

Επεξηγήσεις:

(i) Το σαπούνι είναι μίγμα μετά νατρίου αλάτων λιπαρών οξέων, καθώς το ελαιόλαδο είναι μίγμα τριγλυκεριδίων κυρίως ακόρεστων λιπαρών οξέων, όπως ελαϊκό (64-80 %), λινελαϊκό (8-16 %) και λινολενικό (1-2 %), και κορεσμένων, όπως παλμιτικό (7-14 %) και στεατικό (2-4 %):

ελαϊκό	$C_{17}H_{33}COOH$	(1 cis δ.δ, C_9-C_{10})
λινελαϊκό	$C_{17}H_{31}COOH$	(2 cis δ.δ, C_9-C_{10} κ' $C_{12}-C_{13}$)
λινολενικό	$C_{17}H_{29}COOH$	(3 cis δ.δ, C_9-C_{10} , $C_{12}-C_{13}$ κ' $C_{15}-C_{16}$)
παλμιτικό	$C_{15}H_{31}COOH$	
στεατικό	$C_{17}H_{35}COOH$	

Ερωτήσεις:

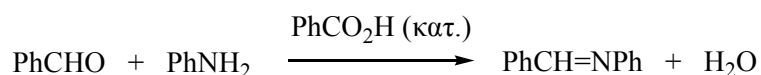
1. Να γραφούν αναλυτικά οι συντακτικοί τύποι των παραπάνω πέντε λιπαρών οξέων.

15. *N*-Βενζυλανιλίνη

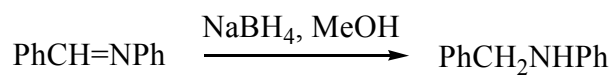
$C_6H_5CH_2NHC_6H_5$, ($C_{13}H_{13}N$) M.B. = 183.25, σ.τ. = 36-37°C

Αντιδράσεις: (i) Πυρηνόφιλη προσθήκη αμίνης σε αλδεύδη και απόσπαση νερού, (ii) αναγωγή ιμίνης
(2 παρασκευάσματα)

15α. Σχηματισμός βενζυλιδενοανιλίνης (ιμίνης) ($C_{13}H_{11}N$, M.B. = 181.25)

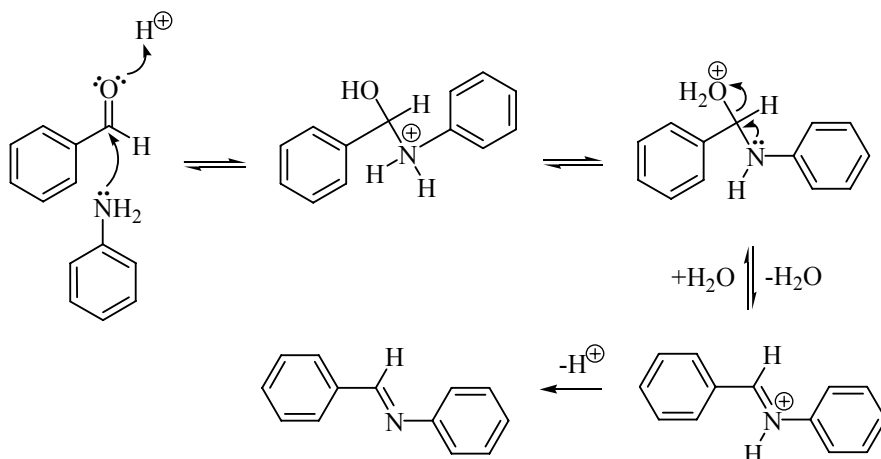


15β. Σχηματισμός *N*-βενζυλανιλίνης⁽ⁱ⁾ ή *N*-φαινυλοβενζυλαμίνης

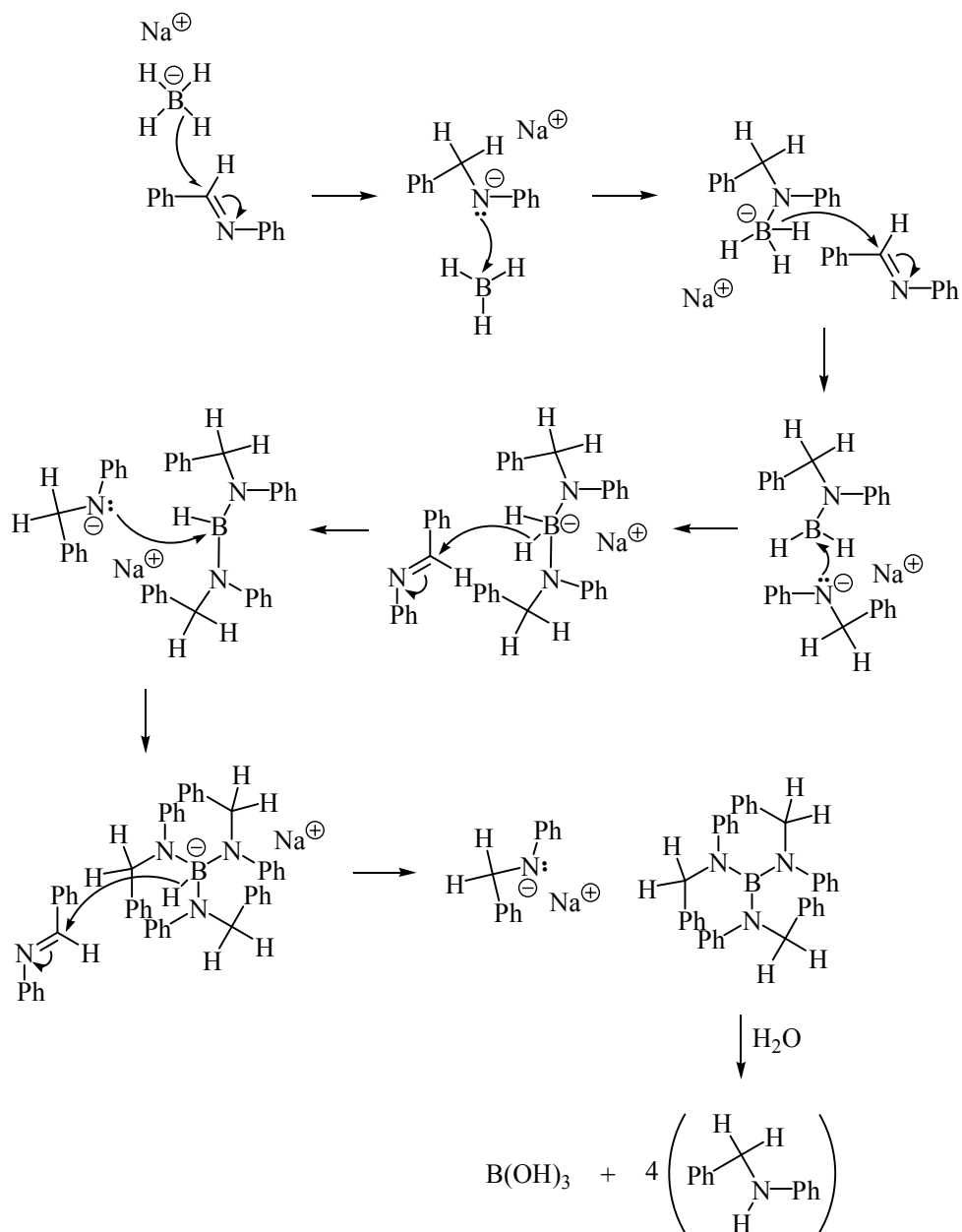


Μηχανισμός:

(15α)



(15β)



Αντιδραστήρια:

βενζοϊκό οξύ (M. B. = 122.12, σ.τ. = 121-123°C)

95.5% αιθανόλη (M. B = 46.07)

νάτριο βοροϊδρίδιο (M. B. = 37.83)

μεθανόλη (σ.ζ. = 64.7°C)

αποσταγμένο νερό

διαιθυλαιθέρας (σ.ζ. = 35°C, d = 0.71 g/ml)

πετρελαϊκός αιθέρας (σ.ζ. = 60-80°C) ή εξάνιο (σ.ζ. = 68°C)

οξικός αιθυλεστέρας (σ.ζ. = 76.5-77.5°C)

Μέθοδος παρασκευής:

(15α.) Παρασκευή βενζυλιδενοανιλίνης

Σε σφαιρική φιάλη των 50 ml αναμιγνύονται 21.0 g (2.0 ml, 0.02 mol) βενζαλδεΐδης και 2.05 g (2.0 ml, 0.02 mol) ανιλίνης.^(α) Το μίγμα θερμαίνεται υπό ανάδευση στους 100°C (ελαιόλουτρο) επί 40 λεπτά¹, ενώ εμφανίζονται σταγόνες νερού στην επιφάνεια του μίγματος. Η ανάδευση του μίγματος συνεχίζεται στη θερμοκρασία δωματίου μέχρι να κρυσταλλωθεί το ελαιώδες μίγμα. Το στερεό ανακρυσταλλώνεται από 5-10 mL αιθανόλης για να δώσει την βενζυλιδενοανιλίνη ως άχρωμους κρυστάλλους. Προσοχή, αργεί να κρυσταλλώσει, αλλά μετά κρυσταλλώνει απότομα.

Υπολογίστε την % απόδοση, περιγράψτε κρυσταλλική μορφή (χρησιμοποιήστε μικροσκόπιο για να βρείτε το σχήμα των κρυστάλλων) και χρώμα, μετρήστε το σ.τ. της βενζυλιδενοανιλίνης. (Το σ.τ. της καθαρής βενζυλιδενοανιλίνης είναι 52-53°C).

TLC: Et₂O/hexane (1:1)

(15β.) Παρασκευή N-βενζυλανιλίνης

Σε τρίλαιμη σφαιρική φιάλη με κάθετο ψυκτήρα (κεντρικό λαιμό) που περιέχει 50 ml MeOH προστίθενται 2.0 g (0.01 mole) βενζυλιδενοανιλίνης. Το μίγμα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου και σε μικρές δόσεις προστίθενται 0.90 g (0.024 mole) NaBH₄^(β) (σε διάστημα 15 λεπτών). Στη συνέχεια το μίγμα θερμαίνεται μέχρι βρασμού (ελαιόλουτρο) επί ~20 λεπτά, ψύχεται, μεταφέρεται σε μονόλαιμη σφαιρική φιάλη και ο διαλύτης αποσπάζεται στον περιστροφικό εξατμιστήρα. Προστίθεται νερό² (15 ml) στο ίζημα και εκχυλίζεται με Et₂O (3×10 ml). Τα οργανικά εκχυλίσματα συνενώνονται και ξηραίνονται με Na₂SO₄ (η φιάλη πωματισμένη και υπό ανάδευση για τουλάχιστον 8 ώρες). Μετά τη διήθηση του ξηραντικού μέσου ο διαλύτης αποσπάζεται στον περιστροφικό εξατμιστήρα, ενώ το κρυσταλλικό υπόλειμμα ανακρυσταλλώνεται από οξικό αιθυλεστέρα/εξάνιο (σε θερμοκρασία δωματίου με τη μέθοδο των δύο διαλυτών). Προσοχή, δεν κρυσταλλώνει εύκολα, χρειάζεται κατάψυξη.

Υπολογίστε την απόδοση (%), περιγράψτε κρυσταλλική μορφή και χρώμα, μετρήστε με ακρίβεια το σ.τ. και καταγράψτε τα φάσματα IR, ¹H NMR και MS της N-βενζυλανιλίνης.

Παρατηρήσεις:

(α) Στη συμπύκνωση μεταξύ βενζαλδεΐδης και ανιλίνης, το βενζοϊκό οξύ που περιέχει η βενζαλδεΐδη του εμπορίου ως ακαθαρσία είναι αρκετή για την όξινη κατάλυση της αντίδρασης.

(β) Για την αναγωγή χρησιμοποιήθηκε διπλάσιο NaBH₄. Συνήθως απαιτείται μεγάλη περίσσεια αυτού, έως και δεκαπλάσιο, καθώς ένα μέρος του αντιδρά με το διαλύτη (μεθανόλη).

Επεξηγήσεις:

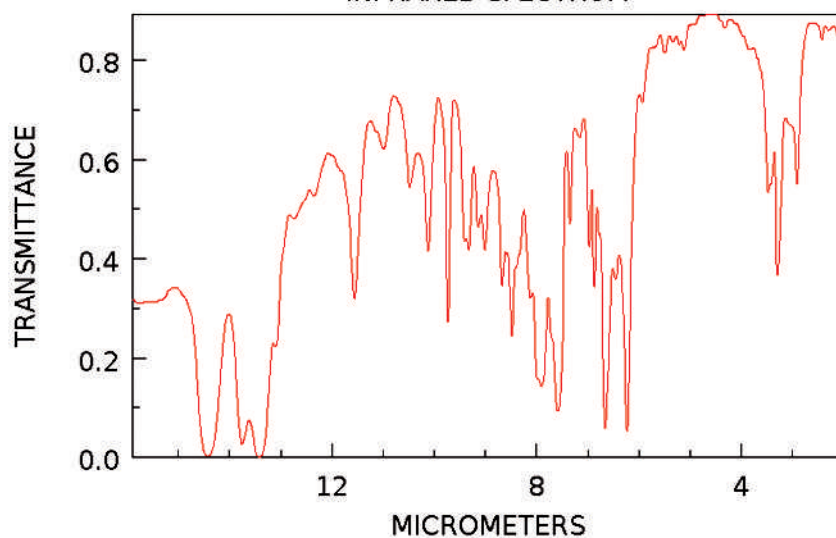
(i) Η αναγωγή ιμινών χρησιμοποιείται για τη σύνθεση δευτεροταγών αμινών, οι οποίες παρασκευάζονται δύσκολα με άλλες μεθόδους.

Ερωτήσεις:

1. Γιατί στο στάδιο της συμπύκνωσης η οξύτητα του μίγματος της αντίδρασης πρέπει να είναι $\text{pH} = 4-6$;
2. Γιατί προστίθεται νερό;
3. Τι παραπροϊόντα αναμένονται αν η βενζυλιδενοανιλίνη έχει πρόσμιξη βενζαλδεύδη;

Φάσματα:

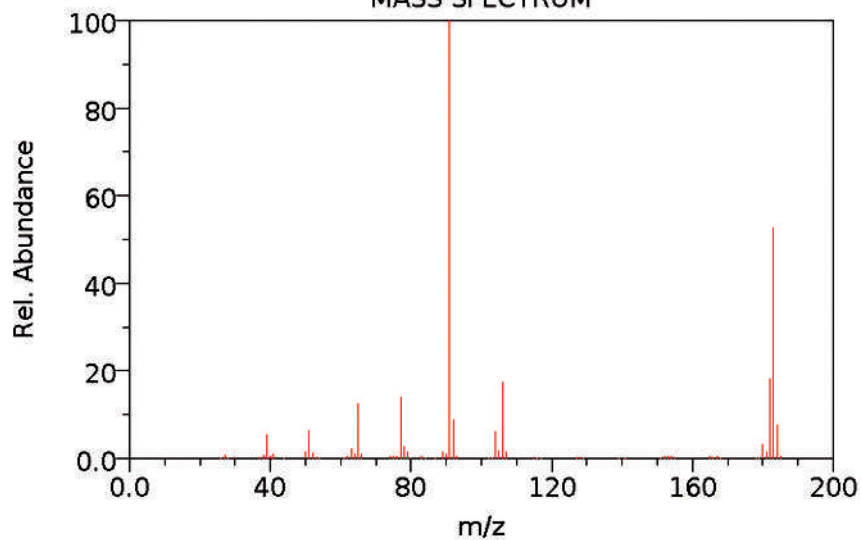
**N-BENZYL ANILINE
INFRARED SPECTRUM**



NIST Chemistry WebBook (<http://webbook.nist.gov/chemistry>)

Φάσμα IR βενζυλανιλίνης

**Benzenemethanamine, N-phenyl-
MASS SPECTRUM**



NIST Chemistry WebBook (<http://webbook.nist.gov/chemistry>)

Φάσμα MS βενζυλανιλίνης

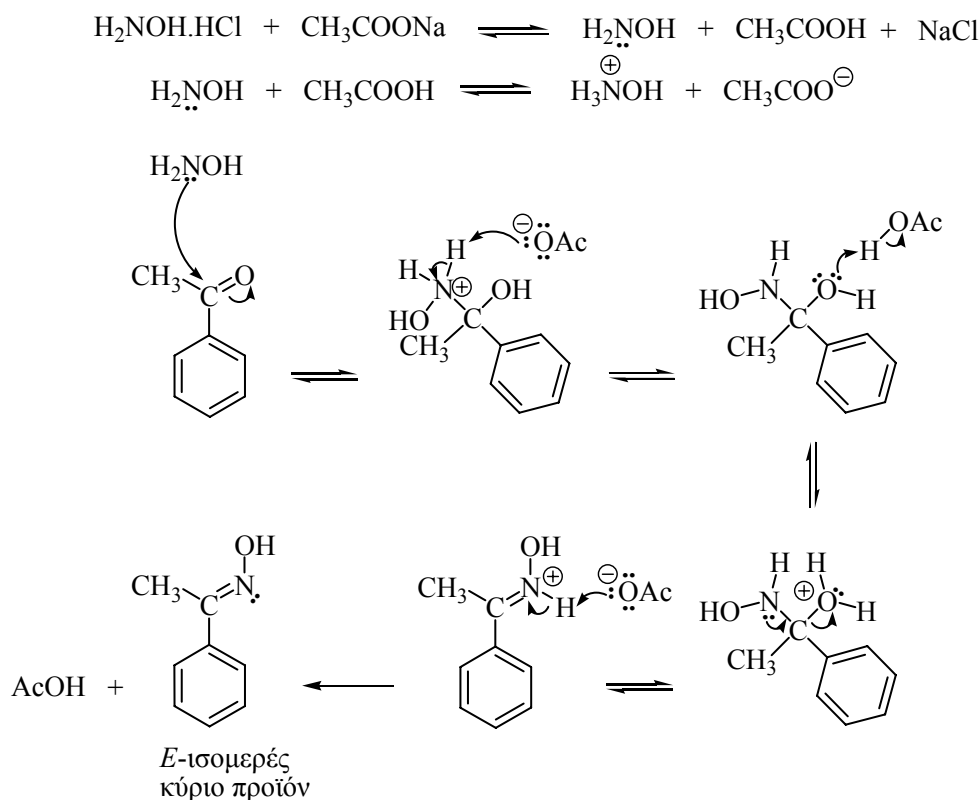
16. (E)-Οξίμη της ακετοφαινόνης

$\text{C}_6\text{H}_4\text{C}(\text{CH}_3)\text{NOH}$, M.B. = 135.16, σ.τ. = 59°C

Αντιδραση: Συμπύκνωση καρβονυλικής ένωσης με υδροξυλαμίνη, σχηματισμός οξίμης.



Μηχανισμός:



Σε ποσοστό περίπου 5-15% σχηματίζεται και η (Z)-οξίμη της ακετοφαινόνης.⁽¹⁾

Αντιδραστήρια:

ακετοφαινόνη (M.B. = 120.14, σ.ζ. = 202°C, d = 1.03 g/ml, n_D^{20} = 1.534)

υδροχλωρική υδροξυλαμίνη (M.B. = 69.49, σ.τ. = 155-157°C αποσυντίθεται)

οξικό νάτριο (M.B. = 82.03, σ.τ. = >300°C),

95.5% αιθανόλη

Μέθοδος παρασκευής:

Σε σφαιρική φιάλη των 250 ml φέρονται 30-40 ml νερού, 6 ml (51 mmol) ακετοφαινόνης, 4 g (57 mmol) υδροχλωρικής υδροξυλαμίνης και 5 g (61 mmol) οξικού νατρίου.⁽²⁾ Το μίγμα

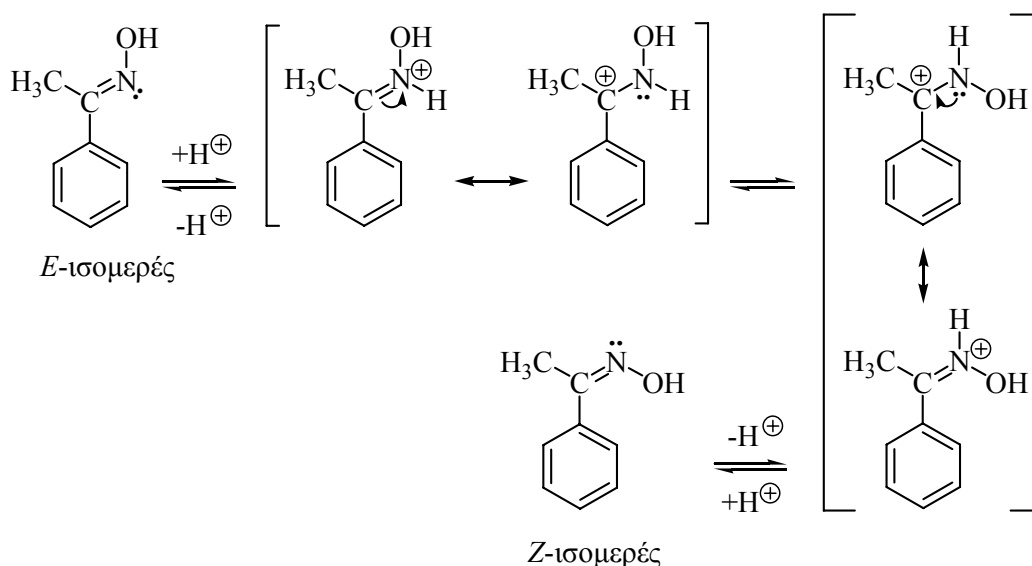
αναδεύεται μέχρι διαλυτοποίησης των στερεών και ακολούθως προστίθενται 20 ml αιθανόλης. Εφαρμόζεται κάθετος ψυκτήρας και θερμαίνεται μέχρι βρασμού επί ~40 λεπτά σε υδρόλουτρο. Το μίγμα της αντίδρασης αφήνεται να κρυώσει σε θερμοκρασία δωματίου (θ.δ.) και κατόπιν ψύχεται σε παγόλουτρο, ενώ αναδεύεται συνεχώς με ράβδο, για καλύτερη κρυστάλλωση του προϊόντος. Διηθούμε το ίζημα της κρυσταλλικής οξίμης σε χωνί Buchner, εκπλύνουμε προσεκτικά με λίγο παγωμένο H₂O, ώστε να απομακρυνθούν πλήρως τα άλατα, και ξηραίνουμε στον ηθμό με τον αέρα⁽³⁾. Ελέγχεται η ολοκλήρωση της αντίδρασης με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) σε μίγμα διαλυτών ανάπτυξης οξικό αιθυλεστέρα/πετρελαϊκό αιθέρα (σ.ζ. = 40-60°C) ή εξάνιο (1:1). Η εμφάνιση των κηλίδων γίνεται με λυχνία υπεριώδους φωτός στα 254 nm. Αν χρειαστεί, το προϊόν ανακρυσταλλώνεται από EtOH και H₂O (σε θερμοκρασία δωματίου με τη μέθοδο των δύο διαλυτών).

Υπολογίστε την απόδοση (%), περιγράψτε κρυσταλλική μορφή και χρώμα, μετρήστε με ακρίβεια το σ.τ. και καταγράψτε τα φάσματα IR, ¹H NMR και MS της (*E*)-οξίμης της ακετοφαινόνης.

Παρατηρήσεις:

- (1) Τα δύο στερεοϊσομερή ευρίσκονται σε ισορροπία μέσω της πρωτονιωμένης μορφής. Η *E*-οξίμη είναι, ως το σταθερότερο στερεοϊσομερές, το κύριο προϊόν.

(2)



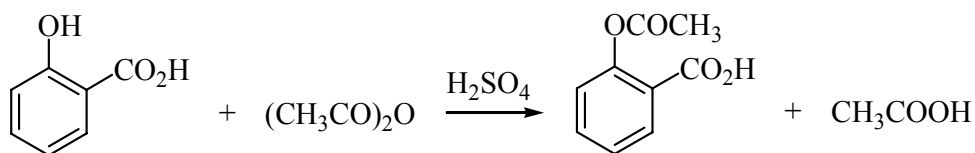
(2) Η αντίδραση μπορεί να γίνει και παρουσία πυριδίνης (~5 ml), αντί του CH₃COONa.

(3) Πιο γρήγορη ξήρανση θα μπορούσε να γίνει με έκπλυση της οξίμης στον ηθμό με λίγη παγωμένη μεθανόλη. Καλύτερη ξήρανση επιτυγχάνεται σε ξηραντήρα κενού υπεράνω CaCl₂.

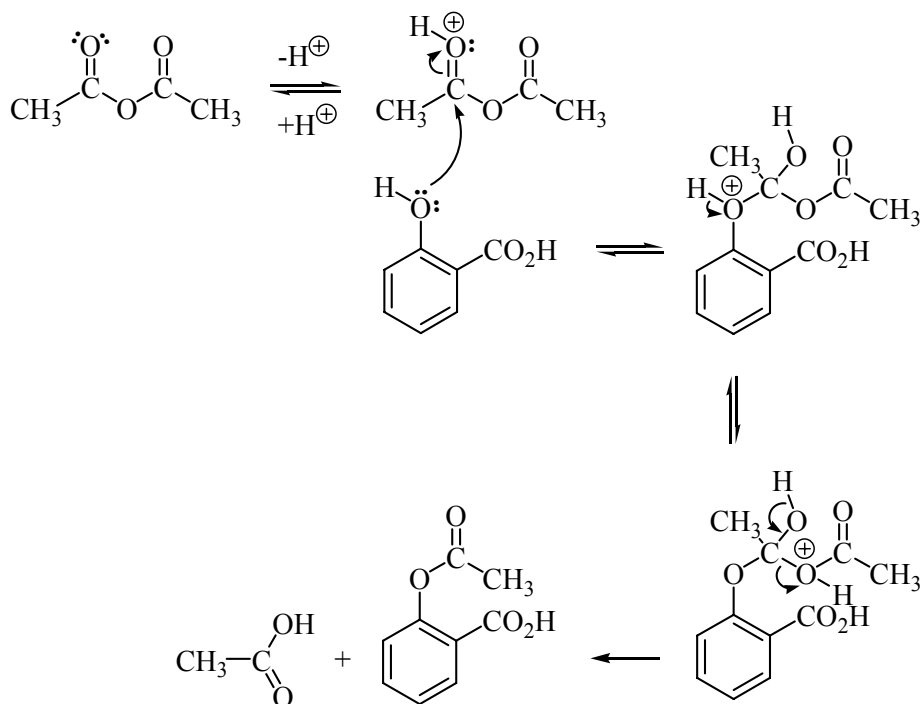
17. Ακετυλοσαλικυλικό οξύ (2-ακετοξυβενζοϊκό οξύ, ασπιρίνη)

σ -CH₃CO₂C₆H₄CO₂H, M.B. = 180.15, σ.τ. = 135°C

Αντίδραση: Πυρηνόφιλη ακυλο-υποκατάσταση (εστεροποίηση)



Μηχανισμός:



Επισημάνσεις:

Προσοχή! Το H₂SO₄ να μην έρθει σε επαφή με το δέρμα, διότι δημιουργεί βαθιά εγκαύματα.

Πρώτες βοήθειες: Αμέσως το σημείο προσβολής να πλυθεί με πολύ νερό.

Προσοχή! Ο οξικός ανυδρίτης είναι ερεθιστικός. Προσοχή στην εισπνοή ατμών του.

