



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Masteroppgave 2020 60 stp

Fakultet for kjemi, bioteknologi og matvitenskap (KBM)

Forsøk på syntese av monogalaktosyldiacylglyseroler og syntese av pakkemateriale til HPLC- kolonne for separasjon av oligosakkarider.

Attempt on the synthesis of
monogalactosyldiacylglycerols and the synthesis of
stationary phase for HPLC column for separation of
oligosaccharides.

Dorentina Osmani

Studieprogram for kjemi

Forord

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

Jeg vil først takke min hovedveileder doktor Simen Antonsen og medveileder professor Yngve Stenstrøm for en spennende oppgave, og god veiledning med både det praktiske og teoretiske arbeid. Jeg vil også takke for all inspirasjon og gode samtaler.

Takk til professor Vincent Eijsink, professor Morten Sørli og Ph.d. stipendiat Silje Benedicte Lorentzen for samarbeidet i deler av oppgaven, samt anskaffelse av kjemikalier. Takk til professor Dag Ekeberg og senioringeniør Hanne Devle for MS-analyser av forbindelser syntetisert i denne oppgaven, og takk til overingeniør Anne Gravidahl for bestilling av kjemikalier.

Jeg vil også takke mine medstudenter for et fint år og morsomme stunder. Jeg vil spesielt takke Kristin Lye for det gode samarbeidet.

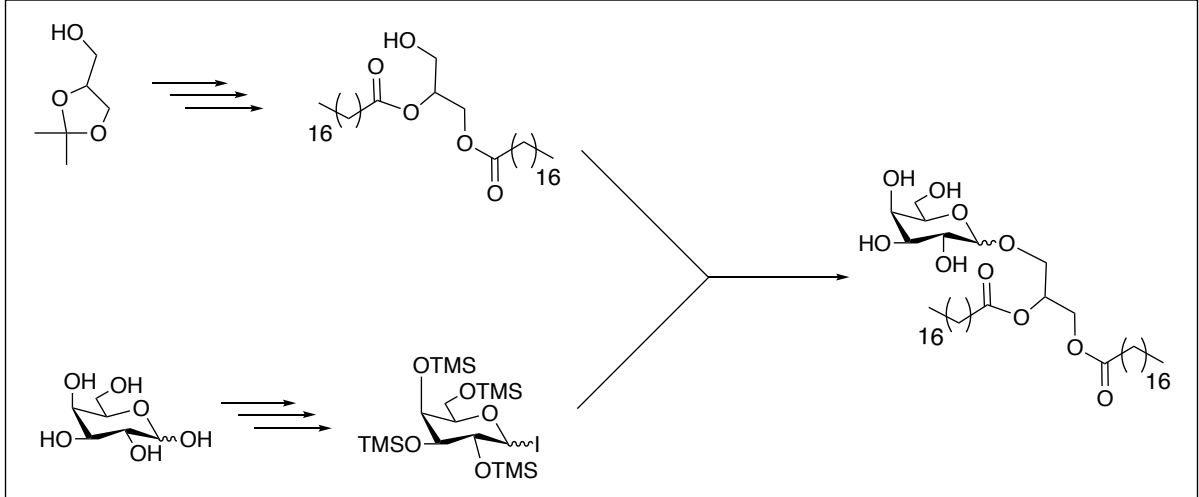
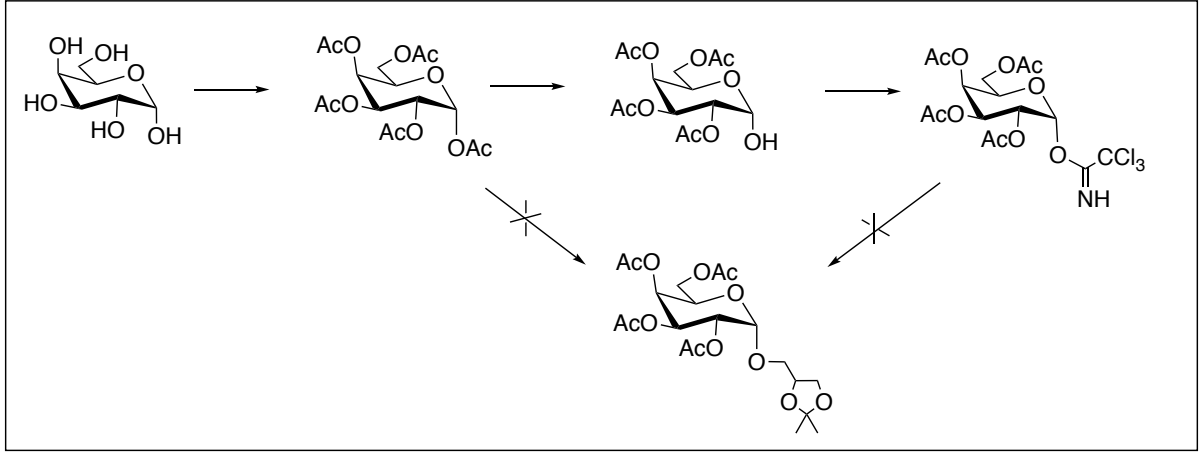
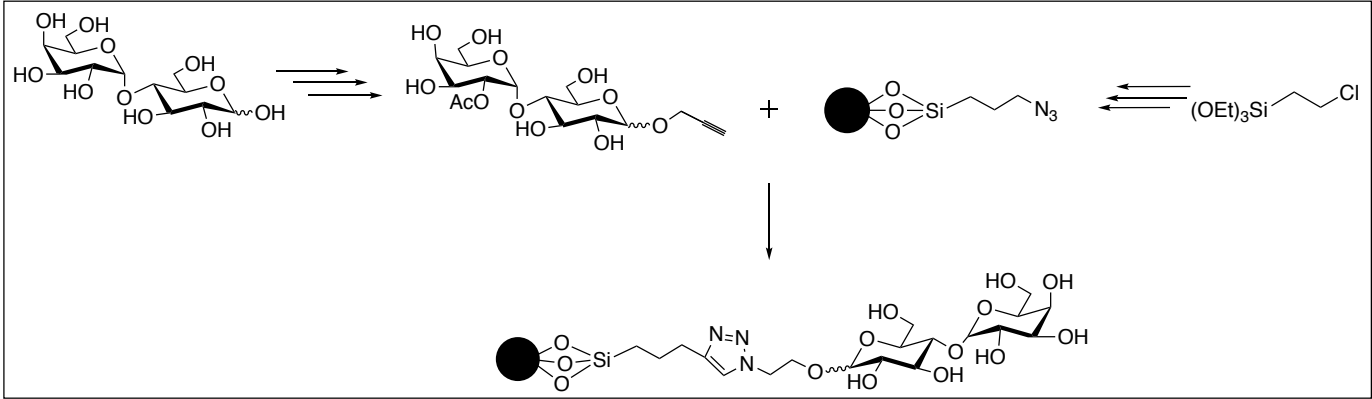
Denne oppgaven ble skrevet under spesielle omstendigheter, med lockdown som følge av COVID-19 og senere strenge restriksjoner for å kunne overholde regjeringens krav for smittevern. I tillegg gjorde en laboratoriebrann i kjemiavdelingen at arbeidet med oppgaven stagnerte. Derfor vil jeg vise takknemlighet ovenfor alle som har gjort det mulig å fullføre arbeidet til tross for dette, og vist forståelse for omstendighetene.

Tilslutt vil jeg takke familien for all støtte og oppmuntring gjennom hele studiet.

Ås, August 2020

Dorentina Osmani

Grafisk sammendrag



Sammendrag

I 2007 ble det rapportert en syntese av kolonnemateriale for separasjon av polare forbindelser (som polysakkarider) rapportert. Dette ble kalt «klikk sakkarid» av forfatterne. I denne oppgaven ble «klikk-maltose» syntetisert ved bruk av klikk-kjemi mellom en maltoseenhet og silikapolymer. Hensikt var å bruke dette til kolonnemateriale for å separere fraksjoner chitooligosakkarider fra hverandre. Videre skulle egenskapene for disse forbindelse undersøkes. Samtidig ble det forsøkt å syntetisere monogalaktosyl-diacylglyserol (MGDG) for å kunne kartlegge fettsyreprofilen i algen *Laminaria hyperboroea*.

Peracetyllert maltose og propargylalkohol ble reagert for å danne korresponderende propargylglykosid. Trietylsilylazid og silika ble koblet sammen via en foretringsreaksjon for å gi 3-azidpropan bundet på silikapolymeren. Avslutningsvis ble det utført en klikk-reaksjonen mellom alkynylglykosidet og silikapolymeren. Dette resulterte i produktet omtalt som «klikk-maltose».

MGDGER ble forsøkt syntetisert via en konvergent syntese, der aktivert galaktose og 1,2-diacylglyserol skulle kobles sammen. Det ble fokusert på to ulike aktiveringsstrategier for glykosileringsreaksjonen, trikloracetimidat og glykosylhalider.

Da dette ikke lyktes, prøvde vi å heller en mer lineær tilnærming, der vi reagerte beskyttet og aktivert galaktose med fullt funksjonelle glykolipider. Grunnet uforutsette hendelser, fikk vi ikke muligheten til å fullføre denne strategien.

Abstract

In 2007, a synthesis of column material for separation of polar compound (such as polysaccharides) was reported. This was called “click saccharide” by the authors. In this thesis, “click-maltose” was synthesized using click-chemistry between a maltose-unit and silica polymer. The intention was to use the compound as column material in order to separate fractions of chitooligosaccharides, so that further studies of their properties may be conducted. Trials for synthesizing of MGDG’s (monogalactosyl-diacylglycerol) were also conducted, in order to characterize compounds in algae *Laminaria hyperborea*.

First per acetylated maltose and propargyl alcohol were linked together to form the corresponding propargylglycoside. Triethylsilyl azide and silica were linked together via an ether reaction to produce 3-azidopropane connected to a silicapolymer. At last, the click-reaction was performed between the alkynylglycoside and silicapolymer. This resulted in the formation of the so called “click maltose”.

It was attempted to synthesize MGDG through a convergent synthesis, where activated galactose and fully functionalized glycolipids were to be connected. Two different activations strategies for glycosylation reactions were attempted with trichloroacetimidate and halides.

When the first strategy was not successful, a new linear approach was attempted, where activated galactose was reacted with fully functionalized glycolipids. Unfortunately, because of unforeseen events the strategy was not completed.

Forkortelser og begreper

AA	Auxiliary activities
Ac	Acetyl
ACP	Acyl bæreprotein
Bn	Benzyl
Bz	Benzoyl
CDH	Cellobiose dehydrogenase
CHOS	Chotinoooligosakkarider
CuAAC	kobberkatalysert azid-alkyn sykloaddisjon
DAG	Diacylglyserol
DBU	1,8-Diazabicyclo(5.4.0)undec-7-ene
DCC	<i>N,N</i> -disykoheksylkarbodiimid
DCM	Diklormetan
DGDG	Digalaktosyl-diacylglyserol
DMAP	4-dimetylaminopyridin
DMTST	Dimetyl(metyltio)sulfonium-tetrafluorborat
EDTA	Etylendiamintetraeddiksyre
ER	endoplasmatisk retikulum
FAS	Fettsyresyntase
GH	Glykosid hydrolaser
GH	Glykosidhydrolaser
HMDS	Bis(trimetylsilyl)amin
LPA	Lyfosfatidid syre
OTf	trifluormetansulfonat
MGDG	Monogalaktosyl-diacylglyserol
NIS	N-jodsukkamid
PA	Fosfatidsyre
PPG	Permanent beskyttelsesgruppe
pTsOH	p-Toluensulfonsyre
SEC	Size exclusion chromatography
SQDG	Sulfoquinovosyldiacylglyserol
TFA	Trifluoreddiksyre
TfOH	Trifluormetansulfonsyre
THF	Tetrahydrofuran
TMA	Trimetylamin
TMSI	Trimetulsilyljodid
TMSOTf	Trimetylsilyl triflurometansulfonat
TPG	Midlertidig beskyttelsesgruppe

Glykosid: en forbindelse der en funksjonell gruppe eller molekyl er bundet til karbohydrat via en glykosidbinding.

Glykokonjugat: er en generell klassifisering for karbohydrater bundet til andre biomolekyler, som proteiner, peptider, lipider.

Glykosidbindinger: er en binding mellom karbohydrat og en annen funksjonell gruppe eller molekyl.

Glykan: forbindelse bestående av et stort antall monosakkarider linket via glykosidbindinger. I praksis brukes begrepet om karbohydratedelen i et glykosid.

Glykosyl: Den sykliske formen av et monosakkarid der hemiacetal hydroksylgruppen er fjernet.

Glykosyldonor: Et karbohydrat (helst mono- eller oligosakkarider) som vil reagere med en akseptor. I praksis betyr dette at karbohydratet har en utgående gruppe i den anomere posisjonen.

Glykosylakseptor: et hvilket som helst molekyl med passende nukleofil som kan reagere med en glykosyldonor for å danne en glykosidbinding

Aglykon: komponentene som er igjen i et glykokonjugat etter at sukkeret er spaltet av.

Funksjonalisering av karbohydrater: sette på en funksjonell gruppe på karbohydrat via glykosyleringsreaksjon.

Innholdsfortegnelse

FORORD	I
GRAFISK SAMMENDRAG	III
SAMMENDRAG	IV
ABSTRACT	V
FORKORTELSER OG BEGREPER	VI
INNHOLDSFORTEGNELSE.....	VIII
1. INNLEDNING	1
1.1 MÅL OG BAKGRUNN.....	1
1.1.1 Syntese av «Klikk-Maltose»	1
1.1.2 Syntese av MGDGer og DGDGer	2
1.2 NATURPRODUKTER	3
1.2.1 Karbohydrater.....	5
1.2.2 Chitooligosakkarider	8
1.2.3 Marine glykolipider	11
1.3 KJEMISK BAKGRUNN	18
1.3.1 Klikk-kjemi	18
1.3.2 Karbohydratsyntese	21
1.3.3 Beskyttelsesgrupper og aktivering	32
2. RESULTATER OG DISKUSJON	37
2.1 SYNTese AV «KLIKK-MALTOSE».....	37
2.1.1 Syntese av alkynylglykosid 72.....	37
2.1.2 Syntese av triazol 1	40
2.2 SYNTese AV MGDG: STRATEGI A.....	43
2.2.1 Metode 1 for forsøk på syntese av glykosid 82.....	44
2.2.2 Metode 2 for forsøk på syntese av glykosid 82.....	47
2.3 SYNTese AV MGDG: STRATEGI B	48
2.3.1 Syntese av glykosylakseptor 89.....	49
2.3.2 Syntese av glykosyldonor 44.....	56
2.3.3 Koblingsreaksjon for å danne glykosid 90	57
3. KONKLUSJON OG VIDERE ARBEID	60
4. EKSPERIMENTELT	61
4.1 «KLIKK-MALTOSE»	62

4.1.1 Syntese av <i>D</i> -glycopyranose,4- <i>O</i> -(2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetyl- <i>D</i> -glukopyranosyl)-, 1,2,3,6-tetraacetat (76)	62
4.1.2 Syntese av <i>D</i> -glukopyranosid, 2-propyn-1-yl 4- <i>O</i> -(2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetyl- <i>D</i> -glukopyranosyl) 2,3,6-triacetat (77)	62
4.1.3 Syntese av <i>D</i> -glukopyranosid, 2-propyn-1-yl 4- <i>O</i> - <i>D</i> -galaktopyranosyl (72)	63
4.1.4 Syntese av 3-Azidopropyltriethoxysilan (78)	64
4.1.5 Syntese av 3-Azidopropyltriethoxysilan-silika (73)	65
4.1.6 Syntese av «klikk maltose» (1)	65
4.2-MGDG: STRATEGI A	66
4.2.1 Syntese av 1,2,3,4,6-pentaacetat-glaktopyranose (79)	66
4.2.2 Syntese av 2,3,4,6-tetraacetyl-galattopyranose ()	66
4.2.3 Syntese av 2,3,4,6-tetraacetyl-galaktopyranosyl trikloracetimidat (81)	67
4.3 MGDG: STRATEGI B	68
4.3.1 Syntese av 2-propyn-1-yl-2,3,4,6-tetraacetyl-galaktopyranosyl (83)	68
4.3.2 Syntese av 1,2,3,4,6-pentatrissilyl-glaktopyranose (44)	68
4.3.3 Syntese av 3- <i>O</i> -benzyl-isopropylideneglyserol (85)	69
4.3.4 Syntese av 3- <i>O</i> -benzyl- <i>sn</i> -glyserol (86)	69
4.3.5 Syntese av 3- <i>O</i> -benzyl-1- <i>O</i> -stearin- <i>sn</i> -glyserol (87)	70
4.3.6 Syntese av 3- <i>O</i> -benzyl-1,2-stearin- <i>sn</i> -glyserol (88)	71
4.3.7 Syntese av 1,2-stearin- <i>sn</i> -glyserol (89)	71
5. REFERANSER	73
6. APPENDIX	80
6.1 ¹ H NMR- OG ¹³ C NMR- SPEKTRE AV <i>D</i> -GLYCOPYRANOSE,4- <i>O</i> -(2,3,4,6-TETRA- <i>O</i> -ACETYL- <i>D</i> -GLUKOPYRANOSYL)-, 1,2,3,6-TETRAACETAT (76)	81
6.2 ¹ H NMR- OG ¹³ C NMR- SPEKTRE AV <i>D</i> -GLUKOPYRANOSID, 2-PROPYN-1-YL 4- <i>O</i> -(2,3,4,6-TETRA- <i>O</i> -ACETYL- <i>D</i> -GLUKOPYRANOSYL) 2,3,6-TRIACETAT (77)	83
6.3 SPEKTRALE DATA AV <i>D</i> -GLUKOPYRANOSID, 2-PROPYN-1-YL 4- <i>O</i> - <i>D</i> -GALAKTOPYRANOSYL (72)	85
6.4 SPEKTRALE DATA AV 3-AZIDOPROPYLTRIETOXYSILAN (78)	88
6.5 IR-SPEKTER AV 3-AZIDOPROPYLTRIETOXYSILAN-SILIKA (73)	91
6.6 IR-SPEKTER AV «KLIKK MALTOSE» (1)	92
6.7 ¹ H NMR- OG ¹³ C NMR- SPEKTERE AV 1,2,3,4,6-PENTAACETAT-GLAKTOPYRANOSE (79)	93
6.8 SPEKTRALE DATA AV 2,3,4,6-TETRAACETYL-GALAKTOPYRANOSE (80)	95
6.9 SPEKTRALE DATA AV 2,3,4,6-TETRAACETYL-GALAKTOPYRANOSYL TRIKLORACETIMIDAT (81)	98
6.10 SPEKTRALE DATA AV 2-PROPYN-1-YL-2,3,4,5-TETRAACETYL-GALAKTOPYRANOSYL (83)	101
6.11 ¹ H NMR- OG ¹³ C NMR- SPEKTRE AV 3- <i>O</i> -BENZYL-ISOPROPYLIDENGLYSEROL (85)	104
6.12 SPEKTRALE DATA AV 3- <i>O</i> -BENZYL-SN-GLYSEROL (86)	106
6.13 SPEKTRALE DATA AV 3- <i>O</i> -BENZYL-1- <i>O</i> -STEARIN-SN-GLYSEROL (87)	109

6.14 ^1H NMR- OG ^{13}C NMR- SPEKTRE AV 3-O-BENZYL-1,2-STEARIN-SN-GLYSEROL (88)	112
6.15 SPEKTRALE DATA AV 1,2-STEARIN-SN-GLYSEROL (89)	114
6.16 ^1H NMR- OG ^{13}C NMR- SPEKTRE AV 1,2,3,4,6-PENTATRISILYL-GLAKTOPYRANOSE (44)	117

1. Innledning

1.1 Mål og bakgrunn

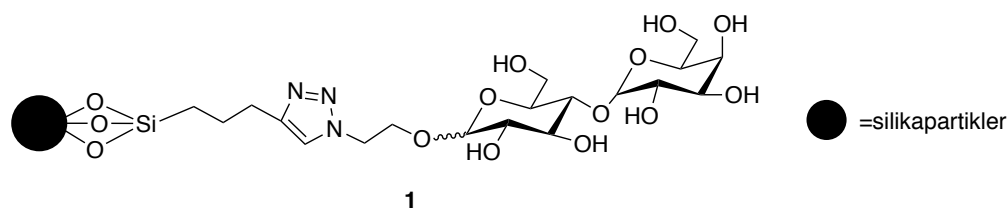
Denne oppgaven legger hovedfokus på karbohydratkjemi med syntese av to målmolekyler uavhengig av hverandre. Derfor vil oppgaven være noe todelt. Den første delen vil handle om syntese av «klikk-maltose», og bruksområder for forbindelsen. Andre del vil ta for seg syntese av naturstoffene MGDGer (monogalaktosyl-diacylglyserol) og DGDGer (digalaktosyl-diacylglyserol), som vil bli brukt som standard i fettsyreprofilering.

1.1.1 Syntese av «Klikk-Maltose»

Målet med prosjektet var å syntetisere kolonnemateriale for å skille fraksjoner av chitooligosaccharider (CHOS) med ulik lengde, grad av N-acetylering og hvor disse befinner seg for å kunne oppnå så homogene blandinger som mulig. Det var ønsket å produsere veldefinerte skiller i blandningene av CHOS og helst kunne få rene fraksjoner.

Målmolekylet (**1**) (fig.1.1) skulle syntetiseres av oss. PEP («Protein Engineering and Proteomics group») ved NMBU som står for opprensing og videre karakterisering av materialet og separasjon av CHOS.

Guo *et al.*¹ rapporterte i 2007 en syntese av kolonnemateriale for separasjon av polare forbindelser som polysakkarider. Kolonnematerialet har blitt kalt for «click saccharides», og ble syntetisert via klikk-kjemi mellom 1-*O*-propargylsakarider og 3-azidopropyltriethoxysilan-silika.



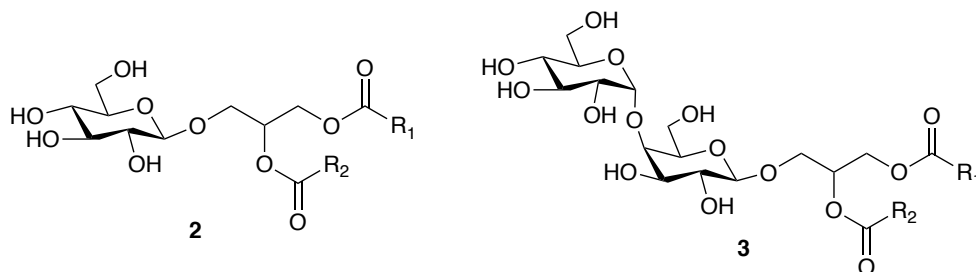
Figur 1.1 Struktur av «klikk-maltose».

Interessen for homogene blandinger av CHOS er grunnet potensiell biologisk aktivitet chitosan har. Det finnes flere studier om chitosan og deres biologiske aktivitet i motsetning til CHOS². Årsaken til dette er at det har vært vanskelig å rapportert gode nok karakteriseringer av enkeltkomponentenes egenskaper i blandingene og dermed umulig å fastslå akkurat hvilke komponenter av CHOS som gir de ønskede effektene².

CHOS er oligomerer som dannes fra chitosan enten ved kjemisk- eller enzymatisk hydrolyse, ved å bryte ustabile glykosidbindinger som resulterer i vannløselige forbindelser^{3,4}. Det er et fåtall studier gjort om bioaktiviteten og effekten av rene CHOS. Dette grunnet manglende kunnskap om de kjemiske sammensetningene. Likevel har det innen medisinsk forskning vært indikasjoner på at enkelte CHOS kan ha mulige effekter mot astma⁵⁻⁷, kan inneholde antibakterielle komponenter⁸, brukes som sårkompress⁹ og kan brukes som vektorer i genterapi¹⁰. Videre viser studier at CHOS kan redusere spredning av kreftsvulst^{11,12}, øke beinstyrken ved osteoporose¹³ og kan brukes for å inhibere chitinaser i *Plasmodium* parasitter og dermed forhindre malaria¹⁴.

1.1.2 Syntese av MGDGer og DGDGer

Overordnet var målet med prosjektet å kunne identifisere og kvantifisere fettsyrer ved GC-MS-analyser, for så å se etter helsefremmende effekter som forbindelsene kan ha. I et prosjekt der fettsyresammenstening i alger skal bestemmes både kvantitativt og kvalitativt, er det nødvendig med standard for en rekke forbindelser. Målet med prosjektet er å utvikle en generell metode for å syntetisere MGDGer **2** og DGDGer **3** hvor R₁ og R₂ er ulike fettsyrer. Vi skal starte med MGDG **2** med fettsyrene C₁₇ og C₁₉ fettsyrer. Dette prosjektet er gjort i samarbeid med professor Dag Ekeberg og medarbeidere, som vil stå for GC-MS-analysene.



Figur 1.2 Generisk struktur av MGDG (venstre) og DGDG (høyre).

Den lange norske kysten er fulle av potensielle ressurser i form av stort mangfold alger. Algen *L. Hyperborea*, en type stortare, er den viktigste makroalgen i Norge. Europas største bestander av denne arten finnes her¹⁵. Det er beregnet at den stående biomassen av algen langs norskekysten er ca. 50-60 millioner tonn, hvorav mindre enn én prosent går til årlig fangst¹⁵. Det er altså store ressurser med uoppdaget potensiale som kan være med på fylle mangler i næring i diett, supplere biomasse for bruk av brensel, eller brukes som kilde til helsefremmende forbindelser.

Interessen for lipidene kommer fra effekter som er anti-inflammatoriske, antidiabetisk og antifedme¹⁶. Glykolipidklassene MGDG, DGDG og SQDG (sulfoquinovosyldiacylglyserol) som er isolert og strukturbestemt fra algen *Laminaria hyperborea* har effekter som er antisvulst, antiherpes¹⁶. MGDGer og DGDGer utgjør omlag 70-80% av lipider funnet i fotosyntesemembranen i celler hos planter og alger¹⁷. I og med at det er store bestander av *L. hyperborea* i Norge, er det av stor interesse å finne flere bruksområder for algene.

På bakgrunn av nyoppdaget potensiell bruk av algen *L. hyperborea* er det satt i gang en større kartlegging av egenskaper glykolipidene i algene har. Årsaken til fornyet interesse for analyser av disse forbindelsene er at det tidligere er gjort lite arbeid for å bestemme fettsyreprofilen i disse, mye grunnet kompleksiteten til forbindelsene¹⁶. Alt i alt er det funnet 103 ulike fettsyrer hvorav kun 42 har blitt identifisert og kvantifisert¹⁶.

1.2 Naturprodukter

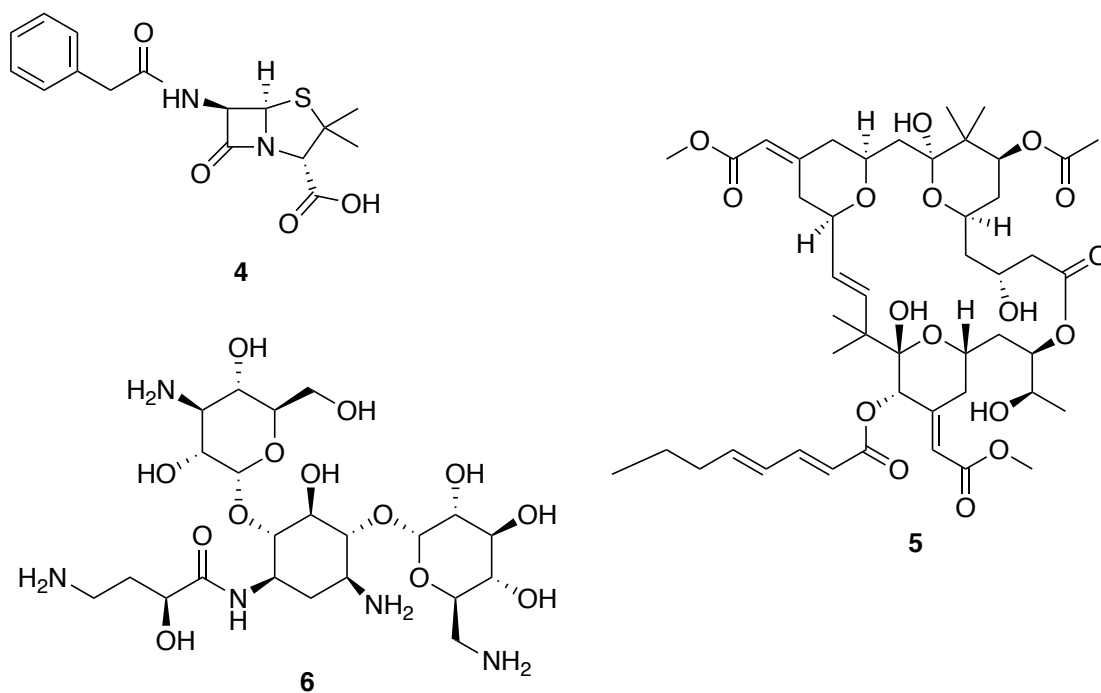
For ca 4,6 milliarder år siden ble jorden til, og ca 2 milliarder år etter oppsto det revolusjonerende mutasjoner i arvestoffer på primitive encellede organismer som gjorde at de fikk evnen til å utføre fotosyntese¹⁸. Planter og alger er noen av organismene som har fått evnen til å omdanne uorganiske forbindelser til organiske metabolitter.

Naturprodukter er kjemiske forbindelser som produseres i levende organismer¹⁹ og kan deles inn i primære og sekundære metabolitter. Primære metabolitter er direkte involvert i utvikling og vedlikehold av organismen. Noen eksempler er nukleinsyre, proteiner, karbohydrater og lignende. Sekundære metabolitter er ikke direkte involvert i disse prosessene, men kan være

viktige for å øke levedyktigheten til organismen. Eksempler på dette er steroider, terpen, alkaloider o.l.²⁰.

I mange tusen år har planter vært brukt i tradisjonell medisin. Dette gjelder også i dag, hvor naturstoffer fra planteekstrakter har vist spesielle effekter som er gunstige mot eksempelvis bakterieinfeksjoner, malaria, smerte ol. Faktisk er en tredjedel av virkestoffer i medikamenter som er klinisk brukt fra naturen, enten isolert, syntetisert eller semi-syntetisert ved modifiseringer av deres naturlige struktur²¹.

Det finnes en rekke eksempler på naturprodukter som har vært veldig viktige for mennesker, som eksempelvis penicillin G (4), ekstrahert fra *Penicillium* sopp²⁰ som har blitt benyttet mot gram-positive bakterieinfeksjoner.



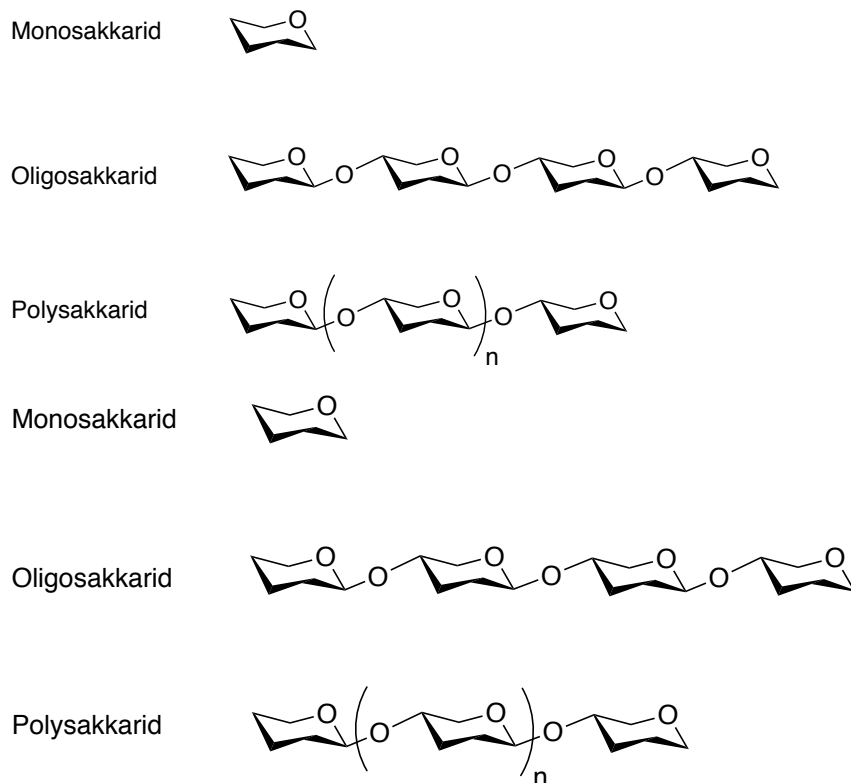
Figur 1.3 Struktur forl naturstoffene 4: penicil G²⁰, 5: byrostatin I²³ og 6: amikacin²².

Byrostatin 1 (5) er ekstrahert fra den marine organismen *Bugula neritina*²². Pettit *et al.*²³ strukturbestemte byrostatin 1 i 1982 ved krystallografi og andre spektroskopiske teknikker. Forbindelsen har en rekke biologiske aktiviteter, blant annet mot melanoma (føflekkkreft) i fase 1 studier²². Forbindelsen har også vist å forbedre hukommelse ved dyreforsøk, noe som videre har ført til interesse for at naturstoffet muligens kan brukes i behandling av Alzheimers sykdom og ved hjerneslag²⁴.

Amikacin (6), et aminoglyserid, ble i 1943 isolert fra *Streptomyces griseus*, og har vist aktivitet mot bakterieinfeksjoner. Aminoglyserider var tiltenkt for behandling av tuberkulose, men kliniske tester viste at ulempene ble ansett å være for store og forbindelsen ble utelukket til medisinsk bruk²².

1.2.1 Karbohydrater

Karbohydrater ble først brukt som et begrep for forbindelser bygd opp «hydrater av karboner», altså forbindelser bestående av vann og karbon. I dag defineres det som polyhydroksi-aldehyder og ketoner. De kan deles inn i monosakkarider (en sukkerenhet), oligosakkarider (to-ti sukkerenheter) og polysakkarider (flere enn ti sukkerenheter). Glukose og fruktose er eksempler på monosakkarider med single sukkerenheter. Stivelse, glykogen og cellulose er eksempler på komplekse sukkerer bestående av multiple sukkerenheter.



Figur 1.4 Monosakkarider, oligosakkarider og polysakkarid kjeder.

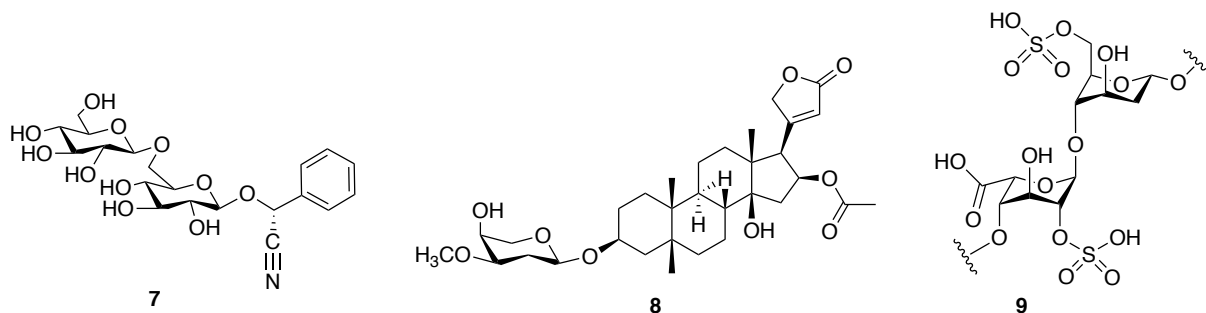
Karbohydrater er blant de mest mangfoldige byggesteinene i planter, dyr og mikroorganismer. De er endeprodukt av fotosyntesen og en av de viktigste energikilden i menneskets diett ved

karbohydratmetabolisme^{25, 26}. Karbohydratmetabolisme involverer glykolyse, der lange kjeder med karbohydrater blir brutt ned til pyruvat, og sitronsyresyklusen som omdanner, i grove trekk, pyruvat til høyenergetiske molekyler av ATP.

Naturstoffer tilhørende karbohydratklassen er involvert i en rekke biologiske prosesser, som proteinfolding, celle-celle kommunikasjon, bakteriell adhesjon, virusinfeksjoner, maskere immunologiske epitoper, befruktning, embryogenese, celleproliferasjon og utvikling av det nevralt nettverket i hjernen²⁷⁻²⁹. De er også komponenter i RNA som ribose (5-karbon karbohydrat), og strukturanalogen deoxyribose er en komponent i DNA.

Naturprodukter bestående karbohydratmotiver som delstrukturer er ikke uvanlig. Eksempler på dette er amygdalin (**7**) og oleandrin **8**. Amygdalin er et cyanogenisk glykosid og har vært brukt til medisinske formål i flere århundrer³⁰. Siden 1952 har amygdalin vært brukt som en uortodoks behandling av kreft. I 1982 ble det gjennomført en kliniskstudie på 178 pasienter, der det ikke ble observert noen synlig effekt³⁰. Det ble derimot observert symptomer på cyanidforgiftning hos pasientene som fikk denne behandlingen.

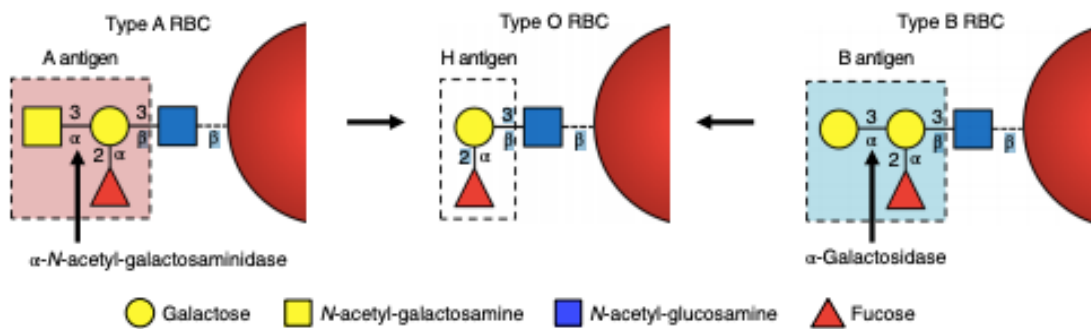
Oleadrin er et toksisk hjerte-glykosid, som betyr at forbindelsen har effekter som forstyrrer hjerterytmen, og har vært brukt i mange år for terapeutiske årsaker. Forbindelsen har også vist effekt mot kreftceller³¹.



Figur 1.5. 7: amygdalin³⁰, 8: oleandrin³¹ og 9: Heparin³².

Et av disse karbohydrat-naturproduktene som er brukt i farmasøytisk industri er heparin **9**. Heparin er et polysakkarid, men brukes ofte i hydrolyserte former, med ulike molekyllengder. Forbindelsen, som ble oppdaget i 1916, er et antikoagulant middel som er brukt for pasienter med blodpropp³². Karbohydrater har også vært brukt som hjelpemolekyl for å øke vannløseligheten og biotilgjengeligheten av aglykonet som måtte gjelde³³.

Et annet aspekt der karbohydrater er involvert, er som antigener. Forskjellen på blodtypene ligger i karbohydratsekvensen i antigenet, vist i figur 1.6. Rahfelt et al.³⁴ jaktet på enzymer som kan bryte ned type A og B sukker-antigenene. Det er i dag et krav at korrekte blodtyper blir matchet sammen i og med at plasma fra blodtype A inneholder antistoffer mot blodtype B og omvendt. Blanding av inkompatible blodtyper kan være dødelig. Celleoverflatene av antistoffene består av terminale karbohydratstrukturer for blodtype A og B. Blodtype O derimot, inneholder ingen av disse terminale strukturer og kan derfor brukes universalt på alle pasienter. Det er derfor en stor fordel å kunne konvertere type A og B blod til type O ved hjelp av enzymer som kløyver bort de terminale karbohydratene.



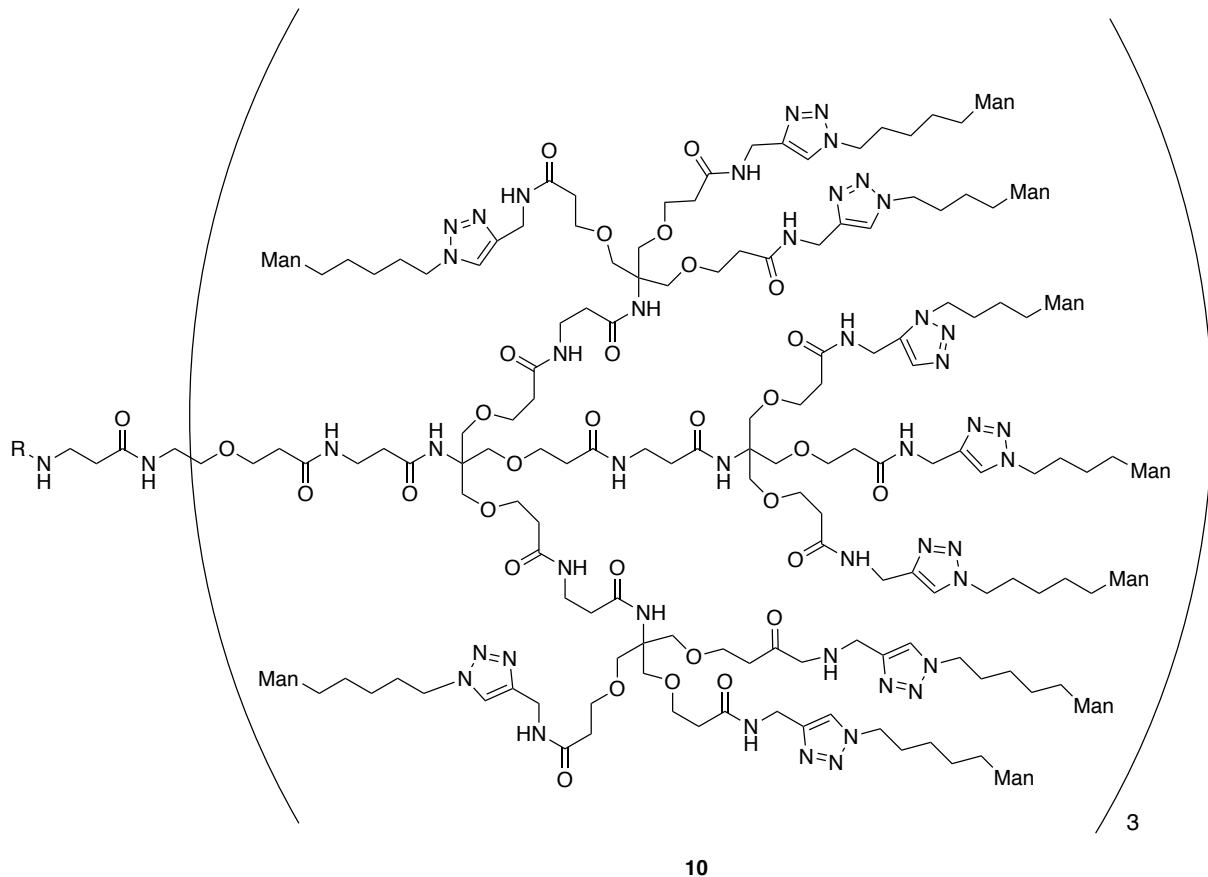
Figur 1.6 illustrasjon av blodtype A, O og B, med antigener³⁴. Hentet fra Ref. 34

Konseptet har vært vellykket, men det er store rom for forbedringspotensialer. Det er rapportert at betydelig mengder enzymer og spesifikke buffer betingelser var nødvendig³⁴.

Karbohydrater har også vært brukt for å styrke immunforsvaret, dette kalles karbohydratvaksiner. De første polysakkaridvaksinene ble kommersielt tilgjengelige av Merck & Co³⁵. Siden da har utviklingen innen dette området vokst.

Ulikt fra bakterier og sopp, er virus avhengig av en vert for å kunne reproducere. Konsekvensen av dette er at viruset entrer cellen via glykaner som de binder seg til under de første stegene av infeksjonen, og gjør dem vanskelige å målrette^{22, 36}. De siste årene har det vært progresjon i feltet for antiviralevaksiner, spesielt anti-HIV. Oppdagelsen av nøytraliserende antistoff 2G12 mot HIV1 gjorde det mulig å oppdage oligomannoseglykaner ($\text{Man}_9(\text{GlcNAc})_2$) i gp120 reseptorbindende glykoproteinet i viruset. Dette har gitt håp om at «glykanskjoldet», som er en beskyttelsesbarriere for viruset, under de rette omstendighetene kan brukes som mål for antiviralevaksiner³⁷.

Wang *et al.*³⁸ utviklet en effektiv strategi for syntese av funksjonelle oligomanonose forgreninger, altså å koble til oligosakkarider i forskjellige lengder til alkynyl med forgrenede bindingspunkt via en kobberkatalysert sykloaddisjon, se produkt i fig. 1.7



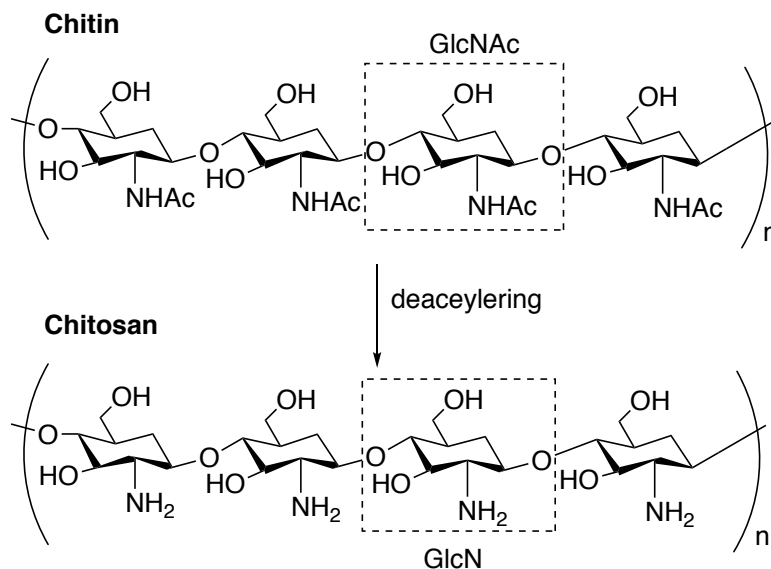
Figur 1.7 Wangs 2.generasjon antiviral oligomannose dendrimer. Man=mannose³⁸.

Selv om forbindelsene ikke kunne brukes i vaksinesammenheng, ble det observert at andregenerasjons glykanforgreninger med lineære kjeder av mannosesakkarider viste størst likhet mot de i viruset. Det kan være mulig at disse forbindelsene er en del av løsningen for 2G12-aktige antistoffer som kan være med på å blokkere virale infeksjoner.

1.2.2 Chitooligosakkarider

Chitin består av lineære polysakkarider med $\beta(1\rightarrow4)$ -linker av *N*-acetyl-*D*-glucosamin (GlcNAc), og er regnet som det nest mest forekommende polysakkaridet i naturen etter cellulose².

Chitin er uløselig i vann og finnes i to krystallinske former; α og β . α -chitin består av tettpakke folder av parallelle og antiparallele kjeder. α -chitin er å finne på skjellene på krepsdyr, på insekter og på cellevegger i sopp³⁹. I β -chitin er kjedene formet parallelt, og er sjeldnere å finne i naturen, der hovedkilden for produksjon av β -chitin er blekksprutpenn (den harde indre delen i mange blekkspruter)^{40,41}.



Skjema 1.1 Generell struktur av chitin og chitosan.

Chitosan kan dannes fra chitin ved delvis deacetylering med base, og er derfor et heteropolymer av av GlcNAc og D-glukosamin (GlcN). Chitosan er vannuløselig, men er, i motsetning til chitin, løselig i vandige sure løsemidler. Chitosan finnes naturlig i sopp, hvor det syntetiseres både chitin og chitosan på celleveggene⁴², men ulikt fra chitin, er chitosan ikke en komponent i krepslignende dyrearter og er uvanlig å finne i naturen⁴. Chitosan har vært isolert fra *Mucor rouxii* og er et viktig komponent i celleveggene til *Zygomyceter*⁴³. De kan klassifiseres i henhold til fraksjoner av *N*-acetylering (F_A) eller grad av acetylering (DA), grad av polymerisering (DP) eller molekylvekt (M_w), molekylets vektdistribusjon (PD) og mønsteret av *N*-acetyleringen (P_A) eller sekvens³⁹.

Chitooligosakkarider (CHOS) er oligomerer dannet fra chitosan enten kjemisk, via syrehydrolyse, eller ved bruk av enzymer via glykosylhydrolaser som chitinaser eller chitosanaser, for å bryte de labile glykosidbindingene^{2,3}. Resultatet blir en blanding av CHOS med varierende F_A , M_w , PD og P_A avhengig av chitosan som brukes og enzymets spesifisitet.

