

Syntese av mulige DRV1/GPR32 agonister

Masteroppgave i farmasi

Nutnicha Sa-ngobphai



Seksjon for farmasøytisk kjemi

Farmasøytisk Institutt

Det matematisk-naturvitenskapelige fakultet

UNIVERSITETET I OSLO

Januar 2021

© Nutnicha Sa-ngobphai

2021

Syntese av mulige DRV1/GPR32 agonister Nutnicha Sa-ngobphai

<http://www.duo.uio.no/>

Trykk: Reprosentralen, Universitetet i Oslo

Sammendrag

Akutt inflammatorisk respons er kroppens beskyttende prosess mot skadelig faktor blant annet infeksjon og traumer. En vellykket akutt inflammatorisk respons vil ende opp med en fullstendig oppløsning og en vevsregenerering, noe som fører til homeostase. En mislykket akutt inflammatorisk respons vil utvikle til kronisk inflammasjon forårsaket til en rekke sykdommer f.eks. tarmsykdom, aterosklerose og astma.

Flerumettet ω -3-fettsyrer som eikosapentaensyre (EPA) og dokosaheksaensyre (DHA) har vært i bruk over lang tid. Som kosttilskudd tyder mange farmakologiske studier at disse ω -3-fettsyrene kan hjelpe med en rekke andre helseproblem som astma, inflammasjon, hyperlipidemi, leddgikt og er i økende grad brukt i hjerte- og karsykdommer. Av grunner har Serhan og medarbeidere utforsket mer dypt i disse substansene, og oppdaget en rekke familier av nano- og picomolar substanser, nemlig resolviner, protectiner og maresiner. Disse er avledet fra disse ω -3-fettsyrene, klassifisert som Spesialiserte pro-oppløsende mediatorer (SPMer). De blir produsert under oppløsningsfase, og er potente til å løse inflammasjon.

C2A er en kjemisk forbindelse identifisert ved hjelp av high-throughput screening (HTS). Forbindelsen, via aktivering med resolvin D1 reseptor (DRV1/GPR32) utløser samme biologiske funksjoner som resolvin D1. Det blir derfor syntetisert en rekke nye analoger av C2A som mulig kan reagere på DRV1/GPR32 og dermed gir grunnlag for ytterligere struktur-aktivitetsforhold studier.

Forord

Oppgaven blir utført ved seksjon for legemiddelkjemi, avdeling for Farmasøytisk kjemi, Farmasøytisk Institutt ved Universitet i Oslo.

Først vil jeg takke Professor Trond Vidar Hansen, veileder for oppgaven for faglige kunnskaper, generelle veiledninger, inspirasjon og motivasjon til oppgaven. Jeg er så glad i å være en del av deltakelse til prosjektet hos deg i en periode. Jeg vil også takke førsteamanuensis Anders Vik for opplæring i NMR-instrumenter og andre gode råd gjennom oppgaven.

Videre ønsker jeg å takke alle personene på avdeling som har gitt generelle råd gjennom arbeidet av oppgaven. Jeg ønsker spesielt å takke avdelingsingeniør Iuliana-Cezarina Aldea Johansen for å være en positiv påvirker gjennom arbeidet, og for å ha i varetatt HMS-kurs. En stor takknemlighet vil gå til andre avdelingsingeniør Anne Helene Bjerke for å ha skaffet utstyr og noen kjemikalier som kreves under oppgaven. I tillegg vil jeg takke stipendiat Amalie Føreid Reinertsen for masse hjelp på labben i starten av arbeidet og underveis, og for et godt forhold gjennom oppgaven.

Sist men ikke minst vil jeg takke meg selv og familien min for å støtte meg gjennom en fantastisk periode.

«Trust your wings»

Nutnicha Sa-Ngobphai

03.12.2021

Innholdsfortegnelse

1. Innledning	1
1.1 Inflammasjon.....	1
1.1.1 Legemiddelbehandling mot en rekke inflammatoriske sykdommer	5
1.2 flerumettet ω -3-fettsyrer	8
1.3 Spesialiserte pro-oppløsende mediatorer	9
1.3.1 Resolviner.....	10
1.4 Reseptor til resolviner	14
1.5 Kjemotype C2A.....	15
1.6 Generelle syntetiske metoder av amidforbindelse.....	17
1.7 T3P®.....	19
1.8 Prosjekt mål.....	22
2. Resultater og diskusjon	23
2.1 Forsøk på syntese av 3-(3-metylimidazo[1,2- α]pyrimidin-2-yl)anilin.....	23
2.1.1 Forsøk på synte av forbindelse 21	23
2.1.1.1 One-pot syntese	24
2.1.1.2 Fler-trinns syntese.....	25
Karakterisering av forbindelse 26.....	26
2.2 Syntese av amid-analoger av C2A.....	31
Forbindelse 30	31
Forbindelse 32	32
Forbindelse 34	33
Forbindelse 36	34
Forbindelse 38	36
Forbindelse 40	36
Forbindelse 42	36

Forbindelse 44	37
Forbindelse 46	37
Forbindelse 48	38
Imidazo[1,2- α]pyrimidinderivat	38
3. Oppsummering og konklusjon	40
4. Videre arbeid	41
5. Eksperimentelt	42
5.1 Materiale og instrumenter	42
5.2 Eksperimentelle prosedyrer	42
5.2.1 Forsøk på syntese av 3-(3-metylimidazo[1,2- α]pyrimidin-2-yl)anilin	42
5.2.1.1 Forsøk på syntese av forbindelse 21 fra one-pot syntese	42
5.2.1.2 Syntese av forbindelse 26	43
5.2.2 Syntese av amid-analoger av C2A-forbindelse	45
Syntese av forbindelse 30	45
Syntese av forbindelse 32	46
Syntese av forbindelse 34	47
Syntese av forbindelse 36	48
Syntese av forbindelse 38	49
Syntese av forbindelse 40	50
Syntese av forbindelse 42	51
Syntese av forbindelse 44	52
Syntese av forbindelse 46	53
Syntese av forbindelse 48	54
5.2.3 Syntese av imidazo[1,2- α]pyrimidinderivat (50)	55
Syntese av forbindelse 51	55
Syntese av forbindelse 52	56
6. Referanser	57

7. Vedlegg	62
7.1 NMR spektra	62

Forkortelser

IL-1 β : Interleukin 1 beta

TNF- α : Tumornekrosefaktor-alfa

GM-CSF: Granulocyt-makrofag kolonistimulerende faktor

IFN- γ : Interferon gamma

TCR: T-celler reseptor

Th1: T-hjelpeceller

NF- κ B: Kjernefaktor kappaB

DMARD: Sykdomsmodifiserende antirevmatiske legemidler

RANKL: Osteoklastogenese-relaterte faktoren

VLDL: Lipoprotein med veldig lav tetthet

HDL: Lipoprotein med høy tetthet

ALX: Lipoksin A4-reseptor

FPR2: Formylpeptidreseptor

C1A: 3-metoksy-*N*-(5-morfolin-4-ylsulfonfyl-1,3,4-tiadiazol-2-yl) benzamid

C2A: 3,4-difluor-*N*-[3-(3-metylimidazo[1,2-*a*]pyrimidin-2-yl)fenyl] benzamid

HPV: Humane papillomavirus

DCC: *N,N*-disykloheksylkarbodiimid

HOBt: 1-hydroksybenzotriazol

HOAt: 1-hydros-7-azabenzotriazol

EDC: 1-etyl-3- (3-dimetylaminopropyl)karbodiimid

PyBOP: Benzotriazol-1- yloksytri(pyrrolidino) fosfonium heksafluorofosfat

BOP: Benzotriazol-1-yloksy)tris(dimetylamino) fosfonium heksafluorofosfat

COMU: 1-[(1-(cyano-2-etoksy-2-oksoetylideneamino) dimetylaminomorfolinometylen)] metanaminium heksafluorofosfat

HBTU: *N*-[(1*H*-benzotriazol-1-yl)-(dimetylamino)metylen]-*N*-metylmolanaminium heksafluorofosfat *N*-oksid

SOCl₂: Tionylklorid

Et₃N: Trietylamin

TLC: Tynnsjikt-kromatografi

HSQC: Heteronukleær korrelasjon over én binding (Heteronuclear Single Quantum Correlation)

COSY: Correlated Spectroscopy

HRMS: Høyopløselig massespektrometri

1. Innledning

1.1 Inflammasjon

Inflammasjon er kroppens immunologiske prosess, som oppstår på celle- og vevsnivå mot vevsskade, infeksjon, stress og forgiftningsstoffer, noe som resulterer i fjerning av skadelige faktorer og gjenopprettholdelse av funksjon av vevet eller organet til sin opprinnelig tilstand.¹⁻⁵ Rødme, hevelse, varme, smerte og tap av funksjon er karakteristiske symptomer for inflammasjon. Fram til slutten av 1800-tallet ble inflammasjon kjent som en uønsket respons som gjorde skadelig for vevet.³ Det finnes to typer inflammatorisk respons. Den første er akutt inflammatorisk respons, og den andre er en kronisk inflammasjon.^{5,6}

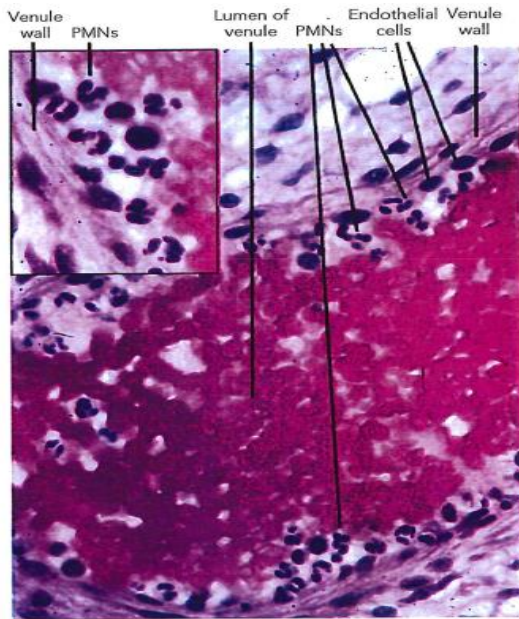
Akutt inflammatorisk respons

Akutt inflammatorisk respons blir beskrevet som en kompleks sett av mange hendelser involvert med en rekke inflammatoriske kaskader og cellulære aktiviteter.^{3,5,6} Responsen kan utløses i løpet av noen timer etter vevsskade. Akutt inflammatorisk respons er kjennetegnet med tilstedeværelsen av polymorfonukleære leukocytter, PMNer, hovedsakelig nøytrofiler på vaskulær endoteler som befinner seg på innsiden av blodkar og overflaten av indre organer. En eksempel på akutt inflammatorisk respons er akutt lungesviktsyndrom (ARDS) hvor det oppstår akkumulering av PMNer i lunger og fører dermed til inflammasjon. Det oppstår som en komplikasjon med ukjent mekanisme bak det. Ingen spesifikk behandling blir benyttet, kun symptoms lindring.⁵

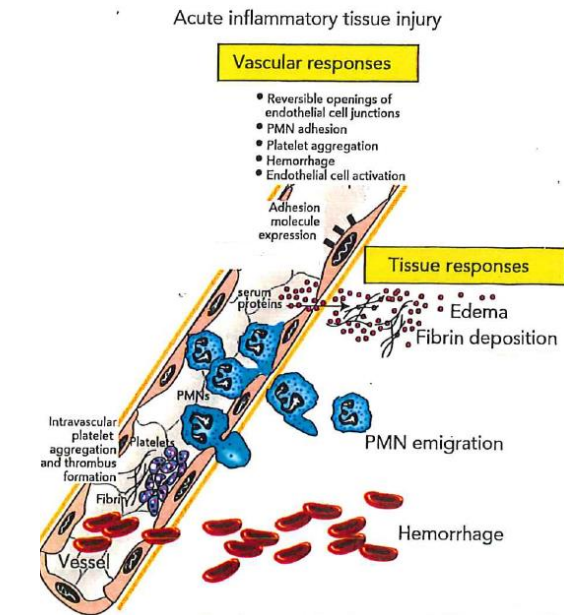
Akutt inflammasjon kaskader

Induksjon av akutt inflammasjon uavhengig av hvilken stimuli som induserer respons, fører til en rekke endringer i de skadelige vevsområdene. Det skjer først endringer i endotelceller, noe som resulterer i akkumulering av PMNer på overflaten, generering og frigjøring av en rekke proinflammatoriske substanser som cytokiner (IL-1 β og TNF- α) og kjemokiner (kollagen og metabolitter av arakidonsyre) og plater aggregering. Andre hendelser som er involvert i inflammasjonsprosessen, er en reversibelt åpning av endotelcellens tight junction og utvidelsen av arteriolene, som fører til økt vev-, blodkarpermeabilitet og blodstrømning. Det resulterer i lekkasjen av proteiner fra blodet og lokalt ødemdannelse. Det kan også oppstå blødning i tillegg etter alvorlig skade av blodåret.^{2,5,7} Disse reaksjonene er skissert i Figur 1.1. Nøytrofiler i inflammatoriske vevsområder er en viktig celle i det medfødte immunforsvaret,

som sørger for å drepe patogener ved å frigjøre det giftige stoffet i deres granulene, betegnet lysosomer.⁷ Lokale cytokiner som TNF- α og IL-1 β induserer inflammasjon ved å påvirke vaskulær permeabilitet, noe som resulterer i leukocyttrekruttering og immunceller til inflammatoriske områder.⁸ Leukocytter vil stimulere frigjøring av en rekke stoffer f.eks. histaminer fra mastceller, noe som resulterer i vasodilatasjon av arteriolene og dermed økt blodgjennomstrømning forårsaket til gjennomblødning.^{4,7}



Figur 1. Initieringsfase av en akutt inflammatorisk respons i menneskelig cellet.⁵



Figur 1.1. En skisset endring av vevet etter utløst akutt inflammatorisk respons.⁵

Arakidonsyre inflammatorisk kaskader

Blant de kjemiske signalsubstansene som er tilstede for initieringsfase av akutt inflammatorisk respons spiller eicosanoider også en viktig rolle i cellulær signalisering og inflammasjonsprosesser. Eicosanoider er en gruppe signalsubstanser klassifisert som endogene lipidmediator. Det har en felles forløper, arakidonsyre (AA) inneholdende 20 karbonatomer med fire dobbeltbindinger i molekylskjelettet.^{5-7,9,10} Arakidonsyre syntetiseres fra essensielle flerumettet ω -6-fettsyre, linolsyre som finnes i type plantefett som soyaolje og linfrøolje.^{5,11} I celler bygges arakidonsyre inn i cellemembranens fosfolipider, og frigjøres ved hjelp av enzymet fosfolipase A₂ (PLA₂) stimulert av cytokiner som TNF- α , GM-CSF og IFN- γ og andre kaskader. Arakidonsyre kan danne til flere substanser innenfor hver klasse avhengig av tilstedeværelsen av type enzymer og celletyper. I initieringsfase av akutt inflammatorisk

respons er arakidonsyre involvert ved å danne eicosanoider, prostaglandiner og leukotriener signaliseres via G-proteinkoblet reseptorer (GPCR), og virker pro-inflammatoriske.^{5,7,10} Dannelsen av prostaglandiner skjer ved at arakidonsyre, via cyklooksxygenaser (COX), omdannes til først prostaglandin G₂ (PGG₂) som videre omdanner til prostaglandin H₂ (PGH₂) i nærvær av enzymet peroksidase. PGH₂ er felles forløper for både prostaglandin D₂ (PGD₂), prostaglandin E₂ (PGE₂), prostaglandin F₂ (PGF₂) inkludert tromboksan (TxA₂) og prostasyklin (PGI₂). Blant disse substansene induserer PGE₂ inflammasjon gjennom mastceller via EP3-reseptoren ved å stimulere produksjon av cytokinet interleukin-6 (IL-6) i makrofager og framkalle vasodilatasjon og en økning av blodtilstrømning, noe som fører til rødme og lokal varme samt feber og smerte. PGE₂ induserer også TCR-signalering og Th1-differensiering, noe som fører til T-hjelpecelleaktivering.^{5,8} Th1-celler gir opphav til cytokinet IFN- γ som aktiverer nøytrofiler i inflammasjonssted.⁴ Leukotriener er biosyntetisert fra arakidonsyre, via lipoksygenaser (LOX). Arakidonsyre, i nærvær av 5-LOX, omdanner til 5-HpETE som videre omdanne til leukotrien A₄ (LTA₄). LTA₄ i nøytrofiler, erytrocytter, makrofager og monocytter vil hydrolyse til leukotrien B₄ (LTB₄) mens LTA₄ i mastceller, eosinofiler, makrofager og basofiler omdanner derimot til leukotrien C₄ (LTC₄).⁵ LTB₄, via aktivering med BLT1, utøver sin pro-inflammatorisk funksjon hovedsakelig på nøytrofiler der det fremmer nøytrofilets lysosomer, nøytrofilets migrering, generering av cytokiner produksjon og lymfocytter migrering. LTC₄ er også involvert i inflammasjonsprosess hvor det øker vaskulær permeabilitet.^{5,10}

Regulering av akutt inflammatorisk respons

En akutt inflammatorisk respons er en tettkontrollert prosess regulert av en rekke substanser som virker anti-inflammatoriske. Cytokiner som IL-4, IL-10 og IL-12 er potente anti-inflammatoriske substanser som demper inflammasjon ved å blokkere NF- κ B aktivering, redusere produksjon av pro-inflammatoriske mediatorer og begrense PMNer akkumulering i inflammatorisk vevet. En rekke antioksidant enzymer som finnes i mange vever, kan fjerne frie radikaler i inflammasjonsprosess ved å redusere radikaler til vann- og oksygenmolekyl.⁵ Glukokortikoider er en kroppens endogen, virker via hemming av fosfolipase A₂ aktiviteten. Det virker anti-flammatorisk ved å redusere virkning av pro-inflammatorisk substanser.^{5,7}

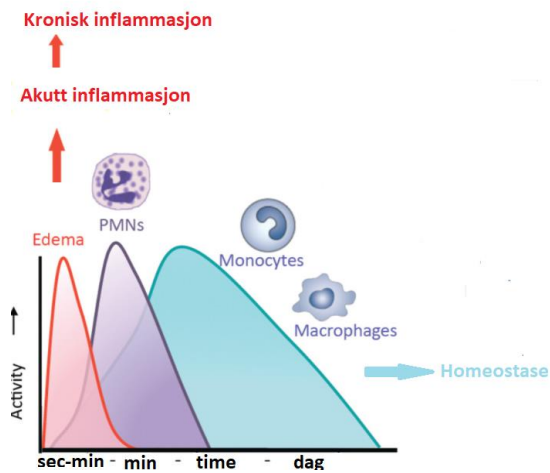
Inflammatorisk oppløsning

En vellykket akutt inflammatorisk respons vil ende opp med en oppløsningsprosess og vevsreparasjon, noe som begrenser inflammatorisk progresjon med å gå tilbake til homeostase.¹² Inflammatorisk oppløsningsprosess er en aktiv prosess og avgjørende for inflammasjon med målet å nøytralisere og fjerne de skadelige stoffene sammen med deres avfall fra inflammatoriske områder.¹⁵ Det reguleres av endogene lipidmediatorer og fagocytte aktiviteter.^{13,14} Erstatning av PMNer og eosinofiler med monocytter og makrofager og å bytte fra lipidmediatorer med pro-inflammatorisk funksjon til lipidmediatorer med anti-inflammatoriske- og pro-oppløsende funksjon er kjennetegnet for overgang fra inflammasjon til oppløsningsprosess.^{1,5,10} Arakidonsyre er involvert i oppløsningsfase ved å danne lipoksiner som virker anti-inflammatorisk og pro-oppløsende. Arakidonsyre, via 15-LOX veier etterfulgt av 5-LOX og enzymet hydrolase, omdanner enten til lipoksin A₄ (LXA₄) eller lipoksin B₄ (LXB₄) avhengig av celletype.¹¹ Lipoksiner kan omdanne fra leukotrien A₄ i nærvær av 12-LOX. Tilstedeværelsen av aspirin kan også utløse biosyntesen av "aspirin-utløste" former (AT-LXA₄) fra arakidonsyre. Det skilles ut fra nøytrofiler og makrofager,¹⁵ og det spiller en sentral rolle i oppløsningsfase, noe som resulterer i hemming av rekruttering av PMNer og hemming av LTB₄ inflammatorisk effekt. Det er også en potent stimulator for rekrutteringen av monocytter til inflammasjonsområder og en økning av fagocytose av døde PMNer i makrofager. I initiering av oppløsningsfase vil monocytter komme til inflammasjonsområder der monocytter skal differensiere til makrofager. Disse cellene skal fjerne patogener og døde celler som PMNer og eosinofiler ved fagocytose som tilslutt fører til gjenopprettholdelse av vevsstruktur og funksjon. Fjerning av fagocytiske makrofager ved lymfesystemet eller apoptose fra inflammasjonssted er også viktig med hensyn til utvikling av inflammasjon til kronisk inflammasjon.¹⁵

Kronisk inflammasjon

Uavhengig av ukjente årsaker kan akutt inflammatorisk respons være ukontrollert, noe som resulterer i skader på vevsområder. Kronisk inflammasjon blir beskrevet morfologisk med en tilstedeværelsen av døde PMNer, lymfocytter, makrofager og plasmaceller. Lymfocytter og makrofager kan imidlertid indusere pro-inflammatoriske mediatorer som aktiverer fibroblaster til å danne kollagener. Vedvarende inflammasjon kan være årsaker til en rekke inflammatoriske sykdommer blant annet transplantasjonsavstøtning, autoimmun sykdom som revmatoid artritt og systemisk lupus erythematosus, forkortet SLE, inflammatorisk

tarmsykdom, tannfestebetennelse, aterosklerose, astma og neurologiske sykdommer som Alzheimers- og Parkinsons sykdom.⁵



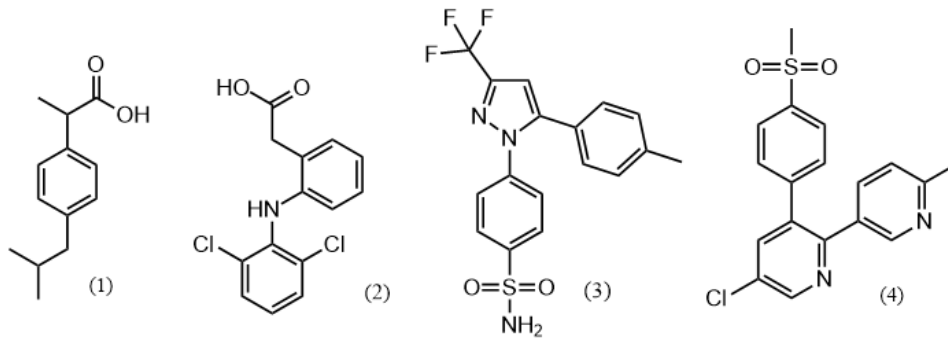
Figur 1.2. En skisse av inflammasjonsprosesser etter utsatt for stimuli.¹⁰

1.1.1 Legemiddelbehandling mot en rekke inflammatoriske sykdommer

Som nevnt tidlig kan mislykket akutt inflammasjon gå ut av kontroll ved uhell og gir dermed skadet på celle- og vevsområder. Disse kan være en del av patogener som forårsaket til flere inflammatoriske sykdommer. Utvikling av legemidler for behandling av inflammasjon er derfor veletablert. Siden eicosanoider spiller en viktig rolle i inflammasjonsprosesser blir biosyntesevei av eicosanoider tatt på utgangspunkt som angrepspunkter for legemiddel.⁵

NSAIDs er en kjent gruppe legemidler som har anti-inflammatorisk, antipyretisk og analgetisk effekt. NSAIDs er en forkortelse for Non-steroid Anti-Inflammatorisk legemidler. Angrepspunkt for NSAIDs er hemmingen av enzymet COX aktivitet, noe som resulterer i blokkering av produksjon av eicosanoider som induserer inflammasjon forårsaket til smerte, feber og betennelse. På det norske markedet finnes mange forskjellige NSAIDs som kan deles inn i to grupper, tradisjonelle NSAIDs og selektive COX-2-hemmere. Legemiddel som står i tradisjonelle NSAIDs er blant annet Ibux® (1) og Diclofenac® (2). Disse virker som uselektive hemmere på både COX-1 og COX-2, noe som gir uheldige bivirkninger som økt risiko for magesår og blødning på grunn av blokkering av frigjøring av prostaglandiner og tromboksaner. Selektive COX-2-hemmere kan være Celebra® (3) og Etoricoxib® (4). Disse

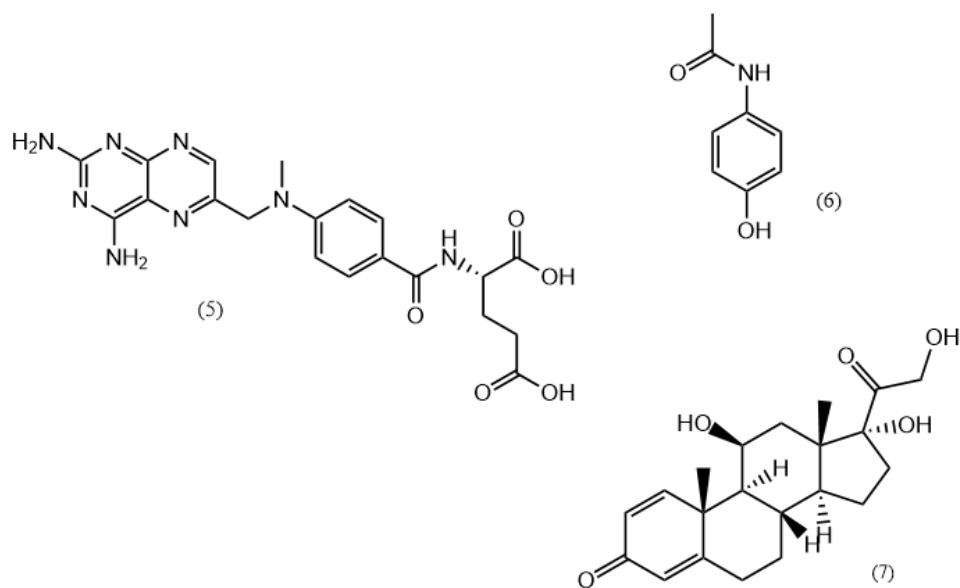
vil hemme spesifikk COX-2.^{5,16} Ifølge felleskatalogen har disse NSAIDs godkjent indikasjon på en rekke sykdommer som er assosiert med inflammasjon.



Figur 1.3. Kjemiske strukturer for ibuprofen (1), Diclofenac® (2), Celebra® (3) og Etoricoxib® (4).

Revmatoid artritt

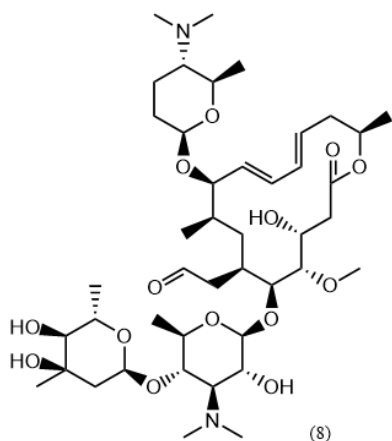
Revmatoid artritt eller leddgikt er en kronisk inflammatorisk sykdom som rammer leddene i finger og tær. Det er en autoimmun betennelse som oppstår uten ukjent årsak i alle aldre. Det oppstår når immunsystemet angriper synovialvev i leddene og medbringer pro-inflammatoriske kjemisk stoffer og infiltrasjon av lymfocytter, makrofager og leukocytter tilstede. Vevsødem og fibrinavleiring oppstår, noe som tilslutt fører til ødeleggelse av beinvev og brusk i leddet.^{7,17,18} Det finner ulike type legemidler som brukes til å behandle sykdommen. DMARD, oftest metotreksat (5) blir brukt som monoterapi i initiering for å bremse utvikling av skader. Det kan også kombinere med andre smertestillende legemidler som paracetamol (6) eller NSAIDs. Glukokortikoider som prednisolon (7) virker også betennelsesdempende og kan være som alternativ til NSAIDs på grunn av alvorlig bivirkning av NSAIDs. Andre DMARD grupper blant annet infliksimab og adalimumab som virker TNF- α hemmere kan være som et alternativ.¹⁷⁻¹⁹



Figur 1.4. Kjemiske strukturer for metotreksat (5), paracetamol (6) og prednisolon (7).

Periodontitt

Det er en kronisk inflammatorisk sykdom i vev nær tennene, noe som tilslutt fører til ødeleggelse av støttevev og beinvev rundt tennene. Ved periodontitt oppstår en nedbrytning av vevet, noe som fører ubehagelig og smerte. Alvorlig symptom er at tenner blir løse og faller ut. *P. gingivalis* er den viktigste patogenen som er involvert i forekomst av periodontitt. Det oppstår ved at bakterier angriper vev rundt tennene, fester seg til epitelcelleoverflaten og er inkorporert ved fagosomer etterfulgt av biofilmdannelse. De eksisterer inni i biofilm og lever med vertproteiner. Biofilmdannelse på tenner kalles også plakk. Disse patogene er forårsaket til inflammasjon ved å øke produksjon av pro-inflammatoriske cytokiner som IL-1 β og IL-6 og indusere aktivering av RANKL-induserte osteoklaster som fremkaller benresorpsjon.^{5,20-22} Det finner ikke noe spesifikk behandling. Målet med behandling er å fjerne infeksjon ved å bruke antibiotika, spiramycin (8).²³ Grundig munnhygiene blir benyttet som en profylakse ikke-medikamentell behandling.^{5,22}



Figur 1.5. Kjemiske strukturer for spiramycin (8).

1.2 Flerumettet ω -3-fettsyrer

Flerumettet ω -3-fettsyrer som eikosapentansyre (EPA) og dokosaheksaensyre (DHA) har vært mye brukt som kosttilskudd.²⁴ Disse ω -3-fettsyrene omdanner fra α -linolensyre avledet fra oljesyre i nærvær av enzymet Δ^{15} -desaturase. Mennesker kan ikke biosyntetisere disse ω -3-fettsyrene på grunn av mangel på enzymet, og de må tilføres gjennom kosten som finnes hovedsakelig i fisk og andre marinekilder.^{11,25} Undersøkelsen av ω -3-fettsyrer sin virkning blir mer fokusert etter at Bang og medarbeidere har rapportert at risiko for å få hjerte- og karsykdom hos eskimobefolkningen med høy inntak av mat rik på fiskeolje, er lav.²⁶ Gjennom flere år tyder forskning på at ω -3-fettsyrer gitt i høy dose har gunstige effekter for behandling av mange sykdommer blant annet hjerte- og karsykdommer, betennelse, diabetes,²⁵ autoimmune sykdommer og leddgikt.^{5,10,27} Flere farmakologiske studier blir gjennomført for å støtte virkninger.

