



Norges miljø- og  
biovitenskapelige  
universitet

**Masteroppgave 2018 60 stp**

Fakultet for kjemi, bioteknologi og matvitenskap

Hovedveileder: Yngve Stenstrøm

## **Syntese av 3(*R*)-HEPE via en Evans-Nagao acetat aldol-type reaksjon**

Synthesis of 3(*R*)-HEPE via an Evans-Nagao  
Acetate Aldol-Type Reaction

**Gard Gjessing**

Kjemi

Fakultet for kjemi, bioteknologi og matvitenskap



## Forord

Arbeidet med denne oppgaven ble utført ved kjemiavdelingen på Fakultet for kjemi, bioteknologi og matvitenskap ved Norges miljø- og biovitenskapelige universitet.

Først vil jeg takke mine veiledere professor Yngve Stenstrøm og professor Trond Vidar Hansen for en interessant oppgave og god veiledning. Jeg vil også takke medveilederne doktor Jens M. J. Nolsøe og doktor Simen Antonsen for all hjelpen de har gitt meg i det praktiske og teoretiske arbeidet med oppgaven.

Takk til professor Dag Ekeberg og senioringeniør Hanne Devle for MS-analyser av alle nye forbindelser syntetisert i forbindelse med denne oppgaven. Takk til overingeniør Anne Gravdahl for bestilling av kjemikalier.

Takk til doktor Karoline Gangestad Primdahl for NMR- og MS-analyser av 3(R)-HEPE, og medstudent Fredrik Garnås Rylandsholm for hjelp med Mosher-analysen.

Takk til Pronova Biopharma for utgangsstoffet i syntesen.

Takk til alle de andre studentene på syntesegruppen for et fint år.

Til slutt vil jeg takke for all støtte fra familie og venner.

Ås, mai 2018

Gard Gjessing

## Sammendrag

I denne oppgaven ble det utviklet en syntese av (3*R*,5*Z*,8*Z*,11*Z*,14*Z*,17*Z*)-3-hydroksieikosa-5,8,11,14,17-pentaensyre (3(*R*)-HEPE), et 3(*R*)-hydroksi-oksilipin biosyntetisert fra (5*Z*,8*Z*,11*Z*,14*Z*,17*Z*)-eikosa-5,8,11,14,17-pentaensyre (EPA) av visse gjær-arter. Det er påvist at den patogene gjæren *Candida albicans* er mindre virulent når den får hemmet biosyntesen av 3(*R*)-hydroksi-oksilipiner. Biologisk testing av 3(*R*)-HEPE vil kunne avdekke hvordan disse forbindelsene biosyntetiseres, og hvordan biosyntesen kan blokkeres.

Utgangsstoffet i syntesen av 3(*R*)-HEPE, etyl (4*Z*,7*Z*,10*Z*,13*Z*,16*Z*,19*Z*)-dokosa-4,7,10,13,16,19-heksaenat (DHA-EE), ble omdannet til et C<sub>18</sub>-aldehyd. Dette aldehydet ble addert til et *N*-acetyl-tioksotiazolidin i en Evans-Nagao acetat aldol-type reaksjon som gav to diastereomere aldolprodukter. Det ble oppnådd et 8:1 diastereomerforhold i favør av den ønskede diastereomeren med *R*-konfigurasjon ved karbinolgruppen. Omdannelse av tioksotiazolidin-substituenten til en hydroksylgruppe gav deretter mål molekylet 3(*R*)-HEPE.

Tre synteseveier fra aldolproduktet til mål molekylet ble forsøkt. Den første gikk via TBS-beskyttede mellomprodukter, og gav et totalt utbytte på 4% over 9 trinn fra DHA-EE.

To synteseveier uten TBS-beskyttede mellomprodukter ble deretter forsøkt. Aldolproduktet ble i den første hydrolysert direkte til 3(*R*)-HEPE, og i den andre omdannet til 3(*R*)-HEPE via den korresponderende etylesteren. Direkte hydrolyse til mål molekylet gav lavt utbytte, men synteseveien som gikk via etylesteren gav et totalt utbytte på 8% over 7 trinn fra DHA-EE.

Den antatte *R*-konfigurasjonen av etylesteren av mål molekylet ble bekreftet via Mosher-metoden. Dette resultatet bekreftet dermed at mål molekylet som ble dannet var 3(*R*)-HEPE.



## Abstract

A synthesis of 3(*R*)-HEPE, a 3(*R*)-hydroxy-oxylin biosynthesized from (5*Z*,8*Z*,11*Z*,14*Z*,17*Z*)-eicosa-5,8,11,14,17-pentaenoic acid (EPA) by certain yeast species, was developed in this thesis. It has been shown that the pathogenic yeast *Candida albicans* is less virulent when its biosynthesis of 3(*R*)-hydroxy-oxylin is inhibited. Biological testing of 3(*R*)-HEPE may uncover how these compounds are biosynthesized, and how the biosynthesis can be inhibited.

The starting material in the synthesis of 3(*R*)-HEPE, ethyl (4*Z*,7*Z*,10*Z*,13*Z*,16*Z*,19*Z*)-docosa-4,7,10,13,16,19-hexaenate (DHA-EE), was converted to a C<sub>18</sub>-aldehyde. This aldehyde was added to an *N*-acetyl-thioxothiazolidine in an Evans-Nagao acetate aldol-type reaction which afforded two diastereomeric aldol products. We achieved a diastereomeric ratio of 8:1 in favor of the desired diastereomer with an *R*-configured carbinol group. Converting the thioxothiazolidine substituent into a hydroxyl group then afforded the target molecule 3(*R*)-HEPE.

Three synthetic pathways from the aldol product to the target molecule were attempted. The first one proceeded via TBS-protected reaction intermediates, giving an overall yield of 4% in 9 synthetic steps from DHA-EE.

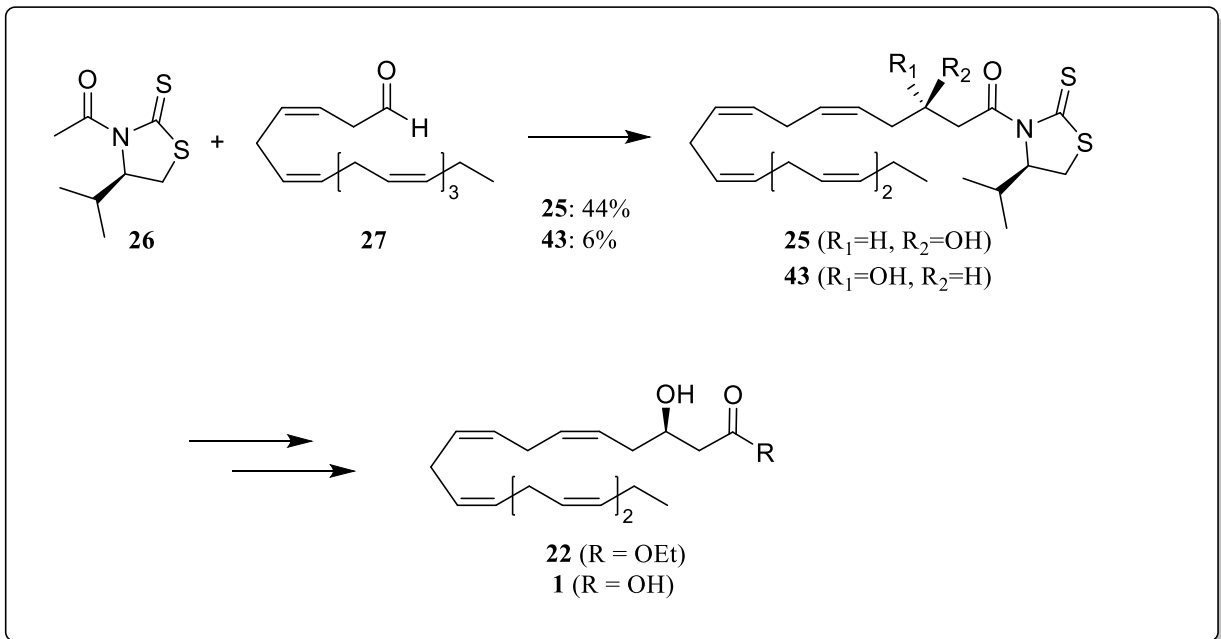
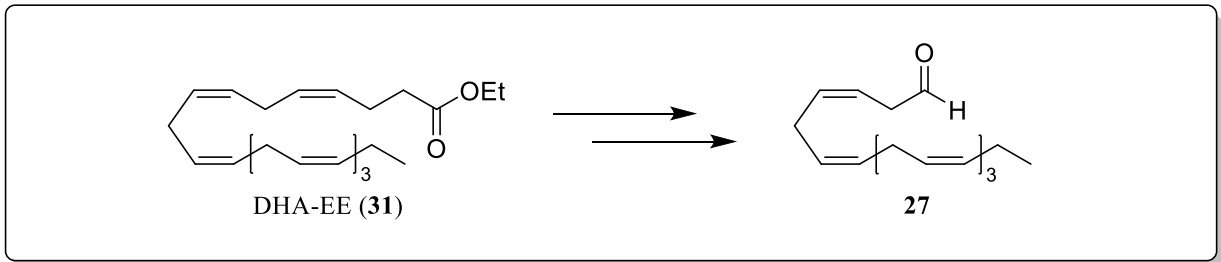
Two synthetic pathways omitting TBS-protected reaction intermediates were then attempted. In the first pathway the aldol product was hydrolyzed directly to 3(*R*)-HEPE, whereas in the second it was converted to 3(*R*)-HEPE via the corresponding ethyl ester. Low yields were achieved when the aldol product was hydrolyzed directly to the target molecule, however the synthetic pathway which proceeded via the ethyl ester afforded an 8% overall yield in 7 synthetic steps from DHA-EE.

The hypothesized *R*-configuration of the ethyl ester of the target molecule was confirmed by the Mosher-method. This result thus confirmed that the synthesized target molecule was indeed 3(*R*)-HEPE.

## Forkortelser

3(R)-HEPE	(3R,5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-3-Hydroksieikosa-5,8,11,14,17-pentaensyre
3(R)-HETE	(3R,5Z,8Z,11Z,14Z)-3-Hydroksieikosa-5,8,11,14-tetraensyre
5(S)-HEPE	(5S,6E,8Z,11Z,14Z,17Z)-3-Hydroksieikosa-6,8,11,14,17-pentaensyre
5(S)-HETE	(5S,6E,8Z,11Z,14Z)-3-Hydroksieikosa-6,8,11,14-tetraensyre
15(S)-HETE	(15S,5Z,8Z,11Z,13E)-3-Hydroksieikosa-5,8,11,13-tetraensyre
18(R)-HEPE	(18R,5Z,8Z,11Z,14Z,16E)-18-Hydroksieikosa-5,8,11,14,16-pentaensyre
AA	Arakidonsyre ( <i>arachidonic acid</i> )
ACP	<i>Acyl carrier protein</i>
ASA	Acetylsalisylsyre ( <i>acetylsalicylic acid</i> )
CNS	Sentralnervesystemet ( <i>central nervous system</i> )
CoA	Koenzym A
DHA	(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-Dokosa-4,7,10,13,16,19-heksaensyre
DMF	<i>N,N</i> -Dimetylformamid
<i>ee</i>	Enantiomerisk overskudd ( <i>enantiomeric excess</i> )
EPA	(5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-Eikosa-5,8,11,14,17-pentaensyre
ESI	<i>Electrospray ionization</i>
FAS	Fettsyresyntase ( <i>fatty acid synthase</i> )
GPR119	G-proteinkoblet reseptor 119
LDA	Litium diisopropylamid
LO	Lipoksygenase
LT	Leukotrien
LX	Lipoksin
MaR	Maresin
MTPA	3,3,3-trifluor-2-metoksi-2-fenylpropansyre, Mosher-syre
NMP	<i>N</i> -Metyl pyrrolidon
PD1	Protektin D1
PG	Prostaglandin
Rf	Retardasjonsfaktor
SPM	<i>Specialized pro-resolving mediators</i>
TBAF	Tetra- <i>n</i> -butylammoniumfluorid
TBS	<i>tert</i> -Butyldimetylsilyl
TPDPS	<i>tert</i> -Butyldifenylsilyl

# Grafisk sammendrag



# Innholdsfortegnelse

<b>Forord</b> .....	<b>I</b>
<b>Sammendrag</b> .....	<b>II</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>III</b>
<b>Forkortelser</b> .....	<b>IV</b>
<b>Grafisk sammendrag</b> .....	<b>V</b>
<b>Innholdsfortegnelse</b> .....	<b>VI</b>
<b>1. Innledning</b> .....	<b>1</b>
1.1 Bakgrunn .....	1
1.2 Naturstoffer .....	1
1.3 Fettsyrer .....	2
1.3.1 Fettsyrebiosyntese .....	3
1.3.2 Biologisk oksidasjon av fettsyrer .....	7
1.4 Lipid-signalstoffer i inflammasjon .....	7
1.4.1 Biosyntese av leukotriener og lipoksiner .....	8
1.4.2 Resolviner, protektiner og maresiner.....	10
1.4.3 Oksygenerte fettsyrederivater i sopp.....	13
1.4.4.1 Undergruppen 3-hydroksi-oksilipiner .....	13
1.4.4.2 Biologiske studier .....	14
1.4.4.3 Biosyntese av 3(R)-hydroksi-oksilipiner i sopp.....	15
1.5 Kjemisk bakgrunn .....	15
1.5.1 Verdien av totalsyntese.....	15
1.5.2 Beskyttelsesgrupper for alkoholer .....	16
1.5.3 Corey jodlaktonisering.....	18
1.5.4 Heteromolekylær aldolreaksjon.....	19
1.5.5 Asymmetrisk syntese.....	20
1.5.5.1 Asymmetrisk katalyse.....	20
1.5.5.2 Kirale hjelpemolekyler .....	22
1.5.5.3 Oksazolidinon-derivater som hjelpemolekyler .....	23
1.5.6 Mosher-ester-analyse.....	25
1.5.7 Retrosyntetisk analyse .....	27
1.6 Mål for oppgaven .....	29
<b>2. Resultater og Diskusjon</b> .....	<b>30</b>
2.1 Testsystem med EPA-EE (32).....	30

2.2 Syntese av det <i>S</i> -konfigurerte Nagao-hjelpemolekylet <b>38</b> .....	31
2.3 Syntese av aldehyd <b>27</b> fra DHA-EE ( <b>31</b> ) .....	32
2.4 Syntese av aldolproduktene <b>39</b> og <b>40</b> .....	33
2.5 Syntese av det <i>R</i> -konfigurerte Nagao-hjelpemolekylet <b>26</b> .....	34
2.6 Syntese av aldolproduktene <b>25</b> og <b>43</b> .....	35
2.7 Første syntesevei fra aldolprodukt til 3( <i>R</i> )-HEPE ( <b>1</b> ) .....	38
2.8 Andre syntesevei fra aldolprodukt til 3( <i>R</i> )-HEPE ( <b>1</b> ) .....	41
2.9 Tredje syntesevei fra aldolprodukt til 3( <i>R</i> )-HEPE ( <b>1</b> ) .....	43
2.10 Dannelse av <i>R</i> -Mosher-ester <b>44</b> fra etylester <b>22</b> .....	44
2.11 Mosher-ester-analyse .....	46
<b>3. Oppsummering og videre arbeid</b> .....	<b>48</b>
<b>4. Konklusjon</b> .....	<b>50</b>
<b>5 Eksperimentelt</b> .....	<b>51</b>
5.1 Generelle bemerkninger .....	51
5.2 Testsystem med EPA-EE .....	52
5.2.1 Syntese av 6-((3 <i>Z</i> ,6 <i>Z</i> ,9 <i>Z</i> ,12 <i>Z</i> )-1-jodpentadeka-3,6,9,12-tetraen-1-yl)tetrahydro-2 <i>H</i> -pyran-2-on ( <b>33</b> ) .....	52
5.2.2 Syntese av metyl 4-(3-((2 <i>Z</i> ,5 <i>Z</i> ,8 <i>Z</i> ,11 <i>Z</i> )-tetradeka-2,5,8,11-tetraen-1-yl)oksiran-2-yl)butanat ( <b>34</b> ) .....	53
5.2.3 Syntese av (3 <i>Z</i> ,6 <i>Z</i> ,9 <i>Z</i> ,12 <i>Z</i> )-1,1-dimetokspentadeka-3,6,9,12-tetraen ( <b>35</b> ) .....	54
5.3 Syntese mot målmolekylet 3( <i>R</i> )-HEPE ( <b>1</b> ) .....	55
5.3.1 Syntese av (4 <i>S</i> )-4-propan-2-yl-2-tiokso-1,3-tiazolidin ( <b>37</b> ) .....	55
5.3.2 Syntese av 1-((4 <i>S</i> )-4-propan-2-yl-2-tiokso-1,3-tiazolidin-3-yl)etan-1-on ( <b>38</b> ) .....	56
5.3.3 Syntese av 5-((3 <i>Z</i> ,6 <i>Z</i> ,9 <i>Z</i> ,12 <i>Z</i> ,15 <i>Z</i> )-1-jodoktadeka-3,6,9,12,15-pentaen-1-yl)dihydrofuran-2(3 <i>H</i> )-on ( <b>30</b> ) .....	57
5.3.4 Syntese av metyl 3-(3-((2 <i>Z</i> ,5 <i>Z</i> ,8 <i>Z</i> ,11 <i>Z</i> ,14 <i>Z</i> )-heptadeka-2,5,8,11,14-pentaen-1-yl)oksiran-2-yl)propanat ( <b>29</b> ) .....	58
5.3.5 Syntese av (3 <i>Z</i> ,6 <i>Z</i> ,9 <i>Z</i> ,12 <i>Z</i> ,15 <i>Z</i> )-1,1-dimetoksioktadeka-3,6,9,12,15-pentaen ( <b>28</b> ) .....	59
5.3.6 Syntese av (3 <i>Z</i> ,6 <i>Z</i> ,9 <i>Z</i> ,12 <i>Z</i> ,15 <i>Z</i> )-oktadeka-3,6,9,12,15-pentaenal ( <b>27</b> ) .....	60
5.3.7 Syntese av (3 <i>R</i> ,5 <i>Z</i> ,8 <i>Z</i> ,11 <i>Z</i> ,14 <i>Z</i> ,17 <i>Z</i> )-3-hydroksi-1-((4 <i>S</i> )-4-propan-2-yl-2-tiokso-1,3-tiazolidin-3-yl)eikosa-5,8,11,14,17-pentaen-1-on ( <b>39</b> ) .....	61
5.3.8 Dannelse av (3 <i>S</i> ,5 <i>Z</i> ,8 <i>Z</i> ,11 <i>Z</i> ,14 <i>Z</i> ,17 <i>Z</i> )-3-hydroksi-1-((4 <i>S</i> )-4-propan-2-yl-2-tiokso-1,3-tiazolidin-3-yl)eikosa-5,8,11,14,17-pentaen-1-on ( <b>40</b> ) .....	62
5.3.9 Syntese av (4 <i>R</i> )-4-propan-2-yl-2-tiokso-1,3-tiazolidin ( <b>42</b> ) .....	63
5.3.10 Syntese av 1-((4 <i>R</i> )-4-propan-2-yl-2-tiokso-1,3-tiazolidin-3-yl)etan-1-on ( <b>26</b> ) .....	64
5.3.11 Syntese av (3 <i>R</i> ,5 <i>Z</i> ,8 <i>Z</i> ,11 <i>Z</i> ,14 <i>Z</i> ,17 <i>Z</i> )-3-hydroksi-1-((4 <i>R</i> )-4-propan-2-yl-2-tiokso-1,3-tiazolidin-3-yl)eikosa-5,8,11,14,17-pentaen-1-on ( <b>25</b> ) .....	65

5.3.12 Dannelse av (3 <i>S</i> ,5 <i>Z</i> ,8 <i>Z</i> ,11 <i>Z</i> ,14 <i>Z</i> ,17 <i>Z</i> )-3-hydroksi-1-((4 <i>R</i> )-4-propan-2-yl-2-tiokso-1,3-tiazolidin-3-yl)eikosa-5,8,11,14,17-pentaen-1-on ( <b>43</b> ) .....	66
5.3.13 Syntese av (3 <i>R</i> ,5 <i>Z</i> ,8 <i>Z</i> ,11 <i>Z</i> ,14 <i>Z</i> ,17 <i>Z</i> )-3-((tert-butyldimetylsilyl)oksi)-1-((4 <i>R</i> )-4-propan-2-yl-2-tiokso-1,3-tiazolidin-3-yl)eikosa-5,8,11,14,17-pentaen-1-on ( <b>24</b> ) .....	67
5.3.14 Syntese av etyl (3 <i>R</i> ,5 <i>Z</i> ,8 <i>Z</i> ,11 <i>Z</i> ,14 <i>Z</i> ,17 <i>Z</i> )-3-((tert-butyldimetylsilyl)oksi)-eikosa-5,8,11,14,17-pentaenat ( <b>23</b> ) .....	68
5.3.15 Syntese av etyl (3 <i>R</i> ,5 <i>Z</i> ,8 <i>Z</i> ,11 <i>Z</i> ,14 <i>Z</i> ,17 <i>Z</i> )-3-hydroksi-eikosa-5,8,11,14,17-pentaenat ( <b>22</b> ) .	69
5.3.16 Syntese av 3( <i>R</i> )-HEPE ( <b>1</b> ) .....	70
5.3.17 Syntese av 3( <i>R</i> )-HEPE ( <b>1</b> ) ved direkte hydrolyse av aldolprodukt <b>39</b> .....	71
5.3.18 Syntese av etylester <b>22</b> fra aldolprodukt <b>25</b> .....	72
5.3.19 Syntese av <i>R</i> -Mosher-ester <b>44</b> fra etylester <b>22</b> .....	73
<b>6. Referanser</b> .....	<b>74</b>
<b>7. Vedlegg</b> .....	<b>i</b>
7.1 NMR spektraldata .....	i
7.2 IR spektraldata .....	xxiv
7.3 UV spektraldata .....	xxxii
7.4 HRMS Spektraldata .....	xxxvi

# 1. Innledning

## 1.1 Bakgrunn

I 1988 ble det satt i gang et prosjekt med mål om å utvikle en metode for biokatalytisk fremstilling av prostaglandiner til medisinsk bruk.<sup>[1]</sup> Siden prostaglandiner er sensitive for acetylsalisylsyre (*acetylsalicylic acid*, ASA) ble det forsøkt å finne ut om gjærsopper kan produsere ASA-sensitive forbindelser. En forskningsgruppe i Sør-Afrika var involvert i prosjektet, og gav tritium-merket (5Z,8Z,11Z,14Z)-eikosa-5,8,11,14-tetraensyre (arakidonsyre, AA) til gjærsoppen *Dipodascopsis uninucleata*.<sup>[2]</sup> Ved hjelp av tynnsjikt-kromatografi av de radioaktive metabolittene og radioimmunologisk analyse ble det oppdaget biosyntese av en ASA-sensitiv oksilipin, dvs. et oksygenert naturprodukt dannet fra en fettsyre. Oksilipinen som ble funnet var riktignok ikke en prostaglandin, men derimot en 3-hydroksimetabolitt av AA. Oksilipiner ble oppdaget i sopp for omtrent tre tiår siden, og fremdeles er nokså lite kjent om fysiologiske funksjoner og biosynteseveier av disse fettsyrederivatene.<sup>[3]</sup> Det er kjent at 3-hydroksi-oksilipiner regulerer visse gjærsoppers virulens og biofilmdannelse, og de antas å regulere gjærsoppers seksuelle og aseksuelle utvikling.<sup>[4]</sup> Figur 1-1 viser (3R,5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-3-hydroksieikosa-5,8,11,14,17-pentaensyre (3(R)-HEPE, **1**), og (3R,5Z,8Z,11Z,14Z)-3-hydroksieikosa-5,8,11,14-tetraensyre (3(R)-HETE, **2**). Hydroksisyrer **1** dannes fra (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-eikosa-5,8,11,14,17-pentaensyre (EPA), mens **2** er en metabolitt av AA. I denne oppgaven ble det utviklet en syntese av naturstoffet **1**.



Figur 1-1: De to 3-hydroksi-oksilipinene 3(R)-HEPE (**1**) og 3(R)-HETE (**2**)

## 1.2 Naturstoffer

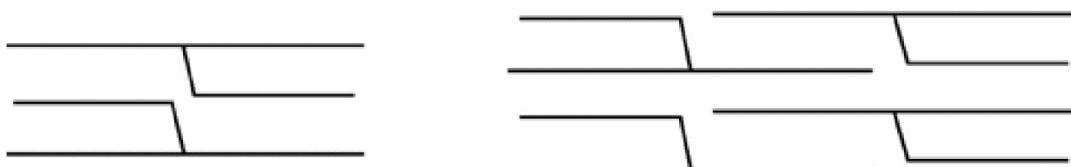
Naturstoffer er de forbindelsene organismer er i stand til å biosyntetisere. De kan i grove trekk klassifiseres som primære eller sekundære metabolitter, etter den rollen de har i organismen som produserer dem. Primære metabolitter er forbindelser som er nødvendige for at en organisme skal overleve, og som finnes i alle organismer med få eller ingen variasjoner i strukturen. Forbindelser som ikke er livsnødvendig for organismen, og som kun finnes i et

begrenset antall organismer, klassifiseres som sekundære metabolitter. I mange tilfeller er den biokjemiske rollen til de sekundære metabolittene ukjent, men det antas at de alle spiller en rolle for å øke organismens levedyktighet.<sup>[5]</sup>

Lipider er hydrofobe eller amfipatiske ikke-polymere molekyler som helt eller delvis dannes ved karbanion-basert kondensasjon av tioestere, eller karbokation-basert kondensasjon av isopren-enheter.<sup>[6]</sup> Fettsyrer tilhører førstnevnte gruppe, og kjennetegnes ved at de har upolare karbonkjeder bundet til en polar karboksylgruppe. Fettsyrene spenner over forbindelser som finnes uforandret i alt liv, til sterkt modifiserte forbindelser som bare finnes i noen få arter. Mange modifiserte fettsyrer fungerer som signalstoffer som regulerer grunnleggende funksjoner i organismen. Biosyntesen av visse slike fettsyrederivater aktiveres først ved behov, siden de brytes for raskt ned til å kunne lagres i kroppen.

### 1.3 Fettsyrer

Frem til begynnelsen av 1800-tallet visste kjemikere lite om oppbygningen til fett og oljer. Antoine Lavoisier skrev i 1774 at om oljer var det kun kjent at de ble omdannet til gass ved forbrenning.<sup>[7]</sup> På begynnelsen av det 19. århundret forandret dette seg, hovedsakelig gjennom arbeidet til den franske kjemikeren Chevreul, som gjorde en rekke studier av fett mellom 1813 og 1818.<sup>[7]</sup> Han studerte først dannelsen av såpe, hvilket ledet ham til oppdagelsen av mange fettsyrer, bl.a. oljesyre, palmitinsyre og stearinsyre. Chevreul ble deretter den første til å vise at fett består av fettsyrer bundet som estere til en treverdige alkohol.<sup>[7]</sup> Hans landsmann Berthelot reagerte senere ulike fettsyrer med denne treverdige alkoholen, glyserol, og beviste at stoffene som da ble dannet var de samme som finnes i fett fra dyr og planter.<sup>[8]</sup> Figur 1-2 viser de to hovedmåtene triglyserider kan danne krystaller på: Kjederne danner en stol-form, og pakkes enten slik at to molekyler danner en enhet med lengden av to fettsyrekjeder som til venstre i illustrasjonen nedenfor, eller tre kjeder, som til høyre i illustrasjonen nedenfor.<sup>[9]</sup>

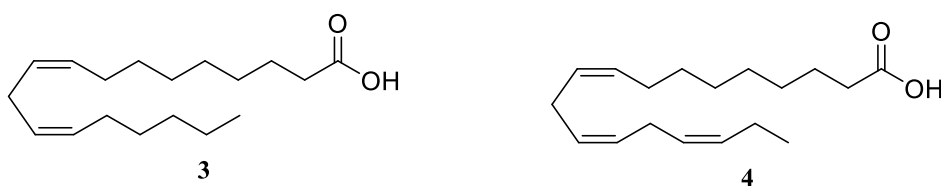


Figur 1-2: Skjematisk fremstilling av to vanlige krystallstrukturer av triglyserider<sup>[9]</sup>

Fettsyrer ble lenge ansett kun som energibærende forbindelser, og ikke i seg selv nødvendige for organismer som får sin energi fra andre forbindelser gjennom dietten. Dette ble antatt fordi



fett kan dannes biosyntetisk fra karbohydrater, og mangelsykdommer fra en fettfri diett ble tilskrevet fravær av fettløselige vitaminer heller enn fravær av fett.<sup>[10]</sup> Denne forestillingen ble rokket ved når Burr og Burr i 1929 publiserte sine eksperimenter hvor rotter ble føret på en fettfri diett.<sup>[11]</sup> Til tross for inntak av rikelig med vitaminer, proteiner, og karbohydrater viste rottene tegn på en ukjent mangelsykdom.<sup>[12]</sup> Etter å ha gjennomført flere studier kom Burr og Burr frem til at fravær av  $\omega$ -6-fettsyren linolsyre og  $\omega$ -3-fettsyren  $\alpha$ -linolensyre forårsaket denne sykdommen, og viste at rottene ble friske når de ble tilført disse to fettsyrene gjennom dietten.<sup>[13]</sup> Senere studier har avdekket at dyr ikke kan syntetisere  $\omega$ -3 og  $\omega$ -6 fettsyrer, fordi enzymene som oksiderer enkeltbindinger nær metyl-enden av fettsyrene til dobbeltbindinger kun finnes i planter. Alle  $\omega$ -3 og  $\omega$ -6 fettsyrer i dyr kan dermed spores tilbake til fettsyrer dannet av planter. Oppdagelsen av essensielle fettsyrer var et viktig bidrag til å øke kunnskapen om de metabolske reaksjonsveiene hos pattedyr. Forsøkene til Burr og Burr har sammen med studier av ulike metabolitter av fettsyrer gitt kjemikere og biologer en god forståelse av den betydningen fettsyrer har i celler og vev. De to essensielle fettsyrene linolsyre (3) og  $\alpha$ -linolensyre (4) er vist i figur 1-3.



Figur 1-3: De essensielle fettsyrene linolsyre (3) og  $\alpha$ -linolensyre (4)

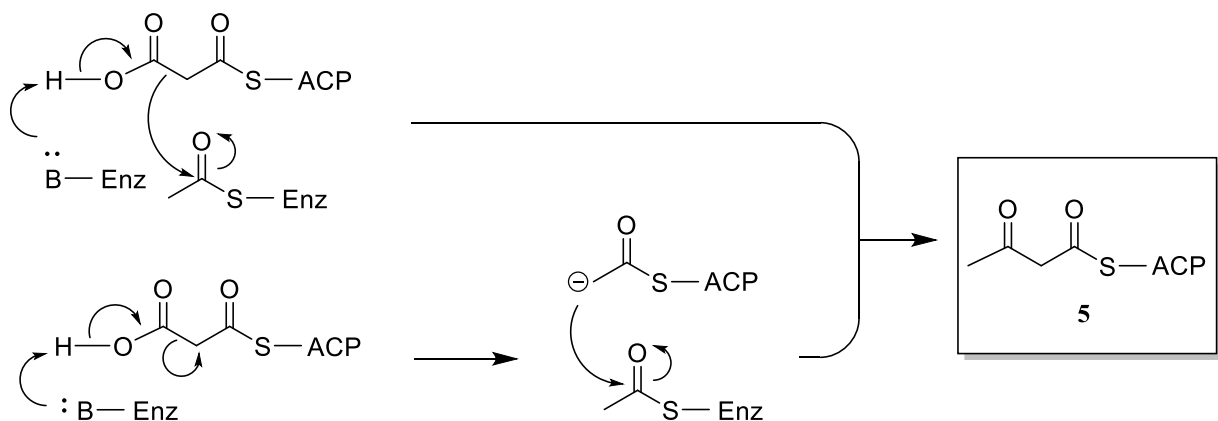
### 1.3.1 Fettsyrebiosyntese

En stor del av næringsinntaket til mennesker består av karbohydrater, men for å lagre energi effektivt kreves forbindelser med høyere energitetthet. Fettsyrer bundet i triglyserider har høyere energitetthet enn karbohydrater, og er følgelig bedre egnet til å lagre energi over lang tid. Cellene må derfor kunne biosyntetisere fettsyrer fra karbohydrater. Glykolysen og sitronsyresyklusen oksiderer karbohydrater til acetyl-CoA (AcCoA), som er utgangspunktet for fettsyrebiosyntesen. Kjemisk sett er denne biosyntesen en serie Claisen-reaksjoner mellom et tioester-derivat av den voksende fettsyrekjeden, og tioestere av byggesteiner som hver forlenger den med to karbonatomer.

I et forsøk utført av Bloch og Rittenberg, hvor mus ble gitt eddiksyre merket med  $^{13}\text{C}$  og  $^2\text{H}$ , ble det demonstrert at fettsyrer dannes av enheter på to karbonatomer.<sup>[14]</sup> Begge isotopene ble

funnet i fettsyrer fra musene, og fettsyrene ble dermed dannet med begge karbonatomene fra eddiksyremolekylene inkorporert. Senere arbeid av Lipmann og medarbeidere viste at eddiksyre må omdannes til en acetyl-tioester bundet til koenzym A for å danne fettsyrer.<sup>[15]</sup> Wakil isolerte to enzymfraksjoner som katalyserer fettsyredannelse, og viste at fraksjon 1 danner et mellomprodukt, senere identifisert som malonyl-CoA, som er nødvendig for at fraksjon 2 skal kunne danne fettsyrer.<sup>[16]</sup> Wakil og medarbeidere viste også at kun to av de tre karbonatomene i malonyl-CoA blir innlemmet i fettsyrene som dannes.<sup>[17]</sup>

Wakils andre enzymfraksjon er i dag kjent som fettsyresyntase (FAS), et enzymkompleks som katalyserer omdannelsen av malonyl-CoA til fettsyrer. Studier av FAS utført av Vagelos og medarbeidere demonstrerte at dette enzymkomplekset først omdanner malonyl-CoA til en tioester av *acyl carrier protein* (ACP).<sup>[18]</sup> Etter at AcCoA omdannes til en malonyl-tioester adderes den til en enzymbundet acetylgruppe. Grunnen til at malonyl-CoA dannes er at de sure hydrogenatomene ved  $\alpha$ -posisjonen til karbonylgruppen må spaltes av under fysiologiske betingelser, uten nærvær av en sterk base. Syrestyrken til hydrogenatomene som sitter ved  $\alpha$ -posisjonen til de to karbonylgruppene i malonyl-CoA er betraktelig høyere enn for de tilsvarende hydrogenatomene i AcCoA. To alternative reaksjonsveier kan tenkes for hvordan Claisen-reaksjonen skjer under fysiologiske betingelser: Enten dekarboksyleres malonyl-ACP i Claisen-reaksjonen, eller det dannes et enolat-anion som deretter gjennomgår en Claisen-reaksjon til acetoactyl-ACP (**5**) (skjema 1-1).



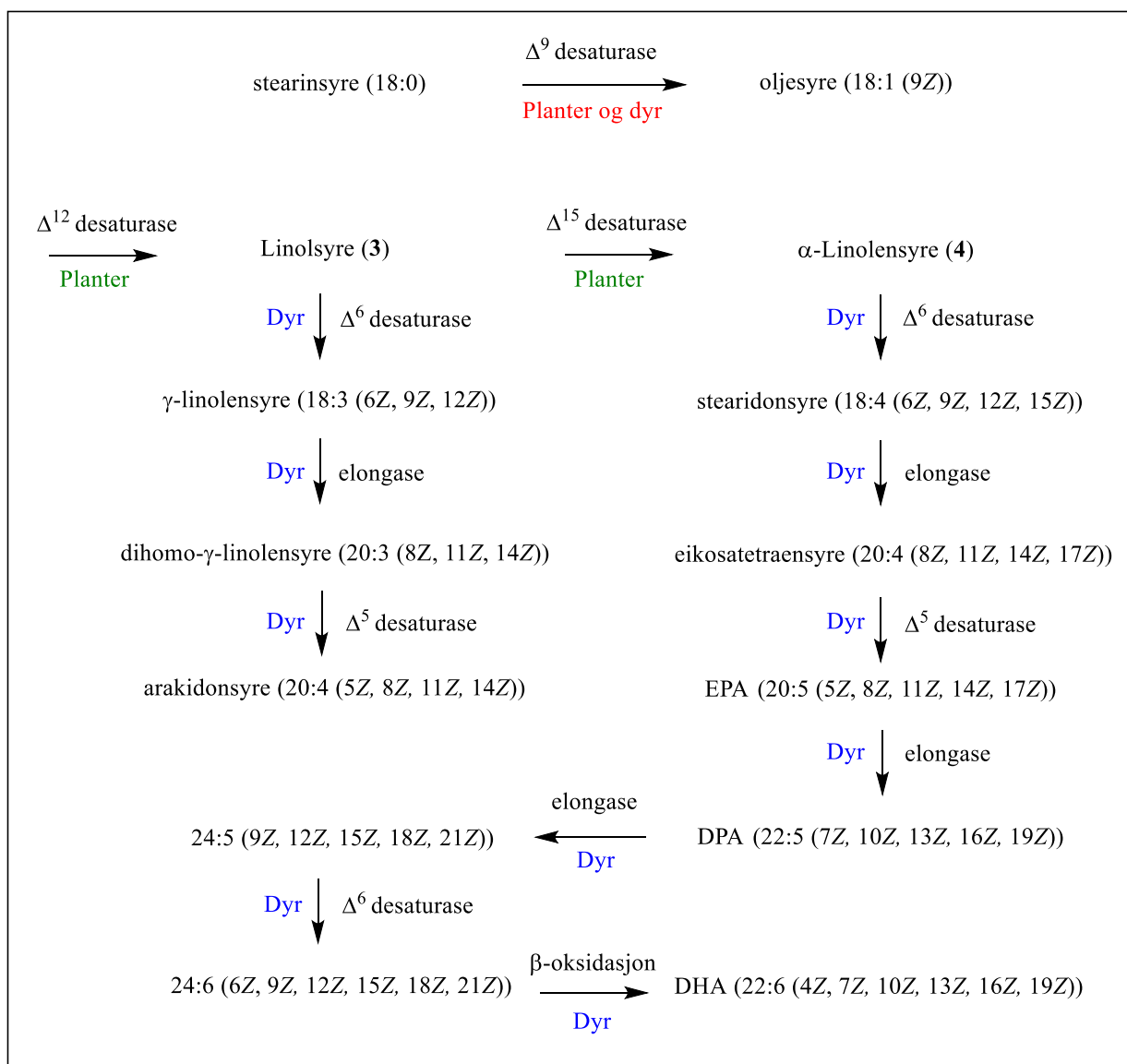
Skjema 1-1: To alternative reaksjonsveier for å danne acetoacetyl-ACP (**5**)

Trinnene videre katalyseres stereospesifikt av ulike komponenter av FAS-komplekset. Først reduserer NADPH  $\beta$ -ketogruppen i **5** til en *R*-hydroksylgruppe. I neste trinn elimineres vann, og det dannes en *E*-konfigurert dobbeltbinding. Denne reduseres videre slik at en mettet karbonkjede dannes. Neste runde av fettsyresyntesen forberedes ved at den voksende

fettsyrekjeden bindes enzymatisk, slik at prosessen kan gjentas med denne som utgangspunkt. For hver repetisjon av reaksjonsrekken øker kjedelengden med to karboner, helt til fettsyrekjeden er lang nok til å frigjøres som enten acyl-CoA, eller en fri fettsyre.

Mettede fettsyrer omdannes biosyntetisk til umettede fettsyrer i reaksjoner katalysert av dehydrogenase-enzymmer. I dyr skjer dette via en annen reaksjonsvei enn i planter. Dyr og sopp danner oljesyre fra CoA-bundet stearinsyre ved å innføre en dobbeltbinding mellom C-9 og C-10 i kjeden, katalysert av enzymet stearoyl-CoA  $\Delta^9$ -desaturase. Syn-eliminering av pro-R-hydrogenene på C-9 og C-10 gir Z-konfigurering ved denne dobbeltbindingen. I planter skjer en analog reaksjon hvor fettsyren er bundet til ACP, og reaksjonen katalyseres av stearoyl-ACP  $\Delta^9$ -desaturase.

Større ulikheter mellom dyr og sopp på den ene siden, og planter på den andre siden, gjør seg gjeldende når flerumettede fettsyrer dannes. En énumettet fettsyre som oljesyre kan brukes som substrat for å danne flerumettede fettsyrer. Planter binder da oljesyren til ACP for å aktivere den, og den andre dobbeltbindingen innføres mot metyl-enden av fettsyren, via et  $\Delta^{12}$ -desaturaseenzym. Produktet som dannes er ACP-bundet **3**, som danner grunnlaget for de viktigste  $\omega$ -6 fettsyrene i dyr.<sup>[19]</sup> Et  $\Delta^{15}$ -desaturaseenzym gjør plantene i stand til å innføre ytterligere en dobbeltbinding mot metyl-enden av fettsyrekjeden. De danner da  $\omega$ -3 fettsyren **4**, utgangsstoffet for de viktigste  $\omega$ -3 fettsyrene i dyr.<sup>[20]</sup> Skjema 1-2 viser hvordan **3** og **4** dannes ved biosyntese i planter, mens dyr biosyntetiserer de øvrige vanlige umettede fettsyrene.<sup>[21]</sup>

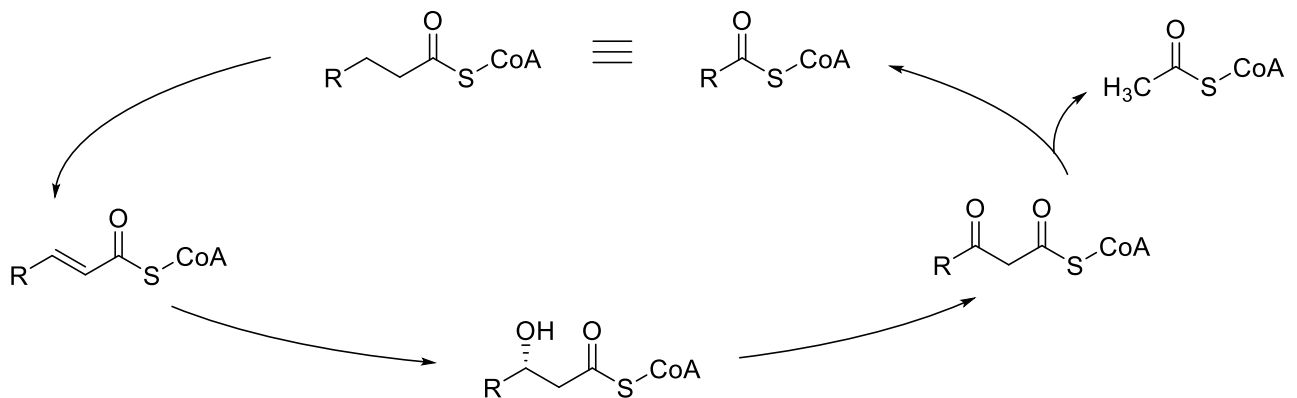


Skjema 1-2: Oversikt over biosyntese av umettede fettsyrer fra dyr og planter<sup>[21-22]</sup>

Dyr og sopp har desaturase-enzymmer som katalyserer innføring av dobbeltbindinger mot karboksyl-enden av fettsyrer bundet til CoA, og elongase-enzymmer som forlenger fettsyrekjedene med to karbonatomer. C<sub>18</sub>-fettsyrer er vanlige substrater, og enzymet  $\Delta^6$ -desaturase innfører en dobbeltbinding mellom C-6 og C-7 i disse. Et elongase-enzym kan deretter forlenge fettsyrekjeden med to karboner, slik at det blir plass til å innføre en ny dobbeltbinding mellom C-5 og C-6. Hvis cellene har tilgang på **3** eller **4** fra planter kan de på denne måten danne arakidonsyre fra **3**, eller EPA fra **4**.

### 1.3.2 Biologisk oksidasjon av fettsyrer

Fettsyrer oksideres gjennom flere ulike metabolske veier, enten for å danne energi, eller for å danne signalstoffer som igangsetter nødvendige biologiske prosesser. Den viktigste reaksjonsveien som bryter ned fettsyrer for å danne energi, er  $\beta$ -oksidasjon. Navnet henspiller på at reaksjonsveien involverer oksidasjon av karbonet som er i  $\beta$ -posisjon til karboksylgruppen. For at nedbrytningen skal kunne skje må fettsyren aktiveres ved omdannelse til en acyl-tioester av CoA. Acyl-CoA undergår deretter en rekke reaksjoner som minner om det motsatte av fettsyredannelsen med AcCoA som utgangsstoff. Til slutt fjernes en enhet på to karbonatomer fra den CoA-aktiverte fettsyren. Dette gjentas til fettsyren er fullstendig brutt ned. Skjema 1-3 viser reaksjonsveien for  $\beta$ -oksidasjon.



Skjema 1-3: Den sykliske  $\beta$ -oksidasjonsveien

### 1.4 Lipid-signalstoffer i inflammasjon

På begynnelsen av 1930-tallet oppdaget Goldblatt og von Euler uavhengig av hverandre en klasse av fettsyrederivater som hadde en vasodilaterende og pro-inflammatorisk effekt.<sup>[23]</sup> Disse forbindelsene fikk navnet prostaglandiner, ettersom de ble identifisert i ekstrakter og sekreter fra prostatakjertler.<sup>[24]</sup> Prostaglandinene er biologisk aktive i svært små konsentrasjoner, og siden de brytes raskt ned kan de ikke lagres i kroppen.<sup>[25]</sup> Sir John Vane rapporterte i 1971 at biosyntesen av prostaglandiner inhiberes av acetylsalisylsyre.<sup>[26]</sup>

En ny klasse av eikosanoider ble oppdaget i leukocytter i 1979, og fikk navnet leukotriener etter det konjugerte trien-systemet som kjennetegner denne klassen.<sup>[27]</sup>

Den sist oppdagede klassen av eikosanoider er SPM-klassen, som aktivt løser opp inflammasjon og gjenoppretter homeostase. Av disse ble lipoksinene oppdaget allerede i 1984,<sup>[28]</sup> mens resolviner,<sup>[29]</sup> protektiner og maresiner<sup>[30]</sup> ble identifisert etter årtusenskiftet.

Eikosanoider biosyntetiseres fra flerumettede C<sub>20</sub>-fettsyrer, hovedsakelig katalysert av syklo-oksigenaser, lipoksygenaser, og cytokrom P-450 mono-oksigenaser.<sup>[31]</sup> Fettsyrene som skal omdannes til eikosanoider lagres bundet i fosfolipider, og spaltes av til frie fettsyrer av fosfolipase A2-enzymet. I pattedyr er arakidonsyre den vanligste C<sub>20</sub>-fettsyren som lagres i fosfolipider, og eikosanoidene i kroppen dannes derfor oftest av denne fettsyren.<sup>[31]</sup>

Leukotriener og SPM-forbindelser likner målmolekylet 3(*R*)-HEPE (**1**) kjemisk og biologisk ved at de er hydroksylerte fettsyre-signalmolekyler. Det er ennå usikkert hvordan 3(*R*)-hydroksi-oksilipiner biosyntetiseres og hvilke biologiske effekter de har, men det kan antas at de har visse likhetstrekk med de andre hydroksylerte eikosanoidene. En forståelse av de biologiske aspektene ved disse eikosanoidene vil dermed kunne være relevant for forståelsen av 3(*R*)-hydroksi-oksilipiner som målmolekyl **1**.

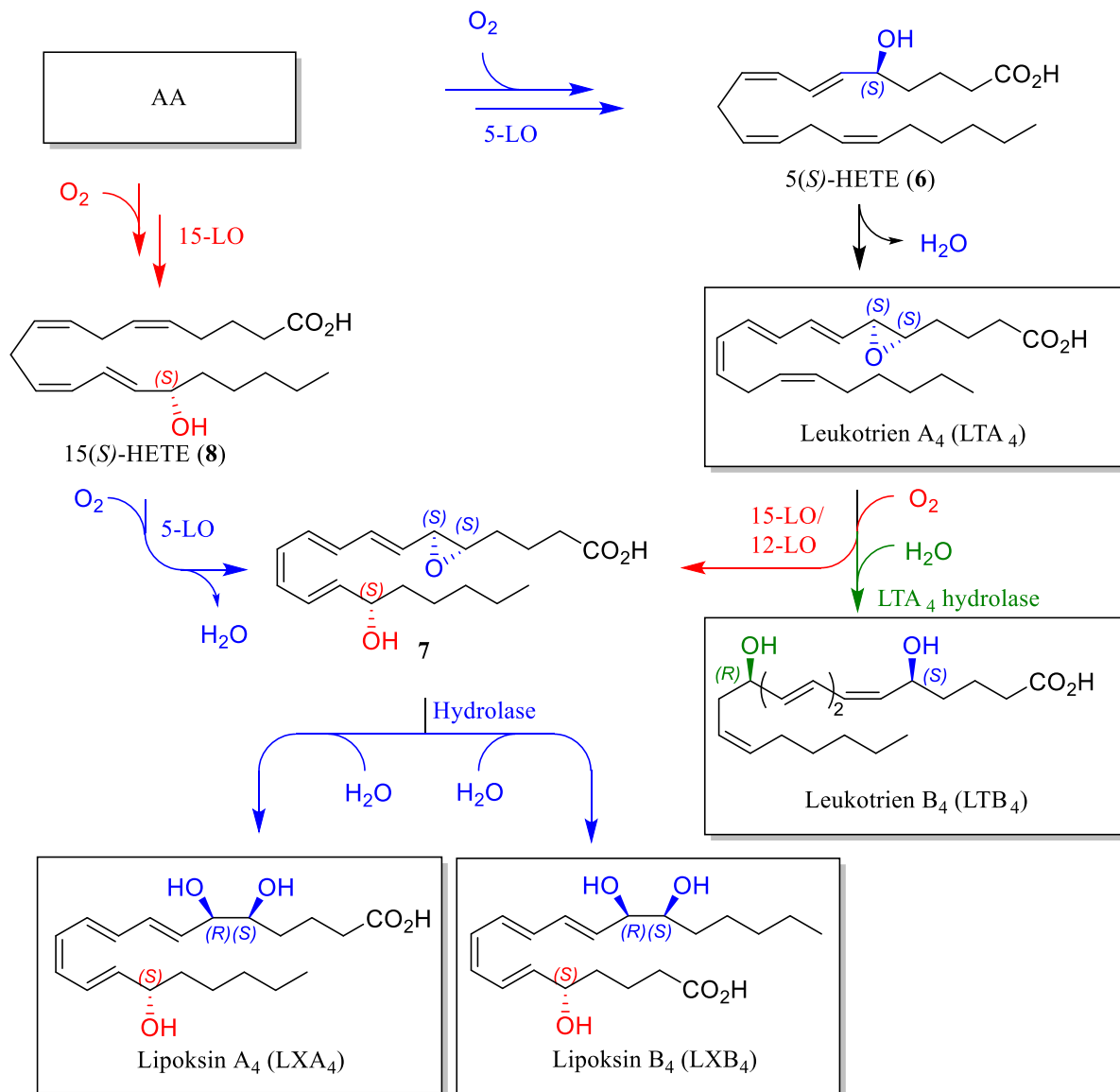
#### 1.4.1 Biosyntese av leukotriener og lipoksiner

Leukotrien B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>) stimulerer en type immunceller, nøytrofile granulocytter eller nøytrofiler, til å migrere mot områder infisert av patogene organismer, som de deretter uskadeliggjør.<sup>[32]</sup> Andre leukotriener gir innsnevring av bronkiene hos astmatikere,<sup>[33]</sup> og kan også senke blodgjennomstrømningen gjennom hjertet, slik at blodtrykket senkes.<sup>[34]</sup>

Leukotriener i 4-serien biosyntetiseres fra arakidonsyre frigjort fra cellens fosfolipidlagre av PLA<sub>2</sub>, som vist i skjema 1-4.<sup>[35]</sup> Enzymet 5-lipoksygenase (5-LO) katalyserer peroksidering av C-5 i den frigjorte fettsyren, ved å addere molekylært oksygen.<sup>[36]</sup> Produktet i denne reaksjonen er (5*S*,6*E*,8*Z*,11*Z*,14*Z*)-3-hydroksieikosa-6,8,11,14-tetraensyre (5(*S*)-HETE), som omdannes til det ustabile epoksidet leukotrien A<sub>4</sub> (LTA<sub>4</sub>). LTA<sub>4</sub> omdannes deretter til LTB<sub>4</sub> via enzymet LTA<sub>4</sub> hydrolase, som katalyserer en nukleofil addisjon av H<sub>2</sub>O til C-12. Det konjugerte systemet flyttes og epoksidringen brytes som følge av addisjonen, slik at LTB<sub>4</sub>, en 5*S*,12*R*-dihydroksylert fettsyre med et Δ<sup>6</sup>-*Z*-Δ<sup>8</sup>-*E*-Δ<sup>10</sup>-*E*-triensystem, dannes.<sup>[37]</sup>

Biosyntesen av lipoksiner skjer i hovedsakelig i slimhinner og blodkar. De to hovedreaksjonsveiene for lipoksin-biosyntese er illustrert i skjema 1-4. Den første hovedreaksjonsveien begynner med oksygenering av AA via 5-LO, som danner 5(*S*)-HETE (**6**) og deretter LTA<sub>4</sub>. Deretter katalyserer 15-LO eller 12-LO oksygenering av LTA<sub>4</sub> ved C-15, og LXA<sub>4</sub> eller LXB<sub>4</sub> dannes via epoksitetraen-mellomprodukt **7**.<sup>[38]</sup> Den andre hovedreaksjonsveien initieres ved at 15-lipoksygenase (15-LO) oksygenerer C-15 i AA og danner (15*S*,5*Z*,8*Z*,11*Z*,13*E*)-3-Hydroksieikosa-5,8,11,13-tetraensyre (15(*S*)-HETE, **8**).

Denne forbindelsen oksygeneres deretter ved C-5 av 5-LO , fulgt av stereospesifikk dehydratisering som danner epoksitetraen-mellomprodukt 7. Enzymatisk hydrolyse av 7 gir lipoksin A<sub>4</sub> (LXA<sub>4</sub>) og lipoksin B<sub>4</sub> (LXB<sub>4</sub>).



Skjema 1-4: Biosyntese av lipoksiner og leukotriener [38-39]

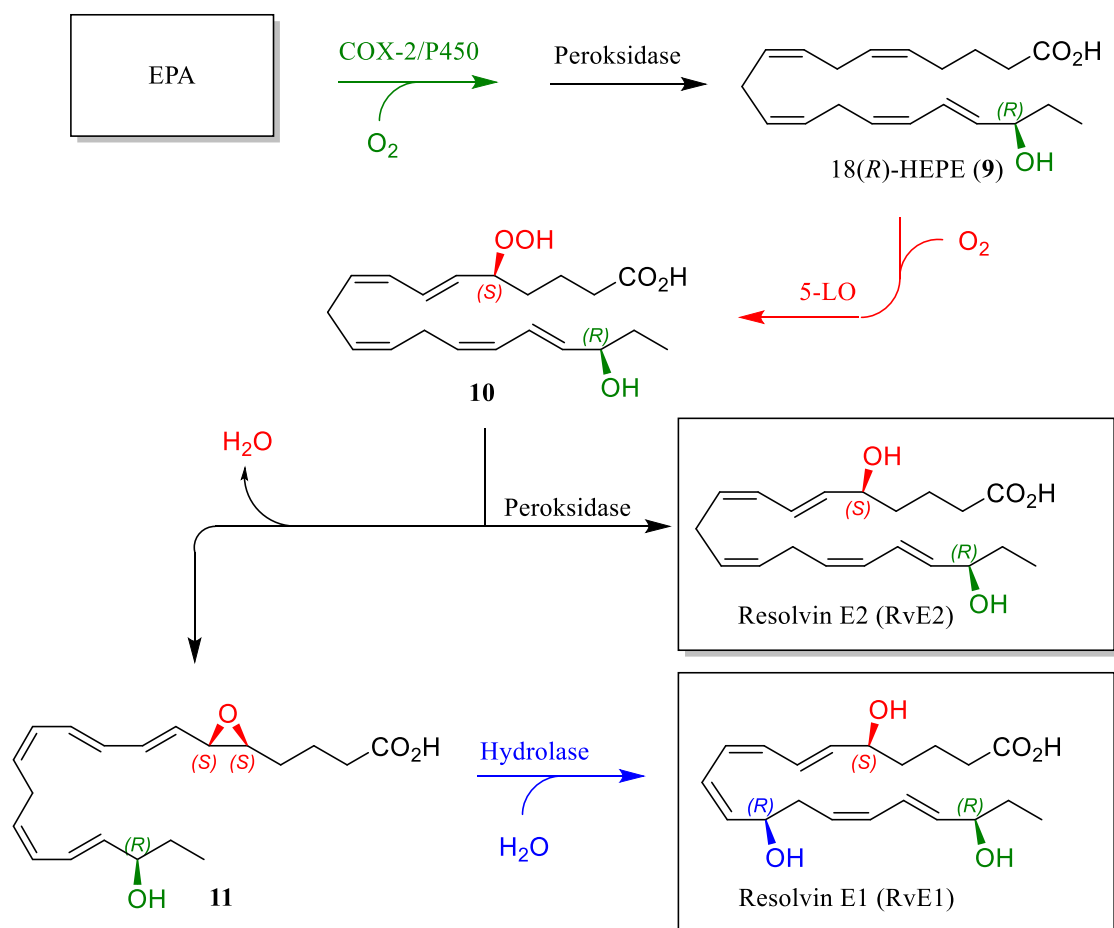
### 1.4.2 Resolviner, protektiner og maresiner

I noen tilfeller er immunforsvaret selv årsak til sykdom, ved at det fortsetter å være aktivt selv etter at infiserende mikroorganismer er fjernet eller en skade er helbredet. Dette problemet unngås normalt ved at kroppen setter i gang prosessen kalt oppløsning av inflammasjon (*resolution of inflammation*). Denne prosessen ble lenge ansett som passiv, men nye studier har avdekket at kroppen aktivt bidrar til å løse opp inflammasjon ved å skille ut signalstoffer som både motvirker inflammasjon og fremmer oppløsning.<sup>[40]</sup> Disse signalstoffene klassifiseres som *specialized pro-resolving mediators* (SPM), og deles inn i fire grupper: De allerede nevnte lipoksinene pluss resolviner, protektiner, og maresiner.<sup>[41]</sup>

Resolvin E1 (RvE1) ble oppdaget i 2000 av Serhan og medarbeidere.<sup>[29a]</sup> RvE1 hører til E-serien av resolviner og biosyntetiseres fra EPA, mens resolviner av D-serien dannes fra DHA. Resolviner virker bl.a. ved å stoppe nøytrofil infiltrasjon i områder med betennelse, og stimulere makrofager til å bryte ned apoptotiske nøytrofiler.<sup>[42]</sup>

Biosyntesen av E-serie resolviner begynner med oksygenering av EPA ved C-18 via acetylt COX-2 eller en cytokrom P450-katalysert reaksjonsvei.<sup>[29a]</sup> Mellomproduktet som dannes er (18*R*,5*Z*,8*Z*,11*Z*,14*Z*,16*E*)-18-Hydroksieikosa-5,8,11,14,16-pentaensyre (18(*R*)-HEPE, **9**), som oksygeneres ved C-5 av 5-LO slik at peroksid **10** dannes. En peroksidase-katalysert reduksjon av **10** gir deretter resolvin E2 (RvE2).<sup>[43]</sup> Hvis det samme peroksidet i stedet dehydratiseres til epoksid **11**, og H<sub>2</sub>O adderes ved C-12 katalysert av en hydrolase, vil RvE1 dannes. Biosyntesen av E-serie resolinene er vist i skjema 1-5.





