

**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

**Σύνθεση 3-υδρόξυ και 4-υδρόξυ λιπαρών οξέων και
δευτεριωμένων λιπαρών οξέων**

ΜΠΟΥΡΜΠΟΥΛΑ ΑΣΗΜΙΝΑ

ΧΗΜΙΚΟΣ

ΑΘΗΝΑ

ΙΟΥΝΙΟΣ 2018

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

Σύνθεση 3-υδρόξυ και 4-υδρόξυ λιπαρών οξέων και δευτεριωμένων λιπαρών οξέων

ΜΠΟΥΡΜΠΟΥΛΑ ΑΣΗΜΙΝΑ
A.M.: 161507

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ:

Γεώργιος Κόκοτος, Καθηγητής ΕΚΠΑ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Γεώργιος Κόκοτος, Καθηγητής

Βικτωρία Μαγκριώτη, Επικ. Καθηγήτρια

Σταματία Βασιλείου, Επικ. Καθηγήτρια

25/6/2018

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Διάφορα πολυακόρεστα υδρόξυ λιπαρά οξέα που προέρχονται από την οξειδωση πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, όπως υδρόξυ δεκαοκταδιενοϊκά οξέα, λιποξίνες, υδρόξυ εικοσατετραενοϊκά οξέα, υδρόξυ εικοσαπενταενοϊκά οξέα, ρεσολβίνες, προτεκτίνες και μαρεσίνες έχουν βρεθεί να παρουσιάζουν σημαντικότερες βιολογικές δράσεις. Ωστόσο, η μελέτη των κορεσμένων υδρόξυ λιπαρών οξέων μέχρι σήμερα είναι πολύ περιορισμένη. Τα 2-υδρόξυ λιπαρά οξέα είναι άφθονα σε σφιγγολιπίδια, ενώ τα 3-υδρόξυ λιπαρά οξέα είναι πανταχού παρόντα ως ενδιάμεσα στη σύνθεση των λιποπολυσακχαριτών. Τα τελευταία χρόνια, έχει αναφερθεί ότι ο υποδοχέας GPR84 ενεργοποιείται με λιπαρά οξέα μεσαίου μήκους ανθρακικής αλυσίδας που φέρουν μια ομάδα υδροξυλίου στις θέσεις 2- ή 3- πιο αποτελεσματικά από τα μη υδροξυλιωμένα λιπαρά οξέα.

Έχοντας, λοιπόν, λάβει υπόψη όλα τα παραπάνω στην παρούσα εργασία αναπτύξαμε μια γενική μέθοδο για την ασύμμετρη σύνθεση 3-υδρόξυ και 4-υδρόξυ λιπαρών οξέων. Βήμα-κλειδί αυτής της σύνθεσης για την εισαγωγή της ασυμμετρίας ήταν η οργανοκαταλυτική ασύμμετρη σύνθεση ακραίων εποξειδίων με χρήση καταλύτη MacMillan τρίτης γενιάς.

Άλλη μια κατηγορία ενώσεων που έχει προσελκύσει πρόσφατα το ενδιαφέρον είναι οι εστέρες λιπαρών οξέων με υδρόξυ λιπαρά οξέα, γνωστά και ως FAHFAs. Έτσι, πραγματοποιήθηκε η σύνθεση ενός τέτοιου εστέρα που βασίζεται σε 4-υδρόξυ λιπαρό οξύ..

Τέλος, μας απασχόλησε η σύνθεση υδρόξυ λιπαρών οξέων που φέρουν άτομα δευτερίου, καθώς παρουσιάζουν μεγάλη χρησιμότητα σε μελέτες των πορειών βιοσύνθεσης και αποικοδόμησης, αλλά και σε μελέτες με φασματομετρία μάζας, ως πρότυπες ενώσεις.

ΘΕΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ: Σύνθεση υδρόξυ λιπαρών οξέων, Μελέτη ποσοστού δευτερίωσης με φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας.

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: 3-Υδρόξυ λιπαρά οξέα, οζονόλυση, δευτεριωμένα λιπαρά οξέα, HRMS

ABSTRACT

Various polyunsaturated hydroxy fatty acids derived from polyunsaturated acid, such as hydroxy octadecadienoic acids, lipoxins, hydroxy eicosatetraenoic acids, hydroxy eicosapentaenoic acids, resolvins, protectins and maresins exhibit interesting biological activities. However, studies on the saturated hydroxy fatty acids are limited. 2-Hydroxy fatty acids are abundant in sphingolipids, while 3-hydroxy fatty acids are ubiquitously present as intermediates in the synthesis of fatty acids and β -oxidation and are building blocks of lipopolysaccharides. Recently, it has been reported that the GPR84 receptor is activated by medium chain fatty acids with a hydroxyl group at 2- or 3-positions most efficiently than the non-hydroxylated fatty acids.

Having therefore taken all of the above in mind, we developed a general method for the asymmetric synthesis of 3-hydroxy and 4-hydroxy fatty acids. Key-step for this synthesis was the organocatalytic asymmetric synthesis of terminal epoxides using third generation MacMillan's catalyst.

Another class of compounds that has particularly attracted the interest is the fatty acid esters of hydroxy fatty acids, also known as FAHFAs. Thus, the synthesis of such an ester based on 4-hydroxy fatty acid was accomplished.

Finally, we have been interested in the synthesis of deuterated fatty acids containing, as they are of great utility in studies of biosynthesis and degradation pathways, but also in mass spectrometry studies as standard compounds.

SUBJECT AREA: Synthesis of hydroxy fatty acids, Determination of deuteration by high resolution mass spectrometry.

KEYWORDS: 3-Hydroxy fatty acids, ozonolysis, deuterated fatty acids, HRMS.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα Καθηγητή μου κ. Γεώργιο Κόκοτο για την ανάθεση του θέματος, την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, την καθοδήγηση και τις υποδείξεις του και την άψογη συνεργασία που είχαμε καθόλη τη διάρκεια της παρουσίας μου στο εργαστήριο.

Ευχαριστώ τα μέλη της τριμελούς επιτροπής, την Επίκουρη Καθηγήτρια κ. Βικτωρία Μαγκριώτη και την Επίκουρη Καθηγήτρια κ. Σταματία Βασιλείου για τις υποδείξεις και παρατηρήσεις τους, που συνέβαλαν στην ολοκλήρωση της παρούσας εργασίας.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω όλα τα μέλη της ομάδας του Καθ. Γ. Κόκοτου. Ιδιαίτερα τη Δρ. Μαρούλα Κόκοτου για την βοήθεια και την συνεργασία σε ότι σχετίζεται με την φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας, καθώς τον Δρ. Δημήτριο Λημνιό για την βοήθεια του εργαστηριακά κατά το αρχικό στάδιο της εργασίας μου.

Ευχαριστώ όλα τα μέλη του Εργαστηρίου Οργανικής Χημείας για το φιλικό κλίμα και ευχάριστο περιβάλλον που δημιούργησαν αυτό το διάστημα. Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά και τους φίλους μου που με στηρίζουν όλα αυτά τα χρόνια.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	19
1. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1	21
1.1 Εισαγωγή στα λιπαρά οξέα.....	21
1.2 Λιπαρά οξέα στην καθημερινότητα	24
1.3 Υδρόξυ λιπαρά οξέα	30
1.4 GPR84, ένας αντιφλεγμονώδης υποδοχέας	34
1.5 Υδρόξυ λιπαρά οξέα και η σχέση με τους λιποπολυσακχαρίτες	36
2. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2	39
2.1 Σύνθεση 3-υδρόξυ οξέων με χρήση του οξέος Meldrum.....	39
2.2 Σύνθεση των 3-υδρόξυ οξέων μέσω αλδολικής συμπύκνωσης	39
2.3 Σύνθεση του 3-υδρόξυ δεκαεξανοϊκού οξέος μέσω εποξειδίου.....	40
2.4 Σύνθεση 3-υδρόξυ οξέων μέσω πρωτοταγών νίτρο ενώσεων	41
2.5 Σύνθεση 3-υδρόξυ οξέος μέσω οξειδωσης με OsO ₄	41
2.6 Σύνθεση 3-υδρόξυ δεκαοκτανοϊκού οξέος με χρήση καταλύτη ρουθινίου	42
2.7 Σύνθεση 3-υδρόξυ οξέων από αλδεΐδες και ιωδοοξικό οξύ.....	42
2.8 Σύνθεση του 3-υδρόξυ λαουρικού οξέος από τον βουτανοϊκό αιθυλεστέρα.....	43
2.9 Σύνθεση του 3-υδρόξυ οκτανοϊκού οξέος από εξανάλη	43
2.10 Σύνθεση των 3-υδρόξυ οξέων μέσω της αντίδρασης Reformatsky	44
3. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3	45
3.1 Εισαγωγή.....	45
3.2 Τρόποι σύνθεσης δευτεριωμένων λιπιδίων.....	46
3.2.1 Μέθοδος I: Ανταλλαγή.....	46
3.2.2 Μέθοδος II: Αναγωγή	48
3.2.3 Μέθοδος III: Αντίδραση με μικρές δευτεριωμένες ενώσεις	50

3.2.4 Μέθοδος IV: Σύνθεση χρησιμοποιώντας ενδιάμεσα που συντέθηκαν με την μέθοδο I ή II.....	51
3.2.5 Μέθοδος V: Βιολογική σύνθεση δευτεριωμένων λιπιδίων	55
3.3 Μέτρηση του ποσοστού και της θέσης των δευτεριών σε μια ένωση	55
3.4 Η λειτουργικότητα του δεσμού C-H και η ανταλλαγή του με τα ισότοπα υδρογόνου	56
3.4.1 Επισημάνση με χρήση οξέος/βάσης ως μεσολαβητή	59
3.4.2 Ετερογενής κατάλυση.....	60
3.4.3 Ομογενής κατάλυση	61
4. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4	63
5. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5	65
5.1 Ρετροσυνθετική πορεία για τη σύνθεση 3-υδρόξυ λιπαρών οξέων	65
5.2 Σύνθεση των 3-υδρόξυ λιπαρών οξέων	66
5.2.1 Μέθοδος σύνθεσης χειρόμορφων ακραίων εποξειδίων.....	67
5.2.2 Μηχανισμός της οζονόλυσης των ακραίων αλκενίων	68
5.2.3 Χαρακτηριστικά φάσματα των ενώσεων που συντέθηκαν κατά την πορεία σύνθεσης 3-υδρόξυ λιπαρών οξέων.....	69
5.3 Ρετροσυνθετική πορεία για τη σύνθεση 4-υδρόξυ λιπαρών οξέων	74
5.4 Σύνθεση των 4-υδρόξυ λιπαρών οξέων και αντίστοιχων λακτονών	75
5.5 Σύνθεση εστέρα του παλμιτικού οξέος με 4-υδρόξυ στεατικό οξύ.....	78
5.6 Μελέτη υδρόξυ λιπαρών οξέων με φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας (HRMS).....	82
5.7 Προσδιορισμός της εναντιομερικής περιόσεως χειρόμορφων 3-υδρόξυ οξέων με τη χρήση UPLC-HRMS με χειρόμορφη στήλη	86
6. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6	91
6.1 Σύνθεση της δευτεριωμένης επτανάλης και υπολογισμός της δευτερίωσης βάσει φασματοσκοπίας ¹ H NMR.....	91

6.2 Περιγραφή και μηχανισμός της αντίδρασης δευτερίωσης	94
6.3 Σύνθεση και χαρακτηρισμός της δευτεριωμένης οκτανάλης, οκτανόλης και όκτυλο βρωμιδίου	95
6.4 Ρετροσυνθετικές πορείες για τη σύνθεση δευτεριωμένων ακόρεστων λιπαρών οξέων	97
6.5 Σύνθεση δευτεριωμένων ακόρεστων λιπαρών οξέων	98
6.6 Υπολογισμός ποσοστού δευτερίωσης με χρήση φασματομετρίας μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας.....	100
6.7 Ρετροσυνθετική πορεία για τη σύνθεση 9-δευτεριωμένου παλμιτικού και στεατικού οξέος.....	102
6.8 Σύνθεση δευτεριωμένων κορεσμένων λιπαρών οξέων	103
6.9 Χαρακτηριστικά φάσματα NMR και υπολογισμός της δευτερίωσης	105
6.10 Σύνθεση του 3-υδροξυ δεκαεξανοϊκού 3- <i>d</i> οξέος	111
6.11 Υπολογισμός της δευτερίωσης της ένωσης 73 με φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας (HRMS).....	113
7. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7	115
7.1 Γενικό πειραματικό μέρος	115
7.2 Πειραματικές πορείες και χαρακτηρισμοί ενώσεων	116
Γενική πορεία οξείδωσης αλδεϋδών με χρήση PCC	116
ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ - ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ	149
ΑΝΑΦΟΡΕΣ	151

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1. Χαρακτηριστικά παραδείγματα ω-3 και ω-6 λιπαρών οξέων.	27
Σχήμα 2. Συνήθη λιπαρά οξέα, πηγές και η δράση τους σε υποδοχείς.....	28
Σχήμα 3 Φυσιολογικές λειτουργίες του υποδοχέα FFA4.....	29
Σχήμα 4. Οι δύο μορφές του υποδοχέα FFA4 και η δράση τους.	30
Σχήμα 5. Χημική δομή των FAHFAs και η δράση τους.	32
Σχήμα 6. Μερικά υδρόξυ λιπαρά οξέα και η δραστηκότητα τους στους υποδοχείς FFA1 και FFA4. ¹⁸	33
Σχήμα 7. Δραστηκότητα των υποδοχέων FFA1, FFA4 και GPR84.....	34
Σχήμα 8. Διάφοροι GPCRs και η δράση τους	35
Σχήμα 9. Απεικόνιση της δομής του λιπιδίου A της E.Coli.....	37
Σχήμα 10. Αρχικά βήματα της βιοσύνθεσης του λιπιδίου A.	38
Σχήμα 11. Σύνθεση 3-υδρόξυ οξέων με χρήση οξέος Meldrum.....	39
Σχήμα 12. Σύνθεση 3-υδρόξυ οξέων από οξικό βενζυλεστέρα και αλδεΰδη. .	40
Σχήμα 13. Σύνθεση εναντιομερικά καθαρών 3-υδρόξυ οξέων.	40
Σχήμα 14. Σύνθεση 3-υδρόξυ οξέων μέσω αντίδρασης Nef.	41
Σχήμα 15. Συνθετική πορεία 3-υδρόξυ οξέων.....	41
Σχήμα 16. Σύνθεση του 3-υδρόξυ δεκαοκτανοϊκού οξέος.....	42
Σχήμα 17. Συνθετική πορεία για 3-υδρόξυ οξέων	42
Σχήμα 18. Σύνθεση του 3-υδρόξυ λαουρικού οξέος.....	43
Σχήμα 19. Σύνθεση του 3-υδρόξυ οκτανοϊκού οξέος.	44
Σχήμα 20. Σύνθεση 3-υδρόξυ οξέων από αλδεΰδες και βρωμοεστέρες.....	44
Σχήμα 21. Συνθέσεις δευτεριωμένων λιπαρών οξέων από άλκυλο μηλονικά οξέα.	48
Σχήμα 22. Συνθέσεις δευτεριωμένων λιπαρών οξέων με αντικατάσταση χλωριδίων.	49

Σχήμα 23. Συνθέσεις δευτεριωμένων οξέων με χρήση δευτεριωμένων αναγωγικών.	50
Σχήμα 24. Συνθέσεις δευτεριωμένων λιπαρών οξέων από μικρά δευτεριωμένα μόρια.....	51
Σχήμα 25. Σύνθεση δευτεριωμένων λιπαρών οξέων από ακόρεστα λιπαρά οξέα.	53
Σχήμα 26. Σύνθεση του 11- d_2 -ελαϊκού οξέος.....	54
Σχήμα 27. Σύνθεση του 11- d_2 -λινελαϊκού οξέος.....	54
Σχήμα 28. Μια βασική μέθοδος της λειτουργικότητας του δεσμού C-H για τον σχηματισμό δεσμών C-D/ T ή C-X (C, N, O).....	57
Σχήμα 29. Διάφορες μέθοδοι ανταλλαγής ισοτόπων υδρογόνου.	59
Σχήμα 30. Ρετροσυνθετική πορεία σύνθεσης 3-υδρόξυ λιπαρών οξέων.	65
Σχήμα 31. Γενική μέθοδος σύνθεσης των 3-υδρόξυ οξέων.....	66
Σχήμα 32. Δομές ηλεκτρονιόφιλων αντιδραστηρίων χλωρίωσης.	67
Σχήμα 33. Σχηματισμός εποξειδίου από την α-χλώρο αλκοόλη.....	68
Σχήμα 34. Μηχανισμός της οζονόλυσης.	68
Σχήμα 35. Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 11 σε CDCl_3 (200 MHz).	69
Σχήμα 36. Φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης 11 σε CDCl_3 (200 MHz).	70
Σχήμα 37. Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 15 σε CDCl_3 (200 MHz).	71
Σχήμα 38. Φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης 15 σε CDCl_3 (200 MHz).....	72
Σχήμα 39. Φάσμα ^1H NMR του 3-υδρόξυ δεκαεξανοϊκού οξέος (19) σε CDCl_3 (200 MHz).	73
Σχήμα 40. Φάσμα ^{13}C NMR του 3-υδρόξυ δεκαεξανοϊκού οξέος (19) σε CDCl_3 (200 MHz).	74
Σχήμα 41. Ρετροσυνθετική πορεία σύνθεσης 4-υδρόξυ οξέων.	74
Σχήμα 42. Γενική μέθοδος παρασκευής 4-υδρόξυ λιπαρών οξέων και λακτονών	75
Σχήμα 43. ^1H NMR της λακτόνης 32 σε CDCl_3 (200 MHz).....	76

Σχήμα 44. Φάσμα ^1H NMR του μείγματος 32 και 34 σε CDCl_3 (200 MHz).....	77
Σχήμα 45. Πορεία σύνθεσης της ένωσης 40.	78
Σχήμα 46. Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 39 σε CDCl_3 (200 MHz).....	79
Σχήμα 47. Φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης 39 σε CDCl_3 (200 MHz).....	80
Σχήμα 48. Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 40 σε CDCl_3 (200 MHz).....	81
Σχήμα 49. Φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης 40 σε CDCl_3 (200 MHz).....	82
Σχήμα 50. Φάσμα MS/MS του μοριακού ιόντος του 3HPA.	83
Σχήμα 51. Σχήμα 51. Θραυσματοποίηση του 3HPA.	83
Σχήμα 52. Φάσμα MS/MS του μοριακού ιόντος του 16HPA.	84
Σχήμα 53. Θραυσματοποίηση του 16HPA.	84
Σχήμα 54. Φάσμα MS/MS του μοριακού ιόντος του 2HPA.	85
Σχήμα 55. Θραυσματοποίηση του 2HPA.	85
Σχήμα 56. Χρωματογράφημα εξαγόμενου ιόντος HRMS του ρακεμικού 3-υδρόξυ δεκαεξανοϊκού οξέος.	86
Σχήμα 57. Χρωματογράφημα εξαγόμενου ιόντος HRMS του χειρόμορφου 3-υδρόξυ δεκαεξανοϊκού οξέος.	87
Σχήμα 58. Χρωματογράφημα εξαγόμενου ιόντος HRMS του ρακεμικού 3-υδρόξυ δωδεκανοϊκού οξέος.....	88
Σχήμα 59. Χρωματογράφημα εξαγόμενου ιόντος HRMS του χειρόμορφου 3-υδρόξυ δωδεκανοϊκού οξέος.....	88
Σχήμα 60. Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 41 σε CDCl_3 έπειτα από έναν κύκλο δευτερίωσης.....	92
Σχήμα 61. Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 41 σε CDCl_3 έπειτα από δυο κύκλους δευτερίωσης.....	93
Σχήμα 62. Μηχανισμός της ανταλλαγής υδρογόνων-δευτερίων.	95
Σχήμα 63. Πορεία σύνθεσης δευτεριωμένης οκτανάλης, οκτανόλης και όκτυλο βρωμιδίου.	95
Σχήμα 64. Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 44 σε CDCl_3	96

Σχήμα 65. Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 46 σε CDCl_3	97
Σχήμα 66. Ρετροσυνθετική πορεία για τη σύνθεση του 2- d_2 -ελαϊκού οξέος. ..	98
Σχήμα 67. Ρετροσυνθετική πορεία για τη σύνθεση του 2- d_2 -λινελαϊκού οξέος.	98
Σχήμα 68. Σύνθεση του 2- d_2 -ελαϊκού οξέος.....	99
Σχήμα 69. Σύνθεση του 2- d_2 -λινελαϊκού οξέος.....	99
Σχήμα 70. Χρωματογραφήματα εξαγόμενου ιόντος HRMS του ελαϊκού οξέος.	101
Σχήμα 71. Χρωματογραφήματα εξαγόμενου ιόντος HRMS του λινελαϊκού οξέος.....	102
Σχήμα 72. Ρετροσυνθετική πορεία για τη σύνθεση δευτεριωμένων κορεσμένων λιπαρών οξέων σε 9-θέση.....	103
Σχήμα 73. Συνθετική πορεία των ενώσεων 66 και 67.....	104
Σχήμα 74. Μηχανισμός της αντίδρασης Wittig.	105
Σχήμα 75. Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 62 σε CDCl_3 (200 MHz).....	106
Σχήμα 76. Φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης 62 σε CDCl_3 (200 MHz).....	107
Σχήμα 77. Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 66 σε CDCl_3 (200 MHz).....	108
Σχήμα 78. Φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης 66 σε CDCl_3 (200 MHz).....	108
Σχήμα 79. Χρωματογραφήματα εξαγόμενου ιόντος HRMS του δευτεριωμένου στεατικού οξέος.....	109
Σχήμα 80.. Χρωματογραφήματα εξαγόμενου ιόντος HRMS του δευτεριωμένου παλμιτικού οξέος.....	110
Σχήμα 81. Ρετροσυνθετική πορεία για τη σύνθεση του 3-υδρόξυ δεκαεξανοϊκού 3- d οξέος.....	112
Σχήμα 82. Σύνθεση του 3-υδρόξυ δεκαεξανοϊκού 3- d οξέος.....	112
Σχήμα 83. Χρωματογραφήματα εξαγόμενου ιόντος HRMS του 3-υδρόξυ δεκαοκτανοϊκού 3- d οξέος.....	113

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1. Σημεία τήξεως κάποιων κορεσμένων λιπαρών οξέων.	22
Πίνακας 2. Διάφορες συνθήκες δευτερίωσης.	94

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Πανεπιστημίου Αθηνών κατά την περίοδο Νοεμβρίου 2016 - Ιουνίου 2018, υπό την επίβλεψη του Καθηγητή Γεωργίου Κόκοτου.

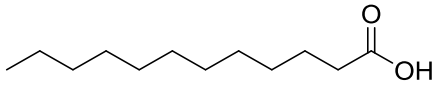
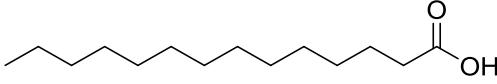
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

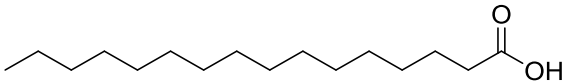
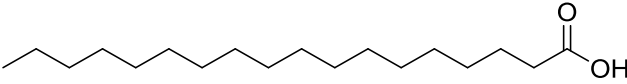
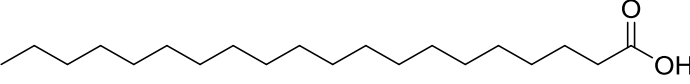
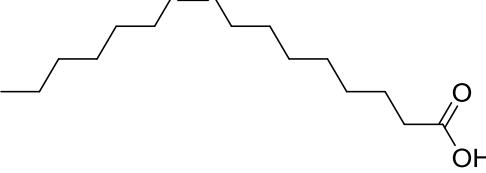
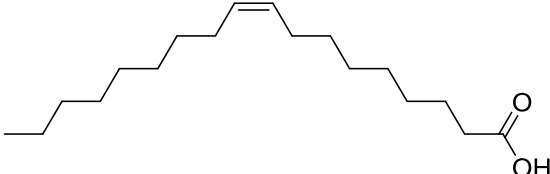
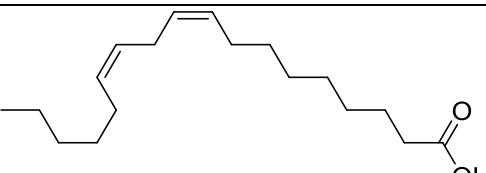
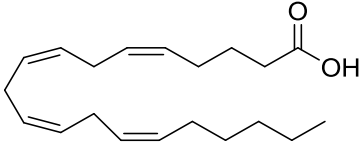
ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ

1.1 Εισαγωγή στα λιπαρά οξέα

Τα λιπαρά οξέα είναι αλειφατικά μονοκαρβοξυλικά οξέα με μακριά ανθρακική αλυσίδα. Λόγω του μηχανισμού βιοσύνθεσής τους έχουν γενικά άρτιο αριθμό ατόμων άνθρακα. Υπάρχουν δύο ειδών λιπαρών οξέα, τα ακόρεστα και τα κορεσμένα. Η διαφορά των ακόρεστων από τα κορεσμένα είναι η παρουσία τουλάχιστον ενός διπλού δεσμού. Αν διαθέτουν έναν μόνο διπλό δεσμό ονομάζονται μονοακόρεστα (MUFAs), ενώ αν διαθέτουν δύο ή περισσότερους διπλούς ή τριπλούς δεσμούς ονομάζονται πολυακόρεστα (PUFAs). Τα λιπαρά οξέα βρίσκονται είτε σε υγρή, είτε σε στερεή κατάσταση, ανάλογα με τις κλιματολογικές συνθήκες. Τα ακόρεστα λόγω της παρουσίας διπλών δεσμών είναι υγρά σε θερμοκρασία δωματίου.

Συγκρίνοντας ένα ακόρεστο και ένα κορεσμένο λιπαρό οξύ με την ίδια ανθρακική αλυσίδα ως προς την διάταξή τους στον χώρο διαπιστώθηκαν σημαντικές διαφορές. Βρέθηκε λοιπόν ότι, στη διαμόρφωση με την χαμηλότερη ενέργεια το στεατικό οξύ είναι γραμμικό, ενώ το ελαϊκό οξύ παρουσιάζει μια κάμψη που δεν του επιτρέπει να υιοθετήσει γραμμική διαμόρφωση. Η παρουσία ή όχι ενός σημείου καμπής επηρεάζει άμεσα τα σημεία τήξεως των λιπαρών οξέων. Στον πίνακα 1 που ακολουθεί δίνονται διάφορα σημεία τήξεως ορισμένων ακόρεστων και κορεσμένων λιπαρών οξέων.

Δομή και όνομα	Αριθμός ατόμων C	Αριθμός δ.δ C=C	Σημείο τήξης (°C)
 Λαουρικό οξύ	12	0	43
 Μυριστικό οξύ	14	0	54

 Παλμιτικό οξύ	16	0	63
 Στεατικό οξύ	18	0	69
 Αραχιδονικό οξύ	20	0	77
 Παλμιτελαϊκό οξύ	16	1	0
 Ελαϊκό οξύ	18	1	13
 Λινελαϊκό οξύ	18	2	-5
 Αραχιδονικό οξύ	20	4	-50

Πίνακας 1. Σημεία τήξεως κάποιων κορεσμένων λιπαρών οξέων.

Από τα δεδομένα του παραπάνω πίνακα παρατηρούμε ότι, για τα κορεσμένα λιπαρά οξέα το σημείο τήξεως αυξάνεται με την αύξηση της ανθρακικής αλυσίδας, άρα και του μοριακού βάρους. Όσον αφορά τα ακόρεστα λιπαρά οξέα, η παρουσία ενός *cis* διπλού δεσμού ελαττώνει το σημείο τήξεως.

Τα λιπαρά οξέα με εστεροποίηση μετατρέπονται σε τριγλυκερίδια και αποτελούν συστατικό των αποταμιευτικών λιπιδίων ή των λιπιδίων των μεμβρανών. Ο γενικός τύπος των κορεσμένων λιπαρών οξέων είναι $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$, όπου n είναι ακέραιος αριθμός μεταξύ 2 και 26. Τα ακόρεστα λιπαρά οξέα, όπως είναι το ελαϊκό οξύ που έχει 18 άτομα άνθρακα, περιλαμβάνουν τουλάχιστον ένα διπλό δεσμό ανάμεσα σε δύο άτομα άνθρακα. Οι διπλοί δεσμοί σχεδόν σε όλα τα ακόρεστα λιπαρά οξέα που απαντώνται στη φύση έχουν *cis*-γεωμετρία. Τόσο η θέση, όσο και η γεωμετρία των διπλών δεσμών καθορίζονται από τα ένζυμα που καταλύουν τη βιοσύνθεση των ακόρεστων λιπαρών οξέων.

Η βιοσύνθεση των λιπαρών οξέων στους ζωικούς οργανισμούς γίνεται στο κυτταρόπλασμα, ενώ στους φυτικούς γίνεται στους χλωροπλάστες των φύλλων ή στα προπλαστίδια των ριζών και των σπερμάτων. Τα λίπη και τα έλαια συντίθενται από τη περίσσεια ακετυλοσυνενζύμου Α που προέρχεται από την αποδόμηση των υδατανθράκων. Τα κορεσμένα λιπαρά συντίθενται από την επαναλαμβανόμενη προσθήκη μονάδων δύο ατόμων άνθρακα, που προέρχονται από το ακετυλο-CoA. Ο δότης δύο ατόμων άνθρακα είναι το μηλονυλο-CoA, το οποίο προέρχεται από την καρβοξυλίωση του ακέτυλο-CoA, η οποία γίνεται από την αυστηρά ελεγχόμενη καρβοξυλάση. Στο σχηματισμό των λιπαρών οξέων συμμετέχει ένα πολυενζυμικό σύμπλεγμα που λέγεται συνθάση των λιπαρών οξέων. Καθ' όλη τη διάρκεια της βιοσύνθεσης, η επιμηκυνόμενη αλυσίδα του λιπαρού οξέως παραμένει συνδεδεμένη με μια μικρή πρωτεΐνη, τον πρωτεϊνικό ακυλομεταφορέα (ACP). Η αντίδραση σύνθεσης *de novo* των λιπαρών οξέων αρχίζει με την επιμήκυνση της αλυσίδας με δύο άτομα άνθρακα που παρέχει το μηλονυλο-ACP. Η αντίδραση συμπύκνωσης για τη δημιουργία ενός νέου δεσμού άνθρακα-άνθρακα καταλύεται από το ένζυμο συμπύκνωσης. Τα τελικά προϊόντα της σύνθεσης είναι συνήθως ένα μείγμα παλμιτικού και στεατικού οξέος. Με αυτό τον τρόπο συντίθενται λιπαρά οξέα μέχρι και 18 ατομών άνθρακα. Η σύνθεση μεγαλύτερων λιπιδικών αλυσίδων γίνεται στο ενδοπλασματικό δίκτυο. Τα έλαια παράγονται από τα κορεσμένα λιπαρά οξέα παλμιτικό και στεατικό με τη δράση των δεσατουρασών. Για παράδειγμα, το στεάτυλο-ACP που έχει συντεθεί, με τη δράση της Δ9-δεσατουράσης,

μετατρέπεται σε ελάυλο-ACP και στη συνέχεια υδρολύεται σε ελαϊκό οξύ. Το ελαϊκό οξύ μπορεί στη συνέχεια με τη δράση ενός δεύτερου ενζύμου, της Δ12-δεσατουράσης, να μετατραπεί σε λινελαϊκό οξύ. Αυτή η μετατροπή προσφέρει στη κυτταρική μεμβράνη μεγαλύτερη ρευστότητα. Το λινολενικό οξύ παράγεται από τη δράση μιας Δ15-δεσατουράσης. Το λινελαϊκό οξύ είναι απαραίτητο για τη σύνθεση του αραχιδονικού οξέος, του πρόδρομου μορίου από το οποίο συντίθεται μια ομάδα μορίων γνωστά ως εικοσανοειδή. Τα εικοσανοειδή περιλαμβάνουν τρεις ομάδες δομικά συγγενών ενώσεων: τις προσταγλανδίνες, τα λευκοτριένια και τις θρομβοξάνες. Οι δεσατουράσες δρουν σε αερόβιες συνθήκες στα φυτά. Αντίθετα, εκείνες της *E. coli* χρησιμοποιούν αναερόβια οδό. Υπάρχουν λιπαρά οξέα με μεγαλύτερες ανθρακικές αλυσίδες από αυτές των οξέων που παράγονται από την *de novo* σύνθεση. Τα ένζυμα που καταλύουν τις αντιδράσεις αυτές λέγονται επιμηκυνάσες (elongases), οι οποίες προσθέτουν δύο μονάδες άνθρακα από το μηλονυλο-CoA στην πρόδρομη ένωση. Οι επιμηκυνάσες των λιπαρών οξέων βρίσκονται στο κυτταρόπλασμα και είναι μεμβρανικές και η διαδικασία της επιμήκυνσης των λιπαρών οξέων πραγματοποιείται στο ενδοπλασματικό δίκτυο.¹

1.2 Λιπαρά οξέα στην καθημερινότητα

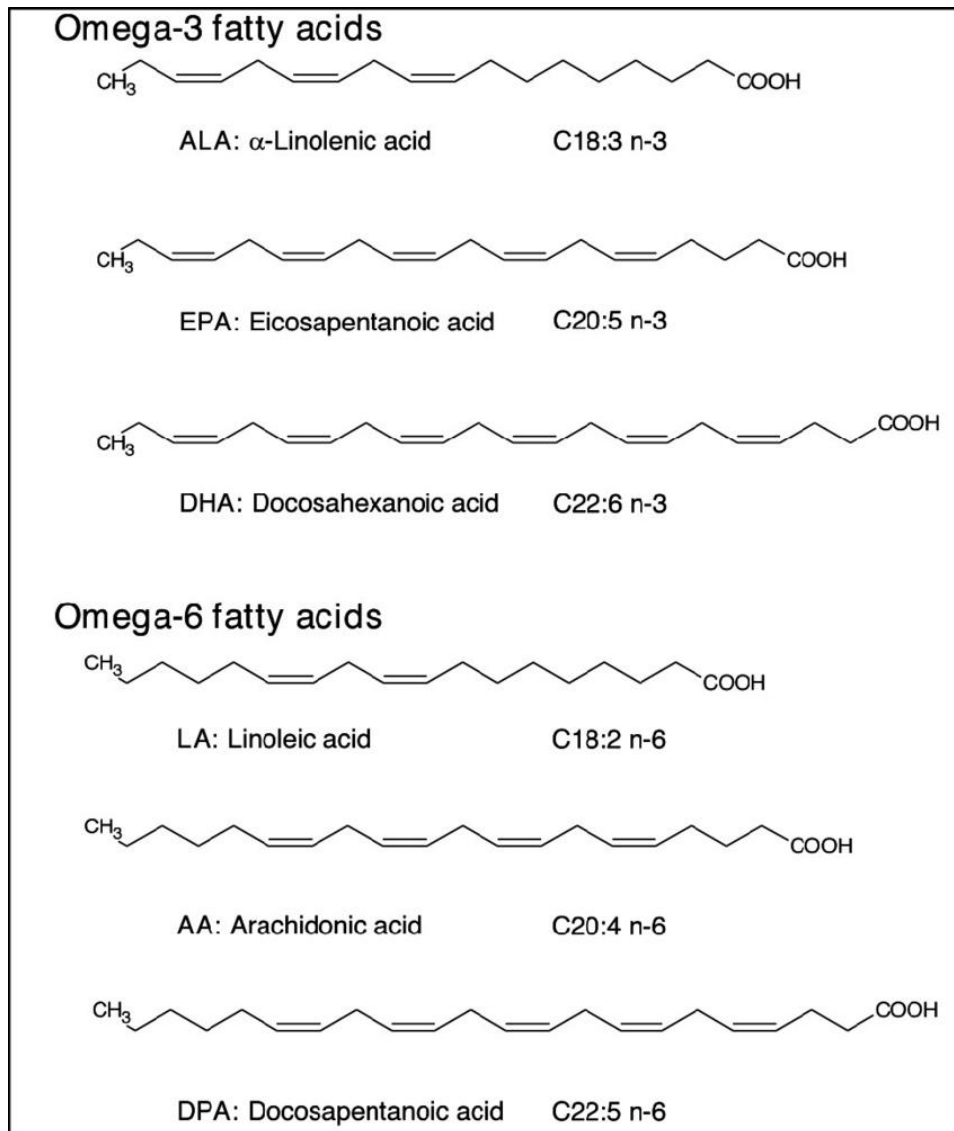
Το λίπος είναι το συστατικό των μακροθρεπτικών συστατικών με τις περισσότερες θερμίδες και αυτό που παραδοσιακά έχει λάβει την ευθύνη για την παχυσαρκία και τις επιπλοκές της, συμπεριλαμβανομένου του διαβήτη τύπου 2 (T2D) και των καρδιαγγειακών παθήσεων. Τον τελευταίο καιρό, το ενδιαφέρον των ερευνών έχει μετατοπιστεί στον έλεγχο της πρόσληψης υδατανθράκων και γίνεται όλο και πιο προφανές ότι εκτός από το ότι χρησιμεύουν ως πηγή ενέργειας, τα συστατικά των διαιτητικών λιπών μπορούν επίσης να ρυθμίσουν την όρεξη και το μεταβολισμό. Ο τύπος του λίπους που λαμβάνεται είναι μεγάλης σημασίας και γι' αυτό οι διακρίσεις πάνε πέρα από τις γενικές διαιρέσεις των κορεσμένων, μονοακόρεστων, ωμέγα-3, ωμέγα-6 και *trans*-λιπαρών, και την ταυτότητα και τη σύνθεση

ξεχωριστών λιπαρών οξέων.^{2,3} Συγκεκριμένα λιπαρά οξέα δρουν ως πρόδρομες ενώσεις ισχυρών αγγελιοφόρων μορίων και δρουν επίσης άμεσα σε υποδοχείς που συχνά λειτουργούν ως αισθητήρες θρεπτικών ουσιών.

Τα λιπαρά οξέα, κυρίως σε εστεροποιημένη μορφή, αποτελούν το μεγαλύτερο μέρος των λιπιδίων και εξυπηρετούν κρίσιμους ρόλους ως δομικά στοιχεία σε μεμβράνες κυττάρων και οργανιδίων ως φωσφολιπίδια ή ως αποθέματα ενέργειας στον λιπώδη ιστό με τη μορφή τριακυλογλυκερολών (TAGs). Συνιστάται το διαιτητικό λίπος να περιλαμβάνει το 20-35% της ενεργειακής πρόσληψης.² Ωστόσο, ο τύπος λίπους που λαμβάνεται είναι μεγάλης σημασίας. Τα λιπαρά οξέα μπορούν να ταξινομηθούν σύμφωνα με το μήκος της αλυσίδας σε λιπαρά οξέα μικρής αλυσίδας (SCFA) που περιέχουν 2-6 άτομα άνθρακα, λιπαρά οξέα μεσαίας αλυσίδας (MCFA) με 7-12 άτομα άνθρακα, λιπαρά οξέα μακρίας αλυσίδας (LCFAs) με 22 άτομα άνθρακα και λιπαρά οξέα πολύ μακρίας αλυσίδας με περισσότερα από 22 άτομα άνθρακα. Διακρίνονται επίσης σε κορεσμένα (SFAs), μονοακόρεστα (MUFAs) που περιέχουν έναν διπλό δεσμό και πολυακόρεστα (PUFAs) που περιέχουν αρκετούς διπλούς δεσμούς που διακόπτονται από μεθυλενομάδες. Τα PUFAs χωρίζονται και σε 2 υποκατηγορίες, τα ωμέγα-6 (ω-6) και ωμέγα-3 (ω-3), ανάλογα με την απόσταση του πρώτου διπλού δεσμού από το άκρο του μορίου. Τα *trans*-λιπαρά οξέα πολλές φορές θεωρούνται ως ξεχωριστή ομάδα ενώσεων, λόγω των γενικά επιζήμιων επιπτώσεων στην υγεία που σχετίζονται με τις ομάδες της κατηγορίας αυτής.^{3,4} Συνιστάται ότι, η πρόσληψη λίπους πρέπει να έχει κυρίως τη μορφή ακόρεστων λιπών, ιδιαίτερα των PUFAs, και να ελαχιστοποιείται η πρόσληψη των SFAs και να αποφεύγονται τα TFAs.² Το ανθρώπινο σώμα *de novo* συνθέτει τα περισσότερα είδη απαραίτητων λιπαρών οξέων από το ακετυλο-συνένζυμο Α, υπονοώντας ότι οποιοδήποτε μακροθρεπτικό συστατικό μπορεί να μετατραπεί σε λιπαρό οξύ. Ουσιαστικά, το ακετυλο-συνένζυμο Α καρβοξυλιώνεται για να σχηματίσει τον μηλονικό εστέρα, ο οποίος μεταφέρεται σε μια πρωτεΐνη που μεταφέρει ακύλο-ομάδες (ACP). Δύο μονάδες άνθρακα από μηλονυλο-ACP προστίθενται στην αναπτυσσόμενη αλυσίδα λιπαρών οξέων, που εκκινείται από ακετυλο-ACP κατά τη διεργασία ακυλίωσης, αποκαρβοξυλίωσης και αναγωγής φωσφορικού δινουκλεοτιδίου αδενίνης νικοτιναμιδίου (NADPH).

Αυτή η διαδικασία λαμβάνει χώρα κυρίως στο ήπαρ σε περιόδους υπερβολικής ενέργειας, οδηγώντας σε σύνθεση και απόθεση λίπους ως TAG. Το στεατικό οξύ (18:0) και το παλμιτικό οξύ (16:0) μπορούν να μετατραπούν με 9-δεσατουράση σε ελαϊκό οξύ (OA, 18:1 n-9) και παλμιτελαϊκό οξύ (16:1 n-7) αντίστοιχα. Η ζύμωση της κυτταρίνης στα μηρυκαστικά παράγει μεγάλες ποσότητες προπιονικού οξέος που μπορεί να αντικαταστήσει τον οξικό εστέρα ως σημείο εκκίνησης της σύνθεσης λιπαρών οξέων, δημιουργώντας λιπαρά οξέα με αλυσίδα περιπτού αριθμού που μπορούν να χρησιμεύσουν ως βιοδείκτες για την πρόσληψη γαλακτοκομικών λιπαρών ουσιών.

Οι δύο σημαντικότερες κατηγορίες PUFAs, τα ω-3 και τα ω-6 λιπαρά οξέα, είναι απαραίτητα για ένα υγιές σώμα αλλά δεν μπορούν να συντεθούν *de novo* στον άνθρωπο και πρέπει να λαμβάνονται απευθείας μέσω της διατροφής ή μέσω άλλων PUFAs. Το λινελαϊκό οξύ (LA, 18:2 ω-6) και το α-λινολενικό οξύ (ALA, 18:3 ω-3) μπορούν να χρησιμεύσουν ως πρόδρομα των άλλων και επομένως είναι γνωστά ως βασικά λιπαρά οξέα παρόλο που η μετατροπή τους σε ορισμένες από τις μεγαλύτερου μήκους ενώσεις δεν είναι αποτελεσματική (Σχήμα 2).⁵ Συχνά, όλα τα ω-3 και ω-6 λιπαρά οξέα αναφέρονται ως απαραίτητα λιπαρά οξέα και οι μακρύτερες συγγενείς ενώσεις τους μπορούν επίσης να χρησιμεύσουν ως πρόδρομες για τις μικρότερες ενώσεις κατά την β-οξειδωση.



Σχήμα 1. Χαρακτηριστικά παραδείγματα ω-3 και ω-6 λιπαρών οξέων.

Αρκετά λιπαρά οξέα χρησιμεύουν ως πρόδρομες ενώσεις διαφόρων υποστρωμάτων που συντίθενται από τα κύτταρα και σχετίζονται με την εξωκυτταρική επικοινωνία μεταξύ των κυττάρων. Το αραχιδονικό οξύ (AA, 20:4 ω-6) απελευθερώνεται από τις κυτταρικές μεμβράνες και είναι υπόστρωμα που συνδέεται με την έναρξη των φυσιολογικών διαδικασιών του οργανισμού που καταλύονται από τα ένζυμα της κυκλοοξυγενάσης (COX) για να σχηματίσουν τα προστανοειδή, των λιποξυγενασών για τον σχηματισμό λευκοτριενίων και λιποξινών και του κυτοχρώματος P450 για την σύνθεση των εποξυεικοσατριενοϊκού οξέος και του διυδρόξυ εικοσατριενοϊκού οξέος με ξεχωριστά μέλη από κάθε κατηγορία ενώσεων να δρουν συχνά σε συγκεκριμένους υποδοχείς.^{6,7,8} Τα ω-3 λιπαρά οξέα, εικοσαπενταενοϊκό οξύ

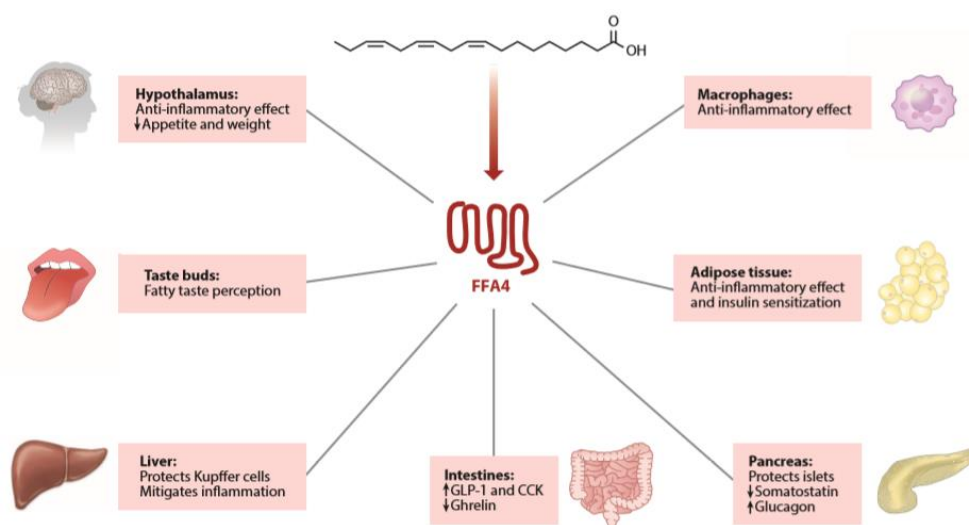
(EPA, 20:5 ω-3) και το εικοσιδυαεξαενοϊκό οξύ (DHA, 22:6 ω-3) δρουν ως υποστρώματα για μια σειρά παρόμοιων διαδικασιών που οδηγούν στην δημιουργία ρεσολβινών, προτεκτινών και μαρεσινών που είναι επίσης ισχυροί ενεργοποιητές ειδικών υποδοχέων.^{9,10} Αυτή η κατηγορία ενώσεων είναι ιδιαίτερα σημαντική για την ρύθμιση της φλεγμονής. Γενικά, το ω-6-παράγωγο αραχιδονικό οξύ δημιουργεί τα προφλεγμονώδη ενδιάμεσα, ενώ τα ω-3-παράγωγα EPA και DHA παράγουν μόρια με δράση που οδηγεί στην αντιμετώπιση της φλεγμονής.⁹

Source	Structure	Name	EC ₅₀ (μM)		
			FFA4	FFA1	
Coconut oil Palm kernel oil Milk and dairy products	de novo synthesis	10:0 (Capric acid)	>3	13-43	
	FAS	12:0 (Lauric acid)	8	6-23	
	FAS	14:0 (Myristic acid)	4-30	8-30	
	FAS Dairy →	15:0	2	>30	
	FAS Dairy →	16:0 (Palmitic acid)	5-52	5-143	
	FAS Dairy →	17:0 (Margaric acid)	-	-	
	Animal fat Cocoa butter Shea butter	Δ9D	18:0 (Stearic acid)	18	17
		Δ9D	20:0 (Arachidic acid)	-	62
		Δ9D	22:0 (Behenic acid)	-	50
		Diverse plant oils	Δ9D	16:1n-7	3-5
Essential →			18:1n-9 (OA)	12-31	2-123
Essential →			18:2n-6 (LA)	5	2-38
Δ6D			18:3n-6 (GLA)	1-2	5-29
FAS			20:3n-6 (DGLA)	14-15	7-31
Δ5D			20:4n-6 (AA)	12	2-22
Fish oils		Essential →	18:3n-3 (ALA)	0.4-2	2-27
	Δ6D	18:4n-3 (SDA)	1	1-9	
	FAS	20:4n-3 (ETA)	-	-	
	Δ5D	20:5n-3 (EPA)	3-5	2-9	
	FAS	22:5n-3 (DPA)	26	5	
	FAS Δ6D β-ox	22:6n-3 (DHA)	4	1-8	

Σχήμα 2. Συνήθη λιπαρά οξέα, πηγές και η δράση τους σε υποδοχείς.

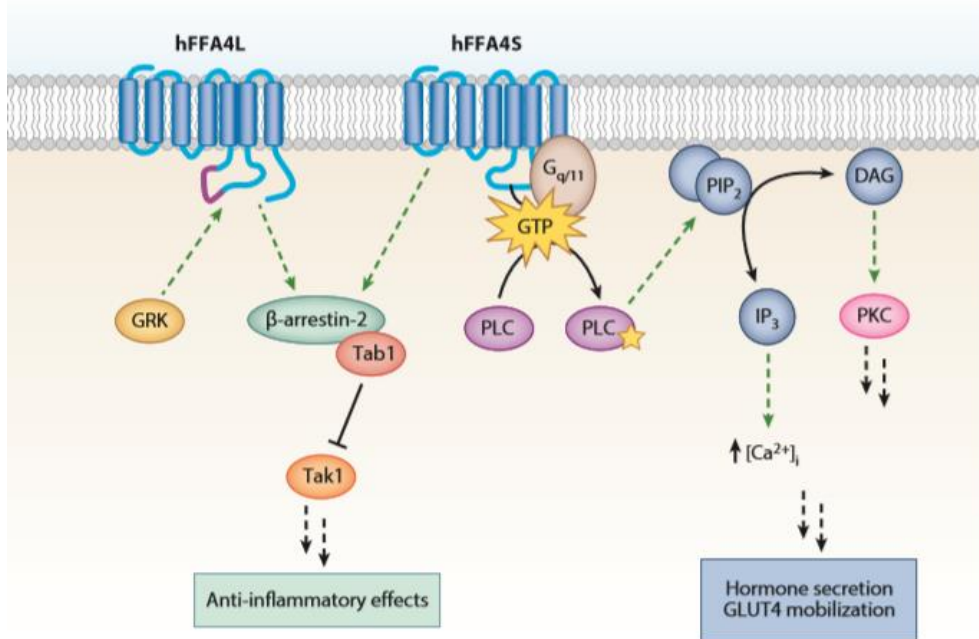
Αναγνωρίζεται όλο και περισσότερο ότι τα συνήθη FFAs δρουν επίσης απευθείας σε στόχους για τη ρύθμιση ποικίλων διαδικασιών. Η ικανότητα των ενδοκυτταρικών FFAs και των μεταβολιτών τους να επηρεάσουν την γονιδιακή έκφραση μέσω της δράσης στους πυρηνικούς υποδοχείς των PPARs, συμπεριλαμβανομένου του καθιερωμένου αντιδιαβητικού στόχου PPARγ, είναι γνωστή.¹¹ Είναι πλέον σαφές ότι τα FFAs δρουν επίσης απευθείας στους υποδοχείς της κυτταρικής επιφάνειας.

Ο υποδοχέας FFA4 έχει συσχετιστεί με μια σειρά φυσιολογικών λειτουργιών και η πλειοψηφία αυτών συνδέει τον υποδοχέα με τις φλεγμονώδεις και μεταβολικές διαταραχές¹² όπως φαίνεται στο παρακάτω σχήμα. Πρόκειται για έναν υποδοχέα που έχει προσελκύσει την προσοχή των ερευνητών ως πιθανό στόχο για τη θεραπεία μεταβολικών διαταραχών, συμπεριλαμβανομένης της παχυσαρκίας, του μεταβολικού συνδρόμου και του διαβήτη τύπου 2 (T2D), καθώς και άλλων ασθενειών που συνδέονται με την παρουσία φλεγμονών και της οστεοπόρωσης.



Σχήμα 3 Φυσιολογικές λειτουργίες του υποδοχέα FFA4.

Ο υποδοχέας FFA4 υπάρχει στον άνθρωπο με δύο παραπλήσιες μορφές την σύντομη (hFFA4S) και την μακρά (hFFA4L) που διακόπτει τη σηματοδότηση της G-πρωτεΐνης, αλλά διατηρεί τη σηματοδότηση της β-αρρεσίνης (Σχήμα 5).



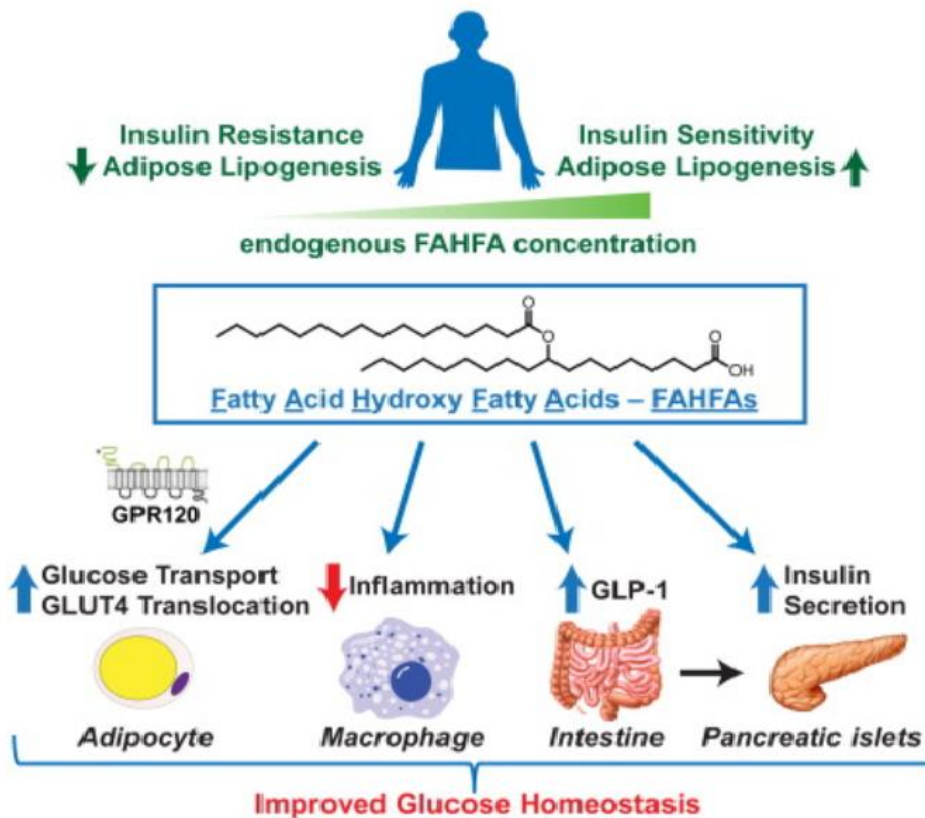
Σχήμα 4. Οι δύο μορφές του υποδοχέα FFA4 και η δράση τους.