Forebygging av hjerte- og karsykdom

GISSI-Prevenzione Investigators utførte en studie med målet å studere effekt av ulike stoffer inkludert ω -3-fettsyrer som kosttilskudd hos pasienter som hadde hjerteinfarkt i mindre enn tre måneder. Studien var randomisert og placebokontrollert. 2836 pasienter ble behandlet per oralt med 1 g. ω -3-fettsyrer innholdet av 850–882 mg EPA og DHA daglig i 3.5 år. Resultatet viste tydelig en reduksjon av risiko for kardiovaskulær død.²⁸ Bevis fra nylig kohortstudie gjort av US Physicians Health Study tydet på at inntak av fisk i kosten er i sammenheng med

reduserte risikoen for plutselig hjertedød.^{29,30} En nylig studie har vist et interessert resultat av å sammenligne effekten av ω -3-fettsyre i form av kapsel, som tilskudd, med fisk gjennom kosten hos pasient med hyperlipidemi. Det ble observert at totalkolesterol- og triglyseridkonsentrasjoner ble redusert i begge grupper. HDL-nivået ble økt i begge gruppene, men det var mer uttalt i gruppen med inntak av fisk i kosten.³¹ Effekten av EPA og DHA blir også studert i dyremodeller, og det har vist effekt ved å hemme plakkdannelse som er assosiert med utvikling av aterosklerose.²⁹

Inflammasjon

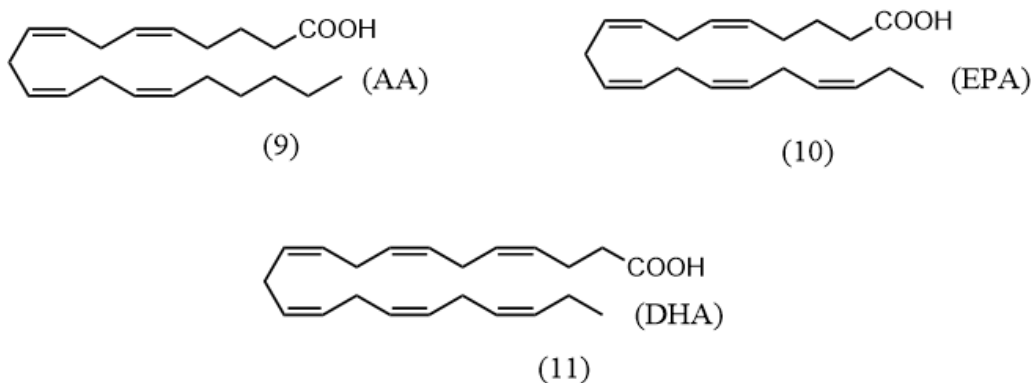
Studien gjort av Caughey med medarbeidere i 1996 har rapportert effekt av linfrøoljebasert diett og fiskeoljetilskudd på produksjon av IL-1 β og TNF- α hos friske frivillige. Det ble observert at produksjon av IL-1 β og TNF- α ble redusert med 30% etter inntak av linfrøolje i 4 uker. Det ble observert effekt ytterligere ved å behandle frivillige med fiskeoljetilskudd rik på EPA i dosering på 9 g per dag i ytterligere 4 uker. Resultatet viste tydelig henholdsvis 74 % - og 80 % reduksjon av TNF- α og IL-1 β .³²

På det norske markedet selges EPA og DHA som kosttilskudd og legemiddel. Som kosttilskuddsprodukter selger det i form av kapsler, geleputer og oppløsninger under forskjellig markedsføringsnavn blant annet Nycoplus omega-3 og Triomar Hjerte omega-3.³³ Innhold av EPA og DHA i produktene varierer. Omacor er den eneste legemiddelet som inneholder EPA og DHA. Det er klassifisert som et reseptbelagt legemiddel med godkjent indikasjonsområdet mot hypertriglyseridemi. Det virker å redusere nivået av triglyserider og av VLDL-kolesterol i blod, samt at det øker nivået av HDL. Det blir observert forlenget blødningstid ved høye doser som en uheldig bivirkning. Omacor® selges i form av tablett med styrke på 1000 mg. En tablett inneholder EPA- og DHA etylesterene i henholdsvis 460 mg og 380 mg. Initial dose er 2-4 kapsler daglig maks. 6 kapsler.^{34,35}

1.3 Spesialiserte pro-oppløsende mediatorer

Spesialiserte pro-oppløsende mediatorer (SPMer) er en klasse av endogene lipidmediator som blir aktivert og frigjort under oppløsningsfase i inflammasjonsprosessen. *In vivo* er disse mediatorne produsert i nano- og picomolar konsentrasjon i inflammasjonssted fra essensielle ω -3-fettsyrer og arakidonsyre.^{27,36-39} Serhan og medarbeidere oppdaget først lipoksiner i 1984.³⁹

Lipoksiner virker anti-inflammatoriske, og pro-oppløsende via aktivering med ALX/FPR2. Resolviner, protectiner og maresiner er tre nye familier av endogene lipidmediatorer som blir identifisert etterhvert. Disse potente molekylene er avledet fra essensielle ω -3-fettsyrer hvor protectiner og maresiner produseres av DHA mens resolviner kan derimot komme fra både EPA og DHA.^{10,38,39}



Figur 1.6. Kjemiske strukturer for AA (9), EPA (10) og DHA (11).

Disse bioaktive mediatorene har felles biologiske virkninger at de virker som agonister med å fremme oppløsning av inflammasjon. De reduserer inflammatorisk respons ved å stanse ytterligere rekrutteringen av nøytrofiler i inflammasjonssted, stimulere aktive makrofager til å fjerne apoptotiske leukocytter og ødelegget patogener, motregulere proinflammatoriske mediatorer, samt at de induserer vevsreparasjon.^{5,40} Oppdagelsen av SPMer har åpnet en mulig ny og fremtidig vei for legemiddelbehandling for en rekke sykdommer. Likevel har anvendelse av disse bioaktive molekylene, som et legemiddel for å behandle inflammatoriske sykdommer, ikke oppnådd klinisksfase ennå.

1.3.1 Resolviner

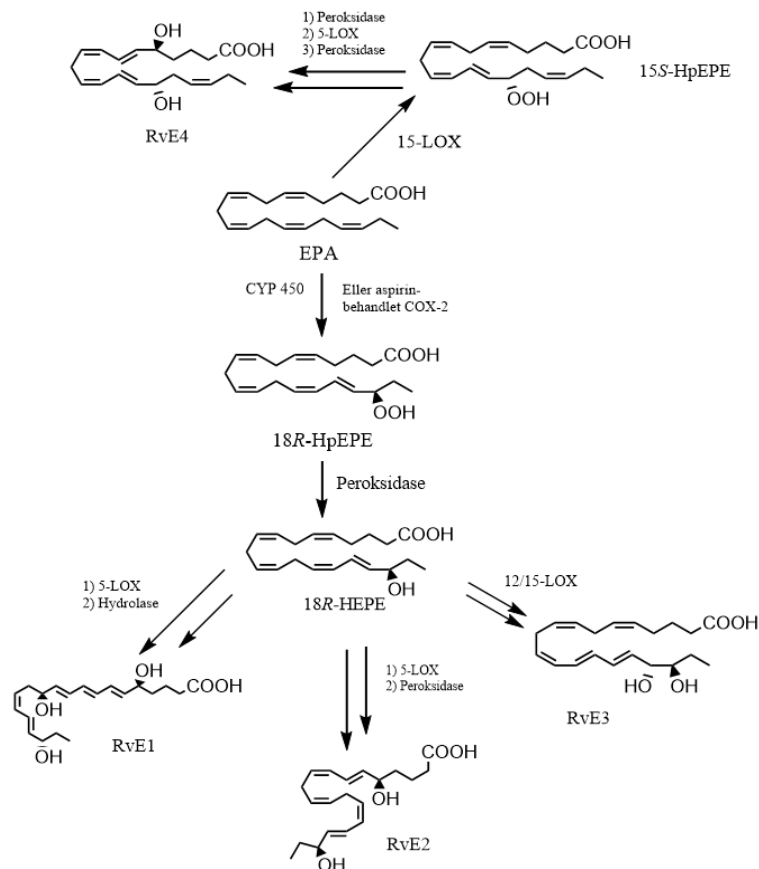
Som nevnt tidlig er resolviner et nytt medlem av familier av endogen lipidmediatorer, og fungerer som endogen agonister i oppløsning av akutt betennelse.^{41,42} Resolviner har fellestrekk at de er potente substanser som induserer oppløsningsprosess og virker anti-inflammatoriske, samt at de kan øke makrofagaktivitet, noe som resulterer i å dempe inflammatorisk respons.^{5,36,42,43} Noen nylige studier undersøkte effekt av resolviner ved å demonstrere i flere inflammatoriske sykdomsmodeller som tannfestebetennelse og kolitt.³⁶ Det var påvist at

resolvier stoppet rekruttering av PMNer som leukocytter og nøytrofiler, motregulerte kjemokin- og cytokinproduksjon, samt at de beskyttet mot sykdomsutvikling.^{36,43-45}

Resolviner skilles seg fra hverandre basert på deres strukturen og deres opphavet. To serier av resolviner blir identifisert så langt. Det er resolviner av E-serien og resolviner av D-serien.

Resolviner av E-serien

Resolviner av E-serien består av resolvin E1 (RvE1), resolvin E2 (RvE2), resolvin E3 (RvE3) og resolvin E4 (RvE4) som ble oppdaget sist i 2019.^{13,46} Strukturelle former av resolviner av E-serien inneholder 20 karbonatomer med fem dobbeltbindinger i molekylskjelettet. Disse substansene er felles biosyntetisert fra essensielle flerumettet ω -3-fettsyrer, eikosapentansyre via flere trinn.^{10,13,46,47} Biosyntesen av RvE1, RvE2 og RvE3 startes ved å omdanne eikosapentaensyre til 18*R*-hydroperoksy-EPE (18*R*-HpEPE) enten ved hjelp av cytokrom p450 eller cyklooksygenase-2 (COX-2) i nærvær av aspirin. 18*R*-HpEPE vil deretter redusere til 18*R*-HEPE ved hjelp av peroksidase enzymet. 18*R*-HEPE vil enten gå via 5-lipoksygenaseveien (5-LOX) av aktive menneskelige nøytrofiler og gir dermed opphav til RvE1, RvE2 eller gå derimot via 12/15-lipoksygenaseveien (12/15-LOX) av eosinofiler som gir opphavet til RvE3 slik Skjema 6 vises.^{10,13,46-48} I motsetning til biosyntesen av RvE1, RvE2 og RvE3 har Serhan og medarbeidere foreslått biosyntesen av resolvin E4 hvor EPA omdanner til 15*S*-HpEPE i nærvær av 15-lipoksygenase (15-LOX). 15*S*-HpEPE reduseres til 15*S*-HEPE via peroksidase. 15*S*-HEPE blir deretter katalysert av 5-LOX etterfulgt av peroksidase til RvE4 vist i Skjema 1.⁴⁹ RvE4 ble produsert av menneskelige nøytrofiler og makrofager i et hypoksisk miljø som befinner seg i milt, lymfeknuter, benmarg, tarmslimhinne, netthinnen og placenta.^{12,49}



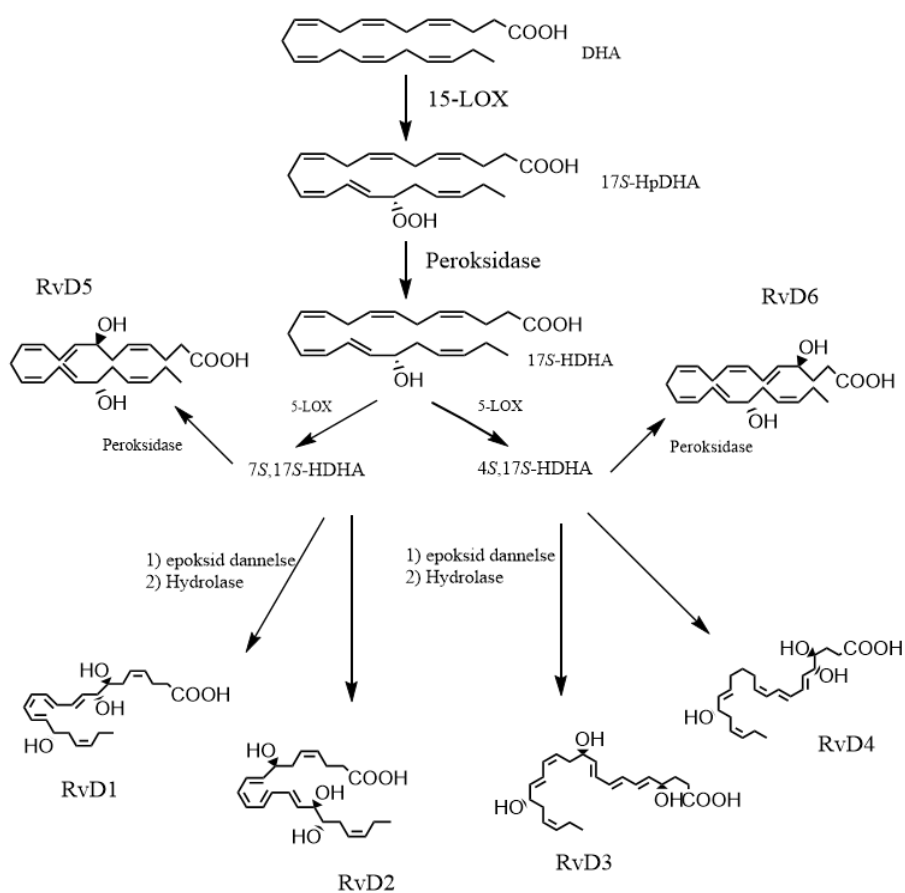
Skjema 1. Biosyntesevei av resolviner av E-serien.^{10,13,46-48}

I 2005 studerte Gerard med medarbeidere en virkning av RvE1 hos rotter som ble injisert av zymosan-indusert bukhinnebetennelse. Resultatet viste tydelig at ytterligere PMNer-migrering ble blokkert.^{36,50} Effekten av RvE1 ble også studert hos kaniner som hadde tannfestebetennelse. Det induserte periodontitt betennelse til kaniner ved å påføre løsning av bakterie *P. gingivalis* på tannfestet annenhverdag i 6 uker slik at inflammasjon ble etablert og utløset respons. Kaniner ble deretter behandlet topikalt med RvE1 som monoterapi. Resultatet viste at ingen kliniske tegn på betennelse ble observert.^{36,44} En studie som ble gjort i 2012, har vist at RvE3 viste en potent anti-inflammatorisk effekt ved å hemme PMN-infiltrasjon i zymosan-indusert bukhinnebetennelse.⁴⁸ Effekten av RvE4 ble også utforsket, og det viste at RvE4 utviste pro-oppløsning funksjon ved å stimulere efferocytose av apoptotiske nøytrofiler og redusere nøytrofilmigrering.^{12,49}

Resolviner av D-serien

Resolviner av D serien består av resolvin D1 til resolvin D6 (RvD1-RvD6). Resolviner av D serien har en felles strukturell form hvor det inneholder 22 karbonatomer med 6 dobbeltbindinger i molekylskjelettet siden felles forløper for dem er flerumettet ω -3-fettsyrer, dokosaheksaensyre. DHA vil omdanne til 17S-HpDHA via et 15-lipoksygenase enzym. 17S-HpDHA vil redusere til 17S-HDHA i nærvær av peroksidase. 17S-HDHA vil deretter inngå i ulike biosynteseveier og gir dermed opphavet til forskjellige resolvier av D-serie som er vist i Skjema 1.1.^{10,47} DHA i nærvær av aspirin-behandlet COX-2 kan omdanne til 17R-HpDHA som videre katalyseres av peroksidase til 17R-HDHA. 17R-HDHA deltar i ulike synteseveier, noe som gir "aspirin-utløste" former (AT-RvD). AT-RvD skiller seg strukturelt fra RvD som kommer av 17S-HDHA ved at de har en 17R alkohol i konfigurasjon i stedet for 17S konfigurasjon.^{47,51}

Duffield og medarbeidere studerte effekten av resolviner av D-serien.⁵² Det ble rapportert at RvD-ene viste et kraftig anti-inflammatorisk aktivitet ved å redusere nøytrofiler og leukocytter akkumulering i nyrene etter ischemisk skade, samt at det kunne begrense utvikling av nyrefibrose forårsaket til kronisk nyresvikt.⁵² Det ble også studert og sammenlignet effektivitet mellom resolviner av D-serier fra 17S-HDHA og 17R-HDHA epimere aspirin-utløst ved at resolviner D-serier i en dose på 100 ng, dvs. 3 μ g per kg. kroppsvekt, ble injisert intravenøst i rotter med bukhinnebetennelse. Resultatet viste at resolviner i begge serier var like effektive med å redusere leukocytter infiltrasjon med 50%. Det kunne konkluderes med at resolviner av D-serien var en potent stimulator av oppløsning av betennelse.⁵¹



Skjema 1.1. Biosyntesevei av resolviner av D-serien.^{10,47}

1.4 Reseptorer til resolviner

Identifisering av reseptorer, som er involvert i aktivering av resolviner i oppløsning av inflammasjon, er interessert nok til å studere med hensyn til utvikling av resolvin-analog hvor det kan gir et pekepinn på strukturbestemmelse og moduleringen av analog-struktur. Det er også avgjørende for å komme nærmere spesifikke terapeutiske strategier for legemiddelbehandling i inflammatorisk sykdom.

Noen studier identifiserte reseptor for RvE1 ved å gjøre en screening av et bibliotek med en rekke G-proteinkoblet reseptorer-kandidater (GPCR) i rotter med luftposen som bestod av fibroblastlignende- og makrofaglignende celler. De utførte ved å innføre tumornekrosefaktor (TNF- α) på rotter. TNF- α induserte inflammatorisk respons ved å stimulere frigjøring av kjemokiner og kjemoattraktanter produsert av fibroblaster via regulering av NF- κ B transkripsjonsfaktor. Studien har vist at kjemerinreseptor, ChemR23 bindet spesifikt til 3H-

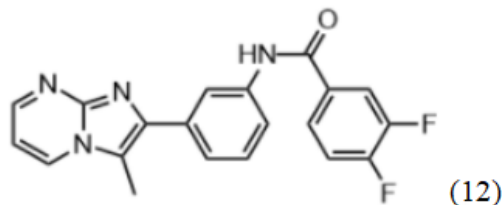
merket RvE1 og medførte blokkering av TNF- α -stimulerte NF- κ B aktivering. RvE1, via interaksjon med ChemR23, vil også aktivere monocytter, samt at det stimulerer fagocytose i makrofag. Det ble også identifisert at RvE1 virker som antagonist på BLT1, leukotrien B₄ reseptor, noe som hemmer NF- κ B aktivering og reduserer PMN-infiltrasjon *in vivo*.^{15,38,53,54} RvE2 har samme aktivitet som RvE1, men RvE2 virker en partial agonist for ChemR23. Det ble utforsket reseptorer som aktiveres av RvE3. Resultatet fra nylige studier viste at RvE3 hadde en liten effekt på LTB₄ reseptor, noe som bekreftet på at effekten av RvE3 på PMN-migrering ikke bindet på LTB₄ reseptor. Det vil si at reseptoren for RvE3 ikke er karakterisert ennå.^{38,53}

Av bibliotekscreening med GPCR- β -arrestin systemet ble det identifisert at RvD1 er substrater for resolvin reseptor D1 (DRV1/GPR32) og lipoksin A₄ reseptor (ALX/FPR2). Studien har vist at RvD1, via aktivering med DRV1 eller ALX, forbedrer fagocytose av zymosan partikler og stimulerer fagocytose av apoptotiske PMNer. I tillegg til RvD1 kan RvD3 og RvD5 aktivere også på GPR32, noe som resulterer i stimulering av makrofagfagocytose.^{40,55,56} Ved hjelp av GPCR- β -arrestin-basert screeningsystemet ble DRV2/GPR18 oppdaget som reseptor for RvD2. For ytterligere kunnskaper utførte Chiang og medarbeidere et forsøk om aktivitet av RvD2 via interaksjon med GPR18. Makrofager ble transfektert med gen-plasmid for GPR18. RvD2 ble tilsatt etterfulgt av fluorescensmerket *E. coli*. Resultatet viste tydelig økning i fagocytose av fluorescensmerket *E. coli* sammenlignet med falsk transfektert makrofager.^{14,55}

1.5 Kjemotype C2A

Chiang og medarbeidere har publisert en artikkel med en rekke substanser som aktiverer menneskelig resolvin D1 reseptor (DRV1/GPR32).⁴⁰ Ved hjelp av en screening med stor gjennomstrømningshastighet, såkalt high-throughput screening (HTS), gjennom over 48,000 substanser fra biblioteket av småmolekylære substanser ble det oppdaget at 220 substanser (hits) virker som agonister på DRV1/GPR32. Dette ble identifisert ved bruken av et verktøy, såkalt en GPR32 PathHunter β -arrestin analyse. De spennende substansene ble videre testet i en rekke andre biologiske analyser f.eks. GPR32 cAMP HTRF signalering analyse, THP-1 cytotoksitet analyse og BLT1 PathHunter β -arrestin analyse. Det ble oppdaget at 27 av 220 hits ikke var toksiske. 11 hits som ble utvalgt, var aktive i GPR32 β -arrestinceller, uaktive i

BLT1 β -arrestinceller og ikke toksiske. Basert på β -arrestin-aktivitet- og cAMP-aktivitetsprofil ble det observert at C2A, vist i Figur 1.7, var en av de bioaktive agonistene som var svært potent for DRV1/GPR32.⁴⁰



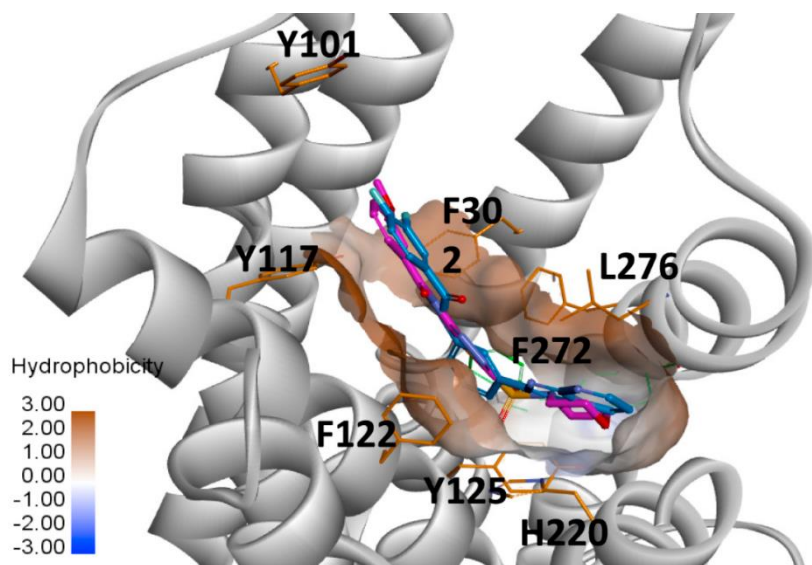
Figur 1.7. Kjemisk struktur av C2A.⁴⁰

Det ble videre utført undersøkelse om C2A, via interaksjon med DRV1/GPR32, ville utløse en pro-oppløsnings effekt som resolvin D1.⁵⁷ En måte til å evaluere den biologiske effekten av C2A er å studere makrofagfagocytoser av serum-behandlet zymosan (STZ) siden forskningen viste at resolvin D1 utløst anti-inflammatorisk effekt ved å stimulere fagocytose i makrofager.^{40,56,58} Den er en viktig funksjon kjennetegnet av SPMer.⁵⁹ Ulike potente agonister inkludert RvD1 og C2A med angitt konsentrasjon, dvs. 10 pM og 10 nM, ble testet. Resultatet viste at RvD1 med konsentrasjon på 10 pM økte fagocytisk aktivitet med 60 % mens C2A økte fagocytose i makrofager med 35-40 %. Både C2A og RvD1 var like effektive ved en konsentrasjon på 10 nM. Her bekreftet det også at økning i fagocytisk aktivitet var doseavhengig.⁴⁰

For å bekrefte om C2A binder seg til DRV1/GPR32, for at C2A kunne utløse pro-oppløsnings funksjoner, utførte Chiang og medarbeidere et forsøk ved å se på fagocytose av fluorescensmerket *E. coli* ved hjelp av en mikroskopi. Forsøket utførte ved å transfektere DRV1/GPR32 til menneskelige makrofager. Fluorescensmerket *E. coli* ble dermed tilsatt til makrofager slik at fagocytose av *E. coli* settet i gang. Resultatet viste en tydelig økning i fagocytose etter 10 minutter.⁴⁰

Chiang og medarbeidere studerte også binding-interaksjonen ved å gjøre en docking av C2A i struktur modellen til DRV1/GPR32 for å foreslå posisjon i aktive seter. Det var svært viktig

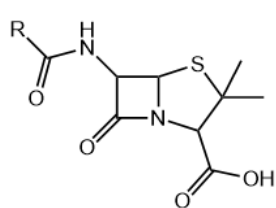
med hensyn til proteinflexibilitet og gunstig konformasjon som kunne bruke til å undersøke struktur-aktivitetsforhold (SAR). Det ble oppdaget at DRV1/GPR32 hadde bindingseter som dannet en svært hydrofob lomme for å muliggjøre binding-interaksjon med agonister. Resultatet viste at C2A passet inn i den hydrofobe lommen og ville danne H-binding med aminosyren tyrosin 117 (Y117).⁴⁰ Binding-interaksjon, som var vist i Figur 1.8, gav et innsikt i farmakofordel, noe som gav aktivitet til C2A, og det kunne bruke til å utvikle analoger av C2A med målet å forbedre “drugability”.



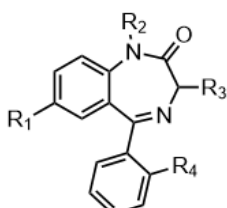
Figur 1.8. Den predikerte bindingsmodellen til DRV1/GPR32 med C2A (blå) /C1A (rosa).⁴⁰

1.6 Generelle syntetiske metoder av amider

Amider er en funksjonell gruppe som har stor betydning for mange legemidler og en rekke organiske forbindelser som viser av biologisk interesse. Eksempler på noen forbindelser som inneholder amider er peptider, penicilliner, benzodiazepiner og hydantoiner.^{60,61} Penicilliner (13) er et tradisjonelt legemiddel som brukes for behandling av bakteriell infeksjon.⁶² Benzodiazepiner (14) er en gruppe legemidler som virker angstdempende, sedativ-hypnotisk og muskelavslappende.⁶³



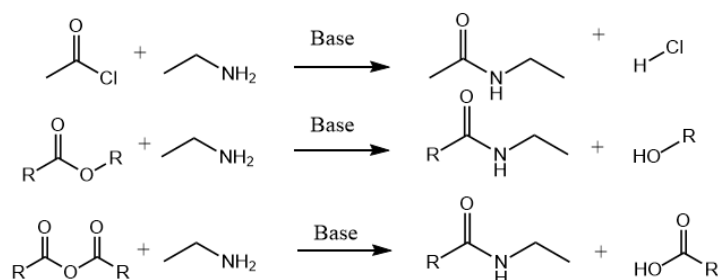
(13)



(14)

Figur 1.9. Generelle kjemiske strukturer for penicilliner (13) og benzodiazepiner (14).

