

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

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

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

**Σύνθεση και μελέτη των συστατικών δημητριακών
αλκυλορεσορκινολών**

**ΓΕΩΡΓΙΑ ΜΠΑΚΟΥΛΑ
ΧΗΜΙΚΟΣ**

**ΑΘΗΝΑ
ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ 2022**

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

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

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

**Σύνθεση και μελέτη των συστατικών δημητριακών
αλκυλορεσορκινολών**

**ΓΕΩΡΓΙΑ ΜΠΑΚΟΥΛΑ
ΧΗΜΙΚΟΣ**

ΑΘΗΝΑ

ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ 2022

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Σύνθεση και μελέτη των συστατικών δημητριακών αλκυλορεσορκινόλων

ΓΕΩΡΓΙΑ ΜΠΑΚΟΥΛΑ

A.M.: 181511

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΚΟΚΟΤΟΣ, Καθηγητής ΕΚΠΑ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΚΟΚΟΤΟΣ, Καθηγητής ΕΚΠΑ

ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ ΓΚΙΜΗΣΗΣ, Καθηγητής ΕΚΠΑ

ΒΙΚΤΩΡΙΑ ΜΑΓΚΡΙΩΤΗ, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια ΕΚΠΑ

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ 1/11/2022

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι αλκυλορεσορκινόλες (ARs) αποτελούν συστατικά των σιτηρών ολικής αλέσεως. Βρίσκονται σε σημαντικές συγκεντρώσεις σε δημητριακά που καταναλώνονται ευρύτατα από τον άνθρωπο, όπως στη σίκαλη, στο μαλακό σιτάρι, στο μονόκοκκο σιτάρι, στο δίκοκκο σιτάρι, στην όλυρα, στο σκληρό σιτάρι και σε μικρότερες ποσότητες στο κριθάρι και στο καλαμπόκι. Λόγω των διάφορων βιολογικών ιδιοτήτων που παρουσιάζουν έχουν προσελκύσει το ενδιαφέρον των ερευνητών. Στη χημική τους δομή συνδυάζουν τον δακτύλιο της ρεσορκινόλης με μια μακριά αλυσίδα, με αποτέλεσμα να εμφανίζουν αμφιφιλικές ιδιότητες λόγω της ταυτόχρονης παρουσίας των υδροξυλομάδων του αρωματικού δακτυλίου και της μακριάς υδρόφοβης αλυσίδας.

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η σύνθεση αλκυλορεσορκινολών και η μελέτη τους με φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας. Πιο συγκεκριμένα, στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε η σύνθεση της 5-επτυλορεσορκινόλης, της 5-δεκαεπτανυλορεσορκινόλης και του 3-(3,5-διϋδροξυφαινυλο) προπανοϊκού οξέος με αντιδράσεις Wittig, καταλυτικής υδρογόνωσης και απομεθυλίωσης χρησιμοποιώντας ως πρώτη ύλη τη 3,5-διμεθοξυβενζαλδεΐδη. Ο καθαρισμός των τελικών προϊόντων πραγματοποιήθηκε με χρωματογραφία στήλης, ο έλεγχος της καθαρότητας και η ταυτοποίηση τους με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) και με φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας (HRMS).

Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε μελέτη HRMS της 5-επτυλορεσορκινόλης, της 5-δεκαεπτανυλορεσορκινόλης και της εμπορικά διαθέσιμης 5-εικοσιενυλορεσορκινόλης. Τα φάσματα HRMS αυτών των ενώσεων μελετήθηκαν τόσο στον θετικό, όσο και στον αρνητικό ιοντισμό προκειμένου να μελετηθεί η θραυσματοποίηση τους. Τελικά, πραγματοποιήθηκε μέθοδος υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC)- φασματομετρίας μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας (HRMS) για τον προσδιορισμό αυτών των τριών ενώσεων σε πραγματικά δείγματα ορού αίματος.

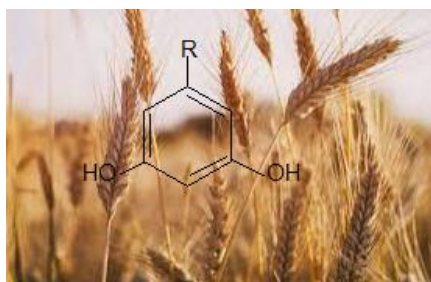
Λέξεις-Κλειδιά: αλκυλορεσορκινόλες, σύνθεση αλκυλορεσορκινολών, υγροχρωματογραφία, φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας.

ABSTRACT

Alkylresorcinols (ARs) are components of wholegrain cereals. ARs are found in high amount in cereals that are consumed widely by humans, like rye, common wheat, einkorn wheat, emmer wheat, spelt, durum wheat and in smaller amounts in barley and maize. Due to their biological properties, ARs have attracted the research interest. In their chemical structure ARs combine the resorcinol ring with a long hydrocarbon chain and as a result they present amphiphilic properties due to the simultaneous co-occurrence of both hydroxyl groups of aromatic ring and long hydrophobic chain.

The aim of the present thesis was the synthesis of alkylresorcinols and their study by high-resolution mass spectrometry. More specifically, in this thesis were synthesized 5-heptylresorcinol, 5-heptadecylresorcinol and 3-(3,5-dihydroxyphenyl)propanoic acid with Wittig reaction, catalytic hydrogenation and demethylation using as starting compound 3,5-dimethoxybenzaldehyde. The purification of the final products has been carried out using column chromatography (CC), while the control of their purity and their identification has been carried out using nuclear magnetic resonance (NMR) and high resolution mass spectrometry (HRMS).

Consequently, the study of 5-heptylresorcinol, 5-heptadecylresorcinol and industrially available 5-heneicosylresorcinol was carried out by HRMS. HRMS spectra of these compounds were studied both in positive and negative ionization in order to analyze their fragmentation. Finally high performance liquid chromatography (HPLC)-high resolution mass spectrometry (HRMS) was applied to these compounds in order to be detected in real blood serum samples.



Key-Words: alkylresorcinols, synthesis of alkylresorcinols, liquid chromatography, high resolution mass spectrometry.

Στους δασκάλους μου,

Στην οικογένεια μου.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Σελίδα

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	19
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1.....	21
ΑΛΚΥΛΟΡΕΣΟΡΚΙΝΟΛΕΣ	21
1.1 Εισαγωγή	21
1.2 Δομή και παρουσία των αλκυλορεσορκινολών	22
1.3 Επίπεδα αλκυλορεσορκινολών στους διάφορους δημητριακούς καρπούς	26
1.4 Οι αλκυλορεσορκινόλες κατά την επεξεργασία των σιτηρών	29
1.5 Εκχύλιση και ανάλυση των αλκυλορεσορκινολών	30
1.6 Χρωματογραφία λεπτής στιβάδας για την ανάλυση ARs.....	33
1.7 Χρωματογραφία στήλης για την ανάλυση ARs	34
1.8 Αεριοχρωματογραφία για την ανάλυση ARs.....	35
1.9 GC-Φασματομετρία μάζας MS για την ανάλυση ARs.....	36
1.10 Υγροχρωματογραφία υψηλής απόδοσης για την ανάλυση ARs	38
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2.....	41
ΜΕΘΟΔΟΙ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΑΛΚΥΛΟΡΕΣΟΡΚΙΝΟΛΩΝ.....	41
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3.....	62
ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	62
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4.....	63
ΣΥΝΘΕΣΗ ΑΛΚΥΛΟΡΕΣΟΡΚΙΝΟΛΩΝ	63
4.1.1 Ρετροσυνθετική πορεία για τη σύνθεση των αλκυλορεσορκινολών (ARs)	63
4.1.2 Συνθετική πορεία προς παραλαβή της 5-επτυλορεσορκινόλης (MG17) (148)	633
4.1.3 Συνθετική πορεία προς παραλαβή της 5-δεκαεπτανυλορεσορκινόλης (MG23) (152)	64

4.1.4 Συνθετική πορεία προς παραλαβή του 3-(3,5-διϋδροξυφαινυλο) προπανοϊκού οξέος (MG26) (157).....	65
4.2 Μηχανισμός αντίδρασης Wittig.....	66
4.3.1 Ρетроσυνθετική πορεία για τη σύνθεση των μονοεστέρων δικαρβοξυλικών οξέων.....	69
4.3.2 Συνθετική πορεία προς παραλαβή του μονομεθυλεστέρα του 1,8-οκτανοδιοϊκού οξέος (MG3) (163).....	69
4.3.3 Συνθετική πορεία προς παραλαβή του μονομεθυλεστέρα του 1,9-εννεανοδιοϊκού οξέος (MG5) (166)	70
4.4 Αποτίμηση φασμάτων ARs.....	721
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5.....	77
ΜΕΛΕΤΗ ΑΛΚΥΛΟΡΕΣΟΡΚΙΝΟΛΩΝ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑΣ ΜΑΖΑΣ ΥΨΗΛΗΣ ΔΙΑΚΡΙΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ (HRMS)	77
5.1 Εισαγωγή	77
5.2 Μελέτη HRMS στον θετικό ιοντισμό	77
5.2.1 Φάσμα HRMS της ένωσης MG17	77
5.2.2 Φάσμα HRMS της ένωσης MG23.....	78
5.2.3 Φάσμα HRMS της εικοσιενυλορεσορκινόλης (ER).....	78
5.3 Μελέτη HRMS στον αρνητικό ιοντισμό	79
5.3.1 Φάσμα HRMS της ένωσης MG17	79
5.3.2 Φάσμα HRMS της ένωσης MG23.....	81
5.3.3 Φάσμα HRMS της εικοσιενυλορεσορκινόλης (ER).....	82
5.4 Μελέτη υγρής χρωματογραφίας	84
5.5 Καμπύλες αναφοράς των τριών αλκυλορεσορκινολών.....	85
5.6 Προκατεργασία δειγμάτων.....	87
5.7 Ανάλυση δειγμάτων ορού	88
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6.....	91

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ-ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΙ ΕΝΩΣΕΩΝ	91
6.1 Γενικό πειραματικό μέρος	91
6.1.1 Αντιδραστήρια και διαλύτες	91
6.1.2 Όργανα και διατάξεις	91
6.1.3 Χρωματογραφία λεπτής στιβάδας	92
6.1.4 Χρωματογραφία στήλης	92
6.2 Πειραματικές πορείες και χαρακτηρισμοί ενώσεων	93
6.3 Υλικά, αντιδραστήρια και οργανολογία για την ανάλυση	103
6.3.1 Πρότυπες ουσίες.....	103
6.3.2 Αντιδραστήρια και διαλύτες.....	103
6.3.3 Χρωματογραφικό σύστημα συζευγμένο με φασματόμετρο μάζας.....	104
6.3.4 Βοηθητικός εργαστηριακός εξοπλισμός	104
6.3.5 Συνθήκες LC-MS/MS	104
ΠΙΝΑΚΑΣ ΟΡΟΛΟΓΙΑΣ	106
ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ.....	106
ΑΝΑΦΟΡΕΣ	107

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1: Δομή και ιδιότητες αλκυλορεσορκινολών που βρίσκονται στο κριθάρι, τη σίκαλη, το τριτικάλε και το σιτάρι.....	25
Σχήμα 2: Αεριοχρωματογραφία των ARs στο κριθάρι, τη σίκαλη, τριτικάλε και το σιτάρι που δείχνει τις κύριες ομόλογες ARs.....	28
Σχήμα 3: Χαρακτηριστικά θραύσματα MS για αλκυλορεσορκινόλες και τριμεθυλοσίλυλο παράγωγα τους (TMS) από την ανίχνευση GC-MS.....	37
Σχήμα 4: Χρωματογράφημα GC-MS των TMS παραγώγων των αλκ(εν)υλορεσορκινολών που εκχυλίστηκαν από πίτουρο σίκαλης εμπλουτισμένων με κετο-αλκυλορεσορκινόλες. Τα φάσματα μάζας υποδηλώνουν διαφορετικά παράγωγα δεκαεπτανυλορεσορκινόλης (C17:0):(1a) δεκαεπτανυλορεσορκινόλη, (1b) δεκαεπτακενυλορεσορκινόλη a, (1c) δεκαεπτακενυλορεσορκινόλη b και (1d) κετο-δεκαεπτανυλορεσορκινόλη. Οι άλλες επισημασμένες αλκυλορεσορκινόλες στο χρωματογράφημα GC-MS είναι:(2) δεκαεννεανυλορεσορκινόλη, (3) εικοσιενυλορεσορκινόλη, (4) εικοσιτριυλορεσορκινόλη, (5) εικοσιπεντυλορεσορκινόλη. Να σημειωθεί ότι τα κετοπαράγωγα απαντώνται φυσικά μόνο ως ένα πολύ μικρό κλάσμα στο σιτάρι και στη σίκαλη.....	38
Σχήμα 5 : HPLC χρωματογράφημα αλκ(εν)υλορεσορκινολών που εκχυλίστηκαν από πίτουρο σίκαλης.....	40
Σχήμα 6: Σύνθεση 5-n-αλκυλορεσορκινόλης από τη 3,5-διμεθοξυβενζαλδεΰδη.....	42
Σχήμα 7: Σύνθεση 5-n-αλκυλορεσορκινολών από τη 3,5-διμεθοξυβενζυλική αλκοόλη (R=n-άλκυλο).....	42
Σχήμα 8: Σύνθεση 5-n-αλκυλορεσορκινόλης από τη 3,5-διμεθοξυφαινόλη....	43
Σχήμα 9: Σύνθεση της 5-δεκαπεντυλορεσορκινόλης από άκυκλα αντιδρώντα.....	44
Σχήμα 10: Σύνθεση του μονοενίου 8Z-καρδόλης από (α) 3,5-διμεθοξυβενζαλδεΰδη, (β) 3,5-διμεθοξυβενζοϋλοχλωρίδιο, και (γ) του διενίου 8Z,11Z-καρδόλη.....	45-46
Σχήμα 11: Σύνθεση του τριενίου 8Z,11Z,14-καρδόλη.....	47

Σχήμα 12: Δομές ρεσορκινολικών λιπιδίων.....	48-49
Σχήμα 13: Σύνθεση παραγώγων ARs	51
Σχήμα 14: Σχέση μεταξύ κυτταροτοξικότητας σε KB κύτταρα in vitro και αριθμού ανθράκων πλευρικής αλυσίδας παραγώγων 5-ARs.....	54
Σχήμα 15: Σύνθεση της 5-δεκαεννεανυλορεσορκινόλης.....	55
Σχήμα 16: Σύνθεση των 5-n-αλκυλορεσορκινολών, n=16 (18AR), n=17 (19AR), n=19 (21AR).....	56
Σχήμα 17: 5-n-Αλκυλορεσορκινολές 115 και νέα παράγωγα 116.....	57
Σχήμα 18: Σύνθεση παραγώγων AR. a) κλειστό δοχείο: MW, 0,1M K ₂ CO ₃ , 100–150 °C, 100-150 W, 4-9 bar, 66-81% b) ανοιχτό δοχείο: MW, 0,1M K ₂ CO ₃ , 80 °C, 50–150W, 89% c) 9-BBN, K ₃ PO ₄ , Pd(PPh ₃) ₄ , I-(CH ₂) ₁₀ COOMe, 26% d) H ₂ , Pd/C, CH ₂ Cl ₂ , 90-91% e) HBr, αναρροή, 77-79%.....	58
Σχήμα 19: Σύνθεση 5-n-AR και παραγώγων. a) PPh ₃ , τολουόλιο, αναρροή, 79-87% b) ανοιχτό δοχείο: MW, DMSO/H ₂ O 10:1, K ₂ CO ₃ , 130-150 °C, 150 W, 65-81% c) H ₂ , Pd /C, CH ₂ Cl ₂ , 90-97 d) BBr ₃ , 80-84%.....	59
Σχήμα 20: Σύνθεση αναλόγων 5-n-αλκ(εν)υλορεσορκινολών (1-15).Αντιδραστήρια και συνθήκες:(i) PPh ₃ , τολουόλιο, αναρροή, 18h (ii) K ₂ CO ₃ , DMSO/H ₂ O (10:1), 130° C, 18h (iii) Pd/C (10%), CHCl ₃ /MeOH (1:1), rt, 18h (iv) BBr ₃ , DCM, 0° C έως rt, 18h.....	61
Σχήμα 21: Ρετροσυνθετική ανάλυση για τη σύνθεση ARs.....	63
Σχήμα 22: Πορεία σύνθεσης 5-επτυλορεσορκινόλης (α) dry THF, n-BuLi, r.t., 16h, (β) H ₂ (10% Pd/C), απόλυτη αιθανόλη, DCM, r.t., 16h (γ) BBr ₃ , dry CH ₂ Cl ₂ , 25 °C, 2h.....	64
Σχήμα 23: Πορεία σύνθεσης 5-δεκαεπτανυλορεσορκινόλης (α) dry THF, n-BuLi, r.t., 16h, (β) H ₂ (10% Pd/C), απόλυτη αιθανόλη, DCM, r.t., 16h (γ) BBr ₃ , dry CH ₂ Cl ₂ , 25 °C, 2h.....	64
Σχήμα 24: Πορεία σύνθεσης 3-(3,5-διϋδροξυφαινυλο) προπανοϊκού οξέος (α) dry THF, αναρροή, 16h, (β) H ₂ (10% Pd/C), απόλυτη αιθανόλη, DCM, r.t., 16h (γ) BBr ₃ , dry CH ₂ Cl ₂ , 25 °C, 2h.....	65
Σχήμα 25: Μηχανισμός σύνθεσης υλιδίου.....	66
Σχήμα 26: Μηχανισμός αντίδρασης Wittig.....	67

Σχήμα 27: Διαστερεοεκλεκτικότητα μη σταθεροποιημένου υλιδίου στην αντίδραση Wittig.....	67
Σχήμα 28: Διαστερεοεκλεκτικότητα σταθεροποιημένου υλιδίου στην αντίδραση Wittig.....	68
Σχήμα 29: Ρετροσυνθετική ανάλυση για τη σύνθεση μονοεστέρων δικαρβοξυλικών οξέων.....	69
Σχήμα 30: Πορεία σύνθεσης μονομεθυλεστέρα του 1,8-οκτανοδιοϊκού οξέος (α) MeOH, H ₂ SO ₄ , αναρροή, 16h, (β) KOH (1.0 eq), MeOH, r.t., 4h.....	69
Σχήμα 31: Πορεία σύνθεσης μονομεθυλεστέρα του 1,9-εννεανοδιοϊκού οξέος (α) MeOH, H ₂ SO ₄ , αναρροή, 16h, (β) KOH (1.0 eq), MeOH, r.t., 4h.....	70
Σχήμα 32: Φάσμα ¹ H NMR του MG17 (148) (CDCl ₃ , 200MHz).....	71
Σχήμα 33: Φάσμα ¹³ C NMR του MG17 (148) (CDCl ₃ , 50MHz).....	72
Σχήμα 34: Φάσμα ¹ H NMR του MG23 (152) (CDCl ₃ , 200MHz).....	73
Σχήμα 35: Φάσμα ¹³ C NMR του MG23 (152) (CDCl ₃ , 50MHz).....	74
Σχήμα 36: Φάσμα ¹ H NMR του MG26 (157) (CD ₃ OD, 200MHz).....	75
Σχήμα 37: Φάσμα ¹³ C NMR του MG26 (157) (CD ₃ OD, 50MHz).....	76

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Γενική δομή και διατροφικές πηγές αλκυλορεσορκινολών ($R = n$ -άλκυλο ή n -αλκένυλο αλυσίδα).....	22
Εικόνα 2: Μικροσκοπική ανάλυση εγκάρσιας κρυστομής κόκκου σίκαλης βαμμένης με Fast Blue B. Οι ARs εμφανίζονται με βιολετί χρώμα.....	28
Εικόνα 3: Φάσμα πλήρους σάρωσης της ένωσης MG17 στον θετικό ιοντισμό.....	78
Εικόνα 4: Φάσμα πλήρους σάρωσης της ένωσης MG23 στον θετικό ιοντισμό.....	78
Εικόνα 5: Φάσμα πλήρους σάρωσης της ένωσης MG17 στον αρνητικό ιοντισμό.....	79
Εικόνα 6: Φάσμα MS/MS της ένωσης MG17 στον αρνητικό ιοντισμό.....	79
Εικόνα 7: Προτεινόμενη θραυσματοποίηση της ένωσης MG17 στον αρνητικό ιοντισμό.....	80
Εικόνα 8: Φάσμα πλήρους σάρωσης της ένωσης MG23 στον αρνητικό ιοντισμό.....	81
Εικόνα 9: Φάσμα MS/MS της ένωσης MG23 στον αρνητικό ιοντισμό.....	81
Εικόνα 10: Προτεινόμενη θραυσματοποίηση της ένωσης MG23 στον αρνητικό ιοντισμό.....	82
Εικόνα 11: Φάσμα πλήρους σάρωσης της ένωσης εικοσιενυλορεσορκινόλης στον αρνητικό ιοντισμό.....	83
Εικόνα 12: Φάσμα MS/MS της εικοσιενυλορεσορκινόλης στον αρνητικό ιοντισμό.....	83
Εικόνα 13: Προτεινόμενη θραυσματοποίηση της εικοσιενυλορεσορκινόλης στον αρνητικό ιοντισμό.....	84
Εικόνα 14: Χρωματογράφημα μείγματος των αλκυλορεσορκινολών MG17, MG23 και εικοσιενυλορεσορκινόλης.....	85
Εικόνα 15: Καμπύλες αναφοράς για τις ενώσεις Α) MG17, Β) MG23 και Γ) εικοσιενυλορεσορκινόλη.....	86

Εικόνα 16: Χρωματογράφημα LC-HRMS της εικοσιενυλορεσορκινόλης....	88
Εικόνα 17: Χρωματογράφημα LC-HRMS της ένωσης MG23.....	89
Εικόνα 18: Χρωματογράφημα LC-HRMS της ένωσης MG17.....	90

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Δομές και ιδιότητες 5-η-αλκυλο-ρεσορκινολών, 5-αλκενυλο-ρεσορκινολών, 5-οξοαλκυλο-ρεσορκινολών, 5-οξοαλκενυλο-ρεσορκινολών και 5-υδροξυαλκενυλο-ρεσορκινολών που απομονώθηκαν από το σιτάρι και τη σίκαλη ¹⁷	26
Πίνακας 2: Εύρος περιεκτικότητας σε αλκυλορεσορκινόλες και αναλογία C17:0/C21:0 σε δημητριακά που χρησιμοποιούνται συνήθως για ανθρώπινη κατανάλωση.....	28
Πίνακας 3: Περιεκτικότητα σε ARs και αναλογία AR C17:0/C21:0 που προσδιορίζονται με αναλυτικές μεθόδους σε κλάσματα δημητριακών και δείγματα τροφίμων.....	30
Πίνακας 4: Ρεσορκινολικά παράγωγα και η κυτταροτοξικότητα τους προς τα κύτταρα KB.....	52
Πίνακας 5: Ρεσορκινολικά παράγωγα και η κυτταροτοξικότητα τους προς τα κύτταρα KB.....	52
Πίνακας 6: Κυτταροτοξικότητα της ένωσης 78 προς σειρές καρκινικών κυττάρων [in vitro, ED50 (μg/ml)].....	53
Πίνακας 7: Αντιδράσεις Wittig που πραγματοποιήθηκαν σε 0,1M K ₂ CO ₃ ή DMSO/H ₂ O.....	59
Πίνακας 8: %R και %RSD σε δείγμα ορού αίματος.....	87
Πίνακας 9: Πίνακας ορολογίας με τις αντιστοιχίσεις των ελληνικών και ξενόγλωσσων όρων.....	106

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Το παρόν μεταπτυχιακό εκπονήθηκε στον τομέα Οργανικής Χημείας, του τμήματος Χημείας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών. Η οργανική σύνθεση ήταν ένα πεδίο της Χημείας που με ενδιέφερε από την αρχή των φοιτητικών μου χρόνων. Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή μου κ. Γεώργιο Κόκοτο, για την ευκαιρία που μου έδωσε να ασχοληθώ με το αντικείμενο της οργανικής σύνθεσης. Στον Καθηγητή μου οφείλω απεριόριστη ευγνωμοσύνη για την επίμονη και συνεχή επίβλεψή του στην εκπόνηση του παρόντος μεταπτυχιακού, για τις ανεκτίμητες γνώσεις που υπομονετικά μου μετέδωσε στο ευρύ πεδίο της οργανικής σύνθεσης και γιατί με έμαθε να αγαπώ την επιστήμη μου και να θέλω να προσφέρω κι εγώ ως αναδυόμενος επιστήμονας.

Οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ στους συνεπιβλέποντες Καθηγητές της Τριμελούς μου Επιτροπής που με τίμησαν με την συμμετοχή τους στην Επιτροπή. Ευχαριστώ θερμά την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια κ. Βικτώρια Μαγκριώτη για τη διαρκή επιστημονική καθοδήγηση και την αμέριστη παιδαγωγική της στήριξη. Θα ήθελα, επίσης, να ευχαριστήσω τον συνεπιβλέποντα Καθηγητή κ. Αθανάσιο Γκιμήση για τις επιστημονικές του υποδείξεις και για την προθυμία του να με συνδράμει στην αναζήτηση βιβλιογραφικού υλικού καθ' όλη τη μεταπτυχιακή μου φοίτηση.

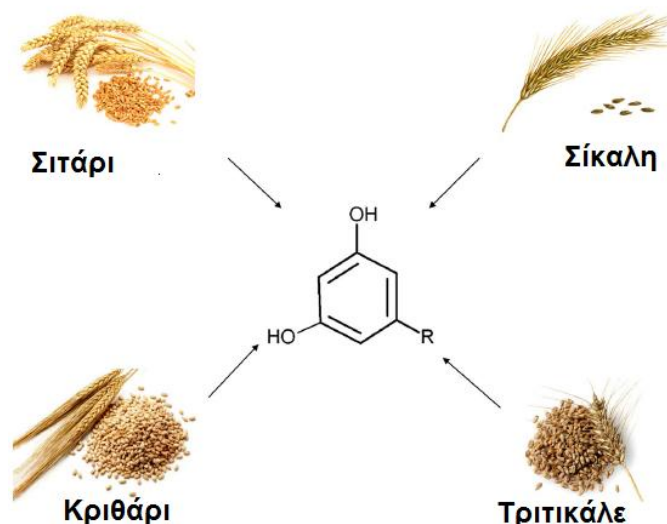
Ιδιαίτερες ευχαριστίες θέλω να απευθύνω στον διδάκτορα Γεώργιο Κουτουλογένη για τη βοήθειά καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης του μεταπτυχιακού καθώς και την Επίκουρη Καθηγήτρια Μαρούλα Κόκοτου και την διδάκτορα Χριστιάνα Μαντζουράνη που πρόθυμα με συνδράμανε με την επιστημονική τους γνώση και εμπειρία. Τέλος, οφείλω να ευχαριστήσω την οικογένεια μου για την υποστήριξη που μου παρείχε καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης και της συγγραφής του μεταπτυχιακού.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΑΛΚΥΛΟΡΕΣΟΡΚΙΝΟΛΕΣ

1.1 Εισαγωγή

Τα τελευταία χρόνια έχει αυξηθεί σημαντικά το ερευνητικό ενδιαφέρον στο τομέα των λειτουργικών τροφίμων για τα προϊόντα ολικής αλέσεως. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον λαμβάνει η κατηγορία των φυσικών ενώσεων που ονομάζονται φαινολικά λιπίδια, γνωστά και ως αλκυλο-ρεσορκινόλες (ARs), που εντοπίζονται στα δημητριακά ολικής αλέσεως (Εικόνα 1) [1]. Έχει αναφερθεί ένα ευρύ φάσμα βιολογικών ιδιοτήτων των ARs, συμπεριλαμβανομένων αντιμικροβιακών, αντιοξειδωτικών καθώς και δραστηριότητας ενάντια στις μεταλλάξεις. Επιδημιολογικά στοιχεία δείχνουν ότι η κατανάλωση δημητριακών ολικής αλέσεως συνδέεται με θετικά οφέλη για την υγεία, όπως μειωμένος κίνδυνος παχυσαρκίας και υπέρβαρης σωματικής κατάστασης, στεφανιαίας νόσου, διαβήτη και ορισμένων τύπων καρκίνου. Ο πιθανός ρόλος των αλκυλορεσορκινολών από σιτηρά ολικής αλέσεως για πρόληψη και αναστολή καρκίνου έχει αναφερθεί σε μελέτες παρατήρησης και σε *in vitro* μελέτες. Ωστόσο, είναι αναγκαίες οι περαιτέρω μελέτες για τη προληπτική τους δράση, καθώς τα δημητριακά ολικής αλέσεως εκτός από τα φαινολικά λιπίδια περιέχουν μεγάλο αριθμό άλλων συστατικών (π.χ. φυτικές ίνες, αμινοξέα, λιγνίνη, ολιγοσακχαρίτες, μέταλλα, βιταμίνες), πολυφαινόλες (π.χ. φαινολικά οξέα, φλαβονοειδή, λιγνάνες), φυτοστερόλες, μελατονίνη και άλλες βιοδραστικές ενώσεις. Κάθε μία από αυτές τις ενώσεις εμφανίζει βιολογικές δράσεις, οι οποίες αναφέρονται συχνά στη βιβλιογραφία ότι δρούν προστατευτικά για την υγεία. Λαμβάνοντας υπ' όψιν όλα αυτά, ο κύριος στόχος των μελετών είναι να αξιολογηθεί και να παρουσιαστεί η τρέχουσα απόδειξη που σχετίζεται με τις ARs και τον κίνδυνο καρκίνου, αλλά και γενικότερα να επισημανθούν ορισμένες πτυχές των βιολογικών δράσεων των ARs.



Εικόνα 1: Γενική δομή και διατροφικές πηγές αλκυλορεσορκινολών (R = n-άλκυλο ή n-αλκένυλο αλυσίδα).

1.2 Δομή και παρουσία των αλκυλορεσορκινολών

Οι ενώσεις που ανήκουν σε αυτή τη μεγάλη ομάδα φαινολικών ενώσεων, τα 1,3-διϋδροξυ-5-n-αλκυλοβενζόλια (περίπου 150 φυσικά απαντώμενες ARs) αποτελούνται από έναν απλό φαινολικό δακτύλιο με δύο υδροξυλομάδες (OH) στη μετα-θέση και αλκυλική πλευρική αλυσίδα (R) περιπτώς αριθμού ανθράκων, η οποία μπορεί να περιέχει από 13 μέχρι 27 άτομα άνθρακα, με πιο συνηθισμένα C15-C25, στη θέση 5C στον δακτύλιο βενζολίου [1]. Εκτός από τις διαφορές στο μήκος της αλυσίδας, ορισμένες ARs έχουν μια τροποποιημένη αλκυλική αλυσίδα που μπορεί να είναι κορεσμένη, μονο-, δι- και τρι-ακόρεστη [2] ή μπορεί να έχουν κετο-ομάδα ή υδροξυλομάδα υποκατεστημένη στην αλκυλική αλυσίδα [1, 3, 4]. Ακόρεστες ARs έχουν συνήθως διπλούς δεσμούς στις θέσεις C₈, C₁₁ και C₁₄, παρόμοια με τα ακόρεστα C₁₈ λιπαρά οξέα. Λόγω της έλλειψης συστηματικού τρόπου ονομασίας διαφορετικών ομολόγων, οι ARs ονομάζονται βάσει του μήκους της αλυσίδας τους και του βαθμού ακορεστότητας, παρόμοια με τον τρόπο ονοματολογίας των λιπαρών οξέων. Έτσι μια AR με μια κορεσμένη αλυσίδα δεκαεννέα ατόμων άνθρακα αναφέρεται ως C19:0 και μια AR με μια αλυσίδα δεκαεννέα ατόμων άνθρακα και έναν διπλό δεσμό στην αλκυλική αλυσίδα ονομάζεται C19:1. Υπάρχουν και άλλοι τύποι ARs στη φύση, κυρίως 4-n-ARs και αναφέρονται να έχουν αντιμικροβιακή δραστηριότητα και να μπορούν να αναστείλουν την αμαύρωση σε μερικά τρόφιμα [5]. Αυτές οι ενώσεις δεν

απαντώνται φυσικά σε υψηλά επίπεδα στα τρόφιμα. Η υδρογονανθρακική αλυσίδα μπορεί να περιέχει δύο διπλούς δεσμούς μεταξύ ατόμων άνθρακα, κετόνων και υδροξυλομάδων.

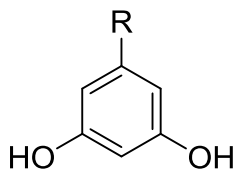
Η χημική δομή και το μήκος των αλυσίδων εξαρτώνται από τη βιολογική προέλευση των ARs. Ακολουθούν οι πέντε κύριες κατηγορίες των ARs που έχουν εντοπιστεί σε ολικής αλέσεως σιτάρι και σίκαλη: 5-n-αλκυλορεσορκινόλες, 5-αλκενυλο-ρεσορκινόλες, 5-οξοαλκυλο-ρεσορκινόλες, 5-οξοαλκενυλο-ρεσορκινόλες και 5-υδροξυαλκενυλο-ρεσορκινόλες (Σχήμα 1, Πίνακας 1) [6, 7, 8, 9]. Οι αλκενυλορεσορκινόλες, δηλαδή τα φαινολικά λιπίδια με ακόρεστες πλευρικές αλυσίδες υδρογονανθράκων, απαρτίζουν περίπου το 20% της συνολικής ποσότητας των ARs και εντοπίζονται σε ψωμί σίκαλης, όπου έχουν ταυτοποιηθεί και ποσοτικοποιηθεί. Οι ARs υπάρχουν σε πολλές οικογένειες φυτών, σε μερικά βακτήρια, μύκητες, φύκια και θαλάσσια σφουγγάρια. Οι 5-n-αλκυλορεσορκινόλες με διαφορετικά μήκη αλυσίδας εμφανίζονται στις οικογένειες φυτών *Anacardiaceae*, *Ginkgoaceae*, *Graminae*, *Proteaceae* και *Myrsinaceae* [4]. Επίσης οι 5-n-αλκυλορεσορκινόλες και τα παράγωγά τους εντοπίζονται στους προκαρυωτικούς οργανισμούς *Azotobacter vinelandii*, *Azotobacter chroococcum*, *Mycobacterium leprae* και σε αρκετά είδη *Streptomyces*. Οι 5-n-εικοσιενυλο-ρεσορκινόλη και 5-n-δεκαεννεανυλο-ρεσορκινόλη έχουν απομονωθεί από το *A. Chroococcum* [5, 10]. Το *A. vinelandii* μπορεί να σχηματίζει κύστες και χαλαρά κύτταρα που είναι αρκετά ανθεκτικά σε διάφορους χημικούς και φυσικούς παράγοντες. Σε αυτές τις κύστες μόνο το 5% των συνολικών λιπιδίων είναι φωσfolιπίδια. Όλα τα άλλα λιπίδια ανήκουν στην οικογένεια των 5-n-αλκυλορεσορκινολών (76% των συνολικών λιπιδίων) και των 6-n-αλκυλοπυρονών (19% των συνολικών λιπιδίων) [11, 12]. Υποστηρίχθηκε ότι αυτά τα λιπίδια πρέπει να είναι η κύρια αιτία της μεγάλης αντοχής των κυστών στους φυσικούς και χημικούς παράγοντες. Ο Reusch και ο Sadoff [11] υπέθεσαν ότι αυτό σχετίζεται με τα δομικά χαρακτηριστικά των 5-n-αλκυλορεσορκινολών και προτείνουν ότι οι κεφαλές τους μπορεί να τοποθετούνται σε μια εξαγωνική συμμετρία σταθεροποιούμενη από τους δεσμούς υδρογόνου μεταξύ των κατάλοιπων ρεσορκινόλης. Τα τελευταία χρόνια έχουν διεξαχθεί πειράματα όπου

χρησιμοποιήθηκαν φυσικές ρεσορκινόλες για να ελεγχθεί η επίδραση αυτών των ενώσεων στη συμπεριφορά των λιπιδικών μονοεπίπεδων στρωμάτων και διπλοστοιβάδων. Οι Kozubek και Demel εξέτασαν τη διαπερατότητα των διπλοστοιβάδων που σχηματίζονται από τις 5-n-αλκυλορεσορκινόλες της σίκαλης [13]. Εξετάστηκαν επίσης μονοεπίπεδα στρώματα των ARs και εναιωρήματα αυτών των ενώσεων με DSC και ^{31}P -NMR [14]. Επίσης έχει διερευνηθεί η επίδραση των 5-n-δεκαεννεανυλο-ρεσορκινόλης και 5-n-δεκαεννεκενυλο-ρεσορκινόλης στη κινητικότητα των περιστρεφόμενων ανιχνευτών λιπαρών οξέων στα λιποσώματα και στην ερυθροκυτταρική μεμβράνη [15]. Ο Bitkon και οι συνεργάτες του μελετήσανε τις ηλεκτρικές ιδιότητες και τη σταθερότητα των μεμβρανών των 5-n-αλκυλορεσορκινολών με μήκη αλυσίδας από C19 έως C25, απομονωμένες από το γένος *Azotobacter* [16]. Συνολικά, ωστόσο, οι πληροφορίες σχετικά με τη δομική συμπεριφορά αυτών των παραγώγων ρεσορκινόλης είναι ακόμη υπό διερεύνηση.

Στα φυτικές τροφές οι ARs βρίσκονται είτε στα δημητριακά ολικής αλέσεως είτε στα κλάσματα πίτουρου: κατανέμονται στην εξωτερική στιβάδα του περιβλήματος και στην εσωτερική στιβάδα του περικαρπίου της σίκαλης, του κόκκου σιταριού, και σε μικρότερες ποσότητες του κριθαριού. Διαφορετικά είδη δημητριακών καλλιεργούνται σε διαφορετικές χώρες, ανάλογα με τις κλιματολογικές συνθήκες. Σε περιοχές με ψυχρή θερμοκρασία και κακής ποιότητας εδάφη, η σίκαλη είναι ένας σημαντικός καρπός δημητριακού, παρόλο που η καλλιέργεια σίκαλης αποτελεί μόλις το 3% της παγκόσμιας παραγωγής συγκριτικά με τη καλλιέργεια σιταριού. Οι περιεχόμενες ARs, η χημική δομή και οι αναλογίες ομολόγων διαφέρουν μεταξύ των διάφορων καρπών δημητριακών και εξαρτώνται από πολλούς περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως τη γεωγραφική περιοχή, τη σύνθεση του εδάφους, τη γονιμοποίηση των φυτών και τη καλλιέργεια [1]. Οι ARs υπάρχουν κυρίως στον εξωτερικό φλοιό των προϊόντων ολικής αλέσεως από σιτάρι και σίκαλη σε υψηλές συγκεντρώσεις (200–4000 μg ανά γραμμάριο ξηρού βάρους) και σε χαμηλή συγκέντρωση σε ραφινάρισμένο (λευκό επεξεργασμένο) αλεύρι και στα προϊόντα του (40-280 μg ανά γραμμάριο ξηρού βάρους). Οι ARs προτείνονται ως έγκυροι βιοδείκτες κατανάλωσης ολικής αλέσεως σιταριού και

σίκαλης από καρπούς δημητριακών που αποτελούν την κύρια καλλιέργεια τροφίμων για τον άνθρωπο. Η συγκέντρωση των ARs εξαρτάται από το είδος του σιτηρού. Για παράδειγμα, η σίκαλη περιέχει περίπου 797–1231 $\mu\text{g} / \text{g}$ ξηρού βάρους, το σιτάρι 220-650 $\mu\text{g} / \text{g}$ ξηρού βάρους και το κριθάρι 40–110 $\mu\text{g} / \text{g}$ ξηρού βάρους. Σχετικά υψηλή εμφανίζεται η συγκέντρωση των ARs (489–1429 $\mu\text{g} / \text{g}$ ξηρού βάρους) σε πίτουρο σίτου, του οποίου η ανθρώπινη κατανάλωση έχει αυξηθεί σημαντικά με την πάροδο των ετών. Μεταξύ των καρπών δημητριακών όπως η σίκαλη, το μαλακό σιτάρι και το σκληρό σιτάρι, η σίκαλη είναι πλουσιότερη σε ARs. Οι αλκυλορεσορκινόλες των δημητριακών είναι ελάχιστα διαλυτές στο νερό, κυρίως διαλυτές σε μεθανόλη (περιορισμένη διαλυτότητα όταν $R > 19$), και διαλυτές σε αιθανόλη, ακετόνη, οξικό αιθυλεστέρα, εξάνιο, προπανόλη, διχλωρομεθάνιο και χλωροφόρμιο.

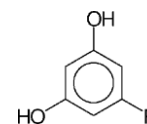
Σχήμα 1: Δομή και ιδιότητες αλκυλορεσορκινολών που βρίσκονται στο κριθάρι, τη σίκαλη, το τριτικάλε και το σιτάρι.



R*	Αλκυλορεσορκινόλη	CAS Number	Μοριακό Βάρος	Log P
C ₁₅ H ₃₁	5-η-Δεκαπεντυλορεσορκινόλη, καρδόλη (C15:0)	3158-56-3	320	8.5
C ₁₇ H ₃₅	5-η-Δεκαεπτανυλορεσορκινόλη (C17:0)	41442-57-3	348	9.4
C ₁₉ H ₃₉	5-η-Δεκαεννεανυλορεσορκινόλη (C19:0)	35176-46-6	376	10.4
C ₂₁ H ₄₃	5-η-Εικοσιενυλορεσορκινόλη (C21:0)	70110-69-7	404	11.4
C ₂₃ H ₄₇	5-η-Εικοσιτριυλορεσορκινόλη (C23:0)	70110-60-0	432	12.4
C ₂₅ H ₅₁	5-η-Εικοσιπεντυλορεσορκινόλη (C25:0)	70110-61-1	460	13.4

* Ακόρεστα και οξυγονωμένα ανάλογα αλυσίδων βρίσκονται επίσης στα δημητριακά.