1.2.2.1 Kjemisk produksjon

Den kjemiske produksjonen av CHOS involverer, som nevnt, syrehydrolyse, og er antagelig den best kjente metoden. Einbu *et al.*⁴⁴ viste i 2006 at det var mulig å lage glukosaminer fra chitosan ved bruk av konsentrert syre, som saltsyre. Det ble observert total hydrolyse til monosakkaridet av GlcNAc. Avhengig av chitosan er den syre-katalyserte nedbrytningen avhengig av F_A , hvor det ble vist en konstant nedbrytningsrate som økte i direkte proporsjon med F_A . Syrehydrolysen viste en spesifikk avspalting av A-A (acetyllert-acetyllert) og A-D (acetyllert-deacetyllert) glykosidbindinger, som ble hydrolysert ved tre ganger høyere rate enn for D-D og D-A bindinger. Dette skyldes trolige kombinasjon av to faktorer: faktoren at positivt ladde aminogrupper (GlcN) nærme glykosidbindingen virker som en inhibitor, og at nærværet av acetamidogrupper (GlcNAc) ved glykosidbindingen kan til en viss grad virke substrat-assisterende i hydrolysen.

Selv om kjemisk produksjon av CHOS har vist å kunne gi homogene blandinger, er metodene ikke brukt rutinemessig⁴⁵. Syntesen viser seg å være meget tidkrevende, den krever stort bruk av organiske løsemidler, krever beskyttelsesgrupper og har vist å være vanskelig å syntetisere annet enn kun homogene blandinger av spesielt monomer.

1.2.2.2 Enzymatisk produksjon

For enzymatisk depolymerisering av chitin og chitosan brukes chitisaner og chitosanaser, der enzymene bryter glykosidbindingene mellom sukkerenhetene, og er derfor å regne som glykosidhydrolaser (GH). Det er i tillegg mulig å bruke ikke-spesifikke enzymer som karbohydraser og proteaser⁴. GH er klassifisert som karbohydrataktive enzymer i CAZy enzymdatabase⁴⁶. Klassifiseringen baseres på aminosyre sekvenser, som gir nyttig informasjon fordi sekvens, struktur og dermed også mekanisme henger sammen.

Under enzymatisk hydrolyse av glykosidbindingen er en nukleofil substitusjonsreaksjon på det anomere karbonet, og kan resultere i bevaring (via en såkalt «retaining mechanism») eller inversjon (via «invertting mechanism»), i den anomere konfigurasjonen⁴⁷. Reaksjonene er begge syrekatalyserte og krever to karboksylsyrer, der den ene syren fungerer som en protondonor for den utgående gruppen og den andre som en base i inversjonsmekanismen, eller som en nukleofil i bevaringsmekanismen.

Sammenlignet med dannelse av CHOS via kjemisk prosess og andre tradisjonelle metoder er den enzymatiske metoden den mest effektive. De krever ikke like harde betingelser som de kjemiske metodene og M_w distribusjonen kan kontrolleres enklere⁴⁸. Det er mindre fare for fullstendig hydrolyse til monomerer og generelt er de mer spesifikke.

1.2.2.3 Karakterisering

Syntese av CHOS ved kjemisk eller enzymatisk metode resulterer i en blanding av oligomerer, homologer og isomerer med forskjellig M_w . Separasjon av CHOS fra blandinger og strukturbestemmelse har vist seg å være en krevende oppgave, men er viktig for å kunne forstå forholdet mellom de fysiokjemiske egenskapene og biologisk aktivitet. Det er i tillegg høye krav for god renhet og nøyaktig kvantifisering av CHOS for bruk i biomedisin og mat.

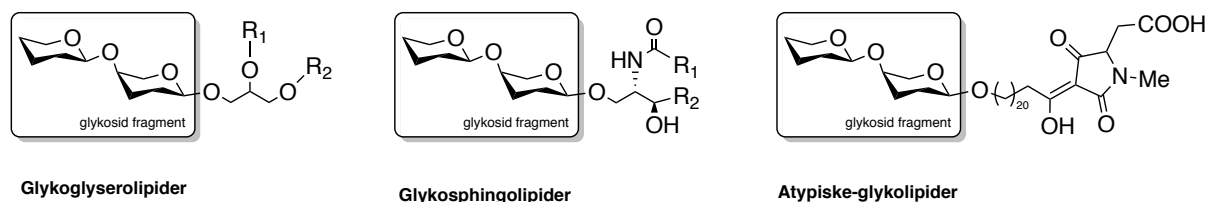
Litteraturen viser til en rekke ulike metoder for opprensning av CHOS. Eksempler på metoder som benyttes er gelfiltrering⁴⁹, ultrafiltrering⁵⁰ og nanofiltrering⁵¹. Andre kromatografiske metoder som er brukt ionebytte-kromatografi⁵² og metallaffinitet-kromatografi⁵³. Behovet for dyrt utstyr og manglende mulighet for å utføre opprensningen i stor skala er ulempene ved størrelsesekslusjonskromatografi (SEC) og ultrafiltreringmembraner. Vanligvis er SEC brukt som preparativ metode som har vist seg nyttig for separasjoner for oligomerer med DP-verdi opp til 40 (antall monomere enheter det er i et makromolekyl)⁴⁹.

I 2007 rapporterte Guo *et al.*¹ en separasjonsmetode med mono-, di- og oligosakkarider som separasjonsmateriale utviklet via klikk-kjemi. Forbindelsene har vist seg å ha gode kromatografiske evner for separasjon av polare forbindelser. Separasjonsmaterialet kan være uderivatisert silika, amidsilika, poly(succimid)-bundet silika, polyhydroxylsilika o.l. Materialet ble brukt til å separere polare forbindelser som nukleosider og sukkerer.

1.2.3 Marine glykolipider

Store deler av algenes lipider er glykolipider og disse er viktige komponenter i thylakoidmembranen i kloroplast under fotosyntesen.

Glykolipider er en stor klasse av biologisk aktive naturprodukter med enorm variasjon med tanke på struktur, men kan likevel klassifiseres inn etter deres generelle molekylære oppbygning; glykoglycerolipider, glykosfingolipider og resterende glykolipider med atypiske lipidfragment⁵⁴.



R: Lipidkjeder

Figur 1.8 Illustrasjon av glykoglycerolipider, glykosfingolipider og atypiske-glykolipider⁵⁴.

Glykoglycerolipider består et karbohydrat festet til et glyserol-motiv med to lipidfragmenter, og er funnet i mikroorganismer og planter.

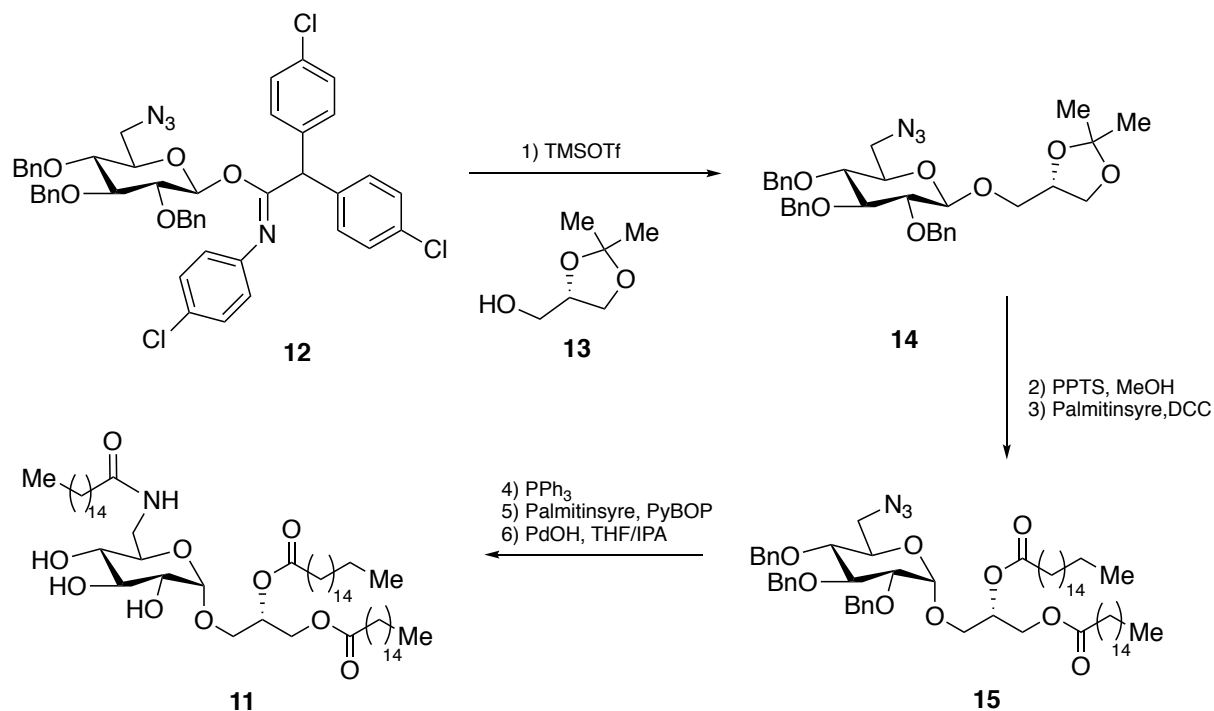
Glykosfingolipider består av et karbohydrat festet til et eller flere amino-alkoholer (eksempelvis sfingosin). De er å finne i membraner. Her de spiller en viktig rolle for cellevekst, cellegjenkjenning, adhesjon, reparasjon av nevroner og signal overføring⁵⁴.

Atypiske-glykolipider dekker resterende glykolipider hvor lipidfragmentet ikke er i gruppene nevnt over. Dette dekker mange sekundære metabolitter med utallige mange molekylære kombinasjoner og mengder av biologisk aktivitet, deriblant antisvulst, antiinflammatorisk og antiviralia egenskaper⁵⁵⁻⁵⁷.

1.2.3.1 Glykoglycerolipider

Innad klassen for glykoglycerolipider er aminoglykoglycerolipidene, hvor spesifikt avarinvillosid er en del av disse. Aminoglykoglycerolipidet (**11**) ble isolert fra algen UM2972M⁵⁴. Forbindelsen viste å være en potent inhibitor av aktivitet i Myt1-kinase som regulerer cyclin B kinase aktivitet. Hyperaktivitet av kinasen kan ved økte mengder bidra til dannelse av svulster. Første totale syntese av avarinvillosid A ble rapportert av Göllner *et al.*⁵⁸ i 2009. En glykosyleringsreaksjon av imidatet **12** og alkohol **13** med TMSOTf dannet **14**. Avbeskyttelse av **13** og introduksjon av palmitinsyre ved acetylering ga **15**. Under siste steg

festes en palmitinsyreenhet til ved amidkoping og generell avbeskyttelse av benzylgruppene for å gi produktet avarinvillosid (**11**).

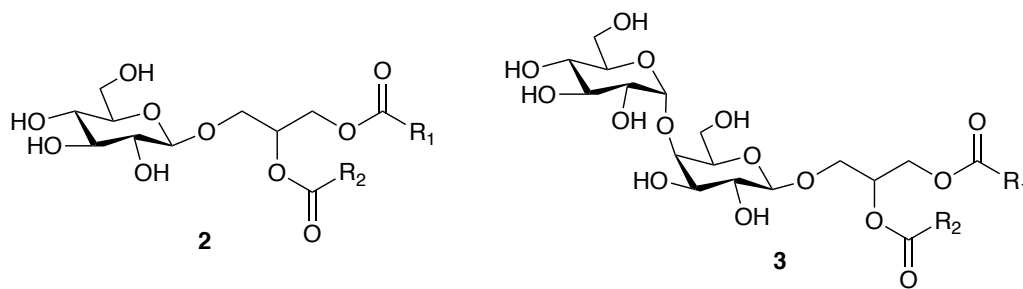


Skjema 1.2 Total syntese av Avarinvilloside A⁵⁴.

Glykosyldiacylglyceroler; MGDG og DGDG

Monogalactosyl-diacylglycerol (MGDG) og digalactosyl-diacylglycerol (DGDG) består begge av sn-1,2-diacylglycerol med et karbohydratmotiv i sn-3 posisjon⁵⁹ som illustrert i figur 1.9. I MGDG (**2**) er glycerolfraksjonen i β -galaktose linket til diacylglycerol.

DGDG (**3**) er karakterisert ved α -galaktose ($1 \rightarrow 6$) linket til i β -galaktose, til diacylglycerol. Noen planter kan også, i tillegg til DGDG, ha β -galaktose ($1 \rightarrow 6$) linket til β -galaktose, eller oligogalaktolipider med tre eller flere galaktoseenheter i forskjellige anomere konfigurasjoner, men disse dannes kun under sjeldne betingelser⁶⁰. Den hydrofobe delen av MGDG og DGDG er fettsyrer av ulik lengde, vanligvis mellom 16-18 og kan være mettede eller umettede fettsyrer.



Figur 1.9 MGDG (venstre) og DGDG (høyre).

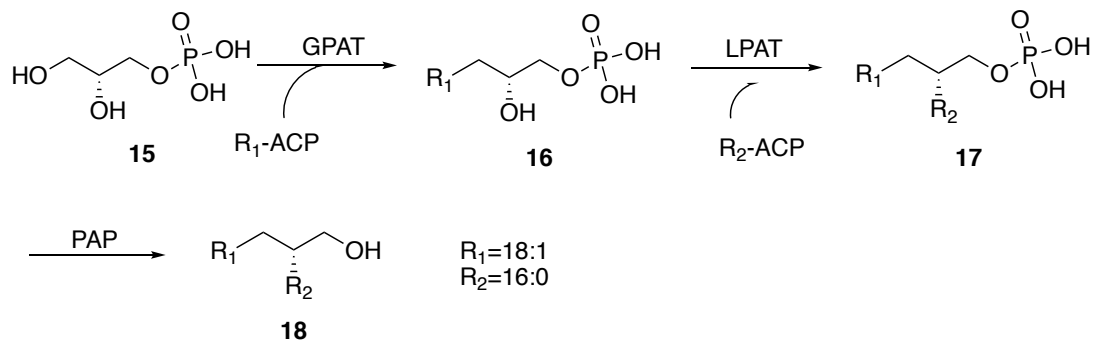
Disse glykoglycerolipidene finnes i kloroplastmembraner hvor den største andelen er MGDG som representerer mer enn halvparten av alle lipider etterfulgt av rundt én tredjedel DGDG⁶¹. Forbindelsene har vist viktighet for dobbeltlag av cellemembraner ved at mengden lipider påvirker stabiliteten til membranene og funksjon av membranproteiner⁶⁰. Det store overflod av disse forbindelsene i organismer som driver fotosyntese tyder på at de spiller en fundamental rolle i funksjon av fotosyntesemembranen.

Biosyntesen av MGDG og DGDG finner sted mellom membranene i kloroplast. Deres forløpere er bare delvis fra kloroplast og resten transporteres fra andre organeller. Omkring 95% av fettsyrene i planteceller produseres av fettsyresyntase (FAS) i plastid⁶².

Byggeblokkene for lipider i kloroplast er PA (fosfatidsyre) og DAG (diacylglycerol), hvor PA produseres i både kloroplast og i endoplasmatisk retikulum (ER), avhengig av planteart⁶². PA produseres i kloroplast via acetylering av glycerol 3-fosfat (**15**) av acyl-ACP, og blir omdannet til lysofosfatidisk syre (LPA) (**16**) av LPA-acyltransferase (LPAT)⁶².

Acetyleringstranferasene er spesifikke for 16:0-ACP og 18:1-ACP, derfor blir produktet hovedsakelig 18:1, 16:0-PA som illustrert i skjema 1.3. Etter defosforylering av PA (**17**) med PAP (Phosphatidic acid phosphatase) dannes DAG (**18**) for videre glykolipidsyntese.

Dannelsen av DAG i ER ligner på den i kloroplast, men kan gi 18:3 ved *sn-2* posisjon og regnes som eukariotisk retning da dette foregår i ER⁶².

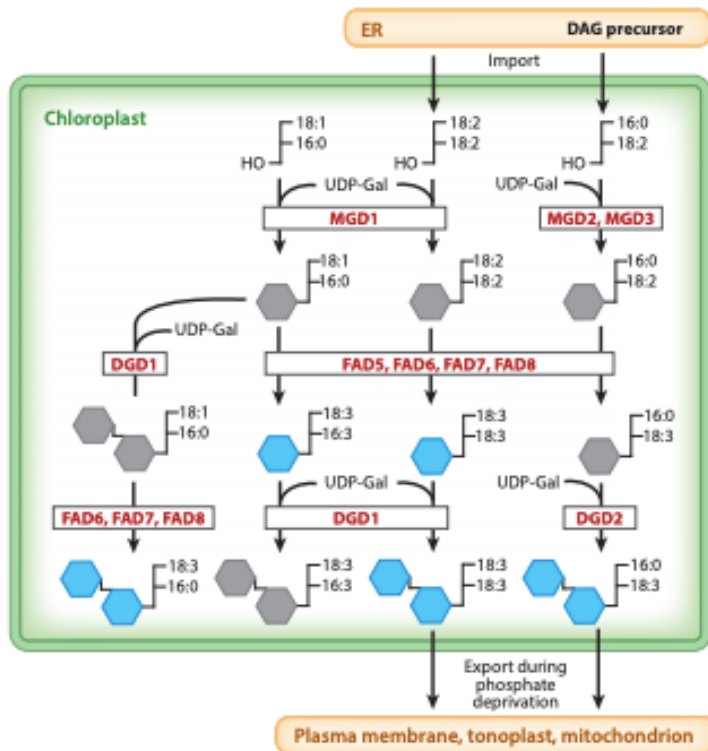


Skjema 1.3 Biosyntese av DAG. GPAT, glycerol-3-phosphate. LPAT, lysophosphatic acid acyltransferase. PAP, phosphatidic acid phosphatase⁶².

Første steg under syntesen av galaktolipider katalyseres av MGDG-syntase, som transporter en galaktoseenhet fra uridin difosfo-galaktose (UDP-gal) til *sn*-3 posisjon av DAG.

Glykosyleringsreaksjonen fører til konfigurasjon fra α -konfigurasjon i UDP-gal blir til β -konfigurasjon i MGDG⁶².

I planter finnes to MGDG syntaser, type A og B. MGD1 av type A er lokalisert på innsiden av kloroplastmembranen. MGD2 og MGD3 av type B er lokalisert på utsiden av membranen. MGD1 finnes i grønt vev, mens MGD2 og MGD3 er kun å finne i spesifikke organeller og finnes i overflod i blader under fosfatmangel. Oppregulering av MGD1 skjer ved økt lysmengde og cytokinin som gir akkumulering av galaktolipider. Forskjellige enzymer (FAD5, FAD6, FAD7 og FAD8) reduserer fettsyrene til dobbeltbindinger.



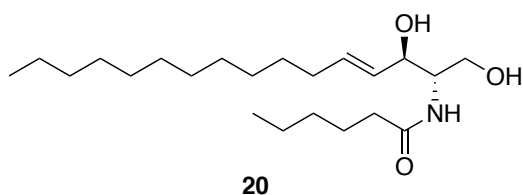
Figur 1.10 Biosyntese av MGDG og DGDG i kloroplast⁶². Hentet fra ref. 62.

Det andre steget ved syntese av galaktolipider katalyseres av DGDG syntase som overfører et nytt UDP-gal til MGDG⁶². Disse enzymene danner α -linker til den terminale galaktosen og β -linker til DAG.

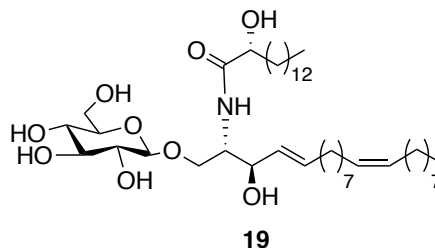
1.2.3.2 Glykosfingolipider

Grunnet glykosfingolipidenes komplekse mangfold er de delt inn i to undergrupper: nøytrale og sure glykosfingolipider. Nøytrale glykosfingolipider er igjen delt inn i cerebrosider (**19**) (som består av et ceramid (**20**) med én sukkerenhet bundet på) diosylceramider (med to sukkerenheter) og resterende nøytrale glykosfingolipider (med mer enn to sukkerenheter).

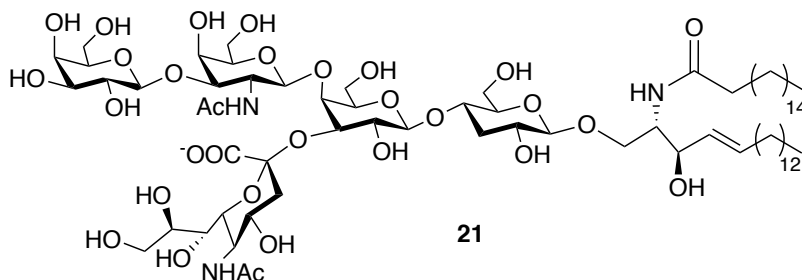
Ceramid: C6



Cerebrosid: Asteriacerebrosid A(10)



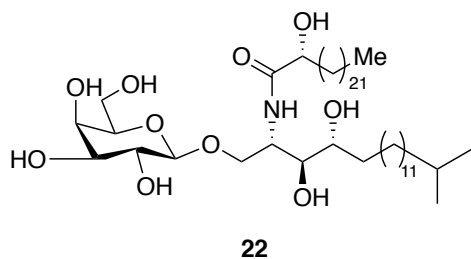
Gangliosid: GM1



Figur 1.11 Forbindelse 17 et kortkjedet C6-ceramid som er dannet av sfingolipid base koblet v³⁴ed en amidbinding. Denne forbindelsen har vist biologiske aktiviteter som involverer signalisering av celledød⁶³. Forbindelse 18 av asteriverebrosid A(10) viste vekstfremmende aktivitet for planten *Brassica campestris*⁵⁴. Forbindelse 19 har siden 1963 vært studert for dens psykoaktive effekter. GM1 er en av hovedaktørene i nevrolane funksjoner som gjør at mennesker kan ha et intellektuelt liv⁶⁴.

En vanlig gruppe av sure glykosfingolipider er gangliosider (**21**), som inneholder en eller flere sialinsyrer. En annen gruppe sure glykofingolipider er sulaftider, hvor minst en sukkerenhet festes til et sulfat⁵⁴. Figur 1.11 viser noen eksempler på ceramid, cerebrosid og gangliosid.

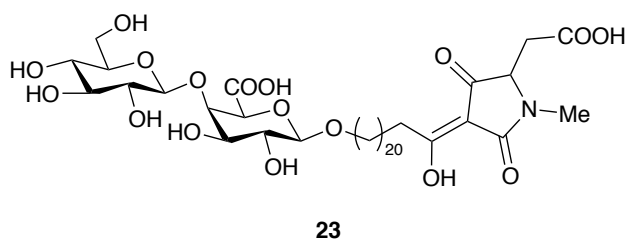
Et annet eksempel på cerebrosier er agelasfinene fra svampen *Agelas mauritianus*, som har vist anti-cancer-egenskaper og svak toksisitet. Biologiske undersøkelser av Natrori *et al.*⁶⁵ viste at angelasphin-11 (**22**) hadde stimulerende effekter på immunsystemet ved å aktivere NK celler, som forklarer anti-cancer-egenskapene. Aktiveringen av immunforsvaret skjer fordi disse forbindelsene er potente ligander av MHC klasse I i CD1d-proteiner som finnes på overflaten av APC (antigen presenting cells), slik at interaksjonen gir stor respons hos immunsystemet.



Figur 1.12 Struktur av Agelasphine fra svampen *Agelas mauritianus*⁶⁵,

1.2.3.3 Atypiske glykolipider

Atypiske glykolipider har som nevnt lipidfragmenter og glykofragmenter, men faller utenfor de to nevnte kategoriene. Et interessant eksempel er Ancorinoside A (**23**), fra svampslekten *Ancorina*, som ble isolert i 1997 av Ohta *et al.*⁶⁶. Strukturen er interessant med sin tetramsyre-ring i enden av en lang fettsyrekjede som illustrert i figur 1.13.



Figur 1.13 Struktur av Ancorinoside A⁶⁶.

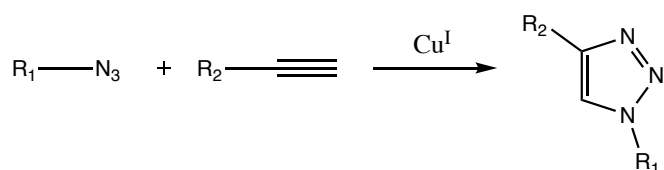
1.3 Kjemisk bakgrunn

1.3.1 Klikk-kjemi

I farmasøytisk industri er det konstant ønske om å finne nye og enkle metoder å syntetisere molekyler på for å slippe vanskelige synteser med krevende opparbeidingsmetoder og dårlig utbytter. Konseptet klikk-kjemi ble introdusert av Sharpless *et al.* I 1999⁵¹, og siden har det vært et populært tema. Klikk-kjemi er en gruppe reksjoner som er kjappe, enkle å bruke, enkle å rense ved enten omkrystallisering eller destillasjon. De er allsidige, regioselektive og gir et høyt utbytte⁵¹. Reagenser skal være lett tilgjengelige, reaksjonsbetingelsene skal være enkle og det skal kun være behov for løsemidler som enkelt kan fjernes. Selv om filosofien bak kjemien virker veldig god, har den farmasøytiske industrien vært skeptiske i forhold til oppdagelse av nye medisiner, men innen polymerforskning har konseptet vært en stor suksess. Med tanke på de milde betingelsene reaksjonen skal forgå under er disse reaksjonene også gode for biomedisin, hvor medisinen må linkes mot et sårbart transportmolekyl som protein.

1.3.1.1 Cu(I)- katalysert Aizd- alkyn sykloaddisjon (CuAAC)

Blant alle underklassene av klikk-kjemi er Cu(I)-katalysert Azid-alkyn sykloaddisjon (CuAAC) populær «grønn» reaksjon. Reaksjonen danner 1,4-substiterte produkter, som gjør den regiosektiv. Det krever vanligvis temperaturer mellom 0-160°C, er mulig å bruke mange varianter av løsemidler, under mange pH verdier og er fortsatt stabil med gode utbytter. Reaksjonen skjer 10^7 ganger raskere enn den ikke-katalyserte reaksjonen, den tåler oksygen, vann, vanlige organisk syntese miljø, biologiske molekyler og vanlige organiske løsningsmidler. Selv om dekomponering av alifatiske azider er termodynamisk favorisert, eksisterer en kinetisk barriere som lar dem forbli stabile⁵¹.



Skjema 1.4 Kobberkatalysert Azid-alkyn sykloaddisjon.

Katalysator

Det finnes flere måter å aktivere katalysatorer for CuAAC reaksjon. En av de vanligste teknikkene er å redusere Cu^{II} salter, som $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, til Cu^I salter. Natrium ascorbate blir ofte brukt som reduseringsmiddel i 3-10 ekvivalenter overskudd, men andre reduksjonsmidler som hydrazin og tris (2-carboksyletyl) fosfin (TCEP), har vært brukt. Fordelen med disse reaksjonene er at de er billige, kan forgå under vandig miljø og krever ikke deoksygenert miljø. Det vandige miljøet gjør at reaksjonen kan foregå uten tilsetning av base, eliminerer nødvendighet av beskyttelsesgrupper og er bærekraftig. En utfordring med denne reaksjonen er at reduksjon av Cu^{II} kan reduseres helt ned til Cu^0 , men dette kan kontrolleres med riktig mengde reduseringsmiddel eller bruk av kobber-stabiliserende reagenser.

En annen måte å lage katalysatoren på er å tilsette Cu^I salt direkte. Mange av disse reagensene inkluderer $CuBr$, CuI , $CuOTf \cdot C_6H_6$ (OTf =trifluoromethanesulfonate) ol. Denne metoden krever ikke reduksjonsmidler, men må skje under deoksygenert miljø og i et organisk løsemiddel, som også betyr at det muligens er nødvendig å bruke beskyttelsesgrupper sammen med base. Det er også mulig å gå veien om å oksidere kobbermetall, men dette krever lange reaksjonstider og er tungvint i forhold til andre metoder. Den mest pålitelige reaksjonen er å redusere Cu^{II} .

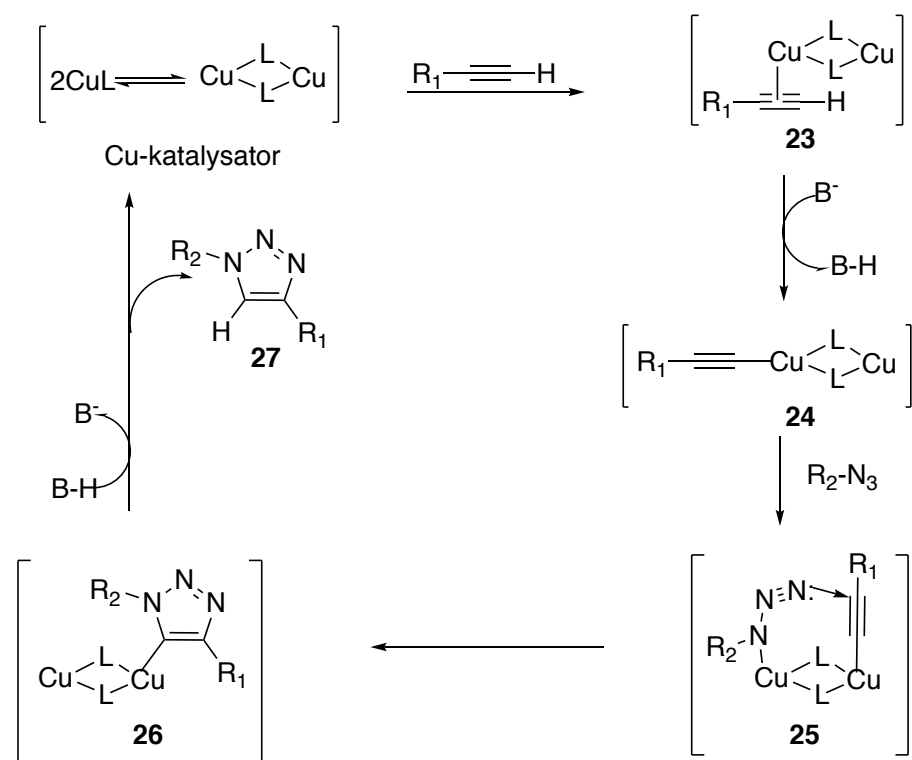
Det er gjort flere forsøk på finne andre metaller som kan erstatte kobber som katalysator, som NiCl₂, PtCl₂ og PdCl₂. Ingen av disse viste en høyere katalytisk aktivitet enn CuBr.

Cp•Ru (pentametyl syklopentadienyl rutenium (II) komplekser)

komplekset har vist å kunne danne 1,5 triazoler⁵¹.

Mekanisme

Mekanismen for CuAAC reaksjonen er illustrert i skjema 1.5. Basert på eksperimentelle data er det bevist at Cu^I kan danne komplekse π -bindinger til alkynet (**23**), for så å gjennomgå deprotonering av det terminale hydrogenet for å danne Cu^I acetylid **24**. Flere forskjellige komplekser kan dannes avhengig av betingelsene reaksjonene skjer under, hvor **24** representerer et alternativ av dem. π -kompleks med Cu^I gjør at pK_a ved det terminale alkynet synker med opp mot 9,8 pH enheter⁵¹ som tillater deprotonering av alkynet i vandig miljø uten å måtte ta i bruk baser. Hvis et ikke-basisk løsemiddel blir tatt i bruk er det nødvendig med base.



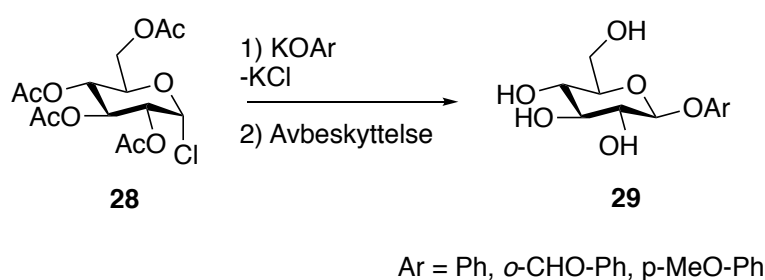
Skjema 1.5 Generell mekanisme for CuAAC⁵¹.

Under de neste stegene blir en av ligandene i komplekset skiftet ut med N for å danne **26**. Dette aktiverer azidet for nukleofil angrep illustrert av pila på alkynet. Triazolet (**26**) dannes når N angriper det ledige karbonet i alkynet. Når triazolet er dannet vil Cu^I-komplekset umiddelbart festes til et nytt terminalt alkyn, men denne strukturen er ikke favorisert og vil

ikke kunne danne et nytt triazol. Dermed vil en siste deprotonering danne **27** og katalysatoren vil være fri til å gå gjennom sykloaddisjonen igjen med et nytt substrat.

1.3.2 Karbohydratsyntese

Den første kjemiske glykosyleringen ble rapportert for 140 år siden av Arthur Michael⁶⁷, der β -D-glukopyranosid (**28**) ble produsert ved reaksjon mellom tetra-O-acetyl- α -D-glykopyranosid klorid (**29**) og med kalium-phenoxide i vandig miljø⁶⁸, se skjema 1.6.



Skjema 1.6 Første rapporterte glykosidsyntese i 1889 av Arthur Michael⁶⁷.

Siden da har karbohydratkjemi utviklet seg til å bli en bred nisje innen organisk kjemi. I og med at karbohydrater er den mest forekommende av organiske forbindelser, har de naturlig stor del i livsviktige, samt livstruende prosesser.

Den fundamentale reaksjonen innen karbohydratkjemi er glykosyleringsreaksjonen. Naturlig er denne reaksjonen drevet av enzymer, og blir utført på en plettfri måte med komplekse forbindelser som poly- og oligosakkarider, samt ulike glykosider. Når disse reaksjonene skal utføres i laboratorie derimot, har de vist å være vanskelige og uforutsigbare. Likevel har det i de siste 20-30 årene blitt utviklet gode prosedyrer for dette og dannelsen av de fleste glykosidbindinger er nå blitt mulig⁶⁷.

1.3.2.1 Dannelsen av glykosidbindinger

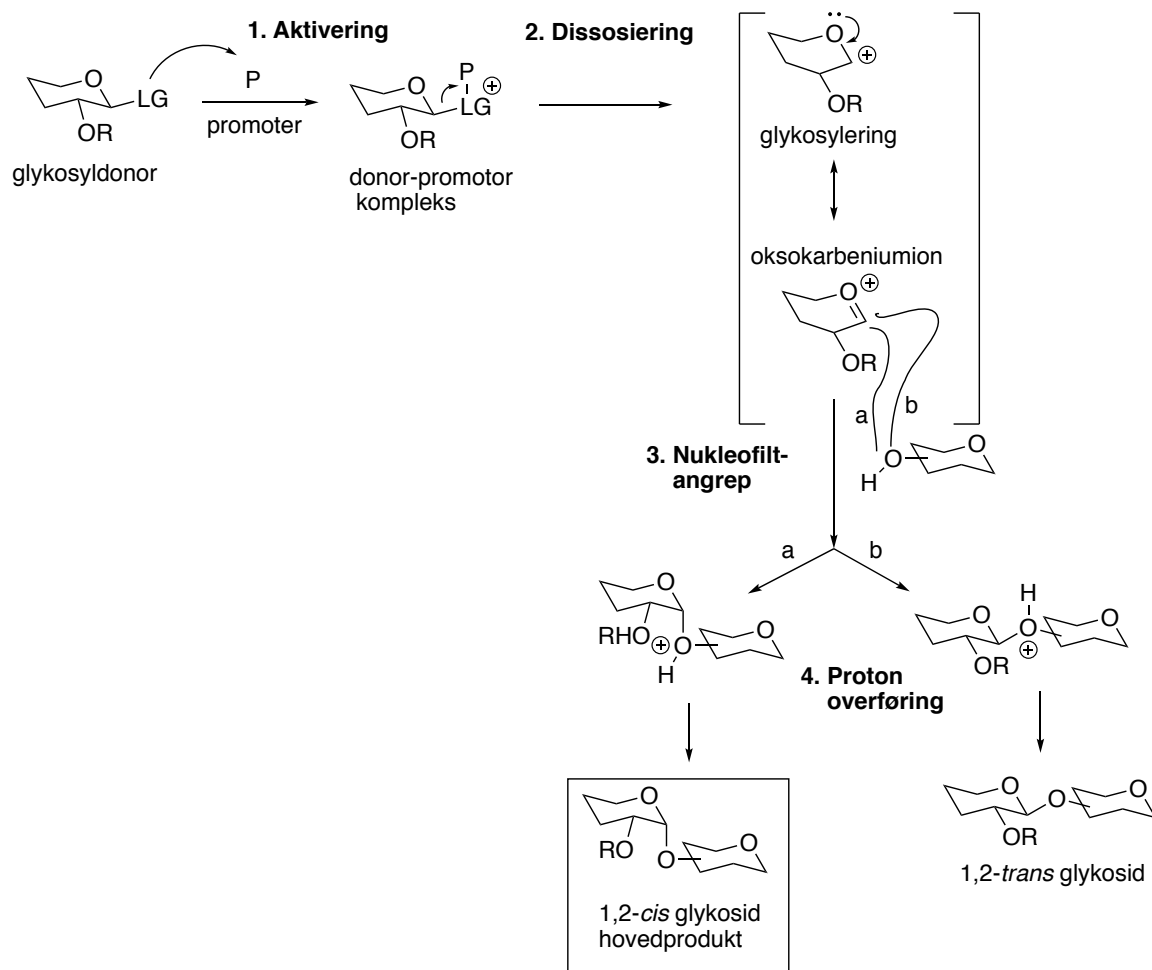
Mangfoldet av karbohydrater funnet i naturen er ikke bare i form av rene karbohydrater, men også bundet til enten hverandre eller andre typer forbindelser via glykosidbindinger⁶⁹. Dette er *O*-, *S*- eller *N*-glykosidbindinger, hvor *O*-bindinger er de vanligste og viktigste forbindelsene⁶⁹.

Reaksjonsmekanisme

Det er i dag mange gode metoder for dannelsen av glykosidbindinger via glykosyldonor, men det er fortsatt mangel på fullstendig forståelse av mekanisme i en glykosyleringsreaksjon⁶⁷. Likevel har flere studier opp gjennom tidene gitt en mekanismefremstilling som det er en allmenn enighet om, blant annet at reaksjonsbetingelsene favoriserer en unimolekylær S_N1 reaksjon.

Prosessen involverer fire hovedsteg; 1) dannelsen av donorkomplekset, som kan reverseres eller ikke, avhengig av systemet; 2) ionisering av glykosyldonor, som er vanligvis irreversibel; 3) nukleofilt angrep av glykosylakseptor; 4) protonoverføring for å gi et nøytralt glykosid. Den generelle mekanismen er beskrevet i skjema 1.7⁶⁷.

Skjema 1.7 viser en aktiv glykosyldonor (halogen, SR, OR ol.) med tilstedeværelsen av en elektrofil aktivator, som danner et kompleks. Under neste steg vil komplekset omdannes til glykosylkarbokationet, og regnes som steget der unimolekylære S_N1 reaksjonen skjer uavhengig av glykosylakseptor. Karbokationet er i stabilisert resonansform som oxocarbeniumion, der det anomere karbonet blir sp² hybridisert som gir en flat halvstolkonformasjon. Nå er nukleofilt angrep fra både oversiden (a) og undersiden (b) mulig, og leder til dannelsen av enten α-(1,2-*cis*) eller β- (1,2-*trans*) bindinger. Tilslutt vil tap av protonet resultere i et nøytralt produkt ved eliminering. I det elimineringssteget er produktet irreversibelt.



Skjema 1.7 Generell mekanisme for glykosyleringsreaksjoner⁶⁷.

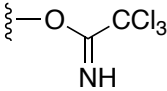
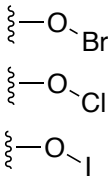
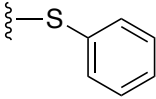
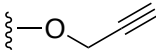
Skjema 1.7 beskriver glykosyleringsmekanismen der glykosyldonoren har en acylgruppe ved C-2 posisjon som deltar i reaksjonsforløpet. Forskjellen fra tidligere ligger i resonansformene som dannes fra karbokationet etter dissosiasjon av utgående gruppe. Interaksjoner mellom ionet og acyloxoniumionet i C-2 posisjon resulterer i flere mulige intermediater som påvirker mulige mekanistiske retninger. Det er uklart om det nukleofile angrepet skjer på det ene intermedietet eller om flere kompliserte intermediater er involvert. Det er antatt at det nukleofile angrepet skjer på C-1 og danner β -glykosidprodukter (c), samt dannelse av ortoesterprodukt (d) ved et direkte angrep på karbonylgruppen.

1.4.2.2 Aktivering av glykosyldonorer

I glykosyleringsreaksjoner omtales de to koblingspartnerene for glykosyldonor og glykosylakseptor. En glykosyldonor er et suktermolekyl med en utgående gruppe i den

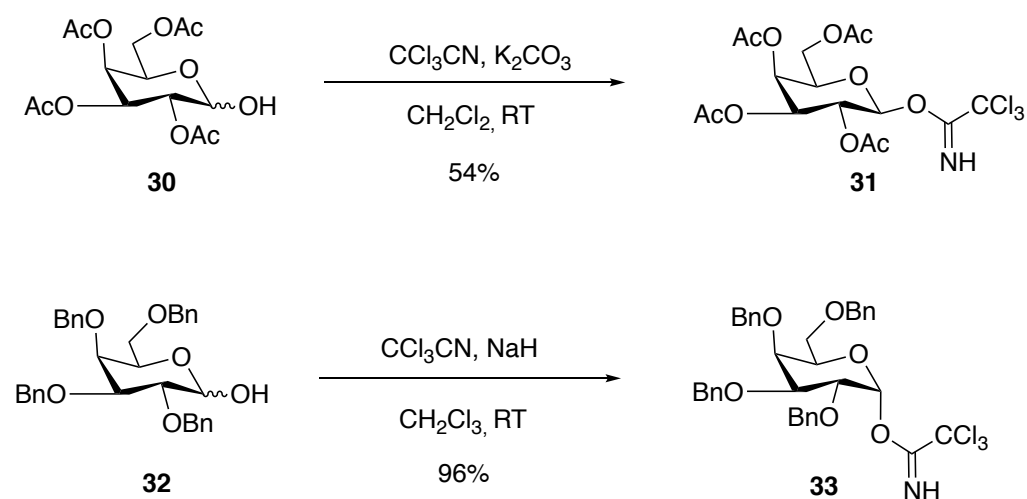
anomere posisjonen, og en glykosylakseptor vil ha et nukleofilt angrep på det anomere karbonet i glykosyldonoren. Under reaksjonen benyttes gjerne en Lewisyre for å aktivere glykosyldonoren.

Tabell 1.1 Oversikt over noen generiske glykosyldonorer det er valgt å fokusere på videre i oppgaven.

Navn	Struktur	Vanlige Reagenser	Ref.
Trikloracetimidat		<i>p</i> TsOH, BF ₃ ·OEt ₂ , TMSOTf, DBU	Schmidt <i>et al.</i> ⁷⁰ Schmidt <i>et al.</i> ⁷⁰ Schmidt <i>et al.</i> ⁷¹
Halider		HBr-AcOH, BiBr ₃ -Me ₃ SiBr, PPh ₃ / <i>N</i> - Halosuccinimid, PBr ₃ , TMSI + HMDS	Fischer <i>et al.</i> ⁷² Monter <i>et al.</i> ⁷³ Hanessian <i>et al.</i> ⁷⁴ Schmidt <i>et al.</i> ⁷⁵ Field <i>et al.</i> ⁷⁶
Tioler		HgSO ₄ , MeOTf, DMTST, NIS/TfOH, NIS/TMSOTf	Ferrier <i>et al.</i> ⁷⁷ Lönn <i>et al.</i> ⁷⁸ Fügedi <i>et al.</i> ⁷⁹ Veeneman <i>et al.</i> ⁸⁰ Konradsson <i>et al.</i> ⁸¹
Alkyner		BF ₃ ·OEt ₂ , AuCl ₃	Mereyala <i>et al.</i> ⁸² Hotha <i>et al.</i> ⁸³

Glykosyl-trikloracetimidater

Schmidt *et al.*⁷⁰ videreutviklet i 1980 prosedyrer for glykosyl-acetimidat til dannelse av glykosyltrikloracetimidat. Det elektronfattige nitrilet kobles lett til den frie hydroksylgruppen på det anomere karbonet i basisk miljø. Ved bruk av en svak base vil det kinetiske produktet være β -imidat (**31**), og ved bruk av en sterk base, som natriumhydrid eller DBU vil produktet være det termodynamisk stabile α -imidatet (**33**).



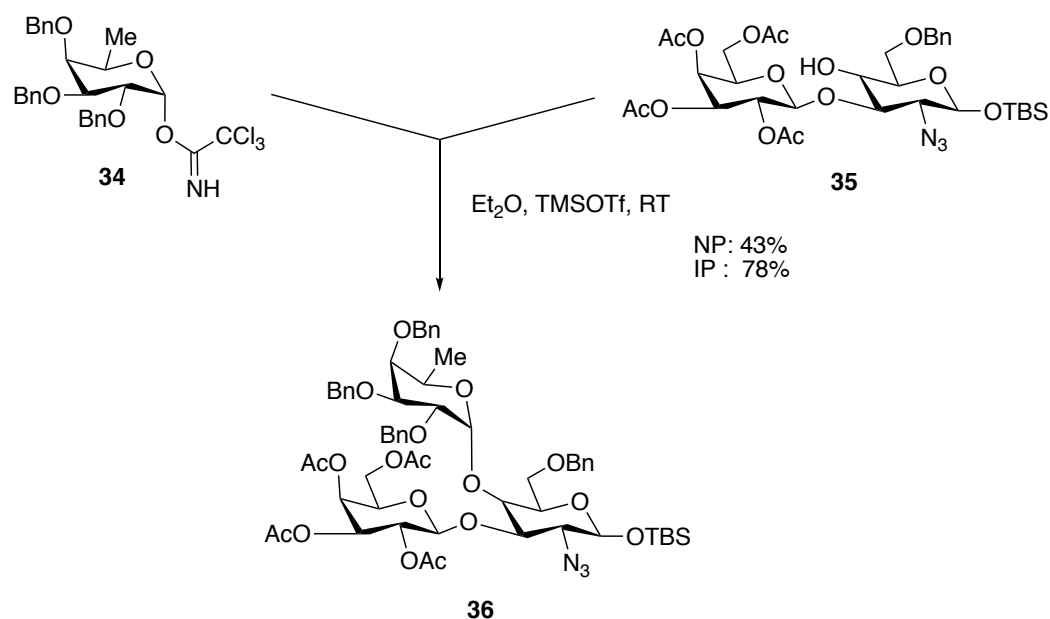
Skjema 1.8 Syntese av trikloracetimidat med svak og sterk base⁷⁰.

Glykosyl-trikloracetimidatet er stabilt i basisk og nøytralt miljø, men vil lett kunne reagere i surt miljø. Hvis en sur nukleofil skal reageres inn vil det korresponderende glykosyl esteret, dannes produktet uten behov for katalysator. Syrer som *p*TsOH, $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ ⁸⁴ og TMSOTf ⁷¹ blir ofte brukt som Lewisyrer i slike reaksjoner ved lave temperaturer⁶⁹.

Det finnes flere måter å aktivere glykosyl-trikloracetimidatet; ved bruk av forskjellige metall triflater, som AgOTf , $\text{Sn}(\text{OTf})_2$, $\text{Sm}(\text{OTf})_3$ ol.⁶⁹ vannfrie syrer er også vært brukt. Jod har også vært vist kapabel til å aktivere glykosyleringsreaksjoner. I tillegg brukes molekylære sieves, som ofte blir brukt som tørkemiddel i disse reaksjonene, også brukt til å aktivere reaksjonene⁸⁵.