Skjema 1-5: Biosyntese av E-serie resolviner.<sup>[43]</sup>

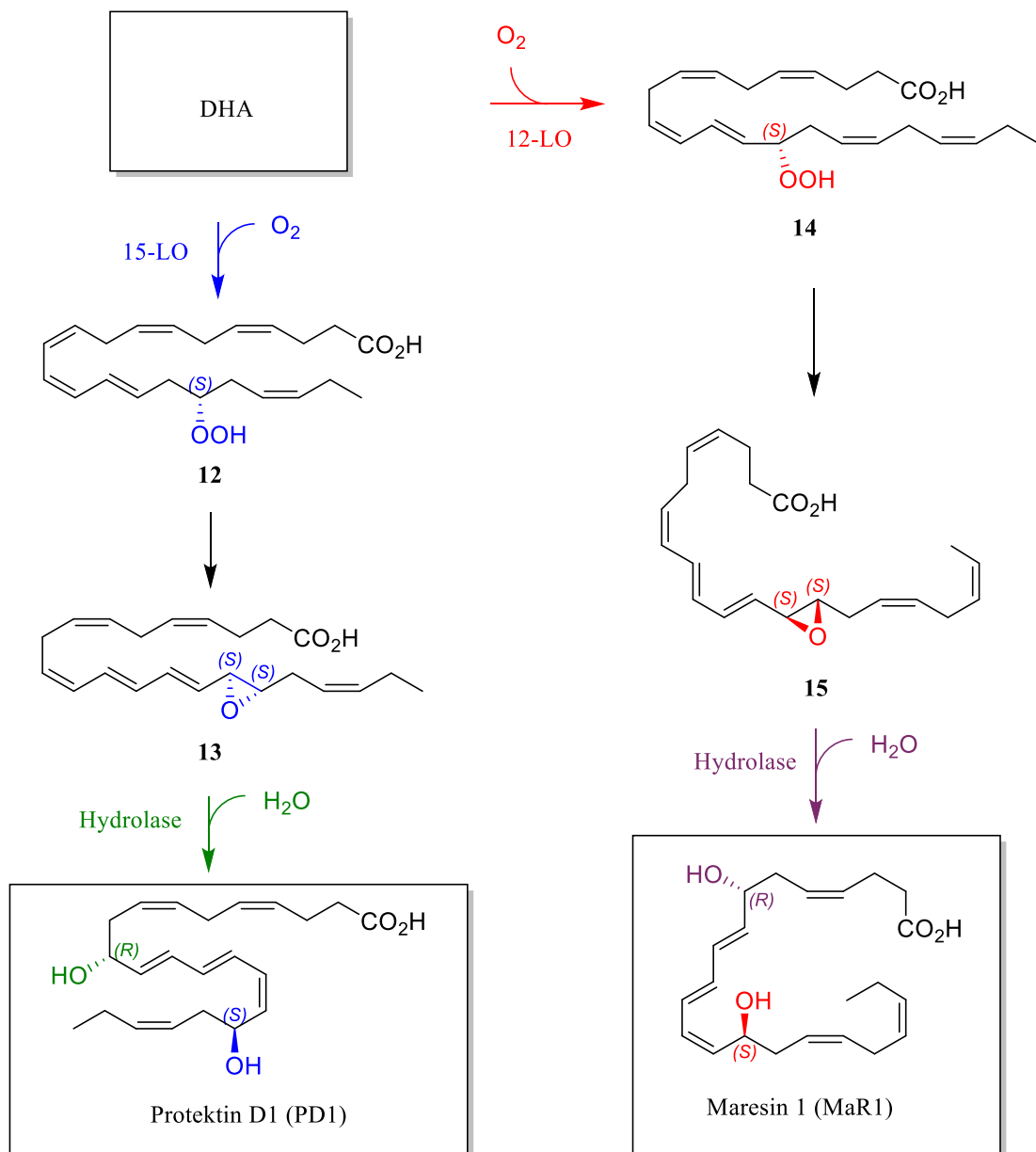
Cellene i sentralnervesystemet (*central nervous system*, CNS) kan skades av kronisk inflammasjon, og er derfor avhengige av signalmolekyler som deaktiverer immunforsvaret. CNS har en høy konsentrasjon av DHA som omdannes til dokosanoider av SPM-klassen for å hindre kronisk inflammasjon.<sup>[44]</sup> Serhan og medarbeidere publiserte i 2002 oppdagelsen av et 10,17-dihydroksylert derivat av DHA,<sup>[29b]</sup> senere vist å være et signalmolekyl med nevrobeskyttende aktivitet. Det ble i 2004 gitt navnet nevroprotektin D1 (NPD1).<sup>[30a, 45]</sup> Siden NPD1 ikke bare produseres i CNS, men også i andre typer vev ble det foreslått å forandre navnet til protektin D1 (PD1).<sup>[46]</sup>

I 2009 oppdaget Serhan og medarbeidere en SPM-forbindelse som stimulerer makrofager til økt fagocytose av døde celler og cellerester, og samtidig senker antallet nøytrofiler.<sup>[30b]</sup> Den ble kalt *macrophage mediator in resolving inflammation* (maresin) 1 (MaR1).<sup>[47]</sup> Maresin 2 (MaR2) ble oppdaget i 2014, og har lavere evne enn MaR1 til å stimulere fagocytose.<sup>[48]</sup>

Både den reaksjonveien som gir protektiner og den som gir maresiner begynner med addisjon av O<sub>2</sub> til DHA, katalysert av en lipoksygenase. I første reaksjon i biosyntesen av PD1

omdannes DHA til hydroperoksid **12** katalysert av 15-LO. Denne forbindelsen epoksideres deretter enzymatisk til epoksid **13**. PD1 dannes i en biosyntesevei som ble bekreftet i 2015 ved at en hydrolase katalyserer addisjon av vann ved C-10 slik at det dannes en diol og et konjugert *Z,Z,E*-triensystem.<sup>[49]</sup>

Biosyntesen av MaR1 begynner med omdannelsen av DHA til hydroperoksid **14**, katalysert av 12-LO. Også her skjer en enzymatisk epoksidering, slik at epoksid **15** dannes. Siste trinn katalyseres igjen av en hydrolase, vann adderes til **15**, og epoksidringen brytes slik at MaR1 dannes.<sup>[50]</sup> Biosyntesen av PD1 og MaR1 er vist i skjema 1-6.



Skjema 1-6: Biosyntese av PD1 og MaR1<sup>[50]</sup>

### 1.4.3 Oksygenerte fettsyrederivater i sopp

Soppinfeksjoner er et betydelig helseproblem på verdensbasis, og det er blitt estimert at 1.5 millioner mennesker dør årlig av denne typen infeksjoner.<sup>[51]</sup> Spesielt sårbare er immunsvekkede pasienter, enten de behandles med cellegift, har undergått organtransplantasjon, eller er rammet av HIV/AIDS.<sup>[52]</sup> Patogene sopp produserer oksilipiner som bidrar til å initiere og opprettholde sykdom. Oksilipiner brukes internt i cellene for å stimulere vekst og utvikling, men også eksternt for å kontrollere vertsorganismens respons ved infeksjon.<sup>[53]</sup> *Candida albicans* er en patogen dimorf gjærsopp, med andre ord kan den ta form av både gjærsopp og flercellet hyfedannende muggsopp. *C. albicans* vokser som hyfer under påvirkning av visse stimuli: Nærvær av forbindelsene prolin og N-acetylglukosamin som finnes i blodserum, temperatur på omtrent 37 °C, og nøytral pH.<sup>[54]</sup>

En rekke studier indikerer at det er tilstrekkelig for *C. albicans* å gå fra gjær-form til hyfe-form for at dens evne til å forårsake infeksjon skal øke betraktelig.<sup>[55]</sup> At aspirin hindrer hyfedannelse indikerer at aspirin-sensitive 3-hydroksi-oksilipiner kan være nødvendige for dannelse av hyfer hos *C. albicans*.<sup>[56]</sup> I tillegg til hyfe-vekst er biofilmdannelse viktig for virulens. *C. albicans* danner biofilmer som er svært resistente mot både legemidler og vertsorganismens immunforsvar.<sup>[57]</sup> Prosessen med å danne biofilm er i *C. albicans* avhengig av det oksygenerte fettsyrederivatet PGE<sub>2</sub>, men de biologiske funksjonene til mange andre fettsyrederivater produsert av patogene sopp er fremdeles ukjente.<sup>[58]</sup>

#### 1.4.4.1 Undergruppen 3-hydroksi-oksilipiner

Fettsyrer hydroksylert ved C-3 er den største gruppen av oksygenerte fettsyrederivater i sopp. Det antas at disse forbindelsene, kjent som 3-hydroksi-oksilipiner, dannes blant annet via ufullstendig  $\beta$ -oksidasjon av fettsyrer.<sup>[59]</sup> Denne gruppen består av C-6 til C-20 hydroksifettsyrer, med varierende stereokjemi og grad av umettethet.<sup>[60]</sup> Biosyntesen av 3-hydroksi-oksilipiner skjer via en reaksjonsvei som inhiberes av aspirin. Dette ble oppdaget i forbindelse med et forskningsprosjekt som handlet om hvorvidt gjærsopper kan biosyntetisere prostaglandiner, viktige forbindelser både i legemiddelindustrien og i forskning.<sup>[1]</sup>

Den første forbindelsen som ble funnet når gjæren *Dipodascopsis uninucleata* ble foret med AA var derimot ikke et prostaglandin, men 3(R)-HETE (**2**), en 3(R)-hydroksi-oksilipin.<sup>[61]</sup> Dette var den første isolerte forbindelsen i denne gruppen funnet i ekstrakter fra sopp.<sup>[62]</sup> Det ble videre oppdaget at 3(R)-HETE stimulerer et fosfolipid-signalmolekyl kalt blodplate-

aktiverende faktor, som fører til blodkoagulering og en rekke andre biologiske effekter relatert til inflammasjon og hvite blodlegemers funksjon.<sup>[63]</sup>

I et forsøk utført i 1997 ble *D. uninucleata* foret med ulike fettsyrer, og biosyntese av flere typer 3(*R*)-hydroksi-oksilipiner, inkludert målmolekylet 3(*R*)-HEPE (**1**), ble observert.<sup>[64]</sup> Påfølgende undersøkelser for å fastslå biosynteseveien som fører til dannelse av 3(*R*)-hydroksi-oksilipiner i sopp avdekket at syntesen forgår i mitokondriene, enten ved ufullstendig  $\beta$ -oksidasjon av fettsyrene, eller ved hydroksylering utført av en cytokrom P450-avhengig hydroksylase.<sup>[65]</sup> Det antas at disse oksilipinene har en nøkkelrolle i gjærsoppers vekstsyklus, og i tillegg finnes det indikasjoner på at de omdannes til 3-hydroksi-prostaglandiner med viktige biologiske roller.<sup>[66]</sup>

#### 1.4.4.2 Biologiske studier

Forbindelser som tilhører 3-hydroksi-oksilipinene har en rolle i reproduksjonen til gjærsopp, som danner disse forbindelsene når den seksuelle fasen av livssyklusen begynner, men ikke i løpet av den vegetative fasen.<sup>[66a, 67]</sup> Disse forbindelsene finnes i tillegg på overflaten av hyfer hos *C. albicans*, og med aspirin som inhibitor av 3-hydroksi-oksilipin-biosyntesen ble soppens evne til å danne hyfer hemmet.<sup>[56]</sup> I nærvær av disse fettsyrederivatene vil *C. albicans* med andre ord lettere kunne gi infeksjon, og inhibitorer av biosynteseveien som fører til 3-hydroksi-oksilipiner vil dermed være nyttig i behandlingen av slike soppinfeksjoner.

Det er kjent at 3(*R*)-HETE omdannes til 3-hydroksi-prostaglandiner av både menneskelig COX-2 og *C. albicans*-celler *in vitro*, riktignok mindre effektivt enn for ordinære prostaglandiner.<sup>[68]</sup> Det er av interesse å undersøke om 3(*R*)-HEPE også omdannes til 3-hydroksi-prostaglandiner under de samme betingelsene, og hvor effektivt det eventuelt skjer.

Det er kjent at hydroksifettsyren (5*S*,6*E*,8*Z*,11*Z*,14*Z*,17*Z*)-3-Hydroksieikosa-6,8,11,14,17-pentaensyre (5(*S*)-HEPE) aktiverer G-proteinkoblet reseptor 119 (GPR119) i forskjellige menneskelige cellelinjer, en reseptor som gir økt glukoseavhengig utskillelse av insulin når den aktiveres.<sup>[69]</sup> Det kan dermed tenkes at den relaterte 3(*R*)-HEPE vil kunne gjøre det samme, og dermed være et mulig legemiddel i behandling av diabetes.

### 1.4.4.3 Biosyntese av 3(R)-hydroksi-oksilipiner i sopp

Venter og medarbeidere studerte 3-HETE-biosyntese i *D. uninucleata*, og oppdaget at syntesen ikke var stereospesifikk, men hadde høy grad av stereoselektivitet. I et ekstrakt av fettsyrer fra *D. uninucleata* dyrket frem i nærvær av AA ble det via kiral HPLC-analyse funnet at naturlig 3-HETE består av 95% 3(R)-HETE og 5% 3(S)-HETE.<sup>[70]</sup> Biosynteseveien som gir 3-HETE-dannelse i *D. uninucleata* er ikke kjent, men en hypotese er at *D. uninucleata* danner denne fettsyren via enzymet prostaglandin H syntase (PGHS). Hvis denne hypotesen stemmer forklarer det hvorfor biosyntesen av 3-HETE hemmes av aspirin, en kjent inhibitor av PGHS.<sup>[71]</sup>

Fox og medarbeidere har foreslått en ufullstendig  $\beta$ -oksidasjon som en mulig syntesevei for dannelsen av 3-HETE og andre 3-hydroksifettsyrer.<sup>[65]</sup> Dette er en mulighet fordi sopp benytter en  $\beta$ -oksidasjonsvei som er ulik den i planter og dyr: Dyr og planter bryter fettsyrer ned via *S*-enantiomeren av den korresponderende  $\beta$ -hydroksifettsyren, men i sopp skjer denne prosessen via *R*-enantiomeren.<sup>[72]</sup> Det er blitt vist at enzym-ekstrakter fra mitokondriene hos *D. uninucleata* omdanner AA til 3(R)-HETE når CoASH samt de kjente kofaktorene for mitokondriell  $\beta$ -oksidasjon er tilstede, et resultat som indikerer at denne hypotesen stemmer.<sup>[65]</sup> Hypotesen forklarer derimot ikke hvorfor aspirin virker hemmende på biosyntesen av disse fettsyrene. For å forstå denne prosessen bedre kan det undersøkes hvordan aspirin interagerer med enzymene som katalyserer mitokondriell  $\beta$ -oksidasjon i sopp.

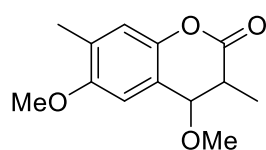
## 1.5 Kjemisk bakgrunn

### 1.5.1 Verdien av totalsyntese

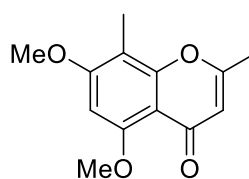
Det er utfordrende å bestemme strukturen til et naturprodukt selv med moderne spektroskopiske metoder, spesielt hva angår stereokjemien. De over 300 revisjonene av foreslåtte strukturer som ble gjort mellom januar 1990 og april 2004 viser dette klart og tydelig.<sup>[73]</sup> Det viste seg også at alle typer strukturer var blitt feilbestemt, ikke bare de mest komplekse. Grunnen er allikevel ikke slett arbeid av kjemikerne som foreslo disse strukturene, men derimot de svakhetene som alle spektroskopiske metoder for strukturbestemmelse har. Metodene utfyller i mange tilfeller hverandre, men for visse forbindelser er bare total syntese i stand til å fylle inn de manglende bitene i puslespillet.

De to spektroskopiske metodene som gir mest informasjon om strukturen til en forbindelse er røntgenkristallografi og NMR. Men røntgenkristallografi viser ikke alltid hydrogenatomenes plassering: Spesielt gruppene -O- og -NH- kan forveksles. Feilbestemmelse av strukturen til en forbindelse har også skjedd ved forveksling av C og N i et naturprodukt.<sup>[74]</sup>

NMR har på sin side en svakhet ved bestemmelse av strukturer som inneholder få H-atomer, slik at det ikke er mulig å se  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -korrelasjonene som kreves for å komme frem til riktig bindingsmønster. Denne svakheten førte til at strukturen til et kumarin fra planten *Colchium decaisnei* ble feilbestemt.<sup>[75]</sup> Kalinin og Snieckus utførte en total syntese av det foreslåtte kumarinet, og avslørte at strukturforslaget var feil.<sup>[76]</sup> De spektrale data oppgitt for naturproduktet stemte ikke overens med data for det syntetiske produktet, og en alternativ struktur ble foreslått etter en ny analyse av NMR-data for naturproduktet. Total syntese av den nye foreslåtte forbindelsen gav et produkt med de samme spektrale data som naturproduktet, og dermed en endelig bekreftelse av dets struktur, vist sammen med den først foreslåtte strukturen i figur 1-4.



Feilbestemt kumarin-struktur



Korrekt kumarin-struktur

Figur 1-4: Total syntese førte frem til den riktige kumarin-strukturen

I tillegg til å bekrefte strukturen til naturprodukter kan total syntese produsere stereoisomerer av naturprodukter som ikke vil dannes gjennom enzym-katalysert biosyntese. Aminosyrener som danner enzymer er rene L-enantiomerer, og enzymene vil derfor være kirale og enantiomerisk rene. Kjemiske strukturer med stereogene sentre som dannes enzymatisk blir dermed også rene enantiomerer. Med mindre en annen biosyntesevei eksisterer som gir en enantiomer eller diastereomer av naturproduktet vil det bare være tilgjengelig ved å bruke total syntese.

### 1.5.2 Beskyttelsesgrupper for alkoholer

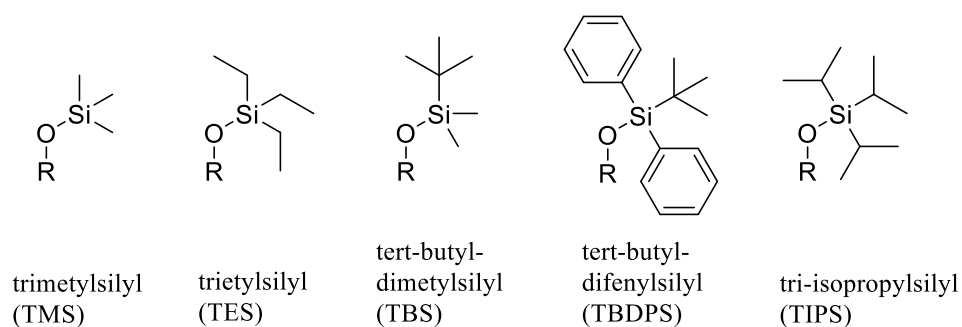
Hvis reaksjonsbetingelsene i et reaksjonstrinn syntesen vil medføre at funksjonelle grupper i utgangsstoffet reagerer på en uønsket måte, må beskyttelsesgrupper tas i bruk. Labile alkoholer kan for eksempel elimineres i et reaksjonstrinn hvor en annen funksjonell gruppe

spaltes av. Hvis dette ikke løses ved å finne en alternativ syntesevei må alkoholen derivatiseres med en av mange tilgjengelige beskyttelsesgrupper før reaksjonen gjennomføres. To typer beskyttelsesgrupper som er mye brukt er acetal, som Me-O-CH<sub>2</sub>-O-R (metoksimetyl, MOM), og silyletere, som trimetylsilyl eller *tert*-butyldimetylsilyl. MOM er imidlertid svært stabil, og krever sterkt sure betingelser for å spaltes av etter at den har utført sin funksjon.<sup>[77]</sup> Funksjonelle grupper i molekylet som er ustabile mot syre vil da kunne ødelegges, noe som begrenser bruksområdene til denne funksjonelle gruppen. Silyletere kan derimot fjernes enkelt ved hjelp av en spesifikk type reagens, og foretrekkes derfor ofte.

Den første trialkylsilyl-beskyttelsesgruppen som var stabil nok til å tåle Wittig-reaksjoner og Jones-oksidasjoner var *tert*-butyldimetylsilylgruppen, introdusert i 1972 av Corey og Venkateswarlu.<sup>[78]</sup> Silyletere har den fordelen at egenskapene deres lett kan forandres ved å bytte ut alkyl- eller arylgruppene bundet til silisium, som igjen vil gi silyletergruppen nye steriske og elektroniske egenskaper.<sup>[79]</sup> Dette muliggjør å bruke ulike silyletere til å maskere flere ulike funksjonelle grupper i et syntetisk mellomprodukt, og deretter fjerne beskyttelsen av én funksjonell gruppe av gangen for å kunne gjøre selektive reaksjoner med dem.<sup>[80]</sup>

Silyletere introduseres vanligvis ved å reagere en alkohol med et trialkylklorosilan eller trifluormetansulfonat (triflat) med en trialkylsilyl-gruppe. Trialkylklorosilanter er billige og lett tilgjengelige reagenser, men reagerer tregere enn trialkylsilyl-triflatene. Med imidazol som katalysator og dimetylformamid (DMF) som løsemiddel kan silylering allikevel skje relativt raskt og med høyt utbytte.<sup>[78]</sup> Mens store, sterisk hindrede trialkylklorosilanter som triisopropylklorosilan er lite reaktive mot sekundære alkoholer og tertiære alkoholer, kan alle typer trialkylsilyl-triflater reagere raskt med også disse alkoholene.<sup>[81]</sup> Figur 1-5 viser et utvalg vanlige silyleter-beskyttelsesgrupper.

Silyletere med store alkylgrupper, for eksempel isopropyl- eller *tert*-butylgrupper, er svært stabile mot syrer og baser, men labile mot fluorid-ioner.<sup>[78]</sup> For å fjerne silyletergrupper er det derfor vanlig å bruke en kilde til fluorid-ioner, som tetra-*n*-butylammoniumfluorid (TBAF). Silyletere med små alkylgrupper kan også fjernes ved å bruke syrer eller baser, da silisiumatomet i disse eterne er relativt ubeskyttet og sårbart for angrep fra mange syre- og basetyper.



Figur 1-5: Vanlige silyleter-beskyttelsesgrupper<sup>[82]</sup>

Ut over å hindre at alkoholer reagerer kan silyletere også tilføre en forbindelse andre egenskaper: For eksempel gir TBDPS-beskyttelse UV-absorpsjon til en forbindelse på grunn av de to fenylgruppene, som forenkler UV-deteksjon av den beskyttede forbindelsen.

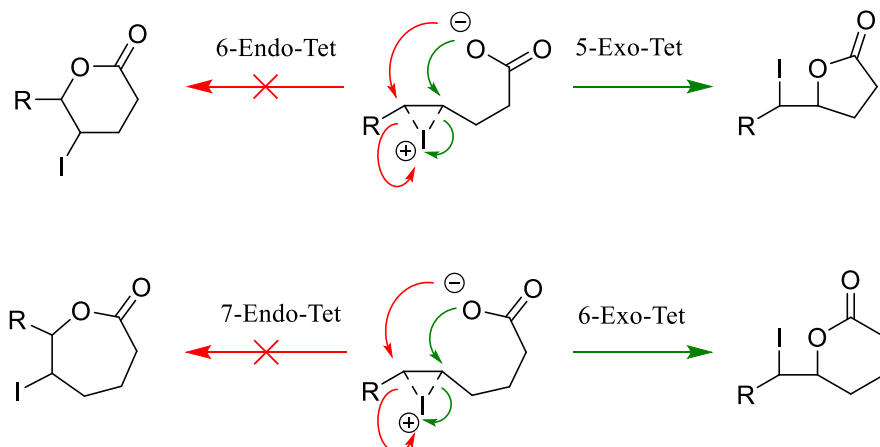
### 1.5.3 Corey jodlaktonisering

I total syntese av naturprodukter er det en viktig utfordring å utvikle reaksjoner som kan innføre funksjonelle grupper selektivt. Corey og medarbeidere rapporterte i 1979 to metoder for selektiv epoksidering av flerumettede fettsyrer, hvorav den første epoksiderer  $\omega$ -6 dobbeltbindingen i fettsyrene, mens den andre metoden epoksiderer dobbeltbindingen som sitter nærmest karboksylgruppen via et jodlakton.<sup>[83]</sup> Sistnevnte metode er blitt brukt for å separere EPA fra DHA i fiskeolje, ved å utnytte at disse fettsyrene danner ulike jodlaktoner. Første dobbeltbinding i EPA sitter ved  $\delta$ -karbonet, og et  $\delta$ -jodlakton vil derfor dannes fra denne syren. DHA har derimot sin første dobbeltbinding ved  $\gamma$ -karbonet, og vil danne et  $\gamma$ -lakton. Stabiliteten og dannelseshastigheten til  $\gamma$ -laktoner er større enn for  $\delta$ -laktoner, og DHA vil derfor jodlaktoniseres før EPA.<sup>[84]</sup> Etter tilsetning av base vil ureagert EPA omdannes til sitt vannløselige anion, og DHA jodlakton kan ekstraheres som den eneste nøytrale forbindelsen i løsningen.

Jodlaktonisering av flerumettede fettsyrer er et eksempel på en type reaksjon som følger reglene for ringslutning utledet av Baldwin i 1976.<sup>[85]</sup> Jodlaktonet dannes ved nukleofilt angrep på et tetraedrisk karbonatom bundet til jod via en binding som er eksosyklisk til den minste ringen som kan dannes i reaksjonen. Denne bindingen brytes når laktonringen dannes. DHA kan danne en femring på denne måten, mens dannelsen av en seksring ville medføre at en binding som via jodatomet sitter mellom to av karbonatomene i ringen.

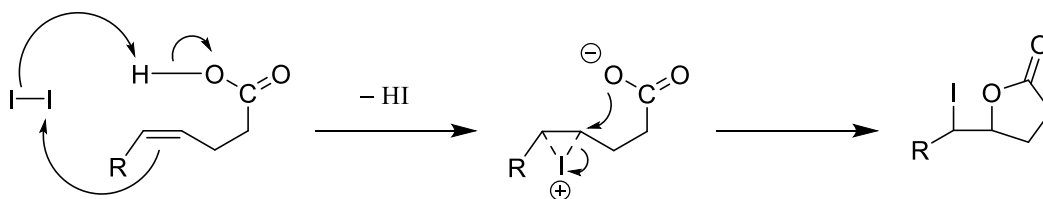


Ifølge Baldwins regler er en ringslutning som følge av et nukleofilt angrep på et tetraedrisk atom (Tet) favorisert dersom bindingen som brytes i prosessen er eksosyklisk (Exo), men ikke dersom den er endosyklisk (Endo), som vist i skjema 1-7.



Skjema 1-7: Favoriserte og ikke favoriserte ringslutninger ifølge Baldwins regler<sup>[85]</sup>

Reaksjonsveien for jodlaktoniseringen av DHA er vist i skjema 1-8. Diatomisk jod angripes av  $\pi$ -elektronene i den første dobbeltbindingen i syren, slik at jodmolekylet spaltes. Ved tap av HI dannes et halonium-ion hvor jod med positiv ladning er bundet til de to karbonatomene som hadde den første dobbeltbindingen mellom seg. Deretter kan karboksyl-anionet, gitt riktig konformasjon, angripe det nærmeste av karbonatomene bundet til jod, med den konsekvens at en jod-karbon-binding brytes. Elektronene fra den brutte bindingen går deretter til jod-atomet slik at jodlaktonet dannes.

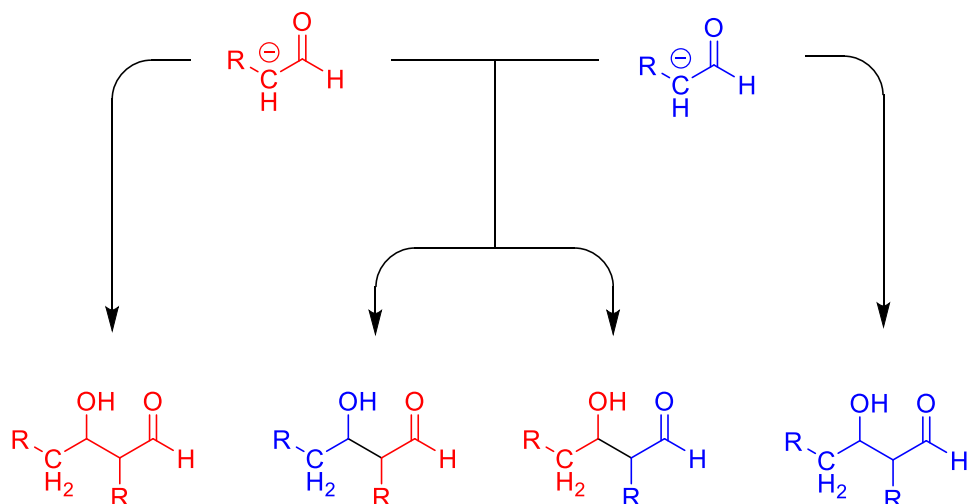


Skjema 1-8: Reaksjonsveien for jodlaktonisering<sup>[86]</sup>

### 1.5.4 Heteromolekylær aldolreaksjon

Aldolreaksjonen har vært kjent siden 1872, når Wurtz og Borodin oppdaget den uavhengig av hverandre.<sup>[87]</sup> I aldolreaksjons enkleste form adderes enolatet av et aldehyd til en nøytral form av det samme aldehydet. Siden det bare er én spesie tilstede unngås problemer med enolisering av ulike karbonylforbindelser, men ulempen er store begrensninger i hvilke strukturer som kan oppnås.

Dersom to spesier skal adderes i en aldolreaksjon må en av dem enoliseres selektivt, ellers vil resultatet bli en blanding av to selv-aldol og to kryss-aldolprodukter som vist i skjema 1-9.



Skjema 1-9: Selv-aldol- og kryss-aldolprodukter fra to ulike aldehyder

Selektiv enolisering er mulig ved å velge to spesier som enoliseres ved ulike betingelser, eller bruke en elektrofil uten  $\alpha$ -hydrogenatomer, som dermed ikke er enoliserbar. En annen metode er ved å først danne enolatet av den ønskede nukleofile spesien, og deretter tilsette den elektrofile spesien. Slik kan langt flere produkter syntetiseres ved hjelp av aldolreaksjoner.

### 1.5.5 Asymmetrisk syntese

Total syntese av komplekse, kirale naturprodukter krever ofte at nye stereosentra dannes, siden mange enkle, lett tilgjengelige utgangsstoffer og reagenser er akirale. Den foretrukne metoden for å danne nye stereosentra er asymmetrisk syntese, reaksjoner hvor det dannes et overskudd av produkter med en spesifikk stereokjemisk konfigurasjon. Uten et slikt overskudd ville det være nødvendig å separere det ønskede produktet ut fra en rasemisk blanding av enantiomerer, eller en 1:1 blanding av diastereomerer. Dannelse av store mengder av den uønskede enantiomeren eller diastereomeren begrenser det oppnåelige utbyttet, og representerer dårlig atom-økonomi. Det er derfor en fordel å bruke asymmetrisk syntese til å danne disse nye stereosentrene.

#### 1.5.5.1 Asymmetrisk katalyse

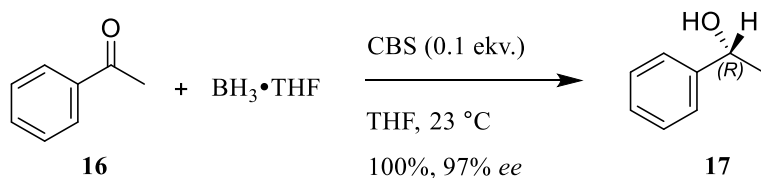
En hovedform for asymmetriske syntese er asymmetrisk katalyse. Syntesemetoder som tilhører denne gruppen kan basere seg på enzymer, uorganiske katalysatorer eller små organiske molekyler med katalytisk aktivitet. De første kirale katalysatorene brukt i organisk

syntese var enzymer, men deres spesifisitet og sårbarhet overfor temperatur- og pH-forandringer begrenset bruksområdene deres. Sistnevnte problem ble til en viss grad løst ved hjelp av metoder for å immobilisere og dermed stabilisere enzymene, og i applikasjoner som isomerisering av glukose til fruktose benyttes fremdeles immobiliserte glukose isomerase-enzymmer.<sup>[88]</sup>

Det ble tidligere antatt at bare enzymer kan gi høyt nok enantiomerisk overskudd (*enantiomeric excess*, ee) til å være verdifulle katalysatorer i asymmetrisk syntese. Knowles og medarbeidere motbeviste dette da de utviklet en fosfor-basert kiral ligand, DIPAMP, bundet i et rhodium-kompleks med katalytiske egenskaper.<sup>[89]</sup> Dette komplekset katalyserte en hydrogeneringsreaksjon hvor et akiralt utgangsstoff ble omdannet til L-DOPA med en ee på omkring 95%, i den første industrielle katalytiske asymmetriske syntesen.<sup>[90]</sup>

Før årtusenskiftet ble enzymer og løselige, syntetiske overgangsmetall-komplekser regnet som de eneste to typene asymmetriske katalysatorer, men i nyere tid har det blitt utviklet enda en slik katalysator-type: Organokatalysatorer, definert som små organiske molekyler med katalytiske egenskaper, uten at uorganiske grunnstoffer bidrar til disse egenskapene.<sup>[91]</sup> De mest brukte organokatalysatorene er Lewis-baser, som aminer og karbener, men Lewis-syrer har også blitt brukt som organokatalysatorer.<sup>[92]</sup>

Et nyttig bruksområde for asymmetrisk katalyse er reduksjon av prokirale funksjonelle grupper som ketoner. En vanlig metode for å redusere slike karbonylgrupper til den kirale alkoholen er å benytte Corey-Bakshi-Shibata-katalysatoren (CBS). CBS er et oksazaborolidin som enantioselektivt katalyserer reduksjon av ketoner til sekundære alkoholer. Acetofenon (**16**) kan f.eks. reduseres kvantitativt til (*R*)-1-fenyletanol (**17**) med ee på 97%, som vist i skjema 1-10.<sup>[93]</sup>



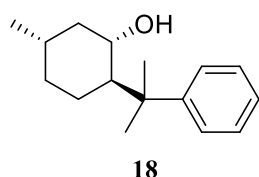
Skjema 1-10: Reduksjon av acetofenon (**16**) til (*R*)-1-fenyletanol (**17**) med CBS<sup>[93]</sup>

### 1.5.5.2 Kirale hjelpemolekyler

En annen gruppe asymmetriske syntesemetoder baserer seg på kirale hjelpemolekyler, som må være tilstede i støkiometriske mengder siden de bindes kovalent til substratet. I stor skala er bruk av kirale hjelpemolekyler derfor bare praktisk dersom de effektivt kan gjenvinnes etter bruk, siden det er en stor investering å produsere disse molekylene.<sup>[94]</sup>

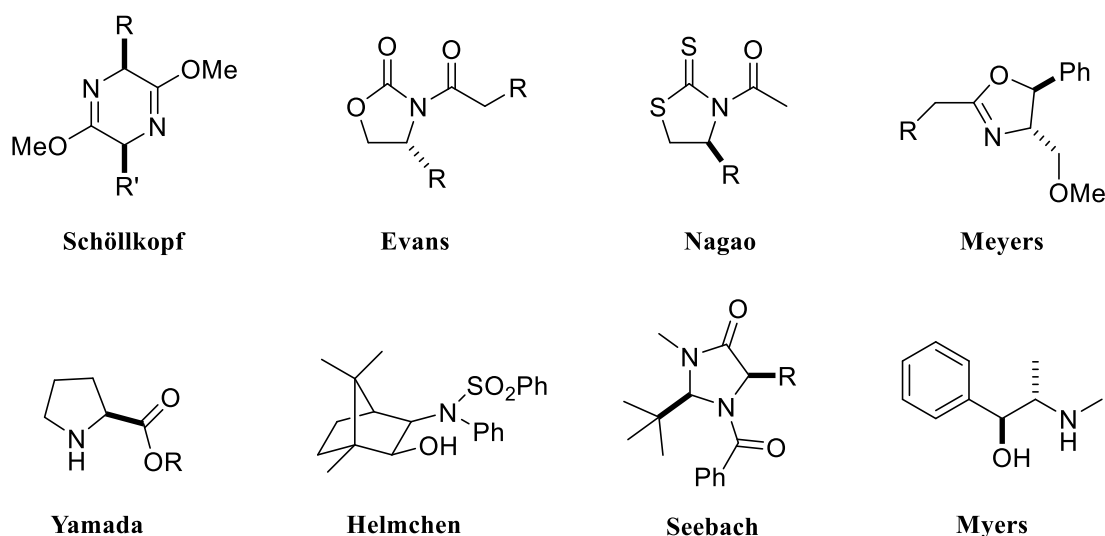
Allerede i 1975 rapporterte Corey og Ensley en asymmetrisk syntese basert på et kiralt hjelpemolekyl, (1*S*,2*R*,5*S*)-5-metyl-2-(2-fenylpropan-2-yl)sykloheksan-1-ol (**18**).<sup>[95]</sup>

Hjelpemolekyl **18** ble omdannet til akrylat-esteren, og reagert med 1-benzoksi-1-(syklopenta-2,4-dien-1-yl)metan i en Diels-Alder-reaksjon hvor endo-adduktet ble dannet med et utbytte på 89% og diastereoselektivitet på 97:3.<sup>[96]</sup> Hjelpemolekyl **18** ble deretter spaltet av og gjenvunnet, og det kirale produktet ble omdannet til et jodlakton brukt som mellomprodukt i tidligere synteser av PGE, PGF og PGA. Figur 1-6 viser strukturen til hjelpemolekyl **18**.



Figur 1-6: Coreys kirale hjelpemolekyl (**18**)

I tillegg til **18** finnes det et stort antall andre kirale hjelpemolekyler. Noen hjelpemolekyler som med hell har blitt brukt i asymmetriske synteser er vist i figur 1-7.<sup>[97]</sup>



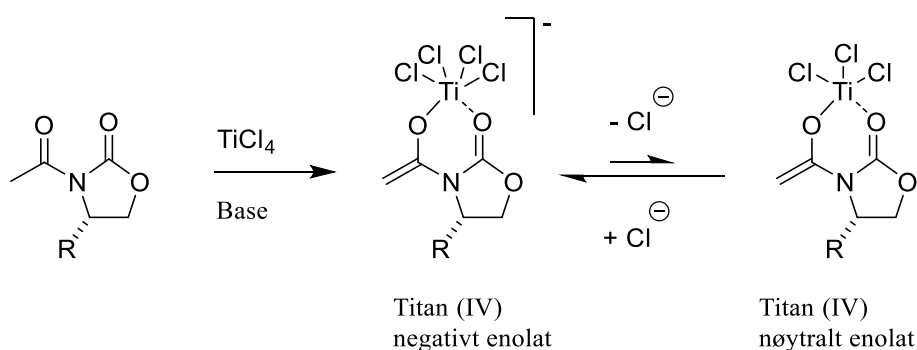
Figur 1-7: Utvalgte kirale hjelpemolekyler

### 1.5.5.3 Oksazolidinon-derivater som hjelpemolekyler

Evans og medarbeidere utviklet en av de mest brukte metodologiene for asymmetrisk induksjon basert på kirale hjelpemolekyler. Evans-gruppen designet en klasse av oksazolidinon-baserte hjelpemolekyler med ulike sterisk hindrende substituentter på atom nummer 4 i den heterosykliske ringen, vist til venstre i figur 1-8 på neste side.<sup>[98]</sup> Disse hjelpemolekylene kan enoliseres og brukes i asymmetriske acetat aldol-type-reaksjoner, alkyleringsreaksjoner, eller Diels-Alder-reaksjoner.<sup>[99]</sup> Etter at asymmetrien er indusert spaltes oksazolidinon-gruppen av slik at den kan gjenvinnes og brukes på nytt. Evans-gruppen utviklet opprinnelig oksazolidin-hjelpemolekylene for å effektivt kunne danne asymmetriske C-C-bindinger i syntese av polyketid-deriverte naturprodukter, og siden de ble introdusert har mange syntese grupper i tillegg til Evans-gruppen brukt disse hjelpemolekylene.<sup>[97]</sup>

Dersom et hjelpemolekyl med et kiralt senter og et aldehyd adderes i en aldolreaksjon kan reaksjonen styres slik at produktet med ønsket stereokjemi favoriseres. Aldolreaksjonen kan dermed brukes til asymmetrisk syntese av naturstoffer. For å kunne fungere som en nukleofil må Evans-hjelpemolekylet først enoliseres ved hjelp av en base og en Lewis-syre, en prosess som vises i skjema 1-11. Imidfunksjonaliteten danner da et ionofor-motiv som fanger opp Lewis-syren, som bindes til de to karbonyl-ligandene. Det oppstår en likevekt mellom det negativt ladede enolatet og det nøytrale enolatet.

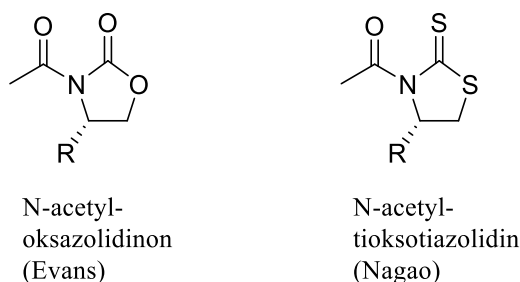
Det negative enolatet er termodynamisk mer stabilt enn det nøytrale fordi reaksjonen hvor et klorid-ion dissosierer fra det negative komplekset er endoterm. Likevekten er derfor sterkt forskjøvet mot det negativt ladde enolatet, som vist i skjema 1-11.<sup>[100]</sup>



Skjema 1-11: Likevekt mellom de to titan (IV)-enolatene av Evans-hjelpemolekylet

Oksazolidinon-hjelpemolekylene utviklet av Evans-gruppen ble videreutviklet av Nagao og medarbeidere, som i stedet for oksygenatomene brukte svovel, slik at ringstrukturen i molekylet ble et tioksotiazolidin.<sup>[101]</sup>

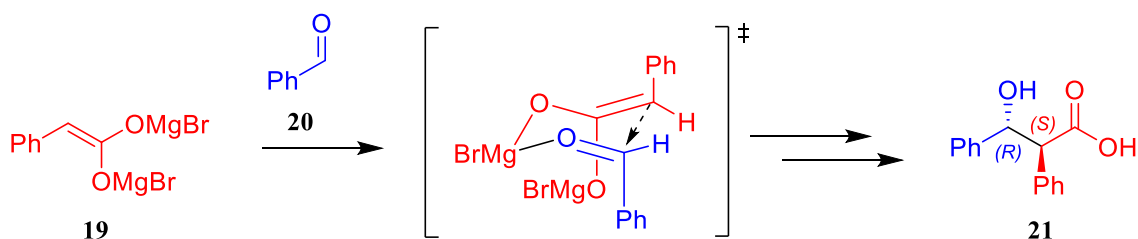
Figur 1-8 viser den generelle strukturformelen for Evans- og Nagao-hjelpemolekylene. Stereokjemien til karbinolgruppen som dannes i en acetat aldol-type reaksjon vil påvirkes av størrelsen og stereokjemien til substituenten bundet til ringen på hjelpemolekylet, men også av hvilken type overgangstilstand reaksjonen skjer gjennom. Samme hjelpemolekyl kan favorisere aldolprodukter med ulike karbinol-konfigurasjoner hvis reaksjonsbetingelsene er ulike og dermed gir ulike overgangstilstander.



Figur 1-8: *S*-enantiomerer av de kirale hjelpemolekylene utviklet av Evans og Nagao

Zimmerman og Traxler foreslo en hypotetisk overgangstilstand som kan forklare hvordan acetat aldol-type-reaksjonen mellom et aldehyd og de kirale hjelpemolekylene i figur 1-8 gir en diastereoselektiv reaksjon. De studerte stereoselektiviteten til Ivanov-reaksjonen mellom endiolatet av fenyleddiksyre (**19**) og benzaldehyd (**20**), som danner (2*S*,3*R*)-2,3-difenyl-3-hydroksipropansyre (**21**). Ut fra stereoselektiviteten antok de at reaksjonen gikk gjennom en lukket overgangstilstand, og de kunne da gi en rasjonell forklaring på hvorfor produkt **21** ble dannet med den observerte konfigurasjonen.

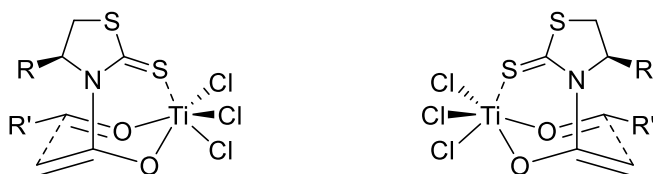
Den lukkede overgangstilstanden med lavest energi var en seksring i stolkonformasjon fri for sterke fenyl-fenyl-interaksjoner; denne overgangstilstanden gav også den observerte foretrukne stereokjemien i reaksjonen. Skjema 1-12 viser hvordan Ivanov-reaksjonen går via denne overgangstilstanden.



Skjema 1-12: Zimmerman-Traxler-overgangstilstanden i Ivanov-reaksjonen

Overgangstilstander bestående av en seksring i stolkonformasjon kalles Zimmerman-Traxler-overgangstilstander, og i tillegg til Ivanov-reaksjoner kan også Reformatsky- og

aldolreaksjoner forklares ut fra denne modellen. Stereoselektiviteten i en Evans-Nagao acetat aldol-type reaksjon med titan-enolatet av hjelpemolekylet kan forutsies ved å anta en Zimmerman-Traxler-overgangstilstand hvor aldehydet og hjelpemolekylet koordineres til titan-atomet.<sup>[102]</sup> Den foretrukne orienteringen til substituenten på hjelpemolekylet vil være vekk fra seksringen slik figur 1-9 viser.



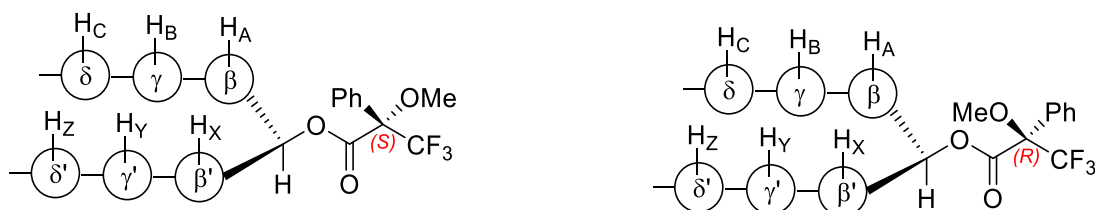
Figur 1-9: Enantiomeriske Zimmermann-Traxler-overgangstilstander

### 1.5.6 Mosher-ester-analyse

Ved syntese av en kiral forbindelse eller isolering av et kiral naturprodukt er det nødvendig å bestemme den absolute konfigurasjonen til forbindelsen. Dette er viktig fordi stereokjemien bestemmer mange viktige biologiske egenskaper ved organiske forbindelser, siden enzymer og reseptorer i celler er bygget opp av kirale byggesteiner. Absolutt konfigurasjon kan bestemmes på flere ulike måter, for eksempel røntgenkrystallografi og sirkulær dikroisme. Ulempen med disse metodene er at de krever instrumenter som bare spesialtrent personell kan bruke, og som er begrenset til ett bruksområde.<sup>[103]</sup> Et alternativ er å bruke NMR-spektroskopi til å bestemme absolutt konfigurasjon.

En utbredt metode for NMR-basert bestemmelse av stereokjemi ble publisert av Dale og Mosher i 1973.<sup>[104]</sup> Ved å reagere begge de to enantiomerene av 3,3,3-trifluor-2-metoksi-2-fenylpropansyre (*α-methoxy-α-trifluoromethylphenylacetic acid*, MTPA) med en hydroksi- eller aminogruppe i en kiral forbindelse med ukjent stereokjemi vil <sup>1</sup>H NMR-skiftverdiene til produktet forskyves på en forutsigbar måte i Mosher-esteren eller Mosher-amidet som dannes. Det er også mulig å reagere en av enantiomerene av MTPA med en rasemisk blanding av en kiral alkohol eller et kiralt amin, og deretter bestemme konfigurasjonen av en enantiomer av alkoholen eller aminet ved å reagere den med samme MTPA-enantiomer. I <sup>1</sup>H NMR-spekteret av blandingen av to diastereomere Mosher-estere vil signalene som får forandret kjemisk skift vises som to topper, hvorav én vises i spekteret av Mosher-esteren av alkoholen eller aminet med ukjent konfigurasjon. Hvilken topp som vises i spekteret av sistnevnte Mosher-ester kan brukes til å fastslå den absolute konfigurasjonen av alkoholen eller amidet.

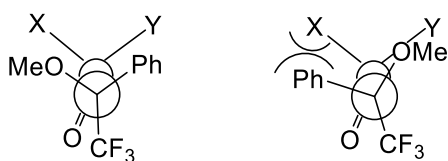
Røntgenkristallografi har bekreftet den romlige orienteringen av MTPA-gruppen i Mosher-estere eller Mosher-amider i krystallinsk form. Trifluormetylgruppen, karbonylgruppen, og oksygen- eller nitrogenatomet i ester- eller amid-gruppen ligger i samme plan, MTPA-planet, som vist i figur 1-10.<sup>[105]</sup> For sekundære alkoholer som reagerer med MTPA vil protonet i karbinolgruppen også være i det samme planet.<sup>[105]</sup> I løsning vil mange konformasjoner være mulige for Mosher-estere, og den krystallinske konformasjonen er ikke nødvendigvis dominerende. Modellen som antar denne konfigurasjonen stemmer på den annen side godt overens med observerte resultater fra NMR-analyser.<sup>[106]</sup>



Figur 1-10: To generelle diastereomere Mosher-estere<sup>[105]</sup>

Figur 1-10 viser hvordan protonene  $H_{x,y,z,\dots}$  er nær fenylgruppen i (*S*)-MTPA-esteren, mens  $H_{a,b,c,\dots}$  er nær fenylgruppen i (*R*)-MTPA-esteren. Protoner som er over eller under ringplanet til fenylgruppen blir anisotropisk skjermet slik at de kommer i resonans ved en lavere frekvens enn de ellers ville gjort, og vises dermed ved lavere kjemisk skift. Denne skjermingen har lang nok rekkevidde til å påvirke alle protonene i relativt små molekyler.<sup>[106]</sup> Forskjellen i kjemisk skift representeres som  $\Delta\delta^{SR}$ , definert som det kjemiske skiftet til protonene i (*S*)-MTPA-esteren minus det kjemiske skiftet til protonene i (*R*)-MTPA-esteren ( $\delta_S - \delta_R$ ). Siden  $H_{A,B,C,\dots}$  på den ene substituenten i figur 1-10 har høyest kjemisk skift i (*S*)-MTPA-esteren får disse protonene en positiv  $\Delta\delta^{SR}$  for denne stereokjemiske konfigurasjonen, med en tilsvarende negativ  $\Delta\delta^{SR}$  for  $H_{X,Y,Z,\dots}$  på den andre substituenten.<sup>[105]</sup>

Det er også mulig å bestemme konfigurasjonen ved å ta opp et  $^{19}\text{F}$  NMR-spektrum av hver av de diastereomere Mosher-esterne, gitt at substituent X vist i figur 1-11 er betydelig større enn substituent Y.



Figur 1-11:  $\text{CF}_3$ -gruppen forskyves slik at den skjermes av karbonylgruppen<sup>[103]</sup>

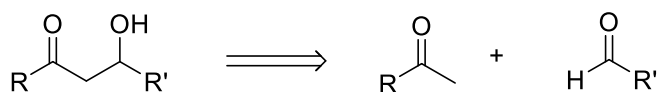


I Moshers modell vil CF<sub>3</sub>-gruppen vanligvis være koplanar med karbonylgruppen og protonet i estergruppen, og være i et område hvor den blir avskjermet av karbonylgruppen. Hvis fenygruppen er på samme side som den største substituenten X vil den steriske hindringen forskyve konformasjonen slik at CF<sub>3</sub>-gruppen ikke lenger er koplanar med karbonylgruppen. CF<sub>3</sub>-gruppen havner da i et område hvor den skjermes av karbonylgruppen, og resonerer dermed ved lavere frekvens. På samme måte som for <sup>1</sup>H NMR beregnes deretter differansen mellom det kjemiske skiftet for fluor-atomene i *S*-esteren og *R*-esteren. Fordelen med denne metoden er at <sup>19</sup>F-spekteret som oftest bare inneholder signalet fra CF<sub>3</sub>-gruppen, mens <sup>1</sup>H NMR spekteret vil ha mange signaler som i verste fall kan overlappe og gjøre tolkningen vanskelig.<sup>[103]</sup>

### 1.5.7 Retrosyntetisk analyse

Organisk syntese på første halvdel av 1900-tallet innebar at en kjemiker valgte et utgangsstoff med en struktur som liknet målmolekylet for syntesen, for deretter å finne en serie reaksjoner som ville gi målmolekylet. Det finnes unntak, som Sir Robert Robinsons totalsyntese av tropinon, hvor produktet gjennom imaginære bindingsbrudd ble brutt ned til utgangsstoffer. Sir Robert Robinson brukte deretter utgangstoffene han kom frem til på denne måten til å syntetisere tropinon.<sup>[107]</sup> Fra 1957 videreutviklet og systematiserte Corey dette konseptet, kalt retrosyntetisk analyse.<sup>[108]</sup> Corey startet med målmolekylet og tenkte seg en reaksjonsrekke bakover mot mulige utgangsstoffer ved å utføre imaginære bindingsbrudd eller danne nye funksjonelle grupper. Mellomproduktene som kan dannes ved å utføre en tenkt operasjon på målmolekylet blir igjen målmolekyler for neste trinn i retrosyntesen, frem til man ender opp med forbindelser som egner seg som utgangsstoffer.<sup>[109]</sup>

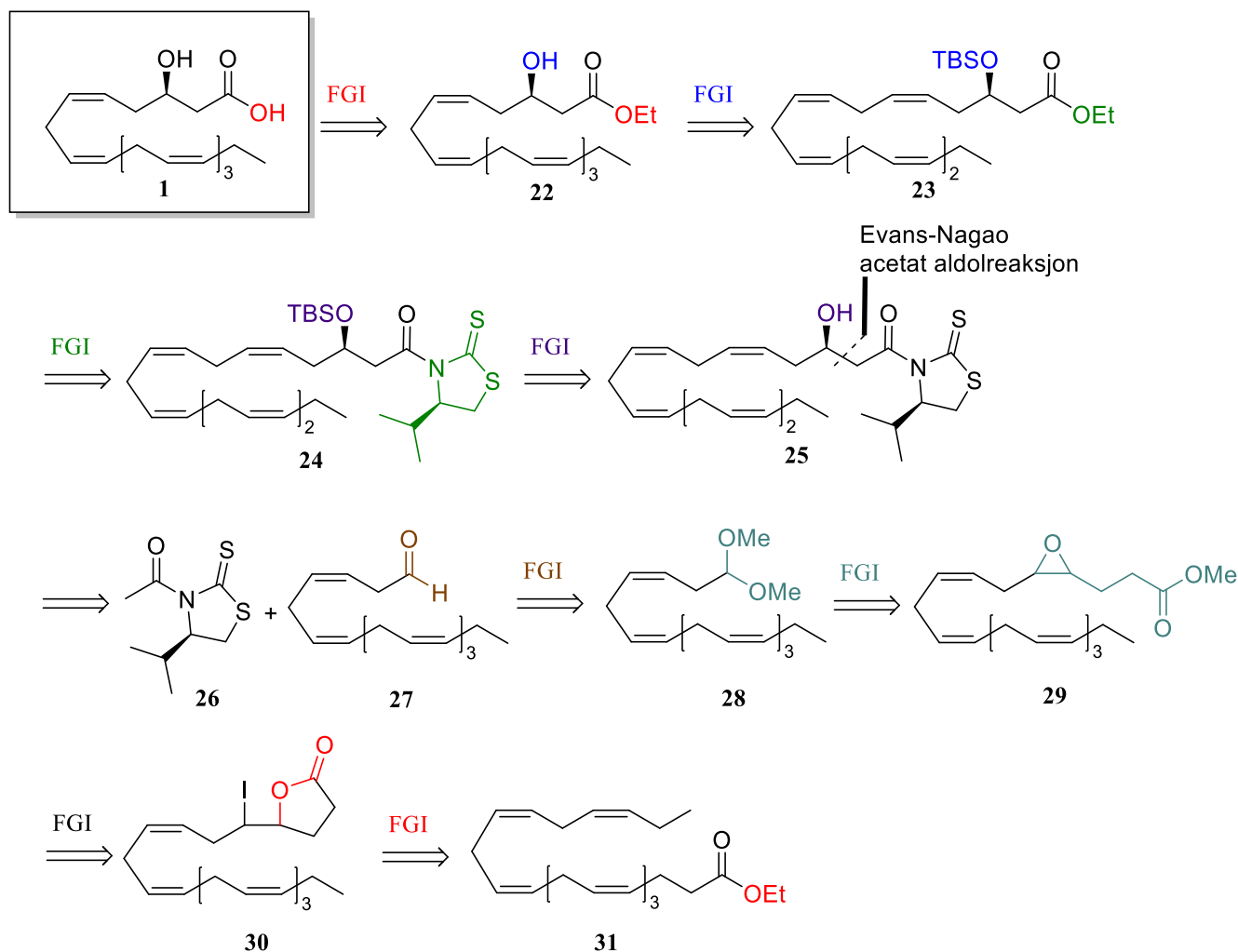
Et molekyl A omdannes til sin syntetiske forløper gjennom en tenkt operasjon kalt en *transform*, som er eksakt omvendt av en praktisk gjennomførbar syntetisk reaksjon på den valgte forløperen som vil gi molekyl A. For å utføre en gitt *transform* på et molekyl må det ha i seg en struktur kalt en *retron* som muliggjør denne transformen. For eksempel er *retronet* for aldol-reaksjonen strukturenheten HO-C-C-C=O, vist i et generelt retrosynteseskjema (skjema 1-13).<sup>[108]</sup>



Skjema 1-13: Generelt aldol-retron omdannes til forløpere<sup>[108]</sup>

Målmolekylet 3(R)-HEPE (**1**) inneholder aldol-*retronet*, og den retrosyntetiske analysen som ble brukt i denne oppgaven, vist i skjema 1-14, baserer seg derfor på aldolreaksjonen.