Αντιδραστήρια:

σαλικυλικό οξύ (M.B. = 138.12, σ.τ. = 159-160°C)

οξικός ανυδρίτης, Ac₂O (M.B. = 102.09, σ.ζ. = 140°C, d = 1.08 g/ml)

πυκνό (95-98%) θειικό οξύ

Μέθοδος παρασκευής:

Σε στεγνή κωνική φιάλη των 300 ml φέρονται 2.8 g (20 mmol) σαλικυλικού οξέος⁽ⁱⁱ⁾, ⁽¹⁾ και προστίθενται 5 ml οξικού ανυδρίτη (53 mmol) και 3-4 σταγόνες (καταλυτική ποσότητα) πυκνού H₂SO₄. Το μίγμα θερμαίνεται υπό ανάδευση επί 10-15 λεπτά σε υδρόλουτρο 45-50°C, μέχρι πλήρους διαλυτοποίησης του σαλικυλικού οξέος. Η αντίδραση είναι εξώθερμη, οπότε πιθανόν να αυξηθεί λίγο η θερμοκρασία του μίγματος. Αφήνουμε τη φιάλη να ψυχθεί σε θερμοκρασία δωματίου, οπότε παρατηρούμε ότι αρχίζει η καταβύθιση λευκού στερεού (της ασπιρίνης). Όταν το μίγμα αποβάλει όλη την ασπιρίνη με την ολοκλήρωση της αντίδρασης (το μίγμα γίνεται ημιστερεό), προστίθενται 50 ml H₂O υπό ανάδευση, μέχρις ότου σπάσουν όλα τα συσσωματώματα (σβώλοι), αφήνεται 5 λεπτά επιπλέον^(a) και κατόπιν ψύχεται σε παγόλουτρο. Γίνεται άμεσα διήθηση και ανακρυστάλλωση από περίπου 25 ml θερμού νερού,^(b) θερμοκρασίας έως 80°C (υψηλότερα τήκεται η ένωση). Από το διήθημα με την παραμονή και ψύξη μπορεί να καταβυθιστεί και επί πλέον κρυσταλλική ένωση. Γίνεται ποιοτικός έλεγχος του προϊόντος με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) σε διαλύτη ανάπτυξης οξικό αιθυλεστέρα που περιέχει 3-5 σταγόνες οξικού οξέος. Η εμφάνιση των κηλίδων γίνεται με λυχνία υπεριώδους φωτός στα 254 nm.

Υπολογίστε την απόδοση (%), περιγράψτε κρυσταλλική μορφή και χρώμα, μετρήστε με ακρίβεια το σ.τ. και καταγράψτε τα φάσματα IR, ¹H NMR και MS του προϊόντος⁽ⁱ⁾.

Παρατηρήσεις:

(a) Προσοχή, μη μείνει πολλή ώρα στο όξινο υδατικό διάλυμα η ασπιρίνη, διότι μπορεί να υδρολυθεί. Η περίσσεια του Ac₂O διασπάται από το H₂O.

(b) Εναλλακτικά, μπορεί πολύ καλά να ανακρυσταλλωθεί από την ελάχιστη ποσότητα θερμής αιθανόλης με προσθήκη θερμού νερού μέχρις ότου αρχίσει να θολώνει, οπότε αφήνεται να κρυσώσει και να καταβυθιστεί. Τυχόν απομείναν σαλικυλικό οξύ ανιχνεύεται με διάλυμα FeCl₃ (ιώδης χροιά).

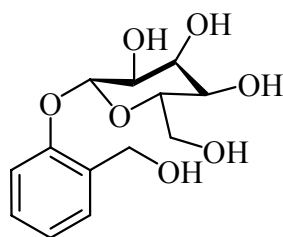
Επεξηγήσεις:

(i) Το ακετυλοσαλικυλικό οξύ είναι η γνωστή ασπιρίνη. Η ιστορία της ασπιρίνης ξεκινάει από τον πατέρα της σύγχρονης ιατρικής, τον Ιπποκράτη, ο οποίος άφησε ιστορικά αρχεία που περιγράφουν τη χρήση κόνεως από τον φλοιό του δένδρου της ιτιάς (γένος *Salix*) για ανακούφιση από πονοκεφάλους, πόνους και πυρετούς. Το 1828 ο καθηγητής Johann Buchner του Πανεπιστημίου του Μονάχου απομόνωσε από τον φλοιό της ιτιάς πολύ μικρή ποσότητα της δραστικής ουσίας, της σαλισίνης (salicin), ενώ το 1829 ο Γάλλος χημικός Henri Leroux παρουσίασε, για πρώτη φορά, μια βελτιωμένη μέθοδο εκχύλισης της κρυσταλλικής σαλισίνης από τον φλοιό της ιτιάς. Το 1838 ο Ιταλός χημικός Raffaele Piria κατάφερε να διασπάσει την σαλισίνη σε ένα σάκχαρο και μια αρωματική ένωση (σαλισαλδεΰδη) και μετέτρεψε την τελευταία με υδρόλυση και οξείδωση σε ένα κρυσταλλικό οξύ το οποίο ονόμασε σαλικυλικό

οξύ. Η σαλισίνη μεταβολίζεται στον άνθρωπο σε σαλικυλικό οξύ, η οποία είναι η δραστική ουσία. Το πρόβλημα ήταν ότι το σαλικυλικό οξύ προκαλούσε στομαχικές διαταραχές και ο Γάλλος χημικός Charles Frederic Gerhardt προσπάθησε να χρησιμοποιήσει ρυθμιστικά διαλύματα για να μειώσει το pH της ένωσης. Το 1853 ο Gerhardt κατάφερε να αντικαταστήσει το σαλικυλικό οξύ με σαλικυλικό νάτριο και ακετυλο-χλωρίδιο, φτιάχνοντας ακετυλοσαλικυλικό οξύ. Το προϊόν του Gerhardt είχε πολύ καλά αποτελέσματα αλλά δεν είχε ο ίδιος τη διάθεση να εμπορευθεί την εφεύρεσή του, την οποία και εγκατέλειψε.

Το 1899, ο Γερμανός χημικός Felix Hoffmann, ο οποίος ήταν ερευνητής της εταιρίας Bayer, ανακάλυψε ξανά το ακετυλοσαλικυλικό οξύ του Gerhardt, όταν χορήγησε στον πατέρα του την ένωση αυτή, επειδή υπέφερε από πόνους της αρθρίτιδας. Τα καλά αποτελέσματα ώθησαν τον Hoffmann να πιέσει την Bayer να ρίξει στην αγορά το νέο φάρμακο. Η Bayer απέκτησε δικαιώματα ευρεσιτεχνίας για το φάρμακο αυτό στις 27 Φεβρουαρίου 1900, το οποίο και ονόμασε Aspirin.

(ii) Το σαλικυλικό οξύ παρασκευάζεται σε βιομηχανική κλίμακα με τη μέθοδο Kolbe-Schmitt από τη φαινόλη.



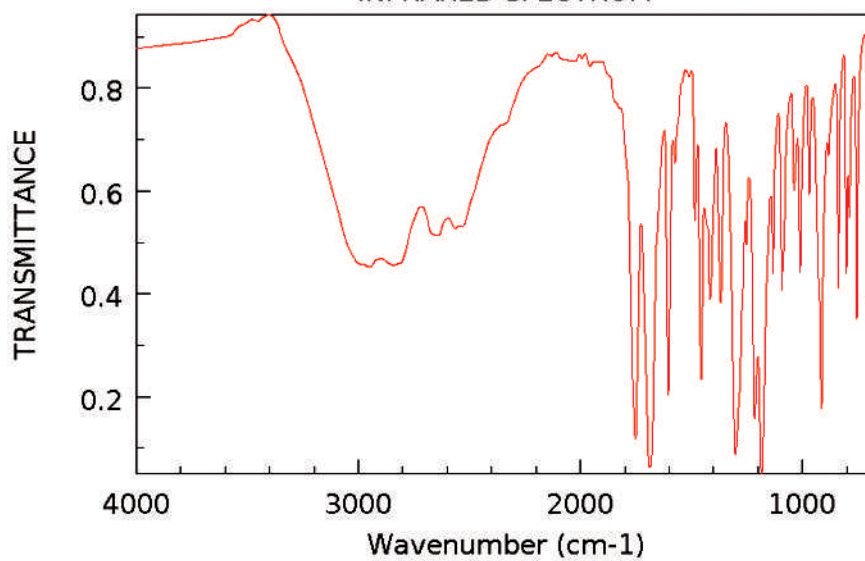
σαλισίνη

Ερωτήσεις:

1. Γράψτε το μηχανισμό της παρασκευής του σαλικυλικού οξέος από την φαινόλη και ό,τι άλλο χρειάζεται.

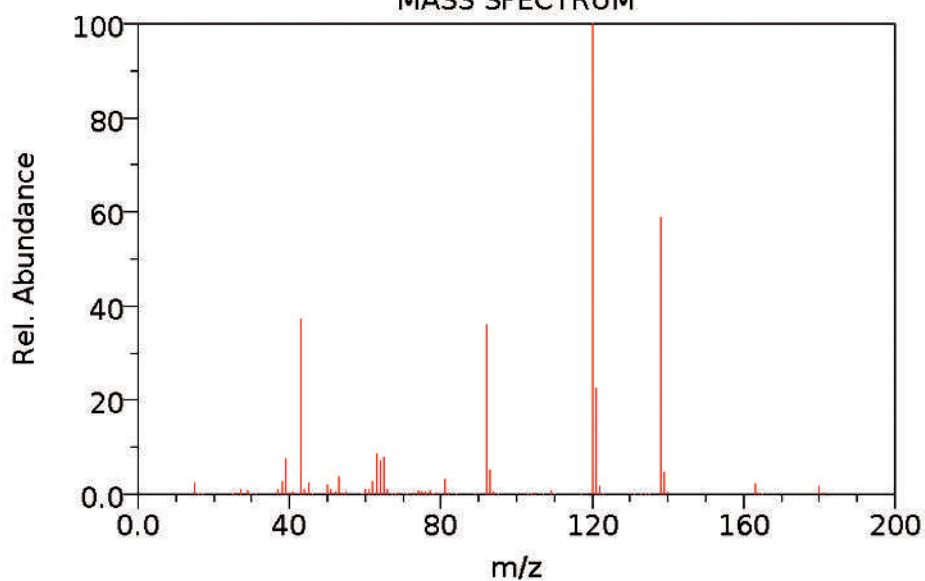
Φάσματα:

SALICYLIC ACID, ACETYL- INFRARED SPECTRUM



NIST Chemistry WebBook (<http://webbook.nist.gov/chemistry>)

Aspirin MASS SPECTRUM



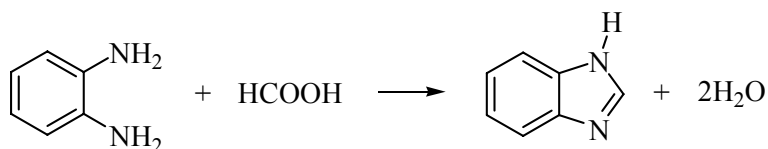
NIST Chemistry WebBook (<http://webbook.nist.gov/chemistry>)

MS φάσμα ακετυλοσαλικυλικού οξέος

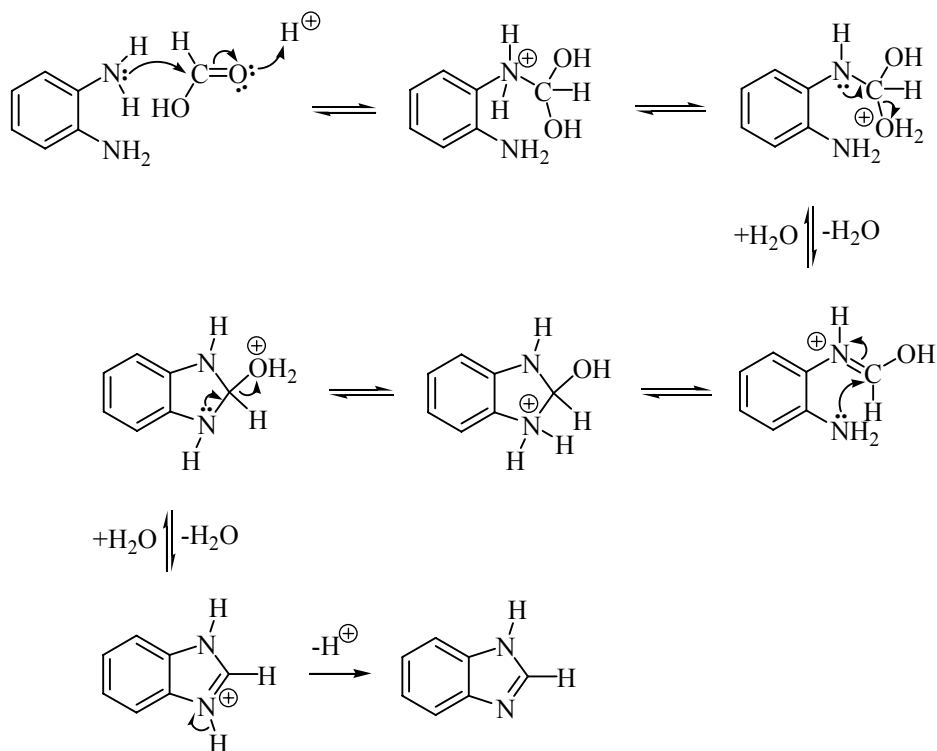
18. Βενζιμιδαζόλιο

$C_7H_6N_2$, M.B. = 118.14, σ.τ. = 170-172°C

Αντίδραση: Συμπύκνωση διαμίνης με καρβοξυλικό οξύ. Σχηματισμός ετεροκυκλικού δακτυλίου.



Μηχανισμός:



Επισημάνσεις:

Προσοχή! Το μυρμηκικό οξύ είναι ερεθιστικό. Προσοχή στην εισπνοή ατμών του.

Αντιδραστήρια:

1,2-φαινυλενοδιαμίνη (M.B. = 108.14, σ.τ. = 103-105°C)

90% μυρμηκικό οξύ (M.B. = 46.03, σ.ζ. = 100-101°C, d = 1.22 g/ml, n_D^{20} = 1.370)

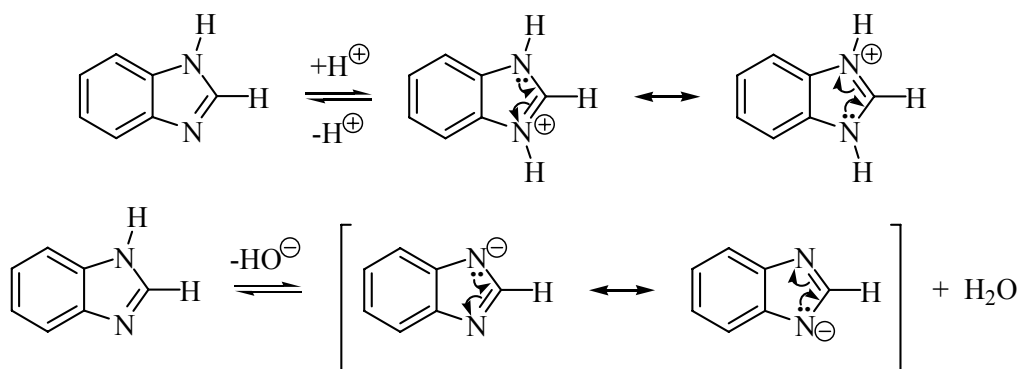
υδροξείδιο του νατρίου (M.B. = 40)

Μέθοδος παρασκευής:

Σε σφαιρική φιάλη των 100 ml φέρονται 1 g (9.2 mmol) 1,2-φαινυλενοδιαμίνης και 4 ml (9.5 mmol) 90% HCOOH^1 . Εφαρμόζεται κάθετος ψυκτήρας και το διάλυμα θερμαίνεται υπό ανάδευση επί 2 ώρες σε βράζον υδρόλουτρο (100°C). Το μίγμα της αντίδρασης αφήνεται να ψυχθεί σε θερμοκρασία δωματίου (θ.δ.) και κατόπιν σε παγόλουτρο. Ακολούθως προστίθεται λίγο-λίγο 10% υδατικό διάλυμα NaOH , μέχρις αλκαλοποίησης του όξινου διαλύματος, ως $\text{pH} = \sim 9$.^(a) Το αποβαλλόμενο μη καθαρό κρυσταλλικό προϊόν διηθείται, εκπλύνεται με ελάχιστο παγωμένο νερό (~ 5 ml) και ανακρυσταλλώνεται από νερό (~ 70 ml). Κατά την ανακρυστάλλωση, προκειμένου να αποχρωματιστεί, χρησιμοποιείται Norite (ενεργός ή ζωικός άνθρακας)^(b). Γίνεται ποιοτικός έλεγχος του προϊόντος με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) σε μίγμα διαλυτών ανάπτυξης χλωροφόρμιο/μεθανόλη (9:1). Η εμφάνιση των κηλίδων γίνεται με λυχνία υπεριώδους φωτός στα 254 nm ή σε θάλαμο με ατμούς ιωδίου. Υπολογίστε την απόδοση (%), περιγράψτε κρυσταλλική μορφή και χρώμα, μετρήστε με ακρίβεια το σ.τ. και καταγράψτε τα φάσματα IR, ^1H NMR και MS του προϊόντος.

Παρατηρήσεις:

(a) Το βενζιμιδαζόλιο είναι διαλυτό τόσο σε όξινο, όσο και σε βασικό pH, με σχηματισμό των αντίστοιχων αλάτων:

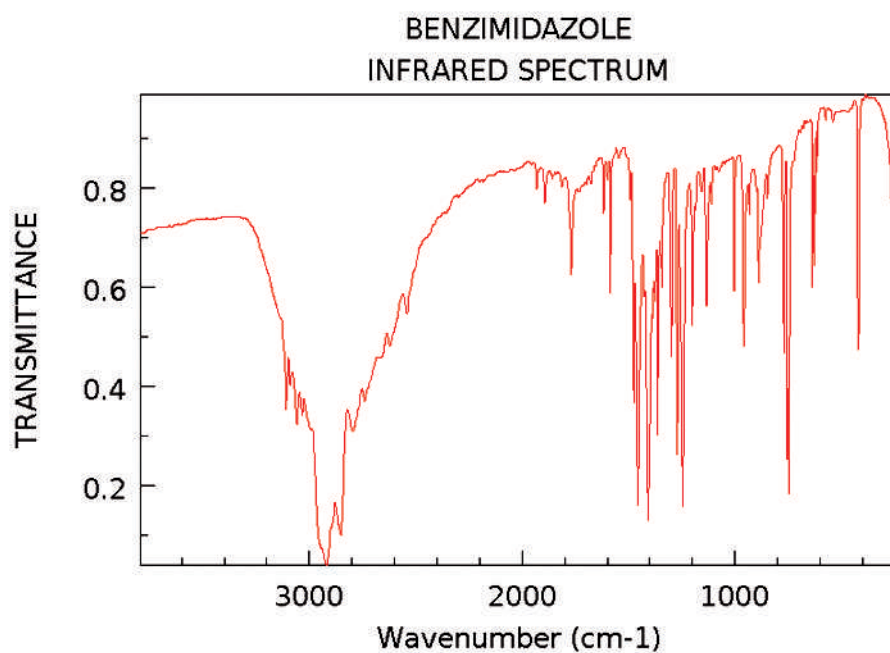


(b) Αφού διαλυθεί το προϊόν στο ζέον νερό, προστίθεται μικρή ποσότητα ζωικού άνθρακα (0.2 g - 0.3 g) όταν το νερό σταματήσει να ζέει και αφήνεται υπό ανάδευση επί 10 λεπτά, κατόπιν διηθείται γρήγορα από πτυχωτό ηθμό και αφήνεται να κρυσταλλωθεί.

Ερωτήσεις:

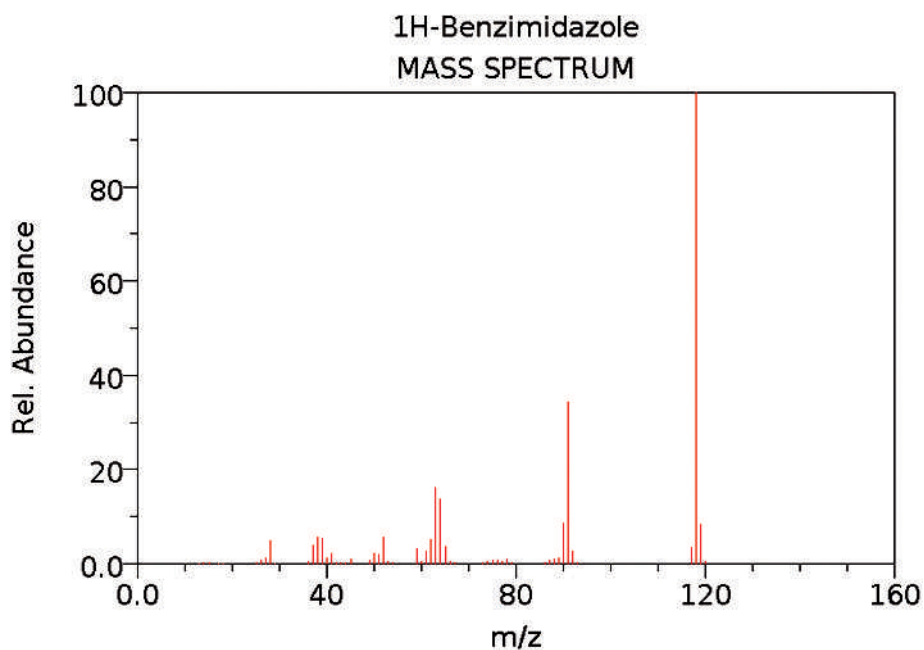
1. Εναλλακτικά, αντί του μυρμηκικού οξέος, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ορθομυρμηκικός τριμεθυλεστέρας [trimethyl orthoformate, $\text{HC}(\text{OCH}_3)_3$]. Γράψτε το μηχανισμό συτής της αντίδρασης.

Φάσματα:



NIST Chemistry WebBook (<http://webbook.nist.gov/chemistry>)

IR φάσμα βενζιμιδαζολίου



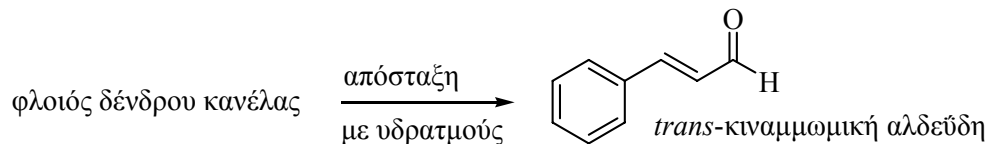
NIST Chemistry WebBook (<http://webbook.nist.gov/chemistry>)

MS φάσμα βενζιμιδαζολίου

19. Κιναμωμική αλδεΐδη

$C_6H_5CH=CHCHO$, M.B. = 132.16, σ.ζ. = 246°C, d = 1.05 g/ml

Αντίδραση: Απομόνωση φυσικού προϊόντος από φυτικό τμήμα



Αντιδραστήρια:

ξύλο κανέλλας

απεσταγμένο νερό

διχλωρομεθάνιο

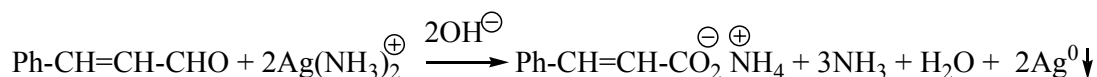
αντιδραστήριο Tollens, $Ag(NH_3)_2^+NO_3^-$ {υδατικό δ. νιτρικού αργύρου και π. αμμωνίας }⁽ⁱ⁾

Μέθοδος παρασκευής:

Σε σφαιρική φιάλη των 250 ml φέρονται ~10 g τριμμένης κανέλλας (όχι σκόνης) και καλύπτονται με ~100 ml απεσταγμένο νερό. Ακολούθως, συναρμολογείται απλή συσκευή απόσταξης με επίθεμα Claisen και το μίγμα της αντίδρασης θερμαίνεται μέχρι βρασμού. Το ετερογενές μίγμα αρχίζει να αποστάζει⁽ⁱⁱ⁾, υπό ατμοσφαιρική πίεση, με τη μορφή θολών σταγονιδίων. Σημειώνεται το σημείο ζέσεως. Όταν πλέον αποστάζει μόνο νερό, διακόπτεται η απόσταξη, το απόσταγμα (~70-80 ml) παραλαμβάνεται με 10 ml CH_2Cl_2 και φέρεται σε διαχωριστική φιάλη. Διαχωρίζονται οι 2 στιβάδες και η υδατική ξαναεκχυλίζεται με 10 ml CH_2Cl_2 εκ νέου. Οι οργανικές φάσεις ενώνονται, ξηραίνονται με Na_2SO_4 , φέρονται σε προζυγισμένη σφαιρική φιάλη και συμπυκνώνονται στον περιστροφικό συμπυκνωτή υπό χαμηλή θερμοκρασία. Το υπόλειμμα (υποκίτρινες σταγόνες) με χαρακτηριστική οσμή κανέλλας, ζυγίζεται και ακολούθως παραλαμβάνεται με ~3 ml αιθανόλης και φυλάσσεται σε κλειστό φιαλίδιο. Αποτελείται κυρίως από κινναμωμική αλδεΐδη. Υπολογίστε την απόδοση (%), μετρήστε με ακρίβεια το σ.ζ. και καταγράψτε τα φάσματα IR, 1H NMR και MS του προϊόντος.

Επεξηγήσεις:

(i) Χαρακτηριστική αντίδραση του αντιδραστήριου Tollens είναι η οξείδωση αλδευδών σε καρβοξυλικά οξέα. Η αντίδραση δεν λαμβάνει χώρα με κετόνες και έτσι χρησιμοποιείται για την διαφοροποίηση μεταξύ αλδευδών και κετονών. Όταν η αντίδραση πραγματοποιηθεί σε καθαρό δοκιμαστικό σωλήνα δημιουργείται κάτοπτρο (καθρέφτης) αργύρου (λέγεται στην αγγλική ορολογία "positive silver mirror test"). Το κάτοπτρο αργύρου είναι λόγω του μεταλλικού αργύρου (Ag^0).

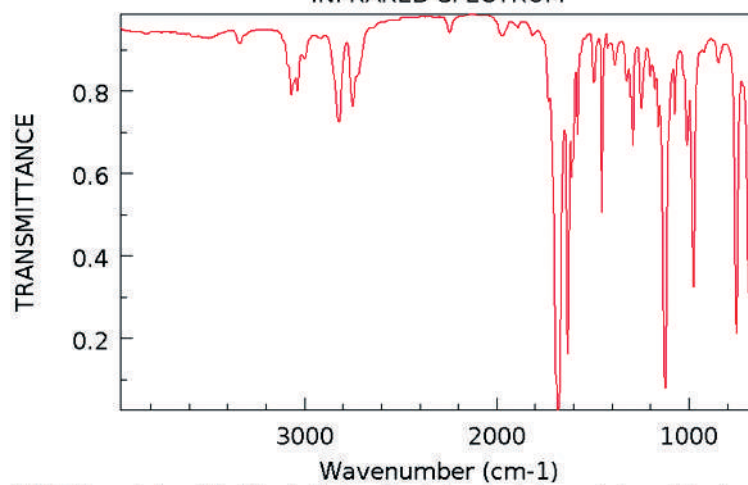


(ii) Πολλά φυσικά προϊόντα, συστατικά τμημάτων φυτών, όπως φύλλων, ανθέων, καρπών κλπ., ενίοτε παραλαμβάνονται από τα φυτά με απόσταξη με υδρατμούς (μεθ' υδρατμών). Η απόσταξη με υδρατμούς είναι η απόσταξη με νερό μιας ένωσης ή ενός μίγματος οργανικών ενώσεων αδιάλυτων σε νερό. Τα μίγματα αυτά ζέουν σε θερμοκρασία χαμηλότερη από το σ.ζ. του πτητικότερου των επί μέρους συστατικών, εν προκειμένω σε θερμοκρασία χαμηλότερη των 100 °C, το σ.ζ. του νερού.