Dannelse av amider er en del av målet for å lage et bibliotek av C2A analoger i denne oppgaven. Syntesen av amider kan skje på flere måter. Vanligvis kan amider syntetisere fra syreklorid, estere eller syreanhydrid med ammoniakk eller et amin i nærvær av en base. Dette er vist i Skjema 1.2. En alternativ base kan være pyridin eller trietylamin som ikke er så nukleofil, noe som gjør at det ikke kan angripe et elektrofilt karbon på karbonyl til syreklorid eller syreanhydrid. Grunnen til å tilsette base er at base skal nøytralisere biprodukt, syre, slik at syre ikke protoner aminet. Syreklorider er svært reaktive syrederivater og er gode elektrofiler sammenlignet med andre syrederivater grunnet en god utgående gruppe, kloratomet, fordi kloridionet er en svak base. Samtidig er kloratomet elektronegativt som kan trekke elektroner til seg, noe som reduserer elektrontetthet rundt karbonatomet til karbonylen.^{64,65} Amidet kan være primært, sekundært eller tertiært avhengig av antall substituenten som er bundet til nitrogenatomet.⁶⁶



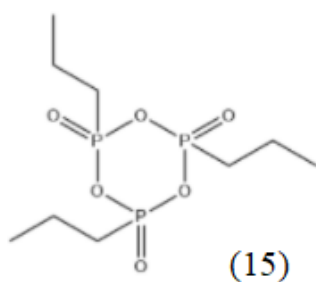
Skjema 1.2. Kjemiske reaksjoner for dannelse av amider.^{64,66}

Nitriler regnes også som syrederivater fordi det kan gi karboksylsyre ved hydrolyse. Nitriler i nærvær av konsentrert svovelsyre kan hydrolyseres til amider.^{65,66} Det er vanskelig å syntetisere amider direkte fra en reaksjon mellom karboksylsyre og amin på grunn av forekomst av syre-base reaksjon som resulterer i saltdannelse.⁶⁴ Oppvarming av ammoniumsaltene er ofte et krav for amiddannelse i industriell skala.⁶⁷ Aktivisering av karboksylsyren i et nukleofilt angrep er nødvendig når karboksylsyrer og deres derivater benyttes som startmateriale.^{60,61} Tradisjonelt kan syntese av amider utføres på en effektiv måte ved å bruke et koblingsreagens, såkalt DCC,^{64,66} som ble kjent allerede på 1980-tallet. Det finner andre typer koblingsreagenser også som blir utviklet og representert, og det gir ofte gode utbytter for de fleste amider, f.eks. HOBt, HOAt, EDC, PyBOP, BOP, COMU og HBTU. Valg av koblingsreagens er svært viktig med hensyn til stabilitet av reagens, toksisitet og effektivitet, dvs. utbytte, hastighet og

renhet til produkt.^{61,68} Løsningsmidler som anvendes i amidsyntesen kan være både upolare- og polare aprotiske løsningsmidler.⁶⁹

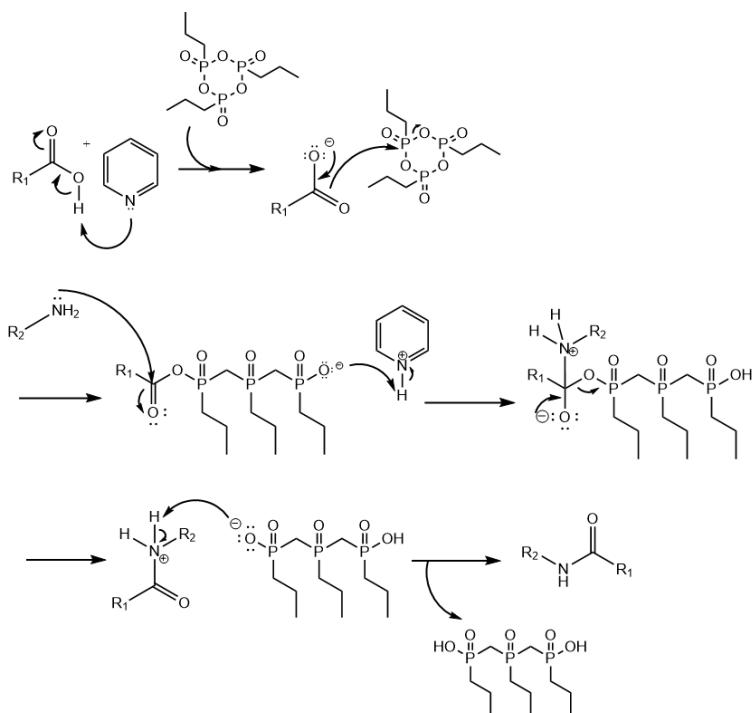
1.7 T3P®

En av de interessante koblingsreagensene som brukes i syntese av peptider og amider er *n*-propanfosfonsyreanhydrid, bedre kjent som T3P® (Figur 1.10). På engelsk er navnet 1,3,5,2,4,6-trioxatripphosphorinane, 2,4,6-tripropyl-2,4,6-trioxid, *n*-propylphosphonic cyclic anhydride (PPACA) og propane phosphonic acid anhydride (PPAA).⁷⁰



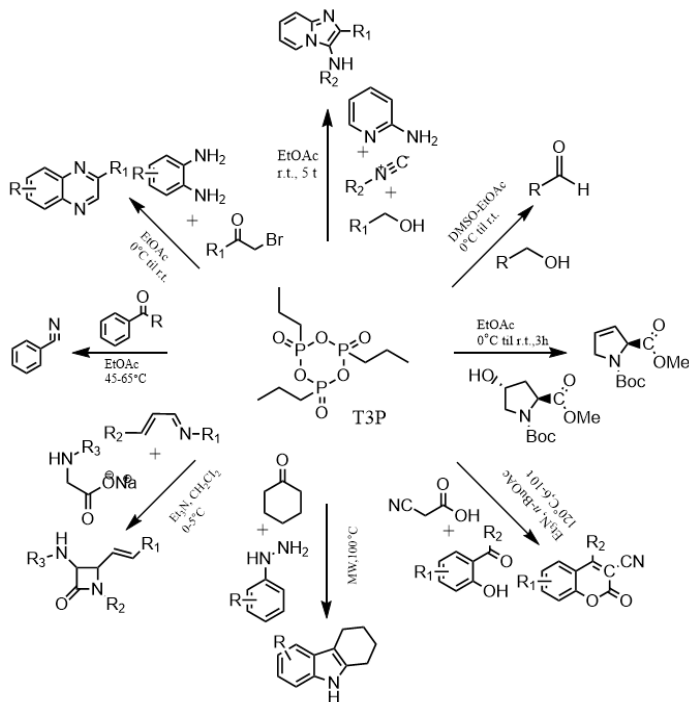
Figur 1.10. Kjemisk struktur av T3P®.⁷⁰

T3P® er en syklisk trimer med fosfor-oksygen bundet-basert reagens, og det kan fremstilles ved å følge prosedyren fra Wissmann og Kleiner eller Wehner. Wissmann og Kleiner benytter *n*-propylfosfonsyre diklorid og vann mens Wehner benytter propylfosfonsyre med eddiksyreanhydrid som utgangsstoff.⁷⁰⁻⁷² Den er også kommersiell tilgjengelig som en 50% (w/w) løsning i en rekke løsningsmiddel som etylacetat, diklormetan, 1,4-dioksan, tetrahydrofuran, *N,N*-dimetylformamid.⁷⁰ Den ble introdusert som et peptidkoblingsreagens på 1980-tallet av Wissmann og Kleiner.⁷¹ Under syntesen skjer et angrep av karboksylatet som genereres i nærvær av en base på et fosfor-atom i T3P®. Dette fører til at en π -binding brytes, ringen til T3P® åpnes etterfulgt av aminets angrep. Dette resulterer i frigjøring av fosfonsyre og produktdannelse.⁷⁰ En foreslått mekanisme for syntese av en amidforbindelse er vist i Skjema 1.3.



Skjema 1.3. En foreslått mekanisme for syntese av amidforbindelse.

I tillegg til amid- og peptidsyntese blir T3P® benyttet i en rekke andre synteser, f.eks. fremstilling av nitril fra amid- og karboksylsyreforbindelser,⁷² oksidasjon av alkohol (en variant av Swern-oksidasjon),⁷³ alkensyntese,⁷³ syntese av heterosykler som dannelse av imidazo[1,2-*a*]pyridin,⁷⁴ kumarin⁷⁰ og beta-laktam,⁷⁰ fremstilling av kinolinderivater via kondensasjonsreaksjon,⁷⁵ og Fischer Indol-reaksjon.⁷⁰ Alle reaksjoner som er nevnt ovenfor er illustrert i Skjema 1.4.



Skjema 1.4. Eksempler på reaksjoner som benyttes T3P® i produksyntese.

Fordeler ved bruken av T3P® fremfor andre koblingsreagenser er at det er enkelt å syntetisere den, samt at den har lang holdbarhet ved romtemperatur.⁷¹ Det er spesielt egnet for peptidsyntese på grunn av dens gode løselighetsegenskaper. Det vil si at T3P® er godt løselig i både organiske løsemidler og vandige løsemidler. Biproduktet av reaksjonen, et alkylfosfonsyrederivat, er vannløselig og kan lett fjernes ved hjelp av ekstraksjon. Dette fører til lett og enkel opparbeidelse. I tillegg til det har T3P® lav toksisitet og er et lite allergifremkallende stoff i forhold til DCC og *p*-toluensulfonylchlorid.^{70,71,76} Det ble også utført en studie for epimeriseringsdannelse på amidforbindelser i tilstedeværelsen av T3P®. Her ble det rapportert at bruken av T3P® i reaksjoner kan gi det ønskende produktet med godt utbytte og lav epimeriseringsgrad.⁷⁷ Sammenlignet med T3P gir andre naturlige peptidskoblingsreagenser som DCC, HOBt, EDC, PyBOP epimeriseringsdannelse i større grad og lavere utbytte. EDC og DCC, som tradisjonelt blir brukt i peptidsyntese, må man bruke i kombinasjon med HOBt for å minimere racemisering.⁷⁰ HOBt i seg selv har eksplosive egenskaper ved oppvarming under definerte betingelser eller når de utsettes for mekanisk stimulering. Mulig potensiell eksplosjonsfare kan være en alvorlig konsekvens ved bruk av HOBt i stor skala.⁷⁸ En ulempe ved bruk av T3P® i reaksjoner er at den er svært sensitivt for vann.⁷⁹ noe som medfører at reaksjonen må utføres under tørre betingelser.

Som et godt og trygt reagens for fremstilling av amidforbindelser blir T3P® benyttet i fremstilling av legemidler både på mindre forskningslaboratorier og i stor skala i industrien. Et eksempel er tetrahydrokarbazoler og deres derivater, nemlig N-[(1R)-6-klor-2,3,4,9-tetrahydro-1-karbazol-1-yl]-2-pyridinkarboksylamider. Det er et av legemidlene som brukes for behandling av ondartede og premaligne tumorceller forårsaket av humant papillomavirus (HPV).⁷⁰ Anvendelser av T3P® i ulike reaksjoner viser potensialet og effektivitet som et viktig reagens i organisk syntese, og derfor blir T3P® benyttet i denne oppgaven som koblingsreagenset i syntese av C2A-analoger hvorav strukturen inneholder amidbinding.

1.8 Prosjektmål

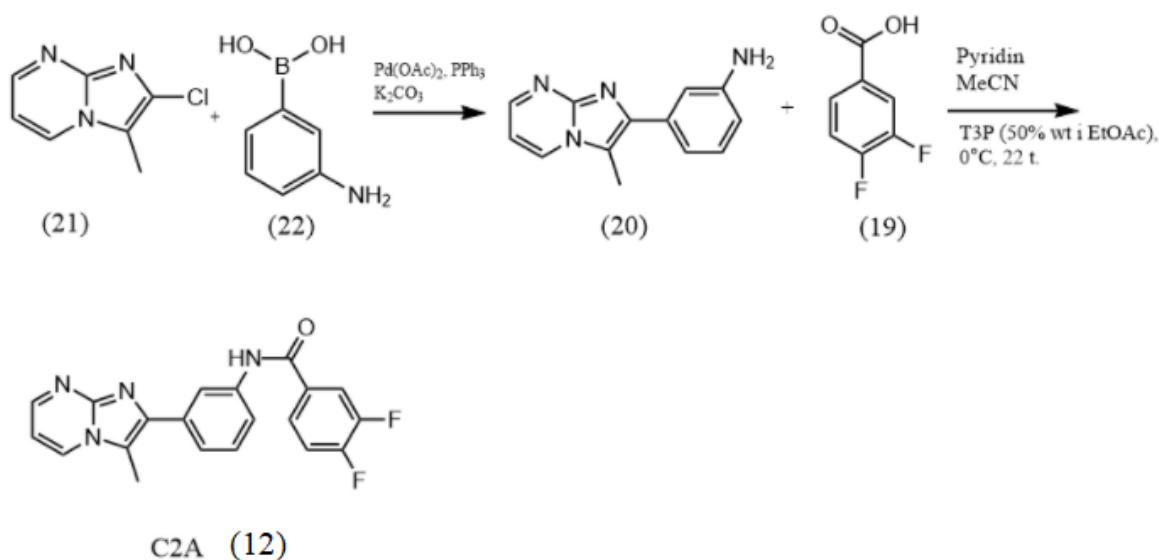
Resolviner er SPMer som blir dannet i nanomolar konsentrasjoner under oppløsningsfase av akutt betennelse, og det utviser en potent pro-oppløsende effekter under inflammasjon. Dessverre har utviklingen av resolviner, som en legemiddelbehandling i et inflammatorisk sykdom, fortsatt begrenset knyttet til ustabilitet og fysisk-kjemiske egenskaper.

Et alternativ er å finne andre substanser som har lignende funksjon som resolviner. C2A er en lavmolekylær forbindelse identifisert ved hjelp av HTS å aktivere resolvin D1 reseptor GPR 32 slik som resolvin D1 virker. Det har også vist biologiske aktivitet i form av pro-oppløsende effekt. Oppdagelsen av C2A gir oss en ny mulighet til å forbedre de farmakokinetiske egenskapene ved å studere SAR. Målet for denne oppgaven er derfor å syntetisere en rekke amid-analoger av C2A forbindelsen som kan bruke til å studere SAR videre. I den opprinnelige prosjektbeskrivelsen ble det foreslått to typer koblingsreagenser, nemlig T3P® og HOBT/EDCI som kan benytte i syntese av amider. I denne oppgaven blir syntese av amider utført ved å benytte T3P®.

2. Resultat og diskusjon

2.1 Forsøk på syntese av 3-(3-metylimidazo[1,2- α]pyrimidin-2-yl)anilin

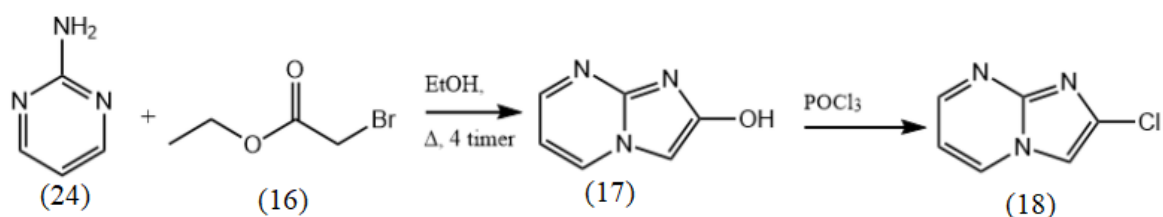
Det første delmålet var å forsøke å syntetisere C2A (**12**). Det ble forsøkt å syntetisere 3-(3-metylimidazo[1,2- α]pyrimidin-2-yl)anilin (**20**), for så å koble den med 3,4 difluorbenzosyre (**19**), og det gav teoretisk sett opphavet til C2A (**12**). Hovedtanken var at forbindelse **20** skulle bli syntetisert fra forbindelse **21** og **22** ved hjelp av Suzuki-koblings reaksjon. Forbindelse **22** var kommersielt tilgjengelig og ble kjøpt inn. Forbindelse **21** var også kommersiell tilgjengelig, men prisen var imidlertid svært høy, og derfor ble det bestemt at denne skulle syntetiseres selv. Oversikt over syntesestrategi av C2A (**12**) er illustrert i Skjema 2.



Skjema 2. Oversikt over syntesestrategi av C2A (**12**).

2.1.1 Forsøk på syntese av forbindelse 21

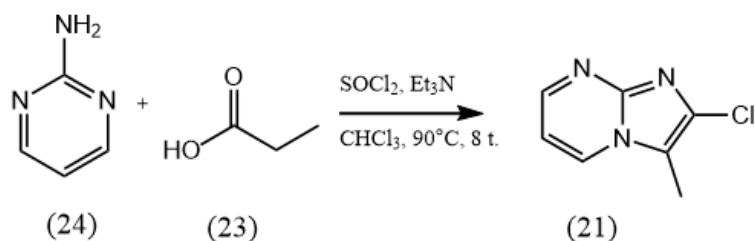
Syntese av 2-klor-imidazo[1,2- α]pyrimidinderivat kan utføres på ulike måter. En metode vil gå ut på å direkte foreta heterosyklisering med alkoholgruppen først. Alkoholgruppen vil videre omdannes til kloridet ved hjelp av fosforoksyklorid som er vist i Skjema 2.1. Denne tanken blir inspirert av en studie gjort av Zhang og medarbeidere som utførte en lignende syntese.⁸⁰ Siden ingen har utført samme syntese før, ble fokus rettet mot andre metoder hvor 2-klor-imidazo[1,2- α]pyrimidinderivat syntetiseres direkte fra i en one-pot syntese som beskrevet i kapittel 2.1.1.1.



Skjema 2.1. En mulig syntese av 2-klor-imidazo[1,2- α]pyrimidin.

2.1.1.1 One-pot syntese

Det ble undersøkt å syntetisere forbindelse **21** fra propionsyre (**23**) og 2-Aminopyrimidin (**24**). Dette er illustrert i Skjema 2.2. Reaksjon ble utført ved først å blande propionsyre med SOCl_2 i kloroform under reflux for å lage syrekloridet *in situ*. Videre skulle syrekloridet reageres med 2-Aminopyrimidin (**24**) i nærvær av Et_3N . Det kan forventes å skje en amiddannelse etterfulgt av klorsyklisering, noe som resulterte i dannelsen av forbindelse **21**. Dette er en one-pot reaksjon, og den ble utført under tørre betingelser på grunn av sensitivt mellomprodukt, nemlig syreklorid. Forsøket på denne one-pot syntesen ble inspirert av en eksperimentell studie gjort av Xiao og medarbeidere i 2015.⁸¹



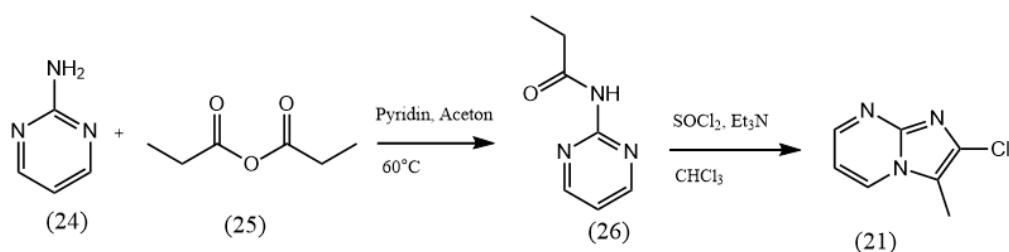
Skjema 2.2. Syntese av 2-klor-3-metylimidazo[1,2- α]pyrimidin (**21**) fra one-pot reaksjon.¹

Det første forsøket gav et produkt i mindre enn 1% utbytte som ikke var nok til å utføre NMR-analyse. Reaksjonen ble utført en gang til med økt mengder av løsningsmiddelet siden det ble antatt at problemet i det første forsøket var relatert til overkoking av løsningsmiddel. Overkoking av løsningsmiddel i forhold til løsningsmiddelets kokepunkt kunne gi mulig nedbryting av mellomprodukt, nemlig syrekloridet som hadde lav kokepunkt i forhold til andre forbindelser. Andre muligheter kunne være at 2-Aminopyrimidin (**24**) ikke var løst fullstendig i løsningsmiddelet under reaksjonen, noe som medførte at 2-Aminopyrimidin (**24**) var utilgjengelig under reaksjon.

Det andre forsøket gav et produkt i 10 % utbyttet. Både ^1H - og ^{13}C -NMR-resultatet viste at det forventede produktet ikke ble syntetisert, men en blanding av startmaterialet og mellomprodukt. Det viste seg at problemet var i forbindelse med heterosykliserings trinnet. En utfordring med å gjøre en one-pot syntese kan være problemet med biproduktdannelse og rester av startmaterialet fra tidligere trinn som påvirker den neste reaksjonen. I dette tilfellet ble det antatt at biproduktet, HCl kunne protonere nitrogenatomet i pyrimidinring (**24**), noe som gjorde at elektronparet på nitrogen ikke var ledig lenger, og det medførte dermed at heterosyklisering ikke fant sted. Et annet mulig problem ville være involvering av trykk i reaksjonen. Dette ble observert en studie gjort av Xiao og medarbeidere som utførte samme syntese.⁸¹ Det ble observert at alt av metoder dvs. betingelser, opprensing og isolering av produkt som ble benyttet i syntesen, var samme unntatt det som ble utført i et lukket reaksjonsrør. Xiao og medarbeidere benyttet et lukket reaksjonsrør under reaksjon,⁸¹ og de fikk da det ønskede produktet (**21**) i godt utbytte. Basert på de eksperimentelle dataene gjort av Xiao og medarbeidere kunne det konkluderes med at et lukket reaksjonsrør var sannsynligvis viktig i one-pot syntese av 2-klor-3-metylimidazo[1,2- α]pyrimidin (**21**).⁸¹

2.1.1.2 Fler-trinns syntese

Den neste måten var å utføre flere trinn i stedet for en one-pot reaksjon. Det første trinnet gikk ut på å syntetisere amider. Den enkleste måten var å reagere et amin med syreklorid eller syreanhydrid i nærvær av base. Grunnen til å velge syreklorid eller syreanhydrid (**25**) var pga. reaktivitetsegenskaper. Forklaringen på reaktivitet av ulike syrederivater ble omtalt i kapittel 1.6. I neste trinn ble amidet reagert med SOCl_2 som gav den ønskede forbindelsen (**21**). Utføringen av reaksjonen i det andre trinnet var basert på Vilsmeier-Haack reaksjonen. Oversikt over syntesestrategi av forbindelse **21** er illustrert i Skjema 2.3.



Skjema 2.3. Oversikt over syntesestrategi av 2-klor-3-metylimidazo[1,2- α]pyrimidin (**21**).

Det første forsøket ble utført reaksjon mellom syreanhydrid (**25**) med 2-Aminopyrimidin (**24**) i nærvær av pyridin og aceton som løsningsmiddel under reflux, for å lage amider. Det gav produktet (**26**) i 0.7% utbytte. ¹H-NMR, er vist i Figur 7.1, indikerer at den ønskede forbindelsen **26** var tilstede, men dessverre med noen forurensinger.

Karakterisering av forbindelse **26**

Forbindelse **26** er karakteristisk ved forventede fem signaler tilstede fordi forbindelsen som blir syntetisert har et symmetriplan. Signalet som er en singlet med kjemisk skift ved 10.13 ppm er karakteristisk for amidgruppen. Ved 1.22 ppm kommer et signal, som en triplett. Det er typisk for en metylgruppe som har et integral på 3H og er lang unna elektrontiltrekkende gruppe, amid. Signalet ved 2.82 ppm som er en kvartett og har et integral på 2H, vil representere to protoner i karbonatomet bundet direkte til amid. Dette forklares ved elektrontiltrekkende effekt som bidrar til redusert skjerming rundt disse protoner. Det blir også observert to signaler med kjemisk skift ved hhv. 8.57 og 6.96 ppm Det er typiske signaler for aromatiske protoner. De observerte signalene med kjemisk skift mellom 6.69-7.75 og 8.29-8.35 ppm ble antatt å være forurensinger. Disse signalene er typiske for aromatiske protoner, antagelig pyrimidinringen tilstede i forbindelse **24**.

Pga. lavt utbytte fra det første forsøket ble det antatt at problemet sannsynligvis var i sammenheng med reaksjonstid. Samme reaksjon ble gjennomført under reflux i en bestemt tid for å kontrollere hvor mye startmaterialer ble brukt. Dette var nødvendig for å finne en optimal reaksjonstid og det ble sjekket at startmaterialer ble oppbrukt før reaksjonen ble stanset. TLC-resultatet viste ingen endring av startmaterialer etter at reaksjon gikk etter en time og fire timer. Det ville si at reaksjonstiden ikke var den faktoren som påvirket produktdannelse.

Andre årsaker til det dårlig utbyttet kan skyldes opparbeidelsen. Det ble brukt en del tid for å utvikle en opparbeidelses metode som kunne gi et godt utbytte. Det var nødvendig å få et godt utbytte med tanken på anvendelsen av forbindelse **26** i det neste trinnet i syntesen av forbindelse **21** og miljømessige årsaker. Samme forsøk ble utført totalt fire ganger.

Betingelsene i opparbeidelses trinnet som ble endret var miljøet (pH) under ekstraksjonen og type løsningsmiddel.

Miljø under ekstraksjon

For det første forsøket, som gav produktet **26** i 0,7% utbytte, ble det forsøkt å ekstrahere produktet med en sur vannfase. Tanken var at HCl skulle fange opp overskudd av aminet **24**, som er startmaterialet. Det ble antatt at begge startmaterialene (**24** og **25**) og polare forurensinger var godt løselige i vannfasen, og de ble fjernet under ekstraksjon. Blandingen stod under omrøring i 30-120 minutter for at HCl skulle få tid til å reagere med aminet. pH i blandingen var 1 etter tilsats av HCl (0.5 M). Produktet ble deretter ekstrahert med dietyleter. TLC-resultatet viste tydelig at aminet var fortsatt tilstede. Grunnen til dette kunne være mangel på erfaringer. Det ble også antatt at en del produktmengde ble fjernet i vannfasen fordi nitrogenatomer i pyrimidinringen (**26**) sannsynligvis ble protonert på grunn av et fritt elektronpar. Ulike pH-verdier ble derfor undersøkt for å finne hvilket pH gav best utbytte. Resultatet av undersøkelsen er vist i tabell 1.

Tabell 1. Effekt av pH-verdi under ekstraksjon hadde innflytelse på utbytte.

Forsøksnummer	Stoffer som ble tilsatt for pH justering	pH-verdi under ekstraksjon	Utbytte
1	HCl (0.5M)	1	0.7%
2	CH ₃ COONa	6	2.3%
3	en mettet, vandig løsning av NaHCO ₃	8	2.2%
4	en mettet, vandig løsning av K ₂ CO ₃	9	2.6%

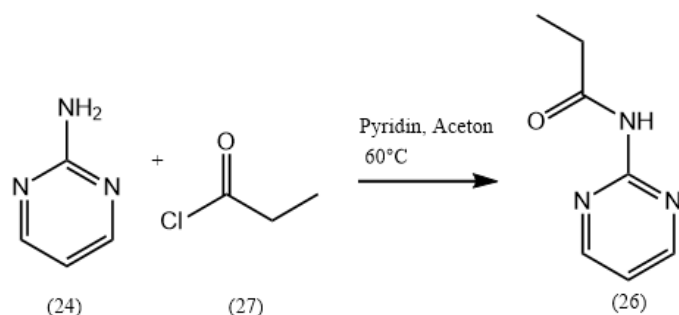
Valg av base var basert på nukleofilisitetsevne. Det viste seg at nedbryting av amidbinding ville sannsynligvis skje i nærvær av sterk base som NaOH siden den var en meget god nukleofil. Basert på resultatene som ble undersøkt, vist i tabell 1, ville det si at pH-verdi under ekstraksjon har en viss påvirkning for utbyttet av det ønskede produktet (**26**). I dette tilfellet kunne det konkluderes med at optimal pH-verdi var 9.

Løsningsmiddel

Av undersøkelser på pH-effekt under ekstraksjon som hadde innflytelse på utbytter ble undersøkelser på ulike løsningsmidler utført samtidig. Dette var for å finne hvilket løsemiddel som var best egnet for å gjøre ekstraksjon med. Det viste seg at aceton som ble benyttet i reaksjonen, var blandbar med vann. Produktet var dermed vanskelig å ekstrahere ut fra vannfasen. Dette ble løst ved å gjøre en inndamping før ekstraksjon. Råproduktet ble deretter forsøkt ekstrahert med dietyleter, toluen, etylacetat, kloroform, og en blanding av kloroform og metanol (2:1). TLC-resultatet til vannfasen gav en sterk indikasjon på at blanding av kloroform og metanol (2:1) var det beste løsningsmiddelet som ekstraherte produkt ut fra vannfasen.

Rekkefølgen av startmaterialer som ble tilsatt under reaksjonen, kunne også ha innflytelse på produkt dannelsen. Denne tanken ble inspirert av en eksperimentell studie utført av Ueda og medarbeidere i 1959.⁸² De utførte syntesen av amid ved å løse 2-Aminopyrimidin (**24**) i aceton først. Pyridin ble deretter tilsatt dråpevis i syreklorid under omrøring. Alt av blanding av pyridin og syreklorid ble tilsatt i den rundkolben der 2-Aminopyrimidin og aceton var. Reaksjonsblandingen var under reflux i 30 min. Opprensingen ble utført ved å gjøre inndamping av aceton først. Iskaldt vann ble deretter tilsatt, og rundkolben sto på isbad frem til krystallene felte ut. Produktet ble filtrert, og omkrystallisert fra etanol. Denne metoden gav det ønsket produktet i 75% utbytte.⁸² Forsøket på å lage amid ble derfor gjort igjen ved å følge denne prosedyren fra Ueda og medarbeidere men dette forsøket tok syreanhydrid (**25**) som utgangsstoff i stedet for syreklorid, fordi syreklorid imidlertid ikke var tilgjengelig på lager. Dette forsøket gav ikke noe utbyttet siden det ikke ble observert noe utfelling av krystallene. Det var uklart hvorfor denne metoden ikke fungerte. Den eneste muligheten var at syreanhydrid (**25**) som ble benyttet i dette forsøket, var ikke reaktivt nok sammenlignet med syreklorid.

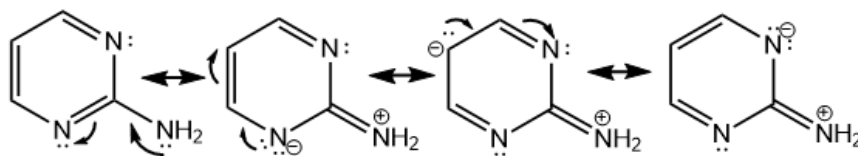
For å bekrefte hypotesen av at reaktivitet til syreanhydrid hadde effekt på produkt dannelsen ble forsøket utført for å lage amidet ved å ta syreklorid (**27**) som utgangspunkt. Syntese av forbindelse **26** fra syreklorid er vist i Skjema 2.4.



Skjema 2.4. Syntesen av forbindelse **26** fra syreklorid.

Det gikk ut på å løse 2-Aminopyrimidin (**24**) i aceton først. Pyridin ble deretter tilsatt dråpevis til syrekloridet (**27**) under omrøring. 2-Aminopyrimidin (**24**) løst i aceton ble tilsatt dråpevis til blandingen av syrekloridet (**27**) og pyridin under omrøring. Reaksjonsblandingen sto under reflux i 90 min. Reaksjon ble utført under tørre betingelser. Opparbeidelsen ble gjort ved å dampe inn aceton. Destillert vann og en mettet, vandig løsning av $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ble deretter tilsatt. pH var ca. 7. Råproduktet ble dermed ekstrahert med kloroform og rensert ved hjelp av kolonnekromatografi. Det resulterte i produkt **26** i 1% utbytte. Av dette forsøket ble det observert at ekstraksjonstrinnet dvs. pH og type løsningsmiddel var de viktige trinnene som ble gjort annerledes enn andre forsøk. Ingen av de utførte forsøkene som gav et utbytte, ble utført på samme måte. Det medførte at resultatet var ugyldig til å sammenligne med hverandre. Det ble regnet som en avvik og resulterte i at denne hypotesen ikke kunne forkastes. En annen utfordring som burde ta hensyn til, var reaktivitet til aminet. Det ble antatt at den substituerte aminogruppen på pyrimidinet (**24**) antagelig var dårlig tilgjengelig som nukleofil. Aminogruppe som var dårlig nukleofil, ville ha vanskeligheter med å reagere med en elektrofil, i dette tilfellet syreklorid **27**. Det medførte at tendensen til at det skulle skje en amiddannelse ble sannsynligvis redusert. Nedsatt reaktivitet av 2-Aminopyrimidin (**24**) kunne forklares ved hjelp av både induktiv og mesomerisk effekt, som vist i Skjema 2.5. Basert på resonansformer av 2-Aminopyrimidin ble det sett at det frie elektronparet på den substituerte aminogruppen kunne oppføre seg som en π -donor, og det var delokalisert inn i det aromatiske π -systemet. Det medførte at aminogruppe ikke var reaktiv lenge. Induktiv effekt kunne også ha en påvirkning. Nitrogenatomer i pyrimidinringer er elektronnegative og kan trekke elektroner til seg. Det resulterte i økt elektrontetthet rundt nitrogenatomet i pyrimidin og redusert elektrontetthet rundt aminogruppen. På grunn av en kombinasjon av de to effektene

ville det kunne forventes at de nukleofile egenskapene til 2-Aminopyrimidin (**24**) var ganske dårlige.



Skjema 2.5. Resonansstrukturer av 2-Aminopyrimidin (**24**).