1.3 Υδρόξυ λιπαρά οξέα

Τα λιπαρά οξέα είναι θεμελιώδη δομικά συστατικά, λειτουργούν ως αποθήκες ενέργειας αλλά και ως πρόδρομες ενώσεις μιας σειράς σηματοδοτικών μορίων. Έχει αποδειχθεί τα τελευταία χρόνια ότι έχουν ρόλο στην άμεση ρύθμιση του μεταβολισμού και της φλεγμονής μέσω της ενεργοποίησης των υποδοχέων ελεύθερων λιπαρών οξέων (FFAs).¹³ Τα πολυακόρεστα υδρόξυ λιπαρά οξέα περιλαμβάνουν ισχυρούς χημικούς μεσολαβητές όπως υδρόξυ δεκαοκταδιενοϊκά οξέα, λιποξίνες, υδρόξυ εικοσατετραενοϊκά οξέα, υδρόξυ εικοσαπενταενοϊκά οξέα, ρεσολβίνες, προτεκτίνες και μαρεσίνες, που προέρχονται από την οξειδωση του λινελαϊκού οξέος, του αραχιδονικού οξέος και των ω-3 λιπαρών οξέων.^{6,14-16} Τα κορεσμένα υδρόξυ λιπαρά οξέα έχουν μελετηθεί πολύ λιγότερο ως πιθανά μόρια σηματοδότησης, αλλά είναι σχετικά κοινά και εμφανίζονται συχνά στα βιολογικά συστήματα. Για παράδειγμα, τα 2-υδρόξυ λιπαρά οξέα αποτελούν συστατικά των σφιγγολιπιδίων¹⁷, τα 6- και 3-υδρόξυ λιπαρά οξέα είναι πανταχού παρόντα στη σύνθεση λιπαρών οξέων και την β-οξειδωση και

αποτελούν συστατικά φλεγμονωδών λιποπολυσακχαριτών.¹⁸ Το (S)-3-υδρόξυ δεκαεξανοϊκό οξύ είναι ένα συστατικό της παχυτοξίνης t(1), μιας αμυντικής ουσίας που απομονώνεται από τα ψάρια και το (R)-3-υδρόξυ δεκαεξανοϊκό οξύ είναι ένα συστατικό τόσο των εξωκυτταρικών γλυκολιπιδίων και απομονώνεται από την κόκκινη ζύμη *Rhodotorula*, όσο και της *eupassofilin* που βρίσκεται σ' ένα ανώτερο φυτό. Τα 4-υδρόξυ λιπαρά οξέα σχηματίζονται με οξειδωση κορεσμένων λιπαρών οξέων σε μαστικούς αδένες, το 8-υδρόξυ λαουρικό οξύ ενεργοποιεί τα ανοσοποιητικά φυσικά φονικά κύτταρα και 9-υδρόξυ στεατικό οξύ είναι ένας ενδογενώς παραγόμενος αναστολέας αποακετυλάσης ιστόνης που έχει αντικαρκινική δράση.¹⁹ Πρόσφατα, οι εστέρες λιπαρών οξέων των υδρόξυ λιπαρών οξέων (FAHFAs), που αποτελούνται κυρίως από κορεσμένα λιπαρά οξέα, ανακαλύφθηκαν ως νέα κατηγορία ενδογενών λιπιδίων που αναφέρθηκε ότι έχουν αντιφλεγμονώδεις και αντιδιαβητικές ιδιότητες (Σχήμα 6).²⁰

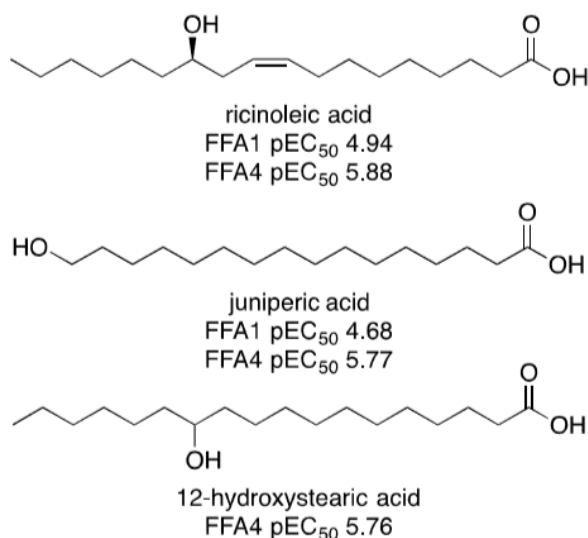
Η αυξημένη λιπογένεση λιπώδους ιστού συνδέεται με την αυξημένη ευαισθησία στην ινσουλίνη. Τα ποντίκια που υπερεκφράζουν τον μεταφορέα γλυκόζης Glut4 στα λιποκύτταρα έχουν αυξημένη λιπογένεση και αυξημένη ανοχή στη γλυκόζη, παρά το γεγονός ότι είναι παχύσαρκα και διαθέτουν αυξημένα επίπεδα λιπαρών οξέων. Η λιπιδομική ανάλυση του λιπώδους ιστού αποκάλυψε την ύπαρξη εστέρων λιπαρών οξέων συνδεδεμένων με υδρόξυ λιπαρά οξέα (FAHFAs) που ήταν αυξημένα από 16 έως 18 φορές σε αυτούς τους ποντικούς. Τα ισομερή FAHFAs διαφέρουν ως προς τη θέση του εστέρα που θα ενώθει με το υδρόξυ λιπαρό οξύ (π.χ., 9-υδρόξυ στεατικό οξύ παλμιτικού οξέος, 9-PAHSA). Τα PAHSAs συντίθενται *in vivo* και ρυθμίζονται με νηστεία και με διατροφή υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά. Τα επίπεδα PAHSAs συσχετίζονται σε μεγάλο βαθμό με την ευαισθησία στην ινσουλίνη και μειώνονται στον λιπώδη ιστό και στον ορό ανθρώπων ανθεκτικών στην ινσουλίνη. Η χορήγηση PAHSAs σε ποντίκια μειώνει τη γλυκαιμία στο περιβάλλον και βελτιώνει την ανοχή στη γλυκόζη, ενώ διεγείρει την έκκριση της GLP-1 και της ινσουλίνης. Τα PAHSAs μειώνουν επίσης τη φλεγμονή του λιπώδους ιστού. Στα λιποκύτταρα, τα PAHSAs σηματοδοτούν μέσω του GPR120 την ενίσχυση της πρόσληψης γλυκόζης που διεγείρεται από την ινσουλίνη. Έτσι, τα FAHFAs είναι ενδογενή λιπίδια με δυνατότητα θεραπείας του διαβήτη τύπου 2.²¹



Σχήμα 5. Χημική δομή των FAHFAs και η δράση τους.

Οι ελεύθεροι υποδοχείς λιπαρών οξέων, ιδιαίτερα οι υποδοχείς FFA1 (GPR40) και FFA4 (GPR120) μεσαίας έως μακριάς αλυσίδας έχουν καθιερωθεί ως ενδιαφέροντες πιθανοί θεραπευτικοί στόχοι για την αντιμετώπιση μεταβολικών ασθενειών.¹³ Ταυτόχρονα, η αναγνώριση ότι τα διαιτητικά λιπαρά οξέα ενεργοποιούν θεραπευτικούς στόχους υποδηλώνει την πιθανή ταυτοποίηση των θεραπευτικών συστατικών των τροφών στις οποίες περιέχονται. Ορισμένα υδρόξυ λιπαρά οξέα, όπως το ρικινελαϊκό οξύ, το γιουνιπερικό οξύ και το 12-υδρόξυ στεατικό οξύ, τείνουν να παρουσιάζουν ισχυρότερη δράση από τα μητρικά λιπαρά οξέα στους υποδοχείς FFA4 και FFA1 (Σχήμα 7).²² Ομοίως, ο Suzuki και οι συνεργάτες του, έχουν αναφέρει ότι ορισμένα υδρόξυ λιπαρά οξέα έχουν υψηλότερη δραστηριότητα από τα αντίστοιχα μητρικά λιπαρά οξέα στον υποδοχέα λιπαρού οξέος μέσης αλυσίδας GPR84.²³ Αυτές οι παρατηρήσεις πυροδότησαν το ενδιαφέρον των ερευνητών για την πιο συστηματική διερεύνηση της δράσης των κορεσμένων υδρόξυ λιπαρών οξέων στους υποδοχείς ελεύθερων λιπαρών οξέων. Για τις

διάφορες μελέτες επιλέχθηκαν τα υδρόξυ λαουρικά οξέα (HLAs), αφού το λαουρικό οξύ έχει βρεθεί ότι είναι δραστικό στους υποδοχείς FFA1, FFA4 και GPR84.^{22,24}



Σχήμα 6. Μερικά υδρόξυ λιπαρά οξέα και η δραστικότητά τους στους υποδοχείς FFA1 και FFA4.¹⁸

Μια ομάδα ερευνητών πραγματοποίησε μια σειρά πειραμάτων για να ελεγχθεί η δράση των διαφόρων HLAs παραγώγων τόσο σε μεσαίας, όσο και σε μακριάς αλυσίδας υποδοχείς λιπαρών οξέων (FFA1, FFA4 και του GPR84). Τα πειράματα αυτά επιβεβαίωσαν ότι, η εισαγωγή μιας ομάδας υδροξυλίου σε κορεσμένα λιπαρά οξέα μπορεί να επιφέρει ισχυρή επίδραση στη δράση τους ως αγωνιστές των υποδοχέων λιπαρών οξέων. Η δράση αυτή των κορεσμένων υδρόξυ λιπαρών οξέων εξαρτάται τόσο από την θέση του υδροξυλίου στην αλυσίδα όσο και την ταυτότητα του εκάστοτε υποδοχέα.

Η δραστικότητα των HLAs στους ανθρώπινους υποδοχείς FFA1 και FFA4 αξιολογήθηκε στην β-αρεστίνη-2 και στον υποδοχέα της G-πρωτεΐνης, GPR84. Το λαουρικό οξύ, που χρησιμοποιήθηκε ως αρχική ένωση για τις μελέτες, είχε EC₅₀ περίπου 10 μM και στους 3 υποδοχείς. Μεγάλο ενδιαφέρον είχαν τα αποτελέσματα των 2-HLA και 6-HLA καθώς εμφάνισαν μερική αγωνιστική δράση στον υποδοχέα FFA1 με ισχύ παρόμοια με το λαουρικό οξύ, ενώ τα υπόλοιπα HLAs ήταν ουσιαστικά ανενεργά. Στον υποδοχέα FFA4, καμία από τις ενώσεις δεν παρουσίασε σημαντική δραστικότητα σε σύγκριση με το λαουρικό οξύ.²⁵

	FFA1 ^a pEC ₅₀	FFA4 ^b pEC ₅₀	GPR84 ^b pEC ₅₀
Lauric acid	4.94 ± 0.13 ^{c,13}	5.12 ± 0.07 ¹³	-- ^d
2-HLA	5.17 ± 0.38	< 4.0	4.89 ± 0.10
3-HLA	< 4.0 ^e	< 4.0	5.28 ± 0.07
4-HLA	< 4.0	< 4.0	4.42 ± 0.12
5-HLA	< 4.0	< 4.0	< 4.0
6-HLA	4.73 ± 0.56	< 4.0	< 4.0
7-HLA	< 4.0	< 4.0	< 4.0
8-HLA	< 4.0	< 4.0	< 4.0
9-HLA	< 4.0	< 4.0	< 4.0
10-HLA	< 4.0	< 4.0	< 4.0
11-HLA	< 4.0	< 4.0	< 4.0
12-HLA	< 4.0	< 4.0	4.68 ± 0.09

^aβ-Arrestin assay. ^b[³⁵S]GTPγS assay. ^cCalcium assay. ^dInactive up to 100 μM in a cAMP assay. Previously reported with pEC₅₀ = 4.98¹⁵ or inactive¹⁴ in a [³⁵S]GTPγS assay. ^e<25% activation at 100 μM. Values are given as means ± SEM based on n ≥ 3.

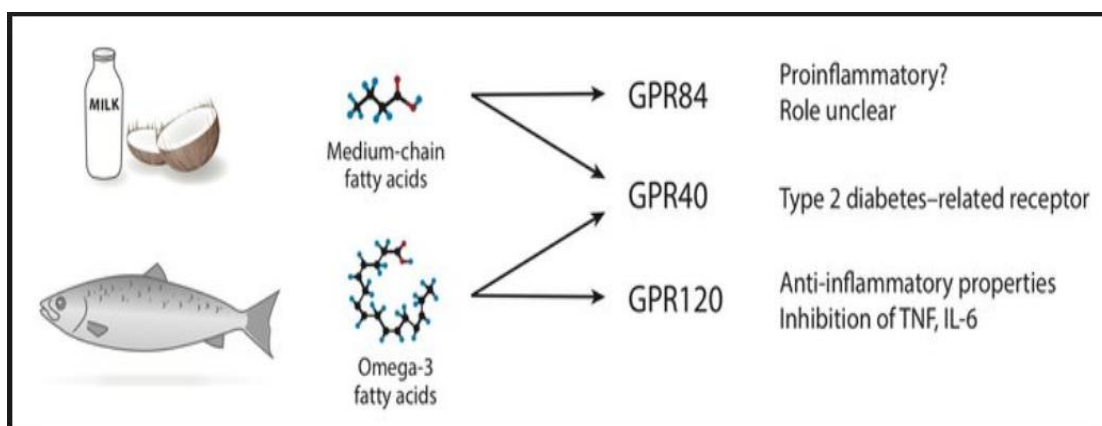
Σχήμα 7. Δραστικότητα των υποδοχέων FFA1, FFA4 και GPR84.

1.4 GPR84, ένας αντιφλεγμονώδης υποδοχέας

Οι υποδοχείς που είναι συζευγμένοι με μια G πρωτεΐνη (GPCRs)²⁶ αποτελούνται από μια οικογένεια υποδοχέων κυτταρικής επιφάνειας που αντιλαμβάνονται διάφορα εξωκυτταρικά ερεθίσματα.²⁷ Οι προσδέτες που συνδέονται με τους υποδοχείς αυτούς και τους ενεργοποιούν περιλαμβάνουν ευαίσθητες στο φως ενώσεις, οσμές, φερομόνες, ορμόνες και νευροδιαβιβαστές και ποικίλουν σε μέγεθος, από μικρά μόρια έως πεπτιδία και μεγάλες πρωτεΐνες. Οι συζευγμένοι με G πρωτεΐνη υποδοχείς εμπλέκονται σε πολλές ασθένειες και αποτελούν επίσης το στόχο του 34% περίπου όλων των σύγχρονων φαρμάκων.

Την τελευταία δεκαετία, έχουν αναφερθεί αρκετοί GPCRs που ενεργοποιούνται από ελεύθερα λιπαρά οξέα (FFAs) και προτείνονται να διαδραματίσουν σημαντικό ρόλο σε διάφορες φυσιολογικές καταστάσεις του οργανισμού. Για παράδειγμα, ο GPR40 είναι ένας υποδοχέας λιπαρών οξέων μέσης (MCFAs) και μακράς αλυσίδας (LCFAs) που ενισχύει την έκκριση ινσουλίνης που διεγείρεται από γλυκόζη από τα παγκρεατικά β-κύτταρα.^{28,29} Ο GPR120, ένας υποδοχέας για MCFAs και LCFAs, είναι υπεύθυνος για την μειωμένη έκκριση της ορμόνης GLP-1 και δρά επίσης σε μακροφάγα και λιποκύτταρα ως μεσολαβητής σε ισχυρά αντιφλεγμονώδη αποτελέσματα, αλλά και ως ευαισθητοποιητής της ινσουλίνης.³⁰ Αναφέρεται ότι η δυσλειτουργία του GPR120 οδηγεί στην παχυσαρκία τόσο στους ποντικούς όσο και στους ανθρώπους.³¹

Ο υποδοχέας GPR84 κλωνοποιήθηκε από μια cDNA βιβλιοθήκη που παρασκευάστηκε από ανθρώπινα λευκά αιμοσφαίρια του αίματος,³² ενώ η ταυτοποίηση ομολόγων του GPR84 δεν ήταν δυνατή. Η έκφρασή του υποδοχέα παρατηρήθηκε κυρίως στα λευκά αιμοσφαίρια του μυελού των οστών, των πνευμόνων και του αίματος.³² Ο GPR84 θεωρείται πλέον μέλος των GPCRs που επηρεάζονται από τα ελεύθερα λιπαρά οξέα και ενεργοποιείται από τα MCFAs με μήκος αλυσίδας 9-14 άτομα άνθρακα και φέρουν μια ομάδα υδρόξυλίου στη θέση 2 ή 3. Τέλος, βρέθηκε ότι ο GPR84 δρα ως προφλεγμονώδης υποδοχέας τόσο *in vitro*, όσο και *in vivo*.



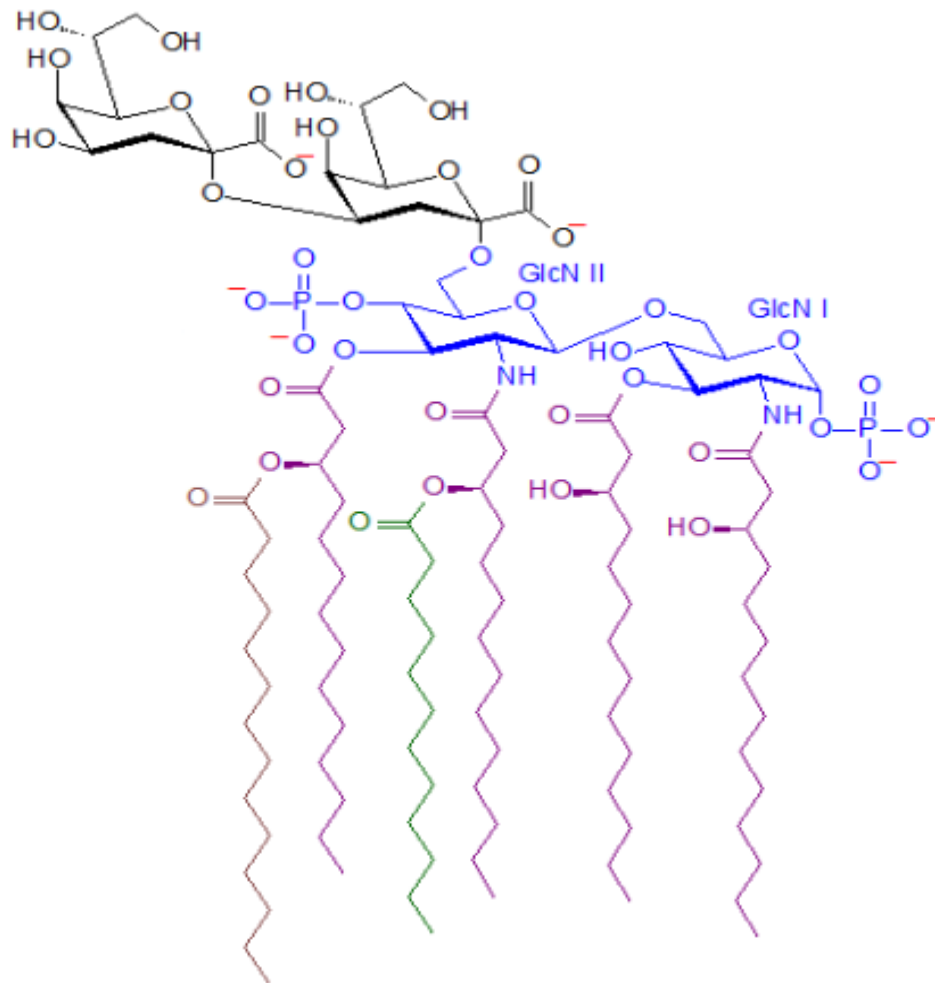
Σχήμα 8. Διάφοροι GPCRs και η δράση τους

1.5 Υδροξυ λιπαρά οξέα και η σχέση με τους λιποπολυσακχαρίτες

Οι λιποπολυσακχαρίτες (LPS), επίσης γνωστοί ως λιπογλυκάνες και ενδοτοξίνες, είναι μεγάλα μόρια που αποτελούνται από ένα λιπιδικό μέρος και έναν πολυσακχαρίτη. Η τοξική δράση των LPS ανακαλύφθηκε για πρώτη φορά και ονομάστηκε "ενδοτοξίνη" από τον Richard Friedrich Johannes Pfeiffer, ο οποίος χαρακτήρισε τα μόρια αυτά ως τοξίνες που απελευθερώνονται από τα βακτήρια στο περιβάλλον και ως ενδοτοξίνες που θεωρούσε ότι διατηρούνται "εντός" του βακτηριακού κυττάρου και απελευθερώνονται μόνο μετά την καταστροφή του βακτηριακού κυτταρικού τοιχώματος.

Αποτελείται από 3 μέρη: το O-αντιγόνο που εκτίθεται στην εξωτερική επιφάνεια του βακτηριακού κυττάρου και, ως εκ τούτου, είναι ένας στόχος για αναγνώριση από αντισώματα, τον πυρήνα που περιέχει πάντα ένα συστατικό ολιγοσακχαρίτη που προσκολλάται απευθείας στο λιπίδιο A, το τρίτο συστατικό της δομής του LPS.

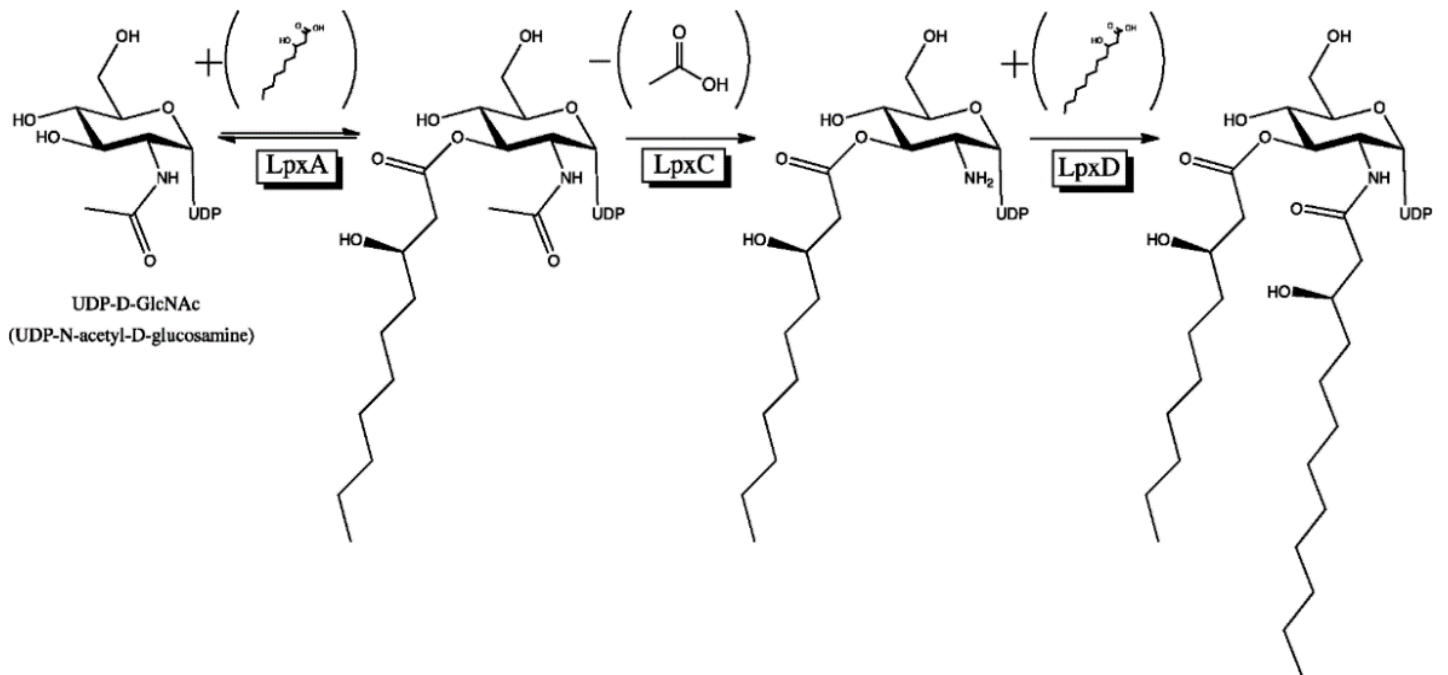
Το λιπίδιο A είναι, υπό κανονικές συνθήκες, ένας φωσφορυλιωμένος δισακχαρίτης γλυκοζαμίνης που φέρει πολλαπλά λιπαρά οξέα. Αυτές οι αλυσίδες υδρόφοβων λιπαρών οξέων αγκυρώνουν το LPS στη βακτηριακή μεμβράνη και το υπόλοιπο μέρος του μορίου προεξέχει από την κυτταρική επιφάνεια. Η περιοχή του λιπιδίου A είναι υπεύθυνη για μεγάλο μέρος της τοξικότητας Gram-αρνητικών βακτηριδίων. Όταν τα βακτηριακά κύτταρα λύονται από το ανοσοποιητικό σύστημα, τα θραύσματα του λιπιδίου A απελευθερώνονται στην κυκλοφορία, προκαλώντας πυρετό, διάρροια και πιθανό θανατηφόρο ενδοτοξικό σοκ (σηπτικό σοκ).



Σχήμα 9. Απεικόνιση της δομής του λιπιδίου A της E.Coli.

Η δομή που ενεργοποιεί καλύτερα το λιπίδιο A πιστεύεται ότι περιέχει 6 αλυσίδες που φέρουν μια άκυλο ομάδα, όπου οι τέσσερις αλυσίδες απ'αυτές είναι προσαρτημένες απευθείας στα σάκχαρα γλυκοζαμίνης και είναι αλυσίδες βήτα υδροξύ ακυλίου συνήθως μήκους μεταξύ 10 και 16 ατόμων άνθρακα. Δύο επιπλέον αλυσίδες συνδέονται συχνά με την β-υδροξυλομάδα. Το λιπίδιο A που εντοπίστηκε στην E. Coli A, ως παράδειγμα, τυπικά έχει συνδεδεμένες με τα σάκχαρα τέσσερις αλυσίδες 14 ατόμων άνθρακα με ένα β-υδροξύλιο. Σε δύο από τις τέσσερις αυτές αλυσίδες το β-υδροξύλιο που διαθέτουν είναι συνδεδεμένο μία αλυσίδα με 14 άτομα άνθρακα και με 12 άτομα αντίστοιχα και φέρουν μια ακυλοομάδα (Σχήμα 10). Είναι λοιπόν εμφανές ότι, τα 3-υδροξύ οξέα αποτελούν βασικό δομικό στοιχείο της δομής του λιπιδίου A και κατ'επέκταση των λιποπολυσακχαριτών,³³ καθώς αποτελούν το σημείο έναρξης της βιοσύνθεσης αυτών των μορίων, με

την μεταφορά τους στην πρωτεΐνη που φέρει μια άκυλο ομάδα στην θέση O-3 της UDP-N-ακετυλο-D-γλυκοζαμίνη μέσω του ενζύμου Lpx A (σχήμα 11).



Σχήμα 10. Αρχικά βήματα της βιοσύνθεσης του λιπιδίου A.

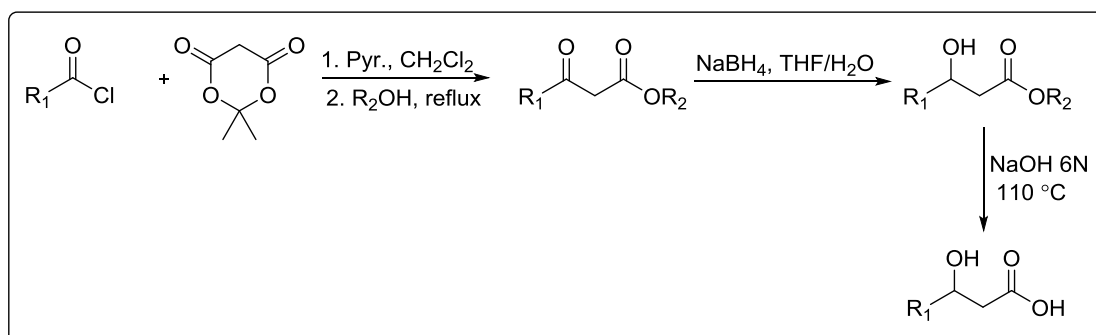
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΜΕΘΟΔΟΙ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΤΩΝ 3-ΥΔΡΟΞΥ ΟΞΕΩΝ

Κατά το παρελθόν έχουν αναπτυχθεί διάφορες μέθοδοι για τη σύνθεση 3-υδροξυ οξέων και παραγώγων τους, λόγω της βιολογικής τους σημασίας. Στο παρόν κεφάλαιο συνοψίζονται οι συνθετικές πορείες που αφορούν τα 3-υδροξυ οξέα.

2.1 Σύνθεση 3-υδροξυ οξέων με χρήση του οξέος Meldrum

Πρόκειται για μια γενική συνθετική πορεία αρκετά ευέλικτη που οδηγεί στην παραλαβή των β-κετο εστέρων ξεκινώντας από άκυλο χλωρίδιο και το δραστικό Meldrum οξύ (2,2-διμεθυλο-1,3-διοξαν-4,6-διόνη). Στη συνέχεια ακολουθεί αναγωγή του καρβονυλίου με NaBH_4 και αλκαλική υδρόλυση για να ληφθούν τα 3-υδροξυ οξέα, όπως φαίνεται και στο ακόλουθο σχήμα 11.^{34,35}

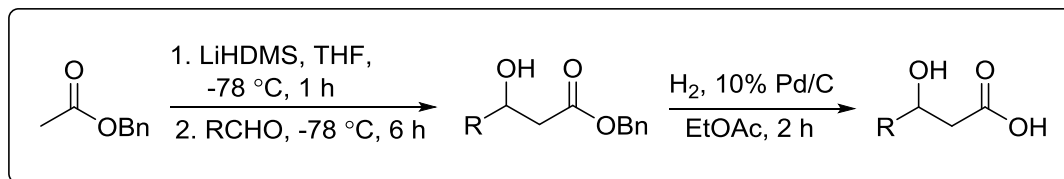


Σχήμα 11. Σύνθεση 3-υδροξυ οξέων με χρήση οξέος Meldrum.

2.2 Σύνθεση των 3-υδροξυ οξέων μέσω αλδολικής συμπύκνωσης

Η μέθοδος αυτή αρχίζει με την κατεργασία του οξικού βενζυλεστέρα με εξαμεθυλοδισιλυλαζίδιο του λιθίου για να σχηματιστεί το ενολικό ιόν, ακολουθούμενη από αλδολική συμπύκνωση με την αντίστοιχη αλδεΐδη προς τον σχηματισμό του 3-υδροξυ βενζυλεστέρα σε υψηλή απόδοση. Η

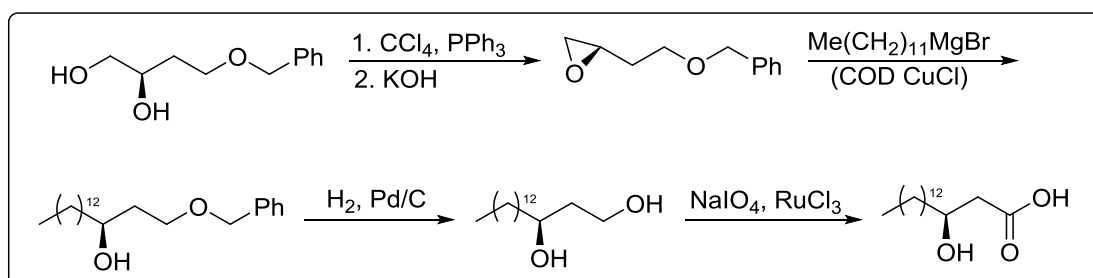
καταλυτική υδρογόνωση του παραπάνω βενζυλεστέρα με 10% παλλάδιο σε άνθρακα έδωσε το 3-υδρόξυ οξύ σε ποσοτική απόδοση (σχήμα 12).³⁶



Σχήμα 12. Σύνθεση 3-υδρόξυ οξέων από οξικό βενζυλεστέρα και αλδεΐδη.

2.3 Σύνθεση του 3-υδρόξυ δεκαεξανοϊκού οξέος μέσω εποξειδίου

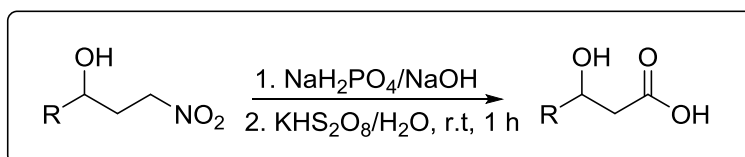
Η ακόλουθη συνθετική πορεία ξεκινά με την μετατροπή της εναντιομερικά καθαρής διόλης σε εποξείδιο, χωρίς να χαθεί η εναντιομερική καθαρότητα, σύμφωνα με τους Liu και Coward.³⁷ Κατεργασία διαλύματος διόλης σε CCl_4 με $\text{PPh}_3/\text{CCl}_4$ οδηγεί σε υδρόξυ χλωρίδιο, το οποίο έπειτα από κατεργασία με KOH μετατρέπεται στο αντίστοιχο εποξείδιο. Στην συνέχεια, γίνεται διάνοιξη του εποξειδίου με δωδεκυλομαγνήσιο βρωμίδιο παρουσία χλωριούχου χαλκού που φέρει ομάδες 1,5-κυκλοοκταδιενίου ως καταλύτη. Η αλκοόλη που παρασκευάστηκε μετά την απομάκρυνση της βενζυλομάδας με καταλυτική υδρογόνωση, κατεργάστηκε με NaIO_4 και RuCl_3 για να μετατραπεί στο 3-υδρόξυ δεκαεξανοϊκό οξύ (σχήμα 13).³⁸



Σχήμα 13. Σύνθεση εναντιομερικά καθαρών 3-υδρόξυ οξέων.

2.4 Σύνθεση 3-υδρόξυ οξέων μέσω πρωτοταγών νίτρο ενώσεων

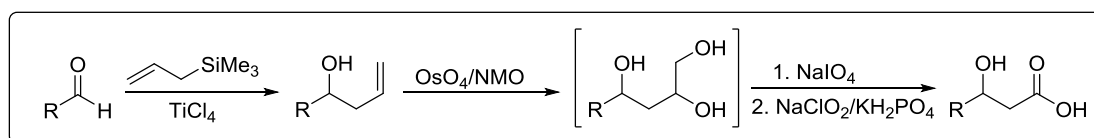
Οι αλειφατικές νίτρο ενώσεις έχουν βρει πολλές εφαρμογές στην οργανική σύνθεση, ιδιαίτερα ως ενδιάμεσα στις διεργασίες σχηματισμού δεσμών άνθρακα-άνθρακα^{39,40} ή ως πρόδρομα για άλλες λειτουργικές ομάδες. Στην μέθοδο αυτή αναφέρεται ότι το KHS_2O_8 είναι ένα οξειδωτικό μέσο κατάλληλο για τη μετατροπή νιτροαλκανίων σε καρβονυλικές ενώσεις υπό ήπιες συνθήκες. Τα νιτροαλκάνια είναι σταθερά ακόμη και σε μεθανολικό διάλυμα που περιέχει περίσσεια KHS_2O_8 . Η οξειδωτική διαδικασία λαμβάνει χώρα μόνο παρουσία βάσεων. Κάτω από αυτές τις συνθήκες, οι αλειφατικές νίτρο ενώσεις μετασχηματίζονται σε καρβοξυλικά οξέα (σχήμα 14).⁴¹



Σχήμα 14. Σύνθεση 3-υδρόξυ οξέων μέσω αντίδρασης Nef.

2.5 Σύνθεση 3-υδρόξυ οξέος μέσω οξείδωσης με OsO_4

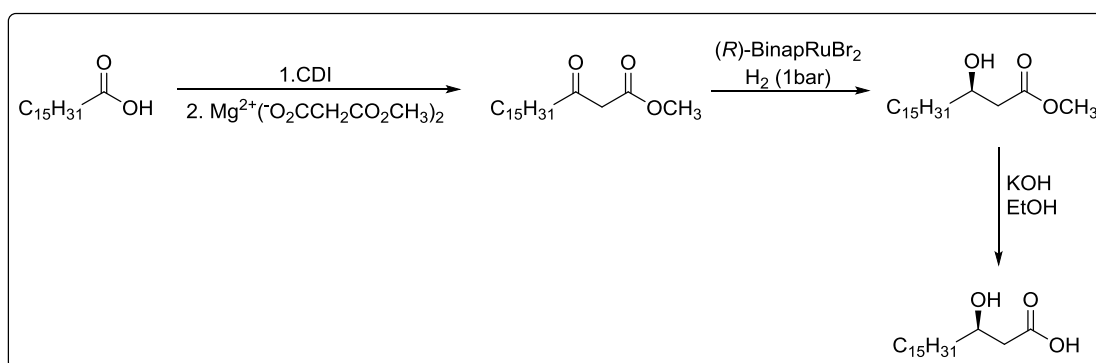
Στην παρούσα συνθετική πορεία, το επιθυμητό 3-υδρόξυ οξύ παραλαμβάνεται έπειτα από 3 βήματα. Αρχικά, μια ενεργοποιημένη άλλυλο ομάδα προστίθεται στην καρβονυλομάδα της αλδεΐδης παράγοντας μια αλλυλική αλκοόλη. Ο διπλός δεσμός αυτής της ένωσης μετατρέπεται σε 1,2-διόλη με χρήση OsO_4 και τελικά οξειδώνεται προς το επιθυμητό 3-υδρόξυ οξύ (σχήμα 15).⁴²



Σχήμα 15. Συνθετική πορεία 3-υδρόξυ οξέων.

2.6 Σύνθεση 3-υδρόξυ δεκαοκτανοϊκού οξέος με χρήση καταλύτη ρουθινίου

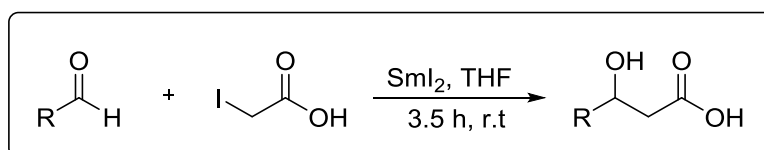
Στο σχήμα 16 παρουσιάζεται η συνθετική οδός προς το επιθυμητό 3-υδρόξυ οξύ. Το παλμιτικό οξύ μετατράπηκε μέσω της διαδικασίας Masamune's⁴³ προς 3-οξο-οκταδεκανοϊκό μεθυλεστέρα, ο οποίος με ασύμμετρη υδρογόνωση που πραγματοποιήθηκε σε ατμοσφαιρική πίεση μετατράπηκε στον 3-υδρόξυ οκταδεκανοϊκό μεθυλεστέρα με υψηλή εναντιομερική περίσσεια. Το 3-υδρόξυ οκταδεκανοϊκό οξύ παραλήφθηκε έπειτα από την σαπωνοποίηση του παραπάνω εστέρα με υδατικό διάλυμα ΚΟΗ σε αιθανόλη.⁴⁴



Σχήμα 16. Σύνθεση του 3-υδρόξυ δεκαοκτανοϊκού οξέος.

2.7 Σύνθεση 3-υδρόξυ οξέων από αλδεΐδες και ιωδοοξικό οξύ

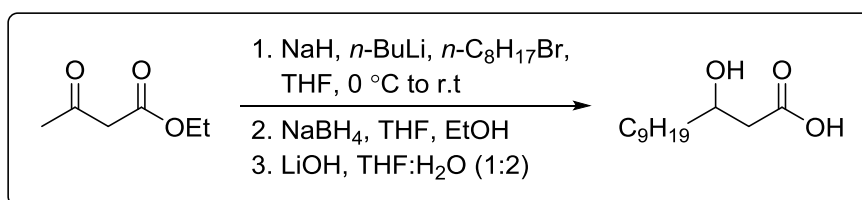
Η συνθετική πορεία αυτή αποτελεί μια εύκολη και αποτελεσματική πρόσβαση στα 3-υδρόξυ οξέα σε υψηλή απόδοση με απευθείας αντίδραση αλδεϋδών με 2-ιωδοοξικό οξύ παρουσία Sml_2 (σχήμα 17). Αυτή η αντίδραση αλδολικού τύπου μπορεί να διεξαχθεί σε αλδεΐδες που ενολοποιούνται εύκολα ή είναι στερεοχημικά παρεμποδισμένες. Εν τούτοις, η αντίδραση δεν πραγματοποιείται με αρωματικές αλδεΐδες καθώς παράγεται η αντίστοιχη πινακόλη (που προέρχεται από μια διαμοριακή πινακολική σύζευξη της αλδεΐδης που προκαλείται από Sml_2) αντί του 3-υδρόξυ οξέος.⁴⁵



Σχήμα 17. Συνθετική πορεία για την παραλαβή 3-υδρόξυ οξέων .

2.8 Σύνθεση του 3-υδροξυ λαουρικού οξέος από τον βουτανοϊκό αιθυλεστέρα

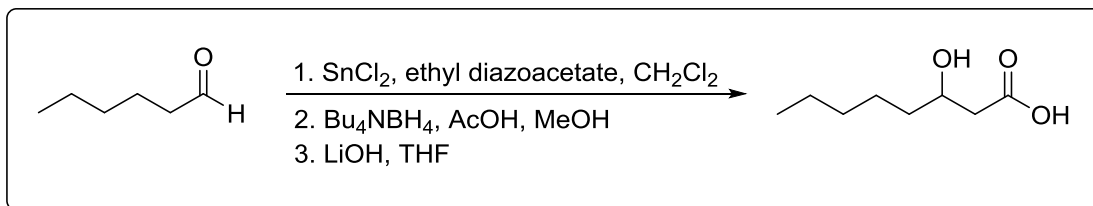
Με στόχο να εντοπιστεί μια γενική και συνοπτική πορεία που δεν θα περιέχει την προστασία των λειτουργικών ομάδων, έγιναν προσπάθειες για την πυρηνόφιλη προσθήκη ενός πυρηνόφιλου άνθρακα σε μια αλδεΐδη για την σύνθεση υδροξυ οξέων. Η σύνθεση όμως του 3-υδροξυ οξέος διαφοροποιείται λίγο από αυτή την λογική. Έτσι, η παραλαβή του επιθυμητού οξέος έγινε με γ-αλκυλίωση διπλά αποπρωτονιωμένου ακετοξικού αιθυλεστέρα ακολουθούμενη από αναγωγή της β-κετόνης και υδρόλυση του εστέρα (Σχήμα 18).⁴⁶



Σχήμα 18. Σύνθεση του 3-υδροξυ λαουρικού οξέος.

2.9 Σύνθεση του 3-υδροξυ οκτανοϊκού οξέος από εξανάλη

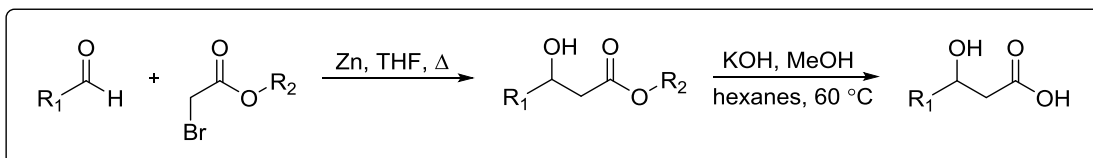
Μία αποτελεσματική πορεία τριών σταδίων οδήγησε στο β-υδροξυ οκτανοϊκό οξύ από εξανάλη και διαζωξικό αιθυλεστέρα, δίνοντας πρώτα τον β-κετο οκτανοϊκό αιθυλεστέρα υπό συνθήκες που αναφέρονται από τους Holmquist και Roskamp.⁴⁷ Η αρχική απόδοση 47% σε αυτό το στάδιο βελτιώθηκε στο 90% χρησιμοποιώντας περίσσεια εξανάλης. Στη συνέχεια, η κετόνη ανάχθηκε με περίσσεια Bu₄NBH₄ για να δώσει τον β-υδροξυ οκτανοϊκό αιθυλεστέρα σε απόδοση 80%, ενώ τα εναλλακτικά αναγωγικά, όπως NaBH₄, LiBH₄ ή NaBH(OAc)₃ αποδείχθηκαν αναποτελεσματικά για αυτόν τον μετασχηματισμό. Τέλος, η υδρόλυση του αιθυλεστέρα έδωσε το επιθυμητό οξύ σε καλή συνολική απόδοση (σχήμα 19).⁴⁸



Σχήμα 19. Σύνθεση του 3-υδρόξυ οκτανοϊκού οξέος.

2.10 Σύνθεση των 3-υδρόξυ οξέων μέσω της αντίδρασης Reformatsky

Με την συγκεκριμένη μέθοδο συντέθηκε μια σειρά 3-υδρόξυ εστέρων με μήκος αλυσίδας 6-12 ατόμων άνθρακα χρησιμοποιώντας την αντίδραση Reformatsky. Σε ένα διάλυμα THF υπό αναρροή προστέθηκαν διαδοχικά και γρήγορα ψευδάργυρος (2 ισοδύναμα), αλδεΐδη και βρωμοοξικός εστέρας (2 ισοδύναμα). Στη συνέχεια, οι 3-υδρόξυ εστέρες υδρολύθηκαν προς τα αντίστοιχα ελεύθερα οξέα υπό βασικές συνθήκες. Η συνολική συνθετική πορεία φαίνεται στο σχήμα 20 που ακολουθεί.⁴⁹



Σχήμα 20. Σύνθεση 3-υδρόξυ οξέων από αλδεΐδες και βρωμοοξικές εστέρες.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΣΥΝΘΕΣΗ ΔΕΥΤΕΡΙΩΜΕΝΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

3.1 Εισαγωγή

Το ενδιαφέρον για την παρασκευή σταθερών ισοτοπικά επισημασμένων ενώσεων ξεκίνησε πριν από πολλά χρόνια, λίγο μετά την ανακάλυψη του δευτερίου. Οι ενώσεις αυτές χρησιμοποιήθηκαν ως βιολογικοί ιχνηθέτες και προηγήθηκαν της πλέον γνωστής χρήσης ραδιενεργών ιχνηθετών.⁵⁰ Η παρασκευή των δευτεριωμένων λιπιδίων έχει εμπλακεί σε πολύ πιο εκτεταμένες οργανικές χημικές έρευνες απ' ό,τι η παρασκευή των επισημασμένων με ^{13}C λιπιδίων, επειδή υπάρχουν πολλοί περισσότεροι τρόποι εισαγωγής δευτερίου απ' ό,τι υπάρχουν για την εισαγωγή ^{13}C .

Έχουν υπάρξει πολλές συνθέσεις δευτεριωμένων λιπιδίων για μελέτες θραυσματοποίησης μέσω φασματομετρίας μάζας (MS).⁵¹⁻⁵⁶ Η ανάπτυξη του ^1H NMR επέτρεψε την αντιστοίχιση του κάθε σήματος και κατέστησε δυνατές τις έρευνες βιολογικής υδροξυλίωσης.⁵⁷ Αν και ο ^{13}C είχε αντικατασταθεί από ^{14}C στις βιοσυνθετικές εργασίες, όταν αναπτύχθηκε το ^{13}C NMR, ανανεώθηκε το ενδιαφέρον για βιοσυνθετικές εφαρμογές της επισήμανσης με ^{13}C .⁵⁸ Η μέθοδος NMR είχε το μεγάλο πλεονέκτημα ότι η θέση της σήμανσης θα μπορούσε να προσδιοριστεί χωρίς χημική αποικοδόμηση. Λόγω του ενισχυμένου σήματος που οφείλεται στον επισημασμένο άνθρακα, ορισμένα ^{13}C λιπαρά οξέα έχουν χρησιμοποιηθεί για την αντιστοίχιση των σημάτων στο ^{13}C NMR.^{59,60}

Η εισαγωγή του δευτερίου προκαλεί επίσης αξιοσημείωτες αλλαγές στα φάσματα ^{13}C NMR και έχει επιφέρει περαιτέρω συνθέσεις λιπιδίων που φέρουν δευτέρια σε συγκεκριμένες θέσεις για την αντιστοίχιση του εκάστοτε σήματος.⁶¹⁻⁶³ Έχουν γίνει μελέτες ^2H NMR των λιπιδίων με ακυλομάδες δευτεριωμένες σε διάφορες θέσεις. Η μέτρηση της τετραπλής σχάσης του δευτερίου, η οποία δεν είναι πλήρως καταμερισμένη σε ομοιόμορφα διευθετημένα φωσφολιπίδια, δίνει ένα μέτρο του βαθμού της τάξης του μορίου που συνδέεται με διαφορετικούς άνθρακες των αλυσίδων ακυλίου.⁶⁴⁻⁷⁰

3.2 Τρόποι σύνθεσης δευτεριωμένων λιπιδίων

Βασικά υπάρχουν δύο μέθοδοι εισαγωγής δευτερίου σε οργανικά μόρια: ανταλλαγή και αναγωγή. Όμως, για τη σύνθεση των δευτεριωμένων λιπιδίων υπάρχουν συνολικά πέντε μέθοδοι.

Μέθοδος I: Ανταλλαγή

Μέθοδος II: Αναγωγή

Μέθοδος III: Αντίδραση με μικρές δευτεριωμένες ενώσεις

Μέθοδος IV: Χημική σύνθεση χρησιμοποιώντας ενδιάμεσα που συντέθηκαν με έναν από τους 3 παραπάνω τρόπους

Μέθοδος V: Βιολογική σύνθεση

Στη συνέχεια θα αναλυθούν αυτοί οι πέντε τρόποι εισαγωγής δευτερίου σε λιπαρά οξέα.

3.2.1 Μέθοδος I: Ανταλλαγή

Γενικά, το πρωτόνιο της ομάδας OH ή COOH ανταλλάσσεται εξαιρετικά γρήγορα, εκτός από την περίπτωση των αλκυλο-μηλονικών, όπου η ανταλλαγή δεν είναι χρήσιμη στην παρασκευή δευτεριωμένων λιπαρών οξέων. Εντούτοις, η αντίδραση μίας ομάδας COOD (που σχηματίζεται κατά την ανταλλαγή πρωτονίων σε ένα άλλο τμήμα της αλυσίδας λιπαρού οξέος) με διαζωμεθάνιο δίνει έναν μεθυλεστέρα με τουλάχιστον ένα δευτέριο στην μεθοξυ ομάδα του,⁷¹ μια ανταλλαγή ανεπιθύμητη όταν οι μεθυλεστέρες αυτοί πρόκειται να ελεγχθούν από MS για την ενσωμάτωση των ισοτόπων.

Όταν εξετάζεται η ανταλλαγή πρωτονίων που συνδέονται με άνθρακα, γίνεται διάκριση μεταξύ ειδικών και μη ειδικών ανταλλαγών. Η ειδική ανταλλαγή γενικά αφορά την ανταλλαγή πρωτονίων σε έναν α-άνθρακα ως προς μια αποχρωούσα ομάδα και οι σχετικές ταχύτητες ανταλλαγής είναι: $C=O > CN > CO_2$.⁷² Το δευτέριο εισάγεται συνήθως μόνο σε κετόνες, αλδεΐδες και οξέα, αλλά η υδρόλυση δευτεριωμένων νιτριλίων, που

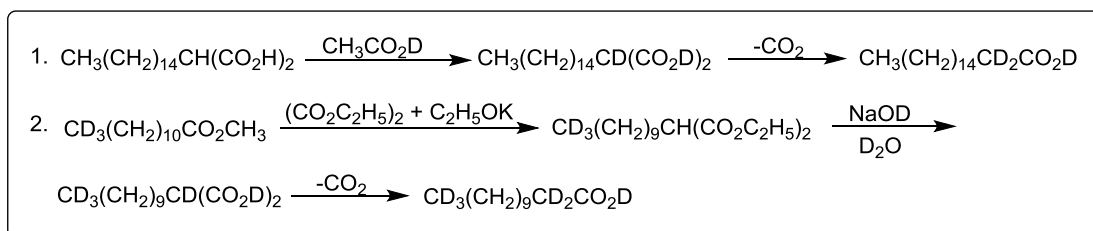
παρασκευάζονται από 1-*d*₂-αλκανόλες για να επεκταθεί μια αλυσίδα λιπαρών οξέων με έναν άνθρακα, μπορεί να οδηγήσει σε απώλεια δευτερίου με αντίστροφη ανταλλαγή.

Τα πρωτόνια αμφοτέρων των αλδεϋδών και κετονών ανταλλάσσονται με σχετικά ήπιους όξινους ή βασικούς καταλύτες και το προϊόν πρέπει να προστατεύεται από αντίστροφη ανταλλαγή ή να χρησιμοποιείται απευθείας σε περαιτέρω σύνθεση. Έτσι 2-*d*₂-εννεανάλη, που παρασκευάστηκε από ανταλλαγή με D₂O καταλυόμενη από πυριδίνη μετατράπηκε σε 11-*d*₂-ελαϊκό οξύ⁷³ και το 17-οξο 16,18-*d*₅-οκταδεκανοϊκό οξύ, που παραλήφθηκε από το 17-οξο οξύ με 40% NaOD σε D₂O, ανάχθηκε σε 17-υδροξυ 16,18-*d*₅-οκταδεκανοϊκό οξύ.⁵⁷ Η αναγωγή Clemmensen του 6-οξο οκταδεκανοϊκού οξέος με ψευδάργυρο και DCI είχε ως αποτέλεσμα την ανταλλαγή των 4 α-πρωτονίων καθώς και την αναγωγή και έτσι έδωσε το 5,6,7-*d*₆-οκταδεκανοϊκό οξύ.⁵⁵

Η ανταλλαγή α-πρωτονίων σε μία μόνο καρβοξυλική ομάδα απαιτεί πολύ πιο όξινες ή βασικές συνθήκες, στην πραγματικότητα μία από τις ανταλλαγές σε συγκεκριμένη θέση περιλαμβάνει την κατεργασία του παλμιτικού οξέος με 90% D₂SO₄ στους 100 °C.⁷⁴ Τα C₂-C₄ οξέα υπέστησαν α-ανταλλαγή σε 0,05 M OD⁻ στους 150 °C⁷⁵ και τα οξέα μακριάς αλυσίδας σε 1% NaOD στους 200 °C για 72 ώρες.⁷⁶ Αυτά τα δευτέρια, που εισάγονται με δυσκολία, δεν απομακρύνονται εύκολα με ήπια επεξεργασία με οξύ ή αλκάλια.⁷⁴

Έχουν υπάρξει σημαντικές διαφωνίες σχετικά με την ευκολία ανταλλαγής α-πρωτονίων σε μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων. Έτσι, η ανταλλαγή αναφέρθηκε ότι συμβαίνει σε 0,7 M NaOMe σε MeOD⁵⁶ σε αναρροή ή στους 25 °C,⁷⁷ ενώ άλλες έρευνες διαπίστωσαν ότι αυτό το αντιδραστήριο δεν καταλύει την ανταλλαγή.^{78,79} Η προσθήκη εξαμεθυλοφωσφοραμιδίου, ωστόσο, οδήγησε σε 85% ανταλλαγή μετά από 24 ώρες στους 50 °C.⁷⁸ Σε κάθε περίπτωση, η ανταλλαγή με D₂O είναι προτιμότερη από τη χρήση του ακριβότερου MeOD και των παραγώγων του. Η ανταλλαγή γίνεται πιο εύκολα εάν το μεθυλένιο ενεργοποιηθεί από μια δεύτερη καρβοξυλική ομάδα, όπως στον εστέρα του ηλεκτρικού οξέος.⁸⁰

Με τα μονοαλκυλο-μηλονικά οξέα, η ανταλλαγή γίνεται ιδιαίτερα εύκολα και δεν απαιτείται καταλύτης για ανταλλαγή με D₂O στους 50 °C του απρωτονίου και του καρβοξυλικού πρωτονίου του μεθυλο μηλονικού οξέος και με αποκαρβοξυλίωση παράγεται το 2-d₂-προπιονικό οξύ.⁸¹ Τα οξέα μακριάς αλυσίδας παραλήφθηκαν, όπως φαίνεται στο σχήμα 21.1, όταν η ανταλλαγή πραγματοποιήθηκε με αντίδραση με CH₃CO₂D⁷¹ και όπως στο σχήμα 21.2, όταν η ανταλλαγή καταλύθηκε από NaOD σε D₂O.⁸²



Σχήμα 21. Συνθέσεις δευτεριωμένων λιπαρών οξέων από άλκυλο μηλονικά οξέα.

Μερική μη συγκεκριμένη ανταλλαγή συνέβη όταν τα λιπαρά οξέα υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με αλκαλικό D₂O στους 130 °C παρουσία καταλύτη λευκοχρύσου.⁷⁴ Αργότερα το υπεροξείδιο του νατρίου βρέθηκε να καταλύει την αντίδραση και τα μετά νατρίου άλατα λιπαρών οξέων σε D₂O στους 240 °C, με αυτόν τον καταλύτη καθώς και με πλατίνα, έδωσαν 99% δευτεριωμένα οξέα.⁸³ Οι δευτεριωμένοι υδρογονάνθρακες, που σχηματίστηκαν με την αποκαρβοξυλίωση του οξέος, ήταν παραπροϊόντα.^{83,84} Πλήρως δευτεριωμένα οξέα έχουν επίσης ληφθεί με διέλευση δευτερίου μέσω εναιωρήματος παλλαδίου-άνθρακα σε λιπαρό οξύ στους 190 °C για περίπου 8 ημέρες.⁸⁵

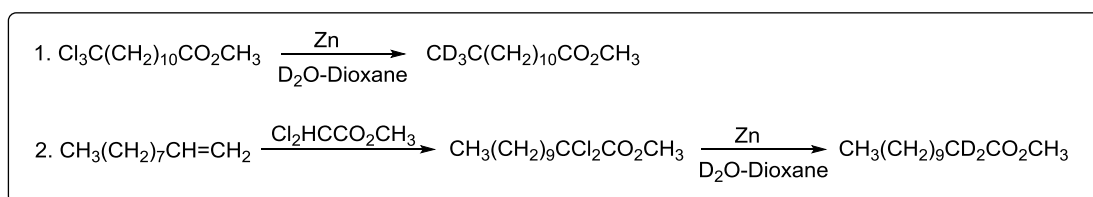
3.2.2 Μέθοδος II: Αναγωγή

Η καταλυτική αναγωγή διπλού δεσμού με δευτέριο⁵⁰ βρέθηκε ότι συνοδεύεται από εκτεταμένη μη συγκεκριμένη ανταλλαγή.^{86,87} Η ανταλλαγή συνέβη μόνο όταν ο εστέρας του ελαϊκού οξέος ήταν σε επαφή με τον καταλύτη αλλά όχι όταν ο εστέρας του στεατικού οξέος κατεργάστηκε με δευτέριο και καταλύτη.⁸⁷ Η καταλυτική αναγωγή ενός τριπλού δεσμού εισήγαγε επίσης περισσότερους από 4 πυρήνες δευτερίου.⁸⁸ Εντούτοις, η αναγωγή ενός τριπλού δεσμού προς το γειτονικό διδευτεριωμένο αλκένιο μ'

ένα διπλό δεσμό με δευτέριο και καταλύτη Lindlar πραγματοποιήθηκε χωρίς προβλήματα⁷¹ και έτσι παρασκευάστηκε ένας αριθμός διδευτεριωμένων λιπαρών οξέων μ' ένα διπλό δεσμό.^{54,88,89} Η ομογενής καταλυτική αναγωγή ενός τριπλού δεσμού με δευτέριο και καταλύτη ροδίου διεξήχθη ικανοποιητικά,⁹⁰ αλλά σε άλλες αναγωγές⁹¹ παρατηρήθηκαν προβλήματα.

