

**A. ΧΗΜΕΙΟΕΝΖΥΜΙΚΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ  
ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ  
ΧΕΣΤΟΔΕΚΑΛΑΚΤΟΝΕΣ Β ΚΑΙ C.  
B. ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΝΖΥΜΙΚΑ ΚΑΤΑΛΥΟΜΕΝΗΣ  
ΜΕΤΕΣΤΕΡΟΠΟΙΗΣΗΣ ΔΕΥΤΕΡΟΤΑΓΩΝ  
ΑΛΚΟΟΛΩΝ ΣΕ ΙΟΝΤΙΚΑ ΥΓΡΑ**

**ΣΜΑΡΑΓΔΑΚΗΣ ΜΙΧΑΗΛ**

**ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: Ι. ΣΜΟΝΟΥ  
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ, ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ**

**ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟΥ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ  
ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ, ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ**  
**2005/2007**

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ**  
**ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ**

1. Ιουλία Σμόνου, Καθηγήτρια, (Επιβλέπουσα Καθηγήτρια)  
Πανεπιστήμιο Κρήτης
2. Εμμανουήλ Στρατάκης, Καθηγητής  
Πανεπιστήμιο Κρήτης
3. Γεώργιος Βασιλικογιαννάκης, Καθηγητής  
Πανεπιστήμιο Κρήτης

# ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

Σμαραγδάκης Μιχαήλ

<b>Ημερομηνία γέννησης:</b>	14 Μαρτίου 1982
<b>Τόπος γέννησης:</b>	Ηράκλειο
<b>Πατρώνυμο:</b>	Γεώργιος

## ΣΠΟΥΔΕΣ

---

**Σεπτέμβριος 1999:** Εισαγωγή στο Τμήμα Χημείας της Σχολής Θετικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Κρήτης

**Ιούνιος 2004:** Αποφοίτηση από το Τμήμα Χημείας της Σχολής Θετικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Κρήτης με βαθμό πτυχίου **6,91**.

**Οκτώβριος 2004:** Εισαγωγή στο Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα ΕΠΕΑΕΚ “Απομόνωση και σύνθεση φυσικών προϊόντων με βιολογική δραστικότητα” του Τμήματος Χημείας της Σχολής Θετικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Κρήτης.

## ΥΠΟΤΡΟΦΙΕΣ

- 
- Υποτροφία (**I.K.Y.**) για την εισαγωγή στο Τμήματος Χημείας της Σχολής Θετικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Κρήτης το έτος 1999.

## ΑΚΑΔΗΜΑΪΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

- 
- Διπλωματική εργασία σε εργαστήριο Οργανικής Χημείας το έτος 2004 με τίτλο: «Μελέτη της δραστικότητας κι εναντιοεκλεκτικότητας κατά την ενζυμική υδρόλυση δευτεροταγών αλκοολών από το ένζυμο FAE του μικροοργανισμού *Humicola Insulens*». Επιβλέπουσα καθηγήτρια: Ιουλία Σμόνου.
  - Βοηθός προπτυχιακού εργαστηρίου Ανόργανης Χημείας το έτος 2004-2005.

## ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΕΙΣ - ΣΥΝΕΔΡΙΑ

---

- Συμετοχή στο 11<sup>ο</sup> Μεταπτυχιακό Συνέδριο Πανεπιστημίου Κρήτης στα Φυρά Σαντορίνης τον Ιούλιο του 2006 με τίτλο παρουσίασης: «Μελέτη της χημειοενζυμικής σύνθεσης των φυσικών προϊόντων Xestodecalactones B, C και της Sporostatin». Μ. Σμαραγδάκης, Δ. Καλαϊτζάκης, Ι. Σμόνου.
- 2<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συμπόσιο Οργανικής Σύνθεσης, Αθήνα 2007 – Poster με θέμα «Χημειοενζυμικής σύνθεσης των φυσικών προϊόντων Xestodecalactones B, C και της Sporostatin»

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η διατριβή αυτή πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Ενζυμικής Οργανικής Χημείας του τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Κρήτης υπό την επίβλεψη της Καθηγήτριας Σμόνου Ιουλίας.

Θα ήθελα αρχικά να ευχαριστήσω το τμήμα Χημείας του Πανεπιστημίου Κρήτης για την υλικοτεχνική υποδομή, καθώς και το Πρόγραμμα ΕΠΕΑΕΚ για την οικονομική βοήθεια που μου παρείχαν.

Ευχαριστώ ιδιαίτερα την επιβλέπουσα Καθηγήτρια Ι. Σμόνου, για την ανάθεση του θέματος της διατριβής αυτής, την υλικοτεχνική υποδομή και την οικονομική βοήθεια που μου παρείχε, καθώς και για την συνεχή ενθάρρυνσή της στις δυσκολίες που προέκυψαν κατά τη διάρκεια της εκπόνησης αυτής της εργασίας.

Ευχαριστώ τους Καθηγητές κ. Μ. Στρατάκη και κ. Γ. Βασιλικογιαννάκη για τις εποικοδομητικές συζητήσεις, τις πολύτιμες συμβουλές και το ότι δέχτηκαν να είναι μέλη της συμβουλευτικής επιτροπής μου.

Ευχαριστώ τον Δρ. Α. Σπύρο για τη διάθεσή του να βοηθήσει στην επίλυση οποιουδήποτε τεχνικού προβλήματος των φασματομέτρων NMR.

Θέλω να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τους φίλους και συνεργάτες μου στο εργαστήριο Δρ Ν. Χατζάκη, Ι. Σαμανίδη, Δ. Ξημεράκη, Δρ Μ. Χατζημαρινάκη, Ο. Μέρμυγκα, Χ. Κωνσταντίνου και Α. Μπαριωτάκη, για την άψογη συνεργασία όλα αυτά τα χρόνια. Ιδιαίτερα ευχαριστώ τον Δρ Δ. Καλαϊτζάκη για την βοήθεια και τις συμβουλές του.

Θα ήθελα ακόμη να ευχαριστήσω όλους τους φίλους και συνεργάτες στον τομέα της Οργανικής Χημείας Μ. Τζιράκη, Μ. Ρουμπελάκη, Δρ Μ. Αλμπέρτη, Χ. Ράπτη, Δρ Κ. Τσαγκαράκη, Σ. Βουτσαδάκη, Δρ Μ. Ρουσσάκη, Δρ Γ. Τσικαλά, Γ. Μαργαρό, Μ. Τοφή, Η. Παυλάκο, Θ. Γεωργίου, για το κλίμα συνεργασίας και αλληλεγγύης που υπήρχε αλλά και για όλα όσα περάσαμε μαζί.

Τέλος ευχαριστώ βαθύτατα την αρραβωνιαστικιά μου Γιώτα και τους γονείς μου για την υπομονή και την αμέριστη υποστήριξη όλα αυτά τα χρόνια.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	<b>Σελίδα</b>
Σελίδα Υπογραφών	2
Βιογραφικό σημείωμα	3
Ευχαριστίες	5

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα ένζυμα και ο ρόλος τους	9
Υδρολυτικά ένζυμα	11
Φερουλόυλο Εστεράση	13
Κετορεδουκτάσες	14
Νικοτιναμιδιακοί Συμπαράγοντες	16
Κινητικός και Δυναμικός Κινητικός Διαχωρισμός	23
Προσδιορισμός της Απόλυτης Στερεοδομής	20

### XESTODECALACTONES

#### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Xestodecalactones	23
-------------------	----

#### ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Σχεδιασμός Συνθετικής Πορείας	25
Σύνθεση του υποστρώματος (6)	26
Ενζυμική σύνθεση της οπτικά καθαρής ένωσης (R)-5	28
Σύνθετική πορεία για τις Xestodecalactones B και C	30

### ΙΟΝΤΙΚΑ ΥΓΡΑ

#### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ιοντικά υγρά	38
Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα	39
Μέθοδοι παρασκευής ιοντικών υγρών	40
Το κατιόν του 1,3-διαλκυλοϊμιδαζολίου	41
Εφαρμογές Ιοντικών Υγρών	43

Ενζυμικές αντιδράσεις σε Ιοντικά Υγρά	44
Τοξικότητα Ιοντικών Υγρών	49

<b>ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ</b>	51
------------------------------	----

## **ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

Αντιδραστήρια	60
Αναλυτικές μέθοδοι	60
Γενικές συνθετικές μέθοδοι	61
Σύνθεση υποστρωμάτων	64

## **ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ**

Φάσματα $^1\text{H}$ και $^{13}\text{C}$ NMR	79
--	----

<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b>	98
---------------------	----

# ΕΙΣΑΓΩΓΗ



# ENZYMA

## Τα ένζυμα και ο ρόλος τους

Τα ένζυμα είναι μακρομόρια, πρωτεϊνικής φύσεως, τα οποία καταλύουν τις περισσότερες βιολογικές αντιδράσεις *in vivo*. Επίσης χρησιμοποιούνται ευρέως στις αντιδράσεις είτε με φυσικά είτε και με μη φυσικά υποστρώματα *in vitro*. Η ικανότητά τους να εκτελούν συνθετικές μετατροπές, οι οποίες υπό άλλες συνθήκες θα ήταν αδύνατες, τα καθιστά πανίσχυρα εργαλεία στη διάθεση των οργανικών χημικών. Τα κύρια χαρακτηριστικά των βιοκαταλυτών αυτών και τα οποία τους διαφοροποιούν από τους υπόλοιπους χημικούς καταλύτες είναι τα εξής:<sup>1</sup>

- Είναι πολύ αποτελεσματικοί καταλύτες. Γενικά τα ένζυμα επιταχύνουν το ρυθμό των καταλυόμενων αντιδράσεων κατά  $10^8 - 10^{10}$  φορές. Έχουν αναφερθεί περιπτώσεις όπου η αύξηση της ταχύτητας μπορεί να υπερβεί τις  $10^{12}$  φορές, τιμή την οποία οι χημικοί καταλύτες δεν είναι εύκολο να την επιτύχουν.<sup>2</sup> Επίσης οι χημικοί καταλύτες χρησιμοποιούνται συνήθως σε συγκεντρώσεις του 0,1% - 1% σε σχέση με τη συγκέντρωση του υποστρώματος, ενώ οι περισσότερες ενζυμικές αντιδράσεις πραγματοποιούνται για αντίστοιχες ταχύτητες, σε συγκεντρώσεις της τάξης του  $10^{-3}\%$  -  $10^{-4}\%$ , γεγονός που καθιστά τα ένζυμα ιδιαίτερα αποτελεσματικούς καταλύτες.
- Τα ένζυμα είναι περιβαλλοντικά αποδεκτοί καταλύτες σε σχέση με τους χημικούς καταλύτες βαρέων μεταβατικών μετάλλων καθώς είναι αποικοδομήσιμα στο περιβάλλον και λειτουργικά σε υδατικά διαλύματα.
- Είναι ενεργά κάτω από ήπιες συνθήκες όπως σε θερμοκρασία  $20 - 40$  °C καθώς και σε pH  $5 - 8$ . Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την ελαχιστοποίηση των παράπλευρων μη επιθυμητών αντιδράσεων όπως οι αποικοδομήσεις, ισομεριώσεις, αντικαταστάσεις και ρακεμοποιήσεις.
- Το γεγονός ότι τα περισσότερα ένζυμα δρουν κάτω από παρόμοιες συνθήκες, επιτρέπει τη σύγχρονη δράση ενός αριθμού ενζύμων ταυτόχρονα πραγματοποιώντας πολλά στάδια αντίδρασης σε ένα μόνο εργαστηριακό σκεύος. Αυτό είναι αρκετά πρακτικό στην περίπτωση όπου ένα ενδιάμεσο προϊόν είναι αρκετά ασταθές και είναι αδύνατη η απομόνωσή του ή στην περίπτωση όπου μια ανεπιθύμητη ισορροπία μπορεί να οδηγηθεί προς το επιθυμητό προϊόν συνδυάζοντας δυο συνεχόμενα ενζυμικά στάδια μεταξύ τους.

- Έχουν αρκετά μεγάλη ποικιλία ως προς τα υποστρώματα που μπορούν να δεχτούν, καθώς καταλύουν αντιδράσεις είτε φυσικών είτε τεχνητών μη φυσικών υποστρωμάτων συμβάλλοντας δυναμικά στην οργανική σύνθεση.
- Με την ύπαρξη αρκετών διαφορετικών ενζύμων, οι βιοκαταλύτες αυτοί μπορούν να καταλύσουν μια μεγάλη ποικιλία οργανικών αντιδράσεων.

Τα ένζυμα βρίσκουν εφαρμογή στην οργανική σύνθεση όλο και σε μεγαλύτερο βαθμό τα τελευταία χρόνια. Η πολύπλοκη δομή τους, τους προσδίδει ιδιαίτερα πλεονεκτήματα, η εκμετάλλευση των οποίων μπορεί να δώσει τη λύση σε δυσεπίλυτα προβλήματα σε πολλές συνθετικές πορείες, ή να τις απλοποιήσει σημαντικά. Το σημαντικότερο πλεονέκτημα των ενζύμων είναι η κάθε είδους εκλεκτικότητα που επιδεικνύουν:

#### **α) Χημειοεκλεκτικότητα**

Τα ένζυμα έχουν την ικανότητα να δρουν εκλεκτικά σε μια δραστική ομάδα του υποστρώματος χωρίς την μετατροπή άλλων εξίσου δραστικών ομάδων του ίδιου μορίου. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή καθαρών ενώσεων χωρίς την παρουσία παραπροϊόντων.

#### **β) Τοποεκλεκτικότητα**

Εξαιτίας της πολύπλοκης τρισδιάστατης δομής τους έχουν την ικανότητα να διακρίνουν όμοιες λειτουργικές ομάδες οι οποίες βρίσκονται σε διαφορετικές θέσεις του ίδιου υποστρώματος.

#### **γ) Διαστερεοεκλεκτικότητα**

Έχουν την ικανότητα να διακρίνουν ένα από τα διαστερομερή ενός μίγματος ή μία από τις διαστεροτοπικές επιφάνειες ή ομάδες του ίδιου μορίου.

#### **δ) Εναντιοεκλεκτικότητα**

Έχουν την ικανότητα να διακρίνουν ένα από τα δύο εναντιομερή ενός ρακεμικού μίγματος ή μια από τις εναντιοτοπικές επιφάνειες ή ομάδες του ίδιου μορίου.

Τα ένζυμα, με βάση τις αντιδράσεις που καταλύουν, έχουν ταξινομηθεί από τη διεθνή ένωση βιοχημείας (International Union of Biochemistry) σε έξι κύριες ομάδες<sup>3</sup>:

1. Τις **οξειδοοξειδοκτάσεις**, που καταλύουν τις οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις και τις αντιδράσεις μεταφοράς υδρογόνου.
2. Τις **τρανσφεράσες** που καταλύουν τη μεταφορά λειτουργικών ομάδων, όπως άκυλο και φωσφορικών ομάδων ή σακχάρων, από ένα μόριο σε άλλο
3. Τις **υδρολάσες** που καταλύουν την υδρόλυση αμιδίων, εστέρων και πεπτιδίων.
4. Τις **λύασες** που καταλύουν τις αντιδράσεις προσθήκης σε διπλούς δεσμούς καθώς και τις αντίστροφες αντιδράσεις απόσπασης.
5. Τις **ισομεράσες** που καταλύουν αντιδράσεις ισομερισμού όπως τη μετακίνηση διπλών δεσμών, Z/E ισομερισμούς και αντιδράσεις ρακεμοποίησης.
6. Τις **λιγκάσες** που καταλύουν το σχηματισμό δεσμών C-O, C-S, C-N, C-C και δεσμούς φωσφορικών εστέρων.

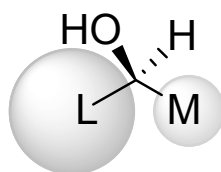
### **Υδρολυτικά ένζυμα**

Τα πλέον χρησιμοποιούμενα ένζυμα από όσα αναφέρθηκαν παραπάνω είναι τα υδρολυτικά ένζυμα. Η ικανότητα των ενζύμων αυτών να υδρολύουν ένα ευρύ φάσμα υποστρωμάτων διατηρώντας παράλληλα υψηλή εναντιοεκλεκτικότητα, τα καθιστά ιδανικούς καταλύτες στην ασύμμετρη σύνθεση.<sup>1,3,4,5</sup> Μερικές από τις εφαρμογές που βρίσκουν τα υδρολυτικά ένζυμα είναι στη σύνθεση αντιβιοτικών,<sup>6,7</sup> πολυμερών<sup>8</sup> και στη βιομηχανία χαρτιού<sup>9</sup> και γαλακτοκομικών ειδών<sup>10</sup>.

Οι λιπάσες και οι εστεράσες είναι υδρολυτικά ένζυμα που ανήκουν στην κατηγορία των σερινοπρωτεασών. Οι σερινοπρωτεάσες πήραν το όνομα τους από το χαρακτηριστικό κατάλοιπο σερίνης που υπάρχει στο ενεργό τους κέντρο. Το ενεργό κέντρο περιέχει μια χαρακτηριστική καταλυτική τριάδα αμινοξέων που αποτελείται εκτός από την σερίνη, από ένα κατάλοιπο ασπαραγινικού ή γλουταμινικού, και μια ιστιδίνη.

Η δραστηριότητα και η εναντιοεπιλεκτικότητα των λιπασών μελετήθηκε εκτενώς και ο R.J. Kazlauskas το 1991 πρότεινε ένα μοντέλο-κανόνα<sup>11</sup> για την πρόβλεψη του εναντιομερούς το οποίο θα προτιμήσει το ένζυμο, δηλαδή αυτό που θα

αντιδράσει ταχύτερα, και κατά συνέπεια την πρόβλεψη της στερεοχημείας του προϊόντος που θα σχηματιστεί. Ο κανόνας αυτός προβλέπει ότι για δευτεροταγείς αλκοόλες με δύο διαφορετικούς υποκαταστάτες M και L (για τον μεσαίου και μεγάλου μεγέθους αντίστοιχα), το ένζυμο αντιδρά ταχύτερα με το (R) – εναντιομερές σε αντιδράσεις εστεροποίησης, ενώ το ίδιο ισχύει και για τις αντιδράσεις μετεστεροποίησης και υδρόλυσης των εστέρων των δευτεροταγών αλκοολών. Το μοντέλο αυτό ισχύει για πολλές λιπάσες και έχει αυξημένη αξιοπιστία για κυκλικά και πολύ παρεμποδισμένα υποστρώματα. Το μοντέλο φαίνεται στο παρακάτω σχήμα:

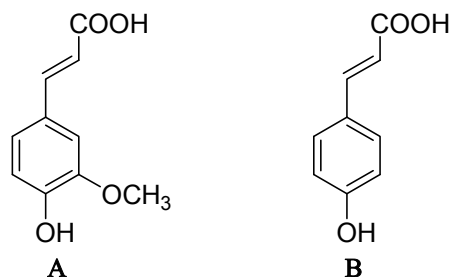


*Σχήμα 1. Μοντέλο Kazlauskas*

Ωστόσο μελέτες που έγιναν αργότερα έδειξαν ότι η στερεοεκλεκτικότητα των λιπασών δεν εξαρτάται μόνο από στερικούς παράγοντες, αλλά μεγάλης σημασίας για την εκλεκτικότητα του ενζύμου είναι και οι ηλεκτρονικοί παράγοντες.<sup>12,13</sup>

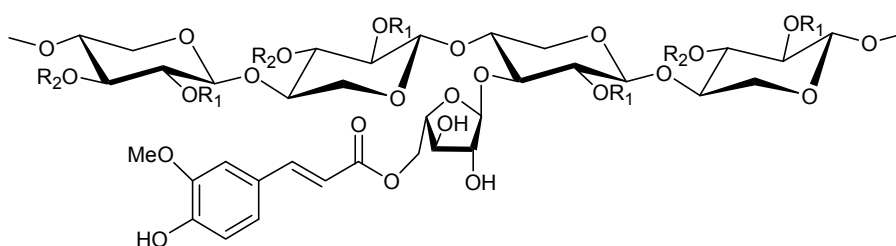
## Φερουλόυλο Εστεράση

Οι φερουλόυλο εστεράσες (FAE), (E.C. 3.1.1.13), μια υποκατηγορία των εστερασών, είναι υδρολυτικά ένζυμα τα οποία υδρολύουν τον εστερικό δεσμό μεταξύ των κινναμικών οξέων ή των διμερών τους, και του σακχαρικού δακτυλίου τη λιγνίνης και η δράση τους ανακαλύφθηκε το 1987 από τους Deobald και Crawford.<sup>14</sup>



*Σχήμα 2. Τα υδροξυ κινναμικά οξέα Φερουλικό (A) και Κουμαρικό Οξύ (B)*

Τα κινναμικά οξέα είναι υποκαταστάτες της κεντρικής αλυσίδας της ξυλόλης, μιας πολυσακχαρικής ένωσης, η οποία είναι κύριο συστατικό του κυτταρικού τοιχώματος των φυτών της ξηράς, αποτελώντας το 30% του βάρους τους. Τα χαρακτηριστικότερα υδροξυ κινναμικά οξέα είναι το φερουλικό και το κουμαρικό. (Σχήμα 2) Στα τελευταία στάδια της ανάπτυξης του κυτταρικού τοιχώματος τα οξέα αυτά σχηματίζουν εστερικούς δεσμούς με τους αντίστοιχους υποκαταστάτες της λιγνίνης, ενώνοντας τη με τον τρόπο αυτό με τη ξυλόλη όπως φαίνεται στο Σχήμα 3.



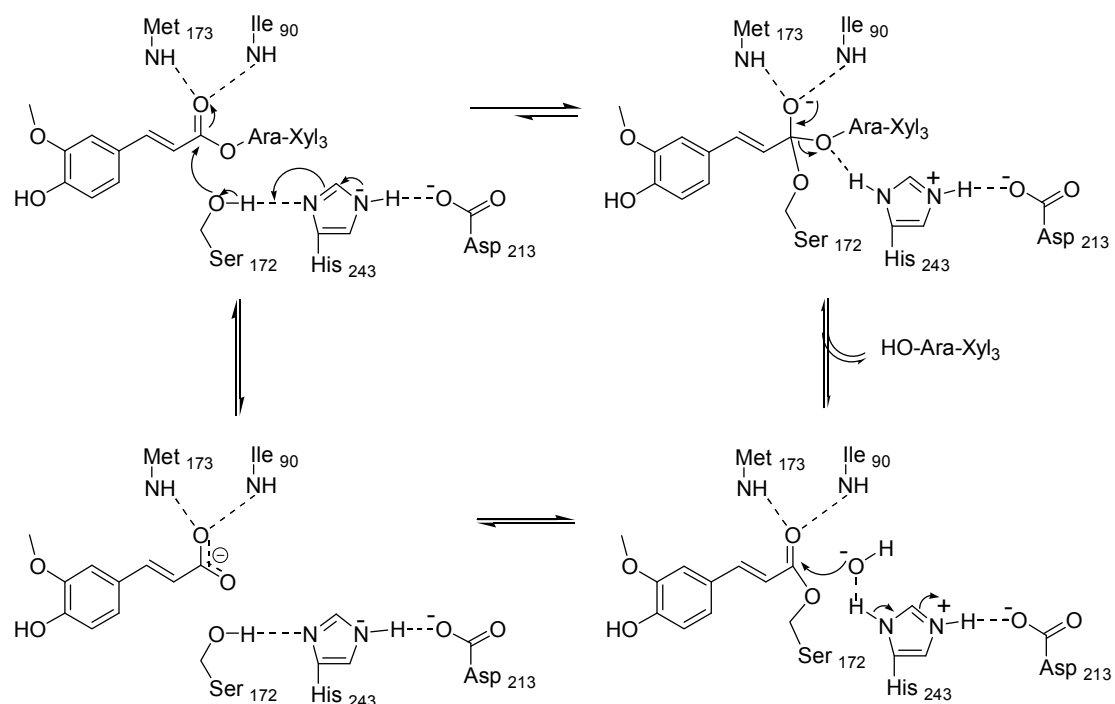
**Σχήμα 3.** Εστερικός δεσμός του φερουλικού οξέος με ένα υποκαταστάτη της λιγνίνης

Τα υδροξυ κινναμικά οξέα με τους δεσμούς αυτούς που σχηματίζουν προσφέρουν σταθερότητα και ακαμψία στο κυτταρικό τοίχωμα. Αυτό κάνει το τοίχωμα ανθεκτικότερο στη διάσπαση από μικροοργανισμούς, ενώ επίσης έτσι ρυθμίζεται και σταματά η ανάπτυξη του φυτικού ιστού.<sup>15</sup> Πέραν του φυσικού ρόλου τους, τα υδροξυ κινναμικά οξέα έχουν βρει και πολλές άλλες χρήσεις. Χρησιμοποιούνται ευρέως ως αρωματικά τροφής,<sup>16</sup> ενώ το φερουλικό οξύ επιδεικνύει φωτοπροστατευτική,<sup>17</sup> αντικαρκινική,<sup>18</sup> αντιφλεγμονώδη<sup>18</sup> και αντιμικροβιακή δράση.<sup>19</sup>

Οι μελέτες που έχουν γίνει ως τώρα πάνω στις φερουλόυλο εστεράσες αφορούσαν κυρίως στην απομόνωση τους από μικροοργανισμούς, τον καθαρισμό και χαρακτηρισμό τους, τη δραστηρότητα τους και τη βιομηχανική χρήση τους. Επίσης κρυσταλλογραφικές μελέτες που έγιναν έδειξαν ότι οι φερουλόυλο εστεράσες ανήκουν στην κατηγορία των σερινοϋδρολασών, περιέχουν τη χαρακτηριστική α/β αναδίπλωση στην τριτοταγή δομή τους και στο ενεργό τους κέντρο βρίσκεται η καταλυτική τριάδα αμινοξέων Ser/His/Asp.

Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα του μηχανισμού της δράσης του ενζύμου φαίνεται στο Σχήμα 4, όπου απεικονίζεται ο μηχανισμός υδρόλυσης εστέρων του

φερουλικού οξέος με αραβινόζη από την υπομονάδα φερουλόυλο εστεράσης της ξυλανάσης Z από το μικροοργανισμό *Clostridium thermocellum*.



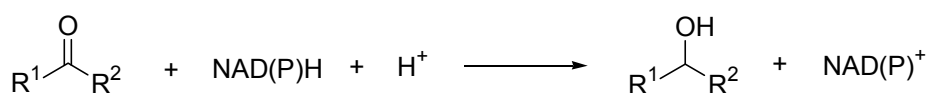
**Σχήμα 4.** Μηχανισμός υδρόλυσης εστέρα του φερουλικού οξέος από την FAE

Η κύρια χρήση της φερουλόυλο εστεράσης αρχικά ήταν η συλλογή του φερουλικού οξέος από φυτικά απόβλητα με φιλικό προς το περιβάλλον τρόπο. Ωστόσο πρόσφατα μελετήθηκε και η δράση που έχει πέραν της φυσικού ρόλου της.<sup>20,21,22</sup> Όπως έχει δειχθεί σε προηγούμενες μελέτες που έγιναν στο εργαστήριο μας, η φερουλόυλο εστεράση από το μικροοργανισμό *Humicola Insolens* είναι εξαιρετικός βιοκαταλύτης σε μη φυσικά υποστρώματα, όπως δευτεροταγείς αλκοόλες<sup>23</sup> και αμίνες,<sup>24</sup> κατά την εστεροποίηση τους σε οργανικούς διαλύτες και σε ιοντικά υγρά<sup>25</sup>.

## Κετορεδουκτάσες

Οι κετορεδουκτάσες είναι ένζυμα της οικογένειας των αφυδρογονασών/ρεδουκτασών. Ο καταλυτικός τους ρόλος είναι η αναγωγή καρβονυλο ομάδων. Τα φυσικά τους υποστρώματα είναι αλκοόλες όπως αιθανόλη, λακτικό, γλυκερόλη κ.τ.λ. καθώς και οι αντίστοιχες καρβονυλικές ενώσεις. Παρόλα

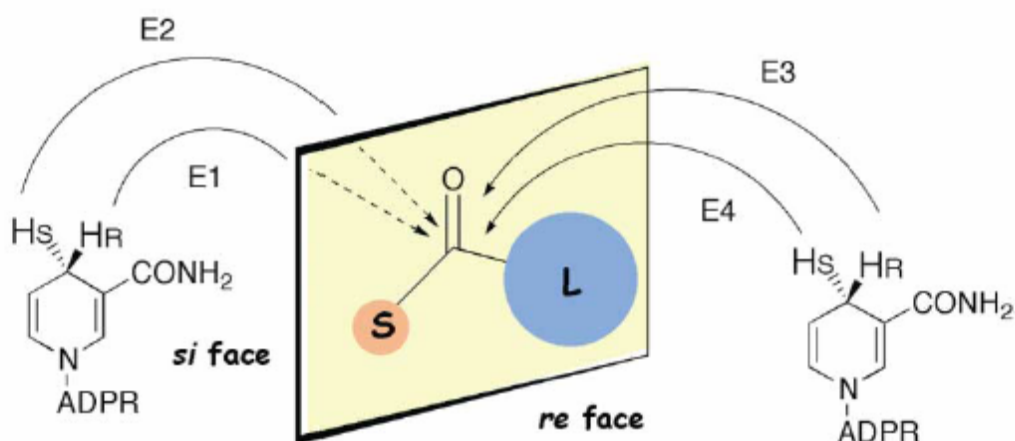
αυτά έχουν τη ικανότητα να ανάγουν εναντιοεκλεκτικά και μη φυσικά υποστρώματα. Για την πραγματοποίηση μιας αναγωγής, τα ένζυμα αυτά απαιτούν τη χρήση συνενζύμων όπως NADH ή NADPH. Η αναγωγή πραγματοποιείται με μεταφορά ενός υδριδίου στο καρβονυλικό υπόστρωμα, σύμφωνα με τη γενική αντίδραση που φαίνεται στο Σχήμα 5:



**Σχήμα 5.** Γενική αντίδραση αναγωγής με τις κετορεδοκτάσες.

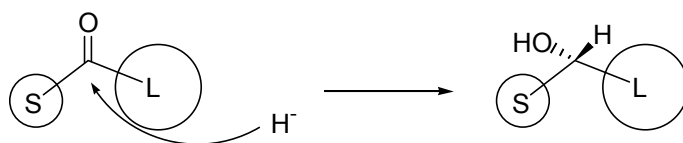
Με τη χρήση των αφυδρογονασών και των κετορεδοκτασών έχει συντεθεί μια πληθώρα οπτικά ενεργών δευτεροταγών αλκοολών με εξαιρετική οπτική καθαρότητα.

Υπάρχουν τέσσερις κατηγορίες ενζύμων που ενεργοποιούν την προσβολή του υδριδίου από το συνένζυμο NAD(P)H στο υπόστρωμα (Σχήμα 6).<sup>26</sup> Υπάρχουν τα ένζυμα τύπου E1 και E2, με τα οποία η προσβολή του υδριδίου γίνεται από την *si*-επιφάνεια της καρβονυλομάδας και τα τύπου E3 και E4, με τα οποία η προσβολή γίνεται από την *re*-επιφάνεια, προκύπτοντας αντίστοιχα οι (*R*) και (*S*) αλκοόλες. Μηχανιστικά τα ένζυμα τύπου E1 και E3 μεταφέρουν το *pro*-(*R*)-υδρίδιο του συνενζύμου, ενώ τα τύπου E2 και E4 χρησιμοποιούν το *pro*-(*S*)-υδρίδιο.



**Σχήμα 6.** Αναγωγή καρβονυλίου από NADH.

Στις περισσότερες περιπτώσεις των αφυδρογονασών, η στεreoχημεία του προϊόντος της αντίδρασης μπορεί να προβλεφθεί από ένα απλό μοντέλο, αναφερόμενο σαν “κανόνας του Prelog”. Σύμφωνα με τον κανόνα αυτό η αφυδρογονάση μεταφέρει το υδρίδιο από την re-επιφάνεια της προχειρόμορφης κετόνης. Το αποτέλεσμα της αναγωγής με ένα ένζυμο που υπακούει στον κανόνα του Prelog είναι ο σχηματισμός της (S) αλκοόλης (Σχήμα 7).



*Σχήμα 7. Κανόνας του Prelog*

Οι πλειοψηφία των αφυδρογονασών υπακούει στον κανόνα του Prelog (Prelog ένζυμα) παράγοντας (S) αλκοόλες, ενώ ελάχιστα είναι τα ένζυμα με αντίθετη εκλεκτικότητα (anti-Prelog ένζυμα). Αυτό σημαίνει ότι οι περισσότερες κετορεδουκτάσες ανήκουν στην κατηγορία E3. Φυσικά σε κάθε περίπτωση, για την πραγματοποίηση μιας ενζυμικής αντίδρασης αναγωγής, είναι απαραίτητη η ύπαρξη συνενζύμου NADH ή NADPH.

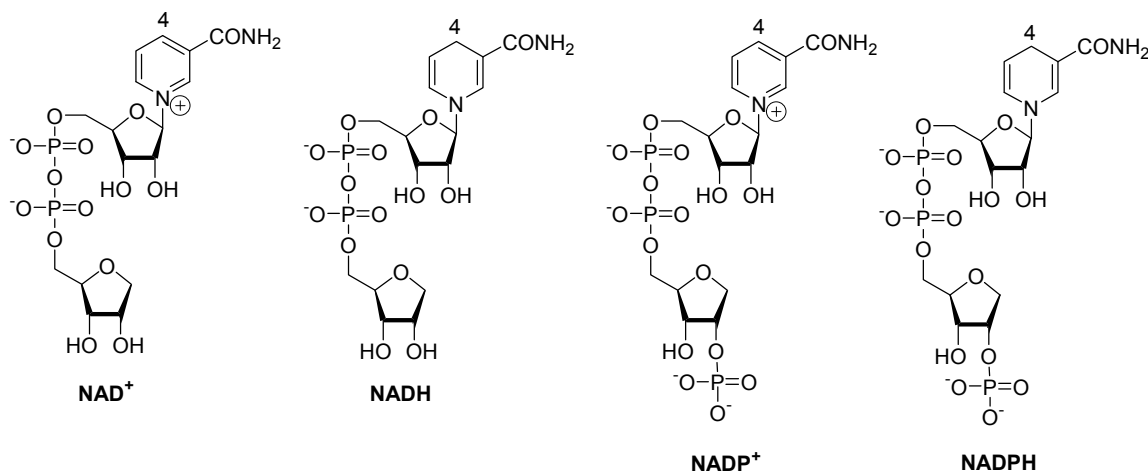
### **Νικοτιναμιδική Συμπαράγοντες**

Το νικοτιναμιδο αδενινο δινουκλεοτίδιο (NAD<sup>+</sup>) και το 2'-φωσφορυλιωμένο άλας (NADP<sup>+</sup>) (Σχήμα 8) συμμετέχουν σε πολλές οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις καταλυόμενες από αφυδρογονάσες. Ο νικοτιναμιδικός δακτύλιος των ενώσεων αυτών είναι οξειδοαναγωγικά ενεργός, μπορώντας να δεχτεί ένα υδρίδιο (ή δυο ηλεκτρόνια και ένα πρωτόνιο) για το σχηματισμό των υδρογονωμένων παραγώγων NADH και NADPH. Η αντίστροφη μεταφορά υδριδίου από ένα αναγωγικό υπόστρωμα στο NAD(P)<sup>+</sup>, και αυτή από το NAD(P)H σε ένα οξειδωτικό, είναι στερεοεκλεκτική και χαρακτηριστική για κάθε ένζυμο ξεχωριστά. Κάθε ένζυμο είναι ικανό να μεταφέρει στερεοεκλεκτικά ένα από τα διαστεροτοπικά υδρογόνα που βρίσκονται στη θέση C-4 του NAD(P)H σε μια καρβονυλομάδα ενός υποστρώματος.<sup>27</sup>

Η ανηγμένη και η οξειδωμένη μορφή των νικοτιναμιδικών συμπαραγόντων είναι και οι δυο αποικοδομίσιμες σε υδατικά διαλύματα. Γενικά οι ανηγμένες μορφές



είναι σταθερές σε βασικά διαλύματα, αλλά ασταθείς σε όξινα, σε αντίθεση με τις οξειδωμένες μορφές που είναι σταθερές σε όξινα διαλύματα και ασταθείς σε βασικά.<sup>28</sup> Γι' αυτό οι ενζυμικές αντιδράσεις πραγματοποιούνται συνήθως σε pH περίπου 7, σε μια ενδιάμεση δηλαδή τιμή σταθερότητας.



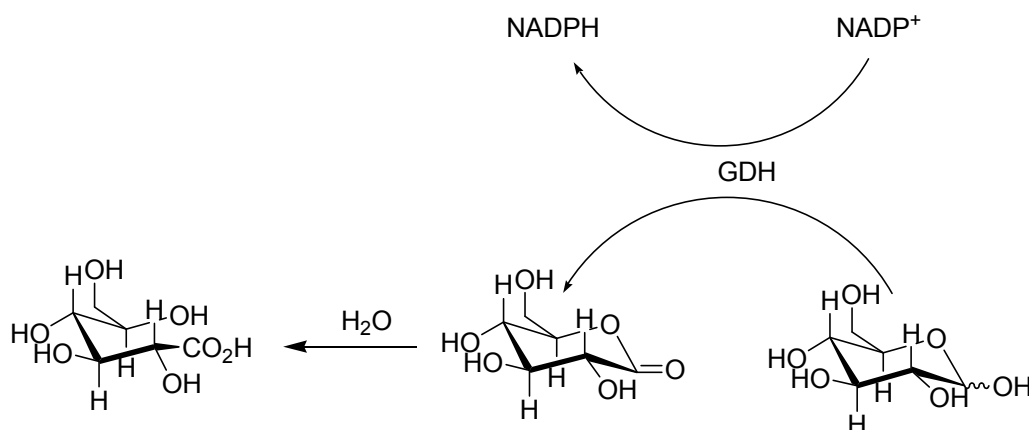
**Σχήμα 8.** Νικοτιναμιδικοί Συμπαράγοντες.