Basisitets- og nukleofilisitetsevne vil forventes å øke via innføring av elektrondonerende grupper, som metylgruppen, til 2-Aminopyrimidin. Denne tanken ble inspirert av en studie gjort av Huo og medarbeidere.⁸³ De utførte syntesen av imidazo[1,2- α]pyridiner fra 2-Aminopyridin og *beta*-keto ester ved hjelp av en promoter, nemlig CBr₄. Det ble oppdaget at reaktivitet til 2-Aminopyridin var basert på substituenten til pyridinring. Resultatet viste at reaksjonen gav et produkt, som syntetiserte fra 2-Aminopyridin med det substituerte, elektrondonerende gruppen som metylgruppen, i et høye utbytte sammenlignet med syntesen av imidazo[1,2- α]pyridin fra 2-Aminopyridin med det substituerte kloratomet som gav det ønskede produktet i lavere utbytte.⁸³

Basert på de tidligere og utførte resultatene ble det bestemt å gjøre et forsøk på å lage amid igjen. Kombinasjonen av de ulike metodene som gav gode resultater, ble brukt i dette forsøket. Metoden var at 2-Aminopyrimidin (**24**) ble først løst i aceton i en rundkolbe. Pyridin ble deretter tilsatt dråpevis i syreanhydrid (**25**) under omrøring. Blanding av pyridin og syreanhydrid ble tilsatt sakte til den rundkolben med 2-Aminopyrimidin og aceton. Reaksjonsblandingen sto under reflux i 90 min. Opparbeidelsen ble utført ved å dampe inn aceton først. Iskaldt vann og en mett, vandig løsning av K₂CO₃ ble deretter tilsatt. pH var ca. 9. Råproduktet ble ekstrahert med en blanding av kloroform og metanol (2:1), og omkrystallisert fra etanol. Denne metoden gav produkt (**26**) i 3.2% utbytte, og det var den minst dårlige fremgangsmåten for å lage amidet. Syntesen av forbindelse **21** fra forbindelse **26** ble ikke utført pga. begrenset tid og begrenset mengde av forbindelsen **26** som ble syntetisert.

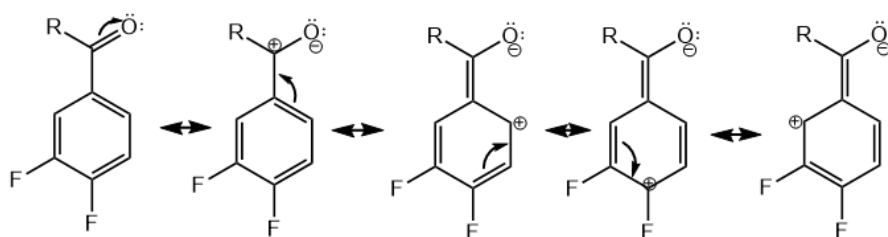
2.2 Syntese av amid-analoger av C2A

Det andre delmålet i oppgaven var å erstatte forbindelsen **20** med andre tilgjengelige aminer. Synteser av amider ble utført ved å koble 3,4-difluorbenzoyl (28) med et amin ved hjelp av T3P® i nærvær av pyridin og med acetonitril som løsningsmiddel. Reaksjonen krevde temperaturer mellom -20 til -10°C før tilsats av T3P®. Reaksjonsblanding sto under omrøring i kjøleskap i et bestemt tidsrom før den ble opparbeidet, og produktet ble rensset. Forsøkene som ble utført, er beskrevet i detalj i kapittel 5. Denne fremgangsmåten ble inspirert av en eksperimentell studie gjort av Dunetz og medarbeidere.⁷⁷

Forbindelse 30

Reaksjon mellom 3,4-difluorbenzoyl (28) og 3-aminokinolin (29) gav krystallisk produkt (30) i 58% utbytte. Både ¹H- og ¹³C-NMR spekteret indikerte at rett produkt ble syntetisert. ¹H-NMR spekteret gav en karakterisering av forbindelse 30 ved at det viser et signal med kjemisk skift på 10.76 ppm. Signalet er en singlet, og er karakteristisk for amidgruppen. Signalene ved 9.14, 8.83, 8.12, 8.03-7.90 og 7.73-7.61 ppm er typiske for aromatiske hydrogenatomer, og det tyder på at signalene kommer fra grunnstrukturen. 16 signaler forventes også i ¹³C-NMR spekteret, men det blir faktisk observert 19 signaler. Grunnen til dette er at to fluoratomer som er tilstede i molekylet, vil gi splitting av signaler i ¹³C-NMR. Signalet ved 164.33 ppm er typisk for amidgruppen. Ved 153.41, 150.94 og 150.81 ppm vil de representere to karbonatomer bundet direkte til fluoratomer. Signalene kommer med høy kjemisk skift på grunn av at induktiv effekt fra elektrontrekkende atomet, fluoratomet, bidrar til redusert skjerming rundt de to karbonatomene. Det er ikke uvanlig at signalene ved 150.94 og 150.81 ppm kan komme fra samme karbonatom. Dette er pga. splitting gjort av fluoratomet. Dette gjelder også for signalene med kjemisk skift på 118.36, 118.18, 117.86, og 117.68 ppm. Singlene ved 117.86, og 117.68 ppm kommer av en splitting som gir en dublett. Den har en koblingskonstant på 14.32 Hz. Signalene vil sannsynligvis komme fra et usubstituert karbonatom i *meta*-posisjon til substituert amidgruppen. Ved 118.36 og 118.18 ppm vil det tilsvare et annet karbonatom i *orto*-posisjon til den substituerte amidgruppen. Den har lik koblingskonstant på 14.32 Hz. Signalene kommer ved høyt kjemisk skift. Dette forklares ved elektrontiltrekkende effekt av karbonylgruppen som bidrar til redusert elektrontetthet rundt *orto*-karbonatomet, vist i Skjema 2.6. Det blir bekreftet av HSQC-analyse hvor det blir observert korrelasjon mellom signalene ved 118.36, 118.18 og 7.68 ppm,

og korrelasjon mellom signalene ved 117.86, 117.68 og 8.12 ppm. Signalet ved henholdsvis 133.04 og 132.11 ppm kommer fra de kvartanære karbonatomene som har substituerte grupper. Det stemmer med resultatet fra HSQC-analyse siden signaler ikke blir observert. Resten av signaler som kommer mellom 100 til 150 ppm er typisk for aromatiske karbonatomer. Det er vanskelig å avgjøre hvilket signal som stammer fra hvilket karbonatom. Smeltepunkt på 241-247 °C viser et smalt intervall, noe som gav en sterk indikasjon på at produktet har relativ høy renhet.



Skjema 2.6. Elektrontiltrekkede effekt vha. resonans.

Forbindelse 32

Forbindelse **32** i 59% utbytte ble syntetisert av 3,4-difluorbenzoesyre (**28**) og 4-aminoisokinolin (**31**). ^1H - og ^{13}C -NMR spekteret indikerte at den ønskede forbindelsen ble laget. ^1H -NMR spekteret gir 10 signaler som forventer. Signalet fra amidgruppen kommer med høyest kjemisk skift på 10.63 ppm. Signalene ved 9.28, 8.62, 8.25-8.12, 8.07-7.96, 7.84, 7.75 og 7.68 ppm er typiske for aromatiske hydrogenatomer, og kommer fra grunnstrukturen. Signalet ved 8.07-7.96 ppm har en koblingskonstant på 8.4 Hz, og det er av samme størrelse som koblingskonstant for signalet ved 7.68 ppm. Det tyder på en *orto*-kobling fordi koblingskonstanten for *orto*-kobling ligger i intervallet 7-9 Hz. Det er vanskelig å vite hvilket signal som kommer fra hvilket hydrogenatom før forbindelsen blir tatt på COSY-analysering. I ^{13}C -NMR spekteret blir det observert 24 signaler, altså for mange signaler enn det forventer. 8 ekstra signaler som antagelig kommer fra splitting påvirket av fluoratomet. Dette ses ved signaler med kjemisk skift på 153.53, 153.40, 151.03, 150.96, 150.90, 150.84, 148.51, 148.38, 129.03, 128.99, 128.21, 128.14, 118.33, 118.15, 117.97 og 117.79 ppm Signalet ved 153.53 og 153.40 ppm representerer antageligvis karbonatomet bundet direkte det elektrontiltrekkende fluoratomet, og signalet ved 148.51 og 148.38 ppm representerer

antagelig karbonatomet bundet direkte til et annet fluoratom fordi signalene kommer ved et høyt kjemisk skift og koblingskonstanten for de observerte signalene er de samme på 12.5 Hz. Siden signalet ved 151.03, 150.96, 150.90 og 150.84 ppm også gir like koblingskonstant på 6.50 Hz vil signalene sannsynligvis tilsvare et karbonatom bundet til amidgruppe. Det stemmer overens med HSQC-resultatet hvor det ikke blir observert korrelasjon mellom C-H i disse signalene. Det høyeste signalet, ved kjemisk skift på 164.78, kommer fra amidgruppen. Smeltepunkts intervallet på 188-191 °C indikerer høy renhet av produktet.

Forbindelse 34

Reaksjon mellom 2-aminokinolin (**33**) og 3,4-difluorbenzoesyre (**28**) gav et gult fast stoff (**34**) i 1% utbytte. Det var problemer i opparbeidelsen. Det ble oppdaget at surt miljø under ekstraksjon ikke var egnet for forbindelsen **34**. TLC viste at den synlige flekken til produkt ble ikke i organisk fasen etter ekstraksjon med surt miljø. Det ble undersøkt med å gjøre ekstraksjon under ulike pH-forhold. Der ble det oppdaget at pH 12-13 var egnet best. Ønsket produkt ble identifisert av ¹H- og ¹³C-NMR spekteret. Antall signaler som vises i ¹H-NMR spekteret stemmer med antall hydrogenatomer i målmolekylet. Singletten med kjemisk skift på 11.29 som har et integral på 1H, er typisk for amidgruppen. Resten av signalene som kommer med kjemisk skift mellom 7-9 ppm, er karakteristisk for aromatiske hydrogenatomer. Signalet ved 8.43 ppm og ved 8.33 ppm er dubletter. Begge har et integral på 1H og har koblingskonstant på 8-9 Hz som tyder på en *orto*-kobling. Det er vanskelig å presisere hvilket signalet kommer fra hvilket hydrogenatomet før COSY og HSQC blir utført. 16 signaler blir observert i ¹³C-NMR spekteret som forventes. Det høyst signalet med kjemisk skift på 164.77 ppm er typisk for karbonylgruppen. Renten av signaler tilsvarer aromatiske karbonatomer som er fra grunnskjellettet i strukturen. Det er vanskelig å avgjøre hvilket signal som stammer fra hvilket karbonatom. Måling til smeltepunkt blir ikke utført pga. begrenset mengde av produkt.

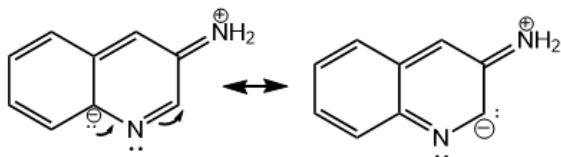
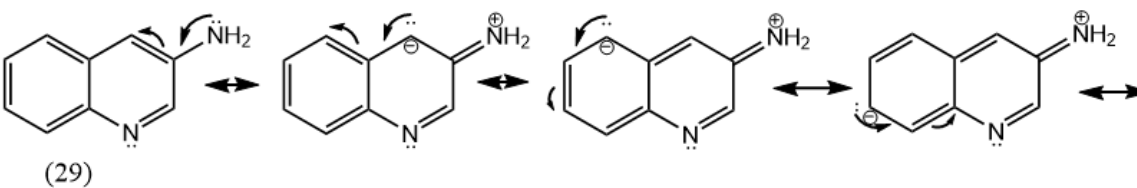
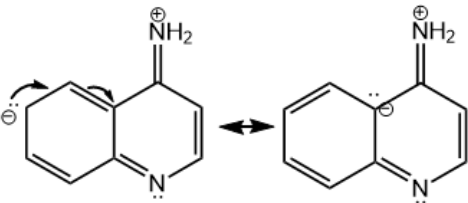
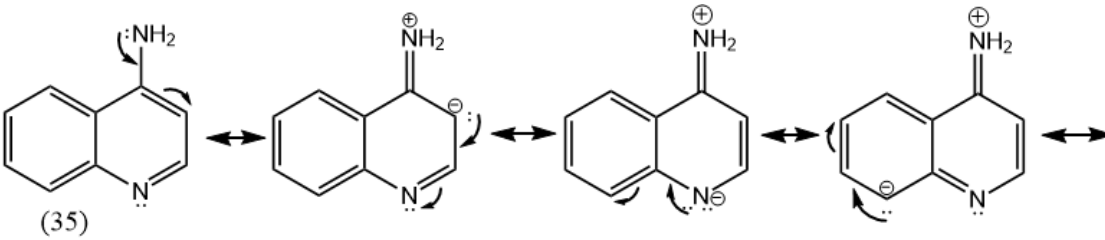
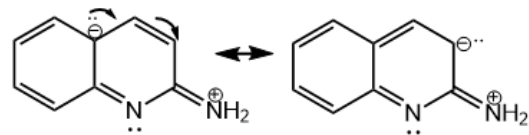
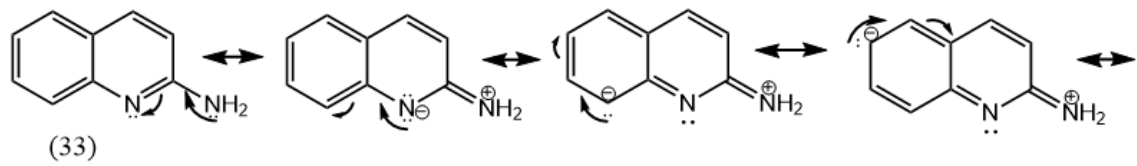
Forbindelse 36

Reaksjon mellom 4-aminokinolin (**35**) og 3,4-difluorbenzoesyre (**28**) gav et gult fast stoff (**36**) i 8% utbytte. Samme problem som ble oppdaget for forbindelsen **36**, dukket opp her. pH 12 var egnet for å gjøre ekstraksjon. Rett produkt påvist fra av ¹H- og ¹³C-NMR spekter. Signalene som blir observert forventes ¹H-NMR spekteret stemmer med antall protoner i målmolekylet. Et signal ved 10.74 ppm forventes å komme fra amidgruppen siden signalet

kommer med høyest kjemisk skift og integrerer for ^1H . Resten av signalene er karakteristiske signaler for aromatiske protoner siden signalene kommer ved typiske kjemiske skift mellom 7-9 ppm. I ^{13}C -NMR spekteret blir det observert 24 signaler, altså for mange signaler enn det forventer. 8 ekstra signaler som antageligvis kommer fra splitting påvirket av fluoratomet. ^{13}C -NMR spekteret til forbindelsen **36** er ganske like spekteret til forbindelsen **32**. Grunnstruktur er det samme bortsett fra det substituerte gruppen til kinolin som er i en annen karbonposisjon. Det høyest signalet med kjemisk skift på 164.87 ppm representerer amidgruppen. De andre signalene kommer mellom 100-150 ppm representerer de aromatiske karbonatomene.

Nukleofilisitet av aminogruppene

Det ble observert at syntesen av forbindelse **34** og **36** gav produkt i lave utbytter sammenlignet med syntesen av forbindelse **30** og **32**. Denne oppdagelsen gav innsikt på at nukleofilisitetsevnen til aminet har en stor betydning for produktdannelse. Dette bekreftet også den hypotesen som ble diskutert i kapittel 2.1.1.2. Induktiv effekt og resonansbidrag var to dominerende faktorer som påvirket nukleofilisitetsstyrken til den substituerte aminogruppen. Et ledig elektronpar på den substituerte aminogruppen ville oppføre seg som en π -donor der de kunne delokalisere elektroner inn i det aromatiske π -systemet og medføre resonansdannelse. Resonanseffekt kunne betydelig svekke nukleofilisitet- og basisitetsevne til aminet. Både 4-aminokinolin (**35**) og 2-Aminokinolin (**33**) har resonansformer som bidrar til nedsatt reaktivitet mens 3-aminokinolin (**29**) og 4-aminoisokinolin (**31**) mangler denne resonansformen, noe som forklarte hvorfor de gav meget godt utbyttet. Resonansformer av ulike aminer ble illustrert i Skjema 2.7.



Skjema 2.7. Resonansformer av ulike aminer.

Det tredje delmålet i oppgaven var å beholde forbindelsen **20**, og erstatte 3,4-difluorbenzosyre (**28**) med andre tilgjengelige syrederivater. Siden syntesen av forbindelsen **20** var mislykket, ble 3-aminokinolin (**29**) tatt som utgangspunkt. Syntesene ble utført ved hjelp av koblingsreagenset T3P®.

Forbindelse 38

Forbindelse **38** ble syntetisert fra 3-aminokinolin (**29**) og 4-fluorbenzosyre (**37**). Reaksjonen gav et hvitt fast stoff i 51% utbytte. ^1H - og ^{13}C -NMR spekteret bekreftet at forbindelse **38** ble syntetisert. Antall signaler som blir sett i ^1H -NMR stemmer med antall protoner i målmolekylet. Amidgruppen karakteriseres av en singlet med kjemisk skift på 10.72 ppm. Resten av signaler som kommer ved kjemisk skift mellom 7-9,5 ppm, er typiske for aromatiske protoner fra grunnstrukturen. Signalet ved 9.15 ppm og ved 8.85 ppm er dubletter. Begge har et integral på 1H og en koblingskonstant på 2.5 og 2.6 Hz som tyder på en *meta*-kobling, siden *meta*-kobling har koblingskonstant i intervallet mellom 1-3 Hz. Det er vanskelig å avgjøre hvilket signal som kommer fra hvilket hydrogenatom. Det forventes 14 signaler fra ^{13}C -NMR spekteret fordi forbindelsen har et symmetriplan. Det blir egentlig observert 17 signaler. Ekstra signaler er antagelig kommet av splitting gjort av fluoratomet. Signalet ved 166.00 ppm er typisk for karbonylfunksjonen. Resten av signalene representerer de aromatiske karbonatomene. Et smeltepunkt på 235-238 °C gir en sterk indikasjon på at produktet er relativt rent. pga. smalt temperaturintervall.

Forbindelse 40

Reaksjon mellom 3-aminokinolin (**29**) og 4-klorbenzosyre (**39**) gav et krystallisk produkt i 19% utbytte. Lavt utbytte fra syntesen skyldes mangel på erfaringer. ^1H - og ^{13}C -NMR spekteret gav en bekreftelse på at rett forbindelse (**40**) var blitt syntetisert. Singletten ved 10.77 ppm som har et integral på 1H, tyder på amidgruppen. Resten av signaler er fra aromatiske protoner. I ^{13}C -NMR spekteret blir det sett forventede 14 signaler fordi produktet har et symmetriplan. Siden fluoratomet ikke er tilstede i molekylet blir det ikke observert noe ekstra signaler som kommer av splitting. Signalet med kjemisk skift på 165.53 ppm tilsvarer amidgruppen. Resten av signalene er fra aromatiske karbonatomer som er fra grunnkjelettet i strukturen. Smeltepunkt ble målt til 237-240 °C. Det gir en indikasjon på rent produkt.

Forbindelse 42

Forbindelse **42** ble syntetisert ved å utføre reaksjon mellom 3-aminokinolin (**29**) og 2-fluor-5-pyridin karboksylsyre (**41**). Det gav et hvitt fast stoff i 76% utbytte. Det ble oppdaget at for å få et forbedret utbytte måtte forbindelsen **42** ekstrahere under basisk vandig miljø, siden ekstraksjon under surt vandig miljø gav et utbytte på 65 % utbytte. Det ble antatt at

nitrogenatomene i ringen kunne protoneres under surt miljø og dermed ble fjernet med vannfasen. Det ble undersøkt å bruke NaOH (1M) og NaHCO₃ under ekstraksjonstrinn. pH var henholdsvis 12 og 8. Det viste ikke noe forskjell i utbytte. Det ble antatt at amidbindingen var stabil pga. resonansformer. Det ville si at nedbryting av amidbinding ville ikke skje så lenge NaOH i en lav konsentrasjon ble benyttet. 1M NaOH fungerte bra i dette tilfellet. ¹H- og ¹³C-NMR spekteret indikerte at forbindelse **42** ble syntetisert. Antall signaler som blir sett i ¹H-NMR spekteret stemmer med antall protoner i molekylet. Signalet ved 10.88 ppm er karakteristisk for amidgruppen siden signalet er en singlet med høyest kjemisk skift. Signalet ved 8.91 ppm og ved 9.13 ppm er dubletter og har et integral på 1H. Begge har samme koblingskonstant på 2.5 Hz som indikerer *meta*-kobling med hverandre. Signaler med kjemisk skift mellom 7-9 ppm tilsvarer aromatiske protoner. 15 signaler forventes å komme i ¹³C-NMR, men det ble faktisk observert 20 signaler. Det skyldes antageligvis pga. splitting gjort av fluoratomet. Signalet ved 166.14 ppm er typisk for amidgruppen siden den kommer med høyest kjemisk skift. Resten av signaler er fra aromatiske karbonatomer. Smeltepunkt for forbindelsen ble målt til 234-236 °C.

Forbindelse 44

Reaksjon mellom 3-aminokinolin (**29**) og 5-fluor-2-pyridin karboksylsyre (**43**) gav forbindelse **44** i 75% utbytte. ¹H- og ¹³C-NMR spekteret indikerte at forbindelse **44** ble syntetisert. ¹H-NMR spekteret for forbindelse **44** er relativt likt spekteret for forbindelse **42**. Signalet ved 11.11 ppm er typisk for amidgruppen. Signaler med kjemisk skift mellom 7-9 ppm tilsvarer aromatiske protoner. Det blir observert 20 signaler i ¹³C-NMR. Ekstra signaler forventes å komme av splitting gjort av fluoratomet. Signalet ved 162.88 ppm er typisk for amidgruppen siden den kommer med høyest kjemisk skift. Resten av signaler er fra aromatiske karbonatomer. Smeltepunkt for forbindelsen er 191-195 °C.

Forbindelse 46

Reaksjon mellom 3-hydroksy-4-metoksybenzosyre (**45**) og 3-aminokinolin (**29**) gav et krystallisk produkt i 21% utbytte. Problemet i denne reaksjon var i forbindelse med opparbeidelsen siden det ønskede produktet inneholder en fenol gruppe som har pKa-verdi rundt 10. Problemet ble løst ved å gjøre en ekstraksjon under vandig basisk miljø først. Det ville si at produkt ble deprotonert og ligger i vannfasen. Videre ble vannfasen gjort om til surt

miljø slik at produkt ble nøytralisert og ekstrahert ut fra vannfasen. ^1H - og ^{13}C -NMR spekteret identifiserte at forbindelse **46** ble syntetisert. Signalet ved 10.49 ppm er karakteristisk for amidgruppen siden den kommer med høyest kjemisk skift. Signalet ved 9.38 ppm vil antagelig representere OH-gruppen som skal komme med lavere kjemisk skift enn karbonylgruppen. Signalet er singlet og har et integral på 1H. Signalet ved 3.88 ppm representerer typisk metylgruppen siden signalet er en singlet med et integral på 3H. I ^{13}C -NMR spekteret blir det observert 17 forventede signaler. Signalet ved 166.18 ppm er typisk for amidgruppen. Det lavest signalet med kjemisk skift på 56.20 ppm er karakteristisk for metylgruppen. Resten av signaler er fra aromatisk karbonatomer som er fra grunnstrukturen. Smeltepunkt for produktet er 258-262 °C.

Forbindelse 48

Reaksjon mellom 4-metoksybenzosyre (**47**) og 3-aminokinolin (**29**) gav et hvitt fast stoff i 73% utbytte. ^1H - og ^{13}C -NMR spekteret gav en sterk indikasjon på at forbindelse **48** ble syntetisert. Signalet ved 10.55 ppm er en singlet som er karakteristisk for amidgruppen. Singletten med kjemisk skift 3.86 ppm som har et integral på 1H, kommer fra metylgruppen. I ^{13}C -NMR spekteret blir det observert 15 forventede signaler pga. et symmetriplan. Signalet ved 166.18 ppm er typisk for amidgruppen. Det lavest signalet med kjemisk skift på 55.95 ppm er karakteristisk for metylgruppen. Resten av signaler er fra aromatisk karbonatomer. Smeltepunkt for produktet på 203-205°C indikerer rent produkt.

Imidazo[1,2- α]pyrimidinderivat

Det ble undersøkt å lage imidazo[1,2- α]pyrimidinderivat (**50**) ved å følge etter en eksperimentell studie gjort av Huo og medarbeidere.⁸³ ^1H - og ^{13}C -NMR spekteret identifiserte at rett produkt ble syntetisert. Resultatet av spektre stemmer overens med det som sto i litteratur.⁴ produktet **50** ble hydrolysert videre til syrederivat **51**. Det ble deretter undersøkt å koble dette syrederivatet med andre tilgjengelig aminer ved hjelp av T3P®. Det ble oppdaget problemet under syntesen av forbindelse **52**. Ved hjelp av TLC ble det observert at reaksjonen skjedde, men gikk ikke optimalt siden startmaterialer var fortsatt tilstede. Produktdannelsen var antageligvis liten. Det medførte at det var vanskelig å isolere produkt fra utgangsmaterialer selv om det ble undersøkt med forskjellig elueringsforhold og dermed kan ikke bekrefte om ønsket produktet **52** ble syntetisert. Det var uklart hvorfor reaksjonen ikke fungerte som forventet. Et mulig problem kunne komme av den sterisk hindre metylgruppen

på imidazo[1,2- α]pyrimidin, noe som gjorde at det ble vanskelig for nukleofilt angrep fra amin.

3. Oppsummering og konklusjon

Syntesen av 3-(3-metylimidazo[1,2- α]pyrimidin-2-yl)anilin (**20**) var mislykket. Flere utfordringer knyttet til syntesen dukket opp. Det finner andre måter til å lage forbindelsen men det gjenstår ikke nok tid til å undersøke disse videre. Basert på de utførte resultatene vil det konkludere med at T3P® er et godt og effektivt koblingsreagens som fungerer for å lage de fleste amider. Resultatet ved bruk av T3P® gav forventet produktet i et godt utbytte med relativ høy renhet. En tydelig begrensning på bruk av T3P® er at det ikke fungerer så godt til å lage amider fra amin som har dårlige reaktivitetssegenskaper.

4. Videre arbeid

En mulig måte å lage amidet fra syreklorid (**27**) eller syreanhydrid (**25**) med 2-Aminopyrimidin (**24**) er å bruke koblingsreagens såkalt T3P®. Dette var denne metoden som benyttet til å lage amid-analoger / amid-analoger av C2A-forbindelsen. Som nevnt tidlig kan reaktivitetsegenskaper til amin påvirke produkt dannelsen. Samme problem kan sannsynligvis tenkes for syntesen av amidet fra syreklorid **27** eller syreanhydrid **25** med 2-Aminopyrimidin (**24**). Muligheten til å lage amidet fra 2-Aminopyrimidin (**24**) ved hjelp av T3P®, kan ikke utelukke før det prøves.

Som beskrevet i kapittel 2.1.1 kan man lage 2-klor-imidazo[1,2- α]pyrimidin med å danne heterosyklisering med alkoholgruppen før det ender opp med erstatning av alkoholgruppen med kloratom i nærvær av fosforoksyklorid. Utfordring med å lage denne forbindelser er å finne optimale betingelser som kan gi et godt utbytte siden ingen har utført syntesen med samme startmaterialer.

5. Eksperimentelt

5.1 Materiale og instrumenter

Alt av tilgjengelige reagenser og løsemidler som ble benyttet er kjøpt inn og ble brukt uten videre rensing. Alle reaksjoner som benyttet T3P®-løsning ble utført under inert atmosfære ved bruke av Schlenk-teknikker med argongass.

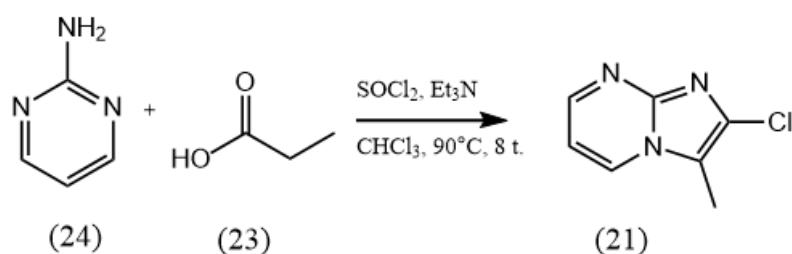
TLC ble utført på aluminiumplater med TLC silika gel 60 F₂₅₄ fra Merck KGaA. Til visualisering av flekker på TLC-plater ble UV-lys benyttet. Omkrystallisasjon og flashkromatografi ble benyttet som rensingsmetoder av råprodukt. Mercks silika gel 60 (0.04-0.063mm) ble brukt til rensing av råprodukt ved flashkromatografi.

Til identifikasjon av forbindelsene ble NMR-teknikker benyttet. Det ble utført opp på et Bruker AVIII400 MHz instrument. ¹H-NMR og ¹³C-NMR ble tatt opp på forholdsvis ved 400 MHz og 101 MHz. Koblingskonstanten (*J*) ble målt i Hertz (Hz) og kjemisk skift ble målt i parts per million (ppm, δ). Prøvene ble løst enten i DMSO-*d*₆ (δ = 2.50 for ¹H-NMR og 39.52 for ¹³C-NMR) eller CDCl₃ (δ = 7.26 for ¹H-NMR og 77.0 for ¹³C-NMR). Massespektrometret (MS) og Høy-oppløsning Massespektrometret (HRMS) ble tatt opp der elektrosparyionisasjon (ESI) ble benyttet som ioniseringsteknikk.

5.2 Eksperimentelle prosedyrer

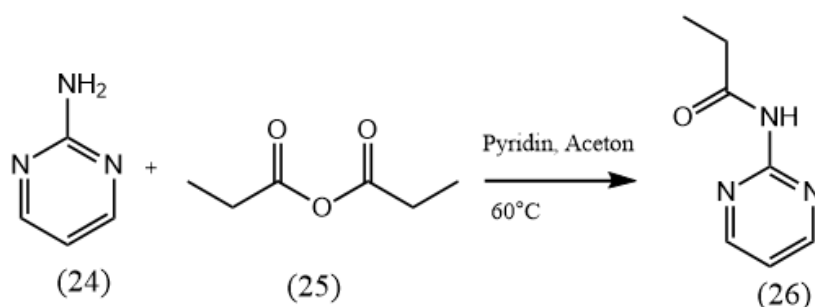
5.2.1 Forsøk på syntese av 3-(3-metylimidazo[1,2-*a*]pyrimidin-2-yl)anilin

5.2.1.1 Forsøk på syntese av forbindelse 21 fra one-pot syntese



En blanding av propionsyre (0.15 ml, 2.00 mmol, 1.00 ekv.) og SOCl_2 (0.44 ml, 6.00 mmol, 3.0 ekv.) i kloroform (40.0 ml) sto under omrøring i 2 timer ved 90°C . Reaksjonsblandingen ble kjølt til romtemperatur. Blandingen av Et_3N (0.56 ml, 4.00 mmol, 2.00 ekv.) og 2-Aminopyrimidin (0.190, 2.00 mmol, 1.00 ekv.) i kloroform (7.0 ml) ble tilsatt til reaksjonsblanding under inert atmosfære. Reaksjonsblandingen ble rørt ved 25°C i 3 timer, deretter ble temperaturen økt til 90°C , og reaksjonsblandingen sto i 3 timer under omrøring. TLC-analyse (EtOAc /heptan 9:1, fremkalt ved UV-lys) viste produktdannelsen. En mettet, vandig-løsning av natriumbikarbonat (40 ml) ble tilsatt. Produkter ble deretter ekstrahert med diklormetan (3 x 40 ml). Organisk fase ble tørket over Na_2SO_4 , filtrert og fordampet. Produktet ble renset ved hjelp av flashkromatografi (silikagel, etylacetat/ heptan, 8.5:1.5). Det gav ikke ønskede produkt.