Målmolekylet omdannes via fire funksjonell-gruppe-interkonverteringer (FGI) til aldolproduktet, og ved å bryte bindingen mellom karbonatomene  $\alpha$  og  $\beta$  til imidgruppen dannes reaktantene i en Evans-Nagao acetat aldol-type reaksjon. Dette er det eneste karbon-karbon-bindingsbruddet i retrosyntesen, som ellers består av FGI-reaksjoner.



Skjema 1-14: Retrosyntetisk analyse av 3(R)-HEPE (**1**)

Målmolekylet 3(R)-HEPE (**1**) dannes ved hydrolyse av etylester **22**, som kan lages ved å avbeskytte **23**. For å danne **23** fjernes den kirale hjelpegruppen fra det beskyttede aldolproduktet **24**, som lages ved å TBS-beskytte aldolprodukt **25**. Aldolprodukt **25** syntetiseres ved å addere hjelpemolekyl **26** til aldehyd **27**. For å danne aldehyd **27** hydrolyseres dimetylacetal **28**, som blir laget ved å kløyve epoksid **29**. Dannelsen av **29** skjer via epoksidering av jodlaktone **30**, som igjen dannes ved å jodlaktonisere DHA-etyler **31** via karboksylsyren DHA.

## 1.6 Mål for oppgaven

Hovedmålet for dette arbeidet var å utvikle den første totalsyntesen av naturproduktet 3(*R*)-HEPE, et oksilipin biosyntetisert i gjæren *D. uninucleata* ved tilførsel av eksogen EPA.

Prosjektets sekundære mål var biologisk testing av 3(*R*)-HEPE etter at en vellykket syntese var utført.

Den planlagte syntesestrategien utnytter DHA-EE som utgangsstoff. Fordelen med dette er at alle de metylen-avbrutte *Z*-dobbelbindingene i målmolekylet allerede er tilstede i DHA-EE. Problemene forbundet med å bygge opp en umettet fettsyrekjede med riktig plassering og konfigurasjon av dobbeltbindingene vil dermed unngås. Via kjente metoder omdannes DHA-EE til et C<sub>18</sub>-aldehyd som benyttes i en stereoselektiv acetat aldol-type reaksjon. Et delmål i synteseprosjektet var å optimalisere denne reaksjonen for å danne mest mulig av det ønskede aldolproduktet med høyest mulig utbytte.

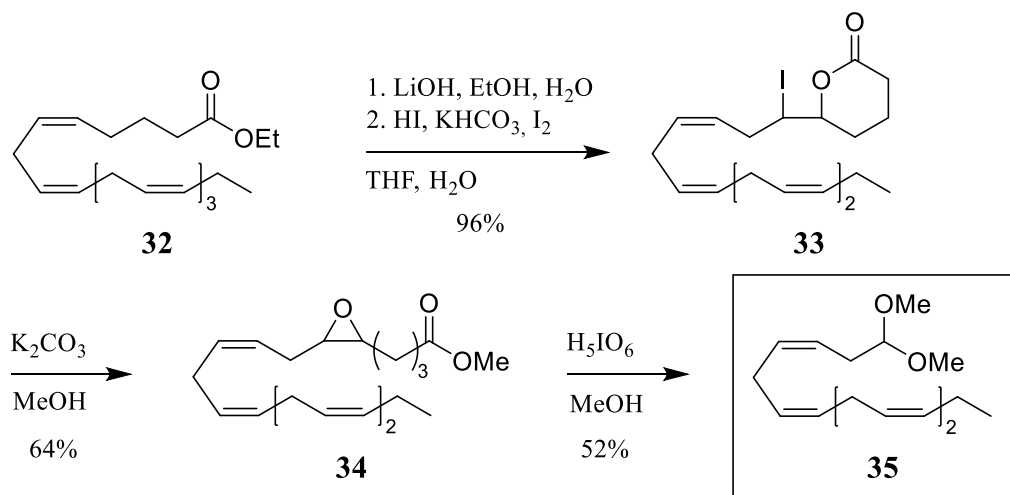
Asymmetrien i målmolekylet induseres ved hjelp av et kiralt hjelpemolekyl. Aldehydet dannet fra DHA-EE adderes til hjelpemolekylet i en reaksjon som ideelt sett favoriserer den ønskede *R*-stereokjemien i den resulterende hydroksigruppen. Hjelpgruppen fjernes deretter fra aldolproduktet, og målmolekylet 3(*R*)-HEPE dannes.

Hovedmålet med de biologiske testene var å fastslå om 3(*R*)-HEPE fremmer veksten av den viktige patogene gjæren *C. albicans*. Hvis det er tilfelle vil man kunne inhibere *C. albicans* ved å blokkere evnen den har til å biosyntetisere 3(*R*)-HEPE. Det er også av interesse å undersøke om 3(*R*)-HEPE aktiverer GPR119, som det er vist at den relaterte hydroksifettsyren 5(*S*)-HEPE er i stand til.<sup>[69]</sup> I tillegg vil det være av interesse å undersøke om 3(*R*)-HEPE biosyntetisk omdannes til 3-OH-prostaglandiner, en omdannelse som tidligere er rapportert for 3(*R*)-HETE.<sup>[68]</sup>

## 2. Resultater og Diskusjon

### 2.1 Testsystem med EPA-EE (32)

Det ble utført en test hvor utgangsstoffet EPA-EE (**32**) via EPA ble jodlaktonisert til **33**, epoksidert til **34** og deretter omdannet til det stabile dimetylacetalet **35**, som vist i skjema 2-1.



Skjema 2-1: Syntese av dimetylacetal **35**

I første trinn ble jodlaktone **33** dannet fra EPA-EE (**32**) etter en prosedyre beskrevet av Langseter og medarbeidere,<sup>[110]</sup> basert på arbeid av Corey og medarbeidere.<sup>[83]</sup> Reaksjonen gav jodlaktone **33** med et utbytte på 96%, mot et utbytte på 97% rapportert i litteraturen.<sup>[110]</sup> Spektrale data for jodlaktone **33** stemte overens med tidligere rapporterte data. Resonansene i <sup>1</sup>H og <sup>13</sup>C NMR indikerer at riktig forbindelse ble dannet: Signalene fra protonene plassert geminalt til oksygen og jod vises ved 4.04 (1H) og 3.86 ppm (1H) i <sup>1</sup>H NMR, og signalet fra karbonylen i laktonet vises ved 170.19 ppm i <sup>13</sup>C NMR.

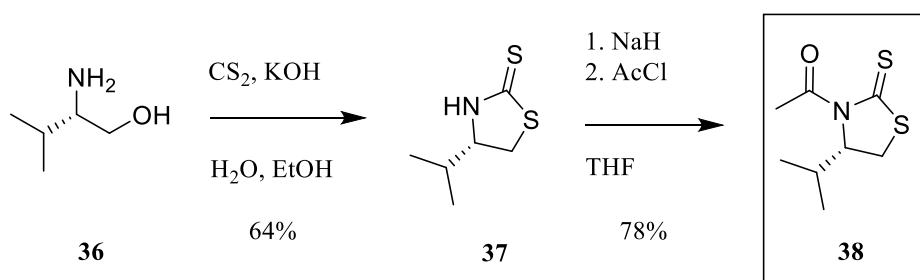
Jodlaktone **33** ble deretter omdannet til epoksid **34** ved hjelp av en prosedyre tidligere beskrevet av Flock og medarbeidere.<sup>[111]</sup> Reaksjonen gav epoksid **34** i 64% utbytte, lavere enn utbyttet på 91% rapportert i litteraturen.<sup>[111]</sup> Spektrale data for epoksid **34** stemte overens med tidligere rapporterte data for denne forbindelsen.<sup>[111]</sup> Resonanser som indikerer riktig forbindelse er en singlett i <sup>1</sup>H NMR ved 3.66 ppm (3H) fra protonene i metylesteren, og tre signaler i <sup>13</sup>C NMR ved 56.63, 56.30 og 51.65 ppm, fra de to karbonatomene bundet direkte til oksygenet i epoksidet og ett karbonatom bundet til oksygenet i esteren.

Epoksid **34** ble til slutt hydrolysert til dimetylacetal **35** etter en prosedyre utarbeidet av Flock og medarbeidere.<sup>[111]</sup> Reaksjonen gav **35** med 52% utbytte, noe høyere enn utbyttet på 45%

rapportert i litteraturen.<sup>[111]</sup> Spektrale data for dimetylacetal **35** var i overenstemmelse med tidligere rapporterte data.<sup>[111]</sup> Karakteristiske resonanser i <sup>13</sup>C NMR for **35** er signalet ved 104.13 ppm fra acetalkarbonet, og signalet fra de to identiske metoksi-karbonatomene ved 52.94 ppm.

## 2.2 Syntese av det *S*-konfigurerte Nagao-hjelpemolekylet **38**

Syntesen av det kirale hjelpemolekylet ble utført ifølge en prosedyre rapportert av McNulty og McLeod, med aminoalkohol **36** som utgangsstoff.<sup>[112]</sup> I skjema 2-2 vises de to trinnene i syntesen. Første trinn gav tioksotiazolidin **37** i 64% utbytte, lavere enn utbyttet på 84% rapportert i litteraturen.<sup>[112]</sup> Spektrale data for tioksotiazolidinet stemte med tidligere rapporterte data.<sup>[112]</sup> En karakteristisk resonans for tioksotiazolidin **37** i <sup>1</sup>H NMR er en bred singlett ved 8.20 ppm (1H) fra NH-gruppen, og i <sup>13</sup>C NMR vises et karakteristisk signal ved 201.12 ppm fra tioksogruppen. Tioksogruppen vises også i IR-spekteret som en sterk absorpsjon ved 1493 cm<sup>-1</sup>. Polarimetrisk måling viste en spesifikk optisk rotasjon på -33.1°, mot -36.8° rapportert i litteraturen.<sup>[101]</sup>

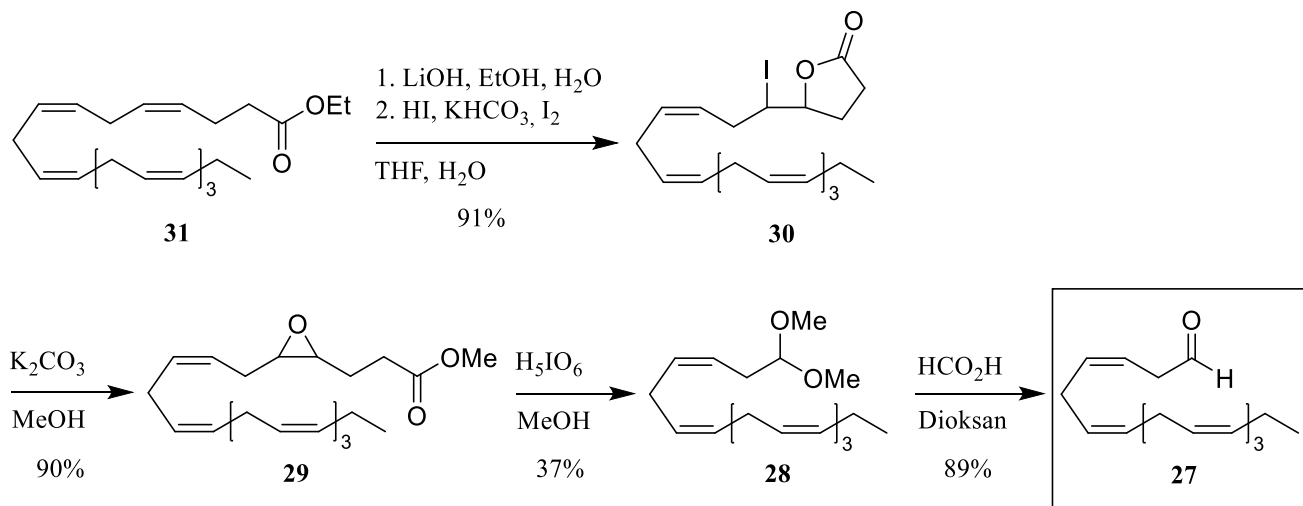


Skjema 2-2: Reaksjonsligning for syntese av hjelpemolekyl **38**

Acetylering av tioksotiazolidin **37** med acetylchlorid gav hjelpemolekyl **38**. Utbyttet av **38** i reaksjonen var på 78%, mot 90% rapportert i litteraturen.<sup>[112]</sup> Spektrale data for **38** stemte overens med data rapportert i litteraturen.<sup>[112]</sup> En karakteristisk resonans for **38** i <sup>1</sup>H NMR er singletten ved 2.77 ppm (3H), fra metylprotonene i acetylgruppen. I <sup>13</sup>C-NMR vises et signal ved 170.77 ppm, som er karakteristisk for karbonylgruppen, mens tionylgruppen gir et signal ved 203.29 ppm. Det er også en sterk absorpsjon i IR-spekteret ved 1700 cm<sup>-1</sup> som indikerer en karbonylgruppe. Polarimetrisk måling gav en spesifikk optisk rotasjon på +447.0°, som stemmer godt med litteraturverdien på +448.9°.<sup>[113]</sup>

### 2.3 Syntese av aldehyd **27** fra DHA-EE (**31**)

For å danne målmolekylet 3(*R*)-HEPE (**1**) via en Evans-Nagao acetat aldol-type reaksjon, ble aldehyd **27** syntetisert fra DHA-EE (**31**), via jodlakton **30**, som vist i skjema 2-3.



Skjema 2-3: Syntese av aldehyd **27**

I første trinn ble DHA-EE (**31**) via DHA laktonisert til **30** etter en prosedyre beskrevet av Langseter og medarbeidere<sup>[110]</sup>, basert på arbeid av Corey og medarbeidere.<sup>[83]</sup> Reaksjonen gav jodlakton **30** med et utbytte på 91%, mot 97% oppgitt av Langseter og medarbeidere. Spektrale data for **30** stemte overens med tidligere rapporterte data fra Langseter og medarbeidere. Protonene bundet til C-4 og C-5 har karakteristiske skift på 4.25 (1H) og 4.11 ppm (1H) i <sup>1</sup>H NMR. Karbonylkarbonet vises som en resonans ved 176.23 ppm i <sup>13</sup>C NMR.

Jodlakton **30** ble deretter omdannet til epoksid **29** ved hjelp av en prosedyre tidligere beskrevet av Flock og medarbeidere.<sup>[111]</sup> Reaksjonen gav epoksid **29** med et utbytte på 90%, på nivå med utbyttet på 93% rapportert av Flock og medarbeidere. Spektrale data for **29** stemte overens med data rapportert av Flock og medarbeidere. En <sup>1</sup>H NMR-resonans som er karakteristisk for metoksigruppen i epoksid **29** er singletten ved 3.65 ppm (3H). I <sup>13</sup>C NMR-spekteret vises de karakteristiske resonansene fra epoksid-karbonene ved 56.55 og 55.88 ppm, og metylkarbonet i esteren gir et signal ved 51.66 ppm. IR-spekteret viser en sterk absorpsjon ved 1739 cm<sup>-1</sup> som er karakteristisk for en karbonylgruppe.

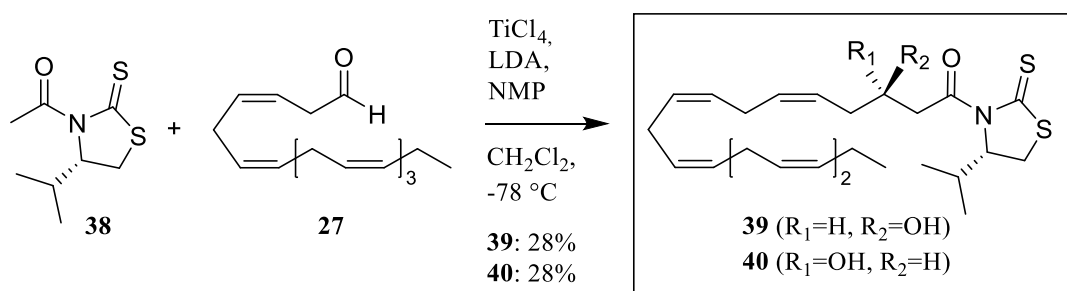
Hydrolyse av epoksid **29** til dimetylacetal **28** ble utført etter en prosedyre beskrevet av Flock og medarbeidere.<sup>[111]</sup> Reaksjonen gav dimetylacetal **28** med 37% som beste utbytte, mot 46% oppgitt av Flock og medarbeidere. Spektrale data for **28** var i overenstemmelse med data rapportert av Flock og medarbeidere. Karakteristiske <sup>13</sup>C NMR-resonanser for **28** er signalet

ved 104.13 ppm fra acetalkarbonet, og signalet fra de to identiske metoksi-karbonatomene ved 52.96 ppm. IR-spekteret viser en middels sterk absorpsjon ved  $2830\text{ cm}^{-1}$  som samsvarer med den forventede C-H strekkfrekvensen i metoksigruppene.

Dimetylacetal **28** ble hydrolysert til det ustabile aldehydet **27** via en prosedyre beskrevet av Flock og medarbeidere.<sup>[111]</sup> Reaksjonen gav aldehyd **27** med 89% som beste utbytte, mot 96% oppgitt av Flock og medarbeidere. Aldehyd **27** ble deretter reagert direkte med det kirale hjelpemolekylet i neste syntesetrinn. Spektrale data for **27** var i overensstemmelse med data rapportert av Flock og medarbeidere. Karakteristiske resonanser for aldehyd **27** er tripletten fra aldehydprotonet ved 9.66 ppm (1H) i  $^1\text{H}$  NMR-spekteret, og signalet fra aldehydkarbonet ved 199.30 ppm i  $^{13}\text{C}$  NMR-spekteret. IR-spekteret viser en svak absorpsjon ved  $2724\text{ cm}^{-1}$  som stemmer godt med den forventede strekkfrekvensen til C-H i aldehydgruppen.

## 2.4 Syntese av aldolproduktene **39** og **40**

Det ble utført en Evans-Nagao acetat aldol-type reaksjon basert på arbeid av Fatino og medarbeidere, som brukte *N*-metyl-2-pyrrolidinon (NMP), basen litium diisopropylamid (LDA), og Lewis-syren  $\text{TiCl}_4$  for å danne enolatet av **38** (skjema 2-4).<sup>[114]</sup> Fatino og medarbeidere reagerte butanal med *S*-hjelpemolekyl **38** og dannet det *R,S*-konfigurerte aldolproduktet (*R*)-3-hydroksi-1-((*S*)-4-isopropyl-2-tioksotiazolidin-3-yl)heksan-1-on i 79% utbytte, med bare 4% utbytte av den uønskede *S,S*-konfigurerte diastereomeren.



Skjema 2-4: Dannelse av aldolprodukt **39** og **40**

Systemet med butanal virket som en god modell for vårt  $\text{C}_{18}$ -aldehydsystem, og et forhold på 20:1 mellom diastereomerene gjorde at denne protokollen virket lovende. Dessverre gav denne reaksjonen ingen diastereoselektivitet i vårt system, og begge de to diastereomeriske aldolproduktene **39** og **40** ble isolert med 28% utbytte. Aldolproduktenes  $R_f$ -verdier målt i

EtOAc/heksan 3:7 var på 0.23 og 0.37. De kunne dermed separeres fullstendig på en silika-kolonne med EtOAc og heksan i forholdet 1:9 som mobilfase.

Spektrale data for begge diastereomerene stemte godt overens med estimerte data.

Indikasjoner på at aldolproduktene ble dannet er fraværet av en triplett i  $^1\text{H}$  NMR-spekteret ved 9.66 ppm (1H) fra aldehydprotonet i **27**, og fraværet av en singlett ved 2.77 ppm (3H) fra protonene i acetylgruppen i hjelpemolekyl **38**. Den karakteristiske OH-gruppen som dannes i reaksjonen kan sees som en bred singlett ved 3.22 ppm (1H) i spekteret av diastereomeren med  $R_f = 0.37$ , men i spekteret av diastereomeren med  $R_f = 0.23$  har denne gruppen en skiftverdi som sammenfaller med metylenprotonene ved 2.85-2.79 ppm (8H). Resonansene ved denne skiftverdien gir dermed et integral på 9 protoner i spekteret av denne diastereomeren. Karakteristiske resonanser i  $^{13}\text{C}$  NMR for aldolproduktene vises ved 173.12 ( $R_f = 0.23$ ) og 173.69 ( $R_f = 0.37$ ) (karbonylgruppen), og 67.94 ( $R_f = 0.23$ ) og 68.37 ( $R_f = 0.37$ ) (karbinolgruppen). IR-spektrene for begge aldolproduktene viser en absorpsjon fra 3600 – 3300  $\text{cm}^{-1}$  som bekrefter OH-gruppen. Polarimetrisk måling gav en spesifikk optisk rotasjon på  $+235.7^\circ$  for diastereomeren med  $R_f$ -verdi på 0.23 (EtOAc/heksan 3:7), og  $+182.7^\circ$  for diastereomeren med  $R_f$ -verdi på 0.37 (EtOAc/heksan 3:7).

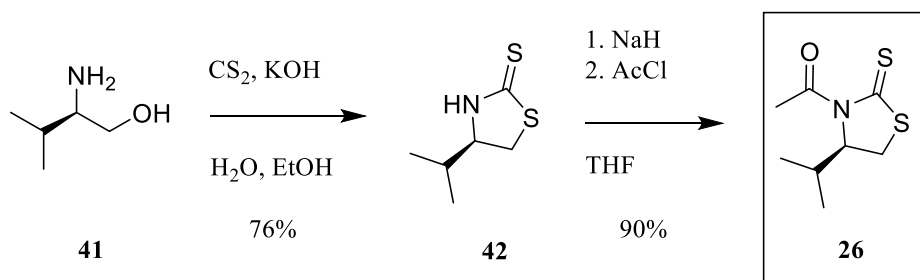
Diastereomerforholdet på 1:1 viser at denne reaksjonen har gått gjennom en overgangstilstand hvor begge sidene av aldehydgruppen blir utsatt for nukleofilt angrep med like stor sannsynlighet. Med tanke på diastereomerforholdet rapportert i referanseprotokollen er dette resultatet noe overraskende, selv om butanal og  $\text{C}_{18}$ -aldehyd **27** er relativt ulike. Årsaken til den manglende diastereoselektiviteten kan være størrelsen til fettsyrekjeden i **27**. Butanal vil antagelig i stor grad reagere gjennom en lukket overgangstilstand som favoriserer dannelsen av *R,S*-diastereomeren, men den store fettsyrekjeden i **27** kan tenkes å disfavorisere denne overgangstilstanden. Den sannsynlige forklaringen er at sterisk hindring mellom fettsyrekjeden i **27** og ringstrukturen hindrer en lukket overgangstilstand, mens butanal er et lite nok aldehyd til å kunne reagere gjennom en lukket overgangstilstand.

## 2.5 Syntese av det *R*-konfigurerte Nagao-hjelpemolekylet **26**

Det *R*-konfigurerte kirale hjelpemolekylet ble syntetisert via samme prosedyre som for enantiomeren, som vist i skjema 2-5. I første trinn i syntesen ble aminoalkohol **41** omdannet til tioksotiazolidin **42** i 76% utbytte, mot 77% rapportert i litteraturen.<sup>[112]</sup> Spektrale data for



**42** samsvarte med data for enantiomeren. Spesifikk optisk rotasjon ble beregnet til  $+33.3^\circ$ , med absoluttverdi nær litteraturverdien på  $-36.81^\circ$  for enantiomeren.<sup>[101]</sup>

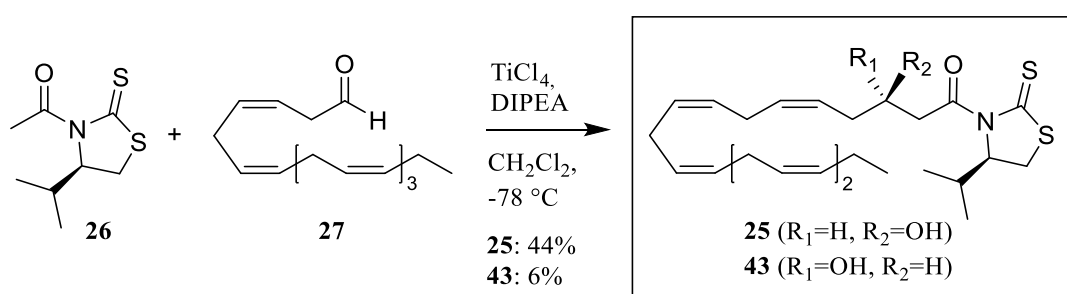


Skjema 2-5: Reaksjonsligning for syntese av hjelpemolekyl **26**

Acetylering av tioksotiazolidin **42** gav hjelpemolekyl **26** i et utbytte på 90%, mot et utbytte på 92% rapportert i litteraturen.<sup>[112]</sup> Spektrale data for **26** samsvarte med data for enantiomeren. Spesifikk optisk rotasjon ble beregnet til  $-398.9^\circ$ , et stykke unna den optiske rotasjonen på  $-448.9^\circ$  som var forventet ut fra litteraturverdien for enantiomeren.<sup>[113]</sup> En sannsynlig forklaring på dette avviket er unøyaktighet i utveingen av **26**, slik at den optiske rotasjonen har blitt beregnet med feil konsentrasjon.

## 2.6 Syntese av aldolproduktene **25** og **43**

Nagao-hjelpemolekyl **26** ble addert til Aldehyd **27** i en Evans-Nagao acetat aldol-type reaksjon, og aldolproduktene **25** og **43** ble dannet (skjema 2-6). Reaksjonen ble utført etter en prosedyre beskrevet av Tungen og medarbeidere.<sup>[115]</sup> Enolatet av **26** ble dannet ved hjelp av basen *N,N*-diisopropyletylamin (DIPEA) og Lewis-syren  $\text{TiCl}_4$ .

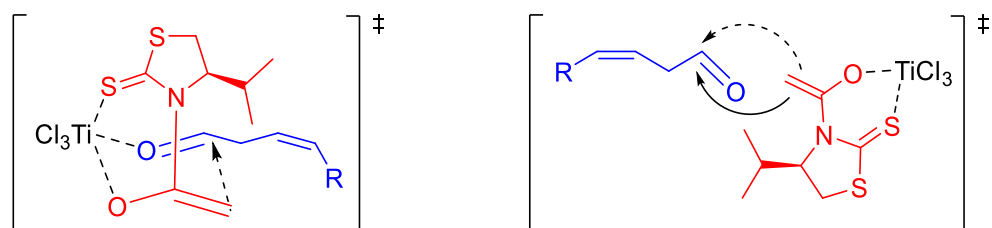


Skjema 2-6: Dannelse av aldolprodukt **25** og **43**

Reaksjonen gav de to diastereomeriske aldolproduktene **25** og **43**. Utbyttet av hvert av aldolproduktene ble beregnet og tilsvarte et diastereomerforhold på 8:1, med 44% som det beste utbyttet av aldolprodukt **25**, og med 6% utbytte av det uønskede aldolproduktet **43**.

$^1\text{H}$  og  $^{13}\text{C}$  NMR-spektrene av råoljen var for komplekse til å gi mye informasjon, ut over et signal fra ureagert aldehyd **27** i  $^1\text{H}$  NMR i form av en triplett ved 9.66 ppm (1H). Spektrale data og  $R_f$ -verdier for de rensede produktene stemte overens med data for enantiomerene dannet med LDA og NMP. Polarimetrisk måling viste en spesifikk optisk rotasjon på  $-214.3^\circ$  for aldolprodukt **25**, som hadde en  $R_f$ -verdi på 0.23 (EtoAc/heksan 3:7). Den optiske rotasjonen skulle i prinsippet hatt samme absoluttverdi som enantiomeren **40** sin optiske rotasjon på  $+235.7^\circ$ , men dette avviket kan forklares med en liten feil i konsentrasjonen brukt til å beregne den spesifikke optiske rotasjonen til aldolproduktene. HRMS av **25** og **43** gav M/Z på hhv. 461.2406 og 461.2449, som samsvarer godt med den beregnede monoisotopiske massen på 461.2422 Da for aldolproduktene med summeformel  $\text{C}_{26}\text{H}_{39}\text{NO}_2\text{S}_2$ .

Referanseprotokollen oppgir et diastereomerforhold på 15:1, og et utbytte på 92% av det favoriserte aldolproduktet når aldehydet (2*E*,4*E*)-5-brompenta-2,4-dienal ble brukt.<sup>[115]</sup> Utbyttet og diastereoselektiviteten var lavere i aldolreaksjonen utført med aldehyd **27**, som i utgangspunktet gav 30% utbytte av aldolprodukt **25** med et 2:1 diastereomerforhold, siden forbedret til 44% utbytte av **25** og et 8:1 diastereomerforhold. Et forholdsvis lavt utbytte og middels godt diastereomerforhold med aldehyd **27** kan skyldes flere faktorer: Aldehyd **27** er større og mer komplekst enn aldehydet i referanseprotokollen, og dermed mindre rigid. Lavere rigiditet gir høyere entropi i systemet, noe som kan innvirke negativt både på sannsynligheten for at enolatet vil reagere med aldehydet, og på muligheten for at den lukkede overgangstilstanden vist til venstre i figur 2-1 skal dannes. Den umettede fettsyrekjeden vil også gjøre aldehyd **27** ustabil på grunn av de mange reaktive dobbeltbindingene som er til stede, og noe av **27** kan brytes ned før det rekker å reagere.



Figur 2-1: Lukket og åpen overgangstilstand i aldol-reaksjonen

Det ble også forsøkt å tilsette aldehyd **27** dråpevis over halvannen time via nedkjølt kanyle, men dette gav lavere utbytte enn uten kjøling, og økte heller ikke diastereomerforholdet. Utbyttet av *minor*-aldolprodukt **43** ble på 5%, men et uhell gjorde at utbyttet av *major*-aldolprodukt **25** ikke kunne slås fast nøyaktig. Tynnsjiktanalyse og NMR-data tydet imidlertid på et diastereomerforhold på ca. 2:1, med lavt utbytte også for aldolprodukt **25**. På grunn av

de lave utbyttene ble ikke dette forsøket gjentatt, og diastereomerforholdet under disse betingelsene kan dermed ikke slås fast med sikkerhet.

Det lave utbyttet når aldehyd **27** ble tilsatt via nedkjølt kanyle kan skyldes den senkede reaksjonshastigheten rett etter tilsetningen. Det kan antas at uten nedkjøling skjer mye av omsetningen av aldehydet raskt, før det rekker å kjøles ned til  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Arrhenius-ligningen tilsier at reaksjonshastigheten rundt romtemperatur omtrent vil dobles for hver tiende grad temperaturen øker. Etter denne forenklete modellen vil reaksjonshastigheten ved  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  være omtrent 1000 ganger høyere enn ved  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Tynnsjiktanalyser rett etter tilsetning av aldehyd **27** til flere av reaksjonsblandingene indikerte også at mye av aldolproduktet dannes raskt.

Diastereoselektiviteten i reaksjonen ble forbedret når andelen av hjelpemolekyl **26** ble økt fra 1.1 til 2.0 ekvivalenter, og andelen DIPEA ble økt fra 1.3 til 2.4 ekvivalenter. Enolatet av **26** ble i tillegg rørt om i 1 time etter at det ble dannet, og aldehyd **27** ble dryppet til over 20 minutter. I tillegg ble reaksjonstiden etter tilsetning av aldehydet økt fra 1 til 3.5 timer. Disse forandringene gav et diastereomerforhold på ca. 8:1, med et utbytte av aldolprodukt **25** på 44%, og 6% utbytte av aldolprodukt **43**.

Diastereomerforholdet tyder på at reaksjonen ikke utelukkende går via den lukkede Zimmermann-Traxler-overgangstilstanden, men også via en åpen overgangstilstand, vist til høyre i figur 2-1. En slik overgangstilstand vil ikke favorisere dannelsen av den ene diastereomeren over den andre: Sannsynligheten for et nukleofilt angrep fra enolatet mot den ene siden av aldehydgruppen er her like stor som for et angrep mot den andre.

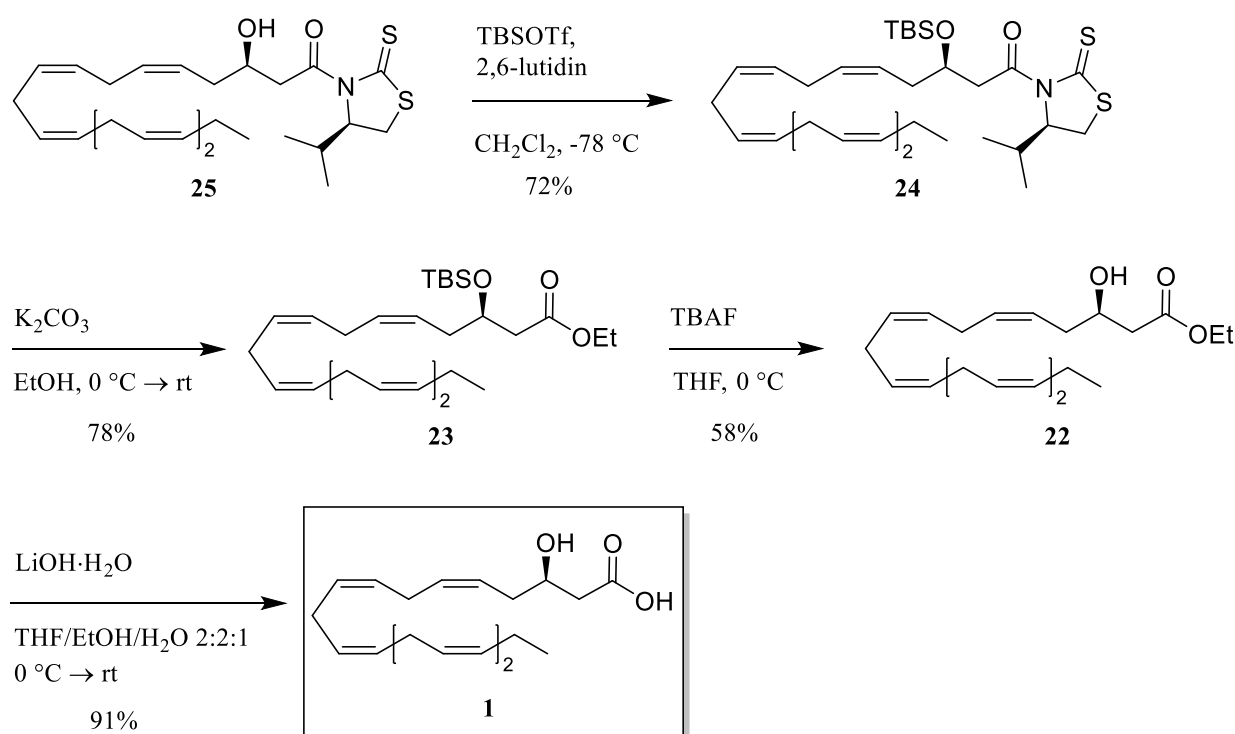
En annen forklaring på både det lave diastereomerforholdet og det lave utbyttet i denne aldolreaksjonen sammenlignet med referanseprotokollen er at aldehyd **27** er mindre rigid enn det  $\alpha,\beta$ -umettede aldehydet brukt av Tungen og medarbeidere. Sistnevnte aldehyd har en dobbeltbinding mellom  $\alpha$ - og  $\beta$ -karbonet som gjør at aldehydgruppen hindres i å rotere fritt, i tillegg til en kortere, gjennomkonjugert karbonkjede. Det er sannsynlig at den lave entropien i dette systemet gjør det enklere for den lukkede overgangstilstanden å dannes, da muligheten for sterisk hindring av denne overgangstilstanden reduseres. Til sammen vil dette gi høyere diastereomerforhold og utbytte i reaksjonen utført av Tungen og medarbeidere.

Det kan nevnes at Fatino og medarbeidere rapporterte at de hadde utført acetat aldol-type-reaksjoner mellom **38** og butanal med DIPEA som base og  $\text{TiCl}_4$  som Lewis-syre.<sup>[114]</sup>

De oppnådde da et diastereomerforhold på ca. 2:1 i favør av det *S,S*-konfigurerte aldolproduktet, som samsvarer godt med vårt opprinnelige resultat med *R*-hjelpemolekylet, med samme diastereomerforhold og favorisering av det *R,R*-konfigurerte aldolproduktet. Utbyttene i Fatino og medarbeideres forsøk var omtrent 50% høyere med butanal enn våre utbytter under reaksjonsbetingelsene som gav et 2:1 diastereomerforhold mellom **25** og **43**. Dette skyldes antagelig at aldehyd **27** er større og mer komplekst enn butanal, og reagerer langsommere pga. sterisk hindring mellom fettsyrekjeden og enolatet av **26**.

## 2.7 Første syntesevei fra aldolprodukt til 3(*R*)-HEPE (**1**)

Etter isoleringen av aldolprodukt **25** ble målmolekylet 3(*R*)-HEPE (**1**) syntetisert ved først å beskytte alkoholfunksjonen i **25** med TBS, og deretter fjerne hjelpegruppen, avbeskytte etylester **23**, og hydrolysere etylester **22** til 3(*R*)-HEPE (**1**). Omdannelsen av aldolprodukt **25** til 3(*R*)-HEPE (**1**) er vist i skjema 2-7.



Skjema 2-7: Syntese av målmolekylet 3(*R*)-HEPE (**1**)

For å hindre degradering av aldolprodukt **25** via en retro-aldolreaksjon eller eliminasjon av vann ble det først beskyttet som en *tert*-butyldimetylsilyl (TBS)-eter. Det ble i tillegg forsøkt å benytte en *tert*-butyldifenylsilyl (TBDPS)-beskyttelsesgruppe, fordi fenylgruppene absorberer sterkt i UV. Kiral HPLC med UV-deteksjon kunne da ha blitt benyttet for å

bestemme stereokjemien til den beskyttede esteren **23** etter fjerning av hjelpegruppen. Imidlertid gav ikke reaksjonen mellom aldolprodukt **25** og TBDPSCl akseptable utbytter. Dette kan forklares med at klorsilaner er lite reaktive, og at TBDPSCl reagerer lettere med primære alkoholer enn med sekundære alkoholer.

TBS ble i stedet valgt som beskyttelsesgruppe siden den svært reaktive forbindelsen *tert*-butyldimetylsilyltriflat (TBSOTf) var tilgjengelig. Det ble da valgt å bestemme den absolutte konfigurasjonen ved å derivatisere karbinolgruppen i etylester **22** til en Mosher-ester og bruke  $^1\text{H}$  NMR til å finne konfigurasjonen ved det stereogene senteret i **22**.

TBSOTf ble reagert med aldolprodukt **25** i nærvær av 2,6-lutidin etter en prosedyre rapportert av Primdahl og medarbeidere.<sup>[116]</sup> Reaksjonen gav det beskyttede aldolproduktet **24** med 72% som det beste oppnådde utbyttet, mot 97% rapportert i litteraturen for et mindre og mer rigid aldolprodukt.<sup>[116]</sup> Karakteristiske resonanser i  $^1\text{H}$  NMR for **24** er singlettene ved 0.09 (3H) og 0.04 ppm (3H) fra metylgruppene i TBS, og singletten ved 0.85 ppm (9H) fra *tert*-butylgruppen. Karakteristiske resonanser i  $^{13}\text{C}$  NMR for **24** vises ved -4.31 og -4.62 ppm (metylgruppene bundet til silisium), og signalet ved 25.95 ppm fra de tre identiske metylkarbonatomene i *tert*-butylgruppen. HRMS av **24** gav M/Z på 575.3286, som stemmer godt med den beregnede monoisotopiske massen på 575.3287 Da for summeformelen  $\text{C}_{32}\text{H}_{53}\text{NO}_2\text{S}_2\text{Si}$ .

Hjelpegruppen ble deretter fjernet fra aldolprodukt **24** for å danne den TBS-beskyttede etylesteren **23**. Metylesteren ble først forsøkt syntetisert ved å løse aldolprodukt **24** i metanol og tilsette imidazol. Tynnsjiktanalyse av reaksjonsblandingen etter omrøring ved romtemperatur i 24 t viste dessverre ingen tegn til hverken utgangsstoffet eller det ønskede produktet, og NMR viste spor av dekomponert utgangsstoff. Det er mulig at aldolprodukt **24** eller metylesteren eller begge brytes ned av imidazol, eller at det var urenheter tilstede som katalyserte nedbrytning av disse forbindelsene.

I et parallellt prosjekt ble etylestere av rasemisk 3-HEPE syntetisert, og det ble derfor bestemt at etylester **23** skulle syntetiseres i stedet for den korresponderende metylesteren. Det ville da være mulig å bekrefte konfigurasjonen av **23** ved å bruke Mosher's metode, og sammenligne  $^1\text{H}$  NMR-spekteret av en blanding av Mosher-estere syntetisert fra rasemisk 3-HEPE-etylester med  $^1\text{H}$  NMR-spekteret av Mosher-esteren av **23**. En prosedyre beskrevet av Scheerer og medarbeidere ble forsøkt.<sup>[117]</sup> Aldolprodukt **24** løst i absolutt etanol ble i denne prosedyren omdannet til den beskyttede etylesteren **23** ved å gjøre løsningen basisk med  $\text{K}_2\text{CO}_3$ .

Reaksjonen gav etylester **23** med 78% utbytte, mot 94% rapportert av Scheerer og medarbeidere for dannelsen av en metylester fra et mindre komplekst aldolprodukt. Karakteristiske resonanser i  $^1\text{H}$  NMR for etylester **23** er tripletten ved 1.25 ppm (3H) og kvartetten ved 4.11 (2H) fra hhv. metyl- og metylengruppen i etylesteren. Karakteristiske resonanser i  $^{13}\text{C}$  NMR for **23** vises ved 171.96 ppm (ester-karbonylgruppen) og 60.46 ppm (metylengruppen bundet til oksygenatomet i etylesteren). HRMS av **23** gav M/Z på 460.3383, som stemmer godt med den beregnede monoisotopiske massen på 460.3373 Da for summeformelen  $\text{C}_{28}\text{H}_{48}\text{O}_3\text{Si}$ .

Etylester **23** ble avbeskyttet ifølge en prosedyre beskrevet av Aursnes og medarbeidere.<sup>[118]</sup> Esteren løst i THF ble tilført TBAF som kilde til fluorid-ioner. Vann ble ekskludert, da fluorid-ioner vil solvatiseres av vannmolekylene, og dermed hindres fra å angripe silisiumatomet i beskyttelsesgruppen.<sup>[119]</sup> Det er kjent at silyl-eterer er sårbare for angrep fra fluorid, som spalter Si-O-bindingen slik at hydroksylgruppen gjendannes.<sup>[119]</sup>

Reaksjonen gav etylester **22** med 58% som beste utbytte. Karakteristiske resonanser i  $^1\text{H}$  NMR for **22** er en bred singlett ved 2.94 ppm (1H) fra protonet i hydroksylgruppen, og to doble dubletter ved 2.53 ppm (1H) og 2.42 ppm (1H) fra metylenprotonene bundet til karbonatomet mellom karbonylgruppen og karbinolgruppen. Polarimetrisk måling viste at **22** hadde optisk aktivitet, med en beregnet spesifikk rotasjon på  $-19.4^\circ$ , på samme nivå som hos liknende forbindelser.<sup>[120]</sup> Dette bekrefter tilstedeværelsen av den kirale karbinolgruppen, og indikerer at konfigurasjonen antagelig er uforandret. HRMS av **22** gav M/Z på 346.2499, nær den beregnede monoisotopiske massen på 346.2508 Da for summeformelen  $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_3$ .

Etylester **22** ble deretter hydrolysert til målmolekylet **1** ifølge en prosedyre beskrevet av Tungen og medarbeidere.<sup>[115]</sup> Ved å tilsette  $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$  til en løsning av etylester **22** i en blanding av THF, etanol og vann skjer en rask basisk hydrolyse. Målmolekylet 3(*R*)-HEPE (**1**) var stabilt under disse betingelsene, og den påfølgende opparbeidelsen gav **1** med 91% som beste utbytte, mot referanseprotokollens 93% utbytte for dannelsen av ieodomycin C.

Karakteristiske resonanser i  $^1\text{H}$  NMR for 3(*R*)-HEPE (**1**) er en multipllett ved 4.1 ppm (1H) fra karbinol-protonet, to doble dubletter ved 2.58 ppm (1H) og 2.53 ppm (1H), og en multipllett ved 2.4 – 2.2 ppm (2H). COSY-spekteret av **1** viser at multipletten ved 2.4 – 2.2 ppm kobler med alkenprotonene, mens de doble dublettene ikke kobler med dem. Multipletten er dermed signalet fra metylengruppen mellom fettsyrekjeden og karbinolgruppen, og de doble dublettene er signalet fra metylengruppen mellom karbinolgruppen og karboksylgruppen i **1**.

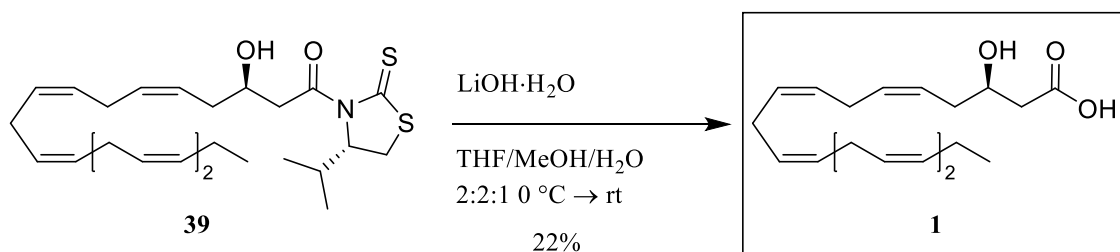
Karboksy- og hydroksylprotonene vises sammen i  $^1\text{H}$  NMR-spekteret av **1** som en svært bred singlett ved ca. 8 – 4 ppm. Signalene fra disse labile protonene overlapper med signalene fra alken-protonene og  $\text{CHCl}_3$ -signalet. Det ble forsøkt å integrere områdene mellom de tydelige signalene i  $^1\text{H}$  NMR-spekteret, og integralene indikerte at de labile protonene var tilstede.

IR-spekteret av **1** viser en bred absorpsjon fra  $3600\text{ cm}^{-1}$  til  $2500\text{ cm}^{-1}$  fra O-H-strekkfrekvensen. Denne absorpsjonen kan antas å være de overlappende absorpsjonene fra O-H i karboksylgruppen, som vanligvis vises mellom  $3300$  og  $2500\text{ cm}^{-1}$ , og hydroksigruppen, som typisk vises mellom  $3500$  og  $3200\text{ cm}^{-1}$ .<sup>ref</sup> IR-spekteret viser også en absorpsjon ved  $1712\text{ cm}^{-1}$  fra karbonylgruppens C=O strekkfrekvens. HRMS av **1** gav M/Z på 341.2087, i god overenstemmelse med den beregnede massen på 341.2087 Da for pseudomolekylionet  $[\text{M} + \text{Na}]^+$  med summeformel  $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{NaO}_3$ . Dannelsen av et slikt pseudomolekylion var forventet siden massespekteret ble tatt opp med *electrospray ionization* (ESI) som ioniseringsmetode.

Den spesifikke optiske rotasjonen til 3(*R*)-HEPE (**1**) ble beregnet til  $-10.5^\circ$ . Både størrelsen og fortegnet til den beregnede optiske rotasjonen er nær den eksperimentelt bestemte spesifikke optiske rotasjonen for 3(*R*)-hydroksinonansyre på  $-20.5^\circ$ .<sup>[121]</sup> Det indikerer at målmolekylet **1** har riktig konfigurasjon, men for å være sikker på dette kreves det i tillegg at en metode som for eksempel Mosher-esteranalyse indikerer den samme konfigurasjonen.

## 2.8 Andre syntesevei fra aldolprodukt til 3(*R*)-HEPE (**1**)

Det ble besluttet å undersøke muligheten av å hydrolysere aldolprodukt **39** direkte til målmolekylet 3(*R*)-HEPE (**1**) (skjema 2-8). Beskyttelse av alkoholfunksjonen i **39**, og dannelse samt avbeskyttelse av etylesteren kunne da unngås.



Skjema 2-8: Hydrolyse av aldolprodukt **39** til 3(*R*)-HEPE (**1**)

NMR-spekteret av råoljen viste at 3(*R*)-HEPE (**1**) var blitt dannet. Tynnsjiktanalyse viste målmolekylet som en rund flekk med  $R_f = 0.81$  med 25% metanol i diklormetan som

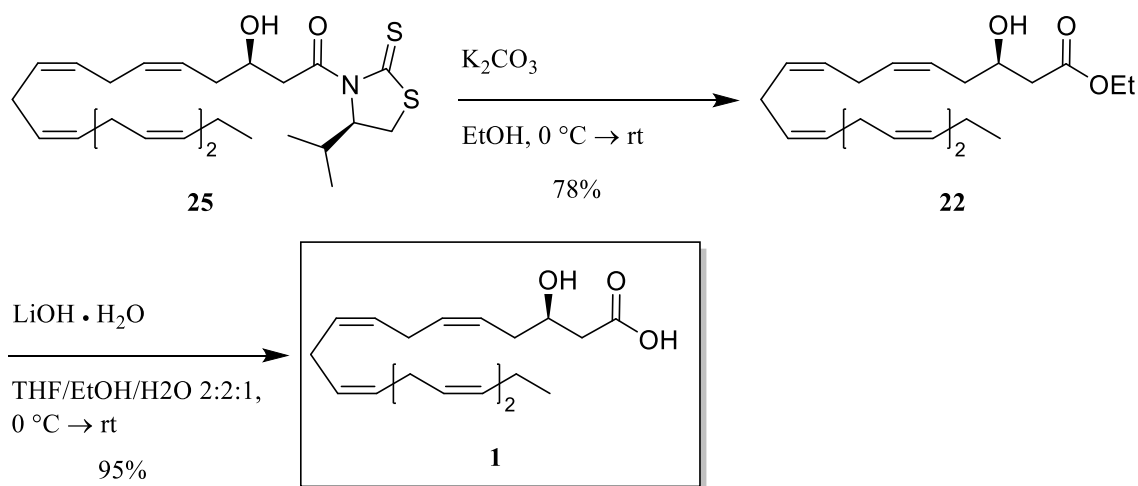
løpemiddel, men med 10% metanol i diklormetan og nedover viste det seg som et vertikalt bånd i nedre halvdel av tynnsjiktplaten. Interaksjonene mellom målmolekyl **1** med sin polare karboksylgruppe og den polare silikagelen er dermed så sterke at det ble problematisk å eluere produktet fra en silika-kolonne. Den mest polare mobilfasen som ble brukt bestod av 10% metanol i diklormetan, fordi en høyere andel av metanol enn dette kan medføre at silika løser seg i mobilfasen. Selv med denne eluentstyrken interagerer målmolekylet betydelig sterkere med stasjonærfasen enn mobilfasen, og det er trolig at noe av produktet ble værende på kolonnen. I tillegg eluerte noen urenheter samtidig som målmolekyl **1**. Det ble ikke forsøkt å eluere med enda høyere andel metanol i diklormetan på grunn av at løst silika da antagelig ville måtte fjernes ved filtrering, som ville medføre ytterligere tap av produkt, og sannsynligvis også gi eluering av urenheter.

Rensingen gav 3(*R*)-HEPE (**1**) med 22% utbytte, men de første og siste fraksjonene som inneholdt målmolekylet var kontaminerte. Utbyttet i fraksjonene med liten grad av kontaminasjon var på 13%, og spektrale data samsvarte med data for vår tidligere syntetiserte 3(*R*)-HEPE. Ulempen med denne reaksjonen er at metoden brukt til å rense produktet gir dårlige resultater, men dersom dette problemet kan løses er det trolig at denne veien til målmolekylet kan gi bedre utbytter enn å gå via de TBS-beskyttede forbindelsene **24** og **23**.



## 2.9 Tredje syntesevei fra aldolprodukt til 3(R)-HEPE (1)

Det ble besluttet å omgå TBS-beskyttelsen ved å danne etylester **22** direkte fra det ubeskyttede aldolproduktet **25**, som vist i skjema 2-9. Dette ble gjort for å gi enklere rensing enn i reaksjonen hvor 3(R)-HEPE (**1**) ble dannet direkte, siden etylesteren er betydelig mindre polar enn målmolekylet, og dermed ikke vil henge igjen på silika-kolonnen. Etylester **22** vil heller ikke eluere sammen med de samme urenheterne som målmolekyl **1**.



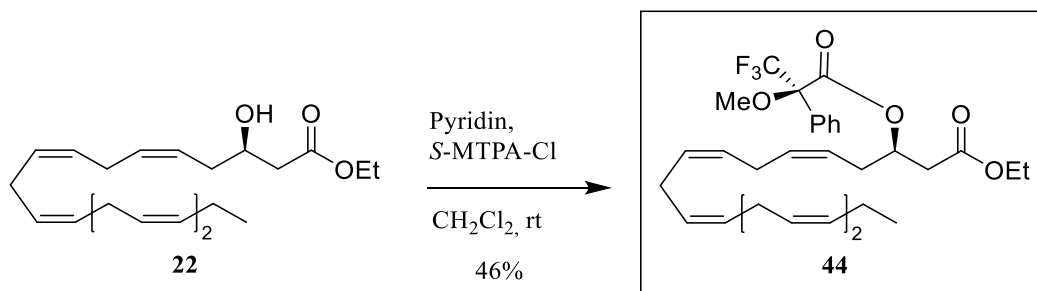
Skjema 2-9: Omdannelse av aldolprodukt **25** til 3(R)-HEPE (**1**) via etylester **22**

Hydrolysen av aldolprodukt **39** til 3(R)-HEPE (**1**) viste at de ubeskyttede forbindelsene i syntesen ikke er veldig sensitive, og hverken eliminerer vann eller gjennomgår en retro-aldolreaksjon ved basiske reaksjonsbetingelser. Slike problemer var derfor heller ikke forventet ved fjerning av hjelpegruppen fra **25**. Tynnsjiktanalyse av råoljen viste at etylester **22** var blitt dannet. Rensing av råoljen med flash-kromatografi gav deretter ren etylester **22** med et utbytte på 78%, samme utbytte som for fjerning av hjelpegruppen fra det TBS-beskyttede aldolproduktet **24**. Spektrale data for **22** stemte med data for etylester **22** syntetisert via den beskyttede etylesteren **23**. Målmolekyl **1** ble deretter syntetisert fra etylester **22** ved å følge prosedyren beskrevet av Tungen og medarbeidere.<sup>[115]</sup>

Det totale utbyttet i synteseveien som gikk via TBS-beskyttede mellomprodukter ble på 4% over 9 trinn fra DHA-etyler **31**. Ved unngå TBS-beskyttelse av aldolprodukt **25** spares to trinn, og det totale utbyttet i syntesen av **1** forbedres. Syntesen av **1** via denne synteseveien gir et totalt utbytte på 8% over 7 trinn fra DHA-etyler **31**. Riktignok kan direkte hydrolyse av **25** til målmolekyl **1** potensielt gi et noe bedre utbytte hvis rensingen av **1** forbedres.