Ως γνωστόν, η αρχή στην οποία βασίζεται η απόσταξη με υδρατμούς είναι η εξής: Η ολική τάση ατμών στα μη αναμιγνυόμενα υγρά είναι ίση με το άθροισμα των τάσεων ατμών των επί μέρους καθαρών συστατικών. Άρα η τάση ατμών του μίγματος γίνεται ίση με 760 torr και το μίγμα βράζει σε θερμοκρασία χαμηλότερη από τα σ.ζ. του καθενός εκ των συστατικών, δηλαδή σε θερμοκρασία <100 °C: $P_{ολ} = P_A^0 + P_B^0$. Στην περίπτωση όμως των αναμιγνυομένων υγρών ισχύει: $P_{ολ} = x_A P_A^0 + x_B P_B^0$, δηλ. η τάση ατμών εξαρτάται και από το γραμμομοριακό κλάσμα.

Φάσματα:

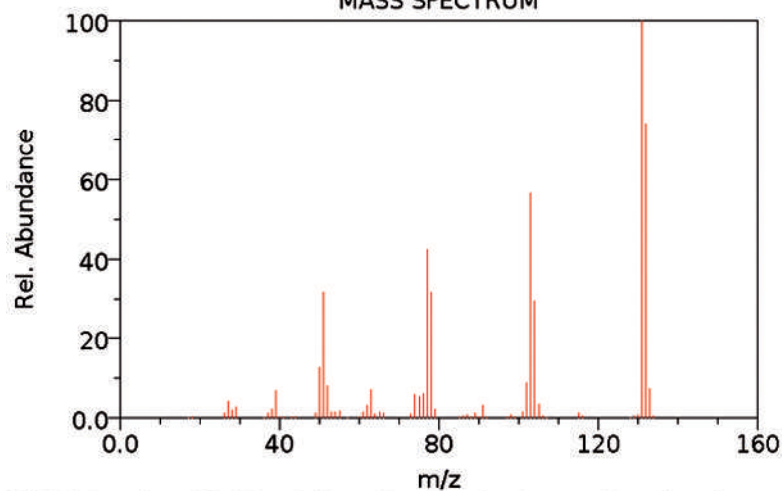
2-PROPENALDEHYDE, 3-PHENYL-
INFRARED SPECTRUM



NIST Chemistry WebBook (<http://webbook.nist.gov/chemistry>)

IR φάσμα κινναμωμικής αλεϋδης

2-Propenal, 3-phenyl-
MASS SPECTRUM



NIST Chemistry WebBook (<http://webbook.nist.gov/chemistry>)

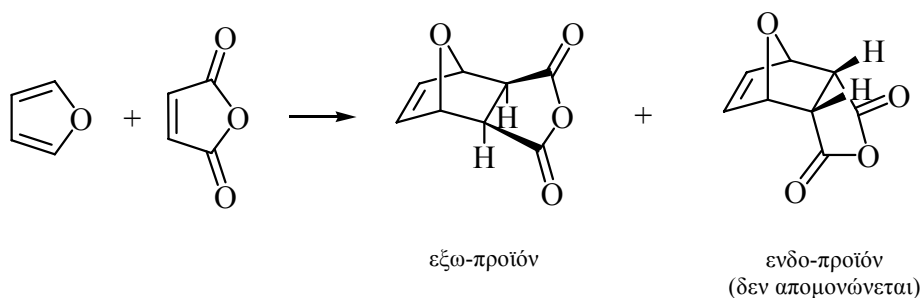
MS φάσμα κινναμωμικής αλδεϋδης

20. Αντίδραση Diels-Alder

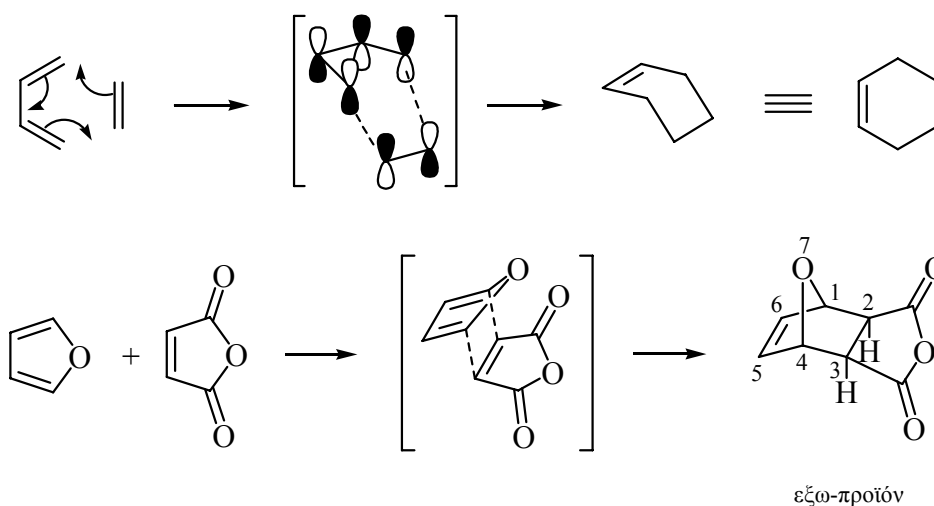
(7-Οξαδικυκλο[2,2,1]επτ-5-ενο-2,3-εξω-δικορβοξυλικός ανυδρίτης)

$C_8H_6O_4$, M.B. = 166.13, σ.τ. = 125°C

Αντίδραση: Περικυκλική αντίδραση Diels-Alder⁽ⁱ⁾ (αντίδραση κυκλοπροσθήκης $4n+2$) μεταξύ φουρανίου και μηλεϊνικού ανυδρίτη]



Μηχανισμός:



Αντιδραστήρια:

φουράνιο (M.B. = 68.08, σ.τ. = 31-32°C, d = 0.94 g/ml)

μηλεϊνικός ανυδρίτης (M.B. = 98.05, σ.τ. = 56°C, σ.ζ. = 197-199°C)

1,4-διοξάνιο (σ.ζ. = 100-102°C, d = 1.03 g/ml),

διαιθυλαιθέρας (σ.ζ. = 35°C, d = 0.71 g/ml)

Μέθοδος παρασκευής:

Σε φιάλη των 100 ml φέρονται 5 g (51 mmol) κονιοποιημένου μηλεϊνικού ανυδρίτη, διαλύονται σε 12-15 ml 1,4-διοξανίου⁽¹⁾ και προστίθεται υπό ανάδευση 4 ml (56 mmol) φουρανίου (εξαιρετικά πτητικό). Η φιάλη πωματίζεται καλά και αφήνεται σε ηρεμία σε θερμοκρασία δωματίου⁽²⁾ επί 24 ώρες το λιγότερο.

Το αποβαλλόμενο κρυσταλλικό προϊόν διηθείται υπό κενό, εκπλύνεται με διαιθυλαιθέρα (2×15 ml) και ξηραίνεται στον ηθμό. Φυλάσσεται σε κλειστό δοχείο, τυχόν υγρασία υδρολύει τον ανυδρίτη προς το αντίστοιχο δικαρβοξυλικό οξύ.

Υπολογίστε την απόδοση (%), περιγράψτε κρυσταλλική μορφή και χρώμα, μετρήστε με ακρίβεια το σ.τ. και καταγράψτε τα φάσματα IR, ^1H NMR και MS του προϊόντος.

Παρατηρήσεις:

- (1) Χρησιμοποιείται, συνήθως, ένας αδρανής διαλύτης ή καθόλου διαλύτης, εφόσον τα αντιδραστήρια (διένιο και διενιόφιλο), είναι μεταξύ τους διαλυτά
- (2) Γενικότερα, στις Diels-Alder αντιδράσεις, εργαζόμαστε στη χαμηλότερη δυνατή θερμοκρασία, αφού κατά κανόνα με θέρμανση τα προϊόντα των αντιδράσεων μετατρέπονται εκ νέου, μέσω μιας retro Diels-Alder αντίδρασης, στα αρχικά αντιδρώντα.

Επεξηγήσεις:

(i) Η Diels-Alder αντίδραση είναι μία θερμική αντίδραση $[4+2]$ κυκλοπροσθήκης, κατά την οποία δύο μόρια, ένα συζυγιακό διένιο (4π ηλεκτρόνια) και ένα διενιόφιλο (2π ηλεκτρόνια), υφίστανται προσθήκη προς σχηματισμό ενός κυκλικού προϊόντος. Αποτελεί μία στερεοειδική και τοποεκλεκτική σύγχρονη αντίδραση, κατά την οποία τα π-μοριακά τροχιακά των αντιδρώντων μετατρέπονται σε μοριακά τροχιακά του προϊόντος σε ένα μόνο βήμα, χωρίς τη χρήση καταλύτη. Συνήθως, λαμβάνεται το κινητικά ευνοούμενο ενδο-προϊόν, πιθανότατα λόγω των ευνοϊκών *p*-αλληλεπιδράσεων των μοριακών τροχιακών στη μεταβατική κατάσταση. Η Diels-Alder αντίδραση, όμως των φουρανίων, ως διενίων, με τα διενιόφιλα δίνει το θερμοδυναμικά σταθερότερο εξω-προϊόν. Το κινητικά ευνοούμενο ενδο-προϊόν μόλις σχηματιστεί υφίσταται εύκολα μια retro Diels-Alder αντίδραση προς επανασχηματισμό των αρχικών ουσιών, συνεπώς σπάνια παρατηρείται στις συνθετικές πορείες.

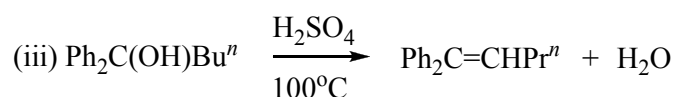
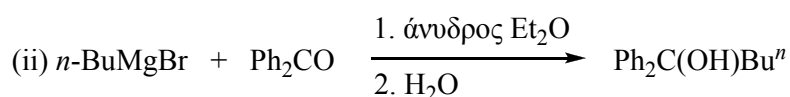
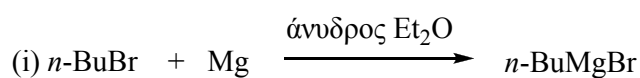
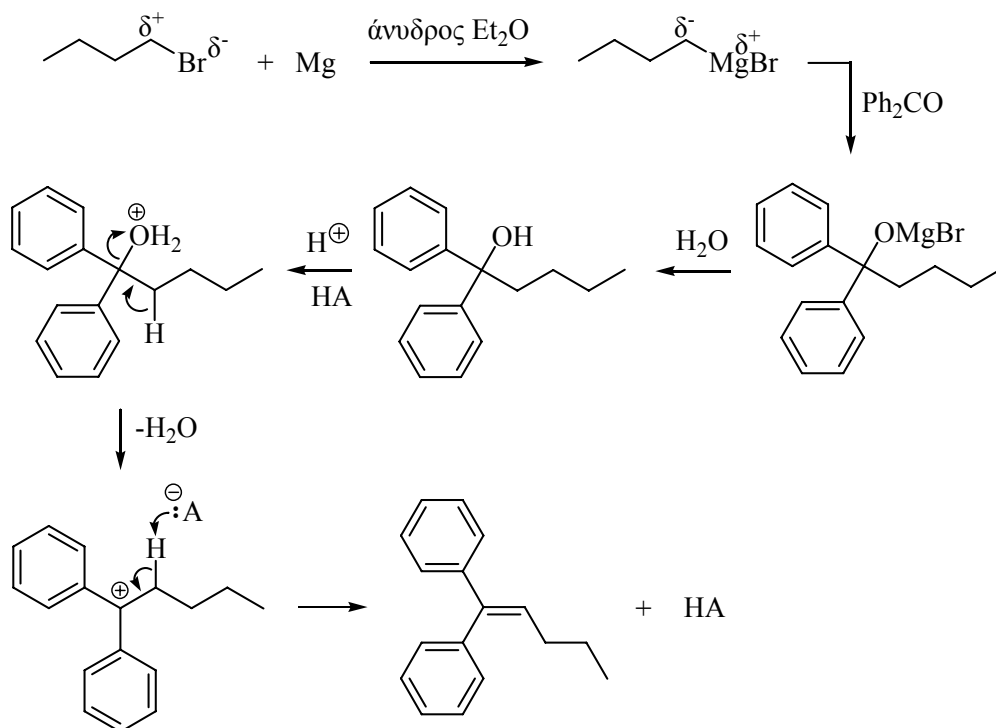
21α. 1,1-Διφαινυλο-1-πεντανόλη και**21β. 1,1-Διφαινυλο-1-πεντένιο**

$(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{C}(\text{OH})(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$, (M.B.= 240.34, σ.τ.= °C)

$(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{CCH}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$, (M.B.= 222.33, σ.τ.= °C)

Αντιδράσεις:

- (i) Παρασκευή αντιδραστήριου Grignard,
- (ii) προσθήκη αντιδραστήριου Grignard σε κετόνη και υδρόλυση σε αλκοόλη,
- (iii) αφυδάτωση αλκοόλης σε αλκένιο.

**Μηχανισμός:**

Αντιδραστήρια:

n-βουτυλοβρωμίδιο (M.B. = 137.02, σ.ζ. = 100-104°C, d = 1.276 g/ml, n_D^{20} = 1.439)

ρηνίσματα μαγνησίου (M.B. = 24.31)

βενζοφαινόνη (M.B. = 182.22, σ.τ. = 47.9°C)

άνυδρος διαιθυλαιθέρας (εμπορίου) ως διαλύτης αντίδρασης και εκχύλισης

95.5% αιθανόλη ως διαλύτης ανακρυστάλλωσης

θειικό μαγνήσιο ή θειικό νάτριο ως ξηραντικά μέσα

5% wt/v υδατικό διάλυμα όξινου ανθρακικού νατρίου για εκχύλιση

πυκνό (95-98%) θειικό οξύ για οξύνιση

Μέθοδος παρασκευής:

(i) Παρασκευή *n*-βουτυλομαγνησιοβρωμίδιου

Σε τρίλαιμη σφαιρική φιάλη των 100 ml, προσαρμόζεται κάθετος ψυκτήρας, εφοδιασμένος με σωλήνα ξήρανσης CaCl_2 , και σταγονομετρικό χωνί, φέρονται 0.61g (25 mmol) ρηνίσματα ξηρού μαγνησίου και 25 ml άνυδρου Et_2O . Στο σταγονομετρικό χωνί φέρονται 2.06 g (15 mmol) *n*-βουτυλοβρωμίδιου σε 10 ml άνυδρου Et_2O και προστίθενται μερικές σταγόνες αυτού του διαλύματος στη φιάλη υπό έντονη μαγνητική ανάδευση (χρήση μαγνητικού αναδευτήρα). Η ανάδευση συνεχίζεται έως ότου παρατηρηθεί ήπιος βρασμός του διαλύτη. Σε κάποιες περιπτώσεις, εάν αυτό δεν συμβεί αυθόρμητα, προστίθενται λίγες ακόμη σταγόνες από το διάλυμα του σταγονομετρικού χωνιού και θερμαίνεται λίγο εξωτερικά η φιάλη (με τα χέρια ή με ένα θερμό υδρόλουτρο) ή προστίθενται λίγοι κόκκοι ιωδίου. Συνεχίζεται η προσθήκη του αιθερικού διαλύματος του *n*-βουτυλοβρωμίδιου κατά σταγόνες και με τέτοιο τρόπο, ώστε να διατηρείται ήπιος ο βρασμός του διαλύματος της αντίδρασης, ενώ το μαγνήσιο διαλύεται. Όταν ολοκληρωθεί η προσθήκη το διάλυμα θερμαίνεται μέχρι βρασμού με επαναρροή (~50°C εξωτερικά), για ~ 0.5-1 ώρα.

(ii) Παρασκευή 1,1-διφαινυλο-1-πεντανόλης

Όταν η σύνθεση του οργανομαγνησιακού ολοκληρωθεί, η φιάλη ψύχεται, στην αρχή σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και μετά στους 0°C. Από το σταγονομετρικό χωνί προστίθεται αργά διάλυμα 2.73 g (15 mmol) βενζοφαινόνης σε 10 ml άνυδρου Et_2O . Κατά τη διάρκεια της προσθήκης του διαλύματος της βενζοφαινόνης το διαυγές διάλυμα γίνεται γαλακτώδες. Κατόπιν, το μίγμα της αντίδρασης φέρεται εκ νέου σε βρασμό με επαναρροή (~50°C), για ~1 ώρα, οπότε η φιάλη ψύχεται, αρχικά σε θερμοκρασία δωματίου και στη συνέχεια στους 0°C. Από το σταγονομετρικό χωνί προστίθενται 0.54 ml H_2O (30 mmol), 2 φορές, κάθε φορά από 0.27 mL στους 0°C και μεσολάβηση 0.5 ώρας βρασμού. Μετά την προσθήκη του H_2O , το διάλυμα είναι διαυγές και υπάρχει λευκό ίζημα που καταβυθίζεται στον πυθμένα ή επικολλάται στα τοιχώματα της φιάλης. Το υπερκείμενο αιθερικό διάλυμα αποχύνεται σε κωνική φιάλη και το ίζημα εκπλύνεται με 10 ml Et_2O (εναλλακτικά γίνεται διήθηση σε χωνί Büchner και έκπλυση του ιζήματος με μικρή ποσότητα Et_2O). Η αιθερική στιβάδα μεταφέρεται σε διαχωριστική

χοάνη και εκπλύνεται με κορεσμένο διάλυμα NaCl (2×25 ml) ξηραίνεται με MgSO_4 ή Na_2SO_4 και διηθείται σε προζυγισμένη σφαιρική φιάλη. Ο διαλύτης απομακρύνεται στον περιστροφικό εξατμιστήρα, ενώ το προϊόν που προκύπτει, συνήθως στερεό, ζυγίζεται και υπολογίζεται η απόδοση. Ανακρυσταλλώνεται από 95.5% EtOH.

Υπολογίστε την απόδοση (%), περιγράψτε κρυσταλλική μορφή και χρώμα, μετρήστε με ακρίβεια το σ.τ. και καταγράψτε τα φάσματα IR, ^1H NMR και MS του προϊόντος.

(iii) Παρασκευή 1,1-διφαινυλο-1-πεντένιου

Σε σφαιρική φιάλη, εφοδιασμένη με κάθετο ψυκτήρα τοποθετείται η επιθυμητή ποσότητα 1 g (4.1 mmol) 1,1-διφαινυλο-1-πεντανόλης και προστίθενται 2-3 σταγόνες ισχυρού οξέος (H_2SO_4). Το μίγμα θερμαίνεται στους 100°C υπό ανάδευση για 30-60 λεπτά. Κατά το διάστημα αυτό σταγονίδια H_2O , εμφανίζονται στην επιφάνεια του μίγματος της αντίδρασης. Μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης το μίγμα παραλαμβάνεται με Et_2O και η οργανική φάση εκπλύνεται μια φορά με 10 ml υδατικού διαλύματος 5% wt/v NaHCO_3 . Ακολουθεί ξήρανση της οργανικής φάσης με άνυδρο Na_2SO_4 , διήθηση του ξηραντικού και απομάκρυνση του διαλύτη στον περιστροφικό εξατμιστήρα. Το αλκένιο παραμένει στη φιάλη, συνήθως ως στερεό, ενώ ο περαιτέρω καθαρισμός του γίνεται είτε με ανακρυστάλλωση από εξάνιο ή πετρελαϊκό αιθέρα, είτε με χρωματογραφία στήλης (σίλικα) με διαλύτη έκλουσης εξάνιο ή πετρελαϊκό αιθέρα.

Υπολογίστε την απόδοση (%), περιγράψτε κρυσταλλική μορφή και χρώμα, μετρήστε με ακρίβεια το σ.τ. και καταγράψτε τα φάσματα IR, ^1H NMR και MS του προϊόντος.

Παρατηρήσεις:

Ερωτήσεις:

22. Αντίδραση Wittig (άλατα φωσφονίου, φωσφοράνια και προϊόντα Wittig)

(Τριφαινυλοφωσφορανυλιδενο)-οξικός μεθυλεστέρας,
2-(τριφαινυλο-φωσφορανυλιδενο)-προπανοϊκός μεθυλεστέρας,
2-(*E/Z*)-3-φαινυλακρυλικός μεθυλεστέρας και
2-(*E*)-2-μεθυλο-3-φαινυλακρυλικός μεθυλεστέρας

Βρωμίδιο του μεθοξυκαρβονυλομεθυλοτριφαινυλοφωσφονίου, $C_{21}H_{20}BrO_2P$, M.B. = 415.26.

Βρωμίδιο του 1-μεθοξυκαρβονυλοαιθυλοτριφαινυλοφωσφονίου, $C_{22}H_{22}BrO_2P$, M.B. = 429.28

(Τριφαινυλοφωσφορανυλιδενο)οξικός μεθυλεστέρας, $C_{21}H_{19}O_2P$, M.B. = 334.34.

2-(Τριφαινυλοφωσφορανυλιδενο)προπανοϊκός μεθυλεστέρας, $C_{22}H_{21}O_2P$, M.B. = 348.37.

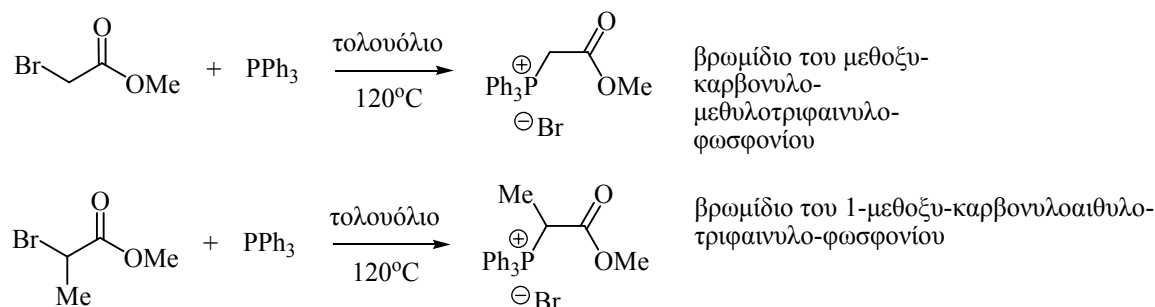
2(*E/Z*)-3-φαινυλακρυλικός μεθυλεστέρας, $C_{10}H_{10}O_2$, M.B. = 162.18.

2(*E*)-2-μεθυλο-3-φαινυλακρυλικός μεθυλεστέρας, $C_{11}H_{12}O_2$, M.B. = 176.21.

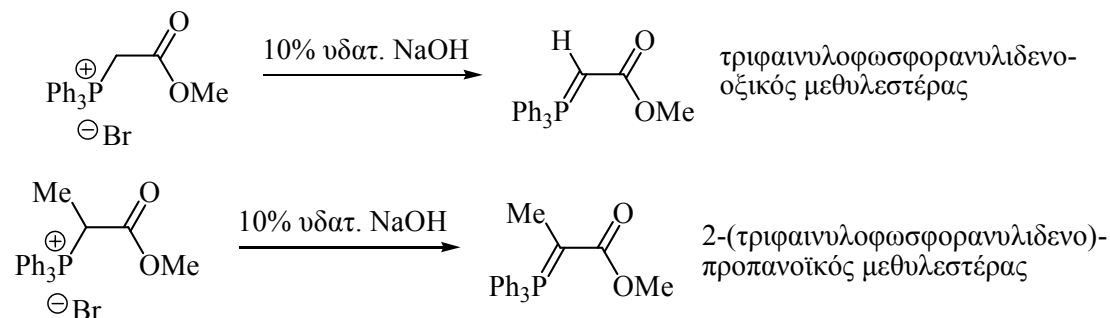
Αντιδράσεις:

- (i) Παρασκευή φωσφονιακών αλάτων από τριφαινυλοφωσφίνη και α-βρωμοεστέρες,
- (ii) παρασκευή σταθεροποιημένων υλιδίων του φωσφόρου από φωσφονιακά άλατα παρουσία βάσης,
- (iii) αντίδραση Wittig σταθεροποιημένων υλιδίων του φωσφόρου με βενζαλδεύδη προς α,β-ακόρεστους εστέρες.

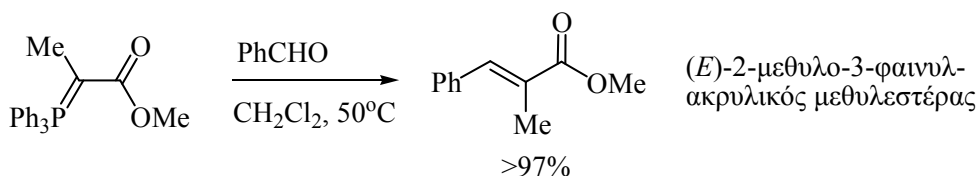
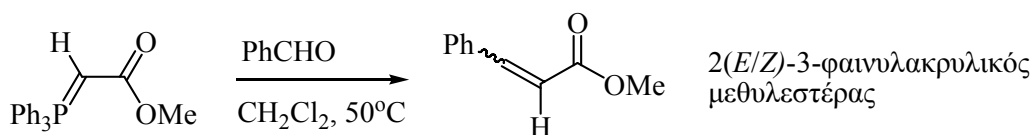
(i)



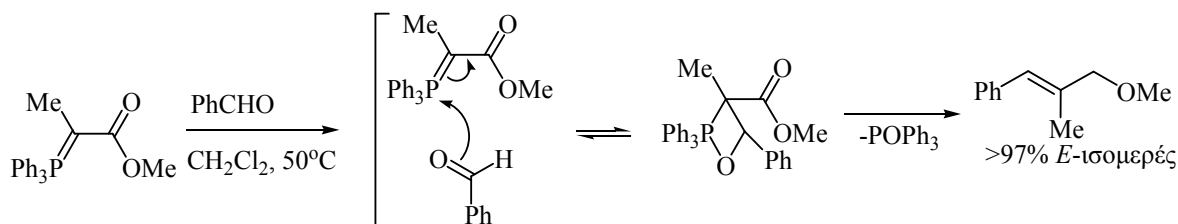
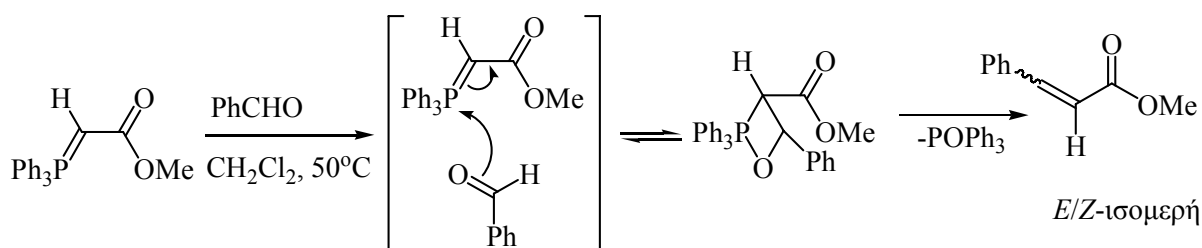
(ii)



(iii)



Μηχανισμός:



Επισημάνσεις:

Προσοχή! Ο βρωμοξικός μεθυλεστέρας και ο 2-βρωμοπροπανοϊκός μεθυλεστέρας είναι δακρυγόνες ενώσεις και η χρήση τους πρέπει να γίνεται μέσα σε απαγωγό-εστία.