Σε ανόργανα ρυθμιστικά διαλύματα οι χρόνοι ζωής των συνενζύμων είναι περιορισμένοι. Οι χρόνοι ημιζωής για το NADH και το NADPH σε 0,1M φωσφορικό νάτριο, σε pH 7.0, 25 °C είναι 27 και 13 ώρες αντίστοιχα. Σε οργανικά όμως ρυθμιστικά διαλύματα, οι χρόνοι ζωής είναι αρκετά αυξημένοι.

Τα συνένζυμα είναι ενώσεις εμπορικά διαθέσιμες εδώ και πολλά χρόνια. Παρόλα αυτά το κόστος τους είναι αρκετά υψηλό και για αυτό το λόγο απαιτούνται τρόποι αντιμετώπισης του προβλήματος αυτού. Ένας τέτοιος τρόπος είναι τα συστήματα αναγέννησης των συνενζύμων.<sup>29</sup>

Για να είναι μια μέθοδος αναγέννησης συνενζύμων αποτελεσματική θα πρέπει να είναι αρκετά εκλεκτική ως προς το υπόστρωμα, σε σχέση με την επιθυμητή ενζυμική αντίδραση, και να έχει την ικανότητα να ανακυκλώνει τον συμπαράγοντα  $10^2 - 10^5$  φορές. Προς το παρόν, μόνο η ενζυμική κατάλυση παρέχει τέτοια μεγάλη εκλεκτικότητα για την αναγωγή του  $\text{NAD(P)}^+$  σε  $\text{NAD(P)H}$ . Το μόνο μειονέκτημα των ενζυμικών ανακυκλώσεων είναι η δαπάνη και η περιορισμένη σταθερότητα των ενζύμων. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα συστήματος αναγέννησης συνενζύμου, το οποίο χρησιμοποιήθηκε και στην παρούσα εργασία ήταν το σύστημα γλυκόζη/αφυδρογονάση της γλυκόζης (GDH) (Σχήμα 9).<sup>30</sup>

Με τη χρήση των συστημάτων ανακύκλωσης των νικοτιναμδικών συνενζύμων το κόστος των ενζυμικών αναγωγών έχει μειωθεί σημαντικά. Έτσι η χρήση των κετορεδουκτασών στην ασύμμετρη σύνθεση έχει αυξηθεί κατά πολύ τα τελευταία χρόνια συμβάλλοντας ουσιαστικά στη σύνθεση πολύτιμων χειρόμορφων ενδιάμεσων και βιολογικά δραστικών ενώσεων.

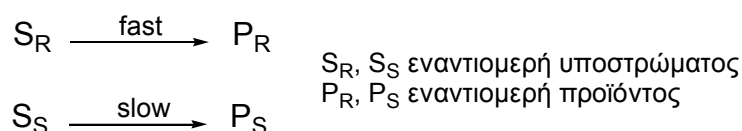


**Σχήμα 9.** Ανακυκλωτικό σύστημα Γλυκόζη/Αφυδρογονάση της Γλυκόζης για NAD(P)H

### Κινητικός και Δυναμικός Κινητικός Διαχωρισμός

Η επίτευξη της σύνθεσης οπτικά καθαρών χειρόμορφων ενώσεων είναι εξαιρετικά σημαντική, ιδιαίτερα στη βιομηχανία φαρμάκων. Καθώς η αλλαγή της στεreoχημείας σε ένα μόνο στερεοκέντρο μπορεί να επιφέρει δραματικές αλλαγές στη βιολογική δράση ενός μορίου, είναι ευκολονόητο ότι η οπτική καθαρότητα είναι κύριο ζητούμενο στην παραγωγή μιας βιολογικά δραστικής ένωσης. Αν και η ασύμμετρη σύνθεση αναπτύσσεται συνεχώς και δίνει αρκετές λύσεις σε αυτό το πρόβλημα, ωστόσο ο διαχωρισμός των ρακεμικών μιγμάτων παραμένει ο σημαντικότερος βιομηχανικός στόχος για τη παραγωγή εναντιομερικά καθαρών ενώσεων. Μια από τις σημαντικότερες μεθόδους διαχωρισμού εναντιομερών ουσιών είναι ο Κινητικός Διαχωρισμός.

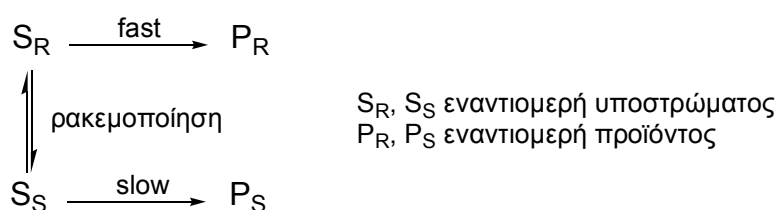
Ο Κινητικός Διαχωρισμός ορίζεται ως η διαδικασία κατά την οποία δυο εναντιομερή ενός ρακεμικού μίγματος μετατρέπονται σε προϊόντα με διαφορετική ταχύτητα (Σχήμα 10). Αν η διαφορά στην ταχύτητα είναι σημαντική, τότε ένα από τα δύο εναντιομερή του μίγματος μετατρέπεται στο επιθυμητό προϊόν ενώ το άλλο παραμένει πρακτικά αμετάβλητο.



**Σχήμα 10.** Κινητικός Διαχωρισμός

Τα κυριότερα μειονεκτήματα της μεθόδου αυτής είναι ότι η θεωρητική απόδοση περιορίζεται στο 50%, αφού στην ιδανική περίπτωση θα αντιδράσει το μόνο ένα εκ των δυο εναντιομερών του ρακεμικού μίγματος, ενώ επιπλέον απαιτείται μέθοδος εργαστηριακού διαχωρισμού του προϊόντος από το υπόστρωμα που δεν αντέδρασε.

Τη λύση στα παραπάνω προβλήματα προσέφερε η ανάπτυξη της μεθόδου του Δυναμικού Κινητικού Διαχωρισμού. Ο δυναμικός κινητικός διαχωρισμός (ΔΚΔ) είναι μια μέθοδος η οποία συνδυάζει αποτελεσματικά το στάδιο διαχωρισμού του κινητικού διαχωρισμού, με την ισορροπία ή ρακεμοποίηση του αρχικού χειρόμορφου υποστρώματος, με αποτέλεσμα την παραγωγή του εναντιομερικά καθαρού προϊόντος σε ικανοποιητική απόδοση (Σχήμα 11). Με αυτόν τον τρόπο όλα τα υποστρώματα μπορούν να μετατραπούν σε ένα μοναδικό εναντιομερές προϊόν με θεωρητική απόδοση 100%. Η ρακεμοποίηση του υποστρώματος μπορεί να επιτευχθεί με χημικό ή βιοκαταλυτικό τρόπο ή και αυθόρμητα.

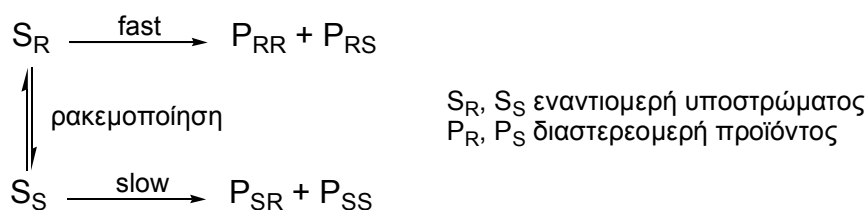


**Σχήμα 11.** Δυναμικός Κινητικός Διαχωρισμός

Όταν η αντίδραση προχωρά με τη δημιουργία ενός καινούριου στερεογονικού κέντρου, είναι πιθανή η στερεοεκλεκτική σύνθεση του ενός διαστερομερούς (Σχήμα 12).

Η ικανότητα των ενζύμων να διακρίνουν τα δυο εναντιομερή ενός ρακεμικού μίγματος, χάρη στο χειρόμορφο ενεργό κέντρο τους, τα καθιστά ικανότατα μέσα

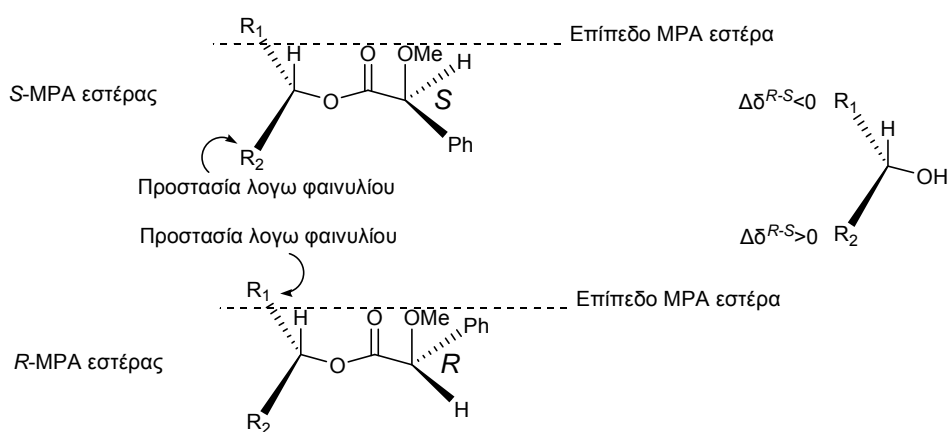
εργαλεία τόσο για τον Κινητικό Διαχωρισμό όσο και για τον Δυναμικό Κινητικό Διαχωρισμό ρακεμικών μιγμάτων.



**Σχήμα 12.** Δυναμικός Κινητικός Διαχωρισμός διαστερομερών

### Προσδιορισμός απόλυτης στερεοδομής

Ο προσδιορισμός της απόλυτης στερεοδομής των οργανικών ενώσεων βασίζεται ολοένα και περισσότερο σε απλές και αξιόπιστες μεθόδους. Η κλαστική μέθοδος ανισοτροπίας, την οποία εισήγαγαν και αξιοποίησαν οι Dale και Mosher,<sup>31</sup> ο Trost και οι συνεργάτες του<sup>32</sup> και άλλοι,<sup>33</sup> συνεχίζει να αποτελεί την απλούστερη και πιο αξιόπιστη μέθοδο για τον προσδιορισμό της απόλυτης στερεοδομής δευτεροταγών αλκοολών. Η μέθοδος αυτή βασίζεται στη σύγκριση των χημικών μετατοπίσεων (στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR) των δυο διαστερομερών εστέρων οι οποίοι προκύπτουν με παραγοντοποίηση της αλκοόλης με τα δυο εναντιομερή ενός χειρόμορφου αντιδραστήριου ανισοτροπίας, όπως το MTPA ή MPA.<sup>31,33</sup>



**Σχήμα 13.** Μοντέλο διαμόρφωσης για τους (R)-MPA και (S)-MPA εστέρες των δευτεροταγών αλκοολών.

Έχουν προταθεί διάφορα μοντέλα διαμόρφωσης για διάφορα χειρόμορφα αντιδραστήρια ανισοτροπίας που να εξηγούν τα φάσματα <sup>1</sup>H NMR και να προβλέπουν την απόλυτη στερεοχημεία των ενώσεων. Το χειρόμορφο αντιδραστήριο

που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία ήταν το α-μεθοξυ φαινυλοξικό οξύ (MPA). Το μοντέλο διαμόρφωσης που προτείνεται για το αντιδραστήριο αυτό φαίνεται στο Σχήμα 13.

Όπως φαίνεται στο Σχήμα 13, μετά την εστεροποίηση της δευτεροταγούς αλκοόλης και με τα δυο εναντιομερή του MPA, η διαμόρφωση των MPA-εστέρων βρίσκει το υδρογόνο της αλκοόλης, το καρβονύλιο και την μεθόξυ ομάδα στο ίδιο επίπεδο. Αυτό σημαίνει ότι κάθε ομάδα της αλκοόλης ( $R_1$ ,  $R_2$ ) έχει απέναντί της ένα συγκεκριμένο υποκαταστάτη, είτε υδρογόνο, είτε φαινύλιο. Για παράδειγμα η ομάδα  $R_1$  του (*R*)-MPA εστέρα έχει απέναντι ένα φαινύλιο, ενώ η  $R_2$  ένα υδρογόνο. Αντιθέτως η ομάδα  $R_1$  του (*S*)-MPA εστέρα έχει απέναντι ένα υδρογόνο, ενώ η  $R_2$  ένα φαινύλιο.

Γενικά οι ομάδες οι οποίες είναι εκλειπτικές ως προς το φαινύλιο εμφανίζονται σε υψηλότερα πεδία στο φάσμα  $^1\text{H}$  NMR, λόγω προστασίας. Έτσι στη συγκεκριμένη περίπτωση, η ομάδα  $R_1$  του (*R*)-MPA εστέρα, λόγω του φαινυλίου, εμφανίζεται σε υψηλότερα πεδία (χαμηλότερα ppm) σε σχέση με την αντίστοιχη του (*S*)-MPA εστέρα. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα η διαφορά στις μετατοπίσεις στο φάσμα  $^1\text{H}$  NMR για την ομάδα  $R_1$  μεταξύ του (*R*)-MPA και του (*S*)-MPA εστέρα να είναι αρνητική ( $\Delta\delta^{R-S} < 0$ ).

Αντιθέτως για την ομάδα  $R_2$ , στον (*S*)-MPA εστέρα, λόγω του φαινυλίου, εμφανίζεται σε υψηλότερα πεδία σε σχέση με την αντίστοιχη του (*R*)-MPA εστέρα. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα η διαφορά στις μετατοπίσεις για την ομάδα  $R_2$  μεταξύ του (*R*)-MPA και του (*S*)-MPA εστέρα να είναι θετική ( $\Delta\delta^{R-S} > 0$ ). Εξαιτίας των διαφοροποιήσεων αυτών στο φάσμα  $^1\text{H}$  NMR μεταξύ του (*R*)-MPA και του (*S*)-MPA εστέρα είναι δυνατός ο προσδιορισμός της απόλυτης στερεοχημείας των δευτεροταγών αλκοολών.

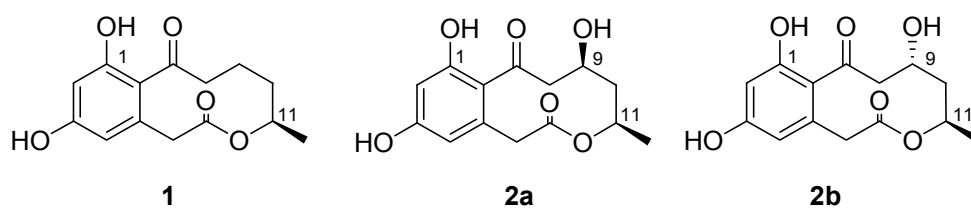
Η μέθοδος αποδείχτηκε ικανοποιητική για τις ενώσεις που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία, καθώς όλες οι κορυφές και οι διαφορές στις μετατοπίσεις ήταν ευδιάκριτες. Επίσης οι διαφορές στις μετατοπίσεις των κορυφών ανάμεσα στα δυο φάσματα δεν παρουσίασαν οποιαδήποτε απόκλιση από το μοντέλο. Εκτός της αξιοπιστίας και της αποτελεσματικότητας της μεθόδου αυτής, σημαντικά πλεονεκτήματα της είναι και η ευκολία και η ταχύτητα της. Όλα αυτά την καθιστούν ένα εξαιρετικό εργαλείο για τον προσδιορισμό της απόλυτης στερεοχημείας χειρόμορφων δευτεροταγών αλκοολών.

# **XESTODECALACTONES**

# XESTODECALACTONES

Στο πλαίσιο της αναζήτησης νέων βιολογικά ενεργών μορίων πολλοί θαλάσσιοι οργανισμοί έχουν απομονωθεί και μελετηθεί, καθώς βιοσυνθέτουν ένα μεγάλο πλήθος ουσιών με μεγάλο ενδιαφέρον. Πάνω από 800 μικροοργανισμοί έχουν απομονωθεί από θαλάσσια είδη, εκ των οποίων τα μισά ανήκουν στην κατηγορία των μύκητων.<sup>34,35,36</sup> Οι μύκητες από σπόγγους που περιέχουν κυτταροτοξικούς μεταβολίτες έχουν προσελκύσει το ενδιαφέρον αρκετών ερευνητικών ομάδων στην προσπάθεια εύρεσης νέων φαρμακευτικών ουσιών, σε πολύ μεγαλύτερο βαθμό από αυτούς των μονοκύτταρων οργανισμών.<sup>37,38,39</sup> Τα μακρολίδια αποτελούν μια κατηγορία ουσιών που αποτελούν ενδιαφέροντες ερευνητικούς στόχους λόγω της ευέλικτης διαμόρφωσης του δακτυλίου τους και των αντιβιοτικών τους ιδιοτήτων,<sup>40</sup> ενώ έχουν αναφερθεί ορισμένα μακρολίδια ως κυτταροτοξικά και πιθανά αντικαρκινικά.<sup>41,42</sup>

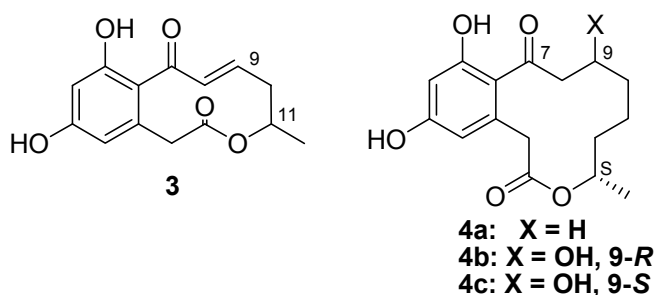
Πρόσφατα, από το μύκητα *Penicillium cf. montanense* του σπόγγου *Xestospongia exigua*, απομονώθηκε μια σειρά από δευτερογενείς μεταβολίτες που ονομάστηκαν Xestodecalactones A, B και C. (Σχήμα 1) Η δομή και η σχετική στεreoχημεία τους προσδιορίστηκε, ενώ οι μελέτες βιολογικής δραστηριότητας έδειξαν ότι η Xestodecalactone B είναι ενεργή έναντι του μύκητα *Candida Albicans*.<sup>43</sup>



**Σχήμα 1.** Δομή των Xestodecalactones A (1), B (2a), C(2b)

Τα ιδιαίτερα δομικά χαρακτηριστικά των μορίων αυτών είναι ο δεκαμελής λακτονικός δακτύλιος που είναι ενωμένος με ένα βενζολικό, και το μεθύλιο με *R* στεreoχημεία στον C-11. Όπως φαίνεται και στο σχήμα, τα τρία μόρια είναι παρόμοια, με μόνη διαφορά τη στεreoχημεία του υδροξυλίου στον C-9 στις B και C, το οποίο απουσιάζει στην A.

Δομικά, οι Xestodecalactones, είναι παρεμφερή μόρια με ορισμένα φυσικά προϊόντα που έχουν απομονωθεί από μύκητες της στεριάς, όπως η sporostatin<sup>44</sup> και οι curvularins,<sup>45,46,47,48</sup> τα οποία επίσης έχουν ενδιαφέρουσα βιολογική δραστηριότητα. (Σχήμα 2) Η δομή τους περιλαμβάνει επίσης ένα λακτονικό δακτύλιο συνδεδεμένο με ένα 1,3-υδροξύ-βενζολικό δακτύλιο, στις curvularins ο δακτύλιος είναι δωδεκαμελής, ενώ η sporostatin έχει ένα διπλό δεσμό στον C-9, όπου οι Xestodecalactones B, C έχουν την υδροξυλομάδα. Αξιοσημείωτο επίσης είναι ότι η στεροχημεία του μεθυλίου στο C-13 των curvularins είναι *S* αντί *R* του αντίστοιχου C-11 στις Xestodecalactones, ενώ η στεροχημεία του μεθυλίου της sporostatin δεν έχει προσδιοριστεί ακόμη.



**Σχήμα 2.** Δομή των sporostatin (3) curvularins (4, 5a, 5b)

Η πρώτη σύνθεση που αναφέρθηκε για τις Xestodecalactones, οπότε και έγινε και ο προσδιορισμός της απόλυτης στερεοδομής των μορίων, αφορούσε την Xestodecalactone A, από τον Bringmann και τους συνεργάτες του.<sup>49</sup> Η συνθετική πορεία που ακολούθησαν ήταν ανάλογη της σύνθεσης που είχε προτείνει ο Gerlach για τη σύνθεση των curvularins.<sup>50</sup> Ακολούθησε μια διαφορετική προσέγγιση στη σύνθεση της Xestodecalactone A,<sup>51</sup> ενώ μόλις πρόσφατα αναφέρθηκε σύνθεση των Xestodecalactones B και C από τον Liang και τους συνεργάτες του.<sup>52</sup> Χαρακτηριστικό των συνθέσεων αυτών είναι η χρήση χειρόμορφων αντιδραστηρίων και πολύπλοκων συνθετικών μεθόδων για την επίτευξη της επιθυμητής στεροχημείας στα στερογονικά κέντρα του μορίου.

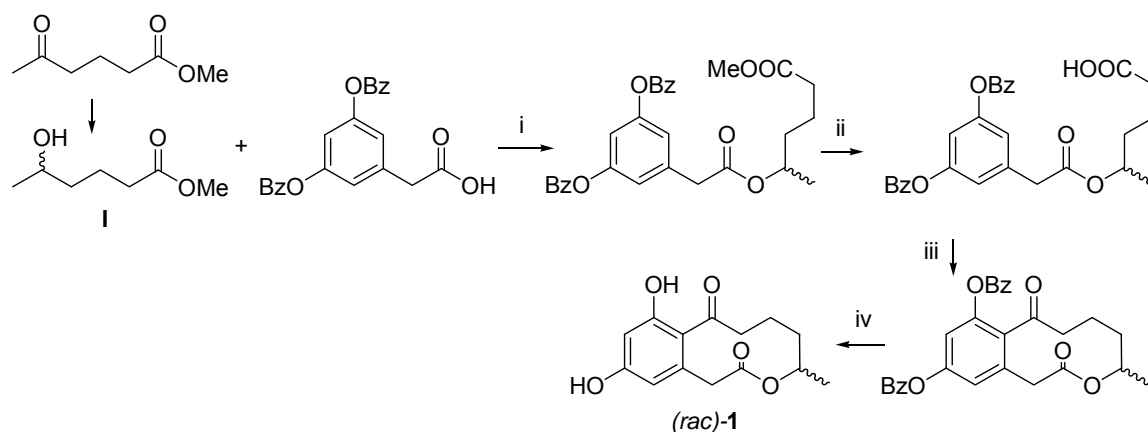
Στα πλαίσια του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης πραγματοποιήθηκε η σύνθεση των Xestodecalactones B και C με χημειοενζυμικό τρόπο.



# ΣΥΖΗΤΗΣΗ – ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

## Σχεδιασμός συνθετικής πορείας

Η συνθετική πορεία για το σχεδιασμό της Xestodecalactone A από τον Bringmann<sup>49</sup> βασίστηκε όπως προαναφέραμε στην σύνθεση των curvularines από τον Gerlach.<sup>50</sup> Το συνθετικό μονοπάτι που ακολούθησε για τη σύνθεση του μίγματος της Xestodecalactone A και με το επιμερές της φαίνεται στο Σχήμα 1. Για τη σύνθεση του καθαρού φυσικού προϊόντος παρασκευάστηκε ο (*R*)-υδροξυ-εστέρας (**I**) οπτικώς καθαρός από χειρόμορφα αντιδραστήρια.

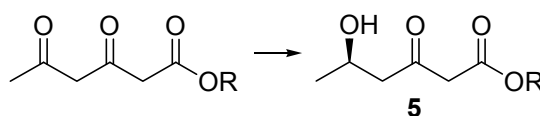


**Σχήμα 1.** Συνθετική πορεία-συνθήκες αποδόσεις: i) DCC, DMAP, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 79%, ii) NaCN, HMPA 80%, iii) TFA, TFAA, 42%. iv) Pd/C, H<sub>2</sub>, 36%

Τα μειονεκτήματα της μεθόδου είναι ότι για την παρασκευή του οπτικώς ενεργού (**I**) απαιτούνται χειρόμορφα αντιδραστήρια και επιπλέον στάδια που αυξάνουν τη δυσκολία και το κόστος της σύνθεσης, ενώ και η αποπροστασία των βενζυλόξυ ομάδων γίνεται δύσκολα και με μικρή απόδοση. Επίσης είναι δύσκολο να παρασκευαστεί οπτικώς ενεργή αντίστοιχη δομική μονάδα με την (**I**) για τη σύνθεση των Xestodecalactones B και C.

Μια τέτοια δομική μονάδα θα μπορούσε να ήταν η **4**, όπως φαίνεται στο Σχήμα 2, η οποία μπορεί να προκύψει από την αντίστοιχη κετόνη. Η αναγωγή αυτή όμως χημικά παρουσιάζει μεγάλα προβλήματα, καθώς θα πρέπει αφενός να γίνει εναντιοεκλεκτικά, και αφετέρου να μην γίνει αναγωγή και στη δεύτερη καρβονυλομάδα διότι μια αντίστοιχη εστεροποίηση όπως στη σύνθεση της

Xestodecalactone A, θα οδηγούσε σε παραπροϊόντα λόγω της συνύπαρξης δυο υδροξυλομάδων.



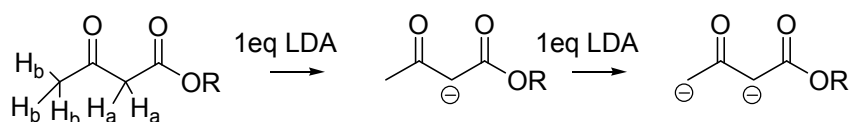
**Σχήμα 2.** Το πρόδρομο μόριο **5** για τη σύνθεση των Xestodecalactones B, C

Μια διαφορετική προσέγγιση για την σύνθεση του οπτικά ενεργού συνθετικού ενδιάμεσου **5** είναι με βιοκαταλυτικό τρόπο.

Από προηγούμενες έρευνες είναι γνωστό ότι τα αναγωγικά ένζυμα κετορεδουκτάσες καταλύουν την αναγωγή τέτοιων υποστρωμάτων χημειο-, τόπο- και εναντιοεκλεκτικά.<sup>53,54</sup> Πιο συγκεκριμένα τα ένζυμα αυτά έχουν αποδειχθεί εξαιρετικοί καταλύτες σε αναγωγές β-κετοεστέρων, 1,3-δικετονών και 1,3 υδρόξυκετονών με υψηλές αποδόσεις και άριστη εναντιοεκλεκτικότητα. Δεδομένου ότι ο συγκεκριμένος δικετοεστέρας έχει αρκετές δομικές ομοιότητες με τα υποστρώματα που έχουν μελετηθεί με τα παραπάνω ένζυμα, θα μπορούσε να αποτελέσει επίσης κατάλληλο υπόστρωμα για εκλεκτική αναγωγή. Έτσι παρασκευάστηκε με χημικό τρόπο τόσο ο δικετοεστέρας, όσο και η ρακεμική ένωση **5**, ώστε να ελεγχθεί η ενζυμική αναγωγή του δικετοεστέρα. Έχοντας τη δομική μονάδα **5** μπορεί να ακολουθηθεί μια αντίστοιχη πορεία σύνθεσης για την Xestodecalactone A, με αναγωγή της δεύτερης κετονομάδας σε επόμενο στάδιο, είτε πριν το σχηματισμό του λακτονικού δακτύλιου, είτε μετά από αυτόν.

### Σύνθεση του υποστρώματος (6)

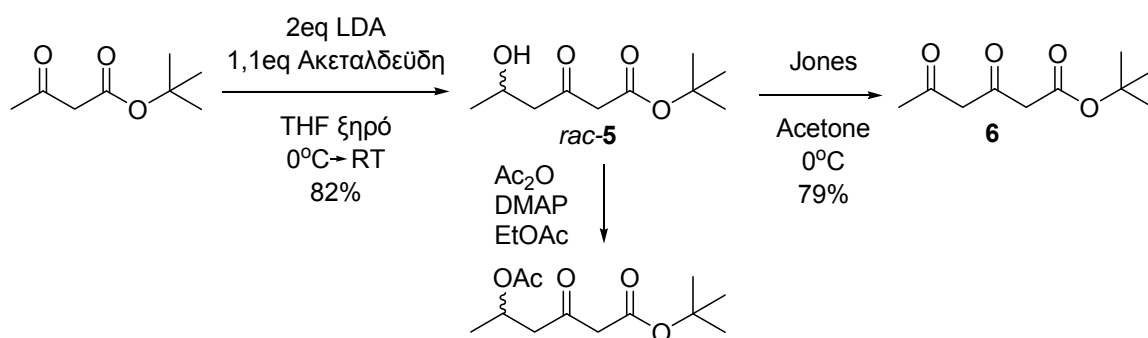
Η ρακεμική ένωση **5** μπορεί να συντεθεί με αλδολική συμπύκνωση ενός ακετο-οξικού εστέρα με ακεταλδεύδη. Αρχικά δοκιμάστηκε η σύζευξη του ακετο-οξικού αιθυλεστέρα με ακεταλδεύδη παρουσία 2 ισοδυνάμων LDA, ωστόσο όπως φάνηκε από το φάσμα <sup>1</sup>H NMR η αντίδραση δεν έδωσε το επιθυμητό προϊόν. Πιθανότατα το πρόβλημα να οφείλεται σε παράπλευρες αντιδράσεις λόγω του εσωτερικού αρνητικού φορτίου που σχηματίζεται. (Σχήμα 3)



**Σχήμα 3.** Οι όξινες θέσεις του κετοεστέρα. Τα  $H_a$  είναι πιο όξινα και σχηματίζεται πρώτα αρνητικό φορτίο στην εσωτερική όξινη θέση, γι' αυτό απαιτούνται 2 eq LDA.

Όταν χρησιμοποιήθηκε ακετο-οξικός τριτ-βουτυλεστέρας η αντίδραση προχώρησε ομαλά, και μετά από τον καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης, απομονώθηκε ο ρακεμικός υδροξυ-κετοεστέρας **5** σε ποσοστό 82% (Σχήμα 4). Ο διαχωρισμός των εναντιομερών δεν κατέστη δυνατός σε αέριο χρωματογράφο με χειρόμορφη κολώνα και χρειάστηκε να γίνει τροποποίηση του υποστρώματος. Εστεροποίηση της υδροξυ ομάδας με οξικό ανυδρίτη σε οξικό αιθυλεστέρα παρουσία ανθρακικού καλίου και διμέθυλο άμινο πυριδίνης (DMAP) έδωσε σε μικρό ποσοστό το επιθυμητό προϊόν, πιθανότατα λόγω του ότι το ανθρακικό κάλιο αποσπά το όξινο πρωτόνιο της αρχικής ένωσης. Η αντίδραση ωστόσο προχωρά ομαλά απουσία ανθρακικού καλίου και ο διαχωρισμός των δυο εναντιομερών του ακετυλεστέρα που σχηματίζεται, για τη μέτρηση της εναντιοεκλεκτικότητας των ενζυμικών αντιδράσεων, στον αέριο χρωματογράφο κατέστη δυνατός.

Στη συνέχεια με οξείδωση της ένωσης **5** με αντιδραστήριο Jones, απομονώνεται σε ποσοστό 79% ο δικετοεστέρας **6**, ο οποίος αποτελεί και το υπόστρωμα για τις ενζυμικές αντιδράσεις. Η ανάλυση στον αέριο χρωματογράφο πρότυπου μίγματος των ενώσεων **5** και **6** για τον υπολογισμό στη συνέχεια της απόδοσης των ενζυμικών αντιδράσεων που ακολούθησαν ήταν εύκολος και δεν απαιτούσε κάποια τροποποίηση των ουσιών.



**Σχήμα 4.** Χημική σύνθεση του υποστρώματος **6**

## Ενζυμική σύνθεση της οπτικά καθαρής ένωσης (R)-5

Για τον έλεγχο της ενζυμικής αναγωγής του δικετοεστέρα **6** έγινε screening σε μια σειρά κετορεδουκτασών (KREDs), με κριτήριο την ήδη δημοσιευμένη εκλεκτικότητα και εναντιοεπιλογή τους. Το επιθυμητό εναντιομερές έχει στερεοχημεία *R*, όμως οι περισσότερες αφυδρογονάσεις, ακολουθώντας τον κανόνα του Prelog, επιδεικνύουν *S* εναντιοεπιλογή. Ωστόσο σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες<sup>54</sup> οι κετορεδουκτάσες KREDs 107, A1B, A1C και A1D έδειξαν anti-Prelog εναντιοεκλεκτικότητα. Έτσι έγινε screening σε αυτά τα συγκεκριμένα ένζυμα για την αναγωγή του υποστρώματος **6**. Οι ενζυμικές αντιδράσεις σε κάθε περίπτωση πραγματοποιήθηκαν παρουσία συστήματος γλυκόζης/αφυδρογονάσης της γλυκόζης (GDH) για την ανακύκλωση του συμπαραγόντα NADPH. Σε χρόνους αντίδρασης 1h και 2h ελήφθησαν δείγματα. Αφού υπολογίστηκε η απόδοση της αντίδρασης με ανάλυση σε αέριο χρωματογράφο, τα δείγματα μετατράπηκαν στους αντίστοιχους ακετυλεστέρες και προσδιορίστηκε η εναντιοεκλεκτικότητα των αντιδράσεων με χειρόμορφη κολώνα αέριας χρωματογραφίας. Το ποσοστό μετατροπής (C) και η εναντιοεκλεκτικότητα για την κάθε ενζυμική αντίδραση παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα.

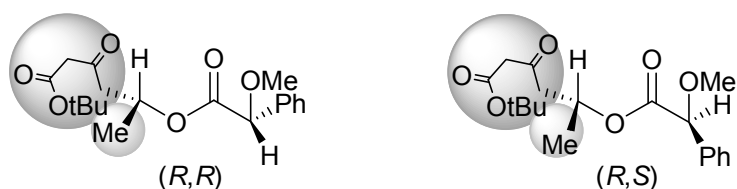
Ένζυμο	t (h)	C (%)	ee(%)
KRED – A1B	1	100	96
KRED – A1C	1	100	>99
KRED – A1D	1	100	>99
KRED – 107	2	100	94

**Πίνακας 1.** Αποτελέσματα ενζυμικής αναγωγής του δικετοεστέρα **6**

Όπως φαίνεται από τον παραπάνω πίνακα τα συγκεκριμένα ένζυμα κατέλυσαν αποτελεσματικά την αντίδραση, με άριστη εναντιοεκλεκτικότητα. Τα ένζυμα KRED 107, A1B, A1C και A1D σχηματίζουν ως κύριο προϊόν το ίδιο εναντιομερές όπως προέκυψε από τη σύγκριση των χρωματογραφημάτων τους με το χρωματογράφημα του ρακεμικού μίγματος. Για τον προσδιορισμό της απόλυτης στερεοχημείας των προϊόντων επαναλήφθηκε η ενζυμική αντίδραση σε μεγαλύτερη κλίμακα με το

ένζυμο A1D, και το προϊόν της αντίδρασης μετατράπηκε στον αντίστοιχο μεθοξυφαινυλο-οξικό εστέρα του, χρησιμοποιώντας οπτικώς καθαρά (*R*)- και (*S*)- μεθοξυφαινυλο-οξικό οξύ (MPA).<sup>33</sup> Έτσι παρασκευάστηκαν ξεχωριστά οι δυο διαστερομερείς εστέρες, από τα φάσματα <sup>1</sup>H NMR των οποίων προσδιορίζεται η απόλυτη στερεοχημεία του προϊόντος όπως περιγράφεται στη συνέχεια, σύμφωνα με τη μέθοδο που αναφέρεται στη βιβλιογραφία.<sup>33</sup>

Υποθέτοντας ότι το ένζυμο επιδεικνύει την συνηθισμένη του εναντιοεπιλογή δίνοντας το (*R*)- εναντιομερές της ένωσης **5**, μετά την εστεροποίηση με το MPA, παρασκευάστηκαν οι (*RR*)- και (*RS*)- MPA εστέρες, των οποίων η στερεοδομή φαίνεται στο Σχήμα 6.



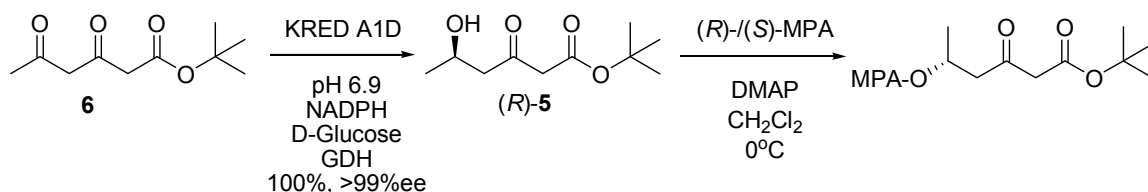
**Σχήμα 6.** Στερεοδομή των MPA-εστέρων της ένωσης (*R*)-**5**

Όπως φαίνεται στο σχήμα, στο *RS* διαστερομερές το μεθύλιο στο ασύμμετρο κέντρο έχει απέναντι του τη φαινυλομάδα του MPA η οποία το προστατεύει. Αντίθετα στο *RR* απέναντι από τη φαινυλομάδα βρίσκεται το υπόλοιπο τμήμα του μορίου. Αν η αρχική υπόθεση για τη στερεοχημεία του υδροξυλίου είναι σωστή, αναμένεται συγκρίνοντας τα δυο φάσματα <sup>1</sup>H NMR να εμφανίζεται η κορυφή των H του μεθυλίου σε υψηλότερα πεδία (χαμηλότερα ppm) στο φάσμα του *RS* σε σχέση με το (*RR*) διαστερομερές, ενώ όλες οι κορυφές των υπολοίπων υδρογόνων (εκτός από το ασύμμετρο H, και τα H του MPA φυσικά) θα εμφανίζονται σε χαμηλότερα πεδία. Πράγματι τα φάσματα <sup>1</sup>H NMR συμφωνούν απόλυτα με τα παραπάνω αποδεικνύοντας ότι η υπόθεση ότι η KRED A1B επέδειξε *R* εναντιοεπιλογή είναι ορθή. (Πίνακας 2) Κατά συνέπεια το ίδιο ισχύει και για τις KREDs A1C, A1D και 107.

