ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗ ΔΟΜΗΣ – ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ ΤΟΥ ΚΟΣΤΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΚΑΤΑ ΤΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ *VARROA DESTRUCTOR* ΣΤΗΝ ΕΥΡΩΠΑΪΚΗ ΜΕΛΙΣΣΑ *APIS MELLIFERA*

ΣΟΦΙΑ Α. ΓΕΩΡΓΙΛΑΔΑΚΗ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: Χ. Ε. ΚΑΤΕΡΙΝΟΠΟΥΛΟΣ

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ, ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ 2015

Ph.D. THESIS

SYNTHESIS AND STRUCTURE - ACTIVITY RELATIONSHIP STUDIES OF COSTIC ACID DERIVATIVES AGAINST THE ACTION OF *VARROA DESTRUCTOR* ON THE EUROPEAN BEE *APIS MELLIFERA*

SOPHIA A. GEORGILADAKI

SUPERVISOR: Prof. H. E. KATERINOPOULOS

DEPARTMENT OF CHEMISTRY, UNIVERSITY OF CRETE, GREECE

OCTOBER 2015

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Κατερινόπουλος Ε. Χαράλαμπος (Επιβλέπων)
Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης

Παπαχατζής Δημήτριος
Ερευνητής Α', Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών

Βασιλικογιαννάκης Γεώργιος
Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης

Ορφανόπουλος Μιχαήλ
Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης

Στρατάκης Εμμανουήλ
Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης

Σμόνου Ιουλία
Αν/τρια Καθηγήτρια, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης

Σπύρος Απόστολος
Μόνιμος Επίκουρος Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης

Στην οικογένεια μου και τον Μάνο

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα έρευνα έχει συγχρηματοδοτηθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο - ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ) – Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο: Ηράκλειτος ΙΙ : Επένδυση στην κοινωνία της γνώσης μέσω του Ευρωπαϊκού Κοινωνικού Ταμείου».

Θα ήθελα να ευχαριστήσω το Τμήμα Χημείας του Πανεπιστημίου Κρήτης, για την παροχή της απαραίτητης υλικοτεχνικής υποδομής, για την ολοκλήρωση της παρούσας διδακτορικής διατριβής.

Οφείλω ένα τεράστιο ευχαριστώ στον επιβλέποντα καθηγητή μου κ. Χ. Ε. Κατερινόπουλο, για την εμπιστοσύνη , την καθοδήγηση και τις πολύτιμες συμβουλές του καθ' όλη την διάρκεια των μεταπτυχιακών μου σπουδών.

Ευχαριστώ επίσης και τα υπόλοιπα μέλη της επταμελούς μου επιτροπής, οι οποίοι δέχθηκαν να κρίνουν την ερευνητική μου εργασία, τους καθηγητές κ. Δ. Παπαχατζή από το Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών, κ. Μ. Ορφανόπουλο, κ. Ε. Στρατάκη, κ. Γ. Βασιλικογιαννάκη, την αναπληρώτρια καθηγήτρια κα. Ι. Σμόνου και τον επίκουρο καθηγητή κ. Α. Σπύρο, από το Τμήμα Χημείας του Πανεπιστημίου Κρήτης.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες στον κ. Δημοσθένη Ισαακίδη, για τις γνώσεις, τη βοήθεια και το χρόνο που διέθεσε, προκειμένου να πραγματοποιηθούν οι μελέτες βιολογικής δραστικότητας, στον Δρ. Μ. Κλώντζα για τις υπολογιστικές μελέτες που πραγματοποίησε τον Γιώργο Δημητρακάκη για την υποστήριξη σε θέματα πληροφορικής καθώς και τον καθηγητή κ. Α. Σπύρο για τη βοήθεια του επί της βελτιστοποίησης των φασμάτων NMR.

Ένα πάρα πολύ μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στις αγαπημένες μου φίλες και συνεργάτιδες Αθανασία Τσικριτζή, Γεωργία Μενούνου, Ιωάννα Φίλιππα, Γεωργία Χριστοφόρου, τους πολύτιμους συνεργάτες Γεώργιο Τσικαλά, Μιχάλη Στεφανάκη, τον αγαπημένο Κυριάκο-Δομήνικο Τόκα για την ηθική στήριξη, τη βοήθεια και για όλες τις πραγματικά αξέχαστες στιγμές που μοιραστήκαμε όλα αυτά τα χρόνια.

Ευχαριστώ όλους τους συναδέλφους του Τομέα Οργανικής Χημείας και ιδιαίτερα τους Καλαϊτζάκη Δημήτριο, Νούτσια Δημήτριο, Κουριδάκη Αντωνία, Αλεξοπούλου Ιωάννα, Αντωνάτου Ειρήνη, Τοφή Μαρία, Τριανταφυλλάκη Μύρωνα, Σοφιαδή Εμμανουήλ, Γρυπάρη Χαράλαμπο, Μπαριωτάκη Άννα, Βασιλικογιαννάκη Ελένη, Τίτιλα Ιωάννη, Κοτζαμπασάκη Βασιλική, Κυδωνάκη Μάριο, Μαλλιαρό Νικήτα, καθώς και την Ευαγγελία Ράλλη για το ευχάριστο κλίμα.

Άπειρα ευχαριστώ στις πολυαγαπημένες μου φίλες Άννα Δαμίγου, Έφη Κουζούλογλου, Χριστίνα Αρετίνη, Κατερίνα Τζαγκαράκη και Κατερίνα Μαρκομανωλάκη για την ηθική τους στήριξη όλα αυτά τα χρόνια.

Τέλος, ευχαριστώ από καρδιάς την πολυαγαπημένη μου οικογένεια, τους γονείς μου Αλέξανδρο Γεωργιλαδάκη και Μαρία Σαβιολάκη-Γεωργιλαδάκη, τον λατρεμένο μου αδερφό Ανδρέα Γεωργιλαδάκη, την αγαπημένη μου θεία Ζουμπούλη Σαβιολάκη, το θείο μου Γρηγόρη Λυρώνη, τις ξαδερφούλες μου Κωνσταντίνα και Στέλλα Λυρώνη, τους αγαπημένους μου Παύλο Χριστοφάκη, Μαίρη Καλοχριστιανάκη, Γιώργο Χριστοφάκη και Κάλλια Τζανάκη,τον παππού Ανδρέα Σαβιολάκη και τη γιαγιά Στέλλα Σαβιολάκη, που είναι πάντα δίπλα μου, με αγάπη υπομονή και κατανόηση για να με στηρίζουν σε όλα μου τα βήματα, από τα πιο μικρά μέχρι τα πιο μεγάλα.

Τέλος ένα τεράστιο και αμέριστο ευχαριστώ, οφείλω στον συμπαραστάτη της ζωής μου Μάνο Χριστοφάκη, ο οποίος είναι πάντα δίπλα μου και με στηρίζει.

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΠΡΟΣΩΠΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ	**Γεωργιλαδάκη Σοφία**
ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ ΟΙΚΙΑΣ	Ουρανίας 9, Ηράκλειο Κρήτης, 71409, Ελλάδα
ΤΗΛΕΦΩΝΟ	2810238526 6972688694
E-MAIL	sofiachem@yahoo.gr
ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΓΕΝΝΗΣΗΣ	19/04/1983

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

Σεπτέμβριος 2009-Ιανουάριος 2010	▪ Εργαστηριακή βοηθός στα προπτυχιακά εργαστήρια Οργανικής Χημείας Ι
Ιανουάριος 2010-Ιούνιος 2011	▪ Χημικός έργου «Screening ασθενών για την ένταξη τους στα πρωτόκολλα που διεξάγονται στην Ουρολογική Κλινική» -Μελέτες τελικού ελέγχου για την έγκριση αποτελεσματικότητας φαρμάκων κατά του καρκίνου του προστάτη. Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ηρακλείου Κρήτης, Ουρολογική Κλινική
Φεβρουάριος 2010-Ιούνιος 2010	▪ Εργαστηριακή βοηθός στα προπτυχιακά εργαστήρια Οργανικής Χημείας ΙΙ
Φεβρουάριος 2011-Ιούνιος 2011	▪ Εργαστηριακή βοηθός στα προπτυχιακά εργαστήρια Γενικής Χημείας ΙΙ
Φεβρουάριος 2012-Ιούνιος 2012	▪ Εργαστηριακή βοηθός στα προπτυχιακά εργαστήρια Ανόργανης Χημείας ΙΙ
Φεβρουάριος 2014-Ιούνιος 2014	▪ Εργαστηριακή βοηθός στα προπτυχιακά εργαστήρια Οργανικής Χημείας ΙΙ

ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΚΑΤΑΡΤΙΣΗ

Φεβρουάριος 2011-σήμερα	▪ Υποψήφια διδάκτωρ Οργανικής Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης
Σεπτέμβριος 2008-Φεβρουάριος 2011	Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης, "Απομόνωση και χαρακτηρισμός ουσιών με δυνητικά αντιοξειδωτική δράση από τα φύλλα υποειδών της *Olea Europaea*", Εργαστήριο Οργανικής Χημείας,Τμήμα Χημείας, Πανεπιστημίου Κρήτης. Επιβλέπων: καθ. Χ. Ε. Κατερινόπουλος.
Σεπτέμβριος 2001-Ιούνιος 2008	▪ Πτυχίο Τμήματος Χημείας, Πανεπιστημίου Κρήτης, Βαθμός πτυχίου 7,10
Ιούνιος 2001	▪ Ολοκλήρωση Δευτεροβάθμιας Εκπαίδευσης

ΑΤΟΜΙΚΕΣ ΔΕΞΙΟΤΗΤΕΣ

Μητρική γλώσσα: Ελληνικά

Λοιπές γλώσσες	ΚΑΤΑΝΟΗΣΗ		ΟΜΙΛΙΑ		ΓΡΑΦΗ
	Προφορική	Γραπτή (ανάγνωση)	Επικοινωνία	Προφορική έκφραση	
Αγγλικά	B2	B2	B2	B2	B2
	Lower certificate of University of Cambridge.				

Λοιπές γλώσσες	ΚΑΤΑΝΟΗΣΗ		ΟΜΙΛΙΑ		ΓΡΑΦΗ
	Προφορική	Γραπτή (ανάγνωση)	Επικοινωνία	Προφορική έκφραση	
Γαλλικά	B1	B1	B1	B1	B1
	Diplôme d'études en langue française.				

Επικοινωνιακές δεξιότητες	▪ Άριστες επικοινωνιακές δεξιότητες που αποκτήθηκαν ως μέλος ερευνητικής ομάδας
Επαγγελματικές δεξιότητες	▪ Άριστος χειρισμός οργάνων φασματοσκοπίας: Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR) ▪ Άριστος χειρισμός οργάνων ανάλυσης: Αέρια Χρωματογραφία/Μάζας (GC/MS) ▪ Τεχνικές Οργανικής Σύνθεσης, Χειρισμός αντιδράσεων σε αδρανή ατμόσφαιρα, Χρωματογραφία Flash
Δεξιότητες πληροφορικής	▪ Καλός χειρισμός των εργαλείων Microsoft Office® (Word, Excel, Power Point, Outlook) ▪ Πολύ καλή γνώση εξειδικευμένων προγραμμάτων Φασματοσκοπίας (Topspin, Mestrec, Omnic, GC/MS Postrun Analysis) ▪ Πολύ καλή γνώση προγραμμάτων ανάλυσης (Origin Lab, Chem Draw, Lab view)
Καλλιτεχνικές δεξιότητες	▪ Κλασσικός χορός

ΠΡΟΣΘΕΤΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Προγράμματα	▪ Ερευνητική υποτροφία για την εκπόνηση διδακτορικής διατριβής από το επιχειρησιακό πρόγραμμα "Εκπαίδευση και Δια βίου Μάθηση 2007-2013" του Ε.Σ.Π.Α., συγχρηματοδοτούμενο από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) στα πλαίσια του προγράμματος "Ηράκλειτος ΙΙ" (2011-2015)
Συνέδρια	▪ «Χημική Συνείδηση στον 20ο Αιώνα» 10ο Συνέδριο Ελλάδας-Κύπρου Ηράκλειο Κρήτης 2-4 Ιουλίου 2009 ▪ "Το "Νέο Λύκειο", Ένωση Ελλήνων Χημικών & Ένωση Ελλήνων Φυσικών Π.Α.Κ., Περιφερειακό Τμήμα Κρήτης, Ηράκλειο, 20 Νοεμβρίου 2010. ▪ S. Georgiladaki, H. E. Katerinopoulos, "Isolation and Identification of Component with Antioxidant Activity from the Leaves of different subspecies of Olea Europaea" 17th European Symposium on Organic Chemistry (ESOC 2011), Hersonissos, Crete, Greece, 10-15/07/2011 Poster Presentation ▪ S. Georgiladaki, "Isolation and Identification of Component with Antioxidant Activity from the Leaves of different subspecies of Olea Europaea" 17th Graduate Chemistry Student Symposium University of Crete 15-18/07/2011, Poster presentation ▪ S. Georgiladaki, "Isolation of Antioxidants from the Leaves of Different Subspecies of Olea Europaea" Meeting of the Phytochemical Society of European Young Scientists, Kolymbari, Crete, Greece, 12-15/6/2011, Poster presentation ▪ S. Georgiladaki, "Synthesis of Costic Acid Analogs as Acaricides against the Bee, Varroa Destructor" "Heraclitus" Meeting, University of Crete, Heraklion 4-5 / 12/2012, Poster presentation ▪ Συμμετοχή στο 1ο Συνέδριο Chain Reaction με θέμα "Φυσικές επιστήμες και Διερευνητική Μάθηση στη Δευτεροβάθμια Εκπαίδευση"
Σεμινάρια	▪ Συμμετοχή στο σεμινάριο "Καινοτόμες αγροτικές επιχειρήσεις για φαρμακευτικά και αρωματικά φυτά", 26-28 Ιουνίου 2013, Πανεπιστήμιο Κρήτης ▪ Συμμετοχή στην ημερίδα "Ημέρες γνωριμίας με το Πανεπιστήμιο Κρήτης" (Ηράκλειο 2014)
Δημοσιεύσεις	▪ S. Georgiladaki, H. E. Katerinopoulos Enantioselective Synthesis of 2-[(2R,4aR,8aR)-4a-methyldecahydro-2-naphthalenyl]butanedioic acid as a Costic Acid Analog with Acaricidal Activity against the Bee Parasite V. destructor. Manuscript in preparation ▪ S. Georgiladaki, D. Isaakidis, H. E. Katerinopoulos Structure-Activity Relationship Studies on Succinic Acid Analogs with Acaricidal Activity against the Bee Parasite V. destructor. Manuscript in Preparation

CURRICULUM VITAE

Personal information	
First name(s) / Surname(s)	**Sophia Georgiladaki**
Home Address	9 Ouranias st. Heraklion Crete 71409, Greece
Professional Address	Department of Chemistry, University of Crete, , 71003, Greece
Telephone(s)	2810238526 6972688694
E-mail	sofiachem@yahoo.gr
Nationality	Greek
Date of birth	19/04/1983

WORK EXPERIENCE

September 2009-January 2010	▪ Teaching Assistant at Undergraduate Organic Chemistry Lab I, Department of Chemistry, University of Crete
January 2010-June 2011	▪ Research Assistant «Screening patients for integration in protocols conducted in Urology". Final inspection studies for the approval of drugs effective against prostate cancer. University Hospital of Heraklion, Crete, Urology Department
February 2010-June 2010	▪ Teaching Assistant at Undergraduate Organic Chemistry Lab II
February 2011-June 2011	▪ Teaching Assistant at Undergraduate General Chemistry Lab II
February 2012-June 2012	▪ Teaching Assistant at Undergraduate Inorganic Chemistry Lab II
February 2014-June 2014	▪ Teaching Assistant at Undergraduate Organic Chemistry Lab II

EDUCATION AND TRAINING

February 2011-	▪ Ph. D Candidate, Department of Chemistry, University of Crete, Greece
September 2008-February 2011	M.Sc., "Isolation and characterization of substances with potential antioxidant activity from the leaves of subspecies of Olea Europaea", Laboratory of Organic Chemistry, Department of Chemistry, University of Crete. Supervisor: Prof. H. E. Katerinopoulos
September 2001-June 2008	▪ Degree in Chemistry, University of Crete, Grade 7.10
June 2001	▪ Completion of Secondary Education

PERSONAL SKILLS AND COMPETENCES

Mother Tongue: Greek

Other Languages	UNDERSTANDING		SPEAKING		WRITING
	Listening	Reading	Spoken Interaction	Listening	Reading
English	B2	B2	B2	B2	B2
	Lower certificate of University of Cambridge.				

Other Languages	UNDERSTANDING		SPEAKING		WRITING
	Listening	Reading	Spoken Interaction	Listening	Reading
Francais	B1	B1	B1	B1	B1
	Diplôme d'études en langue française.				

Social skills and competences	▪ Excellent communication skills acquired as a member of the research team
Technical skills and competences	▪ Excellent handling of Spectroscopy Instruments: Nuclear Magnetic Resonance (NMR) ▪ Excellent handling instrumentation for analysis: Gas chromatography / mass spectroscopy (GC / MS) ▪ Techniques in Organic Synthesis, Handling reactions under an inert atmosphere, Flash Chromatography
Computer skills and competences	▪ Good handling of Microsoft Office® tools: (Word, Excel, Power Point, Outlook) ▪ Very good knowledge of specialized Spectroscopy software (Topspin, Mestrec, Omnic, GC / MS Postrun Analysis) ▪ Very good knowledge of analytical chemistry software (Origin Lab, Chem Draw, Lab view)
Artistic skills	▪ Classical dance

ADDITIONAL INFORMATION

Fellowships	▪ Research scholarship for doctoral thesis from the operational program "Education and Lifelong Learning 2007-2013" of NSRF, funded by the European Union (European Social Fund) under the program "Heraclitus II '(2011-2015)
Meetings	▪ «Chemical Consciousness in the 20th Century" 10th Congress of Greece and Cyprus, Heraklion 2-4 July 2009 ▪ "The" New School "Association of Greek Chemists & Hellenic Physics Association, Regional Section of Crete, Heraklion, November 20, 2010. ▪ S. Georgiladaki, H. E. Katerinopoulos, “Isolation and Identification of Component with Antioxidant Activity from the Leaves of different subspecies of Olea Europaea” 17th European Symposium on Organic Chemistry (ESOC 2011), Hersonissos, Crete, Greece, 10-15/07/2011 Poster Presentation ▪ S. Georgiladaki, “Isolation and Identification of Component with Antioxidant Activity from the Leaves of different subspecies of Olea Europaea” 17th Graduate Chemistry Student Symposium University of Crete 15-18/07/2011, Poster presentation ▪ S. Georgiladaki, “Isolation of Antioxidants from the Leaves of Different Subspecies of Olea Europaea” Meeting of the Phytochemical Society of European Young Scientists, Kolymbari, Crete, Greece, 12-15/6/2011, Poster presentation ▪ S. Georgiladaki, “Synthesis of Costic Acid Analogs as Acaricides against the Bee, Varroa Destructor” “Heraclitus” Meeting, University of Crete, Heraklion 4-5 / 12/2012, Poster presentation ▪ Participation in the 1st “Chain Reaction” Congress on "Science and Exploratory Learning in Secondary Education"
Seminars	▪ Participation in the seminar “Novel Agricultural Business on Medicinal & Aromatic Plants”, 26-28 June 2013, University of Crete ▪ Participation in the conference "Days of acquaintance with the University of Crete" (Heraklion 2014)
Publications	▪ S. Georgiladaki, H. E. Katerinopoulos Enantioselective Synthesis of 2-[(2R,4aR,8aR)-4a-methyldecahydro-2-naphthalenyl]butanedioic acid as a Costic Acid Analog with Acaricidal Activity against the Bee Parasite V. destructor. Manuscript in preparation ▪ S. Georgiladaki, D. Isaakidis, H. E. Katerinopoulos Structure-Activity Relationship Studies on Succinic Acid Analogs with Acaricidal Activity against the Bee Parasite V. destructor. Manuscript in Preparation

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στη Διδακτορική αυτή Διατριβή περιγράφεται ο σχεδιασμός, η σύνθεση και οι μελέτες βιολογικής δραστικότητας μίας σειράς αναλόγων του κοστικού οξέος.

Το κοστικό οξύ είναι ένα σεσκιτερπενικό μονοκαρβοξυλικό οξύ το οποίο έχει απομονωθεί από το φυτό *Dittrichia Viscosa*, γνωστό στον τοπικό πληθυσμό με την κοινή ονομασία *Ακονιζά*.

Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι το κοστικό οξύ δρα ως ακαρεοκτόνο κατά του παρασίτου της μέλισσας που ονομάζεται *Varroa Destructor*.

Σε μία προσπάθεια σύνθεσης αναλόγων του κοστικού οξέος με δραστικότητα μεγαλύτερη αυτής της μητρικής ένωσης και σε συνδυασμό με την πληροφορία ότι υπάρχουν διοξέα όπως το οξαλικό οξύ, που έχουν ακαρεοκτόνο δραση κατά της *V. destructor*, σχεδιάστηκαν, συντέθηκαν και μελετήθηκαν παράγωγα τα οποία εμπεριέχουν το βασικό δεκαλινικό σκελετό του κοστικού οξέος συνδεδεμένο με δικαρβοξυλικές πλευρικές αλυσίδες.

Η πρώτη συνθετική προσέγγιση επικεντρώθηκε στην σύνθεση παραγώγων του μηλονικού οξέος με χρήση της μεθοδολογίας της μηλονικής σύνθεσης. Οι συνθετικές πορείες που επιλέχθηκαν με αρχικές ουσίες την β-τετραλόνη ή την 2-δεκαλόνη δεν υπήρξαν ιδιαίτερα επιτυχείς, δίνοντας είτε σειρά παραπροϊόντων είτε τα επιθυμητά ανάλογα σε πολύ μικρά ποσοστά.

Η δεύτερη συνθετική προσέγγιση περιέλαβε τη σύνθεση παραγώγων του σουκινικού οξέος το οποίο συνδέθηκε με το δεκαλινικό σκελετό με τις συνθήκες της αντίδρασης Stobbe. Η μεθοδολογία αυτή αποδείχθηκε ιδιαίτερα επιτυχής δίνοντας μία σειρά αναλόγων και καταλήγοντας στην παρασκευή του 2-[(*2R*,4a*R*,8a*R*)-4a-μέθυλοδεκαϋδρο-2-ναφθαλένυλο]βουτανοδιοϊκού οξέος, όπου επιτεύχθηκε η επιθυμητή εναντιοεκλεκτικότητα στη σύνθεση και των τριών στερεογονικών κέντρων του δεκαλινικού σκελετού του μορίου.

Για τον προσδιορισμό του φαμακοφόρου τμήματος του κοστικού οξέος, τα ανάλογα που συντέθηκαν μελετήθηκαν για την ακαρεοκτόνο δράση τους κατά της *V. destructor*. Τα αποτελέσματα αναλύονται με όρους μελέτης σχέσεων δομής δραστικότητας των αναλόγων αυτών.

Λέξεις κλειδιά: Κοστικό οξύ, *Varroa destructor*, Ακονιζά, *Dittrichia viscosa*, Βαρροάτωση, *Apis mellifera*, Αντίδραση Stobbe.

ABSTRACT

In this thesis, the design, synthesis and biological activity studies of a series of costic acid analogs is described.

Costic acid is a sesquiterpene-type monocarboxylic acid which has been isolated from the plant *Dittrichia Viscosa*, known to the local population by the common name 'Ακονιζα' (Aconiza).

Recent studies have shown that costic acid acts as an acaricide against a bee parasite known as *Varroa Destructor*.

In an effort to synthesize costic acid analogs with activity greater than that of the parent compound and considering the information that some diacids such as oxalic acid act as acaricides against *V. Destructor*, a series of costic acid congeners were designed, synthesized and studied for biological activiy. These compounds contain the costic acid decalin carbon framework connected to dicarboxylic side chains.

The first synthetic approach is focused on the synthesis of malonic acid derivatives using the of malonic synthesis methodology. The synthetic routes that were selected using as starting materials beta-tetralone or decalone systems were not particularly successful, giving either side products or the desired analogs in very small yields.

The second synthetic approach includes the synthesis of of succinic acid derivatives that were connected to the decalin skeleton under Stobbe reaction conditions. This methodology proved to be particularly successful, yielding a number of analogs and resulting in the preparation of 2-[(2*R*,4a*R*,8a*R*)-4a-methyldecahydro-2-naphthalenyl]butanedioic acid, wherein the desired enantioselectivity was achieved in the construction of the three stereogenic centres in the decalin skeleton of the molecule.

In order to define the pharmacophore part of costic acid, the synthesized analogs were tested for acaricidal activity against the *V. destructor*. The results are analyzed in terms of the structure-activity relationship studies of these analogs.

Key words: *Costic acid*, *Varroa destructor*, *Dittrichia viscosa*, Varroosis, *Apis mellifera*, Stobbe reaction.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ i
ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ iii
CURRICULUM VITAE v
ΠΕΡΙΛΗΨΗ vii
ABSTRACT viii
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ix
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ 1
1.1 Η Μέλισσα 1
1.2 Το παράσιτο *Varroa destructor* 2
1.3 Το φυτό Ακονιζά ή *Dittrichia viscosa* 4
1.4 Μορφολογία του Φυτού 5
1.5 Συστατικά του Φυτού 6
1.6 Το κοστικό οξύ. 6
1.7 Βιβλιογραφική αναδρομή στη σύνθεση προδρόμων ενώσεων και αναλόγων του κοστικού οξέος. 7
2. ΣΤΟΧΟΣ ΤΗΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ 10
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ 13
3.1 Εισαγωγή της δικαρβοξυλικής ομάδας μέσω συνθηκών μηλονικής σύνθεσης. 13
3.2 Παραγοντοποίηση της α,β-ακόρεστης κετόνης με την ομάδα του σουκινικού οξέος (ηλεκτρικού οξέος) 15
3.3 Παραγοντοποίηση της α,β-ακόρεστης μέθυλοδεκαλόνης με την ομάδα του σουκινικού οξέος (ηλεκτρικού οξέος) 18
3.4 Ρετροσυνθετική προσέγγιση του διοξέος 42 με βάση τη δεκαλόνη 35 20
3.5 Ποια είναι όμως η στερεοχημεία της 35; 22
3.6 Πρώτη προσπάθεια Διαστερεοεκλεκτικής Σύνθεσης της 42 24
3.7 Δεύτερη προσπάθεια διαστερεοεκλεκτικής σύνθεσης της 42. *Trans*-αναγωγή του συστήματος της α,β-ακόρεστης κετόνης 33. 25
3.8 Εναντιοεκλεκτική Σύνθεση της (4α*R*)-33 27
3.9 Παρασκευή παραγώγων που περιέχουν μία γ-μεθυλενική ή γ-μεθυλική ομάδα ως προς την πλευρική αλυσίδα. 38

3.10 Προσπάθειες παρασκευής προϊόντων αντίδρασης Stobbe με διατήρηση της γ-μεθυλενικής ομάδας. 41
4.*IN VIVO* ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΑΚΑΡΕΟΚΤΟΝΟΥ ΔΡΑΣΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗΣ *VARROA DESTRUCTOR*. 43
4.1 Αποτελέσματα μελετών σχέσης δομής-ακαρεοκτόνου δραστικότητας των παραγώγων του κοστικού οξέος. 44
5.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ 51
6.ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ 53
7.ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΝΩΣΕΩΝ ΠΟΥ ΑΝΑΦΕΡΟΝΤΑΙ ΣΤΟ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ 55
8.ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΦΑΣΜΑΤΩΝ 99
8.1 ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΦΑΣΜΑΤΩΝ NMR : 100
8.2 ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ *GC-MS*: 144
9. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 160

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Η Μέλισσα

Η μέλισσα είναι έντομο που ανήκει στην τάξη υμενόπτερα και θεωρείται από οικονομικής άποψης το πιο σπουδαίο από όλα τα έντομα για τον άνθρωπο. Η μέλισσα ζει στη Γη τουλάχιστον 15 εκατομμύρια χρόνια και θεωρείται από τους πιο παλιούς κατοίκους της. Είναι από τα ελάχιστα είδη των εντόμων που ο άνθρωπος προσπάθησε να εκμεταλλευτεί για οικονομικούς λόγους.

Η μέλισσα μελιτοφόρος (*Apis mellifera*), όπως επίσημα λέγεται η μέλισσα, εμφανίζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον στην ποικιλομορφία ως προς τις φυλές της. Το φαινόμενο αυτό οφείλεται στην προσαρμογή της σε διαφορετικές οικολογικές συνθήκες κατά τη διάρκεια των αιώνων στις περιοχές της Ευρώπης, της Ασίας και της Αφρικής.

Η κατάταξη των μελισσών βασίζεται τόσο σε μορφολογικά χαρακτηριστικά όσο και στην έκφραση της κοινωνικής ζωής τους. Τα παλαιότερα είδη μελισσών ζουν μοναχικά, όπως αυτά που ανήκουν στα γένη *Adrena* και *Megachile*. Σε ανώτερη βαθμίδα φυλογενετικής εξέλιξης ανήκουν οι ημικοινωνικές μορφές όπως αυτές που ανήκουν στο γένος *Bombus*. Τα πιο εξελιγμένα είδη μελισσών, ανήκουν στο γένος *Apis*.

Η μέλισσα *Apis mellifera* θεωρείται σχετικά νέο είδος και τα πολλά υποείδη της θεωρούνται ότι δημιουργήθηκαν κατά την Πλειστόκαινο. Η ονομασία της μέλισσας “mellifera” δηλώνει την πρακτική της μέλισσας να συλλέγει νέκταρ και να παράγει πολύ μεγάλες ποσότητες μελιού. Στο γένος Apis ανήκουν 9 είδη:[1] *Apis dorsata, Apis laboriosa, Apis binghami, Apis breviligula, Apis mellifera, Apis cerana, Apis koschevnikovi, Apis florea, Apis adreniformis*. Το 1996 εντοπίστηκε και ένα νέο είδος, το "*Apis nuluensis*".[2]

Το είδος *A. mellifera* χωρίζεται σε 27 υποείδη (φυλές), σύμφωνα με μορφομετρικά, βιογεωγραφικά κριτήρια και κριτήρια συμπεριφοράς.[3,4,5,6] Τα περισσότερα απ’ αυτά τα χαρακτηριστικά έχουν γενετική βάση, άρα μπορούμε να συμπεράνουμε ότι η γενετική ποικιλότητα των φυλών είναι μεγάλη. Ο μεγάλος αριθμός

φυλών, οφείλεται ενδεχομένως στην απομόνωση των πληθυσμών σε διαφορετικό περιβάλλον.

Βάσει των μορφομετρικών χαρακτηριστικών[7] έχει γίνει κατηγοριοποίηση σε τρεις εξελικτικές σειρές (κλάδοι) με τις οποίες ομαδοποιούνται οι φυλές της *A. mellifera*: τον κλάδο Α που συμπεριλαμβάνει υποείδη της Νότιας και Κεντρικής Αφρικής, τον κλάδο Μ που συμπεριλαμβάνει υποείδη της Βόρειας Ευρώπης, Ισπανίας, Πορτογαλίας και Βόρειας Αφρικής και τον κλάδο C που συμπεριλαμβάνει τα υποείδη της Ανατολικής Ευρώπης, Βόρειας Μεσογείου και της Μέσης Ανατολής.
Στην Ελλάδα υπάρχουν οι φυλές *A.m.adami* (Κρήτη-Ν. Αιγαίο), *A.m.carnica* (Επτάνησα), *A.m.macedonica* (Μακεδονία-Θράκη), *A.m.cecropia* (Κεντρική και Ν. Ελλάδα) και στην Κύπρο η *A.m.cypria*, σύμφωνα με στοιχεία της μορφομετρικής μελέτης του Ruttner[3].

Εικόνα 1: Μέλισσα *A.Mellifera*

1.2 Το παράσιτο *Varroa destructor*

Μία από τις κυριότερες ασθένειες του γόνου και των ενήλικων μελισσών είναι η **Βαρρόωση ή βαρρόαση ή βαρροϊκή ακαρίωση που προκαλείται από το παράσιτο *Varroa destructor*.**

Varroa destructor
(μεγέθυνση)

Εικόνα 2: *Varroa destructor*

Το παράσιτο *Varroa destructor* (Anderson & Trueman), είναι ένα εκτοπαράσιτο της μέλισσας, το οποίο για πρώτη φορά αναφέρθηκε το 1904 σε μία εργασία του Oudemans,[8] ως *Varroa jacobsoni* που εντοπίστηκε στο νησί Java, όπου παρασιτούσε στο είδος της μέλισσας *Apis cerana*. Η αναφορά αυτή πέρασε σχεδόν απαρατήρητη επειδή δεν προκαλούσε σημαντικές ζημιές στον ξενιστή της. Σε διάστημα όμως λιγότερο από 40 χρόνια μεταδόθηκε σχεδόν σε όλο τον κόσμο εκτός από την Αυστραλία. Η βασική αιτία ήταν ότι την περίοδο που η ασθένεια ήταν ελάχιστα γνωστή, το διεθνές εμπόριο μελισσών διέσπειρε το άκαρι σ' όλο σχεδόν τον κόσμο. Το 2000 οι Anderson και Trueman, μετά από μελέτη του mtDNA και αλληλουχιών Co-I γονιδίων καθώς και σειρά απο μορφολογικούς χαρακτηρισμούς πολλών πληθυσμών της *V. Jacobsoni*, διέκριναν το παράσιτο σε δύο είδη: στο είδος *Varroa jacobsoni* s.s. που παρασιτεί στην μέλισσα *Apis cerana* F. στην περιοχή της Μαλαισίας-Ινδονησίας και στο είδος *Varroa destructor*, Anderson & Trueman, που παρασιτεί στην μέλισσα *A. cerana* στην κεντρική Ασία καθώς και στην μέλισσα *A. mellifera* L. σε όλες τις υπόλοιπες περιοχές πλην της Αυστραλίας.[9]

Ο βιολογικός κύκλος του παράσιτου *Varroa destructor*, Anderson & Trueman, εξελίσσεται στο σφραγισμένο γόνο, όπου η βαρρόα βρίσκει καταφύγιο για την εναπόθεση των αυγών της, και ταυτόχρονα την κατάλληλη τροφή για την ανάπτυξη των ευαίσθητων ανώριμων σταδίων της.

Προνύμφες μολυσμένες με Varroa

Μέλισσες μολυσμένες με *Varroa*. Προφανής η επίδραση στα μορφολογικά τους χαρακτηριστικά.

Εικόνες 3 και 4: Μόλυνση με *Varroa* στις προνύμφες και στις ενήλικες μέλισσες.

Με την ολοκλήρωση της ανάπτυξής του γόνου, μαζί με τη νεαρή μέλισσα εξέρχονται από το κελί και οι νεαρές βαρρόα που έχουν συμπληρώσει την ανάπτυξή τους. Πολύ σύντομα μετεγκαθίστανται σε άλλες μέλισσες. Δείχνουν ιδιαίτερη προτίμηση στις τροφούς και τους κηφήνες και μόνο ένα ποσοστό μικρότερο του 1% παρασιτεί τις συλλέκτριες.

Οι μεμονωμένες μέλισσες που μολύνονται με βαρρόα βλάπτονται· α) από την απώλεια αιμολέμφου,[10] και β) από την οπή που προκαλείται και επιτρέπει την δημιουργία μολύνσεων και ασθενειών. Στην αρχή της μόλυνσης και για ένα μεγάλο χρονικό διάστημα στη συνέχεια, δεν παρατηρείται κανένα σύμπτωμα, επειδή η αύξηση του πληθυσμού της βαρρόα αρχικά είναι αργή. Για να γίνει αντιληπτή, το ποσοστό μόλυνσης πρέπει να ξεπερνά το 15%-20%. Όταν το ποσοστό μόλυνσης φτάνει στο 30-40%, τα συμπτώματα γίνονται περισσότερο φανερά. Τα αποτελέσματα του παρασιτισμού περιλαμβάνουν από απώλεια βάρους, μέχρι την παραμόρφωση του ξενιστή (τσαλακωμένα φτερά, απουσία φτερών, ασύμμετρα πόδια κλπ).[11,12,13]

1.3 Το φυτό Ακονιζά ή *Dittrichia viscosa*

Το φυτό *Dittrichia viscosa* (L.) W. Greuter (syn. *Inula viscosa* (L.) Aiton) ανήκει στην οικογένεια Asteraceae[14] (*Inula viscosa*: Ίνουλα η ιξώδης). Αναφέρεται στη λαϊκή ιατρική και βοτανολογία με τα κοινά ονόματα ακονιζιά ή ακονιζά, νεροκόνυζος, κονυζός, νεροκολλησιά, κολλητσαριά, ψίλιθρο και σκοτζάρι. Πιθανόν η *κόνυζα ή άρρην* του Θεόφραστου, καθώς και η *κόνυζα η μεγάλη* του Διοσκουρίδη να είναι η σημερινή ακονιζά. Είναι αειθαλής πολυετής θάμνος, ιξώδης-κολλώδης στην αφή και εύοσμος, όρθιος, πολύφυλλος και αποξυλωμένος στη βάση του. Φέρει φύλλα λογχοειδή ακέραια ή οδοντωτά και οξέα.

Απαντάται σε χέρσους, πετρώδεις τόπους σε όλη την Ελλάδα καθώς και στη Μεσογειακή Ευρώπη, Ασία και Αφρική.[15] Πρόκειται για θάμνο ιδιαίτερα επιθετικό στην κατάληψη διαταραγμένων, λόγω ανθρωπογενών δραστηριοτήτων, περιοχών με αποτέλεσμα η γεωγραφική εξάπλωση του φυτού να επεκτείνεται ταχύτατα, διότι οι υποβαθμισμένες αυτές περιοχές διευρύνονται.[16] Με περίοδο ανθοφορίας το φθινόπωρο, έχει λουλούδια με κίτρινο χρώμα. Λόγω εποχής άνθισης (Σεπτέμβριο-Οκτώβριο) είναι χρήσιμο φυτό στη μελισσοκομία αφού την εποχή αυτή αφενός η γύρη σπανίζει, αφετέρου είναι απαραίτητη για την εκτροφή γόνου και την ανανέωση του πληθυσμού των μελισσιών.[17] Θεωρείται κατεξοχήν γυρεοδοτικό φυτό.

1.4 Μορφολογία του Φυτού

Η επιφάνεια του βλαστού και των φύλλων της *D. viscosa* είναι κολλώδης και ιξώδης, επειδή το φυτό εκκρίνει στην επιφάνειά του ένα πολύπλοκο μίγμα οργανικών ουσιών, κυρίως τερπενοειδών,[18] άγλυκων φλαβονοειδών και απλών φαινολικών.[19] Τα φύλλα και οι νεαροί βλαστοί του φυτού φέρουν άμισχες και έμμισχες αδενώδεις τρίχες, οι οποίες παραμένουν λειτουργικές καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής του φύλλου, από τα πρώτα στάδια του σχηματισμού του μέχρι την πλήρη ωρίμανσή του. Δεν είναι γνωστό εάν αυτοί οι δύο τύποι εκκρίνουν τις ίδιες ή διαφορετικές ουσίες. Στην τελευταία περίπτωση οι ουσίες μπορεί να έχουν και διαφορετική λειτουργία.[20] Και τα δύο είδη τριχών διαθέτουν μια αδενώδη κεφαλή, η οποία απαρτίζεται από τρεις τύπους κυττάρων: ένα ζεύγος κυττάρων της κορυφής, ένα ζεύγος κυττάρων κάτω από αυτό και τρία ζεύγη φωτοσυνθετικών κυττάρων. Όλα τα κύτταρα της κεφαλής εκκρίνουν λιπίδια, πολυσακχαρίτες και πρωτεΐνες. Όσον αφορά στα εκκριτικά κύτταρα των αδενωδών τριχών του φυτού, τα λιπίδια εκκρίνονται μέσω πόρων που υπάρχουν στην εφυμενίδα, ενώ οι πολυσακχαρίτες συσσωρεύονται κάτω από την εφυμενίδα, η οποία αργότερα διαρρηγνύεται. Κατά συνέπεια το επιπλέον υλικό το οποίο παράγεται στη συνέχεια από τα εκκριτικά κύτταρα εκκρίνεται απευθείας στο εξωτερικό περιβάλλον.[21] Σε υποκυτταρικό επίπεδο, φαίνεται ότι στην εκκριτική λειτουργία συμμετέχουν το λείο και το αδρό ενδοπλασματικό δίκτυο, τα πλαστίδια, τα μιτοχόνδρια και η συσκευή Golgi. Το έκκριμα αναφέρεται και ως μίγμα επιεφυμενιδικών συστατικών επειδή είναι ενσωματωμένο, σε μικρότερο ή μεγαλύτερο βαθμό, στο κηρώδες εφυμενιδικό υπόστρωμα. Το επιεφυμενιδικό έκκριμα του φυτού *D. viscosa* είναι κατά μεγάλο ποσοστό (περίπου 70%) υδατοδιαλυτό.[22] Το υλικό αυτό περιορίζει τις απώλειες του νερού από την εφυμενίδα και είναι ισχυρά αλληλοπαθητικό.[23]

Dittrichia Viscosa

Εικόνα 5: *Dittrichia Viscosa*

1.5 Συστατικά του Φυτού

Λόγω των φαρμακευτικών ιδιοτήτων που παρουσιάζουν τα συστατικά του επιεφυμενιδικού εκκρίματος του φυτού, έχουν γίνει προσπάθειες απομόνωσης και ταυτοποίησης των ουσιών αυτών από πολλές ερευνητικές ομάδες. Εκτός από τα φλαβονοειδή (Πίνακας 1), έχουν ανιχνευθεί και τερπένια[24]- κυρίως σεσκιτερπενικές λακτόνες[25,26] και σεσκιτερπενικά οξέα,[34,27,28,29] τέσσερα από τα οποία είναι τα ακόλουθα: 3β-hydroxyilicic acid, 3-(R)-hydroxy-*epi*-ilicic acid, 2α-hydroxyilicic acid και 9β-hydroxy-2-oxoisocostic acid.[30] Το 1992 απομονώθηκαν 10 τριτερπένια με τη μορφή ελεύθερων αλκοολών, ή εστέρων του οξικού οξέος ή λιπαρών οξέων, τα οποία είναι: dammaradienyl acetate, taraxasteryl acetate, pseudotaraxasteryl acetate, friedelin, 3-epifriedelinol, μίγμα από λιπαρούς εστέρες της faradiol, pseudotaraxasterol, taraxasterol, λιπαροί εστέρες της 20(29)-lupene-3β,16β-diol, 3β-monoacetate της τριτερπενικής διόλης και λιπαροί εστέρες της 2-(4΄-hydroxyphenyl)-ethanol.[31] Επίσης, είναι γνωστά 14 συστατικά που απομονώθηκαν από το φυτό *D. viscosa*: 3,3΄-di-*O*-methylquercetin,[32,33] 3-*O*-acetylpadmatin,[49] 3-methylquercetin,[49] hispidulin,[49] nepetin,[34] 2-desacetoxyxanthinin,[35] inuviscolide,[51,36] 2-oxoisocostic acid,[37] ilicic acid,[38,39,40,41] viscic acid,[54,55] β-sitosterol,[42] β-sitosteryl glucoside,[58] 3,7,4΄-trimethoxy-5, 3΄-dihydroxyflavone[43] και 11α,13-dihydroinuviscolide.[44]

Σχετικές μελέτες αναφέρουν ότι τα υδατικά εκπλύματα των φύλλων του φυτού *Dittrichia viscosa* εμφανίζουν ισχυρή αλληλοπαθητική δράση έναντι φυτοπαθογόνων μυκήτων, φυτοφάγων ακάρεων και ορισμένων φυτών. Βρέθηκε ότι τα υδατικά εκπλύματα αυξάνουν τη θνησιμότητα των νυμφικών σταδίων του ακάρεως *Tetranychus urticae* Koch, ενώ δεν επηρεάζουν τη θνησιμότητα των ακμαίων αλλά ούτε και την εκκόλαψη των ωών.[45]

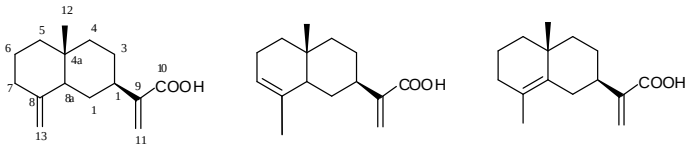
1.6 Το κοστικό οξύ.

Την τελευταία δεκαετία η ερευνητική μας ομάδα έχει επικεντρώσει τις προσπάθειές της στην χρήση φυτών από τη χλωρίδα της Κρήτης για την αντιμετώπιση ασθενειών. Στα πλαίσια αυτής της δραστηριότητας μελετήθηκε η δράση των εκχυλισμάτων της *D. viscosa,* κατά της *V. destructor* και απομονώθηκε ένα συστατικό του φυτού που είχε διακριτή δραστικότητα. Το συστατικό αυτό

απομονώθηκε και χαρακτηρίστηκε ως σεσκιτερπενικό οξύ και συγκεκριμένα το κοστικό οξύ.[46]

Η *D. viscosa* δεν είναι το μοναδικό φυτό που περιέχει κοστικό οξύ. Στη βιβλιογραφία αναφέρεται ως συστατικό και άλλων φυτών, όπως η *Nectandra citrifolia,* Rusby,[47] η *Ferula communis* L,[48] η *Laggera pterodonta* (DC.) Benth,[49] η *Nectandra membranacea* (Sw.) Griseb,[50] και η *Stevia rebaudiana* Bertoni. [51] Απαντάται επίσης και στο άλλο υποείδος της *D. viscosa,* συγκεκριμένα στη *Dittrichia graveolens* (L.) Greuter. [52]

Εκτός του κοστικού οξέος το οποίο αναφέρεται ως β-κοστικό οξύ, έχουν εντοπιστεί και χαρακτηριστεί τα α- και γ- ισομερή της ένωσης.

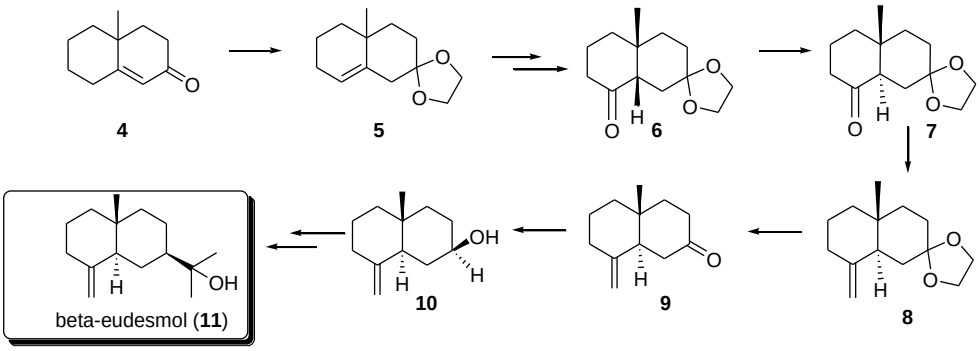


beta-Costic acid (**1**) alpha-Costic acid (**2**) gamma-Costic acid (**3**)

Σχήμα 1. Δομές του κοστικού οξέος και των ισομερών του.

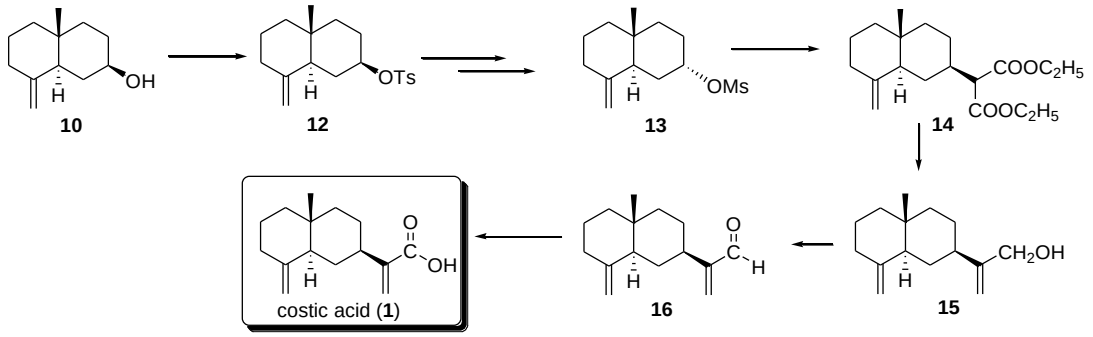
1.7 Βιβλιογραφική αναδρομή στη σύνθεση προδρόμων ενώσεων και αναλόγων του κοστικού οξέος.

Ιστορικά, η πρώτη αναφορά σε σύνθεση ενώσεων οι οποίες θεωρούνται πρόδρομες του κοστικού οξέος έγινε από την ερευνητική ομάδα του James A. Marshall το 1965[53] στα πλαίσια της σύνθεσης του σεσκιτερπένιου β-ευδεσμόλη. Η συνθετική προσέγγιση που ακολούθησαν παρουσιάζεται ακολούθως.



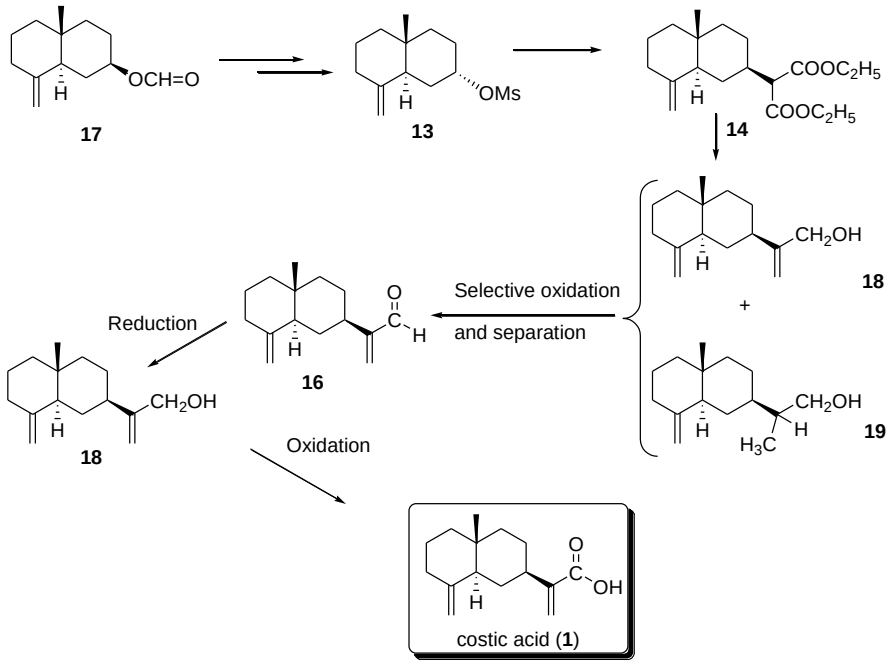
Σχήμα 2. Συνθετική προσέγγιση πρόδρομων ενώσεων του κοστικού οξέος από τους James A. Marshall και Myron T. Pike.

Χρησιμοποιώντας ενδιάμεσα από την σύνθεση αυτή οι James A. Marshall και Ronnie D. Carroll προχώρησαν στη σύνθεση σειράς ενώσεων με κοινά δομικά χαρακτηριστικά με αυτά του κοστικού οξέος και τελικά στη σύνθεση του ίδιου του κοστικού οξέος με την ακόλουθη αλληλουχία αντιδράσεων.



Σχήμα 3. Συνθετική προσέγγιση του κοστικού οξέος από τους James A. Marshall και Ronnie D. Carroll.

Τον Απρίλιο του 1966, η ερευνητική ομάδα του J. A. Marshall δημοσίευσε την ολική στερεοεκλεκτική σύνθεση μιας σειράς σεσκιτερπενίων συμπεριλαμβανομένων του κοστικού οξέος και της κοστόλης.[54]



Σχήμα 4. Ολική στερεοεκλεκτική σύνθεση του κοστικού οξέος από τους J. A. Marshall, M. T. Pike και R. D. Carroll.

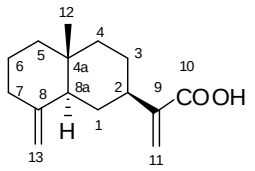
Με μία ευφυή προσέγγιση, οι ερευνητές επεξεργάστηκαν τον μηλονικό εστέρα **14** με $LiAlH_4$ απομονώνοντας ένα μίγμα κοστόλης (**18**) και διϋδροκοστόλης από το οποίο οξειδώθηκε επιλεκτικά (MnO_2) η κοστόλη σε κοστάλη (**16**) την οποία μπόρεσαν να διαχωρίσουν από την **19**. Αναγωγή της **16** ($LiAlH_4$) απέδωσε καθαρή κοστόλη **18** η οποία οξειδώθηκε (Ag_2O) δίνοντας το κοστικό οξύ.

2. ΣΤΟΧΟΣ ΤΗΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

Το προτεινόμενο έργο περιλαμβάνει την σύνθεση απλών παραγώγων του κοστικού οξέος (CA), που θα εμπεριέχουν στην δομή τους συνδυασμούς δομικών στοιχείων του CA και άλλων απλών, δραστικών κατά της βαρρόα, χαρακτηριστικών ομάδων όπως μικρού μοριακού βάρους δικαρβοξυλικά οξέα.

Βασικός στόχος του ερευνητικού έργου είναι, μέσω μελετών σχέσης δομής-βιολογικής δράσης, να προσδιοριστούν παράγωγα του CA με βέλτιστες ιδιότητες αντιμετώπισης της βαρρόα.

Οι αλληλεπιδράσεις μιας βιοδραστικής ουσίας με τον υποδοχέα της, γνωστές ως *φαρμακοδυναμική*, είναι πολύ συγκεκριμένες και δίνουν την δυνατότητα αναγνώρισης των δομικών ομάδων της ουσίας που συνεισφέρουν στην αλληλεπίδραση φαρμάκου-υποδοχέα δηλαδή του **φαρμακοφόρου** (pharmacophore).
Τα υπόλοιπα άτομα στη ένωση αναφοράς αποτελούν το **αυξοφόρο** (auxofore).
Εάν η απομάκρυνση μιας ομάδας συνεπάγεται μείωση της ισχύος του φαρμάκου, τότε η ομάδα θεωρείται φαρμακοφόρος. Εάν η απομάκρυνση μιας άλλης ομάδας συνεπάγεται αύξηση της ισχύος, η ομάδα θεωρείται **αυξοφόρος και συμμετέχουσα στην δέσμευση με τον υποδοχέα**. Τέλος εάν η απομάκρυνση μιας τρίτης ομάδας δεν επηρεάζει την ισχύ του φαρμάκου, τότε η ομάδα καταχωρίζεται ως **αυξοφόρος χωρίς συμμετοχή στην δέσμευση του φαρμάκου με τον υποδοχέα**.
Η βασική μεθοδολογία για τον εντοπισμό των φαρμακοφόρων και αυξοφόρων ομάδων σε μία βιοδραστική ουσία είναι η σύνθεση μιας εκτεταμένης σειράς αναλόγων του βιοδραστικού μορίου όπου σε κάθε ανάλογο θα έχουν τροποποιηθεί μία ή περισσότερες χαρακτηριστικές ομάδες της μητρικής ένωσης.



ΚΟΣΤΙΚΟ ΟΞΥ (1)

2-[4a-methyl-8-methylenedecahydro-2-naphthalenyl]acrylic acid

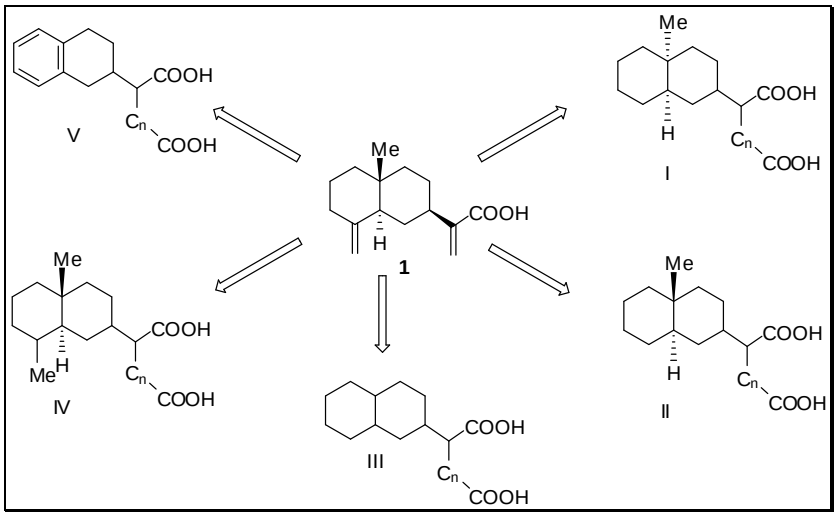
Σχήμα 5. Δομή του κοστικού οξέος.

Οι βασικές χαρακτηριστικές ομάδες που εντοπίζονται στο μόριο του β-κοστικού οξέος είναι οι ακόλουθες:

1. Ο *trans* δεκαλινικός σκελετός του σεσκιτερπενίου
2. Η μεθυλομάδα στον C-4α, ο οποίος έχει (*R*) στερεοαπεικόνιση
3. Η πλευρική αλυσίδα του ακρυλικού οξέος, η οποία συνδέεται με το δεκαλινικό σκελετό με τον C-2
4. Η μεθυλενομάδα στον C-8, η οποία αποτελεί ένα μη σταθερό εξωκυκλικό διπλό δεσμό.

Σε πρόσφατα άρθρα ανασκόπησης αναφέρεται ότι το φορμικό οξύ,[55,56] αλλά ιδιαίτερα το οξαλικό οξύ,[57,58,59] δρουν κατά του παρασίτου *Varroa destructor*. Με βάση την πληροφορία αυτή αποφασίστηκε να αντικατασταθεί η 2-ακρυλική πλευρική αλυσίδα κυρίως από δικαρβοξυλικές ομάδες. Οι ομάδες αυτές έπρεπε να είναι μεγέθους παρόμοιου με αυτό της ακρυλικής ομάδας, όπως η ομάδες του μηλονικού ή του σουκινικού (ηλεκτρικού οξέος). Συνολικά, αποφασίστηκε να τροποποιηθούν οι ακόλουθοι δομικοί παράγοντες του μορίου.

1. Η διαμόρφωση του *trans* δεκαλινικού σκελετού, με τη σύνθεση *cis* δεκαλινικών παραγώγων (I).
2. Η παρουσία του δεκαλινικού συστήματος, με τη σύνθεση των αντίστοιχων τετραλινικών παραγώγων (V).
3. Η παρουσία της 4α-μεθυλομάδας με τη σύνθεση 4α-νορμέθυλοδεκαλινικών παραγώγων (III).
4. Η παρουσία της 8-μεθυλενικής ομάδας με την σύνθεση 8-νορμέθυλοδεκαλινικών παραγώγων ή την σύνθεση 8-μέθυλο (αντί των 8-μεθυλενο) παραγώγων (IV).
5. Η παρουσία της 2-ακρυλικής ομάδας με τη σύνθεση 2-δικαρβόξυλο-χαρακτηριστικών ομάδων.

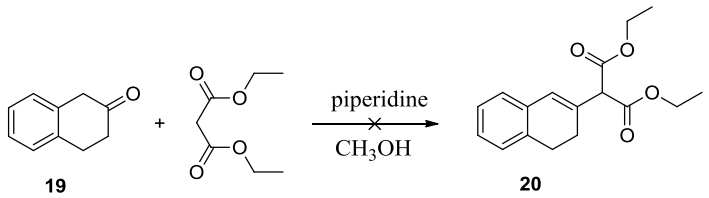


Σχήμα 6. Σχηματική απεικόνιση μορίων-στόχων, αναλόγων του κοστικού οξέος.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ

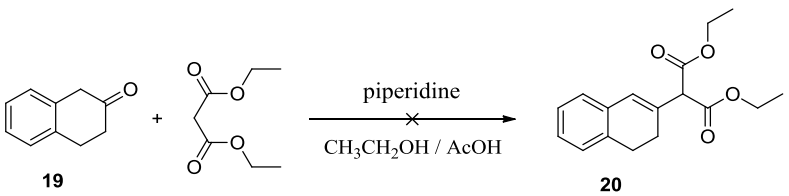
3.1 Εισαγωγή της δικαρβοξυλικής ομάδας μέσω συνθηκών μηλονικής σύνθεσης

Η απλούστερη δικαρβοξυλική ένωση η οποία περιέχει μεθυλενομάδα με όξινα υδρογόνα είναι το μηλονικό οξύ. Το αντιδραστήριο συνήθως χρησιμοποιείται με την προστατευμένη του μορφή ως διεστέρας και δρα ως πυρηνόφιλο είτε σε αντιδράσεις τύπου S_N^2, είτε σε προσθήκες σε καρβονυλικές ενώσεις. Οι αντιδράσεις με καρβονυλοενώσεις είναι συνήθως επιτυχείς με αλδεϋδομάδες ενώ οι αντιδράσεις με κετόνες έχουν πολύ χαμηλή απόδοση.[60] Η προσέγγιση λοιπόν της μηλονικής σύνθεσης άρχισε με τη χρήση απλών αναλόγων της β-τετραλόνης **(19)** και της 2-δεκαλόνης **(22)** με στόχο τη διερεύνηση της απόδοσης των αντιδράσεων αυτών ώστε να συμπεριληφθούν σε συνθετικά σχήματα που θα οδηγούσαν σε ανάλογα του κοστικού οξέος. Η πρώτη προσπάθεια πραγματοποιήθηκε υπό άνυδρες συνθήκες, σε θερμοκρασία αναβρασμού (reflux), για 2 ημέρες αλλά δεν έδωσε επιθυμητά προϊόντα.



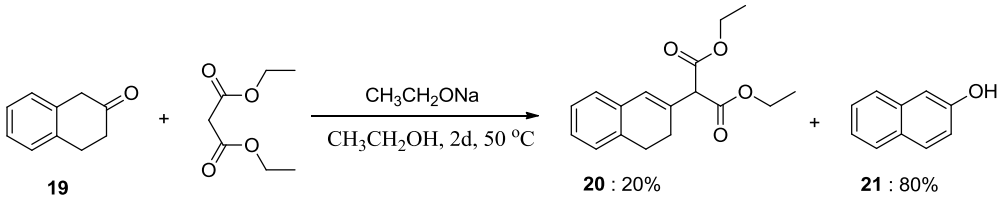
Σχήμα 7. Πρώτη προσπάθεια σύνθεσης μηλονικού παραγώγου της *β*-τετραλόνης (**20**), με απευθείας προσβολή του ανιόντος του μηλονικού εστέρα στην κετόνη.

Το ίδιο αποτέλεσμα είχε και η δεύτερη προσπάθεια η οποία πραγματοποιήθηκε υπό άνυδρες συνθήκες, σε αυτόκλειστο στους 120°C, για 10 ώρες.



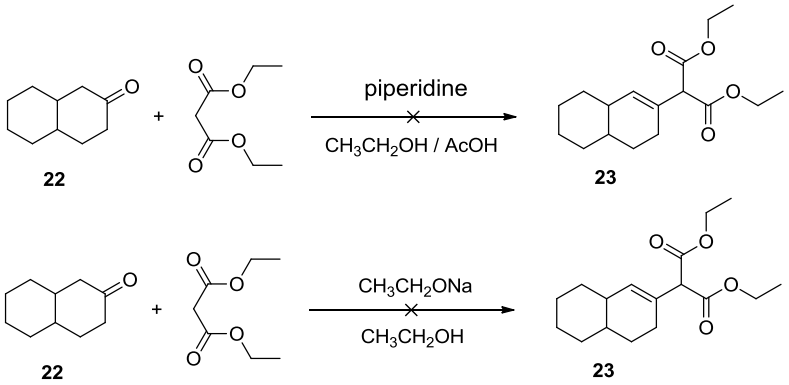
Σχήμα 8. Δεύτερη προσπάθεια σύνθεσης μηλονικού παραγώγου της *β*-τετραλόνης (**20**), με απευθείας προσβολή του ανιόντος του μηλονικού εστέρα στην κετόνη.

Η χρήση του αιθοξειδίου του νατρίου σαν βάση[61] έδωσε το επιθυμητό προϊόν **20** αλλά σε μικρό (20%) ποσοστό, με την β-ναφθόλη **(21)** να αποτελεί το κύριο προϊόν της αντίδρασης, λόγω του εκτεταμένου συζυγιακού συστήματος που ευνοείται να σχηματιστεί. Τροποποιήσεις στις συνθήκες της αντίδρασης (θερμοκρασία / χρόνος αντίδρασης) δεν βελτίωσαν την απόδοση του προϊόντος.[62]



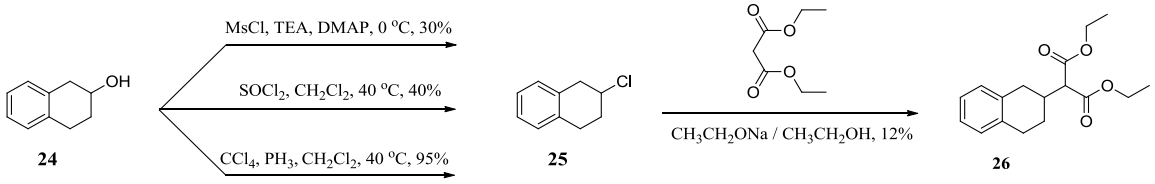
Σχήμα 9. Τρίτη προσπάθεια σύνθεσης μηλονικού παραγώγου της *β*-τετραλόνης (**20**), με απευθείας προσβολή του ανιόντος του μηλονικού εστέρα στην κετόνη.

Τα ανωτέρω αποτελέσματα μας οδήγησαν στην υπόθεση ότι η παρουσία του αρωματικού δακτυλίου της τετραλόνης διευκόλυνε την δημιουργία αρωματικού τύπου παραπροϊόντων όπως η β-ναφθόλη **(21)**.[63] Για να επιβεβαιωθεί η υπόθεση αυτή επιλέχθηκε σαν αρχικό αντιδραστήριο η 2-δεκαλόνη **(22)**. Δεδομένου ότι, στην φάση αυτή των πειραμάτων, δεν ενδιέφερε η στερεοεκλεκτικότητα σχηματισμού των προϊόντων αλλά η δυνατότητα πραγματοποίησης των αντιδράσεων, χρησιμοποιήθηκε εμπορικά διαθέσιμη *cis*/*trans* 2-δεκαλόνη **(22)** (Aldrich, USA). Ακολούθησαν αντιδράσεις σε συνθήκες που χρησιμοποιήθηκαν και στην τετραλόνη, χωρίς όμως επιθυμητό αποτέλεσμα.



Σχήμα 10. Προσπάθειες σύνθεσης μηλονικού παραγώγου της 2-δεκαλόνης (**23**), με απευθείας προσβολή του ανιόντος του μηλονικού εστέρα στην κετόνη.

Σε μία τελευταία προσπάθεια χρήσης της μηλονικής ομάδας στην παρασκευή των επιθυμητών παραγώγων, η δεκαλόνη **22** μετατράπηκε στο αντίστοιχο χλωρίδιο **(25)**.[64] Με στόχο την επίτευξη μιας πυρηνόφιλης υποκατάστασης του χλωριδίου από τη μηλονική ομάδα, το μηλονικό ανιόν σχηματίστηκε με κλασικές συνθήκες (EtONa / EtOH) αλλά η αντίδραση απέδωσε το μηλονικό ανάλογο με πολύ μικρό ποσοστό ως μίγμα με (κυρίως) προϊόντα απόσπασης. Αξίζει να αναφερθεί ότι η αλκοόλη, εκτός του χλωριδίου, μετατράπηκε σε μέζυλοσουλφονικό εστέρα.[65] Το ενδιαφέρον στην αντίδραση αυτή είναι ότι το κύριο προϊόν δεν ήταν ο μέζυλοσουλφονικός εστέρας αλλά το χλωρίδιο, σαν αποτέλεσμα μιας γνωστής *in situ* υποκατάστασης του ενδιάμεσου τολουολοσουλφονικού εστέρα από το ιόν του χλωριδίου το οποίο απελευθερώνεται κατά την αντίδραση.[66] Μετά τα τελευταία, μάλλον απογοητευτικά αποτελέσματα, η προσπάθεια χρήσης της μηλονικής ομάδας ως synthon για την παρασκευή των διοξέων εγκαταλείφθηκε.



Σχήμα 11. Συνθετική προσέγγιση μηλονικού παραγώγου της *β*-τετραλόλης (**24**), με τη χρήση του αντίστοιχου χλωριδίου.

3.2 Παραγοντοποίηση της α,β-ακόρεστης κετόνης με την ομάδα του σουκινικού οξέος (ηλεκτρικού οξέος)

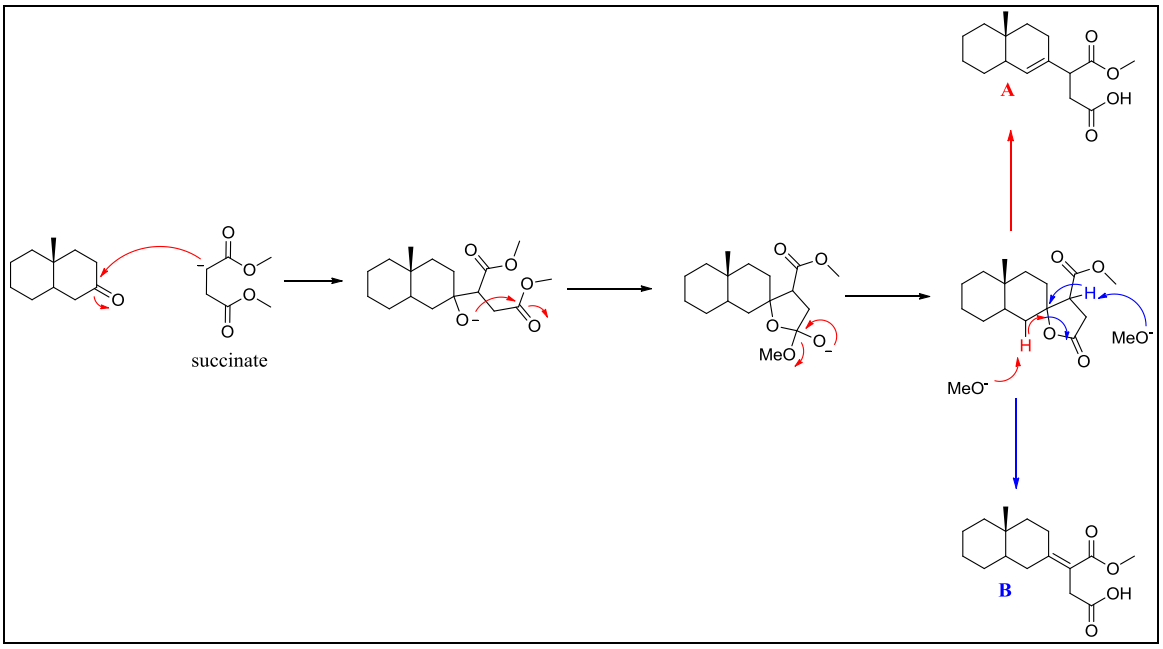
Με βάση τα δεδομένα της προηγούμενης παραγράφου, η προσέγγιση της προσθήκης του δικαρβοξυλικού οξέος με την μορφή της μηλονικής ομάδας δεν είχε κάποιο αξιολογήσιμο αποτέλεσμα. Ως εναλλακτική λύση θεωρήθηκε η εισαγωγή, του κατά ένα άνθρακα μεγαλύτερου, ομόλογου δι-οξέος δηλαδή του σουκινικού ή ηλεκτρικού οξέος.

