

**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ, ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ
ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ, ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ
ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ**

**ΔΙΑΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΟΡΓΑΝΙΚΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΗ ΧΗΜΙΚΗ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑ»**

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

**ΑΣΥΜΜΕΤΡΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΟΡΕΣΜΕΝΩΝ ΥΔΡΟΞΥ ΛΙΠΑΡΩΝ
ΟΞΕΩΝ ΚΑΙ ΕΣΤΕΡΩΝ ΤΟΥΣ ΜΕ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ**

**ΜΟΥΝΤΑΝΕΑ ΟΛΓΑ
ΧΗΜΙΚΟΣ**

ΑΘΗΝΑ

ΙΟΥΝΙΟΣ 2018

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

Ασύμμετρη σύνθεση κορεσμένων υδρόξυ λιπαρών οξέων και εστέρων τους
με λιπαρά οξέα

ΜΟΥΝΤΑΝΕΑ ΟΛΓΑ

A.M.: 161506

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ:

Γεώργιος Κόκοτος, Καθηγητής ΕΚΠΑ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Γεώργιος Κόκοτος, Καθηγητής ΕΚΠΑ

Δημήτριος Γεωργιάδης, Αναπληρωτής Καθηγητής ΕΚΠΑ

Χριστόφορος Κόκοτος, Επίκουρος Καθηγητής ΕΚΠΑ

25/06/2018

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η λιπιδομική ανάλυση του λιπώδους ιστού ποντικών που είχαν τροποποιηθεί γενετικώς προκειμένου να υπερεκφράζουν τον μεταφορέα γλυκόζης Glut4 (ποντίκια AG4OX) οδήγησε στην ανακάλυψη μιας νέας τάξης ενδογενών λιπιδίων, τα οποία ονομάζονται εστέρες λιπαρών οξέων με υδρόξυ λιπαρά υδρόξυ οξέα ή FAHFAs (Fatty Acid Esters of Hydroxy Fatty Acids) και αποτελούνται από δύο άκυλο αλυσίδες συνδεδεμένες μέσω ενός εστερικού δεσμού.

Ταυτοποίηση των FAHFAs έδειξε ότι υπάρχει συσχετισμός μεταξύ της δομής και της δραστηριότητας που φέρονται να έχουν. Συγκεκριμένα, οι εστέρες παρουσιάζουν τόσο τοποϊσομέρεια που αφορά στη θέση του υδροξυλίου που απαρτίζει τον εστερικό δεσμό, όσο και εναντιομέρεια εφόσον ο ίδιος ο οργανισμός επιλέγει να υδρολύσει μεταξύ του (*R*) και του (*S*) εναντιομερούς το δεύτερο, ενώ το (*R*) ισομερές διεγείρει μηχανισμούς που προσδίδουν την αντιδιαβητική ή/και την αντιφλεγμονώδη δράση σε αυτή την κατηγορία ενώσεων.

Η διατριβή, αυτή, αποτελεί μια γενικευμένη μεθοδολογία για την ασύμμετρη σύνθεση των FAHFAs, αλλά και των αντίστοιχων υδρόξυ οξέων από τα οποία προέρχονται. Έως τώρα, η μόνη δημοσιευμένη σύνθεση εναντιοκαθαρών FAHFAs περιλάμβανε τη παραλαβή τους από ήδη χειρόμορφα μόρια. Η συνθετική πορεία που αναπτύξαμε εισάγει τη χειρομορφία μέσω ενός βήματος κλειδιού, με τον σχηματισμό ενός ασύμμετρου ακραίου εποξειδίου με τη χρήση καταλύτη του MacMillan. Παράλληλα, παρέχει τη δυνατότητα να εισαχθεί διπλός δεσμός ώστε να συντεθούν εστέρες ακόρεστων λιπαρών οξέων.

Τέλος, σημαντική για την περαιτέρω κατανόηση αυτής της ομάδας λιπιδίων κρίθηκε η σύνθεση δευτεριωμένων υδρόξυ οξέων και FAHFAs, καθώς τέτοια παράγωγα μπορούν να χρησιμοποιηθούν τόσο για κατανόηση του μηχανισμού βιοσύνθεσής τους και αποικοδόμησής τους όσο και ως πρότυπες ενώσεις σε μελέτες φασματομετρίας μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας (HRMS).

ΘΕΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ: Σύνθεση βιοδραστικών λιπιδίων, σύνθεση δευτεριωμένων προϊόντων, ασύμμετρη σύνθεση.

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: FAHFAs, υδρόξυ οξέα, ασύμμετρη σύνθεση, δευτερίωση, οργανοκατάλυση.

ABSTRACT

Lipidomic analysis of the adipose tissue of mice genetically engineered to overexpress the glucose transporter Glut4 (AG4OX mice) led to the discovery of a new class of endogenous lipids called Fatty Acid Esters of Hydroxy Fatty Acids (FAHFAs), which are composed of two acyl chains linked through an ester linkage.

Identification of FAHFAs showed that there is a correlation between the structure and the activity they appear to exhibit. More specifically, the esters present both a regio isomerization concerning the position of the hydroxyl group forming the ester bond as well as an enantiomerization since the organism itself chooses to hydrolyze between the (*R*) and (*S*) enantiomers, the latter, while the (*R*) isomer stimulates mechanisms that impart anti-diabetic and/or anti-inflammatory activity to this class of compounds.

This thesis constitutes a general methodology for the asymmetric synthesis of FAHFAs and their corresponding hydroxy acids from which they are derived. Until now, the only published enantiopure FAHFA synthesis starts from chiral starting material. The synthetic route we developed involves the introduction of chirality through a key-step, with the formation of an asymmetric terminal epoxide using a MacMillan imidazolidinone as a catalyst. At the same time, it allows the introduction of a double bond leading to unsaturated fatty esters.

Finally, the synthesis of deuterated hydroxy acids and FAHFAs is important, as such derivatives can be used both to understand their biosynthesis and degradation mechanisms and as reference compounds in high resolution mass spectrometric studies (HRMS).

SUBJECT AREA: Synthesis of bioactive lipids, synthesis of deuterated products, asymmetric synthesis.

KEYWORDS: FAHFAs, hydroxy acids, asymmetric synthesis, deuteration, organocatalysis

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές ευχαριστίες και την ευγνωμοσύνη μου στον επιβλέποντα Καθηγητή μου κ. Γεώργιο Κόκοτο για την ανάθεση του θέματος, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, την καθοδήγηση που έδωσε αλλά και την ώθηση που μου προσέφερε κατά τη διάρκεια υλοποίησης της παρούσας εργασίας.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη της τριμελούς επιτροπής για την ενθάρρυνση και τις εύστοχες υποδείξεις τους. Η βοήθεια του Επίκουρου Καθηγητή κ. Χριστόφορου Κόκοτου και οι προτάσεις του στην επίλυση των προβληματισμών μου σε ζητήματα σχετικά με την εκπόνηση της πειραματικής εργασίας αλλά και στη συγγραφή της διατριβής ήταν εξαιρετικά σημαντική. Ευχαριστώ τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Δημήτριο Γεωργιάδη όχι μόνο για τις υποδείξεις στη συγγραφή της διατριβής αλλά και για τη συμβολή του σε όλη την πορεία μου κατά τη διάρκεια των μεταπτυχιακών σπουδών μου.

Ευχαριστίες, ακόμα, θα ήθελα να δώσω στα υπόλοιπα μέλη του Εργαστηρίου Οργανικής Χημείας για τη συνεργασία και την καθοδήγησή τους. Ιδιαίτερα θα ήθελα, ωστόσο, να ευχαριστήσω τα μέλη της ερευνητικής ομάδας του κ. Κόκοτου, παλιά και νέα, τα οποία με βοήθησαν να εγκλιματιστώ αμέσως με τον δικό τους, ιδιαίτερο τρόπο στο εργαστηριακό περιβάλλον.

Ευχαριστώ τον Δρ. Δημήτριο Λημνιό για την εργαστηριακή βοήθεια που μου προσέφερε κατά το ξεκίνημα της διπλωματικής μου εργασίας.

Ευχαριστώ, τη Δρ. Μαρούλα Κόκοτου για το χρόνο που αφιέρωσε για τις μελέτες με φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας.

Ευχαριστίες οφείλω, φυσικά, και στο ίδρυμα Ευγενίδου, το οποίο μέσω του Κ.Α.Δ. Αλέξανδρος Σταυρόπουλος μου παρείχε υποτροφία δίνοντάς μου την ευκαιρία να διευρύνω τους τομείς της έρευνας μου.

Τέλος, τίποτα από όλα αυτά δεν θα είχε πραγματοποιηθεί χωρίς την αμέριστη στήριξη και συνεχή ενθάρρυνση των δικών μου ανθρώπων, της οικογένειας μου και των φίλων μου. Αναμφίβολα, η πίστη τους σε εμένα όλα αυτά τα χρόνια αποτέλεσε το σημαντικότερο παράγοντα για να βρίσκω τη δύναμη να κυνηγάω τα όνειρα μου και να επιτυγχάνω τους στόχους μου.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	19
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1	21
1.1 Εστέρες λιπαρών οξέων με υδρόξυ λιπαρά οξέα	21
1.1.1 Γενικά για τον σακχαρώδη διαβήτη	21
1.1.2 Ανακάλυψη μιας νέας κατηγορίας ενδογενών αντιδιαβητικών λιπιδίων	23
1.1.3 Σχέση των FAHFAs με την ομοιόσταση της γλυκόζης	24
1.1.4 Προσδιορισμός της δομής και της τοποεκλεκτικότητας των FAHFAs.....	27
1.1.5 Συνθέσεις FAHFAs.....	30
1.1.6 Διαχωρισμός των εναντιομερών FAHFAs και η εκλεκτική υδρόλυση τους	37
1.1.7 Αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες των PAHSAs.....	40
1.1.8 Σημασία των FAHFAs στην καταπολέμηση της ελκώδους κολίτιδας	42
1.1.9 Ύπαρξη FAHFAs στο μητρικό γάλα και η σημασία τους για την ανάπτυξη του βρέφους	45
1.1.10 Η βιολογική σημασία των FAHFAs ως έναυσμα για περαιτέρω μελέτη από την επιστημονική κοινότητα.....	47
1.2 Υδρόξυ λιπαρά οξέα	48
1.2.1 Η χρησιμότητα των υδρόξυ λιπαρών οξέων	48
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 Σκοπός της εργασίας	51
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3	53
3.1 Ασύμμετρη σύνθεση FAHFAs	53
3.1.1 Ρετροσυνθετική πορεία για τη σύνθεση των FAHFAs	53
3.1.2 Συνθετική πορεία προς παραλαβή του 9-PAHSA	54
3.1.3 Γενικά για την Οργανοκατάλυση	56
3.1.4 Καταλύτες του MacMillan στον κλάδο της Οργανοκατάλυσης.....	57
3.1.5 Ο μηχανισμός ενεργοποίησης μέσω εναμίνης	59
3.1.6 Γενικά για την α-χλωρίωση.....	60
3.1.7 Ανάπτυξη μηχανισμών συνθετικών σταδίων	64

3.1.8 Άλλοι προτεινόμενοι τρόποι σύνθεσης ακραίων εποξειδίων	66
3.1.9 Γενικά για την αντίδραση διάνοιξης εποξειδίου με αντιδραστήριο Gilman.....	70
3.1.10 Αποτίμηση φασμάτων του 9-PAHSA	73
3.1.11 Σύνθεση των υπόλοιπων FAHFAs.....	75
3.1.12 Προσδιορισμός της εναντιομερικής περίσσειας χειρόμορφων εποξειδίων με τη χρήση HPLC με χειρόμορφη στήλη	77
3.2 Ασύμμετρη σύνθεση κορεσμένων υδρόξυ λιπαρών οξέων	80
3.2.1 Πετροσυνθετική πορεία για τη σύνθεση των υδρόξυ οξέων	80
3.2.2 Σύνθεση του 9-υδρόξυ παλμιτικού οξέος (9-HPA)	81
3.2.3 Αποτίμηση φασμάτων του 9-υδρόξυ παλμιτικού οξέος (9-HPA)	83
3.2.4 Σύνθεση του 9-υδρόξυ στεατικού οξέος	85
3.3 Ασύμμετρη σύνθεση του 9-OAHSA.....	86
3.3.1 Γενικά για τους εστέρες ακόρεστων λιπαρών οξέων	86
3.3.2 Προβληματισμός για την προστατευτική ομάδα	86
3.3.3 Πετροσυνθετική πορεία για τη σύνθεση του 9-OAHSA	87
3.3.4 Πορεία σύνθεσης του 9-OAHSA	88
3.3.5 Διαφορετικές δοκιμές εστεροποίησης.....	89
3.3.6 Μηχανισμός εστεροποίησης με τη χρήση άκυλο χλωριδίων	90
3.3.7 Μηχανισμός αποπροστασίας TBDMS-ομάδας	91
3.3.8 Μηχανισμός εστεροποίησης με τη χρήση καρβοδιιμιδίου	91
3.3.9 Αποτίμηση φασμάτων του 9-OAHSA.....	93
3.4 Σύνθεση δευτεριωμένων προϊόντων	96
3.4.1 Η σημασία της σηματοδότησης των FAHFAs με δευτέρια	96
3.4.2 Δευτεριωμένα προϊόντα που σχεδιάστηκαν στην παρούσα εργασία.....	96
3.4.3 Σύνθεση των δευτεριωμένων προϊόντων	97
3.4.4 Μηχανισμός δευτερίωσης	97
3.4.5 Μηχανισμός α-χλωρίωσης με τη χρήση L-προλίνης και N-χλωροσουκινιμιδίου	98
3.4.6 Οι συνθετικές πορείες που ακολουθήθηκαν	99

3.4.7 Αποτίμηση φασμάτων του 9- <i>d</i> -HPA.....	100
3.4.8 Μέτρηση ποσοστού δευτερίωσης μέσω φασματομετρίας μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας.....	104
3.5 Μελέτη υδρόξυ λιπαρών οξέων με φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας (HRMS).....	107
3.6 Βιοτεχνολογικές μελέτες	111
3.6.1 Βιοτεχνολογική προσέγγιση για την παραγωγή ασύμμετρου ακραίου εποξειδίου	111
3.6.2 Ενζυμικός διαχωρισμός εναντιομερών 9-υδρόξυ παλμιτικού οξέος	112
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4	113
4.1 Γενικό πειραματικό μέρος	113
4.1.1 Αντιδραστήρια και διαλύτες	113
4.1.2 Όργανα και διατάξεις.....	113
4.1.3 Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας	114
4.1.4 Χρωματογραφία στήλης	115
4.2 Πειραματικές πορείες και χαρακτηρισμοί των προϊόντων των αντιδράσεων	116
ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ	145
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	147

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1.1: Σύνθεση του 5-PAHSA.....	31
Σχήμα 1.2: Εναλλακτική σύνθεση FAHFAs.	32
Σχήμα 1.3: Σύνθεση των 5-, 9- και 10- FAHFAs.....	34
Σχήμα 1.4: Σύνθεση των 7- FAHFAs.....	35
Σχήμα 1.5: Σύνθεση ακόρεστων FAHFAs.	36
Σχήμα 1.6 Σύνθεση των FAHFAs από την επιχλωροϋδρίνη.....	37
Σχήμα 3.1: FAHFAs που σχεδιάστηκαν για σύνθεση.....	53
Σχήμα 3.2: Ρετροσυνθετική ανάλυση για τη σύνθεση FAHFAs.	54
Σχήμα 3.3: Πορεία σύνθεσης του 9-PAHSA..	56
Σχήμα 3.4: Αντίδραση [4+2]-κυκλοπροσθήκης με χρήση ιμιδαζολιδινόνης του MacMillan.	58
Σχήμα 3.5: Αντιδράσεις στις οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν οι ιμιδαζολιδινόνες του MacMillan.	58
Σχήμα 3.6: Πιθανοί σχηματισμοί ενδιάμεσων με καταλυτική χρήση των ιμιδαζολιδινονών.....	59
Σχήμα 3.7: Μηχανισμός ενεργοποίησης μέσω εναμίνης με χρήση L-προλίνης ως καταλύτη.	60
Σχήμα 3.8: Αντίδραση α-χλωρίωσης με μια προτεινόμενη μεταβατική κατάσταση.	61
Σχήμα 3.9: Αντίδραση καταλυτικής α-χλωρίωσης.....	62
Σχήμα 3.10: Ισοροπίες κατά την α-χλωρίωση.....	63
Σχήμα 3.11: Αντίδραση εποξειδωσης κατά τον MacMillan.	63
Σχήμα 3.12: Προτεινόμενος μηχανισμός α-χλωρίωσης.	64
Σχήμα 3.13: Μηχανισμός σχηματισμού ακραίου εποξειδικού δακτυλίου.	65
Σχήμα 3.14: Κινητικός διαχωρισμός εναντιομερών με χρήση συμπλόκου Mn.....	67
Σχήμα 3.15: Σχηματισμός χειρόμορφου ακραίου εποξειδίου με καταλύτη του Co.	68
Σχήμα 3.16: Κινητικός διαχωρισμός εναντιομερών με χρήση καταλύτη του Jacobsen. .	68
Σχήμα 3.17: Σχηματισμός εποξειδίου με καταλύτη Pt.....	69
Σχήμα 3.18: Πιθανά προϊόντα της διάνοιξης εποξειδίου με χρήση οργανομεταλλικών ενώσεων.....	70
Σχήμα 3.19: Σχηματισμός άλατος από την αντίδραση άλατος χαλκού και αντιδραστήριου Grignard.....	71

Σχήμα 3.20: Τοποεκλεκτικότητα αντιδραστηρίων Grignard και Gilman στην ένωση 122.	71
Σχήμα 3.21: Προτεινόμενος μηχανισμός διάνοιξης εποξειδικού δακτυλίου.....	72
Σχήμα 3.22: Φάσμα ^1H NMR του 9-PAHSA 65 (CDCl_3 , 200 MHz).....	73
Σχήμα 3.23: Φάσμα ^{13}C NMR του 9-PAHSA 65 (CDCl_3 , 50 MHz).....	74
Σχήμα 3.24: Φάσμα μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας της ένωσης 65.	74
Σχήμα 3.25: Πορεία σύνθεσης του 9-SAHPA.	75
Σχήμα 3.26: Πορεία σύνθεσης του 5-SAHPA..	76
Σχήμα 3.27: Πορεία σύνθεσης του 5-PAHSA.	77
Σχήμα 3.28: Χρωματογράφημα HPLC του ρακεμικού εποξειδίου 61.....	78
Σχήμα 3.29: Χρωματογράφημα HPLC του χειρόμορφου εποξειδίου 61.	78
Σχήμα 3.30: Χρωματογράφημα HPLC του χειρόμορφου εποξειδίου 103.	79
Σχήμα 3.31: Υδροξύ οξέα που σχεδιάστηκαν.	80
Σχήμα 3.32: Ρετροσυνθετική πορεία για τη σύνθεση του 9-HPA.....	80
3.33: Πορεία για τη σύνθεση του 9-HPA.....	81
Σχήμα 3.34: Μηχανισμός της ακέτυλο προστασίας.	82
Σχήμα 3.35: Φάσμα ^1H NMR του 9-HPA 124 (CDCl_3 , 200 MHz).....	83
Σχήμα 3.36: Φάσμα ^{13}C NMR του 9-HPA 124 (CDCl_3 , 50 MHz).	84
Σχήμα 3.37: Φάσμα μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας της ένωσης 124.	84
Σχήμα 3.38: Πορεία για τη σύνθεση του 9-HSA.....	85
Σχήμα 3.39: Επίδραση της καταλυτικής υδρογόνωσης στην ένωση 133.....	87
Σχήμα 3.40: Ρετροσυνθετική πορεία για την σύνθεση του εστέρα 9-OAHSA 135.	87
Σχήμα 3.41: Σύνθεση του εστέρα 9-OAHSA 135.....	88
Σχήμα 3.42: Μέθοδοι εστεροποίησης που πραγματοποιήθηκαν.	90
Σχήμα 3.43: Μηχανισμός εστεροποίησης μέσω χρήσης άκυλο-χλωριδίων.	90
Σχήμα 3.44: Μηχανισμός αποπροστασίας TBDMS-ομάδας.....	91
Σχήμα 3.45: Μηχανισμός εστεροποίησης μέσω χρήσης καρβοδιιμιδίου.	92
Σχήμα 3.46: Φάσμα ^1H NMR του 9-OAHSA 135 (CDCl_3 , 200 MHz).....	93
Σχήμα 3.47: Φάσμα ^{13}C NMR του 9-OAHSA 135 (CDCl_3 , 50 MHz).	94
Σχήμα 3.48: Φάσμα μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας της ένωσης 135.	95
Σχήμα 3.49: Δευτεριωμένα παράγωγα που σχεδιάστηκαν.	97
Σχήμα 3.50: Αντίδραση δευτερίωσης.....	97
Σχήμα 3.51: Μηχανισμός δευτερίωσης.....	97
Σχήμα 3.52: Μηχανισμός α-χλωρίωσης με χρήση L-προλίνης και N-χλωροσουκινιμιδίου.	98

Σχήμα 3.53: Πορεία για τη σύνθεση του δευτεριωμένου υδρόξυ οξέος 142.	99
Σχήμα 3.54: Πορεία για τη σύνθεση του δευτεριωμένου εστέρα 145.	100
Σχήμα 3.55: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 142 (CDCl_3 , 200 MHz).	100
Σχήμα 3.56: Σύγκριση κορυφής πρωτονίου του στερεογονικού κέντρου του μη δευτεριωμένου προϊόντος σε σχέση με το αντίστοιχο δευτεριωμένο.	101
Σχήμα 3.57: Φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης 142 (CDCl_3 , 50 MHz).	102
Σχήμα 3.58: Φάσμα μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας της ένωσης 145.	103
Σχήμα 3.59: Σύγκριση χρωματογραφημάτων εξαγόμενου ιόντος HRMS δευτεριωμένου και μη υδρόξυ οξέος.	104
Σχήμα 3.60: Σύγκριση κορυφής πρωτονίων του εστερικού παραγώγου πριν και μετά τη δευτερίωση.	104
Σχήμα 3.61: Σύγκριση φασμάτων HRMS διδευτεριωμένου, μονοδευτεριωμένου και μη δευτεριωμένου μονοακόρεστου εστέρα.	105
Σχήμα 3.62: α) Μοριακό ιόν του 9-HPA (μέρος του φάσματος πλήρους σάρωσης), β) MS/MS (50 eV) του μοριακού ιόντος του 9-HPA.	108
Σχήμα 3.63: Θραυσματοποίηση του 9-HPA.	108
Σχήμα 3.64: α) Μοριακό ιόν του 16-HPA (μέρος του φάσματος πλήρους σάρωσης), β) MS/MS (50 eV) του μοριακού ιόντος του 16-HPA.	109
Σχήμα 3.65: Θραυσματοποίηση του 16-HPA.	109
Σχήμα 3.66: Χρωματογράφημα ταυτόχρονου προσδιορισμού 9-HPA και 16-HPA.	110
Σχήμα 3.67: Ενζυμική υδρόλυση ακολουθούμενη από αναστροφή Mitsunobu της ένωσης 146.	111
Σχήμα 3.68: Ασύμμετρος τρόπος εποξειδωσης με χρήση ενζύμου.	111
Σχήμα 3.69: Προσπάθεια ενζυμικού διαχωρισμού των εναντιομερών της ένωσης 150.	112
Σχήμα 3.70: Προσπάθεια ενζυματικής ακυλίωσης του 9-HPA.	112

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1.1: Δομή των εστέρων των υδρόξυ λιπαρών οξέων.	24
Εικόνα 1.2: Βιοχημικό μονοπάτι των FAHFAs ύστερα από την πρόσληψή τους. ^[8]	27
Εικόνα 1.3: Αποτελέσματα φασματομετρίας μάζας ενός εκ των FAHFAs. ^[7]	28
Εικόνα 1.4: Διαχωρισμός των εναντιομερών R- και S-PAHSA. ^[19]	38
Εικόνα 1.5: Βιοχημική ανάλυση της ανοσοαπόκρισης που ενεργοποιείται ύστερα από φλεγμονή. ^[8]	42
Εικόνα 3.1: Σύμπλοκο του Mn ^[63]	67
Εικόνα 3.2: Σύμπλοκο του Co ^[65]	68

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών από τον Νοέμβριο 2016 έως τον Ιούνιο 2018, υπό την εποπτεία του Καθηγητή Γεωργίου Κόκοτου.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

1.1 Εστέρες λιπαρών οξέων με υδρόξυ λιπαρά οξέα

1.1.1 Γενικά για τον σακχαρώδη διαβήτη

Ο σακχαρώδης διαβήτης υπάγεται στην κατηγορία των νόσων του μεταβολισμού και χαρακτηρίζεται από υψηλές συγκεντρώσεις σακχάρου στο αίμα ή/και δυσλειτουργία των μηχανισμών που είναι υπεύθυνοι για τον μεταβολισμό της γλυκόζης. Για την ομοιοστάση της γλυκόζης, απαραίτητη είναι η ινσουλίνη, μια ορμόνη η οποία παράγεται από κύτταρα του παγκρέατος και έχει ως λειτουργία τη διάσπαση των σακχάρων, κυρίως βοηθώντας στην πρόσληψη της γλυκόζης από τα κύτταρα. Ο βασικός παράγοντας που θεωρείται υπαίτιος για τις διαταραχές αυτές του οργανισμού είναι η αντίσταση στην ινσουλίνη, η οποία δημιουργείται είτε από ελαττωμένη έκκριση αυτής είτε από αδυναμία των κυττάρων να διαχειριστούν σωστά την παραγόμενη ινσουλίνη.^[1]

Συνολικά, υπάρχουν τρεις κατηγορίες σακχαρώδους διαβήτη: ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1 ή ινσουλινοεξαρτώμενος, ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 ή μη ινσουλινοεξαρτώμενος και ο διαβήτης της κύησης. Ο διαβήτης τύπου 1 αποτελεί την κυριότερη μορφή διαβήτη στα παιδιά και χαρακτηρίζεται από καταστροφή των β-κυττάρων του παγκρέατος με αποτέλεσμα να μην παράγεται καθόλου ινσουλίνη ή να εκκρίνεται σε ελάχιστο ποσοστό.^[1] Ο διαβήτης τύπου 2 χαρακτηρίζεται από ανεπαρκή παραγωγή ινσουλίνης από τα β-κύτταρα καθώς και αντίσταση στην ήδη παραγόμενη ινσουλίνη λόγω δυσλειτουργίας κυττάρων και ιστών. Ύστερα από μεγάλη συσσώρευση σακχάρων στον οργανισμό το πάγκρεας ανταποκρίνεται μέσω της υπερπαραγωγής ινσουλίνης, γεγονός που σε χρόνιες καταστάσεις οδηγεί στην φθορά του με αποτέλεσμα την αύξηση του σακχάρου, το οποίο, σε τέτοιο βαθμό, δεν μπορεί να μεταβολιστεί.^[1,2] Τέλος, ο διαβήτης της κύησης εμφανίζεται κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης και είναι αποτέλεσμα μηχανισμών και αύξησης ορμονών, χαρακτηριστικών για την περίοδο της κύησης. Λόγω δράσης ορμονών που σχετίζονται με την εγκυμοσύνη ο οργανισμός βρίσκεται σε μία κατάσταση έλλειψης ινσουλίνης, εφόσον οι μηχανισμοί παραγωγής της επηρεάζονται από αυτούς της παραγωγής ορμονών. Αποτέλεσμα, σε ορισμένες περιπτώσεις, της αδυναμίας του

οργανισμού να καταπολεμήσει αυτή την κατάσταση είναι η δημιουργία στις γυναίκες του διαβήτη της κύησης ο οποίος μπορεί να είναι ιδιαίτερα επικίνδυνος για τα νεογνά και την μετέπειτα ανάπτυξή τους.^[3]

Παρόλο που οι θεραπείες για την αντιμετώπιση του διαβήτη παρουσιάζουν ανοδική τάση, οι επιπλοκές είναι ακόμα υπαρκτές με τον διαβήτη να παραμένει η σοβαρότερη αιτία διαφόρων σοβαρών παθήσεων, όπως είναι η απώλεια της όρασης λόγω βλαβών του αμφιβληστροειδούς, η νεφρική ανεπάρκεια, οι βλάβες των νεύρων, το διαβητικό πόδι και πολλών άλλων. Επιπροσθέτως, ο διαβήτης αποτελεί τον σημαντικότερο παράγοντα κινδύνου για την αθηροσκληρωτική νόσο, η οποία είναι και η κυρία αιτία νοσηρότητας και θνησιμότητας των ατόμων που έχουν διαβήτη.^[4]

Όσον αφορά στην θεραπεία του διαβήτη, στην περίπτωση του ινσουλινοεξαρτώμενου, ο ασθενής θα πρέπει να λαμβάνει ινσουλίνη (συνήθως ενέσιμη) σε καθημερινή βάση. Στην περίπτωση του διαβήτη τύπου 2 σημαντικό ρόλο παίζει η σωστή διατροφή, η οποία θα πρέπει να μην περιλαμβάνει πολλά λιπαρά, ο συχνός έλεγχος του σακχάρου, η πρόσληψη αντιδιαβητικών φαρμάκων καθώς και η χορήγηση ινσουλίνης στις περιπτώσεις που η δίαιτα και τα φάρμακα δεν προκαλούν κάποια θετική μεταβολή. Σημαντική είναι, επίσης, η αποφυγή διαφόρων παραγόντων που εντείνουν τις επιπλοκές του διαβήτη, όπως είναι η σωματική αύξηση του βάρους, η άνοδος της πίεσης, η καθιστική ζωή και το κάπνισμα.^[5]

Η παχυσαρκία και ο διαβήτης τύπου 2 (T2D) είναι τόσο διαδεδομένες νόσοι με αποτέλεσμα να έχουν πάρει διαστάσεις επιδημίας, καθώς, ήδη από το 2015, ο διαβήτης ήταν η έβδομη κύρια αιτία θανάτου στις Ηνωμένες Πολιτείες και τα ποσοστά των πασχόντων όσο πάει και αυξάνονται. Είναι γεγονός ότι ο T2D αποτελεί μια από τις πιο συχνές ασθένειες που αντιμετωπίζουν οι παθολόγοι. Υπολογίζεται, ξανά για την περίπτωση των Ηνωμένων Πολιτειών της Αμερικής ότι 23,6 εκατομμύρια άτομα έχουν διαβήτη και μόλις 17,9 εκατομμύρια από αυτές τις περιπτώσεις έχουν διαγνωσθεί. Προβλέπεται ότι ο αριθμός των διαβητικών θα ανέλθει στα 592 εκατομμύρια άτομα μέχρι το 2035 σε σύγκριση με τα 382 εκατομμύρια που υπολογίστηκαν το 2013.^[6]

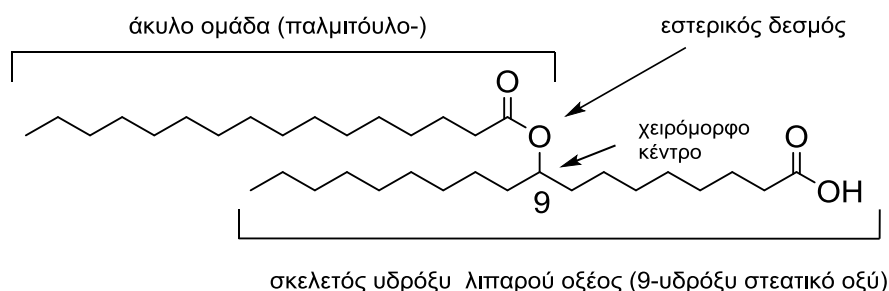
1.1.2 Ανακάλυψη μιας νέας κατηγορίας ενδογενών αντιδιαβητικών λιπιδίων

Όπως αναφέρθηκε στα ανωτέρω, η σωστή διατροφή αποτελεί σημαντική πρόληψη κατά του διαβήτη τύπου 2. Πληθώρα κλινικών μελετών πραγματοποιήθηκαν προκειμένου να γίνουν κατανοητοί οι μηχανισμοί που ενεργοποιούνται μέσω της πρόσληψης της τροφής, η σημασία των διατροφικών συστατικών που προσφέρονται μέσω αυτής καθώς και των μηχανισμών που ενεργοποιούνται μέσω της πρόσληψης λιπιδίων. Αυξημένα ποσοστά λιπαρών οξέων, γενικά, συσχετίζονται με την αντίσταση στην ινσουλίνη και τη δυσανεξία στη γλυκόζη.^[7] Η συσσώρευση λιπών στους ιστούς θεωρείται ότι συμβάλλει στην ανάπτυξη της καταστροφικής τριάδας των διαταραχών που χαρακτηρίζουν τον διαβήτη τύπου 2: την αποτυχία απόκρισης της ινσουλίνης, την αδυναμία ελέγχου της παραγωγής γλυκόζης από το ήπαρ και την αποτυχία των παγκρεατικών β-κυττάρων να αποθηκεύουν και να απελευθερώνουν ινσουλίνη.^[8]

Εντούτοις, ορισμένα λιπαρά οξέα όπως τα ωμέγα-3 λιπαρά οξέα και το ενδογενώς παραγόμενο παλμιτελαϊκό οξύ έχουν ευνοϊκές μεταβολικές δράσεις. Επιπλέον, μελέτες δείχνουν ότι μια αυξημένη αναλογία ακόρεστων προς κορεσμένα λιπαρά οξέα σε τριάκυλο γλυκερόλες ορού συσχετίζεται με μειωμένο κίνδυνο T2D.^[9] Ομοίως, ένα αυξημένο ποσοστό μονοακόρεστων προς κορεσμένα λιπαρά οξέα στο ήπαρ σχετίζεται με ευαισθησία στην ινσουλίνη, ακόμη, και με εκτεταμένη ηπατική στεάτωση. Τα δεδομένα αυτά αποτέλεσαν βάσεις για την ιδιαιτέρως διαδεδομένη μελέτη των λιπιδίων καθώς, όπως είναι εμφανές, δεν είχε γίνει ακόμα γνωστός ο ακριβής τρόπος με τον οποίο δρουν στον οργανισμό και το εάν αυτός είχε θετικά ή αρνητικά αποτελέσματα έναντι νοσημάτων όπως είναι ο διαβήτης.

Πρόσφατα, η Barbara Kahn και οι συνεργάτες της οδηγήθηκαν στην ανακάλυψη μιας νέας κατηγορίας λιπιδίων των θηλαστικών που χαρακτηρίζονται από έναν δεσμό εστέρα σε διακλάδωση μεταξύ ενός λιπαρού οξέος και ενός υδρόξυ λιπαρού οξέος ή αλλιώς FAHFAs (Fatty Acid Esters of Hydroxy Fatty Acids).^[7] Αυτή η κατηγορία εστέρων, αποτελεί μέλος μιας τάξης λιπιδίων που ονομάζονται εστολίδια (ενδομοριακοί εστέρες υδρόξυ λιπαρών οξέων) που βρίσκουν χρήση κυρίως ως βιοαποικοδομήσιμα λιπαντικά. Η

ανακάλυψη των εστολιδίων στους ανθρώπους και στα ποντίκια εισήγαγαν αυτά τα λιπίδια στη φυσιολογία των θηλαστικών.^[10]



Εικόνα 1.1: Δομή των εστέρων των υδρόξυ λιπαρών οξέων.

1.1.3 Σχέση των FAHFAs με την ομοιόσταση της γλυκόζης

Τα FAHFAs παράγονται στα λιποκύτταρα μέσω του συνθετικού μονοπατιού των λιπαρών οξέων (de novo λιπογένεση).^[10] Μελέτες που πραγματοποιήθηκαν με φασματομετρία μάζας έδειξαν πως τα συνολικά επίπεδα FAHFAs, αλλά κυρίως του PAHSA, είναι υψηλότερα στον καφέ λιπώδη ιστό (BAT), με ελάχιστη διαφορά σε σχέση με τον υποδόριο (SQT) λευκό λιπώδη ιστό (WAT), στον λιπώδη ιστό που βρίσκεται στα γεννητικά όργανα και στο ήπαρ. Τα επίπεδά τους είναι πολύ χαμηλά στην καρδιά και στον γαστροκνήμιο μυ.^[7]

Αφορμή της μελέτης του συσχετισμού τους με τον μεταβολισμό της γλυκόζης έχει να κάνει η αύξηση και, αντίστοιχα, η πτώση των επιπέδων τους ανάλογα με τη μεταβολή της έκφρασης ή μη του μεταφορέα της γλυκόζης Glut4.^[11]

Ο μεταφορέας γλυκόζης Glut4 είναι ο κύριος ινσουλινο-συσχετιζόμενος μεταφορέας γλυκόζης και μεσολαβεί στην πρόσληψή της στους σκελετικούς μύες, στην καρδιά και στα λιποκύτταρα. Σε ανθρώπους και τρωκτικά με παχυσαρκία ή T2D, ο Glut4 μειώνεται επιλεκτικά στον λιπώδη ιστό (AT) και όχι στους μύες.^[12] Το γεγονός αυτό μεταβάλλει την βιολογία του λιπώδη ιστού, πράγμα που οδηγεί σε αντίσταση στην ινσουλίνη. Κατακόρυφη πτώση των επιπέδων του GLUT4 μεταφορέα επιλεκτικά στα λιποκύτταρα σε ποντικούς οδηγεί σε αντίσταση στην ινσουλίνη και αυξημένο κίνδυνο για T2D.^[12] Η αυξημένη λιπογένεση από τον λιπώδη ιστό συνδέεται με την αυξημένη ευαισθησία στην ινσουλίνη.^[13] Έτσι, ποντίκια που υπερεκφράζουν τον

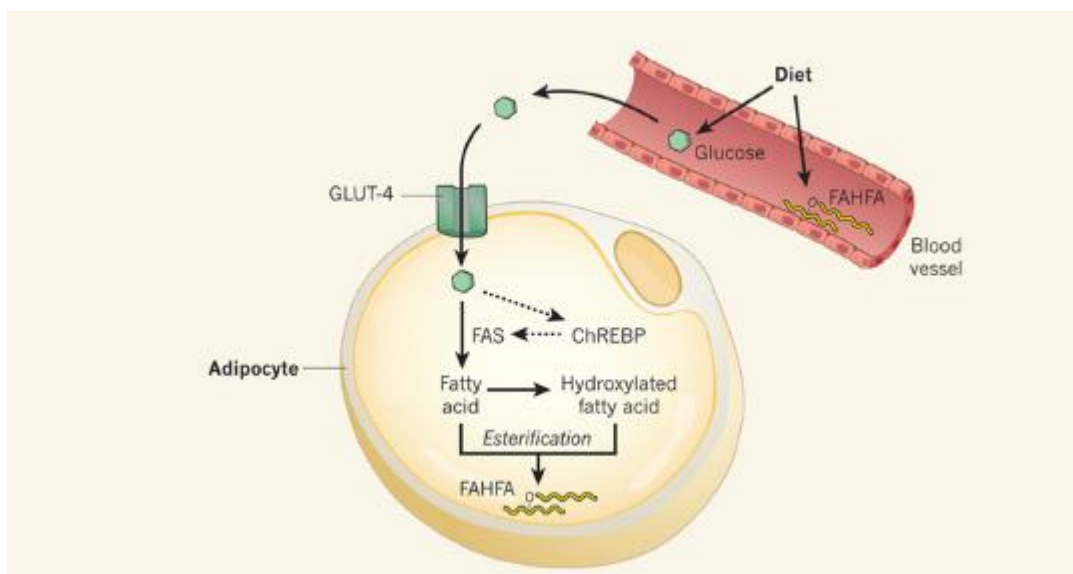
μεταφορέα γλυκόζης Glut4 (AG4OX ποντίκια) στα λιποκύτταρα έχουν αυξημένη λιπογένεση και αυξημένη ανοχή στη γλυκόζη παρά το γεγονός ότι είναι παχύσαρκα με αυξημένα λιπαρά οξέα που κυκλοφορούν δια μέσω του οργανισμού. Αυτές οι επιδράσεις σε AG4OX ποντίκια οφείλονται σε επαγωγή της λιπογένεσης στον λιπώδη ιστό, η οποία ρυθμίζεται από τον ChREBP, ένα μεταγραφικό παράγοντα που ρυθμίζει τόσο τη γλυκόλυση όσο και τη λιπογένεση. Μείωση των επιπέδων του ChREBP σε ποντικούς αντιστρέφει τελείως την ενισχυμένη ανοχή γλυκόζης.^[7] Έκφρασή του καθώς και διαφόρων άλλων λιπογόνων γονιδίων στον λιπώδη ιστό σχετίζεται άμεσα με την ευαισθησία στην ινσουλίνη στους ανθρώπους και τα τρωκτικά.^[13] Αυξημένη de novo λιπογένεση στον λιπώδη ιστό έχει ευνοϊκές μεταβολικές επιδράσεις συμπεριλαμβανομένης της δυνητικής μακροζωίας.

Ανάλυση στον λιπώδη ιστό που πραγματοποιήθηκε στα γενετικώς τροποποιημένα ποντίκια αποκάλυψε την ύπαρξη εστέρων υδρόξυ λιπαρών οξέων (FAHFAs) που ήταν αυξημένα κατά 16 έως 18 φορές σε αυτούς τους ποντικούς. Τα ισομερή FAHFAs διαφέρουν ανάλογα τη θέση στην οποία βρίσκεται ο εστερικός δεσμός στην αλυσίδα του υδρόξυ λιπαρού οξέος.^[7] Η μορφολογία των FAHFAs που εισήγαγε η Kahn και οι συνεργάτες της συνδυάζει συντομογραφίες εστεροποιημένων λιπαρών οξέων και υδρόξυ λιπαρών οξέων (π.χ. ο συνδυασμός εστεροποιημένου παλμιτικού οξέος και υδρόξυ στεατικού οξέος [HSA] συντομεύτηκε ως PAHSA). Αν και σε πρόσφατα δημοσιευμένη βιβλιοθήκη όλων των πιθανών συνδυασμών FAHFAs χρησιμοποιείται μια ονοματολογία βασισμένη στη χημική δομή, για πρακτικούς λόγους, στη συγκεκριμένη διατριβή θα χρησιμοποιηθούν συντομογραφίες (π.χ., PA για παλμιτικό οξύ, SA για στεατικό οξύ και OA για ελαϊκό οξύ, με το πρόθεμα "H" για τα υδρόξυ οξέα [HFAs] και τη θέση της διακλάδωσης).

Η κύρια λειτουργία του λευκού λιπώδους ιστού είναι να αποθηκεύει και να απελευθερώνει τα λιπίδια/λιπαρά οξέα (FAs) ανάλογα με τις ανάγκες και τη διαθεσιμότητα καυσίμων/τροφίμων. Η υδρόλυση των αποθηκευμένων τριγλυκεριδίων είναι ένα βιοχημικό μονοπάτι που ρυθμίζεται από τον ίδιο τον οργανισμό, ενώ η αντίσταση στην ινσουλίνη κατά της παχυσαρκίας σχετίζεται με την εξασθενημένη αναστολή της λιπόλυσης από την ινσουλίνη και έχει ως αποτέλεσμα αυξημένη απελευθέρωση FAs και γλυκερόλης. Η γλυκερόλη είναι

ένα σημαντικό υπόστρωμα για την ηπατική γλυκονεογένεση και τα FAs είναι σημαντικά ενεργειακά υποστρώματα για τους περιφερειακούς ιστούς. Υπέρβαση των επιπέδων των λιπιδίων προκαλείται όχι μόνο στον λιπώδη ιστό αλλά και σε αρκετούς άλλους, ενώ τα λιπίδια, συχνά, μετατρέπονται σε τριγλυκερίδια VLDL (πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες) και εκκρίνονται από το συκώτι, με αποτέλεσμα τη δυσλιπιδαιμία, η οποία σχετίζεται με την παχυσαρκία και τον T2D. Συσσώρευση λιπιδίων στο ήπαρ και στους σκελετικούς, καθώς και άλλους, μύες αποτελεί σημαντικό παράγοντα για την ανάπτυξη αντίστασης στην ινσουλίνη σε αυτούς τους ιστούς.^[14]

Τα επίπεδα των FAHFAs σχετίζονται σε μεγάλο βαθμό με την ευαισθησία στην ινσουλίνη και μειώνονται στον λιπώδη ιστό και στον ορό ανθεκτικών στην ινσουλίνη ανθρώπων. Με βάση αυτό, τα μειωμένα ποσοστά των εστέρων των λιπαρών οξέων ενδέχεται να συμβάλλουν στον κίνδυνο του διαβήτη. Στους ανθρώπους, τόσο στον ορό όσο και στον λιπώδη ιστό επηρεάζουν την ευαισθησία σε ινσουλίνη ολόκληρου του σώματος. Έτσι, μειωμένα επίπεδα FAHFAs μπορούν να χρησιμεύσουν ως βιοδείκτης για την αντίσταση στην ινσουλίνη και τον κίνδυνο για T2D.^[7] Εφόσον, η ενισχυμένη λιπογένεση ως απόκριση της υπερέκφρασης του Glut4 μεταφορέα μπορεί να οδηγήσει στην παραγωγή λιπιδίων που έχουν ευνοϊκές μεταβολικές επιδράσεις και δεδομένου του ότι η έκφραση Glut4 και ChREBP είναι μειωμένη στον λιπώδη ιστό ατόμων και τρωκτικών ανθεκτικών στην ινσουλίνη, η παραγωγή αυτών των μεταβολικά ευνοϊκών λιπιδίων είναι πιθανό να είναι χαμηλή σε αυτούς τους οργανισμούς.^[15] Για να απαντηθούν τέτοιου είδους ερωτήματα, πραγματοποιήθηκαν λιπιδομικές ανάλυσεις από ποντίκια άγριου τύπου (WT) και AG4OX ποντίκια. Πράγματι, ύστερα από φασματομετρικές μελέτες διαπιστώθηκε ότι τρωκτικά τα οποία ήταν ανθεκτικά στην ινσουλίνη δεν είχαν στον οργανισμό τους και μεγάλες ποσότητες από τους εστέρες των υδρόξυ λιπαρών οξέων.^[7]

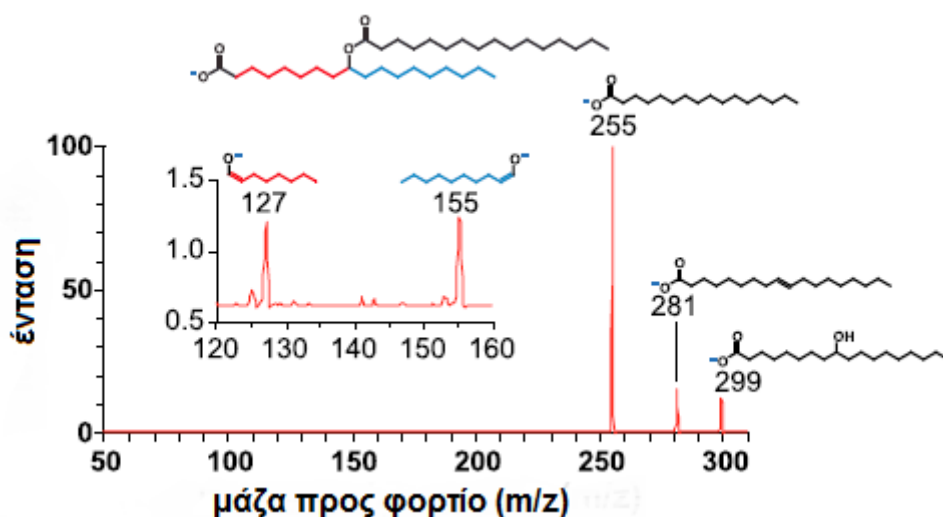


Εικόνα 1.2: Βιοχημικό μονοπάτι των FAHFAs ύστερα από την πρόσληψή τους.^[8]

1.1.4 Προσδιορισμός της δομής και της τοποεκλεκτικότητας των FAHFAs

Χρησιμοποιώντας φασματομετρία μάζας ανιχνεύθηκαν πάνω από 1.400 ιόντα στον λιπώδη ιστό, το 6% των οποίων είχε 2- έως 4-πλάσια ποσοτική διαφορά μεταξύ AG4OX και WT ποντικών. Ένα σύμπλεγμα ιόντων στον λιπώδη ιστό των AG4OX ποντικών ήταν πολύ πιο αυξημένο. Η ακριβής μάζα αυτών των ιόντων επέτρεψε τον υπολογισμό των μοριακών τους τύπων, μερικοί από τους οποίους ήταν $C_{32}H_{61}O_4$ (509.4575), $C_{34}H_{63}O_4$ (535.4732), $C_{34}H_{65}O_4$ (537.4888) και $C_{36}H_{67}O_4$ (563.5045). Αυτοί οι τύποι περιέχουν μια μοναδική δομή, η οποία αποτελείται από τέσσερα άτομα οξυγόνου που υποδεικνύουν ότι αυτά τα ιόντα είναι μέλη μιας μοναδικής κατηγορίας λιπιδίων. Ως εκ τούτου, πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός των μοριακών δομών και των βιολογικών επιδράσεων αυτών των λιπιδίων. Η παρουσία ενός ελεύθερου καρβοξυλικού οξέος σε ένα FAHFA διευκολύνει τον σχηματισμό ιόντων αποπρωτονιωμένων $[M-H]^-$ με ιοντισμό ηλεκτροψεκασμού (ESI). Ο συνολικός μοριακός τύπος (συνολικός αριθμός ανθράκων και διπλών δεσμών) λαμβάνεται εύκολα από τον στοιχειακό τύπο που προσδιορίζεται με φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικότητας. Τα συστατικά FAs και HFAs μπορούν να προσδιοριστούν με τη διάσπαση που προκαλείται από σύγκρουση του $[M-H]$, παράγοντας τα ιόντα προϊόντων $[FA-H]$ και $[HFA-H]$.^[16]

Τα θραύσματα τα οποία παρήχθησαν από τη διάσπαση του ιόντος με μοριακό βάρος 537 ήταν αρκετά και διέφεραν μεταξύ τους έχοντας μάζες 255, 281 και 299, που αντιστοιχούν σε παλμιτικό οξύ (PA), οκταδεκενοϊκό οξύ και υδροξυ-στεατικό οξύ (HSA), αντίστοιχα. Ο μοριακός τύπος του ιόντος 537 ($C_{34}H_{65}O_4$) δεν περιέχει διπλούς δεσμούς. Αυτό υποδεικνύει ότι το οκταδεκενοϊκό οξύ, το οποίο περιέχει έναν διπλό δεσμό, προκύπτει από θραυσματοποίηση στο MS και δεν αποτελεί μέρος του φυσικού μεταβολίτη. Με βάση τον χημικό τύπο και το γεγονός ότι αυτός ο μεταβολίτης ιονίζεται μόνο σε αρνητικές περιοχές, η πιο λογική δομή για το ιόν 537 είναι ένας εστέρας που συνδυάζει PA και HSA για να δώσει παλμιτούλο υδροξυ-στεατικό οξύ (PAHSA).^[7]



Εικόνα 1.3: Αποτελέσματα φασματομετρίας μάζας ενός εκ των FAHFA.^[7]

Σύμφωνα με αυτό το δομικό μοντέλο και τις μάζες που ανιχνεύθηκαν για τα άλλα ιόντα, οι δομές τους είναι παρόμοιες, με τον συνδυασμό του παλμιτικού, ελαϊκού και στεατικού οξέος να συμμετάσχουν απαρτίζοντας τις ακυλο-αλυσίδες των μορίων.

Μελέτες έδειξαν πολλαπλές κορυφές στα χρωματογραφήματα που αντιστοιχούν σε διαφορετικά ισομερή PAHSA με τον εστερικό δεσμό να συνδέεται με διαφορετικό άνθρακα του υδροξυ λιπαρού οξέος με αποτέλεσμα ένα διακλαδισμένο λιπίδιο. Από αυτούς, τα PAHSAs που ανακαλύφθηκαν είχαν τον εστερικό δεσμό στους άνθρακες 5, 7, 8, 10, 11, 12 και 13. Έτσι, προκύπτει το ότι υπάρχουν τουλάχιστον οκτώ ισομερή. Σε αυτά, επετεύχθη ο πλήρης διαχωρισμός τους εκτός των 13- και 12-, τα οποία αντιμετωπίζονται

ως σύνολο. Η μεγάλη ποσότητα ισομερών δείχνει και την αφθονία σε FAHFAs τα οποία μπορούν να συντεθούν στον οργανισμό.^[7]

Σύμφωνα με αναφορές σε δημοσιεύσεις που αφορούσαν τα FAHFAs, η ομάδα υδροξυλίου μπορεί να τοποθετηθεί σε όλους τους άνθρακες εκτός από τον τερματικό.^[17]

Στους ποντικούς AG4OX, όλα τα ισομερή PAHSAs είναι αυξημένα στον ορό και στον λιπώδη ιστό με το 9-PAHSA να βρίσκεται σε μεγαλύτερη αφθονία. Η πλειοψηφία, έτσι, των FAHFAs στον ορό ήταν το PAHSA και το PAHOA, με συγκεντρώσεις περίπου 35 και 25% αντίστοιχα, ακολουθούμενα από το SAHOA, το OAHOA και το OAHSA, με σχετικές συγκεντρώσεις από 5 έως 15%.^[18]

Στο συκώτι AG4OX ποντικών, τα ισομερή PAHSA μειώνονται σε σύγκριση με αυτών που δεν είναι γενετικά τροποποιημένα. Το ήπαρ που είναι, επίσης, ένας λιπογενής ιστός, έχει μόνο 13/12- και 9-PAHSAs. Προχωρώντας την μελέτη λίγο παρακάτω, αποδείχθηκε ότι ενώ τόσο τα 5- όσο και τα 9-PAHSAs έχουν ισχυρά αντιδιαβητικά αποτελέσματα *in vivo* και ενισχύουν τη μεταφορά της γλυκόζης και την έκκριση ινσουλίνης, μόνο το 9-PAHSA έχει αντιφλεγμονώδη αποτελέσματα στα δενδριτικά κύτταρα, εντείνοντας την άποψη ότι τα διαφορετικά τοποϊσομερή έχουν και διαφορετική βιολογική δραστηριότητα.^[19]

Το εάν η αύξηση των ποσοστών των εστέρων των υδρόξυ λιπαρών οξέων σχετίζεται με τη διατροφή σε περίοδο νηστείας ή τη διατροφή υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά μελετήθηκε ταυτόχρονα με το κατά πόσο τα FAHFAs προσλαμβάνονται από τα τρόφιμα. Η υψηλή σε λιπαρά διατροφή είχε διαφορετικά αποτελέσματα στα ισομερή PAHSAs. Τα 5- και 13/12-PAHSAs μειώθηκαν στον ορό των ποντικών, και στους λιπώδεις ιστούς με τη διαφορά να μην είναι το ίδιο μεγάλη και για τα 13/12-PAHSAs σε σχέση με τους εστέρες που είχαν το δεσμό στη 5 θέση. Εν αντιθέσει με αυτά, τα 10-, 9-, 8- και 7-PAHSA αυξήθηκαν στον λιπώδη ιστό αυτών των ποντικών. Έτσι, προέκυψε το συμπέρασμα ότι τα περισσότερα από αυτά τα ισομερή μειώθηκαν στον λιπώδη ιστό και παρέμειναν αμετάβλητα στον ορό. Τα 13/12- και 9-PAHSA, επίσης, μειώθηκαν στο ήπαρ.^[7]

Για να διαπιστωθεί εάν οι μεταβολές των επιπέδων PAHSA θα μπορούσαν να προκύψουν από διαφορές στη διατροφική πρόσληψη,

μετρήθηκαν τα επίπεδα PAHSA στα τρωκτικά και στα τρόφιμα για τον άνθρωπο. Στα τρόφιμα, εντοπίστηκαν πέντε από τα επτά ισομερή που υπάρχουν στο λιπώδη ιστό, τα 13/12-, 11-, 10-, 9-, και 8-PAHSA, χωρίς όμως να βρεθούν τα 7 και 5-PAHSA. Σε σχέση με την απλή διατροφή και την υψηλή σε λιπαρά, τα επίπεδα όλων αυτών των ισομερών ήταν σημαντικά χαμηλότερα στη δεύτερη. Δεδομένου ότι τα PAHSAs αυξάνονται στους ιστούς κατά τη διάρκεια της νηστείας, η ρύθμιση των επιπέδων τους δεν αντανakλά στην πρόσληψη τροφής. Ομοίως, η αφθονία των ισομερών PAHSA στον ορό και τους ιστούς δεν συσχετίζεται με τα διάφορα ισομερή που βρίσκονται στις τροφές, υποδεικνύοντας ότι τα PAHSAs που υπάρχουν στους ιστούς συντίθενται ενδογενώς. Το γεγονός ότι το 5-PAHSA δεν είναι παρόν ούτε στη φυσιολογική διατροφή αλλά ούτε σε αυτή που είναι πλούσια σε λιπαρά στα ποντίκια αλλά είναι παρόν στον λιπώδη ιστό, τον ορό και στο νεφρό υποστηρίζει περαιτέρω αυτή την πρόταση.^[7]

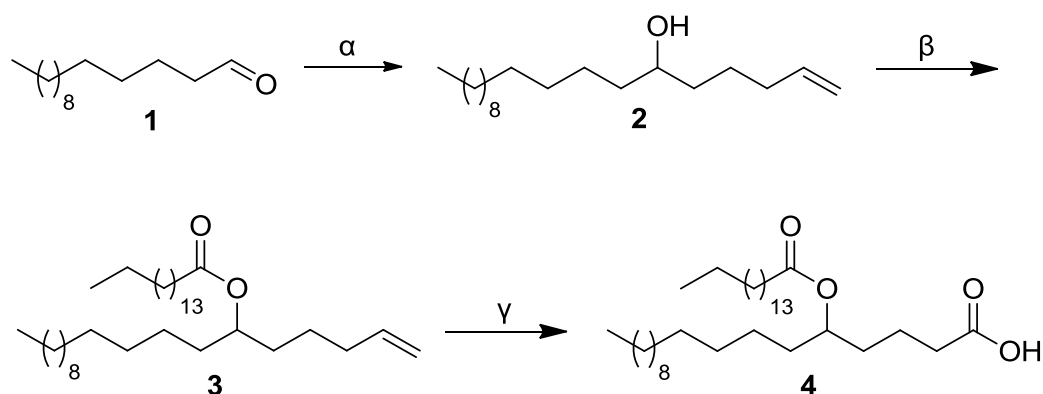
Δεδομένου του ότι τα λιπίδια αυτά συντίθενται *in vivo*, πραγματοποιήθηκαν προσπάθειες για την εύρεση εναντιοϊσομέρειας στα μόρια αυτά, εφόσον στην περίπτωση ενζυματικής σύνθεσής τους η ύπαρξη εναντιομερών θα ήταν πιθανή και, ίσως, το ένα από τα δύο ή η πλειοψηφία κάποιου εκ των δύο θα μπορούσε να προσδίδει τη βιολογική δράση σε αυτού του είδους τα μόρια.

