



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Masteroppgave 2021 60 stp

Fakultet for kjemi, bioteknologi og matvitenskap

Syntese av 1,2-O-dinonadekanoyl-3-O-galaktopyranosyl-glyserol - et marint galaktolipid

Synthesis of 1,2-O-dinonadecanoyl-3-O-galactopyranosyl-glycerol - a marine galactolipid

Kristin Lye

Kjemi og bioteknologi

Forord

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

Jeg vil først takke mine hovedveiledere Professor Yngve Stenstrøm og Dr. Simen Antonsen for en spennende oppgave, samt god veiledning med både praktisk og teoretisk arbeid. Jeg vil også takke for all inspirasjon og lærdom.

Takk til Dag Ekeberg for det spennende prosjektet som jeg fikk muligheten til å bidra til. Jeg vil spesielt takke biveileder Lena Oksdøl Foseid for veiledning og MS-analyse. Takk også til Anne Gravidahl for bestilling av kjemikalier.

Jeg vil også takke mine medstudenter for et flott år. Jeg vil spesielt takke Dorentina Osmani, Kristian Molvær Løndal og Erlend Steinvik for godt samarbeide og mange gode og morsomme stunder.

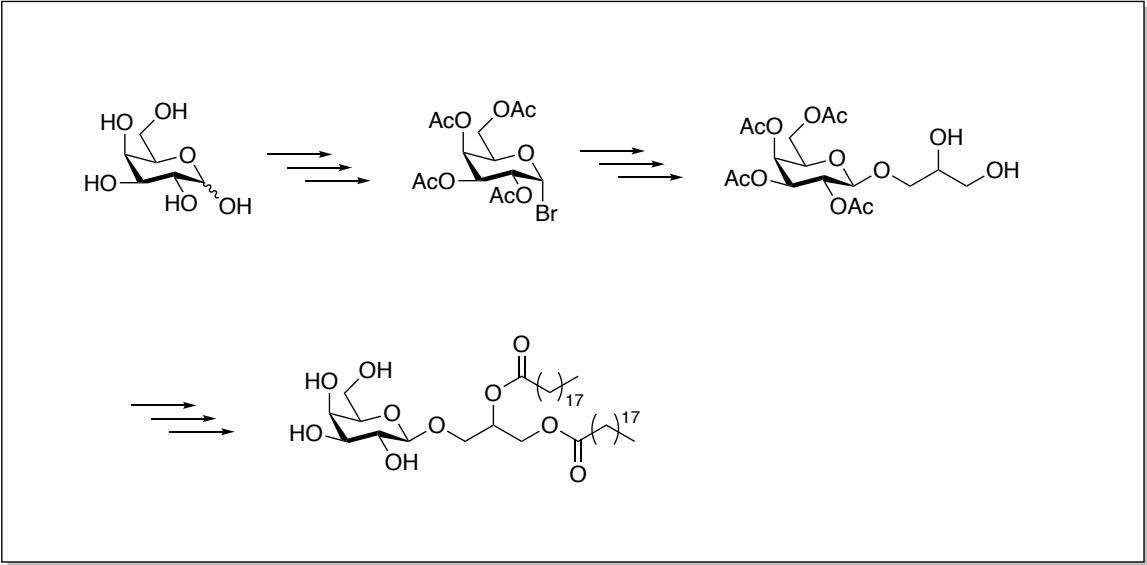
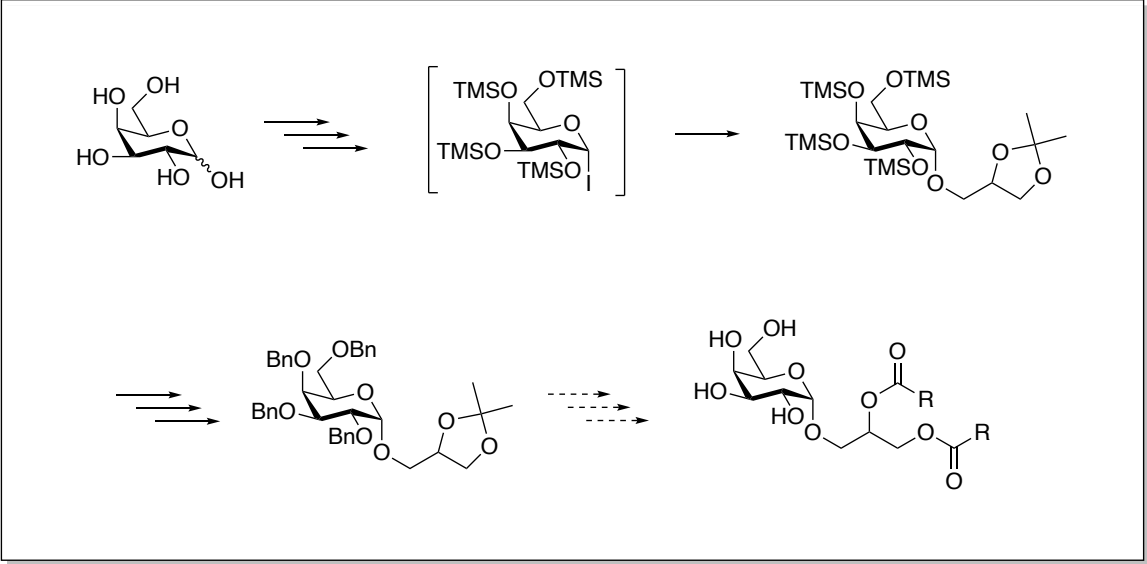
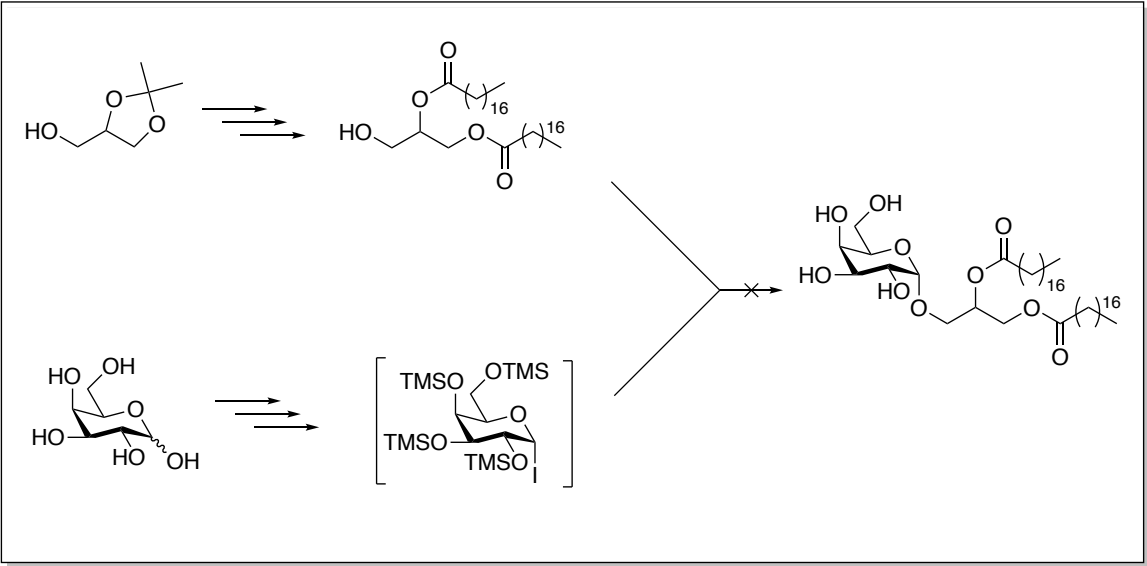
Denne oppgaven ble skrevet under spesielle omstendigheter, med nedstengning på grunn av COVID-19. I tillegg gjorde en laboratoriebrann i kjemiavdelingen at arbeidet igjen ble stoppet. Derfor vil jeg vise takknemlighet ovenfor alle som har gjort det mulig å fullføre arbeidet til tross for dette, og vist forståelse for omstendighetene.

En stor takk rettes ellers til gode venner og familie for oppmuntring gjennom hele studiet.

Ås, januar 2021

Kristin Lye

Grafisk sammendrag



Sammendrag

Makroalger har fått fornyet interesse, da de er gode næringsmessige alternativer til for eksempel ris, mais og hvete. Enda viktigere er deres potensielle biologiske/farmakologiske aktiviteter og derav mulige helsefremmende egenskaper. Glykolipidene monogalaktosyldiacylglycerol (MGDG) og digalaktosyldiacylglycerol (DGDG) utgjør en stor del av lipidene i algene, og videre studier av disse er derfor av stor interesse.

I denne oppgaven ble monogalaktosyldiacylglycerol (MGDG) med C₁₉-fettsyrer syntetisert. Det ble forsøkt tre ulike strategier innen karbohydratkjemien for å danne målmolekylet.

En konvergent strategi ble først forsøkt, hvor jod-aktivert galaktose kobles med forhåndssyntetiserte 1,2-diacylglycerol. Dette lyktes ikke og det mistenktes at løseligheten til mettede versus umettede fettsyrer påvirket glykosyleringen.

Den andre strategien tok også i bruk jod-aktivert galaktose, men det aktiverte sukkeret ble koblet til isopropyliden-beskyttet glyserol. Glykosyleringen ga gode resultater, opprensingen var derimot vanskelig. Videre ble det utført avbeskyttelse og beskyttelse av sukkeret, men disse reaksjonene ga lave utbytter av de ønskede produktene.

En tredje strategi ble utført. Her ble brom-aktivert sukker koblet med isopropylidenglyserol, før selektiv hydrolyse av acetonidet. Glykosylering med sølvsalt og jod ga gode utbytter, og reaksjonen ga god stereoselektivitet mot β -anomerer. Til slutt ble glyserolen esterifisert med C₁₉-fettsyrer og sukkeret selektivt avbeskyttet. Dette ga målmolekylet med et totalt utbytte på 31 % over 6 trinn. De spektrale dataene bekreftet dannelsen av målmolekylet.

Abstract

Macroalgae have gained renewed interest, as they are good nutritional alternative to, for instance, rice, corn and wheat. Even more important is their potential biological/pharmacological activity and possible health-promoting properties. The glycolipids monogalactosyldiacylglycerol (MGDG) and digalactosyldiacylglycerol (DGDG) makes up a large part of the lipids in the algae, and further studies of these are therefore of great interest.

In this study MGDG with C₁₉ fatty acids was synthesized. Three different approaches in carbohydrate chemistry were tried to prepare the target molecule.

A convergent strategy was first attempted, in which iodide-activated galactose was coupled to pre-synthesized 1,2-diacylglycerol. This did not succeed; we suspected that the solubility of saturated versus unsaturated fatty acids affected the glycosylation.

The next strategy also used iodide-activated sugar, but the activated sugar was coupled to isopropylidene protected glycerol. The glycosylation gave good results, but purification was difficult. Furthermore, deprotection and protection of the sugar were performed before the sugar could be coupled with the fatty acids. These steps gave products, albeit in low yields.

A third strategy was performed, in which bromine-activated sugar was coupled with isopropylidene glycerol, prior to the selective hydrolysis of the acetonide. Glycosylation with silver salt and iodine gave good yields, and high stereoselectivity towards the β -anomere was obtained. Finally, the glycerol was esterified with C₁₉ fatty acids, and the sugar was selectively deprotected. This gave the target molecule, with a total yield of 31 % over 6 steps. The spectral data confirmed the formation of the target compound.

Forkortelser og begreper

Ac	Acetyl
ACP	Acyl bæreprotein (<i>Acyl carrier protein</i>)
ATP	Adenosin trifosfat
Bn	Benzyl
Bz	Benzoyl
DAG	Diacylglycerol
DBU	<i>1,8-diazabicyclo(5.4.0)undec-7-ene</i>
DCC	<i>N,N'</i> -disykloheksylkarbodiimid
DIPEA	<i>N,N</i> -diisopropyletylamin
DGDG	Digalaktosyldiacylglycerol
DMAP	4-dimetylaminopyridin
EDCI	1-etyl-3-(3-dimetylaminopropyl)karbodiimid
ESI	Elektronsprayionisering
FAS	Fettsyresyntase
GPAT	Glycerol-3-fosfat acyltransferase
IE	Indre membran (<i>Inner envelope</i>)
LG	Utgående gruppe (<i>Leaving group</i>)
LPA	Lysofosfatidisk-syre
LPAT	Lysofosfatidisk acyltransferase
MGDG	Monogalaktosyldiacylglycerol
OE	Ytre membran (<i>Outer envelope</i>)
P	Bekyttelsesgruppe (<i>Protection group</i>)
PA	Fosfatidisk-syre
PAP	Fosfatidisk-syrer fosfatase
PG	Fosfatidylglyserol (<i>Phosphatidylglycerol</i>)
SQDG	Sulfoquinovosyldiacylglycerol
RDS	Hastighetsbestemmende steg (<i>Rate determining step</i>)
TBAF	Tetra- <i>n</i> -butylammonium fluorid
TBAI	Tetra- <i>n</i> -butylammonium iodid
TBS	<i>tert</i> -butyldimetylsilyl
TEA	Trietylamin
TMSI	Trimetylsilyljodid

Begreper:

Aglykon: den resulterende forbindelsen når glykosylgruppen i glykosidmolekylet erstattes av et hydrogenatom; det er en ikke-sukker-gruppe.

Glykan: er synonymt med polysakkarider, og defineres som forbindelser bestående av et stort antall monosakkarider som er bundet til hverandre via glykosidbindinger. I praksis brukes det om karbohydrat-enheten i glykokonjugater, og er motstykke til aglykon.

Glykokonjugat: generell beskrivelse av karbohydrater bundet til andre biomolekyler, som lipider, proteiner og peptider.

Glykosyl: syklisk form av et monosakkarid hvor hydroksylgruppen på hemiacetalet er fjernet.

Glykosylakseptor: aksepterer glykosyldonoren og er utstyrt med en funksjonell gruppe som fungerer som en nukleofil.

Glykosyldonor: donorer glykosylenheten og er spesien som bidrar med det anomere senteret til det resulterende glykosidet og er typisk elektrofil av natur.

***sn-1* (Stereospesifikk nummerering):** Brukes for å angi konfigurasjonen til glyserol-derivater. Karbonatomene ordnes i Fischer-projeksjon med hydroksylgruppen ved C-2 pekende til venstre; karbonatomet på toppen angis som C-1.

Innholdsfortegnelse

Forord	I
Grafisk sammendrag	II
Sammendrag	III
Abstract	IV
Forkortelser og begreper	V
1 Introduksjon	1
1.1 Mål og bakgrunn.....	1
1.1.1 Formål.....	1
1.2 Makroalger.....	2
1.2.1 <i>Laminaria hyperborea</i> – stortare	2
1.3 Naturprodukter.....	3
1.3.1 Karbohydrater	5
1.4 Marine glykolipider	7
1.4.1 Glykoglyserolipider	9
1.4.2 Glykosfingolipider	11
1.4.3 Atypiske glykolipider	13
1.5 Kjemisk bakgrunn.....	14
1.5.1 Steglich esterifisering	14
1.5.2 Karbohydratsyntese	17
1.5.3 Beskyttelsesgrupper	26
2 Resultater og Diskusjon	30
2.1 Strategi A.....	30
2.1.1 Syntese av glykosylakseptor 97	31
2.1.2 Syntese av penta-silylert galaktose (69)	36
2.1.3 Glykosyleringsreaksjon mellom glykosyldonor (100) og -akseptor (97).....	37
2.1.4 Alternativ glykosylakseptor 102	39
2.2 Strategi B	40
2.2.1 Syntese av isopropyliden-galaktosylglyserol 104	40
2.2.2 Syntese av tetra- <i>O</i> -benzyl-isopropyliden-galaktosylglyserol 105	42
2.3 Strategi C	43
2.3.1 Syntese av glykosyldonor 109	44

2.3.2	Glykosylering med dannelse av isopropyliden-galaktosylglyserol 110	45
2.3.3	Syntese av galaktosylglyserol 111	47
2.3.4	Syntese av diacyl-galaktosylglyserol 1a	48
3	Konklusjon og videre arbeid	51
4	Eksperimentelt	53
4.1	Strategi A	54
4.1.1	Syntese av 3- <i>O</i> -benzyl-isopropylidenglyserol (93)	54
4.1.2	Syntese av 3- <i>O</i> -benzyl-glyserol (94)	54
4.1.3	Syntese av 3- <i>O</i> -benzyl-1- <i>O</i> -stearoyl-glyserol (95)	55
4.1.4	Syntese av 3- <i>O</i> -benzyl-1,2- <i>O</i> -distearoyl-glyserol (96)	56
4.1.5	Syntese av 1,2-distearoyl-glyserol (97)	57
4.1.6	Syntese av 1',2',3',4',6'-pentatrimetylsilyl-galaktopyranose (69)	57
4.1.7	Forsøk på syntese av 1,2- <i>O</i> -distearoyl-3- <i>O</i> -galaktopyranosyl-glyserol (101)	58
4.2	Strategi B	59
4.2.1	Syntese av 1,2- <i>O</i> -isopropyliden-3- <i>O</i> -(<i>D</i> -galaktopyranosyl)-glyserol (104)	59
4.2.2	Syntese av 1,2- <i>O</i> -isopropyliden-3- <i>O</i> -(2',3',4',6'-tetra- <i>O</i> -benzyl- <i>D</i> -galaktopyranosyl)-glyserol (105)	60
4.3	Strategi C	61
4.3.1	Syntese av 1',2',3',4',6'-pentaacetat-galaktopyranose (108)	61
4.3.2	Syntese av 2',3',4',6'-tetraacetat-galaktopyranosylbromid (109)	62
4.3.3	Syntese av 1,2- <i>O</i> -isopropyliden-3- <i>O</i> -(2',3',4',6'-tetra- <i>O</i> -acetyl- <i>D</i> -galaktopyranosyl)-glyserol (110)	62
4.3.4	Syntese av 3- <i>O</i> -(2',3',4',6'-tetra- <i>O</i> -acetyl- β - <i>D</i> -galaktopyranosyl)-glyserol (111)	63
4.3.5	Syntese av 1,2- <i>O</i> -dionadekanoyl-3- <i>O</i> -(2',3',4',6'-tetra- <i>O</i> -acetyl- β - <i>D</i> -galaktopyranosyl)-glyserol (112)	64
4.3.6	Syntese av 1,2- <i>O</i> -dionadekanoyl-3- <i>O</i> - β -galaktopyranosyl-glyserol (1a)	65
5	Referanser	66
6	Vedlegg	I
6.1	¹ H NMR- og ¹³ C NMR-spektre av 3- <i>O</i> -isopropylidenglyserol (93)	II
6.2	Spektrale data av 3- <i>O</i> -benzyl-glyserol (94)	IV
6.3	Spektrale data av 3- <i>O</i> -benzyl-1- <i>O</i> -stearoyl-glyserol (95)	VII
6.4	¹ H NMR- og ¹³ C NMR-spektre av 3- <i>O</i> -benzyl-1,2- <i>O</i> -distearoyl-glyserol (96)	X
6.5	Spektrale data av 1,2- <i>O</i> -distearoyl-glyserol (97)	XII
6.6	¹ H NMR- og ¹³ C NMR-spektra av 1,2,3,4,6-pentatrimetylsilyl-galaktopyranose (69)	XV

6.7	¹ H NMR- og ¹³ C NMR-spektra av 3- <i>O</i> -benzyl-1,2- <i>O</i> -dioleoyl-glyserol (102)	XVII
6.8	¹ H NMR- og ¹³ C NMR-spektra av 1,2- <i>O</i> -isopropyliden-3- <i>O</i> -(2',3',4',6'-tetra- <i>O</i> -trimetylsilyl-D-galaktopyranosyl)-glyserol (103).....	XIX
6.9	Spektrale data av 1,2- <i>O</i> -isopropyliden-3- <i>O</i> -(D-galaktopyranosyl)-glyserol (104)	XXI
6.10	¹ H NMR- og ¹³ C NMR-spektra av 1,2- <i>O</i> -isopropyliden-3- <i>O</i> -(2',3',4',6'-tetra- <i>O</i> -benzyl-D-galaktopyranosyl)-glyserol (105).....	XXIV
6.11	¹ H NMR- og ¹³ C NMR-spektra av 1',2',3',4',6'-pentaacetat-galaktopyranose (108)	XXVI
6.12	¹ H NMR- og ¹³ C NMR-spektra av 2',3',4',6'-tetraacetat-galaktopyranosylbromid (109)	XXVIII
6.13	¹ H NMR- og ¹³ C NMR- spektra av 1,2- <i>O</i> -isopropyliden-3- <i>O</i> -(2',3',4',6'-tetra- <i>O</i> -acetyl-D-galaktopyranosyl)-glyserol (110).....	XXX
6.14	Spektrale data av 3- <i>O</i> -(2',3',4',6'-tetra- <i>O</i> -acetyl-β-D-galaktopyranosyl)-glyserol (111).....	XXXII
6.15	Spektrale data av 1,2- <i>O</i> -dionadekanoyl-3- <i>O</i> -(2',3',4',6'-tetra- <i>O</i> -acetyl-β-D-galaktopyranosyl)-glyserol (112).....	XXXV
6.16	Spektrale data av 1,2- <i>O</i> -dionadekanoyl-3- <i>O</i> -β-galaktopyranosyl-glyserol (1a).....	XXXVIII

1 Introduksjon

1.1 Mål og bakgrunn

Med en voksende verdensbefolkning, estimert til å nå 9,7 milliarder innen 2050¹, øker også behovet for mat til mennesker og dyr. En artikkel fra 1995 viser at så mye som 60 % av verdens energiinntak tilføres fra ris, mais og hvete.² Disse kornsortene er rike på karbohydrater, men inneholder lite proteiner, mineraler, vitaminer og fett. For å møte befolkningens økende energibehov er det nødvendig å etablere alternative næringskilder; for eksempel øke bruken av marine ressurser. Data fra FNs organisasjon for ernæring og landbruk (FAO) viser at pr. 2016 står Asia for ca. 99 % av makroalgeproduksjonen³. Det er dermed et stort potensial for å øke produksjonen i andre deler av verden.

Det er indikasjoner på potensielle helsegevinster ved inntak av makroalger; blant annet positiv virkning på fordøyelsen samt vektkontroll.⁴ Dette kan direkte og indirekte minske sjansen for kroniske sykdommer som kreft, hjerte- og karsykdommer, diabetes og osteoporose/benskjørhet. I tillegg er det rapportert at de innehar antimikrobiell, antivirale, antiinflammatorisk og immunotropiske egenskaper.⁵

1.1.1 Formål

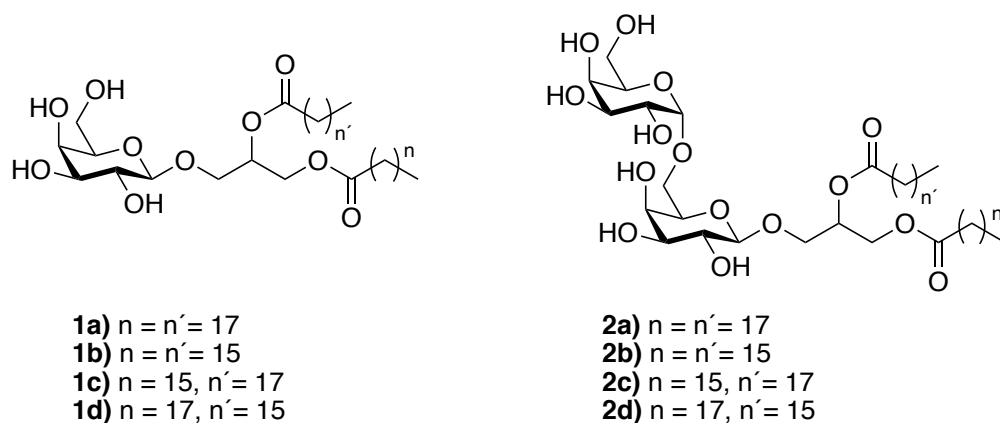
Hovedmålet med arbeidet var å utvikle en generell metode for syntese av monogalaktosyldiacylglyseroler (MGDG) med fokus på C₁₉-fettsyrer: 1,2-*O*-dinonadekanoyl-3-*O*-β-D-galaktopyranosyl-glyserol (**1a**). Det overordnede prosjektet, som utføres av professor Dag Ekeberg med medarbeidere, går ut på kvantitativt og kvalitativt å bestemme fettsyresammensetningen i stortare, *Laminara hyperborea*.

Den økte interessen for marine organismer har oppstått på grunn av mulige positive helseeffekter ved inntak av disse.⁶ I tillegg er det mangel på fullstendig studie av fettsyreprofilen i stortare. Da det er store bestander av stortare i Norge, er det av stor interesse å gjøre grundigere studier av dette.

Det er identifisert og kvantifisert 42 forskjellige fettsyrer i *L. hyperborea* ved bruk av GC-MS.⁶ Videre arbeid identifiserte og kvantifiserte mer enn 250 ulike forbindelser av MGDG og DGDG ved bruk av UHPLC-MS/MS. Det vanligste antallet karbonatomer i acylkjeden var

16, 18 og 20, og de fleste av kjedene hadde 0-5 dobbeltbinding-ekvivalenter (DBE).⁷ Studier viser at MGDG er mer biologisk aktiv enn DGDG, og aktiviteten øker med økende DBE.⁸

For videre analyser er det behov for referansestandarder. Mange av de ønskede standardene, spesielt de med oddetallsfettysyrekjede, er ikke kommersielt tilgjengelige. Derfor er det ønskelig å utvikle en generell syntesemetode hvor man enkelt kan variere typen fettysyre, både med tanke på lengde og grad av umettethet.



Figur 1-1. Struktur til MGDG og DGDG med C_{17} og C_{19} fettysyrer.

1.2 Makroalger

Alger omfatter en gruppe encellede og flercellede organismer som har til felles å utføre fotosyntese, i tillegg til at de lever i fuktige miljøer.⁹ De deles inn i to hovedkategorier; makroalger og mikroalger, hvor sistnevnte er størst i antall. Mikroalger er encellede organismer som kun sees i mikroskop; imidlertid kan de forekomme i så store mengder at det gir farge på sjøvannet, kalt algeoppblomstring.⁹ Makroalger er flercellede organismer som deles i grupper basert på fargen på deres dominerende pigmenter; gruppene er *Rhodophyta* (rødalger), *Chlorophyta* (grønnalger) og *Phaeophyta* (brunalger).¹⁰ Så mye som 10 000 km² av norskekysten er bevokst av tang og tare. Tang og tare brukes ofte om store, fastvoksende alger, men dreier seg i virkeligheten om to ulike ordener innen klassen brunalger (*Phaeophyta*).

1.2.1 *Laminaria hyperborea* – stortare

Stortare, *Laminaria hyperborea*, hører til klassen brunalger og er en vanlig art langs norskekysten.¹¹ I Nord-Europa ble tang og tare tidligere brukt som menneskemat, dyrefôr og til gjødsling når det var matmangel.⁶ I dag brukes tang og tare hovedsakelig til industrielle produkter, for eksempel til tykningsmidlene alginat, agar og karragenan.

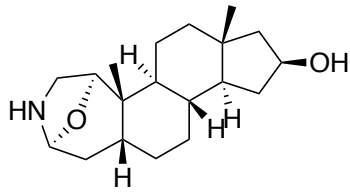
Stortare trives best i strømrrike kystområder på hard bunn, og utbredelsen starter ved lavvannsgrensen og går ned til ca. 30 m dybde. Den består av et festeorgan og en stilk, som begge er flerårige, og et oppsplittet blad som dannes på nytt hvert år. Størrelsen kan bli opp mot 3 m og 4 kg.¹¹ Utbredelsesområdet strekker seg fra Kolahalvøya i nord til Portugal i sør. Årlig høstes det ca. 150 000 tonn, og eksportverdien, kombinert for stortare og grisetang, er på ca. 1–1,5 milliarder kr/år. Mange mikroorganismer har tilholdsstedet sitt i store skoger av tare og flere fiskearter har viktige oppvekst- og næringsområder her.¹¹ Regulering av høstingen er derfor viktig, da bortfall av tarevegetasjonen kan ha store økologiske og økonomiske ringvirkninger.

1.3 Naturprodukter

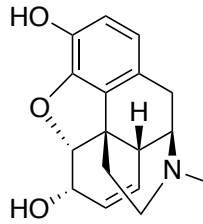
Naturstoffkjemi omhandler kjemien til naturlig forekommende organiske forbindelser, deres biosyntese, funksjon og metabolisme, men også mer konvensjonelle grener av kjemi som strukturoppklaring og syntese.¹²

Alle levende organismer krever en rekke organiske forbindelser, omsatt via metabolismen, for å overleve. Slike forbindelser kalles metabolitter, og kan i grove trekk klassifiseres som primære og sekundære metabolitter. Primære metabolitter er involvert i vitale biokjemiske prosesser i alle levende organismer. De er viktige for blant annet vekst, utvikling og reproduksjon.¹³ Innenfor denne gruppen finner man blant annet karbohydrater, fett, aminosyrer og nukleinsyrer.

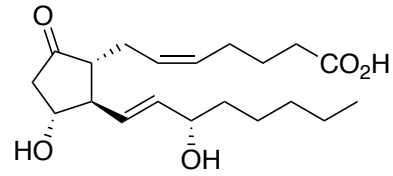
Sekundære metabolitter er ikke nødvendig for essensielle biokjemiske prosesser og er dermed ikke vitale for organismen.¹² De er derimot ofte artsavhengig og selv om den biokjemiske rollen i mange tilfeller er ukjent, har de fordelaktige egenskaper som kan være med på å øke organismens levedyktighet. Sekundære metabolitter kan være steroider, terpener, alkaloider o.l. Organismer kan for eksempel produsere toksiner for å beskytte seg selv, eksempelvis samandarin (**3**) som skilles ut av huden til salamanderen *Salamandra salamandra*.¹⁴ Forbindelse **3** er et steroidalt alkaloid som inhiberer respirasjonen og induserer hemolyse.¹⁵



Samandarin (3)



Morfin (4)



Prostaglandin E₂, PGE₂ (5)

Figur 1-2. Struktur til noen naturstoffer; samandarin (3)¹⁵, morfin (4)¹⁶ og prostaglandin E₂, PGE₂ (5)¹⁷.

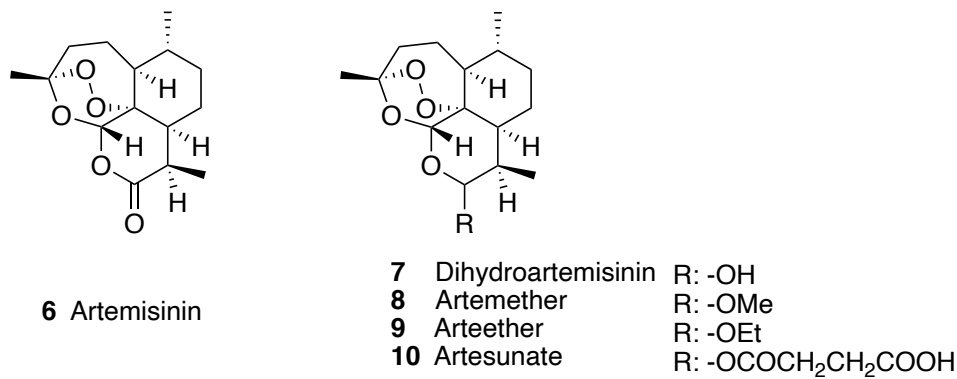
Menneskeheten har i utallige år utnyttet naturens resurser til behandling av sykdommer og i dag stammer en tredjedel av klinisk brukte medikamenter fra naturen; enten direkte isolert fra naturressursen eller syntetiserte derivater av disse.¹⁸

Eksempler på slike forbindelser inkluderer morfin (4), prostaglandin E₂ (5) og artemisinin (6) med dens derivater (Figur 1-2, Figur 1-3). Morfin (4) er et alkaloid ekstrahert fra opiumvalmuen, og brukes hovedsakelig som et smertelindrende medikament. Opiaters biologiske respons kommer av at de binder seg til spesifikke reseptorer (δ , κ , μ) i sentralnervesystemet.¹⁶

Prostaglandiner, først isolert av von Euler¹⁹ fra menneskelig sperma, er en gruppe modifiserte C₂₀-fettsyrer.¹⁷ Disse forbindelsene har vist et vidt spekter av farmakologiske aktiviteter¹⁷. Et typisk eksempel er prostaglandin E₂ (5), PGE₂, som blant annet brukes til igangsettelse av fødsler og som aktiv ingrediens i abortpiller.^{20, 21}

Malaria er en infeksjonssykdom som skyldes parasitten *Plasmodium falciparum*.

Behandlingen av malaria baseres på artemisinin (6), et seskiterpen-lakton ekstrahert fra *Artemisia annua*.²² Artemisinin har kort halveringstid og omdannes raskt til den aktive metabolitten dihydroartemisinin (7). For å forbedre de farmasøytiske egenskapene til artemisinin har det blitt utviklet flere semi-syntetiske derivater, deriblant artemether (8), arteether (9) og artesunat (10).

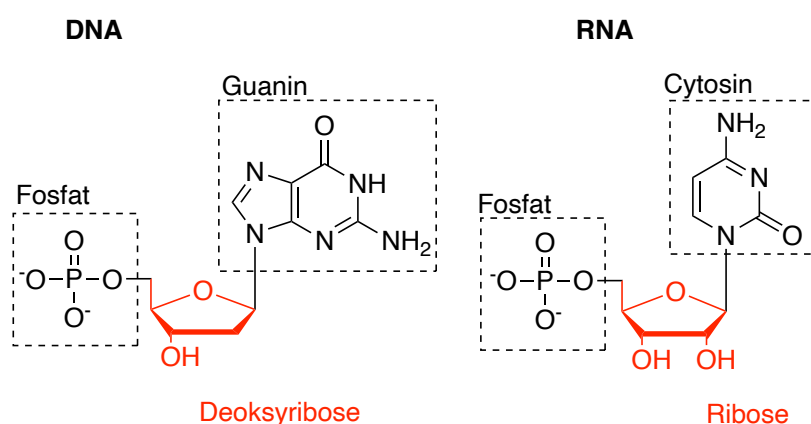


Figur 1-3. Artemisinin (6) med noen av dens derivater; dihydroartemisinin (7), artemether (8), arteether (9) og artesunate (10).

1.3.1 Karbohydrater

Karbohydrater ble lenge omtalt som «hydrater av vann» ettersom strukturformelen kan skrives som $C_n(H_2O)_m$. I dag omtales karbohydrater kjemisk sett som polyhydroksi-aldehyder og -ketoner. Karbohydrater klassifiseres som monosakkarider (en sukkerenhet), oligosakkarider (to-ti sukkerenheter) og polysakkarider (flere enn ti sukkerenheter). Eksempel på monosakkarider er glukose og galaktose, mens stivelse og cellulose er eksempel på polysakkarider.

Karbohydrater er antakeligvis de vanligste organiske forbindelsene i naturen, og er involvert i mange vitale funksjoner i alle organismer.²³ I levende celler er ribose en essensiell del av nukleinsyrene; hvor ribose og deoksyribose (avledet fra ribose) er sukker-enheten i henholdsvis RNA og DNA (Figur 1-4).



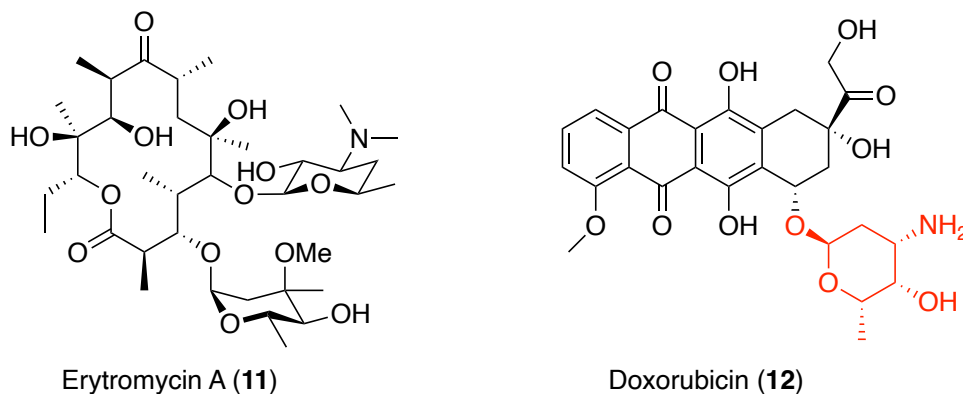
Figur 1-4. Nukleotid til DNA med sukkeret deoksyribose og RNA med sukkeret ribose.

I planter og alger er karbohydrater blant de første organiske forbindelsene som dannes under fotosyntesen. Cellene kan bruke karbohydrater som umiddelbar kilde til energi, men i mange fotosyntetiske organismer blir en del av karbohydratene brukt til produksjon av strukturelle

komponenter. For eksempel cellulose til celleveggene, eller til syntesen av energilagerforbindelser som stivelse. Disse materialene blir til mat for andre organismer. Metabolismen bryter ned lange kjeder av karbohydrater til glukose som oksideres til pyruvat via glykolysen for videre nedbrytning i sitronsyresyklusen for å gi energi i form av ATP.^{23, 24}

Den strukturelle variabiliteten og kompleksiteten til celleoverflate-glykaner gjør at de kan fungere som signal-, gjenkjennelses- og adhesjons-molekyler. Dermed er celleoverflate-glykaner involvert i mange fysiologisk viktige funksjoner som inkluderer embryogenese, celledifferensiering, celle-signalisering, vert-patogen-interaksjoner under infeksjoner, vert-immun-respons, sykdomsutvikling og metastase.²⁵

Mange naturlige og semisyntetiske glykokonjugater er klinisk brukte antimikrobielle- og anticancer-medikamenter. Eksempler på dette er erytromycin A (**11**) og doxorubicin (**12**) (Figur 1-5). Erytromycin A (**11**) er et velkjent antibiotikum isolert fra *Streptomyces erythreus* og består av en makrosyklisk laktoring bundet til to sukkerenheter. Forbindelsen er effektiv mot Gram-positive og noen Gram-negative bakterier og brukes til å behandle sykdommer som difteri, kikhoste, bihulebetennelse og lungebetennelse. Erytromycin er et alternativ til penicillin.²⁶ Den inhiberer proteinsyntesen ved å binde seg til peptidyltransferase-setet på 50S ribosom-subenheten, og dermed blokkere dannelsen av nye peptidbindinger.²⁷

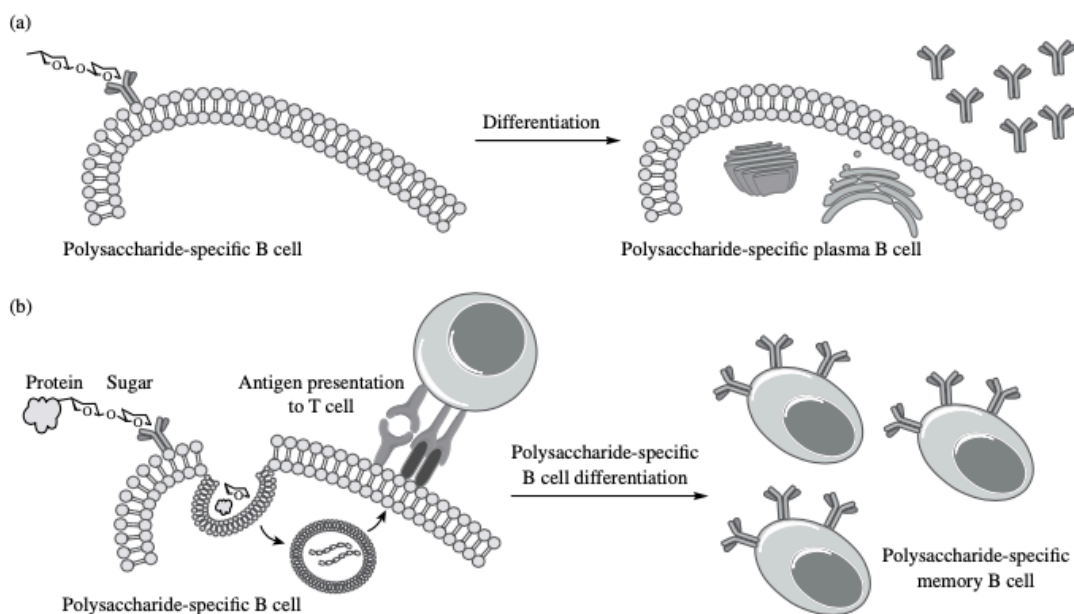


Figur 1-5. Eksempel på karbohydrat-baserte medisiner; Erytromycin A (**11**) og Doxorubicin (**12**).²⁷

Cellegift er en essensiell del av behandlingen av kreft, og doxorubicin (**12**) er et antracyklin antitumor-antibiotikum som er mye brukt. Det fungerer ved å stabilisere topoisomerase II komplekset og dermed stoppe DNA-replikasjonen. Topoisomerase II enzymet er ansvarlig for å kveile ut superkveilen på DNAet under transkripsjonen.^{28, 29} Krystallstrukturen avdekker at den aromatiske, kromofore delen av doxorubicin innføres mellom baseparene, mens sukkeret

daunosamin (markert rødt i Figur 1-5) sitter i *minor groove* og interagerer med de flankerende baseparene.³⁰

Et annet aspekt hvor karbohydrater er viktige, er i utviklingen av vaksiner. Haemophilus influenzae type b (Hib), som inngår i barnevaksinasjonsprogrammet, er et eksempel på en karbohydrat-basert vaksine.²⁷ Den enkleste typen bruker karbohydrater alene. Karbohydratet interagerer med polysakkarid-spesifikke B-celler som differensieres videre til plasmaceller som produserer antistoffer (Figur 1-6 a). Imidlertid er det noen begrensninger, da immunresponsen som genereres ikke induserer immunologisk hukommelse. Problemet med immunologisk hukommelse løses ved at karbohydratet konjugeres til et egnet bæreprotein. Prosessen starter med en prosessering av proteinet forårsaket av polysakkarid-spesifikke-B-celler. Deretter vil det være en påfølgende introduksjon av det følgende peptid/glykopeptid til protein-peptid-spesifikke-T-celler i assosiasjon med MHC-2 (major histocompatibility complex klasse II) reseptorer. Dette produserer polysakkarid-spesifikke-hukommelses-B-celler (Figur 1-6 b).³¹



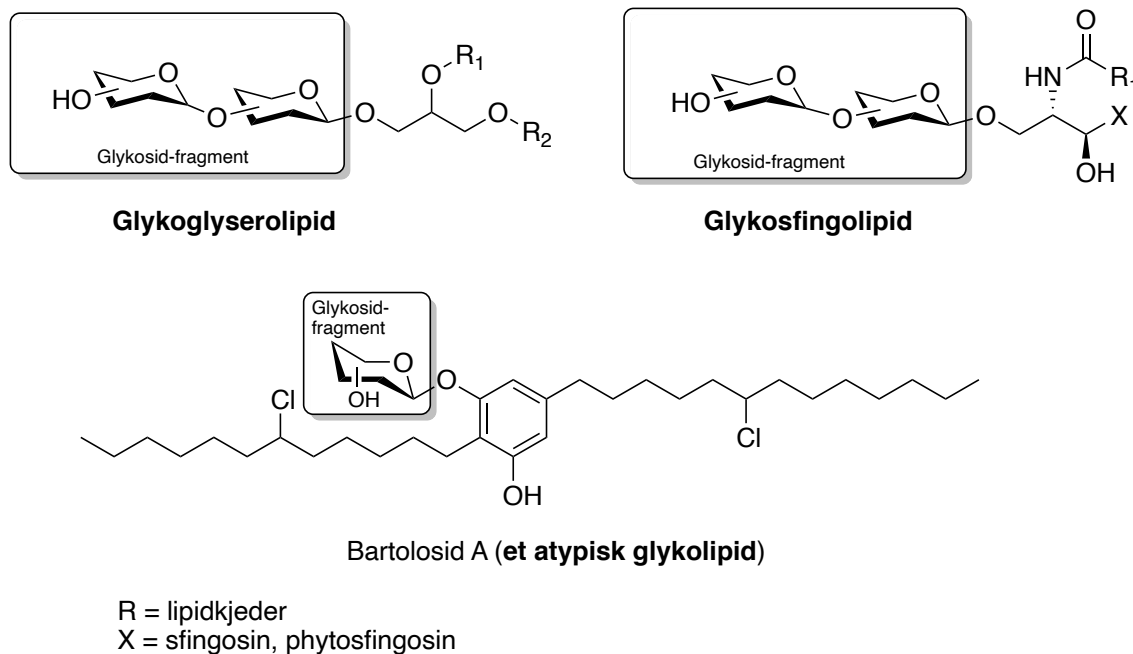
Figur 1-6. Mekanisme for immunresponsen for (a) polysakkarid-basert vaksine og (b) polysakkarid-protein-konjugert-basert vaksine. Hentet fra Ref. 31.

1.4 Marine glykolipider

Kloroplaster, med dens dobbeltmembran, har evnen til å utføre fotosyntese, spesifikk for planter og alger. I tillegg har de et indre membransystem, thylakoidmembranen, hvor fotokjemisk- og elektrontransport-reaksjoner skjer. Denne thylakoidmembranene består

hovedsakelig av glykolipider; faktisk reflekterer thylakoidmembranens oppbygning det evolusjonære forholdet mellom kloroplaster og cyanobakterier.³²

Glykolipider er en bred klasse med biologisk aktive naturprodukter som strukturelt kjennetegnes ved en glykosidbinding til et lipidmolekyl. De klassifiseres i følgende grupper: glykoglyserolipider, glykosfingolipider og resterende glykolipider med atypiske lipidkjeder (Figur 1-7).³³



Figur 1-7. Generell struktur til glykoglyserolipider, glykosfingolipider og et eksempel på et atypisk glykolipid.³³

Glykoglyserolipider finnes hovedsakelig i mikroorganisme- og planteriket, og er bygget opp av et eller flere karbohydrater festet til et glyserol-fragment med to lipidkjeder.

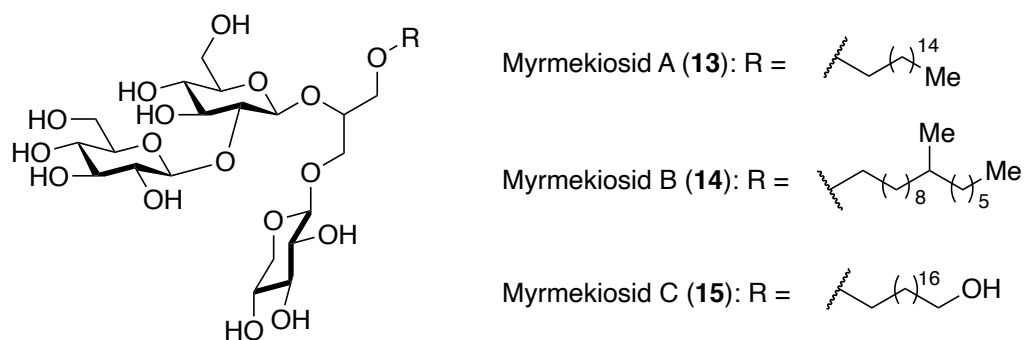
Glykosfingolipider er bygget opp av et eller flere karbohydrater festet til en amino-alkohol (for eksempel sfingosin). De finnes i alle levende organismer; eksempelvis på cellemembranoverflaten, hvor de sammen med glykoproteiner og glykosaminoglykaner spiller viktige roller i biologiske prosesser i cellene. Eksempler på slike prosesser er cellevekst, cellegjenkjenning, adhesjon, reparasjon av nevroner og signaltransduksjon.³³

Atypiske glykolipider er glykokonjugater som inneholder andre lipidkjeder enn de som finnes i glykosfingolipider og glykoglyserolipider; et eksempel er bartolosid A.

1.4.1 Glykoglyserolipider

Glykoglyserolipider karakteriseres av 1,2-diacyl-*sn*-glyserol festet til et mono- eller oligosakkarid på *sn*-3 posisjonen på glyserolen. Det finnes mange ulike klasser av glykoglyserolipider, og en av disse er myrmekiosidene.

Myrmekiosid A-C (**13-15**), isolert fra den marine svampen *Myrmekioderma* sp., fremviser potent antitumor-aktivitet.³⁴ Biologiske forsøk viser at myrmekiosidene endrer tumorcellemorfologien til H-ras transformerte NIH3T3 fibroblaster til normal (ved kons. 5 µg/ml).