Πίνακας 1: Δομές και ιδιότητες 5-n-αλκυλο-ρεσορκινολών, 5-αλκενυλο-ρεσορκινολών, 5-οξοαλκυλο-ρεσορκινολών, 5-οξοαλκενυλο-ρεσορκινολών και 5-υδροξυαλκενυλο-ρεσορκινολών που απομονώθηκαν από το σιτάρι και τη σίκαλη.¹⁷



Παράγωγα Αλκυλορεσορκινολών (R)	Δομή	Μοριακό Βάρος(Da)	Ισομερή(Θέση του διπλού δεσμού)
5-n- Αλκυλορεσορκινόλες			
C17:0	5-n-Δεκαεπτανυλορεσορκινόλη	348	–
C19:0	5-n-Δεκαεννεανυλορεσορκινόλη	376	–
C21:0	5-n-Εικοσιενυλορεσορκινόλη	404	–
C23:0	5-n-Εικοσιτριυλορεσορκινόλη	432	–
C25:0	5-n-Εικοσιπεντυλορεσορκινόλη	460	–
5-Αλκενυλορεσορκινόλες			
C17:1	5-(Δεκαεπτακενυλο)-ρεσορκινόλη	346	8Z, 10Z, 12Z
C19:1	5-(Δεκαεννεκενυλο)-ρεσορκινόλη	374	10Z, 12Z, 14Z
C21:1	5-(Εικοσιενεύλο)-ρεσορκινόλη	402	12Z, 14Z, 16Z
C23:1	5-(Εικοσιτριενυλο)-ρεσορκινόλη	430	14Z, 16Z, 18Z
C25:1	5-(Εικοσιπεντενυλο)-ρεσορκινόλη	458	16Z, 18Z, 20Z
C19:2	5-(Δεκαεννε-10Z,13Z-διενυλο)-ρεσορκινόλη	372	–
C21:2	5-(Εικοσιενο-12Z,15Z-διενυλο)-ρεσορκινόλη	400	–
C23:2	5-(Εικοσιτρι-14Z,17Z-διενυλο)-ρεσορκινόλη	428	–
C25:2	5-(Εικοσιπεντε-16Z,19Z-διενυλο)-ρεσορκινόλη	456	–
5-Οξοαλκυλορεσορκινόλες			
C19:Οξο	5-(2-Οξοδεκαεννεανυλο)-ρεσορκινόλη	390	–
C21:Οξο	5-(2-Οξοεικοσιενοανυλο)-ρεσορκινόλη	418	–
C23:Οξο	5-(2-Οξοεικοσιτριανυλο)-ρεσορκινόλη	446	–
C25:Οξο	5-(2-Οξοεικοσιπεντανυλο)-ρεσορκινόλη	474	–
5-Οξοαλκενυλορεσορκινόλες			
C19:1, Οξο	5-(2-Οξοδεκαεννεκενυλο)-ρεσορκινόλη	388	10Z, 12Z, 14Z
C21:1, Οξο	5-(2-Οξοεικοσιενοενυλο)-ρεσορκινόλη	416	12Z, 14Z, 16Z
C23:1, Οξο	5-(2-Οξοεικοσιτριενυλο)-ρεσορκινόλη	444	14Z, 16Z, 18Z
C25:1, Οξο	5-(2-Οξοεικοσιπεντενυλο)-ρεσορκινόλη	472	16Z, 18Z, 20Z
C19:2, Οξο	5-(2-Οξο,10Z,13Z-δεκαεννεδιενυλο)-ρεσορκινόλη	386	–
C21:2, Οξο	5-(2-Οξο,12Z,15Z-εικοσιενενυλο)-ρεσορκινόλη	414	–
C23:2, Οξο	5-(2-Οξο,14Z,17Z-εικοσιτριδιενυλο)-ρεσορκινόλη	442	–
C25:2, Οξο	5-(2-Οξο,16Z,19Z-εικοσιπενταδιενυλο)-ρεσορκινόλη	470	–
5-Υδροξυαλκενυλορεσορκινόλες			
C19:1, Υδροξυ	5-(2-Υδροξυδεκαεννεκενυλο)-ρεσορκινόλη	390	10Z, 12Z, 14Z
C21:1, Υδροξυ	5-(2-Υδροξυεικοσιενοενυλο)-ρεσορκινόλη	418	12Z, 14Z, 16Z
C21:1, Υδροξυ	5-(4-Υδροξυεικοσιενοενυλο)-ρεσορκινόλη	418	12Z, 14Z, 16Z
C23:1, Υδροξυ	5-(4-Υδροξυεικοσιτριενυλο)-ρεσορκινόλη	446	14Z, 16Z, 18Z
C25:1, Υδροξυ	5-(4-Υδροξυεικοσιπεντενυλο)-ρεσορκινόλη	474	16Z, 18Z, 20Z
C21:2, Υδροξυ	5-(4-Υδροξυ,12Z,15Z-εικοσιενενυλο)-ρεσορκινόλη	416	–
C23:2, Υδροξυ	5-(4-Υδροξυ,14Z,17Z-εικοσιτριδιενυλο)-ρεσορκινόλη	444	–

1.3 Επίπεδα αλκυλορεσορκινολών στους διάφορους δημητριακούς καρπούς

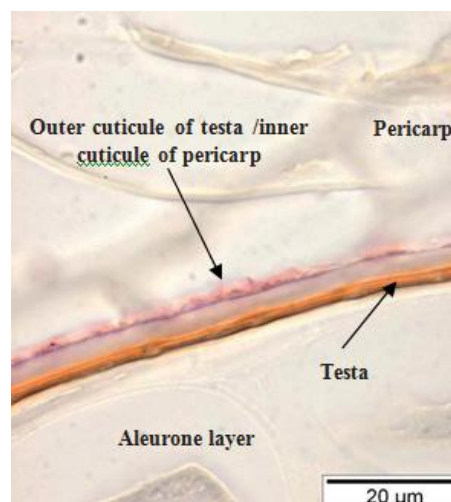
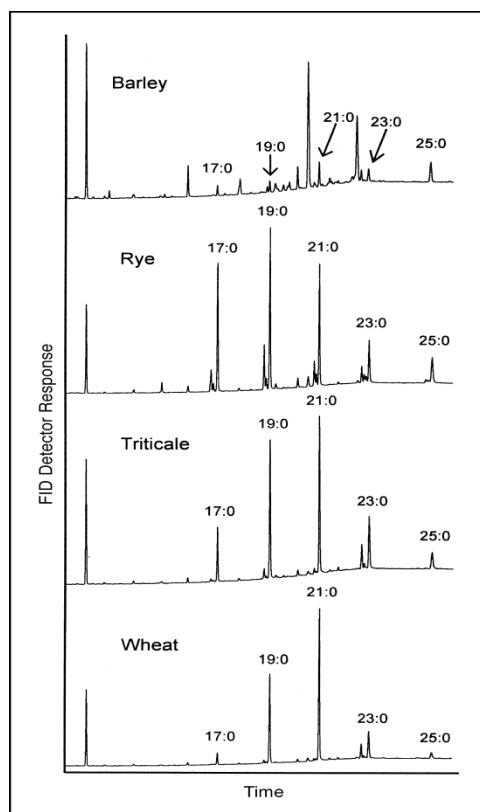
Μεταξύ των φυτών που χρησιμοποιούνται συνήθως για ανθρώπινη κατανάλωση, οι ARs βρίσκονται σε υψηλές ποσότητες στη σίκαλη (*Secale cereale*), στο μαλακό σιτάρι (*Triticum aestivum*), στο μονόκοκκο σιτάρι (*Triticum monococcum*), στο δίκοκκο σιτάρι (*Triticum dicoccon*), στην όλυρα (*Triticum spelta*) και στο σκληρό σιτάρι (*Triticum durum*) [18, 19, 20, 21, 22] και σε μικρότερες ποσότητες στο κριθάρι (*Hordeum vulgare*) [23, 24]

(Πίνακας 2). Μικρές ποσότητες (<5μg/g) έχουν επίσης αναφερθεί στο καλαμπόκι (*Zea mays*) [25]. Το καλαμπόκι περιέχει πολύ μικρές ποσότητες ορκινόλης (C1: 0) στο κερύ του περικαρπίου. Έχουν εντοπιστεί μικρές ποσότητες ARs στα μπιζέλια (*Pisum sativum*) (όχι σιτηρό) [26]. Οι Zarnowski και Kozubek [27] ανέφεραν μικρές ποσότητες ARs στο περικάρπιο και στη κοτυληδόνα ποικιλιών μπιζελιού (*Pisum sativum*), αν και οι ποσότητες σε λευκά εδώδιμα μπιζέλια ήταν πολύ χαμηλές (0,5– 0,15 μg/g ξηρού βάρους). Το περιεχόμενο ποικίλλει μεταξύ των ίδιων ειδών, των διαφορετικών ειδών αλλά η σχετική κατανομή ομολόγου είναι μάλλον σταθερή στα είδη [28]. Η αναλογία AR C17:0/ C21:0 έχει προταθεί ως εργαλείο διάκρισης μεταξύ των διαφορετικών δημητριακών αφού η αναλογία είναι $\approx 1,0$ για τη σίκαλη, $\approx 0,1$ για μαλακό σιτάρι και $\approx 0,01$ για σκληρό σιτάρι [29]. Το σιτάρι και η σίκαλη διαφέρουν στις αναλογίες διαφορετικών ομολόγων ARs. Περίπου το 90 έως 95% των ARs του σίτου έχουν κορεσμένη αλυσίδα αλκυλίου με μήκος αλυσίδας μεταξύ 17 και 25 ανθράκων, με τη C21:0 να υπάρχει στη μεγαλύτερη αναλογία (Σχήμα 2). Η σχετική σύσταση των ARs ομολόγων στη σίκαλη έχει αναφερθεί ότι είναι 21-28% C17:0, 30-35% C19:0, 21-28% C21:0, 8-12% C23:0 και 6-12% C25:0. Η σίκαλη έχει ARs με μήκη αλυσίδας μεταξύ 15 και 25 ανθράκων, με τη C19:0 να είναι το κυρίαρχο ομόλογο. Μικρές ποσότητες C27: 0 έχουν επίσης αναφερθεί στη σίκαλη και το κριθάρι. Περίπου το 15% έως 20% των ARs που εντοπίζονται στη σίκαλη έχουν τροποποιημένες αλκυλικές αλυσίδες. Η ταυτότητα αυτών των μικρών ομολόγων ARs δεν είναι σίγουρη. Έχουν προταθεί ότι είναι είτε ακόρεστα παράγωγα, [30] είτε κέτο παράγωγα και παράγωγα υδροξυλίου [31]. Οι ARs βρίσκονται επίσης στους βλαστούς των φυτών ρυζιού [32, 33], στο λατέξ και στη φλούδα του μάνγκο [34], στο υγρό του κελύφους των κάσιους (C15:0, C15:1, C15:2, C15:3) [35], αλλά όχι σε κόκκους ρυζιού, ή στο βρώσιμο μέρος του φρούτου μάνγκο, και μόνο αμελητέες ποσότητες βρέθηκαν σε κάσιους (<5 μg/g) [35]. Οι C15:0 και C17:0 έχουν βρεθεί σε πολτό φρούτων και εκχυλίσματα φύλλων του *Ginkgo biloba* L., ένα φυτό που χρησιμοποιείται συχνά στην εναλλακτική ιατρική αλλά όχι ως φαγητό [36]. Παράγωγα ARs (κιχοριόλες) βρέθηκαν πρόσφατα στο κρητικό φυτό σαλάτας *Cichorium spinosum* [37], το οποίο αυξάνει την πιθανότητα ότι οι ARs και/ή τα παράγωγά τους είναι ευρύτερα διαδεδομένα από ότι αρχικά εικαζόταν. Είναι πιθανό ότι η

διακύμανση της περιεκτικότητας σε ARs στα δημητριακά εξαρτάται από ένα συνδυασμό γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων [38], αν και η επίδραση αυτών των παραγόντων δεν έχει ελεγχθεί διεξοδικά. Επιπλέον, ομόλογα ARs με άρτιο αριθμό (C18:0, C22:0 και C24:0) εντοπίστηκαν πρόσφατα στην κινόα (*Chenopodium quinoa*).

Πίνακας 2: Εύρος περιεκτικότητας σε αλκυλορεσορκινόλες και αναλογία C17:0/C21:0 σε δημητριακά που χρησιμοποιούνται συνήθως για ανθρώπινη κατανάλωση.

Δημητριακό	Εύρος (μg/g DM)	AR C17:0/C21:0 ratio	Αναφορές
Σίκαλη (<i>Secale cereale</i>)	568-1231	0,80-1,30	[19, 20, 22, 39, 40]
Μαλακό σιτάρι (<i>Triticum aestivum</i>)	300-943	0,09-0,24	[18, 19, 39, 41]
Σκληρό σιτάρι (<i>Triticum durum</i>)	194-687	0,01-0,02	[18, 28]
Μονόκοκκο σιτάρι (<i>Triticum monococcum</i>)	545-654	0,04	[18, 28]
Δίκοκκο σιτάρι (<i>Triticum dicoccon</i>)	531-784	0,05	[18, 28]
Ολύρα (<i>Triticum spelta</i>)	490-741	0,09-0,14	[18, 28]
Κριθάρι (<i>Hordeum vulgare</i>)	8-210	0,05-0,46	[19, 22, 24]



Εικόνα 2: Μικροσκοπική ανάλυση εγκάρσιας κρουτομήs κόκκου σίκαλης βαμμένης με Fast Blue B. Οι ARs εμφανίζονται με βιολετί χρώμα.

Σχήμα 2: Αεριοχρωματογραφία των ARs στο κριθάρι, τη σίκαλη τριτικάλε και το σιτάρι που δείχνει τις κύριες ομόλογες ARs.

1.4 Οι αλκυλορεσορκινόλες κατά την επεξεργασία των σιτηρών

Στον κόκκο δημητριακού, οι ARs βρίσκονται στα εξωτερικά μέρη του κόκκου [6, 33, 42]. Αποδείχθηκε ότι περισσότερο από 99% της περιεκτικότητας σε AR εντοπίζεται στην εξωτερική επιδερμίδα του περιβλήματος (εφυμενίδα cuticle)/εσωτερική επιδερμίδα του περικαρπίου σε δείγματα κόκκων που διαχωρίστηκαν στο χέρι (Εικόνα 2) [43]. Μετά την άλεση, το κλάσμα πίτουρου περιέχει τις υψηλότερες ποσότητες AR [39, 44]. Σε αντίθεση με τα τρόφιμα ολικής αλέσεως, τα εξευγενισμένα προϊόντα (π.χ. λευκό αλεύρι) περιέχουν μόνο ίχνη συγκεντρώσεων των ARs. Η επεξεργασία των σιτηρών (π.χ. άλεση, μαγείρεμα, ζύμωση) αλλάζει τη διατροφική αξία των δημητριακών λόγω κονιορτοποίησης του μητρικού υλικού άλεσης (καρπός) και ζελατινοποίησης των κόκκων αμύλου. Έτσι λοιπόν, λόγω της ύπαρξης των ARs, βιταμινών, μετάλλων, ιχνοστοιχείων, και αντιοξειδωτικών στα εξωτερικά μέρη του κόκκου, η τελική περιεκτικότητα σε θρεπτικά συστατικά εξαρτάται από το βαθμό στον οποίο το περίβλημα του σιτηρού αφαιρείται κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας [45]. Για παράδειγμα το ραφινάρισμα σιταριού ολικής αλέσεως μπορεί να οδηγήσει σε απώλεια περίπου 58% των ινών, 79% του ψευδαργύρου, 79% της βιταμίνης E, 83% μαγνησίου και 92% σεληνίου. Επίσης υψηλή θερμοκρασία κατά την επεξεργασία των κόκκων δημητριακών μειώνει την περιεκτικότητα σε AR στο κόκκο σιτηρού λόγω μετουσίωσης και αποικοδόμησης. Υπάρχει μεγάλη διακύμανση στις εμπεριεχόμενες ARs μεταξύ διαφορετικών προϊόντων διατροφής, η οποία καθορίζεται από το βαθμό άλεσης, εξαγωγής αλλά και από την εξαρχής φυσική διαφορετική σύσταση του σιταριού και της σίκαλης (Πίνακας 3). Παλαιότερες μέθοδοι διερεύνησης της περιεκτικότητας AR σε προϊόντα διατροφής δημητριακών πρότειναν ότι οι ARs αποικοδομούνται εν μέρει κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας, αφού ανιχνεύθηκαν χαμηλότερες ποσότητες AR στα τρόφιμα εν συγκρίσει με τα ακατέργαστα συστατικά [46, 47]. Ωστόσο, αργότερα αποδείχθηκε ότι αυτό οφείλεται στον εγκλωβισμό της AR στη μήτρα του δείγματος κατά την υδροθερμική επεξεργασία, πιθανώς ως σύμπλοκα αμυλόζης-AR παρόμοια με τα σύμπλοκα αμύλου-λιπιδίου και όχι στην αποικοδόμηση [28]. Μεγάλη ανάκτηση των ARs παρατηρήθηκε όταν ο Chen και οι συνεργάτες του το 2004 έκαναν εξαγωγή ομολόγων ARs με ποσοτική απόδοση χρησιμοποιώντας θερμή προπανόλη:νερό (3:1, v/v) για την

ανάλυση των τροφίμων και των αντίστοιχων συστατικών. Μελέτες όπου η εκχύλιση πραγματοποιήθηκε σε θερμοκρασία δωματίου είναι πιθανόν να υποεκτιμήσουν τις εμπεριεχόμενες ARs.

Πίνακας 3: Περιεκτικότητα σε ARs και αναλογία AR C17:0/C21:0 που προσδιορίζονται με αναλυτικές μεθόδους σε κλάσματα δημητριακών και δείγματα τροφίμων.

Προϊόν	Συνολική Περιεκτικότητα AR ¹ (μg/g DM)	AR C17:0/C21:0 ²	Δείγματα (n)	Αναλυτική Μέθοδος	Αναφορά
Πίτουρο Σίκαλης	2466-4100	0,9	8	Χρωματομετρία, GC, HPLC	[19, 20, 28, 39]
ΟΑ σίκαλη (γεύμα)	888-927	0,9	5	HPLC, GC	[19, 20, 28, 39]
Ραφιναρισμένη Σίκαλη	44-286	0,9	6	HPLC, GC	[19, 20]
ΟΑ ψωμί από σίκαλη	197-686	0,9-1,1	11	Χρωματομετρία, HPLC, GC	[19, 20, 39]
Φρυγανιές (σίκαλης)	490-1007	0,9-1,1	16	GC	[19, 28]
Δημητριακά Πρωινό-σίκαλης	721	-	1	HPLC	[20]
Πίτουρο σιταριού	2670-3225	0,1-0,3	3	GC, HPLC	[28,39]
ΟΑ σιτάρι	269-339	0,08-0,1	3	Χρωματομετρία, GC	[19, 20]
ΟΑ ψωμί Από σιτάρι	140-497	0.1-0,2	11	Χρωματομετρία, GC	[19, 20, 28]
ΟΑ φρυγανιές Από σιτάρι	58	-	4	GC	[19, 28]
Δημητριακά Πρωινό-σιτάρι	131-1784	0,08-0,27	5	HPLC	[19, 20]
ΟΑ μακαρόνια	215-270	0,01-0,03	5	GC	[21]
Ραφιναρισμένο Αλεύρι-σιτάρι	ND-44	-	3	GC, HPLC	[28, 39]
Ραφιναρισμένο Ψωμί από σιτάρι	ND-23	-	8	Χρωματομετρία, GC, HPLC	[19, 20, 39]
Πίτουρο βρώμης	ND	-	-	HPLC, GC	[39, 28]

¹Η συνολική περιεκτικότητα σε AR είναι το άθροισμα των αλκυλο και αλκενυλο παραγώγων των C17:0-C25:0 (όπως προσδιορίζεται με HPLC) και το άθροισμα όλων των 1,3- διϋδροξυαλκυλοβενζολικών παραγώγων (όπως προσδιορίζεται με χρωματομετρία) που είναι παρόντα. ²Προσδιορίζεται με GC. WG=Whole Grain (Ολικής Αλέσεως), ND=Not Detected, DM=Dry Matter (Ξηρό Βάρος).

1.5 Εκχύλιση και ανάλυση των αλκυλορεσορκινολών

Για αναλυτικές μελέτες απαιτείται πρότερη εκχύλιση και ταυτοποίηση των ARs. Η διαδικασία εκχύλισης συστατικών από τα δημητριακά είναι σημαντική για τον ακριβή ποσοτικό προσδιορισμό της περιεκτικότητας σε ARs σε

προϊόντα ολικής αλέσεως, καθώς είναι φυτοχημικά, που θεωρούνται ότι μπορεί να έχουν δράση στην πρόληψη ασθενειών. Διάφορες μέθοδοι που περιλαμβάνουν σύγχρονες τεχνολογίες έχουν εφαρμοστεί στην εκχύλιση των ARs από φυτικούς ιστούς και είναι κυρίως η συμβατική εκχύλιση με διαλύτη, η εκχύλιση υποβοηθούμενη από υπερήχους (Ultrasonic-Assisted Extraction UAE) και η εκχύλιση με υπερκρίσιμο ρευστό (Subcritical Fluid Extraction SFE) [1]. Εν συντομία, οι συμβατικές μέθοδοι εκχύλισης περιλαμβάνουν εκχύλιση Soxhlet, ανάδευση, απόσταξη, ανάμιξη και διήθηση. Στις εκχυλίσεις το σύστημα τίθεται υπό αναρροή και χρησιμοποιούνται διάφοροι οργανικοί διαλύτες όπως ακετόνη, οξικός αιθυλεστέρας, εξάνιο και μείγμα προπανόλη-νερό (3:1) επειδή οι ARs είναι αδιάλυτες ή ελάχιστα διαλυτές στο νερό. Οι μέθοδοι εκχύλισης είναι δαπανηρές και χρονοβόρες (1-48 ώρες).

Η SFE είναι μια τεχνική που χρησιμοποιεί ένα υπερκρίσιμο ρευστό ως διαλύτη εκχύλισης. Το πιο διαδεδομένο σε βιομηχανική κλίμακα υπερκρίσιμο ρευστό είναι το διοξείδιο του άνθρακα (CO_2). Το ρευστό αφήνεται να ρέει μέσα στο αλεσμένο δείγμα σε ρυθμιζόμενη πίεση 40 MPa και σε θερμοκρασία εκχύλισης 40-80 °C. Το υπερκρίσιμο CO_2 συχνά αναμιγνύεται με αιθανόλη ή μεθανόλη για να αυξηθεί η απόδοση εκχύλισης. Οι ιδιότητες των υπερκρίσιμων ρευστών βρίσκονται, συνήθως, ανάμεσα σε αυτές των αερίων και των υγρών. Συγκεκριμένα, τα υπερκρίσιμα ρευστά εμφανίζουν καλύτερες διαλυτικές ικανότητες σε σχέση με τα αέρια και καλύτερες ιδιότητες μεταφοράς μάζας σε σχέση με τα υγρά. Το υπερκρίσιμο CO_2 ($T_c = 31,7^\circ\text{C}$, $P_c = 72,9\text{ atm}$) είναι σχετικά αδρανές, άφλεκτο, σχετικά φθηνός, υψηλής καθαρότητας, μη-τοξικός διαλύτης, που μπορεί να ανακτηθεί ως αέριο και να επαναχρησιμοποιηθεί. Το υπερκρίσιμο CO_2 έχει ένα μείγμα ιδιοτήτων που το κάνουν να κινείται ως αέριο και να διαλύει ως υγρό. Η ταχύτητα διάχυσής του γίνεται τουλάχιστον δύο τάξεις μεγέθους μεγαλύτερη από την αντίστοιχη ενός υγρού και μοιάζει με αυτή των αερίων. Το ιξώδες του είναι πολύ χαμηλό όσο των αερίων, οπότε είναι φανερό ότι προσφέρει πολύ καλύτερα χαρακτηριστικά μεταφοράς μάζας συγκριτικά με τους υπόλοιπους συμβατικούς υγρούς διαλύτες, και η επιφανειακή του τάση τείνει στο μηδέν (ιδιότητα που του επιτρέπει να διεισδύει σε οποιαδήποτε δομή με πόρους). Η πυκνότητά του είναι υψηλή, επιτυγχάνοντας διαλυτική ικανότητα παρόμοια με αυτή των υγρών. Έτσι η τεχνική αυτή μπορεί να μειώσει κατά πολύ το χρονικό διάστημα

της προετοιμασίας των δειγμάτων για τη χημική τους ανάλυση ενώ η εκχύλιση των επιθυμητών ουσιών μπορεί να γίνει με αποτελεσματικότερο τρόπο σε σχέση με τις κλασικές μεθόδους, γιατί οι ιδιότητες των υπερκρίσιμων ρευστών μπορούν να βελτιώσουν κατά πολύ την % απόδοση της εκχύλισης αλλά και την ταχύτητά της. Επίσης με αυτή τη τεχνική επιτρέπεται η πλήρης απομάκρυνση του διαλύτη. Ποσοτικά οι εκχυλίσσεις με τη χρήση υπερκρίσιμου διοξειδίου του άνθρακα περατώνονται, γενικά, σε 10–60 λεπτά ενώ στις εκχυλίσσεις με κοινούς υγρούς διαλύτες απαιτούνται από αρκετές ώρες έως και ημέρες. Η εκχύλιση με το υπερκρίσιμο CO₂ είναι ουσιαστικά μια εκχύλιση αερίου-στερεού, στην οποία το εκχυλιστικό μέσο διεισδύει εύκολα σε κάθε δομή που περιέχει μικρό-πόρους [48]. Σε πρώτη φάση συμπίεζεται το αέριο, ώστε η πυκνότητά του να αυξηθεί τόσο, που να πλησιάσει σ' αυτήν ενός υγρού. Κατόπιν, επιτυγχάνεται αύξηση της διαλυτότητας θερμαίνοντας το σύστημα. Μετά την εκχύλιση του μείγματος, το CO₂ απομακρύνεται από το εκχύλισμα, απλά μειώνοντας την πίεση του συστήματος. Με τον κατάλληλο συνδυασμό αύξησης ή μείωσης της πίεσης και της θερμοκρασίας επιτυγχάνεται, τελικά, καλή επιλεκτικότητα μεταξύ των παραλαμβανομένων εκχυλισμάτων. Ο συνδυασμός της υψηλής τιμής TLV (Threshold Limit Value) και της υψηλής τιμής τάσεως των ατμών του υποδηλώνει ότι το υπόλοιπο του CO₂, που διαφεύγει μετά από τις χημικές διαδικασίες στο περιβάλλον (ατμόσφαιρα), δεν προκαλεί καμία ανησυχία για την έκθεση του ανθρώπου σε αυτό, σε αντίθεση με τον κίνδυνο που προκαλεί η παρουσία στην ατμόσφαιρα είτε των φυσικών οργανικών ενώσεων είτε των παραγομένων από τον άνθρωπο χημικών οργανικών ενώσεων. Λόγω αυτής της έλλειψης επικινδυνότητας από το «υπόλοιπο CO₂», το CO₂ θεωρείται από το Αμερικανικό FDA (Food and Drug Administration), ως διαλύτης για τον οποίο δεν απαιτείται η τακτική επαναξιολόγηση της χρήσης του. Εξαιτίας του γεγονότος αυτού άρχισε η ευρύτατη χρήση του στη βιομηχανία τροφίμων, στη βιομηχανία θερμο-πλαστικών και στην απορρόπηση (πετρελαιοκηλίδες, στεγνό καθάρισμα ρούχων κτλ.).

Ομοίως, η UAE είναι μια σύγχρονη τεχνική αποτελεσματική, φθηνή και αυξημένης επιλεκτικότητας και κινητικής. Στην εκχύλιση UAE, χρησιμοποιούνται υπέρηχοι για να σπάσουν τις κυτταρικές μεμβράνες. Η διάχυση του διαλύτη μέσω των μεμβρανών επιταχύνεται, επομένως η

απελευθέρωση του περιεχομένου των κυττάρων διευκολύνεται. Ο μηχανισμός που προκαλεί την ενεργειακή έκλυση μέσα σε υγρά ονομάζεται φαινόμενο της ακουστικής σπηλαιώσης και κατάρρευσης (cavitation collapse) [49]. Η σπηλαιώδης κατάρρευση παράγει έντονη τοπική θέρμανση (της τάξης των 5000 K) και υψηλή πίεση (της τάξης των 1000 atm). Οι υπέρηχοι επιτρέπουν τον ταχύτατο διασκορπισμό στερεών. Οι αποδόσεις είναι υψηλές, δεν απαιτούνται διαλύτες, ο χρόνος είναι μικρός και δεν παράγουν δευτερογενή απόβλητα. Στις χημικές εφαρμογές οι υπέρηχοι απαιτούν μόνο την παρουσία ενός υγρού μέσου, στο οποίο θα μπορούν να σχηματιστούν κοιλότητες (π.χ. φυσαλίδες αέρα), ώστε να μεταδώσουν τη μεγάλη ισχύ τους. Οι κοιλότητες (μικροφυσαλίδες ατμού/κενού) σχηματίζονται από υπερηχητικά κύματα υψηλής έντασης και αυξάνονται μέχρι ένα μέγιστο μέγεθος ενώ στη συνέχεια καταστρέφονται, απελευθερώνοντας την ενέργειά τους. Το αθροιστικό αποτέλεσμα εκατομμυρίων συνεχών μικροσκοπικών διασπάσεων μικροφυσαλίδων σε ένα υγρό μέσο προσφέρει την απαραίτητη μηχανική ενέργεια για την επιτάχυνση της εκχύλισης και την αύξηση της διαλυτοποίησης.

Αξίζει να σημειωθεί ότι η σημαντική ιδιότητα των ενώσεων που περιέχουν ομάδα φαινόλης, η ιδιότητα δυνητικής αντιοξειδωτικής δράσης, μπορεί να επηρεαστεί από τον διαλύτη και το χρόνο εκχύλισης. Ωστόσο, δεν διαπιστώθηκαν ποιοτικές ή ποσοτικές διαφορές στην απομόνωση των ARs όταν χρησιμοποιήθηκε υπερκρίσιμο CO₂ συγκριτικά με τη συμβατική εκχύλιση με χρήση οξικού αιθυλεστέρα. Χρωματομετρικές μέθοδοι, χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC), υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC), αεριοχρωματογραφία (GC), φασματομετρία μάζας (MS) και φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) είναι οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται για το διαχωρισμό και την ταυτοποίηση της δομής καθώς και τη ποιοτική και ποσοτική ανάλυση των ARs.

1.6 Χρωματογραφία λεπτής στιβάδας για την ανάλυση ARs

Η Χρωματογραφία Λεπτής Στιβάδας (Thin Layer Chromatography) είναι χρήσιμη για ταχεία ποιοτική ανίχνευση και απομόνωση της AR και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον εντοπισμό διαφορετικών ομολόγων [17]. Η TLC συνήθως διεξάγεται χρησιμοποιώντας πλάκες καλυμμένες με silica gel 60. Οι

κινητές φάσεις διαφέρουν ανάλογα με τη μήτρα στην οποία υπάρχουν οι ARs, αλλά ορισμένα παραδείγματα είναι μεθανόλη: νερό (90:10, v/v), χλωροφόρμιο: οξικός αιθυλεστέρας (9 : 1, v/v), βενζόλιο: οξικός αιθυλεστέρας (85:15, v/v) [8, 37], χλωροφόρμιο: μεθανόλη (85:15, v/v) [38] και χλωροφόρμιο: μεθανόλη (4: 1 , v/v) [40]. Με τη χρωματογραφία κανονικής φάσης, όλες οι ARs σχηματίζουν μία κηλίδα μαζί. Η προσθήκη μυρμηκικού οξέος στην κινητή φάση κάνει πιο οξεία την κηλίδα. Εμποτισμός της TLC silica πλάκας με 20% νιτρικό άργυρο σε 50% μεθανόλη και ανάπτυξη σε βενζόλιο: οξικό αιθυλεστέρα (85:15, v/v) επιτυγχάνει διαχωρισμό των ARs με βάση το βαθμό ακορεστότητας, ενώ εμποτισμός της TLC πλάκας με 5% παραφινέλαιο σε η-εξάνιο και ανάπτυξη σε ακετόνη: μεθανόλη: νερό (60:15:25, v/v/v) επιτρέπει τον διαχωρισμό με βάση το μήκος της αλυσίδας [9, 50, 51]. Οι ARs αναπτύσσουν χρώματα με πολλά αντιδραστήρια ψεκασμού. Σχηματίζουν κόκκινο χρώμα με αντιδραστήριο βανιλίνης-HCl, μωβ-γκρι έως μπλε χρώμα σε ατμούς αμμωνίας με αντιδραστήριο Gibbs (2,6-διχλωροβενζοκινόννη-4-χλωροϊμίδιο, 0,3% σε μεθανόλη) [52], και διαφορετικά χρώματα με διαζωνιακές ενώσεις, π.χ. πορτοκαλί χρώμα με διαζωτοποιημένη-π-νιτροανιλίνη [84]. Οι ARs μπορούν να εμφανιστούν με ατμούς ιωδίου και αποκτούν φωτεινό κόκκινο χρώμα με αντιδραστήριο ανισαλδεϋδης-θειικού οξέος [53]. Το Fast Blue B (μεθοξυ-4-νιτροανιλίνη), μια βαφή που χρωματίζει κηλίδα στις φαινολικές ενώσεις με ρεσορκινολικό δακτύλιο σε ροζ έως βαθύ κατακόκκινο χρώμα, ανάλογα με το μήκος της αλυσίδας, χρησιμοποιείται συνήθως για την εμφάνιση ARs σε πλάκες TLC [54]. Δύο άλατα Fast Blue B είναι διαθέσιμα: BF4 και Zn. το πρώτο δίνει περίπου διπλάσια ένταση χρώματος από το δεύτερο [55].

1.7 Χρωματογραφία στήλης για την ανάλυση ARs

Παραδοσιακά, μεγάλης κλίμακας καθαρισμός των ARs πραγματοποιείται χρησιμοποιώντας χρωματογραφία στήλης πυριτίου [56, 57]. Η χρωματογραφία στήλης μπορεί να χρησιμοποιηθεί για μεγάλης κλίμακας (αρκετά γραμμάρια) απομόνωση ARs από πίτουρο σίτου ή σίκαλης. Ο Kozubek [57] περιγράφει την απομόνωση AR από πίτουρο σίκαλης χρησιμοποιώντας silica gel σε χλωροφόρμιο, ξεκινώντας με έναν όγκο στήλης χλωροφορμίου, ακολουθούμενο από 10 όγκους στήλης χλωροφορμίου:οξικού

αιθυλεστέρα (9:1, v/v) για την έκλουση των ARs. Η προκύπτουσα καθαρότητα των ARs βρέθηκε να είναι 99% με NMR [58] αν και η σύνθεση των ARs ήταν ελαφρώς διαφορετική από αυτή που φυσικά απαντάται στη σίκαλη. Οι ARs τείνουν να συνδέονται ισχυρά με τη silica κάνοντας τη ποσοτική ανάκτηση μη επιτεύξιμη, ακόμη και όταν χρησιμοποιούνται διαλύτες όπως το χλωροφόρμιο και η μεθανόλη, π.χ. με εκχύλιση στερεάς φάσης (Solid Phase Extraction SPE) ως μέθοδος για την προκατεργασία του δείγματος. Ο Bruce και οι συνεργάτες του [59] περιέγραψαν τη χρήση παρασκευαστικής HPLC για την απομόνωση μεμονωμένων ομολόγων ARs από το υγρό του κελύφους των κάσιους, αλλά δεν έχουν ακόμη δημοσιευθεί μέθοδοι για μεγάλης κλίμακας απομόνωση μεμονωμένων ομολόγων AR. Μια μέθοδος για μεγάλης κλίμακας διαχωρισμό των ARs με φυγοκεντρική χρωματογραφία καταμερισμού θα μπορούσε να αποδειχθεί χρήσιμη για την απομόνωση μεγάλων ποσοτήτων (>100 mg) μεμονωμένων ομολόγων AR [60].

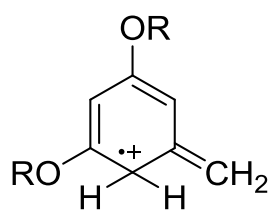
1.8 Αεριοχρωματογραφία για την ανάλυση ARs

Καθώς οι ARs είναι κυρίως λιπόφιλες, οι περισσότερες ποσοτικές μελέτες που χρησιμοποιούν χρωματογραφία έχουν χρησιμοποιήσει αεριοχρωματογραφία (Gas Chromatography GC). Η GC στις ARs είναι αρκετά γρήγορη και επιτρέπει τον καλό διαχωρισμό των ομολόγων διαφορετικού μήκους αλυσίδας. Η GC με τριχοειδή στήλη, που αναπτύχθηκε για την ανάλυση AR, χρησιμοποιεί γενικά μη πολικές στατικές φάσεις, π.χ. 100% διμεθυλοπολυσιλοξάνιο ή 5% φαινυλο-μεθυλοπολυσιλοξάνιο [7, 40, 61, 62, 63, 64]. Οι μέθοδοι έγχυσης ποικίλλουν, αλλά η έγχυση στη κορυφή της στήλης (on-column injection) επιτρέπει την ανάλυση αραιωμένων δειγμάτων και αποφεύγει κίνδυνο παγίδευσης μέρους του δείγματος στον εισαγωγέα. Ωστόσο, σε αυτή τη περίπτωση μπορεί να απαιτείται περισσότερος καθαρισμός του δείγματος πριν από την ένεση. Ποσοτική ανάλυση με σύστημα εισαγωγής διαμοιρασμού (split injection) είναι επίσης δυνατή, υπό την προϋπόθεση ότι η θερμοκρασία του εισαγωγέα είναι υψηλή (325 °C). Η χρήση χαμηλότερων θερμοκρασιών εισαγωγέα με εισαγωγέα διαμοιρασμού μπορεί να οδηγήσει στο να παραμείνει μέρος της AR του δείγματος στον εισαγωγέα/liner μετά την έγχυση, αποδίδοντας φτωχότερα αναλυτικά αποτελέσματα. Οι ARs μπορούν να αναλυθούν χωρίς παραγωγοποίηση [40]

ή μετά τη μετατροπή τους στους τριμεθυλοσιλυλαιθέρες τους (TMS) [61]. Η παραγωγοποίηση των ARs πριν από την ανάλυση επιτρέπει τη χρήση χαμηλότερων θερμοκρασιών GC [63]. Η παραγωγοποίηση μειώνει επίσης τον χρόνο κατακράτησης (retention time) της AR και σε συνδυασμό με μια μικρή στήλη (DB1, 12 m), όλες οι ARs από δημητριακά (C15:0–C25:0) μπορούν να αναλυθούν σε λιγότερο από 20 λεπτά. Χρησιμοποιώντας για την ανάλυση των ARs σε δημητριακά συνδυασμό GC- FID το όριο ανίχνευσης ήταν τόσο χαμηλό όσο 5 $\mu\text{g/g}$ δείγματος [28].

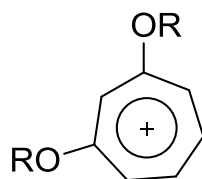
1.9 GC-Φασματομετρία μάζας MS για την ανάλυση ARs

Οι ARs δίνουν χαρακτηριστικά φάσματα μάζας ηλεκτρονιακής πρόσκρουσης, με διακριτά μοριακά ιόντα (molecular ion) και ένα κύριο θραύσμα (base fragment) σε m/z 124 και άλλα δευτερεύοντα θραύσματα σε m/z 123 λόγω του ιόντος διϋδροξυτροπυλίου που σχηματίζεται από την άμεση β -διάσπαση [7, 65]. Η m/z αναλογία αφθονίας 123/124 (Σχήμα 3) είναι περίπου 1:5 σύμφωνα με την μετα-διϋδροξυ υποκατάσταση στον δακτύλιο βενζολίου [24, 66]. Τα φάσματα μάζας των TMS παραγώγων των αλκυλορεσορκινολών δείχνουν το κύριο θραύσμα σε m/z 268 και ένα άλλο μικρό θραύσμα σε m/z 281. Το Σχήμα 4 δείχνει χρωματογράφημα GC-MS AR πίτουρου σίκαλης εμπλουτισμένο με κετο παράγωγα. Η κορυφή 1a είναι η C17:0 AR (με κορεσμένη αλκυλική αλυσίδα), οι κορυφές 1b και 1c είναι ισομερείς αλκυλορεσορκινόλες με παρόμοια φάσματα μάζας, αλλά ελαφρώς διαφορετικούς χρόνους κατακράτησης και η κορυφή 1d είναι ένα κέτο παράγωγο AR. Καθώς αυτό το δείγμα έχει υποστεί σιλυλίωση υπάρχουν περιορισμένες δομικές πληροφορίες από τα φάσματα μάζας [7] και δεν είναι δυνατό να εξαχθεί η θέση του διπλού δεσμού των 1b και 1c. Επιπλέον, η σιλυλίωση φαίνεται να διακυβεύει τη σχετική ένταση του θραύσματος λόγω της β -θραύσης εξαιτίας της εύκολης θραυσματοποίησης μεταξύ της ομάδας α-μεθυλενίου και της β -κετο ομάδας [8]. Οι ARs ανιχνεύθηκαν σε επίπεδα ng/g στην ανάλυση του πλάσματος από GS-MS χρησιμοποιώντας επιλεκτική παρακολούθηση ιόντων (single ion recording) [61]. Φασματομετρία μάζας βομβαρδισμού με δέσμη ταχέως κινούμενων ατόμων (FAB-MS) έχει επίσης χρησιμοποιηθεί για τον δομικό χαρακτηρισμό των ARs.



m/z 124

m/z 268



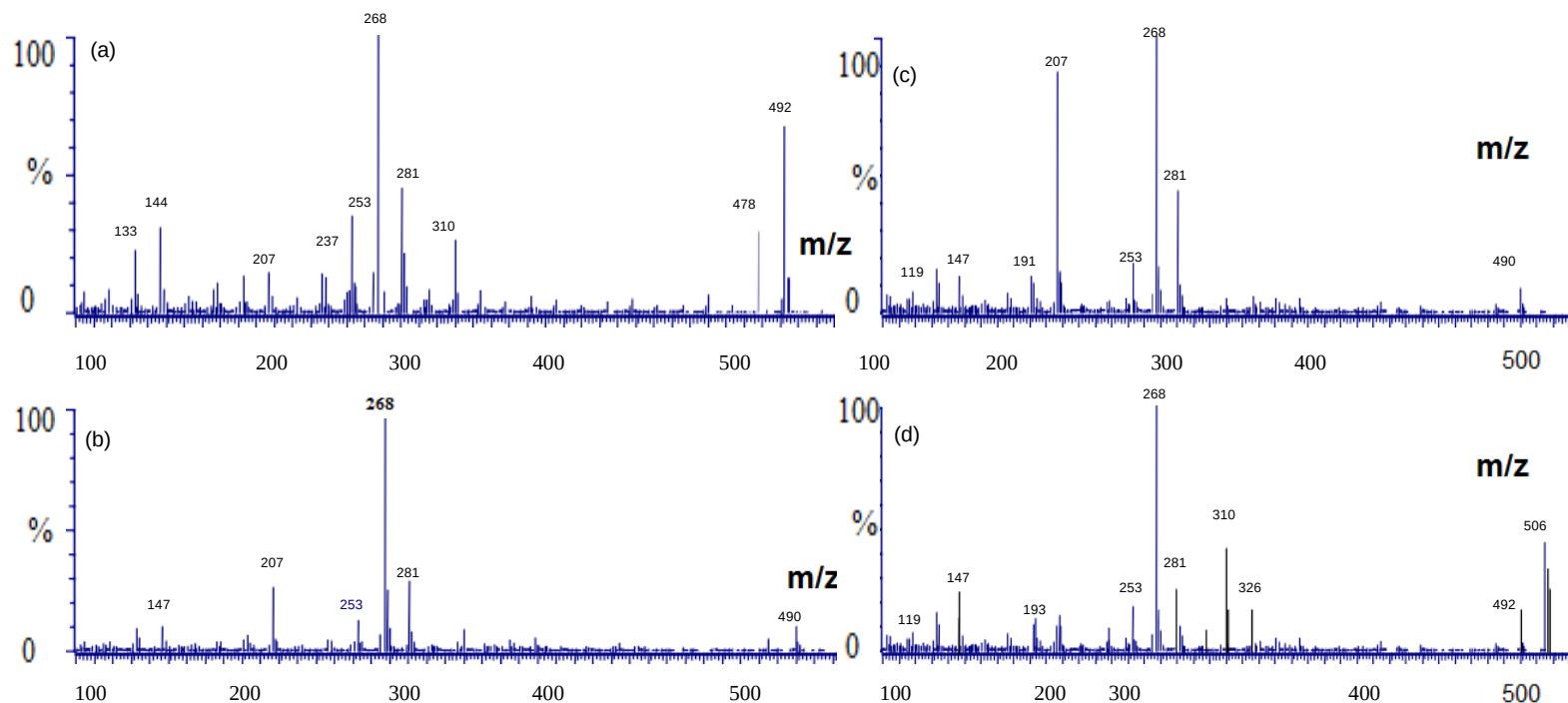
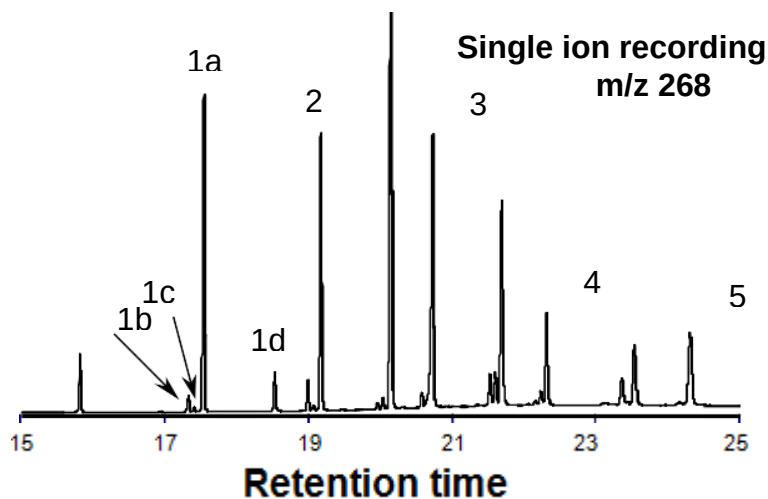
m/z 123

m/z 281

Ελεύθερες Αλκυλορεσορκινόλες (R=H)

TMS παράγωγα αλκυλορεσορκινολών (R=TMS)

Σχήμα 3: Χαρακτηριστικά θραύσματα MS για αλκυλορεσορκινόλες και τριμεθυλοσίλυλο παράγωγα τους (TMS) από την ανίχνευση GC-MS.



Σχήμα 4: Χρωματογράφημα GC-MS των TMS παραγώγων των αλκ(εν)υλορεσορκινολών που εκχυλίστηκαν από πίτουρο σίκαλης εμπλουτισμένων με κετο-αλκυλορεσορκινόλες. Τα φάσματα μάζας υποδηλώνουν διαφορετικά παράγωγα δεκαεπτανυλορεσορκινόλης (C17:0):(1a) δεκαεπτανυλορεσορκινόλη, (1b) δεκαεπτακενυλορεσορκινόλη a, (1c) δεκαεπτακενυλορεσορκινόλη b και (1d) κετο-δεκαεπτανυλορεσορκινόλη. Οι άλλες επισημασμένες αλκυλορεσορκινόλες στο χρωματογράφημα GC-MS είναι:(2) δεκαεννεανυλορεσορκινόλη, (3) εικοσιενυλορεσορκινόλη, (4) εικοσιτριυλορεσορκινόλη, (5) εικοσιπεντυλορεσορκινόλη. Να σημειωθεί ότι τα κετοπαράγωγα απαντώνται φυσικά μόνο ως ένα πολύ μικρό κλάσμα στο σιτάρι και στη σίκαλη.

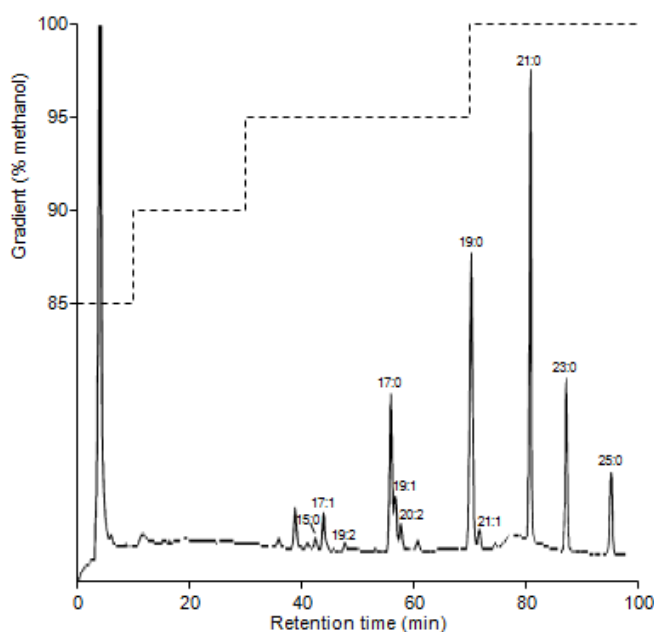
1.10 Υγροχρωματογραφία υψηλής απόδοσης για την ανάλυση ARs

Η HPLC (High Pressure Liquid Chromatography) έχει επίσης εφαρμοστεί για την ανάλυση των ARs. Καθώς οι ARs είναι κυρίως λιπόφιλες, δεν προσφέρονται για εύκολη ανάλυση με HPLC. Πριν από την ανάλυση HPLC, τα εκχυλίσματα μπορούν να διηθηθούν ή να καθαριστούν με εκχύλιση σε στερεά φάση σε silica [69] C8 ή C18 [72]. Πολλές από τις μεθόδους που

χρησιμοποιούν αυτά τα βήματα καθαρισμού δεν έχουν επικυρωθεί για ποσοτική ανάλυση. Δυστυχώς, σπάνια έχουν αναφερθεί όγκοι έγχυσης για HPLC, αλλά στις περιπτώσεις που έχει γίνει αυτό, εγχέονται 50 μL δείγματος [61, 73]. Ενώ αυτός ο μεγάλος όγκος έγχυσης θα θέσει σε κίνδυνο το σχήμα και τον διαχωρισμό των κορυφών, μπορεί να είναι απαραίτητο κατά τη διαλυτοποίηση των ARs σε πολικούς διαλύτες, όπως η μεθανόλη. Ο Seitz [8] χρησιμοποίησε θερμοκρασία στήλης 50 °C. Οι κινητές φάσεις που χρησιμοποιήθηκαν προηγουμένως για την ανάλυση AR πρόκειται ως επί το πλείστον για βαθμιδωτή έκλουση ξεκινώντας με 100% νερό ή συνδυασμό νερού και μεθανόλης, αυξάνοντας σε 100% μεθανόλη στο τέλος του προγράμματος βαθμίδωσης. Οι Reusch και Sadoff [5] ανέλυσαν AR από το *Azotobacter vinelandii* χρησιμοποιώντας HPLC κανονικής φάσης με χλωροφόρμιο:μεθανόλη (90:10, v/v) ως κινητή φάση ή HPLC αντίστροφης φάσης με μεθανόλη :νερό (99:1, v/v) ως κινητή φάση. Ο Bruce και οι συνεργάτες του [59] χρησιμοποίησαν τετραϋδροφουράνιο σε βαθμιδωτή έκλουση 0–100% με διάλυμα ακετονιτριλίου/νερού/οξικού οξέος (66:33:2, v/v/v) για παρασκευαστική HPLC, ενώ ο Paramashivappa και οι συνεργάτες του [71] χρησιμοποίησαν ακετονιτρίλιο/νερό/οξικό οξύ (80:20:1, v/v/v) χωρίς βαθμιδωτή έκλουση για την ανάλυσή της καρδόλης (C15:0) από το υγρό του κελύφους των κάσιους. Το Σχήμα 5 παρουσιάζει ένα χρωματογράφημα HPLC κορεσμένων και ακόρεστων ARs από σίκαλη που λήφθηκε χρησιμοποιώντας στήλη C18 και βαθμιαία έκλουση 85-100% μεθανόλης [69].