Αντιδραστήρια:

2-βρωμοξικός μεθυλεστέρας 97% (M.B. = 152.97, σ.ζ. = 51-52°C/15 mm Hg, d = 1.616 g/ml,

$n_D^{20} = 1.458$)

3-βρωμοπροπανοϊκός μεθυλεστέρας 98% (M.B. = 167.00, σ.ζ. = 51°C/19 mm Hg, d = 1.497

g/ml, $n_D^{20} = 1.451$)

τριφαινυλοφωσφίνη 99% M.B. = 262.29, σ.τ. = 79-81°C)

βενζαλδεΰδη (M.B. = 106.12, σ.ζ. = 178-179°C, d = 1.045 g/ml, $n_D^{20} = 1.545$)

10% wt/v υδατικό υδροξείδιο του νατρίου (2.5 N)

τολουόλιο (σ.ζ. = 110°C) ως διαλύτης αντίδρασης

διχλωρομεθάνιο (σ.ζ. = 39.8-40 °C) ως διαλύτης εκχύλισης
άνυδρο θειικό νάτριο ως ξηραντικό

(i) Παρασκευή φωσφονιακών αλάτων

Σε σφαιρική φιάλη 250 mL εφοδιασμένη με κάθετο ψυκτήρα που φέρει ξηραντικό σωλήνα, προστίθενται 7.65g (4.73mL, 50 mmol) 2-βρωμοξικού μεθυλεστέρα ή 8.35g (5.58 mL, 50 mmol) 3-βρωμοπροπανοϊκού μεθυλεστέρα, 13.88g (55 mmol) τριφαινυλοφωσφίνης, και 150 mL άνυδρου τολουολίου και το διάλυμα φέρεται σε βρασμό (120°C). Συνήθως, μετά από 1-2 ώρες βρασμού αρχίζει να σχηματίζεται ένα λευκό στερεό σε λεπτή διασπορά, ενώ μετά από περίπου 10-12 ώρες ολοκληρώνεται η αντίδραση. Το μίγμα της αντίδρασης ψύχεται σε θερμοκρασία δωματίου, το άλας διηθείται υπό κενό βρύσης, εκπλύνεται 2-3 φορές με θερμό τολουόλιο, για να απομακρυνθεί η περίσσεια τριφαινυλοφωσφίνης, και ξηραίνεται είτε στον αέρα, είτε σε αντλία υψηλού κενού. Υπολογίστε την απόδοση (%) και περιγράψτε κρυσταλλική μορφή και χρώμα (συνήθως το άλας φωσφονίου λαμβάνεται ποσοτικά) των αλάτων *βρωμίδιο του μεθοξυκαρβονυλομεθυλοτριφαινυλοφωσφονίου* και *βρωμίδιο του 1-μεθοξυκαρβονυλοαιθυλοτριφαινυλοφωσφονίου*, αντίστοιχα.

(ii) Παρασκευή φωσφορανίων-σταθεροποιημένων υλιδίων του φωσφόρου

Όλη η ποσότητα του άλατος, του βρωμιδίου του μεθοξυκαρβονυλομεθυλοτριφαινυλοφωσφονίου ή του βρωμιδίου του 1-μεθοξυκαρβονυλοαιθυλοτριφαινυλοφωσφονίου φέρεται σε κωνική φιάλη και διαλύεται στην απαραίτητη ποσότητα H₂O. Εάν παρατηρηθεί ότι παραμένει αδιάλυτο στερεό, τότε αυτό απομακρύνεται με διήθηση. Στο διαυγές υδατικό διάλυμα προστίθεται αργά και με ανάδευση 10% wt/v υδατικό NaOH μέχρι να γίνει αλκαλικό (pH = 10-11). Κατά την αλκαλοποίηση σχηματίζεται ένα ελαφρά κίτρινο θόλωμα. Κατόπιν, η υδατική φάση εκχυλίζεται με CH₂Cl₂ (3×30 mL) και τα ενωμένα οργανικά εκχυλίσματα ξηραίνονται με άνυδρο Na₂SO₄. Μετά την διήθηση του ξηραντικού, απομάκρυνση του διαλύτη στον περιστροφικό εξατμιστήρα και ξήρανση σε αντλία υψηλού κενού, συλλέγεται το αντίστοιχο προϊόν, ο *τριφαινυλοφωσφορανυλιδενο)οξικός μεθυλεστέρας* ή ο *2-(τριφαινυλοφωσφορανυλιδενο)-προπανοϊκός μεθυλεστέρας*.

Υπολογίστε την απόδοση (%), περιγράψτε κρυσταλλική μορφή και χρώμα, μετρήστε με ακρίβεια το σ.τ. και καταγράψτε τα φάσματα IR, ¹H NMR και MS των προϊόντων.

(iii) Παρασκευή των α,β-ακόρεστων εστέρων από τα υλίδια

Σε δίλαιο σφαιρική φιάλη εφοδιασμένη με κάθετο ψυκτήρα (ή σε αυτόκλειστο σωλήνα με βαλβίδα rotaflo), τοποθετείται 6.7g (20 mmol) τριφαινυλοφωσφορανυλιδενο)οξικού μεθυλεστέρα ή 7g (20 mmol) 3-(τριφαινυλοφωσφορανυλιδενο)προπανοϊκού μεθυλεστέρα τα οποία διαλύονται σε 20 ml άνυδρο CH₂Cl₂. Στο διάλυμα προστίθεται 1.7 mL (40 mmol, 50% περίσσεια) βενζαλδεΰδης και το μίγμα φέρεται σε βρασμό για 12 ώρες. Ένδειξη για τον

τερματισμό της αντίδρασης είναι η μεταβολή του χρώματος του διαλύματος από καφέ-κίτρινο σε λαμπερό κίτρινο. Μετά το πέρας της αντίδρασης ο διαλύτης απομακρύνεται στον περιστροφικό εξατμιστήρα και, ακολούθως, τα προϊόντα ο *2(E/Z)-3-φαινυλακρυλικός μεθυλεστέρας* ή ο *2(E)-2-μεθυλο-3-φαινυλακρυλικός μεθυλεστέρας*, αντίστοιχα, λαμβάνονται με απόσταξη υπό κενό του εναπομείναντος υπολείμματος. Η απόδοση των των α,β-ακόρεστων εστέρων είναι συνήθως 40-50%.

Υπολογίστε την απόδοση (%), περιγράψτε κρυσταλλική μορφή και χρώμα, μετρήστε με ακρίβεια το σ.τ. και καταγράψτε τα φάσματα IR, ^1H NMR και MS των προϊόντων.

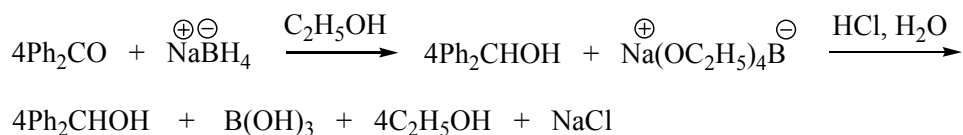
Παρατηρήσεις:

Ερωτήσεις:

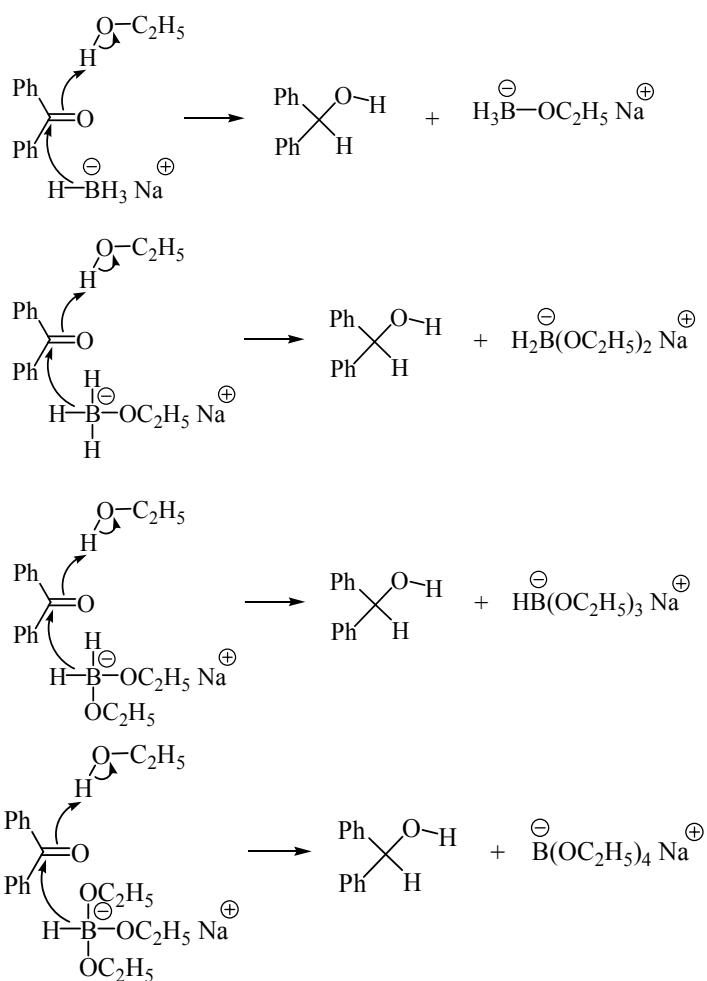
23. Διφαινυλομεθανόλη (βενζυδρόλη)

C₁₃H₁₂O, M.B. = 184.23, σ.τ. = 69°C, σ.ζ. = 297-298°C

Αντίδραση: Αναγωγή κετόνης προς αλκοόλη (με νάτριο βοροϋδρίδιο)



Μηχανισμός:



Αντιδραστήρια:

βενζοφαινόνη (M.B. = 182.22, σ.τ. = 48°C)

νάτριο βοροϋδρίδιο (M.B. = 37.83)

95.5% αιθανόλη (M.B. = 46.07, σ.ζ. = 78°C, d = 0.80 g/ml)

πυκνό (36-37% wt/v) υδροχλωρικό οξύ (M.B. = 36.5, d = 1.20 g/ml)

πετρελαϊκός αιθέρας (σ.ζ. = 40-60°C) και εξάνιο (σ.ζ. = 69°C)

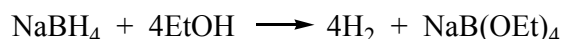
Μέθοδος παρασκευής:

Σε φιάλη των 100 ml φέρονται 0.8 g (4.39 mmol) βενζοφαινόνης⁽¹⁾ και 10 ml EtOH.⁽²⁾ Παράλληλα ζυγίζονται 1.79 g (47.6 mmol) NaBH₄⁽³⁾, φέρονται σε ποτηράκι των 50 ml, διαλύονται σε 3 ml παγόνερο και προστίθεται με πιπέτα στάγδην και υπό ανάδευση στο διάλυμα της βενζοφαινόνης (~15 λεπτά). Μετά την ολοκλήρωση της προσθήκης, αφήνεται άλλα ~30 λεπτά και ακολούθως αποχύνεται (στον απαγωγό) σε άλλο ποτήρι των 100 ml, που περιέχει 2 ml (24 mmol) πυκνό HCl⁽⁴⁾ και 20-25 ml παγόνερο. Σχηματίζεται λευκό ίζημα προϊόντος, το οποίο διηθείται και εκπλύνεται με νερό. Αφήνεται λίγη ώρα να ξηρανθεί στο κενό. Ακολούθως ανακρυσταλλώνεται από πετρελαϊκό αιθέρα (σ.ζ. = 40-60°C) ή εξάνιο. Για να εξακριβωθεί η καθαρότητα του ανακρυσταλλωμένου προϊόντος γίνεται χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) σε μίγμα διαλυτών ανάπτυξης οξικό αιθυλεστέρα/πετρελαϊκό αιθέρα (1:9). Η εμφάνιση των κηλίδων γίνεται με λυχνία υπεριώδους φωτός στα 254 nm, σε θάλαμο με ατμούς ιωδίου ή ψεκασμό και θέρμανση με 30% πυκνού H₂SO₄ σε EtOH.

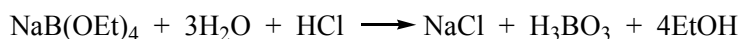
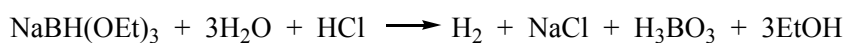
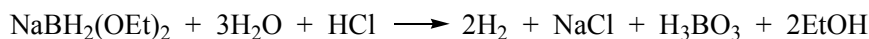
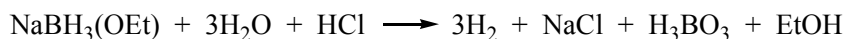
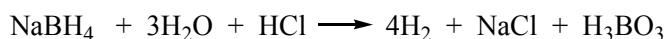
Υπολογίστε την απόδοση (%), μετρήστε με ακρίβεια το σ.ζ. και καταγράψτε τα φάσματα IR, ¹H NMR και MS του προϊόντος.

Παρατηρήσεις:

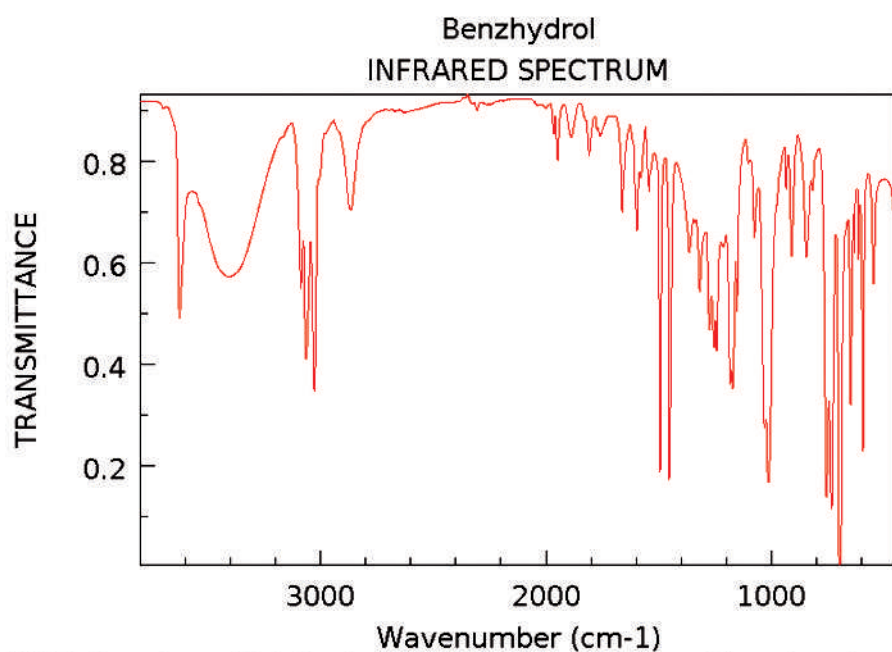
- (1) Θα μπορούσε, αντί της βενζοφαινόνης, να γίνει αναγωγή της ακετοφαινόνης προς την 1-φαινυλοαιθανόλη [PhCH(OH)CH₃]
- (2) Επίσης, αντί αιθανόλης ως διαλύτης μπορεί να χρησιμοποιηθεί ισοπροπανόλη.
- (3) Το βοροϋδρίδιο του νατρίου χρησιμοποιείται σε δεκαπλάσια περίσσεια γιατί αντιδρά αργά κατά τη διάρκεια της αναγωγής με H₂O και EtOH. Στην αντίδραση αυτή ελευθερώνεται και αέριο υδρογόνο.



- (4) Το HCl καταστρέφει την περίσσεια NaBH₄ αμέσως, με έκλυση H₂↑ (προσοχή εύφλεκτο!). Επίσης υδρολύει τα αλκοξυβοράνια προς NaCl, B(OH)₃ και EtOH.

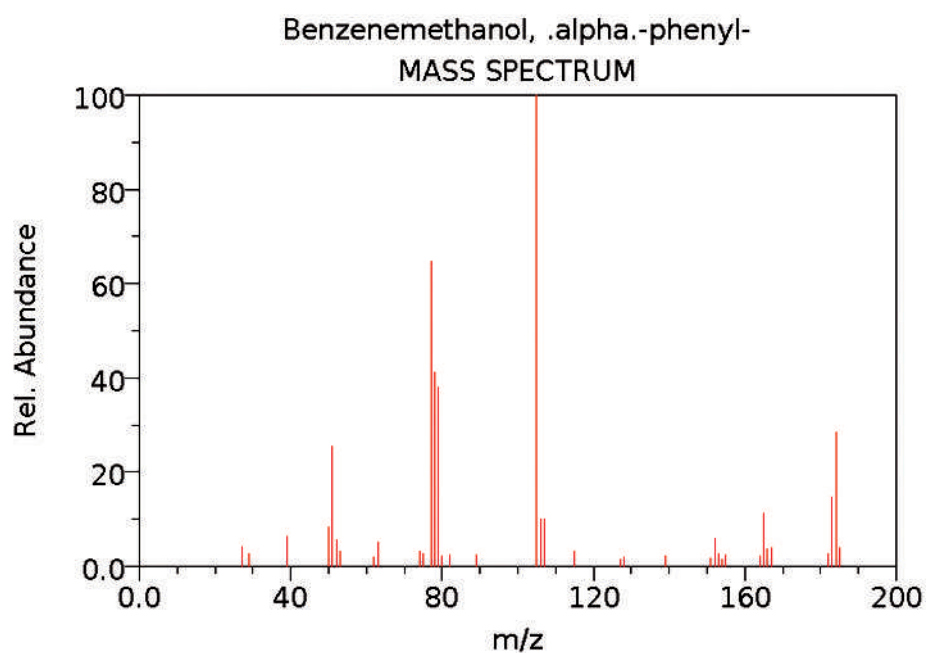


Φάσματα:



NIST Chemistry WebBook (<http://webbook.nist.gov/chemistry>)

IR φάσμα βενζυδρόλης



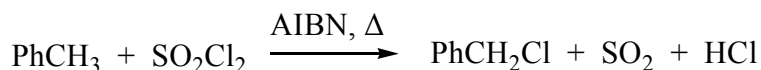
NIST Chemistry WebBook (<http://webbook.nist.gov/chemistry>)

MS φάσμα βενζυδρόλης

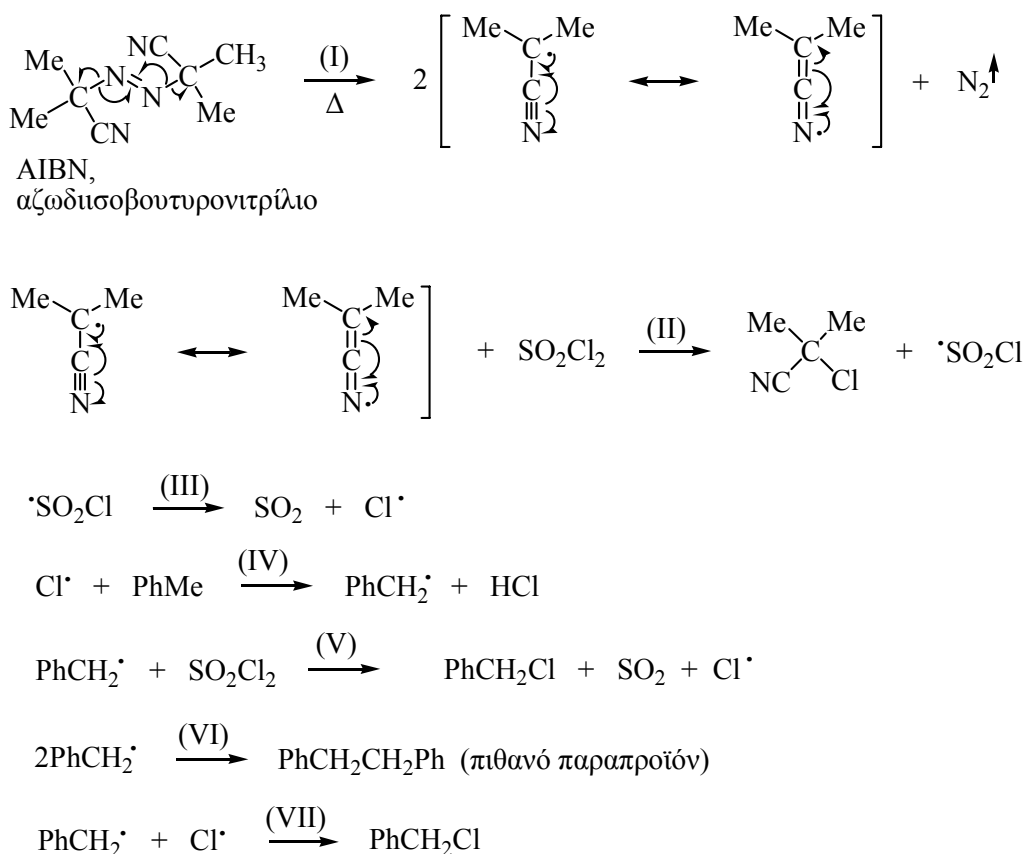
24. Βενζυλοχλωρίδιο

C_7H_7Cl , M.B. = 126.59, σ.τ. = 69°C, σ.ζ. = 179-181°C

Αντιδραση: Ριζική-αλυσωτή αλογόνωση αλκανίων



Μηχανισμός:



(I-III) = εκκίνηση, (IV-V) = διάδοση, (VI-VII) = τερματισμός

Επισημάνσεις:

Προσοχή! Ενημερωθείτε για την επικινδυνότητα και τους κανόνες υγιεινής και ασφαλούς εργασίας με τα αντιδραστήρια του πειράματος. Να έχετε πλήρη γνώση των χαρακτηρισμών **R** (risk) και **S** (safety) των αντιδραστηρίων και του προϊόντος.

Προσοχή! Το αζωδιισοβουτυρονιτρίλιο (AIBN) έχει εκρηκτικές ιδιότητες. Στους φοιτητές διατίθεται σε μικρό φιαλίδιο που περιέχει μόνο ~ 1 g).

Προσοχή! Το σουλφουρυλοχλωρίδιο (SO_2Cl_2) είναι τοξικό και ερεθιστικό.

Προσοχή! Τα βενζυλοχλωρίδια ερεθίζουν τα μάτια και το δέρμα.

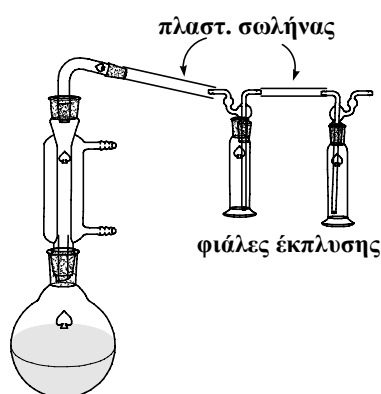
Αντιδραστήρια:

τολουόλιο (M.B. = 92.17, σ.ζ. = 110-111°C, d = 0.87 g/ml)

σουλφουρυλοχλωρίδιο (M.B. = 134.97, σ.ζ. = 68-70°C, d = 1.67 g/ml)

αζωδισοβουτυρονιτρίλιο (M.B. = 164.21, σ.τ. = 103-105°C)

Μέθοδος παρασκευής:



Σε σφαιρική φιάλη εφοδιασμένη με κάθετο ψυκτήρα προστίθενται 11.1 g (0.12 mol) τολουολίου (στον απαγωγό). Στην έξοδο του ψυκτήρα συνδέεται μία φιάλη έκπλυσης (κενή) ως παγίδα, για λόγους ασφαλείας σε περίπτωση αναρρόφησης και εν σειρά μια δεύτερη που περιέχει διάλυμα NaHCO₃ για την εξουδετέρωση του αερίου HCl και του SO₂ που εκλύονται κατά την αντίδραση. Στο τολουόλιο προστίθενται 13.5 g (0.1 mol) SO₂Cl₂ με πιπέτα και λίγο AIBN (περίπου 0.1 g = 0.0006 mol). Το μίγμα

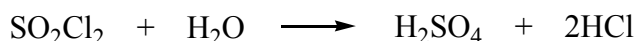
θερμαίνεται μέχρι βρασμού οπότε και ξεκινάει μια πολύ έντονη αντίδραση με έκλυση SO₂ (συνιστάται να υπάρχει έτοιμο παγόνερο για ενδεχόμενη ανάγκη ψύξης για επιβράδυνση της αντίδρασης). Η αντίδραση (βρασμός) ολοκληρώνεται σε περίπου 1 ώρα (μη περαιτέρω έκλυση SO₂). Μετά το τέλος της αντίδρασης, η συσκευή μετατρέπεται σε αποστακτική και αποστάζεται η περίσσεια SO₂Cl₂^(1,2) (σ.ζ. 68-70°C), ενώ το προϊόν που περιέχεται στο υπόλειμμα αποστάζεται υπό κενό (σ.ζ. 61°C/10 Torr). Αναμενόμενη απόδοση βενζυλοχλωριδίου⁽³⁾ περίπου 80%.

Υπολογίστε την απόδοση (%) και καταγράψτε τα φάσματα IR, ¹H NMR και MS του προϊόντος.

Παρατηρήσεις:

(1) Το SO₂Cl₂ προσβάλλει τα λιπαντικά με συνέπεια να υπάρχει κίνδυνος να κολλήσουν τα εσφυρίσματα.

(2) Η περίσσεια SO₂Cl₂, που αποστάχθηκε, καταστρέφεται μέσω υδρόλυσης με την προσθήκη μικρών ποσοτήτων του στο νερό (στον επαγωγό, έντονη αντίδραση) και στη συνέχεια εξουδετέρωση με διάλυμα NaOH.



(3) Υπολείμματα βενζυλοχλωριδίων καταστρέφονται σε διάλυμα CH₃OH σε υδατικό διάλυμα NH₃ (στον απαγωγό).

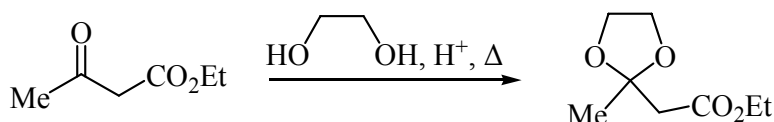
Βιβλιογραφία:

ORGANIKUM, 19^η Έκδοση, Johann Ambrosius Barth Verlag, Λειψία (Γερμανία), 1993, σελ. 173.

