub>), 71,78 (CH), 125,83 (CH), 127,01 (CH), 127,55 (CH), 127,85 (CH), 127,97 (CH), 128,37 (CH), 128,63 (CH), 128,65 (CH), 130,65 (CH), 132,08 (CH), 135,46 (CH), 174,32 (C)

**IR** 3444, 3013, 1701 cm<sup>-1</sup>

## HPLC-betingelser:

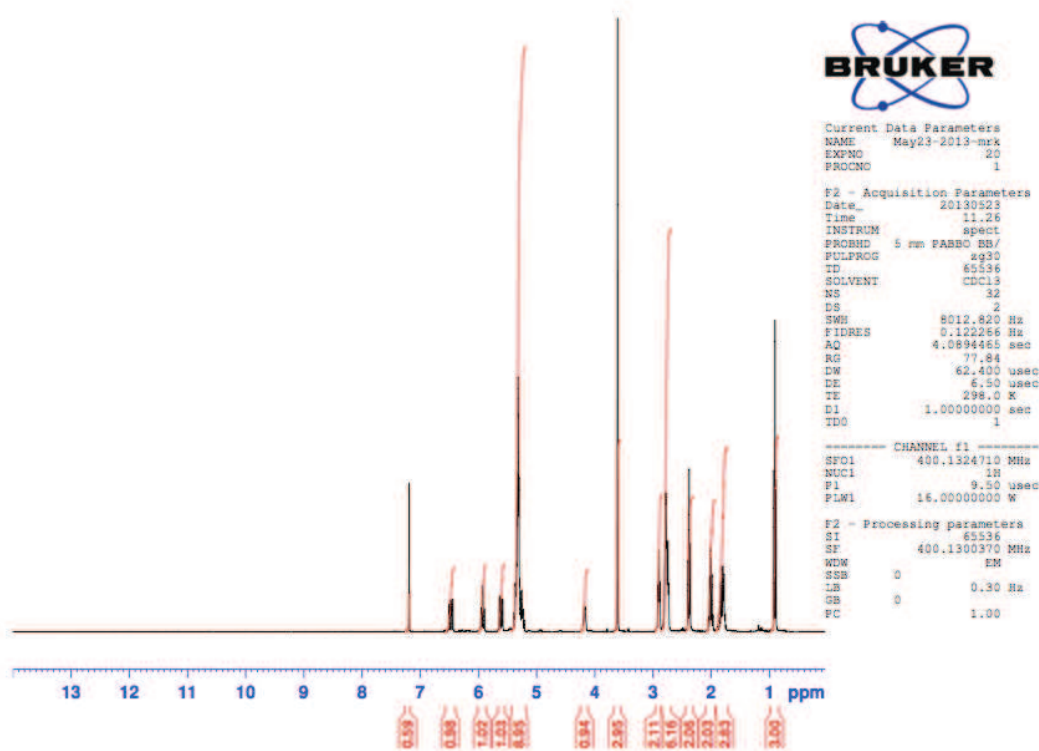
Ved analyse med C18-kolonne ble forbindelsen løst i metanol, mens ved bruk av de kirale kolonnene ble alkoholester **4** løst i isopropanol.

*Tabell 5.2 – De beste betingelsene for C-18 kolonne ved 30 °C, med metanol/H<sub>2</sub>O som løsningsmiddel*

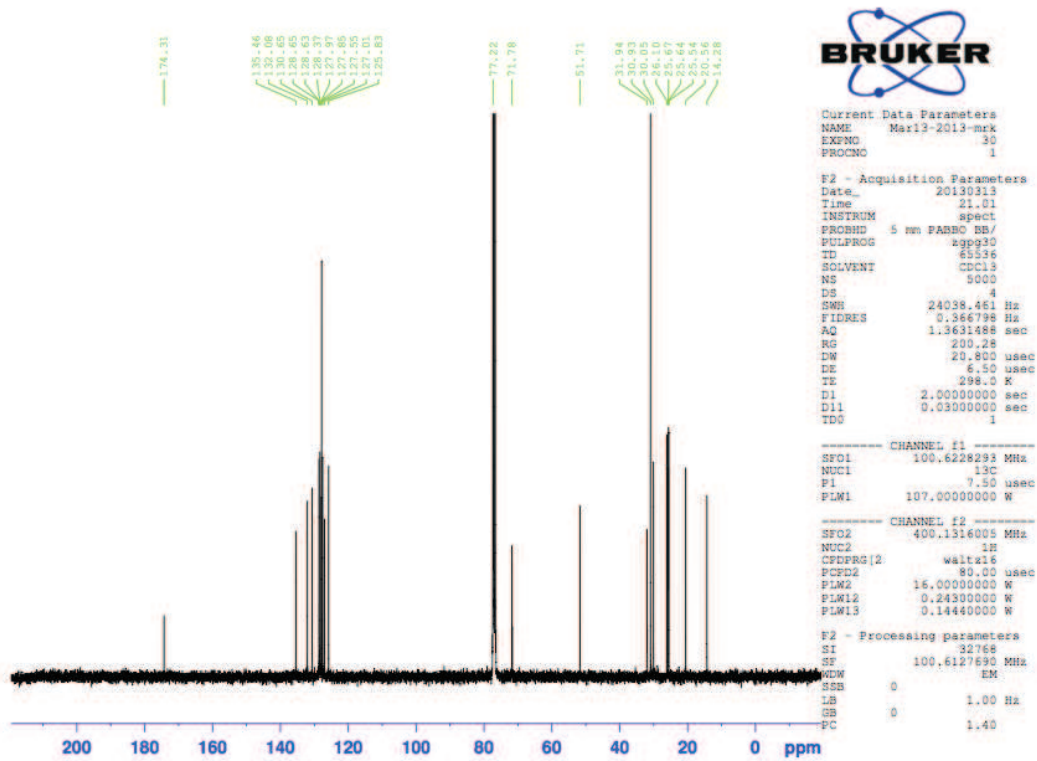
«Flow» (mL/min)	% metanol	Retensjonstid (min)
1,1	85	8,9

*Tabell 5.3 – Den beste gradientløsningen med kiral kolonne OD-H ved 30 °C og «flow» 1,0 mL/min med heksan/isopropanol som løsningsmidler*

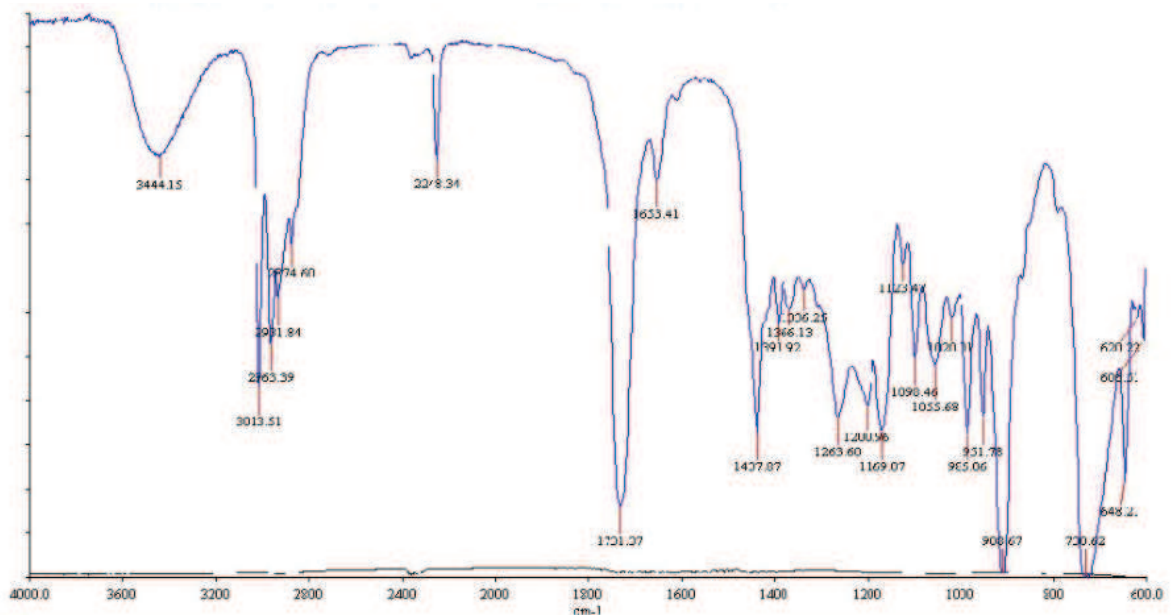
Min	0	7,5	15	20	25	35	50	80
% iPrOH	0	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	5,0	7,0



*Spekter 5.7 - <sup>1</sup>H NMR-spekter av alkoholester 4*

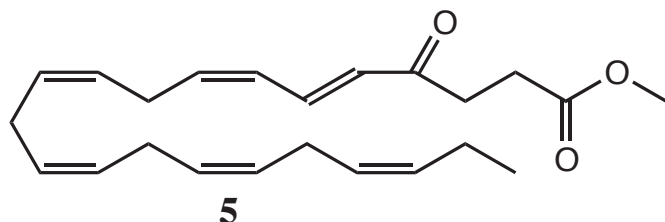


Spekter 5.8 - <sup>13</sup>C NMR-spekter av alkoholester 4



Spekter 5.9 – IR-spekter av alkoholester 4

## 5.5 Syntese av (5E,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-metyl-4-oksodokosa-5,7,10,13,16,19-heksaenat



Alkoholester **4** (78 mg, 0,2 mmol) ble tilsatt en løsning av Dess-Martin periodinan (161 mg, 0,4 mmol), vannfritt pyridin (135  $\mu$ L, 1,7 mmol) og  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (4 mL) i en porsjon. Reaksjonsblandingen rørte i 3 timer ved romtemperatur, før den ble fortynnet med dietyleter (30 mL), filtrert, tørket ( $\text{MgSO}_4$ ) og løsningsmiddelet ble dampet av. Den resterende oljen ble rensert med flashkromatografi (silica, 0-15 % etylacetat i heksan,  $R_f=0,25$ ), og ga **5** som en blank olje (25 mg, 35 %).

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0,90 (3H, t,  $J=7,5$  Hz), 2,00 (2H, kvint,  $J=7,5$  Hz), 2,59 (2H, t,  $J=6,7$  Hz), 2,77 (8H, m), 3,02 (2H, t,  $J=7,3$  Hz), 3,62 (3H, s), 5,16 (8H, m), 5,81 (1H, m), 6,05 (2H, m,  $J=15,5$  Hz), 7,49 (1H, dd, 15,5 , 11,4 Hz)

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  13,35 ( $\text{CH}_3$ ), 19,54 ( $\text{CH}_2$ ), 24,52 ( $\text{CH}_2$ ), 24,62 ( $\text{CH}_2$ ), 24,67 ( $\text{CH}_2$ ), 25,65 ( $\text{CH}_2$ ), 26,88 ( $\text{CH}_2$ ), 34,37 ( $\text{CH}_2$ ), 50,78 ( $\text{CH}_3$ ), 125,32 (CH), 125,96 (CH), 126,01 (CH), 126,62 (CH), 126,73 (CH), 127,60 (CH), 127,64 (CH), 128,38 (CH), 128,63 (CH), 131,05 (CH), 136,02 (CH), 139,05 (CH), 173,12 (C), 197,16 (C)

IR 3014, 1734  $\text{cm}^{-1}$

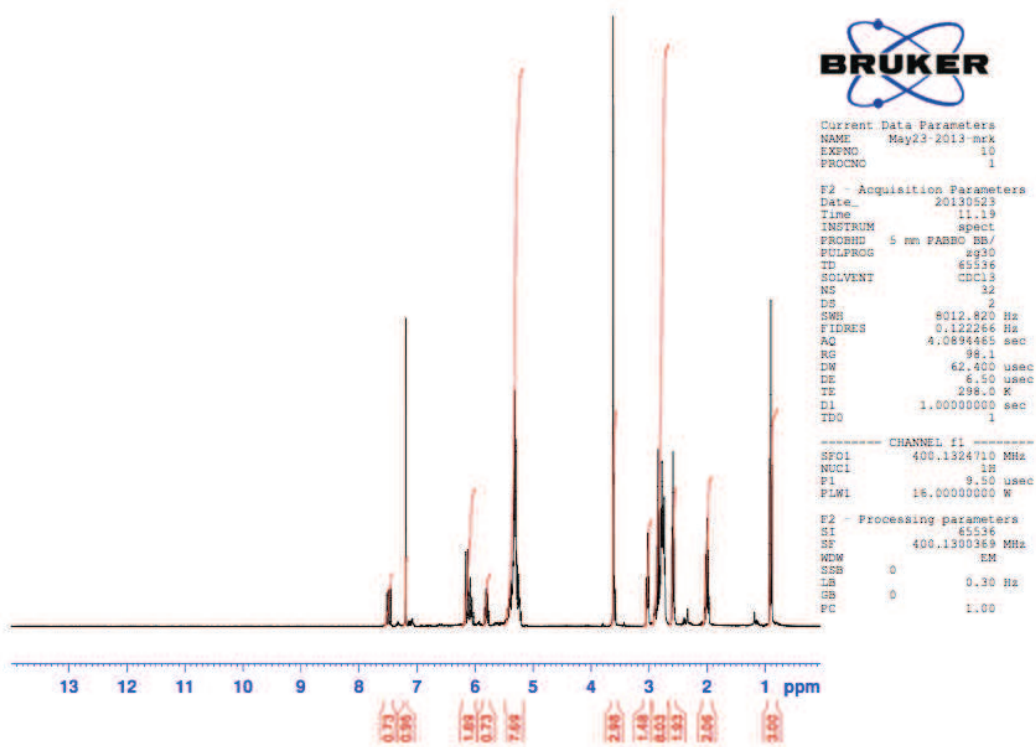
### HPLC-betingelser

Ved analyse med C18-kolonnen ble forbindelsen løst i metanol.