1.1.5 Συνθέσεις FAHFAs

Επειδή τα αντιφλεγμονώδη και αντιδιαβητικά χαρακτηριστικά των εστέρων των λιπαρών οξέων ανακαλύφθηκαν πρόσφατα, λίγες είναι οι ερευνητικές ομάδες οι οποίες τους έχουν μελετήσει. Ακόμα λιγότερες είναι αυτές που έχουν προτείνει συνθετικές πορείες για τη σύνθεση των βιοδραστικών αυτών μορίων με μόνο τέσσερις να έχουν δημοσιευθεί. Η πρόκληση αυτών των συνθέσεων είναι κυρίως ο σχηματισμός της ελεύθερης υδροξυλομάδας στην επιθυμητή θέση και η εστεροποίησή της παρουσία της ομάδας του καρβοξυλίου.^[20]

Η πρώτη ολική σύνθεση εστέρων των υδρόξυ λιπαρών οξέων που πραγματοποιήθηκε παρουσιάστηκε από την Kahn και τους συνεργάτες της.^[7] Η σύνθεση αναπτύχθηκε το 2014 και αποτελείται από την προσθήκη αντιδραστήριου Grignard στην αλδεΐδη **1** με αποτέλεσμα την παραγωγή της

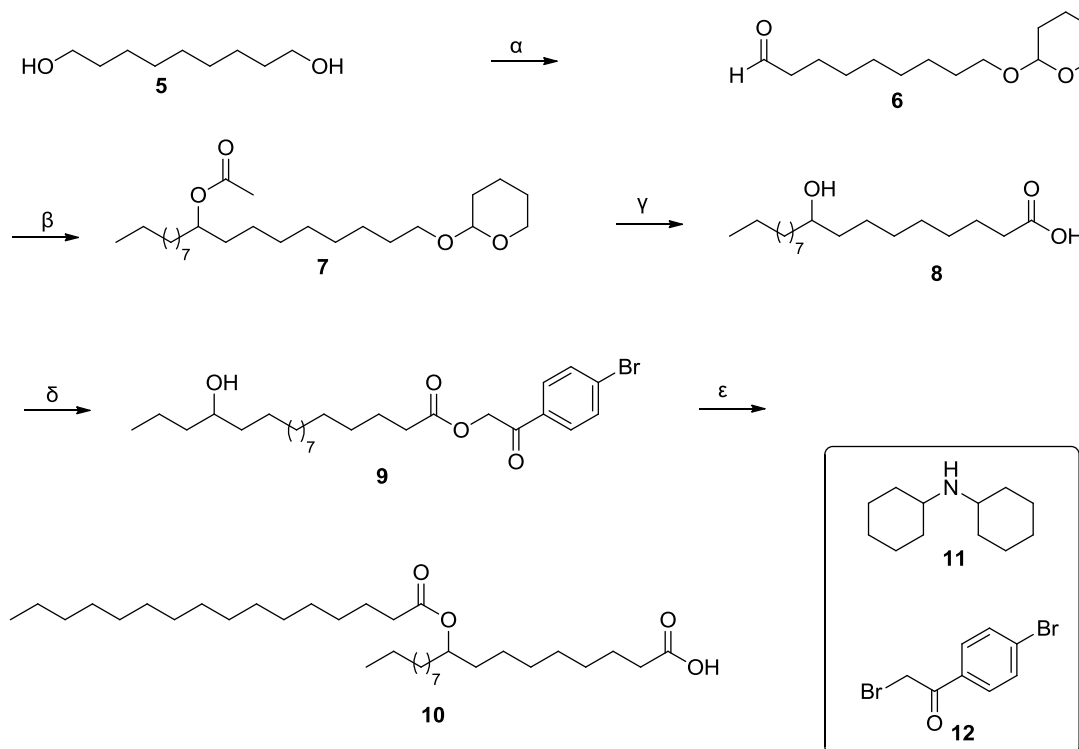
δευτεροταγούς αλκοόλης **2**. Το αντιδραστήριο Grignard πεντ-4-εν-1-υλο μαγνήσιο βρωμίδιο συμμετείχε στον σχηματισμό της τερματικής ολεφίνης **3**, η οποία οξειδώθηκε προς το αντίστοιχο καρβοξυλικό οξύ δίνοντας το επιθυμητό προϊόν **4** σε εξαιρετικές αποδόσεις μετά από ακυλίωση με στεατικό ανυδρίτη παρουσία τριαιθυλαμίνης και DMAP και δημιουργία αλδεϋδικού ενδιαμέσου με χρήση όζοντος. Αν και η αντίδραση Grignard έλαβε χώρα με χαμηλή απόδοση, η στρατηγική αυτή είχε το πλεονέκτημα ότι ήταν ιδιαίτερα σύντομη. Το στάδιο της οζονόλυσης εμποδίζει την εφαρμογή αυτής της αλληλουχίας στην παρασκευή FAHFA που περιέχει ακόρεστα FAs, όπως το ελαϊκό οξύ.^[7]



Σχήμα 1.1: Σύνθεση του 5-PAHSA. (α) C_5H_9MgBr , THF, 0-23 °C, (β) $[CH_3(CH_2)_{16}CO]_2O$, DMAP, Et_3N , DCM, (γ) i. O_3 , PPh_3 , CH_2Cl_2 , -10-23 °C, ii. $NaClO_2$, NaH_2PO_4 , t-BuOH, 2-μεθυλο-2-βουτένιο, -10-23 °C.

Η ίδια ομάδα δημοσίευσε μια εναλλακτική μέθοδο σύνθεσης.^[21] Η εκκίνησή της πραγματοποιείται με την εισαγωγή στην εμπορικώς διαθέσιμη 1,9-εννεανοδιόλη μιας διυδρο-πυρανικής ομάδας. Στη συνέχεια, η μονοπροστατευμένη αλκοόλη οξειδώθηκε στην αλδεϋδη **6** με τη χρήση PCC. Στην αλδεϋδη **6** προστέθηκε το αντιδραστήριο Grignard $CH_3(CH_2)_8MgBr$ προκειμένου να ληφθεί η δευτεροταγής αλκοόλη, στην οποία το υδροξύλιο βρίσκεται στη θέση 9. Προσθήκη οξικού ανυδρίτη έδωσε το παράγωγο **7** από το οποίο ξεκίνησε μία σειρά one-pot αντιδράσεων, η οποία περιελάμβανε την αποπροστασία της διυδρο-πυρανικής ομάδας με τολουολοσουλφονική πυριδίνη, την οξείδωση της πρωτοταγούς αλκοόλης με PCC και την, περαιτέρω, οξείδωση της αλδεϋδης με όξινο διάλυμα $NaClO_2$. Η αποπροστασία της ακέτυλο- ομάδας πραγματοποιήθηκε κάτω από βασικές συνθήκες με τη χρήση υδροξειδίου του λιθίου, από όπου και παραλήφθηκε το

9-υδρόξυ στεατικό οξύ. Στη συνέχεια, το υδρόξυ οξύ αντέδρασε με 2-βρωμο-1-(4-βρωμοφαινυλο) αιθανόνη (**12**) για να δώσει τον προστατευμένο εστέρα **9**, ο οποίος με ακυλίωση του υδροξυλίου με παλμιτόυλο χλωρίδιο παρουσία διμεθυλάμινο-πυριδίνης και αποπροστασία με σκόνη ψευδαργύρου σε οξικό οξύ οδηγήθηκε στον τελικό εστέρα 9-PAHSA.^[21]

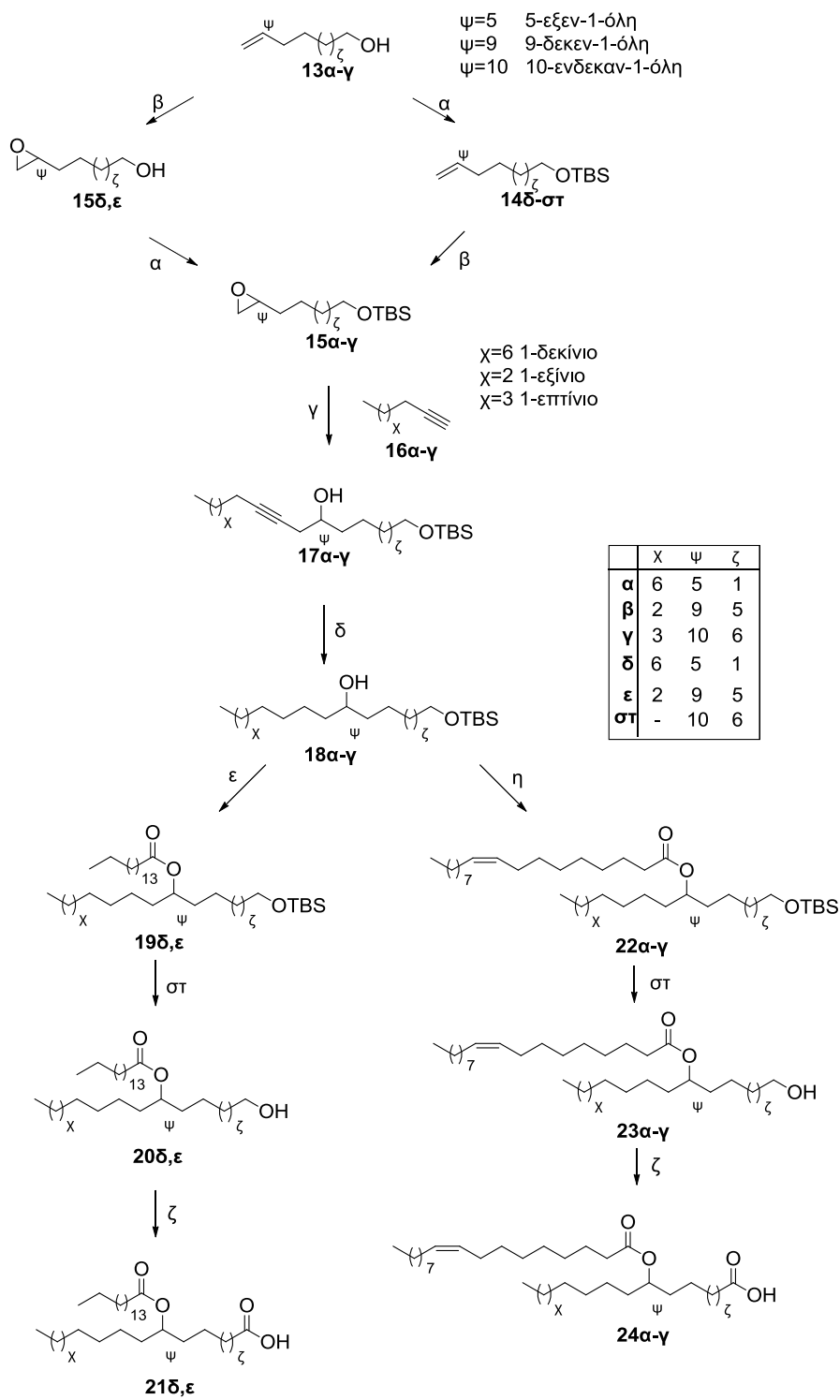


Σχήμα 1.2: Εναλλακτική σύνθεση FAHFAs. (α) i. DHP, PPTS και ii. PCC, (β) i. $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{MgBr}$ και ii. Ac_2O , (γ) i. EtOH, PPTS, ii. PCC, iii. NaClO_2 και iv. LiOH, (δ) **11**, **12**, (ϵ) i. παλμιτόυλο χλωρίδιο και ii. Zn σκόνη, AcOH.

Μια τρίτη σύνθεση, δημοσιευμένη από την Balas και τους συνεργάτες της αποτέλεσε τον διάδοχο των άλλων δύο.^[22] Η ερευνητική ομάδα ολοκλήρωσε μια αποτελεσματική σύνθεση FAHFAs από εμπορικά διαθέσιμα τερματικά αλκένια και αλκύνια. Τα βασικά βήματα περιελάμβαναν ένα βήμα ανοίγματος εποξειδικού δακτυλίου με ακετύλιδο καρβανιόντα, το οποίο επετεύχθη με τη χρήση BF_3 , ακολουθούμενη από υδρογόνωση ενός αλκυνίου. Το καρβοξυλικό οξύ των υδροξυλιωμένων αλυσίδων εισήχθη στο τελευταίο στάδιο της σύνθεσης προκειμένου η εστεροποίηση της διακλαδισμένης υδροξυλομάδας από τα λιπαρά οξέα να προηγηθεί του σχηματισμού του οξέος. Η σύνθεση αυτή αφορούσε εναντιομερή τα οποία είχαν το δεσμό του εστέρα στο 5ο, 7ο, 9ο ή 10ο άτομο άνθρακα. Η ίδια ομάδα πραγματοποίησε

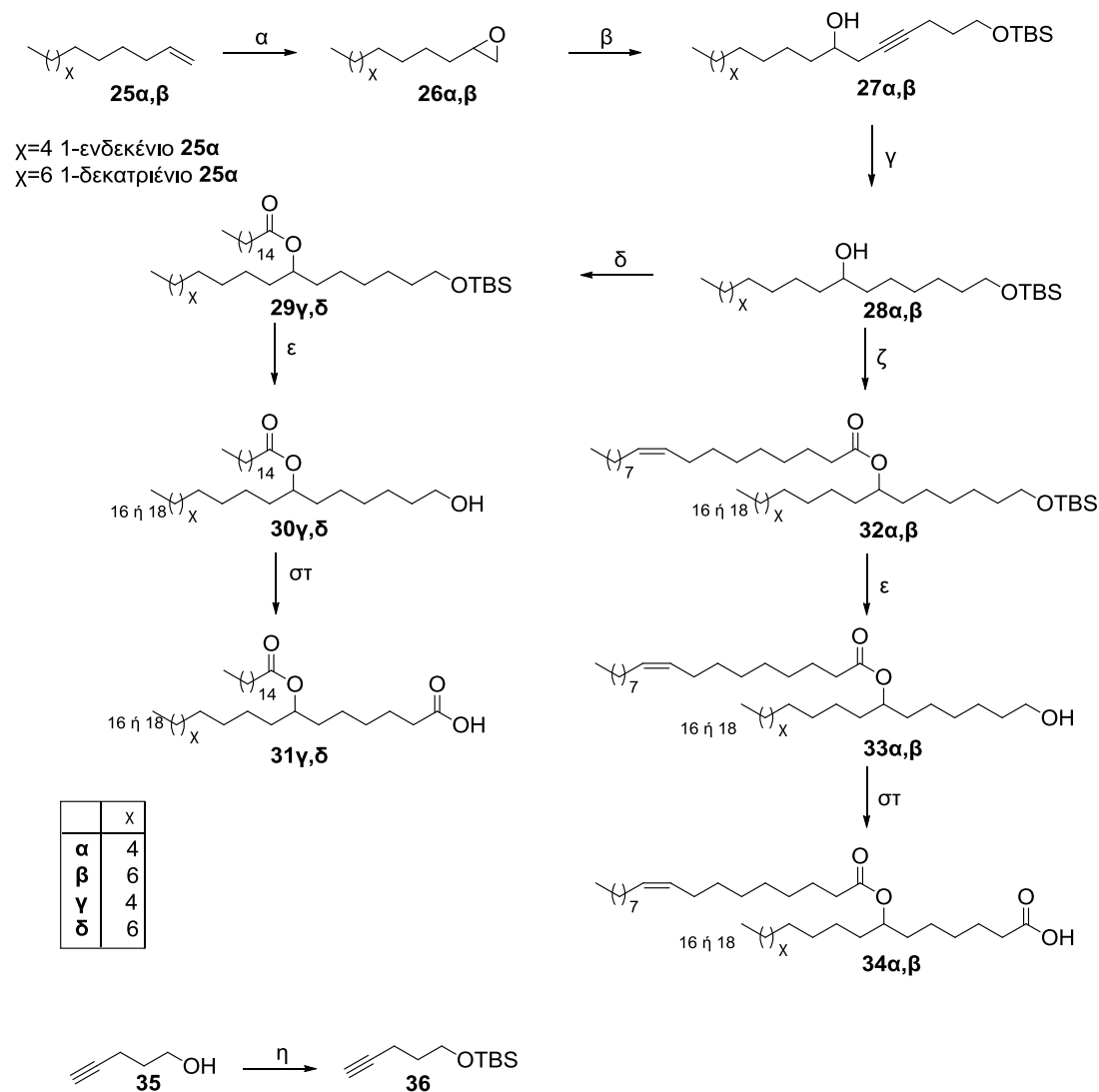
και την ολική σύνθεση ενός διακλαδισμένου FAHFAs που περιελάμβανε ένα (Z)-διπλό δεσμό στην αλυσίδα του υδρόξυ οξέος.^[22]

Δύο συνθετικά μονοπάτια ακολουθήθηκαν ανάλογα με τη θέση του διακλαδισμένου εστερικού δεσμού. Όσον αφορά στα 5-, 9- και 10- FAHFAs τη σιλυλίωση των εμπορικά διαθέσιμων υδροξυαλκενίων **13α-γ**, ακολουθεί η εποξείδωση με MCPBA η οποία παρείχε τα εποξείδια **15α-γ** σε εξαιρετικές αποδόσεις. Η αναστροφή αυτών των δύο βημάτων, δηλαδή εποξείδωση με MCPBA, και κατόπιν σιλυλίωση των αλκοολών **15δ,ε**, ήταν λιγότερο αποτελεσματική. Η συνθετική πορεία συνεχίστηκε με την προσθήκη στα εποξείδια των εμπορικώς διαθέσιμων αλκινίων **16α-γ** με ακετυλίδιο του λιθίου και παρουσία $\text{BF}_3 \cdot \text{O}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$. Υδρογόνωση με τον καταλύτη Rosenmund, επέτρεψε την μετατροπή των αλκινίων **17α-γ** στις ενώσεις **18α-γ** σε πολύ καλές αποδόσεις. Αν και εξαιρετικά αργή (από 48 ώρες έως 72 ώρες στους 28 °C), εστεροποίηση με ελαϊκό οξύ (OA) ή παλμιτικό οξύ (PA) παρουσία DMAP και ελαφρά περίσσεια 1-αιθυλ-3-(3-διμεθυλαμινοπροπυλ)καρβοδιιμιδίου (EDCI) έδωσε τις πρόδρομες μορφές των εστέρων **22α-γ** και **19δ,ε**. Steglich εστεροποίηση (με δικυκλοεξυλοκαρβοδιιμίδιο, DMAP) έδωσε τους λιπαρούς εστέρες **23α-γ** και **20δ,ε** σε παρόμοιες αποδόσεις αλλά σε μικρότερους χρόνους αντίδρασης (15 ώρες έως 24 ώρες). Ακολούθως, αποπροστασία της *tert*-βουτυλοδιμεθυλοσίλυλο ομάδας παρουσία ανιόντων φθορίου ακολουθούμενη από οξείδωση Jones έδωσε τα επιθυμητά διακλαδισμένα FAHFAs **21δ, ε** και **24α-γ**.^[22]



Σχήμα 1.3: Σύνθεση των 5-, 9- και 10- FAHFAs. (α) TBSCl, ιμιδαζόλιο, CH₂Cl₂, (β) MCPBA, (γ) n-BuLi, BF₃·O(C₂H₅)₂, **16α-γ**, (δ) H₂, Pd/BaSO₄, (ε) παλμιτικό οξύ, DCC, DMAP, (στ) TBAF, (ζ) αντιδραστήριο Jones, (η) ελαϊκό οξύ, EDCI, DMAP ή DCC, DMAP.

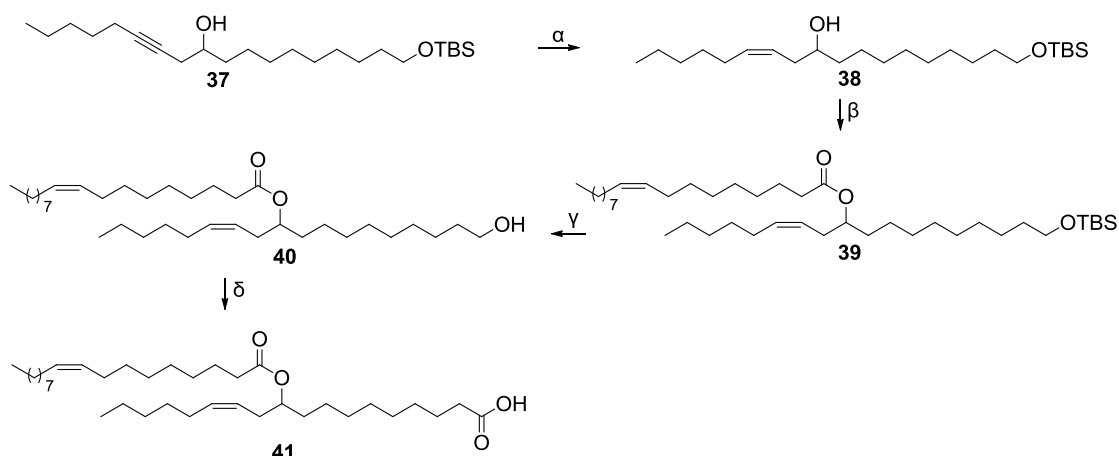
Τα FAHFAs που έχουν τον δεσμό εστέρα στη θέση 7 δεν μπορούσαν να ληφθούν από το 1-υδροξυ-7-οκτένιο δεδομένου ότι δεν ήταν εμπορικά διαθέσιμο. Για τη σύνθεση, λοιπόν, αυτού του τοποϊσομερούς ακολουθήθηκε πορεία, η οποία είναι παρόμοια με τη σύνθεση των υπόλοιπων εστέρων με την διαφορά ότι η ακραία ολεφίνη εκκίνησης **25α,β** δεν περιλαμβάνει ομάδα υδροξυλίου. Αντίθετα, το μη οξυγονωμένο ακραίο αλκύνιο **16** στην προηγούμενη σύνθεση αντικαθίσταται σε αυτή με την 4-πεντυν-1-όλη **35**.^[22]



Σχήμα 1.4: Σύνθεση των 7- FAHFAs. (α) MCPBA, (β) n-BuLi, $\text{BF}_3 \cdot \text{O}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$, **36**, THF, -78 °C, (γ) H_2 , Pd/BaSO₄, (δ) παλμιτικό οξύ, DCC, DMAP, (ε) TBAF, (στ) αντιδραστήριο Jones, (ζ) ελαϊκό οξύ, DCC, DMAP, (η) TBSCl, ιμιδαζόλιο, CH_2Cl_2 .

Όπως συνοψίζεται στο σχήμα 4, τα ακόρεστα FAHFAs όπως το 10-ΟΑΗFA **41** παρασκευάστηκαν από την ίδια πρόδρομη ένωση **37**. Ημι-

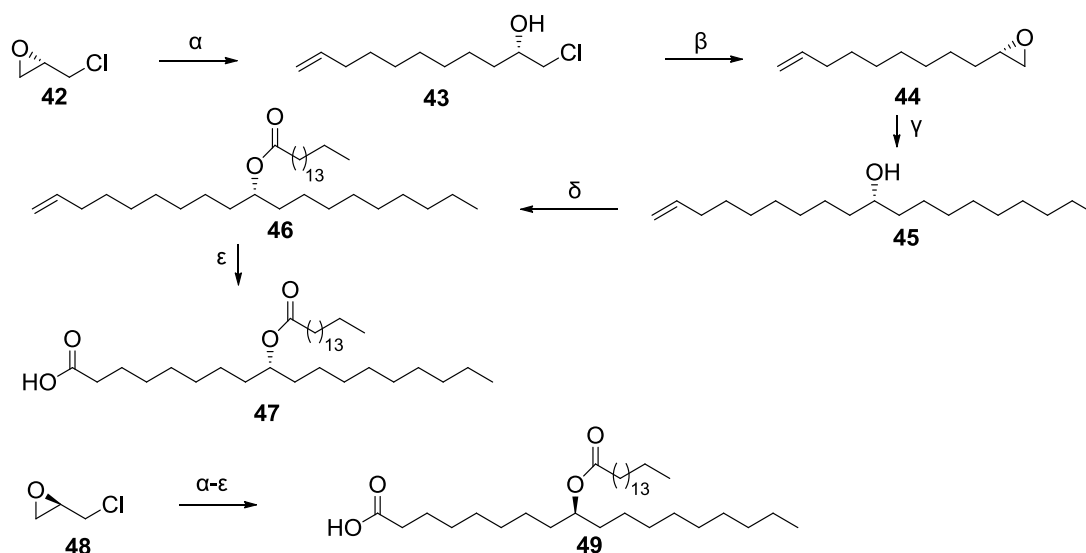
υδρογόνωση της **37** με τη χρήση ενός καταλύτη νικελίου (καταλύτης Brown) έδωσε την μονοπροστατευμένη ακόρεστη διόλη **38** σε εξαιρετική απόδοση. Στη συνέχεια, ακολούθησε εστεροποίηση με ελαϊκό οξύ, αποπροστασία του σιλυλαιθέρα **39** και, τέλος, οξειδωση Jones της πρωτοταγούς αλκοόλης **40**, η οποία έδωσε τον επιθυμητό στόχο **37** σε εξαιρετικές αποδόσεις. Αυτή η βολική και αποτελεσματική σύνθεση του ακόρεστου διακλαδισμένου ΟΑΗFA **41** ανοίγει τις πόρτες στη σύνθεση πολλών άλλων ακόρεστων διακλαδισμένων FAHFAs.^[22]



Σχήμα 1.5: Σύνθεση ακόρεστων FAHFAs. (α) P2-Ni καταλύτης Brown, (β) ελαϊκό οξύ, DCC, DMAP, (γ) TBAF, (δ) αντιδραστήριο Jones.

Μέχρι πρόσφατα, οι μελέτες οι οποίες είχαν πραγματοποιηθεί οδηγούσαν σε ρακεμικά μείγματα, και ο ρόλος της στεreoχημείας παρέμενε ανεξερεύνητος. Εν τούτοις, επετεύχθη η σύνθεση των *R*- και *S*- παλμιτόυλο 9-υδροξυ στεατικών εστέρων (*R*-9-PAHSA, *S*-9-PAHSA). Χρησιμοποιώντας επιχλωροϋδρίνη ως μια εμπορικώς διαθέσιμη, χειρόμορφη πρώτη ύλη, η σύνθεση του *R*-9-PAHSA ξεκίνησε με την προσθήκη του 7-οκτενυλομαγνήσιου βρωμιδίου στην *S*-(+)-επιχλωροϋδρίνη **42** χρησιμοποιώντας ως καταλύτη ιωδιούχο χαλκό (I) για να παραχθεί η χλωροϋδρίνη **43**. Ο σχηματισμός εποξειδίου από τη χλωροϋδρίνη **43**, ο οποίος οδήγησε στο εποξείδιο **44**, ακολουθήθηκε από μία δεύτερη αντίδραση ανοίγματος εποξειδίου στην λιγότερο υποκατεστημένη θέση χρησιμοποιώντας οκτυλομαγνήσιο χλωρίδιο παρουσία ιωδιούχου χαλκού για να δώσει τη δευτεροταγή αλκοόλη **45** ως στερεό. Η διατήρηση της απεικόνισης στο

χειρόμορφο κέντρο, ελέγχθηκε με παραγωγοποίηση του **45** προς S-O-ακετυλο-μανδελικό εστέρα με την εναντιομερική περίσσεια που βρέθηκε να είναι μεγαλύτερη από 99:1. Παλμιτοϋλίωση της αλκοόλης **45** με παλμιτόϋλο-χλωρίδιο και πυριδίνη έδωσε τον εστέρα **46**. Αντίδραση του **46** με όζον παρουσία N-οξειδίου N-μεθυλομορφολίνης (NMO) ακολουθούμενη από οξείδωση Pinnick του ενδιαμέσου έδωσε το R-9-PAHSA παράγωγο **47** σε απόδοση 55%. Η αποικοδόμηση του R-9-PAHSA με σαπωνοποίηση έδωσε το R-9-HSA. Τα S-9-PAHSA και S-9-HSA συντέθηκαν με ανάλογο τρόπο, χρησιμοποιώντας την R-(+)-επιχλωροϋδρίνη **48** στην αρχή της σύνθεσης (στην θέση της S-(+)-επιχλωροϋδρίνης **42**) μέσω της ίδιας αλληλουχίας 5 σταδίων με 61% συνολική απόδοση.^[19]

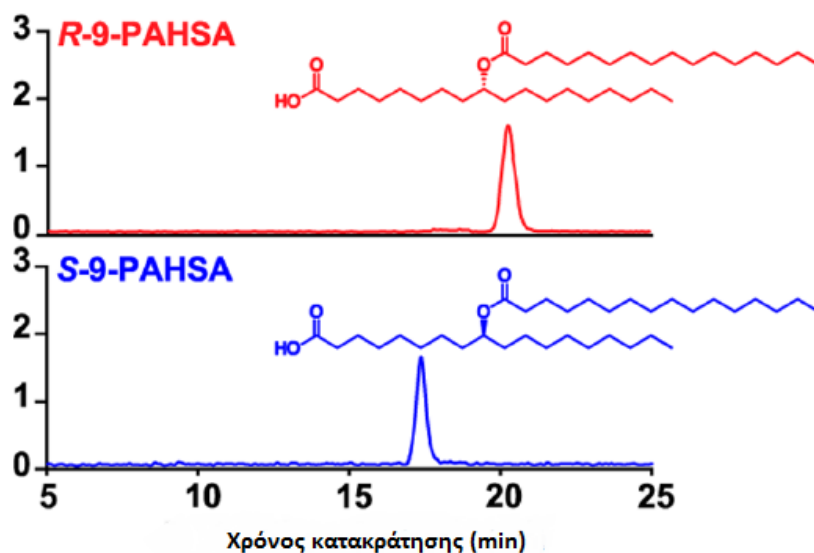


Σχήμα 1.6 Σύνθεση των FAHFAs από την επιχλωροϋδρίνη. (α) $C_8H_{15}MgBr$, CuI , THF, -78 έως 23 °C, (β) $NaOH$, Et_2O , 23 °C, (γ) $C_8H_{17}MgCl$, CuI , Et_2O , -78 έως 23 °C (σε δύο βήματα), (δ) $CH_3(CH_2)_{14}COCl$, πυριδίνη, CH_2Cl_2 , $0-23$ °C, (ϵ) O_3 , NMO, CH_2Cl_2 , -10 °C και στη συνέχεια $NaClO_2$, NaH_2PO_4 , 2-μέθυλο-2-βουτένιο, $t-BuOH$, 23 °C.

1.1.6 Διαχωρισμός των εναντιομερών FAHFAs και η εκλεκτική υδρόλυση τους

Στην προσπάθεια να βρεθεί μια μέθοδος για τη διαφοροποίηση και, κατά συνέπεια, τον προσδιορισμό του εναντιομερούς που βρίσκεται σε περίσσεια ενδογενώς, χρησιμοποιήθηκε μια μέθοδος που χρησιμοποιεί μια Lux 3 μm στήλη κυτταρίνης-3 σε συνδυασμό με ισοκρατική κινητή φάση

MeOH/H₂O/μυρμηκικού οξέος (96 : 4 : 0,1). Κάτω από αυτές τις συνθήκες, το *R*-9-PAHSA εκλούεται από τη στήλη στα 20,2 λεπτά, ενώ το *S*-9-PAHSA εκλούεται στα 17,4 λεπτά, αποδίδοντας 2,8 λεπτά διαχωρισμού μεταξύ των δύο.^[19] Ένας περιορισμός με αυτή τη μέθοδο είναι το γεγονός ότι οι συνθήκες για την υγρή χρωματογραφία που απαιτούνται για τον διαχωρισμό των δύο ισομερών χρησιμοποιούν μυρμηκικό οξύ, έναν τροποποιητή κινητής φάσης που συνήθως χρησιμοποιείται σε θετικούς ιονισμούς, αλλά η ανίχνευση του 9-PAHSA με φασματομετρία μάζας απαιτεί αρνητικό ιονισμό. Έτσι, με την παρουσία 0,1% μυρμηκικού οξέος, παρατηρήθηκε μείωση της ευαισθησίας της ανίχνευσης πράγμα που ενισχύει την ανάγκη για χρήση δείγματος με υψηλές συγκεντρώσεις αυτού του λιπιδίου. Φυσικά, ο διαχωρισμός των δύο εναντιομερών είναι μεγάλης σημασίας και πληθώρα μελετών υψηλής διακριτικότητας είτε μεθόδων LC-MS είτε MS/MS έχουν δημοσιευθεί.^[16,17,18,22,23] Σε παλαιότερες μελέτες, παραδείγματος χάριν, χρησιμοποιούταν αντί του μυρμηκικού οξέος το οξικό αμμώνιο, το οποίο όμως εγκαταλείφθηκε καθώς πρόσφατες έρευνες αναφέρουν ότι δεν μπορούσε να πραγματοποιηθεί ο διαχωρισμός των δύο εναντιομερών.^[19]



Εικόνα 1.4: Διαχωρισμός των εναντιομερών *R*- και *S*-PAHSA.^[19]

Η πρόσβαση σε υψηλής εναντιοκαθαρότητας PAHSAs και η ανάπτυξη της μεθόδου υγρής χρωματογραφίας-φασματομετρίας μάζας (LC-MS) που αναφέρθηκε για τον διαχωρισμό και τον ποσοτικό προσδιορισμό των *R*- και *S*-9-PAHSAs, είχε ως αποτέλεσμα την ταυτοποίηση του *R*-9-PAHSA ως το κυρίαρχο στερεοϊσομερές που συσσωρεύεται στον λιπώδη ιστό γενετικά

τροποποιημένων ποντικών. Επιπλέον, η βιοχημική ανάλυση της βιοσύνθεσης και της αποικοδόμησης του 9-PAHSA δείχνει ότι τα ένζυμα και οι οδοί για την παραγωγή του PAHSA είναι στερεοειδικοί, με κυτταρικές σειρές που ευνοούν την παραγωγή του *R* ισομερούς πράγμα που οφείλεται κυρίως στη λιπάση καρβοξυλεστέρα (CEL), ένα αποικοδομητικό ένζυμο που λειτουργεί ως υδρολάση των εστέρων αυτών, το οποίο επιλεκτικά υδρολύει το *S* ισομερές.^[19] Το CEL είναι ένζυμο του παγκρέατος, το οποίο εκκρίνεται στο έντερο για να βοηθήσει με την πέψη των λιπιδίων από τη διατροφή.^[19]

Εκτός από την CEL, και άλλες λιπάσες φαίνεται πως είναι υπεύθυνες για την αποικοδόμηση των FAHFAs. Η εύρεσή τους ήταν αποτέλεσμα ABPP (μέθοδος εύρεσης του προφίλ πρωτεϊνών με βάση τη δραστηρότητά τους), μία μέθοδο η οποία χρησιμοποιεί χημικούς ανιχνευτές που μελετούν τις λειτουργίες τους είτε αυτές αφορούν το μηχανιστικό είτε το δομικό κομμάτι του οργανισμού. Οι ανιχνευτές ABPP, συχνά καλύπτουν ένα ευρύ φάσμα όσον αφορά στη δραστηρότητα πρωτεϊνών, έτσι ώστε πολλά μέλη μιας μεμονωμένης κατηγορίας ενζύμων να μπορούν να χαρακτηριστούν παράλληλα.^[24] Μέσω της μεθόδου αυτής ανακαλύφθηκε ότι οι διαμεμβρανικές πρωτεΐνες AIG1 και ADTRP αντιπροσωπεύουν μια νέα οικογένεια υδρολυτικών ενζύμων που αποικοδομούν την ομάδα λιπιδίων FAHFAs. Για τη μελέτη της πρότασης αυτής, αρχικά, παρατηρήθηκαν κύτταρα της σειράς HEK293T επιμολυσμένα με hAIG και hADTRP τα οποία όμως χαρακτηρίζονταν από αμελητέα υδρολυτική ικανότητα. Αντίθετα, αμφότερες οι AIG και hADTRP υδρόλυσαν αρκετούς εστέρες λιπαρών οξέων. Η δυνατότητα υδρόλυσης των FAHFAs μέσω των AIG1 και ADTRP καταργήθηκε μέσω της μετάλλαξης των πυρηνόφιλων αμινοξέων Thr43 και Thr47 αντίστοιχα. Άξιο αναφοράς είναι το ότι η μετάλλαξη του Thr43 στη Ser στην AIG1 εξασθένησε, αλλά δεν εξάλειψε πλήρως την υδρολυτική δραστηρότητα έναντι των εστέρων. Στοιχεία για την υδρολυτική ικανότητα της AIG στον ανθρώπινο οργανισμό λήφθηκαν και από περαιτέρω μελέτες, όλες βασισμένες στην παρατήρηση των κυττάρων με την πιθανή υδρολυτική ικανότητα σε σχέση με τη υδρόλυση των FAHFAs καθώς και τη μείωσή της σε γενετικώς τροποποιημένους οργανισμούς, οι οποίοι περιείχαν ανταγωνιστές των υδρολασών.^[24] Αυτές οι μελέτες τονίζουν το ρόλο της στερεοχημείας στη σύνθεση και την αποικοδόμηση των PAHSAs και καθορίζουν την ενδογενή στερεοχημεία του

9-PAHSA στον λιπώδη ιστό. Αν και τα βιοσυνθετικά ένζυμα που είναι υπεύθυνα για τη σύνθεση των FAHFAs είναι άγνωστα, έχει αποδειχθεί προηγουμένως ότι η προσθήκη παλμιτόυλο-CoA και 9-HSA στο ήπαρ και στον λιπώδη ιστό έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή 9-PAHSA.^[19] Η στερεοεκλεκτικότητα της βιοσύνθεσης 9-PAHSA στηρίζει την ιδέα ότι η βιοσύνθεση των FAHFAs προκαλείται από μια μη αναγνωρισμένη ακυλο-τρανσφεράση και δεν είναι το αποτέλεσμα μιας μη ενζυματικής ακυλίωσης. Επιπλέον, αυτά τα πρόωρα δεδομένα δείχνουν μια προτίμηση για τη βιοσύνθεση του *R*-9-PAHSA, η οποία, αν λειτουργεί παρόμοια στον λιπώδη ιστό, θα μπορούσε να εξηγήσει την παρατήρηση του *R*-9-PAHSA ως το προτιμώμενο στερεοϊσομερές *in vivo*.^[19]

1.1.7 Αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες των PAHSAs

Εκτός από τη ρύθμιση της απελευθέρωσης και της αποθήκευσης των λιπιδίων, ο λιπώδης ιστός λειτουργεί ως ενδοκρινικό όργανο. Στην παχυσαρκία, όπως και στην αντίσταση στην ινσουλίνη, ο λιπώδης ιστός εκκρίνει μόρια που ανταγωνίζονται τη δράση της ινσουλίνης, συμπεριλαμβανομένων των κυτοκινών και άλλων προφλεγμονωδών μορίων (π.χ. πρωτεΐνη δέσμευσης ρετινόλης 4 (RBP4), TNF- α , IL-6 και IL-1b που προάγουν συστηματική φλεγμονή). Αυξημένα επίπεδα της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP) είναι ένας δείκτης αυτής της φλεγμονώδους κατάστασης η οποία σχετίζεται, επίσης, με άλλα μεταβολικά μονοπάτια και καρδιαγγειακές ανωμαλίες ή παράγοντες κινδύνου συμπεριλαμβανομένων της δυσλιπιδαιμίας, του αυξημένου ουρικού οξέος και της υπέρτασης.^[7]

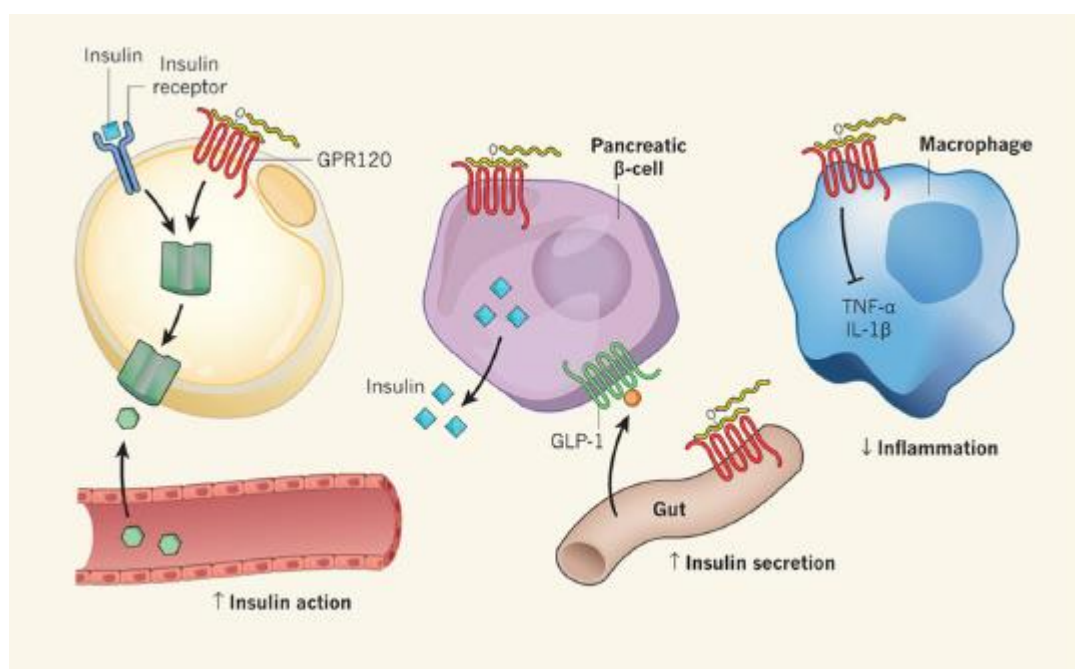
Τα βιοδραστικά λιπίδια μπορούν να επηρεάσουν τη βιολογία μέσω της δέσμευσης σε υποδοχείς που βρίσκονται στην επιφάνεια των κυττάρων, όπως τους υποδοχείς που είναι συζευγμένοι με G πρωτεΐνες (G-protein coupled receptors).^[25] Τόσο το 9-PAHSA όσο και το 5-PAHSA, αναλόγως το ποσοστό με το οποίο βρίσκονται στο εσωτερικό του οργανισμού, ενεργοποιούν τον GPR120 υποδοχέα, ο οποίος ενεργοποιείται, επίσης, από τα ω -3 λιπαρά οξέα και τα μονοακόρεστα λιπαρά.^[26] Η ενεργοποίησή του αυξάνει τη μεταφορά γλυκόζης και τη μετατόπιση του Glut4 μεταφορέα στα λιποκύτταρα. Ο GPR120 υποδοχέας αποτελεί βασικό παράγοντα για την πραγματοποίηση των λειτουργιών των FAHFAs στη μεταφορά γλυκόζης που

διεγείρεται από την ινσουλίνη. Σε αυτόν οφείλεται, επίσης, η αντιφλεγμονώδης δράση αυτών των μορίων. Ο υποδοχέας αυτός, εκφράζεται στα δένδριτικά κύτταρα που προέρχονται από τον μυελό των οστών (BMDCs), τα οποία είναι αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα κατά τη φυσική ανοσοαπόκριση. Η φυσική ανοσία ενεργοποιείται σε χρόνιες παθήσεις, όπως αυτή της παχυσαρκίας, και μπορεί να συμβάλλει στην κατάσταση της ανοχής στην ινσουλίνη.^[27] Τα κορεσμένα λιπαρά οξέα, όπως το παλμιτικό οξύ αλλά και μόρια τα οποία προέρχονται από αντιγόνα, όπως οι λιποπολυσακχαρίτες (LPS), προωθούν την ωρίμανση των BMDC ενεργοποιώντας υποδοχείς τύπου Toll (TLR).^[7] Η ενδοτοξίνη λιποπολυσακχαρίτη είναι το μόνο γνωστό βακτηριακό προϊόν το οποίο, όταν εγχέεται στον υποδόριο ιστό σε ποντίκια μπορεί να προκαλέσει παχυσαρκία και αντίσταση στην ινσουλίνη.^[28] Μελέτες έδειξαν ότι ένα βακτήριο που παράγει ενδοτοξίνες, το οποίο απομονώθηκε από το παχύ έντερο ενός παχύσαρκου ανθρώπου, προκάλεσε παχυσαρκία και αντίσταση στην ινσουλίνη σε γενετικά τροποποιημένα ποντίκια. Η παραγωγή ενδοτοξίνης στον οργανισμό του παχύσαρκου ατόμου μειώθηκε από το 35% των βακτηριδίων του εντέρου σε μη ανιχνεύσιμη ποσότητα, κατά τη διάρκεια του οποίου, ο εθελοντής έχασε 51,4 kg του αρχικού βάρους του (174,8 kg) και ανέκαμψε από την υπεργλυκαιμία και την υπέρταση μετά από 23 εβδομάδες με διατροφή δημητριακών ολικής αλέσεως, φαρμακευτικά τρόφιμα και προβιοτικά.^[28] Μειωμένο φορτίο ενδοτοξίνης είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της φλεγμονής ενώ, αντίθετα, στα γενετικώς τροποποιημένα ποντίκια στα οποία εισήχθη το βακτήριο προκάλεσε πλήρως ανεπτυγμένη παχυσαρκία και αντίσταση στην ινσουλίνη σε υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά δίαιτα, αλλά όχι σε κανονική διατροφή. Από τα δεδομένα αυτά γίνεται κατανοητό το ότι το LPS μπορεί να έχει κακή επίδραση στον οργανισμό, η οποία συμβάλλει στην ανάπτυξη της παχυσαρκίας στον ανθρώπινο ξενιστή.^[28]

Η ωρίμανση των BMDC από το LPS, προκαλεί την έκφραση προφλεγμονωδών κυτοκινών καθώς και άλλων ενδογενών μηχανισμών, οι οποίοι ενεργοποιούνται σε περιπτώσεις φλεγμονής προκειμένου να συμβάλλουν στην εκκίνηση της ανοσολογικής απόκρισης. Ο οργανισμός σε περιπτώσεις διαβήτη καθώς και άλλων χρόνιων παθήσεων εισάγεται σε μια διαδικασία μόνιμης φλεγμονής με αποτέλεσμα η ανοσοαπόκριση να εκκινείται συνεχώς. Σε αντίθεση με αυτή την κατάσταση, το 9-PAHSA έχει την

ικανότητα να εμποδίζει τη σύνδεση του LPS με την επιφάνεια των κυττάρων, πράγμα που εμποδίζει και την παραγωγή ουσιών και μορίων, τα οποία θα είχαν παραχθεί σε φυσιολογικές συνθήκες ανοσολογικής απόκρισης.^[7]

Παρόλο που η ανοσολογική απόκριση που ενεργοποιείται από μια φλεγμονώδη κατάσταση έχει θετικό αποτέλεσμα για τον άνθρωπο εφόσον συμβάλλει στην αντιμετώπισή της, σε καταστάσεις χρόνιας φλεγμονής αυτό δεν είναι επιθυμητό καθώς υπερβολική παραγωγή κυττάρων προκαλεί συσσώρευση αυτών σε ιστούς, αποδυναμώνοντας τον οργανισμό και κάνοντάς τον επιρρεπή σε λοιμώξεις και άλλου είδους φλεγμονές. Επομένως, τα μειωμένα επίπεδα PAHSA τα οποία παρατηρούνται στον οργανισμό, όταν αυτός είναι ανθεκτικός στην ινσουλίνη, θα μπορούσαν να συμβάλλουν στην ενεργοποίηση της φυσικής ανοσοαπόκρισης, παίζοντας έτσι ένα ρόλο στη δημιουργία φλεγμονής και τη συστηματική αντίσταση στην ινσουλίνη.^[7]



Εικόνα 1.5: Βιοχημική ανάλυση της ανοσοαπόκρισης που ενεργοποιείται ύστερα από φλεγμονή.^[8]

1.1.8 Σημασία των FAHFs στην καταπολέμηση της ελκώδους κολίτιδας

Τα PAHSAs έχουν άμεσες αντιφλεγμονώδεις επιδράσεις. Επιστήμονες προσπάθησαν να ερευνήσουν το εάν τα PAHSAs μπορούν, επίσης, να έχουν προστατευτικά αποτελέσματα κατά της κολίτιδας, η οποία είναι μια ανοσοδιαμεσολαβούμενη ασθένεια. Η ελκώδης κολίτιδα (Ulcerative

colitis ή UC) είναι μια χρόνια, φλεγμονώδης κατάσταση που επηρεάζει το παχύ έντερο. Η κλινική παρουσίαση της UC περιλαμβάνει εντερική εξέλκωση, διάρροια, τινεσμό και κατώτερο κοιλιακό άλγος.^[29] Αν και ο τρόπος δημιουργίας της κολίτιδας είναι ασαφής, ο παθογόνος μηχανισμός είναι πολυπαραγοντικός, γεγονός που προϋποθέτει αλληλεπίδραση μεταξύ γενετικής προδιάθεσης και περιβάλλοντος για τη χρόνια αστάθεια του ανοσοποιητικού συστήματος του ξενιστή.^[30] Η ανάπτυξη της UC έχει έντονα συνδεθεί με βλάβες στην ομοίωση του εντέρου, η οποία κανονικά διατηρείται από το έμφυτο φράγμα του βλεννογόνου και την επίκτητη ανοσολογική απόκριση. Ο κύριος θεραπευτικός στόχος για την κολίτιδα είναι η μείωση της φλεγμονής και, τελικώς, η επαγωγή της ύφεσης. Παρά τις προόδους στις αποτελεσματικές βιολογικές θεραπείες για την κολίτιδα, όπως ανοσορρυθμιστές, ανοσοκατασταλτικά (αντί- TNF, αντι-ιντεγκρίνες, κορτικοστεροειδή) και αντιβιοτικά, δια βίου θεραπεία με αυτούς τους παράγοντες έχει συστηματικά ανοσοκατασταλτικά αποτελέσματα, ενώ περίπου το 20% των ασθενών UC θα αναπτύξουν καρκίνο του παχέος εντέρου, εκτός εάν υποβληθούν σε χειρουργική εκτομή του. Στο σημείο αυτό θα πρέπει να αναφερθεί ότι η χρόνια από του στόματος θεραπεία με PAHSAs καθυστερεί την έναρξη και εξασθενεί τη σοβαρότητα της κολίτιδας σε ποντικούς αυξάνοντας την κυτταρική λειτουργία των Paneth για τη βελτίωση της βακτηριοκτόνου ισχύος και μειώνοντας την ενεργοποίηση και πολλαπλασιασμό των προ-φλεγμονωδών T κυττάρων.^[31,32] Τα κύτταρα Paneth ενεργοποιούνται μέσω του υποδοχέα GPR120, γεγονός που προσδίδει και την αντιφλεγμονώδη δράση. Η οξεία διέγερση των κυττάρων Paneth με 5-, 9- ή 5-9-PAHSAs οδήγησε σε 40% αύξηση της βακτηριοκτόνου ισχύος, όπως αποδεικνύεται από τον μειωμένο αριθμό μονάδων σχηματισμού αποικίας *Escherichia coli*. Αυτά τα κύτταρα, εντοπίζονται στο έντερο και μεσολαβούν στη βακτηριοκτόνο δραστηριότητα στον αυλό του εντέρου.^[33] Η αποκοκκίωση κυττάρων Paneth είναι μια έμφυτη ανοσοαπόκριση που μεσολαβεί στην άμυνα του εντερικού βλεννογόνου με την θανάτωση ξένων παθογόνων στον εντερικό αυλό. Η μεταπλασία των κυττάρων Paneth και η υπερπλασία διεγείρονται από την εντερική φλεγμονή και είναι επίφοβο για τη δημιουργία της UC. Ευρήματα δείχνουν ότι τα PAHSAs μπορούν να προκαλέσουν αποκοκκίωση κυττάρων Paneth των αντιμικροβιακών

πεπτιδίων, το οποίο μπορεί να συμβεί μέσω ενός μηχανισμού εξαρτώμενου από τον GPR120 υποδοχέα, και αυτό πιθανώς συμβάλλει στην προστασία του οργανισμού από σοβαρή κολίτιδα.^[33]

Τα PAHSAs δεν έχουν άμεση επίδραση στα βακτήρια αλλά προκαλούν την έκκριση αντιμικροβιακών πεπτιδίων από τα κύτταρα Paneth. Επειδή τα PAHSAs ενεργοποιούν τον υποδοχέα GPR120, και μερικά εκκριτικά κύτταρα τον εκφράζουν, ερευνήθηκε αν τα κύτταρα Paneth εκφράζουν τον GPR120 και εάν αυτός ο υποδοχέας είναι υπεύθυνος για τα αποτελέσματα των PAHSAs, να ενισχύουν τη βακτηριοκτόνο δράση των κυττάρων Paneth. Στο έντερο, η συνεισφορά του GPR120 στη διαμεσολάβηση των επιδράσεων του PAHSA είχε θετικά αποτελέσματα. Περαιτέρω μελέτες βασίστηκαν στη χρήση του AH7614, μόριο με ανταγωνιστική δράση έναντι του υποδοχέα GPR120 στα κύτταρα Paneth. Η αναστολή της λειτουργίας του υποδοχέα GPR120 από τον ανταγωνιστή AH7614 παρουσία 5-, 9- ή 5-9-PAHSAs στα κύτταρα Paneth έχει την ικανότητα να αποκλείει πλήρως το βακτηριοκτόνο αποτέλεσμα των PAHSAs.^[33]

Η έκφραση των προ-φλεγμονωδών γονιδίων που είναι εξειδικευμένα στις αποκρίσεις των T κυττάρων εξασθενεί μέσω θεραπείας με PAHSAs. Επιπλέον, τα PAHSAs μειώνουν σημαντικά την έκφραση προ-φλεγμονωδών κυτοκινών (TNF, IL-6 και IL-1) και των χημειοκινών (MIP-1, MCP-1 και KC).^[31,32] Επίσης, μειώνουν την έκφραση της αντιφλεγμονώδους κυτοκίνης IL-10. Επειδή τα T κύτταρα παίζουν βασικό ρόλο στην κολίτιδα, στη μελέτη προστέθηκε το κατά πόσον η πρόσληψη και/ή η ενεργοποίηση των T κυττάρων μπορεί να επηρεαστεί από τη θεραπεία με PAHSAs σε ποντίκια. Τα μόρια αυτά μείωσαν το ποσοστό των T-λεμφοκυττάρων, ενώ η κατάσταση ενεργοποίησης των μακροφάγων δεν επηρεάστηκε από τη θεραπεία με PAHSAs, υποδεικνύοντας ότι είναι απίθανο να αλλάξει η πολικότητα των μακροφάγων (M1 και M2). Μαζί, αυτά τα δεδομένα υποδεικνύουν ότι η από του στόματος PAHSA θεραπεία εξασθενεί τη φλεγμονή του εντέρου μέσω της μείωσης της παραγωγής χημειοκινών και κυτοκινών και της επακόλουθης ενεργοποίησης των προ-φλεγμονωδών T κυττάρων ανεξάρτητα από την ενεργοποίηση των μακροφάγων.^[33]

Αναφέρθηκε, προηγουμένως, ότι η θεραπεία με 9-PAHSA *in vitro* μειώνει την ενεργοποίηση των δένδριτικών κυττάρων (DC).^[7] Είναι ήδη

γνωστό ότι το 9-PAHSA μπορεί να έχει άμεσες επιδράσεις στην ωρίμανση των DC με αποτέλεσμα την αναστολή της ενεργοποίησης και της επακόλουθης ενεργοποίησης των προ-φλεγμονωδών T κυττάρων. Η διέγερση με το LPS προκαλεί την ενεργοποίηση των DCs που προέρχονται από τον μυελό των οστών, με αποτέλεσμα τα αυξημένα επίπεδα MHCII, CD80, CD86 και CD40. Ωστόσο, η προκατεργασία των DCs που προέρχονται από μυελό των οστών με 9-PAHSA ακολουθούμενη από διέγερση με LPS μειώνει τα επίπεδα των MHCII και των συν-διεγερτικών. Τα DCs υποβλήθηκαν σε προκατεργασία με τον αναστολέα GPR120 πριν την αλληλεπίδραση με το LPS και το 9-PAHSA και πραγματοποιήθηκε μέτρηση των προ-φλεγμονωδών κυτοκινών IL-12 και IL-6. Η χορήγηση 9-PAHSA είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της έκκρισης της IL-6 αλλά όχι της IL-12, υποδεικνύοντας ότι τουλάχιστον μερικά από τα αντιφλεγμονώδη αποτελέσματα των 9-PAHSA εξαρτώνται από τον GPR120 υποδοχέα.^[33]

Η υπερδραστηριότητα του ανοσοποιητικού συστήματος παίζει σημαντικό ρόλο στην πρόοδο της φλεγμονής του εντέρου στη UC, και έχει ως αποτέλεσμα την υπερβολική παραγωγή χημειοκινών και κυτοκινών και την αύξηση της ενεργοποίησης των ανοσοκυττάρων (T κυττάρων).^[30,32] Τα κύτταρα Th1, ένας υποτύπος T κυττάρων παράγουν IFN-γ και αυτά τα κύτταρα εμπλέκονται στην παθογένεση των ασθενειών που προκαλούνται από τη φλεγμονή, συμπεριλαμβανομένης της UC. Μελέτες έδειξαν ότι τα PAHSA προστατεύουν τον οργανισμό από την κολίτιδα περιορίζοντας την προ-φλεγμονώδη απόκριση του εντέρου, η οποία μπορεί να συμβεί μέσω της άμεσης αναστολής της ενεργοποίησης των δένδριτικών κυττάρων και άλλων μηχανισμών που είναι ακόμα ασαφείς.^[33]

1.1.9 Ύπαρξη FAHFs στο μητρικό γάλα και η σημασία τους για την ανάπτυξη του βρέφους

Οι εστέρες των υδρόξυ λιπαρών οξέων, ωστόσο, δεν αποτελούν μόρια στόχους για την επιστήμη μόνο λόγω του γεγονότος ότι μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως αντιδιαβητικά ή αντιφλεγμονώδη. Ύστερα από πρόσφατες μελέτες, τα μόρια αυτά αποδείχθηκε ότι είναι σημαντικά, επίσης, λόγω του ότι συντελούν στην ενίσχυση του ανοσοποιητικού των νεογνών

καθώς διοχετεύονται μέσω του μητρικού γάλακτος από τις μητέρες στα βρέφη κατά τη διάρκεια του θηλασμού.^[34]

Το στήθος αποτελείται κυρίως από λιπώδη ιστό, αλλά κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης αναπτύσσει ένα εκτεταμένο αδενικό/αγωγό σύστημα και ο λιπώδης ιστός αντικαθίσταται με λειτουργικές αδενικές μονάδες. Μετά τον τοκετό, ο μαστικός αδένας ξεκινά την έκκριση του γάλακτος, το οποίο είναι πλούσιο σε πρωτεΐνες και βιοδραστικά συστατικά που στοχεύουν στην ανοσοποίηση και την ωρίμανση του γαστρεντερικού συστήματος του νεογέννητου. Αργότερα, η περιεκτικότητα των λιπιδίων στο γάλα αυξάνεται μέσω της λιπογένεσης του μαστικού αδένος *de-novo*.^[35,36] Οι πλέον άφθονες κατηγορίες λιπιδίων είναι οι τριακυλογλυκερόλες και τα φωσfolιπίδια, καθώς και άλλα βιοδραστικά λιπίδια, όπως οι ρεσολβίνες που είναι σημαντικοί ανοσοτροποποιητικοί παράγοντες.