En annen teknisk utvikling av trikloracetimidat som glykosyldonorer ble introdusert ved invers tilsetning⁸⁴. I de originale prosedyrene blir glykosyldonor og akseptor kombinert samtidig i en «one pot», men det ble observert at strategier ved bruk av vanlig prosedyre førte til dekomponering av glykosyl-trikloracetimidatet i blanding med katalysator, før reaksjonen med akseptor kunne finne sted. Det ble forsøkt å blande akseptor og katalysator før interaksjon med donor. Effekten av den enkle modifiseringen ble vist ved en

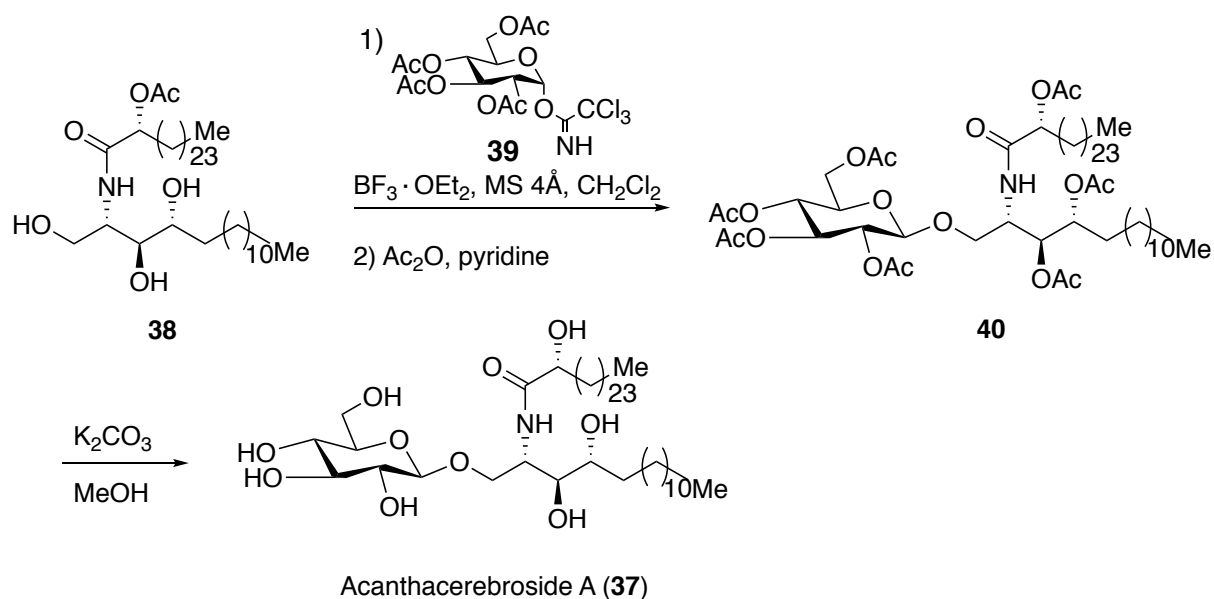
glykosyleringsreaksjon mellom den reaktive donoren **34** og disakkarid **35**. Det ble rapportert utbytte på 43% ved normal prosedyre og 78% ved inverse prosedyre for produkt **36**⁸⁴.



Skjema 1.9 Vanlig (normal) vs. Invers (inverse) prosedyre av glykosyleringsreaksjon mellomglykosyldonor og glykosylakseptor⁸⁴.

Trikloracetimidat ble også benyttet i for eksempel Chida *et al.*s syntese⁸⁶ av Acantacerebrosid A (**37**), et cerebrosid isolert fra sjøstjernen *Acanthaster planci*⁸⁷.

En del av syntesen er vist i skjema 1.10, der sfingosinfragmentet (**38**) kobles til trikloracetimidat **39** ved en glykosyleringsreaksjon med $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ som Lewisysyre. Dette ga **40**, som ble avbeskyttet for å danne naturproduktet acanthacerebrosid A (**37**).



Skjema 1.10 total syntese av Acanthacerebroside A

Glykosylhalider

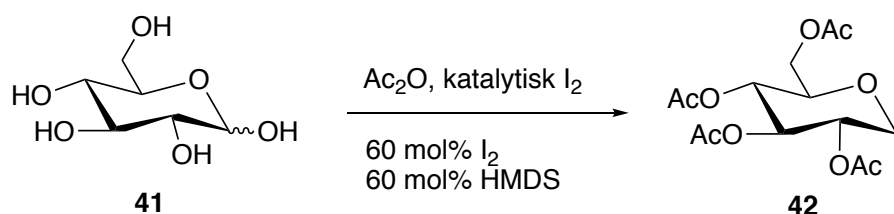
I tillegg til reaksjonen Michael rapporterte med glykosylhalider, beskrevet i kap. 1.3.2, har Koenings & Knorr⁸⁸ og Fischer & Armstrong⁸⁹ uavhengig brukt glykosylhalider til glykosyleringsreaksjoner.

Glykosylbromider og -klorider ble reagert med alkoholer i tilstedeværelsen av AgCO_3 eller Ag_2O . I dag finnes det en rekke ulike måter å preparere frie sukkere som ved behandling med AcBr ⁸⁹, behandle peracetylt sukker med HBr-AcOH ⁷², $(\text{BiBr}_3\text{-Me}_3\text{SiBr})$ ⁷³ og konvertering av hemiacetalet i sukkeret under modifisert Mitsunobu-betingelser med PPh_3/N -halosuccinimid⁷⁴ eller PBr_3 ⁷⁵. Disse etablerte metodene er ofte harde og kan gjøre oligosakkaridsynteser vanskelige å syntetisere. Mer miljøvennlige metoder som er tatt i bruk er fotokatalyserte synteser⁹⁰.

Glykosyl-jodider har vært kjent lenge innen syntetisk kjemi, men grunnet deres ustabilitet har de kun vært brukt som glykosyldonorer fra tid til annen⁶⁹. Siden deres introduksjon har glykosyleringen vanligvis skjedd *in situ* ved å aktivere glykosylbromider med tetralkylammonium iodider.

Bedre metoder har blitt utviklet senere hvor glykosyljodider har blitt dannet direkte fra beskyttet glykosylenhet ved bruk av trimetylsilyl-jodid⁹¹. Field *et al.*⁷⁶ videreutviklet

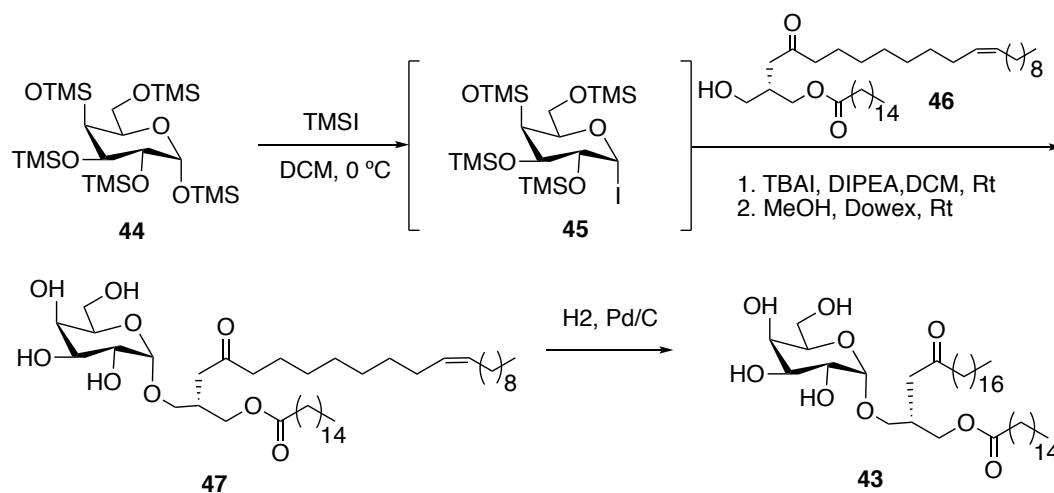
prosedyrene ved å bruke TMSI *in situ* med hexametyldisilan (HMDS) med jod. Samme gruppe modifiserte prosedyren videre i 2004 ved å bruke ubeskyttet sukker **41** til å syntetisere per O-acetylerede glykosyl- jodid **42** (skjema 1.11). Syntesen hadde et ikke-løsningsmiddelsystem og brukte rimelige reagenser, som var en stor fordel, i tillegg til at syntesen var allsidig og ga gode utbytter.



Skjema 1.11 Syntese av glykosyljodid med edikksyreanhydrid og jodid⁷⁶

Fordi glykosyl-jodider er så ustabile vil det være best de brukes direkte, men bruk av acyl beskyttelsesgrupper vil gjøre forbindelsen mindre labil, og ved å bruke en sterkt deaktivierende elektrofile beskyttelsesgrupper kan stabile krystalliserte glykosyl-jodider dannes⁹².

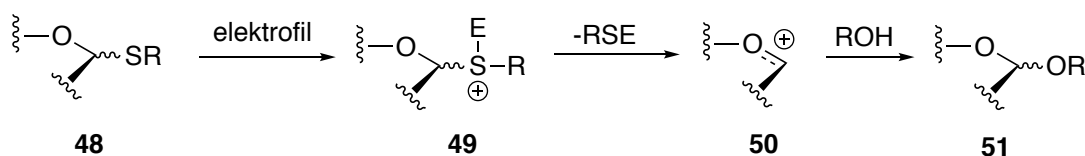
Et eksempel på total syntese der jodid er brukt som aktiveringsmetode er rapportert av Du *et al.*⁹³ i 2007. Det ble brukt persilylerte galaktosyljodider under en α -glykosyleringsreaksjon med fullt funksjonelle glykolipider for å danne biologisk relevante konjuganter, som for eksempel glykoliptid **8** i skjema 1.12. Syntesen startet med **4** som ble reagert med TMSI for å gi galaktosyljodidet **5**. Donoren ble så tilsatt akseptoren, som ble blandet med tetrabutylammoniumjodid. Tetrabutylammoniumjodid ble brukt for å øke hastigheten til reaksjonen, samt for å styre produktet mot et α -stereoselektivt produkt. Deretter ble blandingen dampet av og tilsatt MeOH og Dowex 50W-X8 brukt for å gi det endelige produktet **7**. Forbindelse **7** kunne også reduseres til en mettet fettsyre ved bruk av Pd/C.



Skjema 1.12 Total syntese av glykolipid 43.

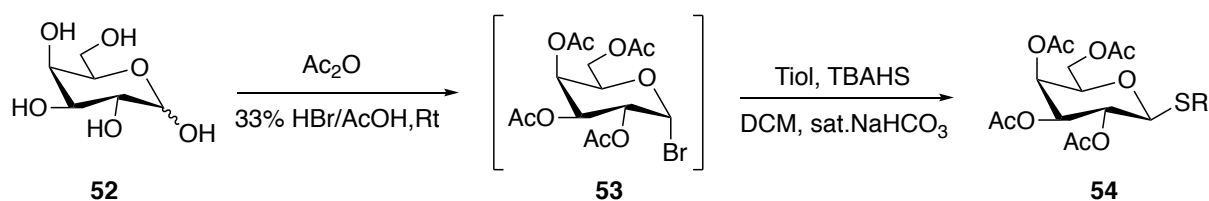
Tioglykosider

Alkyl- og aryl-tioglykosider er allsidige donorer for oligosakkaridsyntese⁹⁴. Grunnet deres kjemiske stabilitet gir tiogrupper god beskyttelse til det anomere karbonet, samtidig som de kan aktiveres av myke elektrofiler og brukes direkte i glykosyleringsreaksjoner. I tillegg kan de brukes for å lage andre donorer. Skjema 1.13 illustrerer hvordan tioglykosider 48 kan aktiveres med en myk elektrofil for å danne sulfoniumionet 49 som en god utgående gruppe. Dermed dannes oxocarbenium intermediet 50, der reaksjon med en *O*-nukleofil gir et *O*-glykosid. Mekanismer under glykosyleringsreaksjoner vil bli diskutert senere i oppgaven.



Skjema 1.13 Illusjtasjon av thioglykosider som aktiveres av myke elektrofiler for bruk i glykosyleringsreaksjoner⁹⁴.

Det er i dag mange metoder for syntese av tioalkyler- og arylglykosider, der den vanligste metoden er syreaktaliserte med en Lewissyre ($\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, SnCl_4 , TMSOTf) av det peracetyllert karbohydratet, men de kan også dannes via andre vanlige glykosyldonorer som glykosylhalider, trikloracetimidater ol.⁶⁹



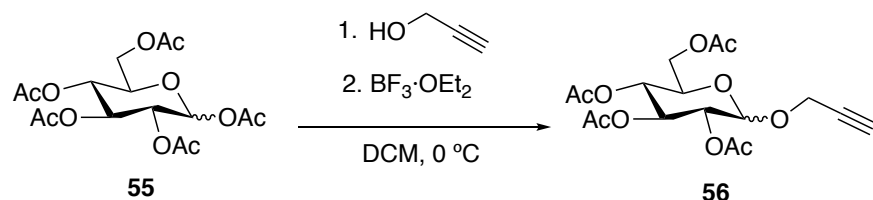
Skjema 1.14 One pot syntese av tioglykosider via glykosylhalider⁹⁵

De tidligste forsøkene på aktivering av tioglykosider tok i bruk tungmetallersalter, som HgSO₄⁷⁷, men fordi utbyttene kun var middelmådige til at metoden kunne brukes på en generell basis. I tillegg er bruk av kvikksølvforbindelser ikke ønskelig.

Senere viste Lönn⁷⁸ en bedre aktiveringsmetode som baseres på alkylering av tioglykosidet med MeOTf. Denne typen tioglykosid er mer reaktiv enn enkle alkyl- og aryl-derivater. Metoden blir fortsatt brukt i dag, men fordi MeOTf er toksisk er det undersøkt om andre alternative reagenser kan brukes. I dag brukes reagenser som dimetylsulfoniumtriflat, TBAHS (DMTST), *N*-iodo.succinimid-triflicsyre (NIS-TfOH) eller NIS/TMSOTf⁷⁹⁻⁸¹.

Alkynylglykosider

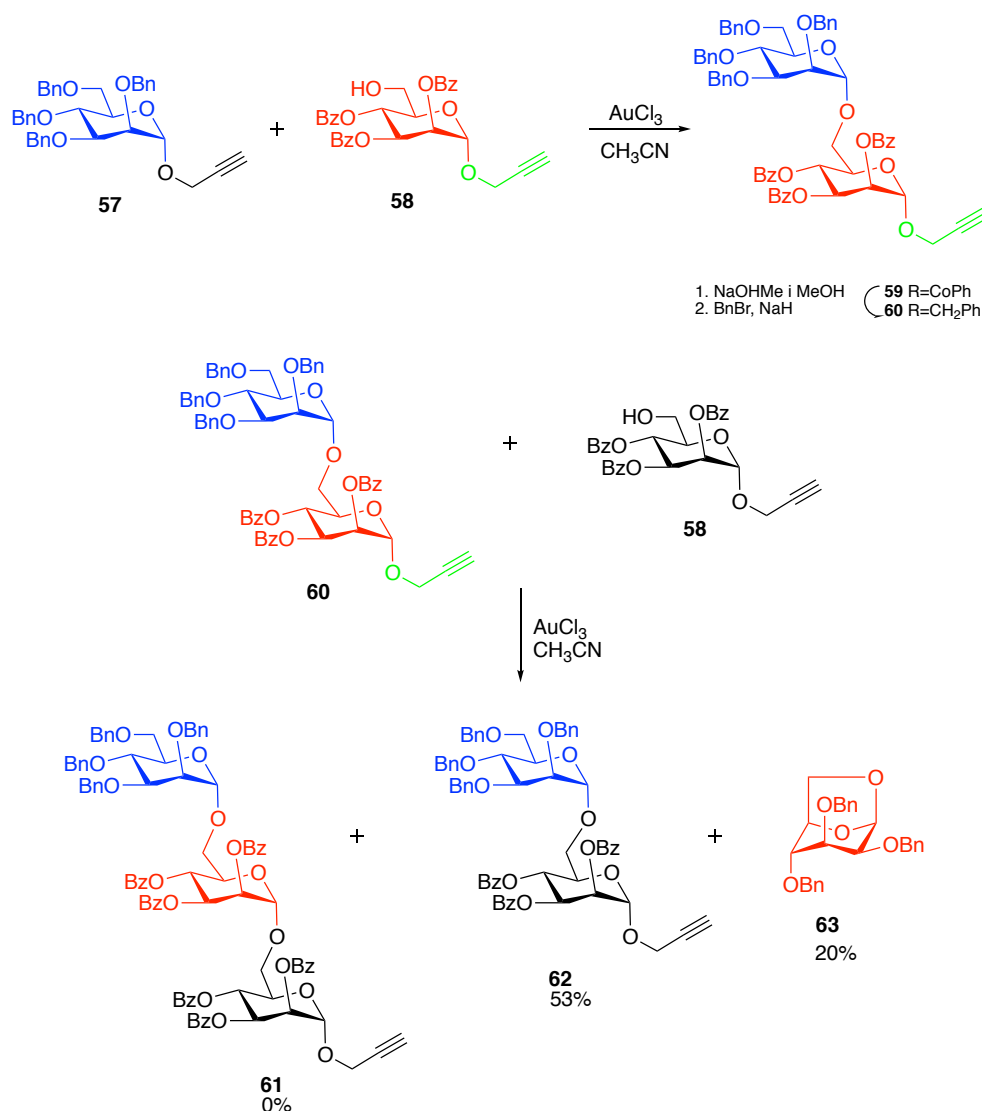
Glykosyl-alkyner er attraktive karbohydrater innen syntetisk kjemi fordi de enkelt kan omdannes til mer komplekse aglykoner ved at den anomere O-alkyngruppen kan kobles til aglykoner via en glykosyleringsreaksjon. Det vanligste alkynylglykosidet er propargylglykosidet og er allsidig brukt i oligosakkaridsynteser. En måte å danne alkynylglykosider er beskrevet av Mereyala *et al.*⁸² der en løsning av peracetyllert-glykosylderivat tilsettes en Lewis-syre katalysator som BF₃·OEt₂ ved 0°C og 3-5 molekvalenter av propargylalkohol. Eksempelvis ble 2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranoside dannet med utbytte på 92%.



Skjema 1.15 Syntese av alkynylglykosid med propargylalkohol og BF₃·OEt₂⁸².

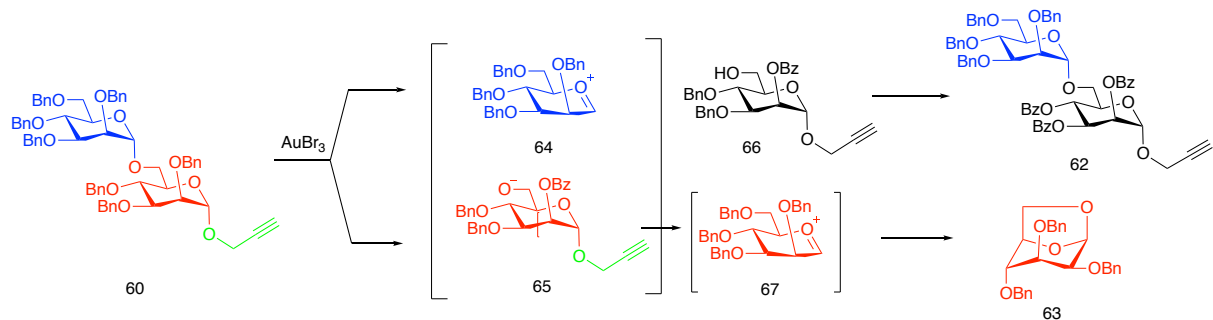
Grunnet alkynenes tiltrekning til gull-katalysatorer, har Au^{III} halider blitt brukt som katalysator for å aktivere propargylglykosider⁷⁶. Ved bruk av AuCl₃ ved 60°C i 60 timer ble

alt startmateriale omdannet, men ved videre kopling ble stereoselektiviteten lite spesifikk med $\alpha:\beta$ dannet i forholdet 1:1⁸³. Det ble forsøkt å bygge sakkarider ved å bruke prinsippet med propargylglykosid aktivering via AuCl_3 ⁹⁶. Som forventet ble donoren **57** koblet til avbeskyttet akseptor **58** for å danne disakkaridet **59** som ble ombeskyttet **60** (skjema 1.16). Videre ble det forsøkt å øke lengden på oligosakkaridet (**60**) ytterligere ved å reagerer med en ny donor **58**, men isteden for dannelse av ønsket trisakkarid **61** ble disakkarid **62** dannet samt anhydrosakkaridet **63**⁷⁶.



Skjema 1.16 Forsøk på syntese av oligosakkarider med bruk av samme glykosylakseptor ved hvert trinn⁹⁶.

Forklaringen bak dette uventede fenomenet er trolig «dobberltaktivering» av glykosyldonor **60** illustrert i skjema 1.17⁹⁶.




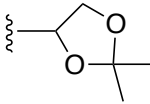
Skjema 1.17 Dobbeltaktivering av glykosyldonoren fører til dannelse av forbindelse 62 og 63 fremfor oligosakkaridet⁹⁶.

1.3.3 Beskyttelsesgrupper og aktivering

I organisk syntese er det en fordel og som regel et krav at man har god kontroll på stereokjemi, regiokjemi og/eller kjemoselektivitet. En måte å gjøre dette på er å bruke beskyttelsesgrupper. Dette er spesielt gunstig for sakkarider som har mange funksjonelle grupper. Vanligvis vil en midlertidig beskyttelsesgruppe introduseres til molekylet, fordi andre funksjonelle grupper ikke «overlever» i det kjemiske miljøet som benyttes for at reaksjon skal finne sted. I tillegg til å beskytte den spesifikke funksjonelle gruppen i en reaksjon, kan de også påvirke reaktivitet til molekylet og ta del i reaksjoner som har påvirkningskraft på stereokjemien til produktet.

Tabell 1.2 Eksempler på noen beskyttelsesgrupper som diskuteres i oppgaven

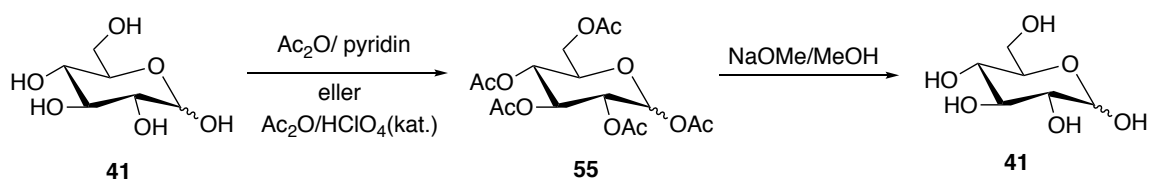
Funksjonalitet	Beskyttelsesgruppe	Struktur	Beskytte	Avbeskytte
Ester	Acetyl		Ac ₂ O og pyridin	CH ₃ NaO og MeOH, NH ₄ ⁺ og MeOH
	Benzoyl		BzCl	CH ₃ NaO og MeOH, NH ₄ ⁺ og MeOH
Eter	Benzyl		BnBr og NaH	Pd-katalysert,

				Birch- reduksjon, Bor-triklorid
	Trimetylsilyl		SiCl ₄ og pyridin	Tetra- <i>n</i> - butylammonium fluorid
Sykliske acetal	Benzylden		1,2- isopropylidenglyserol og H ⁺	Ac, TFA

Det finnes to typer beskyttelsesgrupper: midlertidige (TPG) eller permanente (PPG), hvor permanente beskyttelsesgrupper vil være på molekylet gjennom hele synteser inntil siste trinn hvor målmolekylet skal produseres. Midlertidige beskyttelsesgrupper vil kunne fjernes under syntese for å eksempelvis kunne gi frie hydroksylgrupper som ved det anomere karbonet i noen tilfeller med karbohydrater⁶⁹.

Ester

Både acetater og benzoater introduseres og fjernes under ganske like betingelser, i og med at de begge er acylgrupper. Standard betingelser for esterifisering av sukker er acylklorid (spesielt for benzoater) eller anhydrider (spesielt for acetater) i pyridin (skjema 1.18)⁶⁹. Acetyleringen kan skje under sure betingelser i en effektiv og rask reaksjon. Stabiliteten til esterene er god i surt miljø og moderat stabilt i basisk miljø, og er derfor passende for glykosyleringsreaksjoner. Spesielt acetater har en tendens til å migrere. Dette kan være et problem for forbindelser som kun er delvis beskyttet, da det resulterer i en blanding der hovedprodukter vil være den mest stabile forbindelsen⁹⁷.



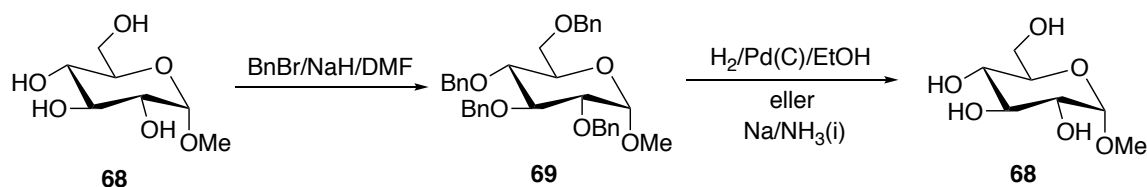
Skjema 1.18 Acetylering og deacetylering av D-glukose⁹⁷.

Standard betingelser for avbeskyttelse av estergrupper er katalytiske mengder natriummetoksid i metanol, i tillegg til andre basiske betingelser som ammoniakk i metanol.

Eter

Benzylering skjer under sterkt basiske betingelser, hvor standard betingelser er benzyl-bromid og natriumhydrid i et aprotisk polart løsningsmiddel (THF, EtOAc, MeCN) (skjema 1.19).

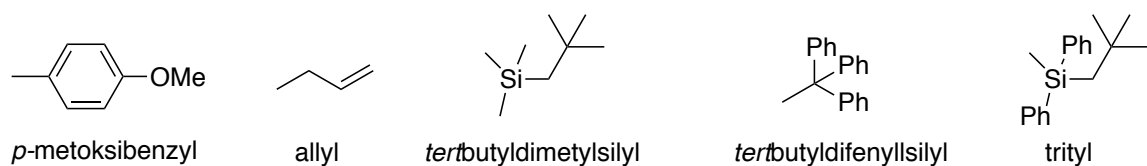
Mindre basiske alternativer kan være Ag_2O som base, eller benzyl-trikloracetimidat/benzyl-triflat som reagens⁶⁹. Disse alternativene er vanligvis mindre effektive, og brukes til å beskytte en eller noen få grupper. Benzylgrupper er veldig gode beskyttelsesgrupper, men har den ulempen at det er nødvendig med kraftige betingelser for at de skal reagere til produktet.



Skjema 1.19 Benzylering og debenzylering av metyl α -D-glukopyranosid⁶⁹.

Benzyl etere er ganske stabile for de fleste betingelser, men kan avbeskyttes med sterkt sure betingelser. Dette skjer vanligvis gjennom katalytisk hydrogenolyse med ulike Pd-katalysatorere. Det er da viktig å ta i betraktning andre funksjonelle grupper på molekylet som kan påvirkes (som tiogrupper/ aminogrupper/alkener). En annen metode kan være Birch type reduksjon (Na/vandig ammoniakk). Disse betingelsene fjerner raskt benzyl etere og er milde mot andre grupper som fosfater og hemiacetaler av redusert sukker⁹⁸

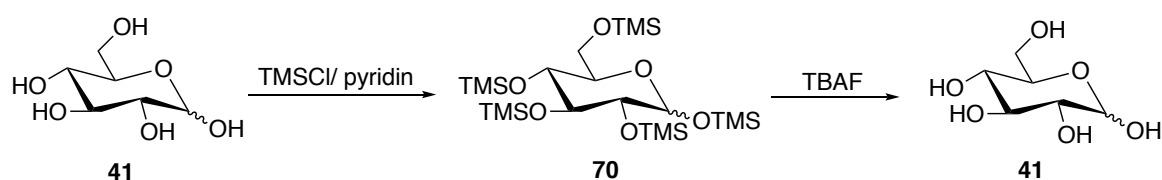
Andre vanlige etere brukt som beskyttelsesgrupper er *p*-metoxybenzyl-, allyl-, trityl-, og silyl- etere. Forskjellen under introduksjonen mellom *p*-metoxybenzyl/ allyl og trityl/ silyl, er at førstnevnte vanligvis dannes under sterkt basiske betingelser, og sistnevnte dannes under svakt basiske betingelser.



Figur 1.14 Vanlige eter beskyttelsesgrupper

Avbeskyttelse av *p*-metoxybenzyl-gruppen skjer ved hydrolyse under oksidativt eller surt miljø⁶⁹. Fordi de er sensitive mot surt miljø kan det bli et problem ved glykosylering. Avbeskyttelse av allyleterer skjer i to steg. Først brukes en sterk base eller en metallkatalysator for omleiring av eteren, så en Lewissyre-katalysert hydrolyse av vinyl eteren. Silyl etere fjernes med bruk av fluorid ioner der basisk, nøytralt eller surt miljø er mulig å oppnå ut fra hvilken fluorid-reagens som blir brukt. Trityl etere fjernes ved syrehydrolyse.

Beskyttelse med silyl derivater ble først tatt i bruk for å komplementere andre beskyttelsesgrupper og brukes i multifunksjonelle forbindelser⁹⁹. Blant annet er trimetylsilyleter, dimetylisopropylsilyleter, dimetyl-*tert*-butylsilyleter brukt som beskyttelsesgrupper der stabiliteten er økende med rekkefølgen de er listet i⁹⁹. Standard betingelser for beskyttelse for alkoholer er bruk av vanligvis kommersielt tilgjengelig klorosilan i base (vanligvis pyridin).

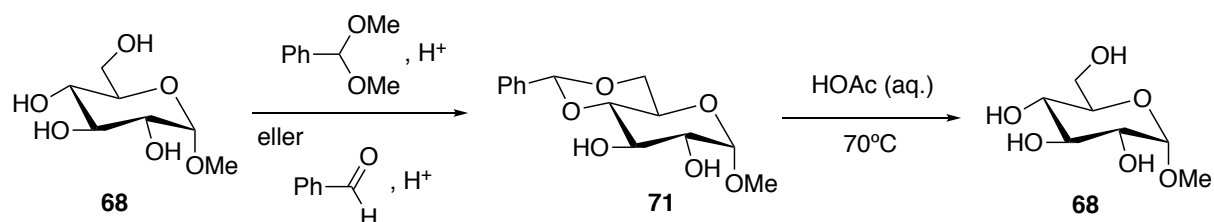


Skjema 1.20 Beskyttelse med trimetylsilyl og avbeskyttelse⁹⁹.

Beskyttelsesgruppene blir enkelt kløyvd av med bruk av fluoridholdige reagenser, som tetra-*n*-butylammonium fluorid.

Sykliske acetal

Sykliske acetal som benzyliden- og isoprpylidenacetaler kan brukes til å beskytte to hydroksylgrupper samtidig. De introduseres ved at enten aldehydet eller dimethoxy acetal benyttes som reagens sammen med en syrekatalysator (skjema 1.21)¹⁰⁰.



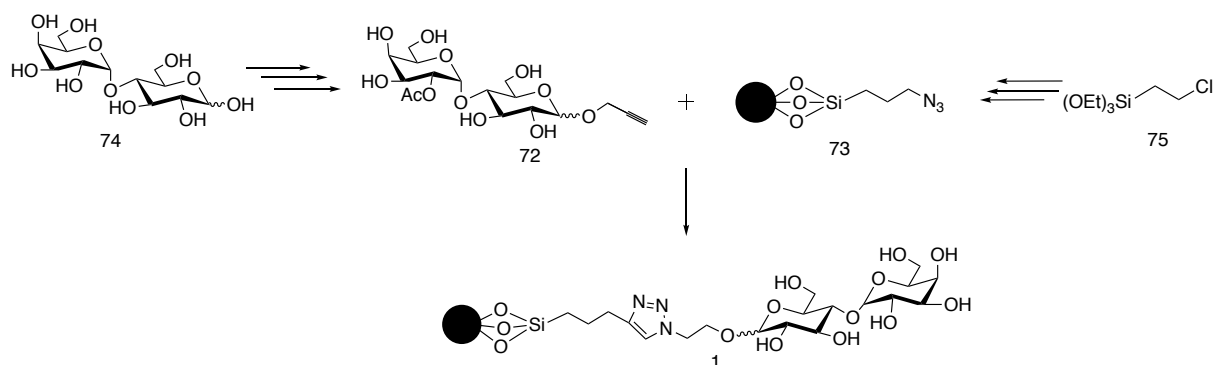
Skjema 1.21 Eksempel på benzylidenering og debenzylidenering av metyl α -D-glukopyranosid¹⁰⁰.

Avbeskyttelse skjer ved syrehydrolyse, ved bruk av standard betingelser som eddiksyre ved høyere temperaturer, eller ved bruk av TFA ved 0°C.

2. Resultater og diskusjon

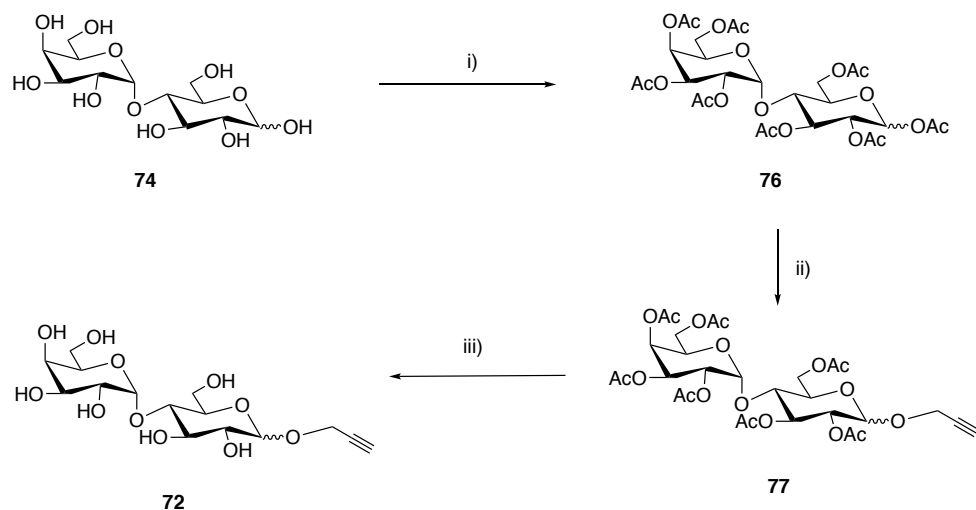
2.1 Syntese av «Klikk-maltose»

Syntesestrategien er vist i skjema 2.1. Syntesen er en konvergent syntese der alkynet **72** og azidet **73** lages hver for seg. Deretter blir en CuAAC reaksjon utført.



Figur 2.1 Syntese av «klikk-maltose».

2.1.1 Syntese av alkynylglykosid **72**



Skjema 2.1 i) Ac_2O , pyridin, rt, 24t ;ii) Propargylalkohol, DCM, $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, 0°C , 24t ;iii) MeOH, NaOCH_3 , rt, 1t

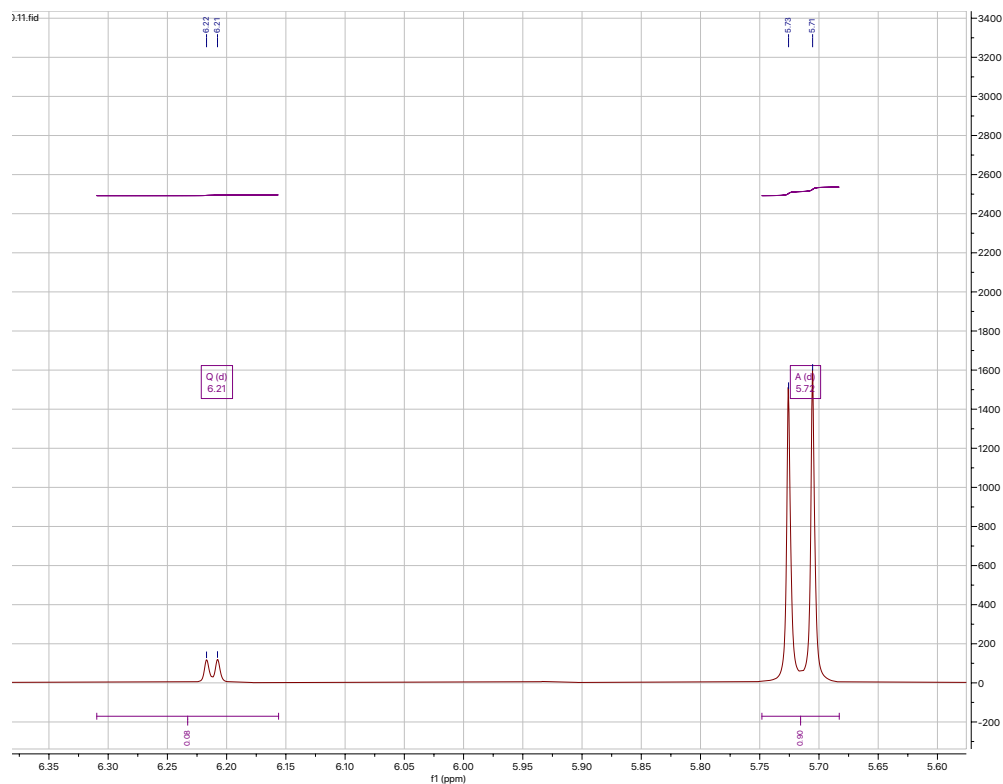
2.1.1.1. i)

Før selve koblingsreaksjonen kunne utføres, måtte hydroksylgruppene beskyttes, og det anomere karbonet aktiveres. I henhold til Wu *et al.*¹⁰¹ sin prosedyre ble maltose reagert med eddiksyreanhydrid for å danne **76**. Acetalgruppen på det anomere karbonet fungerer her som en aktiveringsgruppe, altså en utgående gruppe i neste reaksjon.

¹H og ¹³C-NMR viste rester av pyridin etter reaksjonen av råoljen. Fjerning av dette ble en utfordring. Det ble forsøkt ulike fremgangsmåter for å rense opp forbindelsen, som destillering og flash-kolonnekromatografi, men opprensingen viste seg å være tidkrevende og lite effektive.

Det ble også forsøkt å rense opp ved azeotrop-destillering med diklormetan. Dette viste seg å være ganske effektivt, selv om små mengder pyridin fortsatt var tilstede. Vi fant også at omkrystallisering kunne benyttes til å fjerne rester av pyridin, men såpass mye stoff gikk tapt at vi bestemte at det var bedre med små mengder pyridin enn lavt utbytte, da pyridin viste seg å ikke påvirke den neste reaksjonen. Spektrale data viser overenstemmelse av dannelse av **40** ved at karakteristiske ¹H NMR resonans med fem resonanser i området 2.00-2.21 ppm. Disse representerer acetylgruppene. ¹³C NMR viste disse gruppene som resonanser ved 20.39-20.97 ppm.

Det ble rapportert en blanding av diasteromerene $\alpha:\beta$ i forhold 8:1 og et utbytte på >95% som er noe høyere enn 89% vi fikk. ¹H NMR viste samme blanding for diasteromerene $\alpha:\beta$ (fig. 2.2).



Figur 2.2 Utklipp av ^1H NMR spekter av forbindelse **40**, med fokus på det anomere protonet.

2.1.1.2. ii)

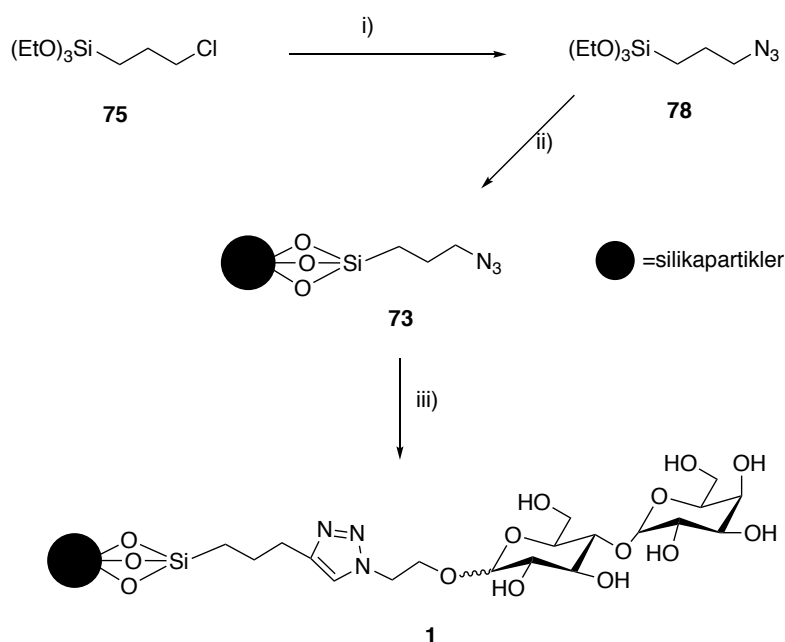
Videre ble det anomere karbonet aktivert med $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, og reagert med propargylalkohol over natten. Propargylglykosidet (**77**) ble dannet slik det er beskrevet av Zuffo *et al.*¹⁰². Som forklart i litteraturen kan sukkeret brukes videre som det er, eller alternativt renses opp med flash-kolonnekromatografi (1:2, Heksan:EtOAc). Sistnevnte variant ga et utbytte på 61%. Fordi råoljeutbyttet var på 91% var det tydelig at mye gikk tapt under opprensing. Det ble derfor bestemt at det var rent nok til å brukes videre uten rensing. Råoljen var brun i fargen.

Spektrale data viste god overensstemmelse med dannelsen av **77** som råolje, ved at ^1H NMR viste en ny resonans på 2.45 ppm (1H, t) representativt for det terminale alkyprotonet. Dessuten var det også et nytt signal ved 4.34-4.35 ppm (2H, d) med de to resterende protonene fra alkendelen tilstede i høyere skift. Samtidig var resterende protoner fra beskyttelsesgruppene fortsatt tilstede, med unntak av én acetalgruppe, som tidligere var bundet til det anomere karbonet. ^{13}C NMR viste et nytt signal for alkyet, som forventet ved 55.87 ppm.

2.1.1.3. iii)

Alkynylglykosidet ble avbeskyttet¹⁰², der avfargning fra tidligere prosedyre ble borte og ga et hvitt skum som produkt **72**. Reaksjonen ga et utbytte på 82%. Det ble observert at forbindelsen kun var løselig i polare løsemidler, som også indikerte at beskyttelsesgruppene var fjernet og forbindelsen derfor har blitt veldig polar grunnet alle hydroksylgruppene. ¹H NMR og ¹³C NMR at resonans for acetalgruppene ved 2.00-2.21ppm ikke er tilstede. I tillegg viste IR-spekteret bred absorpsjon på 3267cm⁻¹ karakteristisk for hydroksylgruppene. Spekteret viste også absorpsjon for azid på 2121cm⁻¹.

2.1.2 Syntese av triazol **1**



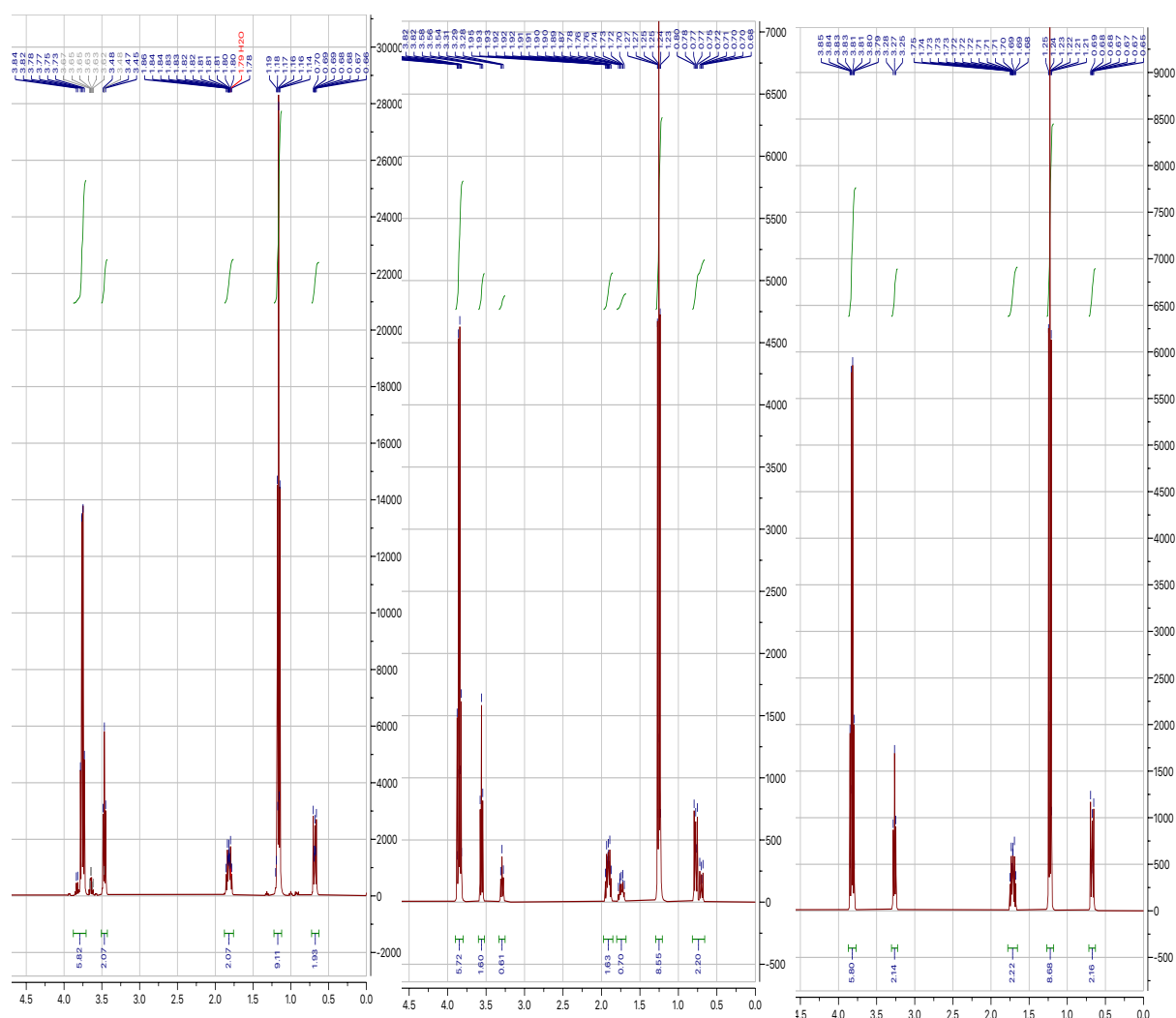
Skjema 2.2 i) 3-kloropropyltrietoksysilan, tetrabutylammonium jodid, DMF, natriumazid, reflux, 50t; ii) silika, toluen, azidopropyltrietoksysilan, reflux 48t; iii) silikaazid, CuSO₄, (+)-natrium-L-ascorbat, alkynylglykosid, 1:1 vann:MeOH, rt, 24t

2.1.2.1. i)

Videre i syntese strategien var det i henhold til prosedyren av Ortega-Muñoz *et al.*¹⁰³ forsøkt å lage forbindelse **78** med tetrabutylammonium jodid, natriumazid og butanon. Reaksjonen ble forsøkt flere ganger. Spektrale data var ikke i overensstemmelse med dannelsen av forbindelsen, men viste store mengder ureagert startmateriale.

Det ble forsøkt med flere variasjoner av polare aprotiske løsemidler, temperatur og reaksjonstid. Acetonitril og DMF ble forsøkt under reflux i 24 timer, men var ikke vellykket

som beskrevet i prosedyren. Å sette opp reaksjonstiden med både 24 timer og 48 timer, ga fortsatt ureagert startmateriale og uidentifiserbart produkt. Det ble bestemt å sette opp parallell med reaksjoner med acetonitril og DMF ved 80°C i 24 timer. ^1H NMR spekteret viste dannelse av **78** med DMF. Med acetonitril var det betydelige mengder startmateriale igjen etter reaksjonstiden. For reaksjonen med DMF var utbyttet på >95%. ^1H NMR og ^{13}C NMR spekterene var i overensstemmelse for det som er beskrevet i prosedyren for råoljen¹⁰³. Det var IR-absorpsjon ved 2097 cm^{-1} for azid-gruppen.



Figur 2.3 Sammenligning av ^1H NMR av startmateriale 3-kloropropyltriethoxysilane **75** (venstre), av produkt **78** etter reaksjon med acetonitril (midten) og DMF (høyre).

2.1.2.2. ii)

Videre ble silikapartikler reagert på 3-azidopropyltriethoxysilan i henhold til samme prosedyre som i forrige syntesetrinn¹⁰³.

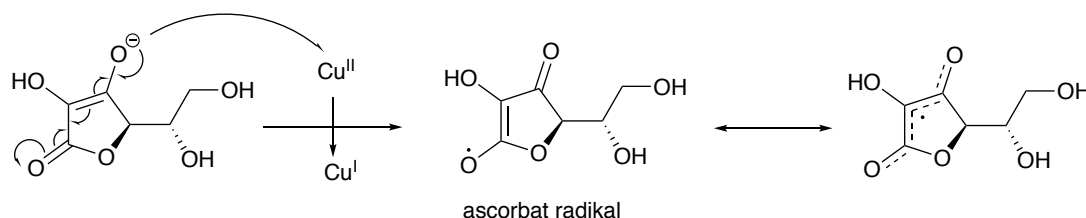
Forsøket ble først utført med et testsystem med silikapartikler (0.040-0.063mm), før silikapartikler (monodisperse, ikke-porøse, 3.0µm) skulle brukes. Grunnen er at silika med ønsket partikkelstørrelse er betydelig dyrere enn silika til flashkolonne. Reaksjonen ble fulgt med IR-instrument. Resultatet viste et noe lavere IR-strekk for azid **73** enn ved tidligere prosedyresteg med **78** og skyldes trolig at azidet har festet seg på et fåtall silikapartikler. Dette er forventet da silikapartiklene var i stort overskudd. Det er også verdt å merke seg at silikapartiklene ikke har stor andel av frie hydroksylgrupper på overflaten.