H	ppm (RS)	ppm (RR)	$\Delta\delta^{RS-RR}$
CH <sub>3</sub> CH(OMPA)CH <sub>2</sub> C(O)CH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> tBu	1.157	1.279	- 0.123
CH <sub>3</sub> CH(OMPA)CH <sub>2</sub> C(O)CH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> tBu	2.736-2.859	2.628-2.746	+ 0.110
CH <sub>3</sub> CH(OMPA)CH <sub>2</sub> C(O)CH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> tBu	3.305	3.103	+ 0.202
CH <sub>3</sub> CH(OMPA)CH <sub>2</sub> C(O)CH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> tBu	1.457	1.431	+ 0.026

**Πίνακας 2.** Διαφορά μετατοπίσεων των κορυφών στα φάσματα <sup>1</sup>H NMR των διαστερεομερών MPA εστέρων του (R)-5

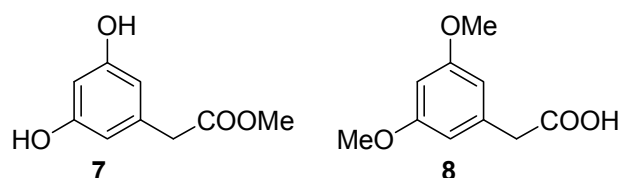
Οι συγκεκριμένες κετορεδουκτάσες λοιπόν αποτελούν κατάλληλους καταλύτες την αναγωγή του δικετοεστέρα **6**, επιδεικνύοντας άριστη δραστηριότητα και εναντιοεκλεκτικότητα. Έτσι κατέστη δυνατή η χημειοενζυμική σύνθεση του επιθυμητού εναντιομερούς σε οπτικά καθαρή μορφή. Η ενζυμική σύνθεση του επιθυμητού εναντιομερούς και η μετατροπή του σε MPA-εστέρα περιγράφονται στο Σχήμα 7.



**Σχήμα 7.** Ενζυμική σύνθεση της (R)-5 και εστεροποίηση της με MPA

## Σύνθετική πορεία για τις Xestodecalactones B και C

Έχοντας εξασφαλίσει τη στεreoχημεία του μεθυλίου του C-11 του μορίου των Xestodecalactones, το επόμενο βήμα ήταν η επιλογή του κατάλληλου οξέος για την αντίδραση εστεροποίησης, ώστε να ακολουθηθεί μια πορεία ανάλογη της σύνθεσης του Bringmann. Βρέθηκαν δυο εμπορικά διαθέσιμες ουσίες, παρεμφερείς με το 3,5-διβενζυλοξυ-φαινυλο-οξικό οξύ που χρησιμοποίησε η ομάδα του Bringmann, ο 3,5-διϋδροξυ-φαινυλο-οξικός μεθυλεστέρας και το 3,5-διμεθοξυ-φαινυλο-οξικό οξύ. (Σχήμα 8)

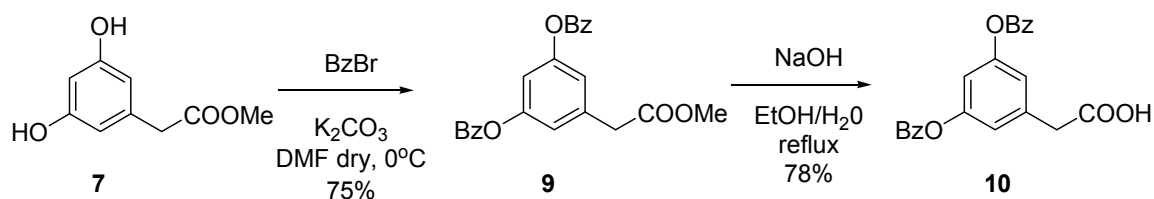


**Σχήμα 8.** 3,5-Διϋδροξυ-φαινυλο-οξικός μεθυλεστέρας και 3,5-διμεθοξυ-φαινυλο-οξικό οξύ

Επιλέχθηκε η ένωση **7** καθώς μπορεί να μετατραπεί μέσω μιας αντίδρασης προστασίας και μιας υδρόλυσης στο 3,5-διβενζυλοξυ-φαινυλο-οξικό οξύ που χρησιμοποιήθηκε και στη σύνθεση της Xestodecalactone A ώστε να ελαχιστοποιηθούν οι διαφορές ανάμεσα στις δυο συνθέσεις.

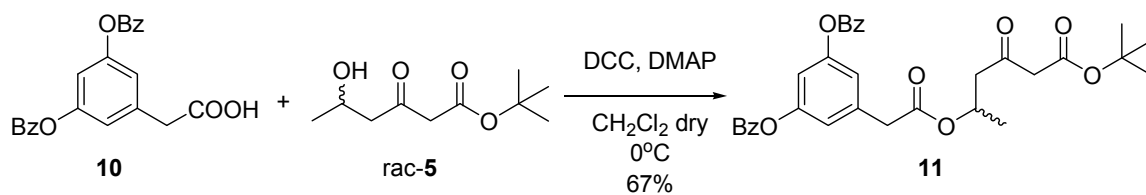
Η προσπάθεια προστασίας της **8** με βενζυλοβρωμίδιο (BzBr), παρουσία υδριδίου του νατρίου (NaH) σε ξηρό διμεθυλοφουράνιο (DMF), δεν έδωσε ικανοποιητική απόδοση λόγω της δημιουργίας παραπροϊόντος. Το NaH αποσπά ένα όξινο βενζυλικό πρωτόνιο με αποτέλεσμα να γίνεται μια ανεπιθύμητη βενζυλίωση στην θέση αυτή. Όταν ωστόσο χρησιμοποιήθηκε ανθρακικό κάλιο ( $K_2CO_3$ ) αντί του NaH το πρόβλημα ξεπεράστηκε και το επιθυμητό προϊόν **9** απομονώθηκε μετά από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης, με απόδοση 75%. Στη συνέχεια το **10** διαλύθηκε σε μίγμα αιθανόλης/νερού 1/1 και προστέθηκε καυστικό νάτριο. Μετά από βρασμό του διαλύματος απομονώθηκε το 3,5-διβενζυλοξυ-φαινυλο-οξικό οξύ (**10**) σε ποσοστό 78%. Οι αντιδράσεις περιγράφονται στο Σχήμα 9.

Έχοντας και τη δεύτερη συνθετική μονάδα **10** η συνθετική πορεία συνεχίστηκε με εστεροποίηση της **10** με τη ρακεμική **5**, ώστε να δοκιμαστούν οι αντιδράσεις με ρακεμική ουσία πριν χρησιμοποιηθεί η οπτικώς ενεργή. Η εστεροποίηση έγινε σε



**Σχήμα 9.** Σύνθεση του 3,5-διβενζυλοξυ-φαινυλο-οξικού οξέος

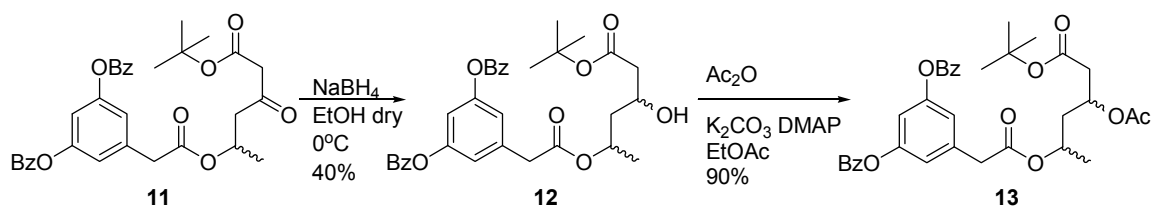
ξηρό διχλωρομεθάνιο παρουσία DMAP και DCC. Ο εστέρας **11** που προέκυψε απομονώθηκε μετά από χρωματογραφία στήλης με απόδοση 67%. (Σχήμα 10)



**Σχήμα 10.** Σύνθεση του ρακεμικού εστέρα **11**

Η προσπάθεια υδρόλυσης της τριτ-βουτυλομάδας αντίθετα με την ανάλογη αντίδραση στην σύνθεση της Xestodecalactone A παρουσίασε σημαντικά προβλήματα. Με χρήση κυανιούχου νατρίου (NaCN) σε εξαμεθυλοφωσφοραμίδιο (HMPA) και θέρμανση στους 60 °C, ο εστέρας υδρολύθηκε αλλά ακολούθησε αποκαρβοξυλίωση καθώς το σχηματιζόμενο οξύ έχει σε β θέση κετοομάδα. Προσπάθεια υδρόλυσης σε ήπιες συνθήκες με τριτ-βουτοξειδίου του καλίου (*t*BuOK) δεν προχώρησε καθόλου. Ανατρέχοντας στη βιβλιογραφία βρέθηκε ότι η τριτ-βουτυλομάδα υδρολύεται σε τριφθοροξικό οξύ σε θερμοκρασία δωματίου, δηλαδή σε συνθήκες σχεδόν όμοιες με αυτές που χρησιμοποιούνται για το επόμενο συνθετικό στάδιο.<sup>55</sup> Έτσι μια πιθανή λύση για το πρόβλημα φάνηκε να είναι η απευθείας αντίδραση της κυκλοποίησης, με τον εστέρα **11** να υδρολύεται αρχικά και στη συνέχεια να ακολουθεί η κυκλοποίηση. Η αντίδραση ωστόσο έδωσε πλήθος παραπροϊόντων και από την χρωματογραφία στήλης απομονώθηκαν μόνο προϊόντα διάσπασης.

Καθώς η καρβονυλομάδα σε β θέση προς τον εστέρα φαίνεται να δημιουργεί αρκετά προβλήματα δοκιμάστηκε η τροποποίησή της πριν το στάδιο της κυκλοποίησης. Αναγωγή με βοροϋδρίδιο του νατρίου (NaBH<sub>4</sub>) σε ξηρή αιθανόλη έδωσε την ένωση **12** με απόδοση 40% και ακολούθησε εστεροποίηση προς τον αντίστοιχο ακετυλεστέρα **13** με απόδοση 90%. (Σχήμα 11) Ωστόσο η προσπάθεια κυκλοποίησης και πάλι απέτυχε δίδοντας παραπροϊόντα διάσπασης.



**Σχήμα 11.** Σύνθεση των τεσσάρων διαστερομερών της ένωσης **13**



Σύμφωνα με μια πρόσφατη δημοσίευση της σύνθεσης των Xestodecalactones B, C από την ερευνητική ομάδα του Liang<sup>52</sup> σαν αρχική ένωση χρησιμοποιήθηκε αντί το 3,5-διβενζυλοξυ-φαινυλο-οξικό οξύ το 3,5-διμεθοξυ-φαινυλο-οξικό οξύ. Στην παραπάνω συνθετική πορεία επίσης χρησιμοποιήθηκε καρβοξυλικό οξύ αντί τριτ-βουτυλεστέρα. Ωστόσο η αντίδραση κυκλοποίησης αναφέρθηκε ότι προχωράει ομαλά με την αναμενόμενη απόδοση (~40%) και έτσι αποφασίστηκε να δοκιμαστεί η πορεία με τις υδροξυλομάδες του βενζολικού δακτυλίου προστατευμένες εξαρχής με μεθόξυ ομάδα.

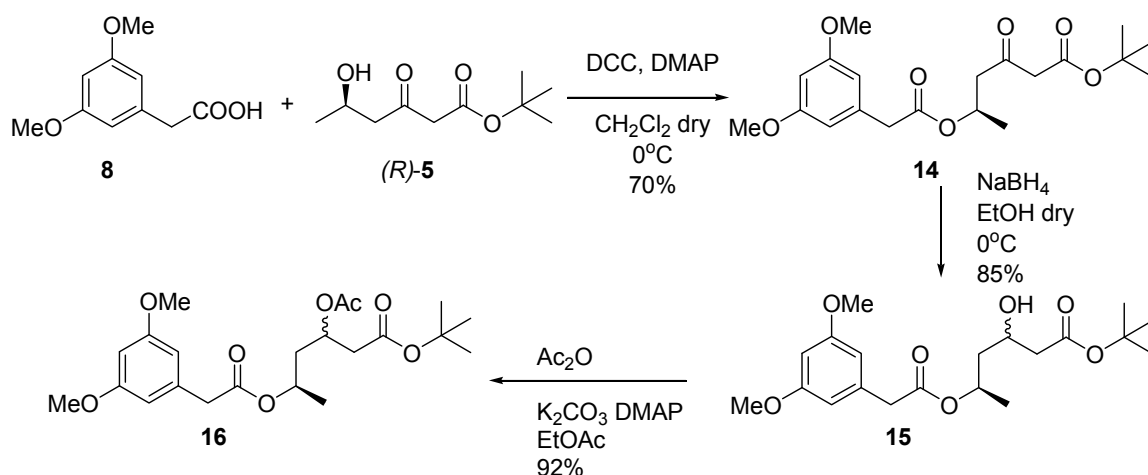
Το επιπλέον πλεονέκτημα της σύνθεσης αυτής είναι ότι το 3,5-διμεθοξυ-φαινυλο-οξικό οξύ είναι, όπως αναφέρθηκε στην αρχή εμπορικά διαθέσιμο, και έτσι η πορεία μειώνεται κατά δυο στάδια (προστασίας, υδρόλυσης). Επίσης το κόστος του είναι το ίδιο με του 3,5-διυδροξυ-φαινυλο-οξικός μεθυλεστέρα που επιλέχθηκε αρχικά ενώ δεν υπάρχουν και οι απώλειες από τις αντιδράσεις για τη μετατροπή του (μείωση στο 58.5% λόγω απωλειών στις δυο αντιδράσεις).

Η συνθετική πορεία που αναφέρεται στη συνέχεια αφορά την σύνθεση με τη οπτικώς ενεργή ένωση (*R*)-**5**. Ωστόσο, πρέπει να αναφερθεί ότι όλες οι επόμενες αντιδράσεις πραγματοποιήθηκαν αρχικά με τη ρακεμική ένωση **5**.

Τα φάσματα <sup>1</sup>H και <sup>13</sup>C NMR που προέκυψαν από τις αντίστοιχες αντιδράσεις ήταν όμοια. Μέχρι τη δημιουργία του δεύτερου στερεογονικού κέντρου τα δυο εναντιομερή από το ρακεμικό αρχικό μόριο δε διαχωρίζονται στη φασματοσκοπία NMR, ενώ μετά τη δημιουργία του δεύτερου στερεογονικού κέντρου και στις δυο περιπτώσεις εμφανίζονται δυο διαστερομερή. Στην περίπτωση που χρησιμοποιήθηκε το (*R*)-**5**, η αναγωγή με NaBH<sub>4</sub> οδηγεί σε δυο διαστερομερή, με μια μικρή διαστεροεκλεκτικότητα, όπως φαίνεται από το φάσμα <sup>1</sup>H NMR, λόγω της ύπαρξης ενός στερεογονικού κέντρου στο μόριο. Στις αντιδράσεις με τη ρακεμική ένωση **5**, μετά την αναγωγή με NaBH<sub>4</sub> λαμβάνονται 4 στερεοϊσομερή τα οποία ωστόσο είναι ανά δυο εναντιομερή μεταξύ τους, οπότε πάλι ξεχωρίζουν δυο προϊόντα στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR, ενώ και πάλι παρατηρείται μια ανάλογη διαστεροεκλεκτικότητα.

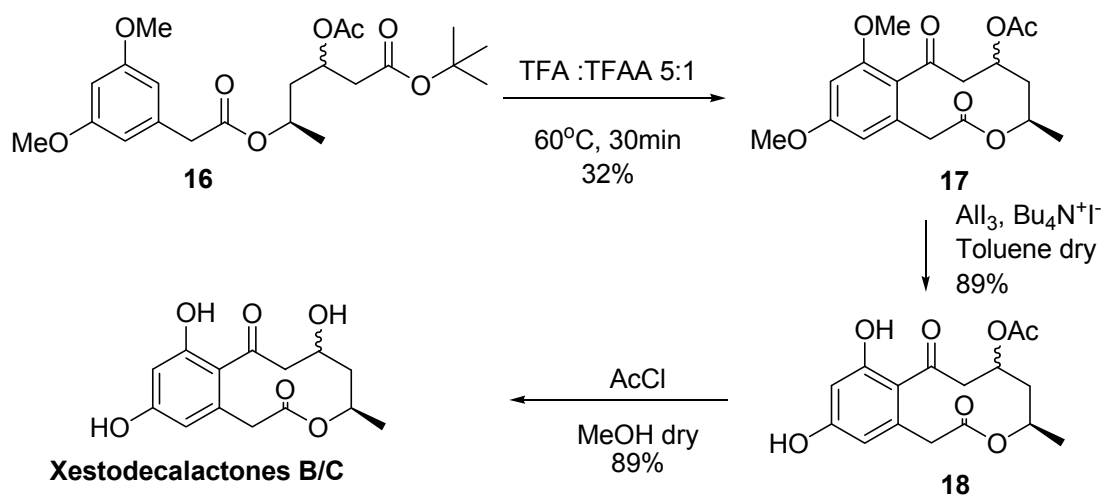
Έτσι με την εστεροποίηση του εμπορικά διαθέσιμου οξέος **9** με τον υδροξυκετοεστέρα (*R*)-**5** παρουσία DCC και DMAP σε ξηρό CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> και καθαρισμό του προϊόντος με χρωματογραφία στήλης ελήφθη η ένωση **14**, με απόδοση 70%. Αναγωγή της ένωσης **14** με NaBH<sub>4</sub> δίνει μίγμα των δυο διαστερομερών της ένωσης **15** με απόδοση 85% και διαστεροεκλεκτικότητα 26%. Η εστεροποίηση στην

υδροξυλομάδα που πραγματοποιείται με  $\text{Ac}_2\text{O}$  παρουσία  $\text{K}_2\text{CO}_3$  και DMAP σε EtOAc προχωράει χωρίς προβλήματα δίδοντας την ένωση **16**. (Σχήμα 12)



**Σχήμα 12.** Συνθετική πορεία από τις ενώσεις **8** και **(R)-5** ως την **16**

Όταν η **16** διαλύθηκε σε μίγμα τριφθοροξικού οξέος (TFA) και τριφθοροξικού ανυδρίτη (TFAA) 5:1 και παρέμεινε στους  $60^\circ\text{C}$  για 30 λεπτά, το επιθυμητό προϊόν κυκλοποίησης **17** απομονώθηκε μετά απο χρωματογραφία στήλης σαν αφρώδες στερεό με απόδοση 32%. Στη συνέχεια ακολούθησε αποπροστασία των μεθοξυομάδων του **17** με ιωδιούχο αργίλιο και τετραβουτυλοαμμώνιο ιωδίδιο σε ξηρό τολουόλιο. Το αποπροστατευμένο προϊόν **18** απομονώνεται μετά απο χρωματογραφία στήλης, με απόδοση αντίδρασης 89%.



**Σχήμα 13.** Πορεία σύνθεσης των φυσικών προϊόντων Xestodecalactones B,C από την πρόδρομη ένωση **16**

Τέλος ακολούθησε αποπροστασία της ακετυλομάδας με παρουσία ακετυλοχλωριδίου σε ξηρή μεθανόλη. Μετά από καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης ελήφθη το μίγμα των φυσικών προϊόντων Xestodecalactones B και C 1:1 (Σχήμα 13).

Η παραπάνω σύνθεση παρουσιάζει ορισμένα σημαντικά πλεονεκτήματα, ενώ έχει και αρκετά περιθώρια. Το κυριότερο πλεονέκτημα είναι ότι η επίτευξη της επιθυμητής στερεοχημείας του μεθυλίου γίνεται πολύ εύκολα σε ένα ενζυμικό στάδιο, ενώ το υπόστρωμα της ενζυμικής αντίδρασης παρασκευάζεται από απλές αρχικές ουσίες σε δυο στάδια με καλές αποδόσεις. Έτσι αποφεύγονται τα πολλαπλά στάδια και τα χειρόμορφα μόρια που χρησιμοποιούνται στις άλλες συνθέσεις που αναφέρθηκαν. Ένα άλλο πλεονέκτημα της μεθόδου είναι πως εκτός από την αντίδραση κυκλοποίησης στην οποία δεν έχει επιτευχθεί ακόμη κάποια ιδιαίτερα καλή απόδοση, οι υπόλοιπες αντιδράσεις προχωρούν αρκετά ομαλά και με σχετικά καλές αποδόσεις (>80%). Η μειωμένη απόδοση της αντίδρασης κυκλοποίησης σε σχέση με τις άλλες συνθέσεις ισοσταθμίζεται με την σύγχρονη υδρόλυση του εστέρα στην ίδια αντίδραση, καθώς στις άλλες συνθέσεις αποτελεί ξεχωριστό στάδιο. Συνολικά οι αντιδράσεις που απαιτούνται είναι λιγότερες και το κόστος της σύνθεσης χαμηλότερο.

Ωστόσο στη σύνθεση αυτή ελέγχεται η στερεοχημεία μόνο στο ένα χειρόμορφο κέντρο με αποτέλεσμα από την συγκεκριμένη πορεία να λαμβάνεται ένα μίγμα των δυο φυσικών προϊόντων. Είναι γνωστό από τη βιβλιογραφία ότι υπάρχουν αντιδραστήρια που, παρουσία ενός ήδη ασύμμετρου κέντρου στο μόριο, μπορούν να πραγματοποιήσουν την αναγωγή της κετονομάδας για τη δημιουργία του δεύτερου ασύμμετρου κέντρου, με υψηλές εναντιοεκλεκτικότητες δίδοντας οποιοδήποτε από τα δυο εναντιομερή.<sup>56</sup> Επίσης είναι δυνατός και ο έλεγχος της στερεοχημείας με ενζυμικό τρόπο, είτε με μια δεύτερη ενζυμική αναγωγή, είτε με ενζυμικό κινητικό διαχωρισμό στο τελικό στάδιο υδρόλυσης της ακετυλομάδας.

Η σύνθεση των φυσικών προϊόντων Xestodecalactones B και C επετεύχθη χημειοενζυμικά, ακολουθώντας μια σύντομη συνθετική πορεία 8 συνολικά σταδίων, ξεκινώντας από απλές, φθηνές, εμπορικά διαθέσιμες αρχικές ενώσεις. Η επίλυση των όποιων επιμέρους προβλημάτων υπάρχουν μπορεί να την καταστήσει την καλύτερη συνθετική πορεία που έχει προταθεί μέχρι στιγμής καθώς παρουσιάζει σημαντικά πλεονεκτήματα. Επίσης η σύνθεση αυτή μπορεί να αποτελέσει τη βάση για μια

ανάλογη απλούστερη σύνθεση της Xestodecalactone A αλλά και του φυσικού προϊόντος Sporostatin του οποίου δεν έχει αναφερθεί κάποια σύνθεση μέχρι σήμερα.

# **ΙΟΝΤΙΚΑ ΥΓΡΑ**

# ΙΟΝΤΙΚΑ ΥΓΡΑ

Ο όρος ιοντικό υγρό σημαίνει μια οποιαδήποτε ουσία που βρίσκεται στην υγρή φάση και αποτελείται εξ'ολοκλήρου από ιόντα. Αν και αυτή η περιγραφή περιλαμβάνει ακόμη και τα τήγματα των ανόργανων αλάτων, ωστόσο ο όρος ιοντικό υγρό έχει επιλεγεί για να περιγράψει μια ειδική κατηγορία υλικών. Τα υλικά αυτά αποτελούνται από ογκώδη οργανικά κατιόντα και ανιόντα, τα οποία είναι είτε οργανικά είτε ανόργανα. Τα ιόντα στο υλικό σχετίζονται μεταξύ τους με μη ισχυρούς ετεροπολικούς δεσμούς καθώς, ως επί το πλείστον, τα φορτία των ιόντων είναι απεντοπισμένα. Τελικά ο όρος ιοντικό υγρό χρησιμοποιείται για τα οργανικά άλατα που έχουν σημείο τήξης κάτω ή κοντά στη θερμοκρασία δωματίου.

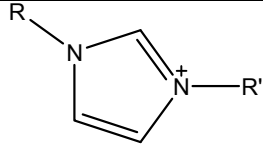
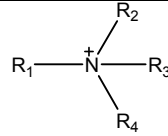
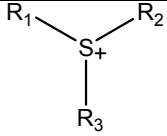
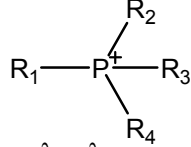
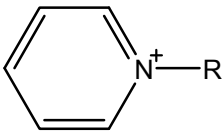
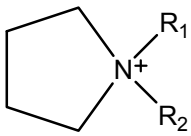
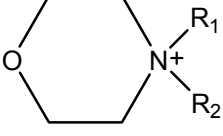
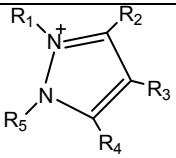
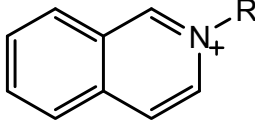
Το πρώτο ιοντικό υγρό που αναφέρεται στη βιβλιογραφία είναι το νιτρικό αιθυλαμμώνιο ( $\text{EtNH}_3 \text{NO}_3$ ) το οποίο είναι υγρό σε R.T. και παρασκευάστηκε από πυκνό νιτρικό οξύ και αιθυλαμίνη το 1914.<sup>57</sup> Ωστόσο έντονο ερευνητικό ενδιαφέρον για τα ιοντικά υγρά άρχισε να υπάρχει ουσιαστικά από το 1992, οπότε και έγινε η πρώτη σύνθεση μιας σειράς ιοντικών υγρών ( $\text{EMIM X}$ ,  $\text{EMIM} = 1\text{-αιθυλο-3-μέθυλο ιμιδαζόλιο}$ ,  $\text{X} = \text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{BF}_4^-$ ,  $\text{CH}_3\text{CO}_2^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ) τα οποία ήταν σχετικά ατμοσφαιρικά σταθερά, από τους Wilkes και Zaworotko.<sup>58</sup> Έκτοτε παρατηρείται μια συνεχής και αλματώδης αύξηση του ενδιαφέροντος για τα ιοντικά υγρά καθώς είναι εύκολη η παρασκευή τους, έχουν μεγάλη ποικιλία και ευέλικτο σχεδιασμό ενώ οι ιδιότητες τους είναι μοναδικές.

Γενικά τα ιοντικά υγρά ταξινομούνται στις ακόλουθες κατηγορίες:

- RTIL (Room Temperature Ionic Liquids), δηλ. ιοντικά υγρά με σ.τ.  $< 298 \text{ K}$
- TSIL (Task Specific Ionic Liquids),<sup>59</sup> ιοντικά υγρά που είναι σχεδιασμένα ώστε να περιέχουν ειδικές λειτουργικές ομάδες ώστε να έχουν συγκεκριμένες ιδιότητες και δραστηριότητα
- Πρωτικά Ιοντικά Υγρά<sup>60,61</sup> και
- Χειρόμορφα Ιοντικά Υγρά<sup>62,63,64,65,66</sup>

Παρακάτω παρατίθεται κατάλογος με τα πιο συνήθη ανιοντικά και κατιοντικά μέρη που συναντώνται στα ιοντικά υγρά.

## Κατιόντα

 <p>1,3 διαλκυλοϊμιδαζόλιο</p>	 <p>Τετρααλκυλοαμμωνιακά</p>	 <p>Τριαλκυλοσουλφονιακά</p>
 <p>Τετρααλκυλοφώσφορικά</p>	 <p>N-αλκυλοπυριδίνης</p>	 <p>N,N-διαλκυλοπυρολλιδίνης</p>
 <p>N,N-διαλκυλομορφολίνης</p>	 <p>N,N'-διαλκυλοπυραζόλιου</p>	 <p>N-αλκυλοϊσοκινολίνης</p>

## Ανιόντα

- **Φθοριωμένα:**  $\text{BF}_4^-$ ,  $\text{PF}_6^-$ ,  $\text{SbF}_6^-$ ,  $\text{AsF}_6^-$ ,  $\text{F}(\text{HF})_n^-$ ,  $\text{CF}_3\text{CO}_2^-$ ,  $\text{CF}_3\text{SO}_3^-$ ,  $\text{N}(\text{CF}_3\text{SO}_2)_2^-$ ,  $\text{C}(\text{CF}_3\text{SO}_2)_3^-$ ,  $\text{N}(\text{C}_2\text{F}_5\text{SO}_2)_2^-$ ,  $\text{N}(\text{FSO}_2)_2^-$ ,  $\text{C}_2\text{F}_5\text{BF}_3^-$ ,  $\text{C}_3\text{F}_7\text{CO}_2^-$
- **Πολυπυρηνικά:**  $\text{Al}_2\text{Cl}_7^-$ ,  $\text{Al}_3\text{Cl}_{10}^-$ ,  $\text{Au}_2\text{Cl}_7^-$ ,  $\text{Fe}_2\text{Cl}_7^-$ ,  $\text{Cu}_2\text{Cl}_3^-$ ,  $\text{Cu}_3\text{Cl}_4^-$ ,  $\text{Sb}_2\text{F}_{11}^-$
- **Καρβοράνια:**  $(\text{CB}_{11}\text{H}_{12})^-$ ,  $(\text{CB}_{11}\text{H}_6\text{Cl}_6)^-$ ,  $(\text{CB}_{11}\text{H}_6\text{Br}_6)^-$
- **Ορθοβορικά ανιόντα:**<sup>67</sup>  $\text{B}(\text{C}_2\text{O}_4)_2^-$ ,  $\text{B}(\text{C}_3\text{H}_2\text{O}_4)_2^-$ ,  $\text{B}(\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_3)_2^-$ ,  $\text{B}(\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3)_2^-$
- **Άλλα ανόργανα ανιόντα** όπως  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{I}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{ClO}_4^-$ ,  $\text{ZnCl}_3^-$ ,  $\text{AlCl}_4^-$ ,  $\text{AlBr}_4^-$ ,  $\text{AlI}_4^-$ ,  $\text{AlCl}_7^-$ ,  $\text{CuCl}_2^-$ ,  $\text{SnCl}_3^-$ ,  $\text{N}(\text{NO}_2)_2^-$ ,  $\text{N}(\text{CN})_2^-$

## ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ

Τα ιοντικά υγρά θεωρούνται νεωτερικοί καταλύτες<sup>68</sup> που μπορούν να αντικαταστήσουν τους πτητικούς και τοξικούς οργανικούς διαλύτες. Τα κυριότερα πλεονεκτήματα τους είναι τα εξής:

- Δεν είναι πτητικά και είναι άφλεκτα, ενώ μπορούν να χρησιμοποιηθούν σαν διαλύτες αντί των συνηθισμένων οργανικών διαλυτών.
- Είναι γενικά πολύ σταθερές ενώσεις και είναι δυνατή η αποθήκευσή τους για μεγάλα χρονικά διαστήματα.
- Η θερμική σταθερότητά τους καθιστά δυνατές χημικές αντιδράσεις σε υψηλές θερμοκρασίες.

- Μπορούν να διαλύσουν ένα μεγάλο εύρος οργανικών, ανόργανων και οργανομεταλλικών ενώσεων, καθώς και αέρια όπως  $H_2$ ,  $O_2$ ,  $CO$ ,  $CO_2$ .
- Η ικανότητά τους να διαλύουν ουσίες, όπως και πολλές άλλες από τις φυσικές τους ιδιότητες (π.χ. ιξώδες), ρυθμίζονται εύκολα καθώς εξαρτώνται από τη φύση του κατιόντος και του ανιόντος.
- Είναι σχετικά φθηνά, ευέλικτα στο σχεδιασμό τους και παρασκευάζονται εύκολα.
- Υπάρχει μια μεγάλη ποικιλία από ιοντικά υγρά για την επιλογή του κατάλληλου, είτε από πλευράς υδροφιλικότητας/υδροφοβικότητας, είτε πολικότητας είτε ικανότητας διάλυσης της επιθυμητής ουσίας.
- Ο ιοντικός τους χαρακτήρας επιταχύνει πολλές αντιδράσεις σε μεγάλο βαθμό.
- Η χρήση χειρόμορφων ιοντικών υγρών μπορεί να επηρεάσει την εκλεκτικότητα σε εναντιοεκλεκτικές αντιδράσεις.
- Επιδεικνύουν οξύτητα κατά Bronsted, Lewis, Franklin καθώς και υπεροξύτητα.<sup>69</sup>

Στα μειονεκτήματα των ιοντικών υγρών συγκαταλέγονται η δυσκολία στον καθαρισμό, η ανακύκλωση ή η αποικοδόμησή τους καθώς και η έλλειψη πληροφοριών για την τοξικότητά τους στον άνθρωπο και το περιβάλλον. Τα προβλήματα αυτά είναι απαραίτητο να λυθούν, καθώς έτσι τα ιοντικά υγρά θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ευρέως στη βιομηχανία.

## ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗΣ ΙΟΝΤΙΚΩΝ ΥΓΡΩΝ

Η βασική μέθοδος παρασκευής των περισσότερων ιοντικών υγρών περιλαμβάνει μια αντίδραση  $S_N2$  για την παρασκευή του κατιοντικού μέρους και μια αντίδραση μετάθεσης ανιόντος για την παρασκευή του επιθυμητού ιοντικού υγρού. Στην πρώτη αντίδραση ένα αλκυλαλογονίδιο προσβάλλει το πυρηνόφιλο κέντρο του ουδέτερου πρόδρομου μορίου σχηματίζοντας ένα οργανικό άλας. Στη συνέχεια με ανάμιξη με ένα οξύ κατά Bronsted ( $H^+A^-$ ) ή με ένα δεύτερο άλας μετάλλου της  $1^{ns}$  ομάδας ( $M^+A^-$ ) που περιέχει την επιθυμητή ανιονική ομάδα γίνεται ανταλλαγή αυτής με το ανιόν του αλογόνου. Ανταλλαγή του ανιόντος μπορεί να γίνει επίσης και με ιονανταλλακτική ρητίνη.

Ο καθαρισμός των ιοντικών υγρών παρουσιάζει λόγω της φύσης του αρκετές δυσκολίες. Καθαρισμός με ανακρυστάλλωση ή απόσταξη δεν είναι εφικτός και η καθαρότητα των ιοντικών υγρών εξαρτάται από την καθαρότητα των αντιδραστηρίων



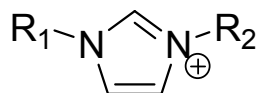
και των διαλυτών που χρησιμοποιούνται κατά την επεξεργασία τους και από τη δημιουργία παραπροϊόντων κατά τη σύνθεσή τους.

Τα περισσότερα ιοντικά υγρά πρέπει να είναι άχρωμα, ωστόσο συχνά δεν είναι δυνατό να αποφευχθεί η απόκτηση ενός υποκίτρινου χρώματος κατά το στάδιο σχηματισμού του τεταρτοταγούς N. Αυτό εξαρτάται από τη φύση του κατιόντος και του ανιόντος καθώς μερικά είναι πιο ευαίσθητα στο χρωματισμό από τα άλλα. Το χρώμα οφείλεται είτε σε μόρια αρχικής ουσία που δεν αντέδρασαν, είτε σε κάποια παραπροϊόντα, είτε στο χρώμα του διαλύτη, αν χρησιμοποιήθηκε, είτε σε παράπλευρες αντιδράσεις όπως θερμική διάσπαση ή πολυμερισμούς μικρών ποσοτήτων αμίνης. Οι ακαθαρσίες απομακρύνονται με πέρασμα του ιοντικού υγρού από ουδέτερη αλουμίνα ή σίλικα ή με ανάδευση του υγρού με ενεργό άνθρακα. Οι μέθοδοι αυτοί ωστόσο δεν είναι πάντα επαρκείς. Οι πτητικές ουσίες απομακρύνονται με θέρμανση υπό ελαττωμένη πίεση.

Τα υπολείμματα των ανιόντων των αλογόνων ή και του κατιόντος του μετάλλου  $M^+$  μπορεί να έχουν μεγάλες επιπτώσεις τόσο στις φυσικές ιδιότητες του ιοντικού υγρού όσο και στις αντιδράσεις στις οποίες χρησιμοποιείται ως διαλύτης. Τα ιόντα αυτά μπορεί να έχουν ανεπιθύμητες παρενέργειες όπως να αναστείλουν τη δράση ενζύμων<sup>70</sup> ή να δηλητηριάσουν κάποιο καταλύτη<sup>71</sup>. Για την αποφυγή αυτού του προβλήματος η καλύτερη λύση είναι όπου είναι εφικτό να γίνεται η μετάθεση με ιονανταλλακτική ρητίνη. Όταν αυτό δεν είναι δυνατό μπορεί να γίνει ανίχνευση των αλογόνων με το τεστ  $AgNO_3$ , ενώ για την απομάκρυνση των ιόντων η απλούστερη μέθοδος είναι η έκπλυση του ιοντικού υγρού με διαλύτες όπως  $CH_2Cl_2$  ή με διάλυμα  $NaHCO_3$  για τα υδρόφοβα ιοντικά υγρά.