Η απορρόφηση στο UV φάσμα για τη C15:0 σε οξικό αιθυλεστέρα έχει δύο μέγιστα απορρόφησης λ_{max} (nm) (ϵ_{max}) 275 (1569) και 282 (1571) [56]. Η ανίχνευση των ARs με HPLC έχει πραγματοποιηθεί είτε με ανιχνευτές UV είτε με ανιχνευτές συστοιχιών διόδων που έχουν ρυθμιστεί στα 275–280 nm. Στη μελέτη του Hengtrakul [69], τόσο η ορκινόλη (C1:0) όσο και η δεκαπεντυλορεσορκινόλη (C15:0) είχαν την ίδια απόκριση όταν ανιχνεύθηκαν στα 280 nm, υποδεικνύοντας ότι η απορρόφηση οφείλεται προφανώς στον ρεσορκινολικό δακτύλιο. Καμία μελέτη δεν έχει χρησιμοποιήσει άλλους τύπους ανιχνευτών, παρά το γεγονός ότι οι μέθοδοι φθορισμού έχουν χρησιμοποιηθεί προηγουμένως για την ανάλυση ARs και προτείνουν ότι ένας ανιχνευτής φθορισμού μπορεί επίσης να είναι χρήσιμος για την ανίχνευση

ARs. Σε αναλύσεις των ARs του Ross [17] και των συνεργατών του η ανάλυση της AR έγινε με HPLC σε συνδυασμό με έναν ανιχνευτή CoulArray και χρήση στήλης C18 και βαθμιδωτό διαλύτη από 90 έως 100% μεθανόλη σε 30 λεπτά. Ανιχνεύθηκαν κορυφές μεταξύ 550 και 750 mV. Με βάση τη σύγκριση δημοσιευμένων χρωματογραφημάτων, οι τρέχουσες μέθοδοι GC είναι ανώτερες από την HPLC ως προς την ικανότητά τους να διαχωρίζουν διαφορετικές ομόλογες ARs, αν και η HPLC προσφέρει περισσότερες δυνατότητες καθώς μπορεί να χρησιμοποιηθεί για καθαρισμό και μπορεί να είναι πιο κατάλληλη για ανάλυση των πιο υδατοδιαλυτών μεταβολιτών AR σε βιολογικά υγρά. Επιπλέον, οι ανιχνευτές HPLC σε συνδυασμό με παραγωγοποίηση μετά τη στήλη μπορούν να προσφέρουν καλύτερη εκλεκτικότητα από τους ανιχνευτές ιονισμού φλόγας GC όσον αφορά τα κετοπαράγωγα των αλκυλορεσορκινολών. Η μελλοντική ανάπτυξη μεθόδου για ανάλυση AR με χρήση HPLC θα πρέπει να δοκιμάσει νέους τύπους υλικών στηλών.



Σχήμα 5 : HPLC χρωματογράφημα αλκ(εν)υλορεσορκινολών που εκχυλίστηκαν από πίτουρο σίκαλης.

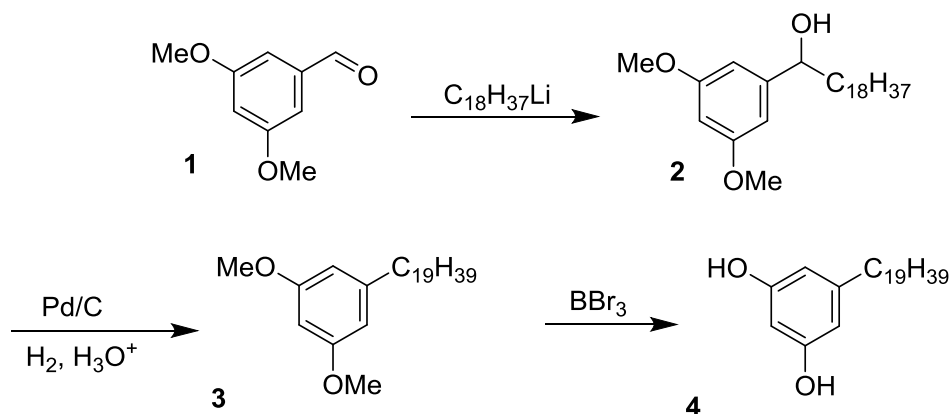
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΜΕΘΟΔΟΙ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΑΛΚΥΛΟΡΕΣΟΡΚΙΝΟΛΩΝ

Οι ARs μπορούν να συντεθούν με χημικές συνθέσεις που έχουν μελετηθεί από παλιά [54, 74-76]. Έχει μελετηθεί η σύνθεση διάφορων ρεσορκινολικών λιπιδίων με κορεσμένα και ακόρεστα τμήματα, κυρίως μονοένια, διένια και τριένια .

Για κορεσμένες ενώσεις, η 3,5-διμεθοξυβενζαλδεΰδη αντιδρά γενικά στο πρώτο βήμα με n-αλκυλομαγνησιοβρωμίδια [77-79], αν και η εμπειρία έχει δείξει [80] ότι, εκτός από την περίπτωση μιας εξ ολοκλήρου αδρανούς ατμόσφαιρας, η οξείδωση του αντιδραστήριου Grignard RMgBr επηρεάζει το σχηματισμό ROH , κάτι το οποίο μπορεί να περιπλέξει τον καθαρισμό του προϊόντος, όπως συμβαίνει επίσης με το σχηματισμό RR που σχηματίζεται από την αντίδραση Wurtz. Εναλλακτικές διαδικασίες που αποφεύγουν αυτές τις δυσκολίες έχουν υπάρξει επιτυχείς, όπως η αρχική αντίδραση του 3,5-διμεθοξυβενζοϋλοχλωρίδιου με αντιδραστήριο οργανικού καδμίου [81], και από τη διαζοκετόνη [82] 3,5-(MeO) $_2\text{C}_6\text{H}_3\text{COCHN}_2$ για τη σύνθεση του 1,3-διϋδροξυ-5-δεκατριενυλβενζολίου.

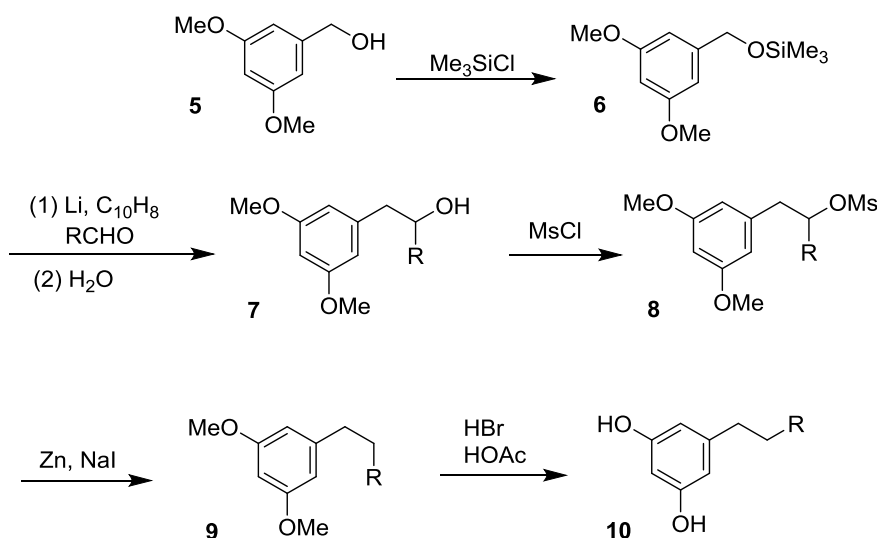
Η παράπλευρη αντίδραση Wurtz στην αντίδραση Grignard μπορεί, ωστόσο, να αποφευχθεί εντελώς με τη χρήση αντιδραστηρίων οργανολιθίου [83]. Έτσι, σε μια εργασία [30] (Σχήμα 6), η 3,5-διμεθοξυβενζαλδεΰδη **1** αντέδρασε με n-δεκαοκτυλολίθιο και η προκύπτουσα δευτεροταγής αλκοόλη, **2**, καταλυτικά υδρογονώθηκε σε 3,5-διμεθοξυ-5-δεκαεννεανυλοβενζόλιο **3**. Απομεθυλίωση με τριβρωμιούχο βόριο σε διχλωρομεθάνιο και σε χαμηλή θερμοκρασία έδωσε την 5-n δεκαεννεανυλορεσορκινόλη **4**. Οι συνολικές αποδόσεις με ποικιλία των πλευρικών αλκυλικών αλυσίδων είναι από 14% έως 25%. Στο προτελευταίο στάδιο η καταλυτική υδρογόνωση είναι περισσότερο άμεση και προτιμότερη από την αφυδάτωση με 4-τολουολοσουλφονικό οξύ ακολουθούμενη από αναγωγή. Ωστόσο, σε άλλες εργασίες χρησιμοποιήθηκαν n-αλκυλομαγνησιακά αντιδραστήρια Grignard [84, 85], όπως στην αρχική μέθοδο που αναπτύχθηκε [78] , αν και τα αλκυολιθιακά αντιδραστήρια



Σχήμα 6: Σύνθεση 5-n-αλκυλορεσορκινόλης από τη 3,5-διμεθοξυβενζαλδεΐδη.

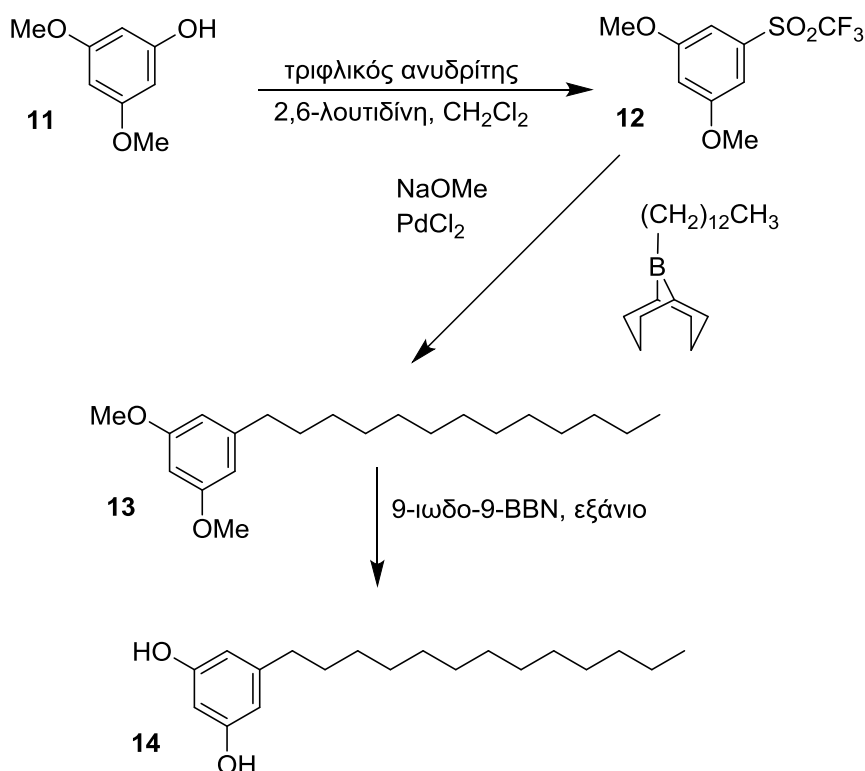
(Σχήμα 6) γενικά είναι προτιμότερα για να αποφεύγεται η σύζευξη Wurtz. Τα σχήματα 7 και 8 δείχνουν εναλλακτικές αρχικές πρώτες ύλες, 3,5-διμεθοξυβενζυλική αλκοόλη και 3,5-διμεθοξυφαινόλη, αντίστοιχα.

Σε μια άλλη προσέγγιση του Alonso [86] (Σχήμα 7), η 3,5-διμεθοξυβενζυλική αλκοόλη **5** μετατράπηκε αρχικά σε Ο-σίλυλο-παράγωγο με κατεργασία με χλωροτριμεθυλοσιλάνιο και τριαιθυλαμίνη σε τετραϋδροφουράνιο και η προκύπτουσα ένωση **6** υποβλήθηκε σε επεξεργασία με περίσσεια σκόνης λιθίου και μια καταλυτική ποσότητα ναφθαλίνης παρουσία αλδεΐδης σε THF, δίνοντας, μετά την υδρόλυση, το προϊόν **7**. Αυτό μετατράπηκε στο παράγωγο **10** σε μια διαδικασία δύο σταδίων με μεσυλίωση με μέσυλο χλωρίδιο σε THF που περιέχει τριαιθυλαμίνη, ακολουθούμενη από αναγωγή με ψευδάργυρο και ιωδιούχο νάτριο σε διμεθοξυαιθάνιο (monoglyme) υπό αναρροή. Το στάδιο απομεθυλίωσης διενεργήθηκε υπό αναρροή με 45% υδροβρωμικό οξύ και οξικό οξύ σε υψηλή απόδοση (70-95%).



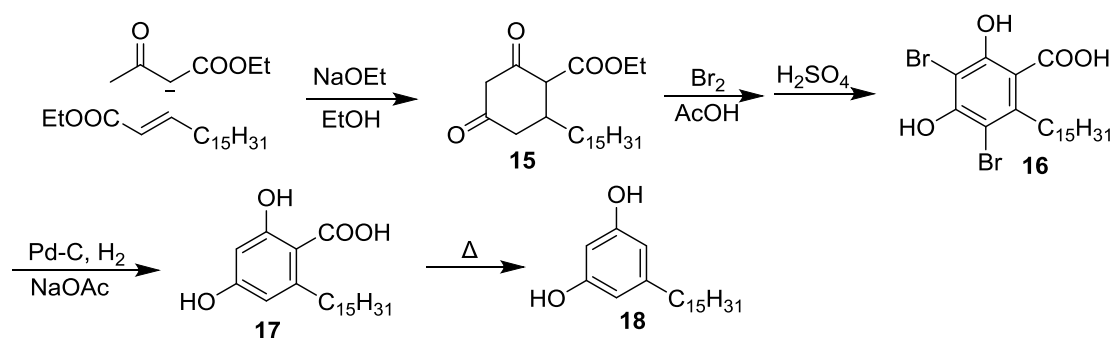
Σχήμα 7: Σύνθεση 5-n-αλκυλορεσορκινολών από τη 3,5-διμεθοξυβενζυλική αλκοόλη ($\text{R}=\text{n-άλκυλο}$).

Μια περαιτέρω εξέλιξη από τους Furstner και Seidel [87] βασίζεται στην καταλυόμενη από παλλάδιο, επαγόμενη από βάση διασταυρούμενη σύζευξη των παραγώγων 9-αλκυλ-9-BBN με ένα τριφλικό αρύλιο (Σχήμα 8), το οποίο λαμβάνεται από 3,5-διμεθοξυφαινόλη **11** και τριφλικό ανυδρίτη παρουσία της 2,6-λουτιδίνης. Σύζευξη τριφλικού αρυλίου με 9-τριδεκατριϋλ-9-BBN, παρουσία NaOMe και καταλυτικών ποσοτήτων PdCl₂, έχει αναφερθεί ότι δίνει απόδοση 88%. Επακόλουθη διάσπαση του μεθυλαιθέρα **13** επετεύχθη από το 9-ιωδο-9-BBN σε απόδοση 88-90%.



Σχήμα 8: Σύνθεση 5-n-αλκυλορεσορκινόλης από τη 3,5-διμεθοξυφαινόλη.

Παράγωγα ορσελλινικού οξέος [88] (2,4-διϋδροξυ-6-αλκυλοβενζοϊκά οξέα) είναι πηγή 5-αλκυλορεσορκινολών με αποκαρβοξυλίωση όπως, για παράδειγμα, σε μια σύνθεση [83] από άκυκλα ενδιάμεσα, στην οποία 2,4-διϋδροξυ-6-δεκαπεντυλοβενζοϊκό οξύ **17** ελήφθη εύκολα από τη προσθήκη Michael οκταδεκ-2-ενοϊκού αιθυλεστέρα στο καρβανιόν από ακετοξικό αιθυλεστέρα, ακολουθούμενη από βρωμίωση της προκύπτουσας διόνης **15**, επεξεργασία με συμπυκνωμένο θειικό οξύ για να ληφθεί το ελεύθερο οξύ **16**, και αποβρωμίωση με καταλυτική υδρογονόλυση σε διάλυμα ρυθμιστικού με παλλάδιο σε ενεργό άνθρακα (Σχήμα 9). Η θερμική αποκαρβοξυλίωση έδωσε 5-δεκαπεντυλορεσορκινόλη **18**.



Σχήμα 9: Σύνθεση της 5-δεκαπεντυλορεσορκινόλης από άκυκλα αντιδρώντα.

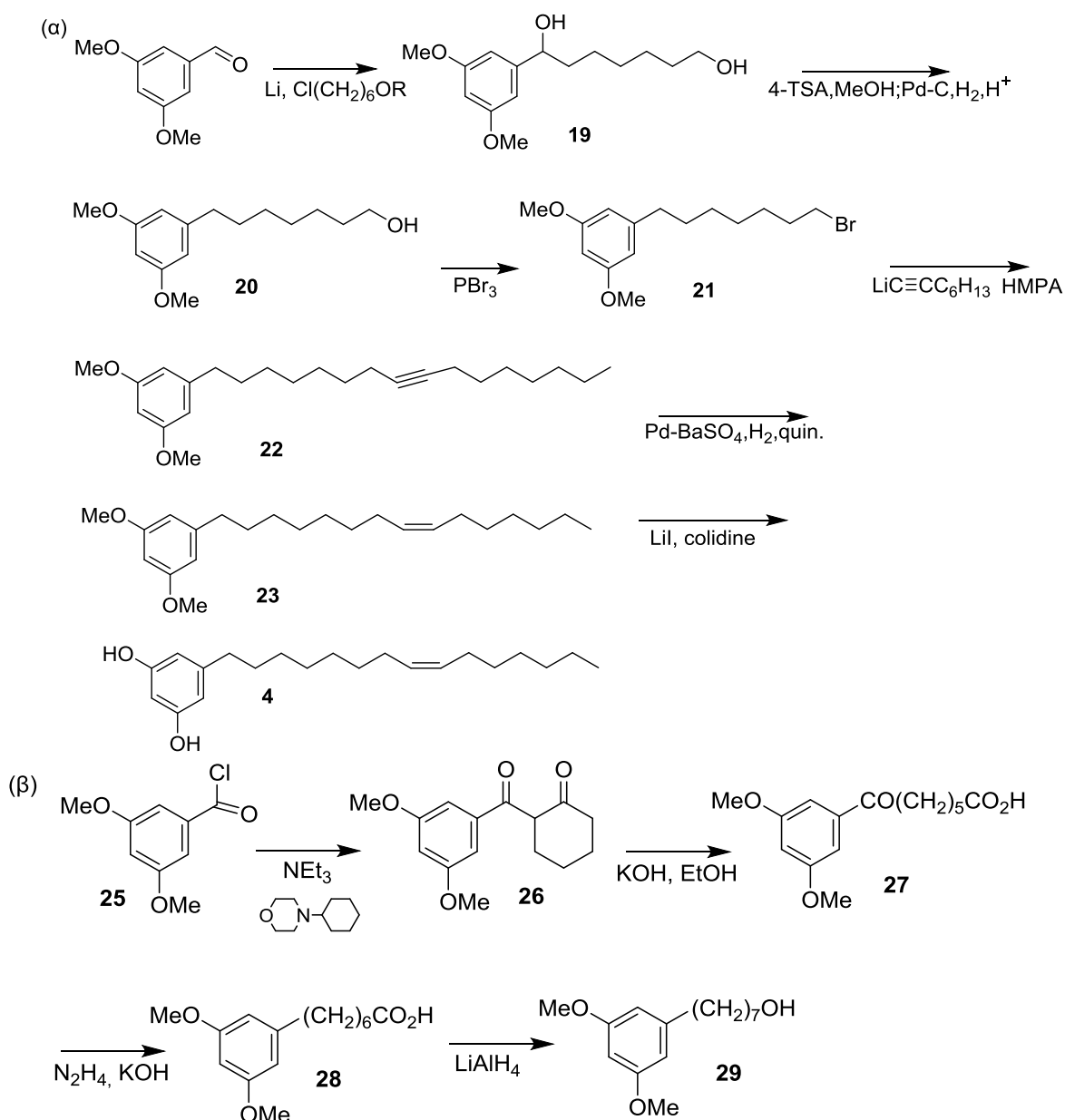
Έτσι, η ένωση **4** (Σχήμα 6) και οι ενώσεις **14**, **18**, **42-50** (Σχήμα 12) [26] μπορούν να προέρχονται από τη 3,5-διμεθοξυβενζαλδεΐδη **1**, ενώ τα σχήματα 7 και 8 προσφέρουν τα εναλλακτικά αρχικά αντιδρώντα, 3,5-διμεθοξυβενζυλική αλκοόλη και 3,5-διμεθοξυφαινόλη, αντίστοιχα. Επίσης, στο Σχήμα 7, από τη 3,5-διμεθοξυ-4-μεθυλοβενζαλδεΐδη μπορούν να παραληφθούν οι ενώσεις **51** και **52**, ενώ οι ενώσεις **53-55** (Σχήμα 12) μπορούν να παραληφθούν από τη 2,6-διμεθοξυβενζαλδεΐδη. Οι λεπροσόλες (ενώσεις **56** και **57** Σχήμα 12) είναι προσβάσιμες από φορμυλίωση της (15:0)-καρδόλης, ακολουθούμενη από αναγωγή και επανάληψη της διαδικασίας.

Η σύνθεση μονοενίων και διενών στη σειρά ρεσορκινολικών λιπιδίων συνήθως βασίζεται σε ακετυλενικές πορείες [89]. Έτσι, με αντίδραση 3,5-διμεθοξυβενζαλδεΐδης με Ο-προστατευμένη-6-χλωροεξανόλη παρουσία λιθίου, ακολουθούμενη από απομάκρυνση της προστατευτικής ομάδας και καταλυτική υδρογόνωση, παραλαμβάνεται η ένωση **20**. Το αντίστοιχο βρωμίδιο **21** ή 4-τοζυλεστέρας αντέδρασε με λιθιο-οκτ-1-ίνιο για να δώσει την ένωση **22**, η οποία ανάγεται επιλεκτικά στο 8(Z)-αλκένιο **23**. Απομεθυλίωση με ιωδιούχο λίθιο απέδωσε την (15:1)-καρδόλη **24**, όπως απεικονίζεται στο Σχήμα 10α. Μια συνθετική πορεία μονοενίου 8Z-καρδόλης **32** από το 3,5-διμεθοξυβενζοϋλοχλωρίδιο **25** απεικονίζεται στο Σχήμα 10β.

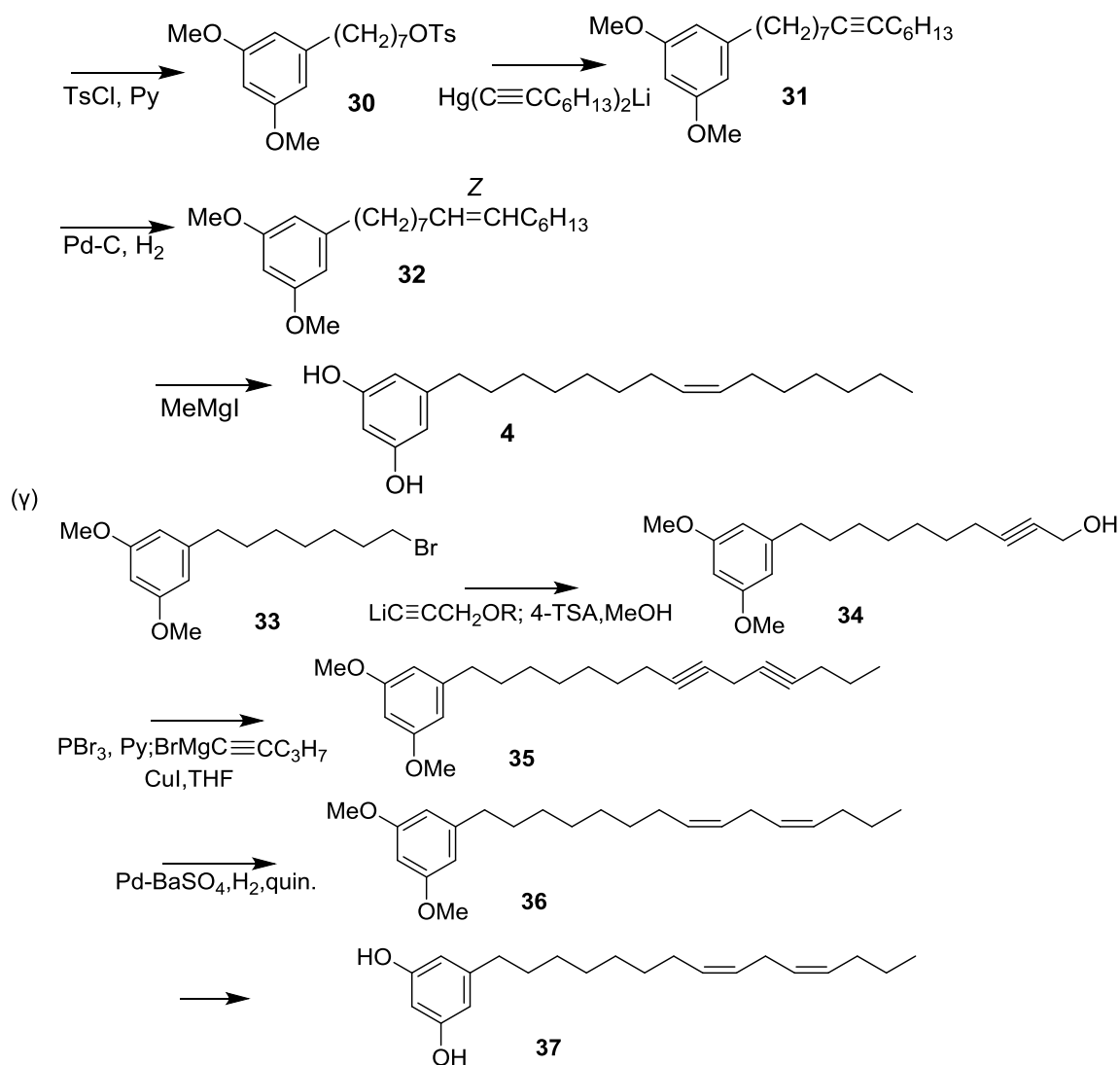
Για το διένιο (15:2)-καρδόλη **37** (Σχήμα 10γ), 7-(3,5-διμεθοξυφαινυλ)επτυλοβρωμίδιο **33** αντέδρασε με ένα παράγωγο Ο-προστατευμένης αλκινυλολιθικής προπαργυλικής αλκοόλης για να δώσει, μετά από όξινη επεξεργασία για απομάκρυνση της προστατευτικής ομάδας, την ένωση **34**. Το βρωμίδιο αυτής της αλκοόλης κατεργάστηκε με βρωμιούχο πεντ-1-ινυλομαγνήσιο παρουσία ιόντος χαλκού για να δώσει την ένωση **35**,

και εν συνεχεία εκλεκτική αναγωγή η οποία οδήγησε σε διμεθυλαιθέρα 5-[(Z,Z)-δεκαπεντε-8,11-διενυλ]-ρεσορκινόλης **36**. Αργότερα αυτός απομεθυλιώθηκε με θειολικό *tert*-βουτύλιο καλίου για να δώσει φαινόλη.

Στις σειρές μονοενίου με τη χρήση ενδιάμεσων κατάλληλου μήκους αλυσίδας και αλδεΐδης, οι ενώσεις 8'(Z) **4**, **58-63** και οι ενώσεις 10'(Z) **64** και **65** και η ένωση 12'(Z) **66** (Σχήμα 12) θα μπορούσαν να συντεθούν σύμφωνα με την πορεία α ή β που απεικονίζονται στο Σχήμα 10. Τα 8'(Z),11'(Z)-διένια **37** και **67-69** (Σχήμα 12) είναι προσβάσιμα με τη μεθοδολογία του Σχήματος 10γ.



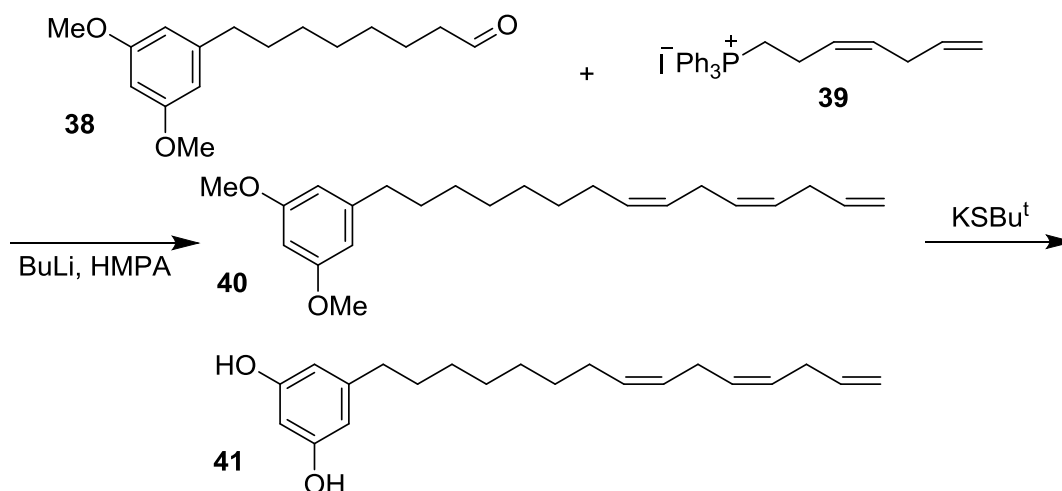
Σχήμα 10: Σύνθεση του μονοενίου 8Z-καρδόλης από (α) 3,5-διμεθοξυβενζαλδεΐδη, (β) 3,5-διμεθοξυβενζοϋλοχλωρίδιο, και (γ) του διενίου 8Z,11Z-καρδόλη.



Σχήμα 10: Συνέχεια.

Για το τριένιο (15:3)-καρδόλη η χρήση του βρωμιούχου πεντ-4-εν-1-ινυλομαγνησίου στη θέση του βρωμιούχου πεντ-1-ινυλομαγνησίου δεν ήταν ικανοποιητική, και παρόλο που τώρα, όπως και με το πολυακόρεστο ανακαρδικό οξύ [90], η αναγωγή των 8,11-εσωτερικών ομάδων αλκινίου παρουσία τελικού 14-ενίου θα ήταν εφικτή μέσω της χημείας βορίου, η μεθοδολογία Wittig μελετήθηκε για την κατασκευή ενός τροποποιημένου αντιδραστήριου C7 **39** για να αντιδράσει με την 8-(3,5-διμεθοξυφαινυλο)οκταν-1-άλη **38** (όπως απεικονίζεται στο Σχήμα 11). Το ίδιο επτά-1,4-διενυλοφωσφονιακό άλας **39** έχει χρησιμοποιηθεί [91] για την ένωση **70** (Σχήμα 12) και στις σειρές ουρουσιόλης [92]. Εκτός από τα τελικά ακόρεστα 8'(Z),11'(Z),14'-τριένια, ενώσεις με 5'(Z),8'(Z),11'(Z) ακορεστότητα (**67**) και

το τετραένιο 5'(Z),8'(Z),11'(Z),14'(Z) **71** (Σχήμα 12) είναι πιθανό να είναι προσβάσιμα είτε με ακετυλενικό είτε με Wittig αντιδραστήριο.

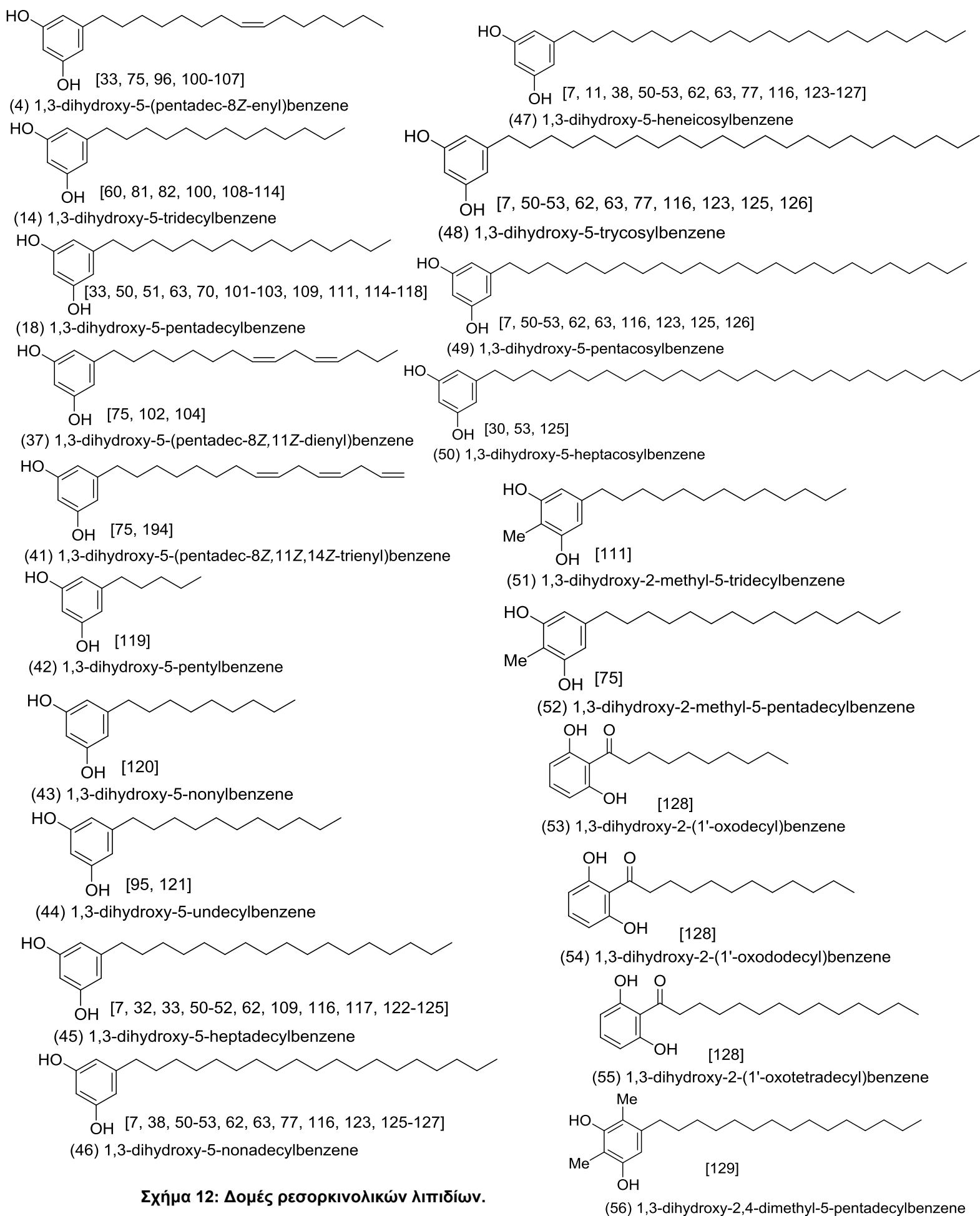


Σχήμα 11: Σύνθεση του τριενίου 8Z,11Z,14-καρδόλη.

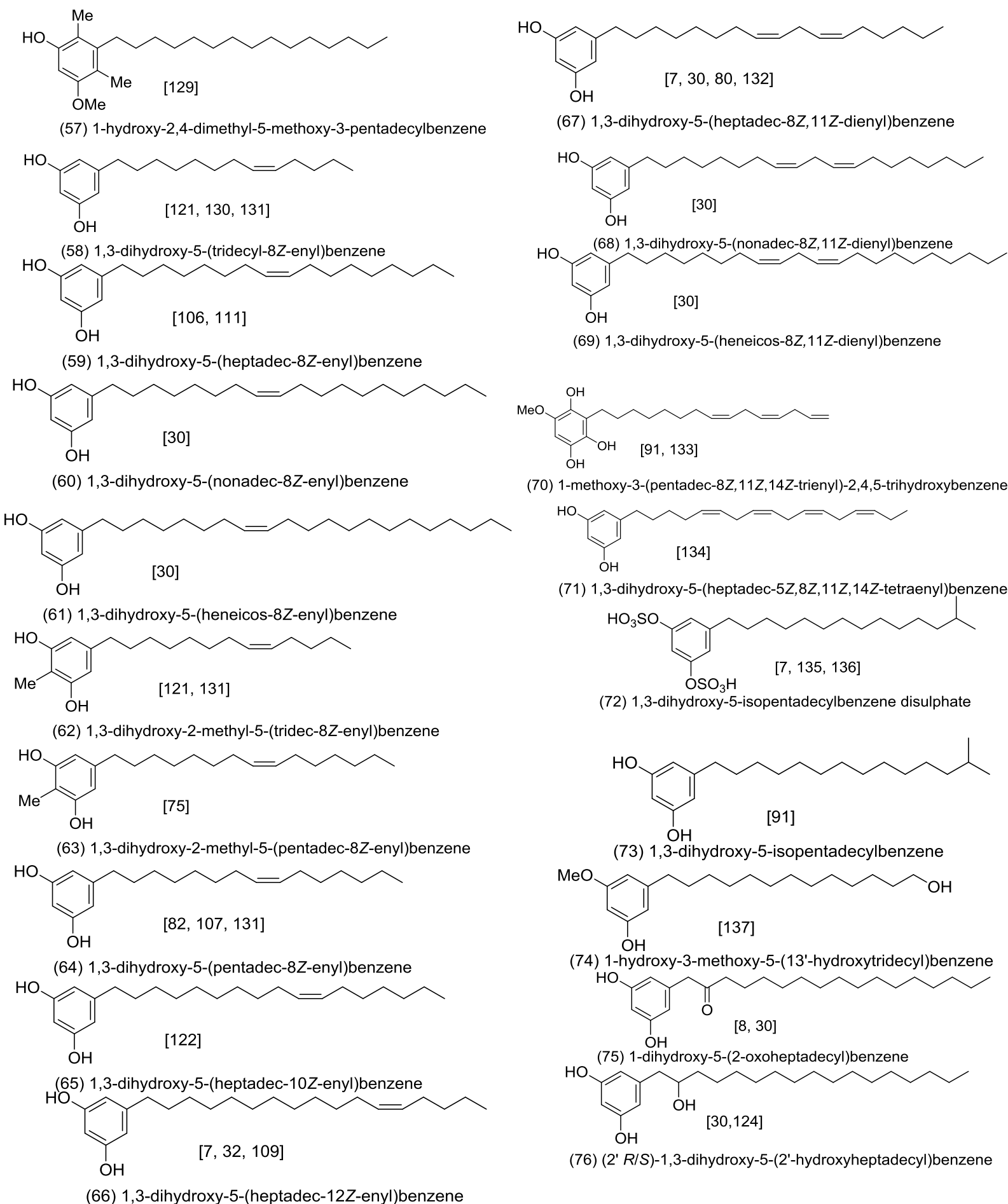
Ρεσορκινολικά λιπίδια που έχουν υδρόξυ, ακετόξυ, μέθυλο, μεθόξυ ή καρβόνυλο ομάδες ως υποκαταστάτες πλευρικής αλυσίδας συγκριτικά έχουν μελετηθεί λιγότερο όσον αφορά στη σύνθεσή τους.

Έτσι, οι ενώσεις **72** και **73** (Σχήμα 12), η αντιπροστατίνη Β, προέρχεται από ισοτετραδέκυλο βρωμίδιο σύμφωνα με το Σχήμα 6. Η 13-υδροξυ ένωση **74** (Σχήμα 12) απαιτεί τη χρήση χλωρυδρίνης από τη δωδεκάνο-1,12-διόλη στη θέση της εξαμεθυλενο χλωρυδρίνης στο πρώτο στάδιο του Σχήματος 10α. Η ένωση **75** που περιέχει ομάδα κετόνης έχει συντεθεί από τα χλωριούχο 3,5-διμεθοξυφαινυλακετύλιο και δι(δεκαπεντυλο)κάδμιο, ακολουθούμενα από απομεθυλίωση [30], και αναγωγή με βοροϋδρίδιο του νατρίου που τελικά δίνουν την 2-(R/S)-υδροξυ ένωση **76** (Σχήμα 12).

Η σύνθεση των εκτεταμένων σειρών ρεσορκινολών παρουσιάζεται σε μια μακροσκελή σειρά μελετών, [93-99] πολλές από τις οποίες περιέχουν χειρόμορφες ομάδες στις πλευρικές αλυσίδες με έναν ή περισσότερους υποκαταστάτες, και θα απαιτούσαν την προσάρτηση της προπαρασκευασμένης χειρόμορφης πλευρικής αλυσίδας C13 ή C15 με μεθόδους αποφυγής της ρακεμείωσης.



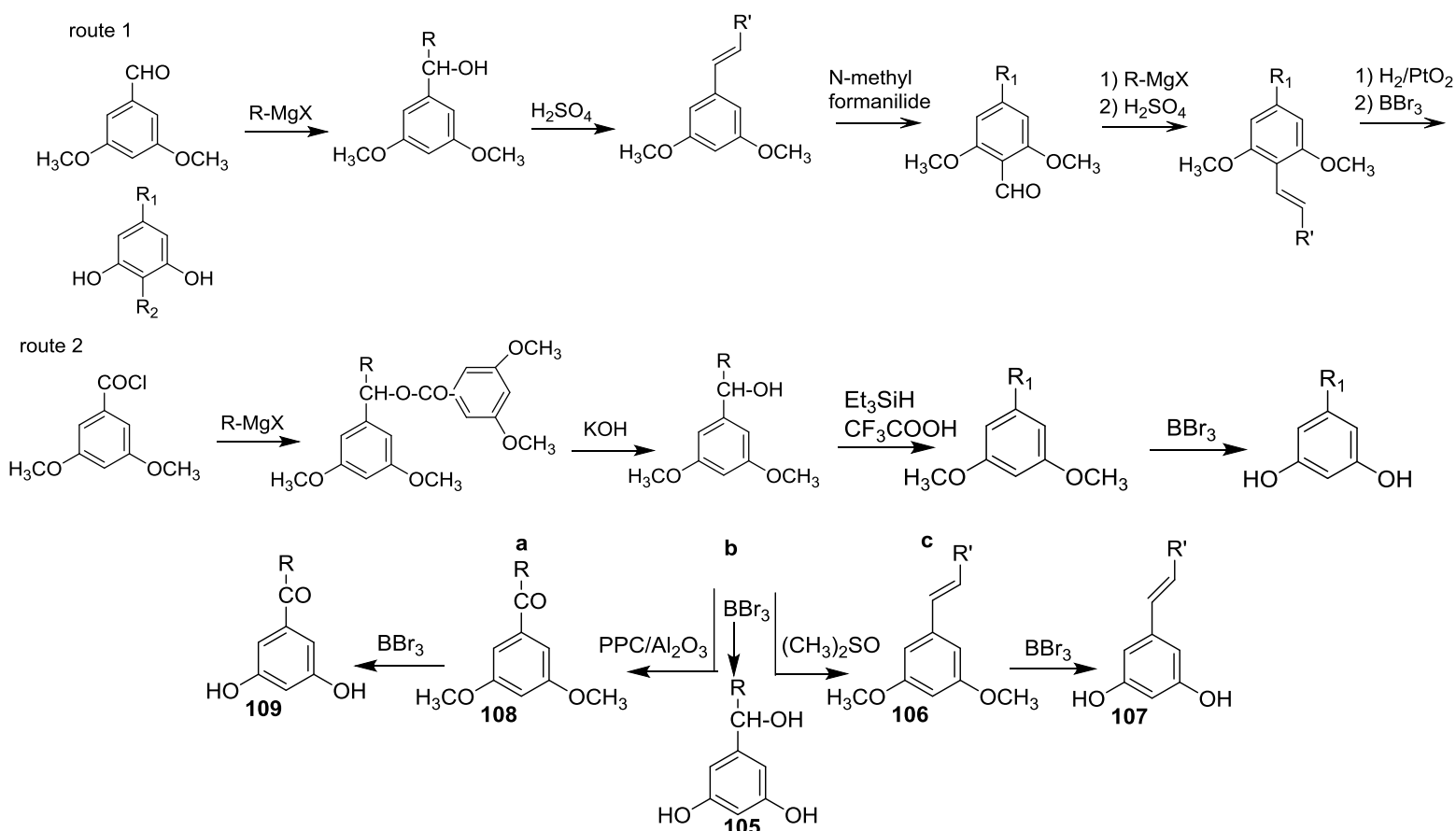
Σχήμα 12: Δομές ρεσορκινολικών λιπιδίων.



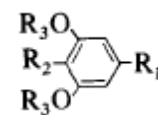
Σχήμα 12: συνέχεια.