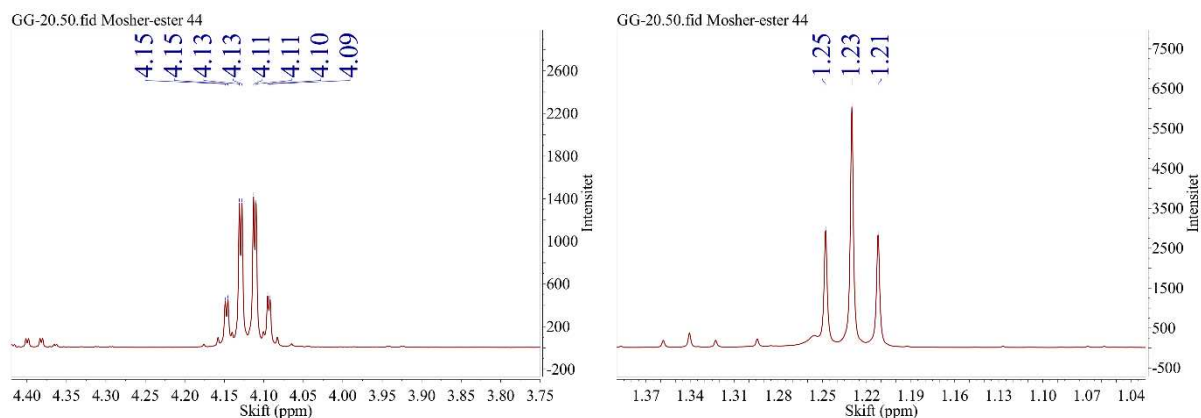
## 2.10 Dannelse av *R*-Mosher-ester **44** fra etylester **22**

*R*-Mosher-ester **44** ble dannet fra etylester **22** slik at konfigurasjonen av 3(*R*)-HEPE (**1**) kunne bestemmes (skjema 2-10). Mosher-esteren ble syntetisert etter en prosedyre beskrevet av Høye og medarbeidere.<sup>[106]</sup> For å kunne utføre en Mosher-analyse ble det i tillegg laget Mosher-estere av en rasemisk blanding av 3-HEPE-etylester.



Skjema 2-10: Dannelse av *R*-Mosher-ester **44** fra etylester **22**

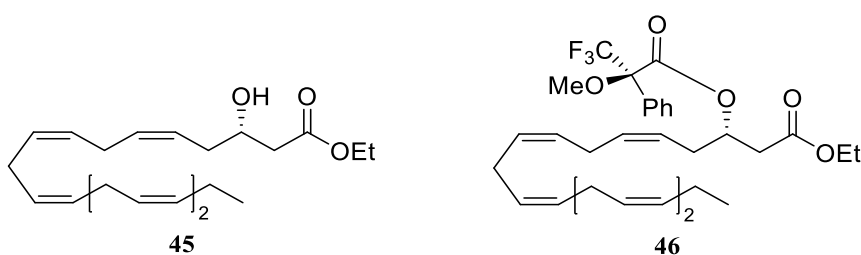
Reaksjonen gav *R*-Mosher-ester **44** med et utbytte på 46%, mot 90% oppgitt i litteraturen for dannelsen av en Mosher-ester fra fettsyrelaktonet (+)-uvaricin.<sup>[122]</sup> Karakteristiske resonanser for **44** i <sup>1</sup>H NMR er multiplottene ved 7.56 – 7.49 ppm (2H) og 7.42 – 7.30 ppm (3H) fra fenylgruppen, og en dublett ved 3.53 ppm (3H) fra metoksigruppen som antagelig kobler svakt med de to orto-protonene i fenylgruppen. Et annet karakteristisk fenomen er at det kjemiske skiftet til signalene fra protonene i etoksigruppen i esteren ble forskjøvet noe i forhold til de tilsvarende signalene i **22**. De nye kjemiske skiftene til protonene i etoksigruppen vises i figur 2-2. I tillegg har karbinolproton-signalet i **22** ved ca. 4.05 ppm flyttet seg til over 5 ppm for karbinylproton-signalet i **44**, som da overlapper med alkenprotonene. De øvrige signalene flyttet seg i liten grad, eller overlapper for mye til å kunne tolkes. I <sup>13</sup>C NMR vises som forventet to karbonylsignaler ved 170.13 og 165.97 ppm.



Figur 2-2: <sup>1</sup>H NMR-signalerne fra etoksigruppen i Mosher-ester **44**.

COSY-spekteret av **44** viste at signalene i figur 2-2 kobler med hverandre, og de kjemiske skiftene indikerer at de tilhører etoksigruppen i etylester-funksjonen. Siden tilhørigheten deres er bestemt og de ikke overlapper med andre proton-signaler vil det kjemiske skiftet til disse to signalene via Mosher-metoden kunne bekrefte konfigurasjonen ved karbinyl-gruppen i **44**.

Figur 2-3 viser 3(*S*)-HEPE-etylester (**45**) og Mosher-ester **46**, *R,S*-diastereomeren av **44**. Signalene fra etoksigruppen i **46** vil komme ved et annet kjemisk skift enn signalene fra **44** vist i figur 2-2. Hvilke av disse signalene som kommer ved lavest kjemisk skift viser hvilken etoksigruppe som påvirkes av fenylgruppen i Mosher-esteren, og derav hvilken konfigurasjon karbinyl-gruppen har.

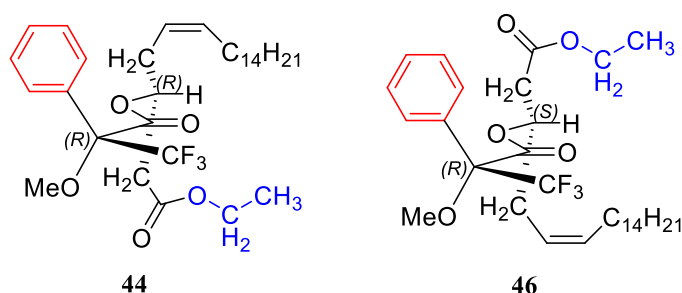


Figur 2-3: 3(*S*)-HEPE-etylester (**45**) og Mosher-ester **46**.

Det er verdt å merke seg at *S*-MTPA-Cl ble brukt til å lage *R*-Mosher-ester **44**. Dette er fordi ifølge Cahn-Ingold-Prelog-reglene har syrekloridgruppen høyere prioritet enn CF<sub>3</sub>-gruppen, men når syrekloridgruppen omdannes til estergruppen i **44** får den lavere prioritet enn CF<sub>3</sub>-gruppen, og den absolute konfigurasjonen reverseres.

## 2.11 Mosher-ester-analyse

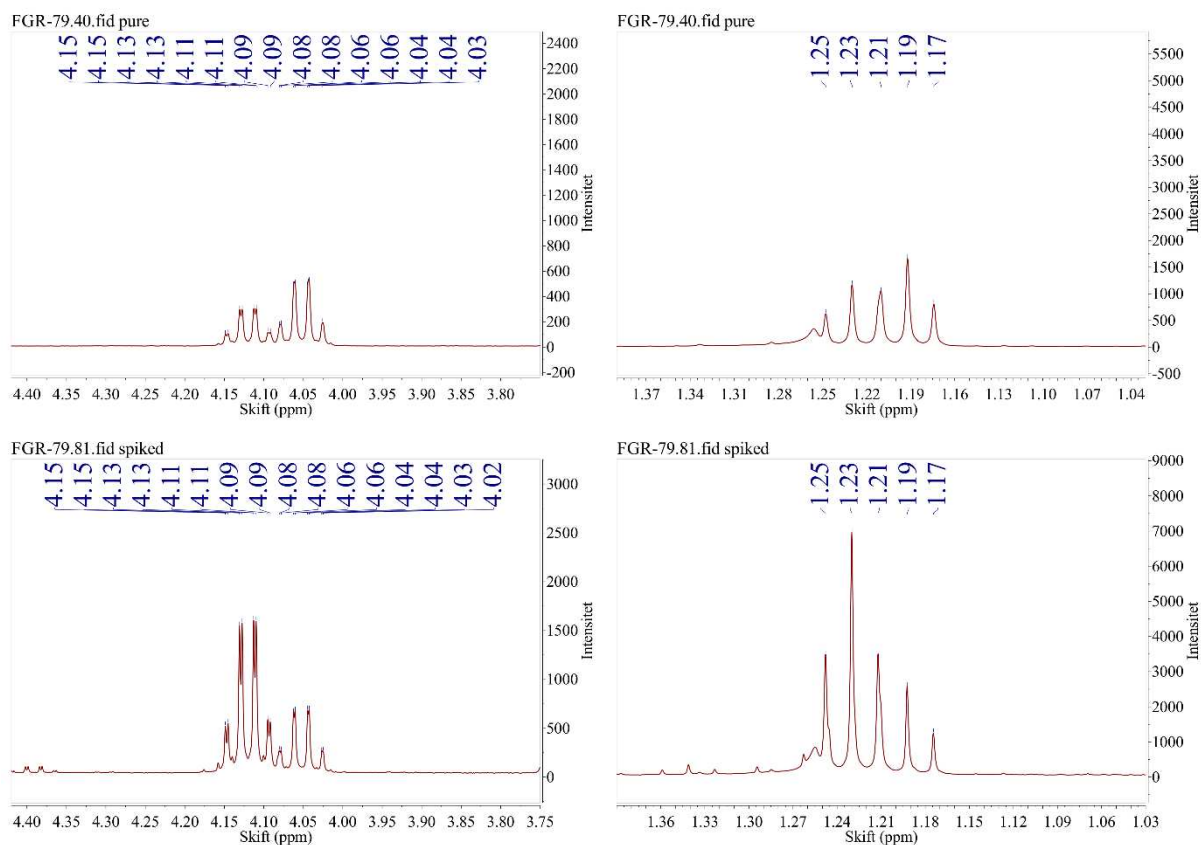
Det ble tatt opp et  $^1\text{H}$  NMR-spektrum av Mosher-ester **44** som ble sammenlignet med  $^1\text{H}$  NMR-spekteret av en blanding av Mosher-ester **44** og **46**. De to signalene fra etoksigruppen viste størst forskyvning av det kjemiske skiftet i  $^1\text{H}$  NMR. Basert på de antatte konformasjonene av **44** og **46** vist i figur 2-4 ble konfigurasjonen av **22** beregnet.



Figur 2-4: Mosher-estere **44** og **46**.

Figur 2-4 viser Mosher-estere **44** og **46** med konformasjonene som Mosher antok for å kunne forklare forskyvningen til de kjemiske skiftene i  $^1\text{H}$  NMR. Til venstre i figuren vises Mosher-ester **44**, hvor etoksigruppen vist i blått sitter på motsatt side av MTPA-planet for fenylgruppen vist i rødt. Etoksigruppen og fenylgruppen er derimot plassert på samme side av MTPA-planet i diastereomer **46**. Protoner plassert over eller under planet til en fenylgruppe vil skjermes, og får dermed lavere kjemisk skift. Relativt sett øker da det kjemiske skiftet til protonene i etoksigruppen i *R,R*-diastereomer **44**. Hvis konfigurasjonen til ester **22** virkelig er *R* forutsier Mosher-modellen at det kjemiske skiftet til etoksipronene i *R,R*-Mosher-esteren av **22** vil være høyere enn for etoksipronene i *R*-Mosher-esteren av **45**.

For å bestemme konfigurasjonen av **22** ble det først tatt opp et  $^1\text{H}$  NMR-spektrum av en blanding av **44** og **46**, og denne blandingen ble deretter tilsatt en liten mengde av Mosher-esteren av **22**. Et nytt NMR-spektrum av blandingen ble tatt opp, og det ble observert at ett av de to signalene for hver gruppe av identiske protoner i etoksigruppen økte i styrke etter tilsetningen. Figur 2-5 viser  $^1\text{H}$  NMR-signalene til etoksigruppen før tilsetning av **44** (øverst) og etter tilsetning av **44** (nederst). De to signalene til venstre i figur 2-5 er fra metylenprotonene i etoksigruppen, mens de to signalene til høyre er fra metylprotonene.



Figur 2-5: Utsnitt fra <sup>1</sup>H NMR-spektre av **44** og **46**. Til venstre metylen-, og til høyre metylsignalene fra etoksigruppene i **44** og **46**, uten ekstra tilsatt **44** øverst og med ekstra tilsatt **44** nederst.

Figur 2-5 viser de to signalene fra metylenprotonene (4.12 og 4.05 ppm) og de to signalene fra metylprotonene (1.23 og 1.19 ppm) i etoksigruppene i Mosher-estere **44** og **46**. Det er NMR-signalene ved 4.12 og 1.23 ppm som øker i intensitet etter tilsetning av Mosher-esteren av **22**. Siden disse signalene har høyere kjemisk skift enn signalene som forblir upåvirket kan det antas som rimelig sikkert at etylester **22** virkelig har *R*-konfigurasjon. Dette resultatet bekrefter dermed også at målmolekylet som har blitt syntetisert fra etylester **22** virkelig er den ønskede *R*-konfigurerte enantiomeren av 3-HEPE.

### 3. Oppsummering og videre arbeid

Reaksjonene som ledet frem til Evans-Nagao acetat aldol-type-reaksjonen var kjente, og gav utbytter på nivå med de som er rapportert i litteraturen. Nøkkeltrinnet i syntesen, acetat aldol-type-reaksjonen mellom hjelpemolekyl **26** og aldehyd **27**, gav relativt lave utbytter av aldolprodukt **25** på under 50%. Diastereoselektiviteten ble derimot betydelig forbedret i løpet av prosjektet. Reaksjonen ble forsøkt med to ulike baser: Den sterke basen LDA gav ingen diastereoselektivitet med aldehyd **27**, men den svake basen DIPEA gav i utgangspunktet et diastereomerforhold på 2:1 i favør av aldolprodukt **25**, den ønskede *R,R*-diastereomeren av aldolproduktet. Optimalisering av reaksjonsbetingelsene gav et diastereomerforhold på 8:1, med et utbytte på 44% av aldolprodukt **25**.

Aldolprodukt **25** ble først TBS-beskyttet for å hindre retro-aldol eller eliminasjon av H<sub>2</sub>O under omdannelsen til målmolekylet 3(*R*)-HEPE (**1**). Denne synteseveien gav målmolekylet med et totalt utbytte på 4% gjennom 9 trinn fra etylester **31**. Det ble deretter funnet at en syntesevei uten TBS-beskyttelse gav målmolekylet med et totalt utbytte på 8% gjennom 7 trinn fra etylester **31**.

Konfigurasjonen til etylester **22** ble via en Mosher-analyse vist å være *R*. En blanding av *R*-Mosher-estere av begge enantiomerer av 3-HEPE etylester ble tilsatt **44**, *R*-Mosher-esteren av 3(*R*)-HEPE etylester **22**. Sammenlikning av <sup>1</sup>H NMR-spektrene av blandingen av Mosher-estere før og etter tilsetning av **44** viste at signalene fra etylprotonene med høyest kjemisk skift økte når **44** ble tilsatt. Dette resultatet bekreftet at etylester **22** hadde *R*-konfigurasjon, og dermed også at målmolekylet som ble syntetisert fra etylester **22** var 3(*R*)-HEPE (**1**).

Det viktigste som kan gjøres for å forbedre syntesen av 3(*R*)-HEPE er å øke utbyttet og diastereomerforholdet i nøkkelreaksjonen hvor det stereogene senteret dannes. En mulighet er å forbedre diastereomerforholdet i acetat aldol-metoden. Effekten av basen på diastereomerforholdet burde undersøkes ved å prøve ut andre baser enn DIPEA og LDA, og variere mengden base som tilsettes. Andre Lewis-syrer enn TiCl<sub>4</sub> bør også forsøkes: AlCl<sub>3</sub> og Sn(OTf)<sub>2</sub> kan nevnes som mulige kandidater. Valget av Lewis-syre vil påvirke egenskapene til kelatet som dannes, og kan dermed påvirke overgangstilstanden. En annen Lewis-syre kan gjøre en lukket overgangstilstand mer sannsynlig, og dermed gi bedre diastereoselektivitet.

En annen viktig faktor er substituenten på tioksotiazolidin-ringen i hjelpemolekylet. Vi forsøkte reaksjonen kun med en isopropylgruppe, men en større substituent kan gjøre det mer sannsynlig at reaksjonen går gjennom den ønskede lukkede overgangstilstanden ved å øke den steriske hindringen. Diastereoselektiviteten for Nagao-hjelpemolekylet med en benzylgruppe eller *tert*-butylgruppe bør derfor undersøkes.

Diastereomerforholdet kan alternativt forbedres ved å danne det stereogene senteret via en annen stereoselektiv reaksjon. En mulighet er å syntetisere  $\beta$ -ketosyren eller en mer stabil ester av denne, og redusere ketogruppen stereoselektivt til en *R*-karbinolgruppe med  $\text{BF}_3 \cdot \text{THF}$  og den kirale katalysatoren CBS. Denne reaksjonen gir typisk høy stereoselektivitet, og eliminerer i tillegg behovet for en beskyttelsesgruppe.

## 4. Konklusjon

Syntesen av 3(*R*)-HEPE (**1**) via en Evans-Nagao acetat aldol-type reaksjon var vellykket, med et totalt utbytte på 8% over 7 trinn fra utgangsstoffet DHA-EE (**31**). Mosher-analyse viste at målmolekylet som ble dannet hadde *R*-konfigurasjon.

Diastereoselektiviteten og utbyttet i trinnet hvor det stereogene senteret dannes har rom for forbedring. En mer effektiv syntese av dimetylacetal **28** eller en annen syntesevei til aldehyd **27** kan også gi et bedre totalt utbytte. Utenom dette gir vår syntese av 3(*R*)-HEPE (**1**) gode utbytter, og gir målmolekylet med høy grad av renhet.

Biologisk testing av 3(*R*)-HEPE vil etter planen bli gjennomført i nær fremtid, og er derfor ikke inkludert i denne oppgaven.



## 5 Eksperimentelt

### 5.1 Generelle bemerkninger

Tynnsjiktplater av typen Merck TLC Silica gel 60 F<sub>254</sub> ble benyttet til tynnsjikt-kromatografi, og platene ble fremkalt med kaliumpermanganat.

Rensing av forbindelsene ble gjort via kolonnekromatografi med Merck Silica gel 60 (0.040-0.063 mm) som stasjonærfase.

NMR-spektre ble tatt opp på et instrument av merket Bruker Ascend 400, ved 25 °C og 400 MHz (<sup>1</sup>H NMR) eller 100 MHz (<sup>13</sup>C NMR), med CDCl<sub>3</sub> som løsemiddel.

IR-spektre tatt opp på et instrument av merket Agilent Technologies 5500 Series FTIR

UV-spektre ble tatt opp på et instrument av merket Biochrom Libra S32 PC

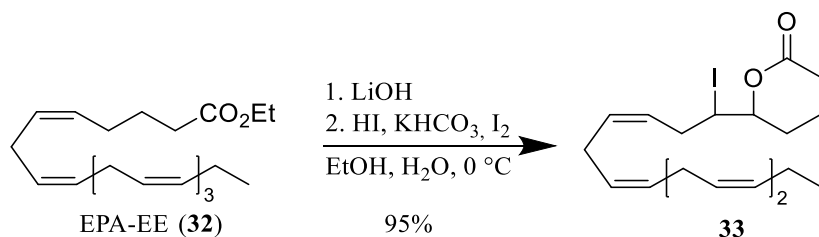
MS-spektre (EI) ble tatt opp på et instrument av merket Waters (Micromass) Prospec Q ved 70 eV

MS-spektre (ESI) ble tatt opp på et instrument av merket Waters (Micromass) Q-TOF 2 W ved 70 eV

Målinger av optisk rotasjon ble gjort på et Perkin-Elmer Model 341 polarimeter

## 5.2 Testsystem med EPA-EE

### 5.2.1 Syntese av 6-((3Z,6Z,9Z,12Z)-1-jodpentadeka-3,6,9,12-tetraen-1-yl)tetrahydro-2H-pyran-2-on (**33**)



Skjema 5-1: Dannelse av jodlakton **33**

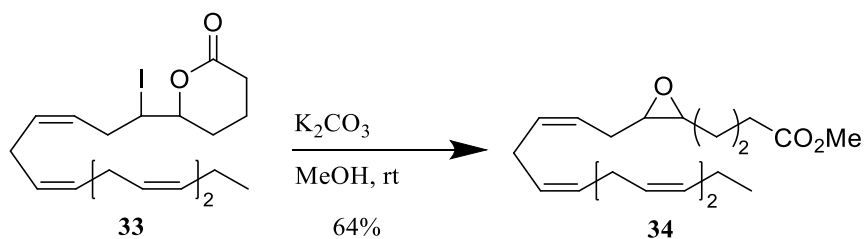
EPA-EE (**32**) (10.0 g, 30.3 mmol, 1 ekv.) ble løst i EtOH/H<sub>2</sub>O (1:1, 60 mL) og tilsatt LiOH·H<sub>2</sub>O (6.3 g, 150 mmol, 5 ekv.) under omrøring. Etter omrøring i 24 t under N<sub>2</sub>-atmosfære, med reaksjonen beskyttet mot lys, ble H<sub>2</sub>O (90 mL) tilsatt. Deretter ble kolben kjølt ned på isbad, og 57% HI (20 mL) ble tilsatt. HI-løsningen inneholdt utfelt I<sub>2</sub>, og det ble derfor tilsatt KI (3.00 g) til reaksjonsblandingen, etter tilsetning av et volum KHCO<sub>3</sub> som økte pH til ca. 9. Etter dette ble I<sub>2</sub> (22.8 g, 90 mmol, 3 ekv.) løst i THF (70 mL) tilsatt dråpevis under omrøring, og blandingen ble rørt om i 48 t ved 0-4 °C. En mettet vannløsning av Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ble tilsatt til synlig fargeforandring, og fast NaCl ble tilsatt til metning. Jodlaktonet ble ekstrahert med heksan (3 x 50 mL), og de kombinerte organiske fasene ble tørket over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. De tørkede organiske fasene ble deretter dampet inn under redusert trykk, og det ble utvunnet jodlakton **33** (12.3 g, 28.7 mmol, 95%) som en gul olje.

#### Data

**<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 5.55-5.45 (m, 1H), 5.40-5.15 (m, 7H), 4.03 (td, *J* = 7.5, 2.6 Hz, 1H), 3.86 (dt, *J* = 10.9, 3.0 Hz, 1H), 2.80-2.66 (m, 8H), 2.65-2.46 (m, 1H), 2.45-2.35 (m, 1H), 2.03-1.66 (m, 6H), 0.90 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 170.2, 131.8, 131.2, 128.5, 128.5, 127.6, 127.3, 126.9, 126.8, 80.6, 37.1, 34.3, 29.4, 28.0, 25.8, 25.5, 25.4, 20.4, 18.1, 14.2.

### 5.2.2 Syntese av metyl 4-(3-((2Z,5Z,8Z,11Z)-tetradeka-2,5,8,11-tetraen-1-yl)oksidan-2-yl)butanat (**34**)



Skjema 5-2: Dannelse av epoksid **34**

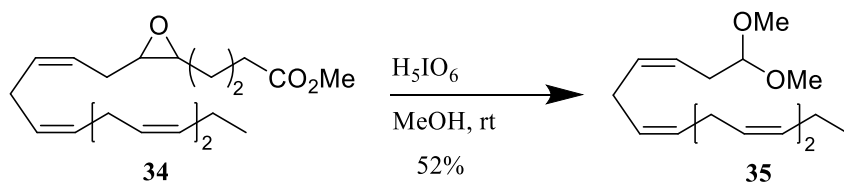
$K_2CO_3$  (5.80 g, 42 mmol, 1.5 ekv.) ble under omrøring tilsatt jodlaktone **33** (12.0 g, 28 mmol, 1 ekv.) løst i MeOH (150 mL), og etter omrøring i 3 t ble  $H_2O$  (100 mL) tilsatt blandingen. Deretter ble reaksjonsblandingen ekstrahert med heksan (3 x 50 mL). De kombinerte organiske fasene ble tørket over  $MgSO_4$ , og løsemiddelet ble fjernet under redusert trykk. Det gav Epoksid **34** (6.00 g, 18.0 mmol, 64%) som en svakt gul olje.

#### Data

**$^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ ):**  $\delta$  5.52-5.32 (m, 8H), 3.66 (s, 3H), 2.96-2.89 (m, 2H), 2.86-2.77 (m, 6H), 2.44-2.34 (m, 3H), 2.25-2.15 (m, 1H) 2.10-2.01 (m, 2H), 1.85-1.72 (m, 2H), 1.70-1.48 (m, 2H), 0.96 (t,  $J = 7.5$  Hz, 3H).

**$^{13}C$  NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ ):**  $\delta$  173.7, 132.1, 130.7, 128.7, 128.6, 127.8, 127.8, 127.1, 124.4, 56.6, 56.3, 51.6, 33.7, 27.3, 26.3, 25.9, 25.7, 25.6, 22.1, 20.7, 14.4.

### 5.2.3 Syntese av (3Z,6Z,9Z,12Z)-1,1-dimetoksipentadeka-3,6,9,12-tetraen (35)



Skjema 5-3: Dannelse av dimetylacetal 35

H<sub>5</sub>IO<sub>6</sub> (3.2 g, 14 mmol, 1.2 ekv.) ble tilsatt en omrørt løsning av epoksid **34** (4.0 g, 12 mmol, 1 ekv.) i MeOH (80 mL). Etter omrøring i 6 t ved rt ble løsningen tilsatt H<sub>2</sub>O (50 mL) og ekstrahert med heksan (3 x 50 mL). Ekstraktet ble vasket med mettet NaCl-løsning (50 mL), og tørket over MgSO<sub>4</sub>. Rensing via flash-kromatografi (silikagel, EtOAc/heksan 5:95) gav dimetylacetal **35** (1.7 g, 6.4 mmol, 52%) som en fargeløs olje.

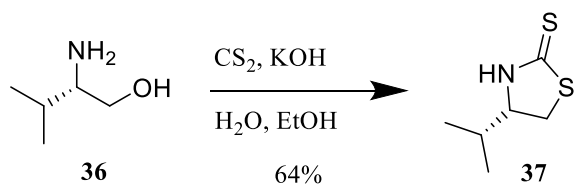
#### Data

**<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 5.53-5.25 (m, 8H), 4.37 (t, *J* = 5.8 Hz, 1H), 3.31 (s, 6H), 2.86-2.75 (m, 6H), 2.43-2.35 (m, 2H), 2.11-1.99 (m, 2H), 0.96 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 132.0, 130.3, 128.6, 128.4, 127.9, 127.9, 127.1, 124.0, 104.1, 52.9, 31.1, 25.9, 25.7, 25.6, 20.6, 14.3.

## 5.3 Syntese mot målmolekylet 3(*R*)-HEPE (1)

### 5.3.1 Syntese av (4*S*)-4-propan-2-yl-2-tiokso-1,3-tiazolidin (37)



Skjema 5-4: Dannelse av *S*-tioksotiazolidin 37

CS<sub>2</sub> (1.144 g, 0.90 mL, 15.0 mmol, 3.5 ekv.) ble satt til en omrørt løsning av aminoalkohol **36** (0.443 g, 4.29 mmol, 1 ekv.) i EtOH (1.5 mL) ved rt. Deretter ble en 2.25 M løsning av KOH (0.964 g, 17.2 mmol, 4 ekv.) i EtOH/H<sub>2</sub>O 1:1 (7.6 mL) tilsatt dråpevis over 30 min. Den røde løsningen ble varmet til reflux og rørt om i 66 t under N<sub>2</sub>-atmosfære. Kolben ble avkjølt, og flyktige forbindelser dampet av under redusert trykk. Blandingen ble langsomt surgjort med 0.5 M HCl (30 mL), og deretter ekstrahert med diklormetan (3 x 20 mL). De kombinerte organiske fasene ble tørket (MgSO<sub>4</sub>) og dampet inn under redusert trykk. Den gule råoljen ble rensert (silikagel, EtOAc/heksan 1:4), som gav tioksotiazolidin **37** (0.442 g, 2.74 mmol, 64%) som fargeløse krystaller.

#### Data

Rf: 0.35 (EtOAc:Heksan 3:7)

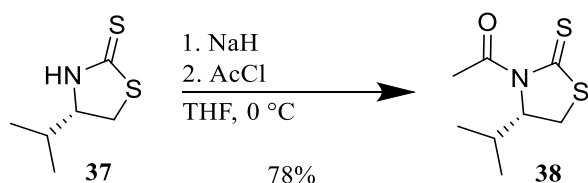
IR (film): 3182, 2964, 2869, 1493 cm<sup>-1</sup>

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: -33.1° (CHCl<sub>3</sub>, c 0.78)

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.20 (bs, 1H), 4.15 – 3.98 (m, 1H), 3.49 (dd, *J* = 11.1, 8.2 Hz, 1H), 3.30 (dd, *J* = 11.1, 8.3 Hz, 1H), 2.04 – 1.90 (m, 1H), 1.02 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 0.98 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 201.12, 70.16, 36.00, 32.11, 18.90, 18.32.

### 5.3.2 Syntese av 1-((4S)-4-propan-2-yl-2-tiokso-1,3-tiazolidin-3-yl)etan-1-on (38)



Skjema 5-5: Dannelse av S-hjelpemolekyl **38**

En dispersjon av 60% NaH i mineralolje (0.121 g, 3.01 mmol, 1.1 ekv.) ble løst i tørr THF (2.2 mL) ved 0 °C. Tioksotiazolidin **37** (0.442 g, 2.74 mmol, 1 ekv.) ble løst i tørr THF (2.2 mL) og tilsatt NaH-løsningen, som deretter ble rørt om ved 0 °C i 10 min. AcCl (0.237 g, 3.01 mmol, 1.1 ekv.) ble tilsatt blandingen, og den ble rørt om i 10 min. ved 0 °C. Blandingen ble deretter varmet til rt og rørt om i 1 t. En 5% HCl-løsning (4 mL) ble tilsatt, og blandingen ble ekstrahert med EtOAc (3 x 10 mL), vasket med mettet vandig NaCl, tørket (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) og dampet inn under redusert trykk. Rensing (silikagel, EtOAc/heksan 1:9) gav hjelpemolekyl **38** (0.436 g, 2.15 mmol, 78%) som en gul olje.

#### Data

**R<sub>f</sub>**: 0.20 (EtOAc:Heksan 1:9)

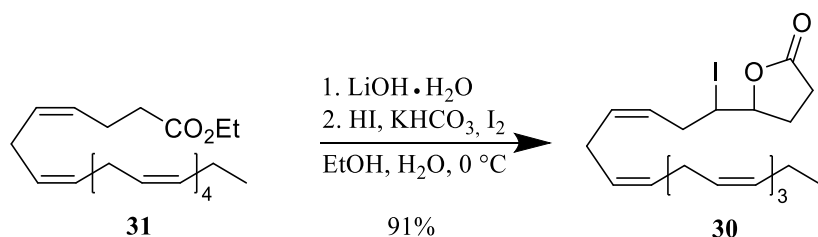
**IR (film)**: 3529, 2964, 1700 cm<sup>-1</sup>

**[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>**: + 447.0° (CHCl<sub>3</sub>, c 0.57)

**<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**: δ 5.13 (ddd, *J* = 7.8, 6.3, 1.2 Hz, 1H), 3.50 (dd, *J* = 11.5, 8.0 Hz, 1H), 3.01 (dd, *J* = 11.5, 1.2 Hz, 1H), 2.76 (s, 3H), 2.41 – 2.27 (m, 1H), 1.05 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H), 0.96 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**: δ 203.29, 170.77, 71.35, 30.86, 30.50, 27.03, 19.15, 17.84.

### 5.3.3 Syntese av 5-((3Z,6Z,9Z,12Z,15Z)-1-jodoktadeka-3,6,9,12,15-pentaen-1-yl)dihydrofuran-2(3H)-on (**30**)



Skjema 5-6: Dannelse av jodlaktone **30**

En blanding av DHA-EE (**31**) (10.02 g, 28 mmol, 1 ekv.) og LiOH·H<sub>2</sub>O (5.8 g, 140 mmol, 5 ekv.) i 1:1 EtOH/H<sub>2</sub>O (60 mL) i en kolbe beskyttet mot lys ble rørt om i 28 t til alt av **31** var blitt hydrolysert til DHA. Deretter ble kolben kjølt ned på isbad, og H<sub>2</sub>O (90 mL) samt 57% HI (20 mL) ble tilsatt. Det ble tilsatt KHCO<sub>3</sub> til ca. pH 9, fulgt av KI (3.0 g), tilsatt for å kompensere for utfelling av fast I<sub>2</sub> i HI-løsningen. Til slutt ble I<sub>2</sub> (21.3 g, 84 mmol) i THF (70 mL) tilsatt dråpevis under omrøring, og blandingen ble rørt om i mørket ved 0-4 °C i 18 t. En mettet Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-løsning (100 mL) ble tilsatt for å stanse reaksjonen, og løsningen ble mettet med fast NaCl. Produktet ble ekstrahert med heksan (3 x 50 mL). De kombinerte organiske fasene ble tørket over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, og løsemiddelet ble fjernet under redusert trykk. Det gav jodlaktone **30** (11.6 g, 25.5 mmol, 91%) som en svakt gul olje.

#### Data

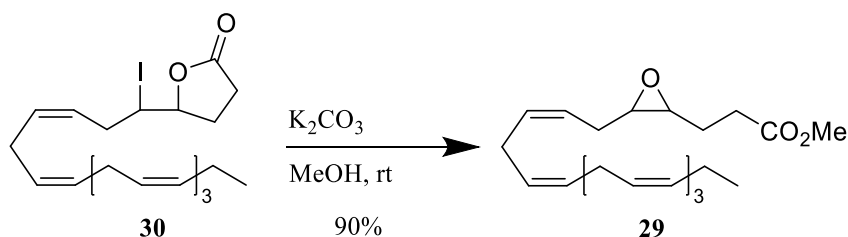
**Rf:** 0.28 (EtOAc:Heksan 1:3)

**IR (film):** 3014, 2964, 1784, 1656 cm<sup>-1</sup>

**<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 5.60-5.50 (m, 1H), 5.47-5.22 (m, 9H), 4.31-4.20 (m, 1H), 4.11 (td, *J* = 7.3, 2.9 Hz, 1H), 2.87-2.75 (m, 10H), 2.74-2.62 (m, 1H), 2.58-2.48 (m, 1H), 2.46-2.35 (m, 1H), 2.10-1.98 (m, 3H), 0.95 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 176.2, 132.1, 131.6, 128.8, 128.6, 128.4, 128.0, 127.9, 127.4, 127.1, 126.8, 80.7, 37.9, 34.7, 28.6, 27.4, 25.9, 25.7, 25.7, 25.6, 20.6, 14.4.

### 5.3.4 Syntese av metyl 3-(3-((2Z,5Z,8Z,11Z,14Z)-heptadeka-2,5,8,11,14-pentaen-1-yl)oksiran-2-yl)propanat (**29**)



Skjema 5-7: Dannelse av epoksid **29**

$K_2CO_3$  (3.65 g, 26.4 mmol, 1.2 ekv.) ble satt til en omrørt løsning av jodlaktone **30** (9.97 g, 21.9 mmol, 1 ekv.) i MeOH (60 mL). Blandingen ble rørt om i 3 t, og  $H_2O$  (50 mL) ble deretter tilsatt. Den organiske fasen ble separert fra, og vannfasen ble ekstrahert med heksan (3 x 50 mL). De kombinerte organiske fasene ble tørket over  $MgSO_4$ , og dampet inn under redusert trykk. Det gav epoksid **29** (7.08 g, 19.8 mmol, 90%) som en brun olje.

#### Data

**R<sub>f</sub>**: 0.45 (EtOAc:Heksan 1:3)

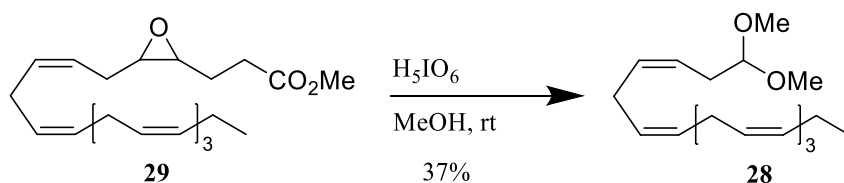
**IR (film)**: 3014, 2964, 1739, 1656  $cm^{-1}$

**$^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )**:  $\delta$  5.55-5.21 (m, 10H), 3.65 (s, 3H), 3.00-2.88 (m, 2H), 2.85-2.75 (m, 8H), 2.55-2.32 (m, 3H), 2.25-2.18 (m, 1H), 2.09-1.98 (m, 2H), 1.90-1.82 (m, 1H), 1.80-1.70 (m, 1H), 0.93 (t,  $J = 7.5$  Hz, 3H).

**$^{13}C$  NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )**:  $\delta$  173.1, 132.0, 130.6, 128.5, 128.4, 128.3, 127.9, 127.8, 127.7, 127.0, 124.2, 56.5, 55.9, 51.7, 31.0, 26.2, 25.8, 25.6, 25.6, 25.5, 23.3, 20.5, 14.3.



### 5.3.5 Syntese av (3Z,6Z,9Z,12Z,15Z)-1,1-dimetoksioktadeka-3,6,9,12,15-pentaen (**28**)



Skjema 5-8: Dannelse av dimetylacetal **28**

Perjodsyre (2.51 g, 11.0 mmol, 1.1 ekv.) ble under omrøring tilsatt en løsning av epoksid **29** (3.56 g, 9.93 mmol, 1 ekv.) i MeOH (67 mL). Etter omrøring i 6 t ble H<sub>2</sub>O (50 mL) tilsatt, og den organiske fasen ble separert fra. Vannfasen ble ekstrahert med heksan (3 x 50 mL), og de kombinerte organiske fasene ble vasket med mettet NaCl-løsning og tørket over MgSO<sub>4</sub>. Inndamping av de kombinerte organiske fasene under redusert trykk gav en råolje som ble rensert via flash-kromatografi (silikagel, EtOAc/heksan 5:95). Det gav dimetylacetal **28** (1.11 g, 3.65 mmol, 37%) som en fargeløs olje.

#### Data

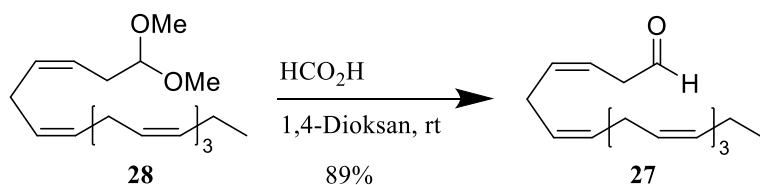
**R<sub>f</sub>**: 0.46 (EtOAc:Heksan 1:9)

**IR (film)**: 3014, 2964, 2830, 1656 cm<sup>-1</sup>

**<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**: δ 5.54-5.24 (m, 10H), 4.37 (t, J = 5.8 Hz, 1H), 3.32 (s, 6H), 2.89-2.74 (m, 8H), 2.39 (ddd, J = 7.2, 5.9, 1.5 Hz, 2H), 2.06 (pd, J = 7.3, 1.3 Hz, 2H), 0.96 (t, J = 7.6 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**: δ 132.1, 130.3, 128.6, 128.3, 128.1, 128.0, 127.9, 127.1, 124.0, 104.1, 53.0, 31.1, 25.9, 25.7, 25.7, 25.6, 20.6, 14.3.

### 5.3.6 Syntese av (3Z,6Z,9Z,12Z,15Z)-oktadeka-3,6,9,12,15-pentaenal (**27**)



Skjema 5-9: Dannelse av aldehyd **27**

En omrørt løsning av acetal **28** (0.749 g, 2.46 mmol, 1 ekv.) i 1,4-dioksan (10 mL) ble ved rt tilsatt 80% maursyre (12 mL). Etter 1.5 t ble vann (30 mL) tilsatt, og løsningen ble ekstrahert med heksan (3 x 30 mL). Ekstraktet ble nøytralisert med mettet vandig NaHCO<sub>3</sub> (50 mL), vasket med mettet vandig NaCl (50 mL) og tørket over MgSO<sub>4</sub>. Inndamping av løsningen under redusert trykk gav aldehyd **27** (0.568 g, 2.20 mmol, 89%) som en fargeløs olje.

#### Data

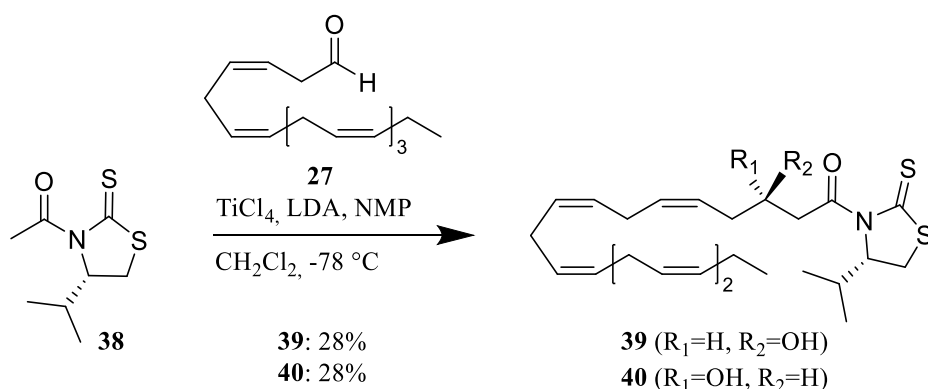
**R<sub>f</sub>**: 0.40 (EtOAc:Heksan 1:9)

**IR (film)**: 3014, 2964, 2724, 1728 cm<sup>-1</sup>

**<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**: δ 9.66 (t, J = 2.0 Hz, 1H), 5.80-5.65 (m, 1H), 5.62-5.53 (m, 1H), 5.42-5.30 (m, 8H), 3.21 (dt, J = 7.3, 1.9 Hz, 2H), 2.86-2.80 (m, 8H), 2.11-2.00 (m, 2H), 0.96 (t, J = 7.6 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**: δ 199.3, 133.2, 132.1, 128.9, 128.7, 128.5, 127.9, 127.9, 127.2, 127.1, 118.8, 42.6, 26.1, 25.7, 25.7, 25.6, 20.7, 14.4.

### 5.3.7 Syntese av (3*R*,5*Z*,8*Z*,11*Z*,14*Z*,17*Z*)-3-hydroksi-1-((4*S*)-4-propan-2-yl-2-tiokso-1,3-tiazolidin-3-yl)eikosa-5,8,11,14,17-pentaen-1-on (**39**)



Skjema 5-10: Dannelse av aldolprodukt **39**

Det kirale hjelpemolekylet **38** (0.287 g, 1.41 mmol, 1.39 ekv.) i  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (14 mL) ble kjølt ned til  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  under omrøring, og tilsatt 1M  $\text{TiCl}_4$  i  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1.45 mL, 1.45 mmol, 1.43 ekv.). Etter 5 min. ble 1 M LDA i THF (1.65 mL, 1.65 mmol, 1.62 ekv.) og NMP (0.164 g, 0.159 mL, 1.65 mmol, 1.62 ekv.) tilsatt. Etter omrøring i 1 t ved  $-78\text{ }^\circ\text{C}$ , ble aldehyd **27** (0.263 g, 1.02 mmol, 1 ekv.) i  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3.7 mL) tilsatt dråpevis over 40 min. Etter påfølgende omrøring i 1 t ved  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  ble blandingen tilsatt halvmettet vandig  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (10 mL) og varmet opp til rt. Den organiske fasen og vannfasen ble skilt fra hverandre, og vannfasen ble ekstrahert med  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 x 10 mL). De kombinerte organiske fasene ble tørket over  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  og dampet inn under redusert trykk. Flashkromatografi (silikagel, EtOAc/heksan 1:9) gav aldolproduktene **39** (0.131 g, 0.284 mmol, 28%) og **40** (0.131 g, 0.284 mmol, 28%) som gule oljer.

#### Data Aldolprodukt **39**

**R<sub>f</sub>**: 0.37 (EtOAc:Heksan 3:7)

**IR (film)**: 3546, 3009, 2964, 1678  $\text{cm}^{-1}$

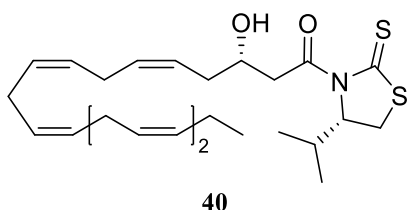
**$[\alpha]_D^{20}$** : + 182.7° ( $\text{CHCl}_3$ , c 1.54)

**UV**:  $\lambda_{max}$  278, 311 nm

**$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**:  $\delta$  5.67 – 5.25 (m, 10H), 5.18 (ddd,  $J = 7.7, 6.3, 1.1$  Hz, 1H), 4.18 – 4.02 (m, 1H), 3.57 – 3.32 (m, 3H), 3.24 (bs, 1H), 3.03 (dd,  $J = 11.5, 1.1$  Hz, 1H), 2.91 – 2.73 (m, 8H), 2.45 – 2.25 (m, 3H), 2.07 (pd,  $J = 7.4, 1.3$  Hz, 2H), 1.06 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 0.97 (t,  $J = 7.4$  Hz, 6H).

**$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**:  $\delta$  203.10, 173.69, 132.15, 131.16, 128.69, 128.50, 128.42, 128.18, 128.07, 128.01, 127.16, 125.10, 71.42, 68.37, 44.71, 34.47, 30.89, 30.71, 25.92, 25.81, 25.77, 25.68, 20.69, 19.21, 17.95, 14.42.

### 5.3.8 Dannelse av (3*S*,5*Z*,8*Z*,11*Z*,14*Z*,17*Z*)-3-hydroksi-1-((4*S*)-4-propan-2-yl-2-tiokso-1,3-tiazolidin-3-yl)eikosa-5,8,11,14,17-pentaen-1-on (**40**)



Figur 5-1: Aldolprodukt **40**

Aldolprodukt **40**, vist i figur 5-1, ble sammen med **39** dannet i Evans-Nagao acetat aldol-type-reaksjonen med LDA og NMP.

#### Data aldolprodukt **40**

**Rf:** 0.23 (EtOAc:Heksan 3:7)

**IR (film):** 3456, 3014, 2964, 1689  $\text{cm}^{-1}$

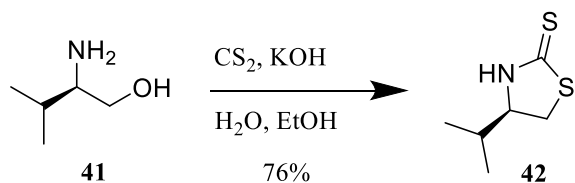
**$[\alpha]_D^{20}$ :** + 235.7° (CHCl<sub>3</sub>, c 0.83)

**UV:**  $\lambda_{max}$  240, 278, 311 nm

**<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  5.58 – 5.24 (m, 10H), 5.16 (ddd,  $J = 7.6, 6.2, 1.1$  Hz, 1H), 4.25 – 4.12 (m, 1H), 3.65 (dd,  $J = 17.7, 2.5$  Hz, 1H), 3.52 (dd,  $J = 11.5, 8.0$  Hz, 1H), 3.16 (dd,  $J = 17.7, 9.4$  Hz, 1H), 3.03 (dd,  $J = 11.6, 1.1$  Hz, 1H), 2.90 – 2.75 (m, 9H), 2.43 – 2.27 (m, 3H), 2.13 – 2.01 (m, 2H), 1.06 (d,  $J = 6.9$  Hz, 3H), 0.97 (t,  $J = 7.4$  Hz, 6H).

**<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  203.10, 173.12, 132.16, 131.27, 128.70, 128.52, 128.44, 128.18, 128.08, 128.01, 127.17, 125.12, 71.49, 67.94, 45.04, 34.28, 30.99, 30.73, 25.94, 25.82, 25.78, 25.69, 20.70, 19.22, 17.95, 14.43.

### 5.3.9 Syntese av (4*R*)-4-propan-2-yl-2-tiokso-1,3-tiazolidin (**42**)



Skjema 5-11: Dannelse av tioksotiazolidin **42**

Aminoalkohol **41** (1.01 g, 9.79 mmol, 1 ekv.) ble løst i EtOH (5 mL). CS<sub>2</sub> (2.35 mL, 2.98 g, 39.1 mmol, 4 ekv.) ble injisert inn i løsningen. Fast KOH (2.15 g, 38.3 mmol, 3.9 ekv.) ble løst i en 1:1 blanding av H<sub>2</sub>O og EtOH (10 mL), og satt dråpevis til aminoalkohol-løsningen. Løsningen ble deretter refluksert i 48 t og avkjølt til rt, hvorpå den ble surgjort med 0.5 M HCl (20 mL). Produktet ble ekstrahert med CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 20 mL), og de kombinerte organiske fasene ble dampet inn under redusert trykk. Det gav en gul olje som ble rensert med flash-kromatografi (silikagel, EtOAc/heksan 1:4), og etter fjerning av løsemiddel ble det dannet fargeløse krystaller av produktet **42** (1.20 g, 7.42 mmol, 76 %).

#### Data

**R<sub>f</sub>**: 0.33 (EtOAc:Heksan 3:7)

**IR (film)**: 3137, 2959, 2875 cm<sup>-1</sup>

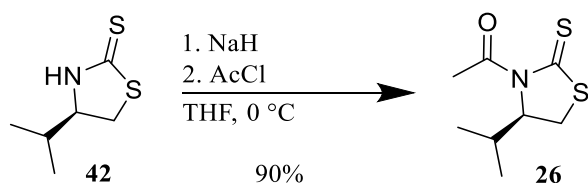
**[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>**: + 33.3° (CHCl<sub>3</sub>, c 0.78)

**Smeltepunkt**: 71-73°C

**<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**: δ 8.19 (bs, 1H), 4.15-3.96 (m, 1H), 3.49 (dd, *J* = 11.1, 8.2 Hz, 1H), 3.30 (dd, *J* = 11.1, 8.3 Hz, 1H), 2.04-1.89 (m, 1H), 1.02 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 0.99 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**: δ 201.1, 70.1, 36.0, 32.1, 18.9, 18.3.

### 5.3.10 Syntese av 1-((4*R*)-4-propan-2-yl-2-tiokso-1,3-tiazolidin-3-yl)etan-1-on (26)



Skjema 5-12: Dannelse av hjelpemolekyl **26**

Tioksotiazolidin **42** (1.15 g, 7.15 mmol, 1 ekv.) ble løst i tørr THF (15 mL), og kjølt til 0 °C. En dispersjon av 60% NaH i mineralolje (0.315 g, 7.86 mmol, 1.1 ekv.) ble løst i tørr THF (15 mL) under N<sub>2</sub>, og tioksotiazolidin-løsningen ble tilsatt dråpevis via kanyle ved 0 °C. Etter omrøring ved 0 °C i 10 min. ble AcCl (0.56 mL, 0.617 g, 7.86 mmol, 1.1 ekv.) tilsatt, og løsningen ble rørt om i ytterligere 10 min. ved 0 °C. Deretter ble løsningen varmet til rt, og rørt om i ytterligere 1 t. Vandig 5% HCl (10 mL) ble tilsatt for å stanse reaksjonen, og blandingen ble ekstrahert med EtOAc (3 x 20 mL). De kombinerte organiske fasene ble tørket med Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrert og dampet inn under redusert trykk. Rensing av råoljen med flash-kromatografi (silikagel, EtOAc/heksan 1:9) gav produktet **26** (1.31 g, 6.46 mmol, 90%) som en gul olje.

#### Data

R<sub>f</sub>: 0.23 (EtOAc:Heksan 1:9)

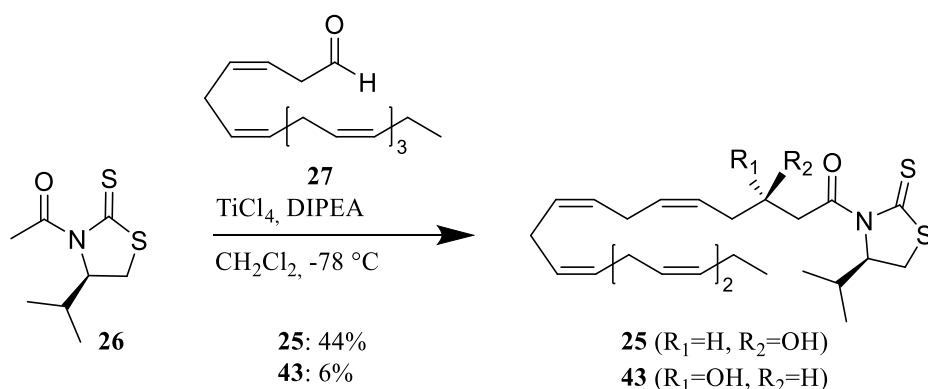
IR (film): 2964, 1700 cm<sup>-1</sup>

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: - 398.9° (CHCl<sub>3</sub>, c 0.53)

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 5.14 (ddd, *J* = 7.7, 6.1, 1.2 Hz, 1H), 3.50 (dd, *J* = 11.5, 8.1 Hz, 1H), 3.01 (dd, *J* = 11.5, 1.2 Hz, 1H), 2.76 (s, 3H), 2.41-2.31 (m, 1H), 1.05 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 0.96 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 203.3, 170.8, 71.4, 30.9, 30.5, 27.0, 19.2, 17.8.

### 5.3.11 Syntese av (3*R*,5*Z*,8*Z*,11*Z*,14*Z*,17*Z*)-3-hydroksi-1-((4*R*)-4-propan-2-yl-2-tiokso-1,3-tiazolidin-3-yl)eikosa-5,8,11,14,17-pentaen-1-on (**25**)



Skjema 5-13: Dannelse av aldolprodukt **25**

En løsning av **26** (0.17 g, 0.84 mmol, 2 ekv.) i  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (8.36 mL) ble under omrøring ved  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  tilsatt 1M  $\text{TiCl}_4$  i  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (0.92 mL, 0.92 mmol, 2.2 ekv.). Etter 5 min. ble DIPEA (0.175 mL, 0.130 g, 1.00 mmol, 2.4 ekv.) tilsatt, og blandingen ble rørt om i 1 t ved  $-78\text{ }^\circ\text{C}$ . Ferskt aldehyd **27** (0.108 g, 0.418 mmol, 1 ekv.) i  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2.10 mL) ble tilsatt dråpevis over 20 min, og blandingen ble rørt om i ytterligere 3.5 t ved  $-78\text{ }^\circ\text{C}$ . Reaksjonen ble deretter stoppet ved tilsetning av halvmettet vandig  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (10 mL), og blandingen ble varmet til rt. Den organiske fasen ble separert fra, og vannfasen ble ekstrahert med  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 x 10 mL). De kombinerte organiske fasene ble tørket over  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  og dampet inn under redusert trykk. Flashkromatografi (silikagel, EtOAc/heksan 1:9) gav aldolproduktene **25** (0.0853 g, 0.185 mmol, 44%) og **43** (0.0107 g, 0.0232 mmol, 6%) som gule oljer.

#### Data aldolprodukt **25**

**Rf**: 0.25 (EtOAc:Heksan 3:7)

**IR (film)**: 3445, 3009, 2964, 1689  $\text{cm}^{-1}$

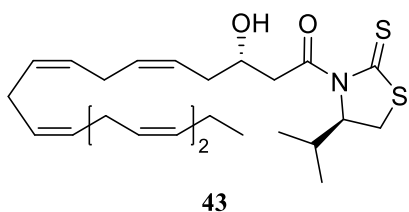
$[\alpha]_D^{20}$ : -214.3° ( $\text{CHCl}_3$ , c 1.08)

**UV**:  $\lambda_{\text{max}}$  278, 311 nm

**$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**:  $\delta$  5.53-5.24 (m, 10H), 5.21-5.10 (m, 1H), 4.18 (ddt,  $J = 9.0, 6.5, 3.2$  Hz, 1H), 3.64 (dd,  $J = 17.7, 2.6$  Hz, 1H), 3.51 (dd,  $J = 11.5, 7.9$  Hz, 1H), 3.16 (dd,  $J = 17.7, 9.4$  Hz, 1H), 3.02 (dd,  $J = 11.5, 1.0$  Hz, 1H), 2.87-2.77 (m, 9H), 2.40-2.25 (m, 3H), 2.14-1.99 (m, 2H), 1.05 (d,  $J = 6.7$  Hz, 3H), 0.96 (t,  $J = 7.5$  Hz, 6H).

**$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**:  $\delta$  203.0, 173.0, 132.1, 131.2, 128.6, 128.5, 128.4, 128.1, 128.0, 128.0, 127.1, 125.1, 71.4, 67.9, 45.0, 34.2, 30.9, 30.7, 25.9, 25.8, 25.7, 25.6, 20.7, 19.2, 17.9, 14.4.