Θεωρήθηκε πιθανό το γεγονός ότι επειδή τα FAHFAs συνδέονται τόσο με τον αναβολικό μεταβολισμό όσο και με την ανοσία, η παραγωγή τους θα μπορούσε να ανιχνευθεί στο ανθρώπινο γάλα και να συσχετίζεται με την παχυσαρκία κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Για να εξεταστεί αυτή η υπόθεση, πραγματοποιήθηκε μια λιπιδομική ανάλυση των δειγμάτων γάλακτος που ελήφθησαν από παχύσαρκες και μη εγκύους. Η ανάλυση των δειγμάτων του λιπώδους ιστού των ποντικών αποκάλυψε την παρουσία τόσο του *R*- όσο και του *S*-εναντιομερούς για την πλειονότητα των PAHSAs. Αν και είναι δύσκολο τα εναντιομερή να ταυτοποιηθούν μεμονωμένα, η *R*-απεικόνιση εμφανιζόταν σε περίσσεια στα 5 και 9-PAHSA.^[34]

Η σύνθεση λιπαρών οξέων στον μαστικό αδένος περιορίζεται στα λιπαρά οξέα μεσαίας αλυσίδας, γεγονός που υποδηλώνει ότι τα FAHFAs στο γάλα μπορεί να προέρχονται είτε από μετασχηματισμένα αποθέματα λιπώδους ιστού ή από άλλες αποθήκες λιπώδους ιστού και να μεταφέρονται στο συγκεκριμένο σημείο μέσω της κυκλοφορίας.^[37] Μητέρες οι οποίες δεν ήταν παχύσαρκες είχαν μεγαλύτερο ποσοστό FAHFAs στο γάλα το οποίο παρήγαγαν από ότι αυτές που ήταν. Ως εκ τούτου, είναι πιθανό αυτές οι μητέρες να απέκτησαν περισσότερο μεταβολικά "υγιή" υποδόριο λιπώδη ιστό, ο οποίος είναι σημαντικός κατά τη διάρκεια της κύησης και είναι απαραίτητος για *de-novo* λιπογένεση, σε αντίθεση με το δυνητικά μεταβολικά "ανθυγιεινό" σπλαχνικό λίπος παχύσαρκων μητέρων. Επιπλέον, η παχυσαρκία συνδέεται

με μειωμένους ρυθμούς θηλασμού, οι οποίοι ενδέχεται να μειώσουν περαιτέρω την πρόσληψη των ωφέλιμων γαλακτικών συστατικών.^[34]

Είναι γεγονός ότι τα υψηλά επίπεδα 5-PAHSAs στο ανθρώπινο μητρικό γάλα μπορεί να διεγείρουν την εντερική παραγωγή GLP-1, η οποία προάγει την ωρίμανση των β-κυττάρων και την έκκριση ινσουλίνης. Η αύξηση των επιπέδων κυκλοφορούντος GLP-1 στα νεογνά μετά την πρόσληψη του γάλακτος θα μπορούσε να έχει επωφελείς επιδράσεις στο πάγκρεας και να προάγει την ανάπτυξή τους.^[37]

Αυτή η μελέτη υποστήριξε, για πρώτη φορά, ότι το ανθρώπινο πρωτόγαλα περιέχει βιοδραστικά λιπίδια από την οικογένεια FAHFAs, που, μέχρι στιγμής, έχουν αναφερθεί να βρίσκονται μόνο στον ορό και στον λιπώδη ιστό στους ανθρώπους και ότι τα επίπεδα τους επηρεάζονται τόσο από την αύξηση σωματικού βάρους κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης και το σωματικό βάρος των μητέρων.

1.1.10 Η βιολογική σημασία των FAHFAs ως έναυσμα για περαιτέρω μελέτη από την επιστημονική κοινότητα

Εν κατακλείδι, στο υποκεφάλαιο αυτό αναλύθηκε η σημασία των εστέρων των υδρόξυ λιπαρών οξέων, η οποία εάν και ανακαλύφθηκε πρόσφατα καλύπτει ένα ευρύ φάσμα δράσεων που αφορούν τόσο το έντερο, όσο και την εγκυμοσύνη, τη φλεγμονή και τον διαβήτη. Παρόλο που έρευνες έχουν πραγματοποιηθεί κυρίως στην κατηγορία PAHSA, όλοι οι πιθανοί συνδυασμοί των εστέρων έχουν εγείρει το ενδιαφέρον των επιστημόνων λόγω της πιθανής βιολογικής τους δράσης. Ένα εντυπωσιακό σύνολο ωφέλιμων βιολογικών δράσεων αποδίδονται σε αυτά τα λιπίδια και με βάση αυτό, είναι εμφανές το κατά πόσο τα FAHFAs θα μπορούσαν να γίνουν μια σημαντική πρωτοβάθμια ή συμπληρωματική θεραπεία για διάφορες φλεγμονώδεις ασθένειες.

1.2 Υδρόξυ λιπαρά οξέα

1.2.1 Η χρησιμότητα των υδρόξυ λιπαρών οξέων

Τα λιπαρά οξέα αποτελούν θεμελιώδη συστατικά της δομής και πρόδρομα μόρια κυτταρικής σηματοδότησης ενώ τα τελευταία χρόνια έχει αποδειχθεί ότι παίζουν ρόλο στην άμεση ρύθμιση του μεταβολισμού και της φλεγμονής μέσω της ενεργοποίησης υποδοχέων ελεύθερων λιπαρών οξέων.^[38] Τα πολυακόρεστα υδρόξυ λιπαρά οξέα περιλαμβάνουν ενώσεις που αποτελούν χημικούς μεσολαβητές, όπως οι ρεσολβίνες, οι προτεκτίνες και οι μαρεσίνες, που προέρχονται από την οξειδωση των ωμέγα-3 λιπαρών οξέων.^[39] Ωστόσο, τα κορεσμένα υδρόξυ λιπαρά οξέα έχουν μελετηθεί πολύ λιγότερο ως πιθανά μόρια κυτταρικής σηματοδότησης, όρου που αναφέρθηκε πρωτίτερα και έγκειται στη διαδικασία με την οποία ένα σήμα-πληροφορία αλληλεπιδρά με ειδικούς πρωτεϊνικούς υποδοχείς των κυττάρων και οδηγεί σε κυτταρική απόκριση που εκφράζεται με μεταβολή χημικών διεργασιών.^[40]

Τα 2-υδρόξυ λιπαρά οξέα αποτελούν συστατικό των σφιγγολιπιδίων,^[41] ενώ τα 3-υδρόξυ λιπαρά οξέα σχηματίζονται κατά τη σύνθεση των λιπαρών οξέων και τη β-οξειδωση και αποτελούν συστατικά φλεγμονωδών λιποπολυσακχαριτών.^[42] Τα 4-υδρόξυ λιπαρά οξέα σχηματίζονται από την οξειδωση κορεσμένων λιπαρών οξέων στους μαστικούς αδένες.^[43] Το 4-υδρόξυ λαουρικό οξύ ενεργοποιεί τα ανοσολογικά φυσικά κύτταρα φονείς.^[44] ενώ το 9-υδρόξυ στεατικό οξύ είναι ένας ενδογενώς παραγόμενος αναστολέας αποακετυλάσης ιστόνης που έχει αντικαρκινική δράση.^[45]

Το 9-υδρόξυ στεατικό οξύ (9-HSA) ανήκει στην κατηγορία των ενδογενών παραπροϊόντων υπεροξειδωσης λιπιδίων που μειώνονται σημαντικά σε καταστάσεις όγκων και, κατά συνέπεια, χάνουν την ιδιότητα που έχουν να ασκούν τις συνήθεις λειτουργίες ελέγχου τους στην κυτταρική διαίρεση.^[46] Πράγματι, στα ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα HT29 του παχέος εντέρου, εξωγενής χορήγηση 9-HSA σε μικρές συγκεντρώσεις οδηγεί σε σημαντική αναστολή του ποσοστού πολλαπλασιασμού.^[47] Εν ολίγοις, πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι η χορήγηση του 9-HSA σε κύτταρα HT29 προκαλεί διακοπή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού με τη μεσολάβηση της άμεσης ενεργοποίησης του γονιδίου p21^{WAF1/Cip1}, γνωστού αναστολέα της κυκλικο-εξαρτώμενης πρωτεϊνικής κινάσης 1, γεγονός που προσδίδει

αντικαρκινική δράση λόγω της ικανότητάς να σταματάει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων.^[47,48] Αυτά τα δεδομένα συσχετίζονται με τις βιολογικές δράσεις των αναστολέων HDAC, οι οποίοι μπορούν να επανενεργοποιήσουν τη γονιδιακή έκφραση και να αναστείλουν την ανάπτυξη και την επιβίωση των ογκο-κυττάρων με το *R* εναντιομερές να είναι, και σε αυτή την περίπτωση, περισσότερο δραστικό.^[45,49]

Αναφορές, επίσης, προσδίδουν σε διάφορες ομάδες των υδρόξυ οξέων αντιδιαβητική και αντι-αθηροσκληρωτική δράση καθώς διεγείρουν υποδοχείς συζευγμένους με G πρωτεΐνη, η οποίοι έχουν αναφερθεί και σε προηγούμενη ενότητα. Όπως έχει, ήδη, αναφερθεί οι υποδοχείς αυτοί φαίνεται ότι ανιχνεύουν τα ενεργειακά επίπεδα ή μεταβολικές καταστάσεις του σώματος ρυθμίζοντας το μεταβολισμό και τις ενδοκρινικές λειτουργίες διαφόρων οργάνων με αποτέλεσμα τη διατήρηση της ενεργειακής ομοιόστασης.^[50]

Τα όσα ειπώθηκαν σε αυτή την παράγραφο αλλά και σε προηγούμενα υποκεφάλαια, οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι τα κορεσμένα λιπαρά υδρόξυ οξέα είναι, και αυτά, μόρια για τα οποία δεν έχουν γνωστοποιηθεί αρκετές πληροφορίες. Συνεπώς, λόγω του γεγονότος ότι έχουν θεωρηθεί πρόδρομες ενώσεις από τις οποίες παράγονται οι εστέρες FAHFAs, αλλά και λόγω των σημαντικών βιολογικών ιδιοτήτων που επιδεικνύουν κρίθηκε απαραίτητη, και για αυτή την κατηγορία ενώσεων, η περαιτέρω διερεύνηση της σύνθεσής τους.

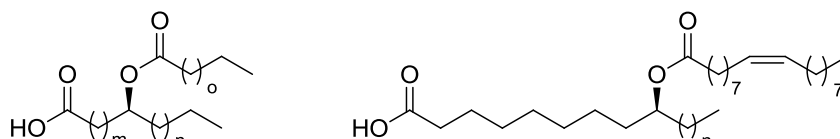
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

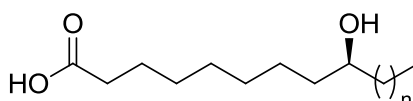
Η αντιδιαβητική και η αντιφλεγμονώδης δράση των FAHFAs τους καθιστά ενώσεις οι οποίες χρήζουν περαιτέρω μελέτης. Όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενο κεφάλαιο, η ύπαρξή τους στον οργανισμό χαρακτηρίζεται από εναντιοεκλεκτικότητα, η οποία οφείλεται σε ενδογενή βιοχημικά μονοπάτια και είναι αποτέλεσμα δράσης ενζύμων του οργανισμού. Ωστόσο, λίγες είναι η συνθέσεις που έχουν δημοσιευθεί και αφορούν στη σύνθεση των εστέρων αυτών με μόνο μια να αναφέρεται σε σύνθεση χειρόμορφων FAHFAs, η οποία, όμως, δεν εντάσσει στο μόριο τη στεreoχημεία κατά τη σύνθεση, αλλά ένα ήδη χειρόμορφο μόριο χρησιμοποιείται ως αρχική ύλη.

Σκοπός της συγκεκριμένης διατριβής ήταν η ανάπτυξη μιας μεθόδου ασύμμετρης σύνθεσης των FAHFAs καθώς και των αντίστοιχων υδρόξυ οξέων τους, με την εναντιοεκλεκτικότητα να εισάγεται με τη χρήση οργανοκαταλύτη σε ένα από τα στάδιά της. Πιο συγκεκριμένα, στόχοι της παρούσας εργασίας ήταν:

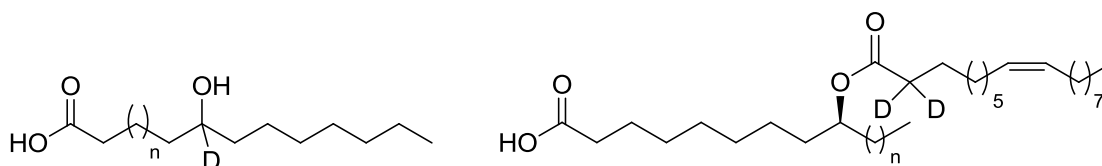
1. Η σύνθεση εστέρων λιπαρών οξέων με κορεσμένα υδρόξυ λιπαρά οξέα που φέρουν το υδροξύλιο σε θέσεις 9- και 5- όπως π.χ.:



2. Η σύνθεση των αντίστοιχων κορεσμένων υδρόξυ λιπαρών οξέων, όπως:



3. Τέλος, στόχους αποτέλεσαν η σύνθεση δευτεριωμένου λιπαρού υδρόξυ οξέος και η σύνθεση δευτεριωμένου FAHFA.

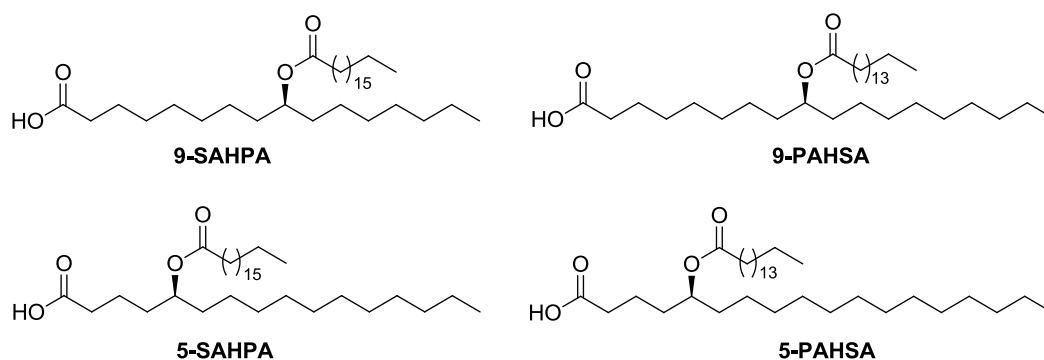


ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

3.1 Ασύμμετρη σύνθεση FAHFAs

Το γεγονός ότι τα FAHFAs που έχουν προσδιοριστεί ενδογενώς χαρακτηρίζονται από συγκεκριμένη στεreoχημεία, καθώς και η έλλειψη μεθόδου ασύμμετρης σύνθεσής τους, μας οδήγησε στον σχεδιασμό μιας μεθόδου που να επιτρέπει τη σύνθεση χειρόμορφων FAHFAs. Ως στάδιο κλειδί για την εισαγωγή της ασυμμετρίας επιλέξαμε τη σύνθεση ασύμμετρου εποξειδίου μέσω οργανοκαταλυτικής πορείας.

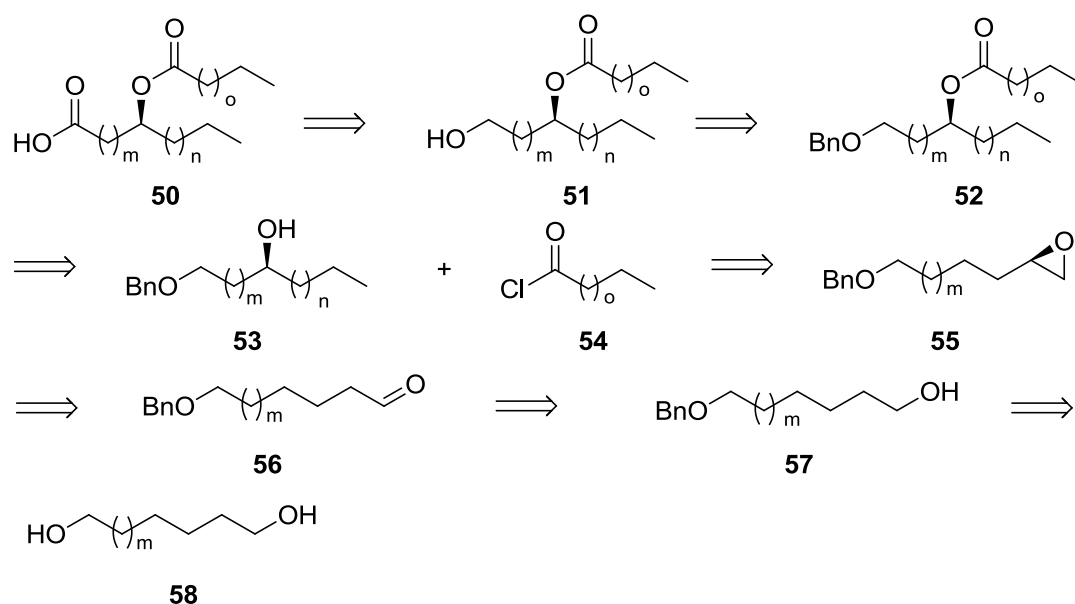
Τα FAHFAs που σχεδιάστηκαν προκειμένου να συντεθούν στα πλαίσια της παρούσας διατριβής φαίνονται στο παρακάτω σχήμα.



Σχήμα 3.1: FAHFAs που σχεδιάστηκαν για σύνθεση.

3.1.1 Ρετροσυνθετική πορεία για τη σύνθεση των FAHFAs

Όπως φαίνεται στο σχήμα 3.2, οι εστέρες λιπαρών οξέων με υδρόξυ οξέα **50** θα μπορούσαν να προκύψουν από τους αντίστοιχους υδρόξυ εστέρες **51** ύστερα από μια αντίδραση οξειδωσης. Οι ενώσεις **51**, με τη σειρά τους θα μπορούσαν να είναι τα προϊόντα καταλυτικής υδρογόνωσης των βένζυλο προστατευμένων εστέρων **52**.



Σχήμα 3.2: Ρετροσυνθετική ανάλυση για τη σύνθεση FAHFAs.

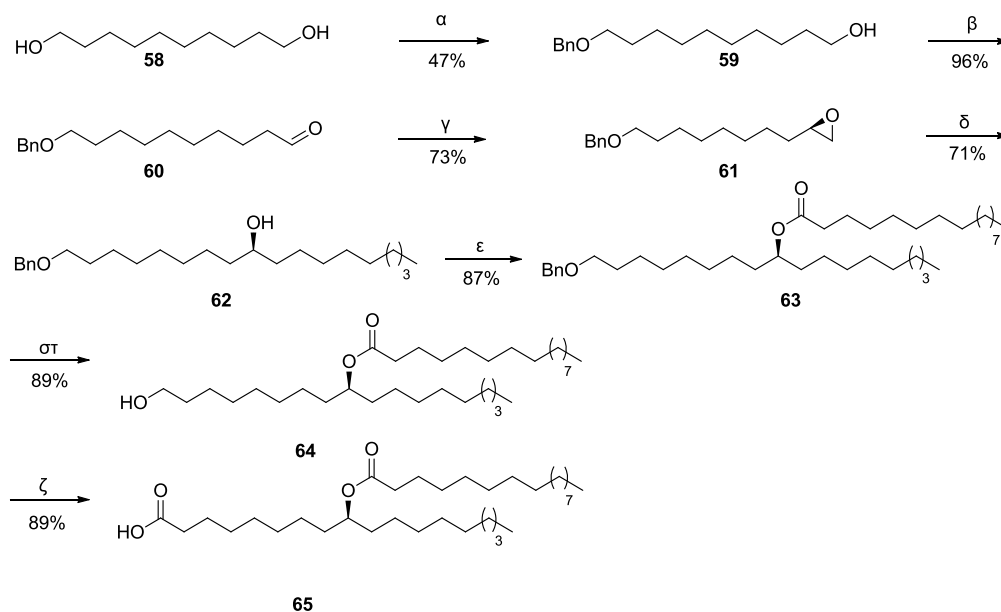
Οι εστέρες είναι δυνατό να προκύψουν από μια αντίδραση εστεροποίησης, όπως για παράδειγμα εστεροποίηση αλκοόλης **53** με ένα άκυλο χλωρίδιο **54**. Ακολουθώντας, η δευτεροταγής αλκοόλη **53** θα μπορούσε να προκύψει από τη διάνοιξη ενός ακραίου ασύμμετρου εποξειδίου **55** με αντιδραστήριο Grignard, το οποίο διαφέρει ανάλογα με τον εστέρα που είναι τελικός στόχος και την αλυσίδα ατόμων του εποξειδίου. Η σύνθεση του ασύμμετρου ακραίου εποξειδίου είναι η αντίδραση-κλειδί για την εισαγωγή ασυμμετρίας στο μόριο και θα μπορούσε να επιτευχθεί οργανοκαταλυτικά. Το εποξείδιο θα μπορούσε να είναι προϊόν μιας αντίδρασης τριών βημάτων, η οποία χαρακτηρίζεται από σχηματισμό α-χλωροαλδεΐδης από την αντίστοιχη αλδεΐδη **56** με χρήση καταλύτη του MacMillan, αναγωγή της α-χλωροαλδεΐδης σε α-χλωροαλκοόλη και προσθήκη ισχυρής βάσης για απομάκρυνση ανιόντος Cl^- και σχηματισμό του δακτυλίου του εποξειδίου. Η αλδεΐδη, με τη σειρά της θα μπορούσε να προέλθει από την αντίστοιχη μονοπροστατευμένη αλκοόλη **57**, προϊόν αιθεροποίησης Williamson εμπορικά διαθέσιμης α,ω-διόλης.

3.1.2 Συνθετική πορεία προς παραλαβή του 9-PAHSA

Η σύνθεση η οποία θα αναφερθεί αμέσως παρακάτω αφορά στο προϊόν 9-PAHSA, το οποίο προσδιορίστηκε σε περίσσεια σε σχέση με τους

υπόλοιπους εστέρες ενδογενώς. Κατά όμοιο τρόπο συντέθηκαν και οι υπόλοιπες παρόμοιες ενώσεις.

Αρχικά, πραγματοποιήθηκε αιθεροποίηση Williamson της εμπορικά διαθέσιμης 1,10-δεκανοδιόλης **58** με βενζυλοβρωμίδιο και τη χρήση υδριδίου του νατρίου ως βάση για την απόσπασση του πρωτονίου της αλκοόλης. Η αντίδραση πραγματοποιείται με μέτρια απόδοση λόγω ταυτόχρονου σχηματισμού και του δι-προστατευμένου προϊόντος. Η μονο-προστατευμένη αλκοόλη **59** οξειδώνεται, στη συνέχεια, με τη χρήση χλωροχρωμικού πυριδίνιου προς την αλδεΐδη **60**. Ακολουθεί αντίδραση τριών σταδίων κατά την οποία η αλδεΐδη αντιδρά με την 2,3,4,5,6,6-εξαχλωροκυκλοεξα-2,4-διεν-1-όνη προς την αντίστοιχη α-χλωροαλδεΐδη με τη χρήση ως καταλύτη τριφθοροξικού άλατος της (2*R*,5*S*)-2-(*tert*-βουτυλο)-3,5-διμεθυλιμιδαζολιδιν-4-όνης, ενός εκ των ιμιδαζολιδινών του MacMillan. Στη συνέχεια, πραγματοποιείται αναγωγή της α-χλωροαλδεΐδης προς την αντίστοιχη α-χλωροαλκοόλη με τη χρήση NaBH₄ και προσθήκη στην αλκοόλη υδατικού διαλύματος KOH για απομάκρυνση του πρωτονίου και SN2 αντίδρασης από όπου παραλαμβάνεται ακραίο εποξειδίο **61**. Η διάνοιξη του εποξειδίου πραγματοποιείται με οκτυλομαγνησιοβρωμίδιο και τη χρήση καταλυτικής ποσότητας ιωδιούχου χαλκού (I) προς σχηματισμό αντιδραστήριου Gilman για καλύτερο έλεγχο της τοποεκλεκτικότητας της αντίδρασης. Από τη διάνοιξη του εποξειδίου παραλαμβάνεται η δευτεροταγής αλκοόλη **62**, η μετατροπή της οποίας προς τον εστέρα **63** πραγματοποιείται ύστερα από εστεροποίηση με άκυλο χλωρίδιο, το οποίο συντίθεται. Αντίδραση θειόνυλο χλωριδίου με παλμιτικό οξύ και απευθείας προσθήκη του παλμιτούλο χλωριδίου στην αντίδραση έχει ως προϊόν τον προστατευμένο εστέρα. Ακολουθεί καταλυτική υδρογόνωση με καταλύτη παλλάδιο σε ενεργό άνθρακα για να ληφθεί ο υδρόξυ εστέρας **64**, ο οποίος οδηγείται, εν τέλει, στο επιθυμητό προϊόν 9-PAHSA **65** ύστερα από οξείδωση με αντιδραστήριο Jones.



Σχήμα 3.3: Πορεία σύνθεσης του 9-PAHSA. (α) BnBr, NaH, άνυδρο DMF, 0 °C έως r.t., 16 h, (β) PCC, άνυδρο CH₂Cl₂, r.t., 1 h, (γ) i. τριφθοροξικό άλας της (2R,5S)-2-(tert-βουτυλο)-3,5-διμεθυλιμιδαζολιδιν-4-όνης, 2,3,4,5,6,6-εξαχλωροκυκλοεξα-2,4-διεν-1-όνη, THF, r.t., 30 min, ii. NaBH₄, EtOH, 0 °C, 15 min, iii. KOH, EtOH, H₂O, r.t., 30 min, (δ) C₈H₁₇MgBr, CuI, άνυδρο THF, -40 °C, 1 h, (ε) CH₃(CH₂)₁₄COCl, άνυδρο CH₂Cl₂, r.t., 16 h, (στ) H₂, 10% Pd/C, MeOH, r.t., 16 h, (ζ) αντιδραστήριο Jones, ακετόνη, 0 °C, 1h.

Στο σημείο αυτό κρίνουμε σκόπιμο να αναφερθούμε εν συντομία στην σημασία της Οργανοκατάλυσης, στις εφαρμογές των οργανοκαταλυτών του MacMillan στην ασύμμετρη σύνθεση και στην επιλογή της οργανοκαταλυτικής πορείας για την ασύμμετρη σύνθεση του εποξειδίου, σε σχέση με άλλες υπάρχουσες μεθόδους ασύμμετρης σύνθεσης εποξειδίων.

3.1.3 Γενικά για την Οργανοκατάλυση

Η Οργανοκατάλυση ή η χρήση μικρών οργανικών μορίων για να καταλύσουν τους οργανικούς μετασχηματισμούς είναι ένα σχετικά νέο και δημοφιλές πεδίο στους τομείς της ρακεμικής και εναντιοεκλεκτικής χημικής σύνθεσης μορίων.^[51] Αν και γνωστά παραδείγματα χημικών μετασχηματισμών που χρησιμοποιούν οργανοκαταλύτες εμφανίζονται και πριν το 2000, δεν ήταν μέχρι τα τέλη της δεκαετίας του 1990 όπου πραγματοποιήθηκε η αναβίωση του πεδίου της Οργανοκατάλυσης. Από το 1998 έως το 2008 δημοσιεύθηκαν

τουλάχιστον 1.500 εργασίες που περιγράφουν τη χρήση οργανοκαταλυτών σε περισσότερους από 130 διαφορετικούς τύπους αντιδράσεων.^[51]

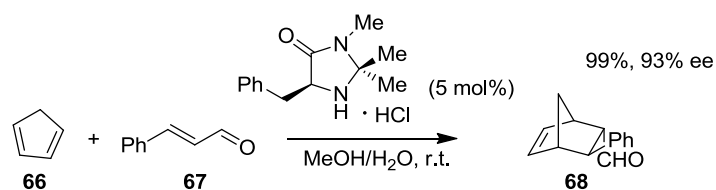
Η Οργανοκατάλυση αποτελεί έναν από τους κύριους κλάδους της εναντιοεκλεκτικής σύνθεσης, με τους άλλους δύο να είναι η ενζυματική κατάλυση και η οργανομεταλλική κατάλυση. Η ανάπτυξη της κρίθηκε απαραίτητη και βασίστηκε στα μειονεκτήματα που παρουσίαζαν οι άλλες δύο μέθοδοι κατάλυσης. Πιο συγκεκριμένα, για την ενζυμική κατάλυση απαιτούνται πολύ μεγάλες ποσότητες ενζύμου σε σχέση με το υπόστρωμα της κάτι που σε πολλές περιπτώσεις μπορεί να δημιουργήσει προβλήματα κόστους, μιας και εμπορικά διαθέσιμα είναι μόνο ένας μικρός σχετικά αριθμός ενζύμων. Ωστόσο, το σημαντικότερο πρόβλημα της βιοκατάλυσης αφορά στο γεγονός ότι τα ένζυμα δίνουν εξαιρετικά αποτελέσματα με ένα και μόνο υπόστρωμα και ακόμα και μικρές αλλαγές να γίνουν στο υπόστρωμα, καθιστούν το ένζυμο ανενεργό ως προς τον οργανικό μετασχηματισμό. Τα βασικά μειονεκτήματα της κατάλυσης μέσω της χρήσης μετάλλων μετάπτωσης περιλαμβάνουν υψηλό κόστος πρώτων υλών, τοξικότητα των μετάλλων που χρησιμοποιούνται, καθώς και το γεγονός ότι η αποθήκευση και χρήση τους απαιτεί ειδική διαχείριση λόγω των μετάλλων μετάπτωσης.

Ένας βασικός στόχος για την εξέλιξη του πεδίου της ασύμμετρης κατάλυσης είναι ο σχεδιασμός και η εφαρμογή νέων τρόπων ενεργοποίησης που επιτρέπουν την εφεύρεση νέων μετασχηματισμών. Μέχρι τώρα έχει αναφερθεί ένας αριθμός τρόπων ενεργοποίησης με την ενεργοποίηση μέσω εναμίνης, μέσω ιόντος ιμινίου και μέσω δεσμών υδρογόνου να αποτελούν τους σημαντικότερους.

3.1.4 Καταλύτες του MacMillan στον κλάδο της Οργανοκατάλυσης

Στις αρχές του 21^{ου} αιώνα, ο MacMillan και οι συνεργάτες του ασχολήθηκαν με την ασύμμετρη κατάλυση στις αντιδράσεις Diels-Alder. Ο MacMillan, στην προσπάθειά του να βρει καινούριους τρόπους ενεργοποίησης, πρότεινε την χρήση ιμιδαζολιδινών για μια ποικιλία ασύμμετρων μετασχηματισμών. Η πρώτη εναντιοεκλεκτική αντίδραση με τη χρήση ιμιδαζολιδινών έγινε το 2000, όπου το ενεργοποιημένο ιόν ιμινίου, που σχηματίζεται μεταξύ μιας ιμιδαζολιδινόνης και μιας α,β-ακόρεστης αλδεΐδης,

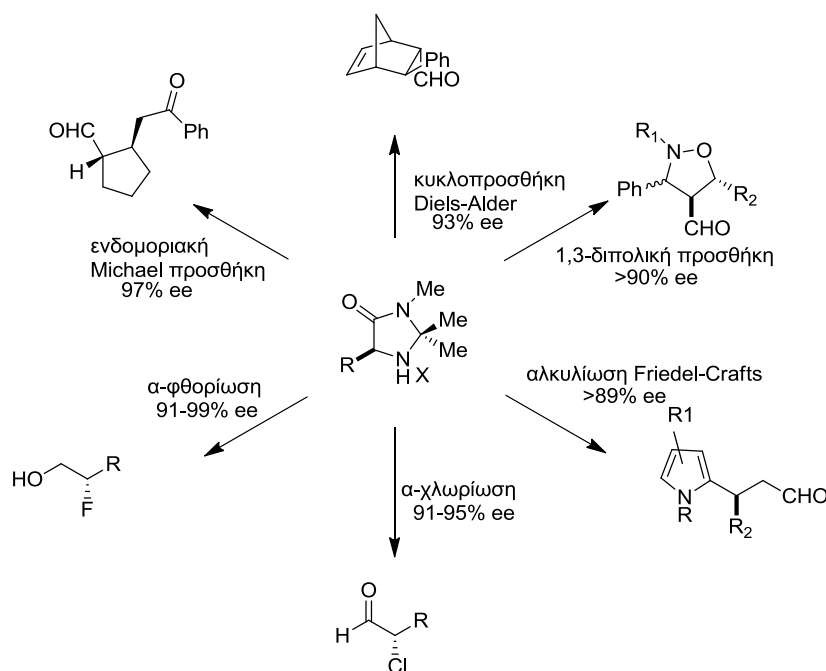
υποβλήθηκε σε αντίδραση με διάφορα διένια για να δώσει προϊόντα [4+2]-κυκλοπροσθήκης σε εξαιρετικές αποδόσεις και εναντιοεκλεκτικότητα.^[52]



Σχήμα 3.4: Αντίδραση [4+2]-κυκλοπροσθήκης με χρήση ιμιδαζολιδινόνης του MacMillan.

Η σημασία των ιμιδαζολιδινονών έγινε κατευθείαν αισθητή. Ο MacMillan κατάφερε να δημιουργήσει με μήτρα το φυσικό αμινοξύ φαινυλαλανίνη, ένα καταλύτη, και κατ' επέκταση, με μικρές αλλαγές στη δομή του, μια ομάδα καταλυτών οι οποίοι κατέλυσαν ένα μεγάλο φάσμα αντιδράσεων και προσέδιδαν προϊόντα με πολύ μεγάλη εναντιομερική περίσσεια.^[52]

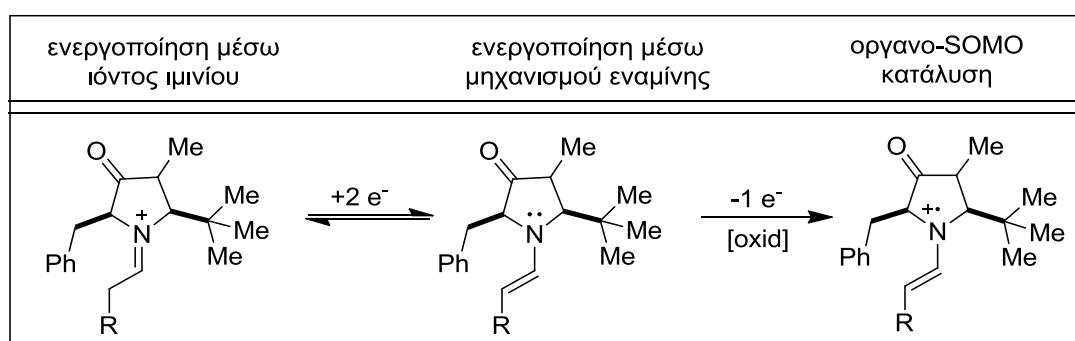
Άλλοι οργανοκαταλυτικοί μετασχηματισμοί που μπορούν να πραγματοποιηθούν με τη χρήση ιμιδαζολιδινονών είναι η 1,3-διπολική κυκλοπροσθήκη,^[53] η αλκυλίωση Friedel-Crafts,^[54] οι οποίοι όπως και η κυκλοπροσθήκη Diels-Alder πραγματοποιούνται μέσω μηχανισμού ενεργοποίησης ιόντος ιμινίου καθώς και α-χλωρίωση,^[55] η α-φθορίωση,^[56] και η ενδομοριακή αντίδραση Michael^[57] μέσω μηχανισμού εναμίνης.



Σχήμα 3.5: Αντιδράσεις στις οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν οι ιμιδαζολιδινόνες του MacMillan.

3.1.5 Ο μηχανισμός ενεργοποίησης μέσω εναμίνης

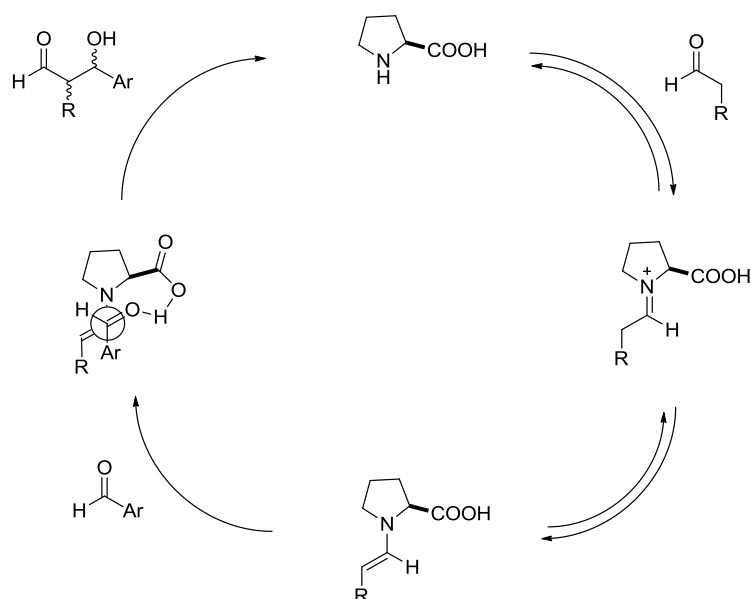
Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, ο MacMillan πρότεινε τη χρήση των ιμιδαζολιδινονών για ένα ευρύ φάσμα αντιδράσεων, τόσο μέσω εναμίνης όσο και ενεργοποίησης ιόντος ιμινίου. Παράλληλα, στην προσπάθειά του να διευρύνει τα όσα, μέχρι τότε, ήταν γνωστά για τις ιμιδαζολιδινόνες ανέπτυξε μια μέθοδο, κατά την οποία, με την προσθήκη ενός οξειδωτικού μέσου δημιουργείται ενδιάμεσο που φέρει τρία π ηλεκτρόνια, ένα ριζικό κατιόν. Αντίστοιχα, το ιόν ιμινίου μιας α,β-ακόρεστης καρβονυλικής ένωσης φέρει 4π ηλεκτρόνια, ενώ η αντίστοιχη εναμίνη μόνο 2π ηλεκτρόνια. Από την οξείδωση αυτού του ενδιαμέσου προκύπτει ένα ριζικό κατιόν, που θα μπορούσε να παρουσιάζει διαφορετική δραστηριότητα και να πραγματοποιήσει καινούριες αντιδράσεις.^[58]



Σχήμα 3.6: Πιθανοί σχηματισμοί ενδιαμέσων με καταλυτική χρήση των ιμιδαζολιδινονών.

Με την έρευνα αυτή, οι ιμιδαζολιδινόνες εισήλθαν στο πεδίο της οργανο-SOMO κατάλυσης, κατά την οποία, ύστερα από τον σχηματισμό της εναμίνης μέσω της προσθήκης ενός οξειδωτικού μέσου δημιουργείται ένα ριζικό κατιόν που από τον πυρηνόφιλο χαρακτήρα της εναμίνης έχει, πια, μετατραπεί σε ένα ασθενές ηλεκτρονιόφιλο, το οποίο μπορεί να αντιδράσει επιτυχώς με π-πυρηνόφιλα δίνοντας α-αλκυλιωμένα προϊόντα.^[58]

Η έννοια της ενεργοποίησης μέσω εναμίνης έχει αναφερθεί αρκετές φορές στο συγκεκριμένο κεφάλαιο, χωρίς να έχει εξηγηθεί το πώς λειτουργεί ο μηχανισμός της. Εφόσον η απαρχή του κλάδου έγινε με τη χρήση της προλίνης ως καταλύτη, ο κύκλος που εξηγείται φέρει ως παράδειγμα την L-προλίνη.



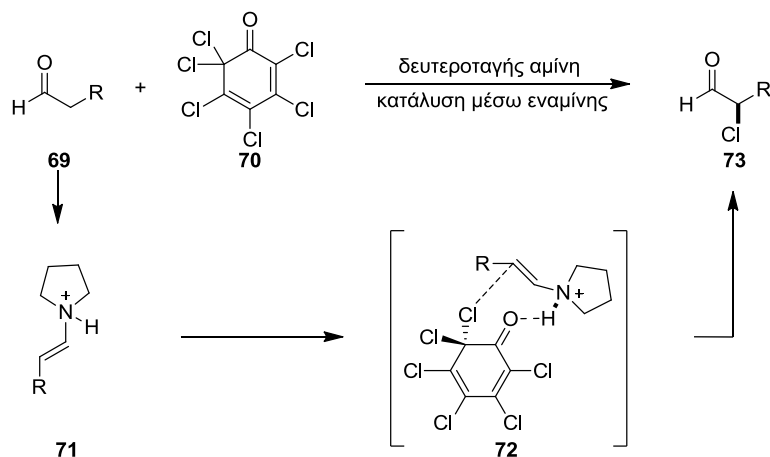
Σχήμα 3.7: Μηχανισμός ενεργοποίησης μέσω εναμίνης με χρήση L-προλίνης ως καταλύτη.

Κατά τον μηχανισμό αυτό, ο καταλύτης αντιδρά με την καρβονυλική ένωση δίνοντας ένα ιόν ιμινίου, το οποίο βρίσκεται σε ισορροπία με την αντίστοιχη εναμίνη, όπως προαναφέρθηκε, με τη μετατόπιση να τείνει προς την εναμίνη. Η εναμίνη, ως ενεργό πυρηνόφιλο, αντιδρά με την καρβονυλική ένωση, στην προκειμένη περίπτωση την αλδεΐδη και μετά από υδρόλυση του καταλύτη από το ίδιο το ενδιάμεσο παρατηρείται αναγέννηση του καταλύτη και σχηματίζεται το προϊόν. Το μοντέλο αυτό προτάθηκε από τους List και Barbas το 2000 και, παρόλο, που πληθώρα άλλων μοντέλων είχαν προταθεί, κρίθηκαν λανθασμένα, οπότε ο μηχανισμός βασίστηκε στο δικό τους, το οποίο και επικράτησε.^[59]

3.1.6 Γενικά για την α-χλωρίωση

Η εναντιοεκλεκτική δημιουργία στερεογονικότητας άνθρακα-αλογόνου έχει γίνει ένας σημαντικός στόχος για τους ειδικούς του κλάδου της Φαρμακευτικής Χημείας και της Οργανικής Σύνθεσης. Στο πλαίσιο του σχεδιασμού φαρμάκων, η στερεοειδική αντικατάσταση των δεσμών C-H ή C-Me με υποκατάστατες φθορίου ή χλωρίου μπορεί συχνά να προσφέρει μεταβολική σταθερότητα χωρίς την απώλεια της συγγένειας δέσμευσης του υποστρώματος. Η δομή R-αλογονοκαρβονυλίου αποτελεί ένα καλό ενδιάμεσο για περαιτέρω δημιουργία δεσμών.

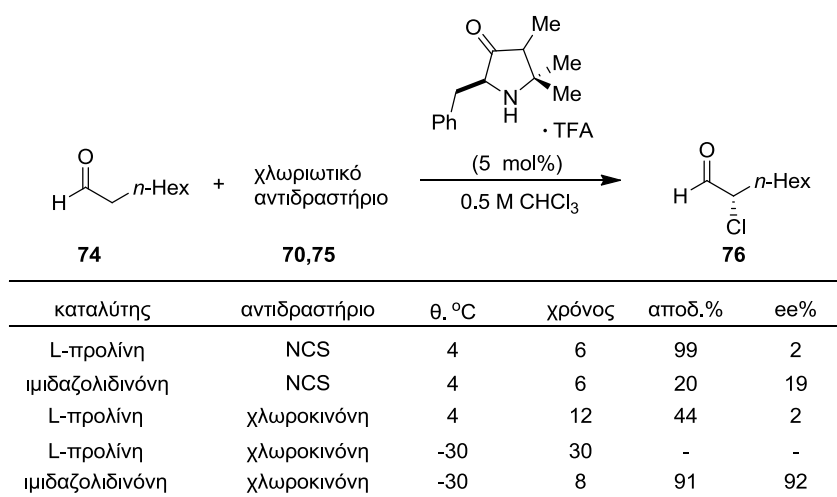
Ο MacMillan σε δημοσίευση για την α-χλωρίωση πρότεινε τη συμμετοχή μιας μεταβατικής κατάστασης **72**, η οποία ακολουθούσε τον μηχανισμό ενεργοποίησης μέσω μηχανισμού εναμίνης και φαίνεται στο σχήμα 3.8.^[55]



Σχήμα 3.8: Αντίδραση α-χλωρίωσης με μια προτεινόμενη μεταβατική κατάσταση.

Εμπνευσμένος από το γεγονός ότι ένα τέτοιο μηχανιστικό σενάριο θα μπορούσε να επεκταθεί για να συμπεριλάβει ηλεκτρονιόφιλες μορφές χλωρίου, πρότεινε το N-χλωροσουκινιμίδιο (NCS) και μια υπερχλωριωμένη κινόνη ως ηλεκτρονιόφιλα αντιδραστήρια που μπορεί να εμπλέκονται σε αυτό. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι η ικανότητα μιας κινόνης να λειτουργεί σε εναντιοεκλεκτικά ενολικές αλογονώσεις είχε, προηγουμένως, αναπτυχθεί από τον Lectka και την ομάδα του.^[60] Το γεγονός ότι το N-χλωροσουκινιμίδιο έδωσε πολύ χαμηλή εναντιοκαθαρότητα, ώθησε τον MacMillan να ερευνήσει την κινόνη ως ηλεκτρονιόφιλη πηγή χλωρίου, η οποία ανέβασε την εναντιοκαθαρότητα στα ύψη δίνοντας το S-προϊόν.^[55]

Συγκεκριμένα, η αντίδραση με N-χλωροσουκινιμίδιο σε σύγκριση με αυτή της κινόνης φαίνονται παρακάτω.^[55]

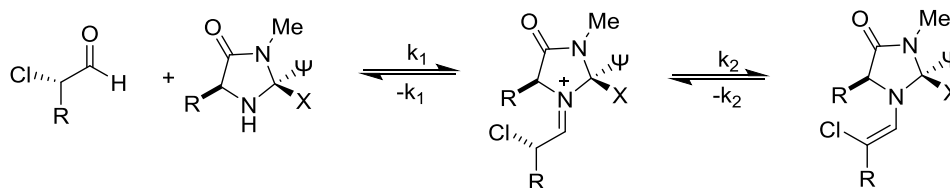


Σχήμα 3.9: Αντίδραση καταλυτικής α-χλωρίωσης.