Η υδραζίνη ανάγει τους διπλούς δεσμούς χωρίς μετανάστευση δεσμών⁹² και με αναγωγή με d_4 -υδραζίνη παρασκευάστηκαν οι 6,7- d_2 και 9,10- d_2 οκταδεκανοϊκοί εστέρες.⁹³ Στη συνέχεια, παρασκευάστηκαν εστέρες του στεατικού οξέος με γειτονικά δευτέρια σε άλλες θέσεις⁵² και ο οκταδευτεροεικοσανοϊκός εστέρας λήφθηκε με αναγωγή του εστέρα του αραχιδονικού οξέος.⁵⁵

Η καταλυτική αναγωγή των αλογονιδίων, όπως του 9,10-διβρωμοοκταδεκανοϊκού εστέρα, με δευτέριο και λευκόχρυσο οδήγησε σε μη συγκεκριμένη εισαγωγή δευτερίου,⁸⁶ ενώ σε άλλες αντιδράσεις το χλώριο έχει αντικατασταθεί από δευτέριο.⁸² Έτσι, η σκόνη ψευδαργύρου σε D_2O -διοξάνιο οδήγησε στην αναγωγή της ομάδας CCl_3 σε CD_3 δίνοντας τον 12- d_3 -δωδεκανοϊκό εστέρα (Σχήμα 22.1) και την ομάδα $\alpha\text{-}CCl_2$ σε CD_2 δίνοντας τον 2- d_2 -δωδεκανοϊκό εστέρα (Σχήμα 22.2).⁸² Ωστόσο, η αναγωγή Clemmensen μιας οξο-ομάδας με ψευδάργυρο και DCI προκάλεσε ανταλλαγή α -πρωτονίων καθώς και αναγωγή καρβονυλίου.⁵⁵

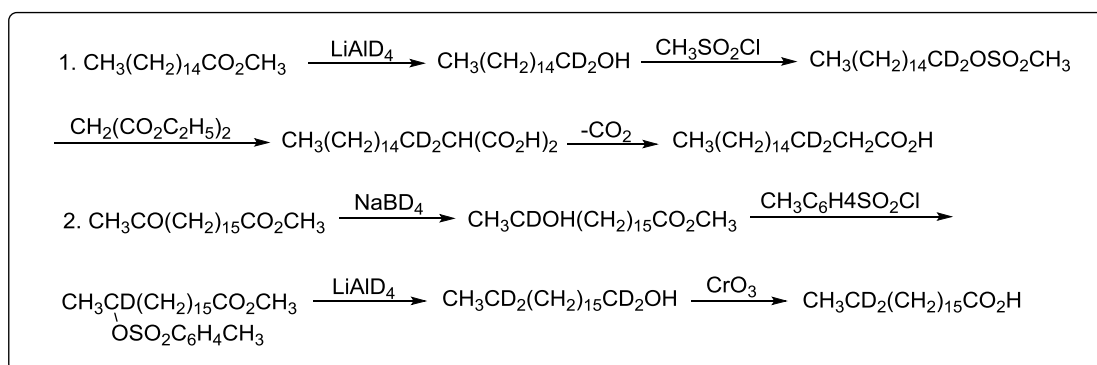


Σχήμα 22. Συνθέσεις δευτεριωμένων λιπαρών οξέων με αντικατάσταση χλωριδίων.

Η αναγωγή ομάδων καρβονυλίου με NaBD_4 και LiAlD_4 εισάγει σε συγκεκριμένες θέσεις δευτέρια.

Το σχήμα 23.1 απεικονίζει τη μέθοδο που ακολουθείται, με επέκταση αλυσίδας, για σύνθεση του 3- d_2 -δεκαοκτανοϊκού εστέρα.^{55,76} Στην παρασκευή του 17- d_2 -δεκαοκτανοϊκού εστέρα (Σχήμα 23.2), ο οξοεστέρας ανάγεται με

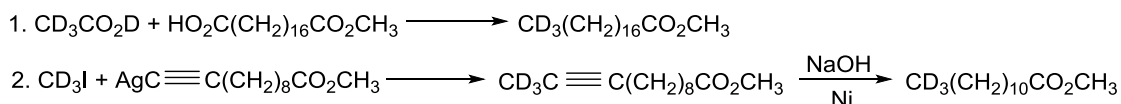
NaBD₄ σε δευτεριωμένο υδρόξυ εστέρα και στη συνέχεια ο παρα-τολούολο σουλφονικός εστέρας ανάγεται με LiAlD₄ προς την αλκοόλη, η οποία οξειδώνεται προς το απαιτούμενο οξύ.^{57,76} Αυτή η μέθοδος είναι μία από τις πλέον κατάλληλες όταν είναι διαθέσιμος ο οξοεστέρας. Επίσης χρησιμοποιώντας ένα μόνο δευτεριωμένο αναγωγικό παράγοντα, μπορεί να εισαχθεί μόνο ένα δευτέριο, όπως στη σύνθεση των οπτικών ισομερών του 17-*d*-οκταδεκανοϊκού εστέρα.⁵⁷ Ένας 1-*d*₂-μέθανοσουλφονικός εστέρας μπορεί να αναχθεί περαιτέρω με LiAlD₄ σε CD₃.⁹⁴



Σχήμα 23. Συνθέσεις δευτεριωμένων οξέων με χρήση δευτεριωμένων αναγωγικών.

3.2.3 Μέθοδος III: Αντίδραση με μικρές δευτεριωμένες ενώσεις

Αυτός ο τύπος σύνθεσης συνήθως περιλαμβάνει μικρές εμπορικά διαθέσιμες ενώσεις που περιέχουν CD₃ ομάδες όπως CD₃CO₂D και CD₃I. Δεδομένου ότι τα α-δευτέρια δεν χάνονται κατά τη διάρκεια της αντίδρασης ανόδου του Kolb,⁸¹ εστέρες που περιέχουν μια ακραία ομάδα CD₃ παρασκευάστηκαν με σύζευξη μεθυλεστέρας με CD₃CO₂D (Σχήμα 24.1).^{52,57,71} Εκτός από την εφαρμογή στην παρασκευή των φωσφολιπιδίων που περιέχουν CD₃, το CD₃I έχει χρησιμοποιηθεί για τη σύνθεση 12-*d*₃-δωδεκανοϊκού εστέρα⁸² με αντίδραση με παράγωγο του αργύρου του 10-ενδεκανοϊκού οξέος (Σχήμα 24.2). Ο τριπλός δεσμός ανάχθηκε με Raney nickel και NaOH και η απώλεια ή η διασπορά του δευτερίου από την ομάδα CD₃ προφανώς δεν συνέβη.



Σχήμα 24. Συνθέσεις δευτεριωμένων λιπαρών οξέων από μικρά δευτεριωμένα μόρια.

Η αντίδραση του προϊόντος από τον εστέρα του ελαϊκού οξέος και δις (3-μεθυλ-2-βουτυλ)βοράνιο με $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{D}$ έδωσε ένα μίγμα 9-*d* και 10-*d* εστέρων του δεκαοκτανοϊκού οξέος⁹⁵ και η ίδια αντίδραση ξεκινώντας από τον εστέρα του στεατικού οξέος έδωσε τους 9-*d* και 10-*d* εστέρες του ελαϊκού οξέος.⁸⁹

3.2.4 Μέθοδος IV: Σύνθεση χρησιμοποιώντας ενδιάμεσα που συντέθηκαν με την μέθοδο I ή II

(α) Μέθοδος νιτριλίου. Σε αυτή τη μέθοδο μια 1-*d*₂-αλκανόλη που παρασκευάζεται με αναγωγή με LiAlD_4 ενός εστέρα,⁵⁵ ή μια 2-*d*₂-αλκανόλη⁵⁶ που λαμβάνεται από ένα 2-*d*₂-οξύ (παρασκευασμένο από ανταλλαγή), μετατρέπεται σε μέθανοσουλφονικό εστέρα, έπειτα σε νιτρίλιο και με υδρόλυση παραλαμβάνεται το οξύ με 1 επιπλέον άτομο άνθρακα. Κατά την διάρκεια της υδρόλυσης 1-*d*₂-νιτριλίου μπορεί να συμβεί απώλεια δευτερίου.

(β) Μέθοδος μηλονικού εστέρα. Αυτή είναι μια άλλη καλά εδραιωμένη διαδικασία,⁹⁶ ξεκινώντας από 1-*d*₂ ή 2-*d*₂-μέθανοσουλφονικούς εστέρες (που παρασκευάστηκαν όπως παραπάνω) παρασκευάζονται, μετά από αντίδραση με τον μετά νατρίου μηλονικό διαιθυλεστέρα, υδρόλυση και αποκαρβοξυλίωση^{70,81} τα 3-*d*₂ λιπαρά οξέα^{55,76} και 4-*d*₂ οξέα^{56,76} αντίστοιχα. Οι αποδόσεις είναι γενικά πολύ υψηλές.

(γ) Ανοδική σύνθεση Kolbé. Αυτή είναι η ίδια μέθοδος όπως περιγράφεται στη Μέθοδο III χρησιμοποιώντας $\text{CD}_3\text{CO}_2\text{D}$ και όταν πραγματοποιείται με 2-*d*₂-οξέα [που λαμβάνονται με ανταλλαγή μηλονικού οξέος (Μέθοδος I)] και μερικούς μεθυλεστέρες παραλαμβάνονται όλα τα *d*₂-C₁₈ οξέα από το 3-*d*₂ έως

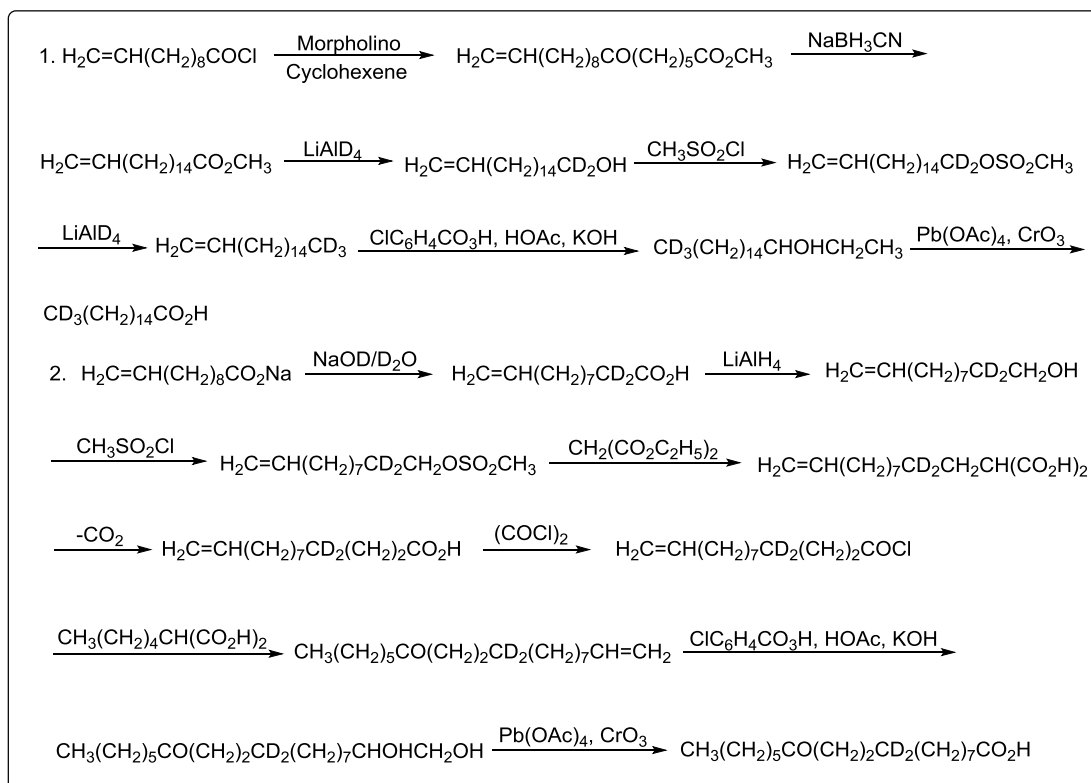
το 17- d_2 ⁵² και επίσης τα d_2 οξέα με άλλα μήκη αλυσίδας.⁷¹ Επίσης 2- d_2 -οξέα δευτεριωμένα σε όλους τους άλλους άνθρακες παρασκευάστηκαν από πλήρως δευτεριωμένα οξέα και μηλονικό εστέρα.⁹⁷ Παρά τις βελτιώσεις, αυτή η αντίδραση εξακολουθεί να δίνει μόνο μέτριες αποδόσεις και δεν προσαρμόζεται εύκολα σε μεγαλύτερες κλίμακες, αλλά είναι βολική όταν το προϊόν δεν είναι ένα ενδιάμεσο σε μεγαλύτερη σύνθεση.

(δ) Σύνθεση εναμιμών οξο-οξέων. Η αντίδραση εναμίνης αποδίδει 6-οξο,⁹⁸ 7-οξο⁹⁹ ή 13-οξο οξέα¹⁰⁰ με αύξηση του μήκους αλυσίδας κατά 5, 6 ή 12 άτομα άνθρακα. Η αντίδραση μεταξύ μορφολινο/κυκλοπεντενίου/κυκλοεξενίου ή κυκλοδωδεκενίου και διδευτεριωμένων χλωροοξέων με το δευτέριο στο C_3 , ή πιο μακριά από την καρβοξυλική ομάδα, δίνει μια β-δικετόνη. Το οξοξύ λαμβάνεται με αλκαλική υδρόλυση έτσι ώστε ένα 2- d_2 οξύ να μην μπορεί να χρησιμοποιηθεί απ' ευθείας ως αρχική ύλη επειδή έτσι το ισότοπο θα χαθεί. Το 18- d_3 -οκταδεκανοϊκό οξύ παρασκευάστηκε από 12- d_3 -δωδεκανοϊκό οξύ,⁶⁸ 7-οξο-10- d_2 -οκταδεκανοϊκό οξύ από 4- d_2 -δεκαδεκανοϊκό οξύ⁷⁶ και 13-οξο-16- d_2 -οκταδεκανοϊκό οξύ από 4- d_2 -εξανοϊκό οξύ⁷⁶ με συνθέσεις εναμίνης.

(ε) Σύνθεση κετόνης Bowman. Η αντίδραση μεταξύ ενός εστέρα και τετραϋδροπυραυλο αλκυλομηλονικού μετά νατρίου εστέρα ακολουθούμενη από αποκαρβοξυλίωση δίνει σε καλή απόδοση τον αντίστοιχο οξοεστέρα.¹⁰¹ Ξεκινώντας από 2- d_2 -εννεϋλομηλονικό οξύ και 2- d_2 -εξυλο-μηλονικό οξύ, συντέθηκαν 8-οξο-11- d_2 -οκταδεκανοϊκά και 11-οξο-14- d_2 -οκταδεκανοϊκά οξέα.⁷⁶

(στ) Αξιοποίηση ακόρεστων λιπαρών οξέων. Τα εύκολα διαθέσιμα ακόρεστα λιπαρά οξέα χρησιμοποιήθηκαν σε μερικές συνθέσεις δευτεριωμένων οξέων, έτσι ώστε η καρβοξυλική ομάδα να μπορεί να εισαχθεί με οξειδωση του διπλού δεσμού. Το Σχήμα 25 δείχνει δύο παραδείγματα ξεκινώντας από το ενδεκυλενικό οξύ και επίσης απεικονίζει έναν αριθμό από τις παραπάνω συνθετικές μεθόδους. Σε μια σύνθεση του 16- d_3 -δεκαεξανοϊκού οξέος⁹⁴ (Σχήμα 25.1), το ενδεκυλενικό οξύ επιμηκύνθηκε σε ένα C_{17} οξύ και η καρβοξυλομάδα ανάχθηκε σταδιακά σε CD_3 . Η οξειδωτική διάσπαση του διπλού δεσμού έδωσε το δευτεριωμένο C_{16} οξύ. Στην παρακάτω σύνθεση (Εικόνα 25.2) παρασκευάστηκε 2- d_2 -ενδεκυλενικό οξύ με ανταλλαγή σε

NaOD/D₂O και η αλυσίδα επιμηκύνθηκε κατά δύο άνθρακες με σύνθεση μηλονικού εστέρα. Η αντίδραση του χλωριδίου του C₁₃ οξέος με πεντυλομηλονικό οξύ έδωσε την C₁₉ κετόνη με έναν ακραίο διπλό δεσμό και η οξειδωτική διάσπαση έδωσε το 12-οξο-9-d₂-δεκαοκτανοϊκό οξύ.⁷⁶ Παρόμοιες συνθέσεις από 2-d₂ εστέρα του ελαϊκού οξέος και 2-d₂ εστέρα του δεκαοκταν-6-εν-οϊκού οξέος έδωσαν 11-οξο-8-d₂-οκταδεκανοϊκό οξύ και 8-οξο-5-d₂-δεκαοκτανοϊκό οξύ αντίστοιχα.⁷⁶

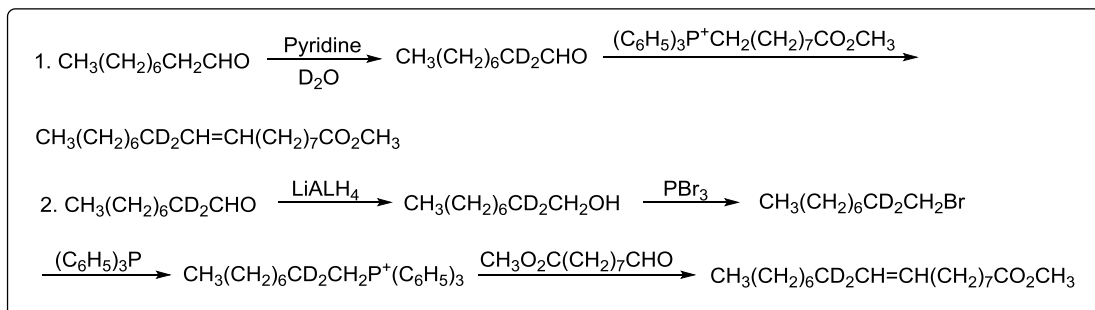


Σχήμα 25. Σύνθεση δευτεριωμένων λιπαρών οξέων από ακόρεστα λιπαρά οξέα.

Όλα τα προαναφερθέντα οξο-d₂-οξέα ανάχθηκαν σε d₂-στεατικά οξέα με NaBH₃CN.⁷⁶ Η αναγωγή ενός α-δευτεριωμένου οξο-οξέος, ωστόσο, έπρεπε να πραγματοποιηθεί σταδιακά με NaBH₄ και LiAlH₄⁵⁷ επειδή η αναγωγή με NaBH₃CN προκάλεσε απώλεια δευτέρου.

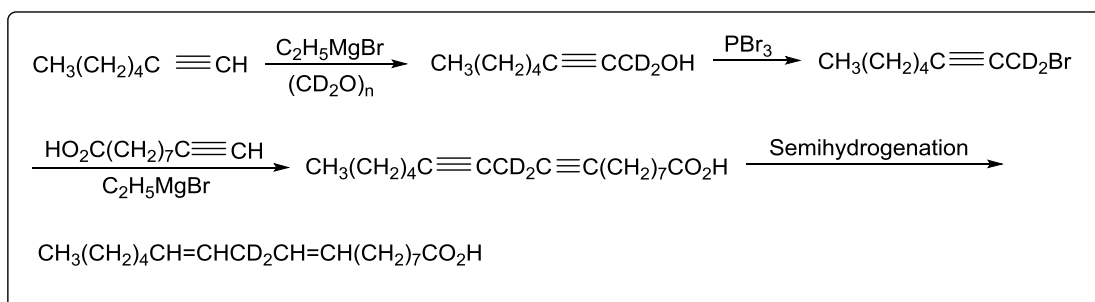
(ζ) Σύνθεση δευτεριωμένων ακόρεστων λιπαρών οξέων. Υπήρξαν συνθέσεις δευτεριωμένων ελαϊκών οξέων στα οποία ο διπλός δεσμός σχηματίστηκε με την αντίδραση Wittig. Η αντίδραση μεταξύ της 2-d₂-εννεανάλης και του τριφαινυλοφωσφονιακού αλογονιδίου από τον 9-χλωροεννεανοϊκό

μεθυλεστέρα (Σχήμα 26.1) έδωσε τον 11- d_2 εστέρα του ελαϊκού οξέος.⁷³ Το ίδιο οξύ ελήφθη επίσης (Σχήμα 26.2) όταν χρησιμοποιήθηκε το 2- d_2 -εννεύλοβρωμίδιο (προερχόμενο από 2- d_2 -εννεανάλη) ως το συστατικό αλογονιδίου και την C_9 αλδεΐδη.⁷³



Σχήμα 26. Σύνθεση του 11- d_2 -ελαϊκού οξέος.

Φαίνεται ότι υπήρξε μόνο μία σύνθεση ενός δευτεριωμένου εστέρα του λινελαϊκού οξέος.¹⁰² Όπως δείχνει το Σχήμα 27, το δευτέριο εισήχθη με αντίδραση του αντιδραστήριου Grignard από 1-επτίνιο με 2- d_2 -παραφορμαλδεΐδη. Η προκύπτουσα αλκοόλη βρωμιώθηκε και με αντίδραση με το αντιδραστήριο Grignard από 9-δεκινοϊκό οξύ έδωσε το 11- d_2 -οκταδεκαδυινοϊκό οξύ. Η ημιϋδρογόνωση στη συνέχεια έδωσε το 11- d_2 -λινελαϊκό οξύ.¹⁰²



Σχήμα 27. Σύνθεση του 11- d_2 -λινελαϊκού οξέος.

3.2.5 Μέθοδος V: Βιολογική σύνθεση δευτεριωμένων λιπιδίων

Το μονοκύτταρο πράσινο φύκι *Scenedesmus obliquus* αναπτύχθηκε σε 99,7% D₂O¹⁰³ και τα λιπίδια που απομονώθηκαν από τον οργανισμό ήταν πλήρως δευτεριωμένα. Μετατράπηκαν σε μεθυλεστέρες, διαχωρίστηκαν σύμφωνα με τον βαθμό ακορεστότητας πάνω σε AgNO₃/SiO₂ και κλασματοποιήθηκαν με GC.^{104,105} Μόνο μικρές ποσότητες πλήρως δευτεριωμένων οξέων παραλήφθησαν, αλλά ήταν επαρκή για MS και άλλες φασματοσκοπικές έρευνες.^{104,105} Η βιολογική μέθοδος αυτή είναι πολύ χρήσιμη για την απόκτηση των πλήρως δευτεριωμένων ακόρεστων οξέων, αφού είναι δύσκολο να παρασκευαστούν χημικά.

Ο μικροοργανισμός *Acholeplasma laidlawii* χρησιμοποιήθηκε για να επιμηκυνθεί πλήρως το δευτεριωμένο C₁₂ οξύ σε οξέα C₁₄ και C₁₆ με πρωτόνια στους C₂ και C₃ και C₂ έως C₅ αντίστοιχα.¹⁰⁶ Κάποια μείωση των ισοτόπων θα αναμένεται μ' αυτή τη μέθοδο ανάλογα με τον οργανισμό που θα χρησιμοποιηθεί.

3.3 Μέτρηση του ποσοστού και της θέσης των δευτερίων σε μια ένωση

Πολλά δευτεριωμένα λιπαρά οξέα έχουν παρασκευαστεί για να βοηθήσουν στην ερμηνεία των διαφόρων μελετών με MS των μεθυλεστέρων μακριάς αλυσίδας.⁵¹ Από το MS μπορεί να προσδιοριστεί η ισοτοπική καθαρότητα^{52,53,71,76} και έχει αναπτυχθεί ένα πρόγραμμα για τον υπολογισμό του ποσοστού της δευτερίωσης σε πλήρως δευτεριωμένα οξέα.¹⁰⁵ Το MS δείχνει διάφορα δευτεριωμένα προϊόντα, χωρίς να υποδεικνύει πάντοτε τη θέση του εισαγόμενου δευτερίου. Για το σκοπό αυτό τα ¹H και ¹³C NMR είναι πολύτιμες συμπληρωματικές μέθοδοι.

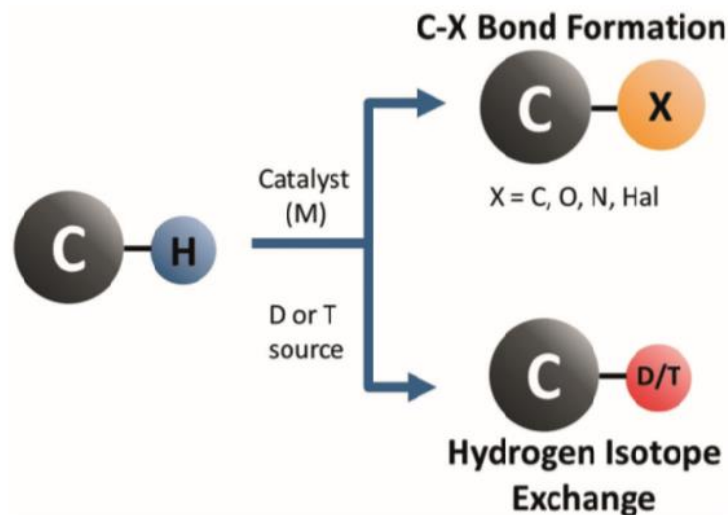
Το ¹H NMR έχει χρησιμοποιηθεί για να διαπιστωθεί η απουσία των α-πρωτονίων ως προς τις καρβονυλομάδες^{73,76,79} ή για να δείξει την απουσία μιας ακραίας ομάδας CH₃.⁵⁷ Η παρουσία δευτερίου σε γειτονικό άνθρακα έχει επίσης βρεθεί λόγω της αλλαγής στην πολλαπλότητα ενός σήματος α-CH₂ ή ακραίου CH₃.⁵⁷ Τα αποτελέσματα αυτά μπορεί να είναι μόνο ποιοτικά λόγω της H-D σύζευξης.^{57,107}

Τα φάσματα ^{13}C NMR παρέχουν πολύ περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τη θέση δευτερίου συγκριτικά με εκείνα του ^1H NMR. Εννέα άνθρακες της αλυσίδας του στεατικού μεθυλεστέρα (εξαιρουμένου του καρβονυλικού άνθρακα) έδωσαν ξεχωριστά σήματα (12-14) και λόγω της επίδρασης του ισότοπου δευτερίου σε γειτονική θέση, 4 από τους άνθρακες δεν δίνουν ευκρινή σήματα.^{62,63} Όλοι εκτός από δύο άνθρακες (C_4 και C_5) ελαϊκού μεθυλεστέρα έδωσαν σήμα.⁶²

Όταν ένα πρωτόνιο μιας ομάδας CH_2 αντικαθίσταται από δευτέριο, το σήμα που δίνει ο δευτεριωμένος άνθρακας στο ^{13}C NMR εμφανίζεται ως τριπλή (J , $^{13}\text{C-D}$, 20 Hz) σε περίπου 0.3 ppm υψηλότερες τιμές από την αρχική.⁶¹ Όταν και τα δύο πρωτόνια αντικαθίστανται παρατηρείται και πάλι σήμα.¹⁰⁸ Όταν μπορούν να παρατηρηθούν αλλαγές τόσο στο ^1H , όσο και στον ^{13}C NMR, τότε υποδεικνύεται εισαγωγή δευτερίου.

3.4 Η λειτουργικότητα του δεσμού C-H και η ανταλλαγή του με τα ισότοπα υδρογόνου

Η καταλυτική ενεργοποίηση των δεσμών C-H υπήρξε το επίκεντρο των ερευνών για αρκετές δεκαετίες.^{109,110} Έχουν πραγματοποιηθεί πολυάριθμες έρευνες σχετικά με τη λειτουργικότητα του δεσμού C-H για την δημιουργία δεσμών C-C,¹¹¹ C-X,¹¹² C-N,¹¹³ ή C-O¹¹⁴. Η ανταλλαγή ισωτόπων υδρογόνου (HIE) για την εκλεκτική εισαγωγή δεσμών C-D¹¹⁵ ή C-T¹¹⁶ είναι επίσης αξιολογής πρακτικής σημασίας. Γενικά, η συνολική διαδικασία μπορεί να γίνει κατανοητή καθώς η καταλυτική αντικατάσταση ενός δεσμού C-H (κυρίως από μέταλλα μεταπτώσεως) ακολουθείται από υποκατάσταση είτε με ένα άτομο άνθρακα, αλογόνου, οξυγόνου ή αζώτου, είτε με ισότοπα υδρογόνου (Σχήμα 28). Ως εκ τούτου, η αντίδραση HIE μπορεί να θεωρηθεί ως η πιο θεμελιώδης από όλες τις διεργασίες για την λειτουργικότητα του δεσμού C-H.



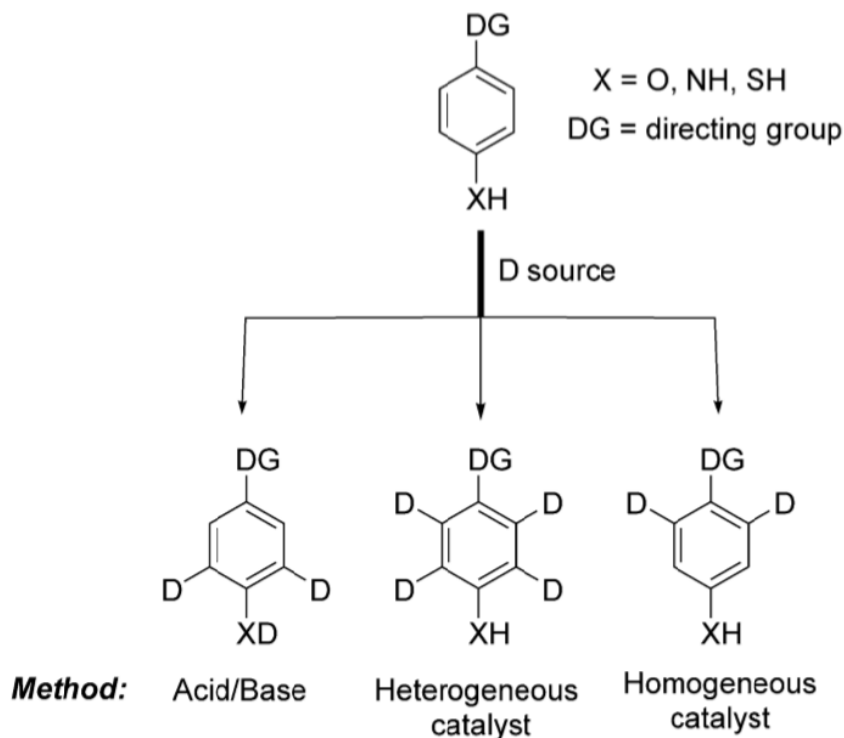
Σχήμα 28. Μια βασική μέθοδος της λειτουργικότητας του δεσμού C-H για τον σχηματισμό δεσμών C-D/ T ή C-X (C, N, O).

Η ενσωμάτωση δευτερίου ή τριτίου σε ένα οργανικό μόριο μπορεί να επιτευχθεί με δύο κύριες μεθόδους, είτε με συμβατική σύνθεση πολλαπλών σταδίων είτε με άμεση HIE. Ανάλογα με την πολυπλοκότητα της χημείας, τη χημική δομή του μορίου-στόχου και τη θέση της επισήμανσης, μια κλασική προσέγγιση σύνθεσης, ξεκινώντας από κατάλληλα εμπορικά διαθέσιμα επισημασμένα πρόδρομα μόρια, μπορεί να είναι πολύ χρονοβόρα και να απαιτείται μεγάλη κατανάλωση πόρων. Εναλλακτικά, η αντίδραση HIE καθιστά δυνατή την άμεση επισήμανση με δευτέριο ή τρίτιο του επιθυμητού μορίου-στόχου και έτσι μπορεί να παρακαμφθεί η ανάγκη για πρόσθετα συνθετικά στάδια (π.χ. πρόδρομη σύνθεση ή πειραματικές πορείες πολλών βημάτων από ισοτοπικά επισημασμένα δομικά στοιχεία). Εάν πραγματοποιηθεί απευθείας στο μόριο-στόχο ή σε ένα προηγμένο ενδιάμεσο αυτού, η προσέγγιση επισήμανσης HIE φέρει αξιοσημείωτες δυνατότητες εξοικονόμησης χρόνου και κόστους και έτσι έχουν βρεθεί επιθυμητές στρατηγικές για την τοποθέτηση δευτερίου ή τριτίου σε οργανικά μόρια.¹¹⁷

Ωστόσο, μετά από μια περίοδο εντατικής έρευνας στη δεκαετία του 1960 και της δεκαετίας του '70, χρειάστηκε να φθάσουμε στα μέσα της δεκαετίας του '90 ώστε η προσέγγιση της HIE να βιώσει μια νέα αναζωπύρωση. Έκτοτε, η ανάγκη για σταθερές ισοτοπικά επισημασμένες

ενώσεις (και, σε μικρότερο βαθμό, ραδιοσημασμένα ανάλογα τους) έχει κλιμακωθεί περαιτέρω. Αυτό οφείλεται σε μεγάλο βαθμό στην ταχεία ανάπτυξη της φασματομετρίας μάζας και στις εφαρμογές της που βασίζονται στην ανάλυση υγρής χρωματογραφίας-φασματομετρίας μάζας (LC-MS). Η ικανότητα ακριβούς μέτρησης των αναλογιών των ισοτόπων προάγει μια δυναμική άποψη για τις βιοσυνθετικές οδούς, την κυκλοφορία πρωτεϊνών και τα μεταβολικά δίκτυα και έχει προετοιμάσει το δρόμο για μια σειρά επιστημονικών ανακαλύψεων στη βιοϊατρική έρευνα.¹¹⁸ Επιπλέον, στην φαρμακοχημεία, η αντικατάσταση του υδρογόνου από το δευτέριο έχει πρόσφατα λάβει μεγάλη προσοχή ως ένας τρόπος για να αλλάξει τις ιδιότητες ADME των υφιστάμενων υποψήφιων φαρμάκων.¹¹⁹ Σε συνδυασμό με όλα αυτά, η λειτουργικότητα του δεσμού C-H εξακολουθεί να είναι μια κρίσιμη στρατηγική για την επεξεργασία σύνθετων μορίων στα τελευταία στάδια.^{110α} Σε σχέση με τη σύνθεση των επισημασμένων ενώσεων, η τελευταία δεκαετία έχει δει μια μετατόπιση της ερευνητικής εστίασης από ετερογενείς σε ομογενείς καταλυτικές μεθόδους HIE. Αυτές οι δύο προσεγγίσεις επισήμανσης έχουν συμπληρωματικές εφαρμογές και χρησιμοποιούνται και οι δύο τακτικά. Τυπικά, η ετερογενής καταλυόμενη από μέταλλα HIE καταλήγει σε σχετικά μη ειδική ενσωμάτωση πολυάριθμων ατόμων δευτερίου στα διάφορα υποστρώματα (Σχήμα 29, κέντρο). Συνεπώς, η ετερογενής καταλυόμενη από μέταλλο ανταλλαγή H/D τείνει να είναι η μέθοδος επιλογής για την παρασκευή σταθερών ισοτοπικά επισημασμένων εσωτερικών προτύπων (SILS) για τις έρευνες LC-MS/MS. Για τις εφαρμογές SILS, η επικάλυψη των σημάτων μάζας για τον μη επισημασμένο αναλύτη σε σχέση με τα σήματα για το εσωτερικό πρότυπο πρέπει να είναι όσο το δυνατόν χαμηλότερη. Κατά συνέπεια, οι ετερογενείς μέθοδοι ανταλλαγής έχουν βελτιστοποιηθεί για να ενσωματώσουν τρία έως πέντε άτομα δευτερίου στην περίπτωση μικρών μορίων χωρίς λειτουργικές ομάδες που περιέχουν χλώριο, βρώμιο ή θείο, με αμελητέα ποσότητα μη επισημασμένου υποστρώματος (D₀).¹²⁰ Αντίθετα, οι ομογενείς μέθοδοι HIE που καταλύονται από μέταλλα είναι τυπικά πολύ πιο εκλεκτικές καθώς το δευτέριο ενσωματώνεται μόνο σε ειδικές θέσεις σε ένα μόριο (π.χ., δίπλα σε μια ομάδα “καθοδήγησης” (Σχήμα 29, δεξιά). Επομένως, αυτές οι μέθοδοι έχουν ιδιαίτερη σημασία για την ενσωμάτωση τρίτου με ανταλλαγή H/T.^{116,117} Τέλος, χρησιμοποιούνται μέθοδοι επισήμανσης με

οξέα/βάσεις. Η εκλεκτικότητα αυτών των μεθόδων εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την ηλεκτρονική ενεργοποίηση εντός του μορίου-στόχου (π.χ., για ηλεκτρονιόφιλη αρωματική υποκατάσταση, Σχήμα 29, αριστερά).



Σχήμα 29. Διάφορες μέθοδοι ανταλλαγής ισοτόπων υδρογόνου.

3.4.1 Επισήμανση με χρήση οξέος/βάσης ως μεσολαβητή

Αν και οι αντιδράσεις ανταλλαγής H/D εξαρτώμενες από το pH συγκαταλέγονται στις παλαιότερες μεθόδους που χρησιμοποιούνται για τη μεσολάβηση τέτοιων διαδικασιών επισήμανσης, υπάρχουν ακόμα νέες εφαρμογές και παραδείγματα που αναφέρονται. Ενώ τα απλά οξέα Brønsted, όπως DCl^{121} ή D_2SO_4 ,¹²² χρησιμοποιούνται ως επί το πλείστον για την εισαγωγή δευτερίου σε ενεργοποιημένες αρωματικές ενώσεις, βάσεις όπως $\text{NaOD}/\text{D}_2\text{O}$,¹²³ $\text{DMAP}/\text{D}_2\text{O}$,¹²⁴ $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{D}_2\text{O}$, ή ακόμη και το υπερκρίσιμο D_2O^{125} είναι βολικά αντιδραστήρια για την εισαγωγή ισοτόπων υδρογόνου σε αλειφατικές θέσεις CH. Λόγω του γεγονότος ότι η πηγή ισοτόπων που χρησιμοποιείται είναι σε μεγάλη περίσσεια, υπάρχουν λίγα μόνο πρωτόκολλα

καταλυόμενα από οξέα/βάσεις που είναι γνωστά για την εισαγωγή του τριτίου.¹¹⁷ Τα περισσότερα από αυτά τα παραδείγματα είναι παλαιότερης προέλευσης, ενώ δεν έχουν αναφερθεί νέες εφαρμογές τα τελευταία δέκα χρόνια, πιθανότατα εξαιτίας της ανάπτυξης αποτελεσματικότερων εναλλακτικών μεθόδων εισαγωγής τριτίων.

3.4.2 Ετερογενής κατάλυση

Στην ομογενή κατάλυση, η εκλεκτικότητα είναι ένας από τους κύριους στόχους, ενώ στην ετερογενή κατάλυση, η υψηλή δραστικότητα του καταλύτη, η οποία μπορεί να ρυθμιστεί με την ενεργοποίηση της επιφάνειάς του, είναι ένα πιο εμφανές πλεονέκτημα. Οι λόγοι για τους οποίους χρειάζονται διαφορετικά είδη εκλεκτικότητας της επισήμανσης εξαρτώνται από την τελική εφαρμογή των επισημασμένων μορίων. Γενικά, εφαρμόζεται ετερογενής κατάλυση όταν απαιτούνται πολλά άτομα δευτερίου/τριτίου. Επομένως, αυτή η μέθοδος εφαρμόζεται κυρίως για την παρασκευή δευτεριωμένων πρότυπων δειγμάτων για ανάλυση LC-MS/MS. Ένα άλλο τεχνικό πλεονέκτημα της ετερογενούς κατάλυσης είναι η δυνατότητα απομάκρυνσης του καταλύτη με απλή διήθηση κατά την ολοκλήρωση της αντίδρασης. Επιπλέον, στις διαδικασίες ανταλλαγής που συμβαίνουν χωρίς παράπλευρες αντιδράσεις ή αποσύνθεση, δεν απαιτείται περαιτέρω στάδιο καθαρισμού. Ωστόσο, λόγω των γενικά χαμηλών επιπέδων εκλεκτικότητας, υπάρχει πάντοτε η πιθανότητα της ανεπιθύμητης αποαλογόνοσης, υδρογόνωσης, υδρόλυσης ή, υπό πιο έντονες συνθήκες, της επιμερίωσης και της ρακεμοποίησης. Επιπρόσθετα και παρά τις μεθοδολογικές βελτιώσεις τα τελευταία χρόνια, οι συνθήκες αντίδρασης πρέπει συνήθως να ρυθμιστούν και να βελτιστοποιηθούν για κάθε υπόστρωμα ξεχωριστά.

Έχει βρεθεί υψηλή δραστικότητα για ανταλλαγή H/D με ετερογενείς καταλύτες με παλλάδιο, λευκόχρυσο, ρόδιο, νικέλιο, κοβάλτιο και, πιο πρόσφατα, καταλύτες ρουθηνίου. Από την άλλη πλευρά, δεν παρατηρήθηκε ιδιαίτερη δραστικότητα ανταλλαγής σε ετερογενείς διαδικασίες αντίδρασης είτε με ιρίδιο είτε με σίδηρο, οι οποίες χρησιμοποιούνται με επιτυχία στην ομοιογενή κατάλυση. Όσον αφορά την πηγή ισότοπων, χρησιμοποιήθηκαν

αέριο δευτέριο ή τρίτιο, οξείδιο του δευτερίου ή οξείδιο του τρίτιου και δευτεριωμένοι πρωτικοί διαλύτες που μεταφέρουν το ασταθές τους δευτέριο στο υπόστρωμα.^{126,127}

Στην μέθοδο αυτή περιλαμβάνονται ΗΙΕ αντιδράσεις:

- καταλυόμενες από μέταλλα μετάπτωσης
- με μείγμα καταλυτών, όπως Pd/C και Pt/C και
- με νανοσωματίδια, όπως νανοσωματίδια Pd (με μέση διάμετρο 3.4 nm)

3.4.3 Ομογενής κατάλυση

Καθώς οι ομογενείς καταλύτες είναι συχνά μονομοριακοί, οι καταλυτικές τους ιδιότητες μπορούν να ρυθμιστούν με σωστό χειρισμό των υποκαταστατών που προσδένονται με το μεταλλικό κέντρο. Επιπλέον, αυτή η μέθοδος κατάλυσης είναι ήπια, ευρέως εφαρμόσιμη και εμφανίζει ελκυστικές για την βιομηχανία συνθήκες αντίδρασης. Συνεπώς, παράλληλα με την πρόοδο της ετερογενούς κατάλυσης, της ΗΙΕ με μεσολάβηση από οξύ/βάση ΗΙΕ ακόμη και των οργανοκαταλυτικών μεθόδων, η ομοιογενής κατάλυση κυριαρχεί στη σύγχρονη έρευνα στο ΗΙΕ.^{116α,116γ,127α,128-134} Επιπρόσθετα, η επισήμανση των ισοτόπων παραμένει σε κανονική χρήση για τη μέτρηση του κινητικού ισοτοπικού φαινομένου¹³⁵⁻¹⁴⁰ σε διάφορες εφαρμογές ομογενούς κατάλυσης με μέταλλα μεταπτώσεως.

Η μέθοδος αυτή περιλαμβάνει την χρήση καταλυτών λευκοχρύσου, παλλαδίου, ρουθηνίου, ροδίου και ιριδίου.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

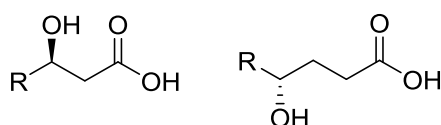
ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Αν και η έρευνα για τα υδρόξυ πολυακόρεστα λιπαρά οξέα είναι ιδιαίτερα εκτεταμένη, τα υδρόξυ παράγωγα των κορεσμένων λιπαρών οξέων δεν έχουν λάβει μέχρι σήμερα αντίστοιχη προσοχή. Τα πολυακόρεστα υδρόξυ λιπαρά οξέα περιλαμβάνουν, όπως δείχνουν πολυάριθμες μελέτες, ισχυρούς χημικούς μεσολαβητές όπως υδρόξυ δεκαοκταδιενοϊκά οξέα, λιποξίνες, υδρόξυ εικοσατετραενοϊκά οξέα, υδρόξυ εικοσαπενταενοϊκά οξέα, ρεσολβίνες, προτεκτίνες και μαρεσίνες.

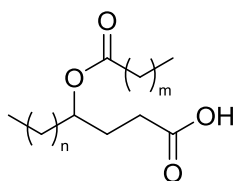
Μόλις πρόσφατα άρχισαν να εμφανίζονται στη βιβλιογραφία μελέτες που ανέδειξαν τον βιολογικό ρόλο για τα υδρόξυ κορεσμένα λιπαρά οξέα. Έχει αναφερθεί ότι μερικά υδρόξυ λιπαρά οξέα έχουν την ικανότητα να αλληλεπιδρούν με υποδοχείς ελεύθερων λιπαρών οξέων περισσότερο ισχυρά από τα μη υδροξυλιωμένα.

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η ανάπτυξη μιας εύχρηστης μεθόδου για τη σύνθεση 3-υδρόξυ και 4-υδρόξυ κορεσμένων λιπαρών οξέων και παραγώγων τους. Πιο συγκεκριμένα στόχοι ήταν:

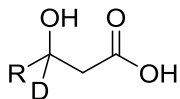
1. Η ανάπτυξη μεθόδου για τη σύνθεση 3-υδρόξυ και 4-υδρόξυ οξέων, τόσο σε ρακεμική μορφή, όσο σε εναντιομερική μορφή.



2. Η σύνθεση εστέρα λιπαρού οξέος με 4-υδρόξυ λιπαρό οξύ καθόσον πολύ πρόσφατα αυτή η κατηγορία λιπιδίων, που αναφέρονται στη βιβλιογραφία ως FAHFAs, έχει προσελκύσει το ενδιαφέρον των ερευνητών λόγω της αντιφλεγμονώδους και αντιδιαβητικής δράσης που παρουσιάζουν.



3. Η σύνθεση δευτεριωμένων αναλόγων υδρόξυ λιπαρών οξέων λόγω της μεγάλης χρησιμότητας τέτοιων ενώσεων για μελέτες των πορειών βιοσύνθεσης και αποικοδόμησης, αλλά και για μελέτες με φασματομετρία μάζας, ως πρότυπες ενώσεις.



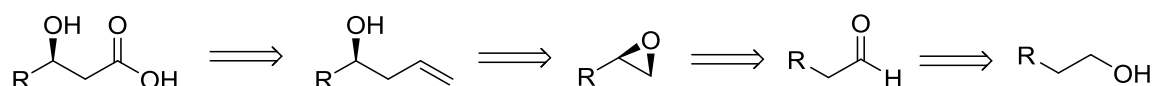
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

ΣΥΝΘΕΣΗ 3-ΥΔΡΟΞΥ ΚΑΙ 4-ΥΔΡΟΞΥ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ

Αν και τόσο τα 3-υδροξύ αλλά και τα 4-υδροξύ λιπαρά οξέα αποτελούν δύο κατηγορίες ενώσεων που υπάρχουν σε μεγάλο βαθμό στη φύση και στους οργανισμούς, η σύνθεση τους ενδογενώς αλλά και η δράση τους δεν έχει διερευνηθεί πλήρως. Έχει βρεθεί ότι, γενικά, τα υδροξύ λιπαρά οξέα εμφανίζουν αντιβιοτική, προφλεγμονώδη και αντικαρκινική δράση. Γνωρίζοντας, λοιπόν, αυτά και σε συνδυασμό με την έλλειψη πληροφοριών πάνω στις ενώσεις αυτές, τέθηκε ως στόχος του πρώτου μέρους της παρούσας εργασίας η ανάπτυξη μεθόδου σύνθεσης κορεσμένων λιπαρών οξέων που θα φέρουν ένα υδροξύλιο στη θέση 3 ή στη θέση 4 της ανθρακικής αλυσίδας.

5.1 Ρετροσυνθετική πορεία για τη σύνθεση 3-υδροξύ λιπαρών οξέων

Θέλοντας να αναπτύξουμε μια συνθετική πορεία λίγων βημάτων και με σχετικά απλές συνθήκες, καταλήξαμε στο σχεδιασμό μεθόδου για τη σύνθεση των 3-υδροξύ οξέων μέσω της ρετροσυνθετικής πορείας που ακολουθεί (Σχήμα 30). Τα επιθυμητά 3-υδροξύ οξέα θα μπορούσαν να προκύψουν από τα αντίστοιχα 4-υδροξύ ακραία αλκένια με οξειδωτική διάσπαση.

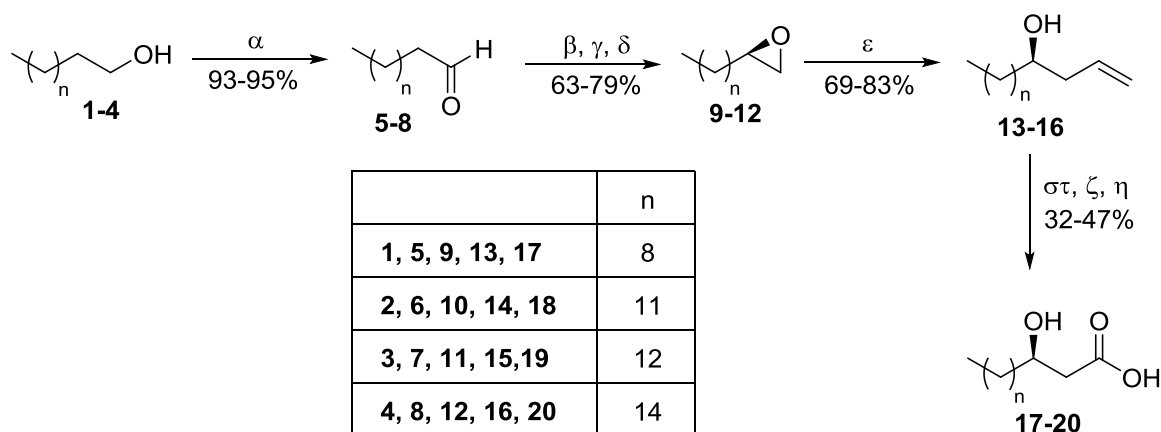


Σχήμα 30. Ρετροσυνθετική πορεία σύνθεσης 3-υδροξύ λιπαρών οξέων.

Τα ακραία αλκένια αυτά, θα αποτελέσουν προϊόντα της διάνοιξης χειρόμορφων εποξειδίων, τα οποία θα έχουν προέλθει από τις αντίστοιχες αλδεΐδες. Κάποιες από τις αλδεΐδες που χρησιμοποιούνται στις συνθέσεις προκύπτουν από οξείδωση των αλκοολών τους, παρόλο που είναι εμπορικά διαθέσιμες.

5.2 Σύνθεση των 3-υδρόξυ λιπαρών οξέων

Η μέθοδος σύνθεσης που αναπτύχθηκε για την παραλαβή των 3-υδρόξυ οξέων φαίνεται στο σχήμα 31. Ξεκινώντας από αλειφατικές πρωτοταγείς αλκοόλες **1-4**, παρασκευάστηκαν οι αντίστοιχες αλδεΐδες **5-8** μέσω οξειδωσης με PCC (Pyridinium chlorochromate). Στη συνέχεια, οι αλδεΐδες μετατράπηκαν στα χειρόμορφα εποξειδία **9-12** με καταλυτική χρήση της τρίτης γενιάς ιμιδαζολιδιόνης του MacMillan. Η αντίδραση σχηματισμού των εποξειδίων αποτελεί το στάδιο κλειδί για την ασύμμετρη αυτή σύνθεση, καθώς είναι υπεύθυνη για την εισαγωγή της χειρομορφίας στις ενώσεις που συντέθηκαν και μάλιστα σε υψηλά ποσοστά.

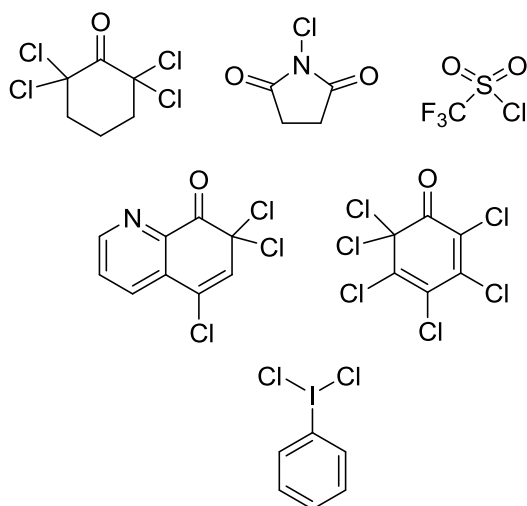


Σχήμα 31. Γενική μέθοδος σύνθεσης των 3-υδρόξυ οξέων. (α) PCC, ξηρό CH_2Cl_2 , (β) 2,3,4,5,6,6-εξαχλωροκυκλοεξα-2,4-διεν-1-όνη, 20% καταλύτη του Macmillan, THF, 30 min, r.t., (γ) NaBH_4 , EtOH, 0 °C, 15 min., (δ) KOH/EtOH/ H_2O , 30 min, r.t., (ε) βινυλομαγνήσιο βρωμίδιο 1M, CuI, ξηρό THF, -78 °C, (στ) O_3 , CH_2Cl_2 /Pyridine 9:1, -78 °C, (ζ) i. Ar, ii. DMS, 0 °C, (η) οξείδωση Pinnick.

Στη συνέχεια, ακολουθεί η εκλεκτική διάνοιξη των εποξειδίων από το αντιδραστήριο Grignard βινυλομαγνήσιο βρωμίδιο παρουσία καταλυτικής ποσότητας ιωδιούχου χαλκού. Έτσι παραλαμβάνονται τα 4-υδρόξυ ακραία αλκένια **13-16** που μέσω οζονόλυσης, ακολουθούμενης από αναγωγή με διμεθυλοσουλφίδιο και οξείδωση Pinnick, μετατρέπονται στα επιθυμητά 3-υδρόξυ οξέα **17-20**. Βήμα καθοριστικό της συνθετικής πορείας που αναλύθηκε είναι και η οζονόλυση και θα εξηγηθεί αναλυτικά παρακάτω.

5.2.1 Μέθοδος σύνθεσης χειρόμορφων ακραίων εποξειδίων

Η σύνθεση των χειρόμορφων ακραίων εποξειδίων με τη βοήθεια του καταλύτη του MacMillan ξεκινά με αρχική ύλη μια αλδεΐδη.¹⁴¹ Αρχικός στόχος είναι η σύνθεση μιας α-χλώρο αλδεΐδης, καθώς είναι γνωστό ότι οι χλωριωμένες ενώσεις είναι χρήσιμα ενδιάμεσα για πολλούς οργανικούς μετασχηματισμούς λόγω της τάσης του χλωρίου να αποχωρεί, αφού αποτελεί καλή αποχωρούσα ομάδα. Μόλις εισαχθεί ασύμμετρα ένα άτομο χλωρίου σε έναν χειρόμορφο άνθρακα, ο δεσμός άνθρακα-χλωρίου που έχει σχηματιστεί μπορεί να διασπαστεί με υποκατάσταση τύπου SN_2 για να δημιουργηθεί ένας νέος δεσμός. Η ασύμμετρη α-χλωρίωση καρβονυλικών ενώσεων με ηλεκτρονιόφιλα αντιδραστήρια χλωρίωσης μπορεί να πραγματοποιηθεί με διάφορες ενώσεις (Σχήμα 32), όμως στην συγκεκριμένη μέθοδο επιλέγεται η 2,3,4,5,6,6-εξαχλωροκυκλοεξα-2,4-διεν-1-όνη.

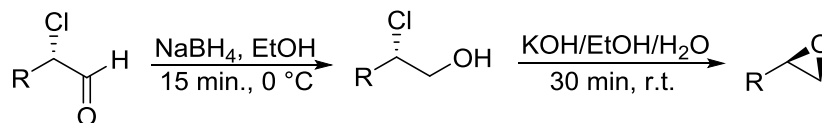


Σχήμα 32. Δομές ηλεκτρονιόφιλων αντιδραστηρίων χλωρίωσης.

Μέσα από την συμμετοχή της εκάστοτε αλδεΐδης σε έναν οργανοκαταλυτικό κύκλο, όπου η απαιτούμενη ενεργοποίηση του καρβονυλίου της γίνεται μέσω μηχανισμού εναμίνης, παραλαμβάνεται η απαραίτητη α-χλώρο αλδεΐδη που μπορεί μετά από κατεργασία να μετατραπεί σε ακραίο εποξείδιο, χωρίς να χαθεί η εναντιοκαθαρότητα του μορίου.

Αφού σχηματιστεί η α-χλώρο αλδεΐδη, ακολουθεί αναγωγή με $NaBH_4$ σε EtOH προς την αντίστοιχη α-χλώρο αλκοόλη. Κατεργασία της αλκοόλης με

διάλυμα KOH/EtOH/H₂O οδηγεί στο σχηματισμό του επιθυμητού χειρόμορφου εποξειδίου (Σχήμα 33).



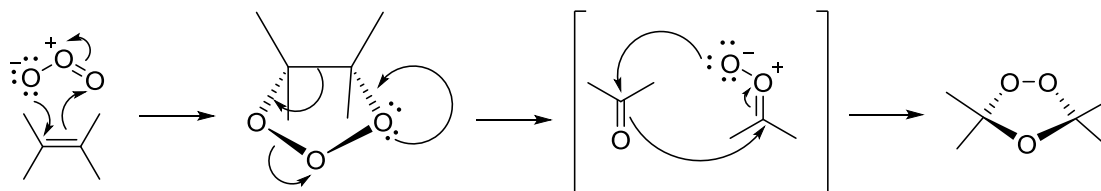
Σχήμα 33. Σχηματισμός εποξειδίου από την α-χλώρο αλκοόλη.

Θα πρέπει να σημειωθεί ότι, στη συνέχεια η διάνοιξη του εποξειδίου πραγματοποιείται σε συνθήκες όπου ουσιαστικά δημιουργείται το αντιδραστήριο Gilman. Αυτές οι συνθήκες εξασφαλίζουν την διάνοιξη με τοποεκλεκτικότητα για την προσβολή στον λιγότερο υποκατεστημένο άνθρακα του εποξειδίου.^{142,143}

5.2.2 Μηχανισμός της οζονόλυσης των ακραίων αλκενίων

Για την πραγματοποίηση της αντίδρασης της οζονόλυσης απαιτείται ο σχηματισμός του όζοντος που θα διαβιβαστεί στο διάλυμα. Το όζον παρασκευάζεται με ειδικές συσκευές γνωστές ως οζονιστήρες, οι οποίοι διαθέτουν λυχνίες υπεριώδους ακτινοβολίας.