5.2.1.2 Syntese av forbindelse 26

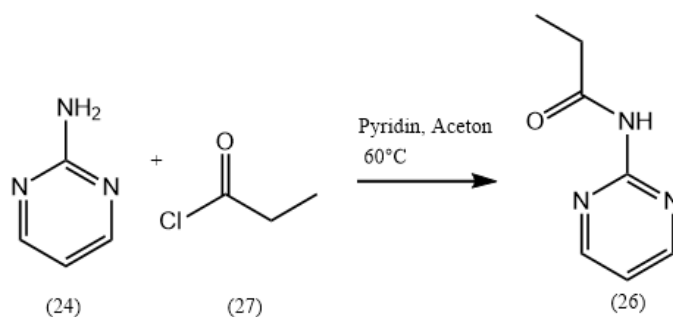


- En blanding av 2-Aminopyrimidin (0.954 g, 10.0 mmol, 1.00 ekv.), pyridin (0.81 ml, 10.0 mmol, 1.00 ekv.) og syreanhydrid (1.29 ml, 10.0 mmol, 1.00 ekv.) løst i aceton og resfluksert i en time. Reaksjonsblanding ble deretter ekstrahert ut fra vannfasen med ulike løsningsmidler under forskjellig pH-miljø. Den organiske fasen ble tørket med MgSO_4 , filtrert og inndampet. Produkt ble renset ved hjelp av kolonnekromatografi (silikagel, etylacetat/ heptan 1:1). Det gav ønskede produkt i 0.7-2.3%
- Til en rundkolbe ble 2-Aminopyrimidin (**24**, 2.853 g, 30.0 mmol, 1.20 ekv.) løst i aceton (20 ml). Syreanhydrid (**25**, 3.90 ml, 30.0 mmol, 1.20 ekv.) ble tilsatt dråpevis til en annen rundkolbe med pyridin (2.0 ml, 24.7 mmol, 1.00 ekv.) under omrøring. Blandingen av pyridin og syreanhydrid ble tilsatt til rundkolben med **24** løst i aceton.

Reaksjonsblandingen sto under reflux i 60 min. Opprensingen ble utført ved å gjøre inndamping av aceton først. Iskaldt vann (30 ml) ble deretter tilsatt, og rundkolben sto på isbad en stund, men det ikke kunne observeres noen utfelling. En mettet, vandig løsning av NaHCO₃ ble derfor tilsatt. Produktet ble ekstrahert ut med blanding av metanol og kloroform (1:2), tørket med MgSO₄, filtrert og dampet inn. Produktet ble rensed ved å gjøre omkrystallisering fra etanol eller heptan (b.1) og kolonnekromatografi (silikagel, etylacetat/ heptan 1:1) (b.2).

- c. 2-Aminopyrimidin (**24**, 2.853 g, 30.0 mmol, 1.20 ekv.) ble først løst i aceton (20 ml) i en rundkolbe. Pyridin (2.0 ml, 24.7 mmol, 1.00 ekv.) ble deretter tilsatt dråpevis til syreanhydrid (3.90 ml, 30.0 mmol, 1.20 ekv.) under omrøring i en annen rundkolbe. Blanding av pyridin og syreanhydrid ble tilsatt sakte opp i rundkolben med **24** løst i aceton. Reaksjonsblandingen sto under reflux i 90 min. Opparbeidelsen ble utført ved å dampe inn aceton. Iskaldt vann (15 ml) og en mettet, vandig løsning av K₂CO₃ ble deretter tilsatt. pH var omtrent 9. Råproduktet ble ekstrahert ut med en blanding av kloroform og metanol (2:1), tørket med MgSO₄, filtrert og inndampet. Produkt ble omkrystallisert fra etanol (10 ml). Det gav et produkt i 3.2% utbytte.

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 10.13 (s, 1H), 8.57 (d, *J* = 4.9 Hz, 2H), 6.96 (t, *J* = 4.9 Hz, 1H), 2.82 (q, *J* = 7.4 Hz, 2H), 1.22 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H).

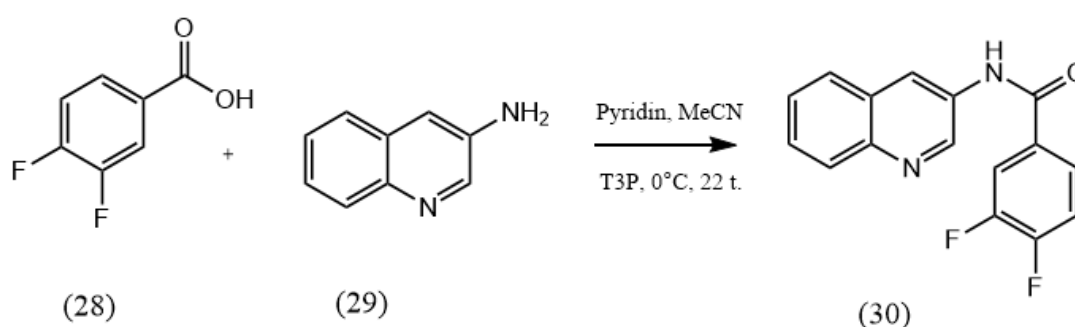


- a. 2-Aminopyrimidin (**24**, 1.027 g, 10.8 mmol, 1.00 ekv.) ble løst i aceton (20 ml). Pyridin (2.0 ml, 24.7 mmol, 2.30 ekv.) ble deretter tilsatt dråpevis til syreklorid (**27**, 1.00 g, 10.8 mmol, 1.00 ekv.) under omrøring. 2-Aminopyrimidin (**24**) løst i aceton ble tilsatt dråpevis til blandingen av syrekloridet og pyridin under omrøring. Reaksjonsblanding sto under reflux i 90 min. Reaksjon ble utført under tørre

betingelser. Opparbeidelsen ble gjort ved å dampe inn aceton. Destillert vann (50 ml) og en mettet, vandig løsning av $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (80 ml) ble deretter tilsatt. pH var ca. 7. Råproduktet ble dermed ekstrahert med kloroform og renset ved hjelp av flask kromatografi (silikagel, etylacetat/ heptan 1:1). Det gav et produkt **26** i 1% utbytte.

5.2.2 Syntese av amid-analoger av C2A-forbindelsen

Syntese av forbindelse 30

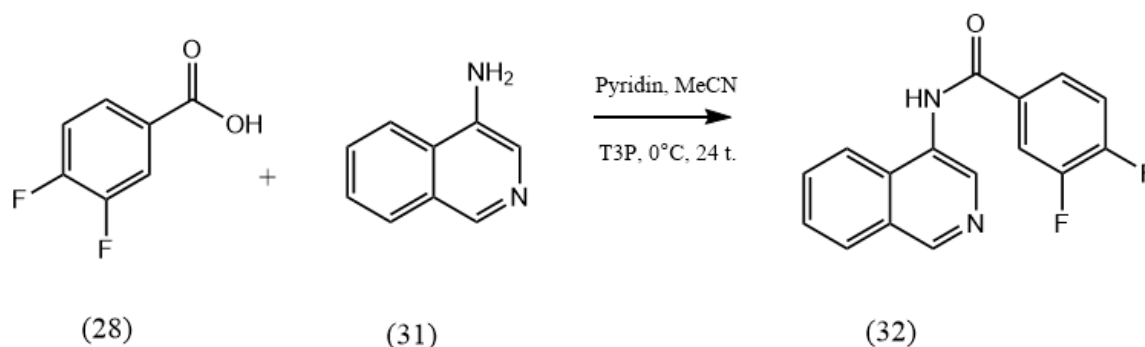


Til en rørt løsning av 3-aminokinolin (0.158 gram, 1.10 mmol, 1.10 ekv.), 3,4-difluorbenzoesyre (0.158 gram, 1.00 mmol, 1.00 ekv.) og pyridin (0.28 ml, 3.40 mmol, 3.40 ekv.) i acetonitril (4.60 ml) i en 50 ml rundkolbe ved -10°C ble T3P®-løsning (50% wt i EtOAc) (1.16 ml, 2.00 mmol, 2.00 ekv.) tilsatt under inert atmosfære. Reaksjonsblandingen blir rørt i 22 timer ved 0°C . Etter 22 timer viste TLC-analyse (metanol/diklormetan, 0.5:9.5, fremkalt ved UV-lys) produktdannelse og startmaterialer var brukt opp. Saltsyre (HCl) (0.5 M, 10.0 ml) ble tilsatt til reaksjonsblanding ved 0°C og reaksjonsblandingen ble rørt i to timer ved romtemperatur. Blandingen ble ekstrahert med dietyleter (6×40 ml). De organiske fasene ble samlet, vasket med en mettet NaCl-løsning (20 ml) og destillert vann (2×40 ml) og dampet inn under redusert trykk. Råprodukt ble renset ved hjelp av omkrystallisering fra metanol (34 ml) og vann (15 ml). Det gav ønsket produkt som et hvitt, krystallisk stoff. Utbytte: 165 mg (58%). Smeltepunkt: $241\text{--}247^\circ\text{C}$.

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 10.76 (s, 1H), 9.14 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H), 8.83 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 8.12 (ddd, $J = 11.6, 7.8, 2.2$ Hz, 1H), 8.03 – 7.90 (m, 3H), 7.73 – 7.61 (m, 2H), 7.60 (ddd, $J = 8.2, 6.8, 1.3$ Hz, 1H). $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 164.33, 153.41, 150.94,

150.81, 145.84, 144.96, 133.04, 132.11, 129.04, 128.66, 128.31, 128.14, 127.56, 125.96, 124.07, 118.36, 118.18, 117.86, 117.68. HRMS: nøyaktig molekylmasse kalkulert for $C_{16}H_{10}F_2N_2O$ $[M+H]^+$ 285.0834. Funnet: 285.0834.

Syntese av forbindelse 32



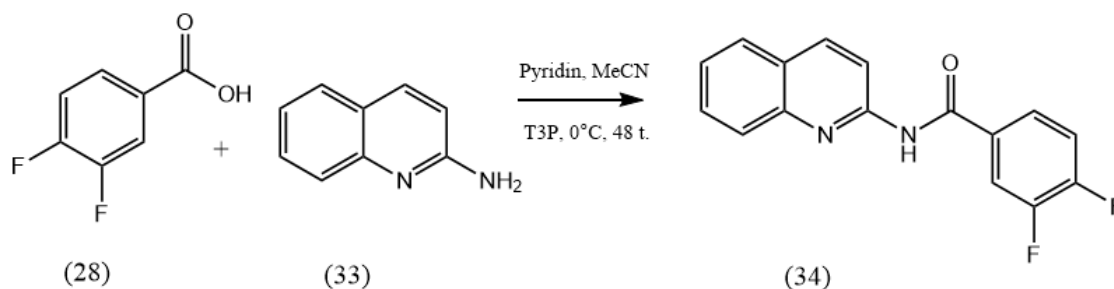
3,4-difluorbenzoesyre (0.158 gram, 1.00 mmol, 1.00 ekv.), 4-aminoisokinolin (0.158 gram, 1.10 mmol, 1.10 ekv.) ble løst i acetonitril (4.60 ml). Pyridin (0.28 ml, 3.40 mmol, 3.40 ekv.) ble tilsatt før blanding ble nedkjølt til -10 °C. T3P® (50% wt i EtOAc) (1.16 ml, 2.00 mmol, 2.00 ekv.) ble tilsatt under inert atmosfære. Reaksjonsblandingen stod under omrøring i 24 timer ved 0 °C. TLC (metanol/diklormetan 0.5:9.5, fremkalt ved UV-lys) etter 24 timer viste produktdannelse. En mett, vandig $NaHCO_3$ -løsning (18 ml) ble tilsatt for pH-justering. pH: 9-10. Blanding stod under omrøring ved romtemperatur i 60 minutter. Blandingen ble dermed ekstrahert med dietyler (5 \times 30 ml). De organiske fasene ble samlet, vasket med en mett $NaCl$ -løsning (2 \times 10 ml) og destillert vann (2 \times 20 ml), dampet inn under redusert trykk. Produkt ble rensert ved hjelp av flashkromatografi (silikagel, MeOH/ CH_2Cl_2 , 0.5:9.5). Det gav ønsket produkt som et hvitt, fast stoff. Utbytte: 167.7 mg (59%). Smeltepunkt: $188-191$ °C. TLC (MeOH/ CH_2Cl_2 , 0.5:9.5, UV-lys): $R_f = 0.27$.

1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ 10.63 (s, 1H), 9.28 (d, $J = 0.8$ Hz, 1H), 8.62 (s, 1H), 8.25 – 8.12 (m, 2H), 8.07 – 7.96 (m, 2H), 7.84 (ddd, $J = 8.4, 6.9, 1.3$ Hz, 1H), 7.75 (ddd, $J = 8.1, 6.8, 1.2$ Hz, 1H), 7.68 (dt, $J = 10.5, 8.4$ Hz, 1H). ^{13}C NMR (101 MHz, $DMSO-d_6$) δ 164.78, 153.53, 153.40, 151.08, 151.03, 150.96, 150.90, 150.84, 148.51, 148.38, 140.90, 132.08, 131.88,

131.04, 129.03, 128.99, 128.21, 128.14, 126.01, 123.01, 118.33, 118.15, 117.97, 117.79.

HRMS: nøyaktig molekylmasse kalkulert for $C_{16}H_{10}F_2N_2O$ $[M+H]^+$ 285.0834. Funnet: 285.0833.

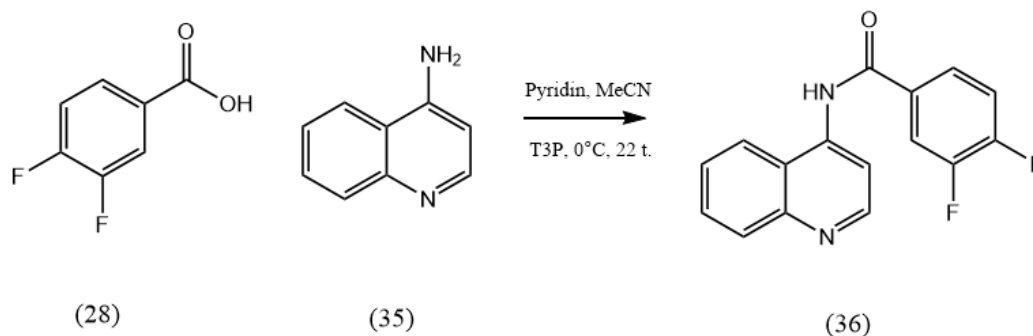
Syntese av forbindelse 34



Til en rørt løsning av 2-Aminokinolin (0.318 gram, 2.20 mmol, 1.10 ekv.), 3,4-difluor benzosyre (0.318 gram, 2.00 mmol, 1.00 ekv.) og pyridin (0.56 ml, 6.80 mmol, 3.40 ekv.) i acetonitril (9.2 ml) i en 50 ml rundkolbe ved -10°C ble T3P®-løsning (50% wt i EtOAc) (2.32 ml, 4.00 mmol, 2.00 ekv.) tilsatt under inert atmosfære. Reaksjonsblanding ble rørt i 48 timer ved 0°C . Etter 48 timer viste TLC-analyse (metanol/diklormetan, 0.5:9.5, fremkalt ved UV-lys) produktdannelse, men begge startmaterialene var fortsatt tilstede. pH ble justert til 12 ved å tilsett vandig NaOH (1.0 M, 11.2 ml) i reaksjonsblandingen. Reaksjonsblandingen ble rørt i 1 time ved romtemperatur. Blanding ble ekstrahert med dietyler (5 × 30 ml). De organiske fasene ble samlet, vasket med mettet NaCl-løsning (10 ml) og destillert vann (2 × 20 ml) og dampet inn under redusert trykk. Produkt ble isolert ved hjelp av flashkromatografi (silikagel, MeOH/ CH_2Cl_2 , 0.5:9.5), hvilket gav det ønskede produktet som et gult fast stoff. Utbytte: 4 mg. (1%). TLC (MeOH/ CH_2Cl_2 , 0.5:9.5, UV-lys): $R_f = 0.76$.

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 11.29 (s, 1H), 8.43 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 8.33 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 8.19 (ddd, $J = 11.7, 7.8, 2.2$ Hz, 1H), 8.07 – 7.94 (m, 2H), 7.90 (dq, $J = 8.4, 0.9$ Hz, 1H), 7.76 (ddd, $J = 8.4, 6.9, 1.5$ Hz, 1H), 7.62 (dt, $J = 10.5, 8.3$ Hz, 1H), 7.59 – 7.50 (m, 1H). ^{13}C NMR (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 164.77, 152.08, 146.80, 138.66, 131.80, 130.55, 128.30, 127.56, 126.43, 126.34, 125.81, 118.29, 118.17, 118.10, 117.99, 115.86. HRMS: nøyaktig molekylmasse kalkulert for $C_{16}H_{10}F_2N_2O$ $[M+\text{Na}]^+$ 307.0653. Funnet: 307.0654.

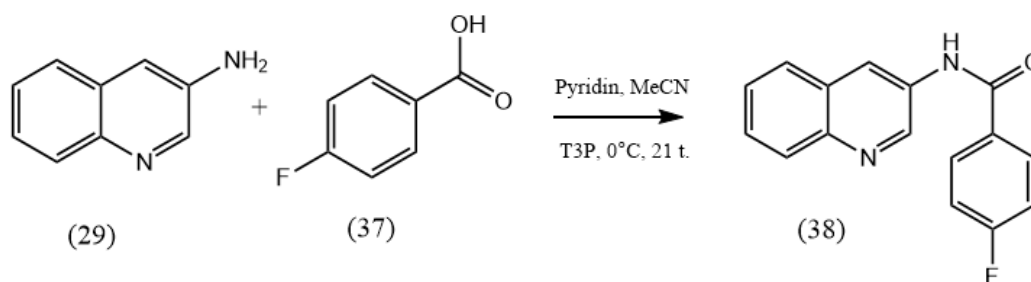
Syntese av forbindelse 36



Til en rørt løsning av 4-aminokinolin (0.078 gram, 0.55 mmol, 1.10 ekv.), 3,4-difluor benzosyre (0.078 gram, 0.50 mmol, 1.00 ekv.) og pyridin (0.14 ml, 1.70 mmol, 3.40 ekv.) i acetonitril (2.30 ml) i en 25 ml rundkolbe ved -10°C ble T3P®-løsning (50% wt i EtOAc) (0.58 ml, 1.00 mmol, 2.00 ekv.) tilsatt under inert atmosfære. Reaksjonsblandingen ble rørt i 22 timer ved 0°C . Etter 22 timer viste TLC-analyse (metanol/diklormetan, 0.5:9.5, fremkalt ved UV-lys) produktdannelse. Vandig NaOH (1.0 M, 5.00 ml) ble tilsatt til reaksjonsblanding for å justere pH til 13. Reaksjonsblanding ble rørt i 1 time ved romtemperatur. Blanding ble ekstrahert med dietyleter (3×20 ml). De organiske fasene ble samlet, vasket med mettet NaCl-løsning (10 ml) og destillert vann (2×20 ml) og dampet inn under redusert trykk. Råprodukt ble rensert ved hjelp av kolonnekromatografi (silikagel, MeOH/ CH_2Cl_2 , 0.5:9.5). Det gav det ønskede produktet som er et gult, fast stoff. Utbytte: 11.4 mg (8%). TLC (MeOH/ CH_2Cl_2 , 0.5:9.5, UV-lys): $R_f = 0.46$.

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.74 (s, 1H), 8.91 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 8.28 (dd, $J = 8.5, 1.4$ Hz, 1H), 8.19 (ddd, $J = 11.4, 7.8, 2.2$ Hz, 1H), 8.06 (dd, $J = 8.5, 1.2$ Hz, 1H), 7.99 (ddd, $J = 8.2, 3.9, 1.6$ Hz, 1H), 7.91 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 7.81 (ddd, $J = 8.4, 6.8, 1.4$ Hz, 1H), 7.74 – 7.60 (m, 2H). ^{13}C NMR (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 164.87, 151.13, 151.01, 150.90, 150.76, 150.08, 149.25, 148.44, 148.31, 142.04, 132.04, 132.00, 130.09, 129.73, 126.53, 126.37, 126.34, 126.30, 126.26, 123.87, 122.90, 118.29, 118.11, 115.66. HRMS: nøyaktig molekylmasse kalkulert for $\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 285.0834. Funnet: 285.0833.

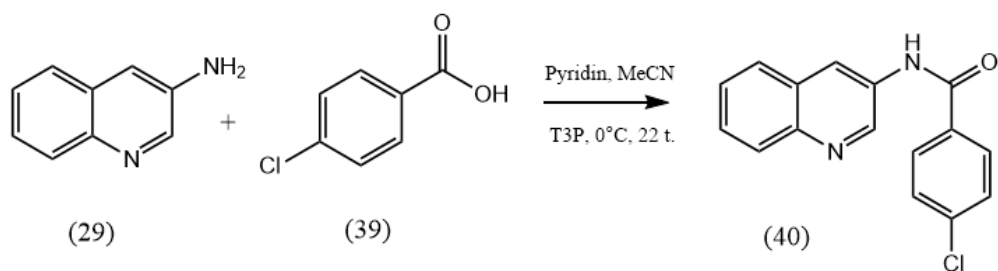
Syntese av forbindelse 38



3-aminokinolin (0.158 gram, 1.10 mmol, 1.10 ekv.), 4-fluorbenzoesyre (0.140 gram, 1.00 mmol, 1.00 ekv.) ble løst i tørr acetonitril (4.40 ml) i en flammestøret rundkolbe. Pyridin (0.28 ml, 3.40 mmol, 3.40 ekv.) ble tilsatt til blanding. Ved -10 °C ble T3P®-løsning (50% wt i EtOAc) (1.16 ml, 2.00 mmol, 2.00 ekv.) tilsatt. Reaksjonen ble utført under inert atmosfære. Reaksjonsblanding blir rørt i 21 timer ved 0 °C. Etter 21 timer viste TLC-analyse (metanol/diklormetan, 0.5:9.5, fremkalt ved UV-lys) produktdannelse og startmaterialer var oppbrukt. Saltsyre (0.5 M, 10.0 ml) ble tilsatt til reaksjonsblanding ved 0 °C og reaksjonsblandingen ble rørt i 1.5 timer ved romtemperatur. Blanding ble ekstrahert med dietyleter (5 × 20 ml). De organiske fasene ble samlet, vasket med mettet NaCl-løsning (10 ml) og destillert vann (2 × 20 ml) og dampet inn under redusert trykk. Produkt ble omkrystallisert fra metanol (33 ml) og vann (15 ml). Det gav ønsket produkt som et hvitt, fast stoff. Utbytte: 137 mg (51%). Smeltepunkt: 235-238 °C.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.72 (s, 1H), 9.15 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 8.85 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 8.21 – 8.08 (m, 2H), 7.98 (td, *J* = 7.8, 1.3 Hz, 2H), 7.68 (ddd, *J* = 8.4, 6.8, 1.6 Hz, 1H), 7.60 (ddd, *J* = 8.1, 6.8, 1.4 Hz, 1H), 7.48 – 7.37 (m, 2H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 166.00, 165.52, 163.52, 145.94, 144.88, 133.30, 131.24, 131.07, 130.98, 129.03, 128.53, 128.28, 128.20, 127.52, 123.91, 116.08, 115.86. HRMS: nøyaktig molekylmasse kalkulert for C₁₆H₁₁FN₂O [M+Na]⁺: 289.0748. Funnet: 289.0747.

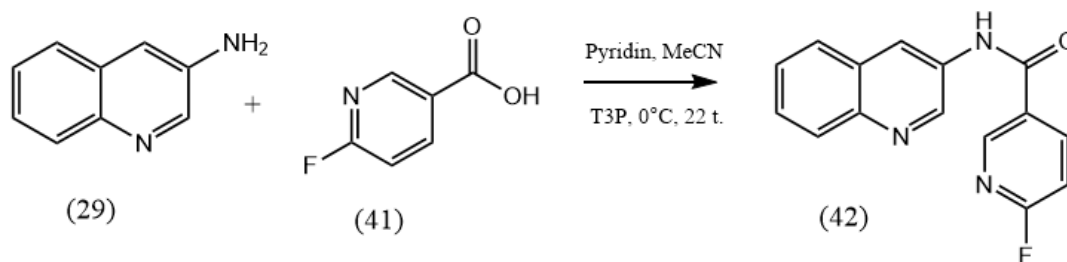
Syntese av forbindelse 40



Til en rørt løsning av 3-aminokinolin (0.158 gram, 1.10 mmol, 1.10 ekv.), 4-klorbenzosyre (0.157 gram, 1.00 mmol, 1.00 ekv.) og pyridin (0.28 ml, 3.40 mmol, 3.40 ekv.) i acetonitril (4.60 ml) i en 50 ml rundkolbe ved $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ ble T3P®-løsning (50% wt i EtOAc) (1.16 ml, 2.00 mmol, 2.00 ekv.) tilsatt under inert atmosfære. Reaksjonsblandingen blir rørt i 22 timer ved $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. Etter 22 timer viste TLC-analyse (metanol/diklormetan, 0.5:9.5, fremkalt ved UV-lys) produktdannelse og startmaterialer var brukt opp. Saltsyre (0.5 M, 10.0 ml) ble tilsatt til reaksjonsblanding ved $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ og reaksjonsblanding ble rørt i 2.5 timer ved romtemperatur. Blanding ble ekstrahert med dietyler (6 \times 40 ml). De organiske fasene ble samlet, vasket med mettet NaCl-løsning (10 ml) og destillert vann (2 \times 20 ml) og dampet inn under redusert trykk. Produktet ble omkrystallisert fra metanol (81.5 ml) og vann (56.5 ml). Det gav forventet produkt som er hvitt, fast stoff. Utbytte: 54.1 mg (19%). Smeltepunkt: $237\text{--}240\text{ }^{\circ}\text{C}$.

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 10.77 (s, 1H), 9.15 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 8.88 – 8.82 (m, 1H), 8.12 – 8.03 (m, 2H), 7.99 (ddd, $J = 7.7, 6.1, 1.3$ Hz, 2H), 7.73 – 7.63 (m, 3H), 7.60 (ddd, $J = 8.1, 6.8, 1.3$ Hz, 1H). ^{13}C NMR (101 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 165.53, 145.91, 144.91, 137.29, 133.47, 133.19, 130.20, 129.09, 129.04, 128.59, 128.30, 128.18, 127.55, 124.00. HRMS: nøyaktig molekylmasse kalkulert for $\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{ClN}_2\text{O}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 305.0452. Funnet: 305.0452.

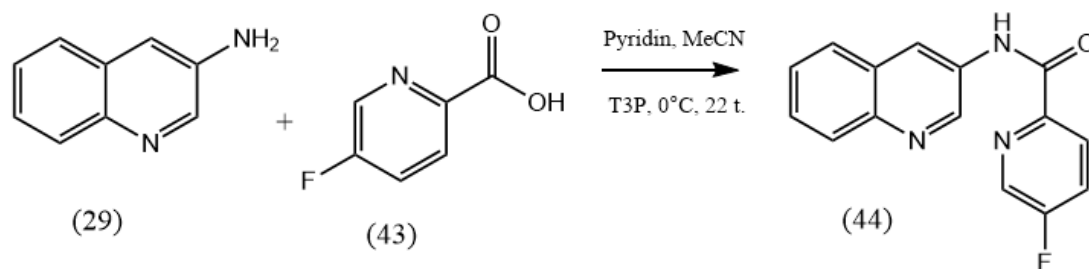
Syntese av forbindelse 42



3-aminokinolin (0.158 gram, 1.10 mmol, 1.10 ekv.), 2-fluor-5-pyridin karboksylsyre (0.142 gram, 1.00 mmol, 1.00 ekv.) ble løst i acetonitril (4.60 ml). Til reaksjonsblanding ble pyridin (0.28 ml, 3.40 mmol, 3.40 ekv.) tilsatt. Reaksjonsblandingen ble avkjølt til -10 °C før T3P®-løsning (50% wt i EtOAc) (1.2 ml, 2.00 mmol, 2.00 ekv.) ble tilsatt under inert atmosfære. Reaksjonsblandingen stod under omrøring i 22 timer ved 0 °C. Etter 22 timer viste TLC-analyse (metanol/diklormetan, 0.5:9.5, fremkalt ved UV-lys) produktdannelse og startmaterialer var oppbrukt. Vandig NaOH (1.0 M, 4.5 ml) ble tilsatt til reaksjonsblanding for pH justering. pH gikk opp til 12. Reaksjonsblanding stod deretter i 2 timer under omrøring ved romtemperatur før blanding ble ekstrahert med dietyleter (4 × 20 ml). De organiske fasene ble samlet, vasket med mettet NaCl-løsning (10 ml), destillert vann (2 × 20 ml) og metanol (10 ml), og dampet inn under redusert trykk. Produkt ble isolert ved hjelp av flashkromatografi (silikagel, MeOH/CH₂Cl₂, 0.5:9.5). Det gav ønsket produkt som et hvitt, fast stoff. Utbytte: 203 mg (76%). Smeltepunkt: 234-236 °C. TLC (MeOH/CH₂Cl₂, 0.5:9.5, UV-lys): R_f = 0.55.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.88 (s, 1H), 9.13 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 8.91 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 8.86 – 8.80 (m, 1H), 8.57 (ddd, *J* = 8.6, 7.8, 2.6 Hz, 1H), 7.98 (ddd, *J* = 9.9, 8.2, 1.2 Hz, 2H), 7.68 (ddd, *J* = 8.4, 6.9, 1.5 Hz, 1H), 7.59 (ddd, *J* = 8.1, 6.9, 1.3 Hz, 1H), 7.40 (dd, *J* = 8.5, 2.6 Hz, 1H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 166.14, 163.92, 163.75, 148.52, 148.36, 145.72, 144.99, 142.49, 142.40, 132.96, 129.24, 129.20, 129.05, 128.66, 128.30, 128.13, 127.56, 124.05, 110.26, 109.88. HRMS: nøyaktig molekylmasse kalkulert for C₁₅H₁₀FN₃O [M+H]⁺ 268.0881. Funnet: 268.0880.