Για το λόγο αυτό, η χλωροκινόνη είναι και εκείνη που επιλέχθηκε στα πλαίσια της παρούσας διατριβής προς σχηματισμό της *S*-χλωροαλδεΐδης.^[55]

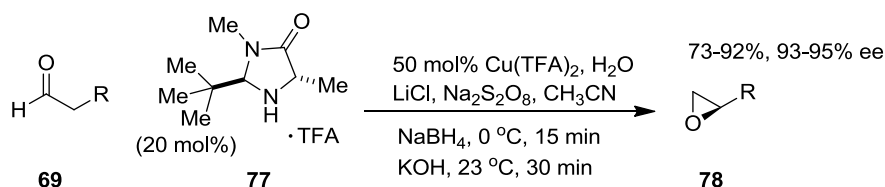
Σε διαφορετική δημοσίευση, ο MacMillan, μελετώντας την α-χλωρίωση από την πλευρά της οργανο-SOMO κατάλυσης, ανέπτυξε μια *linchpin* μέθοδο για τη σύνθεση χειρόμορφων ακραίων εποξειδίων.^[61] Ο όρος *linchpin* αναφέρεται σε μια εναλλακτική στρατηγική για τον σχεδιασμό μιας αντίδρασης, όπου το βήμα κλειδί δεν οδηγεί σε ένα μοναδικό τελικό προϊόν, αλλά σε ένα εναντιοεμπλουτισμένο δραστικό ενδιάμεσο που μπορεί να μετατρέπεται σε ένα ευρύ φάσμα δομών.^[61] Ο καταλύτης που χρησιμοποίησε για να το επιτύχει αυτό ήταν λίγο διαφορετικός σε σχέση με της προηγούμενης αντίδρασης καθώς περιείχε μια *tert*-βούτυλο- αντί για την βενζυλομάδα. Το πρώτο στάδιο προς τη σύνθεσή τους ήταν η δημιουργία μιας χειρόμορφης α-χλωροαλδεΐδης ύστερα από προσθήκη ενός άλατος του χλωρίου (και συγκεκριμένα LiCl), το οποίο λειτούργησε ως πηγή χλωρίου. Ως οξειδωτικό μέσο για την κατάλυση της αντίδρασης, χρησιμοποιήθηκε ένωση του χαλκού. Ο MacMillan προσπάθησε να εντοπίσει έναν καταλύτη ο οποίος: α) θα παρείχε εναντιοκαθαρότητα στο δεσμό C-Cl και β) θα ήταν αδρανής σε σχηματισμό εναμίνης με αποτέλεσμα την αποφυγή ρακεμίσωσης.^[61] Ο καταλύτης που χρησιμοποιήθηκε σχημάτιζε εκλεκτικά το SOMO-ενεργοποιημένο κατιόν, το οποίο μεταφέρει το π-σύστημα των 3 ηλεκτρονίων μακριά από την ογκώδη *tert*-βουτυλομάδα, ενώ η ανθρακική ρίζα θα λάβει εκλεκτικά *E* γεωμετρία, προκειμένου να ελαχιστοποιηθούν οι αλληλεπιδράσεις με τον δακτύλιο της ιμιδαζολιδινόνης. Επιπλέον, η μεθυλομάδα θα μπλοκάρει

την *Re* πλευρά του ριζικού κατιόντος, αφήνοντας την *Si* πλευρά ελεύθερη για εναντιοεκλεκτική χλωρίωση οδηγώντας στο *S*-προϊόν.^[61]



Σχήμα 3.10: Ισορροπίες κατά την α-χλωρίωση.

Όσον αφορά στη μετέπειτα ρακεμοποίηση, ο MacMillan σχεδίασε με τέτοιο τρόπο τον καταλύτη, ώστε το μονήρες ζεύγος ηλεκτρονίων να επισκιάζεται από την ηλεκτρονιακή πυκνότητα της γειτονικής, ογκώδους *tert*-βουτυλομάδας, ένα δομικό χαρακτηριστικό που εμποδίζει τον σχηματισμό του ιμινιακού κατιόντος, εμποδίζοντας, έτσι, τη διαρκή ισορροπία μεταξύ των δύο καταστάσεων, και κατά συνέπεια, τη ρακεμοποίηση του προϊόντος.^[61]



Σχήμα 3.11: Αντίδραση εποξειδωσης κατά τον MacMillan.

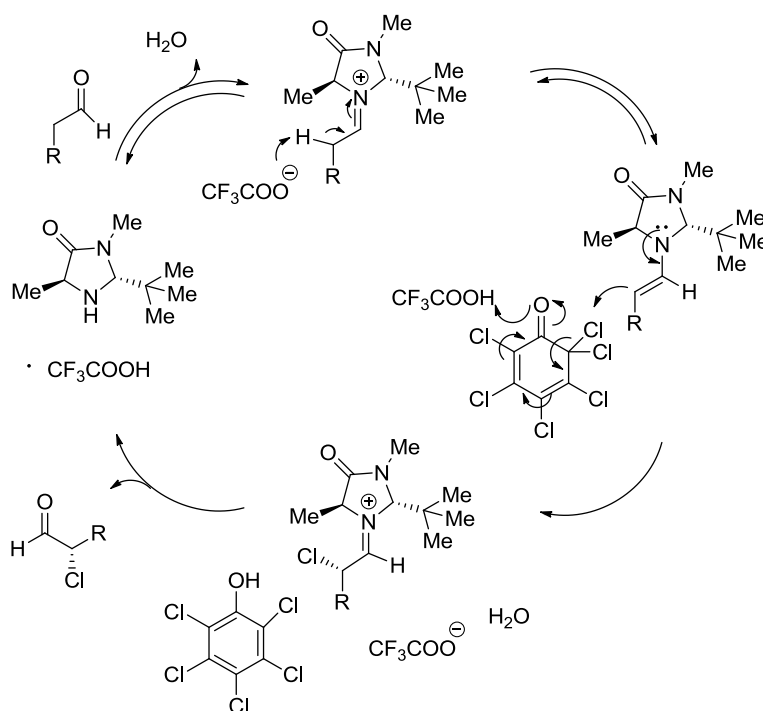
Όπως γίνεται κατανοητό, ο συγκεκριμένος καταλύτης παρουσίασε απευθείας ιδιαίτερο ενδιαφέρον λόγω των χαρακτηριστικών του, τα οποία προσέδιδαν την εναντιοκαθαρότητα στα προϊόντα. Μέχρι τότε, η σύγκριση των ιμιδαζολιδινών που δρούσαν μέσω μηχανισμό εναμίνης έδειχνε πως αυτή που έφερε ως υποκαταστάτη τη βενζυλομάδα προσέδιδε προϊόντα με υψηλότερη εναντιομερική περίσσεια σε σχέση με άλλες. Η πρόταση η οποία ερευνήθηκε, αφορούσε την (2*R*,5*S*)-2-(*tert*-βουτυλο)-3,5-διμεθυλιμιδαζολιδιν-4-όνη και προσπαθούσε να προτείνει μια μέθοδο εναντιοεκλεκτικής α-χλωρίωσης κάτω από απλές συνθήκες και μέσω ενεργοποίησης με μηχανισμό εναμίνης, σε μικρούς χρόνους, καλές αποδόσεις και υψηλές εναντιοεκλεκτικές περίσσειες.^[61]

Εμπνευσμένοι από τη δημοσίευση του MacMillan για την linchpin οργανο-SOMO κατάλυση, ο Χριστόφορος Κόκοτος και η ερευνητική του ομάδα κατάφεραν να εντοπίσουν μια μέθοδο α-χλωρίωσης, συγκεκριμένα με το τριφθοροξικό άλας της (2*R*,5*S*)-2-(*tert*-βουτυλο)-3,5-διμεθυλιμιδαζολιδιν-4-όνης, η οποία έδινε (*S*)-προϊόντα σε καλές αποδόσεις και εξαιρετική

εναντιοκαθαρότητα.^[62] Παρόλο που η δημοσίευση αναφερόταν στη σύνθεση οξοπιπεραζινών από αλδεΐδες μέσα από μια αντίδραση τεσσάρων σταδίων, το στάδιο της α-χλωρίωσης προσαρμόστηκε εύκολα στα υποστρώματα της παρούσας διατριβής εφόσον η μέθοδος που παρουσιάστηκε είχε ως βήμα την α-χλωρίωση, ήταν γενικευμένη και προσέδιδε μεγάλες εναντιομερικές περισσειες σε ένα μεγάλο εύρος αλδεΐδων, ως υποστρώματα, χωρίς να μειώνεται η απόδοση των αντιδράσεων και οι εναντιοκαθαρότητες των προϊόντων.^[62]

3.1.7 Ανάπτυξη μηχανισμών συνθετικών σταδίων

Ο προτεινόμενος μηχανισμός με τον οποίο δρα η ιμιδαζολιδινόνη στις αλδεΐδες, βάσει του μοντέλου ενεργοποίησης μέσω εναμίνης φαίνεται στο σχήμα 3.12.



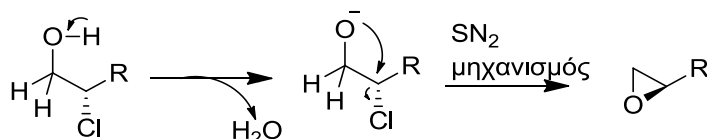
Σχήμα 3.12: Προτεινόμενος μηχανισμός α-χλωρίωσης.

Σύμφωνα με το παραπάνω σχήμα, η αλδεΐδη εισέρχεται στον κύκλο της αντίδρασης και σχηματίζεται ένα ιμινιακό κατιόν, το οποίο βρίσκεται σε ισορροπία με την αντίστοιχη εναμίνη. Με παρόμοιο τρόπο με το προηγούμενο παράδειγμα, προτιμάται, αρχικά, η *E* γεωμετρία λόγω της στερεοχημικής παρεμπόδισης που δημιουργείται από τον ογκώδη υποκαταστάτη που είναι η *tert*-βουτυλομάδα. Εφόσον πραγματοποιηθεί αυτό, η εναμίνη διαμορφώνεται

με τέτοιο τρόπο ώστε να δημιουργείται η μικρότερη στερεοχημική παρεμπόδιση, το ηλεκτρονιόφιλο προσβάλλεται από το πυρηνόφιλο σύστημα. Στο σημείο αυτό, σημαντικό ρόλο παίζει ακόμα ένας υποκαταστάτης της ιμιδαζολιδινόνης, ο οποίος στη συγκεκριμένη περίπτωση είναι το μεθύλιο. Το μεθύλιο που βρίσκεται σε θέση *trans* σε σχέση με τον ογκώδη υποκαταστάτη καθοδηγεί την προσβολή να γίνει από την πίσω πλευρά, καθώς η μπροστινή πλευρά μπλοκάρεται από αυτή λόγω πιο αυξημένης στερεοχημικής παρεμπόδισης.

Έτσι, έχοντας στα χέρια μας την (S)-α-χλωροαλδεΐδη, κατά τα πρότυπα της δημοσίευσης του Χριστόφορου Κόκοτου^[62] και με βάση τις συνθήκες που αφορούσαν στη σύνθεση τελικού εποξειδίου από τον MacMillan,^[61] ακολουθεί η αναγωγή της χλωριωμένης αλδεΐδης σε αλκοόλη. Αρχικά, ο δεσμός B-H από το NaBH₄ προσβάλλει τον άνθρακα του καρβονυλίου, ανάγοντας τον π-δεσμό του άνθρακα με το οξυγόνο και αφήνοντας ένα ελεύθερο ζεύγος ηλεκτρονίων στο οξυγόνο. Σε δεύτερη φάση, πρωτονίωση οδηγεί στην πρωτοταγή αλκοόλη.

Τέλος, το τελευταίο στάδιο της ασύμμετρης εποξειδωσης περιλαμβάνει την προσθήκη βάσης, για απομάκρυνση του πρωτονίου της πρωτοταγούς αλκοόλης και ενδομοριακή SN₂ προσβολή του οξυγόνου στον άνθρακα από τον οποίο απομακρύνεται το χλωροανιόν. Το σημαντικό σε αυτό το βήμα είναι η αλλαγή της στερεοχημείας, διότι η SN₂ αντίδραση πραγματοποιείται μέσω μιας οπίσθιας προσβολής που γίνεται παράλληλα με την απομάκρυνση του ανιόντος Cl⁻ κατά την οποία το πυρηνόφιλο κέντρο προσεγγίζει το μόριο από την αντίθετη πλευρά.



Σχήμα 3.13: Μηχανισμός σχηματισμού ακραίου εποξειδικού δακτυλίου.

Λαμβάνοντας υπ'όψιν το γεγονός ότι τα δεδομένα που είναι διαθέσιμα και αφορούν στα προϊόντα που παραλαμβάνονται με χρήση των ιμιδαζολιδινονών αναφέρουν πως το προϊόν της α-χλωρίωσης είναι το (S)^[5,11] και ύστερα από μετρήσεις σε HPLC, αλλά και μέσω της γωνίας στροφής και σε σύγκριση με τη βιβλιογραφία, η οποία βρέθηκε, καταλήξαμε στο

συμπέρασμα ότι το εποξειδίο που παραλήφθηκε ήταν το (*R*) και μάλιστα σε υψηλή εναντιοκαθαρότητα.

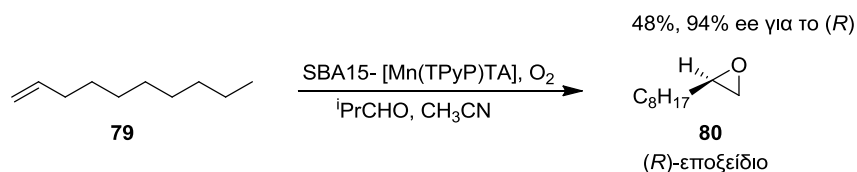
Σημαντικό, επίσης, είναι το γεγονός ότι η εναντιοεκλεκτικότητα που επιτυγχάνεται στο στάδιο α-χλωρίωσης διατηρείται σε όλη την αλληλουχία αντιδράσεων έως τον σχηματισμό εποξειδίου. Αυτή η σειρά αντιδράσεων έως τον σχηματισμό του εποξειδίου πραγματοποιείται σε λιγότερο από πέντε ώρες, χρησιμοποιώντας μη δαπανηρά, μη τοξικά αντιδραστήρια και καταλύτες, σε θερμοκρασίες μεταξύ 0 και 23 °C.^[11,12]

3.1.8 Άλλοι προτεινόμενοι τρόποι σύνθεσης ακραίων εποξειδίων

Εφόσον το βήμα κλειδί για το μεγαλύτερο μέρος της παρούσας διατριβής ήταν η δημιουργία ενός χειρόμορφου κέντρου, γεγονός που επιτυγχάνεται, αρχικά, από την αντίδραση τριών βημάτων που έχει ως τελικό προϊόν το εποξειδίο, αναφορά θα γίνει για εναλλακτικούς τρόπους εποξειδωσης που είναι βασισμένοι σε βιβλιογραφική έρευνα.

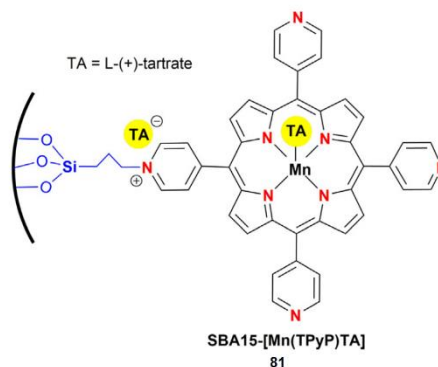
Στις περισσότερες δημοσιεύσεις που βρέθηκαν, η χειρομορφία στο μόριο εντάσσεται μέσω της χρήσης συμπλόκων. Πιο συγκεκριμένα, αυτά που κυριαρχούν στις περισσότερες έρευνες αφορούν σύμπλοκα του Mn και σύμπλοκα του Co.

Μια προτεινόμενη πορεία έχει δημοσιευτεί από τον Monfared και την ομάδα του και περιλαμβάνει μια εξαιρετικά ενεργή και εναντιοεκλεκτική καταλυόμενη εποξειδωση ολεφινών με μοριακό οξυγόνο/ισοβουτυραλδεΐδη με τη χρήση Mn-πορφυρίνης υποστηριζόμενης σε μεσοπορώδες SBA-15 (SBA15-[Mn(TPyP)TA]). Το ανιόν L-(+)-τρυγικού οξέος (TA) χρησιμοποιήθηκε ως χειρόμορφο βοηθητικό ιόν.^[63] Η υψηλή δραστηριότητα και εναντιοεκλεκτικότητα του SBA15-[Mn(TPyP)TA] απέδειξαν ότι παρέχει ενεργότητα που μοιάζει με την προσθετική ομάδα φυσικών ενζύμων που ανήκουν στην οικογένεια του κυτοχρώματος P-450. Το μοριακό οξυγόνο είναι ένα άφθονο και φιλικό προς το περιβάλλον οξειδωτικό που παίζει βασικό ρόλο στη λειτουργία των μεταλλοενζύμων.^[63]



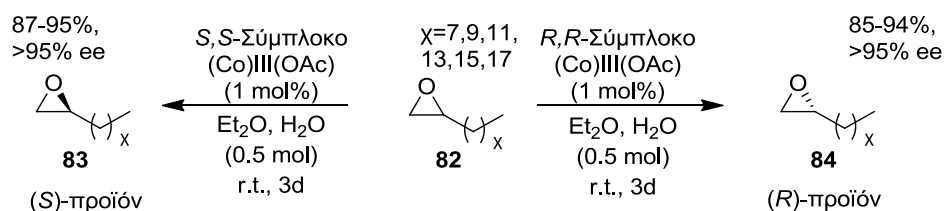
Σχήμα 3.14: Κινητικός διαχωρισμός εναντιομερών με χρήση συμπλόκου Mn.

Η ίδια αντίδραση πραγματοποιήθηκε με διαφορετικά υποστρώματα και αναλογίες διαλυτών, από όπου και φάνηκε ότι με το σύμπλοκο αυτό του Mn μπορεί να επιτευχθεί η δημιουργία χειρόμορφων ακραίων εποξειδίων σε πολύ υψηλή εναντιομερική περίσσεια, με μέτριες όμως αποδόσεις. Παρόλο που το σύμπλοκο του Mn προσέδιδε μεγάλη εναντιοκαθαρότητα στα προϊόντα, οι αποδόσεις της εποξείδωσης ήταν αρκετά χαμηλές εφόσον αποτελεί μια μέθοδο κινητικού διαχωρισμού εναντιομερών, οπότε η μέθοδος δεν φάνηκε ιδιαίτερα ελκυστική.^[63]



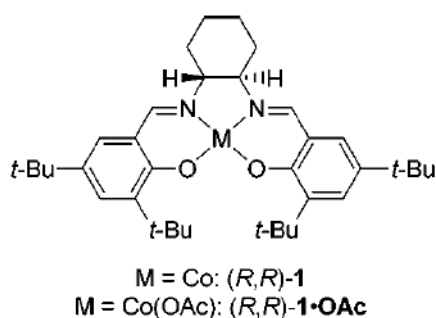
Εικόνα 3.1: Σύμπλοκο του Mn.^[63]

Σε μια άλλη εργασία, μελετήθηκε ένας καταλύτης Co του Jacobsen, ο οποίος, όπως δημοσίευσε ο Gandour και η ομάδα του, προσέδιδε μεγάλη εναντιοκαθαρότητα και καλές αποδόσεις προς σχηματισμό ακραίων εποξειδίων.^[64] Μέχρι τότε, πολλές πρωτοποριακές μέθοδοι επικεντρώνονταν στη μετατροπή αλκενίων μακράς αλυσίδας ή χειρόμορφων ενώσεων σε μη ρακεμικά εποξείδια. Άλλες μέθοδοι χρησιμοποιούσαν ενζυμικές μεθόδους για την απομόνωση χειρόμορφων εποξειδίων και πρόδρομων ενώσεων σε εποξείδια. Τέτοιες μέθοδοι είχαν περιορισμούς με ενώσεις οι οποίες αποτελούνταν από 10 ανθρακοάτομα και πάνω. Ωστόσο, επειδή τέτοιου είδους μόρια βρίσκουν εφαρμογή σε συνθέσεις προς διάφορα φυσικά προϊόντα και ενώσεις με βιολογική δράση ο Gandour χρησιμοποίησε, επιτυχώς, τον καταλύτη του Jacobsen [σύμπλοκο(Co)III] προς σχηματισμό ακραίων εποξειδίων.^[64]

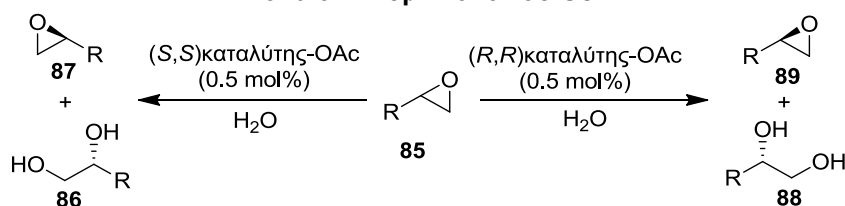


Σχήμα 3.15: Σχηματισμός χειρόμορφου ακραίου εποξειδίου με καταλύτη του Co.

Φυσικά, η έρευνα αυτή στηρίχτηκε στην πρωτότυπη δημοσίευση του Jacobsen, ο οποίος υποστήριξε ότι τα σύμπλοκα Co (III) απέτελεσαν την πιο διαδεδομένη έως τώρα μέθοδο για την παρασκευή τερματικών και εναντιοκαθαρών εποξειδίων με ευρεία χρήση τόσο σε ακαδημαϊκό όσο και σε βιομηχανικό επίπεδο, η οποία φαίνεται στο παρακάτω σχήμα.^[65] Στο σημείο αυτό, θα πρέπει να αναφερθεί ότι και σε αυτή την περίπτωση πραγματοποιείται κινητικός διαχωρισμός εναντιομερών.



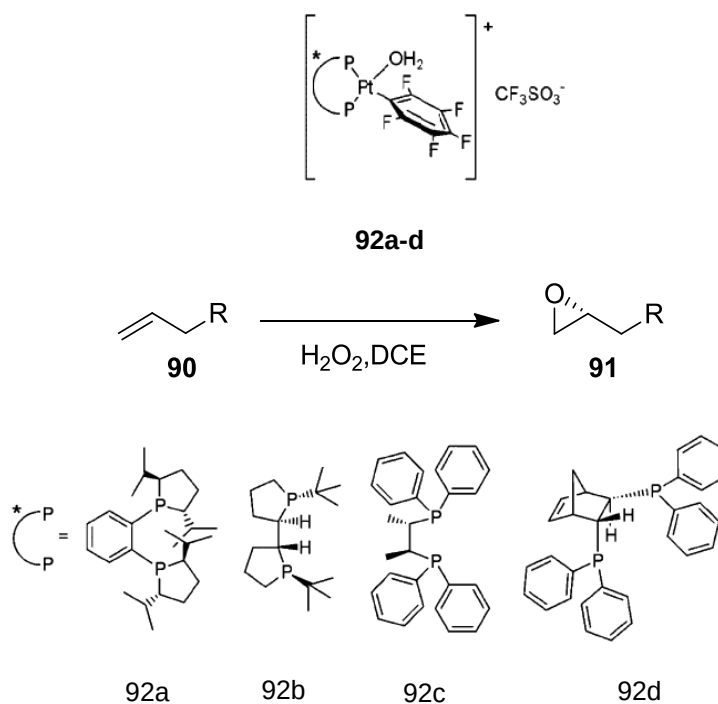
Εικόνα 3.2: Σύμπλοκο του Co.^[65]



Σχήμα 3.16: Κινητικός διαχωρισμός εναντιομερών με χρήση καταλύτη του Jacobsen.

Ενδεικτικά, ακόμα, αξίζει να αναφερθεί η μελέτη μιας άλλης επιστημονικής ομάδας ανεπτυγμένη από τον Strukul και τους συνεργάτες του, βάσει της οποίας η ασύμμετρη εποξειδωση θα μπορούσε, επίσης, να πραγματοποιηθεί από νέους χειρόμορφους καταλύτες του Pt(II) τελικών αλκενίων με υπεροξείδιο του υδρογόνου ως οξειδωτικό, με αποτέλεσμα την παραγωγή των αντίστοιχων εποξειδίων με μέτριες έως καλές αποδόσεις, και έως 98% εναντιοκαθαρότητα.^[66] Βασικό ρόλο σε αυτή τη συμπεριφορά παίζει η επιλογή του PtII ως μεταλλικού κέντρου και -C₆F₅ ως υποκαταστάτη,

προσδίδοντας τις κατάλληλες ηλεκτρονιακές ιδιότητες στο μέταλλο, ενώ ταυτόχρονα αυξάνεται η ακαμψία και η στεreoχημική παρεμπόδιση του συμπλόκου. Αυτή η ιδιότητα εξηγεί τα αποτελέσματα που παρατηρήθηκαν με διαφορετικά υποστρώματα με το (S,S)-**92c** να δίνει το *R* εποξειδίο σε 75% εναντιοεκλεκτική περίσσεια.^[66]



Σχήμα 3.17: Σχηματισμός εποξειδίου με καταλύτη Pt.

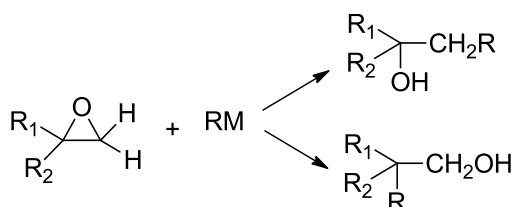
Προφανώς, οι τρόποι σύνθεσης ασύμμετρων εποξειδίων είναι πολλοί και τα παραδείγματα που αναφέρθηκαν παραπάνω είναι ενδεικτικά μερικών από τους τρόπους με τους οποίους θα μπορούσε εναλλακτικά να πραγματοποιηθεί το στάδιο-κλειδί της συνθετικής πορείας της παρούσας διατριβής. Ωστόσο, μελετώντας τόσο την απόδοση όσο και την εναντιοκαθαρότητα των προϊόντων που παραλαμβάνονται από την ιμιδαζολιδινόνη του MacMillan καθώς και τις ήπιες συνθήκες, τους μικρούς χρόνους, τις μη εξεζητημένες θερμοκρασίες αλλά και το γεγονός ότι η απόδοση παρέμενε υψηλή στα υποστρώματα που χρησιμοποιήθηκαν επιλέχθηκε ως προτιμότερη.

3.1.9 Γενικά για την αντίδραση διάνοιξης εποξειδίου με αντιδραστήριο Gilman

Τα εποξειδία ("οξιράνια" κατά IUPAC) είναι τριμελείς κυκλικοί αιθέρες που έχουν σημαντική τάση δακτυλίου. Η ιδιότητά τους αυτή, τα καθιστά ευάλωτα σε προσβολή πυρηνόφιλων, γεγονός που θα έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό ενός νέου δεσμού C-C και τη διάνοιξη του δακτυλίου.

Όταν χρησιμοποιείται αντιδραστήριο Grignard, το πυρηνόφιλο είναι το ζεύγος ηλεκτρονίων στον δεσμό C-Mg, αφού ο άνθρακας αυτός, είναι έντονα (πυρηνόφιλος) εξαιτίας της μεγαλύτερης ηλεκτραρνητικότητάς του σε σύγκριση με το μαγνήσιο. Κατά κανόνα, λοιπόν, το ζεύγος ηλεκτρονίων του δεσμού C-Mg προσβάλλει το λιγότερο υποκατεστημένο άνθρακα του εποξειδίου (ηλεκτρονιόφιλο) σχηματίζοντας έναν νέο δεσμό C-C και διασπώντας έναν C-O. Στη συνέχεια, μια πηγή πρωτονίων H^+ προστίθεται προκειμένου να προσφέρει το πρωτόνιο στο ανιόν του άνθρακα, σχηματίζοντας έναν ακόμη δεσμό O-H.

Τα εποξειδία αντιδρούν με μεταβλητό τρόπο με οργανομεταλλικές ενώσεις, παράγοντας αλκοόλες, οι οποίες είναι διαφορετικές ανάλογα με τη φύση των αντιδραστηρίων και τις χρησιμοποιούμενες συνθήκες.^[67]

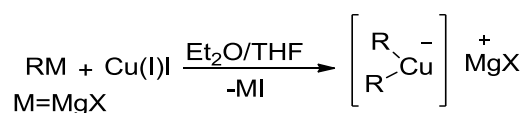


Σχήμα 3.18: Πιθανά προϊόντα της διάνοιξης εποξειδίου με χρήση οργανομεταλλικών ενώσεων.

Η διάνοιξη εποξειδίων από πυρηνόφιλα που απαρτίζονται από αλυσίδες άνθρακα είναι μια χρήσιμη μέθοδος για τη δημιουργία νέων σ δεσμών άνθρακα-άνθρακα. Τα διάφορα οργανομεταλλικά αντιδραστήρια είναι χρήσιμα πυρηνόφιλα για την αλκυλίωση των εποξειδίων και των αζιριδινών. Μεταξύ αυτών, οργανικές ενώσεις χαλκού που είναι γνωστό ότι θεωρούνται οι πλέον αποτελεσματικές για την επίτευξη της πυρηνόφιλης υποκατάστασης ενός εποξειδίου με έναν τοποεκλεκτικό τρόπο.^[68] Στον τομέα της σύνθεσης φυσικών προϊόντων, υπάρχουν πολλά παραδείγματα κατά τα οποία τέτοιου είδους αντιδραστήρια, που συνήθως παράγονται *in situ*, αλκυλιώνουν ένα

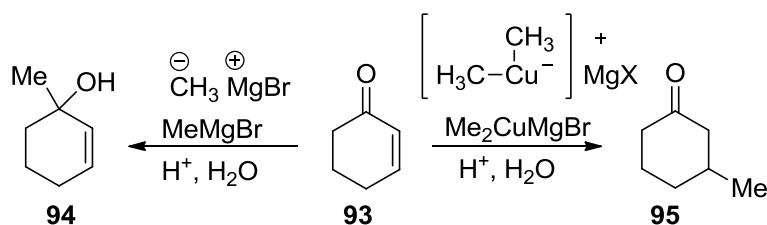
εναντιοκαθαρό ακραίο εποξειδίο, για να δώσουν συνθετικώς χρήσιμες αλκοόλες. Για την ερμηνεία της συμπεριφοράς των οργανικών ενώσεων χαλκού ή αλλιώς αντιδραστήριων Gilman χρησιμοποιήθηκαν οι έννοιες της σκληρότητας και μαλακότητας οξέων και βάσεων.^[69]

Γενικά, για τα αντιδραστήρια Gilman αξίζει να αναφερθεί πως συνήθως έχουν τη μορφή $[(R)_2Cu]^-Li^+$ και είναι λιγότερο δραστικές από τις οργανολιθιακές ενώσεις. Στις περιπτώσεις αυτών των αντιδραστηρίων, το R-λειτουργεί ως πυρηνόφιλο και μπορεί να προσβάλει ένα μεγάλο εύρος οργανικών ηλεκτρονιόφιλων. Η οξειδωτική κατάσταση του χαλκού στις ενώσεις αυτές είναι (I) και η βασικότερη χρήση τους είναι οι αντιδράσεις σχηματισμού δεσμών C-C. Εκτός από τη μορφή των ενώσεων αυτών που ήδη αναφέρθηκε, συχνά, συναντιούνται και σε μορφή R_2CuMgX και η σύνθεσή τους προέρχεται ύστερα από αντίδραση ενός άλατος του χαλκού, του CuI με ένα αντιδραστήριο Grignard προς σχηματισμό ενός άλατος.



Σχήμα 3.19: Σχηματισμός άλατος από την αντίδραση άλατος χαλκού και αντιδραστηρίου Grignard.

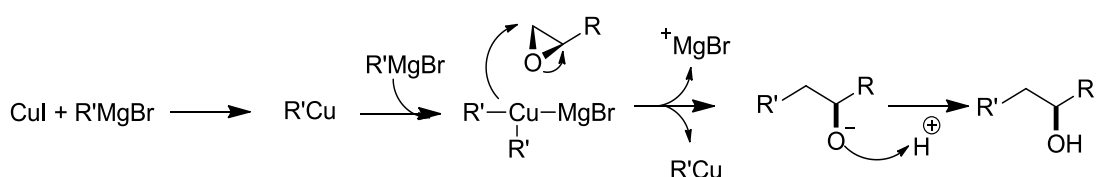
Η θερμοκρασία παίζει μεγάλο ρόλο στην αντίδραση, καθώς οι ενώσεις τέτοιου τύπου είναι θερμικά ασταθείς και για τον λόγο αυτό, τέτοιου είδους αντιδράσεις πραγματοποιούνται σε χαμηλές θερμοκρασίες. Όσον αφορά στη θεωρία για την τοποεκλεκτικότητα της αντίδρασης, η διαφορά μεταξύ σκληρότητας και μαλακότητας φαίνεται στο σχήμα 3.20 με βάση την κυκλοεξ-2-ενόνη **93**.



Σχήμα 3.20: Τοποεκλεκτικότητα αντιδραστηρίων Grignard και Gilman στην ένωση 122.

Στην περίπτωση του αντιδραστηρίου Grignard το αρνητικό φορτίο βρίσκεται κοντά στο ανθρακοάτομο κάνοντάς το σκληρό πυρηνόφιλο, ενώ στην περίπτωση του αντιδραστηρίου Gilman, το ζεύγος ηλεκτρονίων

διαμοιράζεται μεταξύ του ατόμου του άνθρακα και του χαλκού μετατρέποντας το σύστημα σε μαλακό πυρηνόφιλο. Όπως είναι γνωστό από τη βιβλιογραφία, τα μαλακά πυρηνόφιλα αντιδρούν ταχύτερα με μαλακά ηλεκτρονιόφιλα και τα σκληρά με σκληρά, οδηγώντας έτσι τις δύο αντιδράσεις προς τα συγκεκριμένα προϊόντα.^[69] Η προσβολή του αντιδραστήριου Gilman πραγματοποιείται μέσω μηχανισμού SN2, σύμφωνα με τον οποίο το υποστρώμα παίζει το σημαντικότερο ρόλο στον προσδιορισμό του προϊόντος της αντίδρασης. Αυτό οφείλεται στο ότι το πυρηνόφιλο προσβάλλει την πίσω πλευρά του υποστρώματος, διασπώντας έτσι τον δεσμό αποχωρούσας ομάδας-άνθρακα και σχηματίζοντας τον δεσμό άνθρακα-πυρηνόφιλου. Επομένως, για να μεγιστοποιηθεί ο ρυθμός της αντίδρασης SN2, η πίσω πλευρά του υποστρώματος πρέπει να είναι όσο το δυνατόν λιγότερο παρεμποδισμένη. Συνολικά, αυτό σημαίνει ότι τα μεθύλια και τα πρωτοταγή υποστρώματα αντιδρούν ταχύτερα, ακολουθούμενα από τα δευτεροταγή υποστρώματα. Τα τριτοταγή υποστρώματα δεν συμμετέχουν στις αντιδράσεις SN2, λόγω στερεοχημικής παρεμπόδισης. Βάσει αυτού, στην περίπτωση του βήματος της διάνοιξης του εποξειδίου, ήδη προτιμάται η προσβολή να πραγματοποιηθεί στον λιγότερο παρεμποδισμένο άνθρακα. Η πρόταση αυτή ενισχύεται περισσότερο από τα όσα είναι ήδη γνωστά για τη διάνοιξη των εποξειδίων που αναφέρουν ότι, σε βασικές συνθήκες, οδηγεί στη διάνοιξη στη λιγότερο παρεμποδισμένη πλευρά. Ο μηχανισμός φαίνεται στο σχήμα 3.21.

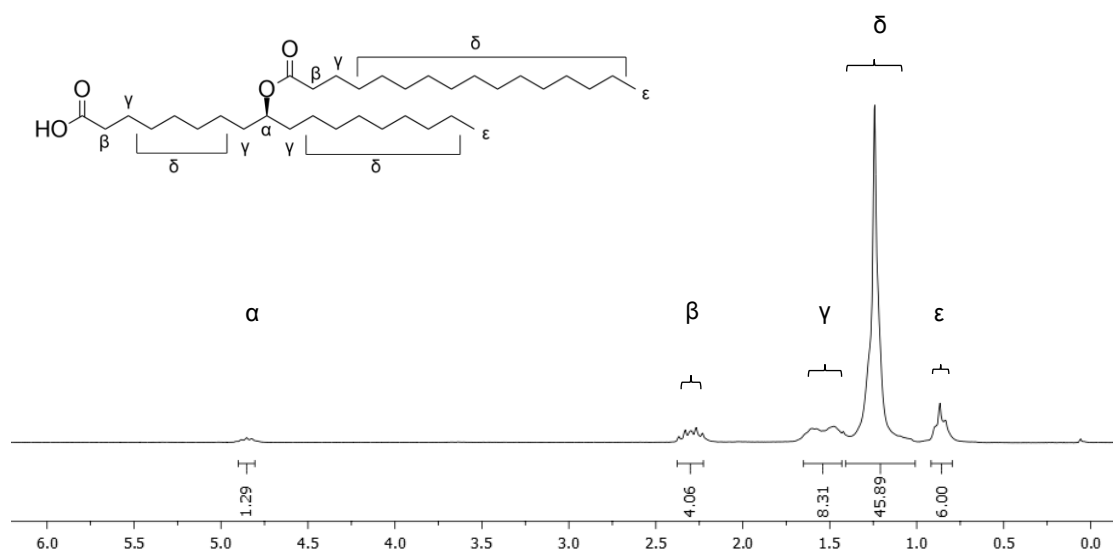


Σχήμα 3.21: Προτεινόμενος μηχανισμός διάνοιξης εποξειδικού δακτυλίου.

Όσον αφορά στη στερεοχημεία, το υδροξύλιο θα βρίσκεται προς την μπροστά πλευρά, όπως ο εποξειδικός δακτύλιος, εφόσον η στερεοχημεία του στερεογονικού κέντρου δεν επηρεάζεται από τη διάνοιξη του εποξειδίου και την προσβολή του αντιδραστήριου Gilman. Ωστόσο, επειδή με τη διατήρηση της στερεοχημείας, πλέον, αλλάζει η προτεραιότητα των υποκαταστατών, οπότε το προϊόν που παραλαμβάνεται θα είναι το (S). Αρκετές επιστημονικές μελέτες που έχουν δημοσιευθεί ερευνούν την επιρροή που μπορεί να έχει η

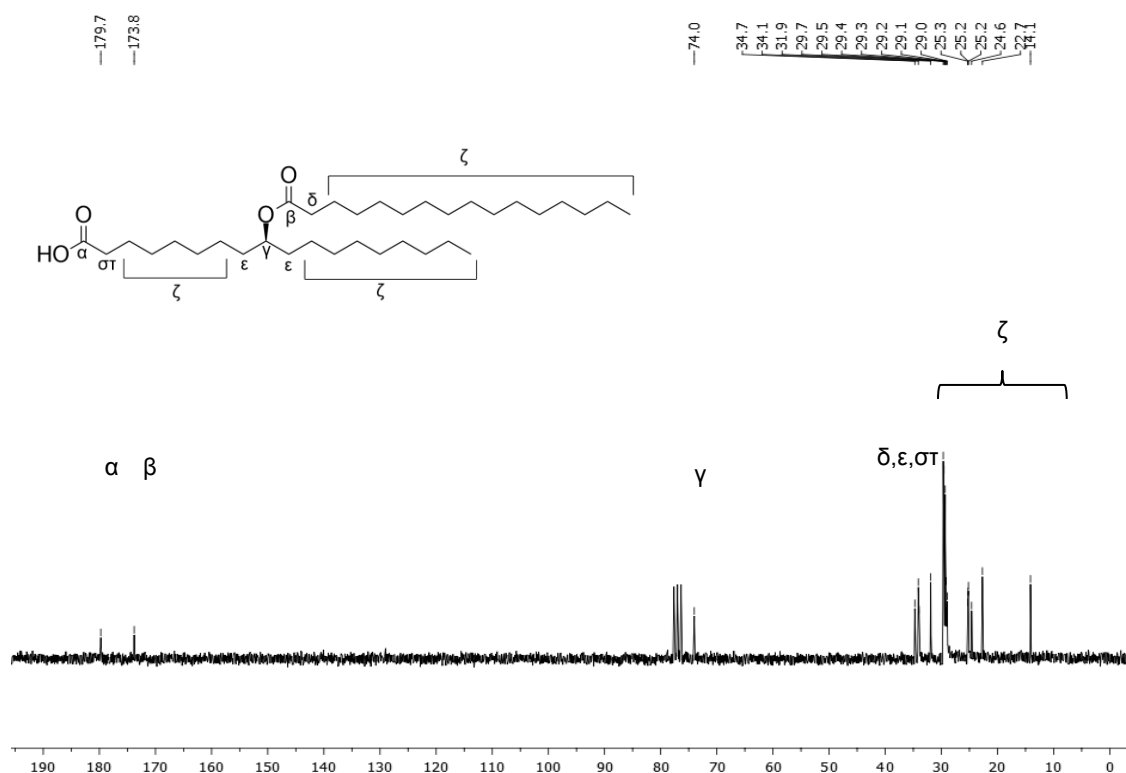
προσθήκη καταλυτικής ποσότητας ιωδιούχου χαλκού στην ύπαρξη στερεογονικότητας στο μόριο και όλες επιβεβαιώνουν το ότι δεν υπάρχει καμία ένδειξη αλλαγής της στερεοχημείας.^[70]

3.1.10 Αποτίμηση φασμάτων του 9-PAHSA



Σχήμα 3.22: Φάσμα ^1H NMR του 9-PAHSA 65 (CDCl_3 , 200 MHz).

Στο σχήμα 3.22 παρουσιάζεται το φάσμα ^1H NMR σε διαλύτη CDCl_3 της ένωσης **9-PAHSA**. Στα 4.90-4.82 ppm συντονίζεται το πρωτόνιο του στερεογονικού κέντρου CH, στα 2.39-2.23 ppm συντονίζονται συνολικά τα COCH_2 πρωτόνια σε α-θέση ως προς το καρβοξύλιο αλλά και σε α-θέση ως προς το εστερικό καρβονύλιο. Στη συνέχεια, στα 1.64-1.43 ppm συντονίζονται τέσσερα από τα μεθυλένια της αλειφατικής αλυσίδας, τα οποία βρίσκονται σε β-θέση ως προς την καρβονυλική ομάδα και σε α-θέση ως προς το στερεογονικό κέντρο, ενώ τα μεθυλένια της υπόλοιπης αλειφατικής αλυσίδας συντονίζονται από 1.38-1.01 ppm. Τέλος, τα έξι πρωτόνια των μεθυλίων συντονίζονται στα 0.87 ppm.

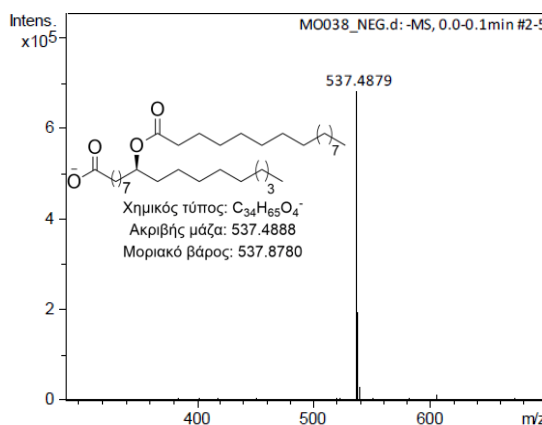


Σχήμα 3.23: Φάσμα ^{13}C NMR του 9-PAHSA 65 (CDCl_3 , 50 MHz).

Στο σχήμα 3.23 παρουσιάζεται το φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης 65 σε διαλύτη CDCl_3 . Στα 179.7 ppm συντονίζεται το καρβονύλιο του καρβοξυλίου, ενώ στα 173.8 ppm το εστερικό καρβονύλιο. Στα 74 ppm συντονίζεται ο άνθρακας που φέρει το οξυγόνο της εστερικής ομάδας. Στα 34.7, 34.1, 34.0 και 31.9 ppm συντονίζονται τα μεθυλένια που βρίσκονται σε α-θέση ως προς τον άνθρακα του καρβονυλίου του εστερικού δεσμού, τα δύο μεθυλένια δεξιά και αριστερά του στερεογονικού κέντρου και το μεθυλένιο που βρίσκεται σε α-θέση ως προς τον άνθρακα του καρβοξυλίου αντίστοιχα. Τέλος, από 29.7-14.1 ppm συντονίζονται όλοι οι υπόλοιποι αλειφατικοί άνθρακες του μορίου.

Στο σχήμα 3.24 φαίνεται, επίσης, το φάσμα μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας (HRMS), το οποίο ελήφθη με ηλεκτροψεκασμό (ESI) σε αρνητικό ιοντισμό.

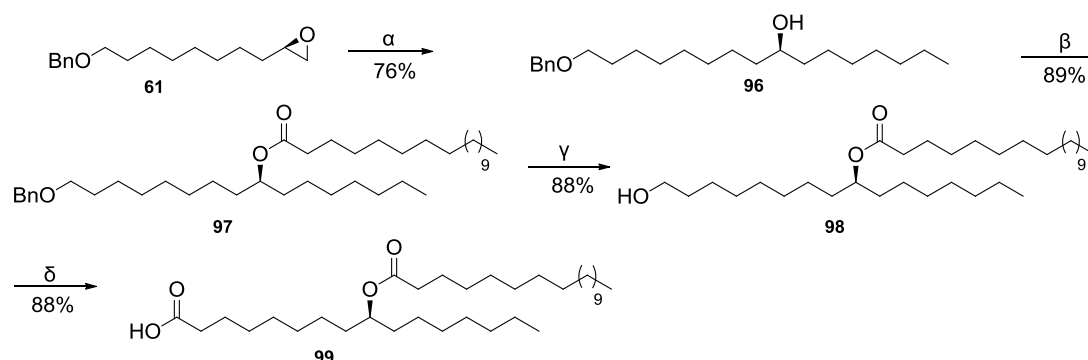
Σχήμα 3.24: Φάσμα μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας της ένωσης 65.



3.1.11 Σύνθεση των υπόλοιπων FAHFAs

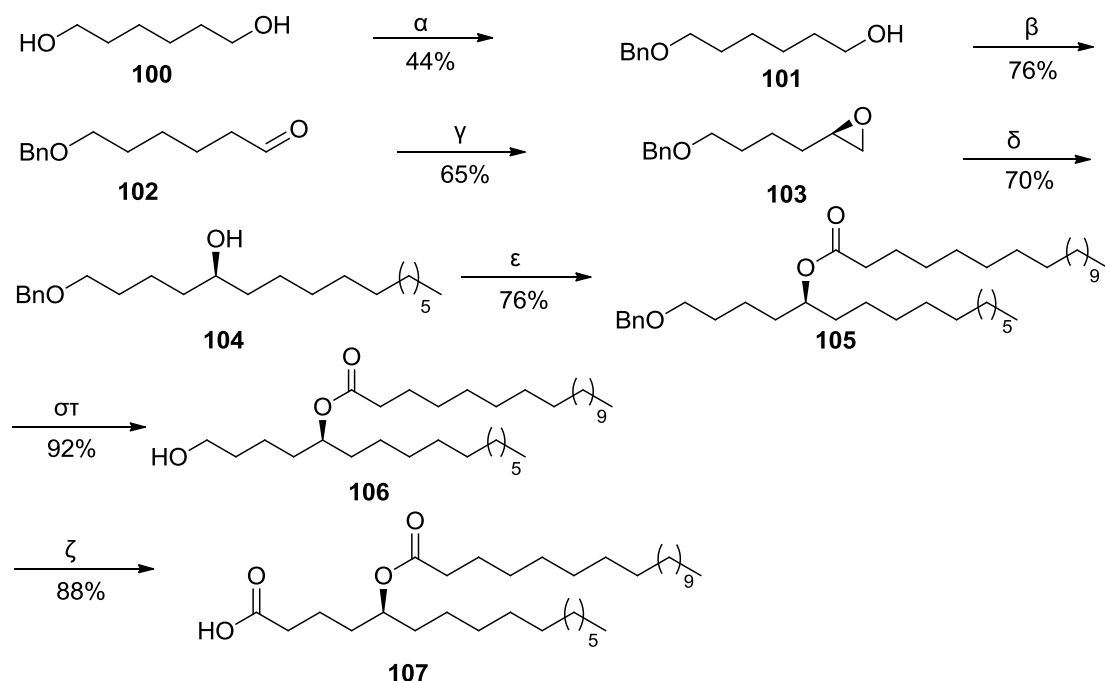
Τα όσα αναφέρθηκαν στα προηγούμενα υποκεφάλαια αφορούσαν στην ένωση 9-PAHSA (**65**). Παράλληλα, πραγματοποιήθηκε η σύνθεση και τριών, ακόμη, εστέρων των λιπαρών οξέων με υδρόξυ λιπαρά οξέα, η οποία φαίνεται ξεχωριστά για το καθένα στα παρακάτω σχήματα.

Στο σχήμα 3.25 φαίνεται η σύνθεση του **9-SAHPA**, ακολουθώντας το ίδιο συνθετικό μονοπάτι που ακολουθήθηκε και για το προηγούμενο προϊόν με τις μόνες διαφοροποιήσεις να είναι η χρήση εξυλομαγνήσιου βρωμιδίου για τη διάνοιξη του ακραίου εποξειδίου **61** προς τη δευτεροταγή αλκοόλη **96** και την προσθήκη στεαρόυλο χλωριδίου ως άκυλο χλωρίδιο για την πραγματοποίηση της εστεροποίησης.



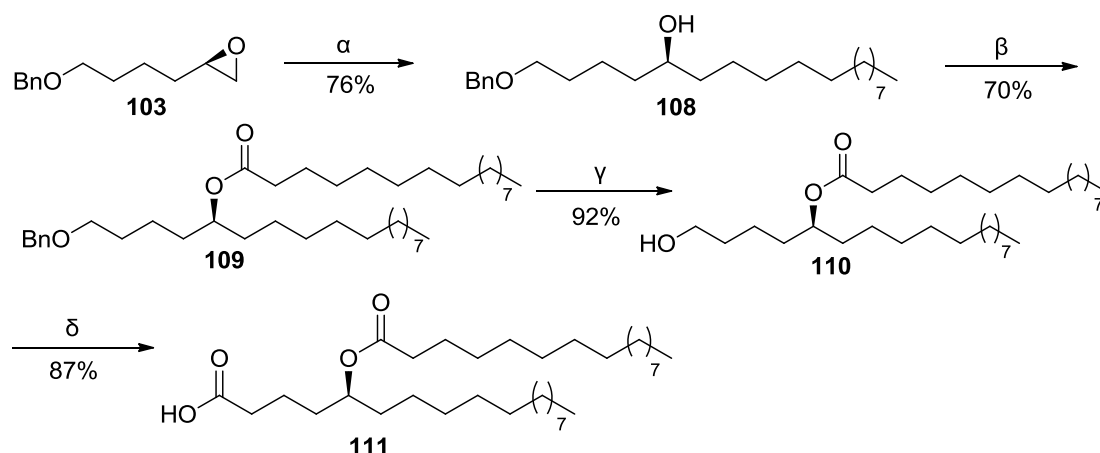
Σχήμα 3.25: Πορεία σύνθεσης του 9-SAHPA. (α) $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{MgBr}$, CuI , άνυδρο THF, -40°C , 1 h, (β) $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COCl}$, άνυδρο CH_2Cl_2 , r.t., 16 h, (γ) H_2 , 10% Pd/C, MeOH, r.t., 16 h, (δ) αντιδραστήριο Jones, ακετόνη, 0°C , 1 h.

Αντίστοιχα, στο σχήμα 3.26 αναπτύσσεται η συνθετική πορεία προς το σχηματισμό του 5-PAHSA προϊόντος. Σε αυτή την περίπτωση, ενώ το γενικό σχήμα της πορείας που ακολουθείται είναι όμοιο με αυτό του 9-PAHSA, χρησιμοποιείται εκτός από διαφορετικό αντιδραστήριο Grignard για την διάνοιξη του εποξειδίου **103** και αλλιώτικο άκυλο χλωρίδιο για την εστεροποίηση, διαφορετική εμπορικώς διαθέσιμη α,ω-διόλη, η εξανοδιόλη **100**.



Σχήμα 3.26: Πορεία σύνθεσης του 5-SAHPA. (α) BnBr, NaH, άνυδρο DMF, 0 °C έως r.t., 16 h, (β) PCC, άνυδρο CH₂Cl₂, r.t., 1 h, (γ) i. τριφθοροξικό άλας της (2R,5S)-2-(tert-βουτυλο)-3,5-διμεθυλιμιδαζολιδιν-4-όνης, 2,3,4,5,6-εξαχλωροκυκλοεξα-2,4-διεν-1-όνη, THF, r.t., 30 min, ii. NaBH₄, EtOH, 0 °C, 15 min, iii. KOH, EtOH, H₂O, r.t., 30 min, (δ) C₁₀H₂₁MgBr, CuI, άνυδρο THF, -40 °C, 1 h, (ε) CH₃(CH₂)₁₆COCl, άνυδρο CH₂Cl₂, r.t., 16 h, (στ) H₂, 10% Pd/C, MeOH, r.t., 16 h, (ζ) αντιδραστήριο Jones, ακετόνη, 0 °C, 1 h.

Στο τελευταίο σχήμα, φαίνεται η συνθετική πορεία που ακολουθείται στην περίπτωση του **5-PAHSA**. Η πορεία αυτή, είναι όμοια με αυτή του **5-SAHPA**, η οποία φαίνεται στο προηγούμενο σχήμα, με τη διαφορά ότι η διάνοιξη του εποξειδίου γίνεται με το δωδεκυλομαγνήσιο βρωμίδιο ενώ η εστεροποίηση πραγματοποιείται με παλμιτόυλο χλωρίδιο.

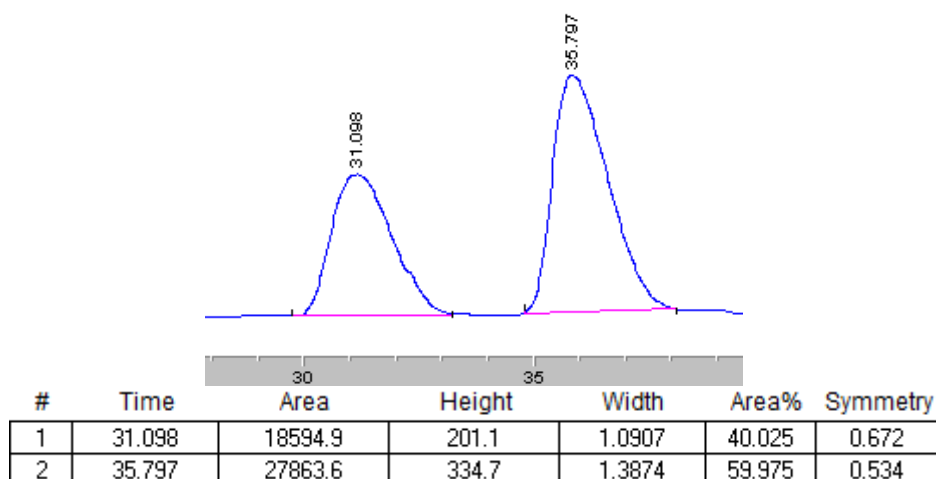


Σχήμα 3.27: Πορεία σύνθεσης του 5-PAHSA. (α) $C_{12}H_{25}MgBr$, CuI , άνυδρο THF, $-40^\circ C$, 1 h, (β) $CH_3(CH_2)_{14}COCl$, άνυδρο CH_2Cl_2 , r.t., 16 h, (γ) H_2 , 10% Pd/C, MeOH, r.t., 16 h, (δ) αντιδραστήριο Jones, ακετόνη, $0^\circ C$, 1h.