Det ble forsøkt å aktivere silikapartiklene ytterligere ved å hydrolysere en del av Si-O-Si bindingene med base ved natriumhydroksid og med syre ved HCl, men dette førte til fullstendig hydrolyse.

Problemet ble løst ved å øke reaksjonstiden til 48 timer fra tidligere 16 timer, og øke mengden startmateriale av **78** med 3 ekvivalenter. I tillegg ble forbindelse **78** tilsatt reaksjonen ved romtemperatur. Det var ikke beskrevet i prosedyren hvor mye utbytte av **73** var grunnet usikkerhet på vekten til enkelte silikapartikler. ¹H NMR og ¹³C NMR ble tatt opp med CD₃OD, men var ikke mulig å tolke, selv om det ble forsøkt med ulike NMR løsemidler som CDCl₃, CD₃OD, D₂O. IR-spekter viser absorpsjon på 2149 cm⁻¹, som er forventet absorpsjon for azid-gruppen.

2.1.2.3. iii)

Selve klikk-kjemien skjer i en kobberkatalysert azid-alkyn sykloaddisjon. Katalysatoren i reaksjonen var kobber som ble oksidert med (+)natrium-*L*-ascorbat ved å redusere Cu(II) til Cu(I) og danne ascorbat radikal. Her ble Cu(II)sulfatid brukt.

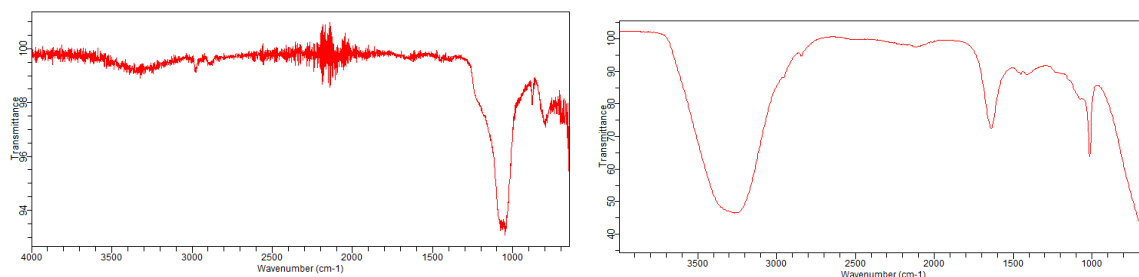


Skjema 2.3 (+)natrium-*L*-ascorbat som aktivator av kobberkatalysatoren under CuAAC.

Det ble også forsøkt med Cu(I) jodid som også fungerte.

Det er forventet at IR-absorpsjon for azid fra forbindelse **73** vil forsvinne under dannelsen av 1,2,3-triazol produkt **1**. Det observerte fargeforandring til en gråaktig farge, og svakere IR-

absorpsjon på 2097cm^{-1} under reaksjonsforløpet. Reaksjonen ble kjørt til dette IR-signalet forsvant fullstendig og deretter sto blandingen i ytterligere 15 minutter (fig 2.4). Etter vask og tørking av forbindelsen ble IR-absorpsjon for azid ikke lenger å finne, som forventet, og forbindelsen ville heller ikke la seg løse i D_2O . Ny absorpsjon for hydroksylgruppene på maltosen var på 3266cm^{-1} .

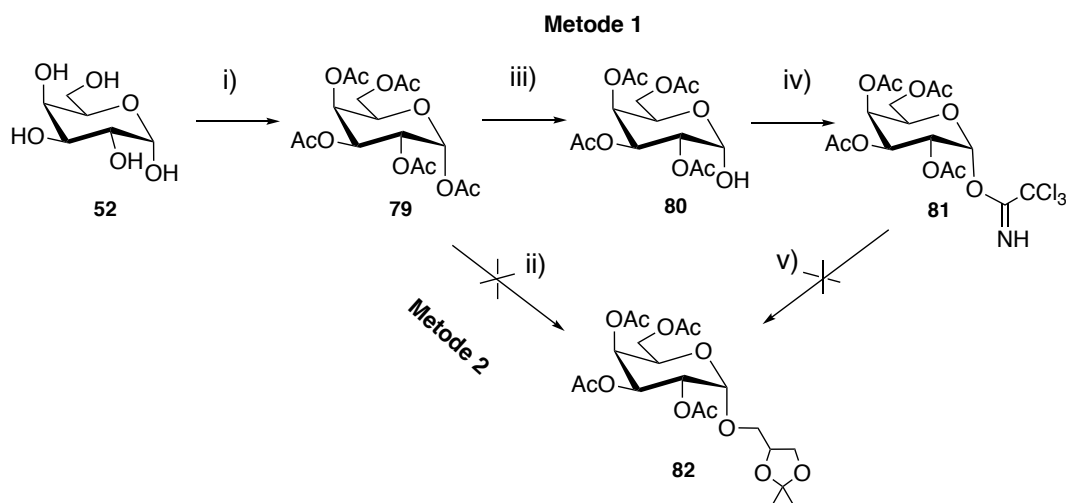


Figur 2.4 IR spekter av forbindelse 73 (venstre) og 1 (høyre).

Vi fant ingen direkte måte å bevise dannelsen på, men ble enige med professor Morten Sørli, som var ansvarlig for den videre skjebnen til kolonnematerialet, om at den skulle testes slik den var. På grunn av nedstengning av laboratoriet, ble det ikke mulig å utføre videre analyser og pakking ved tidspunktet denne oppgaven leveres.

2.2 Syntese av MGDG: strategi A

Det ble lagt en syntesestrategi (skjema 2.4), med to metoder for innledende syntese mot MGDGer. Dette er en lineær strategi som, ved metode 1, er utviklet for å kunne styre stereokjemien til produktet som ville vært α -diastereomer av trikloracetimidatet. Da metode 1 ikke ga lave utbytter ble metode 2 utviklet for direkte kobling fra acetylgruppen på den anomere posisjonen mot 1,2-isopropylidenglyserol-akseptoren.



Skjema 2.4 i) Ac_2O , pyridin, 24t; ii) tørr DCM, $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, 1,2-isopropylidenglyserol, -20°C , 24t; iii) Benzylamine, THF, rt, 24t; iv) DCM, DBU, CNCCl_3 , rt, 1t; v) $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, dry DCM, $0-4^\circ\text{C}$, 24t

Felles for begge fremgangsmåtene i metode 1 og metode 2 er beskyttelsesgruppene på galaktosen. Det ble først forsøkt å perbenzylere galaktose, men lyktes ikke med det. Det ble derfor valgt å peracetylere karbohydratet (79). Standard betingelser for peracetylering av galaktosen er Ac_2O og pyridin. Som ved peracetylering av maltose, var det problemer med rester av pyridin i løsningen. Problemet ble løst med azeotrop-destillering med diklormetan.

^1H NMR spekteret viste 12 protoner for metyl på acetylgruppene ved 1.93-2.10ppm. Det anomere protonet kommer på høyeste resonans for karbohydratskjelettet ved 5.63-5.64ppm (1H). Resterende protoner var mellom 3.99-5.4ppm (6H). ^{13}C NMR spekteret viste forventede resonans for acetylgruppene ved 168.96-170.32ppm (C5) og for metylgruppene ved 20.52-20.99ppm (C6). Det anomere karbonet hadde en resonans på 92.16ppm og resterende karboner i karbohydratskjelettet er å finne fra 61.02-71.70ppm (C5).

2.2.1 Metode 1 for forsøk på syntese av glykosid 82

2.2.1.1. iii)

I henhold til prosedyren til Tosin *et al.* ble peracetyllert galaktose (79), benzylamin og THF brukt for regiosektiv avbeksyttelse den mest reaktive acetylgruppen på det anomere posisjonen, og gi 82. Det var viktig at denne posisjonen hadde en fri hydroksylgruppe som det elektronfattige nitrilet fra trikloracetnitril kan koble seg til.

^1H NMR spekteret tatt opp av forbindelsen viste fortsatt karakteristisk resonans for acetylgruppene på 1.93-2.10ppm. Protonet på det anomere karbonet har fått en økende

forskyvning av skift på 0.11ppm. ^{13}C NMR viser karbonylgruppene for acetalet på 170.17-170.68ppm (4C). En resonans ved 90.54 er karakteristisk for det anomere karbonet som er koblet til hydroksylgruppen, og 5 resonanser ved 61.77-70.91ppm for karbonene på karbohydratskjelettet. Resonans ved 20.59-20.77 (4C) var metylgruppenen. Forbindelsen ble testet for IR-absorbans og viste OH strekk ved 3418cm^{-1} .

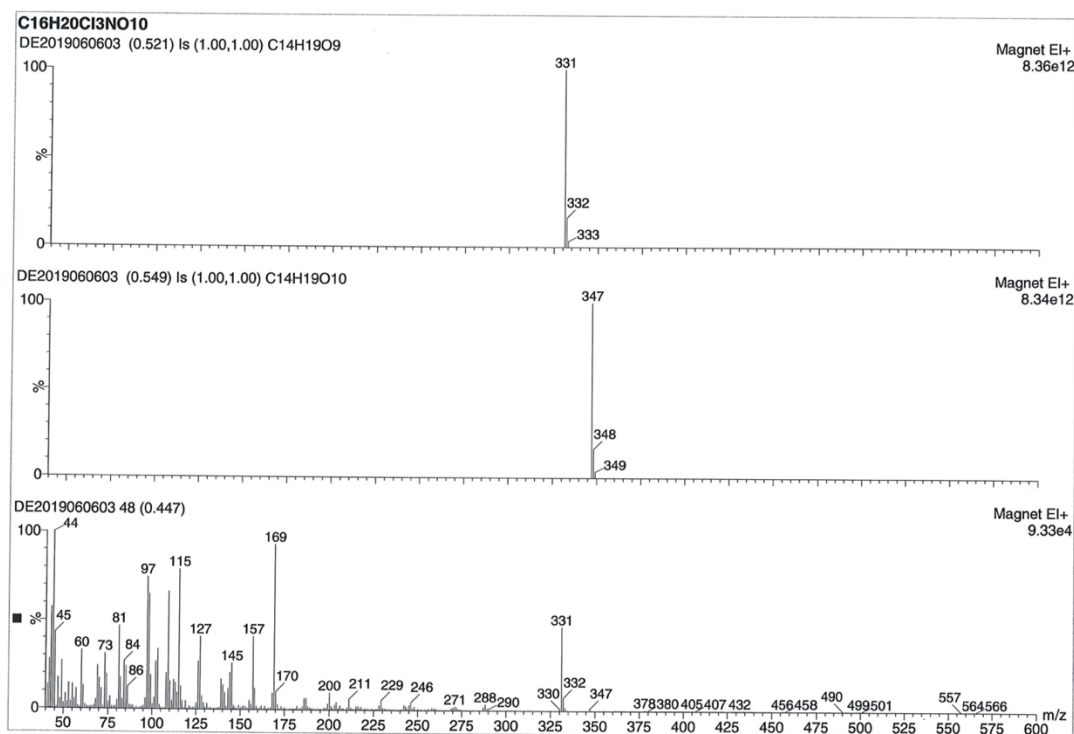
2.2.1.2. iv)

Videre ble karbohydratet aktivert med trikloracetonitril og DBU i henhold til prosedyre av Zuffo *et al.*¹⁰². Dette resulterte i trikloracetimidatet **81**.

Fra ^1H NMR-spekteret er det forventet å finne en ny resonans karakteristisk for protonet på imidatet. I dette tilfellet er singleten å finne på 8.66ppm. Det anomere protonet som skal ha høyest skift av protonene på karbohydratet har fått en økende forskyvning i skift med 1.18ppm. Resterende resonanser for beskyttelsesgruppene og karbohydratskjelett stemmer overens med rapporterte resultater.

Ny resonans for karbonet på imidatet på ^{13}C NMR-spekteret var å finne ved omkring samme resonans som for acetylgruppene, ved 169.57-170.58ppm (C1), men karbonet som er festet til tre kloratomer er ikke å se på C-13 spekteret. Det anomere karbonet hadde karakteristisk resonans på 98.66ppm. Resterende resonanser for metyl på acetylgruppene var å finne ved 20.54-20.80ppm, og 60.40-70.86ppm for resterende karboner på karbohydratet.

IR-absorpsjon av forbindelsen viste at OH-strekket fra tidligere ble borte. Det gir god indikasjon på at trikloracetimidatet er satt på karbohydratet da hydroksylgruppen ikke lenger er der. Likevel ble det bestemt å ta opp MS spekter av forbindelsen grunnet de inkonsistente resultatene. MS viste en viktig fragmentering ved 331m/z , som er tap av $\text{O-C}=\text{NH-CCl}_3$, og dermed enda klarere at forbindelsen er dannet.



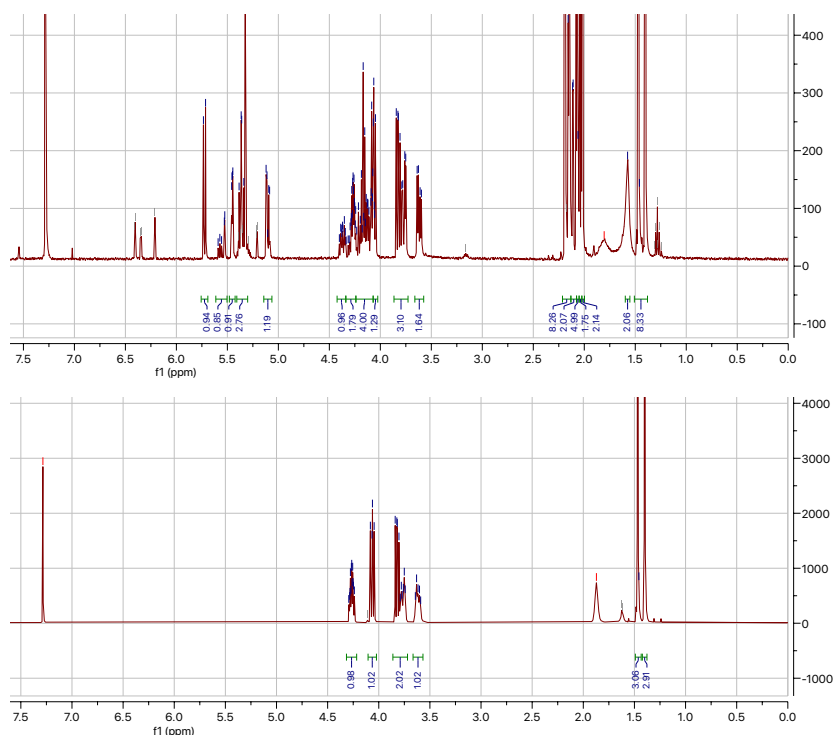
Figur 2.5 MS spekter av forbindelse 4.

Utfordringer med denne prosedyren var dårlig repeterbarheten og store svingninger i utbytte. Samme reagenser ble brukt ved hver reaksjon, og reaksjonstiden var den samme. På tross av disse utfordringene ble det forsøkt å gå videre med syntesestrategien for å teste koblingsreaksjonen.

2.2.1.3. v)

Det ble bestemt å teste koblingen med glykosyl-trikloracetimidatet og 1,2-isopropylidenglycerol i henhold til prosedyren av Vengut-Climent *et al.*¹⁰⁴. $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ ble brukt som Lewisyre med vannfri DCM som løsemiddel.

^1H NMR spekter av forbindelse **82** etter reaksjonen viste en mekanisk blanding av startmateriale og forbindelse **80**. På figur 2.6 er det tydelig at startmaterialet 1,2-isopropylidenglyserol har samme skift som ved før reaksjonsstart. Det ble gjort flere forsøk på å koble startmaterialet med forbindelse **80**, men alle forsøkene var mislykkede – altså ble ikke ønsket produkt isolert.



Figur 2.6 ^1H NMR spektre av forbindelsen etter reaksjon mellom forbindelse 3 (øverst) og startmateriale 1,2-isopropylidineglyseol (nederst).

Denne strategien var uansett ikke noe å forfølge da utbyttene ikke var gode nok. Spektroskopi indikerte til tider spor av ønsket produkt, men utbyttene var for lave til at det var verdt å gå videre med.

2.2.2 Metode 2 for forsøk på syntese av glykosid 82

2.2.2.1 ii)

Metoden ble brukt for å teste koblingsreaksjonen ytterligere for å finne løsninger, uten aktivere galaktosen. Denne strategien er ikke spesifikk mot en epimer, derfor vil en blanding av epimere mest sannsynlig vært resultatet. Basert på samme prosedyre av Vengut-Climent *et al.*¹⁰⁴ ble $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ brukt som Lewisyre og tørr DCM som løsemiddel.

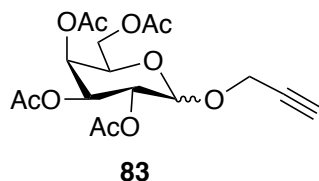
Spektrale data viste at forbindelsen ikke ble dannet. Derfor ble det forsøkt med forskjellige tilnærminger. Det var størst mistanke om at det ikke var vannfritt nok under reaksjonsforløpet. Det ble bestemt å bruke nye flakser med tørr DCM, ny flaske med $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, bytte manifold og slanger som førte inn nitrogen til reaksjonen. Det ble også prøvd ut 3Å molekylæresieves, 4Å molekylæresives, aktivert MgSO_4 , ditrit og 4Å molekylæresieves i pulverform som tørkemiddel. Alle tørkemidlene ble tørket over natten før rekasjonen ble

utført. 4Å molekylsieves (pulver) ble tørket under vakuum ved 110°C over natten i selve reaksjonskolben før løsemiddelet ble tilsatt. Løsemiddelet og tørkemiddelet ble rørt sammen over en periode for å forsikre tørre betingelser. Det ble også byttet flaske med diklormetan til en uåpnet flaske. Dessverre ga ingen av reaksjonene ønsket produkt.

2.3 Syntese av MGDG: strategi B

Grunnet de dårlige utbyttene og ikke vellykkede reaksjoner ved syntesestrategi A for MGDG, ble det bestemt å forsøke en ny tilnærming. Syntesestrategi B var en konvergent strategi der glykosyldonor og glykosylakseptor ble syntetisert uavhengig av hverandre før koblingsreaksjonen ble forsøkt.

I og med at det var vanskeligheter med selve glykosidbindingen var det naturlig å gå videre med et testsystem for koblingen. Det ble bestemt å syntetisere et alkynylglykosid **83**.

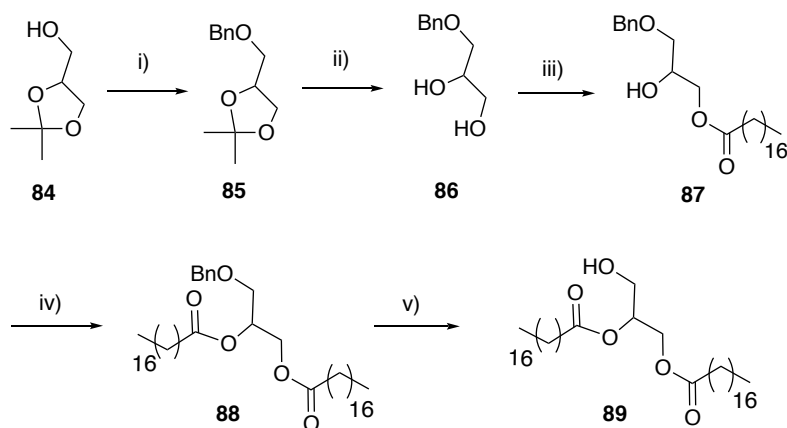


Basert på Zuffo *et al.*¹⁰² sine prosedyrer ble peracetyllert galaktose (**79**) fra syntesestrategi B suksessfullt koblet til propargylalkohol. Denne reaksjonen ga indikasjoner på at selve koblingsreaksjonen mellom glykosyldonor og glykosylakseptor var mulig. Det er likevel viktig å påpeke at det ble brukt opp mot tre ekvivalenter av reagenser for å få ønsket resultat for glykosidet. ¹H NMR stemmer overens med forventninger av ny resonans for alkynet ved 2.42ppm (1H) og to resterende protoner av alkynet som kommer trolig som multipllett ved 4.09-4.28ppm (3H).

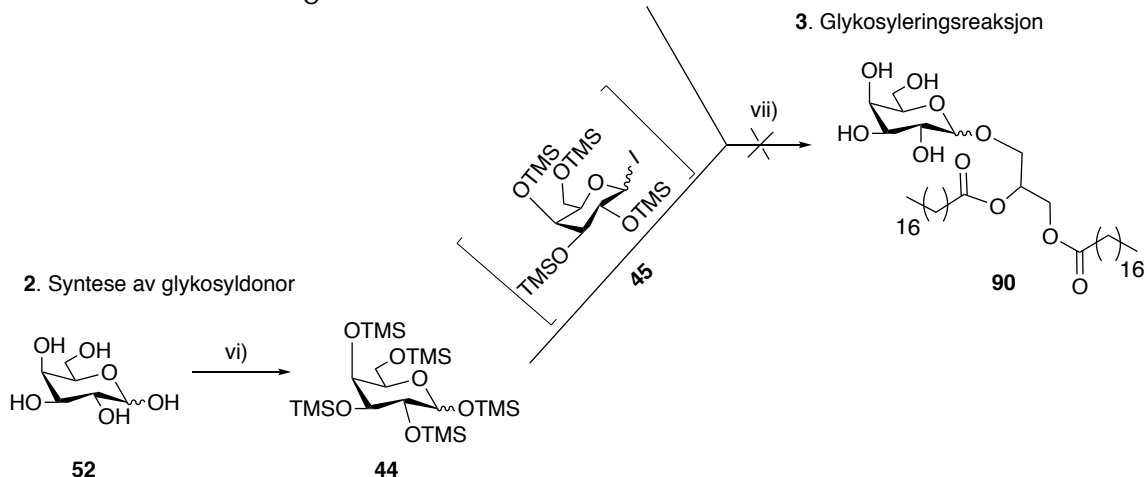
¹³C NMR spekteret viste 4 resonanser for acetylgruppene ved 168.57-169.41ppm for karbonene fra karbonylen og 19.56-19.77ppm for karbonene på metylgruppene. Karbonet i alkynet som er nærmest glykosidbinding hadde resonans på 45.36ppm. Det anomere karbonet hadde en resonans på 97.65ppm. Resterende karboner fra karbohydratskjellet og to karboner fra alkynet har en resonans fra 54.92ppm-69.85ppm (C5-karbohydrat og C2-alkyn).

IR-spekteret av forbindelsen viste absorbans ved 1736cm⁻¹ for acetylgruppene.

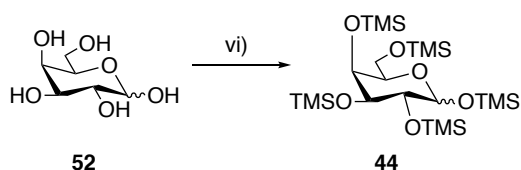
1. Syntese av glykosylakseptor



3. Glykosyleringsreaksjon



2. Syntese av glykosyldonor



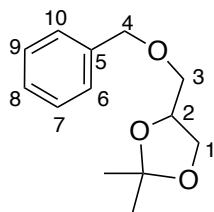
Skjema 2.5 i) Benzyl-bromid, DMF, NaH, 0°C, 24t; ii) 70% vannlig AcOH, 80°C, 30min; iii) stearinsyre 1eq., DCC, DMAP, DCM, 0°C, 12t; iv) stearinsyre 1.5eq., DCC, DMAP, DCM, 0°C, 12t; v) bor-triklorid, DCM, -78°C, 30min; vi) TMSCl, pyridin, rt, 24t; vii) 1. TMSI, 0°C, 20 min 2. MS (pulver), TBAI, DIPEA, DCM, rt, 36t 3. MeOH, Dowex 50W-X8, rt, 4t

Syntesestrategi B baseres på one-pot prosedyren til Du *et al.*⁹³, der 2,3,4,6-tetra-*O*-silylert galaktosyljodider blir koblet til en fullt funksjonell akseptor via en *O*-glykosylering som illustrert i skjema 2.5. Denne syntesen var ment som et testsystem, før andre fettsyrer kunne kobles til. Dette grunnet utfordringene med koblingsreaksjonen fra syntesestrategi A, samt at de ønskede C17 og C19 fettsyrer er betraktelig dyrere enn fettsyrer med parantall karboner som det ble testet med.

2.3.1 Syntese av glykosylakseptor 89

2.3.1.1. i)

Første steg av syntesen av glykosylakseptoren var å beskytte alkoholgruppen på startmaterialet 1,2-isopropylidenglyserol (**84**). Alkoholgruppen ble beskyttet med standard betingelser benzyl-bromid og natriumhydrid.

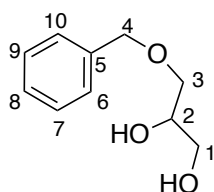


Figur 2.7 Forbindelse **85**

Reaksjonen ble basert på prosedyren til Du *et al.*⁹³ som var enkel og ga gode utbytter (>95%). Opprensing ble utført på kromatografikolonne med SiO₂. Rf verdien for ønsket forbindelse var høy i forhold til andre biprodukter i blandingen og forbindelsen var dermed enkelt å isolere. ¹H NMR-spekteret viste karakteristisk resonans for metylgruppene på 1.36 og 1.42ppm (3H x 2) og samtidig resonans for fenyl-gruppen ved 7.23ppm. ¹³C NMR spekteret viste også de karakteristiske resonansene for metylgruppene på 25.46 og 26.84ppm og benzylgruppen på 109.46-138.04ppm. De resterende fire karboner i form av O-C kom ved 66.94-74.81ppm.

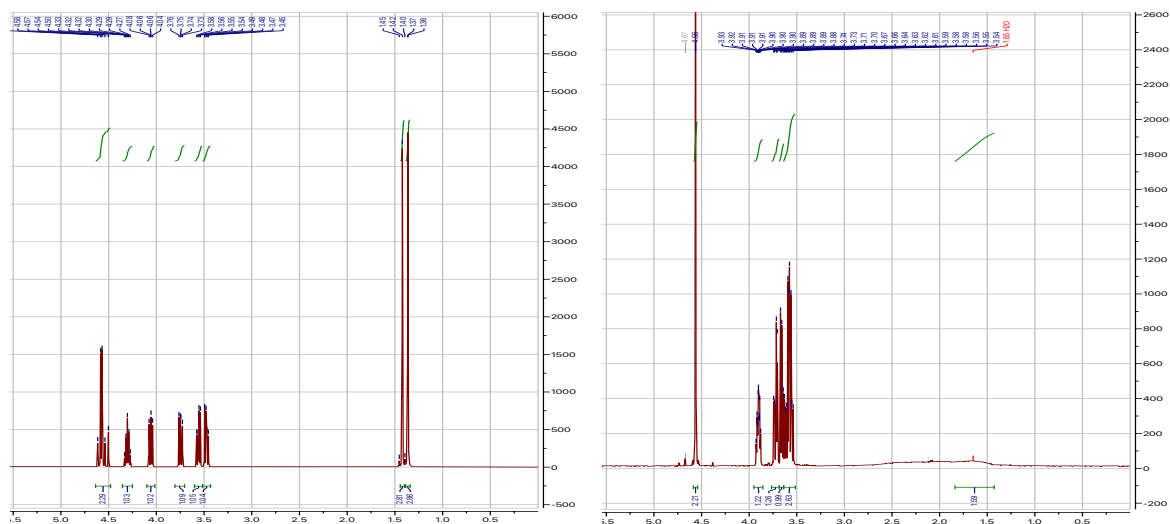
2.3.1.2. ii)

Neste syntesetrinn var åpning av acetalet på glyserolen **84**. De sure betingelsene med eddiksyre og oppvarming kløyvde av acetalet. Reaksjonen ga et utbytte på 60% etter opprensing som var noe lavere enn 79% rapportert i litteraturen⁹³. En av årsakene til det lave utbyttet er at Du *et al.* valgte å ikke rense opp ved første syntesesteg under beskyttelse, og rapporterte bare utbytte over to trinn. Til sammenligning er vårt utbytte over to trinn 85%.



Figur 2.8 Forbindelse **86**

De karakteristiske resonansene i ^1H NMR spekteret for metylgruppene er ikke lenger tilstede. Det var derimot en veldig bred resonans ved 1.55-2.05ppm (2H) for de nye hydroksylgruppene. En bred absorpsjon i IR-spekteret på 3396cm^{-1} styrker teorien om dannelsen av OH gruppene. Samtidig fantes resonanser for resterende proton for C-4 ved 4.56ppm (2H) og C-1, C-2, C-3 ved 3.53-3.91ppm (4H). ^{13}C NMR viste også at metylgruppene ikke lenger var å finne i spekteret (fig. 2.9).



Figur 2.9 ^1H NMR spekter av forbindelse **85** venstre og **86** høyre.

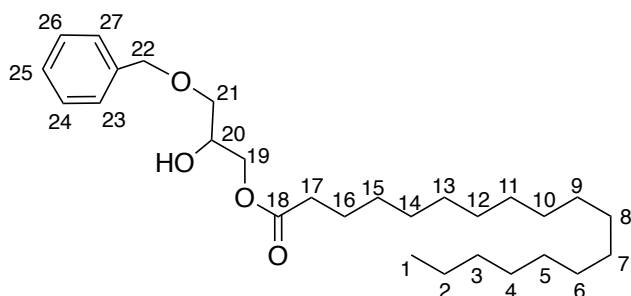
2.3.1.3. iii)

Videre ble det bestemt å bruke stearinsyre (C18:0) for å koble til alkoholene.

Reaksjonsbetingelsene for ester dannelsen var bruk av DCC (*N,N'*-Disyklohekykarbodiimid) som dehydrerende reagens og DMAP (4-Dimethylaminopyridine) som katalysator. Problemet med bruk av DCC var dannelsen av DCU (*N,N'*-Disyklohekyurea) etter hydrering, som ofte vises som hvite partikler. Partiklene kan være vanskelig å bli kvitt, men i dette tilfellet var nedkjøling av forbindelsen før gjentatte opprensinger gjennom filter med bruk av minimalt med løsemiddel nok til fjerne mesteparten. Resterende partikler ble filtret bort med flash kolonne-kromatografi.

Selv om testsystemet har samme fettsyre i posisjon 1 og 2 ved fullført syntese var det viktig å forsøke å feste på fettsyren på bare den primære OH-gruppen før andre fettsyrer ble koblet til ved neste reaksjon. Dette var for å teste om det var mulig å få fettsyren til å reagere kun på den primære alkoholen da den vanligvis er mer reaktiv enn den sekundære alkoholen. Dette fordi vi i selve målmolekylet skulle ha ulike fettsyrer i sp-1 og sp-2.

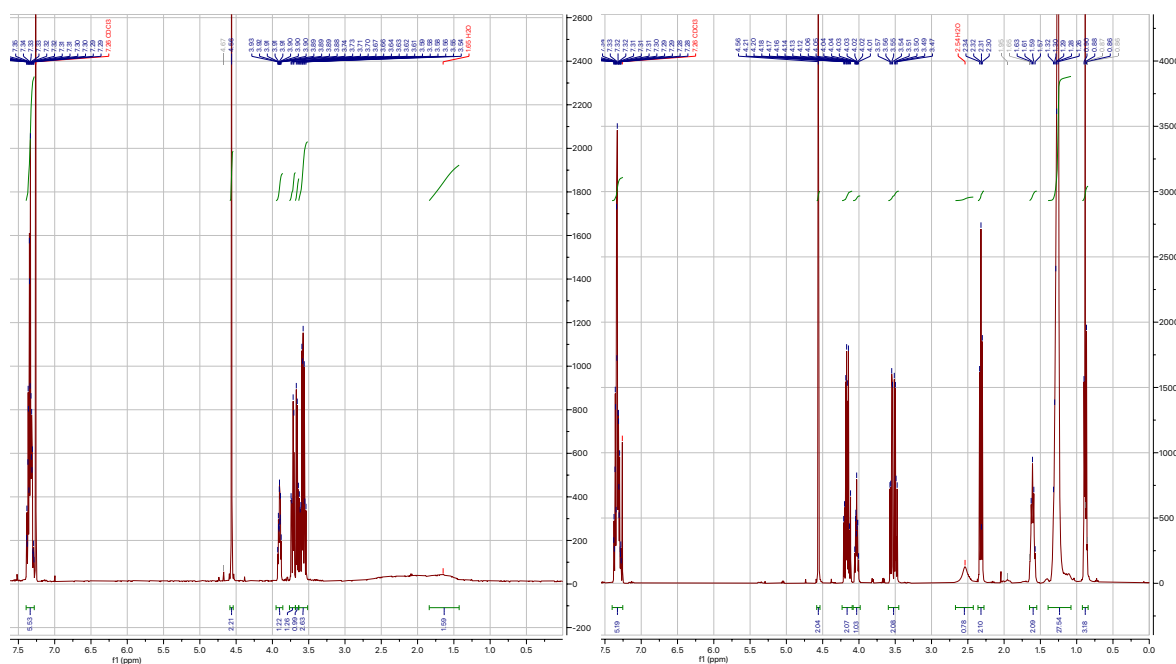
Det ble brukt én ekvivalent av stearinsyren i håp om å få reaksjon kun til den primære alkoholen. Det medførte moderat utbytte på 47%. Opprensing av stoffet med flash kolonnekromatografi var krevende grunnet små forskjeller i retensjonsfaktoren til de ulike forbindelsene. En av årsakene til dette kan være sidereaksjoner der fettsyren har reagert med den sekundære alkoholen og dermed får lignende polaritet som ønsket forbindelse **87**.



Figur 2.10 Forbindelse **103**

^1H NMR-spekteret viste karakteristisk resonans for fettsyren ved 0.88ppm (3H) for metylgruppen, for protonene på C-2- C-15 ved 1.25ppm (28H), for C-16 ved 1.59-1.62ppm (2H) og C-17 ved 2.30-2.33ppm (2H).

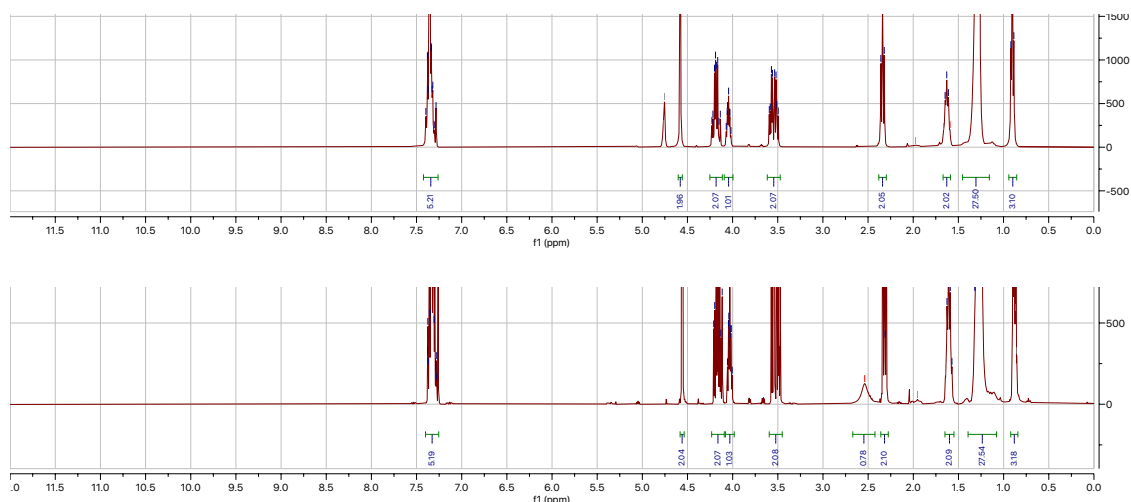
For resterende glyserol fikk resonanser fra forbindelse **86** forskyvinger i skift. Blant annet fikk protonene på C-19 ved 4.12-4.56ppm (2H) en økende forskyving på gjennomsnittlig 0.56ppm, som skyldes av at hydroksylgruppen blir omdannet til en ester (fig. 2.11). Det samme gjaldt protonet på nabokarbonet C-20 ved 4.02ppm (1H) som hadde en mindre forskyving på 0.12ppm. Det kan dermed resoneres frem til at fettsyren faktisk er koblet til alkoholen som forventet.



Figur 2.11 ^1H NMR spekter av forbindelse **86** (venstre) og **87** (høyre)

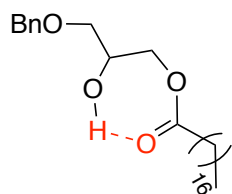
Resterende resonanser er forventet for benzylgruppen ved 7.32-7.35ppm (5H) og en bred resonans for protonet i hydroksylgruppen, som i dette tilfellet er ved 2.54ppm (1H). ^{13}C NMR-spekteret viste i likhet med ^1H NMR-spekteret, en ny resonans for karbonylgruppen ved 173.95ppm og resterende alken fra 14.11-34.17ppm.

Det ble tatt opp IR-spekter av forbindelsen med forventinger om OH-strekk ved 3445cm^{-1} representativ for gjestående hydroksylgruppe, og CH-strekk ved 2919 og 2952cm^{-1} for fettsyren. OH-strekket på spekteret var noe lavere enn forventet. Derfor ble resterende av forbindelse **87** ristet med D_2O , for å kunne bestemme om det labile protonet fra hydroksylgruppen ble erstattet av deuterium. Figur 2.12 viser at den brede resonansen (1H) ved 2.54ppm for det labile protonet på hydroksylgruppen forsvinner og det kan derfor konkluderes med at hydroksylgruppen var tilstede.



Figur 2.12 sammenligning av forbindelse **87**, før og etter risting med D_2O .

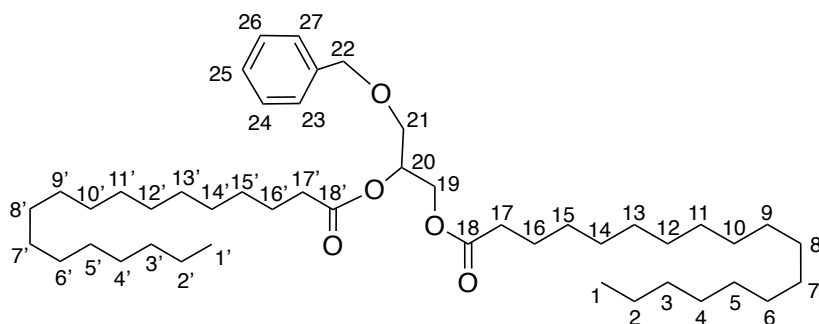
En årsak til det lave strekket på IR og noe lavt integral på 0.74H fra 1H NMR kan forklares med de intramolekulære interaksjoner med hydrogenbindinger, som danner en 7-ring.



Figur 2.13 Intramolekulære interaksjoner via hydrogenbinding.

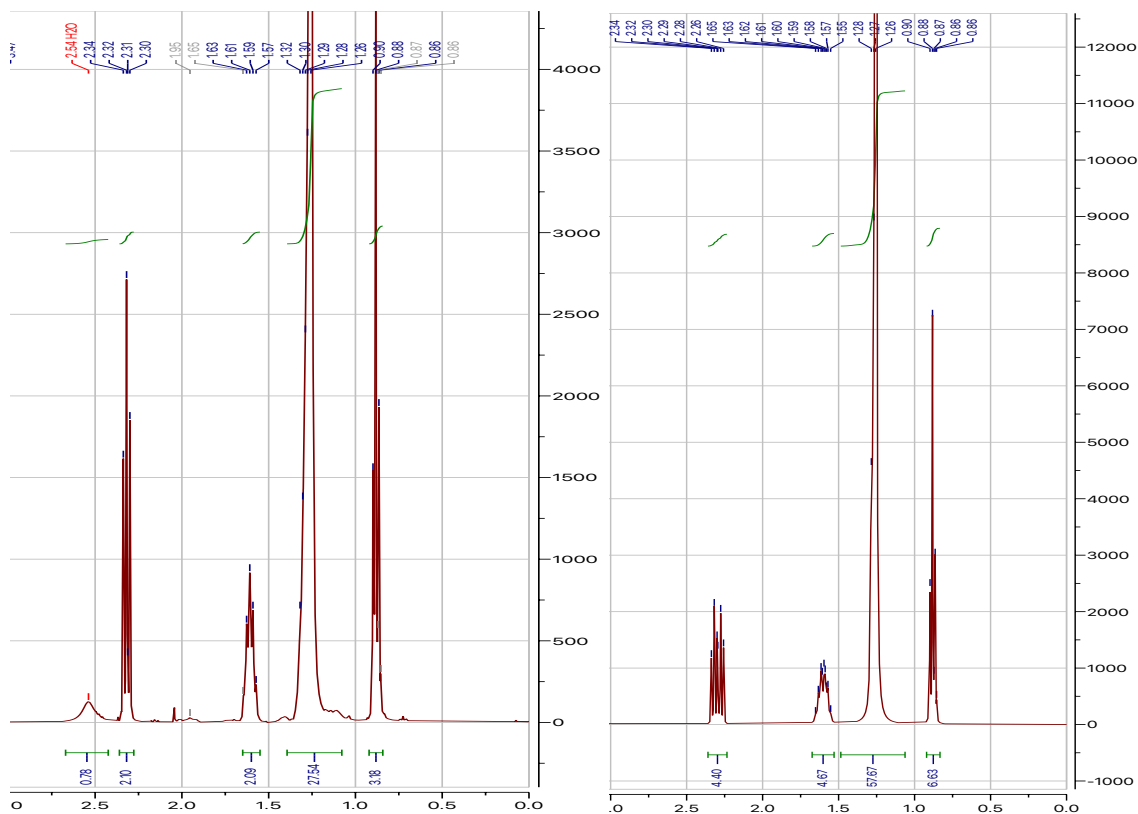
2.3.1.4. iv)

For forbindelse **88** var reaksjonsbetingelsene like som for **87**, med unntak av mengden stearinsyre som nå er 1.5 ekvivalenter fremfor 1 ekvivalent. Økning av mengde stearinsyre i reaksjonen og at det ikke er flere funksjonelle grupper tilgjengelig for esterdannelse, gjorde at utbyttene ble 34% høyere enn for forrige trinn, altså syntese av forbindelse **87**. Det ble også under denne reaksjonen støtt på lignende problemer med DCU, men på samme måte som med forbindelse **87** ble DCU filtrert bort.



Figur 2.14 Forbindelse **87**.

Spektrale data fra ^1H NMR var i overensstemmelse med karakteristiske resonans for fettsyren ved at integralene for fettsyren fra forbindelse **87** er doblet for forbindelse **88** som vist på figur 2.15. Dessuten er OH gruppen ved 2.54ppm for forbindelse **87** forsvunnet i forbindelse **88**, som forventet.



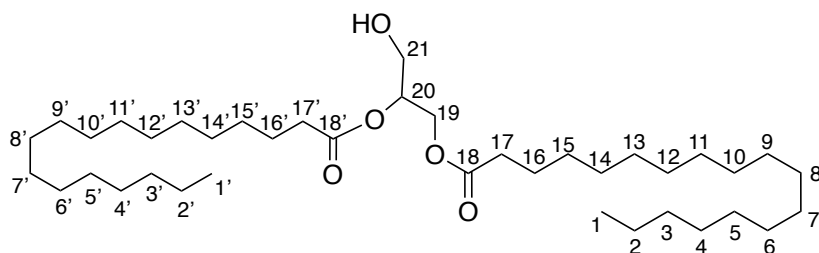
Figur 2.15 a) ^1H NMR av forbindelse **87** med fokus på resonansene for fettsyre, sammenlignet med b) forbindelse **88** med dobbelte integraller for protonene på fettsyren.

En distinkt forskyving av skift for protonet ved C-20 som får en økning på 1.23ppm, grunnet den elektronegative karbonylgruppen fra fettsyren. Resterende resonanser fra ^1H NMR er i overensstemmelse med de rapportert i prosedyren⁹³. På ^{13}C NMR-spekteret ble det observert en ny karbonylgruppe ved 173.19ppm og dobbelt så intense resonanser fra 14.21-34.44ppm for alkanet fra fettsyrene som forventet.

2.3.1.5 v)

Siste syntesetrinn av glykosylakseptoren var å avbeskytte den beskyttede hydroksylgruppen med standard betingelser for kløyving av etere med Lewisyre. Her ble bor-triklorid benyttet. Det kunne også blitt benyttet reduksjon med palladium på kull, men det er ønskelig å senere bruke ulike umettede fettsyrer, og det ble derfor ikke gjort. Opprensing av stoffet var

krevene grunnet mange biprodukter fra sidereaksjoner med lignende Rf-verdi som ønsket produkt.



Figur 2.16 Forbindelse 89

^1H NMR spekteret viste resonanser for fettsyren fra 0.86-2.33ppm, men integralet var på 82H fremfor 70H. Dette kan skyldes urenheter fra sidereaksjoner hvor fettsyrene muligens ble kløvt av. Glyceroldelen ved resonans fra 3.66- 5.31ppm viste integral på 6H, som er 1H mer enn forventet for protonene på C-19-C-21. Protonet for hydroksylgruppen er ikke tatt i betraktning da en bred resonans uten multiplisitet ikke er å finne i det området. Forbindelsen viste en noe svak IR-absorpsjon for hydroksylgruppen ved 3485cm^{-1} , og absorpsjon for CH-strekk ved 2853cm^{-1} og 2920cm^{-1} .

I ^{13}C NMR-spekteret var karakteristiske resonans for karbonylgruppene fra fettsyren ved 173.12 og 173.50ppm godt synlig. Resterende resonanser er i overensstemmelse med de rapportert i litteraturen⁹³.

2.3.2 Syntese av glykosyldonor 44

2.3.2.1. vi)

Fra tidligere prosedyrer er det brukt peracetylert sukker som er robust mot ulike organisk-syntesemiljø, men under denne syntesen er det brukt persilylert sukker som kun skal beskytte under koblingsreaksjonen. Det ble ikke brukt peracetylert galaktose som ved tidligere forsøk fordi betingelsene for avbeskyttelse av acetylgruppene er de samme som for kløving av fettsyrene. I prosedyren til Du *et al.*⁹³ er det forklart at det tidligere er forsøkt med perbenzylert galaktosyl, men at glykosyldonoren ikke ville kobles til ceramid via glykosidbindinger og det ble derfor valgt å bytte beskyttelsesgruppe. De forsøkte persilylert glykosyljodider som er mer reaktiv. Andre fordeler med TMS som beskyttelsesgruppe er enkelheten ved reaksjonen under oppskalering og at avbeskytting krever kun milde sure betingelser som ikke påvirker glykosidbindingen eller fettsyrekjedene.

Det ble brukt trimetylsilylklorid og pyridin for å beskytte hydroksylgruppene. Forbindelsen ble vasket med vann, som gjorde at noe vannet ble fanget i den viskøse oljen. Inndamping ved 50°C over en lenger periode løste problemet.

¹H NMR spekteret viser karakteristisk resonans for TMS gruppene ved 0.14ppm for 45H. Protonet fra den anomere karbonet ga resonans på 5.05ppm, og viste et α:β forhold på 9:1. Resterende 6 protoner var å finne mellom 3.54-3.90ppm. På ¹³C NMR-spekteret er resonans for det anomere karbonet på 94.68ppm. Resonans fra resten av karbonene i skjelettet på sukkeret er mellom 61.30-77.40ppm. Det anomere karbonet har en resonans på 94.69ppm og karbonene fra TMS gruppene fra -0.39-0.74ppm.

2.3.3 Koblingsreaksjon for å danne glykosid **90**

Det som blir omtalt som koblingsreaksjonen i denne seksjonen er egentlig en «one-pot»-reaksjon bestående av tre enkle reaksjoner:

1. *in situ* dannelse av jodidet på den anomere posisjonen av persilylerte galaktosen **45**
2. Koblingsreaksjonen med *O*-glykosidbinding til glykosylakseptor **90**
3. Tilslutt fjerning av TMS gruppene.