### 5.3.12 Dannelse av (3*S*,5*Z*,8*Z*,11*Z*,14*Z*,17*Z*)-3-hydroksi-1-((4*R*)-4-propan-2-yl-2-tiokso-1,3-tiazolidin-3-yl)eikosa-5,8,11,14,17-pentaen-1-on (**43**)



Figur 5-2: Det ikke favoriserte aldolproduktet **43**

Aldolprodukt **43**, den ikke favoriserte *S,R*-diastereomeren av aldolprodukt **25**, er vist i figur 5-2. Dette aldolproduktet ble sammen med **25** dannet i Evans-Nagao acetat aldol-type-reaksjonen med DIPEA som base.

#### Data aldolprodukt **43**

**Rf:** 0.37 (EtOAc:Heksan 3:7)

**IR (film):** 3529, 3009, 2964, 1689  $\text{cm}^{-1}$

**$[\alpha]_D^{20}$ :** - 197.0° ( $\text{CHCl}_3$ , c 0.46)

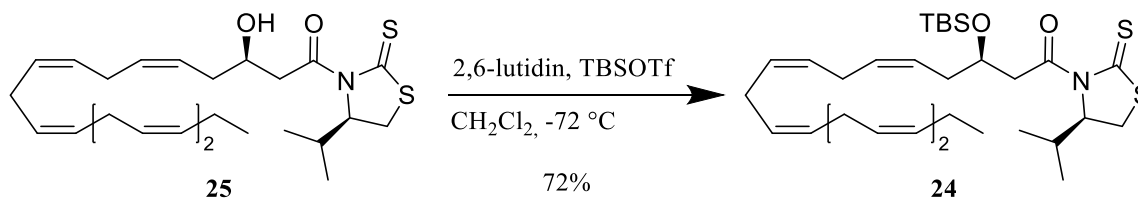
**UV:**  $\lambda_{max}$  277, 311 nm

**$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  5.66-5.25 (m, 10H), 5.17 (ddd,  $J = 7.8, 6.3, 1.2$  Hz, 1H), 4.11-4.01 (m, 1H), 3.57-3.34 (m, 3H), 3.24 (bs, 1H), 3.03 (dd,  $J = 11.5, 1.2$  Hz, 1H), 2.95-2.69 (m, 8H), 2.45-2.26 (m, 3H), 2.06 (tdd,  $J = 7.6, 7.0, 1.5$  Hz, 2H), 1.05 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 0.96 (t,  $J = 7.5$  Hz, 6H).

**$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  203.1, 173.6, 132.1, 131.1, 128.7, 128.5, 128.4, 128.1, 128.0, 128.0, 127.1, 125.1, 71.4, 68.3, 44.7, 34.4, 30.9, 30.7, 25.9, 25.8, 25.7, 25.7, 20.7, 19.2, 17.9, 14.4.



### 5.3.13 Syntese av (3*R*,5*Z*,8*Z*,11*Z*,14*Z*,17*Z*)-3-((tert-butyldimetylsilyl)oksi)-1-((4*R*)-4-propan-2-yl-2-tiokso-1,3-tiazolidin-3-yl)eikosa-5,8,11,14,17-pentaen-1-on (**24**)



Skjema 5-14: Dannelse av TBS-beskyttet aldolprodukt **24**

Aldolprodukt **25** (0.085 g, 0.18 mmol, 1 ekv.) ble løst i CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (9.5 mL). Løsningen ble kjølt ned til -72 °C (tørris/EtOH), og etter 10 min ble 2,6-lutidin (0.064 mL, 0.059 g, 0.55 mmol, 3 ekv.) tilsatt under omrøring. Etter ytterligere 10 min ble TBSOTf (0.063 mL, 0.073 g, 0.28 mmol, 1.5 ekv.) tilsatt dråpevis. Etter omrøring i 2 t ved -72 °C ble mettet vandig NH<sub>4</sub>Cl (5 mL) tilsatt for å stanse reaksjonen. Den organiske fasen ble separert fra, og vannfasen ble ekstrahert med CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 10 mL). De kombinerte organiske fasene ble tørket over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, og dampet inn under redusert trykk. Rensing av råoljen med flash-kromatografi (silikagel, EtOAc/heksan 5:95) gav **24** (0.077 g, 0.13 mmol, 72%) som en gul olje.

#### Data

**R<sub>f</sub>**: 0.70 (EtOAc:Heksan 3:7)

**IR (film)**: 3014, 2964, 1700 cm<sup>-1</sup>

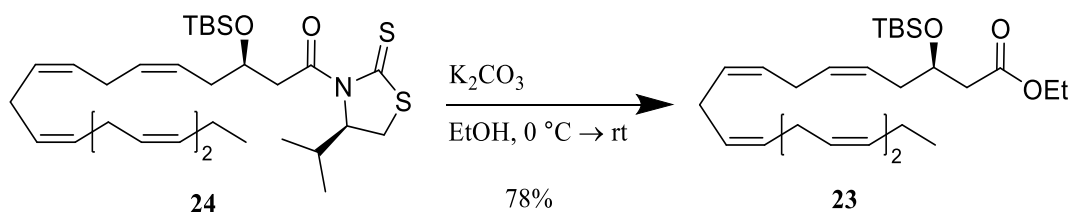
**[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>**: -126.5° (CHCl<sub>3</sub>, c 0.68)

**UV**: λ<sub>max</sub> 262, 310 nm

**<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**: δ 5.53-5.27 (m, 11H), 5.03 (ddd, J = 7.6, 6.3, 1.0 Hz, 1H), 4.39-4.31 (m, 1H), 3.58-3.42 (m, 2H), 3.14 (dd, J = 17.1, 3.7 Hz, 1H), 3.02 (dd, J = 11.4, 1.0 Hz, 1H), 2.88-2.77 (m, 8H), 2.42-2.26 (m, 3H), 2.14-2.02 (m, 2H), 1.06 (d, J = 6.7 Hz, 3H), 0.99-0.94 (m, 6H), 0.89-0.84 (m, 8H), 0.09 (s, 3H), 0.04 (s, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**: δ 202.8, 172.0, 132.1, 130.6, 128.7, 128.4, 128.2, 128.0, 127.2, 125.4, 71.7, 69.2, 45.3, 35.7, 31.1, 30.9, 26.0, 25.8, 25.8, 25.7, 20.7, 19.3, 18.1, 18.0, 14.4, -4.3, -4.6.

### 5.3.14 Syntese av etyl (3*R*,5*Z*,8*Z*,11*Z*,14*Z*,17*Z*)-3-((*tert*-butyldimetylsilyl)oksi)-eikosa-5,8,11,14,17-pentaenat (**23**)



Skjema 5-15: Dannelse av TBS-beskyttet etylester **23**

Beskyttet aldolprodukt **24** (0.041 g, 0.072 mmol, 1 ekv.) ble løst i absolutt EtOH (1.45 mL) og kjølt ned til 0 °C. K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0.015 g, 0.11 mmol, 1.5 ekv.) ble tilsatt løsningen under omrøring, og blandingen ble rørt om i 3 t. Blandingen ble deretter varmet opp til rt og rørt om i 20 t. Fargen på løsningen forandret seg fra gul til rødoransje. Etter 23 t ble reaksjonen stanset ved tilsetning av mettet vandig NH<sub>4</sub>Cl (10 mL). Produktet ble ekstrahert med 3 x 10 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, og de kombinerte organiske fasene ble vasket med 1 M KOH (5 mL), mettet vandig NaCl (10 mL), og tørket over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Det tørkede ekstraktet ble filtrert og dampet inn under redusert trykk. Ekstraktet ble rensed via flashkromatografi (silikagel, EtOAc/heksan 1:39), og rensingen gav etylester **23** (0.026 g, 0.056 mmol, 78%) som en fargeløs olje.

#### Data

**Rf:** 0.53 (EtOAc:Heksan 1:9)

**IR (film):** 3014, 2931, 2858, 1739 cm<sup>-1</sup>

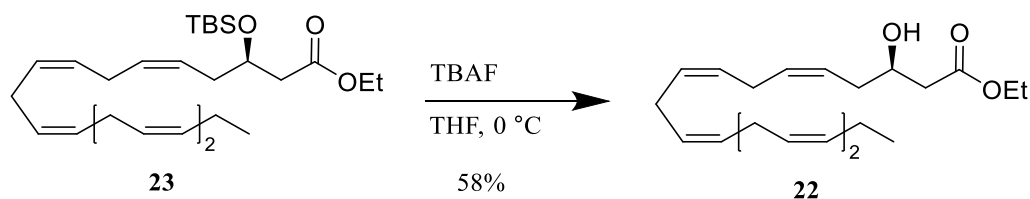
**[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>:** - 22.6° (CHCl<sub>3</sub>, c 0.39)

**UV:** λ<sub>max</sub> 246 nm

**<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 5.57 – 5.18 (m, 10H), 4.28 – 4.01 (m, 3H), 2.89 – 2.73 (m, 8H), 2.42 (dd, *J* = 6.3, 2.5 Hz, 2H), 2.35 – 2.23 (m, 2H), 2.16 – 2.00 (m, 2H), 1.25 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H), 0.97 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H), 0.86 (s, 9H), 0.07 (s, 3H), 0.04 (s, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 171.96, 132.18, 130.43, 128.72, 128.44, 128.42, 128.20, 128.16, 128.01, 127.16, 125.41, 69.47, 60.46, 42.47, 35.62, 25.95, 25.90, 25.80, 25.77, 25.69, 20.71, 18.13, 14.43, 14.35, -4.31, -4.79.

### 5.3.15 Syntese av etyl (3*R*,5*Z*,8*Z*,11*Z*,14*Z*,17*Z*)-3-hydroksi-eikosa-5,8,11,14,17-pentaenat (**22**)



Skjema 5-16: Dannelse av etylester **22**

TBAF 1 M i THF (0.26 mL, 0.26 mmol, 5 ekv.) ble tilsatt en omrørt løsning av etylester **23** (0.024 g, 0.052 mmol, 1 ekv.) i THF (1 mL) ved 0 °C. Etter omrøring i 7 t ble reaksjonen stanset ved tilsetning av fosfatbuffer med pH=7.29 (1 mL). Mettet vandig NaCl (5 mL) og EtOAc (5 mL) ble tilsatt, og fasene ble separert. Vannfasen ble deretter ekstrahert med 2 x 5 mL EtOAc, og de kombinerte organiske fasene ble tørket over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> og dampet inn under redusert trykk. Råoljen ble rensert via flashkromatografi (silikagel, EtOAc/heksan 3:7), som gav etylester **22** (0.010 g, 0.030 mmol, 58%) som en fargeløs olje.

#### Data

**R<sub>f</sub>**: 0.49 (EtOAc:Heksan 3:7)

**IR (film)**: 3507, 3014, 2964, 1734 cm<sup>-1</sup>

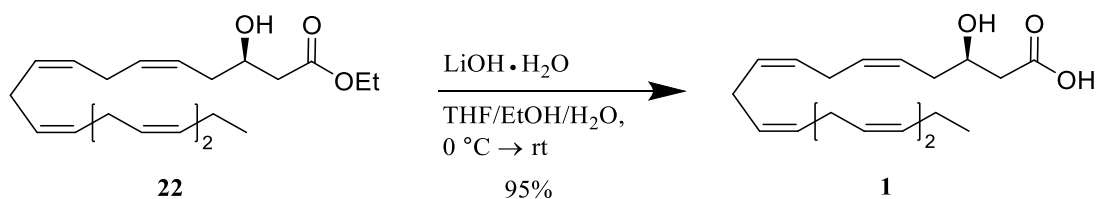
**[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>**: - 19.4° (CHCl<sub>3</sub>, c 1.03)

**UV**: λ<sub>max</sub> 245 nm

**<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**: δ 5.70 – 5.15 (m, 10H), 4.17 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 4.12 – 4.01 (m, 1H), 2.94 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H), 2.90 – 2.68 (m, 8H), 2.52 (dd, *J* = 16.4, 3.4 Hz, 1H), 2.42 (dd, *J* = 16.4, 8.9 Hz, 1H), 2.38 – 2.21 (m, 2H), 2.07 (pd, *J* = 7.5, 1.3 Hz, 2H), 1.27 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H), 0.97 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**: δ 172.98, 132.19, 131.21, 128.74, 128.56, 128.47, 128.14, 127.99, 127.96, 127.15, 125.04, 68.00, 60.86, 40.78, 34.48, 25.93, 25.80, 25.78, 25.69, 20.70, 14.41, 14.32.

### 5.3.16 Syntese av 3(R)-HEPE (1)



Skjema 5-17: Dannelse av 3(R)-HEPE (1)

Etylester **22** (0.036 g, 0.10 mmol, 1 ekv.) ble løst i THF/EtOH/H<sub>2</sub>O 2:2:1 (11 mL), og fast LiOH·H<sub>2</sub>O (0.153 g, 3.64 mmol, 35 ekv.) ble tilsatt løsningen under omrøring ved 0 °C. Blandingen ble varmet opp til rt og rørt om i 1.5 t. Den ble deretter dampet inn under redusert trykk og tilsatt EtOAc (10 mL), hvorpå den ble surgjort med mettet vandig NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (5 mL). Den organiske fasen ble skilt ut, og vannfasen ble ekstrahert med EtOAc (2 x 10 mL). De kombinerte organiske fasene ble tørket (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) og oppkonsentrert under redusert trykk. Dette gav målmolekyl **1** (0.030 g, 0.095 mmol, 95%) som en fargeløs olje.

#### Data

**Rf:** 0.81 (MeOH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 1:3)

**IR (film):** 3014, 2964, 2931, 1712 cm<sup>-1</sup>

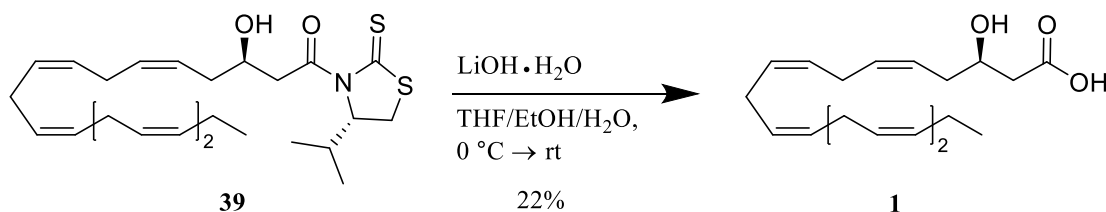
**[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>:** - 10.5° (CHCl<sub>3</sub>, c 0.86)

**UV:** λ<sub>max</sub> 253 nm (ε 561)

**<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 5.62 – 5.51 (m, 1H), 5.50 – 5.26 (m, 9H), 4.16 – 4.02 (m, 1H), 2.93 – 2.73 (m, 8H), 2.59 (dd, *J* = 16.5, 3.4 Hz, 1H), 2.49 (dd, *J* = 16.6, 8.9 Hz, 1H), 2.42 – 2.24 (m, 2H), 2.07 (pd, *J* = 7.3, 1.3 Hz, 2H), 0.97 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 177.69, 132.19, 131.63, 128.74, 128.65, 128.50, 128.09, 127.97, 127.82, 127.14, 124.65, 67.89, 40.61, 34.46, 25.93, 25.79, 25.77, 25.68, 20.69, 14.40.

### 5.3.17 Syntese av 3(R)-HEPE (**1**) ved direkte hydrolyse av aldolprodukt **39**

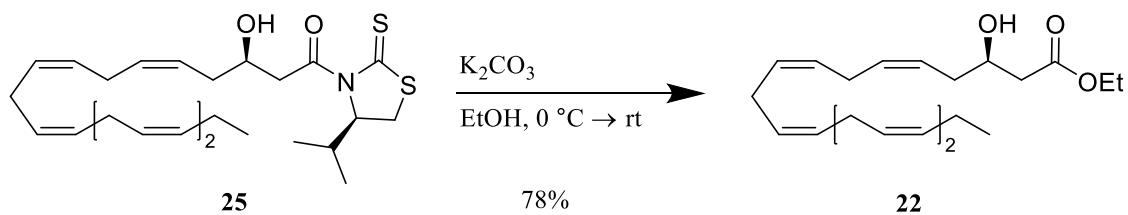


Skjema 5-18: Dannelse av 3(R)-HEPE (**1**) fra aldolprodukt **39**

Aldolprodukt **39** (0.134 g, 0.290 mmol, 1 ekv.) ble løst i THF/MeOH/H<sub>2</sub>O 2:2:1 (30 mL), og kjølt ned til 0 °C. Fast LiOH·H<sub>2</sub>O (0.426 g, 10.2 mmol, 35.0 ekv.) ble tilsatt løsningen under omrøring. Blandingen ble varmet opp til rt og rørt om til tynnsjiktanalyse ikke lenger viste spor av utgangsstoff (ca. 2 t). Blandingen ble dampet inn under redusert trykk og tilsatt EtOAc (30 mL), hvorpå den ble surgjort med mettet vandig NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (15 mL). Den organiske fasen ble skilt fra vannfasen, som ble ekstrahert med EtOAc (2 x 20 mL). De kombinerte organiske fasene ble tørket (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) og dampet inn under redusert trykk. Rensing via flashkromatografi (silikagel, MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 1:39 → 1:9) gav målmolekylet **1** (0.020 g, 0.063 mmol, 22%) som en noe uren, svakt brun olje.

Spektrale data var i overenstemmelse med allerede syntetisert 3(R)-HEPE (**1**).

### 5.3.18 Syntese av etylester **22** fra aldolprodukt **25**

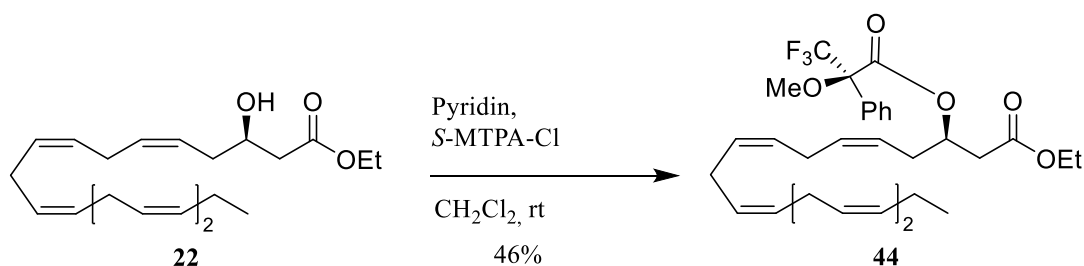


*Skjema 5-19: Direkte dannelse av etylester **22***

Aldolprodukt **25** (0.085 g, 0.18 mmol, 1 ekv.) ble løst i absolutt EtOH (3.68 mL) og kjølt ned til 0 °C. K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0.043 g, 0.31 mmol, 1.7 ekv.) ble tilsatt løsningen under omrøring, og blandingen ble rørt om i 3 t. Blandingen ble deretter varmet til rt og rørt om i 20 t. Etter 23 t ble reaksjonen stanset ved tilsetning av fosfatbuffer pH = 7.29 (10 mL), og deretter mettet vandig NaCl (15 mL). Produktet ble ekstrahert med CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 10 mL) og tørket (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Det tørkede ekstraktet ble filtrert og dampet inn under redusert trykk. Ekstraktet ble rensert via flashkromatografi (silikagel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), som gav etylester **22** (0.049 g, 0.14 mmol, 78%) som en fargeløs olje.

Spektrale data var i overensstemmelse med allerede syntetisert etylester **22**.

### 5.3.19 Syntese av *R*-Mosher-ester **44** fra etylester **22**



Skjema 5-20: Dannelse av *R*-Mosher-ester **44**

Tørr pyridin (0.0092 mL, 0.0090 g, 0.11 mmol, 3.1 ekv.), og deretter etylester **22** (0.013 g, 0.037 mmol, 1 ekv.) løst i tørr CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0.73 mL), ble ved rt overført til en avflammet rundkolbe via kanyle. Under omrøring ble *S*-MTPA-Cl (0.013 mL, 0.018 g, 0.070 mmol, 1.9 ekv.) satt til reaksjonsblandingen via kanyle. Blandingen ble rørt om ved rt i 2 t, og reaksjonen ble deretter stanset ved tilsetning av vann (1 mL). CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 mL) ble tilsatt, og fasene ble blandet godt og deretter separert. Vannfasen ble ekstrahert med CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 3 mL), og de kombinerte organiske fasene ble tørket (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), filtrert og dampet inn under redusert trykk. Rensing av råoljen (silikagel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) gav *R*-Mosher-ester **44** (0.0094 g, 0.017 mmol, 46%) som en fargeløs olje.

#### Data

**R<sub>f</sub>**: 0.65 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)

**IR (film)**: 3014, 2964, 1745 cm<sup>-1</sup>

**<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**: δ 7.56 – 7.49 (m, 2H), 7.45 – 7.38 (m, 3H), 5.58 – 5.21 (m, 11H), 4.12 (qd, *J* = 7.1, 1.4 Hz, 2H), 3.53 (d, *J* = 1.3 Hz, 3H), 2.92 – 2.68 (m, 8H), 2.68 – 2.57 (m, 2H), 2.56 – 2.34 (m, 2H), 2.15 – 2.00 (m, 2H), 1.23 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H), 0.97 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**: δ 170.13, 165.97, 132.38, 132.26, 132.20, 129.70, 128.77, 128.55, 128.46, 128.05, 127.95, 127.58, 127.55, 127.14, 123.03, 72.93, 61.07, 55.59, 55.58, 38.33, 31.43, 25.80, 25.77, 25.69, 20.71, 14.41, 14.23.

## 6. Referanser

- [1] J. L. F. Kock, O. M. Sebolai, C. H. Pohl, P. W. J. van Wyk, E. J. Lodolo, *Fems Yeast Res* **2007**, 7, 1207-1217.
- [2] M. S. van Dyk, J. L. Kock, D. J. Coetzee, O. P. Augustyn, S. Nigam, *FEBS Lett* **1991**, 283, 195-198.
- [3] F. Brodhun, I. Feussner, *Febs J* **2011**, 278, 1047-1063.
- [4] O. M. Sebolai, C. H. Pohl, L. J. F. Kock, V. Chaturvedi, M. del Poeta, *Prostag Oth Lipid M* **2012**, 97, 17-21.
- [5] W. Fenical, *Science* **1982**, 215, 923-928.
- [6] E. Fahy, S. Subramaniam, H. A. Brown, C. K. Glass, A. H. Merrill, R. C. Murphy, C. R. H. Raetz, D. W. Russell, Y. Seyama, W. Shaw, T. Shimizu, F. Spener, G. van Meer, M. S. VanNieuwenhze, S. H. White, J. L. Witztum, E. A. Dennis, *J Lipid Res* **2005**, 46, 839-861.
- [7] P. Lemay, R. E. Oesper, *J Chem Educ* **1948**, 25, 62-71.
- [8] C. G. Doremus, *Science* **1907**, 25, 592-595.
- [9] C. Himawan, V. M. Starov, A. G. F. Stapley, *Adv Colloid Interfac* **2006**, 122, 3-33.
- [10] A. A. Spector, H. Y. Kim, *J Lipid Res* **2015**, 56, 11-21.
- [11] G. O. Burr, M. M. Burr, *J Biol Chem* **1929**, 82, 345-367.
- [12] R. T. Holman, *J Nutr* **1988**, 118, 535-540.
- [13] a) G. O. Burr, M. M. Burr, *J Biol Chem* **1930**, 86, 587-621; b) G. O. Burr, M. M. Burr, E. S. Miller, *J Biol Chem* **1932**, 97, 1-9.
- [14] D. Rittenberg, K. Bloch, *J Biol Chem* **1945**, 160, 417-424.
- [15] H. P. Klein, F. Lipmann, *J Biol Chem* **1953**, 203, 101-108.
- [16] S. J. Wakil, *J Am Chem Soc* **1958**, 80, 6465-6465.
- [17] D. M. Gibson, E. B. Titchener, S. J. Wakil, *Biochim Biophys Acta* **1958**, 30, 376-383.
- [18] P. W. Majerus, A. W. Alberts, P. R. Vagelos, *P Natl Acad Sci USA* **1964**, 51, 1231-1238.
- [19] E. A. Leece, M. A. Allman, *Brit J Nutr* **1996**, 76, 447-452.
- [20] L. R. Kartikasari, R. J. Hughes, M. S. Geier, M. Makrides, R. A. Gibson, *Prostag Leukotr Ess* **2012**, 87, 103-109.
- [21] D. Warude, K. Joshi, A. Harsulkar, *Crit Rev Biotechnol* **2006**, 26, 83-93.
- [22] G. C. Burdge, P. C. Calder, *Reprod Nutr Dev* **2005**, 45, 581-597.
- [23] M. W. Goldblatt, *J Physiol* **1935**, 84, 208-218.
- [24] U. S. v. Euler, *Klin Wochenschr* **1935**, 14, 1182-1183.
- [25] F. A. Kuehl, R. W. Egan, *Science* **1980**, 210, 978-984.
- [26] J. R. Vane, *Nature-New Biol* **1971**, 231, 232-235.
- [27] B. Samuelsson, P. Borgeat, S. Hammarstrom, R. C. Murphy, *Prostaglandins* **1979**, 17, 785-787.



- [28] C. N. Serhan, M. Hamberg, B. Samuelsson, *P Natl Acad Sci-Biol* **1984**, *81*, 5335-5339.
- [29] a) C. N. Serhan, C. B. Clish, J. Brannon, S. P. Colgan, N. Chiang, K. Gronert, *J Exp Med* **2000**, *192*, 1197-1204; b) C. N. Serhan, S. Hong, K. Gronert, S. P. Colgan, P. R. Devchand, G. Mirick, R. L. Moussignac, *J Exp Med* **2002**, *196*, 1025-1037.
- [30] a) P. K. Mukherjee, V. L. Marcheselli, C. N. Serhan, N. G. Bazan, *P Natl Acad Sci USA* **2004**, *101*, 8491-8496; b) C. N. Serhan, R. Yang, K. Martinod, K. Kasuga, P. S. Pillai, T. F. Porter, S. F. Oh, M. Spite, *J Exp Med* **2009**, *206*, 15-23.
- [31] G. J. Dusting, A. G. Stewart, *Reprod Fert Develop* **1990**, *2*, 417-421.
- [32] A. C. Issekutz, K. Y. Lee, W. D. Biggar, *Infect Immun* **1979**, *24*, 295-301.
- [33] S. E. Dahlen, G. Hansson, P. Hedqvist, T. Bjorck, E. Granstrom, B. Dahlen, *P Natl Acad Sci-Biol* **1983**, *80*, 1712-1716.
- [34] L. G. Letts, P. J. Piper, *Brit J Pharmacol* **1982**, *76*, 169-176.
- [35] J. E. Burke, E. A. Dennis, *J Lipid Res* **2009**, *50*, S237-S242.
- [36] C. A. Rouzer, T. Matsumoto, B. Samuelsson, *P Natl Acad Sci USA* **1986**, *83*, 857-861.
- [37] J. Z. Haeggstrom, *J Biol Chem* **2004**, *279*, 50639-50642.
- [38] N. A. Petasis, I. Akritopoulou-Zanze, V. V. Fokin, G. Bernasconi, R. Keledjian, R. Yang, J. Uddin, K. C. Nagulapalli, C. N. Serhan, *Prostag Leukotr Ess* **2005**, *73*, 301-321.
- [39] J. Z. Haeggstrom, C. D. Funk, *Chem Rev* **2011**, *111*, 5866-5898.
- [40] C. N. Serhan, *Histochem Cell Biol* **2004**, *122*, 305-321.
- [41] G. Bannenberg, C. N. Serhan, *Bba-Mol Cell Biol L* **2010**, *1801*, 1260-1273.
- [42] a) J. M. Schwab, N. Chiang, M. Arita, C. N. Serhan, *Nature* **2007**, *447*, 869-874; b) M. Arita, F. Bianchini, J. Aliberti, A. Sher, N. Chiang, S. Hong, R. Yang, N. A. Petasis, C. N. Serhan, *J Exp Med* **2005**, *201*, 713-722.
- [43] C. N. Serhan, N. A. Petasis, *Chem Rev* **2011**, *111*, 5922-5943.
- [44] T. D. Niemoller, N. G. Bazan, *Prostag Oth Lipid M* **2010**, *91*, 85-89.
- [45] V. L. Marcheselli, S. Hong, W. J. Lukiw, X. H. Tian, K. Gronert, A. Musto, M. Hardy, J. M. Gimenez, N. Chiang, C. N. Serhan, N. G. Bazan, *J Biol Chem* **2003**, *278*, 43807-43817.
- [46] A. Ariel, P. L. Li, W. Wang, W. X. Tang, G. Fredman, S. Hong, K. H. Gotlinger, C. N. Serhan, *J Biol Chem* **2005**, *280*, 43079-43086.
- [47] J. Dalli, C. N. Serhan, *Blood* **2012**, *120*, E60-E72.
- [48] B. Deng, C. W. Wang, H. H. Arnardottir, Y. S. Li, C. Y. C. Cheng, J. Dalli, C. N. Serhan, *Plos One* **2014**, *9*, 1-9.
- [49] M. Aursnes, J. E. Tungen, R. A. Colas, I. Vlasakov, J. Dalli, C. N. Serhan, T. V. Hansen, *Nat Prod* **2015**, *78*, 2924-2931.
- [50] C. N. Serhan, J. Dalli, R. A. Colas, J. W. Winkler, N. Chiang, *Bba-Mol Cell Biol L* **2015**, *1851*, 397-413.

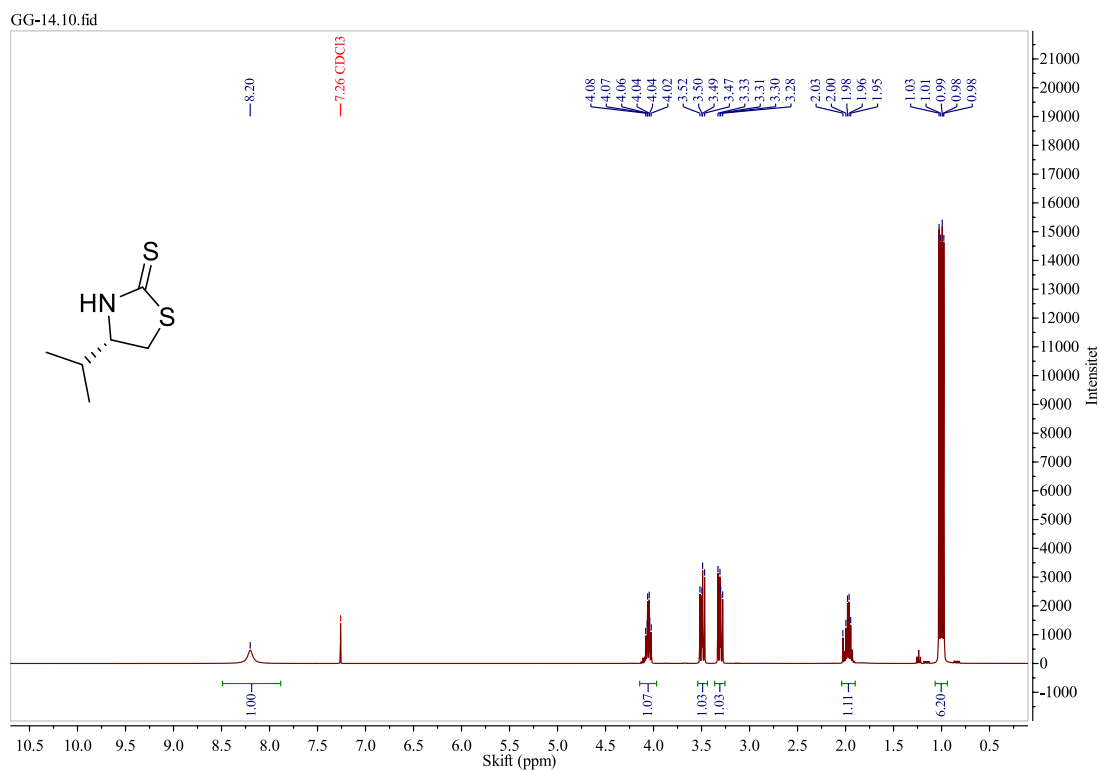
- [51] G. D. Brown, D. W. Denning, N. A. R. Gow, S. M. Levitz, M. G. Netea, T. C. White, *Sci Transl Med* **2012**, *4*, 1-9.
- [52] J. Y. Kim, *J Microbiol* **2016**, *54*, 145-148.
- [53] G. J. Fischer, N. P. Keller, *J Microbiol* **2016**, *54*, 254-264.
- [54] J. F. Ernst, *Microbiol-Uk* **2000**, *146*, 1763-1774.
- [55] P. L. Carlisle, M. Banerjee, A. Lazzell, C. Monteagudo, J. L. Lopez-Ribot, D. Kadosh, *P Natl Acad Sci USA* **2009**, *106*, 599-604.
- [56] R. Deva, R. Ciccoli, L. Kock, S. Nigam, *FEMS Microbiol Lett* **2001**, *198*, 37-43.
- [57] G. Ramage, S. P. Saville, D. P. Thomas, J. L. Lopez-Ribot, *Eukaryot Cell* **2005**, *4*, 633-638.
- [58] R. Ells, G. Kemp, J. Albertyn, J. L. F. Kock, C. H. Pohl, *Fems Yeast Res* **2013**, *13*, 849-855.
- [59] Y. Poirier, V. D. Antonenkov, T. Glumoff, J. K. Hiltunen, *Bba-Mol Cell Res* **2006**, *1763*, 1413-1426.
- [60] J. L. F. Kock, C. J. Strauss, C. H. Pohl, S. Nigam, *Prostag Oth Lipid M* **2003**, *71*, 85-96.
- [61] M. S. Vandyk, J. L. F. Kock, D. J. Coetzee, O. P. H. Augustyn, S. Nigam, *Febs Letters* **1991**, *283*, 195-198.
- [62] S. Nigam, T. Schewe, J. L. F. Kock in *Eicosanoids and Other Bioactive Lipids in Cancer, Inflammation and Radiation Injury 4* (Eds.: K.V. Honn, L.J. Marnett, S. Nigam, E. A. Dennis), Springer, Boston, MA, **1999**, *469*, pp. 663-668, ISBN: 9781461371717.
- [63] S. R. Fox, C. Ratledge, J. Friend, *Biotechnol Lett* **1997**, *19*, 155-158.
- [64] P. Venter, J. L. Kock, G. S. Kumar, A. Botha, D. J. Coetzee, P. J. Botes, R. K. Bhatt, J. R. Falck, T. Schewe, S. Nigam, *Lipids* **1997**, *32*, 1277-1283.
- [65] S. R. Fox, M. Hamberg, J. Friend, C. Ratledge, *Lipids* **2000**, *35*, 1205-1214.
- [66] a) J. L. Kock, P. Venter, D. Linke, T. Schewe, S. Nigam, *FEBS Lett* **1998**, *427*, 345-348; b) R. Ells, J. L. F. Kock, J. Albertyn, C. H. Pohl, *Lipids Health Dis* **2012**, *11:100*, 1-7.
- [67] D. P. Smith, J. L. F. Kock, P. W. J. van Wyk, P. Venter, D. J. Coetzee, E. Van Heerden, D. Linke, S. Nigam, *S Afr J Sci* **2000**, *96*, 247-249.
- [68] R. Ciccoli, S. Sahi, S. Singh, H. Prakash, M. P. Zafiriou, G. Ishdorj, J. L. F. Kock, S. Nigam, *Biochem J* **2005**, *390*, 737-747.
- [69] R. Kogure, K. Toyama, S. Hiyamuta, I. Kojima, S. Takeda, *Biochem Bioph Res Co* **2011**, *416*, 58-63.
- [70] P. Venter, J. L. F. Kock, G. S. Kumar, A. Botha, D. J. Coetzee, P. J. Botes, R. K. Bhatt, J. R. Falck, T. Schewe, S. Nigam, *Lipids* **1997**, *32*, 1277-1283.
- [71] A. Andreou, F. Brodhun, I. Feussner, *Prog Lipid Res* **2009**, *48*, 148-170.
- [72] W. H. Kunau, V. Dommès, H. Schulz, *Prog Lipid Res* **1995**, *34*, 267-342.
- [73] K. C. Nicolaou, S. A. Snyder, *Angew Chem Int Edit* **2005**, *44*, 1012-1044.
- [74] S. J. Gould, N. Tamayo, C. R. Melville, M. C. Cone, *J Am Chem Soc* **1994**, *116*, 2207-2208.

- [75] T. H. Altel, M. H. Abuzarga, S. S. Sabri, M. Feroz, N. Fatima, Z. Shah, A. U. Rahman, *Phytochemistry* **1991**, *30*, 3081-3085.
- [76] A. V. Kalinin, V. Snieckus, *Tetrahedron Lett* **1998**, *39*, 4999-5002.
- [77] H. Seto, L. N. Mander, *Synthetic Commun* **1992**, *22*, 2823-2828.
- [78] E. J. Corey, A. Venkateswarlu, *J Am Chem Soc* **1972**, *94*, 6190-6191.
- [79] S. E. Denmark, R. P. Hammer, E. J. Weber, K. L. Habermas, *J Org Chem* **1987**, *52*, 165-168.
- [80] R. D. Crouch, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 5833-5871.
- [81] E. J. Corey, H. Cho, C. Rucker, D. H. Hua, *Tetrahedron Lett* **1981**, *22*, 3455-3458.
- [82] R. D. Crouch, *Synthetic Commun* **2013**, *43*, 2265-2279.
- [83] E. J. Corey, H. Niwa, J. R. Falck, *J Am Chem Soc* **1979**, *101*, 1586-1587.
- [84] S. W. Wright, E. Y. Kuo, E. J. Corey, *J Org Chem* **1987**, *52*, 4399-4401.
- [85] J. E. Baldwin, *J Chem Soc Chem Comm* **1976**, *18*, 734-736.
- [86] S. E. Denmark, M. T. Burk, *P Natl Acad Sci USA* **2010**, *107*, 20655-20660.
- [87] A. D. White, *J Chem Educ* **1987**, *64*, 326-327.
- [88] a) A. M. Klibanov, *Anal Biochem* **1979**, *93*, 1-25; b) U. T. Bornscheuer, K. Buchholz, *Eng Life Sci* **2005**, *5*, 309-323.
- [89] W. S. Knowles, *J Chem Educ* **1986**, *63*, 222-225.
- [90] W. S. Knowles, *Angew Chem Int Edit* **2002**, *41*, 1999-2007.
- [91] K. N. Houk, B. List, *Accounts Chem Res* **2004**, *37*, 487-487.
- [92] B. List, *Chem Rev* **2007**, *107*, 5413-5415.
- [93] E. J. Corey, C. J. Helal, *Angew Chem Int Edit* **1998**, *37*, 1987-2012.
- [94] R. Noyori, *Angew Chem Int Edit* **2002**, *41*, 2008-2022.
- [95] E. J. Corey, H. E. Ensley, *J Am Chem Soc* **1975**, *97*, 6908-6909.
- [96] E. J. Corey, *Angew Chem Int Edit* **2002**, *41*, 1650-1667.
- [97] D. A. Evans, G. Helmchen, M. Rüping in *Asymmetric synthesis--the essentials*, 2<sup>nd</sup> ed. (Eds.: M. Christmann, S. Bräse), Wiley-VCH Verlag, Weinheim, **2007**, pp. 3-7, ISBN: 9783527320936.
- [98] D. A. Evans, J. M. Takacs, L. R. Mcgee, M. D. Ennis, D. J. Mathre, J. Bartroli, *Pure Appl Chem* **1981**, *53*, 1109-1127.
- [99] D. A. Evans, J. T. Shaw, *Actual Chimique* **2003**, *4-5*, 35-38.
- [100] D. Ciez, A. Palasz, B. Trzewik, *Eur J Org Chem* **2016**, *8*, 1476-1493.
- [101] Y. Nagao, Y. Hagiwara, T. Kumagai, M. Ochiai, T. Inoue, K. Hashimoto, E. Fujita, *J Org Chem* **1986**, *51*, 2391-2393.
- [102] M. T. Crimmins, B. W. King, E. A. Tabet, *J Am Chem Soc* **1997**, *119*, 7883-7884.
- [103] J. M. Seco, E. Quinoa, R. Riguera, *Chem Rev* **2004**, *104*, 17-117.
- [104] J. A. Dale, H. S. Mosher, *J Am Chem Soc* **1973**, *95*, 512-519.
- [105] I. Ohtani, T. Kusumi, Y. Kashman, H. Kakisawa, *J Am Chem Soc* **1991**, *113*, 4092-4096.

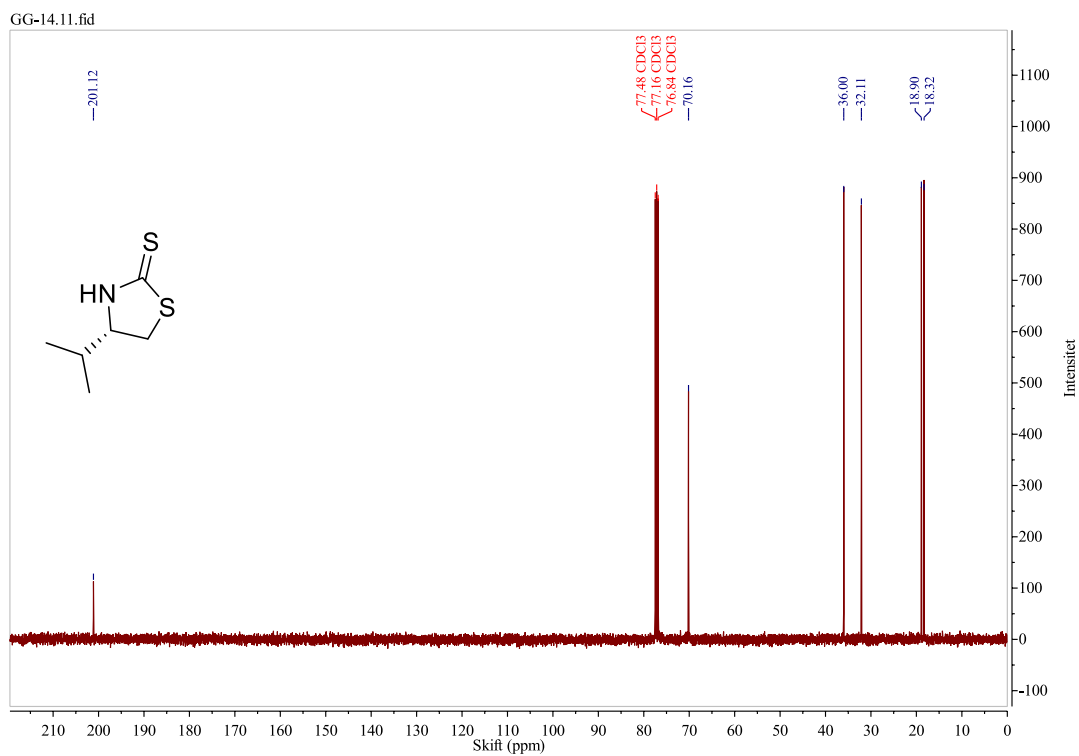
- [106] T. R. Hoye, C. S. Jeffrey, F. Shao, *Nat Protoc* **2007**, *2*, 2451-2458.
- [107] A. J. Birch, *Notes Rec Roy Soc* **1993**, *47*, 277-296.
- [108] E. J. Corey, *Angew Chem Int Edit* **1991**, *30*, 455-465.
- [109] E. J. Corey, X.-m. Cheng, *The logic of chemical synthesis*, John Wiley & Sons, New York, **1989**, pp. 5-16, ISBN: 0471509795.
- [110] A. M. Langseter, L. Skattebol, Y. Stenstrom, *Tetrahedron Lett* **2012**, *53*, 940-941.
- [111] S. Flock, M. Lundquist, L. Skattebol, *Acta Chem Scand* **1999**, *53*, 436-445.
- [112] J. McNulty, D. McLeod, *Eur J Org Chem* **2017**, *1*, 29-33.
- [113] Y. Nagao, W. M. Dai, M. Ochiai, M. Shiro, *J Org Chem* **1989**, *54*, 5211-5217.
- [114] A. Fatino, C. Weese, S. Valdez, A. Jimenez-Somarribas, R. J. Rafferty, *Tetrahedron Lett* **2018**, *59*, 624-627.
- [115] J. E. Tungen, M. Aursnes, T. V. Hansen, *Tetrahedron* **2014**, *70*, 3793-3797.
- [116] K. G. Primdahl, J. E. Tungen, M. Aursnes, T. V. Hansen, A. Vik, *Org Biomol Chem* **2015**, *13*, 5412-5417.
- [117] J. R. Scheerer, J. F. Lawrence, G. C. Wang, D. A. Evans, *J Am Chem Soc* **2007**, *129*, 8968-8969.
- [118] M. Aursnes, J. E. Tungen, A. Vik, R. Colas, C. Y. C. Cheng, J. Dalli, C. N. Serhan, T. V. Hansen, *J Nat Prod* **2014**, *77*, 910-916.
- [119] J. H. Clark, *Chem Rev* **1980**, *80*, 429-452.
- [120] H. Jiang, B. Gschwend, L. Albrecht, K. A. Jorgensen, *Org Lett* **2010**, *12*, 5052-5055.
- [121] T. Kiho, M. Nakayama, K. Yasuda, S. Miyakoshi, M. Inukai, H. Kogen, *Bioorgan Med Chem* **2004**, *12*, 337-361.
- [122] M. J. Rieser, Y. H. Hui, J. K. Rupprecht, J. F. Kozlowski, K. V. Wood, J. L. Mclaughlin, P. R. Hanson, Z. P. Zhuang, T. R. Hoye, *J Am Chem Soc* **1992**, *114*, 10203-10213.

# 7. Vedlegg

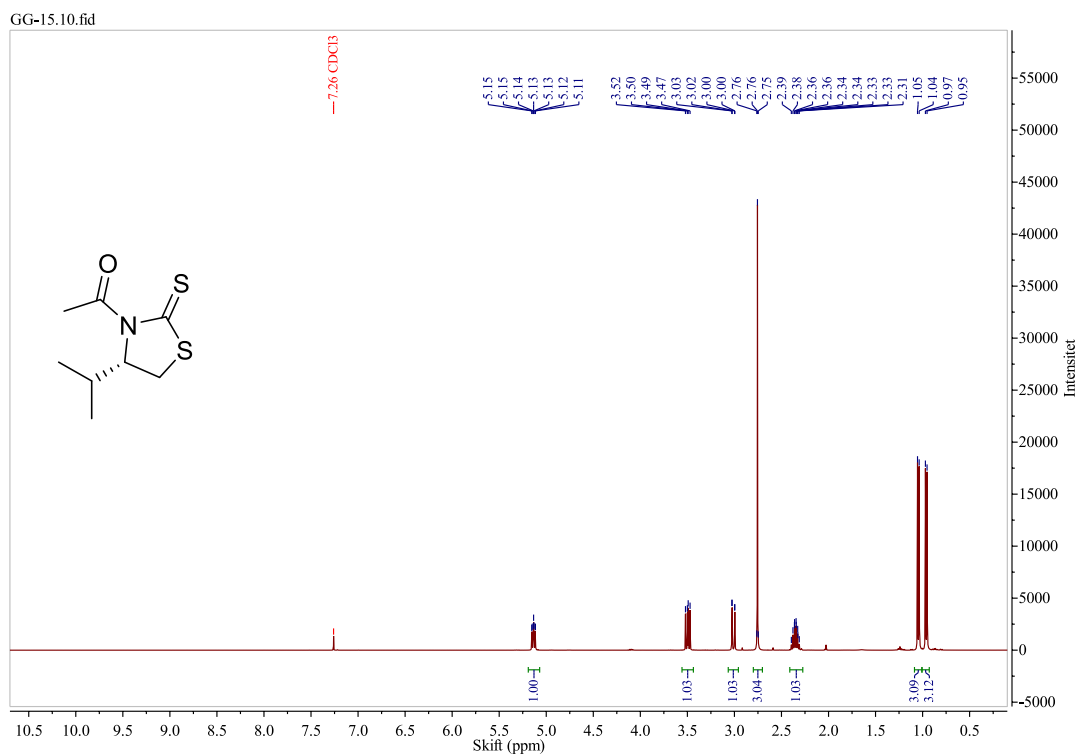
## 7.1 NMR spektraldata



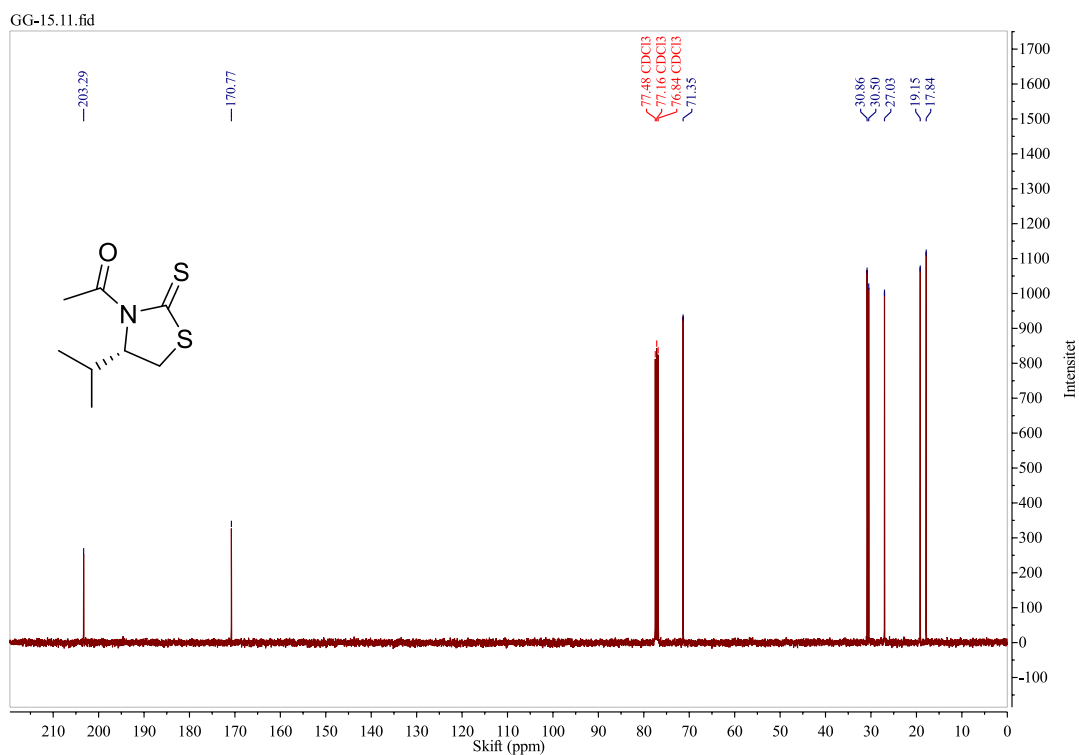
Figur S-1: <sup>1</sup>H NMR-spektrum av *S*-tiotiazolidin 37



Figur S-2: <sup>13</sup>C NMR-spektrum av *S*-tiotiazolidin 37

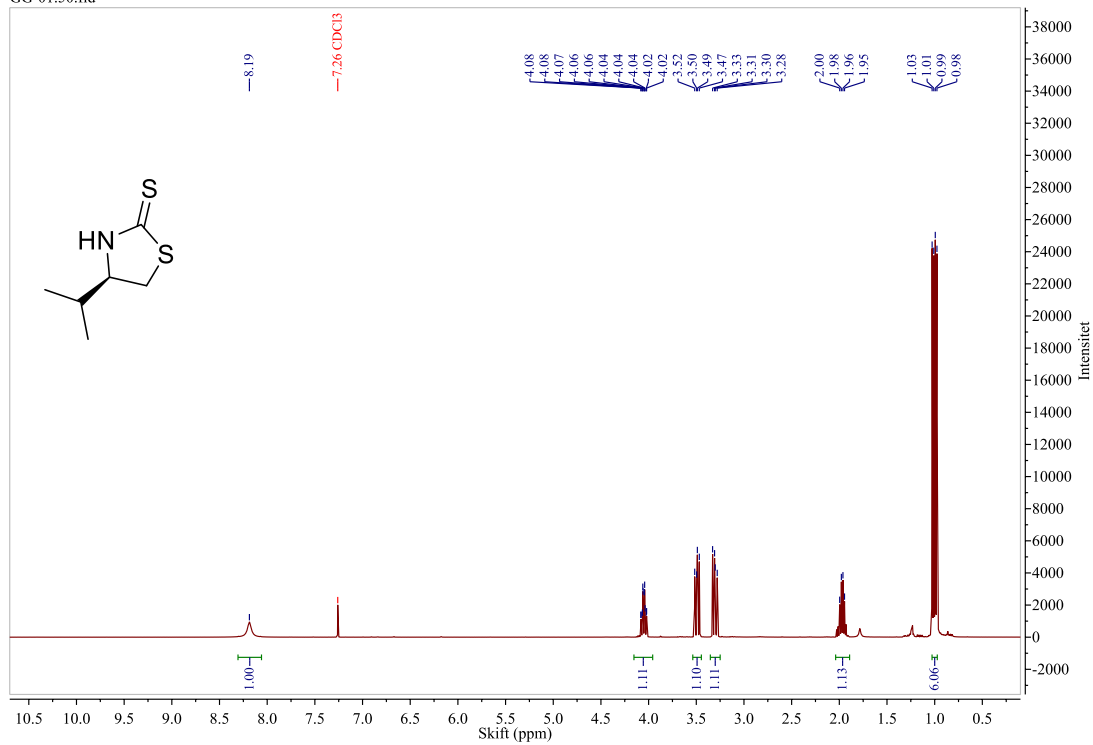


Figur S-3: <sup>1</sup>H NMR-spektrum av *S*-hjelpemolekyl **38**

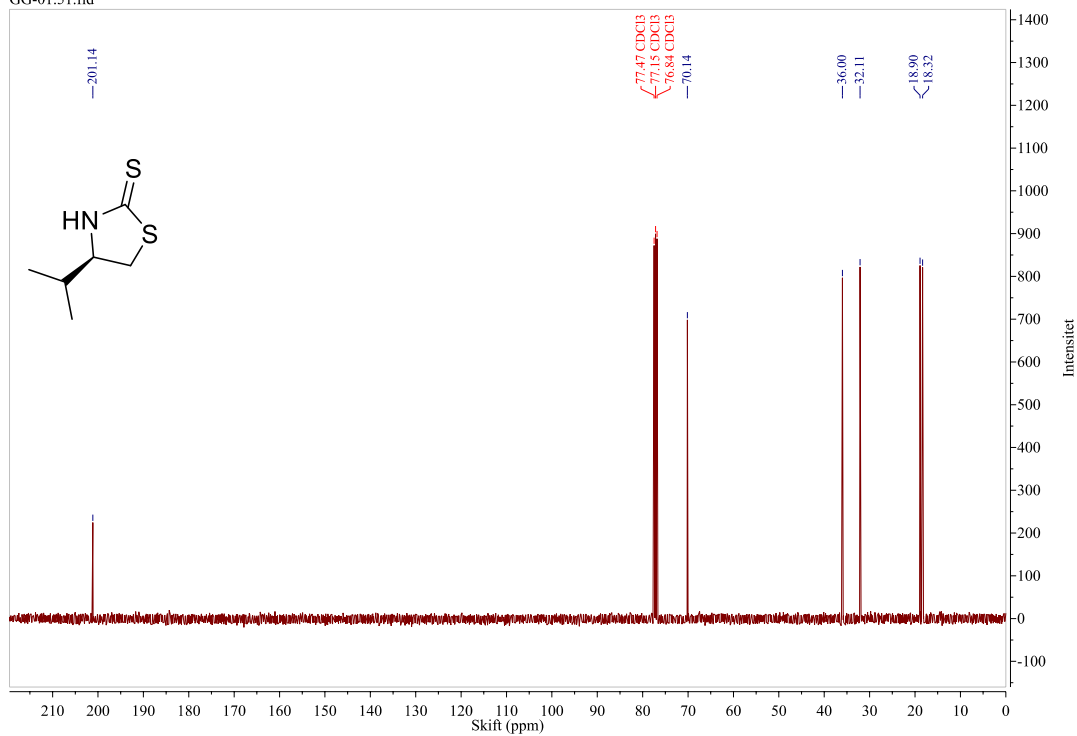


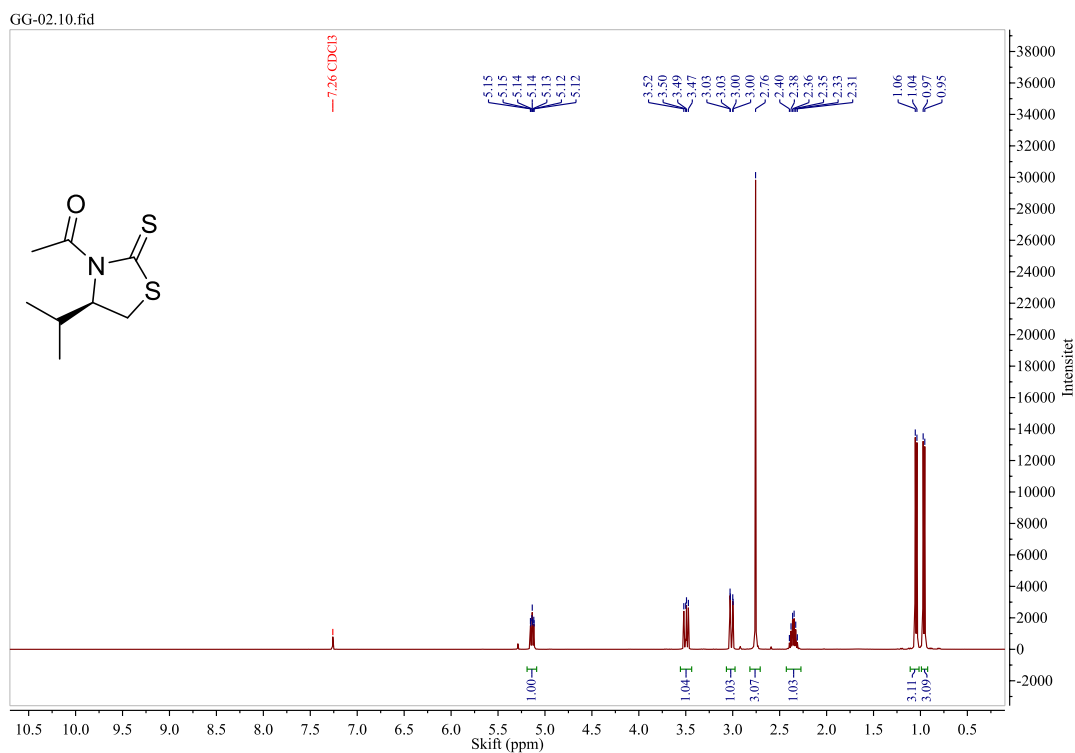
Figur S-4: <sup>13</sup>C NMR-spektrum av *S*-hjelpemolekyl **38**