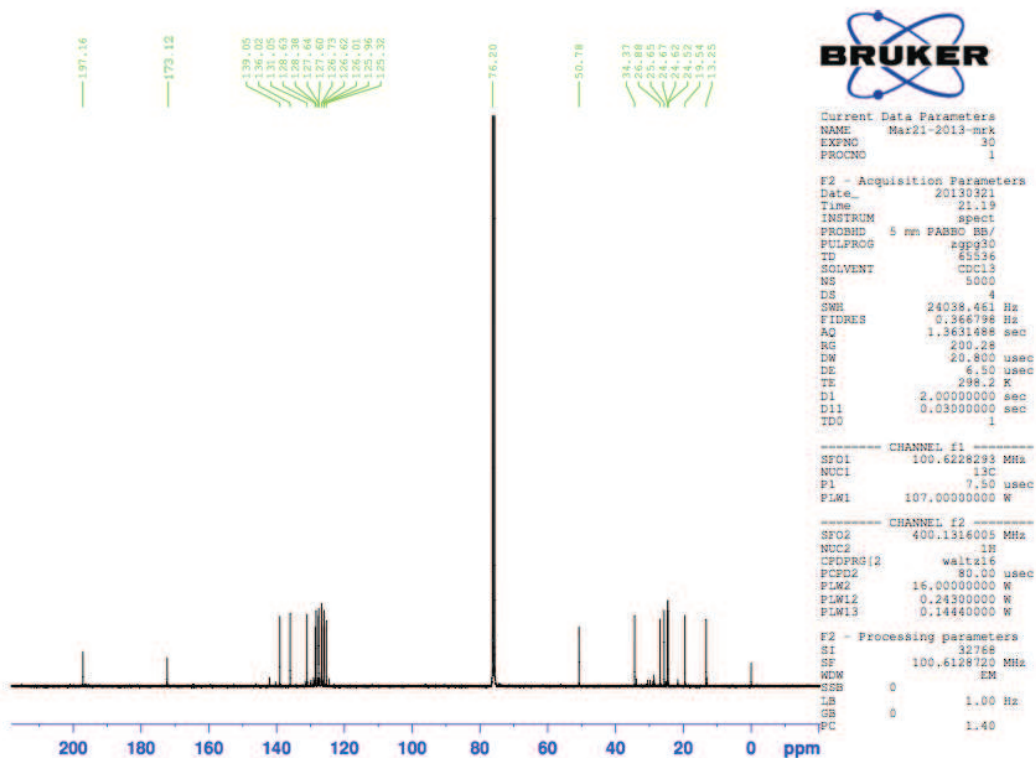
Tabell 5.4 – De beste betingelsene for C-18 kolonne ved 30 °C, med metanol/ $\text{H}_2\text{O}$  som løsningsmiddel

«Flow» (mL/min)	% metanol	Retensjonstid (min)
1,0	85	10,1



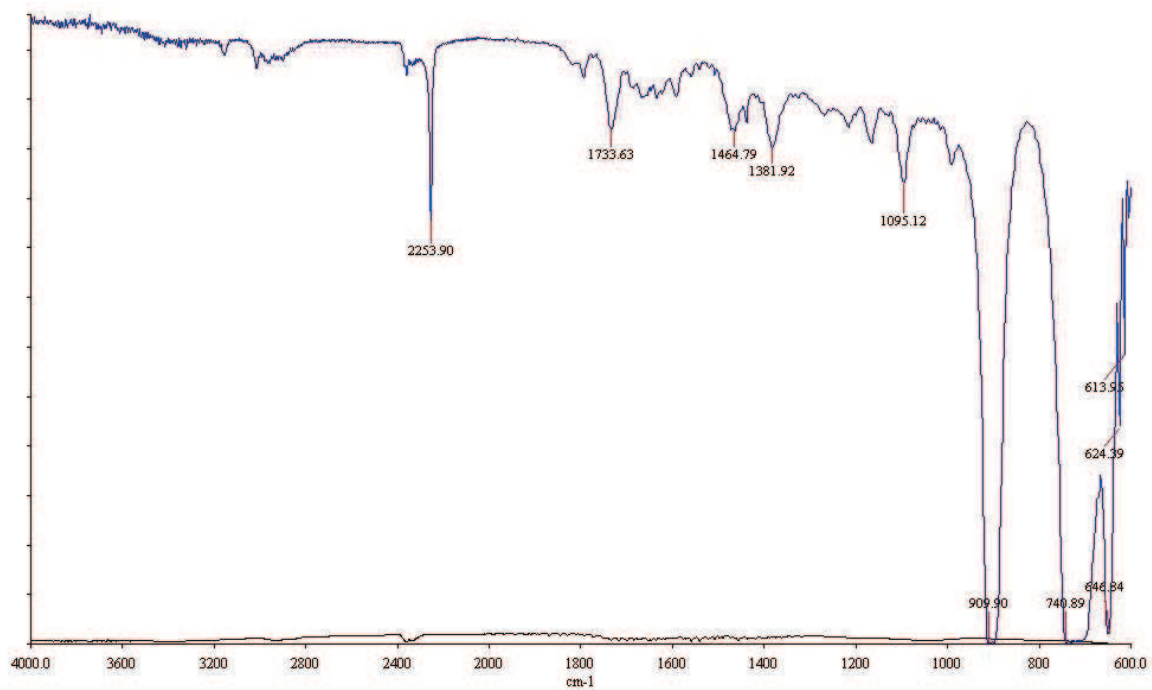


Spekter 5.10 -  $^1\text{H}$  NMR-spekter av ketoester 5



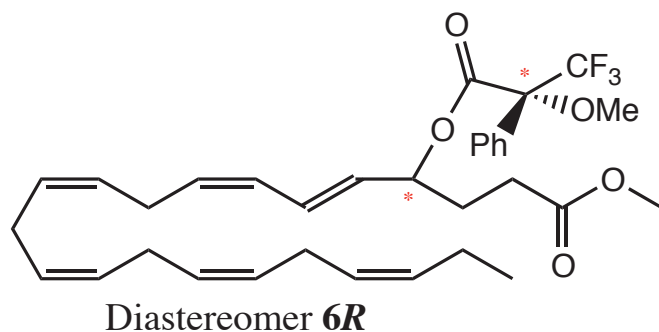
Spekter 5.11 -  $^{13}\text{C}$  NMR-spekter av ketoester 5





*Spekter 5.12 – IR-spekter av ketoester 5*

## 5.6 Syntese av (5*E*,7*Z*,10*Z*,13*Z*,16*Z*,19*Z*)-metyl 4-(((*R*)-3,3,3-trifluoro-2-metoksy-2-fenylpropanoyl))oksy)dokosa-5,7,10,13,16,19-heksaenat (*R*-MTPA ester) med (*S*)-Mosher's syreklorid



Alkoholester **4** (73,7 mg, 0,2 mmol) og tørr pyridin (51,5  $\mu$ L) ble blandet sammen i en liten rundkolbe.  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3,2 mL) ble tilsatt løsningen, og deretter *S*-(+)-MTPA-Cl (100 mg, 0,4 mmol). Reaksjonsblandingen rørte i to timer ved romtemperatur før den ble tilsatt vann (3 mL), ekstrahert med dietyleter ( $3 \times 10$  mL) og tørket ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ). Løsningsmiddelet ble dampet av og den gjenværende løsningen ble rensed med flashkromatografi (silica, 2,5 % etylacetat i heksan,  $R_f = 0,63$ ). Til TLC av fraksjonene ble 25 % etylacetat i heksan benyttet. Etter rensing var diastereomer **6R** igjen som en blank olje (71 mg, 57 %).

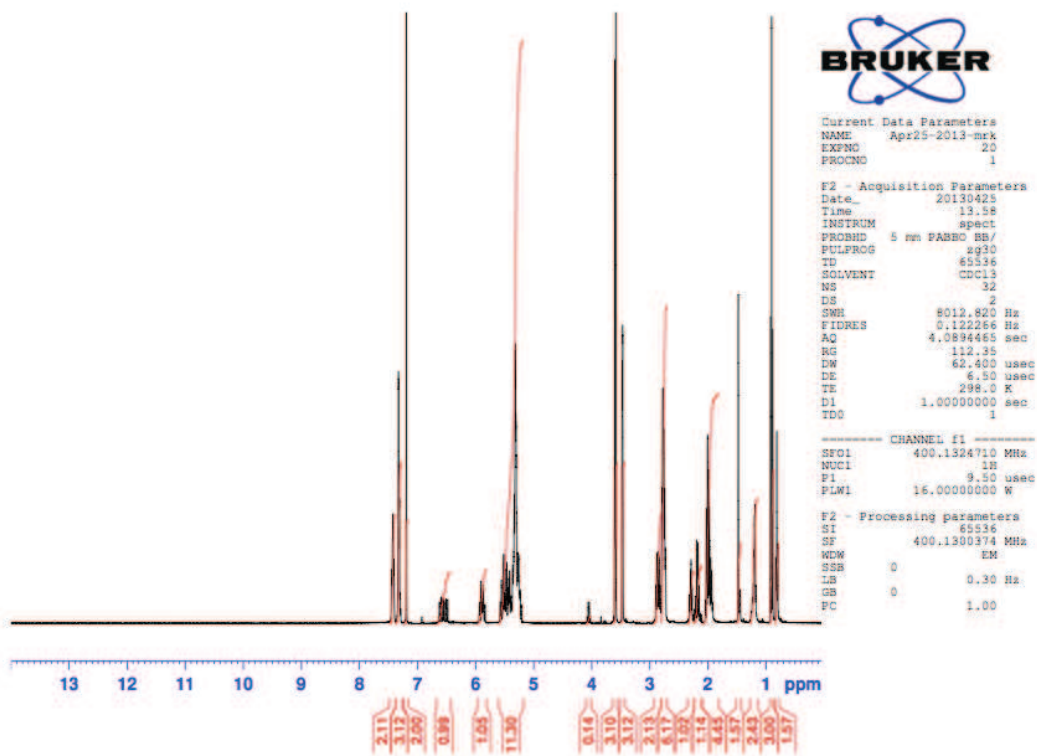
$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0,90 (3H, t,  $J=7,5$  Hz), 1,98 (4H, m), 2,18 (1H, m), 2,30 (1H, m), 2,77 (6H, m), 2,86 (2H, m), 3,47 (3H, dd), 3,60 (3H, d), 5,28 (11H, m), 5,87 (1H, t,  $J=6,5$ , 15,1 Hz, diastereomer 1), 5,91 (1H, t,  $J=15,1$ , 6,5 Hz, diastereomer 2), 6,51 (1H, k,  $J=11,0$ , 15,1 Hz, diastereomer 1), 6,59 (1H, k,  $J=11,0$ , 15,1 Hz, diastereomer 2), 7,33 (3H, m), 7,42 (2H, m)

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  14,13 ( $\text{CH}_3$ ), 14,26 ( $\text{CH}_3$ ), 20,56 ( $\text{CH}_2$ ), 22,66 ( $\text{CH}_2$ ), 25,94 ( $\text{CH}_2$ ), 26,13 ( $\text{CH}_2$ ), 26,16 ( $\text{CH}_2$ ), 29,30 ( $\text{CH}_2$ ), 29,32 ( $\text{CH}_2$ ), 29,42 ( $\text{CH}_2$ ), 29,54 ( $\text{CH}_2$ ), 31,60 ( $\text{CH}_2$ ), 51,74 ( $\text{CH}_3$ ), 51,80 ( $\text{CH}_3$ ), 55,47 ( $\text{CH}_3$ ), 76,20 (CH), 84,34 (C), 84,51 (C), 121,90 (C), 121(C), 124,73 (CH), 127,02 (CH), 127,17 (CH), 127,30 (CH), 127,40 (CH), 127,59 (CH), 127,84 (CH), 127,88 (CH), 128,39 (CH), 128,46 (CH), 128,62 (CH), 128,69 (CH), 128,79 (CH), 128,93 (CH), 128,99 (CH), 129,46 (CH), 129,62 (CH), 129,80 (CH), 132,06 (CH), 132,14 (CH), 132,37 (CH), 132,46 (CH), 132,71 (CH), 165,73 (C), 165,82 (C), 172,93 (C), 172,94 (C)