Η επιλογή αυτή έχει τα εξής πλεονεκτήματα:

1. Διατηρεί την παρουσία της ομάδας του διοξέος η οποία έχει επιλεγεί ως πιθανό φαρμακοφόρο των παραγώγων του κοστικού οξέος.
2. Διατηρεί το μέγεθος της πλευρικής αλυσίδας στη βασική μονάδα του δεκαλινικού σκελετού.

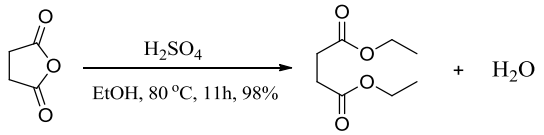
3. Έχει τη δυνατότητα να εισαχθεί στο δεκαλινικό σύστημα με διαφορετική συνθετική μεθοδολογία και μηχανισμό αντίδρασης, σε σχέση με αυτές της μαλονικής σύνθεσης.

Σαν βασική αντίδραση ενσωμάτωσης του σουκινικού οξέος στο δεκαλινικό σύστημα επιλέχθηκε η αντίδραση **Stobbe**. Η συμπύκνωση αυτή μεταξύ καρβονυλοενώσεων και του ανιόντος του σουκινικού διεστέρα περιλαμβάνει, όπως αρχικά προτάθηκε από τους W.S. Johnson *et al.*,[67] την προσβολή του καρβονυλίου από το καρβανιόν, μία δεύτερη προσβολή του αλκοξειδικού ανιόντος στο καρβονύλιο της εστερικής ομάδας και την δημιουργία σπειρολακτόνης. Το ενδιάμεσο αυτό αποπρωτονιώνεται από το προκύπτον μεθοξείδιο με αποτέλεσμα τη δημιουργία ολεφινικού δεσμού και την απελευθέρωση του καρβοξυλικού ανιόντος. Το συνολικό αποτέλεσμα της αντίδρασης είναι ο σχηματισμός του προϊόντος συμπύκνωσης με την μορφή του μονο-οξέος.[68,69,70]



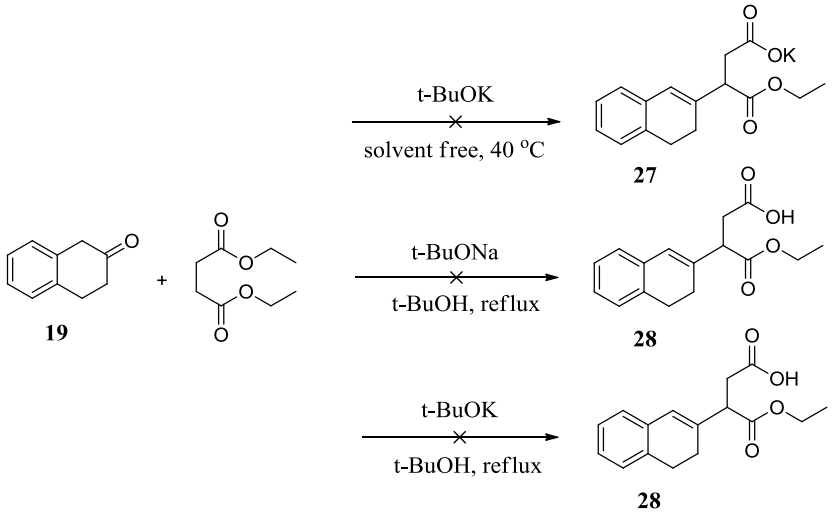
Σχήμα 12. Μηχανισμός αντίδρασης συμπύκνωσης Stobbe.

Η προσέγγιση αυτή άρχισε με την παρασκευή του σουκινικού διεστέρα με χρήση του σουκινικού ανυδρίτη.[71,72]



Σχήμα 13. Παρασκευή του σουκινικού διεστέρα, χαρακτηριστικού αντιδραστηρίου της αντίδρασης Stobbe.

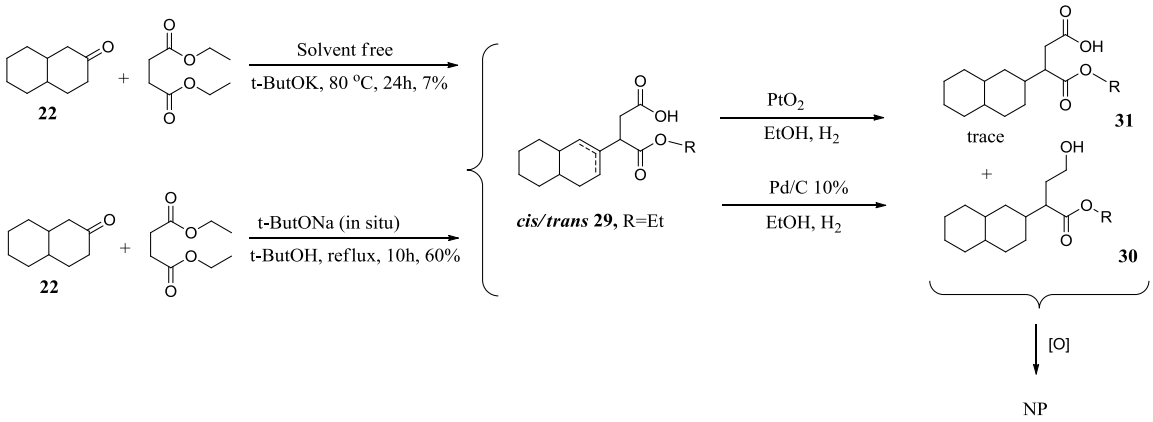
Ακολούθησε σειρά πειραμάτων συμπύκνωσης με αρχική ύλη την β-τετραλόνη **(19)**, χωρίς όμως αποτέλεσμα. Και στην περίπτωση αυτή το μοναδικό παραπροϊόν ήταν η β-ναφθόλη **(21)**.



Σχήμα 14. Προσπάθειες συμπύκνωσης Stobbe με την *β*-τετραλόνη.

Οι πρώτες προσπάθειες συμπύκνωσης με την 2-δεκαλόνη (**22**) έδωσαν σε ελάχιστο ποσοστό τα ισομερή ολεφινικά προϊόντα **29** της αντίδρασης τα οποία, στη συνέχεια έδωσαν σε ίχνη το επιθυμητό προϊόν της καταλυτικής υδρογόνωσης. Στην περίπτωση όμως του in situ t-βουτοξειδίου του νατρίου ελήφθη το επιθυμητό ενδιάμενο **29** σε καλό ποσοστό (60%). **Αξίζει να αναφερθεί στο σημείο αυτό ότι, όπως διαπιστώσαμε στα επόμενα στάδια της σύνθεσης, όταν το ολεφινικό ενδιάμεσο είναι σε μορφή μόνο-οξέος, η οποιαδήποτε προσπάθεια να αναχθεί ο διπλός δεσμός οδηγεί σε αποσύνθεση της ένωσης.** Μελέτες με GC/MS έδειξαν την παρουσία και της αντίστοιχης αλκοόλης **30** στο μίγμα των προϊόντων. Η μετατροπή αυτή των καρβοξυλικών οξέων στις αντίστοιχες αλκοόλες κάτω από συνθήκες

καταλυτικής υδρογόνωσης έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία.[73] Τελικά απομονώθηκε ένα μικρό ποσό της **31**, η οποία χρησιμοποιήθηκε στις μελέτες δομής δραστικότητας.

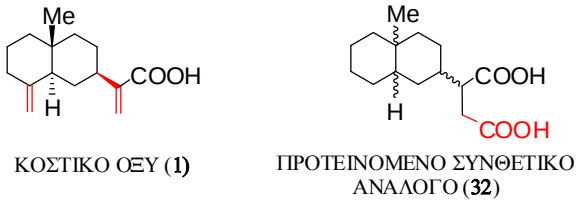


Σχήμα 15. Συμπύκνωση Stobbe με τη 2-δεκαλόνη προς δημιουργία παράγωγων διοξέων.

Δεδομένης της πολυπλοκότητας του μίγματος και της αποτυχίας της επανοξείδωσης της αλκοόλης **30** σε οξύ (Jones, ή Pd/C 10%, ή $KMnO_4$) κρίθηκε ότι η διαδικασία αυτή ήταν πέραν του σκοπού της συνθετικής μελέτης που επιδιώκαμε.

3.3 Παραγοντοποίηση της α,β-ακόρεστης μέθυλοδεκαλόνης με την ομάδα του σουκινικού οξέος (ηλεκτρικού οξέος)

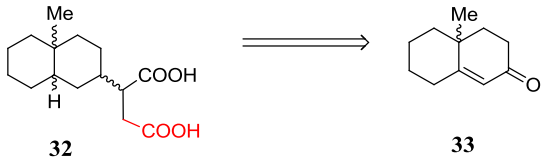
Χρησιμοποιώντας τη συσσωρευμένη εμπειρία των προηγούμενων αντιδράσεων αποφασίσαμε την σύνθεση ενός αναλόγου του κοστικού οξέος το οποίο θα περιείχε την πλευρική αλυσίδα του σουκινικού οξέος καθώς και τη μεθυλομάδα στο σημείο σύντηξης των δακτυλίων, όπως αυτή εμφανίζεται στο κοστικό οξύ. Η ένωση αυτή περιέχει όλα τα χαρακτηριστικά του δεκαλινικού δακτυλίου του κοστικού οξέος πλην της εξωκυκλικής C-8 μεθυλενομάδας.



Σχήμα 16. Προτεινόμενο συνθετικό ανάλογο **32** του κοστικού οξέος.

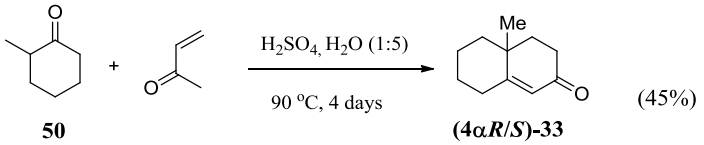
Η ρετροσυνθετική ανάλυση της ένωσης στόχου υπέδειξε ότι το βασικό ενδιάμεσο της σύνθεσης είναι η α,β-ακόρεστη κετόνη **33,** μία ένωση κλειδί και στις συνθετικές

προσεγγίσεις του Marshall, η οποία είναι δυνατόν να συντεθεί με κλασικές αντιδράσεις κυκλοποίησης τύπου Robinson annelation.



Σχήμα 17. Ρετροσυνθετική προσέγγιση παράγωγου μορίου-στόχου του κοστικού οξέος (**32**).

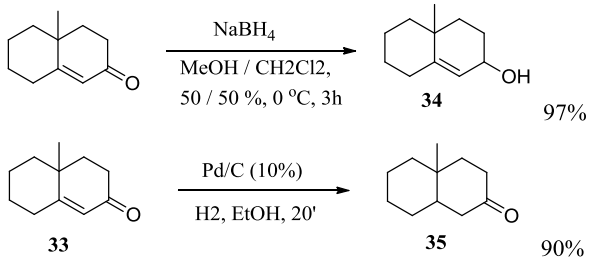
Υπάρχει ήδη στη βιβλιογραφία δημοσιευμένη η εναντιοεκλεκτική σύνθεση της **33**.[74] Η σύνθεση όμως αυτή αφ' ενός μεν χρησιμοποιεί εξειδικευμένα αντιδραστήρια, αφ' ετέρου δε περιλαμβάνει σειρά συνθετικών σταδίων μέτριας απόδοσης. Προτιμήθηκε λοιπόν αρχικά η μη εναντιοεκλεκτική σύνθεση με σκοπό τη διερεύνηση των συνθηκών των συνθετικών αντιδράσεων. Η ερευνητική μας ομάδα τροποποίησε τις συνθήκες σύνθεσης της **33** όπως αυτή αναφέρεται από τους Heathcock *et al.*[75] αυξάνοντας την θερμοκρασία της αντίδρασης στους 90°C, οπότε ο χρόνος αντίδρασης μειώθηκε στις 4 ημέρες αντί για επτά και η απόδοση αυξήθηκε από 38 σε 45%.



Σχήμα 18. Κυκλοποίηση Robinson για τη σύνθεση της ένωσης (4α*R*/*S*)-**33**, με όξινες συνθήκες.

Το επόμενο ερώτημα που τέθηκε ήταν το εάν η αντίδραση **Stobbe** θα έπρεπε να πραγματοποιηθεί απ' ευθείας στην (4α*R*/*S*)-**33** ή στο προϊόν αναγωγής του ολεφινικού δεσμού.

Πειράματα εκλεκτικής αναγωγής της (4α*R*/*S*)-**33** έδειξαν ότι η χρήση συνθηκών καταλυτικής υδρογόνωσης είχε σαν αποτέλεσμα την αναγωγή του διπλού δεσμού άνθρακα άνθρακα, ενώ η χρήση πολικών αναγωγικών όπως το βοροϋδρίδιο του νατρίου ανήγαγαν εκλεκτικά τον πολικότερο καρβονυλικό δεσμό. [76,77,78] Και οι δύο αντιδράσεις πραγματοποιήθηκαν με πολύ υψηλές αποδόσεις.

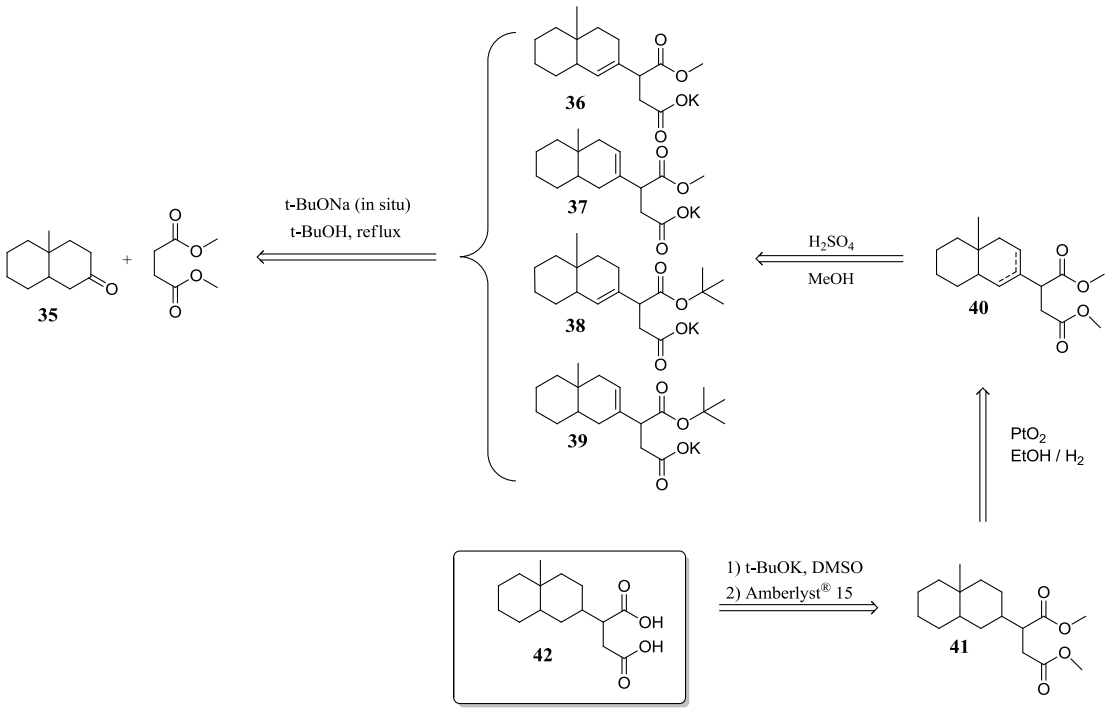


Σχήμα 19. Αποτελέσματα εκλεκτικής αναγωγής της ένωσης (4α*R*/*S*)-**33**.

3.4 Ρετροσυνθετική προσέγγιση του διοξέος 42 με βάση τη δεκαλόνη 35

Η θεωρητική μας προσέγγιση στη **42** σχεδιάστηκε ως εξής: Αντίδραση της 4α-μέθυλοδεκαλόνης **35** σε συνθήκες συμπύκνωσης Stobbe θα έδινε το επιθυμητό προϊόν με την μορφή του **μονομέθυλο** εστέρα. Όπως εντοπίστηκε όμως σε προκαταρκτικά πειράματα, και μάλιστα σε μεγάλο ποσοστό, σχηματίζεται και ο μόνο-t-**βούτυλο** εστέρας που προέκυψε σαν αποτέλεσμα μετεστεροποίησης η οποία αναμένεται δεδομένων των ισχυρά βασικών συνθηκών της αντίδρασης. *Το μίγμα των προϊόντων θα ήταν ιδιαίτερα πολύπλοκο γιατί επιπλέον ο σχηματιζόμενος διπλός δεσμός αναμένεται να εμφανιστεί ως ενδοκυκλικός στις δύο πιθανές θέσεις ως προς τον C-2.*

Η δυσκολία αυτή θα μπορούσε να υπερκεραστεί με την ακόλουθη πρακτική: Το μίγμα των προϊόντων **36/37** και **38/39** θα υποβάλλονταν σε κατεργασία με θερμή μεθανόλη παρουσία οξέος για να δώσει τους διμέθυλο-εστέρες **40**. Υδρογόνωση του μίγματος **40** παρουσία καταλύτη Adams θα έδινε το κορεσμένο προϊόν **41** ως μίγμα διαστερεομερών. Στη συνέχεια οι εστέρες θα αποπροστατεύονταν παρουσία του συστήματος t-BuOK / DMSO και το προκύπτον διανιόν θα πρωτονιώνονταν παρουσία όξινης ρητίνης. Ως ρητίνη τελικά επιλέχθηκε η Amberlyst® 15 (Aldrich, USA).[79]

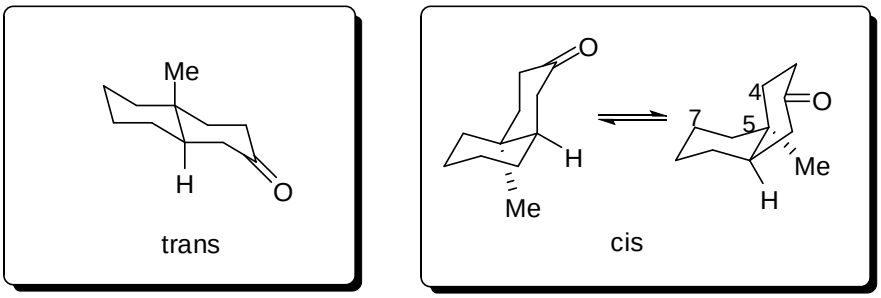


Σχήμα 20. Ρετροσυνθετική προσέγγιση του επιθυμητού διοξέος **42**.

3.5 Ποια είναι όμως η στερεοχημεία της 35;

Η καταλυτική υδρογόνωση της **33** η οποία δίνει την **35** δημιουργώντας ένα νέο στερεογονικό κέντρο (ένα θέμα το οποίο θα μελετηθεί σε επόμενη παράγραφο), ενέχει τις συνθήκες σχηματισμού είτε του *cis* είτε του *trans* διαστερεομερούς. Βιβλιογραφικά δεδομένα που αναφέρονται στην συμβατική υδρογόνωση της **33**[80,81] ή τη χρήση $HCOONH_4$ / 10% Pd/C[82] υποστηρίζουν ότι οι αναγωγές αυτές πραγματοποιούνται με μετατροπή της **33** σε 100% *cis* προϊόν. Κάτω από τις συνθήκες αναγωγής που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία παραλήφθηκε ένα μίγμα προϊόντων των οποίων το φάσμα ^{13}C NMR περιείχε διπλάσιο αριθμό κορυφών για τους άνθρακες από τον αναμενόμενο.

Η εξήγηση στην παρατήρηση αυτή δίνεται από μία ιδιαίτερα εμπεριστατωμένη μελέτη NMR μίας σειράς δεκαλονών [83] η οποία περιλάμβανε και την ένωση **33**. Στη μελέτη αυτή αναφέρονται οι τιμές που καταγράφηκαν στα φάσματα ^{13}C NMR της *cis* και της *trans* μορφής της **35** και αναφέρεται χαρακτηριστικά: «*Τα φάσματα ^{13}C NMR για τις ενώσεις της σειράς trans, που μετρήθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου, έδειξαν 10 οξείες κορυφές για τους άνθρακες του δεκαλονικού σκελετού, σε συμφωνία με την ύπαρξη μιας διαμόρφωσης. Στην περίπτωση της σειράς cis, τα φάσματα ^{13}C NMR εμφάνισαν οξεία σήματα μόνο για επτά άνθρακες του δεκαλονικού σκελετού, ενώ οι C-4, C-5 και C-7 παρουσίασαν σήματα χαμηλής έντασης και διευρυμένου πλάτους γραμμής, υποδεικνύοντας την ύπαρξη ισορροπίας μεταξύ των δύο δυνατών cis μορφών*».



Σχήμα 21. Στερεοχημικές διαμορφώσεις της ένωσης **35**.

Η καταγραφή των σημάτων συντονισμού στο φάσμα ^{13}C NMR της ένωσης **35** έδειξε, όπως φαίνεται και από τον ακόλουθο Πίνακα, ότι το μίγμα που απομονώθηκε περιλαμβάνει το *cis* και το *trans* διαστερεομερές (και σύμφωνα με τις ολοκληρώσεις του φάσματος πρωτονίου, σε αναλογία 3:1. Επανειλημμένες προσπάθειες για την διαχωρισμό των δύο διαστερεομερών δεν υπήρξαν επιτυχείς

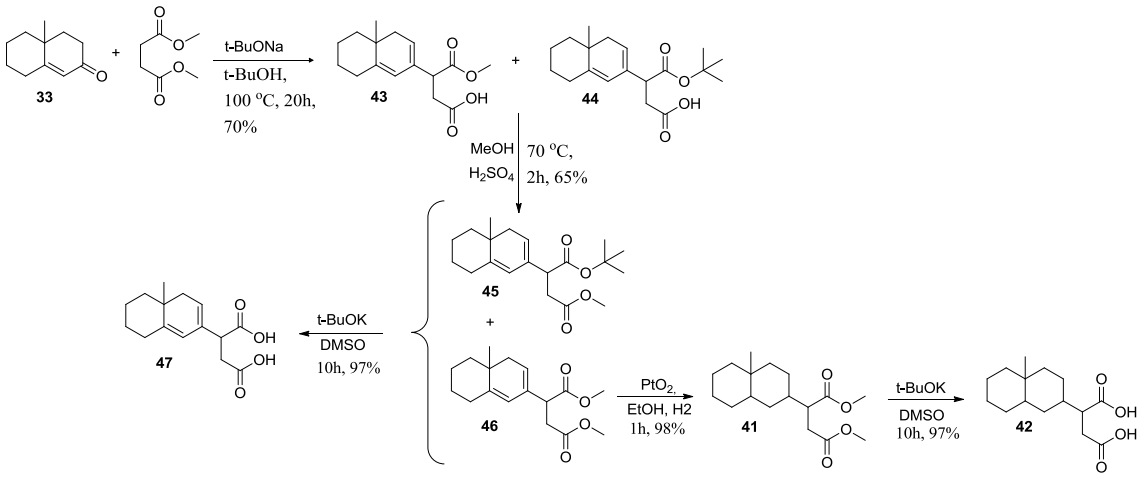
Πίνακας 1. Φασματοσκοπικά δεδομένα ^{13}C NMR για τις *cis* και trans 10-μέθυλο-2-δεκαλόνες.

Carbon Numbering*	*Trans* 10-methyl decalone	*Cis* 10-methyl decalone	Compound **35**
C-1	44.99		44.94
C-2	211.81		211.54
C-3	38.26		38.21
C-4	41.08		41.02
C-5	40.37		40.31
C-6	21.61		21.48
C-7	26.03		26.00
C-8	29.01		28.95
C-9	44.69 (d)		44.63
C-10	33.14 (s)		33.08 (s)
CH_3	14.93		14.87
C-1		44.22	44.13
C-2		212.77	212.40
C-3		37.80	37.70
C-4		32.97 (br)	32.91 (br)
C-5		37.09 (br)	37.04 (br)
C-6		21.57	21.54
C-7		24.95 (br)	24.90 (br)
C-8		28.87	28.80
C-9		43.98 (d)	43.90
C-10		32.53 (s)	32.50 (s)
CH_3		27.20	27.14

* Αρίθμηση ανθράκων με βάση τους Maio *et al*. *Magn. Reson. Chem*,. **2000**, *38*, 108–114 (παραπομπή 83).

3.6 Πρώτη προσπάθεια Διαστερεοεκλεκτικής Σύνθεσης της 42

Δεδομένου ότι η καταλυτική υδρογόνωση της **33** δίνει την **35** με *cis* <u>και</u> *trans* στερεοχημεία αποφασίστηκε να ακολουθηθεί μία εναλλακτική συνθετική πορεία όπου η στεροχημεία του άνθρακα **4α** θα καθορίζονταν σε μεταγενέστερο στάδιο. Η προσέγγιση αυτή παρουσιάζεται στο ακόλουθο σχήμα:



Σχήμα 22. Πρώτη προσπάθεια διαστερεοεκλεκτικής σύνθεσης τ ης ένωσης **42**.

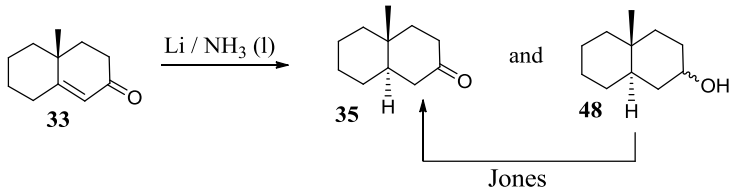
Αποφασίστηκε κατ' αρχήν να μην πραγματοποιηθεί η εναντιοεκλεκτική σύνθεση της **42.** Για το λόγο αυτό χρησιμοποιήθηκε η ρακεμική **33,** η οποία κάτω από τις συνθήκες της αντίδρασης Stobbe έδωσε το αναμενόμενο μίγμα του μέθυλο και t-βούτυλο μονοεστέρα. Και στις δύο ενώσεις (**43** και **44**) το διενικό σύστημα εμφανίστηκε ως ενδοκυκλικό. Επεξεργασία του μίγματος με μεθανόλη/θειικό οξύ έδωσε τους επιθυμητούς διεστέρες **45** και **46.** Ακολούθησε διαχωρισμός των εστέρων και καταλυτική υδρογόνωση της **46** που έδωσε τη **41** ως μίγμα 16 πιθανών διαστερεομερών (συμπεριλαμβανομένων και των εναντιομερών), καθώς και αποπροστάσια αυτής οδήγησε στο διοξύ **42** επίσης ως μίγμα 16 πιθανών διαστερεομερών, συμπεριλαμβανομένων και των εναντιομερών τους, η στερεοχημεία των οποίων έμενε να καθοριστεί σε μεταγενέστερα στάδια. Βασική υδρόλυση των **45** και **46** έδωσε την **47** επίσης ως μίγμα 4 πιθανών διαστερεομερών, συμπεριλαμβανομένων και των εναντιομερών τους.[84]

3.7 Δεύτερη προσπάθεια διαστερεοεκλεκτικής σύνθεσης της 42. *Trans*-αναγωγή του συστήματος της α,β-ακόρεστης κετόνης 33.

Με δεδομένη την πολυπλοκότητα των μιγμάτων των **41** και **47** κατέστη αναγκαία η υιοθέτηση μιας εναλλακτικής σύνθεσης όπου θα ήταν δυνατόν να αποφευχθεί η δημιουργία μιγμάτων κατά την αναγωγή των διπλών δεσμών.

Με δεδομένη επίσης την *trans*-στερεοχημεία του μεθυλίου και του υδρογόνου στις θέσεις σύντηξης των δακτυλίων του κοστικού οξέος, αναζητήθηκε η κατάλληλη μεθοδολογία η οποία θα επιτύγχανε την αναγωγή του διπλού δεσμού στην **33** με ταυτόχρονη *trans* διευθέτηση του εισαγόμενου 8α-υδρογόνου ως προς το 4α-μεθύλιο. Η προτεινόμενη σύνθεση θα έδινε το επιθυμητό προϊόν με τρία στερεογονικά κέντρα και ενδεχομένως με διαστερεοεκλεκτικότητα που θα οδηγούσε στο διαστερεομερές που αντιστοιχεί σε αυτό του βασικού ανθρακικού σκελετού του β- κοστικού οξέος.

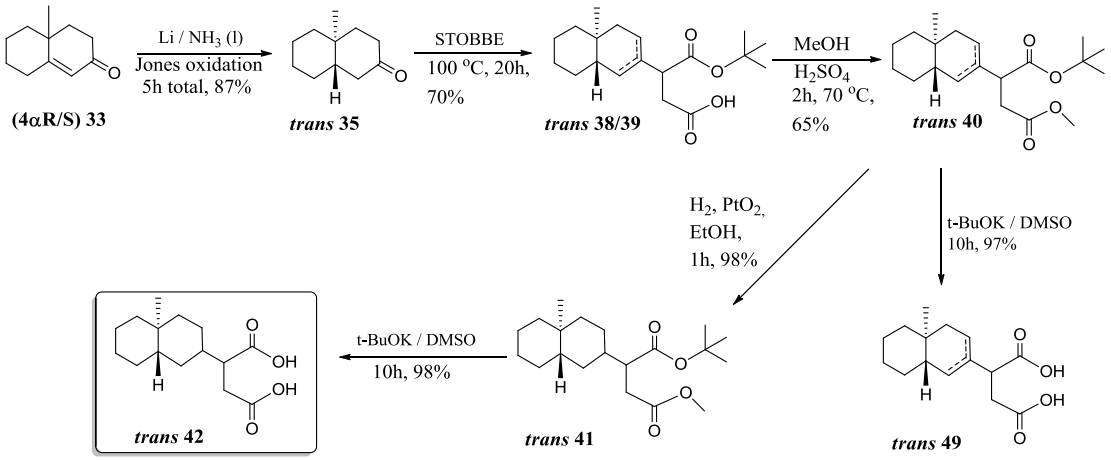
Η μεθοδολογία η οποία επιλέχθηκε ήταν αυτή της αναγωγής με το σύστημα λιθίου – υγρής αμμωνίας. Η αντίδραση αυτή καθώς και η στερεοχημεία της είχε περιγραφεί από τους Stork και Darling[85] και έχει προταθεί συγκεκριμένη μεθοδολογία για την αναγωγή της «10-μέθυλοΔ1(9)-οκταλόνης -2» (ένωση **33**) .[86,87] Η παρούσα συνθετική προσέγγιση οδήγησε πλήν του επιθυμητού προϊόντος **35** και στην αντίστοιχη αλκοόλη **48**. Σε κάθε περίπτωση, το αλκοολικό παραπροϊόν **48** μετατράπηκε στην επιθυμητή κετόνη **35** με συνθήκες οξείδωσης Jones.



Σχήμα 23. Παρασκευή της ένωσης *trans* **35**, μέσω της αναγωγής με το σύστημα λιθίου – υγρής αμμωνίας.

Εικόνα 6: Αντίδραση αναγωγής της ένωσης **33** με το σύστημα λιθίου – υγρής αμμωνίας (χαρακτηριστικό το μπλέ χρώμα του σολβολυμένου e^-)

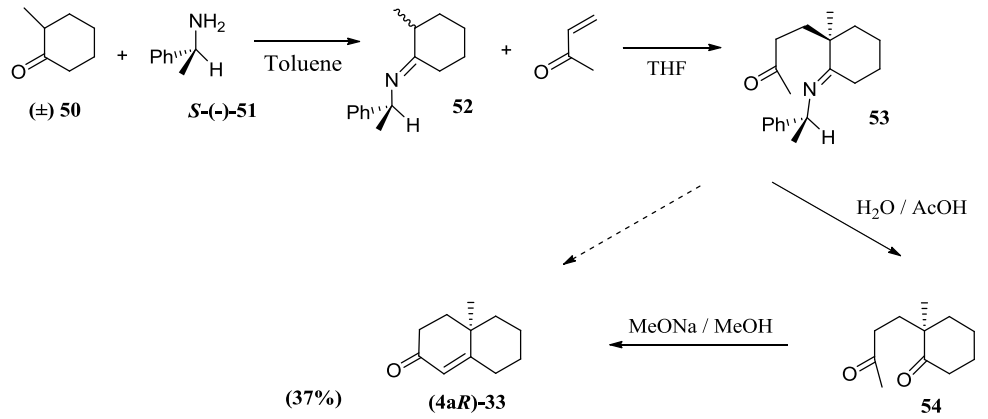
Και σε αυτή την περίπτωση επιλέχθηκε η χρήση της ρακεμικής **33**. Την σύνθεση της *trans* ρακεμικής **35** ακολούθησε η συμπύκνωση Stobbe η οποία έδωσε μίγμα των αλκενίων **38** και **39.** Εστεροποίηση της ελεύθερης καβοξυλομάδας με μεθανόλη/θειικό οξύ έδωσε το αντίστοιχο μίγμα των t-βούτυλο μέθυλο εστέρων το οποίο είτε υδρολύθηκε για να δώσει την *trans* **49** ως μίγμα 8 πιθανών διαστερεομερών (συμπεριλαμβανομένων και των εναντιομερών τους), είτε υδρογονώθηκε και κατόπιν υπέστη κατεργασία με t-BuOK δίνοντας το επιθυμητό διοξύ **42** και πάλι ως μίγμα 8 πιθανών διαστερεομερών (συμπεριλαμβανομένων και των εναντιομερών τους), η στερεοχημεία των οποίων έμενε να καθοριστεί από μεταγενέστερα πειράματα.



Σχήμα 24. Συνθετική πορεία παρασκευής των παράγωγων επιθυμητών διοξέων *trans* **42** και *trans* **49**.

3.8 Εναντιοεκλεκτική Σύνθεση της (4α*R*)-33

Η ένωση **35** εμπεριέχει δύο στερεογονικά κέντρα στους άνθρακες της σύντηξης των δύο δακτυλίων. Δεδομένου ότι η σύνθεση της ρακεμικής ένωσης **35** δίνει *οκτώ ισομερή* (**38**/**39**) ήδη από την αρχή της συνθετικής πορείας, δημιουργείται εξ' αρχής το πρόβλημα της παρουσίας μιγμάτων διαστερεομερών σε κάθε συνθετικό στάδιο. Κρίθηκε λοιπόν σκόπιμο να πραγματοποιηθεί η ασύμμετρη σύνθεση της ένωσης **35** αρχίζοντας από την σύνθεση της (4α*R*)-**33** όπως απαιτεί η δομή του φυσικού προϊόντος.



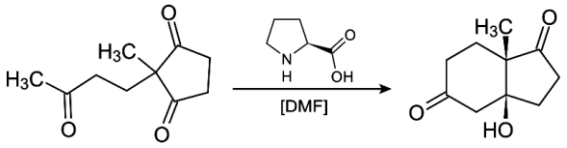
Σχήμα 25. Κυκλοποίηση Robinson για τη σύνθεση της ένωσης (4α*R*)-**33**, με βασικές συνθήκες.

Στην προσπάθεια της ασύμμετρης σύνθεσης του προδρόμου μορίου του κοστικού οξέος, επιλέχθηκε η ακόλουθη συνθετική πορεία η οποία αποτελεί τροποποίηση αυτής που εφαρμόστηκε από τους J. A. Marshall *et al.*[53]

Αρχικά, η 2-μέθυλοκυκλοεξανόνη (**50,** 1 eq.) αντέδρασε με την (*S*)(-)–α–μέθυλο βενζυλαμίνη (**51,** 1 eq.) σε διαλύτη τολουόλιο. Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε σε θερμοκρασία αναβρασμού (reflux), και ολοκληρώθηκε μετά από 24h, σε απόδοση 93%. Η συνθετική πορεία συνεχίστηκε, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, με χρήση της μέθυλο βίνυλο κετόνης (MVK), γεγονός το οποίο δημιούργησε προβλήματα, καθώς με την άνοδο της θερμοκρασίας, η MVK διμερίζεται.[88] Χρησιμοποιώντας πρόσφατα απεσταγμένη MVK (1,05 eq) και το διάλυμα της ιμίνης **52 (**1eq) σε THF, πραγματοποιήθηκε σειρά εναλλακτικών πειραματικών μεθοδολογιών με στόχο την βελτιστοποίηση των συνθηκών της αντίδρασης[89]. Τελικά, η προσθήκη της MVK

έγινε σε παγωμένο διάλυμα της ιμίνης **52** υπό ατμόσφαιρα αζώτου και ακολούθησε ανάδευση του διαλύματος για 5 ημέρες στους 20°C (απόδοση 86%). Ακολούθησε υδρόλυση της σχηματιζόμενης ιμίνης **53** όπου *βάσει ελέγχου με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας, GC-MS και NMR, αντί του προϊόντος* ***53*** *της αντίδρασης Michael (ενδιάμεσο) ελήφθηκε το τελικό προϊόν της αντίδρασης κυκλοποίησης Robinson Annulation.* Για την απομόνωση του καθαρού προϊόντος (4α*R*)-**33** έγινε ανακρυστάλλωση υπό ψύξη και ακολούθησε καθαρισμός με υγρή χρωματογραφία στήλης (flash).

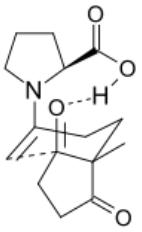
Στη βιβλιογραφία αναφέρονται παραδείγματα εναντιοεκλεκτικής κυκλοποίησης Robinson, η οποία βασίζεται σε αρχές οργανοκατάλυσης όπως αυτή προτάθηκε από τους ομώνυμους ερευνητές κατά τη μελέτη της αλδολικής συμπύκνωσης και κυκλοποίησης στην αντίδραση Hajos–Parrish–Eder–Sauer–Wiechert.[90] Οι ερευνητές επικεντρώθηκαν στην επίτευξη υψηλής εναντιομερικής περίσσειας με χρήση κυκλικών αμινοξέων, κυρίως της προλίνης και των παραγώγων της.



55 **56**

Σχήμα 26. Επίτευξη υψηλής εναντιομερικής περίσσειας με χρήση της προλίνης και των παραγώγων της από τους Hajos–Parrish–Eder–Sauer–Wiechert.

Η εναντιοεκλεκτικότητα της αντίδρασης βασίζεται σε μια μεταβατική κατάσταση της αλδολικής αντίδρασης που περιλαμβάνει ασύμμετρα εναμινικά ενδιάμεσα. Μία πρόσφατη ερμηνεία έχει δοθεί από τον Houk το 2001 με την ακόλουθη κυκλική μεταβατική κατάσταση όπου το πρωτόνιο του καρβοξυλίου της προλίνης δημιουργεί δεσμό υδρογόνου με το υπό προσβολή καρβονύλιο του υποστώματος.[91]



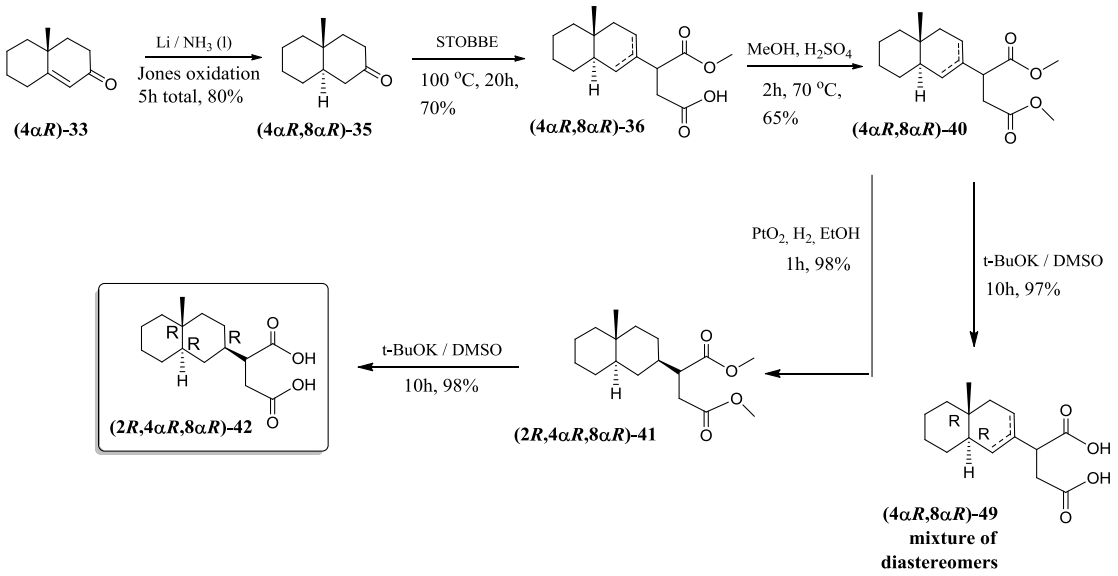
57

Σχήμα 27. Προτεινόμενη κυκλική μεταβατική κατάσταση της αντίδρασης Robinson από τον Houk.

Μεταξύ των ενώσεων που χρησιμοποιήθηκαν από τον Eder ήταν και η (*S*)-(-)–α–μέθυλοβενζυλαμίνη (**51**), διαδικασία που υιοθετήθηκε από τον Marshall κατά την παρασκευή της *R*-**33**.

Στη δική μας περίπτωση ωστόσο, η εναντιοεκλεκτικότητα της αντίδρασης ορίζεται στο ενδιάμεσο **52**, όπου το ασύμμετρο κέντρο της φαίνυλο μέθυλο αμίνης καθορίζει την προσέγγιση της MVK από την αντίθετη κατεύθυνση από αυτήν της φαινυλικής ομάδας.

Η εφαρμογή των συνθηκών που αναφέρθηκαν προηγουμένως (Σχήμα 28) οδήγησαν στην (4α*R*)-**33** η οποία είχε **οπτική στροφή $[\alpha]^{20}_{D}$= - 238°** (EtOH, c=1,0) μία τιμή η οποία αντιστοιχεί σε 99% ee, βασισμένη στα δεδομένα των G. Revial και M. Pfau,[92] όπου η τιμή της οπτικά καθαρής ένωσης υπολογίζεται ως $[\alpha]^{20}_{D}$ = -240°. [93]



Σχήμα 28. Συνθετική πορεία παρασκευής των παράγωγων επιθυμητών διοξέων **(2*R*,4α*R*,8α*R*) - 42** και **(4α*R*,8α*R*) - 49.**

Αναγωγή με συνθήκες υγρής αμμωνίας/λιθίου της 4αR-**33** έδωσε καθαρή (4α*R*,8α*R*)-**35.** Η οπτική δραστικότητα της ένωσης μετρήθηκε δίνοντας μία τιμή $[\alpha]^{20}_{D}$= - 42,0° (EtOH, c=1,0) η οποία αναφέρεται για πρώτη φορά στη βιβλιογραφία. Στην φάση αυτή μελετήθηκαν τα φάσματα ^{1}H- και ^{13}C NMR όπου διαπιστώθηκε η ύπαρξη της *trans* μέθυλοδεκαλόνης **35**. Θα πρέπει να δοθεί έμφαση στο γεγονός ότι δεδομένης

της *R* στερεοδομής του στερεογονικού κέντρου 4a στην **33**, η διαστερεοεκλεκτικότητα (*trans*) της αναγωγής του διπλού δεσμού στο δικυκλικό σύστημα εξασφαλίζει την εναντιοεκλεκτικοτητα του σχηματισμού του προϊόντος **35** στο οποίο και τα δύο στερεογονικά κέντρα (4a & 8a) έχουν *R* απεικόνιση, την ίδια με αυτή του κοστικού οξέος.

Πίνακας 2: Φασματοσκοπικά δεδομένα ^{13}C-NMR για τις μέθυλο 2-δεκαλόνες (βιβλιογραφία) και για τις μέθυλο 2-δεκαλόνες **35,** *trans-35 και* **(4α*R*, 8α*R*)-35**.

Carbon Numbering*	*Trans* 10-methyl decalone	*Cis* 10-methyl decalone	Compound **35** (mixture *cis/trans*)	Compound *trans* **35** (racemic)	Compound **(4αR, 8αR) 35**
C-1	44.99		44.94	45.00	44.72
C-2	211.81		211.54	211.63	211.00
C-3	38.26		38.21	38.27	38.00
C-4	41.08		41.02	41.08	40.85
C-5	40.37		40.31	40.36	40.14
C-6	21.61		21.48	21.60	21.40
C-7	26.03		26.00	26.02	25.80
C-8	29.01		28.95	29.01	28.80
C-9	44.69 (d)		44.63	44.68	44.44
C-10	33.14 (s)		33.08 (s)	33.14	32.90
CH_3	14.93		14.87	14.93	14.70
C-1		44.22	44.13		
C-2		212.77	212.40		
C-3		37.80	37.70		
C-4		32.97 (br)	32.91 (br)		
C-5		37.09 (br)	37.04 (br)		
C-6		21.57	21.54		
C-7		24.95 (br)	24.90 (br)		
C-8		28.87	28.80		
C-9		43.98 (d)	43.90		
C-10		32.53 (s)	32.50 (s)		
CH_3		27.20	27.14		

* Αρίθμηση ανθράκων με βάση τους Maio et al. *Magn. Reson. Chem,*. **2000**, *38*, 108–114 (παραπομπή 83).

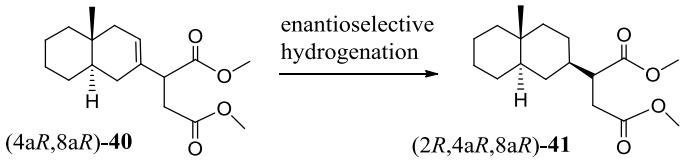
Η συνθετική πορεία συνεχίστηκε με την επιτυχή προσθήκη της πλευρικής αλυσίδας κάτω από συνθήκες της αντίδρασης Stobbe με (κύριο) προϊόν τον μονομέθυλο εστέρα της ενδοκυκλικής ολεφίνης **36** (R=Me). Οι συνθήκες καταλυτικής υδρογόνωσης του διπλού δεσμού απαιτούσαν την προστασία του ελεύθερου καρβοξυλικού οξέος, συνεπώς το προϊόν μετατράπηκε στο διμέθυλο εστέρα **40** όπως αναφέρθηκε προηγουμένως.

Οι διαδικασίες οι οποίες εφαρμόστηκαν περαιτέρω ήταν δύο: απλή αποπροστασία των μεθυλοεστέρων έδωσε την ένωση **49** ως μίγμα 4 πιθανών διαστερεομερών, συμπεριλαμβανομένων και των εναντιομερών τους, η οποία εμπεριέχει το βασικό δεκαλινικό σκελετό του κοστικού οξέος και τη σωστή στερεοχημεία σε δύο από τα ασύμμετρα κέντρα του (4a & 8a). Η βασική συνθετική πρόκληση όμως ήταν η εξασφάλιση της σωστής στερεοχημείας στον άνθρακα-2 μετά την αναγωγή του ενδοκυκλικού διπλού δεσμού.

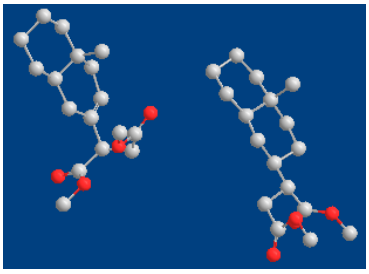
Οι καταλυτικές συνθήκες για την ασύμμετρη υδρογόνωση των διπλών δεσμών έχουν αποτελέσει αντικείμενο μελέτης για πολλές δεκαετίες. Άρθρα ανασκόπησης για την ομογενή-καταλυόμενη από Pd-ασύμμετρη υδρογόνωση διπλών δεσμών,[94] τη Rd-καταλυόμενη ασύμμετρη υδρογόνωση,[95] τη χρήση φωσφορούχων υποκαταστατών για ασύμμετρη κατάλυση,[96] τη χρήση καταλυτών Ir για την ασύμμετρη υδρογόνωση των ολεφινών με μη κοινές χαρακτηριστικές ομάδες,[97] αναφέρουν ότι ένας σημαντικός παράγοντας για την αποτελεσματικότητα της ασύμμετρης υδρογόνωσης είναι η εγγύτητα κάποιων χαρακτηριστικών ομάδων του υποστρώματος και του υπό αναγωγή διπλού δεσμού.[98] Οι στερικοί παράγοντες δεν παρουσιάζονται ιδιαίτερα ευνοϊκοί στην **40** με την εξαίρεση του ότι η *trans* διαμόρφωση του δεκαλινικού συστήματος εξασφάλιζε κάποια επιπεδότητα στο δικυκλικό σκελετό του μορίου. Σε ένα σπάνιο παράδειγμα εναντιοεκλεκτικής υδρογόνωσης προϊόντος αντίδρασης Stobbe, οι White *et al.* χρησιμοποίησαν καταλύτη ροδίου και ασύμμετρο φωσφορούχο υποκαταστάτη για να επιτύχουν την επιθυμητή εναντιοεκλεκτικότητα σε λόγο 97:3. Και σε αυτή όμως την περίπτωση ο δεσμός ήταν ο αντίστοιχος του εξωκυκλικού δεσμού στην ένωση **40** - που στην περίπτωσή μας υπάρχει μόνο σε ίχνη.[99]

Με αυτή τη θεώρηση, αποφασίστηκε ότι, κάτω από *κλασικές συνθήκες καταλυτικής υδρογόνωσης*, ο αποφασιστικός παράγοντας θα ήταν η σχετική στερεοχημεία της μεθυλομάδας η οποία θα καθοδηγούσε την προσέγγιση του καταλυτικού μέσου ***από***

την αντίθετη κατεύθυνση εξασφαλίζοντας το προϊόν **41** στο οποίο η *σχετική* διαμόρφωση *της μεθυλομάδας και της πλευρικής αλυσίδας θα ήταν cis όπως εμφανίζονται και στο μόριο του κοστικού οξέος*.



Σχήμα 29. Προσδιορισμός συνθηκών αναγωγής του διπλού δεσμού της ένωσης (4α*R*,8α*R*) – **40** με σκοπό τη δημιουργία της επιθυμητής στερεοχημείας στην ένωση (2*R*,4α*R*,8α*R*) - **41.**



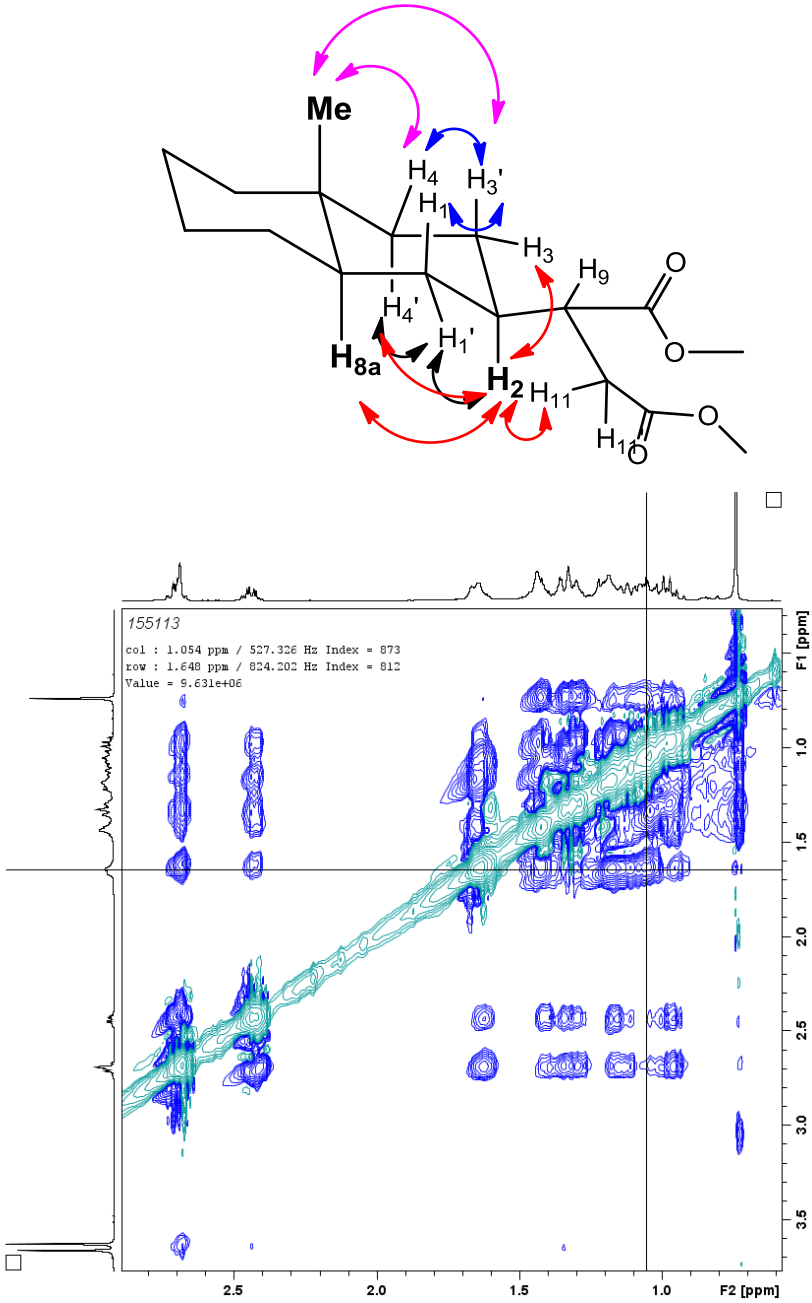
Εικόνα 7: Απεικόνιση στερεοχημείας στις ενώσεις **40** (αριστερά) και **42**. Η ψεύδο αξονική 4α-μεθυλομάδα προσανατολίζει την πρόσβαση του υποστρώματος **40** στον καταλύτη από την "κάτω" πλευρά εξασφαλίζοντας τη στερεοαπεικόνιση (*R*) στον C-2 του **41**.

Το προϊόν αναγωγής του διπλού δεσμού αποτέλεσε αντικείμενο εκτεταμένης μελέτης των δεδομένων από τα φάσματα NMR ενός και δύο διαστάσεων. Έμφαση δόθηκε στον προσδιορισμό των C-1, C-2, C-8α, και C-9 καθώς και των πρωτονίων τους στα αντίστοιχα φάσματα ενός και δύο διαστάσεων. Η ανάθεση των ανθράκων και των πρωτονίων της ένωσης αναφέρεται αναλυτικά στον Πίνακα 3, δίνοντας έμφαση στον δακτύλιο που περιείχε τις χαρακτηριστικές ομάδες.

Πίνακας 3: Παρουσίαση φασματοσκοπικών δεδομένων για την ένωση **(2*R*,4α*R*,8α*R*) - 41.**

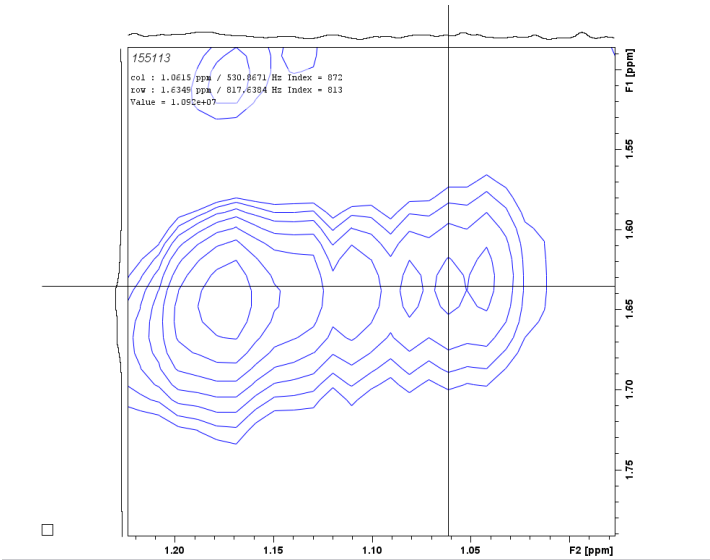
Position	Proton	$\delta^{1}H$	COSY	NOESY	$\delta^{13}C$	HSQC
1	H-1 H-1´	1.67 1.18	H-1’, H-8$^{\alpha}$ H-1	H-1’ H-2, H-3’, H-4	26.9	H-1, H1’
2	H-2	1.65	H-1, H-1’, H-3, H-9	H-1’, H-3, H-4’, H-8a, H-9, H-11	40.6/40.5	H-2
3	H-3 H-3´	1.44 0.98	H-2, H-3’ H-3	H-2, H-3’ H-3, H-4, H-13	21.9	H-3, H-3´
4	H-4 H-4´	1.33 1.13	H-3, H-3’ H-3’	H-1, H-3’, H-13 H-2, H-3,	32.4	H-4, H-4’
4α	-	-			33.56/33.54	-
8_{α}	H-8_{α}	1.05	H-1	H-2	45.1	H-8α
9	H-9	2.71	H-2, H-11’	H-2, H-11’	46.98/46.97	H-9
10	-				175.12/175.08	-
11	H-11 H-11´	2.69 2.44	H-2, H-9, H-11’ H-11	H-2, H-3’, H-11’ H-9, H-11	33.4	H-11, H-11’
12	-	-	-		173.04/173.02	
13	H-13	0.74	-	H-3’, H-4	15.70/15.69	H-13
14	H-14	3.66	-	H-15	51.8	H14
15	H-15	3.63	-	H-14	51.69/51.68	H-15

Έχοντας αναγνωρίσει τις κορυφές που αντιστοιχούν στο πρωτόνιο $\mathbf{H_{8\alpha}}$ του C-4α στο σημείο σύντηξης των δακτυλίων και στο πρωτόνιο $\mathbf{H_2}$ του C-2, ο οποίος συνδέεται με την πλευρική αλυσίδα αναζητήθηκε ο συσχετισμός των δυο πρωτονίων στο φάσμα NOESY. Προς μεγάλη μας ικανοποίηση, όπως απεικονίζεται στο ακόλουθο φάσμα, εμφανίζεται ισχυρή through-space NOE αλληλεπίδραση των δύο πρωτονίων γεγονός το οποίο αποτελεί **ισχυρότατη ένδειξη** του ότι τα δύο πρωτόνια έχουν *cis* διαμόρφωση άρα η πλευρική αλυσίδα, θα πρέπει να είναι σε *cis* διαμόρφωση με τη μεθυλομάδα.



Εικόνα 8: Απεικόνιση της *cis* αλληλεπίδρασης μεταξύ των πρωτονίων H-8α και του H-2 του διεστέρα **(2*R*,4α*R*,8α*R*) - 41** μέσω φασματοσκοπίας 2D-NMR (NOESY).

Η στερεοδομή του μορίου απεικονίζεται πλέον με τρία στερεογονικά κέντρα (2, 4α, και 8α) <u>όλα με (*R*) απεικόνιση, την ίδια με αυτήν του κοστικού οξέος</u>. Τέλος, από - προστασία των εστερομάδων έδωσε το τελικό προϊόν (2*R*,4α*R*,8α*R*)-**42** ως μίγμα 2 πιθανών διαστερεομερών, συμπεριλαμανομένου και των εναντιομερών τους το οποίο χαρακτηρίστηκε πλήρως φασματοσκοπικά (βλέπε ακόλουθο Πίνακα και Πειραματικό μέρος).



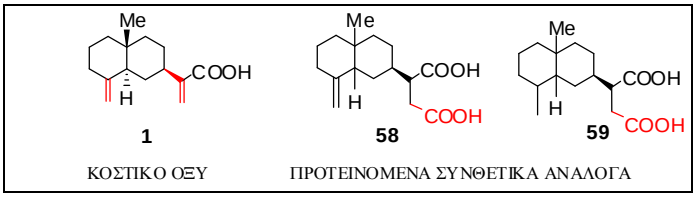
Εικόνα 9: Λεπτομέρεια φάσματος 2D-NMR (NOESY), του διεστέρα **(2*R*,4α*R*,8α*R*)** – **41**.

Πίνακας 4: Παρουσίαση φασματοσκοπικών δεδομένων για την ένωση **(2*R*,4α*R*,8α*R*) - 42.**

Position	Proton	$\delta^{1}H$	COSY	NOESY	$\delta^{13}C$	HSQC
1	H-1 H-1´	1.69 1.20	H-1’, H-2, H-3’ H-1	H-1’, H-3, H-13 H-1, H-2, H-11’	26.8	H-1, H1’
2	H-2	1.72	H-1’, H-3, H-9	H-1’, H-8a, H-9 H-11’	40.3/40.2	H-2
3	H-3 H-3´	1.47 1.03	H-2, H-3’, H-4, H-4’ H-3, H-4’	H-1, H-4 Overlapping / H-4’	21.9	H-3, H-3´
4	H-4 H-4´	1.24 1.06	H-3 H-3’	H-3 Overlapping/ H-3’	32.1	H-4, H-4’
4α	-	-	-	-	33.6	-
8_{α}	H-8_{α}	1.11	H-1’, H-1	H-1, H-2	45.20	H-8α
9	H-9	2.73	H-2, H-11, H-11’	H-2, H-3, H-3’, H-4, H-4’, H-11’	46.9	H-9
10	-	-	-	-	181.2/181.1	-
11	H-11 H-11´	2.76 2.52	H-11’ H-9, H-11	H-11’ H-1’, H-2, H-3, H-11	33.34/33.27	H-11, H-11’
12	-	-	-	-	179.2	-
13	H-13	0.78	-	H-1, H-3	15.8	H-13

3.9 Παρασκευή παραγώγων που περιέχουν μία γ-μεθυλενική ή γ-μεθυλική ομάδα ως προς την πλευρική αλυσίδα.

Ένα από τα δομικά χαρακτηριστικά του κοστικού οξέος είναι η εξωκυκλική μεθυλενική ομάδα σε θέση *γάμμα* ως προς την πλευρική αλυσίδα. Ο ρόλος της ομάδας αυτής ως *φαρμακοφόρου* ή *αυξοφόρου* κατά τη βιολογική δράση του κοστικού οξέος παρέμενε να μελετηθεί με τη σύνθεση και μελέτη βιολογικής δραστικότητας σειράς αναλόγων που θα περιείχαν την ομάδα αυτή.

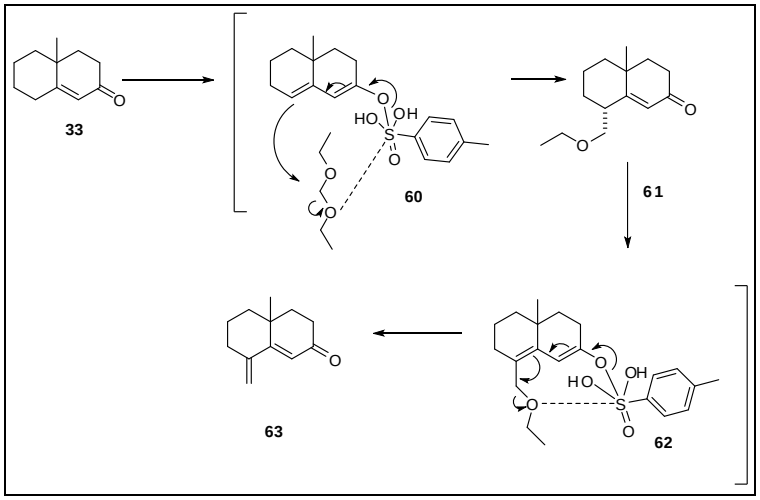


Σχήμα 30. Προτεινόμενα συνθετικά ανάλογα του κοστικού οξέος **58** και **59**.

Η προσθήκη της μεθυλενομάδας έχει προταθεί από τους Marshall *et al.*[74] σε μία διαδικασία πολλών σταδίων χαμηλής απόδοσης, γεγονός αποτρεπτικό για την προσπάθεια σύνθεσης σειράς αναλόγων που περιέχουν την χαρακτηριστική αυτή ομάδα.

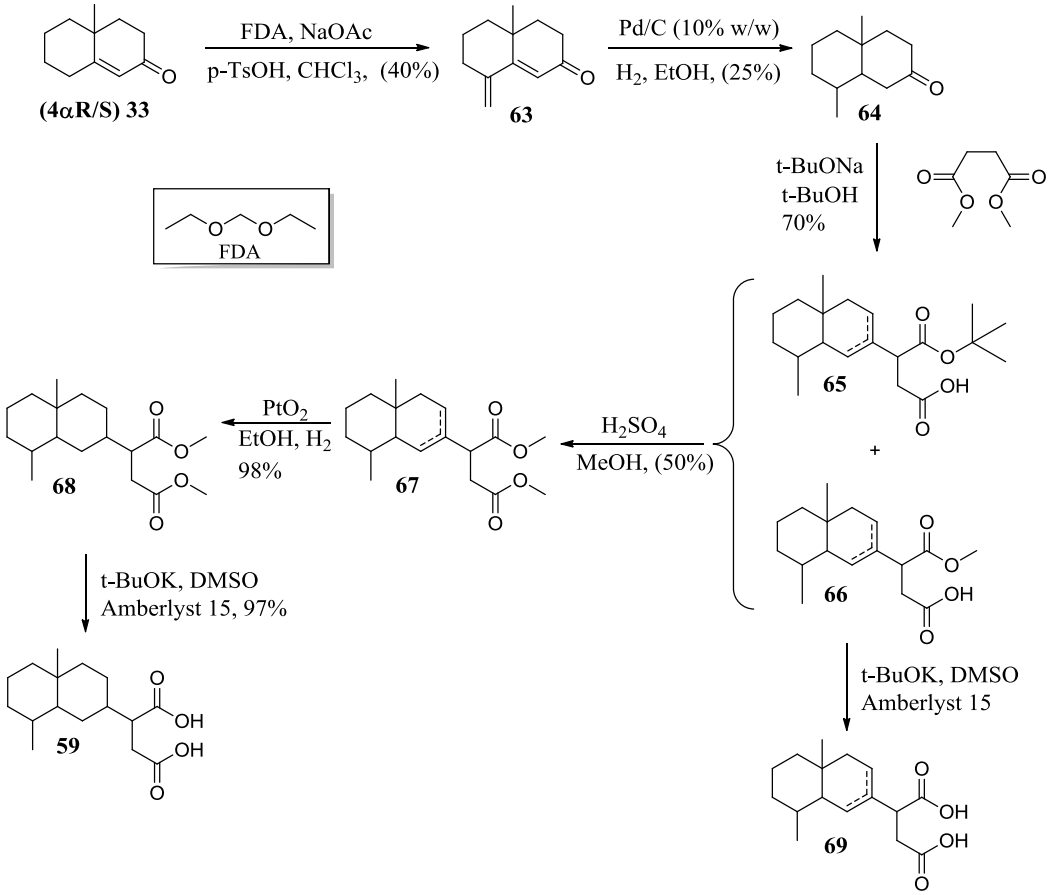
Η ερευνητική μας ομάδα έχει αναπτύξει μία μεθοδολογία[100] η οποία αποτελεί τροποποίηση της μεθόδου των Annen *et al.*[101] με στόχο την παραγοντοποίηση της ενόνης **33**.

Η αντίδραση είχε εφαρμοστεί σε α,β-ακόρεστες κετόνες, κυρίως σε συστήματα στεροειδών, και περιλαμβάνει τον αρχικό σχηματισμό ενός τοζυλο εστέρα **60** της αντίστοιχης διενόλης, ο οποίος αποσπάται με ταυτόχρονη προσβολή του γ-άνθρακα σε ένα μόριο διαίθυλοακετάλης της φορμαλδεΰδης. Ο σχηματισμός ενός δεύτερου εστέρα **62** ακολουθείται από απόσπαση της τόζυλο- ομάδας και της φορμυλομάδας δίνοντας το γ-ολεφινικό προϊόν **63** (Σχήμα 31).



Σχήμα 31. Μηχανισμός αντίδρασης γ-μεθυλενίωσης της ένωσης **33** προς σχηματισμό της ένωσης **63**

Η συνθετική πορεία που επιλέχθηκε περιλάμβανε σαν αρχική ύλη την ρακεμική **33** (Σχήμα 32). Και σε αυτή την περίπτωση κρίθηκε σκόπιμο να πραγματοποιηθεί μία μη εναντιο/διαστερεοεκλεκτική σύνθεση καθώς ο σκοπός της σύνθεσης αυτής ήταν η επιλογή των κατάλληλων αντιδραστηρίων και συνθηκών των αντιδράσεων.

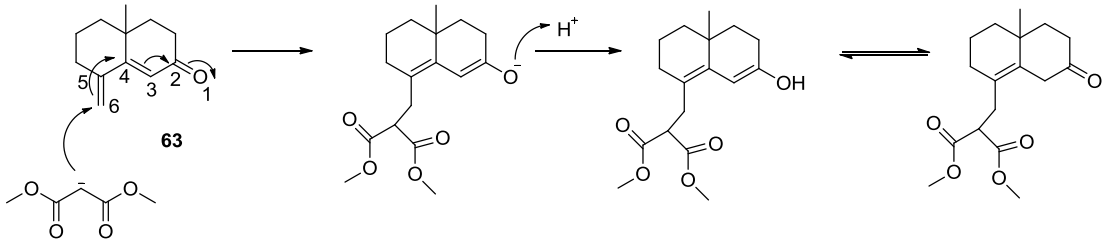


Σχήμα 32. Συνθετική πορεία παρασκευής των παράγωγων **59** και **69**.