GG-01.50.fid

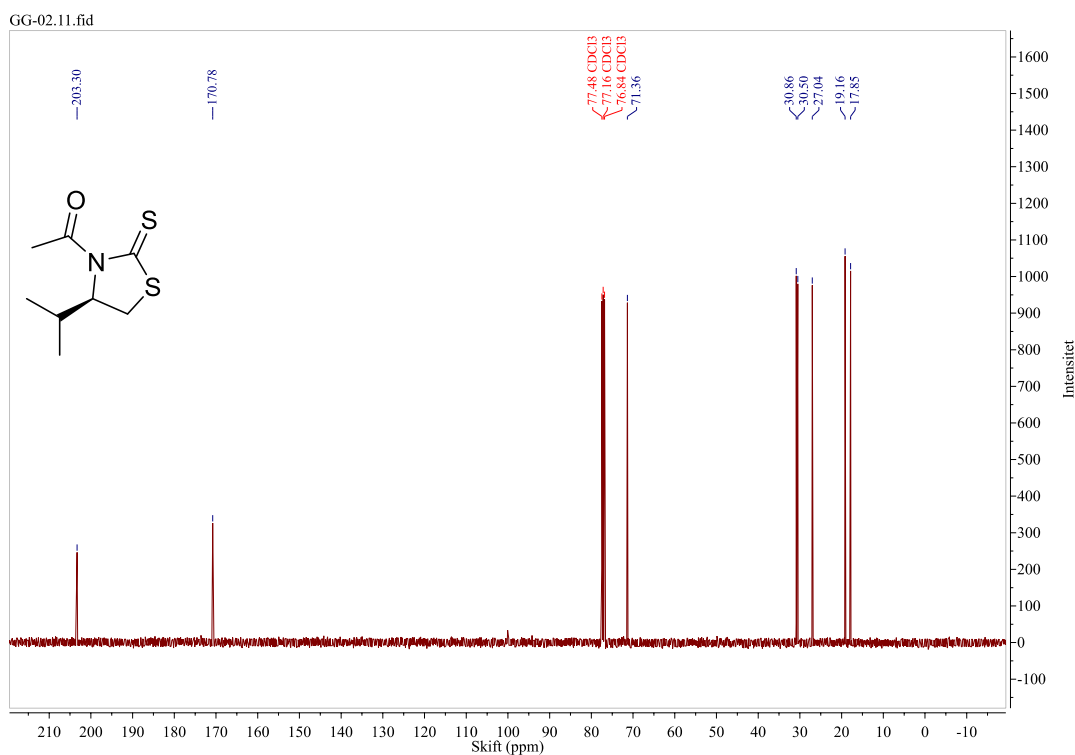
Figur S-5:  $^1\text{H}$  NMR-spektrum av *R*-tiokstiazolidin 42

GG-01.51.fid

Figur S-6:  $^{13}\text{C}$  NMR-spektrum av *R*-tiokstiazolidin 42

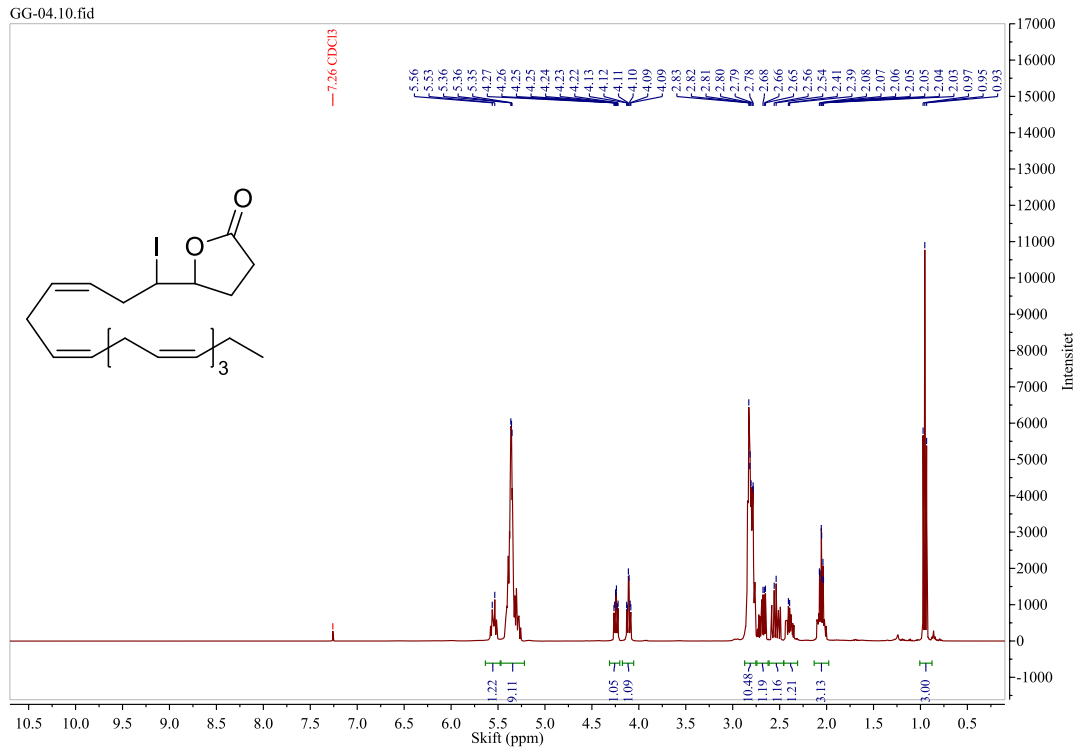


Figur S-7: <sup>1</sup>H NMR-spektrum av *R*-hjelpemolekyl 26

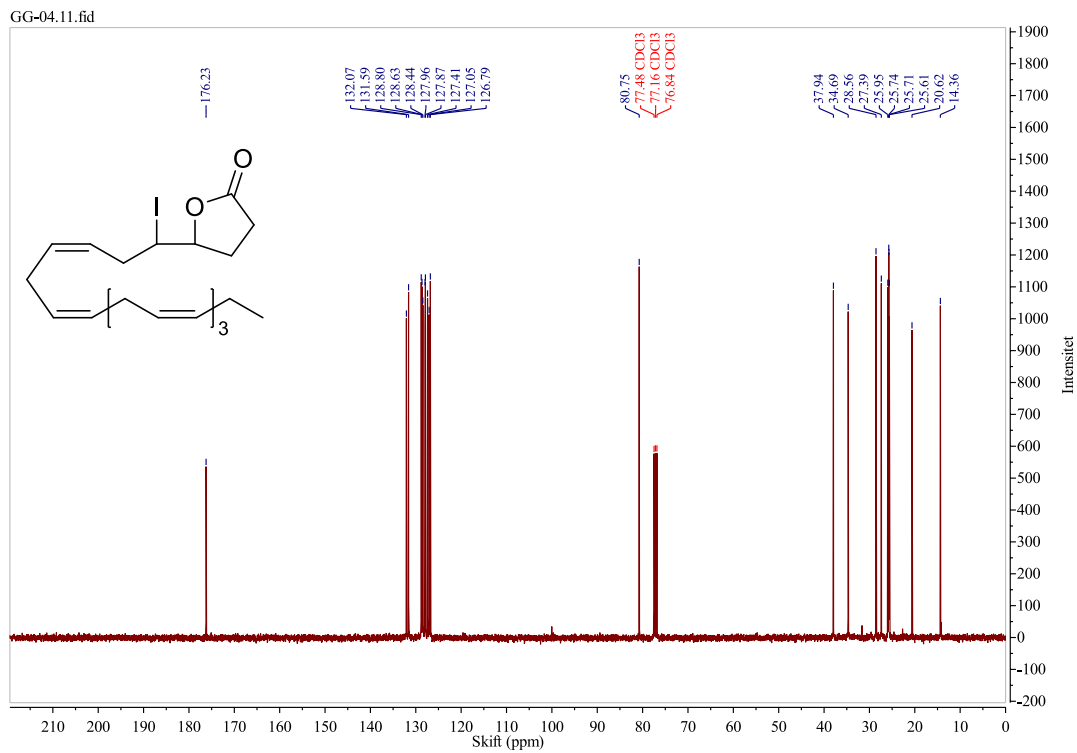


Figur S-8: <sup>13</sup>C NMR-spektrum av *R*-hjelpemolekyl 26



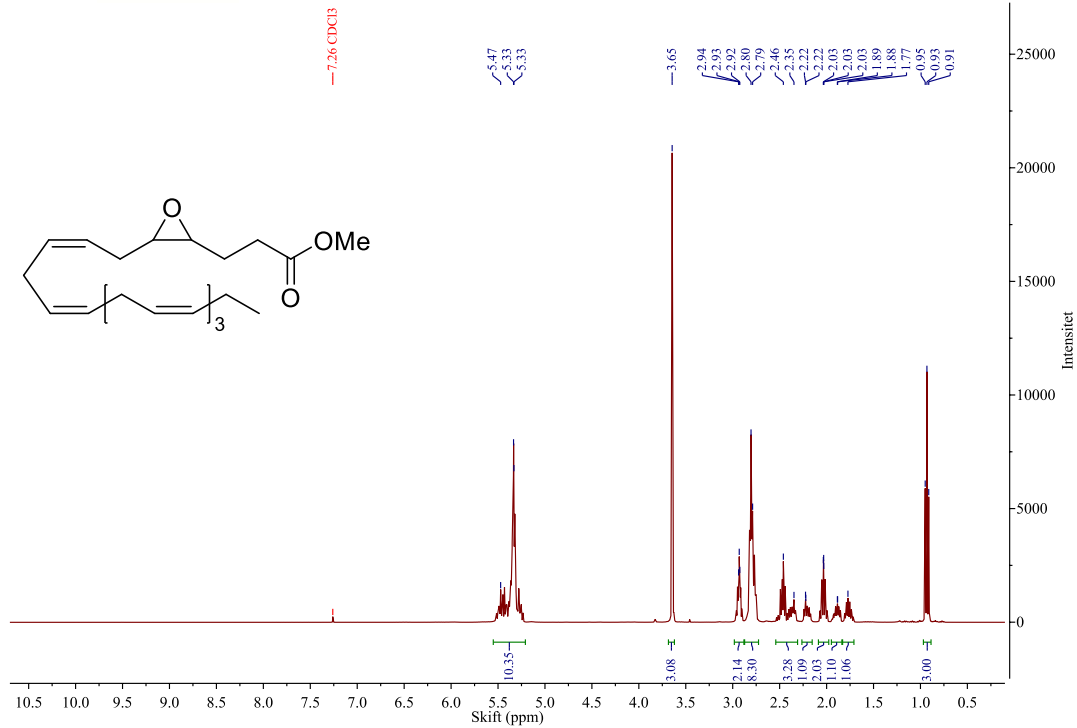


Figur S-9: <sup>1</sup>H NMR-spektrum av jodlaktone 30

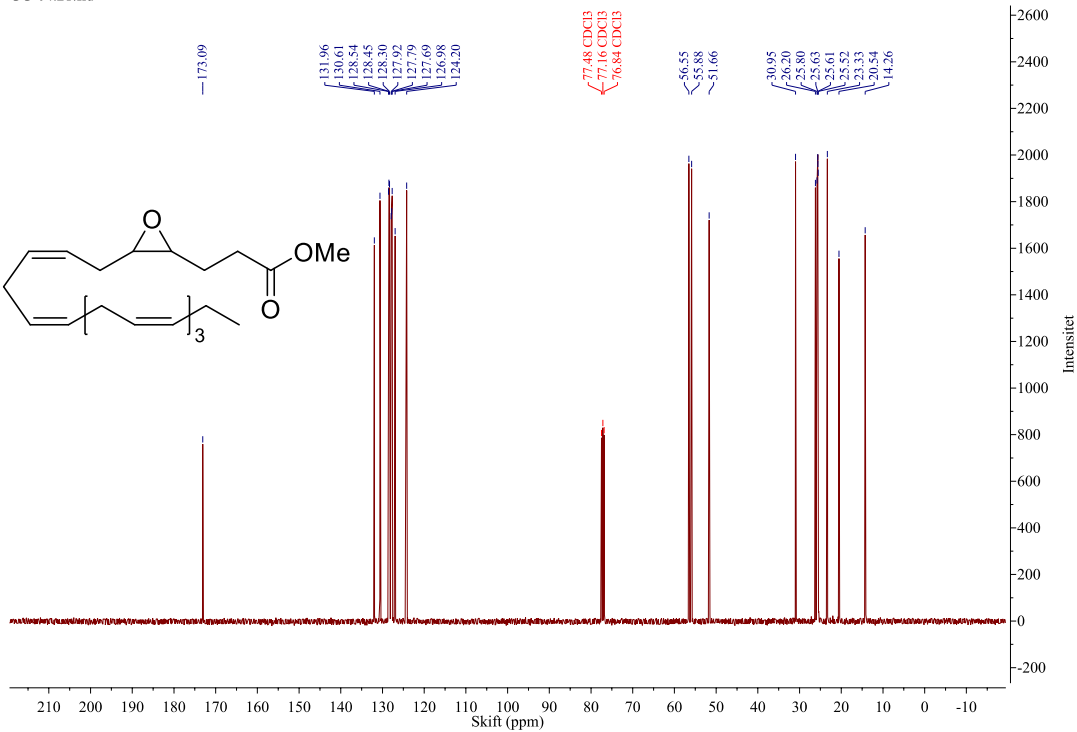


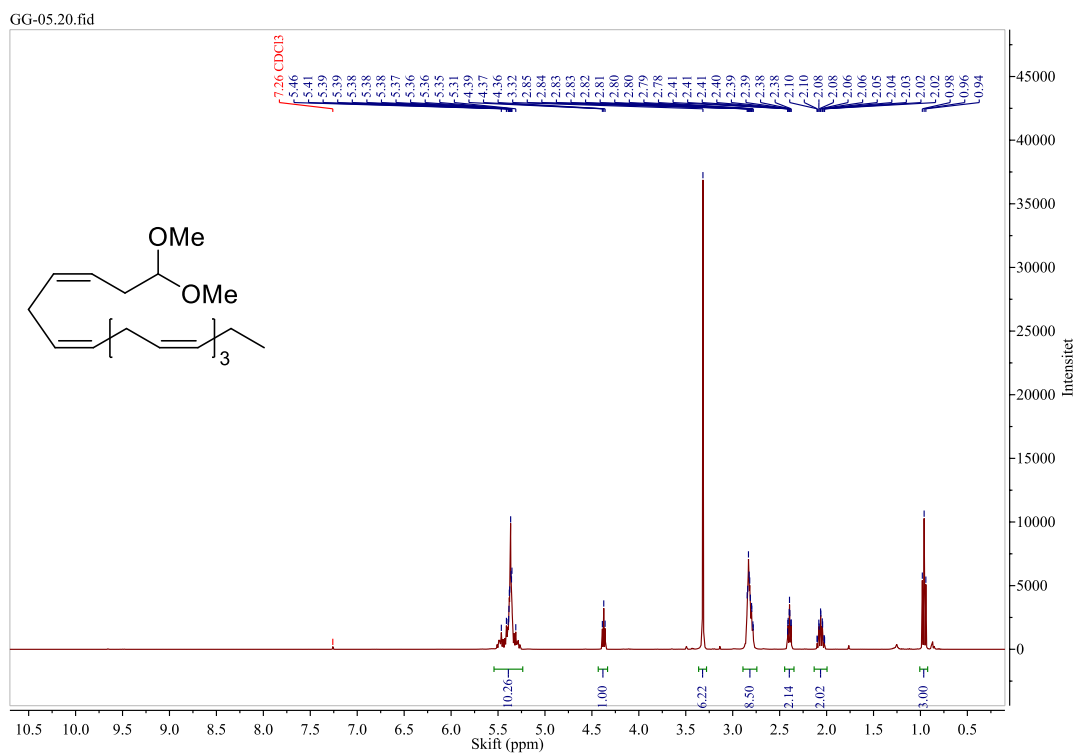
Figur S-10: <sup>13</sup>C NMR-spektrum av jodlaktone 30

GG-04.20.fid

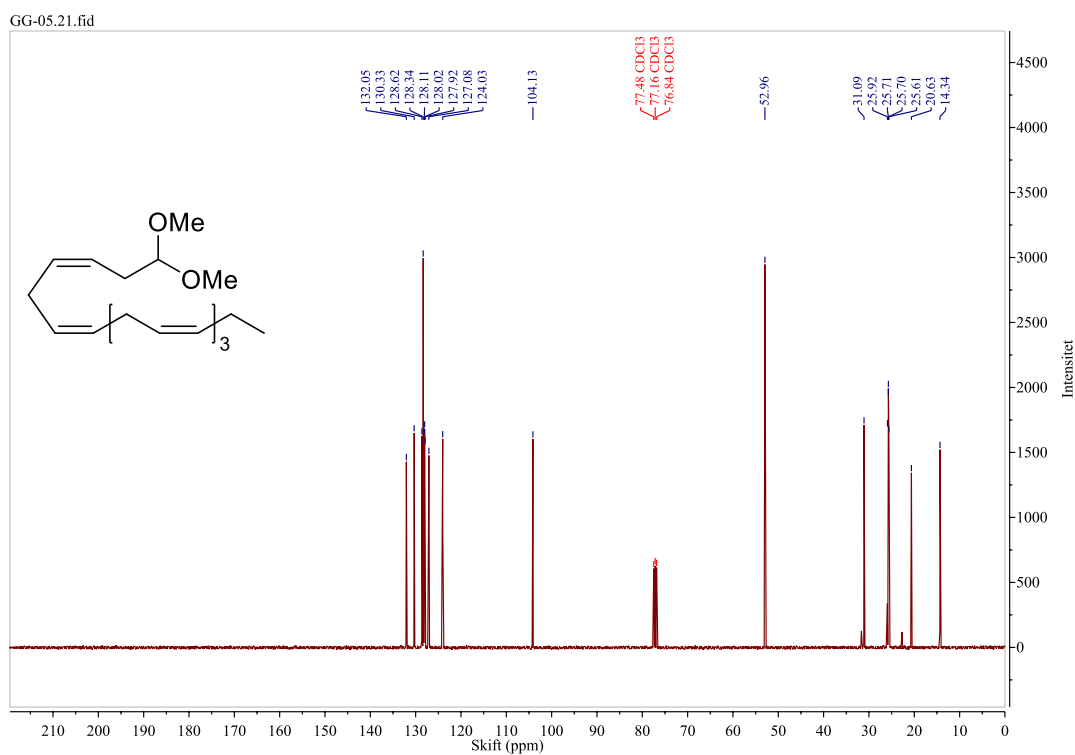
Figur S-11:  $^1\text{H}$  NMR-spektrum av epoksid 29

GG-04.21.fid

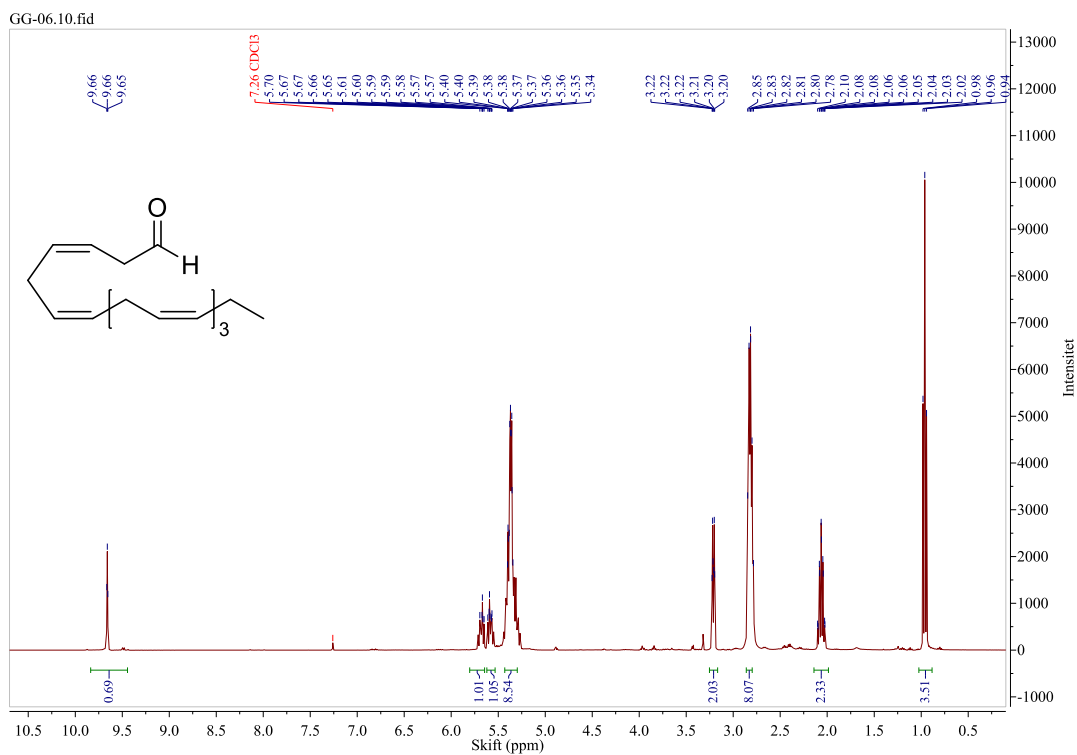
Figur S-12:  $^{13}\text{C}$  NMR-spektrum av epoksid 29



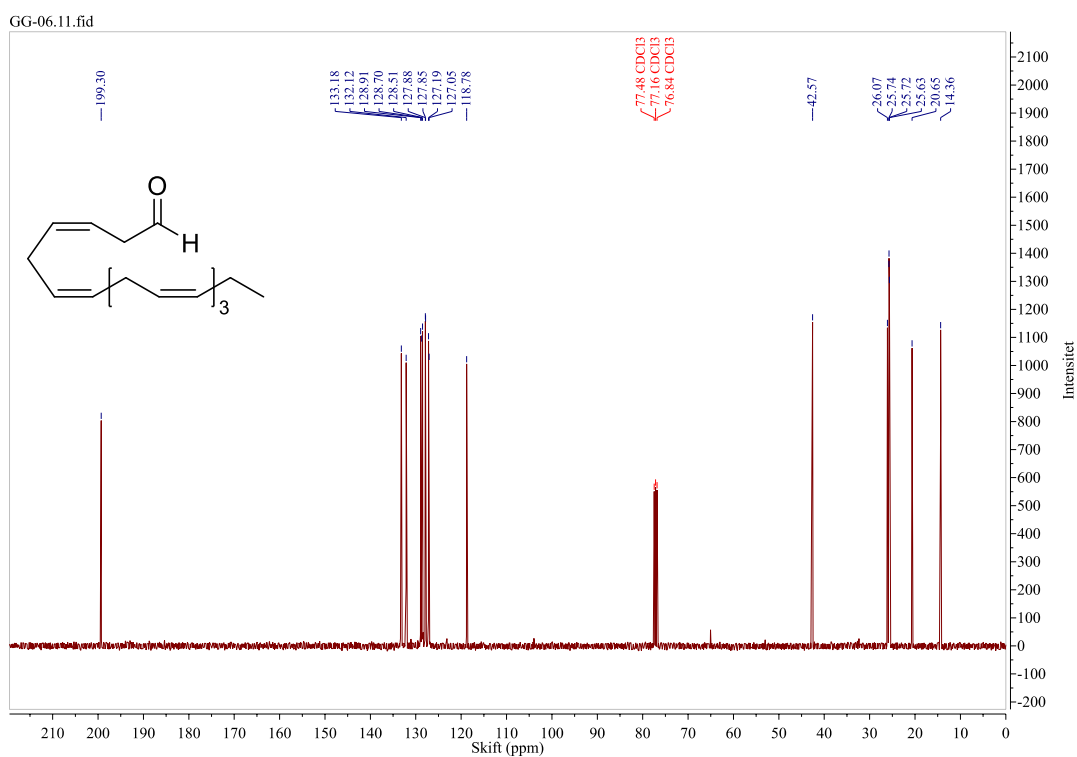
Figur S-13: <sup>1</sup>H NMR-spektrum av dimetylacetal **28**



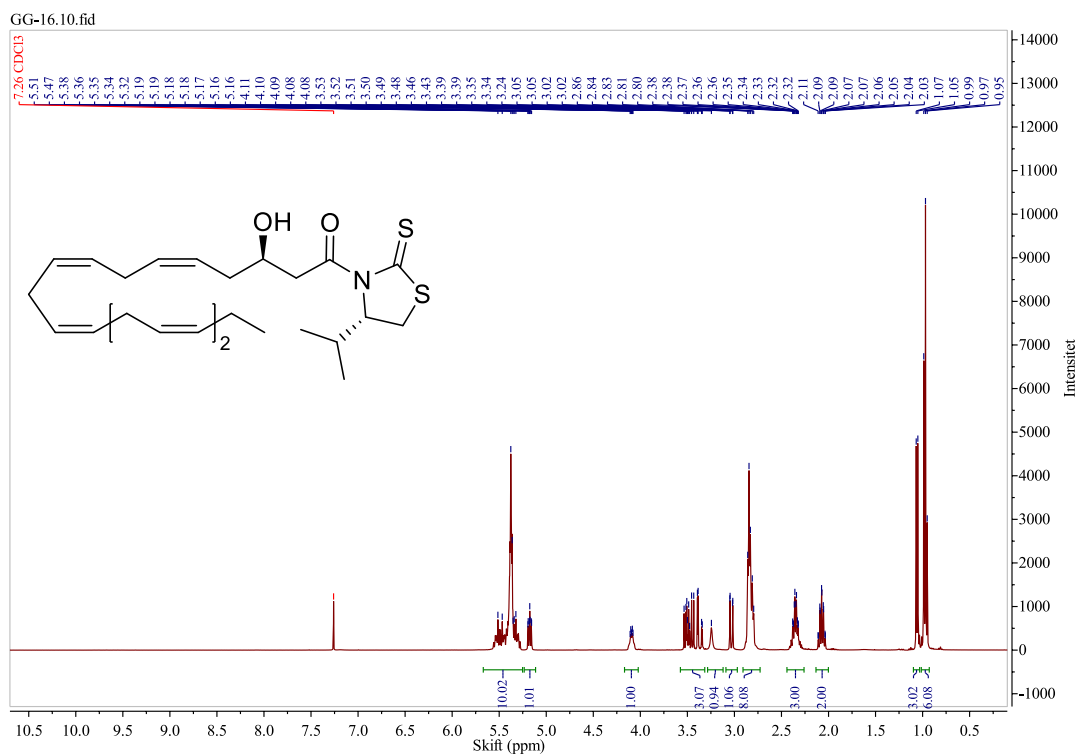
Figur S-14: <sup>13</sup>C NMR-spektrum av dimetylacetal **28**



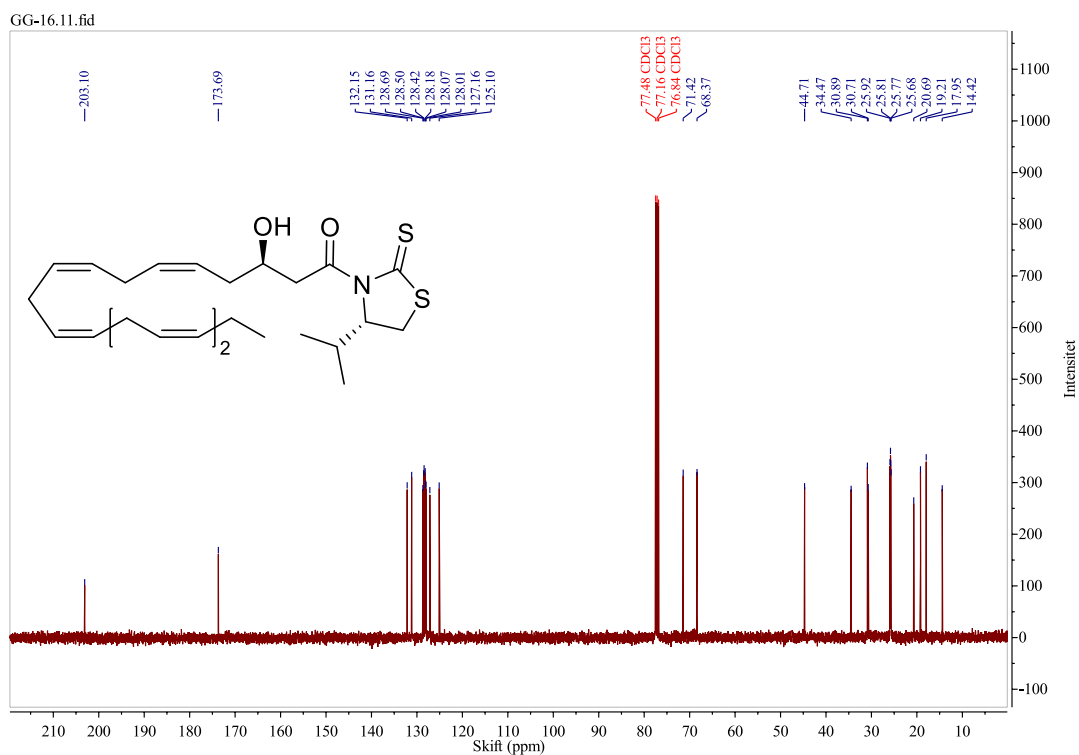
Figur S-15: <sup>1</sup>H NMR-spektrum av aldehyd 27



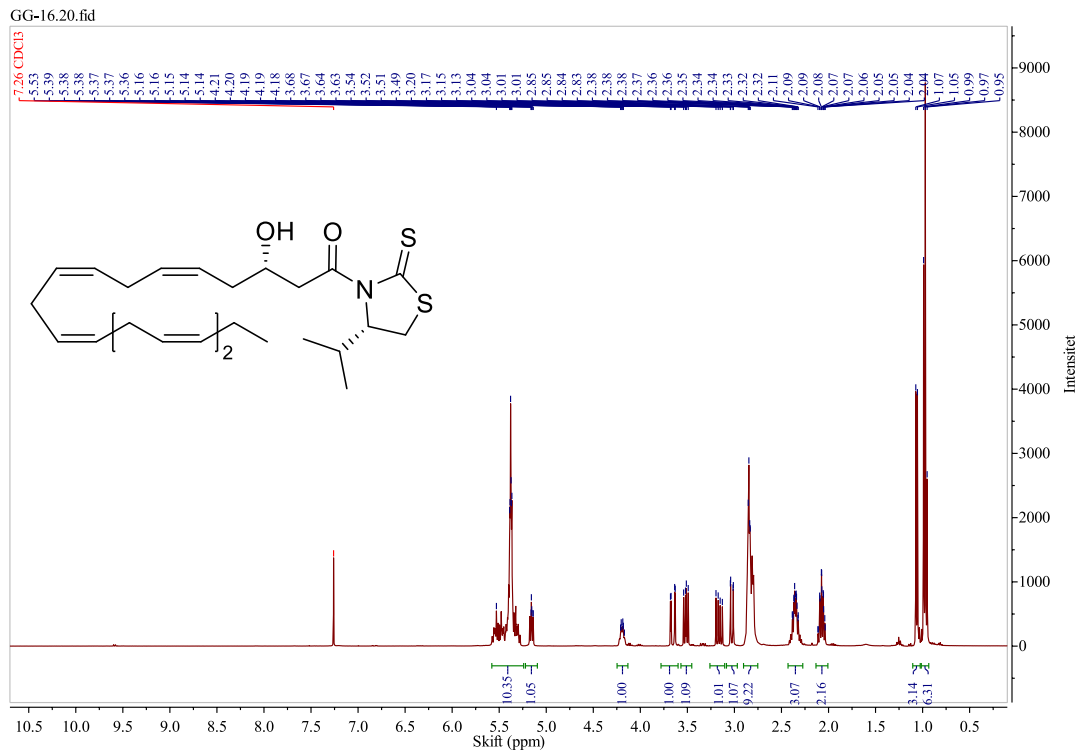
Figur S-16: <sup>13</sup>C NMR-spektrum av aldehyd 27



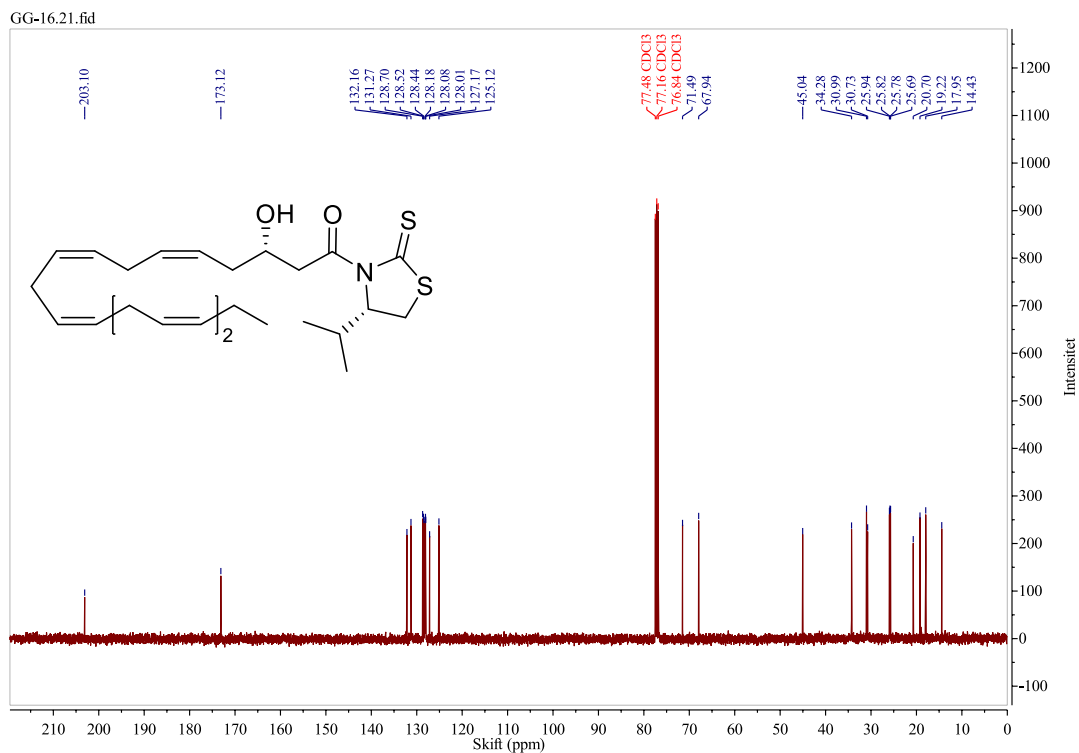
Figur S-17:  $^1\text{H}$  NMR-spektrum av aldolprodukt **39**



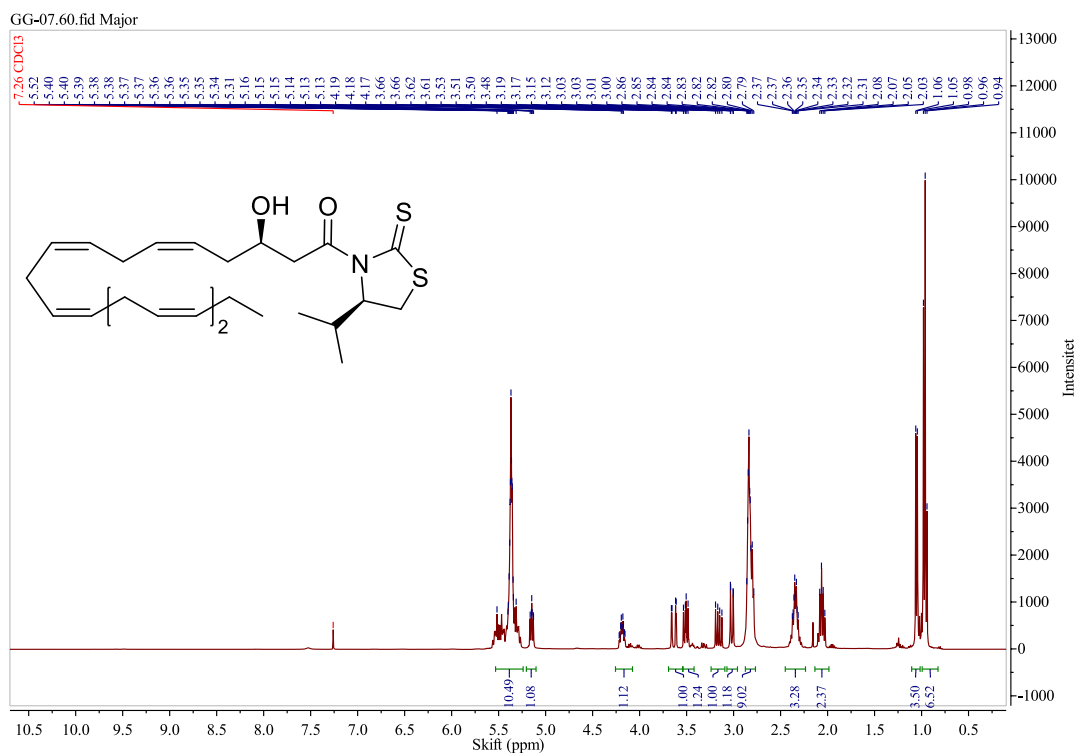
Figur S-18:  $^{13}\text{C}$  NMR-spektrum av aldolprodukt **39**



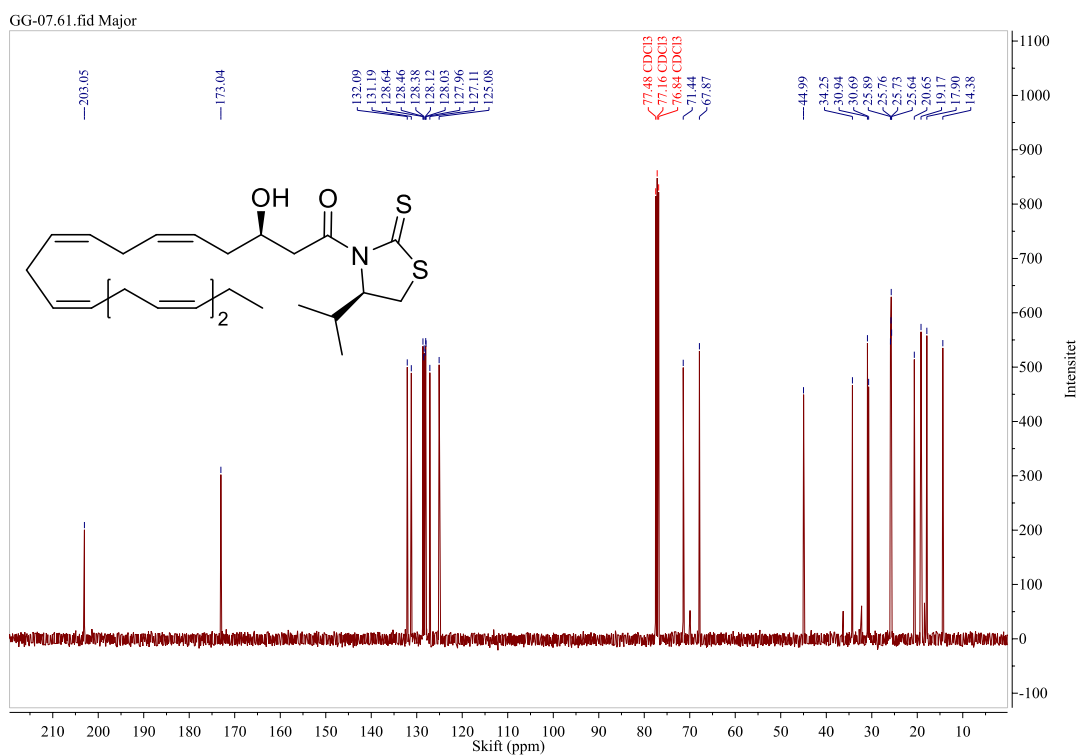
Figur S-19:  $^1\text{H}$  NMR-spektrum av aldolprodukt **40**



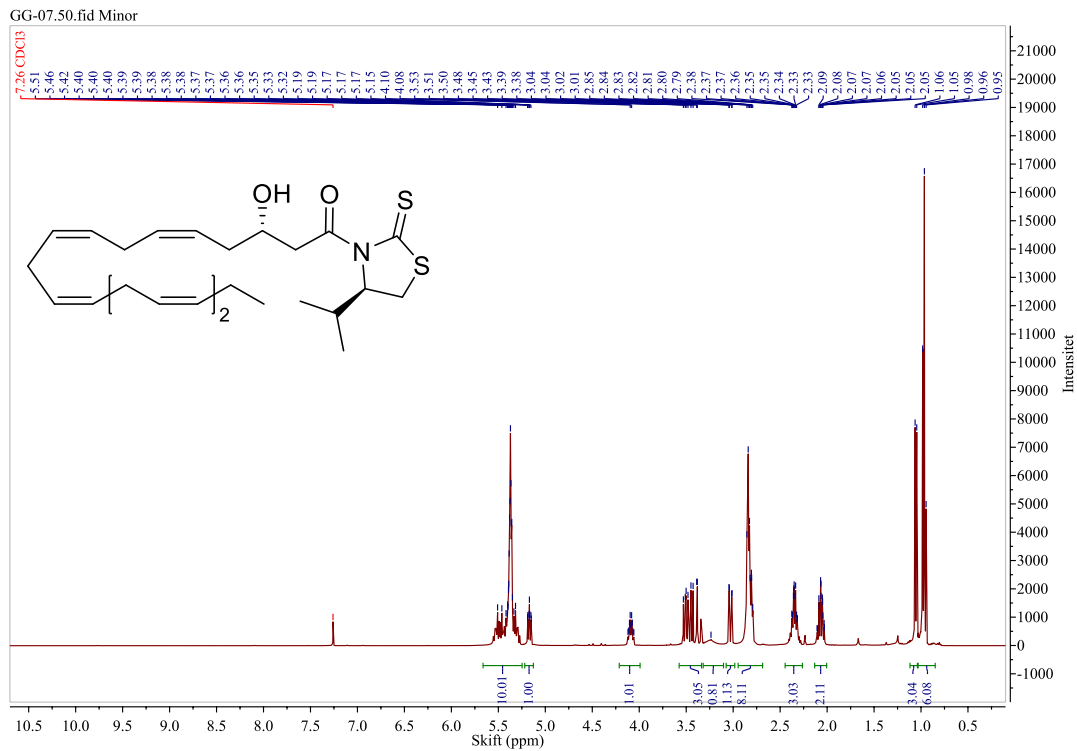
Figur S-20:  $^{13}\text{C}$  NMR-spektrum av aldolprodukt **40**



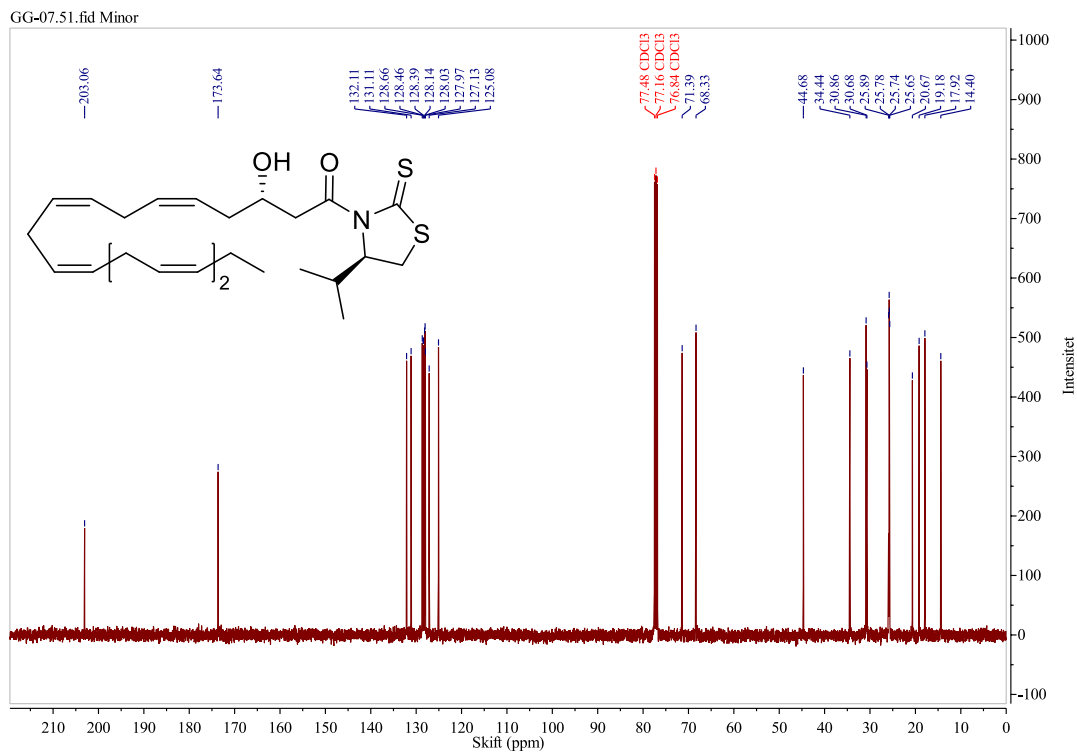
Figur S-21:  $^1\text{H}$  NMR-spektrum av aldolprodukt 25



Figur S-22:  $^{13}\text{C}$  NMR-spektrum av aldolprodukt 25

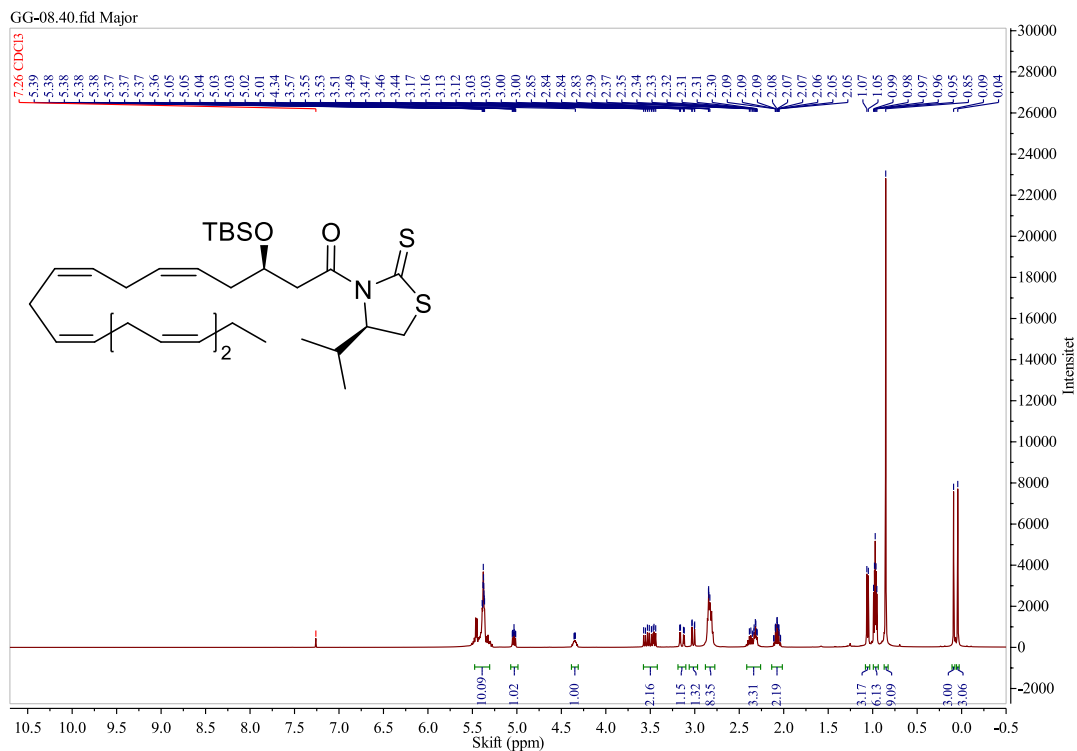


Figur S-23:  $^1\text{H}$  NMR-spektrum av aldolprodukt **43**

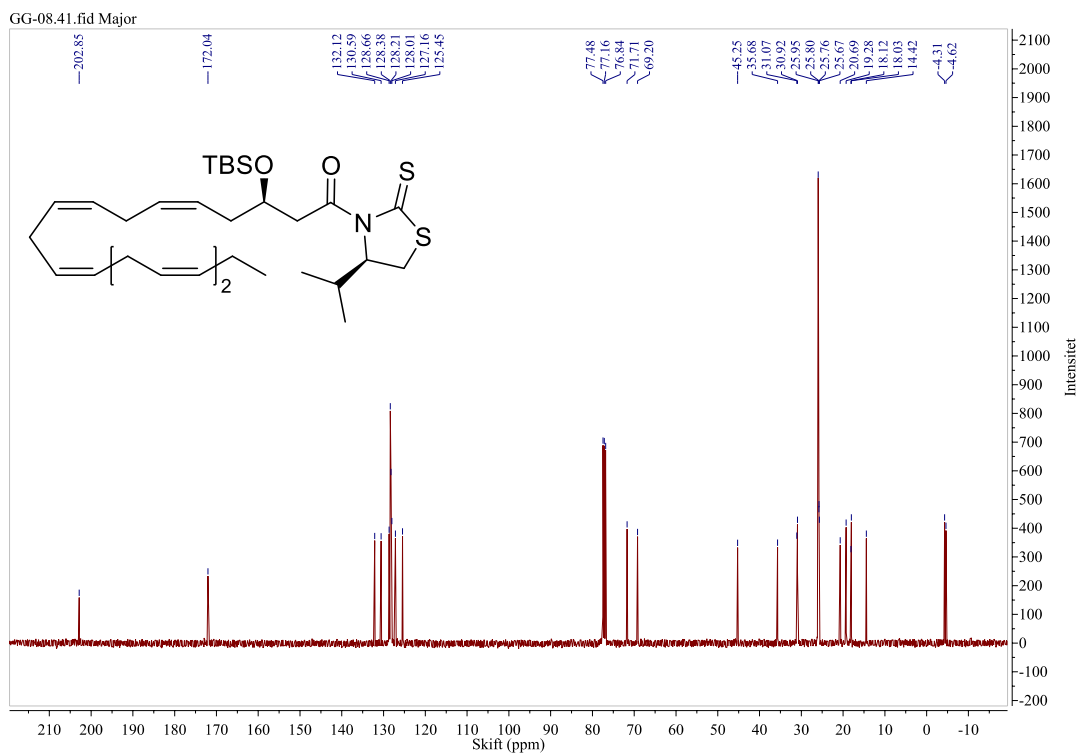


Figur S-24:  $^{13}\text{C}$  NMR-spektrum av aldolprodukt **43**

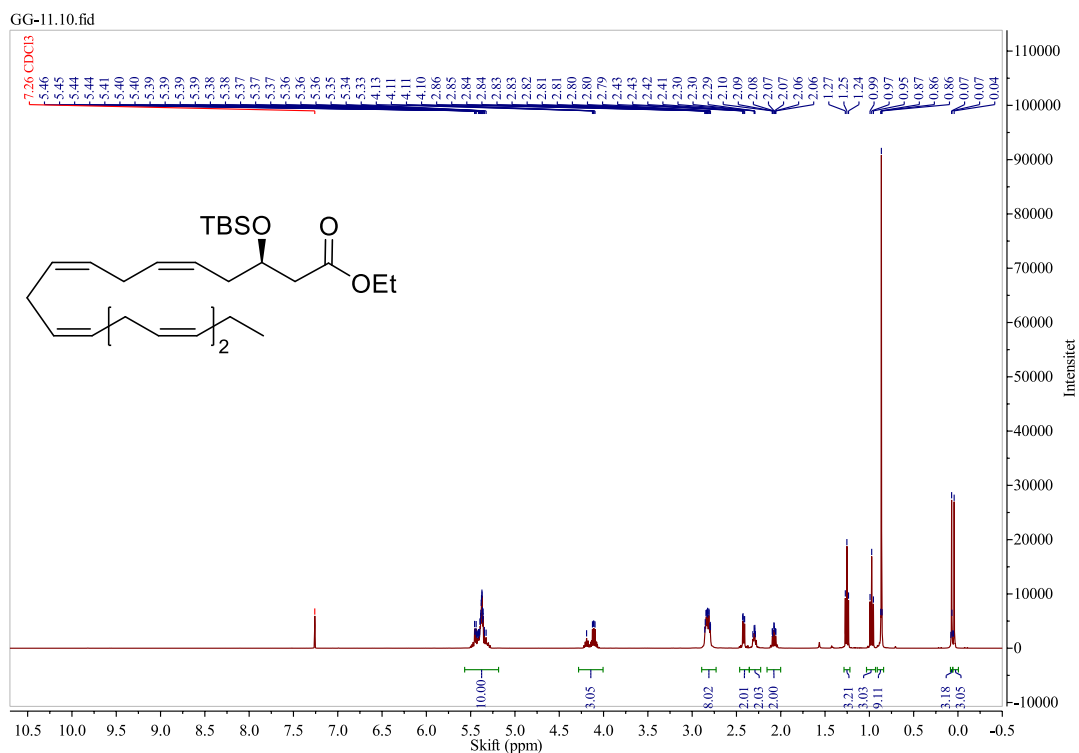




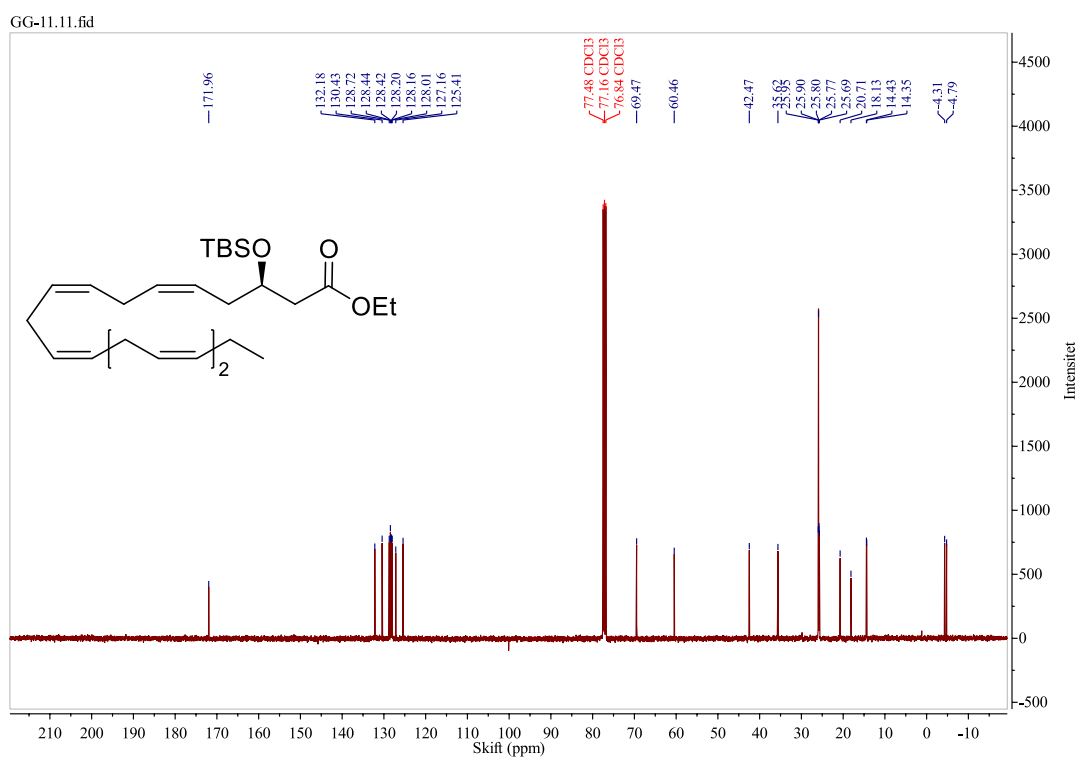
Figur S-25:  $^1\text{H}$  NMR-spektrum av TBS-beskyttet aldolprodukt 24