Η Arisawa [138] και η ομάδα της το 1989 απομόνωσαν από το *Lysimachia japonica* THUNB. (Primulaceae) μια κυτταροτοξική αλκυλορεσορκινόλη που ταυτοποιήθηκε ως η γρεβιλλόλη (grevilloi) (**78**) (Πίνακας 4), και το 6-δεκατριϋλορεσορκυλικό οξύ (**77**) [άλλες ενώσεις που επίσης απομονώθηκαν και ταυτοποιήθηκαν ήταν η καμπφερόλη (**79**), η κερκετίνη (**80**), η β-σιτοστερόλη (**81**) και η β-σιτοστερόλη-β-D-γλυκοζίτης (**82**)]. Η γρεβιλλόλη δοκιμάστηκε για κυτταροτοξικότητα της έναντι των κυττάρων KB, B-16, PC-13, L-5178Y, P-388 και HEP-2 in vitro. Σχετικές ενώσεις συντέθηκαν και δοκιμάστηκαν για τη κυτταροτοξικότητα τους έναντι της κυτταρικής σειράς KB. Η ένωση **78** παρουσίασε την υψηλότερη δραστικότητα μεταξύ των ενώσεων **77-82** που απομονώθηκαν από το πιο ενεργό κλάσμα. Το διακέτυλο παράγωγο **83** και ο διμεθυλαιθέρας **84** της **78** ήταν ανενεργά έναντι των κυττάρων KB. Ωστόσο, ορισμένα παράγωγα αλκυλορεσορκινόλης ανέστειλαν τον σχηματισμό ατράκτου του γονιμοποιημένου εμβρύου αχινού [139, 140]. Ως εκ τούτου, φάνηκε να έχει ενδιαφέρον η διερεύνηση των σχέσεων δομής-κυτταροτοξικότητας μεταξύ των αναλόγων της γρεβιλλόλης έναντι των κυττάρων KB. Συντέθηκαν διάφορα ανάλογα σύμφωνα με τη συνθετική πορεία 1 ή 2 του Σχήματος 13 και η κυτταροτοξικότητα τους δοκιμάστηκε έναντι κυττάρων KB in vitro. Τα αποτελέσματα φαίνονται στους Πίνακες 4 και 5. Τόσο τα ακετυλιωμένα όσο και τα μεθυλιωμένα παράγωγα ήταν ανενεργά. Οι ενώσεις **85-90**, οι οποίες αναστέλλουν τον σχηματισμό ατράκτου των γονιμοποιημένων αυγών αχινού [139, 140] ήταν επίσης ανενεργές. Μεταξύ των παραγώγων 5-αλκυλορεσορκινόλης, τα **78**, **96**, **97** και **98** έδειξαν σημαντικές κυτταροτοξικές δράσεις με τιμές ED₅₀ (μέση αποτελεσματική δόση που προκαλεί επίδραση (<<απόκριση>>) σε 50% του πληθυσμού που μελετάται) 1,1, 3,1, 2,4 και 1,6 μg/ml, αντίστοιχα. Μια σύγκριση των κυτταροτοξικότητας του **78** και των **84-104** έδειξε ότι οι ενώσεις με ελεύθερες υδροξυλομάδες στον δακτύλιο βενζολίου και ένα ορισμένο μήκος πλευρικής αλυσίδας στον C-5, όπως οι ενώσεις **78** και **96-98**, έδειξαν ισχυρές κυτταροτοξικότητες, ενώ τα ακετυλιωμένα και μεθυλιωμένα παράγωγα, όπως οι ενώσεις **83**, **84** και **101-104**, ήταν ανενεργά. Με βάση τα παραπάνω δεδομένα, συνάγεται το συμπέρασμα ότι η υδροξυλίωση στους C-1 και C-3 και ένας ορισμένος αριθμός ανθράκων στην πλευρική αλυσίδα στον C-5 είναι οι δομικές απαιτήσεις για ισχυρή κυτταροτοξικότητα προς τα κύτταρα KB. Η

σχέση μεταξύ του αριθμού ανθράκων και της κυτταροτοξικότητας φαίνεται επίσης στο Σχήμα 14. Η ένωση **78** είναι η πιο δραστική σε αυτό το σύστημα. Η ένωση **78** δοκιμάστηκε επίσης έναντι πολλών καρκινικών κυτταρικών σειρών *in vitro* και τα αποτελέσματα φαίνονται στον Πίνακα 6. Η ένωση επέδειξε κυτταροτοξικότητα σε κύτταρα B-16 και PC-13, αλλά ήταν αδρανής έναντι των κυττάρων L-5178Y, P-388 και HEr-2. Φάνηκε επίσης να έχει ενδιαφέρον η διερεύνηση της κυτταροτοξικότητας του ενδιάμεσου **98a** και οι ενώσεις **105-109** παραλήφθηκαν από το **98a**. Μεταξύ αυτών, οι **105**, **107** και **109** έδειξαν σημαντικές κυτταροτοξικές ιδιότητες και οι ενώσεις **107** και **109** ήταν πιο δραστικές από την ένωση **98**. Φαίνεται ότι μια ακόρεστη πλευρική αλυσίδα συζευγμένη με τον αρωματικό δακτύλιο έχει ως αποτέλεσμα μεγαλύτερη κυτταροτοξικότητα από μια κορεσμένη αλυσίδα σε αυτές τις σειρές.



Σχήμα 13: Σύνθεση παραγώγων ARs .



Πίνακας 4: Ρεσορκινολικά παράγωγα και η κυτταροτοξικότητα τους προς τα κύτταρα KB [138].

Ένωση	R ₁	R ₂	R ₃	ED ₅₀ (μg/ml)
83	(CH ₂) ₁₂ -CH ₃	H	Ac	>100
84	(CH ₂) ₁₂ -CH ₃	H	CH ₃	>100
85	(CH ₂) ₃ -CH ₃	(CH ₂) ₅ -CH ₃	H	>100
86	(CH ₂) ₅ -CH ₃	(CH ₂) ₅ -CH ₃	H	>100
87	(CH ₂) ₂ -CH ₃	(CH ₂) ₄ -CH ₃	H	20
88	(CH ₂) ₂ -CH ₃	(CH ₂) ₃ -CH ₃	H	8,5
89	CH ₃	(CH ₂) ₅ -CH ₃	H	24
90	H	(CH ₂) ₅ -CH ₃	H	25
91	(CH ₂) ₄ -CH ₃	H	H	19
92	(CH ₂) ₅ -CH ₃	H	H	15
93	CH ₃	H	H	>100
94	CH ₂ -CH ₃	H	H	>100
95	(CH ₂) ₆ -CH ₃	H	H	5,0
96	(CH ₂) ₈ -CH ₃	H	H	3,1
97	(CH ₂) ₁₀ -CH ₃	H	H	2,4
78	(CH ₂) ₁₂ -CH ₃	H	H	1,1
98	(CH ₂) ₁₄ -CH ₃	H	H	1,6
99	(CH ₂) ₁₆ -CH ₃	H	H	4,5
100	(CH ₂) ₁₈ -CH ₃	H	H	>50
101	(CH ₂) ₁₀ -CH ₃	H	Ac	>100
102	(CH ₂) ₁₀ -CH ₃	H	CH ₃	>100
103	(CH ₂) ₁₄ -CH ₃	H	Ac	>100
104	(CH ₂) ₁₄ -CH ₃	H	CH ₃	>100
98a	CH(OCO-C ₆ H ₃ (OMe) ₂)-(CH ₂) ₁₃ -CH ₃	H	CH ₃	>100
105	CH(OH)-(CH ₂) ₁₃ -CH ₃	H	H	1,8
106	CH = CH-(CH ₂) ₁₃ -CH ₃	H	CH ₃	>100
107	CH = CH-(CH ₂) ₁₂ -CH ₃	H	H	0,4
108	CO-(CH ₂) ₁₃ -CH ₃	H	CH ₃	>100
109	CO-(CH ₂) ₁₃ -CH ₃	H	H	0,8

Πίνακας 5: Ρεσορκινολικά παράγωγα και η κυτταροτοξικότητα τους προς τα κύτταρα KB [138].

Ένωση	Αριθμός ανθράκων πλευρικής αλυσίδας	ED ₅₀ (M)
93	1	
94	2	
91	5	1,1 x 10 ⁻⁴
95	7	2,4 x 10 ⁻⁵
96	9	1,3 x 10 ⁻⁵
97	11	9,1 x 10 ⁻⁶
78	13	3,8 x 10 ⁻⁶
98	15	5,0 x 10 ⁻⁶
99	17	1,3 x 10 ⁻⁵
100	19	

Είναι απαραίτητο να αναλυθούν περαιτέρω οι συνθετικές πορείες που χρησιμοποίησε η Arisawa καθώς και τα προϊόντα αυτών.

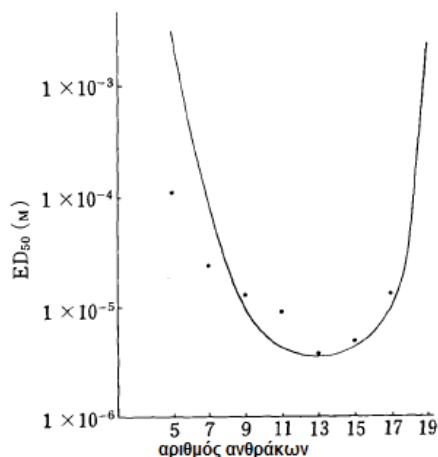
Αρχικά οι παρασκευές των ενώσεων **85-92** έγιναν σύμφωνα με τη πορεία 1 (route 1) του Σχήματος 13.

Για την παρασκευή των ενώσεων **a**, R-MgBr [R=CH₃(CH₂)₅-, CH₃(CH₂)₇ -, CH₃(CH₂)₉-, CH₃(CH₂)₁₃-, CH₃(CH₂)₁₅- και CH₃(CH₂)₁₇-] προστέθηκε λίγο-λίγο σε διάλυμα THF του 5- διμεθοξυβενζοϋλοχλωριδίου στους -20 °C υπό N₂. Ακολούθως, για την παρασκευή των ενώσεων **b**, καθεμία από τις ενώσεις **a** προστέθηκε σε διάλυμα KOH και το μείγμα τέθηκε υπό αναρροή για 2 ώρες. Εν συνεχεία, για την παρασκευή των ενώσεων **c**, Et₃SiH προστέθηκε σε διάλυμα καθεμίας από τις ενώσεις **b** σε CF₃COOH, σε διάστημα 15 λεπτών, και το μείγμα αφέθηκε υπό ανάδευση στους 45°C για 24 ώρες. Η απομεθυλίωση των ενώσεων **c** έγινε με BBr₃. Το μείγμα της αντίδρασης αφέθηκε σε θερμοκρασία δωματίου overnight, για να ληφθεί 5-αλκυλορεσορκινόλη. Τα προϊόντα περιγράφηκαν ως εξής: **95** (απόδοση 32%) άχρωμες βελόνες mp 56°C, **96** (απόδοση 43%) άχρωμες βελόνες mp 67°C, **97** (απόδοση 38%) άχρωμες βελόνες mp 79°C, **98** (απόδοση 47%) άχρωμες βελόνες mp 91-92°C, **99** (απόδοση 39%) άχρωμες βελόνες mp 95°C, **100** (απόδοση 44%) άχρωμες βελόνες mp 95-96°C.

Για την παρασκευή της **106**, διάλυμα νιτροβενζολίου **92a** και (CH₃)₂SO θερμάνθηκαν σε ελαιόλουτρο στους 170°C υπό αναρροή για 15 ώρες. Για την παρασκευή της **108**, PPC/Al₂O₃ [141] προστέθηκε στην **92b**. Η απομεθυλίωση των ενώσεων **98b**, **106** και **108** πραγματοποιήθηκε όπως για τις ενώσεις **c**. Η απομεθυλίωση της **98b** έδωσε την **105** (απόδοση 45%) ως άχρωμη άμορφη σκόνη. Η απομεθυλίωση της **106** έδωσε την **107** (απόδοση 73%) ως άχρωμη άμορφη σκόνη. Η απομεθυλίωση της **108** έδωσε την **109** (απόδοση 34%) ως άχρωμη άμορφη σκόνη.

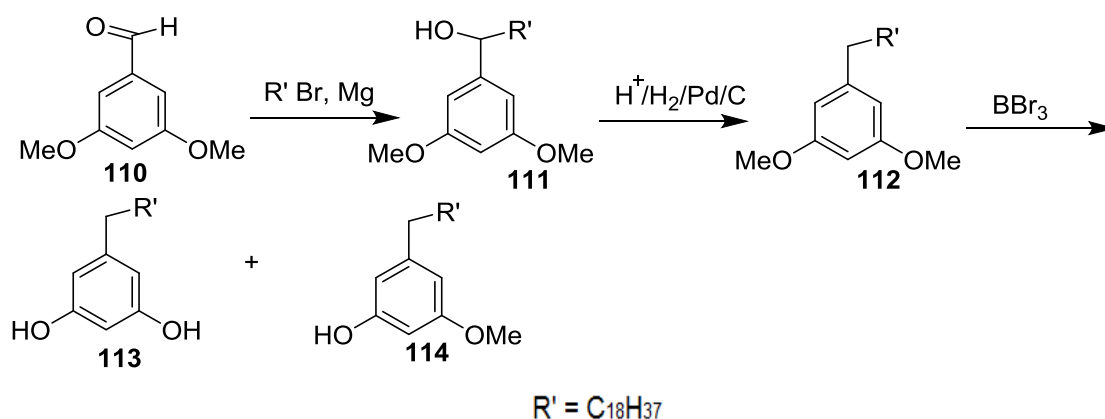
Πίνακας 6: Κυτταροτοξικότητα της ένωσης **78** προς σειρές καρκινικών κυττάρων [in vitro, ED₅₀ (μg/ml)] [138].

Ένωση	B-16	PC-13	L-5178Y	P-388	Hep-2
78	4,0	4,3	>25	>25	15



Σχήμα 14: Σχέση μεταξύ κυτταροτοξικότητας σε KB κύτταρα *in vitro* και αριθμού ανθράκων πλευρικής αλυσίδας παραγώγων 5-ARs.

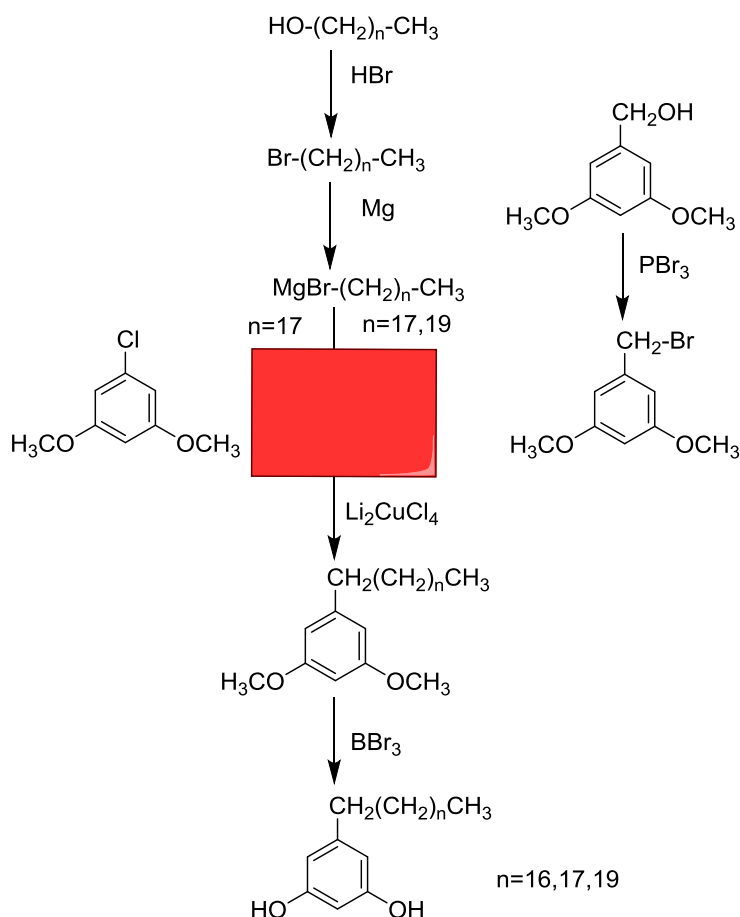
Μία άλλη ενδιαφέρουσα προσέγγιση έγινε από τον Brown το 1992 [84] με τη σύνθεση 5-δεκαεννεανυλορεσορκινόλης. Η σύνθεση της 5-δεκαεννεανυλορεσορκινόλης **113** (και του διμεθυλαιθέρα 5-δεκαεννεανυλορεσορκινόλης **114**) έγινε μέσω Grignard συμπύκνωσης στεαρυλικού βρωμιδίου και 3,5-διμεθοξυβενζαλδεΐδης για να παραχθεί η δευτεροταγής αλκοόλη **111**. Η αλκοόλη αυτή εν συνεχεία ανάχθηκε στον αντίστοιχο κορεσμένο υδρογονάνθρακα **112** με ταυτόχρονη καταλυόμενη από οξύ αφυδάτωση και υδρογόνωση [120]. Ο διμεθυλαιθέρας 5-δεκαεννεανυλορεσορκινόλης αποπροστατεύτηκε τελικά χρησιμοποιώντας τριβρωμιούχο βόριο για να δώσει την 5-δεκαεννεανυλορεσορκινόλη **113** με πλήρη απομεθυλίωση-η προτιμώμενη αντίδραση- και χαμηλές αποδόσεις του μονομεθυλαιθέρα **114**, που ήταν πανομοιότυπος με το φυσικό προϊόν από κάθε άποψη (Σχήμα 15). Αναλυτικότερα, 3,5-διμεθοξυβενζαλδεΐδη προστέθηκε σε αντιδραστήριο Grignard, παρασκευασμένο από στεαρυλοβρωμίδιο σε ψήγματα Mg, για να δώσει τον διμεθυλαιθέρα 5-(1'-υδροξυδεκαεννεανυλο)-ρεσορκινόλης **111**. Η αλκοόλη **111** σε H₂SO₄ και μετά τη προσθήκη 10% Pd/C υδρογονώθηκε σε θερμοκρασία και πίεση δωματίου για να δώσει το λευκό στερεό διμεθυλαιθέρα 5-δεκαεννεανυλορεσορκινόλης **112**. Έπειτα διάλυμα **112** προστέθηκε αργά σε διάλυμα BBr₃ στους -78°C και το μείγμα διατηρήθηκε σε αυτή τη θερμοκρασία υπό ανάδευση για 5 ώρες και στη συνέχεια υποβλήθηκε σε απότομη ψύξη για να ληφθούν τελικά οι 5-δεκαεννεανυλορεσορκινόλη **113** και ο 3-O-μεθυλαιθέρας 5-δεκαεννεανυλορεσορκινόλης **114** που καθαρίστηκε από τη πρώτη ύλη και την 5-δεκαεννεανυλορεσορκινόλη με χρωματογραφία στήλης



Σχήμα 15: Σύνθεση της 5-δεκαεννεανυλορεσορκινόλης.

Άλλη μία σύνθεση αλκυλορεσορκινολών, και συγκεκριμένα των 5-n-δεκαοκτοκυλορεσορκινόλη (**18 AR**), 5-n-δεκαεννεανυλορεσορκινόλη (**19 AR**) και 5-n-εικοσιενυλο-ρεσορκινόλη (**21AR**) πραγματοποιήθηκε από τον Gerdon το 1994 σύμφωνα με το Σχήμα 16 [4]. Αρχικά παρασκευάστηκε 3,5-διμεθοξυβενζυλοβρωμίδιο από 3,5-διμεθοξυβενζυλ αλκοόλη με πρόσφατα παρασκευασμένο PBr_3 σε ξηρό διαιθυλαιθέρα [142]. Οι διμεθυλαιθέρες 5-n-αλκυλορεσορκινολών συντέθηκαν είτε με προσθήκη 3,5-διμεθοξυβενζυλοβρωμιδίου είτε με προσθήκη διμεθυλαιθέρα 5-χλωρορεσορκίνης σε αντιδραστήρια Grignard μακράς αλυσίδας, παρασκευασμένα από 1-βρωμοδεκαοκτάνιο και 1-βρωμοεικοσιενάνιο αντίστοιχα. Ως καταλύτης για τις αντιδράσεις σύζευξης χρησιμοποιήθηκε Li_2CuCl_4 σε ξηρό THF [143]. Για τον καθαρισμό, τα προϊόντα διαλύθηκαν σε πετρελαϊκό αιθέρα (PE) και χρωματογραφήθηκαν σε στήλη silica gel με σύστημα διαλύτη PE/ $CHCl_3$. Τα προϊόντα εκλούστηκαν με PE/ $CHCl_3$ (90:10 ή 70:30, v/v). Κατεργασία των διμεθυλαιθέρων με τριβρωμιούχο βόριο (BBr_3) [120] οδήγησε στις επιθυμητές 5-n-αλκυλορεσορκινόλες **18AR**, **19AR** και **21AR**, οι οποίες καθαρίστηκαν με χρωματογραφία σε silica gel χρησιμοποιώντας PE/ $CHCl_3$.

Οι ARs δεν είναι γενικά άμεσα διαθέσιμες. Έτσι χρειάζεται μια αποτελεσματική μέθοδος παρασκευής για διάφορες αναλυτικές και μεταβολικές έρευνες καθώς και έρευνες βιοδραστικότητας. Το κρίσιμο βήμα στη σύνθεση της μακράς αλκυλικής αλυσίδας ($\geq C_{15}$) AR είναι ο σχηματισμός του δεσμού C-C μεταξύ του αρωματικού δακτυλίου και της αλκυλικής αλυσίδας.

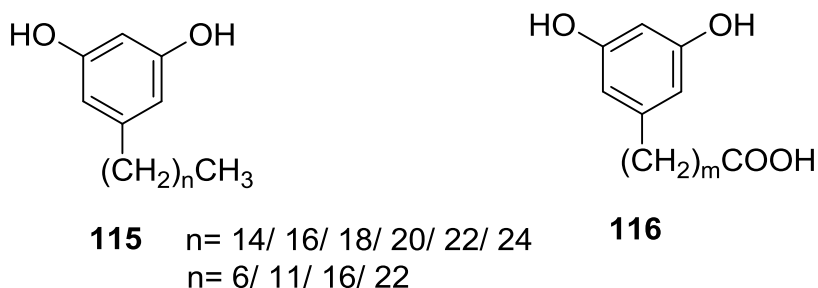


Σχήμα 16: Σύνθεση των 5-*n*-αλκυλορεσορκινολών, *n*=16 (18AR), *n*=17 (19AR), *n*=19 (21AR).

Οι προηγούμενες αναφερθείσες συνθεσείς πολλών σταδίων χρησιμοποιούν τεχνικές που είναι χρονοβόρες, απαιτούν αδρανή ατμόσφαιρα και δίνουν εξαιρετικά μεταβλητές συνολικές αποδόσεις. Αναμφίβολα, οι πιο κοινές προσεγγίσεις ήταν η τεχνική Grignard ή η αλκυλολιθιακή τεχνική που ξεκινούν από 3,5-διμεθοξυβενζαλδεΐδη. Έχουν αναπτυχθεί πρόσθετες συνθετικές μέθοδοι για βραχύτερη αλυσίδα AR (<C₁₅), όπως η αρωματοποίηση παραγώγων κυκλοεξάνιου που δίνουν απόδοση 61-66% [144]. Μια πρόσφατη προσέγγιση Wittig χρησιμοποιεί το προϊόν οξονόλυσης της δεκαπεντυλορεσορκινόλης (C₁₅) και υλίδια με αλυσίδες περιττού αριθμού ανθράκων, αλλά η χρήση τους είναι περιορισμένη λόγω περιορισμένης διαθεσιμότητας αλκυλοβρωμιδίων αλυσίδας περιττού αριθμού ανθράκων [145].

Οι Parikka και Wähälä [146] ανέφεραν μια γρήγορη και αποτελεσματική σύνθεση μακράς αλυσίδας 5-*n*-αλκυλορεσορκινολών **115** και των νέων παραγώγων των 5-*n*-αλκυλορεσορκινολών **116**, έτοιμων για την ανάπτυξη αντισωμάτων. Η χρήση ακτινοβόλησης μικροκυμάτων (MW) φέρνει σημαντικά

οφέλη όσον αφορά τους χρόνους αντίδρασης και τις αποδόσεις σε υδατικές αντιδράσεις Wittig. Τόσο ημι-σταθεροποιημένα όσο και μη σταθεροποιημένα υλίδια παρέχουν μια σκόπιμη πρόσβαση σε 5-(1-αλκενυλο)ρεσορκινόλες, εύκολα μετατρέψιμες σε απτένια AR.



Σχήμα 17: 5-*n*-Αλκυλορεσορκινολές 115 και νέα παράγωγα 116.

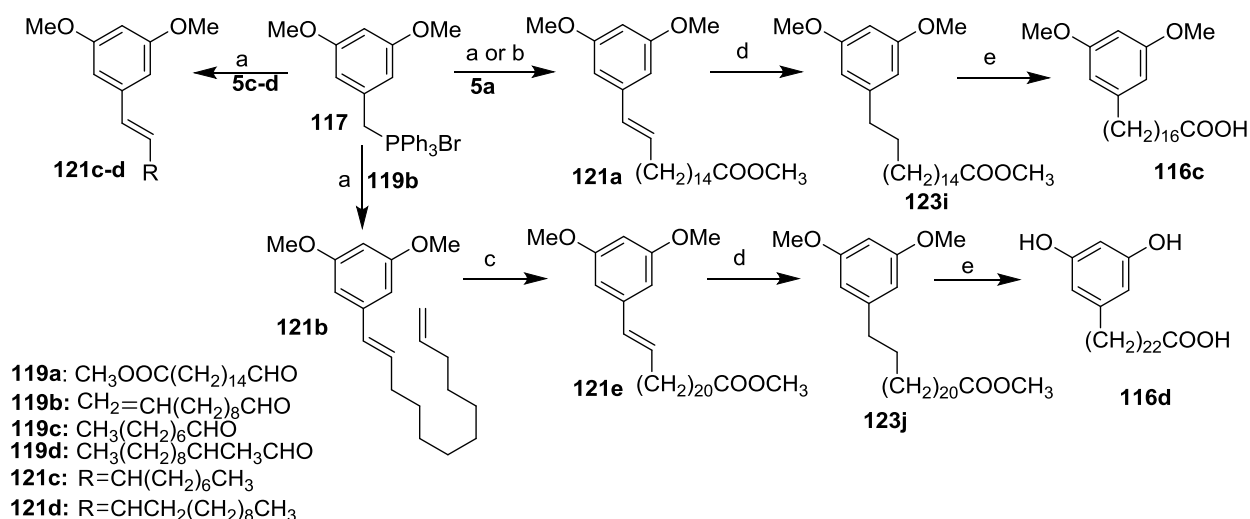
Οι ερευνητές προσεγγίσανε τη Wittig σύνθεση των πρόδρομων των AR υπό 2 πρίσματα: επιλέγοντας ημι-σταθεροποιημένα και μη σταθεροποιημένα βενζυλοφωσφονιακά ή αλκυλοφωσφονιακά υλίδια (από τα άλατα **117** και **118**), ως αρχικά υλικά με **119** ή **120** αντίστοιχα. Νερό ή ένα μείγμα νερού και οργανικού διαλύτη χρησιμοποιήθηκαν ως μέσο αντίδρασης με K₂CO₃. Η ακτινοβολήση MW χρησιμοποιήθηκε για την επιτάχυνση των ρυθμών αντίδρασης αφού τα προκαταρκτικά πειράματα υπό συμβατική θέρμανση δείξαν ότι απαιτούνται πολύ μεγάλοι χρόνοι αντίδρασης.

Για τις αντιδράσεις των **117** και **119**, διάλυμα 0,1 M K₂CO₃ ήταν ένας βέλτιστος διαλύτης. Οι αντιδράσεις πραγματοποιήθηκαν σε 3 ή 10 λεπτά με απόδοση 66-89% των **121a–d** (Σχήμα 18, Πίνακας 7). Η μεθυλική ομάδα στον C-2 του **119d** παρεμπόδιζε την αντίδραση και απαίτησε τη χρήση αυξημένης ποσότητας **117** για να δώσει απόδοση 66%.

Οι αντιδράσεις των **118** και **120** απαιτούσαν την παρουσία οργανικού διαλύτη (Σχήμα 19, Πίνακας 7), καθώς η απόδοση δεν ήταν ικανοποιητική στα διάφορα διαλύματα K₂CO₃ που υποβλήθηκαν σε δοκιμή (0, 1 M/1 M/5 M/κορεσμένα). Από αυτά, το κορεσμένο διάλυμα έδωσε λιγότερο από 50% στην καλύτερη περίπτωση. Ένα διάλυμα DMSO/H₂O βρέθηκε να είναι βέλτιστο για αυτές τις αντιδράσεις δίνοντας τα προϊόντα **122** σε απόδοση 65-81%. Και στις δύο προσεγγίσεις, η θέρμανση MW μείωσε το χρόνο αντίδρασης σε λεπτά και αύξησε την απόδοση (π.χ. προϊόντα **121a** και

122e) σε σύγκριση με τις αντιδράσεις που πραγματοποιήθηκαν υπό συμβατικές συνθήκες (αναρροή αρκετών ωρών σε διοξάνιο/H₂O/K₂CO₃ για παράδειγμα)

Οι αντιδράσεις που πραγματοποιήθηκαν είτε σε ανοιχτά δοχεία είτε σε κλειστά δοχεία πίεσης. Οι αποδόσεις των αντιδράσεων των αλκυλοφωσφονιακών αλάτων **118** σε κλειστά δοχεία δεν ήταν καλές λόγω αποικοδόμησης των υλιδίων υπό υψηλή πίεση (περίπου 9 bar). Αντίθετα, η αντίδραση του ημισταθεροποιημένου βενζυλικού υλιδίου από την **117** έδωσε καλή απόδοση υπό συνθήκες υψηλής πίεσης, όπως επίσης και στο ανοικτό δοχείο (προϊόν **119**, Πίνακας 7). Μια διαδικασία ενός δοχείου (one-pot) διερευνήθηκε με τη χρήση αλκυλοβρωμιδίου, PPh₃ και του **120** σε διάφορους οργανικούς διαλύτες, αλλά παρέμεινε ανεπιτυχής.



Σχήμα 18: Σύνθεση παραγώγων AR. a) κλειστό δοχείο: MW, 0,1M K₂CO₃, 100–150 °C, 100-150 W, 4-9 bar, 66-81% b) ανοιχτό δοχείο: MW, 0,1M K₂CO₃, 80 °C, 50–150W, 89% c) 9-BBN, K₃PO₄, Pd(PPh₃)₄, I-(CH₂)₁₀COOMe, 26% d) H₂, Pd/C, CH₂Cl₂, 90-91% e) HBr, αναρροή, 77-79%.

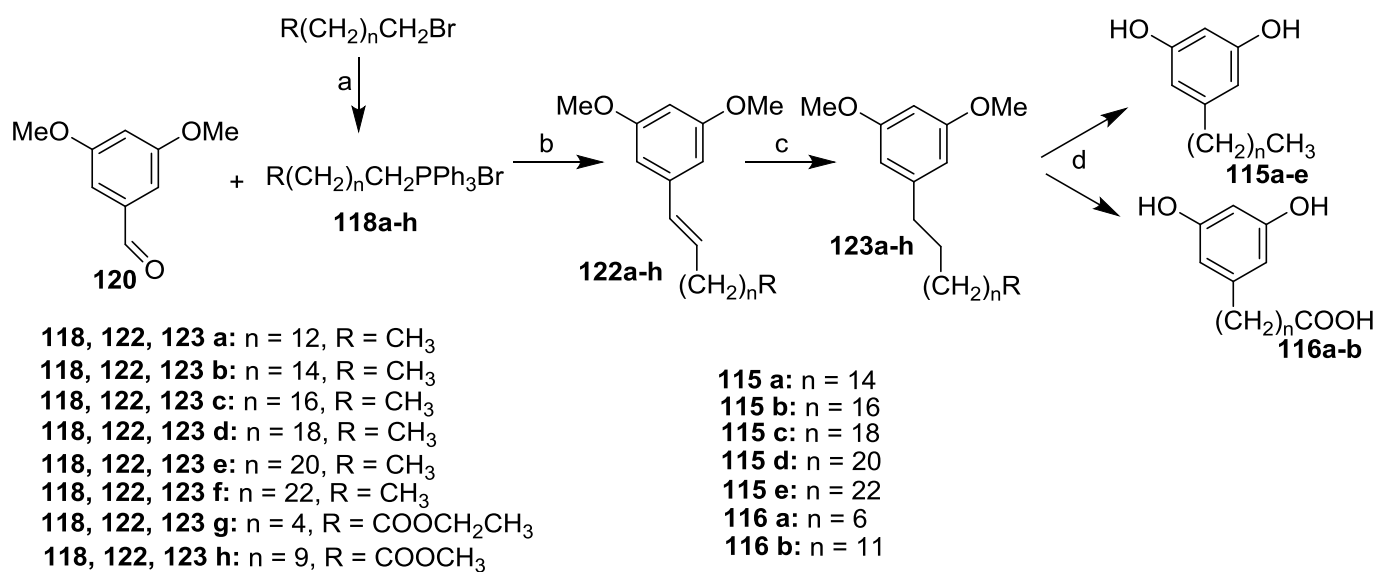
Τα μείγματα ισομερών cis και trans **121a–d** και **122** είχαν αναλογίες Z/E που κυμαίνονται από περίπου 40:60 (**122**) έως περίπου 80:20 (**121a**, τόσο σε ανοιχτό όσο και σε κλειστό δοχείο) σύμφωνα με το ¹H NMR και GC-MS. Καθώς ο τελικός στόχος ήταν η ανηγμένη C=C AR, η έλλειψη στερεοχημικού ελέγχου δεν είχε καμία σημασία. Ακολουθώντας την αντίδραση Wittig, καταλυτική υδρογόνωση και απομεθυλίωση έδωσαν ARs και απτένια AR σε περίπου 40% συνολική απόδοση. Τα αντιδραστήρια Wittig ήταν ελάχιστα διαλυτά στο νερό. Ωστόσο, οι λειτουργικές ομάδες που ενισχύουν τη

διαλυτότητά τους, όπως τα προηγουμένως αναφερόμενα προσαρτώμενα COOH ή PEG [147, 148], δεν ήταν απαραίτητα. Τόσο οι αποδόσεις των προκαταρκτικών πειραμάτων χωρίς ακτινοβολήση MW όσο και οι αποδόσεις των αντιδράσεων με MW ήταν ανώτερες από εκείνες που είχαν προηγουμένων αναφερθεί (20-30%) για Wittig αντιδράσεις μη σταθεροποιημένων υλιδίων. Επίσης να σημειωθεί ότι δεν υπήρχε ανάγκη για ξηρούς διαλύτες ή αδρανή ατμόσφαιρα.

Πίνακας 7: Αντιδράσεις Wittig που πραγματοποιήθηκαν σε 0,1M K₂CO₃ ή DMSO/H₂O.

Φωσφονιακό άλας	Αλδεΐδη	Προϊόν	Χρόνος (λεπτά)	Απόδοση % (ανοιχτό δοχείο)	Απόδοση % (δοχείο υψηλής πίεσης)	Διαλύτης
117	119a	121a	3	89	81 ^α	0,1 M K ₂ CO ₃
117	119b	121b	3	-	78	0,1 M K ₂ CO ₃
117	119c	121c	3	-	77	0,1 M K ₂ CO ₃
117	119d	121d	10	-	66 ^β	0,1 M K ₂ CO ₃
118a	120	122a	5	81	-	DMSO/H ₂ O
118a	120	122a	5	-	48	sat. K ₂ CO ₃
118b	120	122b	5	78	-	DMSO/H ₂ O
118c	120	122c	5	75	-	DMSO/H ₂ O
118d	120	122d	5	76	-	DMSO/H ₂ O
118e	120	122e	5	70	-	DMSO/H ₂ O
118f	120	122f	5	68	-	DMSO/H ₂ O
118g	120	122g	5	68	-	DMSO/H ₂ O
118h	120	8h	5	65	-	DMSO/H ₂ O

^α 4 bar πίεση, στα άλλα 9 bar.
^β 3 eq το φωσφονιακό άλας που χρησιμοποιήθηκε στην αντίδραση.



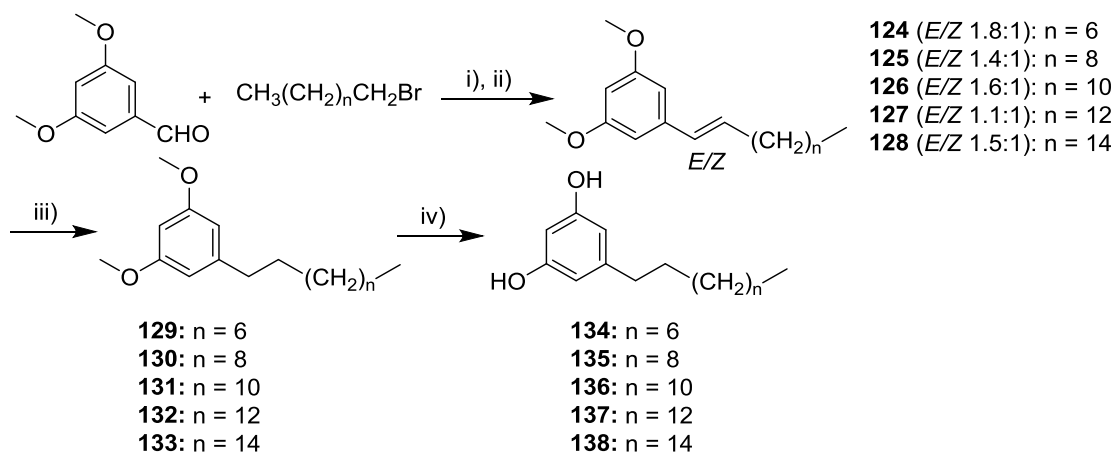
Σχήμα 19: Σύνθεση 5-n-AR και παραγώγων. a) PPh₃, τολουόλιο, αναρροή, 79-87% b) ανοιχτό δοχείο: MW, DMSO/H₂O 10:1, K₂CO₃, 130-150 °C, 150 W, 65-81% c) H₂, Pd /C, CH₂Cl₂, 90-97 d) BBr₃, 80-84%.

Όπως αναλύθηκε πιο πάνω, η Arisawa σύνθεσε μια σειρά ARs με μικρές έως μέτριες αλκυλικές πλευρικές αλυσίδες, C9:0-C19:0, χρησιμοποιώντας αντιδράσεις Grignard [138]. Η Parikka ανέπτυξε μια πρόσφορη προσέγγιση για το σχηματισμό του δεσμού C-C μεταξύ του αρωματικού δακτυλίου και της πλευρικής αλκυλικής αλυσίδας χρησιμοποιώντας μια τροποποιημένη αντίδραση Wittig σε υδατικό μέσο, και τελικά συντέθηκαν διάφορες ARs μακράς αλυσίδας ($\geq$ C15), συμπεριλαμβανομένων των C15:0-C25:0 [146]. Ο Zhu το 2012 [149] περιέγραψε μια κατάλληλη σύνθεση 5 ARs βραχέος έως μέτριου μήκους πλευρικής αλυσίδας C9:0-C17:0 (**135-138**) καθώς και 10 σχετικών ενδιάμεσων (**124-133**), χρησιμοποιώντας τη τροποποιημένη αντίδραση Wittig σε υδατικό μέσο αντί της γενικής προσέγγισης Grignard. Επίσης συνέθεσε 5-αλκυλοπυρογαλλόλες. Σκοπός της σύνθεσης αυτών των ενώσεων ήταν να αξιολογήσει τις ανασταλτικές τους δράσεις έναντι των σειρών ανθρώπινων κυττάρων καρκίνου παχέος εντέρου HCT-116 και HT-29 καθώς και να ελεγχεί η ανασταλτική τους δράση στο πρωτεάσωμα. Ο Zhu με τη σύνθεση ARs βραχείας αλυσίδας C9:0-C13:0 χρησιμοποιώντας τη τροποποιημένη αντίδραση Wittig επέκτεινε την εφαρμογή του πεδίου της τροποποιημένης προσέγγισης Wittig, η οποία είχε προηγουμένως περιγραφεί για την παρασκευή ARs μακράς αλυσίδας ($\geq$ C15) [146].

Αρχικά η συνθετική πορεία ξεκίνησε με τη διαδικασία A, για τη σύνθεση διμεθυλαιθέρων των 5-αλκενυλορεσορκινολών **124-128** μέσω της τροποποιημένης προσέγγισης Wittig (Σχήμα 20). Διάλυμα PPh₃ και αλκυλοβρωμίδια μακράς αλυσίδας σε τολουόλιο θερμάνθηκαν υπό αναρροή όλη τη νύχτα. Αφού το μείγμα κρύωσε σε θερμοκρασία δωματίου, προστέθηκε εξάνιο και το μείγμα διηθήθηκε και το στερεό πλύθηκε με ένα μείγμα εξανίου/αιθυλίου/οξικού (10:1). Το τελικό στερεό ξηράνθηκε υπό κενό για να δώσει αλκυλοτριφαινυλοφωσφονιακά άλατα (απόδοση: 100%).

Εν συνεχεία, σε διάλυμα 3,5-διμεθοξυβενζαλδεΰδης και αλκυλοτριφαινυλοφωσφονιακών σε DMSO/H₂O (10:1) και σε θερμοκρασία δωματίου προστέθηκε ανθρακικό κάλιο. Το τελικό υπόλειμμα της αντίδρασης υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης (εξάνιο/οξικός αιθυλεστέρας = 40:1) σε silica gel προκειμένου να παραληφθούν οι ενώσεις **124-128**. Τα 1,3-

διμεθοξυ-5-αλκενυλοβενζόλια **124-128** παραλαμβάνονται ως μείγμα γεωμετρικών ισομερών [146].



Σχήμα 20: Σύνθεση αναλόγων 5-*n*-αλκ(εν)υλορεσορκινολών (1-15). Αντιδραστήρια και συνθήκες: (i) PPH_3 , τολουόλιο, αναρροή, 18h (ii) K_2CO_3 , $\text{DMSO}/\text{H}_2\text{O}$ (10:1), 130°C , 18h (iii) Pd/C (10%), $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (1:1), rt, 18h (iv) BBr_3 , DCM , 0°C έως rt, 18h.

Έπειτα έλαβε χώρα η διαδικασία B για τη σύνθεση διμεθυλαιθέρων των 5-αλκυλορεσορκινολών **129-133** με υδρογόνωση. Μεθυλιωμένες 5-αλκενυλορεσορκινόλες διαλύθηκαν σε μείγμα χλωροφορμίου/μεθανόλης (1:1) σε θερμοκρασία δωματίου. Σε αυτό το διάλυμα προστέθηκε 10% Pd/C υπό N_2 . Στο μείγμα έγινε διαβίβαση H_2 και αφέθηκε σε θερμοκρασία δωματίου υπό H_2 για 24 ώρες. Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης το μείγμα διηθήθηκε μέσω ενός μικρού στρώματος silica gel. Το διήθημα εξατμίστηκε υπό ελαττωμένη πίεση για να δώσει τις επιθυμητές ενώσεις **129-133**.

Στο τελευταίο στάδιο αυτής της συνθετικής πορείας έλαβε χώρα η διαδικασία C για τη παραλαβή των 5-ARs μέσω απομεθυλίωσης με BBr_3 . Μεθυλαιθέρες διαλύθηκαν σε διχλωρομεθάνιο. Διάλυμα BBr_3 σε DCM προστέθηκε στους 0°C αργά. Αφού ολοκληρώθηκε η προσθήκη, το διάλυμα της αντίδρασης αφέθηκε σε θερμοκρασία δωματίου όλη τη νύχτα. Οι τελικές επιθυμητές ενώσεις που λήφθηκαν ήταν οι 5-*n*-εννεύλορεσορκινόλη [(**134**), απόδοση 84% λευκό στερεό], 5-*n*-ενδεκυλορεσορκινόλη [(**135**), απόδοση 90%, λευκό στερεό], 5-*n*-δεκατριυλορεσορκινόλη [(**136**), απόδοση 91%, λευκό στερεό], 5-*n*-δεκαπεντυλορεσορκινόλη [(**137**), απόδοση 90%, λευκό στερεό], 5-*n*-δεκαεπτανυλορεσορκινόλη [(**138**), απόδοση 95%, λευκό στερεό].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Οι αλκυλορεσορκινόλες (ARs) βρίσκονται στα σιτηρά ολικής αλέσεως. Μεταξύ των δημητριακών που χρησιμοποιούνται για ανθρώπινη κατανάλωση, οι ARs βρίσκονται σε υψηλές ποσότητες στη σίκαλη, στο μαλακό σιτάρι, στο μονόκοκκο σιτάρι, στο δίκοκκο σιτάρι, στην όλυρα και στο σκληρό σιτάρι και σε μικρότερες ποσότητες στο κριθάρι. Μικρές ποσότητες έχουν επίσης αναφερθεί στο καλαμπόκι.

Οι ARs εμφανίζουν ένα ευρύ φάσμα βιολογικών ιδιοτήτων λόγω των αμφιφιλικών ιδιοτήτων τους, που προκύπτουν από την παρουσία πολικών υδατοδιαλυτών ομάδων OH συνδεδεμένων στον δακτύλιο βενζολίου και ταυτόχρονα από την παρουσία υδρόφοβης υδρογονανθρακικής αλυσίδας. Τρία είδη θετικών επιδράσεων των ARs έχουν αναγνωριστεί: θρεπτικών, μηχανιστικών και αντιοξειδωτικών. Μελέτες *in vitro* καταδεικνύουν ότι οι ARs εμφανίζουν ένα ευρύ φάσμα βιοδραστικότητας, συμπεριλαμβανομένης της υψηλής συγγένειας με τη μεμβράνη λιπιδίων και ερυθροκυττάρων κάτι το οποίο αυξάνει τη διαπερατότητά τους, τις αντιμυκητιασικές, αντιμικροβιακές και αντικαρκινικές ιδιότητες τους. Οι ARs μπορούν δυνητικά να επηρεάζουν όλες τις διεργασίες που ρυθμίζονται από ένζυμα. Αυτό υποφαίνει ότι οι ARs μπορεί να παρουσιάζουν αντι-οξειδωτική, αντικαρκινική και αντι-μεταλλαξιογόνο δράση, να δίνουν το έναυσμα για τον ενζυμικό καταρράκτη απόπτωσης και να αναστέλλουν ορισμένες λειτουργίες ενζύμων όπως οι λιποξυγενάσες, η οξειδάση της μονοαμίνης, η τυροσινάση, η Ca^{2+} -ATPάση, η α-γλυκοσιδάση, η αφυδρογονάση, η DNA πολυμεράση β και η λιπάση του λιπώδους ιστού. Οι ARs μπορεί επίσης να μειώνουν τα τριγλυκερίδια του λιπώδους ιστού, να μειώνουν την επαγόμενη από χαλκό οξείδωση της LDL, να αναστέλλουν τη θραύση των κλώνων του DNA και να περιορίζουν τη σύνθεση νουκλεϊκών οξέων και πρωτεϊνών σε θυμοκύτταρα.