Το όζον αποτελεί ένα από τα βασικότερα αντιδραστήρια διάσπασης διπλού δεσμού των αλκενίων, σχηματίζοντας αρχικά τα κυκλικά ενδιάμεσα που ονομάζονται μολοζονίδια. Αφού σχηματιστούν τα μολοζονίδια, αρχίζουν να υφίστανται ταχεία μετάθεση σχηματίζοντας τα οζονίδια (Σχήμα 34), τα οποία δεν απομονώνονται, αλλά υφίστανται περαιτέρω κατεργασία,^{144,145} όπως με το αναγωγικό αντιδραστήριο διμεθυλοσουλφίδιο. Τέλος, ακολουθεί μια αντίδραση οξειδωσης (οξειδωση Pinnick) των αλδεϋδών που σχηματίζονται για την παραλαβή των 3-υδρόξυ οξέων.

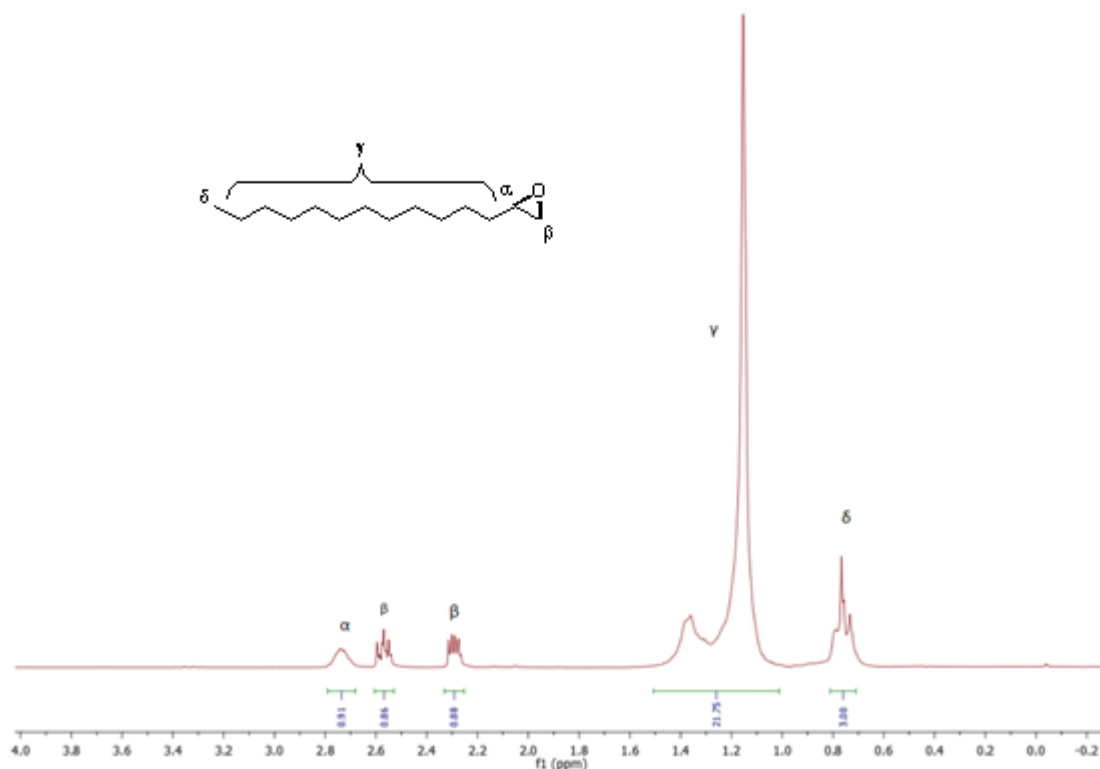


Σχήμα 34. Μηχανισμός της οζονόλυσης.

5.2.3 Χαρακτηριστικά φάσματα των ενώσεων που συντέθηκαν κατά την πορεία σύνθεσης 3-υδρόξυ λιπαρών οξέων

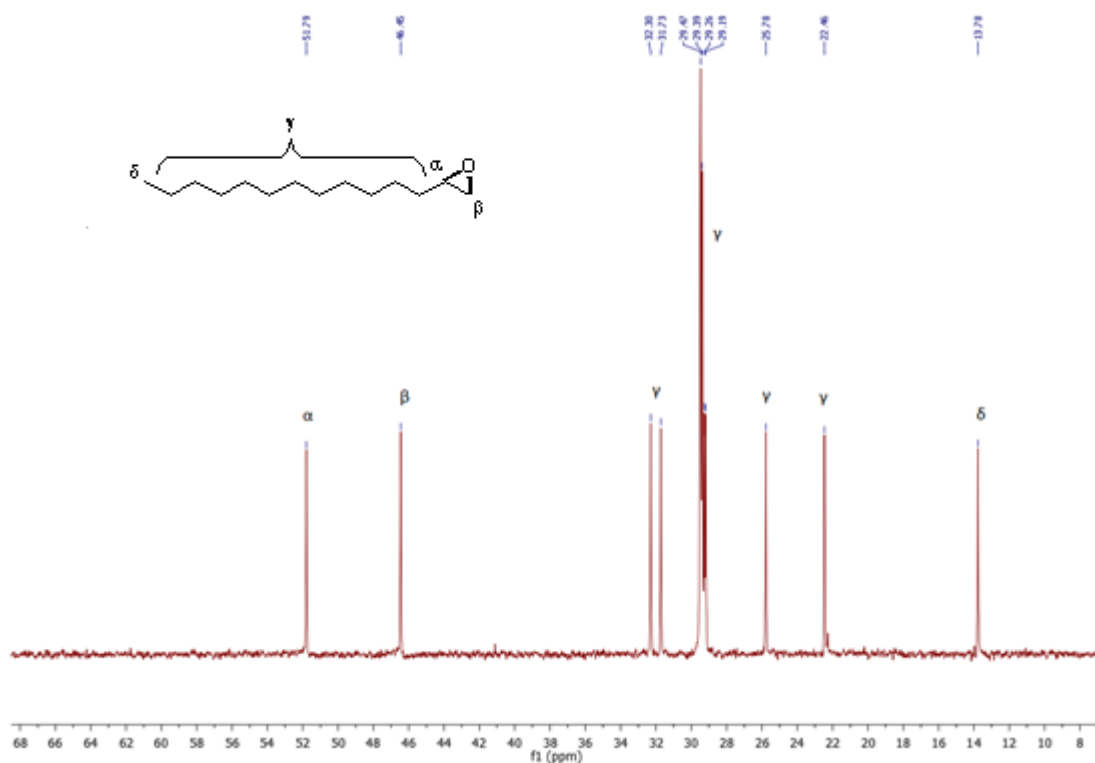
Η σύνθεση του εποξειδίου αποτελεί το πρώτο βασικό βήμα της συνθετικής πορείας που αναλύθηκε. Στη συνέχεια παρουσιάζονται ενδεικτικά φάσματα ^1H και ^{13}C NMR ενός εποξειδίου, ενός υδρόξυ αλκενίου και ενός τελικού υδρόξυ οξέος.

Όπως φαίνεται από το φάσμα ^1H της ένωσης **11** που παρατίθεται, το πρωτόνιο (α) του εποξειδίου συντονίζεται στην περιοχή 2.80-2.70 ppm, ενώ τα β πρωτόνια στα 2.55 ppm και στην περιοχή 2.30-2.25 ppm. Τέλος, τα αλειφατικά πρωτόνια της ανθρακικής αλυσίδας συντονίζονται στην περιοχή 1.50-0.93 ppm, ενώ εκείνα του ακραίου μεθυλίου στα 0.80 ppm εμφανίζονται ως μια τριπλή κορυφή.



Σχήμα 35. Φάσμα ^1H NMR της ένωσης **11 σε CDCl_3 (200 MHz).**

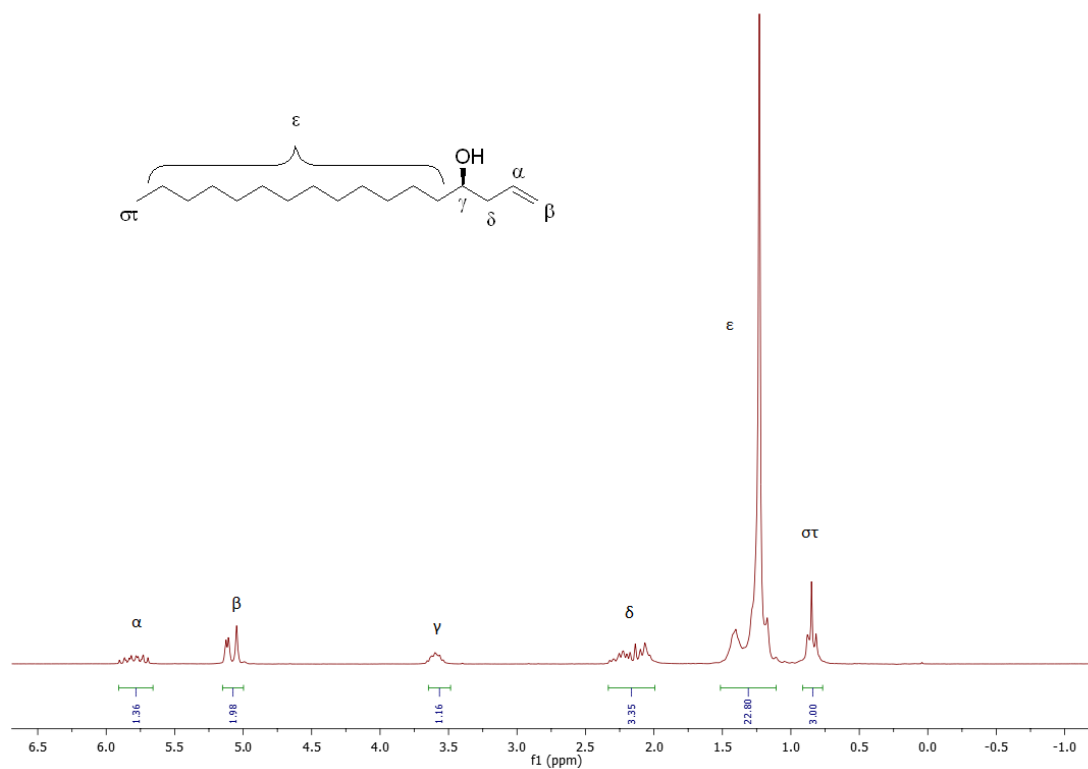
Στο φάσμα ^{13}C NMR της ίδιας ένωσης οι άνθρακες του εποξειδίου συντονίζονται στα 52.0 ppm (α) και στα 47.0 ppm (β), όπως φαίνεται και στο σχήμα 36 που ακολουθεί. Οι αλειφατικοί άνθρακες συντονίζονται στην περιοχή 32.0-23.0 ppm, ενώ ο άνθρακας του μεθυλίου εμφανίζεται στα 14.0 ppm.



Σχήμα 36. Φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης 11 σε CDCl_3 (200 MHz).

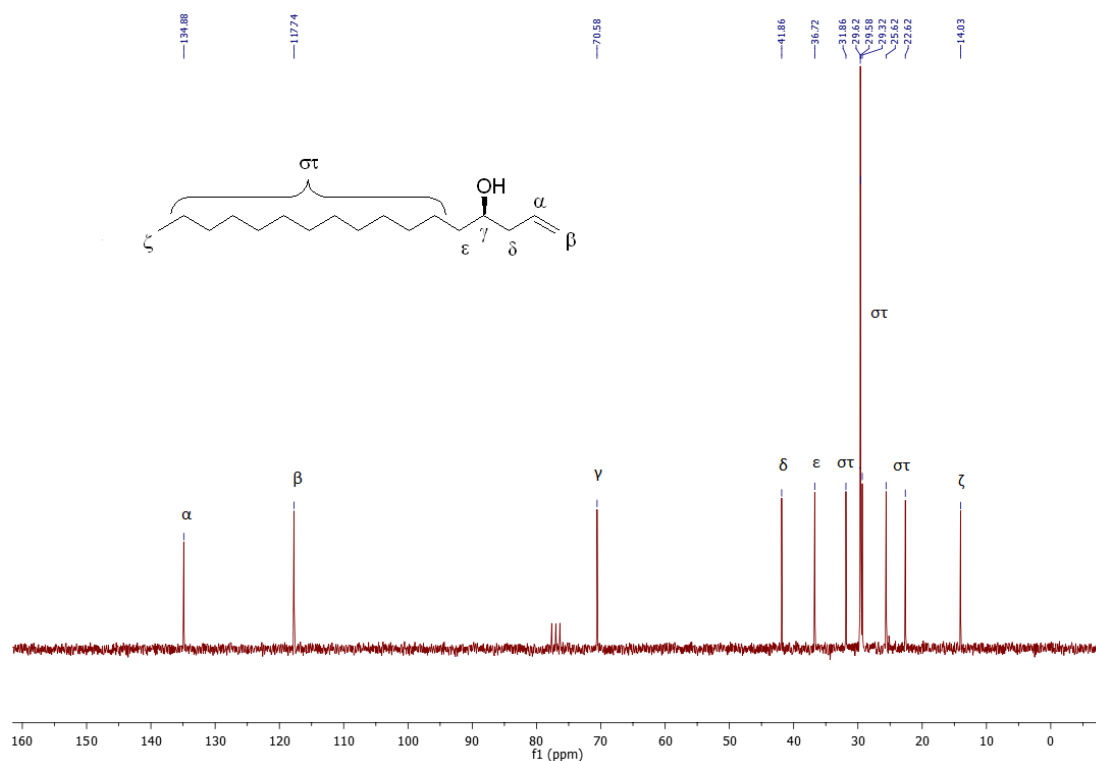
Με βάσει την συνθετική πορεία, ακολουθεί η διάνοιξη του εποξειδίου (**11**) που οδηγεί στο σχηματισμό της ένωσης **15**, τα φάσματα της οποίας αναλύονται παρακάτω (Σχήματα 37,38).

Το ένα πρωτόνιο (α) του ακραίου διπλού δεσμού συντονίζεται στην περιοχή 6.10-5.50 ppm και τα άλλα δύο (β) στην περιοχή 5.20-4.80 ppm. Ακολουθεί το πρωτόνιο που φέρει ο ασύμμετρος άνθρακας που συντονίζεται στα 3.60 ppm και στη συνέχεια τα πρωτόνια (δ) καθώς και το πρωτόνιο του υδροξυλίου στην περιοχή 2.35-2.00 ppm. Τα υπόλοιπα πρωτόνια της ανθρακικής αλυσίδας εμφανίζονται στην περιοχή 1.53-1.00 ppm. Τέλος, στα 0.85 ppm συντονίζονται τα πρωτόνια της μεθυλομάδας ως μια τριπλή κορυφή.



Σχήμα 37. Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 15 σε CDCl_3 (200 MHz).

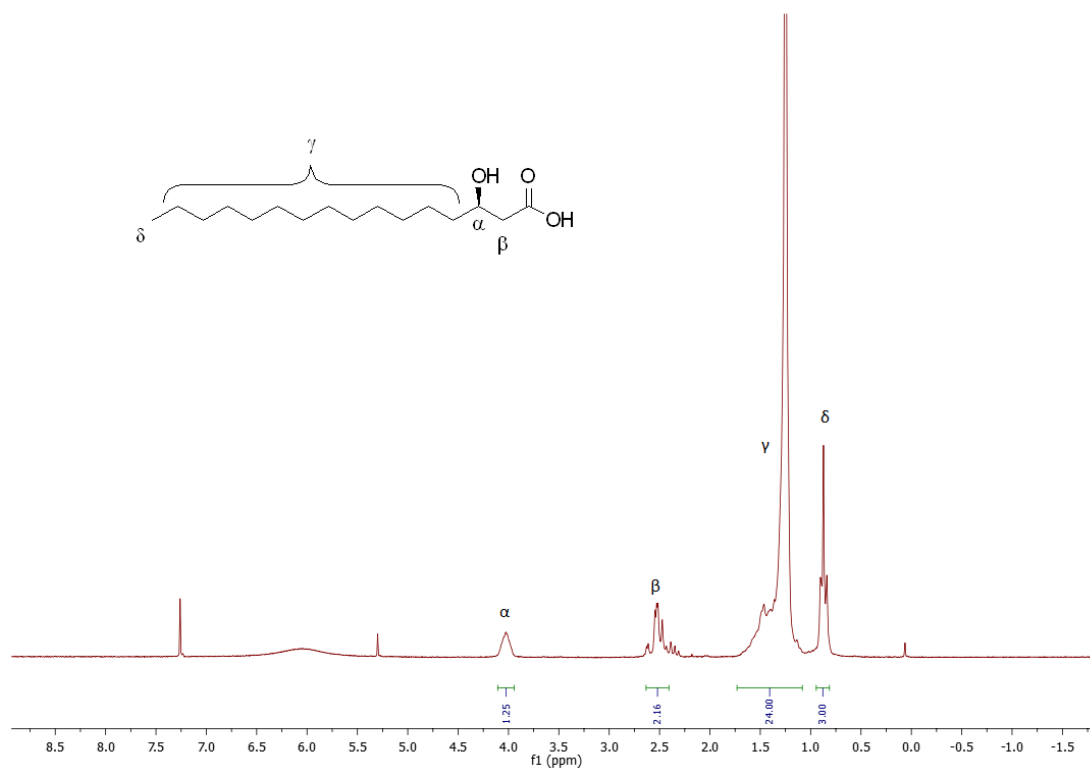
Στο φάσμα ^{13}C NMR της ίδιας ένωσης οι άνθρακες του διπλού δεσμού συντονίζονται στα 135.0 ppm (α) και στα 118.0 ppm (β) όπως φαίνεται και στο σχήμα 38 που ακολουθεί. Ο ασύμμετρος άνθρακας συντονίζεται στα 71.0 ppm, ενώ οι άνθρακες εκατέρωθεν του ασύμμετρου κέντρου συντονίζονται στα 42.0 ppm (δ) και 37.0 ppm (ϵ) αντίστοιχα. Οι αλειφατικοί άνθρακες συντονίζονται στην περιοχή 32.0-23.0 ppm και ο μεθυλικός άνθρακας εμφανίζεται στα 14.0 ppm.



Σχήμα 38. Φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης 15 σε CDCl_3 (200 MHz).

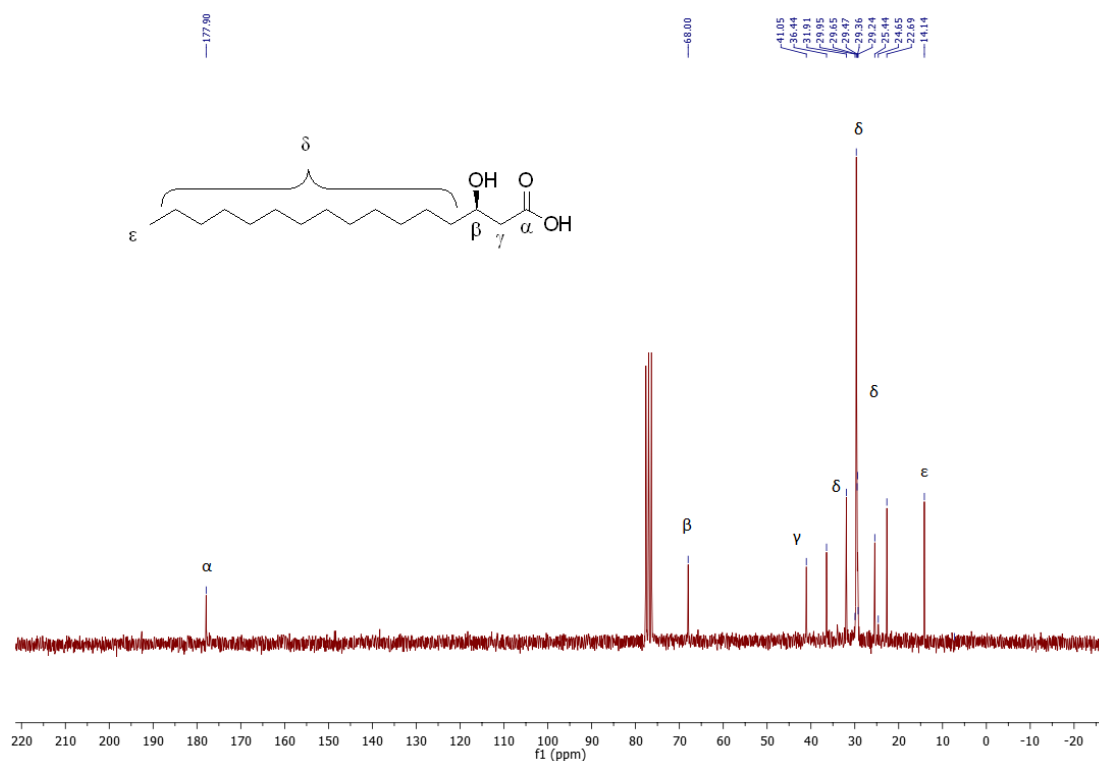
Το τελικό στάδιο της συνθετικής πορείας, που περιλαμβάνει την οζονόλυση σ' ένα από τα απαιτούμενα βήματα, οδηγεί στο σχηματισμό των επιθυμητών 3-υδρόξυ οξέων. Στη συνέχεια παρατίθενται τα φάσματα του 3-υδρόξυ δεκαεξανοϊκού οξέος (**19**), ενός από τα παράγωγα που συντέθηκαν με αυτή την μέθοδο.

Όπως φαίνεται από το φάσμα ^1H της ένωσης **19** που ακολουθεί, στα 4.00 ppm συντονίζεται το πρωτόνιο που ενώνεται με τον ασύμμετρο άνθρακα, ενώ στην περιοχή 2.60-2.25 ppm συντονίζονται τα δύο πρωτόνια σε α -θέση ως προς την καρβοξυλική ομάδα. Στη συνέχεια, τα αλειφατικά πρωτόνια του οξέος συντονίζονται στην περιοχή 1.60-1.00 ppm και τέλος, εμφανίζονται τα πρωτόνια της μεθυλομάδας στα 0.87 ppm ως μια τριπλή κορυφή (Σχήμα 39).



Σχήμα 39. Φάσμα ^1H NMR του 3-υδροξυ δεκαεξανοϊκού οξέος (19) σε CDCl_3 (200 MHz).

Στο φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης **19** ο άνθρακας του καρβοξυλίου συντονίζεται στα 178.0 ppm (α) και ο ασύμμετρος άνθρακας συντονίζεται στα 68.0 ppm (β), όπως φαίνεται και στο σχήμα 40 που ακολουθεί. Ο α -άνθρακας ως προς την καρβοξυλική ομάδα (γ) συντονίζεται στα 41.0 ppm. Οι αλειφατικοί άνθρακες του 3-υδροξυ οξέος συντονίζονται στην περιοχή 37.0-23.0 ppm και ο μεθυλικός άνθρακας εμφανίζεται στα 14.0 ppm (Σχήμα 40).

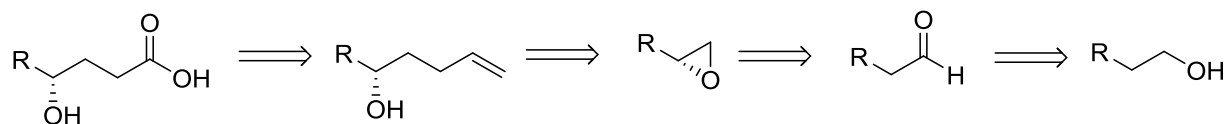


Σχήμα 40. Φάσμα ^{13}C NMR του 3-υδρόξυ δεκαεξανοϊκού οξέος (19) σε CDCl_3 (200 MHz).

5.3 Ρετροσυνθετική πορεία για τη σύνθεση 4-υδρόξυ λιπαρών οξέων

Βασιζόμενοι στη μέθοδο σύνθεσης που οδηγεί στην παραλαβή των 3-υδρόξυ οξέων, θελήσαμε να συνθέσουμε και μια σειρά από 4-υδρόξυ οξέα, αλλάζοντας ουσιαστικά το αντιδραστήριο διάνοιξης του εποξειδίου από βινυλομαγνήσιο βρωμίδιο σε αλλυλομαγνήσιο βρωμίδιο.

Τα επιθυμητά 4-υδρόξυ οξέα θα μπορούσαν να προκύψουν από τα αντίστοιχα 5-υδρόξυ ακραία αλκένια, όπως παρουσιάζεται στη ρετροσυνθετική πορεία που ακολουθεί (Σχήμα 41).



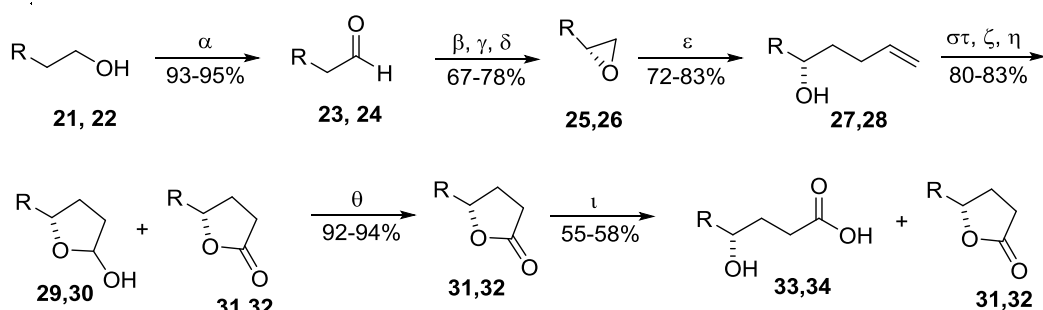
Σχήμα 41. Ρετροσυνθετική πορεία σύνθεσης 4-υδρόξυ οξέων.

Τα ακραία αλκένια αυτά, θα προκύψουν από την διάνοιξη χειρόμορφων εποξειδίων, τα οποία θα έχουν προέλθει από τις αντίστοιχες αλδεΐδες, με χρήση αλλυλομαγνησίου βρωμιδίου. Οι αλδεΐδες που απαιτούνται προέρχονται από οξείδωση των αντίστοιχων αλκοολών.

5.4 Σύνθεση των 4-υδρόξυ λιπαρών οξέων και αντίστοιχων λακτονών

Για τη σύνθεση των 4-υδρόξυ οξέων ακολουθήθηκε παρόμοια πορεία μ' εκείνη για τα 3-υδρόξυ οξέα, με μόνη διαφορά τον τρόπο διάνοιξης του εποξειδίου. Στο βήμα αυτό, για να επιτευχθεί η εισαγωγή του υδροξυλίου στην 5 θέση του ακραίου αλκενίου χρησιμοποιήθηκε αλλυλομαγνήσιο βρωμίδιο, αντί για βινυλομαγνήσιο βρωμίδιο.

Κατά την πραγματοποίηση αυτής της μεθόδου διαπιστώθηκαν διάφορα προβλήματα μετά το στάδιο της διάνοιξης των εποξειδίων. Έπειτα από την οζονόλυση των 5-υδρόξυ ακραίων αλκενίων **27,28** δεν απομονωνόταν το επιθυμητό προϊόν. Παρατηρήθηκε ότι, η αναγωγή των σχηματιζόμενων οζονιδίων από το διμεθυλοσουλφίδιο δεν πραγματοποιούνταν, καθώς σχηματίζονταν σταθερά οζονίδια. Για το λόγο αυτό, μετά την οζονόλυση ακολούθησε αναγωγή με PPh_3 για 16 ώρες. Έτσι, η διάσπαση του εκάστοτε σταθερού οζονιδίου οδηγούσε στο σχηματισμό μείγματος λακτόλης/λακτόνης (**29,30**), το οποίο με οξείδωση Jones μετατρέπεται πλήρως προς την αντίστοιχη λακτόνη. Στη συνέχεια, παρατίθεται η συνολική συνθετική πορεία που ακολουθήθηκε για την παρασκευή των 4-υδρόξυ οξέων (Σχήμα 42).

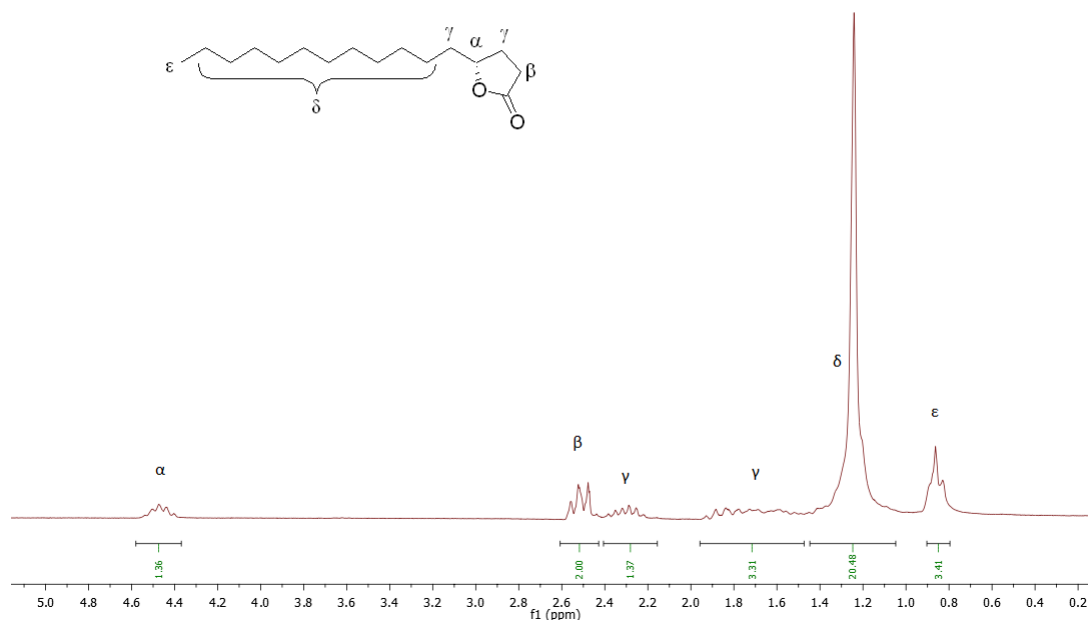


	R
21, 23, 25, 27, 29, 31, 33	C_8H_{17}
22, 24, 26, 28, 30, 32, 34	$\text{C}_{12}\text{H}_{25}$

Σχήμα 42. Γενική μέθοδος παρασκευής 4-υδρόξυ λιπαρών οξέων και λακτονών. (α) PCC , ξηρό CH_2Cl_2 , (β) 2,3,4,5,6,6-εξαχλωροκυκλοεξα-2,4-διεν-1-όνη, 20% καταλύτης του Macmillan, THF, 30 min, r.t., (γ) NaBH_4 , EtOH, 0 °C, 15 min., (δ) $\text{KOH}/\text{EtOH}/\text{H}_2\text{O}$, 30 min, r.t., (ε) αλλυλομαγνήσιο βρωμίδιο 1M, CuI , dry THF, -40 °C, (στ) O_3 , CH_2Cl_2 , -78 °C, (ζ) O_2 , Ar, 0 °C, 10 min., (η) PPh_3 , ξηρό CH_2Cl_2 , o.n., r.t., (θ) οξείδωση Jones, (ι) NaOH , H_2O , 0 °C, 1 h, HCl 6N.

Η κατεργασία της λακτόνης με NaOH σε H₂O στους 60 °C και έπειτα με HCl 6N, επιτρέπει την διάνοιξη του λακτονικού δακτυλίου. Όμως, όπως φαίνεται και στο παραπάνω σχήμα, το τελικό προϊόν της αντίδρασης είναι ένα μείγμα του επιθυμητού 4-υδρόξυ οξέος και της αντίστοιχης λακτόνης. Το γεγονός αυτό, οφείλεται στη θέση του ελεύθερου υδροξυλίου, η οποία ευνοεί το κλείσιμο του μορίου προς το σταθερό πενταμελή δακτύλιο της λακτόνης και όχι αποκλειστικά τον σχηματισμό του κορεσμένου 4-υδρόξυ οξέος.

Στη συνέχεια παρατίθενται τα φάσματα ¹H NMR της ένωσης **32** που συντέθηκε σύμφωνα με την παραπάνω μέθοδο. Όπως παρατηρούμε, στα 4.55-4.35 ppm συντονίζεται το πρωτόνιο (α) του ασύμμετρου άνθρακα και ακολουθούν τα πρωτόνια (β) στα 2.55-2.45. Στη συνέχεια, τα πρωτόνια (γ) συντονίζονται στις περιοχές 2.40-2.20 ppm και 1.90-1.50 ppm. Τέλος, στην περιοχή 1.45-1.05 ppm εμφανίζονται τα αλειφατικά πρωτόνια (δ) και στα 0.86 ppm τα πρωτόνια του μεθυλίου που εμφανίζονται ως μια τριπλή κορυφή (Σχήμα 43).

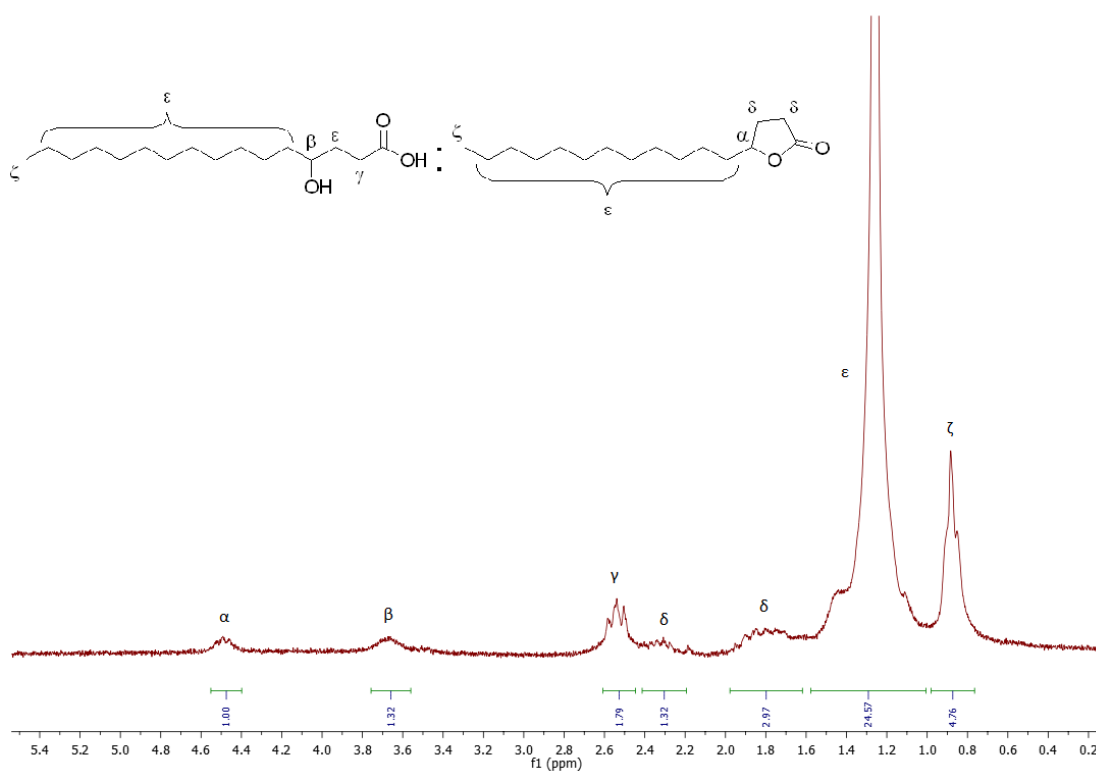


Σχήμα 43. ¹H NMR της λακτόνης **32 σε CDCl₃ (200 MHz).**

Κατά την προσπάθεια παρασκευής του 4-υδρόξυ δεκαεξανοϊκού οξέος καταλήξαμε στο παραπάνω συμπέρασμα, που είναι σύμφωνο και με τα

δεδομένα από το φάσμα ^1H NMR του μείγματος των ενώσεων **32** και **34**. Παρατηρούμε, λοιπόν, ότι το προϊόν της αντίδρασης αποτελείται από μείγμα του 4-υδρόξυ δεκαεξανοϊκού οξέος και της αντίστοιχης λακτόνης.

Από το φάσμα ^1H NMR που ακολουθεί βλέπουμε ότι, στα 4.50 ppm συντονίζεται το πρωτόνιο (α) που ενώνεται με τον γ -άνθρακα ως προς το καρβονύλιο της λακτόνης, ενώ στα 3.70 ppm συντονίζεται το πρωτόνιο (β) που συνδέεται με τον άνθρακα που φέρει το ελεύθερο υδροξύλιο του οξέος. Στα 2.50 ppm συντονίζονται τα α -πρωτόνια (γ) του 4-υδρόξυ δεκαεξανοϊκού οξέος και ακολουθούν τα 4 λακτονικά πρωτόνια (δ) στην περιοχή 2.40-1.60 ppm. Στην περιοχή 1.50-1.00 ppm συντονίζονται τα αλειφατικά πρωτόνια (ϵ) των ενώσεων του μείγματος και τέλος, τα μεθυλικά πρωτόνια (ζ) συντονίζονται στην περιοχή 0.95-0.75 ppm.

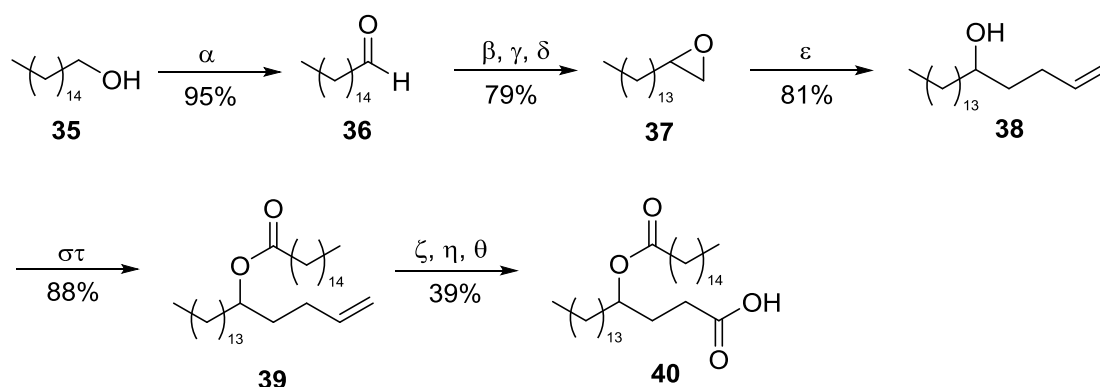


Σχήμα 44. Φάσμα ^1H NMR του μείγματος **32** και **34** σε CDCl_3 (200 MHz).

5.5 Σύνθεση εστέρα του παλμιτικού οξέος με 4-υδρόξυ στεατικό οξύ

Λόγω του ιδιαίτερου ενδιαφέροντος που παρουσιάστηκε πολύ πρόσφατα για τους εστέρες λιπαρών οξέων με κορεσμένα υδρόξυ λιπαρά οξέα, αλλά και σε συνδυασμό με το γεγονός ότι τα 4-υδρόξυ λιπαρά οξέα έχουν την τάση να κυκλοποιούνται προς τη λακτόνη, οδηγηθήκαμε στην σκέψη να συνθέσουμε ένα παράγωγο, στο οποίο το 4-υδροξύλιο δεν θα είναι ελεύθερο, αλλά θα είναι πλέον συζευγμένο με ένα μόριο παλμιτικού οξέος.

Ακολουθώντας, λοιπόν, ακριβώς την ίδια πορεία με εκείνη που φαίνεται στο σχήμα 45 καταλήξαμε στον σχηματισμό του 5-υδρόξυ αλκενίου **38**. Στη συνέχεια, η ένωση **38** συζεύχθηκε με παλμιτικό οξύ με τη χρήση EDC, Et₃N και 4-DMAP, δίνοντας έτσι τον επιθυμητό εστέρα **39** και μέσω οζονόλυσης στην ένωση αυτή, παραλαμβάνεται το επιθυμητό οξύ **40** (Σχήμα 45).

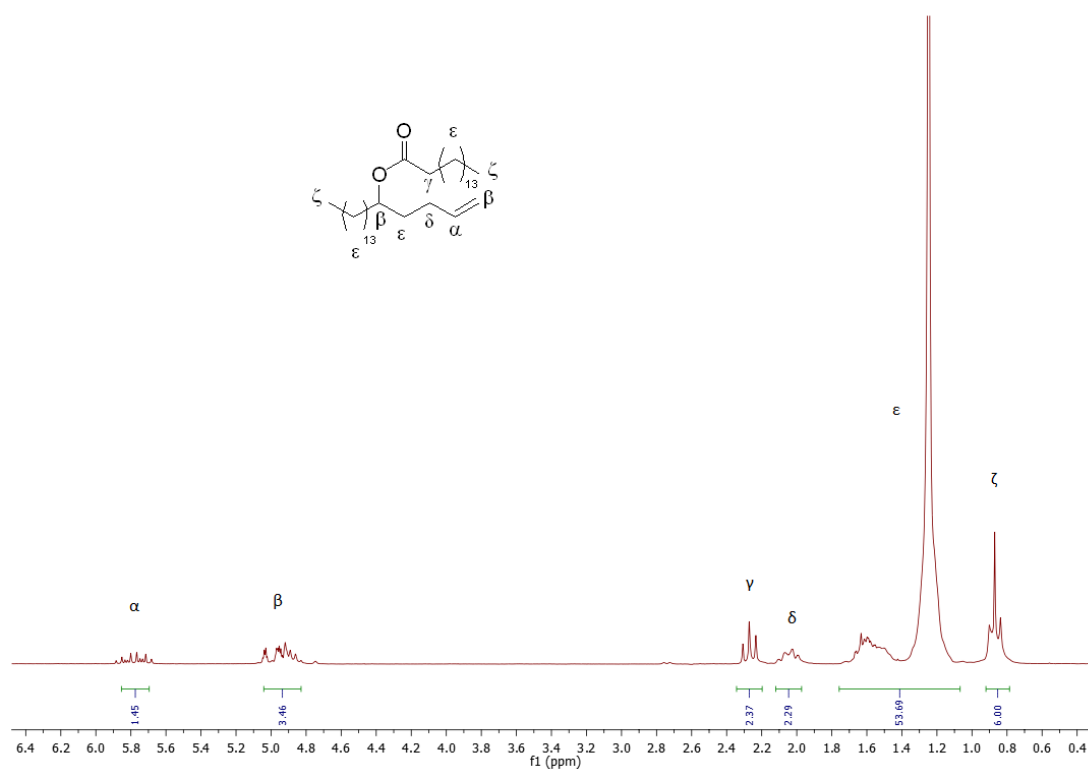


Σχήμα 45. Πορεία σύνθεσης της ένωσης 40. (α) PCC, ξηρό CH₂Cl₂, (β) *N*-χλωροσουκινιμίδιο, 20% *L*-προλίνη, CH₂Cl₂, o.n., r.t., (γ) NaBH₄, EtOH, 0 °C, 15 min., (δ) KOH/EtOH/H₂O, 30 min, r.t., (ε) αλλυλομαγνήσιο βρωμίδιο 1M, CuI, dry THF, -40 °C, (στ) παλμιτικό οξύ, EDC, Et₃N, 4-DMAP, ξηρό CH₂Cl₂, o.n., r.t., (ζ) O₃, CH₂Cl₂/πυριδίνη 9:1, -78 °C, (η) i. Ar, ii. DMS, 0 °C, (θ) οξειδωση Pinnick.

Η μέθοδος οζονόλυσης που εφαρμόστηκε στην συγκεκριμένη περίπτωση είναι ίδια μ' εκείνη που οδηγεί στον σχηματισμό των 3-υδρόξυ οξέων (Σχήμα 31), καθώς μετά την σύζευξη του ελεύθερου υδροξυλίου με παλμιτικό οξύ δεν θα δημιουργούνται τα πρόβληματα που μας οδήγησαν στην αλλαγή ορισμένων συνθηκών της γενικής μεθόδου. Στη συνέχεια

παρατίθενται τα φάσματα ^1H NMR και ^{13}C NMR των ενώσεων **39** και **40** που συντέθηκαν.

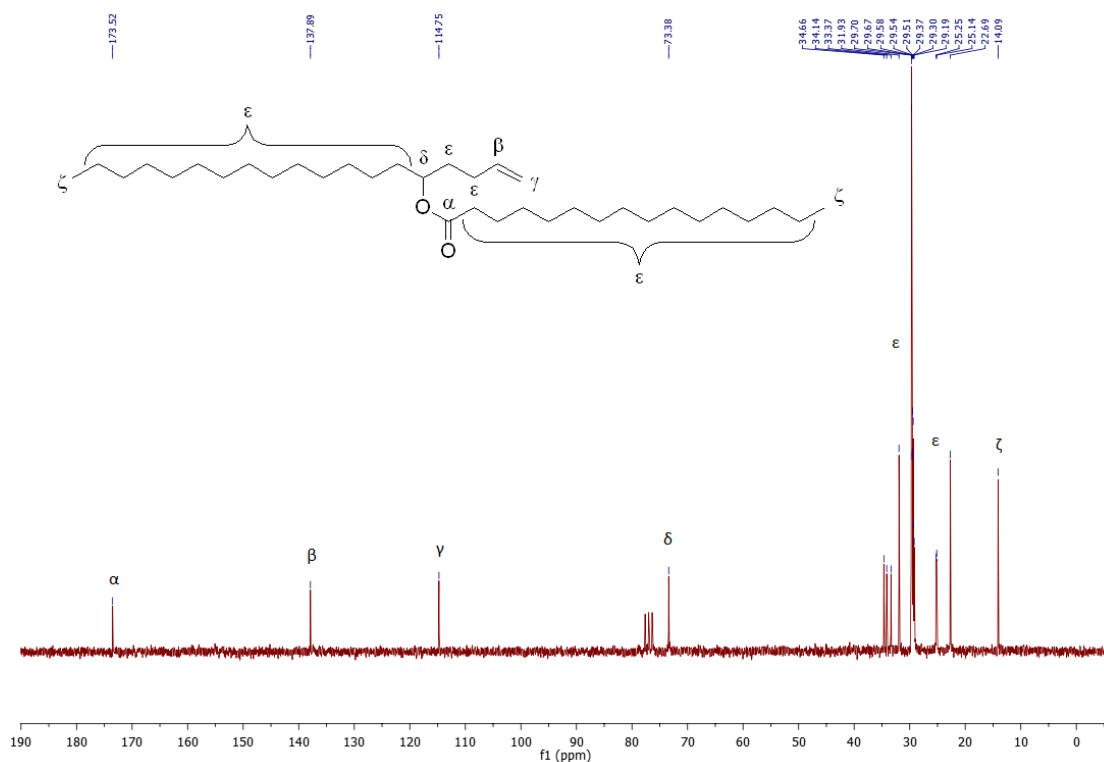
Από το φάσμα ^1H NMR της ένωσης **39** που φαίνεται στο σχήμα 46 που ακολουθεί, βλέπουμε ότι το ένα πρωτόνιο (α) του διπλού δεσμού συντονίζεται στα 5.80 ppm, ενώ τα άλλα δύο πρωτόνια (β) του διπλού δεσμού μαζί με το μεθινικό πρωτόνιο συντονίζονται στην περιοχή 5.10-4.80 ppm. Στα 2.30 ppm συντονίζονται τα α -πρωτόνια (γ) ως προς το καρβονύλιο και ακολουθούν τα αλλυλικά πρωτόνια (δ) στα 2.10 ppm. Τέλος, στην περιοχή των 1.80-1.10 ppm συντονίζονται τα αλειφατικά πρωτόνια (ϵ) των δυο ανθρακικών αλυσίδων και στα 0.90 ppm τα μεθυλικά πρωτόνια (ζ).



Σχήμα 46. Φάσμα ^1H NMR της ένωσης **39 σε CDCl_3 (200 MHz).**

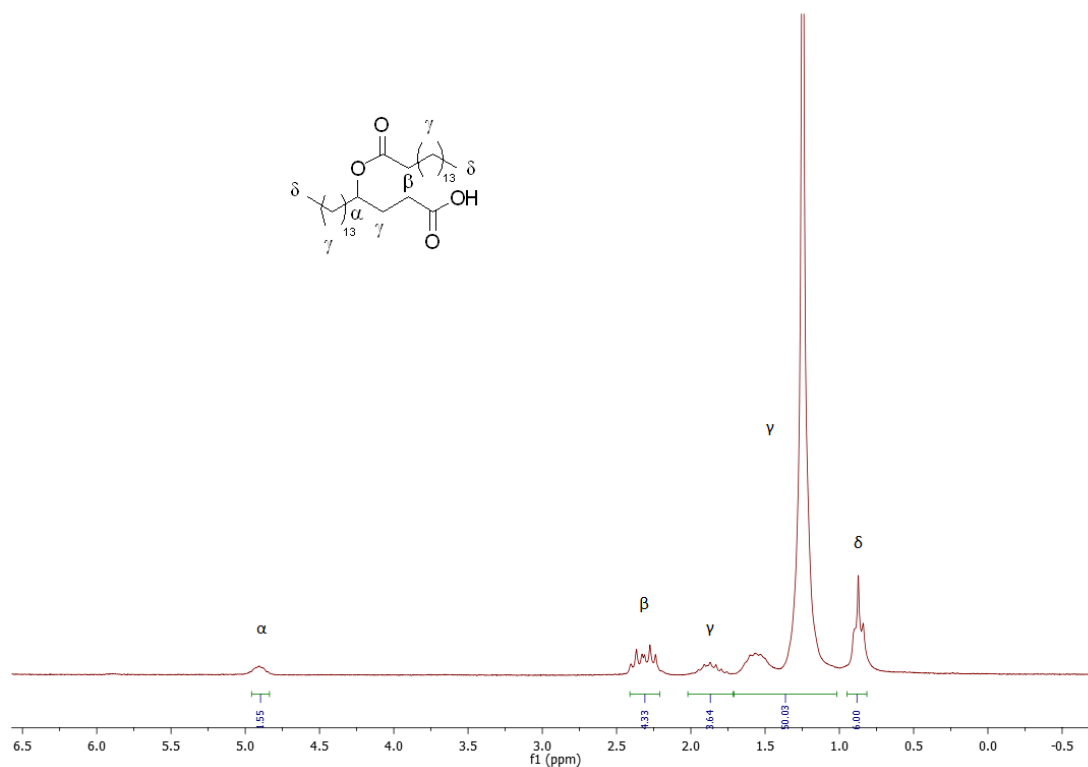
Στο φάσμα ^{13}C NMR της ίδιας ένωσης ο άνθρακας (α) του καρβονυλίου συντονίζεται στα 174.0 ppm και οι άνθρακες (β) και (γ) του διπλού δεσμού συντονίζονται στα 138.0 ppm και στα 115.0 ppm. Ο ασύμμετρος άνθρακας συντονίζεται στα 73.0 ppm (δ), όπως φαίνεται και στο σχήμα 47 που

ακολουθεί. Οι αλειφατικοί άνθρακες της ένωσης **39** συντονίζονται στην περιοχή 35.0-23.0 ppm και οι δύο μεθυλικοί άνθρακες εμφανίζονται στα 14.1 ppm.



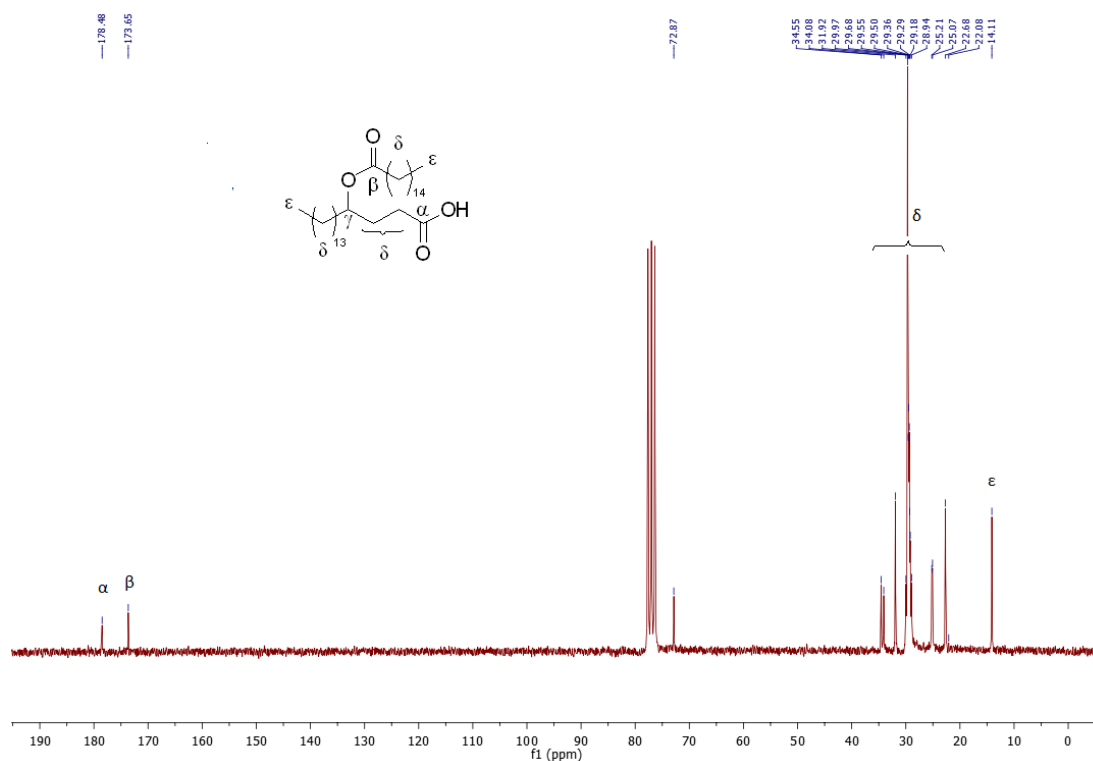
Σχήμα 47. Φάσμα ¹³C NMR της ένωσης **39 σε CDCl₃ (200 MHz).**

Από το φάσμα ¹H NMR της ένωσης **40** που φαίνεται στο σχήμα 48 που ακολουθεί, βλέπουμε ότι το πρωτόνιο (α) του μεθινίου συντονίζεται στα 4.90 ppm. Τα α-πρωτόνια (β) ως προς τα καρβονύλια που διαθέτει η ένωση **40** συντονίζονται στα 2.30 ppm. Τέλος, στην περιοχή των 2.00-1.00 ppm συντονίζονται τα αλειφατικά πρωτόνια (γ) των δυο ανθρακικών αλυσίδων και στα 0.90 ppm συντονίζονται τα μεθυλικά πρωτόνια (ζ).



Σχήμα 48. Φάσμα ^1H NMR της ένωσης **40 σε CDCl_3 (200 MHz).**

Στο φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης **40** ο άνθρακας (α) του καρβοξυλίου συντονίζεται στα 179.0 ppm, ενώ ο άνθρακας (β) εμφανίζεται στα 174.0 ppm. Ο ασύμμετρος άνθρακας συντονίζεται στα 73.0 ppm (γ), όπως φαίνεται και στο σχήμα 49 που ακολουθεί. Οι αλειφατικοί άνθρακες (δ) της ένωσης **40** συντονίζονται στην περιοχή 35.0-22.0 ppm και οι δύο μεθυλικοί άνθρακες εμφανίζονται στα 14.1 ppm.



Σχήμα 49. Φάσμα ¹³C NMR της ένωσης 40 σε CDCl₃ (200 MHz).

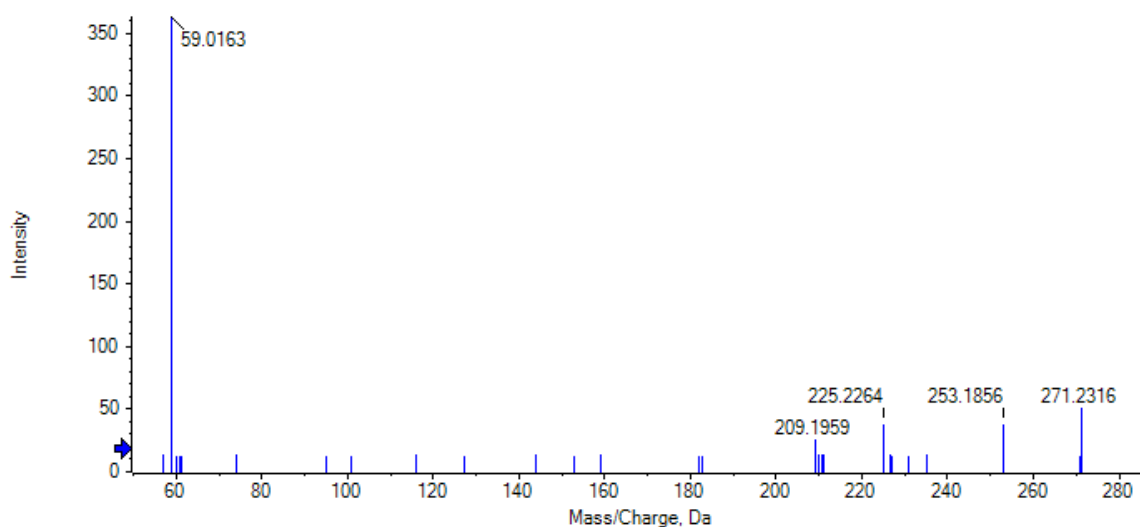
5.6 Μελέτη υδρόξυ λιπαρών οξέων με φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας (HRMS)

Η ύπαρξη εστέρων λιπαρών οξέων με υδρόξυ λιπαρά οξέα, καθώς επίσης και ελεύθερων υδρόξυ λιπαρών οξέων, σε βιολογικά υγρά σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις, σε συνδυασμό με τις βιολογικές δράσεις που παρουσιάζουν αυτές οι ενώσεις, επιβάλλουν τη μελέτη των χαρακτηριστικών τους με φασματομετρία μάζας HRMS. Βέβαια, είναι πιθανόν τα υδρόξυ λιπαρά οξέα που βρίσκονται σε βιολογικά υγρά να φέρουν το υδροξύλιο σε διαφορετικές θέσεις. Θεωρούμε επομένως ιδιαίτερα χρήσιμο να μπορούμε να ταυτοποιήσουμε τη θέση της ανθρακικής αλυσίδας που βρίσκεται το υδροξύλιο. Στο παρόν υποκεφάλαιο θα παρουσιάσουμε ένα μέρος από τις μελέτες μας, και πιο συγκεκριμένα μια σύγκριση φασματοσκοπικών δεδομένων του 3-υδρόξυ παλμιτικού οξέος με το 16-υδρόξυ παλμιτικό οξύ και το 2-υδρόξυ παλμιτικό οξύ.