## ΤΟ ΚΑΤΙΟΝ ΤΟΥ 1,3-ΔΙΑΛΚΥΛΟΪΜΙΔΑΖΟΛΙΟΥ

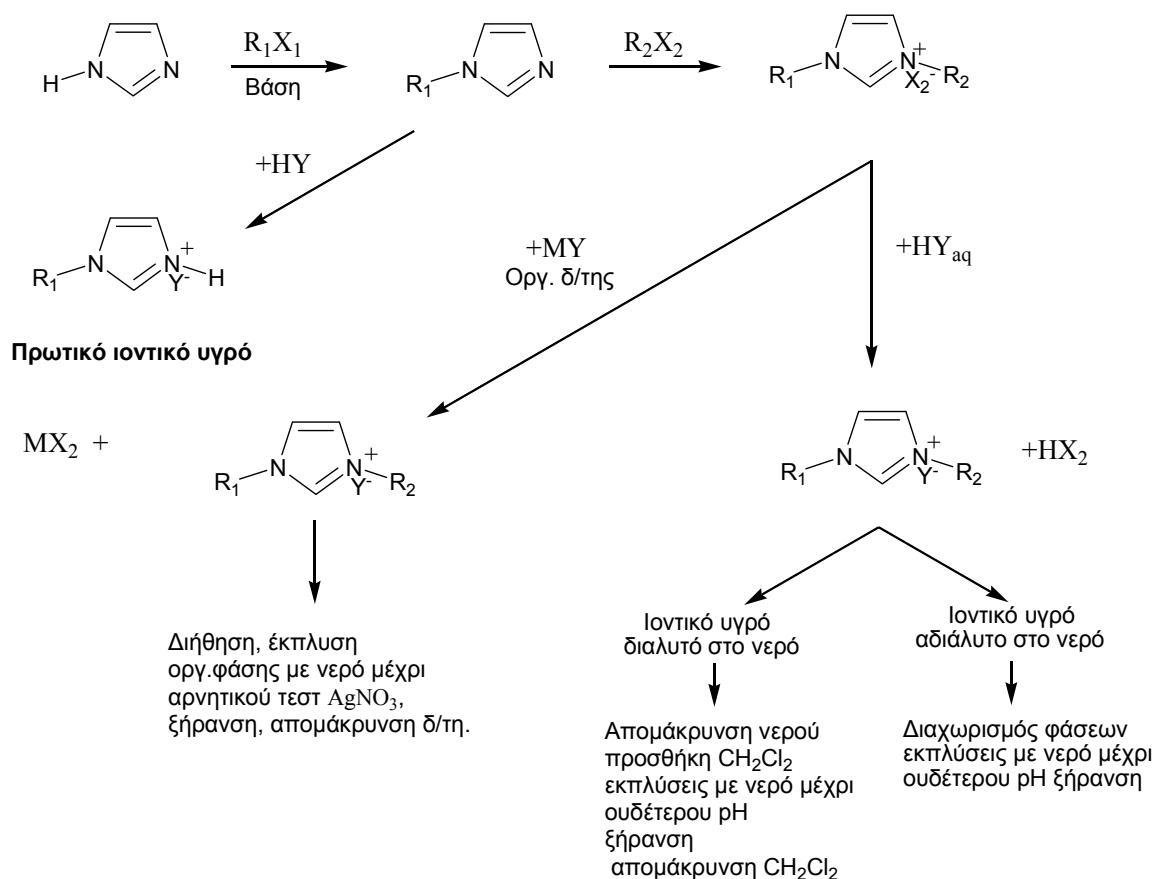
Μια από της σημαντικότερες κατιοντικές ομάδες που συναντώνται σε πολλά ιοντικά υγρά είναι το κατιόν του 1,3-διαλκυλοϊμιδαζολίου. Ανακαλύφθηκε το 1982 από τους Wilkes και Levisky σε μια προσπάθεια εύρεσης ενός οργανικού κατιόντος με δυναμικό αναγωγής μικρότερο του  $Al(III)$ .<sup>72</sup> Έκτοτε έχει μελετηθεί εκτεταμένα και έχουν κατανοηθεί οι ιδιότητες των ιοντικών υγρών που περιλαμβάνουν αυτή την ομάδα καθιστώντας τα μια ιδιαίτερα ελκυστική και πολλά υποσχόμενη κατηγορία ιοντικών υγρών.



Σχ. 1 Το κατιόν του 1,3 – διαλκυλοϊμιδαζόλιου

Η παρασκευή των ιοντικών υγρών που περιλαμβάνουν την ομάδα του αλκυλοϊμιδαζολίου ακολουθεί τη γενική μέθοδο παρασκευής ιοντικών υγρών. Το ουδέτερο μόριο του N(1)-R<sub>1</sub>-ιμιδαζολίου, το οποίο μπορεί εύκολα να παρασκευαστεί από ιμιδαζόλιο και το αντίστοιχο αλκυλαλογονίδιο παρουσία βάσης, μετατρέπεται είτε σε πρωτικό ιοντικό υγρό μετά από προσθήκη H<sup>+</sup>Y<sup>-</sup>, είτε αλκυλιώνεται προς αλογονίδιο του 1,3-διαλκυλοϊμιδαζολίου μετά από προσθήκη του αντίστοιχου αλκυλαλογονιδίου. Ως αλκυλαλογονίδια χρησιμοποιούνται κυρίως γραμμικά ή διακλαδισμένα χλωρίδια και βρωμίδια, καθώς τα ιωδίδια είναι φωτοευπαθή ενώ τα φθορίδια δεν δίνουν τη συγκεκριμένη αντίδραση. Οι αντιδράσεις γίνονται σε αδρανή ατμόσφαιρα στους 50-80 °C ανάλογα με τη φύση του αλκυλαλογονιδίου, είτε με απλή ανάμιξη των δυο αντιδρώντων είτε με διαλύτη CH<sub>3</sub>CN, ιδιαίτερα στην περίπτωση των διακλαδισμένων αλκυλαλογονιδίων ώστε να αποφευχθούν συναγωνιστικές E<sub>2</sub> αντιδράσεις.<sup>73</sup> Ο χρόνος αντίδρασης κυμαίνεται από 2-3 μέρες απουσία διαλύτη ενώ με διαλύτη <2 μέρες. Επίσης έχουν αναφερθεί και χρόνοι αντίδρασης από λεπτά έως μερικές ώρες με χρήση ακτινοβολίας μικροκυμάτων.<sup>74</sup> Αλκυλίωση γίνεται επίσης και με αλκυλοενώσεις που έχουν καλή αποχωρούσα ομάδα (π.χ. methyl triflate, methyl tosylate) τα οποία δίνουν ιοντικά υγρά απαλλαγμένα από αλογονοίοντα, ωστόσο οι ενώσεις αυτές υδρολύονται πολύ εύκολα και απαιτούν μεγάλη προσοχή στη χρήση τους.<sup>75</sup> Ο καθαρισμός του ιοντικού άλατος που προκύπτει από την αντίδραση γίνεται με εκπλύσεις με μικρής αναμιξιμότητας διαλύτες (Et<sub>2</sub>O, EtOAc) και ξήρανση υπό κενό στους 80 °C.

Στη συνέχεια ακολουθεί μια αντίδραση διπλής αντικατάστασης είτε με υδατικό διάλυμα HY είτε με κάποιο άλας MY σε οργανικό διαλύτη. Έτσι ανταλλάσσεται το ανιόν του αλογόνου με το επιθυμητό ανιόν Y<sup>-</sup>. Ο τρόπος καθαρισμού εξαρτάται από την υδροφοβικότητα του προκύπτοντος ιοντικού υγρού. Γενικά αποφεύγεται η πρώτη περίπτωση, αν και ο χρόνος αντίδρασης είναι πολύ μικρότερος, διότι με τη χρήση HY παραμένουν όξινα υπολείμματα στο ιοντικό υγρό, τα οποία απαιτούν εκπλύσεις με νερό για να απομακρυνθούν. Το παρακάτω σχεδιάγραμμα περιγράφει τη διαδικασία παρασκευής των ιοντικών υγρών.



## ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΙΟΝΤΙΚΩΝ ΥΓΡΩΝ

Τα ιοντικά υγρά έχουν ήδη βρει εφαρμογή σε ένα πλήθος χημικών διεργασιών και μεθόδων. Μερικές από αυτές είναι οι παρακάτω:

- **Χημικές αντιδράσεις.** Αντιδράσεις Diels-Alder<sup>76</sup>, Friedel-Crafts<sup>77</sup>, Suzuki<sup>78</sup>, υδρογόνωσης<sup>79</sup>, πολυμερισμός<sup>80</sup>.
- **Βιομετατροπές.** Ενζυμικές υδρολύσεις<sup>81,82</sup>, ρακεμιώσεις<sup>83</sup>.
- **Αναλυτικές εφαρμογές.** Στατικές φάσεις στην αέρια χρωματογραφία<sup>84</sup>, κινητές φάσεις στην υγρή χρωματογραφία<sup>85</sup>, τριχοειδή ηλεκτροφόρηση<sup>86</sup>.
- **Άλλες εφαρμογές.** Διαλυτοποίηση  $\text{C}_{60}$ <sup>87</sup>, συντήρηση βιολογικών ιστών<sup>88</sup>, επανεπεξεργασία πυρηνικών καυσίμων<sup>89</sup>.

## ENZYMΙΚΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ ΣΕ ΙΟΝΤΙΚΑ ΥΓΡΑ

Οι πρώτες αναφορές βιοκατάλυσης σε ιοντικά υγρά αναφέρθηκαν το 2000.<sup>90,91,92</sup> Αν και σε αρκετές περιπτώσεις χρησιμοποιήθηκαν απλά ως αντικαταστάτες των συνηθισμένων οργανικών διαλυτών, ωστόσο πολλές φορές επέφεραν σημαντική βελτίωση στην απόδοση των αντιδράσεων. Τα ιοντικά υγρά μπορούν να χρησιμοποιηθούν στις αντιδράσεις βιοκατάλυσης είτε ως διαλύτες, είτε ως συνδιαλύτες σε υδατικά διαλύματα, είτε σε διφασικά συστήματα.

Η σταθερότητα των ενζύμων μέσα στα ιοντικά υγρά έχει αποδειχθεί από αρκετές μελέτες ότι είναι εξαιρετική και πολλές φορές μεγαλύτερη από τη σταθερότητα τους σε οργανικούς διαλύτες.<sup>93,94,95</sup> Επίσης έχει παρατηρηθεί ότι γενικά η σταθερότητα αυξάνεται με την αύξηση της υδροφοβικότητας του ιοντικού υγρού. Αυτό το φαινόμενο αποδίδεται στο ότι τα μόρια του νερού που υπάρχουν συγκεντρώνονται γύρω από το ένζυμο και αποτρέπουν την άμεση επαφή του με τα ιόντα που μπορεί να οδηγήσει σε απενεργοποίηση του ενζύμου λόγω αλλαγής της διαμόρφωσής του.

Έχουν γίνει αρκετές μελέτες για την αποσαφήνιση της επίδρασης των διαφόρων φυσικών ιδιοτήτων των ιοντικών υγρών στη δράση των ενζύμων. Η υδροφοβικότητα ενός διαλύτη είναι ένας σημαντικός παράγοντας, ωστόσο δεν έχει ακόμη γίνει κάποια συσχέτιση. Το ιξώδες έχει την αναμενόμενη επίδραση, καθώς αυξημένο ιξώδες οδηγεί σε μειωμένη ταχύτητα κίνησης των ουσιών και κατά συνέπεια χαμηλότερες ταχύτητες αντίδρασης, κάτι που έχει επιβεβαιωθεί.<sup>96</sup> Μελέτες για την επίδραση της πολικότητας έχουν δώσει αντικρουόμενες παρατηρήσεις<sup>97,98,99</sup>. Ο πιθανότερος λόγος είναι ότι οι άλλες φυσικοχημικές ιδιότητες παίζουν πιο σημαντικό ρόλο.

Εκτός από την επίδραση των φυσικοχημικών ιδιοτήτων του ιοντικού υγρού, μελέτες έχουν γίνει και για την επίδραση πρόσθετων ουσιών, όπως έχει γίνει και με αντιδράσεις σε οργανικούς διαλύτες. Έχουν αναφερθεί περιπτώσεις όπου υπήρχε σημαντική αύξηση τόσο στη δραστηριότητα όσο και στην εκλεκτικότητα. Π.χ. σε ενζυμική αλκοολόλυση σε ιοντικά υγρά, χρησιμοποιώντας σύμπλοκα PEG-λιπάσης παρατηρήθηκε σημαντική βελτίωση τόσο συγκριτικά με τη μη χρήση πρόσθετου,<sup>100</sup> όσο και με πρόσθετο σε εξάνιο ως διαλύτη.<sup>101</sup>

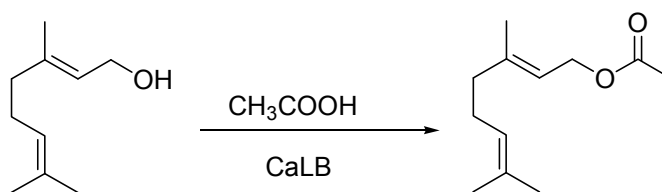
Μια άλλη σημαντική παράμετρος που αφορά στην ενεργότητα ενός ενζύμου σε ένα διαλύτη είναι το pH. Έχουν γίνει εκτεταμένες μελέτες στην επίδραση του pH

τόσο σε οργανικούς διαλύτες όσο και σε υδατικά συστήματα, που δείχνουν την άμεση εξάρτηση της δραστηριότητας ενός ενζύμου από το pH, οπότε αναμένεται να συμβαίνει κάτι ανάλογο και στα ιοντικά υγρά. Το pH των ιοντικών υγρών ωστόσο εξαρτάται από αρκετούς παράγοντες και το ίδιο ιοντικό υγρό μπορεί να εμφανίσει διαφορετικές τιμές pH, όπως π.χ. κατά τη διαδικασία του καθαρισμού υπάρχει αλλαγή του pH του καθώς απαλλάσσεται από ακαθαρσίες. Γενικά όμως δεν έχουν γίνει μέχρι στιγμής επαρκείς μελέτες πάνω σε αυτό τον τομέα.

Τα ένζυμα που παρουσιάζουν καταλυτική δράση στα ιοντικά υγρά συνήθως δεν διαλύονται σε αυτά. Επίσης όσα διαλύονται συνήθως είναι μη ενεργά. Η απενεργοποίηση αποδίδεται στην αλλαγή της φυσικής τους διαμόρφωσης μέσα στο ιοντικό υγρό και πολλές φορές είναι αντιστρέψιμη. Έχουν αναφερθεί περιπτώσεις όπου το απενεργοποιημένο ένζυμο ανέκτησε πλήρως τη δραστηριότητα του όταν το ιοντικό υγρό αναμίχθηκε με νερό.<sup>102,103</sup>

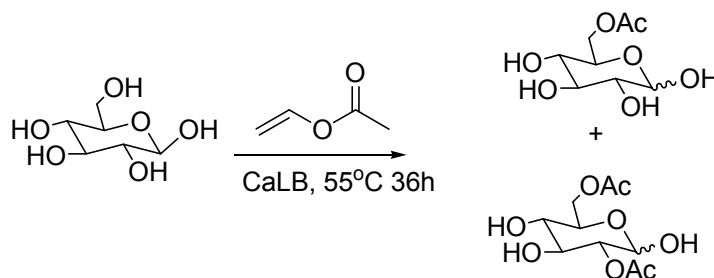
Ωστόσο, εκτός από τις φυσικοχημικές ιδιότητες του ιοντικού υγρού που επηρεάζουν την δράση ενός ενζύμου, ένας κρίσιμος και όχι πάντα ελεγχόμενος παράγοντας είναι ο βαθμός καθαρότητάς του. Οι ακαθαρσίες αυτές, που είναι συνήθως υγρασία, ιόντα αλογόνου και οργανικά μόρια, εκτός του ότι επηρεάζουν τις ιδιότητες του διαλύτη συχνά αλληλεπιδρούν και με το ένζυμο. Έχουν αναφερθεί για παράδειγμα περιπτώσεις που ανιόντα χλωρίου ευθύνονται για την απενεργοποίηση λιπασών.<sup>104</sup> Ακόμη η παρουσία νερού σε ιοντικά υγρά που έχουν ως ανιόντα τα  $[BF_4]$  και  $[PF_6]$  μπορεί να οδηγήσει σε μερική υδρόλυση τους προς HF το οποίο λειτουργεί ανασταλτικά για πολλούς τύπους ενζύμων. Το νερό είναι πολύ συνήθης πρόσμιξη καθώς ακόμη και τα μη αναμίξιμα με αυτό ιοντικά υγρά είναι υγροσκοπικά και εύκολα απορροφούν μια ποσότητα υγρασίας.<sup>105</sup> Το σημαντικότερο ωστόσο πρόβλημα είναι ότι λόγω της διαφορετικής περιεκτικότητας σε ακαθαρσίες είναι δύσκολο να υπάρχουν αναπαραγωγίμα αποτελέσματα.

Μέχρι σήμερα έχει ελεγχθεί η δραστηριότητα μιας μεγάλης ποικιλίας ενζύμων σε ιοντικά υγρά. Η πρώτη και πλέον υποσχόμενη κατηγορία ενζύμων είναι οι λιπάσες λόγω της σταθερότητας και δραστηριότητας τους σε οργανικούς διαλύτες, εκτός δηλαδή του φυσικού τους περιβάλλοντος. Όντως η δράση τους σε πάρα πολλές περιπτώσεις αποδείχθηκε εφάμιλλη ή και καλύτερη σε σχέση με αυτή στους οργανικούς διαλύτες. Πολλές εφαρμογές από ένζυμα της κατηγορίας αυτής έχουν αναφερθεί, με πρόσφατα παραδείγματα την εστεροποίηση της γερανιόλης σε  $[BMIm][PF_6]$  (Σχήμα 2),<sup>106</sup>



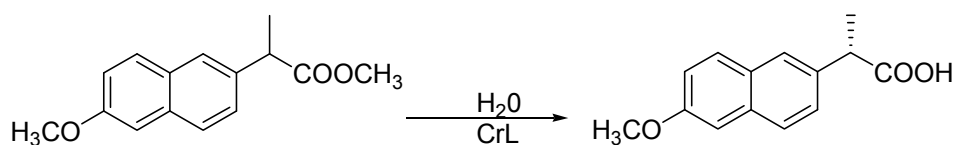
**Σχ. 2** Ενζυμική εστεροποίηση της γερανιόλης

παρασκευή πολυεστέρων σε μια σειρά ιοντικών υγρών αντί του κλασικού χημικού πολυμερισμού που απαιτεί υψηλές θερμοκρασίες (>200°C),<sup>107,108,109</sup> εστεροποίηση πολυσακχαριτών εκλεκτικά στον C-6 σε [BMIm][PF<sub>6</sub>], όλες καταλυόμενες από την CaLB. Ένα ακόμη παράδειγμα που τονίζει την συμβολή των ιοντικών υγρών αφορά στην μονοεστεροποίηση σακχάρων η οποία παρουσίαζε σοβαρά προβλήματα καθώς αφενός τα σάκχαρα δεν ήταν διαλυτά στους διαλύτες που δρούσε η CaLB, και αφετέρου μετά την πρώτη εστεροποίηση το σάκχαρο γινόταν περισσότερο διαλυτό με αποτέλεσμα να γίνεται πολυεστεροποίηση (σχήμα 3), η αντίδραση όμως έγινε εντελώς εκλεκτικά σε [EMIm][BF<sub>4</sub>].



**Σχ. 3** Ενζυμική εστεροποίηση γλυκόζης σε οργανικό διαλύτη

Πολλές εφαρμογές έχουν βρει οι ενζυμικές αντιδράσεις σε ιοντικά υγρά στην παρασκευή φαρμάκων. Η εναντιοεκλεκτική υδρόλυση του μεθυλεστέρα του Naproxen προς (S)-Naproxen, που είναι το φαρμακολογικά ενεργό εναντιομερές, με τη χρήση της λιπάσης CrL σε μια σειρά από ιοντικά υγρά κορεσμένα με νερό έδωσε καλύτερα αποτελέσματα από την αντίστοιχη ενζυμική αντίδραση σε κορεσμένο με νερό ισοοκτάνιο (Σχήμα 4).<sup>110</sup> Η εναντιοεκλεκτική υδρόλυση για τον κινητικό

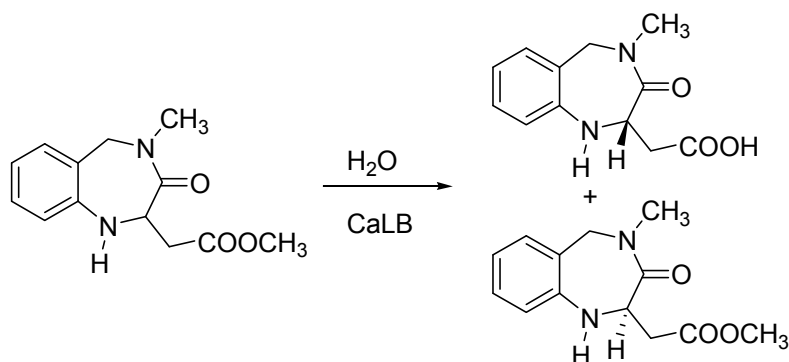


Medium	[H <sub>2</sub> O] (M)	E
[BMIm][BF <sub>4</sub> ]	2.8	170
[HMIm][BF <sub>4</sub> ]	0.4 <sup>a</sup>	>200
[BMIm][PF <sub>6</sub> ]	0.39 <sup>a</sup>	>200
[HMIm][PF <sub>6</sub> ]	0.28 <sup>a</sup>	>200
[HMIm][HpSO <sub>3</sub> ]	0.22 <sup>a</sup>	>200
Isooctane	n.d.	88

a. Water Saturated

Σχ. 4 Ενζυμική υδρόλυση του μεθυλεστέρα του Naproxen

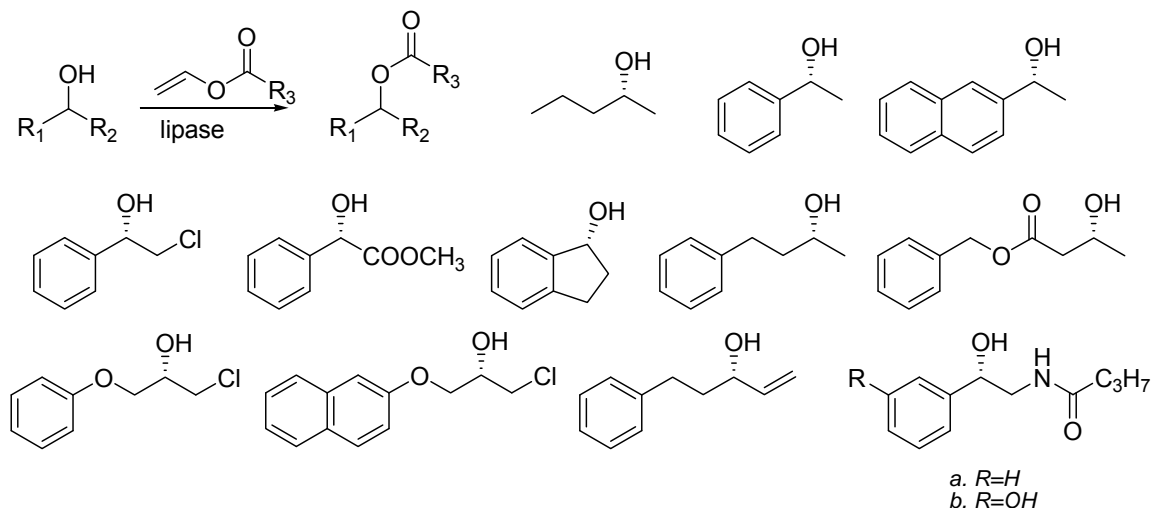
διαχωρισμό ενός πρόδρομου μορίου για το φάρμακο Lotrafiban από την CaLB, βελτιώθηκε σημαντικά όταν η αντίδραση έγινε στους 50°C σε 88:12 [BMIm][PF<sub>6</sub>]:H<sub>2</sub>O απ'ότι σε τριτ-βουτανόλη:H<sub>2</sub>O, 88:12, λόγω της καλύτερης διαλυτότητας του υποστρώματος και της καλύτερης θερμικής σταθερότητας του ενζύμου στο ιοντικό υγρό (σχήμα 5).<sup>111</sup>



Σχ. 5 Ενζυμική υδρόλυση ενός πρόδρομου μορίου του Lotrafiban

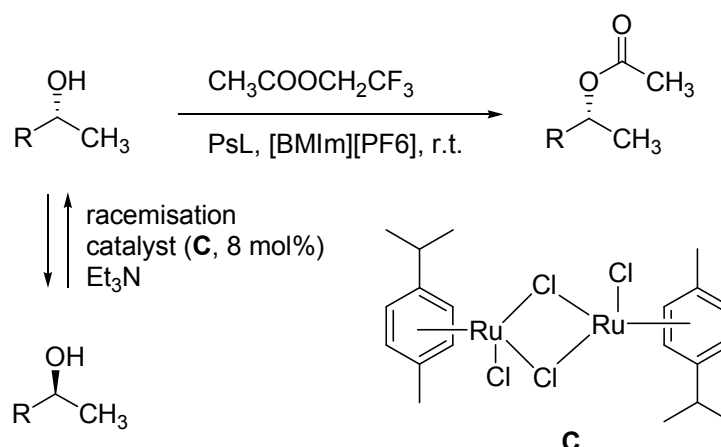
Ο διαχωρισμός χειρόμορφων αλκοολών μέσω ενζυμικής εναντιοεκλεκτικής ακυλίωσης είναι η κυριότερη βιομηχανική εφαρμογή των λιπασών.<sup>112</sup> Η εστεροποίηση μιας σειράς δευτεροταγών αλκοολών από τις CaLB και PcL κυρίως έχει μελετηθεί από αρκετές ερευνητικές ομάδες (Σχήμα 6).<sup>113,114,115,116,117,118</sup> Αν και η εναντιοεκλεκτικότητα που παρουσίαζαν τα ένζυμα στους κλασσικούς διαλύτες ήταν ήδη από καλή ως άριστη, και άρα δεν επιδέχονταν ιδιαίτερης βελτίωσης, ωστόσο σε αρκετές περιπτώσεις κάποιες μέτριες εναντιοεκλεκτικότητες έγιναν άριστες (υπόστρωμα 2), άλλες ήδη πολύ καλές εναντιοεκλεκτικότητες βελτιώθηκαν

περισσότερο (υπόστρωμα 4,7,8,9), ενώ σε κάποιες περιπτώσεις παρατηρήθηκαν άλλες θετικές επιδράσεις, όπως αύξηση της περιεκτικότητας του ιοντικού υγρού σε υπόστρωμα χωρίς επίπτωση στην εκλεκτικότητα (υπόστρωμα 12α).<sup>119</sup>



Σχ. 6 Κινητικός διαχωρισμός χειρόμορφων αλκοολών

Εκτός από τον κινητικό διαχωρισμό, έχουν αναφερθεί ενζυμικές αντιδράσεις σε ιοντικά υγρά για τον δυναμικό κινητικό διαχωρισμό χειρόμορφων αλκοολών.<sup>120,121</sup> Η ρακεμίωση του μη αντιδρόντος εναντιομερούς γίνεται *in-situ* με τη χρήση καταλύτη πολύ πιο γρήγορα στα ιοντικά υγρά [BMIm][BF<sub>4</sub>] και [BMIm][PF<sub>6</sub>] απ' ό τι στο τολουόλιο (Σχήμα 7).



Σχ. 7 Δυναμικός κινητικός διαχωρισμός χειρόμορφων αλκοολών

Εκτός από τις λιπάσες που, όπως προαναφέρθηκε, αποτελούν την κύρια κατηγορία ενζύμων που χρησιμοποιούνται σε ιοντικά υγρά, έχει ερευνηθεί η δράση



και άλλων κατηγοριών ενζύμων. Υπάρχουν αναφορές για ενζυμικές αντιδράσεις καταλυόμενες από γλυκοσιδάσες που χρησιμοποιούνται για τη σύνθεση υδρογονανθράκων *in vitro*,<sup>122,123</sup> οξυνιτριλάσες που ανήκουν στην ευρύτερη κατηγορία των λυασών και καταλύουν την προσθήκη HCN σε αλδεύδες,<sup>124</sup> καθώς και οξειδοαναγωγικά συστήματα ενζύμων<sup>125,126</sup> συμπεριλαμβανομένων συστημάτων ανακύκλωσης του συνενζύμου NAD(P)H.<sup>127</sup>

Λόγω της μη αναμιξιμότητας των ιοντικών υγρών με το διαιθυλαιθέρα αλλά και άλλους οργανικούς διαλύτες είναι εύκολη η απομόνωση των προϊόντων με εκχύλισεις. Επίσης λόγω της αμελητέας τάσης ατμών των ιοντικών υγρών είναι δυνατή η απομάκρυνση του προϊόντος με εξάτμιση, τόσο για την απομόνωση του όσο και σε ορισμένες περιπτώσεις για τη μετατόπιση της ισορροπίας της αντίδρασης αν υπάρχει.<sup>128,129</sup> Το ένζυμο παραμένει στο διαλύτη και είναι δυνατή η απομόνωση του.<sup>130</sup>

Γενικά τα ιοντικά υγρά έχουν ήδη αποδείξει ότι είναι ιδιαίτερα ελκυστικοί διαλύτες για τις βιοκαταλυτικές αντιδράσεις, προσφέροντας βελτιωμένες δραστηριότητες και εκλεκτικότητες των ενζύμων και παρακάμπτοντας άλλου είδους προβλήματα που υπάρχουν είτε στους συνηθισμένους οργανικούς διαλύτες είτε σε υδατικά διαλύματα. Ωστόσο υπάρχουν ακόμη πολλά περιθώρια για παραπέρα βελτιστοποίηση, ειδικά όσον αφορά στο σχεδιασμό νέων ιοντικών υγρών που θα πληρούν τις προϋποθέσεις για εκτεταμένη χρήση τους στη βιομηχανία, όπως για παράδειγμα τη σύνθεση ιοντικών υγρών χαμηλού κόστους τα οποία θα είναι μη τοξικά και εύκολα ανακυκλώσιμα.

## ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ ΙΟΝΤΙΚΩΝ ΥΓΡΩΝ

Ο κυριότερος λόγος που το ερευνητικό ενδιαφέρον στρέφεται στα ιοντικά υγρά είναι η ανάγκη ανάπτυξης “πράσινων” διαλυτών. Ο τίτλος αυτός αποδόθηκε στα ιοντικά υγρά λόγω της σχεδόν αμελητέας τάσης ατμών τους. Έτσι δεν διαφεύγουν στο περιβάλλον ενώ σε υψηλές θερμοκρασίες διασπώνται πολύ πριν φτάσουν στο σημείο εξάτμισης. Ωστόσο οι μελέτες πάνω στην τοξικότητά και την οικοτοξικότητα τους είναι λίγες και όχι πάντα θετικές. Τα ιοντικά υγρά που χρησιμοποιούνται μέχρι σήμερα στη βιοκατάλυση δεν έχουν σχεδιαστεί με γνώμονα την συμβατότητα τους με το περιβάλλον, ούτε και την εύκολη βιοαποικοδόμησή τους.

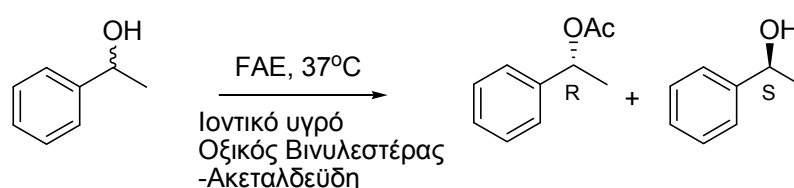
Πρόσφατες έρευνες έδειξαν ότι η οικοτοξικότητα των κατιόντων του αλκυλομέθυλο ιμιδαζόλιου είναι ανεπιθύμητα υψηλή και εξαρτάται από το μέγεθος της αλυσίδας της αλκυλομάδας, με τις μεγαλύτερες αλυσίδες να επιφέρουν μεγαλύτερη τοξικότητα.<sup>131,132,133</sup> Επίσης η βιοαποικοδόμηση των [BMIm][BF<sub>4</sub>] και [BMIm][PF<sub>6</sub>] είναι αμελητέα και κατά συνέπεια αν αποβληθούν θα παραμείνουν για πολύ μεγάλο χρονικό διάστημα στο περιβάλλον.<sup>134</sup> Παλιότερες έρευνες δείχνουν ότι η τοξικότητα έναντι στα μελετούμενα κύτταρα ή μικροοργανισμούς εξαρτάται από το ανιόν και αναδεικνύουν το ανιόν του [BF<sub>4</sub>] ως το λιγότερο τοξικό και γενικά αρκετά ασφαλές για χρήση.<sup>135,136</sup>

Γενικότερα οι μέχρι τώρα μελέτες αν και έχουν οδηγήσει σε ορισμένα συμπεράσματα, αφορούν σε μελέτη ενός περιορισμένου αριθμού ιοντικών υγρών σε συγκεκριμένους οργανισμούς και δεν είναι ακόμη επαρκείς ώστε να μπορεί να γίνει κάποια κατηγοριοποίηση σε ασφαλή και τοξικά ιοντικά υγρά, σε φιλικά προς το περιβάλλον και μη. Ήδη καινούρια ιοντικά υγρά αναπτύσσονται στοχεύοντας στην ασφάλεια και την συμβατότητα τους με το περιβάλλον. Κάποια παραδείγματα είναι το κατιόν της χολίνης που είναι συστατικό των τροφών, ορισμένα παράγωγα του ιμιδαζόλιου σχεδιασμένα ώστε να βιοαποικοδομούνται εύκολα<sup>137</sup> και ιοντικά υγρά βασισμένα σε αμινοξέα.<sup>138,139</sup> Σύντομα αναμένεται ότι θα είναι διαθέσιμα βελτιωμένα ιοντικά υγρά τα οποία θα είναι πραγματικά “πράσινα”.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα μελέτη εξετάζεται η ενζυμική εστεροποίηση μιας σειράς δευτεροταγών αλκοολών στα ιοντικά υγρά [BMIM][ClO<sub>4</sub>] και [BDMIM][ClO<sub>4</sub>] ως διαλύτες, καθώς και η επίδραση της τριαιθυλαμίνης ως προσθετικής ουσίας. Η μελετούμενη αντίδραση καταλύεται από το υδρολυτικό ένζυμο Φερουλόουλο εστεράση FAE από το μύκητα *Humicola insolens*.

Σε προηγούμενες μελέτες που έγιναν στο εργαστήριο μας είχε μελετηθεί η δράση της FAE έναντι ενός εύρους μη φυσικών υποστρωμάτων, στην πλειονότητά τους δευτεροταγείς αλκοόλες, σε διάφορους οργανικούς διαλύτες και η επίδραση προσθετικών ουσιών στην δραστηριότητα του ενζύμου.<sup>140</sup> Επίσης είχε μελετηθεί η ενζυμική εστεροποίηση της 1-φαινυλο-1-αιθανόλης, με τη FAE σε μια σειρά ιοντικών υγρών ως διαλύτες (Σχήμα 1) και είχε προσδιοριστεί η δραστηριότητα και εναντιοεκλεκτικότητα του ενζύμου σε αυτά.<sup>141</sup>



**Σχ. 1** Ενζυμική εστεροποίηση της 1-φαινυλο-1-αιθανόλης σε ιοντικά υγρά

Η επιλογή της εμπορικά διαθέσιμης 1-φαινυλο-1-αιθανόλης έγινε για συγκριτικούς λόγους, καθώς έχουν πραγματοποιηθεί ασύμμετρες εστεροποιήσεις της με πολλά υδρολυτικά ένζυμα.<sup>142,143</sup> Η 1-φαινυλο-1-αιθανόλη είναι μια δευτεροταγής αλκοόλη με ένα ογκώδη υποκαταστάτη, το φαινύλιο, και ένα μεσαίου μεγέθους, ένα μεθύλιο. Αυτό την καθιστά ένα πολύ καλό μόριο-μοντέλο για τον κανόνα του Kazlauskas.

Αρκετά από τα άλλα υποστρώματα που επιλέχθηκαν και μελετήθηκε η ενζυμική εστεροποίησή τους, ήταν παρεμφερή μόρια με την 1-φαινυλο-1-αιθανόλη ώστε να μελετηθεί η επίδραση στερεοχημικών και ηλεκτρονικών παραγόντων στη

δράστικότητα και εναντιοεκλεκτικότητα του ενζύμου. Ως ακυλοδότης της αντίδρασης επιλέχθηκε ο οξικός βινυλεστέρας.<sup>144,145,146</sup>

Με την ενζυμική εστεροποίηση επιτυγχάνεται ο κινητικός διαχωρισμός δευτεροταγών αλκοολών. Όπως αποδείχτηκε η FAE εμφανίζει *R* εναντιοεπιλογή ευνοώντας το σχηματισμό του αντίστοιχου *R* εστέρα.<sup>147,148,149</sup> Η εναντιοεπιλογή της είναι ανάλογη των λιπασών και ακολουθεί τον κανόνα του Kazlauskas. Επίσης από τη μελέτη της ενζυμικής εστεροποίησης ποικιλίας υποστρωμάτων προέκυψαν και πολλά άλλα σημαντικά συμπεράσματα για τη δράση του ενζύμου:

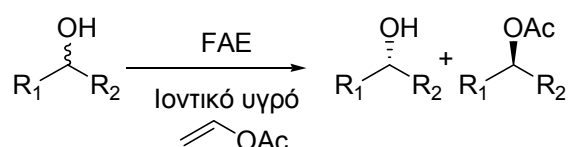
- Η μελέτη της επίδρασης στερικών παραγόντων στη δραστικότητα και εναντιοεκλεκτικότητα του ενζύμου έδειξε ότι αύξηση του μικρού υποκαταστάτη πέρα από αιθύλιο οδηγεί σε μεγάλη πτώση της δραστικότητας και εναντιοεκλεκτικότητας της FAE. Αντίθετα η αύξηση στον ογκώδη υποκαταστάτη έδειξε ότι η αύξηση της διαφοράς του όγκου των δυο υποκαταστατών επιφέρει αύξηση της εναντιοεκλεκτικότητας, ενώ η ύπαρξη υποκαταστάτη σε ορθο- θέση του φαινυλίου οδηγεί σε απενεργοποίηση του ενζύμου.
- Η μελέτη της επίδρασης ηλεκτρονικών παραγόντων έδειξε ότι η ύπαρξη πολικών ομάδων στον ογκώδη υποκαταστάτη επιφέρει μια μικρή αύξηση στην εναντιοεκλεκτικότητα, ενώ όταν η πολική ομάδα είναι στον μεσαίου μεγέθους υποκαταστάτη η εναντιοεκλεκτικότητα μειώνεται σημαντικά. Τέλος η μελέτη της επίδρασης προσθετικών ουσιών στο διάλυμα της ενζυμικής αντίδρασης έδειξε ότι η παρουσία τριαιθυλαμίνης είχε σαν αποτέλεσμα σημαντική αύξηση της καταλυτικής ικανότητας του ενζύμου.
- Επίσης η μελέτη της ενζυμικής εστεροποίησης της 1-φαινυλο-1-αιθανόλης σε μια σειρά ιοντικών υγρών, έδειξε ότι τα ιδανικότερα ιοντικά υγρά ως διαλύτες για τη συγκεκριμένη βιομετατροπή ήταν τα [BMIM][ClO<sub>4</sub>], [BDMIM][ClO<sub>4</sub>], [n-Bu<sub>3</sub>MeN][NTf<sub>2</sub>]. Σε αυτά η FAE επέδειξε την βέλτιστη δραστικότητα, με αύξηση του ποσοστού μετατροπής αλλά και μια αναμενόμενη μείωση της εναντιοεκλεκτικότητας έναντι των οργανικών διαλυτών. Η φύση τόσο του ανιόντος όσο και του κατιόντος αποδείχτηκε ότι επηρεάζουν σημαντικά τη δραστικότητα του ενζύμου, ενώ αντίθετα το ποσοστό ενυδάτωσης του ιοντικού υγρού δεν επηρέασε τη συγκεκριμένη βιομετατροπή.