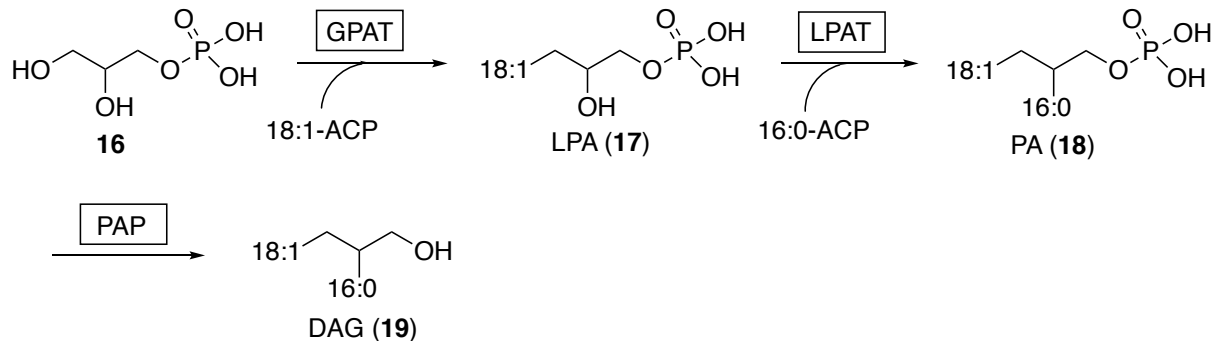


Figur 1-8. Strukturen til myrmekiosid A-C (**13-15**).³⁴

1.4.1.1 Glykosyldiacylglyseroler; MGDG, DGDG

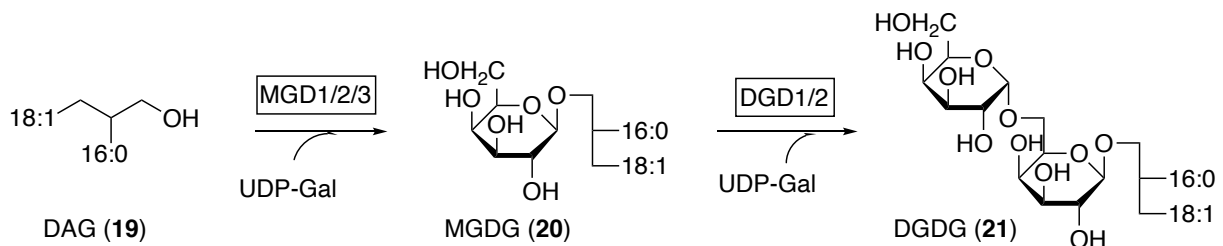
Monogalaktodiacylglyserol (MGDG) og digalaktodiacylglyserol (DGDG) er glykoglyserolipider med henholdsvis én eller to galaktose-enheter festet til diacylglyserol (DAG). Galaktose-enheten i MGDG bindes til diacylglyserol (DAG) i en β -konfigurasjon. Tilsvarende gjelder for DGDG, i tillegg til at den andre galaktose-enheten i DGDG bindes i en α -konfigurasjon til β -galaktose (1 \rightarrow 6) (Figur 1-9).³⁵ Fettsyrener som er festet til DAG varierer både med tanke på lengde og om de er mettede eller umettede, men lengden pleier å være C₁₆ eller C₁₈.³⁶ I tillegg til MGDG og DGDG finnes det oligogalaktolipider som bærer på to, tre eller flere galaktose-enheter. Disse galaktolipidene, sammen med sulfolipidet sulfoquinovosyldiacylglyserol (SQDG) og fosfolipidet fosfatidylglyserol (PG), utgjør hovedbestanddelen av kloroplast-membranen; hvor MGDG representerer rundt halvparten av lipidene etterfulgt av én tredjedel DGDG.^{37, 38}

festes henholdsvis til *sn*-1 og *sn*-2 posisjonen som vist i Skjema 1-1. Til slutt defosforyleres PA (**18**) av fosfatidisk-syre fosfatase (PAP) for å gi DAG (**19**) som brukes i videre glykolipidsyntese.⁴²



Skjema 1-1. Biosyntesen av diacylglycerol (DAG, **19**). GPAT, glyserol-3-fosfat acyltransferase; LPAT, lysofosfatidisk-syre acyltransferase; PAP, fosfatidisk-syre fosfatase.⁴²

Videre katalyserer MGDG syntase overføringen av en galaktose-enhet fra uridin-difosfat-galaktose (UDP-Gal) til DAG (**19**) for dannelsen av MGDG (**20**). Til slutt katalyserer DGDG syntase overføringen av en galaktose-enhet fra UDP-Gal til MGDG (**20**) for dannelsen av DGDG (**21**) (Skjema 1-2).⁴²



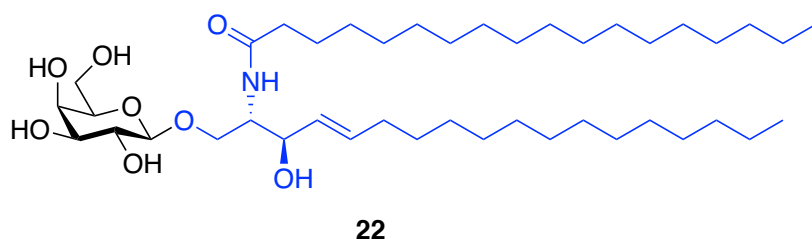
Skjema 1-2. Biosyntesen av MGDG (**20**) og DGDG (**21**).^{35, 42}

For å introdusere dobbeltbindinger til acyl-gruppene brukes ulike fettsyre-desaturaser (FAD5, FAD6, FAD7 og FAD8); de resulterer i omdannelsen av en stor del av 16:0 og 18:1 til 16:3 og 18:2/18:3 i *Arabidopsis*.⁴³⁻⁴⁹

1.4.2 Glykosfingolipider

Grunnet glykosfingolipiders komplekse mangfold grupperes de som nøytrale og sure glykosfingolipider. Felles for begge er ceramid-lipid-enheten, bestående av et langkjedet amino-alkohol-fragment som for eksempel kan være sfingosin (**22**) (Figur 1-11).⁵⁰

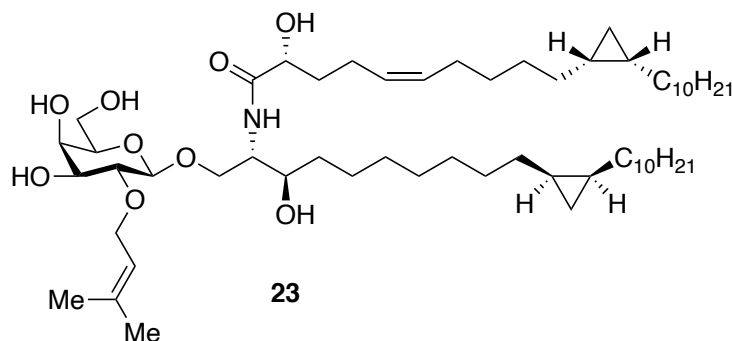
Galaktosylceramid



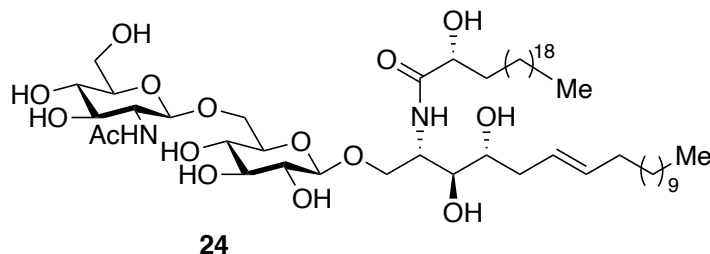
Figur 1-11. Et galaktosylceramid (**22**) hvor ceramidet (markert blått) inneholder et sfingosin-fragment.

De nøytrale glykosfingolipidene deles inn i cerebrosidene med kun et uladet sukker (f.eks **23**), diosylceramidene med to sukkerenheter (f.eks **24**), og resten av de nøytrale glykosfingolipidene som inneholder fra to til 30 uladete sukkerenheter.³³ Plakoside A (**23**) ble isolert av Fattorusso *et al.*⁵¹ fra den marine svampen *Plakortis simplex*. Plakoside A (**23**) har vist seg å inneha potent immundempende aktivitet, hvor plakosidet inhiberer proliferasjonsresponsen av lymfeknutecellene når T-celler stimuleres med concavaline A (i alle dosene som ble testet: 0.01 – 10 µg/mL). Det spesielle med denne forbindelsen er tilstedeværelsen av en syklopropanring i lipidkjeden og 2-*O*-prenyl-gruppen på karbohydratet, hvor den siste står for den immundempende aktiviteten.⁵¹

Cerebrosid: Plakoside A



Diosylceramid: Amphiceramide A

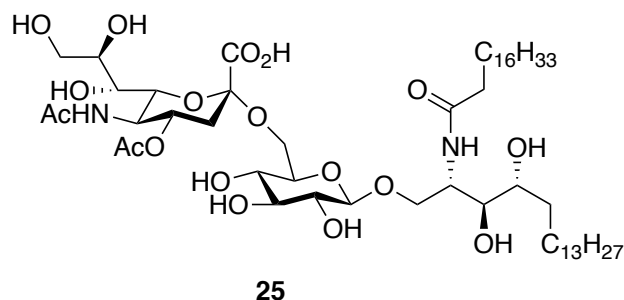


Figur 1-12. Strukturen til cerebrosidet Plakoside A (**23**) og diosylceramidet Amphiceramide A (**24**).

De sure glykosfingolipidene kan deles inn i gangliosider (f.eks **25**), karakterisert med minst en sialinsyre, og sulfatider, som inneholder minst en sukkerenhet med en sulfat-gruppe.

Gangliosid Hp-s1 (**25**) ble isolert fra eggstokken til sjøpiggsvinet *Diadema setosum* og fra spermen til sjøpiggsvinet *Hemicentrotus pulcherrimus*.^{52, 53} Forbindelse **25** har vist *neuritogenic* aktivitet, som kan være hjelpsom i behandlingen av neurodegenerative sykdommer.

Gangliosid Hp-s1



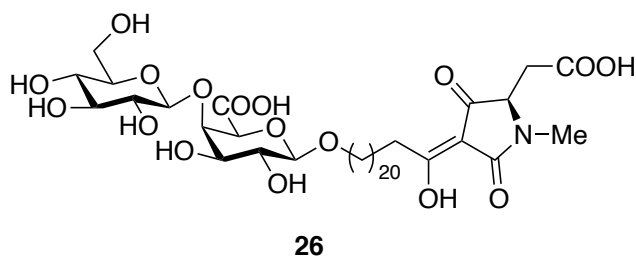
Figur 1-13. Gangliosid Hp-s1 (**25**) isolert fra sjøpiggsvinene *Diadema setosum* og *Hemicentrotus pulcherrimus*.^{52, 53}

1.4.3 Atypiske glykolipider

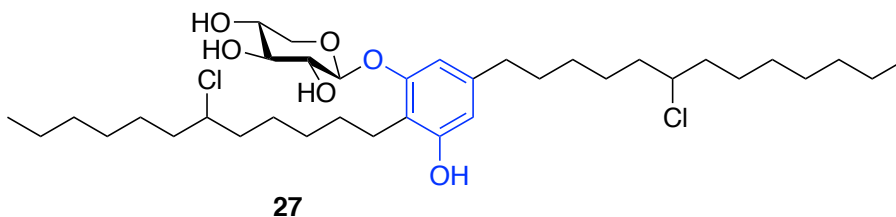
Den tredje gruppen består av, som nevnt, glykolipider med lipidkjeder som ikke er til stede i de forrige gruppene. Et eksempel på et atypisk glykolipid er Ancorinoside A (**26**) som ble isolert fra den marine svampeslekten *Ancorina* av Ohta *et al.*⁵⁴ Naturproduktet inneholder en tetramsyre-ring i enden av en lang fettsyrekjede, se Figur 1-14.

Et annet eksempel er Bartolosid A (**27**), isolert fra cyanobakterien *Nodosilinea* sp. LEGE 06102.⁵⁵ Det interessante med denne forbindelsen er tilstedeværelsen av en dialkyl-resorcinol-kjerne, hvor en xylose-enhet er festet til resorcinol-fragmentet og klorgrupper festet til de alifatiske kjedene.

Atypisk glykolipid:
Ancorinoside A



Bartolosid A



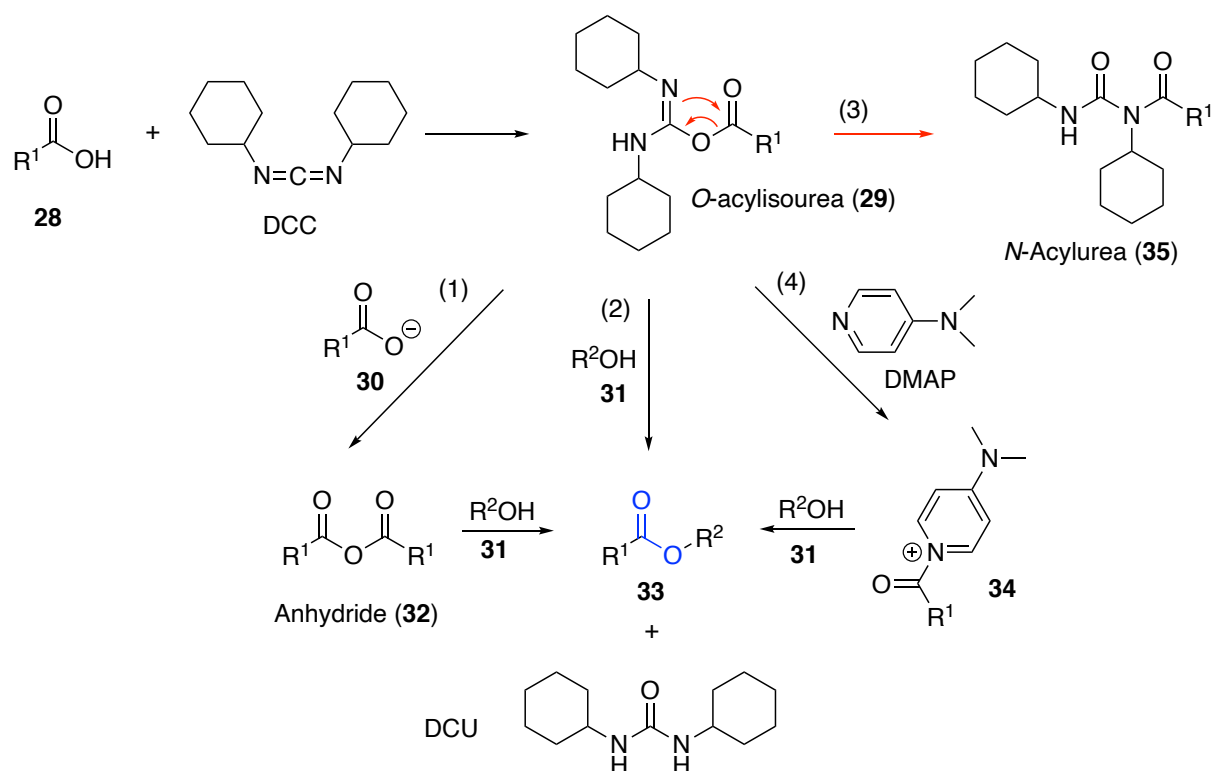
Figur 1-14. Strukturen til Ancorinoside A (**26**)⁵⁴ og Bartolosid A (**27**)⁵⁵ (resorcinol-enheten er markert blå).

1.5 Kjemisk bakgrunn

1.5.1 Steglich esterifisering

Estere er viktige koblingsgrupper i primære metabolitter, som lipider. De er også viktige bestanddeler i sekundære metabolitter, som for eksempel i makrosykliske laktoner.⁵⁶ De enkleste esterifiseringsreaksjonene inkluderer den syrekatalyserte dannelse fra en karboksylsyre og en alkohol (kjent som Fischer esterifisering) eller dannelsen fra syreklorid eller eddiksyreanhydrid med en alkohol.

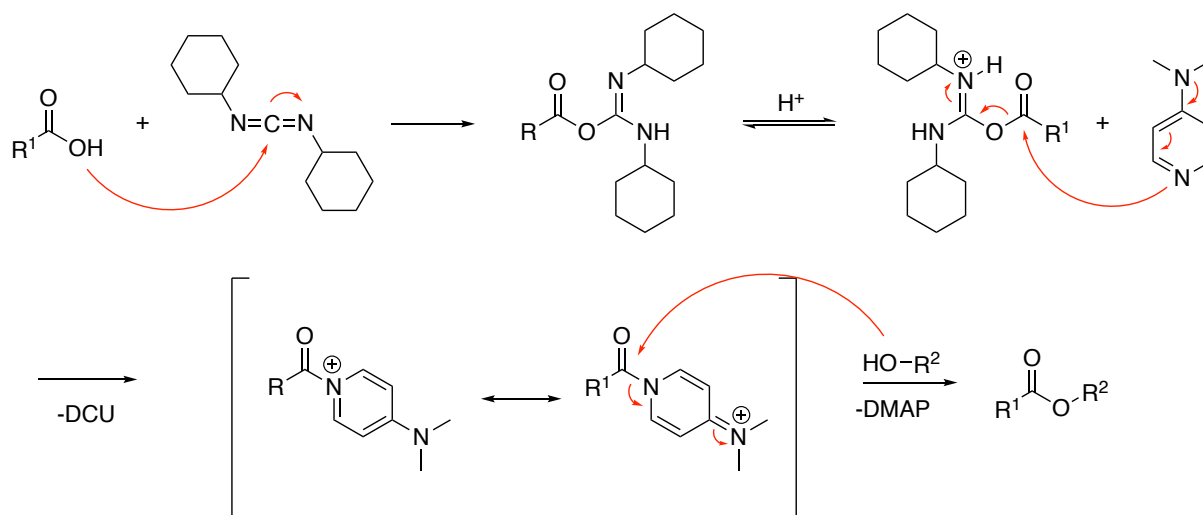
En mye brukt metode for å danne esterbindinger ble utviklet av Steglich⁵⁷, og tar i bruk det dehydrerende reagenset *N,N'*-disyloheksylkarbodiimid (DCC) og katalysatoren 4-(dimetylamino)pyridin (DMAP). Det første trinnet involverer en reaksjon mellom en karboksylsyre (**28**) og karbodiimidet (DCC), mest sannsynlig via et ionepar for å danne *O*-acylisourea (**29**) (Skjema 1-3).⁵⁸



Skjema 1-3. Reaksjonen til en karbodiimid/DMAP-mediert ester-kobling.⁵⁶

Dette intermedietet (29) kan nå enten reagere med (1) en annen ekvivalent med karboksylat (30) for å danne det symmetriske anhydridet (32), (2) en alkohol (31) for å danne esteren (33), eller (3) undergå intramolekylær omleiring for å danne *N*-acylurea biproduktet (35).⁵⁶

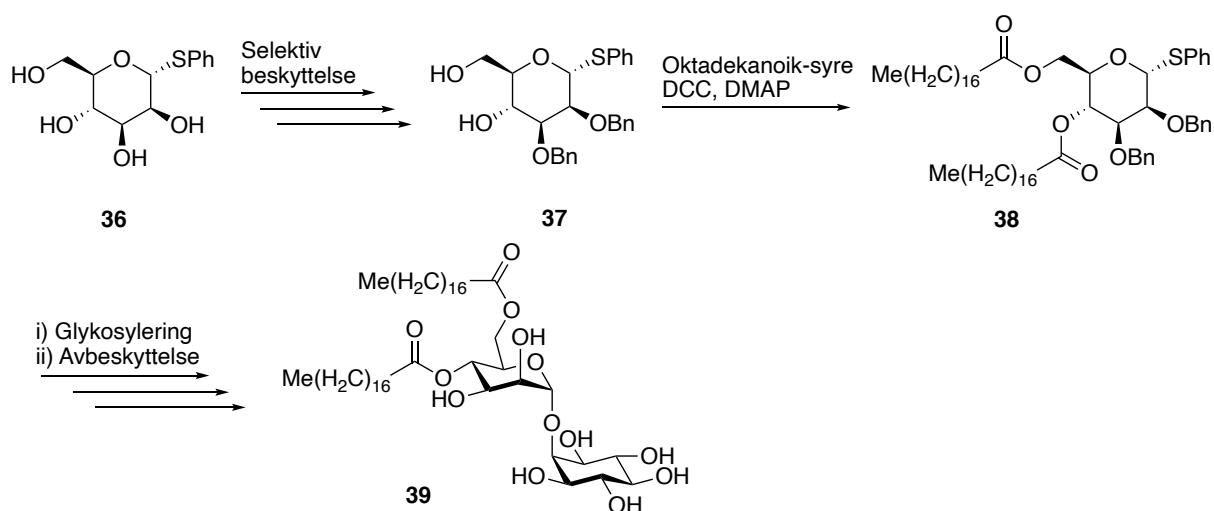
Reaksjon mellom det symmetriske anhydridet (32) og en alkohol (31) fører til dannelsen av ønsket ester (33), mens dannelsen av *N*-acylurea (35) er uønskelig da dette fører til forbruk av karboksylatet (30), uten videre dannelse av ønsket ester. Addering av DMAP i katalytiske mengder (Skjema 1-3, (4)), kan imidlertid kompensere for denne tendensen ved å raskt reagere med *O*-acylisourea (29) for å danne et acyl pyridinium (34) som ikke er i stand til å undergå intramolekylær omleiring. Dette acyl pyridinium-spesiet (34) kan reagere videre med en alkohol (31) for å danne esteren (33). Mekanismen for dannelsen av ester ved hjelp av DMAP vises i Skjema 1-4.⁵⁹



Skjema 1-4. Mekansime for dannelse av estere ved hjelp av DMAP.⁵⁹

Under koblingsreaksjonen med DCC dannes disykloheksylurea (DCU) som et biprodukt. DCU er uløselig i de fleste organiske løsemidlene og kan derfor filtreres bort, men små mengder av DCU kan vedvare og gjøre den kromatografiske opprensingen vanskelig.⁶⁰ Da kan alternative karbodiimider brukes, for eksempel *N*-etyl-*N'*-(3-dimetylaminopropyl)karbodiimide (EDC) eller *N,N'*-diisopropylkarbodiimid (DIC). EDC og dets biprodukt er vannløselig og kan dermed fjernes under væske-væske-ekstraksjon.⁶¹ DIC er mer løselig i organiske løsemidler (som CH₂Cl₂) enn DCC; dette er spesielt nyttig i fastfase synteser.⁶²

Florence *et al.*⁶³ benyttet Steglich-betingelser for å syntetisere det atypiske glykolipidet dioktadekanoyl-discosid (**39**). α -D-fenyltiomannosid **36** ble selektivt beskyttet, før esterifisering med DCC og DMAP for å danne tiomannosid-donor **38**. Videre glykosylering og avbeskyttelse ga dioktadekanoyl-discosid (**39**) (Skjema 1-5).

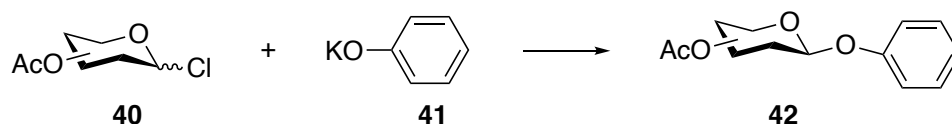


Skjema 1-5. Deler av totalsyntesen av dioktadekanoyl-discosid (**39**).⁶³

1.5.2 Karbohydratsyntese

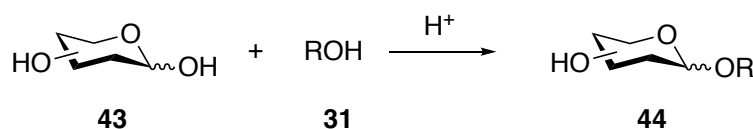
Som nevnt tidligere er karbohydrater en gruppe biologisk aktive molekyler som er viktige for mange essensielle prosesser i alle levende organismer. Det finnes et stort mangfold av ulike glykosider/glykokonjugater/polysakkarider. De kan deles inn etter type glykosidbinding, hvor *C*-, *O*-, *N*-, og *S*-glykosider indikerer hvilket element som forbinder det anomere karbonet på glykanet med aglykonet. *O*-glykosider er de vanligste og viktigste, og fokuset videre er derfor på disse. Klassifiseringen kan også baseres på stereokjemien, enten som α - og β -glykosider eller 1,2-*trans*- og 1,2-*cis*-glykosider.⁶⁴

Det finnes et hav av ulike glykosyleringsmetoder og pionerene bak de første syntesestrategiene var Michael⁶⁵ og Fischer⁶⁶, etterfulgt av Koenigs og Knorr.⁶⁷ Syntesen av glykosider baseres ofte på: (1) omformingen av et sukker til en fullt beskyttet glykosyldonor, med en god utgående gruppe ved det anomere senter og (2) glykosylering med en egnet beskyttet glykosylakseptor, som normalt inneholder en ledig hydroksylgruppe. I arbeidet til Michael⁶⁵ ble fenyl- β -D-glukopyranosid (**42**) syntetisert fra tetra-*O*-acetyllert-glykosylklorid (**40**) og kalium-fenoksid (**41**). Reaksjonen ga hovedsakelig β -*O*-glykosidet som et resultat av NGP (Neighboring group participation) (Skjema 1-6).^{68, 69}



Skjema 1-6. Den første rapporterte glykosidsyntesen; fenyl- β -D-glukopyranosid (**42**) av Michael⁶⁵ i 1879.

I den klassiske Fischer⁶⁶ metoden dannes alkyl-*O*-glykosider (**44**) direkte fra hemiacetalet på sukkeret (**43**) og en alkohol (**31**) i en syrekatalysert reaksjon; en variant av den vanlige dannelsen av acetaler (Skjema 1-7).⁷⁰ Det er to problemer med denne typen glykosylering (1) reversibiliteten; den er derfor ikke egnet til synteser av forbindelser med mer enn én glykosidbinding og (2) stereoselektiviteten; man får en blanding av α - og β -anomerene.⁷⁰ Fordelen ved bruk av Fischer metoden ligger i dens simpelhet, og kan derfor brukes til å lage enkle glykosider.



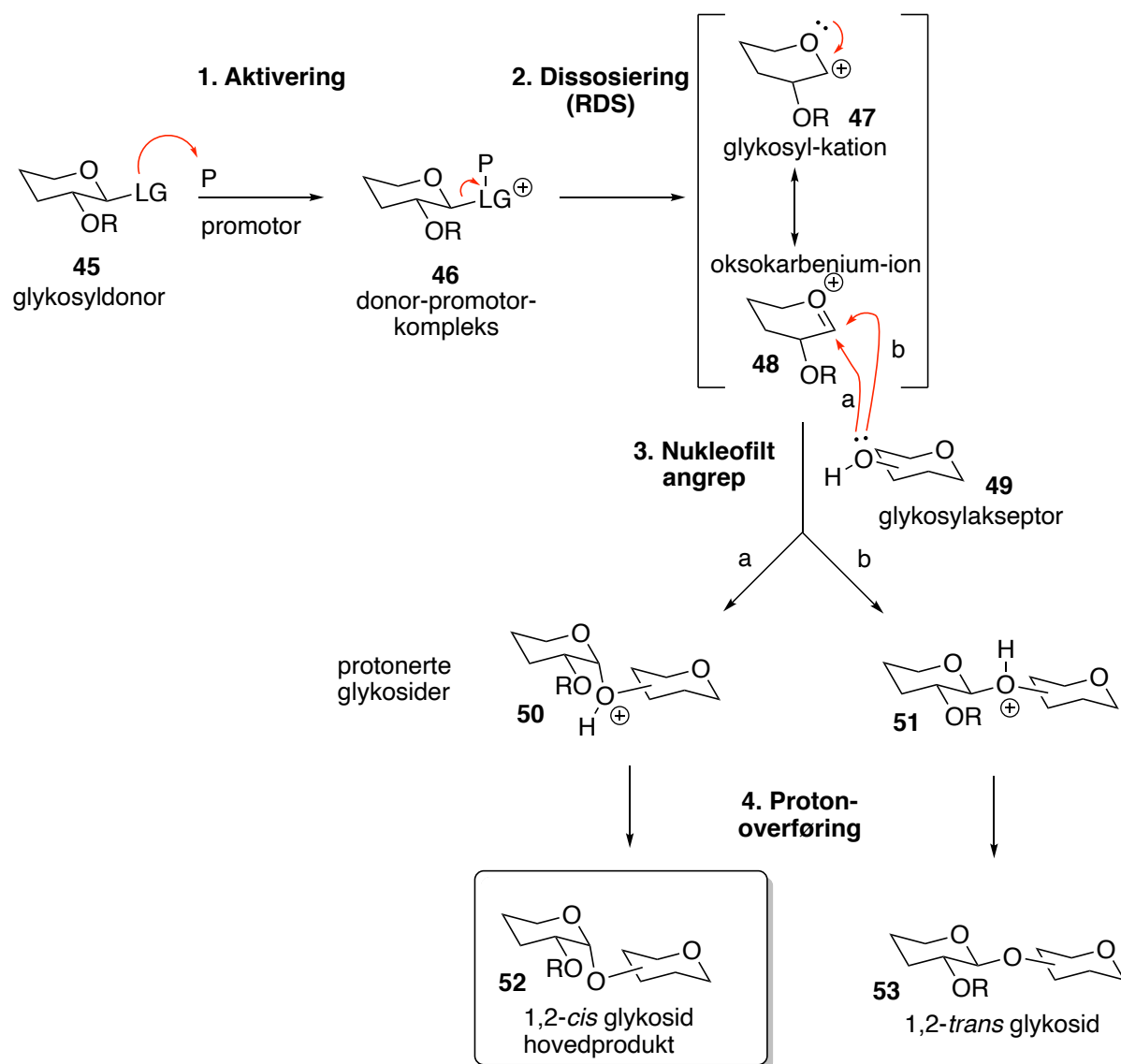
Skjema 1-7. Fischers⁶⁶ alkyl-*O*-glykosid (**44**) fra 1893.

1.5.2.1 Generell reaksjonsmekanisme

I dag finnes det mange metoder for å danne glykosidbindinger via glykosyldonor og -akseptor. En detaljert forståelse av glykosyleringsmekanismen er fortsatt under arbeid. Likevel involverer den vanligste tolkningen en nukleofil substitusjon ved det anomere karbonet ved bruk av en svak nukleofil (glykosylakseptor); noe som følger en unimolekylær S_N1 mekanisme.⁷¹

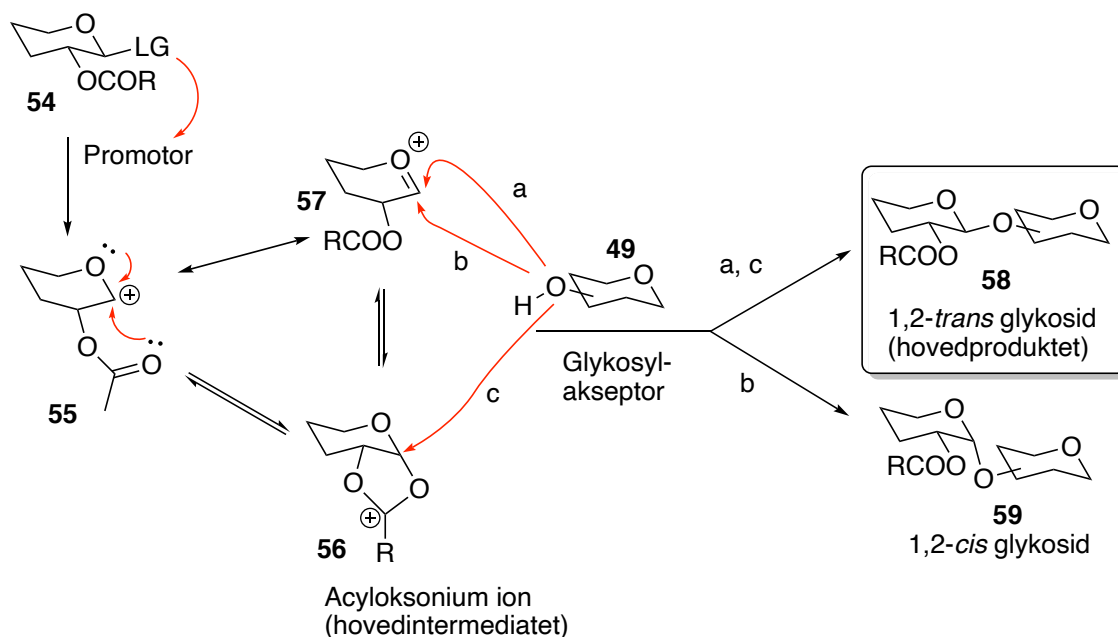
Prosessen involverer følgende steg: (1) en reversibel eller irreversibel dannelselse av donor-promotor-komplekset; (2) ionisering av glykosyldonoren, normalt irreversibel og det tregeste trinnet i reaksjonen; (3) nukleofilt angrep av glykosylakseptoren; og (4) dannelselse av et nøytralt glykosid via protonoverføring. Stegene er vist i Skjema 1-8.

Glykosyldonorens (**45**) utgående gruppe (LG) er nukleofil av natur (halogen, SR, OR, etc.) og vil derfor under addering av den elektrofile promotoren (aktivator, P) aktivere den utgående gruppen slik at det dannes et donor-promotor-kompleks (**46**). Videre omdannes dette komplekset til et karbokation (**47**), noe som anses som det unimolekylære hastighetsbestemmende steget (RDS). Karbokationet (**47**) resonansstabiliseres som oksokarbenium-ionet (**48**) hvor det anomere karbonet sp²-hydridiseres og gir en flat halv-stolkonformasjon. Følgende nukleofile angrep fra glykosylakseptoren (**49**) vil derfor være mulig fra både undersiden (a) og oversiden (b) og fører til dannelsen av henholdsvis α -(1,2-*cis*)- eller β -(1,2-*trans*)-binding. De nøytrale 1,2-*cis* (**52**) og 1,2-*trans* (**53**) glykosidene dannes ved tap av et proton som er et irreversibelt steg, og derfor anses dette som det terminerende steget i glykosyleringsreaksjonen.⁷²



Skjema 1-8. Mekanismen for glykosylering som følger stegene 1) aktivering, 2) dissosiering, 3) nukleofilt angrep og 4) protonoverføring.

Glykosyleringsmekanismen blir noe mer avansert når glykosyldonoren bærer på en deltakende gruppe ved C-2 (**54**); generelt acyl-grupper som *O*-acetyl (Ac) eller *O*-benzoyl (Bz).⁷¹ Denne glykosyleringen skjer primært via et bisyklisk intermediat, acyloksonium ion **56**, som dannes som et resultat av en aktivert-assistert fjerning av den utgående gruppen fulgt av en intramolekylær stabilisering av karbokation **55** (Skjema 1-9). I dette tilfellet vil kun angrep fra glykosylakseptor **49** være mulig fra oversiden (c), noe som gir en stereoselektiv dannelse av 1,2-*trans* glykosidet (**58**). I noen tilfeller vil en liten mengde av 1,2-*cis* glykosidet (**59**) dannes. Som regel på grunn av lite reaktiv alkohol som substrat og/eller dårlig nukleofil deltakende gruppe (a og b).⁷¹



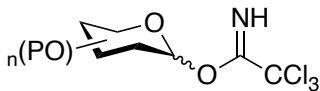

Skjema 1-9. Glykosyleringsmekanisme hvor en deltakende gruppe (COR) ved C-2 bidrar til å danne 1,2-trans glykosidet (58) som hovedprodukt.

1.5.2.2 Glykosyldonorer med aktivering

Det finnes mange ulike glykosyldonorer, og valget av egnede donorer har stor betydning for planleggingen av glykosidsynteser. Elementer som bør vurderes er den kjemiske karakteren til donoren, stereokjemien til den utgående gruppen samt stabiliteten til beskyttelsesgruppene, (blant noen). Noen av de vanligste donorene er glykosylhalider, glykosyl-trikloracetimidater og tioglykosider (Tabell 1-1).

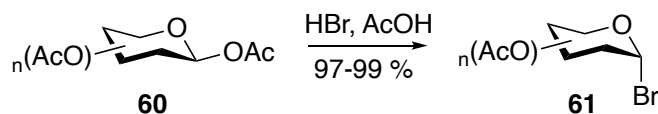
Tabell 1-1. Oversikt over vanlige glykosyldonorer samt deres promotorer.

Navn	Struktur	Promotor	Ref.
Halider	<p style="text-align: center;">X = Cl/Br/I</p>	Ag ₂ O eller Ag ₂ CO ₃	Koenigs-Knorr ⁶⁷
		Hg(CN) ₂ og HgBr ₂	Helferich <i>et al.</i> ⁷³⁻⁷⁵
		AgOTf	Lemieux <i>et al.</i> ⁷⁶
		SnCl ₄	Ogawa <i>et al.</i> ⁷⁷
		BF ₃ ·Et ₂ O	Ogawa <i>et al.</i> ⁷⁷
		ZnCl ₂	Higashi <i>et al.</i> ⁷⁸
		Sn(OTf) ₂	Lubineau <i>et al.</i> ^{79, 80}
		TBAI, DIPEA	Du <i>et al.</i> ⁸¹

Trikloracetimidate		<i>p</i> TsOH	Schmidt <i>et al.</i> ⁸²
		BF ₃ ·Et ₂ O	Schmidt <i>et al.</i> ⁸²
		TMSOTf	Schmidt <i>et al.</i> ⁸³
Tioler		HgSO ₄	Ferrier <i>et al.</i> ⁸⁴
		MeOTf	Lönn, H. ^{85, 86}
		DMTST	Fügedi <i>et al.</i> ^{87, 88}
		NIS/TfOH	Veeneman <i>et al.</i> ⁸⁹
		NIS/TMSOTf	Konradsson <i>et al.</i> ⁹⁰

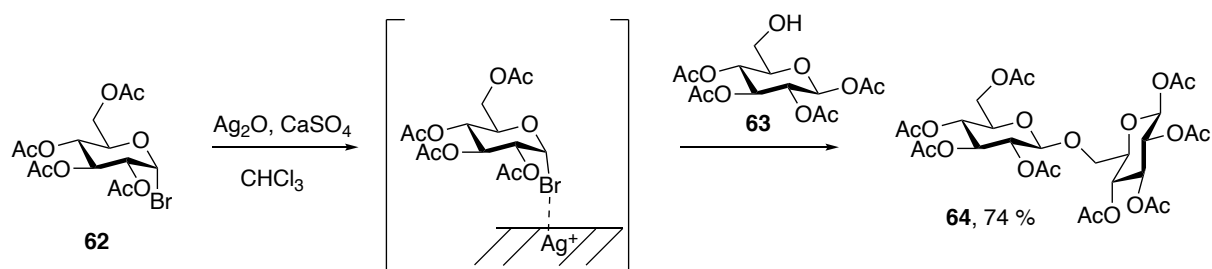
Glykosylhalider:

Anvendelsen av glykosylhalider i glykosyleringsreaksjoner har lenge blitt brukt. Glykosylbromider lages ved å behandle et reduserende sukker med f.eks. AcBr, AcBr-AcOH, AcBr-MeOH, PBr₃, Ac₂O-HBr-AcOH, eller ved å behandle peracetyliert sukker (**60**) med HBr i eddiksyre (Skjema 1-10).⁹¹



Skjema 1-10. Syntesen av glykosyl-bromid.⁹²

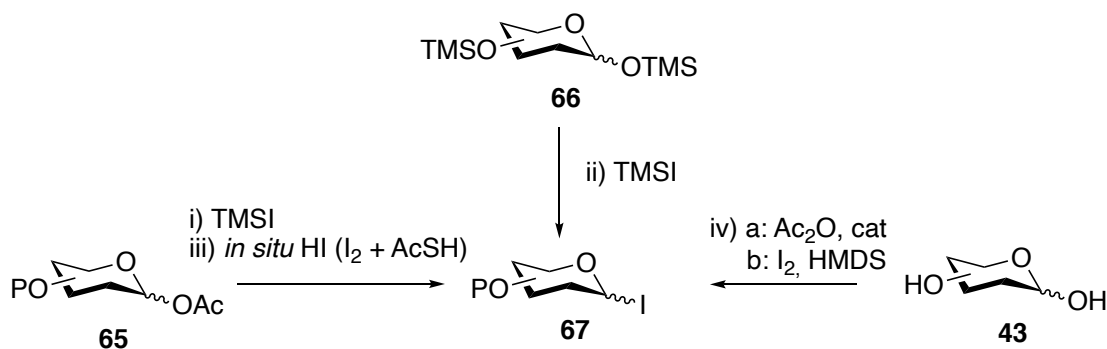
En av de tidligste glykosyleringsmetodene ble utviklet av Koenigs og Knorr⁶⁷ i 1901. Dette er en irreversibel syntesestrategi hvor dannelsen av glykosidet skjer i nærvær av tungmetallsalter, fortrinnsvis sølv-salter, som fungerer som promotor. Tetra-*O*-acetyliert-glukosylbromid (**62**) aktiveres med promotoren Ag₂O slik at koblingen mellom donor og akseptor kan finne sted (Skjema 1-11). Koenigs-Knorr reaksjoner med acetyliert sukker fører normalt til dannelsen av 1,2-*trans*-glykosider på grunn av den deltakende gruppen ved C2 (NGP), spesielt når uløselige sølvsalter brukes som promotor. Det antas at reaksjonen skjer på overflaten til sølvsaltet, slik at dannelse av *trans* glykosidet skjer ved å skjerme α -siden på glykosyldonoren (Skjema 1-11).⁹² Andre tungmetall-promotorer inkluderer Ag₂CO₃, HgBr₂ og Hg(CN)₂, samt AgOTf. Ulempen med tungmetall-salter er at de ofte er dyre, giftige og muligens eksplosive (spesielt i storskala).⁹³ Eksempler på andre aktiveringsmetoder som ikke bruker tungmetaller er Lewis syrer, f.eks. SnCl₄, BF₃·Et₂O, ZnCl₂ eller Sn(OTf)₂.⁶⁴ Tilsvarende reaksjoner kan gjøres med glykosylklorider.



Skjema 1-11. Koenigs-Knorr glykosylering promotert av uløselig sølvsalter.

Glykosyl-jodider, generelt ansett for å være for reaktiv til å være av syntetisk nytte, har også vist seg å ha flere fordelaktige egenskaper når det gjelder aktivitet, effektivitet og stereoselektivitet.

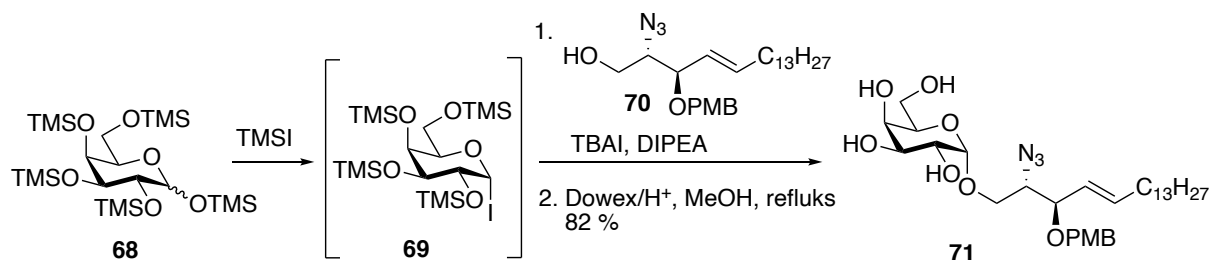
En av de vanligste måtene for å lage glykosyljodider (**67**) involverer behandlingen av anomere acetater (**65**) med trimetylsilyl-jodid (TMSI), og ble først rapportert av Thiem og Meyer (Skjema 1-12, i).⁹⁴ Senere rapporterte Gervay *et al.*⁹⁵ den stereoselektive syntesen av α - og β -D-glukopyranosyl-jodid, hvor det hovedsakelig ble dannet den termodynamisk stabile α -anomerer. En relatert prosedyre bruker også TMSI, men på per-*O*-trimetylsilyl-sakkarid (**66**) (Skjema 1-12, ii). Per-*O*-acetater (**65**) av mono- og disakkarider kan også brukes til dannelsen av α -glykosyl-jodider ved bruk av HI, generert *in situ* ved reaksjon mellom fast jod og en tiol (AcSH) (Skjema 1-12, iii).⁹⁶ En siste strategi produserer glykosyljodid *in situ* fra ubeskyttet sukker (**43**), se Skjema 1-12 iv). Først dannes per-*O*-acetyleret sukker *in situ*, fulgt av molekylær jod og heksametyldisilan (HMDS) (Skjema 1-12, iv).⁹⁷



Skjema 1-12. Dannelsen av glykosyl-jodider ved bruk av i) og ii) TMSI^{94, 95}, iii) *in situ* HI ($I_2 + AcSH$)⁹⁶ og iv) a: Ac_2O , cat. b: I_2 , HMDS.⁹⁷

Generelt aktiveres glykosyljodider (**67**) under basiske forhold for å gi β -glykosidet med høy stereoselektivitet; tetrabutylammonium-jodid (TBAI) med *N,N*-diisopropyletylamin (DIPEA) er mye brukt. Dette ble brukt i syntesen av det biologisk aktive α -glykolipidet **71**. Reaksjonen foregår i en one-pot, slik at trimetylsilyl-glykosyl-jodid **69** dannes *in situ*, før videre reaksjon

med akseptor **70** sammen med TBAI og DIPEA. Til slutt fjernes silyl-gruppene under sure forhold, Dowex 50WX8, MeOH, for å gi forbindelse **71**.⁸¹

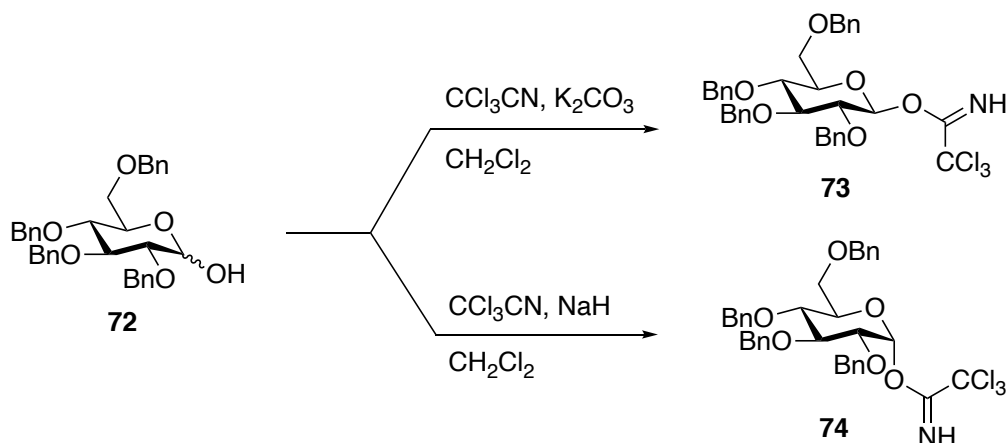


Skjema 1-13. Syntesen av α -glykolipid **71** ved bruk av glykosyljodid sammen med TBAI og DIPEA. DIPEA, diisopropyletylamin; PMB, *p*-metoksibenzyl.⁸¹

Sammenlignet med glykosyl-bromider og -klorider har glykosylfluorider økt stabilitet; disse har lang levetid og overlever kromatografi.⁶⁴ De kan dannes ved bruk av dietylaminosulfurtrifluorid (DAST)⁹⁸. Viktigst er deres evne til å bli aktivert under spesifikke forhold som de fleste beskyttelsesgruppene overlever. Aktiveringsmetoder inkluderer $\text{SnCl}_2\text{-AgClO}_4$ ⁹⁹ (eventuelt $\text{SnCl}_2\text{-AgOTf}$ ^{100, 101}), SiF_4 ¹⁰², TMSOTf ¹⁰² eller $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$ ¹⁰³.

Glykosyl-trikloracetimidater

En mye brukt glykosyldonor, utviklet av Schmidt med medarbeidere⁸², er trikloracetimidat-glykosider. Disse lages enkelt ved en base-katalysert addisjon av den elektronfattige trikloracetimidat (CCl₃CN) til den anomere hydroksylgruppen. Ved bruk av svak base, som K₂CO₃, favoriseres dannelsen av β -imidatet (**73**), som er det kinetiske produktet. Det termodynamisk mer stabile α -imidatet (**74**) dannes ved bruk av sterk base, som NaH eller DBU.¹⁰⁴

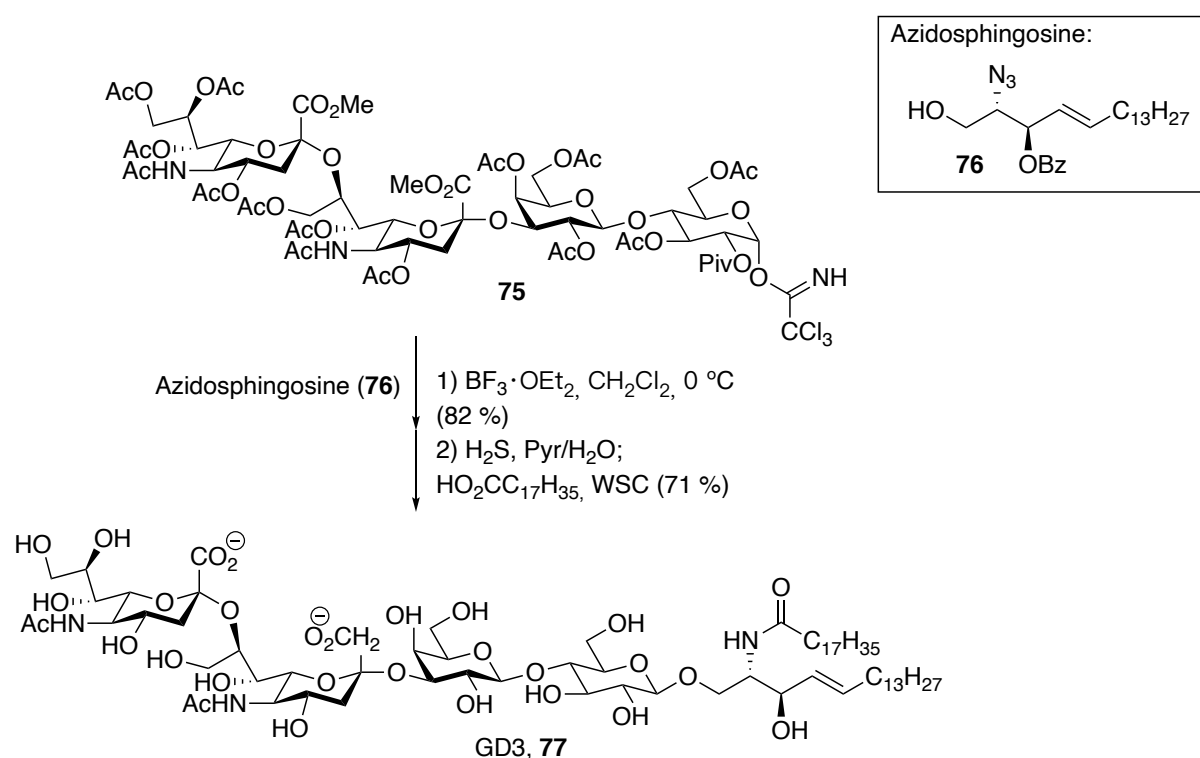


Skjema 1-14. Dannelsen av glykosyl-trikloracetimidater med svak og sterk base.¹⁰⁴

Under basiske og nøytrale forhold er glykosyl-trikloracetimidatene relativt stabile, men de reagerer raskt under sure forhold. Ved bruk av sure nukleofiler, som karboksylsyrer, dannes

de korresponderende esterene uten noen bruk av katalysator.^{82, 93, 105} I reaksjonen med ikke-sure *O*-nukleofiler brukes katalytiske mengder av Brønsted eller Lewis syrer for få reaksjonen til å gå. De vanligste syrene er *p*TsOH, BF₃•Et₂O⁸² og TMSOTf⁸³; glykosylering med disse promotorene skjer under lave temperaturer og milde forhold. Bortsett fra disse finnes det flere andre promotorer, deriblant metall-triflatene Sm(OTf)₃, Yb(OTf)₃ og AgOTf.

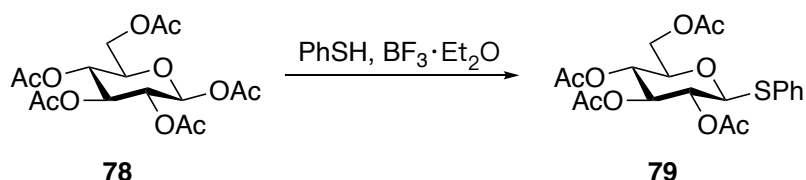
Gangliosid GD3, et menneske-melanom-assosiert antigen, ble syntetisert av Castro-Palomino *et al.*¹⁰⁶ ved glykosylering mellom tetrasakkarid-trikloracetimidat **75** og azidosphingosine (**76**). En del av syntesen vises i Skjema 1-15 hvor glykosyleringen oppnås ved bruk av Lewis-syren bortrifluorid-eterat (BF₃•OEt₂) som promotor, for å gi β-anomeren (**77**).



Skjema 1-15. Syntese av GD3 ved bruk av tetrasakkarid-trikloracetimidat som glykosyldonor.¹⁰⁶

Tioglykosider

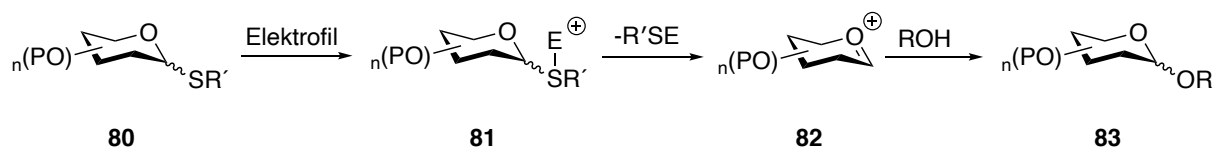
Tioglykosider ble første brukt som glykosyldonor av Ferrier med medarbeidere på 1970 tallet⁸⁴, og en rekke prosedyrer er etablert siden da. Tioglykosidene lages normalt ved å reagerer per-*O*-acetyllert sukker (**78**) med passende tiol i nærvær av en Lewis syre, som BF₃•Et₂O, TMSOTf eller SnCl₄⁶⁴; dette gir hovedsakelig 1,2-*trans* produktet (**79**) (Skjema 1-16). De kan også dannes fra reaksjon mellom andre glykosyldonorer, som glykosylhalider og trikloracetimidater, med tioler.



Skjema 1-16. Et eksempel på dannelsen av et tioglykosid ved bruk av Lewis syre.⁹²

Fordelen med tioglykosider ligger i deres høye stabilitet; de tolererer svært forskjellig kjemisk manipulasjon som etterlater tioglykosidet intakt og gir god beskyttelse av det anomere karbonet.^{64, 92} Imidlertid kan de aktiveres i nærvær av myke elektrofiler, og Skjema 1-17 viser hvordan tioglykosid **80** aktiveres med en elektrofil slik at sulfoniumion **81** dannes.

