



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων & Διατροφής του Ανθρώπου

**Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών:
«Επιστήμη & Τεχνολογία Τροφίμων & Διατροφή του Ανθρώπου»**

Κατεύθυνση VI: ΜΕΛΕΤΗ ΚΑΙ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

**«ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΕΡΠΕΝΟΕΙΔΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ
ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ ΕΝΤΟΜΩΝ»**

Μεταπτυχιακή Διατριβή



Αλεξάνδρα Α. Παπαϊωάννου

Επιβλέπων: Κουλαδούρος Ηλίας, Καθηγητής Γ.Π.Α.

**Αθήνα
Ιανουάριος / 2020**

**«ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΕΡΠΕΝΟΕΙΔΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ
ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ ΕΝΤΟΜΩΝ»**

**“SYNTHESIS OF TERPENOIDS AND EVALUATION OF THEIR
INSECTICIDAL ACTIVITY”**

Μεταπτυχιακή Διατριβή

Αλεξάνδρα Δ. Παπαϊωάννου

Επιβλέπων: Κουλαδούρος Ηλίας, Καθηγητής Γ.Π.Α.

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

**Κουλαδούρος Ηλίας, Καθηγητής Γ.Π.Α.
Δρ. Βιδάλη Βερονίκη, Γ' Ερευνήτρια Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. «Δημόκριτος»
Κυμπάρης Αθανάσιος, Αναπληρωτής Καθηγητής Δ.Π.Θ.**

Αθήνα
Ιανουάριος / 2020

Ευχαριστίες

Το συνθετικό μέρος της παρούσας εργασίας εκπονήθηκε στο Εργαστήριο σύνθεσης Φυσικών Προϊόντων και Βιοοργανικής Χημείας του Ινστιτούτου Νανοτεχνολογίας του ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος», ενώ οι βιοδοκιμές εκπονήθηκαν στο Εργαστήριο Γεωργικής Εντομολογίας στο Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο. Η διπλωματική αυτή αποτελεί κόπο πολλών ανθρώπων και η ολοκλήρωσή της δε θα ήταν δυνατή χωρίς τη συμβολή τους.

Οφείλω καταρχάς να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα Καθηγητή μου κύριο Κουλαδούρο Ηλία για την ευκαιρία που μου έδωσε να ασχοληθώ με το κομμάτι της σύνθεσης και την ευκαιρία να εκπονήσω τη διπλωματική αυτή σε συνεργασία με δύο μεγάλα Ινστιτούτα. Τον ευχαριστώ επίσης για τα πιο «φευγάτα» μαθήματα οργανικής χημείας κατά τη διάρκεια των μαθημάτων του μεταπτυχιακού μου, τα οποία και θα θυμάμαι για πάντα.

Νιώθω βαθιά ευγνωμοσύνη προς την Ερευνήτρια κυρία Δρ. Βιδάλη Βερονίκη για την επίβλεψη της εργασίας μου, το συνεχές ενδιαφέρον της και την καθοδήγησή της. Την ευχαριστώ ολόψυχα για την εκπαίδευση που μου παρείχε στο κομμάτι των εργαστηριακών τεχνικών και την βοήθεια που μου προσέφερε, τόσο σε θεωρητικό όσο και σε πρακτικό επίπεδο. Καθόλη τη διάρκεια της μελέτης ήταν δίπλα μου σε ό,τι τη χρειαζόμουν. Τέλος, την ευχαριστώ για τις αξέχαστες στιγμές μας στο εργαστήριο.

Θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στον Καθηγητή μου κύριο Κυμπάρη Αθανάσιο, ο οποίος με εμπιστεύτηκε και μου πρότεινε το θέμα της εργασίας μου, το οποίο αποτελεί συνέχεια προηγούμενης δικιάς του μελέτης. Καθ' όλη τη διάρκεια των πειραμάτων ήταν πρόθυμος να προσφέρει τις γνώσεις του και τις συμβουλές του.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Ερευνητή κύριο Δρ. Παπαχρήστο Δημήτρη στο Μ.Φ.Ι για την καθοδήγησή του σχετικά με τις βιοδοκιμές και τις δοσολογίες των ποσοτήτων. Επίσης, νιώθω χρέος μου να τον ευχαριστήσω για τον υπολογισμό των τιμών LC_{50} .

Θα ήθελα να ευχαριστώ επίσης τον Μουχτούρη Βασίλη για την εκπαίδευση και την υπομονή του κατά την πρώτη μου επαφή με το εργαστήριο. Ευχαριστώ πολύ τα «αλάνια» του εργαστηρίου Αλέξανδρο Τσάνκο και Βαγγέλη Γεωργά που έκαναν τόσο ευχάριστη την καθημερινότητα στο εργαστήριο, για τα πειράγματα και τις συζητήσεις, αλλά για τη βοήθειά τους στα χημικά ζητήματα.

Το μεταπτυχιακό αυτό δε θα ήταν το ίδιο χωρίς την “partner in crime” μου Μακρή Αποστολία. Ευχαριστώ πολύ την Ολίτσα μου για την πολύτιμη φιλία της καθ' όλη τη διάρκεια

του μεταπτυχιακού μας, τις αμέτρητες ευχάριστες στιγμές και τις καθημερινές μας κουβέντες, αλλά και την υπομονή και τη συμπαράστασή της. Τέλος, ευχαριστώ εγκάρδια όλους τους δικούς μου ανθρώπους για τη συνεχή τους στήριξη και ενθάρρυνση κατά το διάστημα των μεταπτυχιακών μου σπουδών.

Περίληψη

Τα εδώδιμα γεωργικά προϊόντα κατά την επεξεργασία ή την αποθήκευσή τους προσβάλλονται από έντομα με ζημιογόνο δράση, καθιστώντας τα ακατάλληλα προς κατανάλωση. Στη βιομηχανία σιτηρών έχουν χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν διάφορες μέθοδοι για την καταπολέμηση των εντόμων αποθήκης. Η συνεχής και αλόγιστη χρήση των συνθετικών εντομοκτόνων όμως, έχει επιφέρει σημαντικές επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία και το περιβάλλον. Επίσης, η μαζική χρήση των εντομοκτόνων προκάλεσε φαινόμενα ανθεκτικότητας των εντόμων στις δραστικές τους ουσίες. Για αυτούς τους λόγους, αναζητούνται εναλλακτικές μέθοδοι απεντόμωσης στους δευτερογενείς μεταβολίτες των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών. Τα μονοτερπένια, τα κύρια συστατικά των αιθερίων ελαίων των φυτών, διαθέτουν εντομοκτόνες ιδιότητές που τα καθιστούν σημαντικούς παράγοντες για την ασφαλή, αποτελεσματική και βιοαποικοδομήσιμη αντιμετώπιση των παρασίτων.

Η παρούσα διπλωματική εργασία, αφορά τη σύνθεση εποξειδωμένων παραγώγων κυκλικών μονοτερπενίων και τη βιολογική τους αξιολόγηση ως υποκαπνιστικά εντομοκτόνα στο είδος *S. Oryzae*. Επιπλέον, επιχειρήθηκε να μελετηθεί η σχέση δομής – δράσης που προκύπτει μεταξύ των αρχικών μορίων και των εποξειδωμένων παραγώγων τους. Για τον σκοπό αυτό, σχεδιάστηκαν και συνθέθηκαν εποξειδωμένα και spiro-εποξειδωμένα παράγωγα από τις εξής αρχικές ενώσεις: τερπινολένιο, R-(+)-λιμονένιο, (-)-μενθόνη, πιπεριτενόνη, πιπεριτόνη, R-(+)-πουλεγόνη, (-)-ισοπουλεγόλη και (+)-ισοπουλεγόλη, R-(-)-καρβόνη και S-(+)-καρβόνη και (+)-διυδροκαρβόνη. Τα τερπενοειδή παράγωγα δοκιμάστηκαν στη συνέχεια σε εκτροφές του είδους *S. Oryzae* και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως LC₅₀.

Από τα αποτελέσματα προκύπτει ότι οι ενώσεις που φέρουν στο μόριό τους διπλούς δεσμούς σε συζυγία με το καρβονύλιο παρουσιάζουν αυξημένη δραστηριότητα, όμως η εποξείδωση των δεσμών αυτών οδηγεί σε πλήρη εκμηδενισμό της. Επιπλέον, παρουσιάστηκε μείωση της δραστηριότητας των ενώσεων στις οποίες το καρβονύλιο μετατράπηκε σε spiro-εποξείδιο. Τέλος, οι διεποξειδωμένες και τριεποξειδωμένες δομές είχαν σαν αποτέλεσμα την πλήρη απώλεια της δραστηριότητάς τους.

Αθήνα

Λέξεις κλειδιά: έντομα αποθήκης, σκαθάρι του ριζιού, εντομοκτόνα, τερπενοειδή, εποξείδωση, spiro-εποξείδωση, εποξείδιο, spiro-εποξείδιο, διεποξείδιο, τριεποξείδιο

Abstract

Edible agricultural products during their processing or storage are affected by insects, making them unsuitable for consumption. In the past, various methods have been used by the cereal industry to combat warehouse insects. However, the continued and thoughtless use of synthetic insecticides has had a significant impact on human health and the environment. Needless to say, the massive use of insecticides has led to insect's resistance to their active substances. For these reasons, alternative insecticidal methods are being sought in secondary metabolites of aromatic and medicinal plants. Monoterpenes, the main ingredients of the essential oils of plants, present insecticidal properties that make them important agents for the safe, effective and biodegradable treatment of pests.

This present thesis focuses on the synthesis of epoxide derivatives of cyclic monoterpenes and their biological evaluation as fumigant insecticides in the species *S. Oryzae*. In addition, an attempt was made to study the structure-activity relationship between the original molecules and their epoxide derivatives. To this end, epoxy and spiro-epoxide derivatives from the following starting compounds were designed and synthesized: terpinolene, R - (+) - limonene, (-) - menthone, piperitenone, piperitone, R - (+) - pulegone, (-) - isopulegol and (+) - isopulegol, R - (-) - carvone and S - (+) - carvone and (+) - dihydrocarvone. The terpenoid derivatives were then tested on *S. Oryzae* species and the results were expressed as LC₅₀.

The results indicate that the compounds with conjugated double bonds exhibit increased activity, but the epoxidation of these bonds results in the complete elimination of their bioactivity. In addition, there was a decrease in the activity of the compounds in which the carbonyl group was converted to spiro-epoxide. Finally, the diepoxidised and triepoxidised structures resulted in the complete loss of their activity. Overall, multiple epoxidations on the same molecule and spiro-epoxidations did not result in increased activity.

Athens

Key words: stored-product insects, *sitophilus oryzae*, insecticides, terpenoids, epoxidation, spiro-epoxidation, epoxide, spiro-epoxide, diepoxide, triepoxide

Περιεχόμενα

Ευχαριστίες	II
Περίληψη	IV
Abstract	V
Κατάλογος πινάκων	VIII
Κατάλογος εικόνων	VIII
Κατάλογος σχημάτων.....	IX
Κατάλογος συντημήσεων.....	XI
1. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	1
1.1 Τα έντομα αποθήκης.....	1
1.2 Sitophilus Oryzae.....	4
1.3 Εντομοκτόνα.....	7
1.3.1 Εντομοκτόνα επαφής (Contact insecticides)	7
1.3.1.1 Πυρεθροειδή	7
1.3.1.2 Οργανοφωσφορικά.....	8
1.3.1.3 Καρβαμικά	10
1.3.1.4 Χλωριωμένοι υδρογονάνθρακες	11
1.3.2 Υποκαπνιστικά εντομοκτόνα (Fumigants)	16
1.3.3 Τοξικότητα εντομοκτόνων	23
1.3.4 Διασπορά των εντομοκτόνων	24
1.3.5 Η ανθεκτικότητα στα εντομοκτόνα.....	26
1.4 Τα φυσικά προϊόντα ως εντομοκτόνα	27
1.5 Μονοτερπένια τύπου p-menthane – οξυγωνομένα παράγωγα.....	30
2. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	35
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	39
3.1 Συνθετικές μέθοδοι.....	39
3.1.1 Μέθοδος με m-CPBA.....	40
3.1.2 Μέθοδος με H ₂ O ₂	49
3.1.3 Μέθοδος με Me ₃ SI και Me ₃ OSI	55
3.1.4 Μέθοδος με Wittig και m-CPBA.....	62
3.2 Μελέτες τοξικότητας έναντι των εντόμων αποθήκης	64

4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ - ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ.....	69
5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	71
6. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	74
6.1 Γενικά.....	74
6.2 Συνθετική πορεία.....	75
6.3 Βιοδοκιμές.....	107
7. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ NMR.....	109

Κατάλογος πινάκων

Αριθμός	Περιεχόμενα	Σελίδα
1	Δομές κυριότερων εντομοκτόνων επαφής.	14
2	Δομές ενώσεων προς σύνθεση και αξιολόγηση.	37
3	Τα αποτελέσματα των βιοδοκιμών στο <i>S. Oryzae</i> εκφρασμένα σε LC ₅₀ .	67
4	Δομές spiro-παραγώγων προς περαιτέρω μελέτη.	70

Κατάλογος εικόνων

Αριθμός	Περιεχόμενα	Σελίδα
1.2.1	Το έντομο <i>S. oryzae</i> .	4
1.2.2	Η παγκόσμια διασπορά του <i>S. oryzae</i>	4
1.2.3	Ο κύκλος ζωής του <i>S. Oryzae</i>	5
1.3.2.1	Ο υποκαπνισμός γίνεται από εξειδικευμένο προσωπικό με κατάλληλο εξοπλισμό.	19
1.4.1	Η νικοτίνη (Α) και η ροτενόνη (Β) αποτελούν συνηθισμένα φυσικά εντομοκτόνα.	27
1.5.1	Η παρουσία ετεροκυκλικών ατόμων και εποξειδίων μειώνει τη δραστηριότητα ενάντια στο κουνούπι τίγρης (<i>Santos et al.</i>).	32
1.5.2	Οι εποξειδωμένες μορφές ήταν περισσότερο δραστικές σε σχέση με τις μη εποξειδωμένες ενάντια στο ασιατικό κουνούπι τίγρης (<i>Giatropoulos et al.</i>).	33
1.5.3	Η σχετική θέση του εποξειδίου επηρεάζει τη δραστηριότητα.	34