Με βάση όλα αυτά τα προηγούμενα αποτελέσματα επιλέχθηκαν τα υποστρώματα **19-25**, ώστε να μελετηθεί η επίδραση στερικών και ηλεκτρονικών παραγόντων κατά

την ενζυμική εστεροποίηση των υποστρωμάτων αυτών στα ιοντικά υγρά [BMIM][ClO<sub>4</sub>] και [BDMIM][ClO<sub>4</sub>]. Όλα τα υποστρώματα που επιλέχθηκαν είχαν αποδειχθεί αποδεκτά υποστρώματα από την FAE. Εκτός από την 1-φαινυλο-1-αιθανόλη τα υποστρώματα **20-24** επιλέχθηκαν ώστε με τη σταδιακή αύξηση του όγκου των υποκαταστατών να μελετηθεί η επίδραση των στερικών παραγόντων σε ιοντικό υγρό. Το υπόστρωμα **25** επιλέχθηκε λόγω της απουσίας του βενζολικού δακτυλίου ως υποκαταστάτη. Επίσης μελετήθηκε και η επίδραση της προσθήκης τριαιθυλαμίνης στην δραστηριότητα και εναντιοεκλεκτικότητα του ενζύμου κατά την εστεροποίηση των υποστρωμάτων **19-25** στα δυο ιοντικά υγρά.

Η μελέτη περιλαμβάνει προσδιορισμό δραστηριότητας (C%) και εναντιοεκλεκτικότητας [ee%, ee = (R-S)/R+S] του ενζύμου στην εστεροποίηση των υποστρωμάτων, στα δυο ιοντικά υγρά ως διαλύτες της αντίδρασης, παρουσία ή μη της προσθετικής ουσίας τριαιθυλαμίνης.

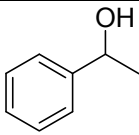
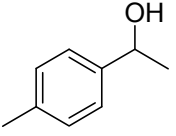
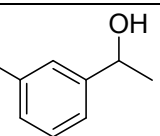
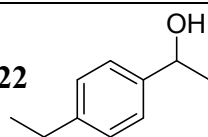
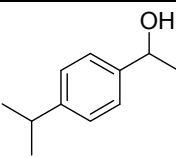
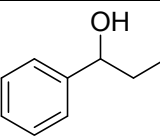
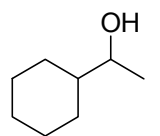
Ο προσδιορισμός της δραστηριότητας και της εναντιοεκλεκτικότητας έγινε σε αέριο χρωματογράφο με χειρόμορφη κολώνα. Για τον σκοπό αυτό παρασκευάστηκε με χημικό τρόπο ο ρακεμικός ακετυλοεστέρας της κάθε μιας από τις αλκοόλες που χρησιμοποιήθηκαν ως υποστρώματα, και προσδιορίστηκε το θερμοκρασιακό πρόγραμμα στον αέριο χρωματογράφο στο οποίο διαχωρίζονταν τόσο η αλκοόλη από τον εστέρα, όσο και τα δυο εναντιομερή του εστέρα. Τα ιοντικά υγρά [BMIM][ClO<sub>4</sub>] και [BDMIM][ClO<sub>4</sub>], καθώς και τα υποστρώματα **20-25** παρασκευάστηκαν και καθαρίστηκαν με τις γνωστές από τη βιβλιογραφία μεθόδους.



**Σχήμα 1.** Ενζυμική εστεροποίηση δευτεροταγών αλκοολών με τη FAE σε ιοντικό υγρό

Στη συνέχεια έγινε η ενζυμικά καταλυόμενη από το ένζυμο FAE εστεροποίηση των υποστρωμάτων **19-25** στα ιοντικά υγρά [BMIM][ClO<sub>4</sub>] και [BDMIM][ClO<sub>4</sub>], η οποία περιγράφεται στο Σχήμα 1, στους 37°C και ελήφθησαν δείγματα στις 2, 4 και 7 μέρες. Τα δείγματα εκχυλίστηκαν με οξικό αιθυλεστέρα και προσδιορίστηκε το ποσοστό μετατροπής και η εναντιοεκλεκτικότητα του ενζύμου με

αυτόματη ολοκλήρωση των κορυφών που εμφανίζονται στα χρωματογραφήματα. Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν παρατίθενται στον Πίνακα 1.

Υπόστρωμα	t(d)	[BMIM][ClO <sub>4</sub> ]				[BDMIM][ClO <sub>4</sub> ]			
		Χωρίς Et <sub>3</sub> N		Με Et <sub>3</sub> N		Χωρίς Et <sub>3</sub> N		Με Et <sub>3</sub> N	
		C %	ee %	C %	ee %	C %	ee %	C %	ee %
19 	2	12	95	33	91	10	90	7	90
	4	21	95	46	89	15	90	15	86
	7	<b>35</b>	<b>94</b>	<b>54</b>	<b>85</b>	<b>25</b>	<b>89</b>	<b>28</b>	<b>83</b>
20 	2	14	95	30	94	21	95	47	86
	4	29	95	52	92	38	94	56	82
	7	<b>52</b>	<b>93</b>	<b>62</b>	<b>87</b>	<b>49</b>	<b>88</b>	<b>63</b>	<b>75</b>
21 	2	9	90	21	87	2	99	25	85
	4	21	89	38	86	6	98	39	80
	7	<b>47</b>	<b>88</b>	<b>64</b>	<b>85</b>	<b>11</b>	<b>97</b>	<b>47</b>	<b>76</b>
22 	2	14	95	32	93	16	92	23	86
	4	33	94	49	90	33	91	39	83
	7	<b>57</b>	<b>90</b>	<b>65</b>	<b>85</b>	<b>53</b>	<b>89</b>	<b>53</b>	<b>80</b>
23 	2	16	93	34	92	22	93	24	87
	4	32	93	52	88	34	90	39	85
	7	<b>58</b>	<b>89</b>	<b>62</b>	<b>81</b>	<b>43</b>	<b>87</b>	<b>51</b>	<b>82</b>
24 	2	6	99	20	98	18	99	8	99
	4	17	99	37	95	32	98	17	96
	7	<b>42</b>	<b>98</b>	<b>54</b>	<b>94</b>	<b>46</b>	<b>95</b>	<b>27</b>	<b>85</b>
25 	2	8	96	18	96	15	94	15	93
	4	19	96	23	95	25	94	26	92
	7	<b>43</b>	<b>94</b>	<b>53</b>	<b>93</b>	<b>35</b>	<b>92</b>	<b>43</b>	<b>91</b>

**Πίνακας 1.** Αποτελέσματα ενζυμικής εστεροποίησης των υποστρωμάτων **19-25** στα ιοντικά υγρά [BDMIM][ClO<sub>4</sub>] και [BMIM][ClO<sub>4</sub>] από το ένζυμο FAE

Συγκρίνοντας την απόδοση και εναντιοεκλεκτικότητα της ενζυμικής αντίδρασης μετά απο 7 μέρες για τα δυο ιοντικά υγρά, παρατηρήθηκε ότι τόσο παρουσία τριαιθυλαμίνης όσο και απουσία της, η FAE επιδεικνύει υψηλότερη δραστηριότητα και καλύτερη εναντιοεκλεκτικότητα στο ιοντικό υγρό [BMIM][ClO<sub>4</sub>]

απο ότι [BDMIM][ClO<sub>4</sub>]. Απουσία τριαιθυλαμίνης παρατηρείται αύξηση του ποσοστού μετατροπής 3-15%, και της εναντιοεκλεκτικότητας 1-5%. Εξαιρέση αποτελεί η ένωση **24** που στο [BDMIM][ClO<sub>4</sub>] το ποσοστό μετατροπής είναι μεγαλύτερο κατά 4%, οπότε φαίνεται ότι το συγκεκριμένο ιοντικό υγρό ευνοεί η αύξηση του μεγέθους του μεσαίου υποκαταστάτη. Επίσης παρατηρείται στο υπόστρωμα **21** ότι η εναντιοεκλεκτικότητα είναι μεγαλύτερη στο [BDMIM][ClO<sub>4</sub>], αλλά αυτό οφείλεται στο κατά πολύ μικρότερο ποσοστό μετατροπής του υποστρώματος (47% έναντι 11%).

Παρουσία τριαιθυλαμίνης παρατηρείται αύξηση του ποσοστού μετατροπής 10-26% ενώ και η εναντιοεκλεκτικότητα είναι μεγαλύτερη 2-12%. Αποκλίσεις παρατηρούνται στην περίπτωση του υποστρώματος **20** που το ποσοστό μετατροπής είναι σχεδόν το ίδιο, ενώ κάτι αντίστοιχο παρατηρείται στην εναντιοεκλεκτικότητα για το υπόστρωμα **23**.

Ωστόσο σε όλες τις παραπάνω περιπτώσεις που το ένζυμο στο [BDMIM][ClO<sub>4</sub>] φαίνεται να παρουσιάζει μεγαλύτερο ποσοστό μετατροπής από ότι στο [BMIM][ClO<sub>4</sub>] η αντίστοιχη εναντιοεκλεκτικότητα είναι πολύ μικρότερη και αντίθετα όταν η εναντιοεκλεκτικότητα είναι μεγαλύτερη στο [BDMIM][ClO<sub>4</sub>] το ποσοστό μετατροπής είναι σημαντικά μειωμένο.

Συμπερασματικά το [BMIM][ClO<sub>4</sub>] αποδεικνύεται ιδανικότερο μέσον από το [BDMIM][ClO<sub>4</sub>] για τις συγκεκριμένες βιομετατροπές που μελετήθηκαν.

Συγκρίνοντας τα αντίστοιχα αποτελέσματα των αντιδράσεων μετά από 7 μέρες με και χωρίς τριαιθυλαμίνη παρατηρείται ότι η προσθήκη της τριαιθυλαμίνης σε όλες σχεδόν τις περιπτώσεις επιφέρει αύξηση του ποσοστού μετατροπής, ωστόσο αυτό οδηγεί σε μια αντίστοιχη πτώση της εναντιοεκλεκτικότητας. Όταν χρησιμοποιήθηκε το [BMIM][ClO<sub>4</sub>] σε όλα τα υποστρώματα παρατηρήθηκε αύξηση του 4-19% και πτώση της εναντιοεκλεκτικότητας 1-9%. Ωστόσο αν εξαιρέσουμε το υπόστρωμα **23**, στα υπόλοιπα η μείωση της εναντιοεκλεκτικότητας είναι αρκετά μικρότερη από την αντίστοιχη αύξηση του ποσοστού μετατροπής.

Με διαλύτη το [BDMIM][ClO<sub>4</sub>] τα ποσοστά μετατροπής αυξήθηκαν 3-39%, με εξαιρέση το υπόστρωμα **23** που δεν παρατηρήθηκε κάποια αυξομείωση, ενώ στο υπόστρωμα **24** η αύξηση του μεγέθους στον μεσαίου μεγέθους υποκαταστάτη προκάλεσε μείωση του ποσοστού μετατροπής παρουσία της προσθετικής ουσίας. Μείωση της εναντιοεκλεκτικότητας παρατηρήθηκε σε όλες τις περιπτώσεις 1-23%. Ωστόσο στο [BDMIM][ClO<sub>4</sub>], με εξαιρέση το υπόστρωμα **25** που ο δακτύλιος δεν

είναι αρωματικός, η μείωση της εναντιοεκλεκτικότητας ήταν αρκετά σημαντική σε σχέση με την αύξηση του ποσοστού μετατροπής.

Συμπερασματικά η προσθήκη τριαιθυλαμίνης στο [BMIM][ClO<sub>4</sub>] επιδρά θετικά για το ένζυμο καθώς αυξάνει σημαντικά το ποσοστό μετατροπής του, με μικρή μείωση της εναντιοεκλεκτικότητας. Στο [BDMIM][ClO<sub>4</sub>] η σημαντική μείωση της εναντιοεκλεκτικότητας σε συνδυασμό με την μικρή αύξηση στο ποσοστό μετατροπής οδηγούν στο συμπέρασμα ότι η επίδραση της δεν βελτιώνει την συνολική απόδοση του ενζύμου.

Συγκρίνοντας τα ποσοστά μετατροπής με την πάροδο του χρόνου, παρατηρείται ότι σε πολλές περιπτώσεις, στα υποστρώματα **22-25** χωρίς Et<sub>3</sub>N, στο υπόστρωμα **21** με Et<sub>3</sub>N και το υπόστρωμα **20** με ή χωρίς Et<sub>3</sub>N, ενώ στις 2 μέρες το ποσοστό μετατροπής είναι μεγαλύτερο στο ιοντικό υγρό [BDMIM][ClO<sub>4</sub>] στη συνέχεια η διαφορά μειώνεται και τέλος στις 7 μέρες έχει ισοσταθμιστεί ή αντιστραφεί η διαφορά. Αυτό οφείλεται στο μεγαλύτερο ιξώδες του [BDMIM][ClO<sub>4</sub>] το οποίο οδηγεί σε μείωση του ρυθμού μετατροπής της αντίδρασης όσο η συγκέντρωση του υποστρώματος μειώνεται, καθώς η κίνηση των μορίων στο διάλυμα είναι δυσκολότερη.

Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα μεταξύ των υποστρωμάτων στις 7 μέρες αντίδρασης παρατηρείται ότι στο [BMIM][ClO<sub>4</sub>] απουσία Et<sub>3</sub>N, αύξηση του μεγέθους του ογκώδους υποκαταστάτη οδηγεί σε αύξηση του ποσοστού μετατροπής αλλά και σε μείωση της εναντιοεκλεκτικότητας, αντίθετα από ότι είχε αναφερθεί για τη βιομετατροπή σε οργανικό διαλύτη. Στο [BMIM][ClO<sub>4</sub>] παρουσία Et<sub>3</sub>N και στο [BDMIM][ClO<sub>4</sub>] παρατηρείται αρχικά αύξηση καθώς το μέγεθος αυξάνει με προσθήκη στην παρα- θέση του βενζολικού δακτυλίου της μεθυλο- και αιθυλο- ομάδας αλλά μετά μειώνεται όταν το μέγεθος αυξηθεί περισσότερο.

Μετάθεση του υποκαταστάτη από την παρα- στη μετα- θέση φαίνεται να οδηγεί σε μείωση του ποσοστού μετατροπής αλλά και της εναντιοεκλεκτικότητας. Όπως προαναφέρθηκε η αύξηση της εναντιοεκλεκτικότητας που παρατηρείται στο [BDMIM][ClO<sub>4</sub>] στο υπόστρωμα **22** οφείλεται στο σημαντικά μειωμένο ποσοστό μετατροπής.

Η απουσία αρωματικότητας του δακτυλίου, όταν η αντίδραση γίνεται στα ιοντικά υγρά, επιφέρει μικρή έως καθόλου αύξηση στο ποσοστό μετατροπής αλλά παράλληλα αυξάνει και την εναντιοεκλεκτικότητα, αντίθετα με την αντίστοιχη βιομετατροπή σε οργανικούς διαλύτες που παρουσιαζόταν μείωση τόσο του



ποσοστού μετατροπής όσο και της εναντιοεκλεκτικότητας όπως είχε αναφερθεί σε παλιότερη μελέτη.<sup>23</sup>

Για συγκριτικούς λόγους στον Πίνακα 2 παρατίθενται τα αποτελέσματα ως προς την δράση της FAE σε διαλύτη οξικό βινυλεστέρα και στα ιοντικά υγρά σε χρόνο 2 ημερών, για τα υποστρώματα **19-22** και **25**.

Υπόστρωμα	t(d)	[BMIM][ClO <sub>4</sub> ]		[BDMIM][ClO <sub>4</sub> ]		Οξικός βινυλεστέρας	
		C %	ee %	C %	ee %	C %	ee %
<b>19</b>	2	12	95	10	90	15	93
<b>20</b>	2	14	95	21	95	15	95
<b>21</b>	2	9	90	2	99	20	98
<b>22</b>	2	14	95	16	92	15	96
<b>25</b>	2	8	96	15	94	8	88

*Πίνακας 2. Συγκριτικά αποτελέσματα ενζυμικής εστεροποίησης σε ιοντικά υγρά και οξικό βινυλεστέρα*

Όπως φαίνεται από τον πίνακα η δραστικότητα και εναντιοεκλεκτικότητα του ενζύμου δεν παρουσιάζει σημαντικές διαφορές στις περισσότερες περιπτώσεις. Όπως προαναφέρθηκε στο [BDMIM][ClO<sub>4</sub>] σε αρκετές περιπτώσεις παρατηρούνται μεγαλύτερα ποσοστά μετατροπής από το [BMIM][ClO<sub>4</sub>] σε χρόνο 2 ημερών.

Τα αποτελέσματα της ενζυμικής εστεροποίησης σε [BMIM][ClO<sub>4</sub>] δείχνουν μείωση του ποσοστού μετατροπής σε σχέση με τον οργανικό διαλύτη για τα υποστρώματα **19-22**, ενώ η εναντιοεκλεκτικότητα είναι ίδια ή μικρότερη. Για το υπόστρωμα **25** το ποσοστό μετατροπής παραμένει το ίδιο, ενώ η εναντιοεκλεκτικότητα αυξάνεται σημαντικά.

Στο [BDMIM][ClO<sub>4</sub>] παρατηρείται σημαντική βελτίωση του ποσοστού μετατροπής για τα υποστρώματα **20** και **25** με διατήρηση και αύξηση της εναντιοεκλεκτικότητας αντίστοιχα. Η δραστικότητα του ενζύμου έναντι των υποστρωμάτων **19**, **21** και **22** είναι μειωμένη στο [BDMIM][ClO<sub>4</sub>] σε σχέση με την αντίστοιχη αντίδραση σε οξικό βινυλεστέρα καθώς και η εναντιοεκλεκτικότητα του. Η αυξημένη εναντιοεκλεκτικότητα για το υπόστρωμα **21** οφείλεται στο πολύ μικρό ποσοστό μετατροπής.

Οι μεγαλύτερες διαφορές μεταξύ ιοντικών υγρών και οξικού αιθυλεστέρα εντοπίζονται στο υπόστρωμα **21** και **25**. Στην περίπτωση του υποστρώματος **21** η ύπαρξη υποκαταστάτη στο βενζολικό δακτύλιο σε μετα- θέση φαίνεται να παρεμποδίζει σημαντικά το ένζυμο στα ιοντικά υγρά, αντίθετα στον οξικό βινυλεστέρα τόσο το ποσοστό μετατροπής όσο και η εναντιοεκλεκτικότητα αυξάνονται. Στο υπόστρωμα **25** η μη ύπαρξη αρωματικότητας στο δακτύλιο του υποκαταστάτη, ενώ στον οξικό βινυλεστέρα επιφέρει μείωση του ποσοστού μετατροπής και εναντιοεκλεκτικότητας, στα ιοντικά παρατηρείται αύξηση της εναντιοεκλεκτικότητας ενώ στο [BDMIM][ClO<sub>4</sub>] αυξάνεται και το ποσοστό μετατροπής.

Τα παραπάνω αποτελέσματα δείχνουν ότι τα συγκεκριμένα ιοντικά υγρά μπορούν να χρησιμοποιηθούν αντί των οργανικών διαλυτών σε ενζυμικά καταλυόμενες αντιδράσεις με το ένζυμο FAE, ενώ σε ορισμένες περιπτώσεις παρατηρείται σημαντική βελτίωση της δραστηριότητας και εκλεκτικότητας του ενζύμου έναντι των οργανικών διαλυτών. Επίσης η προσθήκη της προσθετικής ουσίας τριαιθυλαμίνης αυξάνει σημαντικά την δραστηριότητα του ενζύμου στο ιοντικό υγρό [BDMIM][ClO<sub>4</sub>].

Ωστόσο όπως και στις ενζυμικές αντιδράσεις σε οργανικούς διαλύτες μεγάλο ρόλο στη δραστηριότητα του ενζύμου παίζει η φύση του υποστρώματος και οι χαρακτηριστικές ομάδες που φέρει. Μελετώντας τα ιοντικά υγρά ως εναλλακτικούς διαλύτες και δοκιμάζοντας την επίδραση προσθετικών ουσιών μπορεί να βρεθεί ο καλύτερος διαλύτης για κάθε υπόστρωμα και να προσδιοριστούν οι βέλτιστες συνθήκες για την πραγματοποίηση της εκάστοτε ενζυμικής εστεροποίησης/υδρόλυσης.

# **ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

# ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

## ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Το μη καθαρό παρασκεύασμα της φερούλλουλο εστεράσης που χρησιμοποιήθηκε προέρχεται από την εταιρία Novo Nordisk. Οι κετορεδουκτάσες, το συνένζυμο NADPH και η αφυδρογονάση της γλυκόζης ήταν μια προσφορά της εταιρίας Biocatalytics.

Τα αντιδραστήρια και οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν αγοράστηκαν από τις εταιρίες SIGMA-ALDRICH, RIEDEL, MERCK και FLUKA. Τα αντιδραστήρια χρησιμοποιήθηκαν χωρίς περαιτέρω επεξεργασία. Η παρασκευή των ρυθμιστικών διαλυμάτων<sup>150</sup> και η ξήρανση των διαλυτών<sup>151</sup> όπου χρειάστηκε έγινε σύμφωνα με τις γνωστές από τη βιβλιογραφία μεθόδους.

## ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

Τα φάσματα <sup>1</sup>H NMR και <sup>13</sup>C NMR ελήφθησαν με φασματόμετρο 300MHz της Bruker, χρησιμοποιώντας τετραμεθυλοσιλάνιο ως σήμα αναφοράς σε διαλύτη CDCl<sub>3</sub> στους 297 K.

Οι πορείες των ενζυμικών αντιδράσεων και η εναντιοεκλεκτικότητά τους μελετήθηκαν σε αέριο χρωματογράφο *Hewlett Packard II 5890 Series II* με ανιχνευτή FID και χειρόμορφη τριχοειδή στήλη HP - Chiral (20% permethylated β-κυκλοδεξτρίνη, 30m x 0.25mm x 0.25μm). Το ποσοστό μετατροπής (C%) και η εναντιομερική περίσσεια (ee%) προέκυψαν από αυτόματες ολοκληρώσεις στα εμβιάδα των κορυφών των χρωματογραφημάτων.

# ΓΕΝΙΚΕΣ ΣΥΝΘΕΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

## 1. Εστεροποίηση των ενώσεων 5, 13, 16 και 19-25 με οξικό ανυδρίτη

Σε μονόλαιμη σφαιρική φιάλη με μαγνητικό αναδευτήρα διαλύθηκε η αλκοόλη (1 mmole) σε 10 ml οξικό αιθυλεστέρα. Στη συνέχεια προστέθηκε το  $K_2CO_3$  (1.5 eq) και καταλυτική ποσότητα DMAP (~5% mmole) υπό ανάδευση. Τέλος έγινε η προσθήκη του  $Ac_2O$  (1.5 mmole) και το διάλυμα αφέθηκε υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου. Έλεγχος της αντίδρασης έγινε με TLC.

Η αντίδραση διακόπηκε με προσθήκη λίγων σταγόνων διαλύματος HCl 3N έως ότου το διάλυμα να διανυγάσει και να καταβυθιστεί ίζημα. Το διάλυμα διηθήθηκε σε διαχωριστική χοάνη για την απομάκρυνση του ιζήματος και εκχυλίστηκε με 5 mL κορεσμένου διαλύματος  $NaHCO_3$  και 5 mL κορεσμένου διαλύματος NaCl. Ακολούθησε ξήρανση της οργανικής φάσης με  $MgSO_4$  και απομάκρυνση του οργανικού διαλύτη υπό ελαττωμένη πίεση. Στη συνέχεια ελήφθη το φάσμα  $^1H$  NMR του προϊόντος.

## 2. Ενζυμική αναγωγή του β,δ-δικετοεστέρα 6 σε μικρή κλίμακα

Σε 1 mL ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικών (200 mM, pH=6,9) προστέθηκαν υπόστρωμα (25 mM), κετορεδουκτάση (2 mg/mL), NADPH (2,5 mM, 2 mg), γλυκόζη (150 mM, 25 mg) και αφυδρογονάση της γλυκόζης (GDH, 2 mg/mL). Η αντίδραση αφέθηκε υπό ανάδευση στους 37 °C και ο έλεγχος αυτής έγινε σε 1 και 2 ώρες, με αέριο χρωματογράφο μετά από εκχύλιση του μίγματος με EtOAc.

## 3. Παρασκευή των εστέρων 11, 14 και των MPA εστέρων της (R)-5 με εστεροποίηση με DCC

Κάτω από ατμόσφαιρα αζώτου και σε προξηραμένη σφαιρική που έφερε μαγνητικό αναδευτήρα διαλύθηκε σε 15 mL ξηρού  $CH_2Cl_2$  η αλκοόλη (1 mmole), το οξύ (1.1 mmole) και καταλυτική ποσότητα DMAP (~5% mmole). Στη συνέχεια το διάλυμα ψύχθηκε στους 0 °C με παγόλουτρο και μετά από 10' έγινε η προσθήκη του DCC (230 mgr, 1.1 mmole). Η αντίδραση αφέθηκε υπό ανάδευση στους 0 °C και παρακολούθηθηκε με TLC.

Μετά το τέλος της αντίδρασης το διάλυμα διηθήθηκε ώστε να απομακρυνθεί η ουρία που σχηματίζεται, και το  $CH_2Cl_2$  απομακρύνθηκε υπό ελαττωμένη πίεση.

Καθώς έμειναν υπολείμματα λευκού ιζήματος (ουρία), έγινε προσθήκη μικρής ποσότητας  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (~2 mL) και διηθήθηκε ξανά, ενώ στη συνέχεια το  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  απομακρύνθηκε υπό ελαττωμένη πίεση. Το προϊόν καθαρίστηκε με χρωματογραφία στήλης (εξάνιο/ $\text{EtOAc}$ , v/v, 5/1). Στη συνέχεια ελήφθη το φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του προϊόντος.

#### **4. Παρασκευή των ενώσεων 12, 15 και 24 με αναγωγή με $\text{NaBH}_4$**

Κάτω από ατμόσφαιρα αζώτου και σε 20 mL άνυδρης αιθανόλης προστέθηκε το  $\text{NaBH}_4$  (10 mgr, 0,26 mmoles). Στους  $0^\circ\text{C}$  και σε διάρκεια 5 λεπτών προστέθηκε στάγδην η κετόνη (1 mmole) διαλυμένη σε 10 mL άνυδρης αιθανόλης. Το μίγμα αναδεύτηκε για 2-4 ώρες, στους  $0^\circ\text{C}$ , ελέγχοντας την αντίδραση με TLC.

Μετά το τέλος της αντίδρασης προστέθηκαν αργά στους  $0^\circ\text{C}$  περίπου 1 mL κορεσμένου διαλύματος  $\text{NH}_4\text{Cl}$  και το διάλυμα συμπυκνώθηκε στον ρότορα. Κατόπιν προστέθηκαν 15 mL νερό και το μίγμα εκχυλίστηκε με οξικό αιθυλεστέρα (2x20 mL). Η οργανική φάση ξηράθηκε με  $\text{MgSO}_4$  και ο διαλύτης απομακρύνθηκε υπό κενό. Το προϊόν της αντίδρασης καθαρίστηκε περαιτέρω με χρωματογραφία στήλης (εξάνιο/ $\text{EtOAc}$ , v/v, 6/1). Στη συνέχεια ελήφθη το φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του προϊόντος.

#### **5. Παρασκευή των δευτεροταγών αλκοολών 20, 22, 25 με σύζευξη αλδεϋδών με αντιδραστήριο Grignard.**

Σε προξηραμένη δίκαιμη σφαιρική που έφερε μαγνητικό αναδευτήρα και προσθετική χοάνη, υπό ατμόσφαιρα αζώτου, έγινε προσθήκη περίσσειας λειοτριβημένου Mg (146 mg, 6 mmoles) σε 10 mL ξηρό αιθέρα. Μέσω της προσθετικής χοάνης προστέθηκε στάγδην το  $\text{CH}_3\text{I}$  (0.35 mL, 5.5 mmoles) διαλυμένο σε 5 mL ξηρό αιθέρα οπότε παρατηρήθηκε ελαφριά θέρμανση του διαλύματος το οποίο χρωματίστηκε γκρίζο και δημιουργήθηκαν φυσαλίδες. Όταν οι φυσαλίδες σταμάτησαν τότε το διάλυμα ψύχθηκε στους  $0^\circ\text{C}$  με παγόλουτρο και έγινε στάγδην η προσθήκη της αλδεϋδης (5 mmoles) διαλυμένης σε 5 ml ξηρό αιθέρα. Μετά το τέλος της προσθήκης το διάλυμα αφέθηκε σε θερμοκρασία δωματίου και παρακολουθήθηκε με TLC.

Μετά το τέλος της αντίδρασης το διάλυμα ψύχθηκε στους  $0^\circ\text{C}$  με παγόλουτρο και έγινε προσθήκη σταγόνων νερού μέχρι να διαυγάσει η οργανική φάση ενώ ταυτόχρονα δημιουργήθηκε λευκό ίζημα. Το ίζημα απομακρύνθηκε με διήθηση και

το διάλυμα εκχυλίστηκε με κορεσμένο υδατικό διάλυμα NaCl. Η υδατική φάση εκχυλίστηκε με αιθέρα και οι ενωμένες οργανικές φάσεις ξηράνθηκαν με MgSO<sub>4</sub> και ακολούθησε διήθηση και απομάκρυνση του οργανικού διαλύτη υπό ελαττωμένη πίεση. Στη συνέχεια ελήφθη το φάσμα <sup>1</sup>H NMR του προϊόντος.

#### **6. Αναγωγή κετονών προς τις αντίστοιχες δευτεροταγείς αλκοόλες 21, 24 με LiAlH<sub>4</sub>.**

Σε προξηραμένη δίλιμη φαιρική που έφερε μαγνητικό αναδευτήρα και υπό ατμόσφαιρα αζώτου τοποθετήθηκε το LiAlH<sub>4</sub> (475mg, 12.5 mmoles) και προστέθηκαν 30 mL ξηρής αιθανόλης. Η φιάλη ψύχθηκε στους 0 °C με παγόλουτρο και έγινε στάγδην η προσθήκη της κετόνης (40 mmoles) διαλυμένης σε 20 mL ξηρή αιθανόλη. Μετά το τέλος της προσθήκης το διάλυμα αφέθηκε υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου και η πορεία της αντίδρασης ελεγχόταν με TLC.

Μετά το τέλος της αντίδρασης το διάλυμα ψύχθηκε στους 0 °C με παγόλουτρο και ακολούθησε επεξεργασία του συμπλόκου του Al: προσθήκη 0.4 mL H<sub>2</sub>O, βρασμός για 15', ψύξη στους 0 °C, προσθήκη 0.4 mL διαλύματος 15% NaOH, βρασμός για 15', ψύξη στους 0 °C, προσθήκη 1.2 mL H<sub>2</sub>O και βρασμός μέχρι να διασπαστεί το σύμπλοκο του Al, οπότε εμφανίστηκε λευκό ίζημα. Το ίζημα απομακρύνθηκε με διήθηση και το μίγμα της αντίδρασης εκχυλίστηκε με 20 mL διαλύματος 5% NaHCO<sub>3</sub> και έπειτα με 20 mL με κορεσμένο διάλυμα NaCl. Η οργανική φάση ξηράνθηκε με MgSO<sub>4</sub>. Ακολούθησε διήθηση και απομάκρυνση του οργανικού διαλύτη υπό ελαττωμένη πίεση. Στη συνέχεια ελήφθη το φάσμα <sup>1</sup>H NMR του προϊόντος.

#### **7. Ενζυμική ακετυλίωση των δευτεροταγών αλκοολών 19-25 σε ιοντικά υγρά**

Σε προξηραμένο γυάλινο φιαλίδιο διαλύθηκε η αλκοόλη (0.1 mmoles) και ο οξικός βινυλεστέρας (0.5 mmoles) σε 1mL ιοντικού υγρού. Στο διάλυμα προστέθηκαν 100 mg FAE και το ετερογενές διάλυμα αναδεύτηκε (300 rpm) σε θερμό ρεύμα αέρα (45 °C) σε αυτοθερμαινόμενο αναδευτήρα. Σε διαστήματα δύο, τεσσάρων και επτά ημερών ελήφθησαν δείγματα 25 μL από το διάλυμα, τα οποία εκχυλίστηκαν με 0.5 mL διαιθυλαιθέρα, και από το εκχύλισμα 0.1μL δείγματος αναλύθηκε με αέρια χρωματογραφία.

# ΣΥΝΘΕΣΗ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΩΝ

## A. Σύνθεση Xestodecalactones

### 1. Σύνθεση του ρακεμικού 3-υδροξυ-5-οξο-εξανικού τριτ-βουτυλεστέρα (5) με αλδολική συμπύκνωση

Κάτω από ατμόσφαιρα αζώτου και σε ξηρό THF (15mL) διαλύθηκε διυσοπροπυλαμίνη (46 mmoles) και, αφού ψύχθηκε στους 0 °C σε παγόλουτρο, προστέθηκε στάγδην το BuLi (1.6 M σε εξάνιο, 45 mmoles). Το μίγμα αναδεύτηκε σε θερμοκρασία δωματίου για περίπου 15 λεπτά και στη συνέχεια ψύχθηκε ξανά με παγόλουτρο στους 0 °C. Ακολούθησε προσθήκη διαλύματος ακετο οξικού τριτ-βουτυλεστέρα (20 mmol) σε ξηρό THF (10 mL) και ανάδευση για άλλα 10 λεπτά. Ακολούθως προστέθηκε, για 20 λεπτά, διάλυμα ξηρού THF (10 mL) που περιείχε ακεταλδεϋδη (25 mmol) και το μίγμα αναδεύτηκε έως την ολοκλήρωση της αντίδρασης, που ανιχνεύτηκε χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC), ενώ η θερμοκρασία παρέμεινε στους 0 °C.

Το προϊόν απομονώθηκε έπειτα από προσθήκη διαιθυλαιθέρα (60 mL) και εκχύλιση του διαλύματος με κορεσμένο NH<sub>4</sub>Cl (100 mL), κορεσμένο NaCl (100 mL) και νερό (100 mL). Ακολούθησε ξήρανση με MgSO<sub>4</sub> και απομάκρυνση του οργανικού διαλύτη υπό ελαττωμένη πίεση. Περαιτέρω καθαρισμός του προϊόντος έγινε με χρωματογραφία στήλης (εξάνιο/EtOAc, v/v, 5/1). Στη συνέχεια ελήφθη το φάσμα <sup>1</sup>H NMR του προϊόντος. Απομονώθηκαν 16.4 mmoles προϊόντος (82% απόδοση).

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz, δ ppm): 1.18 (d, J=6.3 Hz, 3H), 1.44 (s, 9H), 2.56-2.74 (m, 2H), 2.87 (s, 2H), 4.19-4.28 (m, 1H)

### 2. Σύνθεση του 3-ακετυλο-5-οξο-εξανικού τριτ-βουτυλεστέρα

Η σύνθεση του 3-ακετυλο-5-οξο-εξανικού τριτ-βουτυλεστέρα έγινε σύμφωνα με τη γενική συνθετική μέθοδο (1). Η ένωση 5 (0.1 mmole) εστεροποιήθηκε με οξικό ανυδρίτη (0.11 mmoles) απουσία K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Μετά από χρωματογραφία στήλης με silica gel (εξάνιο/EtOAc, v/v, 8/1), απομονώθηκαν 0.08 mmoles προϊόντος (80% απόδοση). Στη συνέχεια ελήφθη το φάσμα <sup>1</sup>H NMR του προϊόντος.