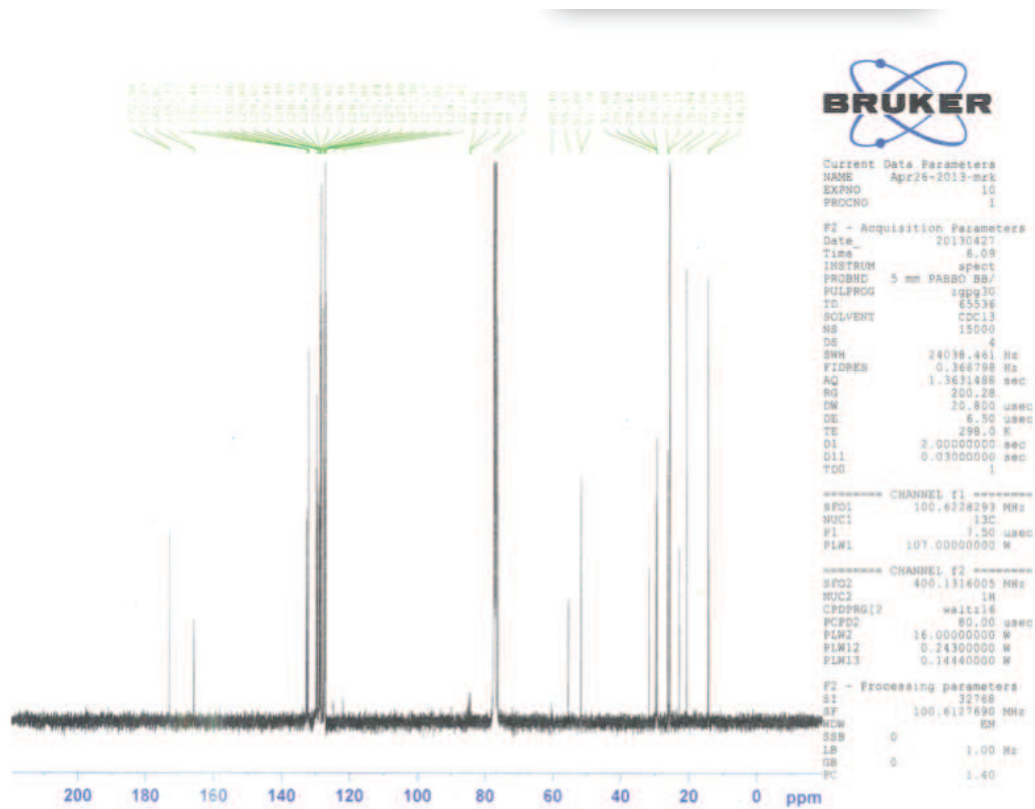
IR 3015, 1740  $\text{cm}^{-1}$

### HPLC-betingelser

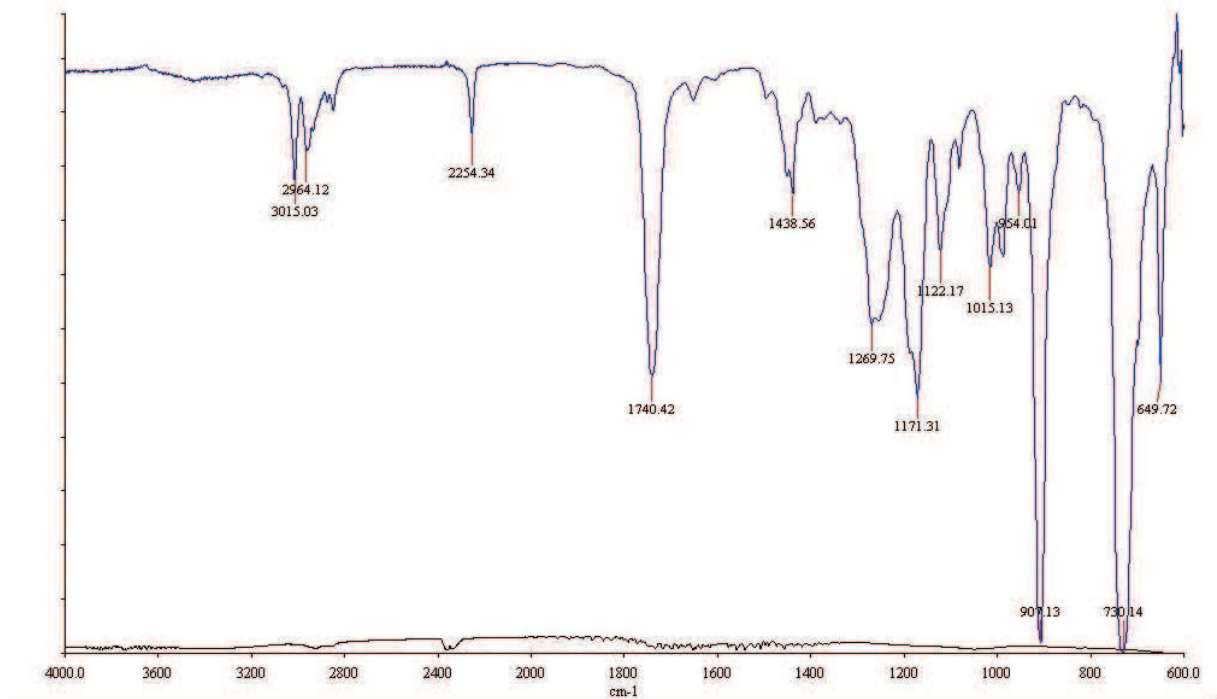
Ingen gode separasjoner ble gjort.



Spekter 5.13 -  $^1\text{H}$  NMR-spekter av diastereomer 6R

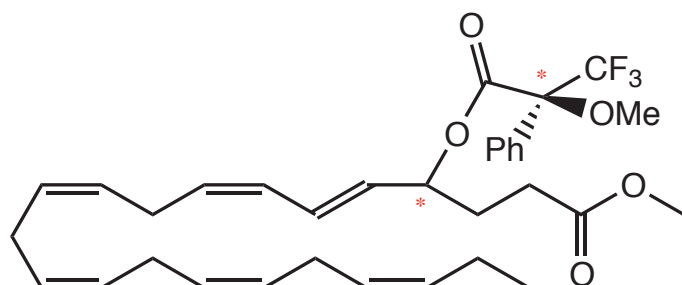


Spekter 5.14 -  $^{13}\text{C}$  NMR-spekter av diastereomer **6R**



Spekter 5.15 - IR-spekter av diastereomer **6R**

## 5.7 Syntese av (5*E*,7*Z*,10*Z*,13*Z*,16*Z*,19*Z*)-metyl 4-(((*S*)-3,3,3-trifluoro-2-metoksy-2-fenylpropanoyl)oksy)dokosa-5,7,10,13,16,19-heksaenat (*S*-MTPA ester) med (*R*)-Mosher's syreklorid



Diastereomer **6S**

Alkoholesteren **4** (73,7 mg, 0,2 mmol) og tørr pyridin (51,5  $\mu$ L) ble blandet sammen i en liten rundkolbe.  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3,2 mL) ble tilsatt løsningen, og deretter *R*-(-)-MTPA-Cl (100 mg, 0,4 mmol). Reaksjonsblandingen rørte i to timer ved romtemperatur før den ble tilsatt vann (3 mL), ekstrahert med dietyleter (3  $\times$  10 mL) og tørket ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ). Løsningsmiddelet ble dampet av og den gjenværende løsningen ble rensert med flashkromatografi (silica, 2,5 % etylacetat i heksan,  $R_f=0,64$ ). Til TLC av fraksjonene ble 25 % etylacetat i heksan benyttet. Etter rensing var diastereomer **6S** igjen som en blank olje (81 mg, 67 %).

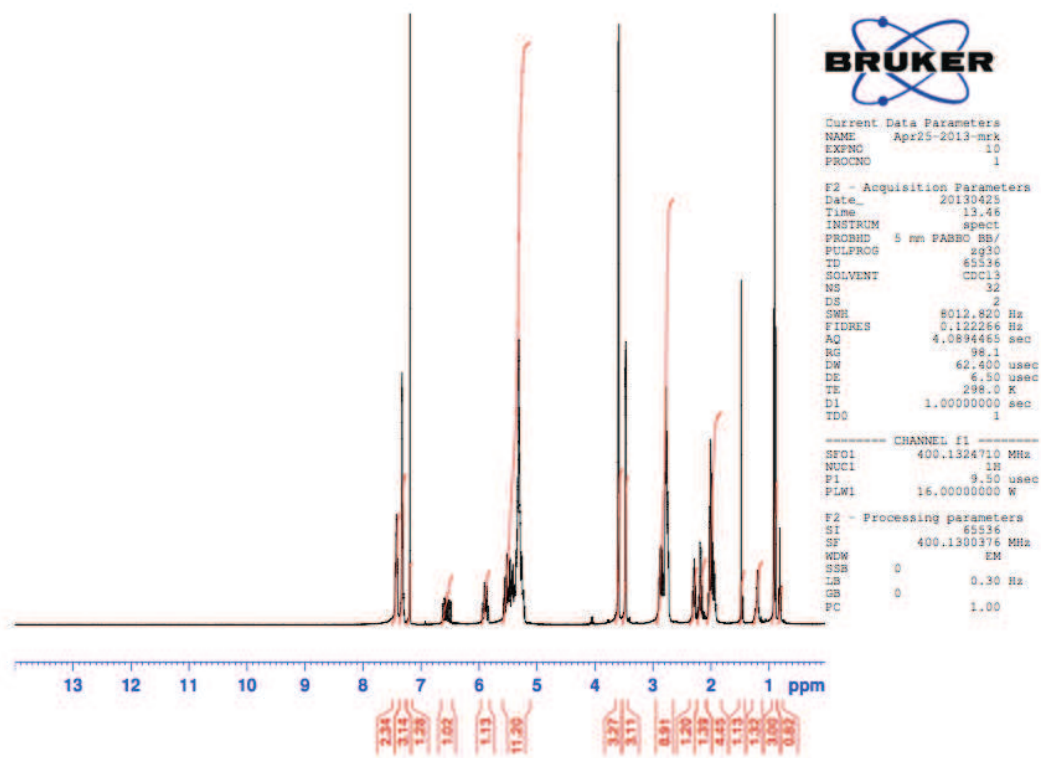
$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0,90 (3H, t,  $J=7,5$  Hz), 1,88 (4H, m), 2,12 (1H, m), 2,30 (1H, m), 2,77 (8H, m), 3,47 (3H, dd), 3,60 (3H, d), 5,31 (11H, m), 5,84 (1H, t,  $J=6,5$ , 15,1 Hz, diastereomer 1), 5,90 (1H, t,  $J=15,1$ , 6,5 Hz, diastereomer 2), 6,52 (1H, k,  $J=11,0$ , 15,1 Hz, diastereomer 1), 6,60 (1H, k,  $J=11,0$ , 15,1 Hz, diastereomer 2), 7,32 (3H, m), 7,42 (2H, m)

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  14,13 ( $\text{CH}_3$ ), 14,28 ( $\text{CH}_3$ ), 20,56 ( $\text{CH}_2$ ), 22,66 ( $\text{CH}_2$ ), 25,54 ( $\text{CH}_2$ ), 25,64 ( $\text{CH}_2$ ), 26,13 ( $\text{CH}_2$ ), 26,16 ( $\text{CH}_2$ ), 29,30 ( $\text{CH}_2$ ), 29,32 ( $\text{CH}_2$ ), 29,42 ( $\text{CH}_2$ ), 29,54 ( $\text{CH}_2$ ), 31,60 ( $\text{CH}_2$ ), 51,74 ( $\text{CH}_3$ ), 51,80 ( $\text{CH}_3$ ), 55,47 ( $\text{CH}_3$ ), 76,20 (CH), 84,41 (C), 84,61 (C), 124,73 (C), 124,78, 127,02 (CH), 127,16 (CH), 127,23 (CH), 127,30 (CH), 127,40 (CH), 127,84 (CH), 127,88 (CH), 128,39 (CH), 128,42 (CH), 128,47 (CH), 128,62 (CH), 128,69 (CH), 128,79 (CH), 128,93 (CH), 128,99 (CH), 129,46 (CH), 129,62 (CH), 129,80 (CH), 132,06 (CH), 132,14 (CH), 132,37 (CH), 132,46 (CH), 132,71 (CH), 165,73 (C), 165,82 (C), 172,94 (C)

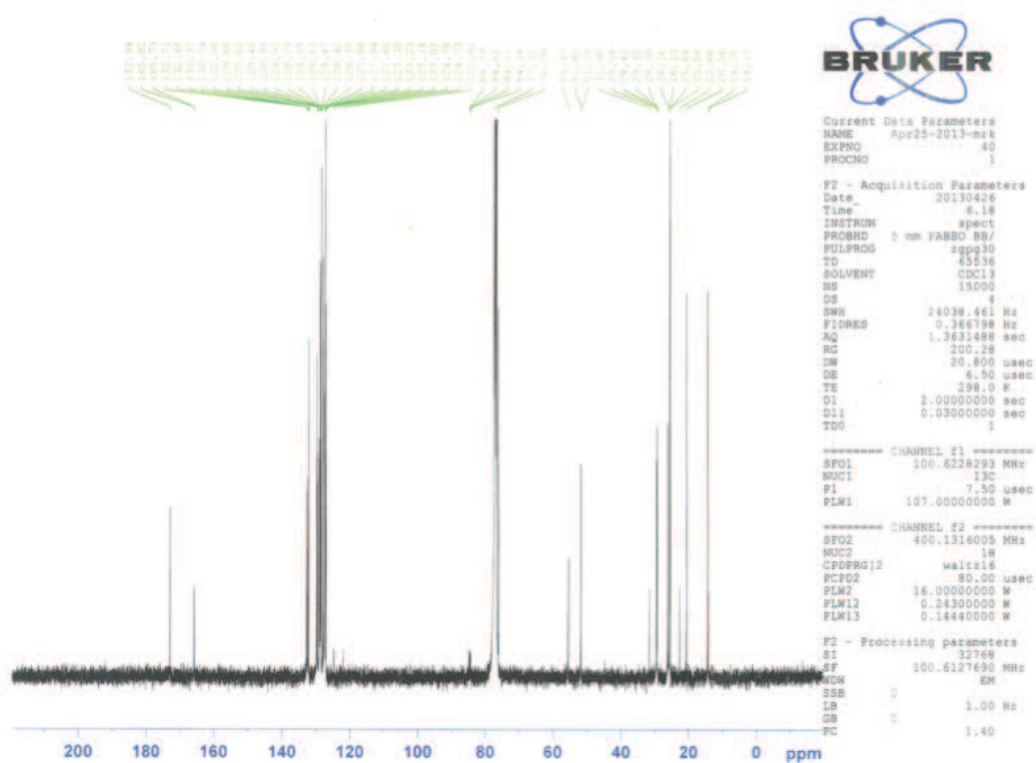
IR 3017, 1732  $\text{cm}^{-1}$

## HPLC-betingelser

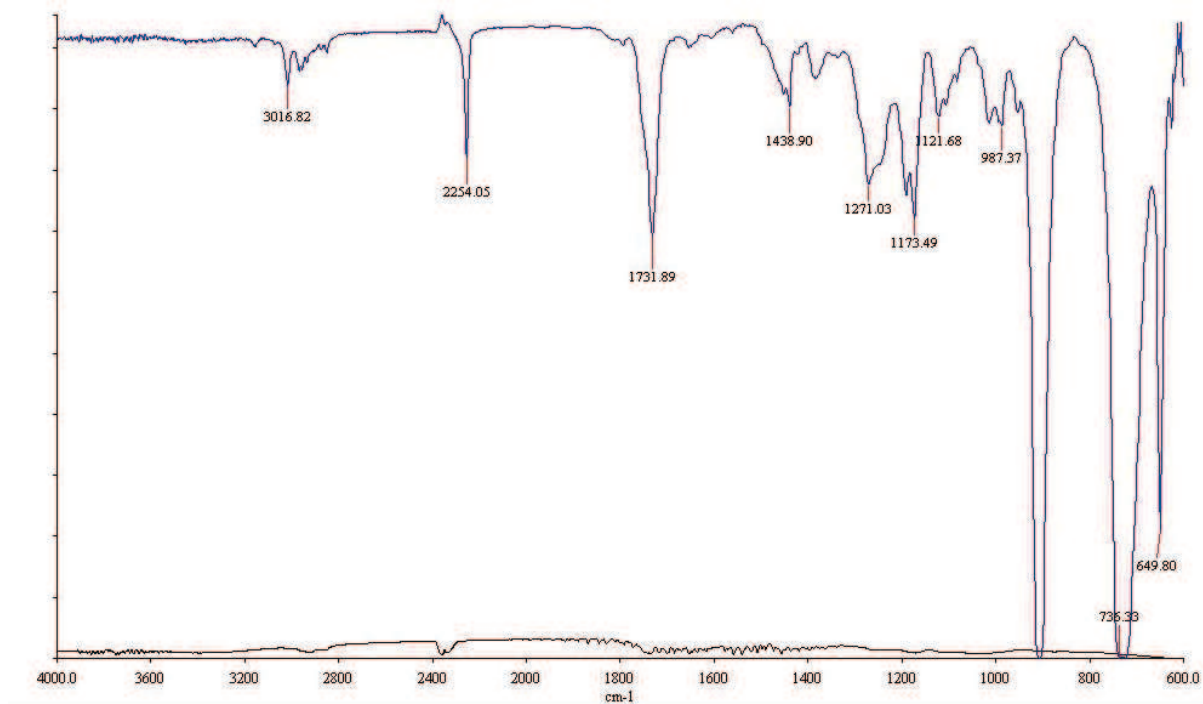
Ingen gode separasjoner ble gjort.