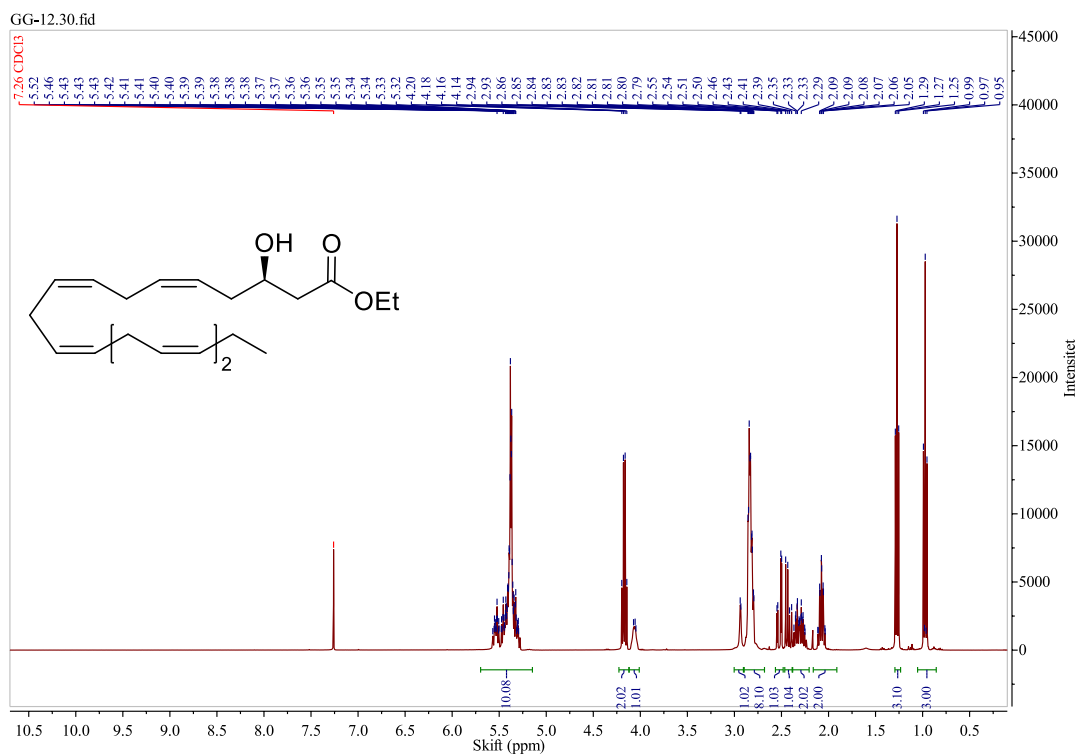
Figur S-26:  $^{13}\text{C}$  NMR-spektrum av TBS-beskyttet aldolprodukt 24



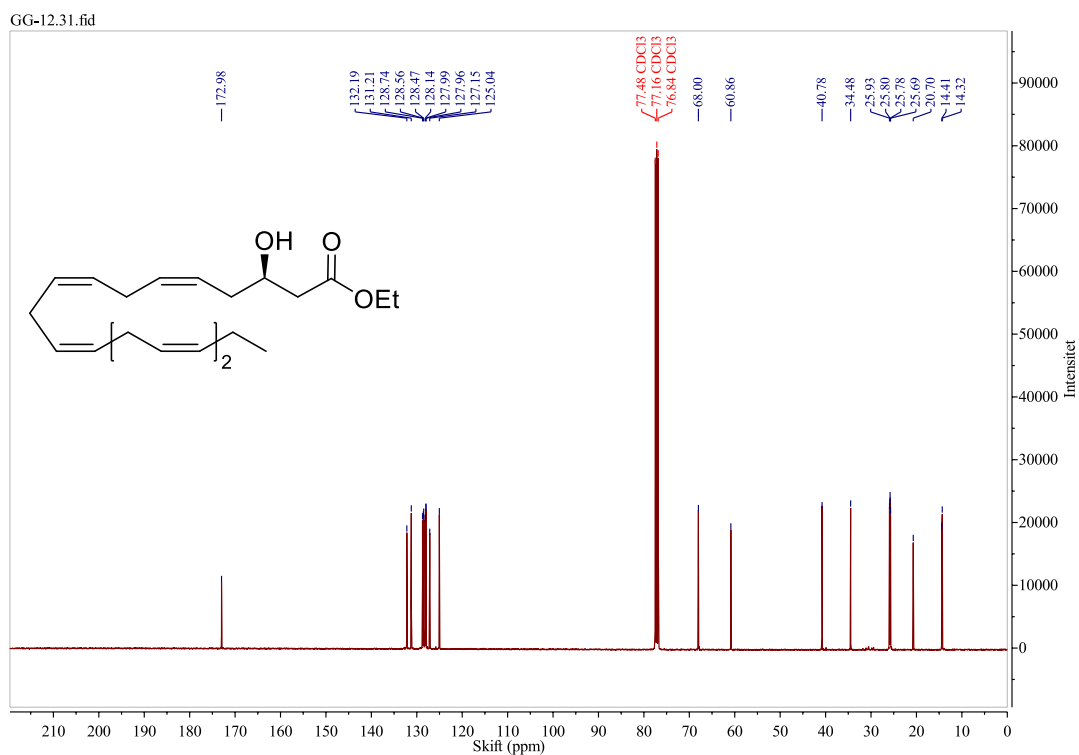
Figur S-27:  $^1\text{H}$  NMR-spektrum av TBS-beskyttet etylester **23**



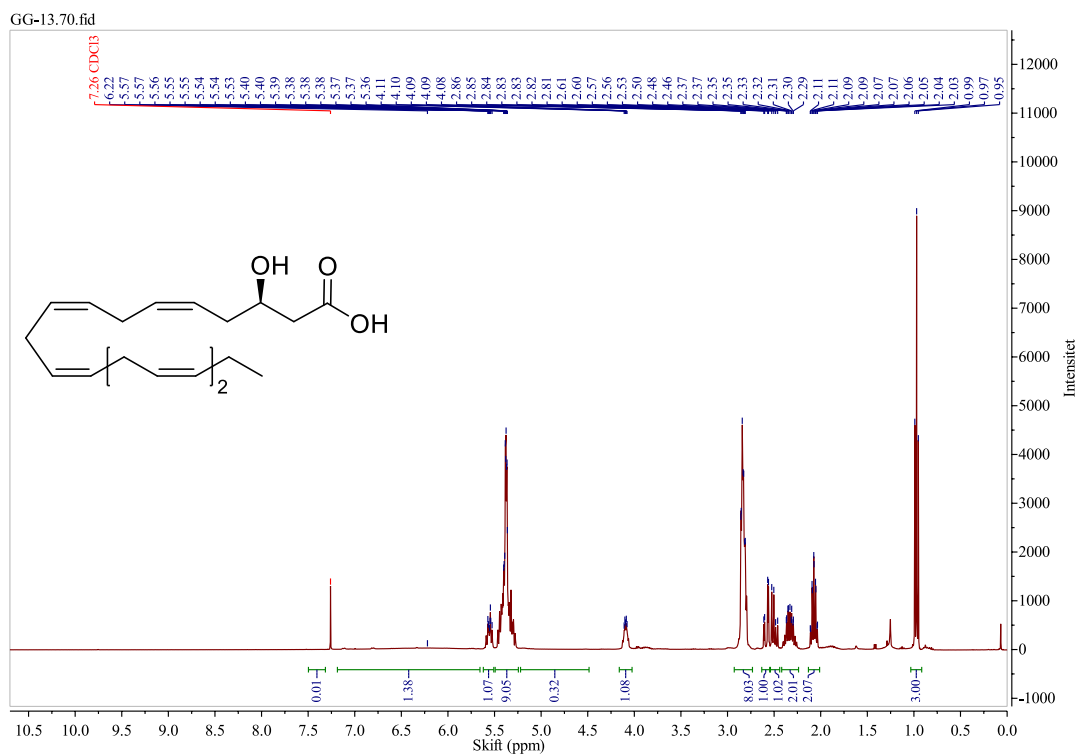
Figur S-28:  $^{13}\text{C}$  NMR-spektrum av TBS-beskyttet etylester **23**



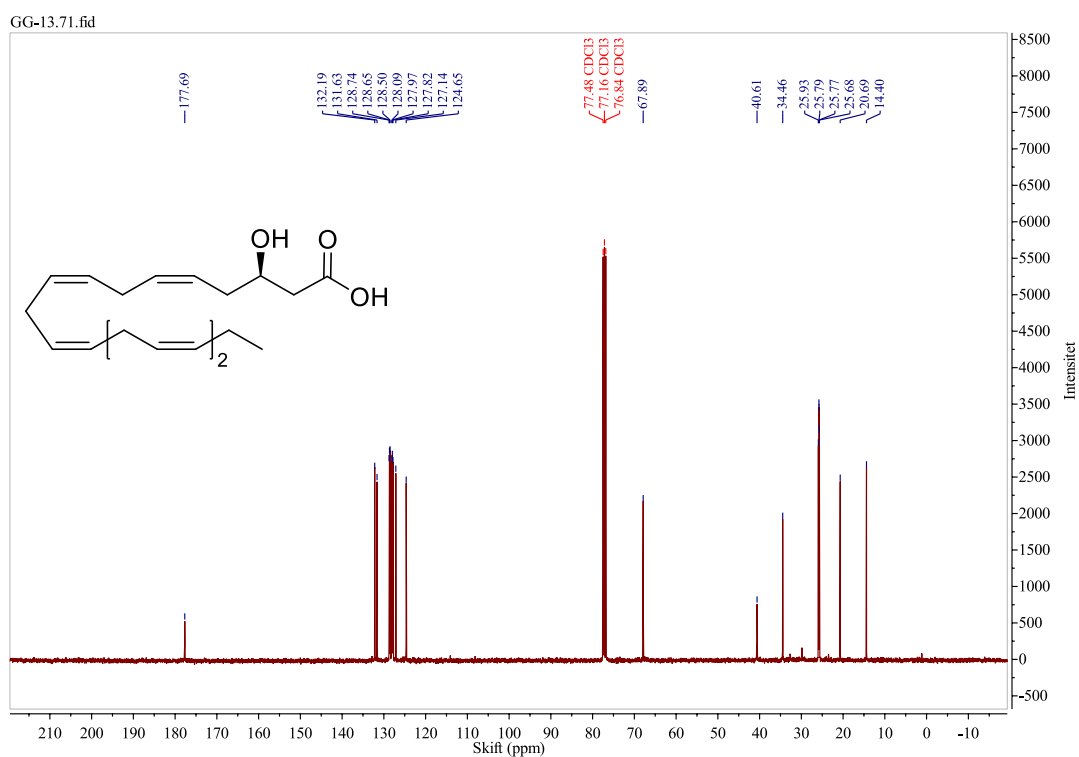
Figur S-29:  $^1\text{H}$  NMR-spektrum av etylester **22**



Figur S-30:  $^{13}\text{C}$  NMR-spektrum av etylester **22**

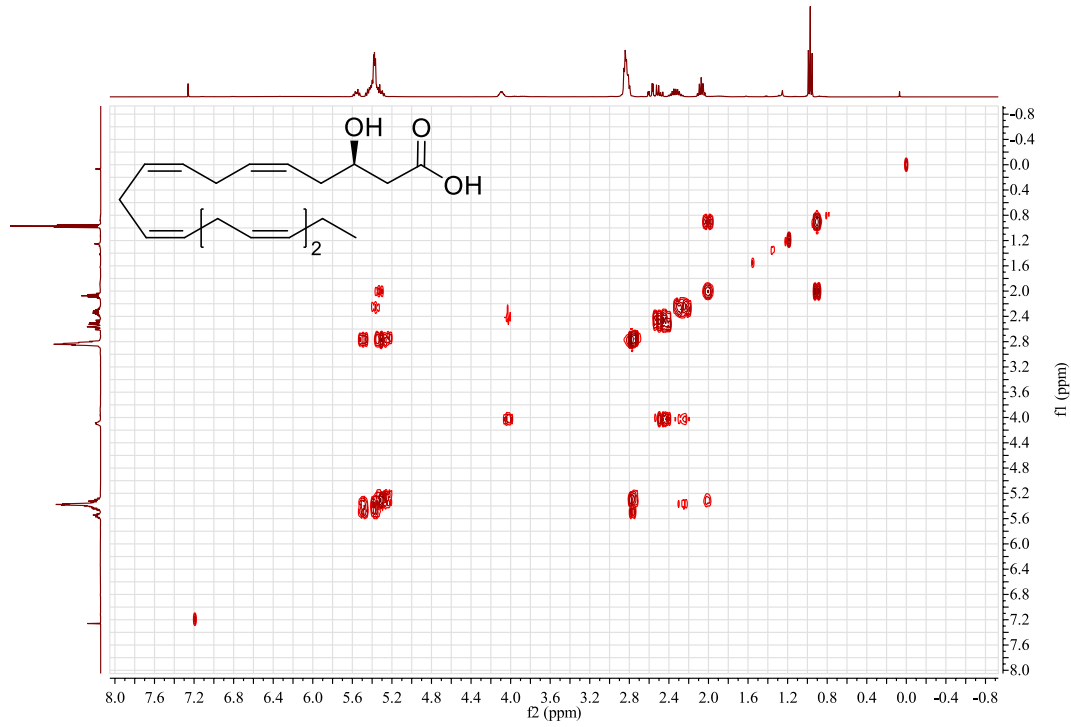


Figur S-31:  $^1\text{H}$  NMR-spektrum av 3(R)-HEPE (1)



Figur S-32:  $^{13}\text{C}$  NMR-spektrum av 3(R)-HEPE (1)

GG-13.72.ser



GG-13.74.ser

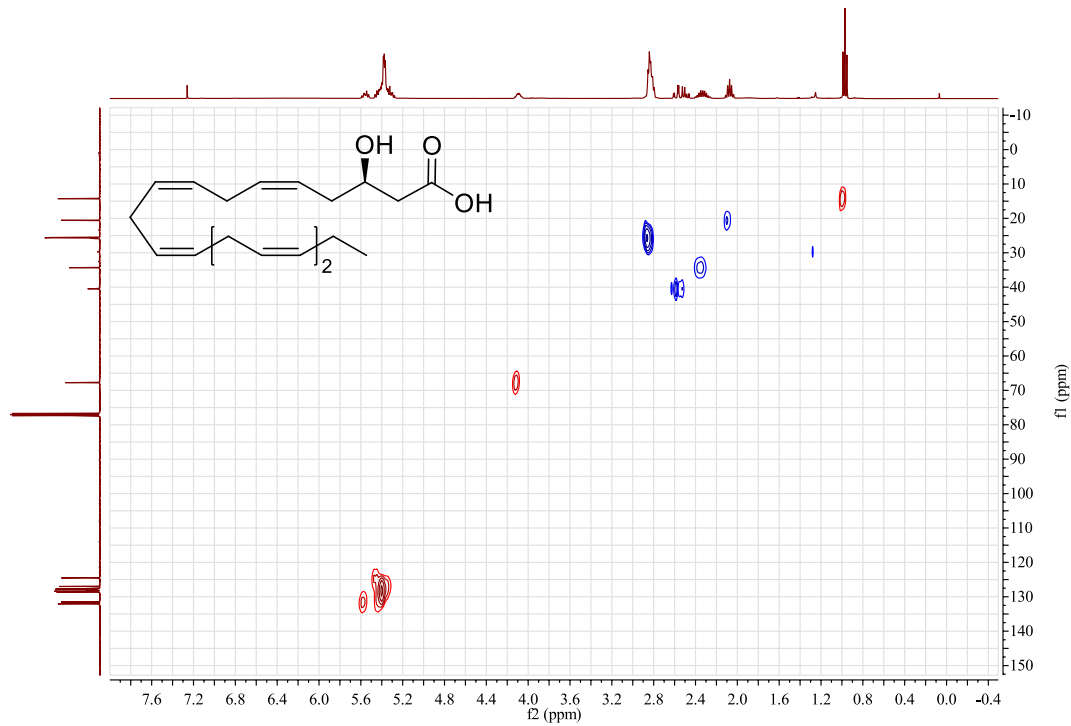
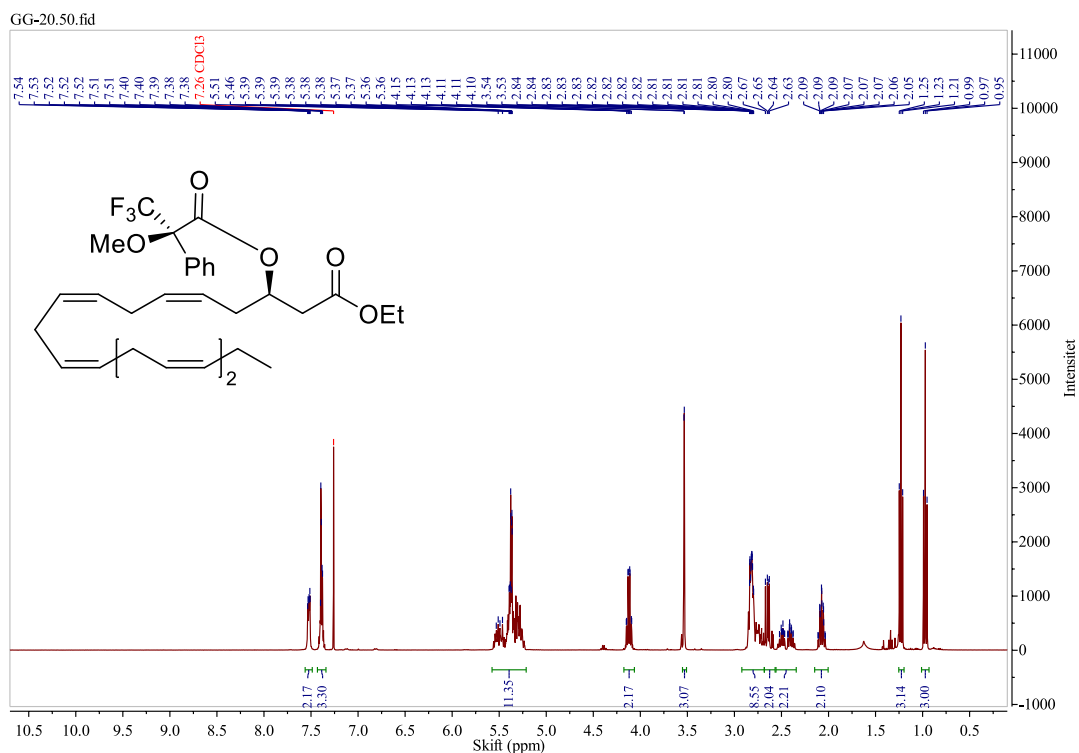
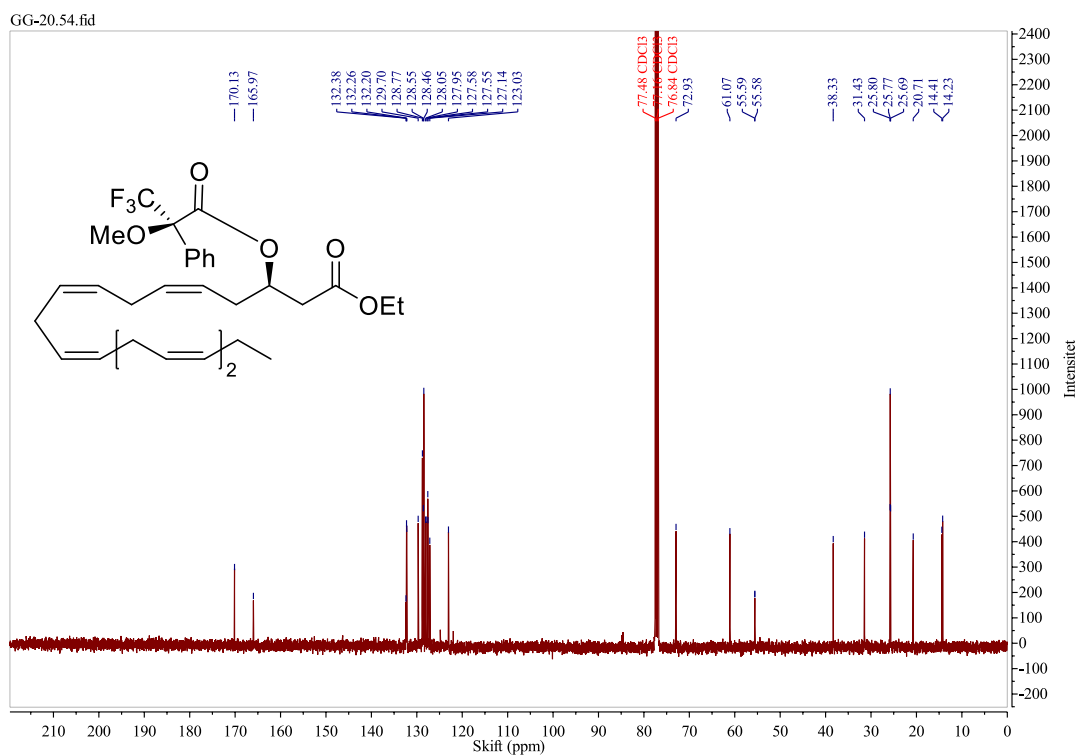


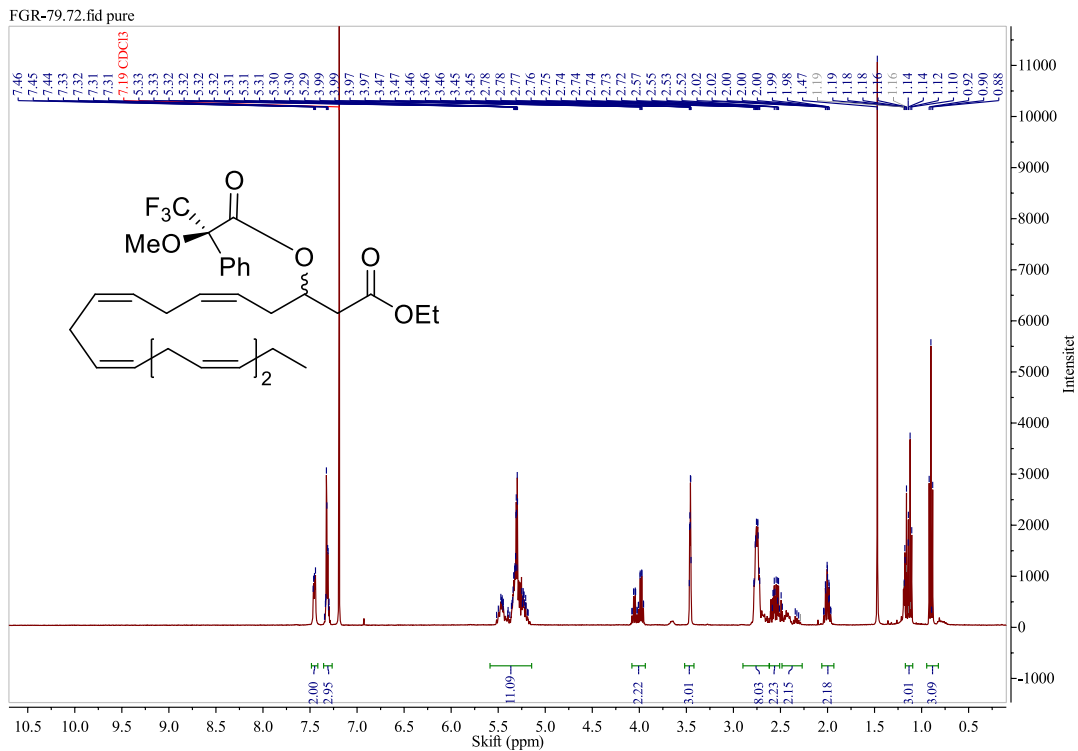
Figure S-34: HSQC-spektrum av 3(R)-HEPE (1)



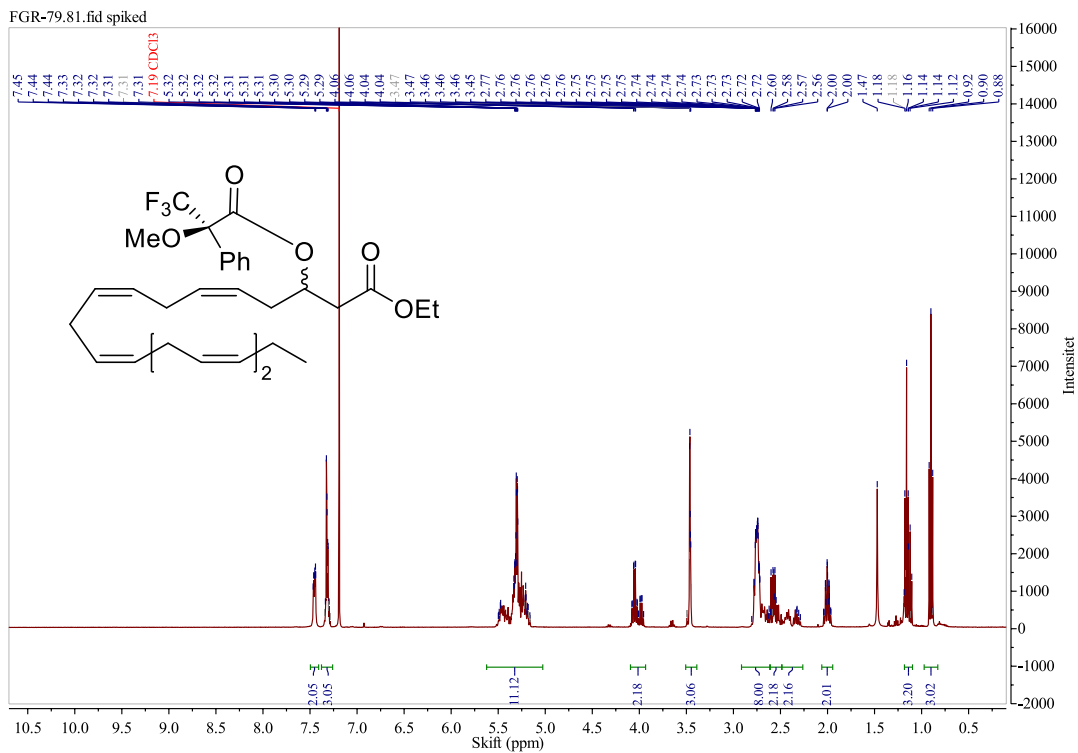
Figur S-35:  $^1H$  NMR-spektrum av *R,R*-Mosher-ester 44



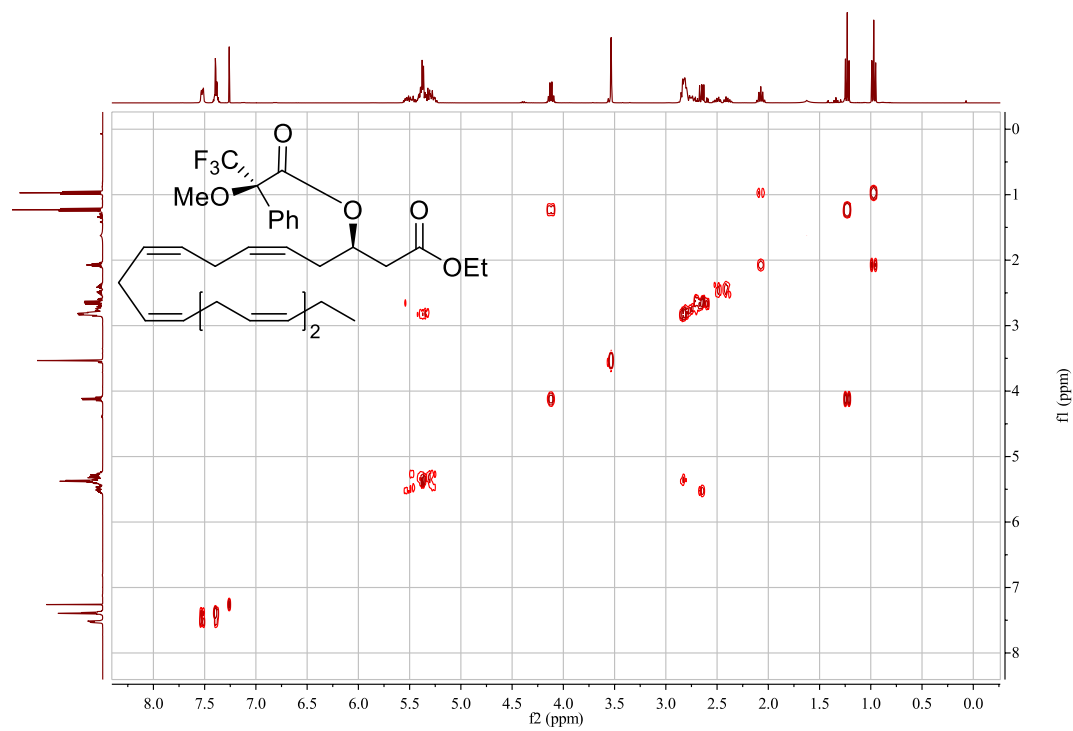
Figur S-36:  $^{13}C$  NMR-spektrum av *R,R*-Mosher-ester 44



Figur S-37: <sup>1</sup>H NMR-spektrum av blandingen av **44** og **46** før ekstra **44** var blitt tilsatt



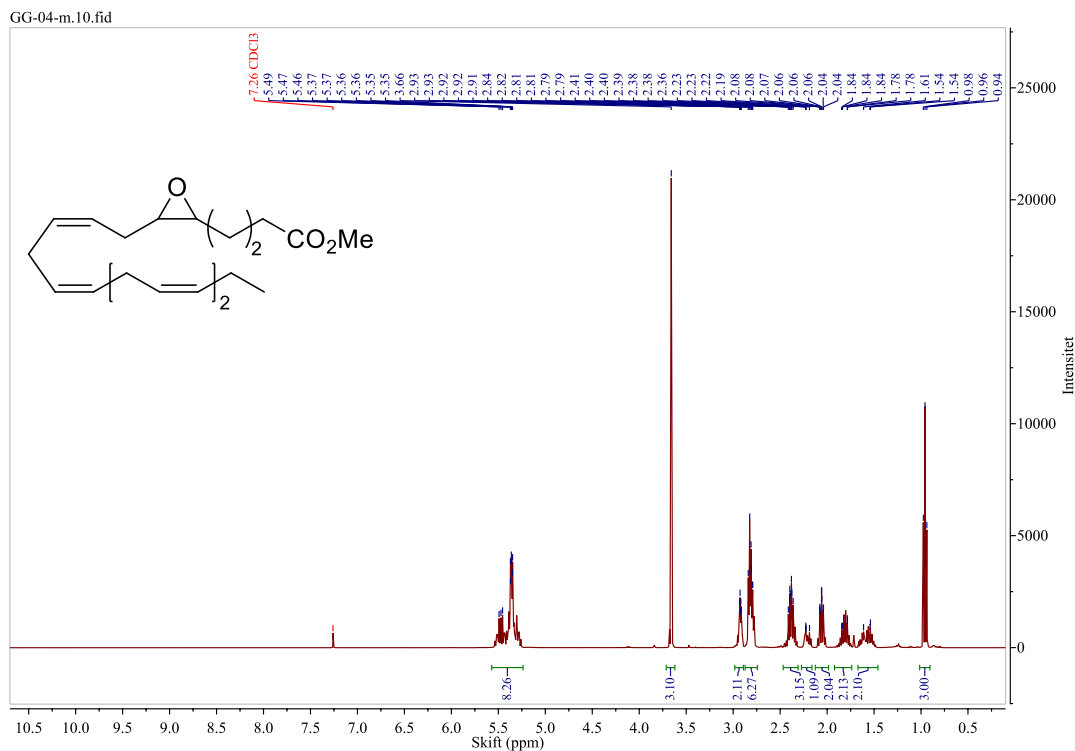
Figur S-38: <sup>1</sup>H NMR-spektrum av blandingen av **44** og **46** etter at ekstra **44** var blitt tilsatt



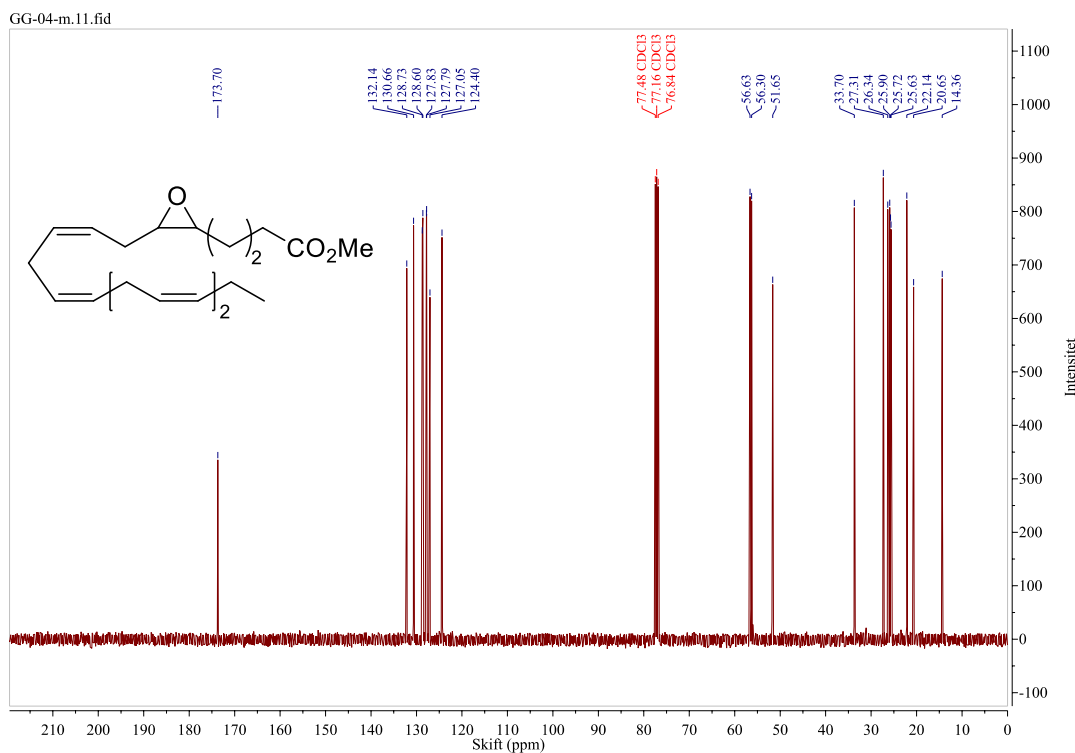
Figur S-39: COSY-spektrum av Mosher-ester 44



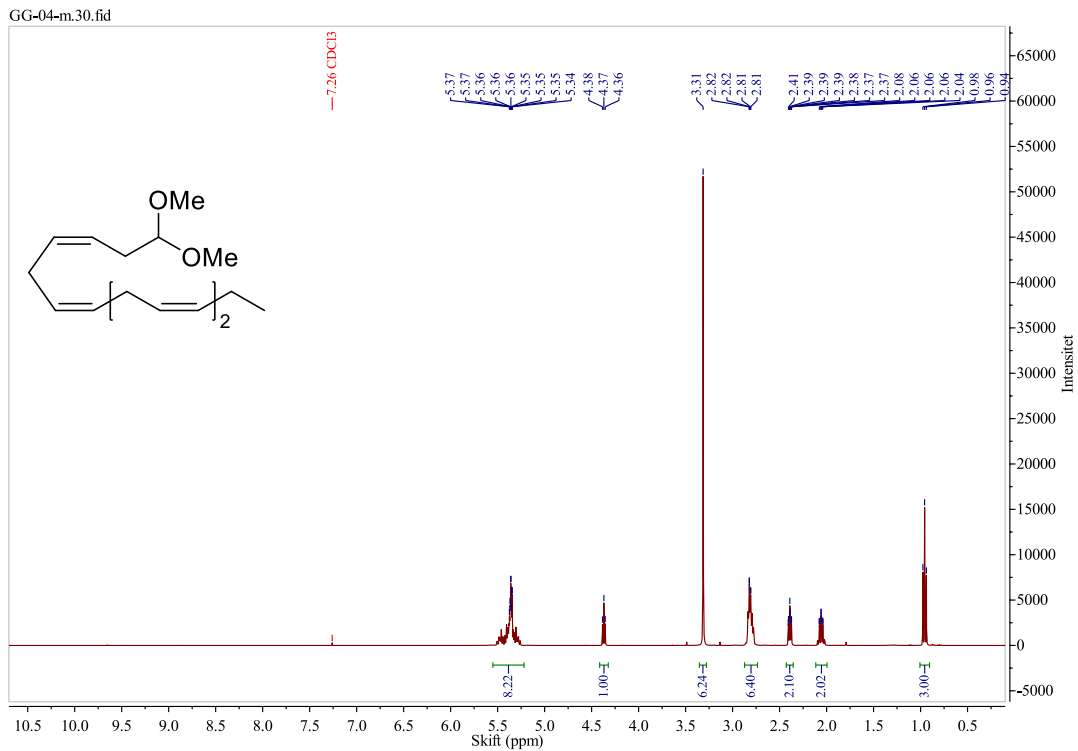




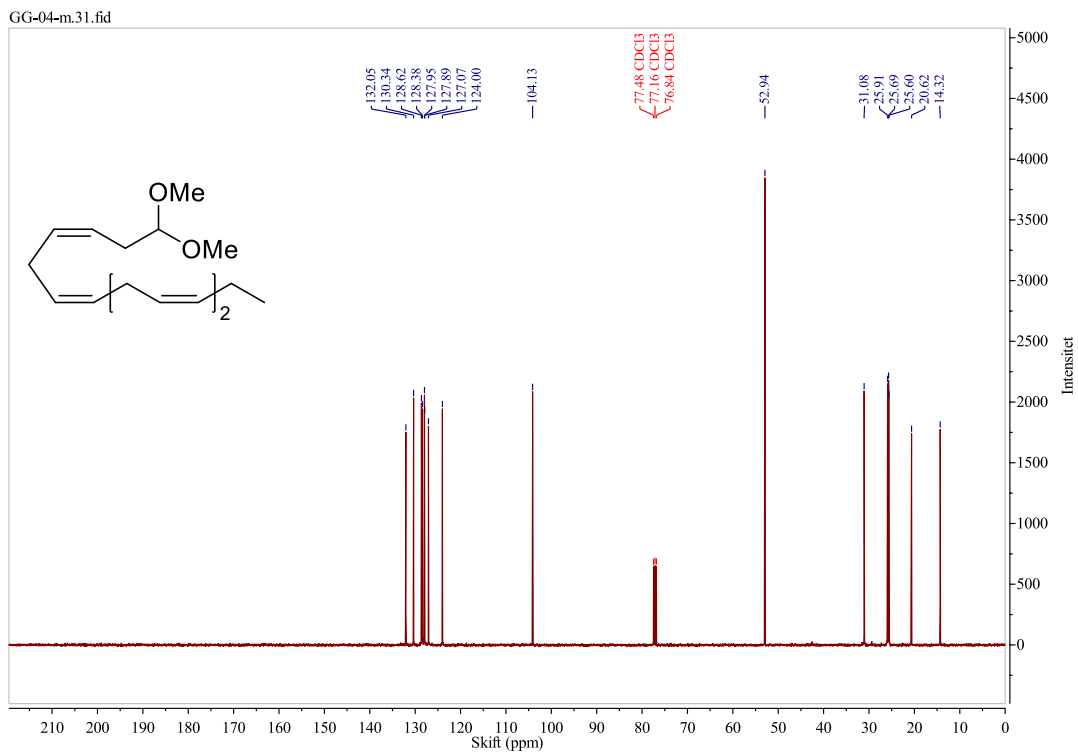
Figur S-42: <sup>1</sup>H NMR-spektrum av epoksid 34



Figur S-43: <sup>13</sup>C NMR-spektrum av epoksid 34

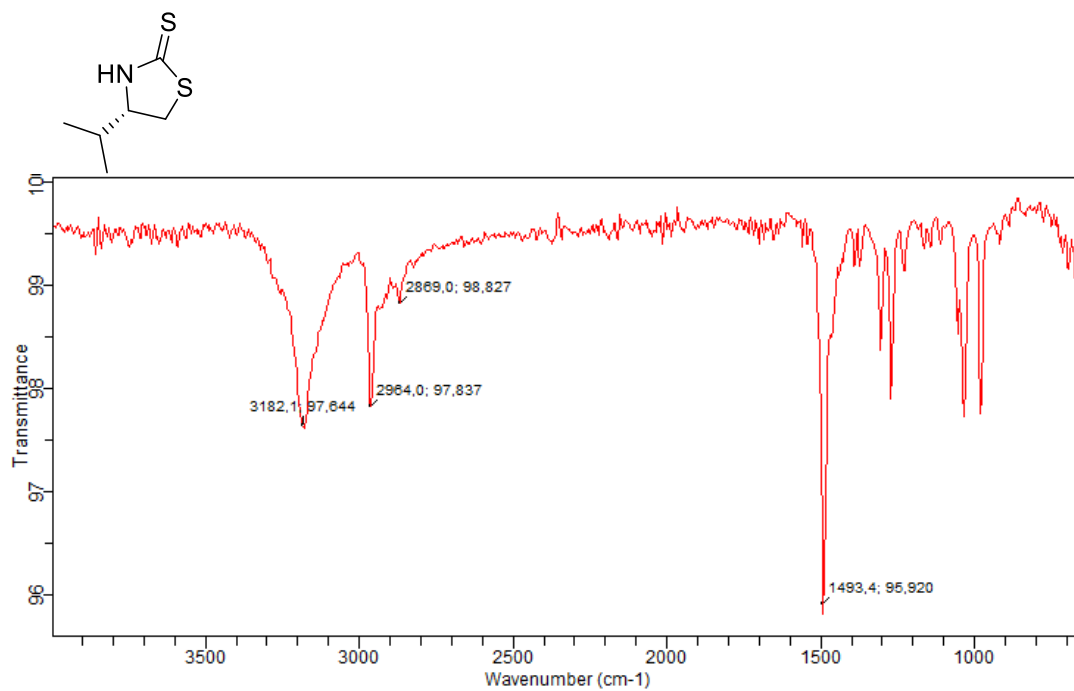


Figur S-44: <sup>1</sup>H NMR-spektrum av dimetylacetal **35**

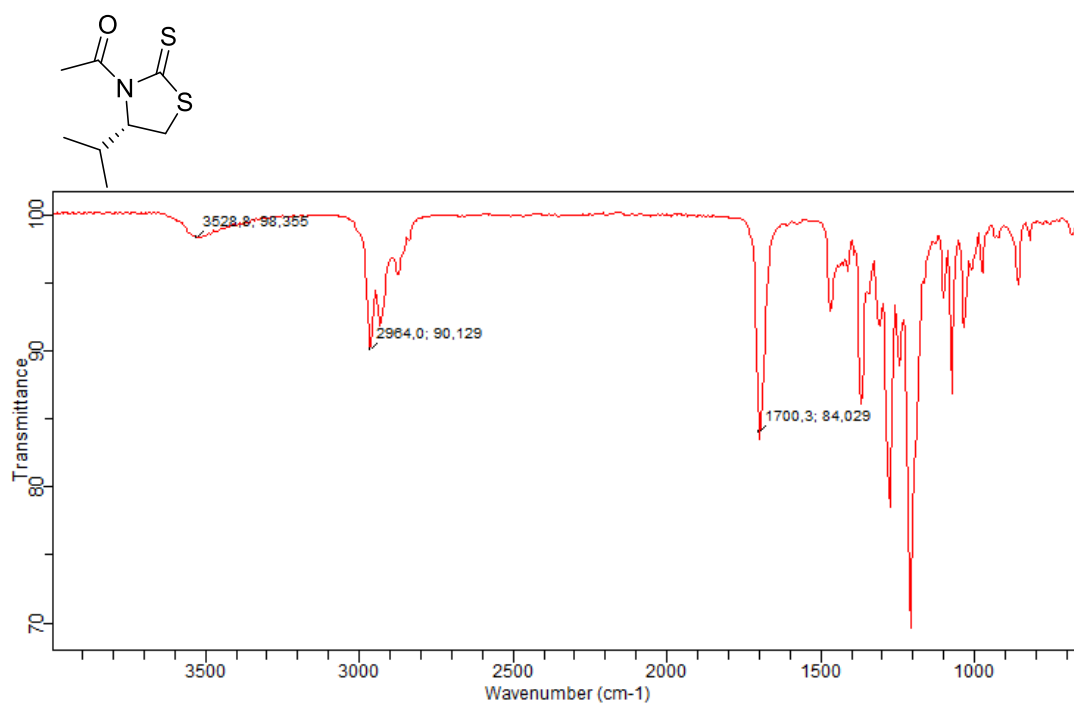


Figur S-45: <sup>13</sup>C NMR-spektrum av dimetylacetal **35**

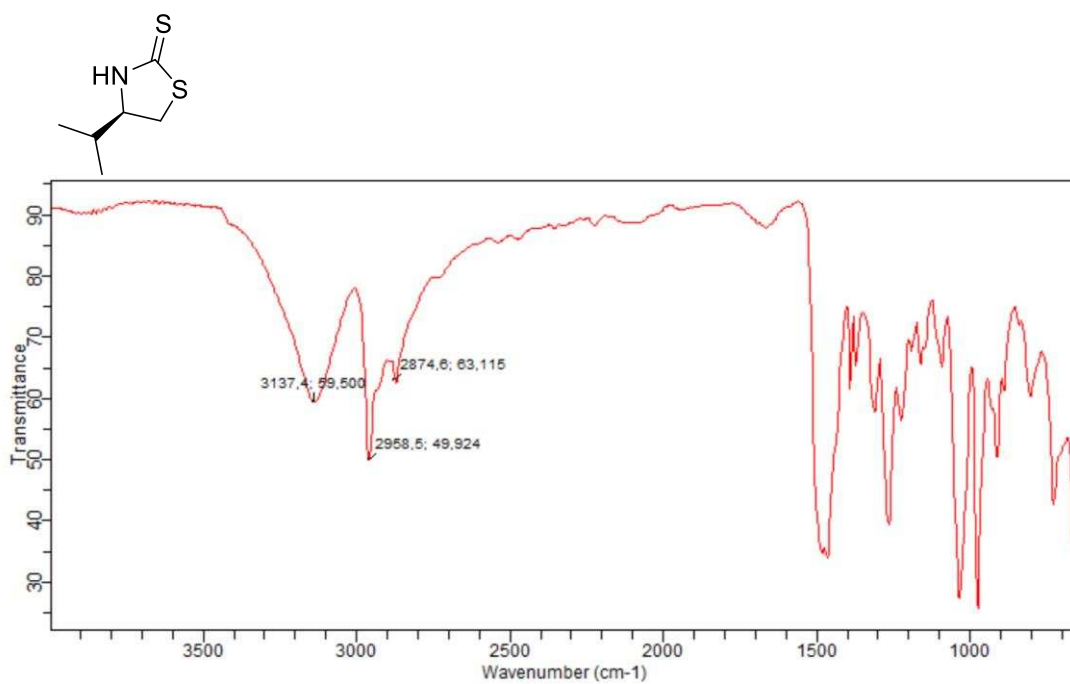
## 7.2 IR spektraldata



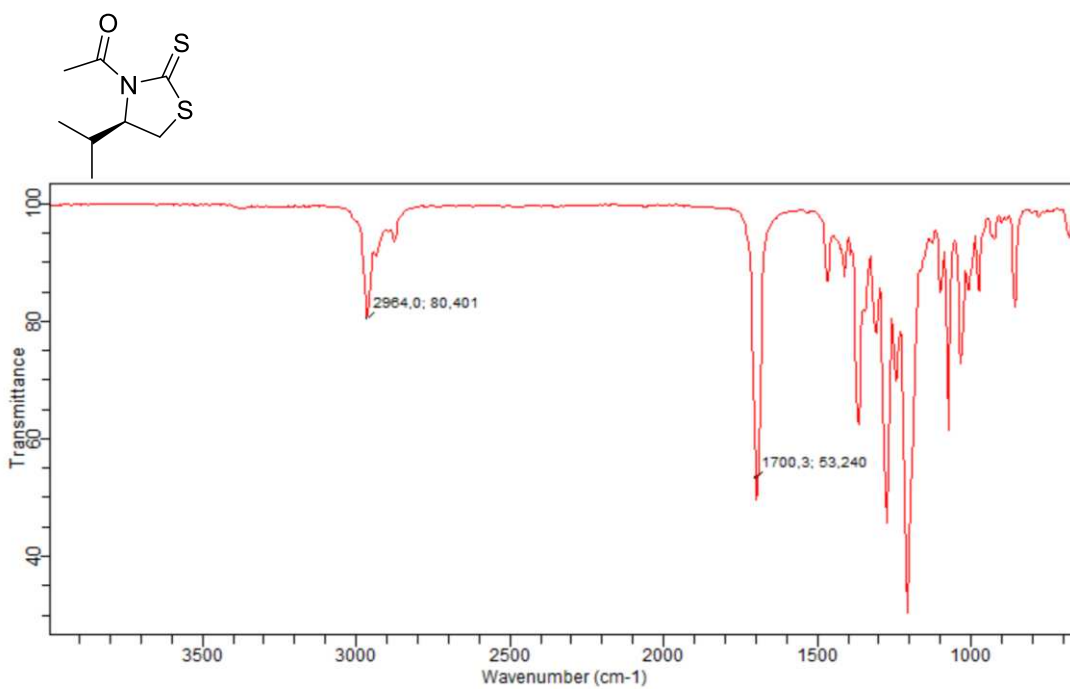
Figur S-46: IR-spektrum av *S*-tioksotiazolidin **37**



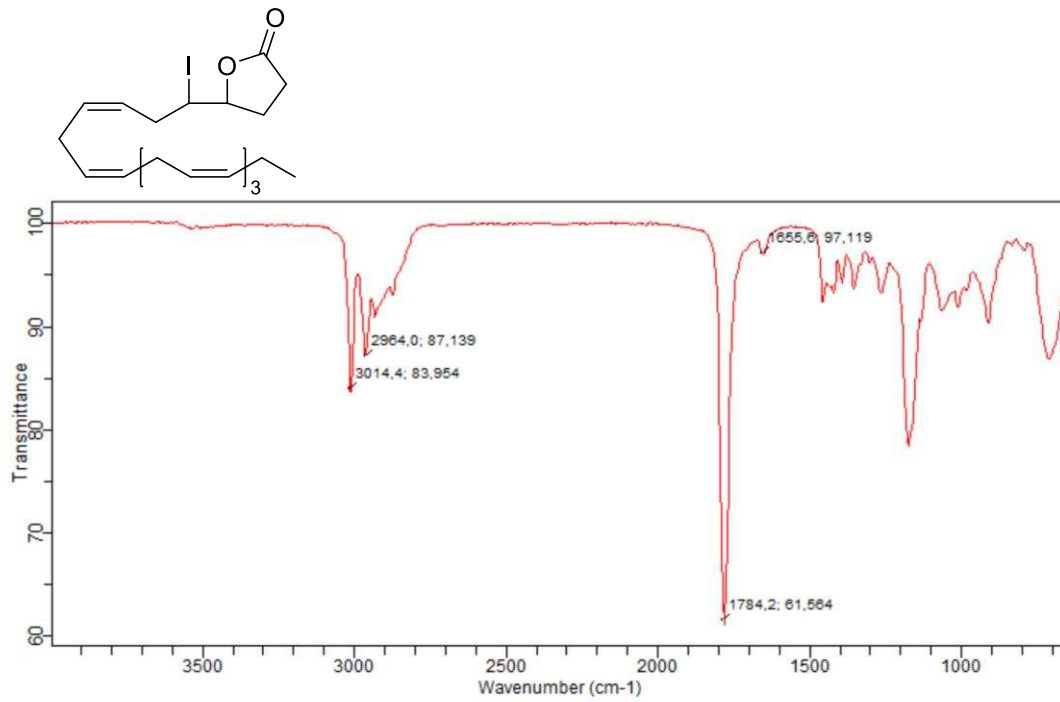
Figur S-47: IR-spektrum av *S*-hjelpmolekyl **38**



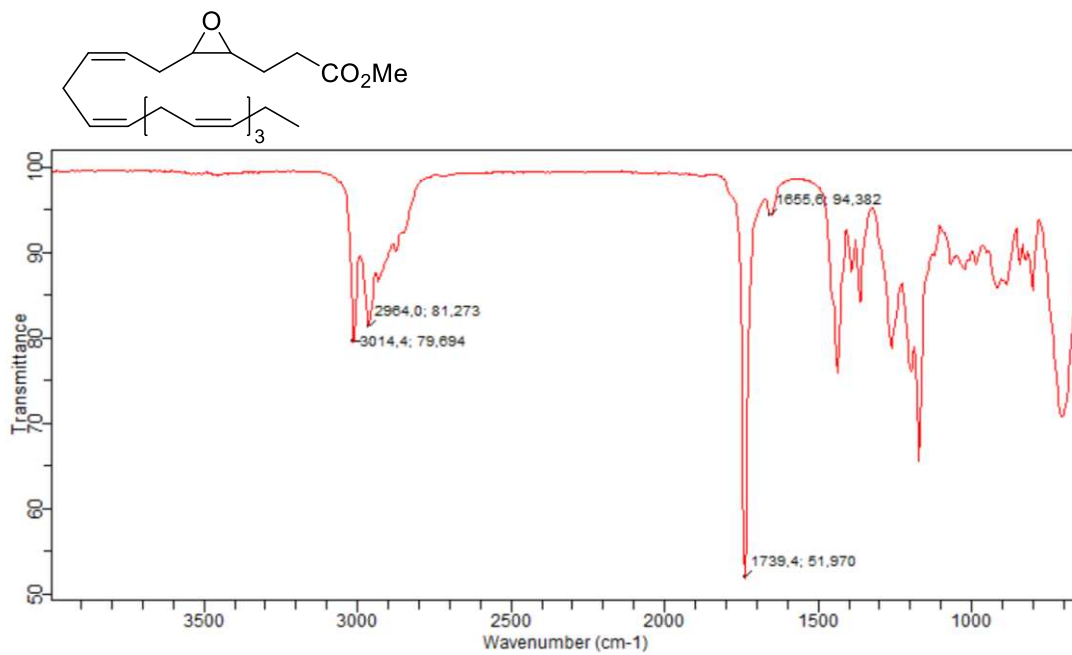
Figur S-48: IR av tioksotiazolidin **42**