3.1.12 Προσδιορισμός της εναντιομερικής περίσσειας χειρόμορφων εποξειδίων με τη χρήση HPLC με χειρόμορφη στήλη

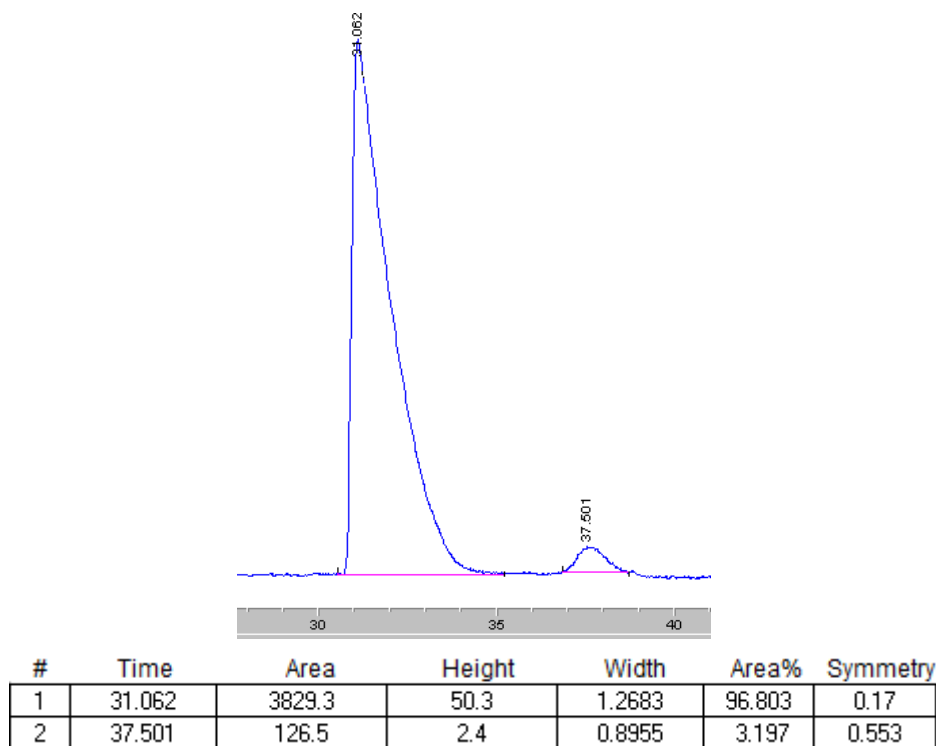
Στα σχήματα που ακολουθούν παρουσιάζονται τα χρωματογραφήματα HPLC που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό της εναντιομερικής περίσσειας του ασύμμετρου εποξειδίου **61**, ενός από τα ενδιάμεσα προϊόντα της συνθετικής πορείας του 9-PAHSA.

Στο σχήμα 3.28, φαίνεται το φάσμα του ελαφρώς εναντιοεμπλουτισμένου προϊόντος, το οποίο χρησιμοποιείται ως σημείο αναφοράς για την εύρεση μεθόδου διαχωρισμού των κορυφών των δύο αντιπόδων που εκκλύονται σε χρόνους 31.1 min και 35.8 min, αντίστοιχα. Η μικρή εναντιομερική περίσσεια είναι προφανής από την αναλογία των δύο κορυφών (60:40). Χρησιμοποιήθηκε στήλη OD-H και ως διαλύτης έκλουσης μείγμα εξανίου και ισοπροπανόλης σε αναλογία 99.5:0.5 (ροή 0.7 mL/min).



Σχήμα 3.28: Χρωματογράφημα HPLC του ρακεμικού εποξειδίου 61.

Στη συνέχεια, ακολουθεί το χρωματογράφημα HPLC για το χειρόμορφο εποξείδιο με δέκα ανθρακόατομα **61**.

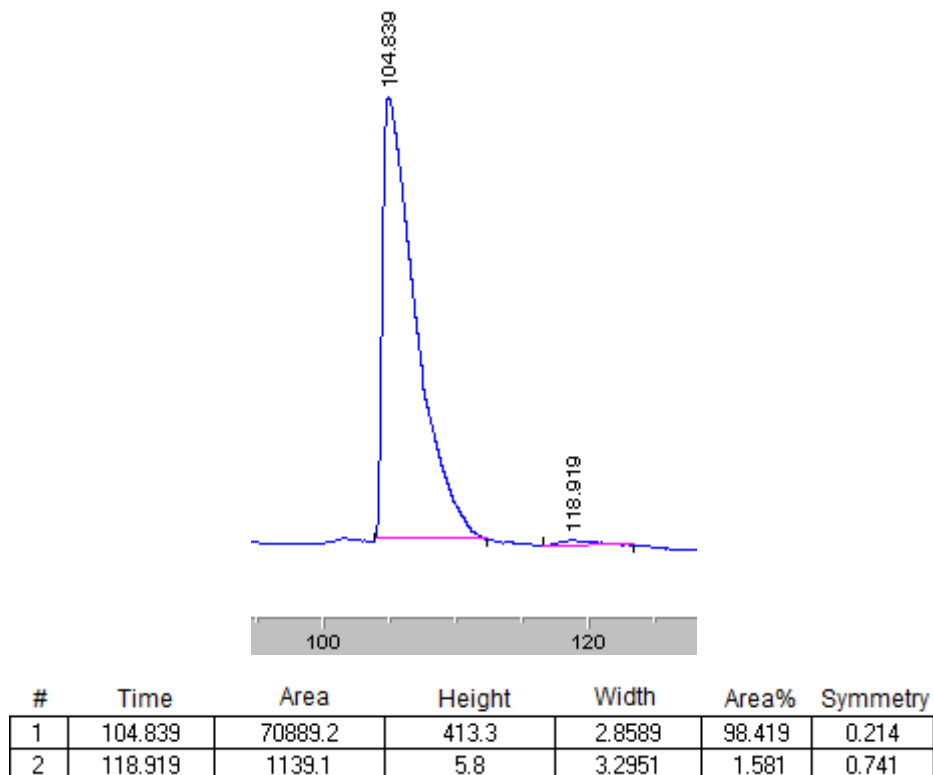


Σχήμα 3.29: Χρωματογράφημα HPLC του χειρόμορφου εποξειδίου 61.

Όπως παρατηρείται σε αυτή την περίπτωση, σε ίδιους περίπου χρόνους και πιο συγκεκριμένα στα 31.1 min και στα 37.5 min εμφανίζονται οι κορυφές των δύο αντιπόδων, από τις οποίες είναι ξεκάθαρη η ύπαρξη υψηλής εναντιομερικής περίσσειας με το ee του (*R*)-εποξειδίου **61** να υπολογίζεται 94%.

Στη συνέχεια, φαίνεται το χρωματογράφημα HPLC του χειρόμορφου εποξειδίου **103**, ένωσης απαραίτητης για τη σύνθεση των 5-FAHFAs.

Χρησιμοποιήθηκε στήλη OD-H και ως διαλύτης έκλουσης μείγμα εξανίου και ισοπροπανόλης σε αναλογία 99.5:0.5 (ροή 0.7 mL/min).



Σχήμα 3.30: Χρωματογράφημα HPLC του χειρόμορφου εποξειδίου 103.

Όπως φαίνεται και από το χρωματογράφημα του εποξειδίου **103**, και σε αυτή την περίπτωση το ee είναι ιδιαίτερα υψηλό εφόσον οι δύο αντίποδες που εμφανίζονται στις κορυφές στα 104.8 min και 119.9 min αντίστοιχα υποδηλώνουν η εναντιομερική περίσσεια του (*R*)-εποξειδίου βρίσκεται είναι 97%. Χρησιμοποιήθηκε στήλη OD-H και ως διαλύτης έκλουσης μείγμα εξανίου και ισοπροπανόλης σε αναλογία 99.8:0.2 (ροή αρχικά 0.25 mL/min και, στη συνέχεια, μετά την πάροδο 90 min, αλλάχθηκε σε 0.5 mL/min).

3.2 Ασύμμετρη σύνθεση κορεσμένων υδρόξυ λιπαρών οξέων

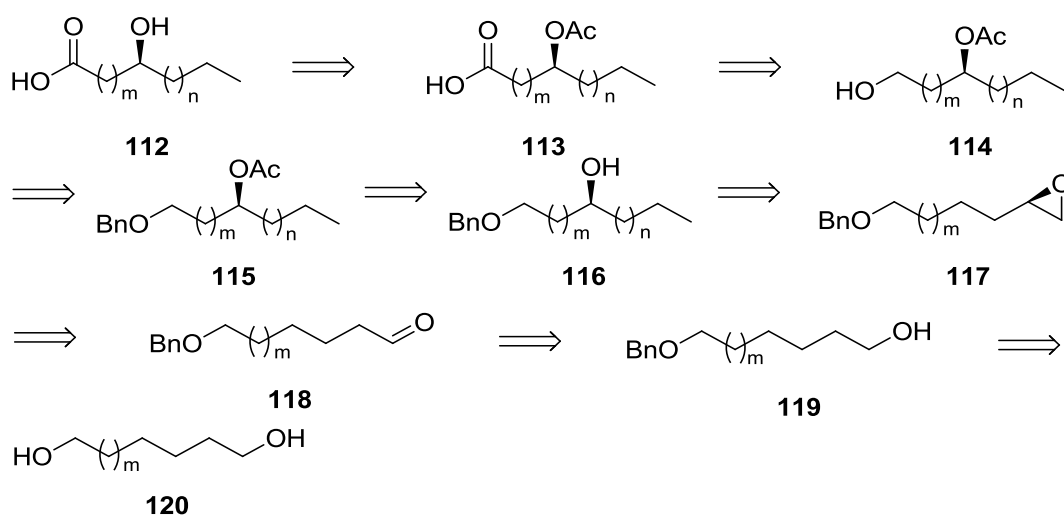
Η σύνθεση των FAHFAs πραγματοποιήθηκε με απώτερο στόχο την περαιτέρω μελέτη των ιδιοτήτων τους. Ενδογενώς, η παραγωγή των FAHFAs προϋποθέτει την ύπαρξη κορεσμένων υδρόξυ λιπαρών οξέων. Έτσι, είναι ιδιαίτερης σημασίας και η σύνθεση εναντιοκαθαρών υδρόξυ οξέων κάτι που, επίσης, ολοκληρώθηκε στα πλαίσια της παρούσας διατριβής με τρόπο αρκετά όμοιο με αυτόν της σύνθεσης των FAHFAs, με επιπλέον δύο βήματα. Τα υδρόξυ οξέα τα οποία συντέθηκαν φαίνονται στο σχήμα 3.31.



Σχήμα 3.31: Υδρόξυ οξέα που σχεδιάστηκαν.

3.2.1 Ρετροσυνθετική πορεία για τη σύνθεση των υδρόξυ οξέων

Με βάση τη ρετροσυνθετική πορεία που φαίνεται στο σχήμα 3.32 το επιθυμητό υδρόξυ οξύ **112** θα μπορούσε να προέλθει, αντίστοιχα, από το ακέτυλο προστατευμένο οξύ **113**, το οποίο θα μπορούσε να είναι προϊόν οξείδωσης της πρωτοταγούς αλκοόλης **114**. Ακολουθώντας, η πρωτοταγής αλκοόλη θα μπορούσε να προέλθει από την καταλυτική υδρογόνωση του βένζυλο προστατευμένου ακέτυλο εστέρα **115**, προϊόντος σύζευξης της ακετυλίωσης της δευτεροταγούς αλκοόλης **116**.

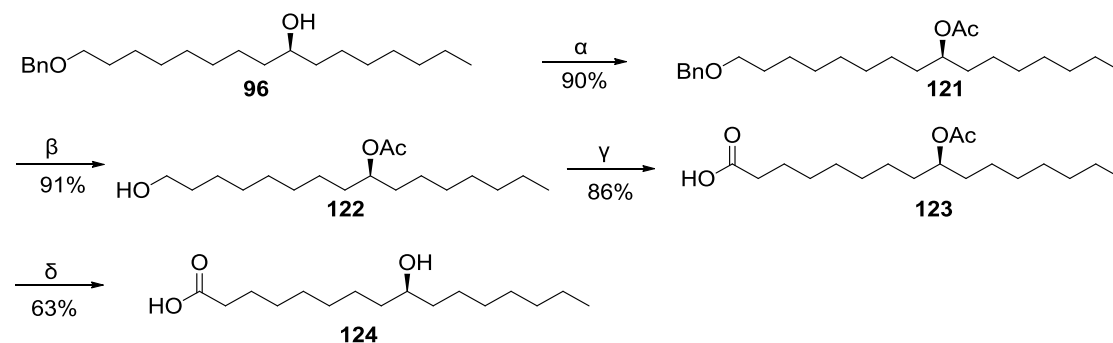


Σχήμα 3.32: Ρετροσυνθετική πορεία για τη σύνθεση του 9-HPA.

Η δευτεροταγής αλκοόλη θα μπορούσε να προέλθει ύστερα από αντίδραση του ασύμμετρου, ακραίου εποξειδίου **117** με το αντίστοιχο αντιδραστήριο Grignard, διαφορετικό ανάλογα με το εάν η ανθρακική αλυσίδα θα αποτελείται από 16 ή 18 ανθρακοάτομα. Το ακραίο εποξείδιο, όπως προαναφέρθηκε, θα μπορούσε να είναι προϊόν μιας αντίδρασης τριών βημάτων, η οποία χαρακτηρίζεται από σχηματισμό α-χλωροαλδεΐδης από την αντίστοιχη αλδεΐδη **118** με χρήση καταλύτη του MacMillan, αναγωγή της α-χλωροαλδεΐδης σε α-χλωροαλκοόλη και προσθήκη ισχυρής βάσης για σχηματισμό του δακτυλίου του εποξειδίου. Η αλδεΐδη, με τη σειρά της θα μπορούσε να προέλθει από την αντίστοιχη μονο-προστατευμένη αλκοόλη **119**, προϊόν αιθεροποίησης Williamson μιας εμπορικά διαθέσιμης α,ω-διόλης **120**.

3.2.2 Σύνθεση του 9-υδροξυ παλμιτικού οξέος (9-HPA)

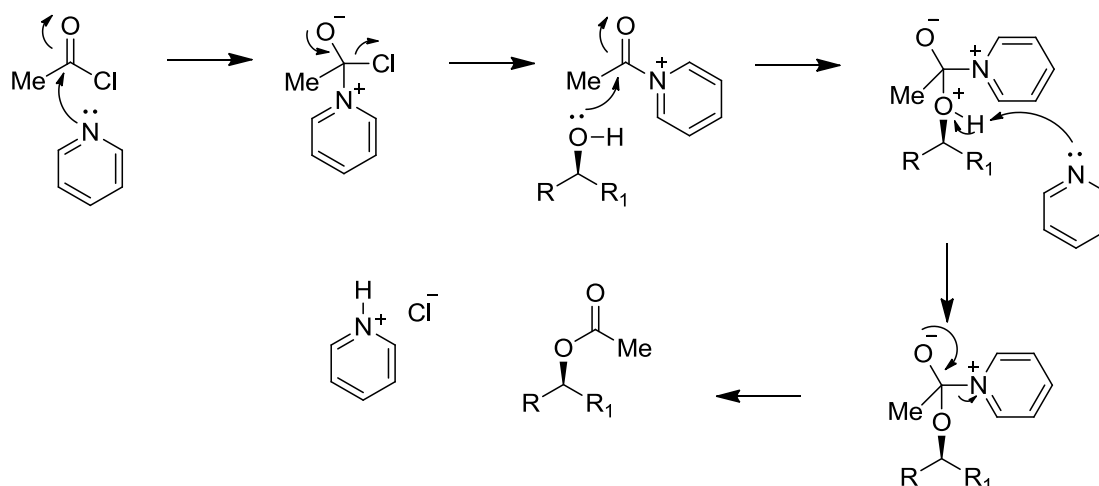
Η συνθετική πορεία που ακολουθήθηκε φαίνεται στο σχήμα 3.33 και αφορά συγκεκριμένα στο 9-HPA. Με ίδιο τρόπο έγινε η σύνθεση και του 9-HSA με διαφορετικό, όμως, αντιδραστήριο Grignard κατά την αντίδρασή του με το εποξείδιο.



Σχήμα 3.33: Πορεία για τη σύνθεση του 9-HPA. (α) AcCl, άνυδρη πυριδίνη, άνυδρο CH₂Cl₂, 0 °C έως r.t., 16 h, (β) H₂, 10% Pd/C, MeOH, r.t., 16 h, (γ) αντιδραστήριο Jones, ακετόνη, 0 °C, 1 h, (δ) LiOH, THF:H₂O, r.t., 16 h.

Η διάνοιξη του εποξειδίου για να ληφθεί η ένωση **96** πραγματοποιείται με χρήση εξυλομαγνησιοβρωμιδίου και καταλυτικής ποσότητας ιωδιούχου χαλκού (I) προς σχηματισμό αντιδραστήριου Gilman για καλύτερο έλεγχο της τοποεκλεκτικότητας της αντίδρασης. Η προστασία του δευτεροταγούς υδροξυλίου της ένωσης **96** πραγματοποιείται με ακέτυλο χλωρίδιο. Η πυριδίνη είναι ένα καλό πυρηνόφιλο για καρβονυλομάδες και συχνά χρησιμοποιείται ως

καταλύτης σε αντιδράσεις ακυλίωσης. Το άτομο αζώτου στην πυριδίνη είναι πυρηνόφιλο, και μάλιστα πιο ισχυρό πυρηνόφιλο, σε σχέση με την αλκοόλη επειδή το ζεύγος ηλεκτρονίων στο άζωτο δεν μπορεί να μεταφερθεί μέσω δομών συντονισμού στο εσωτερικό του δακτυλίου. Ύστερα από την προσβολή της βάσης, δημιουργείται ένα ισχυρά ηλεκτρονιόφιλο ενδιάμεσο το οποίο, τελικά, αντιδρά με την αλκοόλη προς σχηματισμό του εστέρα.

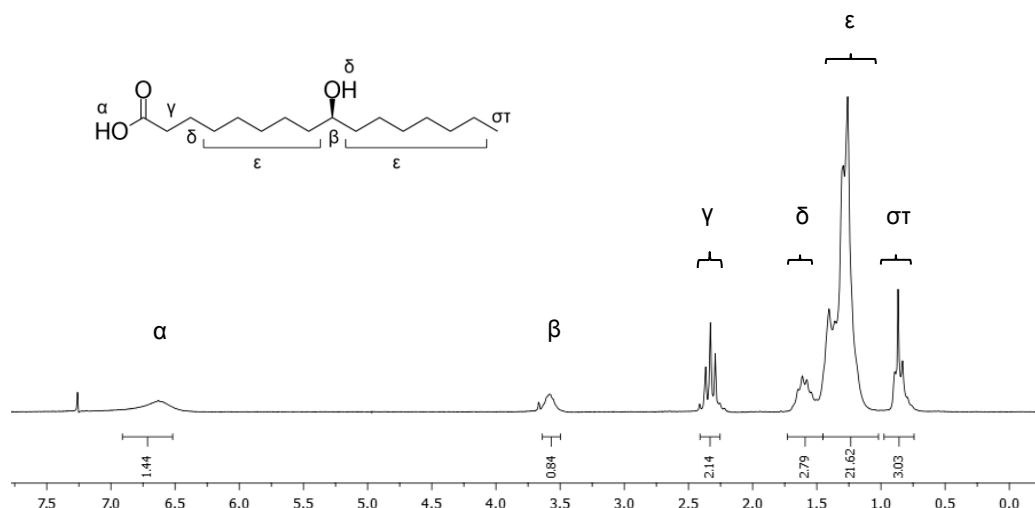


Σχήμα 3.34: Μηχανισμός της ακέτυλο προστασίας.

Η πυριδίνη εδώ θα μπορούσε να θεωρηθεί ως «πυρηνόφιλος» καταλύτης, αφού λειτουργεί ως πυρηνόφιλο επιταχύνοντας την αντίδραση αλλά αναγεννάται από τον μηχανισμό χωρίς να έχει υποστεί αλλαγές. Επιπλέον, η πυριδίνη δρά ως Brønsted βάση, η οποία εξουδετερώνει το HCl, που είναι και το παραπροϊόν της αντίδρασης. Ακολουθεί καταλυτική υδρογόνωση παρουσία παλλαδίου σε ενεργό άνθρακα για να ληφθεί ο υδρόξυ ακέτυλο εστέρας **122**, ο οποίος οδηγείται, εν τέλει, στο οξύ **123**, ύστερα από οξείδωση του πρωτοταγούς υδροξυλίου με το αντιδραστήριο Jones. Το τελικό στάδιο της σύνθεσης περιλαμβάνει, αποπροστασία της ακέτυλο ομάδας, η οποία πραγματοποιείται με υδατικό διάλυμα LiOH σε THF για την παραλαβή της ένωσης **124**. Το THF χρησιμοποιείται, ως ο οργανικός διαλύτης της αντίδρασης, ενώ το υδατικό διάλυμα LiOH χρησιμοποιείται ως μέσο για την υδρόλυση του εστερικού δεσμού προς το υδρόξυ οξύ, που είναι και το επιθυμητό προϊόν και το άλας μεταξύ του ανιόντος του ακέτυλο οξέος με το κατιόν του Li. Ο λόγος που χρησιμοποιείται το υδροξείδιο του Li, έναντι αυτού του K ή του Na, είναι ότι παρότι πιο ήπιο, η υδρόλυση πραγματοποιείται

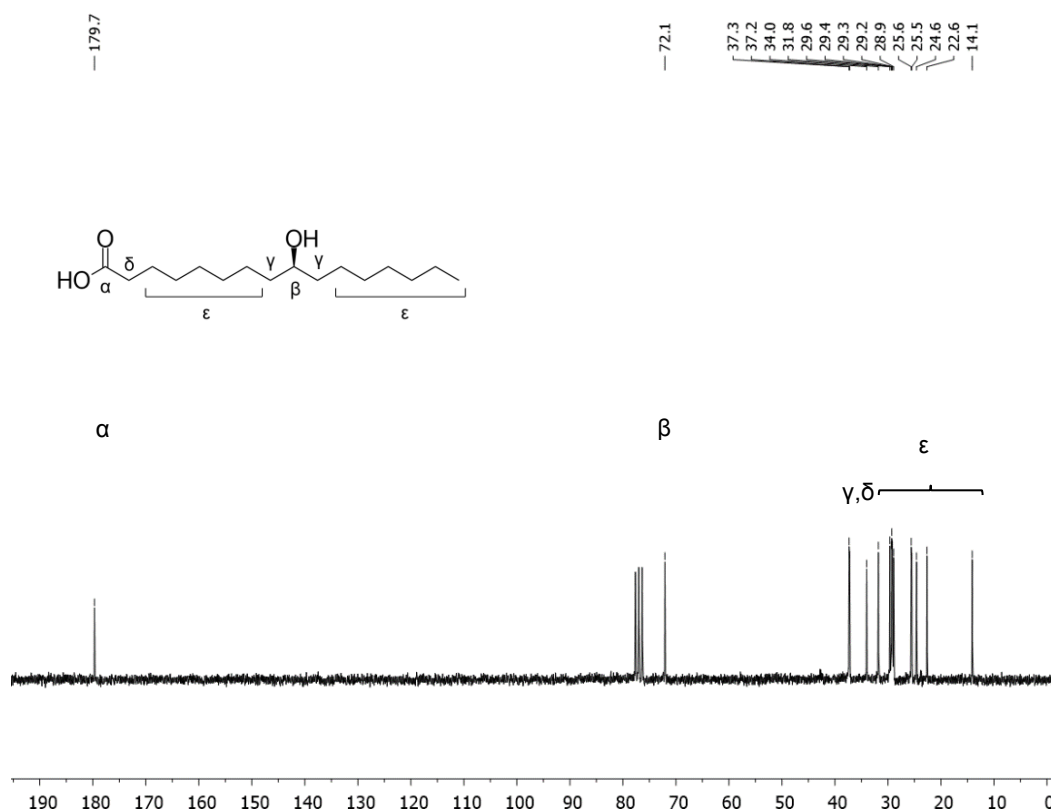
επιτυχώς χωρίς το ρίσκο χρήσης υψηλών θερμοκρασιών και πολύ ισχυρών βάσεων, που πιθανόν να επηρέαζε το επιθυμητό προϊόν.^[71]

3.2.3 Αποτίμηση φασμάτων του 9-υδροξυ παλμιτικού οξέος (9-HPA)



Σχήμα 3.35: Φάσμα ^1H NMR του 9-HPA 124 (CDCl_3 , 200 MHz).

Στο σχήμα 3.35 παρουσιάζεται το φάσμα ^1H NMR σε διαλύτη CDCl_3 της ένωσης **9-HPA**. Στα 6.63 ppm συντονίζεται το πρωτόνιο του καρβοξυλίου ως μια ευρεία κορυφή, στα 3.70-3.46 ppm συντονίζεται το OCH πρωτόνιο του στερεογονικού κέντρου, ενώ στα 2.33 ppm, συντονίζονται τα COCH_2 πρωτόνια σε α-θέση ως προς το καρβοξύλιο. Στη συνέχεια, συντονίζονται τα μεθυλένια που βρίσκονται σε β-θέση ως προς το καρβοξύλιο και το πρωτόνιο του υδροξυλίου στα 1.79-1.46 ppm, ενώ τα μεθυλένια της υπόλοιπης αλειφατικής αλυσίδας συντονίζονται στα 1.45-1.02 ppm. Τέλος, τα τρία πρωτόνια του μεθυλίου συντονίζονται στα 0.86 ppm.

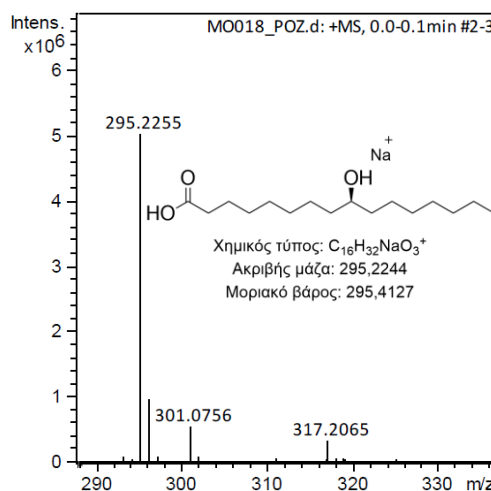


Σχήμα 3.36: Φάσμα ^{13}C NMR του 9-HPA 124 (CDCl_3 , 50 MHz).

Στο σχήμα 3.36 ακολουθεί το φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης **9-HPA** σε διαλύτη CDCl_3 . Στα 179.7 ppm συντονίζεται ο άνθρακας του καρβοξυλίου. Στα 72.1 ppm συντονίζεται ο άνθρακας που φέρει το οξυγόνο της εστερικής ομάδας, στα 37.3 και 37.2 ppm συντονίζονται τα μεθυλένια δεξιά και αριστερά του στερεογονικού κέντρου, ενώ στα 34.0 ppm συντονίζεται ο άνθρακας του μεθυλενίου που βρίσκεται σε α-θέση ως προς το καρβοξύλιο. Τέλος, από 31.8-14.1 ppm συντονίζονται όλοι οι υπόλοιποι αλειφατικοί άνθρακες του μορίου.

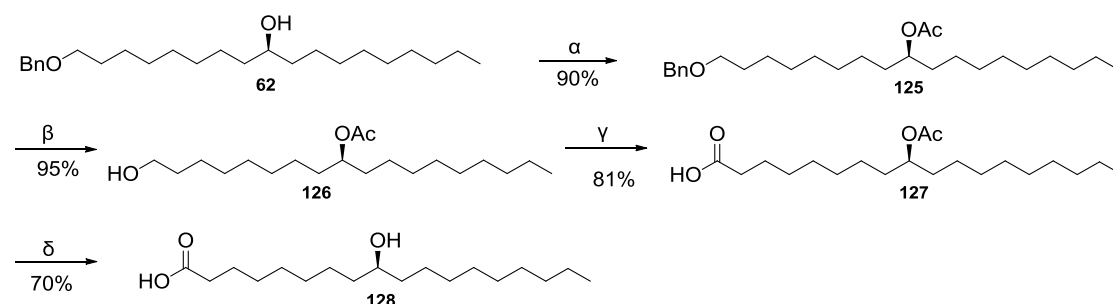
Το φάσμα HRMS της ένωσης 9-HPA που ελήφθη με την τεχνική του ηλεκτροψεκασμού σε αρνητικό ιοντισμό φαίνεται στο διπλανό σχήμα.

Σχήμα 3.37: Φάσμα μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας της ένωσης 124.



3.2.4 Σύνθεση του 9-υδρόξυ στεατικού οξέος

Στο σχήμα 3.38 αναπτύσσεται, συντόμως, η συνθετική πορεία που ακολουθήθηκε για την παραλαβή του 9-υδρόξυ στεατικού οξέος (**9-HSA**), η οποία είναι ακριβώς η ίδια με αυτή του **9-HPA** με τη διαφορά ότι η αρχική μονοπροστατευμένη αλκοόλη **62** αποτελείται από 18 αντί για 16 ανθρακόατομα.



Σχήμα 3.38: Πορεία για τη σύνθεση του 9-HSA. (α) AcCl, άνυδρη πυριδίνη, άνυδρο CH₂Cl₂, 0 °C έως r.t., 16 h, (β) H₂, 10% Pd/C, MeOH, r.t., 16 h, (γ) αντιδραστήριο Jones, ακετόνη, 0 °C, 1 h, (δ) LiOH, THF:H₂O, r.t., 16 h.

3.3 Ασύμμετρη σύνθεση του 9-OAHS

3.3.1 Γενικά για τους εστέρες ακόρεστων λιπαρών οξέων

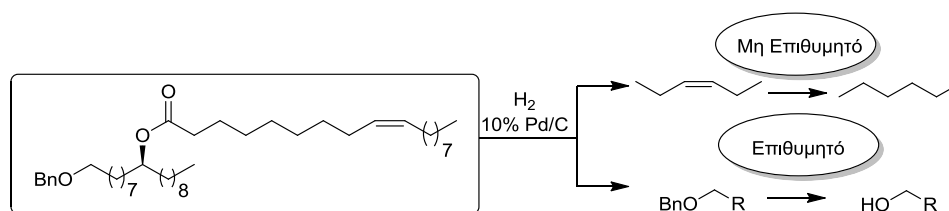
Η σημασία των ακόρεστων λιπαρών οξέων για τον οργανισμό είναι γνωστή και αποδεδειγμένη ήδη από τη βιβλιογραφία. Τα λεγόμενα ω -3 και ω -6 λιπαρά οξέα είναι γνωστά για τις αντιφλεγμονώδεις ιδιότητές τους κατά χρόνιων φλεγμονών όπως η στεφανιαία νόσος. Τα λιπαρά αυτά, τα οποία προσλαμβάνονται κυρίως από τις τροφές, όπως είναι το άλφα λινολεϊκό οξύ (ALA), το εικοσαπενταενοϊκό οξύ (EPA) και το εικοσιδυαεξαενοϊκό οξύ (DHA), εκτός από τη δράση τους κατά της φλεγμονής παρουσιάζουν, και αυτά, αντιδιαβητική δράση αλλά και αντικαρκινική δράση.^[10,72] Γνωστά είναι, επίσης, τα ευεργετικά τους αποτελέσματα κατά διαφόρων φλεγμονών του εντέρου και κατά της ρευματοειδούς αρθρίτιδας.^[10,72] Υστερα από μελέτες των ακόρεστων οξέων ανακαλύφθηκε ότι οι μορφές με τις οποίες συναντώνται στο εσωτερικό του οργανισμού ποικίλουν και, μάλιστα, το ελαϊκό οξύ, ένα μονοακόρεστο λιπαρό οξύ βρέθηκε σε μεγάλα ποσοστά τόσο με την ελεύθερη μορφή του όσο και συζευγμένο συνιστώντας και αυτό εστέρες λιπαρών οξέων με υδρόξυ λιπαρά οξέα. Το γεγονός αυτό δημιούργησε την ανάγκη για σύνθεση εστέρων ακόρεστων λιπαρών οξέων με υδρόξυ λιπαρά οξέα.

3.3.2 Προβληματισμός για την προστατευτική ομάδα

Το σκεπτικό της σύνθεσής τους είναι παρόμοιο με την έως τώρα προτεινόμενη σύνθεση. Εξάλλου ο σκοπός της παρούσας διατριβής είναι η πρόταση ενός συνθετικού μονοπατιού για τη σύνθεση FAHFAs με τέτοιο τρόπο, ώστε να μπορεί να εφαρμοστεί με διαφόρων ειδών υποστρώματα. Με μια πρώτη ματιά, αυτό μπορεί να πραγματοποιηθεί μόνο ένα υπάρξει μία μικρή διαφοροποίηση όσον αφορά στην προστατευτική ομάδα που χρησιμοποιείται προκειμένου να γίνει η μονοπροστασία της διόλης.

Η απάντηση στο γιατί δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί η βένζυλο ομάδα έγκειται στον τρόπο αποπροστασίας της. Πιο συγκεκριμένα, η αποπροστασία της βένζυλο ομάδας πραγματοποιείται με καταλυτική υδρογόνωση χρησιμοποιώντας ως καταλύτη 10% Pd/C. Το πρόβλημα σε αυτή την περίπτωση είναι ότι, επειδή με τον ίδιο τρόπο γίνεται η υδρογόνωση των διπλών δεσμών, με το βήμα αυτό της αντίδρασης θα εξαφανιστεί και η

ακορεστότητα του μορίου με αποτέλεσμα να μην παραλαμβάνεται εστέρας που να περιέχει το ελαϊκό οξύ.

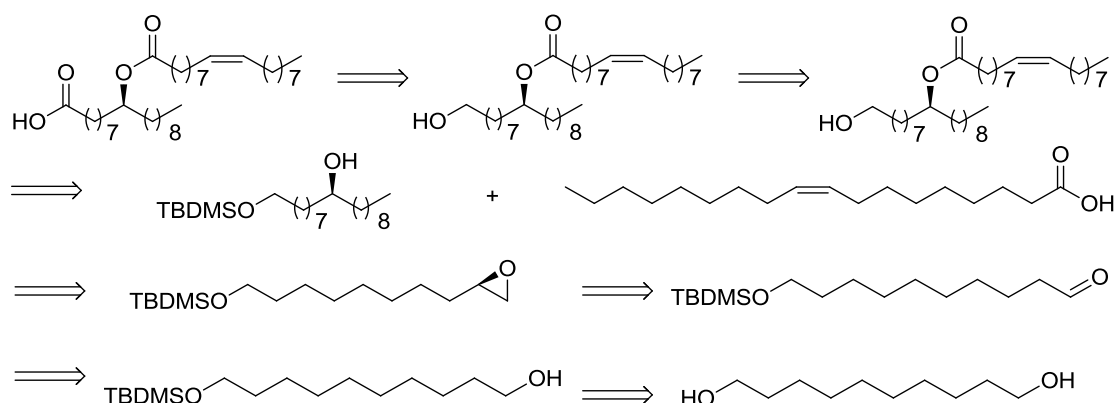


Σχήμα 3.39: Επίδραση της καταλυτικής υδρογόνωσης στην ένωση 133.

Για την προστασία, λοιπόν, του υδροξυλίου έπρεπε να προταθεί μια διαφορετική προστατευτική ομάδα που ταυτόχρονα να είναι αδρανής σε αντιδραστήρια και συνθήκες που χρησιμοποιήθηκαν. Έτσι, επιλέχθηκε ένας σιλυλαιθέρας, ο οποίος είναι πολύ εύκολο να σχηματιστεί και, επίσης, είναι αδρανής σε πολλούς τύπους συνθηκών αντίδρασης. Ακόμα ένα πλεονέκτημα των σιλυλαιθέρων είναι ότι απομακρύνονται εύκολα από το μόριο. Ο δεσμός Si-F είναι ασυνήθιστα ισχυρός, ακόμη ισχυρότερος από το Si-O. Η προσθήκη πηγής ιόντος φθορίου (F^-) θα οδηγήσει σε διάσπαση δεσμών Si-O χωρίς να επηρεάσει το υπόλοιπο μόριο.

3.3.3 Ρετροσυνθετική πορεία για τη σύνθεση του 9-OAHSA

Η ρετροσυνθετική πορεία που αφορά τους εστέρες των ακόρεστων λιπαρών οξέων με υδρόξυ λιπαρά οξέα φαίνεται στο σχήμα 3.40.



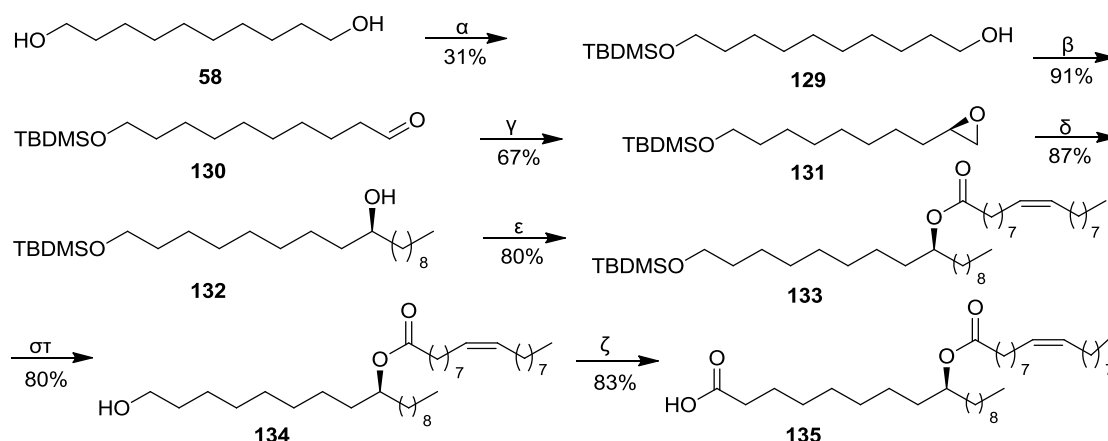
Σχήμα 3.40: Ρετροσυνθετική πορεία για την σύνθεση του εστέρα 9-OAHSA 135.

Σύμφωνα πάντα με το σχήμα, η προτεινόμενη σύνθεση ακολουθεί τρόπο παρόμοιο με όσους έχουν ήδη αναφερθεί. Ο ακόρεστος εστέρας

ΟΑΗSA θα μπορούσε να προέλθει από τον αντίστοιχο υδρόξυ εστέρα με μια οξείδωση. Ο υδρόξυ εστέρας θα μπορούσε να συντεθεί από την αποπροστασία του προστατευμένου TBDMS-παραγώγου ύστερα από την αντίδραση του δεύτερου με πηγή ιόντων F^- . Ο προστατευμένος εστέρας θα μπορούσε να προέλθει ύστερα από εστεροποίηση είτε με άκυλο χλωρίδιο είτε με χρήση καρβοδιιμιδίου ως αντιδραστήριο σύζευξης μιας δευτεροταγούς αλκοόλης, η οποία θα μπορούσε να είναι προϊόν διάνοιξης εποξειδικού δακτυλίου ύστερα από αντίδραση με αντιδραστήριο Grignard. Το χειρόμορφο εποξειδίο, με τη σειρά του, θα μπορούσε να προκύψει από την ήδη αναφερθείσα αντίδραση τριών βημάτων με το σχηματισμό α-χλωροαλδεΐδης σε πρώτη φάση και, στη συνέχεια, το σχηματισμό α-χλωροαλκοόλης και αντίδραση με μια βάση προς κλείσιμο του αλκοξειδίου σε εποξειδικό δακτύλιο από μονοπροστατευμένη αλδεΐδη, προϊόν σύνθεσης από οξείδωση μιας μονοπροστατευμένης TBDMS-αλκοόλης. Η αλκοόλη η οποία προτείνεται για τη μονοπροστασία στην περίπτωση συγκεκριμένα του εστέρα ΟΑΗSA είναι η εμπορικά διαθέσιμη 1,10-δεκανοδιόλη.

3.3.4 Πορεία σύνθεσης του 9-ΟΑΗSA

Η συνθετική πορεία που ακολουθήθηκε είναι της ίδιας λογικής με τις προηγούμενες και φαίνεται στο σχήμα 3.41.



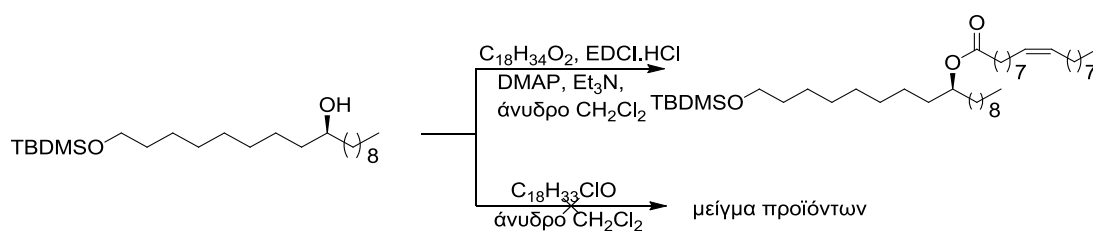
Σχήμα 3.41: Σύνθεση του εστέρα 9-ΟΑΗSA 135. (α) TBDMS-Cl, ιμιδαζόλιο, DMAP, άνυδρο DMF, 0 °C έως r.t., 16 h, (β) PCC, άνυδρο CH₂Cl₂, r.t., 1 h, (γ) i. τριφθοροξικό άλας της (2R,5S)-2-(tert-βουτυλο)-3,5-διμεθυλιμιδαζολιδιν-4-όνης, 2,3,4,5,6,6-εξαχλωροκυκλοεξα-2,4-διεν-1-όνη, THF, r.t., 30 min, ii. NaBH₄, EtOH, 0 °C, 15 min, iii. KOH, EtOH, H₂O, r.t., 30 min, (δ) C₈H₁₇MgBr, CuI, άνυδρο THF, -40 °C, 1 h, (ε)

ελαϊκό οξύ, EDCI.HCl, DMAP, άνυδρη Et₃N, άνυδρο CH₂Cl₂, 0 °C έως r.t., 16 h, (στ) TBAF, άνυδρο THF, r.t., 1 h, (ζ) αντιδραστήριο Jones, ακετόνη, 0 °C, 1 h.

Αρχικά, πραγματοποιήθηκε μονοπροστασία της 1,10-δεκανοδιόλης **58** ύστερα από αντίδραση με *tert*-βουτυλοδιμεθυλοσίλυλο χλωρίδιο και τη χρήση 4-διμεθυλαμινοπυριδίνης ως βάσης για την την απόσπαση του πρωτονίου της αλκοόλης αλλά και ιμιδαζολίου, το οποίο αντιδρά με το χλωρίδιο προκειμένου να σχηματιστεί ένα πιο ενεργό ενδιάμεσο το οποίο αντιδρά εύκολα με το υδροξύλιο της αλκοόλης. Η αντίδραση πραγματοποιείται με χαμηλή απόδοση λόγω ταυτόχρονου σχηματισμού και του δι-προστατευμένου προϊόντος. Η μονο-προστατευμένη αλκοόλη **129** οξειδώνεται, στη συνέχεια, με τη χρήση χλωροχρωμικού πυριδίνιου προς την αλδεΐδη **130**. Ακολουθεί η αντίδραση τριών σταδίων, όπως περιγράφηκε και προηγουμένως, από όπου παραλαμβάνεται το ακραίο εποξειδίο **131**. Η διάνοιξη του εποξειδίου πραγματοποιείται με οκτυλομαγνησιοβρωμίδιο και τη χρήση καταλυτικής ποσότητας ιωδιούχου χαλκού (I). Από τη διάνοιξη του εποξειδίου παραλαμβάνεται η δευτεροταγής αλκοόλη **132**, η μετατροπή της οποίας προς τον εστέρα **133** πραγματοποιείται με αντίδραση εστεροποίησης με ελαϊκό οξύ ύστερα από τη χρήση υδροχλωρικού άλατος του 1-αιθυλο-3-(3-διμεθυλαμινοπροπυλο)καρβοδιιμιδίου παρουσία 4-διμεθυλαμινοπυριδίνης και τριαιθυλαμίνης. Ακολουθεί αποπροστασία της TBDMS-ομάδας με την προσθήκη φθοριούχου τετρα-N-βουτυλαμμωνίου προκειμένου να ληφθεί ο αντίστοιχος υδρόξυ εστέρας **134**, ο οποίος οδηγείται, εν τέλει, στο επιθυμητό προϊόν 9-PAHSA **135** ύστερα από οξείδωση με αντιδραστήριο Jones.

3.3.5 Διαφορετικές δοκιμές εστεροποίησης

Εκτός από την προστατευτική ομάδα, η διαφορά της συνθετικής πορείας του ακόρεστου εστέρα σε σχέση με τους υπόλοιπους έγκειται στον τρόπο με τον οποίο γίνεται η εστεροποίηση. Η εστεροποίηση μέσω άκυλο χλωριδίου πραγματοποιήθηκε, επίσης, χωρίς όμως να δώσει αποτελέσματα εφόσον όπως διαπιστώθηκε τα παραπροϊόντα από την εστεροποίηση επηρέαζαν την αντίδραση και συγκεκριμένα την TBDMS-ομάδα δίνοντας ως τελικό προϊόν ένωση, η οποία δεν περιείχε την προστατευτική ομάδα.

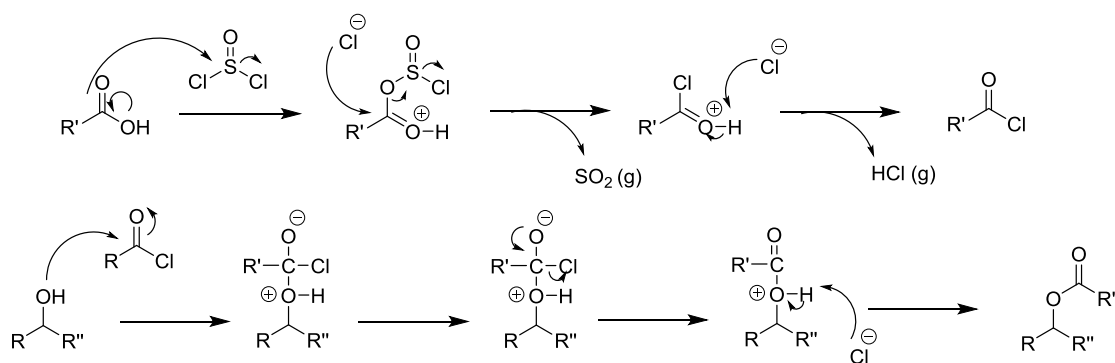


Σχήμα 3.42: Μέθοδοι εστεροποίησης που πραγματοποιήθηκαν.

Επειδή η ταυτοποίηση του κύριου προϊόντος μέσω NMR δεν έδωσε ξεκάθαρα αποτελέσματα και ένα ενδεχόμενο θα ήταν να είχε ληφθεί ο υδρόξυ εστέρας, στον οποίο το πρωτοταγές υδροξύλιο θα ήταν αποπροστατευμένο πράγμα το οποίο θα λειτουργούσε θετικά για τη συνθετική πορεία εφόσον θα μπορούσε να πραγματοποιηθούν δύο βήματα της συνθετικής πορείας σε ένα, το προϊόν που παραλήφθηκε από την εστεροποίηση εισήχθη κατευθείαν για την αντίδραση οξείδωσης με το αντιδραστήριο Jones προκειμένου να ελεγχθεί εάν σχηματίζεται ή όχι ο εστέρας 9-OAHSA. Εν τέλει, η προσπάθεια αυτή εγκαταλείφθηκε εφόσον τα φασματοσκοπικά δεδομένα δεν συμφωνούσαν με την επιθυμητή ένωση. Στη συνέχεια, παρατίθεται ο μηχανισμός που ακολουθείται για την εστεροποίηση μέσω άκυλο χλωριδίων προκειμένου να προταθεί ο λόγος για τον οποίο υπήρξαν επιπλοκές στο συγκεκριμένο στάδιο της αντίδρασης.

3.3.6 Μηχανισμός εστεροποίησης με τη χρήση άκυλο χλωριδίων

Στο παρακάτω σχήμα αναλύεται τόσο ο μηχανισμός σχηματισμού του χλωριδίου όσο και ο σχηματισμός του εστέρα που έπεται.

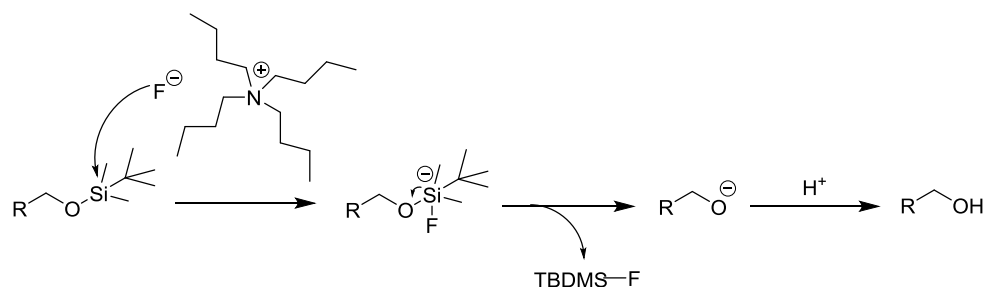


Σχήμα 3.43: Μηχανισμός εστεροποίησης μέσω χρήσης άκυλο-χλωριδίων.

Όπως φαίνεται παραπάνω, κατά τη διάρκεια της αντίδρασης του άκυλου χλωριδίου και της δευτεροταγούς αλκοόλης σχηματίζονται ανιόντα χλωρίου που ενδεχομένως να επηρεάζουν την αντίδραση.

3.3.7 Μηχανισμός αποπροστασίας TBDMS-ομάδας

Η αποπροστασία της TBDMS ομάδας πραγματοποιείται με την προσθήκη ανιόντων φθορίου μέσω αντιδραστήριου TBAF και σχηματισμό Si-F δεσμού, ο οποίος είναι πολύ ισχυρότερος του Si-O, βάσει μηχανισμού που παρατίθεται στη συνέχεια.

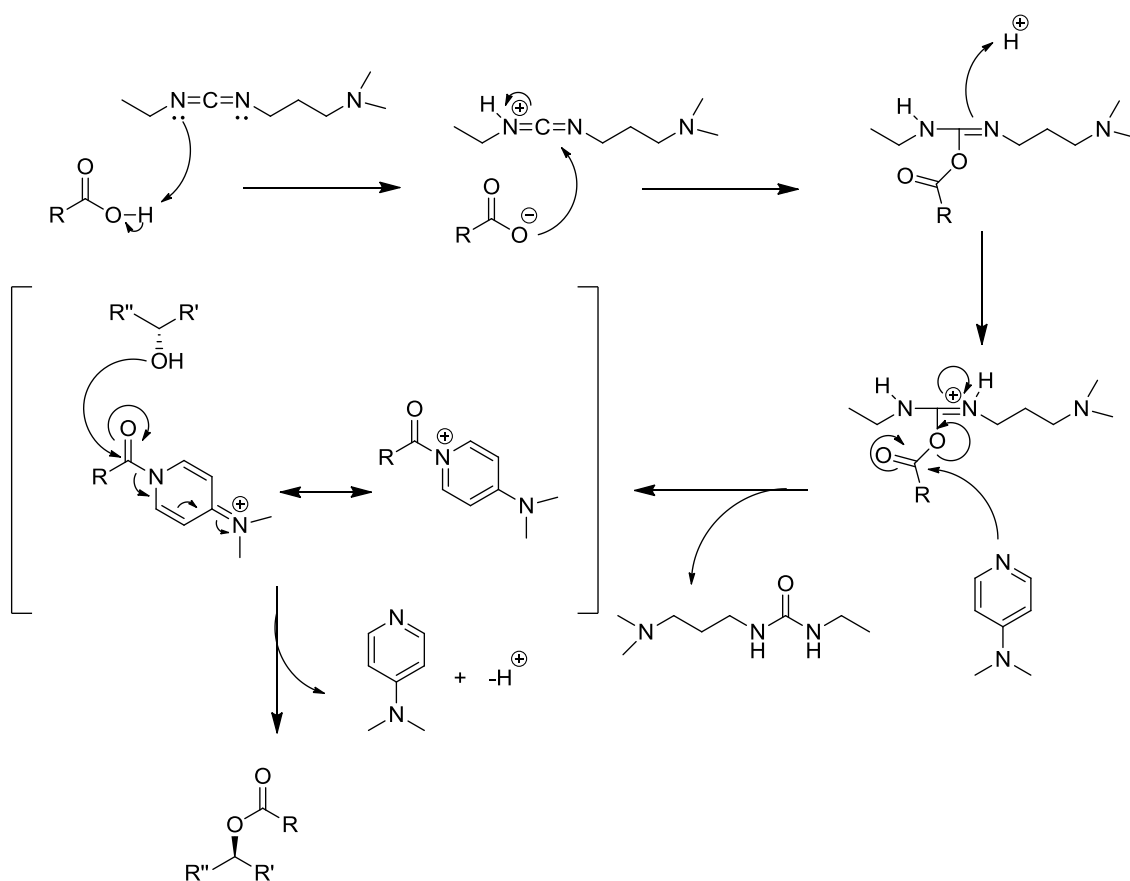


Σχήμα 3.44: Μηχανισμός αποπροστασίας TBDMS-ομάδας.

Ωστόσο, η βιβλιογραφία αναφέρει ότι, εκτός των ανιόντων φθορίου, ένας άλλος τρόπος αποπροστασίας των σίλυλο προστατευτικών ομάδων περιλαμβάνει τη χρήση HCl ως μέσον για την επίτευξή της. Το μόνο που έμενε ήταν να ελεγχθεί ο μηχανισμός προκειμένου να παρατηρηθεί εάν στο στάδιο της εστεροποίησης υπάρχει κάποιο βήμα σύμφωνα με το οποίο παράγεται HCl και πιθανόν να επηρεάζε την προστατευτική ομάδα δίνοντας κάποια ένωση ως προϊόν, η οποία θα μπορούσε να πραγματοποιήσει επιπλοκές στην πορεία της αντίδρασης. Πράγματι, ο μηχανισμός της αντίδρασης περιλαμβάνει σχηματισμό HCl και κατ'επέκταση το στάδιο αυτό εγκαταλείφθηκε και στη θέση του προτάθηκε ένας διαφορετικός τρόπος εστεροποίησης, αυτός που πραγματοποιείται με τη χρήση του καρβοδιιμιδίου.

3.3.8 Μηχανισμός εστεροποίησης με τη χρήση καρβοδιιμιδίου

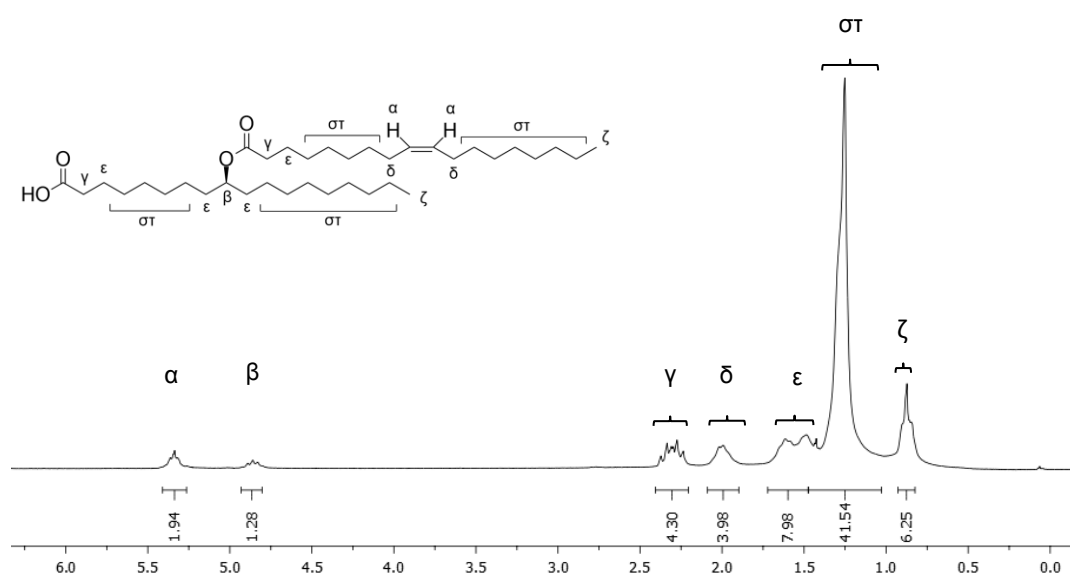
Ο μηχανισμός με τον οποίο λειτουργεί αυτή η αντίδραση φαίνεται στο σχήμα 3.45.