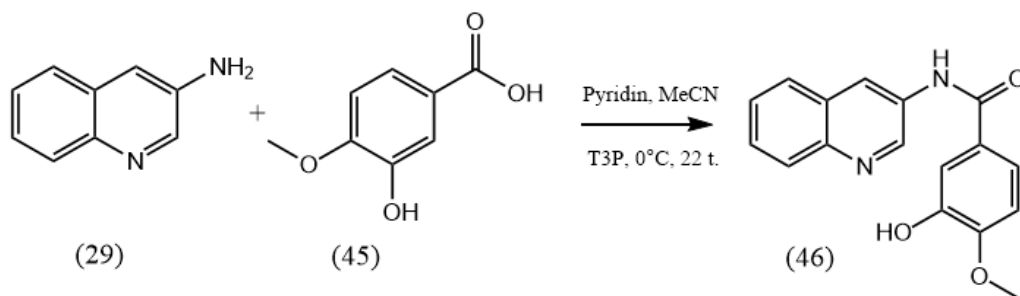
Syntese av forbindelse 44



5-Fluor-2-pyridin karboksylsyre (0.141 gram, 1.00 mmol, 1.00 ekv.) og 3-aminokinolin (0.158 gram, 1.10 mmol, 1.10 ekv.) ble løst i tørr acetonitril (4.60 ml). Pyridin (0.28 ml, 3.40 mmol, 3.40 ekv.) ble tilsatt før blanding ble nedkjølt til $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$. T3P® (50% wt i EtOAc) (1.16 ml, 2.00 mmol, 2.00 ekv.) ble tilsatt under inert atmosfære. Reaksjonsblanding ble rørt i 22 timer ved $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. TLC (metanol/diklormetan, 0.5:9.5, fremkalt ved UV-lys) etter 22 timer viste produktdannelse og begge utgangsmaterialer var oppbrukt. Vandig NaOH (1.0 M, 10.0 ml) ble tilsatt og blanding stod under omrøring ved romtemperatur i 1 time. Blanding ble deretter ekstrahert med dietyleter ($4 \times 20\text{ ml}$). De organiske fasene ble samlet, vasket med mettet, vandig NaCl-løsning ($3 \times 10\text{ ml}$) og destillert vann ($1 \times 20\text{ ml}$) og dampet inn under redusert trykk. Produkt ble isolert ved hjelp av flashkromatografi (silikagel, MeOH/ CH_2Cl_2 , 0.5:9.5). Det gav ønsket produkt som et hvitt, fast stoff. Utbytte: 201 mg (75%). Smeltepunkt: $191\text{--}195\text{ }^{\circ}\text{C}$. TLC (MeOH/ CH_2Cl_2 , 0.5:9.5, UV-lys): $R_f = 0.76$.

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 11.11 (s, 1H), 9.28 (d, $J = 2.5\text{ Hz}$, 1H), 8.93 (dd, $J = 2.5, 0.8\text{ Hz}$, 1H), 8.76 (d, $J = 2.8\text{ Hz}$, 1H), 8.28 (dd, $J = 8.7, 4.6\text{ Hz}$, 1H), 8.05 – 7.91 (m, 3H), 7.67 (ddd, $J = 8.4, 6.9, 1.5\text{ Hz}$, 1H), 7.59 (ddd, $J = 8.1, 6.8, 1.3\text{ Hz}$, 1H). $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 162.88, 162.72, 160.15, 146.71, 146.67, 146.22, 144.96, 137.54, 137.29, 132.62, 129.04, 128.60, 128.29, 128.09, 127.47, 125.44, 125.40, 125.34, 125.25, 124.04. HRMS: nøyaktig molekylmasse kalkulert for $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{FN}_3\text{O}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 290.0700. Funnet: 290.0700.

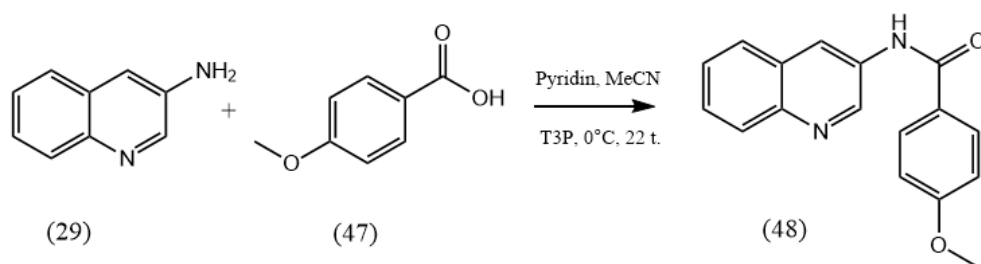
Syntese av forbindelse 46



3-Hydroksy-4-metoksybenzoesyre (0.168 gram, 1.00 mmol, 1.00 ekv.) og 3-aminokinolin (0.158 gram, 1.10 mmol, 1.10 ekv.) ble løst i acetonitril (4.60 ml). Pyridin (0.28 ml, 3.40 mmol, 3.40 ekv.) ble tilsatt før blanding ble nedkjølt til $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$. T3P® (50% wt i EtOAc) (1.16 ml, 2.00 mmol, 2.00 ekv.) ble tilsatt under inert atmosfære. Reaksjonsblandingen stod under omrøring i 22 timer ved $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. TLC (metanol/diklormetan, 0.5:9.5, fremkalt med UV-lys) etter 22 timer viste produktdannelse. pH ble oppjustert til 12-13 ved tilsats av NaOH (1.0 M, 10.0 ml) og blandingen stod under omrøring ved romtemperatur i 90 minutter. Blanding ble dermed ekstrahert med dietyler (3 \times 20 ml). Vannfasen ble surgjort til pH 2-3 med saltsyre (0.5 M). Råproduktet ble ekstrahert ut av vannfasen med diklormetan (3 \times 20 ml). De organiske fasene ble samlet, vasket med mettet NaCl-løsning (1 \times 10 ml) og destillert vann (1 \times 20 ml) og dampet inn under redusert trykk. Råprodukt ble rensert ved hjelp av flashkromatografi (silikagel, MeOH/CH₂Cl₂, 0.5:9.5). Det gav ønskede produkt som er hvitt, fast stoff. Utbytte: 60,8 mg (21%). Smeltepunkt: $258\text{-}262\text{ }^{\circ}\text{C}$. TLC (MeOH/CH₂Cl₂, 0.5:9.5, UV-lys): R_f = 0.23.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.49 (s, 1H), 9.38 (s, 1H), 9.16 (d, J = 2.6 Hz, 1H), 8.84 (dd, J = 2.5, 0.8 Hz, 1H), 7.97 (ddd, J = 12.5, 8.2, 1.3 Hz, 2H), 7.66 (ddd, J = 8.4, 6.9, 1.6 Hz, 1H), 7.59 (ddd, J = 8.3, 5.1, 1.8 Hz, 2H), 7.52 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.09 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 3.88 (s, 3H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 166.18, 151.40, 146.68, 146.04, 144.70, 133.64, 129.01, 128.30, 128.28, 128.20, 127.43, 127.10, 123.56, 120.13, 115.50, 111.74, 56.20. HRMS: nøyaktig molekylmasse kalkulert for C₁₇H₁₄N₂O₃ [M+H]⁺ 295.1077. Funnet: 295.1078.

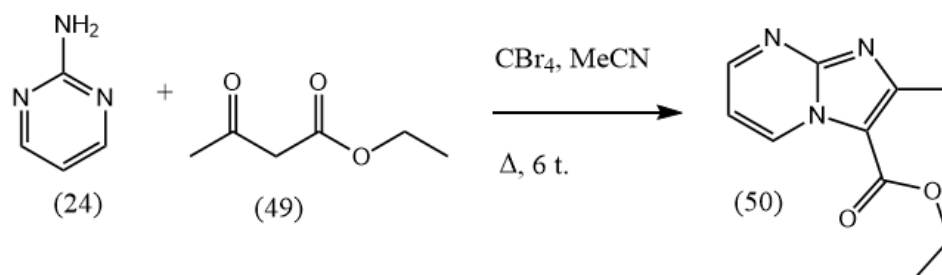
Syntese av forbindelse 48



4-Metoksybenzoesyre (0.152 gram, 1.00 mmol, 1.00 ekv.) og 3-aminokinolin (0.158 gram, 1.10 mmol, 1.10 ekv.) ble løst i tørr acetonitril (4.60 ml). Pyridin (0.28 ml, 3.40 mmol, 3.40 ekv.) ble tilsatt før blanding ble nedkjølt til -10 °C. T3P® (50% wt i EtOAc) (1.16 ml, 2.00 mmol, 2.00 ekv.) ble tilsatt under inert atmosfære. Reaksjonsblandingen stod under omrøring i 22 timer ved 0 °C. TLC (metanol/diklormetan, 0.5:9.5, fremkalt ved UV-lys) etter 22 timer viste produktdannelse og begge utgangsstoffene er oppbrukt. En mettet, vandig NaHCO₃-løsning (30 ml) ble tilsatt for pH-justering (pH ca. 9-10). Blandingen stod under omrøring ved romtemperatur i 60 minutter. Blanding ble dermed ekstrahert med dietyleter (4 × 30 ml). De organiske fasene ble samlet, vasket med mettet NaCl-løsning (2 × 10 ml) og destillert vann (20ml) og dampet inn under redusert trykk. Produkt ble renset ved hjelp av flashkromatografi (silikagel, MeOH/CH₂Cl₂, 0.5:9.5). Det gav ønsket produkt som et hvitt, fast stoff. Utbytte: 202 mg (73%). Smeltepunkt: 203-205 °C. TLC (MeOH/CH₂Cl₂, 0.5:9.5, UV-lys): R_f = 0.30.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.55 (s, 1H), 9.17 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 8.85 (dd, *J* = 2.5, 0.8 Hz, 1H), 8.10 – 8.02 (m, 2H), 8.03 – 7.92 (m, 2H), 7.66 (ddd, *J* = 8.4, 6.9, 1.6 Hz, 1H), 7.59 (ddd, *J* = 8.1, 6.8, 1.3 Hz, 1H), 7.16 – 7.07 (m, 2H), 3.86 (s, 3H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 165.97, 162.67, 146.03, 144.75, 133.59, 130.23, 129.02, 128.34, 128.28, 128.21, 127.44, 126.78, 123.65, 114.21, 55.95. HRMS: nøyaktig molekylmasse kalkulert for C₁₇H₁₄N₂O₂ [M+Na]⁺ 301.0947. Funnet: 301.0947.

5.2.3 Syntese av imidazo[1,2- α]pyrimidinderivat (50)

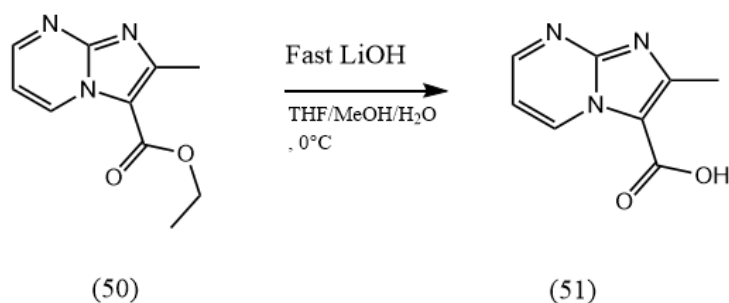


Til en blanding av 2-Aminopyrimidin (0.428 g, 4.50 mmol, 3.00 ekv.) og tetrabromometan (0.995 g, 3.00 mmol, 2.00 ekv.) i acetonitril (10 ml) ble ethylacetoacetat (0.19 ml, 1.50 mmol, 1.00 ekv.) tilsatt. Reaksjonsblanding sto under reflux i 6 timer. Reaksjonsblandingen ble inndampet. Destillert vann (15 ml) og dietyleter (30 ml) ble tilsatt. Råproduktet ble ekstrahert med dietyleter (3 \times 30 ml). Samlet organisk fase ble tørket over MgSO₄ og inndampet.

Råproduktet ble renset ved hjelp av flashkromatografi (gradient eluering, heptan/acetone, 1:1 til 0:1). Det gav ønsket produkt som et gult, fast stoff. Utbytte: 308 mg (13%).

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 9.57 (dd, $J = 6.9, 2.1$ Hz, 1H), 8.68 (dd, $J = 4.3, 2.1$ Hz, 1H), 7.06 (dd, $J = 6.9, 4.2$ Hz, 1H), 4.46 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.78 (s, 3H), 1.46 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). ¹³C NMR (101 MHz, Chloroform-*d*) δ 161.17, 154.61, 151.93, 149.54, 135.51, 111.14, 109.91, 60.74, 16.69, 14.44.

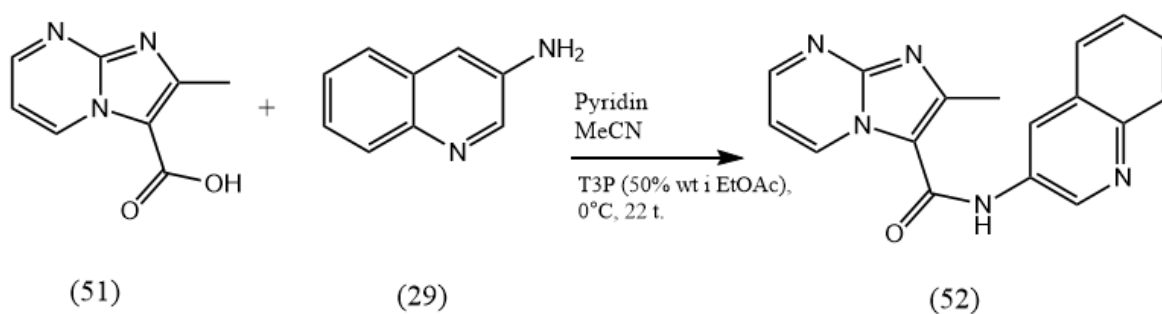
Syntese av forbindelse 51



Imidazo[1,2- α]pyrimidin derivaten (0.100 g, 0.48 mmol, 1.00 ekv.) ble løst i THF/MeOH/H₂O (2/2/1, 66.0 ml) i en rundkolbe. Fast LiOH (0.705 g, 16.8 mmol, 35.0 ekv.) ble tilsatt i reaksjonsblanding ved 0 °C. Reaksjonsblanding sto under omrøring ved 0 °C i 3 timer. En mettet, vandig NaH₂PO₄-løsning (54 ml) ble tilsatt. Råproduktet ble ekstrahert med

etylacetat (3 × 50 ml). Samlet organisk fase ble tørket over Na₂SO₄, filtrert og inndampet. Råproduktet ble brukt direkte i neste reaksjon. Reaksjon ble fulgt ved hjelp av TLC. Det gav produktet i 50% utbytte.

Syntese av forbindelse 52



Imidazo[1,2-a]pyrimidin karboksylsyre (**51**, 0.093 gram, 0.53 mmol, 1.00 ekv.) og 3-aminokinolin (**29**, 0.084 gram, 0.58 mmol, 1.10 ekv.) ble løst i acetonitril (2.3 ml) i en rundkolbe under inert atmosfære. Pyridin (0.150 ml, 1.80 mmol, 3.40 ekv.) ble tilsatt. Reaksjonsblandingen ble avkjølt til -10 °C før T3P® (50% wt i EtOAc) (0.63 ml, 2.00 mmol, 2.00 ekv.) blir tilsatt. Reaksjonsblandingen ble rørt i 48 timer ved 0 °C. Vandig NaOH (1.0 M, 5.30 ml) ble tilsatt. Reaksjonen sto under omrøring i 2 timer. Råproduktet ble ekstrahert med dietyleter (2 × 20 ml), vasket med mettet NaCl (10 ml) og destillert vann (2 × 20 ml) og inndampet. Råproduktet ble renset ved hjelp av flashkromatografi (silikagel, MeOH/CH₂Cl₂, 0.5:9.5). Det klarte ikke å isolere produkt fra utgangsmaterialer.

6. Referanser

- (1) Medzhitov, R. *Nature*, **2008**, *454*, 428–435.
- (2) Schmid-Schönbein, G. W. *Annual Review of Biomedical Engineering*, **2006**, *8*, 93-151.
- (3) Punctard, N. A.; Whelan, C. J.; Adcock, I. *The Journal of Inflammation*, **2004**, *1*, 1.
- (4) Netea, M. G.; Balkwill, F.; Chonchol, M.; Cominelli, F.; Donath, M. Y.; Giamarellos-Bourboulis, E. J.; Golenbock, D.; Gresnigt, M. S.; Heneka, M. T.; Hoffman, H. M.; Hotchkiss, R.; Joosten, L. A. B.; Kastner, D. L.; Korte, M.; Latz, E.; Libby, P.; Mandrup-Poulsen, T.; Mantovani, A.; Mills, K. H. G.; Nowak, K. L.; O'Neill, L. A.; Pickkers, P.; Poll, T.; Ridker, P. M.; Schalkwijk, J.; Schwartz, D. A.; Siegmund, B.; Steer, C. J.; Tilg, H.; Meer, J. W. M.; Veerdonk, F. L.; Dinarello, C. A. *Nature Immunology*, **2017**, *18*, 826–831.
- (5) Serhan, C. N.; Ward, P. A.; Gilroy, D. W. *Fundamentals of Inflammation*, Cambridge University Press, New York, **2010**, Kapittel 1, 2, 12 og 33.
- (6) Ellulu, M. S.; Patimah, I.; Khaza'ai, H.; Rahmat, A.; Abed, Y. *Archives of Medical Science*, **2017**, *13*, 851–863.
- (7) Sand, O.; Sjaastad, Ø. V.; Haug, E. *Menneskets fysiologi*, 2. utg., **2014**, Gyldendal akademisk, Oslo, 242-243, 276, 309, 475-483 og 501.
- (8) Kawahara, K.; Hohjoh, H.; Inazumi T.; Tsuchiya, S.; Sugimoto, Y. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, **2015**, *1851*, 414-421.
- (9) Buckley, C. D.; Gilroy, D. W.; Serhan, C. M.; Stockinger, B.; Tak, P. P. *Nature Reviews Immunology*, **2013**, *13*, 59-66.
- (10) Serhan, C. N.; Petasis, N. A. *Chemical Reviews*, **2011**, *111*, 5922-5943.
- (11) Zografos, A. L. *From Biosynthesis to Total Synthesis: Strategies and Tactics for Natural Products*, **2016**, John Wiley & Sons, Incorporated, New Jersey, Kapittel 3.
- (12) Serhan, C. N.; Chiang, N.; Dalli, J.; Levy, B. D. *Cold Spring Harbor Perspectives Biology*, **2015**, *7*.
- (13) Libreros, S.; Shay, A. E.; Nshimiyimana, R.; Fichtner, D.; Martin M. J.; Wourms, N.; Serhan, C. N. *Frontiers in Immunology*, **2021**, *11*.
- (14) Chiang, N.; Dalli, J.; Colas, R. A.; Serhan, C. N. *Journal of Experimental Medicine*, **2015**, *212*, 1203-1217.
- (15) Chandrasekharan, J. A.; Sharma-Walia, N. *Journal of Inflammation Research*, **2015**, *8*, 181–192.
- (16) Norsk Legemiddelhåndbok, NLH. Legemiddelkapittel Ikke-steroid antiinflammatoriske midler (NSAIDs):

[https://www.legemiddelhandboka.no/L17.1.1/Ikke%E2%80%91steroide_antiinflammatoriske_midler_\(NSAID\)](https://www.legemiddelhandboka.no/L17.1.1/Ikke%E2%80%91steroide_antiinflammatoriske_midler_(NSAID)) (30.11.2021).

(17) Lee, D. M.; Weinblatt, M. E. *THE LANCET*, **2001**, 358, 903-911.

(18) Norsk Legemiddelhåndbok, NLH. Terapikapittel Revmatoid artritt (RA):
[https://www.legemiddelhandboka.no/T17.1.1/Revmatoid_artritt_\(RA\)](https://www.legemiddelhandboka.no/T17.1.1/Revmatoid_artritt_(RA)) (30.11.2021).

(19) Helsenorge, Helsebiblioteket/BMJ. Kapittel Muskel og skjelett: Leddgikt-revmatoid artritt: <https://www.helsenorge.no/sykdom/muskel-og-skjelett/leddgikt/#behandling> (30.11.2021).

(20) Mysak, J.; Podzimek, S.; Sommerova, P.; Lyuya-Mi, Y.; Bartova, J.; Janatova, T.; Prochazkova, J.; Duskova, J. *Journal of Immunology Research*, **2014**.

(21) Norsk Legemiddelhåndbok, NLH. Terapikapittel Karies og periodontitt:
https://www.legemiddelhandboka.no/T11.4.1/Karies_og_periodontitt (30.11.2021).

(22) Norsk Legemiddelhåndbok, NLH. Terapikapittel Refraktær periodontitt:
https://www.legemiddelhandboka.no/T11.4.8/Refrakt%C3%A6r_periodontitt (30.11.2021).

(23) Norsk Legemiddelhåndbok, NLH. Legemiddelkapittel Spiramycin:
<https://www.legemiddelhandboka.no/L1.2.8.4/Spiramycin> (30.11.2021).

(24) Serhan, C. N.; Clish, C. B.; Brannon, J.; Colqan, S. P.; Chiang, N.; Gronert, K. *Journal of Experimental Medicine*, **2000**, 192, 1197-1204.

(25) Shahidi, F.; Ambigaipalan, P. *Annual Review of Food Science and Technology Annu*, **2018**, 9, 345-381.

(26) Bang, H. O.; Dyerberg, J.; Hjørne, N. *Journal of Internal Medicine*, **1976**, 200, 69-73.

(27) Serhan, C. N.; Chiang, N. *British Journal of Pharmacology*, **2008**, 153, 200-215.

(28) GISSI-Prevenzione Investigators. *THE LANCET*, **1999**, 354, 447-455.

(29) Harper, C. R.; Jacobson, T. A. *Archives of Internal Medicine*, **2001**, 161, 2185-2192.

(30) Albert, C. M.; Hennekens, C. H.; O'Donnell CJ, et al. *JAMA*, **1998**, 279, 23-28.

(31) Zibaenezhad, M. J.; Ghavipisheh, M.; Attar, A.; Aslani, A. *Nutrition & Diabetes*, **2017**, 7.

(32) Caughey, G. E.; Mantzioris, E.; Gibson, R. A.; Cleland, L. G.; James, M. J. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **1996**, 63, 116-122.

(33) APOTEK1. Kapittel Kosttilskudd og ernæring: Omega-3 og tran:
<https://www.apotek1.no/produktkategorier/omega-3-og-tran?sortMethod=0&pageSize=20&pageNumber=1&categoryId=35613&facets=>
(28.11.2021).

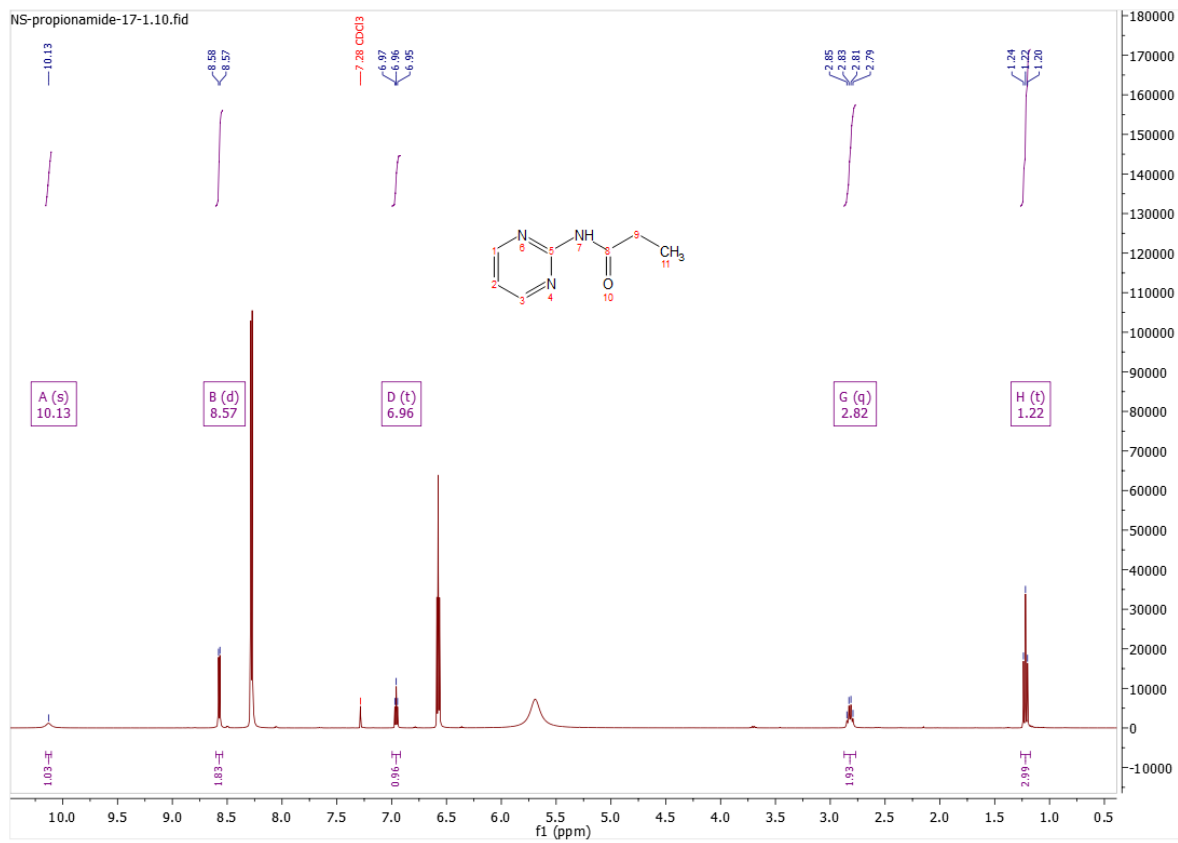
- (34) Felleskatalogen. SPC for Omacor®,
<https://www.felleskatalogen.no/medisin/pasienter/pas-omacor-basf-562393> (28.11.2021).
- (35) Norsk Legemiddelhåndbok, NLH. Legemiddelkapittel Omega-3-fettsyreestere:
<https://www.legemiddelhandboka.no/L8.15.5.1/Omega-3-fettsyreestere> (28.11.2021).
- (36) Serhan, C. N. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, **2009**, 7, 44–48.
- (37) Hong, S.; Gronert, K.; Devchand, P. R.; Moussignac, R.; Serhan, C. N. *Journal of Biological Chemistry*, **2003**, 278, 14677-14687.
- (38) Serhan, C. N.; Chiang, N. *Current Opinion in Pharmacology*, **2013**, 13, 632–640.
- (39) Serhan, C. N.; *Prostaglandins*, **1997**, 53, 107-137.
- (40) Chiang, N.; Barnaeva, E.; Hu, X.; Marugan, J.; Southall, N.; Ferrer, M.; Serhan, C. N. *Cell Chemical Biology*, 2019, 26, 244–254.
- (41) Ohira, T.; Arita, M.; Omori, K.; Recchiuti, A.; Van Dyke, T. E.; Serhan, C. N. *Journal of Biological Chemistry*, **2010**, 285, 3451-3461.
- (42) Dalli, J.; Winkler, J. W.; Colas, R. A.; Arnardottir, H.; Cheng, C. C.; Chiang, N.; Petasis, N. A.; Serhan, C. N. *Chemistry & Biology*, **2013**, 20, 188–201.
- (43) Hasturk, H.; Kantarci, A.; Ohira, T.; Arita M.; Ebrahimi, N.; Chiang, N.; Petasis, N. A.; Levy, B. D.; Serhan, C. N.; Van Dyke, T. E. *THE FASEB JOURNAL*, **2015**, 20.
- (44) Hasturk, H.; Kantarci, A.; Goguet-Surmenian, E.; Blackwood, A.; Andry, C.; Serhan, C. N.; Van Dyke, T. E. *The Journal of Immunology*, **2007**, 179, 7021-7029.
- (45) Arita, M.; Yoshida, M.; Hong, S.; Tjonahen, E.; Glickman, J. N.; Petasis, N. A. Blumberg, R. S.; Serhan, C. N. *PNAS*, **2005**, 102, 7671–7676.
- (46) Reinertsen, A. F.; Primdahl, K. G.; Shay, A. E.; Serhan, C. N.; Hansen, T. V.; Autsnes, M. *The Journal of Organic Chemistry*, **2021**, 86, 3535–3545.
- (47) Kohli, P.; Levy, B. D. *British Journal of Pharmacology*, **2009**, 158, 960–971.
- (48) Isobe, Y.; Arita, M.; Matsueda, S.; Urabe, D.; Inoue, M.; Arai, H. *Journal of Biological Chemistry*, **2012**, 287, 10525-10534.
- (49) Norris, P. C.; Libreros, S.; Serhan, C. N. *Science Advances*, **2019**, 5.
- (50) Bannenberg, G. L.; Chiang, N.; Ariel A.; Arita, M.; Tjonahen, E.; Gotlinger, K. H.; Hong, S.; Serhan, C. N. *The Journal of Immunology*, **2005**, 174, 4345-4355.
- (51) Serhan, C. N. *Annual Review of Immunology*, **2007**, 25, 101-137.
- (52) Duffield, J. S.; Hong, S.; Vaidya, V. S.; Lu, Y.; Fredman, G.; Serhan, C. N.; Bonventre, J. V. *The Journal of Immunology*, **2006**, 177, 5902-5911.