Κατάλογος σχημάτων

Αριθμός	Περιεχόμενα	Σελίδα
1.5.1	Η καταλυτική υδρογόνωση του λιμονενίου, του τερπινολενίου και του π-κυμενίου οδηγούν στη δομή του π-μενθανίου.	30
3.1.1	Γενικό σχήμα εποξειδώσεων	39
3.1.1.1	Μηχανισμός εποξειδωσης με m-CPBA.	40
3.1.1.2	Εποξειδωση του τερπινολενίου βάσει βιβλιογραφίας (Carman et al.).	42
3.1.1.3	Αντίδραση εποξειδωσης του τερπινολενίου (1).	43
3.1.1.4	Σύνθεση του ενδοκυκλικού μονοεποξειδίου του τερπινολενίου 1c.	43
3.1.1.5	Αντίδραση εποξειδωσης του λιμονενίου (2).	44
3.1.1.6	Προτεινόμενος μηχανισμός της οξειδωσης Baeyer – Villiger στην (+)-διυδροκαρβόνη (5).	45
3.1.1.7	Εποξειδωση της (+)-διυδροκαρβόνης (5) με υπερβενζοϊκό οξύ με βάση τους Howe et al.	45
3.1.1.8	Αντίδραση της (+)-διυδροκαρβόνης με m-CPBA οδήγησε σε λακτονικό εστέρα.	46
3.1.1.9	Στάδια σχηματισμού του εποξειδίου της (+)-διυδροκαρβόνης 5a.	46
3.1.1.10	Αντίδραση εποξειδωσης της ισοπουλεγόλης.	47
3.1.1.11	Οξειδωση της υδροξειλομάδας της (-)-ισοπουλεγόλης (10).	47
3.1.1.12	Οξειδωση της υδροξειλομάδας του παραγώγου 10a.	47
3.1.1.13	Οξειδωση της υδροξειλομάδας της (+)-ισοπουλεγόλης (11).	48
3.1.1.14	Οξειδωση της υδροξειλομάδας του παραγώγου 11a.	48
3.1.2.1	Μηχανισμός εποξειδωσης με H ₂ O ₂ .	49
3.1.2.2	Εποξειδωση της R-(+)-πουλεγόνης (9) με H ₂ O ₂ .	50
3.1.2.3	Εποξειδωση της R-(+)-πουλεγόνης (9) με m-CPBA.	50
3.1.2.4	Αντίδραση εποξειδωσης της πιπεριτόνης (8).	51
3.1.2.5	Εποξειδωση της R-(-)-καρβόνης (3) με m-CPBA.	51
3.1.2.6	Στάδια σύνθεσης του διεποξειδίου της R-(-)-καρβόνης 3a.	52
3.1.2.7	Στάδια σύνθεσης του διεποξειδίου της S-(+)-καρβόνης 4a.	52
3.1.2.8	Αναγωγή των δύο διπλών δεσμών της R-(-)-καρβόνης (3).	53
3.1.2.9	Απόπειρα ταυτόχρονης εποξειδωσης προς το προϊόν 7a.	53
3.1.2.10	Στάδια εποξειδωσης προς το προϊόν 7a.	54
3.1.3.1	Μηχανισμός εποξειδωσης με Me ₃ SI / Me ₃ OSI	55
3.1.3.2	Οι α,β-ακόρεστες κετόνες με το Me ₃ OSI σχηματίζουν κυκλοπροπυλο-ομάδα.	56
3.1.3.3	Αντίδραση σχηματισμού του spiro-εποξειδίου της (-)-μενθόνης 6.	57
3.1.3.4	Αντίδραση σχηματισμού του spiro-εποξειδίου της (+)-διυδροκαρβόνης 5b.	57
3.1.3.5	Αντίδραση σχηματισμού των spiro-εποξειδίων της καρβόνης.	58
3.1.3.6	Προσπάθεια spiro-εποξειδωσης της R-(+)-πουλεγόνης 9.	58
3.1.3.7	Προσπάθεια spiro-εποξειδωσης της πιπεριτόνης 8.	59
3.1.3.8	Σύνθεση του τριεποξειδίου της S-(+)-καρβόνης 4c.	59
3.1.3.9	Σύνθεση του διεποξειδίου της (+)-διυδροκαρβόνης 5c.	59
3.1.3.10	Σύνθεση του τριεποξειδίου της πιπεριτενόνης 7b.	60
3.1.3.11	Σύνθεση του διεποξειδίου της πιπεριτόνης 8a.	60

3.1.3.12	Σύνθεση του διεποξειδίου της R-(+)-πουλεγόνης 9a.	60
3.1.3.13	Προσπάθεια σύνθεσης του παραγώγου 7c της πιπεριτενόνης.	61
3.1.4.1	Μηχανισμός αντίδρασης Wittig.	62
3.1.4.2	Απόπειρα εποξειδωσης της R-(-)-καρβόνης (3) μέσω αντίδρασης Wittig / m-CPBA.	62
3.1.4.3	Στάδια παρασκευής παραγώγου 10d.	63
3.1.4.4	Στάδια παρασκευής παραγώγου 11d.	63

Κατάλογος συντμήσεων

Σύντμηση	Αγγλική ονομασία	Ελληνική ονομασία
FAO	Food and Agriculture Organization	Διεθνή Οργάνωση Τροφίμων και Γεωργίας
CABI	Centre for Agriculture and Bioscience International	Διεθνές Κέντρο Γεωργίας και Βιοεπιστημών
OPPs	Organophosphate pesticides	Οργανοφωσφορικά Εντομοκτόνα
AchE	Acetylcholinesterase	Ακετυλοχολινεστεράση
EPA	Environmental Protection Agency	Οργανισμός Προστασίας Περιβάλλοντος των Η.Π.Α
DDT	Dichlorodiphenyltrichloroethane	Δίχλωρο-Διφαινυλο-Τριχλωροαιθάνιο
DDD	Dichlorodiphenyldichloroethane	Δίχλωρο-Διφαινυλο-Διχλωροαιθάνιο
γ-HCH	γ-Hexachlorocyclohexane	γ-εξαχλωροκυκλοεξάνιο
HCH	Hexachlorocyclohexane	εξαχλωροεξάνιο
m-CPBA	meta-Chloroperoxybenzoic acid	μ-χλωρουπερβενζοϊκό οξύ
DCM	dichloromethane	διχλωρομεθάνιο
FCC	Flash Column Chromatography	χρωματογραφία στήλης
PMA	phosphomolybdic acid	φωσφομολυβδαινικό οξύ
t-BuOK	potassium tert-butoxide	τερτ-βουτοξείδιο του καλίου
DMSO	dimethyl sulfoxide	διμεθυλοσουλφοξείδιο
TLC	Thin Layer Chromatography	Χρωματογραφία Λεπτής Στιβάδας
R.T.	room temperature	θερμοκρασία δωματίου
DMP	Dess–Martin periodinane	αντιδραστήριο Dess – Martin
MTBE	methyl tert-butyl ether	μεθυλο-τερτ-βουτυλεθαίρα
AcOEt	ethyl acetate	οξικός αιθυλεστέρας
Me ₃ SI	dimethylsulfonium methylide	ιωδίδιο του τριμεθυλοσουλφονίου
Me ₃ OSI	dimethylsulfonium methylide	ιωδίδιο του τριμεθυλοσουλφοξονίου
THF	tetrahydrofuran	τετραϋδροφουράνιο
t-BuOH	tert-butanol	τερτ-βουτανόλη
n-BuLi	n-Butyllithium	n-βουτυλλίθιο

1. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.1 Τα έντομα αποθήκης

Τα εδώδιμα γεωργικά προϊόντα κατά την επεξεργασία ή την αποθήκευσή τους προσβάλλονται από έντομα με ζημιογόνο δράση, καθιστώντας τα ακατάλληλα προς κατανάλωση. Τα έντομα αυτά αναπτύσσονται σε αποθήκες ή χώρους που φιλοξενούν τα γεωργικά προϊόντα και τρόφιμα από την εποχή που ο άνθρωπος άρχισε να καλλιεργεί, να παράγει και να αποθηκεύει την τροφή του. Σύμφωνα με τη Διεθνή Οργάνωση Τροφίμων και Γεωργίας (Food and Agriculture Organization, FAO) τα έντομα αποθήκης καταστρέφουν το ένα πέμπτο της παγκόσμιας παραγωγής ετησίως, ποσοστό που θα μπορούσε να αποτρέψει τους λιμούς σε παγκόσμιο επίπεδο. Στις τροπικές περιοχές οι απώλειες λόγω της προσβολής από έντομα μπορούν να αγγίξουν το 30%.^{2, 45}

Οι καλλιέργειες μετά τη συγκομιδή αποθηκεύονται για διάφορα χρονικά διαστήματα που ποικίλλουν ανάλογα με τη ζήτηση της αγοράς, το μέγεθος της παραγωγής και τις ανάγκες του γεωργού. Οι ακατάλληλες συνθήκες αποθήκευσης μπορεί να οδηγήσουν σε υποβάθμιση του προϊόντος και απώλειες, λόγω πιθανής μόλυνσης από μύκητες ή προσβολής από έντομα. Αν και μία πρωταρχική πηγή μόλυνσης μπορεί να αποτελέσει το ίδιο το χωράφι, το στάδιο της αποθήκευσης είναι το κρισιμότερο κατά την επεξεργασία των προϊόντων. Ανάλογα την περιοχή, το περιβάλλον και τις οικονομικές δυνατότητες του γεωργού οι διάφορες μέθοδοι επεξεργασίας και αποθήκευσης ποικίλλουν. Οι μέθοδοι αυτές μπορεί να κυμπαίνονται από ολόκληρες αποθήκες κατασκευασμένες από κατάλληλα υλικά και με επαρκή συστήματα εξαερισμού, μέχρι και πρόχειρες κατασκευές από άχυρο ή υπαίθρια αποθήκευση που φυσικά δεν προσφέρουν καμία προστασία ενάντια στα έντομα.

2

Κατά κύριο λόγο υπάρχουν δύο κατηγορίες εντόμων που αφορούν την προσβολή μετά τη συγκομιδή: τα Κολεόπτερα (Coleoptera, σκαθάρια) και τα Λεπιδόπτερα (Lepidoptera, σκώροι και πεταλούδες), ενώ υπάρχουν και κάποια επιζήμια είδη ακαρέων. Όλες οι τέλειες μορφές Λεπιδόπτερον εντόμων είναι ιπτάμενα, ενώ δεν έχουν όλα τα ακμαία Κολεόπτερα τη δυνατότητα να πετάξουν. Έτσι, οι προσβολές από τα έντομα που ανήκουν στα Λεπιδόπτερα πραγματοποιούνται αποκλειστικά από τις προνύμφες. Στην περίπτωση των Κολεόπτερον τόσο οι προνύμφες όσο και τα τέλεια έντομα τρέφονται με το προϊόν της καλλιέργειας.⁴⁴

Τα διάφορα είδη εντόμων αποθήκης έχουν διαφορετικά βιολογικά χαρακτηριστικά, διαφορετικό βιολογικό κύκλο και διαφορετικές συνήθειες. Τα παράσιτα μπορεί να είναι πρωτεύοντα, δηλαδή να προσβάλλουν άθικτους κόκκους, όπως είναι το γένος *Sitophilus* με το οποίο ασχολείται η παρούσα εργασία, ή δευτερεύοντα τα οποία προσβάλλουν ήδη κατεστρεμμένους κόκκους και προϊόντα σιτηρών.^{2,3}

Τα έντομα αποθήκης επιφέρουν βλάβες στα προϊόντα κυρίως τρεφόμενα άμεσα από αυτά. Έτσι, με βάση τις διατροφικές τους προτιμήσεις γενικά κατηγοριοποιούνται ως εξής:⁴³

- Έντομα αποθηκών διατρεφόμενα με σπόρους: προσβάλλουν τους σπόρους στο χώρο καλλιέργειάς τους και στη συνέχεια αναπτύσσονται και επαναπροσβάλλουν στο χώρο αποθήκευσης.

- Έντομα αποθηκών διατρεφόμενα με μύκητες: η προσβολή από μυκητοφάγα έντομα ακολουθεί την προσβολή από μύκητες σε προϊόντα με υψηλή περιεκτικότητα σε υγρασία ή με έντονα στοιχεία αλλοίωσης.

- Έντομα αποθηκών διατρεφόμενα με νεκρά φυτικά υλικά: δρουν ως αποδομητές της οργανικής ύλης σε αποθηκευμένα τμήματα φυτών.

- Έντομα αποθηκών διατρεφόμενα με νεκρούς ζωικούς ιστούς: εισβάλουν σε αποθήκες με υφάσματα, δέρματα αλλά και σε λαογραφικά μουσεία προκαλώντας καταστροφές.

- Έντομα αποθηκών σαπροφάγα ή ημιαρπακτικά: προσαρμόζονται σε αποθήκες με εξαιρετικά χαμηλές θερμοκρασίες και είναι κυρίως τροπικής ή υποτροπικής προέλευσης.

- Έντομα αποθηκών ξυλοφάγα: τρέφονται με ξύλινα υλικά στις αποθήκες δημιουργώντας στοές στο εσωτερικό τους.

- Έντομα αποθηκών διαβιούντα σε φωλιές άλλων εντόμων: σε εξωτερικούς χώρους προσβάλλουν φωλιές άλλων εντόμων, αλλά σε εσωτερικούς αποθηκευτικούς χώρους τρέφονται με προϊόντα από οργανικά υλικά όπως κερί και μετάξι.

- Έντομα αποθηκών αρπακτικά ή παρασιτοειδή: ζουν επάνω ή μέσα σε άλλα έντομα-ξενιστές, τρέφονται από αυτά και τελικά τα σκοτώνουν. Προσελκούνται στην αποθήκη πιθανότατα από το αποθηκευμένο προϊόν και όχι από τον ξενιστή τους.