Sulfoniumionet er en bedre utgående gruppe og tap av denne gir oksokarbenium-intermediat **82**, som i sin tur reagerer med en *O*-nukleofil og gir *O*-glykosid **83**.⁶⁴ I tillegg kan tioglykosider omformes direkte til andre glykosyldonorer, som gjør de til en allsidig klasse forbindelser.

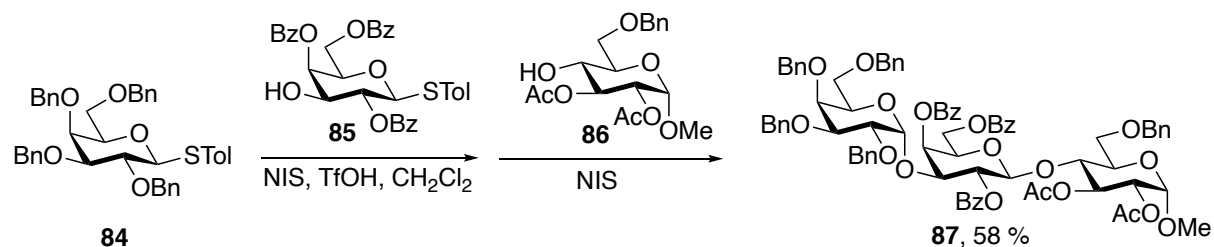


Skjema 1-17. Aktivering av tioglykosidet ved bruk av en myk elektrofil.⁶⁴

Tungmetallet HgSO_4 var den første promotorene som ble tatt i bruk under aktiveringen av tioglykosider⁸⁴, men disse ga dårlig utbytte og blir derfor ikke brukt. Senere demonstrerte Lönn^{85, 86} at metyltriflat (MeOTf) kunne brukes til å alkylere svovelet på tioglykosidet.

Metoden brukes fortsatt i dag, men MeOTf er toksisk og den kan metylere hydroksylgrupper når glykosylakseptorer med lav reaktivitet brukes.¹⁰⁷ Intensivt arbeid er gjort for å finne alternative reagenser, og i dag er dimetyl(metyltio)sulfoniumtriflat (DMTST), *N*-jod-succinimid-triflicsyre (NIS/TfOH) og NIS/TMSOTf blant de mest brukte promotorene.⁸⁷⁻⁹⁰

Skjema 1-18 viser syntesen av trisakkaridet **87** ved bruk av tioglykosid **84** som glykosyldonor og NIS/TfOH som aktivator.¹⁰⁸


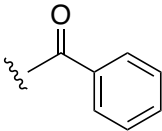
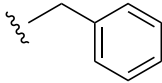

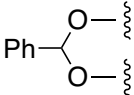
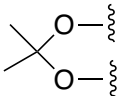


Skjema 1-18. "One-pot" dannelsen av trisakkarid **87** ved bruk av tioglykosid som donor.⁹² Tol = 4-tolyl/*p*-metylfenyl

1.5.3 Beskyttelsesgrupper

Beskyttelsesgrupper spiller en viktig rolle i syntesen av komplekse naturprodukter, og da spesifikt for å styre stereo-, regio-, og/eller kjemoselektiviteten. De introduseres for å midlertidig maskere andre funksjonelle grupper som man ønsker at skal «overleve» koblingsreaksjonen. Dette er spesielt viktig i karbohydratkjemi da karbohydrater inneholder mange hydroksylgrupper. Det er også viktig at de frigis under milde forhold som ikke påvirker glykosidbindingen. Det finnes et stort antall beskyttelsesgrupper, og noen av de vanligste beskyttelsesgruppene, brukt under glykosylering, vises i tabellen under.⁶⁴

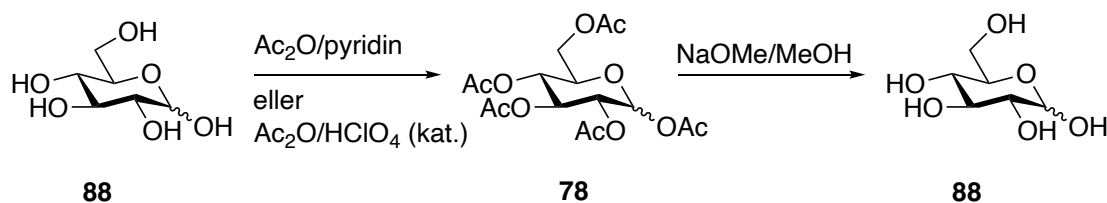
Tabell 1-2 viser noen av de vanligste beskyttelsesgruppene som brukes for å beskytte hydroksylgruppene på karbohydrater.

Funksjonalitet	Beskyttelsesgr.	Struktur	Beskytte	Avbeskytte
Ester	Acetyl		Ac ₂ O, pyridin	CH ₃ NaO og MeOH, NH ₄ ⁺ og MeOH
	Benzoyl		BzCl	CH ₃ NaO og MeOH, NH ₄ ⁺ og MeOH
Eter	Benzyl		NaH, BnBr	H ₂ og Pd/C, Birch-reduksjon (Na/NH ₃), BCl ₃
	Trimetylsilyl		TMS-Cl og pyridin, SiCl ₄	H ⁺ , H ₂ O eller TBAF
Sykliske acetal	Benzylden		Dimetoksy-metylbenzen, H ⁺	AcOH, TFA
	Isopropyliden		Dimetoksypropan, H ⁺	AcOH

1.5.3.1 Ester

Estere er base-sensitive, noe som gjør acyl-enheten godt egnet som beskyttelsesgruppe for hydroksylgruppene på sukkeret. De er også populære på grunn av deres enkle introduksjon og fjerning, i tillegg til deres stereodirigerende effekt på grunn av NGP (neighboring group participation) mot det anomere senteret. Acetyl- og benzoyl-grupper introduseres enkelt via syreklorid (for benzoater) eller anhydrid (for acetater) i pyridin (Skjema 1-19).¹⁰⁹ Addering av andre baser eller co-solventer er også vanlig, som pyridin, trietylamin (TEA) eller DMAP (kat.). I tillegg kan acetyleringen skje under sure forhold (f.eks. TMSOTf) på en effektiv og rask måte, og deres syrestabilitet er ganske høy, men de er bare moderat basestabile (hvor acetater er de mer labile).

Ulempen med estere, og da spesielt acetater, er deres tendens til å migrere, både under sure og basiske forhold. Dette skaper spesielt problemer når forbindelsen er delvis beskyttet; dette fører til at hovedproduktet som dannes er det som er mest stabilt.¹¹⁰



Skjema 1-19. Acetylering ved bruk av eddiksyreanhydrid og deacetylering ved bruk av natriummetoksid i metanol.

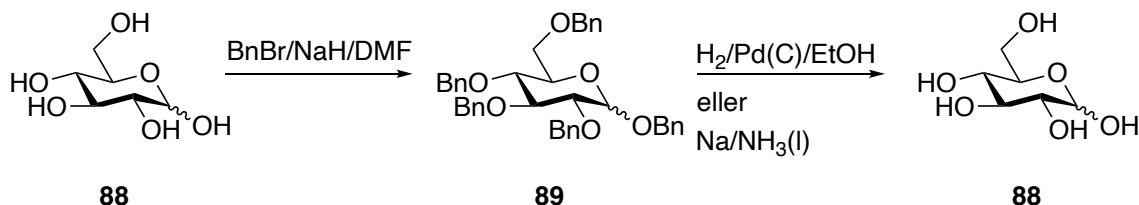
Fjerning av ester-beskyttelsesgruppene utføres med katalytisk mengde av natriummetoksid i metanol, noen ganger med en co-solvent. Eventuelt kan andre basiske forhold, som ammoniakk i metanol, brukes.⁶⁴ Selektiv deacetylering kan utføres med hydrazin-monohydrat ($\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$), for eksempel den selektive fjerning av C1-acetatgruppen.¹¹¹

1.5.3.2 Eter

Bruk av etere, og da spesifikt metyleter ($-\text{OCH}_3$) og metoksymetyleter ($-\text{OCH}_2\text{OCH}_3$), til beskyttelse av alkoholer brukes mye i organisk syntese. Disse gruppene avbeskyttes i surt miljø, noe som er problematisk i glykosidsyntese da acetalet er sensitivt for hydrolyse under sure betingelser.¹¹² Derimot er acetalet mer resistent mot base, hydrid reduksjon og hydrogenolyse; derfor brukes for eksempel benzyl- og trimetylsilyl-grupper.

Benzyl-etere er utmerkede beskyttelsesgrupper, og er både resistent mot sterke syrer og baser.¹¹³ Standard betingelser for benzylering er benzylbromid og natriumhydrid i et aprotisk

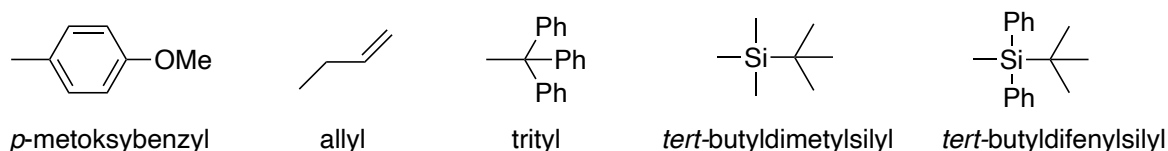
polart løsemiddel (MeCN, EtOAc, THF) (Skjema 1-20).⁶⁴ Ved base-sensitive grupper i molekylet, for eksempel estere, kan Ag₂O brukes som base, eller benzyl-trikloracetimidate eller benzyl-triflat som reagens. Selv om dette er brukende alternativer så er de mindre effektive, og kan bare brukes til å beskytte en eller noen få grupper.⁶⁴



Skjema 1-20. Benzylering og debenzylering av sukker.

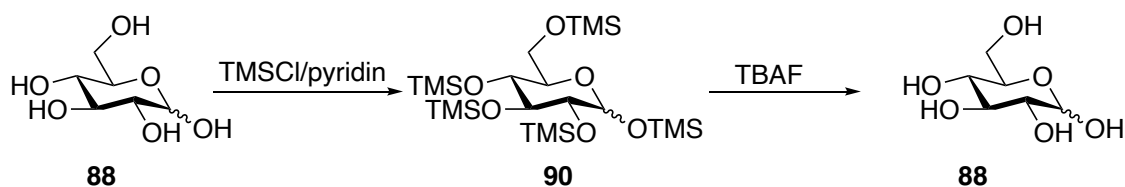
Avbeskyttelse av benzyl-eter gjøres normalt ved katalytisk hydrogenolyse med ulike Pd-katalysatorer. Dersom molekylet inneholder funksjonaliteter som kan påvirke katalysatoren (som tio- og amino-grupper), kan alternativt Birch-reduksjon (Na/NH₃(l)) benyttes. Denne typen reduksjon fjerner benzyl-eter raskt og er overraskende mild mot andre funksjonaliteter som fosfater og hemiacetalet på det reduserende sukkeret.¹¹⁴

Beskyttelsesgruppene *p*-metoksybenzyl-, allyl-, trityl- og silyl-eter er de mest brukte eter-beskyttelsesgruppene etter benzyl-eter. *p*-metoksybenzyl- og allyl-eter dannes normalt under sterke basiske forhold, mens trityl- og silyl-eter dannes under svake basiske forhold.



Figur 1-15. Alternative beskyttelsesgrupper: *p*-metoksybenzyl, allyl, trityl, *tert*-butyldimetylsilyl og *tert*-butyldifenylsilyl.

Silyl-eter, som trimetylsilyl (TMS), *tert*-butyldimetylsilyl (TBS) og *tert*-butyldifenylsilyl (TBDPS), har blitt mer og mer vanlig i karbohydratsyntese; mye på grunn av deres stabilitet. Stabiliteten er nært knyttet til den elektroniske og steriske effekten til substituentene på silisiumatomet, og er generelt proporsjonal med den steriske hindringen gitt av disse (substituentene).¹¹³ Et mulig problem med silyl-eter er deres sensitivitet for hydrolyse, noe som hindrer bruken av silikagel-kolonne.¹⁰⁹ Standard betingelser for silylering er klorosilan i nærvær av base, f.eks. pyridin eller trietylamin (Skjema 1-21).¹¹⁵

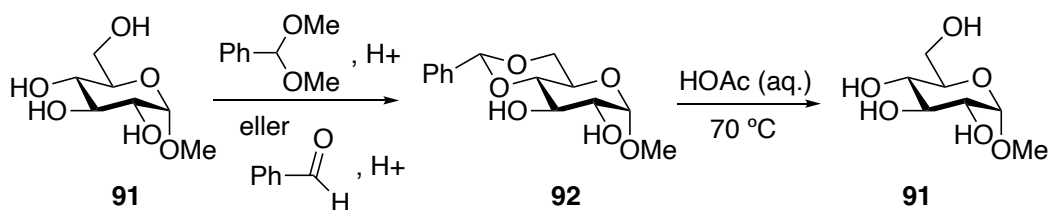


Skjema 1-21 Silylering og desilylering av D-glukose.

Silyleterer fjernes vanligvis med tetra-*n*-butylammonium-fluorid (TBAF), eller HF/pyridin; men de kan også fjernes ved basisk eller sur hydrolyse.

1.5.3.3 Sykliske acetaler

Sykliske acetaler brukes for å beskytte to hydroksylgrupper samtidig, og inkluderer benzytiden og isopropyliden. Fordelen med acetaler som beskyttelsesgrupper er at de enkelt introduseres regioselektivt, i tillegg til det store antallet mulige modifikasjoner (av benzytiden-acetaler) som gir ulike beskyttelsesmønstre.⁶⁴ Beskyttelse som benzytiden skjer under standard acetyleringsforhold; aldehydet eller dimetoksy-acetalet fungerer som reagenser sammen med en syrekatalysator (Skjema 1-22).¹¹⁶



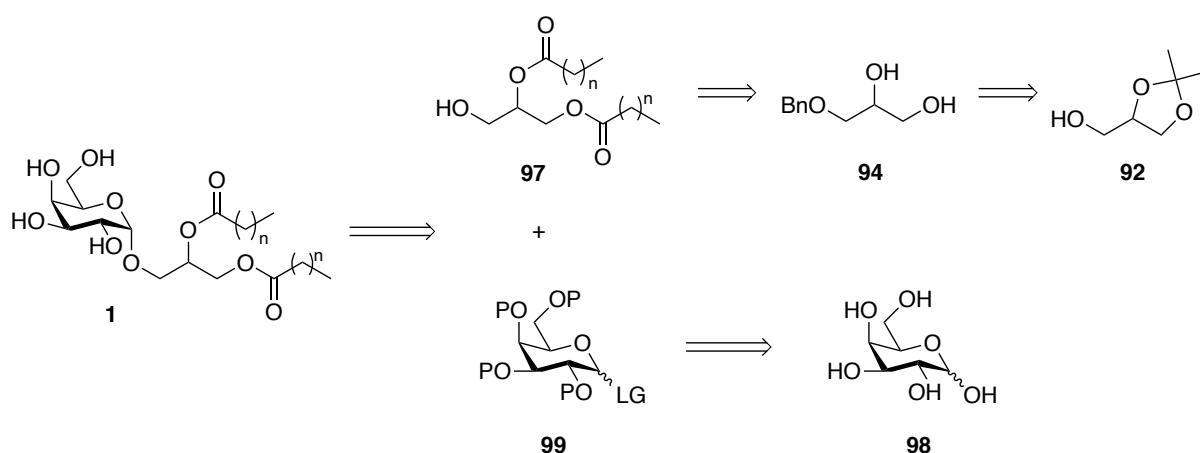
Skjema 1-22. Benzyliering og debenzyliering av metyl- α -D-glukopyranosid.

Acetalkløvning kan oppnås ved syrehydrolyse, hvor eddiksyre ved høy temperatur eller TFA (trifluoracetic acid) ved 0 °C ofte benyttes.

2 Resultater og Diskusjon

2.1 Strategi A

For syntesen av målmolekyl **1** ble det forsøkt tre ulike strategier. Den første var en konvergent strategi, hvor glyserolfragment **97** ble syntetisert på forhånd før den kobles med glykosyldonor **99**, som Skjema 2-1 viser. Fordelen ved å bruke en konvergent strategi under karbohydratsyntese, er at færre trinn gjøres etter glykosyleringen, hvor det dannes et acetalmotiv, som er vist å være sensitivt mot silika. Ved en alternativ lineær strategi må glykosidet tåle gjentatte opprensingstrinn på silikagel, noe som kan skape problemer på grunn av deres sensitivitet mot surt miljø.



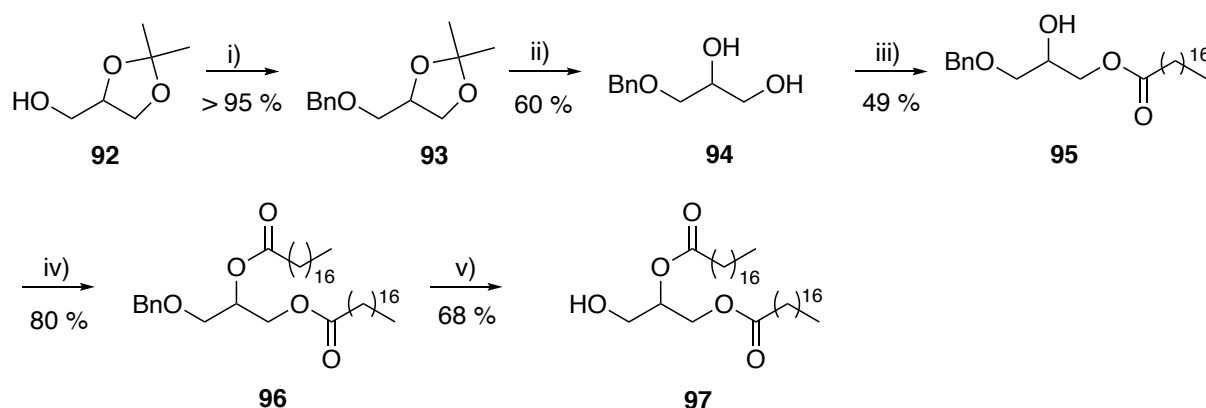
Skjema 2-1. Retrosyntese av forbindelse **1**.

Syntesestrategi A baseres på en «one-pot» prosedyre, utarbeidet av Du *et al.*¹¹⁷, hvor tetra-*O*-silylert galaktosyljodid kobles med en fullt funksjonell akseptor via en *O*-glykosylering.

Per-O-silylert galaktosyljodid ble valgt da disse er mye mer reaktive enn *per-O*-benzylert galaktosyljodid. Du *et al.*¹¹⁷ rapporterte for eksempel at *per-O*-benzyl galaktosyljodid ikke vil undergå glykosylering med en ceramid-akseptor, men det gjør *per-O*-silylert galaktosyljodid. Andre fordeler ved *per-O*-silylert galaktosyljodider er at de enkelt kan genereres kvantitativt ved reaksjon med trimetylsilyl-jodid (TMSI). I tillegg hydrolyseres disse silyleterene under svakt sure ionebytter-resin, som er rapportert å ikke påvirke glykosidbindingen.¹¹⁷ Det er også rapportert at *per*-silylert galaktosyljodider gir stereoselektiv dannelse av α -glykosidet.⁸¹

Denne strategien ble utført som et testsystem, da det fra tidligere arbeid til Osmani¹¹⁸ var utfordringer med koblingsreaksjonen. Det er ønskelig med mettede C₁₇- og C₁₉-fettsyrer på målmolekylet. Da disse er betraktelig dyrere enn partallsfettsyrer ble det valgt å bruke stearinsyre (C₁₈). På senere tidspunkt er det også ønskelig med umettede fettsyrer.

2.1.1 Syntese av glykosylakseptor **97**



Skjema 2-2. i) NaH, BnBr, DMF, 0°C → r.t., 24 t; ii) 70 % AcOH (aq), 80 °C, 30 min; iii) Stearinsyre (1 eq.), DCC, DMAP, CH₂Cl₂, 0°C → r.t., 12 t; iv) Stearinsyre (1.5 eq.), DCC, DMAP, CH₂Cl₂, 0°C → r.t., 12 t; v) BCl₃, CH₂Cl₂, -78 °C, 30 min.

2.1.1.1 i)

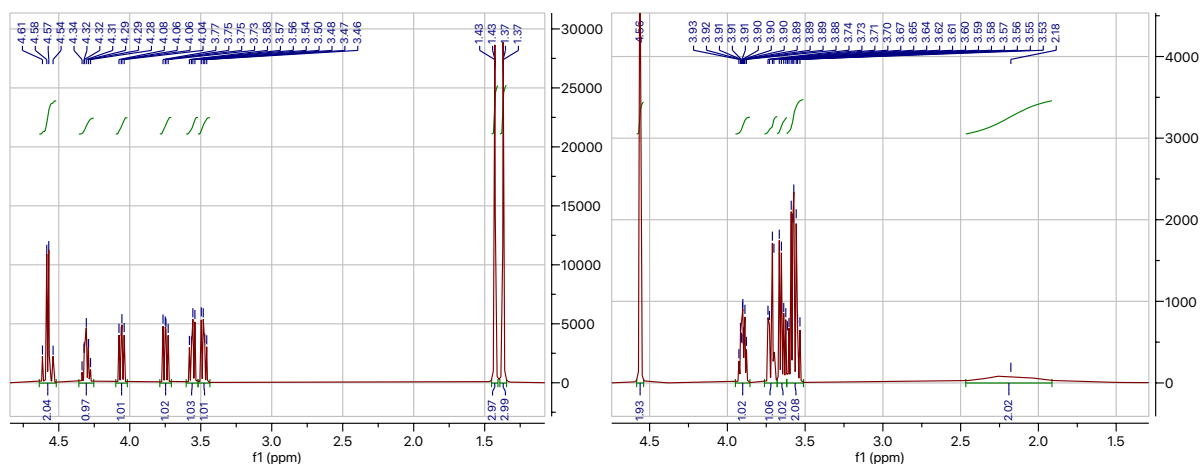
Beskyttelse av 1,2-isopropylidenglyserol (**92**) ble utført med natriumhydrid og benzylbromid, etter prosedyren fra Du *et al.*¹¹⁷. Dette ga 3-*O*-benzyl-isopropylidenglyserol (**93**) i et kvantitativt utbytte. Spektrale data stemte overens med tidligere rapporterte data.¹¹⁷

De karakteristiske resonansene for metylgruppene vises ved 1.37 (3H) og 1.43 ppm (3H) i ¹H NMR; tilsvarende metylkarboner kommer ved 25.48 og 26.86 ppm i ¹³C NMR.

Aromatprotonene gir en karakteristisk resonans ved 7.39-7.26 ppm (5H); med tilsvarende aromatkarboner ved 109.48, 127.80, 127.82, 128.49 og 138.05 i ¹³C NMR. De fire gjenstående karbonene, i form av C-O, kommer som resonanser ved 74.83, 73.59, 71.17 og 66.95 ppm.

Acetonid **93** ble hydrolysert under sure betingelser med eddiksyre. Reaksjonen ga åpent glyserol **94** i et utbytte på 60 %, mot rapporterte utbytte av Du *et al.*¹¹⁷ på 79 % (over to trinn). Dette kommer trolig av at diol **94** bandt seg godt til silikaen under den kromatografiske opprensingen, og det var vanskelig å eluere forbindelsen.

De spektrale dataene stemmer overens med tidligere rapporterte data fra Du *et al.*¹¹⁷ De karakteristiske metylgruppene ved 1.37 (3H) og 1.43 (3H) er ikke lenger tilstede i ¹H NMR (Figur 2-1); tilsvarende gjelder for metylkarbonene i ¹³C NMR. I tillegg kommer det en karakteristisk bred singlet ved 2.18 ppm som indikerer at det er en OH-gruppe i molekylet. Dette bekreftes av en bred absorpsjon ved 3356 cm⁻¹ i IR-spekteret.

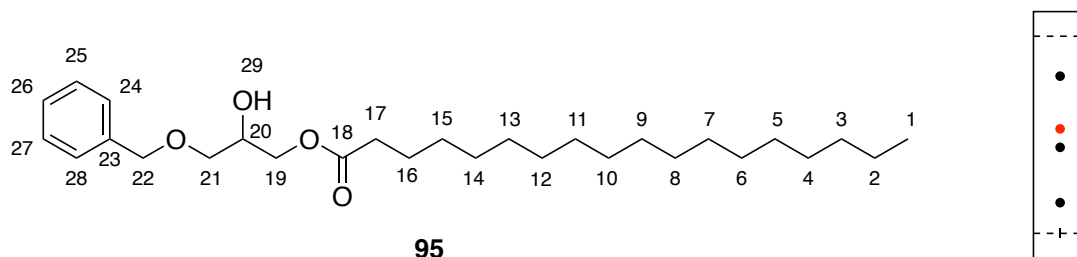


Figur 2-1. ^1H NMR spekter av forbindelse **93** (venstre) og **94** (høyre).

2.1.1.2 ii)

Sn-1 posisjonen på glyserol **94** ble esterifisert under Steglich-betingelser med det dehydrerende reagenset DCC og katalysatoren DMAP. Siden dette var et testsystem, ble det besluttet å feste samme C_{18} -fettsyre på *sn*-1 og *sn*-2 posisjonen. Ved syntese av målmolekylet er det ønskelig med mulighet for C_{17} på den ene og C_{19} på den andre posisjonen. Derfor ble esterifiseringen utført i to trinn for å se om man selektivt kan esterifisere den mer reaktive primære alkoholen først. Dette ble oppnådd ved å tilsette 1 ekvivalent stearinsyre dråpevis over en periode på en time.

Under reaksjonen hydreres DCC og danner den uløselige ureaforbindelsen disykhloheksylurea (DCU) i form av hvite partikler. Råoljen ble filtrert gjennom Celite for å fjerne mesteparten av biproduktet, men de siste restene vedvarte, selv etter flere rensinger med flash-kolonnekromatografi. Derfor ble forbindelsen filtrert gjentatte ganger, i kombinasjon med nedkjøling, før rensing med flash-kolonnekromatografi. Opprensing med flash-kolonnekromatografi var utfordrende da det var små forskjeller i retensjonsverdiene (R_f) mellom ønsket produkt og biprodukt. Dette kommer trolig av lignende biprodukter, for eksempel biprodukter med fettsyren på den sekundære alkoholen, som dermed har lignende polaritet.



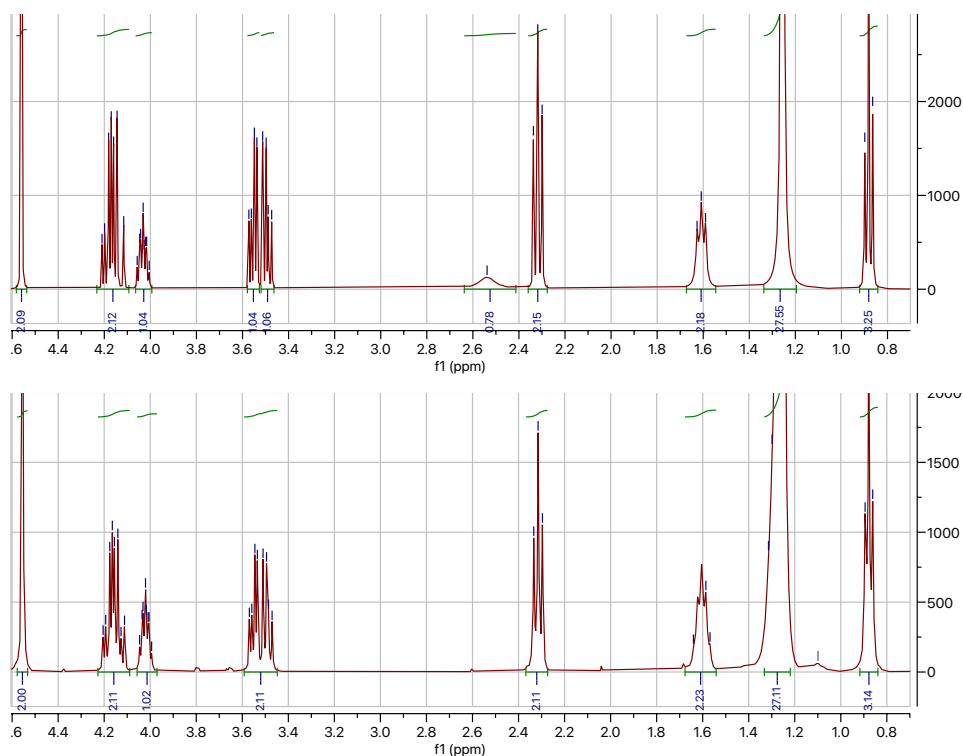
Figur 2-2. Struktur til forbindelse **95** og TLC-plate hvor forbindelse **4** har en R_f -verdi på 0.53 (rød spot).

Reaksjonen ga acyl-glyserol **95** i et utbytte på 49 %, mot rapporterte 58 %¹¹⁷. Dette kommer antageligvis av en kombinasjon av utfordrende opprensing, samt bruken av kun én ekvivalent stearinsyre. ¹H NMR viser en karakteristisk resonans for metylgruppen (C-1) i fettsyren ved 0.88 ppm (3H), signalet ved 1.26 ppm (28H) representerer protonene fra C-2 til C-15, protonene på C-16 kommer ved 1.61 ppm (2H), og signalet ved 2.32 ppm (2H) tilsvarer protonene ved C-17.

De karakteristiske protonene i acyl-glyserol **95** (C-19 og C-20) fikk en forskyvning i skift, i forhold til diol **94**. Resonansen ved 4.09-4.23 ppm (2H) (C-19) hadde en gjennomsnittlig forskyvning på 0.47 ppm, som indikerer at hydroksylgruppen ble omdannet til en ester (se Figur 2-1 og Figur 2-3). Tilsvarende ses en mindre forskyvning på 0.13 ppm ved signalet som representerer C-20. Dette indikerer at fettsyren er koblet til alkoholen som forventet.

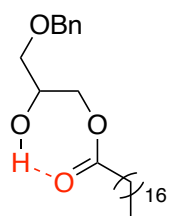
Karakteristiske ¹³C NMR-resonanser bekrefter dannelsen av esteren. Karbonylkarbonet (C-18) kommer ved 174.08 ppm og karbonene i fettsyrekjeden (C-1 til C-17) kommer ved 14.25-34.29 ppm.

For å bekrefte koblingen ble det tatt opp et IR-spekter med forventning om en OH-strekk. Spekteret viste en absorpsjon ved 3451 cm⁻¹ som representerer denne strekken, i tillegg kommer C=O-strekken ved 1739 cm⁻¹. Intensiteten til absorpsjonen ved 3451 cm⁻¹ var noe lavere en forventet; derfor ble prøven ristet med D₂O for å se om det labile protonet fra hydroksylgruppen ble erstattet av deuterium. Resultatet av dette viste at den brede resonansen ved 2.54 ppm (1H) forsvant ved risting med D₂O, se Figur 2-3, og det kan derfor konkluderes med at hydroksylgruppen var til stede.



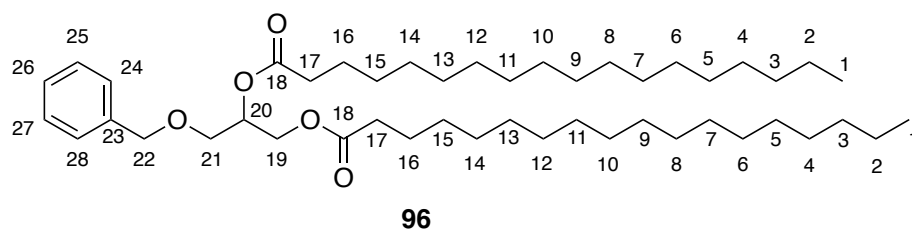
Figur 2-3. Før og etter risting med D_2O , for forbindelse **95**.

Det lave strekket i IR kan forklares med de intramolekulære interaksjonene som oppstår mellom hydroksylgruppen og karbonylgruppen. De bindes sammen av en hydrogenbinding for å danne en 7-ring (Figur 2-4).



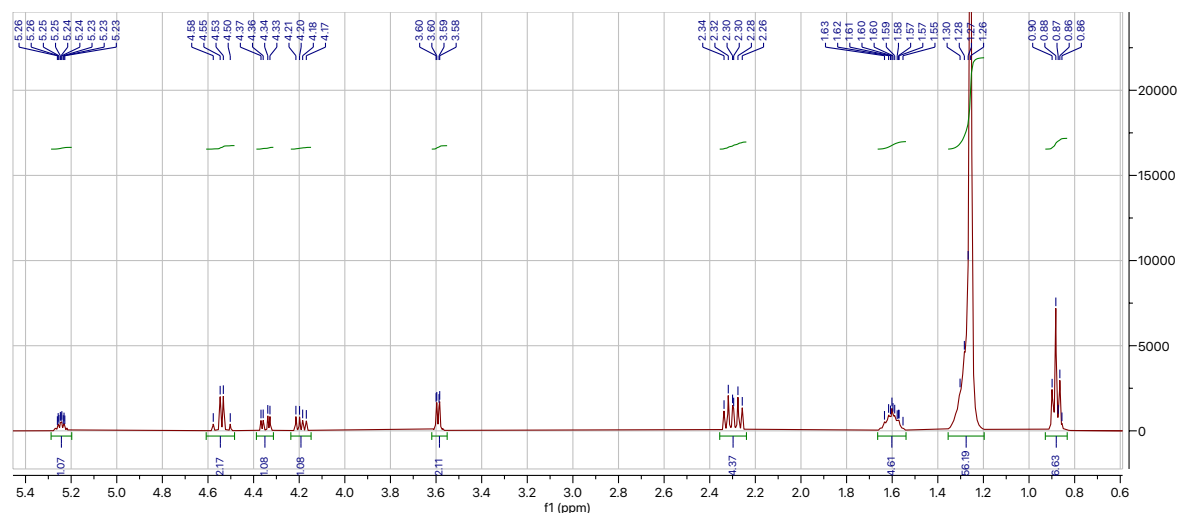
Figur 2-4. Intramolekulær interaksjon mellom hydroksyl- og karbonylgruppen.

Posisjon *sn*-2 ble esterifisert under samme forhold som for forbindelse **95**, med unntak av mengde stearinsyre som nå ble justert fra 1 ekvivalent til 1.5. Dette medførte et betraktelig bedre utbytte på 80 %, kontra 49 % for forbindelse **95**. I likhet med opparbeidelsen for forbindelse **95** var det nødvendig å filtrere løsningen gjentatte ganger for å fjerne DCU.



Figur 2-5. Struktur til forbindelse **96**.

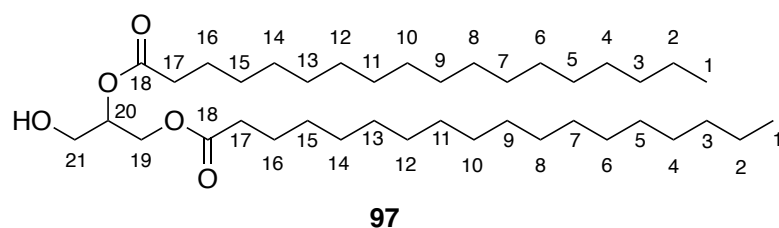
De spektrale dataene for diacyl-glycerol **96** indikerer at riktig forbindelse ble dannet. ^1H NMR viser de karakteristiske resonansene for fettsyrene ved 1.26 ppm, med en tydelig dobling i integralet fra 28H til 56H i forhold til acyl-glycerol **95**. Tilsvarende dobling ses på resonansene ved 2.30 og 1.61 ppm; med en økning fra 2H til 4H. I tillegg har den karakteristiske resonansen for hydroksylgruppen forsvunnet.



Figur 2-6. Utsnitt av ^1H NMR-spekteret for diacyl-glycerol **96**.

I likhet med protonene i glyserolen for forbindelse **95** fikk også forbindelse **96** en tydelig forskyvning i skift. Protonet ved C-20 fikk en økning på 1.21 ppm på grunn av de nå to elektronegative karbonylgruppene. De resterende toppene i ^1H NMR er i overensstemmelse med tidligere rapporterte data.¹¹⁷ De spektrale dataene for ^{13}C NMR viser de karakteristiske karbonylkarbonene ved 173.24 og 173.53 ppm. I tillegg observeres det en økning i intensiteten til alkankarbonene i fettsyren ved 14.25-34.48 ppm.

Til slutt ble 3-*O*-benzyl-diacyl-glycerol **96** avbeskyttet med Lewissyren bortriklorid for kløyving av eteren. Alternativt kan hydroksylgruppen avbeskyttes under reduksjon ved bruk av palladium på kull. Det er ønskelig å feste umettede fettsyrer på glyserolen på et senere tidspunkt så derfor er ikke sistnevnte metode foretrukket.



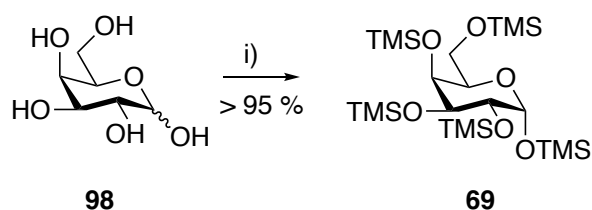
Figur 2-7. Struktur til forbindelse **97**.

Reaksjonen ga et utbytte på 68 %, men opprensingen var krevende på grunn av like biprodukt som ønsket forbindelse; integralene i de spektrale dataene er derfor noe feil. Den karakteristiske toppen for fettsyreprotonene ved 1.25 ppm hadde et integral på 62H fremfor ønsket 56H. Tilsvarende gjelder for metylprotonene ved 0.83-0.92 ppm som fikk et integral på 8H i stedet for 6H. Ellers stemmer spektrale data; de karakteristiske resonansene for benzyl-gruppen ved 7.27-7.38 ppm (5H) og 4.48-4.61 ppm (2H) er borte.

De karakteristiske resonansene for karbonylgruppene vises tydelig i ^{13}C NMR ved 173.58 og 173.94 ppm. Resterende topper er i overensstemmelse med rapporterte data.¹¹⁷ IR-absorpsjonene ved 2853 og 2920 cm^{-1} indikerer et CH-strekk, mens absorpsjonen ved 3485 cm^{-1} kommer fra hydroksylgruppen.

Det totale utbytte for syntesen av glykosylakseptor **97** ble på 16 %, over 5 trinn.

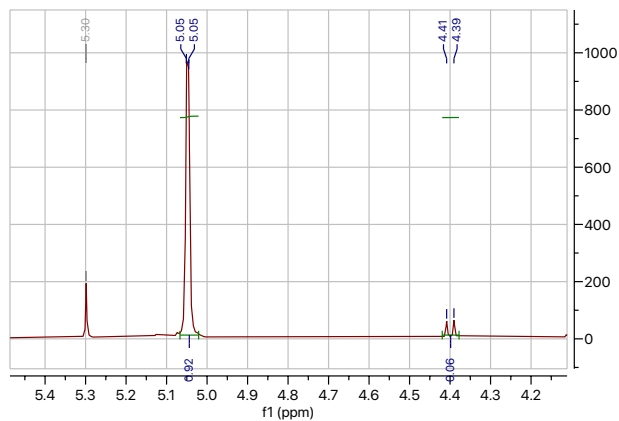
2.1.2 Syntese av penta-silylert galaktose (**69**)



Skjema 2-3. i) TMSCl, pyridin, r.t., 24 t

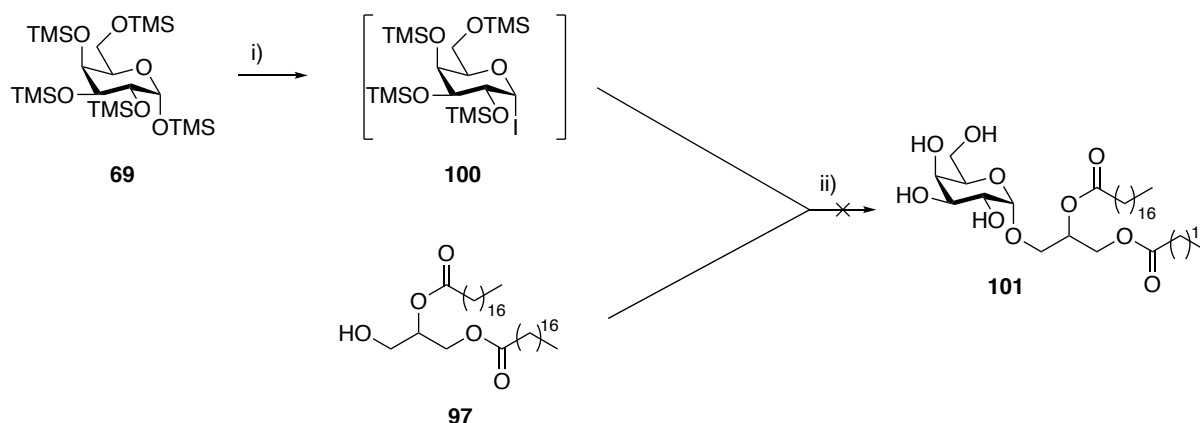
Beskyttelse av galaktose (**98**) med trimetylsilylchlorid i pyridin ble utført etter prosedyre av Uchiyama *et al.*¹¹⁹ Vedvarende rester av pyridin ble destillert av på rotavapor ved 50 °C. ^1H NMR viser de karakteristiske TMS gruppene ved 0.06-0.19 ppm (45H), i tillegg kommer protonet ved det anomere karbonet med høyest resonans ved 5.05 ppm (1H).

Koblingskonstanten kommer på 2.3 Hz, noe som indikerer at α -glykosidet ble dannet, og forholdet mellom α : β finnes til å være 15:1 (Figur 2-8).¹²⁰ De resterende 6 protonene i karbohyratet kommer ved 3.53-3.90 ppm. Resonansen ved 94.74 ppm i ^{13}C NMR er det anomere karbonet, mens toppene mellom 61.36-72.46 ppm er de resterende karbonene i sukkeret. Karbonatomene i silyleter-gruppene kommer som en resonans ved -0.34-0.80 ppm.



Figur 2-8. Utsnitt av ^1H NMR spekter for forbindelse **69** med α -galaktosid (5.05 ppm) og β -galaktosid (4.40 ppm).

2.1.3 Glykosyleringsreaksjon mellom glykosyldonor (**100**) og -akseptor (**97**)



Skjema 2-4. i) TMSI, CH_2Cl_2 , $0^\circ\text{C} \rightarrow \text{r.t.}$, 20 min; ii) (1) MS (pulver), TBAI, DIPEA, CH_2Cl_2 , r.t., 36 t (2) MeOH, Dowex 50W-X8, r.t., 4 t.

Videre ble det forsøkt å utføre en koblingsreaksjon mellom glykosyldonor **100** og glykosylakseptor **97**. Denne «one-pot»-reaksjonen består egentlig av tre enkle reaksjoner:

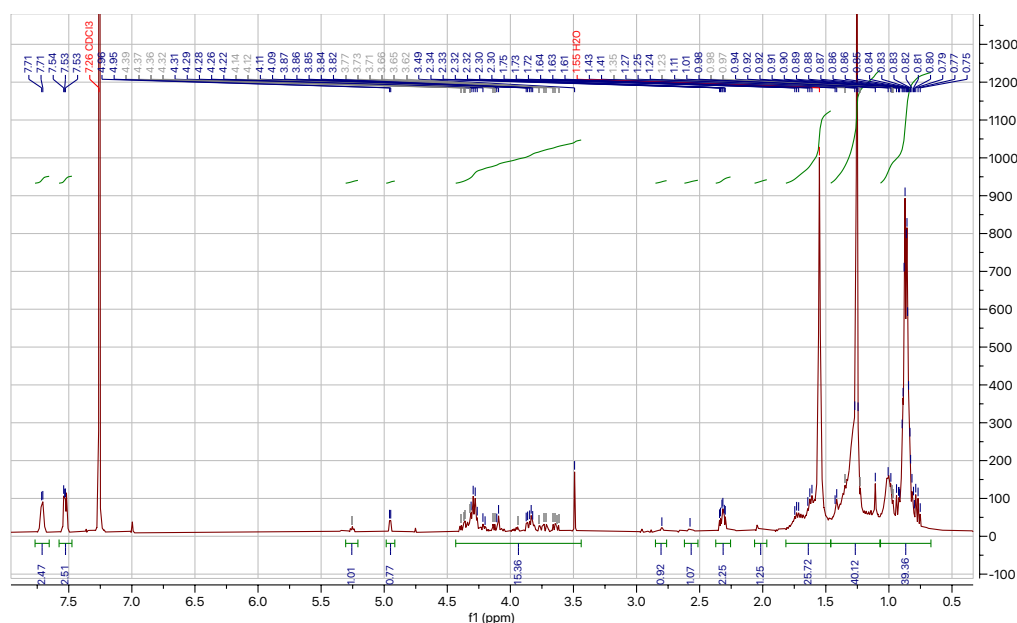
- (1) Dannelse av glykosyljodid **100**, *in situ*, fra penta-silylert galaktose **69**.
- (2) Glykosyleringsreaksjon med dannelse av *O*-glykosidet.
- (3) Fjerning av TMS-gruppene.

Penta-silylert galaktose **69** ble reagert med TMSI for å gi glykosyljodid **100**. Reaksjonen ble forsøkt fulgt med tynnsjikt-kromatografi, men siden jodidet er lyssensitivt var dette vanskelig. Det ble også tatt opp et ^1H NMR-spekter for å se om glykosyljodidet var dannet, men i likhet med TLC var dette utfordrende på grunn av reaktiviteten. Opprensing av forbindelsen var derfor utelukket.

Glykosyljodid **100** ble addert til akseptor **97**, som på forhånd var blandet med TBAI, en promotor som det er rapportert at akselererer dannelsen av α -glykosidet gjennom *in situ* anomerisering¹²¹. I tillegg ble det brukt molekylsiler (MS 4Å) i pulverform for å sikre tørre forhold. Etter denne delreaksjonen ble det også tatt opp et ¹H NMR-spekter av råoljen, men det var vanskelig å tolke noe ut ifra dette, mye på grunn av dominerende signaler fra TBAI.

Til slutt ble TMS-beskyttelsesgruppene fjernet ved bruk av metanol og Dowex ionebytte-resin (50W-X8, 100-200 mesh). Råoljen hadde en vekt på 800 mg mot teoretisk utbytte på 130 mg. Det tyder derfor på at det var mye urenheter i prøven, tilsynelatende DIPEA og TBAI som ble brukt i overskudd. Spektrene fra råoljen var vanskelig å tolke på grunn av dette; verken ¹H NMR eller ¹³C NMR ga noe utslag i karbohydratområdet. Det ble utført opprensing med flashkolonne-kromatografi, med kloroform/metanol som eluentsystem (10:1). For å sikre at den sure silikaen ikke skulle bryte glykosidbinding ble kolonnen vasket med trietylamin (0.1 % i kloroform/metanol 10:1).

Flere forbindelser ble separert under opprensingen og tatt spekter av, men ingen ga de karakteristiske resonansene som var i overenstemmelse med ønsket sluttprodukt. Det ble spekulert i om forbindelsen satt på ionebytter-resinet; derfor ble mer løsemiddel brukt for å ekstrahere rester av forbindelsen fra ionebytter-resinet. Et spekter av dette viser mulig dannelse av produkt, med protoner i glyserol- og karbohydratområdet (Figur 2-9), men utbyttet var lavt. Dette i kombinasjon med vanskelig opprensing gjorde at det ble besluttet å prøve en annen strategi etter flere forsøk med samme resultat.

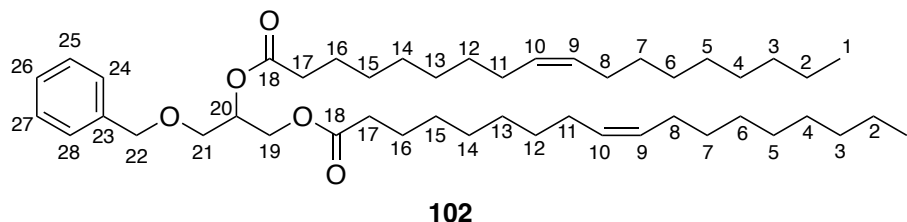


Figur 2-9. ¹H NMR-spekter av råoljen etter ny vask av Dowex 50W-X8 og viser mulig dannelse av forbindelsen.

En mulig forklaring på hvorfor glykosyleringen ikke fungerte kan være løseligheten. Mettede fettsyrer har større vansker med å løse seg siden de lett kan danne miceller. Da vil hydroksylgruppen være lite tilgjengelig for angrep inn på sukkeret. For å utforske denne hypotesen ble en positiv kontroll forsøkt utført; umettede fettsyrer ble festet på glyserolen. I tillegg ville det vært interessant å se om ulike temperaturer og løsemidler har noe å si for glykosyleringen. Du *et al.*¹¹⁷ har rapportert bruk av benzen og diklormetan som løsemiddel, samt varierende temperatur fra romtemperatur til 120 °C hvor mikrobølgestråling ble benyttet ved temperaturer mellom 80 og 120 °C.

2.1.4 Alternativ glykosylakseptor 102

For å undersøke om graden av mettetthet er avgjørende for glykosyleringen ble oljesyre (C18:1) festet på glyserolen. Samme prosedyre som for 3-*O*-benzyl-1,2-distearoyl-glyserol (**96**) ble benyttet, men nå med overskudd av fettsyren (3 eq/1.5 eq for hver OH), da dette er tidsbesparende. Dette ga forbindelse **102** med et utbytte på 84 %. De spektrale dataene er like som for forbindelse **96**, bortsett fra resonansen ved 5.28-5.41 ppm (4H) som representerer de vinylliske protonene (C-9/10) og resonansen ved 2.01 ppm (8H) som er naboprotonene til disse (C-8/11). De karakteristiske alken-karbonene i ¹³C NMR kommer sammen med benzyl-karbonene.



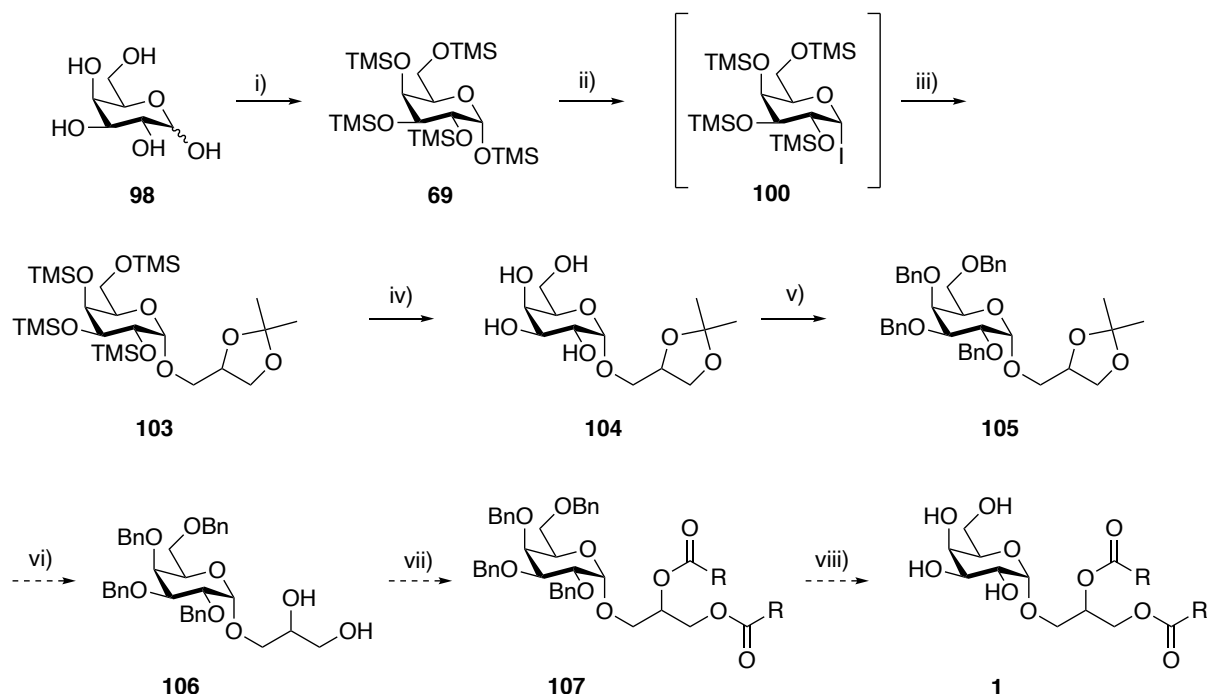
Figur 2-10. Struktur til forbindelse **102**.