- (53) Deyama, S.; Shimoda, S.; Ikeda, H.; Fukuda, H.; Shuto, S.; Minami, M. *Journal of Pharmacological Sciences*, **2018**, *138*, 86-88.
- (54) Arita, M.; Bianchini, F.; Aliberti, J.; Sher, A.; Chiang, N.; Hong, S.; Yang, R.; Petasis, N. A.; Serhan, C. N. *Journal of Experimental Medicine*, **2005**, *201*, 713-722.
- (55) Pirault, J.; Bäck, M. *Frontiers in Pharmacology*, **2018**, *9*.
- (56) Krishnamoorthya, S.; Recchiutia, A.; Chiang, N.; Yacoubiana, S.; Leeb, C.; Yanga, R.; Petasis, N. A.; Serhan, C. N. *PNAS*, **2010**, *107*, 1660-1665.
- (57) Serhan, C. N.; Hong, S.; Gronert, K.; Colgan, S. P.; Devchand, P. R.; Mirick, G.; Moussignac, R. *Journal of Experimental Medicine*, **2002**, *196*, 1025-1037.
- (58) Prieto, P.; Rosales-Mendoza, C. E.; Terrón, V.; Toledano, V.; Cuadrado, A.; López-Collazo, E.; Bannenberg, G.; Martín-Sanz, P.; Fernández-Velasco, M.; Boscá, L. *Autophagy*, **2015**, *11*, 1729-1744.
- (59) Serhan, C. N. *Nature*, **2014**, *510*, 92-101.
- (60) McMurry, J. E. *Organic chemistry*, 8th ed., **2008**, Cengage Learning, China, 842-845 og 826-827.
- (61) Albeicicio, F.; Chinchilla, R.; Dodsworth, D. J.; Nájera, C. *Organic Preparations and Procedures International*, **2001**, *33*, 203-303.
- (62) Blumberg, P. M.; Strominger, J. L. *Bacteriological Reviews*, **1974**, *38*, 291-335.
- (63) Möhler, H.; Fritschy, J. M.; Rudolph, U. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **2002**, *300*, 2-8.
- (64) Diesen, J. S.; Sandtorv, A. H. *Organisk kjemi*, **2019**, Universitetsforlag, Oslo, 340-352.
- (65) Sire, J. *Støttebok i organisk kjemi*, **2002**, Fagbokforlaget, Bergen, 71-73.
- (66) Klein, D. *Organic Chemistry*, 2nd ed., **2015**, Wiley, United States of America, 1020-1028.
- (67) Howarth, J. *Organisk kjemi: sentrale emner*, **2000**, Tapir akademisk forlag, Trondheim, 179.
- (68) Sabatini, M. T.; Boulton, L. T.; Sneddon, H. F.; Sheppard, T. D. *Nature Catalysis*, **2019**, *2*, 10-17.
- (69) Allen, C. L.; Chhatwal, A. R.; Williams, J. M. J. *Chem. Commun.*, **2012**, *48*, 666-668.
- (70) Basavaprabhu, T. M.; Vishwanatha, N. R. P.; Sureshbabu, V. V. *Synthesis*, **2013**, *45*, 1569-1601.
- (71) Wissmann, H.; Kleiner H.-J. *Angew. Chem.*, **1980**, *19*, 133-134.
- (72) Llanes García, A. L. *SYNLETT*, **2007**, *8*, 1328-1329.

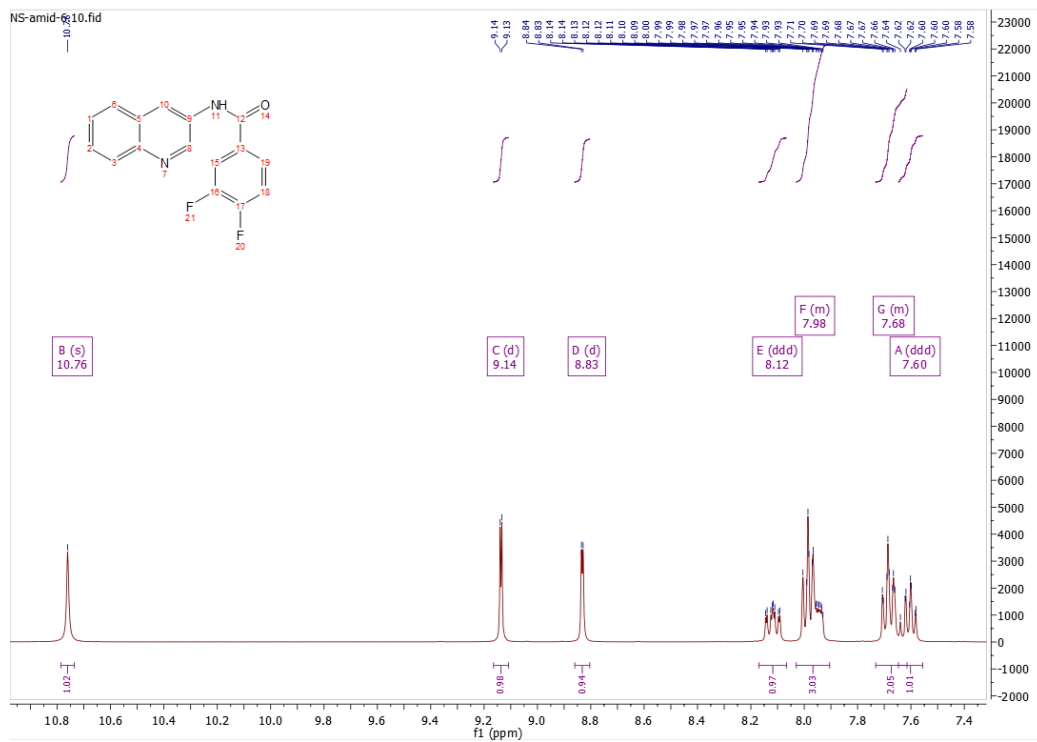
- (73) Augustine, J. K.; Vairaperumal, V.; Narasimhan, S.; Alagarsamy, P.; Radhakrishnan, A. *Tetrahedron*, **2009**, *65*, 9989-9996.
- (74) Ramesha, A. B.; Raghavendra, G. M.; Nandeesh, K. N.; Rangappa, K. S.; Mantelingu, K. *Tetrahedron Letters*, **2013**, *54*, 95-100.
- (75) Harshaa, K. B.; Rangappa, K. S. *RSC Advances*, **2016**, *6*, 57154-57162.
- (76) Musaimi, O. A.; Wisdom, R.; Talbiersky, P.; Torre, B. G.; Albericio, F. *ChemistrySelect*, **2021**, *6*, 2649-2657.
- (77) Dunetz, J. R.; Xiang, Y.; Baldwin, A.; Ringling, J. *Organic Letters*, 2011, *13*, 5048-5051.
- (78) Wehrstedt, K. D.; Wandrey, P. A.; Heitkamp, D. *Journal of Hazardous Materials*, **2005**, 1-7.
- (79) Waghmare, A. A.; Hindupur, R. M.; Pati, H. N. *Review Journal of Chemistry*, **2014**, *4*, 53-131.
- (80) Zhang, Y. *Method for preparation of 2-hydroxy-7-methylimidazo[1,2-a]pyrimidine*, Patent No. CN 106478638, China, 2017.
- (81) Xiao, X.; Xie, S.; Bai, S.; Deng, Y.; Jiang, H.; Zeng, W. *Organic Letters*, **2015**, *17*, 3998-4001.
- (82) Ueda, F.; Ueda, T.; Toyoshima, S. *Yakugaku Zasshi*, **1959**, *79*, 920-924.
- (83) Huo, C.; Tang, J.; Xie, H.; Wang, Y.; Dong, J. *Organic Letters*, **2016**, *18*, 1016-1019.

7. Vedlegg

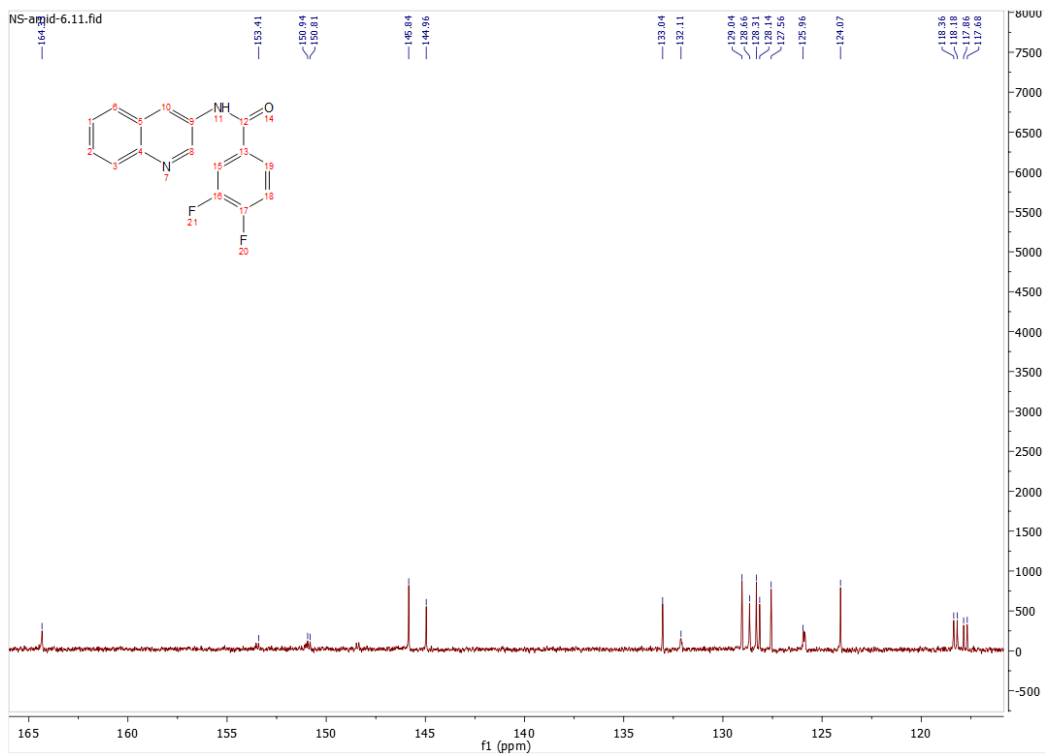
7.1 NMR-spektra



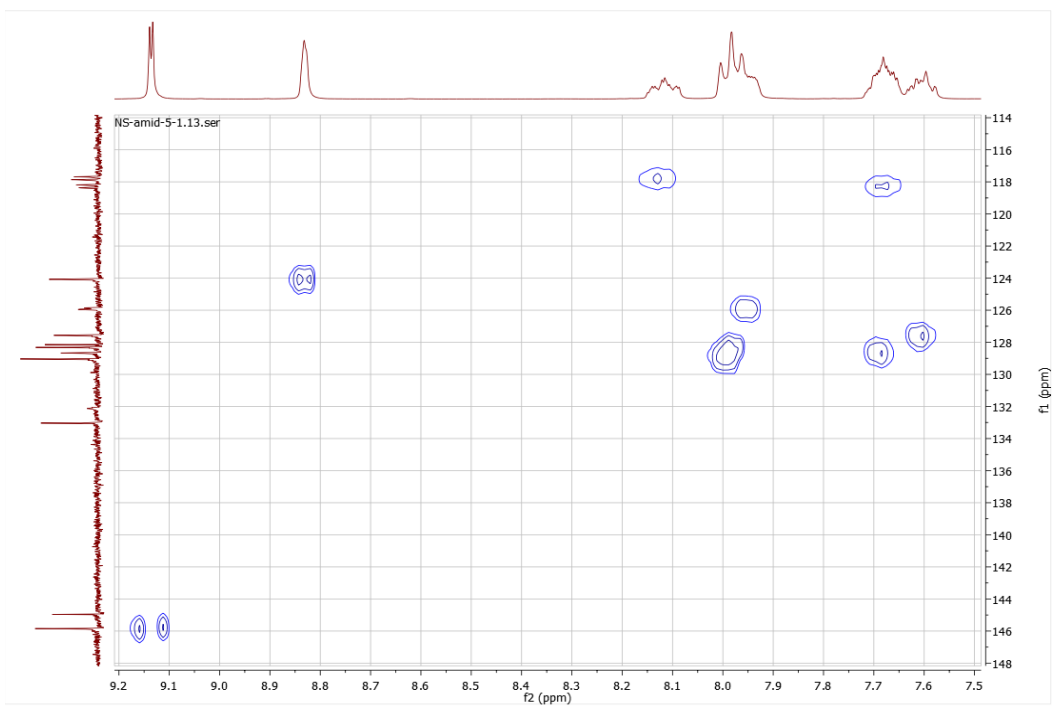
Figur 7.1. ¹H-NMR av forbindelse 26.



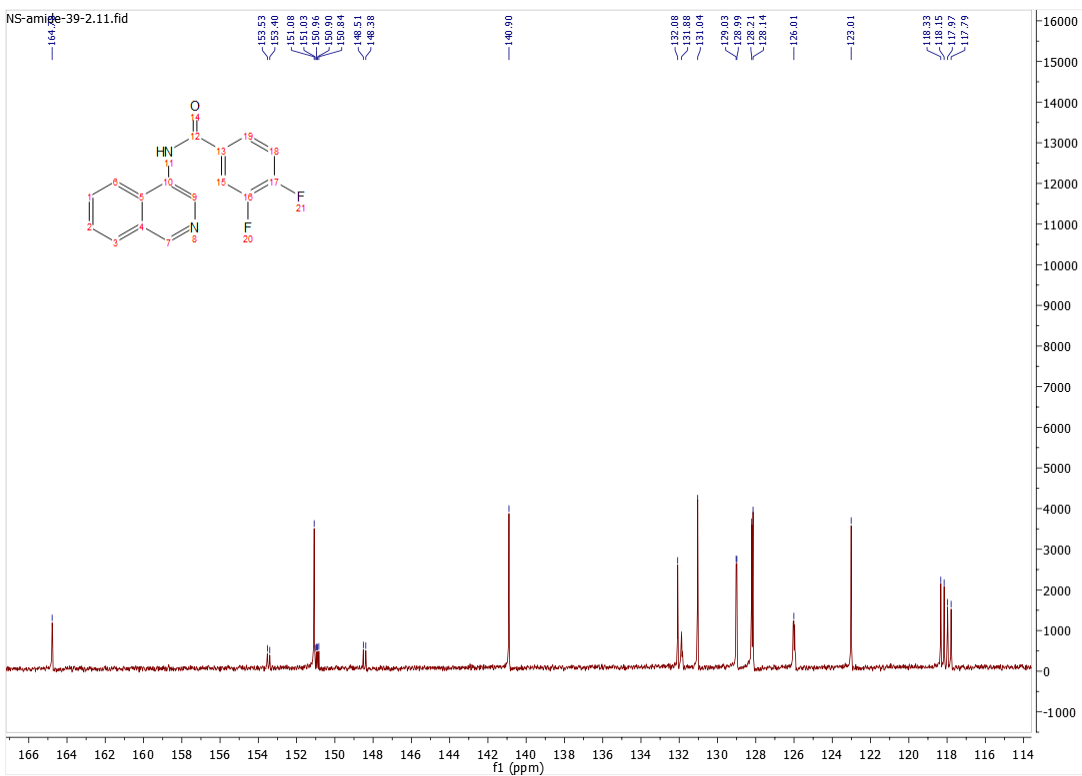
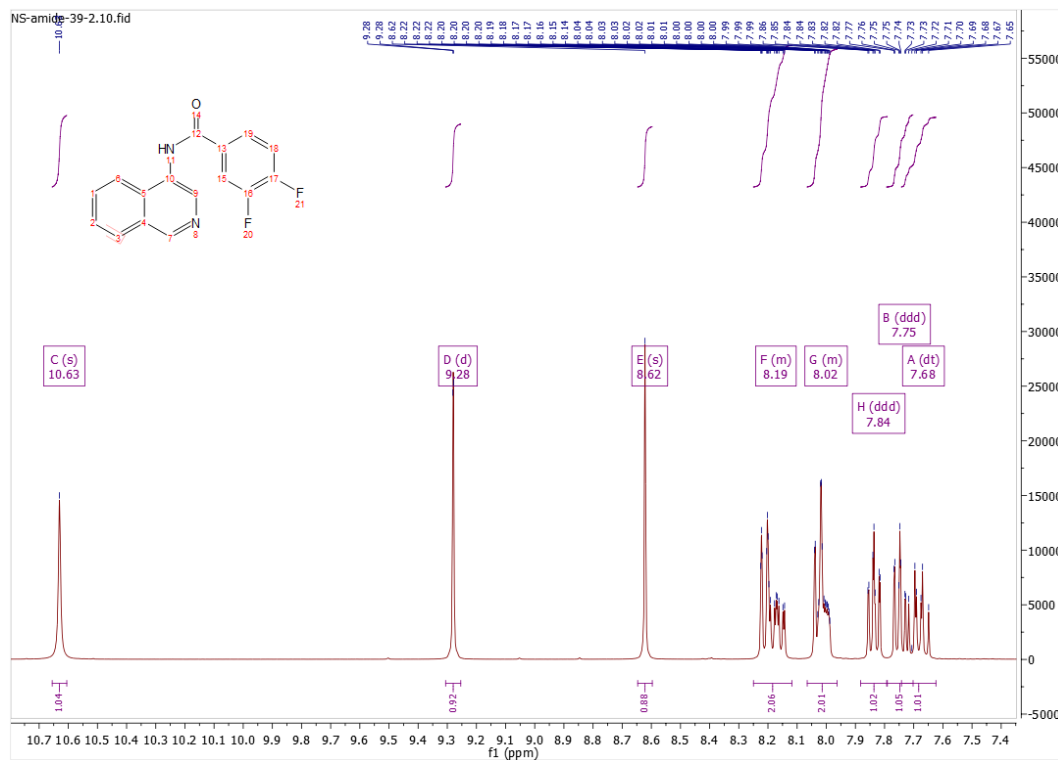
Figur 7.2. ^1H -NMR av forbindelse 30.



Figur 7.3. ^{13}C -NMR av forbindelse 30.

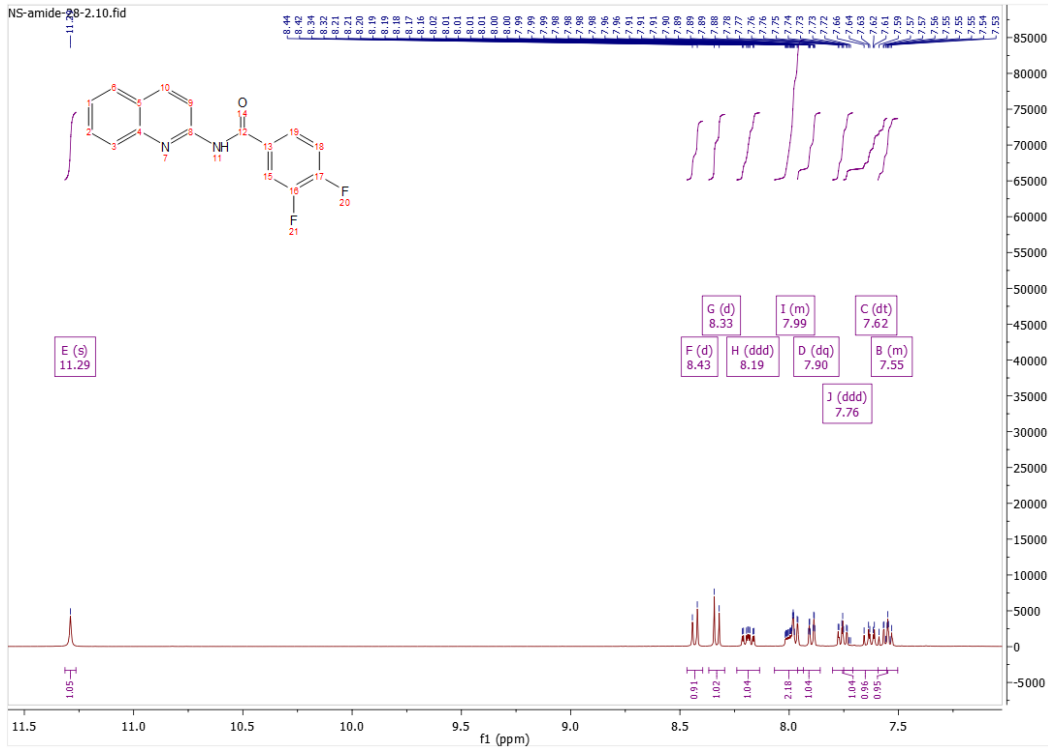


Figur 7.4. HSQC av forbindelse **30**.

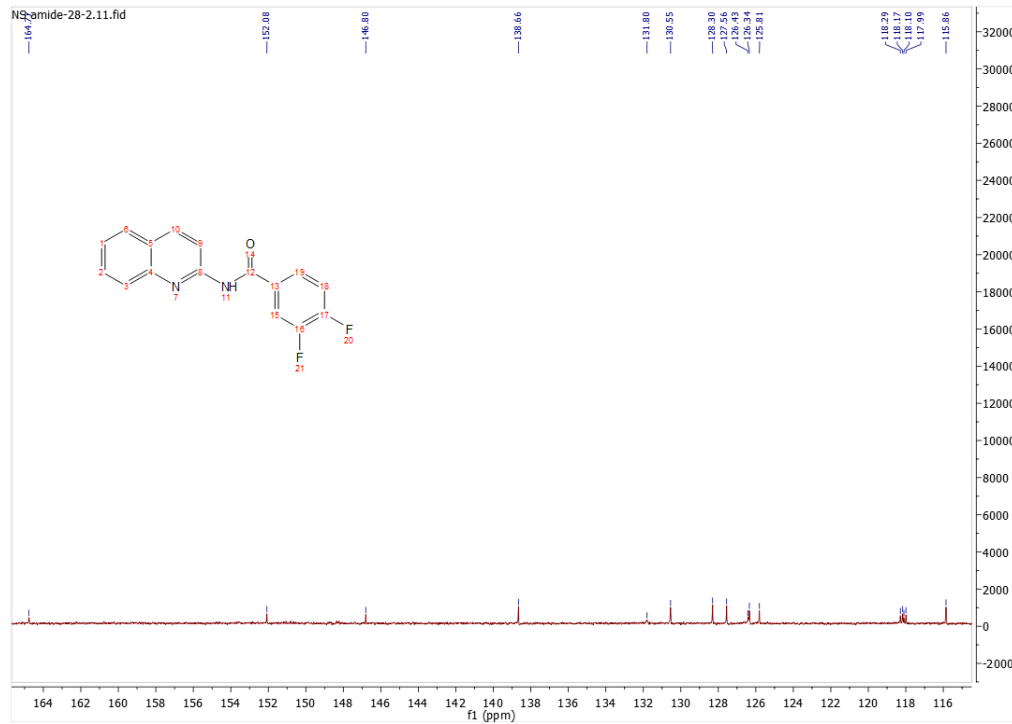




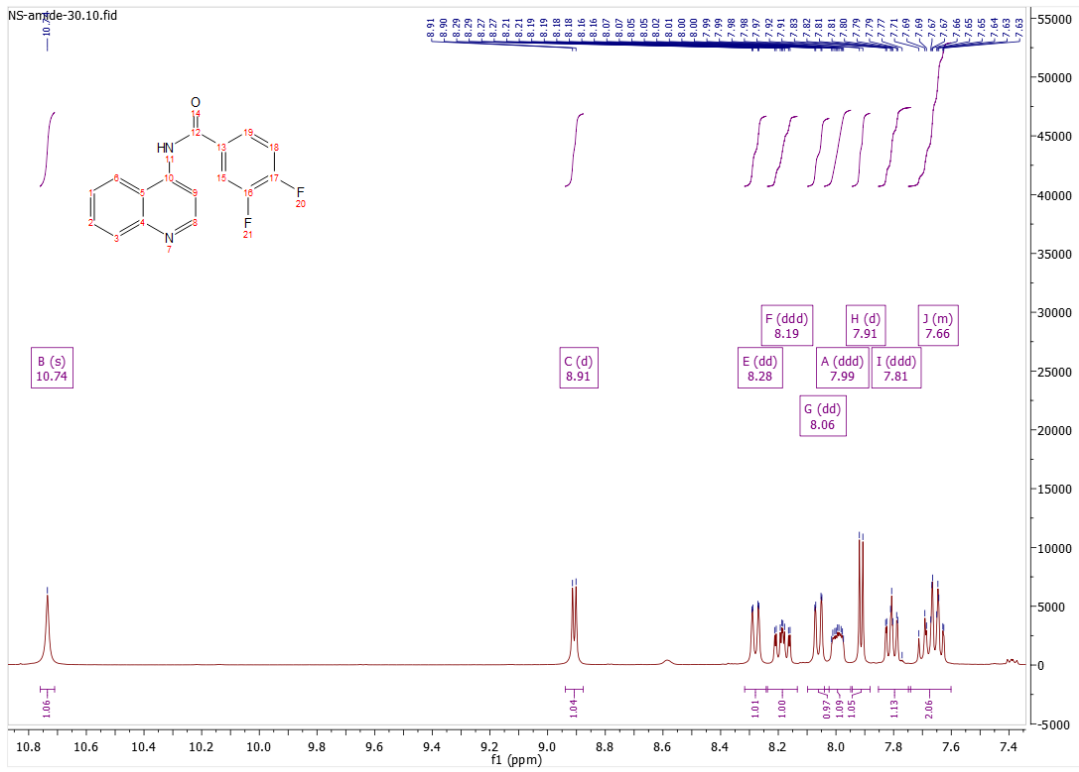
Figur 7.7. HSQC av forbindelse 32.



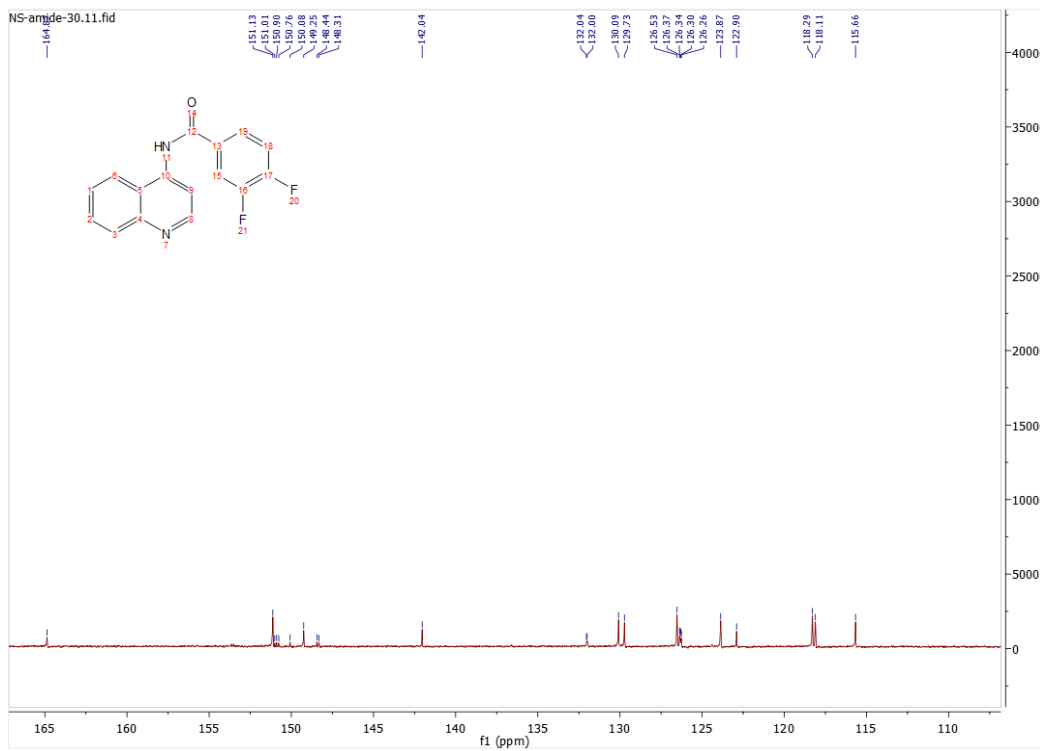
Figur 7.8. $^1\text{H-NMR}$ av forbindelse 34.



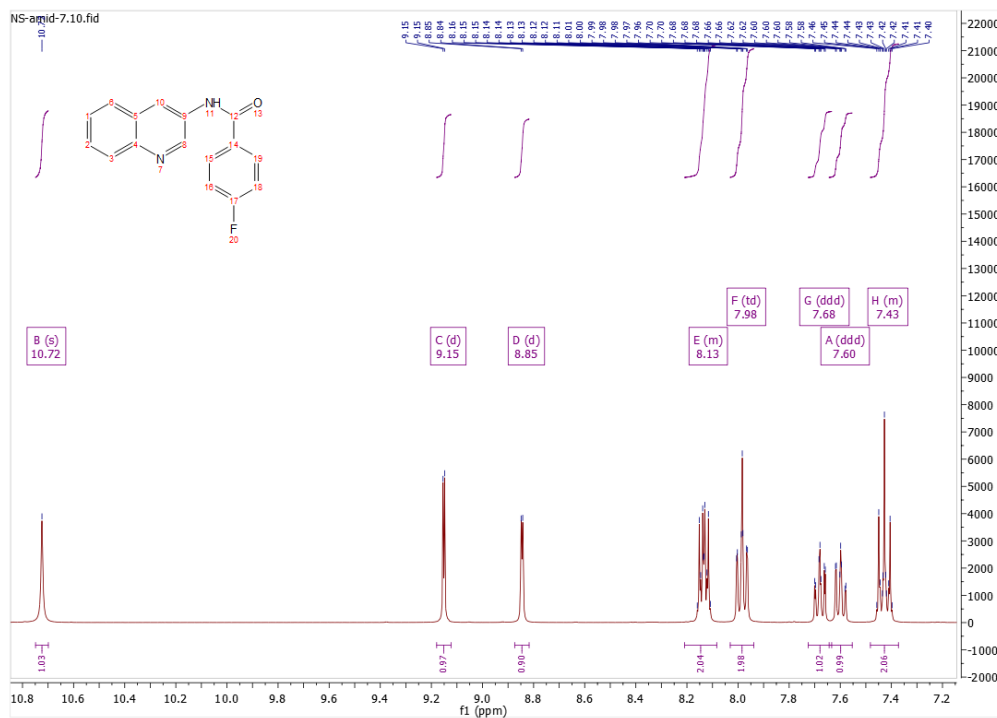
Figur 7.9. $^{13}\text{C-NMR}$ av forbindelse 34.



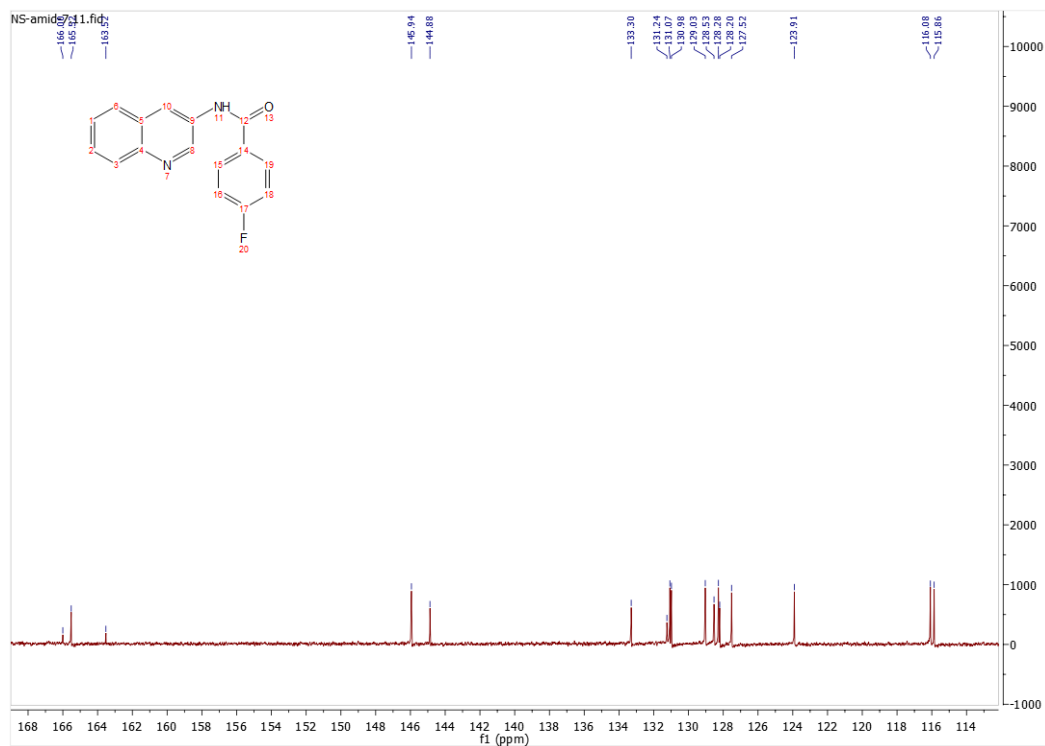
Figur 7.10. ¹H-NMR av forbindelse 36.