Αντίδραση της ρακεμικής **33** κάτω από συνθήκες γ-μεθυλενίωσης έδωσε την επιθυμητή διενόνη **63,** η οποία υδρογονώθηκε με χρήση καταλύτη Adams δίνοντας την κετόνη **64** σε μέτρια ποσοστά. Η αντίδραση Stobbe στο υπόστρωμα αυτό έδωσε, όπως αναμενόταν, μίγμα των μονομέθυλο και μόνο-t-βούτυλο εστέρων (**65/66)** το οποίο μετατράπηκε στον αντίστοιχο διμέθυλοεστέρα **67** με κατεργασία μεθανόλης / θειικού οξέος σε συνολικό ποσοστό 50% από την αντίστοιχη κετόνη. Αναγωγή του ενδοκυκλικού διπλού δεσμού στην **67** έδωσε το αναμενόμενο κορεσμένο προϊόν **68** σαν μίγμα 32 πιθανών διαστερεομερών όπως έδειξε η φασματοσκοπική μελέτη του μίγματος. Τελικά, αποπροστασία των μεθυλοεστέρων και οξίνιση με όξινη ρητίνη έδωσε το τελικό προϊόν **59,** ως μίγμα 32 πιθανών διαστερεομερών, συμπεριλαμβανομένων και των εναντιομερών τους.

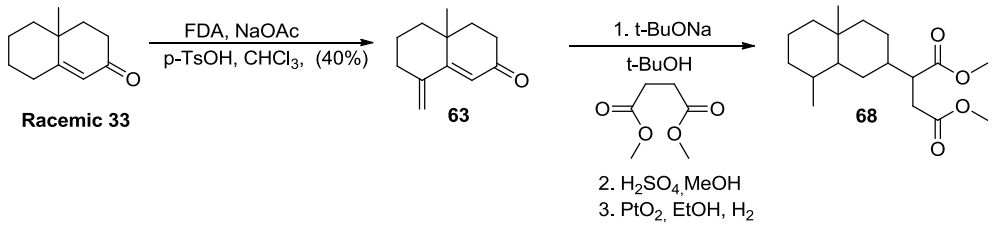
3.10 Προσπάθειες παρασκευής προϊόντων αντίδρασης Stobbe με διατήρηση της γ-μεθυλενικής ομάδας.

Σε μία προσπάθεια σύνθεσης αναλόγων της **42** τα οποία θα περιείχαν και την γ-μεθυλενική ομάδα, η ρακεμική **33** αντέδρασε με συνθήκες Stobbe με τον σουκινικό μεθυλεστέρα δίνοντας το προϊόν της απευθείας προσθήκης στο καρβονύλιο. Υπενθυμίζεται παρενθετικά στο σημείο αυτό ότι σε αντίστοιχη αντίδραση με συνθήκες μηλονικής σύνθεσης, το μηλονικό ανιόν ακολούθησε τον 1,6-τύπο προσβολής ανιόντων σε συζυγιακά συστήματα.[100]



Ο τύπος της προσβολής αυτής ερμηνεύεται από την soft/soft αλληλεπίδραση σε αντιδράσεις τύπου Michael, καθώς το soft ανιόν του μηλονικού διμεθυλεστέρα αλληλεπιδρά με το soft τμήμα του αποδέκτη **63,** δηλαδή τον διπλό δεσμό $\Delta^{5,6}$**.**

Εφαρμογή της αλληλουχίας Stobbe, εστεροποίησης και καταλυτικής υδρογόνωσης στην **63**, έδωσε ένα διμέθυλο εστέρα τα φασματοσκοπικά δεδομένα του οποίου ήταν ταυτόσημα με αυτά της ένωσης **68.** Η ένωση αυτή είχε συντεθεί και προηγουμένως ως ενδιάμεσο προϊόν της προηγούμενης σύνθεσης.



Σχήμα 33 Εναλλακτική προσπάθεια παρασκευής προϊόντων αντίδρασης Stobbe με διατήρηση της γ-μεθυλικής ομάδας.

Η διαφορά στον τύπο προσθήκης του μηλονικού και του σουκινικού ανιόντος στην **63** οφείλεται στο γεγονός ότι στην αντίδραση Stobbe, το ανιόν του σουκινικού

(ηλεκτρικού) εστέρα θεωρείται hard λόγω συζυγίας μόνο με ένα από τα δύο καρβονύλια του διεστέρα, οπότε αναμένεται μία τύπου hard/hard προσβολή στο καρβονύλιο της **63**, που είναι και το hard τμήμα αυτού του αποδέκτη.

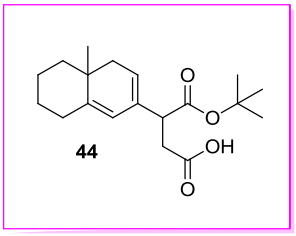
4.*IN VIVO* ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΑΚΑΡΕΟΚΤΟΝΟΥ ΔΡΑΣΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗΣ *VARROA DESTRUCTOR*.

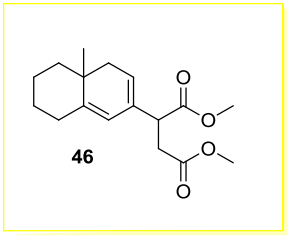
Για κάθε ομάδα συστατικών που αναφέρονται ανωτέρω έγινε *in vivo* δοκιμή επί ζώντων βαρρόα. Η βαρρόα συλλέχθηκε με δύο τρόπους· α) εξήχθη προσεκτικά από νεογέννητες μέλισσες με ένα μαλακό βουρτσάκι και β) τοποθετώντας ενήλικες μέλισσες σε ένα κύλινδρο από συρμάτινο πλέγμα και αυτό σε δεύτερο κύλινδρο από Plexiglas όπου εφαρμόζεται ροή CO_2 (5 L/min) για 5 λεπτά, με αποτέλεσμα να αναισθητοποιείται και η μέλισσα και η βαρρόα ώστε ανακινώντας τον πρώτο κύλινδρο να πέφτει η αναίσθητη βαρρόα η οποία συνέρχεται σε λίγα λεπτά.[102] Με τη βοήθεια ενός στερεοσκόπιου η βαρρόα τοποθετήθηκε αμέσως σε υάλινα φιαλίδια των 35 ml. Από τα συνθετικά προϊόντα παρασκευάστηκαν διαλύματα ακετόνης, συγκέντρωσης 10 mg/ml, τα οποία τοποθετήθηκαν στα τοιχώματα κάθε φιαλιδίου. Έγιναν μετρήσεις για δύο διαφορετικές ποσότητες διαλύματος: 60μl και 120μl. Σε κάποια φιαλίδια τοποθετήθηκε από την αντίστοιχη ποσότητα μόνο ακετόνη για να χρησιμοποιηθούν ως μάρτυρας. Η ακετόνη απομακρύνθηκε με αέριο άζωτο από τα φιαλίδια στα οποία προστέθηκαν 20μl H_2O για την διατήρηση των απαραίτητων επιπέδων υγρασίας. Κατόπιν τα φιαλίδια σφραγίσθηκαν με την βαρρόα και παρέμειναν σε επωαστικό κλίβανο στους 25 ^{0}C. Ακολούθησαν μετρήσεις της επίδρασης των αναλόγων μετά από 2, 5, 8, 12 και 24 ώρες.

Εικόνες 10, 11, και 12: Απεικόνιση της *Varroa* κατά την αναισθητοπίηση της μέλισσας με CO_2, πάνω σε διηθητικό χαρτί μετά την αποκόλληση της από τον ξενιστή (μέλισσα) και στο προς μελέτη φυαλίδιο, αντιστοίχως.

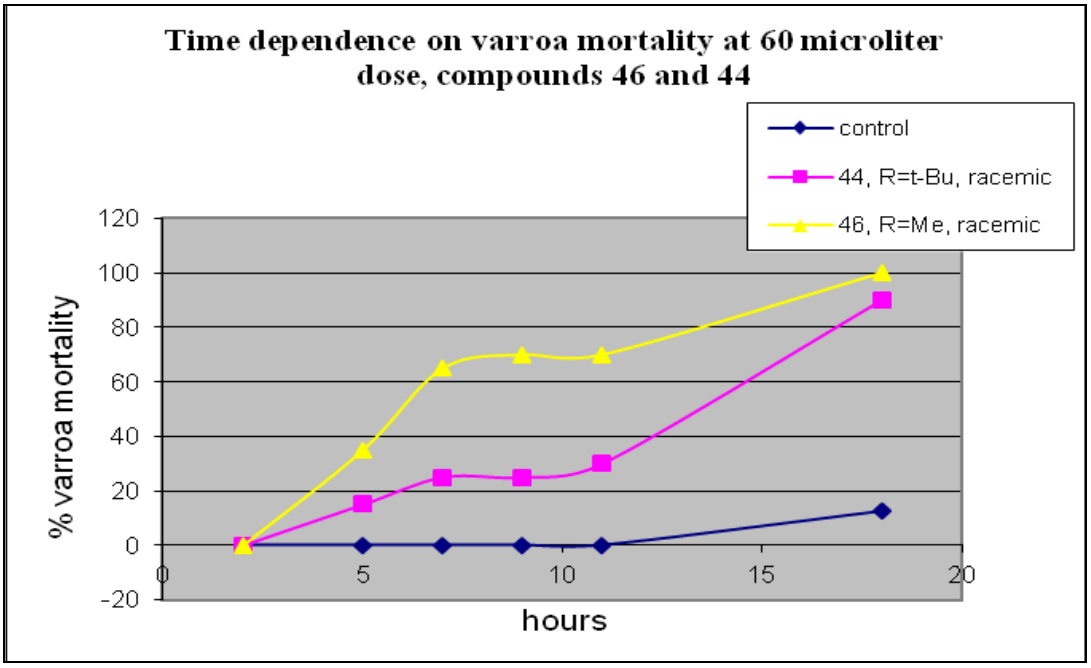
4.1 Αποτελέσματα μελετών σχέσης δομής-ακαρεοκτόνου δραστικότητας των παραγώγων του κοστικού οξέος.

1. Στην πρώτη ομάδα μελετών έγινε η σύγκριση των ενώσεων **44** (R=t-Butyl) και **46** (R=Me) δηλαδή ενός μονοεστέρα και ενός διεστέρα του ιδίου δικαρβοξυλικού οξέος.



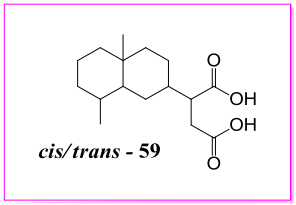


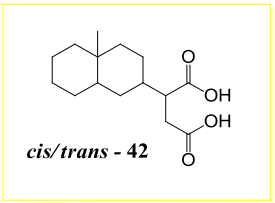
Από το Διάγραμμα 1 φαίνεται ότι η παρουσία της δικαρβοξυλικής ομάδας στον βασικό δικυκλικό σκελετό του κοστικού οξέος λειτουργεί θετικά όσον αφορά στην ακαρεοκτόνο δράση των αναλόγων. Στη συγκεκριμένη μελέτη ο διεστέρας δρα ταχύτερα από τον μονοεστέρα ίσως λόγω μεγαλύτερης πτητικότητας.

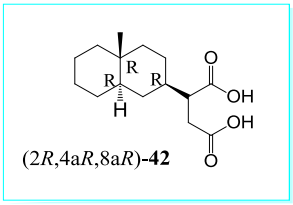


Διάγραμμα 1. Ακαρεοκτόνος δραση του μονοεστέρα **44** και του διεστέρα **46**

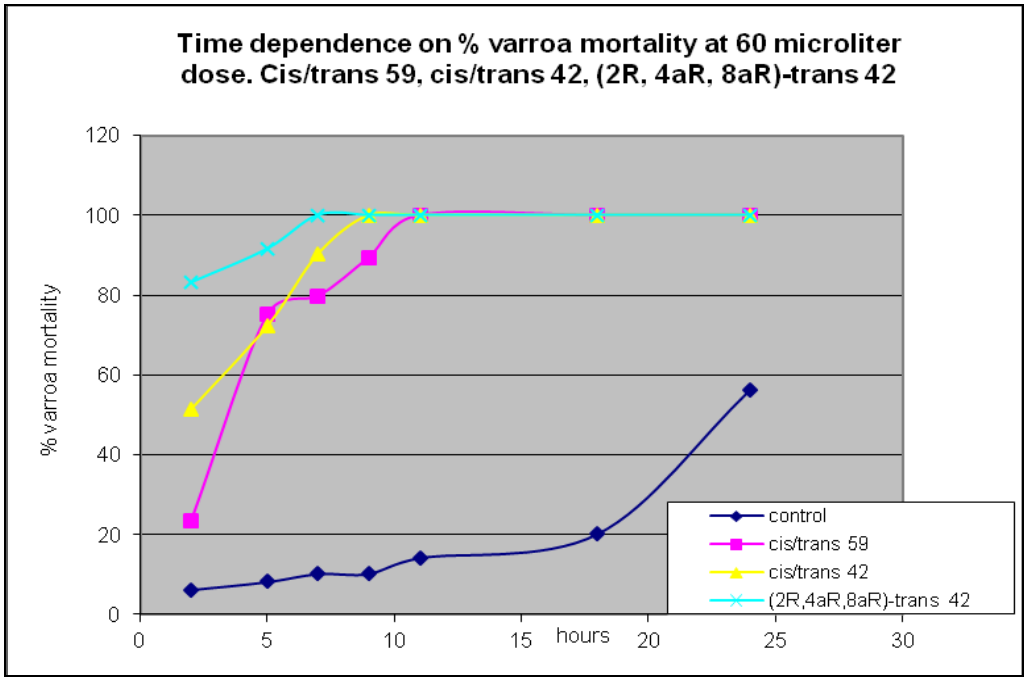
2. Στη δεύτερη ομάδα μελετών συγκρίνεται η δραστικότητα των ρακεμικών συστημάτων *cis/trans* **59** και *cis/trans* **42** όπου η βασική διαφορά είναι η απουσία της 8-μεθυλομάδας στην **42.** Σε άμεση σύγκριση με την *cis/trans* **42** τίθεται και η εναντιοεκλεκτικά συντεθειμένη ένωση **42** όπου όλα τα στερεογονικά κέντρα του δεκαλινικού σκελετού έχουν την ίδια απόλυτη στερεοχημεία με αυτήν του κοστικού οξέος.







Από το Διάγραμμα 2 φαίνεται ότι τα ρακεμικά συστήματα **59** και **42** εμφανίζουν παρόμοια δραστικότητα, με το nor-methyl παράγωγο **42** να προσεγγίζει την μέγιστη δραστικότητα ταχύτερα από το **59.**

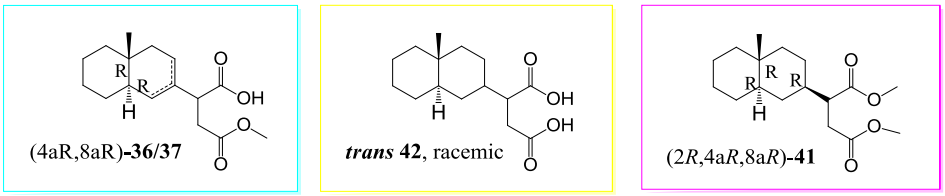


Διάγραμμα 2. Σύγκριση δραστικότητας των ρακεμικών *cis/trans* **59** και *cis/trans* **42** και της εναντιοεκλεκτικά συντεθειμένης ένωσης **42**

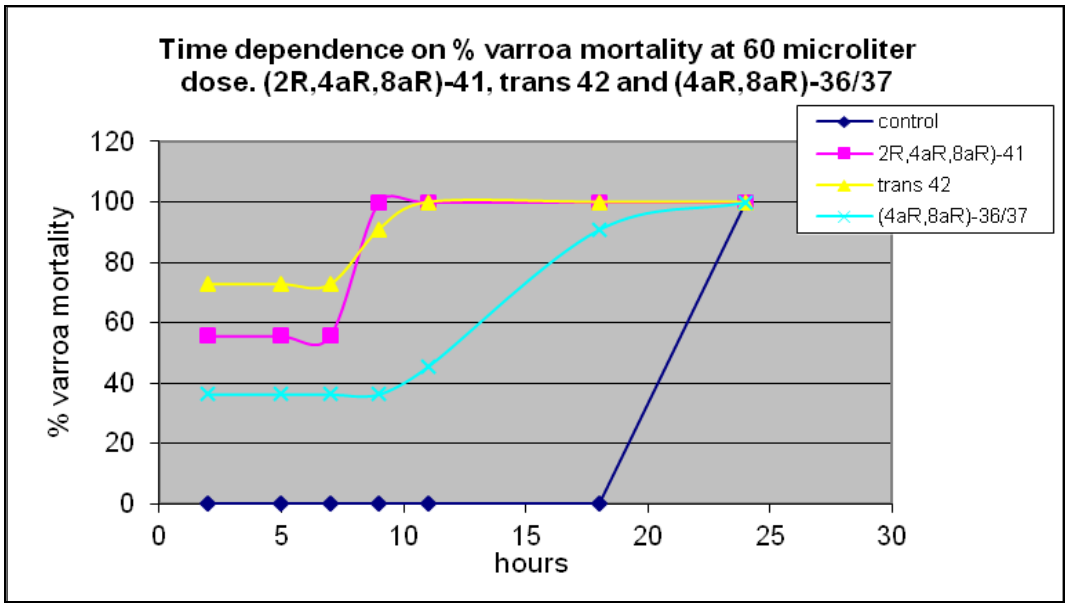
Όπως ήταν αναμενόμενο, η (2R,4aR,8aR)-42 όχι μόνο προσεγγίζει ταχύτατα την τιμή της μέγιστης δραστικότητας, αλλά διακρίνεται από τις άλλες ενώσεις από

το γεγονός ότι εμφανίζει 80% δραστικότητα από τις δύο πρώτες ώρες εφαρμογής της. Αξίζει να αναφερθεί στο σημείο αυτό ότι το κοστικό οξύ, του οποίου η μελέτη αναφέρεται ακολούθως, εμφανίζει μόνο 20% δραστικότητα τις δύο πρώτες ώρες από την εφαρμογή του.

3. Η επόμενη μελέτη είναι σύνθετη: Συγκρίνει το ρακεμικό *trans* διοξύ **42** με τον εναντιοεκλεκτικά παρασκευασμένο διεστέρα **41** και τον αντίστοιχο εναντιοεκλεκτικά παρασκευασμένο μόνοεστέρα **36 /37.**

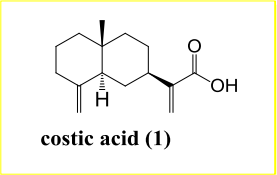


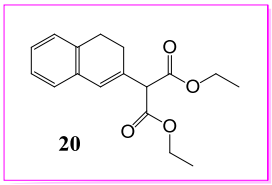
Από το Διάγραμμα 3 είναι προφανές ότι τα ελεύθερα διοξέα είναι δραστικότερα των αντίστοιχων εστέρων. Παρ' ότι ρακεμική, η *trans* **42** παρουσιάζει μεγαλύτερη δραστικότητα από το διεστέρα **41** από τις δύο πρώτες ώρες της εφαρμογής της. Η δραστικότητα των μονοεστέρων **36/37** είναι αμφισβητήσιμη δεδομένου ότι η εκτόξευση της δραστικότητάς τους από το 40% στο 100% προσομοιάζει αυτή του placebo (control).

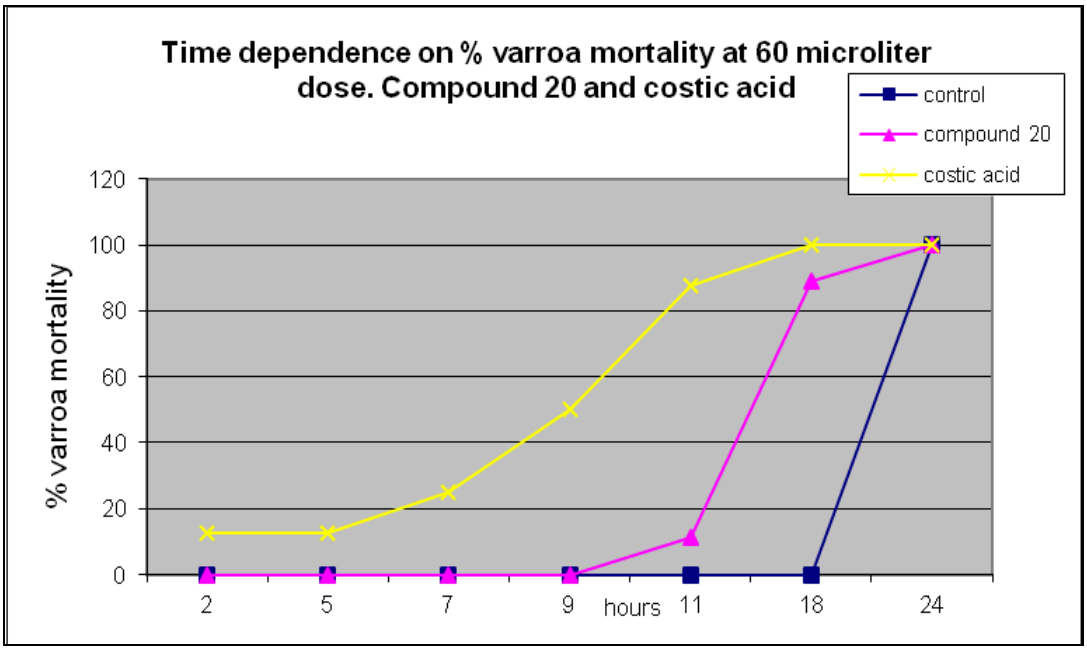


Διάγραμμα 3. Σύγκριση της δραστικότητας του ρακεμικού *trans* διοξέος **42** με τον εναντιοεκλεκτικά παρασκευασμένο διεστέρα **41** και τον εναντιοεκλεκτικά παρασκευασμένο μόνοεστέρα **36/37.**

4. Η τέταρτη μελέτη εμπεριέχει και τη μητρική ένωση, κοστικό οξύ (**1**) η οποία συγκρίνεται με το τετραλινικό παράγωγο του μηλονικού διεστέρα **20.**



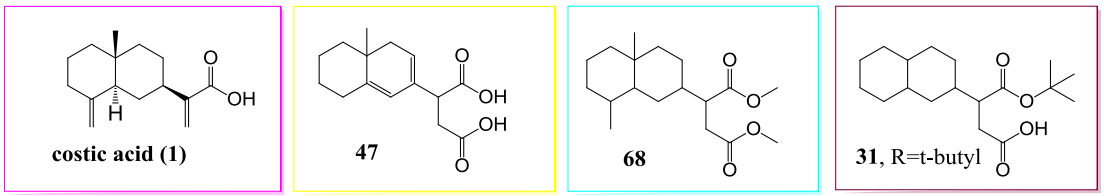


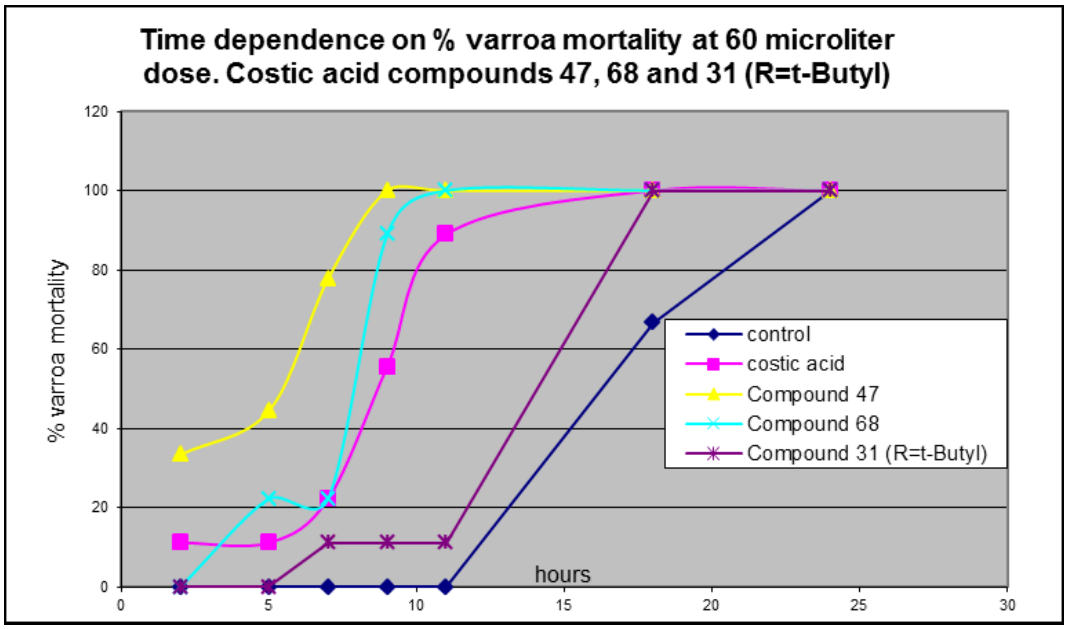


Διάγραμμα 4. Σύγκριση του κοστικού οξέος (**1**) με το τετραλινικό παράγωγο του μηλονικού οξέος **20**

Από το Διάγραμμα 4 είναι προφανές ότι ενώ το κοστικό οξύ εμφανίζει την αναμενόμενη ακαρεοκτόνο απόκριση με μία συμμετρική καμπύλη γνωστή ήδη από προηγούμενες μελέτες, η εκτόξευση της δραστικότητας της **20** από 10% στο 100% είναι πλασματική και προσομοιάζει αυτή του control. Προφανώς η αρωματοποίηση του δεύτερου από τους δύο δακτυλίους του κοστικού οξέος αναστρέφει την δραστικότητα της ένωσης.

5. Στην Πέμπτη και τελευταία μελέτη συγκρίνεται και πάλι η δραστικότητα της μητρικής ένωσης **1** (κοστικό οξύ) με μία σειρά αναλόγων με ιδιαίτερα χαρακτηριστικά: Το διοξύ **47** έμφανίζει μία προφανή δυσκαμψία στον δεύτερο δακτύλιο, ο διεστέρας **68** εμπεριέχει την 8-μεθυλομάδα και το μονοοξύ **31** (R-t-Butyl) είναι ένα nor-4a-methyl ανάλογο του κοστικού οξέος.



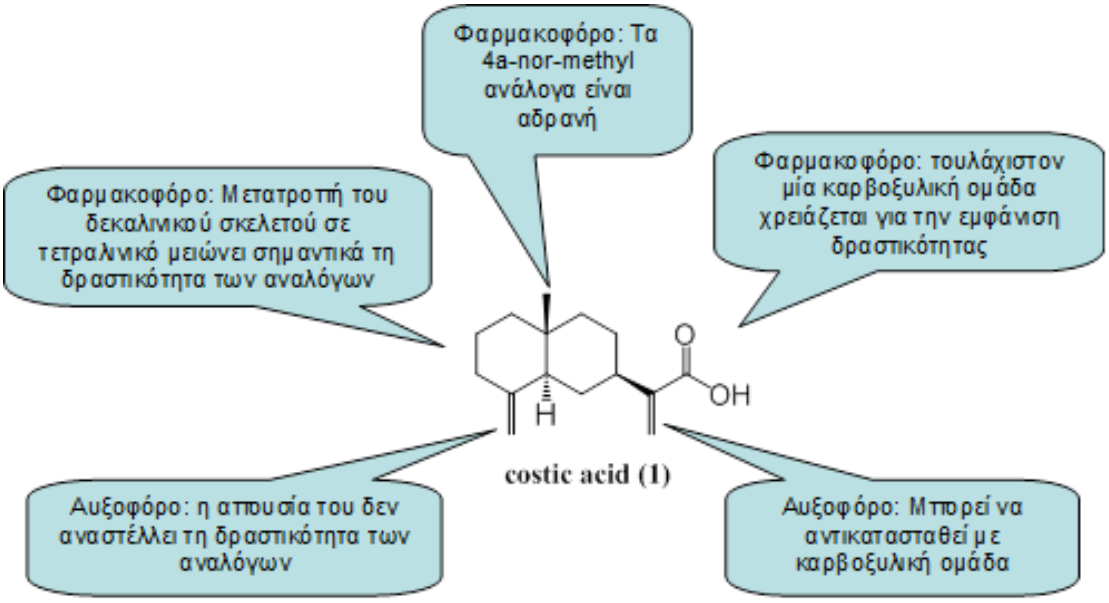


Διάγραμμα 5. Σύγκριση δραστικότητας της μητρικής ένωσης **1** (κοστικό οξύ) με το διοξύ **47** το διεστέρα **68** και το μονοοξύ **31** (R-t-Butyl)

Το πρώτο σχόλιο που θα πρέπει να γίνει για τα δεδομένα του Διαγράμματος 5, είναι ότι η **4α-μεθυλομάδα είναι προφανώς ένα τμήμα του φαρμακοφόρου της ένωσης**. Η ένωση **31** συμπεριφέρεται ακριβώς όπως και το control δίνοντας το προφίλ ενός ανενεργού αναλόγου. Το κοστικό οξύ και σε αυτή την μελέτη δίνει την κλασική "smooth" απόκριση εμφανίζοντας 80% της μέγιστης δραστικότητας στις 12 ώρες. Εντυπωσιακό είναι το γεγονός ότι η σχετική επιπεδότητα του διοξέος **47** δεν εμποδίζει το ανάλογο αυτό να εμφανίσει ένα πολύ θετικό προφίλ δραστικού αναλόγου. Αντίστοιχη, αλλά πιο βραδεία απόκριση, εμφανίζει ο διεστέρας **68**

ενισχύοντας την άποψη ότι **η παρουσία της ελεύθερης δικαρβοξυλικής ομάδας του σουκινικού οξέος εξασφαλίζει την επιθυμητή ακαρεοκτόνο δραστικότητα.**

Τα συμπεράσματα που εξάγονται από τις ανωτέρω μελέτες παρουσιάζονται στο Σχήμα 34.



Σχήμα 34: Αναγνώριση των χαρακτηριστικών ομάδων του κοστικού οξέος ως φαρμακοφόρων ή αυξοφόρων, βάσει των σχέσεων δομής-δραστικότητας σειράς συνθετικών αναλόγων.

5.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην επιστημονική αυτή εργασία επιτεύχθηκε η σύνθεση και οι μελέτες βιολογικής δραστικότητας μίας σειράς δικαρβοξυλικών αναλόγων του κοστικού οξέος (2-[(2*R*,4a*R*,8a*R*)-4a-methyldecahydro-2-naphthalenyl]acrylic acid, **1**), ενός σεσκιτερπενικού μονοκαρβοξυλικού οξέος το οποίο έχει απομονωθεί από το φυτό *Dittrichia Viscosa*, και δρα ως ακαρεοκτόνο κατά του παρασίτου της μέλισσας που ονομάζεται *Varroa Destructor*.

- Η πρώτη συνθετική προσέγγιση επικεντρώθηκε στην σύνθεση παραγώγων του μηλονικού οξέος με χρήση της μεθοδολογίας της μηλονικής σύνθεσης. Οι συνθετικές πορείες που επιλέχθηκαν με αρχικές ουσίες την β-τετραλόνη ή την 2-δεκαλόνη έδωσαν το διαίθυλο 2-(3,4-διϋδρο-2-ναφθαλενυλο)μαλονικό εστέρα (**20**) και το διαίθυλο 2-(1,2,3,4-τετραϋδρο-2- ναφθαλενυλο)μαλονικό εστέρα (**26**) σε πολύ μικρά ποσοστά.
- Η δεύτερη συνθετική προσέγγιση περιέλαβε τη σύνθεση παραγώγων του σουκινικού οξέος το οποίο συνδέθηκε με το δεκαλινικό σκελετό με συνθήκες της αντίδρασης Stobbe. Η μεθοδολογία αυτή αποδείχθηκε ιδιαίτερα επιτυχής δίνοντας μία σειρά αναλόγων:
- Κατ΄αρχήν, με στόχο τον καθορισμό των συνθηκών αντίδρασης, συντέθηκε το 2-(4a-μεθυλοδεκαϋδρο-2-ναφθαλενυλο)σουκινικό οξύ (**42**) υπό συνθήκες που δεν εξασφάλιζαν διαστερεοεκλεκτικότητα κατά την παρασκευή του αναλόγου αυτού.
- Στη συνέχεια συντέθηκε επίσης μη διαστερεοεκλεκτικά το 2-(4a,8-διμεθυλοδεκαϋδρο-2-ναφθαλένυλο)σουκινικό οξύ (**59**). Η συνθετική αυτή πορεία περιλάμβανε τη σύνθεση της 4a,8-διμεθυλοοκταϋδρο-2(1H)-ναφθαλενόνης (**64**) ως βασικού ενδιάμεσου για την παρασκευή παραγώγων που περιέχουν την 8-μεθυλική ομάδα.
- Κατόπιν, μέσω της διαστερεοεκλεκτικής σύνθεσης της *trans*-4α-μέθυλο2-δεκαλόνης (**35**) παρασκευάστηκε το 2-(*trans*-4a-μεθυλοδεκαϋδρο-2-ναφθαλενυλο) σουκινικό οξύ (*trans*-**42**), ένα ανάλογο του κοστικού οξέος με την επιθυμητή *trans* διαμόρφωση του δεκαλινικού δακτυλίου.

- Ο κύκλος της σύνθεσης των αναλόγων αυτών του κοστικού οξέος συμπληρώθηκε με την εναντιοεκλεκτική σύνθεση της (4α*R*,8a*R*)-4α-μέθυλο-2-δεκαλόνης (**35**) και στη συνέχεια την παρασκευή του 2-[(2*R*,4a*R*,8a*R*)-4a-μέθυλοδεκαϋδρο-2-ναφθαλένυλο]βουτανοδιοϊκού οξέος (2*R*,4a*R*,8a*R*)-**42**, όπου επιτεύχθηκε η επιθυμητή εναντιοεκλεκτικότητα στη σύνθεση και των τριών στερεογονικών κέντρων του δεκαλινικού σκελετού του μορίου.
- Μελέτες σχέσης δομής-ακαρεοκτόνου δραστικότητας των αναλόγων αυτών δίνουν ισχυρές ενδείξεις ότι:

  1. Η καρβοξυλική ομάδα του κοστικού οξέος αποτελεί φαρμακοφόρο του μορίου.
  2. Η 4α-μεθυλομάδα αποτελεί επίσης τμήμα του φαρμακοφόρου του κοστικού οξέος
  3. Το δεκαλινικό σύστημα αποτελεί επίσης τμήμα του φαμακοφόρου της ένωσης με το *trans*-ισομερές να παρουσιάζει ισχυρή δραστικότητα.
  4. Ο διπλός δεσμός της πλευρικής αλυσίδας του κοστικού οξέος αποτελεί μέρος του αυξοφόρου, δεδομένου ότι η αντικατάστασή του από καρβοξυλικές ομάδες συνεπάγεται διατήρηση της δραστικότητας.
  5. Η 8-μεθυλενομάδα αποτελεί επίσης μέρος του αυξοφόρου, δεδομένου ότι η απουσία της σε σειρά συνθετικών αναλόγων δεν αναστέλλει τη δραστικότητα των αναλόγων αυτών.

6.ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Όλες οι αντιδράσεις πραγματοποιήθηκαν υπό αδρανείς συνθήκες (ατμόσφαιρα αργού).

Όπου απαιτήθηκαν άνυδρες συνθήκες, οι φιάλες αντίδρασης πυρώθηκαν σε υψηλό κενό.

Η πορεία των αντιδράσεων ελέγχθηκε με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας T.L.C. σε γυάλινα πλακίδια επιστρωμένα με ξηροπηκτή διοξειδίου του πυριτίου- Silica Gel τύπου 60F_{254}. Για την εμφάνισή τους χρησιμοποιήθηκε ακτινοβολία UV 254nm και 360 nm, εμβάπτιση σε αιθανολικό διάλυμα 7% φωσφομολυβδαινικού οξέος και θέρμανση ή έκθεση των πλακιδίων σε θάλαμο με ατμούς ιωδίου. Ως διαλύτες ανάπτυξης χρησιμοποιήθηκαν μίγματα EtOAc-πετρελαϊκού αιθέρα (1:4) ή EtOAc- πετρελαϊκού αιθέρα(1:9). Για την χρωματογραφία στήλης χρησιμοποιήθηκε silica gel 60, 230-400 mesh.

Τα φάσματα NMR καταγράφηκαν σε φασματόμετρα FT-NMR AMX500 (500MHz) και MSL300 (300MHz) της εταιρίας Bruker. Οι χημικές μετατοπίσεις των πρωτονίων αναγράφονται σε ppm, σε σχέση με την μετατόπιση του τετραμεθυλοσιλανίου.

Τα μονοδιάστατα φάσματα ^{1}H-NMR ελήφθησαν με 64K πραγματικά δεδομένα (data points). Για κάθε φάσμα ελήφθησαν από 16 έως 64 FIDs οι οποίες αποθηκεύτηκαν στη μνήμη του υπολογιστή. Το φασματικό εύρος ήταν από 12 έως 14 ppm. Χρησιμοποιήθηκαν επίσης 4 ψευδοσαρώσεις (dummy scans) ώστε το σύστημα των σπιν να φτάσει σε δυναμική ισορροπία πριν από την εφαρμογή της επόμενης ακολουθίας παλμών. Ο χρόνος ανάκτησης (acquisition time) ήταν 2,7s, ενώ ο χρόνος αναμονής (relaxation delay) μεταξύ δυο συνεχόμενων ακολουθιών παλμών ήταν 1s. Μετά τον μετασχηματισμό Fourier έγινε διόρθωση της γραμμής βάσης του φάσματος με ένα πολυώνυμο τέταρτης τάξης και ακολούθησε διόρθωση φάσης μηδενικής και πρώτης τάξης.

Τα μονοδιάστατα φάσματα ^{13}CNMR ελήφθησαν με 64K πραγματικά δεδομένα και φασματικό εύρος από 200 έως 220 ppm. Για κάθε φάσμα ελήφθησαν από 2000 έως 10000 FIDs, οι οποίες αποθηκεύτηκαν στη μνήμη του υπολογιστή. Χρησιμοποιήθηκαν 4 ψευδοσαρώσεις ώστε η θερμοκρασία του δείγματος και το σύστημα των spin να φτάσει σε δυναμική ισορροπία. Ο χρόνος αναμονής πριν την εφαρμογή της επόμενης ακολουθίας παλμών ήταν 3s. Η τιμή του παλμού 90 είχε διάρκεια 10.3μs. Πριν το μετασχηματισμό Fourier η ελεύθερη επαγωγική απόσβεση (FID) πολλαπλασιάστηκε με μια εκθετική συνάρτηση, με εκθέτη lb= 3Hz, για την αύξηση της ευαισθησίας του πειράματος και τα δεδομένα αυξήθηκαν με την προσθήκη 64K μηδενικών στη μνήμη του

υπολογιστή. Μετά το μετασχηματισμό Fourier έγινε διόρθωση φάσης μηδενικής και πρώτης τάξης και ακολούθησε διόρθωση της γραμμής βάσης του φάσματος με ένα πολυώνυμο τέταρτης τάξης. Ένα πείραμα 2D-NMR, χαρακτηρίζεται από ένα συνδυασμό ή ακολουθία παλμών, οι οποίοι περιλαμβάνουν ορισμένα χρονικά διαστήματα ή χρόνους αναμονής. Το είδος της ακολουθίας των παλμών που χρησιμοποιείται προσδιορίζει το είδος της πληροφορίας που θα μας δώσει το δισδιάστατο φάσμα. Σε γενικές γραμμές ένα 2D NMR πείραμα περιλαμβάνει τρείς βασικές χρονικές περιόδους: α) την περίοδο προετοιμασίας, β) την περίοδο εξέλιξης και γ) την περίοδο ανίχνευσης. Κάθε μία από τις περιόδους χαρακτηρίζεται από μια χρονική διάρκεια, τον χρόνο προετοιμασίας t_D*, τον χρόνο εξέλιξης* t_1 *και τον χρόνο ανίχνευσης* t_2*, αντίστοιχα. Σε ορισμένα 2D NMR πειράματα, πριν την περίοδο ανίχνευσης, προστίθεται μια τέταρτη περίοδος, η περίοδος ανάμιξηςμε χρονική διάρκεια τον χρόνο ανάμιξης* t_m*.*

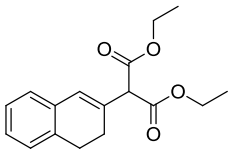
Τα ομοπυρηνικά φάσματα $^1H–^1H$ *COSY 2D NMR λήφθησαν χρησιμοποιώντας 256 πραγματικά δεδομένα των 1K, 128 σαρώσεις και 4 ψευδοσαρώσεις, με χρονική καθυστέρηση 1 s. Τα ετεροπυρηνικά φάσματα* $^1H–^{13}C$*, gHMQC και gHMBC COSY 2D NMR λήφθησαν χρησιμοποιώντας 128 πραγματικά δεδομένα των 1K, 128 σαρώσεις και 4 ψευδοσαρώσεις, με χρονική καθυστέρηση 1s. Το πείραμα gHMQC βελτιστοποιήθηκε για συζεύξεις ενός δεσμού* $^1H–^{13}C$*, των 140Hz, ορίζοντας τη χρονική καθυστέρηση στα 3 ms. Για το πείραμα gHMBC χρησιμοποιήθηκε χρονική καθυστέρηση 60 ms, βελτιστοποιημένο για συζεύξεις δεσμού* $^1H–^{13}C$ *μακράς εμβέλειας, των 8 Hz περίπου. [7]*

Πριν τον μετασχηματισμό Fourier, όλα τα 2D σετ δεδομένων συμπληρώθηκαν με μηδενικά μέχρι τη δημιουργία μιας μήτρας 1K x 1K και χρησιμοποιήθηκε μια τετραγωνική ημιτονοειδής συνάρτηση για την επεξεργασία τους.

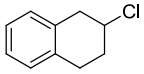
Τα διαγράμματα GC-MS ελήφθησαν σε αέριο χρωματογράφο Shimadzu GC-MS-QP5050A εφοδιασμένο με τριχοειδή στήλη Supelco (SPB-5, 30m × 0.25m) και ανιχνευτή μάζας Cl. Το γενικό θερμοκρασιακό πρόγραμμα που χρησιμοποιήθηκε ήταν αρχική θερμοκρασία κολώνας 100^0C*, παραμονή για 2 λεπτά, άνοδος* $15^0C/min$ *μέχρι τους* 230^0C*.*

Η οπτική στροφική ικανότητα των ασύμμετρων ενώσεων μετρήθηκε σε ένα Polarimeter KRUSS P3000 με χρήση κυψελίδων χωρητικότητας 10 ml και διαλύτες όπως αναφέρονται στο πειραματικό μέρος.

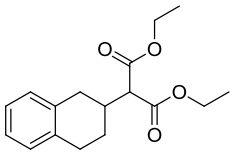
7.ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΝΩΣΕΩΝ ΠΟΥ ΑΝΑΦΕΡΟΝΤΑΙ ΣΤΟ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



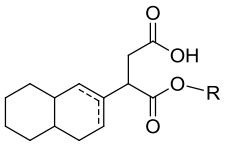
20



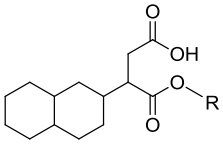
25



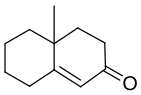
26



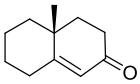
***cis/trans* 29, R=Me, t-Bu**



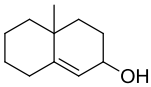
31(R=Et, t-Bu)



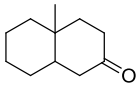
(4a*R*/*S*)-33



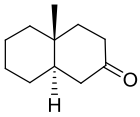
(4a*R*)-33



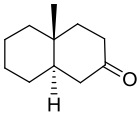
34



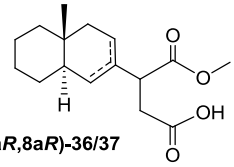
35, mixture of cis/trans diastereomers



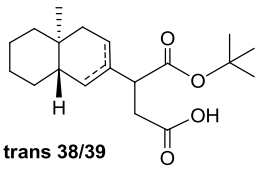
trans-35



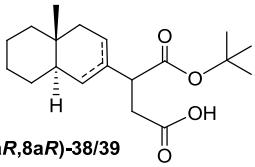
(4a*R*,8a*R*)-35



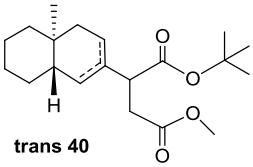
(4a*R*,8a*R*)-36/37



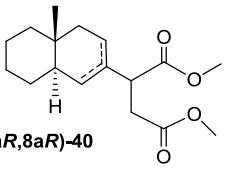
trans 38/39



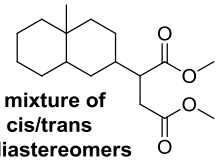
(4a*R*,8a*R*)-38/39



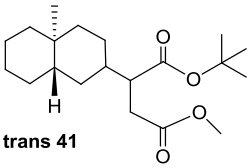
trans 40



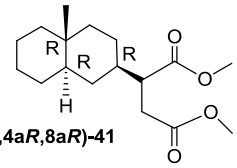
(4a*R*,8a*R*)-40



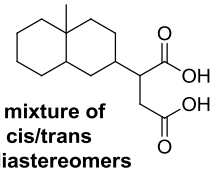
41, mixture of cis/trans diastereomers



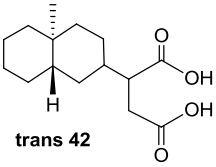
trans 41



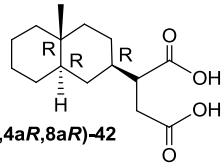
(2*R*,4a*R*,8a*R*)-41



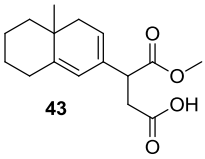
42, mixture of cis/trans diastereomers



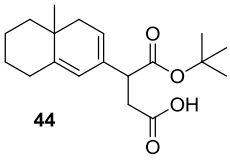
trans 42



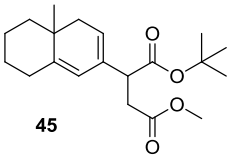
(2*R*,4a*R*,8a*R*)-42



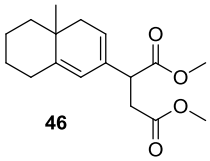
43



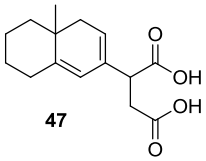
44



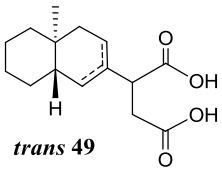
45



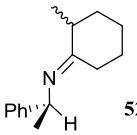
46



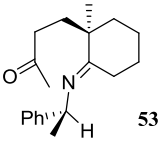
47



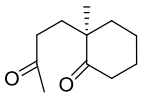
***trans* 49**



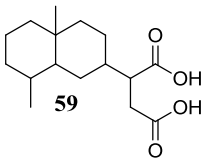
52



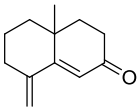
53



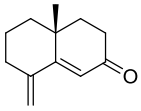
54



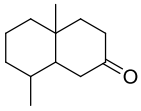
59



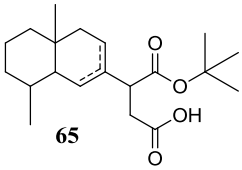
(4α*R*/*S*)-63



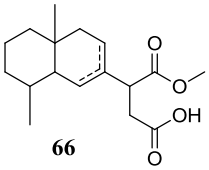
(4α*R*)-63



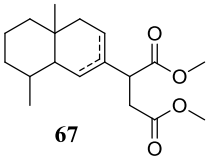
64



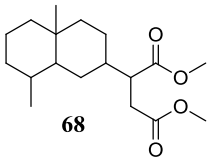
65



66

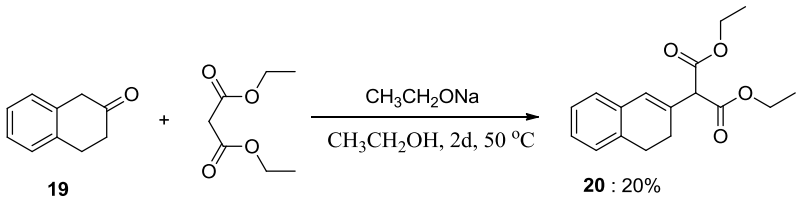


67



68

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΝΩΣΗΣ **20**:



Ένωση	*Μοριακό Βάρος (Mr)*	*m (g)*	*mmoles* $^{(eq)}$	*V (ml)*	*d* ($^{g}/_{ml}$)
β-Τετραλόνη (**19**)	146.19	1.00	6.80 $^{(1)}$	1.00	1.106
Μηλονικός διαιθυλεστέρας	160.17	2.30	14.30 $^{(2.1)}$	2.50	1.055
$EtO^{-}Na^{+}$ (3M)	68.05		14.30 $^{(2.1)}$	5.00	
EtOH $_{(dry)}$				35.00	

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Σε προξηραμένη δίλαιμη σφαιρική φιάλη των 100ml, η οποία έφερε ψυκτήρα μεταφέρθηκαν 35ml ξηρής αιθανόλης και υπό έντονη ανάδευση προστέθηκε ο μαλονικός διαιθυλεστέρας. Έπειτα από 10 λεπτά η θερμοκρασία του συστήματος μειώθηκε στους -78°C και μεταφέρθηκε το διάλυμα του αιθοξειδίου του νατρίου. Το διάλυμα παρέμεινε για 10 λεπτά σε ανάδευση και η θερμοκρασία αυξήθηκε βαθμιαία στους -10°C για 30 λεπτά, ώστε να αποφευχθεί ο σχηματισμός παραπροϊόντων απόσπασης. Εν συνεχεία, η θερμοκρασία μειώθηκε στους -78°C και προστέθηκε η β-τετραλόνη (**19**). Η φιάλη μεταφέρθηκε σε παγόλουτρο για 30 λεπτά και το σύστημα επανήλθε σταδιακά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Το διάλυμα παρέμεινε σε ανάδευση 3 μέρες χωρίς διαφοροποίηση. Στη συνέχεια, το διάλυμα θερμάνθηκε στους 50°C για 28 ώρες και με τη λήψη φασμάτων GC-MS και NMR διαπιστώθηκε ο σχηματισμός του επιθυμητού προϊόντος. Το διάλυμα εκχυλίστηκε με CH_2Cl_2 (3X15ml) και η οργανική στοιβάδα εκπλύθηκε με κορεσμένο διάλυμα NaCl (3X5ml). Η οργανική στοιβάδα ξηράνθηκε με άνυδρο Na_2SO_4 και ο διαλύτης απομακρύνθηκε με απόσταξη σε rotary evaporator. διαχωρισμός των συστατικών του μίγματος με χρωματογραφια στήλης χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης 20% Οξικό αιθυλεστέρα (Ε.Α.) σε πετρελαϊκό αιθέρα (Ρ.Ε.).Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 20 % (395mg).

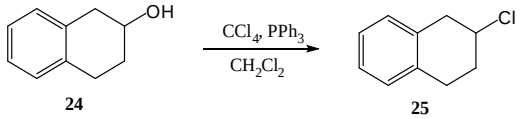
Φασματοσκοπικά Δεδομένα

^{1}H-NMR (300MHz, $CDCl_3$): δ= 7.78-7.64 (m, 1H), 7.25(br.s, 1H), 7.26-7.00 (m, 3H), 4.22 (dq, J_1=14.3Hz,J_2=7Hz, 4H), 3.35 (br.s, 1H), 2.85 (dd, J_1=J_2=8Hz, 2H), 2.45 (dd, J_1=J_2=8Hz, 2H), 1.28 (t, J=6.5Hz, 6H)

^{13}C-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 167.8, 166.6, 135.0, 133.6, 132.7, 128.3, 127.3/127.2, 126.4/126.3, 118.1, 61.4, 59.2, 41.6, 28.0, 25.4, 13.9

MS (m/z): 288(M^{+}), 214(M-74)$^{+}$, 185(M-103)$^{+}$, 168(M-120)$^{+}$, 141(M-147)$^{+}$, 128(M-160), 115(M-173)$^{+}$, 91(M-197)$^{+}$.

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΝΩΣΗΣ **25**:



Ένωση	*Μοριακό Βάρος (Mr)*	*m (g)*	*mmoles* $^{(eq)}$	*V (ml)*	*d* ($^{g}/_{ml}$)
β-τετραλόλη (**24**)	148.20	0.10	0.70 $^{(1)}$		
CCl_4	153.82	0.12	0.80 $^{(1.1)}$	0.08	1.587
PPh_3	262.29	0.21	0.80 $^{(1.1)}$		
$CH_2Cl_{2\,(dry)}$				2.00	

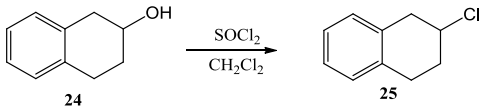
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Σε προξηραμένη δίλαιμη σφαιρική φιάλη των 25ml μεταφέρθηκαν 2ml ξηρού CH_2Cl_2 μαζί με τη *β*-τετραλόλη (**24**). Ακολούθησε η προσθήκη του τετραχλωράνθρακα και κατόπιν σταδιακά της τριφαίνυλοφωσφίνης. Η αντίδραση έγινε αρχικά στους 0^oC και στη συνέχεια ανέβηκε η θερμοκρασία στους 40^oC για 12 ώρες, ενώ παρέμεινε προστατευμένη από την ηλιακή ακτινοβολία καθόλη τη διάρκεια της. Δημιουργήθηκαν φωσφινοξείδια τα οποία απομακρύνθηκαν με ειδική επεξεργασία με πετρελαϊκό αιθέρα και διήθηση. Ακολούθησε απομόνωση του προϊόντος με χρωματογραφια στήλης χρησιμοποιώντας ως σύστημα 5% οξικό αιθυλεστέρα (Ε.Α.) σε πετρελαϊκό αιθέρα (Ρ.Ε.). Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 95% (111mg) για το επιθυμητό προϊόν, ενώ το υπόλοιπο 5% αντιστοιχούσε στο παραπροϊόν της απόσπασης.

Φασματοσκοπικά Δεδομένα

^{1}H-NMR (300MHz, $CDCl_3$): δ= 7.24-7.05 (m, 4H), 4.51-4.41 (m, 1H), 3.35 (dd, J_1=17Hz, J_2=5Hz, 1H), 3.15(dd, J_1=J_2=8Hz, 1H), 3.09 (dd, J_1=12Hz, J_2=5Hz, 1H), 2.98-2.80 (m, 1H), 2.41-2.27 (m, 1H), 2.23-2.08 (m, 1H)
^{13}C-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 134.7, 133.6, 129.1, 129.0, 126.4, 126.1, 56.5, 39.4, 32.5, 27.3
MS (m/z): 168 (M^+, 33%) 166 (M^+, 100%)

ΔΕΥΤΕΡΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗΣ ΕΝΩΣΗΣ **25**:



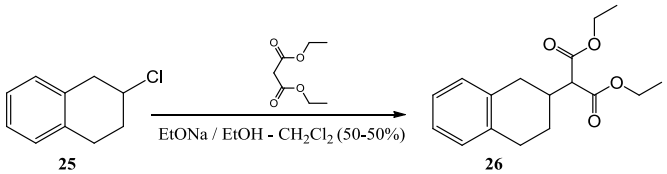
Ένωση	*Μοριακό Βάρος (Mr)*	*m (g)*	*mmoles* $^{(eq)}$	*V (ml)*	*d* ($^{g}/_{ml}$)
β-τετραλόλη (**24**)	148.20	0.10	0.70 $^{(1)}$		
$SOCl_2$	118.97	0.25	2.10 $^{(3)}$	0.152	1.638
$CH_2Cl_{2\ (dry)}$				2.00	

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Σε προξηραμένη δίλαιμη σφαιρική φιάλη των 25ml μεταφέρθηκαν 2ml ξηρού CH_2Cl_2 μαζί με τη *β*-τετραλόλη (**24**). Ακολούθησε η προσθήκη του θειόνυλο χλωριδίου. Η αντίδραση έγινε αρχικά στους 0^oC (1 ώρα) και στη συνέχεια ανέβηκε η θερμοκρασία στους 40^oC για 1 ώρα ακόμη και ακολούθησε ανάδευση για 12 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Η αντίδραση παρέμεινε προστατευμένη από την ηλιακή ακτινοβολία καθόλη τη διάρκεια της. Ακολούθησε απομόνωση του προϊόντος με χρωματογραφια στήλης χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης 5% Οξικό αιθυλεστέρα (Ε.Α.) σε πετρελαϊκό αιθέρα (Ρ.Ε.) Η απόδοση αντίδρασης άγγιξε το 45%, ενώ το προϊόν απόσπασης σχηματίστηκε σε ποσοστό 38% (44mg).

Φασματοσκοπικά Δεδομένα (ως ανωτέρω)

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΝΩΣΗΣ **26:**



Ένωση	*Μοριακό Βάρος (Mr)*	*m (g)*	*mmoles* $^{(eq)}$	*V (ml)*	*d* ($^{g}/_{ml}$)
25	166.65	0.05	0.30 $^{(1)}$		
Μηλονικός Διαιθυλεστέρας	160.17	0.06	0.40 $^{(1.2)}$	0.06	1.055
$EtO^{-}Na^{+}$ (3M)	68.05		0.30 $^{(1)}$		
EtOH $_{(dry)}$				5.00	
CH_2Cl_2 $_{(dry)}$				3.00	

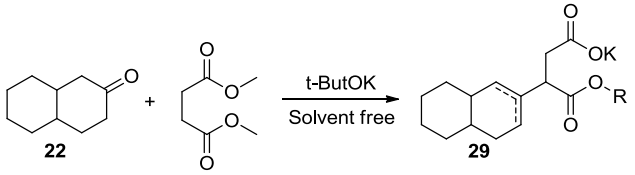
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Σε προξηραμένη δίλαιμη σφαιρική φιάλη των 50ml, η οποία έφερε ψυκτήρα μεταφέρθηκαν 5ml ξηρής αιθανόλης και υπό έντονη ανάδευση προστέθηκε ο μηλονικός διαιθυλεστέρας. Έπειτα από 10 λεπτά η θερμοκρασία του συστήματος μειώθηκε στους -20°C και μεταφέρθηκε το διάλυμα του αιθοξειδίου του νατρίου. Το διάλυμα παρέμεινε για 10 λεπτά σε ανάδευση και η θερμοκρασία αυξήθηκε σταδιακά στους -10°C για 30 λεπτά, ώστε να αποφευχθεί ο σχηματισμός παραπροϊόντων απόσπασης. Εν συνεχεία, η θερμοκρασία μειώθηκε στους -20°C και προστέθηκε το χλωρίδιο (**25**). Η φιάλη μεταφέρθηκε σε παγόλουτρο για 30 λεπτά και το σύστημα επανήλθε σταδιακά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Το διάλυμα παρέμεινε σε ανάδευση 2 ημέρες χωρίς διαφοροποίηση. Στη συνέχεια, το διάλυμα θερμάνθηκε στους 75°C για 10 ώρες και με τη λήψη φασμάτων GC-MS και NMR διαπιστώθηκε ο σχηματισμός του επιθυμητού προϊόντος. Το διάλυμα εκχυλίστηκε με CH_2Cl_2 (3X15ml) και η οργανική στοιβάδα εκπλύθηκε με κορεσμένο διάλυμα NaCl (3X5ml). Η οργανική στοιβάδα ξηράνθηκε με άνυδρο Na_2SO_4 και ο διαλύτης απομακρύνθηκε με απόσταξη σε rotary evaporator. Ακολούθησε απομόνωση του προϊόντος με χρωματογραφια στήλης χρησιμοποιώντας ως σύστημα έκλουσης 20% οξικό αιθυλεστέρα (Ε.Α.) σε πετρελαϊκό αιθέρα (Ρ.Ε.) Το επιθυμητό προϊόν δημιουργήθηκε σε ποσοστό 40% (33mg), ενώ το αντίστοιχο προϊόν απόσπασης της 20%.

Φασματοσκοπικά Δεδομένα

^{1}H-NMR (300MHz, $CDCl_3$): δ= 7.15-7.07 (m, 4H), 3.80-3.70 (m, 2H), 3.63 (dq, J_1=7.1Hz, J_2=2.2Hz, 4H), 3.11 (dd, J_1=16.4Hz, J_2=5.4Hz, 1H), 2.96 (dt, J_1=16.4Hz, J_2=5.4Hz, 1H), 2.87-2.74 (m, 2H), 2.18-2.07 (m, 1H), 1.81 (tq, J_1=12.7Hz, J_2=5.7Hz, 1H), 1.26 (t, J_1= J_2=7.1Hz, 6H)
MS (m/z): 290 (M^{+})

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΤΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ **29 (R=Me, t-Bu):**



Ένωση	*Μοριακό Βάρος (Mr)*	*m (g)*	*mmoles* $^{(eq)}$	*V (ml)*	*d* ($^{g}/_{ml}$)
2-δεκαλόνη (**22**) (μίγμα cis-trans 50-50%)	152.23	0.50	3.30 $^{(1)}$	0.60	0.979
Σουκινικός διμεθυλεστέρας	146.14	0.72	4.95 $^{(1.5)}$	0.65	1.117
t-ButOK	112.22	0.55	4.95 $^{(1.5)}$		

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

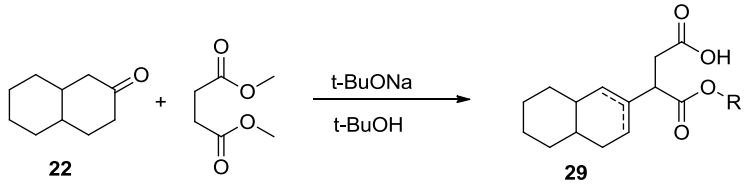
Σε προξηραμένη δίλαιμη σφαιρική φιάλη των 25ml, η οποία έφερε ψυκτήρα μεταφέρθηκαν υπό έντονη ανάδευση ο σουκινικός διμέθυλο εστέρας, η 2-δεκαλόνη και το τερτ-βουτοξείδιο του καλίου. Το διάλυμα παρέμεινε για 30 λεπτά σε ανάδευση και κατόπιν θερμάνθηκε στους 80°C για 24 ώρες. Το διάλυμα εκχυλίστηκε με διαιθυλαιθέρα (3X20ml) και με HCl 1N, ενώ η οργανική στοιβάδα εκπλύθηκε με κορεσμένο διάλυμα NaCl (3X10ml)και ξηράνθηκε με άνυδρο Mg_2SO_4 ενώ ο διαλύτης απομακρύνθηκε με απόσταξη σε rotary evaporator. Βάσει των δεδομένων ανάλυσης GC/MS τα επιθυμητά προϊόντα δημιουργήθηκαν σε ποσοστό 7%.

Φασματοσκοπικά Δεδομένα

Ένωση **29** (R=Me)
GC-MS: m/z: 266 (M^+)

Ένωση **29** (R=t-Bu)
GC-MS: m/z: 308 (M^+)

ΔΕΥΤΕΡΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗΣ ΕΝΩΣΕΩΝ **29 (R=Me, t-Bu):**



Ένωση	*Μοριακό Βάρος (Mr)*	*m (g)*	*mmoles (eq)*	*V (ml)*	*d ($^g/_{ml}$)*
2-δεκαλόνη (**22**)	152.23	0.50	3.30 (1)	0.60	0.979
σουκινικός διμεθυλεστέρας	146.14	0.72	4.95 (1.5)	0.65	1.117
Na		0.12	5.20 (1.5)		
tert-ButOH (dry)				10.00	

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Σε σφαιρική φιάλη των 25ml μεταφέρθηκαν η 2-δεκαλόνη και ο σουκινικός διεστέρας. Προστέθηκαν σε αυτά 2-3ml βενζολίου και το μίγμα αποστάχθηκε σε rotary evaporator και έπειτα αφέθηκε στην αντλία κενού για 1 περίπου ώρα, για να απομακρυνθεί κάθε είδους διαλύτης ή υγρασία.

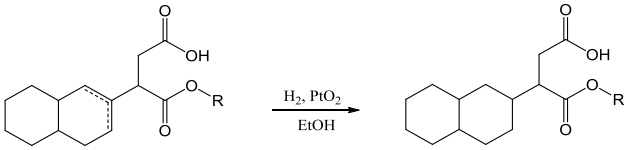
Σε μία άλλη προξηραμένη σφαιρική φιάλη των 25ml, που έφερε ψυκτήρα, μεταφέρθηκαν 10ml ξηρής τερτ-βουτανόλης και ανέβηκε η θερμοκρασία στους 30°C (για να αποφύγουμε την πήξη της τερτ-βουτανόλης (m.p. 25-26 °C). Έπειτα στη φιάλη αυτή προστέθηκε το Na κομμένο σε μικρά κομμάτια και το σύστημα θερμάνθηκε στους 90°C έως ώτου διαλυθεί το μέταλλο.

Στη συνέχεια, τα δύο παραπάνω διαλύματα από τις δύο σφαιρικές (δ/μα αιθοξειδίου του νατρίου και σουκινικός διεστέρας με την 2-δεκαλόνη) μεταφέρθηκαν σε αυτόκλειστο (autoclave) και εφαρμόστηκε σε αυτό θέρμανση σε ελαιόλουτρο κυμαινόμενη από τους 110 – 110°C για 24 ώρες. Το διάλυμα στη συνέχεια εξουδετερώθηκε, με την προσθήκη 2ml HCl 6N και εκχυλίστηκε με διχλωρομεθάνιο (3X20ml) και η οργανική στοιβάδα εκπλύθηκε με κορεσμένο διάλυμα NaCl (3X10ml). Η οργανική στοιβάδα ξηράνθηκε με άνυδρο Mg_2SO_4 και ο διαλύτης απομακρύνθηκε με απόσταξη σε rotary evaporator. Το μίγμα των επιθυμητών προϊόντων διαπιστώθηκε με τη λήψη φασμάτων GC-MS. Η απόδοση της αντίδρασης ανήλθε στο 60%.

Φασματοσκοπικά Δεδομένα

Ένωση **29** (R=Me)
GC-MS: m/z: 306 (M^+)
Ένωση **29** (R=t-Bu)
GC-MS: m/z: 348 (M^+)

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΝΩΣΗΣ **31 (R=t-Butyl)**



29, R=Me, t-Butyl **31,** R= t-Butyl, major product

Ένωση	*Μοριακό Βάρος (Mr)*	*m (g)*	*mmoles* $^{(eq)}$	*V (ml)*	*d* ($^{g}/_{ml}$)
Μίγμα αντιδρώντων	280.36	0.60	2.14		
PtO_2		0.02			
(εναλλακτικά) Pd/C (10%)		$0.05^{(1/10)}$			
EtOH $_{(dry)}$				30.00	

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

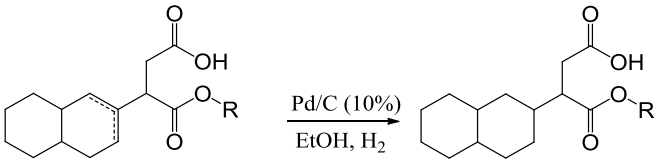
Σε προξηραμένη δίλαιμη σφαιρική φιάλη των 100ml μεταφέρθηκαν 600mg από το μίγμα των αντιδρώντων διαλυμένο σε 30ml ξηρής αιθανόλης καθώς και 20mgr από τον καταλύτη. Το διάλυμα παρέμεινε για 5 ώρες σε ανάδευση υπό την πίεση αέριου H_2 ενώ έλεγχος πραγματοποιούνταν σε αυτό ανά μία ώρα. Ο καταλύτης απενεργοποιήθηκε με την προσθήκη CH_2Cl_2 και το διάλυμα εκχυλίστηκε με διχλωρομεθάνιο (3X20ml). Η οργανική στοιβάδα εκπλύθηκε με κορεσμένο διάλυμα NaCl (3X10ml), ξηράνθηκε με άνυδρο Mg_2SO_4 και ο διαλύτης απομακρύνθηκε με απόσταξη σε rotary evaporator. Παραλήφθηκε το επιθυμητό προϊόν σε πολύ μικρό ποσοστό, καθώς και μίγμα προϊόντων και παραπροϊόντων μη διαχωρίσιμων μεταξύ τους (αλκοόλες, αλδεύδες κλπ) καθώς η αναγωγή επηρέασε και το ελεύθερο καροξυλικό οξύ.

Φασματοσκοπικά Δεδομένα

Ένωση **31** (R=t-Bu)

^{1}H-NMR (300MHz, $CDCl_3$): δ= 8.90-8.10 (br.s, 1H), 3.81-3.71 (m, 1H), 2.74 (dd, J_1= J_2=15Hz, 2H), 2.60-2.42 (m, 1H), 1.94-1.79 (m, 1H), 1.77-1.60 (m, 5H), 1.59-1.35 (m, 7H), 1.24/1.21 (s, 9H for all diastereoisomers), 1.07-0.74 (m, 3H)
GC-MS: m/z: 310 (M^+)

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΝΩΣΗΣ **31 (R=Et):**



29, R=Et **31,** R=Et

Ένωση	*Μοριακό Βάρος (Mr)*	*m (g) (eq)*	*mmoles*	*V (ml)*	*d (g/ml)*
Μίγμα αντιδρώντων	266.33	0.50(1)	1.90		
Pd/C (10%)		0.05(1/10)			
EtOH (dry)				27.00	

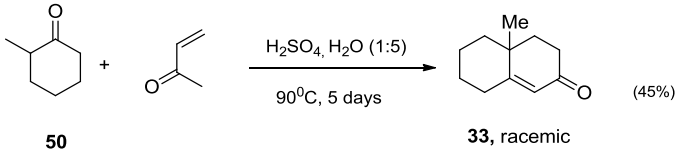
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Σε προξηραμένη δίλαιμη σφαιρική φιάλη των 100ml μεταφέρθηκαν 500mg από το μίγμα των αντιδρώντων διαλυμένα σε 27ml ξηρής αιθανόλης καθώς και 50mg από τον καταλύτη. Το διάλυμα παρέμεινε για 5 ώρες σε ανάδευση υπό την πίεση αέριου H_2. Ο καταλύτης απενεργοποιήθηκε με την προσθήκη διχλωρομεθανίου και απομακρύνθηκε από το διάλυμα με διήθηση πάνω από celite. Ο διαλύτης απομακρύνθηκε με απόσταξη σε rotary evaporator. Παραλήφθηκε μίγμα προϊόντων και παραπροϊόντων μη διαχωρίσιμων μεταξύ τους (αλκοόλες, αλδεύδες κλπ) καθώς η αναγωγή επηρέασε και το ελεύθερο καροξυλικό οξύ. Από το μίγμα απομονώθηκαν ίχνη του επιθυμητού προϊόντος το οποίο ταυτοποιήθηκε φασματοσκοπικά.