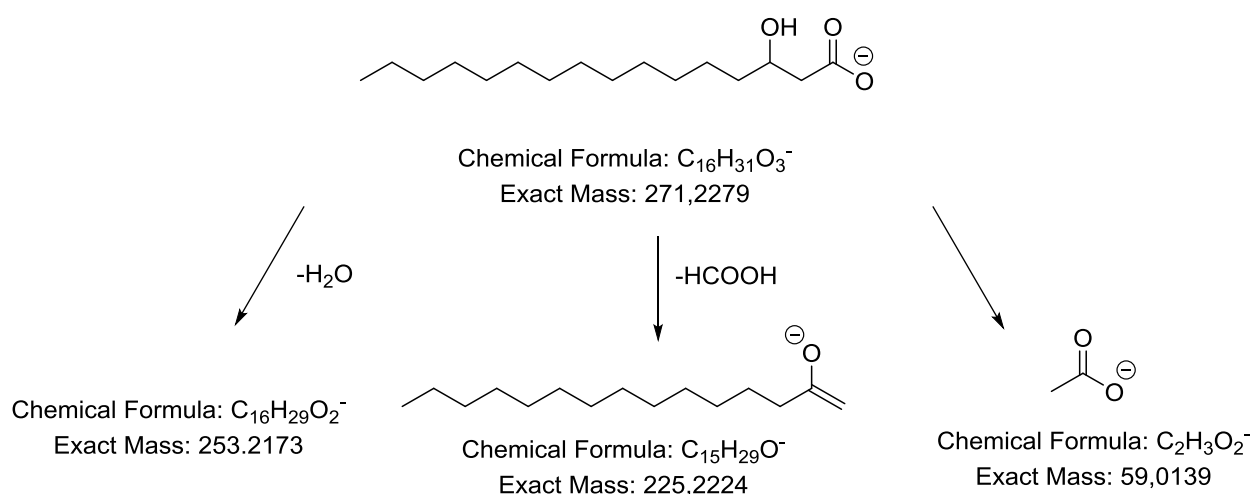
Στο σχήμα 50 παρουσιάζεται το φάσμα MS/MS του 3-υδρόξυ παλμιτικού οξέος. Παρουσιάζει κορυφές σε *m/z* 253.1856, 225.2264, 209.1959. Η κύρια

όμως κορυφή λαμβάνεται σε m/z 59.0163. Οι τιμές αυτές μπορεί να αντιστοιχιστούν στα θραύσματα που παρουσιάζονται στο σχήμα 51. Η απομάκρυνση μικρών μορίων όπως H_2O και $HCOOH$ οδηγεί σε ιόν με m/z 253.1856 και ιόν με m/z 225.2264, αντίστοιχα. Η κορυφή σε m/z 59.0163 αντιστοιχεί στο CH_3COO^- που δημιουργείται κατά τη διάσπαση της αλυσίδας μεταξύ δεύτερου και τρίτου ανθρακοατόμου. Το ιόν αυτό είναι χαρακτηριστικό για την ταυτοποίηση του υδροξυλίου σε θέση-3.

Spectrum from 20170626.wiff (sample 11) - 3OHPA 500PPB MSMS, Experiment 2, -TOF MS² (50 - 850) from 4.646 min
Precursor: 271.2 Da



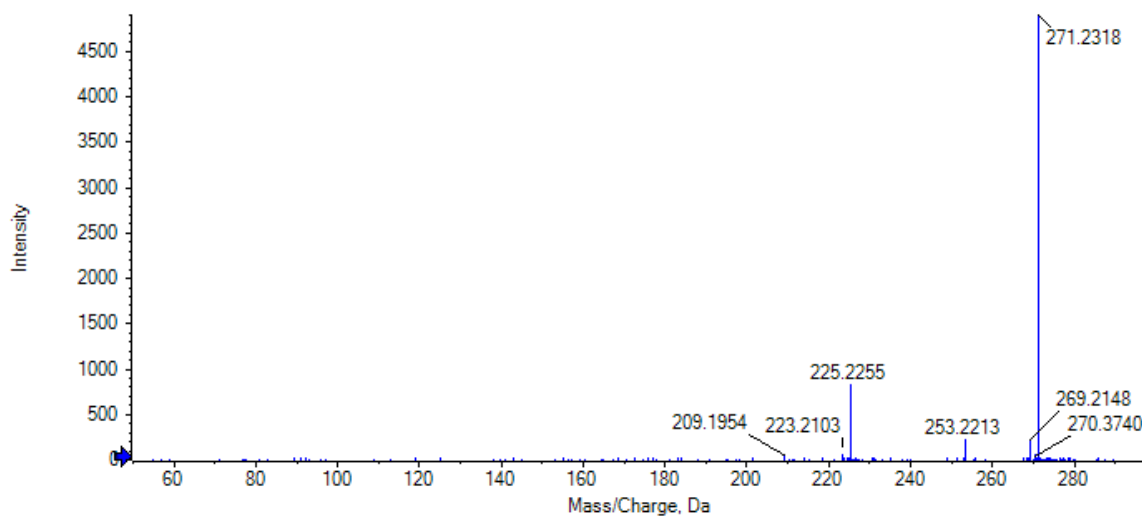
Σχήμα 50. Φάσμα MS/MS του μοριακού ιόντος του 3HPA.



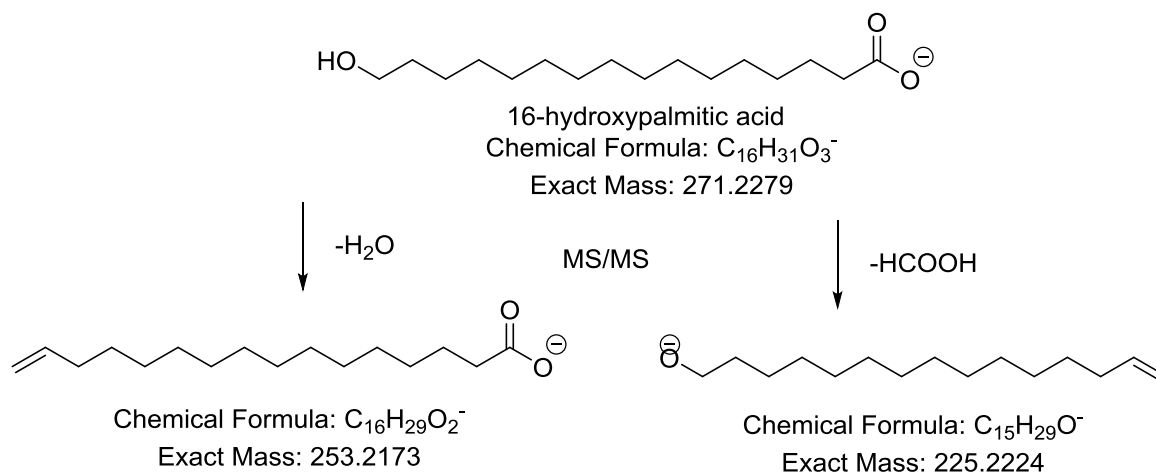
Σχήμα 51. Σχήμα 51. Θραυσματοποίηση του 3HPA.

Για σύγκριση ελήφθησαν τα φάσματα HRMS του εμπορικά διαθέσιμου 16-υδρόξυ παλμιτικού οξέος. Στο φάσμα MS/MS καταγράφηκαν τα ιόντα με m/z 253.2213 και 225.2255 που αντιστοιχούν σε απομάκρυνση H_2O και $HCOOH$, όπως φαίνεται στο σχήμα 52. Για το 16-υδρόξυ παλμιτικό οξύ δεν παρατηρούνται στο φάσμα MS/MS άλλα ιόντα που να οφείλονται σε διάσπαση της αλειφατικής αλυσίδας σε ενδιάμεσο σημείο. Ούτε ιόν σε m/z 59.

Spectrum from 20170626.wiff (sample 7) - 2.9,16OH pa 500ppb msms, Experiment 2, -TOF MS² (50 - 850) from 3.720 min
Precursor: 271.2 Da



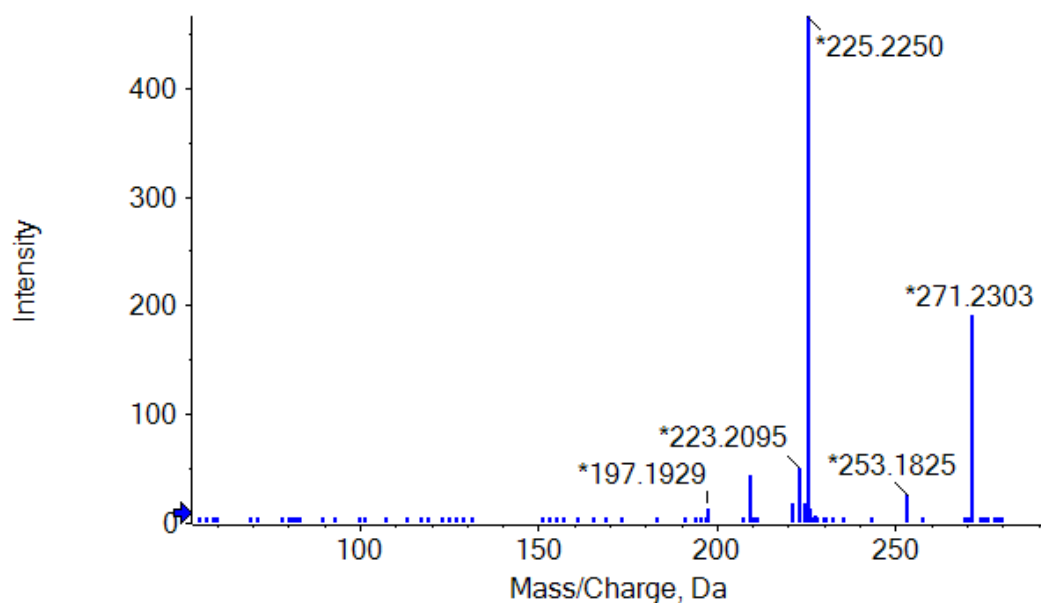
Σχήμα 52. Φάσμα MS/MS του μοριακού ιόντος του 16HPA.



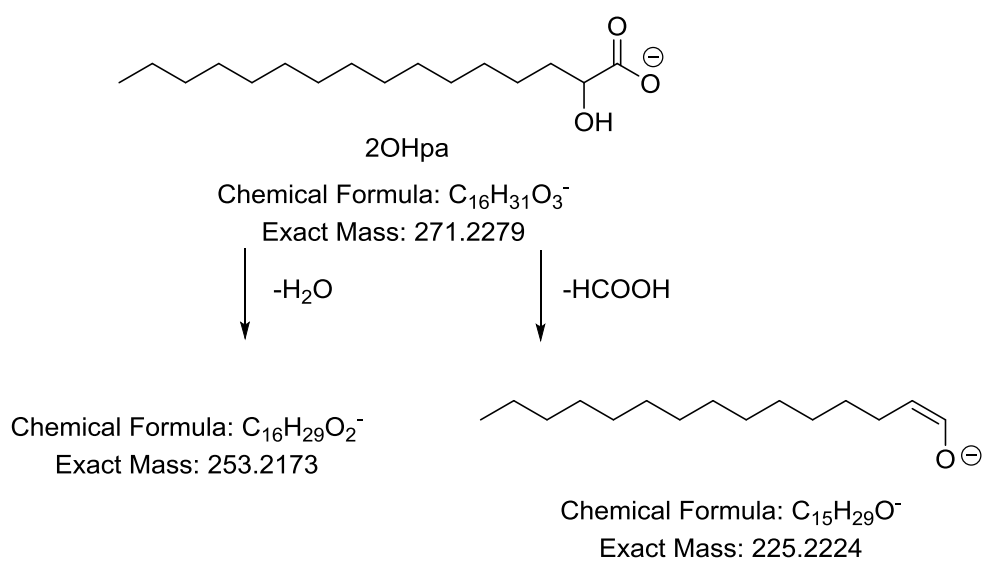
Σχήμα 53. Θραυσματοποίηση του 16HPA.

Επίσης, ελήφθησαν τα φάσματα HRMS 2-υδρόξυ παλμιτικού οξέος που συντέθηκε στο εργαστήριό μας. Όπως φαίνεται στο φάσμα MS/MS (Σχήμα 54) κύρια κορυφή καταγράφεται σε m/z 225.2250, αλλά παρατηρείται και κορυφή σε m/z 253.1825. Όπως είπαμε και προηγουμένως, οι τιμές αυτές αντιστοιχούν σε ιόντα που προκύπτουν από απομάκρυνση H_2O και $HCOOH$.

Spectrum from 20170626.wiff (sample 7) - 2.9.16...periment 2, -TOF MS² (50 - 850) from 5.025 min
Precursor: 271.2 Da



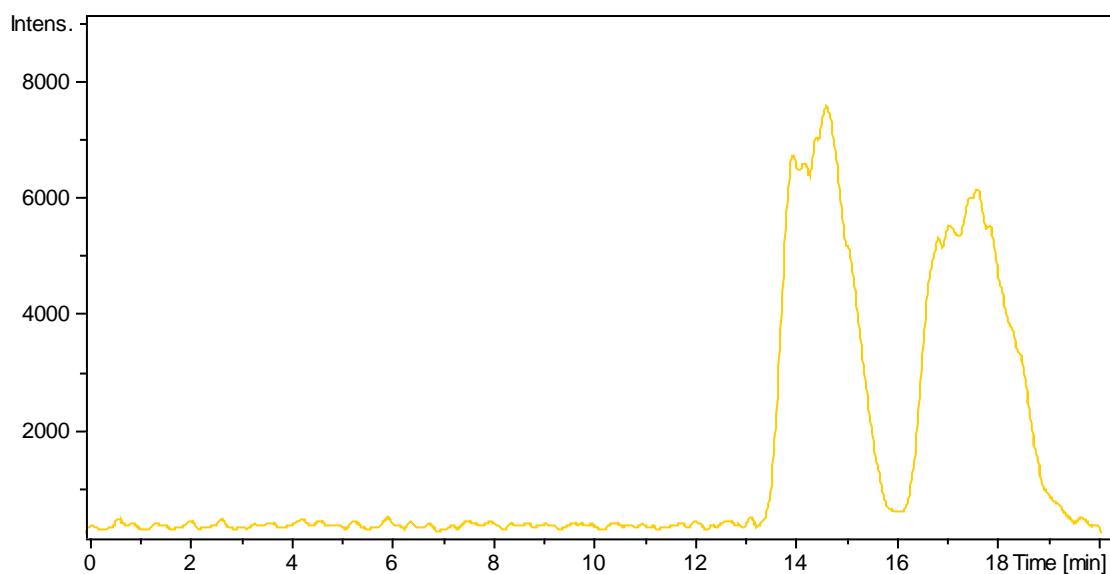
Σχήμα 54. Φάσμα MS/MS του μοριακού ιόντος του 2HPA.



Σχήμα 55. Θραυσματοποίηση του 2HPA.

5.7 Προσδιορισμός της εναντιομερικής περισσειας χειρόμορφων 3-υδροξυ οξέων με τη χρήση UPLC-HRMS με χειρόμορφη στήλη

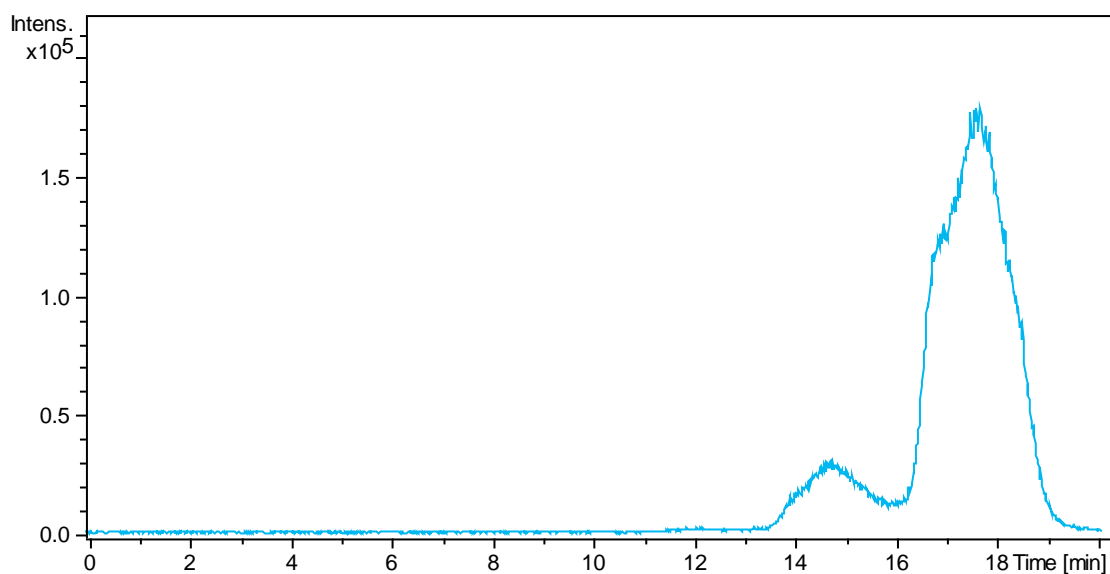
Για τον προσδιορισμό της εναντιομερικής περισσειας των χειρόμορφων 3-υδροξυ οξέων αναπτύχθηκε μέθοδος UPLC-HRMS με χειρόμορφη στήλη αντίστροφης φάσης Chiralpak AD-RH. Στο σχήμα 56, παρουσιάζεται το χρωματογράφημα ρακεμικού 3-υδροξυ δεκαεξανοϊκού οξέος. Ως διαλύτης έκλουσης χρησιμοποιήθηκε μείγμα ACN και H₂O σε αναλογία 95:5 (ροή 0.3 mL/min).



Σχήμα 56. Χρωματογράφημα εξαγόμενου ιόντος HRMS του ρακεμικού 3-υδροξυ δεκαεξανοϊκού οξέος.

#	RT [min]	Area	Chromatogram
1	14.6	585526	EIC 271.2351
2	17.6	589620	EIC 271.2351

Ακολουθεί το χρωματογράφημα για το χειρόμορφο 3-υδροξυ δεκαεξανοϊκό οξύ.



Σχήμα 57. Χρωματογράφημα εξαγόμενου ιόντος HRMS του χειρόμορφου 3-υδρόξυ δεκαεξανοϊκού οξέος.

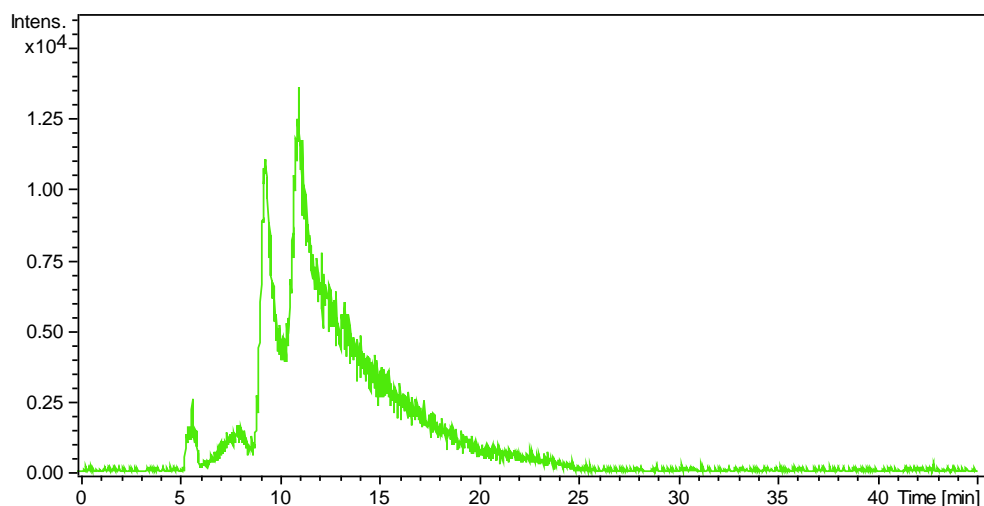
#	RT [min]	Area	Chromatogram
1	14.7	1057446	EIC 271.2351
2	17.6	16429840	EIC 271.2351

Η % εναντιομερική περίσσεια ee υπολογίζεται από τη σχέση:

$$ee\% = \frac{\text{Διαφορά των εμβαδών των κορυφών}}{\text{Άθροισμα των εμβαδών των κορυφών}} \times 100.$$

Βρέθηκε λοιπόν ότι είναι, 88%.

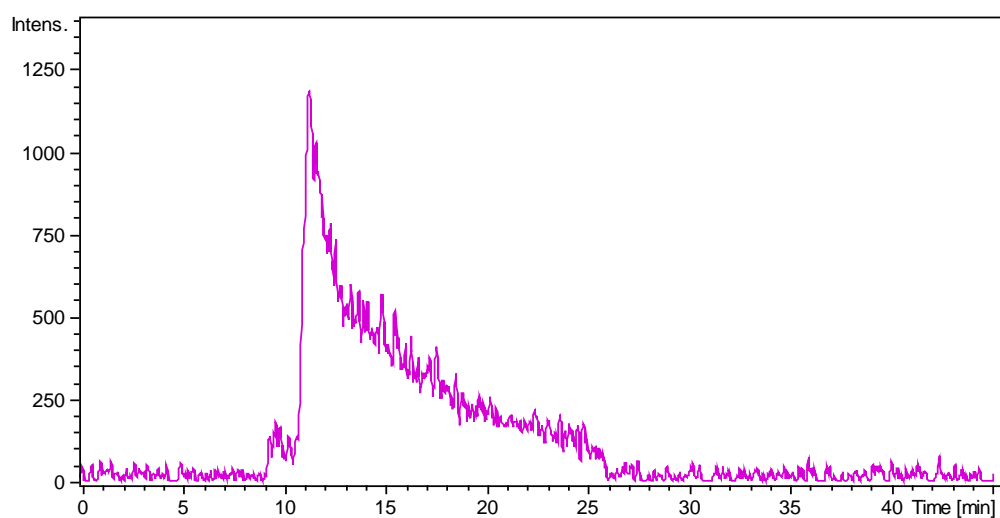
Στη συνέχεια, παρουσιάζεται το χρωματογράφημα εναντιοεμπλουτισμένου 3-υδρόξυ δωδεκανοϊκού οξέος. Ως διαλύτης έκλουσης χρησιμοποιήθηκε μείγμα ACN και H₂O σε αναλογία 30:70 (ροή 0.3 mL/min).



Σχήμα 58. Χρωματογράφημα εξαγόμενου ιόντος HRMS του ρακεμικού 3-υδρόξυ δωδεκανοϊκού οξέος.

#	RT [min]	Area	Chromatogram
1	9.4	500646	EIC 215.1544
2	11.1	1885019	EIC 215.1544

Ακολουθεί το χρωματογράφημα για το χειρόμορφο 3-υδρόξυ δωδεκανοϊκό οξύ.



Σχήμα 59. Χρωματογράφημα εξαγόμενου ιόντος HRMS του χειρόμορφου 3-υδρόξυ δωδεκανοϊκού οξέος.

#	RT [min]	Area	Chromatogram
1	9.7	4790.9	EIC 215.1544
2	11.3	258186.5	EIC 215.1544

Η εναντιομερική περίσσεια του 3-υδροξυ δωδεκανοϊκού οξέος βρέθηκε ότι είναι 96%.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

ΣΥΝΘΕΣΗ ΔΕΥΤΕΡΙΩΜΕΝΩΝ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ ΤΟΥΣ

Στο δεύτερο μέρος της εργασίας, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που αφορούν στη σύνθεση δευτεριωμένων λιπαρών οξέων και των παραγώγων τους. Τέτοιου είδους δευτεριωμένες ενώσεις μπορούν να χρησιμοποιηθούν είτε σε μελέτες της βιοσύνθεσης ή αποικοδόμησης λιπιδίων είτε σε μελέτες φασματομετρίας μάζας, ως ενώσεις αναφοράς.

Η εισαγωγή των δευτερίων μπορεί να γίνει σε μια αλδεΐδη σε α-θέση ως προς το καρβονύλιο, μέσω ανταλλαγής ατόμων υδρογόνου με άτομα δευτερίου. Η πηγή δευτερίων στις συγκεκριμένες αντιδράσεις μπορεί να είναι το D₂O. Το οξειδίο του δευτερίου, γνωστό και ως βαρύ ύδωρ, χρησιμεύει στην εξακρίβωση δομών χημικών ενώσεων και στη μελέτη μηχανισμών χημικών αντιδράσεων. Για να καταστεί δυνατή η ανταλλαγή ενός ατόμου H μιας ένωσης με D θα πρέπει το άτομο αυτό να είναι ευκίνητο. δηλαδή να συμμετέχει αποσπώμενο από την ένωση, σε μια ισορροπία.

Χαρακτηριστικό των ενώσεων που φέρουν άτομα δευτερίου είναι ότι εμφανίζουν σχάση στα φάσματα ¹³C NMR. Όταν ο άνθρακας φέρει ένα άτομο δευτερίου θα εμφανίζεται ως τριπλή κορυφή, ενώ όταν φέρει δύο δευτέρια θα σχάζεται σε πενταπλή κορυφή.

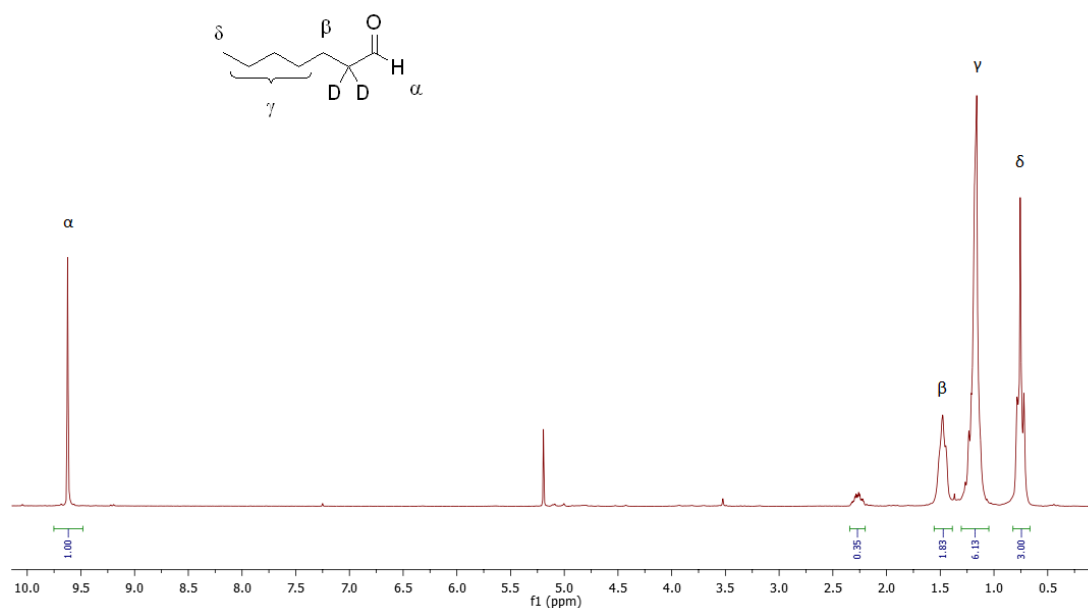
6.1 Σύνθεση της δευτεριωμένης επτανάλης και υπολογισμός της δευτερίωσης βάσει φασματοσκοπίας ¹H NMR

Πριν προχωρήσουμε στη σύνθεση λιπαρών οξέων και παραγώγων τους που φέρουν δύο άτομα δευτερίου σε α-ανθρακοάτομο, πραγματοποιήσαμε μια σειρά αρχικών πειραμάτων χρησιμοποιώντας ως υπόστρωμα την επτανάλη και την οκτανάλη, αλδεΐδες με αλυσίδα μεσαίου μήκους.

Η εισαγωγή δυο ατόμων δευτερίου στον α-άνθρακα της αλδεΐδης πραγματοποιήθηκε με χρήση D₂O, ως πηγή δευτερίων, παρουσία Et₃N και υπό θέρμανση στους 100 °C για μία ώρα. Έπειτα από το πέρας του απαραίτητου χρόνου και της κατεργασίας, ελέγχεται μέσω φάσματος ¹H NMR

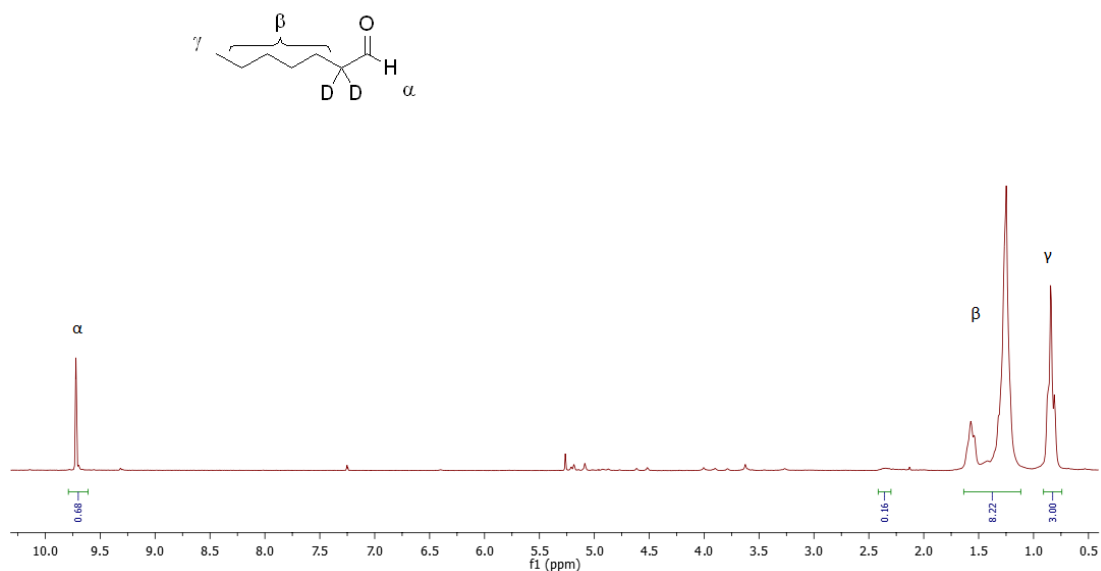
το ποσοστό δευτερίωσης, που προσδιορίζεται περίπου στο 85%. Επανάληψη της μεθόδου, με έλεγχο με φασματοσκοπία ^1H NMR δείχνει αύξηση του ποσοστού δευτερίωσης περίπου στο 93%.

Στο σχήμα 60 παρουσιάζεται το φάσμα ^1H NMR της δευτεριωμένης επτανάλης έπειτα από τον πρώτο κύκλο δευτερίωσης. Όπως παρατηρούμε, στα 9.60 ppm συντονίζεται το πρωτόνιο της αλδεΐδης, ενώ στην περιοχή 1.60-1.35 ppm συντονίζονται β-πρωτόνια ως προς το καρβονύλιο. Ακολουθούν τα υπόλοιπα αλειφατικά πρωτόνια (γ) στην περιοχή 1.30-1.00 ppm και τέλος, στα 0.80 ppm συντονίζονται τα μεθυλικά πρωτόνια ως μια τριπλή κορυφή.



Σχήμα 60. Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 41 σε CDCl_3 έπειτα από έναν κύκλο δευτερίωσης.

Στη συνέχεια, παρουσιάζεται το φάσμα ^1H NMR της δευτεριωμένης επτανάλης έπειτα από τον δεύτερο κύκλο δευτερίωσης. Όπως παρατηρούμε, στα 9.70 ppm συντονίζεται το πρωτόνιο της αλδεΐδης, ενώ στην περιοχή 1.65-1.10 ppm συντονίζονται αλειφατικά πρωτόνια (γ). Τέλος, στα 0.85 ppm συντονίζονται τα μεθυλικά πρωτόνια ως μια τριπλή κορυφή.



Σχήμα 61. Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 41 σε CDCl_3 έπειτα από δυο κύκλους δευτερίωσης.

Παρατηρώντας τα δυο παραπάνω φάσματα ^1H NMR διαπιστώνουμε ότι, εμφανίζεται κορυφή στην περιοχή 2.40-2.30 ppm και αντιστοιχεί σε α-πρωτόνια που δεν έχουν ανταλλαχθεί με δευτέρια. Αντιπροσωπεύει δηλαδή, τα πρωτόνια που δεν έχουν ανταλλαχθεί με άτομα δευτερίου.

Έτσι, το ποσοστό της δευτερίωσης στο κάθε προϊόν μπορεί να υπολογιστεί μέσω της ολοκλήρωσης της κορυφής των πρωτονίων που ανταλλάσσονται με δευτέρια, χωρίς όμως μεγάλη ακρίβεια. Στη συγκεκριμένη περίπτωση, γίνεται ανταλλαγή των δυο α-πρωτονίων της επτανάλης με δευτέρια. Στον πρώτο γύρο, στα 2.35-2.20 ppm με βάση την ολοκλήρωση της κορυφής αυτής συντονίζονται 0.35 πρωτόνια, αντί για 2 που θα έπρεπε να εμφανίζονται, εάν δεν είχε υποστεί κατεργασία με D_2O η επτανάλη. Σε πρώτη φάση, λοιπόν, επιβεβαιώνεται η μερική είσοδος δευτερίων στο μόριο. Έπειτα, για τον υπολογισμό του ποσοστού, αρκεί η ολοκλήρωση της κορυφής να διαιρεθεί δια δυο, αφού θεωρητικά πρόκειται για διδευτεριωμένο προϊόν, έπειτα να αφαιρεθεί από το 1 και τέλος να γίνει αναγωγή του αριθμού στο εκατό, ώστε να προκύψει το επιθυμητό ποσοστό.

Ο ακριβής υπολογισμός του ποσοστού δευτερίωσης σε μια ένωση μπορεί να βρεθεί μέσω φασματομετρίας μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας (HRMS) και θα αναλυθεί σε επόμενη ενότητα.

6.2 Περιγραφή και μηχανισμός της αντίδρασης δευτερίωσης

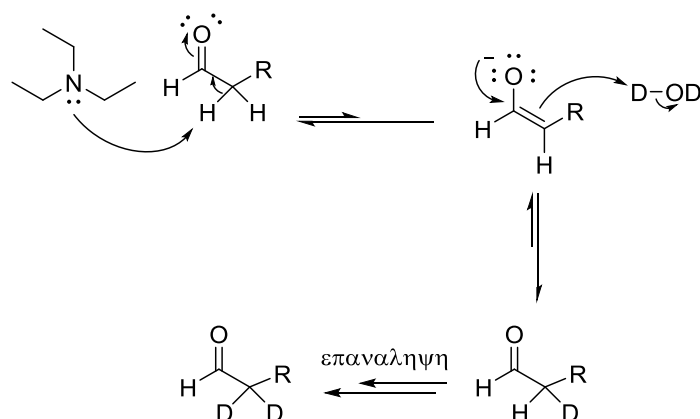
Πρωταρχικός στόχος για την πραγματοποίηση γενικής μέθοδου σύνθεσης δευτεριωμένων λιπαρών οξέων, ήταν η εύρεση μιας πειραματικής πορείας που θα επέτρεπε την εισαγωγή δύο ατόμων δευτερίου σε α-θέση ως προς το καρβονύλιο της αλδεΐδης σε υψηλό ποσοστό. Βασικό στοιχείο σε όλες τις δοκιμές που ακολουθήθηκαν μέχρι να καταλήξουμε στις βέλτιστες συνθήκες, ήταν η χρήση D₂O. Οι αλλαγές στις συνθήκες των πειραμάτων αφορούσαν αρχικά, την βάση που χρησιμοποιούνταν και έπειτα την θερμοκρασία και τη χρονική διάρκεια. Έπειτα, λοιπόν, από πολλές δοκιμασίες βρήκαμε ότι, η χρήση D₂O μαζί με Et₃N και σε θερμοκρασία 100 °C για μία ώρα, ήταν ο καλύτερος συνδυασμός των απαιτούμενων συνθηκών για την επίτευξη του στόχου μας.

Βάση	T (°C)	Χρόνος (h)	% D/H βάσει ¹ H NMR
K ₂ CO ₃	r.t	16	-
Πυριδίνη	70	16	~60/40
4-DMAP	100	1	-
Et ₃ N	100	1	~90/10

Πίνακας 2. Διάφορες συνθήκες δευτερίωσης.

Για περαιτέρω αύξηση του ποσοστού δευτερίωσης, πραγματοποιήθηκαν δύο επαναλαμβανόμενοι κύκλοι. Επιθυμώντας να οδηγήσουμε το ποσοστό της δευτερίωσης πάνω από 98%, σκεφτήκαμε την πραγματοποίηση τριών επαναλαμβανόμενων κύκλων. Όμως, όταν αυτό εφαρμόστηκε σε μόρια μικρής ανθρακικής αλυσίδας, όπως η επτανάλη, παρατηρήσαμε τόσο τον σχηματισμό του επιθυμητού δευτεριωμένου προϊόντος σε μέτριο ποσοστό, όσο και την παραλαβή προϊόντων

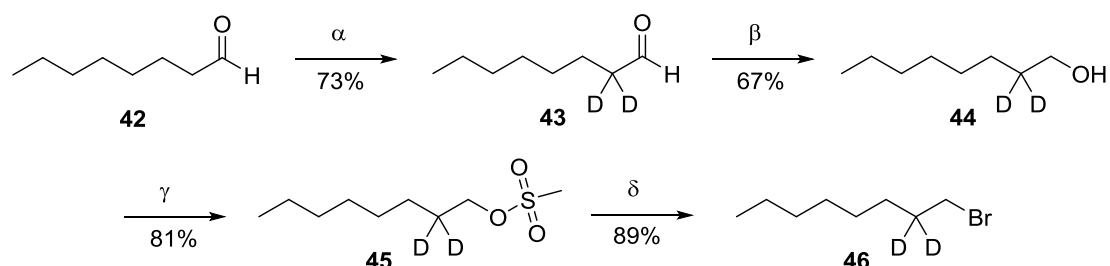
αυτοσυμπύκνωσης. Έτσι, η μέθοδος μας παρέμεινε στις συνθήκες που αναφέρθηκαν προηγουμένως και εφαρμόζοντας δύο κύκλους δευτερίωσης. Στη συνέχεια, παρατίθεται ο μηχανισμός της αντίδρασης δευτερίωσης που ακολουθείται.



Σχήμα 62. Μηχανισμός της ανταλλαγής υδρογόνων-δευτερίων.

6.3 Σύνθεση και χαρακτηρισμός της δευτεριωμένης οκτανάλης, οκτανόλης και όκτυλο βρωμιδίου

Στη συνέχεια, θέλοντας να παρασκευάσουμε κάποια δευτεριωμένα παράγωγα, χρησιμοποιήσαμε δευτεριωμένη αλδεΐδη που συντέθηκε όπως αναφέρεται πιο πάνω, απευθείας για την επόμενη αντίδραση καθώς είναι γενικά ευαίσθητη ένωση και καταστρέφεται γρήγορα. Όπως φαίνεται και στο σχήμα 63 που ακολουθεί, η ένωση **43** ανάχθηκε στην αντίστοιχη 2- d_2 -αλκοόλη (**44**) με NaBH_4 σε EtOH .



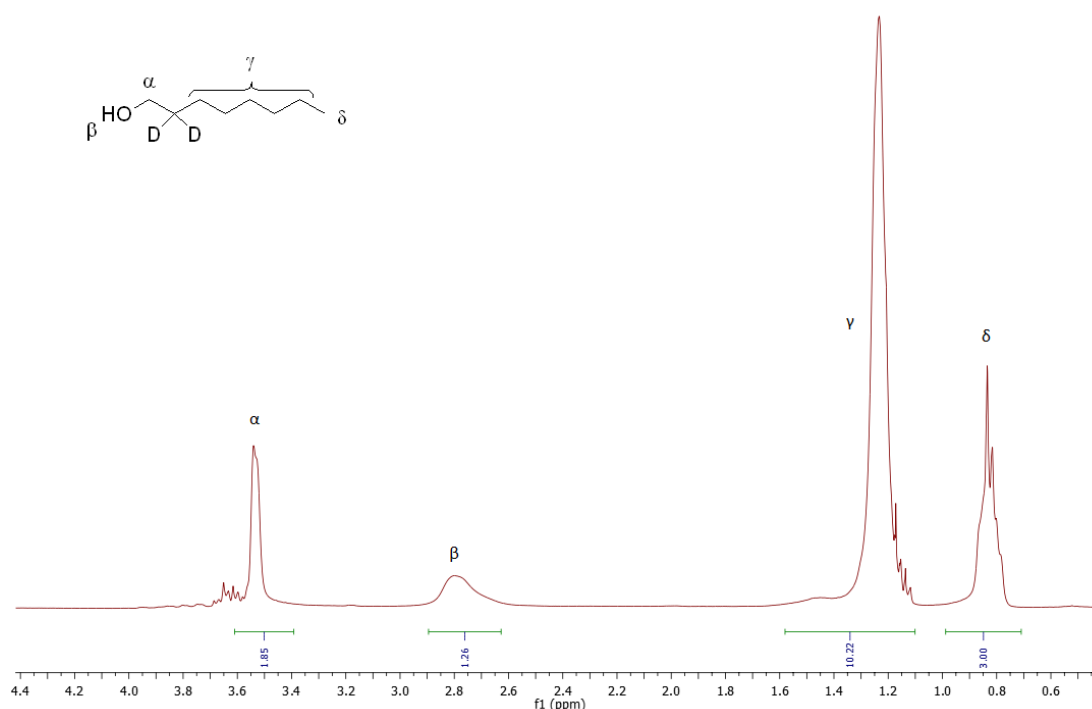
Σχήμα 63. Πορεία σύνθεσης δευτεριωμένης οκτανάλης, οκτανόλης και όκτυλο βρωμιδίου. (α) D_2O , Et_3N , $100\text{ }^\circ\text{C}$, 1 h, (β) NaBH_4 , EtOH , $0\text{ }^\circ\text{C}$, 1 h, (γ) Μεθανοσουλφόνυλο χλωριδίο, Et_3N , 4-DMAP, άνυδρο CH_2Cl_2 , r.t., o.n., (δ) LiBr , ακετόνη, $55\text{ }^\circ\text{C}$, o.n.

Στη συνέχεια, η ένωση **44** ενεργοποιείται με χρήση μεθανοσουλφόνυλου χλωριδίου, Et_3N και 4-DMAP σε άνυδρο CH_2Cl_2 ,

δίνοντας το μεθανοσουλφονικό εστέρα. Ακολουθεί ο σχηματισμός του βρωμιδίου **46** με επίδραση βρωμιούχου λιθίου σε ακετόνη, στους 55 °C για 16 ώρες.

Στη συνέχεια, παρατίθενται και αναλύονται τα φάσματα ^1H NMR των ενώσεων **44** και **46**.

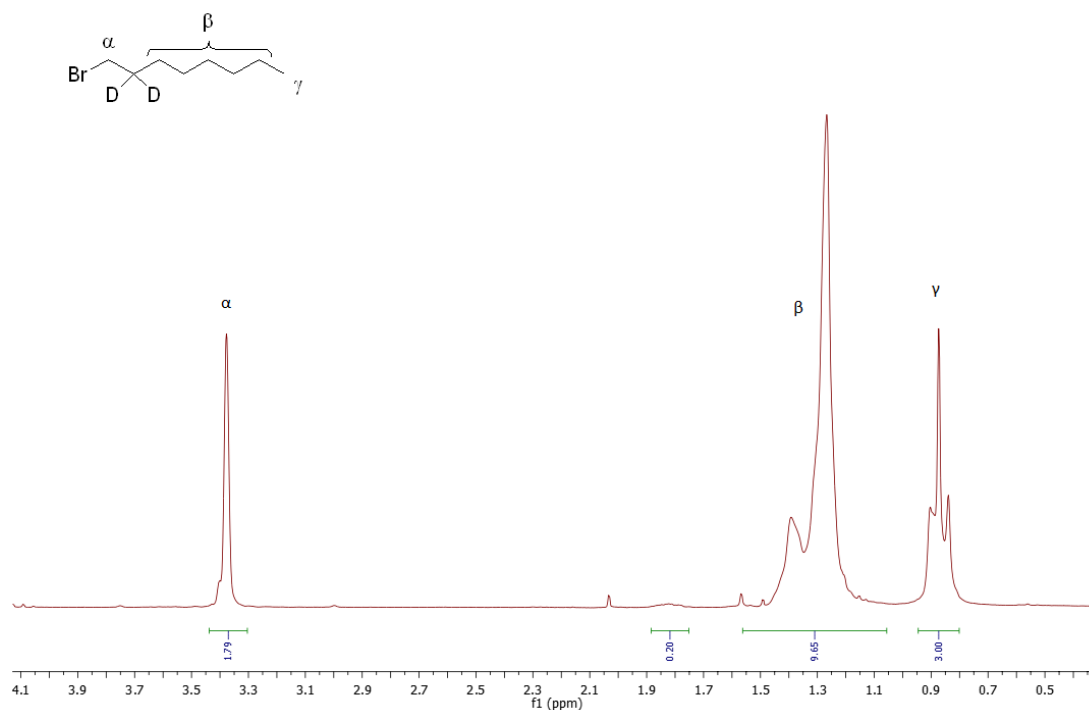
Στο σχήμα 64 που ακολουθεί, φαίνεται το φάσμα ^1H NMR της 2- d_2 -οκτανόλης. Τα πρωτόνια (α) που συντονίζονται στην περιοχή 3.55-3.45 ppm αντιστοιχούν στα πρωτόνια του άνθρακα που φέρει την ομάδα υδροξυλίου, το πρωτόνιο (β) της οποίας συντονίζεται στην περιοχή 2.90-2.65 ppm. Στη συνέχεια, στην περιοχή 1.60-1.10 ppm εμφανίζονται τα αλειφατικά πρωτόνια (γ) της αλκοόλης. Τέλος, στην περιοχή 1.00-0.75 ppm συντονίζονται τα πρωτόνια του μεθυλίου.



Σχήμα 64. Φάσμα ^1H NMR της ένωσης **44 σε CDCl_3 .**

Στη συνέχεια, ακολουθεί το φάσμα ^1H NMR του 2- d_2 -βρωμοοκτανίου. Αρχικά, εμφανίζονται τα πρωτόνια α που αντιπροσωπεύουν τα πρωτόνια του άνθρακα που φέρει το άτομο βρωμίου. Ακολουθούν τα αλειφατικά πρωτόνια β στην περιοχή 1.50-1.10 ppm και τέλος τα μεθυλικά πρωτόνια γ που συντονίζονται στα 0.90 ppm ως μια τριπλή κορυφή. Στην περιοχή 1.90-1.75

ppm εμφανίζεται μια κορυφή με ολοκλήρωση 0.20. Η κορυφή αυτή αντιπροσωπεύει τα πρωτόνια που δεν έχουν ανταλλαχθεί με δευτέρια και από την οποία μπορούμε να υπολογίσουμε το ποσοστό δευτερίωσης, όπως εξηγείται πιο πάνω. Το ποσοστό δευτερίωσης, λοιπόν, βρέθηκε ότι είναι περίπου 90%.



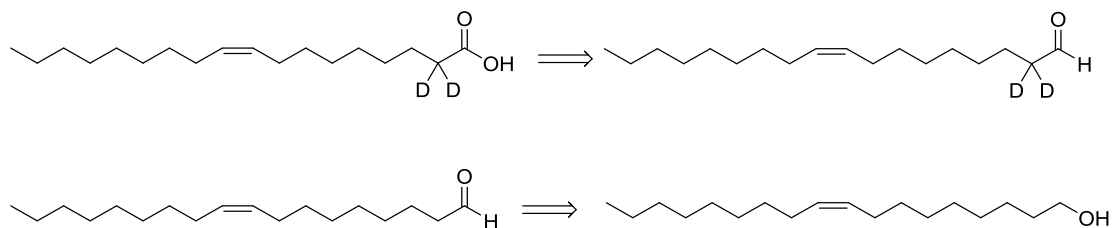
Σχήμα 65. Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 46 σε CDCl_3 .

6.4 Ρετροσυνθετικές πορείες για τη σύνθεση δευτεριωμένων ακόρεστων λιπαρών οξέων

Τα ακόρεστα λιπαρά οξέα αποτελούν μια κατηγορία ενώσεων μείζονος σημασίας. Διακρίνονται σε μονοακόρεστα και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα. Χαρακτηριστικό παράδειγμα της πρώτης κατηγορίας αποτελεί το ελαϊκό οξύ, ενώ το λινελαϊκό οξύ ανήκει στην δεύτερη κατηγορία. Στα σχήματα που ακολουθούν παρουσιάζονται οι ρετροσυνθετικές πορείες που οδηγούν στη σύνθεση του 2- d_2 -ελαϊκού οξέος και του 2- d_2 -λινελαϊκού οξέος.

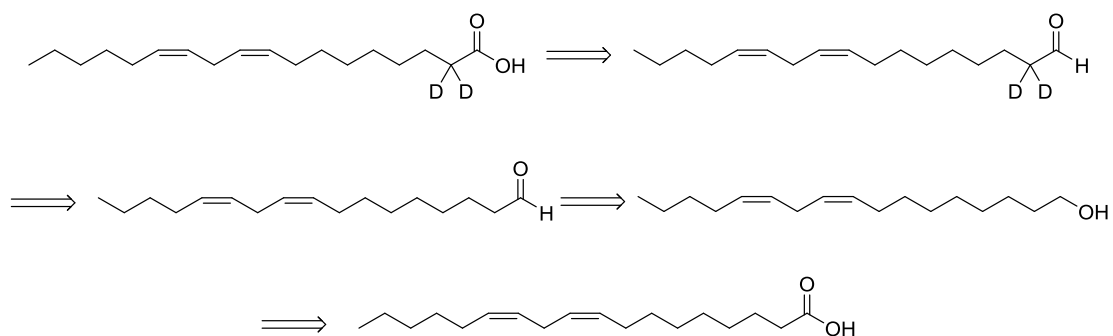
Σύμφωνα με την ρετροσυνθετική πορεία του σχήματος 66, το επιθυμητό 2- d_2 -ελαϊκό οξύ μπορεί να προκύψει από την 2- d_2 -ελαύλο αλδεΐδη. Η δευτεριωμένη αλδεΐδη που απαιτείται μπορεί να προέλθει από την μη

δευτεριωμένη ελάυλο αλδεΐδη και την κατεργασία της με D₂O. Τέλος, η ελάυλο αλδεΐδη θα προκύψει από την αντίστοιχη αλκοόλη μέσω οξειδωσης.



Σχήμα 66. Ρετροσυνθετική πορεία για τη σύνθεση του 2-*d*₂-ελαϊκού οξέος.

Στη συνέχεια παρατίθεται η ρετροσυνθετική πορεία που θα οδηγήσει στο 2-*d*₂-λινελαϊκό οξύ. Η αντίστροφη ανάλυση, όπως φαίνεται και στο σχήμα 67, είναι όμοια μ' εκείνη του δευτεριωμένου σε α-θέση ελαϊκού οξέος. Έτσι, το 2-*d*₂-λινελαϊκό οξύ θα μπορούσε να προκύψει από την 2-*d*₂-λινελάυλο αλδεΐδη, η οποία με τη σειρά της θα προέλθει από τη λινελάυλο αλδεΐδη, έπειτα από την πραγματοποίηση δυο γύρων δευτερίωσης. Η αλδεΐδη που απαιτείται θα προκύψει από την οξειδωση της αντίστοιχης αλκοόλης, η οποία θα συντεθεί από το διαθέσιμο λινελαϊκό οξύ.

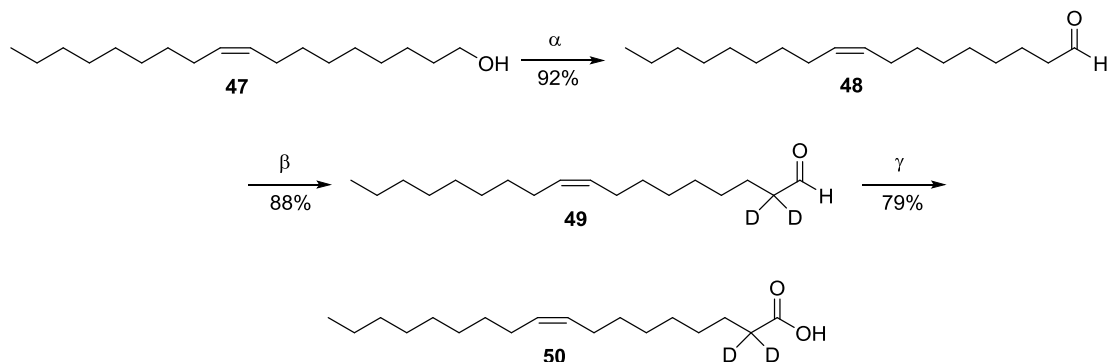


Σχήμα 67. Ρετροσυνθετική πορεία για τη σύνθεση του 2-*d*₂-λινελαϊκού οξέος.

6.5 Σύνθεση δευτεριωμένων ακόρεστων λιπαρών οξέων

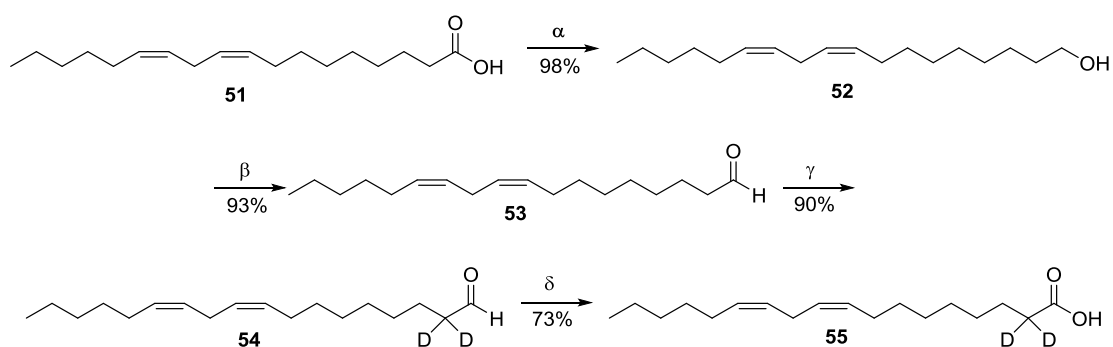
Η συνθετική πορεία για την παραλαβή του επιθυμητού οξέος ξεκινά με την οξειδωση της ελάυλο αλκοόλης **47**, με χρήση PCC, προς την ελάυλο αλδεΐδη. Η ένωση **48**, έπειτα από την κατεργασία της με D₂O και Et₃N σε δύο επαναλαμβανόμενους κύκλους, μετατρέπεται στην 2-*d*₂-ελάυλο αλδεΐδη. Τέλος, με πραγματοποίηση αντίδρασης οξειδωσης της ένωσης **49**, χρησιμοποιώντας το αντιδραστήριο Jones 2M ως οξειδωτικό μέσο,

παραλαμβάνεται το επιθυμητό οξύ **50**, όπως φαίνεται και στο σχήμα 68 που ακολουθεί.



Σχήμα 68. Σύνθεση του 2-d₂-ελαϊκού οξέος. (α) PCC, ξηρό CH₂Cl₂, (β) D₂O, Et₃N, 100 °C, 1 h, (γ) Διάλυμα Jones 2M, 0 °C, 1 h.

Στο Σχήμα 69 περιγράφεται η συνθετική πορεία που πραγματοποιήθηκε για την παραλαβή του 2-d₂-λινελαϊκού οξέος. Ξεκινώντας από το λινελαϊκό οξύ, με μια αντίδραση αναγωγής με LiAlH₄ παραλήφθηκε η λινελάυλο αλκοόλη, η οποία με οξείδωση με PCC μετατράπηκε στην αντίστοιχη αλδεΐδη. Κατεργασία της ένωσης **53** με D₂O και Et₃N σε δύο επαναλαμβανόμενους κύκλους, οδήγησε στην 2-d₂-λινελάυλο αλδεΐδη. Τέλος, με μια απλή οξείδωση από το αντιδραστήριο Jones παρασκευάστηκε το επιθυμητό 2-d₂-λινελαϊκό οξύ.



Σχήμα 69. Σύνθεση του 2-d₂-λινελαϊκού οξέος. (α) LiAlH₄ 1M, άνυδρο THF, 0 °C, 1 h, (β) PCC, ξηρό CH₂Cl₂, (γ) D₂O, Et₃N, 100 °C, 1 h, (δ) Διάλυμα Jones 2M, 0 °C, 1 h.