Πέρα από το πρόβλημα της άμεσης κατανάλωσης του προϊόντος, τα έντομα αποθήκης μπορούν να προκαλέσουν μόλυνση μέσω της απέκκρισης ή των νεκρών σωμάτων τους μέσα στο προϊόν. Επιπλέον, προκαλούν την περαιτέρω μόλυνση των προϊόντων με βακτήρια και μύκητες μέσω της μετάδοσης των σπορίων τους. Προφανώς, η προσβολή των εντόμων μπορεί να προκαλέσει προβλήματα υγείας στους καταναλωτές αλλά και στους εργαζόμενους που ασχολούνται με την επεξεργασία των προϊόντων αυτών. Τα προβλήματα

υγείας μπορεί να είναι τροφικές δηλητηριάσεις ή αλλεργικές αντιδράσεις και δερματίτιδες. Επίσης, μερικά έντομα αποθήκης μπορούν να αποτελέσουν φορείς βακτηρίων (*Salmonella*, *Enterobacteriaceae*) και ιών (πολιομυελίτιδας, κίτρινου πυρετού) και να παράγουν τοξίνες που μπορεί να οδηγήσουν σε πλήθος ασθενειών.^{2,3}

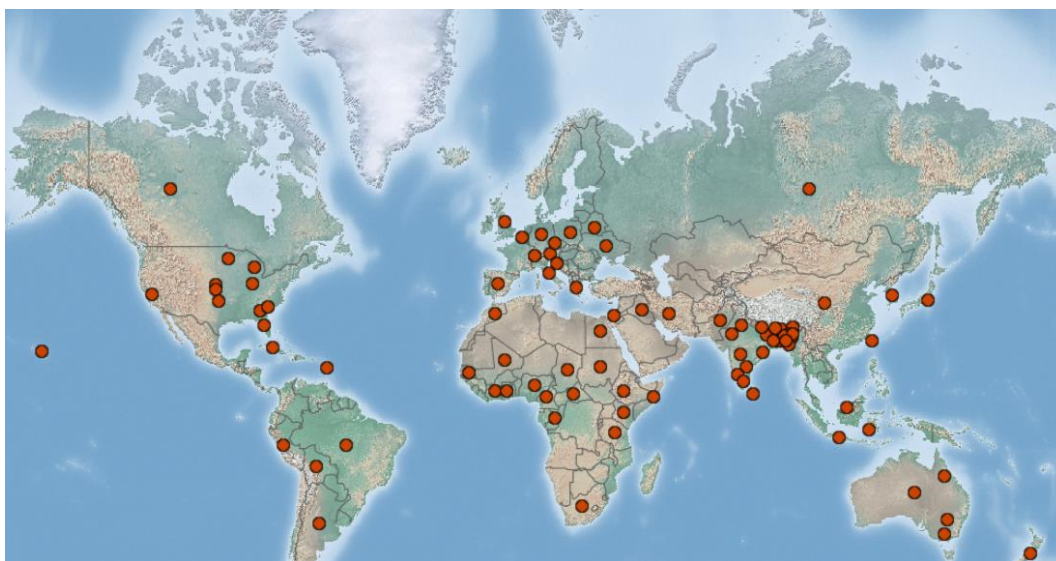
1.2 Sitophilus Oryzae

Kingdom	Animalia
Phylum	Arthropoda
Class	Insecta
Order	Coleoptera
Family	Curculionidae
Subfamily	Dryophthorinae
Genus	Sitophilus
Species	Sitophilus oryzae



Εικόνα 1.2.1: Το έντομο *S. oryzae*.

Το είδος *Sitophilus oryzae*, με κοινή ονομασία Rice weevil (σκαθάρι του ριζιού), ανήκει στην τάξη των εντόμων Κολεόπτερα, η οποία περιλαμβάνει τα σημαντικότερα και πιο συνηθισμένα έντομα αποθήκης. Είναι ευρέως διαδεδομένο σε μέρη με τροπικό, υποτροπικό και θερμότερο κλίμα, όπου οι συνθήκες είναι περισσότερο ευνοϊκές για την ανάπτυξή του, και μάλιστα θεωρείται ότι προέρχεται από την Ινδία. Στον παρακάτω χάρτη φαίνεται η παγκόσμια διασπορά του είδους σύμφωνα με πηγές του οργανισμού CABI (Centre for Agriculture and Bioscience International, Διεθνές Κέντρο Γεωργίας και Βιοεπιστημών).^{2, 66}



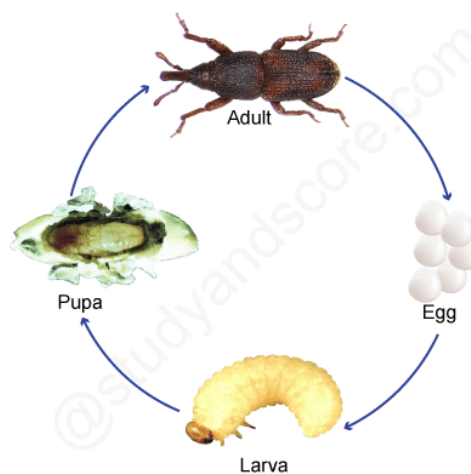
Εικόνα 1.2.2: Η παγκόσμια διασπορά του *S. oryzae* (<https://www.cabi.org/isc/datasheet/10887#toDistributionMaps>).

Το *S. oryzae* διαθέτει μακρύ ρύγχος χαρακτηριστικό της οικογένειας των Κουρκουλιονιδών (Curculionidae, Snout Beetles). Το τέλειο έντομο έχει κοκκινοκαφέ χρώμα, στο θώρακά του φέρει μικρές κοιλότητες ακανόνιστου σχήματος και έχει τέσσερις λίγο πιο ανοιχτόχρωμες κηλίδες στα πτερύγιά του, καθώς έχει και την ικανότητα να πετάξει. Τα έντομα στο στάδιο της προνύμφης (larvae) δεν έχουν πόδια και έχουν κρεμώδες λευκό χρώμα και μικρό κεφάλι. Στο στάδιο της νύμφης (pupa) διαθέτουν ρύγχος σαν αυτό των ενήλικων ατόμων.^{2,44,46}

Ο κύκλος της ζωής του *S. oryzae* μπορεί να ολοκληρωθεί σε 28 ημέρες. Τα ενήλικα θηλυκά δημιουργούν μικρές τρύπες μέσα στους κόκκους των τροφίμων, όπου γεννούν περίπου τέσσερα αυγά τη μέρα και στη συνέχεια τις σφραγίζουν με μία ζελατινώδη ουσία που εκκρίνουν από τις ωσθήκες τους. Τα αυγά εκκολάπτονται μέσα σε τρεις ημέρες. Οι προνύμφες αναπτύσσονται μέσα στον πυρήνα του κόκκου για 18 ημέρες, όπου η επιδερμίδα τους σκληραίνει και ωριμάζει. Αυτό αποτελεί και το μοναδικό στάδιο που αναπτύσσεται το έντομο, καταναλώνοντας αρκετές φορές στο βάρος του, οπότε αυξάνεται περιοδικά σε μέγεθος.⁴⁶

Ακολουθεί το στάδιο της νύμφης το οποίο διαρκεί 6 ημέρες. Σε μερικά είδη η νύμφη βρίσκεται εγκλεισμένη σε ένα κουκούλι που έχει κατασκευαστεί από την προνύμφη. Στο στάδιο αυτό το έντομο περνάει πολλές αλλαγές τόσο εσωτερικά όσο και εξωτερικά.⁴⁶

Τελικά τα τέλεια έντομα βγαίνουν προς την εξωτερική επιφάνεια των κόκκων. Έχουν μήκος 0.1-1.7 mm τρία ζεύγη ποδιών και το σώμα τους χωρίζεται σε τρία μέρη: κεφάλι που περιλαμβάνει τη στοματική κοιλότητα και τα όργανα που αφορούν τις αισθήσεις, τον θώρακα που περιλαμβάνει τα πόδια και τα πτερύγια και την κοιλιά με τα αναπαραγωγικά όργανα. Πλέον διασπείρονται ευρέως και διεισδύουν βαθιά στο εσωτερικό των σπόρων και είναι έτοιμα να ζευγαρώσουν και να ξεκινήσουν μία νέα γενιά. Τα τέλεια έντομα ζουν συνήθως για 5-6 μήνες αλλά η διάρκεια ζωής τους εξαρτάται και από τις συνθήκες της θερμοκρασίας και της σχετικής υγρασίας.⁴⁶



LIFE CYCLE OF RICE WEEVIL (*Sitophilus oryzae*)

Εικόνα 1.2.3: Ο κύκλος ζωής του *S. Oryzae*
(<https://www.studyandscore.com/studymaterial-detail/pest-of-rice-sitophilus-oryzae-distribution-life-cycle-nature-of-damage-and-control-measures>)

Ένα ενήλικο θηλυκό άτομο μπορεί να γεννήσει περίπου 400 αυγά κατά τη διάρκεια της ζωής του. Για την ωτοκία η κατάλληλη θερμοκρασία είναι περίπου 25°C, με βέλτιστη θερμοκρασία τους 30°C ενώ η υγρασία των κόκκων πρέπει να είναι μεγαλύτερη από 10%, με τη μέγιστη ωτοκία να λαμβάνει χώρα σε 18% περιεκτικότητα σε υγρασία. Το συγκεκριμένο είδος μπορεί να επιβιώσει χωρίς τροφή για 6-32 ημέρες. Είναι όμως ιδιαίτερα ευαίσθητο στις αλλαγές της θερμοκρασίας και στους 0°C δε μπορεί να επιζήσει κανένα άτομο για περισσότερο από μία εβδομάδα, ανεξαρτήτως του σταδίου ανάπτυξης που βρίσκεται. Τα έντομα μπορούν να προσποιηθούν τον θάνατο μαζεύοντας τα πόδια κοντά στο σώμα τους και παραμένοντας ακίνητα ακόμα και όταν ενοχληθούν.^{3, 46}

Συχνά συγχέεται με το είδος *Sitophilus zeamais*, καθώς έχουν παρόμοια μορφολογία, κύκλο ζωής και ζημιογόνο δράση. Ένας αξιόπιστος τρόπος για να ξεχωρίσουν τα δύο αυτά είδη είναι τα γυναικεία γεννητικά τους όργανα και το μέγεθός τους, καθώς το *S. zeamais* είναι μεγαλύτερο. Το *S. oryzae* προσβάλλει κυρίως το ρύζι και το σιτάρι και σπανιότερα όσπρια και ξηρούς καρπούς, ενώ το *S. zeamais* προσβάλλει το καλαμπόκι. Όμως και τα δύο είδη μπορούν να αναπτυχθούν σε όλα τα σιτηρά, την αποξηραμένη κασάβα και άλλα επεξεργασμένα τρόφιμα, όπως τα ζυμαρικά.^{4, 5}

Η επιμόλυνση συνήθως ξεκινά στο χωράφι και έπειτα συνεχίζεται στο χώρο αποθήκευσης. Τα παράσιτα δημιουργούν περιοχές αναπαραγωγής κοντά σε αλώνια και μέχρι να μεταφερθούν στις σιταποθήκες ο πληθυσμός τους έχει ήδη αυξηθεί. Η προσβολή πέρα από την παρουσία των ίδιων των εντόμων, επιβεβαιώνεται και από την επιφανειακή αύξηση της θερμοκρασίας στους κόκκους και την αυξημένη υγρασία. Επίσης, μερικές εβδομάδες μετά την προσβολή αρχίζουν να εμφανίζονται στους κόκκους μικρές τρύπες με ακανόνιστες άκρες από τις οποίες σιγά σιγά θα εμφανιστούν τα τελικά έντομα. Σε περιπτώσεις βαριάς επιμόλυνσης το μόνο μέρος που μένει από τον σπόρο είναι το διάτρητο κέλυφος του εσωτερικού του πυρήνα.^{2, 46}

1.3 Εντομοκτόνα

Η ευαισθησία των αποθηκευμένων σιτηρών στην επιμόλυνση από έντομα εξαρτάται από παράγοντες όπως είναι η κατάσταση που βρίσκονται οι κόκκοι κατά τη συγκομιδή, το περιβάλλον της καλλιέργειας αλλά και της αποθήκευσης, η καθαρότητα του χώρου αποθήκευσης και η χρήση εντομοκτόνων.⁶

Μετά την εύρεση της πηγής του προβλήματος που έχουν προκαλέσει τα έντομα σε μία σοδειά, σειρά έχει η καταπολέμησή τους.⁴ Η αντιμετώπιση των εντόμων αποθήκης βασίζεται κυρίως στη χρήση υγρών και αέριων εντομοκτόνων.⁷ Στη βιομηχανία σιτηρών έχουν χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν διάφορες μέθοδοι για αντιμετώπιση των εντόμων, όπως είναι τα εντομοκτόνα επαφής (contact insecticides) και τα υποκαπνιστικά εντομοκτόνα (fumigants).⁶

1.3.1 Εντομοκτόνα επαφής (Contact insecticides)

Τα εντομοκτόνα επαφής περιλαμβάνουν ως επί το πλείστον τα πυρεθροειδή και τα οργανοφωσφορικά, αλλά και τα καρβαμιδικά και τους χλωριωμένους υδρογονάνθρακες. Γενικά οι απεντομώσεις με εντομοκτόνα επαφής έχουν σχεδόν εγκαταλειφθεί λόγω του κινδύνου τοξικών υπολειμμάτων.^{1,3} Μερικές αντιπροσωπευτικές δομές των κατηγοριών αυτών φαίνονται στον Πίνακα 1 (σελ. 14).

1.3.1.1 Πυρεθροειδή

Οι πυρεθρίνες προέρχονται από το φυσικό πύρεθρο που παράγεται από τις αποξηραμένες ανθοκεφαλές του Χρυσάνθεμου. Οι πυρεθρίνες, δηλαδή τα δραστικά συστατικά του πύρεθρου, θεωρούνται ισχυρά εντομοκτόνα επαφής, όμως λόγω της μεγάλης αστάθειάς τους δε μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την προστασία φυτών στο ύπαιθρο. Τα πυρεθροειδή αποτελούν συνθετικά ανάλογα των πυρεθρινών και είναι μόρια δραστικότερα και σταθερότερα συγκριτικά με αυτές.⁶⁴

Πολύ γνωστές μορφές αυτής της κατηγορίας εντομοκτόνων είναι η Resmethrin και η Permethrin (Πίνακας 1, σελ. 14), η οποία παρασκευάστηκε αργότερα και έχει ισχυρότερη δράση και μεγαλύτερη σταθερότητα στο φως. Σήμερα έχουν παρασκευασθεί πολλά πυρεθροειδή με ευρύ φάσμα δράσης. Κυρίως είναι περισσότερο δραστικά ενάντια στα Λεπιδόπτερα, τα Δίπτερα και τα Κολεόπτερα, που περιλαμβάνουν πολλά έντομα γεωργικής

και υγειονομικής σημασίας, χωρίς όμως να είναι ιδιαίτερα δραστικά ενάντια των αφίδων και των ακάρεων. ⁶⁴

Αν και ο ακριβής μηχανισμός δράσης των πυρεθροειδών δεν είναι προς το παρόν γνωστός, θεωρείται ότι επηρεάζουν το νευρικό σύστημα. Όταν έρθουν σε επαφή με το έντομο αρχικά του προκαλούν διέγερση και άμεση παράλυση (knock down) και στη συνέχεια αυτά είτε συνέρχονται είτε πεθαίνουν. ⁶⁴