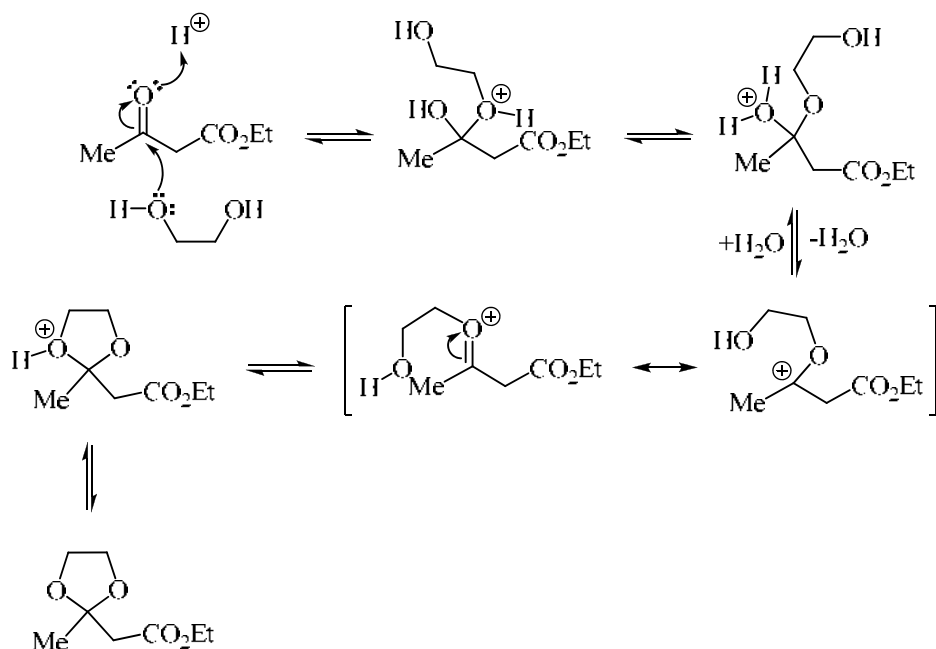
25. Προστασία καρβονυλίου-Σχηματισμός ακετάλης (Οξικός 2-(2-μεθυλο-1,3-διοξολαν-2-υλο)-αιθυλεστέρας)

$C_8H_{14}O_4$, M.B. = 174.19, σ.ζ. = 135°C/50 mmHg

Αντίδραση: Προστασία κετονικού καρβονυλίου⁽ⁱ⁾



Μηχανισμός:



Αντιδραστήρια:

ακετοξικός αιθυλεστέρας (M.B. = 130.14, σ.ζ. = 180.8°C, d = 1.021 g/ml)

αιθανο-1,2-διόλη (αιθυλενογλυκόλη) (M.B. = 62.07, σ.ζ. = 197.3°C, d = 1.113 g/ml)

μονοϋδρο *p*-τολουολοσουλφονικό οξύ (καταλύτης) (M.B. = 172.20, σ.ζ. = 103-106°C)

τολουόλιο (σ.ζ. = 110-111°C)

10% w/v υδατικό υδροξείδιο του νατρίου

άνυδρο ανθρακικό κάλιο

Μέθοδος παρασκευής:

Σε (μονόλαιμη) σφαιρική φιάλη των 100 ml προστίθενται 12.7 ml (13.0 g, 100 mmol) ακετοξικός αιθυλεστέρας, 5.8 ml (6.5 g, 105 mmol) αιθανο-1,2-διόλη, 0.05 g *p*-τολουολοσουλφονικό οξύ, 50 ml τολουόλιο, μαγνητάκι ή και λίγες πέτρες βρασμού και

προσρμόζεται συσκευή Dean and Stark. Το μίγμα θερμαίνεται στο σημείο βρασμού για περίπου 45 λεπτά, μέχρι να σταματήσει η συλλογή νερού στη συσκευή. Ακολούθως το μίγμα της αντίδρασης ψύχεται μέχρι θερμοκρασία δωματίου, μεταφέρεται σε διαχωριστική χοάνη, εκχυλίζεται με 15 ml 10% w/v υδατικό διάλυμα NaOH και στη συνέχεια με νερό (2×20 ml). Μετά την ξήρανση της οργανικής φάσης με K₂CO₃, το ξηραντικό διηθείται και ο διαλύτης εξατμίζεται στον περιστροφικό εξατμιστήρα. Το υπόλειμμα υπόκειται σε απλή απόσταξη υπό κενό. Μετρήστε το ακριβές σ.ζ. και την πίεση σε mm Hg.

Υπολογίστε την απόδοση (%) και καταγράψτε τα φάσματα IR, ¹H NMR και MS του προϊόντος.

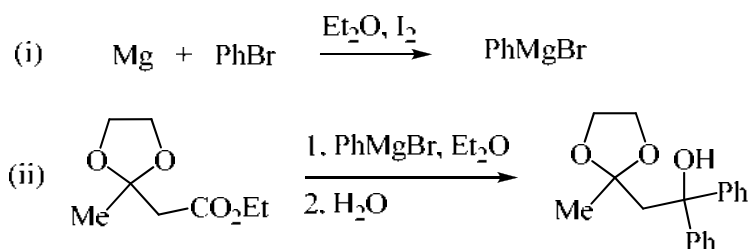
Επεξηγήσεις:

(i) Στην αντίδραση αυτή προστατεύεται το καρβονύλιο, η δραστική ομάδα του ακετοξικού αιθυλεστέρα ώστε να μην αντιδράσει με αντιδραστήριο Grignard σε επόμενο βήμα. Αυτό γίνεται με χρήση αιθανο-1,2-διόλης (αιθυλενογλυκόλης) σε όξινο περιβάλλον, οπότε σχηματίζεται οξικός 2-(2-μεθυλο-1,3-διοξολαν-2-υλο)αιθυλεστέρας (δηλαδή η αιθυλενοκετάλη του ακετοξικού αιθυλεστέρα).

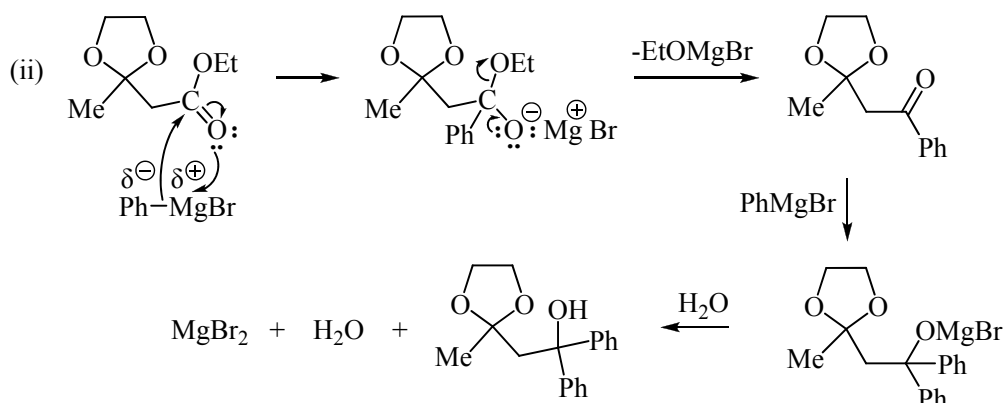
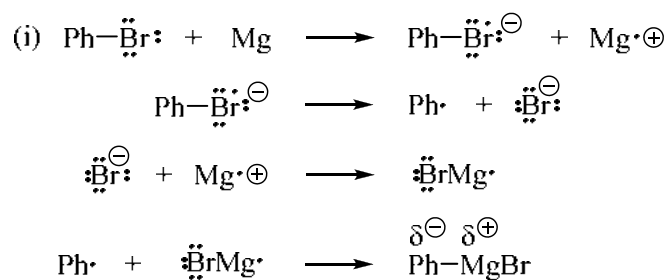
26. Αντίδραση Grignard {2-(2-Μεθυλο-1,3-διοξολαν-2-υλο)-1,1-διφαινυλο-1-αιθανόλη}

C₁₈H₂₀O₃, M.B. = 284.35, σ.τ. = °C

Αντίδραση: (i) παρασκευή οργανομαγνησιακής (οργανομεταλλικής)⁽ⁱ⁾ ένωσης, (ii) προσθήκη οργανομαγνησιακής ένωσης (αντιδραστήριου Grignard) σε εστέρα⁽ⁱⁱ⁾



Μηχανισμός:



Επισημάνσεις:

Προσοχή! Το βρωμοβενζόλιο ερεθίζει τα μάτια και το δέρμα.

Αντιδραστήρια:

(i) Για την παρασκευή του φαινυλομαγνησιοβρωμιδίου:

ρινίσματα μαγνησίου (M.B. = 24.3)

άνυδρος διαιθυλαιθέρας

ιώδιο (1-2 κρύσταλλοι)

βρωμοβενζόλιο (M.B. = 157.0, σ.ζ. = 156-158°C, d = 1.495 g/ml)

(ii) Για την προσθήκη αντιδραστήριου Grignard στον εστέρα:

οξικός 2-(2-μεθυλο-1,3-διοξολαν-2-υλο)αιθυλεστέρας (M.B. = 174.19)

φαινυλομαγνησιοβρωμίδιου

πετρελαϊκός αιθέρας (σ.ζ. = 60-80°C) ή εξάνιο (μίγμα ισομερών) (σ.ζ. = 68-70°C)

Μέθοδος παρασκευής:

(i) Αντιδραστήριο Grignard. Παρασκευή του φαινυλομαγνησιοβρωμίδιου

Τρίλιαιμη σφαιρική φιάλη των 100 ml, σταγονομετρικό χωνί, ψυκτήρας και Teflon μαγνητάκι τα οποία ήταν σε πυριαντήριο στους 120°C για 2 ώρες, συναρμολογούνται γρήγορα και συγχρόνως τοποθετείται σωλήνας χλωριούχου ασβεστίου στον ψυκτήρα και πώματα στη σφαιρική και στο σταγονομετρικό χωνί.^(a) Στη σφαιρική φιάλη φέρονται γρήγορα ρηνήσματα μαγνησίου 1.35 g (55 mmol), 10 ml διαιθυλαιθέρας, 1-2 κρύσταλλοι ιωδίου και το μίγμα αναδεύεται. Στη σταγονομετρική χοάνη τοποθετείται 10 ml διαιθυλαιθέρας και 7.85 g (50 mmol) βρωμοβενζόλιο και από αυτό το διάλυμα προστίθενται λίγες σταγόνες στη σφαιρική. Μόλις η αντίδραση Grignard αρχίσει (ο αιθέρας βράζει και το χρώμα του μίγματος γίνεται σκούρο), προστίθεται και άλλος αιθέρας (20 ml) στη σταγονομετρική χοάνη και συνεχίζεται η προσθήκη αυτού του διαλύματος στην σφαιρική με τέτοιο ρυθμό ώστε το περιεχόμενο της τελευταίας να βράζει ομαλά. Όταν ολοκληρωθεί η προσθήκη το μίγμα θερμαίνεται μέχρι βρασμού για 10 λεπτά και έπειτα ψύχεται στους 0°C με παγόλουτρο.

(ii) Προσθήκη αντιδραστήριου Grignard στον οξικό 2-(2-μεθυλο-1,3-διοξολαν-2-υλο)-αιθυλεστέρα

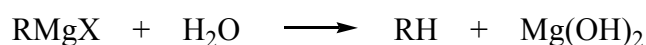
Στη σφαιρική φιάλη που περιέχει το φαινυλομαγνησιοβρωμίδιο στους 0°C του προηγούμενου πειράματος (~50 mmol), τοποθετείται καθαρό σταγονομετρικό χωνί με την ίδια διαδικασία και σε αυτό προστίθεται γρήγορα 4.35 g (25 mmol) οξικός 2-(2-μεθυλο-1,3-διοξολαν-2-υλο)αιθυλεστέρας σε 10 ml διαιθυλαιθέρα. Ακολουθεί προσθήκη λίγων σταγόνων του διαλύματος του εστέρα από το σταγονομετρικό χωνί στο αντιδραστήριο Grignard στη σφαιρική φιάλη. Η αντίδραση ξεκινά όταν αρχίζει να βράζει ο αιθέρας που χρωματίζεται γκρι-καφέ. Προστίθεται στάγδην ο υπόλοιπος εστέρας διατηρώντας τον ήπιο βρασμό του διαιθυλαιθέρα. Το μίγμα αναδεύεται επιπλέον 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και στη συνέχεια προστίθεται σε αυτό 20 ml παγόνερο. Όταν ο πάγος λιώσει εμφανίζεται το ελαιώδες προϊόν το οποίο διαλύεται με την προσθήκη 10 ml διαιθυλαιθέρα και ανάδευση. Οι δύο φάσεις (νερό-διαιθυλαιθέρας) μεταφέρονται σε διαχωριστική χοάνη, η αιθερική απομακρύνεται και η υδατική εκχυλίζεται με επιπλέον 10 ml διαιθυλαιθέρα. Οι φάσεις του αιθέρα συνενώνονται, εκχυλίζονται με 10 ml αλατόνερο και ξηραίνονται (MgSO₄). Μετά την ξήρανση, το ξηραντικό

μέσο διηθείται και ο αιθέρας απομακρύνεται στον περιστροφικό εξατμιστήρα. Το αρχικό ελαιώδες υπόλειμμα στερεοποιείται αργά και στη συνέχεια ανακρυσταλλώνεται από διαιθυλαιθέρα.

Υπολογίστε την απόδοση (%), περιγράψτε κρυσταλλική μορφή και χρώμα, μετρήστε με ακρίβεια το σ.τ. και καταγράψτε τα φάσματα IR, ^1H NMR και MS του προϊόντος.

Παρατηρήσεις:

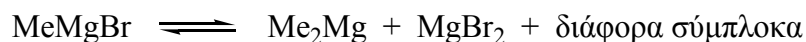
(α) Αυτή η διαδικασία ελαχιστοποιεί την ύπαρξη στρώματος νερού στο εσωτερικό (και εξωτερικό) των γυάλινων συσκευών. Το νερό αντιδρά με την οργανομαγνησιακή ένωση αμέσως με σχηματισμό υδρογονάνθρακα, καταστρέφοντάς την:



Επεξηγήσεις:

(i) Οι οργανομεταλλικές ενώσεις είναι αντιδραστήρια του γενικού τύπου RM όπου R είναι το οργανικό και M το μεταλλικό τμήμα της ένωσης. Έχοντας ηλεκτροθετικό μέταλλο και ηλεκτραρνητικό άνθρακα σημαίνει ότι τα μόρια αυτά είναι πολωμένα: $\text{R}^{\delta-}-\text{M}^{\delta+}$. Από τα μέταλλα που έχουν χρησιμοποιηθεί στην οργανική σύνθεση το μαγνήσιο και λίθιο έχουν βρει την μεγαλύτερη εφαρμογή ενώ το νάτριο και το κάλιο είναι λιγότερο χρήσιμα.

Τα αντιδραστήρια του οργανομαγνησίου είναι γνωστά ως αντιδραστήρια Grignard από τον εφευρέτη τους τον Γάλλο Victor Grignard ο οποίος έλαβε το βραβείο Nobel το 1912 για την εργασία αυτή. Σε αντίθεση με τα αντιδραστήρια του οργανολιθίου, τα αντιδραστήρια Grignard είναι πιο εύκολα στη χρήση τους και συνήθως δεν χρειάζονται τις αυστηρές άνυδρες συνθήκες των πρώτων. Επίσης αντιδρούν, όπως και τα αντιδραστήρια του οργανολιθίου, ως ισχυρές βάσεις και ως πυρηνόφιλα. Ένας σημαντικός παράγοντας που ελέγχει την δραστηριότητά τους είναι η ισορροπία τους σε διαλύματα με το διακυκλομαγνήσιο και το διβρωμίδιο του μαγνησίου, γνωστή ως ισορροπία Schlenk:



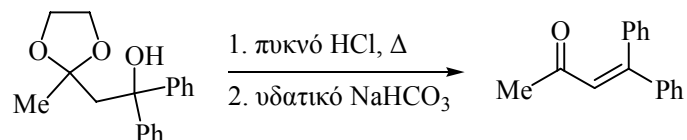
Η παρουσία του οξέος κατά Lewis MgBr_2 στα διαλύματα των αντιδραστηρίων Grignard έχει μεγάλη επίδραση στην δραστηριότητά τους. Σε πολλές αντιδράσεις υπάρχει συμπλοκοποίηση του MgBr_2 με το ηλεκτρονιόφιλο, όπως στην περίπτωση των εποξειδίων ή των καρβονυλικών ενώσεων. Αυτό επιτρέπει το σχετικά ασθενές πυρηνόφιλο αντιδραστήριο Grignard να πάρει μέρος σε αντιδράσεις προσθήκης και υποκατάστασης με υψηλές αποδόσεις.

(ii) Οι εστέρες και οι κετόνες αντιδρούν εύκολα με αντιδραστήρια Grignard, για να δώσουν τριτοταγείς αλκοόλες. Για να αντιδράσει εκλεκτικά η ομάδα του εστέρα του ακετοξικού αιθυλεστέρα με αντιδραστήριο Grignard, προς αλκοόλη, πρέπει πρώτα η ομάδα της κετόνης να έχει μετατραπεί στη μη δραστική ομάδα της κετάλης (προστασία).

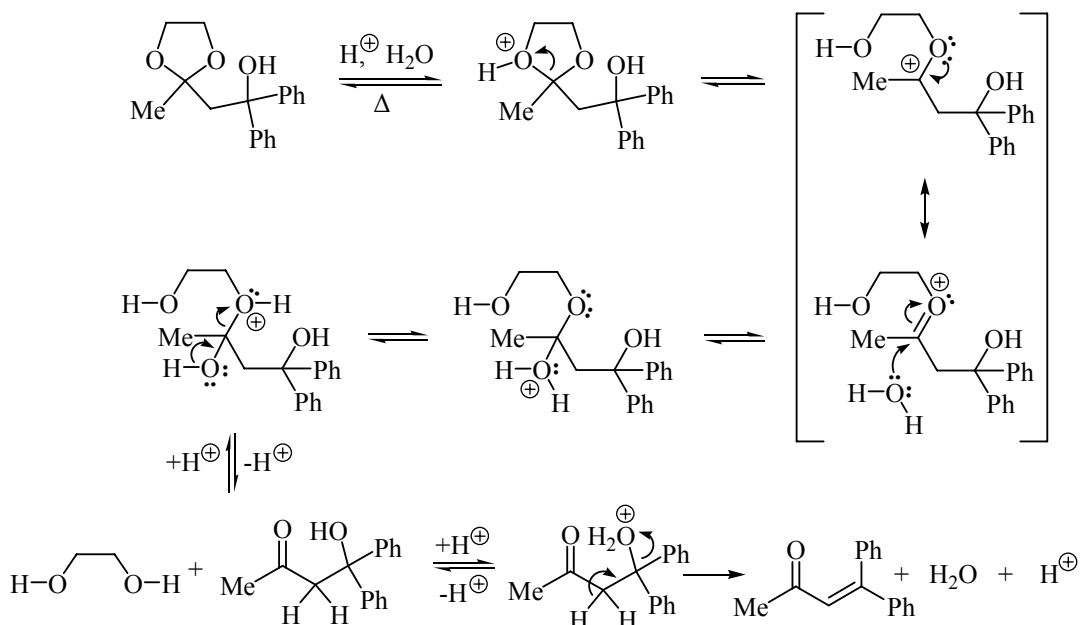
27. 4,4-Διφαινυλοβουτ-3-εν-2-όνη

C₁₆H₁₄O, M.B. = 222.28, σ.τ. = 38°C

Αντίδραση: υδρόλυση ακετάλης (αποπροστασία) ακολουθούμενη από αφυδάτωση αλκοόλης⁽ⁱ⁾



Μηχανισμός:



Αντιδραστήρια:

2-(2-μεθυλο-1,3-διοξολαν-2-υλο)-1,1-διφαινυλο-1-αιθανόλη (ακετάλη τριτοταγούς αλκοόλης)
(M.B. = 284.35)

πυκνό (36-37% wt/v) υδροχλωρικό οξύ (M.B. = 36.5, d = 1.20 g/ml)

ακετόνη (σ.ζ. = 56°C)

διαιθυλαιθέρας (σ.ζ. = 35°C)

κορεσμένο υδατικό διάλυμα όξινου ανθρακικού νατρίου

θειικό μαγνήσιο ως ξηραντικό μέσο

Μέθοδος παρασκευής:

Σε μονόλαιμη σφαιρική φιάλη των 100 ml που περιέχει 1.5 ml νερού, 25 ml ακετόνης και 1 ml πυκνού υδροχλωρικού οξέος προστίθεται η ακετάλη της τριτοταγούς αλκοόλης 2.84 g (10 mmol) προηγούμενου πειράματος (παρασκεύασμα 26). Το μίγμα θερμαίνεται μέχρι βρασμού

με κάθετο ψυκτήρα για 1 ώρα και αφήνεται να ψυχθεί. Στο κρύο μίγμα προστίθεται 25 ml νερό και εκχυλίζεται με διαιθυλαιθέρα (3×15 ml). Τα κλάσματα του αιθέρα συνενώνονται και εκχυλίζονται με 15 ml κορεσμένου υδατικού διαλύματος NaHCO_3 και 15 ml αλατόνευρου. Μετά από ξήρανση (MgSO_4) και διήθηση του ξηραντικού, ο αιθέρας απομακρύνεται στον περιστροφικό εξατμιστήρα. Ένα τμήμα του υπολείμματος (0.4 g) καθαρίζεται με χρωματογραφία στήλης χρησιμοποιώντας ως υλικό προσρόφησης silica gel και διαλύτη έκλυσης τολουόλιο.

Υπολογίστε την απόδοση (%), μετρήστε με ακρίβεια το σ.ζ. και καταγράψτε τα φάσματα IR, ^1H NMR και MS του προϊόντος.

Επεξηγήσεις:

(i) Σε αυτή την άσκηση η ομάδα της ακετάλης της τριτοταγούς αλκοόλης υδrolύεται σε όξινο περιβάλλον προς την ομάδα της κετόνης δίνοντας την ενδιάμεση κετο-τριτοταγή αλκοόλη, η οποία εφόσον πρωτονιωθεί αφυδατώνεται προς το τελικό προϊόν, την 4,4-διφαινυλοβουτ-3-εν-2-όνη.

Ερωτήσεις:

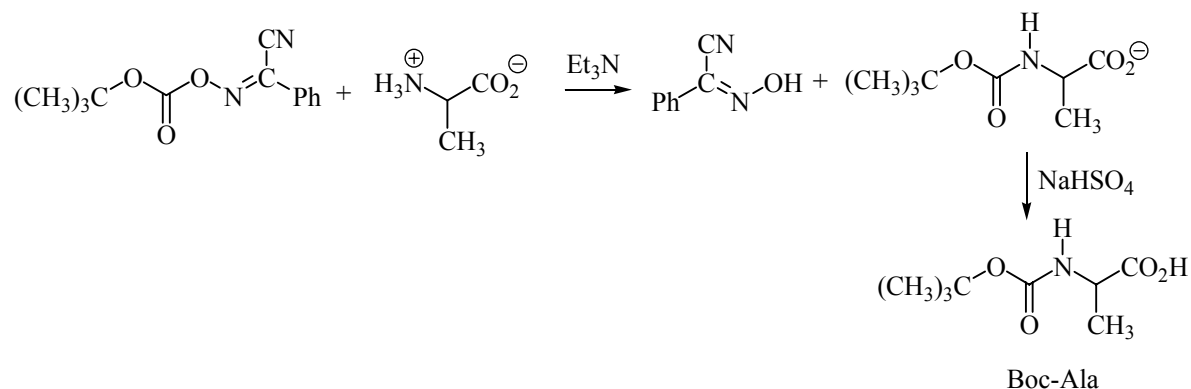
1. Γράψτε το μηχανισμό όξινης υδρόλυσης της προστατευτικής ομάδας της ακετάλης της 2-(2-μεθυλο-1,3-διοξολαν-2-υλο)-1,1-διφαινυλο-1-αιθανόλης και την επακόλουθη αφυδάτωση της κετο-αλκοόλης που προκύπτει.
2. Προτείνετε εναλλακτική σύνθεση της 4,4-διφαινυλοβουτ-3-εν-2-όνης.

28. Προστασία αμινομάδας αμινοξέων:

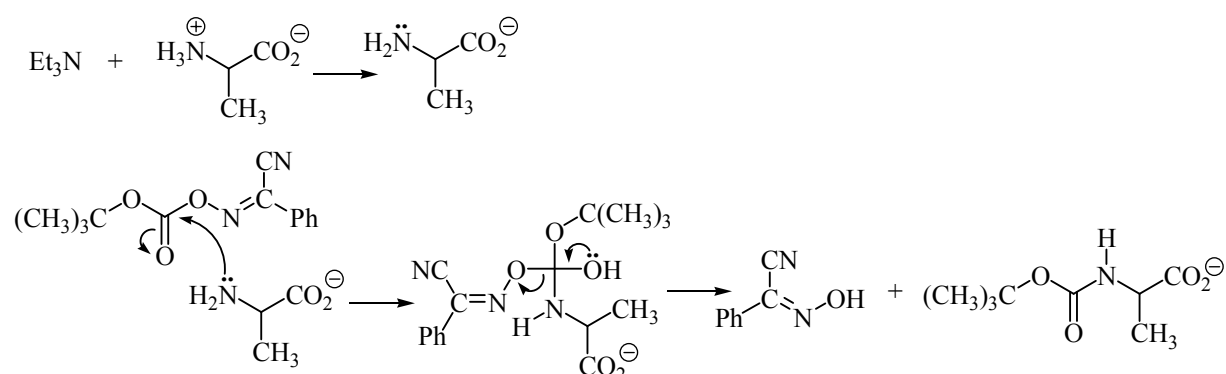
N-(*tert*-βουτοξυκαρβονυλο)-αλανίνη (Boc-αλανίνη, Boc-Ala)

C₈H₁₅NO₄, M.B. = 189.21, σ.τ. = 83-85°C

Αντίδραση: Boc-προστασία αμινομάδας αμινοξέος



Μηχανισμός:



Αντιδραστήρια:

L-αλανίνη (L-Ala) (M.B. = 89.09, σ.τ. = 258°C εξαχνώνεται)

2-(*tert*-βουτοξυκαρβονυλοξυμυνο)-2-φαινυλοακετονιτρίλιο (Boc-ON) (M.B. = 246.27, σ.τ. = 87-89°C)

άνυδρο όξινο θειικό νάτριο (M.B. = 120.06, σ.τ. = 55.8°C)

1,4-διοξάνιο (ή 1,4-διοξάνη) (σ.ζ. = 101.1°C)

τριαιθυλαμίνη (M.B. = 101.19, σ.τ. = 89.7°C, d = 0.726 g/ml)

οξικός αιθυλεστέρας (σ.ζ. = 77.1°C)

άνυδρο θειικό νάτριο ως ξηραντικό

πλάκες χρωματογραφίας λεπτής στοιβάδας (silica)

Μέθοδος παρασκευής:

1.78 g (20 mmol) αλανίνης φέρονται σε σφαιρική φιάλη και διαλύονται σε μίγμα 12.5 ml H₂O και 12.5 ml 1,4-διοξανίου. Στο διάλυμα αυτό προστίθενται 4.2 ml τριαιθυλαμίνης (30 mmol) και στη συνέχεια, υπό ανάδευση 5.4 g (22 mmol) αντιδραστηρίου Boc-ON.^(a) Η ανάδευση συνεχίζεται σε θερμοκρασία δωματίου επί 2 ώρες. Ακολούθως γίνεται συμπύκνωση του διαλύματος στον περιστροφικό συμπυκνωτή (flash evaporator) για την απομάκρυνση του 1,4-διοξανίου. Το υπόλειμμα αραιώνεται με νερό και ελέγχεται το pH ώστε να είναι βασικό. Το υδατικό διάλυμα εκχυλίζεται με οξικό αιθυλεστέρα, την πρώτη φορά με 30 ml και μία δεύτερη φορά με 20 ml. Οι στιβάδες του οξικού αιθυλεστέρα ενώνονται (ενωμένα οργανικά εκχυλίσματα) και εκχυλίζονται με 30 ml H₂O. Η υδατική αυτή στιβάδα ενώνεται με την προηγούμενη υδατική στοιβάδα και οξυνίζεται με διάλυμα 1N NaHSO₄² μέχρι pH 2-3. Η υδατική φάση εκχυλίζεται με οξικό αιθυλεστέρα¹ και η προκύπτουσα οργανική στιβάδα, αφού διαχωριστεί από την υδατική, ξηραίνεται υπεράνω ξηραντικού Na₂SO₄ ή MgSO₄, διηθείται και συμπυκνώνεται μέχρι ξηρού. Το προϊόν καταβυθίζεται από μίγμα AcOEt/πετρελαϊκού αιθέρα και διηθείται. Να βρεθεί ο παράγοντας επιβράδυνσης (R_f) του προϊόντος στο σύστημα της επιλογής σας.