Avbeskyttelse ble utført under samme forhold som for **96**, med Lewis-syren bortriklorid. Det ble utført opprensing, men spektrale data (¹H NMR) indikerer at ønsket produkt ikke ble dannet. Resultatet viste utgangsstoff, samt produkt som hadde vært utsatt for acyl-migrering, noe som er et velkjent problem med diacyl-glyseroler.¹²² Acyl-migrering ses i de spektrale dataene ved at signalene har samlet seg, noe som tyder på symmetri i molekylet.

Det mistenktes at dette hadde med avbeskyttelsen å gjøre, da resultatet ble det samme etter gjentatte forsøk. Videre arbeid vil derfor bestå i å avbeskytte ved hydrogenolyse med bruk av palladium på kull.

2.2 Strategi B

På grunn av dårlige utbytter og vanskelig opprensing ved syntese strategi A, ble det bestemt å forsøke en annen tilnærming. En lineær strategi ble prøvd; isopropylidenglyserol festes direkte på sukkeret, før videre hydrolyse og esterifisering, etter prosedyre fra Khan *et al.*¹²³ (Skjema 2-5). Fordelen, i likhet med strategi A, er at glykosylering med per-*O*-silylert-galaktosyljodid gir stereoselektiv dannelse av α -anomerer. Ulempen er derimot at det kreves flere beskyttelses/avbeskyttelses-trinn, da TMS-gruppene ikke tåler det sure miljøet som er nødvendig for å hydrolysere acetonidet; derfor måtte benzyl-grupper benyttes. I tillegg kan denne strategien være problematisk dersom man ønsker å bruke umettede fettsyrer da standard avbeskyttelse av benzyl-grupper også reduserer dobbeltbindingene i fettsyrene.



Skjema 2-5. i) TMSCl, pyridin, rt., 24 t; ii) TMSI, CH₂Cl₂, 0 °C, 30 min; iii) 1,2-isopropylidenglyserol, MS (pulver), TBAI, DIPEA, CH₂Cl₂, rt., 48 t; iv) MeOH, Dowex 50W-X8, r.t., 15 min; v) BnBr, NaH, DMF, 0 °C \rightarrow r.t., 6 t. Videre arbeid: vi) 80 % AcOH (aq), 80 °C, 1 t; vii) Fettsyre (4 eq), EDCl, DMAP, toluen, 70 °C, 12 t; viii) H₂, Pd/C, EtOH:EtOAc (1:1), rt, 18 t.

Syntese av per-*O*-silylert-galaktose 69 ble utført på samme måte som tidligere, etter prosedyre rapportert av Uchiyama *et al.*¹¹⁹

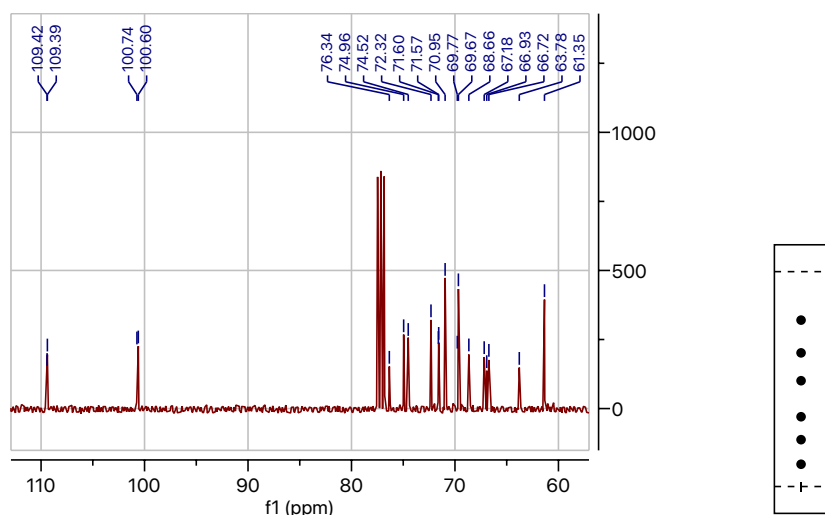
2.2.1 Syntese av isopropyliden-galaktosylglyserol 104

I likhet med strategi A anvender også denne strategien glykosyljodid som glykosyldonor, og syntese av forbindelse 103 og 104 ble utført etter en «one-pot»-prosedyre rapportert av Khan *et al.*¹²³ Glykosyljodid 100 ble generert *in situ* ved bruk av TMSI, før videre glykosylering

med isopropylidenglyserol under samme betingelser som tidligere. Deretter ble løsningen sakte kjølt ned til 0 °C for å felle TBAI ut som krystaller som fjernes med filtrering. Prosessen ble gjentatt dersom flere krystaller felte ut ved ny nedkjøling. Dette var et avgjørende steg i prosedyren, da videre opprensing ble enklere.

Khan *et al.*¹²³ utførte ingen opprensing av forbindelse **103**, men gjennomførte avbeskyttelse direkte på råoljen. På grunn av tidligere erfaringer ble det forsøkt å rense produktet; dette for å se hvilket trinn i glykosyleringen som eventuelt ikke fungerte. Det var utfordrende å rense *per-O*-silylert-galaktose **103**, da TMS-gruppene falt av. Dette ble observert både under selve kolonne-opprensingen, men også på TLC-platene (Figur 2-11). Det var også vanskelig å følge opprensingen med tynnsjikt-kromatografi, da det var vanskelig å detektere forbindelsen på TLC-platene. Forbindelsen ga ikke noe utslag ved fremkallingsmetodene UV, jod eller kaliumpermanganat på grunn av for lave konsentrasjoner.

Et produkt ble isolert og et NMR-spekter ble tatt opp som viser dannelsen av glykosidet, med en blanding av isomerene. En diagnostisk resonans er multipletten ved 4.66 – 4.78 ppm (1H) i ¹H NMR, som representerer det anomere protonet. Dannelse av glykosidbindingen bekreftes i ¹³C NMR, hvor de to anomere karbonene kommer ved 100.60 og 100.74 ppm. I tillegg kommer de karakteristiske acetalkarbonet i acetonidet ved 109.39 og 109.42 ppm. Utfordringer med denne prosedyren var dårlig repeterbarhet med store svingninger i stereoselektiviteten, og dårlige utbytter.

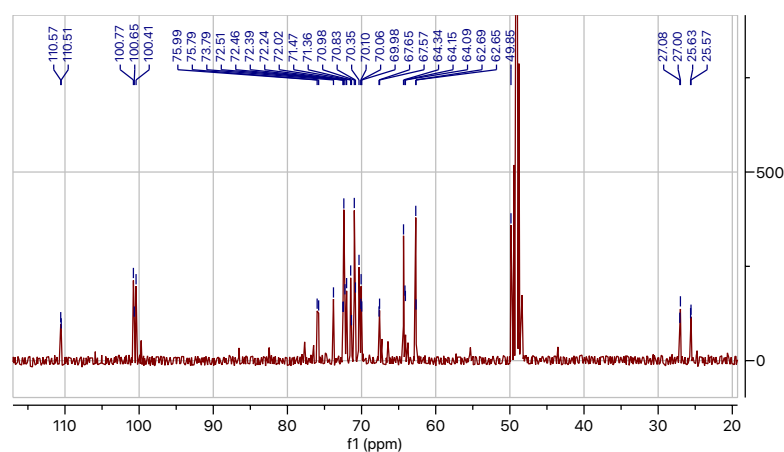


Figur 2-11. Utsnitt av ¹³C NMR-spekteret for forbindelse **103** (venstre) og TLC-plate av råoljen (høyre).

På grunn av de dårlige utbyttene ble det besluttet å utføre prosedyren «one-pot». Det ble gjort flere forsøk på avbeskyttelse med Dowex ionebytter-resin (50W-X8, 100-200 mesh) i metanol

hvor både mengde ionebytter-resin og reaksjonstid ble variert. Lang reaksjonstid, samt mye ionebytter-resin ga hydrolyse av acetonidet i tillegg til fjerningen av TMS-gruppene. Derfor ble reaksjonstiden kortet ned og mengde ionebytter-resin redusert med lovende resultater. Det ble ikke utført opprensing på kolonne da ubeskyttet sukker binder for godt til silikaen.

^1H NMR-spekteret er vanskelig å tolke da de fleste resonansene kommer som multipler. Integralene stemmer heller ikke overens med forventningene, men resonansene for TMS-gruppene er borte. Resonansene i ^{13}C NMR-spekteret er derimot mer lovende; de karakteristiske resonansene for TMS-gruppene er borte. Resten av molekylet er intakt; de anomere karbonene kommer ved 100.41-100.77 ppm, og acetalkarbonet i acetonidet viser en karakteristisk resonans ved 110.51 og 110.57 ppm.



Figur 2-12. Utsnitt av ^{13}C NMR-spekteret for forbindelse **104**.

2.2.2 Syntese av tetra-*O*-benzyl-isopropyliden-galaktosylglyserol **105**

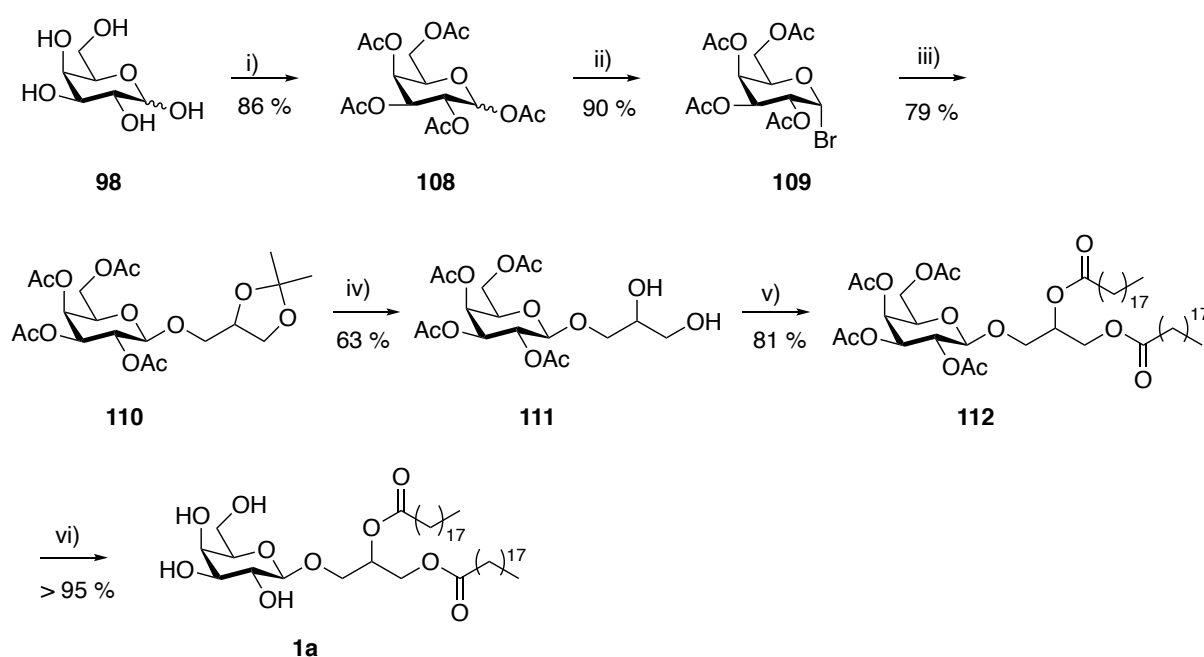
Selv om det var noen tvetydige resultater fra forrige syntesetrinn, ble det allikevel besluttet å gjøre et forsøk på benzylering. Reaksjonen ble utført under standard benzyleringsforhold med natriumhydrid og benzylbromid. Det var avgjørende å tilsette natriumhydrid først, for deretter å tilsette benzylbromid sakte over en time. Opprensing ble forsøkt, men som for isopropyliden-galaktosylglyserol **104** var det vanskelig å følge opprensingen med tynnsjikt-kromatografi.

En forbindelse som ble isolert, viste lovende resultat. Resonanser som indikerer at riktig forbindelse ble dannet er multipletten ved 7.47-7.27 ppm (32H) i ^1H NMR, som representerer aromatprotonene i benzyl-gruppene; tilsvarende aromatkarboner kommer mellom 127.01-138.92 ppm i ^{13}C NMR. Integralene i ^1H NMR er en del høyere enn forventet, da det er en

blanding av produkt og biprodukt/utgangsstoff. De resterende resonansene er også i overensstemmelse med rett produkt. Derimot er utbytte lavt (42 %), og på grunn av dette, i tillegg til vanskelig opprensing gjennom flere trinn og mye usikkerhet rundt de ulike syntesetrinnene, ble det besluttet å ikke gå videre med denne strategien.

2.3 Strategi C

En tredje strategi ble utviklet, hvor per-acetylert galaktosylbromid **109** brukes fremfor per-silylert-galaktosyljodid. Acetylert sukker har ikke blitt brukt tidligere, fordi ved vanlig avbeskyttelse fjernes også fettsyrene. Dette problemet løses ved å bruke hydrazinmonohydrat. Glykosyleringen utføres under Koenigs-Knorr-betingelser med sølvsalt, og selektiv hydrolyse av acetonidet utføres under svakt sure betingelser med sinknitrat heksahydrat. Esterifisering utføres under Steglich-betingelser som tidligere.

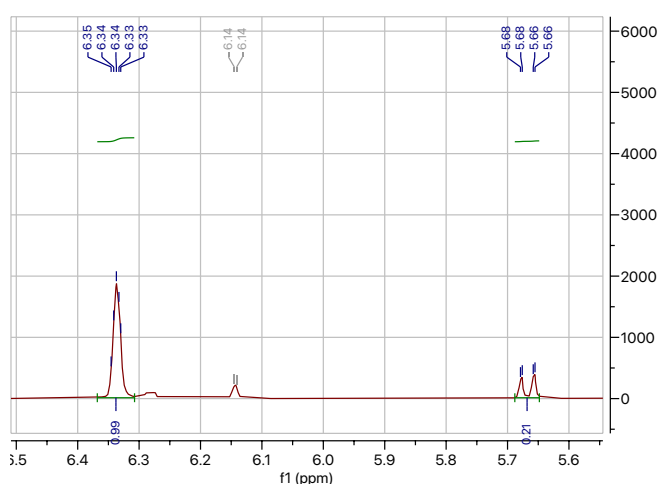


Skjema 2-6. i) Ac_2O , pyridin, r.t., 18 t; ii) $HBr/AcOH$, $0^\circ C \rightarrow r.t.$, 2 t; iii) 1,2-isopropylidenglyserol, Ag_2CO_3 , I_2 , drierite, r.t., 18 t; iv) $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$, acetonitril, $50^\circ C$, 6 t; v) Nonadekansyre (C_{19}), DCC, DMAP, CH_2Cl_2 , $0^\circ C \rightarrow r.t.$, 18 t; vi) $NH_2NH_2 \cdot H_2O$, 85 % EtOH, $40-44^\circ C$, 6 t.

Per-acetylert galaktosylbromid **109**, samt Koenigs-Knorr-betingelser, ble valgt da de genererer den stereoselektive dannelsen av β -1,2-*trans*-glykosidet gjennom NGP. Det er imidlertid noen ulemper ved å bruke Koenigs-Knorr-betingelser, deriblant de harde betingelsene som kreves for å generere glykosylhalider. I tillegg har glykosylhalider lav termisk stabilitet, og de er også sensitive for hydrolyse.⁹³

2.3.1 Syntese av glykosyldonor 109

Først ble D-galaktose (**98**) acetylert med eddiksyreanhydrid i pyridin etter prosedyre av Wu og Sampson¹²⁴. Det ble foretatt flere azeotrop-destilleringer med toluen for å fjerne rester av pyridin. Da det var vanskelig å fjerne de siste restene ble det valgt å benytte en kort kolonne til opprensing. Dette ga penta-acetylert-galaktose (**108**) i et utbytte på 86 %. Spektrale data stemte overens med tidligere rapporterte data.¹²⁵ Det karakteristiske signalet for det anomere karbonet kom ved 6.34 ppm (1H). Det er rapportert at α -galaktosidet får en høyere resonans enn β -galaktosidet, og forholdet mellom α : β finnes derfor til å være 5:1, som det vises av Figur 2-13.¹²⁵



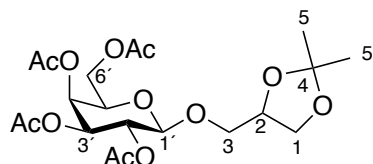
Figur 2-13. Utsnitt av ¹H NMR spekter for forbindelse **108** med α -galaktosid (6.34 ppm) og β -galaktosid (5.67 ppm).

I tillegg kommer de karakteristiske acetyl-metylgruppene ved 1.96-2.01 ppm (9H) og 2.12 ppm (6H). ¹³C NMR-spekteret viser karakteristiske karbonylkarboner ved 168.89-170.30 ppm, i tillegg til karbonatomene på metylgruppene ved 20.50-20.85 ppm. Det karakteristiske anomere karbonet kommer på 89.68 ppm.

Per-acetylert galaktose (**108**) ble bromert ved bruk av HBr i eddiksyre, etter prosedyre av Huang.¹²⁶ Etter opparbeidelse ble løsningen azeotrop-destillert med heksan for å fjerne rester av eddiksyren. Dette ga galaktosebromid **109** i et utbytte på 90 %, utelukkende α -glykosidet. Det karakteristiske anomere protonet kommer ved 6.70 ppm (1H) i ¹H NMR, med en koblingskonstant på 4.0 Hz; noe som indikerer dannelsen av α -glykosidet og bekreftes av litteraturen.¹²⁶ De resterende karbohydrat-protonene kommer mellom 4.11-5.52 ppm. ¹³C NMR-spekteret bekrefter dannelsen av galaktosebromidet; karbohydrat-karbonene kommer mellom 60.92-88.24 ppm, med det anomere karbonet ved 88.24 ppm.

2.3.2 Glykosylering med dannelse av isopropyliden-galaktosylglyserol **110**

Glykosylering mellom tetra-*O*-acetyllert galaktosebromid (**109**) og 1,2-isopropylidenglyserol ble utført under Koenigs-Knorr-betingelser med sølvkarbonat, etter prosedyre rapportert av Mannock *et al.*¹²⁷ Det ble brukt jod som katalysator da det er rapportert at dette hindrer dannelsen av biprodukter.¹²⁸ Dette ga 1,2-isopropyliden-tetra-*O*-acetyllert galaktoseglyserol **110** i et utbytte på 79 %.

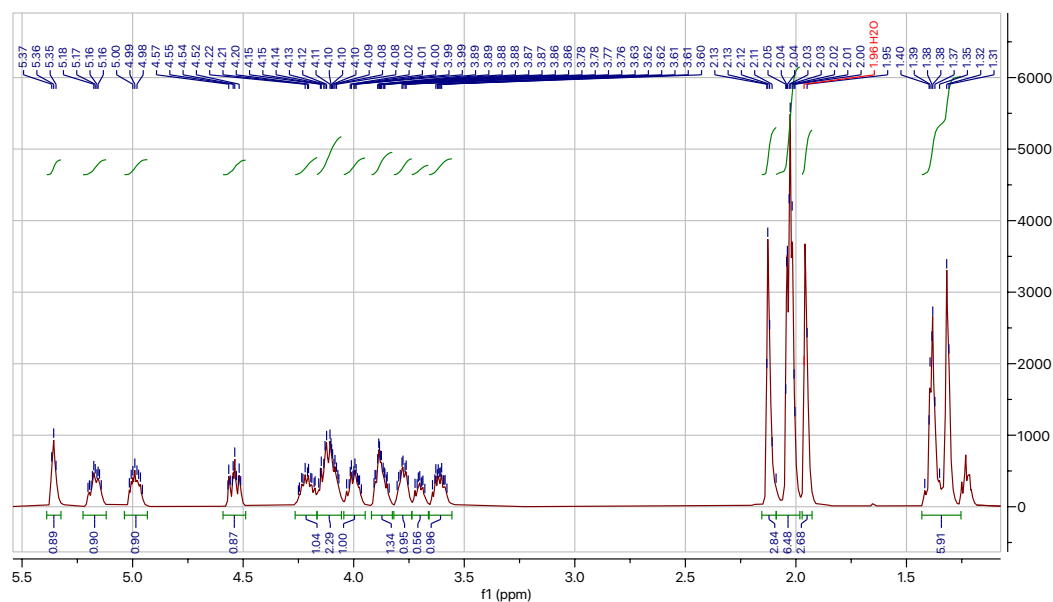


110

Figur 2-14. Forbindelse **110**.

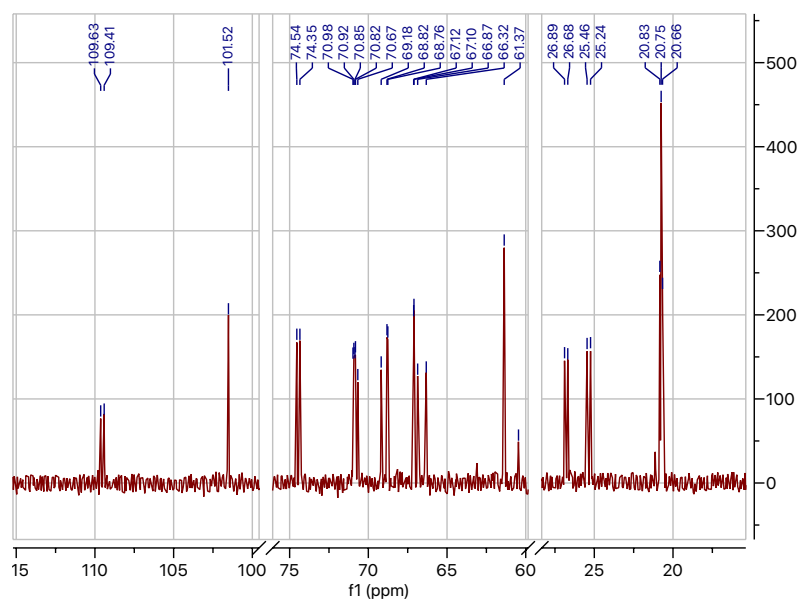
Spektrale data for forbindelse **110** er i overensstemmelse med tidligere rapporterte data.¹²⁹ ¹H NMR resonansene for de karakteristiske metylgruppene i acetonidet (C-5) kommer ved 1.25-1.43 ppm (6H), mens for acetylgruppene kommer de ved 1.96 (3H), 2.00-2.05 (6H) og 2.07-2.15 ppm (3H). Ellers kommer karbohydrat- og glyserolprotonene i området 3.58-5.37 ppm (12 H); med det anomere protonet ved 4.54 ppm (1H) som rapportert av Janwitayanuchit *et al.*¹²⁹

Det anomere protonet kommer som en multipllett, mens Janwitayanuchit *et al.*¹²⁹, som utførte lignende forsøk, rapporterte to overlappende dubletter ved 4.49 og 4.51 ppm, noe de oppga var dannelsen av diastereomerene i et 1:1 forhold. I tillegg oppga de en koblingskonstant på 7.6 Hz, noe som tyder på dannelsen av β -glykosidet. Dette stemmer med teorien, da β -anomeren dannes på grunn av NGP med acetylgruppen på C-2'. Det skal sies at Janwitayanuchit *et al.* brukte en feltstyrke på 300 MHz på NMR-instrumentet, noe som kan forklare hvorfor de får et enklere koblingsmønster. Siden signalet i vårt tilfelle kommer som en multipllett er det vanskelig på dette tidspunktet å fastslå om vi har α - eller β -anomeren.



Figur 2-15. Utsnitt av ^1H NMR-spekteret for forbindelse **110**.

Karakteristiske ^{13}C NMR resonanser bekrefter dannelsen av glykosid **110**, med det anomere karbonet (C-1') ved 101.52 ppm. I tillegg kommer det andre acetal-karbonet (C-4) som to topper ved 109.41 og 109.63 ppm (Figur 2-16). Tilsvarende par kommer også ved 25.24/25.46 og 26.68/26.89 ppm som representerer de to metylgruppene i acetonidet (C-5) og paret ved 74.35/74.54 ppm som er C-2-karbonet i glyserolen. Dette indikerer et 1:1 forhold mellom diastereomerene, som forklares med bruk av 1,2-isopropylidenglyserol i rasemisk blanding. Imidlertid tyder det på høy stereoselektivitet i reaksjonen, men på dette tidspunktet er det vanskelig å avgjøre om det var α - eller β -anomeren som ble dannet.

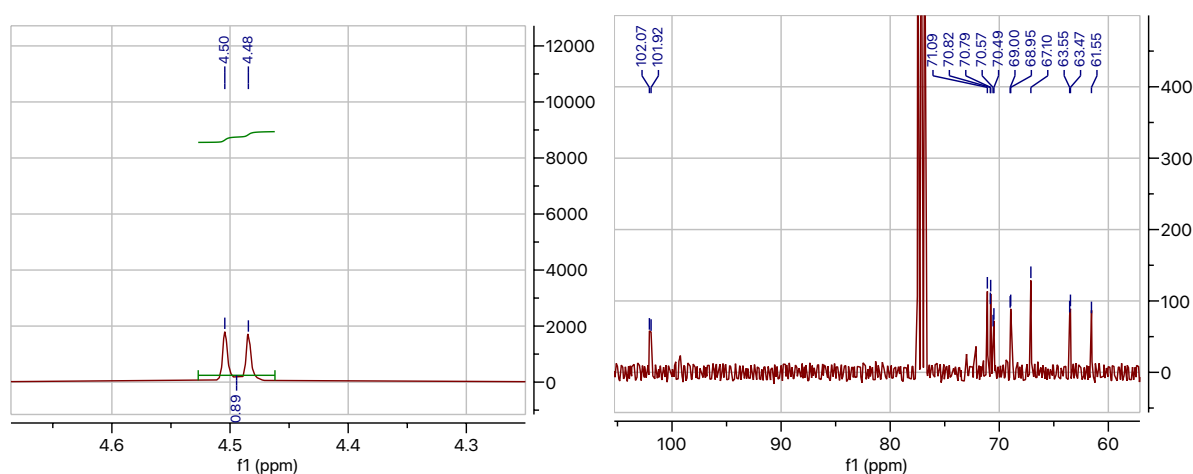


Figur 2-16. Utsnitt av ^{13}C NMR-spekteret for forbindelse **110**.

2.3.3 Syntese av galaktosylglyserol **111**

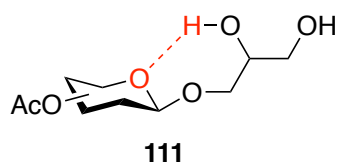
Diol **111** ble dannet ved selektiv hydrolyse av isopropyliden-intermediat **110** ved bruk av 5 eq. sinknitrat-heksahydrat i acetonitril, ifølge prosedyre rapportert av Manzo *et al.*¹³⁰ Reaksjonen ga et utbytte på 63 %, noe lavere enn det rapporterte (77 %). Gruppen til Manzo valgte å rense forbindelsen på silikagel-kolonne. Da det under tidligere syntese av 3-*O*-benzyl-glyserol **94** var problemer med at diol **94** bandt seg til silikaen, ble dette droppet. I tillegg var råolje-forbindelsen relativt ren og opprensing derfor lite nødvendig.

Resonansene i ¹H NMR- og ¹³C NMR-spektrene indikerer at riktig forbindelse ble dannet. De karakteristiske metylgruppene i acetonidet ved 1.25-1.43 ppm i ¹H NMR er borte; tilsvarende resonanser ved 25.46-26.89 ppm i ¹³C NMR er også borte. I tillegg har de karakteristiske resonansene for acetal-karbonet ved C-4 (109.41 og 109.63 ppm) forsvunnet. Resonansen for det anomere protonet kommer ved 4.49 ppm (1H) i ¹H NMR, med en koblingskonstant på 8.0 Hz, noe som bekrefter dannelsen av forventet β-anomer.¹²⁹ I ¹³C NMR spekteret kommer det anomere karbonet som to resonanser på 101.92 og 102.07 ppm, på grunn av de to diastereomerene.



Figur 2-17. Utsnitt av resonansen for β-anomeren i ¹H NMR-spekteret og utsnitt av ¹³C NMR-spekteret for forbindelse **111**.

En mulig forklaring på hvorfor man får to topper ved 102 ppm for diol **111**, men ikke for lukket glyserol **110**, er dannelsen av en 7-ring gjennom hydrogenbinding mellom den frie alkoholgruppen og det endosykliske oksygenet. Dette bidrar til at det stereogene senteret i glyserolen kobler mot sukkeret, noe som ikke er mulig når diolmotivet beskyttes som et acetonid.

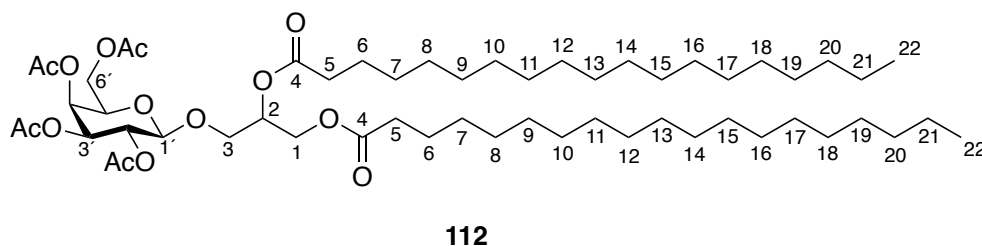


Figur 2-18. Intramolekylær interaksjon mellom hydroksylgruppen og det endosykliske oksygenet i sukkeret.

For å bekrefte dannelsen av diolen ble det tatt opp et IR-spekter. Dette viste karakteristisk OH-absorpsjon ved 3480 cm^{-1} , samt CH-strekk på 2943 cm^{-1} og karakteristisk karbonyl-strekk ved 1746 cm^{-1} .

2.3.4 Syntese av diacyl-galaktosylglyserol 1a

Videre ble *sn*-1 og *sn*-2 posisjonene på forbindelse **111** esterifisert under Steglich-betingelser med nonadekansyre (C₁₉:0). Som tidligere er det ønskelig med ulike fettsyrer på de ulike posisjonene, men på grunn av lite tid ble ett trinn kuttet. Reaksjonen ble utført som tidligere, etter prosedyrer rapportert av Manzo *et al.*¹³⁰ og Du *et al.*¹¹⁷, men nå med en ekvivalent nonadekansyre (C₁₉) per hydroksyl-gruppe.

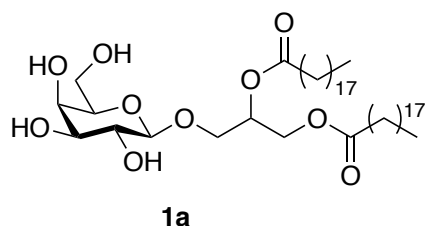


Figur 2-19. Forbindelse **112**.

Opprensing ble utført med flashkolonne-kromatografi, hvor silikaen ble vasket med 0.1 % trietylamin (i Hex:EtOAc 7:3) for å sikre nøytrale forhold. Dette ga diacyl-tetra-acetylgalaktoseglyserol **112** i et utbytte på 81 %. Resonanser som indikerer at riktig forbindelse ble dannet er protonene i fettsyrene; resonansen ved 2.34-2.25 ppm (4H) i ¹H NMR-spekteret representerer α-protonene (C-5) til karbonylgruppene, mens β-protonene på C-6 kommer ved 1.65-1.54 ppm (4H). Resterende fettsyreprotoner (C-7 til C-21) har resonans på 1.25 ppm (60H), mens metylgruppene kommer med en resonans på 0.84-0.90 ppm (6H).

Karakteristiske resonanser i ¹³C NMR-spekteret er de seks karbonyl-karbonene mellom 169.49-173.46 ppm, i tillegg til karbonene i fettsyrekjedene som kommer mellom 14.21 til 34.35 ppm. Ingen absorpsjon i IR ved 3500 cm^{-1} er med på å bekrefte dannelsen av diacylglyserolen. Ellers er det CH-strekk ved 2921 og 2853 cm^{-1} og karakteristisk karbonyl-strekken ved 1741 cm^{-1} .

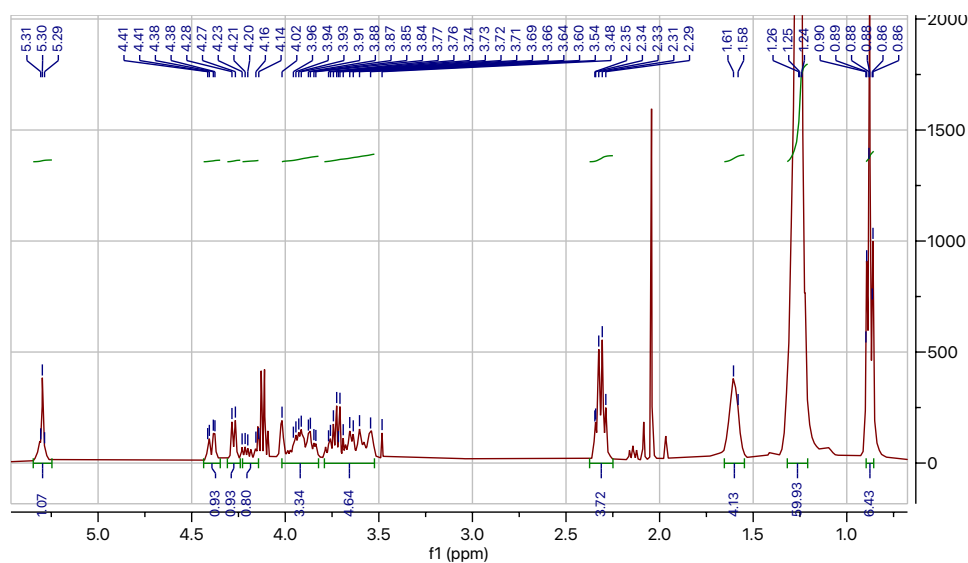
Til slutt ble diacyl-tetra-acetyllert-galaktosylglyserol **112** avbeskyttet med hydrazinmonohydrat i 85 % aq. etanol, etter prosedyrer rapportert av Manzo *et al.*¹³⁰ og Pagano *et al.*¹³¹ Det var avgjørende å holde temperaturen under 45 °C for å sikre selektiv deacylering av acetylgruppene. Ved for høy temperatur løste forbindelsen seg i etanol, og dermed ga deacylering av både acetyl- og acyl-gruppene i glyserolen. Lavere temperatur forårsaker trolig aggregeringen av glykolipidene i miceller, og dermed redusert eksponeringen av fettsyrekjedene for hydrazin.¹³¹



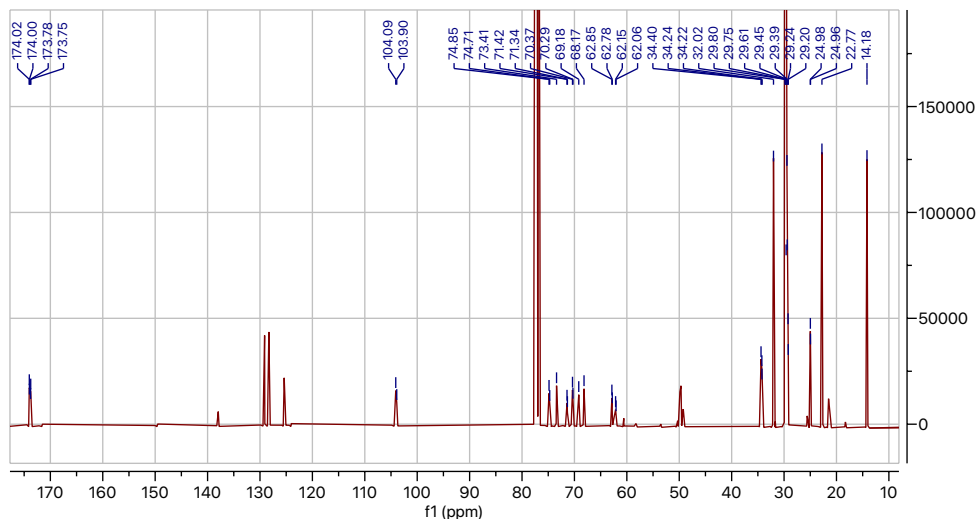
Figur 2-20. Struktur til målmolekyl **1a**.

Reaksjonene ga 1,2-diacyl-galaktosylglyserol **1a**, men det blei ikke tid til videre opprensing. Opprensing kan gjøres ved bruk av flash-kolonnekromatografi med silikagel, noe som er det vanlig rapporterte i litteraturen. Vi har dog hatt varierende resultat med opprensing av ubeskyttet sukker, og alternative opprensinger bør derfor vurderes, for eksempel bruk av alumina som stasjonærfase eller preparativ-HPLC.

Råoljen hadde et kvantitativt utbytte og spektrene viste lovende dannelse av målmolekylet. De karakteristiske acetylresonansene ved 1.98-2.15 ppm i ¹H NMR er ikke lenger til stede; tilsvarende karbonyl-signaler i ¹³C NMR ved 169.49-170.36 ppm er heller ikke til stede.

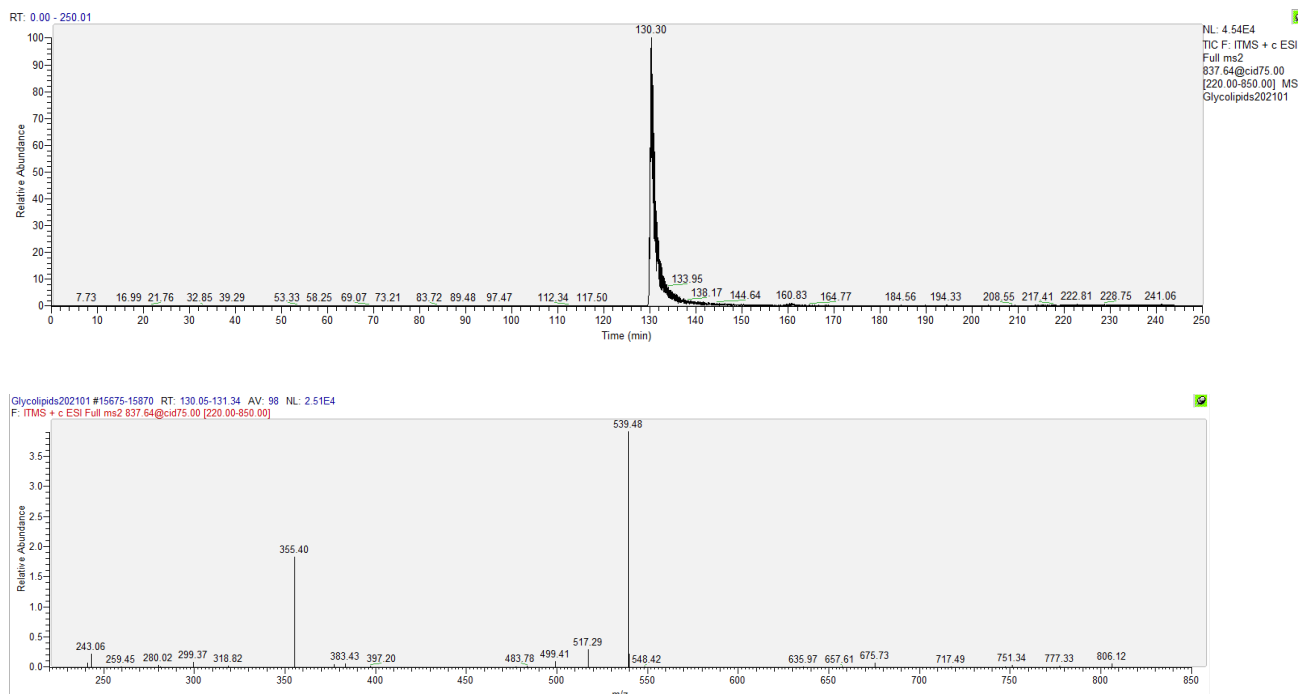


Figur 2-21. Utsnitt av ¹H NMR-spekteret for målmolekyl **1a**.



Figur 2-22. Utsnitt av ^{13}C NMR-spekteret¹ for målmolekyl **1a**.

Karakteristisk IR-absorpsjon ved 3396 cm^{-1} indikerer at det er hydroksylgrupper til stede, og er med på å bekrefte dannelsen av målmolekylet **1a**. Det ble tatt opp et LC-MS/MS-spekter, hvor det ble observert et signal etter 130.30 min, som hadde ønsket m/z på 837.64 [$\text{C}_{47}\text{H}_{90}\text{O}_{10} + \text{Na}$]⁺. Fragmenteringen ved 539.48 m/z er tap av en fettsyre $\text{COOH}(\text{CH}_2)_{15}\text{CH}_3$, mens fragment 657.61 m/z er tap av galaktose. Dette konstaterer dannelsen av målmolekyl **1a** og det totale utbytte for syntese strategi C ble på 31 % over 6 trinn.



Figur 2-23. RIC-spekter (øverst) og MS/MS-spekter (nederst) av målmolekyl **1a**.

¹ Signalene mellom 125-138 ppm i ^{13}C NMR kommer av urenheter, og var ikke til stede i de første spektrene.

3 Konklusjon og videre arbeid

Under syntesen av MGDG **1a** ble det testet en rekke strategier innen karbohydratkjemien, hvor ulike glykosyldonorer og -akseptorer ble brukt, samt ulike glykosyleringsbetingelser.

Strategi A fungerte som et testsystem og var en konvergent syntese som tok i bruk per-silylert galaktose **69**. Denne aktiveres *in situ* med trimetylsilyljodid for å gi galaktosyljodid **100**, hvilket fungerer som glykosyldonor. På forhånd ble diacylglyserol (akseptor) **97** syntetisert fra 1,2-isopropylidenglyserol **92**, med et totalt utbytte på 16 %. Deretter ble det forsøkt kobling mellom glykosyldonor **100** og glykosylakseptor **97** for å gi galaktolipid **101**. Resultatet var vanskelig å tolke med hensyn til spektrale data. En isolert forbindelse viste lovende resultat, men utbyttet var lavt.

En teori om hvorfor glykosyleringen ikke fungerte, var dårlig løselighet for mettede versus umettede fettsyrer. Derfor ble diacylglyserol med oljesyre **101** (C18:1) syntetisert. Under avbeskyttelse med bortriklorid ble det problemer med acyl-migrering. Videre arbeid vil derfor være å bruke alternativ avbeskyttelse med hydrogenolyse. Deretter er det ønskelig å undersøke om ulike temperaturer og løsemidler påvirker glykosylering.

Fremgangsmåten for strategi B var lignende som for A. Galaktosyljodid **100** ble brukt som glykosyldonor, mens 1,2-isopropylidenglyserol ble brukt som akseptor. Reaksjonen ga god dannelse av silylglykosid **103**, derimot var opprensingen utfordrende. Direkte avbeskyttelse med dannelse av 1,2-isopropyliden-galaktosylglyserol **104** ble derfor gjennomført. ¹H NMR-spekteret til forbindelse **104** var vanskelig å tolke på grunn av alle multipllettene. ¹³C NMR-spekteret viste derimot lovende resultat. Benzylering av ubeskyttet sukker **104** ble utført, men reaksjonen ga lave utbytter. På grunn av de mange utfordringene, ble det derfor besluttet å ikke gå videre med denne strategien. I tillegg er denne metoden ikke å foretrekke med tanke på videre arbeid hvor man ønsker å koble umettede fettsyrer til glyserolen.

En siste strategi C ble derfor utviklet, hvor vi gikk bort i fra silylert-galaktosyljodid **100**, men i stedet brukte acetylert-galaktosylbromid **109** som glykosyldonor. Glykosylering mellom bromid **109** og 1,2-isopropylidenglyserol ble utført under Koenigs-Knorr betingelser med sølvkarbonat og jod som katalysator. Dette ga galaktosid **110** i et utbytte på 79 %. Acetonidet i forbindelse **110** ble deretter selektivt hydrolysert ved bruk av sinknitrat-heksahydrat, som ga diol **111** i utbytte på 63 %. Glyserol **111** ble esterifisert med C₁₉-fettsyrer, og sukkeret

deacetylerert for å gi målmolekyl **1a**. Selektiv deacetylering ble oppnådd ved bruk av hydrazinmonohydrat i etanol, hvor temperaturen måtte holdes under 45 °C. Det ble imidlertid ikke tid til opprensing. Det totale utbyttet for syntesen av MGDG **1a** ble på 31 % over 6 trinn.

Videre arbeidet er planlagt hvor fettsyresammensetningen i stortare kvalitativt og kvantitativt bestemmes, og videre testing av bioaktiviteten er av interesse. I tillegg vil arbeidet bestå i å rense målmolekyl **1a**. Flash-kolonnekromatografi med silika kan brukes; alternativt kan alumina brukes som stasjonærfase. Preparativ HPLC kan også brukes, men dette har sine begrensninger siden separasjonen kun kan utføres med små mengder. I tillegg vil videre arbeid dreie seg om å utføre esterifiseringssteget i to trinn med andre kombinasjoner av C₁₇- og C₁₉-fettsyrene, for å danne målmolekyl **1b-d**; dessuten er det ønskelig å bruke umettede fettsyrer. Det er og av interesse å utføre syntesen med dannelse av DGDG **2a-d**.

Andre forbedringer som kan gjøres for strategi A og B er å bruke større og mer stabile silyleterer som beskyttelsesgrupper i stedet for trimetylsilyl-gruppene, da dette kan gjøre opprensingen lettere. En helt annen metode som kan brukes er glykosyl-trikloracetimidat som glykosyldonor, da disse kun krever katalytiske mengder av promotoren for å danne imidatet. Sistnevnte har også vist å kunne gi høy stereoselektivitet i glykosyleringsreaksjonen.

4 Eksperimentelt

Alle reaksjoner ble utført under N₂-atmosfære. Alle syntetiserte forbindelser ble oppbevart kaldt (0 – 4 °C) og under N₂-atmosfære.

Tynnsjiktskromatografi (TLC) ble utført på plater av typen Merck TLC Silica gel 60 F₂₅₄, og fremkalling ble utført med KMnO₄, *p*-anisaldehyd/H₂SO₄ eller jodid. Dersom ikke annet nevnes, ble KMnO₄ brukt. Silikagel 60 (40-63 μm) fra Merck ble brukt under flashkolonnekromatografi.

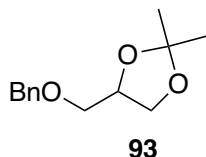
NMR-spektre ble tatt opp på et Bruker Ascent 400-instrument ved 25°C ved 400 MHz for ¹H NMR og 100 MHz for ¹³C NMR. CDCl₃, CD₃OD og D₂O ble brukt som løsemiddel. Spektrene ble behandlet i Mestrenova 14.2.0.

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

HPLC ble utført ved bruk av et UltiMate 3000-instrument, og MS-spektre (ESI) tatt opp på instrument av merket Thermo Scientific LTQ XL lineær ionefelle.

4.1 Strategi A

4.1.1 Syntese av 3-O-benzyl-isopropylidenglyserol (93)



Syntesen ble utført i henhold til det publiserte arbeid av Du *et al.*¹¹⁷

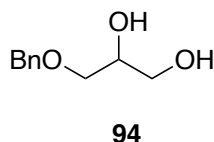
Til en løsning av 1,2-isopropyliden-glyserol (0.959 g/0.90 ml, 7.26 mmol) i DMF (10 mL) ved 0 °C, ble det addert NaH (0.437 g, 10.9 mmol) porsjonsvis. Deretter ble BnBr tilsatt (0.946 g/0.95 ml, 7.98 mmol). Reaksjonen sto på røring over natten ved r.t., før den ble stoppet med 3-5 dråper metanol, fulgt av etylacetat (20 mL) og vann (20 mL). Den organiske fasen ble skilt fra og vannfasen ekstrahert med etylacetat (3 x 20 mL). De samlede organiske fasene ble tørket over Na₂SO₄ og konsentrert under redusert trykk for å få råmaterialet som en lysegul olje. Råoljen ble rensert med flash-kolonnekromatografi (1:1, Hex:EtOAc), dette ga **93** i et utbytte på >95 % (1.54 g, 6.93 mmol).

R_f 0.92 (Hex:EtOAc 1:1)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.39 – 7.26 (m, 5H), 4.64 – 4.52 (m, 2H), 4.36 – 4.25 (m, 1H), 4.06 (dd, *J* = 8.3, 6.4 Hz, 1H), 3.75 (dd, *J* = 8.3, 6.3 Hz, 1H), 3.56 (dd, *J* = 9.8, 5.7 Hz, 1H), 3.48 (dd, *J* = 9.8, 5.6 Hz, 1H), 1.43 (d, *J* = 0.7 Hz, 3H), 1.37 (d, *J* = 0.7 Hz, 3H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 138.05, 128.49, 127.82, 127.80, 109.48, 74.83, 73.59, 71.17, 66.95, 26.86, 25.48.

4.1.2 Syntese av 3-O-benzyl-glyserol (94)



Syntesen ble utført i henhold til det publiserte arbeid av Du *et al.*¹¹⁷

Til 3-O-benzyl-isopropylidenglyserol **93** (0.730 g, 3.28 mmol) ble det tilsatt 70 % AcOH (10 mL). Dette ble varmet opp til 80 °C i 30 min. Løsningen ble så konsentrert

under redusert trykk og renses med flash-kolonnekromatografi (1:2, Hex:EtOAc) som ga **94** i et utbytte på 60 % (0.360 g, 1.98 mmol).

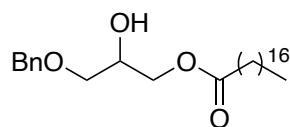
R_f: 0.2 (Hex:EtOAc 1:2)

IR: 3356, 2863, 1454 cm⁻¹

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.41 – 7.26 (m, 5H), 4.56 (s, 2H), 3.90 (m, 1H), 3.72 (dd, *J* = 11.4, 3.9 Hz, 1H), 3.65 (dd, *J* = 11.4, 5.4 Hz, 1H), 3.62 – 3.51 (m, 2H), 2.18 (bs, 2H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 137.79, 128.67, 128.08, 127.94, 73.76, 71.97, 70.73, 64.24.

4.1.3 Syntese av 3-*O*-benzyl-1-*O*-stearoyl-glyserol (**95**)



95

Syntesen ble utført i henhold til det publiserte arbeid av Du *et al.*¹¹⁷

En løsning av 3-*O*-benzylglyserol **94** (0.800 g, 4.39 mmol) i CH₂Cl₂ (24 mL) ble kjølt ned til 0 °C. En løsning av DCC (1.81 g, 8.78 mmol), DMAP (20 mg, 0.164 mmol) og stearinsyre (1.25 g, 4.38 mmol) i CH₂Cl₂ (16 ml), ble addert dråpevis over en periode på en time.

Reaksjonene sto på røring i 12 t ved r.t. Løsningen ble filtrert ved bruk av Celite, og vasket med mettet NaHCO₃ (2 x 40 ml) og saltlake (1 x 40 ml). De organiske fasene ble tørket over Na₂SO₄, og konsentrert under redusert trykk. Produktet ble renses med flash-kolonnekromatografi (gradienteluering Hex → 7:3 Hex:EtOAc → 1:1 Hex:EtOAc) for å gi **95** med utbytte på 49 % (0.970 g, 2.16 mmol).