Φασματοσκοπικά Δεδομένα

^{1}H-NMR (300MHz, $CDCl_3$): δ= 8.93 (br.s, 1H), 4.26-4.05 (m, 2H), 2.85-2.58 (m, 2H), 2.56-2.39 (m, 1H), 1.75-1.55 (m, 5H), 1,54-1.39 (m, 5H), 1.38-1.31 (m, 1H), 1.25 (dt, J_1=7Hz, J_2=3Hz, **3**H), 1.08-0.70 (m, 3H)
MS: m/z: 282 (M^+)

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΝΩΣΗΣ **(4α*R*/*S*)-33:**



Ένωση	*Μοριακό Βάρος (Mr)*	*m (g)*	*mmoles* $^{(eq)}$	*V (ml)*	*d* ($^{g}/_{ml}$)
2-μέθυλο κυκλοεξανόνη (**50**)	112.17	10.00	89.20 $^{(1)}$	11.00	0.924
3-βουτεν-2-όνη	70.09	7.80	111.50 $^{(1.25)}$	9.30	0.841
H_2SO_4 (π)				2.50	
H_2O				16.00	

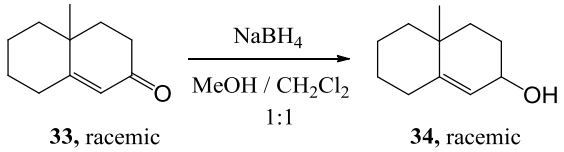
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Σε δίλαιμη σφαιρική φιάλη των 250ml προσαρμόστηκε ψυκτήρας και μεταφέρθηκαν 16ml H_2O. Η φιάλη τοποθετήθηκε σε παγόλουτρο και προστέθηκαν 2.5ml πυκνού H_2SO_4. Έπειτα, από 30' αφαιρέθηκε το παγόλουτρο και έλαβε χώρα η προσθήκη 11ml από το αρχικό αντιδρών 2-μέθυλοκυκλοεξανόνη καθώς και 9.3ml από την 3-βουτέν-2-όνη. Το διάλυμα παρέμεινε σε ανάδευση για 30' και έπειτα, θερμάνθηκε στους 70°C για 4 ημέρες. Στο διάλυμα προστέθηκε NaOH (3N) για εξουδετέρωση του οξέος και κατόπιν εκχυλίστηκε με CH_2Cl_2 (3X20ml). Η οργανική στοιβάδα ξηράνθηκε με άνυδρο Mg_2SO_4 και ο διαλύτης απομακρύνθηκε με απόσταξη σε rotary evaporator. Ο διαχωρισμός του μίγματος πραγματοποιήθηκε με χρωματογραφία στήλης, σε silica gel, με σύστημα έκλουσης οξικός αιθυλεστέρας : πετρελαϊκός αιθέρας = 1: 4. Το επιθυμητό προϊόν σχηματίστηκε σε ποσοστό 45% (6.6g).

Φασματοσκοπικά Δεδομένα

^{1}H-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 5.50 (s, 1H), 2.30 (dq, J_1=14Hz, J_2=6Hz, 1H), 2.19 (dq, J_1=5.4Hz, J_2=2Hz, 1H), 2.13 (dt, J_1=16.8Hz, J_2=4.5Hz, 1H), 2.09–2.03 (m, 1H), 1.75-1.68 (m, 1H), 1.64 (dt, J_1=13.5Hz, J_2=4.5Hz, 1H), 1.59 (dq, J_1=5.6Hz, J_2=3Hz, 1H), 1.53-1.44 (m, 3H), 1.25-1.13 (m, 2H), 1.06 (s, 3H). Τα δεδομένα αυτά ήταν σε πλήρη συμφωνία με τα βιβλιογραφικά δεδομένα.
^{13}C-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 198.4, 169.6, 123.5, 41.0, 37.5, 35.3, 33.4, 32.2, 26.6, 21.5, 21.2
MS: m/z: 164 (M^+)

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΝΩΣΗΣ **(4α*R*/*S*)-34**:



Ένωση	*Μοριακό Βάρος (Mr)*	*m (g)*	*mmoles* $^{(eq)}$	*V (ml)*	*d* ($^{g}/_{ml}$)
(R/S)-**33**	164.24	0.05	0.30$^{(1)}$		
$NaBH_4$	37.83	0.04	1.05$^{(3.5)}$		
CH_2Cl_2 (dry)				2.00	
MeOH (dry)				2.00	

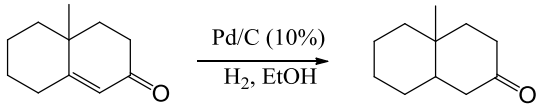
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Σε προξηραμένη δίλαιμη σφαιρική φιάλη των 50ml μεταφέρθηκαν 2ml ξηρής MeOH και έπειτα η ένωση (R/S)-**33** σε 2ml ξηρού CH_2Cl_2. Η φιάλη τοποθετήθηκε σε λουτρό ξηρού πάγου και ακετόνης και σε θερμοκρασία -78°C προστέθηκαν 40mg $NaBH_4$. Το διάλυμα παρέμεινε στους 0°C για 3 ώρες και έπειτα το σύστημα επανήλθε σταδιακά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Έπειτα προστέθηκαν 20ml H_2O υπό έντονη ανάδευση η οποία συνεχίστηκε για 7 ώρες ώστε να σπάσει το σύμπλοκο. Το διάλυμα εκχυλίστηκε με CH_2Cl_2 (3X20ml) και η οργανική στοιβάδα εκπλύθηκε με κορεσμένο διάλυμα NaCl (3X10ml). Η οργανική στοιβάδα ξηράνθηκε με άνυδρο Mg_2SO_4 και ο διαλύτης απομακρύνθηκε με απόσταξη σε rotary evaporator. Το επιθυμητό προϊόν **34** σχηματίστηκε σε ποσοστό 98% (48mg).

Φασματοσκοπικά Δεδομένα

^{1}H-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 5.17 (d, J=5.3Hz, 1H), 4.07-4.01 (m, 1H), 3.45 (br.s, 1H), 2.03 (tq, J_1=27.5Hz, J_2=13.6Hz, J_3=2.4Hz, 1H), 1.85 (dt, J_1=13.8Hz, J_2=J_3=2Hz, 1H), 1.79-1.71 (m, 1H), 1.70-1.62 (m, 1H), 1.47 (dt, J_1=13.1Hz, J_2=J_3=3.6Hz, 1H), 1.43 (dd, J_1=J_2=3.3Hz, 1H), 1.42-1.34 (m, 3H), 1.22 (dt, J_1=13.4Hz, J_2=2.4Hz, 1H), 1.13 (tt, J_1=26Hz, J_2=12.8Hz, J_3=4.4Hz, 1H), 1.05 (dd, J_1=13.2Hz, J_2=4.8Hz, 1H), 0.97 (br.s, 3H)
^{13}C-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 145.3, 123.8, 67.4, 42.1, 37.4, 34.7, 32.1, 28.6, 28.3, 23.5, 22.2.
MS: m/z: 166 (M^+)

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΝΩΣΗΣ **35:**



33, racemic **35**, racemic

Ένωση	*Μοριακό Βάρος (Mr)*	*m (g) (eq)*	*mmoles*	*V (ml)*	*d (g/ml)*
(4αR/S)-**33**	164.24	0.30(1)	1.83		
Pd/C (10%)		0.03(1/10)			
EtOH (dry)				37.00	

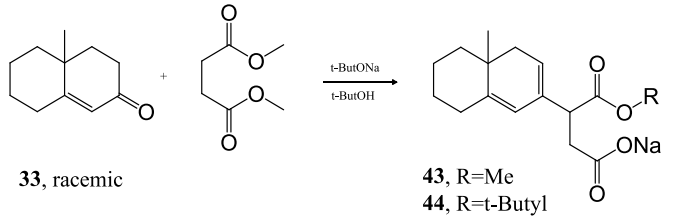
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Σε προξηραμένη δίλαιμη σφαιρική φιάλη των 25ml μεταφέρθηκαν 60mg από την κετόνη (4αR/S)-**33,** διαλυμένη σε 37ml ξηρής αιθανόλης καθώς και 30mg από τον καταλύτη. Το διάλυμα παρέμεινε για 20 λεπτά σε ανάδευση υπό ατμοσφαιρική πίεση αέριου H_2. Ο καταλύτης απενεργοποιήθηκε με την προσθήκη διχλωρομεθανίου και απομακρύνθηκε από το διάλυμα με διήθηση με celite. Ο διαλύτης απομακρύνθηκε με απόσταξη σε rotary evaporator. Ο διαχωρισμός του μίγματος πραγματοποιήθηκε με χρωματογραφία στήλης, σε silica gel, οξικός αιθυλεστέρας : πετρελαϊκός αιθέρας = 1: 4. Το επιθυμητό προϊόν σχηματίστηκε σε ποσοστό 90% (273mg).

Φασματοσκοπικά Δεδομένα

^{1}H-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 2.52 (dd, J_1=14.3Hz, J_2=5.7Hz, 1H), 2.36 (dt, J_1=14.3Hz, J_2=6.7Hz, 1H), 2.24-2.16 (m, 1H), 2.09-2.01 (m, 2H), 1.67-1.61 (m, 1H), 1.60-1.53 (m, 1H), 1.50-1.40 (m, 4H), 1.36 (dt, J_1=10Hz, J_2=4Hz, 1H), 1.33-1.26 (m, 1H), 1.21-1.14 (m, 2H), 1.10/0.96 (s, 3H for both diastereoisomers)
^{13}C-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 212.4(cis)/211.5(trans), 44.9(trans), 44.6(trans), 44.1(cis), 43.9(cis), 41.0(trans), 40.3(trans), 38.2(trans), 37.7(cis), 37.0(cis), 33.1(trans), 32.9(cis), 32.5(cis), 28.9(trans)/28.8(cis), 27.1(cis), 26.0(trans), 24.9(cis), 21.54(cis)/21.48(trans), 14.9 (both diastereomers).
MS: m/z: 166 (M+)
Τα δεδομένα αυτά βρέθηκαν σε πλήρη συμφωνία με τα βιβλιογραφικά δεδομένα.

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΝΩΣΕΩΝ **43, 44**:



33, racemic

43, R=Me
44, R=t-Butyl

Ένωση	*Μοριακό Βάρος (Mr)*	*m (g)*	*mmoles (eq)*	*V (ml)*	*d (g/ml)*
(R/S)-**33**	164.24	0.50	3.10(1)		
Σουκινικός διμεθυλεστέρας	146.14	0.68	4.60 (1.5)	0.61	1.117
t-ButONa	96.11	0.45	4.60 (1.5)		0.979
Na		0.15			
t-ButOH (dry)				10.00	

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Σε σφαιρική φιάλη των 25ml μεταφέρθηκαν η (R/S)-**33** και ο σουκινικός διεστέρας. Προστέθηκαν σε αυτά 2-3ml βενζολίου και το μίγμα αποστάχθηκε σε rotary evaporator και έπειτα αφέθηκε στην αντλία κενού για 1 περίπου ώρα, για να απομακρυνθεί κάθε είδους διαλύτης ή υγρασία.

Σε μία άλλη προξηραμένη σφαιρική φιάλη των 25ml, που έφερε ψυκτήρα, μεταφέρθηκαν 10ml ξηρής τερτ-βουτανόλης και ανέβηκε η θερμοκρασία στους 30°C (για να αποφύγουμε την πήξη της τερτ-βουτανόλης (m.p. 25 to 26 °C). Έπειτα στη φιάλη αυτή προστέθηκε το Na κομμένο σε μικρά κομμάτια και το σύστημα θερμάνθηκε στους 90°C έως ότου διαλυθεί το μέταλλο.

Στη συνέχεια, τα δύο παραπάνω διαλύματα από τις δύο σφαιρικές (δ/μα αιθοξειδίου του νατρίου και σουκινικός διεστέρας με την (R/S)-**33**) μεταφέρθηκαν σε αυτόκλειστο (autoclave) και εφαρμόστηκε σε αυτό θέρμανση σε ελαιόλουτρο κυμαινόμενη από τους 100 – 110°C για 20 ώρες. Το διάλυμα στη συνέχεια εξουδετερώθηκε με την προσθήκη 2ml HCl 6N και εκχυλίστηκε με διχλωρομεθάνιο (3X20ml) και η οργανική στοιβάδα εκπλύθηκε με κορεσμένο διάλυμα NaCl (3X10ml). Η οργανική στοιβάδα ξηράνθηκε με άνυδρο Mg_2SO_4 και ο διαλύτης απομακρύνθηκε με απόσταξη σε rotary evaporator. Ο διαχωρισμός του μίγματος πραγματοποιήθηκε με χρωματογραφία στήλης, σε silica gel, με σύστημα έκλουσης οξικός αιθυλεστέρας : πετρελαϊκός αιθέρας = 1: 4. Αξίζει να σημειωθεί ότι το κύριο προϊόν της αντίδρασης ήταν ο t-βούτυλο-εστέρας αντί του μεθοξυ-εστέρα λόγω μετεστεροποίησης. Τα επιθυμητά προϊόντα σχηματίστηκαν σε ποσοστό 70% (695mg).

Φασματοσκοπικά Δεδομένα

Ένωση **44:**

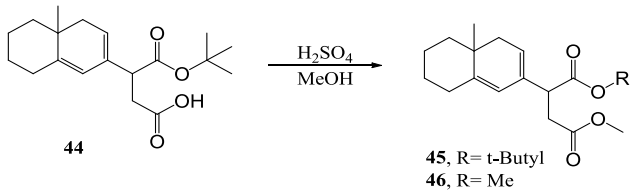
^{1}H-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 9.49 (br.s, 1H), 5.86/5.85 (s, 1H for all diastereoisomers), 5.40 (s, 1H), 3.35 (dq, J_1=9.7Hz, J_2=5.5Hz, 1H), 2.94 (dq, J_1=9.7Hz, J_2=4.7Hz, 1H), 2.49

(dq, J_1=8.8Hz, J_2=5.5Hz, 1H), 2.31 (dd, J_1=J_2=15.5Hz, 1H), 2.17-2.04 (m, 3H), 1.79-1.73 (m, 1H), 1.68-1.63 (m, 1H), 1.49-1.44 (m, 3H), 1.41/1.40 (s, 9H for all diastereoisomers), 1.29-1.23 (m, 1H), 0.94/0.93 (s, 3H for all diastereoisomers)
^{13}C-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 178.2, 171.9/171.8, 140.54/140.51, 132.80/132.76, 127.5/127.0, 124.4/124.3, 81.0, 49.10/49.08, 37.22/37.20, 37.1/37.0, 35.3, 35.1, 31.94/31.92, 28.05/28.03, 25.8, 25.3, 24.1, 23.17/23.15, 18.52/18.50
MS: m/z: 320 (M^+)

Ένωση **43**

^{1}H-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 10.09 (br. s, 1H), 5.87/5.85 (s, 1H for all diastereoisomers), 5.40 (m, 1H), 3.67/3.66 (s, 3H for all diastereoisomers), 3.45 (dt, J_1=10.1Hz, J_2=5.5Hz, 1H), 2.98 (dq, J_1=9.7Hz, J_2=4.7Hz, 1H), 2.55 (m, 2H), 2.25 (dd, J_1=J_2=13Hz, 1H), 2.16-2.03 (m, 3H), 1.74 (dq, J_1=6.5Hz, J_2=3.2Hz, 1H), 1.67-1.60 (m, 1H), 1.50-1.44 (m, 2H), 1.30-1.25 (m, 1H), 0.91 (s, 3H)
^{13}C-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 178.6, 177.8, 173.3/173.2, 171.5, 140.2, 132.2/132.0, 127.8/127.6, 124.8/124.7, 52.31/52.28, 48.3, 47.7, 37.1/36.9, 35.4, 35.0, 31.81/31.80, 30.1, 29.2, 28.0, 25.7, 24.6, 24.4, 23.1, 18.41/18.40
MS: m/z: 278 (M^+)

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΝΩΣΕΩΝ **45, 46**:



Ένωση	*Μοριακό Βάρος (Mr)*	*m (g)*	*mmoles (eq)*	*V (ml)*	*d (g/ml)*
44	320.42	0.10	0.31(1)		
H_2SO_4 (π)	98.08	0.01	0.14 (0.45)	0.01	1.84
MeOH (dry)				1.00	

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Σε προξηραμένη δίλαιμη σφαιρική φιάλη των 25ml, η οποία έφερε ψυκτήρα μεταφέρθηκαν 100mg από το αντιδρών διαλυμένα σε 1ml ξηρής μεθανόλης. Έπειτα το σύστημα ψύχθηκε στους 0°C και προστέθηκε το πυκνό H_2SO_4. Το διάλυμα παρέμεινε για 30 λεπτά σε ανάδευση και σταδιακά επανήλθε σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Στη συνέχεια, το διάλυμα θερμάνθηκε στους 70°C για 2 ώρες. Το διάλυμα εκχυλίστηκε με διαιθυλαιθέρα (3X20ml) και η οργανική στοιβάδα εκπλύθηκε με κορεσμένο διάλυμα NaCl (3X10ml). Η οργανική στοιβάδα ξηράνθηκε με άνυδρο Mg_2SO_4 και ο διαλύτης απομακρύνθηκε με απόσταξη σε rotary evaporator. Ο διαχωρισμός του μίγματος πραγματοποιήθηκε με χρωματογραφία στήλης, σε silica gel, με σύστημα έκλουσης οξικός αιθυλεστέρας : πετρελαϊκός αιθέρας = 1: 9 και τα επιθυμητά προϊόντα ταυτοποιήθηκαν με τη λήψη φασμάτων GC-MS και NMR. Αξίζει να σημειωθεί πως οι 2 διεστέρες σχηματίστηκαν σε ίσα ποσοστά, (32,5% για τον κάθε εστέρα)

Φασματοσκοπικά Δεδομένα

Ένωση: **45**

^{1}H-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 5.87/5.85 (s, 1H for all diastereoisomers), 5.40 (t, J=3.5Hz, 1H), 3.66 (s, 3H), 3.39 (dq, J_1=5.8Hz, J_2=9.6Hz, 1H), 2.47 (dq, J_1=9.6Hz, J_2=5.8Hz, 1H), 2.37-2.27 (m, 1H), 2.17-2.06 (m, 3H), 1.83-1.73 (m, 1H), 1.69-1.63 (m, 1H), 1.59-1.53 (m, 1H), 1.51-1.46 (m, 2H), 1.42/1.43 (s, 9H for all diastereoisomers), 1.31-1.28 (m, 2H), 0.95/0.96 (s, 3H for all diastereoisomers)
^{13}C-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 172.63, 172.0/171.9, 140.7/140.6, 133.11/133.09, 127.4/127.0, 124.23/124.16, 80.93/80.89, 51.8, 49.5/49.4, 37.26/37.24/37.2/37.1, 35.3/35.1, 31.98/31.96, 29.8, 28.11/28.09, 25.8, 25.2, 24.1, 23.2, 18.6, 18.5
MS: m/z: 334 (M+)

Ένωση: **46**

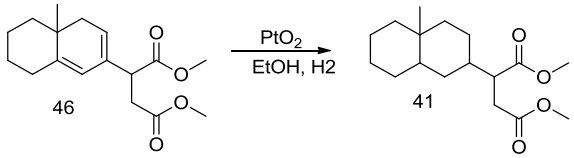
^{1}H-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 5.78/5.76 (s, 1H for all diastereoisomers), 5.33-5.28 (m, 1H), 3.58/3.57 (s, 3H for all diastereoisomers), 3.56/3.55 (s, 3H for all diastereoisomers), 3.39 (dt, J_1=9.8Hz, J_2=5.6Hz, 1H), 2.85 (dq, J_1=9.8Hz, J_2=5.6Hz, 1H), 2.42 (dt, J_1=16.5Hz,

J_2=5.8Hz, 1H), 2.22-2.09 (m, 1H), 2.08-1.94 (m, 3H), 1.72-1.62 (m, 1H), 1.59-1.52 (m, 1H), 1.45-1.34 (m, 2H), 1.27-1.13 (m, 2H), 0.84 (s, 3H)

^{13}C-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 172.97/172.92, 171.99/171.97, 140.1, 132.3/132.0, 127.5/127.2, 124.4/124.3, 51.90/51.87, 51.5, 48.4/48.7, 36.9, 36.74/36.71, 35.2/34.8, 31.60/31.59, 25.5, 24.4/24.0, 22.92/22.91, 18.24/18.22

MS: m/z: 292 (M^+)

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΝΩΣΗΣ **41(R=Me)**:



Ένωση	*Μοριακό Βάρος (Mr)*	*m (g) (eq)*	*mmoles*	*V (ml)*	*d (g/ml)*
46	292.37	0.02	0.07		
PtO_2		0.007			
EtOH $_{(dry)}$				2.00	

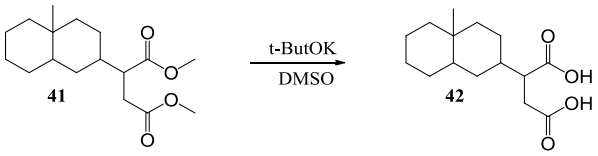
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Σε προξηραμένη δίλαιμη σφαιρική φιάλη των 25ml μεταφέρθηκαν 20mg από το μίγμα των αντιδρώντων διαλυμένο σε 2ml ξηρής αιθανόλης καθώς και 7mg από τον καταλύτη. Το διάλυμα παρέμεινε για 1 ώρα σε ανάδευση υπό την πίεση αέριου H_2. Ο καταλύτης απενεργοποιήθηκε με την προσθήκη διχλωρομεθανίου και απομακρύνθηκε από το διάλυμα με διήθηση σε celite. Ο διαλύτης απομακρύνθηκε με απόσταξη σε rotary evaporator. Συνολική απόδοση της αντίδρασης 98% (19mg).

Φασματοσκοπικά Δεδομένα

^{1}H-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 3.63 (s, 3H), 3.60 (s, 3H), 2.72-2.64 (m, 2H), 2.46-2.38 (m, 1H), 1.67-1.57 (m, 2H), 1.46-1.38 (m, 2H), 1.34-1.26 (m, 3H), 1.20-1.13 (m, 3H), 1.25-1.02 (m, 3H), 1.00-0.92 (m, 2H), 0.93-0.86 (t, J_1=J_2=13.6Hz, 1H), 0.72 (s, 3H)
^{13}C-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 174.99/174.96 (two diastereoisomers), 172.92/172.90 (two diastereoisomers), 51.7/51.6(two diastereoisomers) , 46.9, 45.0, 41.42/41.39 , 40.52/40.46 , (two diastereoisomers) 33.48/33(two diastereoisomers) .46, 33,3, 32.7, 32.3, 28.85/28.84 (two diastereoisomers), 26.9, 25.8, 25.4, 21.8, 15.6
MS: m/z: 296 (M^+)

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΝΩΣΗΣ **42**:



Ένωση	*Μοριακό Βάρος (Mr)*	*m (g)* $^{(eq)}$	*mmoles*	*V (ml)*	*d* ($^{g}/_{ml}$)
41	296.4	0.02	0.07$^{(1)}$		
t-ButOK	112.22	0.06	0.56 $^{(8)}$		
DMSO $_{(dry)}$				1.00	

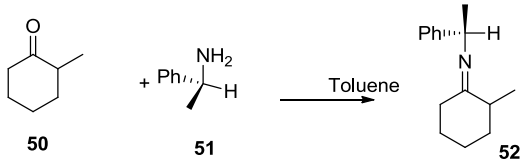
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Σε προξηραμένη δίλαιμη σφαιρική φιάλη των 25ml μεταφέρθηκαν 20mg από το μίγμα των αντιδρώντων διαλυμένο σε 1ml ξηρού διμέθυλοσουλφοξειδίου καθώς και 63mg τερτ-βουτοξειδίου του καλίου. Το διάλυμα στις 2 ώρες έδωσε μίγμα του τελικού προϊόντος καθώς και των αντίστοιχων μονοοξέων, οπότε αφέθηκε σε ανάδευση για 10 ώρες για να ολοκληρωθεί η αντίδραση. Ακολούθησε η προσθήκη του διαίθυλοαιθέρα, για την καταβύθιση του προϊόντος σε μορφή άλατος του καλίου. Φυγοκέντριση του διαλύματος αυτού απομάκρυνε το DMSO από το αλάτι, το οποίο εν συνεχεία διαλύθηκε σε ξηρό ακετονιτρίλιο, μεταφέρθηκε σε προξηραμένη φιάλη και πρωτονιώθηκε με τη χρήση Amberlyst 15. Ο διαλύτης απομακρύνθηκε με απόσταξη σε rotary evaporator. Συνολική απόδοση της αντίδρασης 97% (18mg).

Φασματοσκοπικά Δεδομένα

^{1}H-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 11.21 (s, 1H), 10.33 (s, 1H), 2.80-2.71 (m, 2H), 2.56-2.48 (m, 1H), 1.75-1.66 (m, 2H), 1.52-1.43 (m, 3H), 1.41-1.32 (m, 3H), 1.26-1.20 (m, 3H), 1.11 (dq, J_1=23.2 Hz, J_2=11Hz, 3H), 1.06-0.98 (m, 2H), 0.78 (s, 3H)
^{13}C-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 181.04/181.00 (two diastereoisomers), 179.1, 46.8, 45.2/45.1 (two diastereoisomers), 41.4, 40.3/40.2 (two diastereoisomers), 33.6, 33.2/33.1 (two diastereomers) , 32.1, 28.90/28.88 (two diastereoisomers), 26.9, 26.01, 25.2, 21.9, 15.8
MS: m/z: 268 (M^+)

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΝΩΣΗΣ **52**:



Ένωση	*Μοριακό Βάρος (Mr)*	*m (g)*	*mmoles (eq)*	*V (ml)*	*d ($^g/_{ml}$)*
2-μέθυλο κυκλοεξανόνη (±**50**)	112.17	18.50	164.9(1)	20.02	0.924
S-(-)-α-μέθυλο βενζυλαμίνη (**51**)	121.18	20.00	164.9(1)	21.2	0.948
Τολουόλιο (dry)	92.14			100.00	0.867

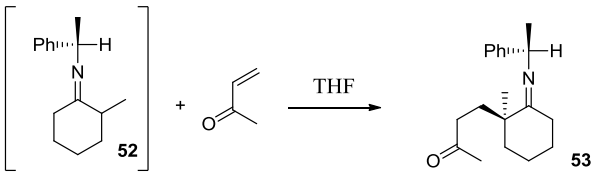
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Σε σφαιρική φιάλη των 250ml, η οποία περιείχε μαγνητικό αναδευτήρα εφαρμόστηκε συσκευή Dean-Stark water separator και ψυκτήρας. Έπειτα, προστέθηκαν 20.02ml της 2-μέθυλο κυκλοαξανόνης (±**50**) μαζί με 100ml ξηρού τολουολίου. Στη συνέχεια, μεταφέρθηκαν 21.2ml από την ένωση (S)-(-)-α-μεθυλοβενζυλαμίνη (**51**). Η φιάλη τοποθετήθηκε σε ελαιόλουτρο και θερμάνθηκε στους 125°C, συνθήκες reflux, υπό ατμόσφαιρα αζώτου για 24 ώρες και παρέμεινε overnight σε ανάδευση. Ακολούθως, λήφθηκε φάσμα GC-MS και διαπιστώθηκε ότι τα αρχικά αντιδρώντα υπήρχαν σε ίχνη και είχε σχηματιστεί το επιθυμητό ενδιάμεσο σε ποσοστό 93%. Τελευταίο βήμα αποτέλεσε η απομάκρυνση του τολουολίου με απόσταξη σε rotary evaporator. Το ακατέργαστο προϊόν χρησιμοποιήθηκε απευθείας στην επόμενη αντίδραση.

Φασματοσκοπικά Δεδομένα

MS: m/z: 215 (M^+)

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΝΩΣΗΣ **53**:



Ένωση	*Μοριακό Βάρος (Mr)*	*m (g)*	*mmoles* $^{(eq)}$	*V (ml)*	*d* ($^{g}/_{ml}$)
52	215.35	28.40	131.92$^{(1)}$		
3-βουτεν-2-όνη	70.09	9.71	138.50$^{(1.05)}$	11.55	0.841
THF				75.00	

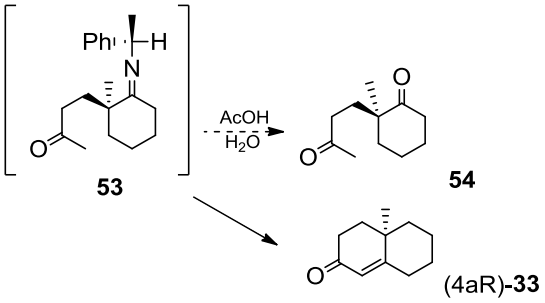
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Σε προξηραμένη σφαιρική φιάλη των 250ml, στην οποία τοποθετήθηκε μαγνητικός αναδευτήρας, προστέθηκαν 28.40g της ένωσης **52** μαζί με 75ml THF. Η φιάλη τοποθετήθηκε σε παγόλουτρο και προστέθηκαν 121.55ml από την 3-βουτεν-2-όνη στάγδην και υπό ισχυρή ανάδευση. Μετά την ολοκλήρωση της προσθήκης το παγόλουτρο διατηρήθηκε για 30 λεπτά και έπειτα το διάλυμα παρέμεινε σε ανάδευση για 5 ημέρες στους 20°C. Η αντίδραση αυτή χρειάστηκε ειδικές συνθήκες, λόγω της ευκολίας του mvk να δίνει προϊόντα πολυμερισμού. Τέλος, το διάλυμα εκχυλίστηκε με διαιθυλαιθέρα (3X20ml) και η οργανική στοιβάδα εκπλύθηκε με κορεσμένο διάλυμα NaCl (3X10ml). Η οργανική στοιβάδα ξηράνθηκε με άνυδρο Mg_2SO_4 και ο διαλύτης απομακρύνθηκε με απόσταξη σε rotary evaporator. Το ακατέργαστο προϊόν χρησιμοποιήθηκε απευθείας στην επόμενη αντίδραση.

Φασματοσκοπικά Δεδομένα

MS: m/z: 285 (M^+)

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΝΩΣΗΣ **54**:



Ένωση	*Μοριακό Βάρος (Mr)*	*m (g)*	*mmoles (eq)*	*V (ml)*	*d (g/ml)*
53	285.42	38.00			
Οξικό οξύ				4.00	
H_2O				16.00	

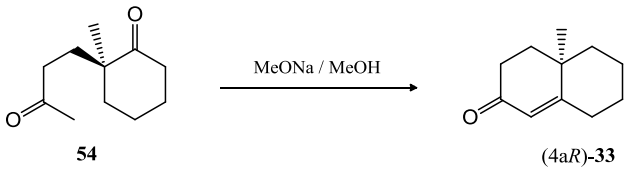
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Σε σφαιρική φιάλη των 250ml, η οποία περιείχε μαγνητικό αναδευτήρα και ήταν τοποθετημένη σε παγόλουτρο, προστέθηκε η ένωση **53** μαζί με 4ml οξικού οξέος, τα οποία είχαν αραιωθεί προηγουμένως σε 16ml απιονισμένο H_2O (διάλυμα 20%). Το διάλυμα παρέμεινε σε παγόλουτρο για 15 λεπτά και έπειτα, σε έντονη ανάδευση για 2 ώρες. Το διάλυμα εκχυλίστηκε με CH_2Cl_2 (3X20ml) και η οργανική στοιβάδα εκπλύθηκε με κορεσμένο διάλυμα NaCl (3X10ml). Η οργανική στοιβάδα ξηράνθηκε με άνυδρο Mg_2SO_4 και ο διαλύτης απομακρύνθηκε με απόσταξη σε rotary evaporator. Αξίζει να αναφερθεί ότι στο φάσμα μάζας GC-MS φάνηκε να υπάρχει ήδη και μάλιστα στο μεγαλύτερο ποσοστό η δικυκλική ακόρεστη κετόνη, που αναμενόταν να σχηματιστεί σε επόμενη αντίδραση μέσω της κυκλοποίησης Robinson, καθώς είναι πιθανό η αμίνη που υδρολύθηκε να έδρασε σαν βάση σχηματίζοντας την ένωση. Η οργανική στοιβάδα που ζύγιζε 36g, μοιράστηκε σε 3 μέρη και υποβλήθηκε στην αντίδραση κυκλοποίησης Robinson, υπό βασικές συνθήκες. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα της (4αR)-**33** αναφέρονται στο επόμενο πείραμα.

Φασματοσκοπικά Δεδομένα

MS **54**: m/z: 182(M^+)

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΝΩΣΗΣ **(4α*R*)-33:**



Ένωση	*Μοριακό Βάρος (Mr)*	*m (g)*	*mmoles (eq)*	*V (ml)*	*d (g/ml)*
54	182.13	12.00	65.90		
Na		0.32			
MeOH (dry)				5.00	
MeO^-Na^+ (25% wt)					
MeOH (dry)				70.00	

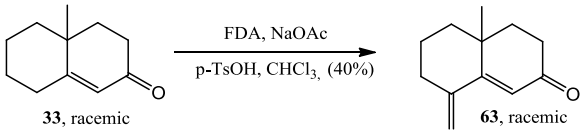
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Σε προξηραμένη σφαιρική φιάλη των 25ml, μεταφέρθηκαν 5ml ξηρής μεθανόλης και 320mg Na κομμένα σε μικρά κομματια. Η προσθήκη του Na έγινε στους 0^oC, ενώ σταδιακά το σχηματιζόμενο διάλυμα ήλθε σε θερμοκρασία δωματίου. Σε μια δεύτερη προξηραμένη σφαιρική φιάλη των 250ml, που έφερε κάθετο ψυκτήρα, μεταφέρθηκαν 12g από την ένωση **54** διαλυμένα σε 70ml ξηρής μεθανόλης. Η θερμοκρασία του διαλύματος αυτού κατέβηκε στους 0^oC όπου και έγινε σταδιακά η προσθήκη του διαλύματος του μεθοξειδίου του Na, το οποίο εβρίσκετο επίσης στους 0^oC. Το διάλυμα αφέθηκε να έρθει σταδιακά στους 25^oC και κατόπιν θερμάνθηκε στους 70^oC για 20 ώρες. Το διάλυμα εξουδετερώθηκε με την προσθήκη οξικού οξέος, έως pH=7 και εκχυλίστηκε με CH_2Cl_2 (3X20ml) και η οργανική στοιβάδα εκπλύθηκε με κορεσμένο διάλυμα NaCl (3X10ml). Η οργανική στοιβάδα ξηράνθηκε με άνυδρο Mg_2SO_4 και ο διαλύτης απομακρύνθηκε με απόσταξη σε rotary evaporator. Ακολούθησε ο διαχωρισμός του μίγματος που πραγματοποιήθηκε με χρωματογραφία στήλης σε silica gel, με σύστημα έκλουσης αιθέρας : πετρελαϊκός αιθέρας = 1: 4. Το επιθυμητό προϊόν **(4α*R*)- 33** σχηματίστηκε σε ποσοστό 37% (4.09g). Η οπτική στροφική ικανότητα της ουσίας προσδιορίστηκε ως $[\alpha]^{20}_D$= - 238° (EtOH, c=1,0) η οποία αντιστοιχεί σε 99% ee σύμφωνα με τα βιβλιογραφικά δεδομένα.

Φασματοσκοπικά Δεδομένα

^{1}H-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 5.69 (s, 1H), 2.47 (dq, J_1=14.2Hz, J_2=5.5Hz, 1H), 2.37-2.28 (m, 2H), 2.22 (dt, J_1=14.6Hz, J_2=2Hz, 1H), 1.90-1.82 (m, 1H), 1.79 (dd, J_1=14.2Hz, J_2=4.6Hz, 1H), 1.74 (dq, J_1=5.6Hz, J_2=3.1Hz, 1H), 1.64 (dt, J_1=7.4Hz, J_2=3Hz, 3H), 1.40-1.28 (m, 2H), 1.209 (s, 3H)
^{13}C-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 198.9, 170.0, 123.7, 41.2, 37.7, 35.5, 33.6, 32.4, 26.8, 21.7, 21.4.
MS: m/z: 164 (M^+)
Τα δεδομένα αυτά είναι σε πλήρη συμφωνία με τα βιβλιογραφικά δεδομένα.

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΝΩΣΗΣ **(4α*R*/*S*)-63**:



Ένωση	*Μοριακό Βάρος (Mr)*	*m (g)*	*mmoles (eq)*	*V (ml)*	*d (g/ml)*
(4αR/S)-**33**	164.24	1.00	6.10(1)		
Οξικό νάτριο	82.03	2.22	26.84(4.4)		
FDA	104.15	56.55	542.96(89)	69.00	0.831
p-TsOH (monohydrate)	190.22	4.30	22.57(3.7)		
$CHCl_3$ (dry)				62.00	

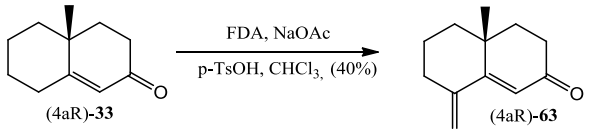
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Σε προξηραμένη δίλαιμη σφαιρική φιάλη των 250ml μεταφέθηκε η ένωση (R/S)-**33** μαζί με 30ml ξηρού $CHCl_3$ και υπό έντονη ανάδευση προστέθηκε το οξικό νάτριο. Εν συνεχεία, μεταφέρθηκαν 69ml FDA. και έλαβε χώρα η σταδιακή προσθήκη p-TsOH. Το διάλυμα θερμάνθηκε στους 90°C (reflux) για 24 ώρες. Κατόπιν προστέθηκαν άλλα 3.7eq p-TsOH και η αντίδραση ολοκληρώθηκε 3 ώρες αργότερα. Το διάλυμα εκχυλίστηκε με $CHCl_3$ (3X20ml) και η οργανική στοιβάδα εκλπλύθηκε με κορεσμένο διάλυμα NaCl (3X10ml), ενώ η εξουδετέρωση του οξέος πραγματοποιήθηκε με Na_2CO_3. Η οργανική στοιβάδα ξηράνθηκε με άνυδρο Mg_2SO_4 και ο διαλύτης απομακρύνθηκε με απόσταξη σε rotary evaporator. Ο διαχωρισμός του μίγματος πραγματοποιήθηκε με χρωματογραφία στήλης σε silica gel, αιθέρας : πετρελαϊκός αιθέρας = 0.5 : 9.5. Το επιθυμητό προϊόν (4α*R*/*S*)-**63** σχηματίστηκε σε ποσοστό 45% (483mg).

Φασματοσκοπικά Δεδομένα

^{1}H-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 5.65 (s, 1H), 4.85 (dd, J_1= J_2=2.1Hz, 1H), 4.73 (dd, J_1= J_2=2.1Hz, 1H), 2.31(dd, J_1=15Hz, J_2=5.4Hz, 1H), 2.27 (dd, J_1=15Hz, J_2=5.4Hz, 1H), 2.12 (ddq, J_1=3.5Hz, J_2=2.5Hz, J_3=1Hz, 1H), 2.02-1.94 (m, 1H), 1.68 (dt, J_1=13.7Hz, J_2=4.7Hz, 1H), 1.59 (dq, J_1=5.4Hz, J_2=2.4Hz, 1H), 1.54-1.45 (m, 3H), 1.27(dt, J_1=13Hz, J_2=5Hz, 1H), 0.93 (s, 3H)
^{13}C-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 198.7, 167.3, 145.8, 121.2, 113.3, 40.0, 36.9, 35.9, 34.3, 33.3, 21.6, 21.2
MS (m/z): 176(M^+), 148(M-28)$^+$, 133(M-38)$^+$, 120(M-56)$^+$, 105(M-71), 91(M-85)$^+$, 77(M-99)$^+$

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΝΩΣΗΣ **(4α*R*)-63:**



Ένωση	*Μοριακό Βάρος (Mr)*	*m (g)*	*mmoles (eq)*	*V (ml)*	*d (g/ml)*
(4αR)-**33**	164.24	2.20	13.40(1)		
Οξικό νάτριο	82.03	4.90	59.00(4.4)		
FDA	104.15	125.00	1193.00(89)	150	0.831
p-TsOH (monohydrate)	190.22	9.50	50.00(3.7)		
$CHCl_3$ (dry)				132.00	

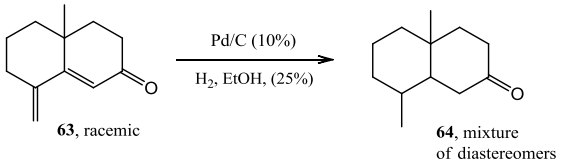
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Σε προξηραμένη δίλαιμη σφαιρική φιάλη των 250ml μεταφέθηκε η ένωση (R)-**33** μαζί με 30ml ξηρού $CHCl_3$ και υπό έντονη ανάδευση προστέθηκε το οξικό νάτριο. Εν συνεχεία, μεταφέρθηκαν 69ml FDA και έλαβε χώρα η σταδιακή προσθήκη p-TsOH. Το διάλυμα θερμάνθηκε στους 90°C (reflux) για 24 ώρες. Κατόπιν προστέθηκαν άλλα 3.7eq p-TsOH και η αντίδραση ολοκληρώθηκε 3 ώρες αργότερα. Το διάλυμα εκχυλίστηκε με $CHCl_3$ (3X20ml) και η οργανική στοιβάδα εκλπλύθηκε με κορεσμένο διάλυμα NaCl (3X10ml), ενώ η εξουδετέρωση του οξέος πραγματοποιήθηκε με Na_2CO_3. Η οργανική στοιβάδα ξηράνθηκε με άνυδρο Mg_2SO_4 και ο διαλύτης απομακρύνθηκε με απόσταξη σε rotary evaporator. Ο διαχωρισμός του μίγματος πραγματοποιήθηκε με χρωματογραφία στήλης σε silica gel, με σύστημα έκλουσης αιθέρας : πετρελαϊκός αιθέρας = 0.5 : 9.5. Το επιθυμητό προϊόν (4α*R*)-**63** σχηματίστηκε σε ποσοστό 45% (1.06g).

Φασματοσκοπικά Δεδομένα

^{1}H-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 5.83 (s, 1H), 5.01 (dd, J_1=J_2=2.1Hz, 1H), 4.88 (dd, J_1= J_2=2.1Hz, 1H), 2.47 (dd, J_1=15Hz, J_2=5.4Hz, 1H), 2.44 (dd, J_1=15Hz, J_2=5.4Hz, 1H), 2.30 (ddq, J_1=3.5Hz, J_2=2.5Hz,J_3=1Hz, 1H), 2.17-2.09 (m, 1H), 1.84 (dt, J_1=13.7Hz, J_2=4.7Hz, 1H), 1.74 (dq, J_1=5.4Hz, J_2=2.4Hz, 1H), 1.70-1.60 (m, 3H), 1.43 (dt, J_1=13Hz, J_2=5Hz, 1H), 1.08 (s, 3H)
^{13}C-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 199.97, 168.2, 146.3, 121.7, 114.0, 40.5, 37.4, 36.5, 34.8, 33.9, 22.1, 21.7
MS (m/z): 176(M^+), 148$(M-28)^+$, 133$(M-38)^+$, 120$(M-56)^+$, 105(M-71), 91$(M-85)^+$

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΝΩΣΗΣ **64**:



Ένωση	*Μοριακό Βάρος (Mr)*	*m (g) (eq)*	*mmoles*	*V (ml)*	*d (g/ml)*
(4αR/S)-**63**	176.25	0.42(1)	2.39		
Pd/C (10%)		0.04(1/10)			
EtOH (dry)				40.00	

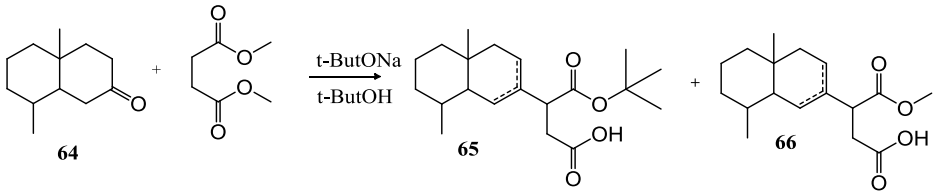
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Σε προξηραμένη δίλαιμη σφαιρική φιάλη των 250ml μεταφέρθηκαν 420mgr από το αντιδρών (R/S)-**63** διαλυμένο σε 40ml ξηρής αιθανόλης καθώς και 42mg από τον καταλύτη. Το διάλυμα παρέμεινε για 35 λεπτά σε ανάδευση υπό την πίεση αέριου H_2. Ο καταλύτης απενεργοποιήθηκε με την προσθήκη διχλωρομεθανίου και απομακρύνθηκε από το διάλυμα με διήθηση σε celite. Ο διαλύτης απομακρύνθηκε με απόσταξη σε rotary evaporator. Ο διαχωρισμός του μίγματος πραγματοποιήθηκε με χρωματογραφία στήλης, σε silica gel, οξικός αιθυλεστέρας : πετρελαϊκός αιθέρας = 1:4. Το επιθυμητό προϊόν σχηματίστηκε ως μίγμα διαστερεομερών σε ποσοστό 25% (107mg).

Φασματοσκοπικά Δεδομένα

^{1}H-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 2.50-2.30 (m, 2H), 2.25 (ddq, J_1=15.1Hz, J_2= J3=2.5Hz, 1H), 1.98 (dt, J_1=14.6Hz, J_2=3.1Hz, 1H), 1.74-1.58 (m, 4H), 1.59-1.52 (m, 3H), 1.47 (dt, J_1=8.8Hz, J_2=4.3Hz, 1H), 1.45 (d, J=3.6Hz, 1H), 1.42 (d, J=3.6Hz, 1H), 1.095 (s, 3H), 0.897/0.882/0.867/0.885 (d, J=7.5Hz, 3H)
^{13}C-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 212.7, 46.7, 43.9/43.7, 40.7, 39.9, 38.5, 33.6, 32.89/32.88, 18.8, 17.2, 14.2
MS: m/z: 180 (M^+)

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΝΩΣΕΩΝ **65, 66**:



Ένωση	*Μοριακό Βάρος (Mr)*	*m (g)*	*mmoles (eq)*	*V (ml)*	*d (g/ml)*
Ένωση **64**	180.29	0.230	1.30(1)		
Σουκινικός διμεθυλεστέρας	146.14	0.29	2.00 (1.5)	0.26	1.117
t-ButONa	96.11	0.45	2.00 (1.5)		0.979
Na		0.06			
tert-ButOH (dry)				7.00	

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε αντιστοιχεί σε αυτήν της ένωσης **64**. Ο διαχωρισμός του μίγματος πραγματοποιήθηκε με χρωματογραφία στήλης, σε silica gel, με σύστημα έκλουσης οξικός αιθυλεστέρας : πετρελαϊκός αιθέρας = 1: 4. Αξίζει να σημειωθεί ότι το κύριο προϊόν της αντίδρασης ήταν ο t-βούτυλο-εστέρας αντί του μέθυλο-εστέρα λόγω μετεστεροποίησης. Τα επιθυμητά προϊόντα σχηματίστηκαν σε ποσοστό 70% (290mg).

Φασματοσκοπικά Δεδομένα

Ένωση **65**

^{1}H-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 9.75 (br.s, 1H), 5.55-5.42 (m, 1H), 3.32 (dq, J_1=9.7Hz, J_2=5.8Hz, 1H), 2.91 (tq, J_1=9.7Hz, J_2=4.2Hz, 1H), 2.48 (tq, J_1=10.9Hz, J_2=5.8Hz, 1H), 2.18-2.06 (m, 1H), 2.01-1.88 (m, 1H), 1.87-1.73 (m, 2H), 1.63 (dt, J_1=24.6Hz, J_2=7.2Hz, 2H), 1.59-1.47 (m, 4H), 1.41/1.42 (s, 9H for all diastereoisomers), 1.24 (t, J_1=J_2=7.1Hz, 1H), 1.10-1.00 (m, 1H), 0.94/0.93/0.92/0.90 (m, 3H for all diastereoisomers), 0.83/0.82 (d, J=5.5Hz, 3H),
^{13}C-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 178.37/178.34 (two diastereoisomers), 172.3/172.2, (two diastereoisomers) 133.7/133.6 (two diastereoisomers), 124.1/123.3 (two diastereoisomers), 80.9, 49.4/49.2 (two diastereoisomers), 45.24/45.20 (two diastereoisomers), 42.5/42.3 (two diastereoisomers), 41.61/41.57 (two diastereoisomers), 36.4/35.1 (two diastereoisomers), 34.1, 32.9, 32.6/32 (two diastereoisomers).5, 31.9, 30.0, 28.06/27.97 (two diastereoisomers), 23.9, 19.86/19.80 (two diastereoisomers), 17.6, 15.11/15.07 (two diastereoisomers).
MS: m/z: 329 (M^+)

Ένωση **66**

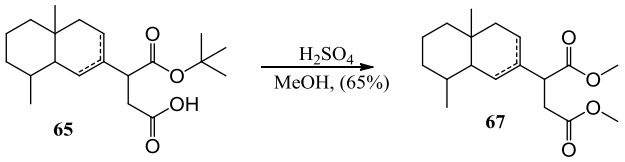
^{1}H-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 9.21 (br.s, 1H), 5.58-5.45 (m, 1H), 3.70/3.69/3.686/3.684/3.677 (s, 3H for all diastereoisomers), 3.43 (dt, J_1=10.1Hz,

J_2=5.8Hz, 1H), 2.61 (dq, J_1=14.2Hz, J_2=7Hz, 1H), 2.54 (qq, J_1=14.9Hz, J_2=7.9Hz, 2H), 2.12-2.00 (m, 1H), 1.96-1.85 (m, 1H), 1.84-1.72 (m, 2H), 1.71-1.61 (m, 2H), 1.61-1.54 (m, 3H), 1.24 (s, 1H), 1.08 (dd, J_1=12.9Hz, J_2=3.9Hz, 1H), 0.94/0.92/0.91/0.88 (m, 3H), 0.84/0.80 (d, J=14Hz, 3H)

^{13}C-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 178.5/178 (two diastereoisomers), 173.64/173.57 (two diastereoisomers), 171.5, 133.3/133.1 (two diastereoisomers), 124.5, 124.3, 55.3/55.2 (two diastereoisomers), 48.6, 48.1, 45.2, 42.35/42.32 (two diastereoisomers), 41.6/41.5 (two diastereoisomers), 33.5/33.2 (two diastereoisomers), 34.1, 32.5,/32.4 (two diastereoisomers), 31.8, 30.2, 29.30/29.29 (two diastereoisomers), 29.0, 28.1, 19.88/19.82 (two diastereoisomers), 17.5, 15.12/15.10 (two diastereoisomers).

MS: m/z: 294 (M^+)

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΝΩΣΗΣ **67**:



Ένωση	*Μοριακό Βάρος (Mr)*	*m (g)*	*mmoles (eq)*	*V (ml)*	*d (g/ml)*
65	336.47	0.12	0.36(1)		
H_2SO_4 (π)	98.08	0.16	0.16 (0.45)	0.01	1.84
MeOH (dry)				1.50	

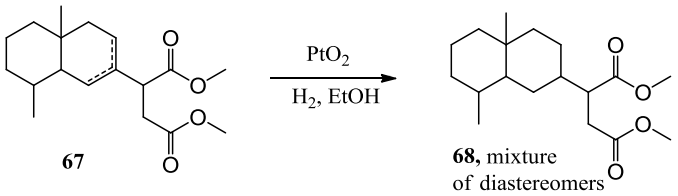
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε αντιστοιχεί σε αυτήν της ένωσης **46**. Ο διαχωρισμός του μίγματος πραγματοποιήθηκε με χρωματογραφία στήλης, σε silica gel, με σύστημα έκλουσης οξικός αιθυλεστέρας : πετρελαϊκός αιθέρας = 1: 4. Αξίζει να σημειωθεί ότι το κύριο προϊόν της αντίδρασης ήταν ο διμεθοξυ-εστέρας λόγω μετεστεροποίησης. Συνολική απόδοση της αντίδρασης 65% (72mg).

Φασματοσκοπικά Δεδομένα (για τέσσερα κύρια διαστερεομερή)

^{1}H-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 5.57-5.41 (m, 1H), 3.68/3.67/3.66/3.60 (s, 3H for all diastereoisomers), 3.64/3.63 (s, 3H for all diastereoisomers), 3.44 (dq, J_1=10.3Hz, J_2=6.1Hz, 1H), 2.90 (dq, J_1=9.6Hz, J_2=6.8Hz, 1H), 2.59-2.41 (m, 1H), 2.17-1.97 (m, 1H), 1.96-1.83 (m, 1H), 1.83-1.57 (m, 3H), 1.51(dd, J_1=29.6Hz, J_2=12Hz, 3H), 1.44-1.38 (m, 1H), 1.37-1.29 (tt, J_1=29.6Hz, J_2=16.5Hz, J_3=4.9Hz, 1H), 1.27-1.12 (m, 1H), 1.09-0.98 (m, 1H), 0.94/0.92/0.91/0.90/0.89 (m, 3H), 0.83/0.79 (d, J=14Hz, 3H)
^{13}C-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 173.70/173.65/173.60 (C-12, all diastereoisomers), 172.51/172.50/172.48, 133.5/133.3, 124.3/123.9, 52.18/52.14/52.10, 51.8, 48.9/48.3, 45.2, 42.3/42.2, 41.6/41.5, 35.5/35.2, 34.1, 32.44/32.40, 31.8, 29.3/28.8, 19.81/1978, 17.5, 15.1/15.0
MS: m/z: 308 (M^+)

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΝΩΣΗΣ **68**:



Ένωση	*Μοριακό Βάρος (Mr)*	*m (g)*	*mmoles*	*V (ml)*	*d (g/ml)*
67	308.40	0.05	0.16		
PtO_2		0.18			
EtOH $_{(dry)}$				5.00	

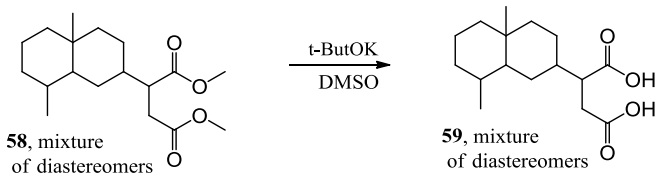
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε αντιστοιχεί σε αυτήν της ένωσης **41**. Η αντίδραση ολοκληρώθηκε σε 1 ώρα. Συνολική απόδοση της αντίδρασης 98% (48mg).

Φασματοσκοπικά Δεδομένα

^{1}H-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 3.67 (s, 3H), 3.64 (s, 3H), 2.82-2.62 (m, 2H), 2.53-2.42 (m, 1H), 1.74-1.62 (m, 2H), 1.60 (tt, J_1=26.2Hz, J_2=13.5Hz, J_3=4.6Hz, 1H), 1.52-1.44 (m, 2H), 1.44-1.38 (m, 1H), 1.38-1.30 (m, 3H), 1.29-1.21 (m, 3H), 1.20-1.10 (m, 1H), 1.09-1.04 (m, 1H), 1.02-0.93 (t, J_1= J_2=13.4Hz, 1H), 0.91-0.76 (m, 6H)
^{13}C-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 175.24/175.16 (two diastereoisomers), 173.12/173.11 (two diastereoisomers), 51.9/51.8 (two diastereoisomers), 47.2/47.1/47.09 (two diastereoisomers), 44.45/44.42 (two diastereoisomers), 41.72/41.70 (two diastereoisomers), 41.2/41.1 (two diastereoisomers), 33.9, 33.8, 33.6, 33.54/33.50(two diastereoisomers), 31.4, 31.0, 26.2, 25.6, 19.6, 17.5, 14.98/14.96 (two diastereoisomers).
MS: m/z: 310 (M^+)

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΝΩΣΗΣ **59**:



Ένωση	*Μοριακό Βάρος (Mr)*	*m (g) (eq)*	*mmoles*	*V (ml)*	*d (g/ml)*
Μίγμα διαστερεομερών της **58**	310.43	0.05	0.16 (1)		
t-ButOK	112.22	0.73	0.65 (4)		
DMSO (dry)				2.50	

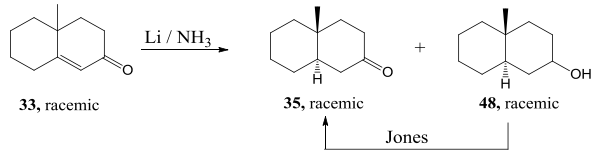
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε αντιστοιχεί σε αυτήν της ένωσης **42**. Ο διαλύτης απομακρύνθηκε με απόσταξη σε rotary evaporator. Συνολική απόδοση της αντίδρασης 97% (44mg).

Φασματοσκοπικά Δεδομένα

^{1}H-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 10.813 (br.s, 1H), 10.046 (br.s, 1H), 3.23-2.85 (m, 1H), 2.84-2.69 (m, 1H), 2.55 (dt, J_1=13.5Hz, J_2=6.4Hz, 1H), 1.85-1.72 (m, 1H), 1.71-1.44 (m, 5H), 1.43-1.33 (m, 3H), 1.32-1.22 (m, 3H), 1.21-1.14 (m, 1H), 1.14-1.06 (m, 1H), 1.01 (t, J_1=J_2=9.8Hz, 1H), 0.97-0.76 (m, 6H)
^{13}C-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 180.9/180.8 (two diastereoisomers), 178.9, 47.13/47.0 (two diastereoisomers), 44.3, 41.6, 40.8, 33.9/33.7 (two diastereoisomers), 33.51/33.47 (two diastereoisomers), 33.2, 31.6, 30.6, 26.3, 25.3, 19.7/19.6 (two diastereoisomers), 17.5, 14.98/14.96 (two diastereoisomers).
MS: m/z: 282 (M^+)

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΝΩΣΗΣ ***trans* 35**:



Ένωση	*Μοριακό Βάρος (Mr)*	*m (g)*	*mmoles (eq)*	*V (ml)*	*d (g/ml)*
(4αR,S)-**33**	164.24	0.20	1.22		
Li		0.05			
NH_4Cl		0.37			
ether (dry)				50.00	
-	-	-	-	-	-
acetone				1.50	
Jones reagent 8N				0.25	

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

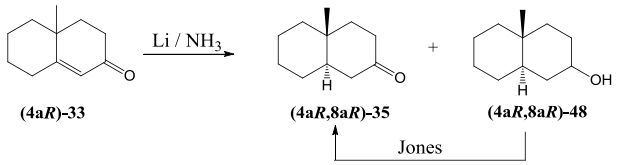
Σε προξηραμένη τρίλαιμη σφαιρική των 500ml, μεταφέρθηκαν 200mg της ένωσης (R/S)-**33** με τη βοήθεια 50ml διαίθυλαιθέρα. Με τη διατήρηση έντονης ανάδευσης, προστέθηκε στο διάλυμα αέρια αμμωνία, η οποία υγροποιούνταν και παρέμενε μέσα στο αρχικό αυτό διάλυμα με τη βοήθεια λουτρού ξηρού πάγου και 2-προπανόλης, το οποίο διατηρούσε τη θερμοκρασία στους -78 ^oC. Η αέρια αμμωνία εισάγονταν στο διάλυμα για περίπου 15' ενώ η περίσσεια αυτής, δεσμεύονταν από παγίδα ελαίου σιλικόνης. Κατόπιν αφαιρέθηκε η παροχή της υγρής αμμωνίας και εφαρμόστηκε ξανά η παροχή αδρανούς αερίου, καθώς και η προσθήκη 55mg Li, σε δόσεις. Σταδιακά το διάλυμα απέκτησε μπλε χρώμα, χαρακτηριστικό της συγκεκριμένης αντίδρασης (σολβολυμένο ηλεκτρόνιο). Ακολούθησε αναμονή 15' και σταδιακή προσθήκη 368mg NH_4Cl. Όταν το διάλυμα αποχρωματίστηκε πλήρως προστέθησαν 50ml H_2O και πραγματοποιήθηκαν εκχυλίσεις με αιθέρα και 5% υδατικού διαλύματος HCl.

Το μίγμα που προέκυψε περιείχε την επιθυμητή κετόνη *trans* **35** καθώς και την αντίστοιχη αλκοόλη. Το μίγμα αυτό υπέστη οξείδωση Jones στο σύνολο του: 200mg αυτού, διαλύθηκαν σε 1,5ml ακετόνης και έχοντας εφαρμόσει παγόλουτρο, προστέθηκαν 253μl του αντιδραστηρίου Jones 8N. Η θερμοκρασία του διαλύματος διατηρήθηκε στους 0^oC για 3 ώρες, όπου και η αντίδραση ολοκληρώθηκε. Η περίσσεια του αντιδραστηρίου Jones, εξουδετερώθηκε με την προσθήκη ισοπροπυλικής αλκοόλης, ενώ το μίγμα εκχυλίστηκε με αιθέρα και H_2O. Ο διαχωρισμός του μίγματος πραγματοποιήθηκε με χρωματογραφία στήλης, σε silica gel, με σύστημα έκλουσης οξικός αιθυλεστέρας : πετρελαϊκός αιθέρας = 1: 9. Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 87% (176mg).

Φασματοσκοπικά Δεδομένα

^{1}H-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 2.39 (dt, J_1=15Hz, J_2=6.7Hz, 1H), 2.23 (qt, J_1=20.5Hz, J_2=15.5Hz, J_3=5Hz, J_4=2Hz, 1H), 2.11 (t, J=14.6Hz, 1H), 2.03 (dq, J_1=4.3Hz, J_2=2.1Hz, 1H), 1.70-1.65 (m, 1H), 1.62 (dq, J_1=6.7Hz, J_2=2Hz, 1H), 1.51-1.43 (m, 4H), 1.39 (dd, J_1=13.6Hz, J_2=5.1Hz, 1H), 1.31-1.26 (m, 1H), 1.22 (dd, J_1=12.7Hz, J_2=3Hz, 1H), 1.17 (dd, J_1=10.6Hz, J_2=3Hz, 1H), 1.04 (dt, J_1=5Hz, J_2=13.9Hz, 1H), 0.98 (s, 3H)
^{13}C-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 211.6, 45.0, 44.7, 41.1, 40.4, 38.3, 33.1, 29.0, 26.0, 21.6, 14.9
MS: m/z: 166 (M^+)

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΝΩΣΗΣ **(4α*R*,8α*R*)-35**:



Ένωση	*Μοριακό Βάρος (Mr)*	*m (g)*	*mmoles (eq)*	*V (ml)*	*d (g/ml)*
(4αR)-**33**	164.24	0.60	3.65		
Li		0.17			
NH_4Cl		1.11			
ether (dry)				50.00	
acetone				5.00	
Jones reagent 8N				1.00	

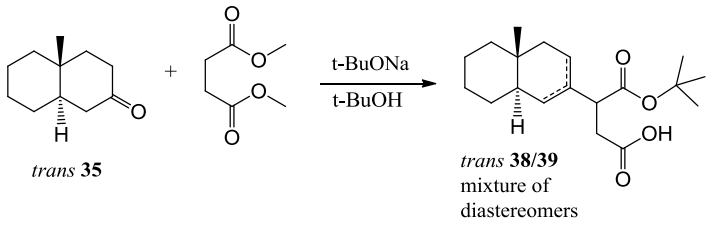
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Ακολουθήθηκε η ίδια πειραματική διαδικασία με αυτήν της ένωσης **35**. Η οπτική στροφική ικανότητα της ουσίας προσδιορίστηκε ως $[\alpha]^{20}_{D}$= - 42,0° (EtOH, c=1,0). Η απόδοση της αντίδρασης ήταν 79% (480mg).

Φασματοσκοπικά Δεδομένα

^{1}H-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 2.38 (dt, J_1=15Hz, J_2=6.7Hz, 1H), 2.22 (qt, J_1=20.5Hz, J_2=15.5Hz, J_3=5Hz, J_4=2Hz, 1H), 2.10 (t, J_1= J_2=14.6Hz, 1H), 2.01 (dq, J_1=4.3Hz, J_2=2.1Hz, 1H), 1.69-1.64 (m, 1H), 1.61 (dq, J_1=6.7Hz, J_2=2Hz, 1H), 1.52-1.43 (m, 4H), 1.39 (dd, J_1=13.6Hz, J_2=5.1Hz, 1H), 1.31-1.27 (m, 1H), 1.21 (dd, J_1=12.7Hz, J_2=3Hz, 1H), 1.17 (dd, J_1=10Hz, J_2=3Hz, 1H), 1.03 (dt, J_1=5Hz, J_2=13.9Hz, 1H), 0.98 (s, 3H)
^{13}C-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 211.0, 44.7, 44.4, 40.8, 40.1, 38.0, 32.9, 28.8, 25.8, 21.4, 14.7
MS: m/z: 166 (M^+)

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΝΩΣΕΩΝ ***trans* 38/39**



Ένωση	*Μοριακό Βάρος (Mr)*	*m (g)*	*mmoles (eq)*	*V (ml)*	*d (g/ml)*
trans-**35**	166.26	0.10	0.60(1)		
Σουκινικός διμεθυλεστέρας	146.14	0.13	0.90(1.5)	0.12	1.117
t-ButONa	96.11	0.09	0.90(1.5)		0.979
Na		0.03			
tert-ButOH (dry)				6.00	

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

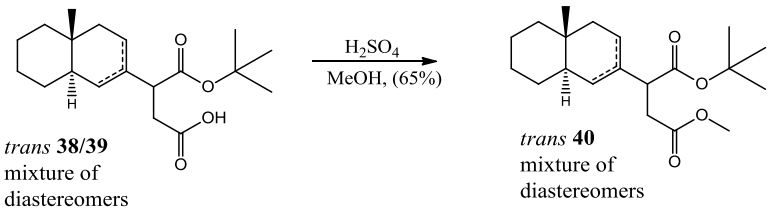
Η διαδικασία που ακολουθήθηκε αντιστοιχεί σε αυτήν της ένωσης **65**. Ο διαχωρισμός του μίγματος πραγματοποιήθηκε με χρωματογραφία στήλης, σε silica gel, οξικός αιθυλεστέρας : πετρελαϊκός αιθέρας = 1: 4. Τα επιθυμητά προϊόντα σχηματίστηκαν σε ποσοστό 70% (695mg).

Φασματοσκοπικά Δεδομένα

^{1}H-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 9.98 (br.s, 1H), 5.51-5.46 (m, 1H), 3.27 (dq, J_1=9.6Hz, J_2=5.9Hz, 1H), 2.88 (tq, J_1=9.6Hz, J_2=4.5Hz, 1H), 2.44 (dd, J_1=16.7Hz, J_2=5.7Hz, 1H), 1.80 (dq, J_1=17.6Hz, J_2=4.5Hz, 3H), 1.70 (t, J_1=J_2=14.4Hz, 2H), 1.55-1.44 (m, 3H), 1.404/1.400 (s, 9H for all diastereoisomers), 1.33 (dt, J_1=11Hz, J_2=4.3Hz, 1H), 1.23-1.16 (m, 2H), 1.61-1.01 (m, 2H), 0.736/0.728 (s, 3H for all diastereoisomers)

^{13}C-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 178.5, 172.2/172.1(two diastereoisomers), 133.4/133.3 (two diastereoisomers), 124.5/124.0 (two diastereoisomers), 80.93/80.90 (two diastereoisomers), 49.3/49.2 (two diastereoisomers), 42.3, 41.06/41.03 (two diastereoisomers), 40.4/40.3 (two diastereoisomers), 35.4/35.1 (two diastereoisomers), 32.2, 32.1/32.0 (two diastereoisomers), 31.0, 29.0/28.9 (two diastereoisomers), 28.04/28.00 (two diastereoisomers), 27.99, 26.8, 22.3, 16.16/16.08 (two diastereoisomers).

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΝΩΣΗΣ *trans* 40 (R=t-Butyl):



Ένωση	*Μοριακό Βάρος (Mr)*	*m (g)*	*mmoles* $^{(eq)}$	*V (ml)*	*d* ($^{g}/_{ml}$)
Μίγμα διαστερεομερών *trans* **38/39**	322.44	0.09	0.28$^{(1)}$		
H_2SO_4 (π)	98.08	0.01	0.13$^{(0.45)}$	0.009	1.84
MeOH $_{(dry)}$				1.00	

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

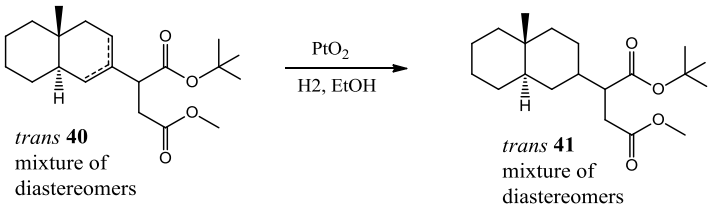
Η διαδικασία που ακολουθήθηκε αντιστοιχεί σε αυτήν της ένωσης **67**. Ο διαχωρισμός του μίγματος πραγματοποιήθηκε με χρωματογραφία στήλης, σε silica gel, οξικός αιθυλεστέρας : πετρελαϊκός αιθέρας = 1: 4. Αξίζει να σημειωθεί ότι το κύριο προϊόν της αντίδρασης ήταν ο t-βούτυλο/μεθοξυ-εστέρας. Συνολική απόδοση της αντίδρασης 65% (61mg).