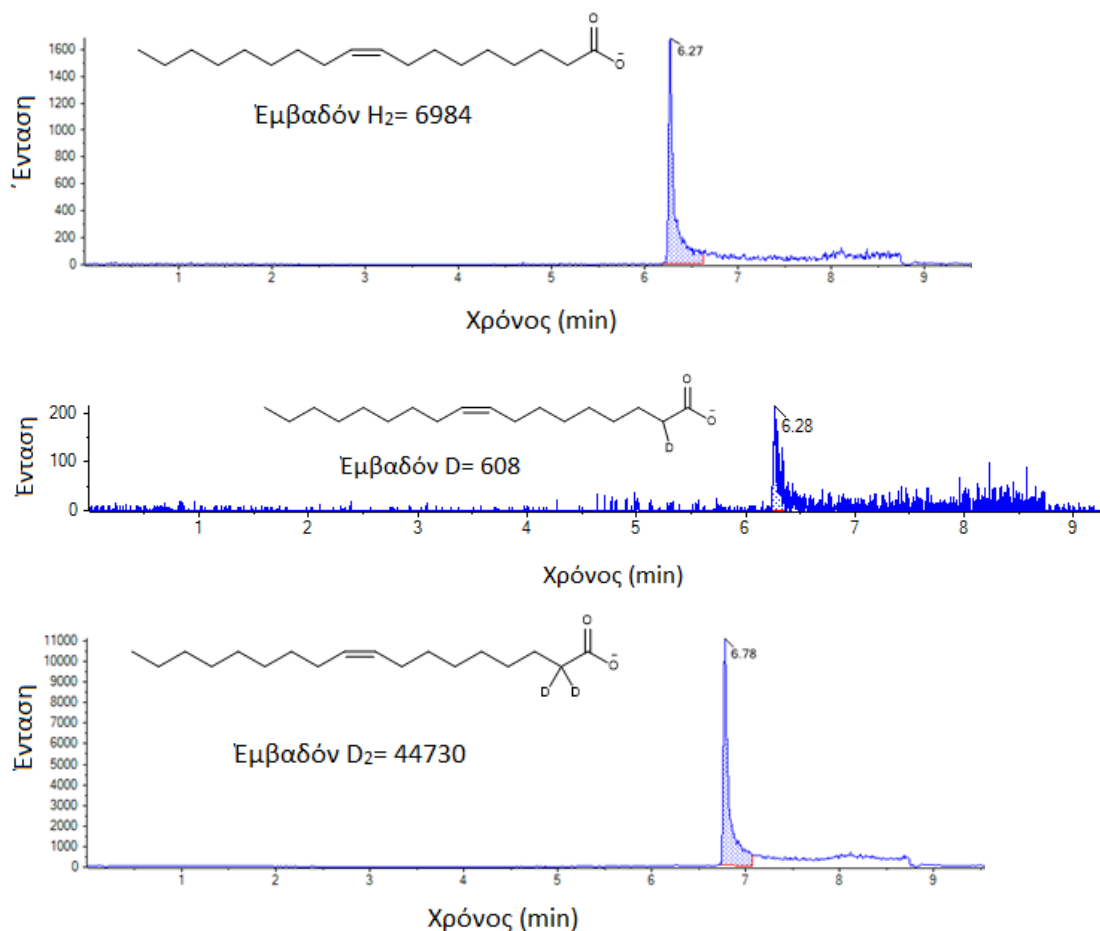
6.6 Υπολογισμός ποσοστού δευτερίωσης με χρήση φασματομετρίας μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας

Ο ακριβής υπολογισμός του ποσοστού δευτερίωσης αποτέλεσε έναν από τους βασικούς στόχους της έρευνας μας. Έτσι, αναπτύχθηκε μια μέθοδος υπολογισμού που απαιτεί τη χρήση LC-HRMS, μέσω της οποίας ανιχνεύονται και ποσοτικοποιούνται οι κορυφές τόσο του δευτεριωμένου προϊόντος, όσο και του μη δευτεριωμένου, αφού πρόκειται για δύο ενώσεις με διαφορετική ακριβή μοριακή μάζα. Το εμβαδόν που έχει η κάθε κορυφή μας επιτρέπει τον υπολογισμό του ποσοστού δευτερίωσης. Γενικά, ο λόγος του εμβαδού της κορυφής του δευτεριωμένου προϊόντος προς το άθροισμα των κορυφών των εμβαδών του δευτεριωμένου προϊόντος και μη δευτεριωμένου, πολλαπλασιαζόμενος με το εκατό, μας παρέχει το ακριβές ποσοστό δευτερίωσης.

$$\text{Ποσοστό δευτερίωσης (\%)} = \frac{\text{Εμβαδόν κορυφής δευτεριωμένου προϊόντος}}{\text{Άθροισμα εμβαδών κορυφών δευτεριωμένου και μη δευτεριωμένου προϊόντος}} \times 100$$

Στο σχήμα 70 παρουσιάζονται τα χρωματογραφήματα εξαγόμενου ιόντος HRMS διδευτεριωμένου, μονοδευτεριωμένου και μη δευτεριωμένου ελαϊκού οξέος. Ακολουθούν οι υπολογισμοί των ποσοστών συνολικής δευτερίωσης, διδευτερίωσης και μονοδευτερίωσης, σύμφωνα με την παραπάνω σχέση. Το εμβαδόν της κάθε κορυφής φαίνεται στο σχήμα.

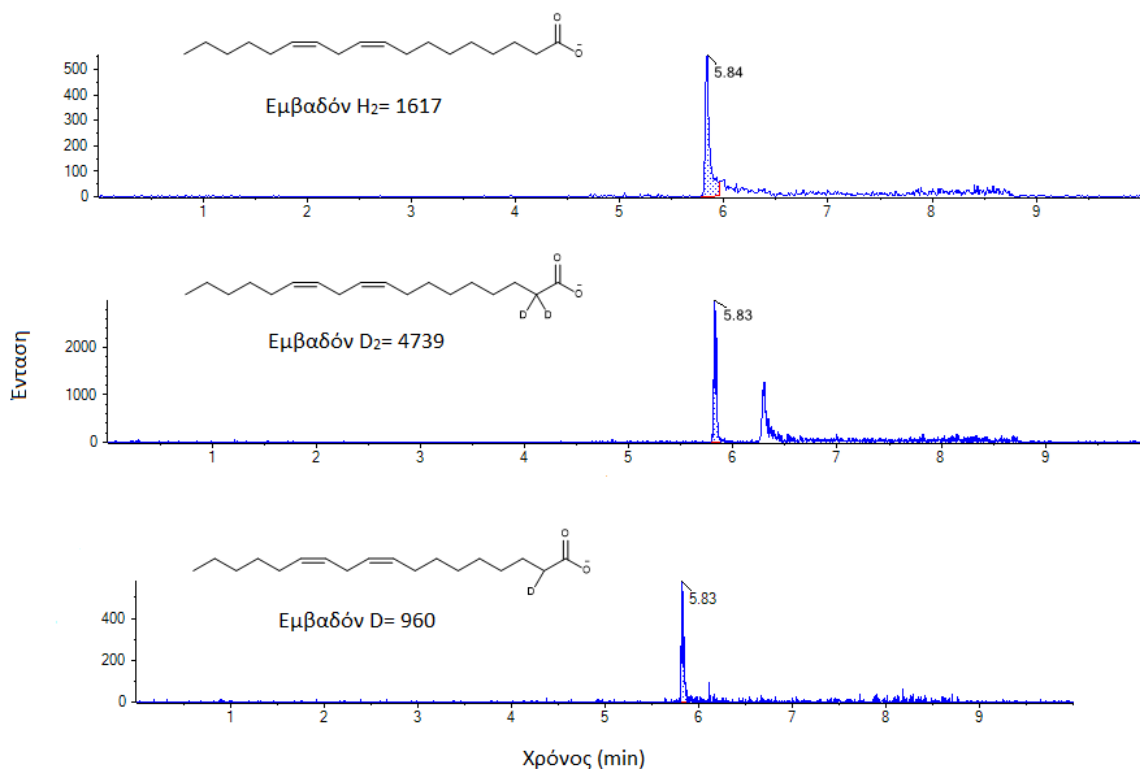
- Ποσοστό συνολικής δευτερίωσης (%) = $\frac{44730+608}{44730+608+6984} \times 100 = \frac{45338}{52322} \times 100 = 86,65\%$.
- Ποσοστό διδευτερίωσης (%) = $\frac{44730}{44730+608+6984} \times 100 = \frac{44730}{52322} \times 100 = 85.49 \%$.
- Ποσοστό μονοδευτερίωσης (%) = $\frac{608}{44730+608+6984} \times 100 = \frac{608}{52322} \times 100 = 1.16\%$.



Σχήμα 70. Χρωματογραφήματα εξαγόμενου ιόντος HRMS του ελαϊκού οξέος.

Στο σχήμα 71 που ακολουθεί, παρουσιάζονται τα χρωματογραφήματα εξαγόμενου ιόντος HRMS διδευτεριωμένου, μονοδευτεριωμένου και μη δευτεριωμένου λινελαϊκού οξέος, καθώς και οι υπολογισμοί για το κάθε ποσοστό δευτερίωσης.

- $$\text{Ποσοστό συνολικής δευτερίωσης (\%)} = \frac{4739+960}{4739+960+1617} \times 100 = \frac{5699}{7316} \times 100 = 78.0\%.$$
- $$\text{Ποσοστό διδευτερίωσης (\%)} = \frac{4739}{4739+960+1617} \times 100 = \frac{4739}{7316} \times 100 = 64.78\%$$
- $$\text{Ποσοστό μονοδευτερίωσης (\%)} = \frac{960}{4739+960+1617} \times 100 = \frac{960}{7316} \times 100 = 13.12\%.$$



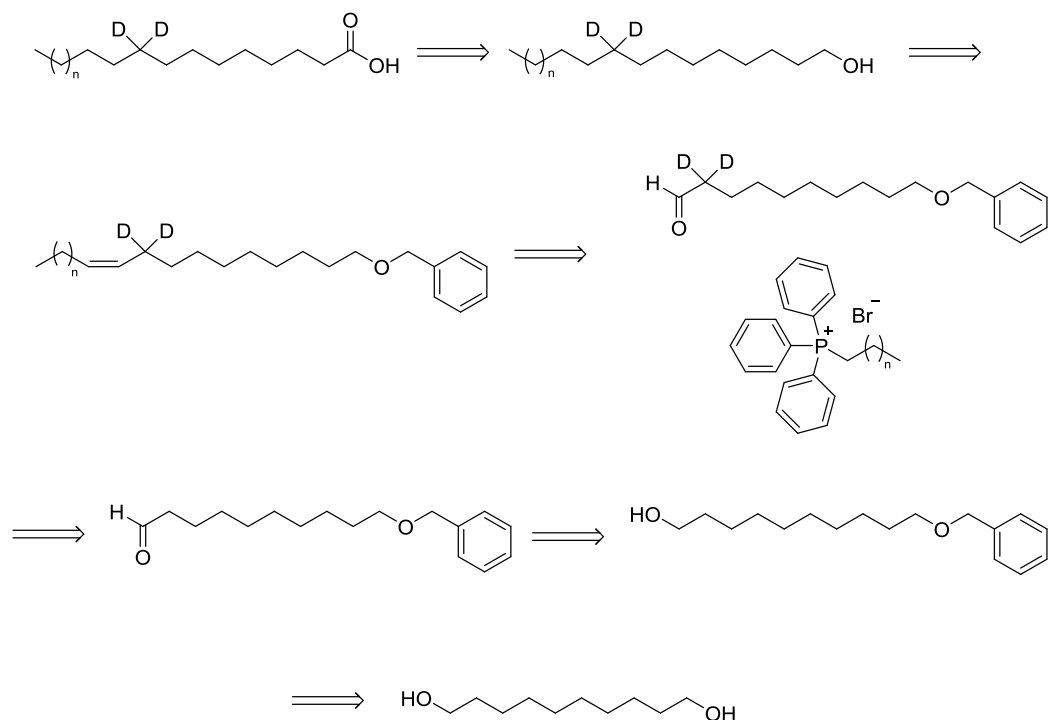
Σχήμα 71. Χρωματογραφήματα εξαγόμενου ιόντος HRMS του λινελαϊκού οξέος.

6.7 Ρετροσυνθετική πορεία για τη σύνθεση 9-δευτεριωμένου παλμιτικού και στεατικού οξέος

Στη συνέχεια, θελήσαμε να αναπτύξουμε μια μέθοδο για τη σύνθεση κορεσμένων λιπαρών οξέων που θα φέρουν δύο άτομα δευτερίου, όχι όμως σε α -ανθρακοάτομο. Στόχος της μεθόδου ήταν η εισαγωγή δύο ατόμων δευτερίου στην 9 θέση του παλμιτικού οξέος, αλλά και του στεατικού οξέος. Το βήμα κλειδί αυτής της συνθετικής πορείας, που θα περιγραφεί αναλυτικά στη συνέχεια, είναι η προσθήκη 6 ή 8 ατόμων άνθρακα μέσω μιας αντίδρασης Wittig στη δευτεριωμένη 10-βενζυλοξυ-δεκανάλη, που οδηγεί στο δευτεριωμένο παλμιτικό οξύ και δευτεριωμένο στεατικό οξύ, αντίστοιχα.

Σύμφωνα με την ρετροσυνθετική πορεία που φαίνεται στο σχήμα 72, τα 9-*d* κορεσμένα λιπαρά οξέα θα μπορούσαν να προκύψουν από τις αντίστοιχες 9-*d* κορεσμένες αλκοόλες, οι οποίες θα προέρθουν από τις 9-*d* ακόρεστες προστατευμένες αλκοόλες. Οι επιθυμητές προστατευμένες αλκοόλες θα προκύψουν από μια αντίδραση Wittig μεταξύ της 9-*d*

προστατευμένης δεκανάλης και του αντίστοιχου φωσφονιακού μετά βρωμίου άλατος. Η δευτεριωμένη και προστατευμένη δεκανάλη που απαιτείται, προκύπτει από την προστατευμένη δεκανάλη, έπειτα από την πραγματοποίηση της διαδικασίας δευτερίωσης που περιγράφεται σε προηγούμενη ενότητα. Η 10-βενζυλοξυ-δεκανάλη θα προέλθει από την οξείδωση της 10-βενζυλοξυ-δεκαν-1-όλης, η οποία προκύπτει από την μονοπροστασία της εμπορικά διαθέσιμης 1,10-δεκανοδιόλης.

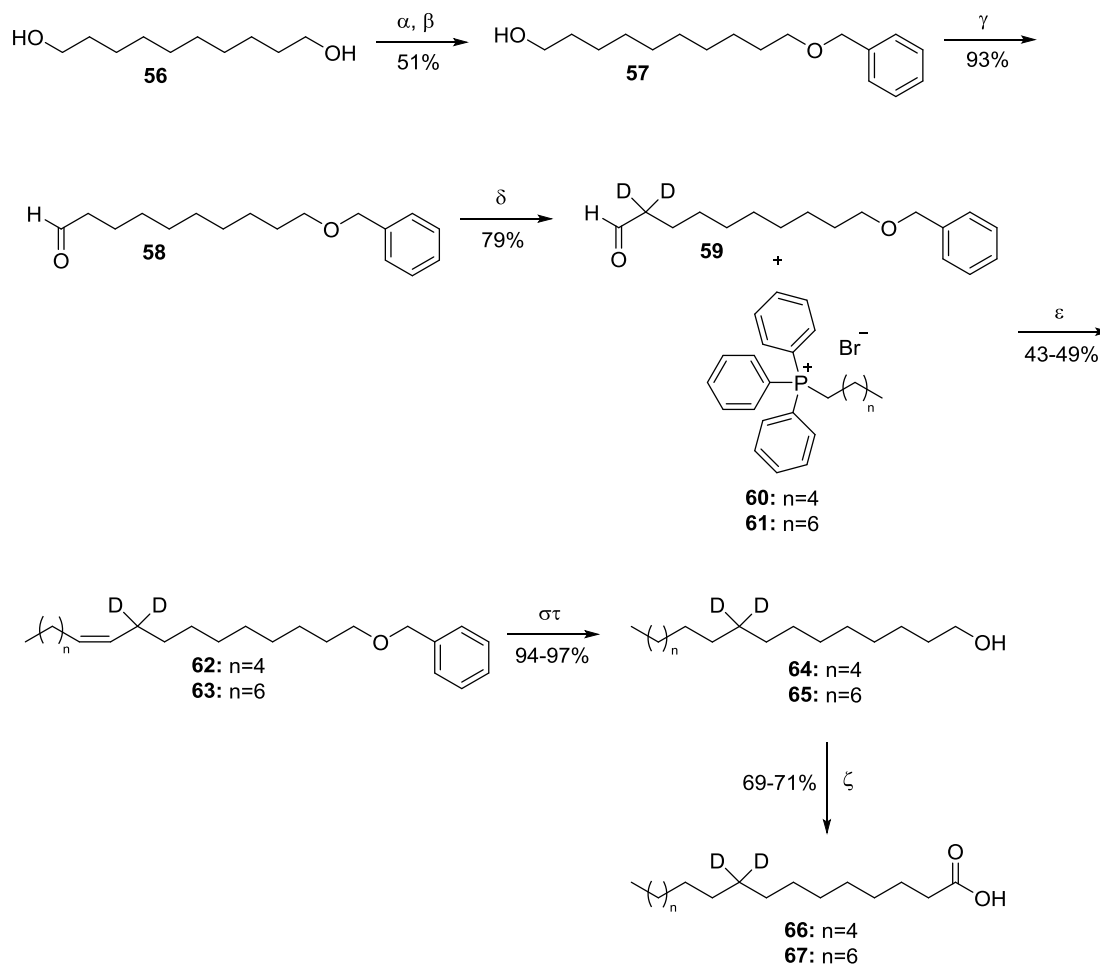


Σχήμα 72. Ρετροσυνθετική πορεία για τη σύνθεση δευτεριωμένων κορεσμένων λιπαρών οξέων σε 9-θέση.

6.8 Σύνθεση δευτεριωμένων κορεσμένων λιπαρών οξέων

Ξεκινώντας από την εμπορικά διαθέσιμη 1,10-δεκανοδιόλη (**56**), κατεργασία της με βενζυλοβρωμίδιο και NaH 60% οδηγεί στην μονοπροστατευμένη 10-βενζυλοξυ-δεκαν-1-όλη (**57**). Στη συνέχεια, η ένωση **57**, μέσω οξείδωσης με PCC, μετατρέπεται στην αντίστοιχη αλδεΐδη **58**, η οποία κατεργάζεται δύο φορές με D₂O και Et₃N στους 100 °C για 1h και δίνει το επιθυμητό δευτεριωμένο προϊόν **59**. Έπειτα, μέσω μιας αντίδρασης Wittig μεταξύ της αλδεΐδης **59** και του φωσφονιακού άλατος **60** ή **61** παραλαμβάνεται το αλκένιο **62** ή **63**, ανάλογα με το άλας που χρησιμοποιείται. Όπως φαίνεται και στο σχήμα 73 που ακολουθεί, με

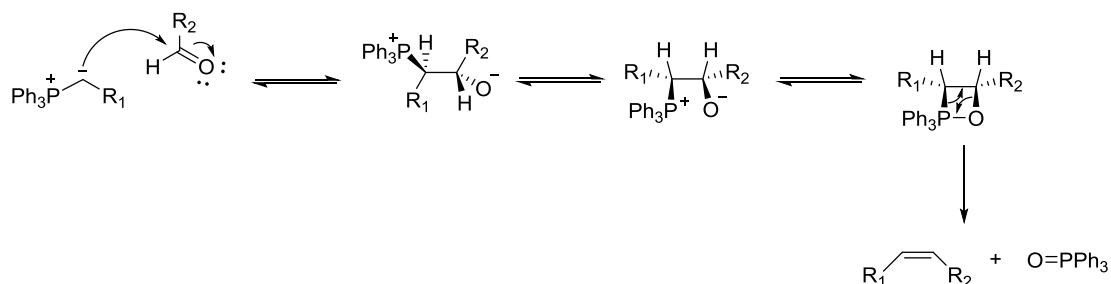
καταλυτική υδρογόνωση παρουσία 10% παλλαδίου σε άνθρακα παρασκευάζεται η δευτεριωμένη πρωτοταγής αλκοόλη (**64**, **65**), η οποία οξειδώνεται με χρήση του αντιδραστηρίου Jones για να οδηγηθούμε στο 9-*d* κορεσμένο λιπαρό οξύ (**66**, **67**).



Σχήμα 73. Συνθετική πορεία των ενώσεων 66 και 67. (α) NaH 60%, ξηρό DMF, 0 °C, 40 min., (β) BnBr, r.t., o.n., (γ) PCC, ξηρό CH₂Cl₂, (δ) D₂O, Et₃N, 100 °C, 1 h, (ε) *n*-BuLi, άνυδρο THF, r.t., o.n., (στ) H₂, Pd/C, r.t., o.n., (ζ) Διάλυμα Jones 2M, 0 °C, 1 h.

Η αντίδραση Wittig είναι μια από τις πιο βασικές μεθόδους σύνθεσης αλκενίων από αλδεΐδες ή κετόνες με χρήση κατάλληλων υλιδίων φωσφόρου. Η διαστερεοεκλεκτικότητα των προϊόντων της εξαρτάται από τη φύση του υλιδίου, δηλαδή αν πρόκειται για ένα σταθεροποιημένο υλίδιο φωσφόρου ή όχι. Αξίζει να σημειωθεί ότι, καθοριστικός παράγοντας της γεωμετρίας του προϊόντος είναι η γεωμετρία του τετραμελούς δακτυλίου που σχηματίζεται στην πορεία της αντίδρασης.

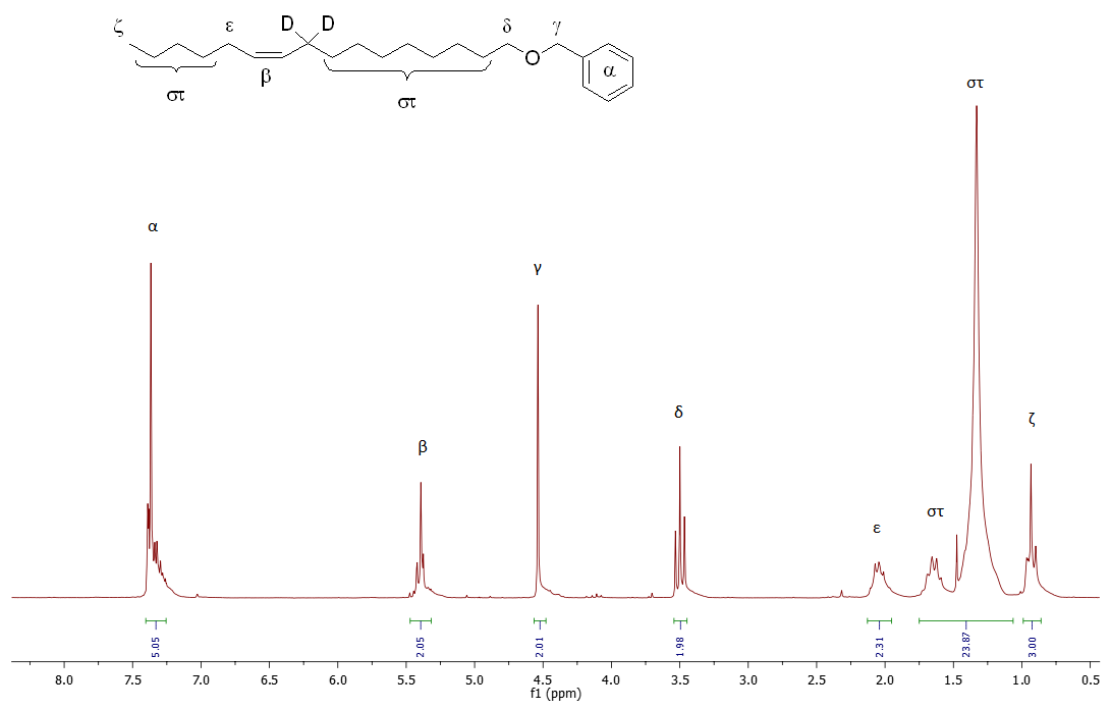
Στην παρούσα αντίδραση χρησιμοποιείται η μονοπροστατευμένη και δευτεριωμένη αλδεΐδη **59** και τα φωσφονιακά άλατα **60** και **61**, τα οποία παρασκευάστηκαν από τα αντίστοιχα βρωμίδια και τριφαινυλοφωσφίνη. Η ενεργοποίηση των φωσφονιακών άλατων για τον σχηματισμό των απαιτούμενων μη σταθεροποιημένων υλιδίων πραγματοποιείται με χρήση της ισχυρής βάσης, n-BuLi. Στη συνέχεια παρατίθεται ο μηχανισμός της αντίδρασης.



Σχήμα 74. Μηχανισμός της αντίδρασης Wittig.

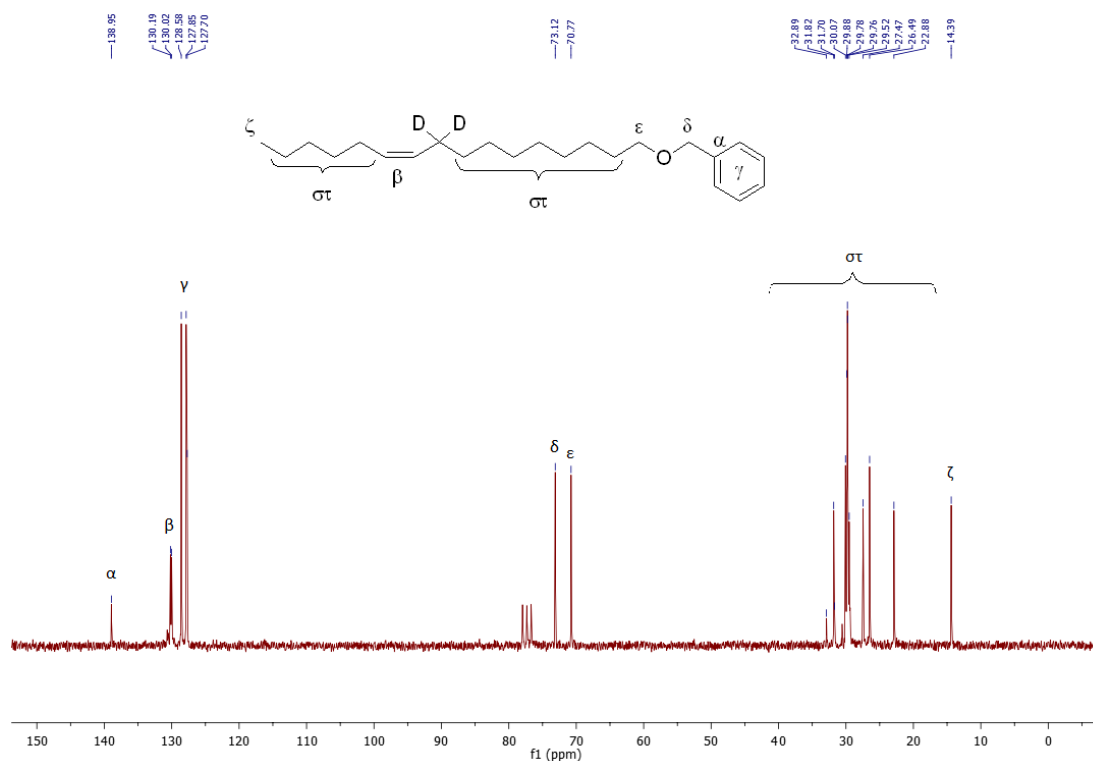
6.9 Χαρακτηριστικά φάσματα NMR και υπολογισμός της δευτερίωσης

Στα σχήματα που ακολουθούν φαίνονται τα φάσματα ^1H και ^{13}C της ένωσης **62**, αλλά και του τελικού προϊόντος **66**. Όπως παρατηρούμε, στην περιοχή 7.40-7.25 ppm συντονίζονται τα πρωτόνια (α) του αρωματικού δακτυλίου. Στη συνέχεια, εμφανίζονται τα δύο πρωτόνια (β) του διπλού δεσμού στην περιοχή 5.45-5.30 ppm. Ακολουθούν τα πρωτόνια (γ) του άνθρακα που συνδέεται με τον αρωματικό δακτύλιο στα 4.50 ppm ως απλή κορυφή. Έπειτα, τα πρωτόνια (δ) σε α-θέση ως προς το άτομο οξυγόνου συντονίζονται στα 3.50 ppm ως μια τριπλή κορυφή, ενώ στην περιοχή 2.10-1.95 ppm εμφανίζονται τα αλλυλικά πρωτόνια (ε). Τέλος, στην περιοχή 1.75-1.10 ppm συντονίζονται τα αλειφατικά πρωτόνια (στ) και στα 0.90 ppm τα μεθυλικά πρωτόνια (ζ) ως μια τριπλή κορυφή.



Σχήμα 75. Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 62 σε CDCl_3 (200 MHz).

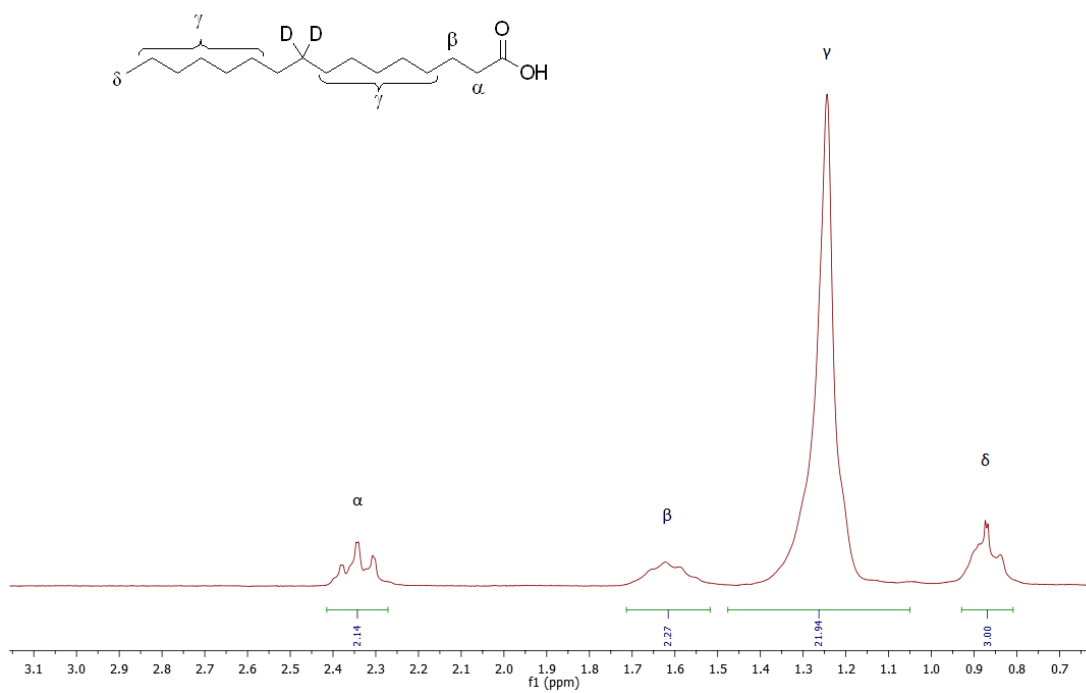
Στη συνέχεια, παρατίθεται το φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης **62**. Όπως φαίνεται και στο σχήμα 76 που ακολουθεί, στα 139.0 ppm συντονίζεται ο αρωματικός άνθρακας (α) που ενώνεται με την αλυσίδα της ένωσης, ενώ στα 130.2 ppm και 130.0 ppm οι άνθρακες (β) του διπλού δεσμού. Ακολουθούν οι υπόλοιποι αρωματικοί άνθρακες (γ) στην περιοχή 129.0-128.0 ppm. Στα 73.0 ppm και 71.0 ppm συντονίζονται οι άνθρακες (δ , ϵ) εκατέρωθεν του ατόμου οξυγόνου, ενώ στην περιοχή 33.0-23.0 ppm εμφανίζονται οι αλειφατικοί άνθρακες (σ) και στα 14.4 ppm συντονίζεται ο άνθρακας του μεθυλίου (ζ).



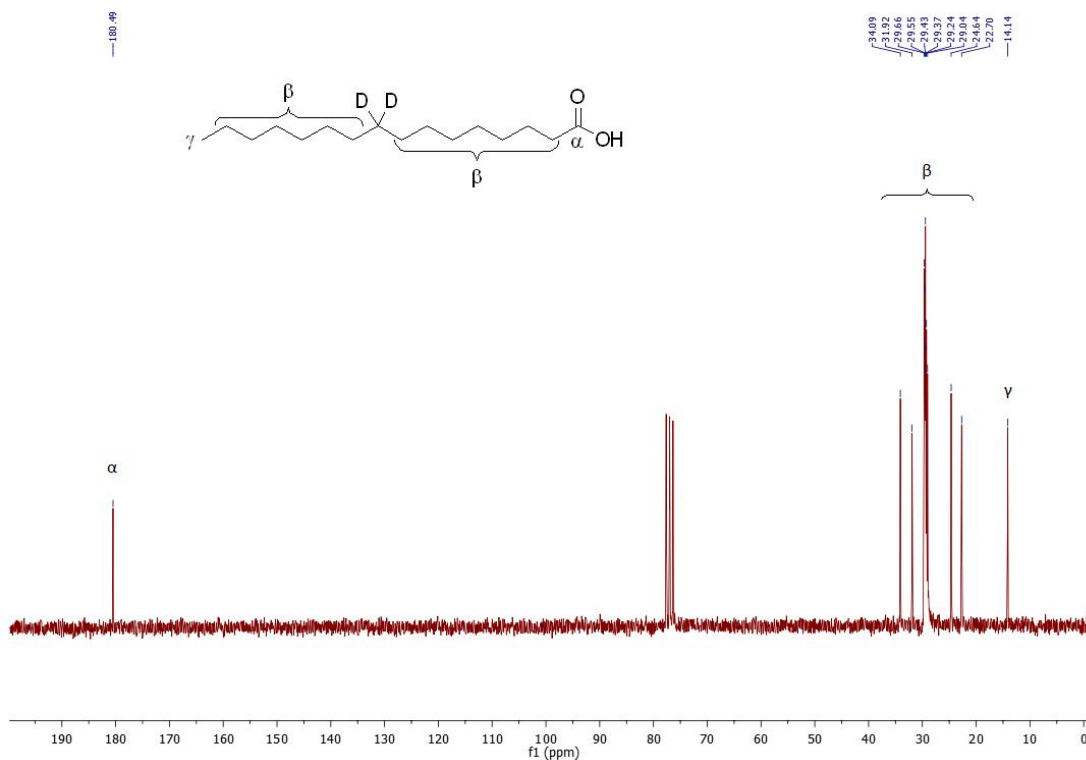
Σχήμα 76. Φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης 62 σε CDCl_3 (200 MHz).

Στη συνέχεια, παρατίθεται και αναλύεται το φάσμα ^1H NMR της ένωσης **66**. Παρατηρούμε λοιπόν ότι, στα 2.35 ppm συντονίζονται τα α-πρωτόνια ως προς την καρβοξυλική ομάδα ως μια τριπλή κορυφή, ενώ στην περιοχή 1.70-1.50 ppm εμφανίζονται τα πρωτόνια σε β-θέση ως προς την καρβοξυλική ομάδα. Ακολουθούν τα αλειφατικά πρωτόνια (γ) στην περιοχή 1.40-1.10 ppm και τέλος, τα πρωτόνια του μεθυλίου που εμφανίζονται στην περιοχή 0.90-0.80 ppm (Σχήμα 76).

Στο σχήμα 77 που ακολουθεί, φαίνεται το φάσμα ^{13}C της ένωσης **66**. Βλέπουμε ότι, στα 180.5 ppm συντονίζεται ο καρβονυλικός άνθρακας (α), ενώ στην περιοχή 34.1-23.0 ppm εμφανίζονται οι αλειφατικοί άνθρακες (β) της ένωσης **66**. Τέλος, στα 14.1 ppm συντονίζεται ο μεθυλικός άνθρακας (γ).



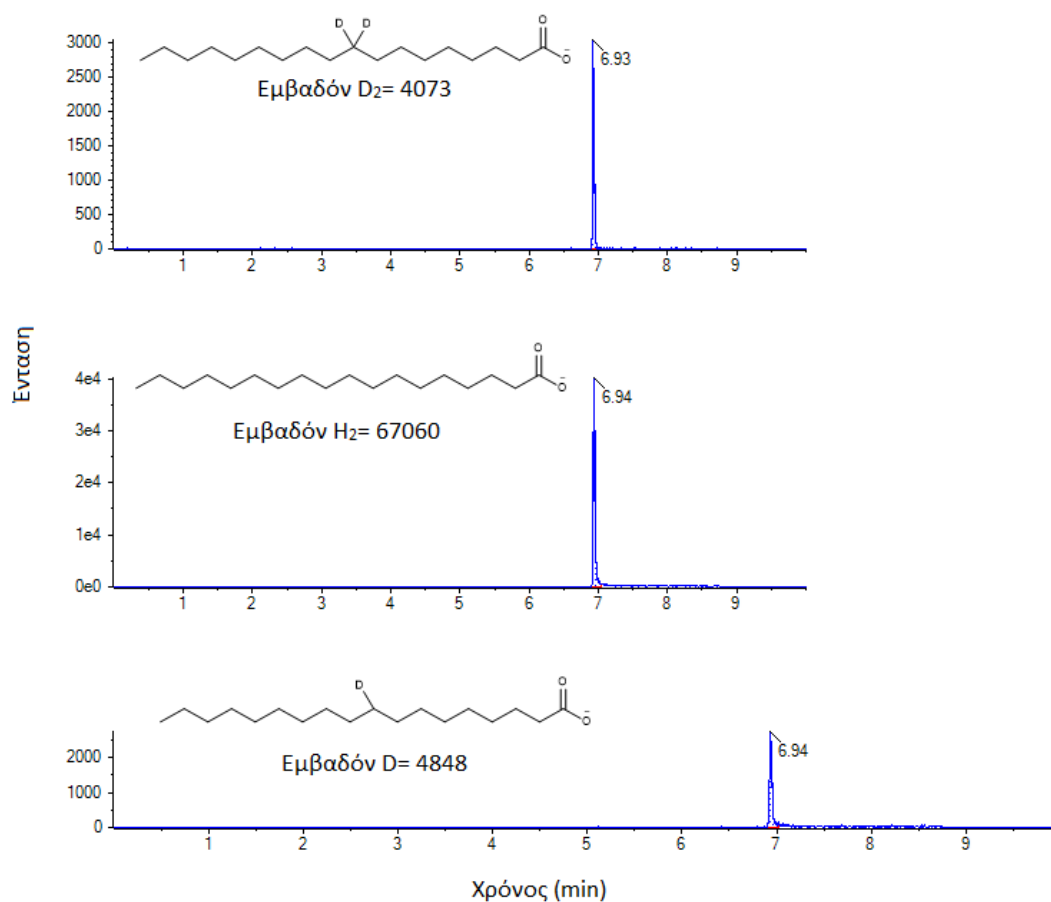
Σχήμα 77. Φάσμα ^1H NMR της ένωσης 66 σε CDCl_3 (200 MHz).



Σχήμα 78. Φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης 66 σε CDCl_3 (200 MHz).

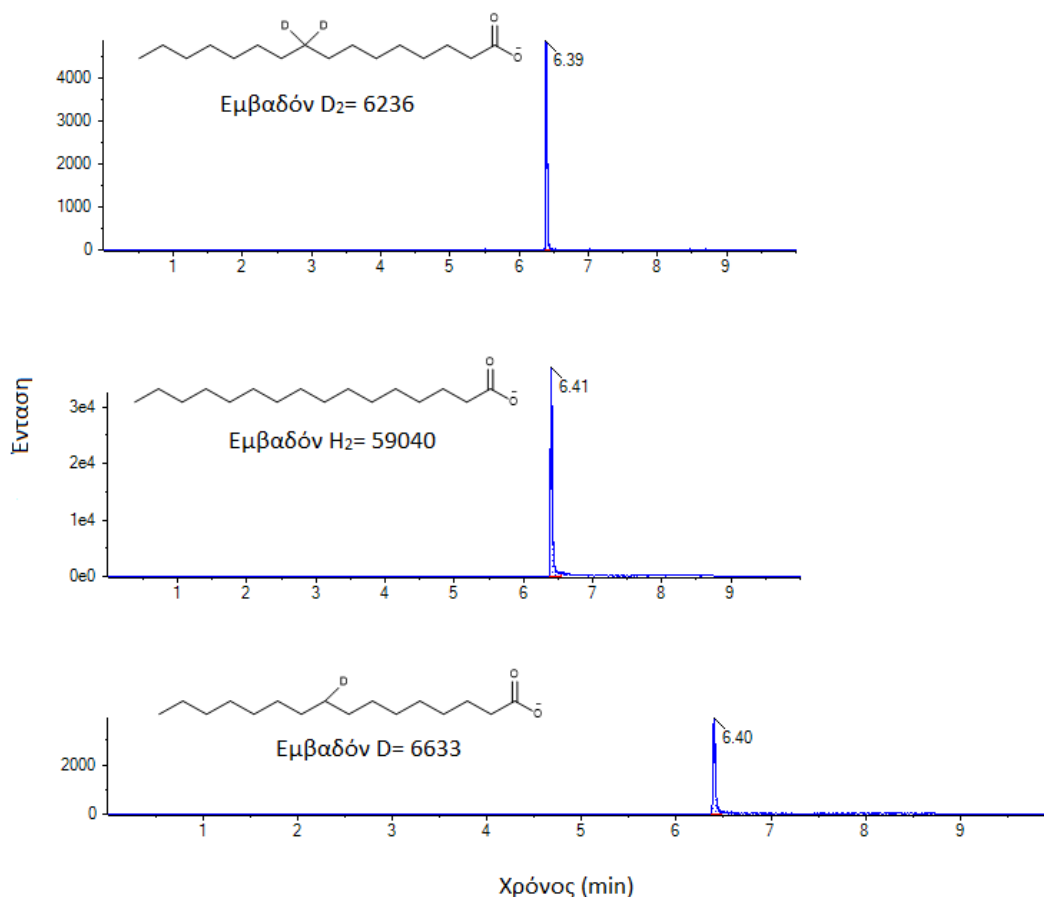
Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε έλεγχος του ποσοστού δευτερίωσης των ενώσεων που συντέθηκαν. Στο σχήμα που ακολουθεί παρουσιάζονται τα χρωματογραφήματα εξαγόμενου ιόντος HRMS διδευτεριωμένου, μονοδευτεριωμένου και μη δευτεριωμένου στεατικού οξέος, καθώς και οι υπολογισμοί για το κάθε ποσοστό δευτερίωσης

- $$\text{Ποσοστό συνολικής δευτερίωσης (\%)} = \frac{4073+4848}{67060+4073+4848} \times 100 = \frac{8921}{75981} \times 100 = 11.74\%.$$
- $$\text{Ποσοστό διδευτερίωσης (\%)} = \frac{4073}{67060+4073+4848} \times 100 = \frac{4073}{75981} \times 100 = 5.36\%.$$
- $$\text{Ποσοστό μονοδευτερίωσης (\%)} = \frac{4848}{67060+4073+4848} \times 100 = \frac{4848}{75981} \times 100 = 6.38\%.$$



Σχήμα 79. Χρωματογραφήματα εξαγόμενου ιόντος HRMS του δευτεριωμένου στεατικού οξέος.

Στη συνέχεια παρουσιάζονται τα χρωματογραφήματα εξαγόμενου ιόντος HRMS διδευτεριωμένου, μονοδευτεριωμένου και μη δευτεριωμένου παλμιτικού οξέος, καθώς και οι υπολογισμοί για το κάθε ποσοστό δευτερίωσης.



Σχήμα 80. Χρωματογραφήματα εξαγόμενου ιόντος HRMS του δευτεριωμένου παλμιτικού οξέος.

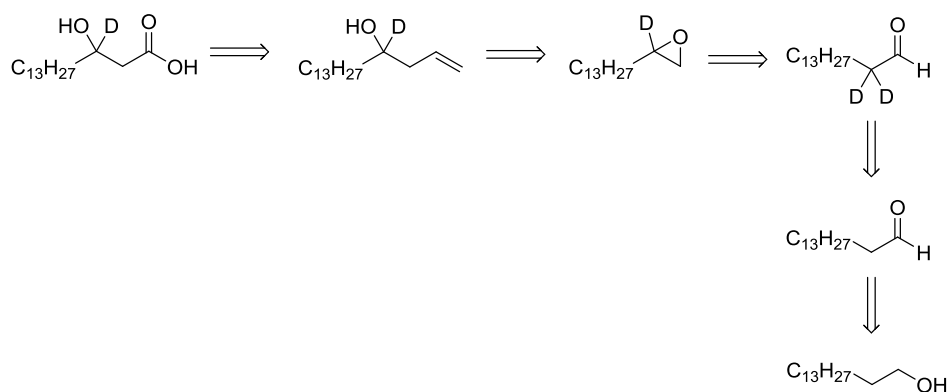
- $$\text{Ποσοστό συνολικής δευτερίωσης (\%)} = \frac{6236+6633}{6236+6633+59040} \times 100 = \frac{12869}{71909} \times 100 = 17.89\%.$$
- $$\text{Ποσοστό διδευτερίωσης (\%)} = \frac{6236}{6236+6633+59040} \times 100 = \frac{6236}{71909} \times 100 = 8.67\%.$$
- $$\text{Ποσοστό μονοδευτερίωσης (\%)} = \frac{6633}{6236+6633+59040} \times 100 = \frac{6633}{71909} \times 100 = 9.22\%.$$

Τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις που αφορούσαν το ποσοστό δευτερίωσης παρουσιάζουν αντιφάσεις. Ολοκληρώνοντας το φάσμα ^1H NMR της ένωσης **66** για τον υπολογισμό του ποσοστού δευτερίωσης φαίνεται να είναι πάνω από 90%, κάτι το οποίο ήρθε σε αντίθεση με τα αποτελέσματα από την χρήση HRMS, αφού βρέθηκε να είναι μόλις 9.55%. Το ίδιο συνέβη και στον υπολογισμό του ποσοστού δευτερίωσης για την ένωση **67**. Έτσι, οδηγηθήκαμε στο συμπέρασμα ότι σε κάποιο από τα στάδια που πραγματοποιούνται, είτε κατά την αντίδραση Wittig είτε στη συνέχεια, συμβαίνει ανταλλαγή μεταξύ των ατόμων υδρογόνου και των ατόμων δευτερίου.

6.10 Σύνθεση του 3-υδρόξυ δεκαεξανοϊκού 3-*d* οξέος

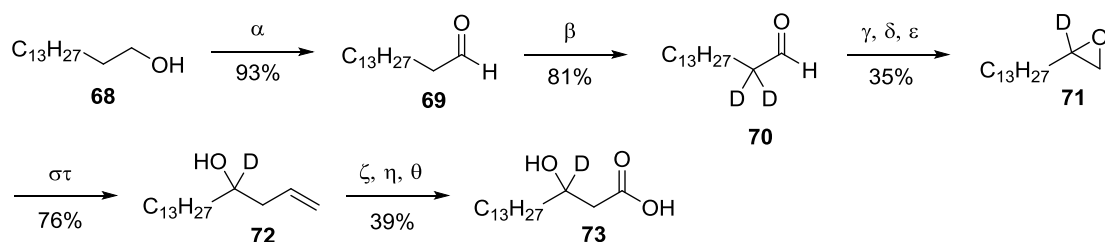
Στην ενότητα αυτή θα αναλυθεί τόσο ο σχεδιασμός, όσο και η συνθετική μέθοδος που ακολουθήθηκε για την παραλαβή του 3-υδρόξυ δεκαεξανοϊκού οξέος που θα φέρει ένα άτομο δευτερίου του άνθρακα που φέρει και το υδροξύλιο.

Σύμφωνα με την ρετροσυνθετική πορεία που φαίνεται στο σχήμα 81, το 3-υδρόξυ δεκαεξανοϊκό 3-*d* οξύ μπορεί να προκύψει από το αντίστοιχο ακραίο 4-υδρόξυ αλκένιο που θα φέρει στην ίδια θέση με το υδροξύλιο το άτομο δευτερίου, το οποίο θα μπορούσε να προέλθει από το αντίστοιχο μονοδευτεριωμένο ακραίο εποξειδίο. Όπως παρατηρούμε και στο παρακάτω σχήμα, το επιθυμητό ακραίο εποξειδίο θα μπορούσε να προκύψει από την δευτεριωμένη αλδεΐδη σε α -θέση ως προς το καρβονύλιο. Η διεργασία της δευτερίωσης στην απλή αλειφατική δεκαπεντανάλη είναι αυτή που θα μας οδηγήσει στην αλδεΐδη που θα φέρει τα δύο άτομα δευτερίου. Τέλος, η δεκαπεντανάλη θα μπορούσε να προέλθει από την αντίστοιχη αλκοόλη μέσω μιας οξειδωσης.



Σχήμα 81. Ρετροσυνθετική πορεία για τη σύνθεση του 3-υδρόξυ δεκαεξανοϊκού 3-*d* οξέος.

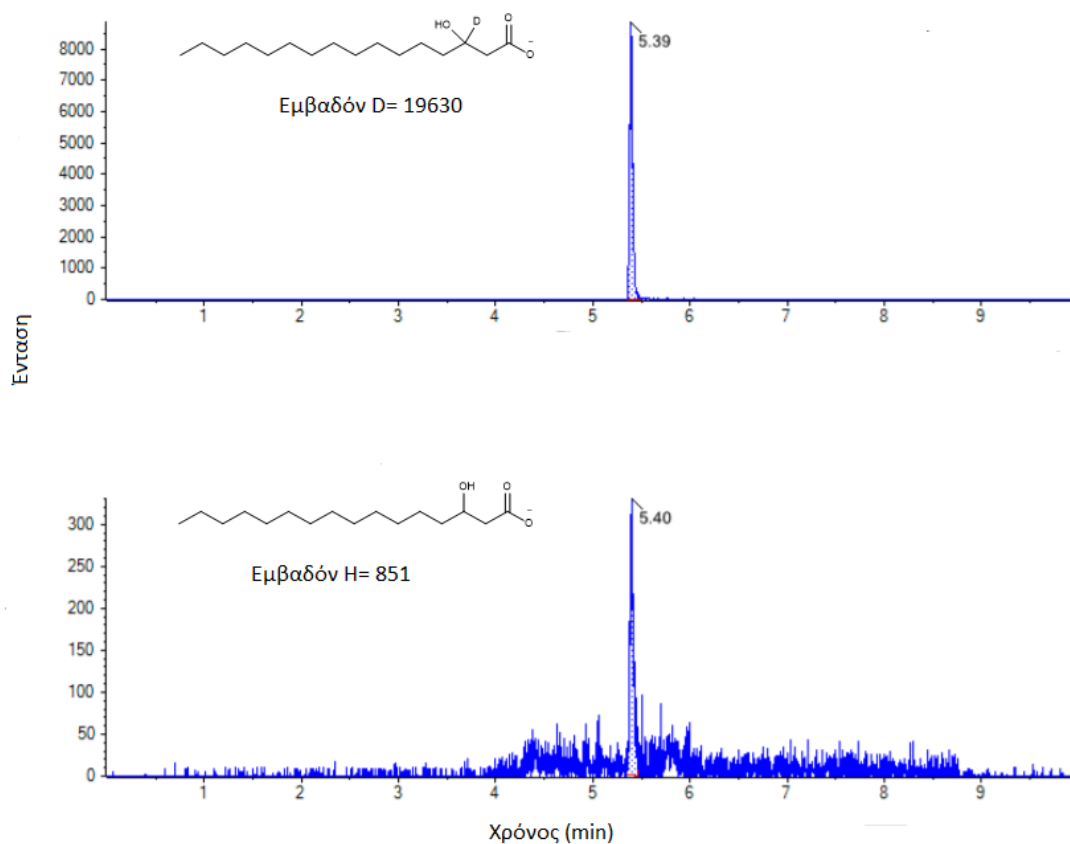
Η συνθετική πορεία της ένωσης **73** ξεκινά από την εμπορικά διαθέσιμη δεκαπεντανόλη (**68**), η οποία μετατράπηκε στην αντίστοιχη αλδεΐδη **69** μέσω οξειδωσης με PCC. Η αλδεΐδη **69** υφίσταται δυο επαναλαμβανόμενους κύκλους δευτερίωσης και έτσι παραλαμβάνεται η δευτεριωμένη ένωση **70**. Στη συνέχεια, η δευτεριωμένη σε α-θέση δεκαπεντανάλη μετασχηματίστηκε στο ρακεμικό εποξειδίο **71** από την κατεργασία με *L*-προλίνη και *N*-χλωροσουκινιμίδιο. Έπειτα, ακολουθεί η εκλεκτική διάνοξη του εποξειδίου **71** από βινυλομαγνήσιο βρωμίδιο παρουσία καταλυτικής ποσότητας ιωδιούχου χαλκού. Έτσι παραλαμβάνεται το μονοδευτεριωμένο 4-υδρόξυ ακραίο αλκένιο **72**, που μέσω οζονόλυσης, ακολουθούμενη από αναγωγή με διμεθυλοσουλφίδιο και οξειδωση Pinnick μετατρέπεται στο επιθυμητό 3-υδρόξυ 3-*d*-οξύ **73** (Σχήμα 80).



Σχήμα 82. Σύνθεση του 3-υδρόξυ δεκαεξανοϊκού 3-*d* οξέος. (α) PCC, ξηρό CH₂Cl₂, (β) D₂O, Et₃N, 100 °C, 1 h, (γ) *L*-προλίνη, *N*-χλωροσουκινιμίδιο, CH₂Cl₂, o.n., r.t., (δ) NaBH₄, EtOH, 0 °C, 30 min., (ε) KOH/EtOH/H₂O, 1 h, r.t., (στ) βινυλομαγνήσιο βρωμίδιο 1M, CuI, ξηρό THF, -78 °C, (ζ) O₃, CH₂Cl₂/πυριδίνη 9:1, -78 °C, (η) i. Ar, ii. DMS, 0 °C, (θ) οξείδωση Pinnick.

6.11 Υπολογισμός της δευτερίωσης της ένωσης **73** με φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας (HRMS)

Στην ενότητα αυτή θα παρουσιαστούν τα αποτελέσματα από τον έλεγχο του ποσοστού δευτερίωσης της ένωσης **73** που συντέθηκε. Στο σχήμα 83 που ακολουθεί παρουσιάζονται τα χρωματογραφήματα εξαγόμενου ιόντος HRMS μονοδευτεριωμένου και μη δευτεριωμένου 3-υδρόξυ δεκαοκτανοϊκού 3-*d* οξέος, καθώς και οι υπολογισμοί για το ποσοστό του μονοδευτεριωμένου προϊόντος.



Σχήμα 83. Χρωματογραφήματα εξαγόμενου ιόντος HRMS του 3-υδρόξυ δεκαοκτανοϊκού 3-*d* οξέος.

- Ποσοστό μονοδευτερίωσης (%) = $\frac{19630}{851+19630} \times 100 = \frac{19630}{20481} \times 100 = 95.84\%$.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ – ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΙ ΕΝΩΣΕΩΝ

7.1 Γενικό πειραματικό μέρος

Αντιδραστήρια και διαλύτες

Τα αντιδραστήρια και οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία ήταν των εταιρειών, Sigma-Aldrich, Merck, Fluka και Alfa Aesar. Για την ξήρανση των διαλυτών, όπου ήταν απαραίτητο, χρησιμοποιήθηκαν μοριακά κόσκινα διαμέτρου 4A. Η συμπύκνωση των διαλυτών έγινε υπό ελαττωμένη πίεση.

Όργανα και διατάξεις

Τα φάσματα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR ^1H , ^{13}C) ελήφθησαν σε όργανο Varian Mercury 200 MHz. Οι δευτεριωμένοι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν CDCl_3 . 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 ελήφθησαν σε φασματόμετρο Thermo Finnigan Surveyor MSQ Plus, όπου ο ιονισμός των ενώσεων έγινε με την τεχνική του ηλεκτροψεκασμού. (ESI, Electron Spray Ionization). Τα φάσματα μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας (HRMS) ελήφθησαν σε φασματόμετρο Bruker Maxis Impact QTOF και AB Sciex 4600 Triple TOF.

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

Χρωματογραφία στήλης

Ο καθαρισμός των προϊόντων που συντέθηκαν πραγματοποιήθηκε με χρωματογραφία στήλης. Η έκλουση έγινε είτε με την εφαρμογή πίεσης αέρα (flash column chromatography), είτε με την βαρύτητα (gravity column chromatography). Στις βαρυτικές στήλες χρησιμοποιήθηκε silica gel 60 (70-

230 mesh) της Merck. Τα συστήματα έκλουσης που χρησιμοποιήθηκαν αναφέρονται για κάθε προϊόν ξεχωριστά.

Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας

Η πορεία και εξέλιξη των αντιδράσεων και η καθαρότητα των ενώσεων που συντέθηκαν ελέγχθηκαν με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) για την οποία χρησιμοποιήθηκαν φύλλα αλουμινίου 0,2 mm επιστρωμένα με silica gel 60 και φθορίζοντα δείκτη F_{254} (Merck Art 5714). Για την εμφάνιση των χρωματογραφημάτων χρησιμοποιήθηκαν: διάλυμα νινυδρίνης 0,5% σε αιθανόλη, διάλυμα φωσφομολυβδαινικού οξέος 7,5% σε αιθανόλη και λυχνία UV ($\lambda = \text{nm}$).

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

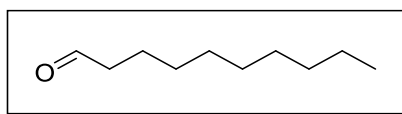
1. Πετρελαϊκός αιθέρας 40-60 °C / διαιθυλαιθέρας (PE/Et₂O) 9:1
2. Πετρελαϊκός αιθέρας 40-60 °C / διαιθυλαιθέρας (PE/Et₂O) 8:2
3. Πετρελαϊκός αιθέρας 40-60 °C / διαιθυλαιθέρας (PE/Et₂O) 7:3
4. Πετρελαϊκός αιθέρας 40-60 °C / οξικός αιθυλεστέρας (PE/EtOAc) 9:1
5. Πετρελαϊκός αιθέρας 40-60 °C / οξικός αιθυλεστέρας (PE/EtOAc) 95:5
6. Πετρελαϊκός αιθέρας 40-60 °C / οξικός αιθυλεστέρας (PE/EtOAc) 8:2
7. Πετρελαϊκός αιθέρας 40-60 °C / οξικός αιθυλεστέρας (PE/EtOAc) 7:3
8. Διχλωρομεθάνιο / Μεθάνολη (CH₂Cl₂/MeOH)9:1

7.2 Πειραματικές πορείες και χαρακτηρισμοί ενώσεων

Γενική πορεία οξειδωσης αλδεϋδών με χρήση PCC

Σε σφαιρική φιάλη που περιέχει PCC (2.00 mmol, 413 mg) προσθέτουμε CH₂Cl₂ (10 mL) και αφήνεται υπό ανάδευση για 10 λεπτά. Στη συνέχεια, προστίθεται διάλυμα αλκοόλης (1.00 mmol) σε CH₂Cl₂ (5 mL) στους 0 °C, ακολουθεί ανάδευση για 1 ώρα και διακόπτεται με προσθήκη silica gel (1.5 g silica gel ανά 1.0 g PCC). Το μείγμα της αντίδρασης διηθείται μέσω celite και silica και ακολουθεί καθαρισμός του προϊόντος με χρωματογραφία στήλης με PE/Et₂O.