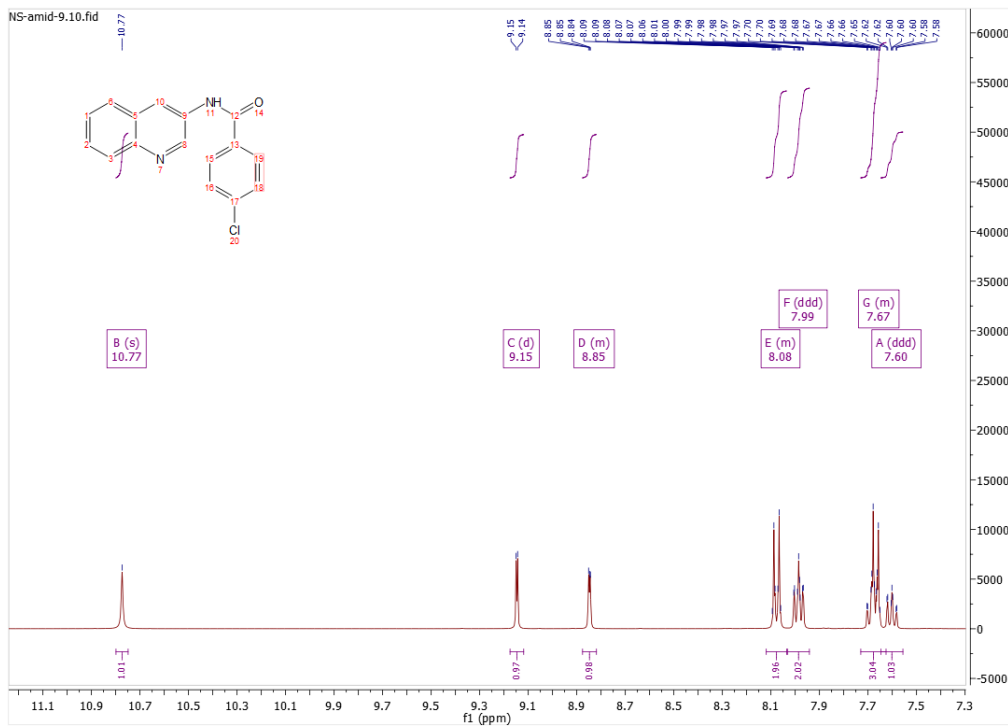
Figur 7.11. ¹³C-NMR av forbindelse 36.



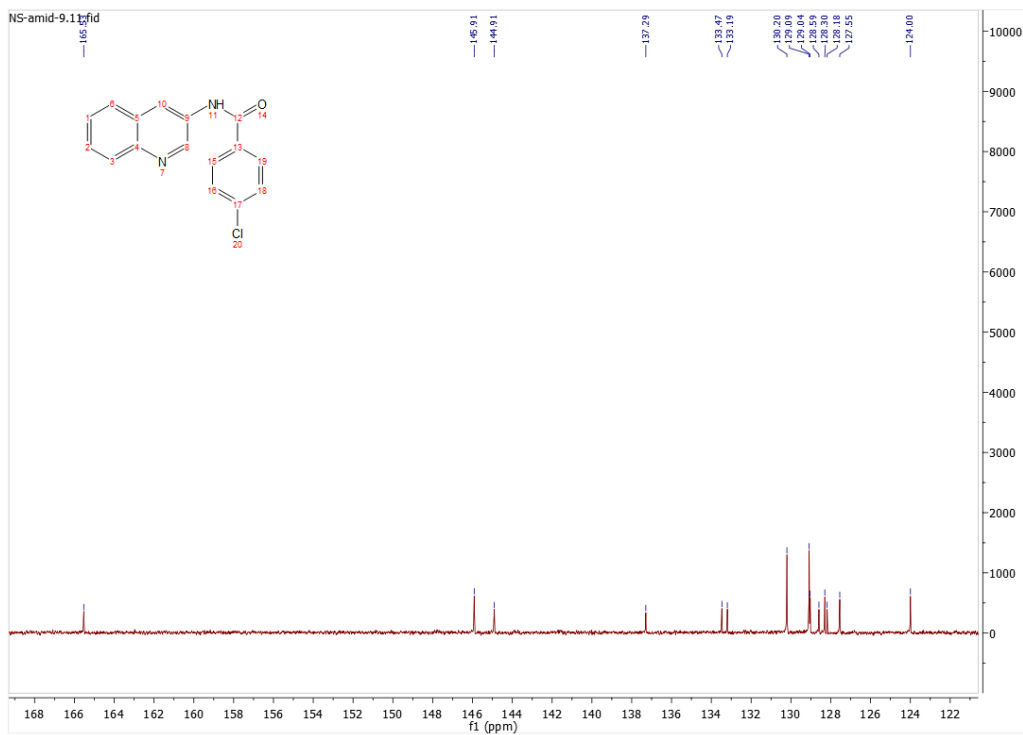
Figur 7.12. ^1H -NMR av forbindelse 38.



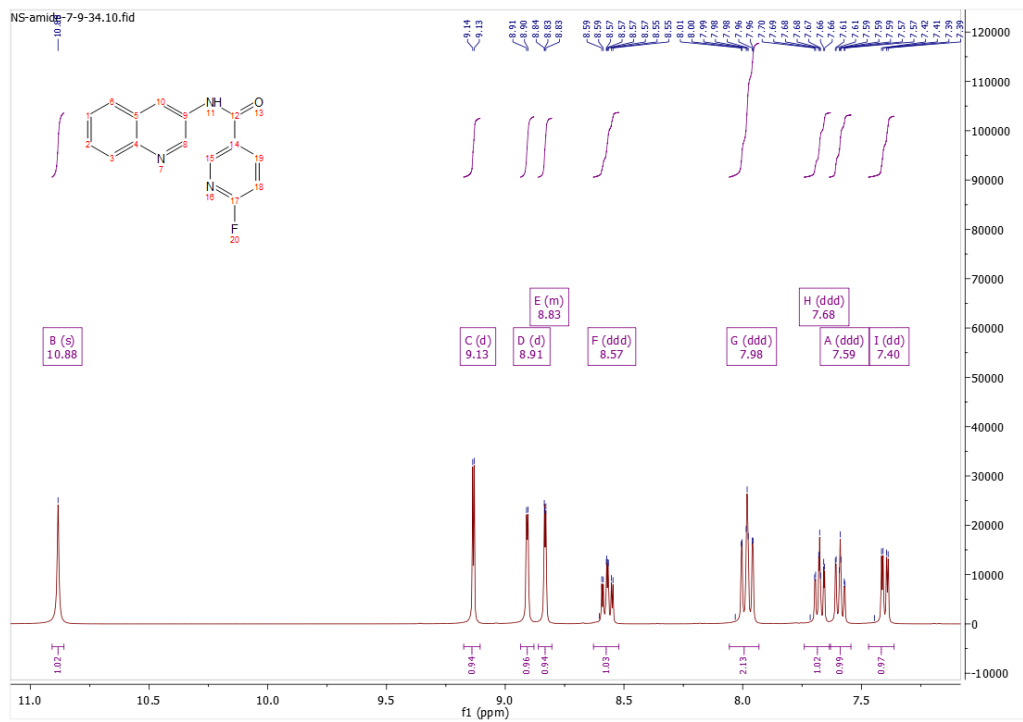
Figur 7.13. ^{13}C -NMR av forbindelse 38.



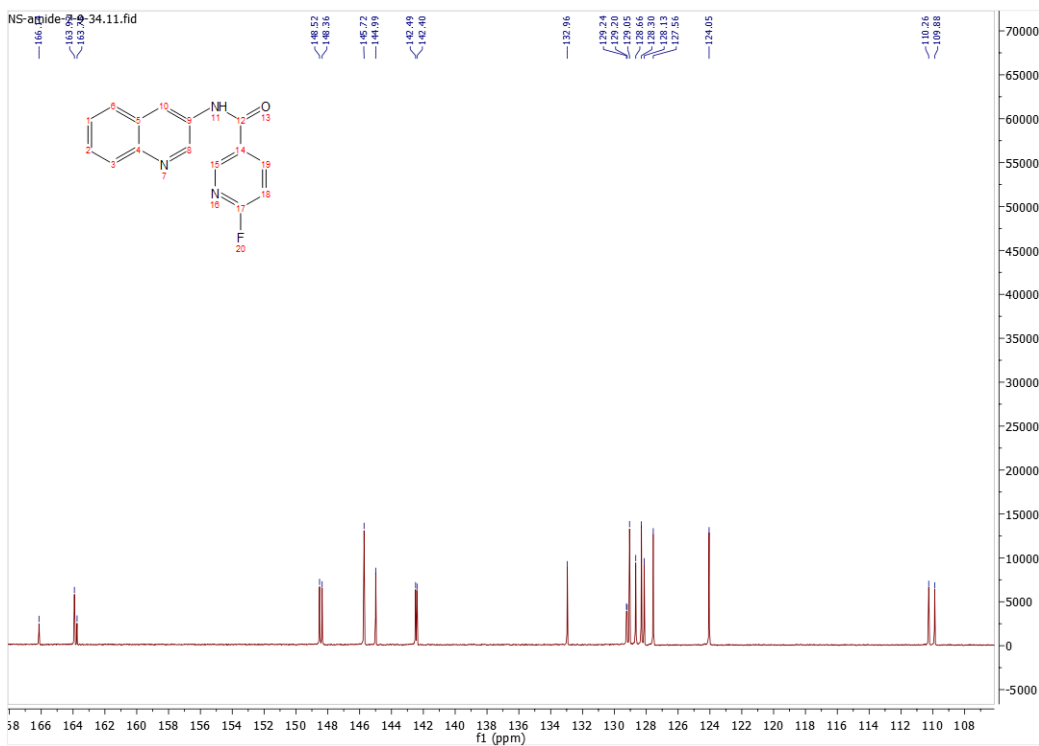
Figur 7.14. $^1\text{H-NMR}$ av forbindelse 40.



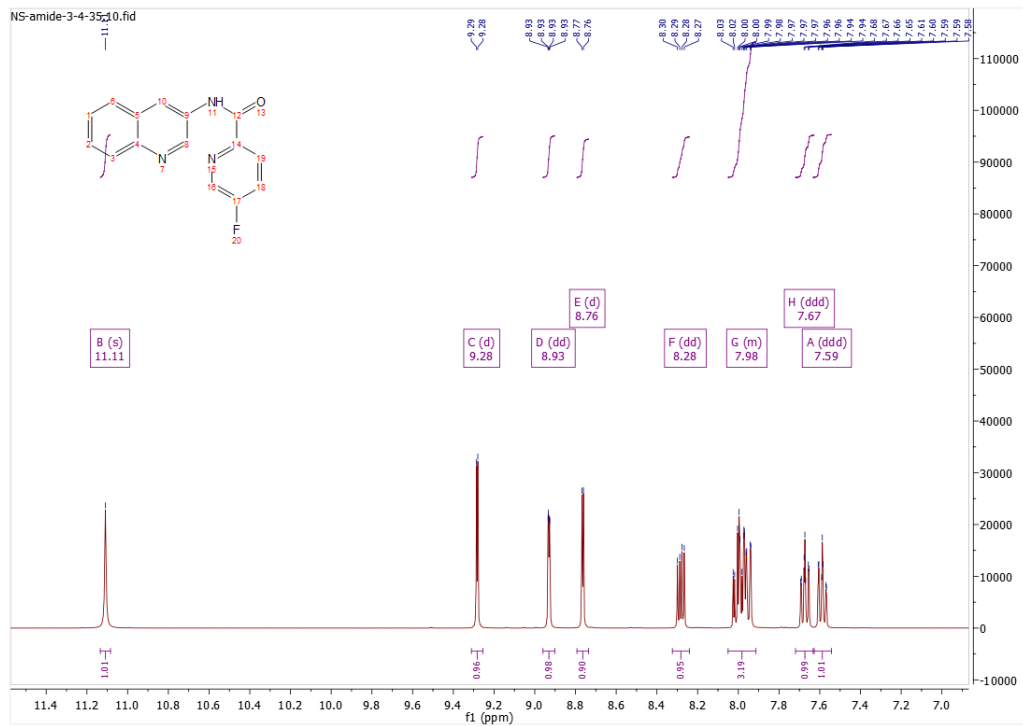
Figur 7.15. $^{13}\text{C-NMR}$ av forbindelse 40.



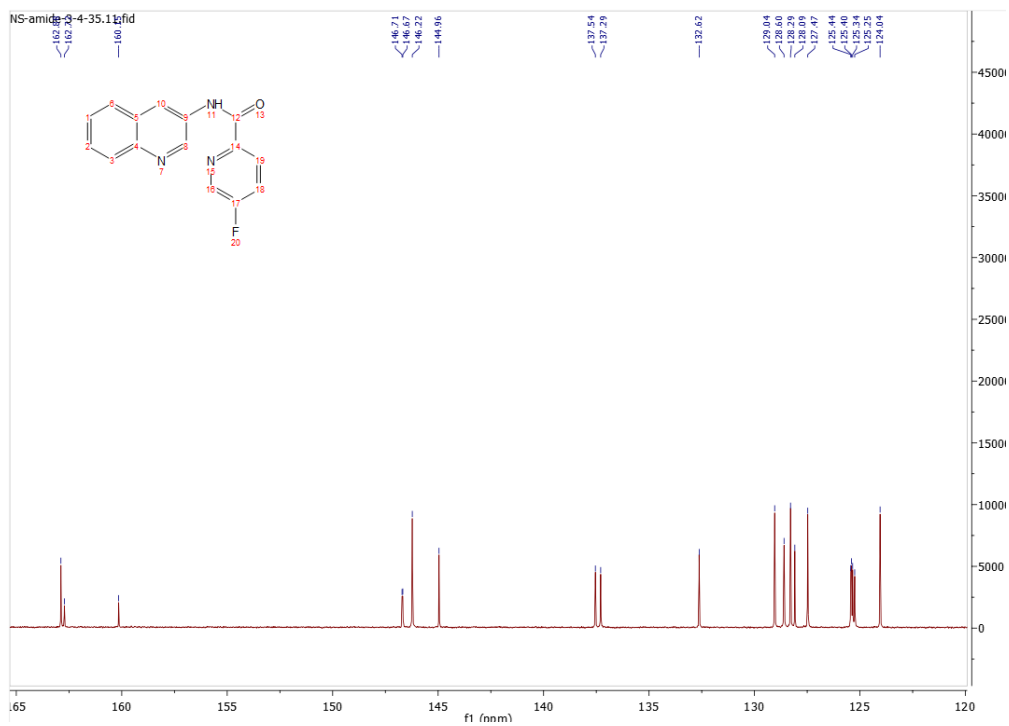
Figur 7.16. ^1H -NMR av forbindelse 42.



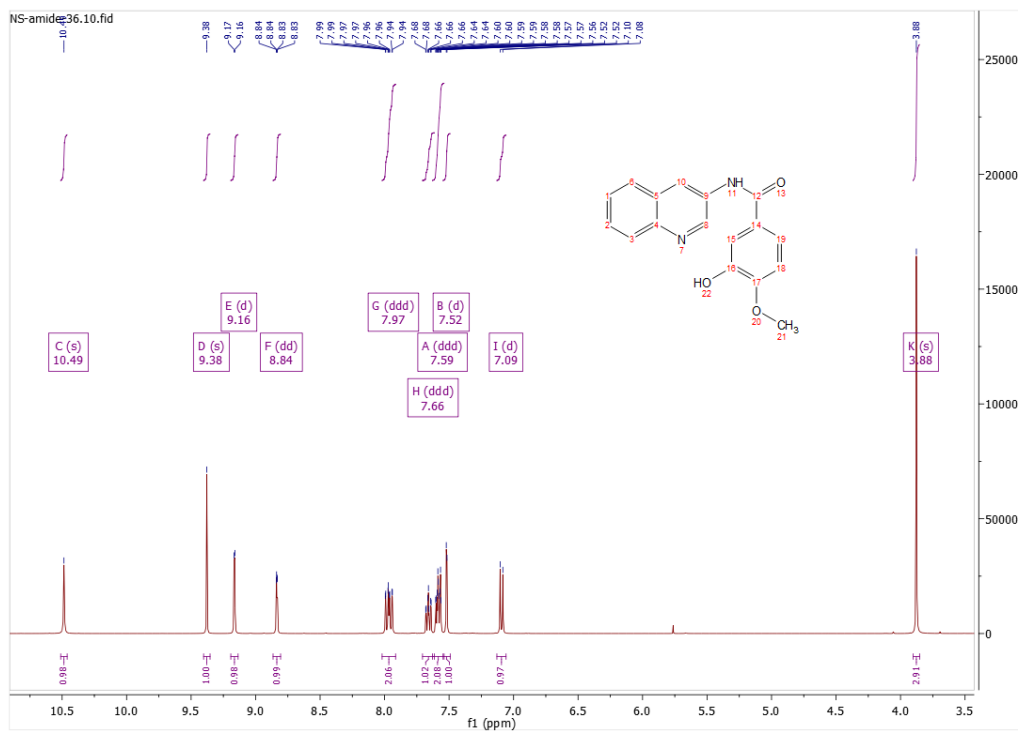
Figur 7.17. ^{13}C -NMR av forbindelse 42.



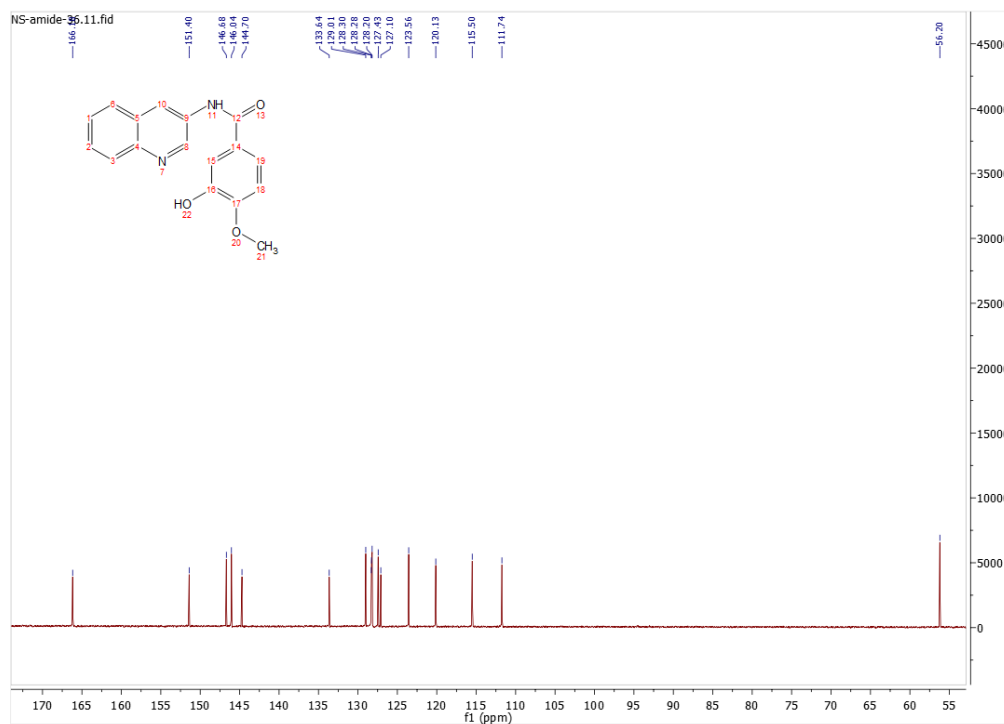
Figur 7.18. $^1\text{H-NMR}$ av forbindelse 44.



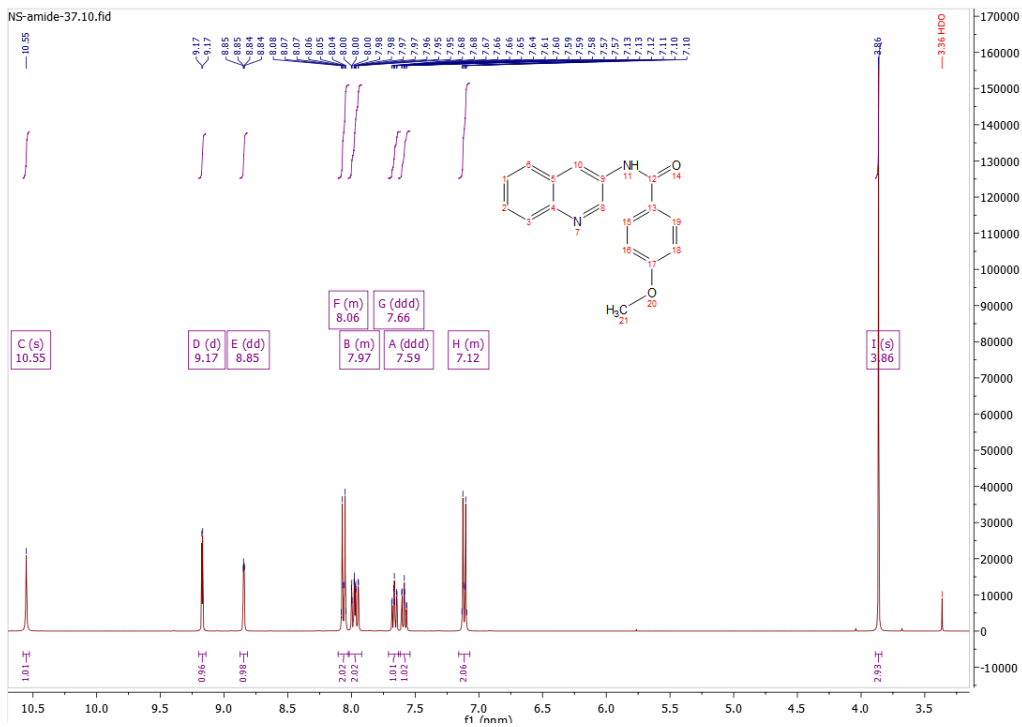
Figur 7.19. $^{13}\text{C-NMR}$ av forbindelse 44.



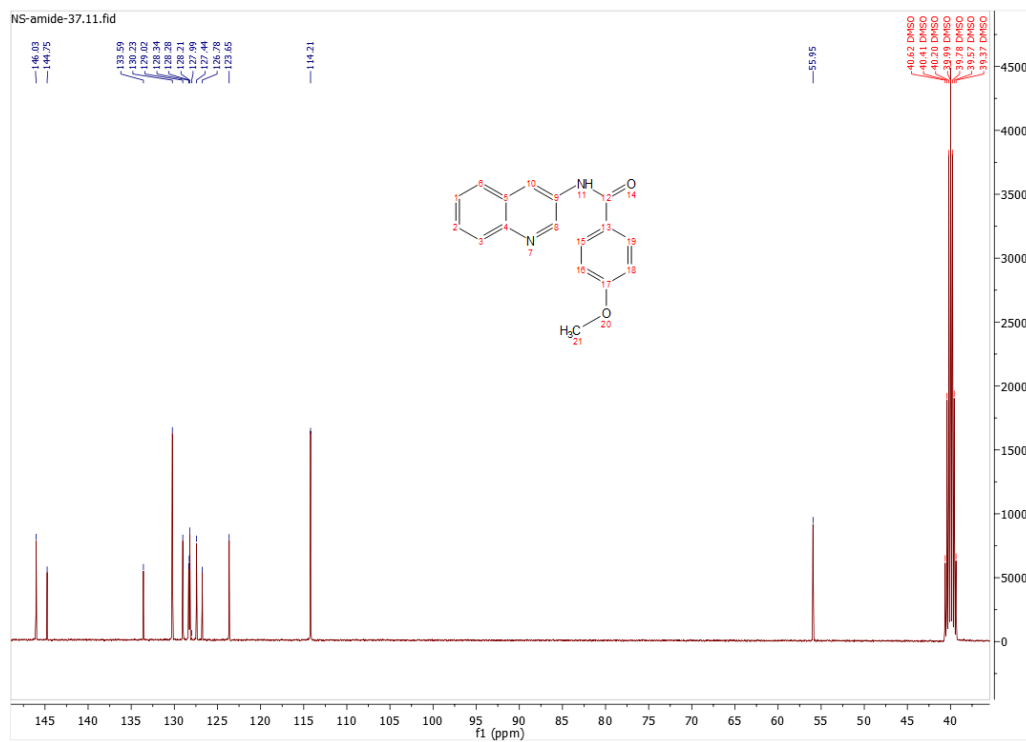
Figur 7.20. ¹H-NMR av forbindelse 46.



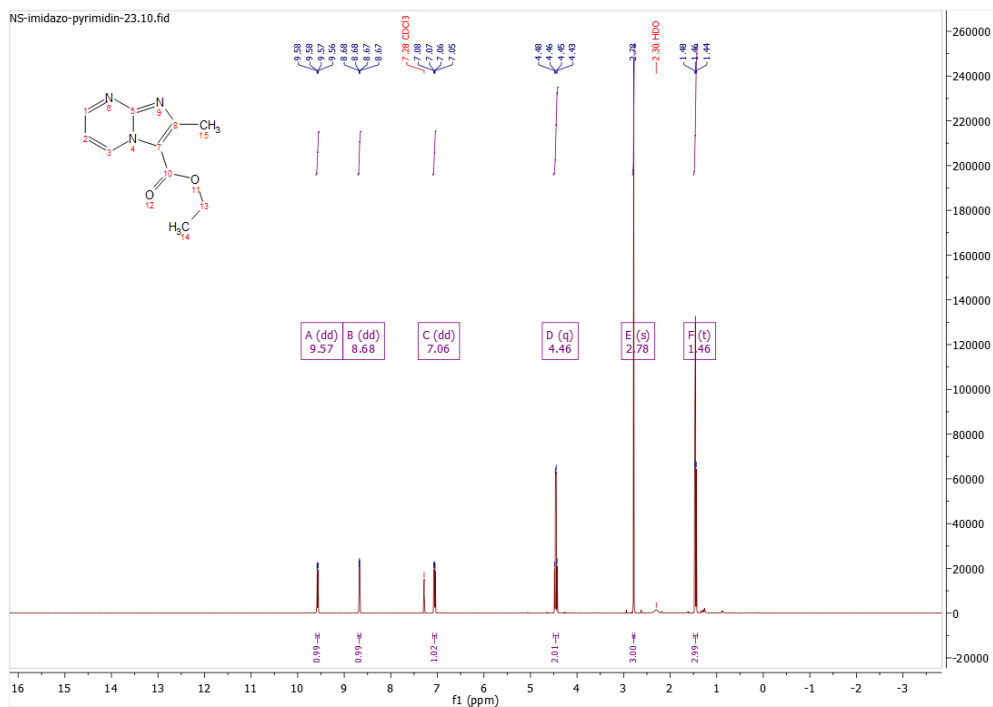
Figur 7.21. ¹³C-NMR av forbindelse 46.



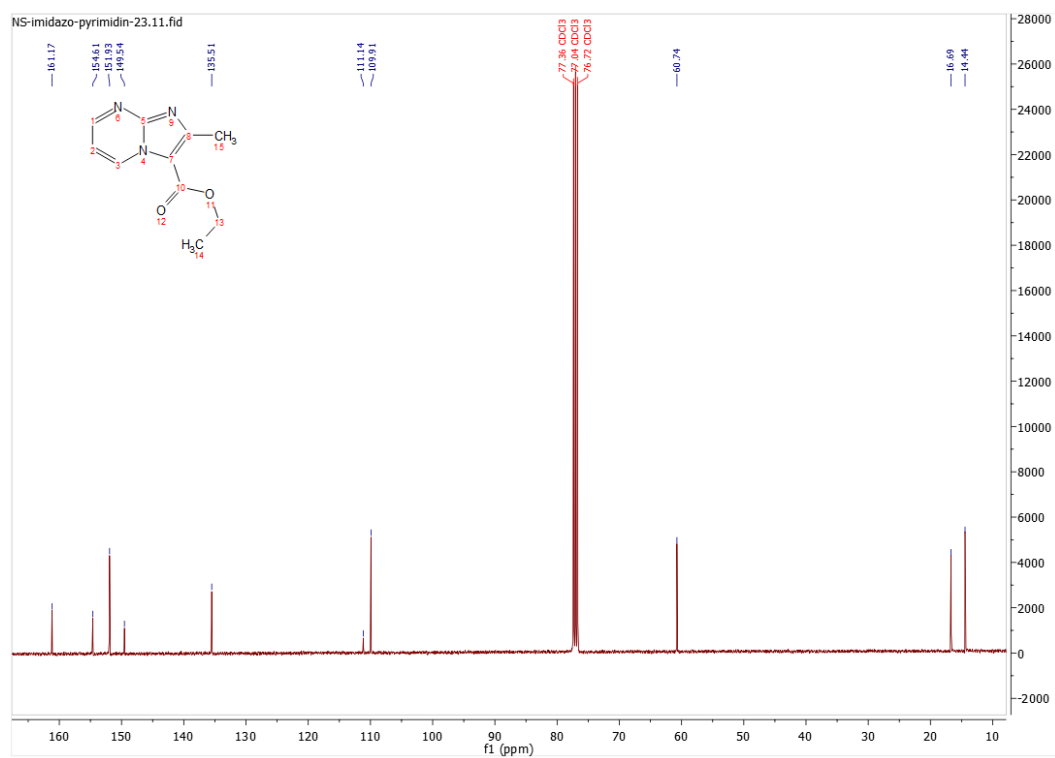
Figur 7.22. ¹H-NMR av forbindelse 48.



Figur 7.23. ¹³C-NMR av forbindelse 48.



Figur 7.24. ¹H-NMR av forbindelse 50.



Figur 7.25. ¹³C-NMR av forbindelse 50.