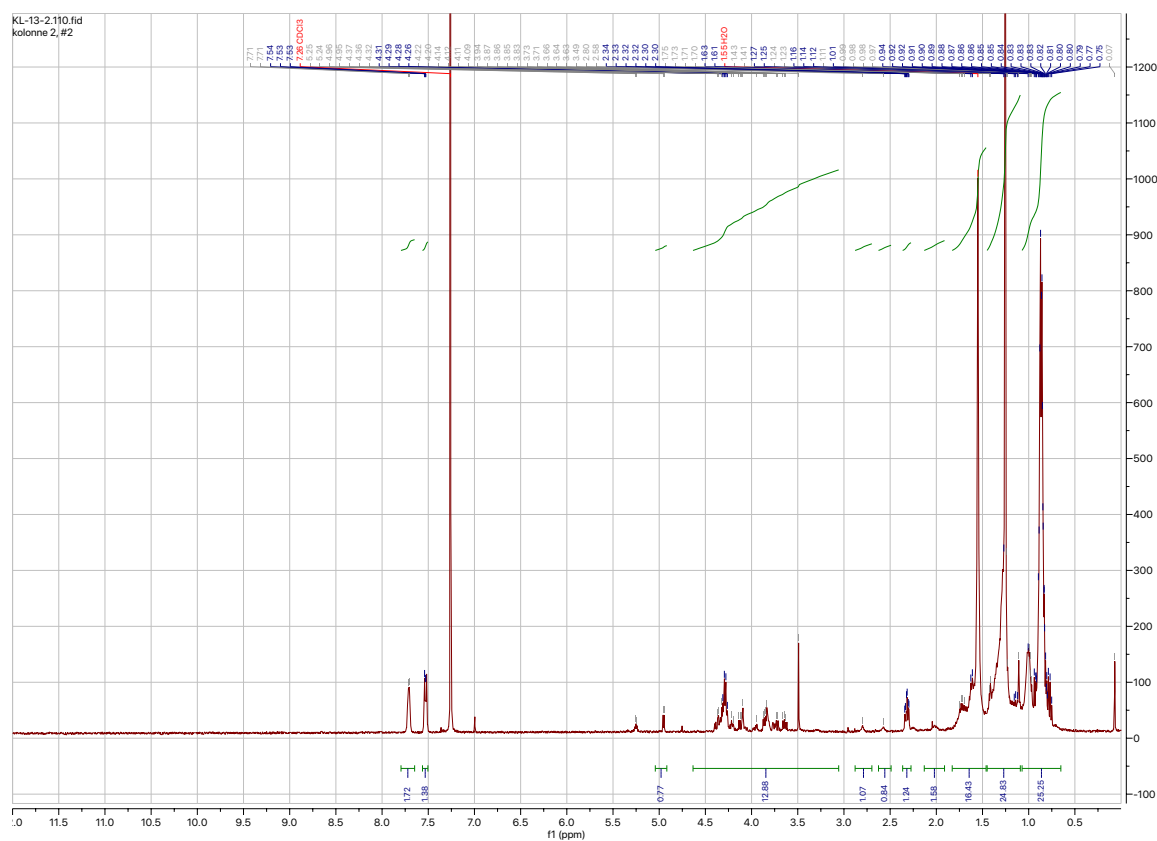
Syntesen startet med **44**, som ble reagert med TMSI for å gi glykosyljodid **45**. Det ble forsøkt å følge reaksjonen med TLC, men fordi jodid er så reaktiv/sensitiv mot lys ble det begrensende hvor mye det var mulig å teste. De mange urenheterne gjorde det vanskelig å tyde TLC. Det ble også forsøkt å tolke ¹H NMR spekteret, men i likhet med forsøket med TLC var det ikke til stor hjelp. Å rense forbindelsen ble utelukket da jodidet er så reaktivt.

Det preparerte glykosyljodidet ble tilsatt akseptoren med molekylære-sieve i pulverform for å være sikker på tørre betingelser. Det ble forsøkt å ta opp ¹H NMR-spekter etter denne reaksjonen, men som tidligere var det ikke mulig å tolke.

Siste steg av prosedyren var avbeskytting av beskyttelsesgruppene med like betingelser som brukt ved avbeskytting av peracetyllert galaktose; metanol og Dowex (50W-X8, 100-200mesh). Ved reaksjonsslutt var råoljeutbyttet på 800mg, mens teoretisk utbytte var på 130mg, noe som tyder på at det var mye urenheter i blandingen. Det ble brukt flashkolonne-kromatografi for opprensing, med metanol og kloroform som eluentsystem (10:1,

kloroform:metanol). Kolonnen ble vasket med trietylamin for å sikre at sur silika ikke skulle bryte glykosidbindingen.

Etter opprensing ble tre forbindelser separert og tatt opp spekter av, men ingen av dem var i overensstemmelse med forventede karakteristiske resonanser for ønsket sluttprodukt. Det ble spekulert i om forbindelsen hadde satt seg fast på Dowex 50W-X8, så nytt løsemiddel ble brukt for å ekstrahere rester av forbindelsen fra filteret. Det ble tatt opp ^1H NMR-spekter råoljen som viste lovende resultater (fig. 2.17), med fettsyren tilstede, med protoner rundt glyserol og karbohydratområdet.



Figur 2.17 ^1H NMR-spekter av råoljen fra ny filtrering av Dowex 50W-X8. Spekteret skal gi et grovt overblikk over forbindelsene som mulig kan befinne seg i råoljen.

Det var ønskelig å rense opp forbindelsen, men dette ble ikke fullført da en laboratoriebrann satte en stopper for det praktiske arbeidet.

Det ble spekulert i om polariteten til triglyseridet var med på å påvirke koblingsreaksjonen fordi det ble brukt umettede fettsyrer i prosedyren og mettede under dette forsøket.

3. Konklusjon og videre arbeid

For å danne målmolekyl **1** ble det brukt klikk-kjemi reaksjoner. Azidet **78** ble dannet fra startmaterialet trietylsilylchlorid (**75**) og videre koblet til silikapartikler for å danne produkt **73**. Det var utfordringer med dannelse av azidet **78**, men ble løst ved å bytte løsemiddel fra butanon til DMF og å senke temperaturene. Alkynylglykosidet **72** ble dannet med relativt gode utbytter. Den kobberkatalyserte sykloaddisjonen så ut til finne sted, siden IR-absorpsjon for azid forsvant.

Videre er det planlagt å bruke finere silikapartikler (0.040-0.063mm) i syntesen. Det er meningen å syntetisere omkring 10g av forbindelsen som videre skal renses opp og karakteriseres av PEP-gruppen ved NMBU og brukes som kolonnemateriale for å skille fraksjoner av CHOS.

Syntese av MGDG **2** ble forsøkt med to syntesestrategier. I strategi A ble galaktose peracetyllert og skulle kobles til 1,2-isopropylidenglyserol for å gi produkt **82**. Dessverre ga denne reaksjonen lave utbytter etter flere forsøk med både aktivert galaktose med trikloracetoneitril og bare acetyllert galaktose.

Fremgangsmåten for strategi B var å syntetisere ferdig glykosylakseptoren før koblingsreaksjon via glykosydbinding. Triglyseridet **89** ble syntetisert. Glykosyldonoren ble beskyttet med TMS grupper og aktivert med jod *in situ* (**45**). Det ble gjort to forsøk på å koble glykosylakseptor **89** og glykosyldonor **45**, for å gi produkt **90**, i 100mg skala. Resultatet var vanskelig å tyde med hensyn til spektrale data. Det trekkes ingen konklusjon her da det ikke ble mulighet til å oppnå rent materiale.

Videre arbeid er planlagt der en ny koblingsreaksjon med glykosyldonor og glykosylakseptor som er 1,2-isopropylidenglyserol i større skala. I tillegg vil koblingen gi en indikasjon på om polariteten til fettsyrene muligens kunne hatt en påvirkning på reaksjonen, eller ikke. Det kan også være en tanke å aktivere glykosyldonoren med brom fremfor jod med TMSBr, for å slippe det reaktive og lyssensitive jodet. I tillegg ønsker vi å undersøke hvordan reaksjonstemperatur og tid vil påvirke reaksjonen.

4. Eksperimentelt

Alle reaksjonene ble utført under N₂- atmosfære. Alle reagensene ble brukt som de ble kjøpt fra kommersielle leverandører med mindre noe annet er nevnt.

Tynnsjikt-kromatografi (TLC) ble utført på TLC silika gel F₂₅₄ plater. KMnO₄, H₂SO₄ (5% /10%) og jodid ble brukt for utvikling av platene. Silika gel 60 (40-63µm) fra Merck ble brukt i flashkolonnekromatografi.

NMR spektre ble fremstilt ved bruk av Bruker Ascend 400-instrument ved 25°C, ved 400 MHz for ¹H NMR og 100MHz for ¹³C NMR. CDCl₃ og D₂O og CD₃OD. Spektrene er behandlet i Mestrenova 14.11.

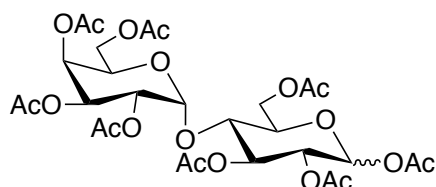
IR-spektre ble målt på et Agilent 5500 Series FT-IR instrument med en ATR-diamantcelle.

Tabell 4.1. Oversikt over rutinekjemiliers renhet og leverandør

Kjemikalier	Renhet	Leverandør
Acetonitril	≥99.9%	Sigma-Aldrich
D₂O	99.9% atom D	Sigma Aldrich
DCM	99.9%, stabilisert med 0.1% etanol	VWR
DCM vannfri	Vannfri ≥99.8%, stabilisert med 40-150 ppm amylen	Sigma-Aldrich
DMF vannfri	99.8%	Sigma-Aldrich
Etylacetat	97.0%	VWR
Heksan	99.9%	VWR
Kloroform-d	99.80%	VWR
Metanol	99.8% vannfri	Sigma-Aldrich
Pyridin	99.8% vannfri	Sigma-Aldrich

4.1 «Klikk-maltose»

4.1.1 Syntese av *D*-glycopyranose,4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-*D*-glukopyranosyl)-, 1,2,3,6-tetraacetat (**76**)

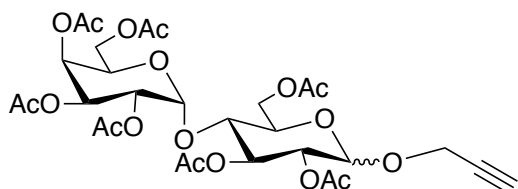


Maltose (12g, 35.06 mmol), pyridin (120mL) og Ac₂O (64mL, 666 mmol) ble blandet og rørt i 24 timer ved romtemperatur, og så dampet inn på totavapor under vakuum. Blandingen ble så løst opp i DCM og den organiske fasen ble vasket med 5% aq NaHCO₃ (3 x 100mL), før den igjen ble vasket tre ganger med 1M HCl (100mL), og så tørket over Na₂SO₄. Den organiske fasen ble oppkonsentrert og ga en sukkerspinnlignende hvit blanding med **76** og utbytte på 89% (31.20mmol, 21.17g). Råoljen ble brukt videre som den var, da renheten ble ansett som god nok, men kan renses med flash-kolonnekromotografi (1:1 heksan:EtOAc). TLC (1:1 heksan:EtOAc) ga Rf: 0.62.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.74 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 5.46 – 5.23 (m, 3H), 5.05 (td, *J* = 9.7, 4.3 Hz, 1H), 5.01 – 4.81 (m, 2H), 4.46 (ddd, *J* = 12.4, 10.5, 2.1 Hz, 1H), 4.28 – 3.98 (m, 4H), 3.98 – 3.79 (m, 2H), 2.25 – 2.12 (m, 3H), 2.12 – 2.06 (m, 7H), 2.05 (d, *J* = 4.8 Hz, 3H), 2.03 – 1.91 (m, 11H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 170.62, 170.55, 170.48, 170.12, 169.93, 169.65, 169.50, 168.85, 95.81, 91.36, 75.32, 73.09, 72.54, 71.03, 70.10, 69.39, 68.67, 68.06, 62.61, 61.54, 20.94, 20.87, 20.74, 20.65, 20.61.

4.1.2 Syntese av *D*-glukopyranosid, 2-propyn-1-yl 4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-*D*-glukopyranosyl) 2,3,6-triacetat (**77**)

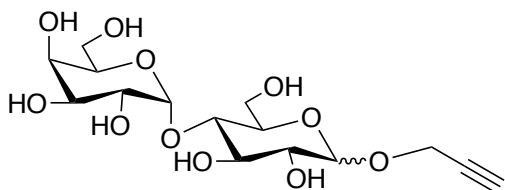


Per acetylerert maltose **75** (3.47g, 5.12mmol) ble løst opp i DCM og kjølt ned til 0°C. Propagylalkohol (0.36mL, 6.15mmol) ble tilsatt og rørt i 5 min før $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (0.88mL, 7.17mmol) ble tilsatt dråpevis. Blandingen ble rørt over natten ved rom temperatur. Reaksjonen ble avsluttet ved å tilsette K_2CO_3 (1g). Løsningen ble oppkonsentrert, og ga en brun blanding. Blandingen ble løst opp i DCM (50mL) og vasket med vann (2 x 50mL) før kombinerte vannfaser ble ekstrahert med DCM. Kombinerte organiske faser ble tørket over Na_2SO_4 , så dampet inn. Reaksjonen ga **77** i utbyttet var 61% (3.12mmol, 2.11g) etter opprensing. Råoljen ble brukt videre som den var, da den ble ansett ren nok, men opprensing er mulig med flash kolonne (1:2 heksan:EtOAc). TLC (1:2 heksan:EtOAc) ga Rf: 0.52.

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 5.41 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 5.35 (dd, $J = 10.5, 9.5$ Hz, 1H), 5.28 (t, $J = 8.9$ Hz, 1H), 5.05 (t, $J = 9.9$ Hz, 1H), 4.89 – 4.82 (m, 2H), 4.79 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 4.49 (dd, $J = 12.1, 2.7$ Hz, 1H), 4.34 (d, $J = 2.4$ Hz, 2H), 4.24 (ddd, $J = 12.1, 5.7, 4.1$ Hz, 2H), 4.11 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H), 4.08 – 3.91 (m, 3H), 3.72 (dd, $J = 9.7, 1.6$ Hz, 1H), 2.48 (t, $J = 2.4$ Hz, 1H), 2.12 (d, $J = 17.6$ Hz, 6H), 2.06 – 1.97 (m, 16H).

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 170.68, 170.66, 170.58, 170.34, 170.07, 169.86, 169.55, 97.77, 95.69, 78.21, 75.66, 75.49, 72.75, 72.42, 71.94, 70.16, 69.48, 68.66, 68.18, 62.79, 61.65, 56.02, 21.04, 20.97, 20.82, 20.80, 20.74, 20.72 (2 x CH_3).

4.1.3 Syntese av *D*-glukopyranosid, 2-propyn-1-yl 4-*O*-*D*-galaktopyranosyl (**72**)

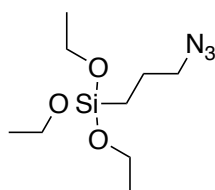


D-glukopyranosid, 2-propyn-1-yl 4-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl-D-glukopyranosyl) 2,3,6-triacetat **77** (7.88g, 11.61mmol) ble løst opp i metanol (50mL) og natrium metoxid (2.51g, 46,44mmol, 4eq). Løsningen ble blandet i romtemperatur i 1 time, så nøytralisert i ionebytte resin (Dowex 50W-X8). Dette ble så filtret bort med celite-pad, løsningen ble oppkonsentrert og ga et hvit skum. Reaksjonen ga **72** i et utbytte på 82% (9.52mmol, 3.62g), og det ble ikke behov for videre opprensning.

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, D_2O) δ 5.32 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H), 4.57 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 4.39 (q, $J = 2.8$ Hz, 2H), 3.85 (dd, $J = 12.3, 1.8$ Hz, 1H), 3.81 – 3.45 (m, 9H), 3.33 (t, $J = 9.4$ Hz, 1H), 3.29 – 3.20 (m, 1H), 2.84 (t, $J = 2.4$ Hz, 1H).

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, D_2O) δ 100.35, 99.53, 78.74, 74.61, 72.79, 72.75, 72.67, 71.61, 69.29, 60.62, 60.45, 56.52.

4.1.4 Syntese av 3-Azidopropyltriethoxysilan (**78**)

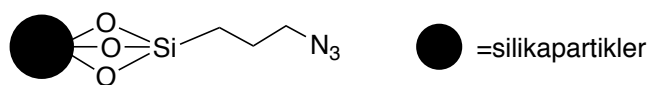


3-kloropropyltriethoxysilane **75** (2.32g, 9.39mmol) og tetrabutylammonium-jodid (0.020g, 0.05mmol) i DMF (25ml) og natriumazid (3.12g, 48mmol) ble blandet sammen og varmet under reflux i 50 timer. Blandingen ble kjølt ned og filtrert over celite-pad før den ble oppkonsentrert. Blandingen ble løst opp i DCM og vasket med ionefritt vann (2 x 50mL). Den organiske fasen ble tørket over Na_2SO_4 så oppkonsentrert og ga **78** i et utbytte på >95% (8.91mmol, 2.20g). Det ble ikke behov for videre opprensning, men kontinuerlig avdamping for fjerne resterende DMF var nødvendig.

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 3.82 (qd, $J = 7.0, 1.7$ Hz, 6H), 3.27 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 1.78 – 1.65 (m, 2H), 1.23 (t, $J = 7.0$ Hz, 9H), 0.72 – 0.63 (m, 2H).

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 58.47 (3 x CH_2), 53.85, 22.68, 18.29 (3x CH_3), 7.63.

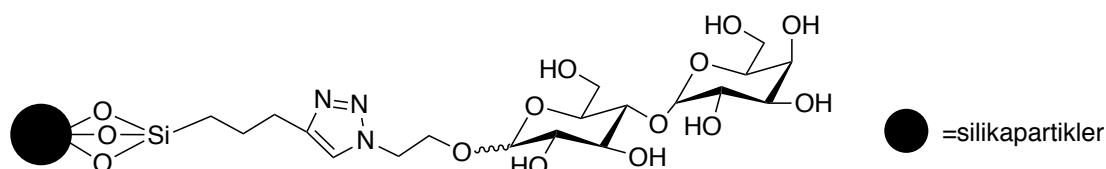
4.1.5 Syntese av 3-Azidopropyltriethoxysilan-silika (73)



Silika (3 mikrom partikkel, porestørrelse 2nm) Ble aktivert ved oppvarming ved 120°C under vakuum i 24 timer. Den aktiverte silikagelen (1g) ble fordelt i toluen (5mL) og 3-Azidopropyltriethoxysilane **78** (1.01mmol, 0.25g) og reaksjonen ble varmet opp til reflux i 2 timer før løsningen ble dampet inn til omkring halvparten av væskevolumet var igjen, for å dampe av etanol. Toluen (10mL) ble tilsatt og satt på reflux i en time før silika ble filtrert og vasket med DCM (4x 50mL).

IR-spekter av partiklene viste at azid-signalet forvant, og dette i kombinasjon med fargeforandringer tolkes dithen at produktet er dannet.

4.1.6 Syntese av «klikk maltose» (1)

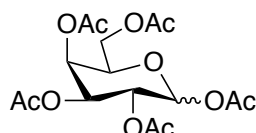


3-Azidopropyltriethoxysilan-silika **73** (500 mg), CuSO₄ (5mg, 0.02 eq.), (+)-natrium-*L*-ascorbat (15mg, 0.1eq.) og *D*-glukopyranosid, 2-propyn-1-yl 4-*O*-*D*-galaktopyranosyl (0.6 mmol, 228mg) i 1:1 vann:metanol (10mL) ble blandet i 24 timer i romtemperatur. Løsningen gikk fra å være grå til gul, så hvit. Etter 24 timer ble partiklene filtrert med filterpapir og vasket med metanol (2 x 30mL), EDTA (50mM, 2 x 30mL), vann (2 x 30mL), aceton (2 x 30mL) og DCM (2 x 30mL). Glykosilikaen ble tørket under vakuum ved 50°C i 16 timer.

IR-spekter av partiklene viste at azid-signalet forsvant, og dette i kombinasjon med fargeforandringer tolkes dithen at produkt er dannet.

4.2-MGDG: Strategi A

4.2.1 Syntese av 1,2,3,4,6-pentaacetat-glaktopyranose (79)

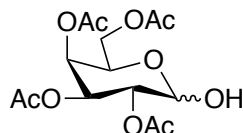


Ac₂O (25mL, 262mmol) ble blandet sammen i en kolbe med *D*-galaktose (5.00 g, 28 mmol) og 50mL pyridin i romtemperatur i 24 timer. Blandingen ble dampet inn og vaket med NaHCO₃ (3 x 30mL), 1M HCl (3x30mL) og mettet saltlake (30mL). Løsningen ble tørket over Na₂SO₄ og dampet inn gjentatte ganger for å fjerne pyridin. Dette ga **79** i et utbytte på 83% (23.25mmol, 9.07g)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.68 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 5.40 (dd, *J* = 3.5, 1.2 Hz, 1H), 5.37 – 5.26 (m, 1H), 5.06 (dd, *J* = 10.4, 3.4 Hz, 1H), 4.21 – 3.99 (m, 3H), 2.16 – 1.96 (m, 15H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 170.42, 170.20, 170.03, 169.45, 169.05, 92.27, 71.81, 70.94, 67.95, 66.91, 61.13, 20.90, 20.73, 20.71, 20.62.

4.2.2 Syntese av 2,3,4,6-tetraacetyl-galattopyranose ()



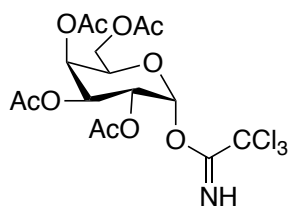
Benzylamin (1.1 mL, 54.01 mmol) ble blandet med THF (26mL) og 1,2,3,4,6-pentaacetat-glaktopyranose **79** (2.65g, 6.79mmol). Løsningen ble rørt ved romtemperatur i 24 timer, og så dampet inn til en gul olje. Oljen ble løst i DCM (50 mL) og vasket med 1M HCl (2 x 50mL),

så mettet vandig løsning av NaHCO₃ (50 mL), så ionefritt vann (50 mL). Den organiske fasen ble tørket over Na₂SO₄. Løsningen ble renset med flash kolonne (1:4, EtOAc:Heksan). TLC (1:1, EtOAc:Heksan, KMnO₄) ga R_f: 0.3. Fraksjonen ble dampet inn og ga **80** i utbytte 92% (6.25mmol, 2.18g).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.43 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H), 5.39 (dd, *J* = 3.4, 1.4 Hz, 1H), 5.37 – 5.31 (m, 1H), 5.08 – 4.94 (m, 2H), 4.41 (td, *J* = 6.6, 1.4 Hz, 1H), 4.10 – 4.06 (m, 1H), 4.03 (dd, *J* = 6.7, 2.5 Hz, 1H), 2.11 – 1.95 (m, 12H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 170.77, 170.60, 170.43, 170.26, 95.68, 90.43, 70.80, 70.71, 70.60, 68.44, 68.22, 67.31, 67.20, 65.90, 61.75, 61.47, 20.75, 20.63, 20.60, 20.57.

4.2.3 Syntese av 2,3,4,6-tetraacetyl-galaktopyranosyl trikloracetimidat (**81**)



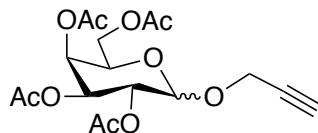
2,3,4,6-tetraacetyl-galattopyranose **80** (1.73g, 4.97mmol) ble løst i DCM (6mL), DBU (0.1mL, 0.62mmol) og CNCCl₃ (3.1mL, 31mmol) i en time ved romtemperatur. Løsningen fikk en brun farge og ble dampet inn. Løsningen ble renset opp med flash-kolonnekromatografi (3:2 Heksan:etylacetat med 0.1% trietylamin). TLC (2:3 EtoAc/Heksan med 0.1% trietylamine i H₂SO₄ 5% dip) ga RF: 0,25. Fraksjonen ble dampet inn og ga **81** i et utbytte 32% (1,28mmol, 0,55g).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.66 (s, 1H), 6.59 (q, *J* = 3.6, 3.1 Hz, 1H), 5.55 (s, 1H), 5.38 (dtd, *J* = 14.2, 10.8, 3.6 Hz, 2H), 4.43 (dt, *J* = 8.9, 5.2 Hz, 1H), 4.20 – 4.02 (m, 3H), 2.21 – 1.90 (m, 12H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 170.29, 170.08, 169.90, 169.33, 168.93, 92.11, 71.65, 70.78, 67.81, 66.79, 61.02, 20.76, 20.60, 20.58, 20.49.

4.3 MGDG: Strategi B

4.3.1 Syntese av 2-propyn-1-yl-2,3,4,6-tetraacetyl-galaktopyranosyl (**83**)

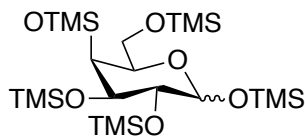


Peracetyliert galaktose **79** (1.50g, 3.85mmol), DCM (20mL), propargylalkohol (0.67mL, 11.50mmol, 3eq.) og aktivert MgSO_4 (2g) ble rørt sammen og kjølt ned til -20°C , før $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (1.41mL, 11.5mmol, 3eq.) ble tilsatt dråpevis. Blandingen ble blandet i 48 timer ved romtemperatur før den ble avsluttet med trietylamin (1mL). Forbindelsen ble filtrert over celite og fortynnet i DCM (150mL) og vasket med mettet vandig løsning av NaHCO_3 . Blandingen ble så tørket over Na_2SO_4 og dampet inn og ga **83** i utbytte 92% (3.54mmol, 1.37g)

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 5.44 – 5.31 (m, 1H), 5.27 – 5.17 (m, 1H), 5.15 – 4.99 (m, 1H), 4.73 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 4.44 – 4.30 (m, 2H), 4.30 – 4.03 (m, 3H), 3.93 (td, $J = 6.7, 1.2$ Hz, 1H), 2.45 (dt, $J = 5.9, 2.4$ Hz, 1H), 2.20 – 1.96 (m, 12H).

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 169.41, 169.25, 169.12, 168.57, 102.95, 97.65, 88.68, 74.46, 69.85, 69.80, 67.50, 66.01, 60.22, 54.92, 45.36, 19.77, 19.66, 19.63, 19.56, 7.62.

4.3.2 Syntese av 1,2,3,4,6-pentatrisilyl-galaktopyranose (**44**)

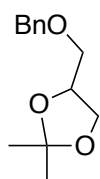


D-galaktose **55** (1.00g, 5.55mmol) i pyridin (25mL) og trimetylsilyl klorid (3.58mL, 28.3mmol) ble tilsatt dråpevis. Blandingen ble rørt ved romtemperatur over natten. Heksan (70mL) og knust is (40mL) ble tilsatt blandingen og den organiske fasen ble ekstrahert med isvann (3 x 30mL) og tørket over Na_2SO_4 og dampet inn. Videre opprensing ble ikke nødvendig. Dette ga **44** i utbytte 89% (4.94mmol, 3.04g)

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 5.04 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 3.89 (dt, $J = 4.5, 2.4$ Hz, 2H), 3.84 – 3.76 (m, 2H), 3.62 (dd, $J = 9.6, 7.8$ Hz, 1H), 3.53 (dd, $J = 9.6, 5.7$ Hz, 1H), 0.18 – 0.07 (m, 48H).

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 94.69, 72.40, 71.22, 70.58, 70.05, 61.30.

4.3.3 Syntese av 3-O-benzyl-isopropylideneglyserol (85)

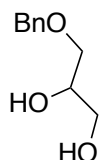


(S)-(+)-1,2-isopropylideneglyserol (4.52mL, 36.30mmol) i DMF (50mL) ble kjølt ned til 0°C og tilsatt NaH (1.31g, 54.51mmol) porsjonsvis. Deretter ble benzylbromid tilsatt (4.75mL, 39.90mmol). Reaksjonen ble rørt over natten ved romtemperatur, før den ble avsluttet med noen dråper metanol, så tilsatt etylacetat (100mL) og vann (100mL). Den organiske fasen ble separert, og vannfasen ble ekstrahert med etylacetat (3 x 50mL). Kombinerte organiske faser ble tørket over Na_2SO_4 , og dampet inn til en fargeløs olje. Råoljen ble rensert med flash-kolonnekromatografi (1:1, Heksan:Etylacetat) og ga en R_f verdi på 0.92. Dette ga **85** i utbytte $>95\%$ (36.12mmol, 8.03g). TLC (1:1, Heksan:Etylacetat, KMnO_4).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.43 – 7.25 (m, 6H), 4.64 – 4.48 (m, 2H), 4.36 – 4.25 (m, 1H), 4.06 (dd, $J = 8.2, 6.4$ Hz, 1H), 3.74 (dd, $J = 8.3, 6.3$ Hz, 1H), 3.56 (dd, $J = 9.8, 5.7$ Hz, 1H), 3.47 (dd, $J = 9.8, 5.6$ Hz, 1H), 1.42 (s, 3H), 1.36 (d, $J = 0.7$ Hz, 3H).

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 138.07, 128.52, 127.85, 127.84, 109.52, 74.85, 73.63, 71.20, 67.00, 26.88, 25.50.

4.3.4 Syntese av 3-O-benzyl-sn-glyserol (86)

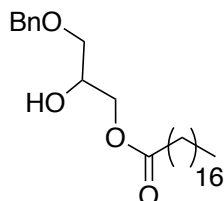


3-O-benzyl-isopropylideneglyserol **85** (8.03g, 36.13mmol) ble tilsatt AcOH (100mL), og reaksjonen ble varmet opp til 80°C i 30 min. Blandingen ble dampet inn og renset med flash-kolonnekromatografi (1:2, heksan:etylacetat) og ga **86** i et utbytte på 60% (21.28mmol, 3.95g). TLC (1:2, heksan:etylacetat, KMnO₄) ga Rf verdi på 0.2.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.39 – 7.28 (m, 6H), 4.56 (s, 2H), 3.90 (ddt, *J* = 6.2, 5.4, 3.9 Hz, 1H), 3.72 (dd, *J* = 11.4, 3.9 Hz, 1H), 3.68 – 3.64 (m, 1H), 3.64 – 3.51 (m, 3H), 1.65 (m, 2H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 137.82, 128.68, 128.09, 127.94, 73.78, 72.02, 70.68, 64.25.

4.3.5 Syntese av 3-O-benzyl-1-O-stearin-sn-glyserol (**87**)

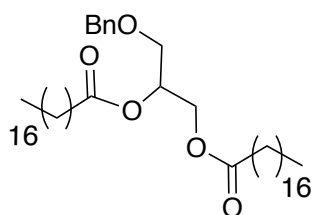


En blanding av 3-O-benzyl-sn-glyserol **86** (815mg, 8.78mmol) og tørr DCM (24mL) ble kjølt ned til 0°C. En blanding av DCC (1.81g, 8.78mmol), DMAP (20mg, 0.16mmol), stearinsyre (1.25g, 4.38mmol) og DCM (10mL) ble tilsatt dråpevis over 1 time. Reaksjonen ble blandet i 12 timer før den ble filtrert over celite, vasket med NaHCO₃ og mettet saltlake. Forbindelsen ble tørket over Na₂SO₄, så dampet inn. Råoljen ble renset med flash-kolonnekromatografi (gardienteluering 1:1, heksan:etylacetat → 2:1, heksan:etylacetat) for å gi **87** i utbytte 47% (4.13mmol, 1.85g). TLC (2:1, heksan:etylacetat) ga Rf verdi på 0.53.

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.40 – 7.25 (m, 5H), 4.56 (s, 2H), 4.23 – 4.09 (m, 2H), 4.03 (tt, $J = 6.1, 4.4$ Hz, 1H), 3.60 – 3.45 (m, 2H), 2.48 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 2.32 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 1.60 (q, $J = 7.3$ Hz, 2H), 1.26 (s, 28H), 0.92 – 0.84 (m, 3H).

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 174.06, 137.80, 128.59, 127.99, 127.86, 73.63, 71.00, 69.06, 65.46, 34.27, 32.04, 29.81, 29.79, 29.76, 29.72, 29.58, 29.47, 29.37, 29.25, 25.03, 22.80, 14.23.

4.3.6 Syntese av 3-O-benzyl-1,2-stearin-sn-glyserol (**88**)

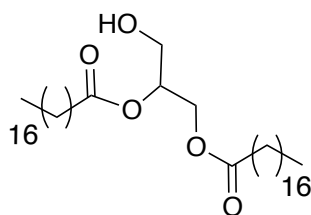


En blanding av DCC (304mg, 1.48mmol), DMAP (8.21mg, 0.93mmol) og stearinsyre (265mg, 0.93mmol) i DCM (10mL) ble kjølt ned til 0°C . En blanding av 3-O-benzyl-1-O-stearin-sn-glyserol **87** (280mg, 0.62mmol) i DCM (2mL) ble tilsatt dråpevis og rørt i 12 timer ved romtemperatur. Blandingen ble filtrert gjennom celite, så vasket med mettet natrium bikarbonat løsning og mettet saltlake. Den organiske fasen ble tørket over Na_2SO_4 og dampet inn. Forbindelsen ble rensert med flash-kolonnekromatografi (9:1, heksan:etylacetat). TLC (9:1, heksan:etylacetat, KMnO_4) ga en R_f verdi på 0,23 og reaksjonen ga **88** i et utbytte på 81% (0.50mmol, 359mg)

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.38 – 7.26 (m, 5H), 5.31 – 5.11 (m, 1H), 4.60 – 4.48 (m, 2H), 4.35 (dd, $J = 11.9, 3.8$ Hz, 1H), 4.19 (dd, $J = 11.9, 6.4$ Hz, 1H), 3.59 (dd, $J = 5.2, 1.2$ Hz, 2H), 2.30 (dt, $J = 17.0, 7.5$ Hz, 4H), 1.59 (dq, $J = 10.6, 7.1$ Hz, 5H), 1.26 (s, 58H), 0.92 – 0.83 (m, 7H).

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 173.49, 173.20, 137.83, 128.52, 127.87, 127.72, 73.42, 70.12, 68.38, 62.76, 34.44, 34.23, 32.03, 29.81, 29.77, 29.74, 29.60, 29.47, 29.40, 29.24, 29.20, 25.07, 24.99, 22.79, 14.21.

4.3.7 Syntese av 1,2-stearin-sn-glyserol (**89**)



Til 3-O-benzyl-1,2-stearin-sn-glyserol **88** (100mg, 0.16mmol) i DCM (2mL) ved -70°C ble bor-triklorid (0.35mL, 0.35mmol) tilsatt dråpevis over en periode på 15 min. Reaksjonen ble blandet i 30 min før blandingen ble helt over isvann, og den organiske fasen ble separert og ekstrahert med DCM (3 x 10mL). Den organiske fasen ble tørket over Na_2SO_4 og dampet inn. Råoljen ble rensert med flash-kolonnekromatografi (9:1, heksan:etylacetat). TLC (9:1, heksan:etylacetat, KMnO_4) ga en R_f verdi på 0,27. Utbytte er ikke oppgitt da det ikke ble tid til opprensing.

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 5.08 (p, $J = 5.0$ Hz, 1H), 4.35 – 4.20 (m, 2H), 4.20 – 4.07 (m, 1H), 3.73 (t, $J = 5.6$ Hz, 2H), 2.33 (dt, $J = 9.0, 7.5$ Hz, 4H), 2.03 (d, $J = 11.7$ Hz, 1H), 1.67 – 1.57 (m, 4H), 1.25 (s, 48H), 0.92 – 0.84 (m, 6H).

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 173.90, 173.54, 72.23, 65.16, 62.10, 61.71, 34.41, 34.23, 32.04, 29.82, 29.77, 29.73, 29.59, 29.57, 29.47, 29.39, 29.36, 29.24, 29.21, 25.06, 25.01, 22.80, 14.31, 14.22.

5. Referanser

1. Guo, Z.; Lei, A.; Zhang, Y.; Xu, Q.; Xue, X.; Zhang, F.; Liang, X., "Click saccharides": novel separation materials for hydrophilic interaction liquid chromatography. *Chemical Communications* **2007**, (24), 2491-2493.
2. Aam, B. B.; Heggset, E. B.; Norberg, A. L.; Sørli, M.; Vårum, K. M.; Eijsink, V. G., Production of chitooligosaccharides and their potential applications in medicine. *Marine Drugs* **2010**, 8 (5), 1482-517.
3. Kim, S.-K.; Rajapakse, N., Enzymatic production and biological activities of chitosan oligosaccharides (COS): A review. *Carbohydrate Polymers* **2005**, 62 (4), 357-368.
4. Liaqat, F.; Eltem, R., Chitooligosaccharides and their biological activities: A comprehensive review. *Carbohydrate Polymers* **2018**, 184, 243-259.
5. Donnelly, L. E.; Barnes, P. J., Acidic mammalian chitinase – a potential target for asthma therapy. *Trends in Pharmacological Sciences* **2004**, 25 (10), 509-511.
6. Elias, J. A.; Homer, R. J.; Hamid, Q.; Lee, C. G., Chitinases and chitinase-like proteins in TH2 inflammation and asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* **2005**, 116 (3), 497-500.
7. Kawada, M.; Hachiya, Y.; Arihiro, A.; Mizoguchi, E., Role of mammalian chitinases in inflammatory conditions. *The Keio Journal of Medicine* **2007**, 56 (1), 21-27.
8. Rhoades, J.; Gibson, G.; Formentin, K.; Beer, M.; Rastall, R., Inhibition of the adhesion of enteropathogenic *Escherichia coli* strains to HT-29 cells in culture by chitooligosaccharides. *Carbohydrate Polymers* **2006**, 64 (1), 57-59.
9. Ribeiro, M. P.; Espiga, A.; Silva, D.; Baptista, P.; Henriques, J.; Ferreira, C.; Silva, J. C.; Borges, J. P.; Pires, E.; Chaves, P.; Correia, I. J., Development of a new chitosan hydrogel for wound dressing. *Wound Repair and Regeneration* **2009**, 17 (6), 817-824.
10. Köping-Höggård, M.; Mel'nikova, Y. S.; Vårum, K. M.; Lindman, B.; Artursson, P., Relationship between the physical shape and the efficiency of oligomeric chitosan as a gene delivery system in vitro and in vivo. *The Journal of Gene Medicine* **2003**, 5 (2), 130-141.
11. Nam, Kyung, S.; Mee-Kyung, K., Inhibition of Proinflammatory Cytokine-induced Invasiveness of HT-29 Cells by Chitosan Oligosaccharide. *J. Microbiol. Biotechnol.* **2007**, 17 (12), 2042-2045.
12. Shen, K.-T.; Chen, M.-H.; Chan, H.-Y.; Jeng, J.-H.; Wang, Y.-J., Inhibitory effects of chitooligosaccharides on tumor growth and metastasis. *Food and Chemical Toxicology* **2009**, 47 (8), 1864-1871.
13. Ratanavaraporn, J.; Kanokpanont, S.; Tabata, Y.; Damrongsakkul, S., Growth and osteogenic differentiation of adipose-derived and bone marrow-derived stem cells on chitosan and chitooligosaccharide films. *Carbohydrate Polymers* **2009**, 78 (4), 873-878.
14. Shahabuddin, M.; Toyoshima, T.; Aikawa, M.; Kaslow, D. C., Transmission-blocking activity of a chitinase inhibitor and activation of malarial parasite chitinase by mosquito protease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **1993**, 90 (9), 4266-4270.

15. Steen, H. Stortare (*Laminaria hyperborea*) er vår viktigste marine makroalge, og Norge har Europas største bestander av denne arten. <https://www.imr.no/hi/temasider/arter/stortare>.
16. Foseid.L.; Devle.H.; Stenstrøm.Y., Fatty Acid Profiles of Stipe and Blade from the Norwegian Brown Macroalgae *Laminaria hyperborea* with Special Reference to Acyl Glycerides, Polar Lipids, and Free Fatty Acids. *Lipids* **2017**, 9
17. Amara, S.; Lafont, D.; Fiorentino, B.; Boullanger, P.; Carrière, F.; De Caro, A., Continuous measurement of galactolipid hydrolysis by pancreatic lipolytic enzymes using the pH-stat technique and a medium chain monogalactosyl diglyceride as substrate. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids* **2009**, 1791 (10), 983-990.
18. Voje, K. L. Livets opprinnelse. https://snl.no/livets_opprinnelse.
19. All natural. *Nature Chemical Biology* **2007**, 3 (7), 351-351.
20. Antonsen, S. G. Total synthesis as a tool for structural elucidation of some marine lipid natural products Ph.D. thesis, Norwegian university of life sciences, Oslo, Norway, 2017.
21. Xu, R., Ye, Y., Zaho,W., *Introduction to natural products chemistry*. Taylor & Francis group: 2012.
22. Newman, D. J.; Cragg, G. M.; Snader, K. M., The influence of natural products upon drug discovery. *Natural Product Reports* **2000**, 17 (3), 215-34.
23. Pettit, G. R.; Herald, C. L.; Doubek, D. L.; Herald, D. L.; Arnold, E.; Clardy, J., Isolation and structure of bryostatin 1. *Journal of the American Chemical Society* **1982**, 104 (24), 6846-6848.
24. Nelson, T. J.; Sun, M.-K.; Lim, C.; Sen, A.; Khan, T.; Chirila, F. V.; Alkon, D. L., Bryostatin Effects on Cognitive Function and PKCε in Alzheimer's Disease Phase IIa and Expanded Access Trials. *Journal of Alzheimer's Disease* **2017**, 58, 521-535.
25. Jéquier, E., Carbohydrates as a source of energy. *The American Journal of Clinical Nutrition* **1994**, 59 (3), 682S-685S.
26. Dewick, P. M., *Medicinal natural products, a biosynthetic approach*. Wiley: UK, 2009.
27. Varki, A., *Essentials of glycobiology*. Cold Spring Harbor Laboratory Press: Cold Spring Harbor, N.Y., 2009. 9780879697709 0879697709.
28. van Kooyk, Y.; Rabinovich, G. A., Protein-glycan interactions in the control of innate and adaptive immune responses. *Nature Immunology* **2008**, 9 (6), 593-601.
29. Cummings, R. D., The repertoire of glycan determinants in the human glycome. *Molecular BioSystems* **2009**, 5 (10), 1087-1104.
30. Moertel, C. G.; Fleming, T. R.; Rubin, J.; Kvols, L. K.; Sarna, G.; Koch, R.; Currie, V. E.; Young, C. W.; Jones, S. E.; Davignon, J. P., A Clinical Trial of Amygdalin (Laetrile) in the Treatment of Human Cancer. *New England Journal of Medicine* **1982**, 306 (4), 201-206.
31. Newman, R. A.; Yang, P.; Hittelman, W. N.; Lu, T.; Ho, D. H.; Ni, D.; Chan, D.; Vijjeswarapu, M.; Cartwright, C.; Dixon, S.; Felix, E.; Addington, C., Oleandrin-mediated

- oxidative stress in human melanoma cells. *Journal of Experimental Therapeutic and Oncology* **2006**, 5 (3), 167-81.
32. Hirsh, J., Heparin. *The New England Journal of Medicine* **1991**, 324 (22), 1565-74.
33. Duda-Chodak, A., The inhibitory effect of polyphenols on human gut microbiota. *Journal of physiology and pharmacology* **2012**, 63 (5), 497-503.
34. Rahfeld, P.; Sim, L.; Moon, H.; Constantinescu, I.; Morgan-Lang, C.; Hallam, S. J.; Kizhakkedathu, J. N.; Withers, S. G., An enzymatic pathway in the human gut microbiome that converts A to universal O type blood. *Nature Microbiology* **2019**, 4 (9), 1475-1485.
35. Galan, M. C.; Benito-Alifonso, D.; Watt, G. M., Carbohydrate chemistry in drug discovery. *Organic & Biomolecular Chemistry* **2011**, 9 (10), 3598-3610.
36. Neis-Beeckmann, P. Glycovirolgy: carbohydrate molecules against infections. <https://www.gesundheitsindustrie-bw.de/en/article/news/glycovirolgy-carbohydrate-molecules-against-infections> (accessed mai).
37. Astronomo, R. D.; Kaltgrad, E.; Udit, A. K.; Wang, S.-K.; Doores, K. J.; Huang, C.-Y.; Pantophlet, R.; Paulson, J. C.; Wong, C.-H.; Finn, M. G.; Burton, D. R., Defining Criteria for Oligomannose Immunogens for HIV Using Icosahedral Virus Capsid Scaffolds. *Chemistry & Biology* **2010**, 17 (4), 357-370.
38. Wang, S.-K.; Liang, P.-H.; Astronomo, R. D.; Hsu, T.-L.; Hsieh, S.-L.; Burton, D. R.; Wong, C.-H., Targeting the carbohydrates on HIV-1: Interaction of oligomannose dendrons with human monoclonal antibody 2G12 and DC-SIGN. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2008**, 105 (10), 3690-3695.
39. Mahata, M.; Shinya, S.; Masaki, E.; Yamamoto, T.; Ohnuma, T.; Brzezinski, R.; Mazumder, T. K.; Yamashita, K.; Narihiro, K.; Fukamizo, T., Production of chitooligosaccharides from *Rhizopus oligosporus* NRRL2710 cells by chitosanase digestion. *Carbohydrate Research* **2014**, 383, 27-33.
40. Gardner, K. H.; Blackwell, J., Refinement of the structure of β -chitin. *Biopolymers* **1975**, 14 (8), 1581-1595.
41. hoàng ngọc, c.; Cong Minh, N.; Nguyen, V. H.; Trang Si, T., Preparation and characterization of high purity β -chitin from squid pens (*Loligo chensis*). *International journal of biological macromolecules* **2016**, 93.
42. Nwe, N.; Furuike, T.; Tamura, H., The Mechanical and Biological Properties of Chitosan Scaffolds for Tissue Regeneration Templates Are Significantly Enhanced by Chitosan from *Gongronella butleri*. *Materials* **2009**, 2.
43. Chatterjee, S.; Adhya, M.; Guha, A. K.; Chatterjee, B. P., Chitosan from *Mucor rouxii*: production and physico-chemical characterization. *Process Biochemistry* **2005**, 40 (1), 395-400.
44. Einbu, A.; Vårum, K. M., Depolymerization and De-N-acetylation of Chitin Oligomers in Hydrochloric Acid. *Biomacromolecules* **2007**, 8 (1), 309-314.
45. Hamed, I.; Özogul, F.; Regenstein, J. M., Industrial applications of crustacean by-products (chitin, chitosan, and chitooligosaccharides): A review. *Trends in Food Science & Technology* **2016**, 48, 40-50.
46. Cantarel, B. L.; Coutinho, P. M.; Rancurel, C.; Bernard, T.; Lombard, V.; Henrissat, B., The Carbohydrate-Active EnZymes database (CAZy): an expert resource for Glycogenomics. *Nucleic Acids Research* **2009**, 37, D233-8.

47. Koshland, D. E., Jr.; Stein, S. S., Correlation of bond breaking with enzyme specificity; cleavage point of invertase. *J Biol Chem* **1954**, *208* (1), 139-48.
48. Jeon, Y.-J.; Park, P.-J.; Kim, S.-K., Antimicrobial effect of chitoooligosaccharides produced by bioreactor. *Carbohydrate Polymers* **2001**, *44* (1), 71-76.
49. Sørbotten, A.; Horn, S. J.; Eijsink, V. G.; Vårum, K. M., Degradation of chitosans with chitinase B from *Serratia marcescens*. Production of chito-oligosaccharides and insight into enzyme processivity. *Febs j* **2005**, *272* (2), 538-49.
50. Lopatin, S. A.; Derbeneva, M.; Kulikov, S.; Varlamov, V.; Shpigun, O., Fractionation of chitosan by ultrafiltration. *Journal of Analytical Chemistry - J ANAL CHEM-ENGL TR* **2009**, *64*, 648-651.
51. Hein, C. D.; Liu, X.-M.; Wang, D., Click chemistry, a powerful tool for pharmaceutical sciences. *Pharm Res* **2008**, *25* (10), 2216-2230.
52. Haebel, S.; Bahrke, S.; Peter, M. G., Quantitative Sequencing of Complex Mixtures of Heterochitoooligosaccharides by vMALDI-Linear Ion Trap Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry* **2007**, *79* (15), 5557-5566.
53. Le Dévédec, F.; Bazinet, L.; Furtos, A.; Venne, K.; Brunet, S.; Mateescu, M. A., Separation of chitosan oligomers by immobilized metal affinity chromatography. *Journal of Chromatography A* **2008**, *1194* (2), 165-171.
54. Cheng-Sanchez, I.; Sarabia, F., Chemistry and biology of bioactive glycolipids of marine origin. *Marine Drugs* **2018**, *16* (9), 294/1-294/52.
55. Dwek, R. A.; Butters, T. D.; Platt, F. M.; Zitzmann, N., Targeting glycosylation as a therapeutic approach. *Nature Reviews Drug Discovery* **2002**, *1* (1), 65-75.
56. Ogretmen, B.; Hannun, Y. A., Biologically active sphingolipids in cancer pathogenesis and treatment. *Nature Reviews Cancer* **2004**, *4* (8), 604-616.
57. Wennekes, T.; van den Berg, R. J. B. H. N.; Boot, R. G.; van der Marel, G. A.; Overkleeft, H. S.; Aerts, J. M. F. G., Glycosphingolipids—Nature, Function, and Pharmacological Modulation. *Angewandte Chemie International Edition* **2009**, *48* (47), 8848-8869.
58. Göllner, C.; Philipp, C.; Dobner, B.; Sippl, W.; Schmidt, M., First total synthesis of 1,2-dipalmitoyl-3-(N-palmitoyl-6'-amino-6'-deoxy- α -d-glucosyl)-sn-glycerol—a glycolipid of a marine alga with a high inhibitor activity against human Myt1-kinase. *Carbohydrate Research* **2009**, *344* (13), 1628-1631.
59. Nakamura, Y., Galactolipid biosynthesis in flowers. *Botanical Studies* **2013**, *54* (1), 29.
60. Holzl, G.; Dormann, P., Structure and function of glycolipids in plants and bacteria. *Prog Lipid Res* **2007**, *46* (5), 225-43.
61. Gasulla, F.; García-Plazaola, J. I.; López-Pozo, M.; Fernández-Marín, B., Evolution, biosynthesis and protective roles of oligogalactolipids: Key molecules for terrestrial photosynthesis? *Environmental and Experimental Botany* **2019**, *164*, 135-148.
62. Hölzl, G.; Dormann, P., Chloroplast Lipids and Their Biosynthesis. *Annual Review of Plant Biology* **2019**, *70* (1), 51-81.
63. Morad, S. A. F.; Cabot, M. C., Ceramide-orchestrated signalling in cancer cells. *Nature Reviews Cancer* **2013**, *13* (1), 51-65.