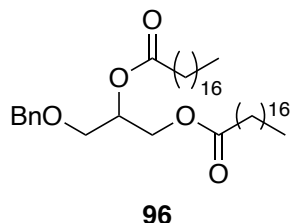
R_f 0.53 (Hex:EtOAc 1:1)

IR: 3451, 2925, 2852, 1739 cm⁻¹

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.38 – 7.28 (m, 5H), 4.56 (s, 2H), 4.23 – 4.09 (m, 2H), 4.03 (tt, *J* = 6.1, 4.4 Hz, 1H), 3.56 (dd, *J* = 9.6, 4.3 Hz, 1H), 3.49 (dd, *J* = 9.6, 6.1 Hz, 1H), 2.54 (bs, 1H), 2.32 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 1.61 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 1.26 (s, 28H), 0.92 – 0.84 (m, 3H).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 174.08, 137.82, 128.62, 128.01, 127.88, 73.65, 71.02, 69.08, 65.49, 34.29, 32.06, 29.83, 29.81, 29.79, 29.74, 29.60, 29.49, 29.39, 29.27, 25.05, 22.82, 14.25

4.1.4 Syntese av 3-*O*-benzyl-1,2-*O*-distearoyl-glyserol (**96**)



Syntesen ble utført i henhold til det publiserte arbeid av Du *et al.*¹¹⁷

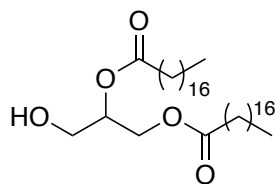
En løsning av DCC (0.304 g, 1.48 mmol), DMAP (8.21 mg, 0.0672 mmol) og stearinsyre (0.265 g, 0.931 mmol) i CH_2Cl_2 (11 ml), ble kjølt ned til 0 °C. En løsning av 3-*O*-Benzyl-1-*O*-stearoyl-glycerol **95** (0.280 g, 0.624 mmol) i CH_2Cl_2 (5.5 mL) ble addert dråpevis og reaksjonen sto på røring ved r.t. over natten. Løsningen ble filtrert gjennom Celite og vasket med mettet NaHCO_3 (2 x 20 ml) og saltlake (1 x 20 ml). Den organiske fasen ble tørket over Na_2SO_4 , og konsentrert under redusert trykk. Forbindelsen ble rensert med flash-kolonnekromatografi (grad.eluering 5:1 → 4:1 Hex:EtOAc) som ga **96** i et utbytte på 80 % (0.360 g, 0.503 mmol).

R_f 0.23 (Hex:EtOAc 4:1)

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.38 – 7.27 (m, 5H), 5.29 – 5.20 (m, 1H), 4.61 – 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, $J = 5.1, 1.2$ Hz, 2H), 2.30 (dt, $J = 17.0, 7.5$ Hz, 4H), 1.66 – 1.55 (m, 4H), 1.26 (s, 56H), 0.93 – 0.85 (m, 6H).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 173.53, 173.24, 137.87, 128.56, 127.91, 127.76, 73.46, 70.15, 68.42, 62.80, 34.48, 34.27, 32.07, 29.85, 29.81, 29.78, 29.64, 29.51, 29.44, 29.27, 29.24, 25.11, 25.03, 22.83, 14.25.

4.1.5 Syntese av 1,2-distearoyl-glyserol (97)



97

Syntesen ble utført i henhold til det publiserte arbeid av Du *et al.*¹¹⁷

Til en løsning av 3-*O*-benzyl-1,2-distearoyl-glyserol **96** (0.100 g, 0.140 mmol) i CH₂Cl₂ (4 ml) ved -70 °C, ble BCl₃ (0.350 mL, 0.350 mmol) (1M i CH₂Cl₂) addert over en periode på 15 min. Reaksjonen sto på røring i 30 min. Løsningen ble forsiktig helt over isvann, og vannfasen ekstrahert med CH₂Cl₂ (10 ml x 3). Den organiske fasen ble tørket over Na₂SO₄ og konsentrert under redusert trykk. Produktet ble rensert ved bruk av flash-kolonnekromatografi (9:1 Hex:EtOAc) for å få **97** i et utbytte på 68 % (0.060 g, 0.0960 mmol).

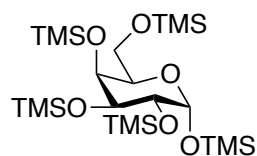
R_f 0.27 (Hex:EtOAc 9:1)

IR 3485, 2920, 2853, 1740 cm⁻¹

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.08 (p, *J* = 5.0 Hz, 1H), 4.32 (dd, *J* = 11.9, 4.5 Hz, 1H), 4.24 (dd, *J* = 11.9, 5.6 Hz, 1H), 4.22-4.07 (m, 1H), 3.73 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 2.33 (dt, *J* = 9.1, 7.6 Hz, 5H), 1.62 (q, *J* = 6.7 Hz, 5H), 1.25 (s, 62H), 0.92-0.83 (m, 8H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 173.94, 173.58, 72.28, 62.14, 61.75, 34.45, 34.27, 32.08, 29.85, 29.81, 29.78, 29.63, 29.61, 29.52, 29.43, 29.40, 29.28, 29.25, 25.10, 25.05, 22.84, 14.27.

4.1.6 Syntese av 1',2',3',4',6'-pentatrimetylsilyl-galaktopyranose (69)



69

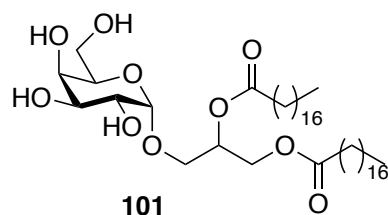
Syntesen ble utført i henhold til det publiserte arbeid av Uchiyama *et al.*¹¹⁹

Til D-galaktose (5.00 g, 27.8 mmol) i pyridin (125 ml) ble trimetylsilyl-klorid (18.0 ml, 142 mmol) sakte tilsatt. Reaksjonen sto på røring ved r.t. over natten. Heksan (350 ml) og knust is (200 ml) ble tilsatt og den organiske fasen ble vasket med isvann (3 x 150 ml) og tørket over Na₂SO₄. Løsningen ble konsentrert under redusert trykk, videre opprensing var ikke nødvendig. Dette ga per-*O*-silylert-glykosid **69** som en klar olje med et kvantitativt utbytte (26.3 mmol, 14.2 g).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.05 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 3.90 (m, 2H), 3.86 – 3.77 (m, 2H), 3.63 (dd, *J* = 9.6, 7.8 Hz, 1H), 3.53 (dd, *J* = 9.6, 5.7 Hz, 1H), 0.19 – 0.06 (m, 45H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 94.74, 72.46, 71.28, 70.63, 70.11, 61.36, 0.80, 0.62, 0.46, 0.33, -0.34.

4.1.7 Forsøk på syntese av 1,2-*O*-distearoyl-3-*O*-galaktopyranosyl-glycerol (**101**)



Syntesen ble utført i henhold til det publiserte arbeid av Du *et al.*¹¹⁷

Til en løsning av 2,3,4,6-tetra-*O*-trimetylsilyl-D-galaktopyranose **69** (0.310 g, 0.573 mmol) i CH₂Cl₂ (7.5 ml) ved 0 °C ble det addert TMSI (0.120 g, 0.600 mmol). Reaksjonen ble beskyttet mot lys, og sto på røring i 20 min før den ble stoppet med vannfri benzen (75 ml). Løsningen ble konsentrert under redusert trykk og den lysegule oljen ble løst i 7.5 ml CH₂Cl₂.

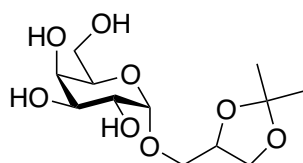
I en separat kolbe ble MS (4 Å, 0.250 g), TBAI (0.550 g, 1.49 mmol), glyserol **97** (0.100 g, 0.160 mmol) og DIPEA (0.194 g/0.26 ml, 1.50 mmol) løst i CH₂Cl₂ (7.5 ml). Reaksjonen sto på røring i romtemperatur før galaktosyljodid **100** ble addert dråpevis og reaksjonen sto på røring ved rt i 36 timer.

Løsemiddelet ble fjernet før MeOH (75 ml) og Dowex 50W-X8 ionebytte resin (2.5 g) ble addert, og reaksjonen sto på røring ved r.t. i 4 t. Dowex ble fjernet ved filtrering. Løsningen ble konsentrert under redusert trykk. Råoljen hadde en vekt på 830 mg. Det resulterende

stoffet ble rensert ved bruk av silikagel-kromatografi (10:1 CHCl₃:MeOH) Kolonnen ble vasket med 0,1 % trietylammin i CHCl₃:MeOH.

4.2 Strategi B

4.2.1 Syntese av 1,2-*O*-isopropyliden-3-*O*-(*D*-galaktopyranosyl)-glyserol (**104**)



104

Syntesen ble utført i henhold til det publiserte arbeid av Khan *et al.*¹²³

TBAI (1.03 g, 2.78 mmol), 1,2-isopropylidenglyserol (0.242 g/0.23 ml, 1.83 mmol) og DIPEA (0.478 g/0.72 ml, 3.70 mmol) ble addert til forhåndsaktivert MS (4Å) i tørr CH₂Cl₂ (13 ml). Løsningen sto på røring ved r.t i 30 min.

I en separat kolbe ble TMS-beskyttet *D*-galaktose **69** (1.00 g, 1.85 mmol) azeotropdestillert med vannfri toluen (2 x 8 ml) og deretter løst i tørr CH₂Cl₂ (4 ml) og kjølt ned til 0 °C.

Deretter ble TMSI (0.402 g/0.29 ml, 2.01 mmol) tilsatt. Isbadet ble fjernet og løsningen sto på røring ved r.t i 30 min.

Deretter ble den *in situ* dannede TMS-galaktosyljodid **100** tilsatt til kolben med akseptoren og løsningen sto på røring i 48 t ved r.t. Løsningen ble filtrert gjennom Celite, for så å kjøles ned til 0 °C slik at TBAI felte ut og ble fjernet med filtrering gjennom Celite. Løsningen ble konsentrert under redusert trykk, for å gi **103**. Det ble forsøkt å rense forbindelsen med flash-kolonnekromatografi (9:1 Hex:EtOAc).

Forbindelse **103** ble løst i MeOH (9 ml), og Dowex 50W-X8 ionebytte resin (0.550 g) ble tilsatt. Løsningen sto på røring i 15 min ved r.t. til ikke noe TMS-beskyttet sukker ble observert på TLC (9:1 Hex:EtOAc). Løsningen ble så filtrert for å fjerne resin og nøytralisert ved å addere DIPEA (til pH = 7). Løsningen ble konsentrert under redusert trykk for å gi en gul olje. Videre opprensing ble ikke gjort.

1,2-*O*-isopropyliden-3-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-trimetylsilyl-*D*-galaktopyranosyl)-glyserol (103**):**

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 4.78 – 4.66 (m, 1H), 4.34 – 4.21 (m, 1H), 4.19 – 4.08 (m, 1H), 4.04 (m, 1H), 3.92 – 3.48 (m, 11H), 3.41 (m, 1H), 1.39 (d, $J = 1.6$ Hz, 3H), 1.34 (d, $J = 1.9$ Hz, 3H), 0.13 – 0.08 (m, 36H).

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 109.42, 109.39, 100.74, 100.60, 76.34, 74.96, 74.52, 72.32, 71.60, 71.57, 70.95, 69.77, 69.67, 68.66, 67.18, 66.93, 66.72, 63.78, 61.35, 26.93, 26.89, 26.72, 25.89, 25.71, 25.53, 1.13, 1.03, 0.74, 0.69, 0.66, 0.62, 0.55, 0.40, 0.37, 0.08, -0.37, -0.39, -0.43.

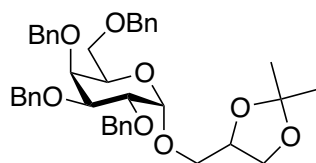
1,2-*O*-isopropyliden-3-*O*-(*D*-galaktopyranosyl)-glyserol (**104**):

IR: 3312, 2943, 2831

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ 4.37 – 4.26 (m, 1H), 4.17 – 3.94 (m, 1H), 3.86 (m, 2H), 3.83 – 3.59 (m, 12H), 3.59 – 3.42 (m, 6H), 1.38 – 1.26 (m, 6H).

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ 110.57, 110.51, 100.77, 100.65, 100.41, 75.99, 75.79, 73.79, 72.51, 72.46, 72.39, 72.24, 72.02, 71.47, 71.36, 70.98, 70.83, 70.35, 70.10, 70.06, 69.98, 67.65, 67.57, 64.34, 64.15, 64.09, 62.69, 62.65, 49.85, 27.08, 27.00, 25.63, 25.57.

4.2.2 Syntese av 1,2-*O*-isopropyliden-3-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-benzyl-*D*-galaktopyranosyl)-glyserol (**105**)



105

Syntesen ble utført i henhold til det publiserte arbeid av Khan *et al.*¹²³

1,2-*O*-isopropyliden-3-*O*-(*D*-galaktopyranosyl)-glyserol **104** (0.480 g, 1.63 mmol) ble azeotropdestillert med DMF og toluen (3 x 6 ml), før deretter å løses i tørr DMF (3 ml). Ved 0 °C ble NaH (0.390 g, 9.84 mmol) (60 % suspensjon i mineralolje) tilsatt, før sakte tilsettelse av BnBr (1.68 g/1.2 ml, 9.84 mmol). Reaksjonen sto på røring i 6 t ved r.t., før den ble stoppet med metanol (2 ml), konsentrert under redusert trykk, og løst i Et₂O (12 ml). Den organiske fasen ble vasket med vann (12 ml) og saltlake (12 ml), tørket over MgSO₄, og konsentrert

under redusert trykk. Produktet ble renset ved bruk av flash-kolonnekromatografi (8:2 Hex:EtOAc) for å få **105** i et utbytte på 42 %.

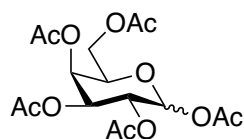
R_f 0.44 (8:2 Hex:EtOAc)

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.47 – 7.27 (m, 32H), 5.04 – 4.59 (m, 11H), 4.59 – 4.30 (m, 5H), 4.21 – 3.91 (m, 6H), 3.71 – 3.43 (m, 6H), 1.46 – 1.25 (m, 6H).

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 138.92, 138.74, 138.06, 128.59, 128.54, 128.45, 128.42, 128.36, 128.33, 127.99, 127.88, 127.80, 127.74, 127.68, 127.55, 127.01, 109.46, 98.24, 78.99, 78.91, 75.24, 74.86, 74.37, 73.56, 73.47, 73.41, 73.26, 73.19, 72.42, 70.32, 70.21, 69.60, 69.47, 69.22, 69.00, 67.09, 26.89, 25.59.

4.3 Strategi C

4.3.1 Syntese av 1',2',3',4',6'-pentaacetat-galaktopyranose (**108**)



108

Syntesen ble utført i henhold til det publiserte arbeid av Wu og Sampson.¹²⁴

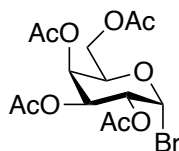
En løsning av D-galaktose (5.00 g, 27.8 mmol) og Ac_2O (25.0 ml, 265 mmol) i pyridin (50 ml) sto på røring ved r.t. over natten. Løsningen ble konsentrert under redusert trykk, og løst i CH_2Cl_2 (30 ml). Den organiske fasen ble vasket med NaHCO_3 (3 x 30 ml), 1M HCl (3 x 30 ml) og saltlake (30 ml), før den ble tørket over Na_2SO_4 . Løsningen ble azeotropdestillert med toluen gjentatte ganger for å fjerne pyridin. I tillegg ble løsningen kjørt gjennom en kort kolonne med silika (1:1 Hex:EtOAc). Dette ga **108** i et utbytte på 86 % (9.35 g, 24.0 mmol).

R_f 0.29 (6:4, Hex:EtOAc, *p*-anisaldehyd/ H_2SO_4 og KMnO_4)

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 6.34 (s, 1H), 5.49 – 5.44 (m, 1H), 5.32-5.29 (m, 2H), 4.31 (m, 1H), 4.11 – 4.02 (m, 2H), 2.12 (m, 6H), 2.01 – 1.96 (m, 9H).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 170.30, 170.10, 170.06, 169.88, 169.84, 168.89, 89.68, 68.74, 67.41, 67.34, 66.43, 61.23, 20.85, 20.77, 20.61, 20.57, 20.50.

4.3.2 Syntese av 2',3',4',6'-tetraacetat-galaktopyranosylbromid (109)



109

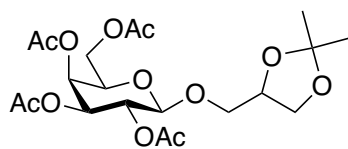
Syntesen ble utført i henhold til det publiserte arbeid av Huang.¹²⁶

Ved 0 °C ble en løsning av HBr i eddiksyre (33 %, 6.80 ml) addert dråpevis til pentaacetat-D-galaktopyranose **108** (0.680 g, 1.74 mmol). Reaksjonen sto på røring i 2 timer ved r.t., før CH_2Cl_2 (20 ml) ble addert. Løsningen ble så forsiktig vasket med isvann (2 x 20 ml), og den organiske fasen tørket over MgSO_4 . Løsningen ble konsentrert under redusert trykk, med gjentatte azeotropdestilleringer med heksan, for å få glykosylbromid **109** i et utbytte på 90 % (0.650 g, 1.58 mmol). Opprensing var ikke nødvendig.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 6.70 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 5.52 (dd, $J = 3.4, 1.4$ Hz, 1H), 5.41 (dd, $J = 10.7, 3.3$ Hz, 1H), 5.05 (dd, $J = 10.6, 3.9$ Hz, 1H), 4.49 (m, 1H), 4.19 (dd, $J = 11.4, 6.4$ Hz, 1H), 4.11 (dd, $J = 11.4, 6.8$ Hz, 1H), 2.13 (m, 6H), 2.06 (s, 3H), 2.01 (s, 3H).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 170.39, 170.13, 169.98, 169.83, 88.24, 71.16, 68.08, 67.85, 67.07, 60.92, 20.82, 20.72, 20.66, 20.64.

4.3.3 Syntese av 1,2-O-isopropyliden-3-O-(2',3',4',6'-tetra-O-acetyl-D-galaktopyranosyl)-glyserol (110)



110

Syntesen ble utført i henhold til det publiserte arbeid av Mannock *et al.*¹²⁷

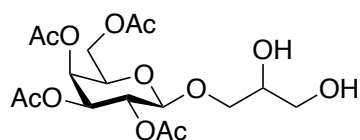
En løsning av Drierite (3.5 g), I₂ (0.178 g, 0.701 mmol), Ag₂CO₃ (0.765 g, 2.77 mmol) og 1,2-*O*-isopropylidenglyserol (0.188 g/0.18 ml, 1.42 mmol) i CH₂Cl₂ (10 ml) sto på røring i 30 min. Kolben ble beskyttet mot lys. En løsning av 2',3',4',6'-tetra-*O*-acetylt-galaktosebromid **109** (1.16 g, 2.82 mmol) i CH₂Cl₂ (10 ml) ble tilsatt dråpevis. Reaksjonen sto på røring ved r.t. over natten, før den ble filtrert gjennom Celite. Forbindelsen ble renset med flashkolonne-kromatografi (6:4 Hex:EtOAc) som ga **110** i et utbytte på 79 % (0.520 g, 1.12 mmol). Kolonnen ble vasket med 0.1 % trietylamin.

R_f 0.18 (Hex:EtOAc 6:4, *p*-anisaldehyd/H₂SO₄ og KMnO₄)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.37 – 5.35 (m, 1H), 5.20 – 5.14 (m, 1H), 5.01 – 4.96 (m, 1H), 4.57 – 4.51 (m, 1H), 4.26 – 4.17 (m, 1H), 4.17 – 4.06 (m, 2H), 4.03 – 3.97 (m, 1H), 3.92 – 3.83 (m, 1H), 3.80 – 3.75 (m, 1H), 3.72 – 3.68 (m, 1H), 3.64 – 3.58 (m, 1H), 2.15 – 2.07 (m, 3H), 2.05 – 2.00 (m, 6H), 1.96 (m, 3H), 1.43 – 1.25 (m, 6H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 170.47, 170.32, 170.23, 169.51, 109.63, 109.41, 101.52, 74.54, 74.35, 70.98, 70.92, 70.85, 70.82, 70.67, 69.18, 68.82, 68.76, 67.12, 67.10, 66.87, 66.32, 61.37, 26.89, 26.68, 25.46, 25.24, 20.83, 20.75, 20.66.

4.3.4 Syntese av 3-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl-β-D-galaktopyranosyl)-glyserol (111)



111

Syntesen ble utført i henhold til det publiserte arbeid av Manzo *et al.*¹³⁰

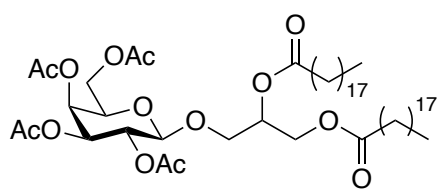
Til 1,2-*O*-isopropyliden-3-*O*-tetra-acetyl-D-galaktosylglyserol **110** (0.520 g, 1.12 mmol) i acetonitril (8 ml) ble 5 eq. Zn(NO₃)₂·6H₂O (1.67 g, 5.60 mmol) tilsatt. Reaksjonsblandingen ble varmet til 50 °C og sto på røring i 6 timer. Deretter ble løsningen konsentrert under redusert trykk, og løst i vann (5 ml) og kloroform (10 ml). Løsningen ble vasket med vann (3 x 10 ml). Den organiske fasen ble tørket over Na₂SO₄, før den ble konsentrert under redusert trykk. Videre rensing ble ikke gjort. Dette ga **111** i et utbytte på 63 % (0.300 g, 0.710 mmol).

IR 3480, 2943, 1746 cm^{-1}

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.42 – 5.36 (m, 1H), 5.22 – 5.16 (m, 1H), 5.04 – 5.00 (m, 1H), 4.49 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 4.16 – 4.10 (m, 2H), 3.97 – 3.56 (m, 6H), 2.15 (d, $J = 1.5$ Hz, 3H), 2.06 (dd, $J = 5.2, 1.6$ Hz, 6H), 1.98 (d, $J = 1.6$ Hz, 3H).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 170.59, 170.33, 170.22, 169.92, 102.07, 101.92, 71.09, 70.82, 70.79, 70.57, 70.49, 69.00, 68.95, 67.10, 63.55, 63.47, 61.55, 20.91, 20.78, 20.68.

4.3.5 Syntese av 1,2-*O*-dinonadekanoyl-3-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- β -D-galaktopyranosyl)-glyserol (**112**)



112

Syntesen ble utført i henhold til det publiserte arbeidet av Manzo *et al.*¹³⁰ og Du *et al.*¹¹⁷

Nonadekansyre (C_{19}) (0.420 g, 1.42 mmol), DCC (0.293 g, 1.42 mmol) og DMAP (17.0 mg, 0.142 mmol) i CH_2Cl_2 (4 ml) ble kjølt ned til 0 °C. I en separat kolbe ble 3-*O*-(2',3',4',6'-tetra-acetyl)- β -D-galaktosylglyserol **111** (0.300 g, 0.710 mmol) løst i CH_2Cl_2 (4 ml), før dråpevis tilsetning til glykosylakseptor-kolben. Løsningen sto på røring over natten ved r.t. Deretter ble løsningen filtrert over Celite og konsentrert under redusert trykk. Forbindelsen ble rensed ved bruk av flash-kolonnekromatografi (7:3 Hex:EtOAc); kolonnen ble vasket med 0.1 % trietylamin. Dette ga **112** i et utbytte på 81 % (0.565 g, 0.575 mmol).

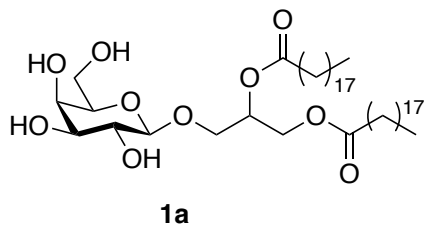
R_f 0.44 (Hex:EtOAc 7:3, *p*-anisaldehyd og KMnO_4).

IR 2921, 2853, 1741 cm^{-1}

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.38 (d, $J = 2.9$ Hz, 1H), 5.22 – 5.16 (m, 2H), 5.00 (dt, $J = 10.5, 3.6$ Hz, 1H), 4.48 (dd, $J = 7.9, 7.1$ Hz, 1H), 4.30 (dt, $J = 11.9, 4.1$ Hz, 1H), 4.18 – 4.06 (m, 3H), 3.98 – 3.86 (m, 2H), 3.67 (ddd, $J = 11.0, 5.7, 1.8$ Hz, 1H), 2.34 – 2.25 (m, 4H), 2.15 (d, $J = 1.5$ Hz, 3H), 2.08 – 2.02 (m, 6H), 1.98 (s, 3H), 1.65 – 1.54 (m, 4H), 1.25 (s, 60H), 0.90 – 0.84 (m, 6H).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 173.46, 173.13, 172.99, 170.36, 170.26, 169.49, 101.75, 101.46, 70.92, 69.95, 69.81, 68.73, 68.67, 67.81, 67.71, 67.06, 62.43, 61.35, 61.28, 34.39, 34.21, 32.07, 29.85, 29.83, 29.80, 29.65, 29.50, 29.45, 29.29, 29.27, 25.03, 22.83, 20.80, 20.71, 14.26.

4.3.6 Syntese av 1,2-*O*-dionadekanoyl-3-*O*- β -galaktopyranosyl-glyserol (**1a**)



Syntesen ble utført i henhold til det publiserte arbeid av Manzo *et al.*¹³⁰ og Pagano *et al.*¹³¹

Til en løsning av 1,2-diacyl-3-*O*-(β -2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-galaktopyranosyl)-glyserol **112** (0.240 g, 0.244 mmol) i 85 % aq. etanol (7 ml) ble det tilsatt 2.4 eq. hydrazin-monohydrat per acetylgruppe (0.11 ml, 2.34 mmol). Løsningen sto på røring i 6 t ved 40-44 °C, før den ble helt over isvann (15 ml) og ekstrahert med kloroform (3 x 15 ml). Den organiske fasen ble konsentrert under redusert trykk for å gi forbindelse **1a**. Det ble ikke tid til videre opprensing. Råoljen hadde et kvantitativt utbytte (0.200 g, 0.245 mmol).

IR 3396, 2915, 2848, 1735 cm^{-1}

^1H NMR (400 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) δ 5.35 – 5.25 (m, 1H), 4.39 (dd, $J = 12.0, 3.5$ Hz, 1H), 4.28 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 4.23 – 4.14 (m, 1H), 4.02 – 3.82 (m, 3H), 3.79 – 3.52 (m, 5H), 2.32 (q, $J = 7.9$ Hz, 4H), 1.62 – 1.58 (m, 4H), 1.30 – 1.22 (m, 60H), 0.90 – 0.86 (m, 6H).

^{13}C NMR (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) δ 174.02, 174.00, 173.78, 173.75, 104.09, 103.90, 74.85, 74.71, 73.41, 71.42, 71.34, 70.37, 70.29, 69.18, 68.17, 62.85, 62.78, 62.15, 62.06, 34.40, 34.24, 34.22, 32.02, 29.80, 29.75, 29.61, 29.45, 29.39, 29.24, 29.20, 24.98, 24.96, 22.77, 14.18.

5 Referanser

1. United Nations - Department of Economic and Social Affairs - Population Division, *World Population Prospects 2019: Highlights*. **2019**. (978-92-1-148316-1 ISBN)
2. FAO, «FAO: Staple foods: What do people eat?». In *Dimensions of Need: An atlas of Food and Agriculture*, **1995**.
3. FAO, *The State of World Fisheries and Aquaculture 2018 - Meeting the sustainable development goals*. **2018**. (978-92-5-130562-1 ISBN)
4. Brown, E. M.; Allsopp, P. J.; Magee, P. J.; Gill, C. I.; Nitecki, S.; Strain, C. R.; McSorley, E. M., Seaweed and human health. *Nut. Rev.* **2014**, 72 (3), 205-216.
5. Sanina, N. M.; Goncharova, S. N.; Kostetsky, E. Y., Fatty acid composition of individual polar lipid classes from marine macrophytes. *Phytochemistry* **2004**, 65 (6), 721-730.
6. Foseid, L.; Devle, H.; Stenstrøm, Y.; Naess-Andresen, C. F.; Ekeberg, D., 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. *J. Lipids* **2017**, 2017, 1029702.
7. Foseid, L. O. Lipids in Norwegian seaweed - An investigation of the fatty acids and glyceroglycolipids in selected seaweed. Norwegian University of Life Sciences, Ås, **2021**.
8. Bruno, A.; Rossi, C.; Marcolongo, G.; Di Lena, A.; Venzo, A.; Berrie, C. P.; Corda, D., Selective in vivo anti-inflammatory action of the galactolipid monogalactosyldiacylglycerol. *Eur. J. Pharmacol.* **2005**, 524 (1), 159-168.
9. Throndsen, J.; Egeland, E. S. Alger. <https://snl.no/alger> (accessed 27.04.20).
10. Duinker, A.; Roiha, I. S.; Amlund, H.; Dahl, L.; Lock, E.-J.; Kögel, T.; Måge, A.; Lunestad, B. T. *Potential risks posed by macroalgae for application as feed and food - a Norwegian perspective*; NIFES: **2016**.
11. Steen, H. Stortare (*Laminaria hyperborea*) er vår viktigste marine makroalge, og Norge har Europas største bestander av denne arten. <https://www.hi.no/hi/temasider/arter/stortare> (accessed 14.11.20).
12. Koskinen, A. M. P., Introduction. In *Asymmetric Synthesis of Natural Products*, **2012**; pp 1-21.
13. Dewick, P. M., Secondary Metabolism: The Building Blocks and Construction Mechanisms. In *Medicinal Natural Products*, **2009**; pp 7-38. (978-0-470-74168-9 ISBN)
14. Lüddecke, T.; Schulz, S.; Steinfartz, S.; Vences, M., A salamander's toxic arsenal: review of skin poison diversity and function in true salamanders, genus *Salamandra*. *Sci. Nat.* **2018**, 105 (9), 56.
15. Spiteller, D., Animal Defense Strategies. In *Encyclopedia of Ecology*, Jørgensen, S. E.; Fath, B. D., Eds. Academic Press: Oxford, **2008**; pp 165-174. (978-0-08-045405-4 ISBN)

16. Blakemore, P. R.; White, J. D., Morphine, the Proteus of organic molecules. *ChemComm* **2002**, (11), 1159-68.
17. Dewick, P. M., **2009**. (978-0-470-74168-9 ISBN)
18. Introduction. In *Introduction to Natural Products Chemistry*, Xu, R.; Ye, Y.; Zhao, W., Eds. Taylor & Francis Group: Boca Raton, **2012**.
19. v. Euler, U. S., Über die Spezifische Blutdrucksenkende Substanz des Menschlichen Prostata- und Samenblasensekretes. *Klin. Wochenschr* **1935**, *14* (33), 1182-1183.
20. Bakker, R.; Pierce, S.; Myers, D., The role of prostaglandins E1 and E2, dinoprostone, and misoprostol in cervical ripening and the induction of labor: a mechanistic approach. *Arch. Gynecol. Obstet.* **2017**, *296* (2), 167-179.
21. Karim, S. M.; Filshie, G. M., Use of prostaglandin E2 for therapeutic abortion. *BMJ* **1970**, *3* (5716), 198-200.
22. Bauer, A.; Brönstrup, M., Industrial natural product chemistry for drug discovery and development. *Nat. Prod. Rep.* **2014**, *31* (1), 35-60.
23. Nelson, D. L.; Cox, M. M.; Lehninger, A. L., *Lehninger principles of biochemistry*. **2017**. (978-1319108243 ISBN)
24. Dewick, P. M., Carbohydrates. In *Medicinal Natural Products*, **2009**; pp 485-508. (9780470742761 ISBN)
25. Ghazarian, H.; Idoni, B.; Oppenheimer, S. B., A glycobiology review: Carbohydrates, lectins and implications in cancer therapeutics. *Acta Histochem.* **2011**, *113* (3), 236-247.
26. Vardanyan, R. S.; Hruby, V. J., 32 - Antibiotics. In *Synthesis of Essential Drugs*, Vardanyan, R. S.; Hruby, V. J., Eds. Elsevier: Amsterdam, **2006**; pp 425-498. (978-0-444-52166-8 ISBN)
27. Mishra, S.; Upadhaya, K.; Mishra, K. B.; Shukla, A. K.; Tripathi, R. P.; Tiwari, V. K., Chapter 10 - Carbohydrate-Based Therapeutics: A Frontier in Drug Discovery and Development. In *Studies in Natural Products Chemistry*, Atta ur, R., Ed. Elsevier: **2016**; Vol. 49, pp 307-361. (1572-5995 ISBN)
28. Tacar, O.; Sriamornsak, P.; Dass, C. R., Doxorubicin: an update on anticancer molecular action, toxicity and novel drug delivery systems. *J. Pharm. Pharmacol.* **2013**, *65* (2), 157-170.
29. Pommier, Y.; Leo, E.; Zhang, H.; Marchand, C., DNA Topoisomerases and Their Poisoning by Anticancer and Antibacterial Drugs. *Chem. Biol.* **2010**, *17* (5), 421-433.
30. Frederick, C. A.; Williams, L. D.; Ughetto, G.; van der Marel, G. A.; van Boom, J. H.; Rich, A.; Wang, A. H., Structural comparison of anticancer drug-DNA complexes: adriamycin and daunomycin. *Biochemistry* **1990**, *29* (10), 2538-49.

31. Sánchez-Navarro, M.; Davis, B. G., SUGAR–PROTEIN HYBRIDS FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS. In *Glycochemical Synthesis*, Hung, S.-C.; Zulueta, M. M. L., Eds. **2016**; pp 509-534.
32. Kobayashi, K., Role of membrane glycerolipids in photosynthesis, thylakoid biogenesis and chloroplast development. *J. Plant Res.* **2016**, *129* (4), 565-580.
33. Cheng-Sánchez, I.; Sarabia, F., Chemistry and Biology of Bioactive Glycolipids of Marine Origin. *Mar. Drugs* **2018**, *16* (9), 294.
34. Aoki, S.; Higuchi, K.; Kato, A.; Murakami, N.; Kobayashi, M., Myrmekiosides a and b, novel mono-o-alkyl-diglycosylglycerols reversing tumor cell morphology of ras-transformed cells from a marine sponge of myrmekioderma sp. *Tetrahedron* **1999**, *55* (52), 14865-14870.
35. Dörmann, P., Synthesis and Function of the Galactolipid Digalactosyldiacylglycerol (Chapter 14). In *The Chloroplast: Basics and Application*, Rebeiz, C. A.; Benning, C.; Bohnert, H.; Daniell, H.; Hooper, J. K.; Lichtenhaler, H. K.; Portis, A. R.; Tripathy, B. C., Eds. Springer Netherlands: **2010**. (978-90-481-8531-3 ISBN)
36. Joyard, J.; Maréchal, E.; Miège, C.; Block, M. A.; Dorne, A.-J.; Douce, R., Structure, Distribution and Biosynthesis of Glycerolipids from Higher Plant Chloroplasts. In *Lipids in Photosynthesis: Structure, Function and Genetics*, Paul-André, S.; Norio, M., Eds. Springer Netherlands: Dordrecht, **1998**; pp 21-52. (978-0-306-48087-4 ISBN)
37. Hözl, G.; Dörmann, P., Structure and function of glycolipids in plants and bacteria. *Prog. Lipid Res.* **2007**, *46* (5), 225-243.
38. Douce, R., Site of Biosynthesis of Galactolipids in Spinach Chloroplasts. *Science* **1974**, *183* (4127), 852-853.
39. Nakamura, Y., Galactolipid biosynthesis in flowers. *Bot. Stud.* **2013**, *54* (1), 29-29.
40. Awai, K.; Maréchal, E.; Block, M. A.; Brun, D.; Masuda, T.; Shimada, H.; Takamiya, K.-i.; Ohta, H.; Joyard, J., Two types of MGDG synthase genes, found widely in both 16:3 and 18:3 plants, differentially mediate galactolipid syntheses in photosynthetic and nonphotosynthetic tissues in *Arabidopsis thaliana*. *PNAS* **2001**, *98* (19), 10960-10965.
41. Kobayashi, K.; Awai, K.; Nakamura, M.; Nagatani, A.; Masuda, T.; Ohta, H., Type-B monogalactosyldiacylglycerol synthases are involved in phosphate starvation-induced lipid remodeling, and are crucial for low-phosphate adaptation. *Plant J.* **2009**, *57* (2), 322-331.
42. Hözl, G.; Dörmann, P., Chloroplast Lipids and Their Biosynthesis. *Annu. Rev. Plant Biol.* **2019**, *70* (1), 51-81.
43. Browse, J.; Kunst, L.; Anderson, S.; Hugly, S.; Somerville, C., A mutant of *Arabidopsis* deficient in the chloroplast 16:1/18:1 desaturase. *Plant Physiol.* **1989**, *90* (2), 522-529.
44. Browse, J.; McCourt, P.; Somerville, C. R., A Mutant of *Arabidopsis* Lacking a Chloroplast-Specific Lipid. *Science* **1985**, *227* (4688), 763-765.

45. Browse, J.; McCourt, P.; Somerville, C., A Mutant of Arabidopsis Deficient in C18:3 and C16:3 Leaf Lipids. *Plant Physiol.* **1986**, *81* (3), 859-864.
46. Falcone, D. L.; Gibson, S.; Lemieux, B.; Somerville, C., Identification of a Gene that Complements an Arabidopsis Mutant Deficient in Chloroplast [omega]6 Desaturase Activity. *Plant Physiol.* **1994**, *106* (4), 1453-1459.
47. Iba, K.; Gibson, S.; Nishiuchi, T.; Fuse, T.; Nishimura, M.; Arondel, V.; Hugly, S.; Somerville, C., A gene encoding a chloroplast omega-3 fatty acid desaturase complements alterations in fatty acid desaturation and chloroplast copy number of the fad7 mutant of Arabidopsis thaliana. *J. Biol. Chem.* **1993**, *268* (32), 24099-105.
48. Kunst, L.; Browse, J.; Somerville, C., A Mutant of Arabidopsis Deficient in Desaturation of Palmitic Acid in Leaf Lipids. *Plant Physiol.* **1989**, *90* (3), 943-947.
49. McConn, M.; Hugly, S.; Browse, J.; Somerville, C., A Mutation at the fad8 Locus of Arabidopsis Identifies a Second Chloroplast [omega]-3 Desaturase. *Plant Physiol.* **1994**, *106* (4), 1609-1614.
50. Grassi, S.; Mauri, L.; Prioni, S.; Cabitta, L.; Sonnino, S.; Prinetti, A.; Giussani, P., Sphingosine 1-Phosphate Receptors and Metabolic Enzymes as Druggable Targets for Brain Diseases. *Front. Pharmacol.* **2019**, *10* (807).
51. Costantino, V.; Fattorusso, E.; Mangoni, A.; Di Rosa, M.; Ianaro, A., Glycolipids from Sponges. 6.1 Plakoside A and B, Two Unique Prenylated Glycosphingolipids with Immunosuppressive Activity from the Marine Sponge Plakortis simplex. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119* (51), 12465-12470.
52. Ijuin, T.; Kitajima, K.; Song, Y.; Kitazume, S.; Inoue, S.; Haslam, S. M.; Morris, H. R.; Dell, A.; Inoue, Y., Isolation and identification of novel sulfated and nonsulfated oligosialyl glycosphingolipids from sea urchin sperm. *Glycoconj. J.* **1996**, *13* (3), 401-13.
53. Yamada, K.; Tanabe, K.; Miyamoto, T.; Kusumoto, T.; Inagaki, M.; Higuchi, R., Isolation and structure of a monomethylated ganglioside possessing neuritogenic activity from the ovary of the sea urchin Diadema setosum. *Chem. Pharm. Bull.* **2008**, *56* (5), 734-7.
54. 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. *J. Org. Chem.* **1997**, *62* (19), 6452-6453.
55. Leão, P. N.; Nakamura, H.; Costa, M.; Pereira, A. R.; Martins, R.; Vasconcelos, V.; Gerwick, W. H.; Balskus, E. P., Biosynthesis-assisted structural elucidation of the bartolosides, chlorinated aromatic glycolipids from cyanobacteria. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54* (38), 11063-7.
56. Tsakos, M.; Schaffert, E. S.; Clement, L. L.; Villadsen, N. L.; Poulsen, T. B., Ester coupling reactions--an enduring challenge in the chemical synthesis of bioactive natural products. *Nat. Prod. Rep.* **2015**, *32* (4), 605-32.
57. Neises, B.; Steglich, W., Simple Method for the Esterification of Carboxylic Acids. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1978**, *17* (7), 522-524.

58. DeTar, D. F.; Silverstein, R., Reactions of Carbodiimides. II. The Reactions of Dicyclohexylcarbodiimide with Carboxylic Acids in the Presence of Amines and Phenols^{1,2}. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, *88* (5), 1020-1023.
59. Siengalewicz, P.; Mulzer, J.; Rinner, U., Synthesis of Esters and Lactones. *Comprehensive Organic Synthesis: Second Edition* **2014**, *6*, 355-410.
60. El-Faham, A.; Albericio, F., Peptide Coupling Reagents, More than a Letter Soup. *Chem. Rev.* **2011**, *111* (11), 6557-6602.
61. Sheehan, J.; Cruickshank, P.; Boshart, G., Notes- A Convenient Synthesis of Water-Soluble Carbodiimides. *J. Org. Chem.* **1961**, *26* (7), 2525-2528.
62. Han, S.-Y.; Kim, Y.-A., Recent Development of Peptide Coupling Reagents in Organic Synthesis. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 2447-2467.
63. Florence, G. J.; Aslam, T.; Miller, G. J.; Milne, G. D. S.; Conway, S. J., Thieme Chemistry Journal Awardees - Where are They Now? Synthesis of the Marine Glycolipid Dioctadecanoyl Discoside. *Synlett* **2009**, *19*, 3099-3102.
64. Levy, D. E.; Fügedi, P., *The Organic Chemistry of Sugars*. CRC Press, Taylor & Francis Group: **2006**. (0-8247-5355-0 ISBN)
65. Michael, A., *Am. Chem. J.* **1879**, *1*, 305-312.
66. Fischer, E., Ueber die Glucoside der Alkohole. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1893**, *26* (3), 2400-2412.
67. Koenigs, W.; Knorr, E., Ueber einige Derivate des Traubenzuckers und der Galactose. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1901**, *34* (1), 957-981.
68. Brito-Arias, M., *Synthesis and Characterization of Glycosides*. **2016**. (978-3-319-32308-4 ISBN)
69. 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 ISBN)
70. Schmidt, R. R., 1.2 - Synthesis of Glycosides. In *Comprehensive Organic Synthesis*, Trost, B. M.; Fleming, I., Eds. Pergamon: Oxford, **1991**; pp 33-64. (978-0-08-052349-1 ISBN)
71. Demchenko, A. V., General Aspects of the Glycosidic Bond Formation. In *Handbook of Chemical Glycosylation*, **2008**; pp 1-27. (9783527317806 ISBN)
72. Mydock, L. K.; Demchenko, A. V., Mechanism of chemical O-glycosylation: from early studies to recent discoveries. *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8* (3), 497-510.
73. Helferich, B.; Wedemeyer, K.-F., Zur Darstellung von Glucosiden aus Acetobromglucose. *Liebigs Ann. Chem.* **1949**, *563* (1), 139-145.

74. Helfrich, B.; Jung, K.-H., Zur Darstellung von Phenol- α -glykosiden. *Liebigs Ann. Chem.* **1954**, 589 (1), 77-81.
75. Helfrich, B.; Berger, A., Über die Synthese von Glucuroniden. *Chem. Ber.* **1957**, 90 (11), 2492-2498.
76. Lemieux, R. U.; Takeda, T.; Chung, B. Y., Synthesis of 2-Amino-2-deoxy- β -D-glucopyranosides. In *Synthetic Methods for Carbohydrates*, American Chemical Society: **1977**; Vol. 39, pp 90-115. (9780841203655 ISBN)
77. Ogawa, T.; Matsui, M., An approach to synthesis of glycosides: enhancement of nucleophilicity of hydroxyl groups by trialkylstannylation. *Carbohydr. Res.* **1976**, 51 (2), C13-C18.
78. Higashi, K.; Nakayama, K.; Soga, T.; Shioya, E.; Uoto, K.; Kusama, T., Novel Stereoselective Glycosidation by the Combined Use of Trityl Halide and Lewis Acid. *Chem. Pharm. Bull.* **1990**, 38 (12), 3280-3282.
79. Lubineau, A.; Malleron, A., Stannous triplate mediated glycosidations. A stereoselective synthesis of β -D-glucosides. *Tetrahedron Lett.* **1985**, 26 (14), 1713-1716.
80. Lubineau, A.; Le Gallic, J.; Malleron, A., Stannous triflate mediated glycosidations. A stereoselective synthesis of 2-amino 2-deoxy- β -D-glucopyranosides directly with the natural N-acetyl protecting group. *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28 (42), 5041-5044.
81. Du, W.; Gervay-Hague, J., Efficient Synthesis of α -Galactosyl Ceramide Analogues Using Glycosyl Iodide Donors. *Org. Lett.* **2005**, 7 (10), 2063-2065.
82. Schmidt, R. R.; Michel, J., Facile Synthesis of α - and β -O-Glycosyl Imidates; Preparation of Glycosides and Disaccharides. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1980**, 19 (9), 731-732.
83. Schmidt, R. R.; Grundler, G., α -Linked Disaccharides from O-(β -D-Glycopyranosyl) Trichloroacetimidates using Trimethylsilyl Trifluoromethanesulfonate as Catalyst. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1982**, 21 (10), 781-782.
84. Ferrier, R. J.; Hay, R. W.; Vethaviasar, N.]A potentially versatile synthesis of glycosides. *Carbohydr. Res.* **1973**, 27 (1), 55-61.
85. Lönn, H., Synthesis of a tetra- and a nona-saccharide which contain α -l-fucopyranosyl groups and are part of the complex type of carbohydrate moiety of glycoproteins. *Carbohydr. Res.* **1985**, 139, 115-121.
86. Lönn, H., Synthesis of a tri- and a hepta-saccharide which contain α -l-fucopyranosyl groups and are part of the complex type of carbohydrate moiety of glycoproteins. *Carbohydr. Res.* **1985**, 139, 105-113.
87. Fügedi, P.; Garegg, P. J., A novel promoter for the efficient construction of 1,2-trans linkages in glycoside synthesis, using thioglycosides as glycosyl donors. *Carbohydr. Res.* **1986**, 149 (1), C9-C12.

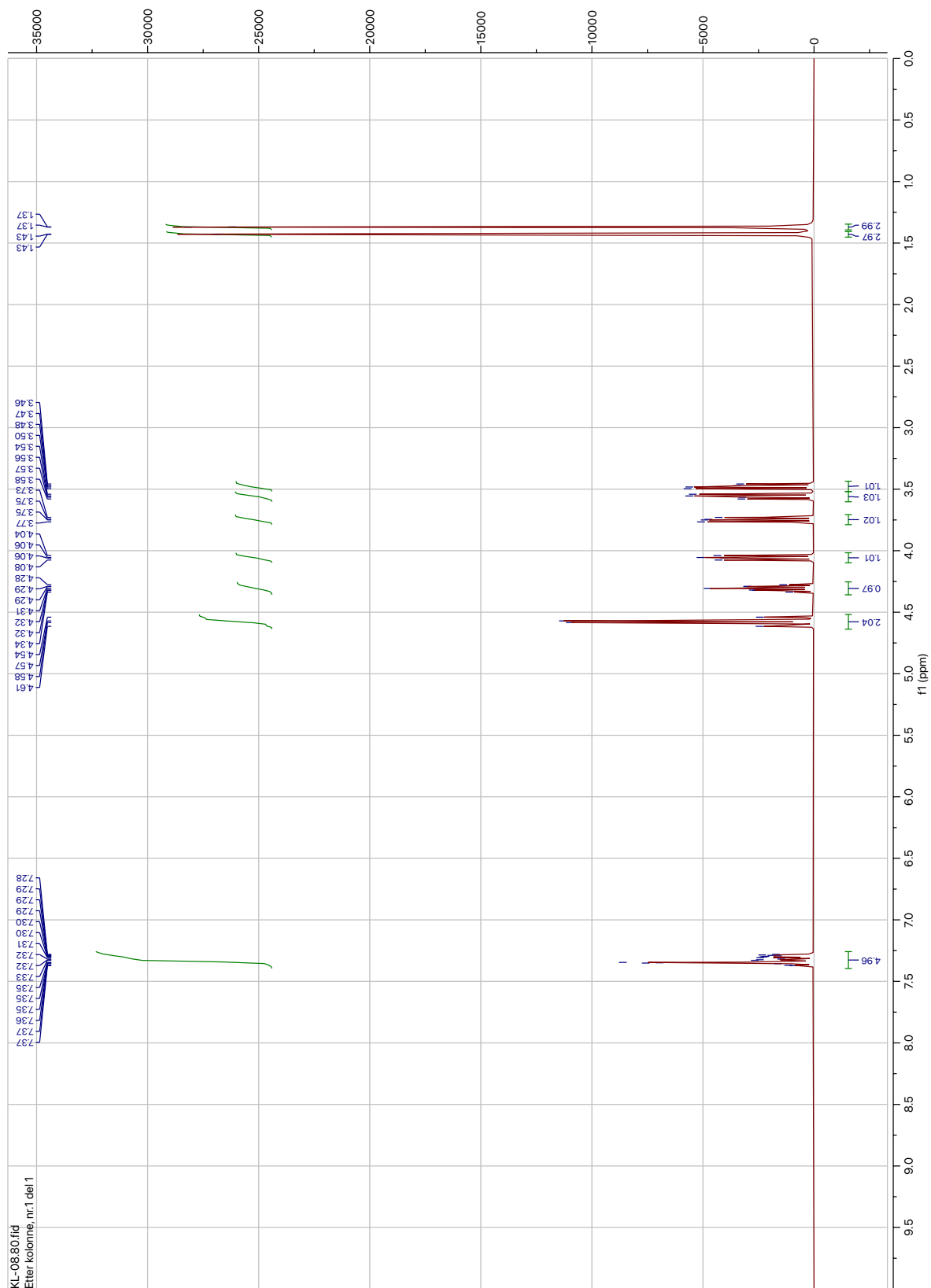
88. Andersson, F.; Fúgedi, P.; Garegg, P. J.; Nashed, M., Synthesis of 1,2-cis-linked glycosides using dimethyl(methylthio) sulfonium triplate as promoter and thioglycosides as glycosyl donors. *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27 (33), 3919-3922.
89. Veeneman, G. H.; van Leeuwen, S. H.; van Boom, J. H., 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 Lett.* **1990**, 31 (9), 1331-1334.
90. Konradsson, P.; Udodong, U. E.; Fraser-Reid, B., Iodonium promoted reactions of disarmed thioglycosides. *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31 (30), 4313-4316.
91. Shoda, S.-I.; Kulkarni, S. S.; Gervay-Hague, J., Glycoside Synthesis from Anomeric Halides. In *Handbook of Chemical Glycosylation*, Demchenko, A. V., Ed. **2008**; pp 29-93.
92. Ye, X.-S.; Lu, W., GENERAL ASPECTS IN O-GLYCOSIDIC BOND FORMATION. In *Glycochemical Synthesis*, **2016**; pp 69-95.
93. Schmidt, R. R., New Methods for the Synthesis of Glycosides and Oligosaccharides—Are There Alternatives to the Koenigs-Knorr Method? [New Synthetic Methods (56)]. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1986**, 25 (3), 212-235.
94. Thiem, J.; Meyer, B., Synthesen mit Iod- und Bromtrimethylsilan in der Saccharidchemie. *Chem. Ber.* **1980**, 113 (9), 3075-3085.
95. Gervay, J.; Nguyen, T. N.; Hadd, M. J., Mechanistic studies on the stereoselective formation of glycosyl iodides: first characterization of β -d-glycosyl iodides. *Carbohydr. Res.* **1997**, 300 (2), 119-125.
96. Chervin, S. M.; Abada, P.; Koreeda, M., Convenient, in Situ Generation of Anhydrous Hydrogen Iodide for the Preparation of α -Glycosyl Iodides and Vicinal Iodohydrins and for the Catalysis of Ferrier Glycosylation. *Org. Lett.* **2000**, 2 (3), 369-372.
97. Mukhopadhyay, B.; Kartha, K. P. R.; Russell, D. A.; Field, R. A., Streamlined Synthesis of Per-O-acetylated Sugars, Glycosyl Iodides, or Thioglycosides from Unprotected Reducing Sugars. *J. Org. Chem.* **2004**, 69 (22), 7758-7760.
98. Shimizu, M.; Togo, H.; Yokoyama, M., Chemistry of glycosyl fluorides. *Synthesis* **1998**, 799-822.
99. Teruaki, M.; Yoshiyuki, M.; Shin-ichiro, S., An efficient method for glucosylation of hydroxy compounds using glucopyranosyl fluoride. *Chem. Lett.* **1981**, 10 (3), 431-432.
100. Ogawa, T.; Takahashi, Y., Total synthesis of α -cyclodextrin. *Carbohydr. Res.* **1985**, 138 (1), C5-C9.
101. Takahashi, Y.; Ogawa, T., Total synthesis of cyclomaltohexaose. *Carbohydr. Res.* **1987**, 164, 277-296.
102. Hashimoto, S.; Hayashi, M.; Noyori, R., Glycosylation using glucopyranosyl fluorides and silicon-based catalysts. Solvent dependency of the stereoselection. *Tetrahedron Lett.* **1984**, 25 (13), 1379-1382.