Παρουσιάζουν γενικά χαμηλότερη τοξικότητα στον άνθρωπο και τα οικόσιτα θηλαστικά (LD₅₀ περίπου 2 g/kg) σε σχέση με τα οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα, είναι ωστόσο ιδιαίτερα τοξικά για τα ψάρια και τις υδρόβιες μορφές ζωής, μονολότι υδρολύονται σχετικά εύκολα. Μπορεί η τοξικότητα της δραστικής ουσίας να είναι σχετικά υψηλή αλλά χρησιμοποιούνται σε μικρότερες δόσεις σε σχέση με άλλα εντομοκτόνα. ⁶⁴ Η εφαρμογή τους γίνεται κυρίως με ψεκασμό, αφού έχουν αραιωθεί με νερό ή ειδικό έλαιο, οπότε όταν επικάθονται σε επιφάνειες η συγκέντρωσή τους δεν είναι υψηλή. Η έκθεση του ανθρώπου στον ψεκασμό μπορεί να επιδεινώσει υπάρχοντα αναπνευστικά προβλήματα ή να επηρεάσει ευαίσθητα άτομα. Τα πυρεθροειδή που εισέρχονται στο σώμα των θερμόαιμων οργανισμών αποδομούνται γρήγορα και αποβάλλονται κυρίως μέσω των απεκκρίσεων και την αναπνοή, κάτι που ασφαλώς δε συμβαίνει τον οργανισμό των εντόμων. Επιπλέον έχουν την ιδιότητα να αποσυντίθενται με την επίδραση της ηλιακής ακτινοβολίας και των χημικών που βρίσκονται στην ατμόσφαιρα, και έτσι παραμένουν ενεργά μόλις για μία έως δύο ημέρες. Δεν απορροφώνται εύκολα από τις ρίζες των φυτών, καθώς δεσμεύονται από το έδαφος, όπου και διασπώνται. Γι' αυτό και σπάνια αναμιγνύονται με το νερό των υδροφόρων οριζόντων ή μολύνουν πόσιμο νερό. ^{46, 47, 48}

Αρκετά είδη εντόμων έχουν αναπτύξει ανθεκτικότητα στα πυρεθροειδή και το πρόβλημα αυτό αντιμετωπίζεται εν μέρει με την προσθήκη συνεργιστικών παραγόντων (π.χ. *riperonyl butoxide*) που δεν παρουσιάζουν εγγενή τοξικότητα. Γενικά συνιστάται η ορθολογική τους χρήση μέσα από προγράμματα κατευθυνόμενης καταπολέμησης και εξαιτίας του υψηλού τους κόστους σε σχέση με τα υπόλοιπα εντομοκτόνα. ⁶⁴

1.3.1.2 Οργανοφωσφορικά

Τα οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα (Organophosphate pesticides, OPPs) είναι εστέρες, αμίδια ή ανυδρίτες του φωσφορικού οξέος και περιλαμβάνουν τον μεγαλύτερο αριθμό εντομοκτόνων που χρησιμοποιούνται στην φυτοπροστασία, αλλά μερικές από τις πιο τοξικές ουσίες. ⁶⁴ Είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικά εναντίον των μυζητικών εντόμων, όπως η

αφίδα (μελίγκρα) και τα ακάρεα. Συνήθως ψεκάζονται σε μορφή διαλύματος απευθείας επάνω στα φυτά ή ρίπτονται γύρω από τις ρίζες ώστε να απορροφηθούν από αυτά. Έχουν μικρή υπολειμματική δράση, παρά το γεγονός ότι είναι πολύ περισσότερο τοξικά σε σχέση με τα οργανοχλωριωμένα εντομοκτόνα.⁴⁷

Τα πιο γνωστά οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα είναι οι δραστικές ουσίες χλωροπυριφός (Chlorpyrifos), Diazinon, Παραθείο (Parathion-ethyl, Parathion) και Μαλαθείο (Malathion) (Πίνακας 1, σελ. 14). Το Παραθείο είναι μία πολύ τοξική ουσία, η οποία κατατάσσεται τόσο από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας όσο και από την Υπηρεσία Περιβάλλοντος των Ηνωμένων Εθνών ως "ιδιαίτερα επικίνδυνη". Για τους λόγους αυτούς έχει αντικατασταθεί από την ελαφρώς λιγότερο τοξική μορφή Parathion methyl ή το Μαλαθείο, το οποίο χρησιμοποιείται επίσης για την καταπολέμηση εντόμων που παρασιτούν σε ανθρώπους και ζώα, όπως ψείρες και τσιμπούρια. Η οικιακή χρήση της ουσίας Diazinon έχει απαγορευθεί στις ΗΠΑ από το 2004, ενώ επιτρέπεται ακόμα η αγροτική της χρήση.^{47,50,51}

Τα οργανοφωσφορικά παρασιτοκτόνα εμποδίζουν τη φυσιολογική λειτουργία του εγκεφάλου να στέλνει νευροδιαβιβαστές στις διάφορες νευρικές απολήξεις στο σώμα. Συγκεκριμένα αναστέλλουν τη λειτουργία του νευρομυϊκού ενζύμου ακετυλοχολινεστεράση ή χολινεστεράση (AChE), το οποίο είναι γενικά απαραίτητο για την φυσιολογική λειτουργία όχι μόνο στα έντομα, αλλά και στους ανθρώπους και σε πολλά άλλα ζώα. Στους οργανισμούς αυτούς ο νευροδιαβιβαστής ακετυλοχολίνη στέλνει νευρικά ερεθίσματα, δηλαδή σήματα, από το ένα νευρικό κύτταρο στο άλλο διαμέσου του συναπτικού χάσματος, δηλαδή του παρεμβάλοντα χώρου ανάμεσα στα κύτταρα. Αμέσως μετά τη δράση της, η ακετυλοχολινεστεράση υδρολύει την ακετυλοχολίνη σε χολίνη και οξικό άλας και έτσι η σύναψη του νευρικού συστήματος αποφορτίζεται και υπάρχει η δυνατότητα μεταφοράς του επόμενου μηνύματος. Τα οργανοφωσφορικά προσδένονται στην ακετυλοχολινεστεράση με αποτέλεσμα τη συσσώρευση ακετυλοχολίνης στις συνάψεις, και τη διακοπή της μεταφοράς μηνυμάτων. Τα οργανοφωσφορικά απορροφώνται διαμέσου του δέρματος, των πνευμόνων και του γαστρεντερικού συστήματος και σκοτώνουν τα έντομα μετά από παράλυση του νευρικού τους συστήματος.⁶⁴

Όλα τα οργανοφωσφορικά έχουν κοινό μηχανισμό δράσης και μπορούν να προκαλέσουν παρόμοια συμπτώματα στους ανθρώπους και τα ζώα. Η έκθεση γίνεται μέσω της κατάποσης τροφίμων που περιέχουν υπολείμματά τους ή μέσω απορρόφησης διαμέσου του δέρματος ή των πνευμόνων. Μελέτες έχουν δείξει ότι η παρατεταμένη έκθεση σε OPPs μπορεί να οδηγήσει σε καρδιαγγειακές και αναπνευστικές ασθένειες, και καρκίνο. Τα γενικά

συμπτώματα της δηλητηρίασης από οργανοφωσφορικά μεταξύ άλλων περιλαμβάνουν ίλιγγο, αναπνευστικά προβλήματα και σπασμούς και μπορεί να οδηγήσουν ακόμα και σε κώμα ή θάνατο. ^{8,51,52}

Σύμφωνα με τον Οργανισμό Προστασίας Περιβάλλοντος των ΗΠΑ (Environmental Protection Agency, EPA) το 2004 τα οργανοφωσφορικά αντιπροσώπευαν το 40% των εντομοκτόνων που χρησιμοποιούνται στις Ηνωμένες Πολιτείες. Λόγω των πολλών κινδύνων από τις αρχές του 2000 άρχισε να απαγορεύεται η χρήση διαφόρων μορφών τους σε εσωτερικούς χώρους. Παρ' όλη την ευρεία χρήση σε εξωτερικούς χώρους, ο γενικός πληθυσμός έχει παρατηρηθεί ότι δεν εκτίθεται σε αυτά σε υψηλό βαθμό. Επομένως, οι πληθυσμοί που πλήττονται πρωτίστως από την υπερέκθεση οργανοφωσφορικά είναι αυτοί που βρίσκονται σε χώρες που έχουν λιγότερους περιορισμούς στη χρήση τους. Παρά τις επιπτώσεις, τα οργανοφωσφορικά ανήκουν στα πιο διαδεδομένα εντομοκτόνα, με ευρέως φάσματος εφαρμογές, ακόμα και σήμερα.

1.3.1.3 Καρβαμιδικά

Τα καρβαμιδικά εντομοκτόνα ανακαλύφθηκαν κατά τον 20^ο αιώνα στην προσπάθεια ανακάλυψης φυτοφαρμάκων που θα αντικαταστάσουν τα οργανοφωσφορικά, καθώς τα παράσιτα είχαν ήδη αρχίσει να αναπτύσσουν ανθεκτικότητα σε αυτά ⁶⁴. Τα καρβαμιδικά είναι παράγωγα του καρβαμικού οξέος (NH_2COOH). Βρίσκουν εφαρμογή ενάντια σε ένα ευρύ φάσμα εντόμων, ενώ έχουν πολύ μικρότερη διάρκεια δράσης και δεν συσσωρεύονται στους ζωικούς ιστούς. Η δράση τους όμως περιορίζεται όταν το περιβάλλον είναι αλκαλικό ⁴⁷.

Μερικά από τα πιο συνηθισμένα καρβαμιδικά εντομοκτόνα είναι το Carbaryl, το Carbofuran και το Aldicarb (Πίνακας 1, σελ. 14). Τα δύο τελευταία είναι πάρα πολύ τοξικά για τον άνθρωπο και τα υπόλοιπα θερμόαιμα. ⁶⁴

Οι καρβαμιδικές ενώσεις απορροφώνται διαμέσου όλων των οδών έκθεσης σε αυτές και έχουν παρόμοιο μηχανισμό δράσης με τα οργανοφωσφορικά, αναστέλλουν δηλαδή τη λειτουργία της AchE. Αντίθετα όμως με τα οργανοφωσφορικά προκαλούν παροδική αναστολή του ενζύμου και έτσι η τοξικότητά τους είναι μικρότερης διάρκειας σε σχέση με την ισοδύναμη δόση οργανοφωσφορικών. ⁸

Τα οργανοφωσφορικά και τα καρβαμιδικά είναι ισχυροί αναστολείς της AchE ικανά να προκαλέσουν σοβαρή χολινεργική τοξικότητα εάν εκτεθεί κάποιος σε αυτά μέσω του δέρματος, της εισπνοής ή της κατάποσης. Αν και διαφέρουν δομικά τα οργανοφωσφορικά

από τα καρβαμιδικά, προκαλούν παρόμοιες κλινικές εκδηλώσεις και η δηλητηρίαση από αυτά χρειάζεται παρόμοια θεραπεία. Επειδή όμως η παρεμπόδιση της χολινεστεράσης δεν είναι μόνιμη, στην πράξη υπάρχει μικρότερος κίνδυνος αθροιστικής δηλητηρίασης από καρβαμιδικά στους ανθρώπους.⁶⁴ Μάλιστα οι ίδιοι αυτοί παράγοντες που χρησιμοποιούνται ως εντομοκτόνα έχουν και ιατρικές εφαρμογές, λόγω της αναστρέψιμης νευρομυϊκής αναστολής που προκαλούν και εφαρμόζονται για τη θεραπεία του γλαυκώματος, της βαρειάς μυασθένειας και της νόσου Alzheimer.⁸

1.3.1.4 Χλωριωμένοι υδρογονάνθρακες

Οι χλωριωμένοι υδρογονάνθρακες ή οργανοχλωριωμένα εντομοκτόνα είναι πολύ σταθερές ουσίες οι οποίες έχουν την τάση να συσσωρεύονται στους ζωντανούς οργανισμούς, γεγονός που τις καθιστά εξαιρετικά τοξικές για τα φυσικά συστήματα.⁹ Η επίδρασή τους στα έντομα είναι αρκετά ισχυρή, όμως έχουν μεγάλο περιβαλλοντικό μειονέκτημα καθώς η επίδραση είναι συνεχής και για μεγάλο χρονικό διάστημα. Για αυτό τον λόγο η εκτεταμένη χρήση τους έχει απαγορευθεί.⁴⁶

Στο παρελθόν ωστόσο έχουν χρησιμοποιηθεί αρκετά οργανοχλωριωμένα εντομοκτόνα σε μεγάλη κλίμακα. Οι δομές των βασικότερων χλωριωμένων εντομοκτόνων παρουσιάζονται στον Πίνακα 1 (σελ. 14). Αυτά διακρίνονται στις παρακάτω τέσσερις κατηγορίες:

1) DDT και ανάλογα χλωριωμένα παράγωγα:

Το DDT (Dichlorodiphenyltrichloroethane, Δίχλωρο-Διφαινύλιο-Τριχλωροαιθάνιο) θεωρείται σταθμός στην ιστορία των φυτοφαρμάκων και το πρώτο οργανοσυνθετικό εντομοκτόνο. Το DDT και οι συγγενείς του ενώσεις χρησιμοποιήθηκαν εναντίον εντόμων, ακάρεων και κουνουπιών. Εξαιτίας της ευρείας του χρήσης στην καταπολέμηση της ελονοσίας, τα κουνούπια έχουν αναπτύξει και τη μεγαλύτερη ανθεκτικότητα σε αυτό σε σύγκριση με τα υπόλοιπα έντομα.

Το DDT έχει τη μεγαλύτερη υπολειμματική δράση σε σχέση με άλλα συνθετικά εντομοκτόνα. Η υψηλή υπολειμματική του δράση οδηγεί στη βιοσυσσώρευσή του, δηλαδή στην αθροιστική αύξηση της συγκέντρωσής του στους ζωντανούς οργανισμούς μέσω της τροφικής αλυσίδας. Αυτό χαρακτηρίζει γενικά όλα τα οργανοχλωριωμένα εντομοκτόνα. Είναι ανθεκτικό στην οξείδωση και την επίδραση του φωτός και είναι αδιάλυτο στο νερό. Οι ιδιότητες αυτές παρατείνουν τη δράση του στα έντομα για πολύ καιρό. Όταν χρησιμοποιείται

σε κλειστό χώρο, όπως για παράδειγμα σε μία αποθήκη, μπορεί να παραμείνει δραστικό μέχρι ένα χρόνο και χάνει τελικά τη δραστικότητά του όταν με τον καιρό σκεπασθεί από σκόνη. Στην ύπαιθρο δε είναι το ίδιο σταθερό.

Το DDT θεωρείται ότι είναι ισχυρό εντομοκτόνο μέσω επαφής, λιγότερο μέσω πρόσληψης από το στόμα και ακόμα λιγότερο μέσω της αναπνοής. Λόγω της υψηλής του λιποδιαλυτότητας, καταφέρνει και διεισδύει τον οργανισμό του εντόμου διαμέσου της επιδερμίδας του και προσβάλλει τα αισθητήρια όργανα και το νευρικό του σύστημα, προκαλώντας του νευρικό κλονισμό. Παρ'όλα αυτά η θανατηφόρος δράση του είναι σχετικά βραδεία (έως και 4 μέρες μετά την εφαρμογή του).