Σχήμα 3.45: Μηχανισμός εστεροποίησης μέσω χρήσης καρβοδιιμιδίου.

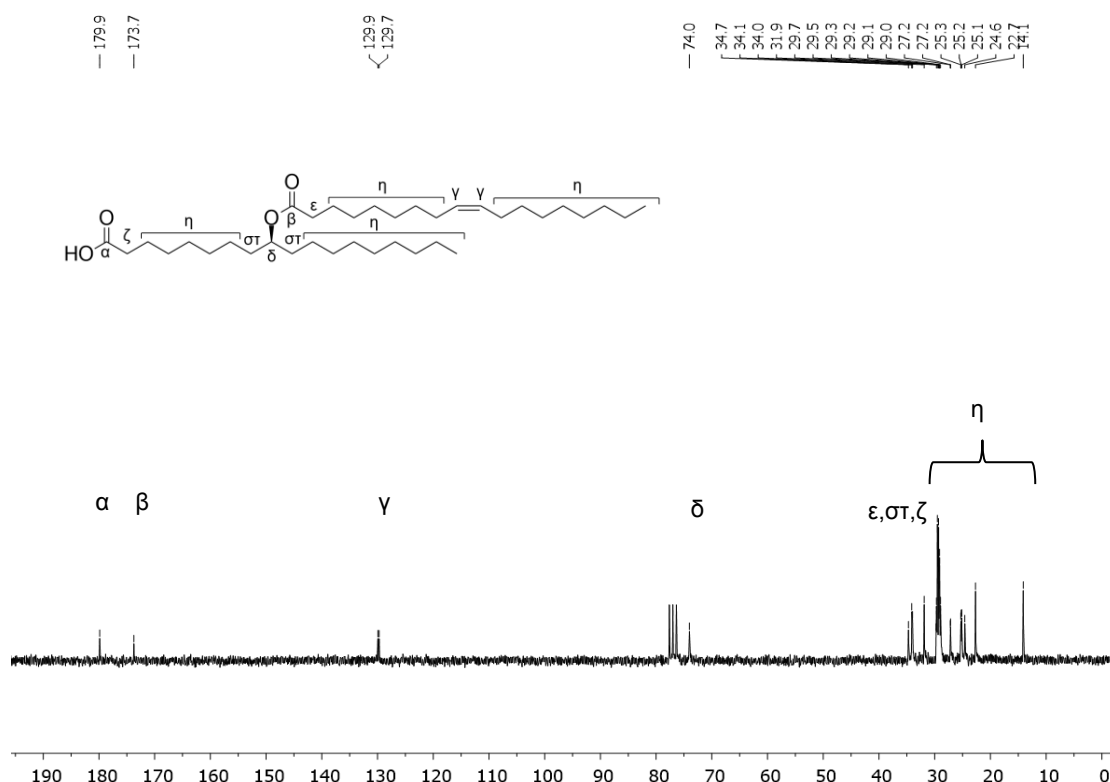
Αναφορά θα πρέπει να γίνει, επίσης, στην προσθήκη της τριαιθυλαμίνης στην αντίδραση η οποία πραγματοποιείται σε περίσσεια ώστε να εξουδετερώσει το υδροχλωρικό άλας του καρβοδιιμιδίου. Επιπροσθέτως, μια κοινή εξήγηση της επιτάχυνσης του DMAP υποδηλώνει ότι το DMAP, ως ισχυρότερο πυρηνόφιλο από την αλκοόλη, αντιδρά με την Ο-ακυλυσουρία οδηγώντας σε ένα δραστικό αμίδιο. Αυτό το ενδιάμεσο έχει την ικανότητα να αντιδρά γρήγορα με αλκοόλες. Το DMAP δρα ως αντιδραστήριο μεταφοράς μιας άκυλο ομάδας με αυτόν τον τρόπο και, στη συνέχεια, η αντίδραση με την αλκοόλη δίνει τον εστέρα.

3.3.9 Αποτίμηση φασμάτων του 9-OAHSΑ



Σχήμα 3.46: Φάσμα ^1H NMR του 9-OAHSΑ 135 (CDCl_3 , 200 MHz).

Στο σχήμα 3.46 παρουσιάζεται το φάσμα ^1H NMR σε διαλύτη CDCl_3 της ένωσης **9-OAHSΑ**. Στα 5.42-5.26 ppm συντονίζονται τα πρωτόνια του διπλού δεσμού, στα 4.92-4.80 ppm συντονίζεται το πρωτόνιο του στερεογονικού κέντρου OCH , ενώ στα 2.40-2.18 ppm συντονίζονται συνολικά τα COCH_2 πρωτόνια σε α-θέση ως προς το καρβοξύλιο και τα COCH_2 πρωτόνια αυτά σε α-θέση ως προς το εστερικό καρβονύλιο. Στην συνέχεια, στα 2.10-1.88 ppm συντονίζονται τα μεθυλενικά πρωτόνια που βρίσκονται σε αλλυλική θέση. Τα τέσσερα από τα ενδιάμεσα μεθυλένια της αλειφατικής αλυσίδας, τα οποία βρίσκονται σε β-θέση ως προς άνθρακες που φέρουν καρβονυλική ομάδα και ως προς το στερεογονικό κέντρο συντονίζονται στα 1.73-1.47 ppm, ενώ τα μεθυλένια της υπόλοιπης αλειφατικής αλυσίδας συντονίζονται από 1.47-1.02 ppm. Τέλος, τα έξι πρωτόνια των μεθυλίων συντονίζονται στα 0.87 ppm.

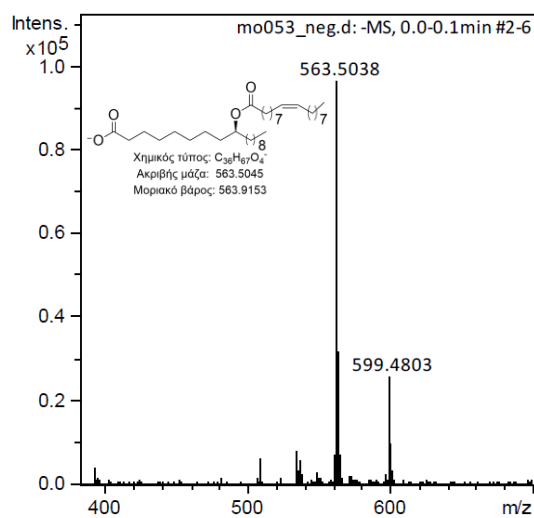


Σχήμα 3.47: Φάσμα ^{13}C NMR του 9-OAHS 135 (CDCl₃, 50 MHz).

Στο σχήμα 3.47 παρουσιάζεται το φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης σε διαλύτη CDCl₃. Στα 179.9 ppm συντονίζεται ο άνθρακας του καρβοξυλίου ενώ στα 173.7 ppm του εστερικού καρβονυλίου. Στα 129.9, 129.7 συντονίζονται οι άνθρακες του διπλού δεσμού. Στα 74 ppm συντονίζεται ο άνθρακας που ενώνεται με το οξυγόνο της εστερικής ομάδας, στα 34.7, 34.1, 34.0 και 31.9 ppm συντονίζονται οι άνθρακες που βρίσκονται σε α -θέσης ως προς το καρβονύλιο του εστερικού δεσμού, τα δύο μεθυλένια δεξιά και αριστερά του στερεογονικού κέντρου και το μεθυλένιο που βρίσκεται δίπλα στον άνθρακα του καρβοξυλίου. Τέλος, από 29.8-14.1 ppm συντονίζονται όλοι οι υπόλοιποι αλειφατικοί άνθρακες του μορίου.

Στο σχήμα 3.48 παρατίθεται και η εικόνα του φάσματος μάζας HRMS της ένωσης **135**.

Σχήμα 3.48: Φάσμα μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας της ένωσης **135**.



3.4 Σύνθεση δευτεριωμένων προϊόντων

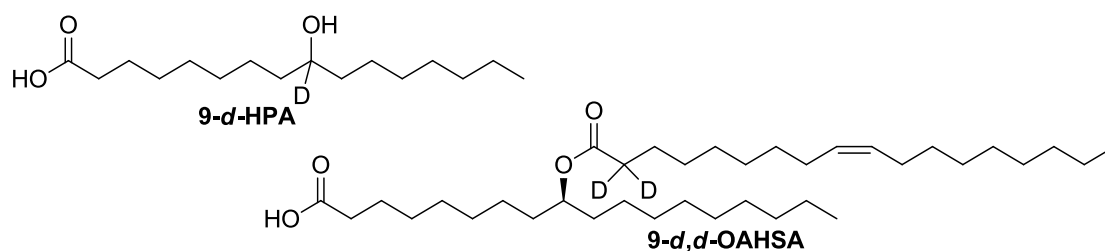
3.4.1 Η σημασία της σηματοδότησης των FAHFAs με δευτέρια

Οι λόγοι για τους οποίους η περαιτέρω μελέτη των FAHFAs είναι σημαντική αναλύονται εκτενώς σε προηγούμενα κεφάλαια. Ωστόσο, παρόλο που όπως είναι γνωστό οι εστέρες των λιπαρών οξέων με υδρόξυ λιπαρά οξέα συντίθενται ενδογενώς μέσω της λιπογένεσης, δεν είναι γνωστό το ακριβές βιοχημικό μονοπάτι που ακολουθείται στον οργανισμό προκειμένου να ολοκληρωθεί η σύνθεσή τους. Ασαφής είναι, επίσης, ο μηχανισμός με τον οποίο δρουν προς όφελος του οργανισμού αλλά και ο τρόπος με τον οποίο βιοδιασπώνται. Η λιπάση CEL έχει αποδειχθεί ότι συμβάλλει στη διάσπαση των λιπιδίων και, συγκεκριμένα, των εστέρων αυτών, αλλά μελέτες έδειξαν ότι και άλλα ένζυμα συμβάλλουν σε αυτή. Όπως γίνεται αμέσως κατανοητό, οι γνώσεις πάνω στη συγκριμένη ομάδα ενώσεων είναι ακόμα περιορισμένες και τρόποι για τη μελέτη τους τόσο *in vivo* όσο και *in vitro* θα πρέπει να βρεθούν, ώστε να γίνει κατανοητός ο κύκλος ο οποίος ακολουθείται από τη στιγμή της βιοσύνθεσης μέχρι αυτή της αποικοδόμησής τους καθώς και να ταυτοποιηθούν τα μόρια που συμβάλλουν στην πραγματοποίησή του.

Η ανάπτυξη ποικίλων δευτεριωμένων αναλόγων των FAHFAs θα μπορούσε να διευκολύνει σημαντικά τέτοιες μελέτες. Από την άλλη πλευρά, τα δευτεριωμένα ανάλογα μπορούν να παίξουν χρησιμότητα ρόλο ως ενώσεις αναφοράς σε μελέτες με φασματομετρία μάζας.

3.4.2 Δευτεριωμένα προϊόντα που σχεδιάστηκαν στην παρούσα εργασία

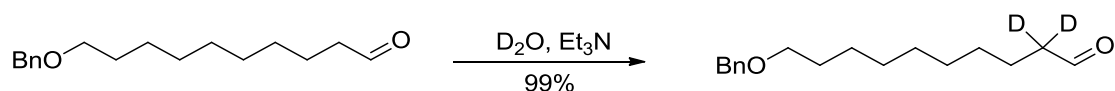
Με βάση τα προηγούμενα, στα πλαίσια της παρούσας εργασίας σχεδιάστηκε η σύνθεση ενός διδευτεριωμένου εστέρα καθώς και ενός μονοδευτεριωμένου υδρόξυ οξέος με το σκεπτικό σε μελλοντικές μελέτες να χορηγηθούν σε κύτταρα και μέσω της σηματοδότησης τους να πραγματοποιηθεί μια προσπάθεια κατανόησης τόσο της σύνθεσής τους, όσο και του τρόπου με τον οποίο αποικοδομούνται. Οι ενώσεις που σχεδιάστηκαν φαίνονται παρακάτω.



Σχήμα 3.49: Δευτεριωμένα παράγωγα που σχεδιάστηκαν.

3.4.3 Σύνθεση των δευτεριωμένων προϊόντων

Οι συνθετικές πορείες που ακολουθήθηκαν για το 9-*d*-HPA και για το 9-*d,d*-OAHSA είναι παρόμοιες με τις συνθετικές πορείες που ακολουθήθηκαν για τα υδρόξυ οξέα και τους ακόρεστους εστέρες αντίστοιχα. Η σύνθεσή τους διαφοροποιείται μόνο στην προσθήκη ενός επιπλέον σταδίου το οποίο αφορά στη διδευτερίωση της αρχικής αλδεΐδης σε α-θέση από το καρβονύλιο, η οποία πραγματοποιείται ύστερα από δύο κύκλους δευτερίωσης στην μονο-προστατευμένη αλδεΐδη.

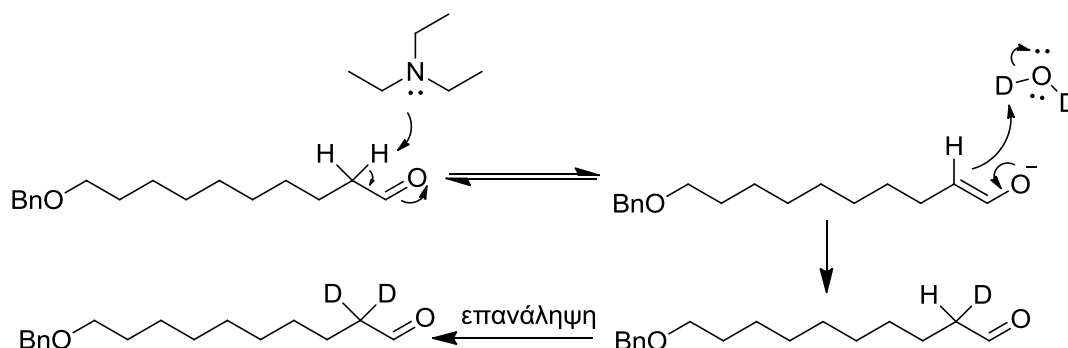


Σχήμα 3.50: Αντίδραση δευτερίωσης.

Η αλδεΐδη δευτεριώνεται με αντίδραση της με δευτεριωμένο νερό και τη χρήση τριαιθυλαμίνης ως βάση.^[73]

3.4.4 Μηχανισμός δευτερίωσης

Ο μηχανισμός της δευτερίωσης φαίνεται στο σχήμα 3.51.

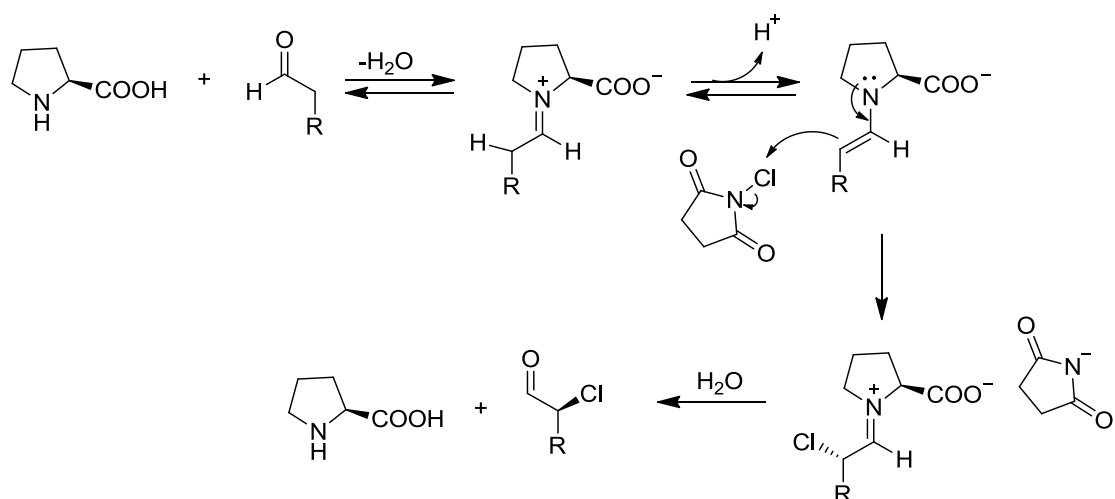


Σχήμα 3.51: Μηχανισμός δευτερίωσης.

Η δευτεριωμένη αλδεΐδη προκύπτει ύστερα από δύο κύκλους δευτερίωσης και το ποσοστό δευτερίωσης ελέγχεται με φασματοσκοπία ^1H NMR. Στα πλαίσια της μελέτης για την εύρεση των κατάλληλων συνθηκών της δευτερίωσης πραγματοποιήθηκε στην αλδεΐδη επιπλέον ένας κύκλος δευτερίωσης για να παρατηρηθεί εάν αυτό βελτίωνε το ποσοστό περισσότερο, αλλά δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά στα προϊόντα.

3.4.5 Μηχανισμός α-χλωρίωσης με τη χρήση L-προλίνης και N-χλωροσουκινιμιδίου

Ένα δεύτερο βήμα το οποίο ήταν διαφορετικό στη σύνθεση του δευτεριωμένου υδρόξυ οξέος ήταν το γεγονός ότι το τελικό προϊόν ήταν απλώς ελαφρά εναντιοεμπλουτισμένο και αυτό διότι η δημιουργία του ακραίου εποξειδίου πραγματοποιήθηκε αντί με τη χρήση του καταλύτη του MacMillan με την L-προλίνη και με N-χλωροσουκινιμίδιο ως χλωριωτικό μέσο, αντίδραση η οποία έδινε εναντιοεμπλουτισμένα εποξειδία σε αναλογία 60:40 του ενός εναντιομερούς ως προς το άλλο, όπως φάνηκε μέσω Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Απόδοσης HPLC (High Performance Liquid Chromatography) με χρήση χειρόμορφης στήλης.



Σχήμα 3.52: Μηχανισμός α-χλωρίωσης με χρήση L-προλίνης και N-χλωροσουκινιμιδίου.

Ο μηχανισμός που ακολουθείται φαίνεται στο σχήμα 3.52. Η L-προλίνη χρησιμοποιήθηκε στοιχειομετρικά και όχι καταλυτικά, παρά τη φύση της αντίδρασης, επειδή τα δευτέρια όπως παρατηρήθηκε φαίνεται να επηρεάζαν την απόδοσή της και να μην επιτρέπουν στην αντίδραση να ολοκληρωθεί με

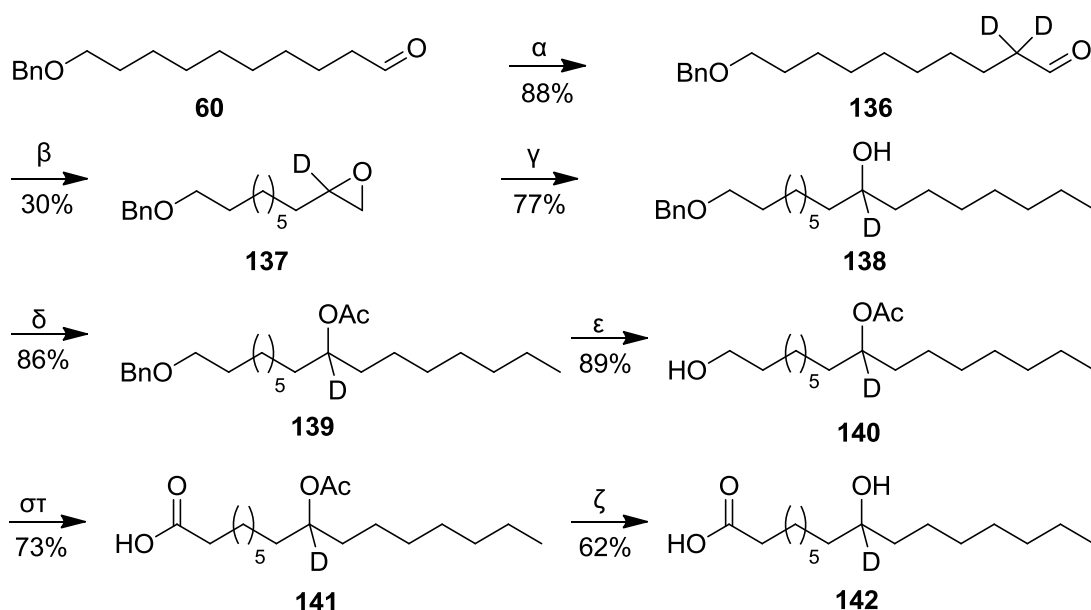
χαμηλότερο καταλυτικό φορτίο. Ακολουθεί η αναγωγή της α-χλωροαλδεΐδης σε α-χλωροαλκοόλη και σχηματισμός του εποξειδικού δακτυλίου με τη χρήση διαλύματος KOH/EtOH/H₂O, όπως αναφέρθηκε παραπάνω. Η εναντιοκαθαρότητα του προϊόντος μετρημένη με HPLC είναι ιδιαίτερα χαμηλή σε αυτές τις συνθήκες.

Τέλος, για τον σχηματισμό του δευτεριωμένου ακόρεστου εστέρα, χρησιμοποιήθηκε ένα ήδη παρασκευασμένο δευτεριωμένο ελαϊκό οξύ, που παραχωρήθηκε από άλλον μεταπτυχιακό φοιτητή.

3.4.6 Οι συνθετικές πορείες που ακολουθήθηκαν

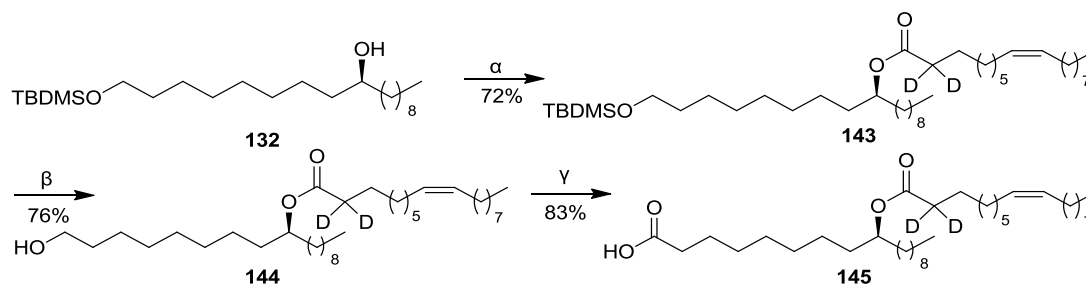
Στα παρακάτω σχήματα, φαίνονται οι συνθετικές πορείες που ακολουθήθηκαν για την παραλαβή των δευτεριωμένων παραγώγων.

Η συνθετική πορεία που προτάθηκε είναι ίδια με την πορεία προς το μη δευτεριωμένο προϊόν με την προσθήκη του βήματος της δευτερίωσης και τη διαφοροποίηση στην α-χλωρίωση.



Σχήμα 3.53: Πορεία για τη σύνθεση του δευτεριωμένου υδρόξυ οξέος 142. (α) D₂O, Et₃N, 100 °C, 1 h, (β) i. L-προλίνη, N-χλωροσουκινιμίδιο, CH₂Cl₂, r.t., 16 h, ii. NaBH₄, EtOH, 0 °C, 15 min, iii. KOH, EtOH, H₂O, r.t., 30 min, (γ) C₆H₁₃MgBr, CuI, άνυδρο THF, -40 °C, 1 h, (δ) AcCl, άνυδρη πυριδίνη, άνυδρο CH₂Cl₂, 0 °C έως r.t., 16 h, (ε) H₂, 10% Pd/C, MeOH, r.t., 16 h, (στ) αντιδραστήριο Jones, ακετόνη, 0 °C, 1 h, (ζ) LiOH, THF:H₂O, r.t., 16 h.

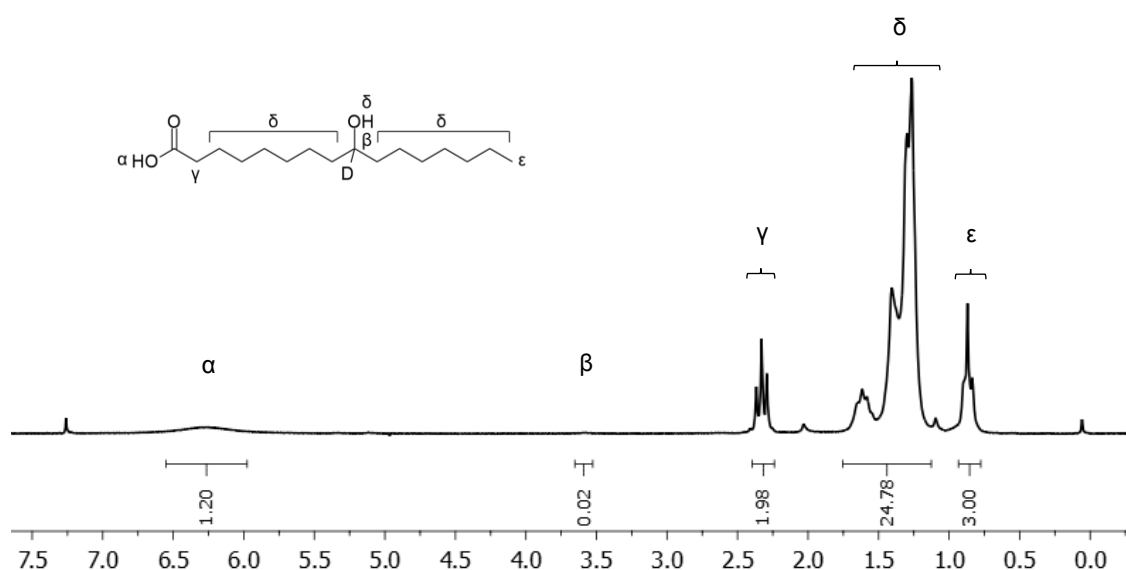
Στο σχήμα 3.54 παρουσιάζεται, επίσης, η σύνθεση του διδευτεριωμένου εστερικού παραγώγου.



Σχήμα 3.54: Πορεία για τη σύνθεση του δευτεριωμένου εστέρα 145. (α) d_2 -ελαϊκό οξύ, EDCI.HCl, DMAP, άνυδρη Et_3N , άνυδρο CH_2Cl_2 , 0 °C έως r.t., 16 h, (β) TBAF, άνυδρο THF, r.t., 1 h, (γ) αντιδραστήριο Jones, ακετόνη, 0 °C, 1 h.

3.4.7 Αποτίμηση φασμάτων του 9-*d*-HPA

Παρακάτω φαίνονται τα φάσματα του ^1H NMR και ^{13}C NMR για την ένωση 9-*d*-HPA.

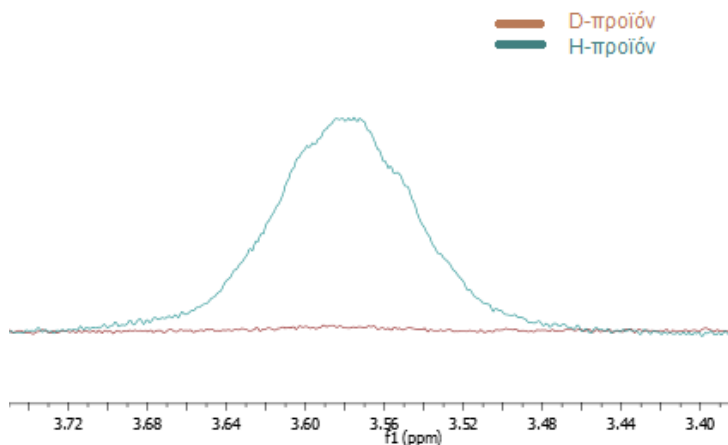


Σχήμα 3.55: Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 142 (CDCl_3 , 200 MHz).

Στο σχήμα 3.55 παρουσιάζεται το φάσμα ^1H NMR σε διαλύτη CDCl_3 της ένωσης 9-*d*-HPA. Στα 6.27 ppm συντονίζεται το πρωτόνιο του καρβοξυλίου ως μια ευρεία κορυφή, στα 3.70-3.46 ppm συντονίζεται το OCH πρωτόνιο του στερεογονικού κέντρου στο μη δευτεριωμένο παράγωγο, το ποσοστό του οποίο φαίνεται να είναι ελάχιστο σε σύγκριση με το ποσοστό της

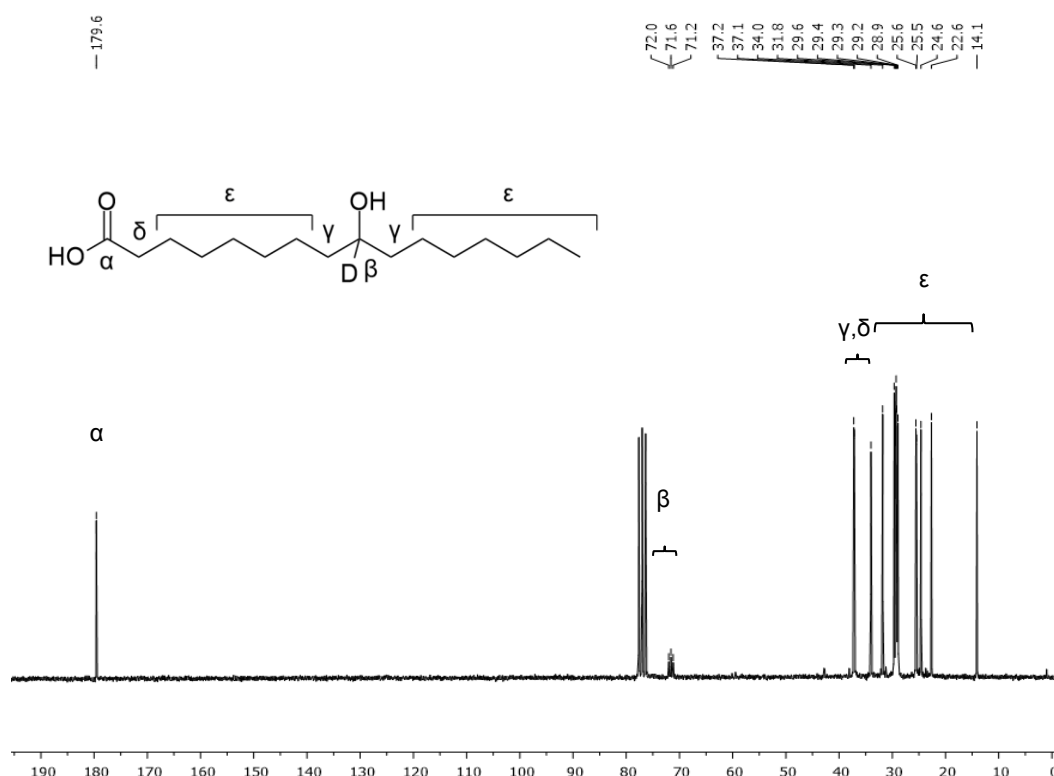
δευτερίωσης που δείχνει να είναι 98%. Πιο συγκεκριμένα, το εμβαδόν που φαίνεται στο φάσμα αντιστοιχεί στο ποσοστό των πρωτονίων που δεν έχουν αντικατασταθεί με δευτέρια σε σχέση με το 1 που αντιστοιχεί σε τιμή 100% για μη δευτεριωμένο υδρόξυ οξύ. Εφόσον αυτό είναι 0.02, θεωρείται ότι το υπόλοιπο εμβαδόν αντιστοιχεί στο δευτέριο και ισούται με 0.98. Πολλαπλασιάζοντας αυτή την τιμή με το 100 λαμβάνεται το επί τις εκατό ποσοστό δευτερίωσης 98%. Στα 2.33 ppm, συντονίζονται τα πρωτόνια COCH_2 σε α-θέση ως προς το καρβοξύλιο. Στη συνέχεια, συντονίζονται τα μεθυλένια της υπόλοιπης αλειφατικής αλυσίδας μαζί με το πρωτόνιο του υδροξυλίου στα 1.75-1.13 ppm, ενώ, τέλος, τα τρία πρωτόνια του μεθυλίου συντονίζονται στα 0.85 ppm.

Ενδεικτικά, να αναφερθεί ότι η σύγκριση της περιοχής των δύο φασμάτων που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο του στερεογονικού κέντρου του μη δευτεριωμένου προϊόντος φαίνεται καλύτερα στο σχήμα 3.56, όπου στο φάσμα του δευτεριωμένου υδρόξυ οξέος η κορυφή του πρωτονίου είναι σχεδόν εξαφανισμένη.



Σχήμα 3.56: Σύγκριση κορυφής πρωτονίου του στερεογονικού κέντρου του μη δευτεριωμένου προϊόντος σε σχέση με το αντίστοιχο δευτεριωμένο.

Στο σχήμα 3.57 ακολουθεί το φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης **9-d-HPA** σε διαλύτη CDCl_3 .

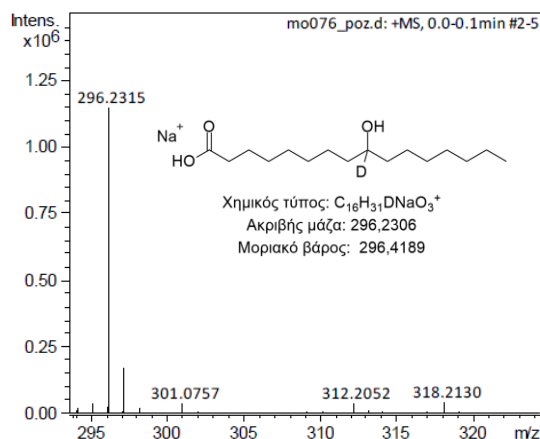


Σχήμα 3.57: Φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης 142 (CDCl_3 , 50 MHz).

Στα 179.6 ppm συντονίζεται ο άνθρακας του καρβοξυλίου. Στα 71.6 ppm συντονίζεται ο άνθρακας που ενώνεται με το οξυγόνο της εστερικής ομάδας, ο οποίος όμως εμφανίζεται στην προκειμένη περίπτωση ως μια τριπλή κορυφή λόγω της σχάσης που δημιουργείται από το δευτέριο. Στα 37.2 και 37.1 ppm συντονίζονται τα μεθυλένια δεξιά και αριστερά του άνθρακα που συνδέεται με το υδροξύλιο, ενώ στα 34.0 ppm συντονίζεται ο άνθρακας του μεθυλενίου που βρίσκεται σε α-θέση ως προς το καρβοξύλιο. Τέλος, από 31.8-14.1 ppm συντονίζονται όλοι οι υπόλοιποι αλειφατικοί άνθρακες του μορίου.

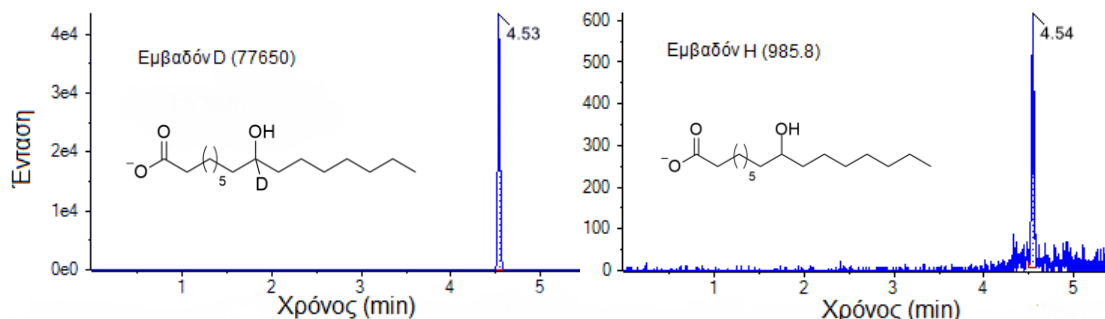
Στο σχήμα 3.58, φαίνεται το φάσμα μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας του δευτεριωμένου υδρόξυ οξέος, το οποίο ελήφθη με ηλεκτροψεκασμό (ESI) σε θετικό ιοντισμό.

Σχήμα 3.58: Φάσμα μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας της ένωσης 145.



3.4.8 Μέτρηση ποσοστού δευτερίωσης μέσω φασματομετρίας μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας

Ακολουθούν τα αποτελέσματα με φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας, όπου υπολογίζεται το ακριβές ποσοστό δευτερίωσης.



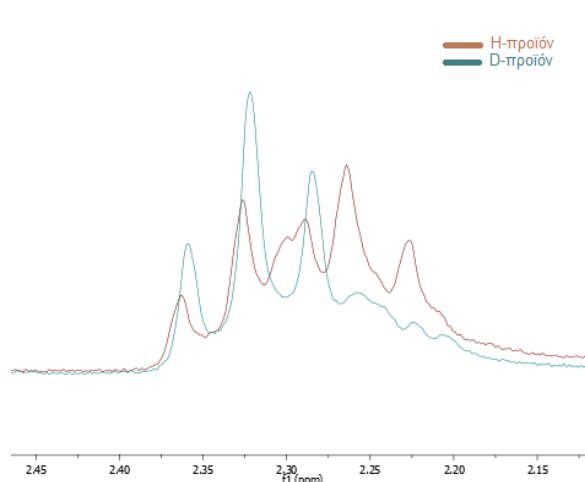
Σχήμα 3.59: Σύγκριση χρωματογραφημάτων εξαγόμενου ιόντος HRMS δευτεριωμένου και μη υδρόξυ οξέος.

Για τον υπολογισμό του ποσοστού δευτερίωσης ακολουθούνται υπολογισμοί σύμφωνα με τον τύπο:

$$\begin{aligned} & \text{Ποσοστό δευτερίωσης (\%)} \\ &= \frac{\text{Εμβαδό κορυφής δευτεριωμένου προϊόντος}}{\text{Εμβαδό κορυφής δευτ. προϊόντος} + \text{Εμβαδό κορυφής μη δευτ. προϊόντος}} \times 100 \\ &= \frac{77650}{77650 + 985.8} \times 100 = 98.75\% \end{aligned}$$

Από όπου προκύπτει το συμπέρασμα ότι το ποσοστό της δευτερίωσης είναι 98,75%

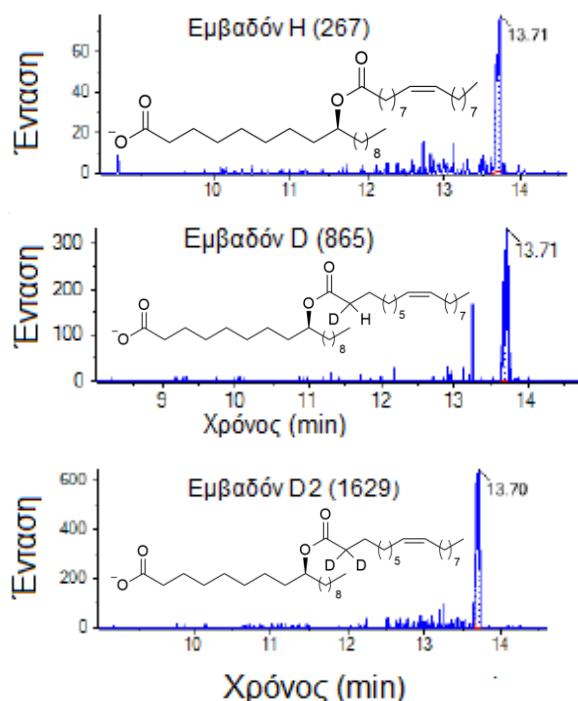
Στο σχήμα 3.60 παρατίθενται και οι περιοχές των φασμάτων ^1H NMR που



αντιστοιχούν στα πρωτόνια σε α-θέση ως προς το καρβονύλιο του 9-OAHSa και του διδευτεριωμένου 9-OAHSa.

Σχήμα 3.60: Σύγκριση κορυφής πρωτονίων του εστερικού παραγώγου πριν και μετά τη δευτερίωση.

Στο φάσμα του μη δευτεριωμένου προϊόντος, όπως αναφέρθηκε και σε προηγούμενο υποκεφάλαιο, η πολλαπλή κορυφή που εμφανίζεται από τα 2.40-2.18 ppm αντιστοιχεί σε 4 πρωτόνια τα οποία βρίσκονται σε α-θέση ως προς τα καρβονύλια. Στην περίπτωση του διδευτεριωμένου προϊόντος η εικόνα είναι διαφορετική.



Επειδή οι κορυφές για τα πρωτόνια σε α-θέση ως προς το καρβοξύλιο τόσο του δευτεριωμένου, όσο και του μη δευτεριωμένου επικαλύπτονται, η μέτρηση του ποσοστού της δευτερίωσης μέσω ^1H NMR δεν είναι ακριβής. Το ποσοστό της δευτερίωσης μετράται από τη φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας.

Σχήμα 3.61: Σύγκριση φασμάτων HRMS διδευτεριωμένου, μονοδευτεριωμένου και μη δευτεριωμένου μονοακόρεστου εστέρα.

Στό σχήμα 3.61 παρουσιάζονται τα χρωματογραφήματα εξαγόμενου ιόντος HRMS για το διδευτεριωμένο, το μονοδευτεριωμένο και το μη δευτεριωμένο μονοακόρεστο εστέρα. Με βάση τα χρωματογραφήματα, το ποσοστό της συνολικής δευτερίωσης είναι 90.00% σύμφωνα με τον τύπο:

Ποσοστό δευτερίωσης (%)

$$= \frac{\text{Εμβασδόν κορυφής διδευτεριωμένου} + \text{Εμβασδόν κορυφής μονοδευτεριωμένου πρ.}}{\text{Εμβασδόν κορυφής διδευτ. προϊόντος} + \text{Εμβασδόν μονοδευτ. πρ.} + \text{Εμβασδόν μη δευτ. πρ.}} \times 100$$

$$= \frac{1629 + 865}{1629 + 267 + 865} \times 100 = 90.00\%$$

Αντίστοιχα, μπορούν να υπολογιστούν με ακρίβεια το ποσοστό διδευτεριωμένου και μονοδευτεριωμένου προϊόντος.

Με βάση τις μελέτες αυτές ο τύπος για το ποσοστό της μέτρησης της δευτερίωσης στην περίπτωση του ακόρεστου διδευτεριωμένου εστέρα είναι 59.00%. Το ποσοστό αυτό προκύπτει από τον παρακάτω τύπο:

$$\begin{aligned} & \text{Ποσοστό δευτερίωσης (\%)} \\ &= \frac{\text{Εμβαδό κορυφής διδευτεριωμένου προϊόντος}}{\text{Εμβαδό κορυφής διδευτ. προϊόντος} + \text{Εμβαδό μονοδευτ.} + \text{Εμβαδό μη δευτ.}} \times 100 \\ &= \frac{1629}{1629 + 267 + 865} \times 100 = 59.00\% \end{aligned}$$

Με τον ίδιο τρόπο, μπορεί να μετρηθεί και το ποσοστό δευτερίωσης του μονο-δευτεριωμένου προϊόντος.

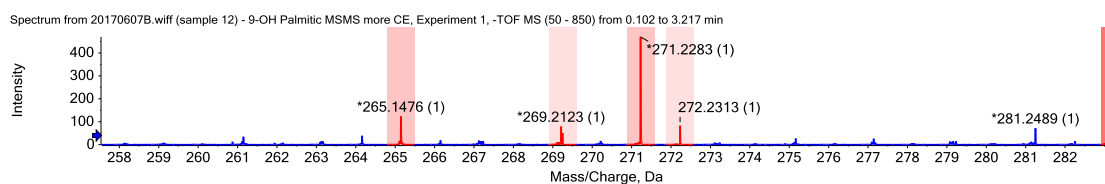
$$\begin{aligned} & \text{Ποσοστό δευτερίωσης (\%)} \\ &= \frac{\text{Εμβαδό κορυφής μονοδευτεριωμένου προϊόντος}}{\text{Εμβαδό κορυφής διδευτ. προϊόντος} + \text{Εμβαδό μονοδευτ.} + \text{Εμβαδό μη δευτ.}} \times 100 \\ &= \frac{865}{1629 + 267 + 865} \times 100 = 31.33\% \end{aligned}$$

3.5 Μελέτη υδρόξυ λιπαρών οξέων με φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας (HRMS)

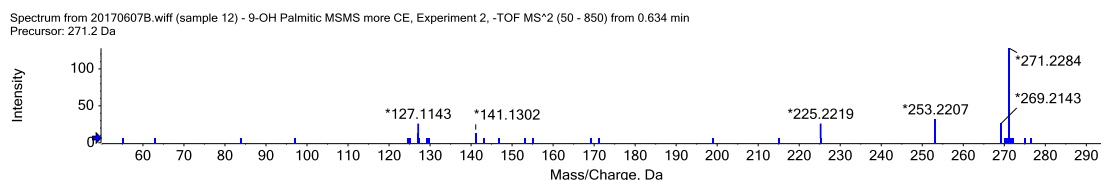
Η ύπαρξη εστέρων λιπαρών οξέων με υδρόξυ λιπαρά οξέα σε βιολογικά υγρά σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις, αλλά και οι βιολογικές δράσεις που παρουσιάζουν αυτές οι ενώσεις, επιβάλλουν τη μελέτη των χαρακτηριστικών τους με φασματομετρία μάζας HRMS. Θα πρέπει να τονίσουμε ότι τα υδρόξυ λιπαρά οξέα που βρίσκονται σε βιολογικά υγρά μπορεί να φέρουν το υδροξύλιο σε ποικίλες θέσεις. Θα ήταν επομένως ιδιαίτερα χρήσιμο να είμαστε σε θέση να ταυτοποιήσουμε σε ποιά θέση της ανθρακικής αλυσίδας βρίσκεται το υδροξύλιο. Στο παρόν υποκεφάλαιο θα παρουσιάσουμε ένα μέρος από τις μελέτες μας, και πιο συγκεκριμένα μια σύγκριση φασματοσκοπικών δεδομένων του 9-υδρόξυ παλμιτικού οξέος με το 16-υδρόξυ παλμιτικό οξύ.

Στο σχήμα 3.62 παρουσιάζεται το μοριακό ιόν του 9-HPA (A), όπως ελήφθη στο φάσμα πλήρους σάρωσης με ηλεκτροψεκασμό στον αρνητικό ιοντισμό. Το μοριακό ιόν ανιχνεύεται σε m/z 271.2283. Το φάσμα MS/MS (B) παρουσιάζει κορυφές σε m/z 253.2207, 225.2219, 141.1302 και 127.1143. Οι τιμές αυτές μπορεί να αντιστοιχιστούν στα θραύσματα που παρουσιάζονται στο σχήμα 3.63. Η απομάκρυνση μικρών μορίων όπως H_2O και $HCOOH$ οδηγεί σε ιόν με m/z 253.2207 και ιόν με m/z 225.2219, αντίστοιχα. Η θραυσματοποίηση της αλειφατικής αλυσίδας μπορεί να οδηγήσει σε δύο διαφορετικά θραύσματα, ένα που απομένει να φέρει καρβοξύλιο με m/z 141.1302 και το άλλο φέρει το υδροξύλιο με m/z 127.1143. Το τελευταίο ιόν είναι και το πλέον χαρακτηριστικό για να ταυτοποιηθεί η θέση του υδροξυλίου στην αλειφατική αλυσίδα. Με άλλα λόγια, τα θραύσματα που προκύπτουν με απομάκρυνση H_2O ή $HCOOH$ δεν μπορούν να βοηθήσουν στην ταυτοποίηση της θέσης του υδροξυλίου και οποιοδήποτε υδρόξυ παλμιτικό οξύ που θα έφερε υδροξύλιο σε κάποια άλλη θέση (π.χ. 7-, 11-) θα παρουσίαζε τα ίδια θραύσματα. Όμως, το θραύσμα που θα φέρει το υδροξύλιο, καθορίζει την απόσταση του υδροξυλίου από το άκρο της αλειφατικής αλυσίδας.

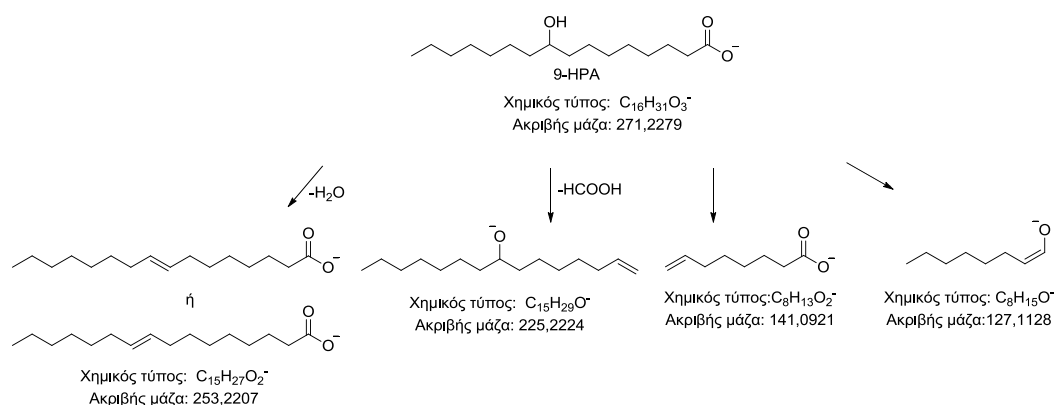
α)



β)



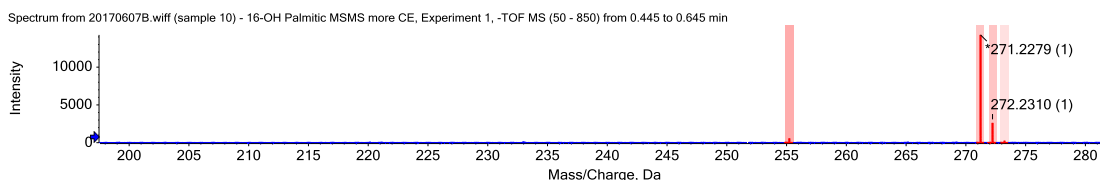
Σχήμα 3.62: α) Μοριακό ιόν του 9-HPA (μέρος του φάσματος πλήρους σάρωσης), β) MS/MS (50 eV) του μοριακού ιόντος του 9-HPA.



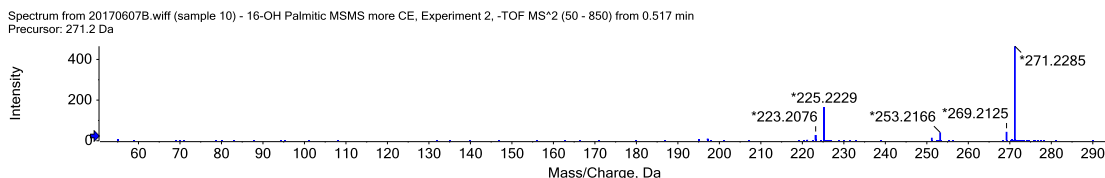
Σχήμα 3.63: Θραυσματοποίηση του 9-HPA.

Για σύγκριση ελήφθησαν τα φάσματα HRMS του εμπορικά διαθέσιμου 16-υδρόξυ παλμιτικού οξέος (σχήμα 3.64). Το μοριακό ιόν σε m/z 271.2279 καταγράφεται στο φάσμα πλήρους σάρωσης (Α). Στο φάσμα MS/MS (Β) καταγράφηκαν τα ιόντα με m/z 253.2166 και 225.2229 που αντιστοιχούν σε απομάκρυνση H₂O και HCOOH, όπως φαίνεται στο σχήμα 3.65. Στην περίπτωση του 16-υδρόξυ παλμιτικού οξέος δεν παρατηρούνται στο φάσμα MS/MS άλλα ιόντα που να οφείλονται σε διάσπαση της αλειφατικής αλυσίδας σε ενδιάμεσο σημείο.

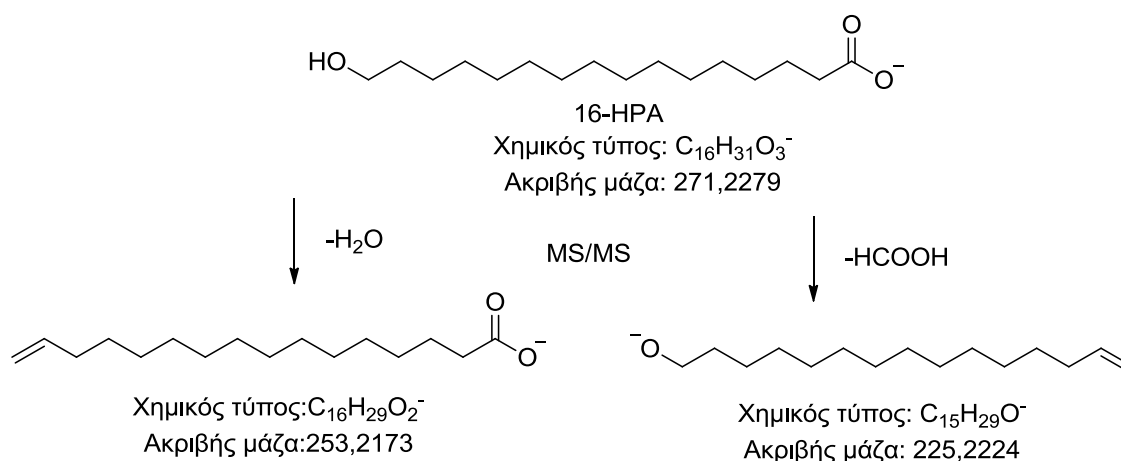
α)



β)

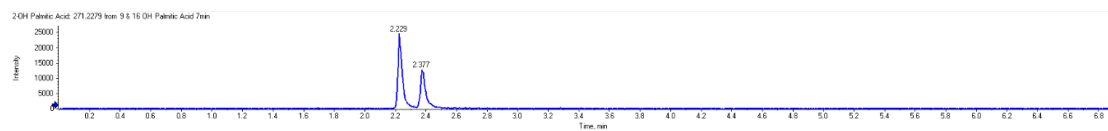


Σχήμα 3.64: α) Μοριακό ιόν του 16-HPA (μέρος του φάσματος πλήρους σάρωσης), β) MS/MS (50 eV) του μοριακού ιόντος του 16-HPA.



Σχήμα 3.65: Θραυσματοποίηση του 16-HPA.

Στο σχήμα 3.66 παρουσιάζεται χρωματογράφημα ταυτόχρονου προσδιορισμού του 9-υδρόξυ και του 16-υδρόξυ παλμιτικού οξέος με χρήση microLC/HRMS. Χρησιμοποιήθηκε η αναλυτική στήλη Halo C18 2.7 μm 90Å 0.5 x 50 mm της Eksigent και σύστημα βαθμιδωτής έκλουσης που περιλάμβανε (Α) ακετονιτρίλιο με 0.01 % φορμικό οξύ και (Β) νερό με 0.01 % φορμικό οξύ (ροή 55 $\mu L/min$). Με την παρούσα μέθοδο που αναπτύξαμε επιτυγχάνεται διαχωρισμός των δύο ισοβαρών υδρόξυ παλμιτικών οξέων ταχέως εφόσον παρατηρούνται κορυφές που αντιστοιχούν σε R_t 2.23 min για το 16-HPA και 2.38 min για το 9-HPA.