103. Nicolaou, K. C.; Chucholowski, A.; Dolle, R. E.; Randall, J. L., Reactions of glycosyl fluorides. Synthesis of O-, S-, and N-glycosides. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1984**, (17), 1155-1156.
104. Schmidt, R. R.; Michel, J., Direct o-glycosyl trichloroacetimidate formation, nucleophilicity of the anomeric oxygen atom. *Tetrahedron Lett.* **1984**, 25 (8), 821-824.
105. Schmidt, R. R.; Michel, J., O-(α -D-Glucopyranosyl)trichloroacetimidate as a Glucosyl Donor. *J. Carbohydr. Chem.* **1985**, 4 (2), 141-169.
106. Castro-Palomino, J. C.; Simon, B.; Speer, O.; Leist, M.; Schmidt, R. R., Synthesis of Ganglioside GD3 and its Comparison with Bovine GD3 with Regard to Oligodendrocyte Apoptosis Mitochondrial Damage. *Chem. Eur. J.* **2001**, 7 (10), 2178-2184.
107. Zhong, W.; Boons, G.-J.; Crich, D.; Bowers, A. A., Glycoside Synthesis from 1-Sulfur/Selenium-Substituted Derivatives: Sections 4.1 and 4.2. In *Handbook of Chemical Glycosylation*, **2008**; pp 261-329.
108. Zhang, Z.; Ollmann, I. R.; Ye, X.-S.; Wischnat, R.; Baasov, T.; Wong, C.-H., Programmable One-Pot Oligosaccharide Synthesis. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121 (4), 734-753.
109. Kunz, H.; Waldmann, H., 3.1 - Protecting Groups. In *Comprehensive Organic Synthesis*, Trost, B. M.; Fleming, I., Eds. Pergamon: Oxford, **1991**; pp 631-701. (978-0-08-052349-1 ISBN)
110. Albert, R.; Dax, K.; Stütz, A. E.; Weidmann, H., Acetyl Migration in Partially Acetylated D-Glucopyrano-Sides and Acylamido-hexopyranosides. *J. Carbohydr. Chem.* **1983**, 2 (3), 279-292.
111. Khan, R.; Konowicz, P. A.; Gardossi, L.; Matulová, M.; Degennaro, S., Regioselective Deacetylation of Fully Acetylated Mono- and Di-Saccharides With Hydrazine Hydrate. *Aust. J. Chem.* **1996**, 49, 293-298.
112. Brito-Arias, M., Glycosides, Synthesis and Characterization. In *Synthesis and Characterization of Glycosides*, Springer International Publishing: Cham, **2016**; pp 1-79. (978-3-319-32310-7 ISBN)
113. Hung, S.-C.; Wang, C.-C., PROTECTING GROUP STRATEGIES IN CARBOHYDRATE SYNTHESIS. In *Glycochemical Synthesis*, **2016**; pp 35-68.
114. 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 Lett.* **2002**, 43 (39), 7027-7030.
115. Corey, E. J.; Venkateswarlu, A., Protection of hydroxyl groups as tert-butyl-dimethylsilyl derivatives. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, 94 (17), 6190-6191.
116. de Belder, A. N., Cyclic Acetals of the Aldoses and Aldosides. In *Advances in Carbohydrate Chemistry*, Wolfrom, M. L., Ed. Academic Press: **1965**; Vol. 20, pp 219-302. (0096-5332 ISBN)

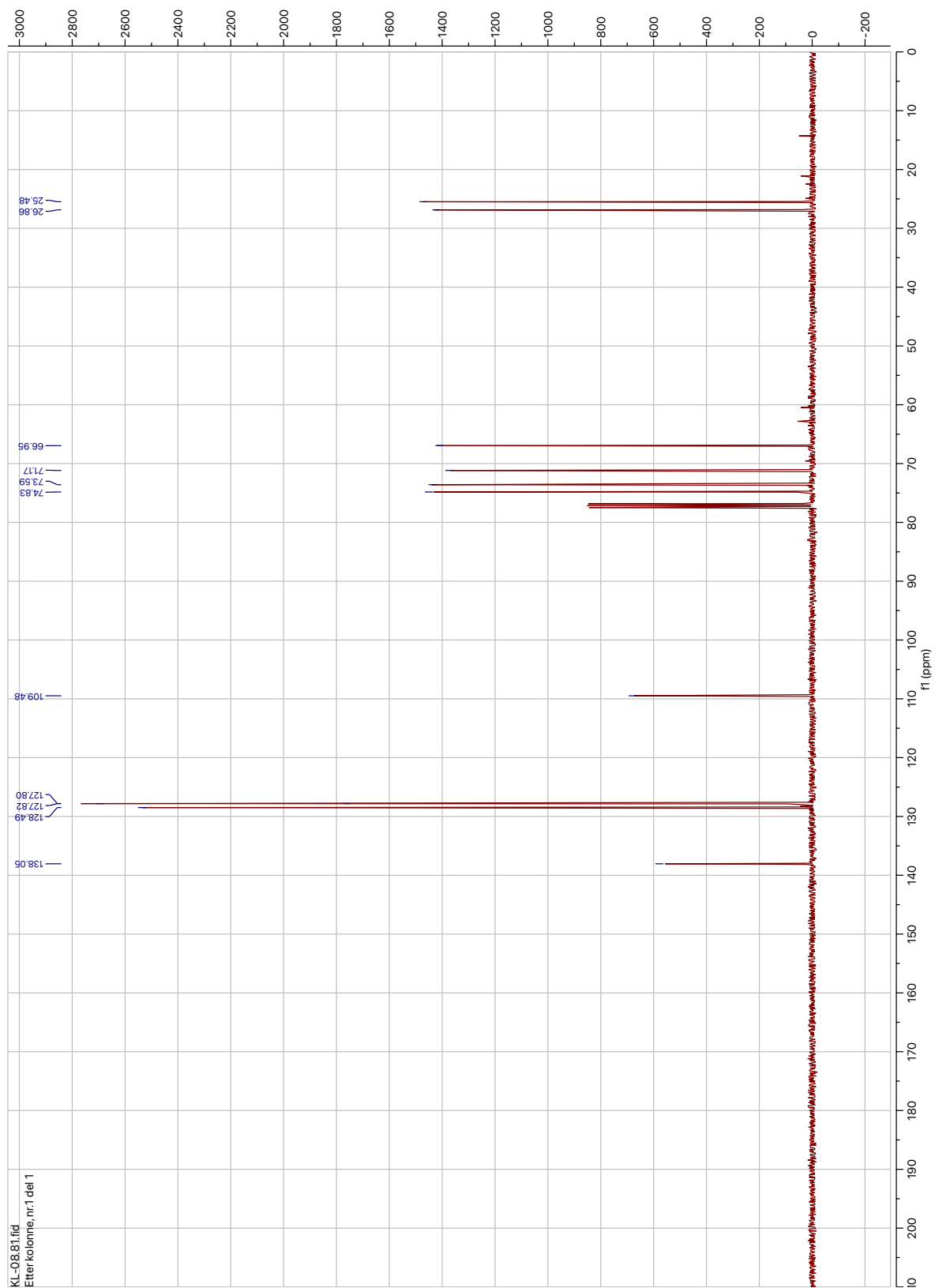
117. Du, W.; Kulkarni, S. S.; Gervay-Hague, J., Efficient, one-pot syntheses of biologically active α -linked glycolipids. *ChemComm* **2007**, (23), 2336-2338.
118. Osmani, D. Forsøk på syntese av monogalaktosyldiacylglyserol og syntese av pakkemateriale til HPLC-kolonne for separasjon av oligosakkarider. Norges miljø- og biovitenskapelige universitet, Ås, **2020**.
119. 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 Lett.* **2016**, 57 (47), 5294-5296.
120. Jarvis, P. J.; Cox, L. R.; Besra, G. S., Synthesis of a Versatile Building Block for the Preparation of 6-N-Derivatized α -Galactosyl Ceramides: Rapid Access to Biologically Active Glycolipids. *J. Org. Chem.* **2011**, 76 (1), 320-323.
121. Lam, S. N.; Gervay-Hague, J., Solution- and solid-phase oligosaccharide synthesis using glucosyl iodides: a comparative study. *Carbohydr. Res.* **2002**, 337 (21-23), 1953-65.
122. Kodali, D. R.; Tercyak, A.; Fahey, D. A.; Small, D. M., Acyl migration in 1,2-dipalmitoyl-sn-glycerol. *Chem. Phys. Lipids* **1990**, 52 (3), 163-170.
123. Khan, A.; Hollwedel, F.; Maus, U. A.; Stocker, B. L.; Timmer, M. S. M., Synthesis of α -Glucosyl Diacylglycerides as potential adjuvants for *Streptococcus pneumoniae* vaccines. *Carbohydr. Res.* **2020**, 489, 107951.
124. 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.
125. Tiwari, P.; Misra, A. K., An Efficient Stereoselective Dihydroxylation of Glycals using a Bimetallic System, RuCl₃/CeCl₃/NaIO₄. *J. Org. Chem.* **2006**, 71 (7), 2911-2913.
126. Huang, G., Synthesis and biological activities of galactose–aspirin conjugate prodrug designed for ADEPT and PMT. *Med. Chem. Res.* **2018**, 27.
127. Mannock, D. A.; Lewis, R. N. A. H.; McElhaney, R. N., An improved procedure for the preparation of 1,2-di-O-acyl-3-O-(β -d-glucopyranosyl)-sn-glycerols. *Chem. Phys. Lipids* **1987**, 43 (2), 113-127.
128. Goldschmid, H. R.; Perlin, A. S., SOME FACTORS AFFECTING THE KÖNIGS–KNORR SYNTHESIS OF GLYCOSIDES. *Can. J. Chem.* **1961**, 39 (10), 2025-2034.
129. Janwitayanuchit, W.; Suwanborirux, K.; Patarapanich, C.; Pummangura, S.; Lipipun, V.; Vilaivan, T., Synthesis and anti-herpes simplex viral activity of monoglycosyl diglycerides. *Phytochem.* **2003**, 64 (7), 1253-64.
130. Manzo, E.; Ciavatta, M.; Pagano, D.; Fontana, A., An efficient and versatile chemical synthesis of bioactive glyco-glycerolipids. *Tetrahedron Lett.* **2012**, 53, 879–881.
131. Pagano, D.; Cutignano, A.; Manzo, E.; Tinto, F.; Fontana, A., Glycolipids synthesis: improved hydrazinolysis conditions for preparation of 1,2-polyunsaturated fatty acyl- β -monogalactosyl-glycerols. *Carbohydr. Res.* **2016**, 424, 21-3.

6 Vedlegg

6.1 ^1H NMR- og ^{13}C NMR-spektre av 3-O-isopropylidenglyserol (**93**)

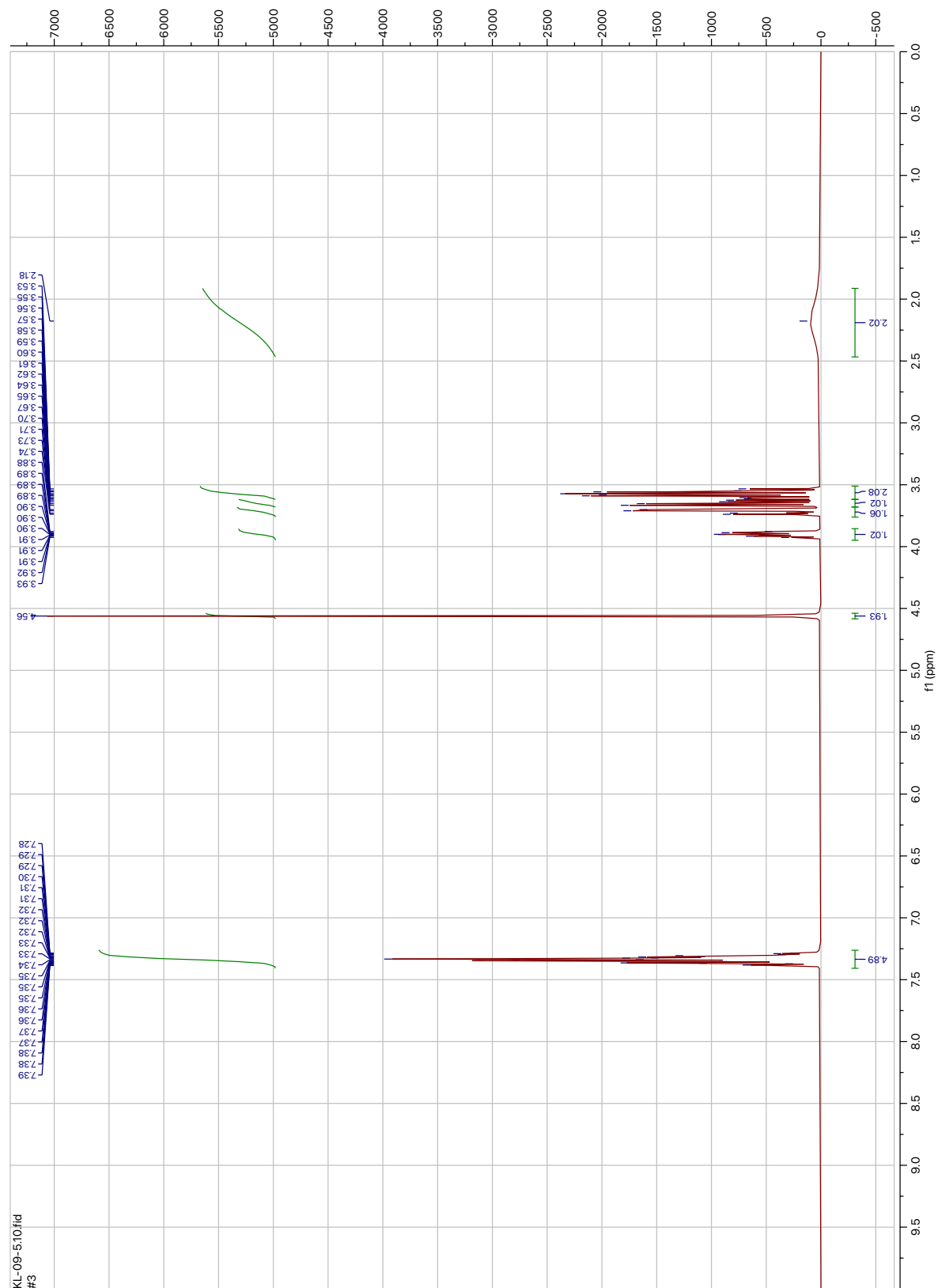


Figur 6-1. ^1H NMR spekter av 3-O-isopropylidenglyserol (**93**).

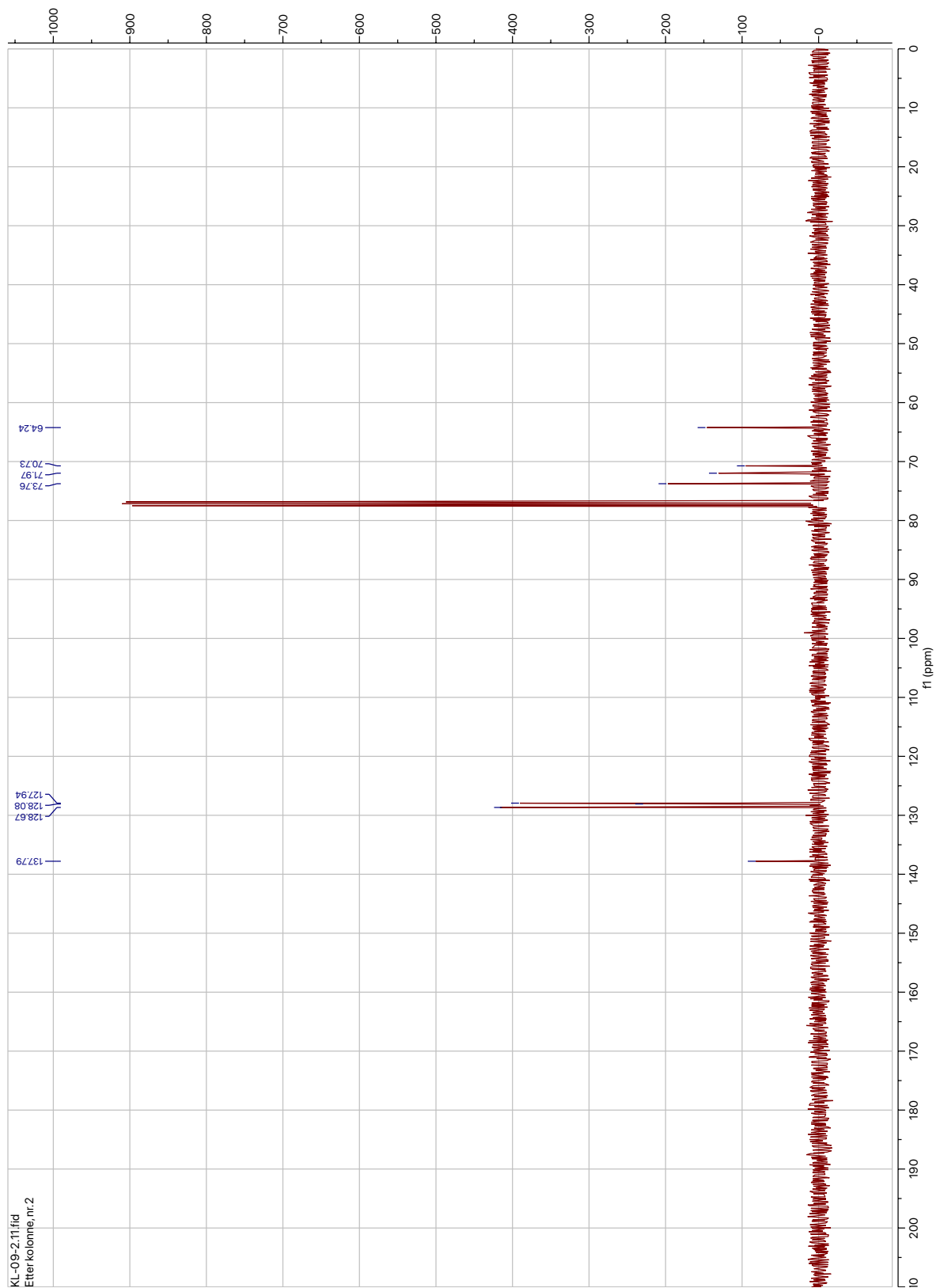


Figur 6-2. ^{13}C NMR spekter av 3-O-benzyl-isopropylidenglyserol (**93**)

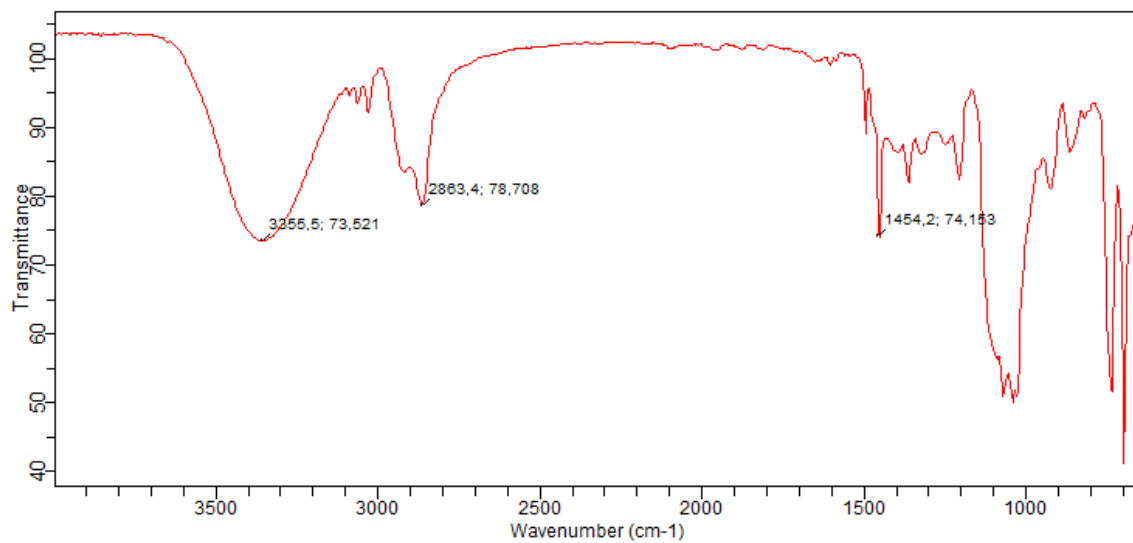
6.2 Spektrale data av 3-O-benzyl-glyserol (94)



Figur 6-3. ^1H NMR spekter av 3-O-benzyl-glyserol (94).

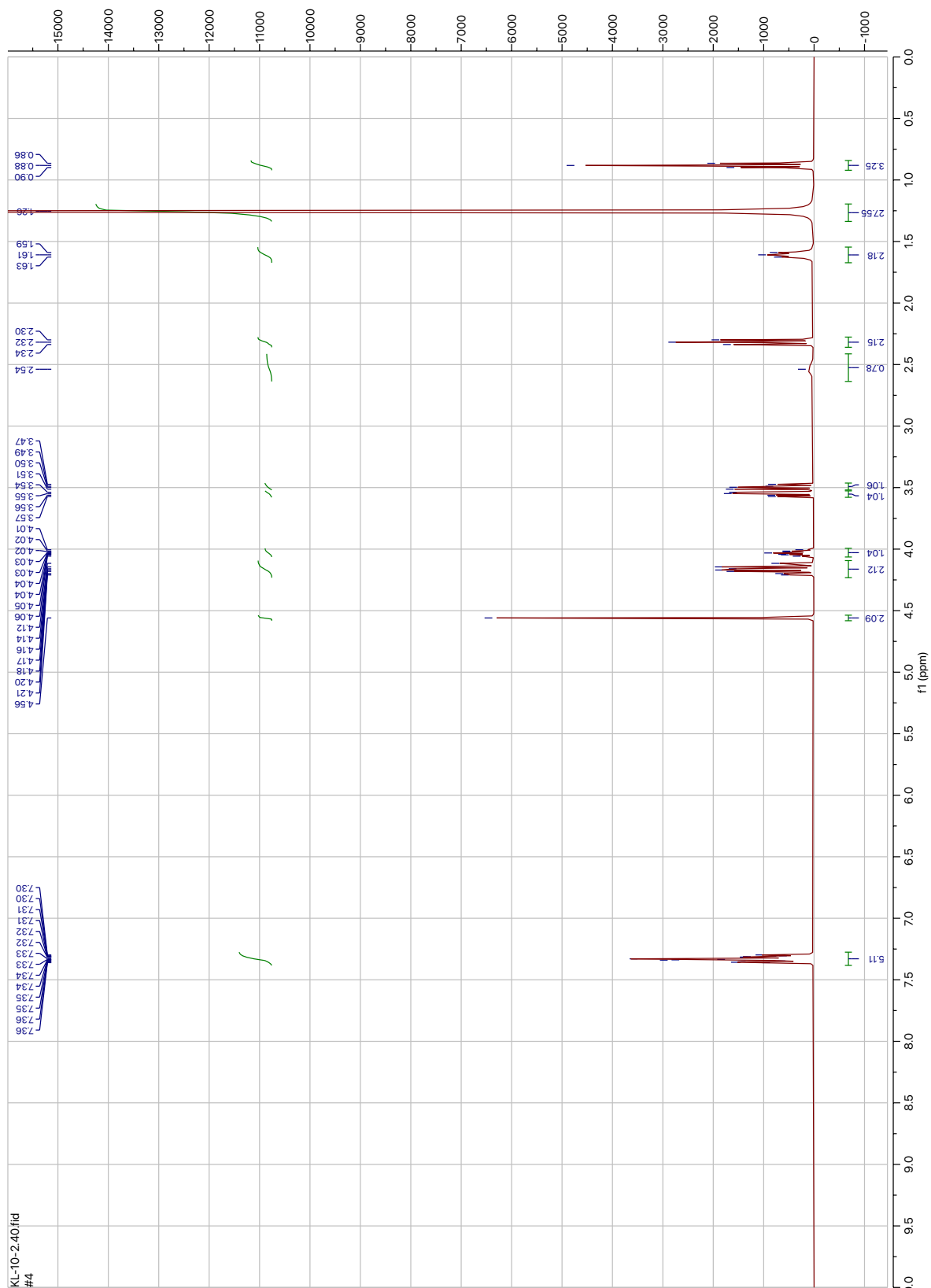


Figur 6-4. ^{13}C NMR spekter av 3-O-benzyl-glycerol (94).

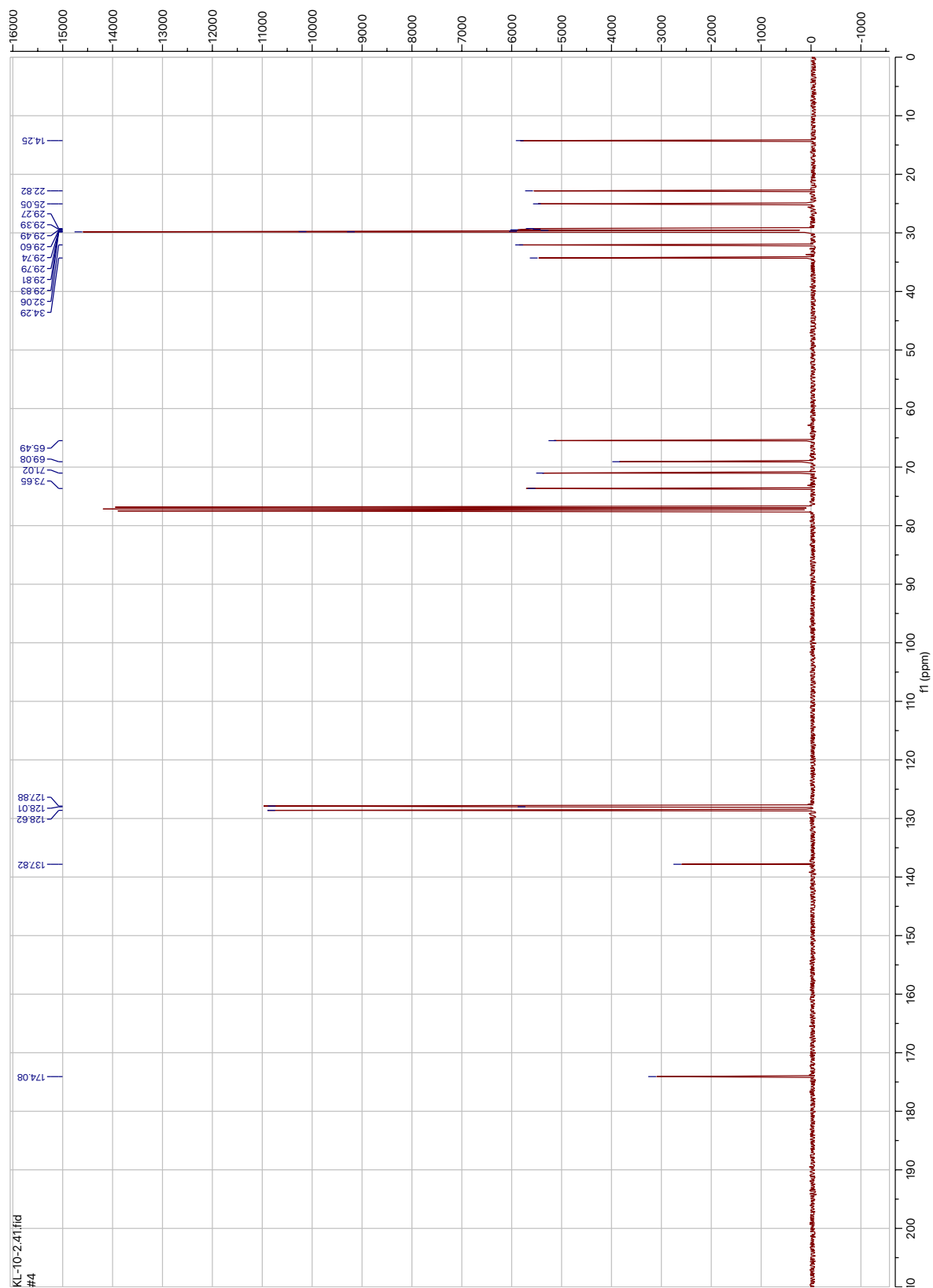


Figur 6-5. IR-spekter av 3-O-benzyl-glycerol (94).

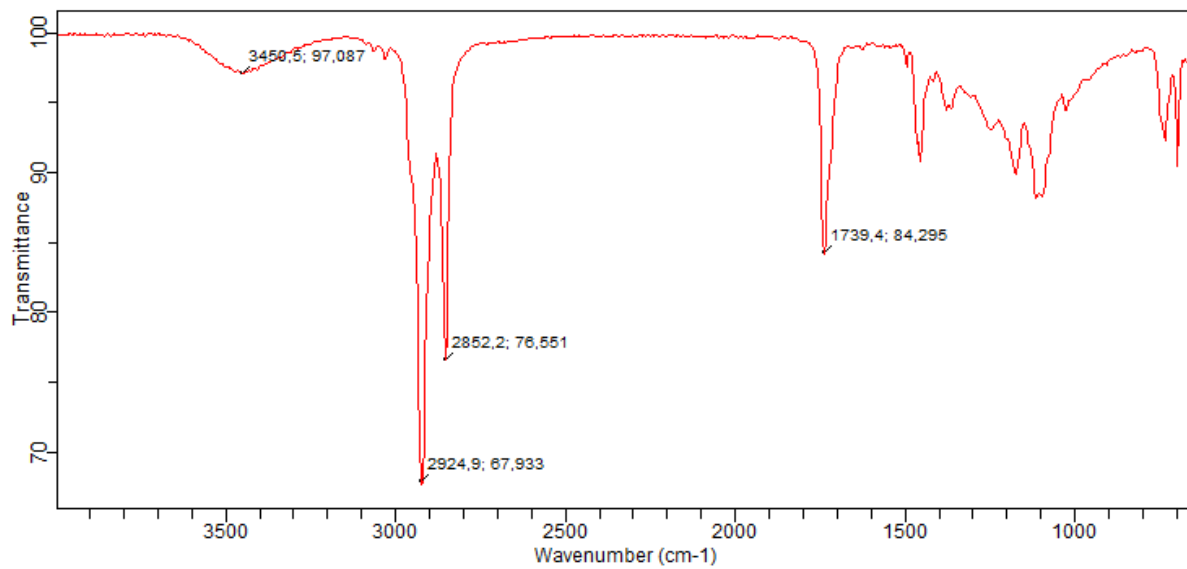
6.3 Spektrale data av 3-O-benzyl-1-O-stearoyl-glyserol (95)



Figur 6-6. ¹H NMR spekter av 3-O-benzyl-1-O-stearoyl-glyserol (95).

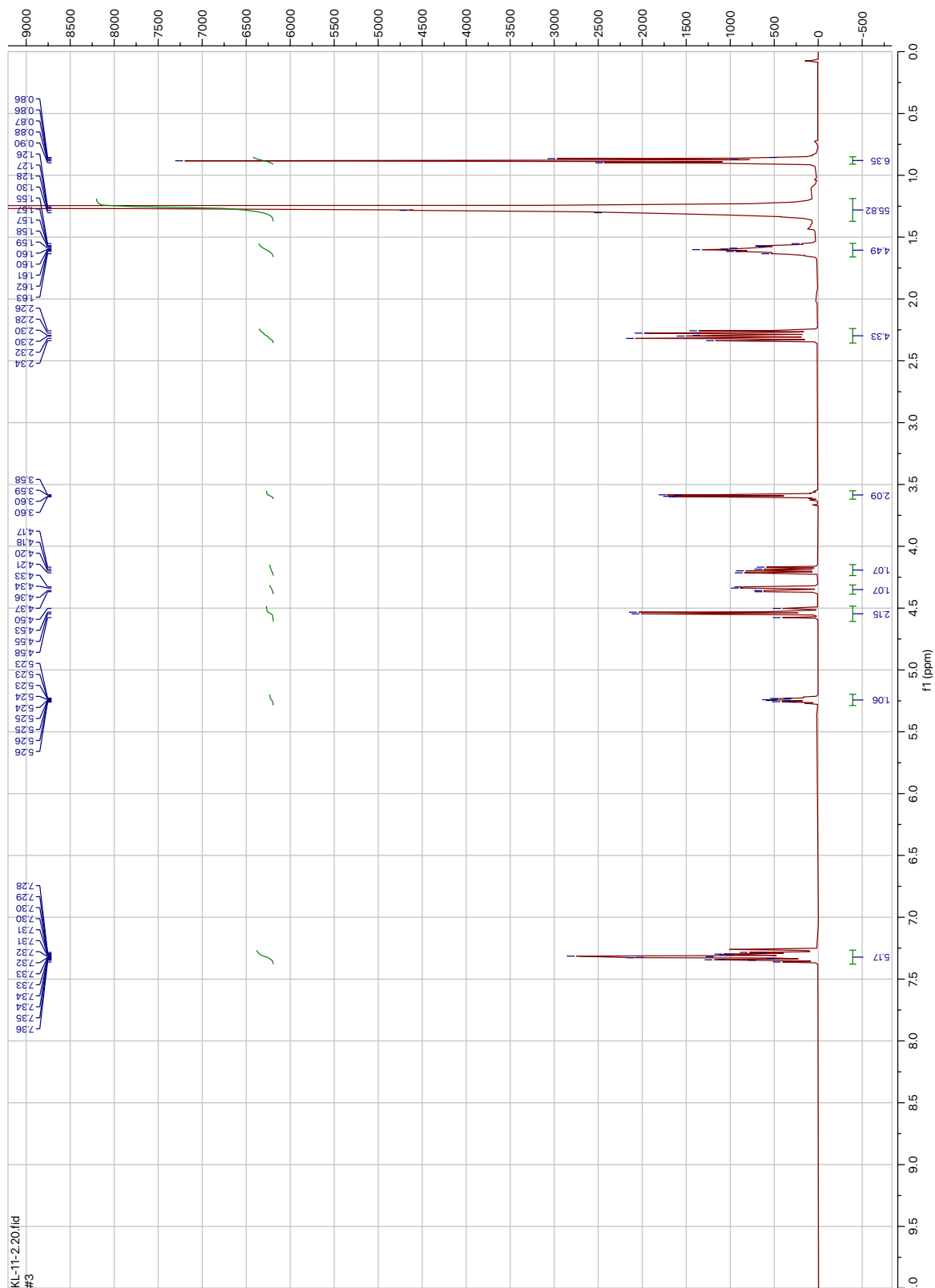


Figur 6-7. ^{13}C NMR spekter av 3-O-benzyl-1-O-stearoyl-glycerol (95).

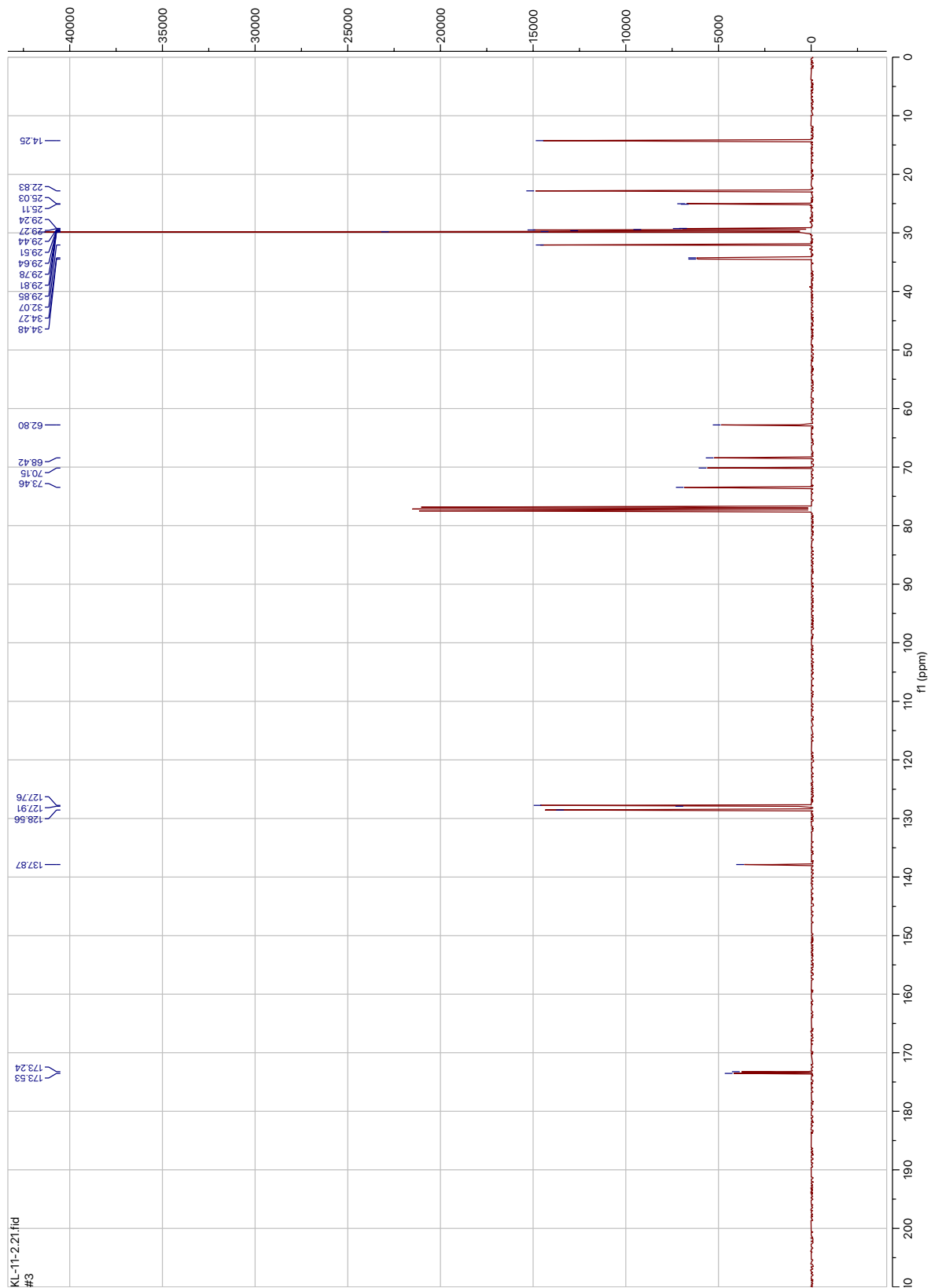


Figur 6-8. IR-spekter av 3-O-benzyl-1-O-stearoyl-glyserol (**95**).

6.4 ^1H NMR- og ^{13}C NMR-spektre av 3-*O*-benzyl-1,2-*O*-distearoyl-glyserol (**96**).

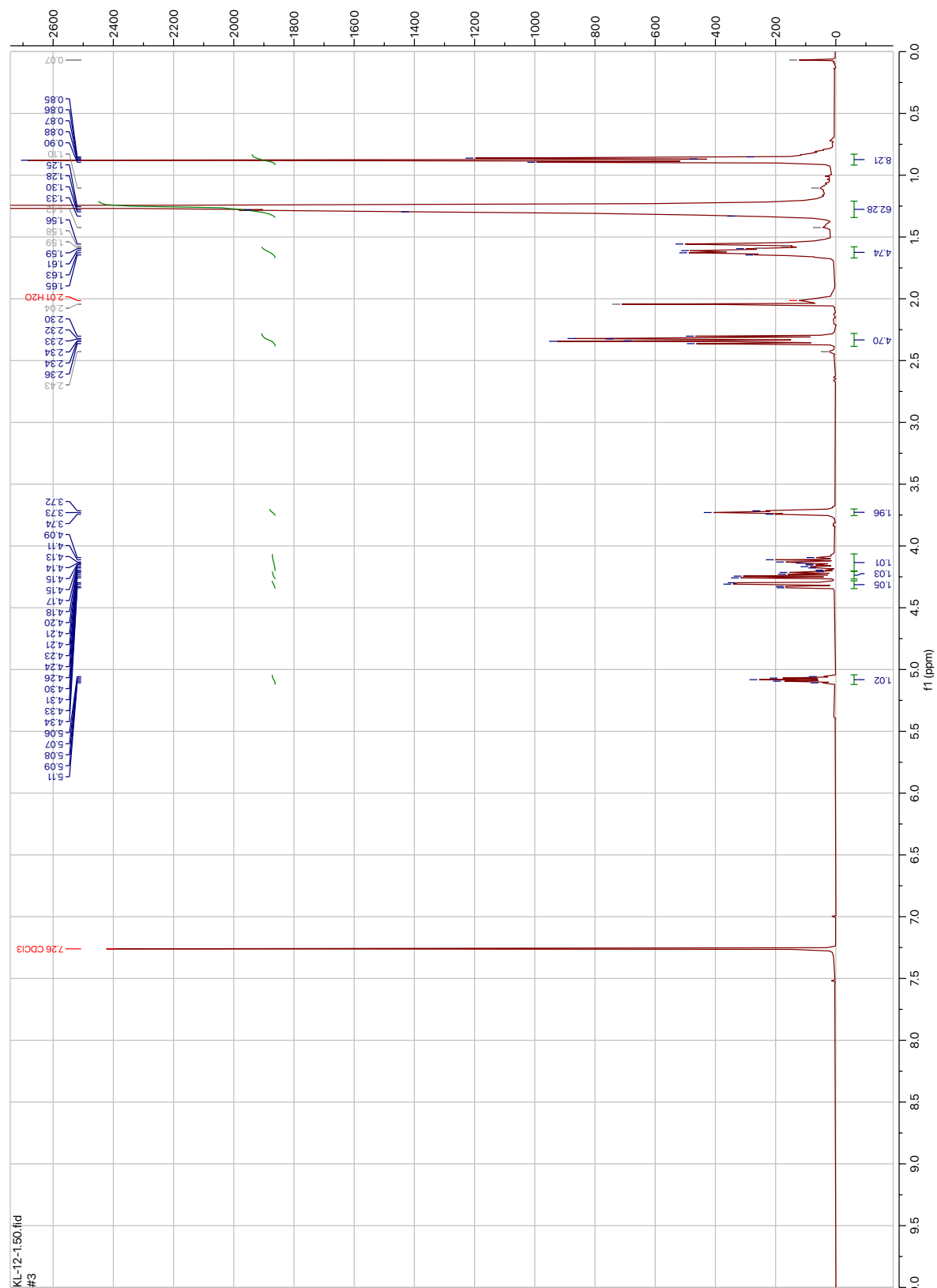


Figur 6-9. ^1H NMR spekter av 3-*O*-benzyl-1,2-*O*-distearoyl-glyserol (**96**).

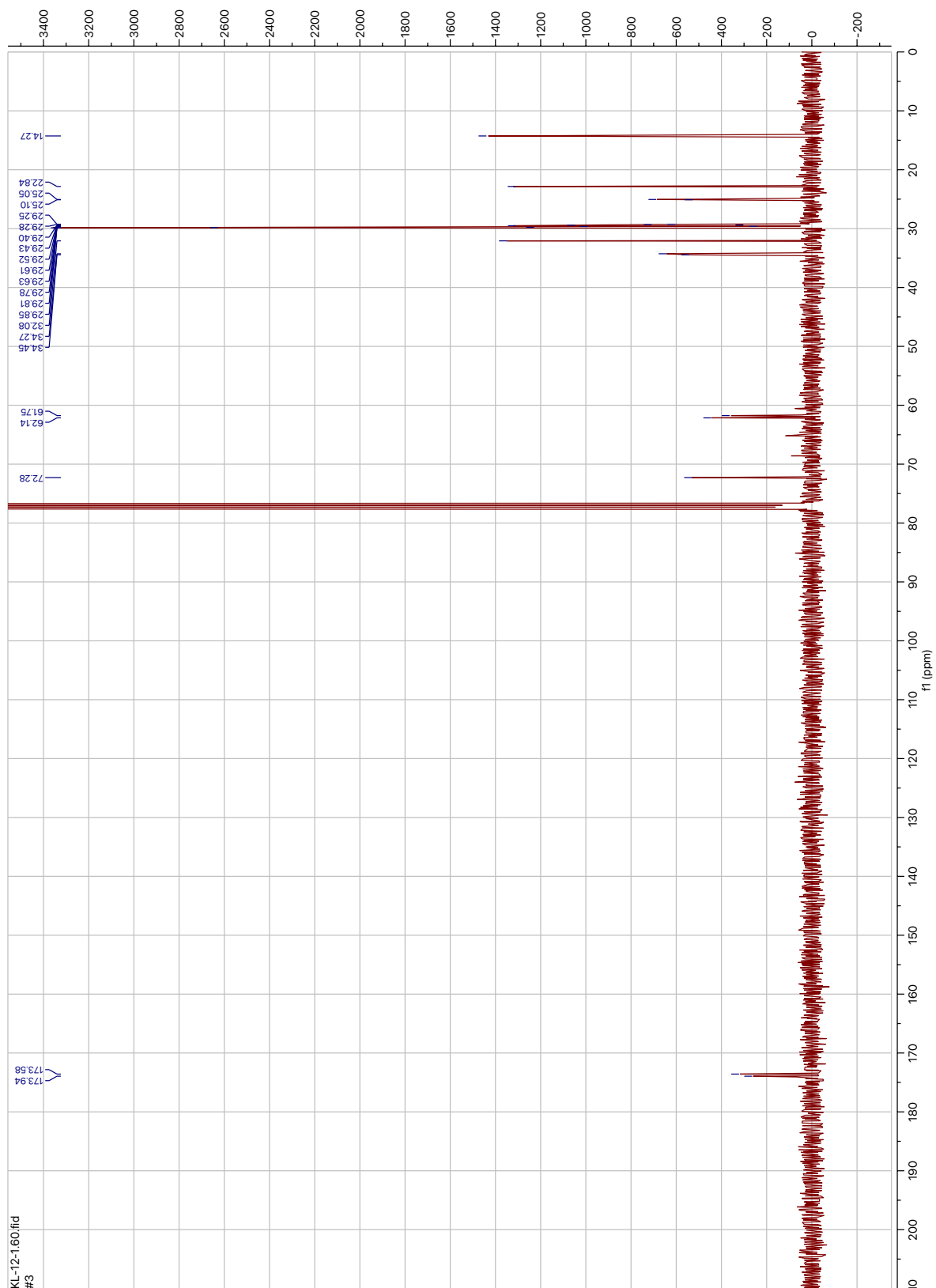


Figur 6-10. ^{13}C NMR spekter av 3-O-benzyl-1,2-O-distearoyl-glyserol (**96**).

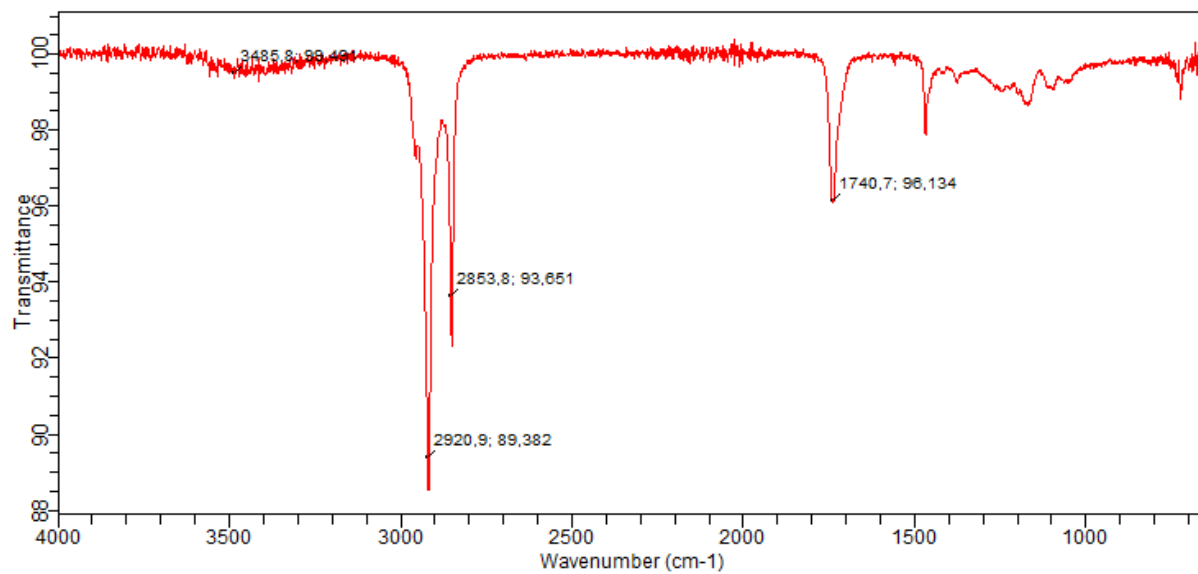
6.5 Spektrale data av 1,2-*O*-distearoyl-glyserol (97).



Figur 6-11. ^1H NMR spekter av 1,2-distearoyl-glyserol (97).