Φασματοσκοπικά Δεδομένα

^{1}H-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 5.54-5.45 (m, 1H), 3.64 (s, 3H), 3.30 (dq, J_1=9.2Hz, J_2=5.9Hz, 1H), 2.83 (dq, J_1=9.3Hz, J_2=6.5Hz, 1H), 2.42 (dq, J_1=6.3Hz, J_2=2.8Hz, 1H), 1.80 (dq, J_1=18.1Hz, J_2=4.4Hz, 2H), 1.75-1.62 (m, 3H), 1.54-1.44 (m, 2H), 1.410/1.406 (s, 9H for all diastereoisomers), 1.36-1.30 (m, 1H), 1.21 (qt, J_1=32.8Hz, J_2=20.8Hz, J_3=7.4Hz, J_4=4.4Hz, 2H), 1.15-1.09 (m, 2H), 0.94-0.81 (m, 1H), 0.738/0.729 (s, 3H for all diastereoisomers)

^{13}C-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 172.74/172.72 (two diastereoisomers), 172.3/172.2 (two diastereoisomers), 133.6/133.5 (two diastereoisomers), 124.3, 123.8, 80.7, 51.7, 49.55/49.51 (two diastereoisomers), 42.4, 41.08/41.05 (two diastereoisomers), 40.4/40.3 (two diastereoisomers), 35.4, 35.1, 32.1/32.03 (two diastereoisomers), 31.0, 28.96/28.94 (two diastereoisomers), 28.10/28.06 (two diastereoisomers), 26.8, 22.3, 16.14/16.10(two diastereoisomers).

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ **ΕΝΩΣΗΣ *trans* 41 (R=t-Butyl)**



Ένωση	*Μοριακό Βάρος (Mr)*	*m (g)*	*mmoles*	*V (ml)*	*d ($^g/_{ml}$)*
trans **40** (R=t-Butyl)	336.47	0.09	0.26		
PtO_2		0.03			
EtOH $_{(dry)}$				9.00	

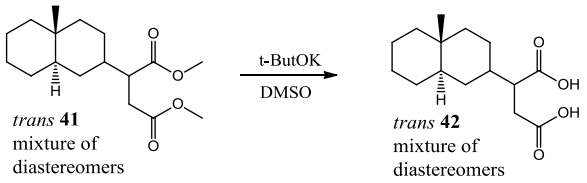
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε αντιστοιχεί σε αυτήν της ένωσης **68**. Η αντίδραση ολοκληρώθηκε σε 1 ώρα. Συνολική απόδοση της αντίδρασης 98% (86mg)

Φασματοσκοπικά Δεδομένα

^{1}H-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 3.64 (s, 3H), 2.66 (dq, J_1=15.8Hz, J_2=7Hz, 1H), 2.59 (tq, J_1=10.9Hz, J_2=3.5Hz, 1H), 2.38 (dq, J_1=7.8Hz, J_2=3.5Hz, 1H), 1.75-1.69 (m, 1H), 1.68-1.57 (m, 2H), 1.47-1.44 (m, 2H), 1.43(s, 9H), 1.38-1.36 (m, 1H), 1.35-1.33 (m, 1H), 1.31 (t, J_1=J_2=4.4Hz, 1H), 1.25-1.14 (m, 4H), 1.12-1.08 (m, 1H), 1.05 (dt, J_1=10Hz, J_2=5.2Hz, 2H), 1.01 (dt, J_1=11.9Hz, J_2=6.8Hz, 1H), 0.759 (s, 3H)
^{13}C-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 173.64/173.60 (two diastereoisomers), 173.2, 80.6, 51.7, 47.9/47.8 (two diastereoisomers), 45.3/45.2 (two diastereoisomers), 41.7, 41.6, 41.55/41.53 (two diastereoisomers), 40,8/40,7 (two diastereoisomers), 33.8, 33.7, 33.6, 32.5, 29.02/29.0 (two diastereoisomers), 28.2, 27.0, 25.6/25.5 (two diastereoisomers), 21.9, 15.7
MS: m/z: 338 (M^+)

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΝΩΣΗΣ ***trans* 42**:



Ένωση	*Μοριακό Βάρος (Mr)*	*m (g) (eq)*	*mmoles*	*V (ml)*	*d (g/ml)*
Ένωση **41**	296.40	0.05	0.17 (1)		
t-ButOK	112.22	0.08	0.68 (4)		
DMSO (dry)				2.00	

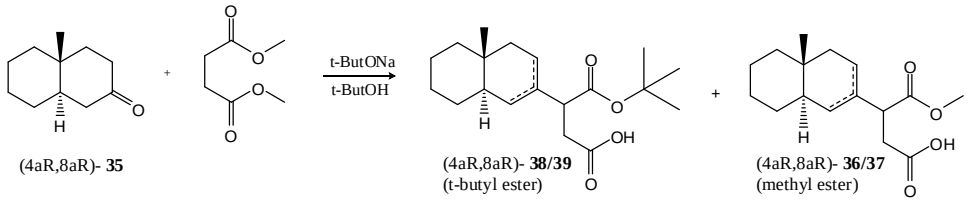
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε αντιστοιχεί σε αυτήν της ένωσης **69**. Η αντίδραση ολοκληρώθηκε στις 2 ώρες. Ο διαλύτης απομακρύνθηκε με απόσταξη σε rotary evaporator. Συνολική απόδοση της αντίδρασης 98% (45mg).

Φασματοσκοπικά Δεδομένα

^{1}H-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 11.85 (s, 1H), 10.47 (s, 1H), 2.79-2.71 (m, 2H), 2.52 (dq, J_1=9.3Hz, J_2=3.5Hz, 1H), 1.78-1.66 (m, 2H), 1.53-1.44 (m, 3H), 1.38 (dq, J_1=12.6Hz, J_2=3.6Hz, 3H), 1.28-1.19 (m, 3H), 1.18-0.98 (m, 5H), 0.78 (br.s, 3H)
^{13}C-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 181.25/181.21 (two diastereoisomers), 179.32/179.31 (two diastereoisomers), 46.9, 45.07/45.05 (two diastereoisomers), 41.35/41.32 (two diastereoisomers), 40.13/40.10 (two diastereoisomers), 33.5, 33.3/32.9 (two diastereoisomers), 32.0, 28.81/28.77 (two diastereoisomers), 26.9, 25.9, 25.1, 21.8, 15.6
MS: m/z: 268 (M^+)

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΝΩΣΕΩΝ **(4α*R*,8α*R*)- 36/37** και **(4α*R*,8α*R*)- 38/39**



Ένωση	*Μοριακό Βάρος (Mr)*	*m (g)*	*mmoles (eq)*	*V (ml)*	*d (g/ml)*
(4α*R*,8α*R*)- **35**	166.26	0.28	1.70(1)		
Σουκινικός διμεθυλεστέρας	146.14	0.38	2.60(1.5)	0.35	1.117
t-ButONa	96.11	0.25	2.60(1.5)		0.979
Na		0.84			
tert-ButOH (dry)				10.00	

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε αντιστοιχεί σε αυτήν των ενώσεων *trans* -**38/39**. Ο διαχωρισμός του μίγματος πραγματοποιήθηκε με χρωματογραφία στήλης, σε silica gel, οξικός αιθυλεστέρας : πετρελαϊκός αιθέρας = 1: 4. Τα επιθυμητά προϊόντα σχηματίστηκαν σε ποσοστό 70% (357mg).

Φασματοσκοπικά Δεδομένα

Ένωση (4α*R*,8α*R*)-**38/39** (R= t-butyl)

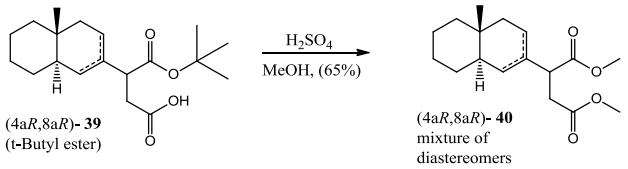
^{1}H-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 10.56 (br.s, 1H), 5.51-5.43 (m, 1H), 3.25 (dq, J_1=9.6Hz, J_2=5.9Hz, 1H), 2.85 (dq, J_1=9.6Hz, J_2=4.5Hz, 1H), 2.42 (dd, J_1=16.7Hz, J_2=5.7Hz, 1H), 1.78 (dq, J_1=17.6Hz, J_2=4.3Hz, 3H), 1.68 (t, J_1=J_2=14.2Hz, 2H), 1.51-1.41 (m, 3H), 1.382/1.378 (s, 9H for all diastereoisomers), 1.30 (dt, J_1=11Hz, J_2=4Hz, 1H), 1.19 (dt, J_1=18.4Hz, J_2=7.1Hz, 2H), 1.12-1.00 (m, 2H), 0.716/0.708 (s, 3H for all diastereoisomers)
^{13}C-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 178.4, 172.14/172.08 (two diastereoisomers), 133.36, 133.25, 124.4, 123.8, 80.83/80.79 (two diastereoisomers), 49.24/49.16 (two diastereoisomers), 42.3, 41.0/40.9 (two diastereoisomers), 40.3/40.2 (two diastereoisomers), 32.1, 32.0/31.9 (two diastereoisomers), 31.0, 28.88/28.87 (two diastereoisomers), 27.98/27.96 (two diastereoisomers), 26.7, 22.2, 16.1/16.0 (two diastereoisomers).

Ένωση (4α*R*,8α*R*)- **36/37** (R= methyl)

^{1}H-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 10.70 (s, 1H), 5.52-5.45 (m, 1H), 3.644/3.643 (s, 3H for all diastereoisomers), 3.36 (dd, J_1=14.7Hz, J_2=8.1Hz, 1H), 2.92 (dd, J_1=16.8Hz, J_2=9.6Hz, 1H), 2.57 (t, J_1=J_2=6.7Hz, 1H), 2.48 (dq, J_1=12.5Hz, J_2=6.6Hz, 2H), 1.84-1.70 (m, 3H), 1.69-1.59 (m, 2H), 1.48-1.42 (m, 2H), 1.37-1.29 (m, 2H), 1.22-1.16 (m, 1H), 1.10-1.03 (m, 1H), 0.69/0.67 (s, 3H)
^{13}C-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 178.6, 178.0, 173.5/173.4 (two diastereoisomers),, 171.5, 132.8/132.7 (two diastereoisomers),, 124.8/124.7 (two diastereoisomers),, 52.2/52.1 (two

diastereoisomers),, 48.4, 48.0, 42.2, 41.0/40.9 (two diastereoisomers),, 40.2/40.1 (two diastereoisomers),, 35.4, 35.0, 31.93/31.87, 31.4/31.2, 30.1, 29.2, 28.7, 28.0, 26.7, 22.2, 16.1/16.0 (two diastereoisomers).

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΝΩΣΗΣ **(4α*R*,8α*R*)-40 (R=Me)**:



Ένωση	*Μοριακό Βάρος (Mr)*	*m (g)*	*mmoles* $^{(eq)}$	*V (ml)*	*d* ($^{g}/_{ml}$)
(4α*R*,8α*R*)-**36** (R=t-Butyl)	322.44	0.09	0.28$^{(1)}$		
H_2SO_4 (π)	98.08	0.01	0.13$^{(0.45)}$	0.009	1.84
MeOH $_{(dry)}$				1.00	

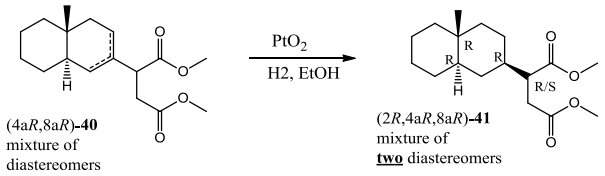
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε αντιστοιχεί σε αυτήν της ένωσης *trans* **40**. Ο διαχωρισμός του μίγματος πραγματοποιήθηκε με χρωματογραφία στήλης, σε silica gel, οξικός αιθυλεστέρας : πετρελαϊκός αιθέρας = 1: 4. Αξίζει να σημειωθεί ότι το μόνο προϊόν της αντίδρασης ήταν ο διμεθοξυ-εστέρας λόγω μετεστεροποίησης. Συνολική απόδοση της αντίδρασης 65% (54mg).

Φασματοσκοπικά Δεδομένα

^{1}H-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 5.53-5.47 (m, 1H), 3.665/3.663 (s, 3H for all diastereoisomers), 3.637/3.634 (s, 3H for all diastereoisomers), 3.41 (dt, J_1=5.9Hz, J_2=9.1Hz, 1H), 2.88(dq, J_1=9.6Hz, J_2=3.4Hz, 1H), 2.47 (dq, J_1=13.4Hz, J_2=5.9Hz, 1H), 1.88-1.77 (t, J=18Hz, 1H), 1.77-1.64 (m, 3H), 1.53-1.37 (m, 4H), 1.36-1.30 (m, 1H), 1.26-1.14 (m, 2H), 1.13-1.00 (m, 2H), 0.710/0.691 (s, 3H for all diastereoisomers)

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΝΩΣΗΣ **(2R,4α*R*,8α*R*)-41(R=Me)**:



Ένωση	*Μοριακό Βάρος (Mr)*	*m (g)*	*mmoles*	*V (ml)*	*d ($^g/_{ml}$)*
(4α*R*,8α*R*)-**40**	294.39	0.09	0.31		
PtO_2		0.03			
EtOH $_{(dry)}$				9.00	

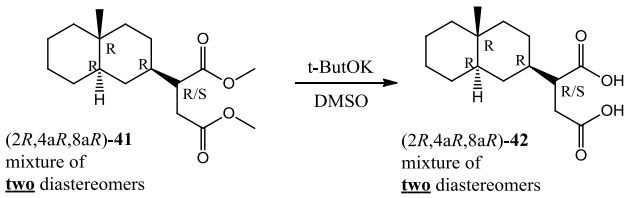
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε αντιστοιχεί σε αυτήν της ένωσης trans **41**. Η αντίδραση ολοκληρώθηκε σε 1 ώρα. Συνολική απόδοση της αντίδρασης 98% (89mg)

Φασματοσκοπικά Δεδομένα

^{1}H-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 3.660 (s, 3H), 3.627 (s, 3H), 2.74-2.66 (m, 2H), 2.44 (dq, J_1=8.7Hz, J_2=4.2Hz, 1H), 1.69-1.60 (m, 2H), 1.47-1.39 (m, 3H), 1.38-1.27 (m, 4H), 1.20-1.11 (m, 3H), 1.10-1.03 (m, 2H), 1.02-0.95 (m, 2H), 0.739 (s, 3H)
^{13}C-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 175.12 (one diastereoisomer)175.08 (one diastereoisomer), 173.04 (one diastereoisomer) 173.02 (one diastereoisomer), 51.8, 51.69(one diastereoisomer) 51.68 (one diastereoisomer), 46.98 (one diastereoisomer) 46.97 (one diastereoisomer), 45.1, 41.5 (one diastereoisomer) 41.4 (one diastereoisomer), 40.6 (one diastereoisomer) 40.5 (one diastereoisomer), 33.56 (one diastereoisomer)33.54 (one diastereoisomer), 33.4, 32.8, 32.4, 28.92 (one diastereoisomer) 28.90 (one diastereoisomer), 26.9, 25.8, 25.5, 21.9, 15.70 (one diastereoisomer)15.69 (one diastereoisomer).
MS: m/z: 296 (M^+)

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΝΩΣΗΣ **(2*R*,4α*R*,8α*R*)-42**:



Ένωση	*Μοριακό Βάρος (Mr)*	*m (g) (eq)*	*mmoles*	*V (ml)*	*d (g/ml)*
(2*R*,4α*R*,8α*R*)-**41**	296.40	0.05	0.17 (1)		
t-ButOK	112.22	0.08	0.68 (4)		
DMSO (dry)				2.00	

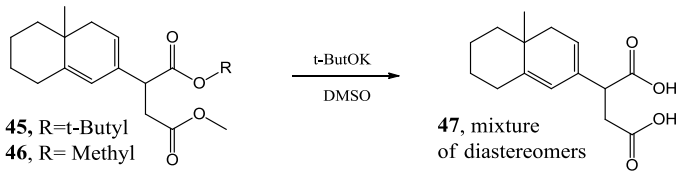
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε αντιστοιχεί σε αυτήν της ένωσης *trans* **42**. Η αντίδραση ολοκληρώθηκε στις 2 ώρες. Συνολική απόδοση της αντίδρασης 98% (45mg)

Φασματοσκοπικά Δεδομένα

^{1}H-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 11.48 (br.s, 1H), 10.563 (br.s, 1H), 2.79-2.71 (m, 2H), 2.52 (dq, J_1=9.2Hz, J_2=4.2Hz, 1H), 1.78-1.66 (m, 2H), 1.52-1.44 (m, 3H), 1.38 (dd, J_1=23.4Hz, J_2=12Hz, 3H), 1.28-1.20 (m, 3H), 1.18-1.08 (m, 3H), 1.07-0.99 (m, 2H), 0.782 (s, 3H)
^{13}C-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 181.2 (one diastereoisomer)181.1 (one diastereoisomer), 179.2, 46.9, 45.20 (one diastereoisomer), 45.17 (one diastereoisomer), 41.5 (one diastereoisomer), 41.4 (one diastereoisomer), 40.3 (one diastereoisomer), 40.2 (one diastereoisomer), 33.6, 33.34 (one diastereoisomer) 33.27 (one diastereoisomer), 33.0, 32.1, 28.93 (one diastereoisomer) 28.90 (one diastereoisomer), 27.0, 26.1, 25.2, 21.9
MS: m/z: 268 (M^+)

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΝΩΣΗΣ **47**:



Ένωση	*Μοριακό Βάρος (Mr)*	*m (g) (eq)*	*mmoles*	*V (ml)*	*d (g/ml)*
Μίγμα αντιδρώντων **45/46**	310.43	0.05	0.16 (1)		
t-ButOK	112.22	0.73	0.65 (4)		
DMSO (dry)				2.50	

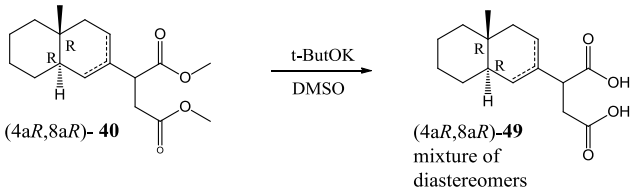
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε αντιστοιχεί σε αυτήν της ένωσης *trans* **42**. Ο διαλύτης απομακρύνθηκε με απόσταξη σε rotary evaporator. Συνολική απόδοση της αντίδρασης 97% (40mg).

Φασματοσκοπικά Δεδομένα

^{1}H-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 7.59 (br.s, 2H), 5.96 (dd, J_1=18Hz, J_2=9.4Hz, 1H), 5.45 (br.s, 1H), 3.54-3.46 (m, 1H), 3.07-2.97 (m, 1H), 2.53 (tt, J_1=23.2Hz, J_2=9.2Hz, J_3=4.5Hz, 1H), 2.18-2.06 (m, 2H), 1.81-1.74 (m, 1H), 1.70-1.64 (m, 2H), 1.54-1.48 (m, 2H), 1.38-1.31 (m, 1H), 1.28-1.24 (m, 2H), 0.95/0.93 (s, 3H for all diastereoisomers)
^{13}C-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 178.6/178.5(two diastereoisomers), 177.8, 140.3/140.2(two diastereoisomers), 131.7/131.4 (two diastereoisomers), 128.3/128.0(two diastereoisomers), 125.4/125.2(two diastereoisomers), 60.6, 48.3/47.8(two diastereoisomers), 37.2/37.0((two diastereoisomers), two diastereoisomers),, 35.0, 31.9, 25.8, 24.7, 23.3, 18.5,

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΝΩΣΗΣ **49**:



Ένωση	*Μοριακό Βάρος (Mr)*	*m (g) (eq)*	*mmoles*	*V (ml)*	*d (g/ml)*
(4α*R*,8α*R*)- **40** (R=t-Butyl)	294.39	0.10	0.314 (1)		
t-ButOK	112.22	0.15	1.36 (4)		
DMSO (dry)				2.50	

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε αντιστοιχεί σε αυτήν της ένωσης *trans* **42**. Ο διαλύτης απομακρύνθηκε με απόσταξη σε rotary evaporator. Συνολική απόδοση της αντίδρασης 97% (81mg).

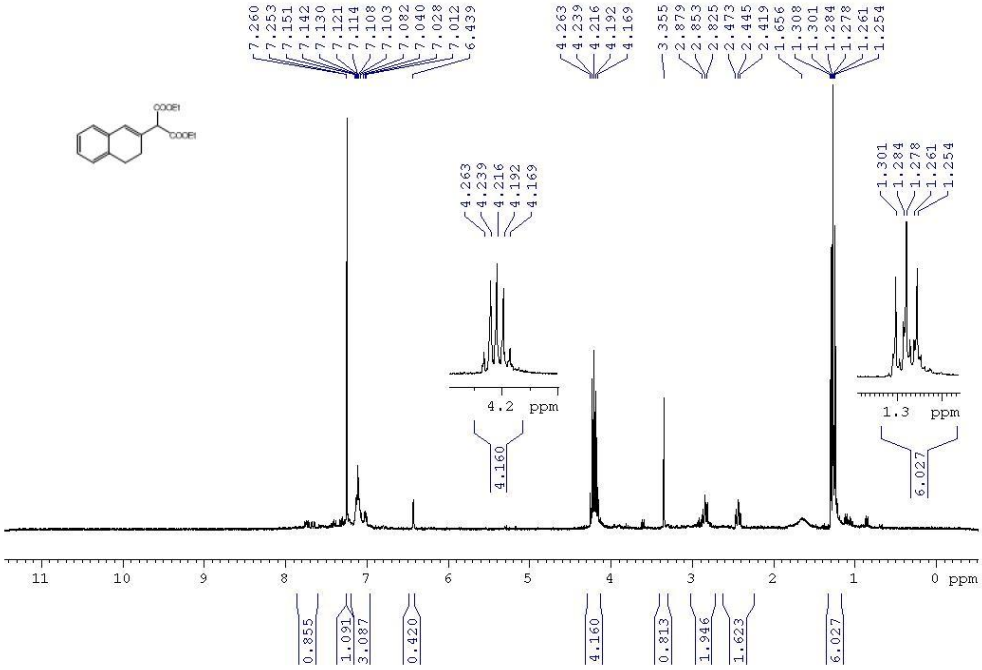
Φασματοσκοπικά Δεδομένα

^{1}H-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 11.19 (br.s, 1H), 10.25 (br.s, 1H), 5.59 (dd, J_1=13.7Hz, J_2=3.3Hz, 1H), 3.43 (dq, J_1=10.4Hz, J_2=5.0Hz, 1H), 2.96 (dq, J_1=17.2Hz, J_2=10.4Hz, 1H), 2.50 (dt, J_1=17.0Hz, J_2=4.9Hz, 1H), 1.88-1.65 (m, 4H), 1.54-1.32 (m, 5H), 1.29-1.01 (m, 4H), 0.74/0.73 (s, 3H for all diastereoisomers)
^{13}C-NMR (500MHz, $CDCl_3$): δ= 179.47(two diastereoisomers), 179.41(two diastereoisomers), 178.56(two diastereoisomers), 178.53(two diastereoisomers), 132.43(two diastereoisomers), 132.18(two diastereoisomers), 125.73(two diastereoisomers), 125.32(two diastereoisomers), 48.56(two diastereoisomers), 47.95(two diastereoisomers), 42.31, 41.03(two diastereoisomers), 40.99(two diastereoisomers), 40.31(two diastereoisomers), 40.25(two diastereoisomers), 35.42(two diastereoisomers), 34.93(two diastereoisomers), 31.99(two diastereoisomers), 31.95(two diastereoisomers), 31.79(two diastereoisomers), 31.73(two diastereoisomers), 31.38, 28.88(two diastereoisomers), 28.82(two diastereoisomers), 26.76, 22.25

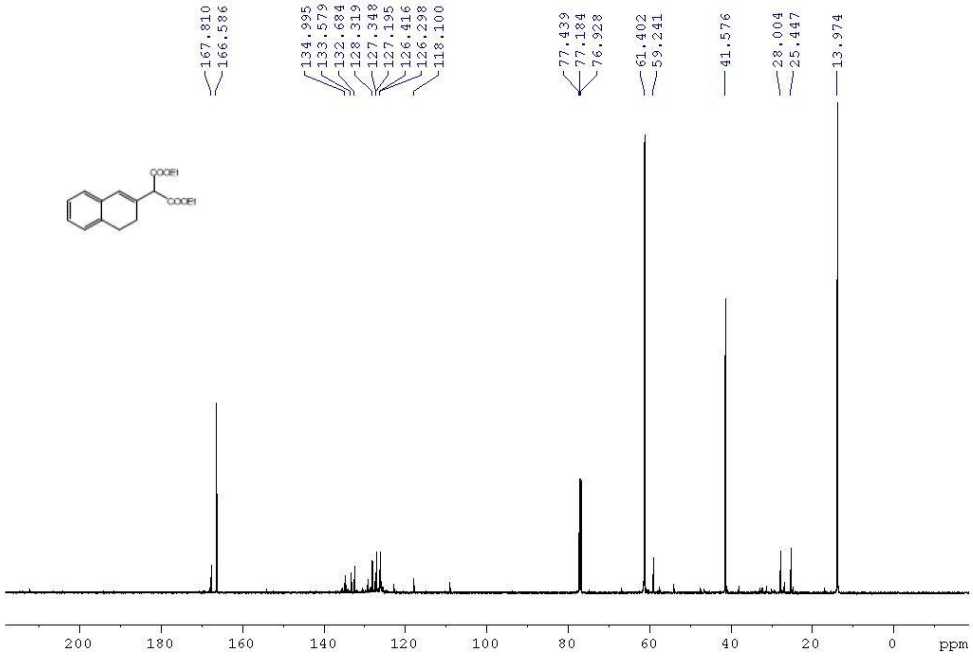
8.ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΦΑΣΜΑΤΩΝ

8.1 ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΦΑΣΜΑΤΩΝ NMR :

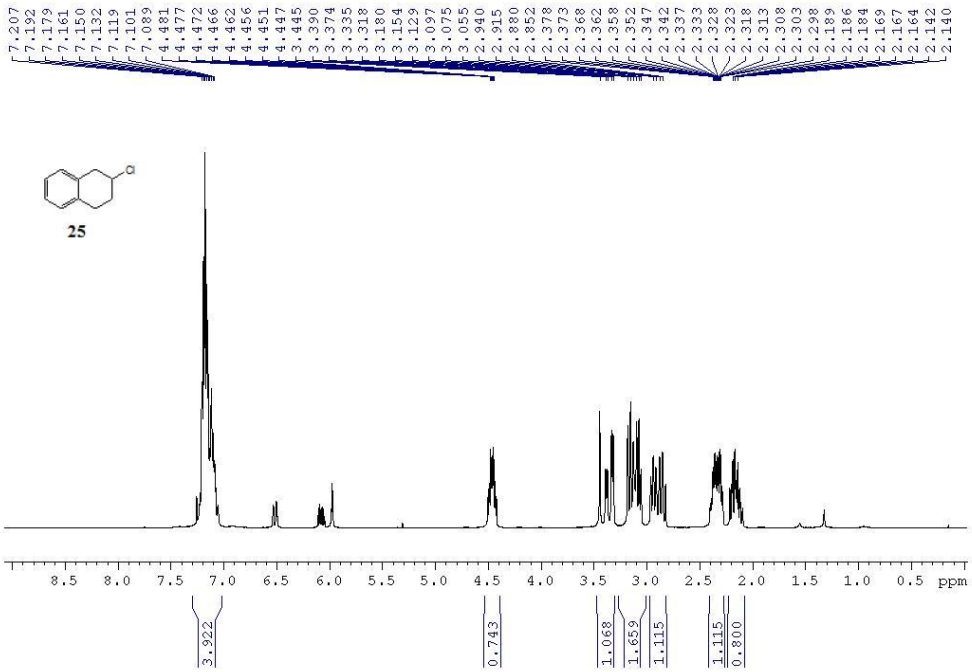
Ένωση **20 :** Φάσμα ^{1}H NMR (300MHz-$CDCl_3$)



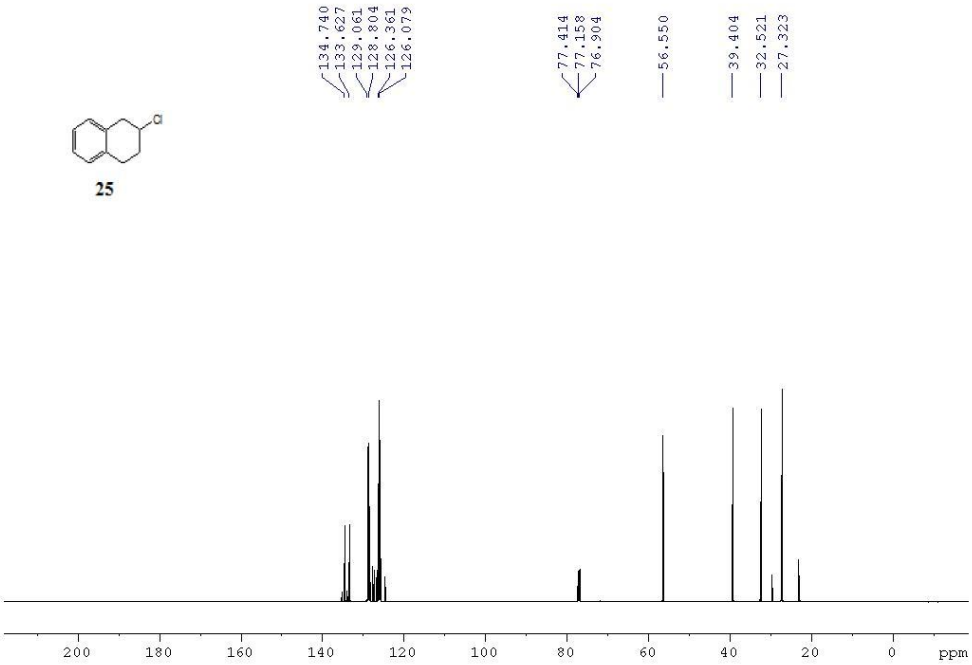
Ένωση **20 :** Φάσμα ^{13}C NMR (500MHz-$CDCl_3$)



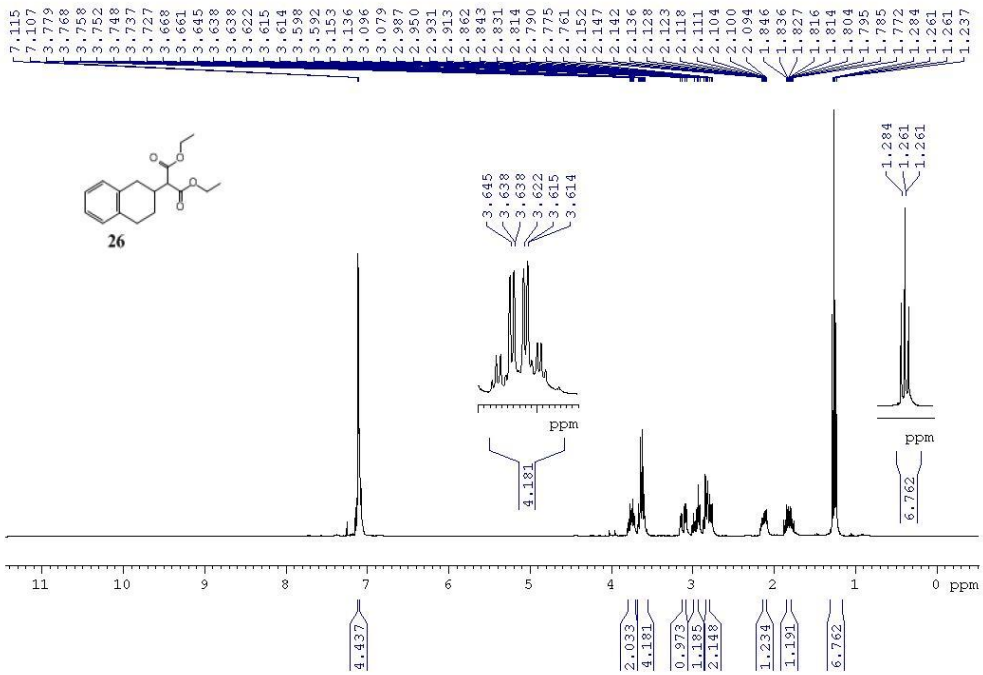
Ένωση **25 :** Φάσμα ^{1}H NMR (300MHz-$CDCl_3$)



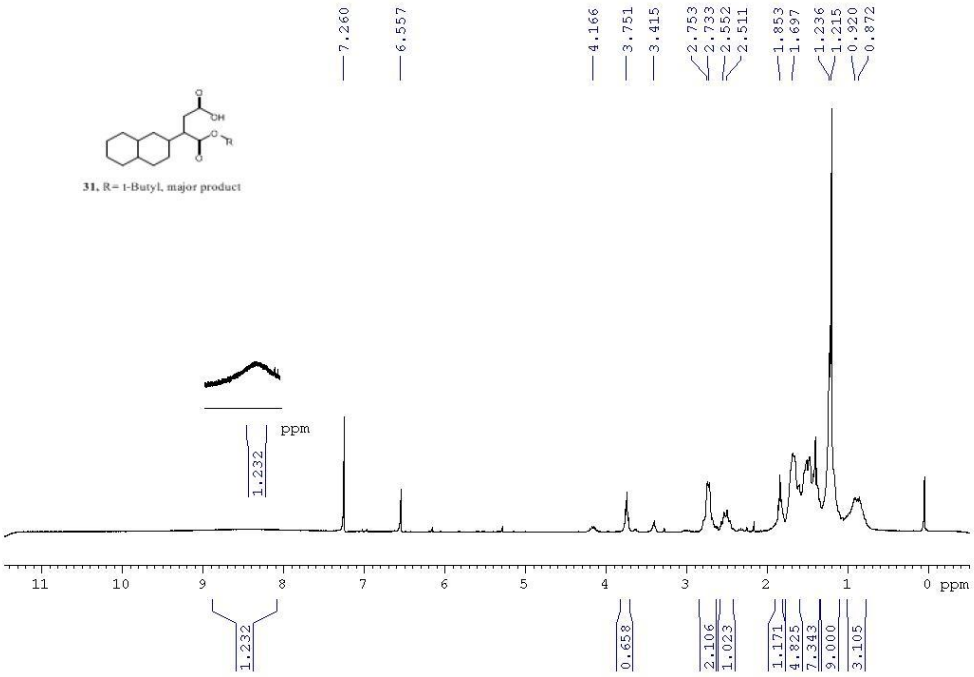
Ένωση **20 :** Φάσμα ^{13}C NMR (500MHz-$CDCl_3$)



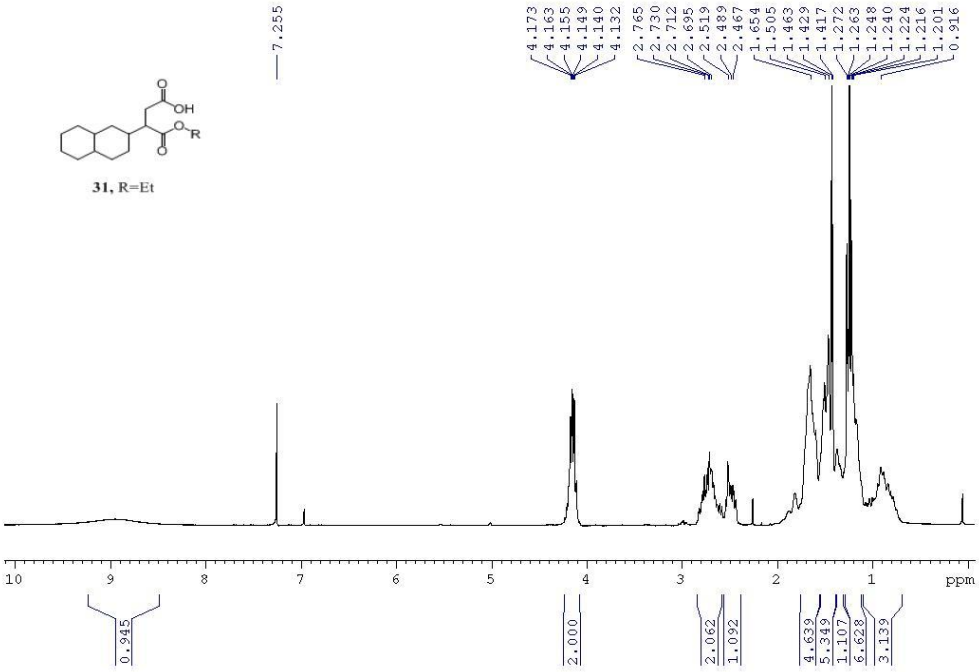
Ένωση **26 :** Φάσμα ^{1}H NMR (300MHz-$CDCl_3$)



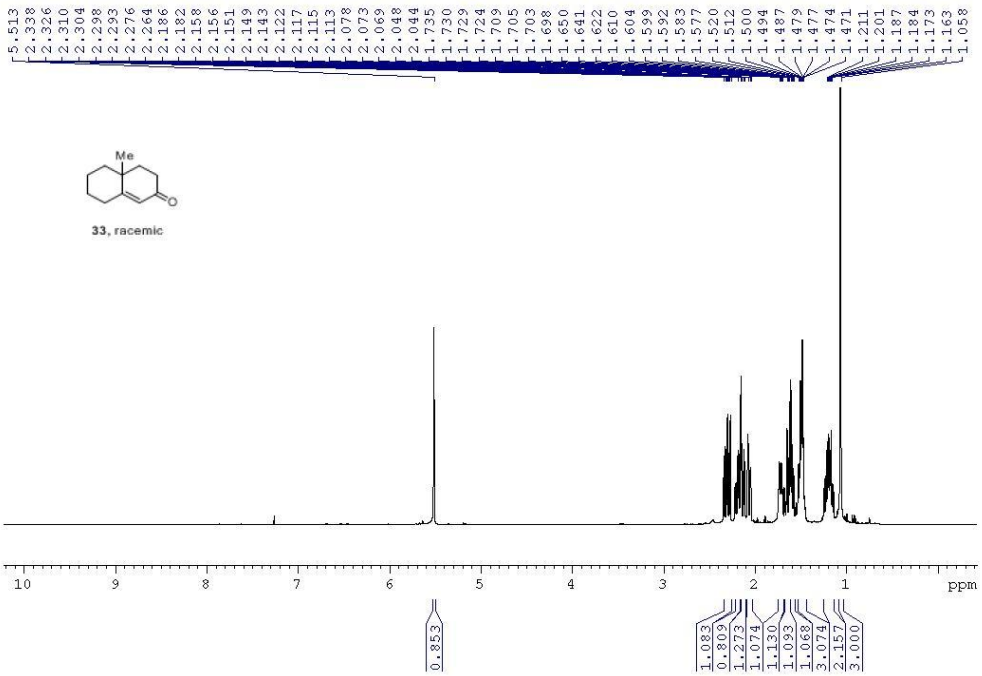
Ένωση **31 (R=t-Butyl) :** Φάσμα ^{1}H NMR (300MHz-$CDCl_3$)



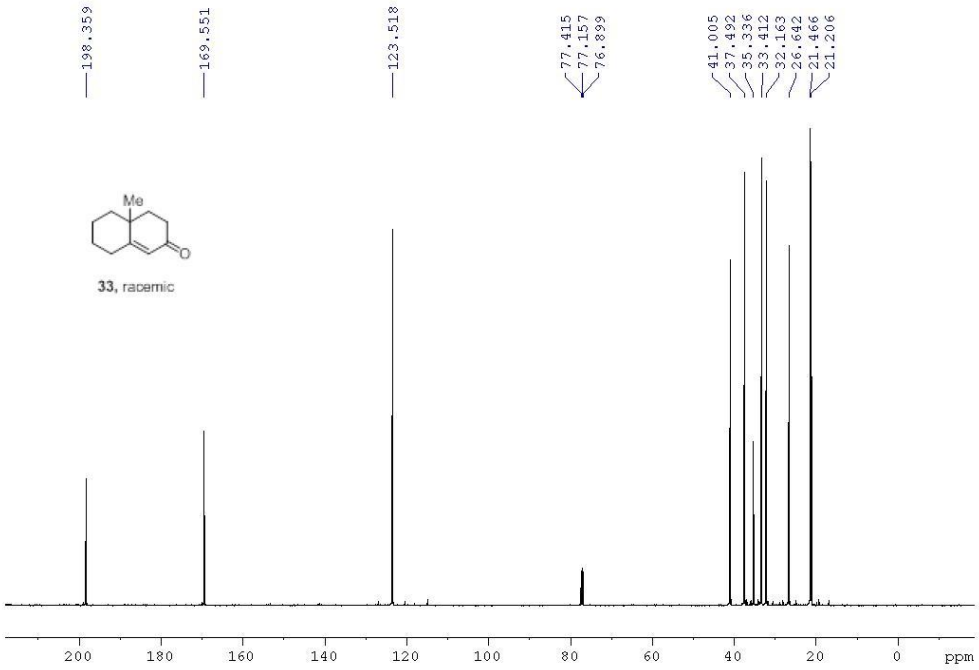
Ένωση **31 (R=Ethyl) :** Φάσμα ^{1}H NMR (300MHz-$CDCl_3$)



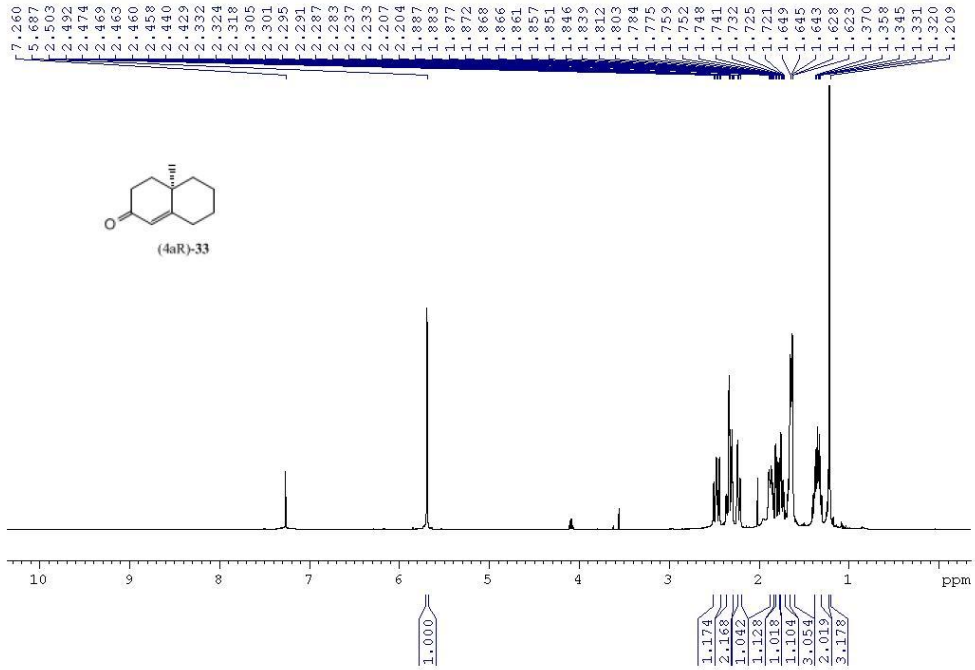
Ένωση **(4α*R/S*)-33 :** Φάσμα ^{1}H NMR (500MHz-$CDCl_3$)



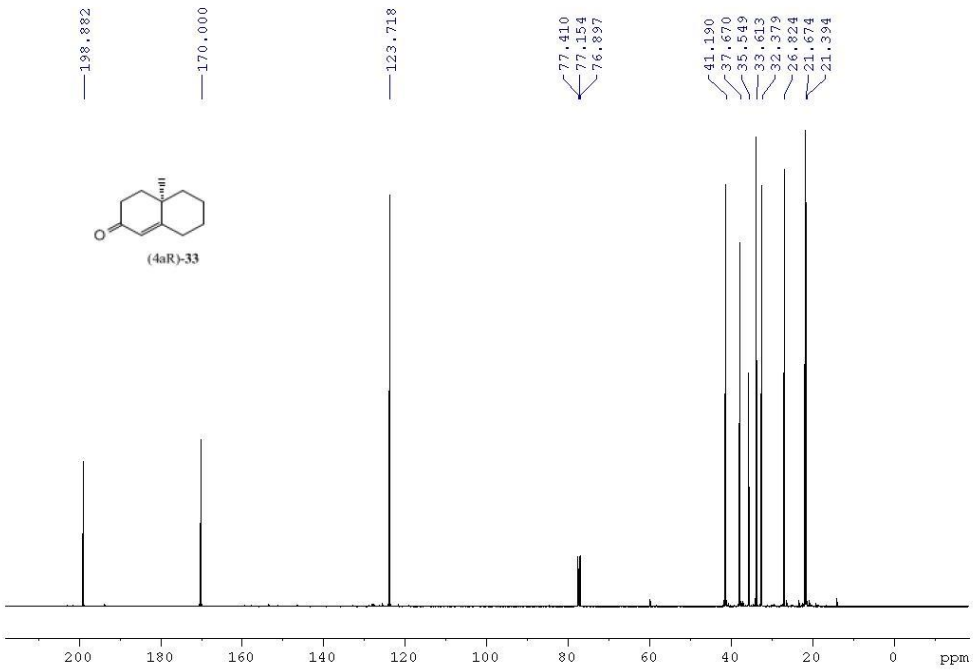
Ένωση **(4α*R/S*)-33 :** Φάσμα ^{13}C NMR (500MHz-$CDCl_3$)



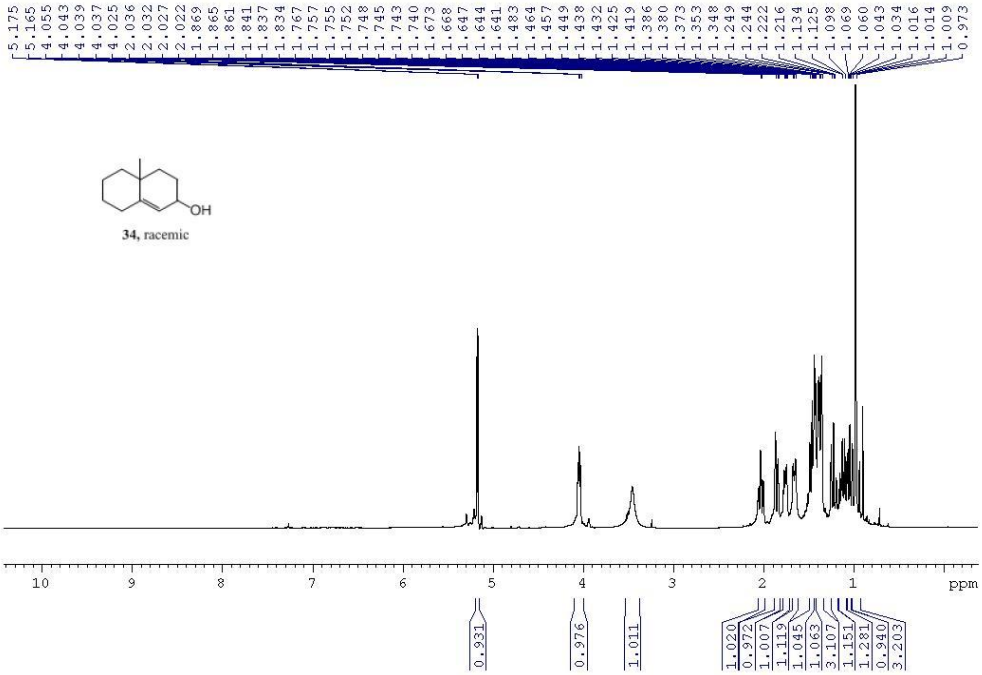
Ένωση **(4α*R*) 33 :** Φάσμα ^{1}H NMR (500MHz-$CDCl_3$)



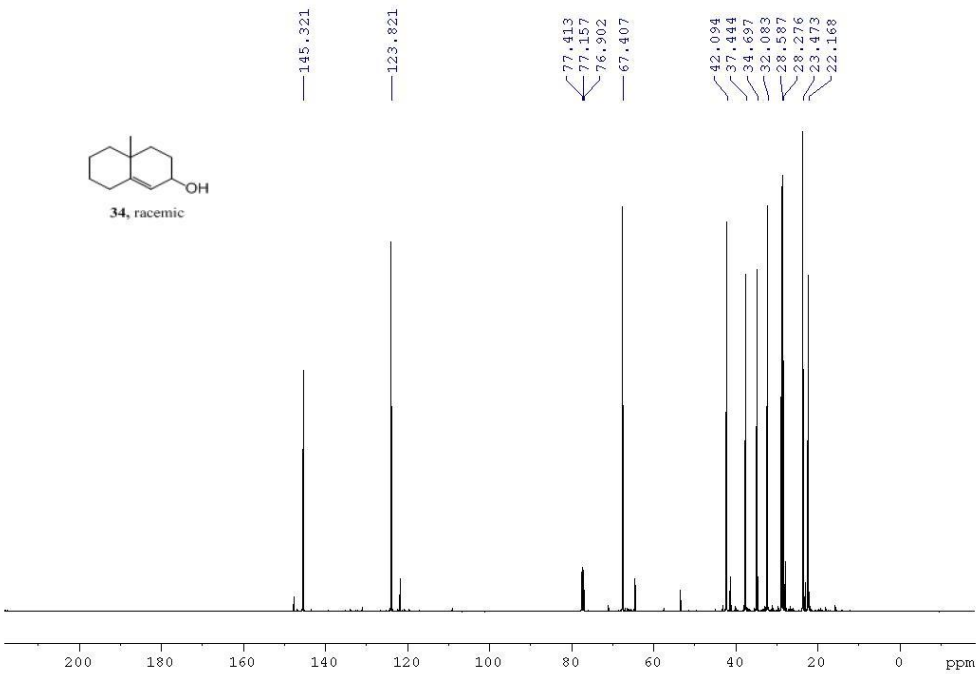
Ένωση **(4α*R*)-33 :** Φάσμα ^{13}C NMR (500MHz-$CDCl_3$)



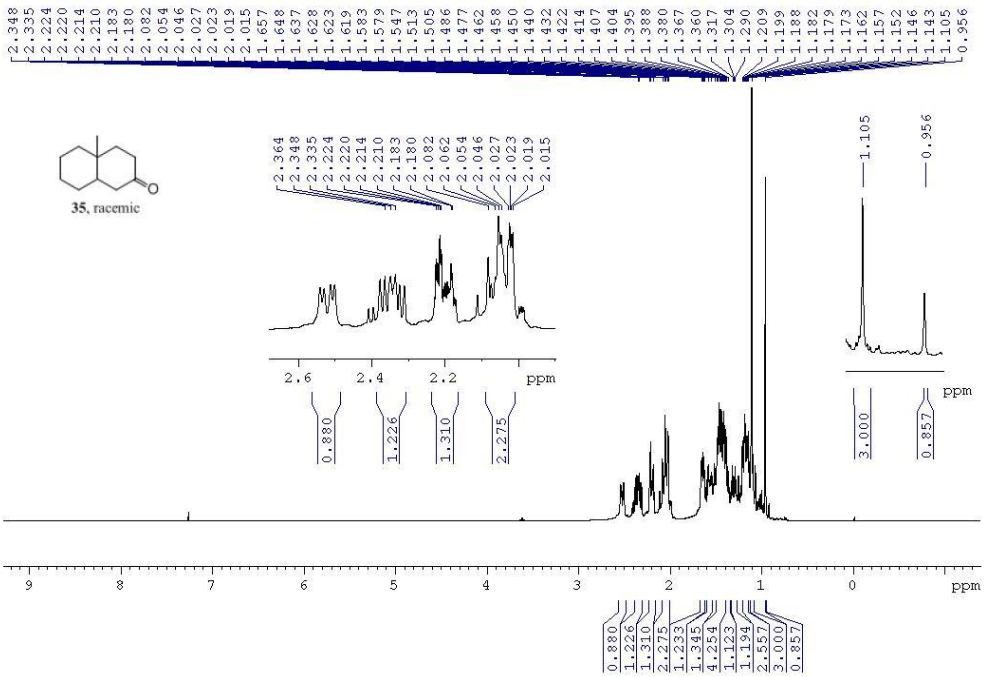
Ένωση **(4α*R/S*)-34 :** Φάσμα ^{1}H NMR (500MHz-$CDCl_3$)



Ένωση **(4α*R/S*)-34 :** Φάσμα ^{13}C NMR (500MHz-$CDCl_3$)

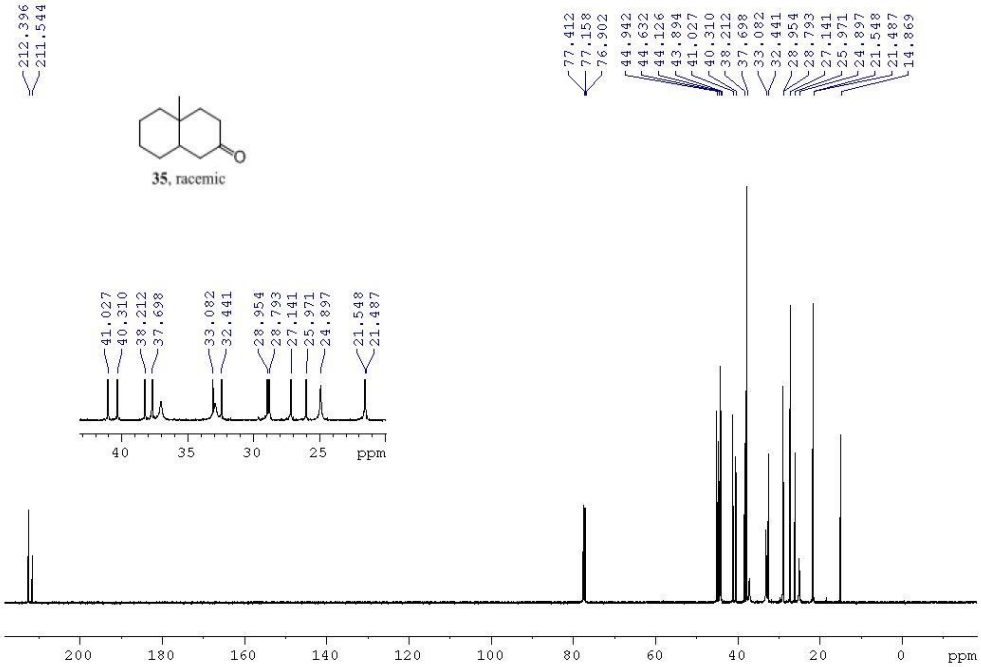


Ένωση **35 :** Φάσμα ^{1}H NMR (500MHz-$CDCl_3$)

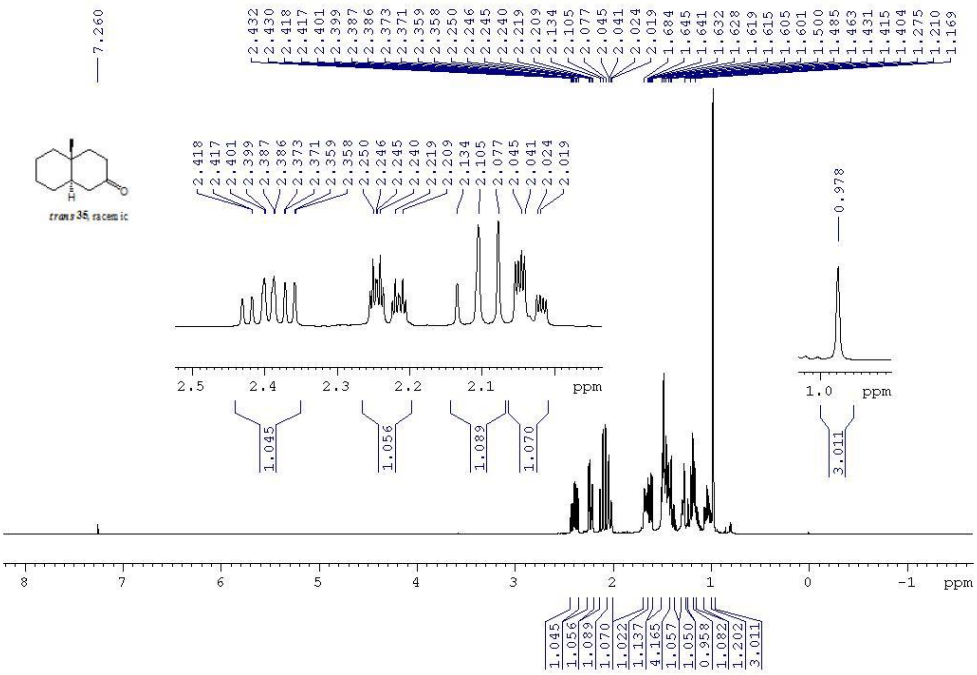


Στο ένθετο παρουσιάζονται χαρακτηριστικές κορυφές των cis και trans ισομερών προς σύγκριση με αυτές των απομονωθέντων trans ισομερών ενώσεων "**trans 35**" και **(4α*R*, 8α*R*)-35**, βλέπε ακόλουθα φάσματα.

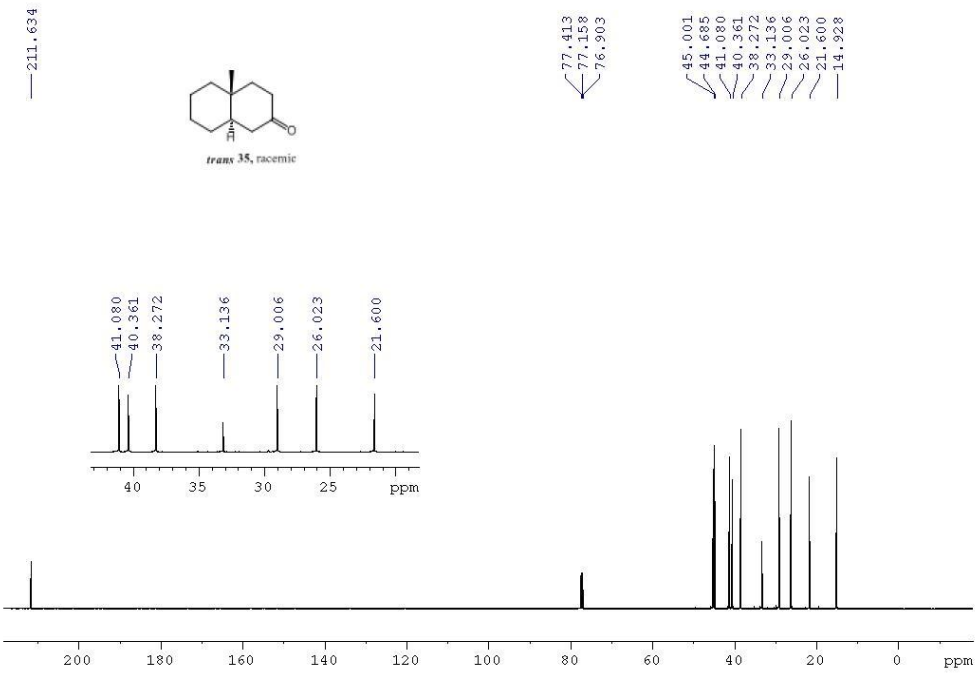
Ένωση **35 :** Φάσμα ^{13}C NMR (500MHz-$CDCl_3$)



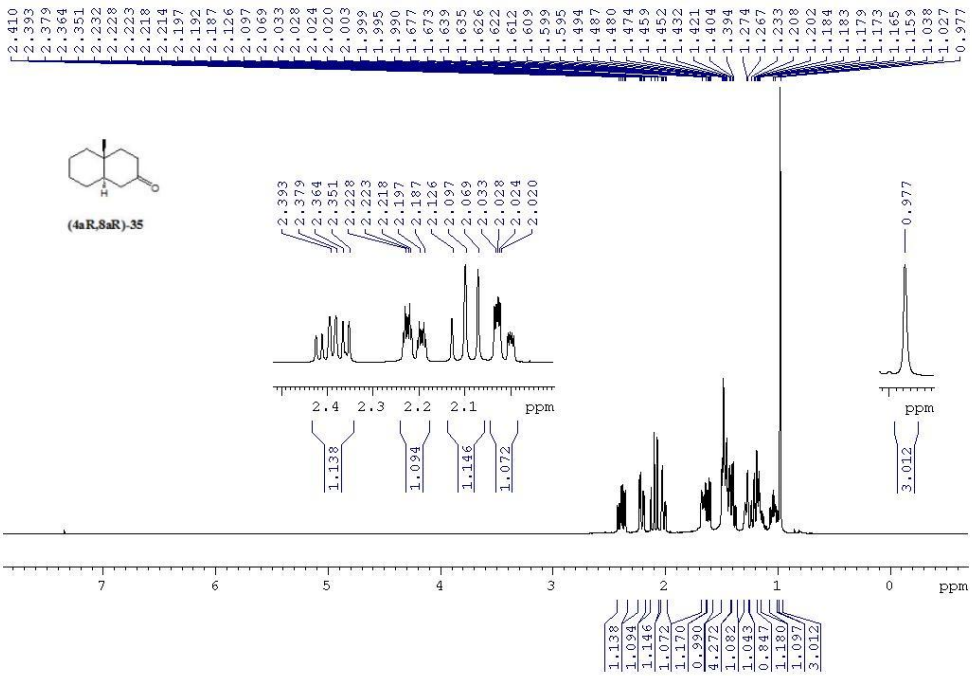
Ένωση ***trans* 35 :** Φάσμα ^{1}H NMR (500MHz-$CDCl_3$)



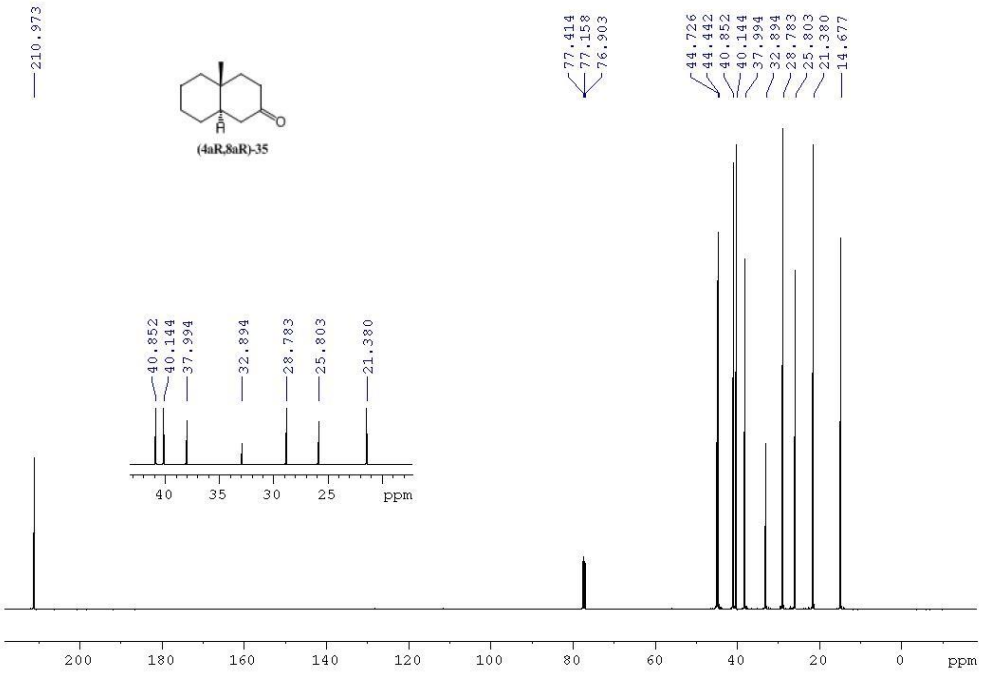
Ένωση ***trans* 35 :** Φάσμα ^{13}C NMR (500MHz-$CDCl_3$)



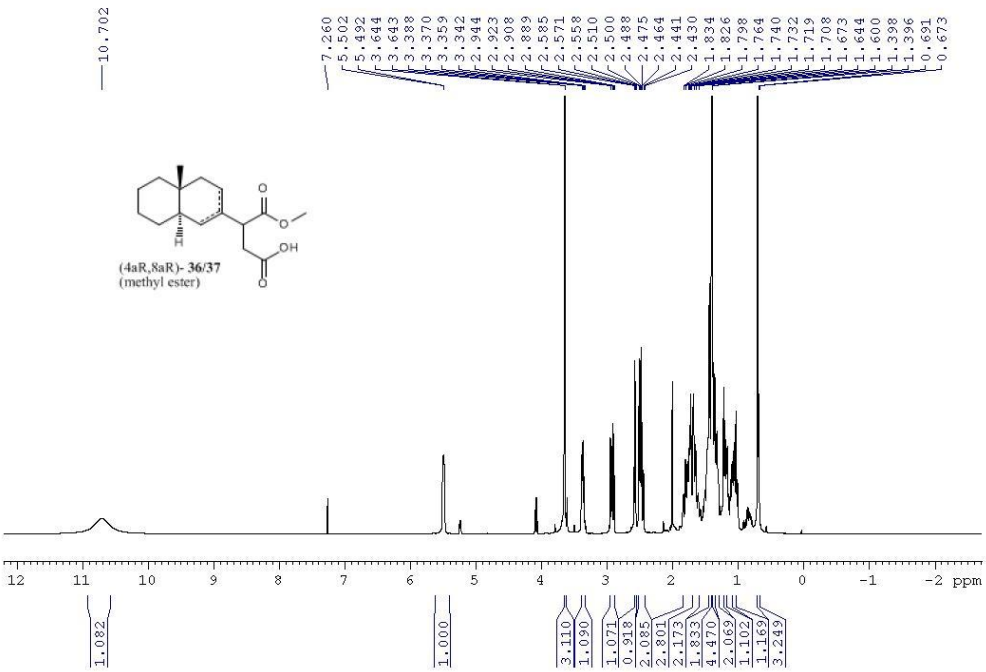
Ένωση **(4α*R*,8α*R*)-35 :** Φάσμα ^{1}H NMR (500MHz-$CDCl_3$)



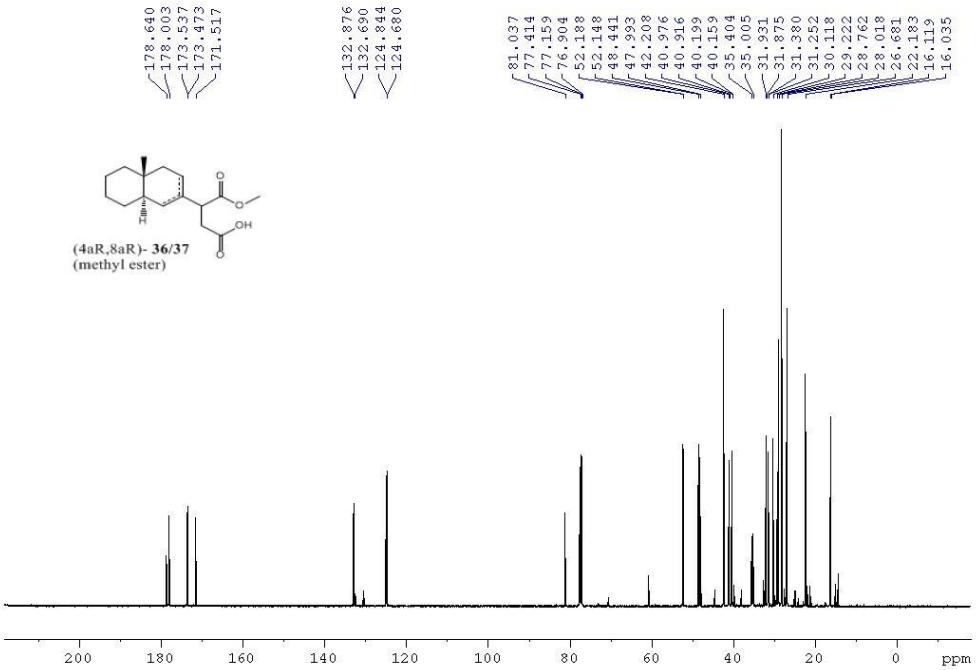
Ένωση **(4α*R*,8α*R*)-35 :** Φάσμα ^{13}C NMR (500MHz-$CDCl_3$)



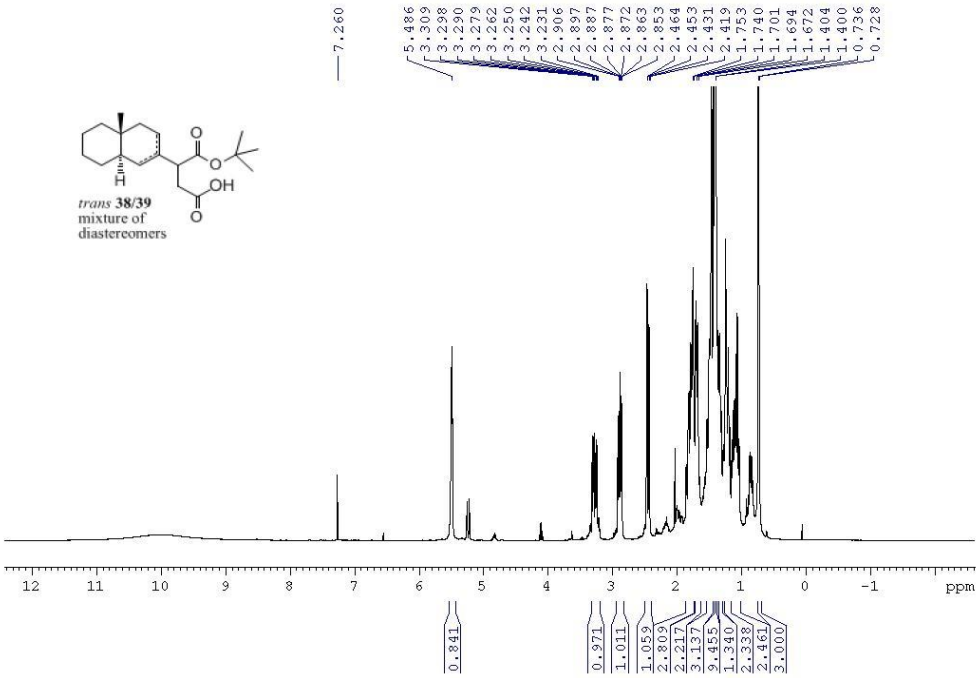
Ένωση **(4α*R*,8α*R*)-36/37 :** Φάσμα ^{1}H NMR (500MHz-CDCl$_3$)