*Spekter 5.16 -  $^1\text{H}$  NMR-spekter av diastereomer 6S*



Spekter 5.17 -  $^{13}\text{C}$  NMR-spekter av diastereomer 6S

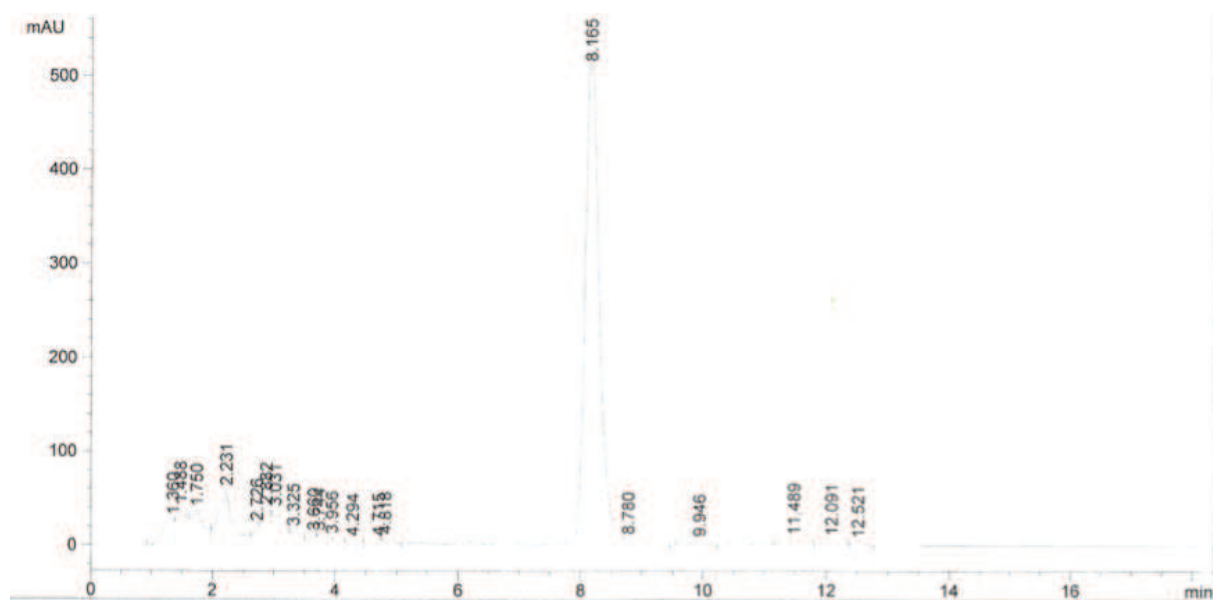


Spekter 5.18 - IR-spekter av diastereomer 6S

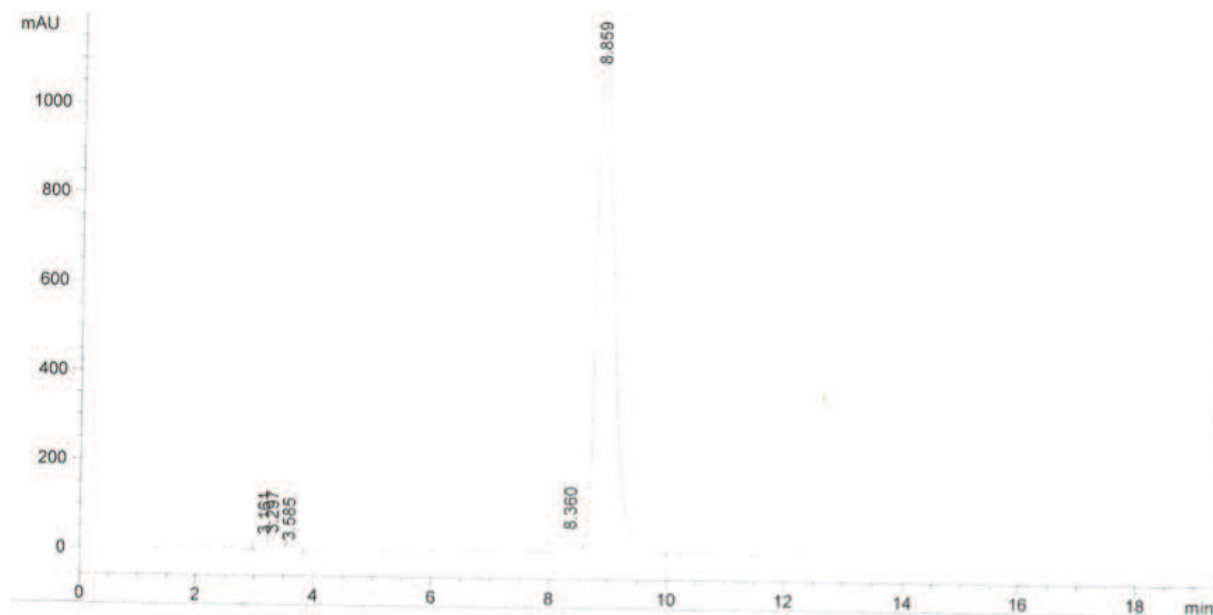
## 6. APPENDIKS

---

### 6.1 Kromatogram, MS- og UV-spekter

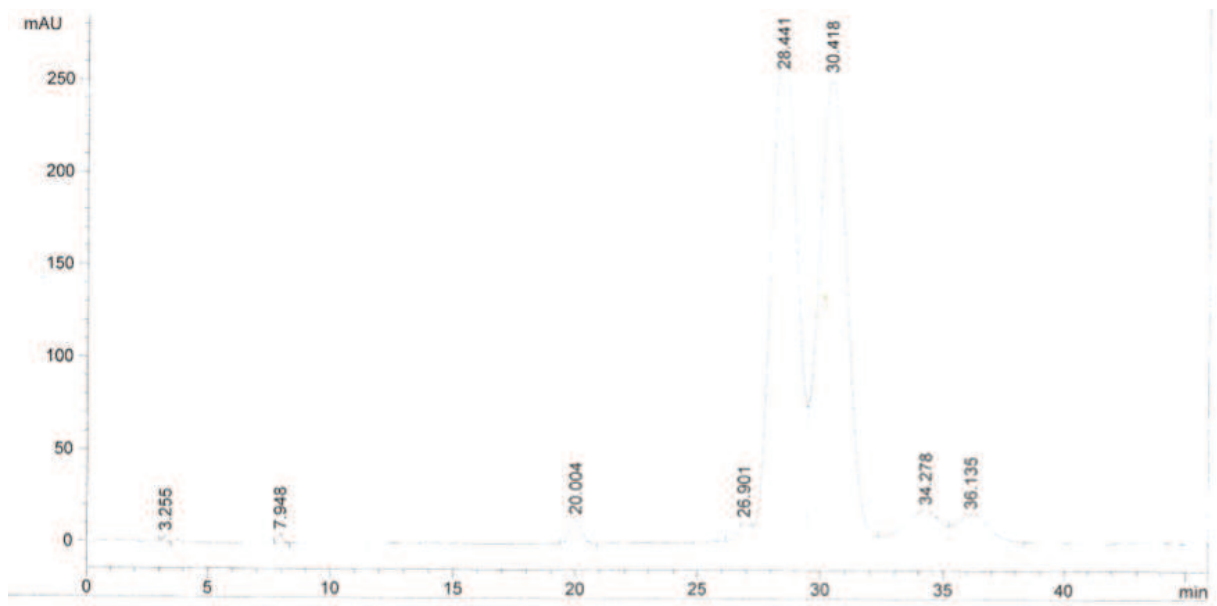


*Spekter 6.1 – Kromatogram av lakton 3, 1mL/min og 85% MeOH (C18)*

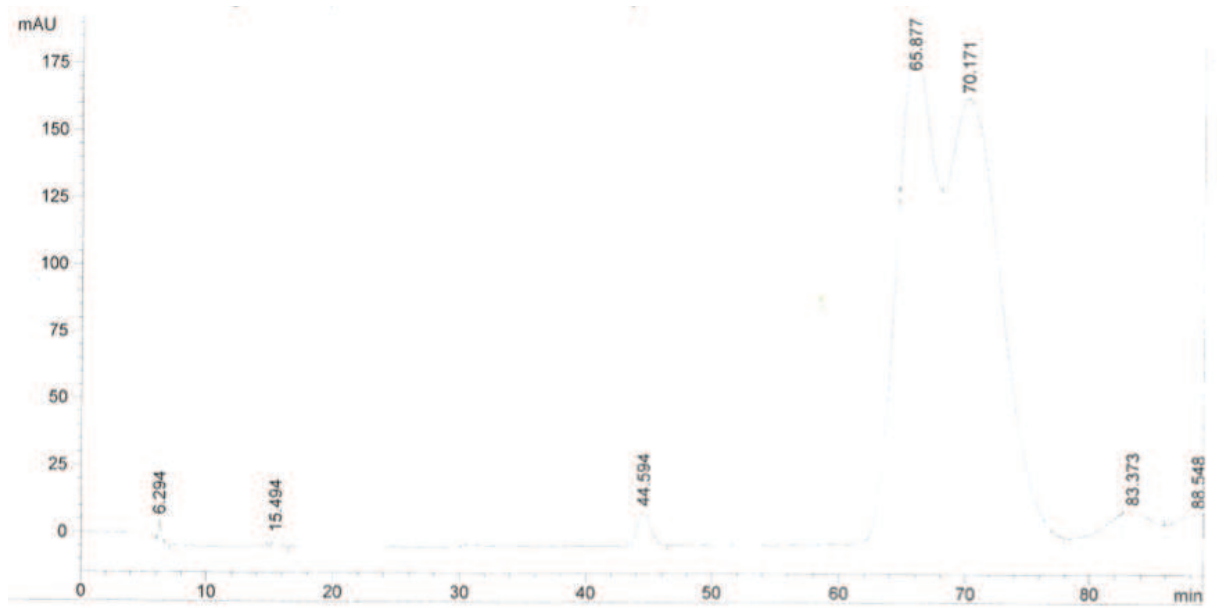


*Spekter 6.2 – Kromatogram av alkoholester 4, 1,1 mL/min og 85% MeOH (C18)*

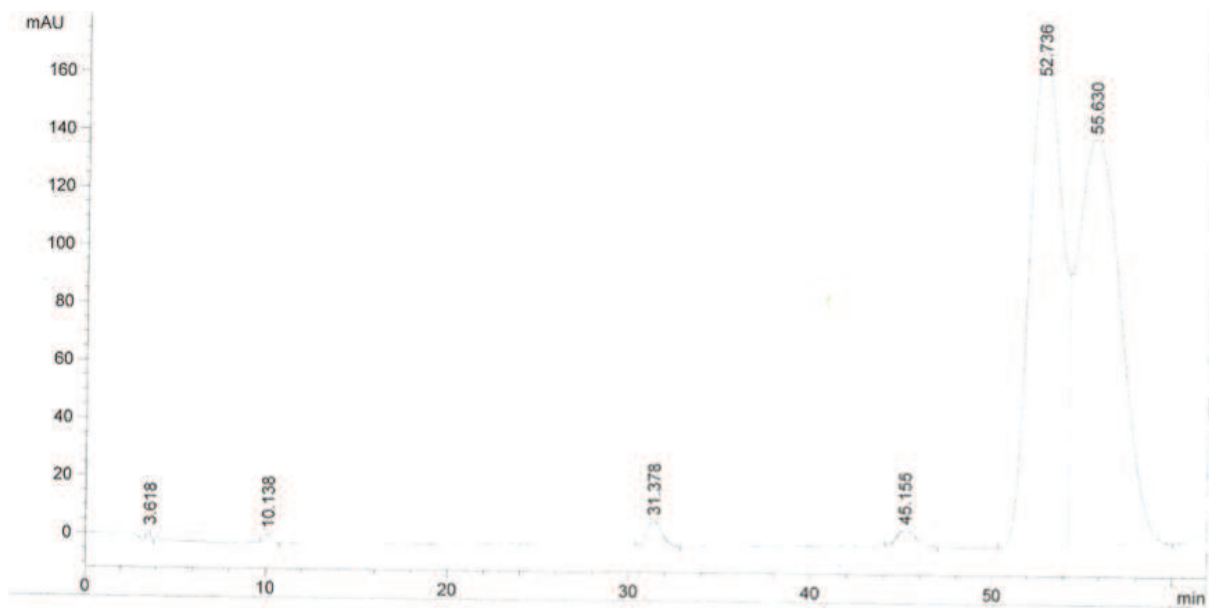