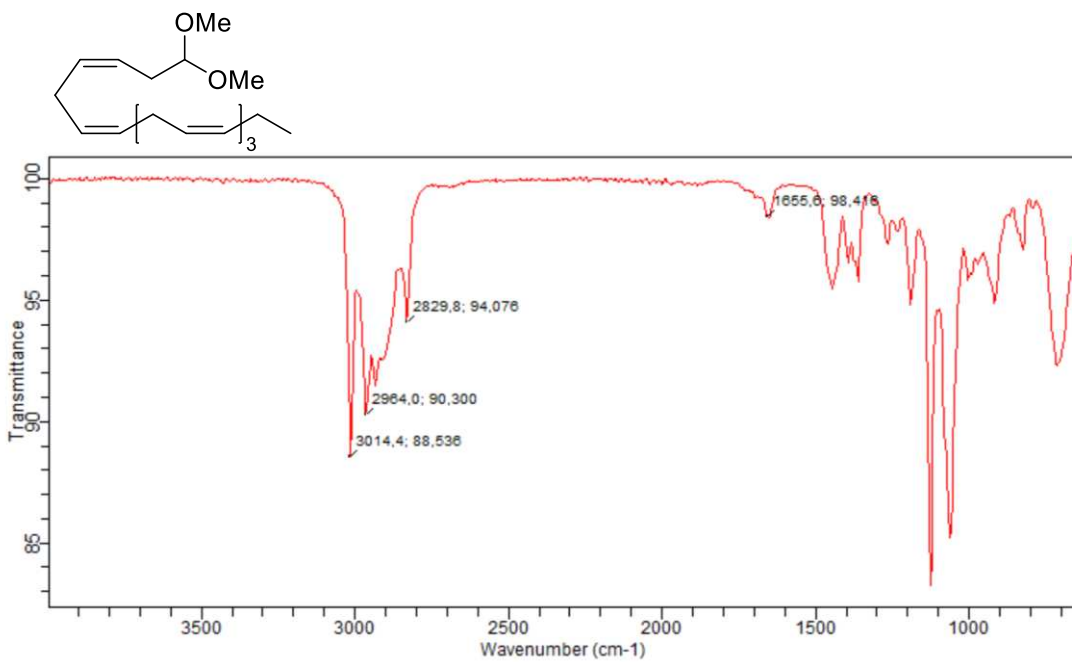
Figur S-49: IR av hjelpemolekyl **26**



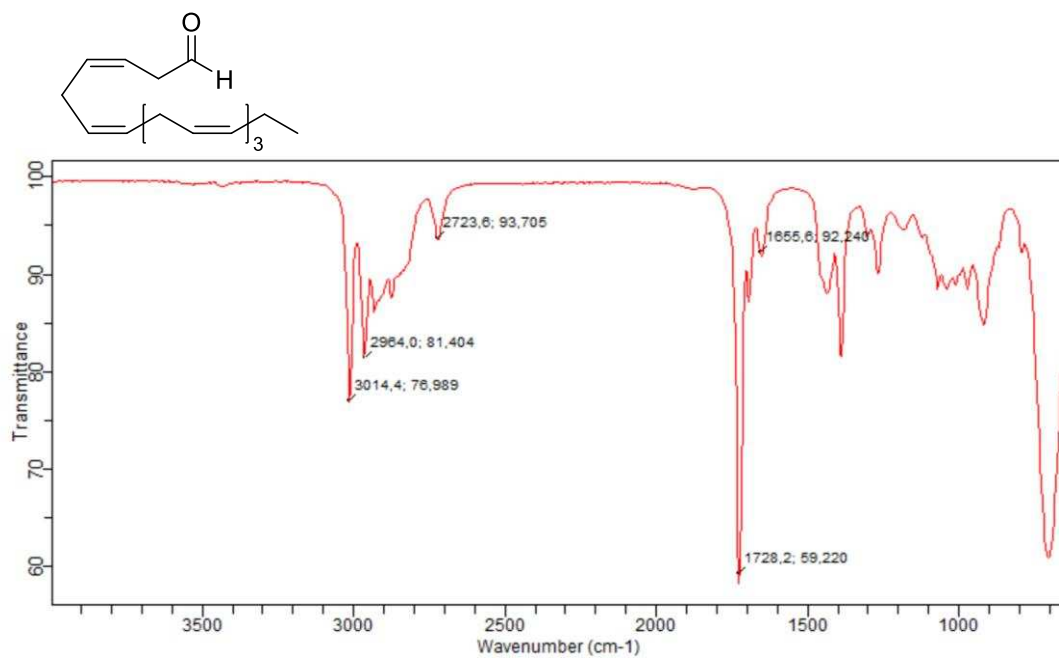
Figur S-50: IR av jodlaktone **30**



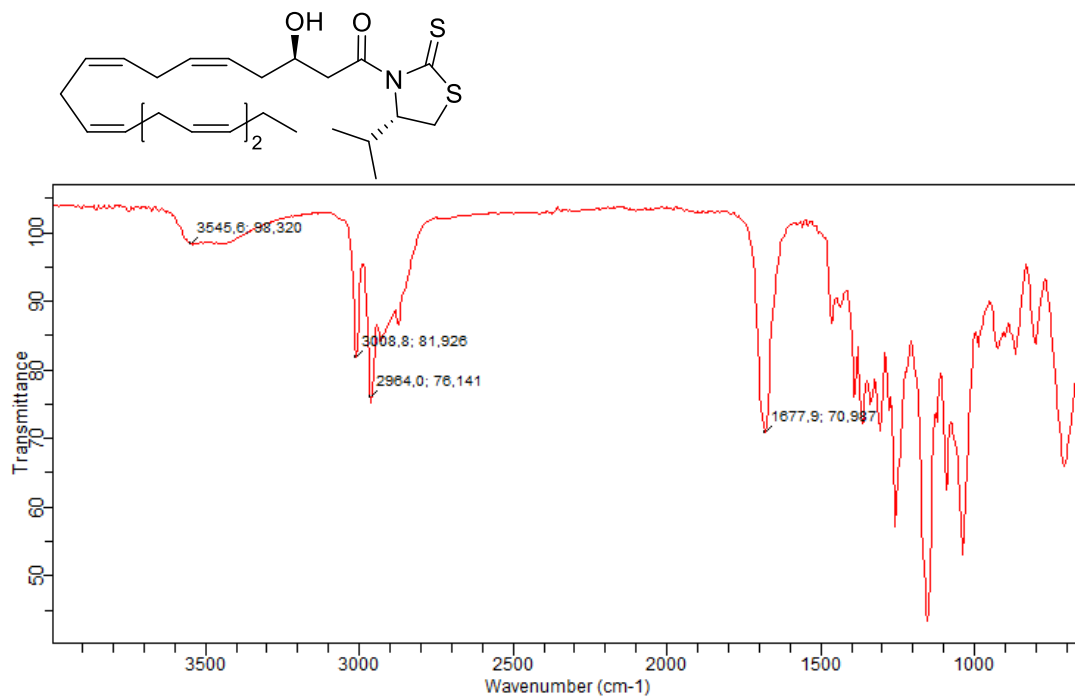
Figur S-51: IR av epoksid **29**



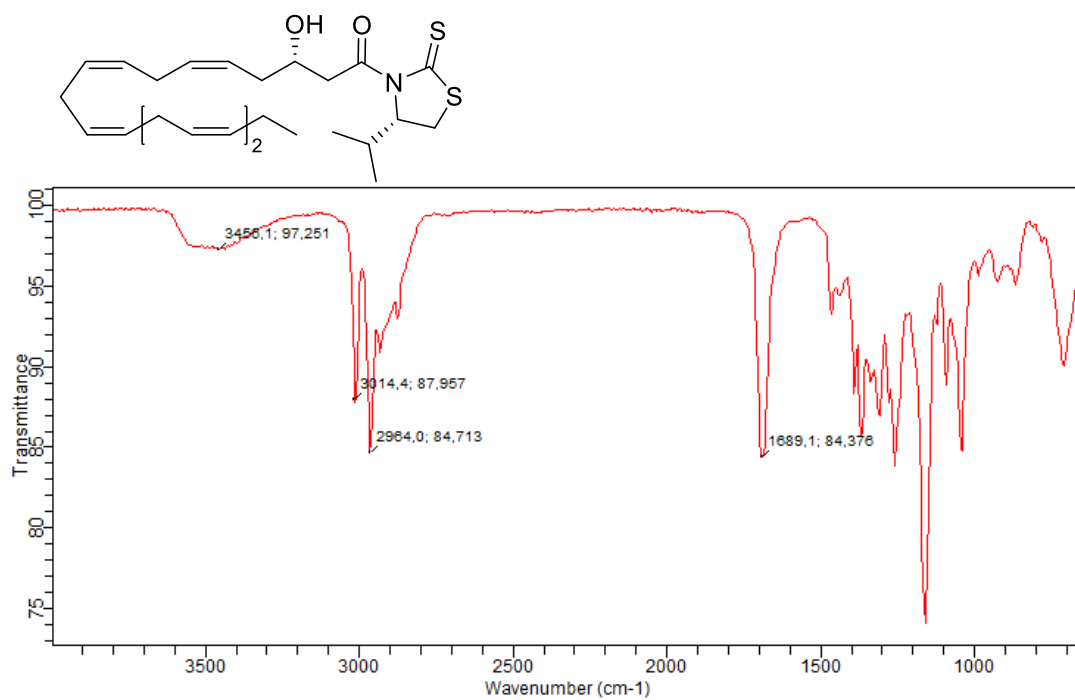
Figur S-52: IR av dimetylacetal **28**



Figur S-53: IR av aldehyd **27**

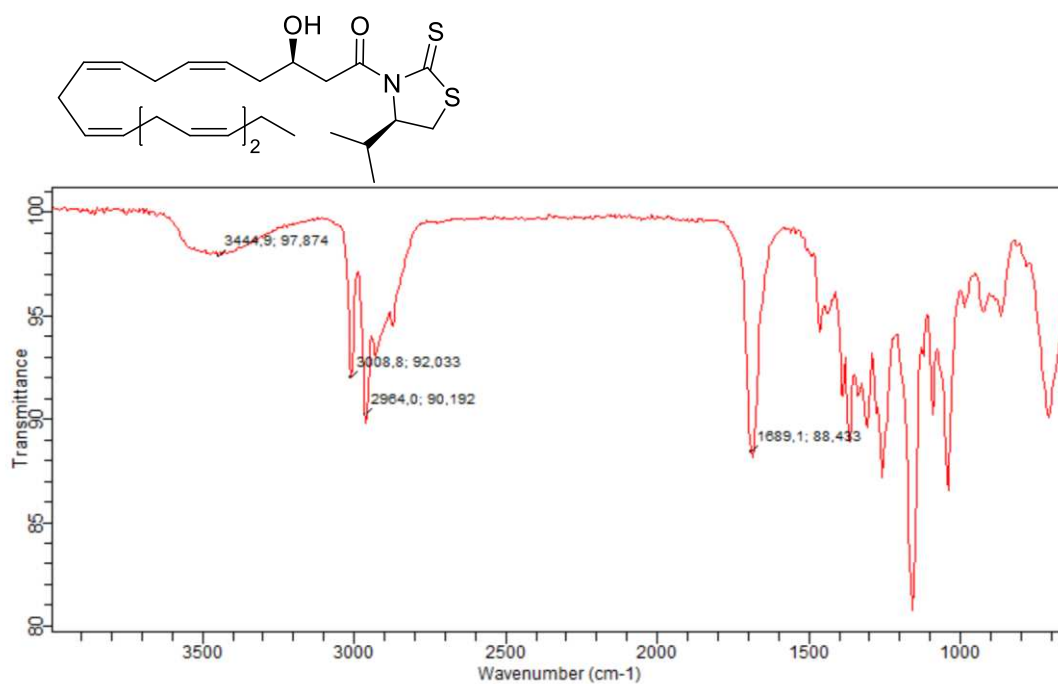


Figur S-54: IR-spektrum av aldolprodukt **39**

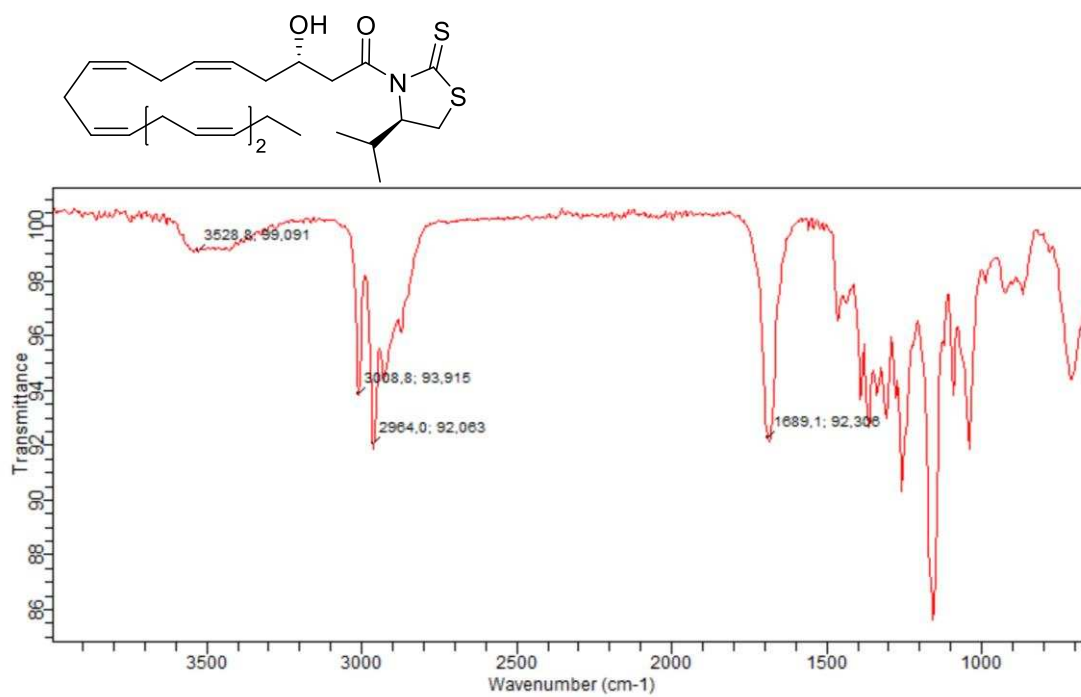


Figur S-55: IR-spektrum av aldolprodukt **40**

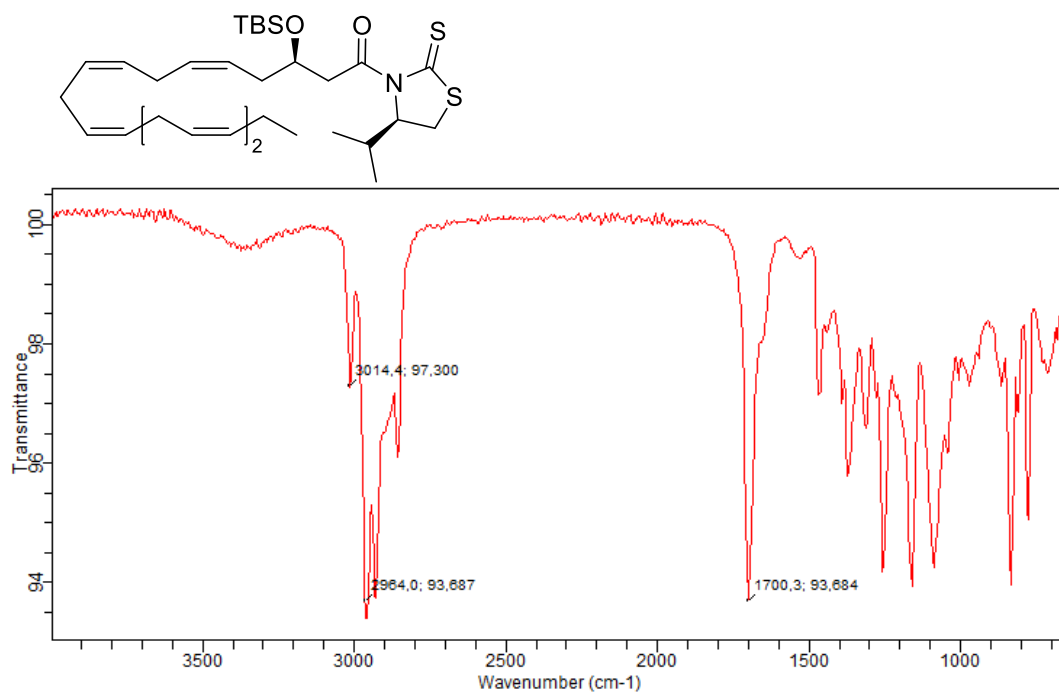




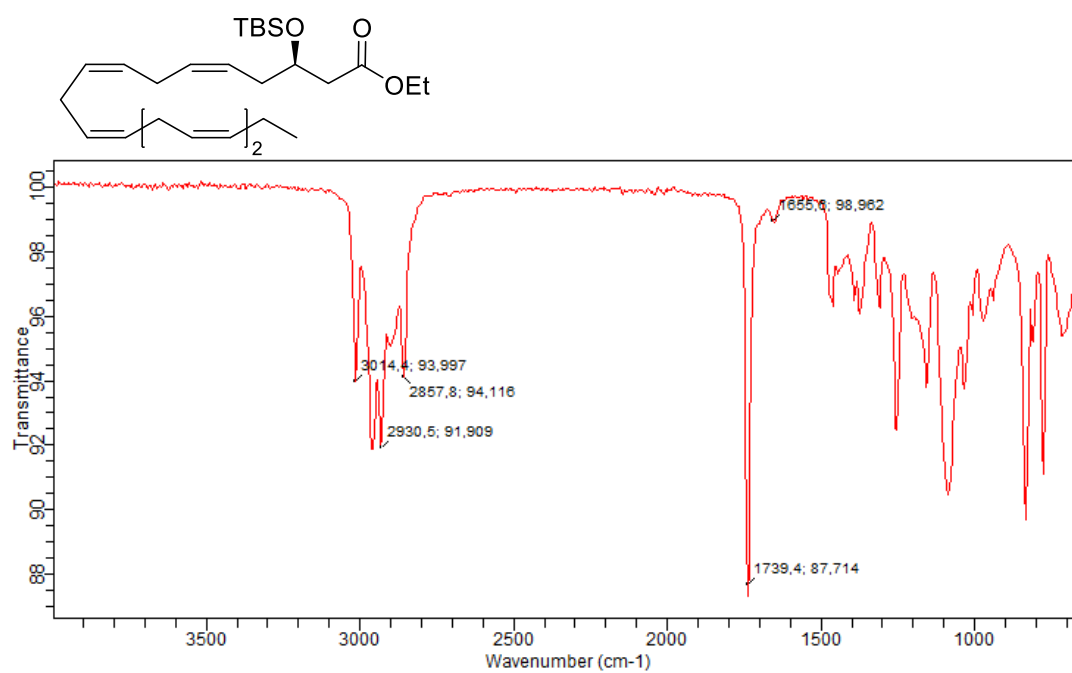
Figur S-56: IR av aldolprodukt 25



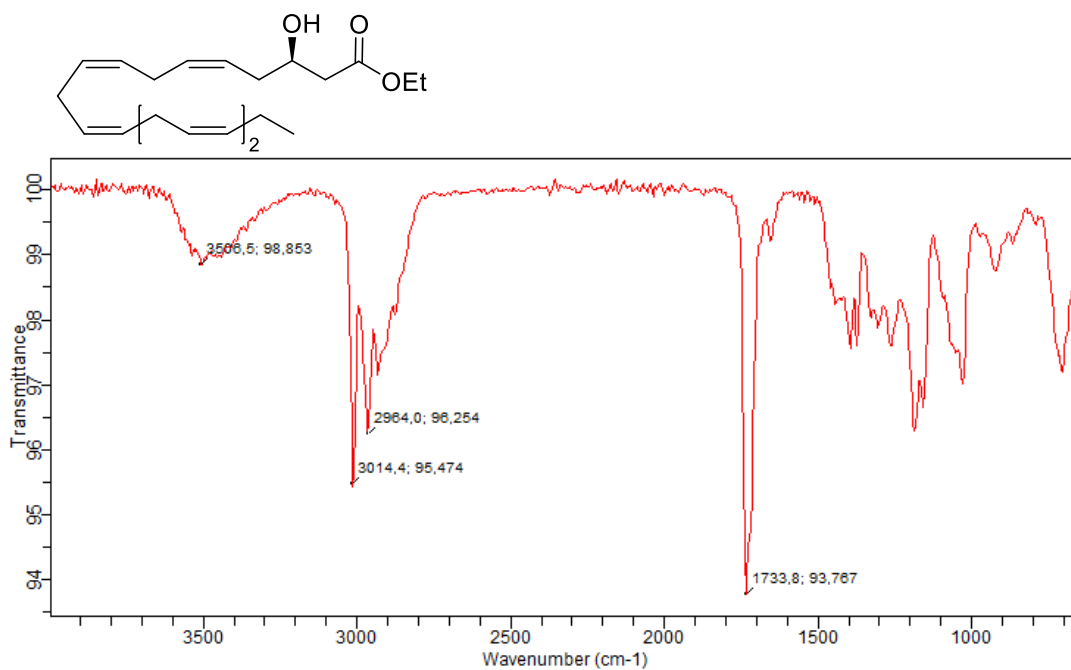
Figur S-57: IR av aldolprodukt 43



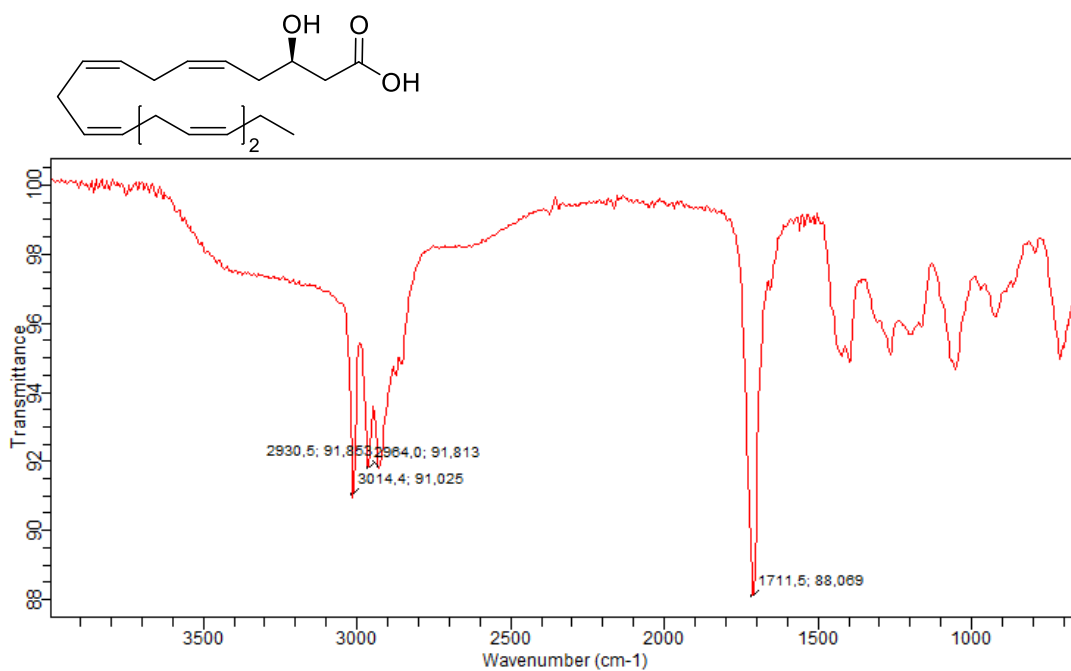
Figur S-58: IR-spektrum av TBS-beskyttet aldolprodukt **24**



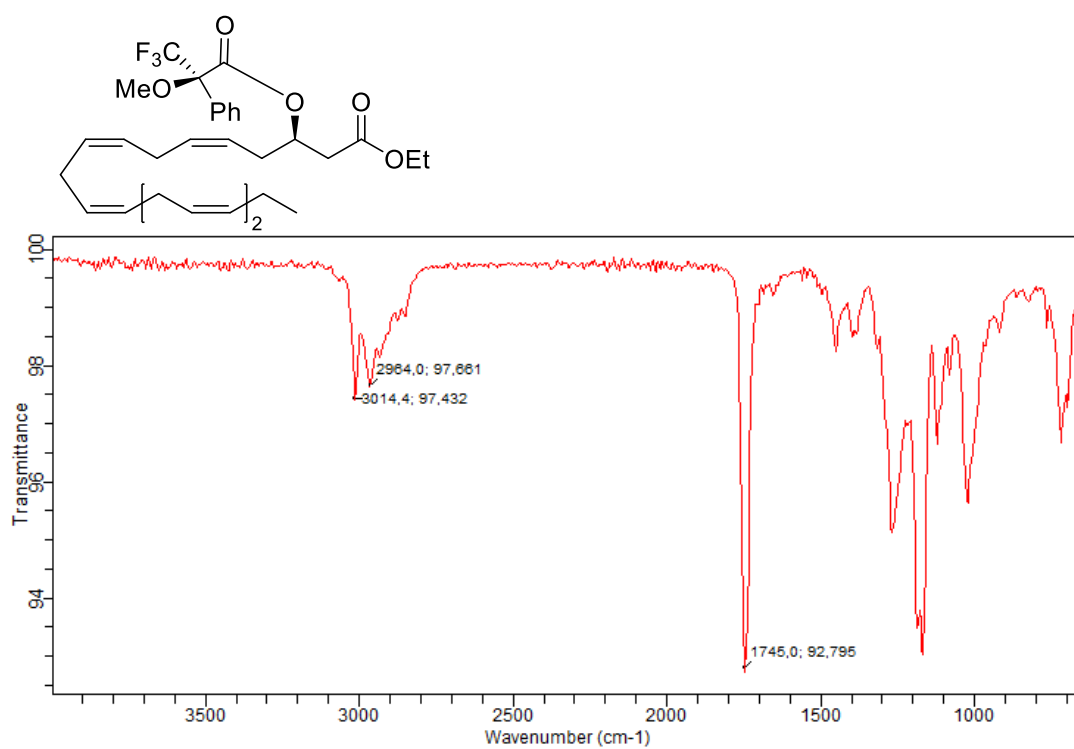
Figur S-59: IR-spektrum av TBS-beskyttet etylester **23**



Figur S-60: IR-spektrum av etylester **22**

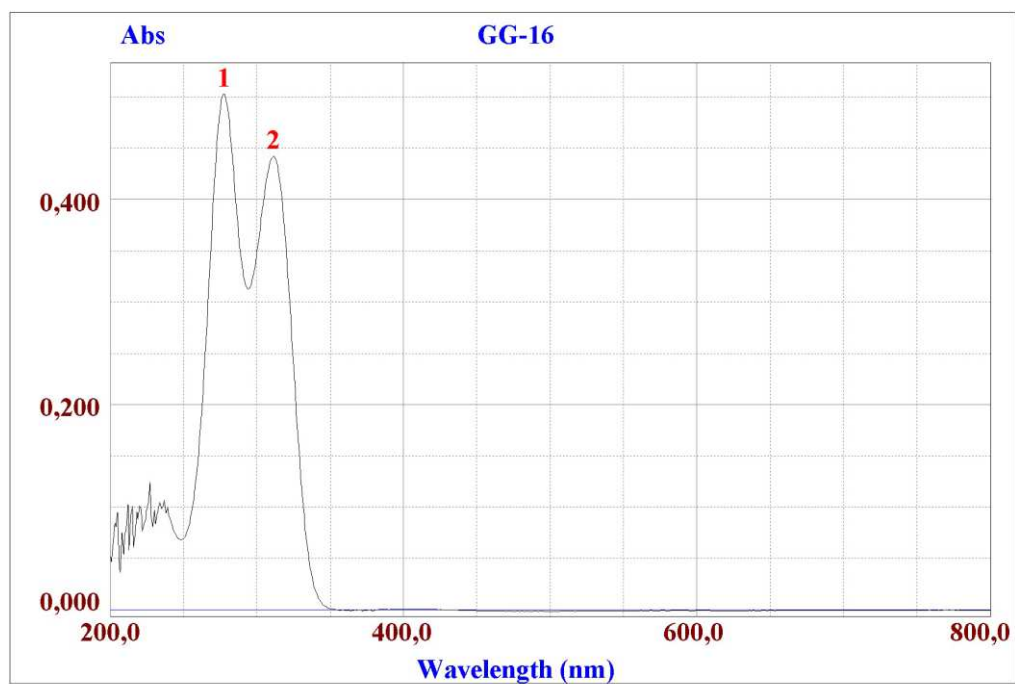


Figur S-61: IR-spektrum av 3(*R*)-HEPE (**1**)

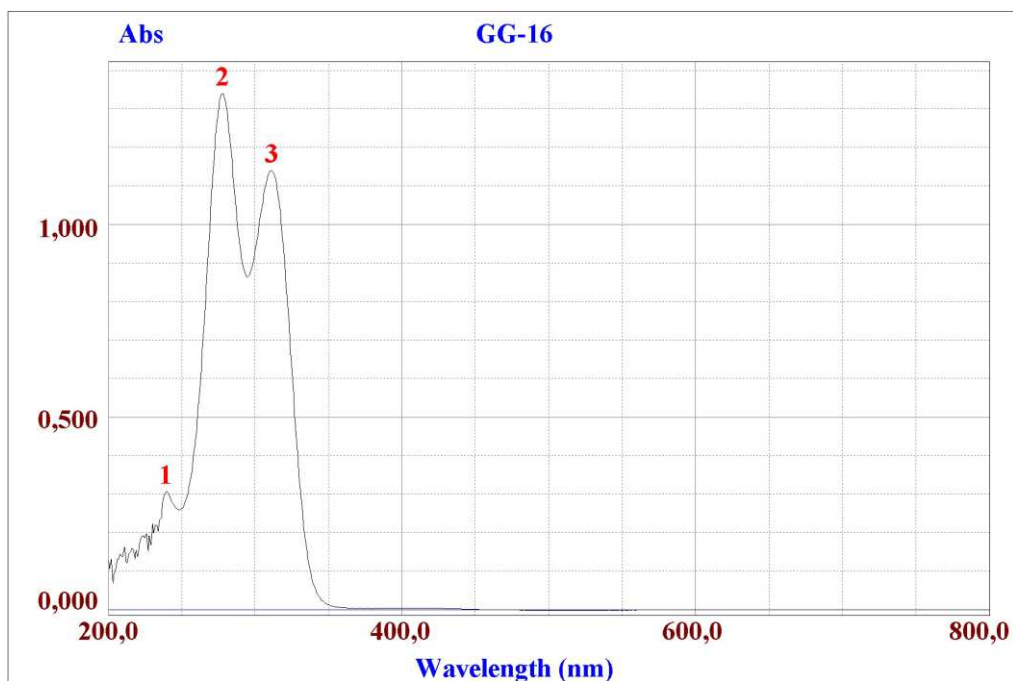


Figur S-62: IR-spektrum av Mosher-ester 44

### 7.3 UV spektraldata

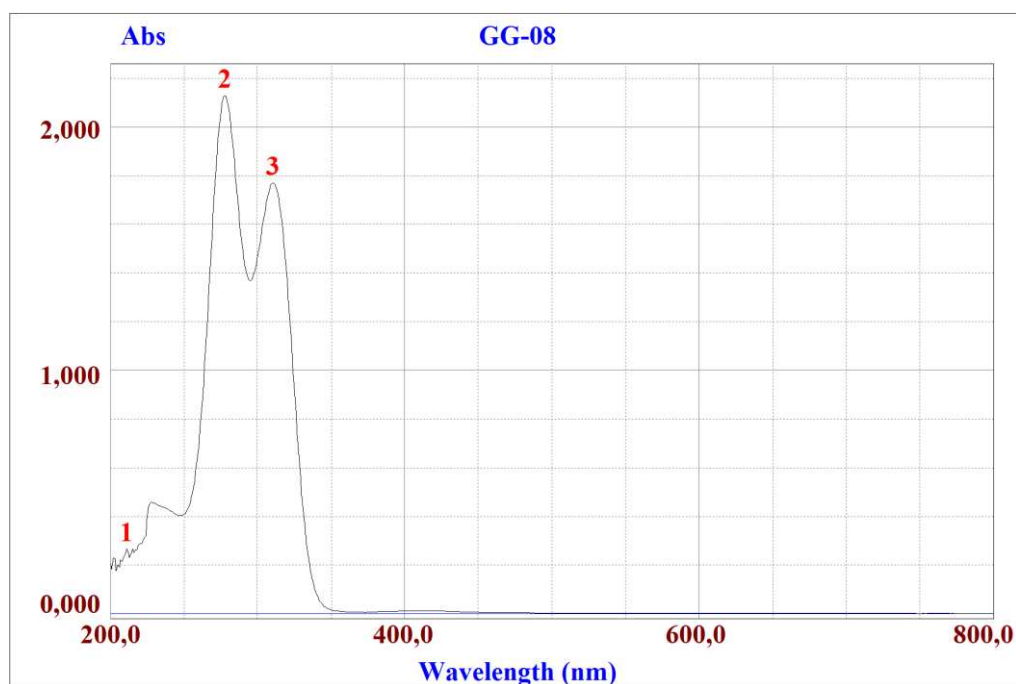


Figur S-63: UV-spektrum av aldolprodukt 39



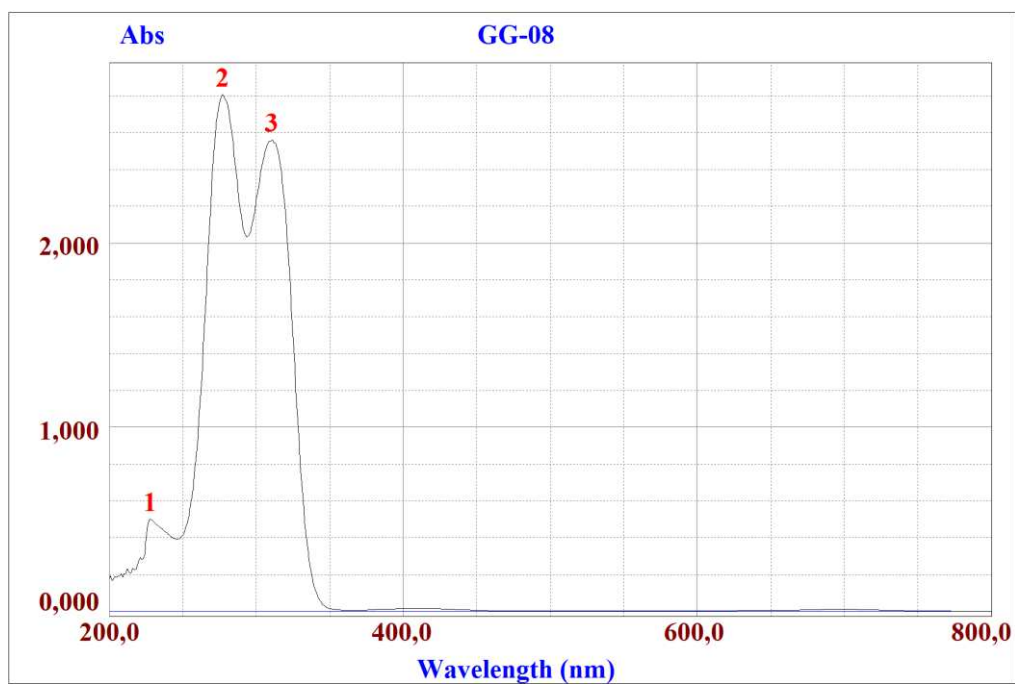
<u>No.</u>	<u>Peak Type</u>	<u>Position</u>	<u>Height</u>
1	Peak	239,6	0,308
2	Peak	277,6	1,341
3	Peak	311,0	1,141

Figur S-64: UV-spektrum av aldolprodukt 40



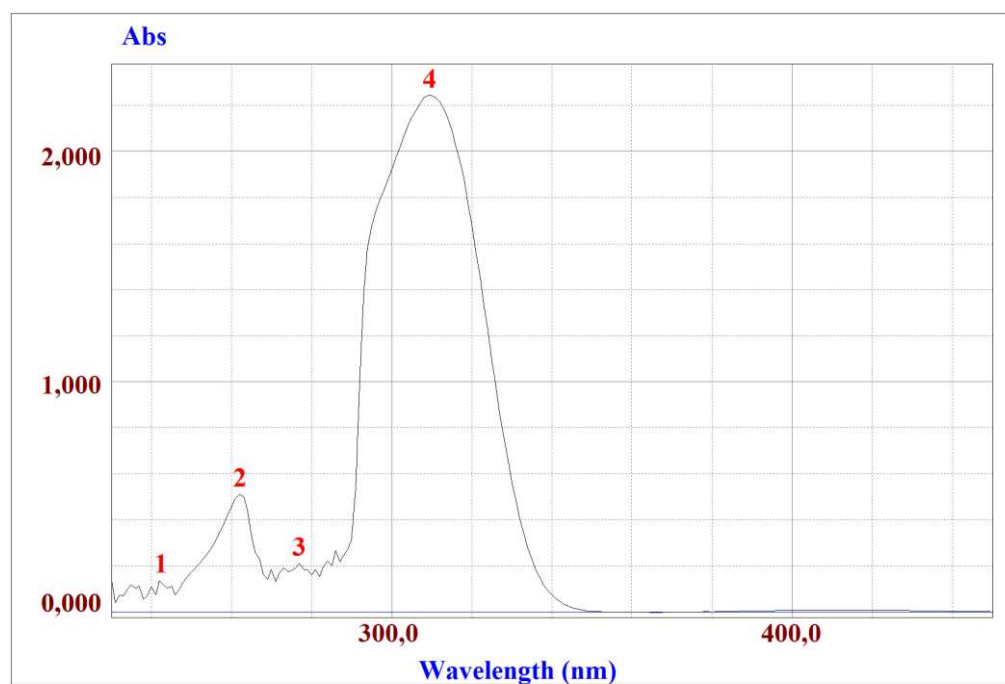
<u>No.</u>	<u>Peak Type</u>	<u>Position</u>	<u>Height</u>	<u>Area</u>	<u>Start</u>	<u>End</u>
1	Peak	211,2	0,267			
2	Peak	277,7	2,129			
3	Peak	310,5	1,770			

Figur S-65: UV-spektrum av aldolprodukt 25



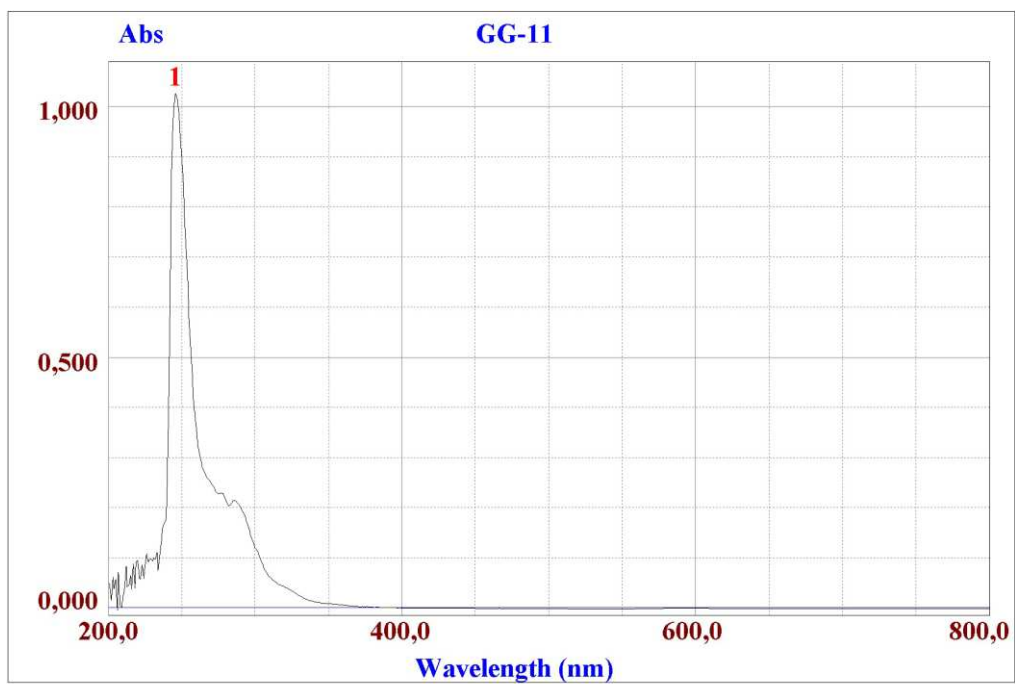
<u>No.</u>	<u>Peak Type</u>	<u>Position</u>	<u>Height</u>	<u>Area</u>	<u>Start</u>	<u>End</u>
1	Peak	227,7	0,502			
2	Peak	277,2	2,808			
3	Peak	310,7	2,560			

Figur S-66: UV-spektrum av aldolprodukt 43



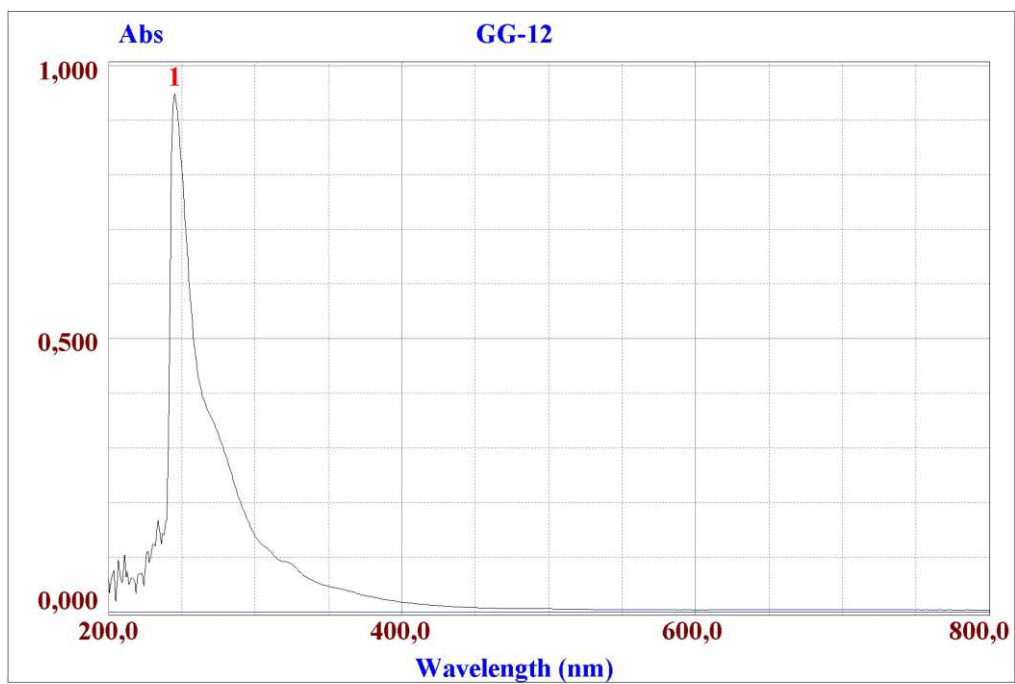
<u>No.</u>	<u>Peak Type</u>	<u>Position</u>	<u>Height</u>
1	Peak	242,3	0,136
2	Peak	262,2	0,513
3	Peak	276,9	0,212
4	Peak	309,5	2,244

Figur S-67: UV-spektrum av TBS-beskyttat aldolprodukt 24



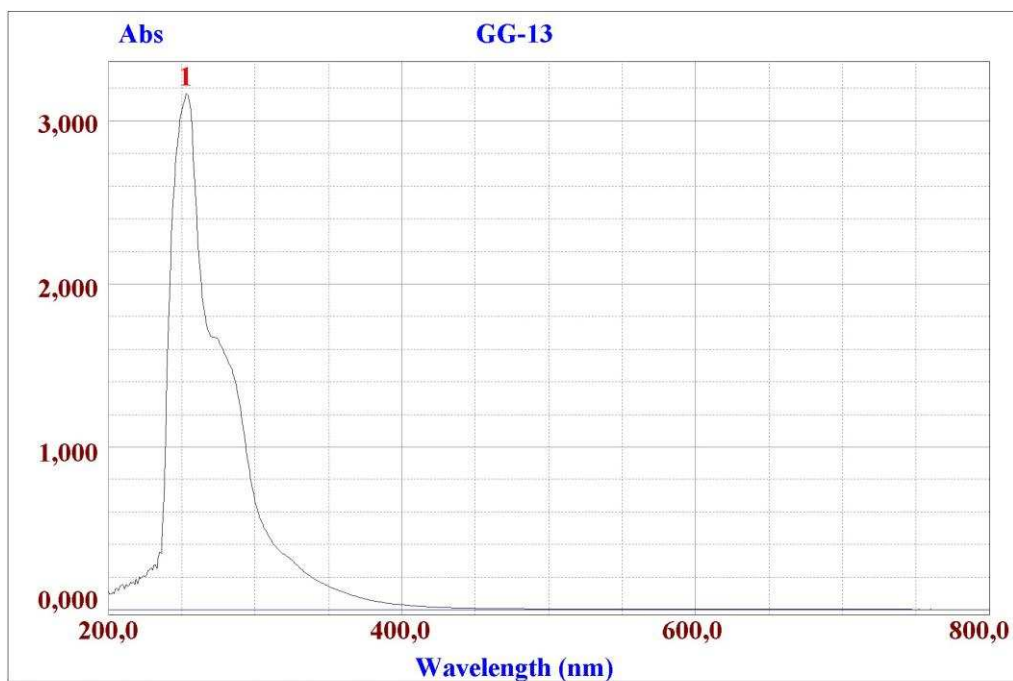
<u>No.</u>	<u>Peak Type</u>	<u>Position</u>	<u>Height</u>
1	Peak	245,8	1,027

Figur S-68: UV-spektrum av TBS-beskyttet etylester 23



<u>No.</u>	<u>Peak Type</u>	<u>Position</u>	<u>Height</u>	<u>Area</u>	<u>Start</u>	<u>End</u>
1	Peak	245,3	0,949			

Figur S-69: UV-spektrum av etylester 22



No.	Peak Type	Position	Height
1	Peak	253,4	3,169

Figur S-70: UV-spektrum av 3(R)-HEPE (1)

## 7.4 HRMS Spektraldata

### Elemental Composition Report

Page 1

#### Single Mass Analysis

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

Isotope cluster parameters: Separation = 1.0 Abundance = 1.0%

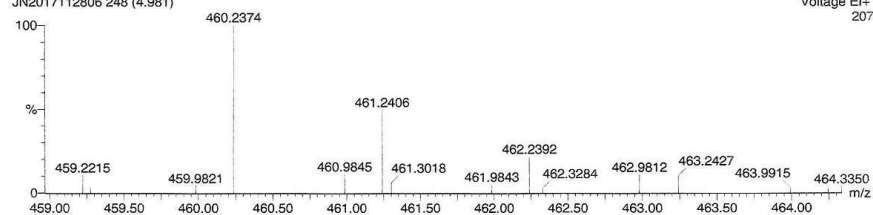
Monoisotopic Mass, Odd and Even Electron Ions

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

GG-Ma 461.24

JN2017112806 248 (4.981)

Voltage EI+  
207



Minimum:

Maximum: 200.0 10.0 -1.5

50.0

Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Score	Formula
461.2406	461.2422	-1.6	-3.5	8.0	1	C <sub>26</sub> H <sub>39</sub> N O <sub>2</sub> S <sub>2</sub>

Figur S-71: HRMS av aldolprodukt 25(C<sub>26</sub>H<sub>39</sub>NO<sub>2</sub>S<sub>2</sub>)



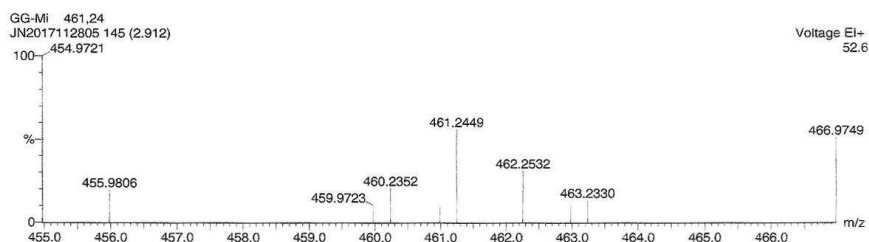
## Single Mass Analysis

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

Isotope cluster parameters: Separation = 1.0 Abundance = 1.0%

Monoisotopic Mass, Odd and Even Electron Ions

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



Minimum: -1.5  
Maximum: 200.0 10.0 50.0

Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Score	Formula
461.2449	461.2422	2.7	5.8	8.0	1	C <sub>26</sub> H <sub>39</sub> N O <sub>2</sub> S <sub>2</sub>

Figur S-72: HRMS av aldolprodukt **43** (C<sub>26</sub>H<sub>39</sub>NO<sub>2</sub>S<sub>2</sub>)

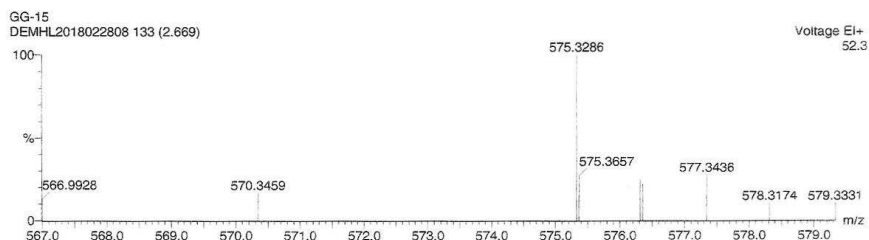
## Single Mass Analysis

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

Isotope cluster parameters: Separation = 1.0 Abundance = 1.0%

Monoisotopic Mass, Odd and Even Electron Ions

572 formula(e) evaluated with 9 results within limits (up to 50 closest results for each mass)



Minimum: -1.5  
Maximum: 200.0 10.0 50.0

Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Score	Formula
575.3286	575.3287	-0.1	-0.2	8.0	3	C <sub>32</sub> H <sub>53</sub> N O <sub>2</sub> S <sub>2</sub> Si
	575.3281	0.5	0.9	9.0	6	C <sub>32</sub> H <sub>49</sub> N O <sub>6</sub> S
	575.3260	2.6	4.5	3.5	2	C <sub>29</sub> H <sub>55</sub> O <sub>5</sub> S <sub>2</sub> Si
	575.3314	-2.8	-4.9	22.5	9	C <sub>43</sub> H <sub>43</sub> O
	575.3314	-2.8	-4.9	4.0	1	C <sub>29</sub> H <sub>53</sub> N O <sub>6</sub> S <sub>2</sub>
	575.3256	3.0	5.3	13.0	5	C <sub>36</sub> H <sub>49</sub> N O S <sub>2</sub>
	575.3253	3.3	5.7	13.0	7	C <sub>35</sub> H <sub>49</sub> N O <sub>2</sub> S Si
	575.3247	3.9	6.8	14.0	8	C <sub>35</sub> H <sub>45</sub> N O <sub>6</sub>
	575.3229	5.7	9.9	8.5	4	C <sub>33</sub> H <sub>51</sub> O <sub>4</sub> S <sub>2</sub>

Figur S-73: HRMS av TBS-beskyttet aldolprodukt **24** (C<sub>32</sub>H<sub>53</sub>NO<sub>2</sub>S<sub>2</sub>Si)

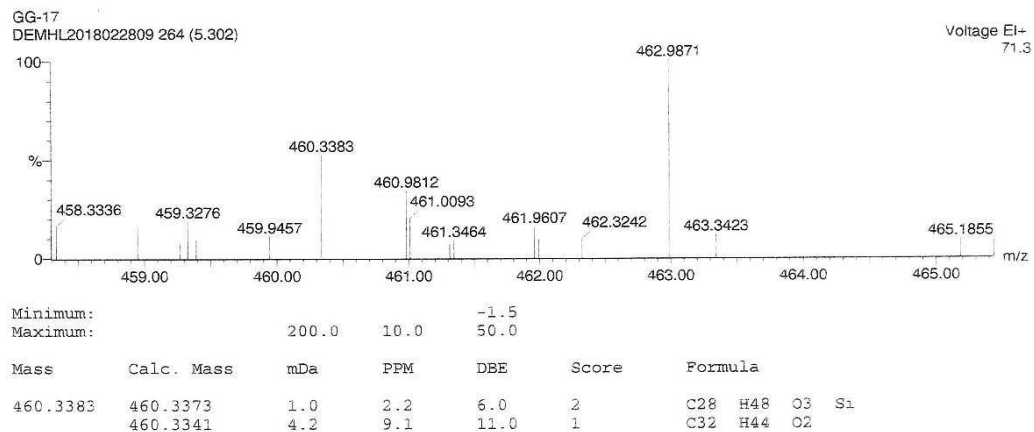
## Single Mass Analysis

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

Isotope cluster parameters: Separation = 1.0 Abundance = 1.0%

Monoisotopic Mass, Odd and Even Electron Ions

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

Figur S-74: HRMS av TBS-beskyttet etylester **23** (C<sub>28</sub>H<sub>48</sub>O<sub>3</sub>Si)

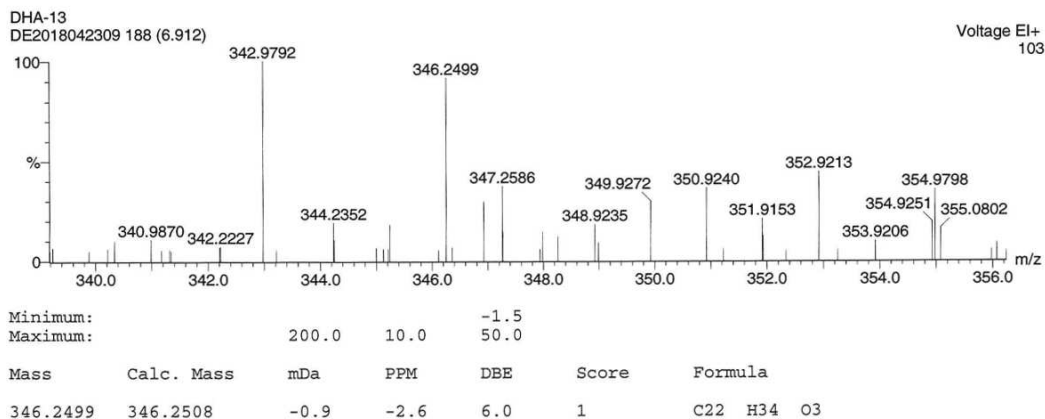
## Single Mass Analysis

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

Isotope cluster parameters: Separation = 1.0 Abundance = 1.0%

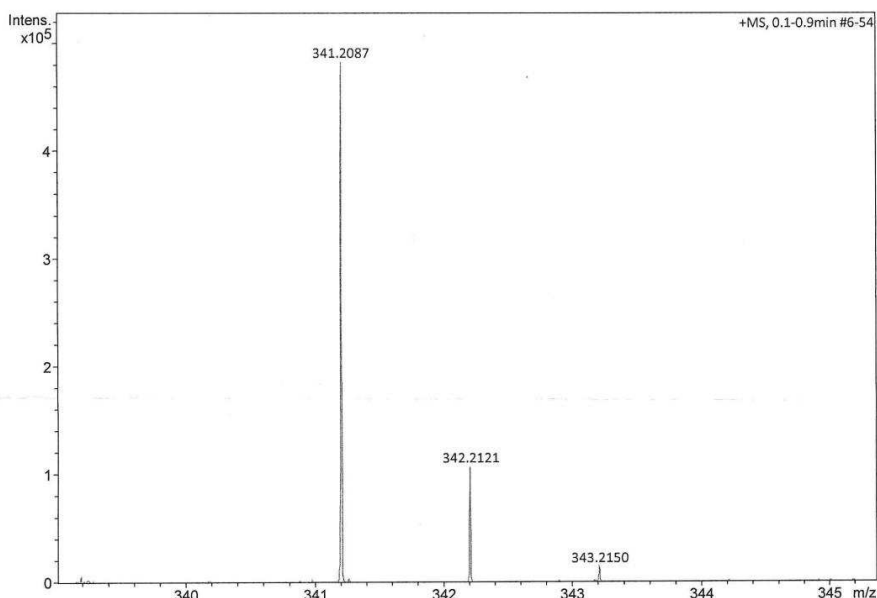
Monoisotopic Mass, Odd and Even Electron Ions

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

Figur S-75: HRMS av etylester **22** (C<sub>22</sub>H<sub>34</sub>O<sub>3</sub>)

**Acquisition Parameter**

Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Set Nebulizer	0.4 Bar
Focus	Not active	Set Capillary	3500 V	Set Dry Heater	200 °C
Scan Begin	50 m/z	Set End Plate Offset	-500 V	Set Dry Gas	4.0 l/min
Scan End	1500 m/z	Set Charging Voltage	2000 V	Set Divert Valve	Waste
		Set Corona	0 nA	Set APCI Heater	0 °C

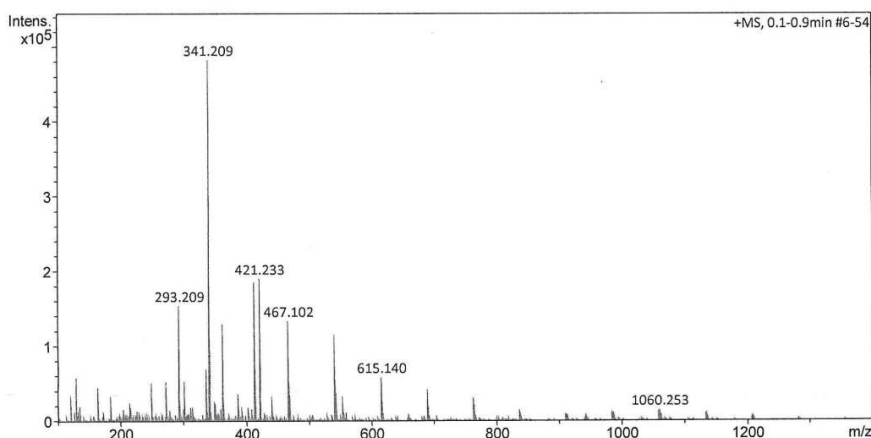


Meas. m/z	Ion Formula	m/z	err [ppm]
341.2087	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> NaO <sub>3</sub>	341.2087	0.1
	C <sub>18</sub> H <sub>25</sub> N <sub>6</sub> O	341.2084	-0.7
	C <sub>22</sub> H <sub>29</sub> O <sub>3</sub>	341.2111	7.1
	C <sub>16</sub> H <sub>26</sub> N <sub>6</sub> NaO	341.2060	-7.8
	C <sub>17</sub> H <sub>29</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	341.2071	-4.7

Figur S-76: HRMS av 3(R)-HEPE (1) (C<sub>20</sub>H<sub>30</sub>O<sub>3</sub>)

**Acquisition Parameter**

Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Set Nebulizer	0.4 Bar
Focus	Not active	Set Capillary	3500 V	Set Dry Heater	200 °C
Scan Begin	50 m/z	Set End Plate Offset	-500 V	Set Dry Gas	4.0 l/min
Scan End	1500 m/z	Set Charging Voltage	2000 V	Set Divert Valve	Waste
		Set Corona	0 nA	Set APCI Heater	0 °C



#	m/z	I %	#	m/z	I %
1	129.052	12.0	11	413.266	38.5
2	164.920	9.4	12	414.270	10.6
3	249.182	10.5	13	421.233	39.3
4	273.167	11.1	14	422.236	8.2
5	293.209	31.9	15	467.102	27.6
6	301.141	11.0	16	468.103	11.1
7	337.235	14.5	17	541.121	24.0
8	341.209	100.0	18	542.121	11.6
9	342.212	22.2	19	615.140	12.2
10	363.191	27.0	20	689.158	8.8

Figur S-77: MS av 3(R)-HEPE (1)

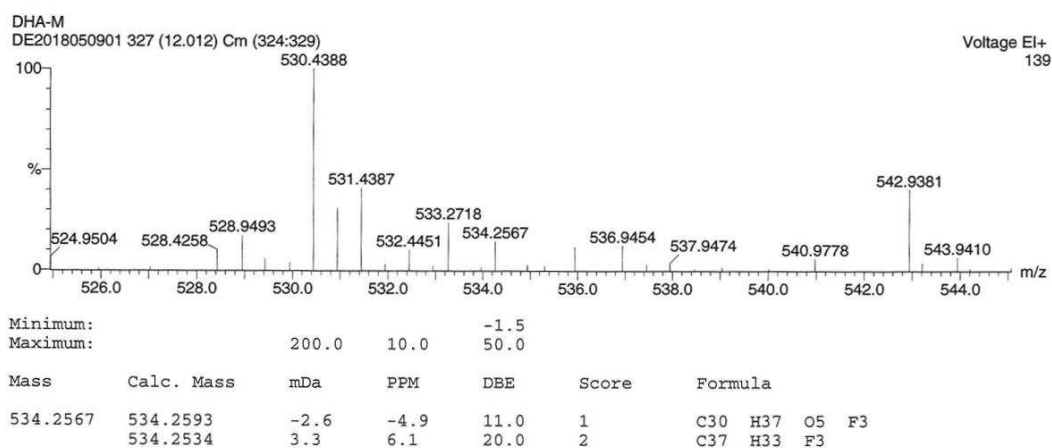
## Single Mass Analysis

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

Isotope cluster parameters: Separation = 1.0 Abundance = 1.0%

Monoisotopic Mass, Odd and Even Electron Ions

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

Figur S-78: HRMS av Mosher-ester **44** (C<sub>32</sub>H<sub>41</sub>O<sub>5</sub>F<sub>3</sub>) med avspalting av C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>





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

Postboks 5003  
NO-1432 Ås  
Norway