Στον ανθρώπινο οργανισμό το DDT εισάγεται με την εισπνοή, εκ του στόματος και με δερματική απορρόφηση. Έχει την ικανότητα να αποθηκεύεται στον λιπώδη ιστό των θηλαστικών και να συγκεντρώνεται στο γάλα των γαλακτοπαραγωγών ζώων, όπως και του ανθρώπου, και να ανιχνεύεται στα υποπροϊόντα του γάλακτος. Στον άνθρωπο το DDT, μεταξύ άλλων, επιδρά στο νευρικό σύστημα και προκαλεί υπερευαισθησία, τρεμούλα, επιληπτικές κρίσεις και σπασμούς, που μπορούν να προκαλέσουν θάνατο λόγω αναπνευστικής ανικανότητας.⁹

Τα κυριότερα συνθετικά ανάλογα του DDT που έχουν παρασκευασθεί είναι το DDD (Dichlorodiphenyldichloroethane), το methoxychlor και το perthane. Το DDT και το DDD έχουν απαγορευθεί από κάθε χρήση παντελώς, ενώ το methoxychlor και το perthane χρησιμοποιούνται με πολύ μικρή εφαρμογή στο εξωτερικό.⁶⁴

2) Παράγωγα βενζολίου

Ο δακτύλιος του βενζολίου απαντάται στον σκελετό διαφόρων εντομοκτόνων με σπουδαιότερο το Lindane ή γ-εξαχλωροκυκλοεξάνιο (γ-Hexachlorocyclohexane, γ-HCH). Πολλές φορές ονομάζεται λανθασμένα εξαχλωριούχο βενζόλιο (benzene hexachloride, BHC).^{54,64}

Το εξαχλωροεξάνιο (HCH) αποτελείται από πέντε ισομερή, όμως μόνο το γ-ισομερές είναι αυτό που παρουσιάζει μεγάλη εντομοκτόνη δράση. Από τα υπόλοιπα ισομερή το α-παρασιάζει μία μικρή εντομοτοξικότητα, ενώ τα β-, δ- και ε- είναι άχρηστα ως εντομοκτόνα. Ως Lindane χαρακτηρίζεται το εντομοκτόνο εκείνο που περιέχει το γ-HCH σε περιεκτικότητα >90%. Δηλαδή στα παρασκευάσματα HCH αυξάνεται η τοξικότητα όσο αυξάνεται και η περιεκτικότητά τους στο γ-ισομερές.⁹

Αρχικά τα εντομοκτόνα με τα διάφορα ισομερή του HCH ήταν αρκετά διαδεδομένα, όμως σταδιακά αντικαταστάθηκαν από παρασκευάσματα που περιείχαν μόνο το γ-HCH, εξαιτίας

των φυτοτοξικών, οσμητικών και γευστικών παρενεργειών που επέφεραν τα άλλα ισομερή. Το Lindane είναι μία νευροτοξίνη και είναι εντομοκτόνο επαφής και στομάχου, δρα όμως και ως ασφυκτικό. ^{54,9}

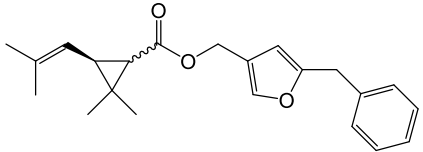
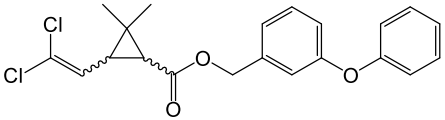
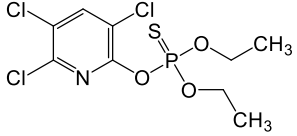
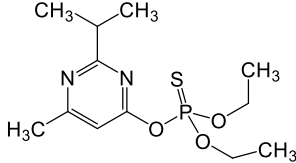
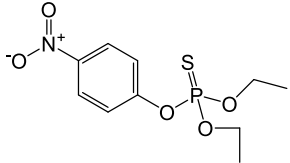
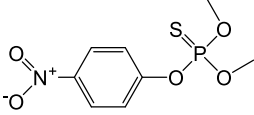
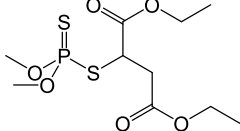
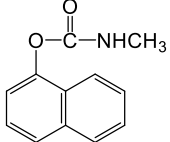
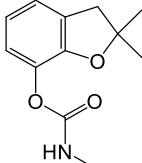
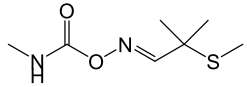
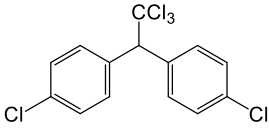
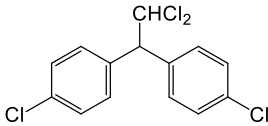
Στους ανθρώπους και τα θερμόαιμα ζώα έχει παρόμοια οξεία τοξικότητα με το DDT και στην περίπτωση οξείας δηλητηρίασης μπορεί να προκαλέσει τρέμουλο, έντονη εφίδρωση και σπασμούς. Η χρόνια λήψη του επηρεάζει το νευρικό σύστημα, το συκώτι, τα νεφρά ενώ ενδέχεται να είναι και καρκινογόνο. Στην Ελλάδα είναι το μόνο οργανοχλωριωμένο εντομοκτόνο που κυκλοφορεί και χρησιμοποιείται υπό περιορισμούς για την απολύμανση σπόρων και την καταπολέμηση των εντόμων του εδάφους. ⁹

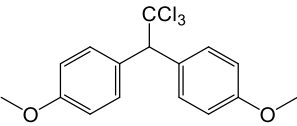
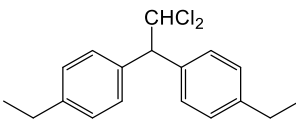
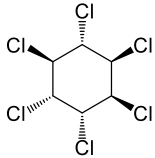
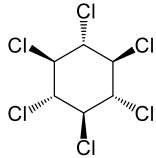
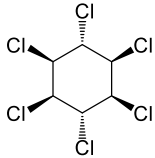
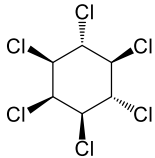
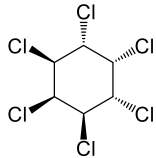
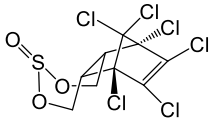
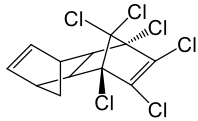
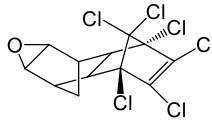
3) Κυκλοδιένια

Προκειται για εντομοκτόνα στομάχου και επαφής που είναι γνωστά και ως οργανοχλωριωμένα διένια. Γνωστοί αντιπρόσωποι αυτής της ομάδας είναι τα εντομοκτόνα Aldrin, Dieldrin και Endosulfan.

Παλιότερα είχαν γνωρίσει μεγάλη επιτυχία ως εντομοκτόνα εδάφους γιατί παραμένουν πολύ σταθερά μέσα στο έδαφος και παρουσιάζουν μεγάλη τοξικότητα για τα έντομα αυτής της κατηγορίας. Εξαιτίας της μεγάλης τους χημικής σταθερότητας σήμερα έχουν όλα απαγορευθεί στη γεωργία εκτός από το Endosulfan. ^{10,64} Τα εντομοκτόνα Aldrin και Dieldrin χρησιμοποιούνται ακόμα για την προστασία της ξυλείας από τους τερμίτες. ¹⁰

Πίνακας 1: Δομές κυριότερων εντομοκτόνων επαφής.

<p>Πυρεθροειδή</p>	 <p>Resmethrin</p>	 <p>Permethrin</p>	
<p>Οργανοφωσφορικά</p>	 <p>Chlorpyrifos</p>	 <p>Diazinon</p>	 <p>Parathion-ethyl</p>
	 <p>Parathion-methyl</p>	 <p>Malathion</p>	
<p>Καρβαμιδικά</p>	 <p>Carbaryl</p>	 <p>Carbofuran</p>	 <p>Aldicarb</p>
<p>Χλωριωμένοι Η/С: <i>DDT και ανάλογα χλωριωμένα παράγωγα</i></p>	 <p>DDT</p>	 <p>DDD</p>	

	 <p>Methoxychlor</p>	 <p>Perthane</p>	
<i>Παράγωγα βενζολίου</i>	 <p>α-HCH</p>	 <p>β-HCH</p>	 <p>γ-HCH</p>
	 <p>δ-HCH</p>	 <p>ε-HCH</p>	
<i>Κυκλοδιένια</i>	 <p>Endosulfan</p>	 <p>Aldrin</p>	 <p>Dieldrin</p>

1.3.2 Υποκαπνιστικά εντομοκτόνα (Fumigants)

Τα υποκαπνιστικά ή καπνιστικά εντομοκτόνα αποτελούν ειδική κατηγορία εντομοκτόνων επειδή βρίσκονται σε αέρια μορφή σε κανονικές συνθήκες περιβάλλοντος, δηλαδή σε θερμοκρασίες άνω του μηδενός. Χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο των εντόμων στα κτίρια, στο εδάφους, στις καλλιέργειες σιτηρών και διάφορων προϊόντων, και επίσης κατά τη μεταποίηση των προϊόντων που πρόκειται να εισαχθούν ή να εξαχθούν για να αποφευχθεί η μεταφορά εξωτικών οργανισμών. Οι ατμοί τους δεν είναι μόνο τοξικοί για τα παράσιτα, αλλά και για τα αυγά τους και για πολλούς μικροοργανισμούς. Επηρεάζουν και παράσιτα που κατοικούν σε μία φυσική δομή, όπως τους τερμίτες στο ξύλο. Η χρήση τους είναι δύσκολη και επικίνδυνη, για αυτό γίνεται από εξειδικευμένο προσωπικό σύμφωνα με αυστηρές οδηγίες χρήσεως, σε κτήρια, αποθήκες, θερμοκήπια ακόμη και σε συσκευασμένους ξηραμένους καρπούς ή σπόρους.^{3,47,55} Ο υποκαπνισμός αποτελεί τη συνηθέστερη και την οικονομικότερη λύση, και χρησιμοποιείται ιδιαίτερα για μολύνσεις που αφορούν μεγάλες ποσότητες σιτηρών.^{4,6}

Κατά τη διαδικασία του υποκαπνισμού αρχικά καλύπτεται η περιοχή στην οποία πρόκειται να εφαρμοστεί το εντομοκτόνο, προκειμένου να δημιουργηθεί ένα σφραγισμένο περιβάλλον. Έπειτα το καπνιστικό απελευθερώνεται και διαχέεται στον χώρο για το χρονικό διάστημα που απαιτείται ώστε να εξολοθρεύσει την προσβολή. Στο τέλος ο χώρος αερίζεται για να απομακρυνθούν πλήρως τα δηλητηριώδη αέρια και να είναι ασφαλής.⁵⁴ Πιο συγκεκριμένα, η εφαρμογή στον χώρο απεντόμωσης γίνεται με τους εξής τρόπους:³

- Σε ειδικούς αεροστεγείς θαλάμους όπου ρυθμίζεται η ατμοσφαιρική πίεση και η σωστή ανάδευση του αερίου. Οι αεροστεγείς θάλαμοι μπορεί να αποτελούν μία μόνιμη εγκατάσταση (απεντομωτήρια) ή να είναι κινητοί κοντά σε έναν τόπο παραγωγής κάποιου προϊόντος.
- Με τη χρήση ειδικών πλαστικών καλυμμάτων από αδιάβροχο μουςαμά που καλύπτουν στο προϊόν σε κλειστούς ή ανοιχτούς χώρους. Το υλικό είναι αδιαπέραστο από τα ασφυκτικά εντομοκτόνα. Οι συσκευές που χρησιμοποιούνται είναι κινητές και περιλαμβάνουν τη φιάλη που φέρει το καπνιστικό, τον εξαερωτήρα και τις σωληνώσεις που μεταφέρουν το αέριο.
- Με την τοποθέτηση δισκίων φωσφορούχου αργιλίου (το οποίο εκλύει φωσφίνη) σε διάφορα μέρη ενός όγκου προϊόντος με τη βοήθεια ειδικών μακρών

σωλήνων. Το προϊόν ανάλογα αν χρειάζεται ή όχι μπορεί να καλυφθεί με πλαστικό κάλυμα.

- Σε σύγχρονες αποθήκες σιλό χρησιμοποιούνται ειδικές εγκαταστάσεις απεντόμωσης όπου μεταφέρουν το ασφυκτικό εντομοκτόνο μέσα από σωληνώσεις στον όγκο του προϊόντος. Εναλλακτικά το προϊόν μεταφέρεται μηχανικά σε άλλο χώρο της αποθήκης για απεντόμωση.

Τα υποκαπνιστικά θα πρέπει να είναι βιολογικώς ενεργά, επαρκώς πτητικά έτσι ώστε να μπορούν να απομακρυνθούν με αερισμό, να μην απορροφούνται από τον σπόρο, και να μην είναι εύφλεκτα και διαβρωτικά. ⁶ Συγκεκριμένα, κατά την επιλογή ενός υποκαπνιστικού παίζουν ρόλο οι εξής παράγοντες: ³

- *Το σημείο ζέσεως:* πρέπει να είναι χαμηλό ώστε να γίνεται εξαέρωση στον μικρότερο δυνατό χρόνο.

- *Το μέγιστο συγκέντρωση της τοξικής ουσίας:* Το μέγιστο βάρος μιας ουσίας που μπορεί να υπάρξει σε αέρια μορφή σε ένα συγκεκριμένο χώρο εξαρτάται από το μοριακό της βάρος. Έτσι, δε μπορεί να εξατμιστεί μεγαλύτερη δόση εντομοκτόνου από αυτή που μπορεί να υπάρξει σε αέρια μορφή, σε αυτόν τον χώρο.

- *Η διάχυση της αέριας ουσίας:* τα βαρύτερα αέρια διαχέονται πιο αργά από τα ελαφρύτερα. Και σε αυτό το σημείο παίζει ρόλο το μοριακό βάρος.

- *Το ειδικό βάρος και κατανομή του καπνιστικού:* συνήθως τα καπνιστικά, με εξαίρεση το HCN, σε αέρια μορφή είναι βαρύτερα του αέρα. Επομένως για να κατανεμηθούν σε όλο το χώρο χρησιμοποιούνται συσκευές ανάδευσης.

- *Οι επιδράσεις τους στα προϊόντα:* τα καπνιστικά μπορούν να αφήσουν υπολείμματα στα προϊόντα ή ακόμη και να καταστρέψουν ορισμένα θρεπτικά συστατικά τους. Για αυτό τον λόγο έχουν ορισθεί ανώτατα επιτρεπτά όρια των υπολειμμάτων για την προστασία των καταναλωτών και των ζώων. Τα καπνιστικά μπορούν επίσης να μειώσουν τη βλαστική ικανότητα των σπόρων, να ελέγξουν τον ρυθμό ωρίμανσης των καρπών, να αλλοιώσουν τη γεύση ή να δημιουργήσουν οσμές, ή να μειώσουν το χρόνο συντήρησης του προϊόντων.