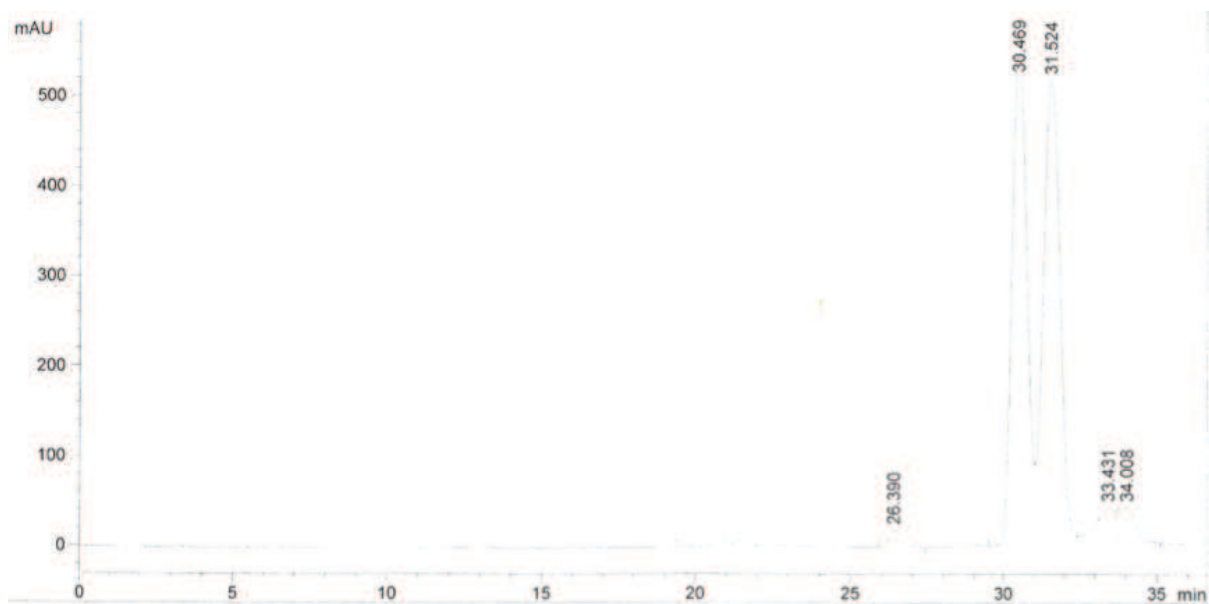
*Spekter 6.3 – Kromatogram av alkoholester 4, 1,0 mL/min og 1% iPrOH (OD-H)*



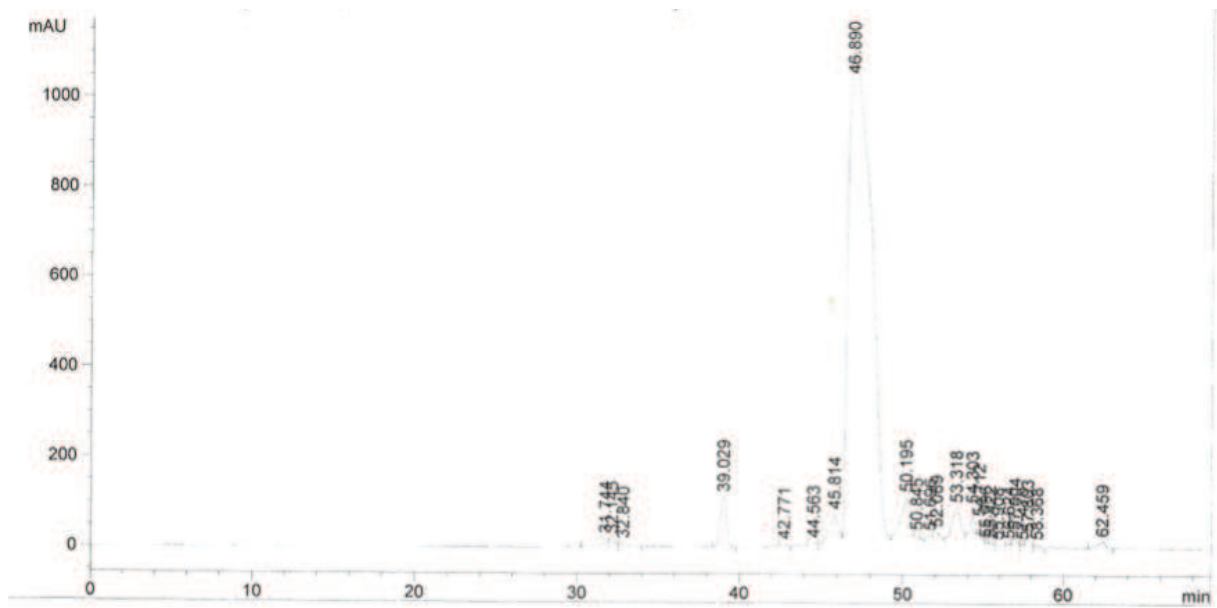
*Spekter 6.4 – Kromatogram alkoholester 4, 0,5 mL/min og 1%iPrOH (OD-H)*



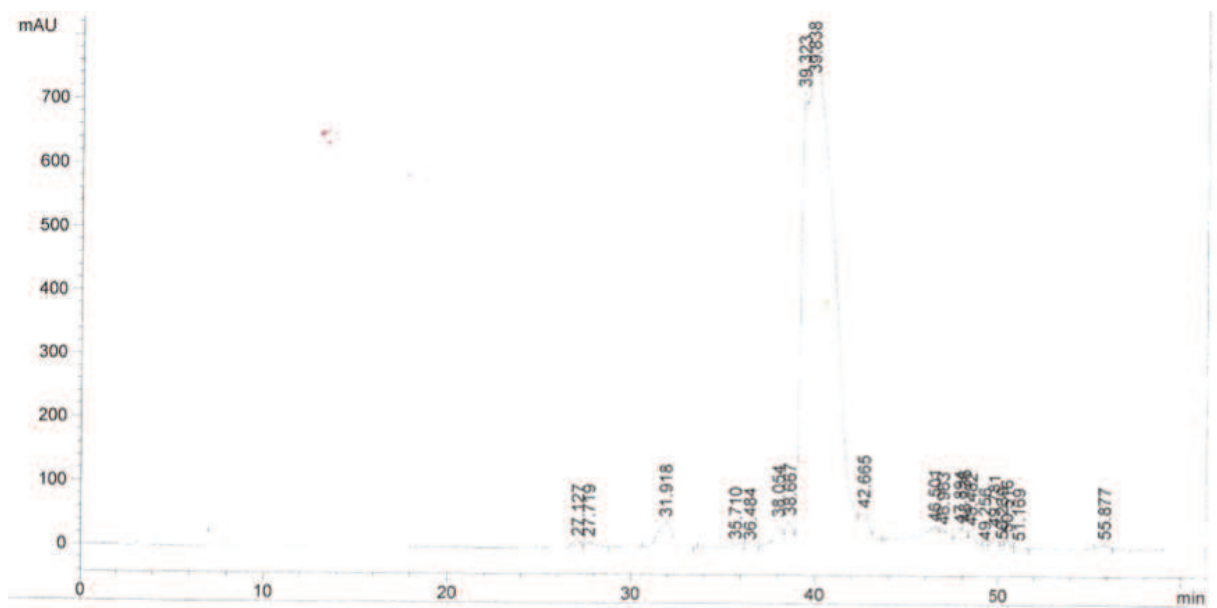
*Spekter 6.5 – Kromatogram av alkoholester 4, 0,9 mL/min og 0,8% iPrOH (OD-H)*



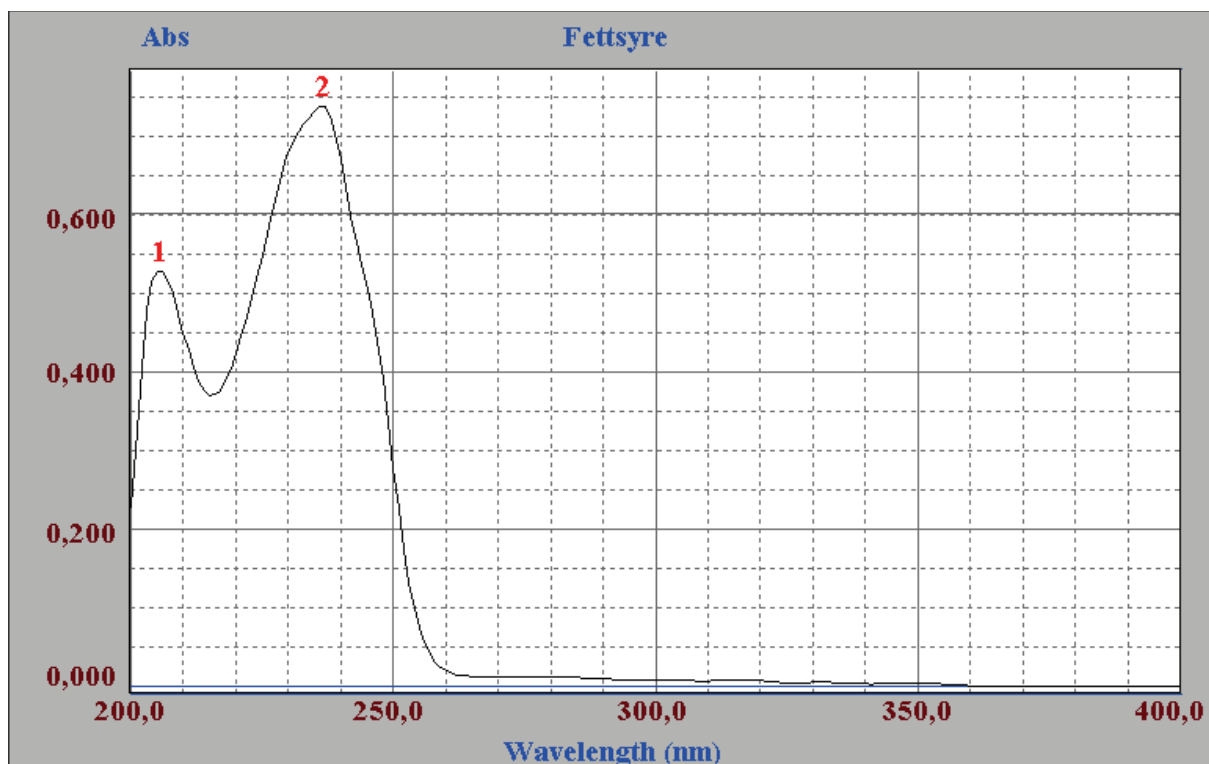
*Spekter 6.6 –Kromatogram av alkoholester 4, 1,0 mL/min og gradientløsning (OD-H), den beste separasjonen*



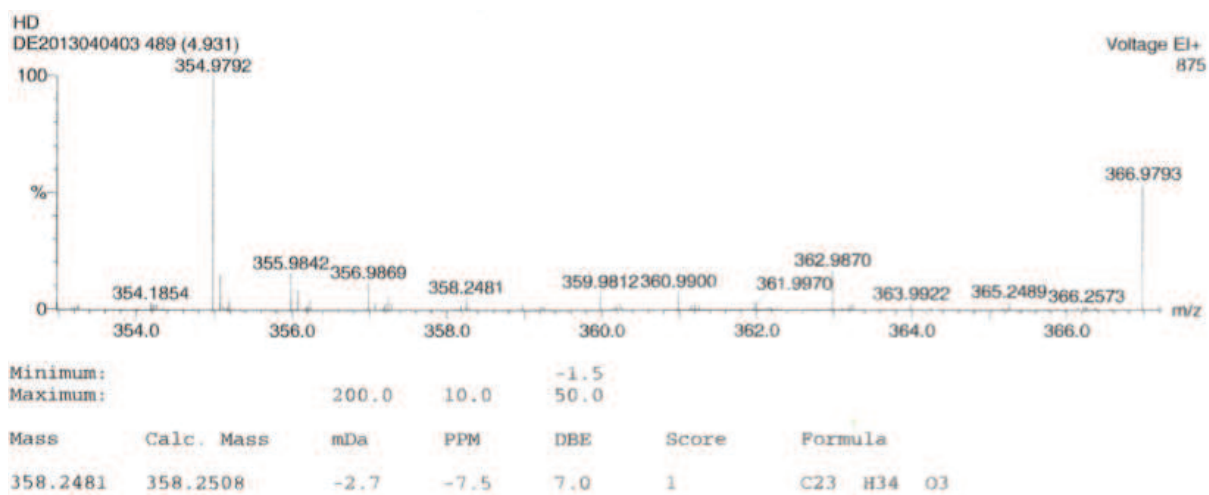
*Spekter 6.7 – Kromatogram av alkoholester 4, 0,7 mL/min og gradientløsning (AD-H)*