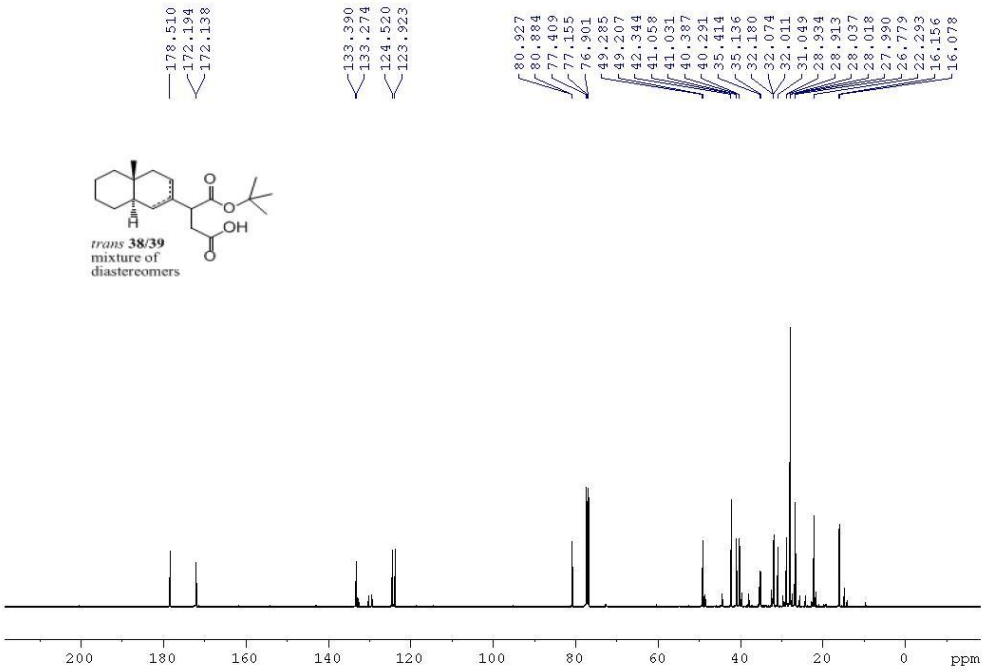
Ένωση **(4α*R*,8α*R*)-36/37 :** Φάσμα ^{13}C NMR (500MHz-CDCl$_3$)



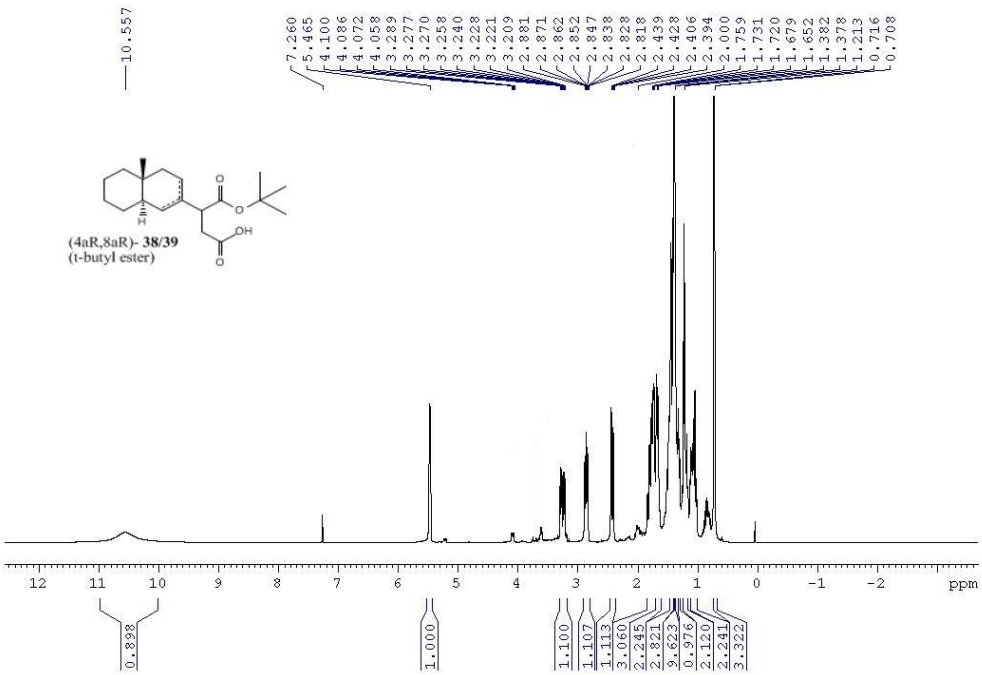
Ένωση ***trans* 38/39:** Φάσμα ^{1}H NMR (500MHz-$CDCl_3$)



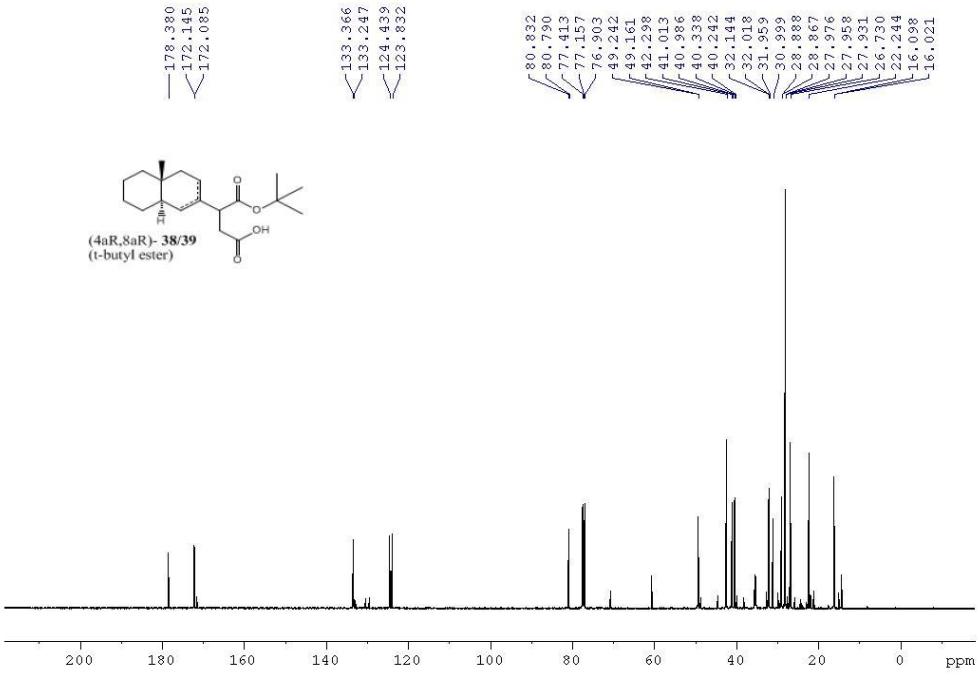
Ένωση ***trans* 38/39:** Φάσμα ^{13}C NMR (500MHz-$CDCl_3$)



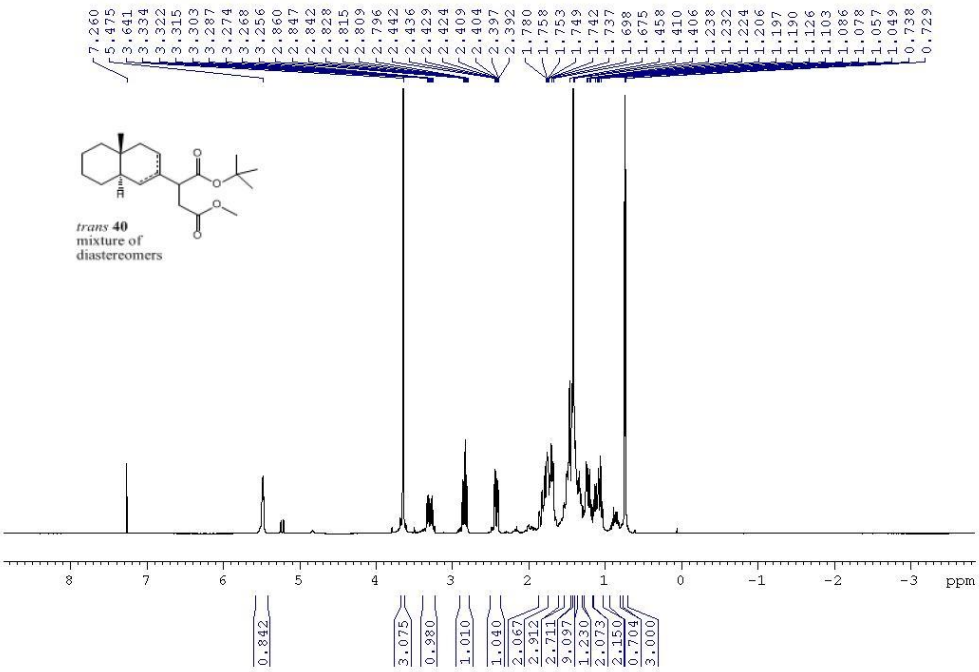
Ένωση **(4α*R*,8α*R*)- 38/39:** Φάσμα ^{1}H NMR (500MHz-CDCl$_3$)



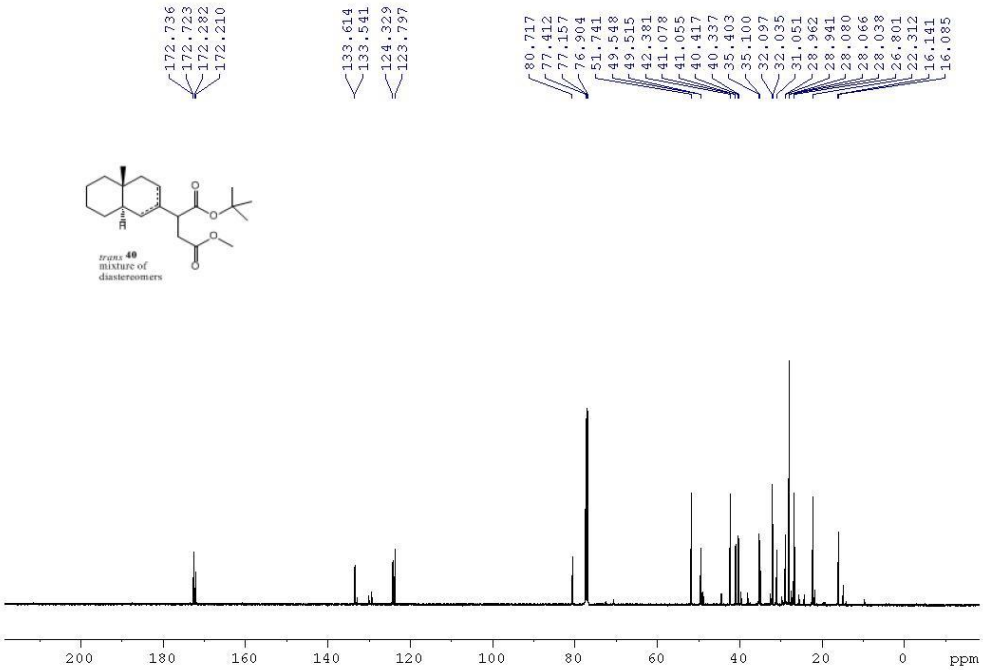
Ένωση **(4α*R*,8α*R*)- 38/39:** Φάσμα ^{13}C NMR (500MHz-CDCl$_3$)



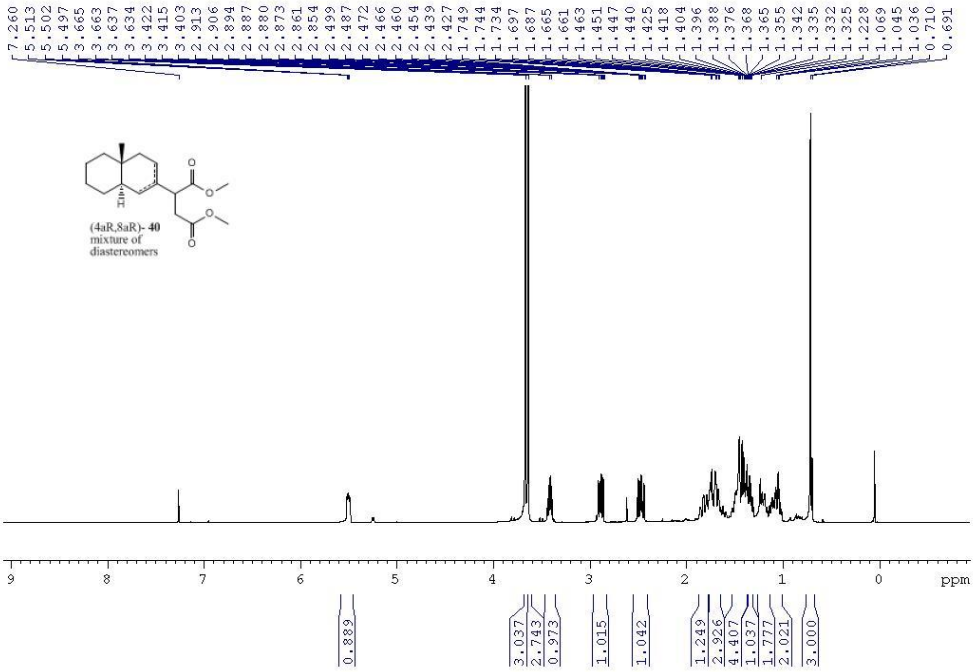
Ένωση ***trans* 40 (R=t-Butyl) :** Φάσμα ^{1}H NMR (500MHz-$CDCl_3$)



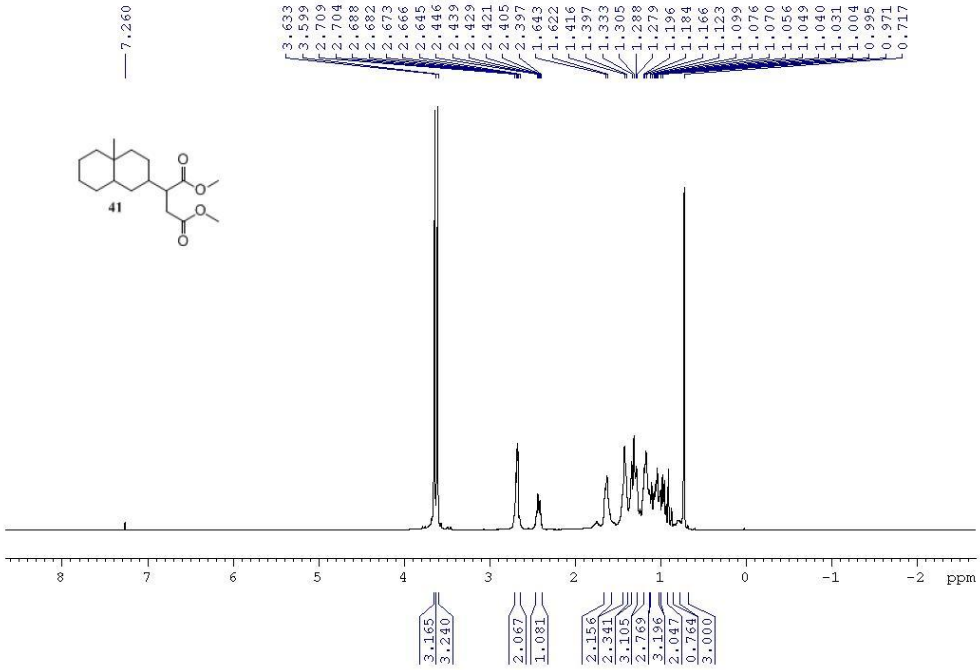
Ένωση ***trans* 40 (R=t-Butyl) :** Φάσμα ^{13}C NMR (500MHz-$CDCl_3$)



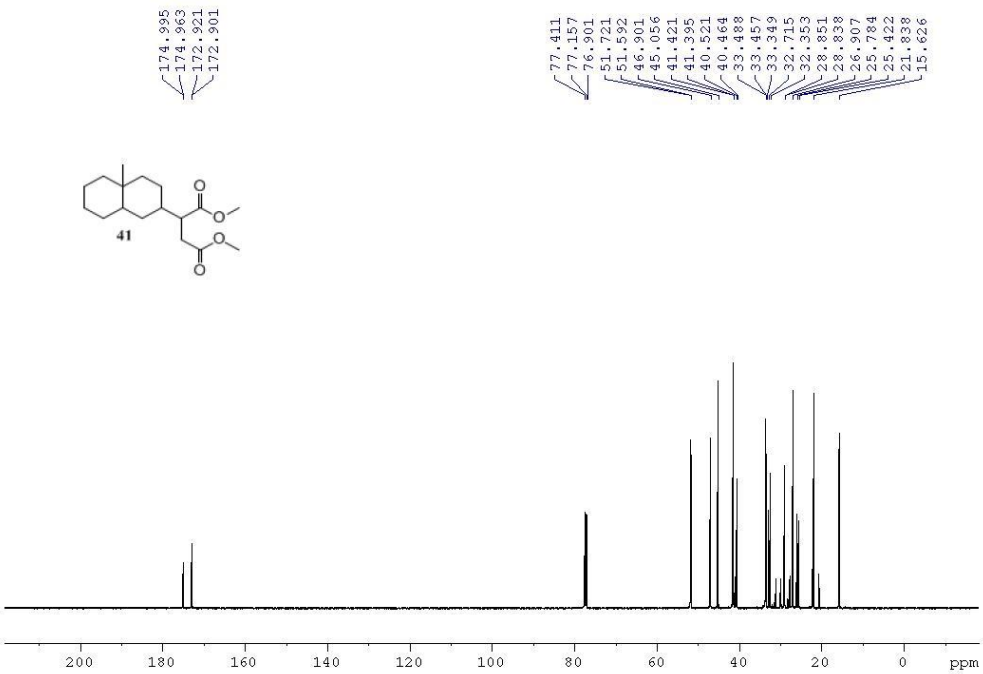
Ένωση **(4α*R*,8α*R*)-40 (R=Me) :** Φάσμα ^{1}H NMR (500MHz-$CDCl_3$)



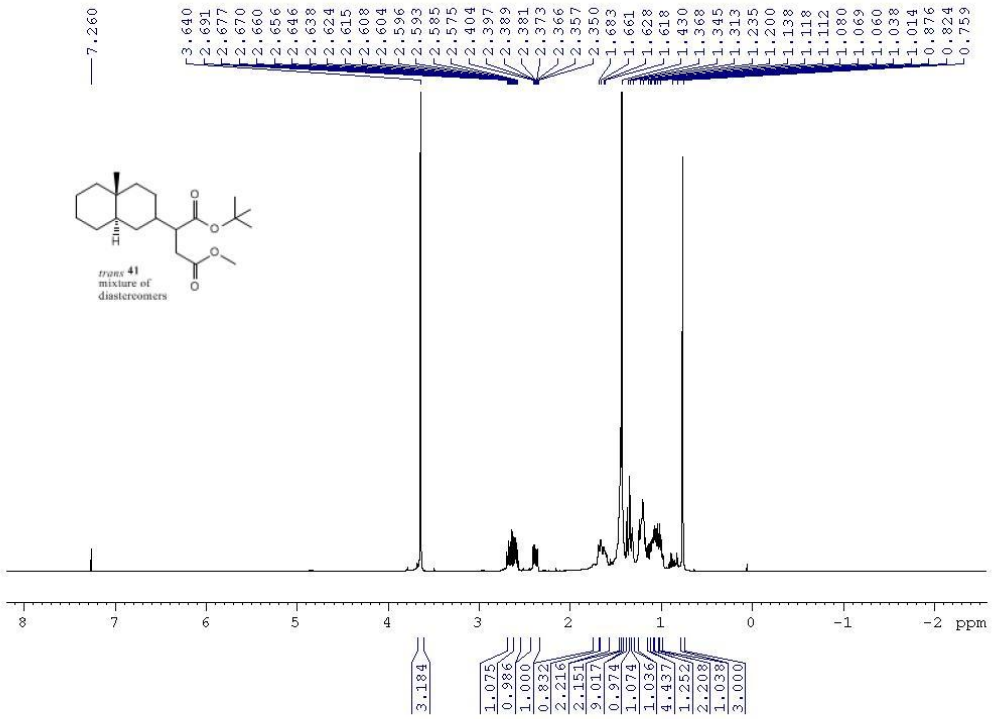
Ένωση **41(R=Me) :** Φάσμα ^{1}H NMR (500MHz-$CDCl_3$)



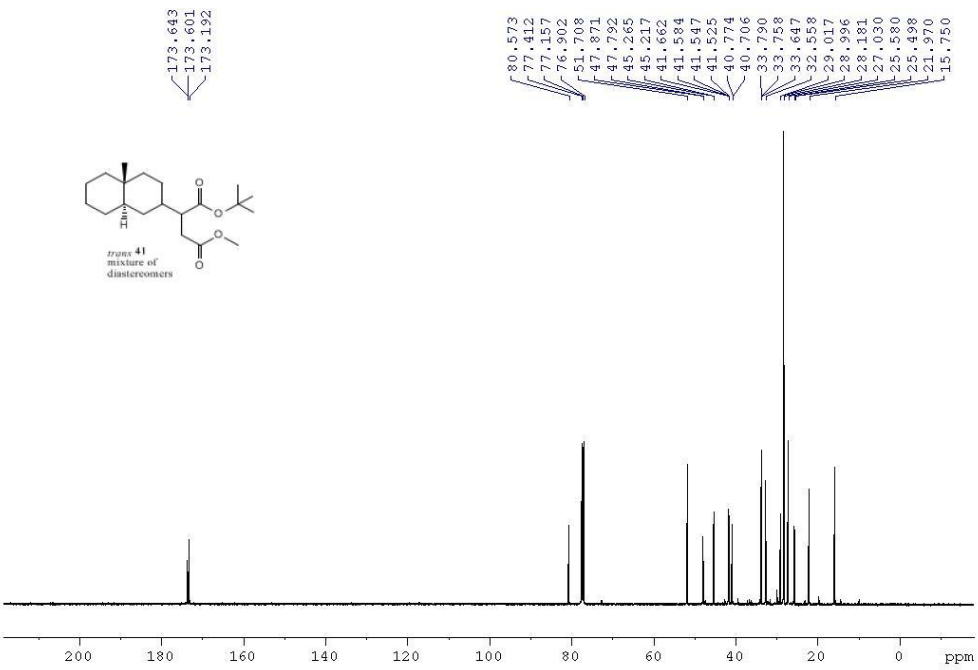
Ένωση **41 (R=Me) :** Φάσμα ^{13}C NMR (500MHz-$CDCl_3$)



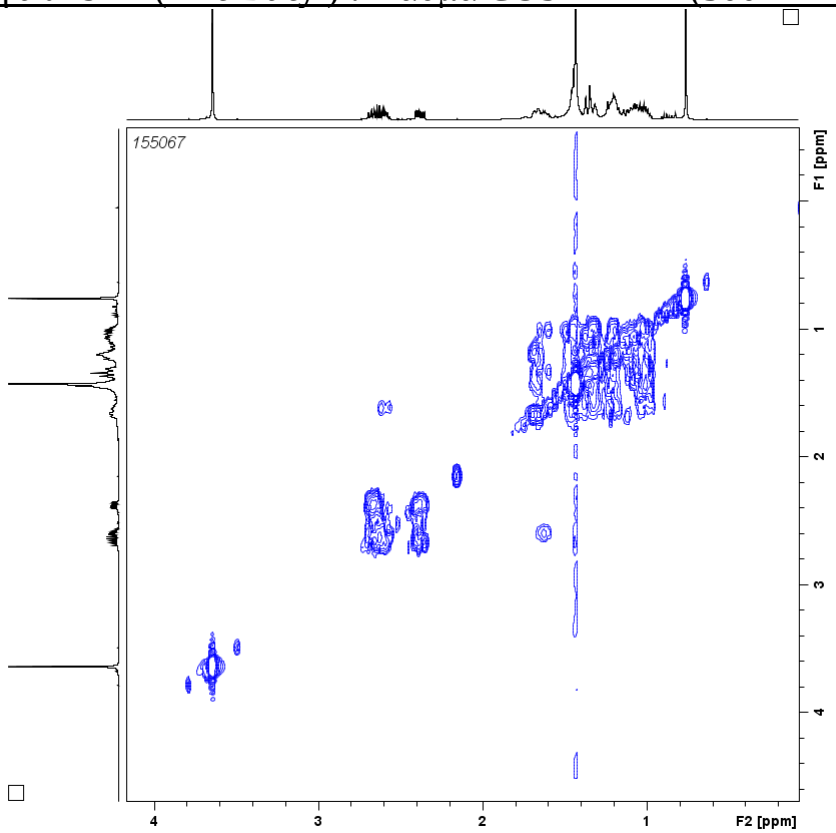
Ένωση ***trans* 41 (R=t-Butyl) :** Φάσμα ^{1}H NMR (500MHz-$CDCl_3$)



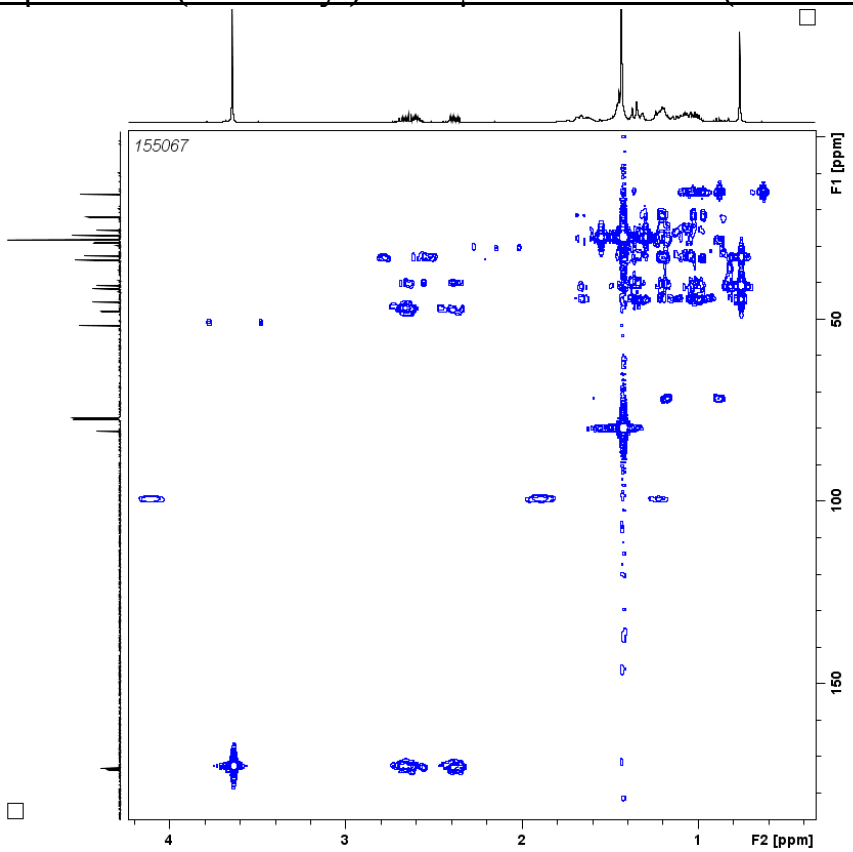
Ένωση ***trans* 41 (R=t-Butyl) :** Φάσμα ^{13}C NMR (500MHz-$CDCl_3$)



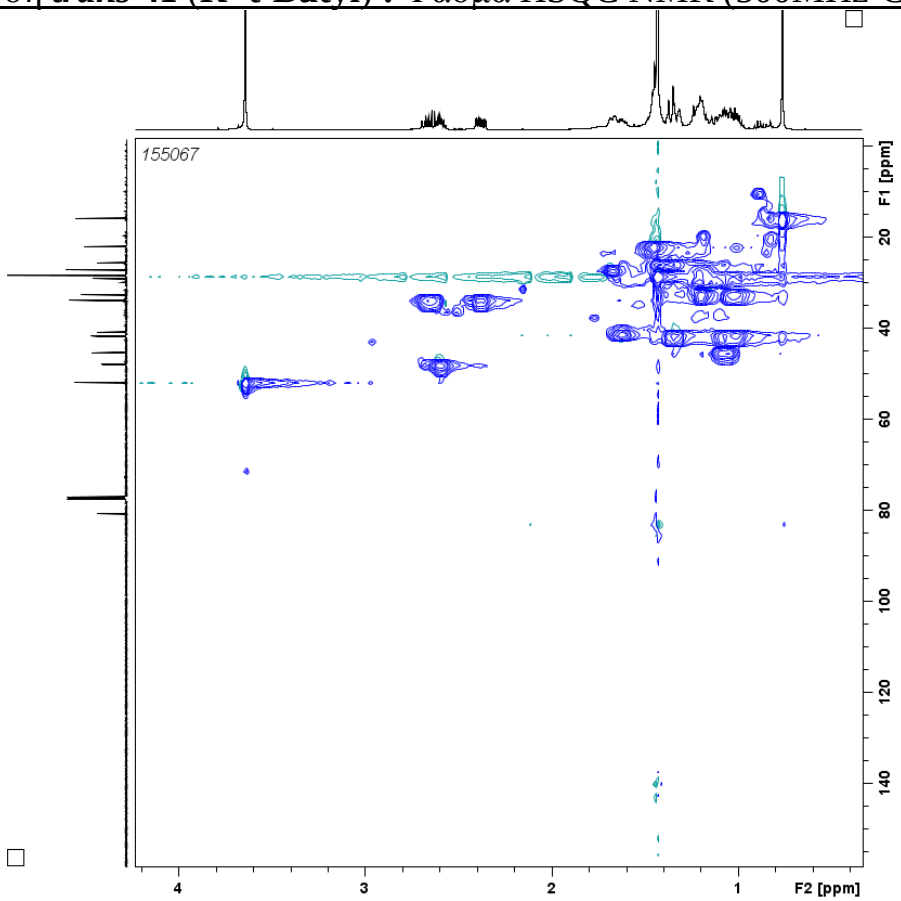
Ένωση ***trans* 41 (R=t-Butyl) :** Φάσμα COSY NMR (500MHz-$CDCl_3$)



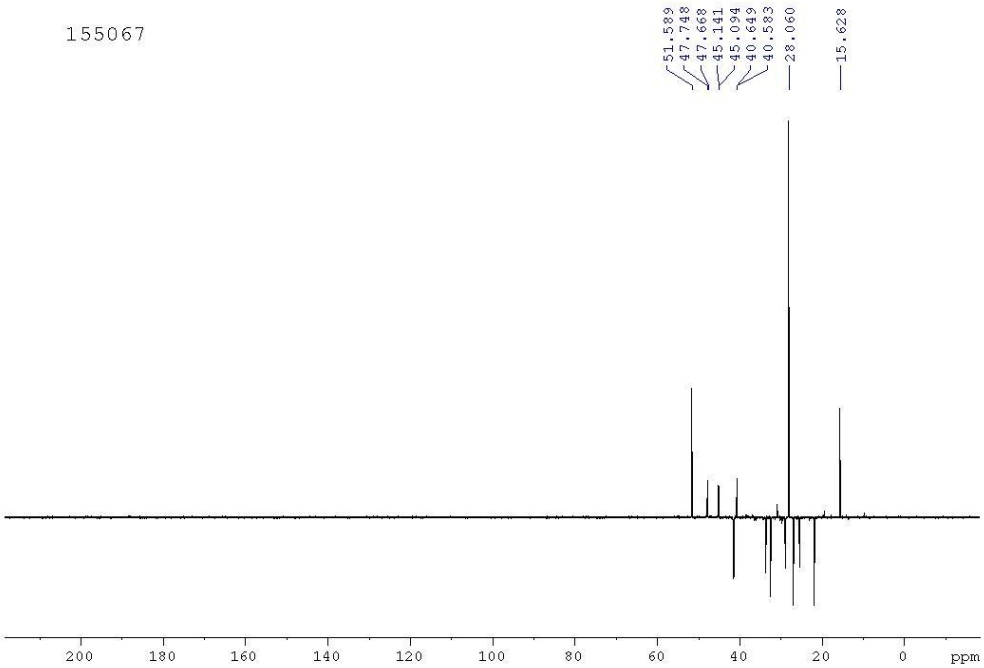
Ένωση ***trans* 41 (R=t-Butyl) :** Φάσμα HMBC NMR (500MHz-$CDCl_3$)



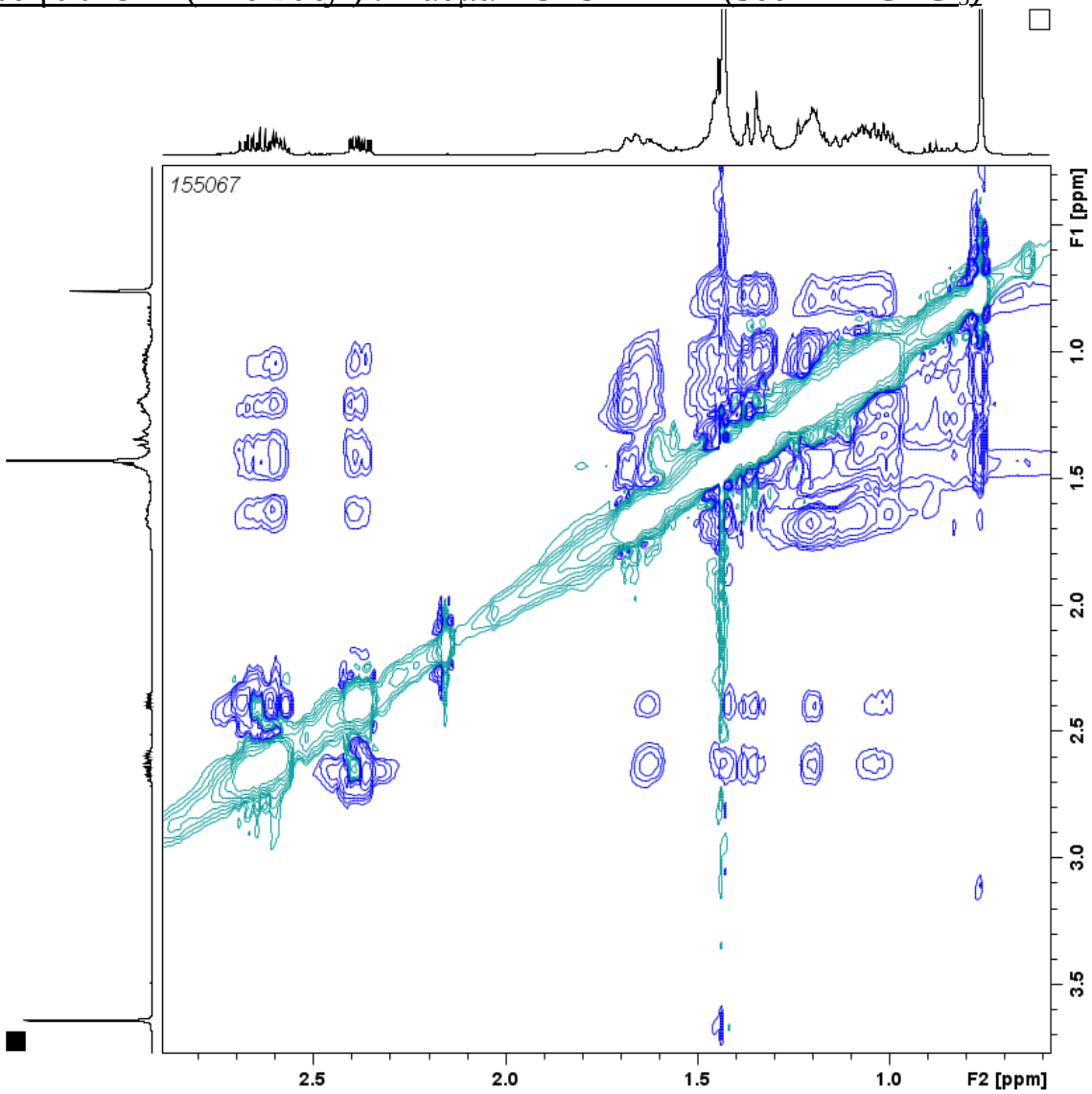
Ένωση ***trans* 41 (R=t-Butyl) :** Φάσμα HSQC NMR (500MHz-$CDCl_3$)



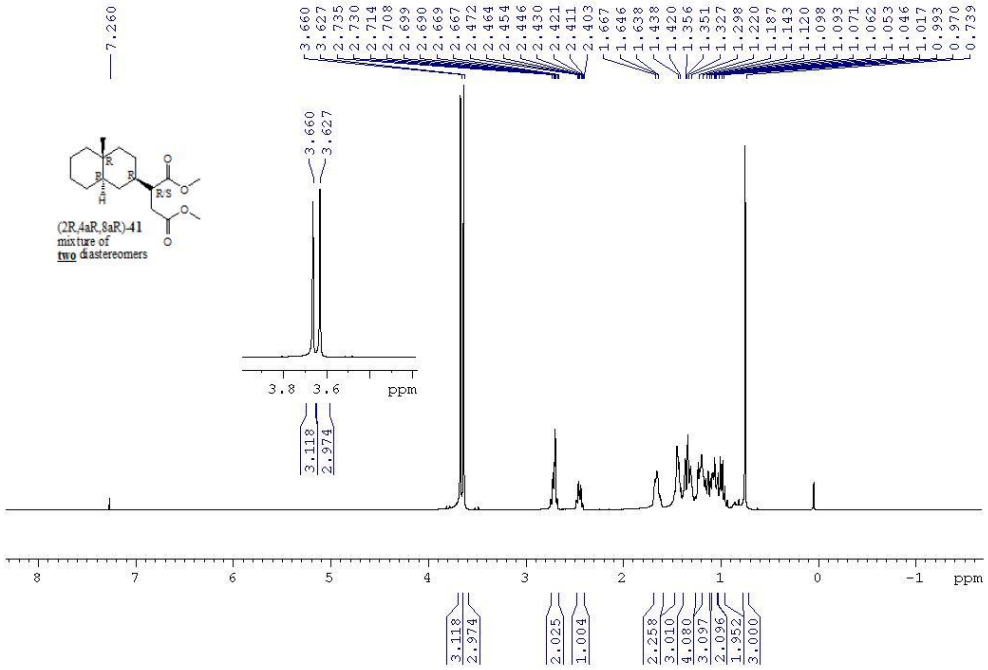
Ένωση ***trans* 41 (R=t-Butyl) :** Φάσμα DEPT135 NMR (500MHz-$CDCl_3$)



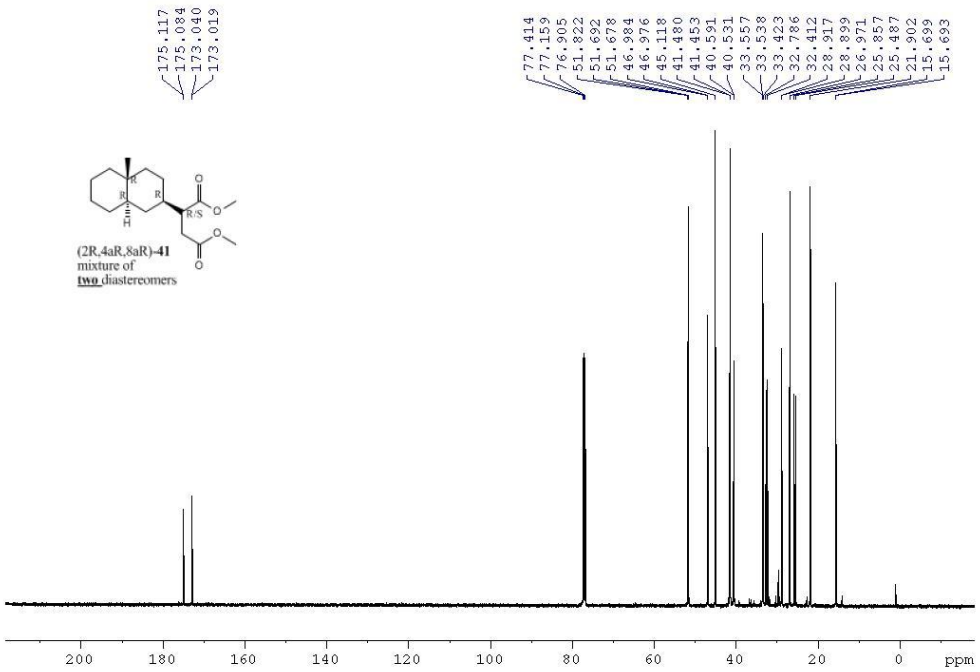
Ένωση ***trans* 41 (R=t-Butyl) :** Φάσμα NOESY NMR (500MHz-$CDCl_3$)



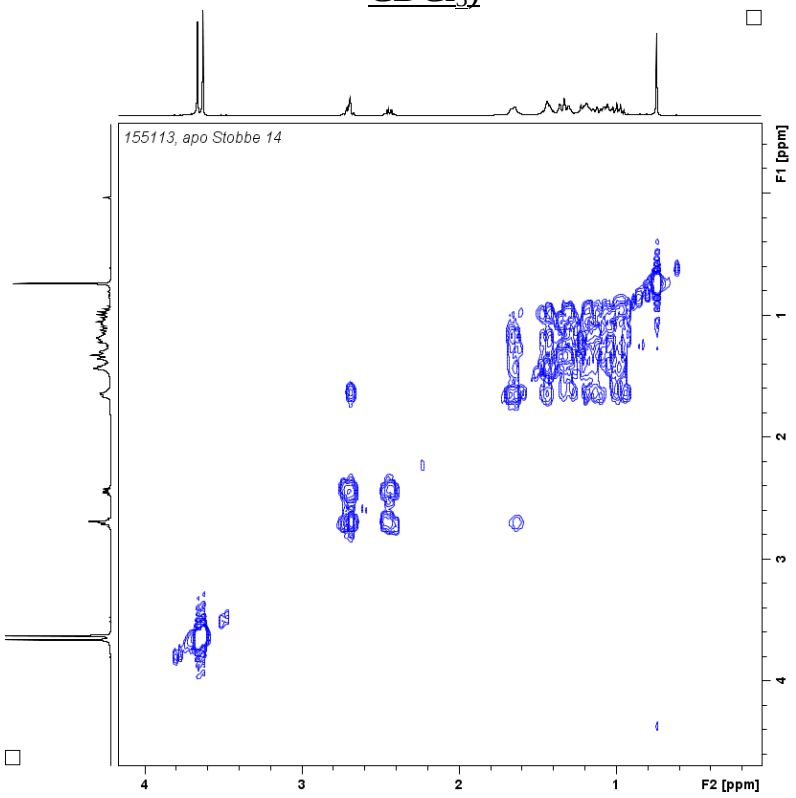
Ένωση **(2*R*,4α*R*,8α*R*)-41 (R=Me) :** Φάσμα ^{1}H NMR (500MHz-$CDCl_3$)



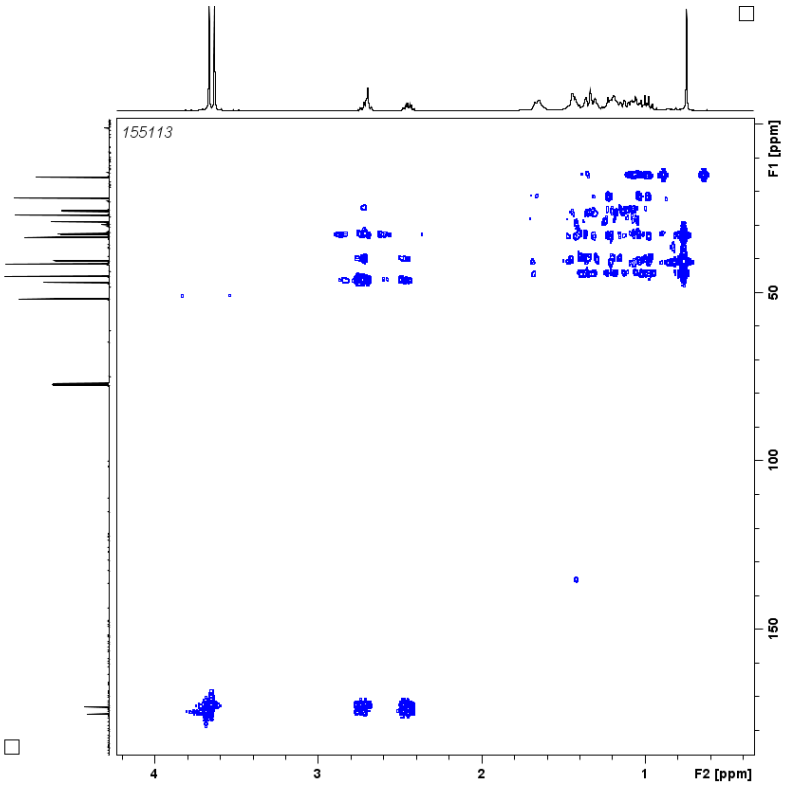
Ένωση **(2*R*,4α*R*,8α*R*)-41 (R=Me) :** Φάσμα ^{13}C NMR (500MHz-$CDCl_3$)



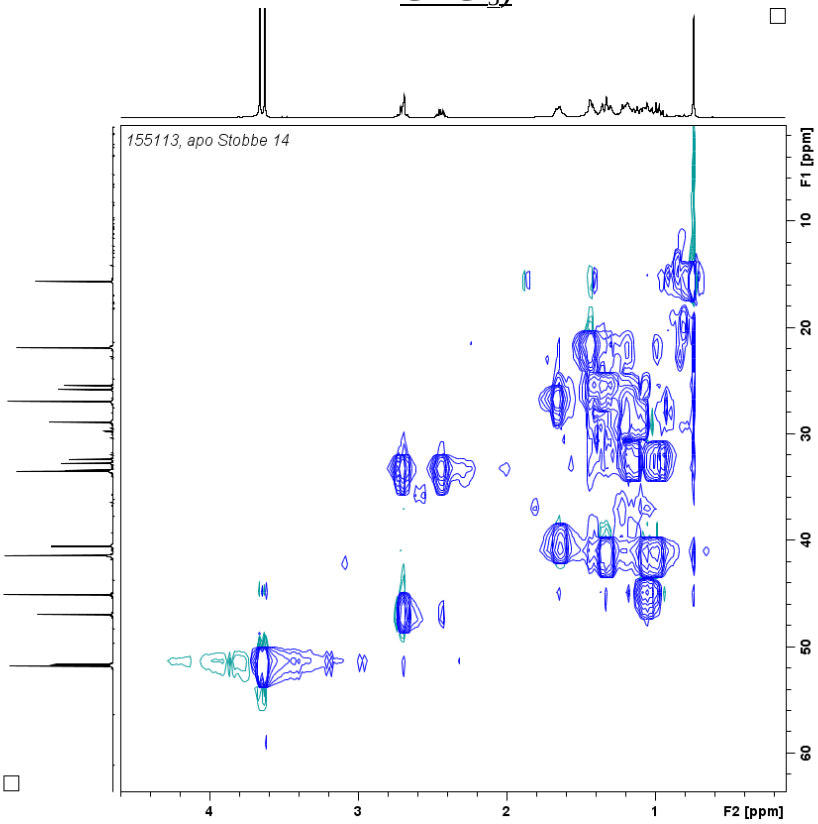
Ένωση **(2*R*,4α*R*,8α*R*)-41 (R=Me) :** Φάσμα COSY NMR (500MHz-$CDCl_3$)



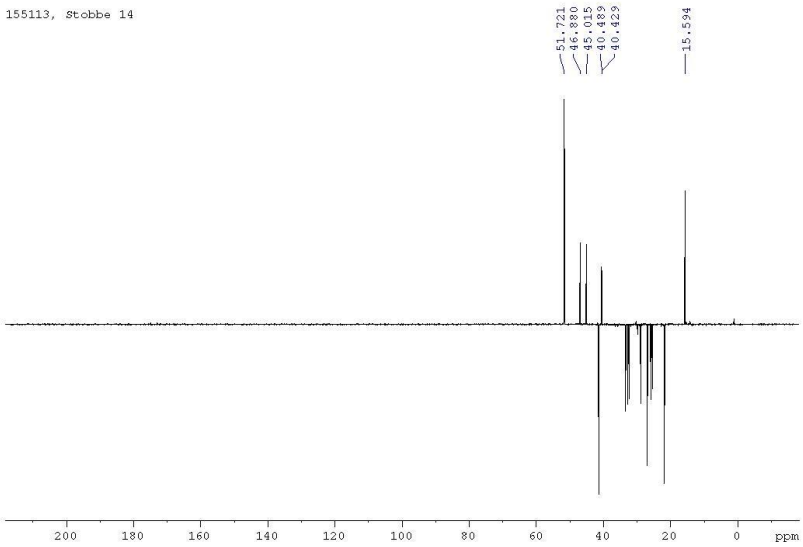
Ένωση **(2*R*,4α*R*,8α*R*)-41 (R=Me) :** Φάσμα HMBC NMR (500MHz-$CDCl_3$)



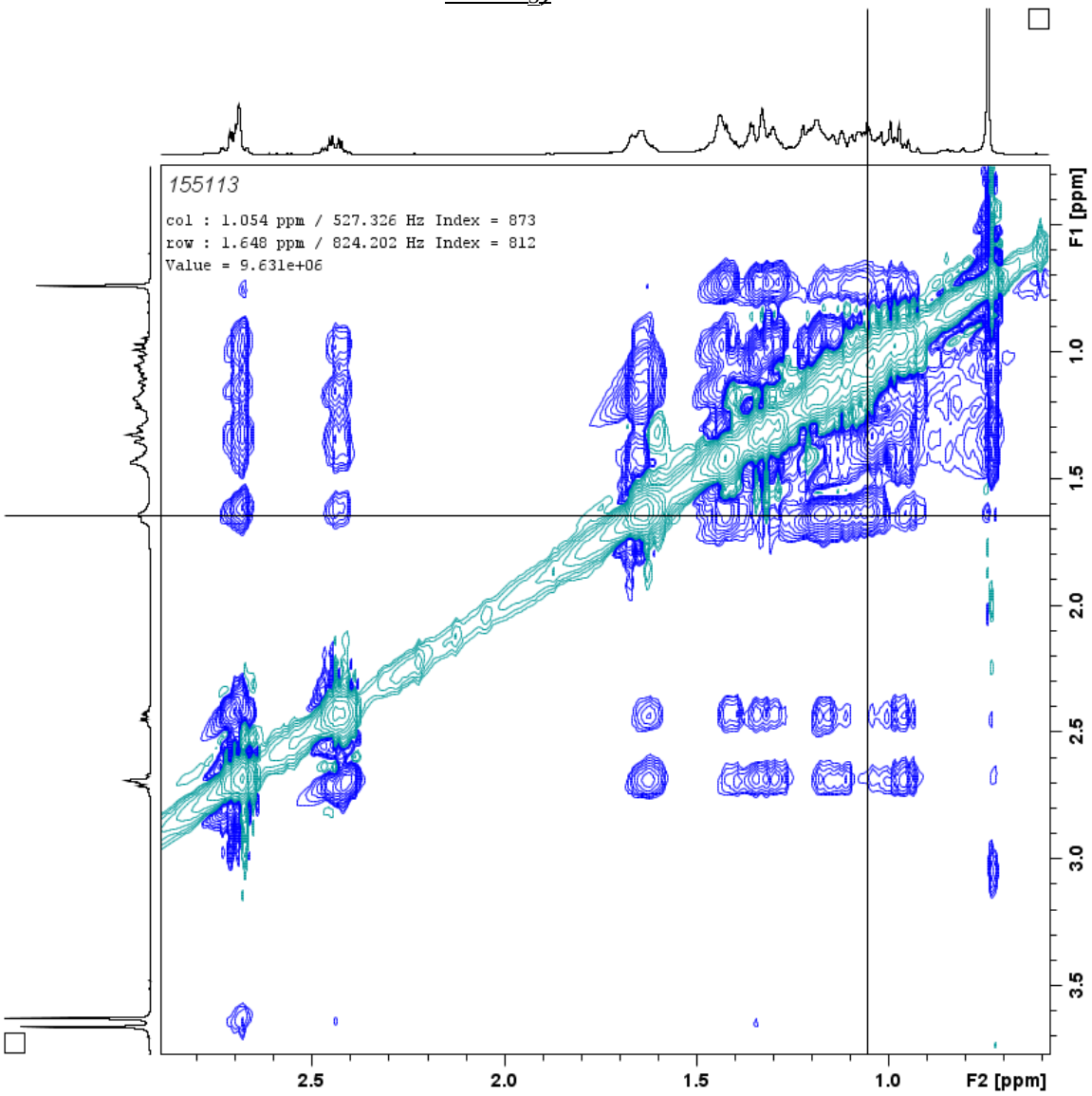
Ένωση **(2*R*,4α*R*,8α*R*)-41 (R=Me) :** Φάσμα HSQC NMR (500MHz-$CDCl_3$)



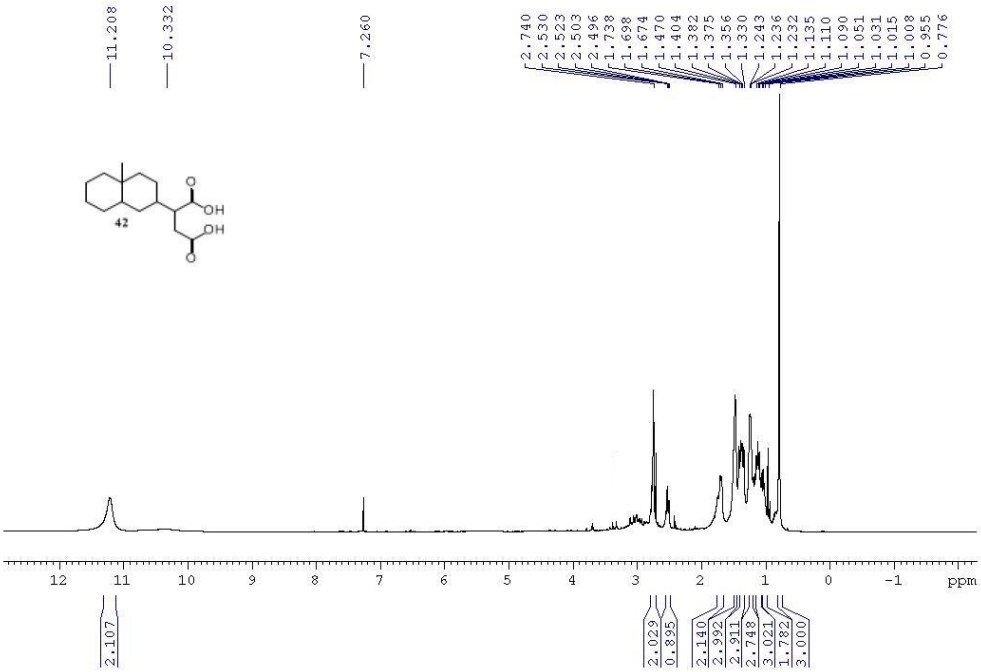
Ένωση **(2*R*,4α*R*,8α*R*)-41 (R=Me) :** Φάσμα DEPT135 NMR (500MHz-$CDCl_3$)



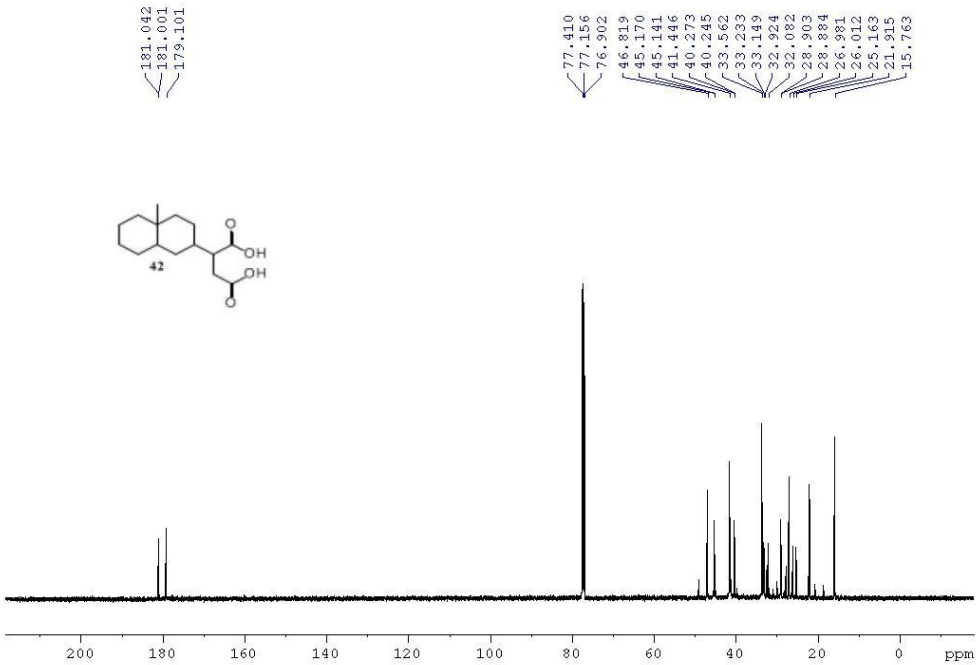
Ένωση **(2*R*,4α*R*,8α*R*)-41 (R=Me) :** Φάσμα NOESY NMR (500MHz-$CDCl_3$)



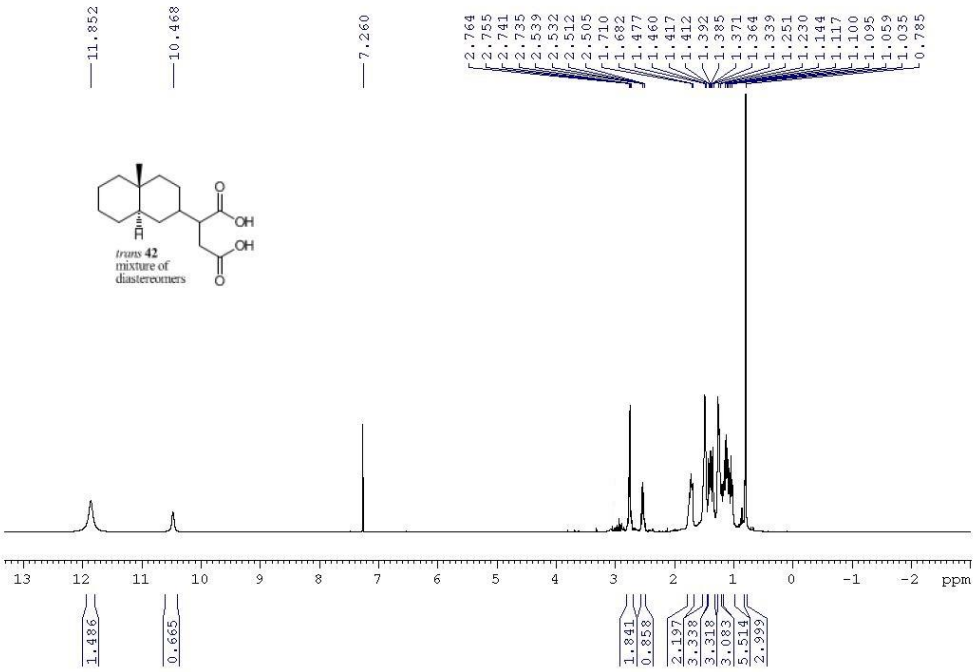
Ένωση **42 :** Φάσμα ^{1}H NMR (500MHz-$CDCl_3$)



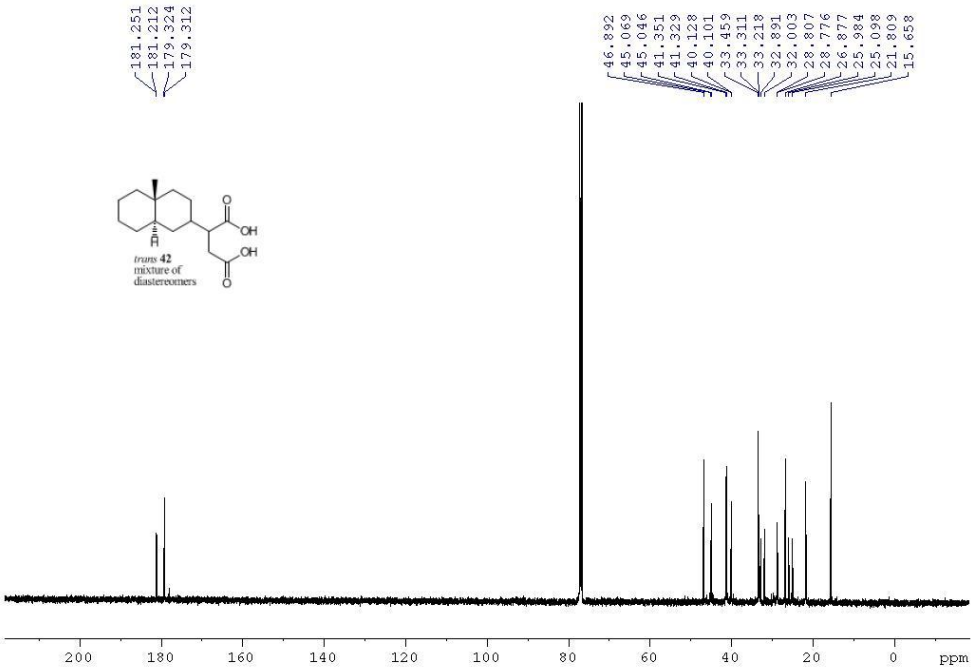
Ένωση **42 :** Φάσμα ^{13}C NMR (500MHz-$CDCl_3$)



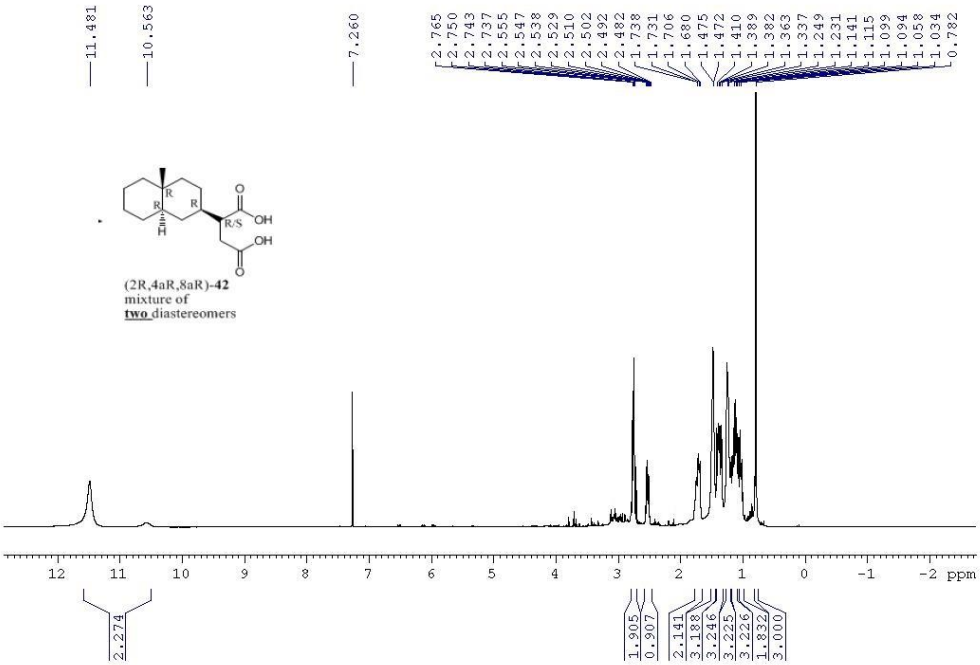
Ένωση ***trans* 42 :** Φάσμα ^{1}H NMR (500MHz-$CDCl_3$)



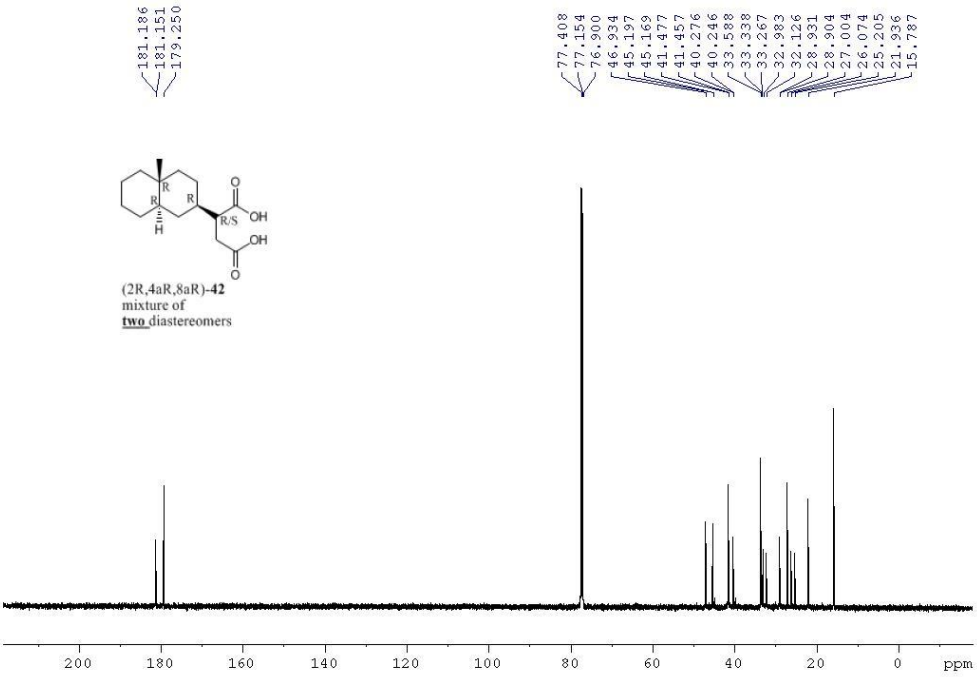
Ένωση ***trans* 42 :** Φάσμα ^{13}C NMR (500MHz-$CDCl_3$)



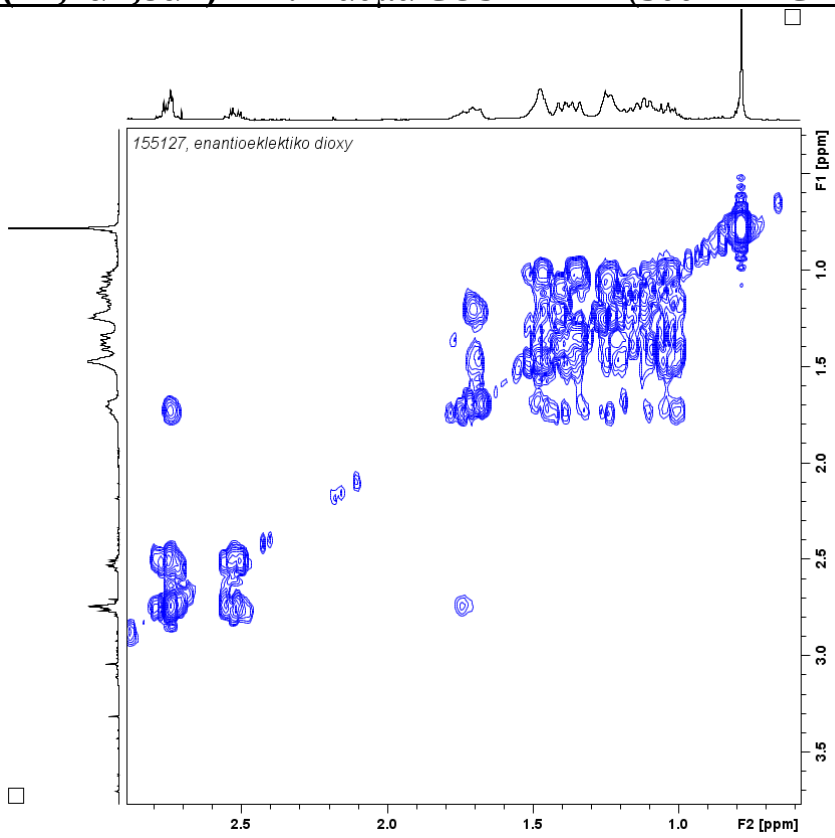
Ένωση **(2*R*,4α*R*,8α*R*)- 42 :** Φάσμα ^{1}H NMR (500MHz-$CDCl_3$)



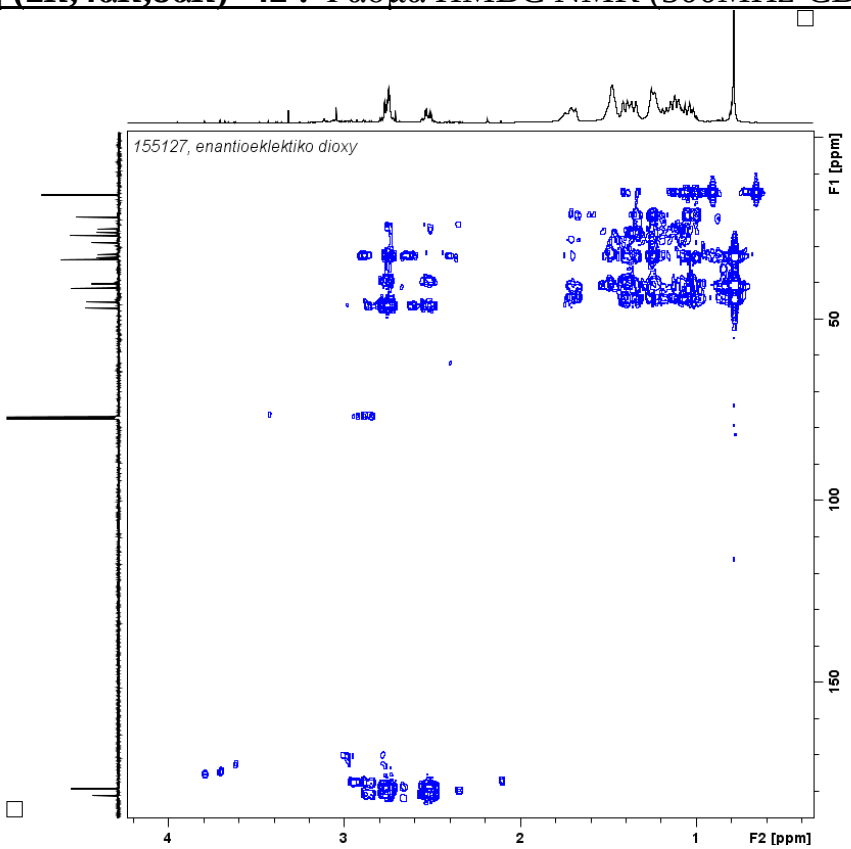
Ένωση **(2*R*,4α*R*,8α*R*)- 42 :** Φάσμα ^{13}C NMR (500MHz-$CDCl_3$)