- *Οι δόσεις και οι συγκεντρώσεις:* ως δόση ενός καπνιστικού ορίζεται η ποσότητα που εφαρμόζεται ανά μονάδα όγκου του χώρου όπου θα πραγματοποιηθεί η απεντόμωση (εκφράζεται σε L/m³). Ως συγκέντρωση ορίζεται η ποσότητα του καπνιστικού που υπάρχει στον αέρα. Πραγματοποιούνται τακτικοί

έλεγχοι που εξασφαλίζουν την ομοιόμορφη κατανομή της συγκέντρωσης στον αέρα του χώρου εφαρμογής (εκφράζεται ως βάρος κατ' όγκον ατμοσφαιρικού αέρα (g / m³) ή ως μέρη στο εκατομμύριο (ppm) ή ως ποσοστό (%)).

- *Το θανατηφόρο γινόμενο:* Είναι το γινόμενο της συγκέντρωσης του αερίου επί τον χρόνο έκθεσης του εντόμου σε αυτό, που απαιτείται για να επέλθει ο θάνατος. Το γινόμενο αυτό είναι διαφορετικό για κάθε είδος και επηρεάζεται από τη θερμοκρασία και την υγρασία. Για αυτό τον λόγο αναφέρεται πάντα ως θανατηφόρο γινόμενο για δεδομένη θερμοκρασία και υγρασία και για δεδομένο είδος εντόμου.

- *Οι παράγοντες που επηρεάζουν τη δόση ενός καπνιστικού:* Με την αύξηση της θερμοκρασίας απαιτείται μικρότερη δόση καπνιστικού, καθώς τα έντομα αυξάνουν τον ρυθμό αναπνοή τους σε υψηλές θερμοκρασίες. Το ίδιο συμβαίνει κι εάν η εφαρμογή του καπνιστικού γίνει υπό κενό. Υπολογίζεται η σωστή δόση ώστε να μην υπάρχουν φαινόμενα προσφόρησης από τα υλικά του χώρου απεντόμωσης ή της συσκευασίας του προϊόντος. Ακόμη, παίζει σημαντικό ρόλο το στάδιο ανάπτυξης του εντόμου.

- *Η ευφλεκτικότητα του αερίου* για να αποφευχθεί κάποια έκρηξη.
- *Η τοξικότητα της ουσίας για τον άνθρωπο.*

Παρόλο που τα υποκαπνιστικά εντομοκτόνα είναι αποτελεσματικά, η συνεχής τους χρήση επί δεκαετίες έχει διαταράξει το σύστημα καταπολέμησής τους από φυσικούς εχθρούς και έχει οδηγήσει στην αύξηση της ανθεκτικότητάς τους.⁷ Επειδή τα υποκαπνιστικά θανατώνουν άμεσα τα έντομα και δεν προσφέρουν κάποια υπολειμματική προστασία, υπάρχει πάντα ο κίνδυνος για επανεμφάνιση της μόλυνσης στην εγκατάσταση.¹¹ Επιπλέον, μπορεί να έχουν αρνητικά αποτελέσματα στους υπόλοιπους οργανισμούς, στο περιβάλλον και την ανθρώπινη υγεία.⁷

Τα χημικά που είναι διαθέσιμα αυτή τη στιγμή και πληρούν τις παραπάνω προϋποθέσεις δεν είναι πολλά.⁶ Παρακάτω παρατίθενται τα σπουδαιότερα καπνιστικά εντομοκτόνα που είτε χρησιμοποιούνται ακόμα είτε η χρήση τους έχει απαγορευθεί.

1) *Βρωμιούχο μεθύλιο*

Το βρωμιούχο μεθύλιο ή βρωμομεθάνιο (CH₃Br) θεωρείται το πιο αποτελεσματικό καπνιστικό εντομοκτόνο και στο παρελθόν έχει χρησιμοποιηθεί κατά συρροή, λόγω της μεγάλης διεισδυτικής του ικανότητας, της ταχείας διάχυσής του στο χώρο και του ευρέος φάσματος δράσης του.^{3,6} Έχει την ικανότητα να διεισδύει στο χύμα προϊόν αλλά και σε

συσκευασμένα εμπορεύματα και να διαχέεται σε ολόκληρη τη δομή, σκοτώνοντας ακόμα και κρυμμένα έντομα, σε διάφορα στάδια ανάπτυξης. ¹¹ Έχει υψηλή λιποδιαλυτότητα και για αυτό δεν ενδείκνυται η εφαρμογή του σε ελαιούχα προϊόντα. ³

Αν και πολύ αποτελεσματικό, το βρωμομεθάνιο είναι εξαιρετικά τοξικό για τα θερμόαιμα ζώα και για τον άνθρωπο. ⁶ Τόσο η σύντομη έκθεση σε υψηλές συγκεντρώσεις, όσο και η παρατεταμένη έκθεση σε χαμηλότερες μπορεί να επιφέρει αναπνευστικά, νευρολογικά και νεφρολογικά προβλήματα, μεταξύ άλλων, ενώ θεωρείται ότι μπορεί να αποτελέσει και δυνητικά καρκινογόνο παράγοντα. Τα επίπεδα θανατηφόρου συγκέντρωσης κυμαίνονται μεταξύ 1.600 έως 60.000 ppm ανάλογα την περίπτωση και τη διάρκεια της έκθεσης, με τις υψηλότερες συγκεντρώσεις να οδηγούν σε άμεσο θάνατο. ⁶⁵ Επιπλέον, υπό φυσιολογικές συνθήκες είναι άοσμο και επομένως γίνεται δύσκολα αντιληπτό. Για αυτό η εφαρμογή του γίνεται από εξειδικευμένο προσωπικό με κατάλληλο εξοπλισμό. ³ Η μέση προτεινόμενη συγκέντρωση έκθεσης για έναν επαγγελματία στο οκτάωρο εργασίας του είναι περίπου 1 ppm. ⁶⁵



Εικόνα 1.3.2.1: Ο υποκαπνισμός γίνεται από εξειδικευμένο προσωπικό με κατάλληλο εξοπλισμό.

Το βρωμομεθάνιο φωτολύεται εύκολα στην ατμόσφαιρα και οι ρίζες βρωμίου που απελευθερώνονται αποδεικνύονται καταστροφικές για το όζον της στρατόσφαιρας, ακόμη περισσότερο και από το χλώριο. Η παραγωγή και η χρήση του βρωμομεθανίου τέθηκαν υπό περιορισμό το 1987 με το Πρωτόκολλο του Μόντρεαλ για τις ουσίες που βλάπτουν το στρώμα του όζοντος. ⁶⁵ Μαζί με τη συμβολή διάφορων οργανισμών όπως είναι ο

Οργανισμός Προστασίας Περιβάλλοντος των ΗΠΑ (EPA) στις αρχές του 2000, αποφασίστηκε η σταδιακή απομάκρυνσή του από τις αγορές των περισσότερων βιομηχανικών χωρών, με πιθανή εξαίρεση τη χρήση του σε περιπτώσεις καραντίνας.¹¹

Στο εμπόριο κυκλοφορεί σε υγρή μορφή σε ειδικές φιάλες υπό πίεση, καθώς υπό φυσιολογικές συνθήκες είναι αέριο με χαμηλό σημείο ζέσεως 4,5 °C. Ορισμένα σκευάσματα περιέχουν 2% χλωροπικρίνη, η οποία ερεθίζει τα μάτια και χρησιμεύει ως προειδοποιητικό της παρουσίας βρωμομεθανίου.³

2) Φωσφίνη

Η φωσφίνη μαζί με το βρωμομεθάνιο αποτελούν τα δραστικότερα υποκαπνιστικά εντομοκτόνα γεωργικών προϊόντων⁷. Μετά το πρωτόκολλο του Μόντρεαλ και τον περιορισμό της χρήσης του βρωμομεθανίου, η φωσφίνη είναι πλέον πιο διαδεδομένη και χρησιμοποιείται ιδιαίτερα για την απεντόμωση των δημητριακών. Είναι οικονομική λύση, δρα σε σύντομο χρονικό διάστημα και δεν αφήνει υπολείμματα στις προϊόντα.^{3, 53}

Η φωσφίνη (PH₃) βρίσκεται σε αέρια μορφή και στο εμπόριο κυκλοφορεί με τη μορφή δισκίων φωσφοριούχου αργιλίου (AlP), φωσφοριούχου μαγνησίου (Mg₃P₂), φωσφοριούχου ασβεστίου (Ca₃P₂) και φωσφοριούχου ψευδαργύρου (Zn₃P₂), τα οποία απελευθερώνουν την αέρια φωσφίνη με την επίδραση της ατμοσφαιρικής υγρασίας.
$$\text{AlP} + 3\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{PH}_3\uparrow + \text{Al}(\text{OH})_3 \text{ κ.ο.κ.}$$

Επειδή η φωσφίνη είναι εξαιρετικά εύφλεκτο αέριο και μπορεί να σχηματίσει εκρηκτικά μείγματα με τον αέρα ή να αυτοαναφλέγεται, τα διάφορα σκευάσματα περιέχουν παράγοντες που αποτρέπουν την ανάφλεξη ή την έκρηξη. Εναλλακτικά χρησιμοποιείται απευθείας αέρια φωσφίνη διαλυμένη με CO₂ ή N₂ που μειώνουν το σημείο ανάφλεξης. Κατά την απεντόμωση των σιτηρών τα δισκία τοποθετούνται μέσα στη μάζα του προϊόντος και περίπου μία ώρα μετά αρχίζει η έκλυση της φωσφίνης.^{3, 55}

Η φωσφίνη απορροφάται από τον ανθρώπινο οργανισμό μέσω της αναπνοής και το κύριο όργανο που προσβάλλει είναι η αναπνευστική οδός. Η έκθεση ενός οργανισμού στο αέριο σε ένα οκτάωρο εργασίας δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 0,3 ppm, ενώ η βραχυπρόθεσμη έκθεση το 1 ppm. Η έκθεση στη φωσφίνη όταν υπερβαίνει τα όρια μπορεί να προκαλέσει ναυτία, εμετό, κοιλιακό άλγος, διάρροια, σφίξιμο στο θώρακα, δύσπνοια, πνευμονικό οίδημα, ή ακόμα και θάνατο.⁵⁵

Ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα που έχουν παρουσιαστεί από την εντατική χρήση της φωσφίνης είναι η ανάπτυξη ανθεκτικότητας των οργανισμών σε αυτήν. Η

ανθεκτικότητα των εντόμων στη φωσφίνη έχει παρουσιαστεί σε περισσότερες από 45 χώρες, κυρίως στην Ασία, την Αυστραλία και τη Λατινική Αμερική.^{6,57} Ακόμη, η φωσφίνη έχει την ικανότητα να διαβρώνει μέταλλα και ηλεκτρολογικό εξοπλισμό, κάτι που δυσκολεύει την εφαρμογή της σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας τροφίμων και αποθήκες.¹¹

3) *Οξείδιο του αιθυλενίου*

Το οξείδιο του αιθυλενίου ((CH₂)₂O) έχει υψηλή φυτοτοξικότητα και για αυτό δε χρησιμοποιείται απευθείας σε σπόρους, φυτώρια και γενικά στα αναπτυσσόμενα φυτά. Είναι κατάλληλο ως αποστειρωτικό μέσο για απεντομώσεις χώρου πριν την αποθήκευση των προϊόντων και για ξηρές σπώρες. Επειδή είναι εύφλεκτο στα διάφορα σκευάσματα που κυκλοφορούν χρησιμοποιείται μαζί με CO₂ σε αναλογία 1:9.³

Για τον ανθρώπινο οργανισμό με μακροχρόνια έκθεση μπορεί να έχει δυσμενή αποτελέσματα όπως είναι μεταλλάξεις, καρκίνοι, επιπτώσεις στην αναπαραγωγή και νευροτοξικότητα. Τα υψηλά επίπεδα του αερίου ακόμα και στην περίπτωση σύντομης έκθεσης μπορεί να οδηγήσουν σε ναυτία, δύσπνοια και ερεθισμό της αναπνευστικής οδού, ερεθισμό του δέρματος, των βλεννογόνων και των οφθαλμών, νευρολογικές και νεφρικές διαταραχές.⁵⁷

4) *Υδροκυάνιο*

Το υδροκυάνιο (HCN) ήταν ένα από τα πρώτα καπνιστικά εντομοκτόνα που χρησιμοποιήθηκε με σύγχρονες μεθόδους εφαρμογής. Παρόλο που βρίσκει ακόμα κάποιες εφαρμογές, η χρήση του έχει μειωθεί κατά πολύ πλέον. Για αυτό οφείλεται η μεγάλη τοξικότητα που έχει για τα θηλαστικά και τα αρθρόποδα. Η εισπνοή του από θερμόαιμους οργανισμούς προκαλεί ασφυξία αναστέλλοντας τη λειτουργία των ενζύμων του αναπνευστικού συστήματος. Βέβαια, μετά την κατανάλωσή του από τα θηλαστικά, με τη βοήθεια των θειούχων αμινοξέων του οργανισμού, μετατρέπεται γρήγορα σε θειοκυανικό, που είναι σημαντικά λιγότερο τοξικό.⁵⁸ Ωστόσο, στις δόσεις που χρησιμοποιείται, περίπου 1,5 % βάρους κατ' όγκο, δεν παρουσιάζει υπολειμματικότητα, αν μετά την απεντόμωση ακολουθήσει καλός αερισμός.³

Στην περίπτωση των εντόμων το υδροκυάνιο είναι πολύ τοξικό και οδηγεί σε σύντομο χρονικό διάστημα τα περισσότερα είδη σε παράλυση. Η χρήση χαμηλότερων συγκεντρώσεων μπορεί να οδηγήσει και σε άμεσο θάνατο των εντόμων.

Είναι εξαιρετικά διαλυτό στο νερό και για αυτό δεν πρέπει να χρησιμοποιείται σε προϊόντα που φέρουν υγρασία, όπως για παράδειγμα είναι τα φρούτα και τα λαχανικά. Μετά την υδρόλυσή του το αραιό οξύ που παράγεται μπορεί να αλλοιώσει τα εξωτερικά

χαρακτηριστικά των προϊόντων αυτών αλλά και να αποτελέσει κίνδυνο για την ανθρώπινη υγεία. Αντιθέτως, χρησιμοποιείται στην περίπτωση επαρκώς αποξηραμένων τροφίμων, δημητριακών και σπόρων. Η εφαρμογή του γίνεται με διάφορους τρόπους, ανάλογα την ευκολία, το κόστος, τον τύπο του χώρου απεντόμωσης και του αποθηκευμένου υλικού.⁵⁸

1.3.3 Τοξικότητα εντομοκτόνων

Η ανάπτυξη της εντατικής γεωργίας των προηγούμενων δεκαετιών έφερε τη μαζική χρήση εντομοκτόνων και προκάλεσε σοβαρά προβλήματα στο περιβάλλον και την ανθρώπινη υγεία, τόσο των καταναλωτών όσο και των γεωργών. Όσον αφορά τις ποσότητες εντομοκτόνων που αξιοποιούνται για μη γεωργική χρήση, μπορεί να είναι πολύ μικρότερες συγκριτικά με αυτές που χρησιμοποιούνται στη γεωργία, δεν παύουν όμως να αποτελούν κίνδυνο, ιδιαίτερα όταν οι θέσεις εφαρμογής τους είναι δημόσιοι χώροι.