Υπολογίστε την απόδοση (%), περιγράψτε κρυσταλλική μορφή και χρώμα, μετρήστε με ακρίβεια το σ.τ. και καταγράψτε τα φάσματα IR, ¹H NMR και MS του προϊόντος.

Παρατηρήσεις:

(a) Πριν ξεκινήσετε τη διαδικασία της συμπύκνωσης του μίγματος της αντίδρασης να ελεγχθεί αν ολοκληρώθηκε η αντίδραση όπως περιγράφεται παρακάτω.

Σε μια πλάκα TLC τριών θέσεων τοποθετήστε στη πρώτη θέση L-Ala (επιλέξτε το διαλύτη στον οποίο θα διαλύσετε την L-Ala). Τοποθετήστε δείγμα από το μίγμα της αντίδρασης στη δεύτερη θέση του πλακιδίου TLC μετά από 1 ώρα. Τοποθετήστε δείγμα από το μίγμα της αντίδρασης στη τρίτη θέση του πλακιδίου TLC μετά από 2 ώρες. Αναπτύξτε την πλάκα σε θάλαμο με σύστημα ανάπτυξης CHCl₃/MeOH (2:1). Η ανάπτυξη και η εμφάνιση του πλακιδίου TLC να γίνει πριν ξεκινήσει η διαδικασία της συμπύκνωσης. Εμφανίστε την TLC με διάλυμα νινυδρίνης 0.1% σε 10% TFA/i-PrOH. Αφού ξηράνετε την πλάκα TLC τη θερμαίνετε στους ~100 °C στο πυριαντήριο. Σημειώστε τις κηλίδες που εμφανίζονται. Συζητήστε το αποτέλεσμα με τον επιβλέποντα πριν ξεκινήσετε τη διαδικασία της συμπύκνωσης του μίγματος της αντίδρασης.

Συνεχίστε ανάλογα και με τις υποδείξεις του επιβλέποντα.

Επεξηγήσεις:

(i) Σκοπός της άσκησης είναι η εκπαίδευση των φοιτητών στην παροδική προστασία δραστικών ομάδων και, συγκεκριμένα, στην προστασία α-αμινομάδων των αμινοξέων, τα οποία αποτελούν ένα σημαντικό τμήμα της Οργανικής Χημείας. Κατά την εκτέλεση της

άσκησης θα σας δοθεί η ευκαιρία να εμβαθύνετε στη διαδικασία ελέγχου της πορείας μιας αντίδρασης. Ταυτόχρονα, η απομόνωση του προϊόντος από το μίγμα το οποίο περιέχει όξινα, βασικά και ουδέτερα συστατικά, συμβάλλει στην απόκτηση εμπειρίας αξιοποίησης της διαλυτότητας των ουσιών σε διαφορετικού pH υδατικά κατά την απομόνωση τους με τη διαδικασία της εκχύλισης.

(ii) Η *tert*-βουτυλοξυκαρβονυλο-ομάδα, μια παροδική αμινοπροστατευτική ομάδα τύπου ουρεθάνης, η οποία είναι σταθερή σε βασικές συνθήκες και ευαίσθητη σε όξινες, μπορεί να εισαχθεί στα αμινοξέα με τη βοήθεια (α) του Boc-ανυδρίτη (Boc_2O), (β) *N*-(*tert*-βουτοξυκαρβονυλοξυ)-ηλεκτριμιδίου (Boc-ONSu) ή γ) 2-*tert*-βουτυλοξυκαρβονυλοξιμινο-2-φαινυλακετονιτριλίου (Boc-ON). Η εύκολη απομάκρυνσή της με τη βοήθεια τριφθοροξικού οξέος (TFA)* σε διχλωρομεθάνιο 20-50% TFA/DCM (v/v), και η ορθογωνική συμβατότητά της με προστατευτικές ομάδες τύπου βενζυλεστέρα, ή βενζυλαιθέρα των τυχόν παράπλευρων ομάδων των αμινοξέων, την έχει καταστήσει ως μια από τις πλέον χρησιμοποιούμενες αμινοπροστατευτικές ομάδες στην πεπτιδική σύνθεση.

Ερωτήσεις:

1. Γιατί γίνεται η πρώτη εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα;
2. Γιατί γίνεται η οξύνιση με 1N NaHSO_4 και όχι με 1N HCl ;
3. Γράψτε την αντίδραση της αλανίνης με τον Boc_2O
4. Γράψτε την αντίδραση της αλανίνης με το *N*-(*tert*-βουτοξυκαρβονυλοξυ)-ηλεκτριμίδιο

Βιβλιογραφία:

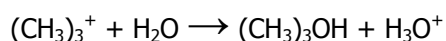
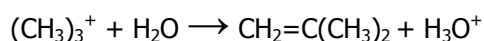
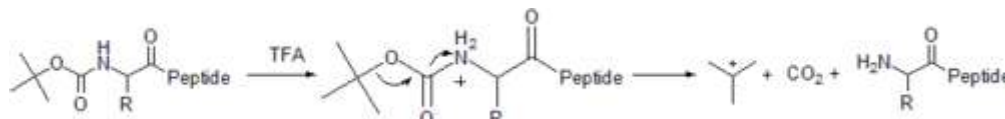
Bodanszky, M., and Bodanszky, A., *The practice of peptide synthesis*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 1984.

Itoh, M., Hagiwara, D., Kamiya, T., *Tetrahedron Letters*, 1975, 4393.

Itoh, M., Hagiwara, D., Kamiya, T., *Bull. Chem. Soc. Japan*, 1977, **50**, 718.

Tarbell, D. S., Yamamoto, Y., Pope, B. M., *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1972, **69**, 730.

Αποπροστασία με TFA*

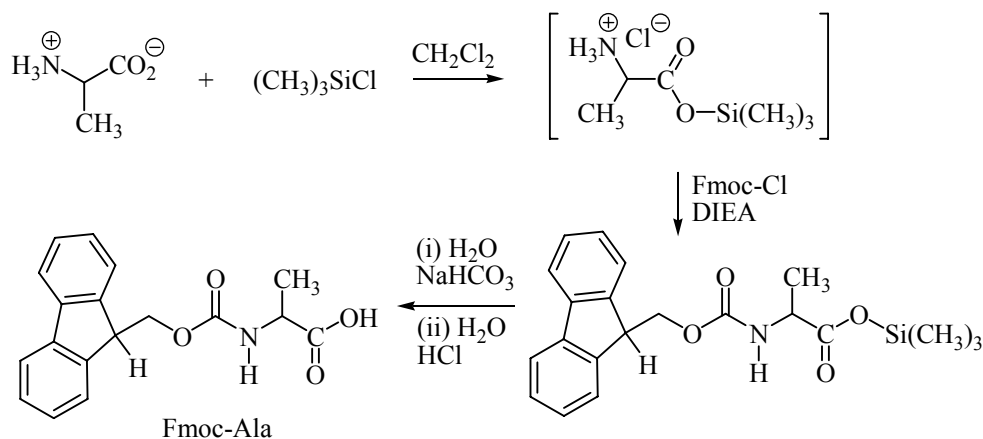


29. Προστασία αμινομάδας αμινοξέων:

N-[(9*H*-φλουορεν-9-υλομεθυλοξυ)καρβονυλο]-αλανίνη (Fmoc-αλανίνη, Fmoc-Ala)

C₁₈H₁₇NO₄, M.B. = 311.34, σ.τ. = 150-153°C

Αντίδραση: Fmoc-προστασία α-αμινομάδας των αμινοξέων



Αντιδραστήρια:

L-αλανίνη (L-Ala) (M.B. = 89.09, σ.τ. = 258°C εξαχνώνεται, d = 1.42 g/ml)

τριμεθυλοσιλυλοχλωρίδιο (TMS-Cl) (M.B. = 108.64, σ.ζ. = 57°C, d = 0.856 g/ml)

9*H*-φλουορεν-9-υλομεθυλοξυκαρβόνυλο χλωρίδιο (Fmoc-Cl) (M.B. = 258.7, σ.τ. = 62-64°C)

διισοπροπυλαιθυλαμίνη (DIEA) (M.B. = 129.25, σ.ζ. = 127°C, d = 0.742 g/ml)

διχλωρομεθάνιο (σ.ζ. = 40°C)

διαιθυλαιθέρας (σ.ζ. = 34.6°C)

2.5 %w/v υδατικό όξινο ανθρακικό νάτριο

1 N υδροχλωρικό οξύ

οξικός αιθυλεστέρας (σ.ζ. = 77.1°C)

άνυδρο θειικό νάτριο, ως ξηραντικό

πλάκες χρωματογραφίας λεπτής στοιβάδας (silica)

Μέθοδος παρασκευής:

3.75 mmol L-Ala τοποθετούνται σε μια σφαιρική των 100 ml και προστίθενται 9 ml CH_2Cl_2 . Στη σφαιρική εφαρμόζεται κάθετος ψυκτήρας και στη συνέχεια το σύστημα φέρεται σε υδρόλουτρο. Υπό ισχυρή ανάδευση προστίθενται στο μίγμα 0.95 ml (7.5 mmol) TMS-Cl. Το μίγμα θερμαίνεται για μια ώρα μέχρι να βρασμού και στη συνέχεια ψύχεται σε παγόλουτρο^(a). Στο σημείο αυτό προστίθενται 1.13 ml (6.5 mmol) DIEA⁽¹⁾ και 0.647 g (2.5 mmol) Fmoc-Cl. Το μίγμα αναδεύεται υπό ψύξη για 20 λεπτά και στη συνέχεια για 1-1.5 ώρες στη θερμοκρασία δωματίου^(b). Το μίγμα της αντίδρασης συμπυκνώνεται και κατανέμεται μεταξύ 20 ml διαιθυλαιθέρα και 25 ml υδατικού διαλύματος 2.5% NaHCO_3 . Διαχωρίζονται οι φάσεις και η

υδατική φάση εκχυλίζεται πάλι με διαιθυλαιθέρα⁽²⁾ (2×10 ml). Οι ενωμένες αιθερικές φάσεις εκχυλίζονται με H_2O (2×10 ml). Το σύνολο των υδατικών φάσεων οξυνίζεται μέχρι $\text{pH} = \sim 2$, με 1N HCl ,⁽³⁾ και στη συνέχεια εκχυλίζεται με EtOAc (3×10 ml). Οι οργανικές φάσεις ενώνονται και ξηραίνονται με Na_2SO_4 . Διηθείται το Na_2SO_4 και ο οξικός αιθυλεστέρας συμπυκνώνεται μέχρι ξηρού⁽⁴⁾.

Να βρεθεί ο παράγοντας επιβράδυνσης (R_f) σε σύστημα διαλυτών της επιλογής σας.

Υπολογίστε την απόδοση (%), περιγράψτε κρυσταλλική μορφή και χρώμα, μετρήστε με ακρίβεια το σ.τ. και καταγράψτε τα φάσματα IR, $^1\text{H NMR}$ και MS του προϊόντος.

Παρατηρήσεις:

(a) Πριν την προσθήκη της DIEA και του Fmoc-Cl σε πλάκα TLC τριών θέσεων τοποθετήστε στη πρώτη θέση L-Ala (επιλέξτε το διαλύτη στον οποίο θα διαλύσετε την L-Ala) και στη δεύτερη θέση δείγμα από το μίγμα της αντίδρασης.

(b) Τοποθετήστε δείγμα από το μίγμα της αντίδρασης στην τρίτη θέση του πλακιδίου TLC. Πριν από τη διαδικασία της συμπύκνωσης να γίνει ανάπτυξη και η εμφάνιση του πλακιδίου TLC. Η ανάπτυξη της χρωματογραφικής πλάκας γίνεται σε ένα από τα συστήματα διαλυτών $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{AcOH}$ (94:5:1) ή $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{AcOH}$ (88:10:2). Χρησιμοποιήστε τη λάμπα UV (254 nm) για να εντοπίσετε το προϊόν σας στην πλάκα TLC. Σημειώστε με μολύβι τις κηλίδες που εμφανίζονται. Στη συνέχεια ψεκάστε την πλάκα TLC με διάλυμα νινυδρίνης 0.1% σε 10% TFA/ i -PrOH. Αφού στεγνώσετε την πλάκα TLC, να την θερμάνετε στους $\sim 100^\circ\text{C}$ στο πυριαντήριο. Σημειώστε τις νέες κηλίδες που εμφανίζονται. Συζητήστε το αποτέλεσμα με τον επιβλέποντα πριν ξεκινήσετε τη διαδικασία της συμπύκνωσης του μίγματος της αντίδρασης.

Ανάλογα και με τις υποδείξεις του επιβλέποντα, συνεχίστε σύμφωνα με τη μεθοδολογία.

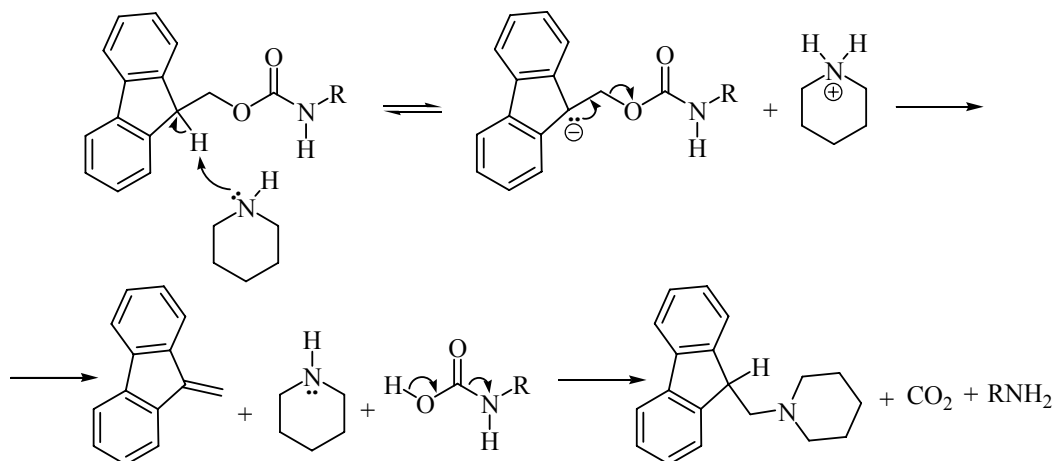
(c) Να ελέγξετε την καθαρότητα του προϊόντος σε μια πλάκα TLC όπως παραπάνω.

Επεξηγήσεις:

(i) Σκοπός της άσκησης είναι η εκπαίδευση των φοιτητών στην παροδική προστασία α-αμινομάδων των αμινοξέων τα οποία χρησιμοποιούνται κατά τη σύνθεση πεπτιδίων σε υγρή ή στερεή φάση με την Fmoc/ t -Bu στρατηγική. Η εκτέλεση της άσκησης θα προσφέρει τη δυνατότητα εμβάθυνσης τη διαδικασία ελέγχουτης πορείας μιας αντίδρασης και την απομόνωση του επιθυμητού προϊόντος από ένα αρκετά πολύπλοκο μίγμα.

(ii) Η 9H-φλουορεν-9-υλομεθυλοξυκαρβονυλο-ομάδα (Fmoc) εισήχθη ως προστατευτική ομάδα α-αμινομάδας των αμινοξέων από τους Caprino van Han το 1972. Οι συνθήκες σταθερότητας και απομάκρυνσής της οδήγησαν στην ανάπτυξη μιας νέας στρατηγικής στη πεπτιδική σύνθεση. Η στρατηγική αυτή ονομάζεται Fmoc/ t -Bu από το γεγονός ότι ως προστατευτική ομάδα των παράπλευρων αλυσίδων αμινοξέων όπως το Asp, το Glu, η Ser κλπ. χρησιμοποιείται η t -βουτυλομάδα. Ταυτόχρονα η εισαγωγή της Fmoc-ομάδας επέτρεψε την ανάπτυξη νέων κατάλληλα τροποποιημένων στερεών πολυμερών στα οποία ο δεσμός

ανάμεσα στο C-τελικό αμινοξύ του πεπτιδίου και το στερεό υπόστρωμα είναι σταθερός σε άνυδρες βασικές συνθήκες. Η Fmoc προστατευτική ομάδα επιτρέπει, σε αντίθεση με την Boc-ομάδα, τη σύνθεση ενεργοποιημένων με τη μορφή χλωριδίων ή φθοριδίων προστατευμένων αμινοξέων. Η Fmoc αμινοπροστατευτική ομάδα είναι σταθερή σε όξινες συνθήκες, ευαίσθητη σε βασικές συνθήκες. Απομακρύνεται εύκολα συνήθως με την επίδραση δευτεροταγών αμινών όπως είναι η πιπεριδίνη ή η διαιθυλαμίνη σε διμεθυλοφορμαμίδιο (Σχήμα). Η Fmoc-ομάδα απομακρύνεται, επίσης, ποσοτικά με καταλυτική υδρογόνωση.



Σχήμα. Μηχανισμός απομάκρυνσης της Fmoc ομάδας παρουσία πιπεριδίνης.

(iii) Ως αντιδραστήρια για την εισαγωγή της Fmoc ομάδας χρησιμοποιούνται συνήθως το 9H-φλουορεν-9-υλομεθυλοξυκαρβόνυλο χλωρίδιο (Fmoc-Cl), το *N*-(9H-φλουορεν-9-υλομεθοξυκαρβονυλόξυ ηλεκτριμίδιο (Fmoc-ONsu), το 2,7-δι-*tert*-βουτυλ-9H-φλουορεν-9-υλομεθοξυκαρβόνυλο χλωρίδιο (Dtb-Fmoc-Cl). Η χρήση του τριμεθυλοσίλυλο χλωριδίου (TMS-Cl), όταν χρησιμοποιείται ως αντιδραστήριο εισαγωγής της Fmoc-ομάδας το Fmoc-Cl, συμβάλλει στην αποφυγή σχηματισμού προστατευμένων διπεπτιδίων κατά την αντίδραση.

Ερωτήσεις:

1. Γιατί γίνονται οι εκχυλίσσεις με Et₂O;
2. Ποιος ο λόγος της προσθήκης της DIEA στο μίγμα της αντίδρασης;
3. Γιατί γίνεται η οξίνιση με 1N HCl;
4. Γράψτε την αντίδραση της L-Ala με το TMS-Cl.

Βιβλιογραφία

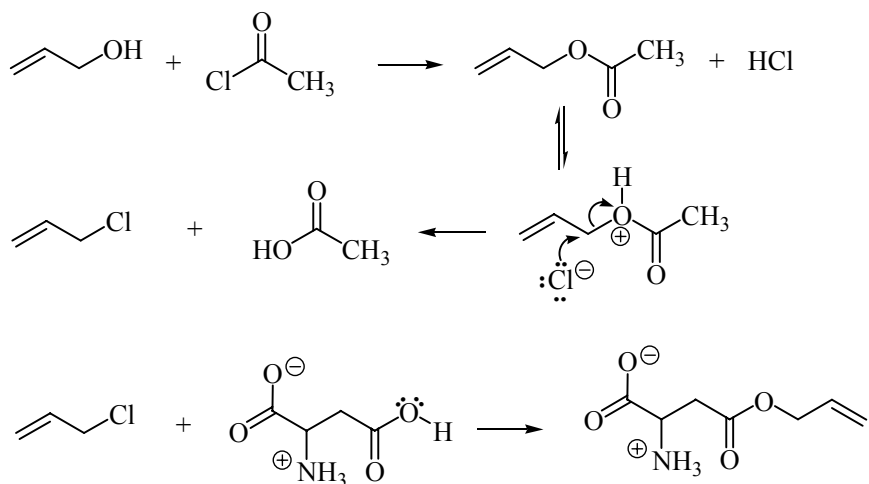
(1) Caprino, L. A.; Han, G. A. *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 3404. (2) Bodanszky, M. *Int. J. Peptide Protein Res.* **1985**, *25*, 449. (3) Chinchilla, R., Dodsworth, D. J., NaJera, C.; Soriano, J. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 1817. (4) Bolin, D. R.; Sytwu, J.-I.; Humiec, F.; Meienhofer, J. *Int. J. Peptide Protein Res.* **1989**, *33*, 353.

30. Προστασία καρβοξυλίου αμινοξέων:

β-Αλλυλεστέρας του ασπαρτικού οξέος (4-αλλυλοεστέρας του 2-αμινοηλεκτρικού οξέος, L-Asp-OAll)

$C_7H_{11}NO_4$, M.B. = 173.16, σ.τ. = °C

Αντίδραση-Μηχανισμός: Προστασία της καρβοξυλικής ομάδας των αμινοξέων



Αντιδραστήρια:

L-ασπαρτικό οξύ (L-Asp) (M. B. = 133.1, σ.ζ. = >300°C αποσυντίθεται)

ακέτυλο χλωρίδιο (M.B. = 78.5, σ.ζ. = 52°C, d = 1.104 g/ml)

αλλυλοχλωρίδιο (M. B. = 76.52, σ.ζ. = >45°C, d = 0.94 g/ml)

αλλυλική αλκοόλη (2-προπεν-1-όλη) (M.B. = 58.08, σ.ζ. = 97°C, d = 0.854 g/ml)

διχλωρομεθάνιο (σ.ζ. = 40°C)

διαιθυλαιθέρας (σ.ζ. = 34.6°C)

2.5% υδατικό όξινο ανθρακικό νάτριο

1 N υδροχλωρικό οξύ

οξικός αιθυλεστέρας (σ.ζ. = 77.1°C)

άνυδρο θειικό νάτριο ως ξηραντικό

πλάκες χρωματογραφίας λεπτής στοιβάδας (silica)^(a)

Μέθοδος παρασκευής:

Σε δίκαιμη σφαιρική φιάλη φέρονται 5 ml (4.27 g, 73 mmol) αλλυλικής αλκοόλης και ψύχονται σε παγόλουτρο^(b). Στάγδην προστίθενται 0.7 ml (9.7 mmol) ακέτυλο χλωριδίου. Το διάλυμα που προκύπτει αναδεύεται στους 2°C επί 15 λεπτά και στη συνέχεια 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου. Στο μίγμα της αντίδρασης προστίθενται 0.33 g (2.5 mmol) ασπαρτικού οξέος (L-Asp)^(c) σε μια δόση και το εναιώρημα που προκύπτει αναδεύεται επί 18 ώρες. Στη συνέχεια το

μίγμα της αντίδρασης μεταφέρεται σε φιάλη που περιέχει 25 ml παγωμένου αιθέρα. Μετά από μια ώρα ανάδευση στους 0°C το ίζημα συλλέγεται με διήθηση και εκπλύνεται στον ηθμόμε αιθέρα^(d). Να βρεθεί ο παράγοντας επιβράδυνσης (R_f) σε σύστημα της επιλογής σας.

Υπολογίστε την απόδοση (%), περιγράψτε κρυσταλλική μορφή και χρώμα, μετρήστε με ακρίβεια το σ.τ. και καταγράψτε τα φάσματα IR, ^1H NMR και MS του προϊόντος.

Παρατηρήσεις:

(a) Ετοιμάστε μια πλάκα χρωματογραφίας λεπτής στοιβάδας με τρεις θέσεις για τοποθέτηση δείγματος. Τοποθετήστε στην πρώτη θέση της χρωματογραφίας δείγμα L-Asp.

(b) Ακολουθήστε τη μεθοδολογία δίδοντας ιδιαίτερη προσοχή στο χειρισμό και τη προσθήκη του ακέτυλο χλωριδίου.

(c) Αμέσως μετά την προσθήκη του L-Asp στο μίγμα της αντίδρασης, τοποθετήστε δείγμα στη δεύτερη θέση της χρωματογραφίας (χρόνος ώρα 0). Στη συνέχεια 2 ώρες μετά την προσθήκη του L-Asp, τοποθετήστε δείγμα στην τρίτη θέση της χρωματογραφίας.

Αναπτύξτε τη χρωματογραφία επιλέγοντας το σύστημα μόνοι σας και εμφανίστε την με νινυδρίνη.

(d) Μετά την απομόνωση του προϊόντος, διαλύστε μικρή ποσότητα σε μεθανόλη και σε μια νέα πλάκα χρωματογραφίας με δύο θέσεις τοποθετήστε το δείγμα στην πρώτη θέση.

Τοποθετήστε από το διήθημα κηλίδα στη δεύτερη θέση της χρωματογραφίας, αναπτύξτε και εμφανίστε τη χρωματογραφία, όπως προηγουμένως. Σχολιάστε με τον επιβλέποντα το αποτέλεσμα.

Επεξηγήσεις:

(i) Σκοπός της άσκησης είναι η εκπαίδευση των φοιτητών στην εκλεκτική προστασία μιας καρβοξυλομάδας παρουσία περισσότερων δραστικών ομάδων, όπως της αμινομάδας και της δεύτερης καρβοξυλομάδας του ασπαρτικού οξέος.

(ii) Η προστασία της καρβοξυλομάδας των C-τελικών αμινοξέων των πεπτιδίων είναι απαραίτητη στην πεπτιδική σύνθεση σε υγρή φάση, επειδή μπορεί να συμμετέχει σε αντιδράσεις σύζευξης οδηγώντας στο σχηματισμό ανεπιθύμητων πεπτιδίων. Κατά την σύνθεση πεπτιδίων σε στερεή φάση το ρόλο της προστατευτικής ομάδας του C-τελικού καρβοξυλίου έχει στερεό υπόστρωμα πάνω στο οποίο προσδένεται το C-τελικό αμινοξύ. Εκτός όμως των περιπτώσεων αυτών, η προστασία καρβοξυλομάδων επιβάλλεται στην περίπτωση των δικαρβοξυλικών αμινοξέων, δηλ. του ασπαρτικού και του γλουταμινικού οξέος. Η παροδική προστασία της καρβοξυλομάδας επιτυγχάνεται με την μετατροπή της σε εστέρα. Οι συχνότερα χρησιμοποιούμενοι εστέρες είναι οι: βενζυλεστέρες (OBn), *t*-βουτυλεστέρες (O*t*-Bu), μεθυλεστέρες (OMe), κυκλοεξυλεστέρες (OCHx), αλλυλεστέρες (OAlI) κλπ. (Πίνακας 1).

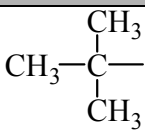
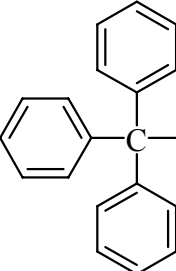
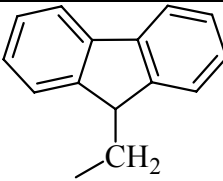
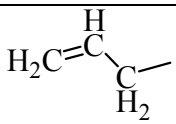
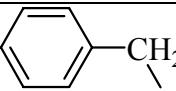
Οι προστατευτικές ομάδες του καρβοξυλίου θα πρέπει να διαθέτουν την ιδιότητα της ορθογωνικότητας με τις N^0 -αμινο-προστατευκές ομάδες.

Έτσι, στη σύνθεση πεπτιδίων σε στερεή φάση με τη Boc στρατηγική χρησιμοποιούνται συνήθως οι βενζυλεστέρες, οι κυκλοεξυλεστέρες και οι αλλυλεστέρες, ενώ με την Fmoc στρατηγική χρησιμοποιούνται οι *ε*-βουτυλεστέρες και οι αλλυλεστέρες.

Οι αλλυλεστέρες αποτελούν μια πολύ καλή επιλογή στην περίπτωση που επιδιώκεται η σύνθεση κυκλικών πεπτιδίων εξ ολοκλήρου στη στερεή φάση, καθώς και στην εκλεκτική αποπροστασία μιας αμινομάδας ή καρβοξυλομάδας για τη σύνθεση διακλαδισμένων πεπτιδίων κ.λ.π. Το πλεονέκτημα της αλλυλομάδας οφείλεται στο γεγονός ότι είναι σταθερή σε άνυδρες όξινες συνθήκες. Είναι δηλαδή συμβατή τόσο με την Fmoc όσο και την Boc στρατηγική. Απομακρύνεται εύκολα και εκλεκτικά με αντίδραση μεταφοράς υδριδίου ($\text{Bu}_3\text{SnH}/\text{DCM}$) παρουσία καταλυτικής ποσότητας $\text{Pd}(\text{P}(\text{C}_6\text{H}_5)_3)_4$.