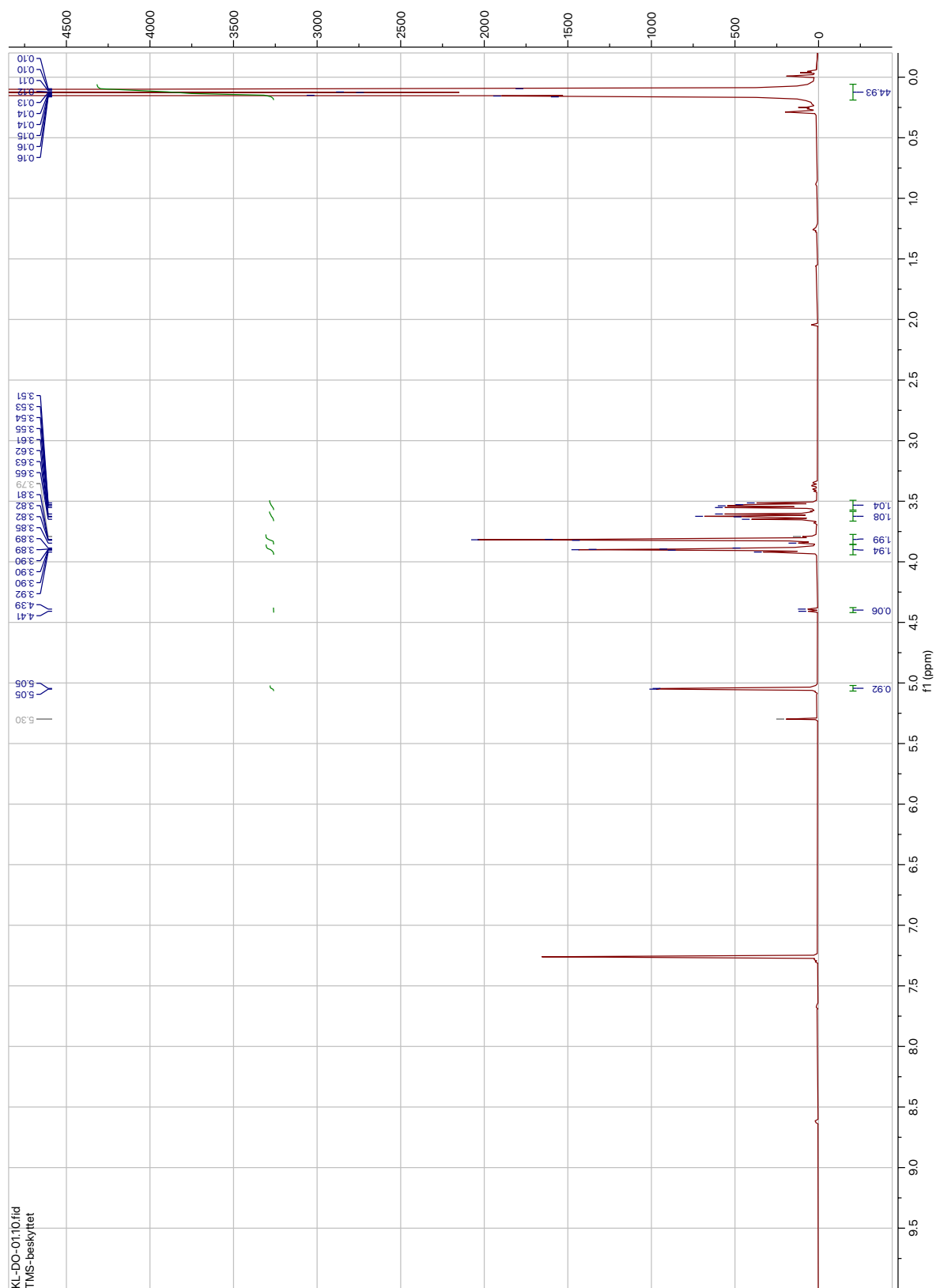


Figur 6-12. ^{13}C NMR spekter av 1,2-distearoyl-glyserol (97).

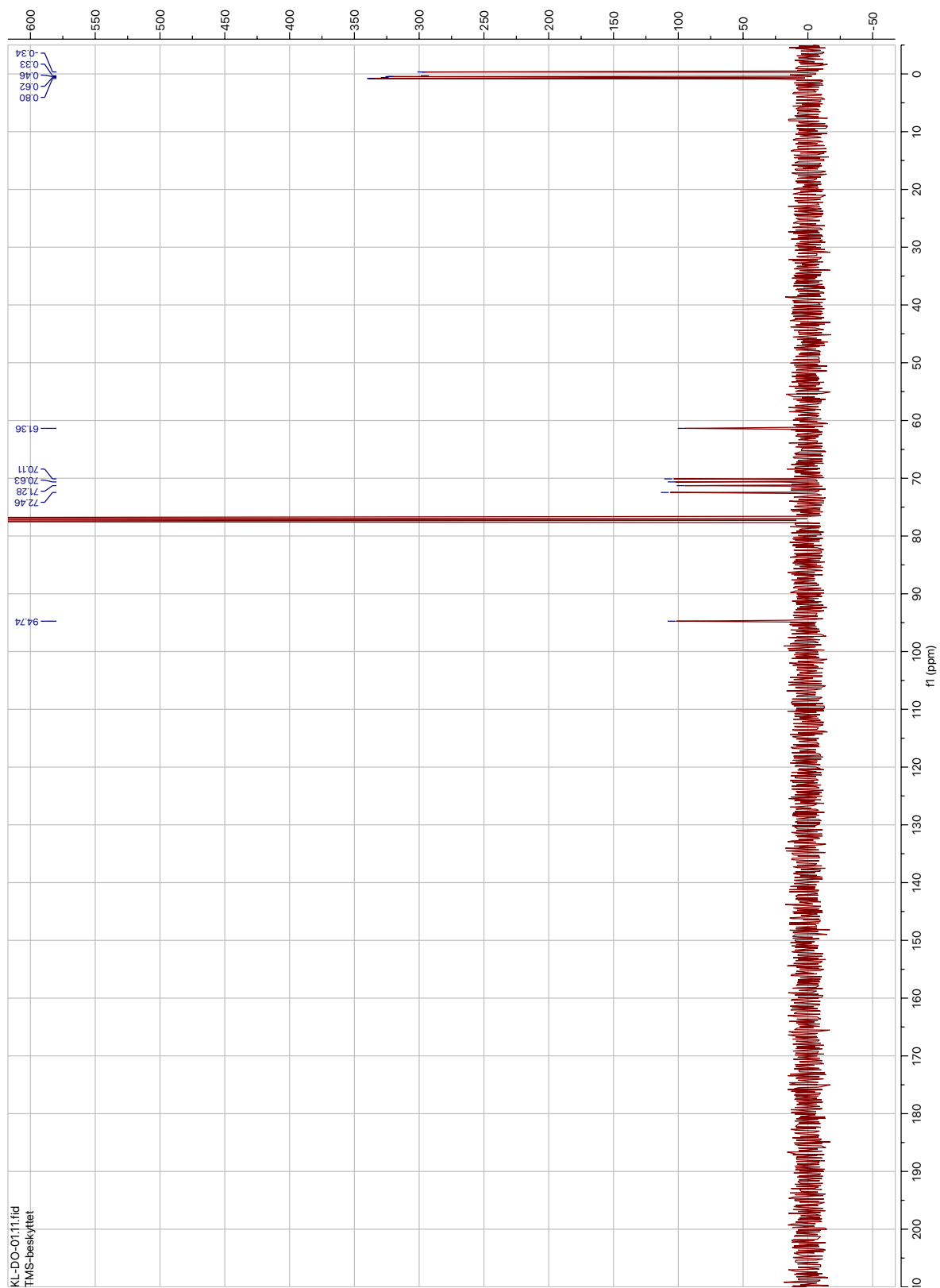


Figur 6-13. IR-spekter av 1,2-distearoyl-glyserol (97).

6.6 ^1H NMR- og ^{13}C NMR-spektra av 1,2,3,4,6-pentatrimetylsilyl-galaktopyranose (**69**)

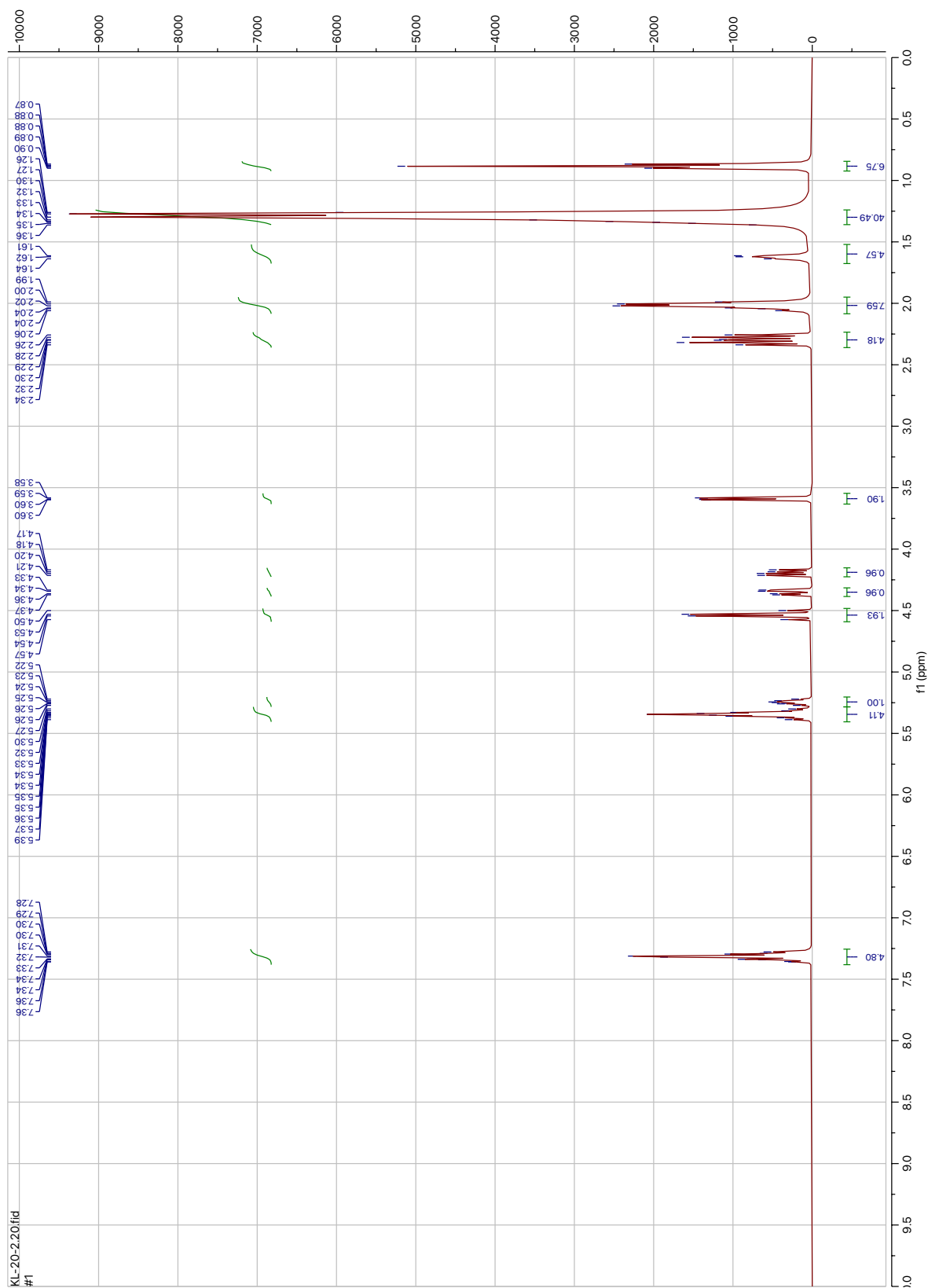


Figur 6-14. ^1H NMR spekter av 1,2,3,4,6-pentatrimetylsilyl-galaktopyranose (**69**).

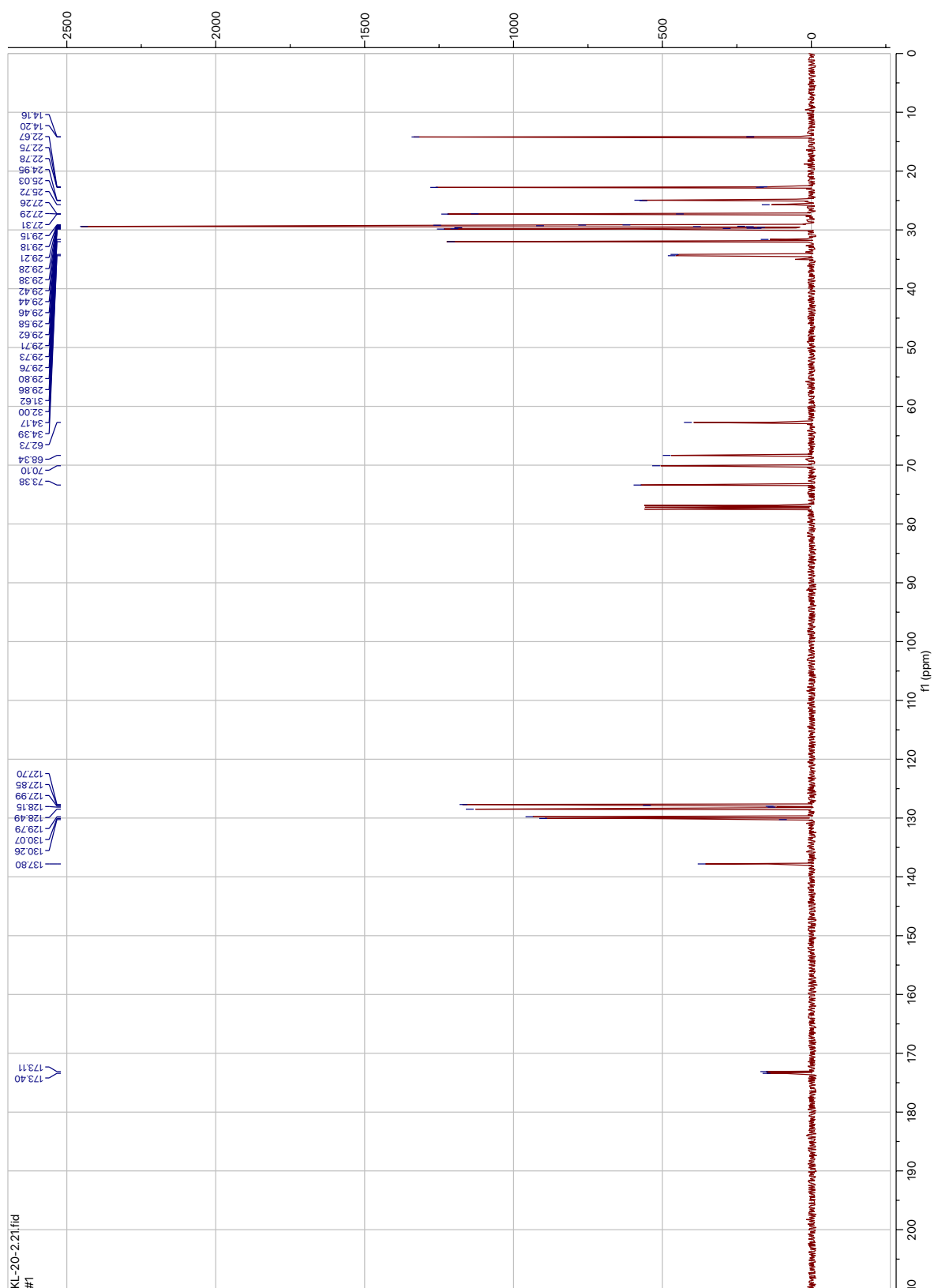


Figur 6-15. ^{13}C NMR spekter av 1,2,3,4,6-pentatrimetylsilyl-galaktopyranose (69).

6.7 ^1H NMR- og ^{13}C NMR-spektra av 3-*O*-benzyl-1,2-*O*-dioleoyl-glycerol (**102**)

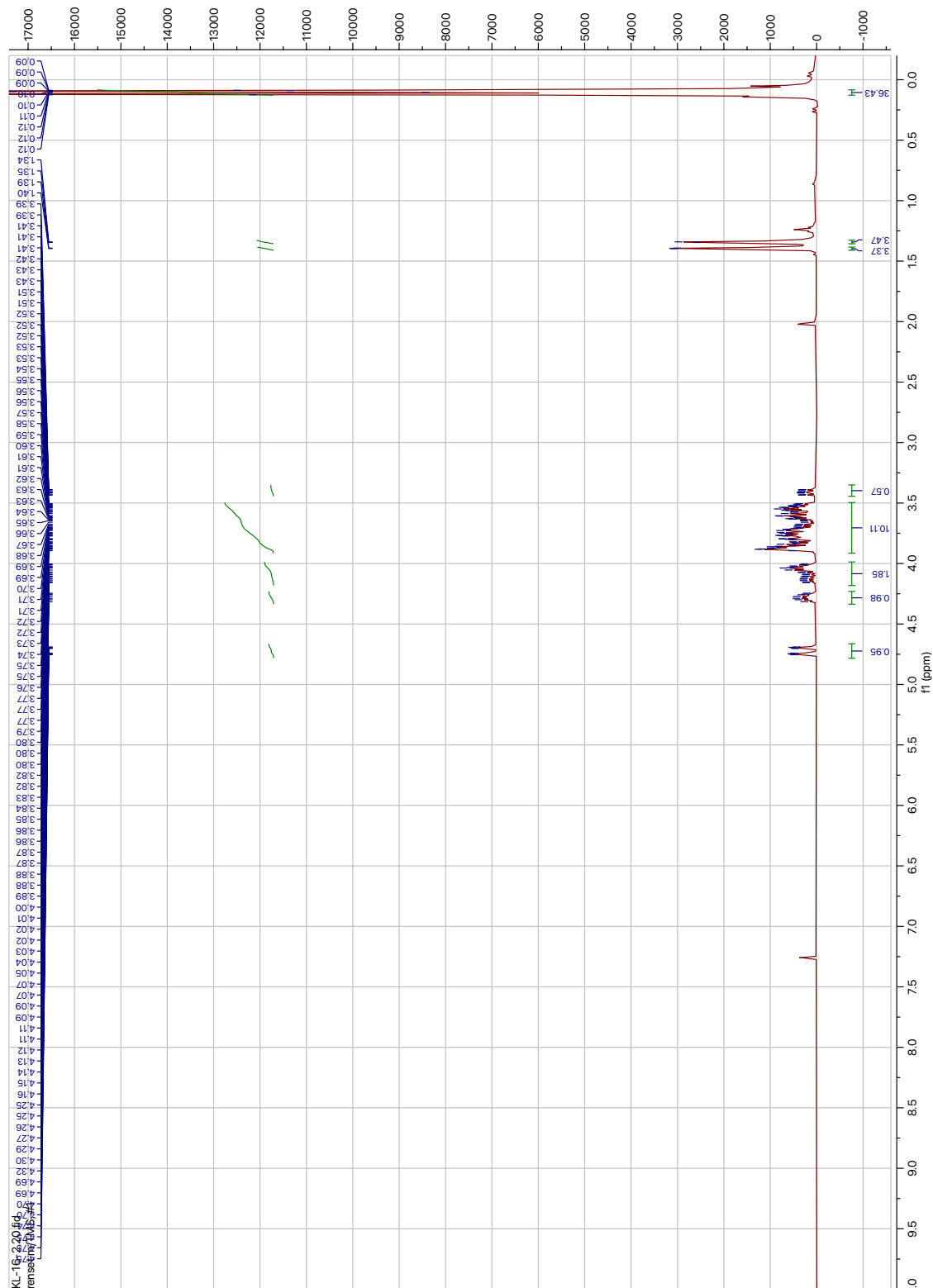


Figur 6-16. ^1H NMR spekter av 3-*O*-benzyl-1,2-*O*-dioleoyl-glycerol (**102**).

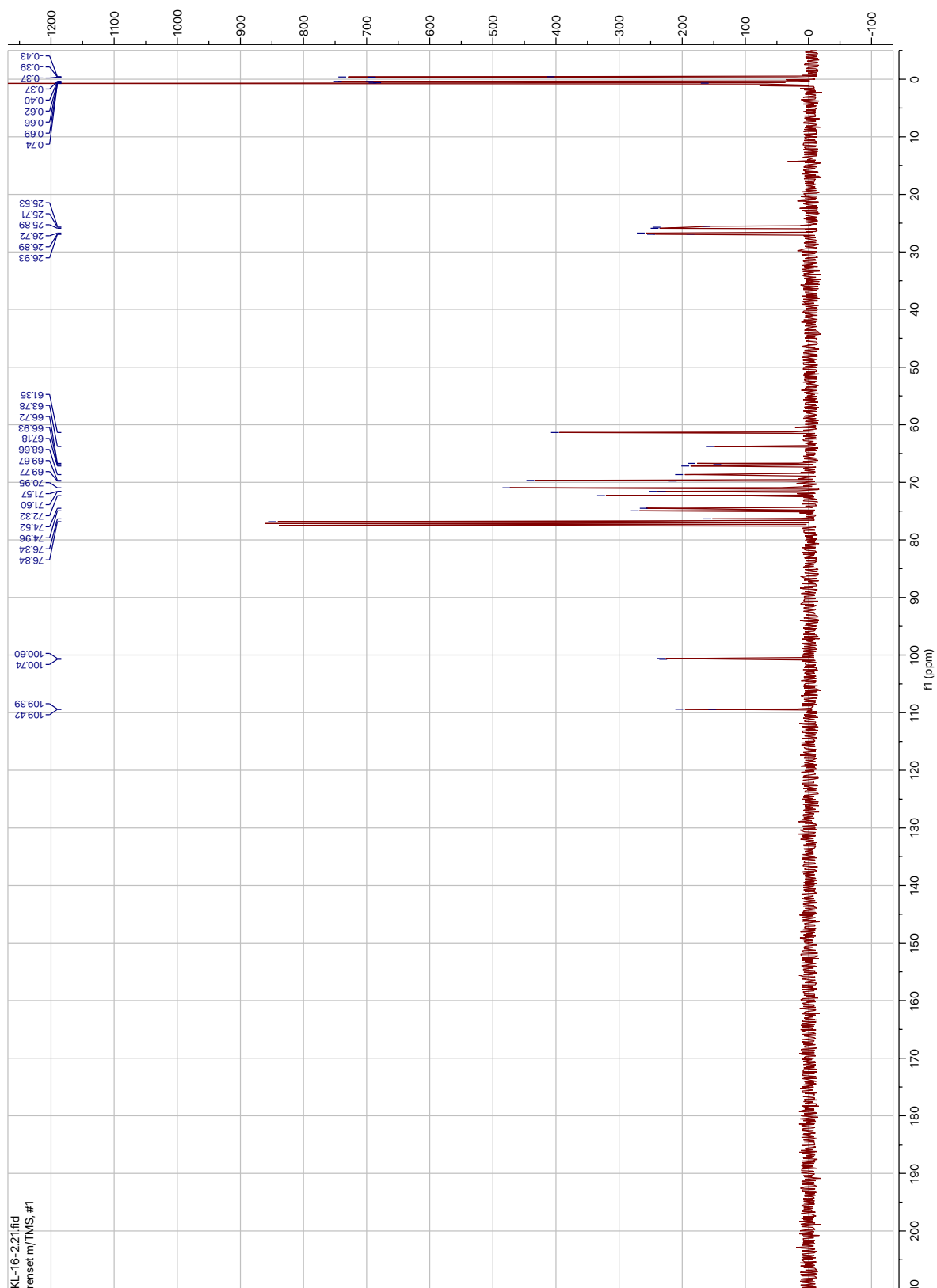


Figur 6-17. ^{13}C NMR spekter av 3-O-benzyl-1,2-O-dioleoyl-glyserol (102).

6.8 ^1H NMR- og ^{13}C NMR-spektra av 1,2-*O*-isopropyliden-3-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-trimetylsilyl-D-galaktopyranosyl)-glyserol (103)

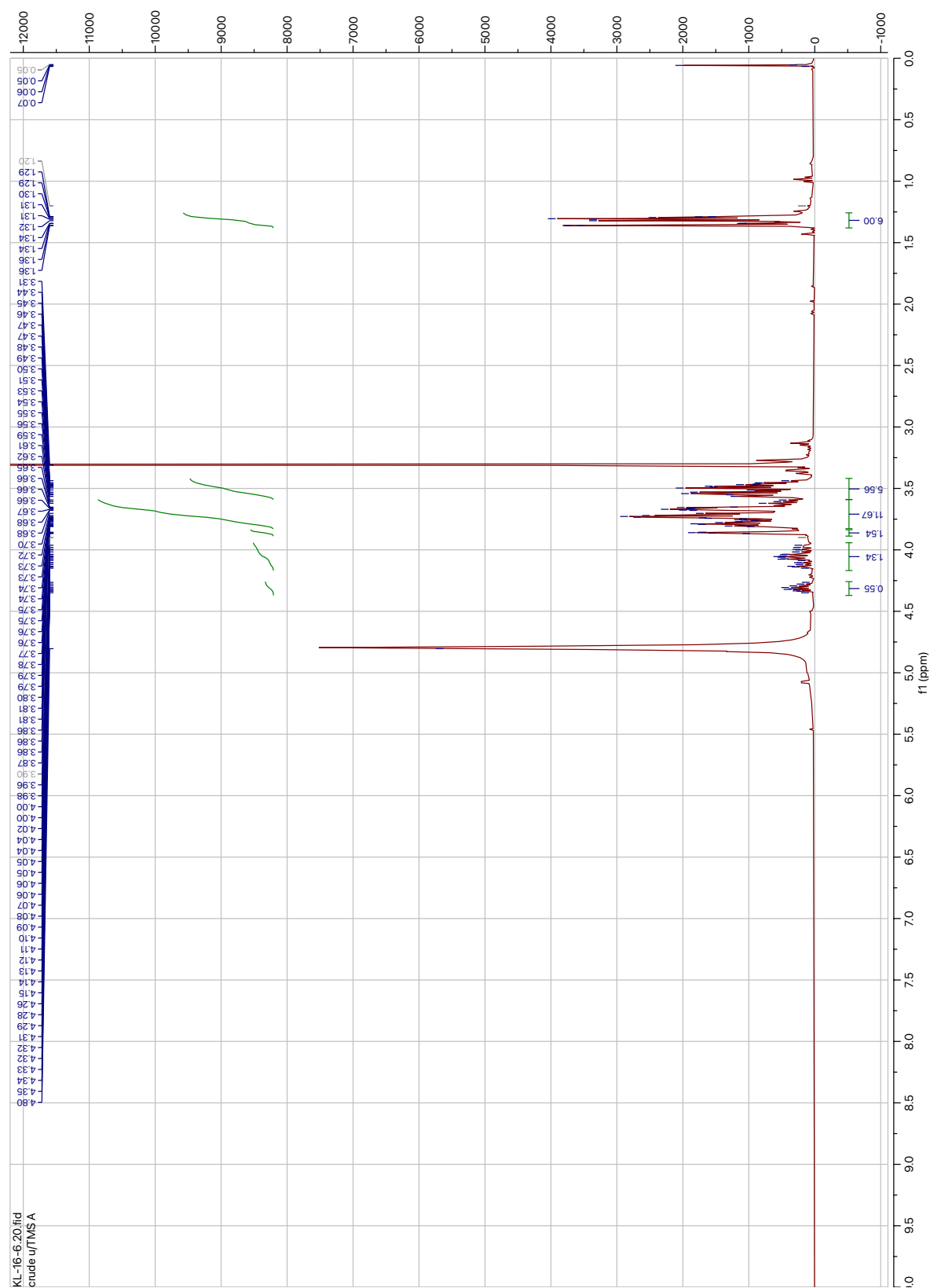


Figur 6-18. ^1H NMR spekter av 1,2-*O*-isopropyliden-3-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-trimetylsilyl-D-galaktopyranosyl)-glyserol (103).

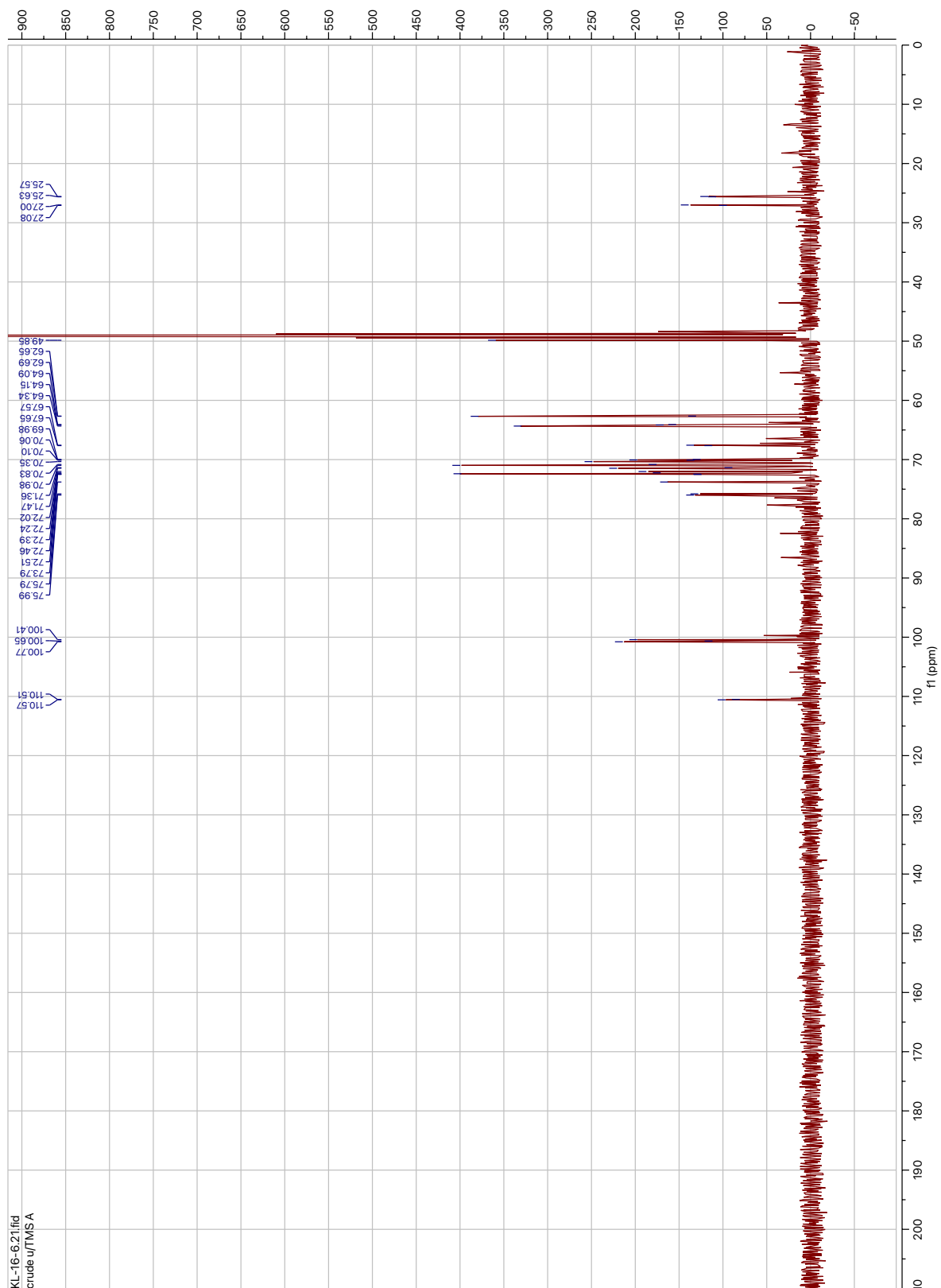


Figur 6-19. ^{13}C NMR spekter av 1,2-O-isopropyliden-3-O-(2',3',4',6'-tetra-O-trimetylsilyl)-D-galaktopyranosyl-glyserol (**103**).

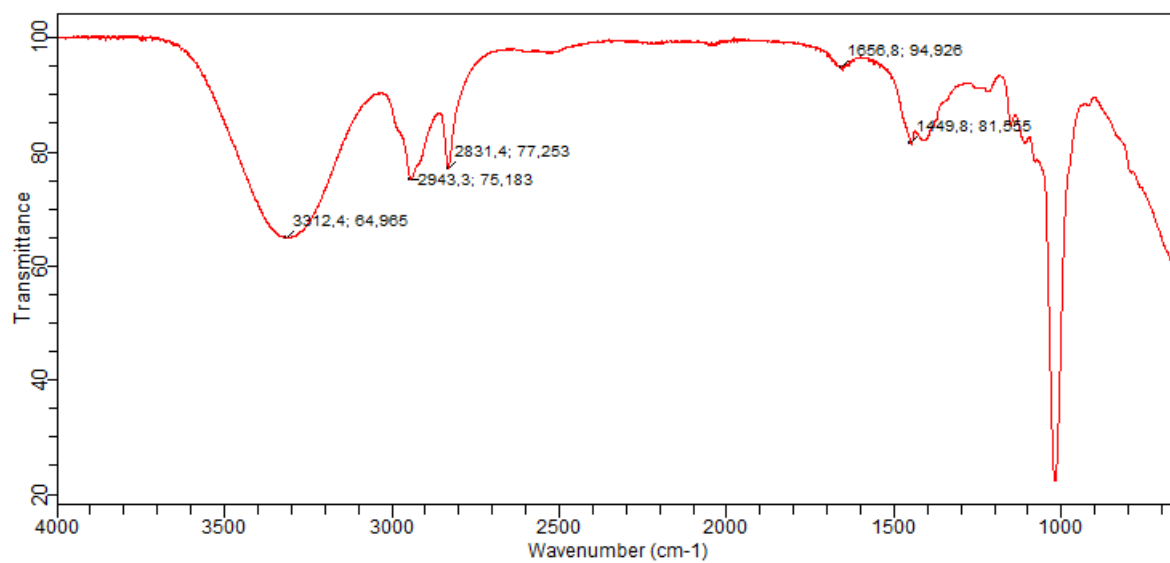
6.9 Spektrale data av 1,2-*O*-isopropyliden-3-*O*-(*D*-galaktopyranosyl)-glyserol (**104**)



Figur 6-20. ^1H NMR spekter av 1,2-*O*-isopropyliden-3-*O*-(*D*-galaktopyranosyl)-glyserol (**104**).

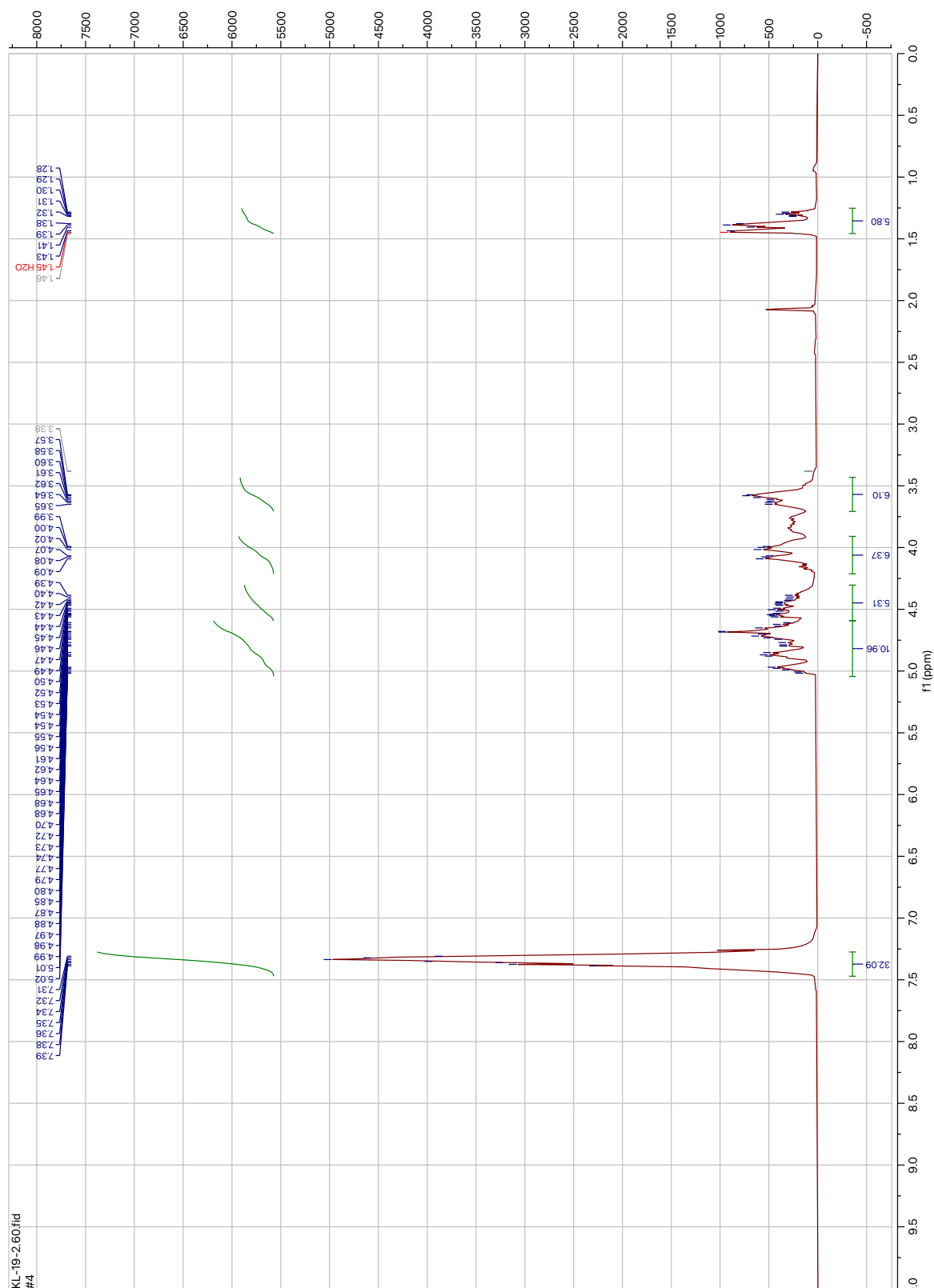


Figur 6-21. ^{13}C NMR spekter av 1,2-O-isopropyliden-3-O-(D-galaktopyranosyl)-glyserol (104).

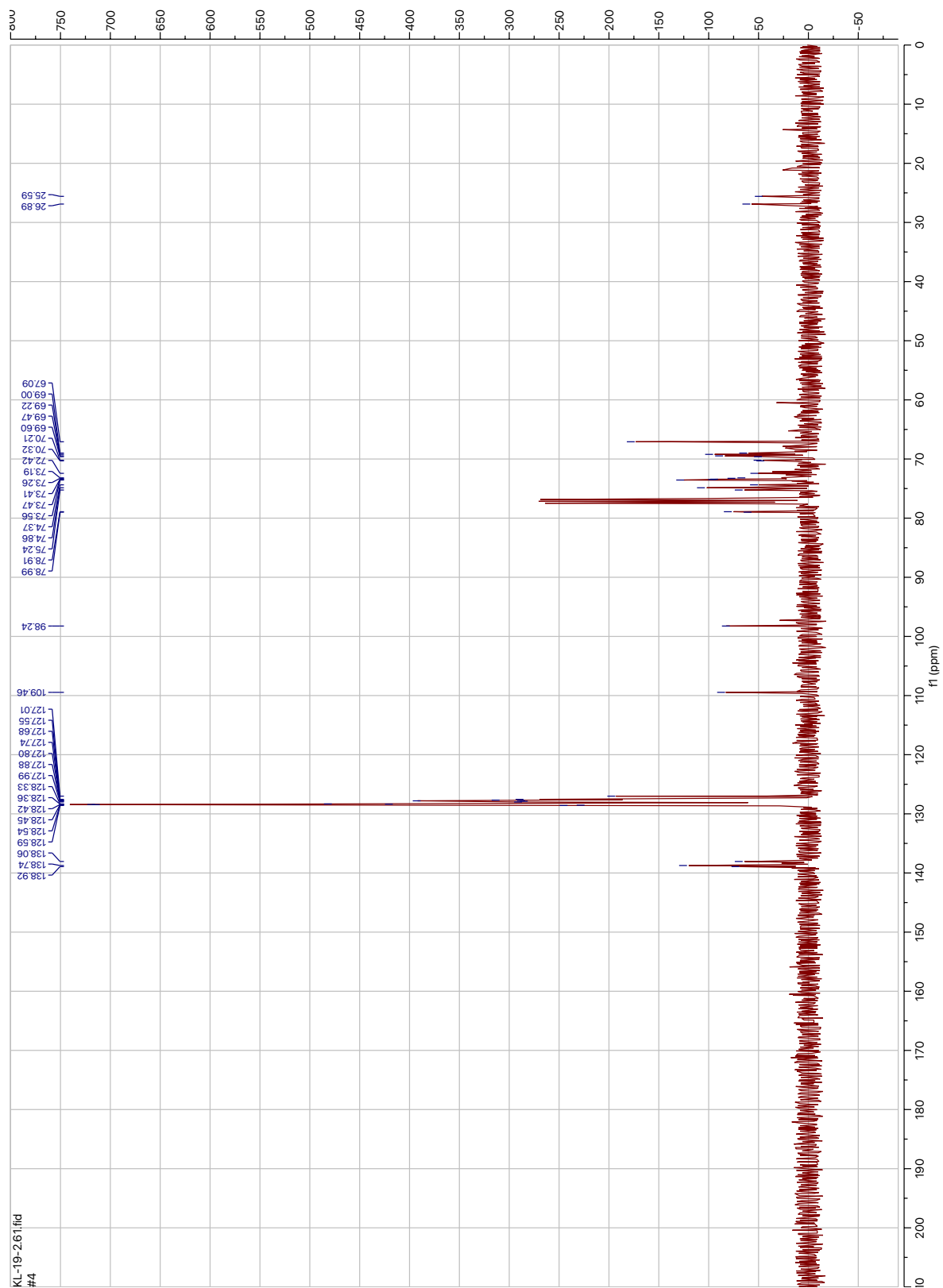


Figur 6-22. IR-spekter av 1,2-O-isopropyliden-3-O-(D-galaktopyranosyl)-glyserol (**104**).

6.10 ^1H NMR- og ^{13}C NMR-spektra av 1,2-*O*-isopropyliden-3-*O*- (2',3',4',6'-tetra-*O*-benzyl-D-galaktopyranosyl)-glyserol (**105**)

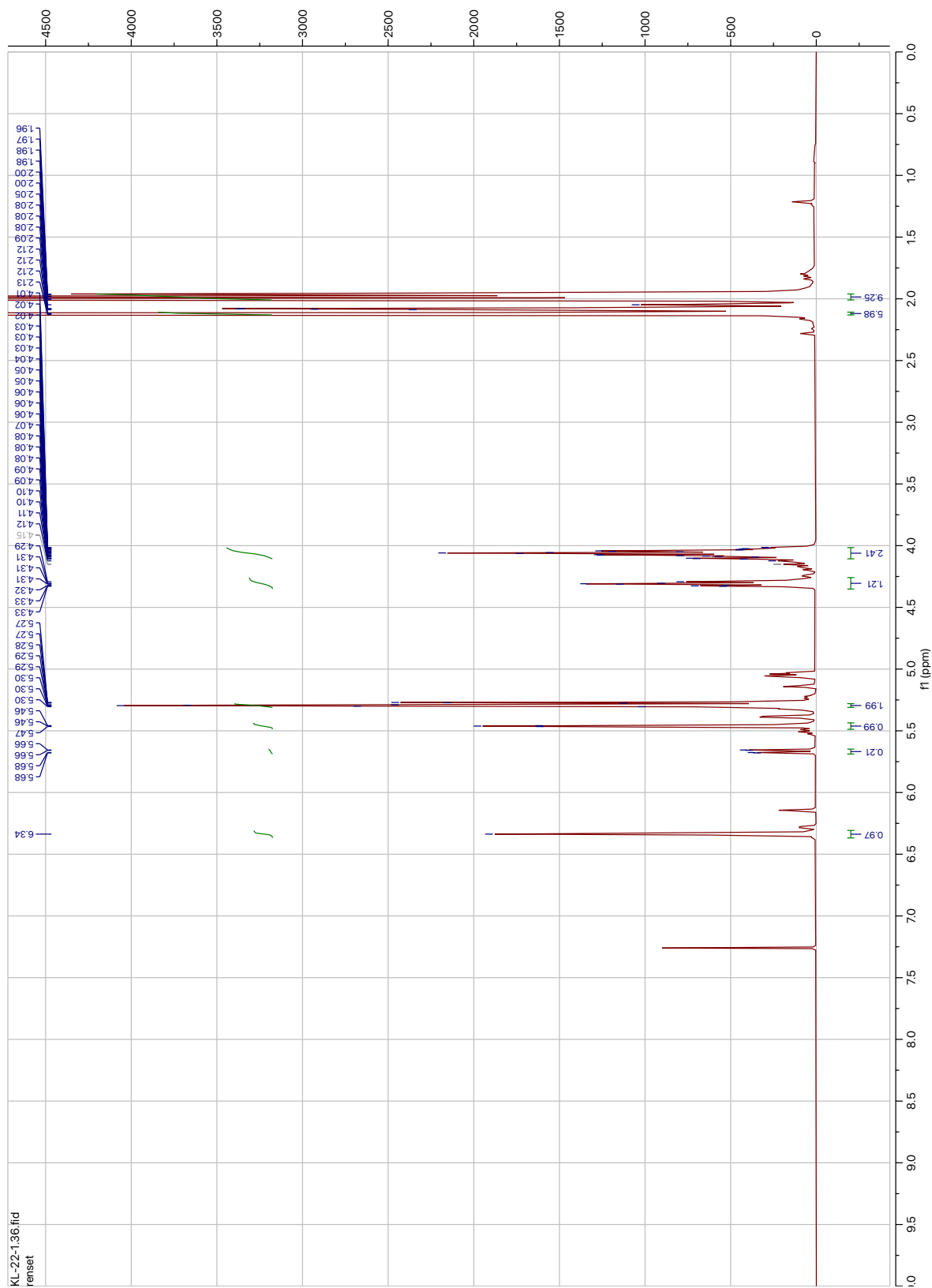


Figur 6-23. ^1H NMR spekter av 1,2-*O*-isopropyliden-3-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-benzyl-D-galaktopyranosyl)-glyserol (**105**).

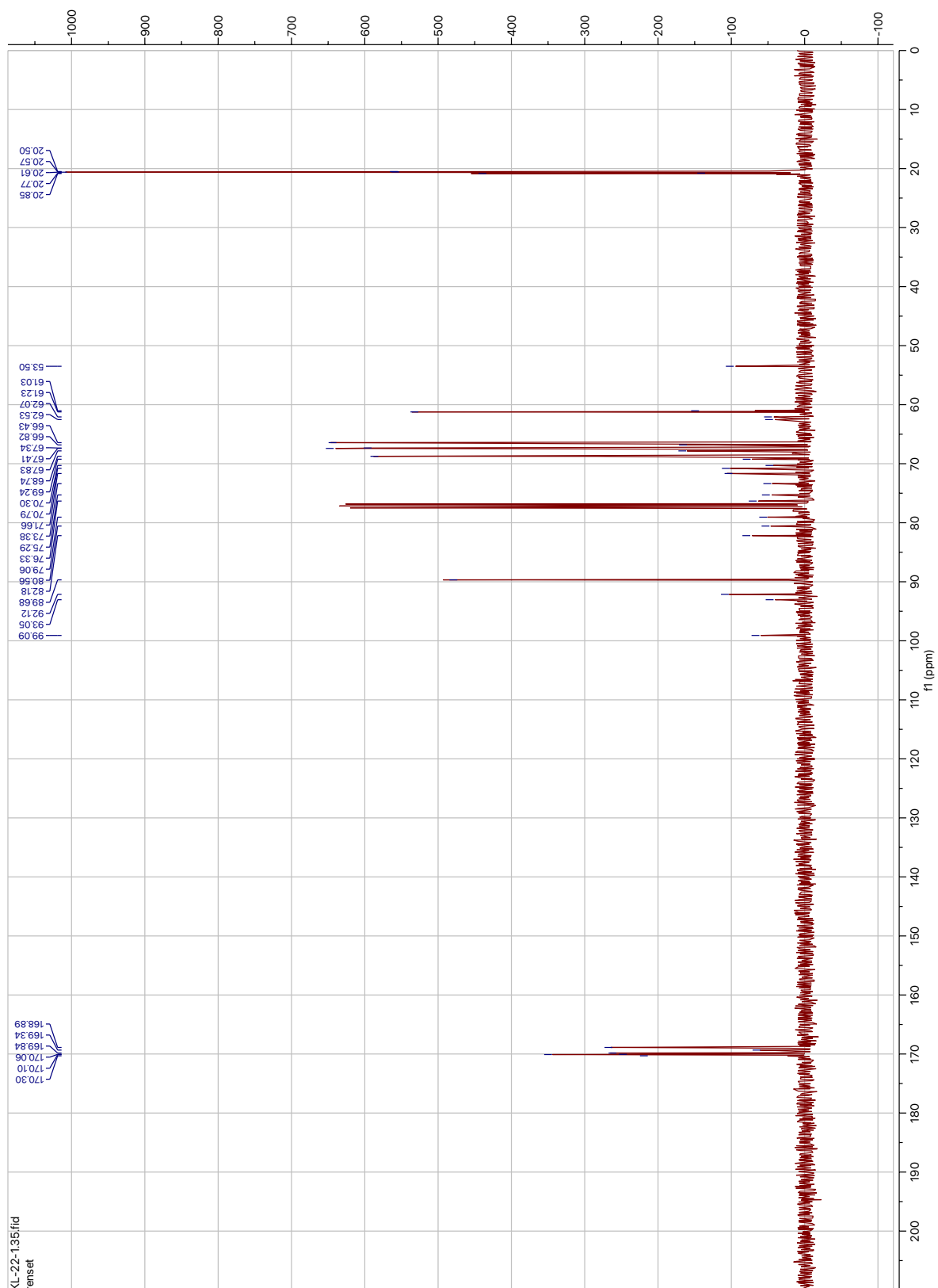


Figur 6-24. ^{13}C NMR spekter av 1,2-O-isopropyliden-3-O-(2',3',4',6'-tetra-O-benzyl-D-galaktopyranosyl)-glyserol (**105**)

6.11 ^1H NMR- og ^{13}C NMR-spektra av 1',2',3',4',6'-pentaacetat-galaktopyranose (**108**)

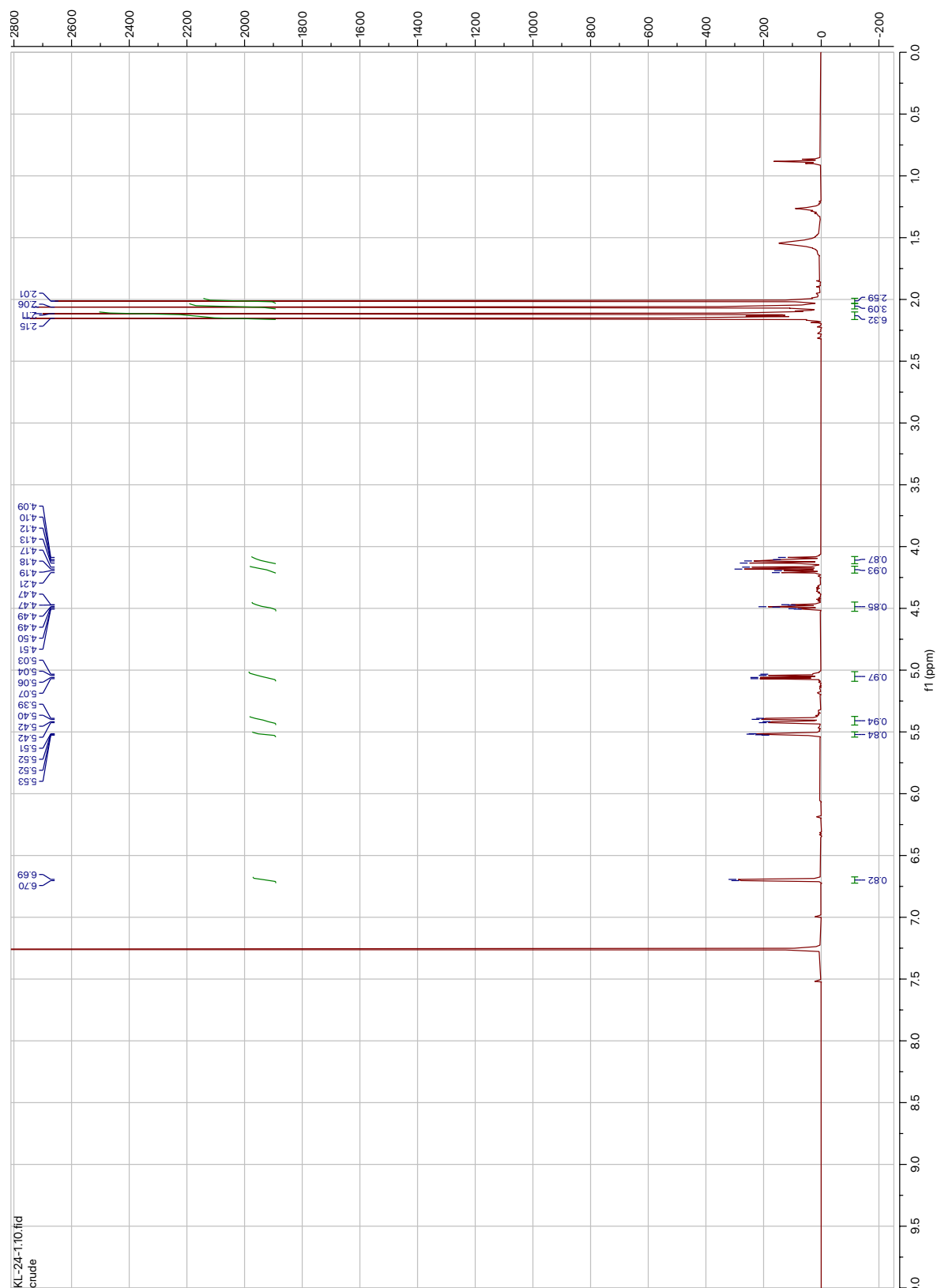


Figur 6-25. ^1H NMR spekter av 1',2',3',4',6'-pentaacetat-galaktopyranose (**108**).