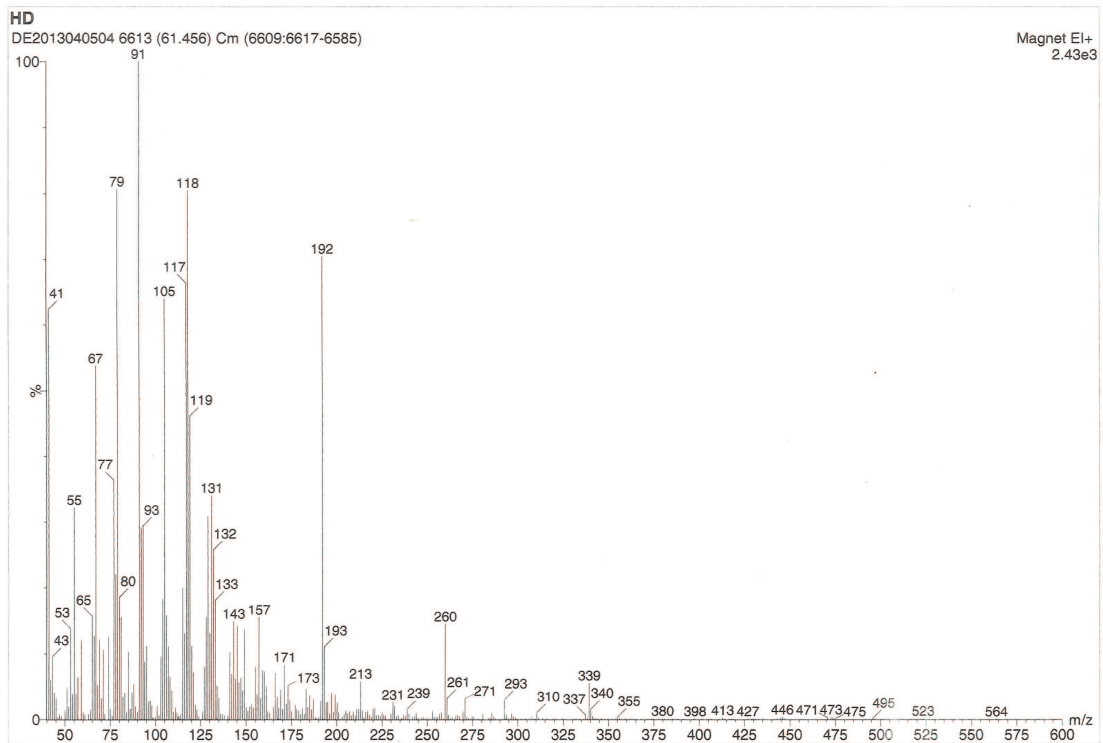
*Spekter 6.8 – Kromatogram av alkoholester 4, 1 mL/min og gradientløsning (AD-H)*



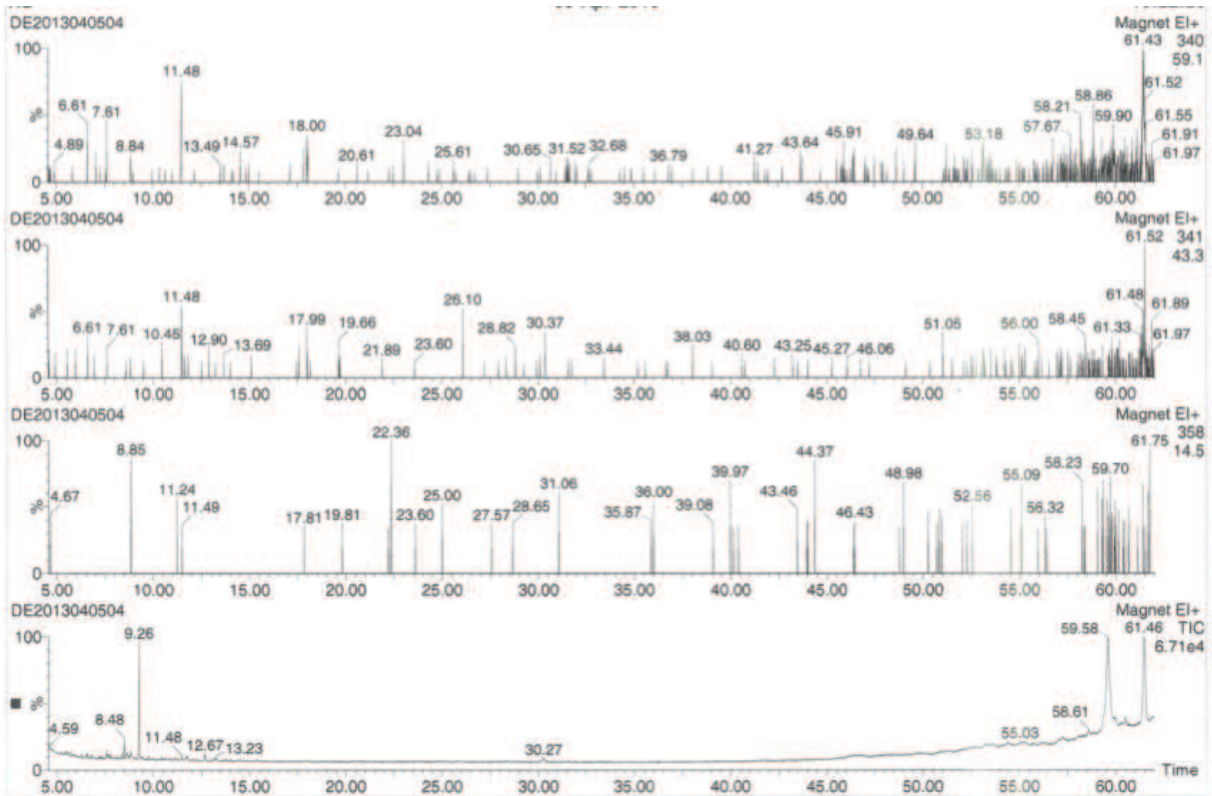
Spekter 6.9 – UV-spekter av alkoholester 4,  $\lambda_{max} = 236 \text{ nm}$  og  $\epsilon \approx 26 \text{ 000}$



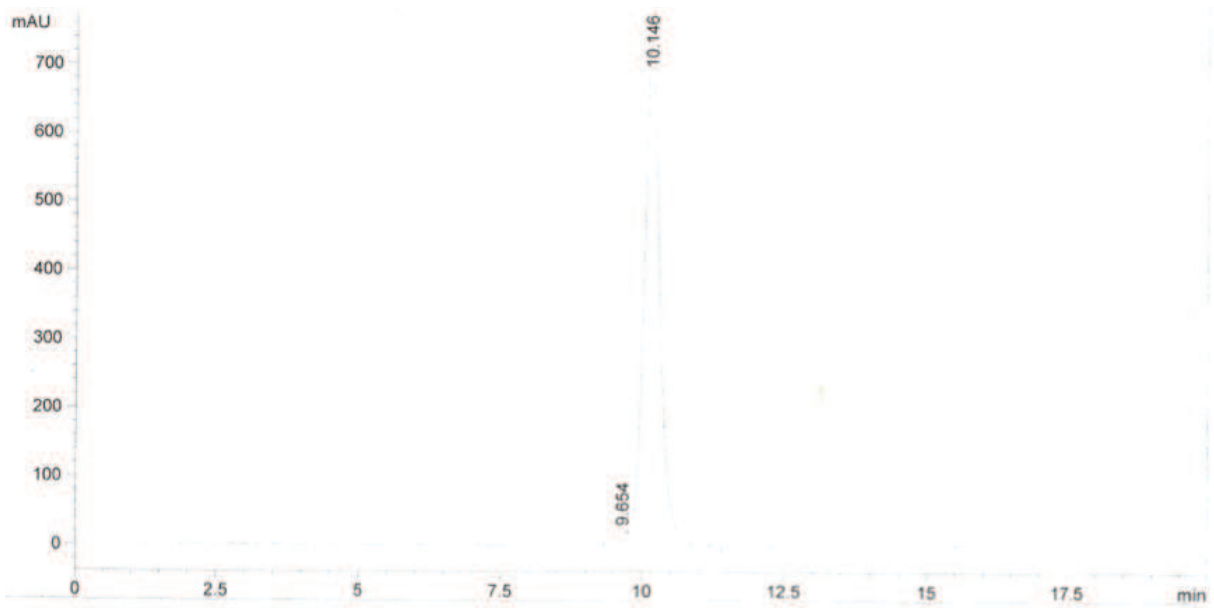
Spekter 6.10 – Høytoppløselig MS-spekter av alkoholester 4



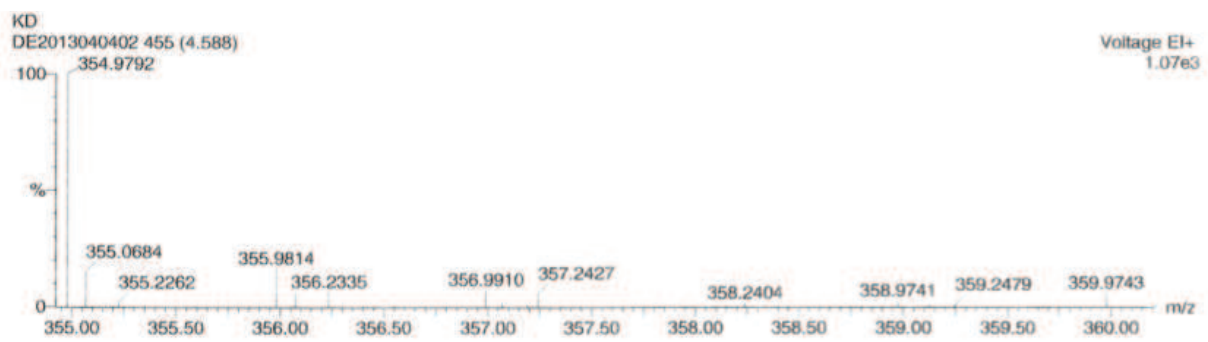
Spekter 6.11 – MS-spekter av alkoholester 4



Spekter 6.12 – MS-spekter av alkoholester 4

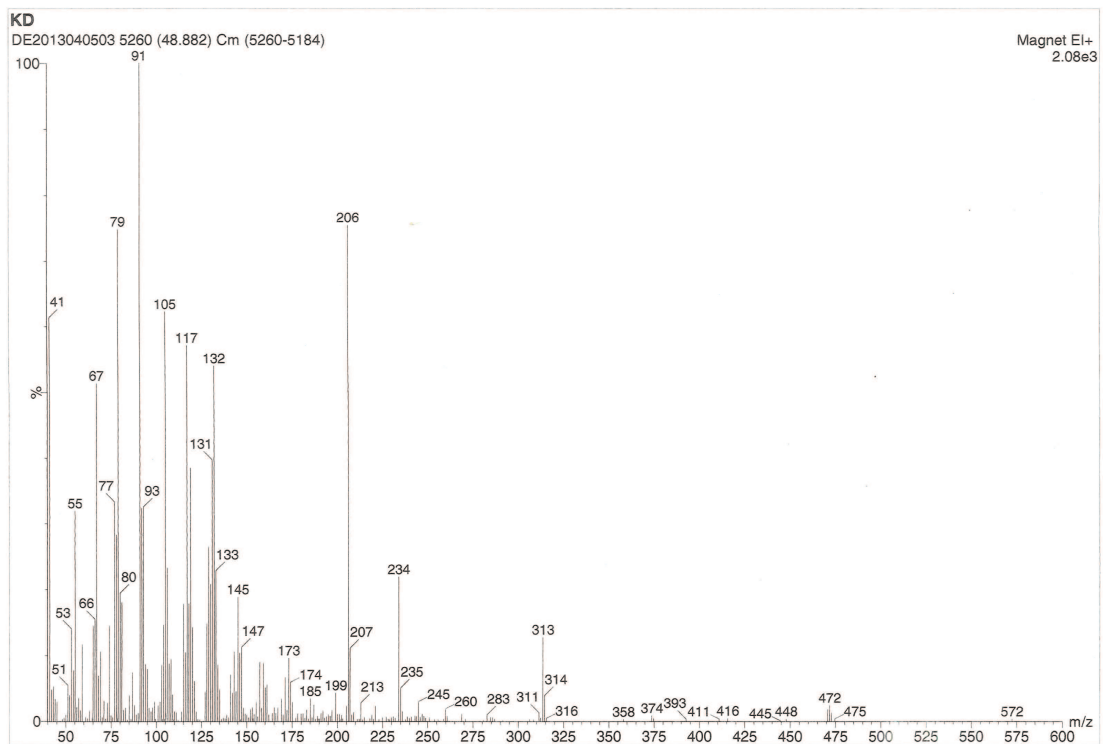


Spekter 6.13 – Kromatogram av ketoester 5, 1,0 mL/min og 85% MeOH (C18)

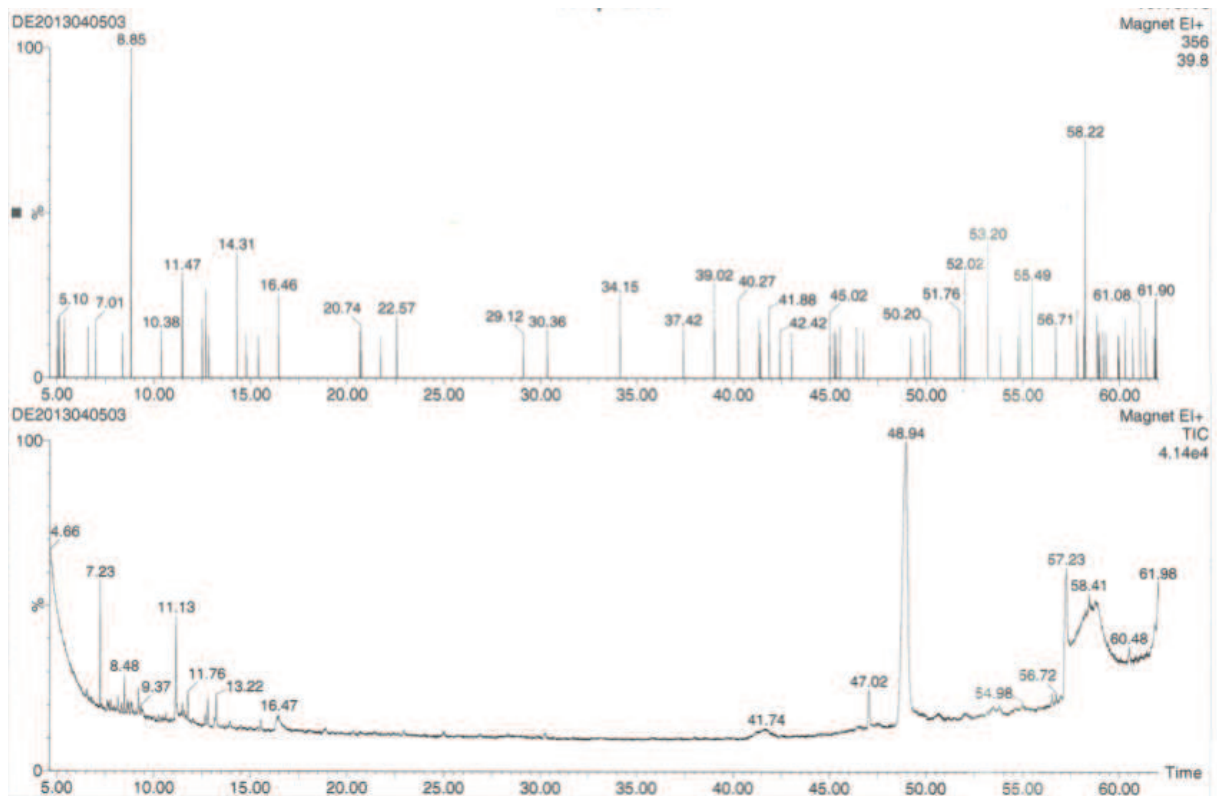


Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Score	Formula
356.2335	356.2351	-1.6	-4.6	8.0	1	C23 H32 O3