$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz,  $\delta$  ppm): 1.28 (d,  $J=6.3$  Hz, 3H), 1.47 (s, 9H), 2.00 (s, 3H) 2.66-2.92 (m, 2H), 3.35 (s, 2H), 5.18-5.31 (m, 1H)

### 3. Σύνθεση του 3,5-διοξο-εξανικού τριτ-βουτυλεστέρα (6)

Σε σφαιρική φιάλη με μαγνητικό αναδευτήρα διαλύθηκε η ένωση **5** (2 mmoles) σε 20 mL ακετόνης και το διάλυμα ψύχθηκε στους  $0^\circ\text{C}$  με παγόλουτρο και τέθηκε υπό ανάδευση. Κατόπιν έγινε η προσθήκη σταγόνων του αντιδραστηρίου Jones οπότε το διάλυμα χρωματίστηκε αρχικά καστανοκόκκινο. Το διάλυμα αφέθηκε για 5-10' οπότε το χρώμα του έγινε σκουροπράσινο. Επαναλήφθη η προσθήκη του αντιδραστηρίου Jones έως ότου το διάλυμα αφού αφέθηκε για 10-15' παρέμεινε καστανοκόκκινο, μια ένδειξη ότι η αντίδραση είχε τελειώσει και το αντιδραστήριο Jones βρισκόταν σε περίσσεια. Έλεγχος της αντίδρασης έγινε με TLC.

Το διάλυμα αραιώθηκε στο διπλάσιο με  $\text{Et}_2\text{O}$  και η περίσσεια του Jones εξουδετερώθηκε με προσθήκη σταγόνων 2-προπανόλης οπότε το διάλυμα χρωματίστηκε σκουροπράσινο, και αφέθηκε υπό ανάδευση στους  $0^\circ\text{C}$  μέχρι να διαυγάσει. Στη συνέχεια το διάλυμα διηθήθηκε σε μια διαχωριστική χοάνη και εκχυλίστηκε με 10 mL κορεσμένο διάλυμα  $\text{NaHCO}_3$  και μετά με 10 mL κορεσμένο διάλυμα  $\text{NaCl}$ . Η οργανική φάση ξηράθηκε με  $\text{MgSO}_4$ . Ακολούθησε διήθηση, απομάκρυνση του διαλύτη υπό ελαττωμένη πίεση και καθαρισμός του προϊόντος με χρωματογραφία στήλης με silica gel (εξάνιο/ $\text{EtOAc}$ , v/v, 8/1) οπότε ελήφθη ο δικετοεστέρας **6**. Στη συνέχεια ελήφθη το φάσμα  $^1\text{H}$  NMR της κετόνης. Απομονώθηκαν 1.58 mmoles προϊόντος (79% απόδοση).

Το προϊόν παρουσιάζει πολύ σταθερή ενολική μορφή στην οποία αποδίδονται οι κύριες κορυφές του φάσματος  $^1\text{H}$  NMR. Οι κορυφές της κετονικής μορφής αναφέρονται με πλάγια γράμματα.

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz,  $\delta$  ppm): 1.44 (s, 9H), 2.05 (s, 3H), 2.23 (s, 3H) 3.21 (s, 2H), 3.43 (s, 2H), 3.70 (s, 2H), 5.57 (s, 1H)

### 4. Σύνθεση του οπτικώς καθαρού (*R*)-3-υδροξυ-5-οξο-εξανικού τριτ-βουτυλεστέρα (*R*)-5

Σε 20 mL ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικών (200 mM, pH 6,9) προστέθηκαν 70 mM της ένωσης **6** (280 mgr), 150 mM γλυκόζης (320 mg), 0,4 mM

NADPH (6 mg), 4 mg αφυδρογονάσης της γλυκόζης (GDH) και 8 mg KRED A1B. Το μίγμα αναδεύτηκε στους 37 °C μέχρι το πέρας της αντίδρασης, όπως φαίνεται από τον αέριο χρωματογράφο. Το προϊόν απομονώνεται έπειτα από εκχύλιση του μίγματος με EtOAc (3x30 mL). Στη συνέχεια η οργανική φάση ξηράθηκε με MgSO<sub>4</sub> και ο διαλύτης απομακρύνθηκε υπό ελαττωμένη πίεση παράγοντας καθαρή και οπτικώς ενεργή την αλκοόλη, όπως αναλύθηκε με αέρια χρωματογραφία. Απομονώθηκαν 258 mgf (απόδοση 91%).

Το φάσμα <sup>1</sup>H NMR που ελήφθη ήταν ίδιο με του ρακεμικού υδροξυκετοεστέρα **5**.

#### **5. Σύνθεση του (R)-MPA εστέρα του (R)-3-υδροξυ-5-οξο-εξανικού τριτ-βουτυλεστέρα (R)-5**

Η σύνθεση του (R)-MPA εστέρα του (R)-**5** έγινε με εστεροποίηση του (R)-**5** (0.1 mmoles) με (R)-MPA (0.11 mmoles), παρουσία DCC(0.12 mmoles) και DMAP σύμφωνα με τη γενική συνθετική μέθοδο (**3**). Το προϊόν απομονώθηκε με απόδοση 73% και ελήφθη το φάσμα <sup>1</sup>H NMR του.

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub> 300 MHz, δ ppm): 1.29 (d, J=3.6Hz), 1.43 (s, 9H), 2.59-2.78 (m, 2H), 3.10 (s, 2H), 3.39 (s, 3H), 4.70 (s, 1H), 5.31-5.35 (m, 1H), 7.32-7.39 (m, 5H)

#### **6. Σύνθεση του (S)-MPA εστέρα του (R)-3-υδροξυ-5-οξο-εξανικού τριτ-βουτυλεστέρα (R)-5**

Η σύνθεση του (S)-MPA εστέρα του (R)-**5** έγινε με εστεροποίηση του (R)-**5** (0.1 mmoles) με (S)-MPA (0.11 mmoles), παρουσία DCC(0.12 mmoles) και DMAP σύμφωνα με τη γενική συνθετική μέθοδο (**3**). Το προϊόν απομονώθηκε με απόδοση 76% και ελήφθη το φάσμα <sup>1</sup>H NMR του.

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub> 300 MHz, δ ppm): 1.17 (d, J=3.6Hz), 1.46 (s, 9H), 2.74-2.86 (m, 2H), 3.31 (s, 2H), 3.39 (s, 3H), 4.70 (s, 1H), 5.31-5.35 (m, 1H), 7.32-7.39 (m, 5H)

#### **7. Σύνθεση του (3,5 διβενζυλοξυ φαινυλο)-οξικού μεθυλεστέρα (**9**)**

Κάτω από ατμόσφαιρα αζώτου και σε προξηραμένη δίλιμη σφαιρική με μαγνητικό αναδευτήρα, υπό αδρανή ατμόσφαιρα (N<sub>2</sub>) και σε 10 mL ξηρό DMF διαλύθηκε ο (3,5 διβενζυλοξυ φαινυλο)-οξικός μεθυλεστέρας (1 mmole) υπό ανάδευση και προστέθηκε το K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2 mmoles). Στη συνέχεια προστέθηκε στάγδην

το βενζυλο βρωμίδιο (2 mmoles) και το διάλυμα αφέθηκε υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου. Η πορεία της αντίδρασης ελέγχθηκε με TLC.

Το διάλυμα αραιώθηκε στο διπλάσιο με Et<sub>2</sub>O και ακολούθησαν 2 εκχυλίσεις με 10 mL απεσταγμένο H<sub>2</sub>O και 2 εκχυλίσεις με 10 mL κορεσμένο διάλυμα NaHCO<sub>3</sub>. Η αιθερική φάση ξηράθηκε με MgSO<sub>4</sub>. Ακολούθησε διήθηση και απομάκρυνση του οργανικού διαλύτη υπό ελαττωμένη πίεση. Περαιτέρω καθαρισμός του προϊόντος επετεύχθη με flash χρωματογραφία στήλης (εξάνιο/EtOAc, v/v, 5/1). Στη συνέχεια ελήφθη το φάσμα <sup>1</sup>H NMR του προϊόντος. Απομονώθηκαν 0.75 mmoles (απόδοση 75%).

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub> 300 MHz, δ ppm): 3.54 (s, 2H), 3.67 (s, 3H), 5.01 (s, 4H), 6.53 (s, 3H), 7.28-7.42 (m, 10H)

<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz, δ ppm): 41.25, 51.83, 69.92, 101.28, 108.49, 136.08, 136.84, 160.01, 171.51

#### 8. Σύνθεση του (3,5 διβενζυλοξυ φαινυλο)-οξικού οξέος (10)

Σε σφαιρική φιάλη που έφερε ψυκτήρα και μαγνητικό αναδευτήρα διαλύθηκε ο εστέρας **9** (0.75 mmole) σε 10 ml διαλύματος αιθανόλης/νερού 1/1. Στη συνέχεια προστέθηκε το NaOH (0.8 mmole) και το διάλυμα αφέθηκε να βράσει υπό ανάδευση. Η αντίδραση ελέγχθηκε με TLC.

Η αντίδραση αφέθηκε να επανέλθει σε θερμοκρασία δωματίου και προστέθηκαν 3 mL απεσταγμένο νερό. Κατόπιν το διάλυμα εκχυλίστηκε 2 φορές με 15 mL Et<sub>2</sub>O και στη συνέχεια στην υδατική φάση προστέθηκε διάλυμα HCl 3N έως ότου το διάλυμα γίνει όξινο (έλεγχος με πεχαμετρικό χαρτί). Ακολούθησαν εκχυλίσεις με όγκους 15 mL αιθέρα έως ότου η αιθερική φάση να μην φαίνεται όξινη στον έλεγχο με πεχαμετρικό χαρτί. Οι οργανικές φάσεις ενώθηκαν και ξηράθηκαν με MgSO<sub>4</sub>. Ακολούθησε διήθηση και απομάκρυνση του οργανικού διαλύτη υπό ελαττωμένη πίεση. Στη συνέχεια ελήφθη το φάσμα <sup>1</sup>H NMR και <sup>13</sup>C του προϊόντος. Απομονώθηκαν 0.59 mmole του προϊόντος **10** ως λευκή κρυσταλλική ουσία (απόδοση 78 %).

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub> 300 MHz, δ ppm): 3.57 (s, 2H), 5.00 (s, 4H), 6.53 (s, 3H), 7.30-7.41 (m, 10H)

<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz, δ ppm): 41.16, 70.00, 101.04, 108.64, 135.27, 136.71, 160.00, 177.60

## 9. Σύνθεση της ένωσης 11

Η σύνθεση της ένωσης **11** έγινε με εστεροποίηση του οξέος **10** (0.55 mmoles) με το ρακεμικό **5** (0.50 mmoles), σύμφωνα με τη γενική συνθετική μέθοδο (**3**). Μετά από τον καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης (εξάνιο/EtOAc, v/v 9/1) απομονώθηκαν 0.34 mmoles της ένωσης **11** (απόδοση 67%)

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz,  $\delta$  ppm): 1.28 (d,  $J=5.4\text{Hz}$ , 3H), 1.45 (s, 9H), 2.64-2.71 (m, 1H), 2.81-2.89 (m, 1H), 3.28 (s, 2H), 3.51 (s, 2H), 5.01 (s, 4H), 5.26-5.32 (m, 1H), 6.52 (s, 3H), 7.28-7.43 (m, 10H)

$^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz,  $\delta$  ppm): 19.62, 27.76, 28.08, 41.48, 48.21, 50.70, 67.18, 69.86, 100.79, 108.26, 135.85, 136.69, 159.85, 170.22

## 10. Σύνθεση της ένωσης 12

Η σύνθεση της ένωσης **E** έγινε με αναγωγή της **11** (0.33 mmoles) με  $\text{NaBH}_4$  (0.09 mmoles), σύμφωνα με την γενική συνθετική μέθοδο (**4**). Μετά από τον καθαρισμό της με χρωματογραφία στήλης(εξάνιο/EtOAc, v/v, 9/1) απομονώθηκαν 0.34 mmoles της ένωσης **12** (απόδοση 67%). Στη συνέχεια ελήφθη το φάσμα  $^1\text{H}$  NMR και  $^{13}\text{C}$  του προϊόντος.

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz,  $\delta$  ppm): 1.23/1.25 (d,  $J=3\text{Hz}$ , 3H), 1.43/1.44 (s, 9H), 1.54-1.64/1.82-1.92 (m, 1H), 2.26-2.44 (m, 2H), 3.51/3.54 (s, 2H), 3.88-4.06 (m, 1H) 5.01 (s, 4H), 5.04-5.21 (m, 1H), 6.53 (s, 2H), 6.54 (s, 1H), 7.30-7.42 (m, 10H)

$^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz,  $\delta$  ppm): 19.82, 20.41, 27.92, 41.75, 42.03, 42.35, 42.85, 64.36, 65.28, 68.50, 69.02, 69,89, 80.95, 81,19, 100.81, 108.27, 127.32, 127.84, 128.35, 136.01, 136.71, 159.86, 170.57, 171.19, 171.47, 171.82

## 11. Σύνθεση της ένωσης 13

Η σύνθεση της ένωσης **13** έγινε με εστεροποίηση της ένωσης **12** σύμφωνα με τη γενική συνθετική μέθοδο (1). Η ένωση **12** (0.2 mmole) εστεροποιήθηκε με οξικό ανυδρίτη (0.22 mmoles), παρουσία  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (0.22 mmoles) και DMAP. Μετά από χρωματογραφία στήλης με silica gel (εξάνιο/EtOAc, v/v, 8/1), απομονώθηκαν 0.18 mmoles προϊόντος (91% απόδοση). Στη συνέχεια ελήφθη το φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του προϊόντος.

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz,  $\delta$  ppm): 1.20/1.23 (d,  $J=6.3\text{Hz}$ , 3H), 1.40/1.41 (s, 9H), 1.45-1.50/1.72-1.86 (m, 1H), 1.99/2.00 (s, 3H), 2.44-2.48 (m, 2H), 3.51/3.53 (s, 2H), 4.90-4.99 (m, 1H) 5.00/5.01 (s, 4H), 5.18-5.30 (m, 1H), 6.51-6.54 (m, 3H), 7.28-7.42 (m, 10H)

$^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz,  $\delta$  ppm): 19.66, 20.14, 27.76, 28.08, 41.48, 48.21, 50.70, 67.18, 69.86, 100.79, 108.26, 135.85, 136.69, 159.85, 170.22

## 12. Σύνθεση της ένωσης 14

Η σύνθεση της ένωσης **14** έγινε με εστεροποίηση του οξέος **8** (1.1 mmoles) με το οπτικώς καθαρό (*R*)-**5** (1 mmole), σύμφωνα με τη γενική συνθετική μέθοδο (**3**). Μετά από τον καθαρισμό με χρωματογραφία στήλης (εξάνιο/ $\text{EtOAc}$ , v/v 5/1) απομονώθηκαν 0.70 mmoles της ένωσης **14** (απόδοση 70%)

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz,  $\delta$  ppm): 1.25 (d,  $J=6.3\text{Hz}$ , 3H), 1.43 (s, 9H), 2.64-2.71 (m, 1H), 2.81-2.89 (m, 1H), 3.26 (s, 2H), 3.48 (s, 2H), 3.75 (s, 6H), 5.22-5.35 (m, 1H), 6.33-634 (m, 1H), 6.38-640 (m, 2H)

$^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz,  $\delta$  ppm): 19.65, 27.76, 28.08, 41.53, 48.21, 50.69, 55.10, 67.17, 68.38, 81.91, 99.09, 107.04, 131.125, 135.79, 136.69, 160.64, 165.83, 170.34, 199.74

## 13. Σύνθεση της ένωσης 15

Η σύνθεση της ένωσης **15** έγινε με αναγωγή της **14** (0.64 mmoles) με  $\text{NaBH}_4$  (0.18 mmoles), σύμφωνα με την γενική συνθετική μέθοδο (**4**). Μετά από τον καθαρισμό της με χρωματογραφία στήλης (εξάνιο/ $\text{EtOAc}$ , v/v, 8/1) απομονώθηκαν 0.54 mmoles της ένωσης **14** (απόδοση 85%). Στη συνέχεια ελήφθη το φάσμα  $^1\text{H}$  NMR και  $^{13}\text{C}$  του προϊόντος.

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz,  $\delta$  ppm): 1.23/1.24 (d,  $J=6.3\text{Hz}$ , 3H), 1.42 (s, 9H), 1.51-1.63/1.79-1.91 (m, 1H), 1.73 (s, 1H), 2.23-2.41 (m, 2H), 3.12/22 (d,  $J=3.6\text{Hz}$ , 1H), 3.49/3.52 (s, 2H), 3.75 (s 6H), 3.80-4.04 (m, 1H), 4.98-5.20 (m, 1H), 6.31-6.34 (m, 1H), 6.39-6.41 (m, 2H),

$^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz,  $\delta$  ppm): 19.80, 20.39, 27.89, 41.70, 41.77, 41.94, 42.01, 42.31, 42.84, 55.08, 64.33, 65.23, 68.45, 68.96, 80.93, 81,17, 99.11, 107.01, 135.93, 160.64, 170.57, 171.18, 171.48, 171.81

#### 14. Σύνθεση της ένωσης 16

Η σύνθεση της ένωσης **16** έγινε με εστεροποίηση της ένωσης **15** σύμφωνα με τη γενική συνθετική μέθοδο (1). Η ένωση **16** (0.54 mmole) εστεροποιήθηκε με οξικό ανυδρίτη (0.60 mmoles), παρουσία  $K_2CO_3$  (0.60 mmoles) και DMAP. Μετά από χρωματογραφία στήλης με silica gel (εξάνιο/EtOAc, v/v, 9/1), απομονώθηκαν 0.50 mmoles προϊόντος (92% απόδοση). Στη συνέχεια ελήφθη το φάσμα  $^1H$  NMR και  $^{13}C$  του προϊόντος.

$^1H$  NMR ( $CDCl_3$  300 MHz,  $\delta$  ppm): 1.15/1.21 (d,  $J=6Hz$ , 3H), 1.38/1.41 (s, 9H), 1.69-1.82 (m, 1H), 1.95/1.96 (s, 3H), 2.33-2.48 (m, 2H), 3.47/3.49 (s, 2H), 4.88-4.95 (m, 1H), 4.88-4.95 (m, 1H), 5.15-5.22 (m, 1H), 6.28-6.31 (m, 1H), 6.37-6.39 (m, 1H)  
 $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ , 300MHz,  $\delta$  ppm): 19.63, 20.01, 20.43, 20.73, 27.77, 27.87, 39.48, 39.99, 40.06, 40.53, 41.45, 41.59, 55.03, 66.85, 65.19, 67.62, 68.10, 80.72, 99.09, 99.15, 107.06, 135.82, 135.94, 160.59, 160.64, 168.93, 168.94, 169.79, 170.43, 170.63

#### 15. Σύνθεση της ένωσης 17

Κάτω από ατμόσφαιρα αζώτου και σε προξηραμένη φιάλη που έφερε μαγνητικό αναδευτήρα διαλύθηκε η ένωση **16** (0.5 mmole) σε 18 mL μίγματος TFA/TFAA 5/1 και το διάλυμα θερμαίνεται σε ελαιόλουτρο και αφέθηκε υπό ανάδευση για 30 λεπτά στους 60 °C.

Στη συνέχεια το διάλυμα επανέρχεται σε θερμοκρασία δωματίου και ο διαλύτης απομακρύνθηκε υπό ελαττωμένη πίεση. Το παχύρευστο καστανοκόκκινο υγρό που έμεινε διαλύθηκε σε 20 mL  $Et_2O$  και εκχυλίστηκε 2 φορές με 10 mL  $NaHCO_3$  και 2 φορές με 10 mL  $H_2O$ . Η αιθερική φάση ξηράνθηκε με  $MgSO_4$  και ακολούθησε διήθηση και απομάκρυνση του οργανικού διαλύτη υπό ελαττωμένη πίεση. Το προϊόν της αντίδρασης καθαρίστηκε περαιτέρω με flash χρωματογραφία στήλης (εξάνιο/EtOAc, v/v, 4/1). Στη συνέχεια ελήφθη το φάσμα  $^1H$  NMR και  $^{13}C$  του προϊόντος. Απομονώθηκαν 0.16 mmoles προϊόντος (απόδοση 32%).

$^1H$  NMR ( $CDCl_3$  300 MHz,  $\delta$  ppm): 1.15/1.19 (d,  $J=6.3Hz$ , 3H), 1.75-1.96 (m, 1H), 2.02/2.05 (s, 3H), 2.97-3.31 (m, 2H), 3.39 (d,  $J=19.5$ , 1H), 3.77/3.80 (s, 3Hz), 3.79/3.81 (s, 3Hz), 4.24 (d,  $J= 18.3Hz$ , 1H), 4.92-5.08 (m, 1H),. 5.14-5.46 (m, 1H), 6.21-6.25/ 6.25-6.30 (m, 1H), 6.34-6.38/6.38-6.39 (m, 1H)

$^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz,  $\delta$  ppm): 20.49, 21.02, 40.10, 40.44, 42.68, 51.41, 55.20, 55.40, 70.95, 71.41, 96.94, 107.66, 108.07, 123.12, 134.42, 158.27, 158.86, 161.13, 161.38, 168.36, 168.74, 169.50, 169.94, 202.49

### 16. Σύνθεση της ένωσης 18

Σε προξηραμένη δίλαιμη σφαιρική που έφερε μαγνητικό αναδευτήρα και υπό ατμόσφαιρα αζώτου διαλύθηκε το  $\text{AlI}_3$  (3 mmoles) σε 15 ml ξηρό τολουόλιο. Το διάλυμα αναδευτήκε για 10' και στη συνέχεια έγινε προσθήκη της ένωσης **17** (0.15 mmole) διαλυμένης σε 2 mL τολουόλιο. Το διάλυμα αφέθηκε υπό ανάδευση για 45'.

Το διάλυμα στη συνέχεια ψύχθηκε με παγόλουτρο στους 0 °C και έγινε προσθήκη σταγόνων διαλύματος  $\text{HCl}$  3N έως ότου το διάλυμα έγινε όξινο (έλεγχος με πεχαμετρικό χαρτί). Ακολούθησαν 3 εκχυλίσεις με 25 mL  $\text{EtOAc}$ , και στη συνέχεια οι οργανικές φάσεις ενώθηκαν και εκχυλίστηκαν 2 φορές με 20 mL κορεσμένο διάλυμα  $\text{NaCl}$ . Η οργανική φάση ξηράθηκε με  $\text{MgSO}_4$  και ακολούθησε διήθηση και απομάκρυνση του οργανικού διαλύτη υπό ελαττωμένη πίεση. Το προϊόν της αντίδρασης καθαρίστηκε περαιτέρω με flash χρωματογραφία στήλης (εξάνιο/ $\text{EtOAc}$ , v/v, 2/1). Στη συνέχεια ελήφθη το φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του προϊόντος. Απομονώθηκαν 0.13 mmoles προϊόντος (απόδοση 89%).

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$  300 MHz,  $\delta$  ppm): 1.15/1.21 (d,  $J=6\text{Hz}$ , 3H), 1.79-1.96 (m, 1H), 2.00/2.02 (s, 3H), 3.08-3.23/3.37-3.47 (m, 1H), 3.56 (d,  $J=17.4\text{Hz}$ , 1H), 3.86 (d,  $J=17.4\text{Hz}$ , 1H), 4.90-5.09 (m, 1H), 5.21-5.35 (m, 1H), 6.11/6.14 (s, 1H), 6.33/6.37 (s, 1H)

$^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz,  $\delta$  ppm): 19.42, 19.67, 20.43, 21.03, 38.24, 40.75, 47.82, 68.17, 68.89, 71.51, 72.03, 102.39, 111.03, 119.99, 120.97, 134.55, 135.23, 156.72, 157.26, 158.64, 158.78, 170.21, 171.11, 171.22, 205.10

### 17. Σύνθεση του μίγματος των Xestodecalactone B,C

Σε προξηραμένη δίλαιμη σφαιρική που έφερε μαγνητικό αναδευτήρα και ήταν βυθισμένη σε παγόλουτρο, υπό ατμόσφαιρα αζώτου διαλύθηκε το  $\text{AcCl}$  (0.2 mL) σε 5 mL ξηρή μεθανόλη. Το διάλυμα αφέθηκε να αναδευτεί για 15' και ακολούθησε προσθήκη της ένωσης **18** (0.13 mmoles) διαλυμένης σε μίγμα 2 mL ξηρής μεθανόλης/ξηρού χλωροφόρμιου 1/1. Το διάλυμα αφέθηκε για 12 ώρες στους 0 °C.

Η αντίδραση διακόπηκε με προσθήκη 2 mL απεσταγμένου νερού. Οι οργανικοί διαλύτες απομακρύνθηκαν υπό ελαττωμένη πίεση και αφού στο υπόλειμμα

προστέθηκαν 10 mL απεσταγμένο νερό ακολούθησαν 3 εκχυλίσεις με 20 mL EtOAc. Στη συνέχεια οι οργανικές φάσεις ενώθηκαν και εκχυλίστηκαν με 10 mL απεσταγμένου νερού. Η οργανική φάση ξηράνθηκε με MgSO<sub>4</sub> και ακολούθησε διήθηση και απομάκρυνση του οργανικού διαλύτη υπό ελαττωμένη πίεση. Το προϊόν της αντίδρασης καθαρίστηκε περαιτέρω με χρωματογραφία στήλης (CHCl<sub>3</sub>/EtOAc, v/v, 1/1). Στη συνέχεια ελήφθη το φάσμα <sup>1</sup>H NMR του προϊόντος.

## B. Ιοντικά υγρά

### 1. Παρασκευή του [BMIM][Cl]

Σε δίκαιμη προξηραμένη σφαιρική φιάλη που φέρει κάθετο ψυκτήρα τοποθετήθηκαν σε αδρανή ατμόσφαιρα (Ar) μέσω προσθετικής φιάλης 1-μεθυλομιδαζόλιο (150 mmoles) και 1-χλωροβουτάνιο (225 mmoles). Το διαφασικό σύστημα τέθηκε σε βρασμό υπό ανάδευση (θ ~70-80°C) για τρεις μέρες και μετατράπηκε σε παχύρευστο υποκίτρινο υγρό.

Τα υπερκείμενα υπολείμματα 1-χλωροβουτανίου αποχύθηκαν και το υγρό πλύθηκε εν τάχει ενόσω ήταν ακόμη ζεστό (η ψύξη του και η επαφή του με αιχμηρά αντικείμενα επιτάχυνε την κρυσταλλοποίησή του) με 3x25ml άνυδρου οξικού αιθυλεστέρα και 2x20ml άνυδρου διαιθυλαιθέρα. Οι διαλύτες ήταν ελαφρώς αναμίξιμοι με το ιοντικό υγρό και αποχύθηκαν μετά από κάθε πλύση. Το μεγαλύτερο μέρος τους απομακρύνθηκε υπό ελαττωμένη πίεση σε θ ~70°C για 2-3 μέρες. Στη συνέχεια ελήφθη το φάσμα <sup>1</sup>H NMR του προϊόντος. Απομονώθηκαν 130 mmoles (απόδοση 86.8%) προϊόντος το οποίο κρυσταλλώθηκε σε λευκό στερεό, σ.τ. 75-80°C, και διατηρήθηκε σε ξηραντήρα.

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz, δ ppm): 0.93 (t, J=7.5 Hz, 3H), 1.29-1.41 (m, 2H), 1.81-1.91 (m, 2H), 4.09 (s, 3H), 4.29 (t, J=7.2Hz, 2H), 7.28-7.41 (m, 2H), 9.43 (s, 1H)

<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz, δ ppm): 13.18, 19.22, 31.91, 36.30, 49.53, 121.70, 123.39, 137.76

### 2. Παρασκευή του [BDMIM][Cl]

Σε δίκαιμη ξηρή σφαιρική φιάλη που φέρει κάθετο ψυκτήρα διαλύθηκε σε αδρανή ατμόσφαιρα (Ar) το 1,2-διμεθυλο μιδαζόλιο (200 mmoles) σε 20ml ξηρού



ακετονιτριλίου και προστέθηκε μέσω προσθετικής φιάλης το 1-χλωροβουτάνιο (300 mmoles). Το σύστημα τέθηκε υπό ανάδευση και βρασμό ( $\theta \sim 75^\circ\text{C}$ ) για τρεις μέρες.

Με το πέρας της αντίδρασης το διάλυμα ψύχθηκε σε θερμοκρασία δωματίου και ο διαλύτης και η περίσσεια 1-χλωροβουτανίου απομακρύνθηκαν υπό ελαττωμένη πίεση. Το [BDMIM][Cl] προέκυψε ως υποκίτρινο υγρό και τοποθετήθηκε σε αντλία υψηλού κενού για δύο μέρες ( $\theta \sim 70^\circ\text{C}$ ), για την απομάκρυνση υπολειμμάτων πτητικών ουσιών. Στη συνέχεια ελήφθη το φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του προϊόντος. Απομονώθηκαν 181 mmoles (απόδοση 90%) προϊόντος το οποίο κρυσταλλώθηκε σε λευκό στερεό, σ.τ.  $75\text{-}80^\circ\text{C}$ , και διατηρήθηκε σε ξηραντήρα.

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz,  $\delta$  ppm): 0.82 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 3H), 1.19-1.32 (m, 2H), 1.62-1.72 (m, 2H), 2.69 (s, 3H), 3.91 (s, 3H), 4.11 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 2H), 7.45-7.72 (m, 2H)

$^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz,  $\delta$  ppm): 10.23, 13.27, 19.32, 31.57, 35.66, 48.41, 121.02, 123.00, 143.31

### 3. Παρασκευή των [BMIM][ClO<sub>4</sub>], [BDMIM][ClO<sub>4</sub>]

Το [BMIM][Cl]/[BDMIM][Cl] (150 mmoles) διαλύθηκε σε 50ml ξηρού διχλωρομεθανίου και προστέθηκε  $\text{NaClO}_4$  (1.1eq) υπό ισχυρή ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου. Οι αντιδράσεις διεκόπησαν μετά από 3 μέρες με διήθηση του ετερογενούς μίγματος μέσα από celite και οι οργανικές φάσεις πλύθηκαν με μικρούς όγκους απιονισμένου ύδατος ( $\sim 20\text{ml}$ ) μέχρι αρνητικού τεστ  $\text{AgCl}$  με πυκνό διάλυμα  $\text{AgNO}_{3(\text{aq})}$  και ξανά εις διπλούν με απιονισμένο νερό. Το διάλυμα διχλωρομεθανίου ξηράνθηκε με άνυδρο  $\text{MgSO}_4$  και αναδεύτηκε για 12 ώρες με ενεργοποιημένο άνθρακα. Το μίγμα διηθήθηκε μέσα από celite, ο διαλύτης απομακρύνθηκε υπό ελαττωμένη πίεση και με αντλία υψηλού κενού σε  $\theta \sim 70^\circ\text{C}$  για τρεις μέρες. Στην περίπτωση του [BMIM][ClO<sub>4</sub>] το ιοντικό υγρό καθαρίστηκε περαιτέρω με πέρασμα μέσα από μικρή στήλη ουδέτερης αλουμίνας. Τα ιοντικά υγρά προέκυψαν ως άχρωμα με ποσοστά απομόνωσης 85% και 82% αντίστοιχα.

[BMIM][ClO<sub>4</sub>] -  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz,  $\delta$  ppm): 0.87-0.96 (m, 3H), 1.26-1.42 (m, 2H), 1.79-1.90 (m, 2H), 3.93, 3.96 (s, 3H), 4.18 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 2H), 7.28-7.46 (m, 2H), 8.72, 8.88 (s, 1H)

$^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz,  $\delta$  ppm): 13.14, 19.22, 31.68, 36.35, 49.80, (121.87, 122.39), (123.39, 123.64), (135.81, 136.41)

[BDMIM][ClO<sub>4</sub>] - <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz, δ ppm): 0.86-0.96 (m, 3H), 1.29-1.42 (m, 2H), 1.68-1.81 (m, 2H), 2.6, 2.62 (s, 3H), 3.77, 3.81 (s, 3H), 4.05 (t, J=7.5Hz, 2H), 7.21-7.3 (m, 2H)

<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz, δ ppm): (9.36, 9.56), (13.22, 13.31), (19.20, 19.34), 31.33, (35.02, 35.19), (48.18, 48.35), (120.65, 120.84), (122.34, 122.44), 143.79

#### 4. Παρασκευή του ακετυλεστέρα της 1-φαινυλο-1-αιθανόλης

Η παρασκευή του ακετυλεστέρα της 1-φαινυλο-1-αιθανόλης έγινε σύμφωνα με τη γενική συνθετική μέθοδο (1), με εστεροποίηση της εμπορικά διαθέσιμης 1-φαινυλο-1-αιθανόλης (0.2 mmoles) με οξικό ανυδρίτη (0.22 mmoles) παρουσία K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0.22 mmoles). Ελήφθησαν 0.19 mmoles προϊόντος (απόδοση 95%).

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz, δ ppm): 1.56 (d, J=6.6Hz, 3H), 2.10 (s, 3H), 5.90 (q, J=6.6Hz, 1H), 7.32 (m, 1H), 7.37 (d, J=4.2Hz 5H)

#### 5. Παρασκευή της 1-(4-μεθυλοφαινυλο)-1-αιθανόλης

Η παρασκευή της 1-(4-μεθυλοφαινυλο)-1-αιθανόλης έγινε σύμφωνα με τη γενική συνθετική μέθοδο (5) με σύζευξη της εμπορικά διαθέσιμης 4-μεθυλοβενζαλδεΐδης (10 mmoles) με μεθυλο-ιωδίδιο (14 mmoles) παρουσία Mg (15 mmoles) σε 50 ml ξηρού αιθέρα. Απομονώθηκαν 1,2 gr αλκοόλης (απόδοση 88%).

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz, δ ppm): 1.46 (d, J=6Hz, 3H), 1.90 (s, 1H), 2.33 (s, 3H), 4.85 (q, J=6.3Hz, 1H), 7.15 (d, J=7.8Hz, 2H), 7.25 (d, J=7.8Hz, 2H).

#### 6. Παρασκευή του ακετυλεστέρα της 1-(4-μεθυλοφαινυλο)-1-αιθανόλης

Η παρασκευή του ακετυλεστέρα της 1-(4-μεθυλοφαινυλο)-1-αιθανόλης έγινε σύμφωνα με τη γενική συνθετική μέθοδο (1), με εστεροποίηση 1-(4-τολουολο)-1-αιθανόλης (0.2 mmoles) με οξικό ανυδρίτη (0.22 mmoles) παρουσία K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0.22 mmoles). Ελήφθησαν 0.18 mmoles προϊόντος (απόδοση 90%).

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz, δ ppm): 1.54 (d, J=6.6Hz, 3H), 2.08 (s, 3H), 2.32 (s, 3H), 4.98 (q, J=6.6Hz, 1H), 7.18 (m, 1H), 7.27 (d, J=4.2Hz, 5H)

#### 7. Παρασκευή της 1-(3-μεθυλοφαινυλο)-1-αιθανόλης

Η παρασκευή της 1-(3-μεθυλοφαινυλο)-1-αιθανόλης έγινε σύμφωνα με την γενική συνθετική μέθοδο (6), με αναγωγή 0.65 mmoles της αντίστοιχης εμπορικά

διαθέσιμης κετόνης με  $\text{LiAlH}_4$  (0.20 mmoles) σε 10 ml ξηρού αιθέρα. Απομονώθηκαν 0,55 mmoles προϊόντος (85% απόδοση).

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz,  $\delta$  ppm) : 1.47 (d,  $J=6.6\text{Hz}$ , 3H), 1.96 (s, 1H), 2.35 (s, 3H), 4.84 (q,  $J=6.6\text{Hz}$ , 1H), 7.06-7.26 (m, 4H).

#### 8. Παρασκευή του ακετυλεστέρα της 1-(3-μεθυλοφαινυλο)-1-αιθανόλης

Η παρασκευή του ακετυλεστέρα της 1-(3-μεθυλοφαινυλο)-1-αιθανόλης έγινε σύμφωνα με τη γενική συνθετική μέθοδο (1), με εστεροποίηση 1-(4-τολουολο)-1-αιθανόλης (0.2 mmoles) με οξικό ανυδρίτη (0.22 mmoles) παρουσία  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (0.22 mmoles). Ελήφθησαν 0.19 mmoles προϊόντος (απόδοση 95%).

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz,  $\delta$  ppm): 1.55 (d,  $J=6.6\text{Hz}$ , 3H), 2.1 (s, 3H), 2.40 (s, 3H), 4.88 (q,  $J=6.6\text{Hz}$ , 1H), 7.13-7.28 (m, 4H)

#### 9. Παρασκευή της 1-(4-αιθυλοφαινυλο)-1-αιθανόλης

Η παρασκευή της 1-(4-αιθυλοφαινυλο)-1-αιθανόλης έγινε σύμφωνα με τη γενική συνθετική μέθοδο (5) με σύζευξη της εμπορικά διαθέσιμης 4-αιθυλοβενζαλδεΐδης (10 mmoles) με μεθυλο ιωδίδιο (14 mmoles) παρουσία Mg (15 mmoles) σε 50 ml ξηρού αιθέρα. Απομονώθηκαν 0.85 mmoles αλκοόλης (απόδοση 85%).

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz,  $\delta$  ppm): 1.23 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 3H), 1.47 (d,  $J=6.3\text{Hz}$ , 3H), 1.89 (s, 1H), 2.64 (q,  $J=7.5\text{Hz}$ , 2H), 4.86 (q,  $J=6.6\text{Hz}$ , 1H), 7.17 (d,  $J=8.1\text{Hz}$ , 2H), 7.28 (d,  $J=8.1\text{Hz}$ , 2H).

#### 10. Παρασκευή του ακετυλεστέρα της 1-(4-αιθυλοφαινυλο)-1-αιθανόλης

Η παρασκευή του ακετυλεστέρα της 1-(4-αιθυλοφαινυλο)-1-αιθανόλης έγινε σύμφωνα με τη γενική συνθετική μέθοδο (1), με εστεροποίηση της εμπορικά διαθέσιμης 1-φαινυλο-1-αιθανόλης (0.2 mmoles) με οξικό ανυδρίτη (0.22 mmoles) παρουσία  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (0.22 mmoles). Ελήφθησαν 0.17 mmoles προϊόντος (απόδοση 85%).