Σκοπός της εργασίας ήταν η σύνθεση ορισμένων αλκυλορεσορκινολών, η μελέτη τους με φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας, καθώς και η διερεύνηση μεθόδου προσδιορισμού τους σε δείγματα ορού αίματος.

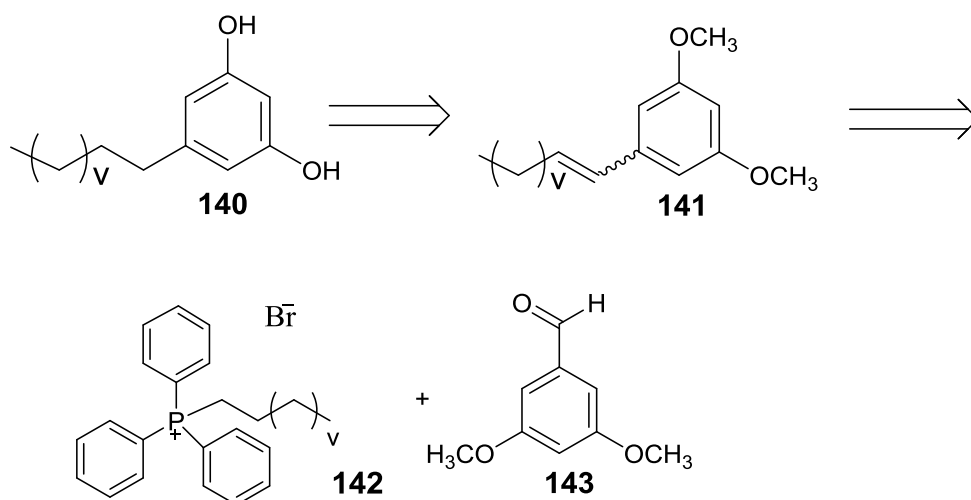
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΣΥΝΘΕΣΗ ΑΛΚΥΛΟΡΕΣΟΡΚΙΝΟΛΩΝ

Στο παρόν κεφάλαιο θα παρουσιασθούν και θα συζητηθούν τα αποτελέσματα των πειραμάτων που διεξήχθησαν στο εργαστήριο για τη σύνθεση αλκυλορεσορκινολών. Επίσης, θα παρουσιασθούν και θα συζητηθούν αντιπροσωπευτικά φάσματα NMR των ενώσεων που συντέθηκαν.

4.1.1 Ρετροσυνθετική πορεία για τη σύνθεση των αλκυλορεσορκινολών (ARs)

Όπως φαίνεται στο Σχήμα 21, οι αλκυλορεσορκινόλες **140** θα μπορούσαν να προκύψουν από την υδρογόνωση του αντίστοιχου αλκενίου **141**. Αυτό με τη σειρά του θα μπορούσε να προκύψει από μια αντίδραση Wittig, όπως για παράδειγμα από την αντίδραση της αλδεΐδης **143** με ένα υλίδιο **142**.

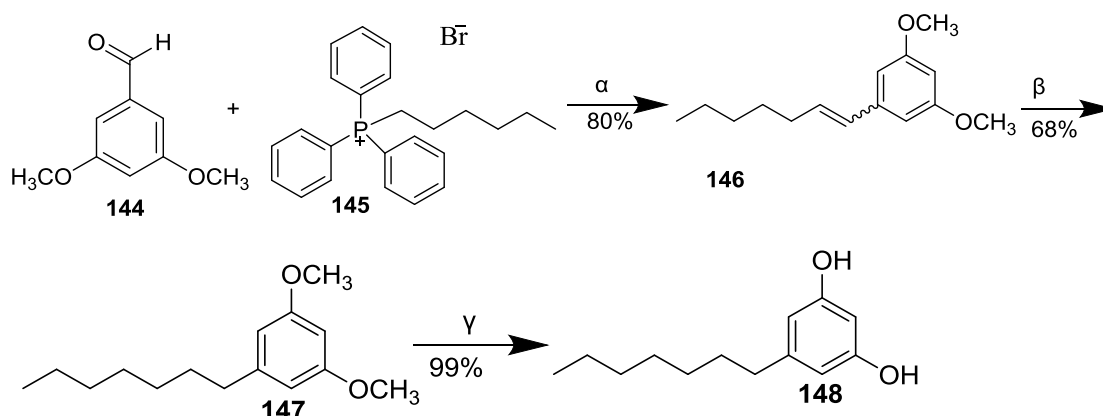


Σχήμα 21: Ρετροσυνθετική ανάλυση για τη σύνθεση ARs.

4.1.2 Συνθετική πορεία προς παραλαβή της 5-επτυλορεσορκινόλης (MG17) (**148**)

Η ακόλουθη συνθετική πορεία αναφέρεται στο προϊόν **MG17**. Αποτελεί χαρακτηριστικό παράδειγμα και κατά όμοιο τρόπο συντέθηκε μια σειρά παρόμοιων ενώσεων. Αρχικά, πραγματοποιήθηκε αντίδραση Wittig της καρβονυλομάδας της εμπορικά διαθέσιμης 3,5-διμεθοξυβενζαλδεΐδης **144** με χρήση του μη σταθεροποιημένου υλιδίου φωσφόρου **145** σε *n*-BuLi και ξηρό THF προς σχηματισμό του αντίστοιχου αλκενίου **146**. Ακολουθεί καταλυτική

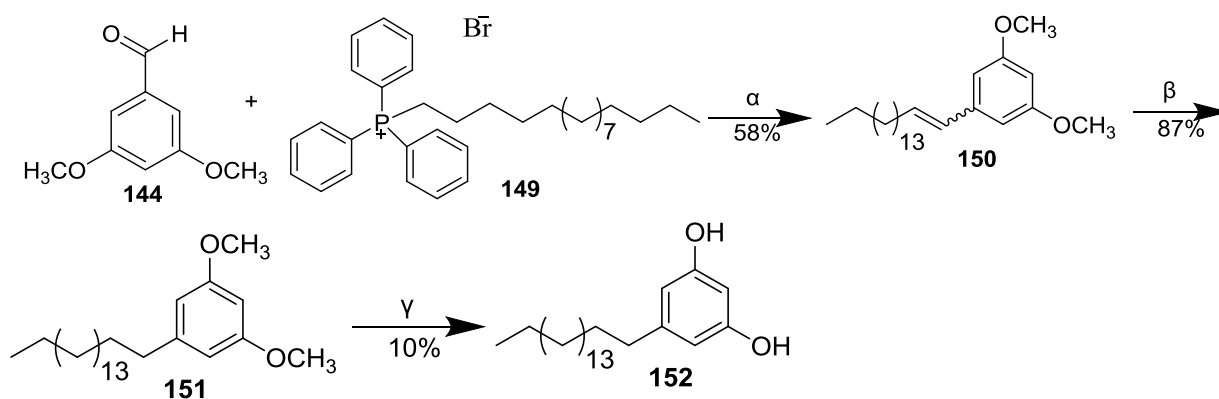
υδρογόνωση παρουσία 10% Pd/C προς παραλαβή του 1-επτυλο-3,5-διμεθοξυβενζολίου (**147**). Τελικά έγινε κατεργασία με BBr₃ σε ξηρό CH₂Cl₂ προς παραλαβή της 5-επτυλορεσορκινόλης (**148**) σε απόδοση 99% (Σχήμα 22).



Σχήμα 22: Πορεία σύνθεσης 5-επτυλορεσορκινόλης (α) dry THF, n-BuLi, r.t., 16h, (β) H₂ (10% Pd/C), απόλυτη αιθανόλη, DCM, r.t., 16h (γ) BBr₃, dry CH₂Cl₂, 25 °C, 2h.

4.1.3 Συνθετική πορεία προς παραλαβή της 5-δεκαεπτανυλορεσορκινόλης (MG23) (**152**)

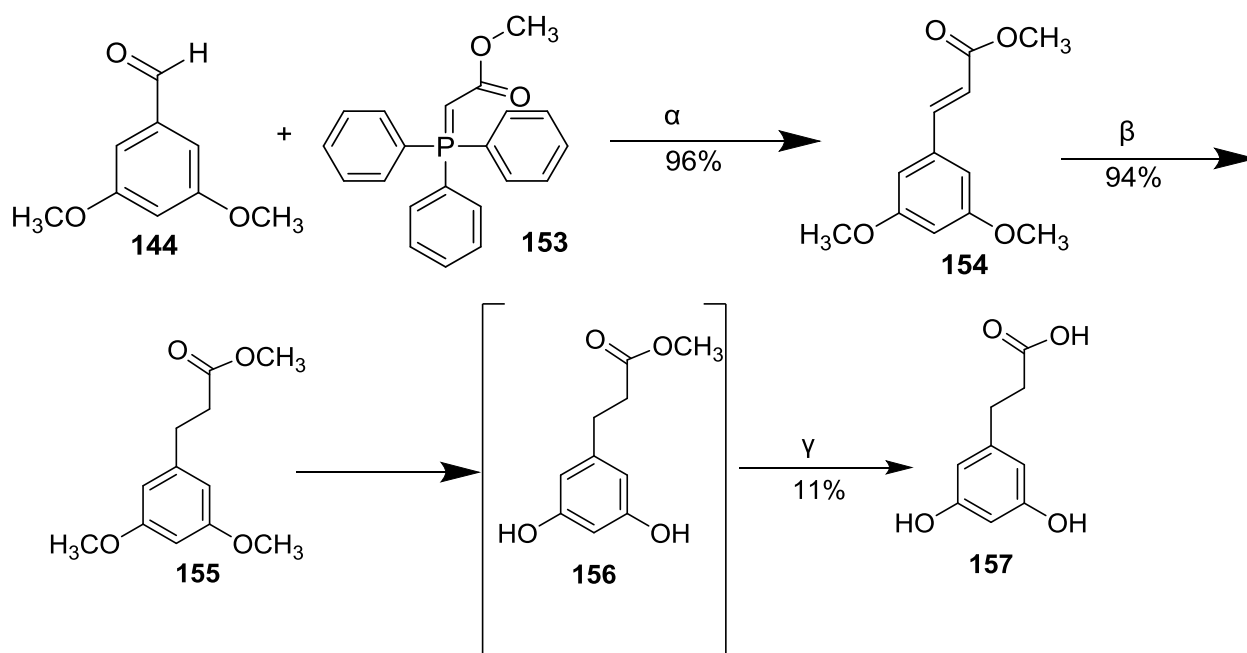
Εκτός από την 5-επτυλορεσορκινόλη (**148**) συντέθηκε με αντίστοιχο τρόπο και η 5-δεκαεπτανυλορεσορκινόλη. Η πορεία που ακολουθήθηκε για τη παραλαβή της 5-δεκαεπτανυλορεσορκινόλης είναι παρόμοια με αυτή της 5-επτυλορεσορκινόλης με τη διαφορά ότι το υλίδιο **149** που χρησιμοποιείται έχει 16 αντί για 6 ανθρακοάτομα και επομένως το αλκένιο **150** που προκύπτει από την αντίδραση Wittig αποτελείται από 17 ανθρακοάτομα. Τέλος, η αλκυλορεσορκινόλη **152** που προκύπτει έχει 17 ανθρακοάτομα (Σχήμα 23).



Σχήμα 23: Πορεία σύνθεσης 5-δεκαεπτανυλορεσορκινόλης (α) dry THF, n-BuLi, r.t., 16h, (β) H₂ (10% Pd/C), απόλυτη αιθανόλη, DCM, r.t., 16h (γ) BBr₃, dry CH₂Cl₂, 25 °C, 2h.

4.1.4 Συνθετική πορεία προς παραλαβή του 3-(3,5-διϋδροξυφαινυλο) προπανοϊκού οξέος (MG26) (157)

Αρχικά, πραγματοποιήθηκε αντίδραση Wittig της καρβονυλομάδας της εμπορικά διαθέσιμης 3,5-διμεθοξυβενζαλδεΐδης **144** με χρήση του σταθεροποιημένου υλιδίου φωσφόρου **153** σε ξηρό THF προς σχηματισμό του αντίστοιχου αλκενίου **154**. Ακολουθεί αντίδραση υδρογόνωσης κατά την οποία στο αλκένιο γίνεται διαβίβαση H_2 παρουσία καταλύτη 10% Pd/C προς παραλαβή του μεθυλο-3-(3,5-διμεθοξυφαινυλο) προπανοϊκού εστέρα **155**. Τελικά έγινε κατεργασία με BBr_3 σε ξηρό CH_2Cl_2 προς παραλαβή του 3-(3,5-διϋδροξυφαινυλο) προπανοϊκού μεθυλεστέρα **156**, ωστόσο κατά το στάδιο της απομεθυλίωσης διασπάστηκε ο εστέρας και παραλήφθηκε απευθείας το 3-(3,5-διϋδροξυφαινυλο) προπανοϊκό οξύ (**157**) (Σχήμα 24).

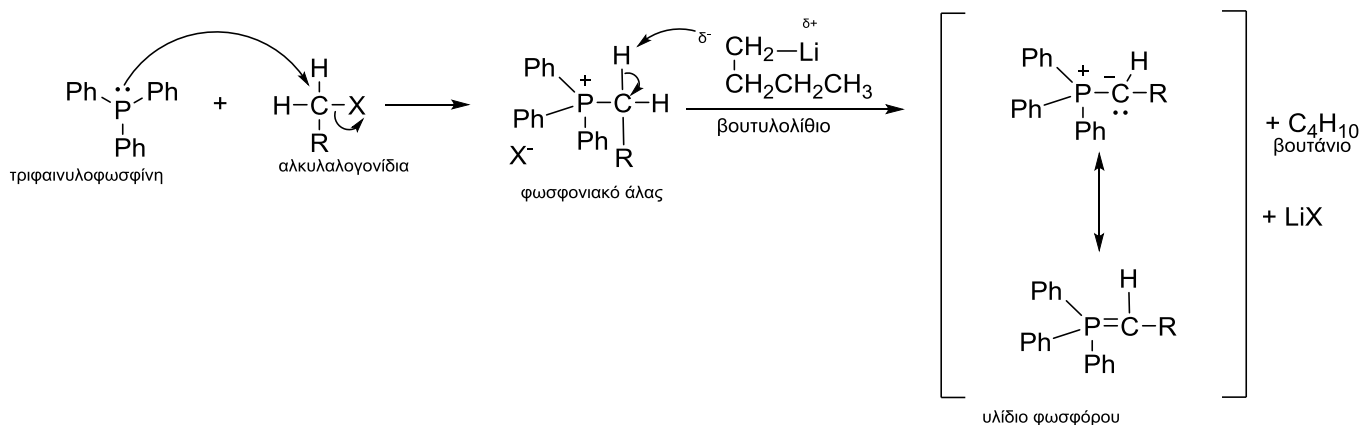


Σχήμα 24: Πορεία σύνθεσης 3-(3,5-διϋδροξυφαινυλο) προπανοϊκού οξέος (α) dry THF, αναρροή, 16h, (β) H_2 (10% Pd/C), απόλυτη αιθανόλη, DCM, r.t., 16h (γ) BBr_3 , dry CH_2Cl_2 , 25 °C, 2h.

4.2 Μηχανισμός αντίδρασης Wittig

Η αντίδραση Wittig είναι μια μέθοδος προσθήκης ενός καρβονιόντος, που σταθεροποιείται από φώσφορο, σε κετόνη ή αλδεΐδη. Ωστόσο, το προϊόν που προκύπτει δεν είναι αλκοόλη, επειδή το ενδιάμεσο υφίσταται απόσπαση προς αλκένιο. Ουσιαστικά, η αντίδραση Wittig μετατρέπει την καρβονυλομάδα μιας κετόνης ή αλδεΐδης σε ένα νέο διπλό δεσμό C=C, εκεί που δεν υπήρχε προηγουμένως κανένας διπλός δεσμός.

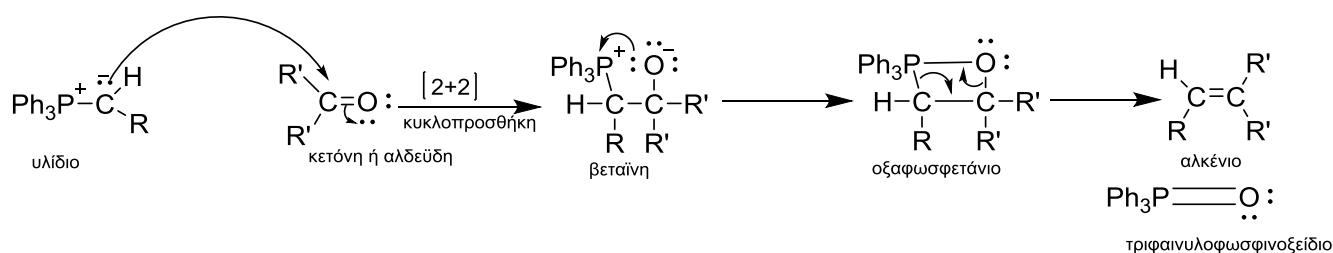
Το καρβανιόν που σταθεροποιείται από φώσφορο είναι ένα υλίδιο, ένα μόριο χωρίς συνολικό φορτίο, αλλά με ένα αρνητικά φορτισμένο άτομο άνθρακα ενωμένο με ένα θετικά φορτισμένο ετεροάτομο. Τα υλίδια φωσφόρου παρασκευάζονται από τριφαινυλοφωσφίνη και αλκυλαλογονίδια, σε μια διαδικασία δυο σταδίων. Στο πρώτο στάδιο πραγματοποιείται πυρηνόφιλη προσβολή της τριφαινυλοφωσφίνης σε μη παρεμποδισμένο (συνήθως πρωτοταγές) αλκυλαλογονίδιο. Το προϊόν που παράγεται είναι ένα αλκυλοτριφαινυλοφωσφονιακό άλας. Το φωσφονιακό άλας κατεργάζεται με μία ισχυρή βάση (συνήθως βουτυλλολίθιο), που αποσπά ένα πρωτόνιο από το άτομο άνθρακα που ενώνεται με φωσφόρο (Σχήμα 25).



Σχήμα 25: Μηχανισμός σύνθεσης υλιδίου.

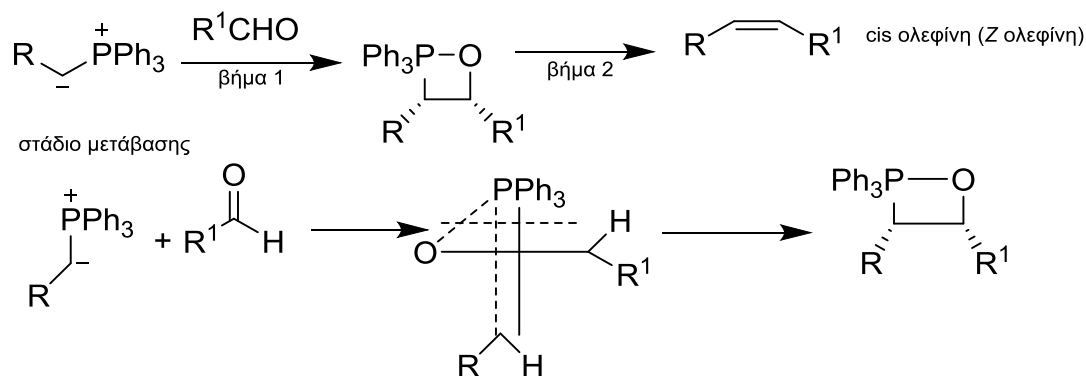
Ο μηχανισμός της αντίδρασης Wittig που έχει προταθεί παρουσιάζεται στο Σχήμα 26. Εξαιτίας του καρβονικού του χαρακτήρα, το άτομο άνθρακα του υλιδίου είναι ισχυρά πυρηνόφιλο. Προσβάλλει την καρβονυλική ομάδα και δίνει ενδιάμεσο που εμφανίζει διαχωρισμό φορτίου και ονομάζεται βεταΐνη. Οι βεταΐνες είναι ασυνήθιστες ενώσεις αφού περιέχουν ένα θετικά φορτισμένο φώσφορο και ένα αρνητικά φορτισμένο οξυγόνο, σε γειτονικά άτομα. Ο

φώσφορος και το οξυγόνο σχηματίζουν ισχυρούς δεσμούς, ενώ η έλξη των αντίθετων φορτίων προκαλεί γρήγορο σχηματισμό ενός τετραμελούς οξαφωσφετανικού δακτυλίου. (Σε μερικές περιπτώσεις, το οξαφωσφετάνιο μπορεί να σχηματιστεί απευθείας με κυκλοπροσθήκη και όχι μέσω βεταΐνης.) Ο τετραμελής δακτύλιος γρήγορα καταρρέει και δίνει ένα αλκένιο και οξείδιο της τριφαινυλοφωσφίνης. Το οξείδιο της τριφαινυλοφωσφίνης είναι εξαιρετικά σταθερό και η μετατροπή της τριφαινυλοφωσφίνης σε οξείδιο της τριφαινυλοφωσφίνης, αποτελεί την κινητήριο δύναμη της αντίδρασης Wittig.



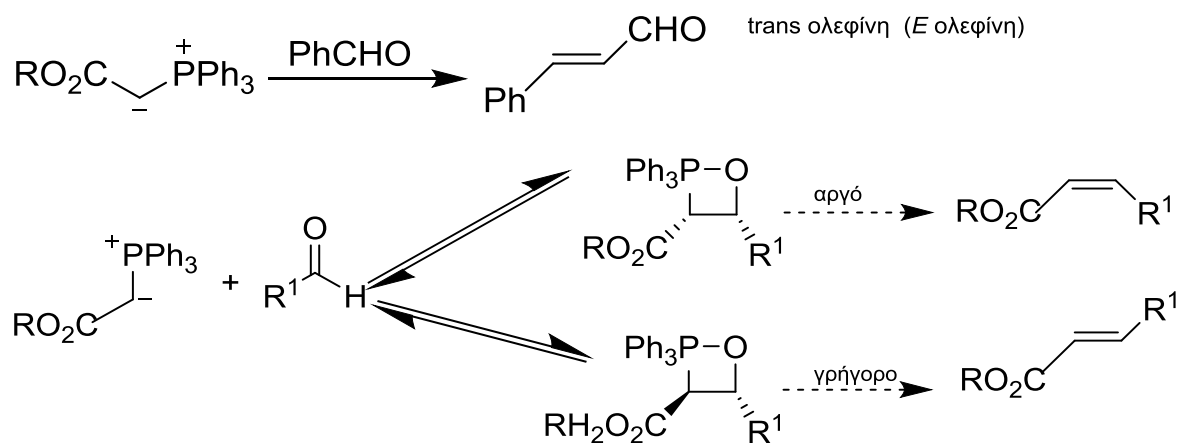
Σχήμα 26: Μηχανισμός αντίδρασης Wittig.

Η διαστερεοεκλεκτικότητα των προϊόντων εξαρτάται από τη φύση του υλιδίου. Τα μη σταθεροποιημένα υλίδια δίνουν κυρίως *Z* προϊόν. Ανάλογα με το υπόστρωμα, τη θερμοκρασία και τη βάση που χρησιμοποιούνται μπορεί να ληφθεί διαφορετική αναλογία *Z/E*. Για παράδειγμα, με βενζαλδεΐδη, υλίδιο με αλκυλική αλυσίδα 4 ανθράκων και NAHMDS ως βάση στους -78°C παίρνουμε αναλογία 95:5 *Z/E*. Εάν χρησιμοποιηθεί ως βάση BuLi ή PhLi έχουμε την παραλλαγή Schlosser που δίνει μόνο *E* εκλεκτικότητα. Στο Σχήμα 27 φαίνεται η *Z* εκλεκτικότητα μη σταθεροποιημένου υλιδίου. Το βήμα 1 ελέγχεται κινητικά. Η γεωμετρία του τετραμελούς δακτυλίου καθορίζει τη γεωμετρία του προϊόντος (Σχήμα 27).



Σχήμα 27: Διαστερεοεκλεκτικότητα μη σταθεροποιημένου υλιδίου στην αντίδραση Wittig.

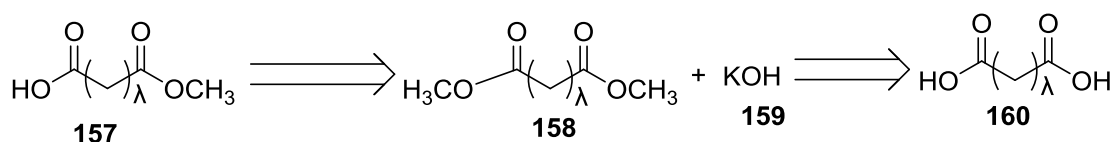
Τα σταθεροποιημένα υλίδια δίνουν *E* εκλεκτικότητα. Τα σταθεροποιημένα υλίδια δεν είναι τόσο ενεργά. Η αντίδραση ελέγχεται θερμοδυναμικά. Οι τετραμελείς δακτύλιοι ισορροπούν και ξανασχηματίζουν τα αντιδρώντα (Σχήμα 28).



Σχήμα 28: Διαστεreoεκλεκτικότητα σταθεροποιημένου υλιδίου στην αντίδραση Wittig.

4.3.1 Ρετροσυνθετική πορεία για τη σύνθεση των μονοεστέρων δικαρβοξυλικών οξέων

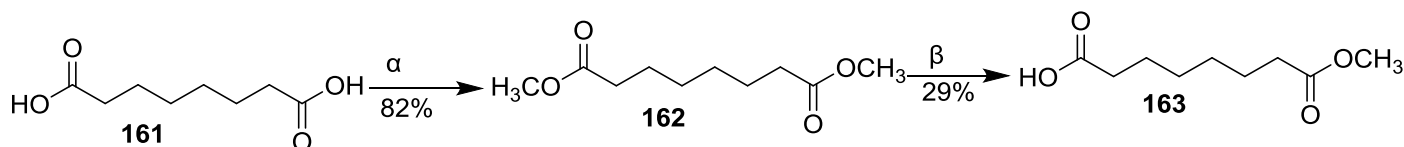
Όπως φαίνεται στο Σχήμα 29, οι μονοεστέρες δικαρβοξυλικών οξέων **157** θα μπορούσαν να προκύψουν από μια αντίδραση υδρόλυσης όπως για παράδειγμα υδρόλυση διμεθυλεστέρα καρβοξυλικού οξέος **158** με KOH **159**. Ο διμεθυλεστέρας **158** θα μπορούσε να προέλθει από το αντίστοιχο δικαρβοξυλικό οξύ **160** με εστεροποίηση κατά Fischer.



Σχήμα 29: Ρετροσυνθετική ανάλυση για τη σύνθεση μονοεστέρων δικαρβοξυλικών οξέων

4.3.2 Συνθετική πορεία προς παραλαβή του μονομεθυλεστέρα του 1,8-οκτανοδιοϊκού οξέος (MG3) (**163**)

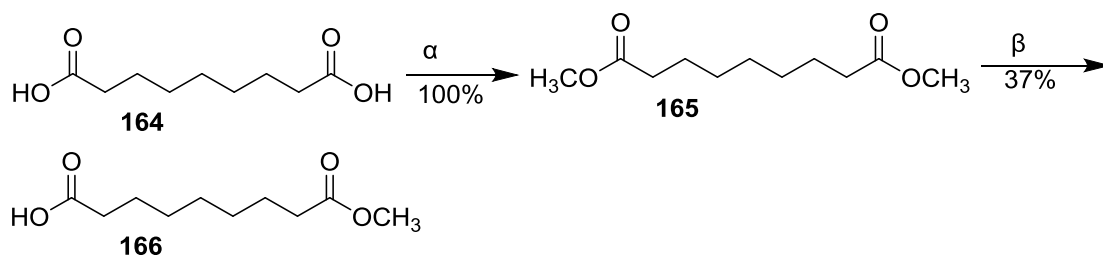
Η ακόλουθη συνθετική πορεία αναφέρεται στο προϊόν **MG3**. Αποτελεί χαρακτηριστικό παράδειγμα και κατά όμοιο τρόπο συντέθηκε μια σειρά παρόμοιων ενώσεων. Αρχικά, πραγματοποιήθηκε εστεροποίηση κατά Fischer καταλυόμενη από H₂SO₄ σε MeOH του οκτανοδιοϊκού οξέος **161** προς τον αντίστοιχο διμεθυλεστέρα, τον οκτανοδιοϊκό διμεθυλεστέρα **162**. Ακολουθεί σαπωνοποίηση κατά την οποία ο διμεθυλεστέρας **162** αντιδρά με 1 ισοδύναμο KOH προς παραλαβή του μονομεθυλεστέρα του 1,8-οκτανοδιοϊκού οξέος **163** (Σχήμα 30).



Σχήμα 30: Πορεία σύνθεσης μονομεθυλεστέρα του 1,8-οκτανοδιοϊκού οξέος (α) MeOH, H₂SO₄, αναρροή, 16h, (β) KOH (1.0 eq), MeOH, r.t., 4h.

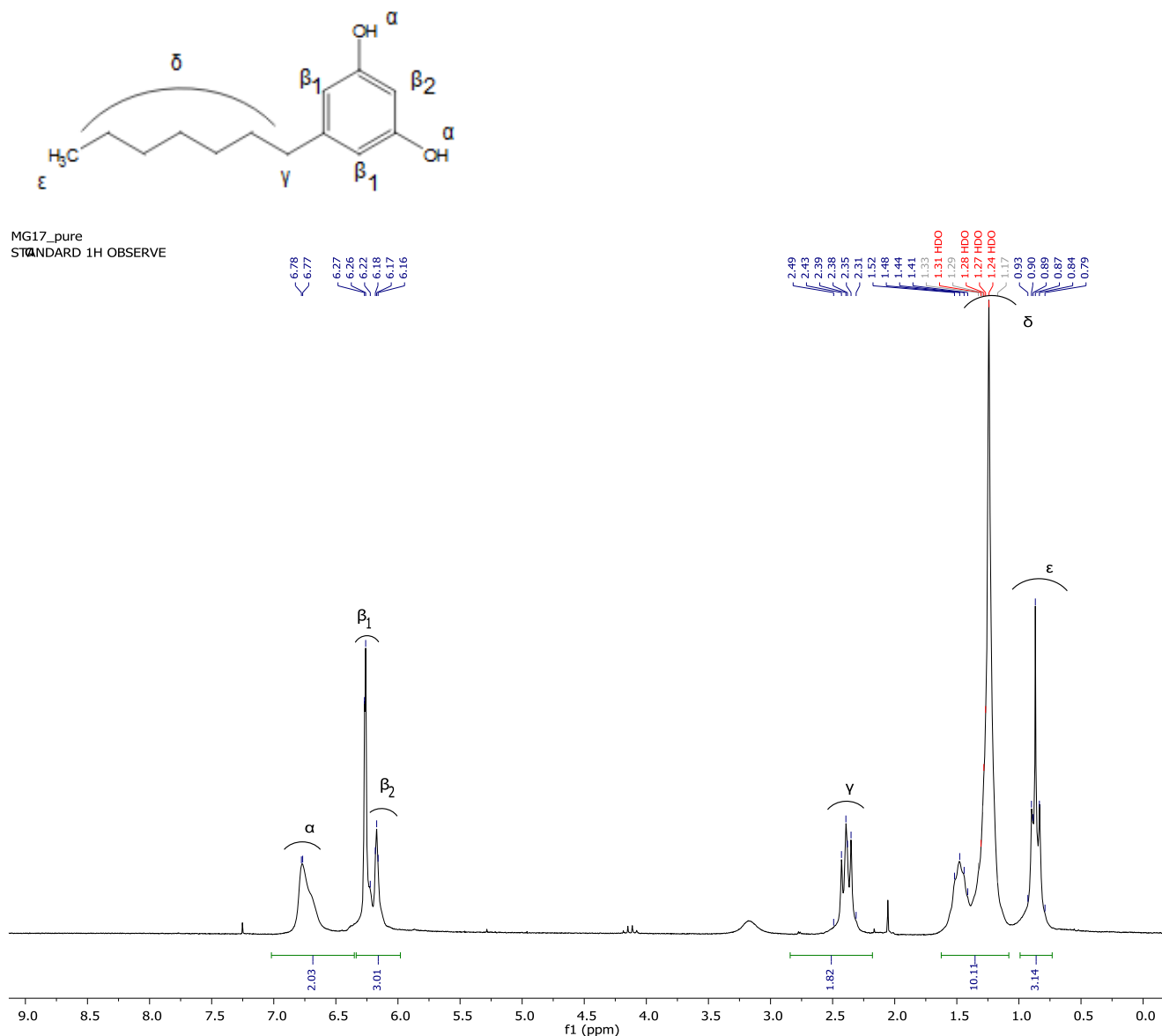
4.3.3 Συνθετική πορεία προς παραλαβή του μονομεθυλεστέρα του 1,9-εννεανοδιοϊκού οξέος (MG5) (166)

Εκτός από τον μονομεθυλεστέρα του 1,8-οκτανοδιοϊκού οξέος (**MG3**) συντέθηκε με αντίστοιχο τρόπο και ο μονομεθυλεστέρας του 1,9-εννεανοδιοϊκού οξέος (**MG5**). Η πορεία που ακολουθήθηκε για τη παραλαβή του μονομεθυλεστέρα του 1,9-εννεανοδιοϊκού οξέος είναι παρόμοια με αυτή του μονομεθυλεστέρα του 1,8-οκτανοδιοϊκού οξέος με τη διαφορά ότι το δικαρβοξυλικό οξύ **164**, το οποίο χρησιμοποιείται, αποτελείται από 9 αντί για 8 ανθρακοάτομα και επομένως ο διμεθυλεστέρας **165** που προκύπτει από την εστεροποίηση αποτελείται από 11 ανθρακοάτομα. Τέλος ο μονοεστέρας καρβοξυλικού οξέος **166** που προκύπτει έχει 10 ανθρακοάτομα (Σχήμα 31).



Σχήμα 31: Πορεία σύνθεσης μονομεθυλεστέρα του 1,9-εννεανοδιοϊκού οξέος (α) MeOH, H₂SO₄, αναρροή, 16h, (β) KOH (1.0 eq), MeOH, r.t., 4h.

4.4 Αποτίμηση φασμάτων ARs



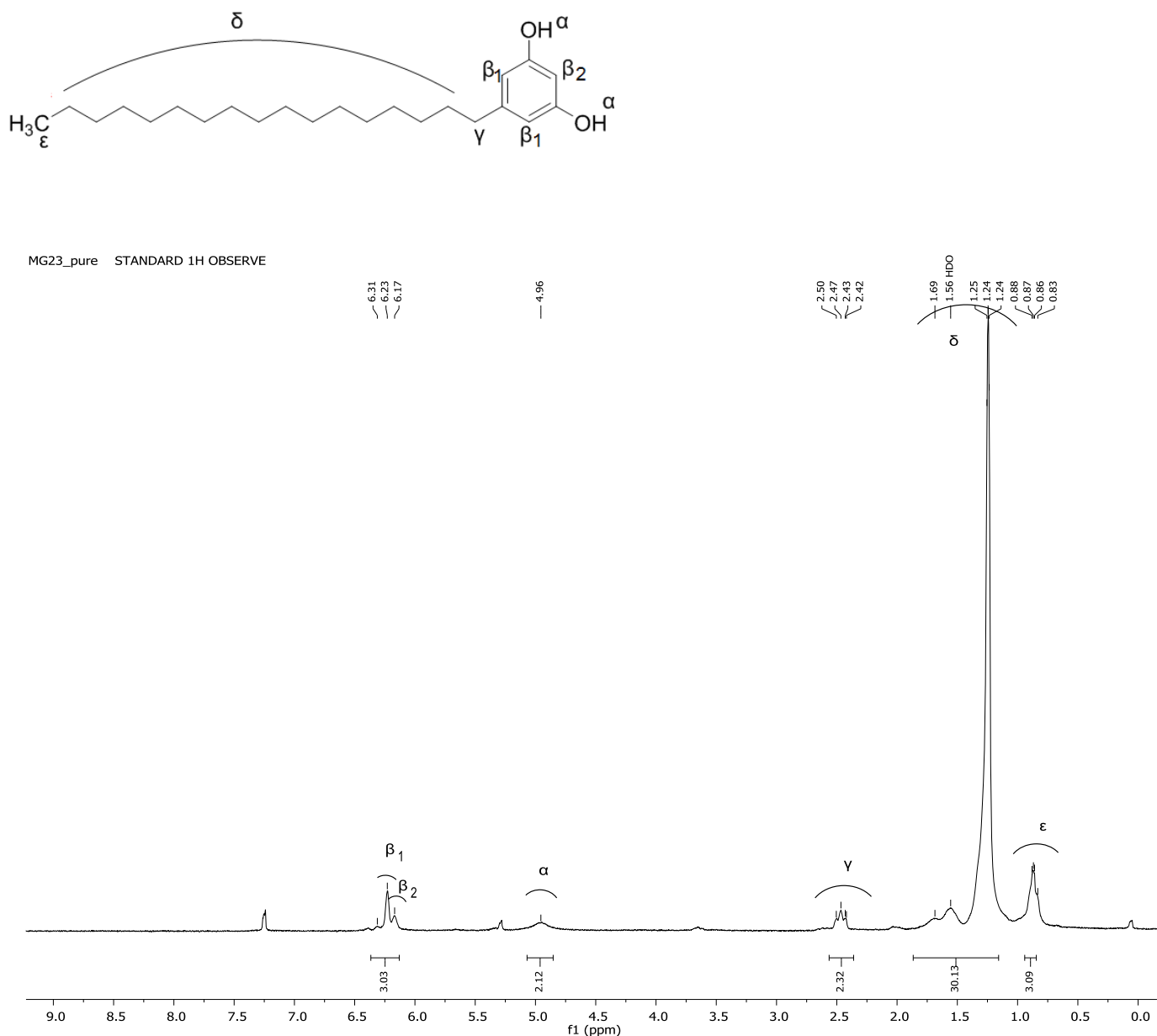
Σχήμα 32: Φάσμα ^1H NMR του MG17 (148) (CDCl_3 , 200MHz).

Στο σχήμα 32 παρουσιάζεται το φάσμα ^1H NMR σε διαλύτη CDCl_3 της ένωσης **MG17**. Στα 6.77 ppm συντονίζονται τα δύο πρωτόνια των υδροξυλομάδων του βενζολικού δακτυλίου. Εν συνεχεία, στα 6.34-5.98 ppm συντονίζονται τα τρία αρωματικά πρωτόνια, ενώ στα 2.39 ppm συντονίζονται τα μεθυλениκά πρωτόνια που συνδέονται με τον αρωματικό δακτύλιο. Στα 1.60-1.12 ppm συντονίζονται τα πρωτόνια των μεθυλενομάδων της υπόλοιπης αλειφατικής αλυσίδας. Τέλος, τα τρία πρωτόνια του ακραίου μεθυλίου της αλκυλικής αλυσίδας συντονίζονται στα 0.87 ppm.



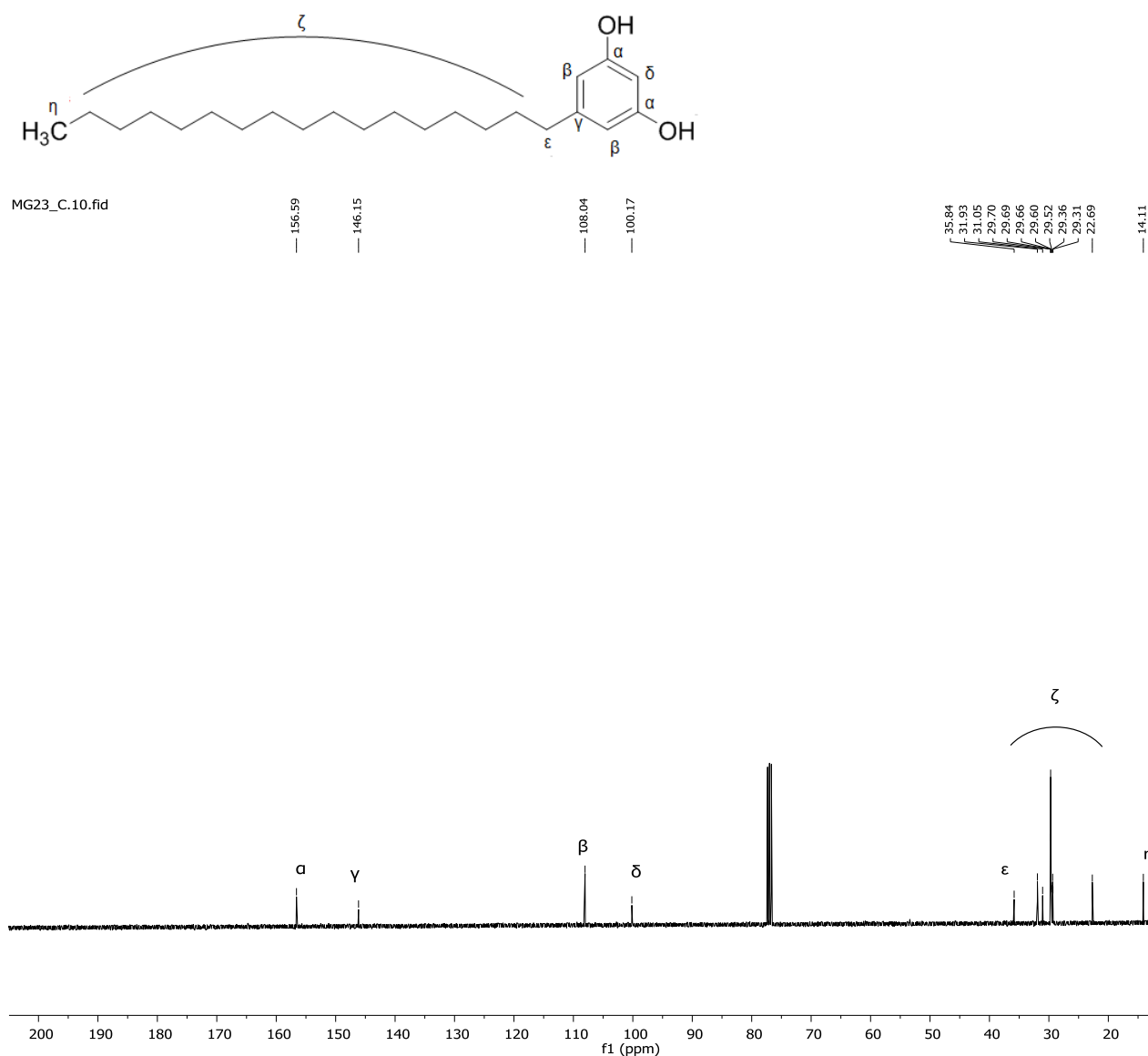
Σχήμα 33: Φάσμα ^{13}C NMR του MG17 (148) (CDCl_3 , 50MHz).

Στο σχήμα 33 ακολουθεί το φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης **MG17** σε διαλύτη CDCl_3 . Στα 156.3 ppm συντονίζεται οι αρωματικοί άνθρακες α που συνδέονται με το υδροξύλιο, στα 146.7 ppm συντονίζεται ο αρωματικός τεταρτοταγής άνθρακας γ, στα 108.6 ppm συντονίζονται οι αρωματικοί συμμετρικοί άνθρακες β και στα 100.6 ppm συντονίζεται ο αρωματικός άνθρακας δ. Εν συνεχεία, στα 36.1 ppm συντονίζεται ο άνθρακας του μεθυλενίου που συνδέεται στον αρωματικό δακτύλιο. Στα 32.1-22.9 ppm συντονίζονται οι μεθυλενικοί άνθρακες της υδρογονανθρακικής αλυσίδας. Τέλος, στα 14.3 ppm συντονίζεται ο άνθρακας του ακραίου μεθυλίου της αλειφατικής αλυσίδας.



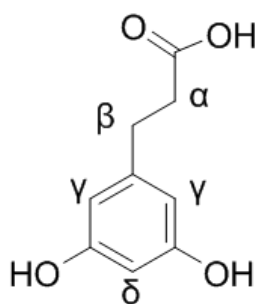
Σχήμα 34: Φάσμα ^1H NMR του MG23 (152) (CDCl_3 , 200MHz).

Στο σχήμα 34 παρουσιάζεται το φάσμα ^1H NMR σε διαλύτη CDCl_3 της ένωσης **MG23** (152). Στα 6.36-6.13 ppm συντονίζονται τα τρία αρωματικά πρωτόνια. Εν συνεχεία, στα 4.96 ppm συντονίζονται τα δύο πρωτόνια των υδροξυλομάδων του βενζολικού δακτυλίου. ενώ στα 2.47 ppm συντονίζονται τα μεθυλικά πρωτόνια που συνδέονται με τον αρωματικό δακτύλιο. Στα 1.87-1.16 ppm συντονίζονται τα πρωτόνια των μεθυλενομάδων της υπόλοιπης αλειφατικής αλυσίδας. Τέλος, τα τρία πρωτόνια του ακραίου μεθυλίου συντονίζονται στα 0.88 ppm.



Σχήμα 35: Φάσμα ^{13}C NMR του MG23 (152) (CDCl_3 , 50MHz).