Η σύνθεση των αλλυλεστέρων μπορεί να γίνει με διάφορους τρόπους χρησιμοποιώντας αλλυλική αλκοόλη, αλλυλοβρωμίδιο κ.λ.π.

Πίνακας 1. Προστατευτικές ομάδες καρβοξυλίου

<u>Όνομα</u>	<u>Συντακτικός τύπος</u>	<u>Αποπροστασί α</u>	<u>Σταθερότητα σε</u>
<i>ε</i> -Βουτυλο (<i>t</i> -Bu)		40% TFA HF	διαλ. βάσεων, καταλυτική υδρογόνωση
<i>ε</i> -Τριφαινυλο- μεθυλο (Ttt)		50% TFA	διαλ. βάσεων
9-Φλουορεν- υλομεθυλο (Fmoc)		4N NaOH 20-40% διαλ. πιπεριδίνης σε DMF	διαλ. οξέων
Αλλυλο (Allyl)		$\text{Pd-Bu}_3\text{SnH}$	διαλ. οξέων και διαλ. πιπερι- δίνης σε DMF
Μεθυλο (Me)	$\text{H}_3\text{C}-$	σαπωνοποίηση	διαλ. οξέων
Βενζυλο (Bn)		Pd/C-H_2	διαλ. οξέων

Ερωτήσεις:

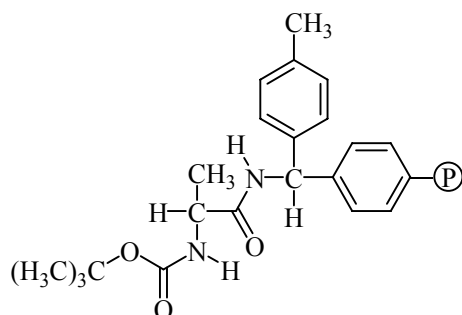
1. Σε ποια μορφή (ιοντική) λαμβάνεται το τελικό προϊόν
2. Δώστε μια εξήγηση γιατί ευνοείται ο σχηματισμός του β-αλλυλοεστέρα.
3. Τι παραπροϊόντα θα περιμένατε από την πραγματοποίηση της παραπάνω αντίδρασης;
4. Αναζητήστε και γράψτε τρόπους απομάκρυνσης της αλλυλομάδας.
5. Αν θέλατε να παρασκευάσετε Boc-Ala-OAlI, ποια ομάδα θα εισάγετε πρώτα και γιατί; 6. Ισχύει η ίδια διαδικασία και για την παρασκευή της Fmoc-Ala-OAlI;

Βιβλιογραφία:

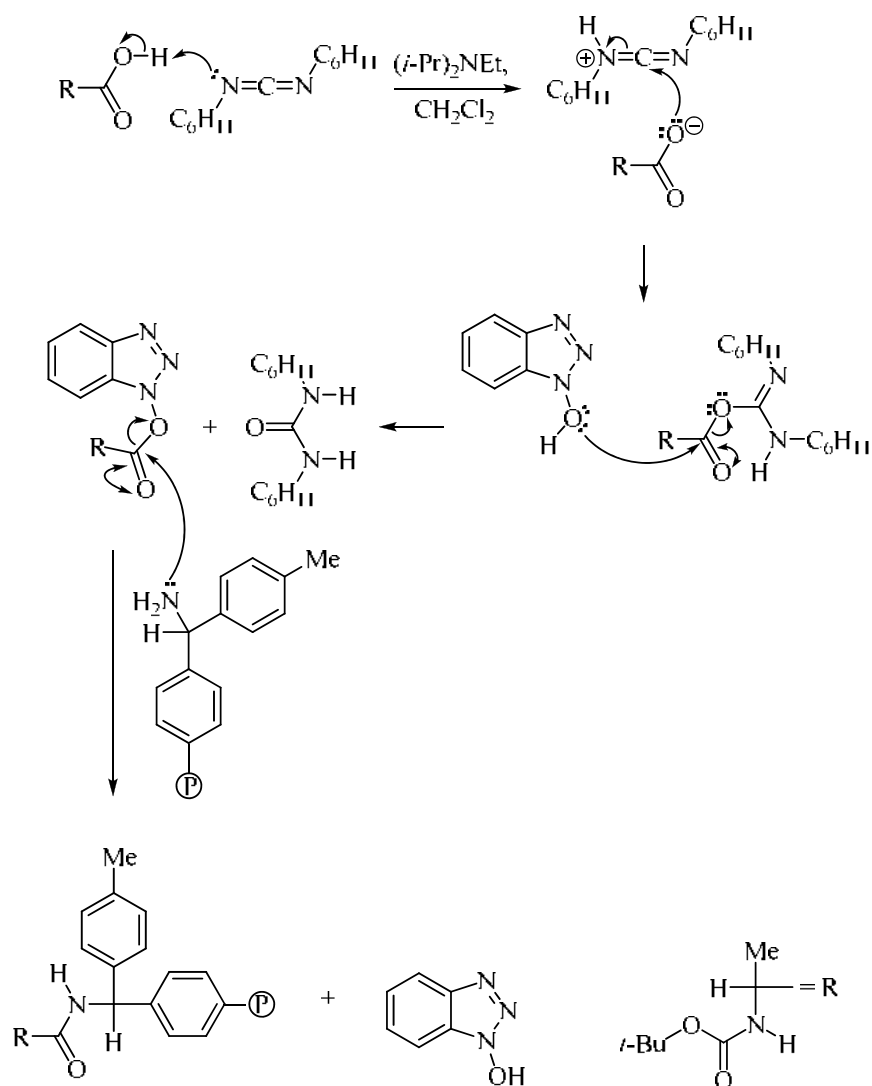
Webster, K.; Maude, A. B.; O'Donnel, E. Mehrota A. M. Gani, D. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **2001**, 1673.

31. Αντίδραση σε στερεά φάση

(*tert*-Βουτυλοξυκαρβονυλοαλανινο-4-μεθυλοβενζυδρυλαμίνη ρητίνη-MBHA)



Αντίδραση-Μηχανισμός: Σχηματισμός αμιδικού δεσμού (μεταξύ *tert*-βουτυλοξυκαρβονυλο- ή Boc-αλανίνης και 4-μεθυλοβενζυδρυλαμίνης ρητίνης)



Αντιδραστήρια:

N-(*tert*-βουτοξυκαρβονυλο)ανιλίνη (Boc-Ala) (M. B. = 189.21, σ.τ. = 83-85°C)

4-μεθυλοβενζυδρυλαμινο-ρητίνη (MBHA)

δικυλοεξυλοκαρβοδιιμίδιο (DCC, M.B.=206.33, σ.τ.=34°C) ή διισοπροπυλο-καρβοδιιμίδιο (DIC)

διισοπροπυλαιθυλαμίνη (DIEA ή *i*-Pr₂NEt) (M. B. = 129.24, σ.ζ. = 127-130°C, d = 0.742 g/ml)
διχλωρομεθάνιο (σ.ζ. = 40°C)

N,N-διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF) (M. B. = 73.09, σ.ζ. = 153°C, d = 0.944 g/ml)

1-υδροξυβενζοτρίαζόλιο (HOBt) (M. B. = 135.12, σ.τ. = 156-159°C)

οξικός ανυδρίτης (M. B. = 102.09, σ.ζ. = 139.8°C, d = 1.082 g/ml)

πυριδίνη (M. B. = 79.1, σ.ζ. = 115.2°C, d = 0.9819 g/ml)

αντιδραστήριο δοκιμής-εμφάνισης Kaiser

Μέθοδος παρασκευής:

Σε ένα δοχείο εφοδιασμένο με κατάλληλο φίλτρο και στρόφιγγα (Εικόνα) φέρονται 0.5 g MBHA ρητίνης και 5 ml 10% (v/v) DIEA⁽¹⁾ σε CH₂Cl₂. Το μίγμα αναδεύεται για 10-15 λεπτά. Διηθείται ο διαλύτης και η ρητίνη εκπλύνεται με CH₂Cl₂ (3×10 ml). Μετά την απομάκρυνση του τελευταίου εκπλύματος, στο δοχείο προστίθενται ~5 ml DMF. Σε μια ξεχωριστή μικρή κωνική φιάλη διαλύονται 1.5-2.5 ισοδύναμα (σε σχέση με την υποκατάσταση της ρητίνης) Boc-Ala και μια ισοδύναμη με τη Boc-Ala ποσότητα HOBt χρησιμοποιώντας τον ελάχιστο εφικτό όγκο DMF. Το διάλυμα αυτό προστίθεται στο δοχείο με τη ρητίνη. Στο μίγμα της αντίδρασης προστίθεται ποσότητα DCC ισοδύναμη με την Boc-Ala⁽²⁾. Το μίγμα της αντίδρασης αφήνεται υπό ανάδευση για 3-4 ώρες στη θερμοκρασία δωματίου^(a). Μετά τη διήθηση η ρητίνη εκπλύνεται με CH₂Cl₂ (3×10 ml). Στη συνέχεια, προστίθενται στο δοχείο με τη ρητίνη 2 ισοδύναμα οξικού ανυδρίτη⁽³⁾ (σε σχέση με την υποκατάσταση της ρητίνης) σε 2 ml πυριδίνη και αφήνεται η αντίδραση υπό ανάδευση επί 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά τη διήθηση, η ρητίνη εκπλύνεται με CH₂Cl₂ (3×10 ml). Σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα τοποθετούνται μερικοί κόκκοι ρητίνης και προστίθενται δυο σταγόνες από το κάθε διάλυμα του δοκιμής Kaiser. Ο δοκιμαστικός σωλήνας τοποθετείται για 20-30 λεπτά σε υδρόλουτρο. Στη περίπτωση εμφάνισης μπλε κόκκων (θετική δοκιμή Kaiser), επαναλαμβάνεται η αντίδραση με τον οξικό ανυδρίτη έως ότου ληφθούν μόνο λευκοί κόκκοι (αρνητική δοκιμή Kaiser). Μετά την ολοκλήρωση της ακετυλίωσης των ελευθέρων αμινομάδων της ρητίνης, η ρητίνη εκπλύνεται με DMF (3×10 ml), με CH₂Cl₂ (3×10 ml) και με μεθανόλη⁽⁴⁾ (3×10 ml)^(b). Ξηραίνεται υπό κενό μέχρι σταθερού βάρους. Υπολογίστε την απόδοση (%) του προϊόντος.



Εικόνα. Δοχείο σύνθεσης πεπτιδίων σε στερεή φάση.

Παρατηρήσεις:

(a) Ακολουθήστε τη μεθοδολογία επικεντρώνοντας την προσοχή σας στην καλή ανάδευση της ρητίνης, την ακριβή τήρηση της αλληλουχίας των εκπλύσεων και της προσθήκης των αντιδραστηρίων.

(b) Μετά την ολοκλήρωση των τελευταίων εκπλύσεων, μεταφέρατε τη ρητίνη από το δοχείο της αντίδρασης σε χωνί Googh με μεθανόλη και, αφού διηθήσετε υπό κενό, μεταφέρατε τη ρητίνη σε προζυγισμένο φιαλίδιο.

Επεξηγήσεις:

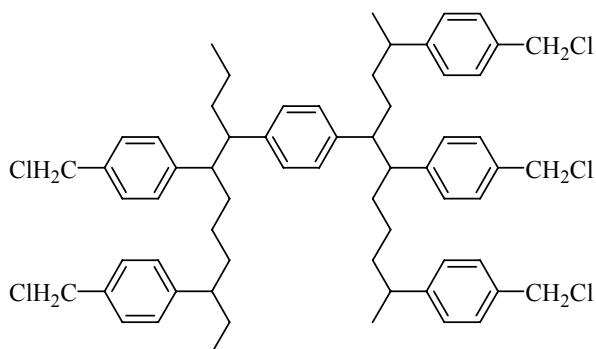
(i) Σκοπός της άσκησης είναι η εκπαίδευση των φοιτητών στις μεθοδολογίες χρήσης των στερεών υποστρωμάτων για την πραγματοποίηση αντιδράσεων οργανικής χημείας.

(ii) Πρόσδεση των αμινοξέων σε στερεό υπόστρωμα.

Η εισαγωγή της μεθοδολογίας σύνθεσης των πεπτιδίων σε στερεά φάση από το Merrifield το 1963, ο οποίος βραβεύτηκε γι' αυτό με το βραβείο Νόμπελ, αποτέλεσε σταθμό στην ανάπτυξη της Χημείας των πεπτιδίων.

Νέες προστατευτικές ομάδες αναζητήθηκαν και εφαρμόστηκαν νέες μέθοδοι ενεργοποίησης και σύζευξης των αμινοξέων, καθώς και νέα ή τροποποιημένα στερεά υποστρώματα. Σήμερα η σύνθεση σε στερεά φάση έχει επεκταθεί σχεδόν στο σύνολο της Οργανικής Χημείας και εμφανίζει τεράστια ανάπτυξη.

Το συμπολυμερές στυρολίου-διβινυλοβενζολίου ήταν το πρώτο στερεό υπόστρωμα που χρησιμοποιήθηκε στη σύνθεση πεπτιδίων. Φυσικά τροποποιήθηκε χημικά κατά τέτοιο τρόπο, ώστε να διαθέτει μια δραστική ομάδα, απ' την οποία να μπορεί να προσδεθεί το πρώτο αμινοξύ. Η χημική τροποποίηση που έγινε στο παραπάνω πολυμερές απ' το Merrifield ήταν η χλωρομεθυλίωσή του:



Το χλωρομεθυλιωμένο συμπολυμερές στυρολίου-διβινυλοβενζολίου.

Για να είναι κατάλληλο στη σύνθεση πεπτιδίων ένα στερεό πολυμερές θα πρέπει να έχει τις εξής ιδιότητες:

(α) Να είναι αδιάλυτο στους διαλύτες που χρησιμοποιούνται σ' όλα τα στάδια της σύνθεσης (το ευθύγραμμο π.χ. πολυστυρόλιο είναι διαλυτό σε υδρόφοβους διαλύτες και καταβυθίζεται σε πρωτικούς διαλύτες).

(β) Να διογκώνεται σημαντικά στους διαλύτες που χρησιμοποιούνται στην πεπτιδική σύνθεση (το πολυστυρόλιο με 1% DVB διογκώνεται 4-6 φορές από τον αρχικό του όγκο σε CH_2Cl_2 , ενώ το πολυστυρόλιο με 2% DVB 2-4 φορές). Στον παρακάτω πίνακα δίνεται η διόγκωση του πολυστυρολίου με 1% DVB σε διάφορους διαλύτες.

(γ) Το μέγεθος των κόκκων του πολυμερούς να είναι τέτοιο ώστε να επιτυγχάνεται μια καλή κινητική των αντιδράσεων και να αποφεύγονται μεγάλοι χρόνοι διήθησης. Για παράδειγμα, οι μικροί κόκκοι αυξάνουν την κινητική των αντιδράσεων λόγω της μεγαλύτερης επιφάνειας ανά μονάδα όγκου, αλλά στη πράξη οδηγούν σε μεγάλους χρόνους διήθησης. Κόκκοι με μέγεθος της τάξης των 100-200 mesh (75-150 μ) φαίνεται να είναι οι πλέον κατάλληλοι.

(δ) Να φέρει κατάλληλη δραστική ομάδα για την πρόσδεση του πρώτου αμινοξέος (Cl, OH, NH_2 κλπ.). Ο δεσμός που σχηματίζεται με την καρβοξυλομάδα του C-τελικού αμινοξέος να είναι σταθερός στις χρησιμοποιούμενες συνθήκες της πεπτιδικής σύνθεσης και να διασπάται με τρόπο που να μην επηρεάζονται οι πεπτιδικοί δεσμοί και οι άλλες πλευρικές ομάδες των αμινοξέων.

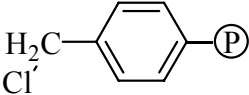
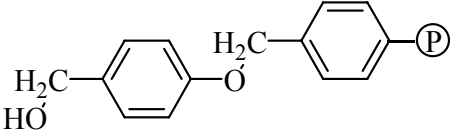
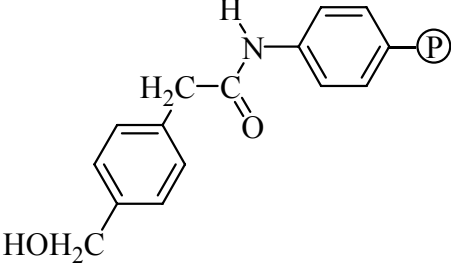
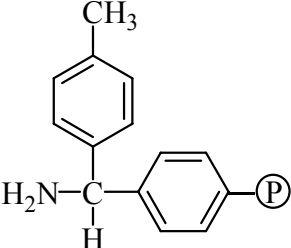
Πίνακας. Παράγοντας διόγκωσης του συμπολυμερούς στυρολίου-διβινυλοβενζολίου σε διάφορους οργανικούς διαλύτες (ml/g ρητινών).

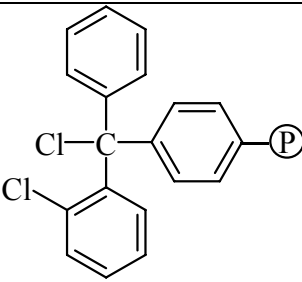
Διαλύτες	Παράγοντας διόγκωσης
Τετραϋδροφουράνιο (THF)	5,5
Τολουόλιο	5,3
Διχλωρομεθάνιο (DCM)	5,2
1,4-Διοξάνιο	4,9
N,N-Διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF)	3,5

Διαιθυλαιθέρας (Et ₂ O)	3,2
Ακετονιτρίλιο (MeCN)	4,7
Αιθανόλη (EtOH)	5,0
Μεθανόλη (MeOH)	1,8
Νερό	1 (μη διόγκωση)

Στο δεύτερο πίνακα που ακολουθεί δίδονται ορισμένα από τα στερεά υποστρώματα που χρησιμοποιούνται στη σύνθεση πεπτιδίων σε στερεή φάση

Πίνακας. Στερεά υποστρώματα που χρησιμοποιούνται στην πεπτιδική σύνθεση

Συμβολισμός	Δραστική ομάδα/βραχίονας	Μορφή C-τελικού αμινοξέος μετά την αποκοπή από τη ρητίνη
Merrifield		Ελεύθερο καρβοξύλιο
Wang		Ελεύθερο καρβοξύλιο
PAM		Ελεύθερο καρβοξύλιο
4-Μεθυλο-βενζυδρυλαμινορητίνη (MBHA)		Αμίδιο

2-Χλωροτρι- τυλορητίνη		Ελεύθερο καρβοξύλιο
---------------------------	---	---------------------

Ανάλογα με τη φύση της δραστικής ομάδας του στερεού υποστρώματος διαφοροποιείται και η μέθοδος πρόσδεσης του πρώτου αμινοξέος στη ρητίνη(του C-τελικού αμινοξέος του πεπτιδίου). Στα πλαίσια μιας εργαστηριακής άσκησης επιδιώκουμε την πρόσδεση της Boc-Ala στη 4-μεθυλοβενζυδρυλαμίνη ρητίνη (MBHA).

Ερωτήσεις:

1. Γιατί αρχικά γίνεται η προσθήκη του διαλύματος της DIEA;
2. Γράψτε τις αντιδράσεις μέσω των οποίων επιτυγχάνεται η σύζευξη της Boc-Ala στη ρητίνη με τη βοήθεια του DCC παρουσία HOBt. Ποιος είναι ο ρόλος του HOBt;
3. Γιατί κάνετε ακετυλίωση;
4. Γιατί η μεταφορά της ρητίνης μετά το τέλος της αντίδρασης γίνεται με μεθανόλη κι όχι με κάποιον άλλο διαλύτη π.χ. CH₂Cl₂;
5. Γράψτε ποιες άλλες ρητίνες θα μπορούσατε να χρησιμοποιήσετε για να πάρετε ένα πεπτίδιο στην αμιδική του μορφή στο C-τελικό άκρο.

Βιβλιογραφία

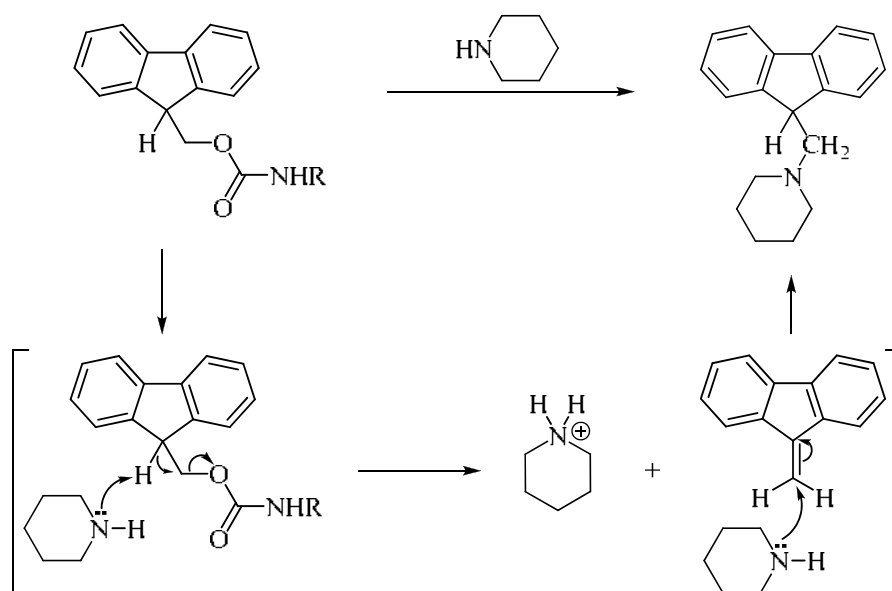
1. Merrifield, R. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 2149.

32. Προσδιορισμός υποκατάστασης ρητίνης

Εισαγωγή:

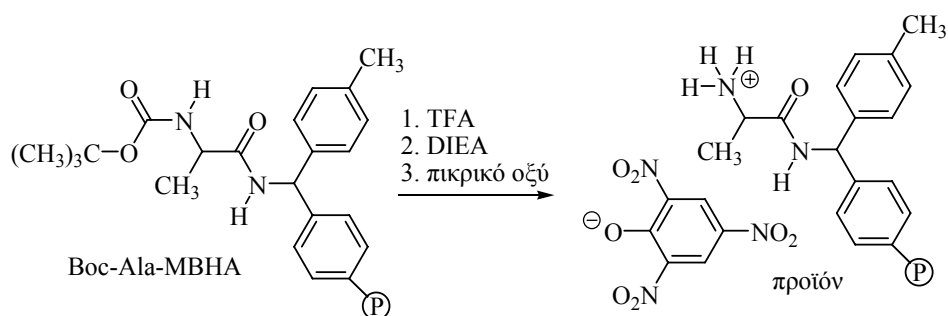
Ο προσδιορισμός της ποσότητας του πρώτου αμινοξέος που έχει προσδεθεί στη ρητίνη έχει ιδιαίτερη σημασία είναι απαραίτητος για τον υπολογισμό των αντιδραστηρίων που θα χρησιμοποιηθούν στη συνέχεια. Η υποκατάσταση (δηλ. ο αριθμός των δραστικών ομάδων) της ρητίνης εκφράζεται σε mmoles ανά γραμμάριο ρητίνης. Είναι προφανές ότι η υποκατάσταση μειώνεται με την αύξηση του μοριακού βάρους που προστίθεται στη ρητίνη.

Ανάλογα με την στρατηγική που θα ακολουθηθεί για την πεπτιδική σύνθεση (Boc ή Fmoc), η μέθοδος προσδιορισμού της υποκατάστασης είναι διαφορετική, αφού απαιτείται η ύπαρξη μιας ομάδας ή προϊόντος το οποίο να απορροφά στο UV. Έτσι στην Fmoc στρατηγική, το διφαινυλοφουλβένιο που προκύπτει από την αποπροστασία με πιπεριδίνη του Fmoc-αμινοξέος αντιδρά με την πιπεριδίνη και δίνει μια σταθερή τριτοταγή αμίνη (βλέπε σχήμα), η οποία απορροφά στα 290 nm με ένα μοριακό συντελεστή απορρόφησης 5800 ($\text{l mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$). Αντίθετα από την απομάκρυνση της Boc ομάδας, δεν προκύπτει παράγωγο που να απορροφά στο UV. Στη περίπτωση αυτή, η μετατροπή της αμινομάδας του αμινοξέος σε άλας του πικρικού οξέος και, ακολούθως, η εξουδετέρωσή της με διισοπροπυλοαιθυλαμίνη, οδηγεί σε λήψη του άλατος του πικρικού οξέος, το οποίο απορροφά στα 358 nm, με ένα μοριακό συντελεστή απορρόφησης 14500 ($\text{l mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$). Θα πρέπει να τονισθεί ότι, για την ακρίβεια του προσδιορισμού της υποκατάστασης της ρητίνης, ιδιαίτερη σημασία έχει η ζύγιση της ρητίνης που θα χρησιμοποιηθεί και το εάν η ξήρανσή της έχει γίνει καλά.

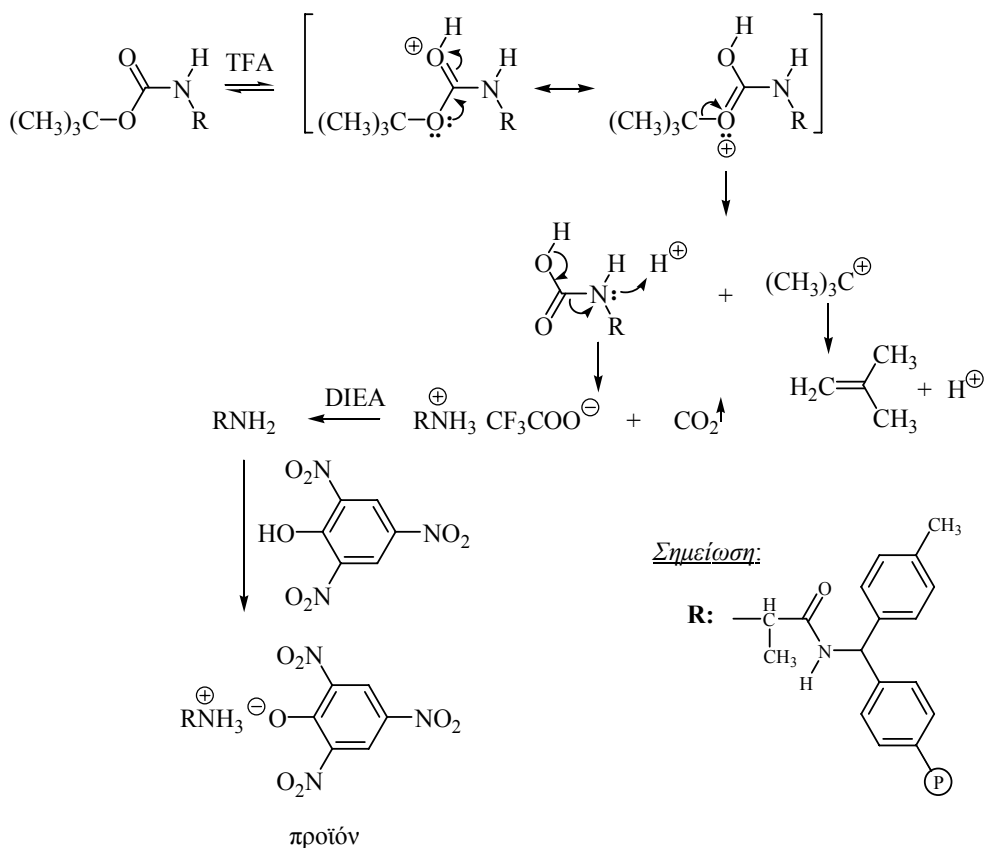


Σχήμα. Αντίδραση του διφουλβενίου με την πιπεριδίνη.