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz,  $\delta$  ppm): 1.25 (t,  $J=7.6\text{Hz}$ , 3H), 1.54 (d,  $J=6.6\text{Hz}$ , 3H), 2.08 (s, 3H), 2.67 (q,  $J=7.5\text{Hz}$ , 2H), 5.89 (q,  $J=6.6\text{Hz}$ , 1H), 7.20 (d,  $J=8.1\text{Hz}$ , 2H), 7.29 (d,  $J=8.1\text{Hz}$ , 2H).

### 11. Παρασκευή της 1-(4-ισοπροπυλοφαινυλο)-1-αιθανόλης

Η παρασκευή της 1-(4-ισοπροπυλοφαινυλο)-1-αιθανόλης έγινε σύμφωνα με τη γενική συνθετική μέθοδο (5) με σύζευξη της εμπορικά διαθέσιμης 4-ισοπροπυλοβενζαλδεύδης (10 mmoles) με μεθυλο ιωδίδιο (14 mmoles) παρουσία Mg (15 mmoles) σε 50 ml ξηρού αιθέρα. Απομονώθηκαν 0.94 mmoles αλκοόλης (απόδοση 94%).

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz,  $\delta$  ppm) : 1.24 (d,  $J=7.2\text{Hz}$ , 6H), 1.46 (d,  $J=5.1\text{Hz}$ ), 1.88 (s, 1H), 2.85-2.94 (s, 1H), 5.88 (q,  $J=6.6\text{Hz}$ , 1H), 7.20 (d,  $J=8.1\text{Hz}$ , 2H), 7.29 (d,  $J=8.1\text{Hz}$ , 2H).

### 12. Παρασκευή του ακετυλεστέρα της 1-(4-ισοπροπυλοφαινυλο)-1-αιθανόλης

Η παρασκευή του ακετυλεστέρα της 1-(4-αιθυλοφαινυλο)-1-αιθανόλης έγινε σύμφωνα με τη γενική συνθετική μέθοδο (1), με εστεροποίηση της εμπορικά διαθέσιμης 1-φαινυλο-1-αιθανόλης (0.2 mmoles) με οξικό ανυδρίτη (0.22 mmoles) παρουσία  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (0.22 mmoles). Ελήφθησαν 0.17 mmoles προϊόντος (απόδοση 85%).

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz,  $\delta$  ppm) : 1.26 (d,  $J=6\text{Hz}$ , 6H), 1.48 (d,  $J=5.1\text{Hz}$ ), 2.08 (s, 3H), 2.87-2.97 (s, 1H), 5.70 (m,  $J=6\text{Hz}$ , 1H), 7.21 (d,  $J=7.8\text{Hz}$ , 2H), 7.26 (d,  $J=7.8\text{Hz}$ , 2H).

### 13. Παρασκευή της 1-φαινυλο-1-προπανόλης

Η παρασκευή της 1-φαινυλο-1-προπανόλης έγινε σύμφωνα με την γενική συνθετική μέθοδο (4), με αναγωγή προπιοφαινόνης (15 mmoles) με  $\text{NaBH}_4$  (4 mmoles). Απομονώθηκαν 12,8 mmoles προϊόντος (85% απόδοση).

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz,  $\delta$  ppm) : 0.95 (t,  $J=7.4\text{Hz}$ , 3H), 1.68-1.85 (m,  $J=6\text{Hz}$ , 3H), 1.97 (s, 1H), 4.57 (t,  $J=6.6\text{Hz}$ , 1H), 7.22-7.33 (m, 5H).

### 14. Παρασκευή του ακετυλεστέρα της 1-φαινυλο-1-προπανόλης

Η παρασκευή του ακετυλεστέρα της 1-φαινυλο-1-προπανόλης έγινε σύμφωνα με τη γενική συνθετική μέθοδο (1), με εστεροποίηση της εμπορικά διαθέσιμης 1-φαινυλο-1-αιθανόλης (0.2 mmoles) με οξικό ανυδρίτη (0.22 mmoles) παρουσία  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (0.22 mmoles). Ελήφθησαν 0.18 mmoles προϊόντος (απόδοση 90%).

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz,  $\delta$  ppm): 0.91 (t,  $J=7.4\text{Hz}$ , 3H), 1.56-1.89 (m,  $J=6\text{Hz}$ , 3H), 2.10 (s, 3H), 5.69 (t,  $J=6.9\text{Hz}$ , 1H), 7.29-7.35 (m, 5H)

### 15. Παρασκευή της 1-κυκλοεξυλο-1-αιθανόλης

Η παρασκευή της 1-κυκλοεξυλο-1-αιθανόλης έγινε σύμφωνα με τη γενική συνθετική μέθοδο (5) με σύζευξη της εμπορικά διαθέσιμης κυκλοεξυλο-καρβοξαλδεύδης (6 mmoles) με μεθυλο-ιωδίδιο (8 mmoles) παρουσία Mg (9 mmoles) σε 30 ml ξηρού αιθέρα. Απομονώθηκαν 5.4 mmoles αλκοόλης (απόδοση 90%).

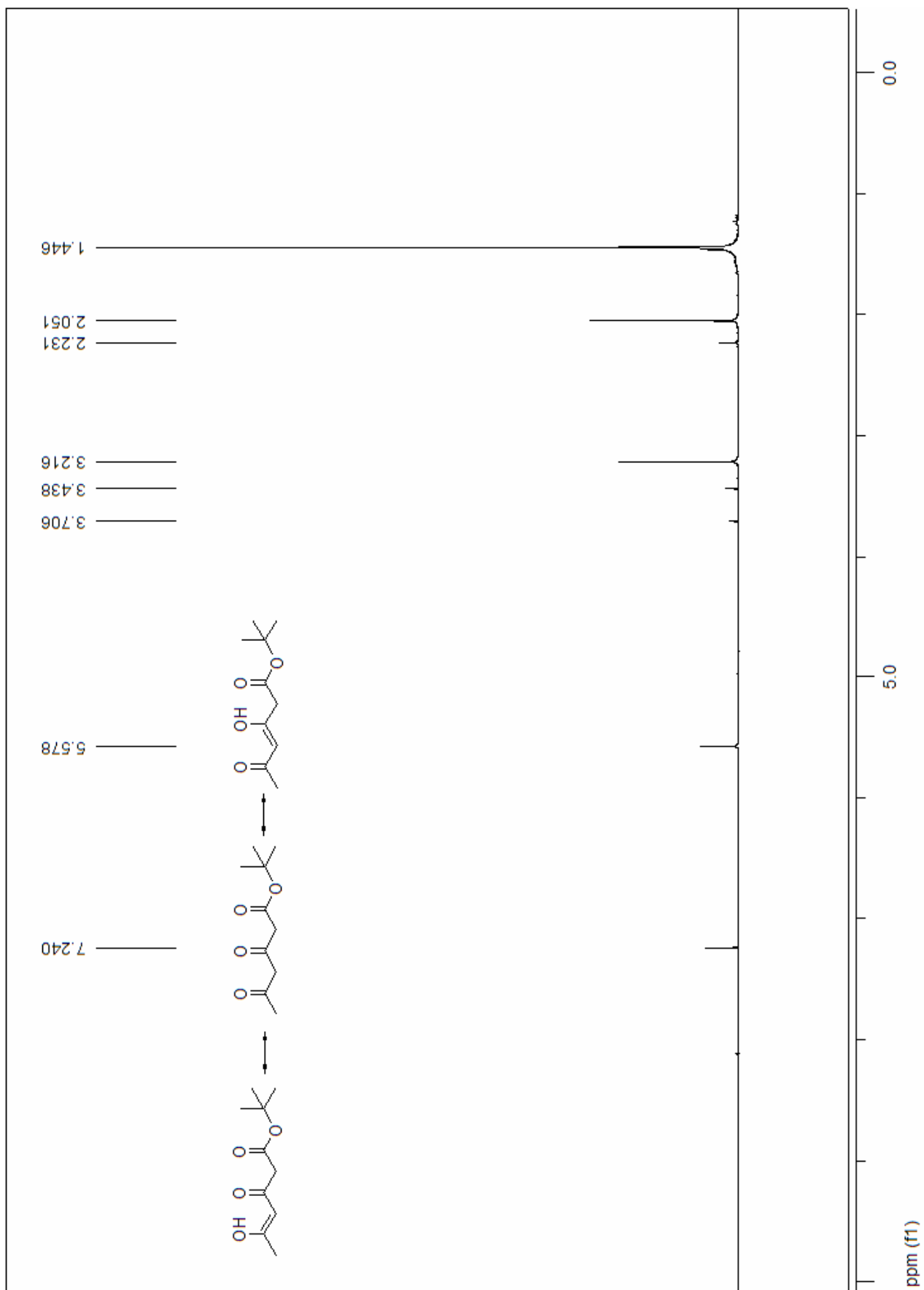
$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz,  $\delta$  ppm) : 0.86-1.08 (m, 2H) , 1.12 (d, J=6.3, 3H), 1.14-1.29 (m, 4H), 1.53 (s, 1H), 1.61-1.83 (m, 6H), 3.47-3.55 (m, J=6.3Hz, 1H)

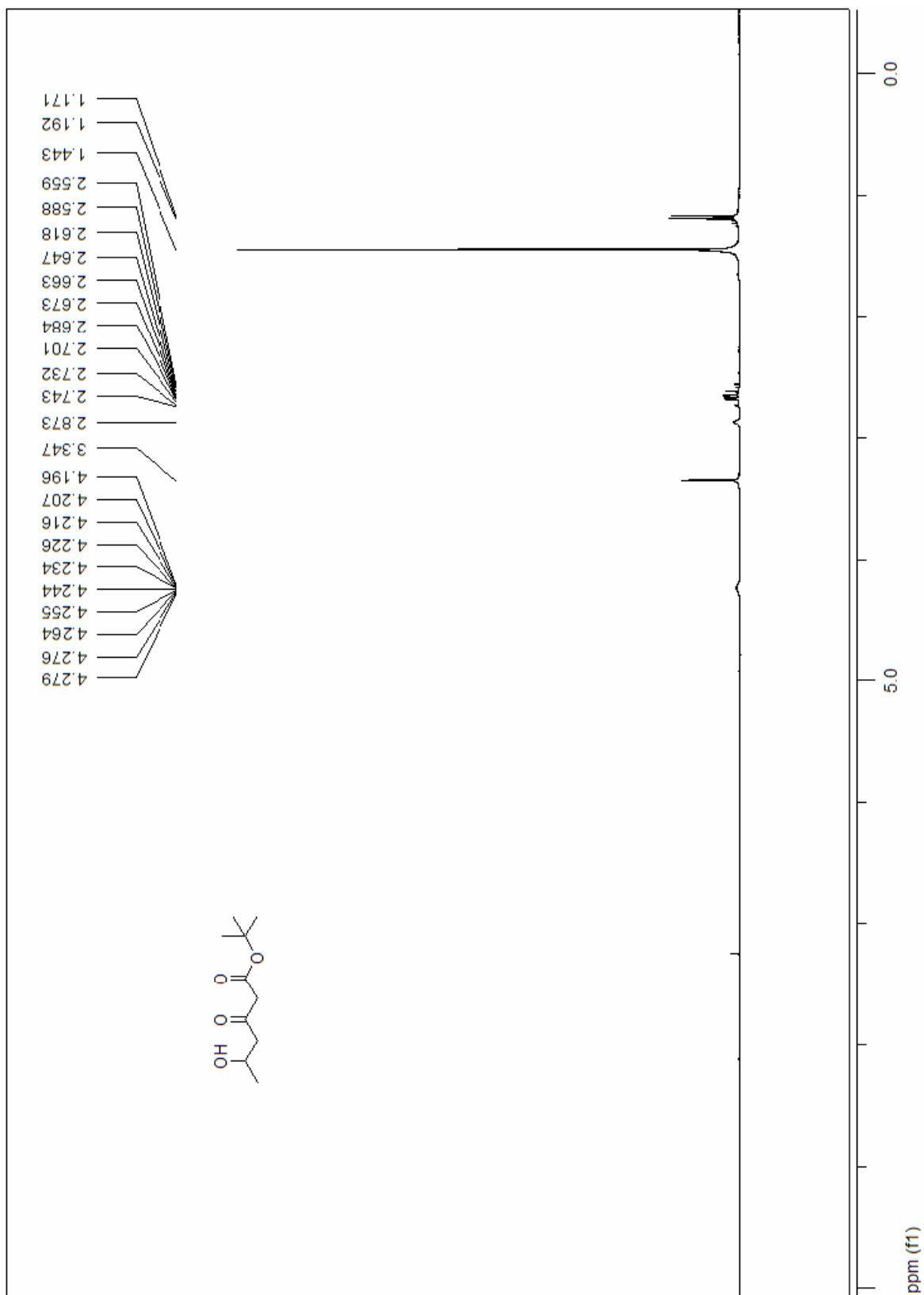
### 16. Παρασκευή του ακετυλεστέρα της 1-κυκλοεξυλο-1-αιθανόλης

Η παρασκευή του ακετυλεστέρα της 1-κυκλοεξυλο-1-αιθανόλης έγινε σύμφωνα με τη γενική συνθετική μέθοδο (1), με εστεροποίηση της εμπορικά διαθέσιμης 1-φαινυλο-1-αιθανόλης (0.2 mmoles) με οξικό ανυδρίτη (0.22 mmoles) παρουσία  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (0.22 mmoles). Ελήφθησαν 0.17 mmoles προϊόντος (απόδοση 85%).

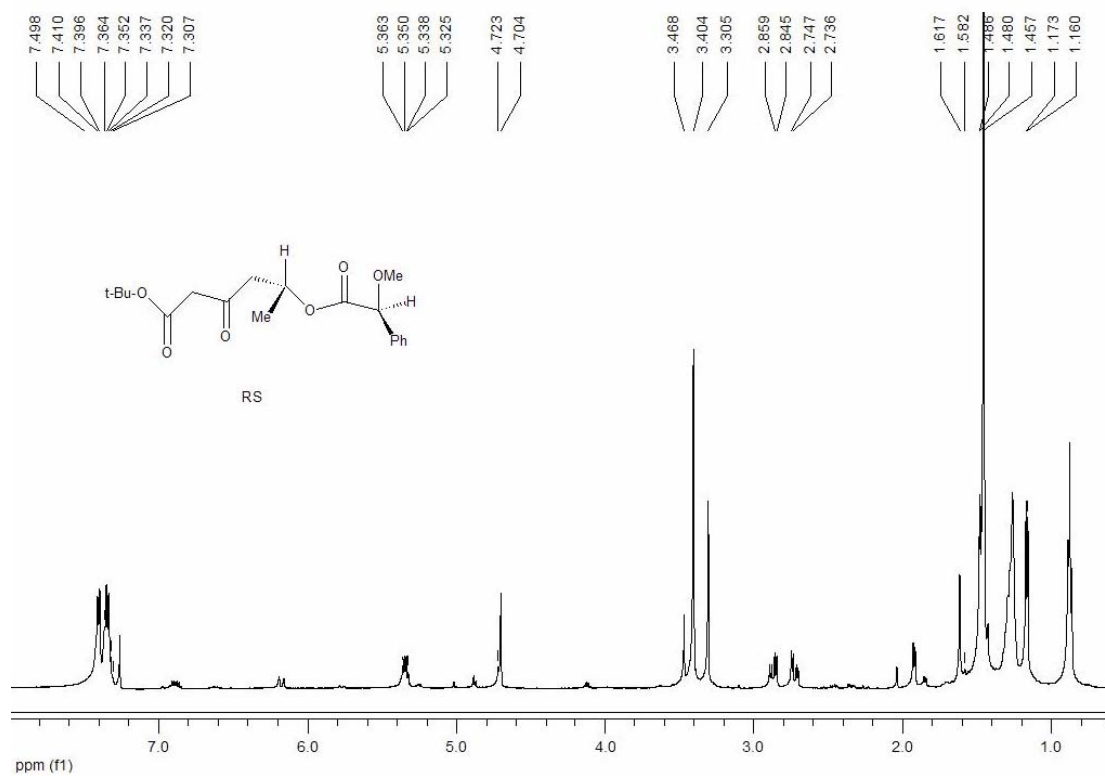
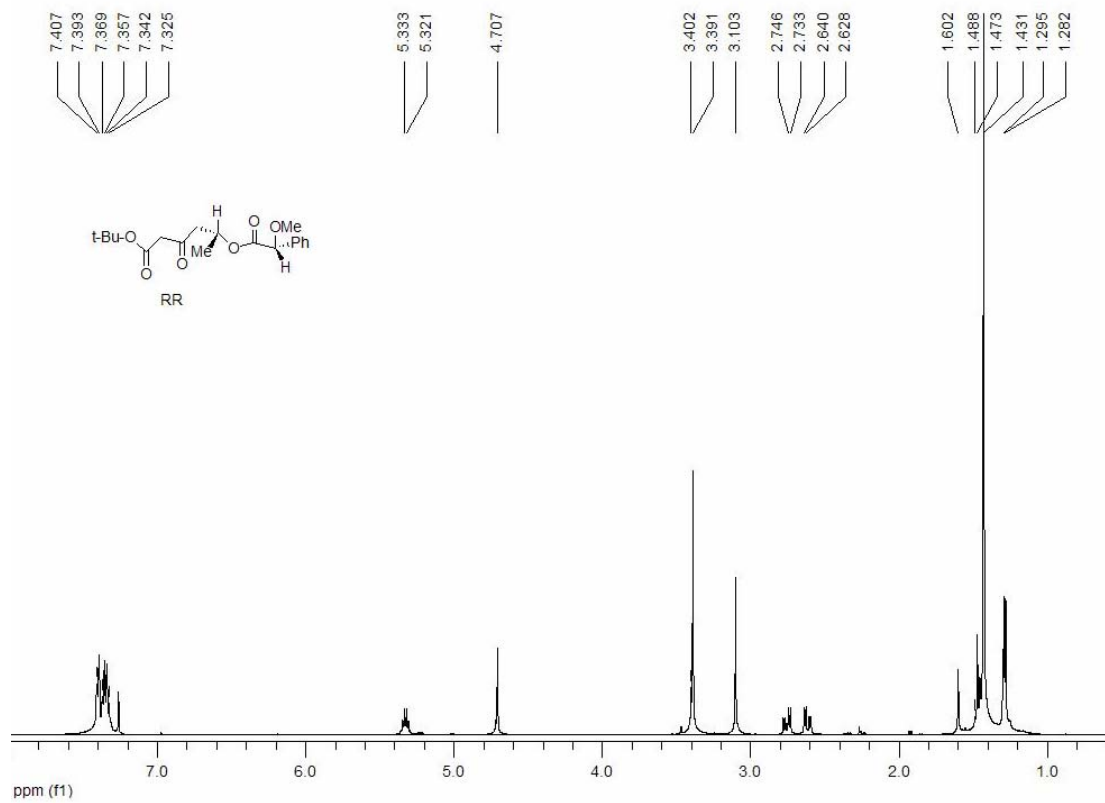
$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz,  $\delta$  ppm) : 0.90-1.12 (m, 2H) , 1.18 (d, J=6.3, 3H), 1.19-1.29 (m, 4H), 1.48 (m, 1H), 1.62-1.85 (m, 6H), 2.05 (s, 3H), 4.69-4.77 (m, J=6.3Hz, 1H)

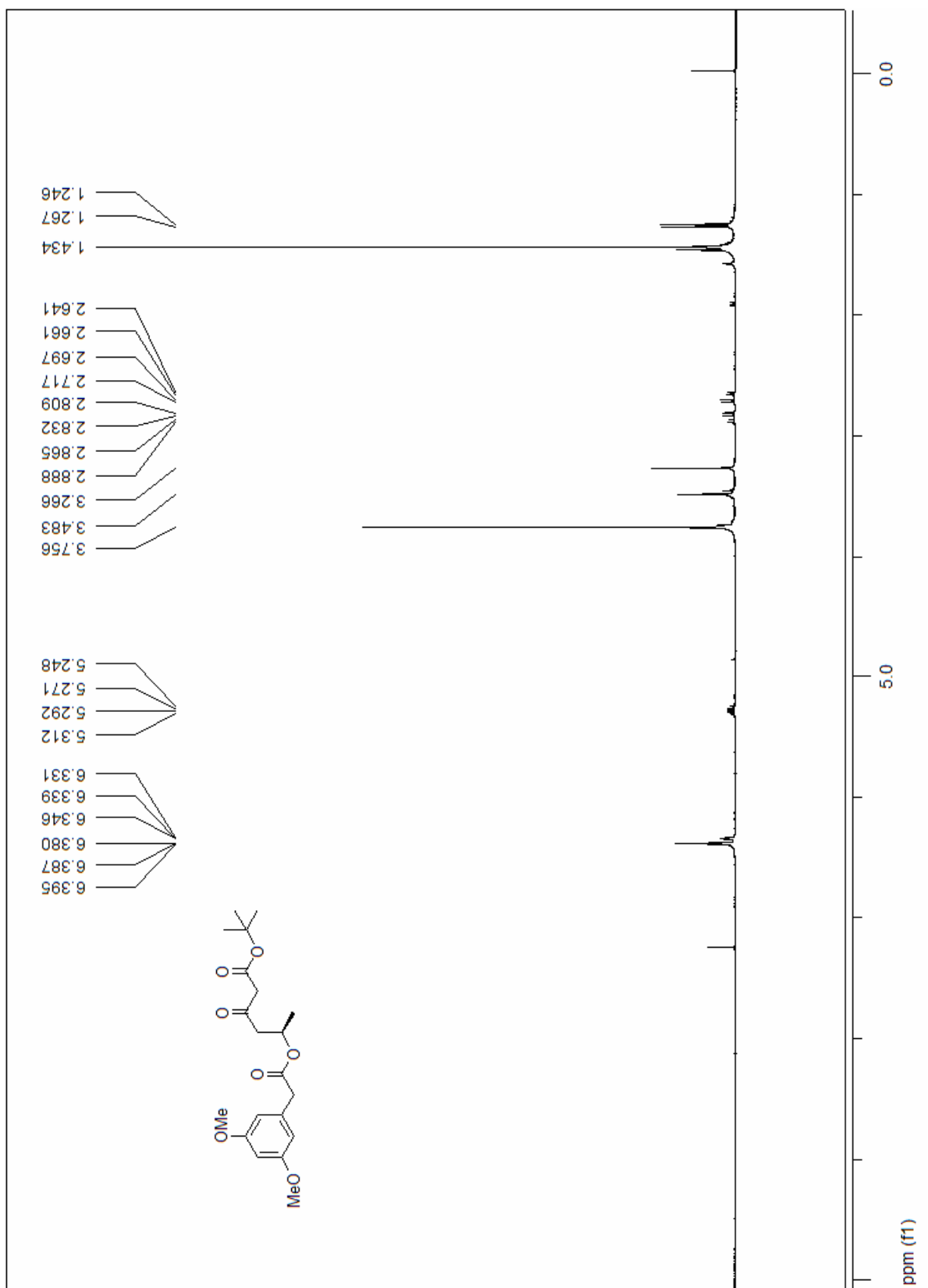
# **ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ**