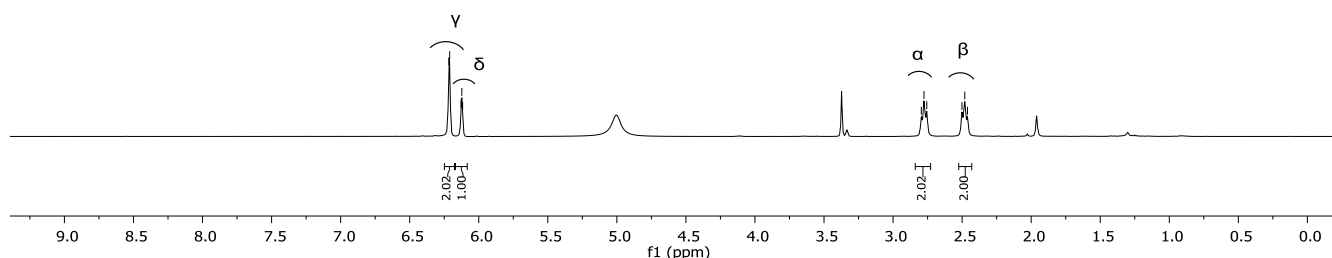
Στο σχήμα 35 ακολουθεί το φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης **MG23** σε διαλύτη CDCl_3 . Στα 156.6 ppm συντονίζονται οι αρωματικοί άνθρακες α που συνδέονται με το υδροξύλιο, στα 146.2 ppm συντονίζεται ο αρωματικός τεταρτοταγής άνθρακας γ, στα 108.0 ppm συντονίζονται οι αρωματικοί συμμετρικοί άνθρακες β και στα 100.2 ppm συντονίζεται ο αρωματικός άνθρακας δ. Εν συνεχεία, στα 35.8 ppm συντονίζεται ο άνθρακας του μεθυλενίου που συνδέεται στον αρωματικό δακτύλιο. Στα 31.9-22.7 ppm συντονίζονται όλοι οι υπόλοιποι μεθυλενικοί άνθρακες της υδρογονανθρακικής αλυσίδας. Τέλος, στα 14.1 ppm συντονίζεται ο άνθρακας του ακραίου μεθυλίου της αλειφατικής αλυσίδας.



MG26_pure STANDARD 1H OBSERVE

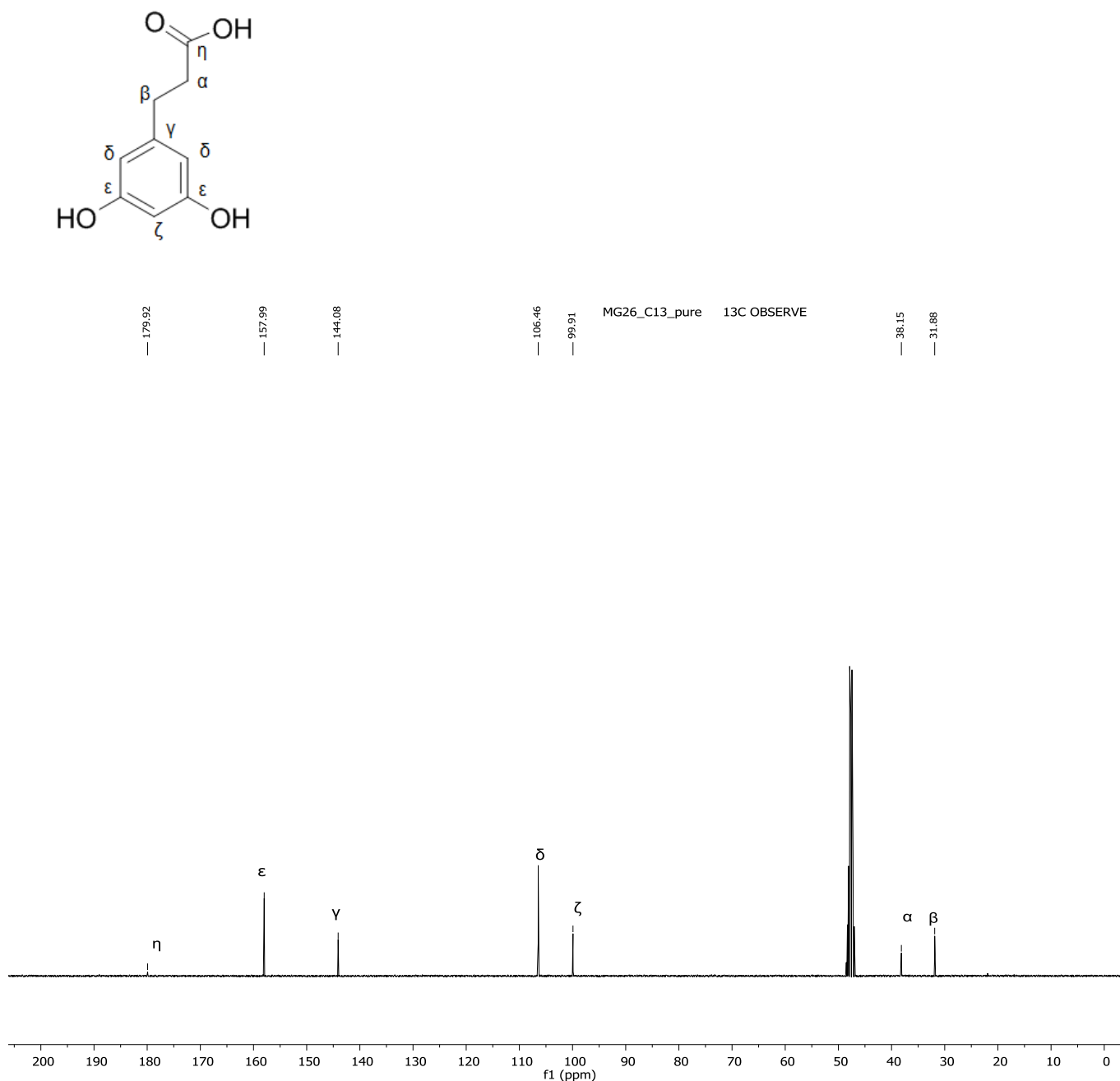
6.22
6.21
6.13
6.12

2.80
2.78
2.76
2.50
2.48
2.46



Σχήμα 36: Φάσμα ^1H NMR του MG26 (157) (CD_3OD , 200MHz).

Στο σχήμα 36 παρουσιάζεται το φάσμα ^1H NMR σε διαλύτη CD_3OD της ένωσης **MG26**. Στα 6.25-6.18 ppm συντονίζονται τα δύο αρωματικά πρωτόνια γ, ενώ στα 6.16-6.09 ppm συντονίζεται το αρωματικό πρωτόνιο δ που βρίσκεται μεταξύ των δύο υδροξυλομάδων. Εν συνεχεία, στα 2.78 ppm συντονίζονται τα COCH_2 πρωτόνια που βρίσκονται σε α-θέση ως προς την καρβοξυλομάδα. Τέλος στα 2.48 ppm συντονίζονται τα πρωτόνια της μεθυλενομάδας που τοποθετείται σε β-θέση ως προς την καρβοξυλομάδα. Να σημειωθεί ότι το πρωτόνιο COOH του καρβοξυλίου και τα OH_2 πρωτόνια των υδροξυλομάδων δεν φαίνονται διότι είναι ανταλλάξιμα.



Σχήμα 37: Φάσμα ¹³C NMR του MG26 (157) (CD₃OD, 50MHz).

Στο σχήμα 37 ακολουθεί το φάσμα ¹³C NMR της ένωσης **MG26** σε διαλύτη CD₃OD. Στα 179.9 ppm συντονίζεται ο άνθρακας του καρβοξυλίου. Στα 158.0 ppm συντονίζονται οι αρωματικοί άνθρακες ε που συνδέονται με το υδροξύλιο, στα 144.1 ppm συντονίζεται ο αρωματικός τεταρτοταγής άνθρακας γ, στα 106.5 ppm συντονίζονται οι αρωματικοί συμμετρικοί άνθρακες δ και στα 99.9 ppm συντονίζεται ο αρωματικός άνθρακας ζ. Τέλος, στα 38.1 ppm και στα 31.9 ppm συντονίζονται ο άνθρακας του μεθυλενίου που βρίσκεται σε α-θέση ως προς την καρβοξυλομάδα και ο άνθρακας του μεθυλενίου που βρίσκεται σε β-θέση ως προς την καρβοξυλομάδα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

ΜΕΛΕΤΗ ΑΛΚΥΛΟΡΕΣΟΡΚΙΝΟΛΩΝ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑΣ ΜΑΖΑΣ ΥΨΗΛΗΣ ΔΙΑΚΡΙΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ (HRMS)

5.1 Εισαγωγή

Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας μελετήθηκαν τρεις αλκυλορεσορκινόλες: δύο που παρασκευάσθηκαν κατά την εργασία αυτή (MG17, MG23) και μια εμπορικά διαθέσιμη, η εικοσιενυλορεσορκινόλη (ER). Αρχικά μελετήθηκαν τα φάσματα HRMS των ενώσεων αυτών τόσο στον θετικό, όσο και στον αρνητικό ιοντισμό. Η εύρεση των μονοπατιών θραυσματοποίησης συγκεκριμένης κατηγορίας ενώσεων είναι ιδιαίτερου ενδιαφέροντος, γιατί η γνώση των θραυσμάτων μπορεί να συμβάλει στη βελτιστοποίηση μεθόδου προσδιορισμού αυτής της κατηγορίας ενώσεων και να διευκολύνει την εύρεση αγνώστων ενώσεων σε μη στοχευμένη ανάλυση.

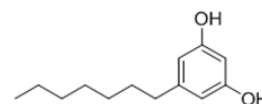
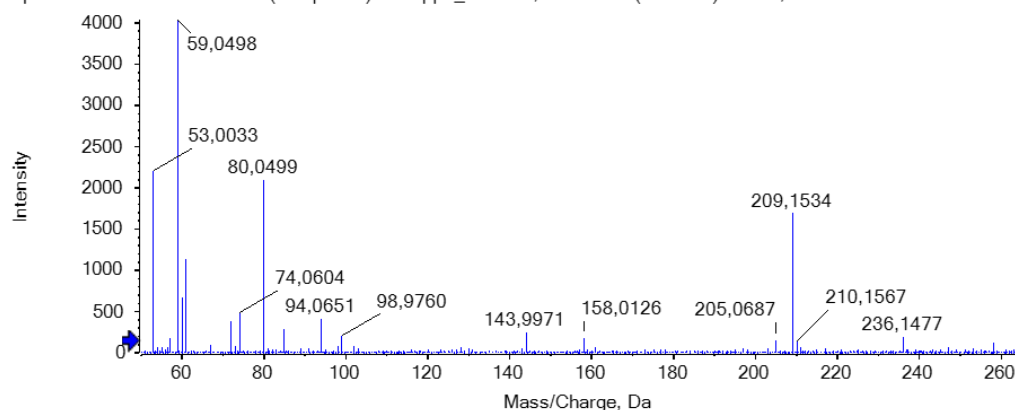
Στη συνέχεια μελετήθηκε μέθοδος υγρής χρωματογραφίας-φασματομετρίας μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας (HRMS) για τον προσδιορισμό αυτών των τριών ενώσεων σε πραγματικά δείγματα.

5.2 Μελέτη HRMS στον θετικό ιοντισμό

5.2.1 Φάσμα HRMS της ένωσης MG17

Στο φάσμα πλήρους σάρωσης για την ένωση MG17, παρατηρήθηκε ιόν με m/z 209,1536 (Δ 1,0 ppm) σε 40% σχετική αφθονία, που αντιστοιχεί στο $[M+H]^+$, όπως φαίνεται στην Εικόνα 3.

Spectrum from 20220314.wiff (sample 11) - 700ppb_mix3res; +TOF MS (50 - 850) from 3,724 min



MG17

Exact Mass: 208.1463

$[M+H]^+$: 209.1536

$[M+Na]^+$: 231.1356

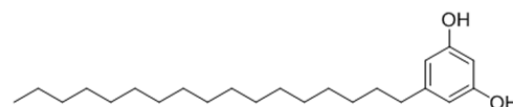
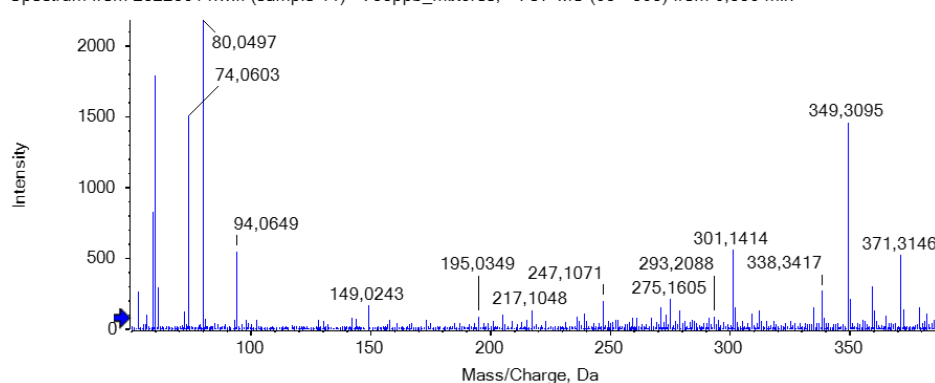
$[M-H]^-$: 207.1391

Εικόνα 3: Φάσμα πλήρους σάρωσης της ένωσης MG17 στον θετικό ιοντισμό.

5.2.2 Φάσμα HRMS της ένωσης MG23

Στο φάσμα πλήρους σάρωσης για την MG23, παρατηρήθηκε ιόν με m/z 349,3095 (Δ 1,7 ppm) σε 60% σχετική αφθονία, που αντιστοιχεί στο $[M+H]^+$, όπως φαίνεται στην Εικόνα 4.

Spectrum from 20220314.wiff (sample 11) - 700ppb_mix3res; +TOF MS (50 - 850) from 6,803 min



MG23

Exact Mass: 348.3028

$[M+H]^+$: 349.3101

$[M+Na]^+$: 371.2921

$[M-H]^-$: 347.2956

Εικόνα 4: Φάσμα πλήρους σάρωσης της ένωσης MG23 στον θετικό ιοντισμό.

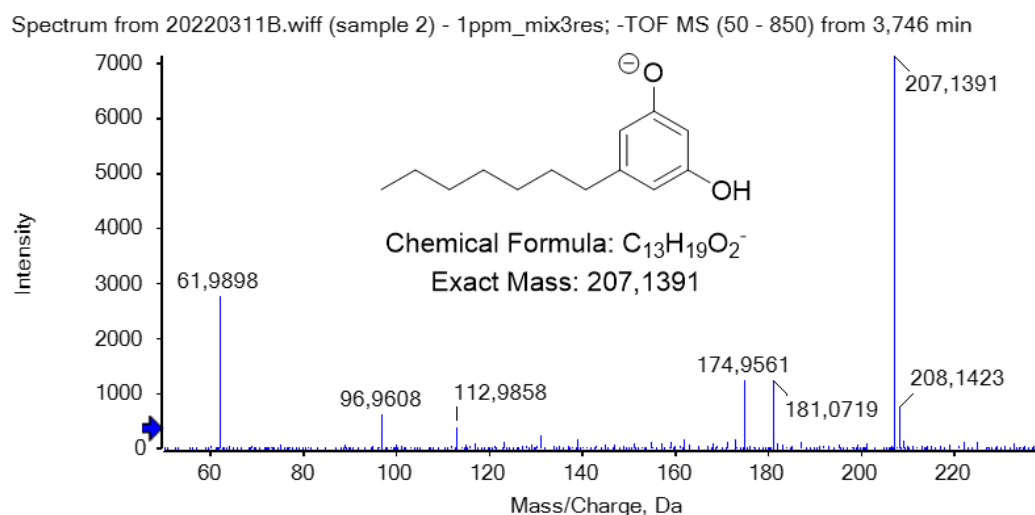
5.2.3 Φάσμα HRMS της εικοσιενυλορεσορκινόλης (ER)

Στον θετικό ιοντισμό, στο φάσμα πλήρους σάρωσης για την εικοσιενυλοακυλορεσορκινόλη δεν παρατηρήθηκε ιόν με m/z που να αντιστοιχεί είτε στο $[M+H]^+$ είτε στο $[M+Na]^+$. Αυτό πιθανώς να μπορεί να αποδοθεί στην υψηλή λιποφιλικότητα της ένωσης αυτής.

5.3 Μελέτη HRMS στον αρνητικό ιοντισμό

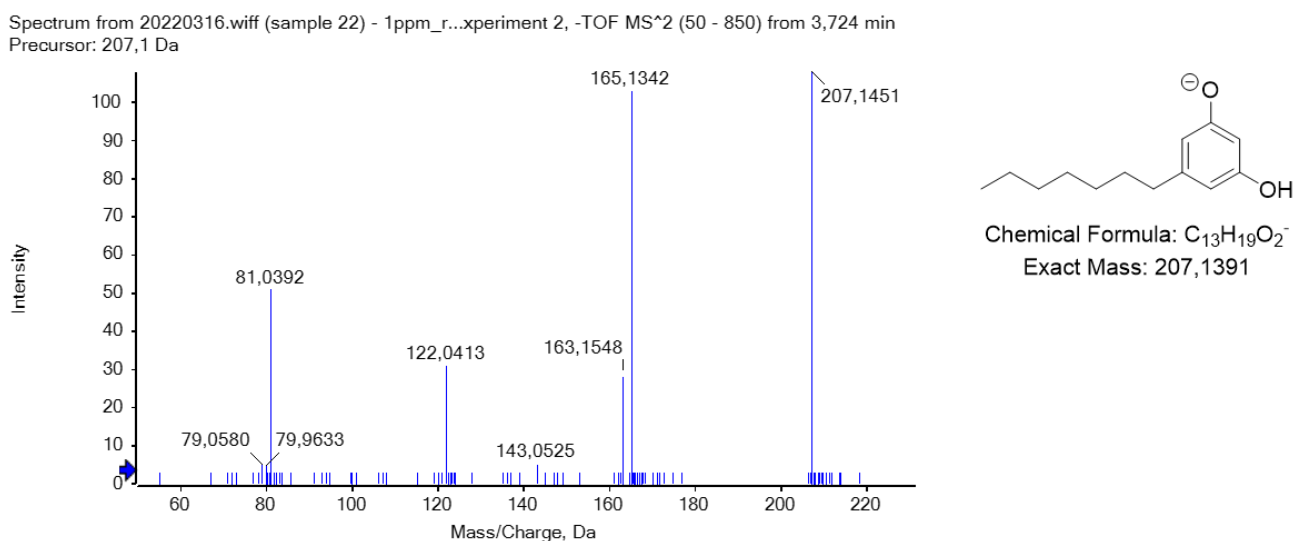
5.3.1 Φάσμα HRMS της ένωσης MG17

Στο φάσμα πλήρους σάρωσης για την MG17, παρατηρήθηκε ιόν με m/z 207,1391 (Δ 0,0 ppm) σε 100% σχετική αφθονία, που αντιστοιχεί στο $[M-H]^-$, όπως φαίνεται στην Εικόνα 5.



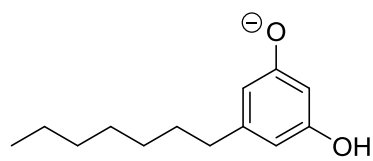
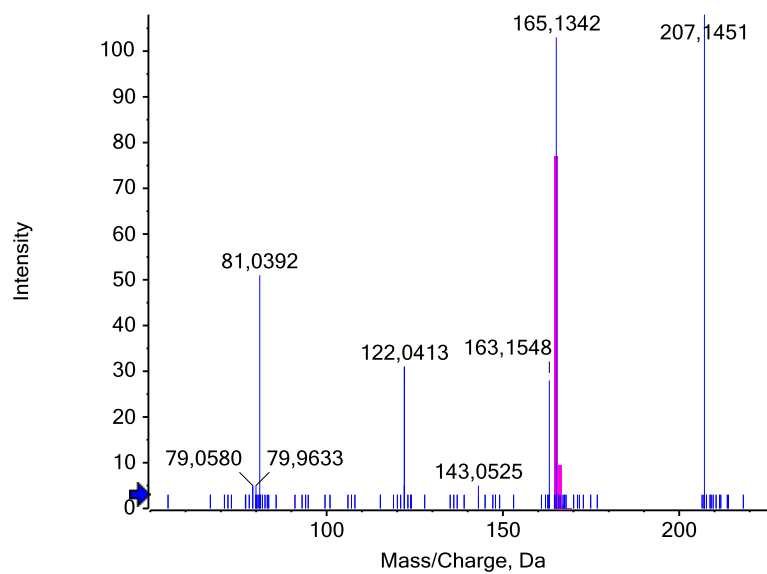
Εικόνα 5: Φάσμα πλήρους σάρωσης της ένωσης MG17 στον αρνητικό ιοντισμό.

Στο φάσμα MS/MS του ιόντος με m/z 207,1391 της MG17, παρατηρήθηκε ιόν με m/z 165,1342 (Δ 34,5 ppm) σε 100% σχετική αφθονία, όπως φαίνεται στην Εικόνα 6. Η προτεινόμενη θραυσματοποίηση της MG17 απεικονίζεται στην Εικόνα 7.

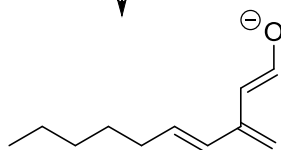
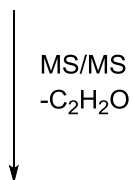


Εικόνα 6: Φάσμα MS/MS της ένωσης MG17 στον αρνητικό ιοντισμό.

- Spectrum from 20220316.wiff (sampl...TOF MS² (50 - 850) from 3,724 min
Precursor: 207,1 Da
- Isotopic Distribution for C₁₁H₁₇O⁻



Chemical Formula: C₁₃H₁₉O₂⁻
Exact Mass: 207,1391

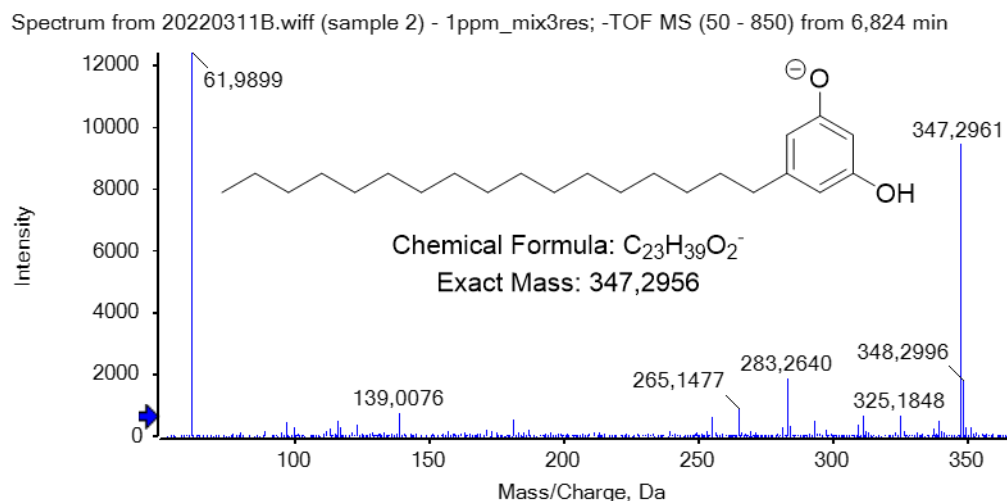


Chemical Formula: C₁₁H₁₇O⁻
Exact Mass: 165,1285

Εικόνα 7: Προτεινόμενη θραυσματοποίηση της ένωσης MG17 στον αρνητικό ιοντισμό.

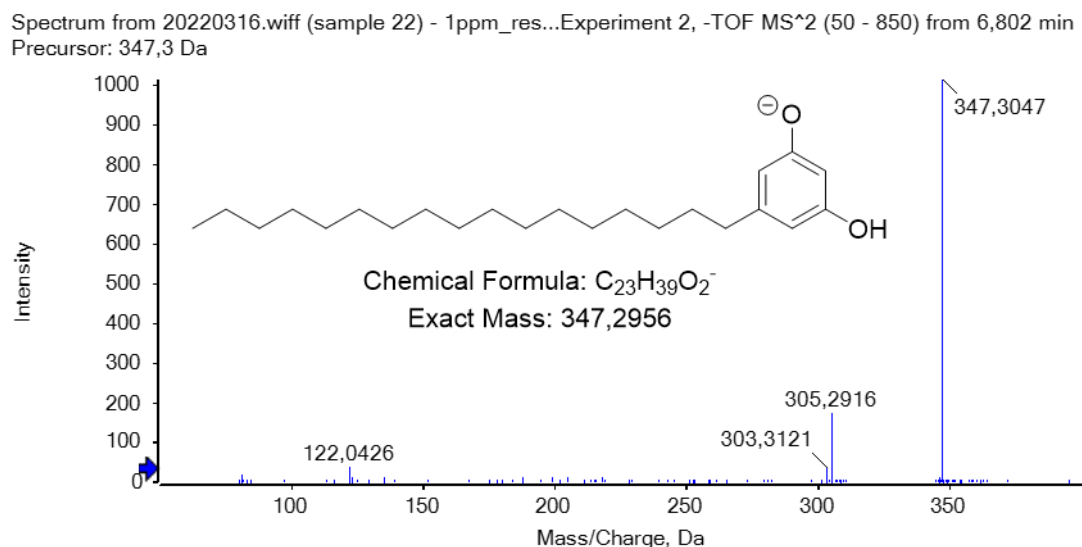
5.3.2 Φάσμα HRMS της ένωσης MG23

Στο φάσμα πλήρους σάρωσης για την MG23, παρατηρήθηκε ιόν με m/z 347,2960 (Δ 0,2 ppm) σε 90% σχετική αφθονία, που αντιστοιχεί στο $[M-H]^-$, όπως φαίνεται στην Εικόνα 8.



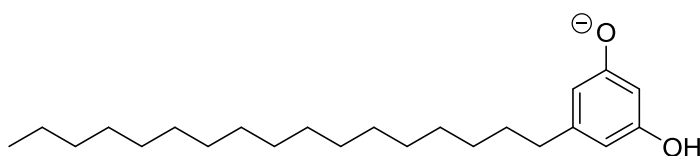
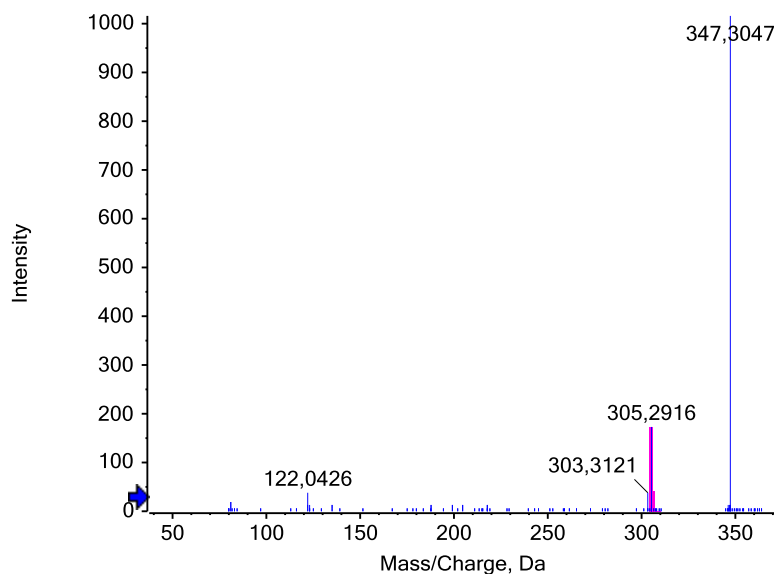
Εικόνα 8: Φάσμα πλήρους σάρωσης της ένωσης MG23 στον αρνητικό ιοντισμό.

Στο φάσμα MS/MS του ιόντος με m/z 347,2961 της MG23, παρατηρήθηκε ιόν με m/z 305,2916 (Δ 21,6 ppm) σε 30% σχετική αφθονία, όπως φαίνεται στην Εικόνα 9. Η προτεινόμενη θραυσματοποίηση της MG23 απεικονίζεται στην Εικόνα 10.



Εικόνα 9: Φάσμα MS/MS της ένωσης MG23 στον αρνητικό ιοντισμό.

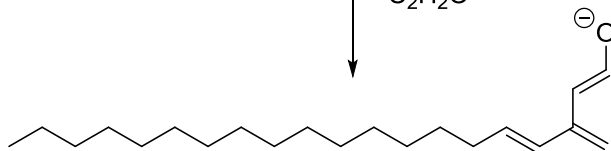
- Spectrum from 20220316.wiff (sampl...TOF MS² (50 - 850) from 6,802 min
Precursor: 347,3 Da
- Isotopic Distribution for C₂₁H₃₇O⁻



Chemical Formula: C₂₃H₃₉O₂⁻

Exact Mass: 347,2956

MS/MS
-C₂H₂O



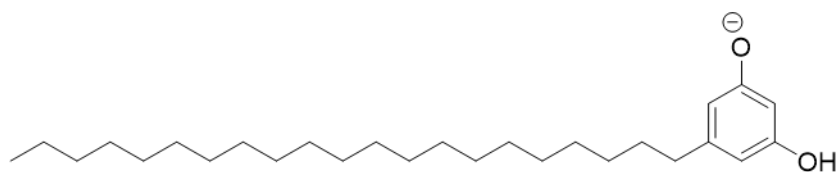
Chemical Formula: C₂₁H₃₇O⁻

Exact Mass: 305,2850

Εικόνα 10: Προτεινόμενη θραυσματοποίηση της ένωσης MG23 στον αρνητικό ιοντισμό.

5.3.3 Φάσμα HRMS της εικοσιενυλορεσορκινόλης (ER)

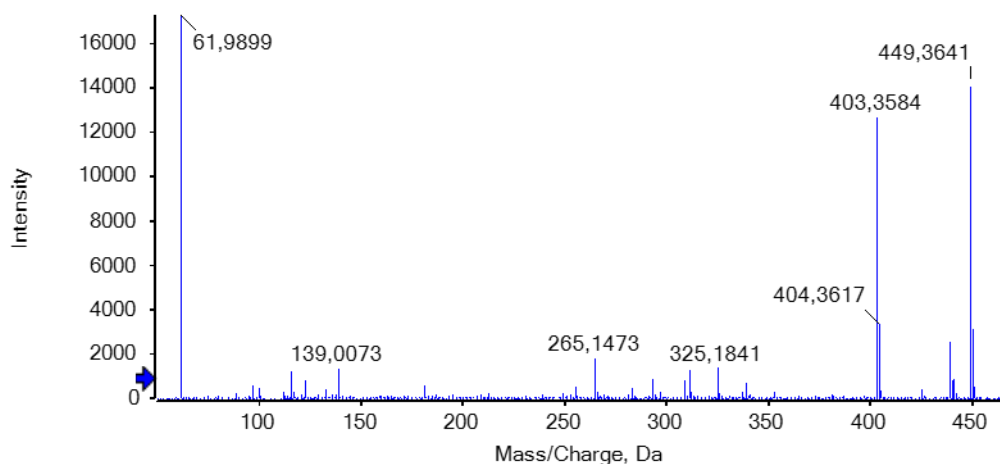
Στο φάσμα πλήρους σάρωσης για την εικοσιενυλορεσορκινόλη, παρατηρήθηκε ιόν με m/z 403,3584 (Δ 0,5 ppm) σε 80% σχετική αφθονία, που αντιστοιχεί στο [M-H]⁻, όπως φαίνεται στην Εικόνα 11. Επίσης, παρατηρήθηκε ιόν με m/z 449,3636 (Δ 1,1 ppm) που αντιστοιχεί στο [M+HCOOH-H]⁻.



Chemical Formula: $C_{27}H_{47}O_2^-$

Exact Mass: 403,3582

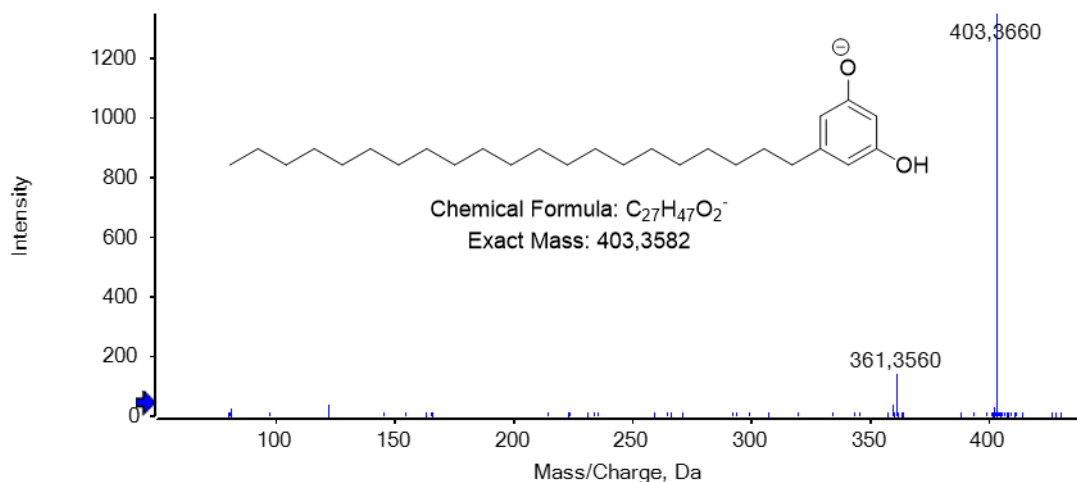
Spectrum from 20220311B.wiff (sample 2) - 1ppm_mix3res; -TOF MS (50 - 850) from 7,583 min



Εικόνα 11: Φάσμα πλήρους σάρωσης της ένωσης εικοσιενυλορεσορκινόλης στον αρνητικό ιοντισμό.

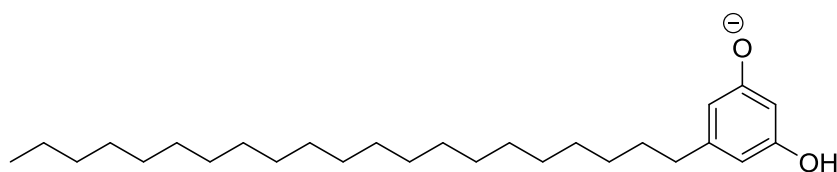
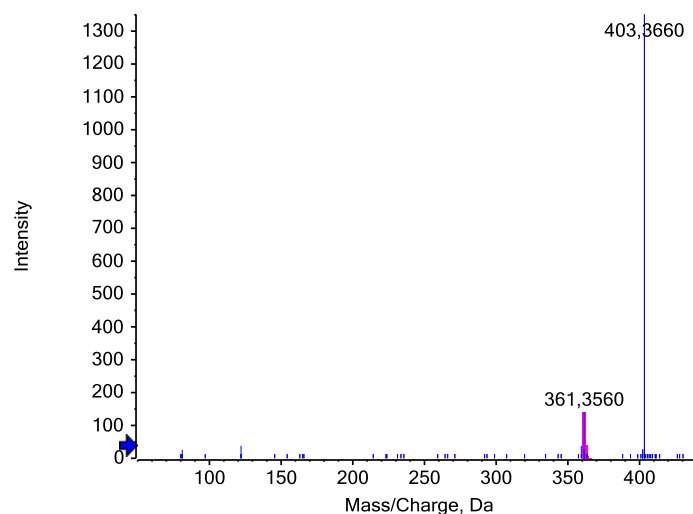
Στο φάσμα MS/MS του ιόντος με m/z 403,3584 της εικοσιενυλορεσορκινόλης, παρατηρήθηκε ιόν με m/z 361,3560 (Δ 23,2 ppm) σε 30% σχετική αφθονία, όπως φαίνεται στην Εικόνα 12. Η προτεινόμενη θραυσματοποίηση της εικοσιενυλορεσορκινόλης απεικονίζεται στην Εικόνα 13.

Spectrum from 20220316.wiff (sample 22) - 1ppm_res...Experiment 2, -TOF MS² (50 - 850) from 7,578 min
Precursor: 403,4 Da



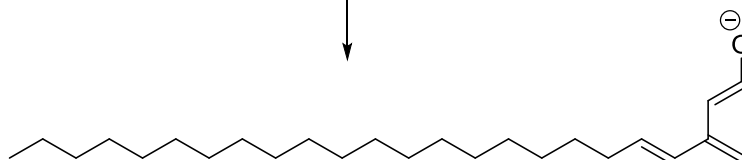
Εικόνα 12: Φάσμα MS/MS της εικοσιενυλορεσορκινόλης στον αρνητικό ιοντισμό.

● Spectrum from 20220316.wiff (sampl...TOF MS² (50 - 850) from 7,578 min
Precursor: 403,4 Da
● Isotopic Distribution for C₂₅H₄₅O⁻



Chemical Formula: C₂₇H₄₇O₂⁻
Exact Mass: 403,3582

MS/MS
-C₂H₂O



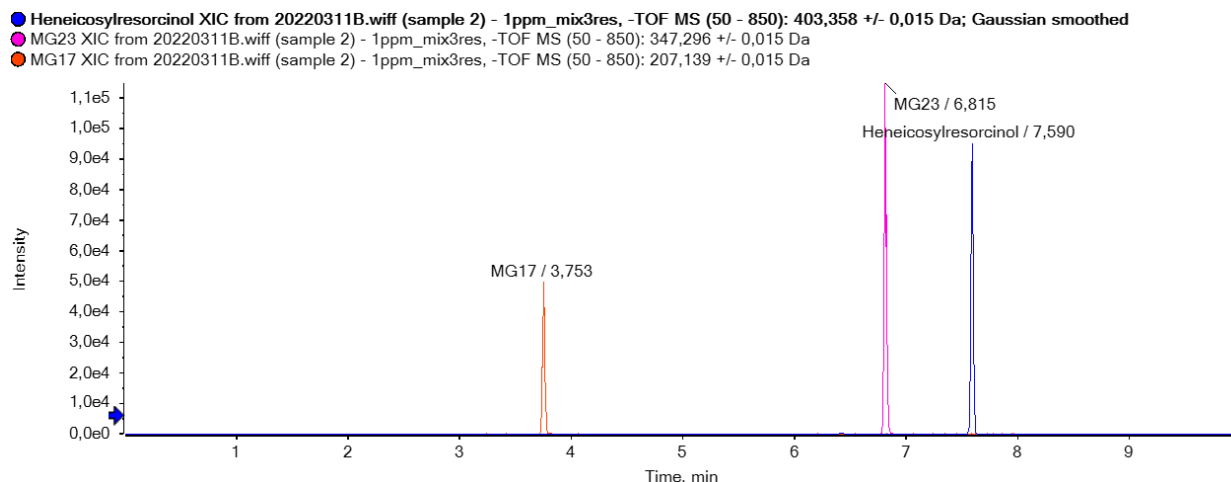
Chemical Formula: C₂₅H₄₅O⁻
Exact Mass: 361,3476

Εικόνα 13: Προτεινόμενη θραυσματοποίηση της εικοσιενυλορεσορκινόλης στον αρνητικό ιοντισμό.

5.4 Μελέτη υγρής χρωματογραφίας

Για τη μελέτη μείγματος των παραπάνω ενώσεων με υγρή χρωματογραφία, παρασκευάζονται διαλύματα συγκέντρωσης 1000 mg/L (stock solutions) των MG17, MG21 και ER. Τα

πρότυπα διαλύματα φυλάσσονται στην κατάψυξη. Διάλυμα μείγματος συγκέντρωσης 1 mg/L αναλύεται, όπως φαίνεται στην Εικόνα 14.

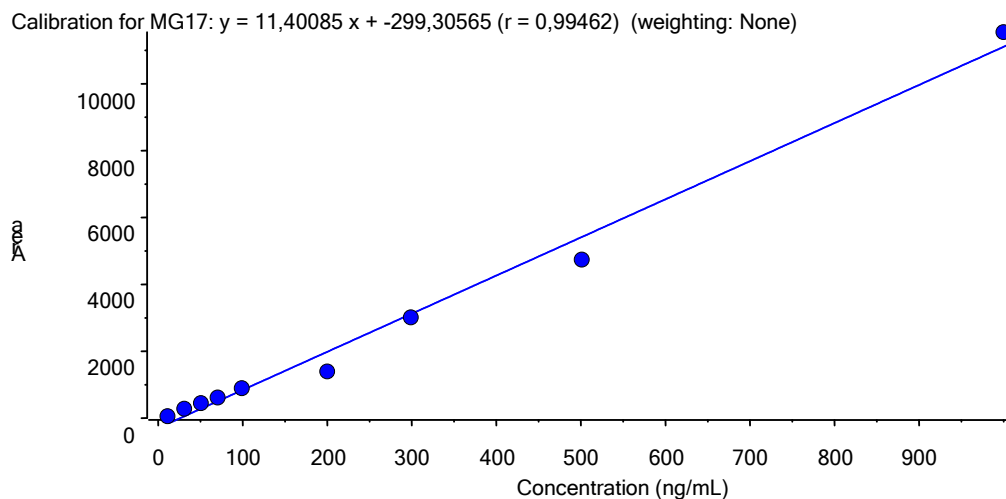


Εικόνα 14: Χρωματογράφημα μείγματος των αλκυλορεσορκινολών MG17, MG23 και εικοσιενυλορεσορκινόλης.

Όπως φαίνεται και στην παραπάνω εικόνα επιτυγχάνεται πολύ καλός διαχωρισμός των τριών υπό μελέτη ενώσεων.

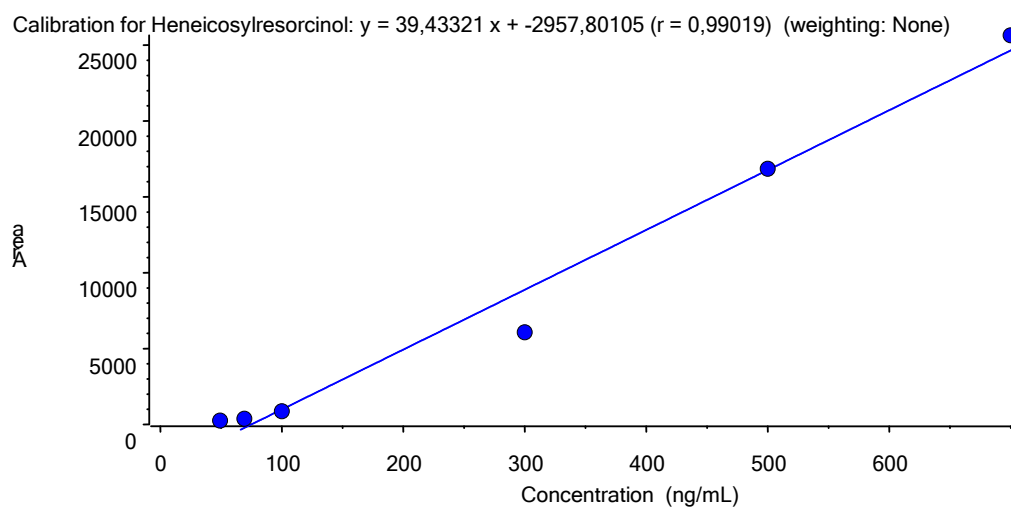
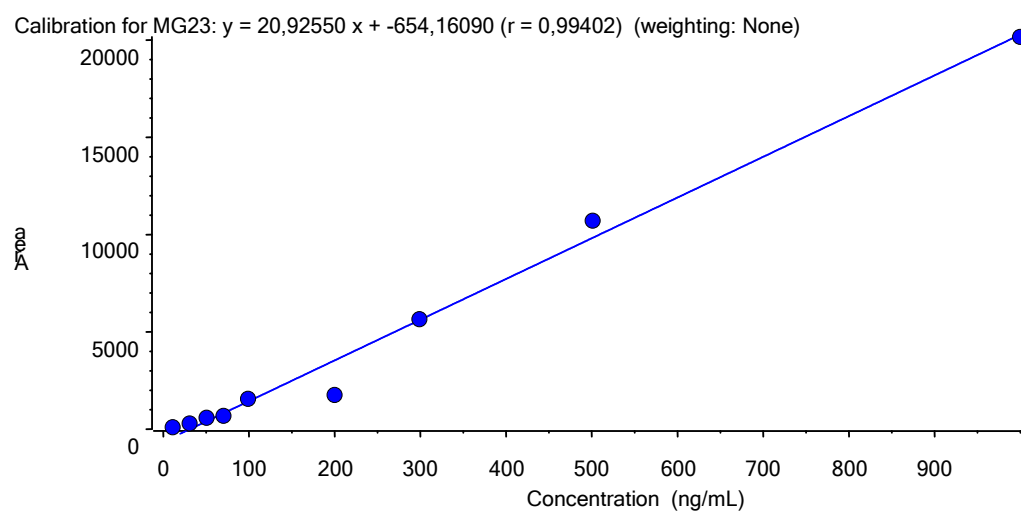
5.5 Καμπύλες αναφοράς των τριών αλκυλορεσορκινολών

Παρασκευάστηκαν εννέα πρότυπα διαλύματα μείγματος των τριών αναλυτών σε μείγμα MeOH/H₂O (1:1), συγκεντρώσεων 5, 30, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 1000 ng/mL. Καταγράφηκαν τα εμβαδά μετά την ολοκλήρωση του σήματος κάθε ένωσης και κατασκευάστηκαν οι αντίστοιχες καμπύλες αναφοράς (εμβαδόν κορυφής σε συνάρτηση με τη συγκέντρωση κάθε ουσίας) (Εικόνα 15). Στη συνέχεια προσδιορίστηκε η ευθεία παλινδρόμησης με τη μέθοδο ελαχίστων τετραγώνων για κάθε περίπτωση.



A)

B)

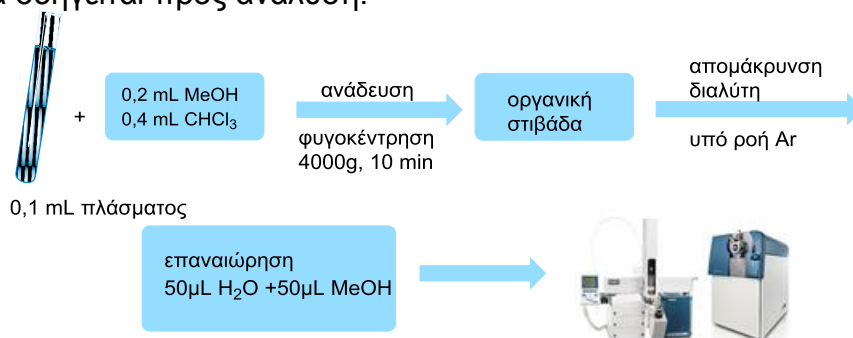


Γ)

Εικόνα 15: Καμπύλες αναφοράς για τις ενώσεις Α) MG17, Β) MG23 και Γ) εικοσιενυλορεσορκινόλη.

5.6 Προκατεργασία δειγμάτων

Σε δοκιμαστικό σωλήνα που περιέχει 0,1 mL πλάσματος, προστίθενται 0,2 mL μεθανόλη και 0,4 mL χλωροφόρμιο. Ακολουθεί ανάδευση του μείγματος και φυγοκέντρηση σε 4000 g για 10 λεπτά. Στη συνέχεια, η οργανική στιβάδα συλλέγεται και ο διαλύτης απομακρύνεται υπό ροή Ar. Τέλος, πραγματοποιείται επαναιώρηση σε 50 μ L νερό και 50 μ L μεθανόλη και το μείγμα οδηγείται προς ανάλυση.