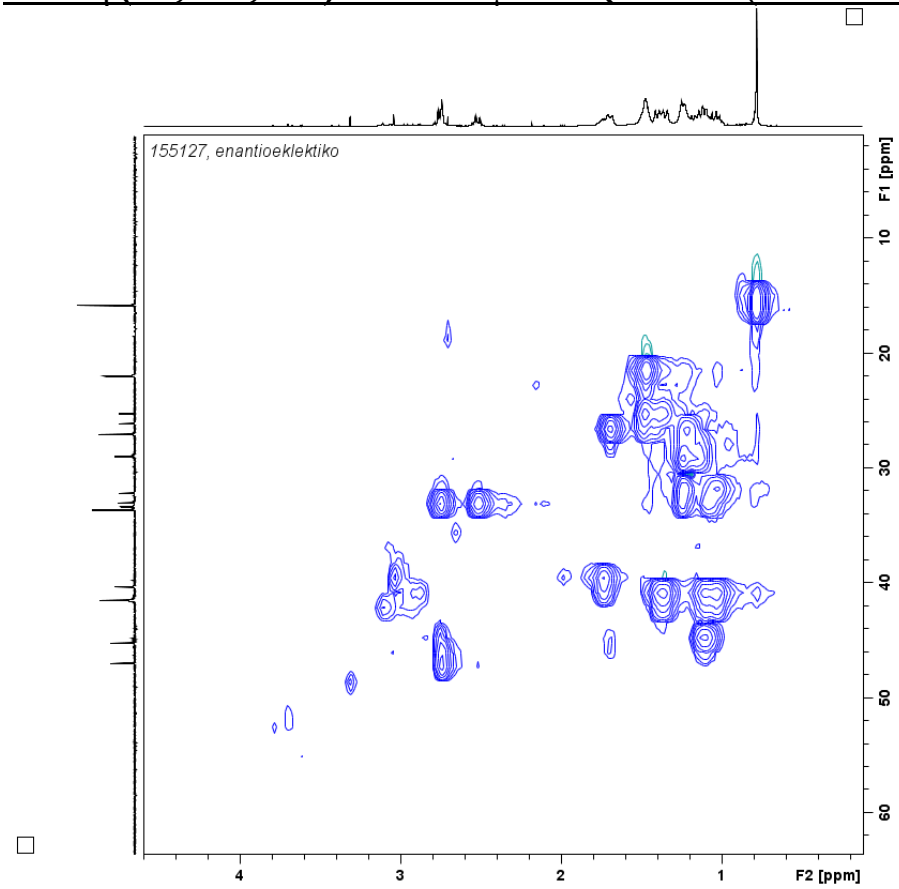
Ένωση **(2*R*,4α*R*,8α*R*)- 42 :** Φάσμα COSY NMR (500MHz-$CDCl_3$)



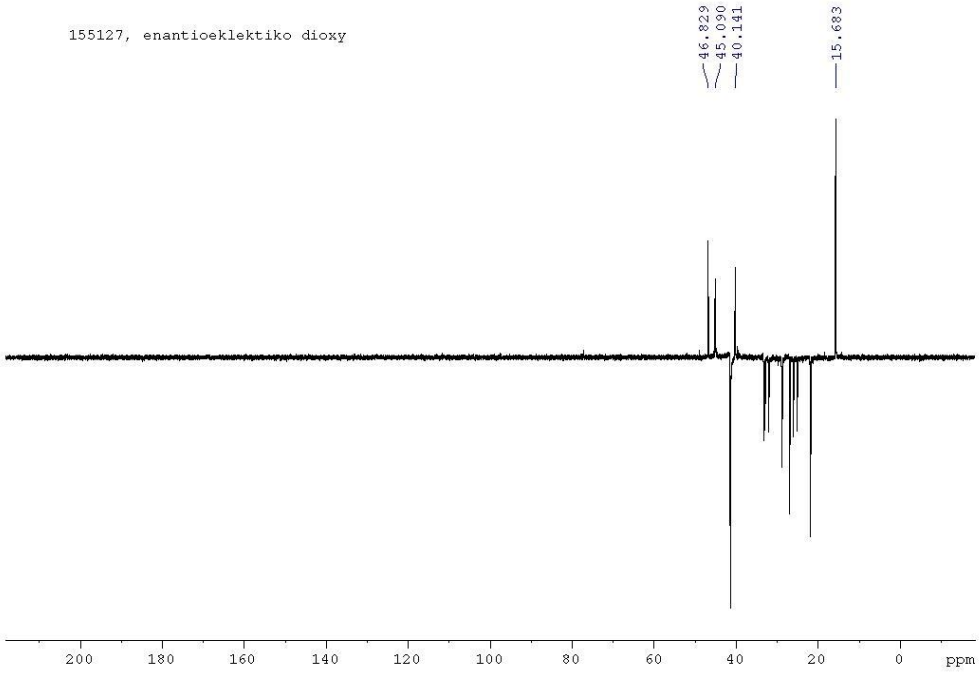
Ένωση **(2*R*,4α*R*,8α*R*)- 42 :** Φάσμα HMBC NMR (500MHz-$CDCl_3$)



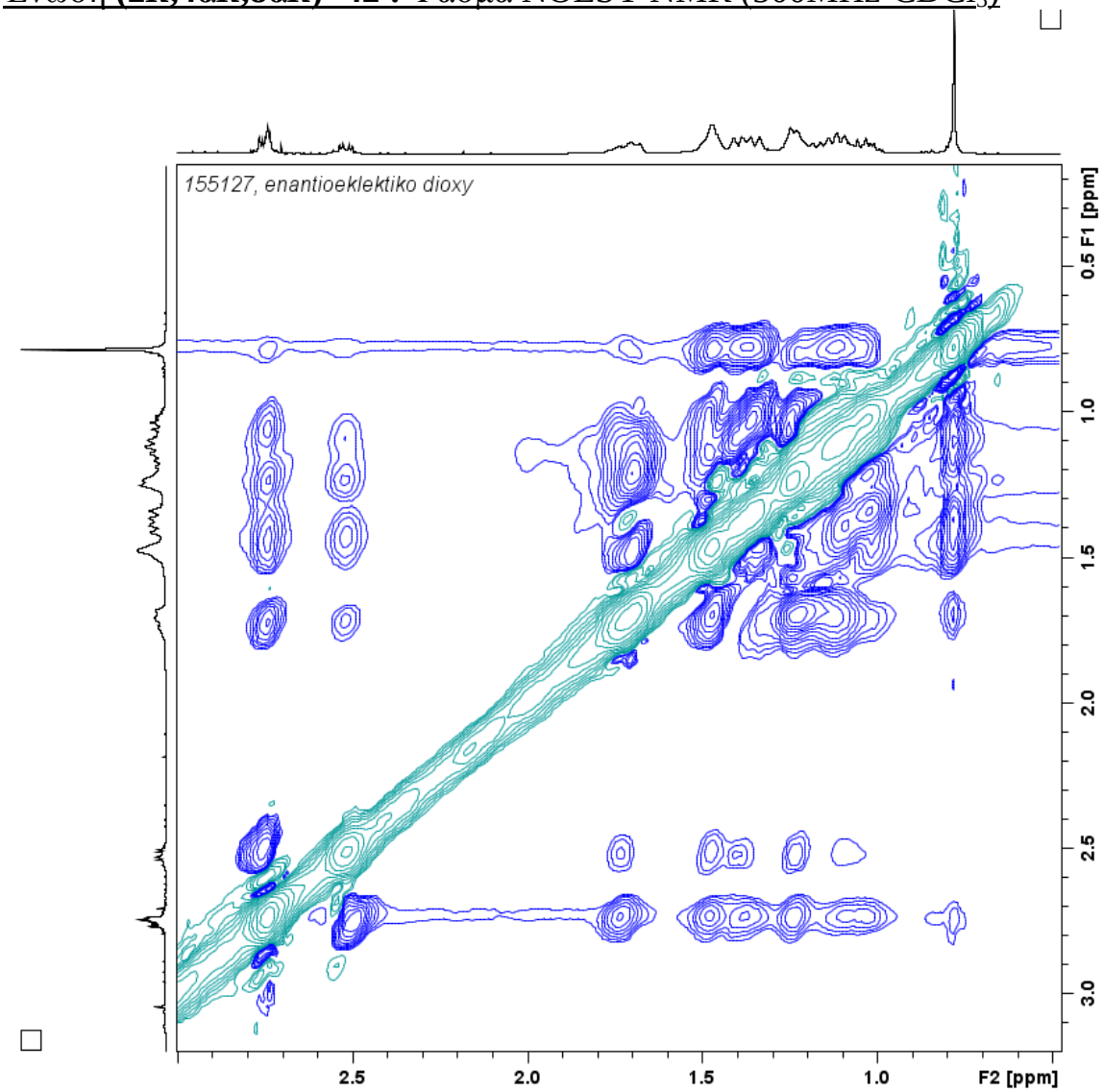
Ένωση **(2*R*,4α*R*,8α*R*)- 42 :** Φάσμα HSQC NMR (500MHz-$CDCl_3$)



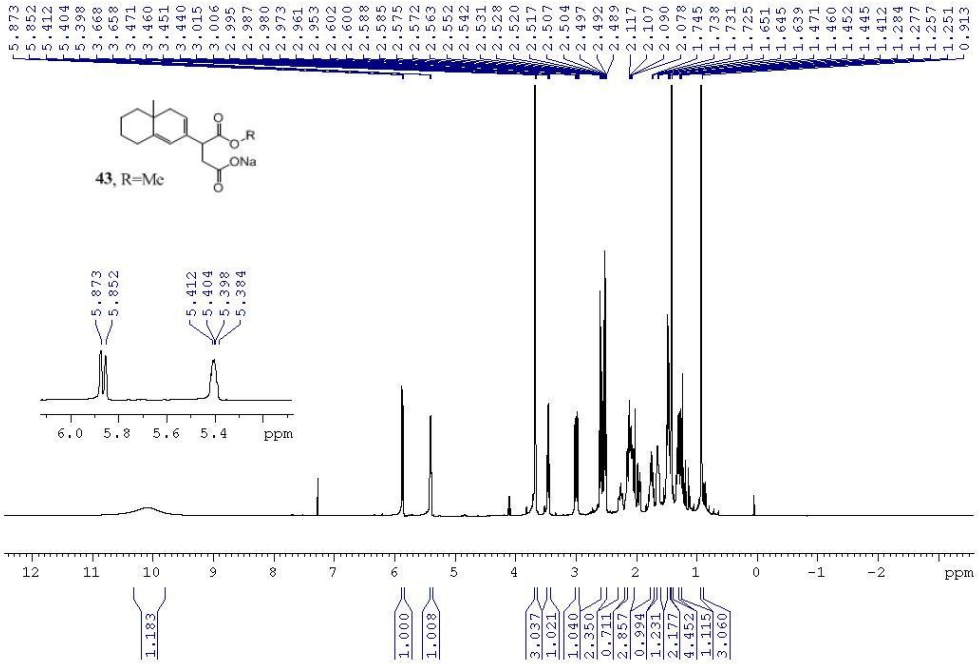
Ένωση **(2*R*,4α*R*,8α*R*)- 42 :** Φάσμα DEPT135 NMR (500MHz-$CDCl_3$)



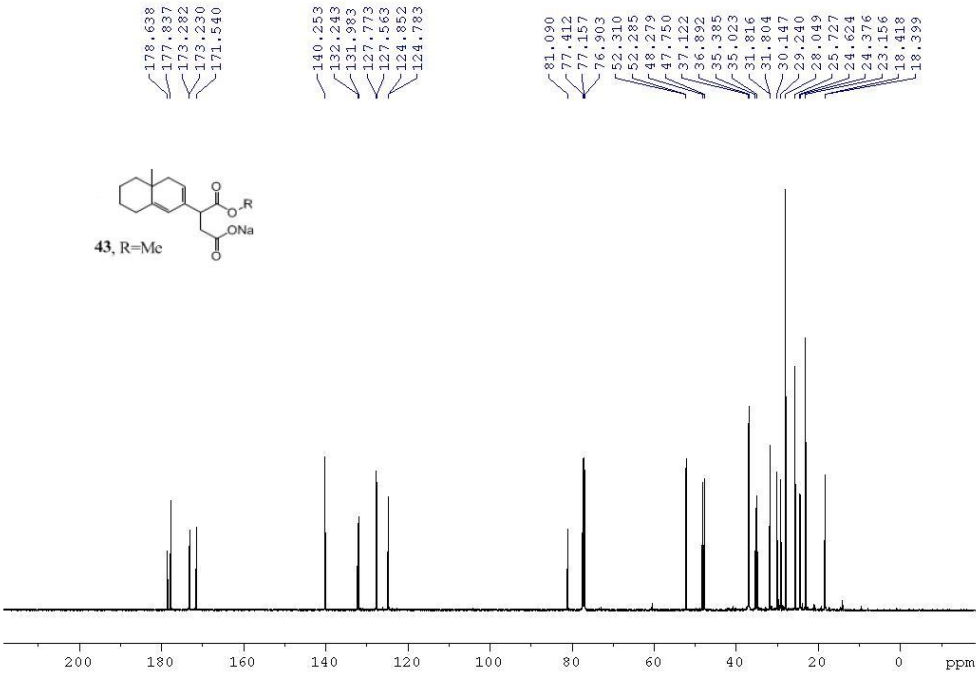
Ένωση **(2*R*,4α*R*,8α*R*)- 42 :** Φάσμα NOESY NMR (500MHz-$CDCl_3$)



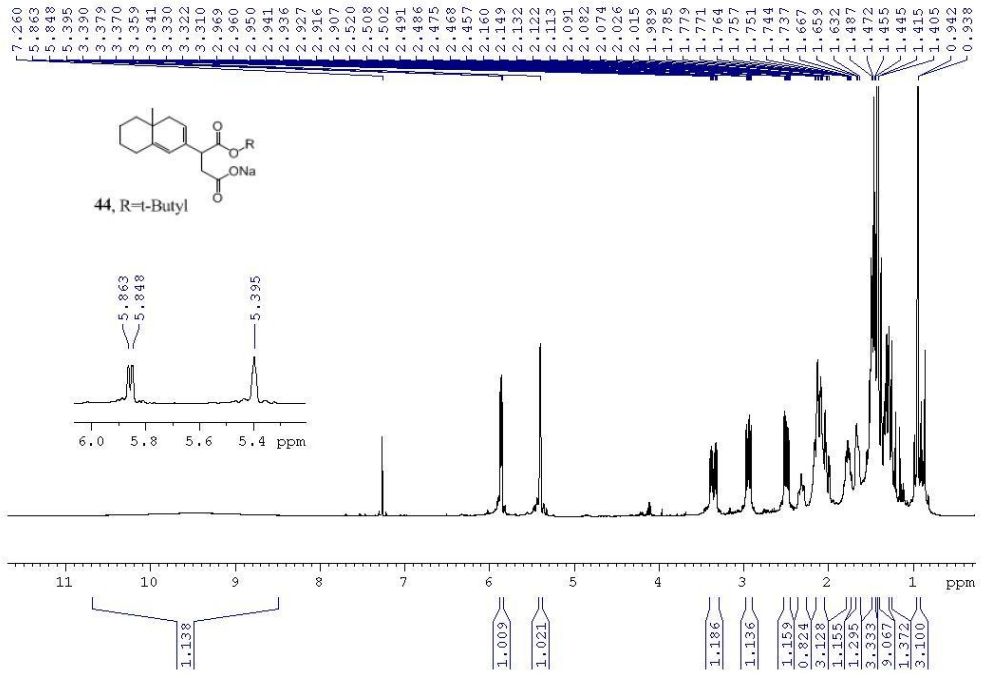
Ένωση **43 (R=Me) :** Φάσμα ^{1}H NMR (500MHz-CDCl$_3$)



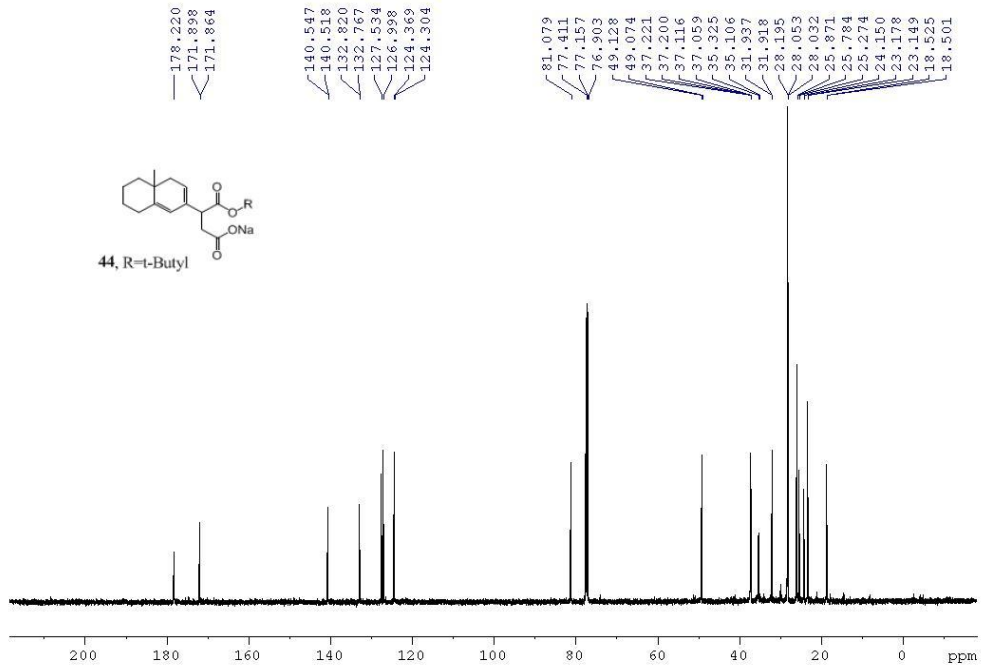
Ένωση **43 (R=Me) :** Φάσμα ^{13}C NMR (500MHz-CDCl$_3$)



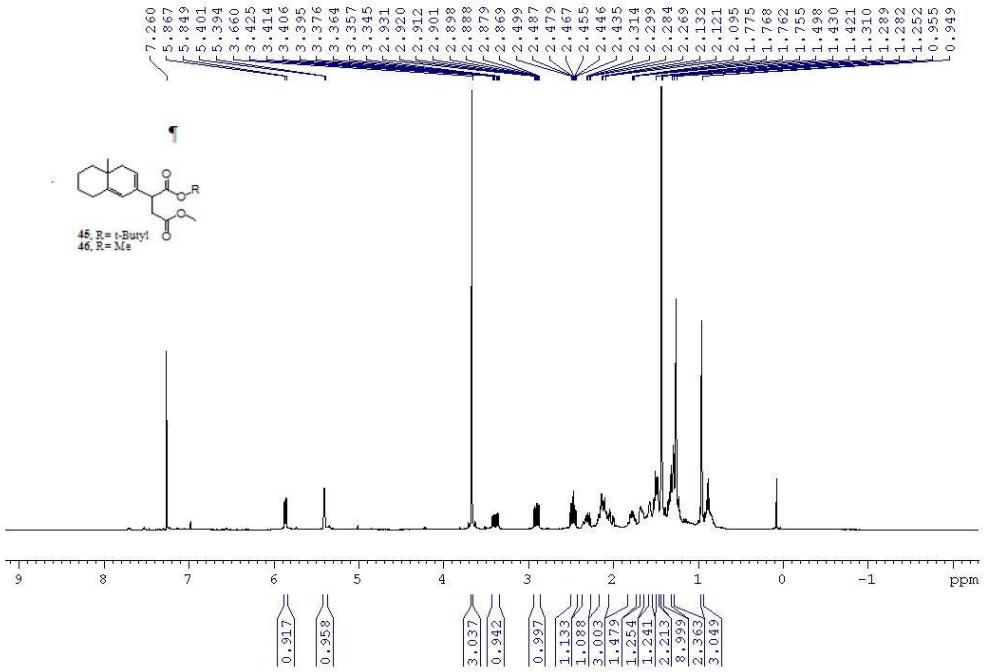
Ένωση **44 (R=t-Butyl) :** Φάσμα ^{1}H NMR (500MHz-$CDCl_3$)



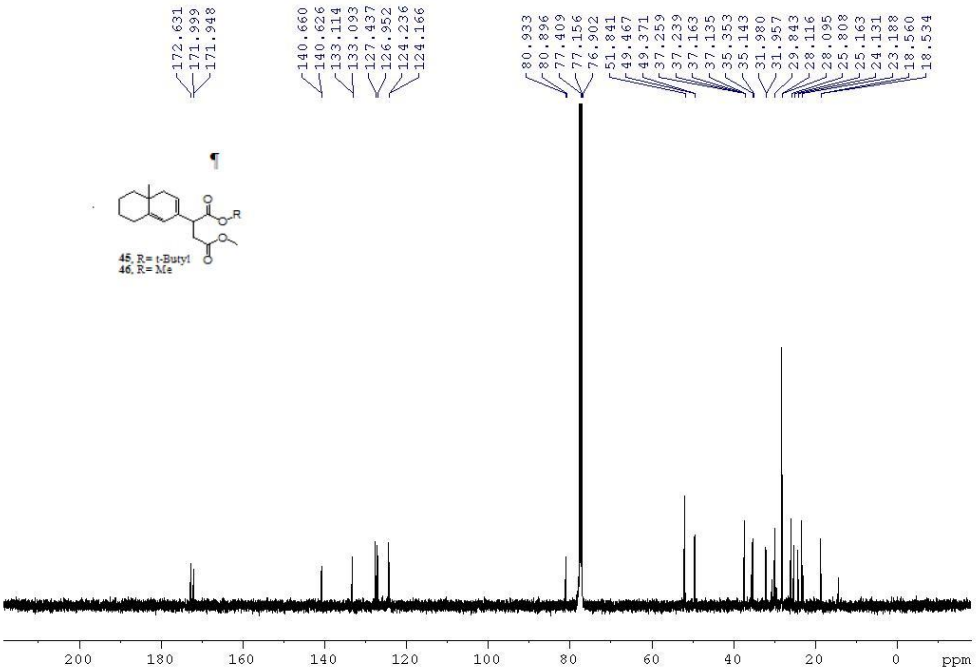
Ένωση **44 (R=t-Butyl) :** Φάσμα ^{13}C NMR (500MHz-$CDCl_3$)



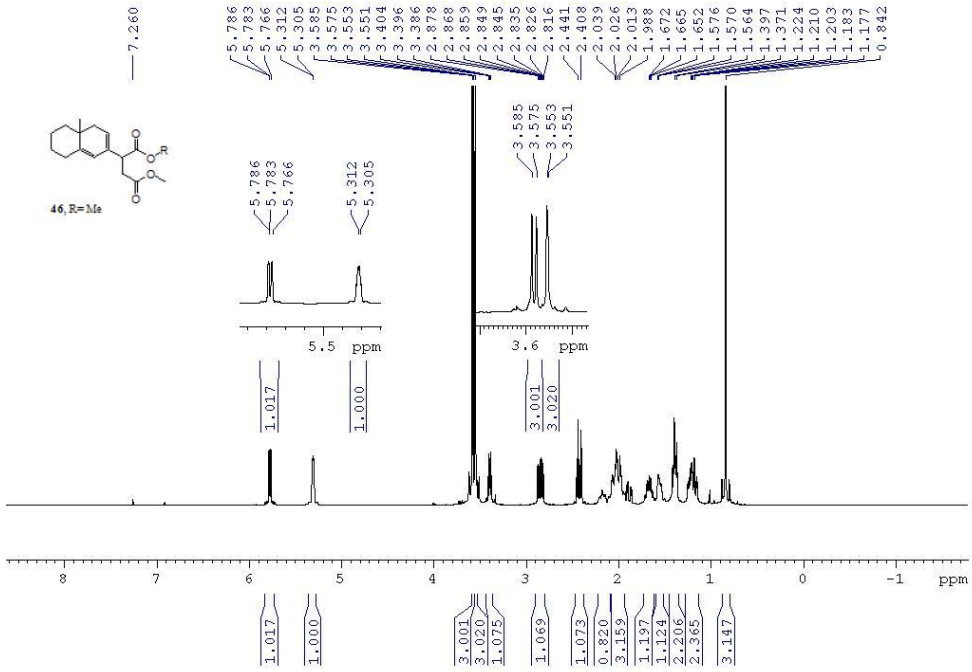
Ένωση **45 (R=t-Butyl) :** Φάσμα ^{1}H NMR (500MHz-$CDCl_3$)



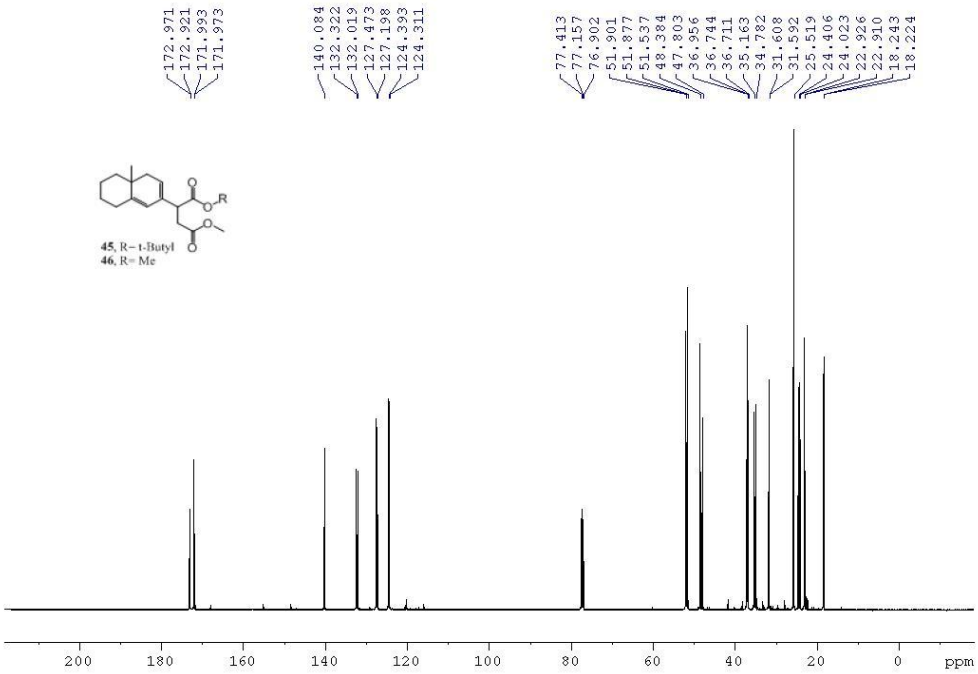
Ένωση **45 (R=t-Butyl) :** Φάσμα ^{13}C NMR (500MHz-$CDCl_3$)



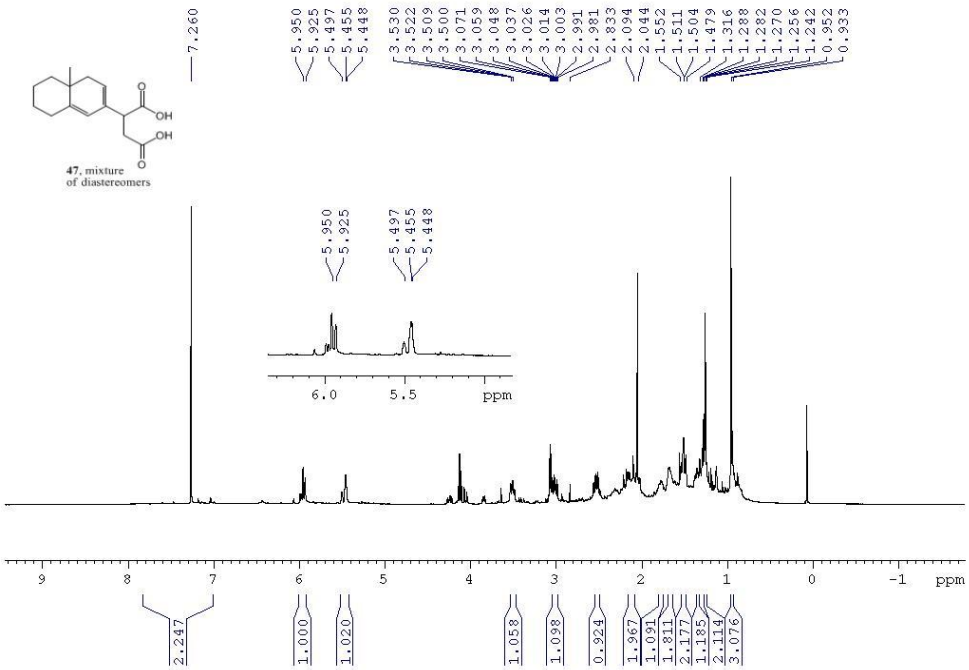
Ένωση **46 (R=Me) :** Φάσμα ^{1}H NMR (500MHz-$CDCl_3$)



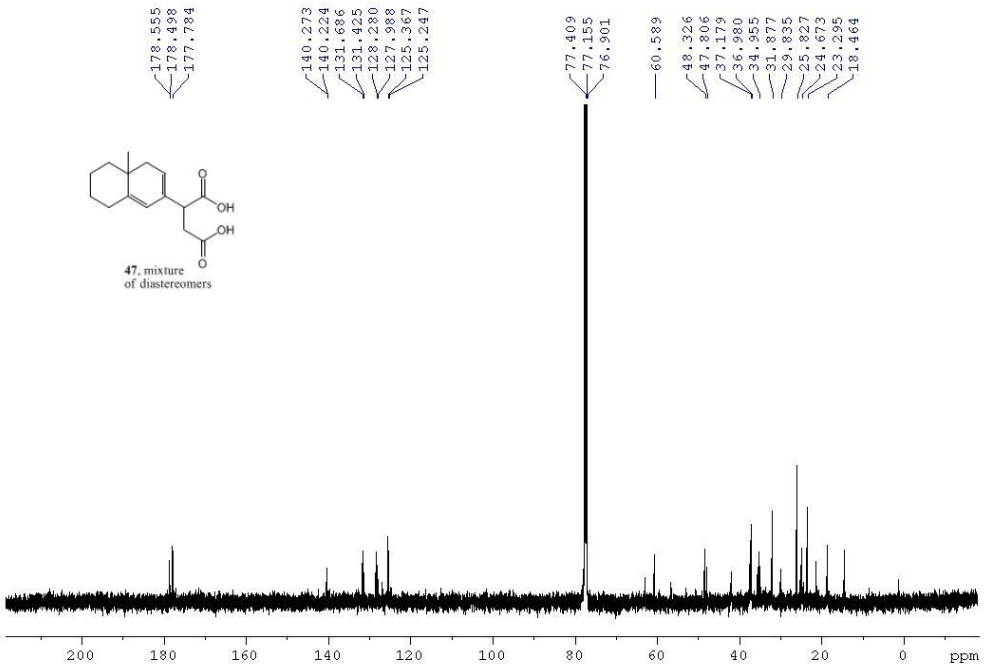
Ένωση **46 (R=Me) :** Φάσμα ^{13}C NMR (500MHz-$CDCl_3$)



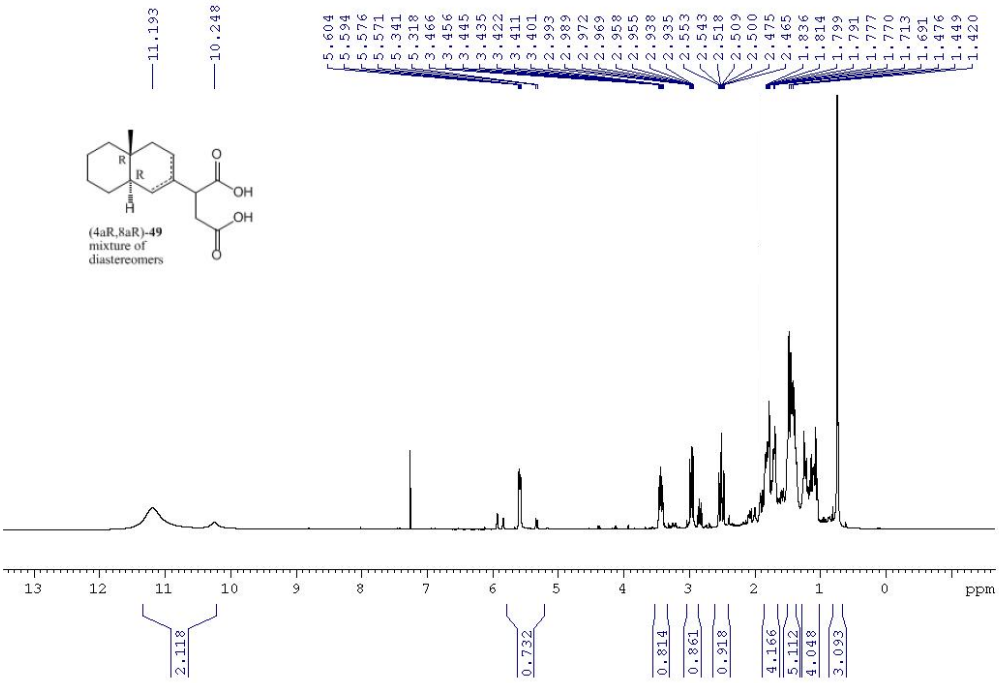
Ένωση **47 :** Φάσμα ^{1}H NMR (500MHz-$CDCl_3$)



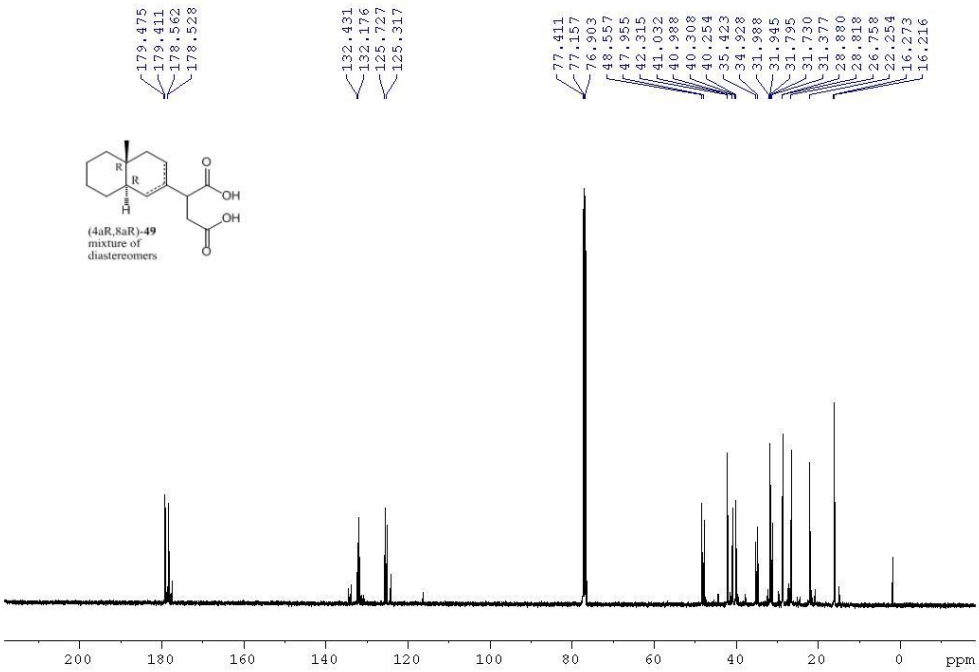
Ένωση **47 :** Φάσμα ^{13}C NMR (500MHz-$CDCl_3$)



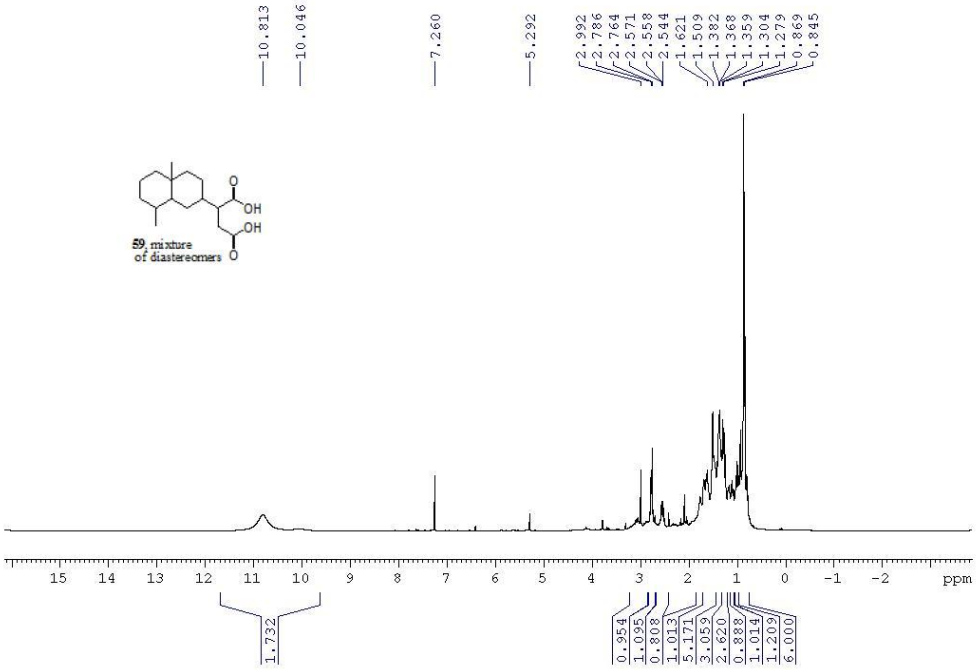
Ένωση **49 :** Φάσμα ^{1}H NMR (500MHz-$CDCl_3$)



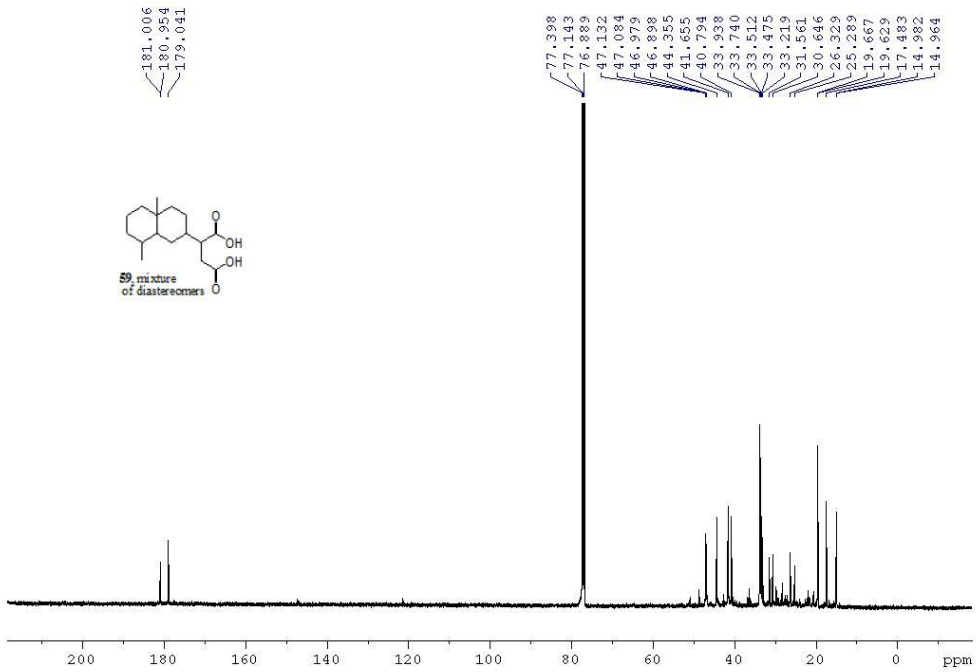
Ένωση **49 :** Φάσμα ^{13}C NMR (500MHz-$CDCl_3$)



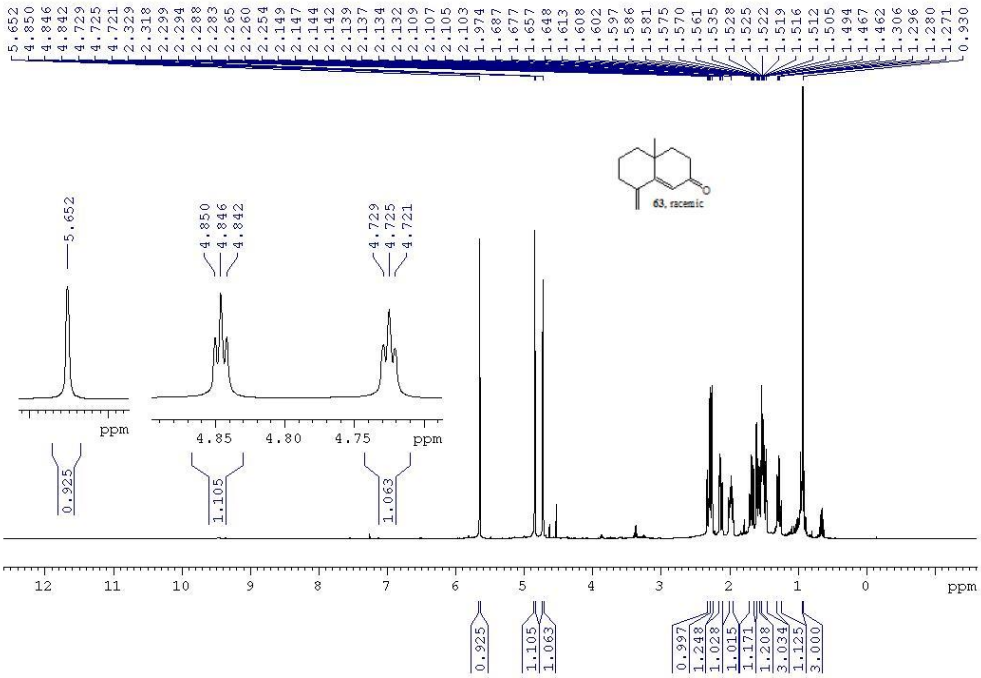
Ένωση **59 :** Φάσμα ^{1}H NMR (500MHz-CDCl$_3$)



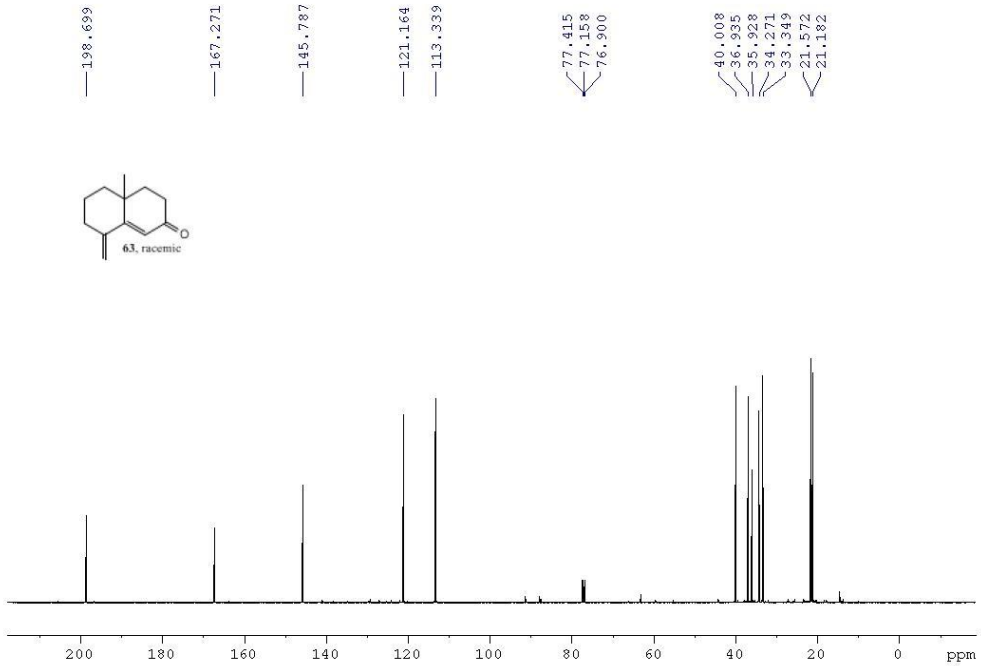
Ένωση **59 :** Φάσμα ^{13}C NMR (500MHz-CDCl$_3$)



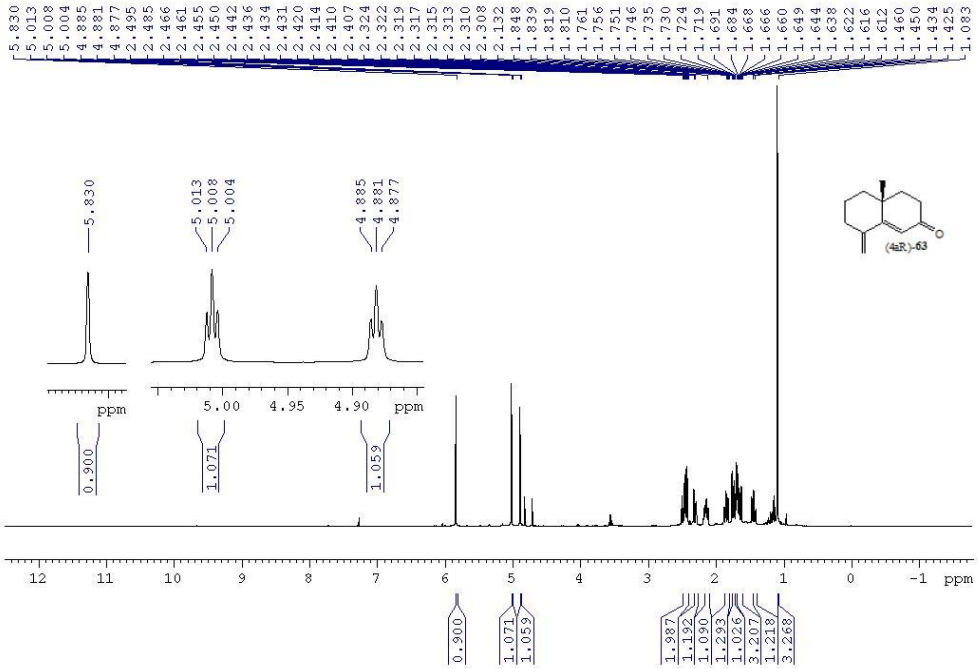
Ένωση **(4α*R/S*)-63 :** Φάσμα ^{1}H NMR (500MHz-$CDCl_3$)



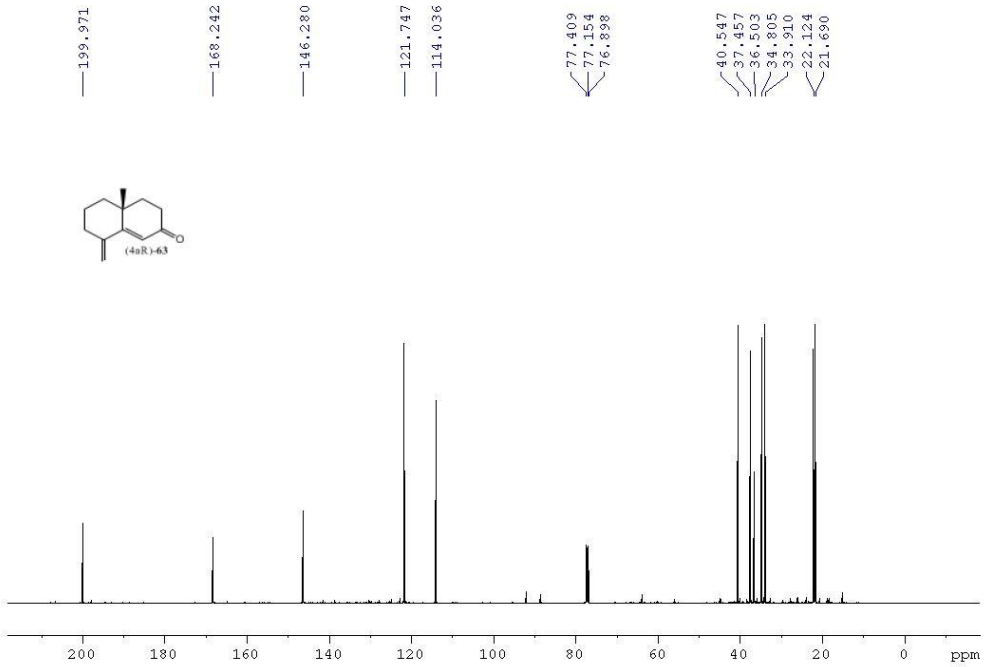
Ένωση **(4α*R/S*)-63 :** Φάσμα ^{13}C NMR (500MHz-$CDCl_3$)



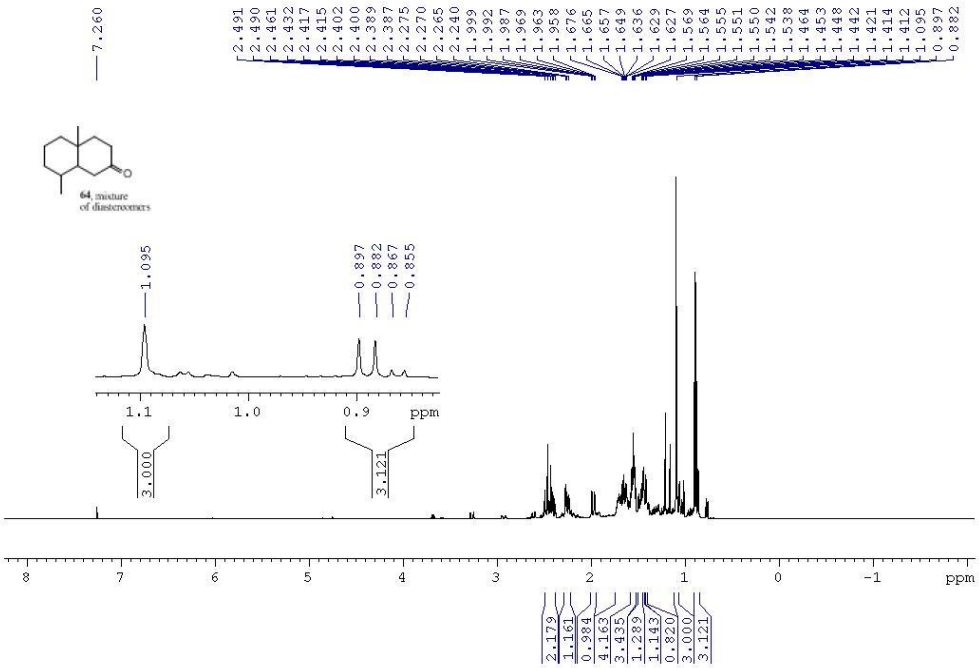
Ένωση **(4α*R*)-63 :** Φάσμα ^{1}H NMR (500MHz-$CDCl_3$)



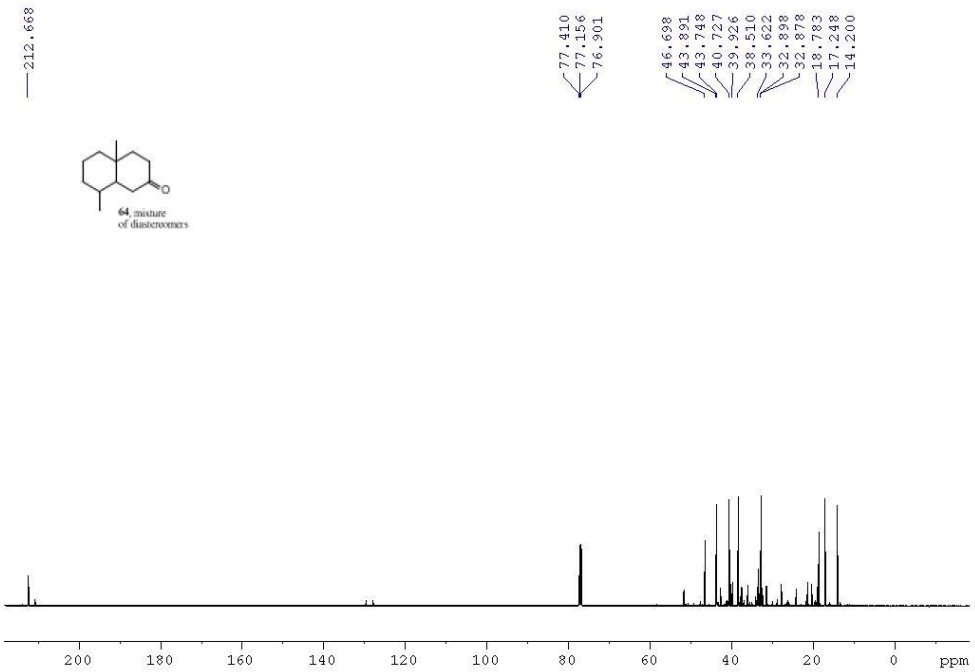
Ένωση **(4α*R*)-63 :** Φάσμα ^{13}C NMR (500MHz-$CDCl_3$)



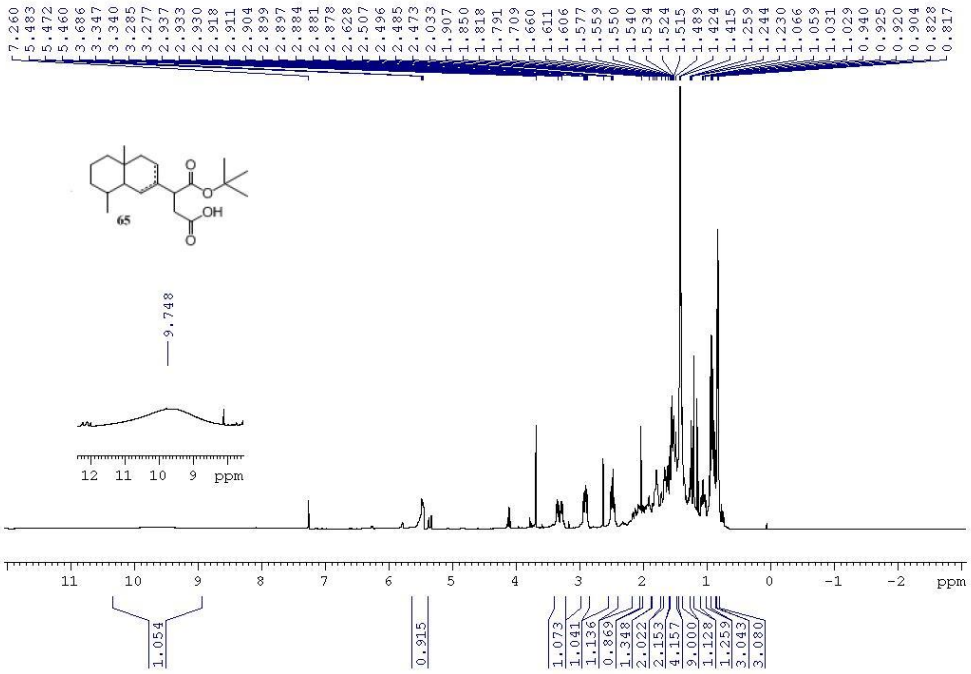
Ένωση **64 :** Φάσμα ^{1}H NMR (500MHz-$CDCl_3$)



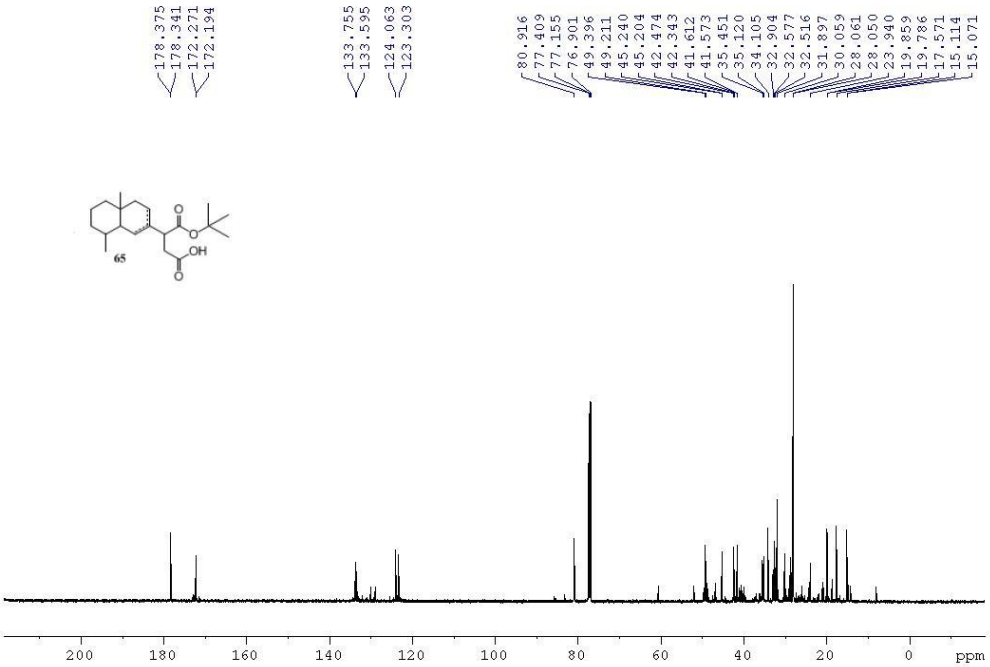
Ένωση **64 :** Φάσμα ^{13}C NMR (500MHz-$CDCl_3$)



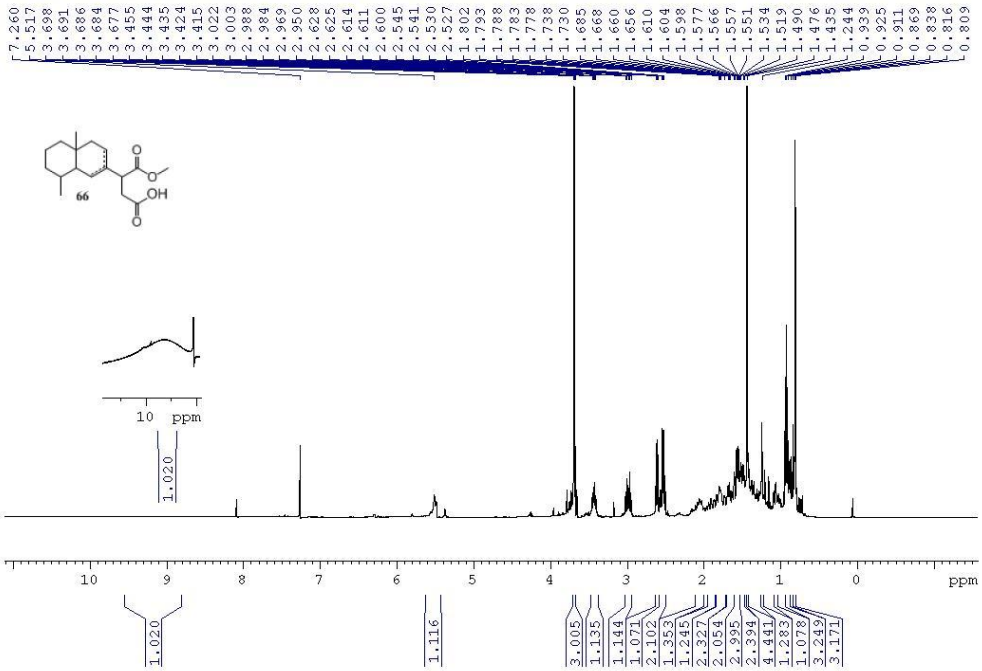
Ένωση **65 :** Φάσμα ^{1}H NMR (500MHz-$CDCl_3$)



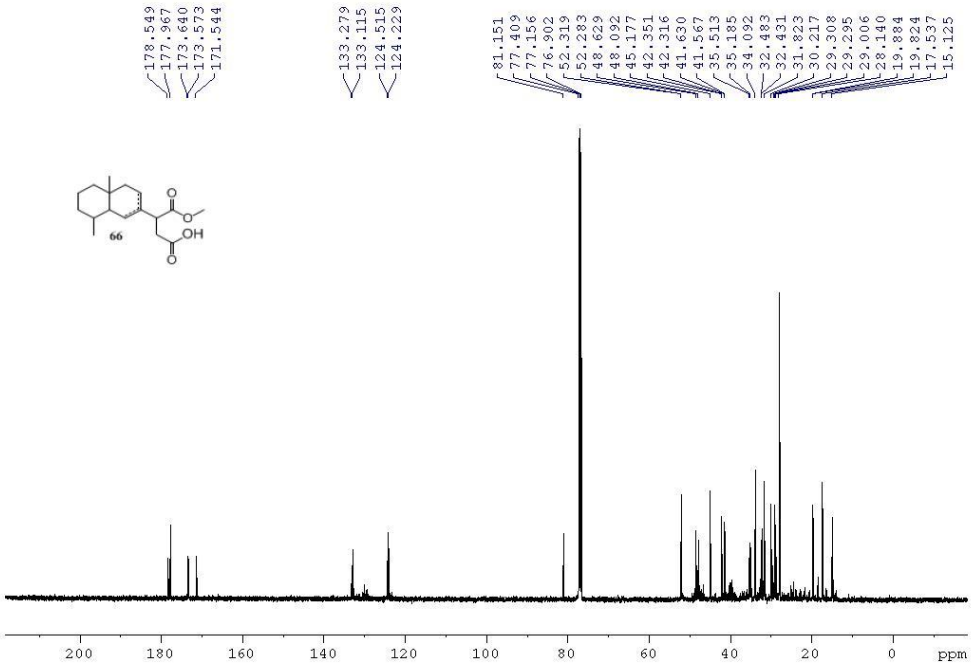
Ένωση **65 :** Φάσμα ^{13}C NMR (500MHz-$CDCl_3$)



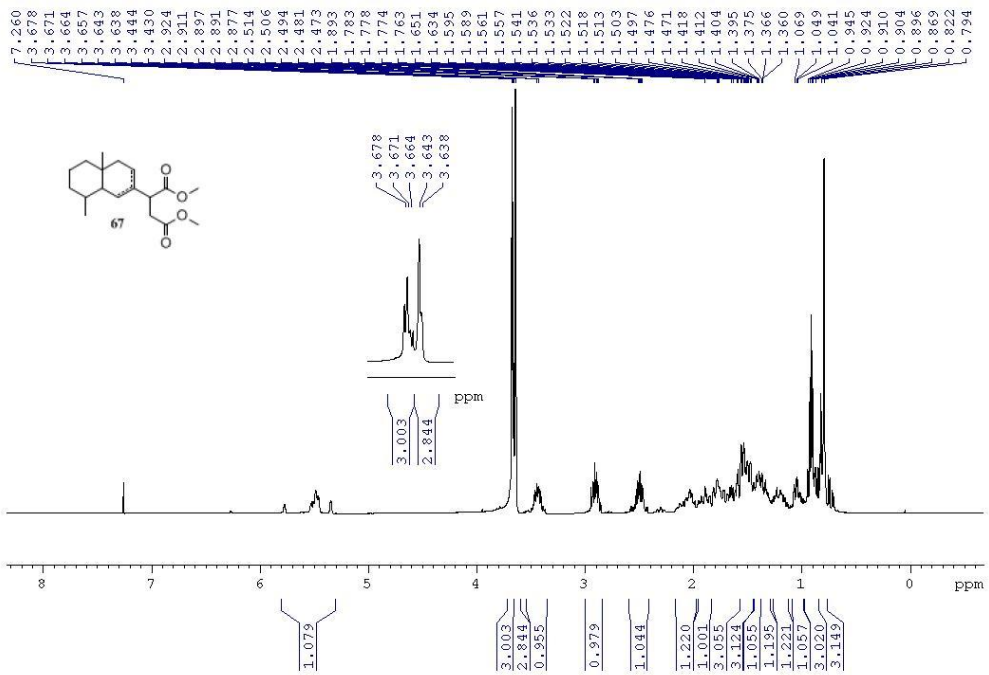
Ένωση **66 :** Φάσμα ^{1}H NMR (500MHz-$CDCl_3$)



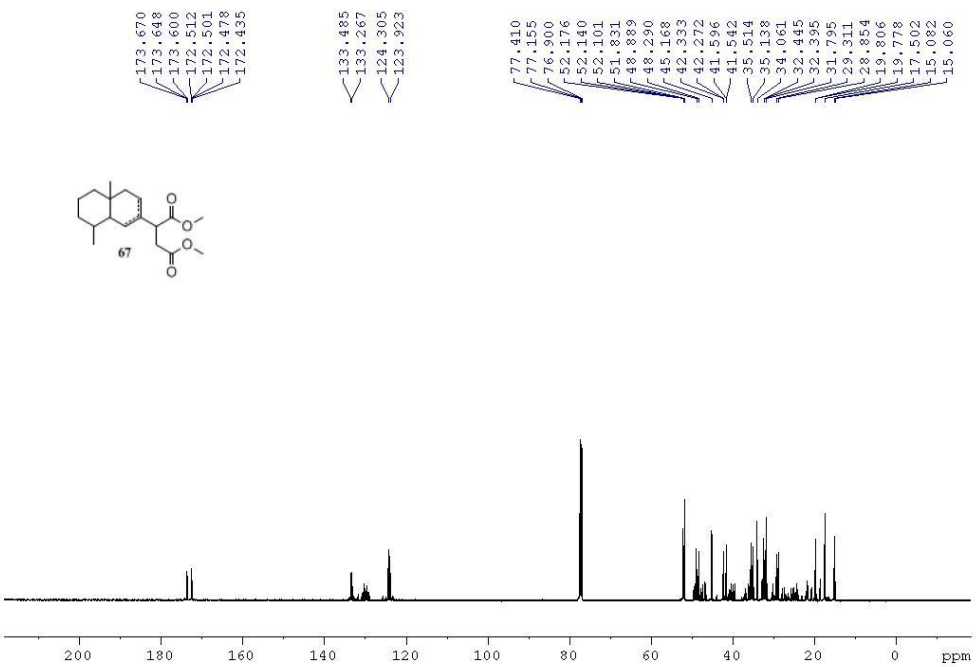
Ένωση **66 :** Φάσμα ^{13}C NMR (500MHz-$CDCl_3$)



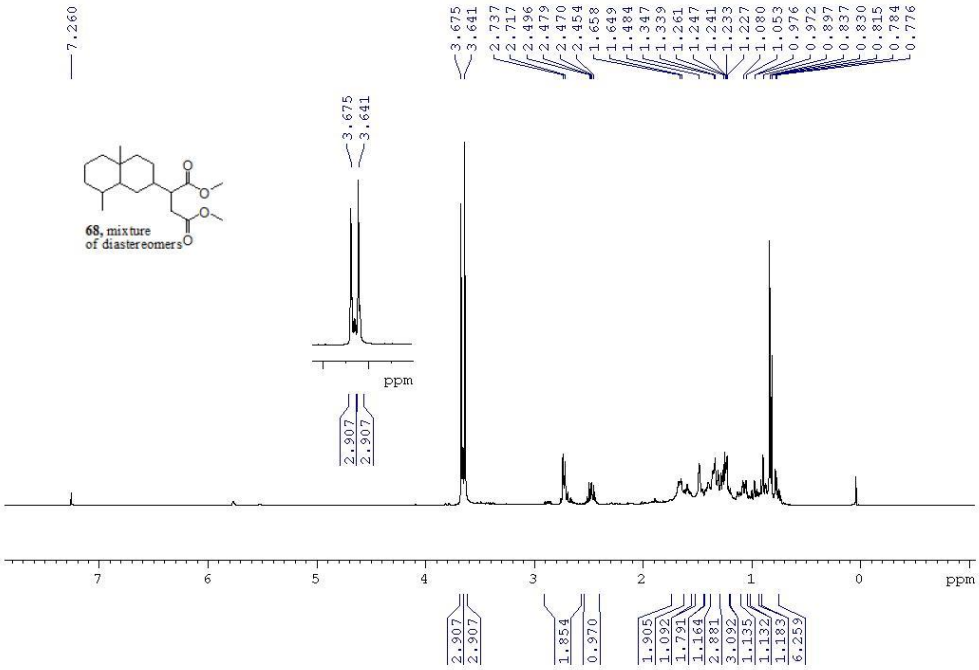
Ένωση **67 :** Φάσμα ^{1}H NMR (500MHz-$CDCl_3$)



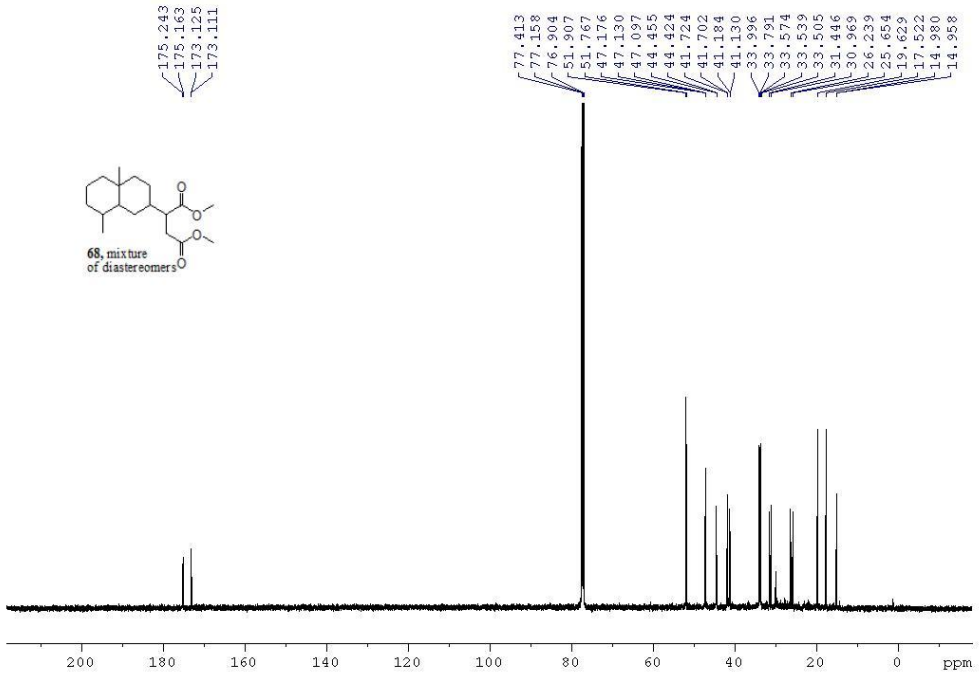
Ένωση **67 :** Φάσμα ^{13}C NMR (500MHz-$CDCl_3$)



Ένωση **68 :** Φάσμα ^{1}H NMR (500MHz-$CDCl_3$)