Αντίδραση:



Μηχανισμός:



Σκοπός της άσκησης:

Σκοπός της άσκησης είναι η εκπαίδευση των φοιτητών σε μεθοδολογίες προσδιορισμού υποκατάστασης στερεών υποστρωμάτων που χρησιμοποιούνται στη σύνθεση πεπτιδίων, στη συνδυαστική Χημεία και γενικότερα στην Οργανική Χημεία.

Αντιδραστήρια:

πικρικό οξύ (M. B. = 229.1, σ.τ. = 122.5°C)

5% (v/v) διισοπροπυλοαιθυλαμίνη (DIEA) σε διχλωρομεθάνιο

95.5% αιθανόλη

διχλωρομεθάνιο (DCM) (σ.ζ. = 40°C)

Boc-Ala-MBHA

40% (v/v) τριφθοροξικό οξύ σε διχλωρομεθάνιο

N,N-διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF)

Μέθοδος παρασκευής:

Ζυγίζονται 10 mg ξηρής Boc-Ala-MBHA σ' ένα μικρό κατάλληλο δοχείο εφοδιασμένο με ηθμό και στρόφιγγα και προστίθενται 3 ml 40% TFA σε DCM. Μετά από 15 λεπτά, διηθείται ο διαλύτης και εκπλύνεται η ρητίνη 3 φορές με DCM. Στη συνέχεια προστίθεται διάλυμα 5% DIEA σε DCM για δύο λεπτά. Διηθείται και επαναλαμβάνεται η προσθήκη διαλύματος 7% DIEA σε DCM. Διηθείται μετά από δύο λεπτά και εκπλύνεται η ρητίνη 5 φορές με DCM. Στη συνέχεια προστίθεται και αναδεύεται 2 φορές επί 1 λεπτό διάλυμα 1M πικρικού οξέος σε DCM. Ακολουθεί έκπλυση της ρητίνης με DCM (τουλάχιστον 5 φορές) και η έκλουση του πικρικού με προσθήκη διαλύματος 5% DIEA σε DCM. Η προσθήκη του διαλύματος 5% DIEA σε DCM (συνολικός όγκος ~ 10 ml) γίνεται τμηματικά σε 2-3 δόσεις. Συλλέγονται τα διηθήματα. Όταν ο τελικός όγκος των διηθημάτων είναι <10 ml, μεταφέρεται ποσοτικά σε ογκομετρική φιάλη των 50 ml και συμπληρώνεται μέχρι όγκου 50 ml με αιθανόλη. Στη περίπτωση που ο όγκος των διηθημάτων είναι πάνω από 10ml, απαιτείται συμπύκνωση τμήματος του διαλύτη στον περιστροφικό εξατμιστήρα. Σε οποιαδήποτε περίπτωση η τελική περιεκτικότητα του διαλύματος σε DCM δεν πρέπει να ξεπερνά το 20%. Από το διάλυμα της ογκομετρικής φιάλης γεμίζεται μια κυψελίδα UV και μετράται η απορρόφηση στα 358 nm. Στην περίπτωση που η απορρόφηση είναι μεγάλη (εκτός ορίων εφαρμογής του νόμου Lambert-Beer), γίνεται η κατάλληλη αραιώση με αιθανόλη η οποία θα πρέπει να ληφθεί υπόψη στον τελικό προσδιορισμό της υποκατάστασης. Μετρείται η απορρόφηση στα 358 nm και υπολογίζεται η υποκατάσταση εφαρμόζοντας τη σχέση:

$$Y = AV_{\text{ογκ}} / \epsilon Rsl,$$

όπου: Y - υποκατάσταση της ρητίνης σε mmol/g

A - Απορρόφηση στο 358 nm

V_{ογκ} - ο όγκος του τελικού διαλύματος (ml)

ε - συντελεστής μοριακής απορρόφησης (l mol⁻¹ cm⁻¹)

R_s - Το βάρος της Boc-Ala-MBHA που χρησιμοποιήθηκε (g)

l - Το μήκος της κυψελίδας UV (cm)

Εκτέλεση:

Ακολουθήστε τη μεθοδολογία επικεντρώνοντας την προσοχή σας στην ακριβή ζύγιση και την πολύ καλή έκπλυση της ρητίνης κάθε φορά.

Επαναλάβετε τη μεθοδολογία σε ένα δεύτερο δείγμα και υπολογίστε την υποκατάσταση ως το μέσο όρο των δύο μετρήσεων.

Ζητούμενα αποτελέσματα:

Υποκατάσταση της Boc-Ala-MBHA

Ερωτήσεις:

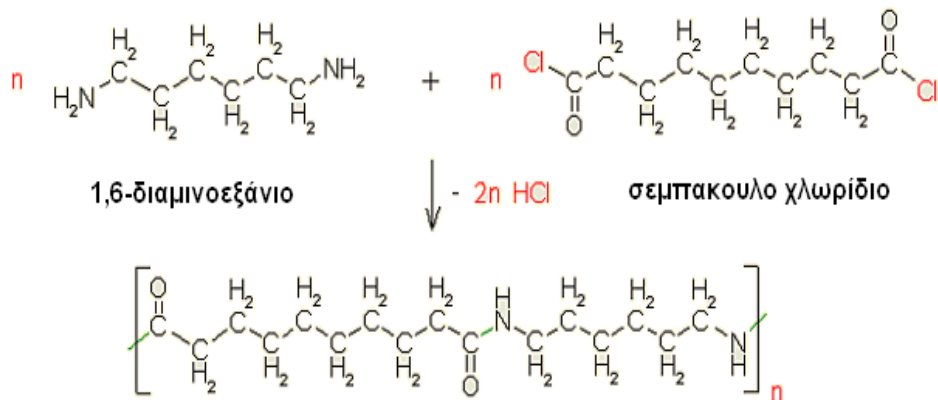
1. Σε ποιο από τα στάδια προσδιορισμού της υποκατάστασης μπορεί να οδηγηθούμε σε σοβαρό σφάλμα (εκτός απ' αυτά που προαναφέρθηκαν).
2. Όπως θα διαπιστώσετε, το πικρικό οξύ εμπεριέχει σημαντικό ποσοστό υγρασίας. Γιατί δεν πρέπει να το ξηράνουμε;
3. Υπολογίστε την υποκατάσταση της MBHA χωρίς τη Boc-Ala.

Βιβλιογραφία:

1. Chang, C. D.; Waki, M.; Ahmad, M.; Meienhofer, J.; Lundell, E. O.; Hang, J. D. *Int. J. Pept. Protein Res.* **1980**, *15*, 59-66.
2. Gisin, B. F. *Anal. Chim. Acta* **1972**, *58*, 248.

33. Νάϋλον-6,10

Αντίδραση: Πολυμερισμός (πολυσυμπύκνωση)

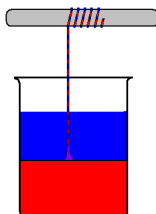


Αντιδραστήρια:

εξαμεθυλοδιαμίνη (hexamethylene diamine), άσπροι-κιτρινωποί κρύσταλλοι, (M.B. = 116.21, σ.τ. = 42°C, σ.ζ. = 205°C),

δεκανοδιοϋλο-διχλωρίδιο (σεμπακουλο-χλωρίδιο, sebacoyl chloride), άχρωμο ως ελαφρά κιτρινωπό υγρό έντονη οσμή, (M.B. = 239.14, σ.ζ. = 220°C, d = 1.12 g/ml), safety phrases: S26 S36 S37 S39 S45, risk phrases: R20 R21 R22 R34 R36 R37 R38

Μέθοδος παρασκευής:



Διαλύστε 1.0 g εξαμεθυλοδιαμίνης σε 25 ml νερού σε ένα ποτήρι ζέσης των 100 ml. Στη συνέχεια παρασκευάστε ένα διάλυμα 1.0 g δεκανοδιοϋλο-χλωριδίου σε 25 ml εξανίου. Αποχύστε προσεκτικά το διάλυμα του δεκανοδιοϋλο-χλωριδίου πάνω από το υδατικό διάλυμα της εξαμεθυλοδιαμίνης, με την βοήθεια μιας γυάλινης ράβδου. Ένα λεπτό υμένιο θα σχηματιστεί στη διεπιφάνεια. Τραβήξτε ένα νήμα από την διεπιφάνεια αυτή χρησιμοποιώντας μια λαβίδα, και σύρετέ το έξω από το ποτήρι ζέσεως. Με την βοήθεια μιας γυάλινης ράβδου και χρησιμοποιώντας την ως βαρούλκο, μαζέψτε το νήμα αργά σέρνοντάς το προς τα έξω (προσοχή πρέπει να ληφθεί ώστε η ίνα να τραβηχτεί κάθετα από το κέντρο του ποτηριού χωρίς να αγγίζει τις πλευρές του). Μόλις συλλεχθεί όλο το πολυμερές υλικό, ξεπλύνετε το καλά με νερό, και αφού το σκουπίστε επιφανειακά με μια πετσέτα, αφήστε το να ξεραθεί στην απαγωγό-εστία. Ξετυλίξτε το ξηρό νήμα και εξετάστε τις φυσικές του ιδιότητες.

35. Υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης (HPLC)

Εισαγωγή

Ο καθαρισμός των οργανικών ενώσεων αποτελεί ένα από το πιο δύσκολα και χρονοβόρα βήματα στη διαδικασία της σύνθεσής τους. Οι χρωματογραφικές τεχνικές είναι αυτές που κατά κανόνα χρησιμοποιούνται.

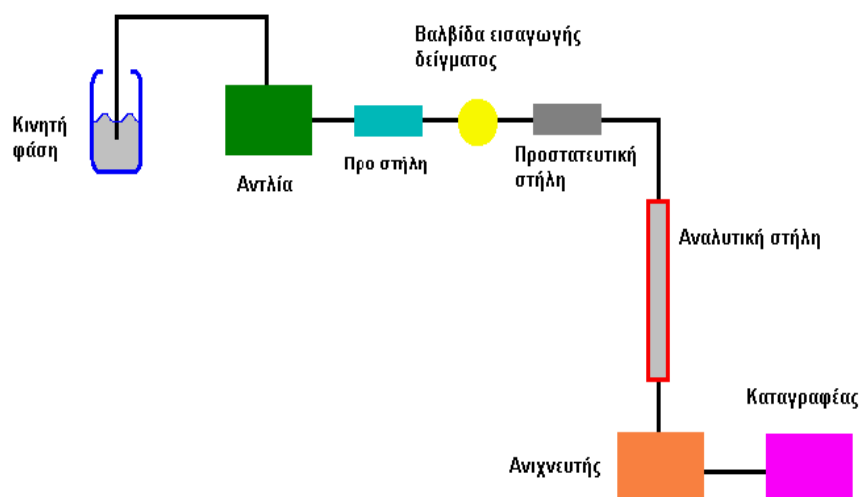
Η χρωματογραφία είναι μία από τις βασικές μεθόδους διαχωρισμού μίγματος ουσιών και στηρίζεται στην αρχή της κατανομής των συστατικών του μίγματος ανάμεσα σε δύο φάσεις. Ανάλογα με τη φύση των φάσεων που χρησιμοποιούνται οι χρωματογραφικές τεχνικές διακρίνονται σε: στερεού-υγρού (Α), υγρού-υγρού (Β), υγρού-αερίου (Γ).

Η μία από τις δύο φάσεις αποτελεί τη στάσιμη φάση μέσω της οποίας κινείται η δεύτερη, η οποία ονομάζεται κινητή φάση. Η κατανομή των συστατικών του μίγματος ανάμεσα στις δύο φάσεις εξαρτάται, ανάλογα με την τεχνική που χρησιμοποιείται, από τις σχετικές διαλυτότητες των συστατικών του μίγματος στις διαφορετικές φάσεις (χρωματογραφία υγρού-υγρού) ή την εκλεκτική τους προσρόφηση πάνω στην επιφάνεια του στερεού (χρωματογραφία στερεού-υγρού).

Η χρωματογραφία στερεού-υγρού, ανάλογα με την αρχή λειτουργίας, διακρίνεται σε: χρωματογραφία στήλης (column chromatography), χρωματογραφία πηκτής (gel filtration), χρωματογραφία ιοντοανταλλαγής (ion exchange), ανάστροφης φάσης (reverse Phase) και χρωματογραφία λεπτής στοιβάδος (thin layer chromatography, TLC).

Στη χρωματογραφία υγρού-υγρού εντάσσεται η χρωματογραφία κατανομής (partition chromatography).

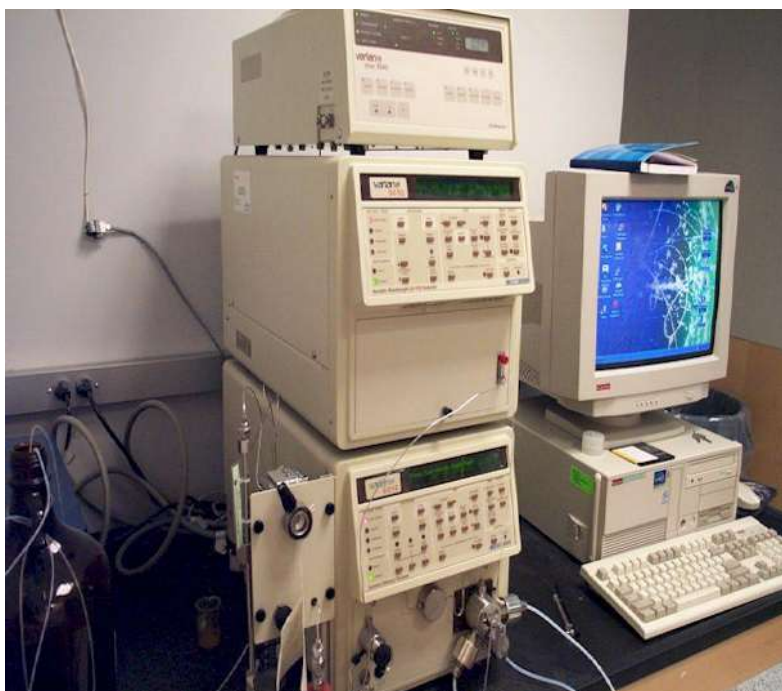
Κατά τον καθαρισμό των οργανικών ενώσεων, ιδιαίτερη εφαρμογή βρίσκουν οι τεχνικές της χρωματογραφίας ιοντοανταλλαγής, της χρωματογραφίας πηκτής, της χρωματογραφίας κατανομής και της ανάστροφης φάσης. Ιδιαίτερα, η εισαγωγή της HPLC (high performance Liquid Chromatography) έδωσε αρκετή ώθηση στην ανάπτυξη της πεπτιδοχημείας. Σήμερα έχουν αναπτυχθεί HPLC στήλες με μεγάλη ποικιλία στατικών φάσεων που επιτρέπουν την εκτέλεση διαφόρων τύπων χρωματογραφίας, όπως: ανάστροφης φάσης, προσρόφησης, ιοντοανταλλαγής κλπ. Στις παρακάτω εικόνες δίδονται διαγραμματικά τα μέρη ενός τυπικού οργάνου HPLC, καθώς και η φωτογραφία ενός τέτοιου οργάνου.



Εικόνα. Σχηματική αναπαράσταση των τμημάτων ενός οργάνου HPLC.

Η χρωματογραφία ανάστροφης φάσης στηρίζεται στην αρχή της υδροφιλικότητας και λιποφιλικότητας. Η σταθερή φάση αποτελείται από παράγωγα του πυριτίου με n-αλκυλομάδες προσδεμένες ομοιοπολικά. Στην εμπορική ονομασία των στηλών αναφέρονται πάντα οι συμβολισμοί π.χ. C-8 ή C-18, που σημαίνουν ότι οι n-αλκυλομάδες περιέχουν οκτώ ή δεκαοκτώ άτομα άνθρακα, αντίστοιχα. Όσο πιο υδρόφοβη (λιπόφιλη) είναι η στατική φάση (μεγάλη ανθρακική αλυσίδα) τόσο πιο ισχυρά συγκρατούνται οι λιπόφιλες ουσίες. Συνεπώς, οι υδρόφιλες ουσίες θα εκκλούνται πιο γρήγορα από τις λιπόφιλες.

Η κινητή φάση είναι ο διαλύτης ή το μίγμα διαλυτών που διοχετεύονται συνεχώς με τη βοήθεια της αντλίας στη στήλη (σταθερή φάση). Η αλληλεπίδραση της κινητής φάσης και του δείγματος με τη σταθερή φάση καθορίζει το βαθμό μετακίνησης και το διαχωρισμό των συστατικών του δείγματος. Για παράδειγμα, η έκλυση των δειγμάτων που έχουν ισχυρότερες αλληλεπιδράσεις με την κινητή φάση απ' ό,τι με τη σταθερή, θα γίνει γρηγορότερα και θα έχουν μικρό χρόνο κατακράτησης. Η σύσταση της κινητής φάσης μπορεί να παραμένει σταθερή (ισοκρατικό σύστημα έκλυσης) ή να μεταβάλλεται (βαθμιδωτό σύστημα έκλυσης). Στη χρωματογραφία ανάστροφης φάσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί ένα μεγάλο εύρος οργανικών διαλυτών και υδατικών διαλυμάτων (διαφορετικής ιοντικής ισχύος και pH) με την προϋπόθεση ότι είναι πολύ καθαροί και δεν επηρεάζουν τη χημική σταθερότητα της σταθερής φάσης. Η επιλογή τους εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη φύση των συστατικών του προς καθαρισμό μίγματος. Στα πεπτίδια χρησιμοποιούνται συνήθως όξινες συνθήκες μίγματος ακετονιτρίλιου/νερού (οι όξινες συνθήκες επιτυγχάνονται με την προσθήκη 0,1% (v/v) TFA). Για την ανίχνευση των ουσιών του μίγματος χρησιμοποιούνται διάφορων τύπων ανιχνευτές όπως UV, δείκτη διάθλασης, κλπ. Στην περίπτωση των πεπτιδίων χρησιμοποιείται ευρύτατα ο ανιχνευτής UV στα μήκη κύματος 214-220 nm. Από την καταγραφή της απορρόφησης συναρτήσει του χρόνου προκύπτει το χρωματογράφημα το οποίο καταγράφεται στον καταγραφέα..

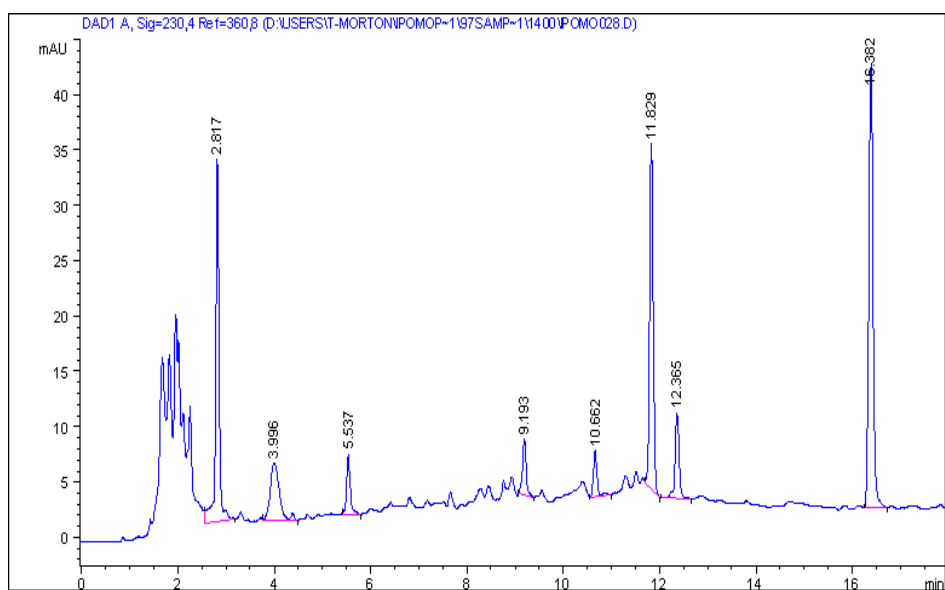


Εικόνα. Όργανο HPLC.

Η επιφάνεια των συστημάτων του χρωματογραφήματος αντικατοπτρίζει τη συγκέντρωση των αντίστοιχων συστατικών του μίγματος.

Ο διαχωρισμός των συστατικών ενός μίγματος, εκτός απ' όσα αναφέρθηκαν μέχρι τώρα, εξαρτάται από παράγοντες όπως η ροή της κινητής φάσης, το μέγεθος και την ομοιομορφία των κόκκων της σταθερής φάσης, την ποσότητα του δείγματος κλπ.

Ακολουθεί η εικόνα ενός HPLC χρωματογραφήματος, στο οποίο καταγράφονται οι χρόνοι κατακράτησης των συστατικών του μίγματος:



Εικόνα. Μορφή ενός χρωματογραφήματος HPLC.

Ανάλογα με την ικανότητα των αντλιών του οργάνου, κατατάσσονται σε όργανα αναλυτικής και παρασκευαστικής HPLC, αντίστοιχα. Η ποσότητα του δείγματος που μπορεί να διοχετευθεί σε μια αναλυτική HPLC είναι της τάξης του 1mg και η ροή του διαλύτη έκλουσης της τάξης του 1 ml/min. Οι αναλυτικές στήλες έχουν διαστάσεις 4-5 mm x 250 mm. Αντίθετα, στη παρασκευαστική HPLC, ανάλογα και με το μέγεθος της στήλης, μπορεί να ενεθεί δείγμα της τάξης του γραμμαρίου. Η διαδικασία που ακολουθείται συνήθως είναι η διερεύνηση των καλλίτερων συνθηκών διαχωρισμού (στήλη, διαλύτη έκλουσης, ταχύτητα ροής) στην αναλυτική HPLC και στη συνέχεια λαμβάνοντας υπ' όψη τις αναλογίες των στηλών (όγκος παρασκευαστικής/όγκος αναλυτικής) προσδιορίζεται η ταχύτητα ροής στη παρασκευαστική. Για παράδειγμα, αν στην αναλυτική HPLC η ταχύτητα ροής ήταν 1ml/min και η αναλογία των όγκων των στηλών είναι 25, τότε η ταχύτητα ροής στην παρασκευαστική θα είναι 25 ml/min.

Σκοπός της άσκησης

Σκοπός της άσκησης είναι η εκπαίδευση των φοιτητών σε διαχωρισμούς πολύπλοκων μιγμάτων και η εξοικείωσή τους με σύγχρονες χρωματογραφικές τεχνικές καθαρισμού όπως είναι η HPLC.

Αντιδραστήρια: πεπτιδίο, τριφθοροξικό οξύ (TFA) καθαρότητα HPLC, ακετονιτρίλιο καθαρότητα HPLC, μεθανόλη καθαρότητα HPLC

Μέθοδος παρασκευής:

1 mg πεπτιδίου διαλύονται σε 1 ml H₂O που περιέχει 0.1% TFA. Το δείγμα διηθείται σε κατάλληλο φίλτρο για την απομάκρυνση τυχόν στερεών αιωρημάτων. Πλένεται η στήλη με μεθανόλη επί 30 λεπτά και στη συνέχεια προγραμματίζεται η αναλυτική συσκευή της HPLC με την παρακάτω διαδικασία, έχοντας ως διαλύτες A: H₂O/0.1% TFA και B: CH₃CN/ 0.1% TFA.

Διαλύτης A(%)	Διαλύτης B(%)	Χρόνος (min)	Ροή (ml/min)
100	0	0	1
50	50	30	1

Εξισορροπείται η στήλη με την αρχική σύσταση του διαλύτη έκλουσης (100% (H₂O/0.1% TFA) για 15 λεπτά. Μηδενίζεται η απορρόφηση του διαλύτη και ελέγχεται αν υπάρχει σημαντική μεταβολή της. Στο βαθμό που παραμένει σταθερή (κοντά στο 0) εισάγεται το δείγμα 20 μl από τη βαλβίδα εισαγωγής του δείγματος και ξεκινάμε το πρόγραμμα έκλουσης. Όταν ολοκληρωθεί το πρόγραμμα έκλουσης, πλένουμε την κολώνα με μεθανόλη και τέλος με μεθανόλη/νερό (20/80). Ανάλογα με τη φύση του χρωματογραφήματος που καταγράφηκε, μεταβάλλουμε τις συνθήκες που θεωρούμε ότι μπορούν να συμβάλλουν στον καλλίτερο διαχωρισμό (π.χ. ξεκινάμε με αναλογία διαλυτών 95% H₂O:0.1% TFA, 5% ACN: 0.1% TFA ή

μεταβάλλουμε το χρόνο έκλουσης κλπ.) και επαναλαμβάνουμε με τη διαδικασία έως ότου επιτευχθεί ικανοποιητικός διαχωρισμός.

Ζητήστε από τον τεχνικό να σας δείξει τον τρόπο προγραμματισμού και λειτουργίας του οργάνου HPLC.

Σημειώστε στο τετράδιο τη διαδικασία.

Ετοιμάστε το δείγμα σύμφωνα με τη μεθοδολογία.

Διηθήστε τους διαλύτες έκλουσης που θα χρησιμοποιήσετε στη συσκευή διήθησης των διαλυτών HPLC χρησιμοποιώντας τα κατάλληλα φίλτρα που θα σας υποδειχθούν από τον τεχνικό.

Τοποθετήστε τους διαλύτες στα δοχεία της HPLC και συμβουλευτείτε τον τεχνικό για την απαέρωσή τους.

Εξισορροπήστε τη στήλη σύμφωνα με τη μεθοδολογία και τη βοήθεια του τεχνικού και εισάγετε το δείγμα στη συσκευή. Εκτελέστε τη διαδικασία έκλουσης και καταγραφής του χρωματογραφήματος με τη βοήθεια του τεχνικού. Συζητήστε με τον επιβλέποντα το αποτέλεσμα και επιλέξτε τις μεταβολές των συνθηκών του πειράματος για την επίτευξη καλλίτερου διαχωρισμού.

Επαναλάβετε τη διαδικασία με τις συνθήκες της επιλογής σας.

Ζητούμενα αποτελέσματα- Ερωτήσεις

1. Να βρεθούν οι συνθήκες καλλίτερου διαχωρισμού του πεπτιδίου από τις προσμίξεις και το ποσοστό (%) του πεπτιδίου σας στο δείγμα.
2. Γιατί προτιμάται το όξινο pH στον καθαρισμό των πεπτιδίων και όχι π.χ. το pH ~7;
3. Σε ποια περίπτωση θα χρησιμοποιούσατε μια στήλη C-8;
4. Ποιο άλλο μήκος κύματος στον UV ανιχνευτή θα μπορούσατε να χρησιμοποιήσετε και σε ποια περίπτωση;



Τυπώθηκε στο Πανεπιστημιακό Τυπογραφείο
με δαπάνη του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.



Copyright: Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Απαγορεύεται η μερική ή ολική ανατύπωση, καθώς και η λήψη φωτοαντιγραφικών από το βιβλίο χωρίς τη γραπτή άδεια του Τμήματος Δημοσιευμάτων του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και του συγγραφέα.

Διανέμεται Δωρεάν στους φοιτητές.