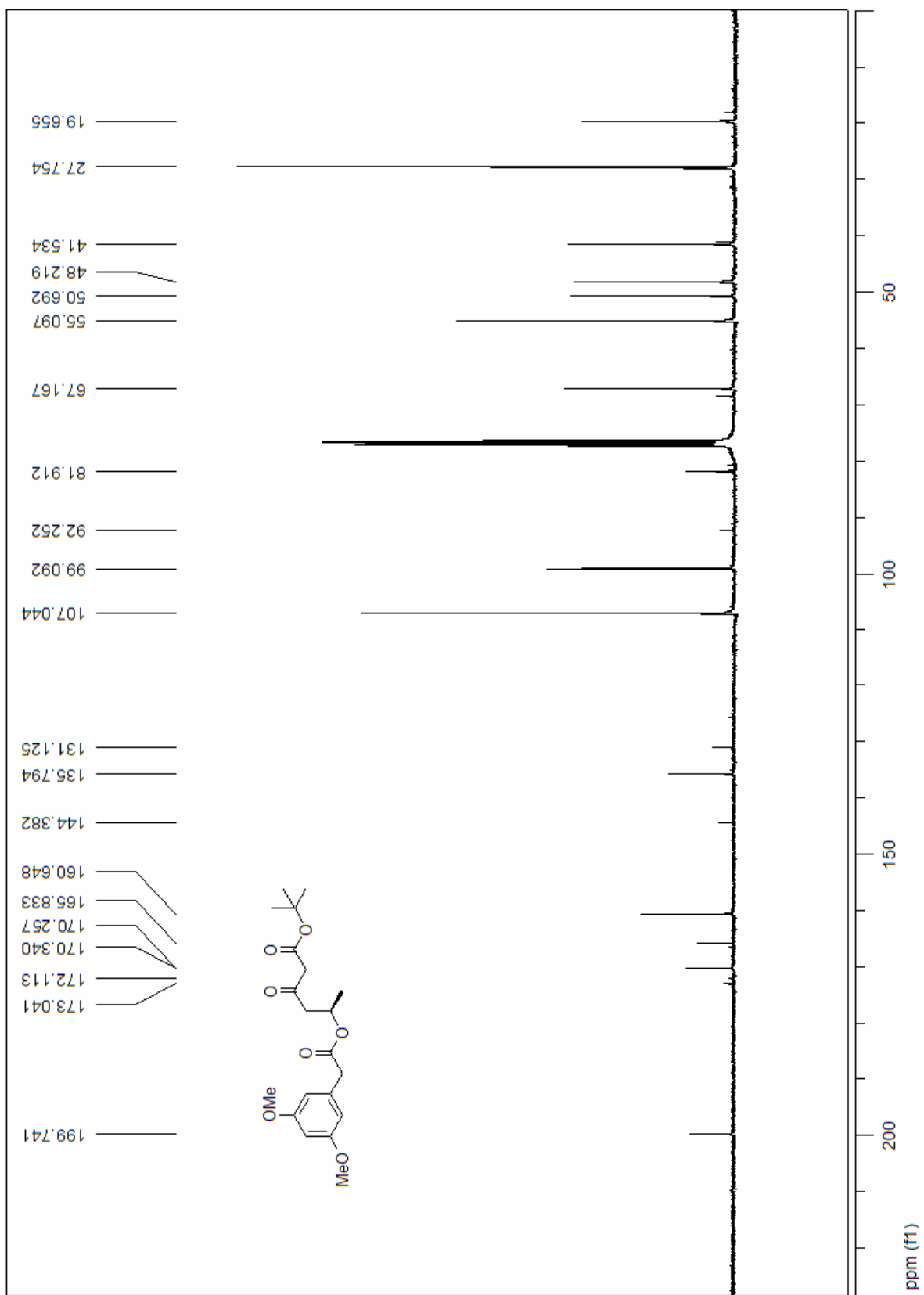


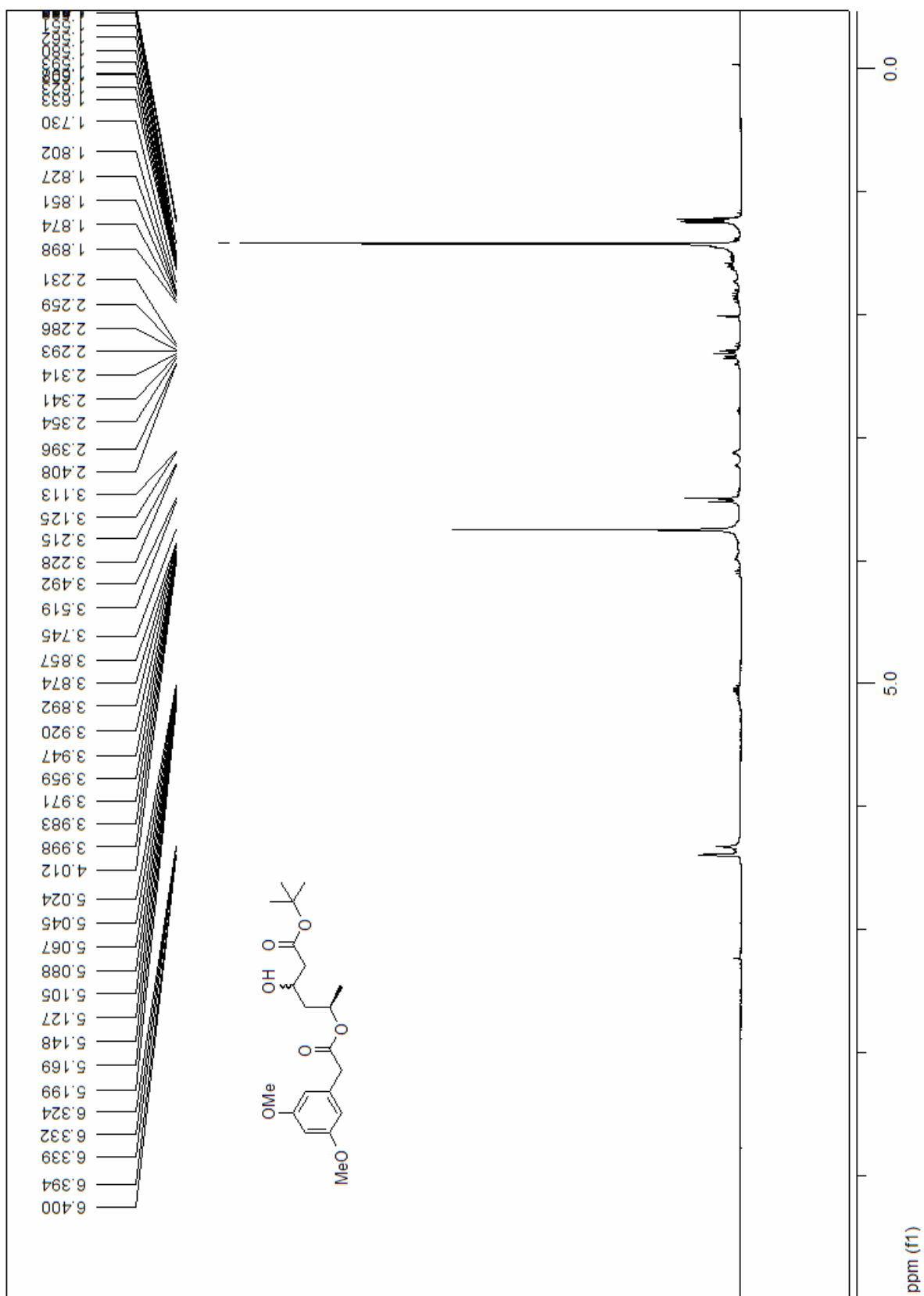


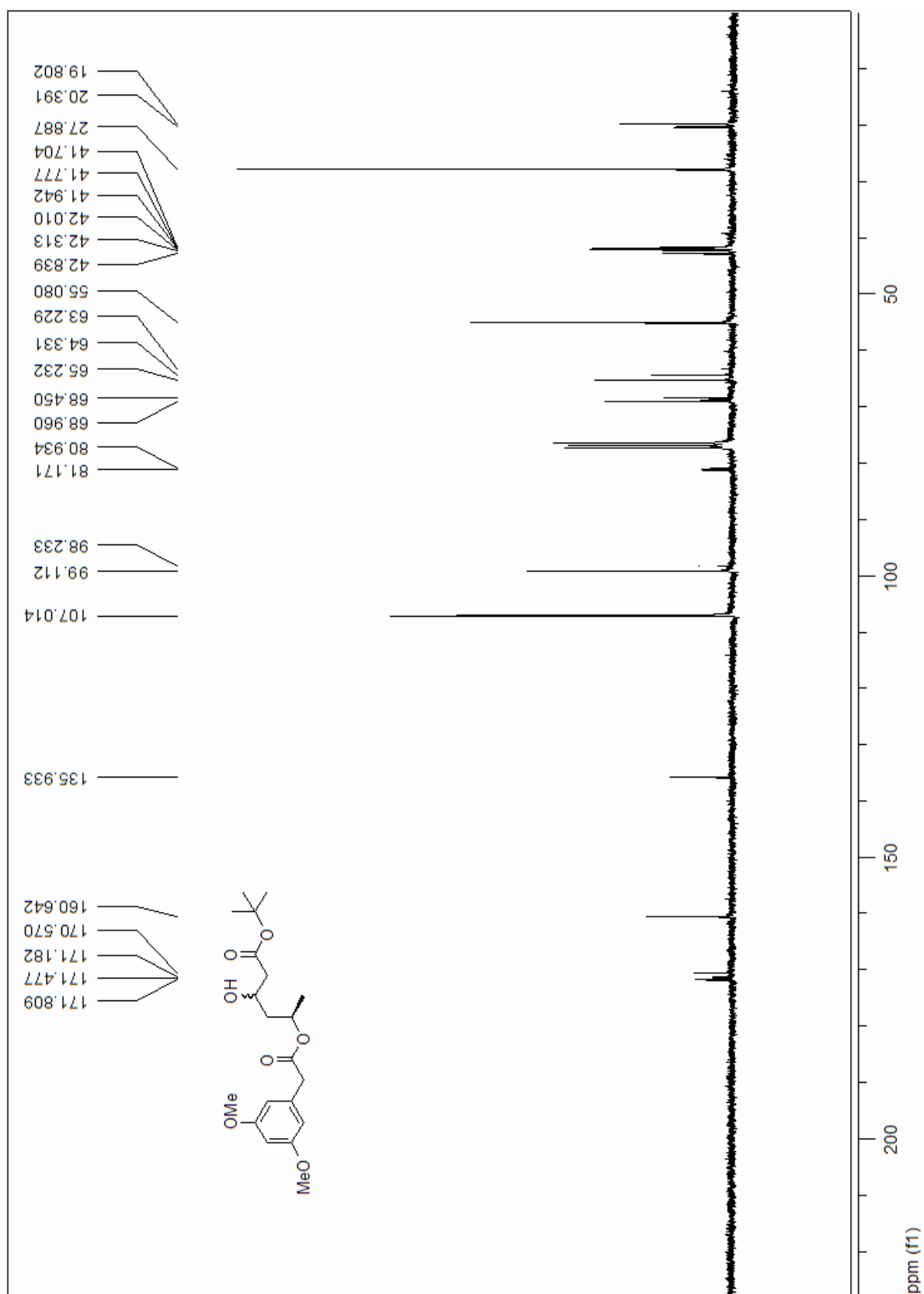


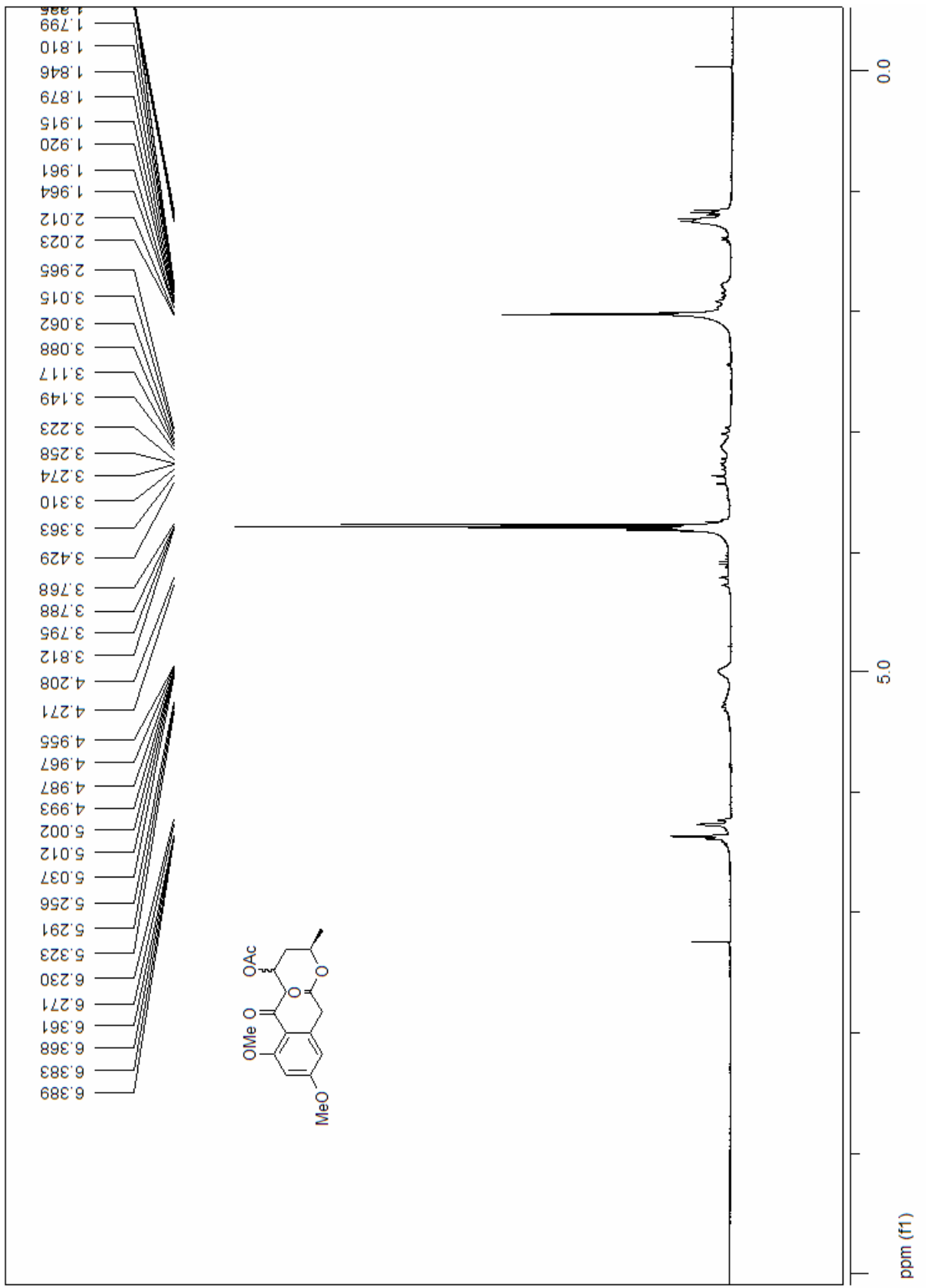


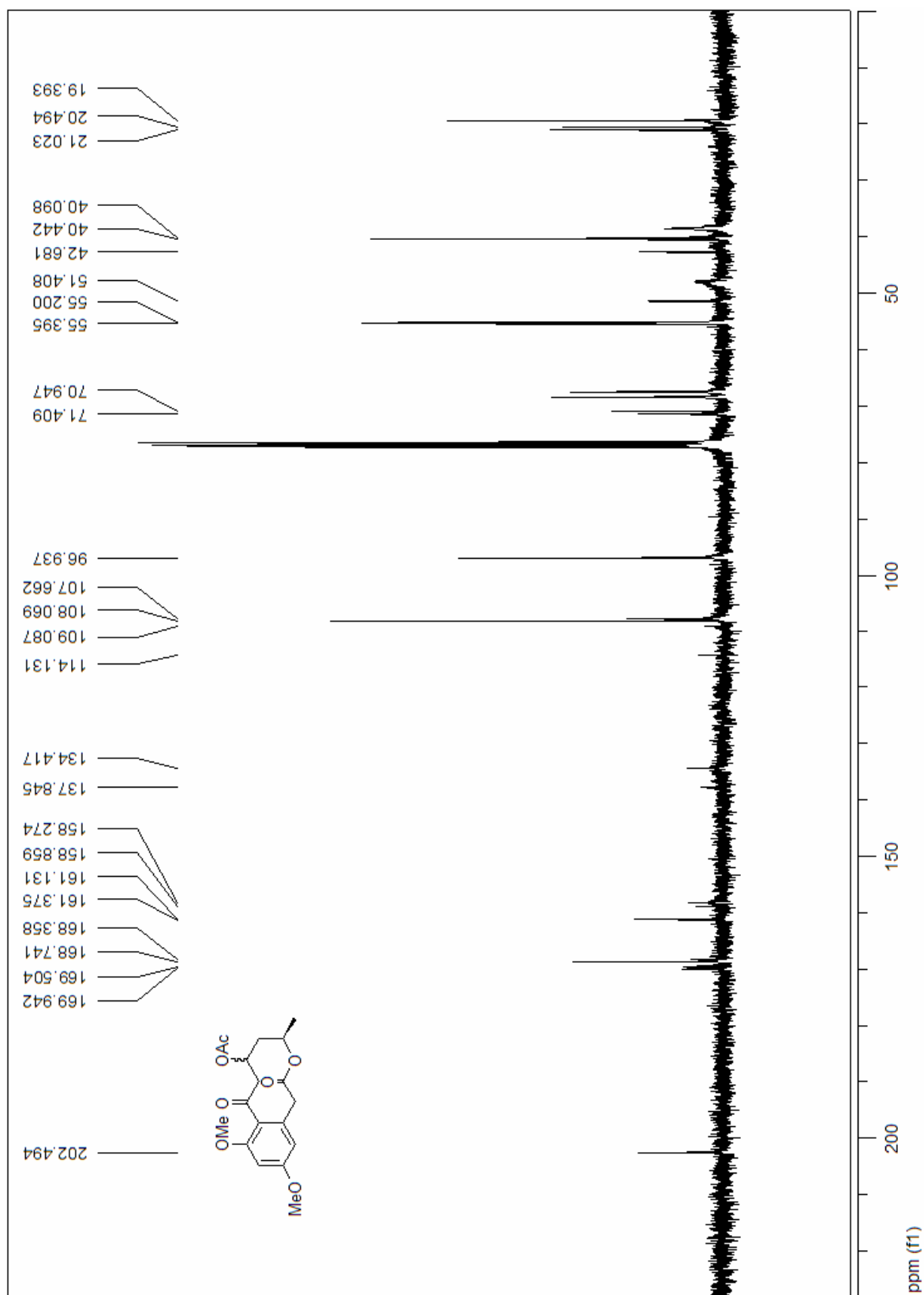


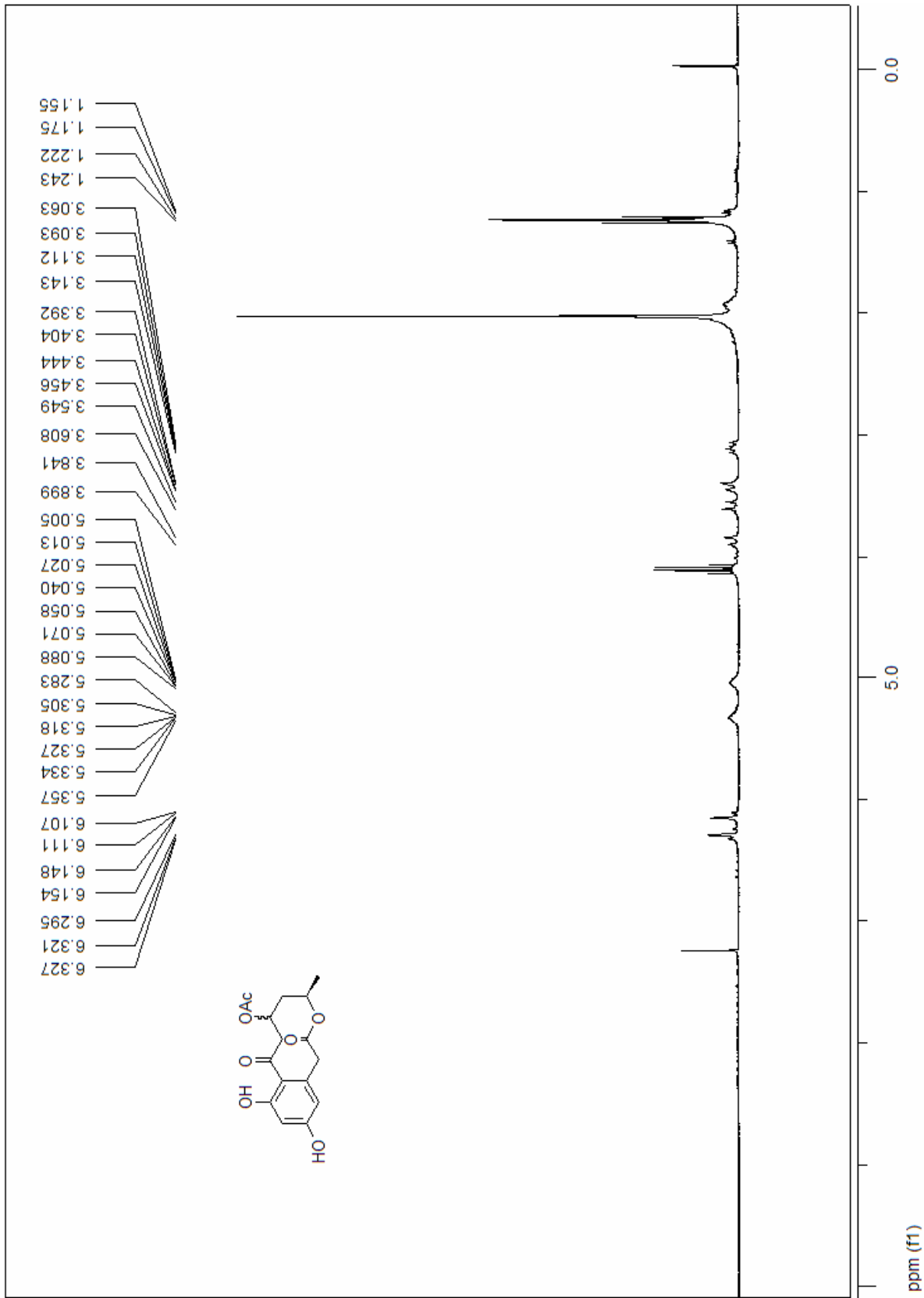




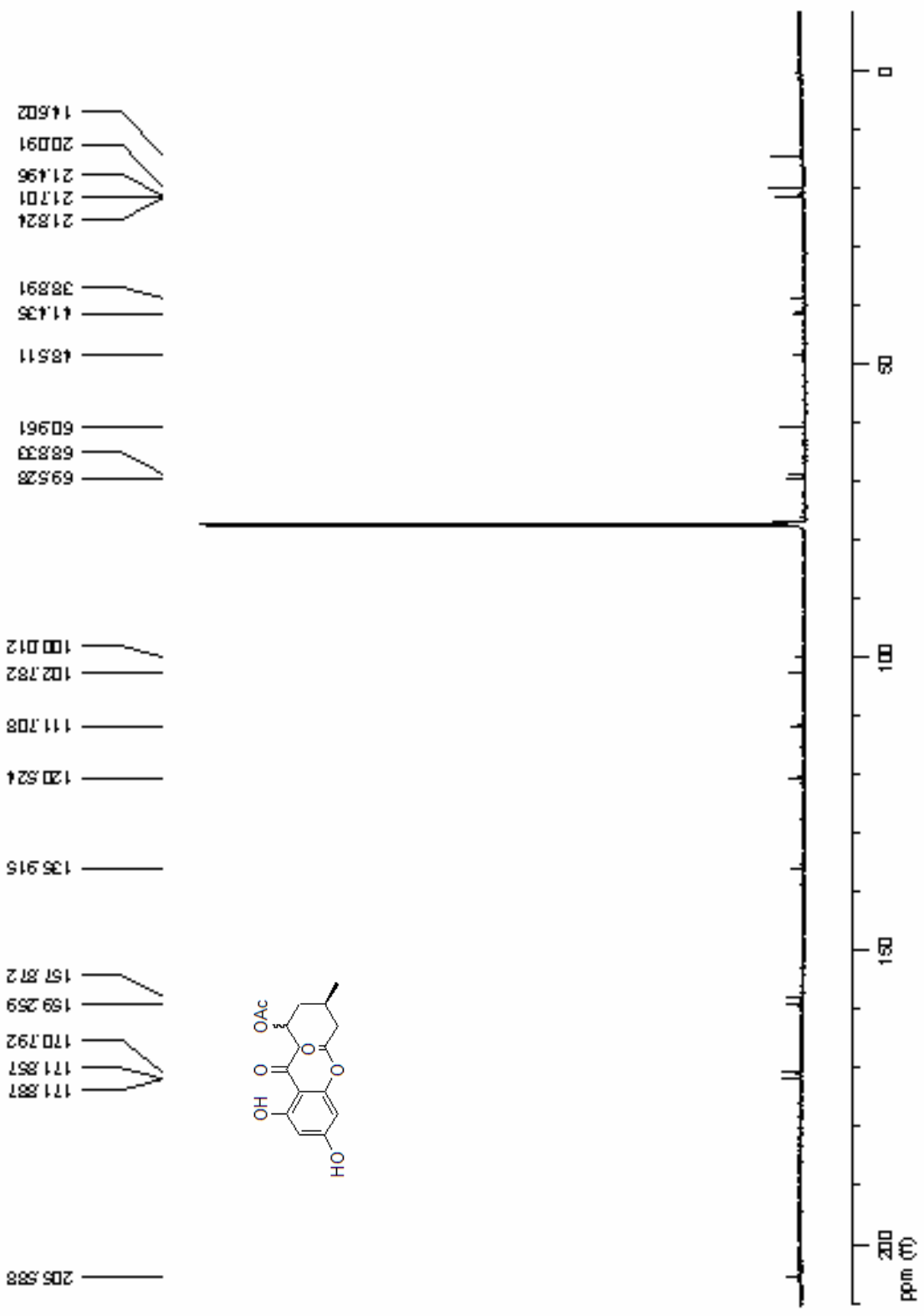


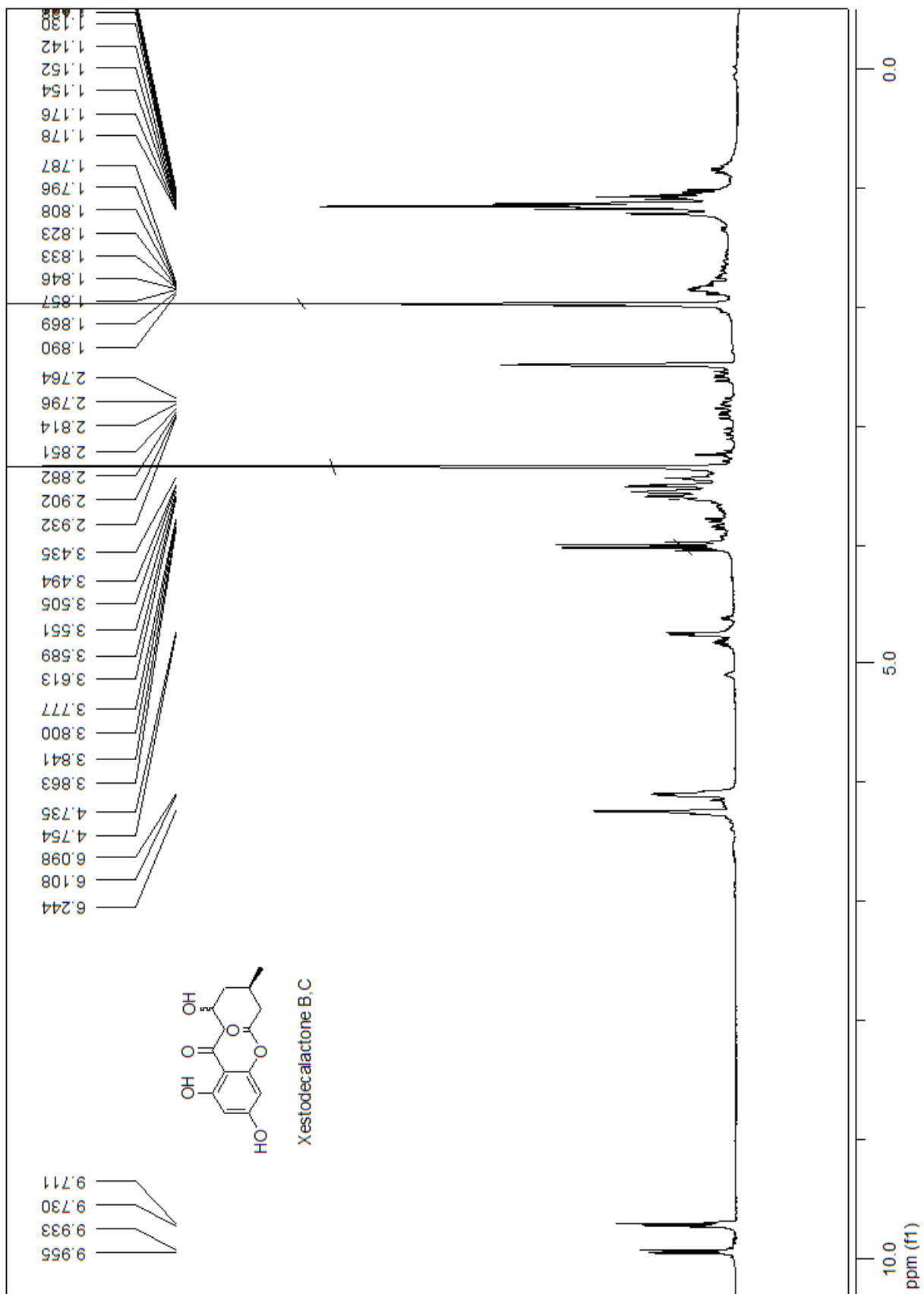












# ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 
- <sup>1</sup> Faber, K., *Biotransformation in organic Chemistry*, 3<sup>rd</sup> Edition, Springer, **1997**
- <sup>2</sup> Menger, F.M., *Acc. Chem. Res.* **1977**, 44
- <sup>3</sup> Drauz, K., Waldaman, H., “*Enzyme Catalysis in Organic Synthesis*”, VCH Weinheim **1995**
- <sup>4</sup> Sheldon, R. A., *Chirotechnology: Industrial Synthesis of Optically Active Compounds*, Marcel Dekker, New York, **1993**
- <sup>5</sup> Faber, K., *Pure Appl. Chem.* **1997**, 69, 1613
- <sup>6</sup> Rasor, J.P., Voss, E., *App. Catal. A.*, **2001**, 221, 145
- <sup>7</sup> Lambusta, D, Nikolosi G., Patti A., Sanfilipo C., *J. Mol. Catal. B. Enzym.*, **2003**, 21, 271
- <sup>8</sup> Gross, R.A., Kumar, A., Kalra, B., *Chem. Rev.*, **2001**, 101, 2097
- <sup>9</sup> Fujita, Y., Awaji, M., Matsukura, M., Hata, K., Shimoto, H., Sharyo, H., Skaguchi, H., Gibson, K., *Tappi. J.*, **1992**, 65, 117
- <sup>10</sup> Cheetham, P. S. J., *Trends Biotechnol.* **1993**, 11, 478
- <sup>11</sup> Kazlauskas, R.J., Weissfloch, A.N.E, Rappaport, A.T., Cuccia, L.A., *J. Org. Chem.*, **1991**, 56, 2656
- <sup>12</sup> Rotticci, D., Orrenius, C., Hult, K., Norin, T., *Tetrahedron Asymmetry*, **1997**, 8, 359
- <sup>13</sup> Rotticci, D., Haeffnker, F, Orrenius, C., Norin, T, Hult, K., *J. Mol. Catal. B. Enzym.*, **1997**, 3, 83
- <sup>14</sup> Deobald, L.A., Crwford, D.L., *Appl. Microb. Technol.*, **1987**, 26, 158
- <sup>15</sup> Ishii, T., *Plant Science*, **1997**, 147, 111
- <sup>16</sup> Gasson, M.J., Walton, N.J., *J. Biol. Chem.*, **1998**, 273, 4163
- <sup>17</sup> Saija, A., Tomaino, A., Trombetta, D., De Pasquale, A., Uccella, N., Barbuzzi, T., Paolino, D., Bonina, F., *Int. J. Pharm.*, **2000**, 199, 39
- <sup>18</sup> Murakami, A., Nakamura, Y., Koshimizu, K., Takahashi, D., Matsumoto, K., Hagihara, K., Taniguchi, H., Nomura, E., Hosoda, A., Tsuno, T., Maruta, Y., Kim, H.W., Kawabata, K., Ohigashi H., *Cancer Letters*, **2002**, 180, 121
- <sup>19</sup> Wen, A., Delaquois, P., Stanich, K., Tivonen, P., *Food Microb.*, **2003**, 20, 305
- <sup>20</sup> Hatzakis N., Smonou I., *Bioorg. Chem.*, **2005**, 33, 325
- <sup>21</sup> Hatzakis N., Smonou I., *Tetrahedron Lett.*, **2004**, 45, 2755
- <sup>22</sup> Hatzakis N., Daphnomili, D., Smonou I., *J. Mol. Catal. B. Enzym.*, **2003**, 21, 309

- 
- <sup>23</sup> Διδακτορική Διατριβή, Χατζάκης Ν., **2003**, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης
- <sup>24</sup> Διατριβή Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης, Ξημεράκης Δ., **2005**, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης
- <sup>25</sup> Διατριβή Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης, Σαμανίδης Ι., **2006**, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης
- <sup>26</sup> Bradshaw, C. W.; Fu, H.; Shen, G. J.; Wong, C. H. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 1526
- <sup>27</sup> Wong, C. H., Whitesides, G. M., “*Enzymes in Synthetic Organic Chemistry*”, Tetrahedron Organic Chemistry Series, London, **1993**
- <sup>28</sup> Wong, C. H., Whitesides, G. M., *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 4890
- <sup>29</sup> Zhao, H., Donk, W., *Curr. Opin. Biotechnol.* **2003**, *14*, 583
- <sup>30</sup> Wong, C.H., Drueckhammer, D.G., Sweers, H.M., *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 4028
- <sup>31</sup> Dale, J.A., Mosher, H.S., *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 512
- <sup>32</sup> Trost, B.M., Belletire, J.L., Godleski, S., Mcdougal, P.G., Balkovec, J.M., *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 2370
- <sup>33</sup> Seco, J.M., Quinoa, E., Riguera, R., *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 17
- <sup>34</sup> Sponga, F., Cavaletti, L., Lazzarini, A., Borghi, A., Ciciliato, I., Losi, D., Marinelli, F., *J. Biotechnol.* **1999**, *70*, 65
- <sup>35</sup> Bernan, V. S., Greenstein, M., Maiese, W. M., *Adv. Appl. Microbiol.* **1997**, *43*, 57
- <sup>36</sup> Fenical, W., Jensen, P. R., *Annu. Rev. Microbiol.* **1994**, *48*, 559
- <sup>37</sup> Faulkner, J. D. *Nat. Prod. Rep.* **2001**, *18*, 1
- <sup>38</sup> Cuomo, V., Palomba, I., Perretti, A., Guerriero, A., D’Ambrosio, M., Pietra, F. *J. Mar. Biotechnol.* **1995**, *2*, 199
- <sup>39</sup> Henkel, T., Brunne, R. M., Muller, H., Reichel, F. *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 688
- <sup>40</sup> Omura, S., Ed. *Macrolide Antibiotics: Chemistry, Biology, and Practice*, Academic Press: Orlando, FL, **1984**
- <sup>41</sup> Bubb, M. R., Spector, I., Bershadsky, A. D., Korn, E. D. *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 3463
- <sup>42</sup> Watters, D., Marshall, K., Hamilton, S., Michael, J., McArthur, M., Seymour, G., Hawkins, C., Gardiner, R., Lavin, M. *Biochem. Pharmacol.* **1990**, *39*, 1609
- <sup>43</sup> Edrada, R. A., Heubes, M., Brauers, G., Wray, V., Berg, A., Grafe, U., Wohlfarth, M., Muhlbacher, J., Schaumann, K., Sudarsono, Bringmann, G., Proksch, P. J., *Nat. Prod.*, **2002**, *65*, 1598

- 
- <sup>44</sup> Kinoshita, K., Sasaki, T., Awata, M., Takada, M., Yaginuma, S. *J. Antibiot.* **1997**, *50*, 961
- <sup>45</sup> Musgrave, O. C. *J. Chem. Soc.* **1956**, 4301
- <sup>46</sup> Lai, S., Shizuri, Y., Yamamura, S., Kawai, K., Terada, Y., Furukuwa, H. *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 2241
- <sup>47</sup> Robeson, D. J., Strobel, G. A., Strange, R. N. *J. Nat. Prod.* **1985**, *48*, 139
- <sup>48</sup> Ghisalberti, E. L., Rowland, C. Y. *J. Nat. Prod.* **1993**, *56*, 2175
- <sup>49</sup> Bringmann, G., Lang, G., Michel, M., Heubes, M. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 2829
- <sup>50</sup> Gerlach, H., *Helv. Chim. Acta*, **1977**, *60*, 3039
- <sup>51</sup> Yoshino, T., Ng, F., Danishefsky, S. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 14185
- <sup>52</sup> Liang, Q., Zhang, J., Quan, W., Sun, Y., She, X., Pan, X., *J. Org. Chem.*, **2007**, *72*, 2694
- <sup>53</sup> Kalaitzakis, D., Rozzell, J. D., Kambourakis, S., Smonou I., *Org. Lett.*, **2005**, *7*, 4799
- <sup>54</sup> Kalaitzakis, D., Rozzell, J. D., Kambourakis, S., Smonou I., *Adv. Synth. Catal.* **2006**, *348* (14), 1958
- <sup>55</sup> Greene T., Wuts, P., “*Protective Groups in Organic Synthesis*”, 2<sup>nd</sup> Edition, **1991**
- <sup>56</sup> Wolberg, M., Hummel, W., Müller M., *Chem. Eur. J.*, **2001**, *7*, 4562
- <sup>57</sup> Walten, P., *Bull. Acad. Imper. Sci. (St. Petersburg)*, **1914**, 1800
- <sup>58</sup> Wilkes, J.S., Zaworotko, M.J., *Chem. Commun.* **1992**, 965
- <sup>59</sup> Davis, J.H., Jr., *Chem. Lett.*, **2004**, *33*, (9), 1072
- <sup>60</sup> Zhu, H.-P., Yang, F., Tang, J., He, M.-Y., *Green Chem.*, **2003**, *5*, 38
- <sup>61</sup> Qiao, K., Yokoyama, C., *Chem. Lett.* **2004**, *33*, (4), 472
- <sup>62</sup> Clavier, H., Boulanger, L., Audic, N., Toupet, L., Mauduit, M., Guillemin, J.-C., *Chem. Comm.*, **2004**, 1224
- <sup>63</sup> Bao, W., Wang, Z., Li, Y., *J. Org. Chem.*, **2003**, *68*, 591
- <sup>64</sup> Poletti, L., Chiappe, C., Lay, L., Pieraccini, D., Polito L., Russo G., *Green Chem.*, **2007**, *9*, 337
- <sup>65</sup> Fukumoto, K., Yoshizawa, M., Ohno, H., *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 2398
- <sup>66</sup> Jadry, J.J., Mikami, K., *Tetrahedron Lett.*, **2004**, *45*, 4429
- <sup>67</sup> Xu, W., Wang, L.-M., Nieman, R.A., Angell, C.A., *J. Phys. Chem. B*, **2003**, *107*, 11749

- 
- <sup>68</sup> Seddon, K.R., *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, **1997**, *68*, 351
- <sup>69</sup> Smith, G.P., Dworkin, A.S., Pagni, R.M., Zingg, S.P., *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 525
- <sup>70</sup> Park, S., Kazlauskas, R.J., *J. Org. Chem.*, **2001**, *66*, 8395
- <sup>71</sup> Mathews, S.J., Smith, P.J., Welton, T., White, A.J.P., Williams, D.J., *Organometallics*, **2001**, *20*, (18), 3848
- <sup>72</sup> Wilkes, J.S., Levisky, J.A., *Inorg. Chem.*, **1982**, *21*, 1263
- <sup>73</sup> Dupont, J., Consorti, C.S., Suarez, P.A.Z., De Souza R.F., *Org. Synthesis*, *79*, 236
- <sup>74</sup> Varma, R.S., Namboodiri, V.V., *Chem. Commun.*, **2001**, 643
- <sup>75</sup> Karodia, N., Guise, S., Newlands, C., Andersen J.-A., *Chem. Commun.*, **1998**, 2341
- <sup>76</sup> Earle, M.J., McCormac, P.B., Seddon, K.R., *Green Chem.*, **1999**, *1*, 23
- <sup>77</sup> Adams, C.J., Earle, M.J., Roberts, G., Seddon, K.R., *Chem. Commun.*, **1998**, 2097
- <sup>78</sup> Mathews, S.J., Smith, P.J., Welton, T., White, A.J.P., Williams, D.J., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **2000**, 1249
- <sup>79</sup> Adams, C.J., Earle, M.J., Seddon, K.R., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1999**, 1043
- <sup>80</sup> Carmichael A.J., Haddleston D., Bon S.A.F., Seddon, K.R., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **2000**, 1237
- <sup>81</sup> Lozano, P., De Diego, T., Carrie, D., Vaultier, M., Iborra, J.L., *J. Mol. Cat. B: Enzymatic*, **1999**, *21*, 9
- <sup>82</sup> Ulbert, O., Frater, T., Belafi-Bako, K., Gubicza, L., *J. Mol. Cat. B: Enzymatic*, **2004**, *31*, 39
- <sup>83</sup> Kaftzik, N., Kroutil, W., Faber, K., Kragl, U., *J. Mol. Cat. A: Chemical*, **2004**, *214*, 107
- <sup>84</sup> Ding, J., Welton, T., Armstrong, D.W., *Anal. Chem.*, **2004**, *76*, 6819
- <sup>85</sup> Poole, C.F. Kersten, B.R., Ho, S.S.J., Coddens, M.E., Furton, K.J., *J. Chromatogr.*, **1986**, *352*, 407
- <sup>86</sup> Yancs, E.G., Gratz, S.R., Baldwin, M.J., Robinson, S.E., Stalcup, A.M., *Anal. Chem.*, **2001**, *73*, 3838
- <sup>87</sup> Liu, H., Tao, G.-H., Evans, D.G., Kou, Y., Carbon, **2005**, *43*, 1782
- <sup>88</sup> Pernak, J., Iwanik, K., Majewski, P., Grzymislawski, M., Pernak, J., *Acta Histicheica*, **2005**, *107*, 149

- 
- <sup>89</sup> Gordon, C.M., Fields, M., Huston, G.V., Seddon, K.R., World Pat., WO 9806106  
**1998**
- <sup>90</sup> Cull, S.G., Holbrey, J.D., Vargas-Mora, V., Seddon, K.R., Lye, G.J., *Biotechnol. Bioeng.* **2000**, *69*, 227
- <sup>91</sup> Erbedinger, M.; Mesiano, A. J.; Russell, A. J. *Biotechnol. Prog.* **2000**, *16*, 1129
- <sup>92</sup> Madeira Lau, R.; Van Rantwijk, F.; Seddon, K. R.; Sheldon, R. A. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 4189.
- <sup>93</sup> Thomazeau, C., Olivier-Bourbigou, H., Magna, L., Luts, S., Gilbert, B.J., *Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 5264
- <sup>94</sup> Frater, T., Ulbert, O., Belafi-Bako, K., Gubicza L., *Commun. Agric. Appl. Biol. Sci.* **2003**, *68*, 293
- <sup>95</sup> Lozano, P., de Diego, T., Gmouh, S., Vaultier, M., Iborra, J.L., *Biotechnol. Prog.* **2004**, *20*, 661
- <sup>96</sup> Lozano, P., de Diego, T., Guegan, J.-P., Vaultier, M., Iborra J.L., *Biotechnol. Bioeng.* **2001**, *75*, 563
- <sup>97</sup> Kaar, J.L., Jesionowski, A.M., Berberich, J.A., Moulton, R., Russell, A.J., *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 4125
- <sup>98</sup> Park, S., Kazlauskas, R.J., *Org. Chem.* **2001**, *66*, 8395
- <sup>99</sup> Lozano, P., de Diego, T., Carrie, D., Vaultier, M., Iborra, J.L., *Biotechnol. Lett.* **2001**, *23*, 1529
- <sup>100</sup> Maruyama, T., Nagasawa, S., Goto, M., *Biotechnol. Lett.* **2002**, *24*, 1341
- <sup>101</sup> Maruyama, T., Yamamura, H., Kotani, T., Kamiya, N., Goto, M., *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 1239
- <sup>102</sup> Summers, C.A., Flowers, R.A., *Protein. Sci.* **2000**, *9*, 2001
- <sup>103</sup> Kaftzik, N., Wasserscheid, P., Kragl, U., *Org. Proc. Res. Dev.* **2002**, *6*, 553
- <sup>104</sup> Lee, S. H., Ha, S. H., Lee, S. B., Koo, Y.-M., *Biotechnol. Lett.* **2006**, *28*, 1335.
- <sup>105</sup> Seddon, K.R., Stark, A., Torres, M.J., *Pure Appl. Chem.* **2000**, *72*, 2275
- <sup>106</sup> Barahona, D., Pfromm, P.H., Rezac, M.C., *Biotechnol. Bioeng.* **2006**, *93*, 318
- <sup>107</sup> Uyama, H., Takamoto, T., Kobayashi, S., *Polym. J.* **2002**, *34*, 94.
- <sup>108</sup> Nara, S J., Harjani, J.R., Salunkhe, M.M., Mane, A.T., Wadgaonkar, P.P., *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 1371
- <sup>109</sup> Marcilla, R., De Geus, M., Mecerreyes, D., Duxbury, C. J., Koning, C.E., Heise, A., *Eur. Polym. J.* **2006**, *42*, 1215

- 
- <sup>110</sup> Xin, J.-Y., Zhao, Y.-J., Zhao, G.-L., Zheng, Y., Ma, X.-S., Xia, C.-G., Li, S.-B., *Biocatal. Biotransform.* **2005**, *23*, 353
- <sup>111</sup> Roberts, N. J., Seago, A., Carey, J. S., Freer, R., Preston, C., Lye, G. L., *Green Chem.* **2004**, *6*, 475
- <sup>112</sup> Schmidt, A., Dordick, J.S., Hauer, B.; Kiener, A., Wubbolts, M., Witholt, B., *Nature* **2001**, *409*, 258
- <sup>113</sup> Park, S., Kazlauskas, R. J., *J. Org. Chem.*, **2001**, *66*, 8395
- <sup>114</sup> Schofer, S. H., Kaftzik, N., Wasserscheid, P., Kragl, U., *Chem. Commun.* **2001**, 425
- <sup>115</sup> Kim, K.-W., Song, B., Choi, M.-Y., Kim, M.-J., *Org. Lett.* **2001**, *3*, 1507
- <sup>116</sup> Itoh, T., Akasaki, E., Kudo, K., Shirakami, S., *Chem. Lett.* **2001**, 262
- <sup>117</sup> Itoh, T., Akasaki, E., Nishimura, Y., *Chem. Lett.* **2002**, 154
- <sup>118</sup> Noel, M., Lozano, P., Vaultier, M., Iborra, J. L., *Biotechnol. Lett.* **2004**, *26*, 301
- <sup>119</sup> Lundell, K., Kurki, T., Lindroos, M., Kanerva, L. T., *Adv. Synth. Catal.* **2005**, *347*, 1110
- <sup>120</sup> Liu, Y.-Y., Lou, W.-Y., Zong, M.-H., Xu, R., Hong, X., Wu, H., *Biocatal. Biotransform.* **2005**, *23*, 89
- <sup>121</sup> Kim, M.-J., Kim, H. M., Kim, D., Ahn, Y., Park, J., *Green Chem.*, **2004**, *6*, 471
- <sup>122</sup> Kaftzik, N., Wasserscheid, P., Kragl, U., *Org. Process Res. Dev.*, **2002**, *6*, 553
- <sup>123</sup> Lang, M., Kamrat, T., Nidetzky, B., *Biotechnol. Bioeng.*, **2006**, *95*, 1093
- <sup>124</sup> Gaisberger, R.P., Fechter, M.H., Griengl, H., *Tetrahedron: Asymmetry*, **2004**, *15*, 2959
- <sup>125</sup> Howarth, J., James, P., Dai, J., *Tetrahedron Lett.*, **2001**, *42*, 7517
- <sup>126</sup> Lou, W.-Y., Zong, M.-H., Smith, T. J., *Green Chem.*, **2006**, *8*, 147
- <sup>127</sup> Matsuda, T., Yamagishi, Y., Koguchi, S., Iwai, N., Kitazume, T., *Tetrahedron Lett.*, **2006**, *47*, 4619
- <sup>128</sup> Park, S., Viklund, F., Hult, K., Kazlauskas, R. J., *Green Chem.* **2003**, *5*, 715
- <sup>129</sup> Irimescu, R., Kato, K., *J. Mol. Catal., B: Enzym.*, **2004**, *30*, 189
- <sup>130</sup> Itoh, T., Akasaki, E., Kudo, K., Shirakami, S., *Chem. Lett.*, **2001**, 262
- <sup>131</sup> Docherty, K. M., Kulpa, C. F., Jr., *Green Chem.*, **2005**, *7*, 185
- <sup>132</sup> Wells, A. S., Coombe, V. T., *Org. Process Res. Dev.*, **2006**, *10*, 794



- 
- <sup>133</sup> Stolte, S., Arning, J., Bottin-Weber, U., Matzke, M., Stock, F., Thiele, K., Uerdingen, M., Welz-Biermann, U., Jastorff, B., Ranke, J., *Green Chem.*, **2006**, *8*, 621
- <sup>134</sup> Gathergood, N., Garcia, M.T., Scammels, P. J., *Green Chem.*, **2004**, *6*, 166
- <sup>135</sup> Stepnowski, P., Skladanowski, A.C., Ludwiczak, A., Laczynska, E., *Human & Experimental Toxicol.*, **2004**, 668
- <sup>136</sup> Pernak, J., Czepukowicz, A., Pozniak, R., *Int. Eng. Chem. Res.*, **2001**, *40*, 2379
- <sup>137</sup> Gathergood, N., Scammels, P. J., Garcia, M. T., *Green Chem.*, **2006**, *8*, 156
- <sup>138</sup> Fukumotu, K., Yoshizawa, M., Ohno, H., *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 2398
- <sup>139</sup> Imperato, G., Koenig, B., Chiappe C., *Eur. J. Org. Chem.*, **2007**, *7*, 1049
- <sup>140</sup> Διδακτορική Διατριβή, Χατζάκης Ν., **2003**, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης
- <sup>141</sup> Διατριβή Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης, Σαμανίδης Ι., **2006**, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης
- <sup>142</sup> Morgan, B., Oehlchlager, A.C., Stokes, T.M., *Tetrahedron*, **1991**, *47*, 1611
- <sup>143</sup> Cambou, B., Klibanov, A.M., *J. Am. Chem. Soc.*, **1984**, *106*, 2687
- <sup>144</sup> Degueil-Castaing, M., De Jeso, B., Drouillard, S., Maillard, B., *Tetrahedron Lett.*, **1987**, *56*, 2656
- <sup>145</sup> Wang, Y.-F., Wong, C.-H., *J. Org. Chem.*, **1998**, *53*, 3127
- <sup>146</sup> Kawasaki, M., Goto, M., Kawabata, S., Kametani, T., *Tetrahedron Asymmetry*, **2001**, *12*, 585
- <sup>147</sup> Hatzakis, N.S., Daphnomili, D., Smonou, I., *J. Mol. Cat. B: Enzymatic*, **2002**, *840*, 1
- <sup>148</sup> Hatzakis, N.S., Smonou, I., *Tetrahedron Lett.*, **2004**, *45*, 2755
- <sup>149</sup> Hatzakis, N.S., Smonou, I., *Bioorg. Chem.*, **2005**, *33*, 325
- <sup>150</sup> Blanchard, J.S., *Methods in Enzymol.*, **1984**, *104*, 404
- <sup>151</sup> Gordon, A.J., Ford, R.A., “*The Chemist Companion*”, John Wiley and Sons, New York, **1972**