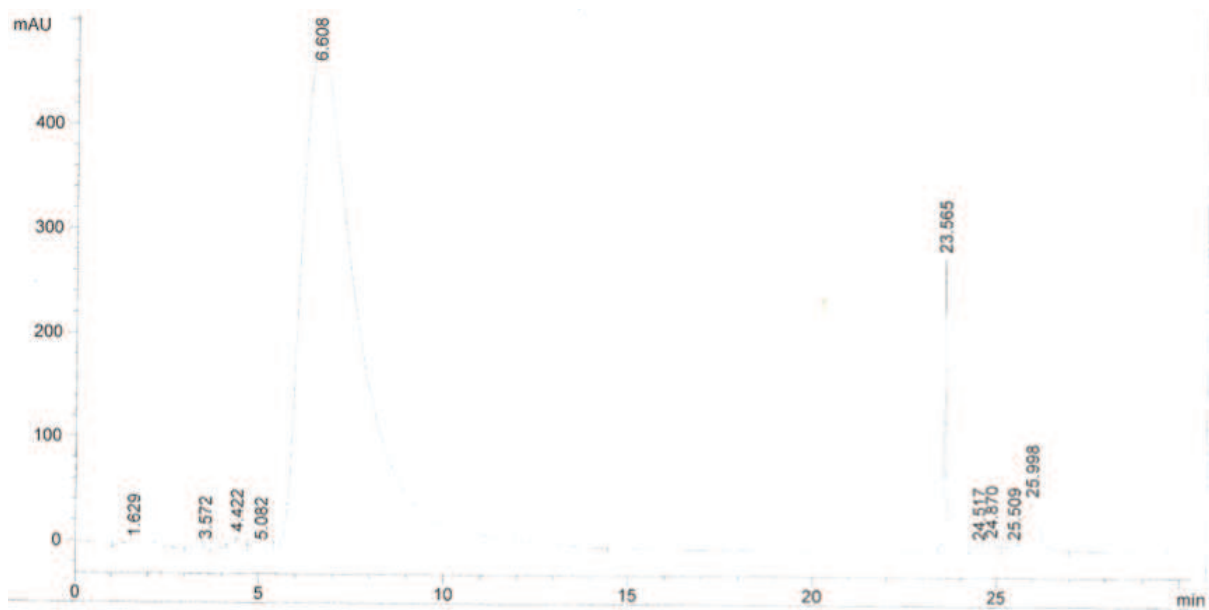
Spekter 6.14 – Høytoppløselig MS-spekter av ketoester 5



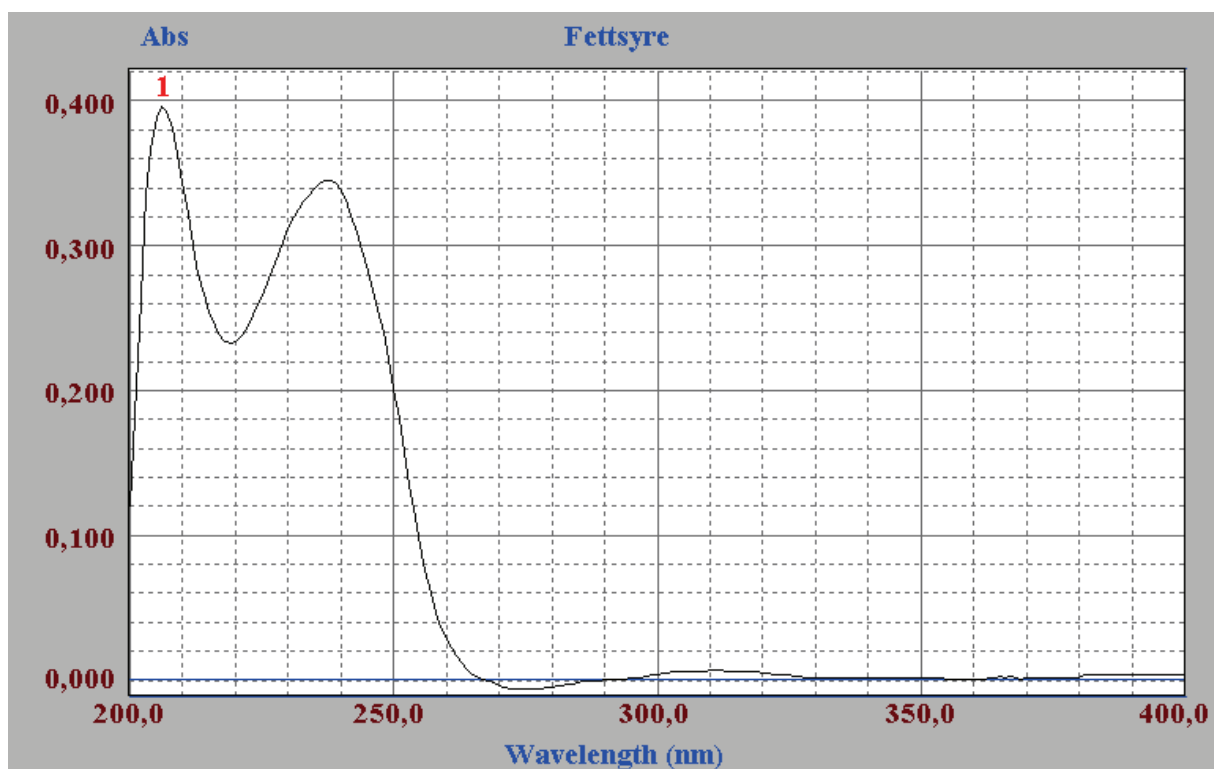
Spekter 6.15 – MS-spekter av ketoester 5



Spekter 6.16 – MS-spekter av ketoester 5

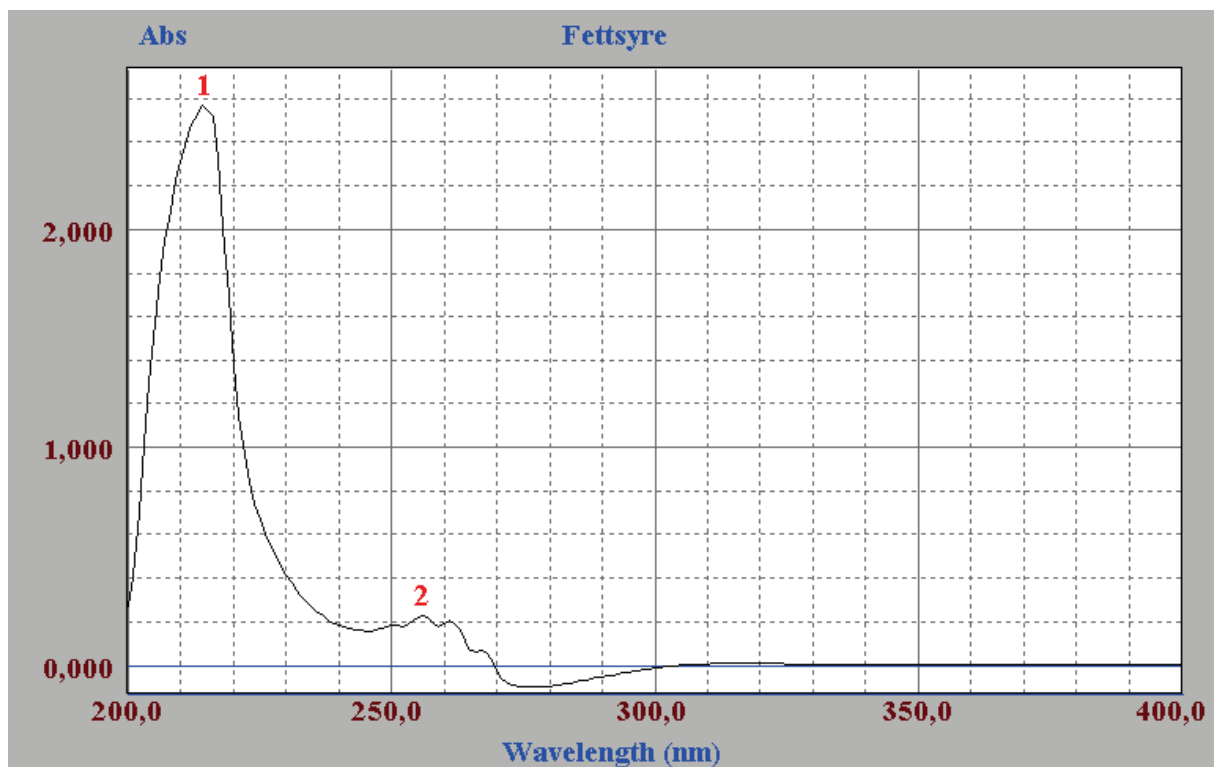


Spekter 6.17 – Kromatogram av Mosher-derivat 6 (OD-H)



Spekter 6.18 – UV-spekter av Mosher-derivat 6,  $\lambda_{max} = 238 \text{ nm}$  og  $\epsilon \approx 26\,500$





Spekter 6.19 – UV-spekter av Moshers syreklorid,  $\lambda_{max} = 256 \text{ nm}$  og  $\epsilon \approx 270$

## LITTERATURLISTE

---

- About Epax AS*. Tilgjengelig fra: <http://www.epax.com/pages/about-epax-as> (lest 18. mars 2013).
- Andersen, S., Refsum, H. & Tanum, L. (2003). Kirale legemidler. *Tidsskrift for Den norske legeforsning*, 123: 2055-2056.
- Bannenberg, G., Makoto, A. & Serhan, C. N. (2007). Endogenous Receptor Agonists: Resolving Inflammation. *The Scientific World Journal*, 7: 1440-1462.
- Bannenberg, G. & Serhan, C. N. (2010). Specialized pro-resolving lipid mediators in the inflammatory response: An update. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1801: 1260-1273.
- Berge, J. & Barnathan, G. (2005). Fatty Acids from Lipids of Marine Organisms: Molecular Biodiversity, Roles as Biomarkers, Biologically Active Compounds, and Economical Aspects. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology* (96): 49-125.
- Bergquist, P. R., Lawson, M. P., Lavis, A. & Cambie, R. C. (1984). Fatty Acid Composition and the Classification of the Porifera. *Biochemical Systematics and Ecology*, 12: 63-84.
- Bougault, M. J. (1904). *Compt. rend.*, 139: 864.
- Bougault, M. J. (1908a). *Ann. Chim. Phys.*, 15: 296.
- Bougault, M. J. (1908b). *Ann. Chim. Phys.*, 14: 145.
- Bougault, M. J. (1911). *Ann. Chim. Phys.*, 22: 125.
- Brash, A. R. (1999). Lipoxygenases: Occurrence, Functions, Catalysis and Acquisition of Substrate. *The Journal of Biological Chemistry*, 274: 23679-23682.
- Burr, G. O. & Burr, M. M. (1929). A new deficiency disease produced by the rigid exclusion of fat from the diet. *The Journal of Biological Chemistry*, 82 (345-367).
- Calder, P. C. (2006). n-3 Polyunsaturated fatty acids, inflammation and inflammatory diseases. *Am. J. Clin. Nutr.*, 83: 1505-1519.
- The Carnitine Cycle*. Tilgjengelig fra: <http://www.pearsonhighered.com/mathews/ch18/fi18p15.htm> (lest 19.04.13).
- Casteels, M., Foulon, V., Mannaerts, G. P. & Van Veldhoven, P. P. (2003). Alpha-oxidation of 3-methyl-substituted fatty acids and its thiamine dependence. *Eur. J. Biochem.*, 270: 1619-1627.
- Chabot, C., Gagne, J., Giguere, C., Bernard, J., Baudry, M. & Massicotte, G. (1998). Bidirectional Modulation of AMPA Receptor Properties by Exogenous Phospholipase A2 in the Hippocampus. *Hippocampus*, 8: 299-309.
- Chirality (chemistry)*. (2013). Tilgjengelig fra: [http://en.wikipedia.org/wiki/Chirality\\_\(chemistry\)](http://en.wikipedia.org/wiki/Chirality_(chemistry)) (lest 1. mai 2013).
- Christie, W. W. (2013). *Resolvins and Protectins*. Tilgjengelig fra: <http://lipidlibrary.aocs.org/lipids/eicresol/index.htm> (lest 9. mai 2013).
- Corey, E. J., Albright, J. O., Barton, A. E. & Hashimoto, S. I. (1980). Chemical and enzymatic syntheses of 5-HPETE, a key biological precursor of slow-reacting substances of anaphylaxis (SRS), and 5-HETE. *J. Am. Chem. Soc.*, 102: 1435-1436.
- Corey, E. J., Shih, C. & Cashman, J. R. (1983). Docosahexaenoic acid is a strong inhibitor of prostaglandin but not leukotriene biosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 80: 3581-3584.
- Corey, E. J. & Wright, S. W. (1988). Convenient Method for the Recovery of Eicosapentaenoic Acid from Cod Liver Oil. *J. Org. Chem.*, 53: 5980-5981.