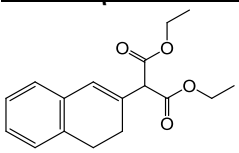


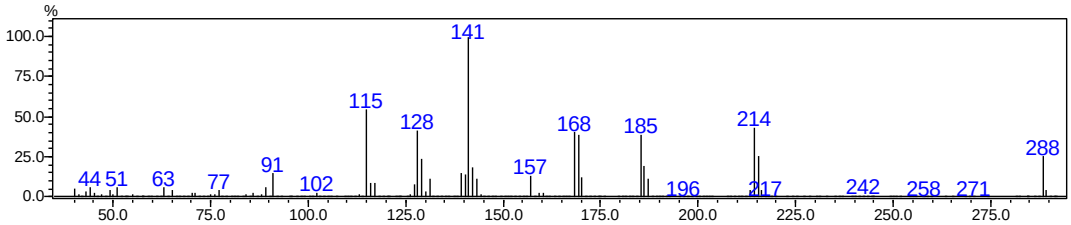
Ένωση **68 :** Φάσμα ^{13}C NMR (500MHz-$CDCl_3$)



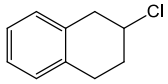
8.2 ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ *GC-MS*:

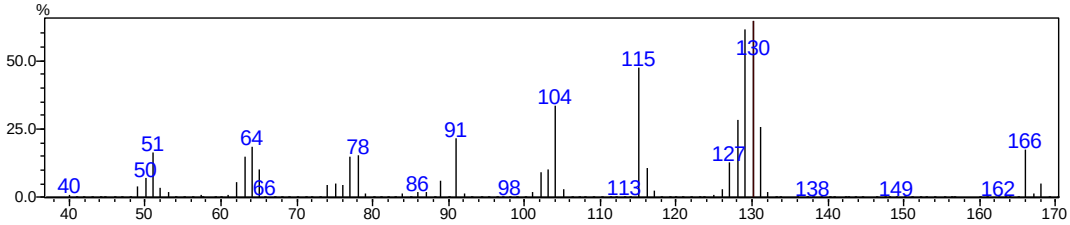
Ένωση **20** (M.W.=288.34) **:**



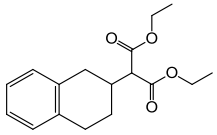


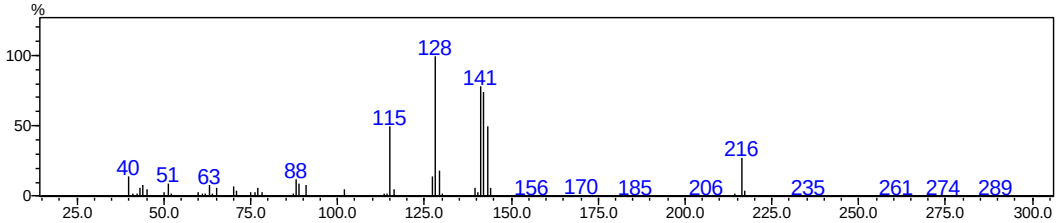
Ένωση **25** (M.W.=166.65) **:**



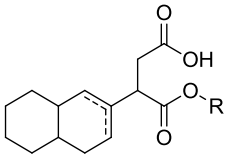


Ένωση **26** (M.W.=290.35) **:**

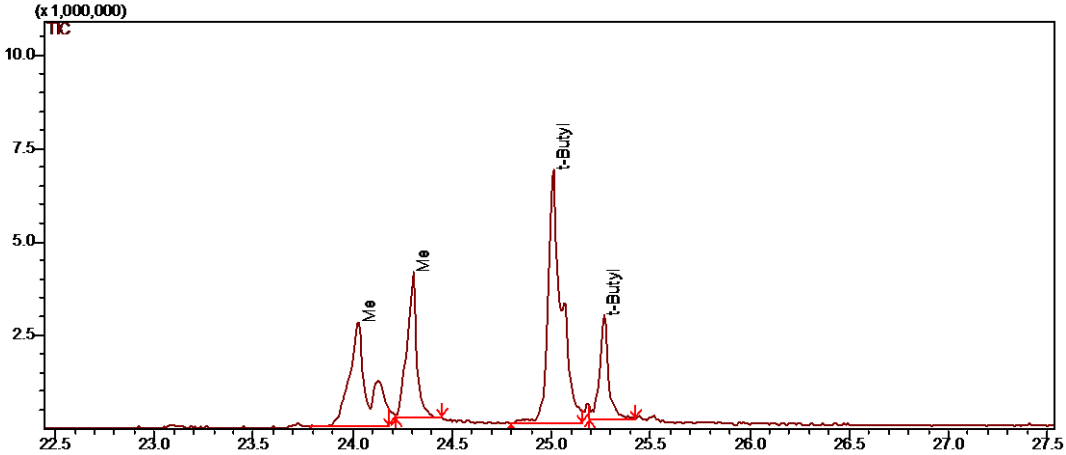


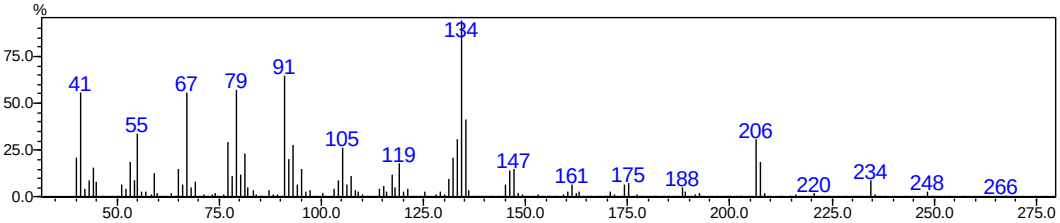


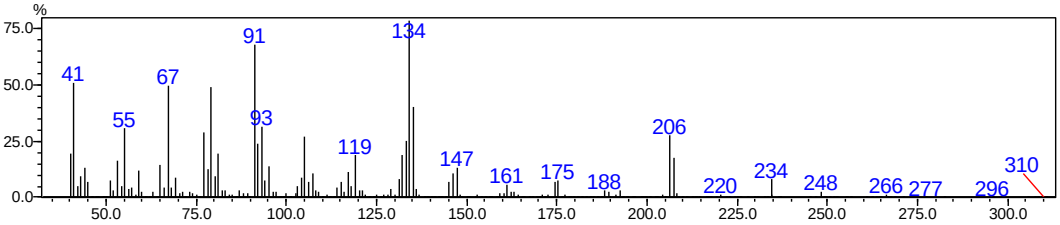
Ένωσεις **29:**



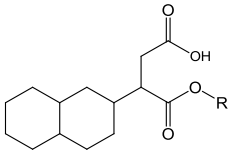
R=Me, M.W.= 266
R=t-Butyl, M.W.=308



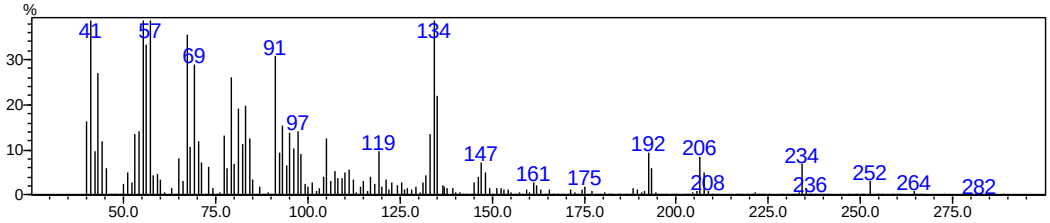


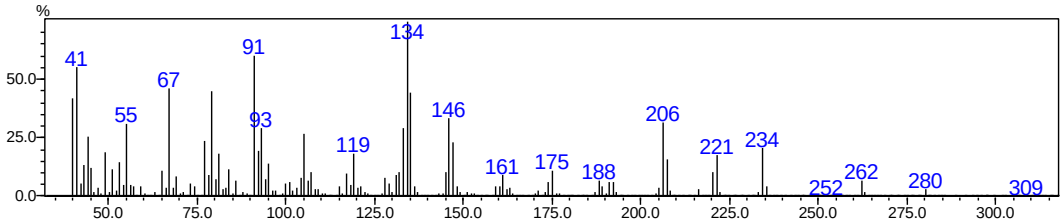


Ένωσεις **31:**

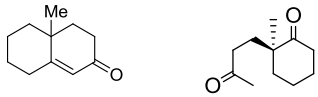


R=Ethyl, M.W.= 282
R=t-Butyl, M.W.=310

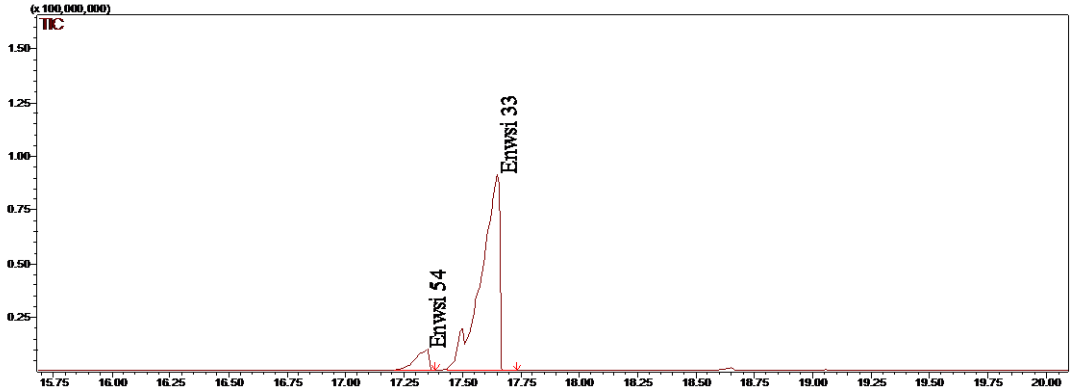


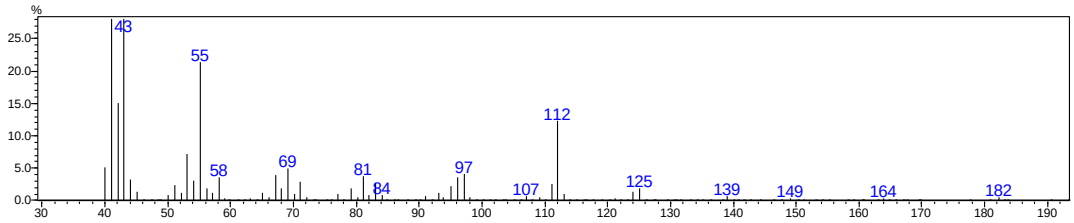


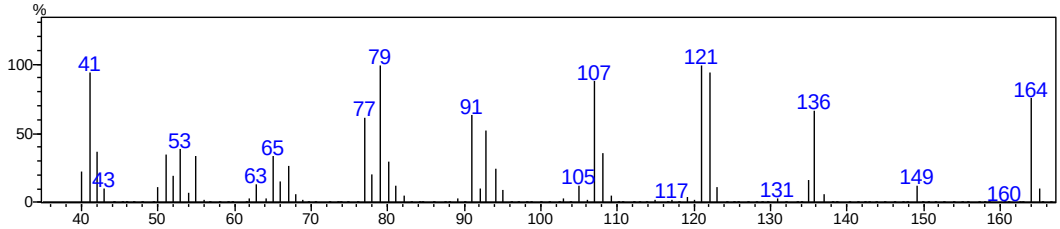
Ένωσεις **(4α*R/S*)-33** (M.W.=164.24) και **54** (M.W.=182.26) **:**



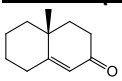
33, racemic **54**



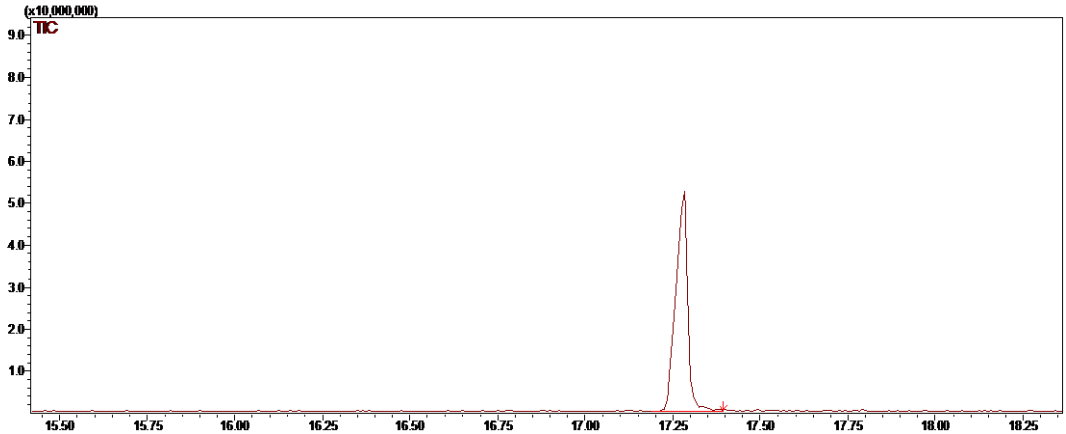


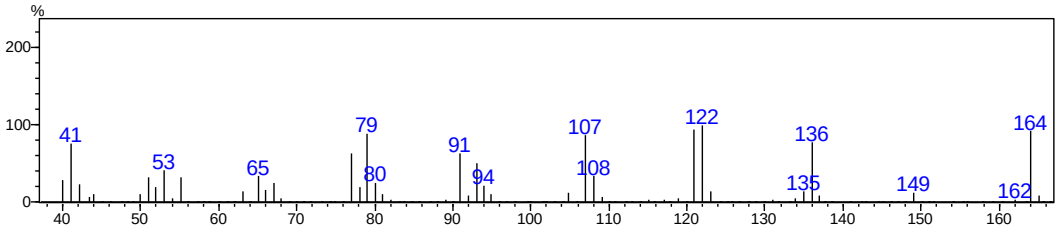


Ένωση **(4α*R*)-33** (M.W.=164.24):

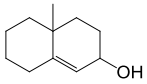


(4aR)-**33**

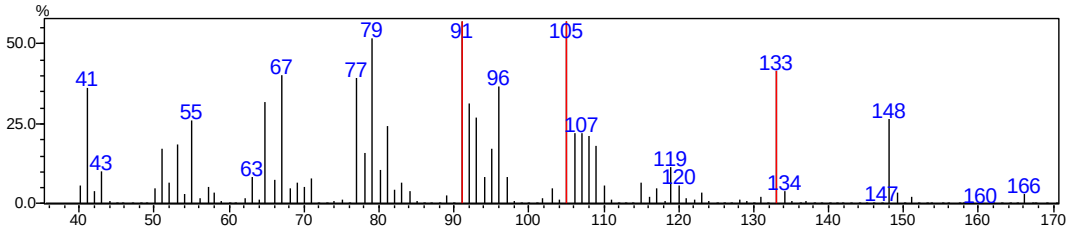




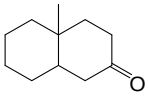
Ένωση **(4α*R/S*)-34** (M.W.=166.26)**:**



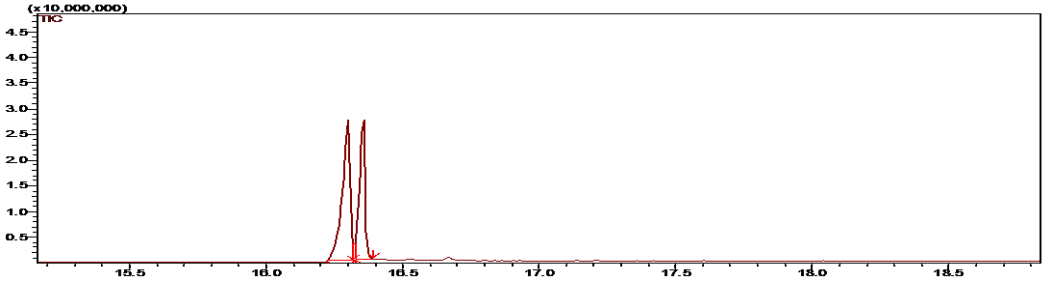
34, racemic

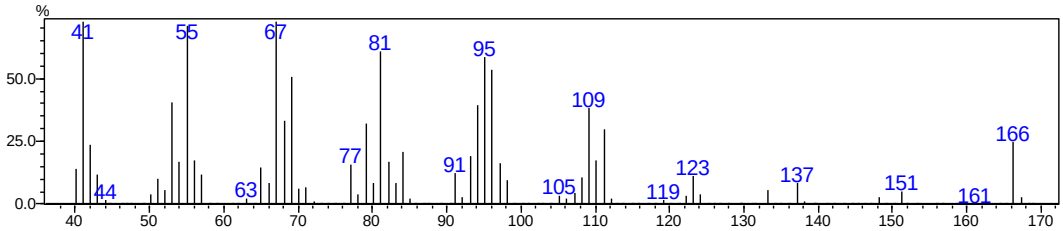


Ένωση **35,** racemic, mixture of cis, trans diastereomers (M.W.=166.26)**::**

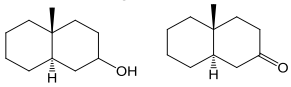


35, racemic, mixture of cis trans diastereomers

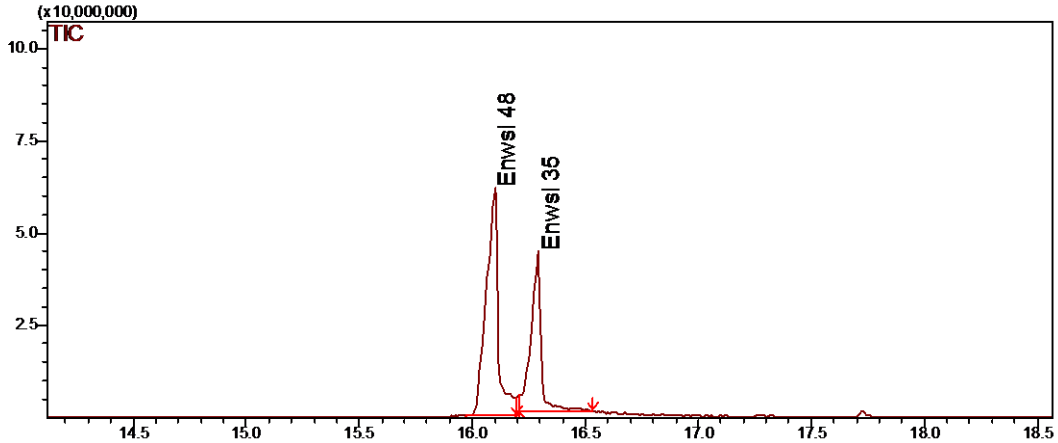


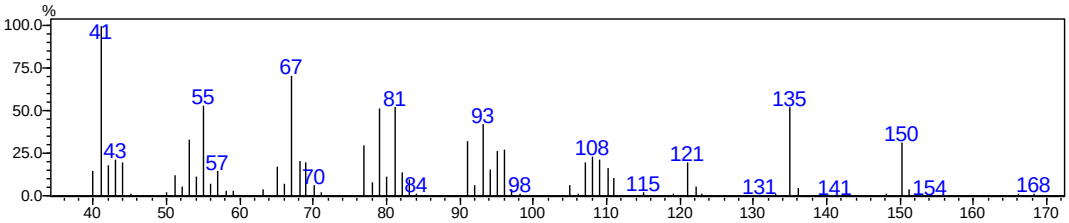


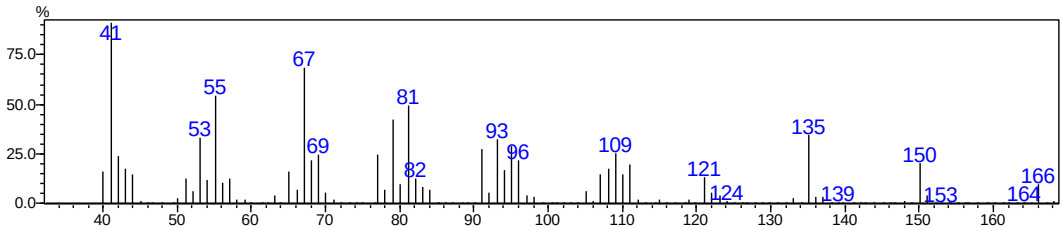
Ένωσεις ***trans* 35 και 48**(M.W.**48**=168.28, M.W.**35**=166.26):



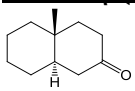
***trans* 48** ***trans* 35**, racemic



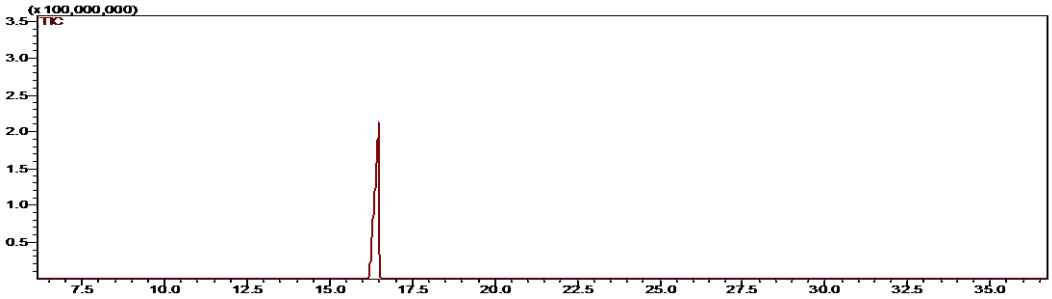


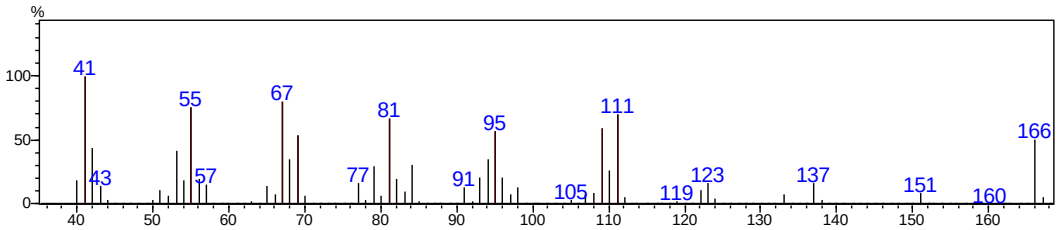


Ένωση **(4α*R*,8α*R*)-35** (M.W.=166.26):

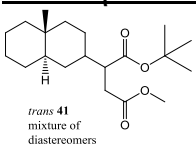


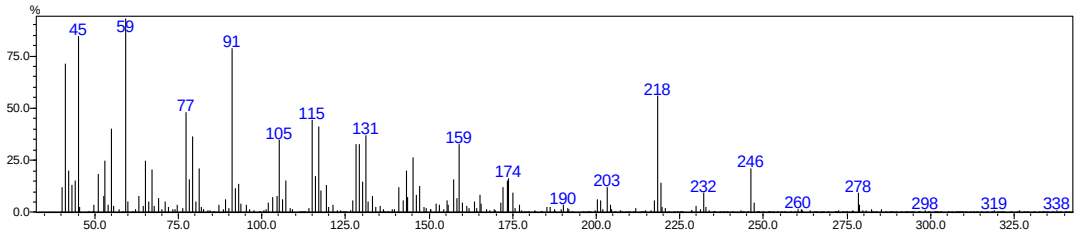
(4aR,8aR)-35



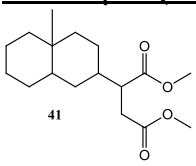


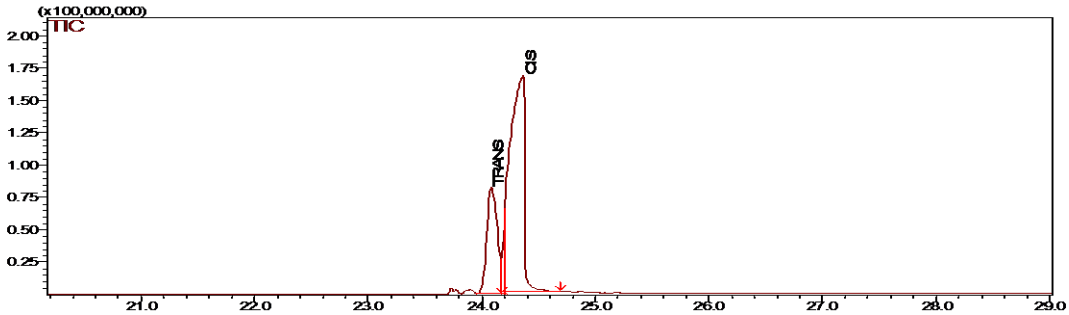
Ένωση ***trans* 41 (R=t-Butyl)** (M.W.=338.48).**:**

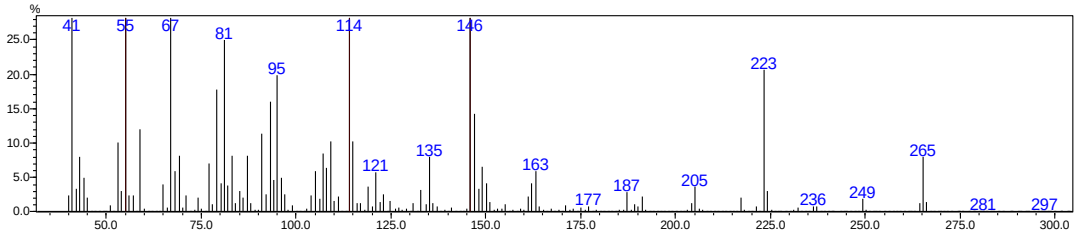




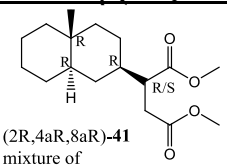
Ένωση **41(R=Me)** (M.W.=296.40)**:**



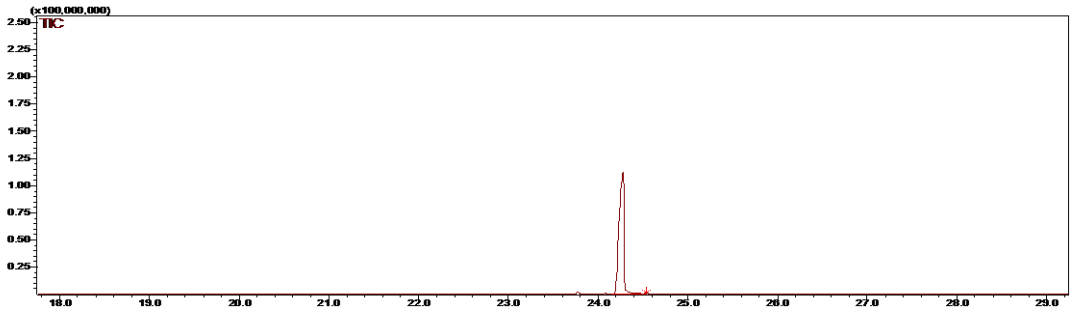


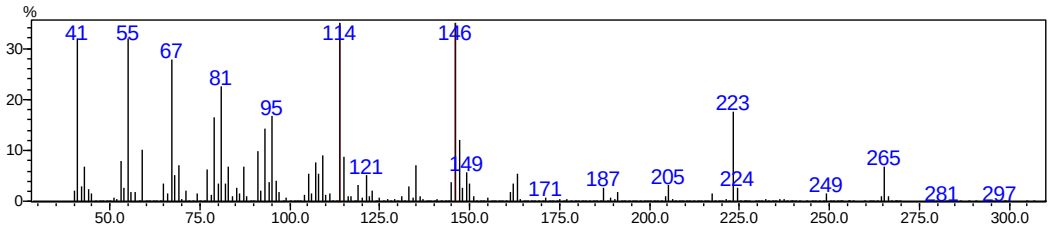


Ένωση **(2*R*,4α*R*,8α*R*)-41 (R=Me)** (M.W.=296.40)**:**

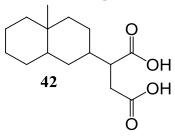


(2R,4aR,8aR)-**41**
mixture of
two diastereomers

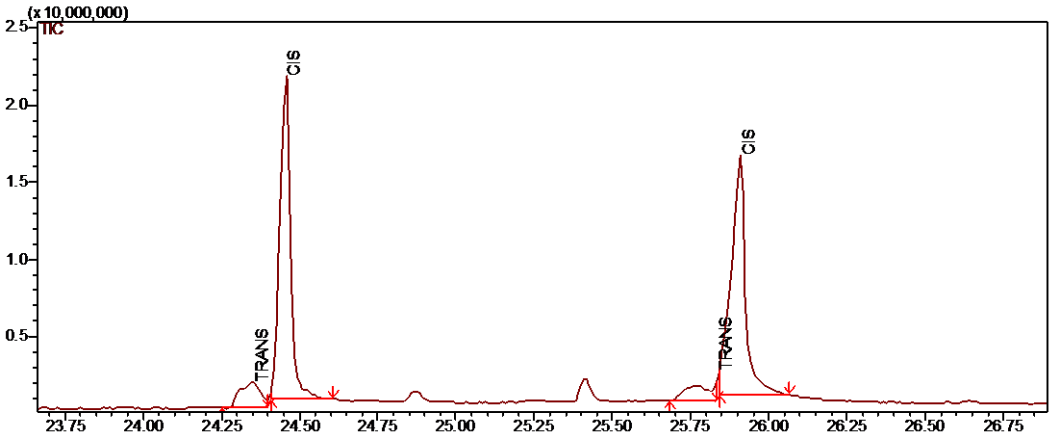


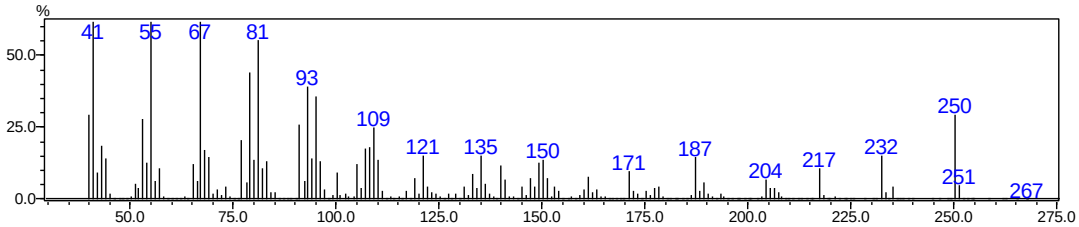


Ένωση **42,** mixture of cis and trans diastereomers (M.W.=268.35)**:**

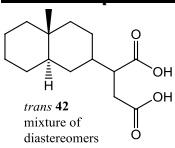


42

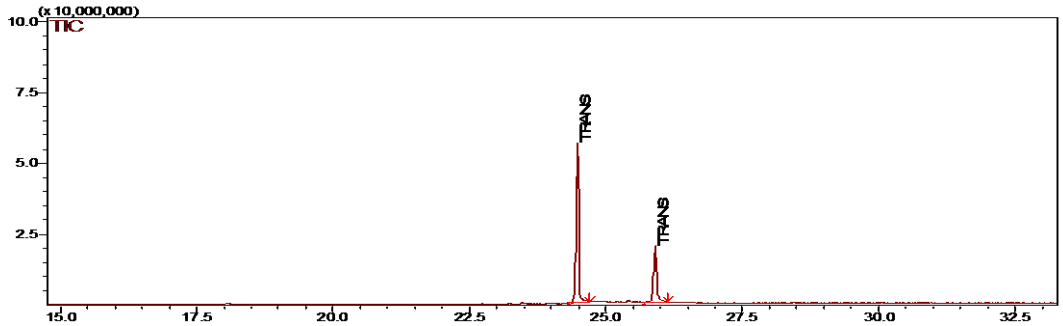


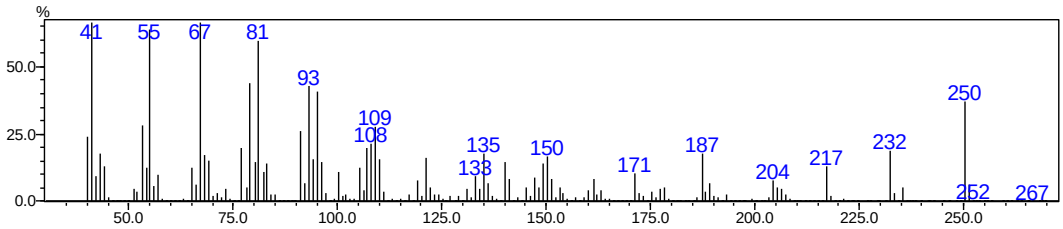


Ένωση ***trans* 42** (M.W.=268.35):

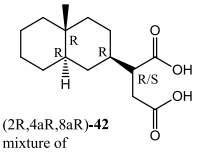


trans **42**
mixture of
diastereomers

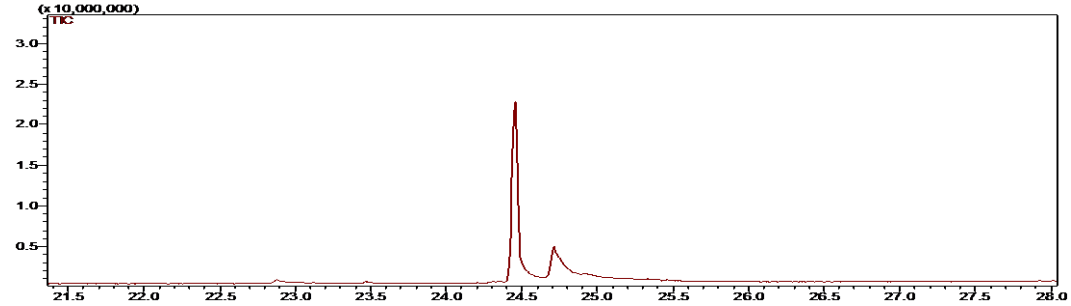


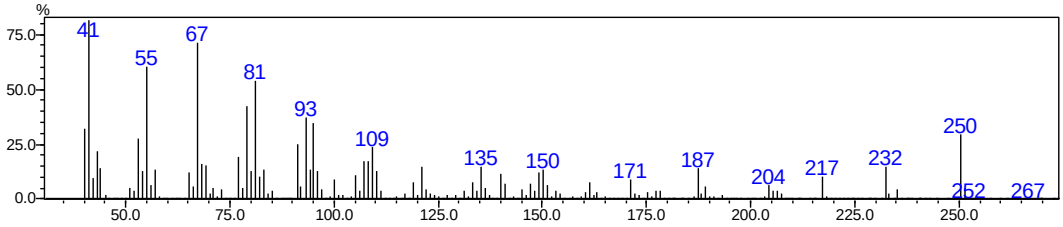


Ένωση **(2*R*,4α*R*,8α*R*)- 42** (M.W.=268.35)**:**

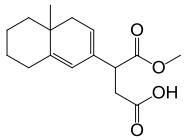


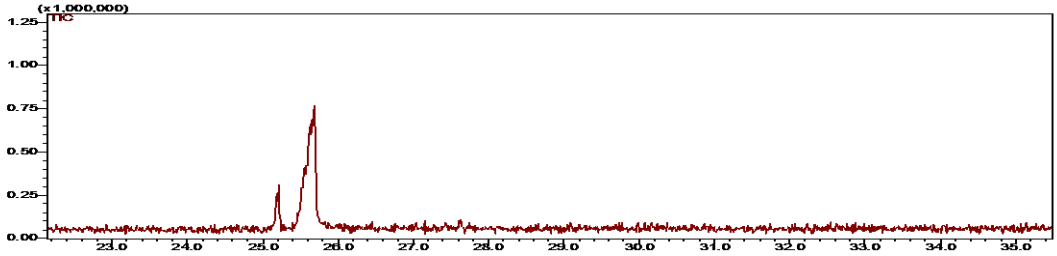
(2R,4aR,8aR)-**42**
mixture of
two diastereomers

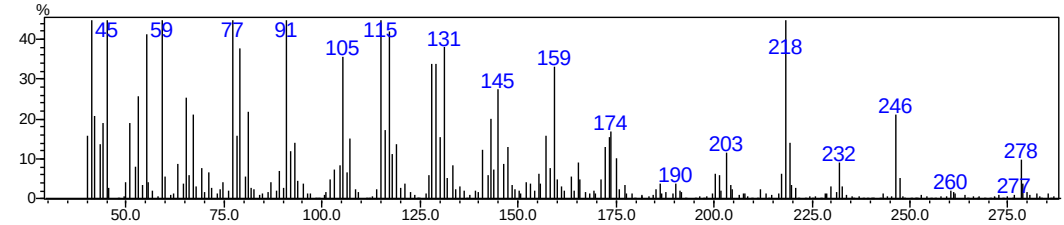




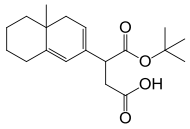
Ένωση **43 (R=Me)** (M.W.=278.34)**:**

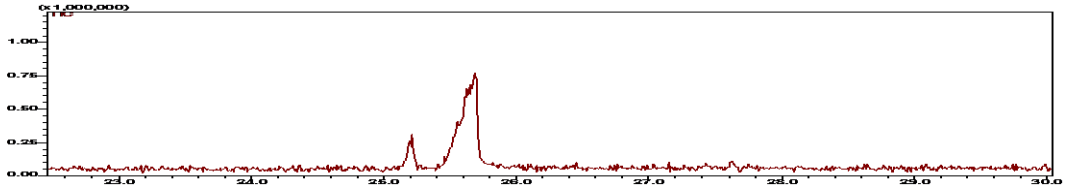


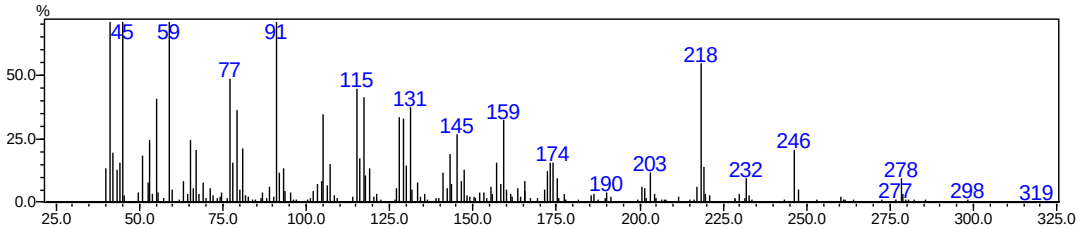




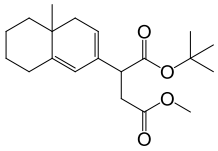
Ένωση **44 (R=t-Butyl)** (M.W.=320.42)**:**

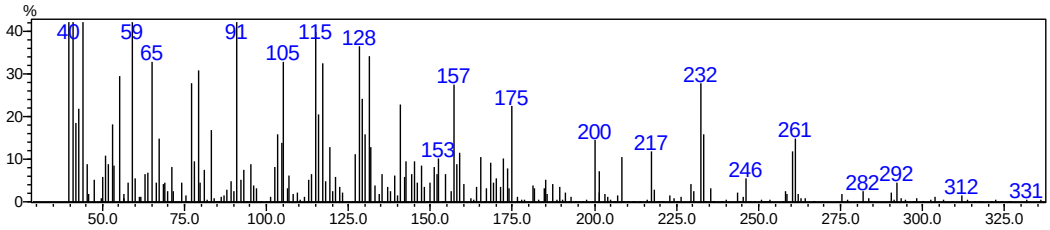




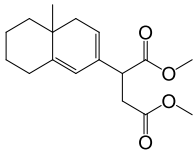


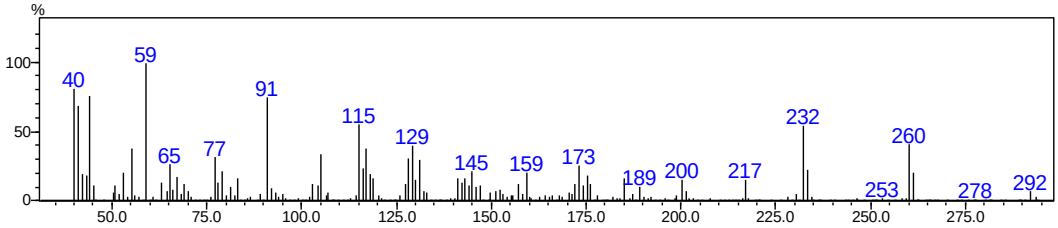
Ένωση **45 (R=t-Butyl)** (M.W.=334.45)**:**



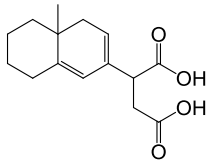


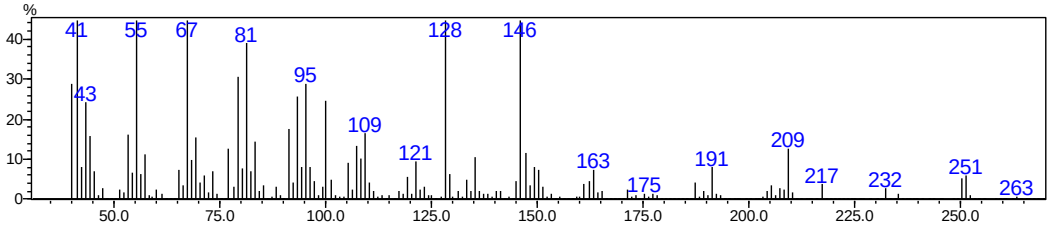
Ένωση **46 (R=Me)** (M.W.=292.37)**:**



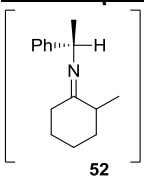


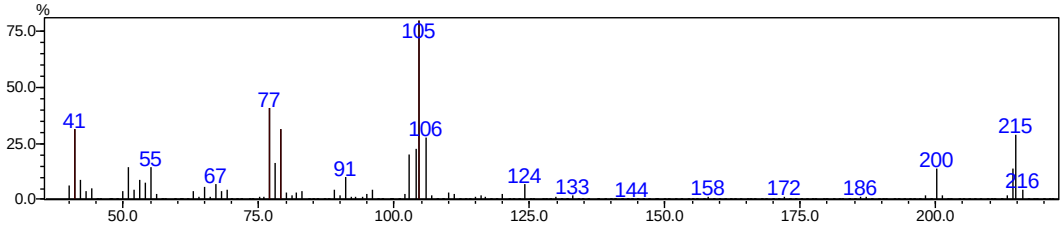
Ένωση **47** (M.W.=264.32)**:**



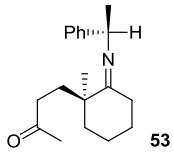


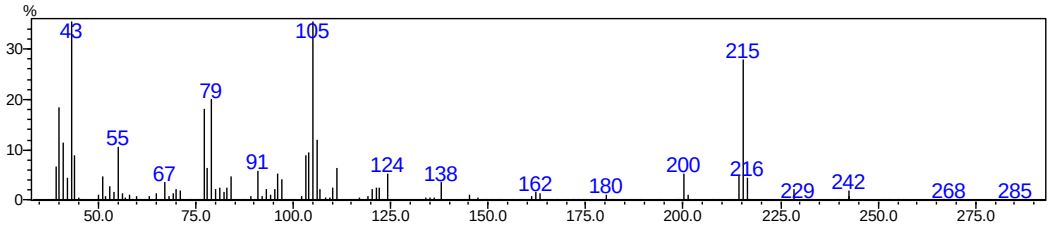
Ένωση **52** (M.W.=215.35)**:**



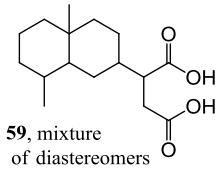


Ένωση **53** (M.W.=285.42)**:**

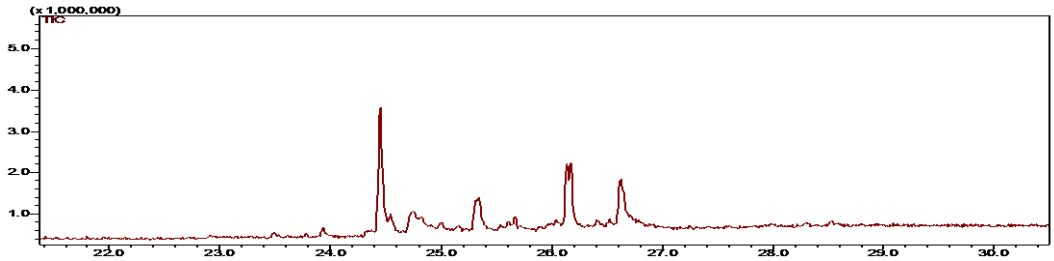


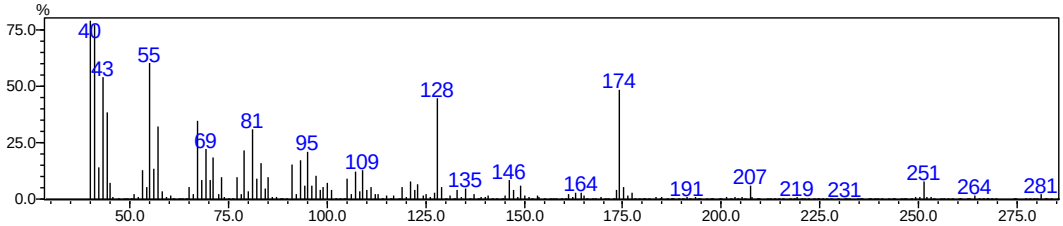


Ένωση **59** (M.W.=282.30):

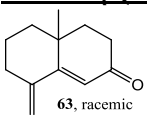


59, mixture of diastereomers

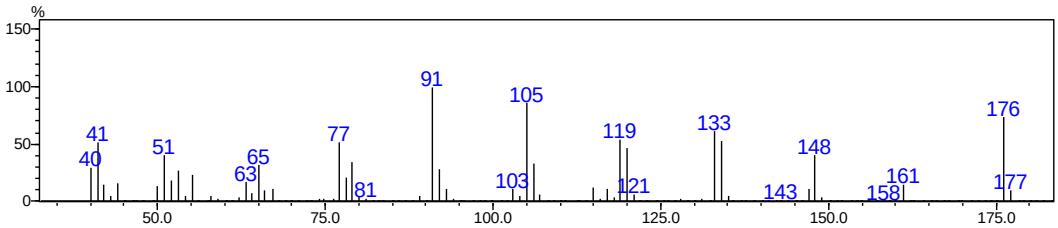




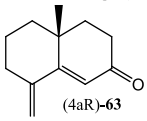
Ένωση **(4α*R/S*)-63** (M.W.=176.25):



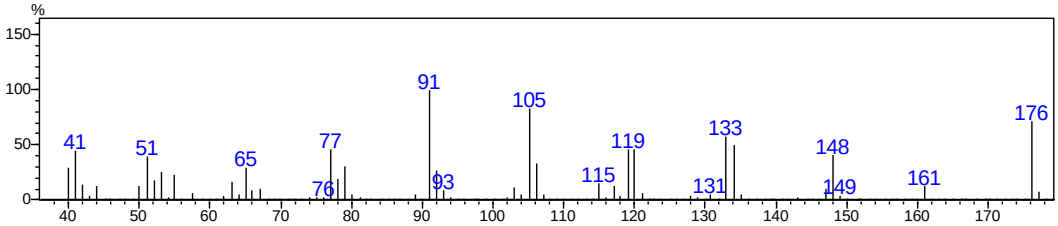
63, racemic



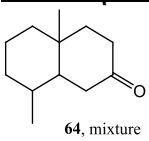
Ένωση **(4αR)-63** (M.W.=176.25):



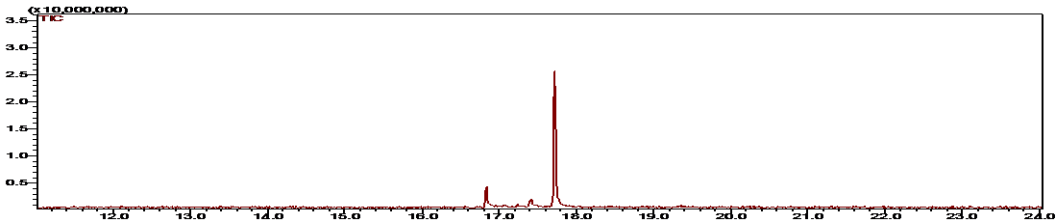
(4aR)-**63**

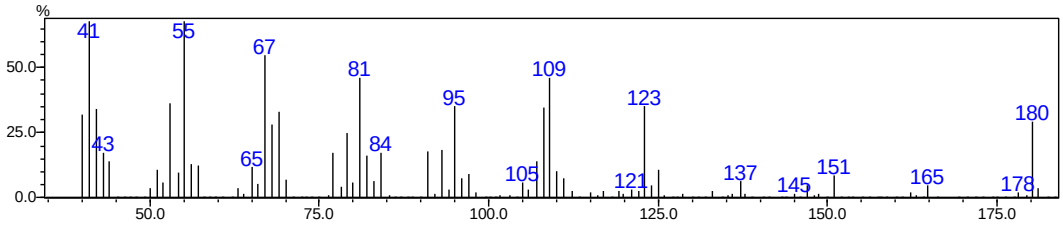


Ένωση **64** (M.W.=180.29):

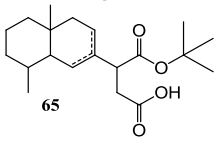


64, mixture
of diastereomers

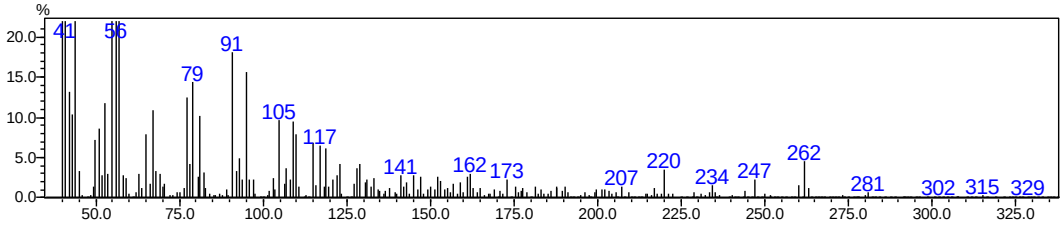




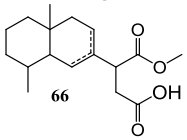
Ένωση **65** (M.W.=336.47):



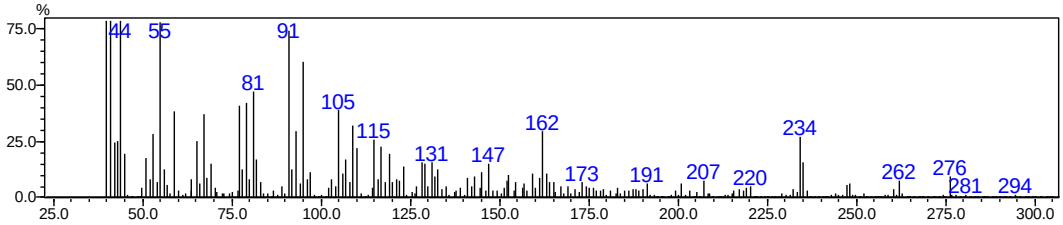
65



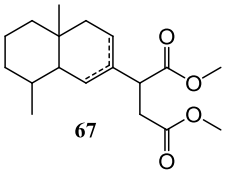
Ένωση **66** (M.W.=294.39):



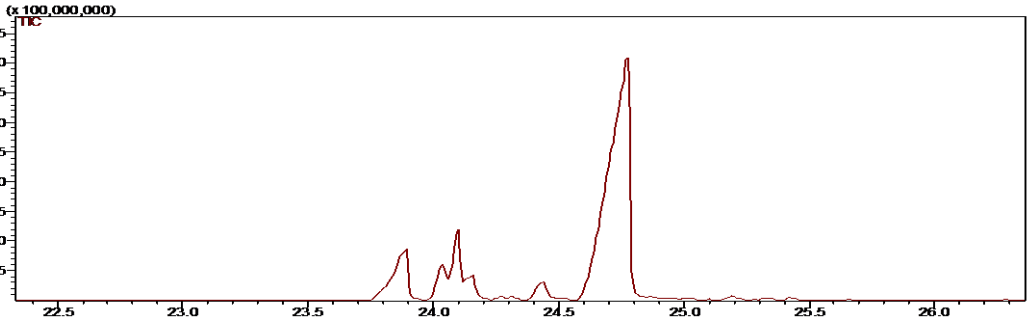
66

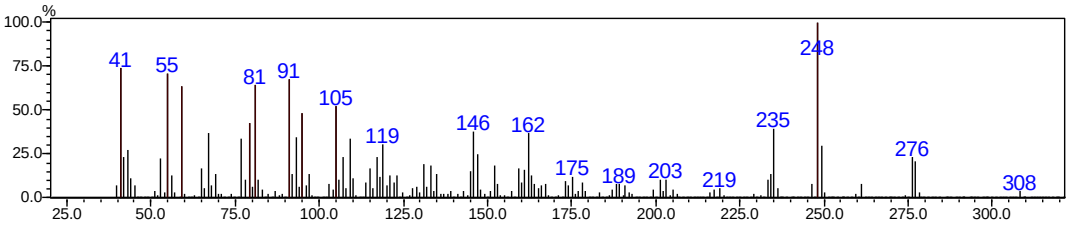


Ένωση **67** (M.W.=308.41):

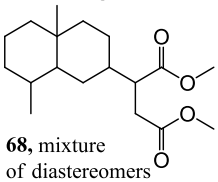


67

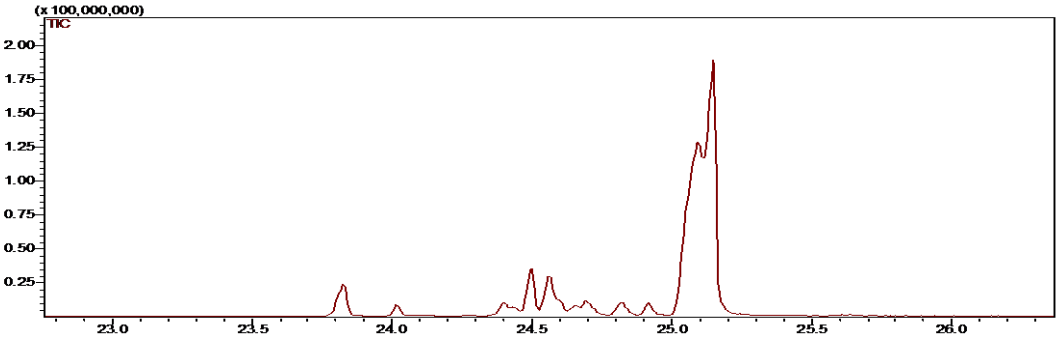


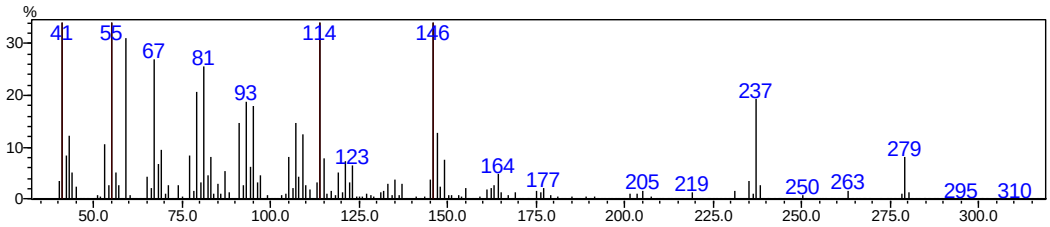


Ένωση **68** (M.W.=310.43):



68, mixture of diastereomers





9. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

[1] Otis, G. W. A Review of the Diversity of Species Within Apis. In: Diversity in the Genus Apis by D.R **1991**.

[2] Tingek, S.; Koeniger, N.; Koeniger, G. Senckenbergiana Bio, **1996**, *76*, 115-119.

[3] Ruttner, F. Biogeography and Taxonomy of Honeybe. Springer – Verlag, Berlin, **1988**.

[4] Ruttner, F. Naturgeschichte der Honigbienen Ehrenwirth Verlag, Münich, Germany,. **1992**.

[5] Sheppard,W. S.; Arias, M. C.; Greech, A. Meixner, M. D. Apidologie, **1997**, *28*, 287-293.

[6] Sheppard, W. S.; Meixner, M. D. Apidologie, **2003**, *34*, 367-375**.**

[7] Ruttner, F.; Tassencourt, L.; Louveaux, J. Apidologie, **1978**, *9*, 363-381.

[8] Oudemans, A. C. Leyden Museum **1904**, *24*, 216-222.

[9] Anderson, D. L.; Trueman, J. W. H. Expl. Appl. Acarol., **2000**, *24*, 165–189.

[10] Chandler, D.; Sunderland, K. D.; Ball, B. V.; Davidson, G. Biocontrol Science and Technology, **2001**, *11*, 429-448.

[11] Ball, B. V. International Bee Research Association. Cardiff, UK **1993**, 9-16.

[12] Ball, B. V. Pests & Diseases, **1994**, 569-576.

[13] Ball, B. V. International Bee Research Association, Cardiff, UK, **1994**, 5-11.

[14] Stavrianakou, S.; Liakopoulos, G.; Karabourniotis, G. Environmental and Experimental Botany, **2006**, *56*, 293-300.

[15] Καββάδας Δ. Σ**.** Εικονογραφημένον Βοτανικόν-Φυτολογικόν Λεξικόν , Τόμος Δ, Εκδοτικός οίκος Γ. Π. Ξένου, Αθήνα, **1956**.

[16] Σταυριανάκου, Σ. Β. Παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν τη συσσώρευση δευτερογενών μεταβολιτών στα φύλλα του φυτού Dittrichia viscosa. Μεταπτυχιακή Εργασία. Εργαστήριο φυσιολογίας και μορφολογίας φυτών. Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, **2000**.

[17] Χατζήνα, Φ.; Γούναρη, Σ.; Θρασυβούλου, Α.; Καλαπανίδα, Μ.; Τσέλιος, Δ. Τα μελιτογόνα έντομα της πεύκης. Πρακτικά του 1ου Επιστημονικού Συνεδρίου Μελισσοκομίας - Σηροτροφίας. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 29 Νοεμβρίου - 1 Δεκεμβρίου **2002**.

[18] Ceccherelli, P.; Curini, M.; Marcotullio, M. C.; Menghini, A. Phytochemistry, **1985**, *24*, 2987-2989.

[19] Wollenweber, E.; Mayer, K.; Roitman, J. N. Phytochemistry, **1991**, *30*, 2445-2446.

[20] Werker, E.; Hallahan D. L.; Gray J. C. Advances in Botanical Research, **2000**, *31*, 1-36.

[21] Werker E.; Fahn A. Botanical Gazette, **1981**, *142*, 461-476.

[22] Stephanou, M.; Manetas, Y. Journal of Experimental Botany, **1997**, *48*, 1977-1985.

[23] Stephanou, M.; Manetas, Y. Australian Journal of Plant Physiology, **1995**, *22*, 755-759.

[24] Bawdekar, G.R. Kelkar, A. S. Tetrahedron, **1965**, *21*, 1521–1528.

[25] Bohlmann, F.; Gupta, K. R. Phytochemistry, **1982,** *21*, 1443-1445.

[26] Maoz, M.; Kashman, Y.; Neeman, I. Planta Medica, **1999**, *65*, 281-282.

[27] Ulubelen, A.; Öksüz, S.; Gören, N. Phytochemistry, **1987**, *26*, 1223-1224.

[28] Ceccherelli, P.; Curini, M.; Marcotullio, M. C. Journal of Natural Products, **1988**, *51*, 1006-1009.

[29] Sanz, J. F.; Ferrando, C.; Marco, J. A. Phytochemistry, **1991**, *33*, 3653-3655.

[30] Abu Zarga, M. H.; Hamed, E. M.; Sabri, S. S.; Voelter, W.; Zeller, K-P. Journal of Natural Products, **1998**, *61***,** 798-800.

[31] Grande, M.; Torres, P.; Piera, F.; Bellido, S. I. Phytochemistry, **1992**, *31*, 1826-1828.

[32] Chiappini, I.; Fardella, G.; Menghini, A.; Rossi, C. Planta Medica, **1982**, *44*, 159-161.

[33] Grande, M.; Piera, F.; Guenca, A.; Torres, P.; Bellido, I. S. Planta Medica, **1985**, *51*, 414- 419.

[34] Wollenweber, E.; Mayer, K.; Roitman, J. N. Phytochemistry, **1991**, *30*, 2445-2446.

[35] Bohlmann, F.; Czerson, H.; Schöneweiâ, S. Chemische Berichte, **1977**, *110*, 1330-1334.

[36] Sanz, J. F.; Ferrando, C.; Marco, J. A. Phytochemistry **1991**, *30*, 3653-3655.

[37] Rustaiyan, A.; Jakupovic, J.; Chau-Thi, T. V.; Bohlmann, F.; Sadjadi, A. Phytochemistry, **1987**, *26*, 2603-2606.

[38] Ulubelen, A.; Öksüz, S.; Gören, N. Phytochemistry, **1987**, *26*, 1223-1224.

[39] Ceccherelli, P.; Curini, M.; Marcotullio, M. C.; Menghini, A. Phytochemistry, **1985**, *24*, 2987-2989.

[40] Öksüz, S.; Topcu, G. Phytochemistry, **1992**, *31*, 195-197.

[41] Fardella, G. Fitoterapia, **1979**, *50*, 3-4.

[42] Al-Khalil, S.; Al-Eisawi, D.; Fisher, N. A. Journal of Pharmaceutical Sciences, **1992**, *6*, 307-309.

[43] Kumari, G. N.; Rao, L. J .M.; Rao, N. S. P. Journal of Chemical Sciences, **1986**, *97*, 171-176.

[44] Jakupovic, J.; Schuster, A.; Bohlmann, F.; King, R. M.; Lander, N. S. Phytochemistry, **1988**, *27*, 3181-3185.

[45] Mansour, F.; Azaizeh, H.; Saad, B; Tadmor, Y.; Abo-Moch, F.; Said, O. Phytoparasitica, **2004,** *32*, 66-72.

[46] α) Katerinopoulos H. E., Isaakidis D., Sofou K., Spyros A. Use of costic acid and other components from the plant Dittrichia viscosa (Greek: "Aconiza") and related species, as acaricide against Varroa destructor, the acari acting as parasite of the European honey bee. Greek Patent, Gr 1006569, **2009**; b) Katerinopoulos H. E., Isaakidis D., Sofou K., Spyros A. Use of costic acid and other components from the plant Dittrichia viscosa (Greek: "Aconiza") and related species, as acaricide against Varroa destructor, the acari acting as parasite of the European honey bee. EP 2346328, **2015**.

[47] Garcez F. R.; Garcez W. S.; Hamerski L. Quim. Nova, **2010**, *33*, 1739-1742.

[48] Mamoci E.; Cavoski I.; Simeone V.; Mondelli D.; Al-Bitar L.; Caboni P.; Molecules, **2011**, *16*, 2609-2625.

[49] Xiao Y.; Zheng Q.; Zhang Q.; Sun H.; Gueritte F.; Zhao Y. Fitoterapia, **2003**, *74*, 459–463.

[50] Wu X.; Vogler B., Natural Product Communications, **2006**, *1*, 465-468.

[51] Zdero C.; Bohlmann F.; King M. Phytochemistry, **1988**, *27*, 2835 2842.

[52] Muhamad A. Cheichal and. Pharmaceutical Buleting, **2008**, *56*, 1535-1545.

[53] Marshall J. A.; Pike M. T. Tetrahedron Letters **1965,** *35*, 3107-3114.

[54] Marshall J.A.; Pike M.T.; Carroll R.D. Journal of Organic Chemistry, **1966**, *11*, 2933-2941.

[55] Johnson, R. M.; Ellis, M. D.; Mullin, C. A.; Frazier, M. Apidologie, **2010**, *41*, 312-331.

[56] Skinner, J. A.; Parkman, J .P.; Studer, M. D. Journal of Apicultural Research, **2001**, *40*, 81-89.

[57] Rademacher, E.; Harz, M. Apidologie, **2006**, *37*, 98-120.

[58] Rademacher, E.; Harz, M. American Bee Journal, **2006**, *146*, 614-617.

[59] Emsen, B.; Guzmán-Novoa, E.; Kelly, P.G. American Bee Journal, **2007**, *147*, 535-539.

[60]. Sylla, M.; Joseph, D.; Chevallier, E.; Camara, C.; Dumas, F. Synthesis, **2006**, *6*, 1045-1049.

[61] Vogel, A. I. Textbook of Practical Organic Chemistry, Longman Inc., New York, **1978,** *4*, 491.

[62] Hanson, J. R.; Nagaratnam, S. Journal of Chemical Research, **1998**, *9*, 540–541.

[63] Ghatak, A.; Dorsey, J. M.; Garner, C. M.; Pinney, K. G. Tetrahedron Letters, **2003**, *44*, 4145–4148.

[64] Baughman, T. W.; Sworen, J. C.; Wagener, K. B. Tetrahedron, **2004**, *60*, 10943–10948.

[65] Vastra, J.; Saint-Jalmes, L. Organic Process Research and Development, **2006**, *10*, 194–197.

[66] Hwang, C.K.; Li, W.S.; Nicolaou; K.C. Tetrahedron Letters, **1984,** *25*, 2295-2296.

[67] Johnson, W.; Davis, Ch.; Hunt, R.; Stork, G. Journal of the American Chemical Society, **1948**, *70*, 3021-3023.

[68] Tanaka, K.; Sugino, T.; Toda, F. Green Chemistry, **2000**, *2*, 303-304.

[69] William S. Johnson, W. S.; Jones, A. R. Journal of the American Chemical Society, **1947**, *69*, 792–794.

[70] Johnson, W. S.; McCloskey, A. L.; Dunnigan, D.A. Journal of the American Chemical Society, **1950**, *72*, 514-517.

[71] Iqbal, M.; Iqbal, R.; Bilal, M.; Akram, M..; Baloch, I. B.; Baloch, M. K. Asian Journal of Chemistry, **2014**, *26*, 8025-8028.

[72] Iqbal, M.; Baloch, I. B.; Baloch, M. K. Chemistry Journal, **2012**, *2*, 12-19.

[73] Falorni, M.; Giacomelli, G.; Porcheddu, A.; Taddei M. Journal of Organic Chemistry, **1999,** *64*, 8962-8964.

[74] a) Meyers A. I. Organic Syntheses, **1992,** *70*, 35-45 b) Marshall, J.A.; Pike, M.T. Tetrahedron Letters, **1965,** *35*, 3107-3114 c) Pfau, M.; Revial, G.; Guingant, A.; Angelo, J.; J. Am. Chem. Soc. **1985**, *107*, 214-216 d) Meyers A. I. Organic Syntheses, **1998,** *9*, 610.

[75] Heathcock, C. H.; Ellis, J. E. Tetrahedron Letters, **1971**, *52*, 4995-4996.

[76] Ward, D. E.; Rhee, C. K.; Zoghaib, W. M. Tetrahedron Letters, **1988**, *29*, 517–520.

[77] An, G.; Ahn, H.; De Castro, K. a.; Rhee, H. Synthesis, **2010**, *3*, 477–485.

[78] Harding, K. E.; May, L. M.; Dick, K. F. The Journal of Organic Chemistry, **1975**, *40*, 1664-1665.

[79] C. Chang and F. Wood, Tetrahedron Lett., **1964**, *5*, 2969–2973.

[80] Dauben, W. G.; Rogan, J. B.; Blanz, E. J. Journal of the American Chemical Society, **1954**, *76*, 6384.

[81] E. C. du Feu, F. J. McQuillin and Robert Robinson. Journal of Chemical Society, **1937**, *11*, 53-60.

[82] Surya Prakash Rao H.; Subba Reddy K. Tettrahedron Letters, **1994,** *35*, 171-174.

[83] Maio, G.; Migneco, L.; Vecchi, E.; Lavarone, C. Magnetic Resonance in Chemistry, **2000,** *38*, 108-114.

[84] Chang, C.; Wood, F. Tetrahedron Letters, **1964**, *5*, 2969–2973.

[85] Stork, G.; Darling, S.D; Journal of the American Chemical Society, **1964,** *86*, 1761-1768.

[86] R.S. Monson, Advanced Organic Synthesis, Methods and Techniques, Academic Press, New York, **1971**.

[87] Iwasaki, K.; Wan, K. K.; Oppedisano, A.; Crossley, S. W. M.; Shenvi, R. a. Journal of the American Chemical Society, **2014**, *136*, 1300–1303.

[88] Hsung, R. P. Synthetic Communications, **1990**, *20*, 1175–1179.

[89] Cuomo, J. Journal of Agricultural and Food Chemistry Food Chemistry, **1985**, *33*, 717–719.

[90] a) Hajos, Z. G.; Parrish D. R. Journal of Organic Chemistry, **1974**; *39*, 1615-1621; b) Eder, U.; Sauer, G.; Wiechert, R. Angewandte Chemie International Edition in English, **1971**, *10*, 496-497; c) List, B.; Lerner, R. A.; Barbas, C. F. III Journal of the American Chemical Society, **2000**, *122*, 2395-2396; d) Bui, T.; Barbas, C. F. III Tetrahedron Letters, **2000**, *41*, 6951-6954; e) Danishefsky, S.; Cain, P. Journal of the American Chemical Society, **1976**, *98*, 4975-498.

[91] a)Bahmanyar, S.; Houk, K. N. Journal of the American Chemical Society, **2001**; *123*, 12911–12912. b) Bahmanyar, S.; Houk, K. N. Journal of the American Chemical Society,. **2001**; *123*, 11273-11283.

[92] Revial, G.; Pfau M. Organic Synthesis, **1992**, *70*, 35-46.

[93] Tanaka, K.; Sugino, T.; Toda, F. Green Chemistry, **2000**, *2*, 303–304.

[94] Chen, Q.-A.; Ye, Z.-S.; Duan Y.; Zhou Y.-G. Chemical Society Reviews, **2013**, *42*, 497-511.

[95] Etayo, P.; Vidal-Ferran A. Chemical Society Reviews., **2013**, *42*, 728-754.

[96] Van Leeuwen, P. W. N. M.; Kamer, P. C. J.; Claver, C.; Pàmies, O.; Diéguez, M. Chemical Reviews, **2011**, *111*, 2077-2118.

[97] Church, T. L.; Andersson P. G. Coordination Chemistry Reviews, **2008**, *252*, 513–531.

[98] McMurry, J. E. Journal of the American Chemical Society, **1968**, *90*, 6821–6825.

[99] White, J.D.; Hrnciar, P.; Stappenbeck, F. Journal of Organic Chemistry, **1999**, *64*, 7871-7884.

[100] G. Menounou, M.Sc. Thesis, Archives of the University of Crete, Greece, **2014**.

[101] Annen, K.; Hofmeister, H.; Laurent, H.; Wiechert, R. Synthesis, **1982**, *11*, 34–40.

[102]Ardeshir, A.; Rahim, E.; Gholamhosein, T. Experimental and Applied Acarology **2002**, *27***,** 319–327.