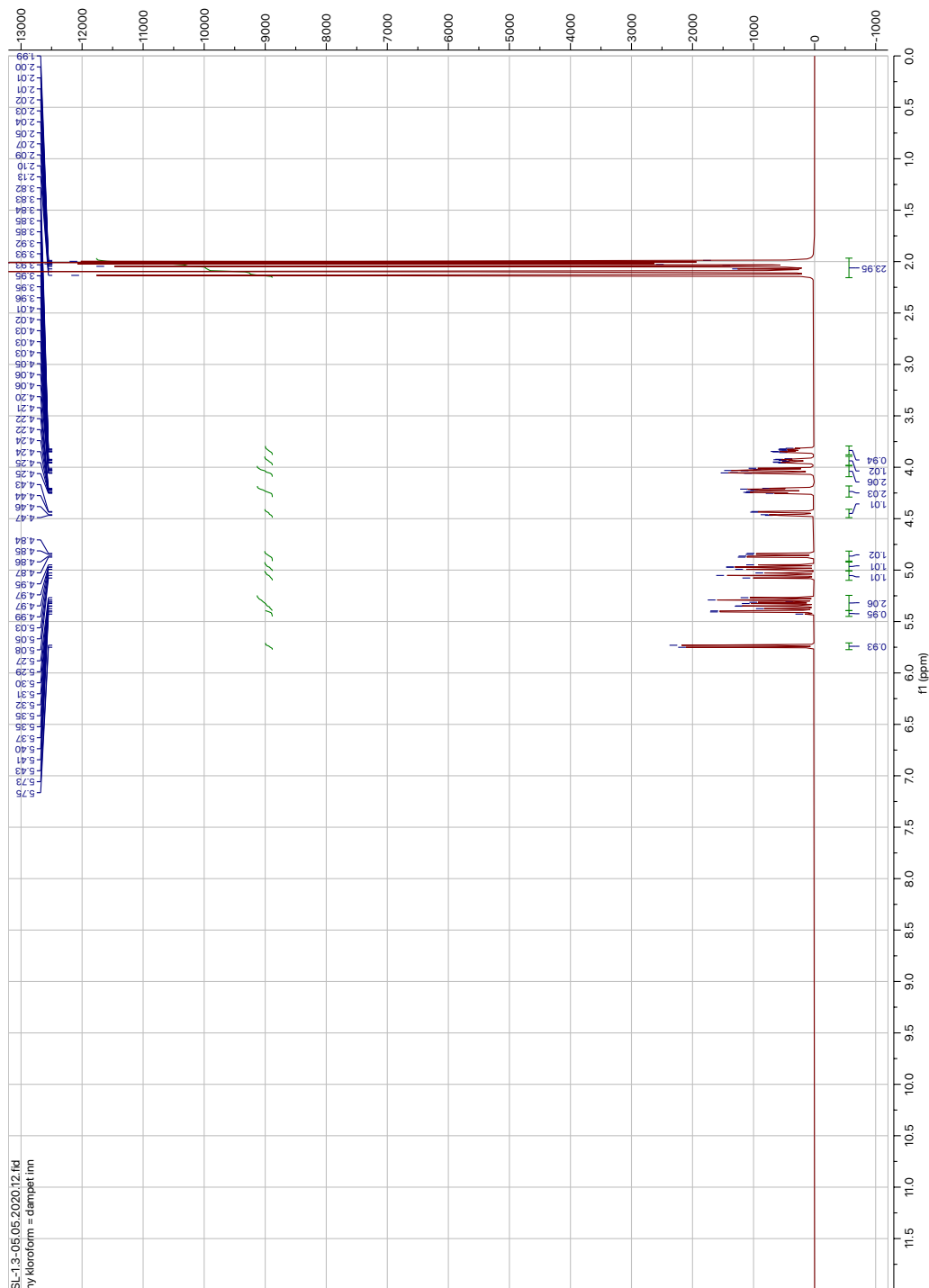
64. Chiricozzi, E.; Lunghi, G.; Di Biase, E.; Fazzari, M.; Sonnino, S.; Mauri, L., GM1 Ganglioside Is A Key Factor in Maintaining the Mammalian Neuronal Functions Avoiding Neurodegeneration. *Int J Mol Sci* **2020**, *21* (3), 868.
65. Natori, T.; Morita, M.; Akimoto, K.; Koezuka, Y., Agelasphins, novel antitumor and immunostimulatory cerebroside from the marine sponge *Agelas mauritianus*. *Tetrahedron* **1994**, *50* (9), 2771-2784.
66. Ohta, S.; Ohta, E.; Ikegami, S., Ancorinoside A: A Novel Tetramic Acid Glycoside from the Marine Sponge, *Ancorina* sp. Which Specifically Inhibits Blastulation of Starfish Embryos. *The Journal of Organic Chemistry* **1997**, *62* (19), 6452-6453.
67. Mydock, L. K.; Demchenko, A. V., Mechanism of chemical O-glycosylation: from early studies to recent discoveries. *Organic & Biomolecular Chemistry* **2010**, *8* (3), 497-510.
68. Igarashi, K., The Koenigs-Knorr Reaction. In *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, Stuart Tipson, R.; Horton, D., Eds. Academic Press: 1977; Vol. 34, pp 243-283. 0065-2318.
69. Levy, D. E. F., Péter, *The organic chemistry of sugars* CRC Press: Boca Raton, 2006. 9780429117206.
70. Schmidt, R. R.; Michel, J., Facile Synthesis of α - and β -O-Glycosyl Imidates; Preparation of Glycosides and Disaccharides. *Angewandte Chemie International Edition in English* **1980**, *19* (9), 731-732.
71. Schmidt, R. R.; Grundler, G., α -Linked Disaccharides from O-(β -D-Glycopyranosyl) Trichloroacetimidates using Trimethylsilyl Trifluoromethanesulfonate as Catalyst. *Angewandte Chemie International* **1982**, *21* (10), 781-782.
72. Fischer, E., Notiz über die Acetohalogen-glucosen und die p-Bromphenylosazone von Maltose und Melibiose. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* **1911**, *44* (2), 1898-1904.
73. Montero, J.-L.; Winum, J.-Y.; Leydet, A.; Kamal, M.; Pavia, A. A.; Roque, J.-P., A convenient synthesis of peracetylated glycosyl halides using bismuth(III) halides as catalysts. *Carbohydrate Research* **1997**, *297* (2), 175-180.
74. Hanessian, S.; Ponpipom, M. M.; Lavalley, P., Procedures for the direct replacement of primary hydroxyl groups in carbohydrates by halogen. *Carbohydrate Research* **1972**, *24* (1), 45-56.
75. Schmidt, R. R.; Rücker, E., Stereoselective glycosidations of uronic acids. *Tetrahedron Letters* **1980**, *21* (15), 1421-1424.
76. Das, R.; Mukhopadhyay, B., Chemical O-Glycosylations: An Overview. *ChemistryOpen* **2016**, *5* (5), 401-433.
77. Ferrier, R. J.; Hay, R. W.; Vethaviasar, N.]A potentially versatile synthesis of glycosides. *Carbohydrate Research* **1973**, *27* (1), 55-61.
78. Lönn, H., Synthesis of a tri- and a hepta-saccharide which contain alpha-L-fucopyranosyl groups and are part of the complex type of carbohydrate moiety of glycoproteins. *Carbohydrate Research* **1985**, *139*, 105-13.
79. Fügedi, P.; Birberg, W.; Garegg, P. J.; Pilotti, Å., Syntheses of a branched heptasaccharide having phytoalexin-elicitor activity. *Carbohydrate Research* **1987**, *164*, 297-312.

80. Veeneman, G. H.; van Leeuwen, S. H.; van Boom, J. H., Iodonium ion promoted reactions at the anomeric centre. II An efficient thioglycoside mediated approach toward the formation of 1,2-trans linked glycosides and glycosidic esters. *Tetrahedron Letters* **1990**, *31* (9), 1331-1334.
81. Konradsson, P.; Udodong, U. E.; Fraser-Reid, B., Iodonium promoted reactions of disarmed thioglycosides. *Tetrahedron Letters* **1990**, *31* (30), 4313-4316.
82. Mereyala, H. B.; Gurralla, S. R., A highly diastereoselective, practical synthesis of allyl, propargyl 2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -d-gluco, β -d-galactopyranosides and allyl, propargyl heptaacetyl- β -d-lactosides. *Carbohydrate Research* **1998**, *307* (3), 351-354.
83. Hotha, S.; Kashyap, S., Propargyl Glycosides as Stable Glycosyl Donors: Anomeric Activation and Glycoside Syntheses. *Journal of the American Chemical Society* **2006**, *128* (30), 9620-9621.
84. Schmidt, R. R.; Toepfer, A., Glycosylation with highly reactive glycosyl donors: efficiency of the inverse procedure. *Tetrahedron Letters* **1991**, *32* (28), 3353-3356.
85. Adinolfi, M.; Barone, G.; Iadonisi, A.; Schiattarella, M., Activation of Glycoyl Trihaloacetimidates with Acid-Washed Molecular Sieves in the Glycosidation Reaction. *Organic Letters* **2003**, *5* (7), 987-989.
86. Noritaka, C.; Noboru, S.; Katsuyuki, M.; Takahiko, T.; Toshihiko, N.; Seiichiro, O., Total Synthesis of Acanthacerebroside A and Astrocerebroside A via a Chiral Epoxide Intermediate Derived from L-Quebrachitol. *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **1998**, *71* (1), 259-272.
87. Kawano, Y.; Higuchi, R.; Isobe, R.; Komori, T., Biologically active glycosides from asteroidea. XVII. Glycosphingolipids from the starfish *Acanthaster planci*. 3. Isolation and structure of two new ceramide lactosides. *Justus Liebigs Annalen der Chemie* **1988**, (12), 1181-3.
88. Koenigs, W.; Knorr, E., Ueber einige Derivate des Traubenzuckers und der Galactose. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* **1901**, *34* (1), 957-981.
89. Fischer, E.; Armstrong, E. F., Ueber die isomeren Acetohalogen-Derivate des Traubenzuckers und die Synthese der Glucoside I. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* **1901**, *34* (2), 2885-2900.
90. Yoon, T. P.; Ischay, M. A.; Du, J., Visible light photocatalysis as a greener approach to photochemical synthesis. *Nature Chemistry* **2010**, *2*, 527.
91. Uchiyama, T.; Shishikura, K.; Ogawa, K.; Ohshima, Y.; Miyairi, S., An efficient method for the preparation of 1,5-anhydroalditol from unprotected carbohydrates via glycopyranosyl iodide. *Tetrahedron Letters* **2016**, *57* (47), 5294-5296.
92. Bickley, J.; Cottrell, J. A.; Ferguson, J. R.; Field, R. A.; Harding, J. R.; Hughes, D. L.; Kartha, K. P.; Law, J. L.; Scheinmann, F.; Stachulski, A. V., Preparation, X-ray structure and reactivity of a stable glycosyl iodide. *Chemical Communications* **2003**, (11), 1266-7.
93. Du, W.; Kulkarni, S. S.; Gervay-Hague, J., Efficient, one-pot syntheses of biologically active alpha-linked glycolipids. *Chemical Communications* **2007**, (23), 2336-8.
94. Garegg, P. J., Thioglycosides as Glycosyl Donors in Oligosaccharide Synthesis. In *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, Horton, D., Ed. Academic Press: 1997; Vol. 52, pp 179-205. 0065-2318.

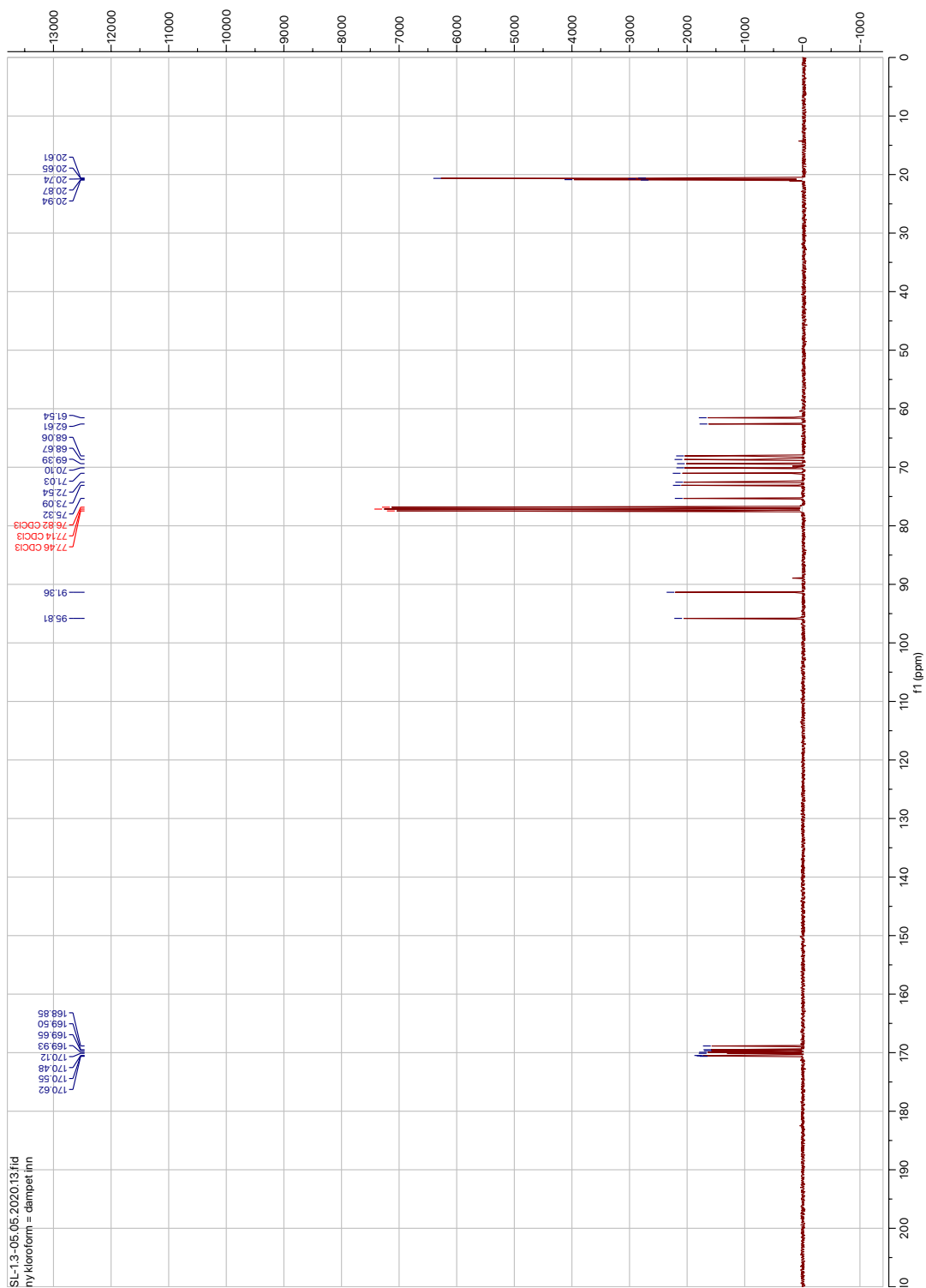
95. Nicotra, F.; Airoidi, C.; Cardona, F., 1.16 - Synthesis of C- and S-Glycosides. In *Comprehensive Glycoscience*, Kamerling, H., Ed. Elsevier: Oxford, 2007; pp 647-683. 978-0-444-51967-2.
96. Kayastha, A. K.; Hotha, S., Gold-catalyzed glycosidations: unusual cleavage of the interglycosidic bond while studying the armed/disarmed effect of propargyl glycosides. *Tetrahedron Letters* **2010**, *51* (40), 5269-5272.
97. Albert, R.; Dax, K.; Stütz, A. E.; Weidmann, H., Acetyl Migration in Partially Acetylated D-Glucopyrano-Sides and Acylamidoheopyranosides. *Journal of Carbohydrate Chemistry* **1983**, *2* (3), 279-292.
98. Iserloh, U.; Dudkin, V.; Wang, Z.-G.; Danishefsky, S. J., Reducing oligosaccharides via glycal assembly: on the remarkable stability of anomeric hydroxyl groups to global deprotection with sodium in liquid ammonia. *Tetrahedron Letters* **2002**, *43* (39), 7027-7030.
99. Corey, E. J.; Venkateswarlu, A., Protection of hydroxyl groups as tert-butylidimethylsilyl derivatives. *Journal of the American Chemical Society* **1972**, *94* (17), 6190-6191.
100. de Belder, A. N., Cyclic Acetals of The Aldoses and Aldosides Highlights of the Literature Since 1964, and A Supplement to the Tables. In *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, Stuart Tipson, R.; Horton, D., Eds. Academic Press: 1977; Vol. 34, pp 179-241. 0065-2318.
101. Wu, L.; Sampson, N. S., Fucose, mannose, and β -N-acetylglucosamine glycopolymers initiate the mouse sperm acrosome reaction through convergent signaling pathways. *ACS Chem Biol* **2014**, *9* (2), 468-475.
102. Zuffo, M.; Stucchi, A.; Campos-Salinas, J.; Cabello-Donayre, M.; Martínez-García, M.; Belmonte-Reche, E.; Pérez-Victoria, J. M.; Mergny, J. L.; Freccero, M.; Morales, J. C.; Doria, F., Carbohydrate-naphthalene diimide conjugates as potential antiparasitic drugs: Synthesis, evaluation and structure-activity studies. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2019**, *163*, 54-66.
103. Ortega-Muñoz, M.; Lopez-Jaramillo, J.; Hernandez-Mateo, F.; Santoyo-Gonzalez, F., Synthesis of Glyco-Silicas by Cu(I)-Catalyzed "Click-Chemistry" and their Applications in Affinity Chromatography. *Advanced Synthesis & Catalysis* **2006**, *348* (16-17), 2410-2420.
104. Vengut-Climent, E.; Gómez-Pinto, I.; Lucas, R.; Peñalver, P.; Aviñó, A.; Fonseca Guerra, C.; Bickelhaupt, F. M.; Eritja, R.; González, C.; Morales, J. C., Glucose–Nucleobase Pseudo Base Pairs: Biomolecular Interactions within DNA. *Angewandte Chemie International Edition* **2016**, *55* (30), 8643-8647.

6. Appendix

6.1 ^1H NMR- og ^{13}C NMR- spektre av *D*-glycopyranose,4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-*D*-glukopyranosyl)-, 1,2,3,6-tetraacetat (76)

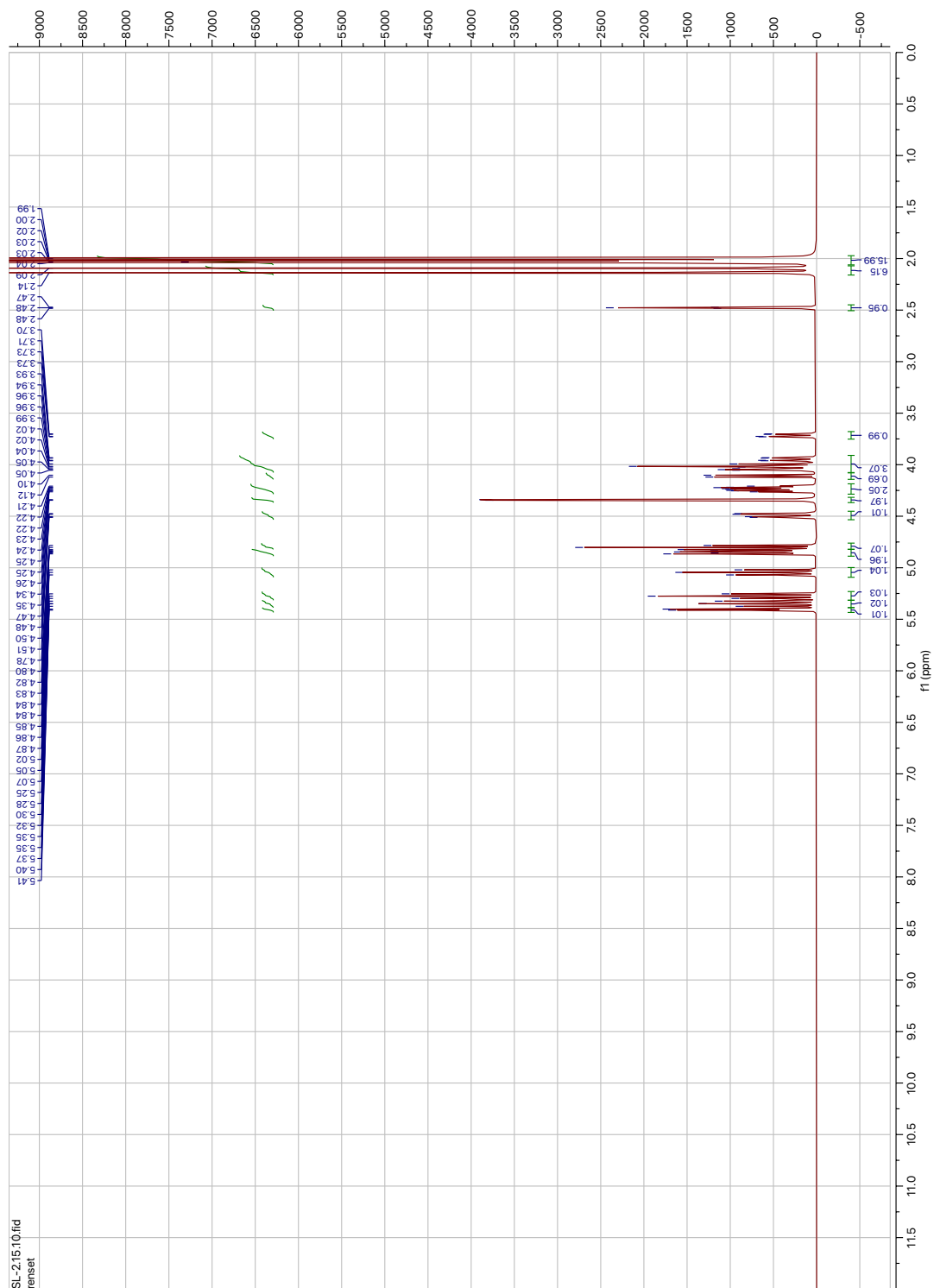


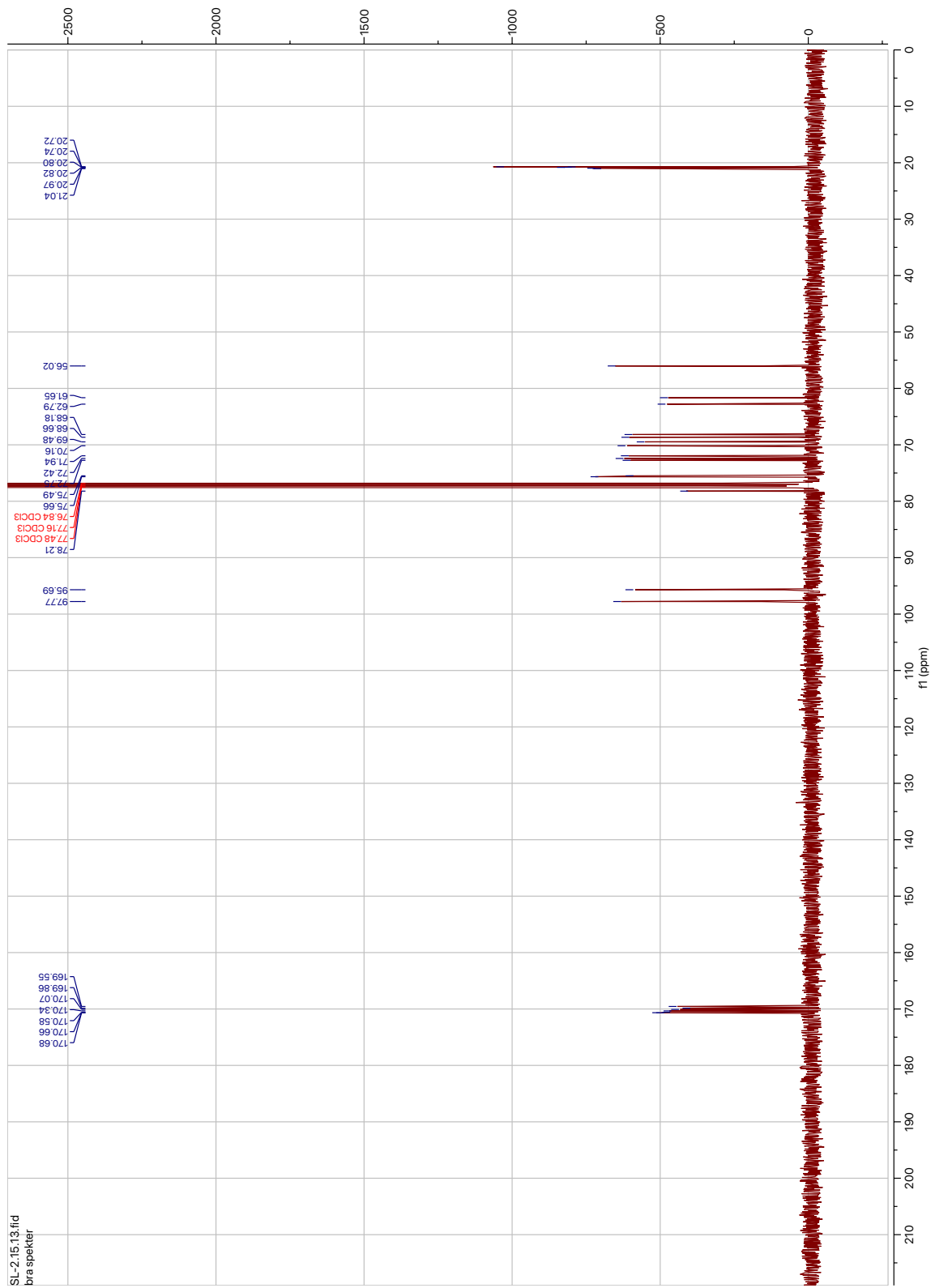
Figur 6. ^1H NMR-spekter av *D*-glycopyranose,4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-*D*-glukopyranosyl)-, 1,2,3,6-tetraacetat (76).



Figur 6.2 ¹³C NMR-spekter av D-glycopyranose, 4-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl-D-glukopyranosyl)-, 1,2,3,6-tetraacetat (76)

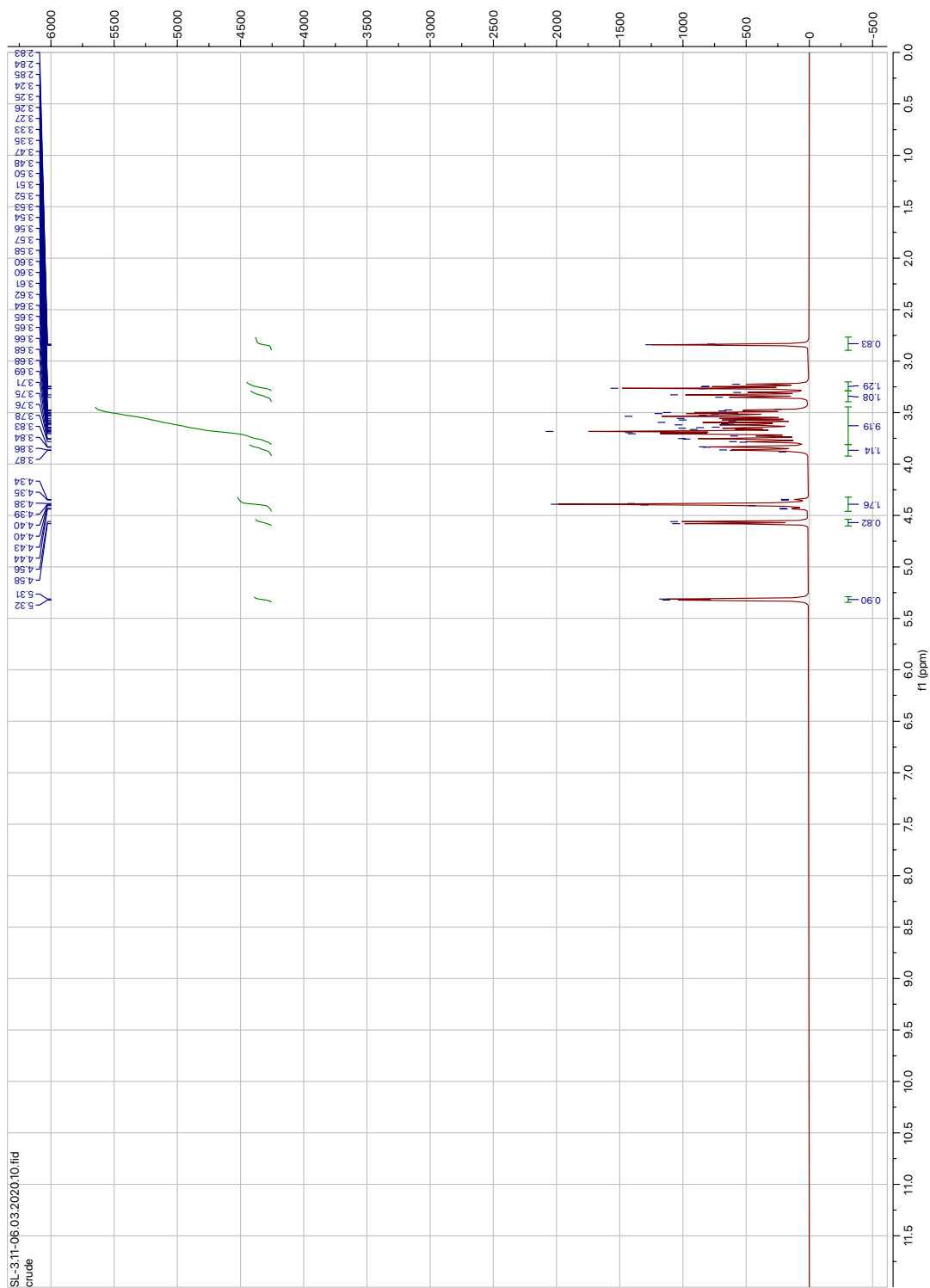
6.2 ¹H NMR- og ¹³C NMR- spektre av D-glukopyranosid, 2-propyn-1-yl 4-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl-D-glukopyranosyl) 2,3,6-triacetat (77)



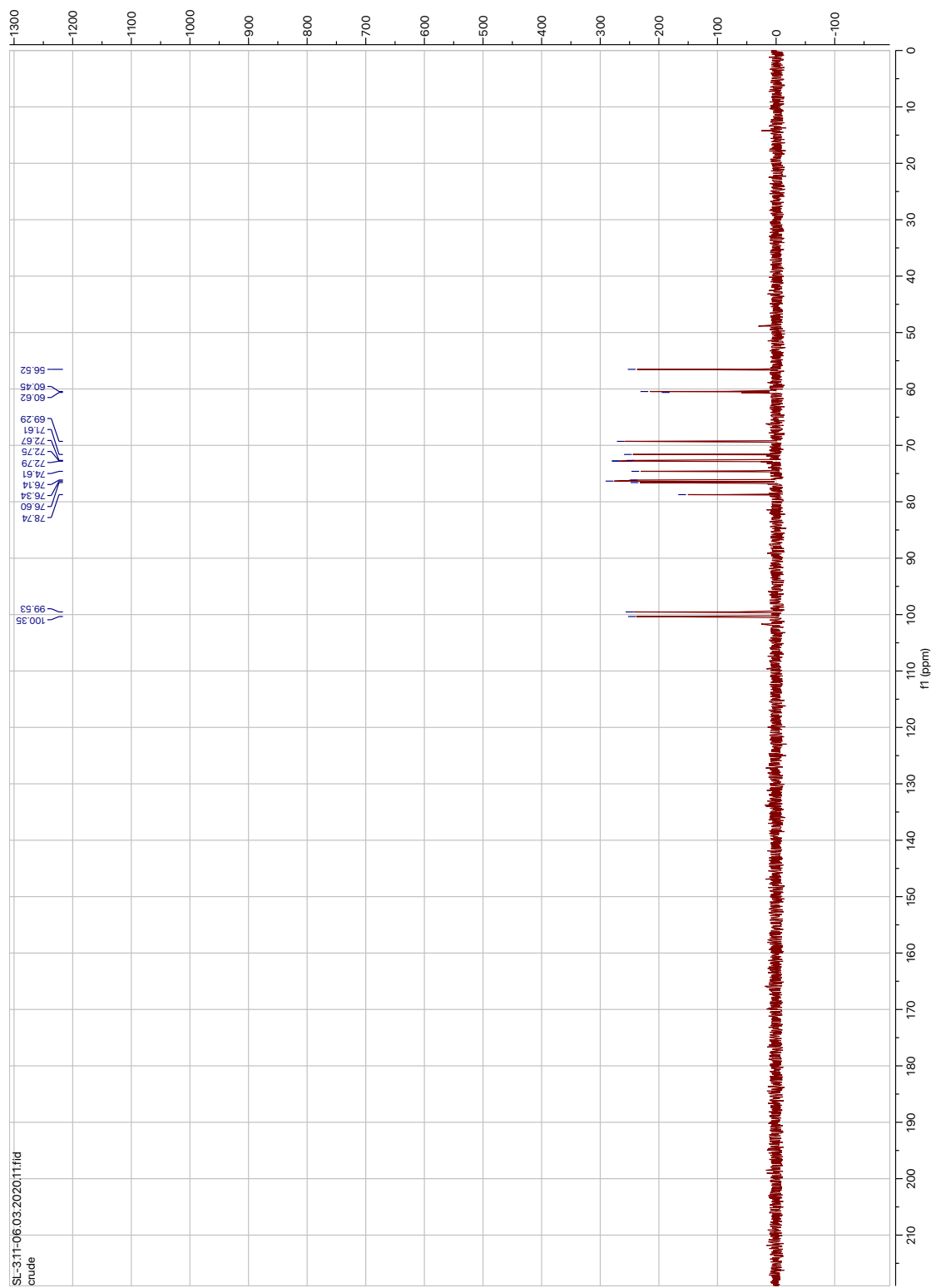


Figur 6.4 ^{13}C -NMR-spekter av *D*-glukopyranosid, 2-propyn-1-yl 4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-*D*-glukopyranosyl) 2,3,6-triacetat (77)

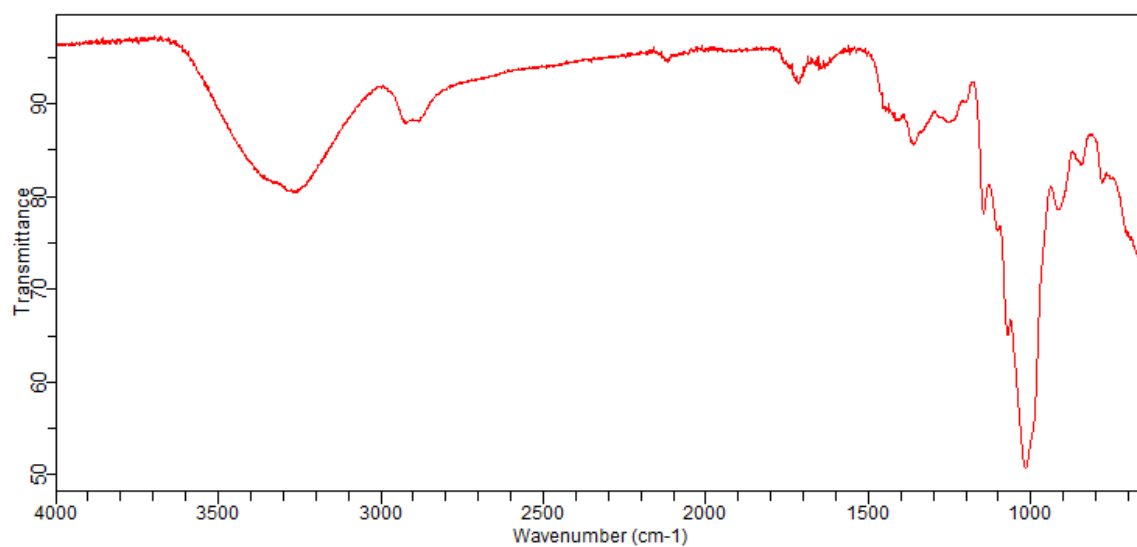
6.3 Spektrale data av *D*-glukopyranosid, 2-propyn-1-yl 4-*O*-*D*-galaktopyranosyl (72)



Figur 6.5 ^1H NMR-spektere av *D*-glukopyranosid, 2-propyn-1-yl 4-*O*-*D*-galaktopyranosyl (72)

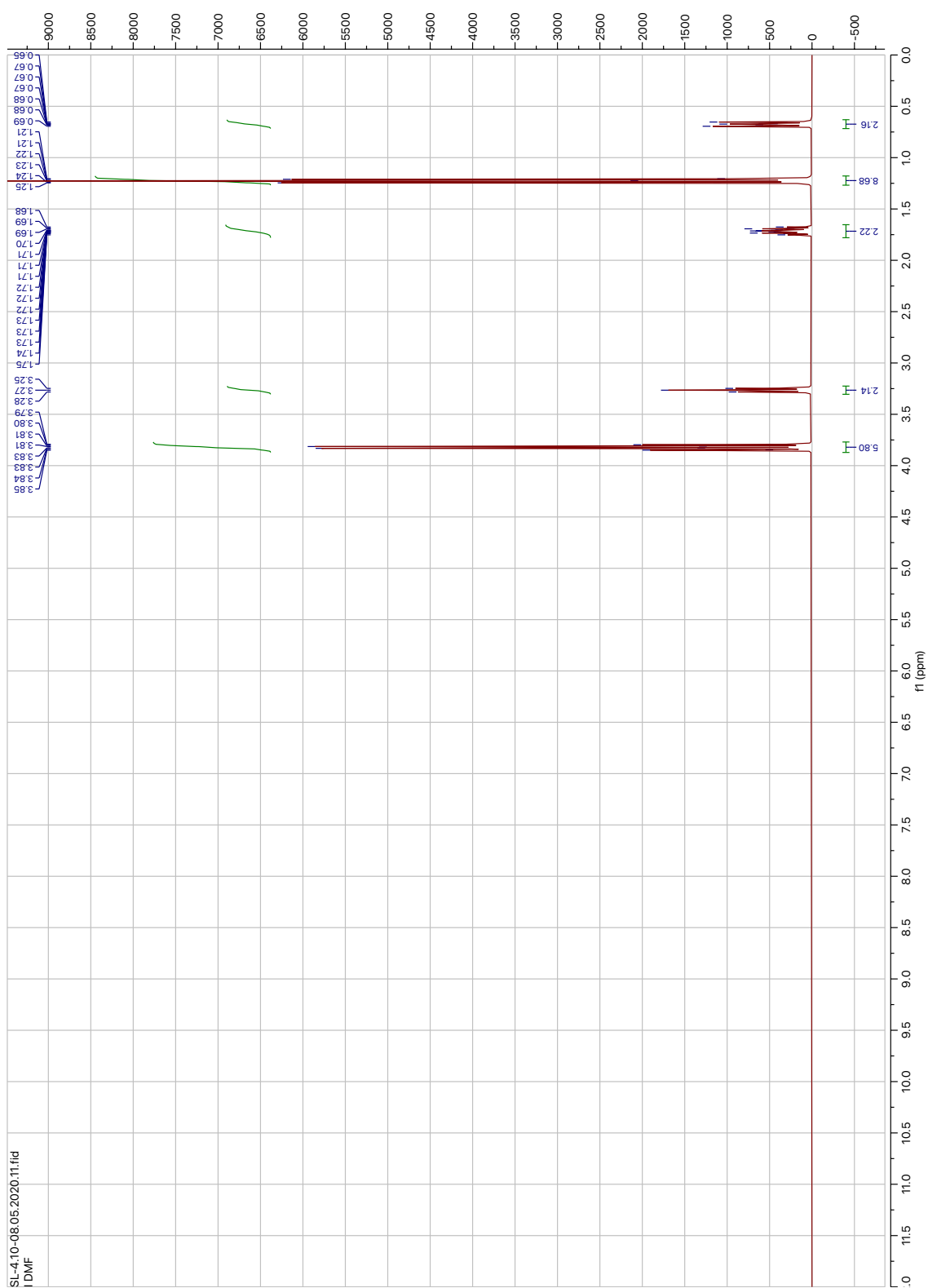


Figur 6.6 ^{13}C NMR-spektre av D-glukopyranosid, 2-propyn-1-yl 4-O-D-galaktopyranosyl (72)

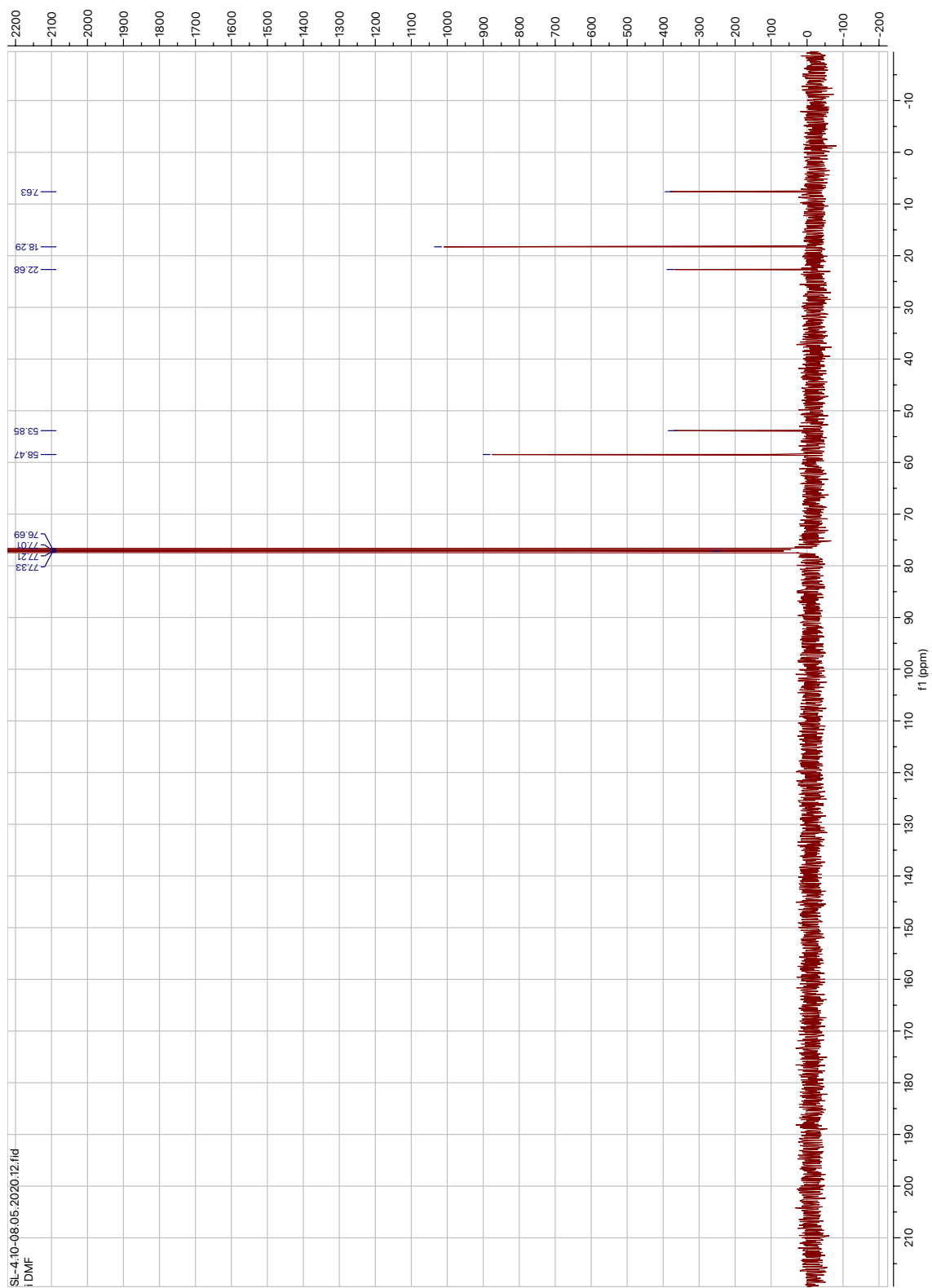


Figur 6.7 IR-spekter av D-glukopyranosid, 2-propyn-1-yl 4-O-D-galaktopyranosyl (72)

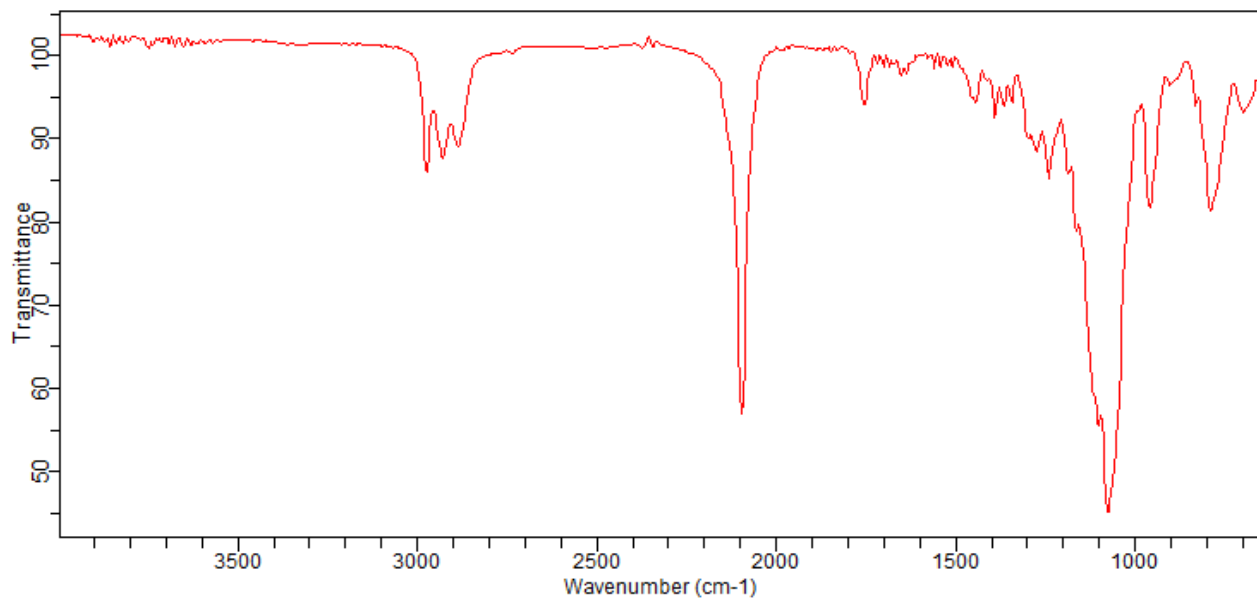
6.4 Spektrale data av 3-Azidopropyltriethoxysilan (78)



Figur 6.8 ^1H NMR-spekter av 3-Azidopropyltriethoxysilan (78)

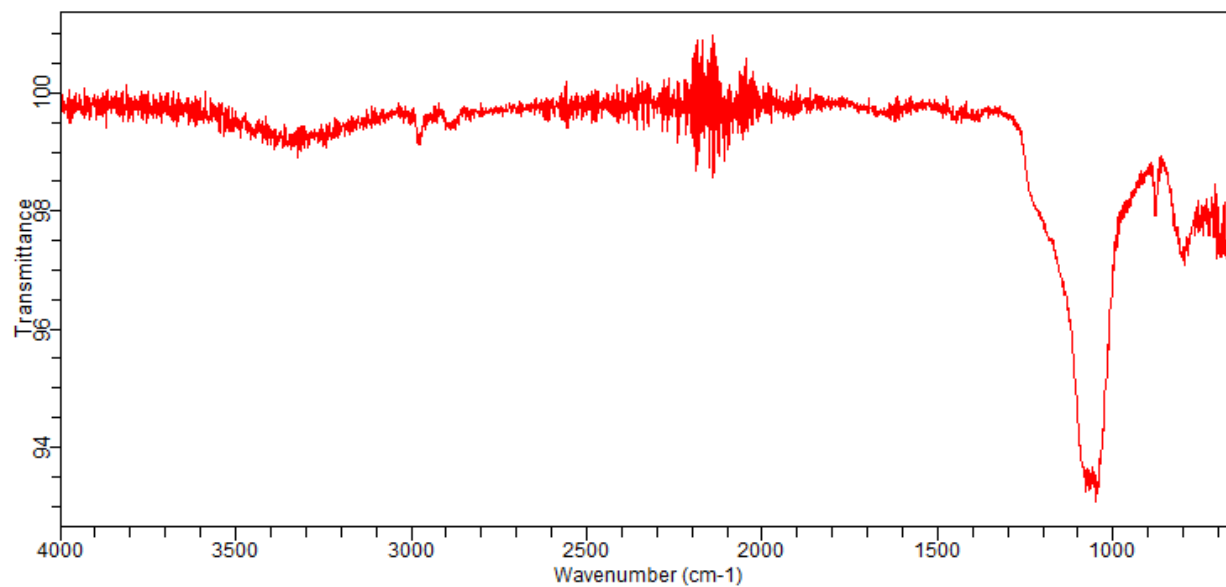


Figur 6.9 ^{13}C NMR-spekter av 3-Azidopropyltriethoxysilan (78).