Στην συνέχεια υπολογίστηκε η ανάκτηση με τον παρακάτω τρόπο:

$$\% \text{ Ανάκτηση (R)} = \frac{\text{Εμβαδό κορυφής εμβολιασμένου δείγματος}}{\text{Εμβαδό κορυφής δείγματος αναφοράς}} \times 100$$

Η ορθότητα της μεθόδου αξιολογείται με βάση την ανάκτηση των εμβολιασμένων δειγμάτων με πρότυπες ουσίες. Στον Πίνακα 8 συνοψίζονται οι % ανακτήσεις (%R) των αναλυτών.

Η πιστότητα της μεθόδου εκφράζει την προσέγγιση της συμφωνίας μεταξύ των επαναλαμβανομένων αποτελεσμάτων. Υποσύνολα της πιστότητας είναι η επαναληψιμότητα και αναπαραγωγιμότητα.

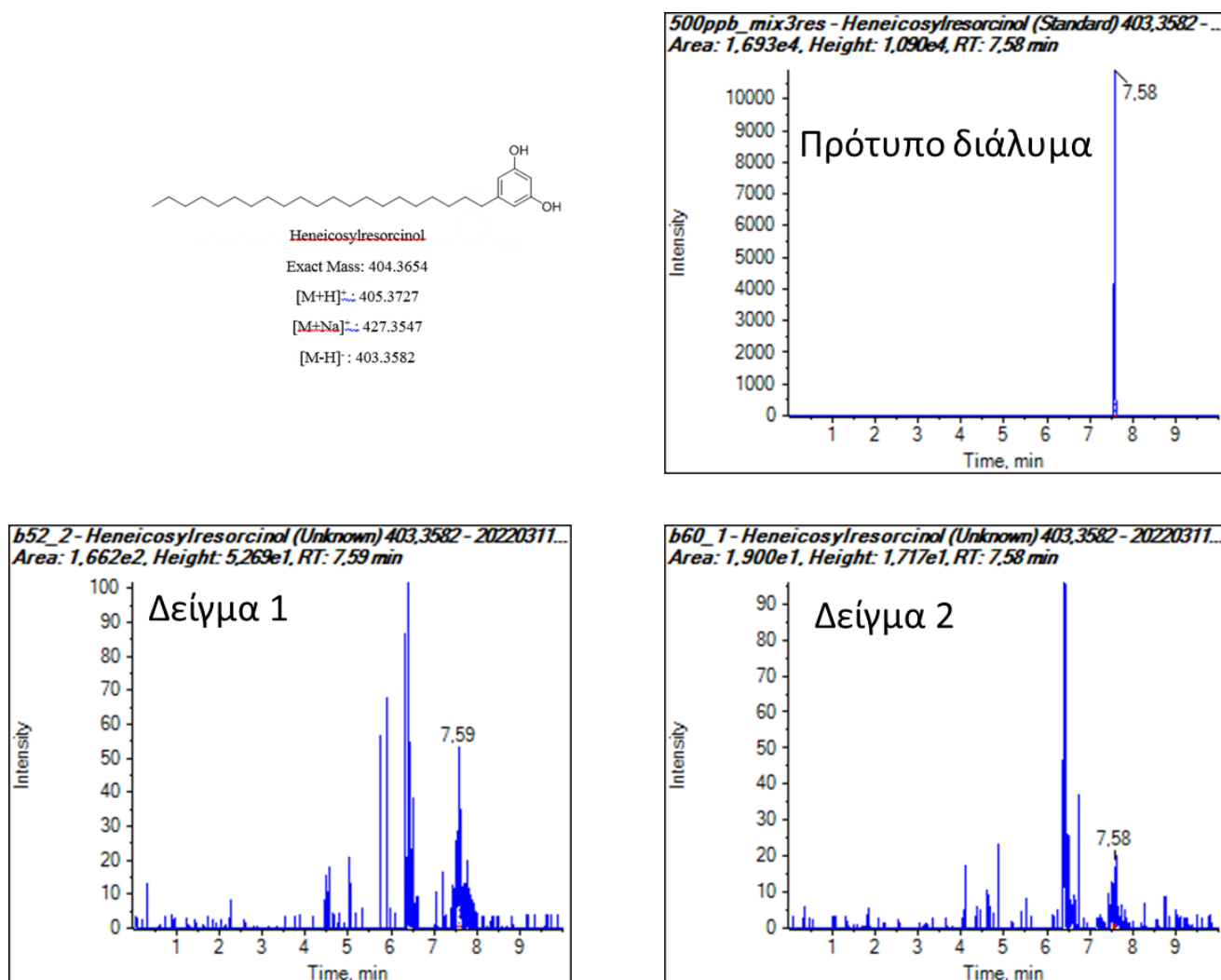
Για την αναπαραγωγιμότητα της μεθόδου έγιναν μετρήσεις σε εμβολιασμένο ορό αίματος και υπολογίστηκε η εκατοστιαία σχετική τυπική απόκλιση % RSD.

Πίνακας 8: %R και %RSD σε δείγμα ορού αίματος.

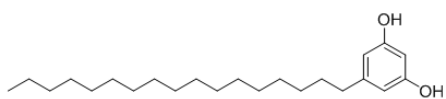
Αναλύτης	%RSD	%R
εικοσιενυλορεσορκινόλη 500 ppb	36,09	91
MG23 500 ppb	30,20	118
MG17 500 ppb	11,58	65

5.7 Ανάλυση δειγμάτων ορού

Τέλος, με βάση την παραπάνω μέθοδο που μελετήσαμε, αναλύθηκε ένας αριθμός δειγμάτων ορού υγιών εθελοντών. Τα αποτελέσματα χαρακτηριστικών δειγμάτων παρουσιάζονται στις παρακάτω εικόνες.



Εικόνα 16: Χρωματογράφημα LC-HRMS της εικοσιενυλορεσορκινόλης.



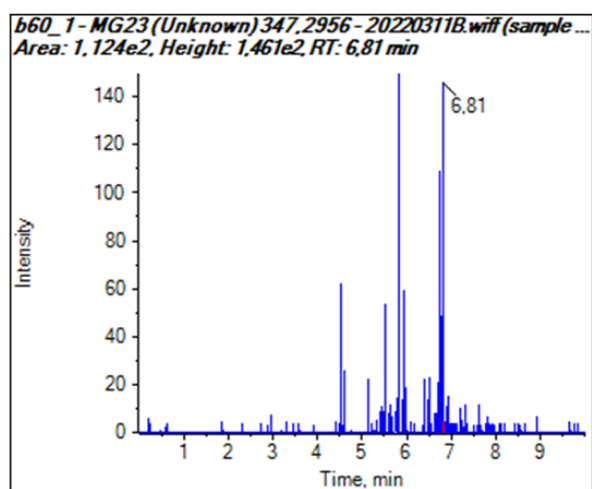
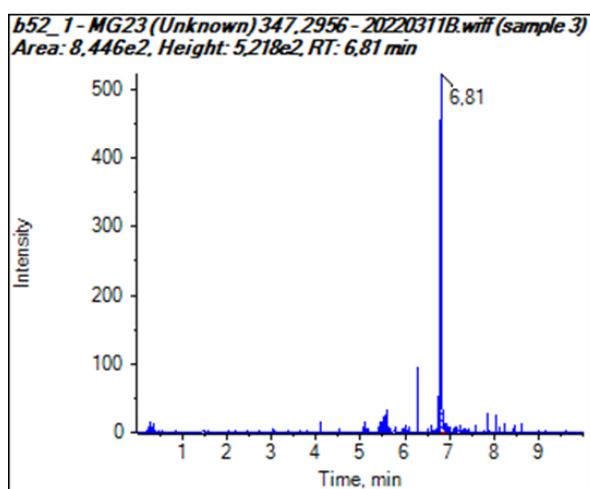
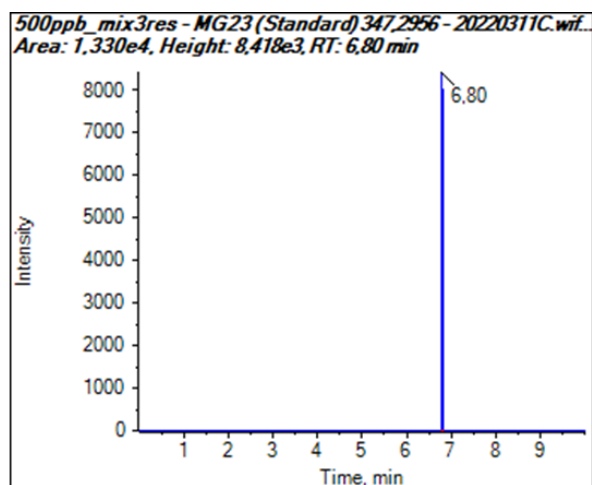
MG23

Exact Mass: 348.3028

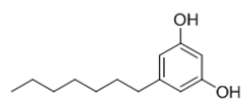
$[M+H]^+$: 349.3101

$[M+Na]^+$: 371.2921

$[M-H]^-$: 347.2956



Εικόνα 17: Χρωματογράφημα LC-HRMS της ένωσης MG23.



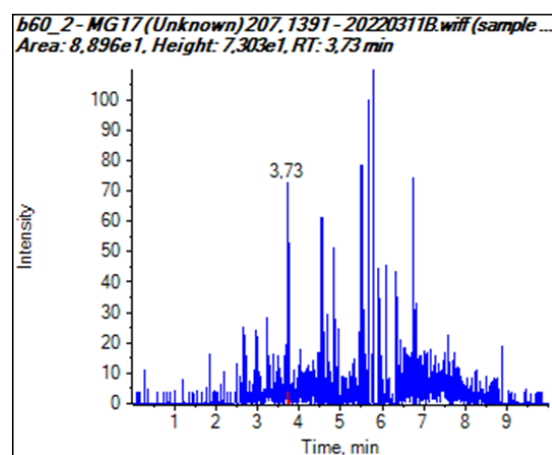
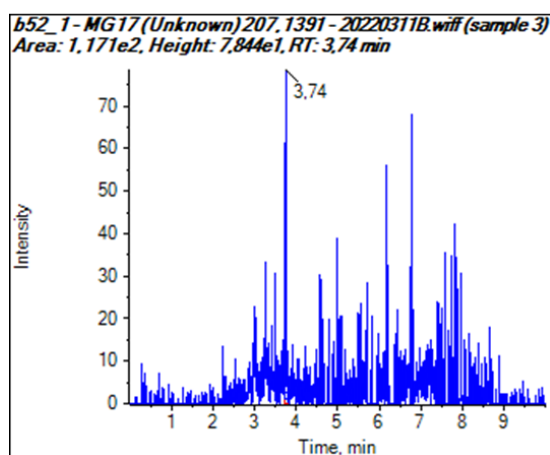
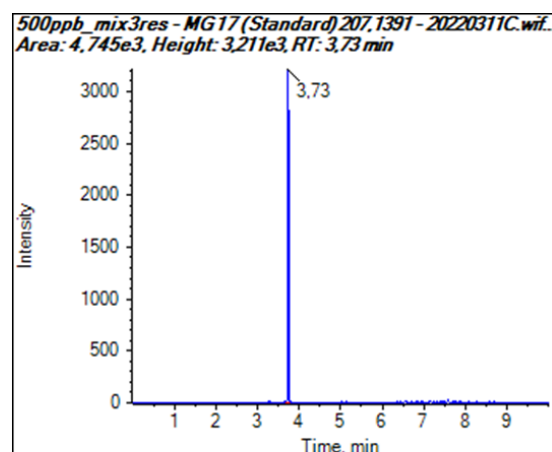
MG17

Exact Mass: 208.1463

$[M+H]^+$: 209.1536

$[M+Na]^+$: 231.1356

$[M-H]^-$: 207.1391



Εικόνα 18: Χρωματογράφημα LC-HRMS της ένωσης MG17.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ-ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΙ ΕΝΩΣΕΩΝ

6.1 Γενικό πειραματικό μέρος

6.1.1 Αντιδραστήρια και διαλύτες

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

6.1.2 Όργανα και διατάξεις

Η ταυτοποίηση των ενώσεων που συντέθηκαν πραγματοποιήθηκε με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) καθώς και με φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας (HRMS). Για την ταυτοποίηση των ενώσεων μετρήθηκε, επίσης, το σημείο τήξεως.

Τα φάσματα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR ^1H , ^{13}C) ελήφθησαν σε όργανο Varian τύπου Mercury 200, MHz όπως και σε όργανο Bruker Avance III HD 400 MHz σε διαλύτη CDCl_3 . Για το ^1H NMR, η συχνότητα συντονισμού ήταν τα 200 MHz και τα 400 MHz, ενώ για τον ^{13}C NMR η συχνότητα συντονισμού ήταν τα 50 MHz και 100 MHz, αντίστοιχα. Οι χημικές μετατοπίσεις των φασμάτων NMR εκφράζονται σε ppm, ενώ η σειρά παρουσίασης των δεδομένων των χημικών μετατοπίσεων στα φάσματα ^1H NMR είναι η εξής: αριθμός πρωτονίων, πολλαπλότητα, σταθερές σύζευξης J σε Hz και ταυτοποίηση κορυφών.

Τα φάσματα μάζας υψηλής ανάλυσης (HRMS) ελήφθησαν σε φασματόμετρο Bruker Maxis Impact QTOF.

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

6.1.3 Χρωματογραφία λεπτής στιβάδας

Η πορεία των αντιδράσεων και η καθαρότητα των ενώσεων που συντέθηκαν ελέγχθηκαν με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (thin layer chromatography, TLC) για την οποία χρησιμοποιήθηκαν φύλλα αλουμινίου 0,25 mm επιστρωμένα με silica gel και φθορίζον υλικό που απορροφά στα 254 nm της εταιρίας Merck (silica gel 60 F₂₅₄). Η εμφάνιση των χρωματογραφημάτων έγινε τόσο σε διάλυμα υπερμαγγανικού οξέος σε υδατικό διάλυμα NaOH 5% NaOH όσο και σε διάλυμα φωσφομολυβδαινικού οξέος 7,5% με θέρμανση και λυχνία UV ($\lambda=254$ nm).

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

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

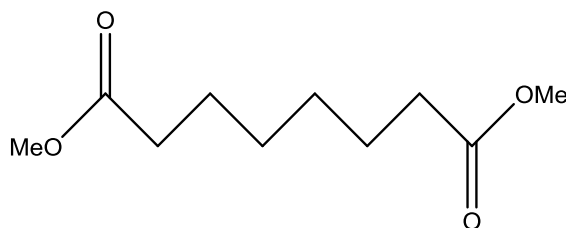
6.1.4 Χρωματογραφία στήλης

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

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

6.2 Πειραματικές πορείες και χαρακτηρισμοί ενώσεων

Οκτανοδιοϊκός διμεθυλεστέρας (MG2) [150]



Σε σφαιρική φιάλη των 25 mL προστίθενται κατά σειρά οκτανοδιοϊκό οξύ (700 mg, 4.01 mmol), μεθανόλη (10 mL) και π. H_2SO_4 (0.04 mL, 0.80 mmol). Το μείγμα της αντίδρασης αφήνεται υπό αναρροή για 16 ώρες. Αφού ολοκληρωθεί η αντίδραση, το διάλυμα συμπυκνώνεται υπό κενό, στο υπόλειμμα προστίθεται CH_2Cl_2 (10 mL), εκπλένεται διαδοχικά με H_2O (3 x 5 mL), με κορ. NaHCO_3 (3 x 5 mL) και τελικά οι υδατικές στιβάδες εκχυλίζονται με CH_2Cl_2 (3 x 5 mL). Οι οργανικές στιβάδες συλλέγονται, ξηραίνονται με Na_2SO_4 και συμπυκνώνονται υπό κενό. Το προϊόν παραλαμβάνεται με χρωματογραφία στήλης.

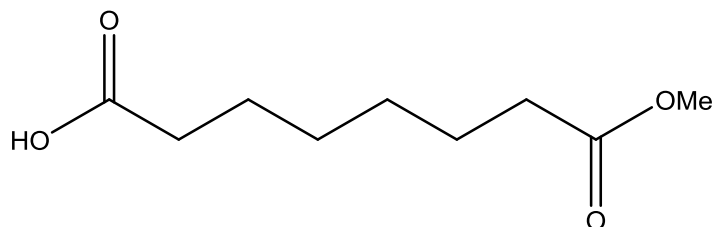
Σύστημα Έκλουσης: (PE:EtOAc) (6:4)

Άχρωμο έλαιο, 82% απόδοση (663 mg), $R_f = 0.73$.

$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 3.58 (6H, s, 2 x COOMe), 2.27-2.08 (4H, m, 2 x COCH_2), 1.63-1.40 (4H, m, 2 x CH_2), 1.30-1.15 (4H, m, 2 x CH_2). [150]

$^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ 174.2, 51.6, 34.1, 28.9, 24.9.

Μονομεθυλεστέρας του 1,8-οκτανοδιοϊκού οξέος (MG3) [151]



Σε σφαιρική φιάλη των 25 mL προστίθενται η **MG2** (650 mg, 3.28 mmol), μεθανόλη (4 mL) και υδατικό διάλυμα 4N KOH (0.8 mL, 3.28 mmol). Το μείγμα της αντίδρασης αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου, υπό ανάδευση για 4 ώρες. Στη συνέχεια, το διάλυμα συμπυκνώνεται υπό κενό, το υπόλειμμα

εκχυλίζεται με CH_2Cl_2 (3 x 15 mL) και οι οργανικές στιβάδες εκπλένονται με H_2O (3 x 10 mL). Η υδατική φάση οξινίζεται με HCl 1N (έως $\text{pH}=1$) και εκχυλίζεται με Et_2O (3 x 5 mL). Οι οργανικές στιβάδες συλλέγονται, ξηραίνονται με Na_2SO_4 και συμπυκνώνονται υπό κενό. Το προϊόν παραλαμβάνεται με χρωματογραφία στήλης.

Σύστημα Έκλουσης: (PE:EtOAc) (6:4)

Στερεό Χαμηλού Σημείου Τήξεως, 29% απόδοση (179 mg), $R_f = 0.53$.

$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 10.27, (1H, br s, COOH), 3.63 (3H, s, COOMe), 2.36-2.22 (4H, m, 2 x COCH_2), 1.67-1.52 (4H, m, 2 x CH_2), 1.36-1.26 (4H, m, 2 x CH_2). [152]

$^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ 180.2, 174.5, 51.7, 34.2, 28.9, 28.8, 24.9, 24.6.

Εννεανοδιοϊκός διμεθυλεστέρας (MG4) [150]



Σε σφαιρική φιάλη των 25 mL προστίθενται κατά σειρά αζελαϊκό οξύ (1.0 g, 5.31 mmol), MeOH (13 mL) και π. H_2SO_4 (0.05 mL, 1.06 mmol). Το μείγμα της αντίδρασης αφήνεται υπό αναρροή για 16 ώρες. Αφού ολοκληρωθεί η αντίδραση, το διάλυμα συμπυκνώνεται υπό κενό, στο υπόλειμμα προστίθεται CH_2Cl_2 (10 mL), εκπλένεται διαδοχικά με H_2O (3 x 5 mL), με κορ. NaHCO_3 (3 x 5 mL) και τελικά οι υδατικές στιβάδες εκχυλίζονται με CH_2Cl_2 (3 x 10 mL). Οι οργανικές στιβάδες συλλέγονται, ξηραίνονται με Na_2SO_4 και συμπυκνώνονται υπό κενό. Το προϊόν παραλαμβάνεται με χρωματογραφία στήλης.

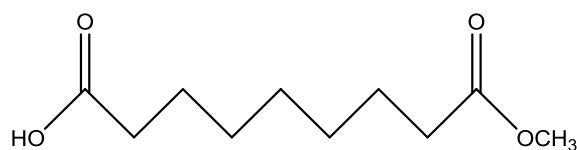
Σύστημα Έκλουσης: (PE:EtOAc) (6:4)

Άχρωμο έλαιο, 99% απόδοση (1.56 g), $R_f = 0.84$.

$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 3.58 (6H, s, 2 x COOMe), 2.21 (4H, t, $J = 7.4$ Hz, 2 x COCH_2), 1.62-1.40 (4H, m, 2 x CH_2), 1.31-1.11 (6H, m, 3 x CH_2). [153]

$^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ 174.3, 51.6, 34.1, 29.1, 29.0, 25.0.

Μονομεθυλεστέρας του 1,9-εννεανοδιοϊκού οξέος (MG5) [151]



Σε σφαιρική φιάλη των 25 mL προστίθενται κατά σειρά η **MG4** (1.36 g, 6.28 mmol), MeOH (7 mL) και υδατικό διάλυμα 4N KOH (0.5 mL, 6.28 mmol). Το μείγμα της αντίδρασης αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου, υπό ανάδευση για 4 ώρες. Στη συνέχεια, το διάλυμα συμπυκνώνεται υπό κενό, το υπόλειμμα εκχυλίζεται με CH₂Cl₂ (3 x 10 mL) και οι οργανικές στιβάδες εκπλένονται με H₂O (3 x 5 mL). Η υδατική φάση οξινίζεται με HCl 1N (έως pH=1) και εκχυλίζεται με CH₂Cl₂ (2 x 10 mL) και με EtOAc (2 x 10 mL). Οι οργανικές στιβάδες συλλέγονται, ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται υπό κενό. Το προϊόν λαμβάνεται με χρωματογραφία στήλης.

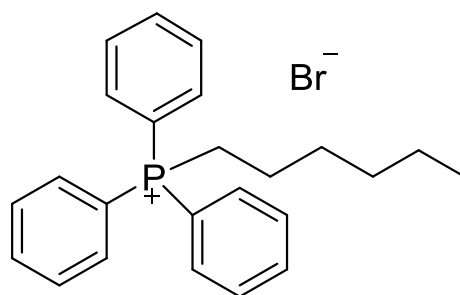
Σύστημα Έκλουσης: (PE:EtOAc) (6:4)

Στερεό Χαμηλού Σημείου Τήξεως, 37% απόδοση (473 mg), R_f = 0.42.

¹HNMR (200 MHz, CDCl₃) δ 11.31 (1H, br s, COOH), 3.56 (3H, s, COOMe), 2.30-2.15 (4H, m, 2 x COCH₂), 1.60-1.41 (4H, m, 2 x CH₂), 1.30-1.11 (6H, m, 3 x CH₂). [154]

¹³CNMR (50 MHz, CDCl₃) δ 180.1, 174.5, 51.6, 34.1, 29.0, 28.9, 24.9, 24.7

Εξυλοτριφαινυλοφωσφονιακό άλας (MG14) [155]



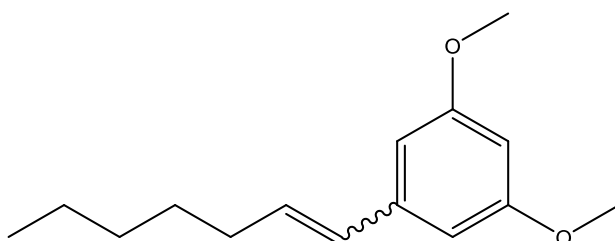
Σε σφαιρική φιάλη των 50 mL προστίθενται PPh₃ (1.91 g, 7.30 mmol) και βρωμοεξάνιο (1.2 mL, 7.30 mmol). Το μείγμα της αντίδρασης θερμαίνεται υπό ανάδευση στους 90 °C σε ελαιόλουτρο για 24 ώρες. Αφού ολοκληρωθεί η

αντίδραση, το μείγμα εκπλένεται διαδοχικά με πετρελαϊκό αιθέρα, πολλές φορές με ξηρό Et₂O, συμπυκνώνεται υπό κενό και ξηραίνεται περαιτέρω στους 70 °C για 1 ώρα. Μετά τη κατεργασία το προϊόν λαμβάνεται με χρωματογραφία στήλης.

Σύστημα Έκλουσης: (PE:EtOAc) (9:1)

Λευκό στερεό, Σημείο Τήξεως_{πειρ.} 200-202 °C/Σημείο Τήξεως_{βιβλ.} 199-202 °C [156], 99% απόδοση (2.53 g), R_f = 0.05.

***E*, *Z*-1-(Επτ-1-εν-1-υλο)-3,5-διμεθοξυβενζόλιο (MG15) [157]**



Σε σφαιρική φιάλη των 50 mL που έχει ξηρανθεί και έχει γίνει διαβίβαση Ar προστίθεται η **MG14** (2.16 g, 5.04 mmol) διαλυμένο σε ξηρό THF (16.8 mL). Εν συνεχεία, προστίθεται στάγδην στους -15 °C n-BuLi (4.2 mL, 1.6 M, 6.72 mmol). Το μείγμα της αντίδρασης αφήνεται στους -15 °C για μισή ώρα. Ακολούθως, προστίθεται η 3,5-διμεθοξυβενζαλδεΰδη (560 mg, 3.36 mmol) διαλυμένη σε ξηρό THF. Το μείγμα της αντίδρασης αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου, υπό ανάδευση για 16 ώρες. Αφού ολοκληρωθεί η αντίδραση, στο διάλυμα προστίθεται στους 0 °C H₂O (10 mL) και εκχυλίζεται με CH₂Cl₂ (3 x 10 mL). Οι οργανικές στιβάδες φιλτράρονται από silica. Η οργανική στοιβάδα συλλέγεται, ξηραίνεται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνεται υπό κενό. Το προϊόν παραλαμβάνεται με χρωματογραφία στήλης.

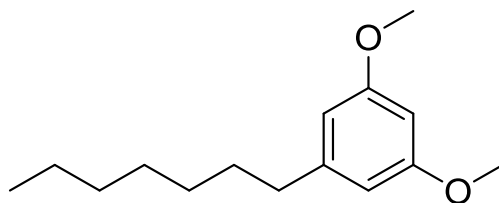
Σύστημα Έκλουσης: (PE:EtOAc) (6:4)

Κίτρινο έλαιο, 80% απόδοση (632 mg), R_f = 0.76.

¹HNMR (200 MHz, CDCl₃) δ 6.71-5.45 (5H, m, Ar H and 2 x =CH), 3.80 (6H, s, OCH₃), 2.47-1.98 (2H, m, CH₂), 1.71-1.08 (6H, m, 3 x CH₂), 0.93 (3H, t, J = 6.7 Hz, CH₃). [158]

¹³CNMR (50 MHz, CDCl₃) δ 161.1, 160.7, 139.9, 139.7, 134.0, 132.0, 129.9, 129.0, 107.0, 104.2, 97.8, 97.5, 55.5, 33.2, 31.7, 30.0, 29.3, 29.1, 22.9, 14.3.

1-Επτυλο-3,5-διμεθοξυβενζόλιο (MG16) [149]



Σε σφαιρική φιάλη των 100 mL διαλύεται η **MG15** (316 mg, 1.30 mmol) σε απόλυτη αιθανόλη (40 mL), προστίθεται επίσης CH₂Cl₂ (5 mL). Στο μείγμα της αντίδρασης προστίθεται 10% Pd/C (50 mg), γίνεται διαβίβαση H₂ και αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου, υπό ανάδευση για 16 ώρες. Αφού ολοκληρωθεί η αντίδραση το μείγμα διηθείται από celite και εκπλένεται ο ηθμός με CH₂Cl₂ (3 x 10 mL). Το διάλυμα συμπυκνώνεται υπό κενό. Το προϊόν παραλαμβάνεται με χρωματογραφία στήλης.

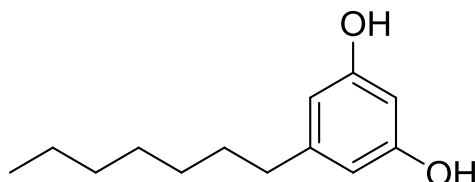
Σύστημα Έκλουσης: (PE:EtOAc) (8:2)

Άχρωμο έλαιο, 68% απόδοση (210 mg), R_f = 0.81.

¹HNMR (200 MHz, CDCl₃) δ 6.47-6.32 (3H, m, ArH), 3.79 (6H, s, 2 x OCH₃), 2.59 (2H, t, J = 7.7 Hz, CH₂), 1.74-1.38 (4H, m, 2 x CH₂), 1.88-1.13 (6 H, m, 3 x CH₂), 0.93 (3H, t, J = 7.0 Hz, CH₃). [159]

¹³CNMR (50 MHz, CDCl₃) δ 161.0, 145.5, 106.7, 97.7, 55.2, 36.6, 32.2, 31.7, 29.7, 29.6, 23.0, 14.4.

5-Επτυλορεσορκινόλη (MG17) [149]



Σε σφαιρική φιάλη των 100 mL που έχει ξηρανθεί και έχει γίνει διαβίβαση Ar προστίθεται στους 0 °C η **MG16** (190 mg, 0.80 mmol) διαλυμένη σε ξηρό

CH₂Cl₂ (8 mL). Μετέπειτα, προστίθεται το BBr₃ (0.25 mL, 2.65 mmol) διαλυμένο σε ξηρό CH₂Cl₂ (2 mL) στους 0 °C και στάγδην. Το μείγμα της αντίδρασης αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου, υπό ανάδευση για 2 ώρες. Αφού ολοκληρωθεί η αντίδραση, στο διάλυμα προστίθεται στάγδην στους 0 °C H₂O (10 mL). Η υδατική φάση εκχυλίζεται με CH₂Cl₂ (3 x 10 mL). Οι οργανικές στιβάδες συλλέγονται, ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται υπό κενό. Το προϊόν παραλαμβάνεται με χρωματογραφία στήλης.

Σύστημα Έκλουσης: (PE:EtOAc) (8:2) x 4, (PE:EtOAc) (5:5)

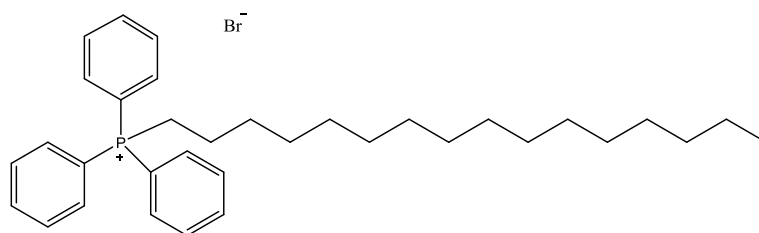
Καφέ στερεό, Σημείο Τήξεως_{πειρ} 55-57 °C/Σημείο Τήξεως_{βιβλ} 56 °C [138], 99% απόδοση (167 mg), R_f = 0.67.

¹HNMR (200 MHz, CDCl₃) δ 6.77 (2H, br s, 2 x OH), 6.34-5.98 (3H, m, 3 ArH), 2.39 (2H, t, J = 6.7 Hz, CH₂), 1.60-1.12 (10H, m, 5 x CH₂), 0.87 (3H, t, J = 6.7 Hz, CH₃). [160]

¹³CNMR (50 MHz, CDCl₃) δ 156.3, 146.7, 108.6, 100.6, 36.1, 32.1, 31.3, 29.6, 29.4, 22.9, 14.3.

HRMS: [M-H]⁻ : 207.1388 (Ακριβής μάζα: 207.1391).

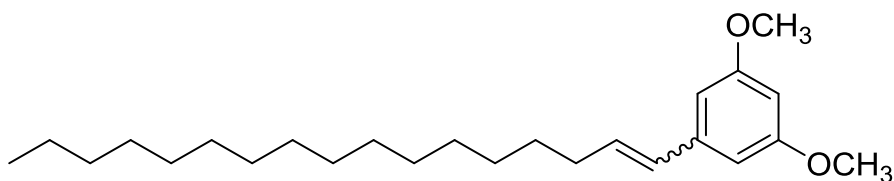
Δεκαεξυλοτριφαινυλοφωσφονιακό άλας (MG20) [161]



Σε σφαιρική φιάλη των 50 mL προστίθενται PPh₃ (1.29 g, 4.90 mmol) και 1-βρωμοδεκαεξάνιο (1.5 mL, 4.90 mmol). Το μείγμα της αντίδρασης θερμαίνεται υπό ανάδευση στους 90 °C σε ελαιόλουτρο για 24 ώρες. Αφού ολοκληρωθεί η αντίδραση, το μείγμα εκπλένεται πολλές φορές με ξηρό Et₂O συμπυκνώνεται υπό κενό και ξηραίνεται περαιτέρω στους 70 °C για 1 ώρα.

Λευκό στερεό, Σημείο Τήξεως_{βιβλ} 103-105 °C [161], 42% απόδοση (1.15 g).

***E, Z*-1-(Δεκαεπτ-1-εν-1-υλ) -3,5-διμεθοξυβενζόλιο (MG21) [162]**



Σε σφαιρική φιάλη των 100 mL η οποία έχει απαερωθεί, προστίθεται η **MG20** (1.15 mg, 2.03 mmol) και γίνεται διαβίβαση Ar. Ακολούθως προστίθεται ξηρό THF (10 mL). Εν συνεχεία, προστίθεται στάγδην στους -15 °C *n*-BuLi (1.69 mL, 2.0 mmol). Το μείγμα της αντίδρασης αφήνεται στους -15 °C για μισή ώρα, υπό ανάδευση. Τέλος, προστίθεται 3,5-διμεθοξυβενζαλδεΰδη (225 mg, 1.35 mmol) διαλυμένη σε ξηρό THF (5 mL). Το μείγμα της αντίδρασης αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου, υπό ανάδευση για 16 ώρες. Αφού ολοκληρωθεί η αντίδραση, στο διάλυμα προστίθεται στους 0 °C H₂O (5 mL) και αυτό εκχυλίζεται με CH₂Cl₂ (3 x 10 mL). Η οργανική στοιβάδα συλλέγεται, ξηραίνεται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνεται υπό κενό. Το προϊόν παραλαμβάνεται με χρωματογραφία στήλης.

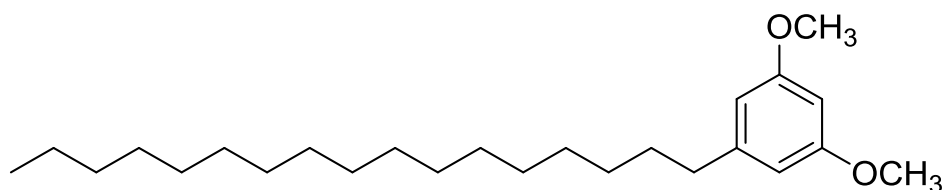
Σύστημα Έκλουσης: (PE:EtOAc) (90:10)

Άχρωμο έλαιο, 58% απόδοση (295 mg), *R*_f = 0.68.

¹HNMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.40-7.18 (3H, m, ArH), 6.53-5.65 (2H, m, CH=CH), 3.79 (6H, s, 2 x OCH₃), 2.42-2.21 (2H, m, CH₂), 2.36-1.13 (26H, m, 13 x CH₂), 0.88 (3H, t, *J* = 6.1 Hz, CH₃). [149]

¹³CNMR (50 MHz, CDCl₃) δ 161.2, 160.8, 140.1, 140.0, 134.2, 133.9, 129.1, 128.7, 107.1, 104.3, 99.2, 99.0, 55.4, 32.3, 30.3, 30.1, 30.0, 29.9, 29.8, 29.1, 23.1, 14.5.

1-Δεκαεπτανυλο-3,5-διμεθοξυβενζόλιο (MG22) [146]



Σε σφαιρική φιάλη των 100 mL διαλύεται η **MG21** (295 mg, 0.760 mmol) σε απόλυτη αιθανόλη (100 mL), προστίθεται επίσης CH₂Cl₂ (5 mL). Στο μείγμα

της προστίθεται 10% Pd/C σε ενεργό άνθρακα (50 mg), γίνεται διαβίβαση H₂ και αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου, υπό ανάδευση για 32 ώρες. Αφού ολοκληρωθεί η αντίδραση το μείγμα διηθείται από silica και εκπλένεται ο ηθμός με CH₂Cl₂ (5 x 10 mL). Το διάλυμα συμπυκνώνεται υπό κενό. Το προϊόν παραλαμβάνεται με χρωματογραφία στήλης.

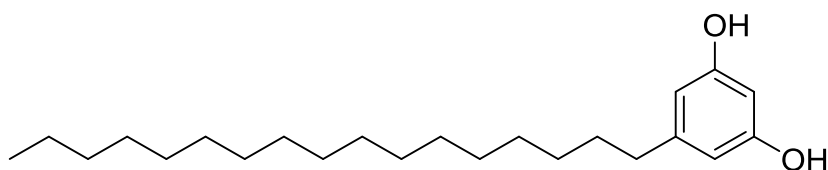
Σύστημα Έκλουσης: (PE:EtOAc) (9.5:0.5)

Λευκό στερεό, Σημείο Τήξεως_{πειρ.} 85-87 °C, 87% απόδοση (250 mg), R_f = 0.75.

¹HNMR (200 MHz, CDCl₃) δ 6.40-6.20 (3H, m, ArH), 3.80-3.72 (6H, s, 2 x OCH₃), 2.33 (2H, t, J=6.7 Hz, CH₂), 1.74-1.10 (30H, m, 15 x CH₂), 0.91 (3H, t, J=6.7 Hz, CH₃). [149]

¹³CNMR (50 MHz, CDCl₃) δ 164.5, 149.0, 110.6, 101.2, 58.8, 40.1, 35.7, 35.1, 33.5, 33.2, 26.5, 17.8.

5-Δεκαεπτανυλορεσορκινόλη (MG23) [149]



Σε σφαιρική φιάλη των 100 mL που έχει ξηρανθεί και έχει γίνει διαβίβαση Ar προστίθεται στους 0 °C το **MG22** (150 mg, 0.40 mmol) διαλυμένο σε ξηρό CH₂Cl₂ (5.5 mL). Μετέπειτα προστίθεται BBr₃ (0.12 mL, 1.31 mmol) διαλυμένο σε ξηρό CH₂Cl₂ (2 mL) στους 0 °C και στάγδην. Το μείγμα της αντίδρασης αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου, υπό ανάδευση για 2 ώρες. Αφού ολοκληρωθεί η αντίδραση, στο διάλυμα προστίθεται στάγδην στους 0 °C H₂O (10 mL). Η υδατική φάση εκχυλίζεται με CH₂Cl₂ (3 x 10 mL). Το διάλυμα φιλτράρεται από silica και με CH₂Cl₂. Η οργανική στιβάδα συλλέγεται, ξηραίνεται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνεται υπό κενό. Το προϊόν παραλαμβάνεται με χρωματογραφία στήλης.

Σύστημα Έκλουσης: (PE:EtOAc) (8:2)

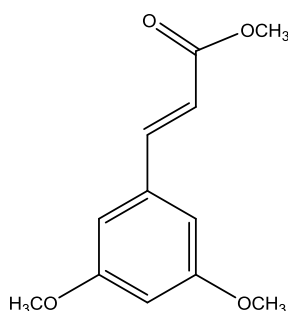
Λευκό στερεό, Σημείο Τήξεως_{πειρ.} 87-90 °C/ Σημείο Τήξεως_{βιβλ} 95 °C [138], 10% απόδοση (14 mg), R_f=0.3.

¹HNMR (200 MHz, CDCl₃) δ 6.36-6.13 (3H, m, ArH), 4.96 (2H, br s, 2 x OH), 2.47 (2H, t, J = 6.7 Hz, CH₂), 1.87-1.16 (30H, m, 15 x CH₂), 0.88 (3H, s, CH₃). [149]

¹³CNMR (50 MHz, CDCl₃) δ 156.6, 146.2, 108.0, 100.2, 35.8, 31.9, 31.1, 29.7, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 22.7, 14.1.

HRMS: [M-H]⁻ :347.2948 (Ακριβής μάζα: 347.2956).

Μεθυλο-(E)-3-(3,5-διμεθοξυφαινυλ)ακρυλικός εστέρας (MG24) [163]



Σε σφαιρική φιάλη των 100 mL διαλύεται 3,5-διμεθοξυβενζαδεϋδη (750 mg, 4.51 mmol) σε ξηρό THF (26 mL), προστίθεται επίσης το εμπορικά διαθέσιμο υλίδιο Ph₃P=CHCOOMe (στερεό, [164]) (2.26 g, 6.77 mmol). Το μείγμα της αντίδρασης αφήνεται υπό ανάδευση και υπό αναρροή με σωλήνα CaCl₂ για 16 ώρες. Αφού ολοκληρωθεί η αντίδραση, το διάλυμα συμπυκνώνεται και διηθείται από silica με CH₂Cl₂ (20 mL). Προστίθεται σε αυτό Et₂O (10 mL) και αναδεύεται για 30 λεπτά στους 0 °C. Εν συνεχεία, το διάλυμα διηθείται από silica με Et₂O (10 mL), εκπλένεται με CH₂Cl₂ (3 x 5 mL), συμπυκνώνεται, εκπλένεται ξανά με PE/EtOAc 90:10 και ξανασυμπυκνώνεται υπό κενό. Το προϊόν παραλαμβάνεται με χρωματογραφία στήλης.

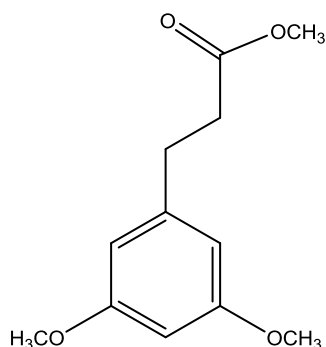
Σύστημα Έκλουσης: (PE:EtOAc) (7:3)

Λευκό στερεό, 96% απόδοση (965 mg), R_f = 0.53.

¹HNMR (200 MHz, CDCl₃) δ 7.52 (1H, d, J = 15.6 Hz, =CHO), 6.71 (2H, s, ArH), 6.48-6.29 (2H, m, =CH and ArH), 3.71 (9H, s, 3 x OCH₃). [165]

¹³CNMR (50 MHz, CDCl₃) δ 167.4, 161.2, 145.0, 136.4, 118.4, 106.1, 102.6, 55.4, 51.8.

3-(3,5-Διμεθοξυφαινυλο) προπανοϊκός μεθυλεστέρας (MG25) [166]



Σε σφαιρική φιάλη των 100 mL διαλύεται η **MG24** (600 mg, 2.70 mmol) σε απόλυτη αιθανόλη (50 mL) και προστίθεται CH₂Cl₂ (5 mL). Στο μείγμα της προστίθεται 10% Pd/C (50 mg), γίνεται διαβίβαση H₂ και αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου, υπό ανάδευση για 16 ώρες. Αφού ολοκληρωθεί η αντίδραση το μείγμα διηθείται από silica και εκπλένεται ο ηθμός με CH₂Cl₂ (5 x 10 mL). Το διάλυμα συμπυκνώνεται υπό κενό. Το προϊόν παραλαμβάνεται με χρωματογραφία στήλης.

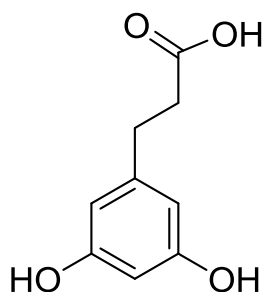
Σύστημα Έκλουσης: (PE:EtOAc) (7:3)

Άχρωμο έλαιο, 94% απόδοση (570 mg), R_f = 0.62.

¹HNMR (200 MHz, CDCl₃) δ 6.36-6.16 (3H, m, ArH), 3.72-3.54 (9H, m, 3 x OCH₃), 2.81 (2H, t, J = 6.7 Hz, CH₂), 2.55 (2H, t, J = 6.7 Hz, COCH₂). [167]

¹³CNMR (50 MHz, CDCl₃) δ 173.4, 161.1, 143.1, 106.4, 98.3, 55.3, 51.7, 35.6, 31.4.

3- (3,5-Διϋδροξυφαινυλο) προπανοϊκό οξύ (MG26) [168]



Σε σφαιρική φιάλη των 100 mL που έχει ξηρανθεί και έχει γίνει διαβίβαση Ar προστίθεται στους 0 °C η **MG25** (550 mg, 2.45 mmol) διαλυμένο σε ξηρό CH₂Cl₂ (24.5 mL). Μετέπειτα προστίθεται BBr₃ (0.77 mL, 8.09 mmol)

διαλυμένο σε ξηρό CH_2Cl_2 στους $0\text{ }^\circ\text{C}$ και στάγδην. Το μείγμα της αντίδρασης αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου, υπό ανάδευση για 2 ώρες. Αφού ολοκληρωθεί η αντίδραση, στο διάλυμα προστίθεται στάγδην στους $0\text{ }^\circ\text{C}$, H_2O (10 mL). Η υδατική φάση εκχυλίζεται με CH_2Cl_2 (3 x 20 mL). Το διάλυμα ξηραίνεται με Na_2SO_4 και συμπυκνώνεται υπό κενό. Εν συνεχεία η υδατική φάση εκχυλίζεται με Et_2O (5 x 20 mL). Οι οργανικές στιβάδες συλλέγονται και συμπυκνώνονται υπό κενό. Το προϊόν παραλαμβάνεται με χρωματογραφία στήλης.

Σύστημα Έκλουσης: (PE:EtOAc) (3:7), μόνο (EtOAc), μόνο MeOH.

Καφέ έλαιο, 11% απόδοση (51 mg), $R_f = 0.46$.

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ 6.25-6.18 (2H, m, ArH), 6.16-6.09 (1H, m, ArH), 2.78 (2H, t, $J = 6.7\text{ Hz}$, COCH_2), 2.48 (2H, t, $J = 6.7\text{ Hz}$, CH_2). [169]

$^{13}\text{C NMR}$ (100MHz, CD_3OD) δ 179.9, 158.0, 144.1, 106.5, 99.9, 38.1, 31.9.

HRMS: $[\text{M}-\text{H}]^-$: 181.0503 (Ακριβής μάζα: 181.0506).

6.3 Υλικά, αντιδραστήρια και οργανολογία για την ανάλυση

6.3.1 Πρότυπες ουσίες

Όλες οι πρότυπες ενώσεις ήταν μεγίστης καθαρότητας. Η εικοσιενυλορεσορκινόλη αγοράστηκε από την Cayman Chemical Company. Οι ενώσεις MG17, MG23 συντέθηκαν στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας ΕΚΠΑ.

6.3.2 Αντιδραστήρια και διαλύτες

- ACN υψηλής καθαρότητας για MS (Fisher Scientific).
- MeOH υψηλής καθαρότητας για MS (Fisher Scientific).
- *i*-Pro υψηλής καθαρότητας για MS (Fisher Scientific).
- H_2O HPLC grade (Fisher Scientific).
- Et_2O HPLC grade (Fisher Scientific).
- CHCl_3 HPLC grade (Fisher Scientific).
- Φορμικό οξύ 98-100% (Chem-Lab).