Ο κίνδυνος που εγκυμονεί ένα εντομοκτόνο στην υγεία είναι συνάρτηση της έκθεσης ενός οργανισμού ή ενός προϊόντος σε αυτό. Σίγουρα δεν είναι πάντοτε εμφανής και μπορεί να εκδηλωθεί βραχυπρόθεσμα ή μακροπρόθεσμα. Η βραχυπρόθεσμη τοξικότητα αφορά κυρίως τους χειριστές των φυτοφαρμάκων και τους γεωργούς και έχουν αναφερθεί τόσο δηλητηριάσεις όσο και θάνατοι. Η μακροπρόθεσμη τοξικότητα αφορά περισσότερο τους καταναλωτές που μπορεί να λαμβάνουν καθημερινά κάποια ποσότητα εντομοκτόνων μέσω των προϊόντων που καταναλώνουν.

Η τοξικότητα των εντομοκτόνων φυσικά αφορά και τα ζώα που μπορούν να δηλητηριαστούν από αυτά, είτε απευθείας ερχόμενα σε επαφή με τα εντομοκτόνα ή εισπνέοντάς τα, είτε καταναλώνοντας ψεκασμένα προϊόντα ή πίνοντας μολυσμένο νερό. Η δηλητηρίαση των ζώων μπορεί να έχει θανάσιμα αποτελέσματα, προβλήματα στη γονιμότητα, μείωση της λειτουργίας του ανοσοποιητικού τους συστήματος, εμφάνιση δυσμορφίας στα είδη, εμφάνιση καρκίνου κ.ά.¹⁰

1.3.4 Διασπορά των εντομοκτόνων

Τα εντομοκτόνα και γενικότερα τα φυτοφάρμακα είναι χρήσιμα μόνο όσον αφορά την προστασία που παρέχουν στις καλλιέργειες. Πέρα από αυτό αποτελούν δυνητική απειλή για το περιβάλλον και τους οργανισμούς που ζουν μέσα σε αυτό. Από την αρχική ποσότητα εντομοκτόνου που εφαρμόζεται σε ένα χώρο, μόνο ένα μέρος της φτάνει τελικά στον στόχο και το υπόλοιπο διασπείρεται στο έδαφος, στο νερό και στον αέρα. Η ποσότητα που τελικά διασπείρεται στο περιβάλλον είναι δύσκολο να υπολογιστεί, καθώς εξαρτάται από πολλές παραμέτρους όπως είναι το κλίμα ή ο τρόπος εφαρμογής της ουσίας. Με την εφαρμογή των εντομοκτόνων είναι αναπόφευκτο οι βλαβερές ουσίες να φτάσουν στα ζώα και τα φυτά που δεν αποτελούν στόχο τους και να αποθηκευτούν στο ζωϊκό λίπος ή τους φυτικούς ιστούς με ό,τι αυτό συνεπάγεται.

Στη διασπορά ενός εντομοκτόνου στο έδαφος παίζει τον κυριότερο ρόλο η προσρόφηση της ενεργού ουσίας στα συστατικά του εδάφους. Η κατακράτηση της ουσίας στο έδαφος, περιορίζει τη βιολογική της διαθεσιμότητα από τη μία, οπότε επηρεάζεται έτσι και η φυτοπροστατευτική της δράση, και από την άλλη περιορίζεται η δυνατότητα βιοαποικοδόμησής της. Κατά τη διαδικασία της βιοαποικοδόμησης οι ζωντανοί οργανισμοί (π.χ. βακτήρια, ένζυμα) που βρίσκονται στο έδαφος μετατρέπουν την ουσία σε βασικά φυσικά μόρια όπως είναι το νερό, το διοξείδιο του άνθρακα και διάφορα ανόργανα άλατα. Υπάρχει και η αβιοτική αποικοδόμηση στην οποία δε συμμετέχουν ζωντανοί οργανισμοί αλλά τα μητρικά μόρια μπορούν να αποικοδομηθούν με τη δράση της ηλιακής ακτινοβολίας (φωτόλυση) ή του νερού (υδρόλυση) σε θυγατρικά μόρια, τους μεταβολίτες.

Η βιοαποικοδόμηση μιας ουσίας εξαρτάται καταρχάς από τη φύση του μορίου. Αν και όλες οι ενεργές ουσίες μπορούν να βιοαποικοδομηθούν, σε παρόμοιες συνθήκες το κάθε μόριο μπορεί να έχει διαφορετικό χρόνο αποικοδόμησης. Αυτό σημαίνει ότι ορισμένοι χρόνοι που απαιτούνται για την βιοαποικοδόμηση ενός μορίου μπορεί να είναι πολύ μεγάλοι. Επιπλέον, εξαρτάται από τη φύση του εδάφους και τις συνθήκες που επικρατούν σε αυτό, όπως είναι η θερμοκρασία και το pH. Η βιοαποικοδόμηση εξαρτάται ακόμα από το ιστορικό των χειρισμών του εδάφους. Δηλαδή όταν ένα έδαφος δέχεται πάντοτε την ίδια ενεργό ουσία θα μπορέσει να την αποδομήσει πιο γρήγορα σε σύγκριση με ένα άλλο που τη δέχεται για πρώτη φορά.

Μετά την εφαρμογή ενός εντομοκτόνου στην καλλιέργεια ένα μεγάλο μέρος μπορεί να διασκορπιστεί στην ατμόσφαιρα πριν προλάβει να φτάσει στο έδαφος ή όταν φτάσει στο

έδαφος μπορεί να εξατμιστεί μαζί με το νερό του εδάφους ανάλογα την πτητικότητά του. Αυτό αφορά ιδιαίτερα τα εντομοκτόνα που εφαρμόζονται με ψεκασμό και πέρα από τη φύση του εντομοκτόνου και τον τρόπο εφαρμογής, παίζουν ρόλο και οι καιρικές συνθήκες. Όταν επικρατούν ξηρές καιρικές συνθήκες η απώλεια κατά τη διάρκεια εφαρμογής της ουσίας παραμένουν σταθερές. Αντίθετα, όσο πιο υγρό είναι το έδαφος, τόσο περισσότερο οι ουσίες παραμένουν σε αυτό, μειώνοντας έτσι τις ποσότητες που θα μπορούσαν να μετακινηθούν στην ατμόσφαιρα.

Επίσης, μπορεί να μεταφερθεί μέσω της επιφανειακής απορροής και να μολύνει περαιτέρω το εδαφικό νερό, ή να προσροφηθεί από ορισμένα συστατικά του εδάφους και ύστερα ενδεχομένως να απελευθερωθεί στα υπόγεια ύδατα. Μπορεί επιπλέον να μολύνει το υδάτινο περιβάλλον όταν ψεκάζεται απευθείας πάνω από ένα ρέμα ή ένα ποτάμι ή όταν ξεπλένονται στα νερά αυτά τα ψεκαστικά μηχανήματα. ¹⁰

1.3.5 Η ανθεκτικότητα στα εντομοκτόνα

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η μαζική χρήση των εντομοκτόνων προκάλεσε φαινόμενα ανθεκτικότητας των εντόμων στις δραστικές τους ουσίες. Δηλαδή την ικανότητα ενός φυσιολογικού πληθυσμού εντόμων να επιβιώνει σε δόσεις που κανονικά θα έπρεπε να είναι θανατηφόρες. Λανθασμένα πολλές φορές η ανθεκτικότητα συγχέεται με την ανοχή που επιδεικνύει ένα έντομο όταν εκτίθεται σε μία μη θανατηφόρα δόση ενός εντομοκτόνου. Η ανθεκτικότητα σε αντίθεση με την ανοχή είναι κληρονομούμενο φαινόμενο.

Ένας φυσιολογικός πληθυσμός απαρτίζεται τόσο από ευαίσθητα άτομα όσο και από κάποια λίγα ανθεκτικά. Με την επαναλαμβανόμενη εφαρμογή του ίδιου εντομοκτόνου σε ένα πληθυσμό αυξάνονται τα ανθεκτικά άτομα που διαθέτουν τον γονότυπο αυτόν που τα καθιστά ανθεκτικά στο συγκεκριμένο εντομοκτόνο. Έτσι, αλλάζει η κατανομή του πληθυσμού, καθώς τα έντομα αυτά που δεν επηρεάζονται από την έκθεση στο εντομοκτόνο, επικρατούν μέσα στον πληθυσμό, αναπαράγονται και κληρονομούν στους απογόνους τους την ιδιότητα της ανθεκτικότητας.¹²

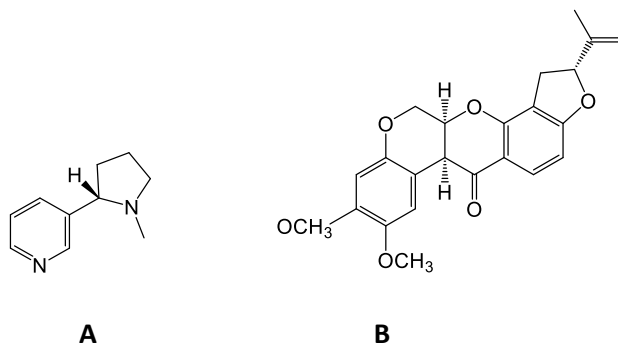
Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα τη χρήση όλο και μεγαλύτερων δόσεων και εντατικότερων χειρισμών εντομοκτόνων προκειμένου να αντισταθμιστεί η απώλεια αποτελεσματικότητάς τους. Πέρα από την αύξηση του κόστους παραγωγής της γεωργικής εκμετάλλευσης και την επιβάρυνση του περιβάλλοντος, τα αναπόφευκτα υπολείμματα που μένουν επάνω στα προϊόντα δημιουργούν προβλήματα κατά την προώθησή τους στις αγορές.¹⁰

Για τον περιορισμό του προβλήματος θα πρέπει να σχεδιάζονται προσεκτικά ολοκληρωμένα προγράμματα καταπολέμησης των εντόμων, που να περιορίζουν όσο το δυνατόν τη χημική επέμβαση στο περιβάλλον. Μπορεί να περιλαμβάνουν τη χρήση των ήδη υπάρχοντων συνθετικών εντομοκτόνων σε συνδυασμό με νέες εναλλακτικές μεθόδους, όπως είναι η χρήση των φυσικών προϊόντων.¹²

1.4 Τα φυσικά προϊόντα ως εντομοκτόνα

Οι επιπτώσεις των συνθετικών εντομοκτόνων στην υγεία των ανθρώπων, των ζώων αλλά και τα περιβαλλοντικά προβλήματα που δημιουργούν, έχουν στρέψει το επιστημονικό και βιομηχανικό ενδιαφέρον προς την αναζήτηση εναλλακτικών μεθόδων απεντόμωσης. Οι εναλλακτικές αυτές μέθοδοι αναζητούνται στα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά, που αποτελούν μία πλούσια πηγή βιοδραστικών ουσιών με τους δευτερογενείς τους μεταβολίτες.⁷ Οι δυνητικά προστατευτικές ιδιότητες των δευτερογενών μεταβολιτών ενάντια στα έντομα μπορεί να είναι απωθητικές, να εμποδίζουν τη διαδικασία πρόσληψης τροφής ή της ωτοκίας, τη διαδικασία της ανάπτυξης ή να προκαλούν οξεία τοξικότητα.¹³

Οι ουσίες που έχουν απομονωθεί από τα φυτά και παρουσιάζουν εντομοκτόνο δράση διακρίνονται σε τρεις κατηγορίες: τα αλκαλοειδή, τα φαινολικά και τα τερπενοειδή. Τα αλκαλοειδή επιδεικνύουν εντομοκτόνες ιδιότητες συνήθως για τα σπονδυλωτά, σε χαμηλές συγκεντρώσεις και ο τρόπος δράσης τους εξαρτάται από τη δομή του μορίου. Τα περισσότερα όμως φαίνεται να επηρεάζουν την ακετυλοχολινεστεράση και τα κανάλια νατρίου. Ένα αλκαλοειδές που χρησιμοποιείται συχνά για τις εντομοκτόνες ιδιότητές του είναι η νικοτίνη. Από την κατηγορία των φαινολικών ενώσεων, οι ομάδες που έχουν εντομοκτόνο δράση είναι τα φλαβονοειδή και οι τανίνες. Γνωστό φλαβονοειδές με τοξική δράση ενάντια στα έντομα είναι η Ροτενόνη, η οποία απομονώνεται από το φυτό *Derris elliptica*. Τα τερπενοειδή, με τα οποία ασχολείται η παρούσα εργασία, ανήκουν στα πιο διαδεδομένα και με ποικιλία στη δομή φυσικά εντομοκτόνα.¹³



Εικόνα 1.4.1: Η νικοτίνη (A) και η ροτενόνη (B) αποτελούν συνηθισμένα φυσικά εντομοκτόνα.

Τα τερπενοειδή συνιστούν το κύριο συστατικό των αιθερίων ελαίων, τα οποία θεωρούνται ένα εναλλακτικό μέσο καταπολέμησης των εντόμων. Τα αιθέρια έλαια παράγονται από τα αρωματικά φυτά και είναι πολύπλοκα στη σύστασή τους και πτητικά, μία ιδιότητα που

αποδίδεται στην παρουσία των τερπενίων. Στη φύση τα αιθέρια έλαια ως δευτερογενείς μεταβολίτες προστατεύουν τα φυτά από φυτοφάγα και μικροοργανισμούς μέσω των αντιμικροβιακών και εντομοκτόνων ιδιοτήτων τους. Στη βιβλιογραφία μάλιστα έχουν αναφερθεί πολλά αιθέρια έλαια ή συστατικά τους ως εντομοκτόνα, απωθητικά, ωοκτόνα ή ως παράγοντες που αναστέλλουν την ανάπτυξη του εντόμου. Πέρα από τα τερπενοειδή, άλλα φυτοχημικά συστατικά των αιθερίων ελαίων που φαίνεται να παίζουν κάποιο ρόλο στη βιοδραστικότητά τους ενάντια στα αρθρόποδα, είναι οι αλκοόλες, οι κετόνες και οι αλδεΐδες.¹³

Τα τερπενοειδή στην πλειονότητά τους βρίσκονται στα αιθέρια έλαια με τη μορφή μονοτερπενίων (90%), αλλά βρίσκονται συχνά και ημιτερπένια, σεσκιτερπένια, διτερπένια, τριτερπένια και τετρατερπένια.¹³ Τα μονοτερπένια είναι μία τεράστια κατηγορία δευτερογενών μεταβολιτών και εκατοντάδες από αυτά έχουν απομονωθεί και ταυτοποιηθεί μέχρι σήμερα. Ανάμεσα στο πλήθος βιολογικών δραστηριοτήτων που τα διακρίνει, έχει δοθεί μεγάλη βάση στις εντομοκτόνες, μυκητοκτόνες και βακτηριοκτόνες ιδιότητές τους, καθιστώντας τα ιδανικούς εναλλακτικούς παράγοντες για την ασφαλή, αποτελεσματική και βιοαποικοδομήσιμη αντιμετώπιση των παρασίτων.¹ Η τοξικότητα των αιθερίων ελαίων αποδίδεται συχνότερα στην παρουσία ενός ή περισσοτέρων μονοτερπενίων και δευτερεύοντα στα σεσκιτερπένια.¹³

Η σύστασή τους ποικίλλει ανάλογα το είδος, την ποικιλία, το κλίμα και τη γεωγραφική προέλευση του φυτού και την περίοδο συγκομιδής. Επίσης, η σύσταση όπως και η ποιότητα και η ποσότητα των αιθερίων ελαίων εξαρτώνται από τη μέθοδο εκχύλισης κατά την παραλαβή των συστατικών. Παρόμοια, η επίδραση που έχει ένα αιθέριο έλαιο στην τοξικότητα, στο ρυθμό της ανάπτυξης και στην αναπαραγωγική ικανότητα εξαρτάται από το είδος του εντόμου που καταπολεμάται, το είδος του φυτού και την αναλογία και τον τύπο των διαλυτών που χρησιμοποιήθηκαν κατά την εκχύλισή του.