Δεκανάλη (23)

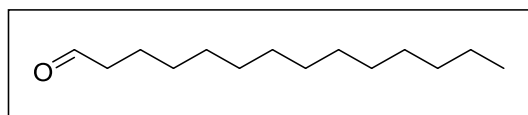


Άχρωμο λάδι, απόδοση 92%, $R_f(2)=0.36$, σύστημα έκλουσης: PE/Et₂O 85:15.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 9.76 (s, 1H, CHO), 2.42 – 2.20 (m, 2H, CH₂CHO), 1.69 – 1.60 (m, 2H, CH₂), 1.48 – 1.30 (m, 12H, CH₂), 0.88 (t, J = 6.1 Hz, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 202.6, 43.97, 31.9, 29.5, 29.4, 22.8, 14.2.

Δεκατετρανάλη (6)

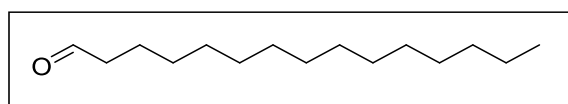


Λευκό στερεό, σ.τ.: 25-27°C, απόδοση 93%, $R_f(3)= 0.61$, σύστημα έκλουσης: PE/Et₂O 9:1.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 9.74 (s, 1H, CHO), 2.39 (m, 2H, CH₂CHO), 1.70 – 1.00 (m, 22H, CH₂), 0.86 (t, J = 6 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 203.1, 44.2, 32.2, 32.1, 30.1, 29.9, 29.8, 29.7, 29.6, 29.4, 29.3, 22.9, 22.3, 14.4.

Δεκαπεντανάλη (7)

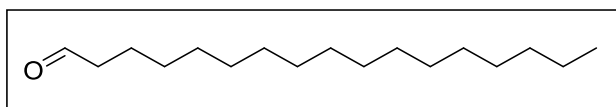


Λευκό στερεό, σ.τ.: 32-34 °C, απόδοση 95%, $R_f(2)= 0.47$, σύστημα έκλουσης: PE/Et₂O 9:1.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 9.61 (s, 1H, CHO), 2.30 – 2.20 (m, 2H, CH₂CHO), 1.57 – 1.32 (m, 2H, CH₂), 1.27 – 0.89 (m, 22H, CH₂), 0.75 (t, J = 6 Hz, 3H, CH₃).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 202.1, 44.0, 32.1, 29.8, 29.8, 29.6, 29.5, 29.3, 28.3, 22.8, 22.2, 19.3, 14.1.

Δεκαεπτανάλη (8)

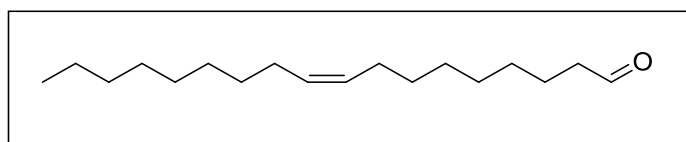


Λευκό στερεό, σ.τ.: 37-39 °C, απόδοση 93%, $R_f(1) = 0.53$, σύστημα έκλουσης: PE/Et₂O 9:1.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 9.77 (s, 1H, CHO), 2.42 – 2.30 (m, 2H, CH_2CHO), 1.63 – 1.42 (m, 2H, CH_2), 1.30 – 1.10 (m, 26 H, CH_2), 0.88 (t, $J = 6.8$ Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 197.3, 43.0, 31.9, 29.7, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.1, 22.7, 22.0, 14.1.

Ελάυλο αλδεΐδη (48)

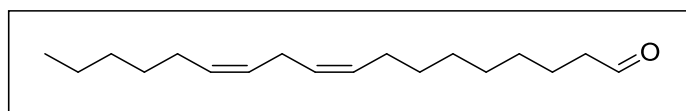


Άχρωμο λάδι, απόδοση 92 %, $R_f(2) = 0.36$, σύστημα έκλουσης: PE/Et₂O 9:1.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 9.69 (s, 1H, CHO), 5.38 – 5.20 (m, 2H, $\text{CH}=\text{CH}$), 2.37 (t, $J = 6$ Hz, 2H, CH_2CHO), 1.97 – 1.80 (m, 4H, CH_2CH), 1.64 – 1.51 (m, 2H, CH_2) 1.40-1.10 (m, 20H, CH_2), 0.84 (t, $J = 6$ Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 203.1, 130.3, 130.0, 44.2, 32.2, 30.1, 30.0, 29.8, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 27.5, 27.4, 23.0, 22.3, 14.4.

Λινελάυλο αλδεΐδη (53)

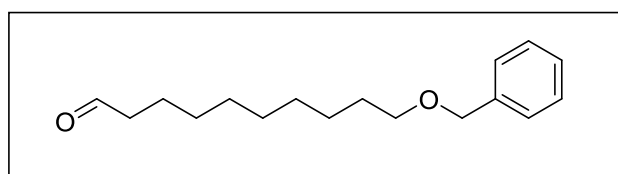


Άχρωμο λάδι, απόδοση 93%, $R_f(1) = 0.47$, σύστημα έκλουσης: PE/Et₂O 9:1.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 9.74 (t, $J = 1.9$, 1H, CHO), 5.46 – 5.20 (m, 4H, CH=CH), 2.82 – 2.61 (m, 2H, =CHCH₂CH=), 2.47 – 2.30 (m, 2H, CH₂CHO), 2.10 – 1.91 (m, 4H, =CHCH₂), 1.69 – 1.51 (m, 2H, CH₂), 1.27 (m, 14H, CH₂), 0.87 (t, $J = 6.0$, 3H, CH₃)

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 203.1, 130.5, 130.3, 128.9, 128.2, 44.2, 31.8, 29.9, 29.8, 29.7, 29.6, 29.4, 29.3, 27.5, 25.9, 22.9, 22.4, 14.4.

10-(Βενζυλοξυ)δεκανάλη (58)



Άχρωμο λάδι, απόδοση 93%, $R_f(6) = 0.43$, σύστημα έκλουσης: PE/EtOAc 8:2.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 9.77 (s, 1H, CHO), 7.37-7.32 (m, 5H, arom), 4.51 (s, 2H, -OCH₂C₆H₅), 3.47 (t, 2H, $J = 6.6$ Hz, -OCH₂), 2.47-2.34 (m, 2H, CH₂CHO), 1.71-1.51 (m, 4H, CH₂), 1.35-1.24 (m, 10H, CH₂).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) 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.

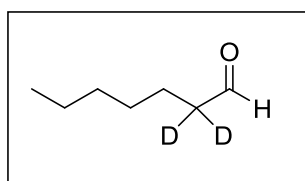
Γενική πορεία για τη σύνθεση δευτεριωμένων 2,2-d₂ αλδεϊδών

Σε σφαιρική φιάλη που έχει ξηρανθεί με φλόγα, απαιρωθεί και βρίσκεται υπό ατμόσφαιρα αργού προσθέτουμε την αλδεΐδη (1.00 mmol), D₂O (1 mL), 10% Et₃N (0,01 mL) και το μείγμα αφήνεται υπό αργό και ανάδευση σε ελαιόλουτρο στους 100 °C για μία ώρα. Στη συνέχεια σε θερμοκρασία δωματίου, προστίθεται HCl 1N και εκχυλίζεται με Et₂O (2x10 mL). Οι

οργανικές στιβάδες εκπλένονται διαδοχικά με 10% NaHCO₃ (10 mL) και κορεσμένο διάλυμα NaCl (10 mL), συλλέγονται, ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται υπό κενό.

Το ποσοστό του δευτεριωμένου προϊόντος υπολογίζεται μέσω του φάσματος ¹H NMR, έπειτα από τη σύγκριση του με το φάσμα ¹H NMR του μη δευτεριωμένου.

2,2-*d*₂ Επτανάλη (41)¹

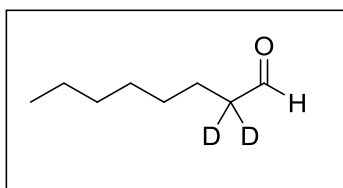


Υποκίτρινο λάδι, απόδοση 82%.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 9.73 (s, 1H, CHO), 2.45 – 2.25 (m, 0.28H, CH₂CHO), 1.78 – 1.04 (m, 8H, CH₂), 0.85 (t, *J* = 6.2 Hz, 3H, CH₃).

Ποσοστό δευτερίωσης βάσει ¹H NMR : 86%

2,2-*d*₂ Οκτανάλη (43)²

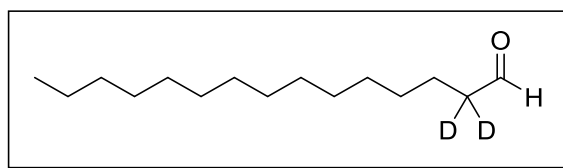


Υποκίτρινο λάδι, απόδοση 73%.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 9.69 – 9.52 (m, 1H, CHO), 2.37 – 2.12 (m, 0.20H, CH₂CHO), 1.52 – 1.34 (m, 2H, CH₂), 1.25 – 0.98 (m, 8H, CH₂), 0.75 (t, *J* = 6.4 Hz, 3H, CH₃).

Ποσοστό δευτερίωσης βάσει ¹H NMR : 90%.

2,2-*d*₂ Δεκαπεντανάλη (70)



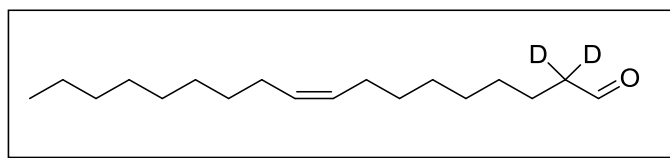
Άχρωμο λάδι, απόδοση 81%.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 9.58 (s, 1H, CHO), 2.43 – 1.97 (m, 0.16H, CH₂CHO), 1.76 – 0.82 (m, 24H, CH₂), 0.73 (t, *J* = 6 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 202.2, 44.0 – 42.5 (m, CD₂) 32.0, 29.8, 29.8, 29.7, 29.6, 29.5, 29.2, 26.3, 25.5, 24.0, 22.8, 22.0, 14.1.

Ποσοστό δευτερίωσης βάσει ¹H NMR : 92%

2,2-*d*₂ Ελάυλο αλδεύδη (49)

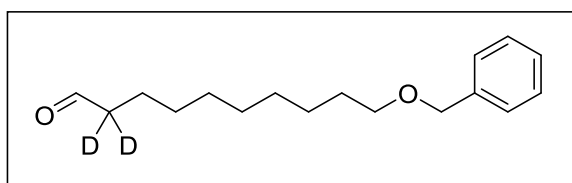


Άχρωμο λάδι, απόδοση : 88%.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 9.68 (s, 1H, CHO), 5.35 - 5.15 (m, 2H, CH=CH), 2.31 – 2.24 (m, 0.24 H, CH₂CHO), 1.93 (d, *J* = 4 Hz, 4H, CH₂CH), 1.64 - 1.43 (m, 2H, CH₂) 1.40-1.00 (m, 20H, CH₂), 0.80 (t, *J* = 6Hz, 3H, CH₃).

Ποσοστό δευτερίωσης βάσει ¹H NMR : 88%

2,2-*d*₂ 10-(Βενζυλοξυ)δεκανάλη (59)



Άχρωμο λάδι, απόδοση 79%.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 9.75 (s, 1H, CHO), 7.50 – 7.06 (m, 5H, arom), 4.50 (s, 2H, OCH₂), 3.50 – 3.42 (m, 2H, OCH₂), 2.39 – 2.23 (m, 0.14H, CH₂CHO), 1.78 – 1.00 (m, 41H, CH₂)

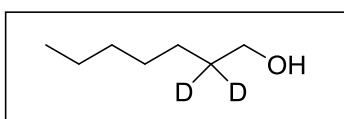
¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 203.0, 138.5, 128.2, 127.5, 127.3, 72.7, 70.3, 31.8, 29.7 - 29.1 (m, CD₂), 27.1, 26.1, 22.6.

Ποσοστό δευτερίωσης βάσει ¹H NMR : 93%

Γενική πορεία για τη σύνθεση δευτεριωμένων 2,2-*d*₂ αλκοολών

Σε διάλυμα της δευτεριωμένης αλδεΐδης (1 mmol) σε EtOH (5 mL), προστίθεται NaBH₄ (1.2 mmol, 45 mg) σταδιακά στους 0 °C και το μείγμα της αντίδρασης αφήνεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου. Έπειτα από 1 ώρα, το μείγμα συμπυκνώνεται υπό κενό προς απομάκρυνση του μεγαλύτερου μέρους της EtOH και το υπόλειμμα διαλύεται σε Et₂O (5 mL) και εκχυλίζεται με H₂O (5 mL). Οι οργανικές στιβάδες συλλέγονται, ξηραίνονται με Na₂SO₄, συμπυκνώνονται υπό κενό και παραλαμβάνεται το επιθυμητό προϊόν.

2,2-*d*₂ Επτανόλη (74)¹

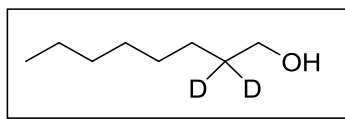


Άχρωμο λάδι, απόδοση 67 %, R_f(6)=0.36.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 3.52 (s, 2H, CH₂OH), 2.97 (s, 1H, OH), 2.25 – 2.10 (m, 0.18H, CH₂CH₂OH), 1.57 – 0.99 (m, 8H, CH₂), 0.81 (t, *J* = 6 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 62.7, 32.1, 29.3, 28.2, 25.7, 22.8, 14.1.

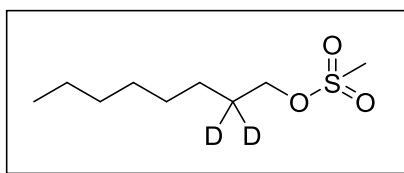
2,2-*d*₂ Οκτανόλη (44)¹



Άχρωμο λάδι, απόδοση 67 %, $R_f(6) = 0.42$.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 3.54 (s, 2H, CH₂OH), 2.80 (s, 1H, OH), 2.08 – 1.91 (m, 0.10H, CH₂CH₂OH), 1.50 – 1.10 (m, 10H, CH₂), 0.80 (t, $J = 6$ Hz, 3H, CH₃).

2,2-*d*₂ Μεθανοσουλφονυλόξυ οκτάνιο (45)¹

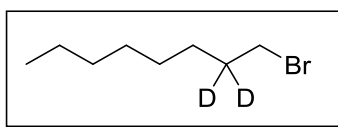


Σε διάλυμα της δευτεριωμένης αλκόολης (1.00 mmol, 130 mg) σε άνυδρο CH₂Cl₂ (2.5 mL), προστίθεται Et₃N (3.00 mmol, 0.4 mL) και 4-DMAP (0.1 mmol, 12 mg) στους 0 °C και το μείγμα της αντίδρασης αφήνεται για 10 λεπτά υπό ανάδευση. Μετά την προσθήκη μεσυλοχλωριδίου (1.20 mmol, 0.1 mL), το μείγμα αφήνεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 16 ώρες και στη συνέχεια εκχυλίζεται με NaHCO₃ (2x5 mL) και H₂O (5 mL). Οι οργανικές στιβάδες συλλέγονται, ξηραίνονται με Na₂SO₄, συμπυκνώνονται υπό κενό και ακολουθεί ο καθαρισμός του προϊόντος με χρωματογραφία στήλης PE/EtOAc 9:1.

Άχρωμο λάδι, απόδοση 81%, $R_f(7) = 0.57$, σύστημα έκλουσης: PE/EtOAc 9:1.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 4.25 – 4.03 (m, 2H, OCH₂), 2.98 (s, 3H, SCH₃), 1.44 – 1.02 (m, 10H, CH₂), 0.85 (t, $J = 6.2$ Hz, 3H, CH₃).

2,2-*d*₂ Βρωμοοκτάνιο (46)³



Σύνθεση του βρωμιδίου μέσω ενεργοποιημένης αλκοόλης

Σε διάλυμα της μέζυλο αλκοόλης (1.00 mmol, 210 mg) σε ακετόνη (10 mL), προστίθεται βρωμιούχο λίθιο (2.00 mmol, 174 mg) σε θερμοκρασία δωματίου και το μείγμα της αντίδρασης αφήνεται υπό ανάδευση και αναρροή στους 55 °C για 16 ώρες. Στη συνέχεια, απομακρύνεται ο διαλύτης και το προϊόν καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης PE/EtOAc 9:1 και απομονώνεται σε απόδοση 89%.

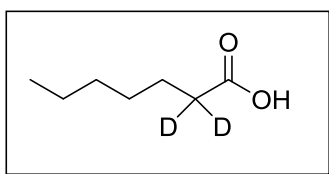
Σύνθεση του βρωμιδίου από την αλκοόλη

Σε σφαιρική φιάλη που περιέχει την δευτεριωμένη αλκοόλη (1.00 mmol, 130 mg) προστίθεται υδατικό διάλυμα υδροβρωμίου 48% (1 mL) και το μείγμα αφήνεται υπό ανάδευση και αναρροή στους 100 °C για 1 ώρα. Στη συνέχεια, προστίθενται επιπλέον υδατικό διάλυμα υδροβρωμίου (2 mL) και αφήνεται για άλλες 3 ώρες. Η αντίδραση διακόπτεται και το επιθυμητό προϊόν απομονώνεται με χρωματογραφία στήλης PE/EtOAc 9:1 σε απόδοση 92%.

Κίτρινο λάδι, $R_f(6) = 0.38$, σύστημα έκλουσης: PE/EtOAc 9:1.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 3.38 (s, 2H, CH₂Br), 1.89 – 1.74 (m, 0.30H, CH₂CH₂Br), 1.50 – 1.12 (m, 10H, CH₂), 0.87 (t, $J = 6.2$ Hz, 3H, CH₃).

2,2-*d*₂ Επτανοϊκό οξύ (75)



Σε σφαιρική φιάλη που περιέχει την δευτεριωμένη αλδεΰδη (1.00 mmol, 104 mg) προστίθενται τα ακόλουθα αντιδραστήρια στους 0 °C, MeCN (10 mL), *t*-BuOH (2 mL), H₂O απεσταγμένο (0.5 mL), 2-μεθυλο-2-βουτένιο (0.5 mL), NaH₂PO₄ (0.40 mmol, 48 mg) και NaClO₂ (1.70 mmol, 154 mg) και εκ νέου H₂O απεσταγμένο (1 mL) και το μείγμα της αντίδρασης αφήνεται υπό ανάδευση για 2 ώρες. Αφού ολοκληρωθεί η αντίδραση, διακόπτεται με προσθήκη Na₂SO₃ (0.80 mmol, 101 mg) και αφήνεται υπό ανάδευση για λίγα λεπτά. Το μείγμα της αντίδρασης οξινίζεται με προσθήκη HCl 1N (pH ~ 1) και εκχυλίζεται με Et₂O (3x10 mL). Οι οργανικές στιβάδες συλλέγονται, ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται υπό κενό. Το επιθυμητό προϊόν απομονώνεται με χρωματογραφία στήλης PE / EtOAc 5:5.

Άχρωμο λάδι, απόδοση 53%, R_f(8)= 0.24.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 2.38 – 2.26 (m, 0.20H, CH₂COOH), 1.67 - 1.51 (m, 2H, CH₂CD₂), 1.43 – 1.13 (m, 6H, CH₂), 0.88 (t, *J* = 6 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 181.0, 34.5 - 33.1 (m, CD₂), 31.7, 29.0, 24.8, 22.7, 14.3.

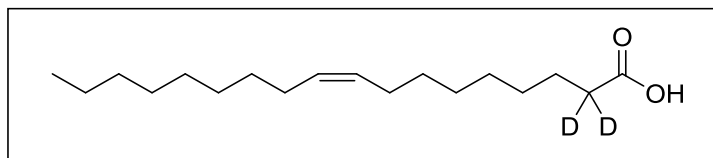
Ποσοστό δευτερίωσης βάσει ¹H NMR : 90%

Γενική πορεία για τη σύνθεση δευτεριωμένων 2,2-*d*₂ οξέων

Σε διάλυμα δευτεριωμένης αλδεΰδης (1.00 mmol) σε ακετόνη (10 mL) προστίθεται στάγδην το αντιδραστήριο Jones 2M (3.00 mmol, 1.5 mL) στους 0 °C και το μείγμα της αντίδρασης αφήνεται υπό ανάδευση για 1 ώρα. Έπειτα, η αντίδραση διακόπτεται με προσθήκη κορεσμένου υδατικού διαλύματος NaHSO₃ (10 mL) και εκχυλίζεται με Et₂O (3x10 mL). Οι οργανικές στιβάδες

συλλέγονται, ξηραίνονται με Na_2SO_4 , συμπυκνώνονται υπό κενό και το προϊόν καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης PE/EtOAc.

2,2- d_2 Ελαϊκό οξύ (50)⁵



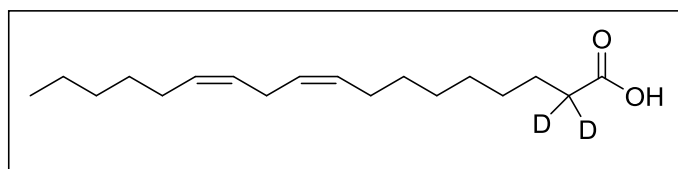
Άχρωμο λάδι, απόδοση 79%, $R_f(7) = 0.32$, σύστημα έκλουσης: PE/EtOAc 8:2.

$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 5.34 – 5.19 (m, 2H, CH=CH), 2.39 - 2.28 (m, 0.20 H, CH_2CHO), 2.01 – 1.87 (m, 4H, CH_2CH), 1.69 - 1.52 (m, 2H, CH_2) 1.45 - 1.19 (m, 20H, CH_2), 0.88 (t, $J = 6\text{Hz}$, 3H, CH_3).

$^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ 181.0, 130.3, 130.0, 34.5 – 33.0 (m, CD_2), 32.7, 32.2, 30.1, 30.0, 29.8, 29.7, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 27.5, 24.8, 23.0, 14.4.

Ποσοστό δευτερίωσης βάσει $^1\text{H NMR}$: 90%

2,2- d_2 Λινελαϊκό οξύ (55)

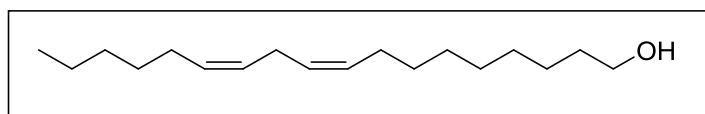


Άχρωμο λάδι, απόδοση 73%, $R_f(7) = 0.37$, σύστημα έκλουσης: PE/EtOAc 7:3.

$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 5.58 – 4.98 (m, 4H, CH=CH), 2.83 – 2.68 (m, 2H, $=\text{CHCH}_2\text{CH}$), 2.39 - 2.24 (m, 0.27H, CH_2COOH), 2.15 – 1.85 (m, 4H, CH_2), 1.70 – 1.51 (m, 2H, CH_2), 1.46 – 1.01 (m, 14H, CH_2), 0.89 (t, $J = 6\text{Hz}$, 3H, CH_3).

$^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ 180.5, 130.2, 130.0, 128.0, 127.9, 34.2 - 33.1 (m, CD_2), 31.5, 29.6, 29.3, 29.1, 29.1, 29.0, 27.2, 27.2, 25.6, 24.6, 24.5, 22.6, 14.0.

Λινελάυλο αλκόολη (52)⁶



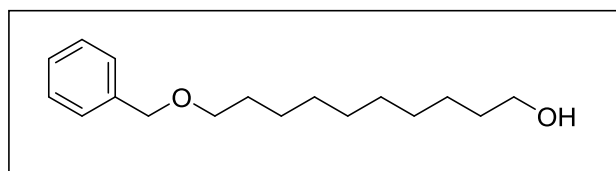
Σε σφαιρική φιάλη που έχει ξηρανθεί με φλόγα, απαερωθεί και είναι υπό ατμόσφαιρα αργού, προστίθεται λινελαϊκό οξύ (3.6 mmol, 1.0 g) σε άνυδρο THF (15 mL) και LiAlH₄ 1M (4.70 mmol, 4.7 mL) στάγδην στους 0 °C. Το μείγμα της αντίδρασης αφήνεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 1 ώρα. Στην συνέχεια προστίθεται HCl 1N (10 mL) και το μείγμα εκχυλίζεται διαδοχικά με EtOAc (20 mL), κορεσμένο διάλυμα NaHCO₃ (10 mL) και H₂O (5 mL). Οι οργανικές στιβάδες συλλέγονται, ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται υπό κενό.

Υποκίτρινο λάδι, απόδοση 98%, R_f(8)= 0.29.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 5.45 – 5.23 (m, 4H, CH=CH), 3.60 (t, *J* = 6 Hz, 2H, CH₂OH), 2.86 – 2.54 (m, 2H, CH₂CH), 2.20 - 1.73(m, 6 H, CH₂), 1.61 – 1.40 (m, 2H, CH₂), 1.42 – 1.09 (m, 15H, CH₂, OH), 0.87 (t, *J* = 6 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 130.4, 130.3, 128.2, 128.1, 63.2, 33.0, 31.8, 29.9, 29.8, 29.7, 29.6, 29.5, 29.4, 27.4, 26.0, 25.9, 22.8, 14.3.

10-(Βενζυλοξυ)δεκαν-1-όλη (57)⁷



Σε σφαιρική φιάλη που έχει ξηρανθεί με φλόγα, απαερωθεί και είναι υπό ατμόσφαιρα αργού προστίθεται NaH 60% (1.30 mmol, 345 mg) σε άνυδρο DMF (1 mL) και απαερώνεται εκ νέου η φιάλη. Στη συνέχεια προστίθεται η 1,10-δεκανοδιόλη (1.00 mmol, 174 mg) σε άνυδρο DMF (1 mL) και το μείγμα αφήνεται υπό ανάδευση για 40 λεπτά στους 0 °C. Τέλος, προστίθεται

βενζυλοβρωμίδιο (1.10 mmol, 0.1 mL) και το μείγμα της αντίδρασης αφήνεται υπό ανάδευση για 16 ώρες. Έπειτα, προστίθεται στάγδην NH_4Cl (5 mL) στους 0°C και το μείγμα εκχυλίζεται με EtOAc (3x10 mL). Οι οργανικές στιβάδες συλλέγονται, ξηραίνονται με Na_2SO_4 και συμπυκνώνονται υπό κενό σε υψηλή θερμοκρασία. Το επιθυμητό προϊόν παραλαμβάνεται με χρωματογραφία στήλης με PE/EtOAc 8:2.

Άχρωμο λάδι, απόδοση 51%, $R_f(7) = 0.39$, σύστημα έκλουσης PE/EtOAc 8:2.

$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 7.43 – 7.18 (m, 5H, arom), 4.50 (s, 2H, CH_2Ar), 3.59 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H, OCH_2), 3.46 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H, OCH_2), 2.01 (s, 1H, OH), 1.69 – 1.43 (m, 4H, CH_2), 1.42 – 1.19 (m, 12H, CH_2).

$^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) 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.

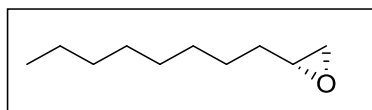
Γενική πορεία για τη σύνθεση ρακεμικών εποξειδίων

Σε διάλυμα της αλδεΐδης (1.00 mmol) σε CH_2Cl_2 (5 mL), προστίθεται L-προλίνη (0,10 mmol, 115 mg) και N-χλωροσουκινιμίδιο (1.30 mmol, 174 mg) και το μείγμα της αντίδρασης αφήνεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 16 ώρες. Στην συνέχεια, αφού έχει σχηματιστεί η α-χλωροαλδεΐδη, προστίθεται EtOH (1 mL), NaBH_4 (3.20 mmol, 121 mg) στους 0°C και το μείγμα αφήνεται υπό ανάδευση για 15 λεπτά προς σχηματισμό της α-χλωροαλκοόλης. Ακολουθεί προσθήκη διαλύματος $\text{KOH/EtOH/H}_2\text{O}$ σε αναλογία 2.3 g / 2 mL / 6 mL αντίστοιχα, το μείγμα αφήνεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 1 ώρα και έπειτα εκχυλίζεται διαδοχικά με Et_2O (10 mL), NH_4Cl (10 mL) και κορεσμένο διάλυμα NaCl (10 mL). Οι οργανικές στιβάδες συλλέγονται, ξηραίνονται με Na_2SO_4 και συμπυκνώνονται υπό κενό. Το επιθυμητό προϊόν απομονώνεται με χρωματογραφία στήλης PE/ Et_2O .

Γενική πορεία για τη σύνθεση χειρόμορφων εποξειδίων

Σε σφαιρική φιάλη προστίθεται καταλύτης του MacMillan τρίτης γενιάς (100. mg) και χλωροκινόνη (1.92 mmol, 665 mg), διαλύονται σε λίγη ποσότητα THF (0.4 mL) το διάλυμα αφήνεται υπό ανάδευση για 10 λεπτά. Στη συνέχεια, προστίθεται αλδεΐδη (1.75 mmol) διαλυμένη σε THF (0.6 mL) και το μείγμα αφήνεται για ανάδευση 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Έπειτα από τον απαιτούμενο χρόνο (με χρήση GC-MS ελέγχεται εάν έχει ολοκληρωθεί η αντίδραση προς σχηματισμό της α-χλωροαλδεΐδης) ακολουθεί αναγωγή με προσθήκη EtOH (1 mL) και NaBH₄ (5.60 mmol, 212 mg) στους 0 °C για 15 λεπτά. Στο μείγμα της αντίδρασης προστίθεται διάλυμα KOH/EtOH/H₂O σε αναλογία 3.00 g / 2.3 mL / 4.7 mL αντίστοιχα και αφήνεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 30 λεπτά. Έπειτα, το μείγμα της αντίδρασης εκχυλίζεται με Et₂O (3x10 mL). Οι οργανικές στιβάδες συλλέγονται, ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται υπό κενό. Το επιθυμητό προϊόν απομονώνεται με χρωματογραφία στήλης PE/Et₂O.

(R)-2-Οκτυλοξιράνιο (25)



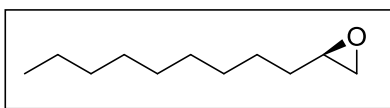
Άχρωμο λάδι, απόδοση 75%, R_f(2)= 0.37, σύστημα έκλουσης: PE/Et₂O 9:1.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 2.89 – 2.78 (m, 1H, -OCH), 2.71 – 2.65 (m, 1H, OCH), 2.42 – 2.37 (m, 1H, OCH), 1.53 – 1.13 (m, 14H, CH₂), 0.83 (t, J = 6.4 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 52.4, 47.1, 32.5, 31.9, 29.6, 29.5, 29.3, 26.0, 22.7, 14.1.

[α]_D²⁰ = + 8.00 (c = 1, CHCl₃), lit. [α]_D²⁰ = - 8.20 (c = 1.03, CHCl₃).⁸

(R)-2-Εννυλοξιράνιο (9)



Άχρωμο λάδι, απόδοση 76%, $R_f(2) = 0.42$, σύστημα έκλουσης: PE/Et₂O 9:1.

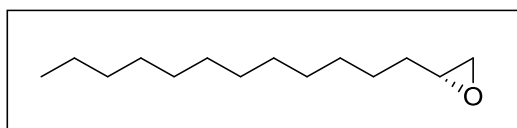
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 2.86 – 2.75 (m, 1H, OCH), 2.67 – 2.60 (m, 1H, OCH), 2.39 – 2.33 (m, 1H, OCH), 1.66 – 0.98 (m, 16H, CH₂), 0.81 (t, $J = 6.3$ Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 52.0, 46.7, 32.4, 31.7, 29.4, 29.4, 29.3, 29.2, 25.8, 22.5, 13.9.

$[\alpha]_D^{20} = -5.10$ (c = 1 CHCl₃), lit. $[\alpha]_D^{20} = +6.34$ (c = 1, CHCl₃).⁹

HRMS (ESI) m/z (%) 193.1559 [M+Na]⁺ (Exact Mass: 193.1563).

(R)-2-Δωδεκυλοξιράνιο (26)



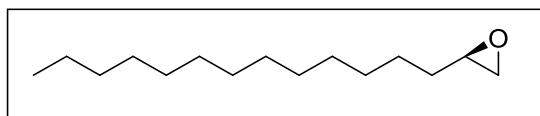
Άχρωμο λάδι, απόδοση 82%, $R_f(2) = 0.37$, σύστημα έκλουσης: PE/Et₂O 9:1.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 2.93 – 2.82 (m, 1H, OCH), 2.75 – 2.68 (m, 1H, OCH), 2.47 – 2.40 (m, 1H, OCH), 1.76 – 1.11 (m, 22H, CH₂), 0.86 (t, $J = 6$ Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 52.6, 47.3, 32.8, 32.2, 29.9, 29.8, 29.7, 29.6, 29.3, 26.2, 23.0, 22.9, 14.4.

$[\alpha]_D^{20} = +4.70$ (c = 1, CHCl₃), lit. $[\alpha]_D^{20} = +4.30$ (c = 1.42, CHCl₃).¹⁰

(R)-2-Δεκατρυλοξιράνιο (11)



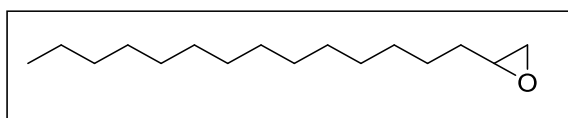
Άχρωμο λάδι, απόδοση 79%, $R_f(2) = 0.31$, σύστημα έκλουσης: PE/Et₂O 9:1.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 2.81 – 2.65 (m, 1H, OCH), 2.57 – 2.51 (m, 1H, OCH), 2.34 – 2.22 (m, 1H, OCH), 1.50 – 0.93 (m, 24H, CH₂), 0.76 (t, *J* = 5 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 51.9, 46.6, 32.4, 31.9, 29.9, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 26.0, 25.9, 22.6, 22.4, 14.1, 13.9.

$[\alpha]_D^{20} = + 5.00$ (c = 0.5, CHCl₃), lit. $[\alpha]_D^{20} = + 6.50$ (c = 1, CHCl₃).¹¹

2-Δεκατετρυλοξιράνιο (37)



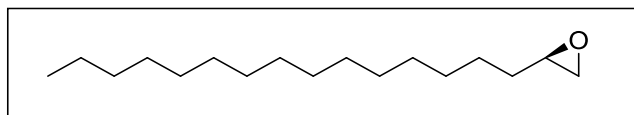
Λευκό στερεό, σ.τ.: 28-30 °C, lit. σ.τ.: 21-22 °C.¹²

Απόδοση 81%, *R_f*(2) = 0.42, σύστημα έκλουσης: PE/Et₂O 9:1.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 2.89 – 2.77 (m, 1H, OCH), 2.69 – 2.61 (m, 1H, OCH), 2.39 – 2.27 (m, 1H, OCH), 1.57 – 1.01 (m, 26H, CH₂), 0.83 (t, *J* = 6.4 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 52.1, 46.8, 32.4, 31.8, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 25.9, 22.6, 14.0.

(*R*)-2-Δεκαπεντυλοξιράνιο (12)



Λευκό στερεό, σ.τ.: 29-30 °C, lit. σ.τ.: 21.5-23.5 °C.¹³

Απόδοση 83%, *R_f*(1) = 0.37, σύστημα έκλουσης: PE/Et₂O 9:1.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 2.89 – 2.76 (m, 1H, OCH), 2.69 – 2.60 (m, 1H, OCH), 2.41 – 2.34 (m, 1H, OCH), 1.61 – 1.03 (m, 28H, CH₂), 0.82 (t, *J* = 5.9 Hz, 3H, CH₃).

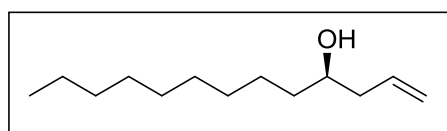
¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 52.1, 46.8, 32.4, 31.9, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 25.9, 22.6, 14.0.

[α]_D²⁰ = -4.00 (c = 1, CHCl₃), lit. [α]_D²⁰ = - 5.43 (c = 1.4, CHCl₃)¹⁴.

Γενική πορεία για την διάνοιξη εποξειδίων προς σχηματισμό 4-υδροξύ τελικών αλκενίων.

Σε σφαιρική φιάλη που έχει ξηρανθεί με φλόγα, απαερωθεί και βρίσκεται υπό ατμόσφαιρα αργού προστίθεται CuI (0.20 mmol, 38 mg), βινυλομαγνήσιο βρωμίδιο 1M (2.00 mmol, 2.0 mL) και ψύχεται στους -78 °C σε cryocooler για λίγα λεπτά. Έπειτα, προστίθεται στάγδην το εποξείδιο (1.00 mmol) σε άνυδρο THF (5 mL), το μείγμα της αντίδρασης αφήνεται υπό ανάδευση στους -78 °C για περίπου 2 ώρες και στη συνέχεια για 16 ώρες, ώστε να έρθει σταδιακά σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια προστίθεται NH₄Cl (5 mL) και το μείγμα της αντίδρασης εκχυλίζεται με Et₂O (3x10 mL). Οι οργανικές στιβάδες συλλέγονται, ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται υπό κενό. Το επιθυμητό προϊόν απομονώνεται με χρωματογραφία στήλης PE/Et₂O.

(R)-Δεκατρι-1-εν-4-όλη (13)



Άχρωμο λάδι, απόδοση 85%, R_f (3) = 0.48, σύστημα έκλουσης: PE/Et₂O 8:2.

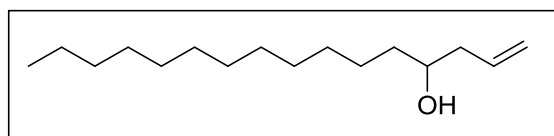
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 5.93 – 5.65 (m, 1H, CH=CH₂), 5.17 – 4.98 (m, 2H, CH=CH₂), 3.68 – 3.44 (m, 1H, CHOH), 2.32 – 2.02 (m, 2H, CH₂CH), 1.61 – 0.93 (m, 16H, CH₂), 0.84 (t, J = 6.3 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 134.9, 117.8, 70.6, 41.9, 36.8, 31.9, 29.7, 29.6, 29.6, 29.3, 25.7, 22.7, 14.1.

[α]_D²⁰ = -6.7 (c=1 CHCl₃), lit. [α]_D²⁰ = -7.5 (c=1 CHCl₃)¹⁵

HRMS (ESI) m/z (%) 221.1875 [M+Na]⁺ (Exact Mass: 221.1876).

Δεκαεξ-1-εν-4-όλη (14)¹⁶

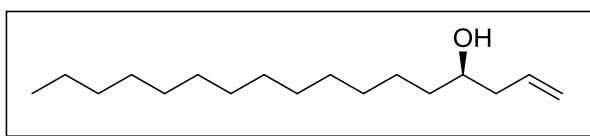


Άχρωμο λάδι, απόδοση 81%, $R_f(2) = 0.52$, σύστημα έκλουσης: PE/Et₂O 9:1.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 5.93 – 5.67 (m, 1H, CH=CH₂), 5.19 – 5.01 (m, 2H, CH=CH₂), 3.69 – 3.52 (m, 2H, CHOH), 2.39 – 1.95 (m, 2H, CH₂CH=), 1.83 (s, 1H, OH), 1.53 – 0.96 (m, 22H, CH₂), 0.86 (t, $J = 6$ Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 135.2, 118.1, 70.9, 42.2, 37.1, 32.2, 30.2, 29.9, 29.9, 29.6, 29.5, 29.1, 25.9, 22.9, 14.4.

(R)-Δεκαεπτ-1-εν-4-όλη (15)



Άχρωμο λάδι, απόδοση 83%, $R_f(2) = 0.46$, σύστημα έκλουσης: PE/Et₂O 9:1.

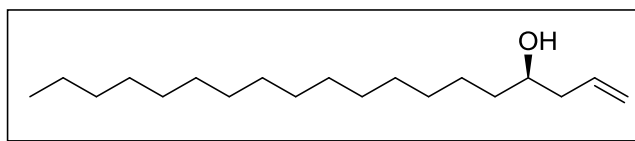
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 6.07 – 5.61 (m, 1H, CH=CH₂), 5.19 – 4.97 (m, 2H, CH=CH₂), 3.68 – 3.52 (m, 1H, CHOH), 2.34 – 2.00 (m, 3H, CH₂), 1.53 – 1.00 (m, 23H, CH₂), 0.85 (t, $J = 6$ Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 135.2, 118.0, 70.9, 42.2, 37.0, 32.2, 30.3, 29.9, 29.9, 29.6, 29.5, 29.4, 25.9, 25.5, 22.9, 22.4, 14.3.

$[\alpha]_D^{20} = + 1.00$ ($c = 1$, CHCl₃), lit. $[\alpha]_D^{20} = + 4.92$ ($c = 1.2$, CHCl₃)¹⁷.

HRMS (ESI) m/z (%) 277.2503 [M+Na]⁺ (Exact Mass: 277.2502).

(R)-Δεκαενν-1-εν-4-όλη (16)



Λευκό στερεό, σ.τ.: 50-52 °C, lit. σ.τ.: 44-45 °C.¹⁸

Απόδοση 79%, $R_f(3) = 0.57$, σύστημα έκλουσης: PE/Et₂O 8:2.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 5.93 – 5.62 (m, 1H, CH=CH₂), 5.15 – 5.00 (m, 2H, CH=CH₂), 3.65 – 3.49 (m, 1H, CHOH), 2.33 – 1.98 (m, 4H, CH₂), 1.50 – 1.03 (m, 26H, CH₂), 0.84 (t, $J = 5.8$ Hz, 3H, CH₃).

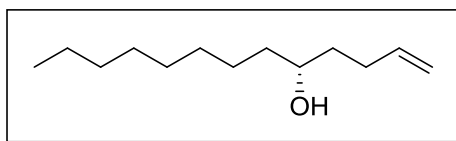
¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 134.9, 117.7, 70.6, 41.9, 36.7, 31.9, 29.6, 29.6, 29.3, 25.6, 22.6, 14.0.

$[\alpha]_D^{20} = -17.0$ (c = 3.6, CHCl₃), lit. $[\alpha]_D^{20} = -18.33$ (c = 3.6, CHCl₃)¹⁹.

Γενική πορεία για τη διάνοιξη εποξειδίων προς σχηματισμό 5-υδρόξυ τελικών αλκενίων.

Σε σφαιρική φιάλη που έχει ξηρανθεί με φλόγα, απαερωθεί και βρίσκεται υπό ατμόσφαιρα αργού προστίθεται CuI (0.20 mmol, 38 mg) και αλλυλομαγνήσιο βρωμίδιο 1M (2.00 mmol, 2 mL). Η φιάλη τοποθετείται στους -40 °C σε cryocooler για λίγα λεπτά, προστίθεται στάγδην το διάλυμα εποξειδίου (1.00 mmol) σε άνυδρο THF (5 mL) και το μείγμα αφήνεται υπό ανάδευση στους -40 °C για περίπου 2 ώρες. Στη συνέχεια, γίνεται προσθήκη NH₄Cl (10 mL) και το μείγμα της αντίδρασης εκχυλίζεται με Et₂O (3x15 mL). Οι οργανικές στιβάδες συλλέγονται, ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται υπό κενό. Το επιθυμητό προϊόν απομονώνεται με χρωματογραφία στήλης PE/Et₂O.

(R)-Δεκατρι-1-εν-5-όλη (27)



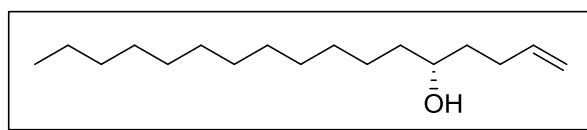
Άχρωμο λάδι, απόδοση 76%, $R_f(2) = 0.59$, σύστημα έκλουσης: PE/Et₂O 9:1.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 5.94 – 5.71 (m, 1H, CH=CH₂), 5.16 – 4.89 (m, 2H, CH=CH₂), 3.67 – 3.49 (m, 1H, CHOH), 2.29 – 2.03 (m, 2H, CH₂CH=), 1.76 – 1.07 (m, 16H, CH₂), 0.86 (t, $J = 6.4$ Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 138.6, 114.6, 71.4, 37.4, 36.4, 31.8, 30.0, 29.7, 29.6, 29.3, 25.6, 22.6, 14.1.

$[\alpha]_D^{20} = + 2.3$ (c = 0.9, MeOH), lit. $[\alpha]_D^{20} = + 2.4$ (c = 0.86, MeOH).²⁰

(R)-Δεκαεπτ-1-εν-5-όλη (28)²¹



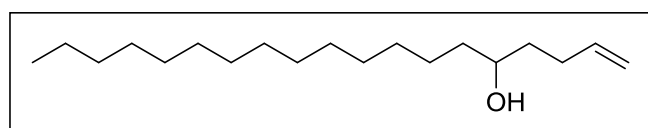
Άχρωμο λάδι, απόδοση 76%, $R_f(2) = 0.61$, σύστημα έκλουσης: PE/Et₂O 8:2.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 5.87 – 5.69 (m, 1H, CH=CH₂), 5.13 – 4.86 (m, 2H, CH=CH₂), 3.65 – 3.49 (m, 1H, CHOH), 2.39 – 1.91 (m, 2H, CH₂CH=), 1.78 – 1.03 (m, 24H, CH₂), 0.87 (t, $J = 6$ Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 138.9, 114.9, 71.7, 37.8, 36.7, 32.2, 30.4, 29.9, 29.6, 29.5, 29.1, 28.9, 26.2, 25.9, 23.0, 22.9, 14.4.

$[\alpha]_D^{20} = + 0.8$ (c = 0.5, CHCl₃).

Δεκαενν-1-εν-5-όλη (38)²²



Άχρωμο λάδι, απόδοση 79%, $R_f(3) = 0.53$, σύστημα έκλουσης: PE/Et₂O 9:1.

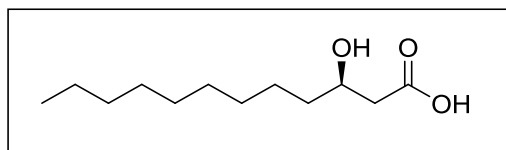
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 5.97 – 5.63 (m, 1H, CH=CH₂), 5.13 – 4.86 (m, 2H, CH=CH₂), 3.70 – 3.43 (m, 1H, CHOH), 2.32 – 1.96 (m, 2H, CH₂CH=), 1.65 – 1.05 (m, 28H, CH₂), 0.86 (t, *J* = 6.3 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 138.6, 114.6, 71.3, 37.5, 36.4, 33.2, 33.1, 31.9, 30.0, 29.7, 29.5, 29.3, 25.6, 22.6, 14.1.

Γενική πορεία για τη σύνθεση 3-υδρόξυ οξέων μέσω οζονόλυσης

Σε διάλυμα του 4-υδρόξυ ακραίου αλκενίου (1.00 mmol) σε CH₂Cl₂/Pyridine 9:1, διαβιβάζεται όζον στους -78 °C. Μόλις το διάλυμα της αντίδρασης αποκτήσει ένα μπλε χρώμα, ελέγχεται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας και αφού διαπιστωθεί ότι έχει ολοκληρωθεί ο σχηματισμός του οζονιδίου, διαβιβάζεται Ar μέχρι να αποχρωματιστεί το διάλυμα. Στη συνέχεια, προστίθεται διμεθυλοσουλφίδιο (14.0 mmol, 0.4 mL) στους 0 °C και το μείγμα της αντίδρασης αφήνεται υπό ανάδευση για 1–2 ώρες. Ακολουθεί συμπύκνωση υπό κενό για την απομάκρυνση του διμεθυλοσουλφιδίου και οξειδωση Pinnick για 2 ώρες. Σε σφαιρική φιάλη που περιέχει την αλδεΐδη (1.00 mmol) προστίθενται τα ακόλουθα αντιδραστήρια στους 0 °C, MeCN (10 mL), *t*-BuOH (2 mL), H₂O απεσταγμένο (0.5 mL), 2-μεθυλο-2-βουτένιο (0.5 mL), NaH₂PO₄ (0.40 mmol, 48 mg) και NaClO₂ (1.70 mmol, 154 mg) και εκ νέου H₂O απεσταγμένο (1 mL) και το μείγμα της αντίδρασης αφήνεται υπό ανάδευση για 2 ώρες. Αφού ολοκληρωθεί η αντίδραση, διακόπτεται με προσθήκη Na₂SO₃ (0.80 mmol, 101 mg) και αφήνεται υπό ανάδευση για λίγα λεπτά. Το μείγμα της αντίδρασης οξινίζεται με προσθήκη HCl 1N (pH ~ 1) και εκχυλίζεται με Et₂O (3x10 mL). Οι οργανικές στοιβάδες συλλέγονται, ξηραίνονται με Na₂SO₄, συμπυκνώνονται υπό κενό. Το προϊόν παραλαμβάνεται με χρωματογραφία στήλης CH₂Cl₂/MeOH και 10% CH₃COOH και ανακρυσταλλώνεται με εξάνιο.

(R)-3-Υδροξύ δωδεκανοϊκό οξύ (17)



Λευκό στερεό, σ.τ.: 60-62 °C, lit. σ.τ.: 67-68 °C.²³

Απόδοση 35%, $R_f(9) = 0.37$

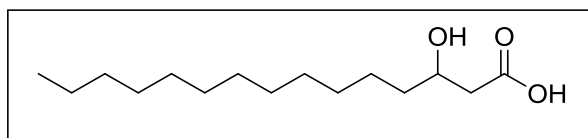
$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 4.02 (s, 1H, CHOH), 2.70 – 2.26 (m, 2H, CH_2COOH), 1.75 – 1.03 (m, 16H, CH_2), 0.87 (t, $J = 5.8$ Hz, 3H, CH_3).

$^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ 177.3, 68.2, 41.5, 41.2, 36.4, 31.8, 29.5, 29.5, 29.3, 25.4, 22.6, 14.0.

$[\alpha]_D^{20} = -15.0$ ($c = 1$, CHCl_3), lit. $[\alpha]_D^{20} = -16$ ($c = 1$, CHCl_3).²⁴

HRMS (ESI) m/z (%) 215.1634 $[\text{M-H}]^-$ (Exact Mass: 215.1653).

3-Υδροξύ δεκαπεντανοϊκό οξύ (18)



Λευκό στερεό, σ.τ.: 70-72 °C, lit. σ.τ.: 76-77°C.²⁵

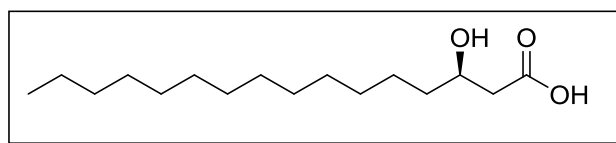
Απόδοση 46%, $R_f(9) = 0.29$

$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 4.00 (s, 1H, CHOH), 2.76 – 2.19 (m, 3H, CH_2), 1.79 – 0.97 (m, 21H, CH_2), 0.84 (t, $J = 6$ Hz, 3H, CH_3).

$^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ 177.8, 68.3, 41.5, 41.3, 39.3, 36.8, 33.5, 32.2, 31.7, 30.3, 29.9, 29.7, 25.7, 23.0, 14.4.

HRMS (ESI) m/z (%) 257.2110 $[\text{M-H}]^-$ (Exact Mass: 257.2122).

(R)-3-Υδροξύ δεκαεξανοϊκό οξύ (19)



Λευκό στερεό, σ.τ.: 77-79 °C, lit. σ.τ.: 83-84 °C.²⁶

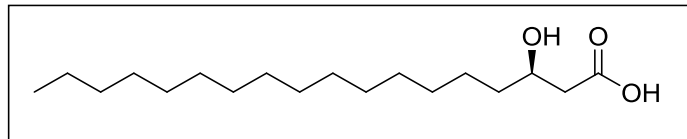
Απόδοση 39%, $R_f(9) = 0.32$

$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 4.03 (s, 1H, CHOH), 2.97 – 2.13 (m, 3H, CH_2), 1.63 – 1.00 (m, 23H, CH_2), 0.87 (t, $J = 6$ Hz, 3H, CH_3).

$^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ 178.2, 68.3, 41.4, 36.7, 34.3, 32.2, 30.0, 30.0, 29.9, 29.8, 29.7, 25.7, 25.0, 23.0, 14.4.

$[\alpha]_D^{20} = -13.0$ ($c = 2$, CHCl_3), lit. $[\alpha]_D^{20} = -12.6$ ($c = 2.08$, CHCl_3).²⁷

(R)-3-Υδροξύ δεκαοκτανοϊκό οξύ (20)



Λευκό στερεό, σ.τ.: 82-84 °C, lit. σ.τ.: 88-90 °C.²⁸

Απόδοση 43%, $R_f(9) = 0.27$

$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 4.12 – 3.88 (m, 1H, OH), 2.68 – 2.35 (m, 2H, CH_2COOH), 1.72 – 1.02 (m, 28H, CH_2), 0.87 (t, $J = 6.4$ Hz, 3H, CH_3).

$^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ 177.3, 68.0, 41.0, 36.5, 31.9, 29.7, 29.6, 29.5, 29.4, 25.4, 22.7, 14.1.

$[\alpha]_D^{20} = -16.0$ ($c = 1$, CHCl_3), lit. $[\alpha]_D^{20} = -15.8$ ($c = 1$, CHCl_3).²⁹

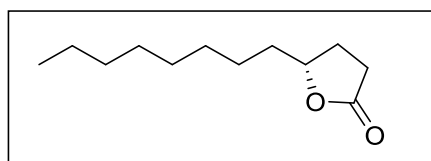
HRMS (ESI) m/z (%) 299.2572 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (Exact Mass: 299.2592).

Γενική πορεία για τη σύνθεση λακτονών μέσω οζονόλυσης

Σε διάλυμα του 4-υδρόξυ ακραίου αλκένιου (1.00 mmol) σε CH_2Cl_2 (10 mL), διαβιβάζεται όζον στους $-78\text{ }^\circ\text{C}$. Μόλις το διάλυμα της αντίδρασης αποκτήσει ένα μπλε χρώμα, ελέγχεται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας και αφού διαπιστωθεί ότι έχει σχηματιστεί πλήρως το επιθυμητό οζονίδιο, διαβιβάζεται O_2 για 5 λεπτά και έπειτα Ar μέχρι να αποχρωματιστεί το διάλυμα. Μόλις το μείγμα της αντίδρασης έρθει σε θερμοκρασία δωματίου προστίθεται PPh_3 (1.00 mmol, 262 mg) και αφήνεται υπό ανάδευση για 16 ώρες. Το διάλυμα συμπυκνώνεται υπό κενό και ακολουθεί χρωματογραφία στήλης $\text{PE}/\text{Et}_2\text{O}$. Έτσι, παραλαμβάνεται μείγμα λακτόλης/λακτόνης, το οποίο μέσω αντίδρασης Jones οξειδώνεται προς την επιθυμητή λακτόνη.

Σε διάλυμα λακτόλης/λακτόνης (1.00 mmol) σε ακετόνη (10 mL) προστίθεται στάγδην το αντιδραστήριο Jones 2M (3.00 mmol, 1.5 mL) στους $0\text{ }^\circ\text{C}$ και το μείγμα της αντίδρασης αφήνεται υπό ανάδευση για 1 ώρα. Έπειτα, η αντίδραση διακόπτεται με προσθήκη κορεσμένου υδατικού διαλύματος NaHSO_3 (10 mL) και εκχυλίζεται με Et_2O ($3 \times 10\text{ mL}$). Οι οργανικές στιβάδες συλλέγονται, ξηραίνονται με Na_2SO_4 , συμπυκνώνονται υπό κενό και το προϊόν καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης $\text{PE}/\text{Et}_2\text{O}$.

(R)-5-Οκτυλοδιυδροφουραν-2(3H)-όνη (31)



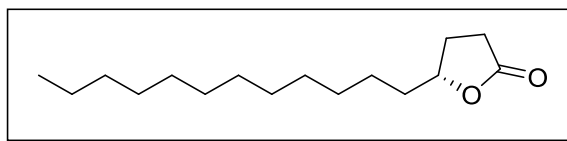
Άχρωμο λάδι, απόδοση 92%, $R_f(2) = 0.62$, σύστημα έκλουσης: $\text{PE}/\text{Et}_2\text{O}$ 7:3.

$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 4.53 – 4.38 (m, 1H, CH), 2.59 – 2.41 (m, 2H, CH_2CO), 2.36 - 2.19 (m, 1H, CHHCH), 1.95 – 1.10 (m, 15H, CHHCH , CH_2), 0.84 (t, $J = 6.3\text{ Hz}$, 3H, CH_3).

$^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ 177.4, 81.0, 35.5, 31.7, 29.3, 29.2, 29.1, 28.8, 27.9, 25.1, 22.6, 14.0.

$[\alpha]_D^{20} = +42.8$ ($c = 1$, MeOH), lit. $[\alpha]_D^{20} = -43.1$ ($c = 1.01$, MeOH).³⁰

(R)-5-Δωδεκυλοδιυδροφουραν-2(3H)-όνη (32)



Λευκό στερεό, σ.τ.: 30-32 °C, lit. σ.τ.: 38-39 °C.³¹

Απόδοση 89%, $R_f(2) = 0.56$, σύστημα έκλουσης: PE/Et₂O 7:3.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 4.58 – 4.39 (m, 1H, CH), 2.60 – 2.41 (m, 2H, CH₂CO), 2.39 – 2.18 (m, 1H, CHHCH), 1.92 – 1.49 (m, 3H, CHHCH, CH₂), 1.44 – 1.08 (m, 20H, CH₂), 0.86 (t, J = 6 Hz, 3H, CH₃).