6.3.3 Χρωματογραφικό σύστημα συζευγμένο με φασματόμετρο μάζας

Για τη μελέτη των αλκυλορεσορκινολών χρησιμοποιήθηκε σύστημα υγρής χρωματογραφίας micro-LC της εταιρίας Eksigent με αυτόματο δειγματολήπτη θερμοστατούμενο στους 5 °C και θερμοστατούμενη στήλη Halo C18 (2.7 μm , 90 Å, 0.5 x 50 mm²) της εταιρίας Eksigent. Το σύστημα υγροχρωματογραφίας ήταν συνδεδεμένο με το φασματόμετρο μάζας Triple TOF 4600 της εταιρίας ABSciex με πηγή ηλεκτροψεκασμού. Και τα δύο συστήματα ήταν συνδεδεμένα με υπολογιστή. Η καταγραφή και η επεξεργασία των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε με τα προγράμματα MultiQuant 3.0.2 και PeakView 2.1 της εταιρίας ABSciex.

6.3.4 Βοηθητικός εργαστηριακός εξοπλισμός

- Φυγοκεντρικοί σωλήνες με πώματα των 5 mL.
- Γυάλινες πιπέτες Pasteur.
- Πιπέτες μεταβλητού όγκου 2-20 μL , 20-200 μL , 100-1000 μL .
- Αναλυτικός ζυγός τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων.
- Συσκευή περιδίνησης τύπου Vortex.
- Συσκευή εξάτμισης με φιάλη Ar.
- Φυγόκεντρος.
- Για την αποθήκευση του βιολογικού υλικού, χρησιμοποιήθηκε ο καταψύκτης βαθιάς κατάψυξης της σειράς 900, μοντέλο 994 (Thermo Scientific), σε θερμοκρασία λειτουργίας -78 (± 15) °C.
- Φίλτρα διήθησης Chromafil (RC 0.20 μm , 25 mm).

6.3.5 Συνθήκες LC-MS/MS

Τα πειράματα με φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας, πραγματοποιήθηκαν με ιοντισμό με ηλεκτροψεκασμό (ESI) στον αρνητικό ιοντισμό με μια μέθοδο που αναπτύχθηκε από την Επικ. Καθηγήτρια Μαρούλα Κόκοτου. Η μέθοδος για την απόκτηση δεδομένων αποτελούνταν από TOF-MS πλήρη σάρωση σε εύρος m/z 50–850 και ορισμένες σαρώσεις

(IDA)-TOF-MS/MS με 40 V ενέργεια σύγκρουσης (CE) και 15 V CES για κάθε υποψήφιο ιόν σε κάθε κύκλο απόκτησης δεδομένων. Το συγκεκριμένο πρωτόκολλο παρέχει τον ποσοτικό προσδιορισμό (κυρίως με χρήση TOF-MS) και την επιβεβαίωση (με χρήση IDA-TOF-MS/MS) με μία μόνο ένεση του δείγματος. Η κινητή φάση αποτελούνταν από ένα σύστημα βαθμιδωτής έκλουσης (A: ACN/0.01% φορμικό οξύ/*i*-pro 80/20 v/v; B: H₂O/0.01% φορμικό οξύ). Το σύστημα έκλουσης που υιοθετήθηκε ξεκίνησε με 5% της φάσης B για 0,5 min, αυξάνοντας σταδιακά στο 98% στα επόμενα 7,5 min. Αυτές οι συνθήκες διατηρήθηκαν σταθερές για 0,5 min και στη συνέχεια οι αρχικές συνθήκες (95% διαλύτης B, 5% διαλύτης A) αποκαταστάθηκαν εντός 0,1 min για να εξισορροπηθεί εκ νέου η στήλη για 1,5 min για την επόμενη ένεση. Η ταχύτητα ροής: ήταν 55 μ L/min.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΟΡΟΛΟΓΙΑΣ

Πίνακας 9: Πίνακας ορολογίας με τις αντιστοιχίσεις των ελληνικών και ξενόγλωσσων όρων

Ξενόγλωσσος όρος	Ελληνικός Όρος
Gradient	Βαθμιδωτή έκλουση
Retention time	Χρόνος έκλουσης

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ

Ακρωνύμια και ανάπτυξή τους

Σύντμηση	Ονομασία
ARs (Alkylresorcinols)	Αλκυλορεσορκινόλες
CC (Column Chromatography)	Χρωματογραφία στήλης
FID (Flame Ionization Detector)	Ανιχνευτής φλόγας ιοντισμού
NAHMDS (Sodium bis(trimethylsilyl) amide)	Δις(τριμεθυλοσιλυλ)αμίδιο του νατρίου
RF (Refined Grain)	Ραφιναρισμένο
THF	Τετραϋδροφουράνιο
WG (Whole Grain)	Ολικής αλέσεως
WGR/WGW	Σίκαλη ολικής αλέσεως/Σίτος ολικής αλέσεως

ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Joanna Kruk, Basil Aboul-Enein, Joshua Bernstein, Mariola Marchlewicz (2017) Dietary alkylresorcinols and cancer prevention: a systematic review. *Eur Food Res Technol* 243:1693–1710.
2. Androutsopoulos VP, Papakyriakou A, Vourloumis D, Tsatsakisa AM, Spandidos DA (2010) Dietary flavonoids in cancer therapy and prevention: substrates and inhibitors of cytochrome P450 CYP1 enzymes. *Pharmacol Therapeut* 126:9–20.
3. Aggarwal BB, Shishodia S (2006) Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. *Biochem Pharmacol* 71:1397–1421.
4. Sabine Gerdon, Stefan Hoffmann, Alfred Blume Fachbereich Chemie Universitat Kaiserslautern (1994), Properties of mixed monolayers and bilayers of long-chain 5-n-alkylresorcinols and
5. dipalmitoylphosphatidylcholine, *Chemistry and Physics of Lipids* 71 229-243.
6. R.N. Reusch and H.L. Sadoff (1979) 5-n-Alkylresorcinols from encysting *Azotobacter vinelandii*: isolation and characterization, *J. Bact.* 139, 448-453.
7. Alastair B. Ross, Ph.D., Afaf Kamal-Eldin, Ph.D., Per Åman, Agr.D. (March 2004) Dietary Alkylresorcinols: Absorption, Bioactivities, and Possible Use as Biomarkers of Whole-grain Wheat– and Rye–rich Foods: Lead Article Review, *Nutrition Reviews*, Vol. 62, No. 3, pg :81-95, doi: 10.1301/nr.2004.mar.81–95.
8. Y. Suzuki, Y. Esumi, M. Uramoto, Y.A. Kono, (1997) Structural analyses of carbon chains in 5-alk(en)ylresorcinols of rye and wheat whole flour by tandem mass spectrometry. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 61, 480.
9. L.M. Seitz, (1992) Identification of 5-(2-oxoalkyl)resorcinols and 5-(2-oxoalkenyl) resorcinols in wheat and rye grains. *J. Agric. Food Chem.* 40, 1541–1546.

9. Y. Suzuki, Y. Esumi, I. Yamaguchi (1999), Structures of 5-alkylresorcinol-related analogues in rye, *Phytochemistry* 52 281.
10. M.Kumagai, Y. Suhara, T. Aoyagi and H.Umezawa (1971), An enzyme inhibitor, panosialin, produced by *Streptomyces* II, *J.Antibiot.* 24, 870-875.
11. R.N. Reusch and H.L. Sadoff (1983), Novel lipid components of the *Azotobacter vinelandii* cyst membrane, *Nature* 302, 268-270.
12. C.J.Su and H.L. Sadoff (1981), Unique lipids in *Azotobacter vinelandii* cysts: synthesis, distribution, and fate during germination, *J. Bact.* 147, 91-96.
13. A. Kozubek and R.A. Demel (1980) Permeability changes of erythrocytes and liposomes by 5-(n-alk(en)yl)resorcinols from rye, *Biochim. Biophys. Acta* 603: 220-227.
14. A. Kozubek and R.A. Demel (1980) Permeability changes of erythrocytes and liposomes by 5-(n-alk(en)yl)resorcinols from rye, *Biochim. Biophys. Acta* 642: 242-251.
15. A. Kozubek, A. Jezierski and F. Sikorski (1988), The effect of nonadec(en)ylresorcinol on the fluidity of liposome and erythrocyte membranes, *Biochim. Biophys. Acta* 944, 465-472.
16. V.V.Bitkov, V.A. Nenashev, N.N. Pridachina and S.G. Batrakov (1992) Membrane-structuring properties of bacterial long-chain alkylresorcinols. *Biochim. Biophys. Acta* 1108:224-232, 1519-1526.
17. Alastair B. Ross, Per Åman, Roger Andersson, Afaf Kamal-Eldin (2004), Chromatographic analysis of alkylresorcinols and their metabolites, *J. Chromatogr. A*, 1054 (2004) 157–164.
18. Andersson A.A.M., Kamal-Eldin A., Fras A., Boros D. & Åman P. (2008). Alkylresorcinols in wheat varieties in the HEALTHGRAIN diversity screen. *J. Agric. Food Chem.* 56(21), 9722-9725.
19. Chen Y., Ross A., Åman P. & Kamal-Eldin A. (2004). Alkylresorcinols as markers of whole grain wheat and rye in cereal products. *J. Agric. Food Chem.* 52(26), 8242-8246.

20. Kulawinek M., Jaromin A., Kozubek A. & Zarnowski R. (2008). Alkylresorcinols in selected Polish rye and wheat cereals and whole-grain cereal products. *J. Agric. Food Chem.* 56(16), 7236-7242.
21. Landberg R., Kamal-Eldin A., Andersson R. & Åman P. (2005). Alkylresorcinols in durum wheat (*Triticum durum*) kernels and pasta products. *J. Agric. Food Chem.* 54(8), 3012-3014.
22. Nyström L., Lampi A.-M., Andersson A.A.M., Kamal-Eldin A., Gebruers K., Courtin C.M., Delcour J.A., Li L., Ward J.L., Fras Anna, Boros D., Rakszegi M., Bedo, Zoltan, Shewry P.R. & Piironen V. (2008). Phytochemicals and Dietary Fiber Components in Rye Varieties in the HEALTHGRAIN Diversity Screen. *J. Agric. Food Chem.* 56(21), 9758-9766.
23. Andersson A.A.M., Lampi A.-M., Nyström L., Piironen V., Li L., Ward J.L., Gebruers K., Courtin C.M., Delcour J.A., Boros D., Fras Anna, Dynkowska W., Rakszegi M., Bedő, Zoltan, Shewry P.R. & Åman P. (2008b). Phytochemical and dietary fiber components in barley varieties in the HEALTHGRAIN diversity screen. *J. Agric. Food Chem.* 56(21), 9767-9776.
24. Zarnowski R., Suzuki Y., Yamaguchi I. & Pietr S.J. (2002). Alkylresorcinols in barley (*Hordeum vulgare* L. *distichon*) grains. *Zeitschrift für Naturforschung* 57C, 57-62.
25. Gembeh SV, Brown RL, Grimm C, Cleveland TE. 2001, Identification of chemical components of corn kernel pericarp wax associated with resistance to *Aspergillus flavus* infection and aflatoxin production. *J Agric Food Chem.* 49:4635– 4641.
26. Kozubek A. & Tyman J.H.P. (1999). Resorcinolic lipids, the natural non-isoprenoid phenolic amphiphiles and their biological activity. *Chemical Reviews* 99(1), 1-26. doi:10.1021/cr970464o.
27. Żarnowski R, Kozubek A. 1999, Alkylresorcinol homologs in *Pisum sativum* L. varieties. *Z Naturforsch.* 54c:44 – 48.
28. Ross A., Shepherd M., Schupphaus M., Sinclair V., Alfaro B., Kamal-Eldin A. & Åman, P. (2003). Alkylresorcinols in cereals and cereal products. *J. Agric. Food Chem.* 51(14), 4111-4111.

29. Andersson A., Tengblad S., Karlstrom B., Kamal-Eldin A., Landberg R., Basu S., Aman P. & Vessby B. (2007). Whole-grain foods do not affect insulin sensitivity or markers of lipid peroxidation and inflammation in healthy, moderately overweight subjects. *J. Nutr.* 137(6), 1401-1407.
30. Kozubek A, Tyman JHP. 1995, Cereal grain resorcinolic lipids: mono and dienoic homologues are present in rye grains. *Chem Phys Lipid.* 78, 29 –35.
31. Seitz LM. 1992, Identification of 5-(2-oxoalkyl)resorcinols and 5-(2-oxalkenyl) resorcinols in wheat and rye grains. *J Agric Food Chem.* 40:1541–1546.
32. Bouillant ML, Jacoud C, Zanella I, Favre-Bonvin J, Bally R. 1994, Identification of 5-(12-heptadecenyl)-resorcinol in rice root exudates. *Phytochemistry.* 35:769–771.
33. Suzuki Y, Esumi Y, Hyakutake H, Kono Y, Sakurai, 1996, Isolation of 5-(8'Z-heptadecenyl)-resorcinol from etiolated rice seedlings as an antifungal agent. *Phytochemistry.* 41:1485–1489.
34. Bandyopadhyay C, Gholap AS, Mamdapur VR. 1985, Characterization of alkylresorcinol in mango (*Man- gifera indica* L.) latex. *J Agric Food Chem.* 33:377–379.
35. Kubo I, Komatsu S, Ochi M. 1986, Molluscicides from the cashew *Anacardium occidentale* and their large- scale isolation. *J Agric Food Chem.* 34:970 – 973.
36. Żarnowska ED, Żarnowski R, Kozubek A. 2002, Alkylresorcinols in fruit pulp and leaves of *Ginkgo biloba*, *L.Z Naturfors.* 55c:881– 885.
37. Melliou E, Magiatis P, Skaltsounis A-L. 2003, Alkylresorcinol derivatives and sesquiterpene lactones from *Cichorium spinosum*. *J Agric Food Chem.* 51:1289–1292.
38. Kaczmarek J, Tłuscik F. 1984, Variability of alkylresorcinol content in rye (*Secale cereale* L.) grains. A comparative analysis with several species of the genus *Triticum*. *Genet Polon.* 25:349 –358.
39. Mattila P., Pihlava J.M. & Hellstrom J. (2005). Contents of phenolic acids,

alkyl- and alkenylresorcinols, and avenanthramides in commercial grain products. *J. Agric. Food Chem.* 53(21), 8290-8295.

40. Ross A.B., Kamal-Eldin A., Jung C., Shepherd M.J. & Åman P. (2001a). Gas chromatographic analysis of alkylresorcinols in rye (*Secale cereale L*) grains. *J. Agric. Food Chem.* 81, 1405-1411.

41. Hengtrakul, P., Lorenz, K. & Mathias, M. (1990). Alkylresorcinols in U.S. and Canadian wheats and flours. *Cereal Chemistry*, 67(5), 413-417.

42. Tluscik F. (1978). Localization of the alkylresorcinols in rye and wheat caryopses. *Acta Societatis Botanicum Poloniae*, 47(3), 211-218.

43. Landberg R., Kamal-Eldin A., Salmenkallio-Martilla M., Rouau X. & Åman P. (2008). Localization of alkylresorcinols in barley, wheat and rye kernels. *Cereal Chemistry*, 48(2), 401-406.

44. Hopwood D. A., Khosla C. 1992, Genes for polyketide secondary metabolic pathways in microorganisms and plants, *Ciba Found. Symp.* 171, 88.

45. Blanchard C., Laboure H., Vere, A. and Champion D. (2012), Study of the impact of wheat flour type, flour particle size and protein content in a cake-like dough: Proton mobility and rheological properties assessment. *J. Cereal Science*, 56 (3) 691 – 698.

46. Al-Ruqaie I. & Lorenz K. (1992). Alkylresorcinols in extruded cereal brans. *J. Cereal Chemistry*, 69, 472-475.

47. Verdeal K. & Lorenz K. (1976). Alkylresorcinols in wheat, rye, and triticale. *J. Cereal chemistry* 54(3), 475-483

48. Κωτσοβός, Μ.Γ., Μαρούλης, Α.Ι. & Χατζηαντωνίου-Μαρούλη, Κ. (2009). Κατασκευή Πιλοτικής Διάταξης Μικροεκχύλισης με διαλύτη Υπερκρίσιμο Διοξείδιο του Άνθρακα. Θεσσαλονίκη: 3ο Πανελλήνιο Συνέδριο Πράσινης Χημείας.

49. Τμήμα Χημείας Α.Π.Θ., Διεθνές Έτος Χημείας 2011 , Τα μικροκύματα στην οργανική σύνθεση.
(http://www.chem.auth.gr/iyc2011/iyc_2011_microwaves.html).

50. A. Kozubek, 1984, Thin-layer chromatographic mapping of 5-*n*-alk(en)ylresorcinol homologues from cereal grains, *J. Chromatogr.* 295, 304.
51. A. Kozubek, F. Tłuscik, W. Mejbbaum-Katzenellenbogen, (1981), Alkylresorcinols in rye (*Secale cereale* L.) grains. V. Chromatographic analysis of 5-*n*-alk(en)ylresorcinols during their preparation, *Acta Soc. Bot. Pol.* 50 ,637.
52. F. Tłuscik, A. Kozubek, (1984), Determination of cereal 5-*n*-alkylresorcinol homologs by thin layer chromatography on aluminium oxide, *Chem. Anal. (Warsaw)* 29, 79.
53. D.E. Briggs, (1974), Hydrocarbons, phenols and sterols of the testa and pigment strand in the grain of *Hordeum distichon*, *Phytochemistry* 13, 987.
54. A. Kozubek, J.H.P. Tyman, (1999), Resorcinolic Lipids, the Natural Non-isoprenoid Phenolic Amphiphiles and Their Biological Activity, *Chem. Rev.* 99 ,1.
55. A. Kozubek, http://www.ibmb.uni.wroc.pl/ar_ozna.htm (accessed 15 February 2004).
56. A. Kamal-Eldin, A. Pouru, C. Eliasson, P. Åman, (2001) Alkylresorcinols as antioxidants:hydrogen donation and Peroxyl radical-scavenging effects. *J. Sci. Food Agric.* 81: 353-356
57. A. Kozubek, (1985), Isolation of 5-*n*-alkyl, 5-*n*-alkenyl-and 5-*n*-alkdienylresorcinol homologues from rye grains, *Acta Aliment. Pol.* 9 ,185.
58. A.B. Ross, Y. Chen, J. Frank, J.E. Swanson, R.S. Parker, A. Kozubek, T. Lundh, B. Vessby, P. Åman, A. Kamal-Eldin, 2004, Cereal alkylresorcinols elevate gamma-tocopherol levels in rats and inhibit gamma-tocopherol metabolism in vitro, *J. Nutr.* 134:506-510.
59. I.E. Bruce, A. Long, P.B. Payne, J.H.P. Tyman, (1990), Preparative hplc separation of the unsaturated constituents of cardanol and cardol, *J. Liq. Chromatogr.* 13, 2103.
60. L. Marchal, O. Intes, A. Foucault, J. Legrand, J.-M. Nuzillard, J.-H. Renault, 2003, Rational improvement of centrifugal partition chromatographic settings for the production of 5-*n* -alkylresorcinols from wheat

branlipid extractl. Flooding conditions—optimizing the injection step, *J. Chromatogr. A* 1005 51.

61. A.-M. Linko, K. Parikka, K. Wähälä, H. Adlercreutz, 2002, Gas chromatographic-mass spectrometric method for the determination of alkylresorcinols in human plasma. *Anal Biochem*, 308(2), pp. 307-13.

62. W.J. Mullin, M.S. Wolynetz, J.P.H. Emery, 1992, A comparison of methods for the extraction and quantification of alk(en)resorcinols. *J. Food Comp. Anal.* 5 216.

63. S. Gohil, D. Pettersson, A.-C. Salomonsson, P. Åman, 1988, Analysis of alkyl- and alkenyl-resorcinols in triticale, wheat and rye, *J. Sci. Food Agric.* 45, 43.

64. Y. Suzuki, M. Kurano, Y. Esumi, I. Yamaguchi, Y. Doi, 2003, Biosynthesis of 5-alkylresorcinol in rice: incorporation of a putative fatty acid unit in the 5-alkylresorcinol carbon chain, *Bioorg. Chem.* 31 437

65. J.L. Occlowitz, 1964, Mass spectrometry of natural occurring phenols and their derivatives, *Anal. Chem.* 36 2177.

66. R. Zarnowski, Y. Suzuki, Y. Esumi, S.J. Pietr, 2000, 5-n-Alkylresorcinols from the green microalga *Apatococcus constipates*, *Phytochemistry* 55 975.

67. A.B. Ross, M.J. Shepherd, K.E. Bach Knudsen, L.V. Glitsø, E. Bowey, J. Phillips, I. Rowland, Z.-X. Guo, D.J.R. Massy, P. Åman, A. Kamal-Eldin, Absorption of dietary alkylresorcinols in ileal cannulated pigs and rats, *Br. J. Nutr.* (2003) 90: 787-794.

68. A. Kozubek, W.S.M. Geurts van Kessel, R.A. Demel, 1979, Separation of 5-n-alkylresorcinols by reversed-phase high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr.* 169 422.

69. P. Hengtraukul, K. Lorenz, M. Mathias, 1991, Alkylresorcinol homologs in grains, *J. Food Comp. Anal.* 4 52.

70. W.J. Mullin, J.P.H. Emery, 1992, Determination of alkylresorcinols in cereal-based foods. *J. Agric. Food Chem.* 40 2127.
71. R. Paramashivappa, P. Phani Kumar, P.J. Vithayathil, R. Srinivasa, J., 2001, Novel Method for Isolation of Major Phenolic Constituents from Cashew (*Anacardium occidentale* L.) Nut Shell Liquid, *J. Agric. Food Chem.* 49 2548.
72. J.-Z. Deng, S.R. Starck, S.M. Hecht, 1999, Bis-5-alkylresorcinols from *Panopsis rubescens* that inhibit DNA polymerase β , *J. Nat. Prod.* 62 477.
73. D. Rauls, L.L. Penney, 1982, Analysis of olivetol in rabbit serum by high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr.* 234 500.
74. Tyman J. H. P. 1979, Non-isoprenoid long chain phenols, *Chem. Soc. Rev.* 8, 499-537.
75. Tyman J. H. P. 1991, *The Chemistry of Non-isoprenoid Phenolic Lipids*, Tyman J. H. P. Ed., *Elsevier: Amsterdam*, Vol.9.
76. Tyman L. *Synthetic and Natural Phenols*, 1996, *Elsevier: Amsterdam* Vol. 52.
77. Wenkert E., Loeser E.-M., Mahapatra S. N., Schenker F., Wilson E. M., 1964, Wheat Bran Phenols, *J. Org. Chem.*, 29, 435.
78. Tyman J. H. P., 1973, Identification of the Components of a Novel Phenolic Fraction in *Anacardium occidentale* and Synthesis of the Saturated Member, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* 1 1639.
79. Du Y., Oshima R., Yamauchi Y., Kumanotani J., Miyakoshi T., 1986, Oxepane diterpenes from *montanoa tomentosa*, *Phytochemistry* 25, 2211.
80. Barrow R. A., Capon R. J., 1991, Alkyl and Alkenyl Resorcinols From an Australian Marine Sponge, *Haliclona* Sp (Haplosclerida : Haliclonidae), *Aust. J. Chem.* 44, 1393.
81. Ridley D. D., Ritchie E., Taylor W. C., 1986, Chemical studies of the Proteaceae. II. Some further constituents of *Grevillea robusta* A. Cunn.:

Experiments on the synthesis of 5-n-Tridecylresorcinol (grevillol) and related substances, *Aust. J. Chem.* 21, 2979.

82. Occolowitz J. L., Wright A. S., 1962, 5-(10-Pentadecenyl)resorcinol from *Grevillea pyramidalis*, *Aust. J. Chem.* 15, 858.

83. Tyman J. H. P., Bruce I. E., Spencer R. N. 1992, The phase separation of phenolic lipids from *Anacardium occidentale*, *J. Chem. Res.* 224.

84. Brown G. D. J. 1992, Two new compounds from *Artemisia Annu*a, *J. Nat. Prod.* , Vol. 55. No. 12. pp. 1756-1 760.

85. Singh U. S., Scannell R. T., An H., Carter B. J., Hecht S. M. 1995. DNA cleavage by di- and trihydroxyalkylbenzenes. Characterization of products and the roles of O₂, Cu(II), and alkali. *J. Am. Chem. Soc.* 117: 12691-12699.

86. Alonso E., Ramon D. J., Yus M., 1997, Simple synthesis of 5-substituted resorcinols: a revisited family of interesting molecules. *J. Org. Chem.* 62, 417.

87. Furstner A., Seidel G. J., 1997, Shortcut Syntheses of Naturally Occurring 5-Alkylresorcinols with DNA-Cleaving Properties, *J. Org. Chem.* 62, 2332.

88. Durrani A. A., Tyman J. H. P., 1980, Long-chain phenols. Part 16. A novel synthesis of homologous orsellinic acids and their methyl ethers, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* 1 1658.

89. Baylis C. J., Odle, S. W. D, Tyman J. H. P., 1981, Long chain phenols. Part 17. The synthesis of 5-[(Z)-pentadec-8-enyl]resorcinol, 'cardol monoene,' and of 5-[(ZZ)-pentadec-8,11-dienyl]-resorcinol dimethyl ether, 'cardol diene' dimethyl ether, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* 1 132.

90. Tyman J. H. P., Visani N. 1997, Synthesis of polyunsaturated constituents of phenolic lipids, *Chem. Phys. Lipids*, 85, 157, Elsevier.

91. Sargent M. V., Wangchareontrakul S., 1989, Synthesis of the first natural host germination stimulant for *Striga asiatica*, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* 1 117.

92. Miyakoshi T., Kobuchi H., 1990, Synthesis of 3-[(8Z, 11Z)-8,11,14- and (8Z, 11E, 13E)-8,11,13-pentadecatrienyl] veratroles, *Nippon Kagaku Kaishi* 1271.

93. Barrero A., Sanchez J. F., Barron A., Corrales F., Rodriguez I., 1989, Resorcinol derivatives and other components of *Ononis speciosa*, *Phytochemistry* 28,161.
94. Barrero A. F., Sanchez J. F., Rodriguez I., 1990, N-d13-docosenoylanthranilic acid and alkylresorcinols from *Ononis natrix* subsp. *Hispanica*, *Phytochemistry* 29, 1967.
95. Barrero A. F., Sanchez J. F., Reyes F., Rodriguez I., 1991, Resorcinol derivatives from *Ononis viscosa*, *Phytochemistry* 30, 641.
96. Barrero A. F., Cabrera E., Rodriguez I., Planelles F., 1994, Alkylresorcinols and Isocoumarins from *Ononis pubescens*, *Phytochemistry* 35, 493.
97. Barrero A. F., Cabrera E., Rodriguez I., Fernandezgallego, E. M., 1994, Resorcinols derivatives and other components from *Ononis viscosa* subsp *breviflora*, *Phytochemistry* 36, 189.
98. Barrero A. F., Herrador M. M., Arteaga P., Rodriguez-Garcia I., Garcia-Moreno M., 1997, Resorcinols derivatives and flavonoids of *Ononis natrix* subspecies *ramosissima*, *J. Nat. Prod.* 60, 65.
99. Barrero A. F., Sanchez J. F., Rodriguez I., Maqueda M., 1993, Use of Alkenylresorcinols from *Ononis speciosa* as Synthetic Precursors of Compounds with Potential Biological Activity, *J. Nat. Prod.* 56, 1737.
100. Scannell R. T., Barr J. R., Murty V. S., Reddy K. S., Hecht S. M., 1988, DNA strand scission by naturally occurring 5-alkylresorcinols, *J. Am. Chem. Soc.* 110, 3650.
101. Backer H. J., Haack N. H., 1938, Le Principe Toxique des Fruits de Renghas: (*Semecarpus heterophylla* Bl.), *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* 57, 225.
102. Backer H. J., Haack N. H., 1941, Composants du Latex de l'*Anacardium Occidentale* Linn, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* 60, 661.
103. Backer H. J., Haack N. H., 1941, Composants du Latex de l'*Anacardium Occidentale* Linn, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* 60, 656.

104. Wasserman D., Dawson R. J. 1948, Cashew nut shell liquid III. The cardol component of Indian cashew nut shell liquid with reference to the liquid's vesicant activity, *Am. Chem. Soc.* 70:3675-3679.
105. Love B., Dawson C. R., 1958, Cashew Nut Shell Liquid. X. An Investigation of the Geometrical Configurations of the Olefinic Components of Cardanol and Some Observations Concerning Ginkgol, *J. Am. Chem. Soc.* 80, 643.
106. Barr J. R., Scannell R. T., Yamaguchi K., 1989, Structure elucidation of naturally occurring long-chain mono- and dienes, *J. Org. Chem.* 54, 494.
107. Madrigal R. V., Spencer G. F., Plattner R. D., Smith C. R., 1977, Alkyl- and alkenylresorcinols in *Rapanea laetevirens* seed lipids, *J. Lipids* 12, 402.
108. Amico V., Biondi D., 1990, Three Acetogenins from the Brown Alba *Caulocystis cephalornithos*, *J. Nat. Prod.* 53, 1379.
109. Cojocar M., Droby S., Glotter E., Goldman A., Gottlieb H. E., Jacoby B., Prusky D., 1986, 5-(12-heptadecenyl)-resorcinol, the major component of the antifungal activity in the peel of mango fruit, *Phytochemistry* 25, 1093
110. Ritchie E., Taylor W. C., Vautin S. T. K., 1965, Chemical studies of the Proteaceae. I. *Grevillea robusta* A. Cunn, and *Orites excelsa* R. Br, *Aust. J. Chem.* 18, 2015.
111. Manju M., Parthasarathy M. R. 1977, Occurrence and synthesis of some new 5-n-alkylresorcinol derivatives, *Indian J. Chem. Sect. B* 15, 1090.
112. Shoji N., Umeyama A., Takemoto T., 1984, Na⁺-K⁺-ATPase Inhibitors from *Lysimachia japonica*, *J. Nat. Prod.* 47, 530.
113. Reffstrup T., Hammershoy O., Boll P. M., Schmidt H., 1982, PHILODENDRON SCANDENS KOCH ET SELLO SUBSP. OXYCARDIUM (SCHOTT) BUNTING, A NEW SOURCE OF ALLERGENIC ALKYL RESORCINOLS, *Acta Chem. Scand. B* 36, 291.
114. Dupre S., Bohlmann F., Knox E., 1990, Prenylated *p*-Hydroxyacetophenone Derivatives from the Giant *Senecio johnstonii*, *Biochem. Syst. Ecol.* 18, 149.

115. Barr J.R., Murty V., Yamaguchi K., Singh S., Smith D.H. and Hecht S.M. (1988), 5-Alkylresorcinols from *Hakea amplexicaulis* that cleave DNA. *Chem. Res. Toxicol.* 1: 204–207.
116. Wieringa G. W., Veenman H. Wageningen, 1967, On the Occurrence of Growth Inhibiting Substances in Rye, *The Netherlands*.
117. Bohlmann F., Wegner P., 1982, Three diterpenes from *Conyza podocephala*, *Phytochemistry* 21, 1693.
118. Bohlmann F., Kramp W., Grenz M., Robinson H., King R. M., 1981, Diterpenes from *Baccharis* species, *Phytochemistry* 20, 1907.
119. Asahina Y., Yasue M., 1937, Untersuchungen über Flechtenstoffe, LXXVI. Mitteil.: Über die Konstitution der Lobarsäure (III. Mitteil), *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* 70, 206.
120. Cirrigotis K. A., Cleaver L., Corrie J. E. T., Grasby R. G., Green G. H., Mock J., Nimgirawath S., Read R. W., Ritchie E., Taylor W. C., Vadasz A., Webb W. R. G., 1974, Chemical Studies of the Proteaceae. Vii. An Examination of the Woods of 17 Species for Resorcinol Derivatives, *Aust. J. Chem.* 27, 345.
121. Bullock L. M., Drewes S. E. S., 1989, *Afr. J. Chem.* 42, 76.
122. Kato T., Seki K., Kaneko R. 1990, Insoluble monolayers of irisresorcinol at the air/water interface, *Colloid Polym. Sci.* 268, 934.
123. Hengtrakul P., Lorenz K., Mathias M., 1991, Alkylresorcinol homologs in cereal grains, *J. Food Compos. Anal.* 4, 52.
124. Kozubek A., Pietr S., Czerwonka A., 1996, Alkylresorcinols are abundant lipid components in different strains of *Azotobacter chroococcum* and *Pseudomonas* spp, *J. Bacteriol.* 178, 4027.
125. Kubus G., Tluscik F., 1983, Alkylresorcinols in grains from plants from the family *Graminea*, *Acta Soc. Bot. Polon.* 53, 223.
126. Batrakov S. G., Pridachina N. N., Kryglyak E. B., Novogrudskaya, E. D., 1977, Phenolic lipid from *Azotobacter chroococcum*, *Chemistry of Natural Compounds*, 13, 413–417.

127. Suresh M., Raj R. K., 1990, Cardol: the antifilarial principle from *Anacardium occidentale*. *Curr. Sci.* 59:477-479.
128. Gonzalez M. J. T. G., DeOliveira C. J. C., Fernandes J. O., Kijjoa A., Herz W., 1996, Further alkyl and alkenylphenols of *Knema laurina* and *knema austrosiamensis*: location of the double bond in the alkenyl side chains, *Phytochemistry* 43, 1333.
129. Bu'Lock J. D., Hudson A. T., 1969, β -Leprosol: the identification of a trialkylresorcinol from bacterial lipids, *J. Chem. Soc.* 60, 61.
130. Madrigal R. V., Spencer G. F., Plattner R. D., Smith C. R., 1977, Alkyl- and alkenylresorcinols in *Rapanea laetevirens* seed lipids, *J. Lipids* 12, 402.
131. Hu Y., Chen W.-S., Huang B.-H., Lin L.-Z., Xu R.-S., 1979, K'o Hsueh Tung Pao 24, 907.
132. Varma R. S., Manju M., Parthasarathy M. R., 1976, New phenolic constituents of *Grevillea Robusta* wood, *Phytochemistry* 15, 1418.
133. Chang M., Netzly D. H., Butler L. G., Lynn D. G., 1986, Chemical regulation of distance. Characterization of the first natural host germination stimulant for *Striga asiatica*, *J. Am. Chem. Soc.* 108, 7858.
134. Gregson R. P., Kazlauskas R., Murphy P. T., Wells R. J., 1977, New metabolites from the brown alga *Cystophora torulosa*, *Aust. J. Chem.* 30, 2527.
135. Aoyagi T., Yagisawa M., Kumagai M., Hamada M., Okami Y., Takeuchi T., Umezawa H., 1971, An enzyme inhibitor, panosialin, produced by streptomyces: I. Biological activity, isolation and characterization of panosialin. *J. Antibiot.* 24, 855.
136. Yamada H., Shiomi K., Xu Q., Nagai T., Shibata M., Oya I., Takahashi Y., Omura S., 1995, New Glycosidases Inhibitors, Panosialins D and wD Produced by *Streptomyces* sp. OH-5186 *J. Antibiot.* 48, 205.
137. Caned L. M., delCorral J. M. M., sanFeliciano A., 1997, 5-Alkylresorcinols from *Ononis natrix*, *Phytochemistry* 44, 1559

138. Arisawa M., Ohmura K., Kobayashi A., Morita N. 1989. A cytotoxic constituent of *Lysimachia japonica* THUNB. (Primulaceae) and the structure-activity relationships of related compounds. *Chem. Pharm. Bull.* 37: 2431–2434.
139. A. Kobayashi, *Nihon Hosenkin-Gakkai Kaiho*, 45, 4 (1984).
140. A. Kobayashi, T. Hino, S. Yata, J. Itoh, H. Sato, and K. Kawazu, 1988, Unique Spindle Poisons, Curvularin and Its Derivatives, Isolated from *Penicillium* Species, *Agric. Biol. Chem.* 52, 3119.
141. Y.-S. Cheng, W.-L. Luis and S. Chen, 1980, *Synthesis* 223.
142. A. Bhati 1962, Syntheses of some tetralones related to tetracyclines, *Tetrahedron* 18, 1519-1526.
143. S.K. Das Gupta, D.M. Rice and R.G. Griffin, 1982, Synthesis of isotopically labeled saturated fatty acids, *J. Lipid Res.* 23, 197-200.
144. Marmor R. S. J., 1972, An Improved Synthesis of 5-Alkylresorcinols, *Org. Chem.* 37, 2901–2904. doi:10.1021/jo00983a025.
145. Tyman J. H. P., February 28, 2007, Synthesis of 5-(C15-25-alkyl/alkenyl)resorcinols via 8-(3,5-dihydroxyphenyl)octanal, the ozonolysis product of cardol, using Wittig and Grignard methodology. GB 2429455.
146. Parikka K., Wahala K., 2009, An expedient synthesis of 5-nalkylresorcinols and novel 5-n-alkylresorcinol haptens. *Beilstein J. Org. Chem.* 5, 22, <https://doi.org/10.3762/bjoc.5.22>.
147. Russell M. G., Warren S. J., 2000, Synthesis of new water-soluble phosphonium salts and their Wittig reactions in water, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* 4, 505–513.
148. Sieber F., Wentworth P. Jr., Toker J. D., Wentworth A. D., Metz W. A., Reed N. N., Janda K. D., 1999, Development and Application of a Poly(ethylene glycol)-Supported Triarylphosphine Reagent: Expanding the Sphere of Liquid-Phase Organic Synthesis *J. Org. Chem.* 64, 5188–5192. doi:10.1021/jo9903712.

149. Zhu Y, Soroka DN, Sang S (2012) Synthesis and inhibitory activities against colon cancer cell growth and proteasome of alkylresorcinols. *J Agric Food Chem* 60:8624–8631, <https://doi.org/10.1021/jf302872a>.
150. Yu-Ming Chung, Chien-Kei Wei, Da-Wei Chuang, Mohamed El-Shazly, Chi-Ting Hsieh, Teigo Asai, Yoshiteru Oshima, Tusty-Jiuan Hsieh, Tsong-Long Hwang, Yang-Chang Wu, Fang-Rong Chang, 2013, An epigenetic modifier enhances the production of anti-diabetic and anti-inflammatory sesquiterpenoids from *Aspergillus sydowii*, *Bioorg & Med. Chem Lett.*, Vol. 21, Issue 13, p. 3866-3872, <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2013.04.004>.
151. Nobutaka Kurashige, Hirokazu Fuchida, Shigekazu Tabata, Shohei Uchinomiya, Akio Ojida, 2017, Discovery of highly reactive peptide tag by ELISA-type screening for specific cysteine conjugation, *Bioorg & Med. Chem. Lett.*, Vol., Issue 15, p. 3486-3489, <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.05.069>.
152. Veronica Santacroce, Franca Bigi, Alessandra Casnati, Raimondo Maggi, Loretta Storaro, Elisa Moretti, Luigi Vaccaro, Giovanni Maestri, 2016, Selective monomethyl esterification of linear dicarboxylic acids with bifunctional alumina catalysts, *Green Chemistry*, Issue 21.
153. Yan Liu , Xin Yin , Yan-ping Sun , Yuan Liu , Yuan-Yuan Zhou , Juan Pan , Wei Guan , Bing-You Yang & Hai-Xue Kuang, 2020, Chemical constituent from the roots of *Solanum melongena* L. and their potential anti-inflammatory activity, *Formerly Natural Product Lett.*, Vol. 36 Issue 7, <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1815740>.
154. Stefan Sonnenberger, Stefan Lange, Andreas Langner, Reinhard H.H. Neubert, Bodo Dobner, 2016, Synthesis of ceramides NS and NP with perdeuterated and specifically ω deuterated N-acyl residues, *J. of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*, p. 531-542, <https://doi.org/10.1002/jlcr.3443>.
155. Ming Lei, Xingyu Chen, Yingjie Wang, Liran Zhang, Hong Zhu, Zhiqian Wang, 2022, Homogeneous and Heterogeneous Pd-Catalyzed Selective C-P Activation and Transfer Hydrogenation for "group-Substitution" Synthesis of Trivalent Phosphines, *Org. Lett.*, Vol. 24, # 15, p. 2868 – 2872.

156. Jogula Srinivas, Yoichi Namito, Ryosuke Matsubara and Masahiko Hayashi, 2017, Synthesis of Enantiomerically Pure (8*S*,9*S*,10*R*,6*Z*)-Trihydroxyoctadec-6- enoic Acid, *J. Org. Chem.*, Vol. 82, 10, p. 5146–5154, <https://doi.org/10.1021/acs.joc.7b00376>.
157. Ana V. Cheng, Wooseong Kim, Iliana E. Escobar, Eleftherios Mylonakis, William M. Wuest, 2020, Structure–Activity Relationship and Anticancer Profile of Second-Generation Anti-MRSA Synthetic Retinoids, *ACS Med. Chem. Lett.*, Vol. 11, 3, p. 393-397, <https://doi.org/10.1021/acsmmedchemlett.9b00159>.
158. Demetris P. Papahatjis, Victoria R. Nahmias, Spyros P. Nikas, Thanos Andreou, Shakiru O. Alapafuja, Andrew Tsotinis, Jianxin Guo, Pusheng Fan, Alexandros Makriyannis, 2007, C1'-Cycloalkyl Side Chain Pharmacophore in Tetrahydrocannabinols, *J. Med. Chem.*, Vol. 50, 17, p. 4048–4060, <https://doi.org/10.1021/jm070121a>.
159. John W. Huffman, John Liddle, Sammy G. Duncan Jr., Shu Yu, Billy R. Martin, Jenny L. Wiley, 1998, Synthesis and pharmacology of the isomeric methylheptyl- Δ^8 -tetrahydrocannabinols, *Bioorg & Med. Chem. Lett.*, Vol. 6, Issue 12, p. 2383-2396, [https://doi.org/10.1016/S0968-0896\(98\)80014-X](https://doi.org/10.1016/S0968-0896(98)80014-X).
160. Alexandra E. Golliher, Antonio J. Tenorio, Nina O. Dimauro, Nicolas R. Mairata, F. Omar Holguin, William Maio, 2021, Using (+)-carvone to access novel derivatives of (+)-*ent*-cannabidiol: The first asymmetric syntheses of (+)-*ent*-CBDP and (+)-*ent*-CBDV, *Tetrahedron Lett.*, Vol. 67, p. 152891, <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2021.152891>.
161. Centeno-Pedrazo, J. Perez-Arce, S. Prieto-Fernandez, Z. Freixa, E.J. Garcia-Suarez, 2021, Phosphonium-based ionic liquids: Economic and efficient catalysts for the solvent-free cycloaddition of CO₂ to epoxidized soybean vegetable oil to obtain potential bio-based polymers precursors, *Molecular Catalysis*, Vol. 515, 111889, <https://doi.org/10.1016/j.mcat.2021.111889>.
162. Ivan Kuzmenko, Maik Kindermann, Kristian Kjaer, Paul B. Howes, Jens Als-Nielsen, Rony Granek, Gunther v. Kiedrowski, Leslie Leiserowitz, Meir

Lahav, 2001, Crystalline Films of Interdigitated Structures Formed via Amidinium–Carboxylate Interactions at the Air–Water Interface, *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 123, 16, p. 3771–3783, <https://doi.org/10.1021/ja002597o>.

163. Gregory S. Hamilton, Yong-Qian Wu, David C. Limburg, Douglas E. Wilkinson, Mark J. Vaal, Jia-He Li, Christine Thomas, Wei Huang, Hansjorg Sauer, Douglas T. Ross, Raj Soni, Yi Chen, Hongshi Guo, Pamela Howorth, Heather Valentine, Shi Liang, Dawn Spicer, Mike Fuller, and Joseph P. Steiner, 2002, Synthesis of N-Glyoxyl Prolyl and Pipecolyl Amides and Thioesters and Evaluation of Their In Vitro and In Vivo Nerve Regenerative Effects, *J. Med. Chem.*, Vol 45, 16, p. 3549–3557, <https://doi.org/10.1021/jm010556c>.

164. Rutger B. Boers, Yolanda Pazos Randulfe, Hendrikus N. S. van der Haas, Marleen van Rossum-Baan, and Johan Lugtenburg, 2002, Synthesis and Spectroscopic Characterization of 1-¹³C- and 4-¹³C-Plastoquinone-9, *EurJOC*, Vol. 13, p. 2094–2108, doi:10.1002/1099-0690(200207)2002:13<2094::AID-EJOC2094>3.0.CO;2-E.

165. Skretas Georgios, Meligova Aggeliki K., Villalonga-Barber Carolina, Mitsiou Dimitra J., Alexis Michael N., Micha-Screttas Maria, Steele Barry R., Screttas Constantinos G., Wood David W., 2007, Engineered Chimeric Enzymes as Tools for Drug Discovery: Generating Reliable Bacterial Screens for the Detection, Discovery, and Assessment of Estrogen Receptor Modulators, *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 129, 27, p. 8443 – 8457, <https://doi.org/10.1021/ja067754j>.

166. Prasanta Ghorai, Anja Kraus, Max Keller, Carsten Götte, Patrick Igel, Erich Schneider, David Schnell, Günther Bernhardt, Stefan Dove, Manfred Zabel, Sigurd Elz, Roland Seifert, and Armin Buschauer, 2008, Acylguanidines as Bioisosteres of Guanidines: NG-Acylated Imidazolylpropylguanidines, a New Class of Histamine H2 Receptor Agonists, *J. Med. Chem.* Vol. 51, 22, p. 7193–7204, <https://doi.org/10.1021/jm800841w>.

167. Si-Qi Chen, Xin-Ran Li, Chao-Jun Li, Juan Fan, Zhong-Wen Liu, and Xian-Ying Shi, 2020, Aldehyde as a Traceless Directing Group for Regioselective C–H Alkylation Catalyzed by Rhodium(III) in Air, *Org.*

Lett., Vol. 22, 4, p. 1259 – 1264, <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.9b04433>.

168. Thanh C Ho, Marcus A.Tius, Spyros P.Nikas, Ngan, K.Tran, FeiTong, Han Zhou, Nikolai Zvonok, Alexandros Makriyannis, 2022, Oxa-adamantyl cannabinoids, *Bioorg. & Med. Chem. Lett.*, Vol. 72, p. 128836, <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2021.127882>.

169.Akiko Takagaki, Fumio Nanjo, 2010, Metabolism of (-)-Epigallocatechin Gallate by Rat Intestinal Flora, *J. Agric. Food Chem.* Vol. 58, 2, p. 1313–1321 <https://doi.org/10.1021/jf903375s>.