- Covington, M. B. (2004). Omega-3 Fatty Acids. *American Family Physician*, 70 (1): 133-140.
- Croston, G. (2001). *Omega Oxidation*. Tilgjengelig fra: <http://www.biocarta.com/pathfiles/omegaoxidationPathway.asp> (lest 2. mai 2013).
- Dale, J. A., Dull, D. L. & Mosher, H. S. (1969).  $\alpha$ -Methoxy- $\alpha$ -trifluoromethylphenylacetic Acid, a Versatile Reagent for the Determination of Enantiomeric Composition of Alcohols and Amines. *J. Org. Chem.*, 34: 2543-2549.
- Delphin, I. L. A. *Kiralitet*. Tilgjengelig fra: <http://snl.no/kiralitet> (lest 30. april 2013).
- Dess, D. B. & Martin, J. C. (1983). Readily accessible 12-I-5 oxidant for the conversion of primary and secondary alcohols to aldehydes and ketones. *J. Org. Chem.*, 48: 4155-4156.
- Dewick, P. M. (2009). *Medicinal natural products : a biosynthetic approach*. Chichester: Wiley. X, 539 s. : ill. s.
- Dyck, M. C., Ma, D. W. & Meckling, K. A. (2011). The anticancer effects of vitamin D and omega-3 PUFAs in combination via cod-liver oil: One plus one may equal more than two. *Medical hypotheses*, 77: 326-332.
- Erlemann, K., Rokach, J. & Powell, W. S. (2004). Oxidative Stress Stimulates the Synthesis of the Eosinophil Chemoattractant 5-Oxo-6,8,11,14-eicosatetraenoic Acid by Inflammatory Cells. *The Journal of Biological Chemistry* (279): 40376-40384.
- Gillan, F. T., Stoilov, I. L., Thompson, J. E., Hogg, R. W., Wilkinson, C. R. & Djerassi, C. (1988). Fatty Acids as Biological Markers for Bacterial Symbionts in Sponges. *Lipids*, 23: 1139-1145.
- Gilroy, D. W., Newson, J., Sawmynaden, P., Willoughby, D. A. & Croxtall, J. D. (2004). A novel role for phospholipase A2 isoforms in the vheckpoint control af acute inflammation. *The FASEB Journal*, 18: 489-498.
- Grant, G. E., Rokach, J. & Powell, W. S. (2009). 5-Oxo-ETE ant the OXE receptor. *Prostaglandins and Other Lipid Mediators*, 89: 98-104.
- Greuenwald, J., Graubbaum, H. J. & Harde, A. (2002). Effest of cod liver oil on symptoms of rheumatoid arthritis. *Advances in natural therapy*, 19: 101-107.
- Harper, C. R. & Jacobsen, T. A. (2001). The Fats of Life: the role of omega-3 fatty acids in the prevention of coronary heart disease. *American Medical Association*, 161: 2185-2192.
- Hart, H., Craine, L. E., Hart, D. J. & Hadad, C. M. (2007). *Organic Chemistry*. 12 utg.
- Hibbeln, J. R. & Salem, N. J. (1995). Dietary polyunsaturated fatty acids and depression: When cholesterol does not satisfy. *Am. J. Clin. Nutr.*, 62: 1-9.
- Horrocks, L. A. & Yeo, Y. K. (1999). Healt benefits of docosahexaenoic acid (DHA). *Pharmacological Research*, 40: 211-225.
- Hoye, T. R., Jeffrey, C. S. & Shao, F. (2007). Mosher ester analysis for the determination of absolute konfiguration of stereogenic (chiral) carbinol carbons. *Nature Protocols*, 2: 2451-2458.
- Hu, F. B., Manson, J. E. & Willett, W. C. (2001). Types of dietary fat and risk of coronary disease: A critical review. *American college of nutrition*, 20: 5-19.
- Itoh, T., Murota, I., Yoshikai, K., Yamada, S. & Yamamoto, K. (2006). Synthesis of docosahexaenoic acid derivatives designed as novel PPAR $\gamma$  agonists and antidiabetic agents. *Bioorg. Med. Chem.*, 14: 98-108.
- Jones, C. E., Holden, S., Tenailon, L., Bhatia, U., Seuwen, K., Tranter, P., Turner, J., Kettle, R., Bouhelal, R., Charlton, S., et al. (2003). Expression and Characterization of a 5-

- oxo-6E,8Z,11Z,14Z-Eicosatetraenoic Acid Receptor Highly Expressed on Human Eosinophils and Neutrophils. *Molecular Pharmacology*, 63: 471-477.
- Jones, C. E. (2005). The OXE receptor: a new therapeutic approach for asthma? *TRENDS in Molecular Medicine*, 11: 266-270.
- King, M. W. (2013). *Lipolysis and the Oxidation of Fatty Acids*. Tilgjengelig fra: <http://themedicalbiochemistrypage.org/fatty-acid-oxidation.php#omegaox> (lest 2. mai 2013).
- Koon, R. (2009). *Understanding Rancidity of Nutritional Lipids*. Natural product insider. Tilgjengelig fra: <http://www.naturalproductsinsider.com/articles/2009/08/understanding-rancidity-of-nutritional-lipids.aspx> (lest 1. mai 2013).
- Langseter, A. M., Stenstrøm, Y. & Skattebøl, L. A convenient synthesis of callyspongia (all-Z-1,6,9,12,15-octadecapenten-3-one) a vinylketone polyunsaturated marine natural product: Universitetet for miljø- og biovitenskap
- Universitetet i Oslo.
- Lawson, M. P., Bergquist, P. R. & Cambie, R. C. (1984). Fatty Acid Composition and the Classification of the Porifera. *Biochemical Systematics and Ecology*, 12: 357-393.
- Le Borgne, F. & Demarquoy, J. (2012). Interaction between peroxisomes and mitochondria on fatty acid metabolism. *Open Journal of Molecular and Integrative Physiology*, 2: 27-33.
- Li, J., Zhang, Y., Yu, Z., Wang, Y., Yang, Y., Liu, Z., Jiang, J., Song, M. & Wu, Y. (2007). Superior storage stability in low lipoxygenase maize varieties. *Journal of Stored Products Research*, 43: 530-534.
- Li, Y., Maher, P. & Schubert, D. (1997). A Role for 12-lipoxygenase in Nerve Cell Death Caused by Glutathione Depletion. *Neuron*, 19: 453-463.
- Litchfield, C., Greenberg, A. J., Noto, G. & Morales, R. W. (1976). Unusually High Levels of C24-C30 Fatty Acids in Sponges of the Class Demospongiae. *Lipids*, 11: 567-570.
- Liu, J. C., Conklin, S. M., Manuck, S. B., Yao, J. K. & Muldoon, M. F. (2011). Long-chain omega-3 fatty acids and blood pressure. *American journal of hypertension*, 24: 1121-1126.
- Maccarrone, M., Melino, G. & Finazzi-Agro, A. (2001). Lipoxygenases and their involvement in programmed cell death. *Cell Death & Differentiation*, 8: 776-784.
- Makrides, M., Simmer, K., Goggin, M. & Gibson, M. A. (1993). Erythrocyte docosahexaenoic acid correlates with the visual response of healthy, term infants. *Pediatr. Res.*, 33: 425-427.
- Manev, H. (2000). 5-Lipoxygenases gene polymorphism and onset of Alzheimer's disease. *Medical hypotheses*, 54: 75-76.
- Mannaerts, G. P., Van Veldhoven, P. P. & Casteels, M. (2000). Peroxisomal Lipid Degradation via  $\beta$ - and  $\alpha$ -oxidation in Mammals. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 32: 73-87.
- Massrieh, W. (2008). Health benefits of omega-3 fatty acids from Neptun krill oil. *Lipid Technology*, 20: 108-111.
- Meyer, B. J., Mann, N. J., Lewis, J. L., Milligan, G. C., Sinclair, A. J. & Howe, P. R. C. (2003). Dietary Intakes and Food Sources of Omega-6 and Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids. *Lipids*, 38: 391- 398.
- Möller's Fiskeolje. Tilgjengelig fra: <http://www.mollers.no/c-56-Möllers-Fiskeolje.aspx> (lest 18. mars 2013).

- Naturstoffer*. Tilgjengelig fra: [http://www.denstoredanske.dk/It, teknik og naturvidenskab/Kemi/Fysisk kemi og fysisk elektrokemi/naturstoffer](http://www.denstoredanske.dk/It,teknik_og_naturvidenskab/Kemi/Fysisk_kemi_og_fysisk_elektrokemi/naturstoffer) (lest 19. mai 2013).
- Newman, D. J., Cragg, G. M. & Snader, K. M. (2000). The influence of natural products upon drug discovery. *Nat. Prod. Rep.*, 17: 215-234.
- O'Flaherty, J., Rogers, L. C., Paumi, C. M., Hantgan, R. R., Thomas, L. R., Clay, C. E., High, K., Chen, Y. Q., Willingham, M. C., Smitherman, P. K., et al. (2005). 5-Oxo-ETE analogs and the proliferation of cancer cells. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1736: 228-236.
- Phillis, J. W., Horrocks, L. A. & Farooqui, A. A. (2006). Cyclooxygenases, Lipoxygenases, and epoxygenases in CNS: Their role and involment in neurological disorders. *Brain Research Reviews*, 52: 201-243.
- Powell, W. S., Gravel, S., MacLeod, R. J., Mills, E. & Hashefi, M. (1993). Stimulation of Human Neutrophils by 5-oxo-6,8,11,14-Eicosatetraenoic Acid by a Mechanism Independent of the Leukotriene B4 Receptor. *The Journal of Biological Chemistry*, 268: 9280-9286.
- Primdahl, K. (2013). *Syntese av oksiderte EPA-analoger med potensielle anti-inflammatoriske effekter*: Universitetet for miljø- og biovitenskap, IKBM.
- Rancidity in Foods*. (2009). Tilgjengelig fra: <http://www.cip.ukcentre.com/Rancidity.htm> (lest 13. mai 2013).
- Ranganathan, S., Muraleedharan, K. M., Vaish, N. K. & Jayaraman, N. (2004). Halo- and selenolactonisation: The two major strategies for cyclofunctionalisation. *Tetrahedron*, 60: 5273-5308.
- Roche, H. M. (1999). Unsaturated fatty acids. *Proceedings of the nutrition society*, 58: 397-401.
- Scmidt, E. B., Christensen, J. H., Aardestrup, I., Madsen, T., Riahi, S., Hansen, V. E. & Skou, H. A. (2001). Marine n-3 Fatty Acids: Basic Features and Background. *Lipids*, 36: 565-568.
- Serhan, C. N. & Petasis, N. A. (2011). Resolvins and Protectins in Inflammation-Resolution. *Chemr. Rev.*, 111: 5922-5943.
- Simic, M. G. (1981). Free Radical Mechanisms in Autoxidation Processes. *Journal of Chemical Education*, 58: 125-131.
- Simopoulos, A. P. (2002). The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 56: 365-379.
- Stephen, S. (2002). Mirror, mirror on the wall, which enantiomers is the fairest of them all? *J. Clin. Psychiatry*, 63: 656-657.
- Stordy, B. J. (2000). Dark adaption, motor skills, docosahexaenoic acid, and dyslexia. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71: 323-326.
- Sturm, J. G., Schuligoi, R., Sturm, E. M., Royer, J. F., Lang-Loidolt, D., Stammberg, H., Amann, R., Peskar, B. & Heinemann, A. (2005). 5-Oxo-6,8,11,14-eicosatetraenoic acid is a potent chemoattractant for human basophils. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 116: 1014-1019.
- Tou, J. C., Jaczynski, J. & Chen, Y. (2007). Krill for Human Consumption: Nutritional Value and Potential Healt Benefits. *Nutrition Reviews*, 65: 63-77.
- Tyagi, R., Shimpukade, B., Blattermann, S., Kostenis, E. & Ulven, T. (2012). A concise synthesis of the potent inflammatory mediator 5-oxo-ETE. *Med. Chem. Commun.*, 3: 195-198.
- Tymoczko, J. L., Stryer, L. & Berg, J. M. (2013). *Biochemistry: a short course*. New York: Freeman. XXVIII, 710 s. : ill. s.

- Uz, T., Pesold, C., Longone, P. & Manev, H. (1998). Aging-associated up-regulation of neuronal 5-lipoxygenase expression: putative role in neural vulnerability. *The FASEB Journal*, 12: 439-449.
- Voet, D. & Voet, J. G. (1995). *Biochemistry*. New York: Wiley. XVII, 1361 s. : ill. s.
- Wainer, I. W. (2001). The therapeutic promise of single enantiomers: introduction. *Hum Psychopharmacol Clin Exp*, 16: 73-77.
- Wanders, R. J. A., Vreken, P., Ferdinandusse, S., Jansen, G. A., Waterham, H. R., van Roermund, C. W. T. & Van Grunsven, E. G. (2001). Peroxisomal fatty acid  $\alpha$ - and  $\beta$ -oxidation in humans: enzymology, peroxisomal metabolite transporters and peroxisomal diseases. *Biochemical Society Transactions*, 29: 250-267.
- Wanders, R. J. A., Komen, J. & Kemp, S. (2011). Fatty acids omega-oxidation as a rescue pathway for fatty acid oxidation disorders in humans. *FEBS Journal*, 278: 182-194.
- Ward, D. E. & Rhee, C. K. (1991). A simple metode for the microscale preparation of Mosher's acid chloride. *Tetrahedron Letters*, 32: 7165-7166.
- Williams, C. S., Mann, M. & DuBois, R. N. (1999). The role of cyclooxygenases in inflammation, cancer and development. *Oncogene*, 18: 7908-7916.
- Wright, S. W., Kuo, E. Y. & Corey, E. J. (1987). An effectiv Process for the Isolation of Docosahexaenoic Acid in Quantity from Cod Liver Oil. *J. Org. Chem.*, 52: 4399-4401.