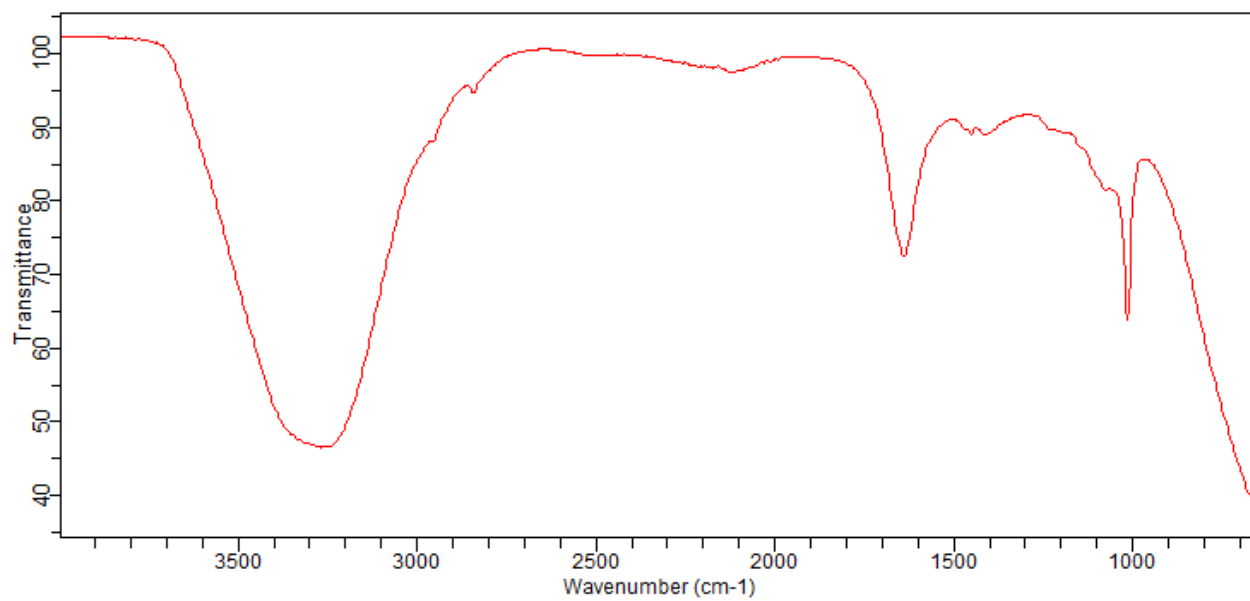
Figur 6.10 IR-spekter av 3-Azidopropyltriethoxysilan (78)

6.5 IR-spekter av 3-Azidopropyltriethoxysilan-silika (73)



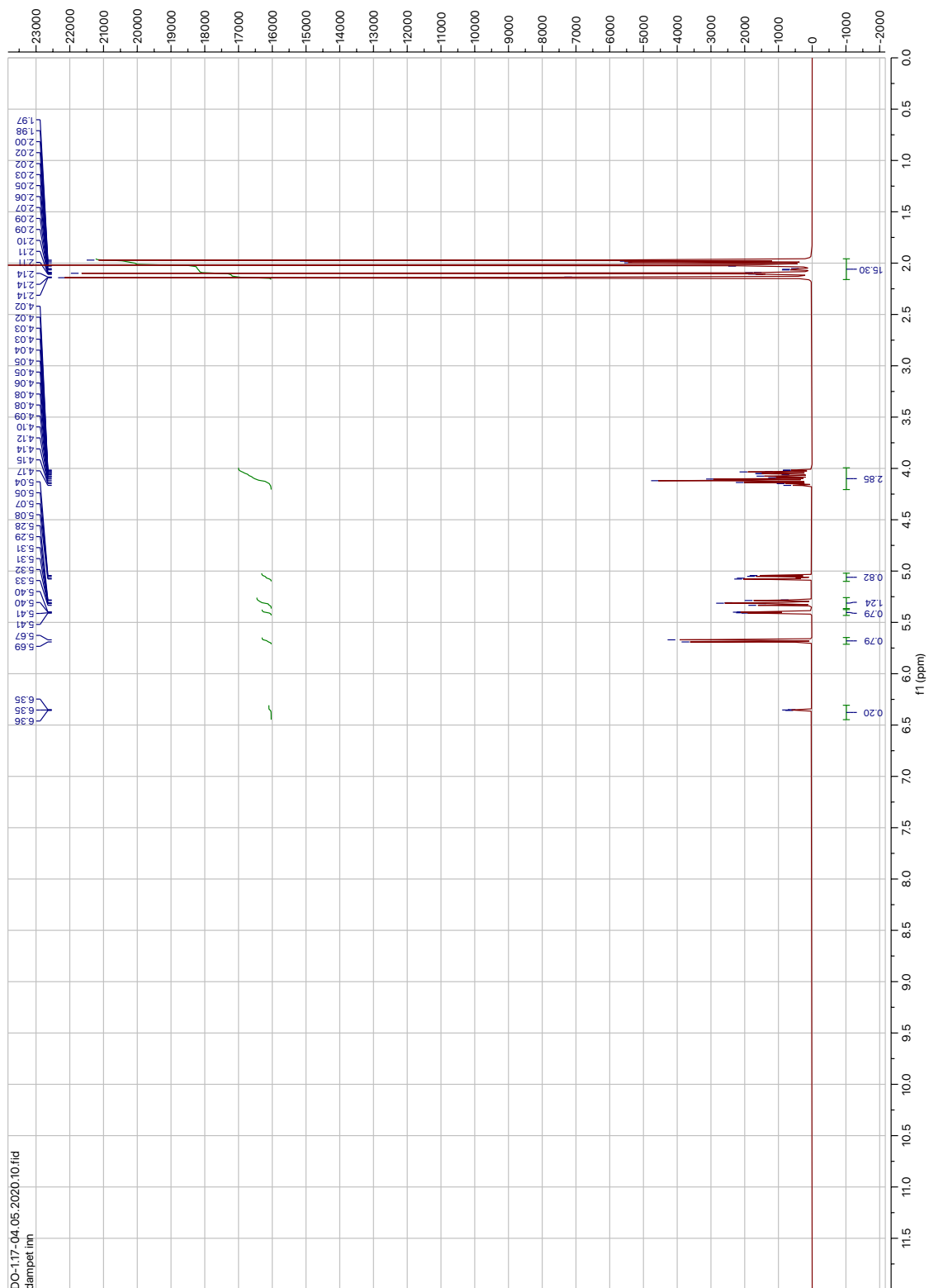
Figur 6.11 IR-spekter av 3-Azidopropyltriethoxysilan-silika (73)

6.6 IR-spekter av «klikk maltose» (1)

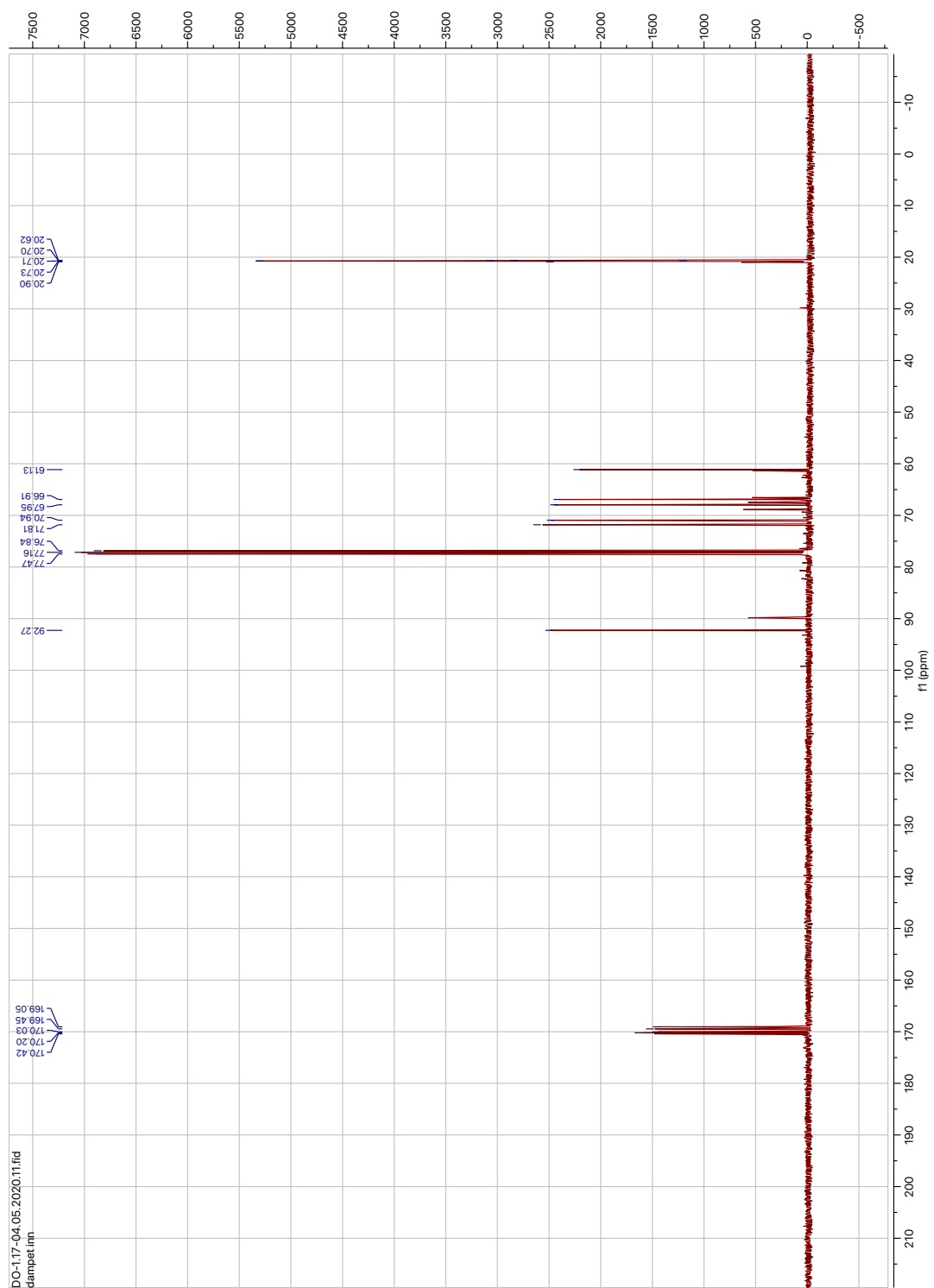


Figur 6.12 IR-spekter av «klikk maltose» (1)

6.7 ^1H NMR- og ^{13}C NMR- spektere av 1,2,3,4,6-pentaacetat-glaktopyranose (79)

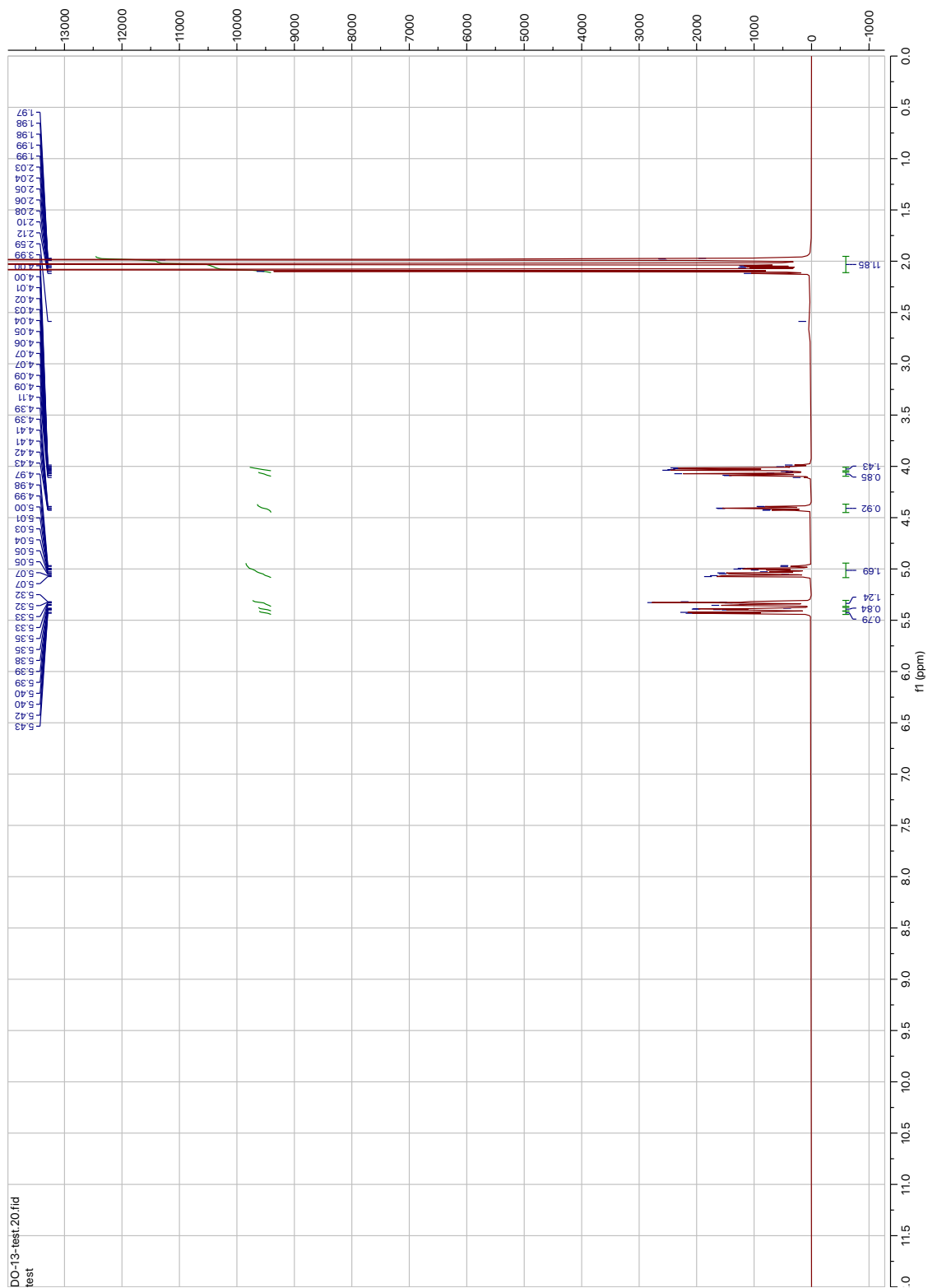


Figur 6.13 ^1H NMR-spekter av 1,2,3,4,6-pentaacetat-glaktopyranose (79)

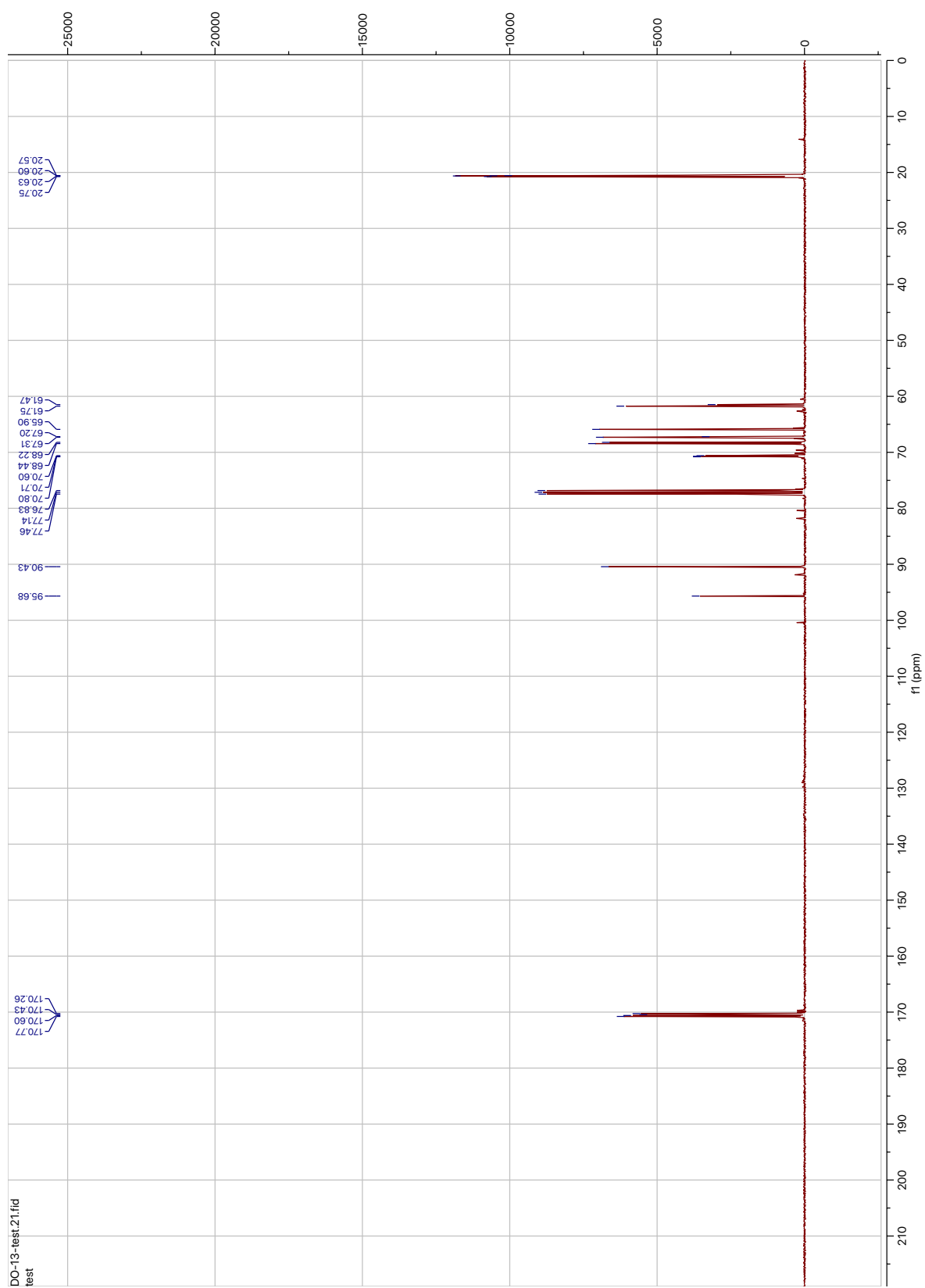


Figur 6.14 ^{13}C NMR-spekter av 1,2,3,4,6-pentaacetat-glaktopyranose (79)

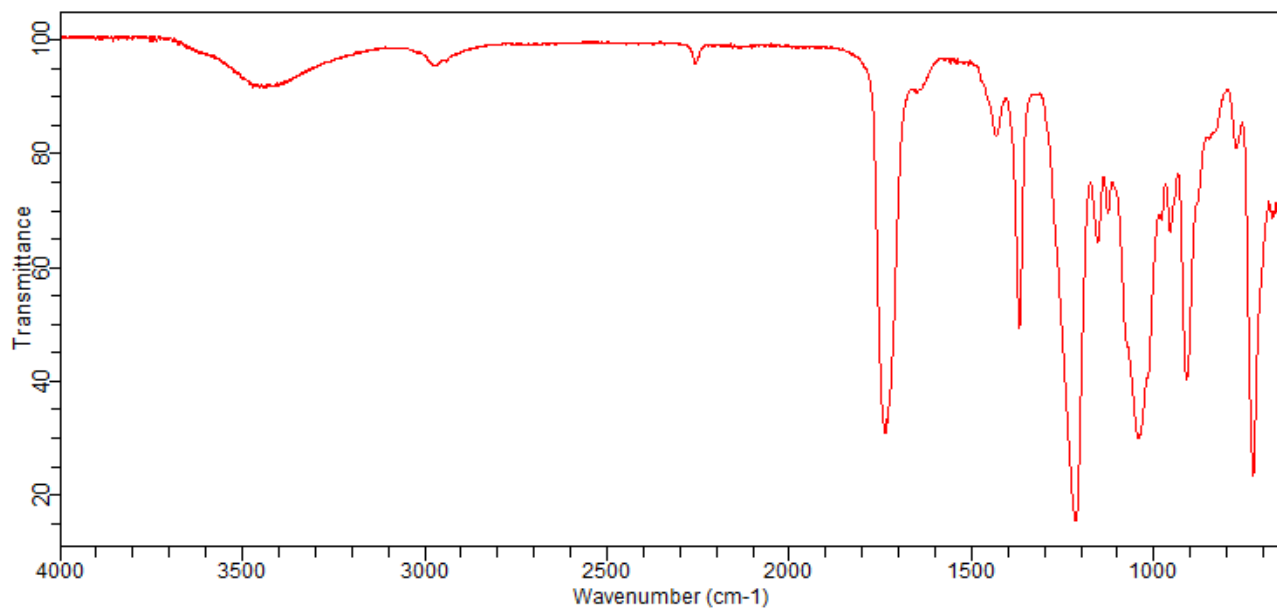
6.8 Spektrale data av 2,3,4,6-tetraacetyl-galaktopyranose (80)



Figur 6.15 ^1H NMR-spekter av 2,3,4,6-tetraacetyl-galaktopyranose (80)

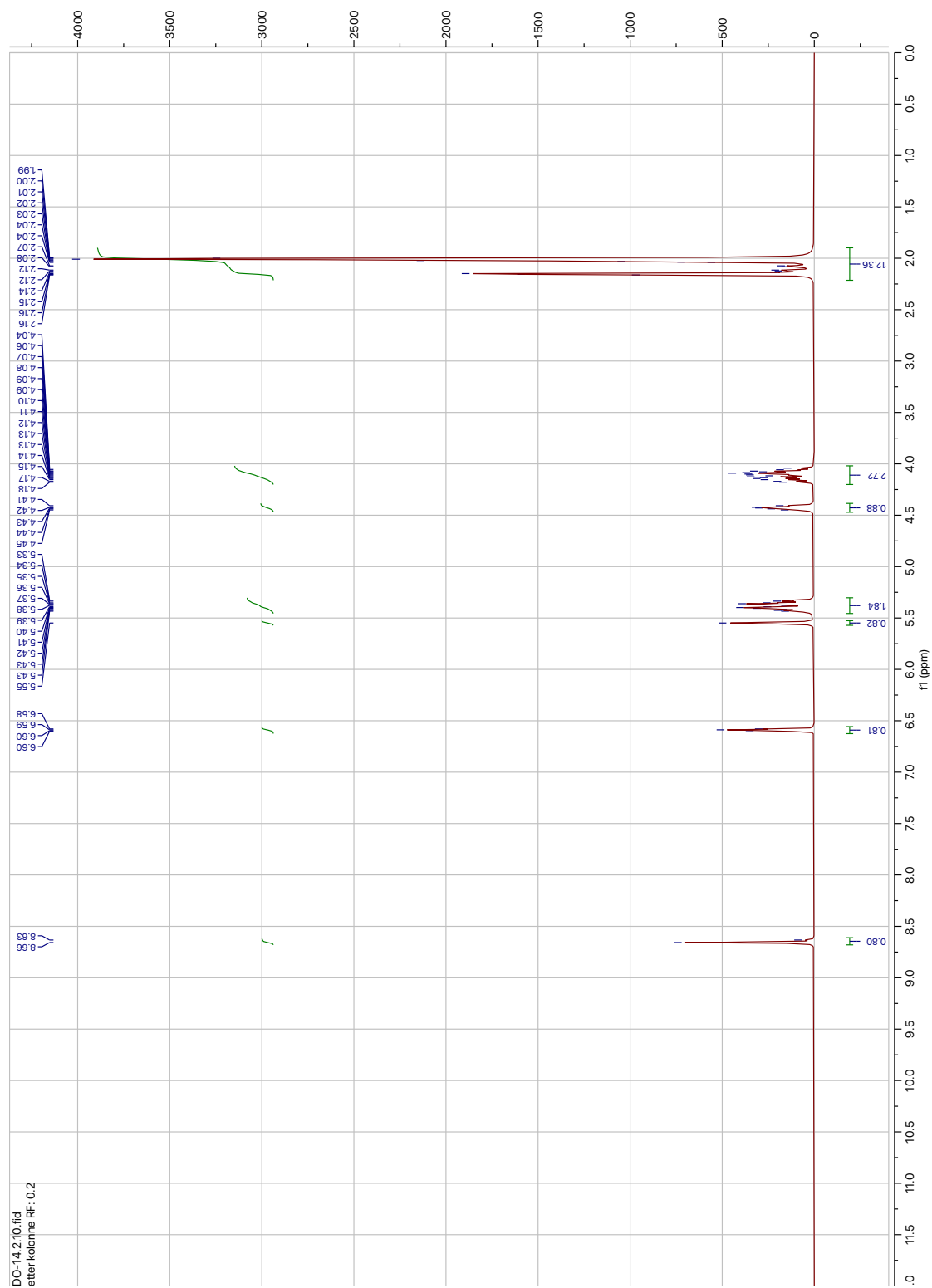


Figur 6.16 ^{13}C NMR-spekter av 2,3,4,6-tetraacetyl-galaktopyranose (**80**)

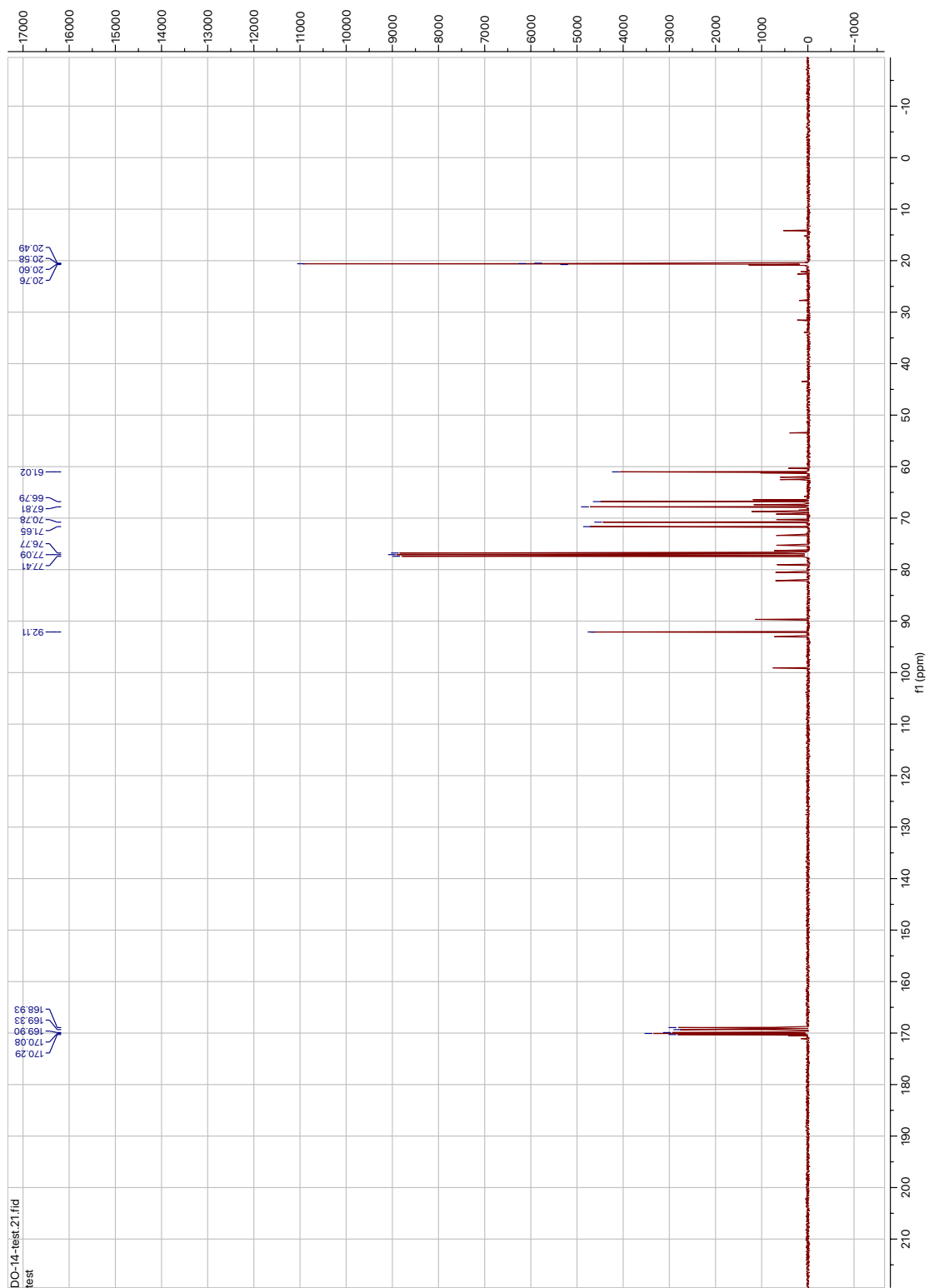


Figur 6.17 IR-spekter av 2,3,4,6-tetraacetyl-galaktopyranose (**80**)

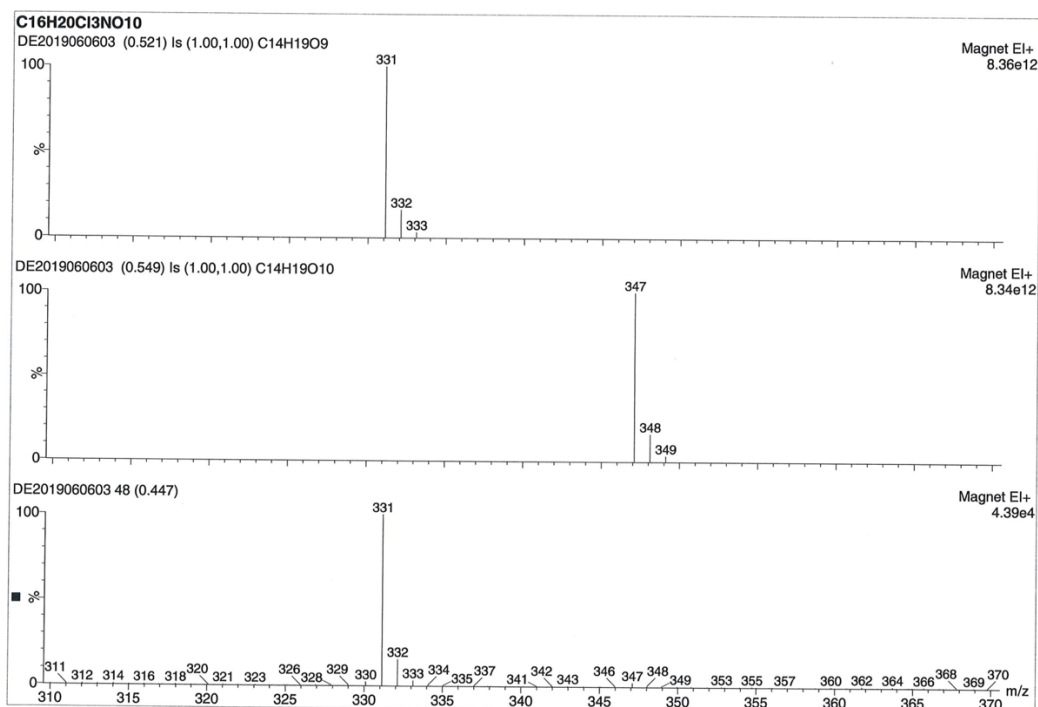
6.9 Spektrale data av 2,3,4,6-tetraacetyl-galaktopyranosyl trikloracetimidat (81)



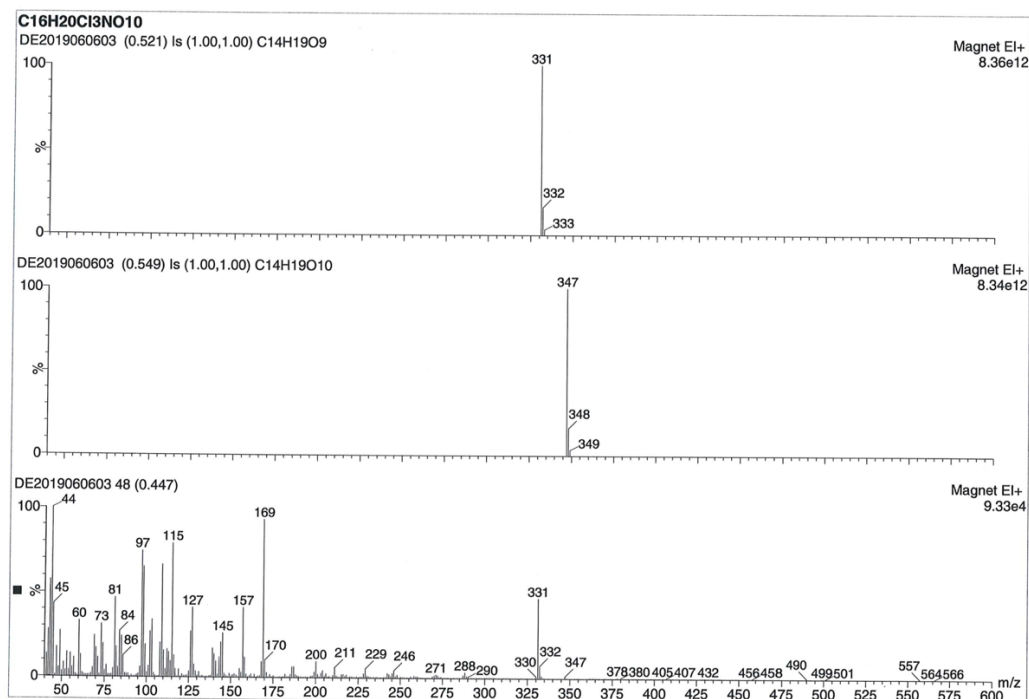
Figur 6.18 ^1H NMR-spekter av 2,3,4,6-tetraacetyl-galaktopyranosyl trikloracetimidat (81)



Figur 6.19 ^{13}C NMR-spekter av 2,3,4,6-tetraacetyl-galaktopyranosyl trikloracetimidat (**81**).

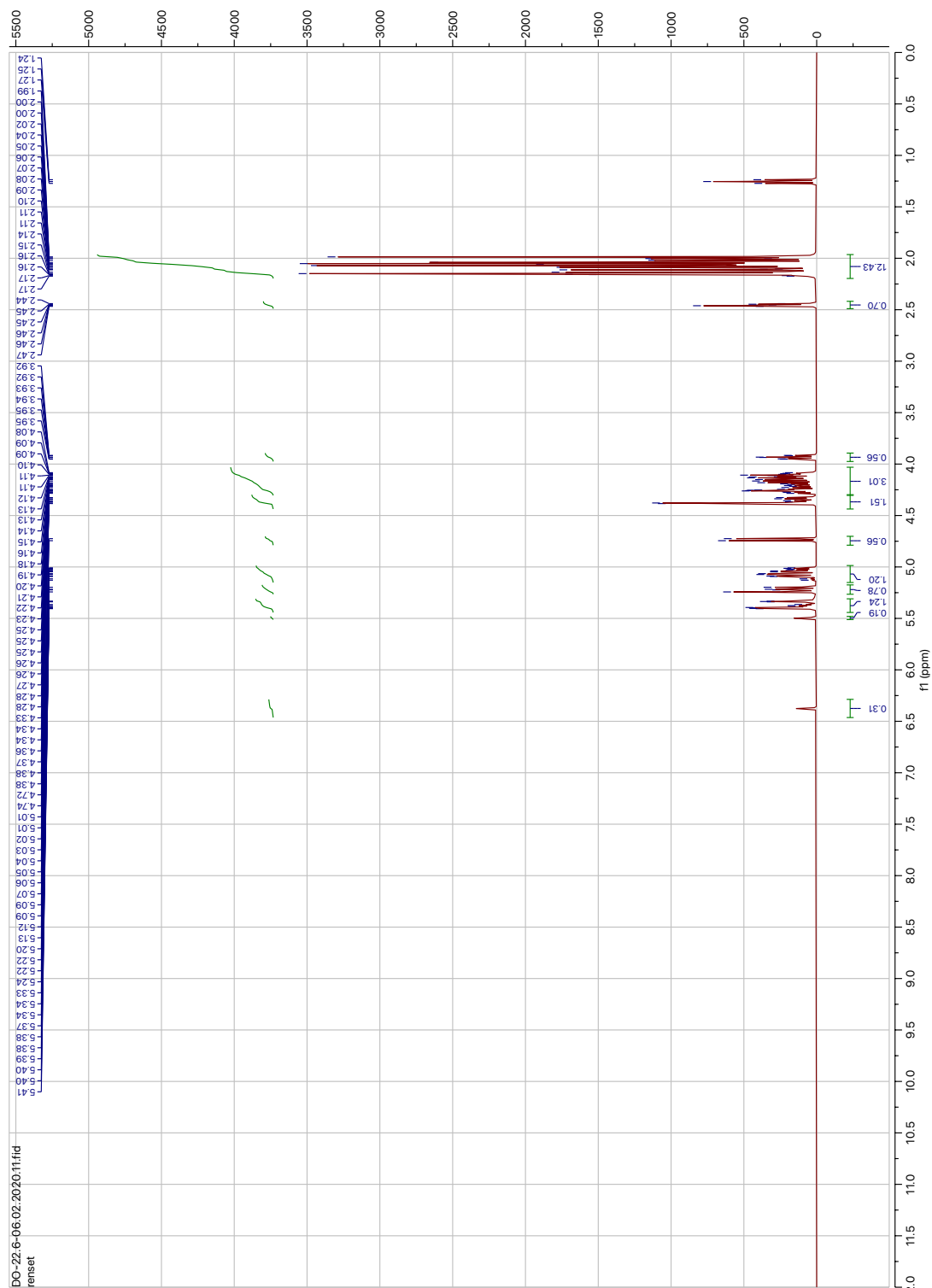


Figur 6.20 MS-spekter av 2,3,4,6-tetraacetyl-galaktopyranosyl trikloracetimidat (80)

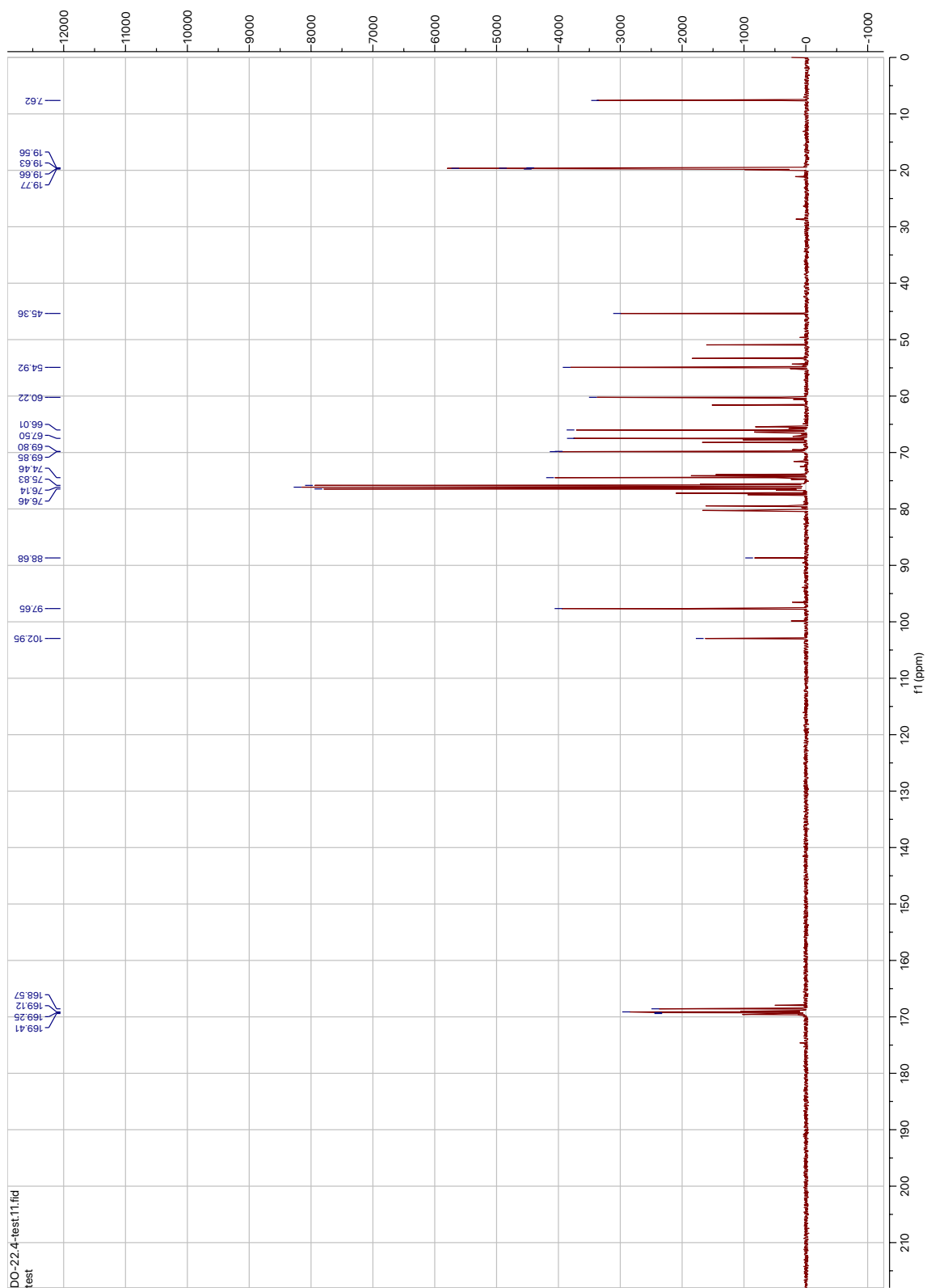


Figur 6.21 MS-spekter av 2,3,4,6-tetraacetyl-galaktopyranosyl trikloracetimidat. (80)

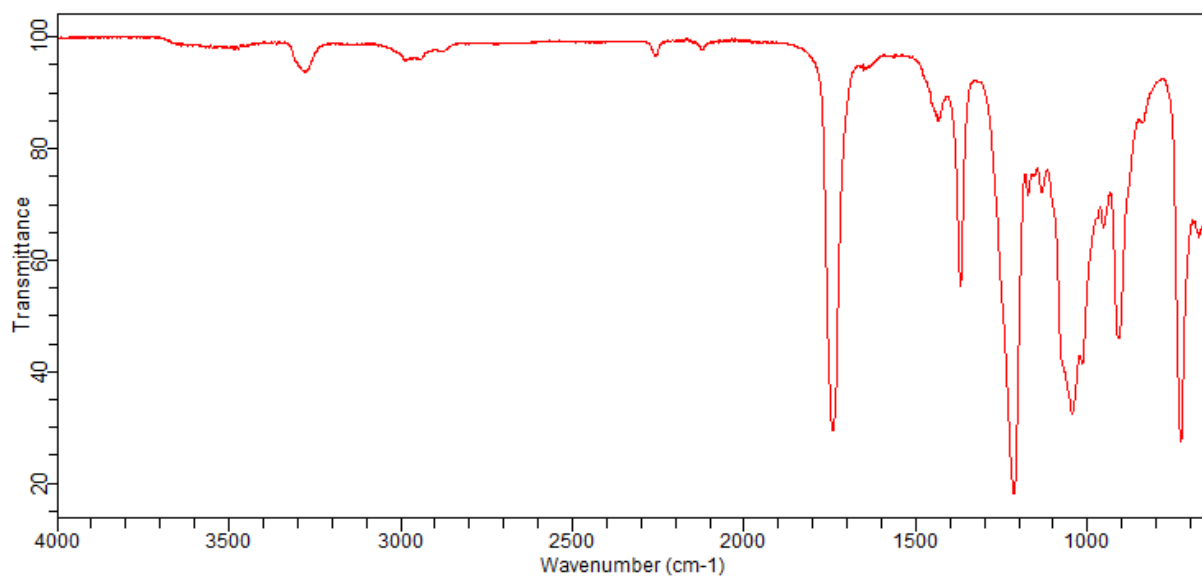
6.10 Spektrale data av 2-propyn-1-yl-2,3,4,5-tetraacetyl-galaktopyranosyl (83)



Figur 6.22 ^1H NMR-spekter av 2-propyn-1-yl-2,3,4,5-tetraacetyl-galaktopyranosyl (83)

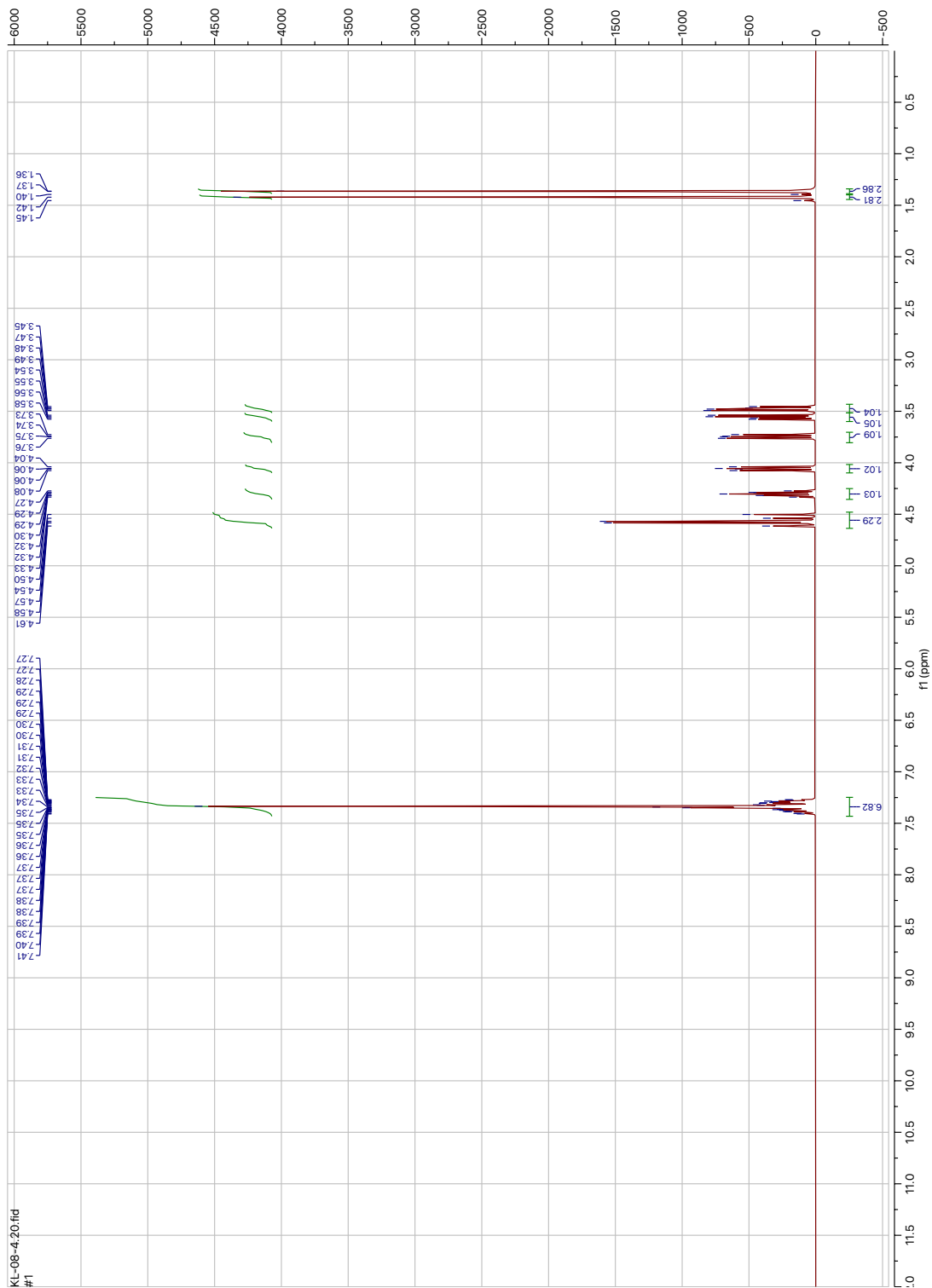


Figur 6.23 ^{13}C NMR-spekter av 2-propyn-1-yl-2,3,4,5-tetraacetyl-galaktopyranosyl (83)