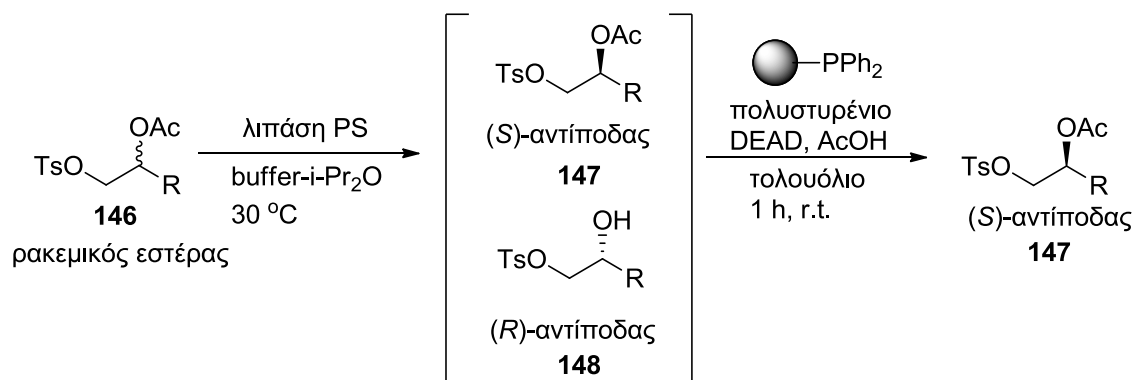
Σχήμα 3.66: Χρωματογράφημα ταυτόχρονου προσδιορισμού 9-ΗΡΑ και 16-ΗΡΑ.

3.6 Βιοτεχνολογικές μελέτες

3.6.1 Βιοτεχνολογική προσέγγιση για την παραγωγή ασύμμετρου ακραίου εποξειδίου

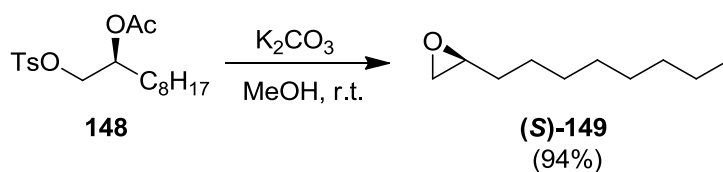
Η βιοτεχνολογική προσέγγιση για τη σύνθεση ασύμμετρων ακραίων εποξειδίων βασίζεται στην ενζυμική απορακεμοποίηση μονοτοζυλιωμένων 1,2-διολών που φέρουν μακριά αλειφατική αλυσίδα. Αρχικές μελέτες, έδειξαν τη δυνατότητα χρήσης του ενζύμου λιπάση PS (από *Burkholderia ceracia*) για την ενζυμική εναντιοεκλεκτική υδρόλυση μονοτοζυλιωμένων παραγώγων 1,2-διολών που έφεραν μικρούς υποκαταστάτες.^[74]

Στη συνέχεια, αναπτύχθηκε μια μέθοδος που περιελάμβανε συνδυασμό ενζυμικής υδρόλυσης με αναστροφή Mitsunobu,^[75] σύμφωνα με το γενικό σχήμα:



Σχήμα 3.67: Ενζυμική υδρόλυση ακολουθούμενη από αναστροφή Mitsunobu της ένωσης 146.

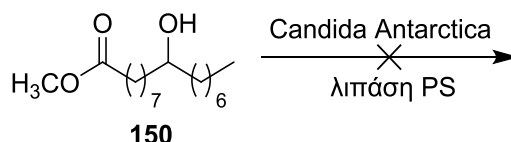
Κατά τη μέθοδο αυτή, έγινε δυνατή η ενζυμική σύνθεση σε υψηλή εναντιοκαθαρότητα της ένωσης 148 που, στη συνέχεια, μετατράπηκε σε ασύμμετρο ακραίο εποξείδιο.



Σχήμα 3.68: Ασύμμετρος τρόπος εποξείδωσης με χρήση ενζύμου.

3.6.2 Ενζυμικός διαχωρισμός εναντιομερών 9-υδρόξυ παλμιτικού οξέος

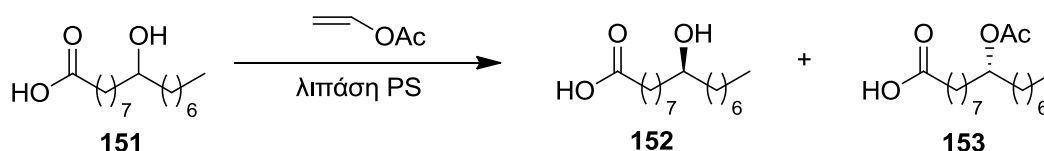
Για την εφαρμογή βιοτεχνολογικής μεθόδου για την παραγωγή οπτικά ενεργού 9-HPA, μελετήθηκε η χρήση λιπάσης από *Candida Antarctica* (Novozym 435) και λιπάση από *Pseudomonas cepacia* (PS), σύμφωνα με αντίδραση ενζυμικής υδρόλυσης μεθυλεστέρα του 9-HPA.



Σχήμα 3.69: Προσπάθεια ενζυμικού διαχωρισμού των εναντιομερών της ένωσης 150.

Δυστυχώς, όμως, η μέθοδος αυτή δεν οδήγησε σε επιτυχές αποτέλεσμα.

Μια άλλη προσέγγιση, περιελάμβανε την ενζυμική ακυλίωση του υδροξυλίου του 9-HPA, όπως φαίνεται στην παρακάτω αντίδραση:



Σχήμα 3.70: Προσπάθεια ενζυματικής ακυλίωσης του 9-HPA.

Δυστυχώς, όμως, και αυτή η ενζυμική προσέγγιση δεν πραγματοποιήθηκε επιτυχώς.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΠΟΡΕΙΕΣ ΚΑΙ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

4.1 Γενικό πειραματικό μέρος

4.1.1 Αντιδραστήρια και διαλύτες

Τα αντιδραστήρια και οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία ήταν εμπορικώς διαθέσιμα προϊόντα των εταιριών Sigma-Aldrich, Fluka, Merck και Alfa Aesar. Τα μοριακά κόσκινα που χρησιμοποιήθηκαν για την ξήρανση των διαλυτών, ήταν διαμέτρου 4 Å. Η συμπύκνωση των διαλυτών έγινε υπό ελαττωμένη πίεση.

4.1.2 Όργανα και διατάξεις

Η ταυτοποίηση των ενώσεων που συντέθηκαν, πραγματοποιήθηκε με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR), με φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας (HRMS), ενώ σε ορισμένη περίπτωση χρησιμοποιήθηκε και η φασματοσκοπία υπερύθρου (IR). Για την ταυτοποίηση των ενώσεων μετρήθηκε, επίσης, το σημείο τήξεως ενώ για όσες χαρακτηρίζονται με χειρομορφία παργματοποιήθηκε μέτρηση της στροφικής ικανότητάς τους.

Τα φάσματα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR ^1H , ^{13}C) ελήφθησαν σε όργανο Varian τύπου Mercury 200 MHz σε διαλύτη CDCl_3 . Για το ^1H NMR η συχνότητα συντονισμού ήταν τα 200 MHz, ενώ για τον ^{13}C NMR η συχνότητα συντονισμού ήταν τα 50 MHz. Οι χημικές μετατοπίσεις των φασμάτων NMR εκφράζονται σε ppm, ενώ η σειρά παρουσίασης των δεδομένων των χημικών μετατοπίσεων στα φάσματα ^1H NMR είναι η εξής: αριθμός πρωτονίων, πολλαπλότητα, σταθερές σύζευξης J σε Hz και ταυτοποίηση κορυφών.

Τα φάσματα μάζας υψηλής ανάλυσης (HRMS) ελήφθησαν σε φασματόμετρο Bruker Maxis Impact QTOF. Επίσης, αναλύσεις για την εύρεση του ποσοστού δευτερίωσης πραγματοποιήθηκαν σε φασματόμετρο μάζας Sciex Triple ToF 4600 AB. Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν MeOH και H_2O , καθαρότητας HPLC.

Τα σημεία τήξεως μετρήθηκαν σε συσκευή Buchi 530 και παρατίθενται χωρίς διόρθωση.

Οι οπτικές στροφικές ικανότητες μετρήθηκαν σε ηλεκτρικό πολωσίμετρο Perkin-Elmer 343 και σε όργανο AA-65 series Polarimeter της Optical Activity Limited, σε κυψελίδα μήκους 10 cm και σε θερμοκρασία δωματίου.

Για τον προσδιορισμό της εναντιομερικής περισσειας (ee), χρησιμοποιήθηκε τεχνική υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC). Οι διαχωρισμοί πραγματοποιήθηκαν σε συσκευή Agilent 1100 Series με DAD ανιχνευτή UV και οι εντάσεις των κορυφών μετρήθηκαν στην περιοχή UV μεταξύ 206 και 280 nm. Χρησιμοποιήθηκε στήλη χρωματογραφίας Daicel Chiralpak OD-H (250 x 4.6 mm ID). Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν εξάνιο και *i*-PrOH καθαρότητας HPLC.

4.1.3 Χρωματογραφία λεπτής στιβάδας

Η πορεία των αντιδράσεων και η καθαρότητα των ενώσεων που συντέθηκαν ελέγχθηκαν με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (thin layer chromatography, TLC) για την οποία χρησιμοποιήθηκαν φύλλα αλουμινίου 0,2 mm επιστρωμένα με silica gel και φθορίζον υλικό που απορροφά στα 254 nm της εταιρίας Merck (silica gel 60 F254). Για την εμφάνιση των χρωματογραφημάτων χρησιμοποιήθηκαν: διάλυμα νινυδρίνης 0,5% σε αιθανόλη και διάλυμα φωσφομολυβδαινικού οξέος 7,5% σε αιθανόλη, θέρμανση και λυχία UV ($\lambda = 254$ nm).

Για τον χρωματογραφικό χαρακτηρισμό των ενώσεων μετρήθηκαν οι συντελεστές ανάσχεσης (R_f) σε διαφορετικά συστήματα ανάπτυξης. Τα συστήματα ανάπτυξης που χρησιμοποιήθηκαν είναι:

1. Πετρελαϊκός αιθέρας / οξικός αιθυλεστέρας (PE/AcOEt) 95/5
2. Πετρελαϊκός αιθέρας / οξικός αιθυλεστέρας (PE/AcOEt) 8/2
3. Πετρελαϊκός αιθέρας / οξικός αιθυλεστέρας (PE/AcOEt) 7/3
4. Πετρελαϊκός αιθέρας / οξικός αιθυλεστέρας (PE/AcOEt) 6/4
5. Πετρελαϊκός αιθέρας / διεθυλαιθέρας (PE/Et₂O) 95/5
6. Πετρελαϊκός αιθέρας / διεθυλαιθέρας (PE/Et₂O) 9/1

7.	Πετρελαϊκός αιθέρας / διεθυλαιθέρας	(PE/Et ₂ O)	8/2
8.	Πετρελαϊκός αιθέρας / διεθυλαιθέρας	(PE/Et ₂ O)	7/3
9.	Πετρελαϊκός αιθέρας / διεθυλαιθέρας	(PE/Et ₂ O)	6/4
10.	Πετρελαϊκός αιθέρας / διεθυλαιθέρας	(PE/Et ₂ O)	5/5
11.	Πετρελαϊκός αιθέρας / διεθυλαιθέρας	(PE/Et ₂ O)	4/6
12.	Πετρελαϊκός αιθέρας / διεθυλαιθέρας	(PE/Et ₂ O)	2/8
13.	Διχλωρομεθάνιο / μεθανόλη	(DCM/MeOH)	9/1

4.1.4 Χρωματογραφία στήλης

Ο καθαρισμός των προϊόντων που συντέθηκαν πραγματοποιήθηκε με χρωματογραφία στήλης. Η έκλουση έγινε είτε με την εφαρμογή πίεσης αέρα στο επάνω μέρος της στήλης (flash column chromatography), είτε ,απλά, με τη δύναμη της βαρύτητας (gravity column chromatography). Στις στήλες τύπου flash χρησιμοποιήθηκε silica gel 60 (230-400 mesh) της Merck ενώ στη βαρυτική στήλη χρησιμοποιήθηκε silica gel 60 (70-230 mesh) της Merck. Τα συστήματα έκλουσης που χρησιμοποιήθηκαν αναφέρονται για κάθε προϊόν ξεχωριστά.

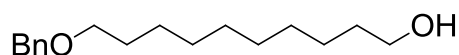
Στη συνέχεια, περιγράφονται οι γενικές μέθοδοι παρασκευής, οι φυσικές σταθερές και τα φασματοσκοπικά δεδομένα που ελήφθησαν για τις ενώσεις που παράχθηκαν.

4.2 Πειραματικές πορείες και χαρακτηρισμοί των προϊόντων των αντιδράσεων

Γενική πορεία για την μονο-προστασία μιας τελικής διόλης

Σε ξηρή σφαιρική φιάλη, προστίθεται υδρίδιο του νατρίου (60% σε υγρή παραφίνη, 52 mg, 1.30 mmol) και άνυδρο DMF (2 mL). Στη συνέχεια, η διόλη (1.00 mmol) διαλύεται σε άνυδρο DMF (0.5 mL) και προστίθεται στο μείγμα της αντίδρασης στάγδην στους 0 °C, το οποίο βρίσκεται υπό αργό. Ύστερα από την πάροδο 40 λεπτών υπό ανάδευση στους 0 °C, προστίθεται το βένζυλοβρωμίδιο (0.13 mL, 1.10 mmol) στάγδην. Το μείγμα αφήνεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 16 ώρες. Στη συνέχεια, στη σφαιρική προστίθεται κορεσμένο διάλυμα NH₄Cl (20 mL) και η υδατική στοιβάδα εκχυλίζεται με AcOEt (3 x 20 mL). Οι οργανικές στοιβάδες συλλέγονται και ξηραίνονται με Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό ελαττωμένη πίεση. Ακολουθεί χρωματογραφία στήλης με σύστημα διαλυτών έκλουσης PE:AcOEt.

10-(Βενζυλοξυ)δεκαν-1-όλη (59) ^[76]



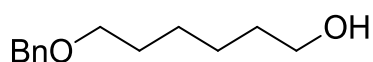
Άχρωμο έλαιο, 47% απόδοση (2.13 g), R_f (3)= 0.51.

Σύστημα έκλουσης: PE / AcOEt 9/1 και 8/2.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.37-7.24 (5H, m, ArH), 4.51 (2H, s, ArCH₂), 3.60 (2H, t, J = 6.5 Hz, OCH₂), 3.47 (2H, t, J = 6.6 Hz, OCH₂), 1.70-1.46 (5H, m, 4 x CHH, OH), 1.44-1.18 (12H, m, 12 x CHH).

¹³C NMR (50 Hz, CDCl₃) δ 138.5, 128.3, 127.6, 127.4, 72.8, 70.4, 62.8, 32.7, 29.7, 29.5, 29.4, 29.3, 26.1, 25.6.

6-(Βενζυλοξυ)εξαν-1-όλη (101) ^[77]



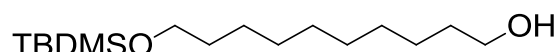
Άχρωμο έλαιο, 44% απόδοση (1.55 g), R_f (2)= 0.6.

Σύστημα έκλουσης: PE / AcOEt 9/1 και 8/2.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.50-7.10 (5H, m, ArH), 4.49 (2H, s, ArCH₂), 3.57 (2H, t, J = 6.5 Hz, OCH₂), 3.46 (2H, t, J = 6.5 Hz, OCH₂), 2.44 (1H, s, OH), 1.70-1.20 (8H, m, 8 x CHH).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 138.4, 128.2, 127.5, 127.4, 72.7, 70.1, 62.5, 32.5, 29.5, 25.8, 25.4.

10-((*tert*-Βουτυλοδιμεθυλοσιλυλο)οξυ)δεκαν-1-όλη (129) ^[78]



Σε σφαιρική φιάλη που περιέχει 1,10-δεκανοδιόλη (10.00 g, 57.40 mmol) σε άνυδρο DMF (28 mL), προστίθεται *tert*-βουτυλοδιμεθυλοσίλυλο χλωρίδιο (4.30 g, 28.70 mmol), ιμιδαζόλιο (3.90 g, 57.40 mmol) και 4-(διμεθυλαμινο)πυριδίνη (80 mg, 0.65 mmol). Το μείγμα αφήνεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου επί 16 ώρες. Στη συνέχεια, προστίθεται κορεσμένο διάλυμα NaHCO₃ (20 mL) και η υδατική φάση εκχυλίζεται με AcOEt (3 x 20 mL). Οι οργανικές στοιβάδες συλλέγονται και ξηραίνονται με Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό ελαττωμένη πίεση. Ακολουθεί χρωματογραφία στήλης με σύστημα διαλυτών έκλουσης PE:AcOEt για καθαρισμό του προϊόντος.

Άχρωμο έλαιο, 31% απόδοση (5.20 g), R_f (2)= 0.49.

Σύστημα έκλουσης: PE / AcOEt 9/1 και 8/2.

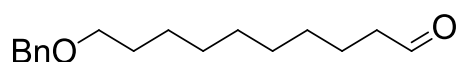
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 3.63 – 3.50 (4H, m, OCH₂), 2.14 – 1.97 (1H, m, OH), 1.57 – 1.41 (4H, m, 4 x CHH), 1.26 (s, 12H, 12 x CHH), 0.86 (9H, s, 3 x CH₃), 0.01 (6H, s, 2 x CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 63.3, 62.8, 32.8, 32.7, 29.5, 29.4, 25.9, 25.7, 18.3, -5.3.

Γενική μέθοδος για την οξείδωση μίας μονοπροστατευμένης διόλης

Σε διάλυμα χλωροχρωμικού πυριδίνιου (323 mg, 1.50 mmol) σε άνυδρο CH_2Cl_2 (10 mL) προστίθεται η μονοπροστατευμένη αλκοόλη (1.00 mmol) διαλυμένη σε άνυδρο CH_2Cl_2 (5 mL) στους 0 °C και το μίγμα της αντίδρασης αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου για 1 ώρα. Το διάλυμα διηθείται με celite και συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση. Ακολουθεί χρωματογραφία στήλης με σύστημα διαλυτών έκλουσης PE:AcOEt.

10-(Βενζυλοξυ)δεκανάλη (60) ^[79]



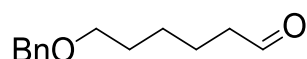
Άχρωμο έλαιο, 96% απόδοση (951 mg), R_f (2)= 0.71.

Σύστημα έκλουσης: PE/ AcOEt 9/1.

¹H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 9.77 (1H, s, CHO), 7.37-7.32 (5H, m, ArH), 4.51 (2H, s, ArCH₂), 3.46 (2H, t, J = 6.6 Hz, OCH₂), 2.47-2.34 (2H, m, CH₂CHO), 1.71-1.51 (4H, m, 4 x CHH), 1.35-1.24 (10H, m, 10 x CHH).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 203.0, 138.4, 128.3, 127.6, 127.4, 72.8, 70.4, 43.9, 29.7, 29.4, 29.3, 29.2, 29.0, 26.1, 22.0.

6-(Βενζυλοξυ)εξανάλη (102) ^[77]



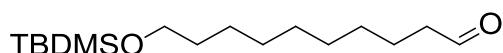
Άχρωμο έλαιο, 76% απόδοση (527 mg), R_f (2)= 0.6.

Σύστημα έκλουσης: PE / AcOEt 9/1.

¹H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 9.74 (1H, s, CHO), 7.61-7.05 (5H, m, ArH), 4.68-4.32 (2H, m, ArCH₂), 3.46 (2H, t, J = 6.3 Hz, OCH₂), 2.60-2.26 (2H, m, CH₂CHO), 1.76-1.30 (6H, m, 6 x CHH).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 202.7, 138.4, 128.3, 127.6, 127.5, 72.8, 69.9, 43.8, 29.4, 25.7, 21.8.

10-((tert-Βουτυλοδιμεθυλοσιλυλο)οξυ)δεκανάλη (130) ^[80]



Άχρωμο έλαιο, 91% απόδοση (905 mg), R_f (2)= 0.65.

Σύστημα έκλουσης: PE / AcOEt 8/2.

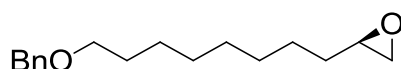
^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 9.73 (1H, t, J = 1.8 Hz, CHO), 3.56 (2H, t, J = 6.4 Hz, CH_2O), 2.38 (2H, td, J = 7.3, 1.8 Hz, CH_2CHO), 1.70–1.42 (4H, m, 4 x CHH), 1.26 (10H, s, 10 x CHH), 0.86 (9H, s, 3 x CH_3), 0.01 (6H, s, 2 x CH_3).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 203.0, 63.3, 43.9, 32.8, 29.4, 29.3, 29.1, 26.0, 25.7, 24.7, 22.1, 18.4, -5.3.

Γενική πορεία για τη σύνθεση χειρόμορφων ακραίων εποξειδίων

Σε σφαιρική φιάλη που περιέχει τριφθοροξικό άλας της (2*R*,5*S*)-2-(*tert*-βουτυλο)-3,5-διμεθυλιμιδαζολιδιν-4-όνης (57 mg, 0.20 mmol, 20% ως προς την αλδεΐδη) σε THF (0.5 M), προστίθεται 2,3,4,5,6,6-εξαχλωροκυκλοεξα-2,4-διεν-1-όνη (381 mg, 1.10 mmol) και το διάλυμα αναδεύεται για 5 λεπτά πριν προστεθεί η αλδεΐδη (1.00 mmol). Το μείγμα της αντίδρασης αφήνεται υπό ανάδευση για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολουθεί ψύξη του προκύπτοντος μείγματος στους 0 ° C πριν την προσθήκη NaBH_4 (95 mg, 2.50 mmol) και EtOH (1 mL). Μετά από την πάροδο 10 λεπτών, η σφαιρική αφήνεται να έρθει σε θερμοκρασία δωματίου για 5 λεπτά πριν την προσθήκη πρόσφατα παρασκευασμένου διαλύματος υδατικού KOH σε EtOH (1.3 mL EtOH, 1.70 g KOH αραιωμένο σε 2.7 mL απεσταγμένου ύδατος) και το προκύπτον μείγμα αναδεύεται έντονα για 30 λεπτά. Στο στάδιο αυτό, στη σφαιρική προστίθεται απεσταγμένο νερό (20 mL). Η υδατική φάση εκχυλίζεται με Et_2O (3 x 20 mL) και η οργανική φάση ξεπλένεται με κορεσμένο διάλυμα NaCl. Οι οργανικές στοιβάδες συλλέγονται και ξηραίνονται με Na_2SO_4 και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό ελαττωμένη πίεση. Ακολουθεί χρωματογραφία στήλης με σύστημα διαλυτών έκλουσης PE:Et₂O από όπου και προκύπτει το επιθυμητό εποξείδιο.

(*R*)-2-(8-(Βενζυλοξυ)οκτυλο)οξιράνιο (61) ^[81]



Άχρωμο έλαιο, 73% απόδοση, 437 mg, Rf (8)= 0.59.

Σύστημα έκλουσης: PE / Et₂O 8/2.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.47 – 7.28 (5H, m, ArH), 4.50 (2H, s, ArCH₂), 3.46 (2H, t, *J* = 6.6 Hz, OCH₂), 2.98-2.83 (1H, m, OCH), 2.75 (1H, t, *J* = 4.5 Hz, OCH), 2.46 (1H, dd, *J* = 5.0, 2.8 Hz, OCH), 1.64-1.23 (14H, m, 14 x CHH).

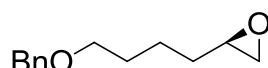
¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 138.6, 128.3, 127.5, 127.4, 72.8, 70.4, 52.4, 47.1, 32.4, 29.7, 29.4, 29.3, 26.1, 25.9.

[α]_D²⁰ = +2.0 (c=1.0, CH₂Cl₂). Για το (S)-εποξειδίο αναφέρεται στη βιβλιογραφία τιμή [α]_D²⁵ = -5.7 (c=1, CHCl₃).^[81]

HRMS [M+H]⁺ 263.2005 (Ακριβής μάζα 263.2006).

HPLC analysis: 94% ee, Daicel Chiralpak OD-H, hexane/i-PrOH (99.5/0.5), 0.7 mL/min, t_R = 28.95 (major), t_R = 33.67 (minor).

(R)-2-(4-(Βενζυλοξυ)βουτυλο)οξιράνιο (103) ^[82]



Άχρωμο έλαιο, 65 % απόδοση (344 mg), Rf (8)= 0.51.

Σύστημα έκλουσης: PE / Et₂O 8/2.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.45 – 7.27 (5H, m, ArH), 4.51 (2H, s, ArCH₂), 3.49 (2H, t, *J* = 6.2 Hz, OCH₂), 2.96-2.85 (1H, m, OCH), 2.74 (1H, t, *J* = 5.2 Hz, OCH), 2.47 (1H, dd, *J* = 4.9, 2.0 Hz, OCH), 1.76-1.05 (6H, m, 6 x CHH).

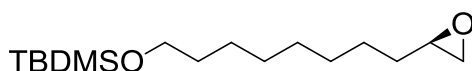
¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 138.4, 128.2, 127.5, 127.4, 72.8, 70.0, 52.2, 47.0, 32.1, 29.4, 22.6.

[α]_D²⁰ = +4.5 (c=1.0, CHCl₃). Για το (S)-εποξειδίο αναφέρεται στη βιβλιογραφία τιμή [α]_D²⁶ = -5.3 (c=1.4, CHCl₃)^[82] και τιμή [α]_D²⁰ = -5.1 (c=2.3, CHCl₃).^[83]

HRMS $[M+Na]^+$ 207.1378 (Ακριβής μάζα 207.1380).

HPLC analysis: 96% ee, Daicel Chiralpak OD-H, hexane/i-PrOH (99.8/0.2), 0.25 mL/min (μετά τα 90 min αλλαγή ροής σε 0.50 mL/min), t_R = 104.84 (major), t_R = 118.91 (minor).

(R)-tert-Bουτυλοδιμεθυλο((8-(οξιραν-2-οϋλ)οκτυλ)οξυ)σιλάνιο (131)



Άχρωμο έλαιο, 67% απόδοση (300 mg), R_f (8)= 0.79.

Σύστημα έκλουσης: PE / Et₂O 8/2 και 7/3.

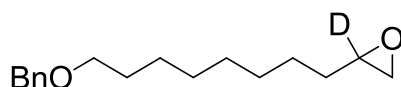
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 3.58 (2H, t, J = 6.5 Hz, CH₂O), 2.93–2.79 (1H, m, OCH), 2.76–2.66 (1H, m, OCH), 2.43 (1H, dd, J = 6.0, 1.8 Hz, OCH), 1.53–1.21 (14H, m, 14 x CHH), 0.88 (9H, s, H_z, 3 x CH₃), 0.03 (6H, s, 2 x CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 63.2, 52.3, 47.1, 32.8, 32.5, 29.5, 29.4, 29.3, 26.0, 25.7, 18.3, -5.3.

$[\alpha_D]^{20}$ = +1.6 ($c=0.5$, CHCl₃).

HRMS $[M+Na]^+$ 309.2228 (Ακριβής μάζα 309.2220).

2-(8-(Βενζυλοξυ)οκτυλ)οξιράνιο-2-d (137)



Σε σφαιρική φιάλη που περιέχεται η αλδεϋδη (520 mg, 1.97 mmol) διαλυμένη σε CH₂Cl₂ (15 mL), προστίθεται L-προλίνη (227 mg, 1.97 mmol) και NCS (1.10 g, 7.90 mmol) και ακολουθεί ανάδευση για 16 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Το πέρας της αντίδρασης παρατηρείται με GC-MS. Ακολουθεί ψύξη του προκύπτοντος μείγματος στους 0 °C και προσθήκη NaBH₄ (300 mg, 7.90 mmol) και EtOH (1.3 mL). Μετά από την πάροδο 10 λεπτών, η σφαιρική αφήνεται να έρθει σε θερμοκρασία δωματίου για 5 λεπτά πριν την προσθήκη πρόσφατα παρασκευασμένου διαλύματος υδατικού KOH σε EtOH (3.3 mL,

4.50 g KOH αραιωμένο σε 6.8 mL απεσταγμένου ύδατος) και το προκύπτον μείγμα αναδεύεται έντονα για 30 λεπτά. Στο στάδιο αυτό, στη σφαιρική προστίθεται απεσταγμένο νερό (20 mL). Η υδατική φάση εκχυλίζεται, στην πορεία με Et₂O (3 x 20 mL) και η οργανική φάση ξεπλένεται με κορεσμένο διάλυμα NaCl. Οι οργανικές στοιβάδες συλλέγονται και ξηραίνονται με Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό ελαττωμένη πίεση. Ακολουθεί χρωματογραφία στήλης με σύστημα διαλυτών έκλουσης PE:Et₂O από όπου και προέκυψε το επιθυμητό εποξειδίο.

Άχρωμο έλαιο, 30% απόδοση (136 mg), R_f (8)= 0.64.

Σύστημα έκλουσης: PE / Et₂O 8/2 και 7/3.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.54-7.02 (5H, m, ArH), 4.50 (2H, s, ArCH₂), 3.46 (2H, t, *J* = 6.6 Hz, OCH₂), 2.73 (1H, d, *J* = 5.0 Hz, OCH), 2.45 (1H, d, *J* = 5.0 Hz, OCH), 1.73-1.06 (14H, m, 14 x CHH).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 138.5, 128.2, 127.5, 127.3, 72.7, 70.3, 51.9 (t, *J* = 26.3 Hz), 46.9, 32.2, 29.6, 29.4, 29.2, 26.0, 25.8.

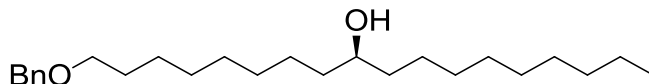
HRMS [M+Na]⁺ 286.1895 (Ακριβής μάζα 286.1888).

Γενική πορεία για τη διάνοιξη εποξειδίου με αντιδραστήρια Grignard

Σε ξηρή φιάλη που περιέχει ιωδιούχο χαλκό (I) (40 mg, 0.20 mmol, 10% ως προς το αντιδραστήριο Grignard) υπό ατμόσφαιρα αργού, προστίθεται το αντιδραστήριο Grignard (διάλυμα 2M σε διαιθυλαιθέρα, 2 mL, 2.00 mmol). Το μείγμα ψύχεται στους -40 °C και αφήνεται για 10 λεπτά υπό ανάδευση πριν προστεθεί στάγδην το εποξειδίο (1.00 mmol) το οποίο είναι διαλυμένο σε άνυδρο THF (10 mL). Μετά την προσθήκη, το μείγμα αναδεύεται στους -40 °C για 1 ώρα και κατόπιν να φτάσει σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια προστίθεται κορεσμένο υδατικό διάλυμα NH₄Cl (10 mL) και ακολουθούν εκχυλίσεις με Et₂O (3 x 20 mL), ενώ, τέλος, πραγματοποιείται έκπλυση της οργανικής φάσης με κορεσμένο υδατικό διάλυμα NaCl (1 x 50 mL). Οι οργανικές στοιβάδες συλλέγονται και ξηραίνονται με Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό ελαττωμένη πίεση. Ακολουθεί χρωματογραφία στήλης με

σύστημα διαλυτών έκλουσης PE:Et₂O από όπου και προέκυψε η δευτεροταγής αλκοόλη.

(S)-1-(Βενζυλοξυ)δεκαοκταν-9-όλη (62)



Λευκό στερεό, σημείο τήξης = 45-49 °C, 71% απόδοση (160 mg), R_f (7)= 0.4.

Σύστημα έκλουσης: PE / Et₂O 8/2 και 7/3.

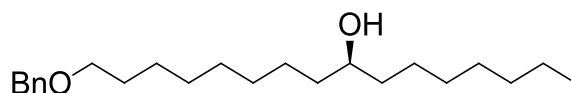
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.39-7.25 (5H, m, ArH), 4.50 (2H, s, ArCH₂), 3.65-3.53 (1H, m, CHOH), 3.46 (2H, t, J = 6.6 Hz, OCH₂), 1.70-1.53 (3H, m, 2 x CHH, OH), 1.48–1.14 (28H, m, 28 x CHH), 0.88 (3H, t, J = 6.3 Hz, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 138.6, 128.3, 127.6, 127.4, 72.8, 71.9, 70.4, 37.4, 31.9, 29.7, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 26.1, 25.6, 22.7, 14.1.

[α]_D²⁰ = +1.1 (c=1.0, CH₂Cl₂).

HRMS [M+Na]⁺ 399.3233 (Ακριβής μάζα 399.3234).

(S)-16-(Βενζυλοξυ)δεκαεξαν-8-όλη (96)



Λευκό στερεό, σημείο τήξης = 39-41 °C, 76% απόδοση (102 mg), R_f (8)= 0.46.

Σύστημα έκλουσης: PE / Et₂O 8/2.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.45-7.18 (5H, m, ArH), 4.50 (2H, s, ArCH₂), 3.67-3.53 (1H, m, CHOH), 3.46 (2H, t, J = 6.6 Hz, OCH₂), 1.68-1.50 (3H, m, 2 x CHH, OH), 1.49–1.16 (24H, m, 24 x CHH), 0.88 (3H, t, J = 6.3 Hz, CH₃).

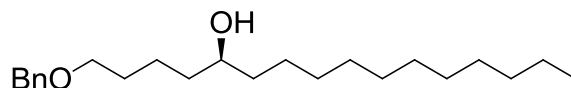
¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 138.6, 128.3, 127.6, 127.4, 72.8, 71.9, 70.4, 37.5, 37.4, 31.8, 29.7, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 26.1, 25.7, 25.6, 22.6, 14.1.

$[\alpha]_D^{20} = -1.1$ ($c=1.0$, CH_2Cl_2).

HRMS $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 371.2957 (Ακριβής μάζα 371.2921).

HRMS $[\text{M}+\text{H}]^+$ 349.3100 (Ακριβής μάζα 349.3101).

(S)-1-(Βενζυλοξυ)δεκαεξαν-5-όλη (104)



Λευκό στερεό, σημείο τήξης = 44-49 °C, 70 % απόδοση (308 mg), R_f (8)= 0.42.

Σύστημα έκλουσης: PE / Et_2O 8/2.

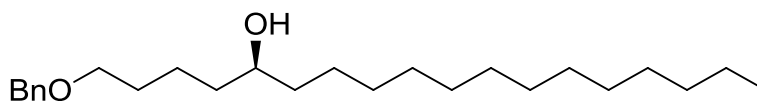
^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.41-7.11 (5H, m, ArH), 4.50 (2H, s, ArCH_2), 3.67-3.53 (1H, m, CHOH), 3.48 (2H, t, $J = 6.3$ Hz, OCH_2), 1.68-1.50 (3H, m, 2 x CHH , OH), 1.50-1.06 (24H, m, 24 x CHH), 0.89 (3H, t, $J = 5.9$ Hz, CH_3).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 173.1, 138.4, 128.3, 127.6, 127.4, 72.8, 71.7, 70.2, 37.4, 37.1, 31.9, 29.6, 29.3, 25.6, 22.6, 22.3, 14.1.

$[\alpha]_D^{20} = +1.5$ ($c=1.0$, CHCl_3).

HRMS $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 371.2916 (Ακριβής μάζα 371.2921).

(S)-1-(Βενζυλοξυ)δεκαοκταν-5-όλη (108)



Λευκό στερεό, σημείο τήξης= 53-55 °C, 76% απόδοση (717 mg), R_f (8)= 0.42.

Σύστημα έκλουσης: PE / Et_2O 8/2.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.42-7.14 (5H, m, ArH), 4.50 (2H, s, ArCH_2), 3.65-3.51 (1H, m, CHOH), 3.48 (2H, t, $J = 6.3$ Hz, OCH_2), 1.78 (1H, s, OH), 1.70-1.49 (4H, m, 4 x CHH), 1.48-1.07 (26H, m, 26 x CHH), 0.89 (3H, t, $J = 6.4$ Hz, CH_3).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 138.6, 128.3, 127.6, 127.4, 72.8, 71.4 (t, *J* = 21.4 Hz), 70.4, 37.3, 37.2, 31.8, 29.7, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 26.1, 25.7, 25.6, 22.6, 14.1.

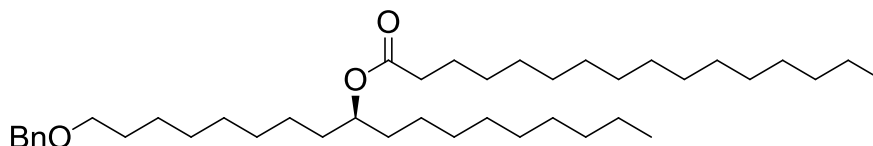
HRMS [M+H]⁺ 350.3171 (Ακριβής μάζα 350.3164).

Γενική μέθοδος εστεροποίησης δευτεροταγών αλκοολών μέσω άκυλο χλωριδίων

Σε διάλυμα της αλκοόλης (1.00 mmol) σε άνυδρο CH₂Cl₂ (10 mL) προστίθεται παλμιτόυλο χλωρίδιο (412 mg, 1.50 mmol) ή στεαρόυλο χλωρίδιο (454 mg, 1.50 mmol) και το μείγμα αφήνεται υπό ανάδευση επί 16 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια, ο διαλύτης απομακρύνεται υπό ελαττωμένη πίεση και το ακατέργαστο μείγμα καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης με σύστημα διαλυτών έκλουσης PE:Et₂O.

Το παλμιτόυλο χλωρίδιο και το στεαρόυλο χλωρίδιο παρασκευάζονται ύστερα από αντίδραση του παλμιτικού οξέος και του στεατικού οξέος (2.00 mmol), αντίστοιχα, με θειονυλοχλωρίδιο (80.00 mmol) σε σφαιρική υπό αναρροή και ανάδευση για 4 ώρες. Το θειονυλοχλωρίδιο απομακρύνεται υπό ελαττωμένη πίεση και το χλωρίδιο που παρασκευάζεται, προστίθεται απευθείας στην σφαιρική φιάλη στην οποία βρίσκεται η διαλυμένη αλκοόλη.

(S)-Δεκαεξανοϊκός 1-(βενζυλοξυ)δεκαοκταν-9-οϋλεστέρας (63)



Άχρωμο έλαιο, 87% απόδοση (225 mg), R_f (5)= 0.81.

Σύστημα έκλουσης: PE / Et₂O 95/5.

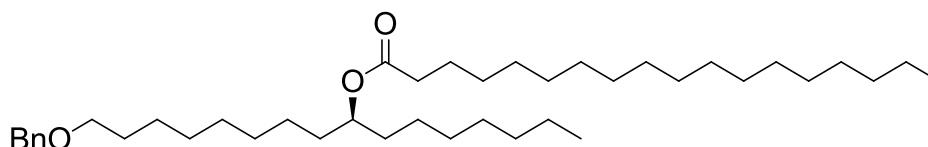
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.39-7.26 (5H, m, ArH), 4.89-4.81 (1H, m, CHOC=O), 4.50 (2H, s, ArCH₂), 3.46 (2H, t, *J* = 6.6 Hz, OCH₂), 2.28 (2H, t, *J* = 7.4 Hz, CH₂C=O), 1.81-1.43 (10H, m, 10 x CHH), 1.42-1.07 (46H, m, 46 x CHH), 0.88 (6H, t, *J* = 6.4 Hz, 2 x CH₃).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 173.7, 138.6, 128.3, 127.6, 127.4, 74.0, 72.8, 70.5, 34.7, 34.1, 31.9, 29.7, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 26.1, 25.3, 25.2, 22.7, 14.1.

$[\alpha]_D^{20} = +0.8$ ($c=0.5$, CHCl_3).

HRMS $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 637.5534 (Ακριβής μάζα 637.5530).

(S)-Δεκαοκτανοϊκός 16-(βενζυλοξυ)δεκαεξαν-8-οϋλεστέρας (97)



Άχρωμο έλαιο, 89% απόδοση (252 mg), R_f (5)= 0.41.

Σύστημα έκλουσης: PE / Et_2O 95/5.

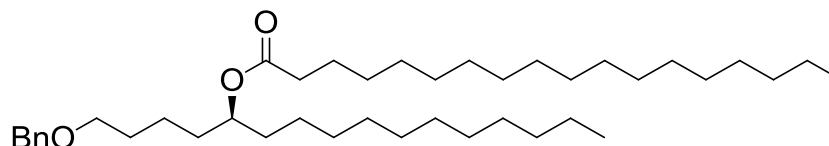
^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 7.49-7.15 (5H, m, ArH), 4.97-4.76 (1H, m, $\text{CHOC}=\text{O}$), 4.50 (2H, s, ArCH_2), 3.46 (2H, t, $J = 6.6$ Hz, OCH_2), 2.28 (2H, t, $J = 7.4$ Hz, $\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$), 1.71-1.41 (8H, m, 8 x CHH), 1.40-1.10 (48H, m, 48 x CHH), 0.89 (6H, t, $J = 10.7$ Hz, 2 x CH_3).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 173.7, 138.6, 128.3, 127.6, 127.4, 74.0, 72.8, 70.4, 34.7, 34.1, 31.9, 31.8, 29.7, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 26.1, 25.3, 25.2, 22.6, 14.1.

$[\alpha]_D^{20} = -2.8$ ($c=0.5$, CHCl_3).

HRMS $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 637.5525 (Ακριβής μάζα 637.5530).

(S)-Δεκαοκτανοϊκός 1-(βενζυλοξυ)δεκαεξαν-5-οϋλεστέρας (105)



Υποκίτρινο έλαιο, 76% απόδοση (170 mg), R_f (6)= 0.82.

Σύστημα έκλουσης: PE / Et_2O 95/5.

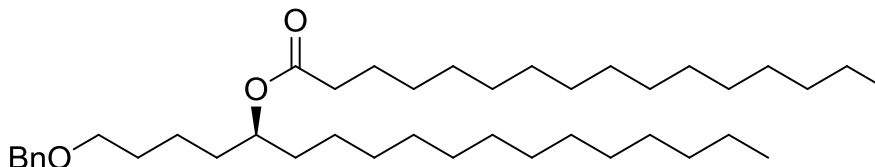
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.44-7.11 (5H, m, ArH), 4.94-4.80 (1H, m, CHOC=O), 4.49 (2H, s, ArCH₂), 3.46 (2H, t, *J* = 6.3 Hz, OCH₂), 2.28 (2H, t, *J* = 7.4 Hz, CH₂C=O), 1.69-1.40 (8H, m, 8 x CHH), 1.40-1.10 (48H, m, 48 x CHH), 0.89 (6H, t, *J* = 6.3 Hz, 2 x CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 173.7, 138.5, 128.3, 127.6, 127.4, 73.9, 72.83, 70.1, 34.7, 34.1, 33.9, 31.9, 29.7, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 25.3, 25.1, 22.7, 22.0, 14.1.

[α]_D²⁰ = +3.6 (c=1.0, CHCl₃).

HRMS [M+Na]⁺ 637.5542 (Ακριβής μάζα 637.5530).

(S)-Δεκαεξανοϊκός 1-(βενζυλοξυ)δεκαοκταν-5-οϋλεστέρας (109)



Άχρωμο έλαιο, 70% απόδοση (344 mg), R_f (5)= 0.23.

Σύστημα έκλουσης: PE / Et₂O 95/5.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.39-7.25 (5H, m, ArH), 4.92-4.81 (1H, m, CHOC=O), 4.49 (2H, s, ArCH₂), 3.46 (2H, t, *J* = 6.4 Hz, OCH₂), 2.28 (2H, t, *J* = 7.4 Hz, CH₂C=O), 1.69-1.48 (8H, m, 8 x CHH), 1.48-1.15 (48H, m, 48 x CHH), 0.88 (6H, t, *J* = 6.4 Hz, 2 x CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 173.7, 138.5, 128.3, 127.6, 127.5, 73.9, 72.8, 70.1, 34.7, 34.1, 33.9, 31.9, 29.7, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 25.3, 25.2, 22.7, 22.0, 14.1.

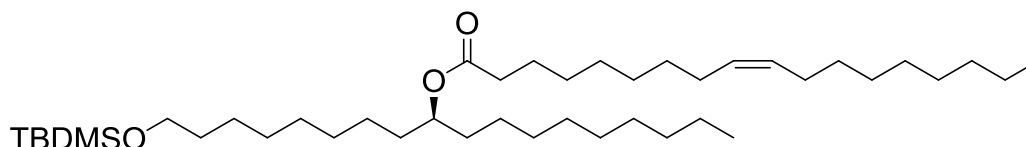
[α]_D²⁰ = +1.9 (c=1.0, CHCl₃).

HRMS [M+Na]⁺ 637.5525 (Ακριβής μάζα 637.5530).

Γενική μέθοδος εστεροποίησης δευτεροταγών αλκοολών με τη χρήση καρβοδιιμιδίου

Διάλυμα ελαϊκού οξέος (1.10 g, 4.00 mmol), σε άνυδρο CH₂Cl₂ (10 mL) αφήνεται υπό ανάδευση στους 0 °C για 5 λεπτά. Κατόπιν, υδροχλωρικό άλας *N*-(3-διμεθυλαμινοπροπυλο)-*N'*-αιθυλοκαρδοδιιμίδιου (767 mg, 4.00 mmol), τριαιθυλαμίνη (0.55 mL, 4.00 mmol) και 4-διμεθυλαμινοπυριδίνη (25 mg, 0.20 mmol) προστίθενται με τη συγκεκριμένη σειρά. Το μείγμα αφήνεται υπό ανάδευση στους 0 °C για 10 λεπτά και στη συνέχεια προστίθεται η δευτεροταγής αλκοόλη (1.00 mmol) σε άνυδρο CH₂Cl₂ (10 mL). Ακολουθεί ανάδευση για 16 ώρες. Στη συνέχεια, πραγματοποιείται έκπλυση με κεκορεσμένο NH₄Cl (20 mL), ακολουθούμενη από υδατικό διάλυμα NaHCO₃ 5% (20 mL), υδατικό διάλυμα κιτρικού οξέος 5% (20 mL) και κορεσμένο διάλυμα NaCl (20 mL). Οι οργανικές στοιβάδες συλλέγονται και ξηραίνονται με Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό ελαττωμένη πίεση. Ακολουθεί χρωματογραφία στήλης με σύστημα διαλυτών έκλουσης PE:Et₂O.

(S)-Δεκαοκτ-9-ενοϊκός 1-((*tert*-βουτυλοδιμεθυλοσιλυλο)οξυ)δεκαοκταν-9-οϋλεστέρας (133)



Άχρωμο έλαιο, 80% απόδοση (213 mg), R_f (1)= 0.6.

Σύστημα έκλουσης: PE / AcOEt 95/5.

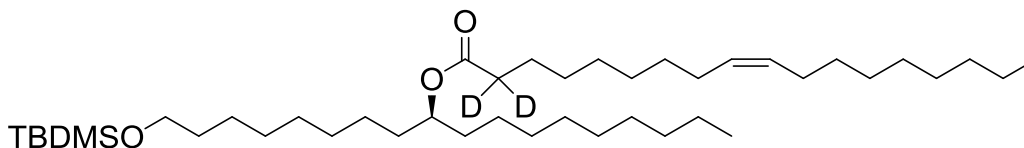
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 5.40-5.27 (2H, m, CH=CH), 4.92-4.79 (1H, m, CHOC=O), 3.58 (2H, m, CH₂O), 2.27 (2H, t, *J* = 7.3 Hz, CH₂C=O), 2.09-1.90 (4H, m, CHHCH=CH), 1.74-1.43 (10H, m, 10 x CHH), 1.42-1.07 (42H, m, 42 x CHH), 0.89 (9H, s, 3 x CH₃), 0.84 (6H, s, 2 x CH₃), 0.03 (6H, s, 2 x CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 173.6, 129.9, 129.7, 74.0, 63.3, 34.7, 34.2, 32.9, 31.9, 29.8, 29.7, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 27.2, 26.0, 25.8, 25.3, 25.2, 22.7, 18.4, 14.1, -5.3.

[α]_D²⁰ = -0.4 (c=1.0, CHCl₃).

HRMS [M+Na]⁺ 687.6100 (Ακριβής μάζα 687.6082).

**(S,Z)-2,2-*d*₂-Δεκαοκτ-9-ενοϊκός 1-((*tert*-βουτυλοδιμεθυλοσιλυλο)οξυ)
δεκαοκτανοΐλεστέρας (143)**



Υποκίτρινο έλαιο, 72% απόδοση (173 mg), R_f (1)= 0.52.

Σύστημα έκλουσης: PE / AcOEt 95/5.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 5.38-5.28 (2H, m, CH=CH), 4.91-4.78 (1H, m, CHOC=O), 3.59 (2H, t, *J* = 6.5 Hz, CH₂O), 2.06-1.88 (4H, m, CHHCH=CH), 1.70-1.12 (52H, m, 52 x CHH), 1.00-0.78 (15H, m, 3 x CH₃, 2 x CH₃), 0.04 (6H, s, 2 x CH₃).

¹³C NMR (50 Hz, CDCl₃) δ 173.7, 130.0, 129.7, 74.0, 63.3, 34.1, 32.9, 31.9, 29.9, 29.8, 29.7, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 29.1, 27.2, 26.0, 25.8, 25.3, 25.0, 22.7, 18.4, 14.1, -5.3.

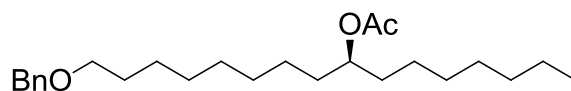
[α]_D²⁰ = -0.9 (c=1.0, CHCl₃).

HRMS [M+Na]⁺ 689.6214 (Ακριβής μάζα 689.6207).

Γενική μέθοδος για την ακετυλίωση δευτεροταγών αλκοολών

Σε διάλυμα της αλκοόλης (1.00 mmol), σε άνυδρο CH₂Cl₂ (10 mL), στους 0 °C υπό ατμόσφαιρα αργού, προστίθεται άνυδρη πυριδίνη (0,12 mL, 1.50 mmol) ακολουθούμενη από ακέτυλο χλωρίδιο (0.14 mL, 2.00 mmol). Το προκύπτον μείγμα αφήνεται να φτάσει σε θερμοκρασία δωματίου και ακολουθεί ανάδευση για 16 ώρες. Στη συνέχεια, προστίθεται κορεσμένο υδατικό διάλυμα NH₄Cl (10 mL) και η υδατική στιβάδα εκχυλίζεται με Et₂O (3 x 20 mL). Οι οργανικές στοιβάδες συλλέγονται και ξηραίνονται με Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό ελαττωμένη πίεση. Ακολουθεί χρωματογραφία στήλης με σύστημα διαλυτών έκλουσης PE:Et₂O.

(S)-Αιθανικός 16-(βενζυλοξυ)δεκαεξαν-8-οΐλεστέρας (121)



Υποκίτρινο έλαιο, 90% απόδοση (102 mg), R_f (6)= 0.33.

Σύστημα έκλουσης: PE / Et₂O 9/1

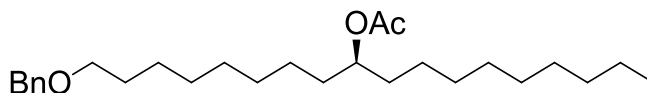
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.52-7.10 (5H, m, ArH), 4.95-4.75 (1H, m, CHOC=O), 4.49 (2H, s, ArCH₂), 3.45 (2H, t, J = 6.1 Hz, OCH₂), 2.03 (3H, s, CH₃C=O), 1.70-1.42 (6H, m, 6 x CHH), 1.40-1.18 (20H, m, 20 x CHH), 0.89 (3H, t, J = 10.1 Hz, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 170.9, 138.6, 128.3, 127.6, 127.4, 74.4, 72.8, 70.4, 34.1, 31.8, 29.7, 29.4, 29.2, 26.1, 25.3, 22.6, 21.3, 14.1.

$[\alpha]_D^{20}$ = +1.6 (c=0.5, CHCl₃).

HRMS [M+Na]⁺ 413.3039 (Ακριβής μάζα 413.3026).

(S)-Αιθανικός 1-(βενζυλοξυ)δεκαοκταν-9-οϋλεστέρας (125)



Αχρωμο έλαιο, 90% απόδοση (330 mg), R_f (6)= 0.32.

Σύστημα έκλουσης: PE / Et₂O 9/1.

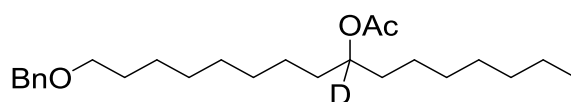
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.35-7.16 (5H, m, ArH), 4.91-4.76 (1H, m, CHOC=O), 4.50 (2H, s, ArCH₂), 3.46 (2H, t, J = 6.1 Hz, OCH₂), 2.03 (3H, s, CH₃C=O), 1.70-1.41 (6H, m, 6 x CHH), 1.41-1.00 (26H, m, 26 x CHH), 0.89 (3H, t, J = 10.1 Hz, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 170.9, 138.6, 128.3, 127.5, 127.4, 74.4, 72.8, 70.4, 34.1, 31.8, 29.7, 29.5, 29.4, 29.3, 26.1, 25.3, 22.6, 21.2, 14.1.

$[\alpha]_D^{20}$ = +1.6 (c=0.5, CHCl₃).

HRMS [M+Na]⁺ 441.3349 (Ακριβής μάζα 441.3339).

Αιθανικός 16-(βενζυλοξυ)δεκαεξαν-8-*d*-οϋλεστέρας (139)



Άχρωμο έλαιο, 86% απόδοση (114 mg), R_f (5)= 0.77.

Σύστημα έκλουσης: PE / Et₂O 9/1.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.41-7.18 (5H, m, ArH), 4.50 (2H, s, ArCH₂), 3.46 (2H, t, J = 6.5 Hz, OCH₂), 2.03 (3H, s, CH₃C=O), 1.79-1.12 (26H, m, 26 x CHH), 0.88 (3H, t, J = 6.3 Hz, CH₃).

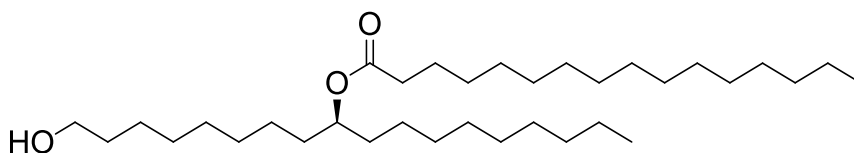
¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 170.9, 138.6, 128.2, 127.5, 127.3, 73.9 (t, J = 21 Hz), 72.7, 70.4, 33.9, 31.7, 29.7, 29.4, 29.3, 29.1, 26.1, 25.2, 22.6, 21.2, 14.0.

HRMS [M+Na]⁺ 414.3090 (Ακριβής μάζα 414.3089).

Γενική μέθοδος απομάκρυνσης της βένζυλο ομάδας

Σε διάλυμα του βένζυλο προστατευμένου εστέρα (1.00 mmol) σε MeOH (10 mL), προστίθεται Pd/C (10 %) και το μείγμα της αντίδρασης αφήνεται υπό ανάδευση και υπό ατμόσφαιρα υδρογόνου για 16 ώρες. Το διάλυμα διηθείται με celite και συμπυκνώνεται υπό ελαττωμένη πίεση από όπου παραλαμβάνεται η αποπροστατευμένη αλκοόλη χωρίς περαιτέρω καθαρισμό.

(S)-Δεκαεξανοϊκός 1-υδροξυδεκαοκταν-9-οϋλεστέρας (64)



Άχρωμο έλαιο, 89% απόδοση (167 mg), R_f (6)= 0.26.