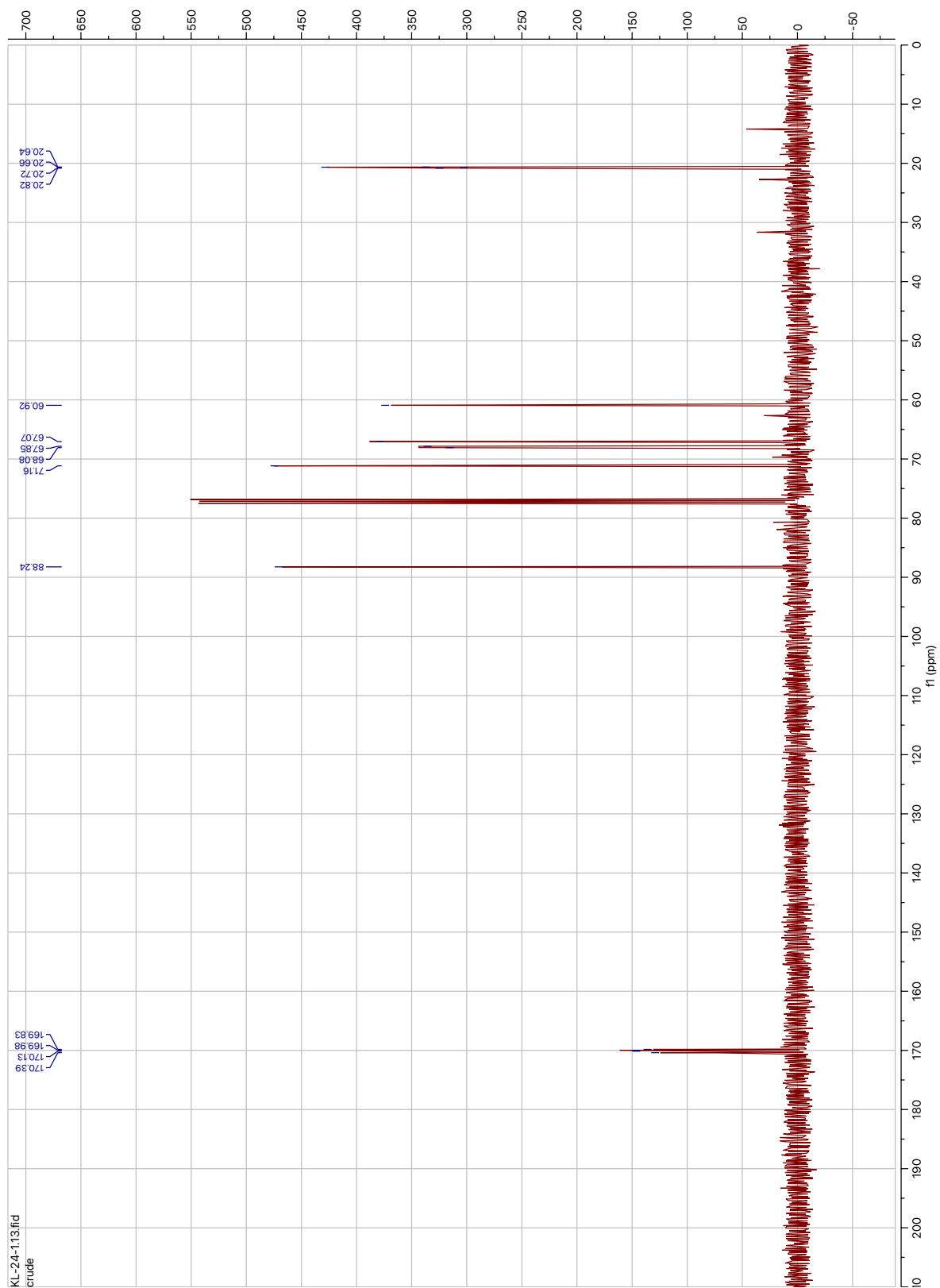


Figur 6-26. ^{13}C NMR spekter av 1',2',3',4',6'-pentaacetat-galaktopyranose (108).

6.12 ^1H NMR- og ^{13}C NMR-spektra av 2',3',4',6'-tetraacetat-galaktopyranosylbromid (109)

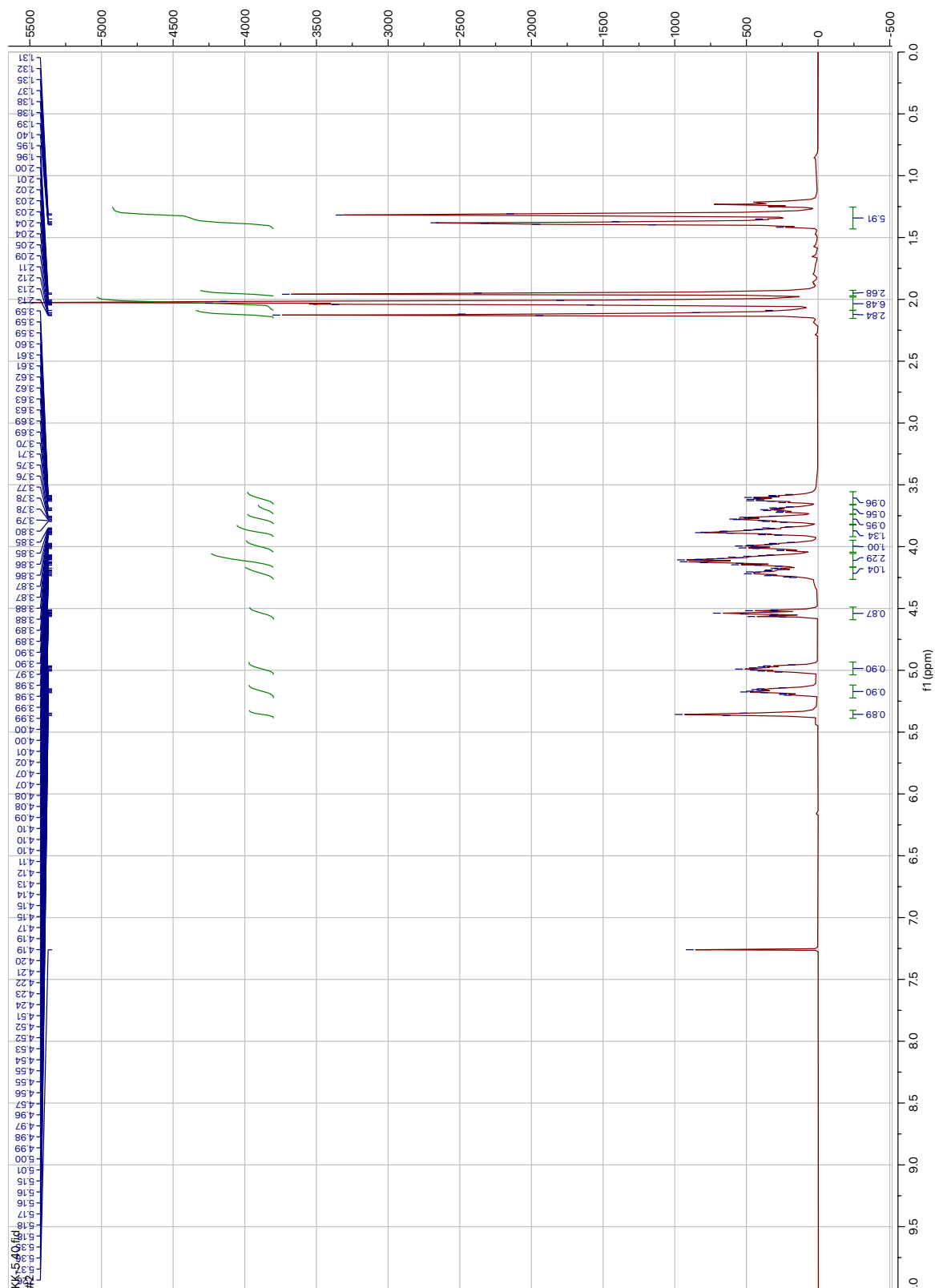


Figur 6-27. ^1H NMR spekter av 2',3',4',6'-tetraacetat-galaktopyranosylbromid (109).

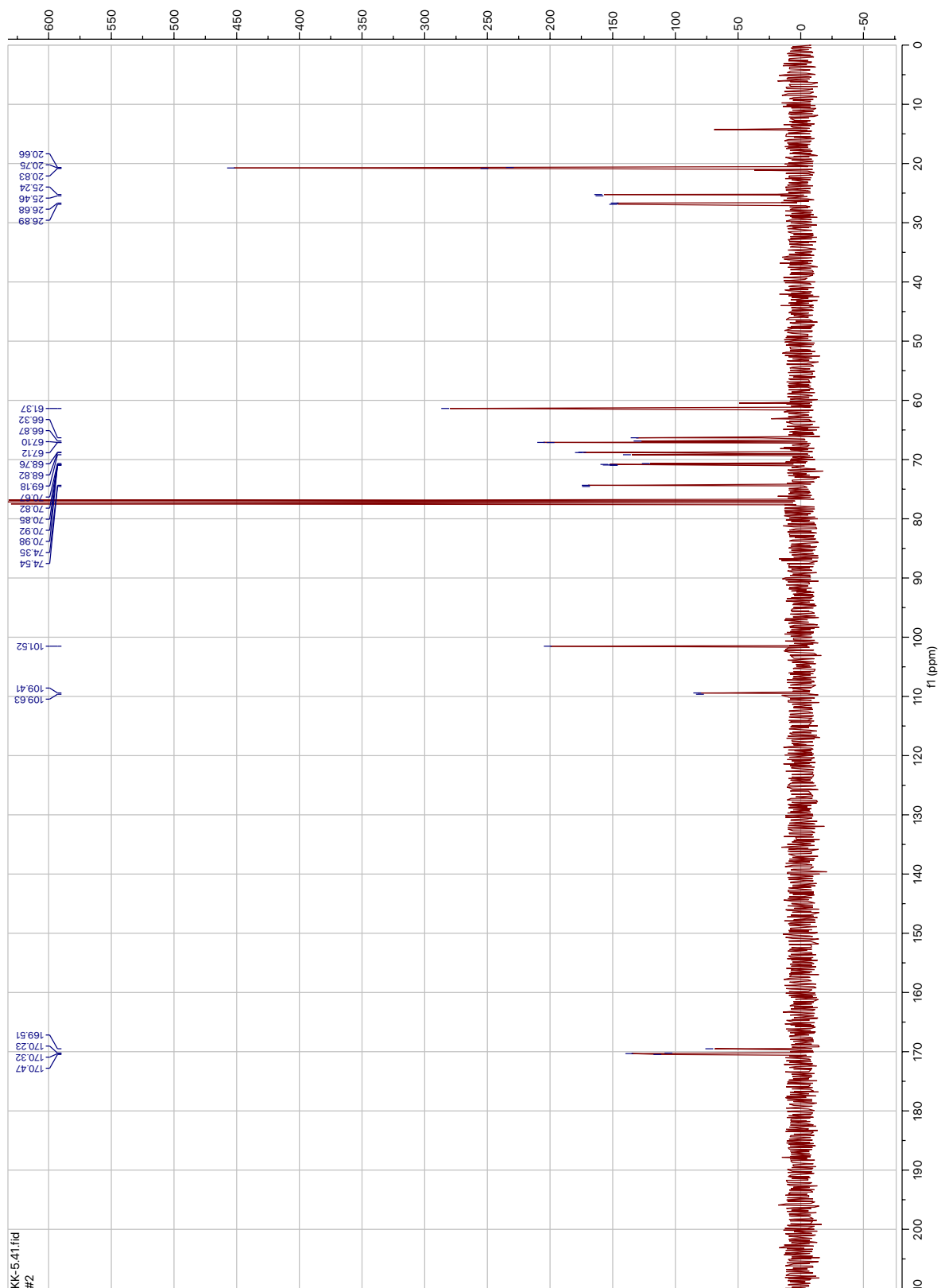


Figur 6-28. ^{13}C NMR spekter av 2',3',4',6'-tetraacetat-galaktopyranosylbromid (109).

6.13 ^1H NMR- og ^{13}C NMR- spektra av 1,2-*O*-isopropyliden-3-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl-D-galaktopyranosyl)-glyserol (**110**)

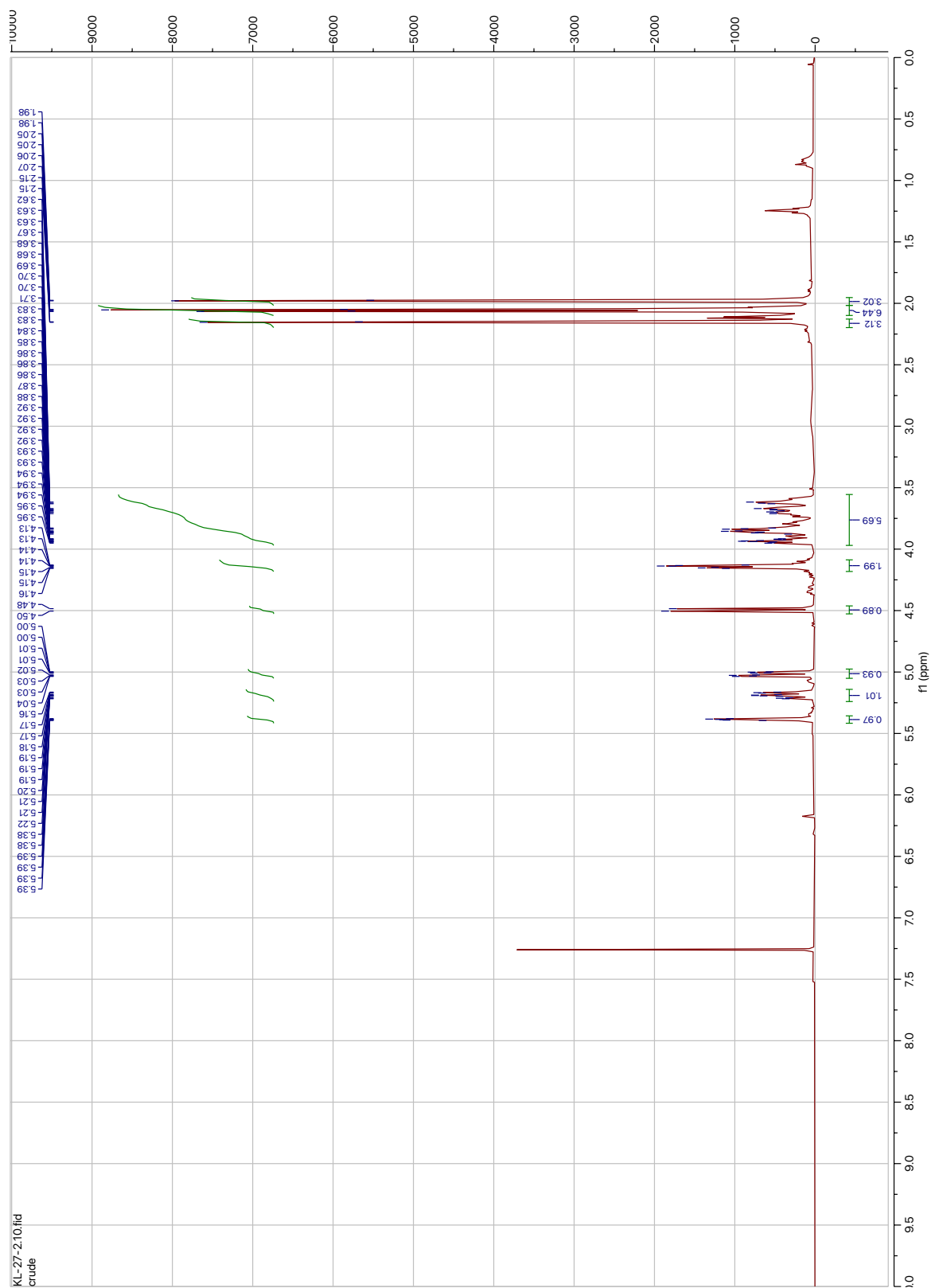


Figur 6-29. ^1H NMR spekter av 1,2-*O*-isopropyliden-3-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl-D-galaktopyranosyl)-glyserol (**110**).

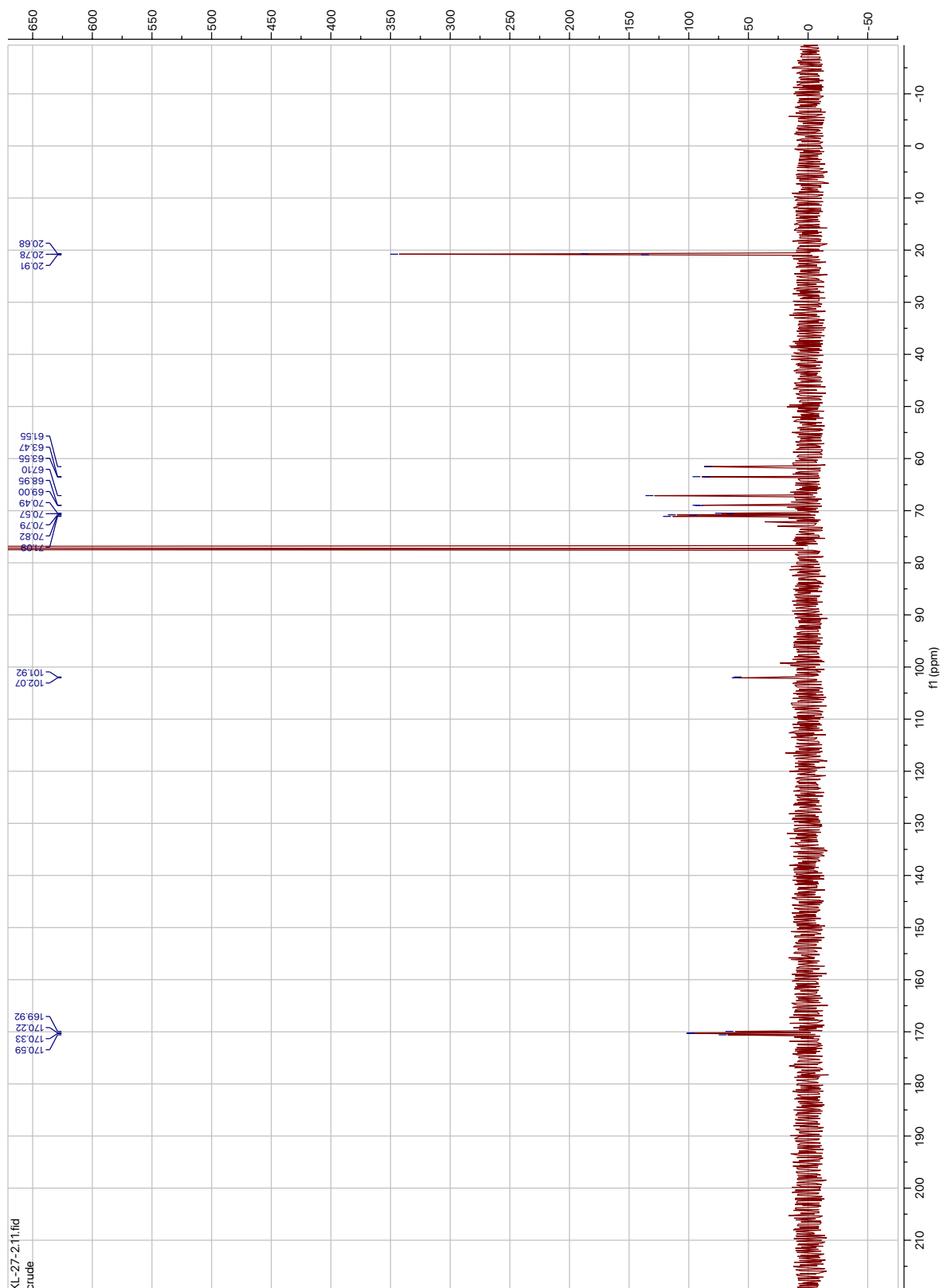


Figur 6-30. ^{13}C NMR spekter av 1,2-O-isopropyliden-3-O-(2',3',4',6'-tetra-O-acetyl-D-galaktopyranosyl)-glyserol (110).

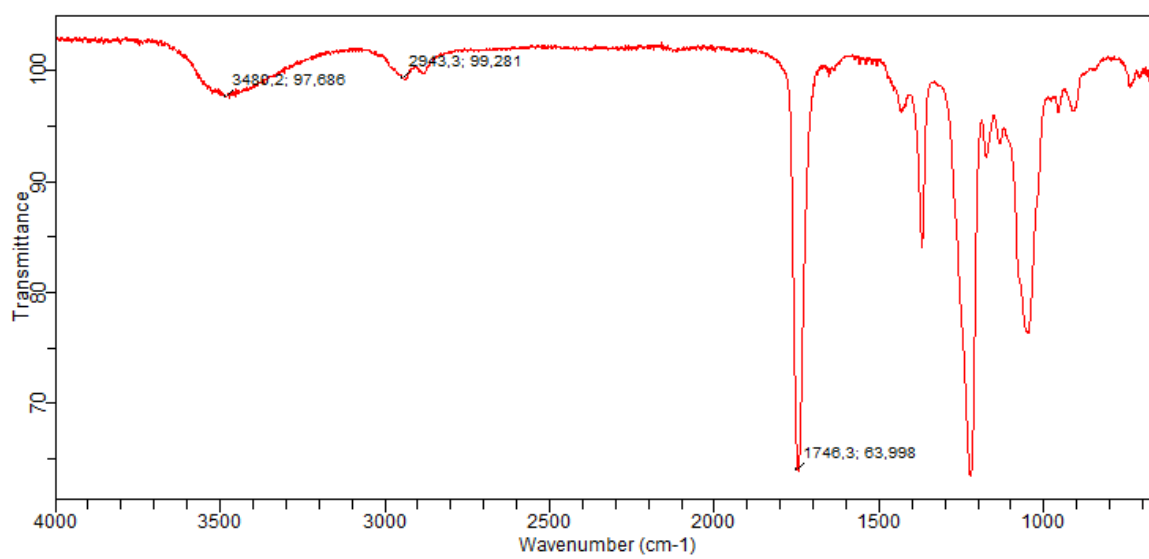
6.14 Spektrale data av 3-O-(2',3',4',6'-tetra-O-acetyl- β -D-galaktopyranosyl)-glyserol (**111**)



Figur 6-31. ^1H NMR spekter av 3-O-(2',3',4',6'-tetra-O-acetyl- β -D-galaktopyranosyl)-glyserol (**111**)

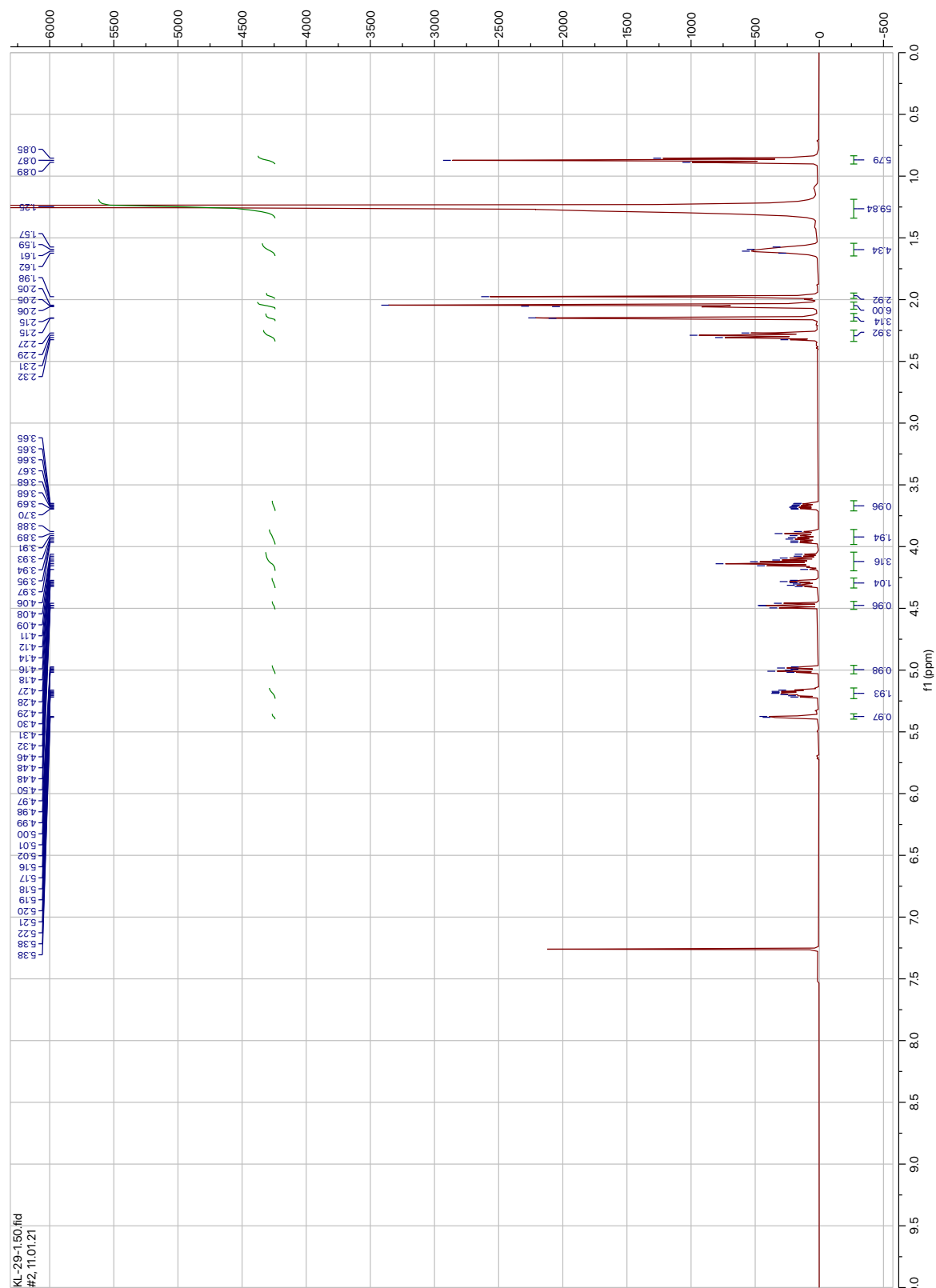


Figur 6-32. ^{13}C NMR spekter av 3-O-(2',3',4',6'-tetra-O-acetyl- β -D-galaktopyranosyl)-glyserol (**III**).

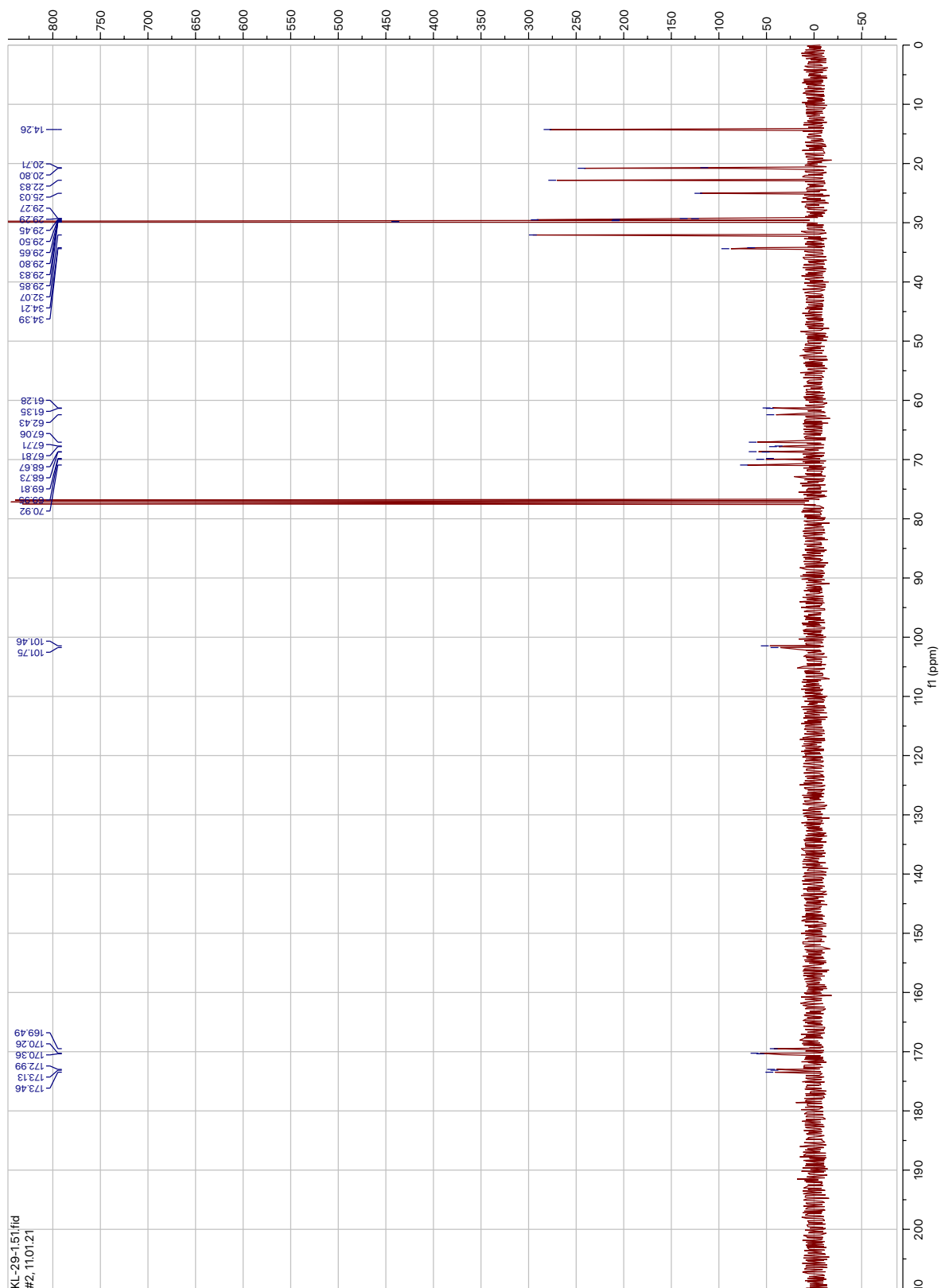


Figur 6-33. IR-spekter av 3-O-(2',3',4',6'-tetra-O-acetyl- β -D-galaktopyranosyl)-glyserol (**111**)

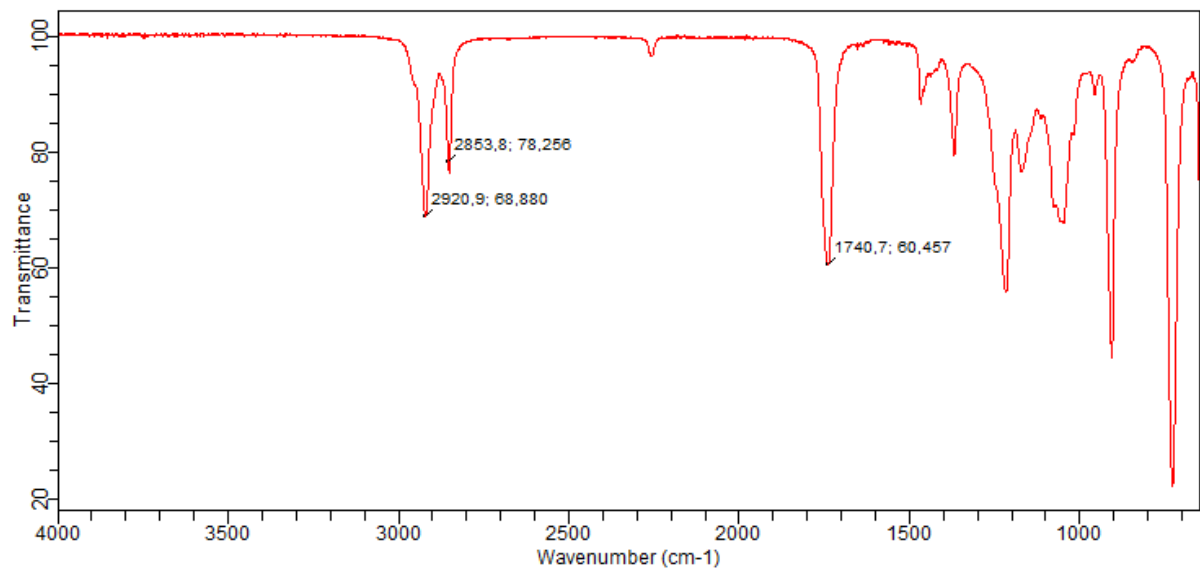
6.15 Spektrale data av 1,2-*O*-dionadekanoyl-3-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- β -D-galaktopyranosyl)-glyserol (**112**)



Figur 6-34. ^1H NMR spekter av 1,2-*O*-dionadekanoyl-3-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- β -D-galaktopyranosyl)-glyserol (**112**).

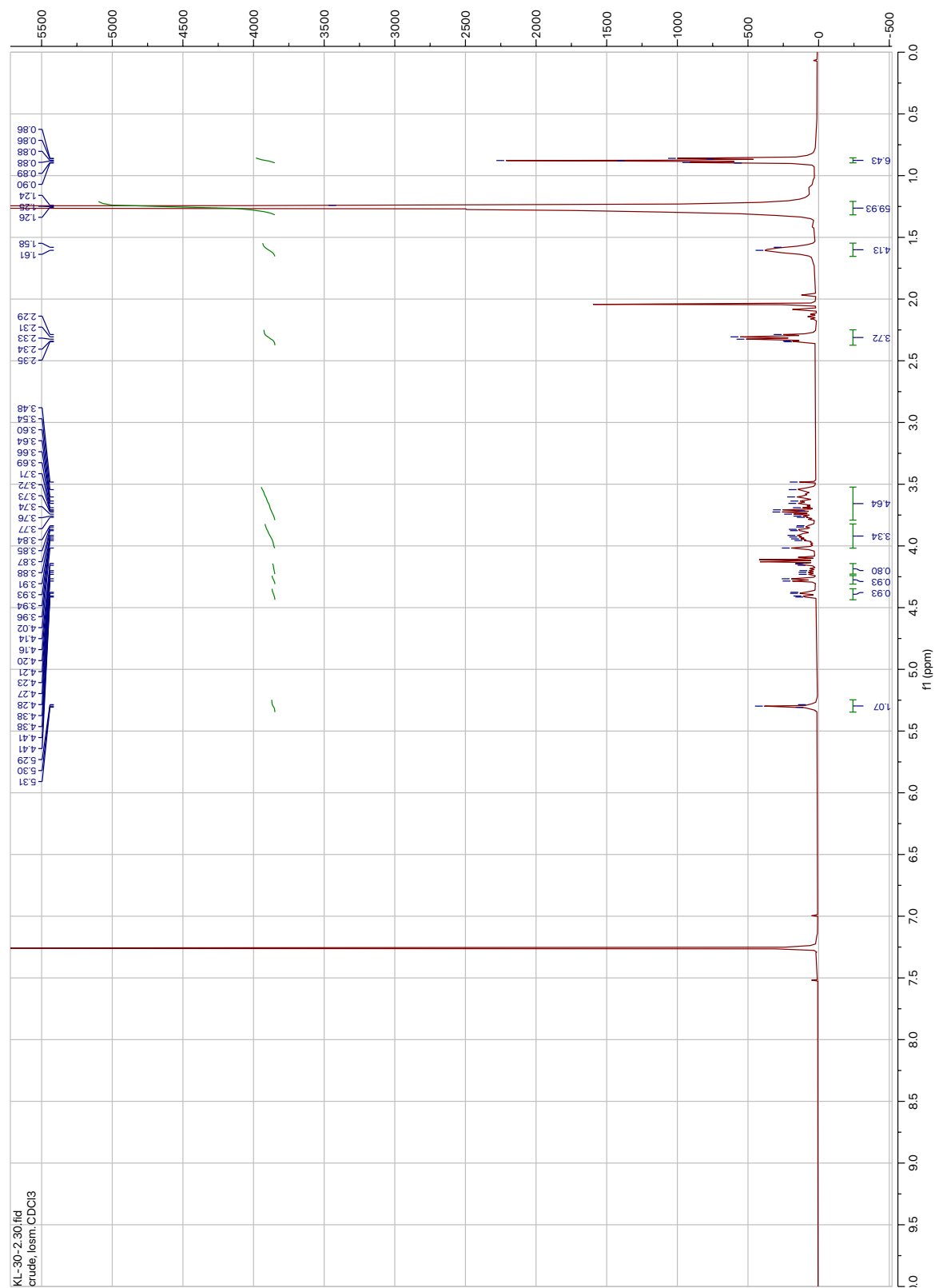


Figur 6-35. ^{13}C NMR spekter av 1,2-O-dinonadekanoyl-3-O-(2',3',4',6'-tetra-O-acetyl- β -D-galaktopyranosyl)-glyserol (**112**).

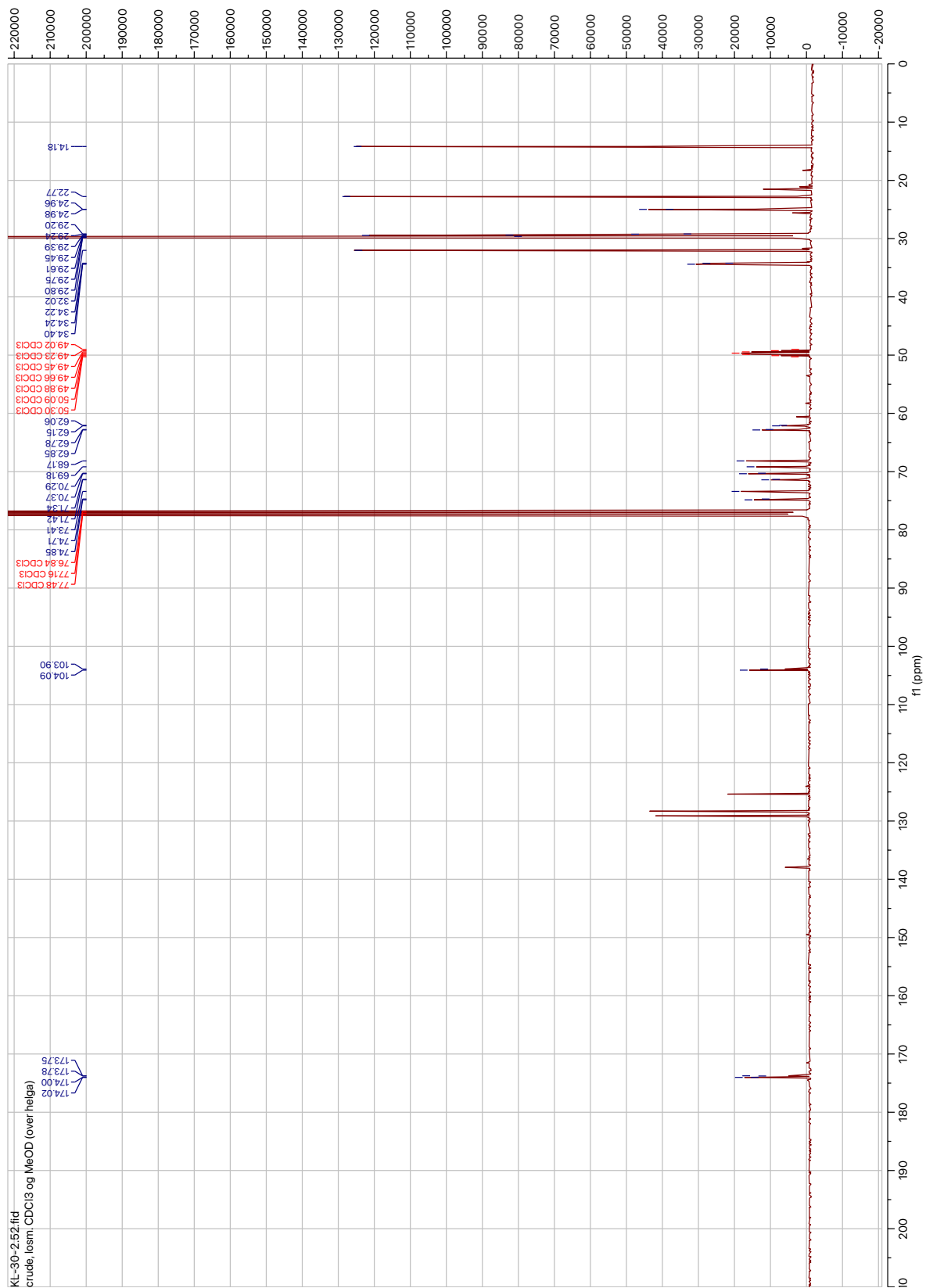


Figur 6-36. IR- spekter av 1,2-O-dinonadekanoyl-3-O-(2',3',4',6'-tetra-O-acetyl- β -D-galaktopyranosyl)-glyserol (**112**).

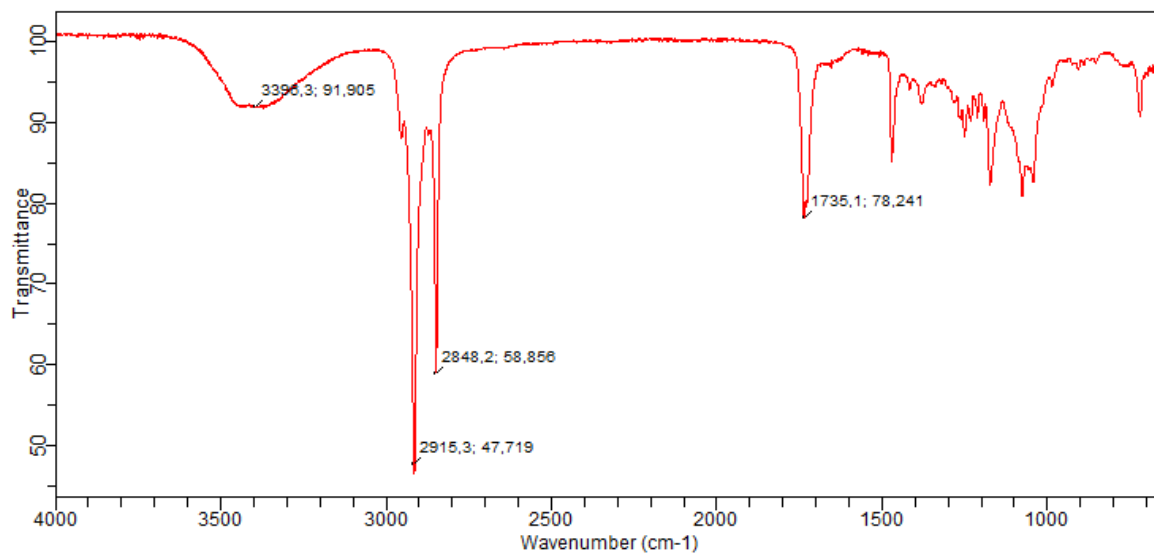
6.16 Spektrale data av 1,2-*O*-dionadekanoyl-3-*O*- β -galaktopyranosyl-glycerol (**1a**)



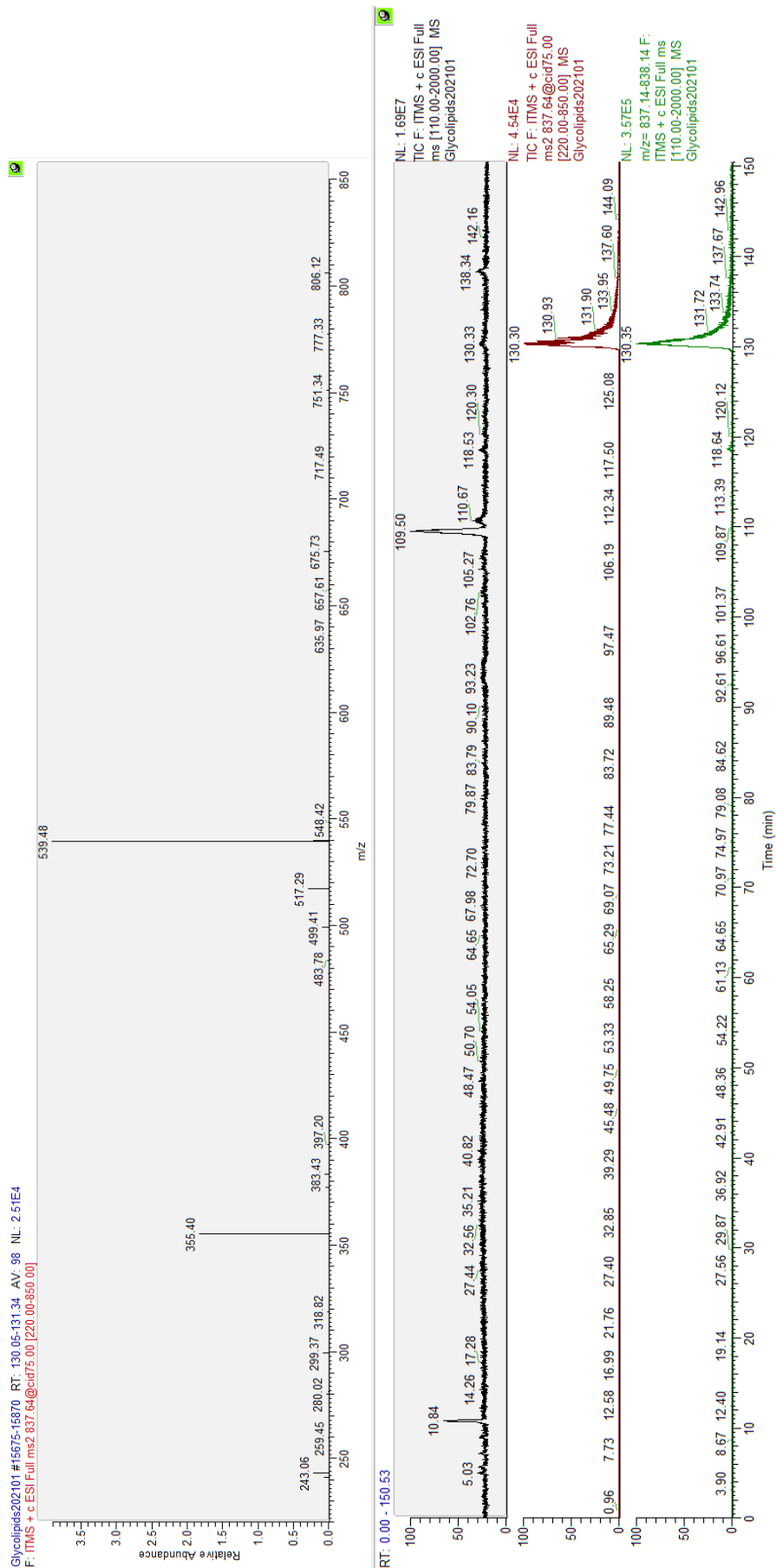
Figur 6-37. ^1H NMR spekter av 1,2-*O*-dionadekanoyl-3-*O*- β -galaktopyranosyl-glycerol (**1a**).



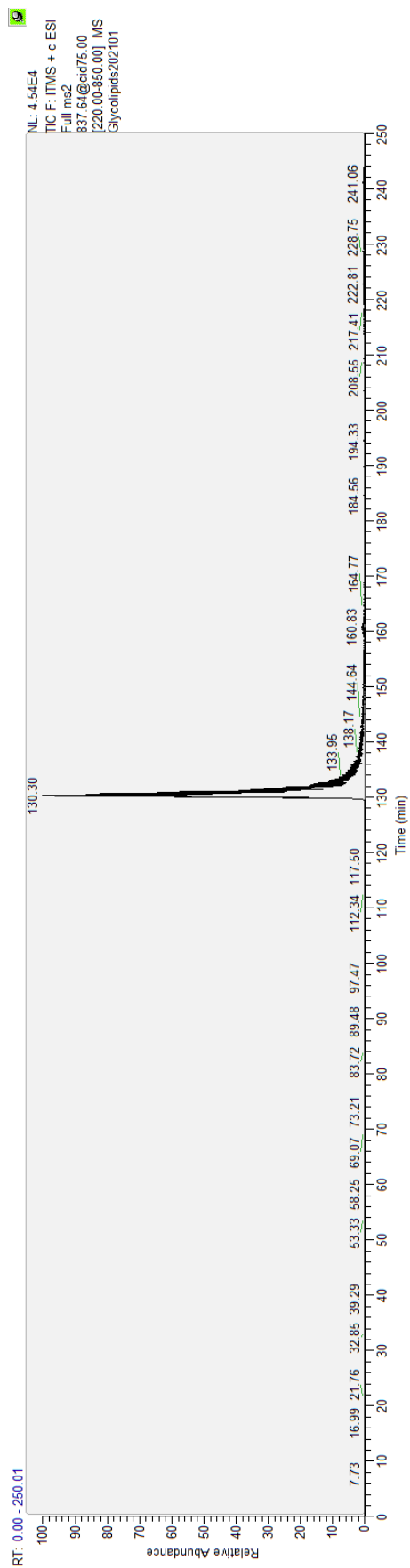
Figur 6-38. ^{13}C NMR spekter av 1,2-O-dinonadecanoyl-3-O- β -galaktopyranosyl-glycerol (**1a**).



Figur 6-39. IR-spekter av 1,2-O-dinonadecanoyl-3-O- β -galaktopyranosyl-glyserol (**1a**).



Figur 6-40. MS/MS-spekter av 1,2-O-dinonadecanoyl-3-O-D-galaktopyranosyl-glycerol (1a).



Figur 6-41. RIC-spekter av 1,2-O-dinonadekanoyl-3-O-D-galaktopyranosyl-glyserol (**1a**).



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

Postboks 5003
NO-1432 Ås
Norway