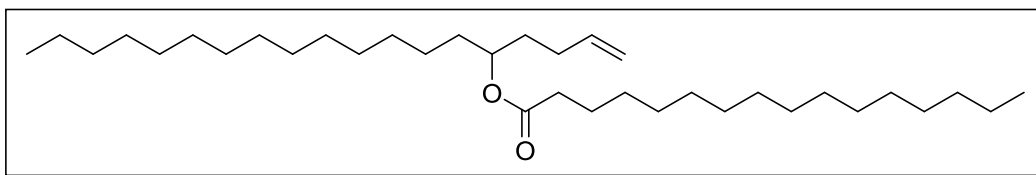
¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 177.6, 81.4, 35.8, 32.2, 29.9, 29.9, 29.8, 29.7, 29.6, 29.1, 28.9, 28.3, 25.5, 25.2, 23.0, 14.4.

$[\alpha]_D^{20} = +7.6$ (c = 1, CHCl₃)

Μέθοδος για την διάνοιξη λακτόνης

Σε διάλυμα λακτόνης (1.00 mmol, 254 mg) με H₂O (15 mL) προστίθεται NaOH (10.0 mmol, 40 mg) και το μείγμα αφήνεται υπό ανάδευση και αναρροή στους 100 °C για 2 ώρες. Μόλις η θερμοκρασία πέσει περίπου στους 40 °C, προστίθεται διάλυμα HCl 1N (2.5 mL) για την καταβύθιση του επιθυμητού οξέος. Το μείγμα της αντίδρασης διηθείται σε κωνική φιάλη, εκπλένεται με παγωμένο H₂O (1x5 mL) και αφήνεται για ξήρανση υπό κενό.

Δεκαεξανοϊκός δεκαενν-1-εν-5υλεστέρας (39)



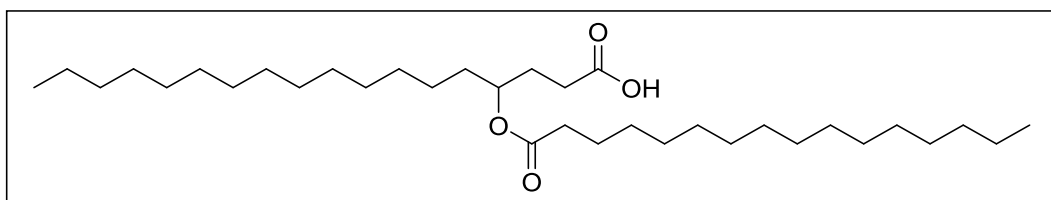
Σε διάλυμα παλμιτικού οξέος (4.00 mmol, 1 g) σε άνυδρο CH_2Cl_2 (15 mL) προστίθενται διαδοχικά EDC (4 mmol, 770 mg), Et_3N (4.00 mmol, 0.6 mL) και 4-DMAP (0.20 mmol, 24 mg) στους 0 °C και το μείγμα αφήνεται υπό ανάδευση για 10 λεπτά. Στη συνέχεια, προστίθεται διάλυμα αλκοόλης (1.00 mmol, 300 mg) σε άνυδρο CH_2Cl_2 (10 mL) και το μείγμα αφήνεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 16 ώρες. Έπειτα, το μείγμα της αντίδρασης εκχυλίζεται διαδοχικά με NH_4Cl (10 mL), NaHCO_3 (10 mL), κιτρικό οξύ (10 mL) και κορεσμένο διάλυμα NaCl (15 mL). Οι οργανικές στοιβάδες συλλέγονται, ξηραίνονται με Na_2SO_4 , συμπυκνώνονται υπό κενό και το προϊόν καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης PE/EtOAc.

Λευκό στερεό, απόδοση 88%, $R_f(5) = 0.44$, σύστημα έκλουσης: PE/EtOAc 95:5.

$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 5.78 – 5.59 (m, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.09 – 4.80 (m, 3H, $\text{CH}=\text{CH}_2$, CHCOO), 2.27 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H, CH_2COO), 2.05 – 1.86 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{}$), 1.77 – 1.06 (m, 54H, CH_2), 0.87 (t, $J = 6.4$ Hz, 3H, CH_3).

$^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ 173.5, 137.9, 73.4, 34.7, 34.1, 33.4, 32.0, 29.7, 29.7, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 25.3, 25.1, 22.7, 14.1.

4-(Δεκαεξανοξυ)δεκαοκτανοϊκό οξύ (40)



Σε διάλυμα του 4-υδροξυ ακραίου αλκενίου (1.00 mmol, 521 mg) σε $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Pyridine}$ 9:1, διαβιβάζεται όζον στους -78 °C. Μόλις το διάλυμα της

αντίδρασης αποκτήσει ένα μπλε χρώμα, ελέγχεται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας και αφού διαπιστωθεί ότι έχει ολοκληρωθεί ο σχηματισμός του οζονιδίου, διαβιβάζεται Ag μέχρι να αποχρωματιστεί το διάλυμα. Στη συνέχεια, προστίθεται διμεθυλοσουλφίδιο (14.0 mmol, 0.4 mL) στους 0 °C και το μείγμα της αντίδρασης αφήνεται υπό ανάδευση για 1–2 ώρες. Ακολουθεί συμπύκνωση υπό κενό για την απομάκρυνση του διμεθυλοσουλφιδίου και οξείδωση Pinnick για 2 ώρες.

Σε σφαιρική φιάλη που περιέχει την αλδεΐδη (1.00 mmol, 523 mg) προστίθενται τα ακόλουθα αντιδραστήρια στους 0 °C, MeCN (10 mL), t-BuOH (2 mL), H₂O απεσταγμένο (0.5 mL), 2-μεθυλο-2-βουτένιο (0.5 mL), NaH₂PO₄ (0.40 mmol, 48 mg) και NaClO₂ (1.70 mmol, 154 mg) και εκ νέου H₂O απεσταγμένο (1 mL) και το μείγμα της αντίδρασης αφήνεται υπό ανάδευση για 2 ώρες. Αφού ολοκληρωθεί η αντίδραση, διακόπτεται με προσθήκη Na₂SO₃ (0.80 mmol, 101 mg) και αφήνεται υπό ανάδευση για λίγα λεπτά. Το μείγμα της αντίδρασης οξινίζεται με προσθήκη HCl 1N (pH ~ 1) και εκχυλίζεται με Et₂O (3x10 mL). Οι οργανικές στοιβάδες συλλέγονται, ξηραίνονται με Na₂SO₄, συμπυκνώνονται υπό κενό. Το προϊόν παραλαμβάνεται με χρωματογραφία στήλης CH₂Cl₂/MeOH και 10% CH₃COOH και ανακρυσταλλώνεται με εξάνιο.

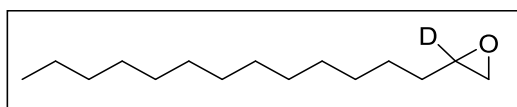
Λευκό στερεό, απόδοση 39%, R_f(9)= 0.34, σύστημα έκλουσης: DCM/MeOH 9:1, ανακρυστάλλωση με εξάνιο.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 4.91 (s, 1H, CH), 2.32 – 2.17 (m, 4H, CH₂COOH), 1.99 – 1.00 (m, 54H, CH₂), 0.87 (t, J = 6.2 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 178.5, 173.7, 72.9, 34.6, 34.1, 31.9, 30.0, 29.7, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 29.0, 25.2, 25.1, 22.7, 14.1.

HRMS (ESI) m/z (%) 537.4887 [M-H]⁻ (Exact Mass: 537.4888).

2-Δεκατρυλοξιράνιο-2-d (71)



Σε διάλυμα της 2,2-d₂ δεκαπεντανάλης (1.00 mmol, 228 mg) σε CH₂Cl₂ (10 mL) προστίθεται L-προλίνη (1.00 mmol, 115 mg), N-χλωροσουκινιμίδιο (1.30

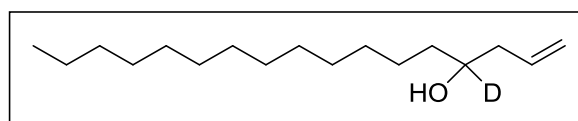
mmol, 174 mg) και 2 σταγόνες D₂O και το μείγμα της αντίδρασης αφήνεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 16 ώρες. Στη συνέχεια, αφού έχει σχηματιστεί η α-χλωροαλδεΐδη, προστίθεται EtOH (1 mL) και NaBH₄ (3.20 mmol, 125 mg) στους 0 °C και το μείγμα της αντίδρασης αφήνεται για 15 λεπτά προς τον σχηματισμό της α-χλωροαλκοόλης. Στη συνέχεια, προστίθεται διάλυμα KOH/EtOH/H₂O σε αναλογία 2.3 g/2 mL/6 mL αντίστοιχα, αφήνεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 1 ώρα και το μείγμα της αντίδρασης εκχυλίζεται με Et₂O (15 mL), κορεσμένο διάλυμα NH₄Cl (10 mL) και κορεσμένο διάλυμα NaCl (10 mL). Οι οργανικές στιβάδες συλλέγονται, ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται υπό κενό. Το επιθυμητό προϊόν απομονώνεται με χρωματογραφία στήλης PE/Et₂O 9:1.

Άχρωμο λάδι, απόδοση 35%, R_f(2)= 0.48.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 2.68 (d, *J* = 5 Hz, 1H, CHHCO), 2.40 (d, *J* = 5 Hz, 1H, CHHCO), 1.71 – 0.95 (m, 24H, CH₂), 0.83 (t, *J* = 6 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 52.1 (t, *J* = 26 Hz), 47.1, 34.5, 32.7, 32.6, 32.2, 30.4, 29.9, 29.8, 29.7, 29.6, 26.2, 22.9, 14.3.

Δεκαεπτ-1-εν-4-*d*-4-όλη (72)



Σε σφαιρική φιάλη που έχει ξηρανθεί με φλόγα, απαιρωθεί και βρίσκεται υπό ατμόσφαιρα αργού προστίθεται CuI (0.20 mmol, 38 mg), βινυλομαγνήσιο βρωμίδιο 1M (2.00 mmol, 2 mL) και ψύχεται στους -78 °C σε cryocooler για λίγα λεπτά. Έπειτα, προστίθεται στάγδην διάλυμα εποξειδίου (1.00 mmol, 227 mg) σε άνυδρο THF (5 mL) και το μείγμα αφήνεται υπό ανάδευση στους -78 °C για περίπου 2 ώρες και στη συνέχεια για 16 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολουθεί προσθήκη NH₄Cl (10 mL) και το μείγμα της αντίδρασης εκχυλίζεται με Et₂O (3x10 mL). Οι οργανικές στιβάδες συλλέγονται,

ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται υπό κενό. Το επιθυμητό προϊόν απομονώνεται με χρωματογραφία στήλης PE/Et₂O 8:2.

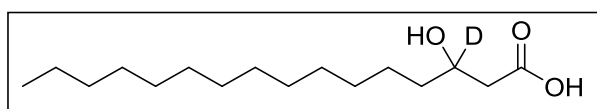
Άχρωμο λάδι, απόδοση 76%, R_f(3)= 0.52.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 5.95 – 5.52 (m, 1H, CH=CH₂), 5.22 – 4.87 (m, 2H, CH=CH₂), 2.37 – 1.75 (m, 4H, CH₂), 1.52 – 1.01 (m, 22H, CH₂), 0.85 (t, J = 6 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 135.2, 118.1, 70.4 (t, J = 22 Hz), 42.0, 36.9, 32.2, 30.2, 29.9, 29.6, 29.3, 25.9, 25.5, 22.9, 22.7, 22.5, 14.3.

HRMS (ESI) m/z (%) 278.2566 [M+Na]⁺ (Exact Mass: 278.2566).

3-Υδροξυδεκαεξανοϊκό-3-d οξύ (73)



Για την σύνθεση του συγκεκριμένου προϊόντος ακολουθήθηκε η ίδια πειραματική πορεία όπως περιγράφεται σε προηγούμενο κεφάλαιο. Ο καθαρισμός του υδροξυοξέος πραγματοποιήθηκε με χρωματογραφία στήλης PE/Et₂O σε αναλογία 2:8.

Λευκό στερεό, απόδοση : 39 %, R_f(3)= 0.27

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 2.58-2.30 (m, 3H, CH₂COOH, OH), 1.82 – 0.99 (m, 24H, CH₂), 0.88 (t, J = 6 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 177.3, 38.0, 36.4, 31.9, 31.2, 29.7, 29.6, 29.5, 29.4, 25.4, 22.7, 14.1, 1.01.

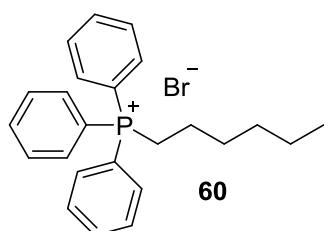
HRMS (ESI) m/z (%) 272.2331 [M-H]⁻ (Exact Mass: 272.2341).

Ποσοστό δευτερίωσης βάσει HRMS : 96%

Γενική πορεία για την παραλαβή των αλάτων που απαιτούνται για την αντίδραση Wittig

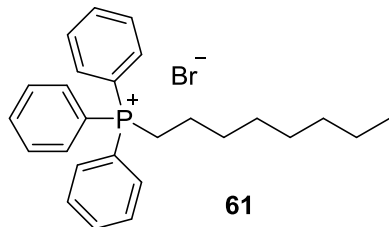
Μείγμα PPh_3 (1.00 mmol, 263 mg) και βρωμιδίου (1.00 mmol) αφέθηκε υπό ανάδευση σε ελαιόλουτρο στους $90\text{ }^\circ\text{C}$ για 24 ώρες. Το κολλώδες στερεό που σχηματίστηκε, διηθείται σε χωνί με πορώδες ηθμό, εκπλένεται με παγωμένο PE (1x5 mL) και αρκετές φορές με άνυδρο Et_2O (5 mL). Τα άλατα που συντέθηκαν είναι τα κάτωθι :

Εξυλοτριφαινυλοφωσφονιακό μετά βρωμίου άλας



Το άλας **60** έχει τη μορφή λευκού στερεού.

Οκτυλοτριφαινυλοφωσφονιακό μετά βρωμίου άλας

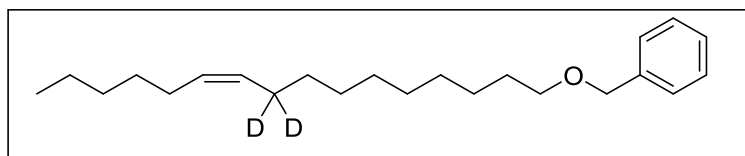


Το άλας **61** έχει τσιχλώδη υφή.

Γενική πορεία για την παραλαβή των αλκενίων μέσω αντίδρασης Wittig

Σε σφαιρική φιάλη που έχει ξηρανθεί με φλόγα, απαερωθεί και είναι υπό ατμόσφαιρα αργού προστίθεται το άλας (2.00 mmol) σε THF (3 mL), απαερώνεται εκ νέου η φιάλη και έπειτα προστίθεται στάγδην BuLi 1.6 M (2.00 mmol, 0.8 mL) στους $-15\text{ }^\circ\text{C}$ και το μείγμα της αντίδρασης αφήνεται υπό ανάδευση για μισή ώρα. Στη συνέχεια, προστίθεται η δευτεριωμένη αλδεΐδη σε THF (10 mL), το μείγμα αφήνεται υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για 16 ώρες. Ακολουθούν εκχυλίσσεις με H_2O (5 mL) και Et_2O (2x15 mL) και καθαρισμός με χρωματογραφία στήλης PE/EtOAc.

(Z)-(Δεκαεξ-10-εν-1-υλ-9,9-d₂)βενζυλαιθέρας (62)

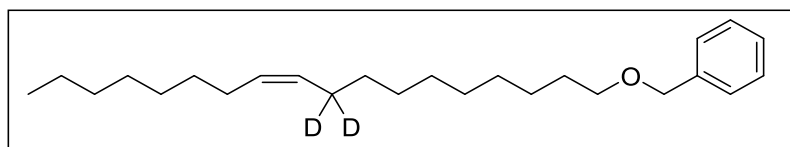


Άχρωμο λάδι, απόδοση 49%, $R_f(4) = 0,57$, σύστημα έκλουσης: PE/EtOAc 95:5.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.47 – 7.18 (m, 5H, arom), 5.50 – 5.27 (m, 2H, CH=CH), 4.54 (s, 2H, OCH₂), 3.50 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H, OCH₂), 2.15 – 1.86 (m, 2H, CH₂), 1.77 – 1.53 (m, 2H, CH₂), 1.48 – 1.12 (m, 18H, CH₂), 0.93 (t, $J = 6.6$ Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 138.8, 130.1, 129.9, 128.6, 128.5, 128.3, 127.7, 127.6, 73.0, 70.7, 32.8, 31.7, 31.6, 30.4, 29.7 – 29.3 (m, CD₂), 29.2, 27.3, 26.4, 22.8, 14.3.

(Z)-(Δεκαοκτ-10-εν-1-υλ-9,9-d₂)βενζυλαιθέρας (63)



Άχρωμο λάδι, απόδοση 43%, $R_f(6) = 0.63$, σύστημα έκλουσης: PE/EtOAc 9:1.

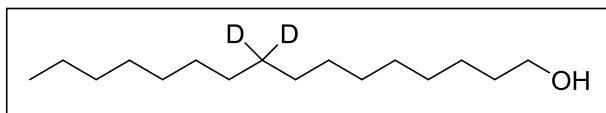
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.63 – 7.22 (m, 5H), 5.56 – 5.40 (m, 2H), 4.61 (s, 2H), 3.58 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H), 2.22 – 2.06 (m, 2H), 1.86 – 1.64 (m, 2H), 1.59 – 1.29 (m, 22H), 1.02 (t, $J = 6.3$ Hz, 3H).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 138.6, 129.8, 129.6, 128.5, 128.4, 128.3, 128.1, 72.7, 70.3, 32.6, 31.8, 29.7 – 29.3 (m, CD₂), 29.2, 29.1, 27.1, 26.1, 22.6, 14.0.

Γενική πορεία για τη σύνθεση 9,9- d_2 κορεσμένων αλιφατικών αλκοολών

Σε διάλυμα δευτεριωμένου αλκενίου (1.00 mmol) σε MeOH (10 mL) προστίθεται καταλυτική ποσότητα παλλαδίου σε άνθρακα (10% Pd/C) και αφού απαερωθεί καλά η φιάλη και έχει κορεστεί σε ατμόσφαιρα υδρογόνου, το μείγμα αφήνεται υπό ανάδευση για 16 ώρες και καθ' όλη την διάρκεια των ωρών αυτών διαβιβάζεται συνεχώς αέριο H_2 μέσω συνδέσμου που έχει εφαρμοστεί στην φιάλη. Έπειτα, διηθείται από celite, εκπλένεται με MeOH (3x15 mL) και παραλαμβάνεται καθαρό το επιθυμητό προϊόν.

Δεκαεξαν-9,9- d_2 -1-όλη (64)

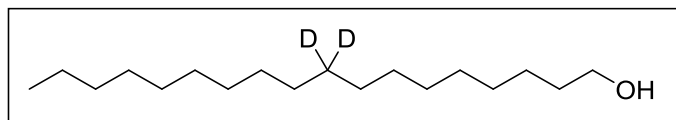


Λευκό στερεό, σ.τ.: 42-44 °C, απόδοση 97%, $R_f(2) = 0.34$.

1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$) δ 3.61 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H, CH_2OH), 1.86 – 0.81 (m, 26H, CH_2), 0.86 (t, $J = 6.0$ Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$) δ 63.0, 32.8, 32.0, 29.7, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 25.8, 22.7, 14.2.

Δεκαοκταν-9,9- d_2 -1-όλη (65)



Λευκό στερεό, σ.τ.: 57-59 °C, απόδοση 94%, $R_f(3) = 0.42$.

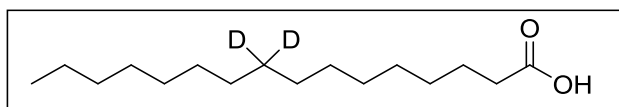
1H NMR (200 MHz,) δ 3.61 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H, CH_2OH), 1.92 (s, 1H, OH), 1.62 – 1.42 (m, 2H, CH_2), 1.40 – 1.09 (m, 22H, CH_2), 0.86 (t, $J = 6.5$ Hz, CH_3).

^{13}C NMR (50 MHz, $CDCl_3$) δ 63.0, 32.7, 31.9, 29.5 (m, CD_2), 29.4, 29.4, 25.7, 22.7, 14.1.

Γενική πορεία για την παραλαβή 9,9- d_2 κορεσμένων αλειφατικών οξέων

Τα επιθυμητά κορεσμένο οξέα παραλαμβάνονται έπειτα από την οξειδωση των παραπάνω αλκοολών μέσω της αντίδρασης Jones, όπως περιγράφεται σε προηγούμενη πειραματική πορεία.

Δεκαεξανοϊκό-9,9- d_2 οξύ (66)³²

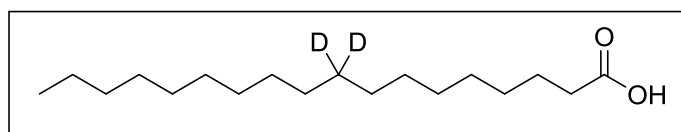


Λευκό στερεό, απόδοση 69%, $R_f(6) = 0.63$, σύστημα έκλουσης: PE/EtOAc 75:15.

$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 2.34 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H, CH_2COOH), 1.72 – 1.51 (m, 2H, CH_2), 1.47 – 0.99 (m, 22H, - CH_2), 0.86 (t, $J = 5.2$ Hz, 3H, - CH_3).

$^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ 180.5, 34.1, 31.9, 29.4, 29.0, 24.6, 22.7, 14.1.

Δεκαοκτανοϊκό-9,9- d_2 οξύ (67)



Λευκό στερεό, απόδοση 71%, $R_f(6) = 0.57$, σύστημα έκλουσης: PE/EtOAc 7:3.

$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 2.34 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H, CH_2COOH), 1.73 – 1.52 (m, 2H, CH_2), 1.43 – 1.07 (m, 26H, CH_2), 0.88 (t, $J = 6.4$ Hz, 3H, CH_3).

$^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ 180.5, 34.1, 31.9, 30.7, 29.7, 29.5, 29.1, 24.7, 22.7, 14.1.

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ - ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ

AA	Arachidonic acid
ACN	Acetonitrile
ACP	Acyl-carrier-protein
ADME	<i>Absorption, distribution, metabolism, and excretion</i>
ALA	Alpha-linoleic acid
COX	Cyclooxygenase
DCI	Carbonyldiimidazole
DMAP	4-Dimethylaminopyridine
DMF	Dimethylformimade
DMS	Dimethylsulfide
EDC	Ethyl-(N',N'-dimethylamino)propylcarbodiimide
FFA	Free fatty acid
GLP	<i>Glucagon-like peptide</i>
GPR	G-Protein receptor
HRMS	High resolution mass spectrometry
HPA	Hydroxy palmitic acid
HLA	Hydroxy lauric acid
LA	Linoleic acid
LCFA	Long chain fatty acid
LPS	Lipopolysaccharide
MUFA	Monounsaturated fatty acid
OA	Oleic acid
PCC	Pyridinium chlorochromate
PUFA	Polyunsaturated fatty acid
PPAR	Peroxisome proliferator-activated <i>receptor</i>
SCFA	Short chain fatty acid
SFA	Saturated fatty acid
THF	Tetrahydrofuran

ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Ulven, T., Christiansen, E. Dietary fatty acids and their potential for controlling metabolic diseases through activation of FFA4/GPR120. *Annu. Rev. Nutr.* **2015**, *35*, 239-263.
2. Vannice, G., Rasmussen, H. Position of the academy of nutrition and dietetics: dietary fatty acids for healthy adults. *J. Acad. Nutr. Diet.* **2014**, *114*, 136-153.
3. Willet, W. C., Stampfer, M. J. Current evidence on healthy eating. *Annu. Rev. Public Health.* **2013**, *34*, 77-95.
4. Micha, R. Mozaffarian, D. Trans fatty acids: effects on metabolic syndrome, heart disease and diabetes. *Nat. Rev. Endocrinol.* **2009**, *5*, 335–44.
5. Walker, C. G., Jebb, S. A., Calder, P.C. Stearidonic acid as a supplemental source of omega-3 polyunsaturated fatty acids to enhance status for improved human health. *Nutrition.* **2013**, *29*, 363–369.
6. Back, M., Dahlen, S. E., Drazen, J. M., Evans, J. F., Serhan, C. N. International union of basic and clinical pharmacology. LXXXIV: leukotriene receptor nomenclature, distribution, and pathophysiological functions. *Pharmacol. Rev.* **2011**, *63*, 539–584.
7. Korotkova, M., Lundberg, I. E. The skeletal muscle arachidonic acid cascade in health and inflammatory disease. *Nat. Rev. Rheumatol.* **2014**, *10*, 295–303.
8. Woodward, D. F., Jones, R. L., Narumiya, S. International union of basic and clinical pharmacology. LXXXIII: classification of prostanoid receptors, updating 15 years of progress. *Pharmacol. Rev.* **2011**, *63*, 471– 538.
9. Serhan, C. N. Pro resolving lipid mediators are leads for resolution physiology. *Nature.* **2014**, *510*, 92–101.
10. Serhan, C. N., Petasis, N. A. Resolvins and protectins in inflammation resolution. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 5922–5943.

11. Michalik, L., Auwerx, J., Berger, J. P., Chatterjee, V. K., Glass, C. K. International Union of Pharmacology. LXI. Peroxisome proliferator-activated receptors. *Pharmacol. Rev.* **2006**, *58*, 726–741.
12. Sparks, S. M., Chen, G., Collins, J. L., Danger, D., Dock, S. T. 2014. Identification of diarylsulfonamides as agonists of the free fatty acid receptor 4 (FFA4/GPR120). *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, *24*, 3100–3103.
13. Milligan, G., Shimpukade, B., Ulven, T., Hudson, B. D. Complex pharmacology of free fatty acid receptors. *Chem. Rev.* **2017**, *117*, 67–110.
14. Masoodi, M., Mir, A. A., Petasis, N. A., Serhan, C. N., Nicolaou, A. Simultaneous lipidomic analysis of three families of bioactive lipid mediators leukotrienes, resolvins, protectins and related hydroxy-fatty acids by liquid chromatography/electrospray ionisation tandem mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2008**, *22*, 75-83.
15. Primdahl, K. G., Stenstrøm, Y., Hansen, T. V., Vik, A. Synthesis of 5-(S)-HETE, 5-(S)-HEPE and (+)-zooxanthellactone: Three hydroxylated polyunsaturated fatty acid metabolites. *Chem. Phys. Lipids* **2016**, *196*, 1-4.
16. Primdahl, K. G., Aursnes, M., Walker, M. E., Colas, R. A., Serhan, C. N., Dalli, J., Hansen, T. V., Vik, A. Synthesis of 13(R)-Hydroxy-7Z,10Z,13R,14E,16Z,19Z Docosapentaenoic Acid (13R-HDPA) and Its Biosynthetic Conversion to the 13-Series Resolvins. *J. Nat. Prod.* **2016**, *79*, 2693-2702.
17. Hama, H. Fatty acid 2-Hydroxylation in mammalian sphingolipid biology. *Biochim. Biophys. Acta: Mol. Cell. Biol. Lipids* **2010**, *1801*, 405-414.
18. Raetz, C. R., Whitfield, C. Lipopolysaccharide endotoxins. *Annu. Rev. Biochem.* **2002**, *71*, 635.
19. 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.

20. 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.
21. Balas, L., Bertrand-Michel, J., Viars, F., Faugere, J., Lefort, C., Caspar-Bauguil, S., Langinbde, D., Duranda, T. Regiocontrolled syntheses of FAHFAs and LC-MS/MS differentiation of regioisomers. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14*, 9012-9020.
22. Christiansen, E., Watterson, K. R., Stocker, C. J., Sokol, E., Jenkins, L., Simon, K., Grundmann, M., Petersen, R. K., Wargent, E. T., Hudson, B. D., Kostenis, E., Ejsing, C. S., Cawthorne, M. A., Milligan, G., Ulven, T. Activity of dietary fatty acids on FFA1 and FFA4 and characterisation of pinolenic acid as a dual FFA1/FFA4 agonist with potential effect against metabolic diseases. *Br. J. Nutr.* **2015**, *113*, 1677.
23. Suzuki, M., Takaishi, S., Nagasaki, M., Onozawa, Y., Iino, I., Maeda, H., Komai, T., Oda, T. Medium-chain Fatty Acid-sensing Receptor, GPR84, Is a Proinflammatory Receptor *J. Biol. Chem.* **2013**, *288*, 10684.
24. Wang, J. H., Wu, X. S., Simonavicius, N., Tian, H., Ling, L. Medium-chain fatty acids as ligands for orphan G protein-coupled receptor GPR84. *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 34457.
25. 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 at FFA1, FFA4 and GPR84 *Med. Chem. Comm.* **2017**, *8*, 1360-1365.
26. Blad, C. C., Tang, C., Offermanns, S. G-protein-coupled receptors for energy metabolites as new therapeutic targets. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2012**, *11*, 603–619.
27. Wellendorph, P., Johansen, L.D., Bräuner-Osborne, H. Molecular pharmacology of promiscuous seven trans membrane receptors sensing organic nutrients. *Mol. Pharmacol.* **2009**, *76*, 453–465.

28. Briscoe, C. P., Tadayyon, M., Andrews, J. L., Benson, W. G., Chambers, J. K., Eilert, M. M., Ellis, C., Elshourbagy, N. A., Goetz, A. S., Minnick, D. T., Murdock, P. R., Sauls, H. R., Jr., Shabon, U., Spinage, L. D., Strum, J. C., Szekeres, P. G., Tan, K. B., Way, J. M., Ignar, D. M., Wilson, S., Muir, A. I. The orphan G protein-coupled receptor GPR40 is activated by medium and long chain fatty acids. *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 11303–11311.
29. Itoh, Y., Kawamata, Y., Harada, M., Kobayashi, M., Fujii, R., Fukusumi, S., Ogi, K., Hosoya, M., Tanaka, Y., Uejima, H., Tanaka, H., Maruyama, M., Satoh, R., Okubo, S., Kizawa, H., Komatsu, H., Matsumura, F., Noguchi, Y., Shinohara, T., Hinuma, S., Fujisawa, Y., Fujino, M. Free fatty acids regulate insulin secretion from pancreatic beta cells through GPR40. *Nature*, **2003**, *422*, 173–176.
30. Oh, D. Y., Talukdar, S., Bae, E. J., Imamura, T., Morinaga, H., Fan, W., Li, P., Lu, W. J., Watkins, S. M., Olefsky, J. M. GPR120 is an omega-3 fatty acid receptor mediating potent anti-inflammatory and insulin-sensitizing effects. *Cell*, **2010**, *142*, 687–698.
31. Ichimura, A., Hirasawa, A., Poulain-Godefroy, O., Bonnefond, A., Hara, T., Yengo, L., Kimura, I., Leloire, A., Liu, N., Iida, K., Choquet, H., Besnard, P., Lecoeur, C., Vivequin, S., Ayukawa, K., Takeuchi, M., Ozawa, K., Tauber, M., Maffeis, C., Morandi, A., Buzzetti, R., Elliott, P., Pouta, A., Jarvelin, M. R., Körner, A., Kiess, W., Pigeyre, M., Caiazzo, R., VanHul, W., VanGaal, L., Horber, F., Balkau, B., Lévy-Marchal, C., Rouskas, K., Kouvatsi, A., Hebebrand, J., Hinney, A., Scherag, A., Pattou, F., Meyre, D., Koshimizu, T. A., Wolowczuk, I., Tsujimoto, G., Froguel, P. Dysfunction of lipid sensor GPR120 leads to obesity in both mouse and human. *Nature*, **2012**, *483*, 350–354.
32. Yousefi, S., Cooper, P. R., Potter, S. L., Mueck, B., Jarai, G. Cloning and expression analysis of a novel G-protein-coupled receptor selectively expressed on granulocytes. *J. Leukoc. Biol.* **2001**, *69*, 1045–1052.
33. Parlesak, A., Bode, C. Lipopolysaccharide determination by reversed-phase high-performance liquid chromatography after fluorescence labeling. *J. Chromatogr. A*, **1995**, *711*, 277–288.

34. Scribner, J. D., Smith, D. L., McCloskey, J. A. Meldrum's acid in organic synthesis. 2. A general and versatile synthesis of β -keto esters. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2087.
35. Sakai, R., Stroh, J. G., Sullins, D. W., Rinehart, K. L. Seven new didemnins from the marine tunicate *trididemnum solidum*. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 3734-3748.
36. Evans, A. P., Roseman, J. D. Stereoselective synthesis of cis-2,5-disubstituted tetrahydrofuran-3-ones *via* an acyl radical cyclization. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 31-34.
37. Liu, C., Coward, J. K. A facile and highly stereoselective synthesis of (*R*)- and (*S*)-[2-(phenylmethoxy)ethyl]oxirane. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 2262–2264.
38. Jakob, B., Voss, G., Gerlach, H. Synthesis of (*S*)- and (*R*)-3-hydroxyhexadecanoic acid. *Tetrahedron: Asymmetry*, **1996**, *7*, 3255-3262.
39. Seebach, D., Colvin, E. W., Lehr, F., Weller, T. Nitroaliphatic compounds – ideal intermediates in organic synthesis. *Chimia*, **1976**, *33*, 1-18.
40. Costantino, U., Curini, M., Marmottini, F., Rosati, O., Pisani, E. Potassium exchanged layered zirconium phosphate as base catalyst in the synthesis of 2-nitroalkanols. *Chem. Lett.* **1994**, *23*, 2215-2218.
41. Ceccherelli, P., Curini, M., Marcotullio, M. C., Epifano, F., Rosati, O. Oxone® promoted Nef reaction. Simple conversion of nitro group into carbonyl. *Synth. Commun.* **1998**, *28*, 3057-3064.
42. Chen, S. H., Sun, X., Boyer, R., Paschal, J., Zeckner, D., Current, W., Zweifel, M., Rodriguez, M. Syntheses and biological evaluation of novel pseudomycin side-chain analogues. Part 2. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 2107-2110.
43. Brooks, D. W., Lu, L. D. L., Masamune, S. C-Acylation under virtually neutral conditions. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1979**, *18*, 72.
44. Ratovelomanana-Vidal, V., Girard, C., Touati, R., Tranchier, J. P., Ben Hassine, B., Genêt, J. P. Enantioselective hydrogenation of β -keto esters using chiral diphosphine-ruthenium complexes: optimization for

- academic and industrial purposes and synthetic applications. *Adv. Synth. Catal.* **2003**, *345*, 261-274.
45. Concellon, J. M., Concellon, C. Aldol-type reactions of unmasked iodoacetic acid with carbonyl compounds promoted by samarium diiodide: Efficient synthesis of carboxylic 3-hydroxyacids and their derivatives. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 4428-4432.
46. 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 at FFA1, FFA4 and GPR84. *Med. Chem. Comm.* **2017**, *8*, 1360-1365.
47. Holmquist, C. R., Roskamp, E. J. A selective method for the direct conversion of aldehydes into β -keto esters with ethyl diazoacetate catalyzed by tin(II) chloride. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 3258-3260.
48. Kitir, B., Baldry, M., Ingmer, H., Olsen, C. A. Total synthesis and structural validation of cyclodepsipeptides solonamide A and B. *Tetrahedron*, **2014**, *70*, 7721-7732.
49. Sailer, M., Dubicki, K. I., Sorensen, J. L. The synthesis of medium-chain-length β -hydroxy esters via the Reformatsky reaction. *Synthesis*, **2015**, *47*, 79–82.
50. Ratner, S., Waller, G. R. Biochemical applications of mass spectrometry. *Wiley-Intersci.* **1972**, 405.
51. Dinh-Nguyên, N., Ryhage, R., Stillberg-Stenhagen, S., Stenhagen, E. Mass spectrometric studies. VIII. A study of fragmentation of normal long-chain methyl esters and hydrocarbons under electron impact with the aid of deuterium-substituted compounds. *Ark. Kemi*, **1961**, *18*, 393.
52. Dinh-Nguyên, N. Contribution á l' étude de la spectrometrie de masse: Utilisation des esters méthyliques de monoacides á longue chaine normale marques au deuterium et au carbone-13. *Ark. Kemi*, **1968**, *28*, 289.
53. Andersson, B. A., Dinger, F., Dinh-Nguyên, N. *Chem. Scr.* **1975**, *8*, 200.
54. Andersson, B. A., Dinger, F., Dinh-Nguyên, N. *Chem. Scr.* **1976**, *9*, 155.

55. Sun, K. K., Hayes, H. W., Holman, R. T. Thermal and mass spectrometric fragmentation of esters of deuterated long chain carboxylic acids. *Org. Mass. Spectrom.* **1970**, 3, 1035.
56. Aasen, A. J., Lauer, W. M., Holman, R. T. Mass spectrometry of triglycerides. II. Specifically deuterated triglycerides and elucidation of fragmentation mechanisms. *Lipids*, **1970**, 5, 869-877.
57. Heinz, E., Tulloch, A. P., Spencer, J. F. T. *J. Biol. Chem.* **1969**, 244, 882.
58. Séquin, U., Scott, A. I. Carbon-13 as a label in biosynthetic studies. *Science*, **1974**, 186, 101.
59. Stoffel, W., Zierenberg, O., Tunggal, B. D., Hoppe-Seyler's, ¹³C-nuclear magnetic resonance spectroscopic studies on saturated, mono-, di-, and polyunsaturated fatty acids, phospho-and sphingolipids. *Z. Physiol. Chem.* **1972**, 354, 1962.
60. Batchelor, J. G., Prestegard, J. H., Cushley, R. J., Lipsky, S. R. Electric field effects in the (¹³C) nuclear magnetic resonance spectra of unsaturated fatty acids, a potential tool for conformational analysis. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 95, 6358.
61. Tulloch, A. P., Mazurek, M. *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1973**, 1, 692.
62. Tulloch, A. P., Mazurek, M. ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy of saturated, unsaturated, and oxygenated fatty acid methyl esters. *Lipids*, **1976**, 11, 228.
63. Tulloch, A. P. Deuterium isotope effects and assignment of ¹³C chemical shifts in spectra of methyl octadecanoate and the sixteen isomeric oxooctadecanoates. *Can. J. Chem.*, **1977**, 55, 1135.
64. Oldfield, E., Chapman, D., Derbyshire, W. Deuteron resonance: A novel approach to the study of hydrocarbon chain mobility in membrane systems. *FEBS Lett.* **1971**, 16, 102.
65. Seelig, J., Seelig, A. Deuterium magnetic resonance studies of phospholipid bilayers. *Biochim. Biophys. Acta*, **1974**, 57, 406.
66. Stockton, G. W., Polnaszek, C. F., Leitch, L. C., Tulloch, A. P., Smith, I. C. P. A study of mobility and order in model membranes using ²H

- NMR relaxation rates and quadrupole splittings of specifically-deuterated lipids. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1974**, *60*, 844.
67. Galley, H-U., Niederberger, W., Seelig, J. *Biochemistry*, **1975**, *14*, 3647.
68. Stockton, G. W., Polnaszek, C. F., Tulloch, A. P., Hasan, F., Smith, I. C. P. Molecular motion and order in single-bilayer vesicles and multilamellar dispersions of egg lecithin and lecithin-cholesterol mixture: A deuterium magnetic resonance study of specifically labelled lipids. *Biochemistry*, **1976**, *15*, 954.
69. Seelig, J., Gaily, H.-U. *Biochemistry*, **1976**, *15*, 5199.
70. Stockton, G. W., Johnson, K. G., Butler, K. W., Tulloch, A. P., Boulanger, Y., Smith, I. C. P., Davis, J. H., Bloom, M. *Nature*, **1977**, *269*, 267.
71. Dinh-Nguyễn, N. Organic syntheses with heavy isotopes. Part I. Some deuterium-substituted normal long-chain saturated hydrocarbons, acids and esters. *Ark. Kemi*, **1964**, *22*, 151.
72. Bonhoeffer, K. F., Geib, K. H., Reitz, O. *J. Chem. Phys.* **1939**, *7*, 664.
73. Tucker, W. P., Tore, S. B., Kepler, C. R. The synthesis of 11,11-dideuterooleic acid. *J. Label. Compd.* **1971**, *7*, 137.
74. Van Heyningen, W. E., Rittenberg, D., Schoenheimer, R. *J. Biol. Chem.* **1938**, *125*, 495.
75. Atkinson, J. G., Csakvary, J. J., Herbert, G. T., Stuart, R. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 498.
76. Tulloch, A. P. Synthesis, analysis and application of specifically deuterated lipids. *Lipids*, **1977**, *12*, 92.
77. Weinkam, R. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96*, 1032.
78. Caspar, A., Greff, M., Wolff, R. E., *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1968**, 3033.
79. Kawazoe, Y., Ohnishi, M. *Chem. Pharm. Bull.* **1966**, *14*, 1413.
80. Hine, J., Mahone, L. G., Liotta, C. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 5911.
81. Hölemann, P., Clusius, K. Zur elektolyse deuteriumhaltiger fettsäuren. I. Die elektolyse deuterioessigsäure. *Chem. Ber.* **1937**, *70*, 819.

82. Isabelle, M. E., Leitch, L. C. Organic deuterium compounds XIX. Synthesis of some deuterated laurie acids and their methyl esters. *Can. J. Chem.* **1958**, 36, 440.
83. Dinh-Nguyên, N., Raal, A., Stenhagen, E. Perdeuterated organic compounds. I. Normal long chain saturated deuteriocarbons, monocarboxylic acids and methyl esters. *Chem. Scr.* **1972**, 2, 171.
84. Dinh-Nguyên, N., Raal A. *Chem. Scr.* **1976**, 10, 173.
85. Hsiao, C. Y. Y., Ottaway, C. A., Wetlaufer, D. B. Preparation of fully deuterated fatty acids by simple method. *Lipids*, **1974**, 9, 913.
86. Dinh-Nguyên, N., Ryhage, R. Mass spectroscopic demonstration of extensive replacement of hydrogen by deuterium during catalytic deuteration of methyl oleate, methyl 9,10-dibromosterearate and methyl 1,2-chlorostearate. *Acta Chem. Scand.* **1959**, 13, 1032.
87. Rohwedder, W. K., Bitner, E. D., Peters, H. M., Dutton, H. J. Deuterium—hydrogen exchange during the catalytic deuteration of methyl oleate. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1964**, 41, 33.
88. Emken, E. A., Rohwedder, W. K., Dutton, H. J., Dougherty, R., Iacono, J. M., Mackin, J. Dual-labeled technique for human lipid metabolism studies using deuterated fatty acid isomers. *Lipids*, **1976**, 11, 135.
89. Mounts, T. L., Emken, E. A., Rohwedder, W. K., Dutton, H. J. Metabolism of labeled isomeric octadecenoates by the laying hen. *Lipids*, **1971**, 6, 912.
90. Dejarlais, W. J., Emken, E. A. Syntheses of tetra- and hexadeuterated octadecenoates. *Lipids*, **1976**, 11, 594.
91. Atkinson, J. G., Luke, M. O. *Can. J. Chem.* **1970**, 48, 3580.
92. Scholfield, C. R., Jones, E. P., Nowakowska, J., Selke, F., Dutton, H. J. Hydrogenation of linolenate. II. Hydrazine reduction. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1961**, 38, 208.
93. Dinh-Nguyên, N., Ryhage, R., Stallberg-Stenhagen, S. Determination de la position des doubles liaisons carbone-carbone par spectrometrie de mass. I. Double liaison dans les esters methyliques des acides *cis*-petroselinique, oleique et elaidique. *Ark. Kemi*, **1960**, 15, 433.
94. Tulloch, A. P. Synthesis of deuterium and carbon-13 labelled lipids *Chem. Phys. Lipids*, **1977**, 24, 391-406.

95. Rohwedder, W. K., Scholfield, C. R., Rakoff, H., Nowakofska, J., Dutton, H. J. *Anal. Chem.* **1967**, *39*, 820.
96. Spener, F., Mangold, H. K. Reactions of aliphatic methanesulfonates VII. Chain elongation by two methylene groups. *Chem. Phys. Lipids*, **1973**, *1*, 215-218.
97. Dinh-Nguyễn, N., Raal, A., Stenhagen, E. *Chem. Scr.* **1971**, *1*, 117.
98. Hünig, S., Lendle, W. Synthesen mit Enaminen, IV. Acylierung des 1-Morpholino-cyclopentens-(1). *Chem. Ber.* **1960**, *93*, 913.
99. Hünig, S., Lücke, F., Benzing, E. Synthesen mit enaminen, II. Kettenverlängerung von carbonsäuren um 6C-Atome. *Chem. Ber.* **1958**, *91*, 129.
100. Hünig, S., Buysch, H. J. Synthesen mit Enaminen, XVII. Kettenverlängerung von Dicarbonsäuren um 24 C-Atome. *Ber.* **1967**, *100*, 4010.
101. Bowman, R. E., Fordham, W. D. *J. Chem. Soc.* **1952**, 3945.
102. Tucker, W. P., Tore, S. B., Kepler, C. R. The synthesis of 11,11-dideuterolinoleic acid. *J. Labelled Compds.* **1971**, *7*, 11.
103. Williams, A. J., Morse, A. T., Stuart, R. S. Production of green algae in deuterium oxide. *Can. J. Microbiol.* **1966**, *12*, 1167.
104. Graft, G., Szczepanik, P., Klein, P. D., Chipault, J. R., Holman, R.T. Identification and characterization of fully deuterated fatty acids isolated from *scenedesmus obliquus* cultured in deuterium oxide. *Lipids*, **1970**, *5*, 786.
105. Wendt, G., McCloskey, J. A. Mass spectrometry of perdeuterated molecules of biological origin. Fatty acid esters from *Scenedesmus obliquus*. *Biochemistry*, **1970**, *9*, 4854.
106. Oldfield, E. *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1972**, 719.
107. Saur, W., Crespi, H. L., Harkness, L., Norman, G., Katz, J. Qualitative and quantitative isotopic analysis of ethyl groups containing both hydrogen and deuterium (CH_xD_{3-x}CH_yD_{2-y}--) by combined NMR and mass spectroscopy. *J. Anal. Biochem.* **1968**, *22*, 424.

108. Spiesscke, H., Schneider, W. G. Substituent effects on the C13 and H1 chemical shifts in monosubstituted benzenes. *J. Chem. Phys.* **1961**, *35*, 731.
109. (α) Kim, J. K., Shin, K., Chang, S. in *Topics in Organometallic Chemistry* (Eds.: P. H. Dixneuf, H. Doucet), Springer, Cham, **2016**, β) *C-H Bond Activation in Organic Synthesis* (Ed.: L. J. Jack), CRC, Boca Raton, **2015**, γ) *C-H Activation, Vol. 26 of Topics in Current Chemistry* (Eds.: J.-Q. Yu, Z. Shi), Springer, New York, **2010**.
110. α) Cernak, T., Dykstra, K. D., Tyagarajan, S., Vachal, P., Krska, S. W. *Chem. Soc. Rev.* **2016**, *45*, 546–576, β) Gensch, T., Hopkinson, M. N., Glorius, F., Wencel-Delord, J., *Chem. Soc. Rev.* **2016**, *45*, 2900–2936, γ) Borie, C., Ackermann, L., Nechab, M. *Chem. Soc. Rev.* **2016**, *45*, 1368–1386, δ) Liu, W., Ackermann, L., *ACS Catal.* **2016**, *6*, 3743–3752, ε) Segawa, Y., Maekawa, T., Itami, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 66–81, *Angew. Chem.* **2015**, *127*, 68–83, στ) Li, J., Ackermann, L. *Nat. Chem.* **2015**, *7*, 686–687, ζ) Song, G., Li, X. *Acc. Chem. Res.* **2015**, *48*, 1007–1020, η) Kuhl, N., Schroeder, N., Glorius, F. *Adv. Synth. Catal.* **2014**, *356*, 1443–1460, θ) Girard, S. A., Knauber, T., Li, C.-J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 74–100, *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 76–103, ι) Rouquet, G., Chatani, N. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 11726–11743, *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 11942–11959, κ) Yeung, C. S., Dong, V. M. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 1215–1292, λ) Satoh, T., Miura, M. *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 11212–11222, μ) Lyons, T. W., Sanford, M. S. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 1147, ν) Mkhaliid, I. A. I., Barnard, J. H., Marder, T. B., Murphy, J. M., Hartwig, J. F. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 890–931, ξ) Coperet, C. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 656–680, ο) Colby, D. A., Bergman, R. G., Ellman, J. A. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 624–655, π) Sun, C.-L., Li, B.-J., Shi, Z.-J. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 677–685.
111. α) Lu, Y., Wang, D.-H., Engle, K. M., Yu, J.-Q. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 5916–5921, β) Schiffner, J. A., Wöste, T. H., Oestreich, M. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 174–182, γ) Xiao, B., Fu, Y., Xu, J., Gong, T.-J., Dai, J.-J., Yi, J., Liu, L. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 468–469, δ) Patureau, F. W., Glorius, F. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**,

- 132, 9982–9983, ε) Wang, D.-H., Engle, K. M., Shi, B.-F., Yu, J. Q. *Science* **2010**, *327*, 315–319, στ) Wasa, M., Engle, K. M., Yu, J. Q. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 3680–3681, ζ) Wang, F., Song, G., Li, X. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 5430–5433, η) Muralirajan, K., Parthasarathy, K., Cheng, C.-H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 4169–4172, *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 4255–4258, θ) Rakshit, S., Patureau, F. W., Glorius, F. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 9585–9587, ι) Guimond, N., Gouliaras, C., Fagnou, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 6908–6909, κ) Morimoto, K., Hirano, K., Satoh, T., Miura, M. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 2068–2071.
112. α) Zhao, X., Dimitrijevi, C. E., Dong, V. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 3466–3467, β) Wang, X., Mei, T.-S., Yu, J.-Q. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 7520–7521, γ) Mei, T.-S., Giri, R., Mangel, N., Yu, J.-Q. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 5215–5219, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 5293–5297, δ) Li, J.-J., Mei, T.-S., Yu, J.-Q. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 6452–6455, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 6552–6555, ε) Hull, J.-Q., Anani, W. Q., Sanford, M. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 7134–7135.
113. α) Ackermann, L., Lygin, A. V., Hofmann, N. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 3278–3281, β) Cho, S. H., Yoon, J., Chang, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 5996–6005, γ) Shuai, Q., Deng, G., Chua, J., Bohle, D. S., Li, C.-J. *Adv. Synth. Catal.* **2010**, *352*, 632–636, δ) Mei, T.-S., Wang, X., Yu, J.-Q. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 10806–10807, ε) Wang, Q., Schreiber, S. L. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 5178–5180, στ) Monguchi, D., Fujiwara, T., Furukawa, H., Mori, A. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 1607–1610.
114. α) Wang, X., Lu, Y., Dai, H.-X., Yu, J.-Q. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 12203–12205, β) Zhang, Y.-H., Yu, J.-Q. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 14654–14655, γ) Powers, D. C., Geibel, M. A. L., Klein, J. E. M. N., Ritter, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 17050–17051, δ) Desai, L. V., Stowers, K. J., Sanford, M. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 13285–13293.
115. α) Hatano, M., Nishimura, T., Yorimitsu, H. *Org. Lett.* **2016**, *18*, 3674–3677, β) Bai, W., Lee, K. H., Tse, S. K. S., Chan, K. W., Lin, Z., Jia, G. *Organometallics* **2015**, *34*, 3686–3698, c) Ma, S., Villa, G.,

- Thuy-Boun, P. S., Homs, A., Yu, J.-Q. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 734–737, *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 753–756, δ) Modutlwa, N., Maegawa, T., Monguchi, Y., Sajiki, H., *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2010**, *53*, 686–692.
116. α) Hesk, D., Lavey, C. F., McNamara, P. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2010**, *53*, 722–730, β) Chappelle, M. R., Hawes, C. R. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2010**, *53*, 745–751, γ) Filer, C. N. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2010**, *53*, 739–744, δ) Pollack, S. R., Schenk, D. J. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2015**, *58*, 433–441, ε) Shevchenko, V. P., Nagaev, I. Y., Myasoedov, N. F. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2010**, *53*, 693–703.
117. Voges, R., Heys, R., Moenius, T. Preparation of compounds labeled with tritium and carbon-14, *Wiley, Chichester*, **2009**.
118. Larance, M., Lamond, A. I. Multidimensional proteomics for cell biology. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2015**, *16*, 269–280.
119. α) Harbeson, S. L., Tung, R. D. *Med. Chem. News* **2014**, *2*, 8–22, β) Gant, T. G. *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 3595–3611, γ) Meanwell, N. A. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 2529–2591.
120. Atzrodt, J., Derdau, V. Pd- and Pt-catalyzed H/D exchange methods and their application for internal MS standard preparation from a Sanofi-Aventis perspective. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2010**, *53*, 674–685.
121. α) Zhou, L., Bian, X., Yang, S., Mu, B. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2012**, *55*, 158–160, β) Macková, M., Himl, M., Minarova, L., Lang, J., Lhotak, P. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 2543–2546, γ) Hakala, U., Waehaelae, K. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 5817–5819, δ) Martins, A., Lautens, M. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 4351–4353.
122. Müller, M., Seubert, A. Synthesis of deuterium-labelled fluorobenzoic acids to be used as internal standards in isotope dilution mass spectrometry. *Isot. Environ. Health Stud.* **2014**, *50*, 88–93.
123. α) Rozze, S. J., Fray, M. J. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2009**, *52*, 435–442, β) Li, F., Chen, Q., Liu, C.-C., Wu, Y.-H., Liu, X.-P., Yang, G.-F. *Appl. Magn. Reson.* **2012**, *42*, 169–177, γ) Backstrom, N., Watt, C. I. F. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 3234–3236, δ) Mohrig, J. R.,

- Reiter, N. J., Kirk, R., Zawadski, M. R., Lamarre, V. N. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 5124–5128.
124. Ariza, X., Asins, G., Garcia, J., Fausto, F. G., Makowski, K., Serra, D., Velasco, J. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2010**, *53*, 556–558.
125. Kerler, B., Pol, J., Hartonen, K., Soederstroem, M. T., Koskela, H. T., Riekkola, M.-L. *J. Supercrit. Fluids* **2007**, *39*, 381–388.
126. Atzrodt, J., Derdau, V., Fey, T., Zimmermann, J. The renaissance of H/D exchange. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 7744–7765, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 7890–7911.
127. α) Lockley, W. J. S., Heys, J. R. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2010**, *53*, 635–644, β) Junk, T., Catallo, W. J. *Chem. Soc. Rev.* **1997**, *26*, 401–406, γ) Elander, N., Jones, J. R., Lu, S.-Y., Stone Elander, S. *Chem. Soc. Rev.* **2000**, *29*, 239–249, δ) Siskin, M., Katritzky, A. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 825–835, ε) Heys, J. R. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2010**, *53*, 716–721, στ) Sawama, Y., Monguchi, Y., Sajiki, H. *Synlett.* **2012**, *23*, 959–972.
128. α) Hesk, D., Lavey, C. F., McNamara, P. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2010**, *53*, 722–730, β) Filer, C. N. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2010**, *53*, 739–744.
129. Di Giuseppe, A., Castarlenas, R., Oro, L. A. *C. R. Chim.* **2015**, *18*, 713–741.
130. Lockley, W. J. S., Hesk, D. Rhodium- and ruthenium-catalysed hydrogen isotope exchange. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2010**, *53*, 704–715.
131. Nilsson, G. N., Kerr, W. J. The development and use of novel iridium complexes as catalysts for ortho-directed hydrogen isotope exchange reactions. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2010**, *53*, 662–667.
132. Allen, P. H., Hickey, M. J., Kingston, L. P., Wilkinson, D. J. Metal-catalysed isotopic exchange labelling: 30 years of experience in pharmaceutical R&D. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2010**, *53*, 731–738.

133. Lockley, W. J. S. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2010**, *53*, 668–673.
134. Heys, J. R. Organoiridium complexes for hydrogen isotope exchange labeling. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2007**, *50*, 770–778.
135. Hesk, D., McNamara, P. Synthesis of isotopically labelled compounds at Schering-Plough, an historical perspective. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2007**, *50*, 875–887.
136. Westaway, K. C. Determining transition state structure using kinetic isotope effects. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2007**, *50*, 989–1005.
137. Parkin, G. Applications of deuterium isotope effects for probing aspects of reactions involving oxidative addition and reductive elimination of H–H and C–H bonds. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2007**, *50*, 1088–1114.
138. Simmons, E. M., Hartwig, J. F. On the interpretation of deuterium kinetic isotope effects in C–H bond functionalizations by transition-metal complexes. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 3066–3072, *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 3120–3126.
139. α) Gmez-Gallego, M., Sierra, M. A. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 4857–4963, β) Lloyd-Jones, G. C., Munoz, M. P. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2007**, *50*, 1072–1087.
140. Swiderek, K., Paneth, P. Binding isotope effects. *Chem. Rev.* **2013**, *113*, 7851–7879.
141. Heinekey, D. M. Transition metal dihydrogen complexes: isotope effects on reactivity and structure. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2007**, *50*, 1063–1071.
142. Amatore, M., Beeson, T. D., Brown, S. P., MacMillan, D. W. Enantioselective linchpin catalysis by SOMO catalysis: an approach to the asymmetric alpha-chlorination of aldehydes and terminal epoxide formation. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2009**, *48*, 5151–5124.
143. Normant, J. F. Organocopper(I) compounds and organocuprates in synthesis. *Synthesis*, **1972**, *2*, 63–80.

144. Schauder, J. R., Kries, A. Regio and stereochemically controlled ring opening of epoxides of Grignard reagents. Stereocontrolled synthesis of the steroid side chains. First stereoselective hemisynthesis of 20s isolanosterol. *Tetrahedron Lett.* **1982**, 23, 4389-4392.
145. Criegee, R. Mechanism of ozonolysis. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1975**, 14, 745-752.