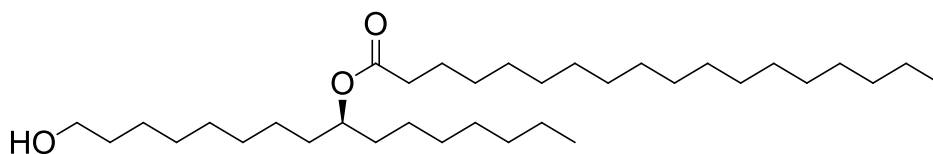
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 4.91-4.78 (1H, m, CHOC=O), 3.62 (2H, t, J = 6.1 Hz, CH₂OH), 3.48 (1H, s, OH), 2.27 (2H, t, J = 7.4 Hz, CH₂C=O), 1.70-1.42 (10H, m, 10 x CHH), 1.40-1.00 (46H, m, 46 x CHH), 0.87 (6H, t, J = 5.5 Hz, 2 x CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 173.7, 74.0, 63.0, 34.7, 34.1, 32.8, 31.9, 29.7, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 25.7, 25.3, 25.2, 22.7, 14.1.

$[\alpha]_D^{20} = -2.2$ ($c=0.5$, CHCl_3).

HRMS $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 547.5064 (Ακριβής μάζα 547.5061).

(S)-Δεκαοκτανοϊκός 16-υδροξυδεκαεξαν-8-οϋλεστέρας (98)



Υποκίτρινο έλαιο, 88% απόδοση (191 mg), R_f (6)= 0.25.

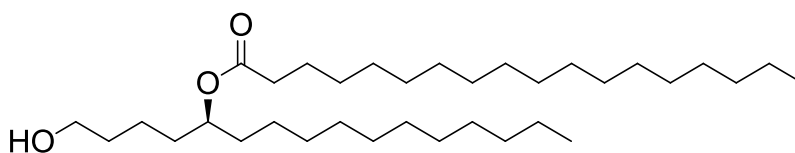
^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 4.93-4.78 (1H, m, $\text{CHOC}=\text{O}$), 3.60 (2H, t, $J = 6.8$ Hz, CH_2OH), 2.27 (2H, t, $J = 7.3$ Hz, $\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$), 1.80-1.32 (11H, m, 10 x CHH , OH), 1.32-1.05 (46H, m, 46 x CHH), 0.86 (6H, t, $J = 5.9$ Hz, 2 x CH_3).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 173.7, 74.0, 63.0, 34.7, 34.1, 32.7, 31.9, 31.8, 29.7, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 25.7, 25.3, 25.2, 22.7, 22.6, 14.1.

$[\alpha]_D^{20} = +3.6$ ($c=0.5$, CHCl_3).

HRMS $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 547.5058 (Ακριβής μάζα 547,5061).

(S)-Δεκαοκτανοϊκός 1-υδροξυδεκαεξαν-5-οϋλεστέρας (106)



Υποκίτρινο έλαιο, 92% απόδοση (120 mg), R_f (6)= 0.24.

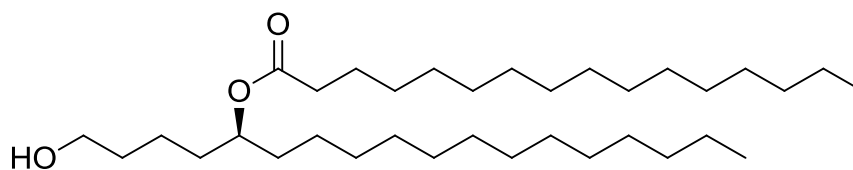
^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 4.94-4.81 (1H, m, $\text{CHOC}=\text{O}$), 3.61 (2H, t, $J = 6.3$ Hz, CH_2OH), 2.27 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, $\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$), 1.65-1.41 (9H, m, 8 x CHH , OH), 1.40-1.13 (48H, m, 48 x CHH), 0.86 (6H, t, $J = 5.9$ Hz, 2 x CH_3).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 173.8, 73.8, 62.7, 34.7, 34.1, 33.9, 32.5, 31.9, 29.7, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 25.3, 25.1, 22.7, 21.5, 14.1.

$[\alpha]_D^{20} = -2.0$ ($c=0.5$, MeOH).

HRMS $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 547.5075 (Ακριβής μάζα 547.5061).

(S)-Δεκαεξανοϊκός 1-υδροξυδεκαοκταν-5-οϋλεστέρας (110)



Υποκίτρινο στερεό χαμηλού σημείου τήξης, 89% απόδοση (173 mg), R_f (5)= 0.10.

$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 4.92-4.83 (1H, m, CHOC=O), 3.63 (2H, t, $J = 6.4$ Hz, CH_2OH), 3.46 (1H, s, OH), 2.28 (2H, t, $J = 7.4$ Hz, $\text{CH}_2\text{C=O}$), 1.68-1.47 (8H, m, 8 x CHH), 1.44-1.02 (48H, m, 48 x CHH), 0.87 (6H, t, $J = 6.4$ Hz, 2 x CH_3).

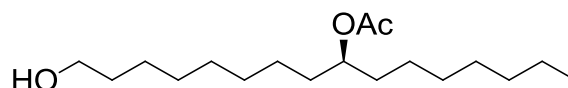
$^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ 173.8, 73.8, 62.8, 34.7, 34.1, 33.9, 32.5, 31.9, 29.7, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 25.3, 25.2, 22.7, 21.5, 14.1.

$[\alpha]_D^{20} = +1.3$ ($c=1.0$, CHCl_3)

HRMS $[\text{M}+\text{H}]^+$ 525.5254 (Ακριβής μάζα 525.5241).

HRMS $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 547.5066 (Ακριβής μάζα 547.5061).

(S)-Αιθανικός 16-υδροξυδεκαεξαν-8-οϋλεστέρας (122)



Λευκό στερεό χαμηλού σημείου τήξης, 91% απόδοση (67 mg), R_f (8)= 0.19.

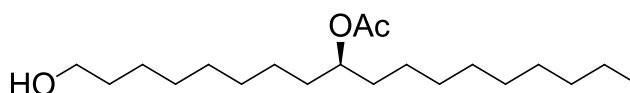
$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 4.94-4.77 (1H, m, CHOC=O), 3.61 (2H, t, $J = 6.0$ Hz, CH_2OH), 2.02 (3H, s, $\text{CH}_3\text{C=O}$), 1.61-1.38 (7H, m, 6 x CHH , OH), 1.43-1.10 (20H, m, 20 x CHH), 0.86 (3H, t, $J = 6.3$ Hz, CH_3).

$^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ 171.0, 74.4, 63.0, 34.1, 32.7, 31.7, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 25.6, 25.3, 25.2, 22.6, 21.3, 14.0.

$[\alpha]_D^{20} = +4.0$ ($c=1.0$, CHCl_3).

HRMS $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 323.2564 (Ακριβής μάζα 323.2557).

(S)-Αιθανικός 1-υδροξυδεκαοκταν-9-οΰλεστέρας (126)



Λευκό στερεό χαμηλού σημείου τήξης, 95% απόδοση (325 mg), R_f (6)= 0.1.

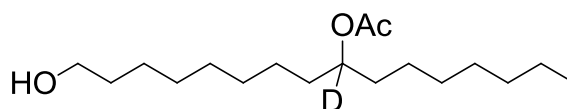
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 4.91-4.75 (1H, m, CHOC=O), 3.59 (2H, t, *J* = 6.3 Hz, CH₂OH), 2.01 (3H, s, CH₃C=O), 1.81 (1H, s, OH), 1.63-1.33 (8H, m, 8 x CHH), 1.33-1.17 (22H, m, 22 x CHH), 0.85 (3H, t, *J* = 5.6 Hz, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 171.0, 74.4, 62.8, 37.4, 34.0, 32.7, 31.9, 29.7, 29.5, 29.4, 29.2, 25.6, 25.2, 22.6, 21.2, 14.1.

[α]_D²⁰ = -1.4 (c=0.5, CHCl₃)

HRMS [M+Na]⁺ 351.288 (Ακριβής μάζα 351.2870).

Αιθανικός 16-υδροξυδεκαεξαν-8-*d*-οΰλεστέρας (140)



Υποκίτρινο στερεό χαμηλού σημείου τήξης, 89% απόδοση (80 mg), R_f (6)= 0.1.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 3.73-3.55 (2H, m, CH₂OH), 2.04 (3H, s, CH₃C=O), 1.70 (1H, s, OH), 1.62-1.07 (26H, m, 26 x CHH), 0.94-0.82 (3H, m, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 171.0, 74.0 (t, *J* = 22 Hz), 62.8, 33.9, 32.6, 31.7, 29.7, 29.6, 29.4, 29.3, 29.2, 29.1, 25.6, 25.2, 22.6, 21.2, 14.0.

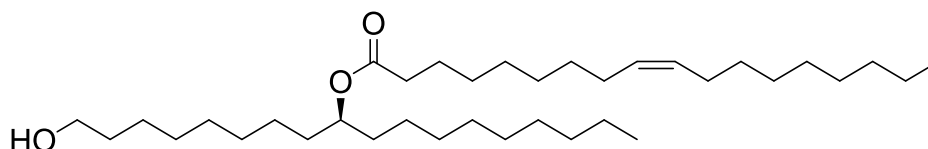
HRMS [M+Na]⁺ 324.2619 (Ακριβής μάζα 324.2619).

Γενική μέθοδος αποπροστασίας TBDMS- ομάδας

Σε διάλυμα της TBDMS-προστατευμένης ένωσης (1.00 mmol) σε άνυδρο THF (5 mL), προστέθηκε σταγόην φθοριούχο τετρα-*N*-βουτυλαμμώνιο (διάλυμα 1M

σε THF, 1 mL, 1.00 mmol) υπό ατμόσφαιρα αργού. Ακολουθεί ανάδευση για 1 ώρα και κατόπιν ο διαλύτης απομακρύνθηκε υπό ελαττωμένη πίεση και το ακατέργαστο μείγμα καθαρίστηκε με χρωματογραφία στήλης με σύστημα διαλυτών έκλουσης PE:AcOEt.

(S)-Δεκαοκτ-9-ενοϊκός 1-υδροξυδεκαοκταν-9-οϋλεστέρας (134)



Άχρωμο έλαιο, 80% απόδοση (152 mg), R_f (1)= 0.39.

Σύστημα έκλουσης: PE / AcOEt 95/5.

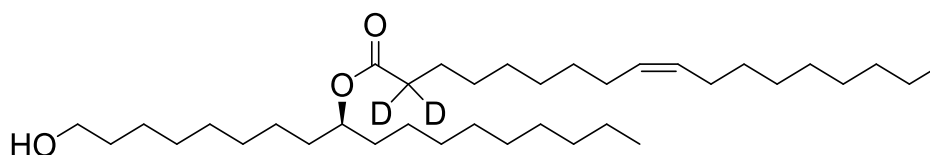
$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 5.42-5.22 (2H, m, $\text{CH}=\text{CH}$), 4.93-4.73 (2H, m, $\text{CHOC}=\text{O}$, OH), 3.70-3.54 (2H, m, CH_2OH), 2.27 (2H, t, $J = 7.4$ Hz, $\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$), 2.10-1.85 (4H, m, $\text{CHHCH}=\text{CH}$), 1.74-1.43 (10H, m, 10 x CHH), 1.42-1.00 (42H, m, 42 x CHH), 0.87 (6H, t, $J=5.8$ Hz, 2 x CH_3).

$^{13}\text{C NMR}$ (50 Hz, CDCl_3) δ $^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) 173.7, 130.0, 129.7, 74.0, 63.0, 34.7, 34.1, 32.7, 31.9, 29.8, 29.7, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 29.1, 27.2, 25.7, 25.3, 25.2, 22.7, 14.1.

$[\alpha]_D^{20} = -0.5$ ($c=1.0$, CHCl_3).

HRMS $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 573.5213 (Ακριβής μάζα 573.5217).

(S,Z)-2,2- d_2 -Δεκαοκτ- 9-ενοϊκός 1-υδροξυδεκαοκτανοϋλεστέρας (144)



Υποκίτρινο στερεό χαμηλού σημείου τήξης, 76% απόδοση (72 mg), R_f (4)= 0.79.

Σύστημα έκλουσης: PE / AcOEt 95/5.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 5.41-5.09 (2H, m, CH=CH), 4.90-4.77 (1H, m, CHOC=O), 3.62 (2H, t, *J* = 6.5 Hz, CH₂OH), 2.26 (1H, s, OH), 2.07-1.86 (4H, m, CHHCH=CH), 1.72-1.40 (10H, m, 10 x CHH), 1.42-1.02 (42H, m, 42 x CHH), 0.86 (6H, t, *J*=5.7 Hz, 2 x CH₃).

¹³C NMR (50 Hz, CDCl₃) δ 173.7, 129.9, 129.7, 74.0, 63.0, 34.1, 32.7, 31.9, 29.7, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 29.1, 27.2, 27.1, 25.7, 25.3, 25.0, 22.7, 14.1.

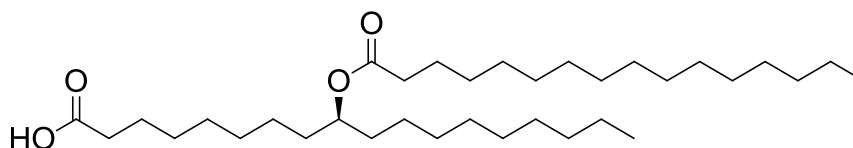
[α]_D²⁰ = -0.5 (c=1.0, CHCl₃).

HRMS [M+Na]⁺ 575.5326 (Ακριβής μάζα 575.5343).

Γενική μέθοδος οξείδωσης αλκοολών σε οξέα με αντιδραστήριο Jones

Σε μια σφαιρική φιάλη που περιέχει την αλκοόλη (1.00 mmol) προστίθεται ακετόνη (10 mL) και το μείγμα αφήνεται υπό ανάδευση στους 0 °C μέχρι την ολοκλήρωση πλήρους διάλυσης. Στη συνέχεια, προστίθεται αντιδραστήριο Jones (2M, 1.5 mL, 3.00 mmol) στους 0 °C και το μείγμα της αντίδρασης αφήνεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 1 ώρα. Προστίθεται κορεσμένο διάλυμα NaHSO₃ (5 mL) και η υδατική στιβάδα εκχυλίζεται με Et₂O (3 x 20 mL). Ακολουθεί έκπλυση της οργανικής φάσης με κορεσμένο διάλυμα NaCl (1 x 50 mL). Οι οργανικές στιβάδες συλλέγονται και ξηραίνονται με Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό ελαττωμένη πίεση. Ακολουθεί χρωματογραφία στήλης με σύστημα διαλυτών έκλουσης PE:Et₂O.

(S)-9-(Δεκαεξανουόλοξυ)δεκαοκτανοϊκό οξύ (65) ^[19]



Υποκίτρινο έλαιο, 87% απόδοση (120 mg), R_f (8)= 0.62.

Σύστημα έκλουσης: PE / Et₂O 7/3.

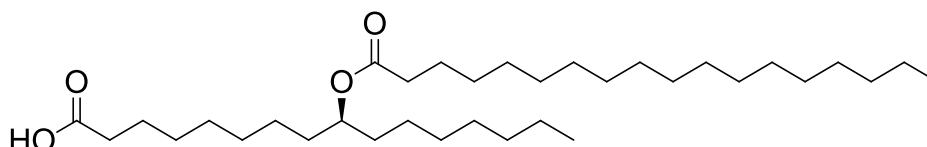
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 4.90-4.82 (1H, m, CHOC=O), 2.39-2.23 (4H, m, 2 x CH₂CO), 1.64-1.43 (8H, m, 8 x CHH), 1.38-1.01 (46H, m, 46 x CHH), 0.87 (6H, t, *J* = 5.9 Hz, 2 x CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 179.8, 173.8, 74.0, 34.7, 34.1, 34.0, 31.9, 29.7, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 29.1, 29.0, 25.3, 25.2, 24.6, 22.7, 14.1.

[α]_D²⁰ = +1.6 (c=0.5, CHCl₃). Η βιβλιογραφία αναφέρει τιμή **[α]_D²³** = 0.1 (c=1.0, CHCl₃)(από -0.1160 έως 0.3040).^[19]

HRMS [M-H]⁻ 537.4879 (Ακριβής μάζα 537,4888).

(S)-9-(Δεκαοκτανουόλοξυ)δεκαεξανοϊκό οξύ (99)



Υποκίτρινο έλαιο, 88% απόδοση (80 mg), R_f (7)= 0.41.

Σύστημα έκλουσης: PE / Et₂O 8/2.

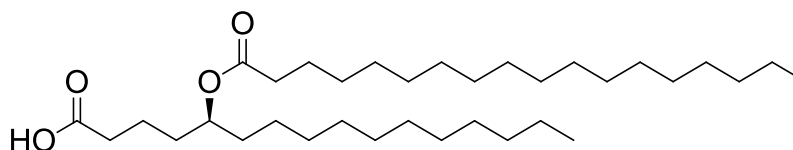
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 4.94-4.80 (1H, m, CHOC=O), 2.45-2.19 (4H, m, 2 x CH₂CO), 1.73-1.35 (8H, m, 8 x CHH), 1.35-1.05 (46H, m, 46 x CHH), 0.88 (6H, t, J = 6.4 Hz, 2 x CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 180.0, 173.8, 74.0, 34.7, 34.1, 34.0, 31.9, 31.8, 29.7, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 29.1, 29.0, 25.3, 25.2, 24.6, 22.7, 22.6, 14.1.

[α]_D²⁰ = -0.7 (c=1.0, CHCl₃).

HRMS [M+Na]⁺ 561.4846 (Ακριβής μάζα 561,4853).

(S)-5-(Δεκαοκτανουόλοξυ)δεκαεξανοϊκό οξύ (107)



Υποκίτρινο έλαιο, 88% απόδοση (109 mg), R_f (9)= 0.39

Σύστημα έκλουσης: PE / Et₂O 7/3 και 6/4.

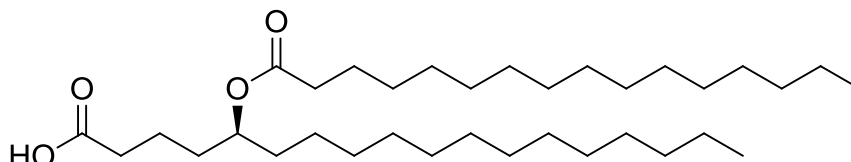
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 4.95-4.81 (1H, m, CHOC=O), 2.48-2.12 (4H, m, 2 x CH₂CO), 1.79-1.44 (8H, m, 8 x CHH), 1.43-0.99 (46H, m, 46 x CHH), 0.87 (6H, t, J = 6.1 Hz, 2 x CH₃).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 179.5, 173.8, 73.3, 34.6, 34.0, 33.71, 33.4, 31.9, 29.7, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 25.3, 25.1, 22.7, 20.4, 14.1.

$[\alpha]_D^{20} = -0.9$ ($c=1.0$, CHCl_3).

HRMS $[\text{M}-\text{H}]^-$ 537.4777 (Ακριβής μάζα 537,4888).

(S)-5-(Δεκαεξανουόλοξυ)-δεκαοκτανοϊκό οξύ (111)



Υποκίτρινο έλαιο, 87% απόδοση (108 mg), R_f (9)= 0.42.

Σύστημα έκλουσης: PE / Et_2O 4/6.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 4.94-4.82 (1H, m, $\text{CHOC}=\text{O}$), 2.41-2.21 (4H, m, 2 x CH_2CO), 1.72-1.48 (8H, m, 8 x CHH), 1.40-1.11 (46H, m, 46 x CHH), 0.87 (6H, t, $J = 6.4$ Hz, 2 x CH_3).

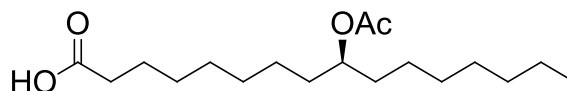
^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 179.5, 173.8, 73.3, 34.6, 34.0, 33.7, 33.3, 31.9, 29.7, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 25.3, 25.1, 22.7, 20.4, 14.1.

$[\alpha]_D^{20} = +1.8$ ($c=1.0$, CHCl_3)

HRMS $[\text{M}-\text{H}]^-$ 537,4904 (Ακριβής μάζα 537.4904).

Χρόνος κατακράτησης = 13.104 min.

(S)-9-Αιθανοξυδεκαεξανοϊκό οξύ (123)



Άχρωμο έλαιο, 86% απόδοση (59 mg), R_f (11)= 0.57.

Σύστημα έκλουσης: PE / Et_2O 6/4 και 5/5.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 9.54 (1H, br s, COOH), 4.93–4.07 (1H, m, $\text{CHOC}=\text{O}$), 2.33 (2H, t, $J = 7.4$ Hz, CH_2COOH), 2.02 (3H, s, $\text{CH}_3\text{C}=\text{O}$), 1.67–

1.40 (6H, m, 6 x CHH), 1.35–1.11 (18H, m, 18 x CHH), 0.87 (3H, t, $J = 5.8$ Hz, CH₃).

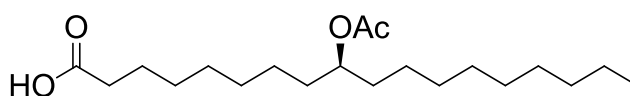
¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 179.9, 171.0, 74.4, 34.1, 34.0, 31.8, 29.5, 29.3, 29.2, 29.1, 28.9, 28.8, 25.3, 25.2, 24.6, 22.6, 21.3, 14.1.

$[\alpha]_D^{20} = -1.1$ ($c=1.0$, CHCl₃).

HRMS $[M-H]^-$ 313.2372 (Ακριβής μάζα 313.2384).

HRMS $[M+Na]^+$ 337.2351 (Ακριβής μάζα 337.2349).

(S)-9-Αιθανοξυδεκαοκτανοϊκό οξύ (127)



Άχρωμο έλαιο, 81% απόδοση (199 mg), R_f (11)= 0.53.

Σύστημα έκλουσης: PE / Et₂O 6/4 και 5/5.

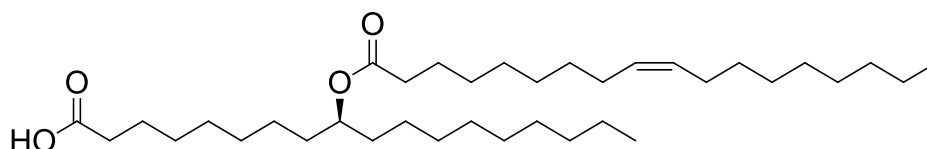
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 4.89–4.75 (1H, m, CHOC=O), 2.34 (2H, t, $J = 6.6$ Hz, CH₂COOH), 2.03 (3H, s, CH₃C=O), 1.69–1.41 (6H, m, 6 x CHH), 1.39–1.00 (22H, m, CHH) 0.87 (3H, t, $J = 6.3$ Hz, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 179.4, 171.0, 74.4, 34.1, 33.9, 31.9, 29.7, 29.5, 29.4, 29.3, 29.1, 29.0, 28.9, 25.3, 25.2, 24.6, 22.7, 21.3, 14.1.

$[\alpha]_D^{20} = -3.0$ ($c=1.0$, CHCl₃).

HRMS $[M+Na]^+$ 365.2670 (Ακριβής μάζα 365.2662).

(S)-9-(Δεκαοκτ-9-ενοϋλοξυ)δεκαοκτανοϊκό οξύ (135)



Άχρωμο έλαιο, 83% απόδοση (127 mg), R_f (9)= 0.69.

Σύστημα έκλουσης: PE / Et₂O 6/4.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 5.42-5.25 (2H, m, CH=CH), 4.93-4.79 (1H, m, CHOC=O), 2.40-2.18 (4H, m, CH₂C=O), 2.09-1.88 (4H, m, CHHCH=CH), 1.71-1.48 (8H, m, 8 x CHH), 1.48-1.04 (42H, m, 42 x CHH), 0.87 (6H, t, J=5.5 Hz, 2 x CH₃).

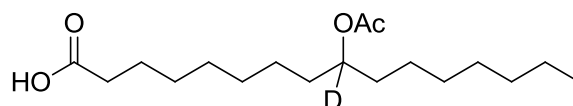
¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 179.7, 173.7, 130.0, 129.7, 74.0, 34.7, 34.1, 34.0, 31.9, 29.8, 29.7, 29.5, 29.3, 29.2, 29.1, 29.0, 27.2, 25.3, 25.2, 24.6, 22.7, 14.1.

[α]_D²⁰ = -0.8 (c=1.0, CHCl₃).

HRMS [M-H]⁻ 563.5038 (Ακριβής μάζα 563.5045).

HRMS [M+Na]⁺ 589.513 (Ακριβής μάζα 589.5135).

9-Αιθανοξυδεκαεξανοϊκό-9-*d* οξύ (141)



Άχρωμο έλαιο, 73% απόδοση (50 mg), R_f (9)= 0.37.

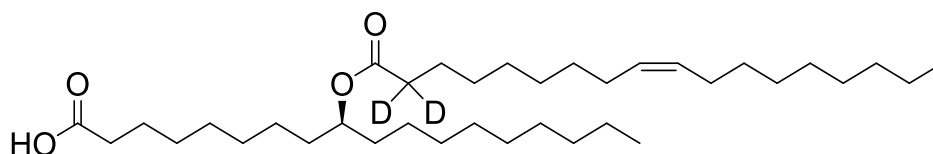
Σύστημα έκλουσης: PE / Et₂O 6/4.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 8.44 (1H, br s, COOH), 2.33 (2H, t, J = 7.4 Hz, CH₂COOH), 2.02 (3H, s, CH₃C=O), 1.67–1.40 (6H, m, 6 x CHH), 1.35–1.11 (18H, m, 18 x CHH), 0.87 (3H, t, J = 5.8 Hz, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 179.8, 171.1, 74.0 (t, J = 22,3 Hz), 34.0, 33.0, 31.8, 29.5, 29.3, 29.2, 29.1, 28.9, 25.2, 24.6, 22.6, 21.3, 14.1.

HRMS [M+Na]⁺ 338.2411 (Ακριβή μάζα 338.2412).

(*S,Z*)-9-((Δεκαοκτ-9-ενοϋλ-2,2-*d*₂)οξυ)δεκαοκτανοϊκό οξύ (145)



Υποκίτρινο έλαιο, 83% απόδοση (52 mg), R_f (9)= 0.51.

Σύστημα έκλουσης: PE / Et₂O 6/4.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 5.41-5.26 (2H, m, CH=CH), 4.90-4.77 (1H, m, CHOC=O), 2.33 (2H, t, *J*=7.4 Hz, CH₂C=O), 2.10-1.89 (4H, m, CHHCH=CH), 1.71-1.40 (8H, m, 8 x CHH), 1.40-1.07 (42H, m, 42 x CHH), 0.87 (6H, t, *J*=6.1 Hz, 2 x CH₃).

¹³C NMR (50 Hz, CDCl₃) δ 179.8, 173.8, 130.0, 129.7, 74.0, 34.1, 34.0, 31.9, 29.8, 29.7, 29.5, 29.3, 29.2, 29.1, 29.0, 27.2, 25.3, 25.2, 25.0, 24.6, 22.7, 14.1.

[α]_D²⁰ = -0.6 (c=1.0, CHCl₃).

Ποσοστό συνολικής δευτερίωσης βάσει HRMS= 90.00%.

Ποσοστό διδευτερίωσης βάσει HRMS= 59.00%.

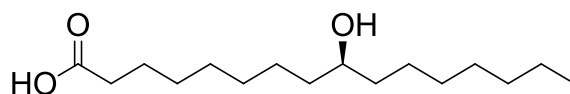
Ποσοστό μονοδευτερίωσης βάσει HRMS= 31.33%.

HRMS [M-H]⁻ 563.5038 (Ακριβής μάζα 563.5045).

Γενική μέθοδος για την αποπροστασία της ακέτυλο-ομάδας

Σε διάλυμα της ακέτυλο προστατευμένης ένωσης σε μείγμα THF: H₂O (1:1, 5 mL) προστίθεται LiOH (96 mg, 4.00 mmol) και το μείγμα της αντίδρασης αφήνεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 16 ώρες. Η υδατική φάση εκχυλίζεται μετά από την προσθήκη HCl 1N (10 mL) έως pH 1 στο μείγμα, με Et₂O (3 x 10 mL), και οι οργανικές φάσεις εκπλένονται με κορεσμένο διάλυμα NaCl (1 x 30 mL). Οι οργανικές στοιβάδες συλλέγονται και ξηραίνονται με Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό ελαττωμένη πίεση. Ακολουθεί χρωματογραφία στήλης με σύστημα διαλυτών έκλουσης PE:Et₂O και DCM:MeOH.

(S)-9-Υδροξύ δεκαεξανοϊκό οξύ (124) ^[19]



Λευκό στερεό, σημείο τήξης 60-62 °C, 63% απόδοση (33 mg), R_f (12)= 0.62.

Σύστημα έκλουσης: PE / Et₂O 2/8.

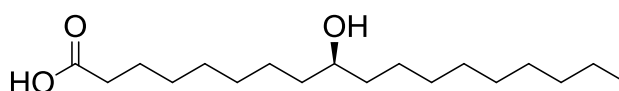
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 6.63 (1H, br s, COOH), 3.70–3.46 (1H, m, CHOH), 2.33 (2H, t, J = 7.4 Hz, CH₂COOH), 1.79–1.46 (3H, m, 2 x CHH, OH), 1.45–1.02 (22H, m, 22 x CHH), 0.86 (3H, t, J = 6.0 Hz, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 179.7, 72.1, 37.3, 37.2, 34.0, 31.8, 29.6, 29.4, 29.3, 29.2, 28.9, 25.6, 25.5, 24.6, 22.6, 14.1.

[α]_D²⁰ = -1.0 (c=1.0, CHCl₃).

HRMS [M+Na]⁺ 295.2255 (Ακριβής μάζα 295.2244).

(S)-9-Υδροξύ δεκαοκτανοϊκό οξύ (128) ^[84]



Λευκό στερεό, σημείο τήξης 73-75 °C, 70% απόδοση (120 mg), R_f (13)= 0.77.

Σύστημα έκλουσης: CH₂Cl₂ / MeOH 9/1.

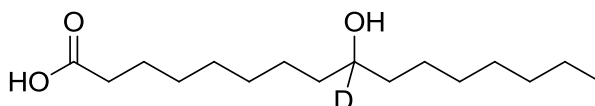
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 6.24 (1H, br s, COOH), 3.66–3.51 (1H, m, CHOH), 2.33 (2H, t, J = 7.4 Hz, CH₂COOH), 1.73–1.51 (3H, m, 2 x CHH, OH), 1.52–1.10 (26H, m, 26 x CHH), 0.87 (3H, t, J = 6.2 Hz, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 179.5, 72.1, 37.4, 37.3, 34.0, 31.9, 29.7, 29.6, 29.4, 29.3, 29.2, 29.0, 25.6, 25.5, 24.6, 22.7, 14.1.

[α]_D²⁰ = -11.2 (c=0.5, CHCl₃).

HRMS [M+Na]⁺ 299.2553 (Ακριβής μάζα 299.2592).

9-Υδροξύ δεκαεξανοϊκό-9-d οξύ (142)



Λευκό στερεό, σημείο τήξης 60-62 °C, 62% απόδοση (27 mg), R_f (12)= 0.63.

Σύστημα έκλουσης: PE / Et₂O 5/5 και 2/8.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 6.27 (1H, br s, COOH), 2.33 (2H, t, *J* = 7.4 Hz, CH₂COOH), 1.75–1.13 (25H, m, 24 x CHH, OH), 0.85 (3H, t, *J* = 6 Hz, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 179.6, 71.6 (t, *J*=21.5 Hz), 37.2, 37.1, 34.0, 31.8, 29.6, 29.4, 29.3, 29.2, 28.9, 25.6, 25.5, 24.6, 22.6, 14.1.

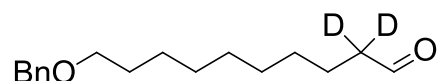
[α]_D²⁰ = -1.0 (c=1.0, CHCl₃).

Ποσοστό [%] δευτερίωσης βάσει HRMS = 98.75%.

HRMS [M-H]⁻ 272.2339 (Ακριβής μάζα 272,2341).

10-(Βενζυλοξυ)δεκανάλη-2,2-*d*₂ (136)

Σε μια ξηρή φιάλη όπου περιέχεται η αλδεΐδη (262 mg, 1 mmol), προστίθεται δευτεριωμένο νερό (1 mL) και τριαιθυλαμίνη (0.1 mL). Ακολουθεί ανάδευση στους 100 °C επί 1 ώρα υπό ατμόσφαιρα αργού. Στη συνέχεια, προστίθεται υδατικό διάλυμα HCl 1N (1 mL) και ακολουθεί εκχύλιση του μείγματος με Et₂O (3 x 2 mL). Οι συνδυασμένες οργανικές στιβάδες πλένονται με κορεσμένο NaHCO₃, ξηραίνονται με Na₂SO₄ και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό ελαττωμένη πίεση. Η ίδια διαδικασία επαναλαμβάνεται σε συνολικά 2 κύκλους προκειμένου να ληφθεί το 2,2-δευτεριωμένο ανάλογο (> 95% δευτερίωση όπως υποδεικνύεται με φασματοσκοπία ¹H NMR). Η αλδεΐδη χρησιμοποιείται απευθείας στο επόμενο στάδιο συνθέσης.



Άχρωμο έλαιο, 88% απόδοση, R_f (2)= 0.70.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 9.74 (1H, s, CHO), 7.42-7.21 (5H, m, ArH), 4.50 (2, s, ArCH₂), 3.46 (2H, t, *J* = 6.5 Hz, OCH₂), 1.70-1.49 (4H, m, 4 x CHH), 1.49-1.16 (10H, m, 10 x CHH).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 203.1, 138.6, 128.2, 127.5, 127.4, 72.7, 70.4, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.3, 29.2, 29.1, 29.0, 26.1, 21.8.

HRMS [M+H]⁺ 265.2128 (Ακριβής μάζα 265.2131).

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ

T2D	Type 2 Diabetes
FAHFAs	Fatty Acid Esters of Hydroxy Fatty Acids
BAT	Brown adipose tissue
WAT	White adipose tissue
Glut4	Glucose transporter type 4
AT	Adipose tissue
AG4OX	Adipose-selective Glut4 overexpression
FAs	Fatty Acids
VLDL	Very low density lipoprotein
WT	Wild type
ESI	Electrospray ionization
MS	Mass Spectrometry
DMAP	4-Dimethylaminopyridine
PCC	Pyridinium chlorochromate
MCPBA	meta-Chloroperoxybenzoic acid
EDCI	3-(Ethyliminomethyleneamino)-N,N-dimethylpropan-1-amine
NMO	N-Methylmorpholine N-oxide
LC-MS	Liquid chromatography–mass spectrometry
CEL	Carboxyl ester lipase
TNF-α	Tumor necrosis factor alpha
ILs	Interleukins
CRP	C-Reactive Protein
GPR120	G-protein coupled receptor 120
LPS	Lipopolysaccharide
TLR	Toll-like receptors
DCs	Dendritic cells
IFN-γ	Interferon gamma
GLP-1	Glucagon-like peptide-1
DMF	Dimethylformamide
Bn	Benzyl
THF	Tetrahydrofuran

DMSO	Dimethyl sulfoxide
SOMO	Singly Occupied Molecular Orbital Organocatalysis
NCS	N-Chlorosuccinimide
TFA	Trifluoroacetic acid
SBA	Strong base anion
TPyP	Tetrapyridylporphyrin
TA	Tartaric acid
Ac	Acetyl
HRMS	High resolution mass spectrometry
ALA	Alfa linolenic acid
EPA	Eicosapentaenoic acid
DHA	Docosahexaenoic acid
TBDMS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl
TBAF	Tetra-n-butylammonium fluoride
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HOBt	Hydroxybenzotriazole
IR	Infrared radiation
TLC	Thin layer chromatography
UV	Ultraviolet radiation
R _f	Retention factor
PE	Petroleum ether
AcOEt	Ethyl acetate
i-PrOH	Isopropyl alcohol
GC-MS	Gas chromatography–mass spectrometry
Mes	Mesyl

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* **2010**, 33, 62-69.
2. Rother, K. Diabetes Treatment — Bridging the divide. *N. Engl. J. Med.* **2014**, 356, 1499–1501.
3. Lucas, M., J. Diabetes complicating pregnancy. *Obstet. Gynecol. Clin. North Am.* **2001**, 28, 513-536.
4. Vague J. The degree of masculine differentiation of obesities: a factor determining predisposition to diabetes, atherosclerosis, gout, and uric calculous disease. *Am. J. Clin. Nutr.* **1956**, 4, 20-34.
5. Hu, F.B. Globalization of diabetes: the role of diet, lifestyle, and genes. *Diabetes Care* **2011**, 34, 1249–1257.
6. Vijan S. In the clinic. Type 2 diabetes. *Ann. Intern. Med.* **2010**, 152, doi: 10.7326/0003-4819-152-5-201003020-01003.
7. Yore, M. M., Syed, I., Moraes-Vieira, P. M., Zhang, T., Herman, M. A., Homan, E. A., Patel, R. T., Lee, J., Chen, S., Peroni, O. D., Dhaneshwar, A. S., Hammarstedt, A., Smith, U., McGraw, T. E., Saghatelian, A., Kahn, B. B. Discovery of a class of endogenous mammalian lipids with anti-diabetic and anti-inflammatory effects. *Cell* **2014**, 159, 318–332.
8. Muoio, D. M., Newgard, C. B. The good in fat. *Nature* **2014**, 516, 49–50.
9. Rhee, E. P., Cheng, S., Larson, M. G., Walford, G. A., Lewis, G. D., McCabe, E., Yang, E., Farrell, L., Fox, C. S., O'Donnell, C. J., Carr, S. A., Vasan, R.S., Florez, J. C., Clish, C. B., Wang, T. J., Gerszten, R. E. Lipid profiling identifies a triacylglycerol signature of insulin resistance and improves diabetes prediction in humans. *J. Clin. Invest.* **2011**, 121, 1402–1411.
10. Kuda, O., Brezinova, M., Rombaldova, M., Slavikova, B., Posta, M., Beier, P., Janovska, P., Veleba, J., Kopecky, J., Kudova, E., Pelikanova, T. Docosahexaenoic acid-derived fatty acid esters of hydroxy fatty acids (FAHFAS) with anti-inflammatory properties. *Diabetes* **2016**, 65, 2580–2590.

11. Shepherd, P. R., Kahn, B. B. Glucose transporters and insulin action—implications for insulin resistance and diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* **1999**, *341*, 248–257.
12. Abel, E. D., Peroni, O., Kim, J. K., Kim, Y. B., Boss, O., Hadro, E., Minnemann, T., Shulman, G. I., Kahn, B. B. Adipose-selective targeting of the GLUT4 gene impairs insulin action in muscle and liver. *Nature* **2001**, *409*, 729–733.
13. Herman, M. A., Peroni, O. D., Villoria, J., Schön, M. R., Abumrad, N. A., Blüher, M., Klein, S., Kahn, B. B. A novel ChREBP isoform in adipose tissue regulates systemic glucose metabolism. *Nature* **2012**, *484*, 333–338.
14. Smith, U., Kahn, B. B. Adipose tissue regulates insulin sensitivity: role of adipogenesis, de novo lipogenesis and novel lipids. *J. Intern. Med.* **2016**, *280*, 465–475.
15. Carvalho, E., Kotani, K., Peroni, O. D., Kahn, B. B. Adipose-specific overexpression of GLUT4 reverses insulin resistance and diabetes in mice lacking GLUT4 selectively in muscle. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **2005**, *289*, 551–561.
16. Marshall, D. L., Saville, J. T., Maccarone, A. T., Ailuri, R., Kelso, M. J., Mitchell, T. W., Blanksby, S. J. Determination of ester position in isomeric (O-acyl)-hydroxy fatty acids by ion trap mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2016**, *30*, 2351–2359.
17. Ma, Y., Kind, T., Vaniya, A., Gennity, I., Fahrman, J. F., Fiehn, O. An in silico MS/MS library for automatic annotation of novel FAHFA lipids. *J. Cheminform.* **2015**, *7*, 2–6.
18. López-Bascón, M. A., Calderón-Santiago, M., Priego-Capote, F. Confirmatory and quantitative analysis of fatty acid esters of hydroxy fatty acids in serum by solid phase extraction coupled to liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* **2016**, *943*, 82–88.
19. Nelson, A. T., Kolar, M. J., Chu, Q., Syed, I., Kahn, B. B., Saghatelian, A., Siegel, D. Stereochemistry of endogenous palmitic acid ester of 9-hydroxystearic acid and relevance of absolute configuration to regulation. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 4943–4947.

20. Balas, L., Durand, T., Feillet-Coudray, C. Branched FAHFAs, appealing beneficial endogenous fat against obesity and type-2 diabetes. *Chem.-A Eur. J.* **2018**, doi:10.1002/chem.201800853.
21. Beth Israel Deaconess Medical Center, Inc. President and Fellows of Harvard College. Lipids that increase insulin sensitivity and methods of using the same. WO2013166431A1.
22. Balas, L., Bertrand-Michel, J., Viars, F., Faugere, J., Lefort, C., Caspar-Bauguil, S., Langin, D., Durand, T. Regiocontrolled syntheses of FAHFAs and LC-MS/MS differentiation of regioisomers. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14*, 9012–9020.
23. Zhang, T., Chen, S., Syed, I., Ståhlman, M., Kolar, M. J., Homan, E. A., Chu, Q., Smith, U., Borén, J., Kahn, B. B.; Saghatelian, A. A LC-MS-based workflow for measurement of branched fatty acid esters of hydroxy fatty acids. *Nat. Protoc.* **2016**, *11*, 747–763.
24. Parsons, W. H., Kolar, M. J., Kamat, S. S., Cognetta, A. B., Hulce, J. J., Saez, E., Kahn, B. B., Saghatelian, A., Cravatt, B. F. AIG1 and ADTRP are atypical integral membrane hydrolases that degrade bioactive FAHFAs. *Nat. Chem. Biol.* **2016**, *12*, 367–372.
25. Hara, T., Kimura, I., Inoue, D., Ichimura, A., Hirasawa, A. Free fatty acid receptors and their role in regulation of energy metabolism. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* **2013**, *164*, 77–116.
26. Hirasawa, A., Tsumaya, K., Awaji, T., Katsuma, S., Adachi, T., Yamada, M., Sugimoto, Y., Miyazaki, S., Tsujimoto, G. Free fatty acids regulate gut incretin glucagon-like peptide-1 secretion through GPR120. *Nature Med.* **2005**, *11*, 90–94.
27. Lumeng, C. N., Saltiel, A. R. Inflammatory links between obesity and metabolic disease. *J. Clin. Invest.* **2011**, *121*, 2111–2117.
28. Fei N, Zhao L. An opportunistic pathogen isolated from the gut of an obese human causes obesity in germfree mice. *ISME J.* **2013**, *7*, 880-884.
29. Feuerstein, J. D., Cheifetz, A. S. Ulcerative colitis: epidemiology, diagnosis, and management. *Mayo Clinic Proc.* **2014**, *89*, 1553–1563.
30. Danese, S., Sans, M., Fiocchi, C. Inflammatory bowel disease: the role of environmental factors. *Autoimmun. Rev.* **2004**, *3*, 394–400.

31. Sikiric, P. From gut inflammation to gastrointestinal disorders current update on pathophysiology, molecular mechanism and pharmacological treatment modalities. *Curr. Pharm. Des.* **2014**, *20*, 1039–1040.
32. Wallace, K. L., Zheng, L. B., Kanazawa, Y., Shih, D. Q. Immunopathology of inflammatory bowel disease. *World J. Gastroenterol.* **2014**, *20*, 6–21.
33. Lee, J., Moraes-Vieira, P. M., Castoldi, A., Aryal, P., Yee, E. U., Vickers, C., Parnas, O., Donaldson, C. J., Saghatelian, A., Kahn, B. B. Branched fatty acid esters of hydroxy fatty acids (FAHFAs) protect against colitis by regulating gut innate and adaptive immune responses. *J. Biol. Chem.* **2016**, *291*, 22207–22217.
34. Brezinova, M., Kuda, O., Hansikova, J., Rombaldova, M., Balas, L., Bardova, K., Durand, T., Rossmeisl, M., Cerna, M., Stranak, Z., Kopecky, J. Levels of palmitic acid ester of hydroxystearic acid (PAHSA) are reduced in the breast milk of obese mothers. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Biol. Lipids* **2018**, *1863*, 126–131.
35. Koletzko, B. Human milk lipids, *Ann. Nutr. Metab.* **2016**, *69*, 28–40.
36. Smith, S. Mechanism of chain length determination in biosynthesis of milk fatty acids. 1980, *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia* **2009**, *14*, 245–260.
37. Hardikar, A. A., Wang, X. Y., Williams, L. J., Kwok, J., Wong, R., Yao, M., Tuch, B. E. Functional maturation of fetal porcine beta-cells by glucagon-like peptide 1 and cholecystokinin, *Endocrinology* **2002**, *143*, 3505–351.
38. Milligan, G., Shimpukade, B., Ulven T., Hudson, B., D. Complex pharmacology of free fatty acid receptors. *Chem. Rev.* **2017**, *117*, 67-110.
39. Serhan, C. N. Pro-resolving lipid mediators are leads for resolution physiology. *Nature* **2014**, *510*, 92-101.
40. Kaspersen, M. H., Jenkins, L., Dunlop, J., Milligan, G., Ulven, T. Succinct synthesis of saturated hydroxy fatty acids and in vitro evaluation of all hydroxylauric acids on FFA1, FFA4 and GPR84. *Med. Chem. Commun.* **2017**, *8*, 1360–1365.

41. Hama, H. Fatty acid 2-hydroxylation in mammalian sphingolipid biology *Biochim. Biophys. Acta* **2010**, *1801*, 405-414.
42. Raetz C. R., Whitfield, C. Lipopolysaccharide endotoxins. *Ann. Rev. Biochem.* **2002**, *71*, 635-700.
43. Dimick, P. S., Walker, N. J., Patton, S. Lipid metabolism. Evidence of a delta-oxidation pathway for saturated fatty acids. *Biochem. J.* **1969**, *111*, 395-399.
44. Chen, C. J., Vijaya Krishna, R., Tsai, C. C., Wu, W. H., Chao, L. K., Hwang, K. H., Chien, C. M., Chang, H. Y., Chen, S. T. Structure and functions of gamma-dodecalactone isolated from *Antrodia camphorata* for NK cell activation. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 6896-6904.
45. Parolin, C., Calonghi, N., Presta, E., Boga, C., Caruana, P., Naldi, M., Andrisano, V., Masotti, L., Sartor, G. Mechanism and stereoselectivity of HDAC I inhibition by (R)-9-hydroxystearic acid in colon cancer. *Biochim. Biophys. Acta-Mol. Cell. Biol. Lipids* **2012**, *1821*, 1334-1340.
46. Masotti, L., Casali, E., Gesmundo, N., Sartor, G., Galeotti, T., Borrello, S., Piretti, M., Pagliuca, G. Lipid peroxidation in cancer cells: chemical and physical studies. *Ann. NY Acad. Sci.* **1988**, *551*, 47–58.
47. Calonghi, N., Cappadone, C., Pagnotta, E., Boga, C., Bertucci, C., Fiori, J., Tasco, G., Casadio, R., Masotti, L. Histone Deacetylase 1: A target of 9-hydroxystearic acid in the inhibition of cell growth in human colon cancer. *J. Lipid Res.* **2005**, *46*, 1596–1603.
48. Calonghi, N., Cappadone, C., Pagnotta, E., Farruggia, G., Buontempo, F., Boga, C., Brusa, G. L., Santucci, M. A., Masotti, L. 9-hydroxystearic acid upregulates p21WAF1 in HT29 cancer cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2004**, *314*, 138–142.
49. Marks, P. A., Rifkind, R. A., Richon, V. M., Breslow, R., Miller, T., Kelly, W. K.. Histone deacetylase and cancer: causes and therapies. *Nat. Rev.* **2001**, 194–202.
50. Suzuki, K., Kaneko-Kawano, T. Biological roles and therapeutic potential of G protein-coupled receptors for free fatty acids and metabolic intermediates. *J. Phys. Fit. Sport. Med.* **2016**, *5*, 213–227.
51. MacMillan, D. W. C. The advent and development of organocatalysis. *Nature* **2008**, *455*, 304–308.

52. Ahrendt, K. A., Borths, C. J., MacMillan, D. W. C. New strategies for organic catalysis: The first highly enantioselective organocatalytic Diels–Alder reaction. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 4243–4244.
53. Jen, W. S., Wiener, J. J. M., MacMillan, D. W. C. New strategies for organic catalysis: The first enantioselective organocatalytic 1,3-dipolar cycloaddition. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 9874–9875.
54. Paras, N. A., MacMillan, D. W. C. New strategies in organic catalysis: The first enantioselective organocatalytic Friedel–Crafts alkylation. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 4379–4371.
55. Brochu, M. P., Brown, S. P., MacMillan, D. W. C. Direct and enantioselective organocatalytic α -chlorination of aldehydes. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 4108–4109.
56. Beeson, T. D., MacMillan, D. W. C. Enantioselective organocatalytic α -fluorination of aldehydes. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 8826.
57. Fonseca, M. H., List, B. Catalytic asymmetric intramolecular Michael reaction of aldehydes. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 3958.
58. Jang, H. Y., Hong, J. B., MacMillan, D. W. C. Enantioselective organocatalytic singly occupied molecular orbital activation: The enantioselective α -enolation of aldehydes. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 7004–7005.
59. List, B., Lerner, R. A., Barbas, C. F. Proline-catalyzed direct asymmetric aldol reactions. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 2395–2396.
60. Wack, H., Taggi, A. E., Hafez, A. M., Drury, W. J., Lectka, T. Catalytic, asymmetric R -halogenation. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 1531–1532.
61. Amatore, M., Beeson, T. D., Brown, S. P., MacMillan, D. W. C. Enantioselective Linchpin catalysis by SOMO catalysis: An approach to the asymmetric α -chlorination of aldehydes and terminal epoxide formation. *Angew. Chem. - Int. Ed.* **2009**, 48, 5121–5124.
62. Kaplaneris, N., Spyropoulos, C., Kokotou, M. G., Kokotos, C. G. Enantioselective organocatalytic synthesis of 2-oxopiperazines from aldehydes: Identification of the elusive epoxy lactone intermediate. *Org. Lett.* **2016**, 18, 5800–5803.

63. Berijani, K., Hosseini-Monfared, H. Collaborative effect of Mn-porphyrin and mesoporous SBA-15 in the enantioselective epoxidation of olefins with oxygen. *Inorganica Chimica Acta* **2017**, 471, 113–120.
64. Savle, P. S., Lamoreaux, M. J., Berry, J. F., Gandour, R. D. A Convenient resolution of long-chain alkyl epoxides with Jacobsen's salen(Co)III(OAc) catalysts. *Tetrahedron : Asymmetry* **1998**, 9, 1843–1846.
65. Schaus, S. E., Brandes, B. D., Larrow, J. F., Tokunaga, M., Hansen, K. B., Gould, A. E., Furrow, M. E., Jacobsen, E. N. Highly selective hydrolytic kinetic resolution of terminal epoxides catalyzed by chiral (salen)CoIII complexes. Practical synthesis of enantioenriched terminal epoxides and 1,2-diols. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 1307–1315.
66. Colladon, M., Scarso, A., Sgarbossa, P., Michelin, R. A., Strukul, G. Asymmetric epoxidation of terminal alkenes with hydrogen peroxide catalyzed by pentafluorophenyl PtII complexes. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 14006–14007.
67. Schauder, J. R., Krief, A. Regio and stereochemically controlled ring opening of epoxides with Grignard reagents. Stereocontrolled synthesis of the steroid side chains. First stereoselective hemisynthesis of 20s isolanosterol. *Tetrahedron Lett.* **1982**, 23, 4389-4392.
68. Normant, J. F. Organocopper(I) compounds and organocuprates in synthesis. *Synthesis* **1972**, 2, 63-80.
69. Ayers, P. W., Parr, R. G., Pearson, R. G. Elucidating the hard/soft acid/base principle: A perspective based on half-reactions. *J. Chem. Phys.* **2006**, 124, 194107.
70. Alam, M., Wise, C., Baxter, C. A., Cleator, E., Walkinshaw, A. Development of a robust procedure for the copper-catalyzed ring-opening of epoxides with Grignard reagents. *Org. Process Res. Dev.* **2012**, 4, 8153–8198.
71. Dayal, B., Salen, G., Toome, B., Tint, G. S., Shefer, S., Padia, J. Lithium hydroxide/aqueous methanol : Mild reagent for the hydrolysis of bile acid methyl esters. *Steroids* **1990**, 55, 233–237.

72. James, M., Gibson, R., Cleland, L. Dietary polyunsaturated fatty acids and inflammatory mediator production. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *71*, 1–6.
73. Setner, B., Wierzbicka, M., Jerzykiewicz, L., Lisowski, M., Szewczuk, Z. The unexpected racemization and Hydrogen-Deuterium exchange of the Hydrogen at the α -carbon of proline analogs containing the 5-azoniaspiro[4.4]nonyl-group. *Org. Biomol. Chem.* **2018**, *16*, 825–831.
74. Matsumoto, K., Oohana, K., Hashimoto, M., Usuda, K., Shimoda, T., Ohshima, H., Suzuk, Y., Togawa, T. Enzyme-mediated enantioselective hydrolysis of 1,2-diol monotosylate derivatives bearing an unsaturated substituent. *Tetrahedron : Asymmetry* **2018**, doi: 10.1016/j.tet.2018.05.087.
75. Mitsunobu, O. The use of diethyl azodicarboxylate and triphenylphosphine in synthesis and transformation of natural products. *Synthesis* **1981**, *1*, 1–28.
76. Shioiri, T., Irako, N. An efficient synthesis of Sulfobacin (Flavocristamide B), Sulfobacin B, and Flavocristamide A. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 9129–9142.
77. Narayan, R. S., Borhan, B. Synthesis of the proposed structure of Mucoxin via Regio- and Stereoselective tetrahydrofuran ring-forming strategies. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 1416–1429.
78. Tully, S. E., Cravatt, B. F. Activity-based probes that target functional subclasses of Phospholipases in proteomes. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 3264–3265.
79. Kondoh, A., Arlt, A., Gabor, B., Fürstner, A. Total synthesis of Nominal Gobienine A. *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 7731 – 7738.
80. Brehm, E., Breinbauer, R. Investigation of the origin and synthetic application of the Pseudodilution effect for Pd-catalyzed macrocyclisations in concentrated solutions with immobilized catalysts. *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 4750.
81. Sabitha, G., Chandrashekhar, G., Yadagiri, K., Yadav, J. S. Enantioselective synthesis of (+)-Patulolide C via proline-catalyzed sequential α -aminooxylation and Horner-Wadsworth-Emmons olefination. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 3824–3826.

82. Matsumoto, K., Usuda, K., Okabe, H., Hashimoto, M., Shimada, Y. Synthesis of optically active heterocyclic compounds via deracemization of 1,2-diol monotosylate derivatives bearing a long aliphatic chain by a combination of enzymatic hydrolysis with Mitsunobu inversion. *Tetrahedron : Asymmetry* **2013**, 24, 108–115.
83. Srihari, P., Bhasker, E. V., Harshavardhan, S. J., Yadav, J. S. Stereoselective total synthesis of iso-Cladospolide B (I). *Synthesis* **2006**, 23, 4041– 4045.
84. Ebert, C., Felluga, F., Forzato, C., Foscatto, M., Gardossi, L., Nitti, P., Pitacco, G., Boga, C., Caruana, P., Micheletti, G., Calonghi, N., Masotti, L. Enzymatic kinetic resolution of hydroxystearic acids: A combined experimental and molecular modelling investigation. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* **2012**, 83, 38–45.