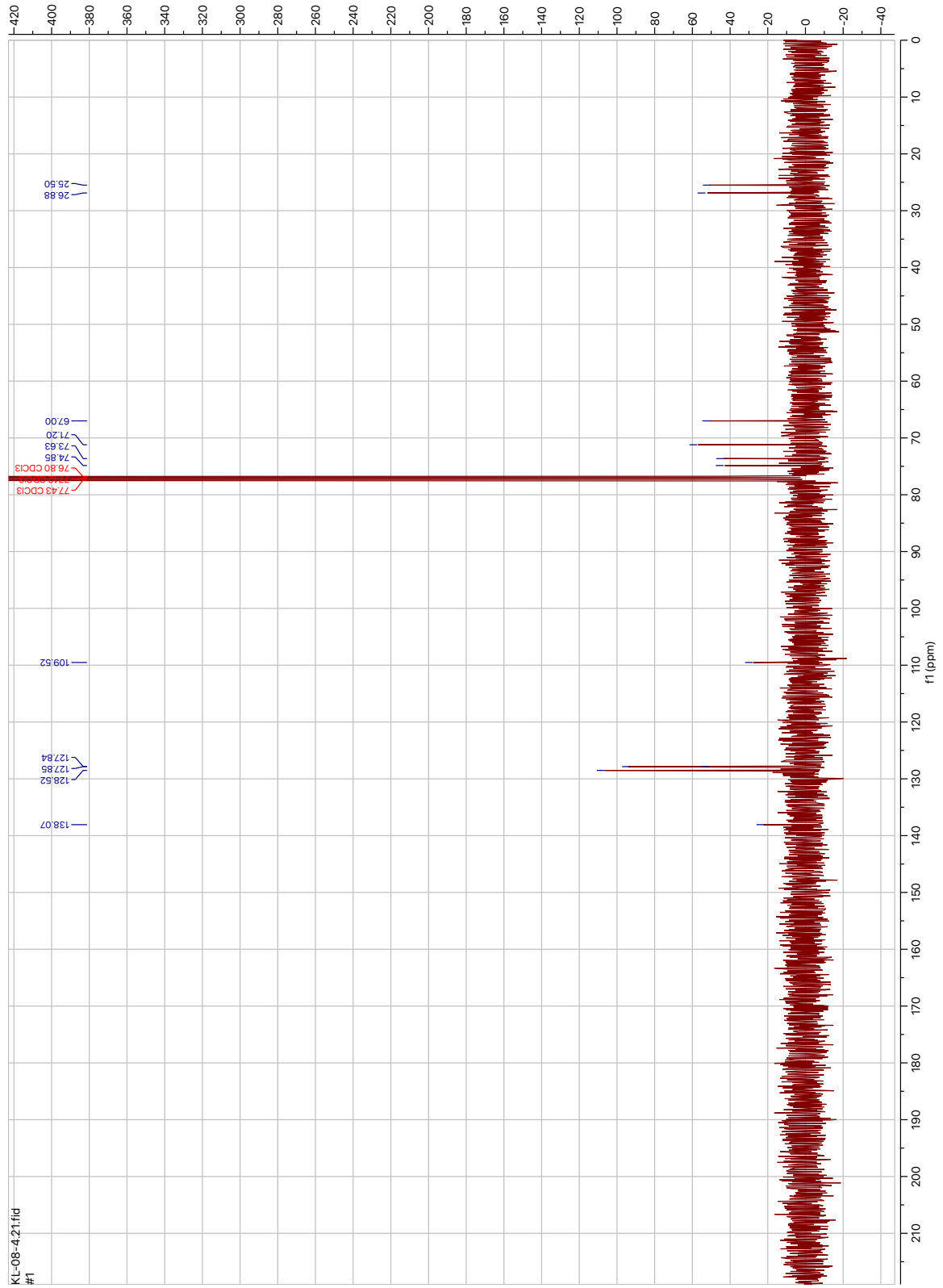


Figur 6.24 IR-spekter av 2-propyn-1-yl-2,3,4,5-tetraacetyl-galaktopyranosyl (83)

6.11 ^1H NMR- og ^{13}C NMR- spektre av 3-O-benzyl-isopropylideneglyserol (85)

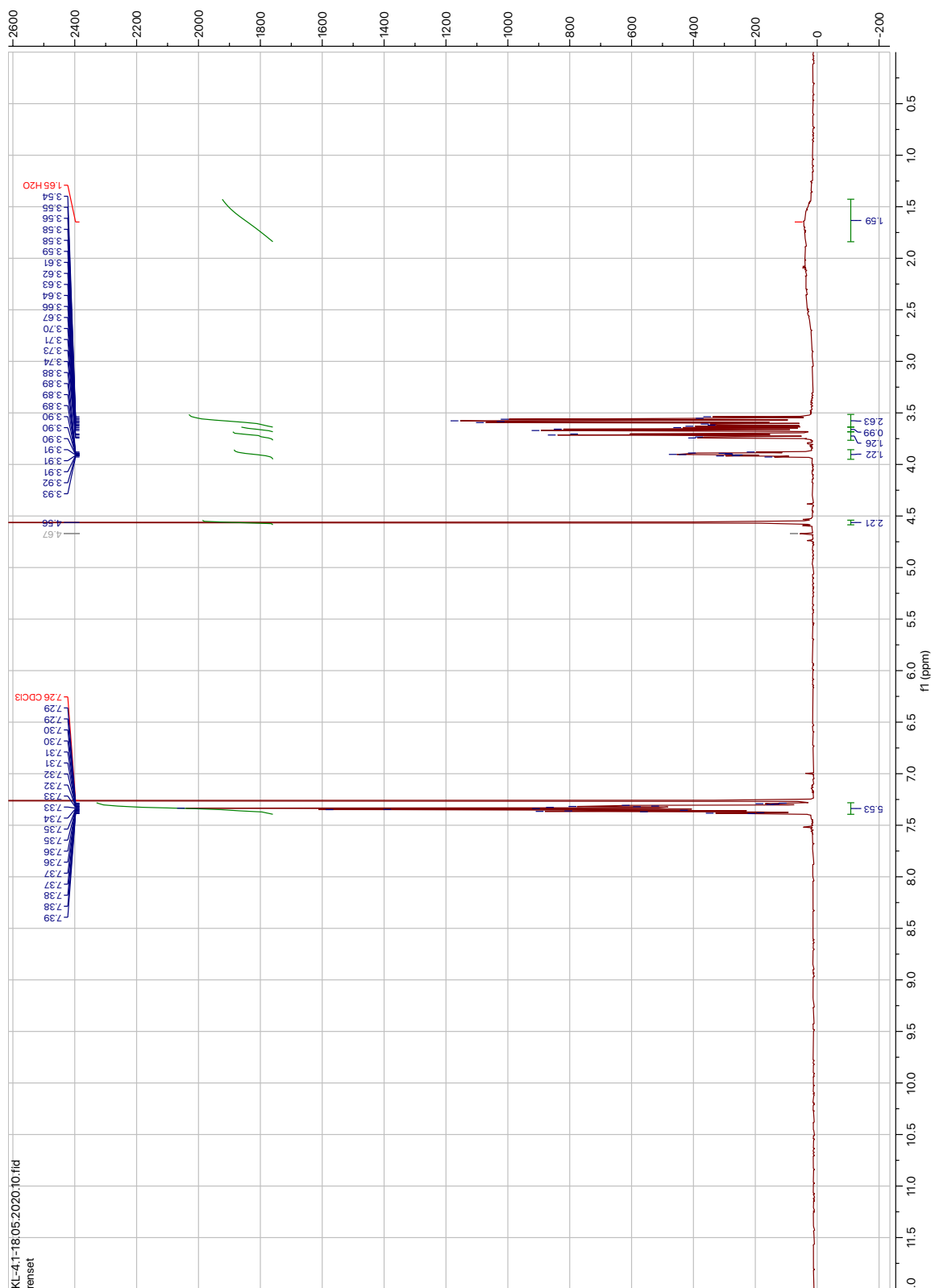


Figur 6.25 ^1H NMR-spekter av 3-O-benzyl-isopropylideneglyserol (85)

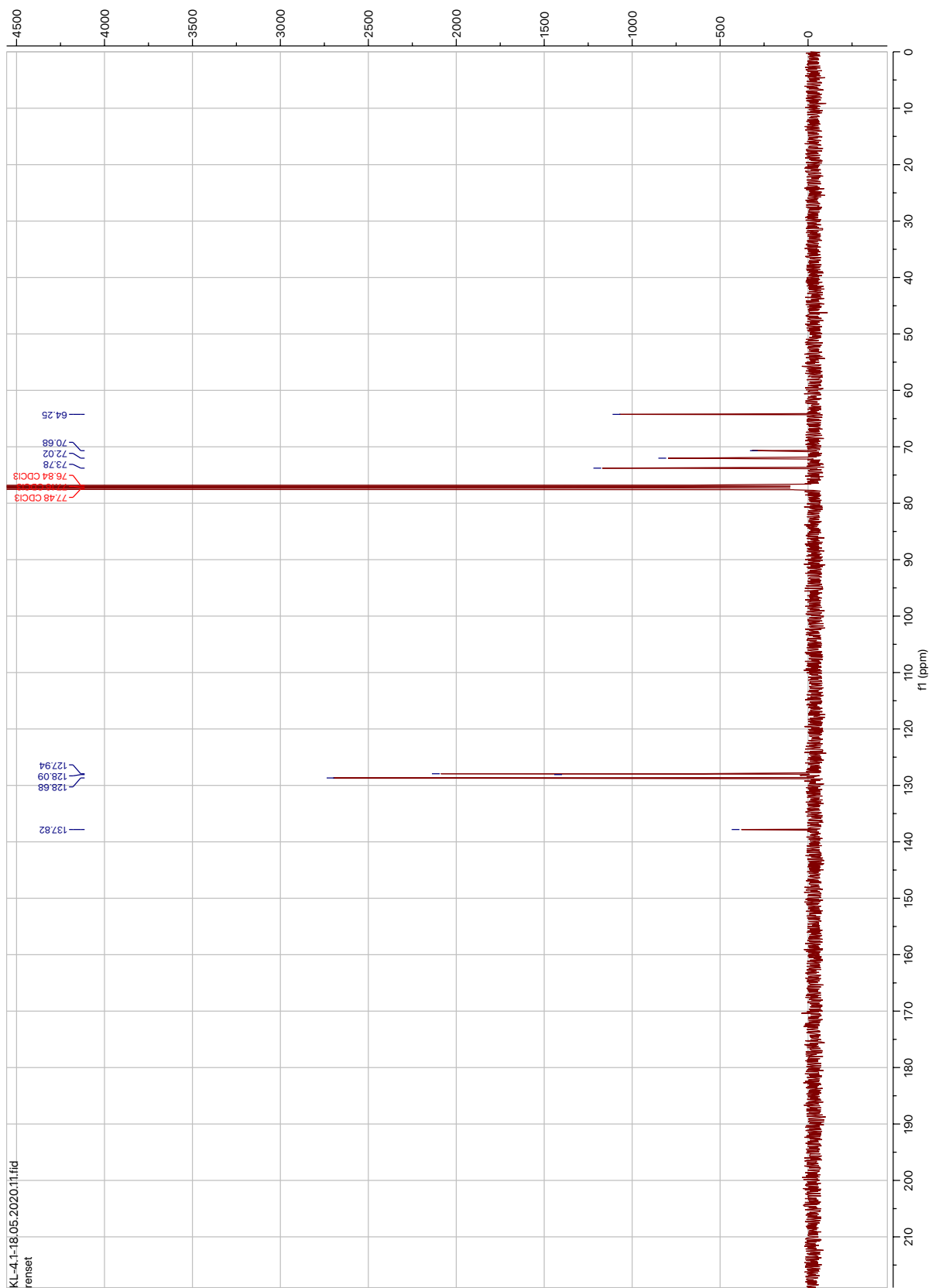


Figur 6.26 ^{13}C NMR-spekter av 3-O-benzyl-isopropylidenglyserol (85)

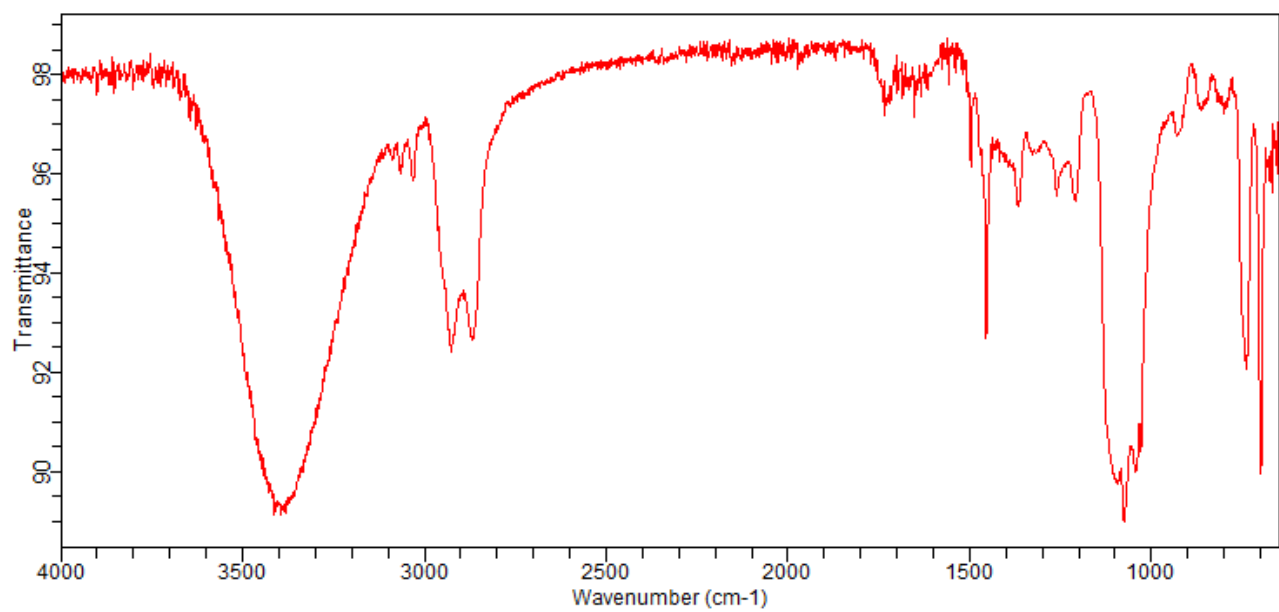
6.12 Spektrale data av 3-O-benzyl-sn-glycerol (86)



Figur 6.27 ^1H NMR-spekter 3-O-benzyl-sn-glycerol (86)

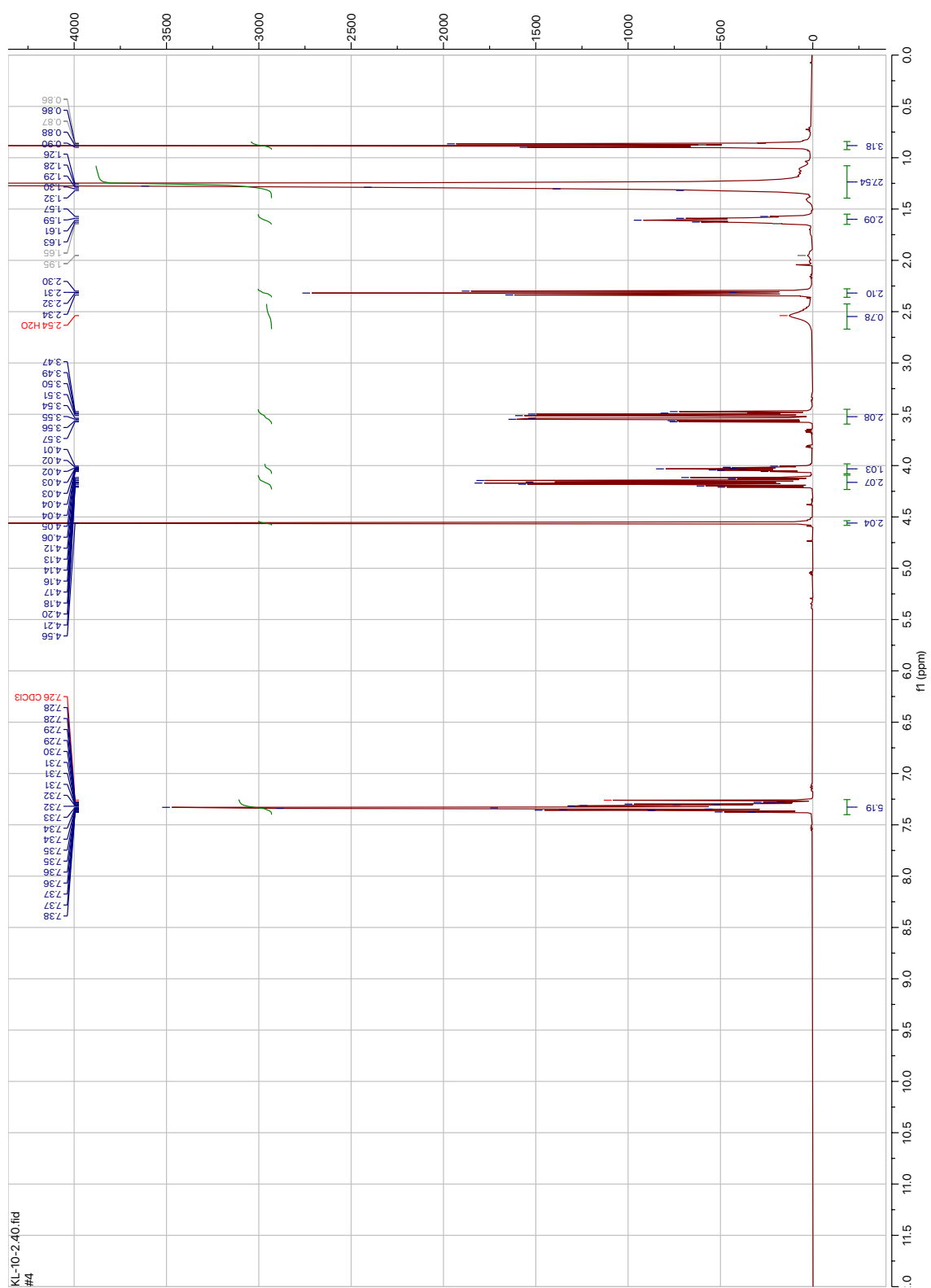


Figur 6.28 ^{13}C NMR-spekter av 3-O-benzyl-sn-glyserol (86)

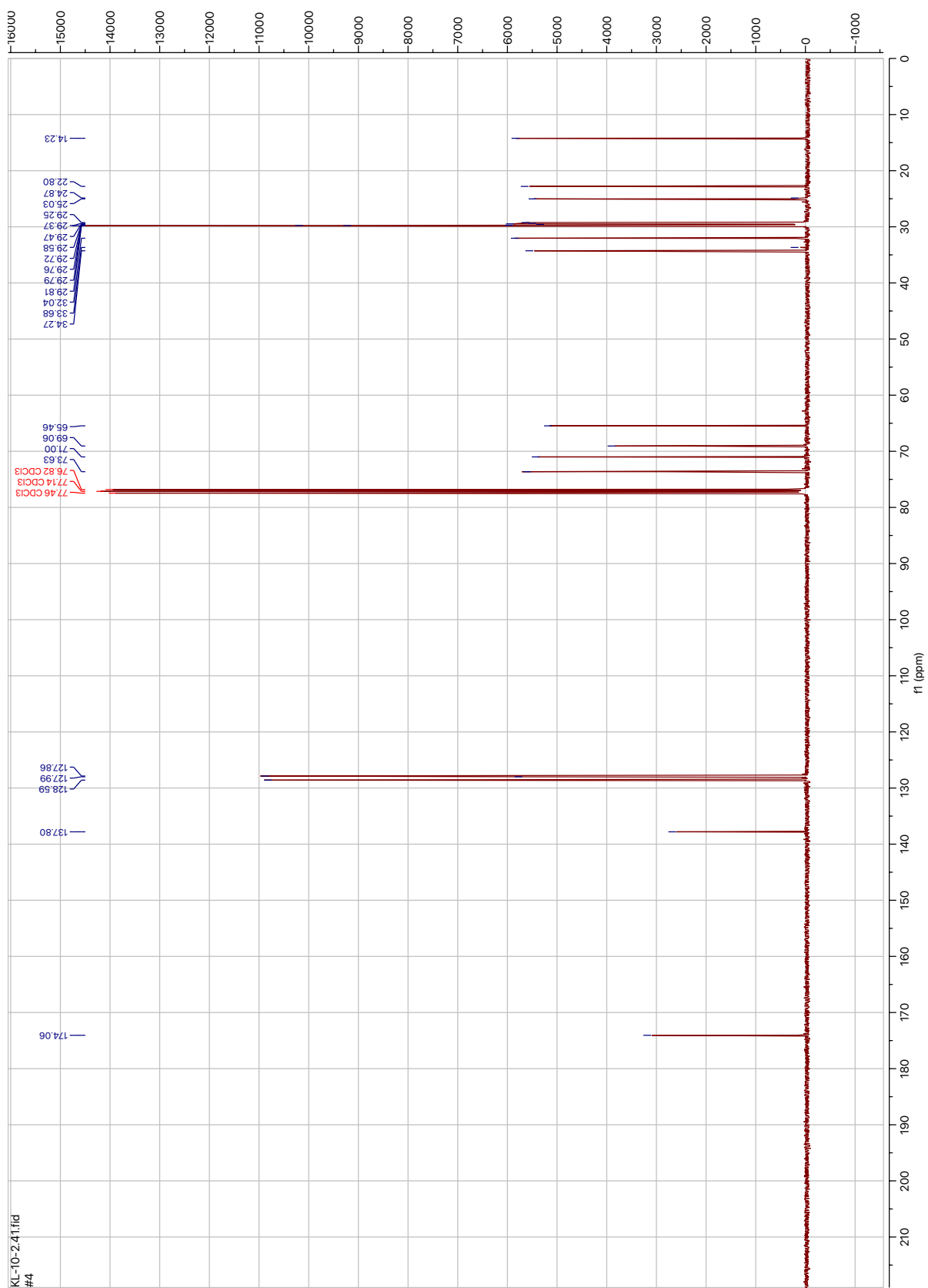


Figur 6.29 IR-spekter av 3-O-benzyl-sn-glycerol (**86**)

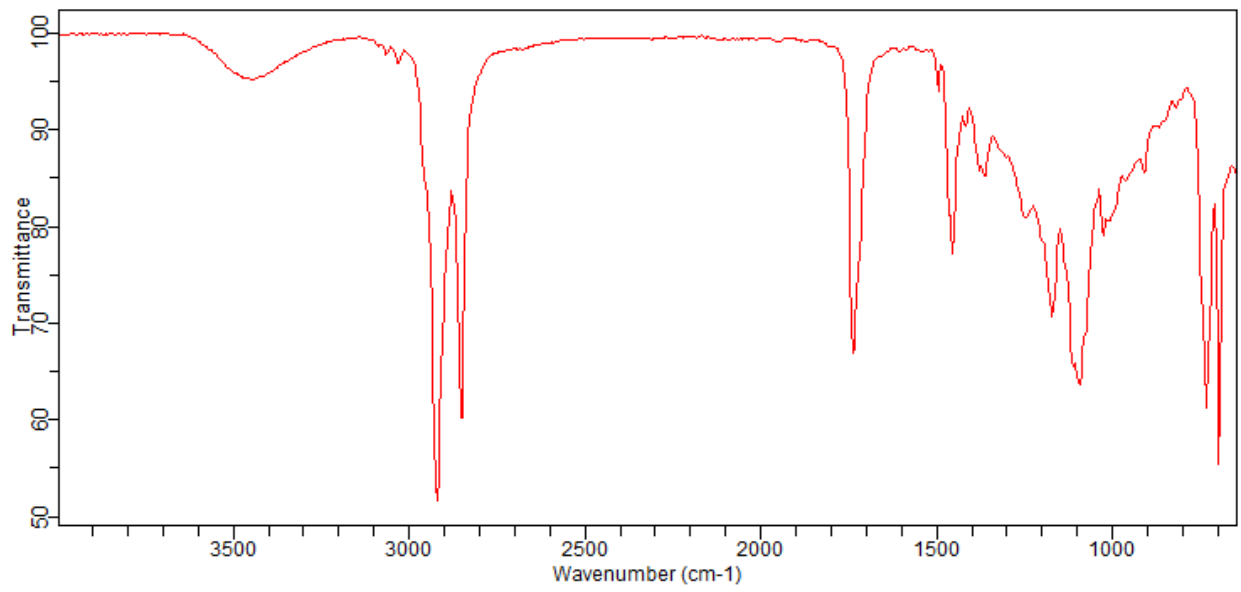
6.13 Spektrale data av 3-O-benzyl-1-O-stearin-sn-glycerol (87)



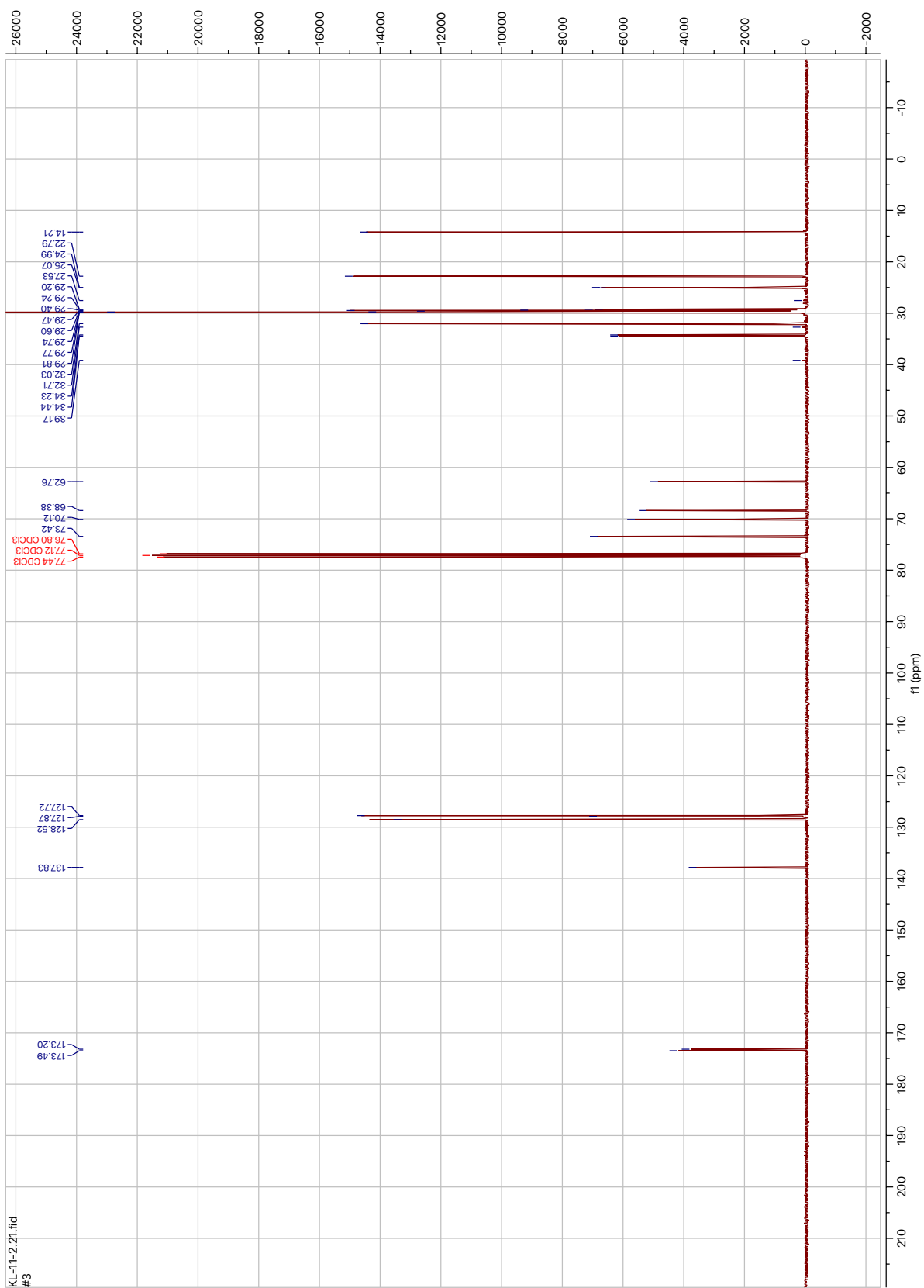
Figur 6.30 ^1H NMR-spekter av 3-O-benzyl-1-O-stearin-sn-glycerol (87)



Figur 6.31 ¹³C NMR-spekter av 3-O-benzyl-1-O-stearin-sn-glycerol (87)

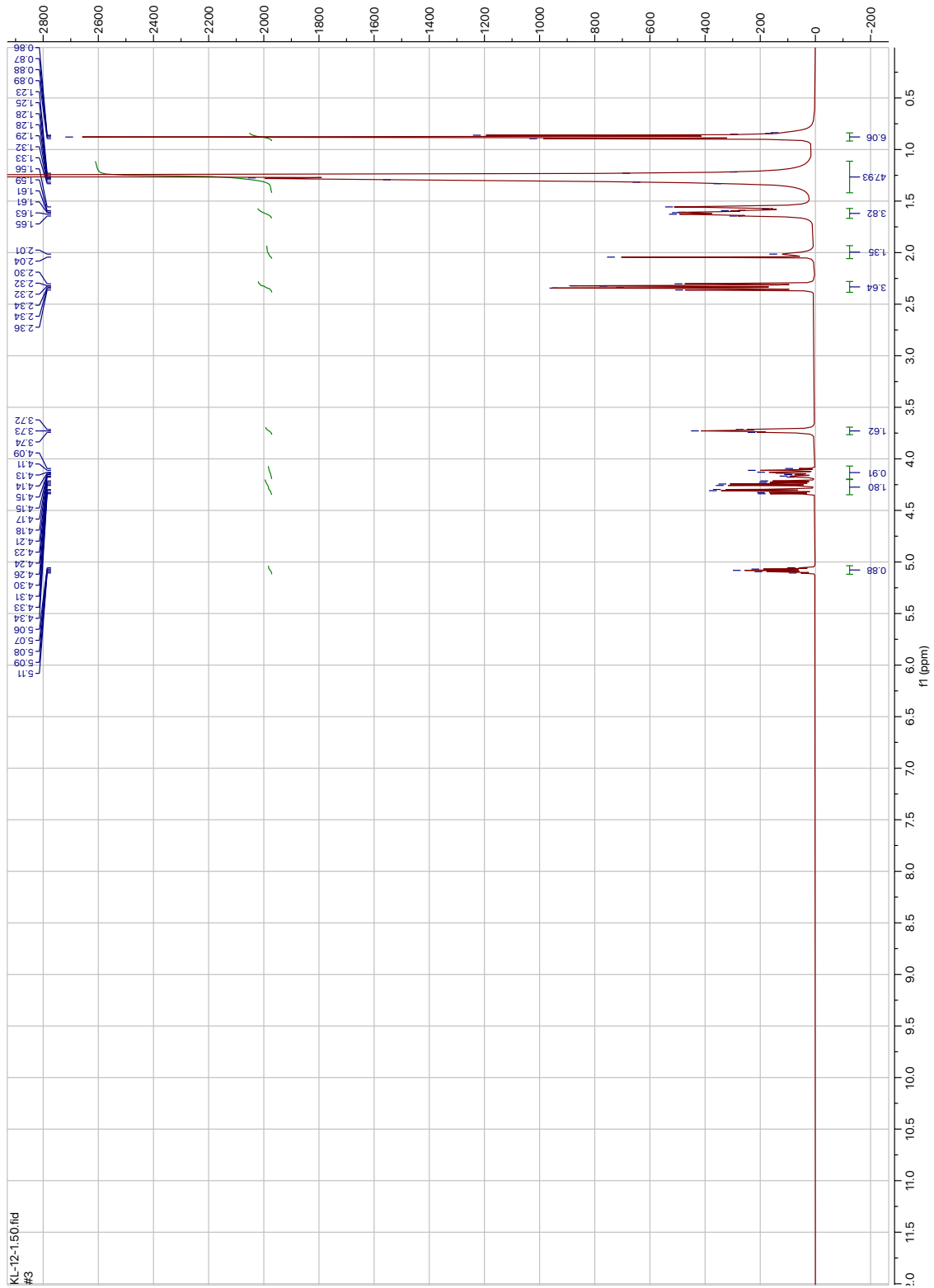


Figur 6.32 IR-spekter av 3-O-benzyl-1-O-stearin-sn-glycerol (87)

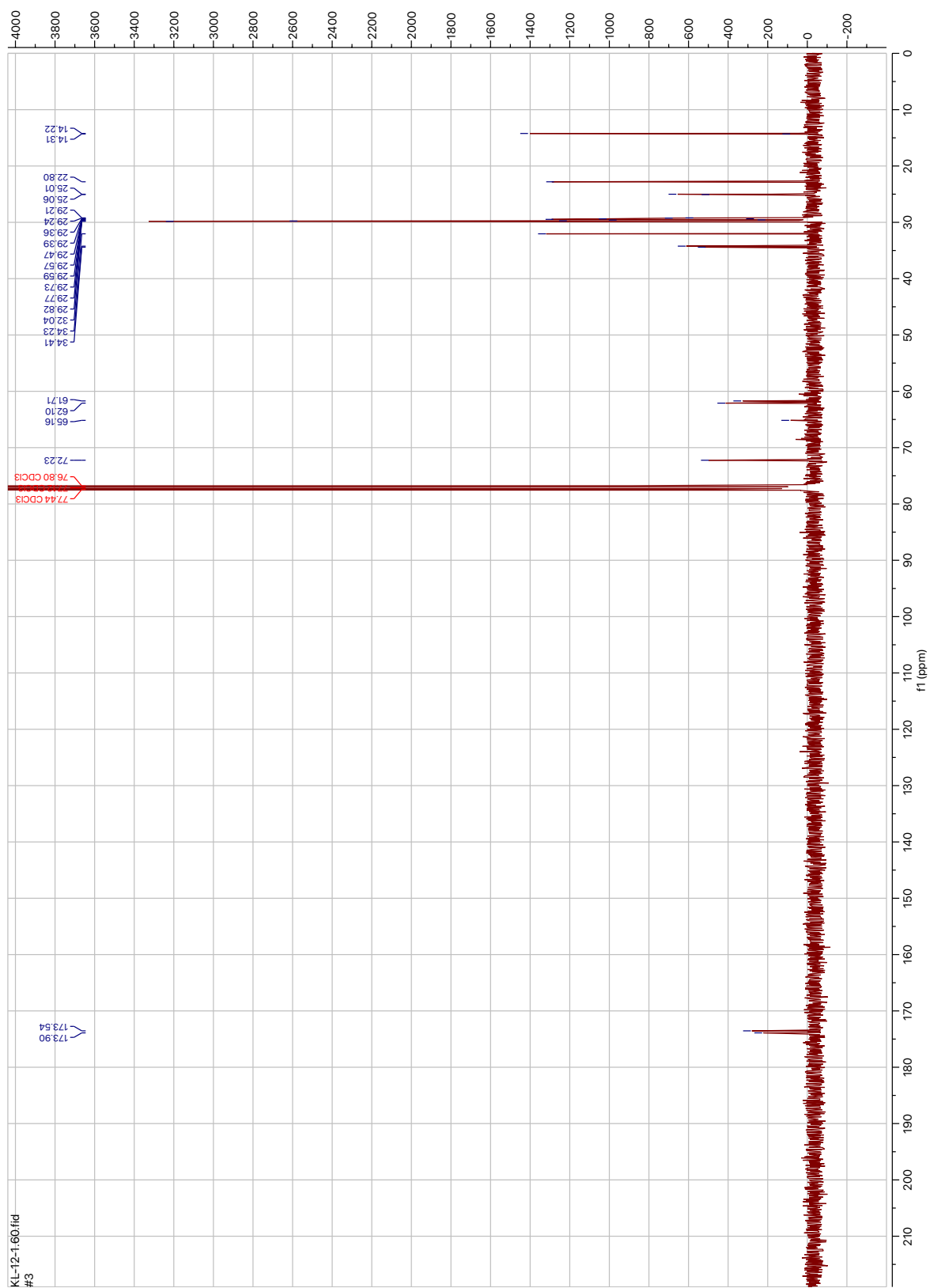


Figur 6.34 ¹³C NMR-spekter av 3-O-benzyl-1,2-stearin-sn-glycerol (88)

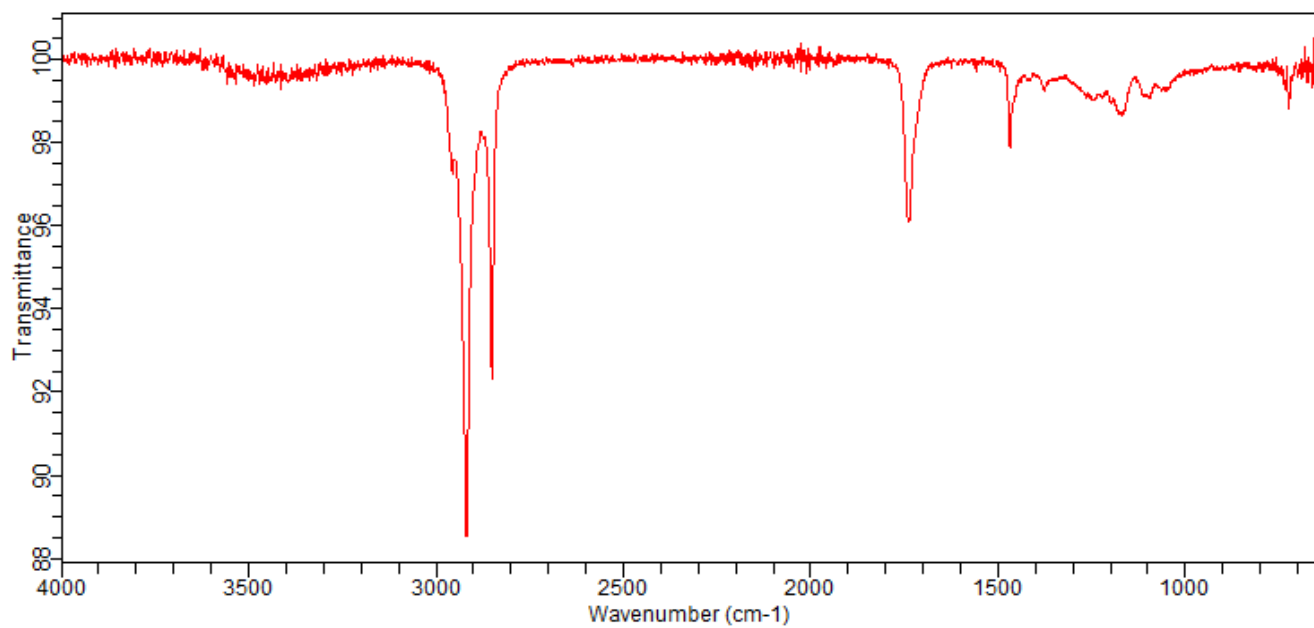
6.15 Spektrale data av 1,2-stearin-sn-glyserol (89)



Figur 6.35 ^1H NMR-spekter av 1,2-stearin-sn-glyserol (89)

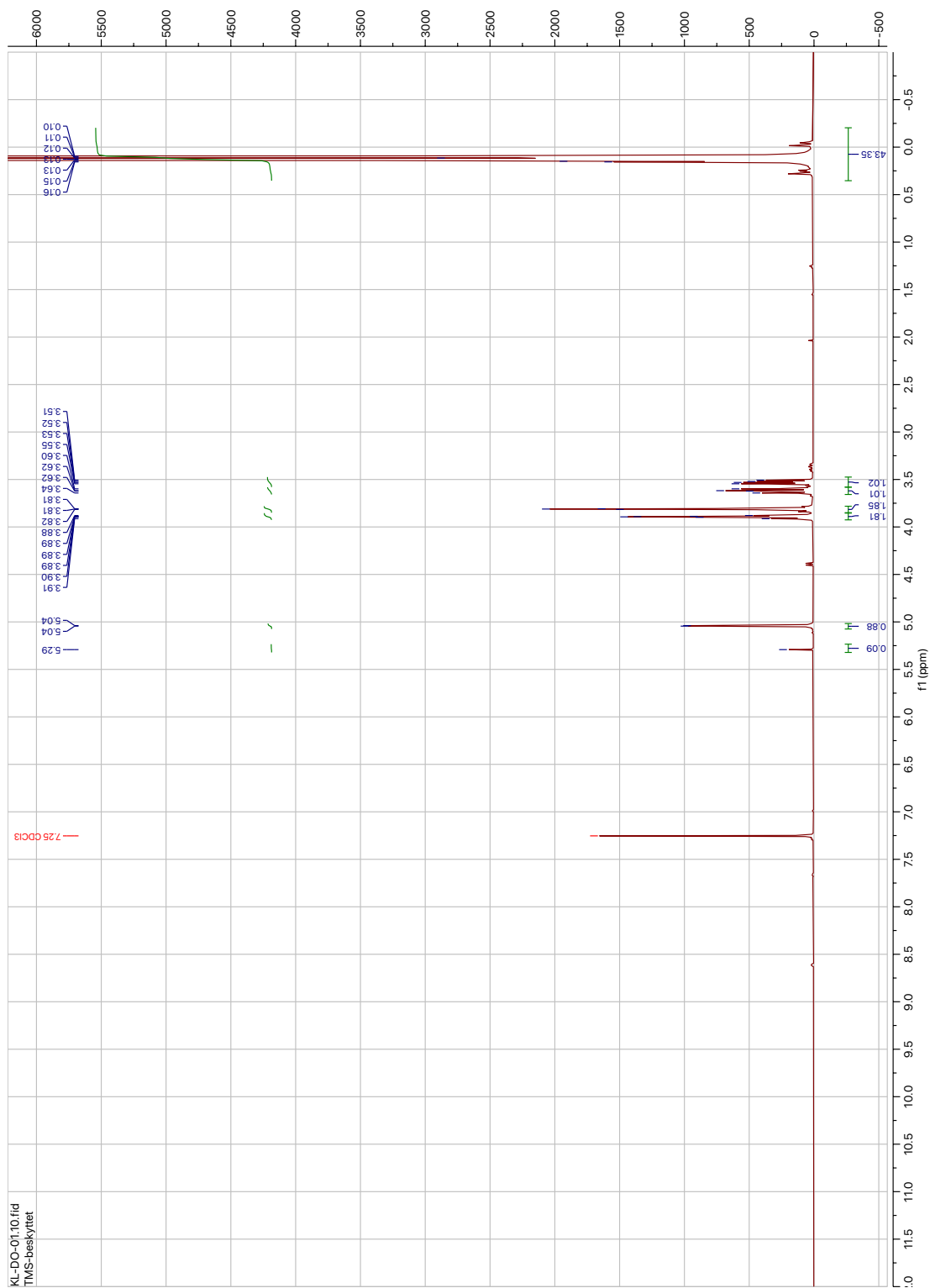


Figur 6.36 ¹³C NMR-spekter av 1,2-stearin-sn-glycerol (89).

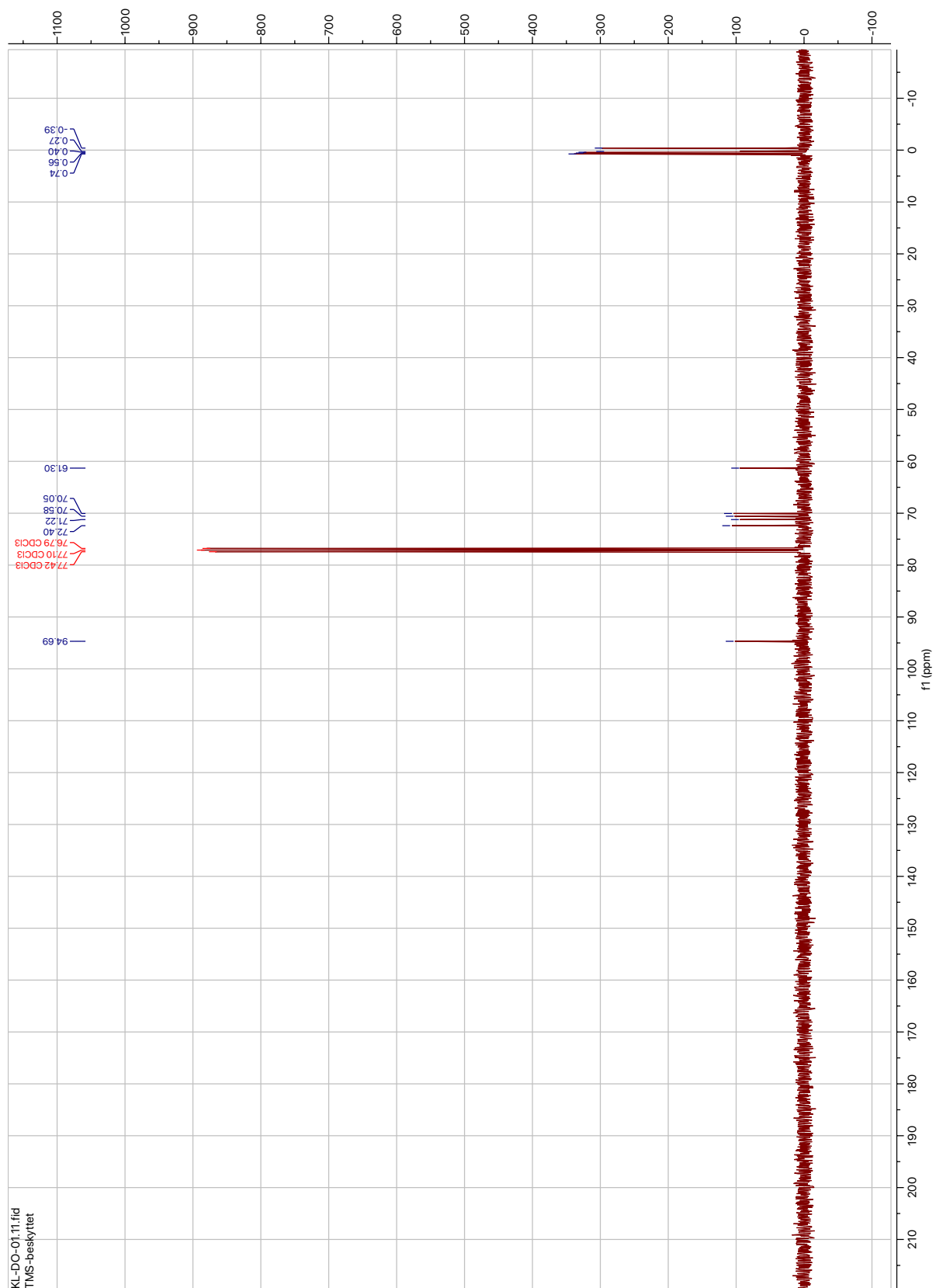


Figur 6.37 IR-spekter av 1,2-stearin-*sn*-glyserol (89).

6.16 ^1H NMR- og ^{13}C NMR- spektre av 1,2,3,4,6-pentatrisilyl-glaktopyranose (44)



Figur 6.38 ^1H NMR-spekter av 1,2,3,4,6-pentatrisilyl-glaktopyranose (44)



Figur 6.39 ¹³C NMR-spekter av 1,2,3,4,6-pentatrisilyl-glaktopyranose (44)