Σήμερα είναι γνωστά σχεδόν 3.000 αιθέρια έλαια, απομονωμένα από περίπου 17.500 είδη αρωματικών φυτών και από αυτά έχει βρεθεί ότι περίπου 300 αιθέρια έλαια έχουν εμπορική σημασία για τη φαρμακευτική, εντομοκτόνα και αρωματική βιομηχανία. Θεωρούνται γενικά ασφαλή από την Αμερικανική Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων (US Food and Drug Administration, FDA). Η πλειοψηφία αυτών των αιθερίων ελαίων προέρχεται από τις οικογένειες φυτών Myrtaceae, Lauraceae, Rutaceae, Lamiaceae, Asteraceae, Apiaceae, Cupressaceae, Poaceae, Zingiberaceae και Piperaceae.

Τα αιθέρια έλαια επηρεάζουν τις βασικές μεταβολικές, βιοχημικές λειτουργίες του εντόμου, ενώ επιδρούν επίσης και στη συμπεριφορά τους. Ο ακριβής τρόπος δράσης ενάντια στα έντομα δεν είναι γνωστός, ωστόσο η ταχεία εμφάνιση των τοξικών συμπτωμάτων υποδηλώνει μία νευροτοξική δραστηριότητα. Αυτή λαμβάνει χώρα με την αναστολή της δράσης της χολινεστεράσης, την ανταγωνιστική ενεργοποίηση των οκτοπαμινεργικών υποδοχέων ή την παρεμβολή στα GABA κανάλια χλωρίου.

Παρόλο που γενικά τα αιθέρια έλαια και τα συστατικά τους είναι αποτελεσματικά ενάντια στα παράσιτα, στην πλειοψηφία τους δεν παρουσιάζουν τόσο ισχυρή δράση όσο τα συνθετικά εντομοκτόνα. Για αυτό το λόγο τα προϊόντα των αιθερίων ελαίων που προορίζονται για εντομοκτόνα χρήση είναι καλύτερο να χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με κάποιο συνθετικό εντομοκτόνο. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω ένας καλός τρόπος είναι να χρησιμοποιηθούν εναλλάξ με τα συνθετικά, αντιμετωπίζοντας έτσι το πρόβλημα της ανθεκτικότητας που παρουσιάζουν τα συνθετικά εντομοκτόνα.

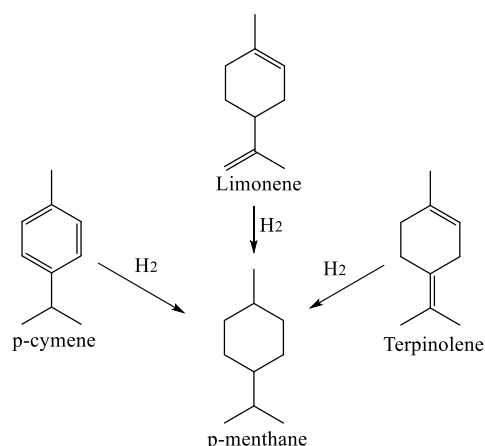
Όσον αφορά την τοξικότητα των φυσικών παρασιτοκτόνων και των παραγώγων τους η γενική εικόνα δείχνει ότι είναι λιγότερα τοξικά σε σύγκριση με τα συνθετικά, όμως δε θα πρέπει να θεωρείται ότι είναι απόλυτα ασφαλή για τους ανθρώπους και το περιβάλλον. Μέχρι στιγμής οι σχετικές έρευνες είναι περιορισμένες, παρόλο που τα φυσικά προϊόντα χρησιμοποιούνται εκτενώς από τη βιομηχανία. Σύμφωνα με έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί αρκετές από αυτές τις φυσικές ουσίες ήταν καρκινογόνες για τα τρωκτικά σε υψηλές δόσεις. Συνεπώς απαιτούνται περισσότερες έρευνες για τα φυσικά παρασιτοκτόνα και τα παράγωγά τους.¹³

1.5 Μονοτερπένια τύπου p-menthane – οξυγωνομένα παράγωγα

Όπως αναφέρθηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο (1.4), τα μονοτερπένια έχουν μελετηθεί εκτενώς για τις πολυάριθμες βιολογικές τους δράσεις, και οι ιδιότητές τους τα καθιστούν σημαντικούς παράγοντες για την αντιμετώπιση των παρασίτων. Η βιολογική δράση των τερπενίων αποδίδεται στις φυσικοχημικές ιδιότητές τους. Προκαλούν οξεία τοξικότητα στα έντομα μέσω επαφής ή υποκαπνισμού, έχουν εντομοαπωθητική και και αντιτροφική επίδραση και αναστέλλουν την ανάπτυξη του εντόμου. Είναι λιπόφιλα και έχουν χαμηλή τάση ατμών με αποτέλεσμα να μην παραμένουν στο έδαφος αλλά και να μην εκπλένονται στα υπόγεια ύδατα σε μεγάλο βαθμό. Επιπλέον, είναι πολύ σημαντικό ότι παρουσιάζουν χαμηλή τοξικότητα για τα θηλαστικά.¹⁴

Τα μονοτερπένια μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε δύο μεγάλες κατηγορίες: σε μονοτερπενικούς υδρογονάνθρακες, οι οποίοι περιλαμβάνουν ακυκλικές, μονοκυκλικές και δικυκλικές αλειφατικές ενώσεις και σε οξυγωνομένα μονοτερπένια, που περιλαμβάνουν αλκοόλες, αλδεΐδες, κετόνες, αιθέρες και οξέα σε ακυκλικά, μονοκυκλικά και δικυκλικά τερπενοειδή.¹⁴

Στη συγκεκριμένη εργασία οι δομές των ενώσεων που συντέθηκαν προσομοιάζουν τη δομή της ένωσης π-μενθάνιο (p-menthane). Το p-menthane είναι ένας κορεσμένος υδρογονάνθρακας, προϊόν της καταλυτικής υδρογόνωσης διαφόρων τερπενοειδών, όπως είναι το π-κυμένιο (p-cymene), το τερπινολένιο (terpinolene) ή το λιμονένιο (limonene). Στη φύση απαντάται στο αιθέριο έλαιο φρούτων του Ευκάλυπτου ως ένα άχρωμο υγρό, το οποίο είναι μίγμα cis και trans ισομερών, με οσμή που θυμίζει μάραθο.¹⁵



Σχήμα 1.5.1: Η καταλυτική υδρογόνωση του λιμονενίου, του τερπινολενίου και του π-κυμενίου οδηγούν στη δομή του π-μενθανίου.

Για τη μελέτη της δράσης των κυκλικών μονοτερπενίων της παρούσας εργασίας σχεδιάστηκαν κάποια παράγωγα, τα οποία προέρχονται από τις εξής αρχικές ενώσεις: τερπινολένιο (terpinolene), R-(+)-λιμονένιο (R-(+)-limonene), (-)-μενθόνη ((-)-menthone), πιπεριτενόνη (piperitenone), πιπεριτόνη (piperitone), R-(+)-πουλεγόνη (R-(+)-pulegone), (-)-ισοπουλεγόλη ((-)-isopulegol) και (+)-ισοπουλεγόλη ((+)-isopulegol), R-(-)-καρβόνη (R-(-)-carvone) και S-(+)-καρβόνη (S-(+)-carvone) και (+)-διυδροκαρβόνη ((+)-dihydrocarvone) (πίνακας 2). Όλες οι παραπάνω ενώσεις είναι φυσικά προϊόντα και αποτελούν συστατικά των αιθερίων ελαίων των φυτών του γένους Μέντα (Μίνθη, *Mentha*). Αυτό ισχύει γενικά για τα μονοτερπένια της κατηγορίας π-μενθανίου.

Το γένος Μέντα αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους εκπρόσωπους της οικογένειας των Χειλανθών (Lamiaceae), περιλαμβάνοντας περίπου 19 είδη ποωδών αρωματικών φυτών και 13 φυσικά υβρίδια. Τα διάφορα είδη ευδοκίμούν σε ποικιλία εδάφων και κλιμάτων κυρίως όμως σε εδάφη με υγρασία των εύκρατων περιοχών. Το γένος είναι γνωστό από την αρχαιότητα για τις πολλές θεραπευτικές του ιδιότητες και για αυτόν τον λόγο τα μονοτερπένια που περιέχονται στα αιθέρια έλαια του προσελκύουν το ενδιαφέρον τόσο για τις βιολογικές τους ιδιότητες όσο και για τη χημεία τους.^{16, 59, 60}

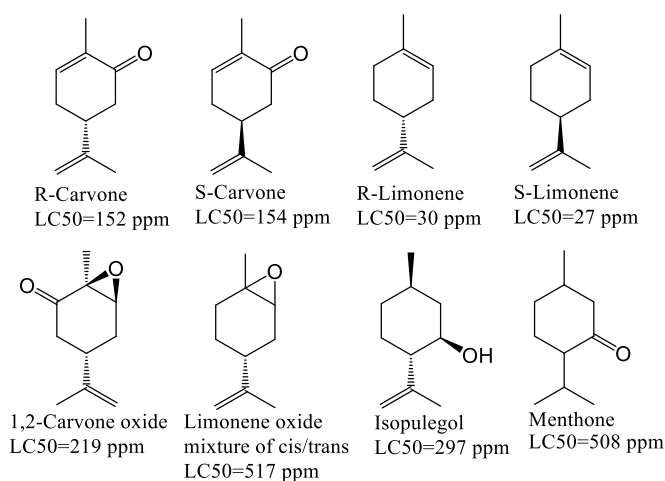
Οι παραπάνω ενώσεις που αφορούν τη μελέτη αυτή, απομονώνονται από διάφορα είδη, όπως είναι το είδος *M. spicata* (Μίνθη η σταχυώδης, δυόσμος), το είδος *M. pulegium* (Μίνθη η πουλέγιος, φλισκούνη) και το υβρίδιο *M. piperita* (Μίνθη η πιπερώδης). Επίσης, βρίσκονται και στα αιθέρια έλαια φυτών από άλλα γένη. Το λιμονένιο, για παράδειγμα, αποτελεί το κύριο συστατικό των φλοιών των εσπεριδοειδών (γένος *Citrus*, Κίτρος), στα οποία εσπεριδοειδή είναι παρούσα και η πιπεριτενόνη. Η πιπεριτόνη και η ισοπουλεγόλη βρίσκονται και στο λεμονόχορτο (γένος *Cymbopogon*, Κυμβοτώγων).

Υπάρχουν πολλές βιβλιογραφικές αναφορές σχετικά με τη βιοδραστικότητα των μονοτερπενίων ενάντια στα έντομα. Γενικά, τα οξυγονωμένα παράγωγα τερπενίων φαίνεται να είναι περισσότερο βιοδραστικά σε σχέση με τα μη-οξυγονωμένα. Παράλληλα, οι κετόνες, οι αλδεΐδες αλλά και τα εποξειδωμένα παράγωγα, φαίνεται να είναι περισσότερο δραστικά μόρια από τους υδρογονάνθρακες και τις αλκοόλες.^{16, 17, 6}

Τα εποξειδωμένα τερπένια ανήκουν στην κατηγορία των οξυγονωμένων παραγώγων και γενικά έχουν διερευνηθεί για τις εντομοαπωθητικές τους ιδιότητες, εξαιτίας της υψηλής δραστικότητας του οξιρανικού δακτυλίου. Ιδιαίτερη αναφορά στη βιβλιογραφία φαίνεται να γίνεται στις εντομοκτόνες ιδιότητες των εποξειδωμένων παραγώγων του λιμονενίου (limonene), της καρβόνης (carvone), της πιπεριτόνης (piperitone) και της πιπεριτενόνης

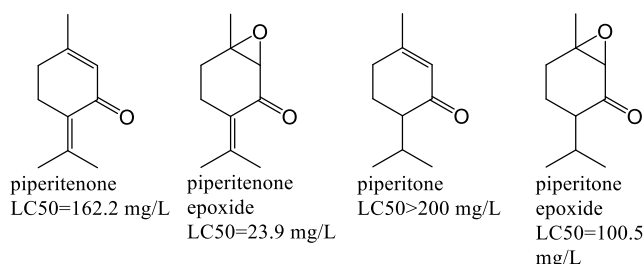
(piperitenone). Οι εντομοκτόνες ιδιότητες των εποξειδίων που έχουν διερευνηθεί, αφορούν τόσο τα *S. oryzae*, όσο και διάφορα άλλα είδη εντόμων και κουνουπιών.

Πιο συγκεκριμένα, παραγματοποιήθηκε μελέτη που αφορούσε τις προνυμφοκτόνες ιδιότητες διαφόρων τερπενοειδών, τα οποία φέρουν πάνω στο μόριό τους ομάδες υδροξείλιων, κετονών, εποξειδίων και διπλών δεσμών, ενάντια στο κουνούπι τίγρης (*Aedes aegypti*). Σκοπός τους ήταν να μελετήσουν την επίδραση που έχει στη δραστικότητα του μορίου μία ηλεκτρονιοελκτική ομάδα. Μεταξύ των τερπενοειδών που μελετήθηκαν ήταν η καρβόνη, το λιμονένιο και τα αντίστοιχα μονοεποξειδωμένα ενδοκυκλικά παράγωγά τους, η ισοπουλεγόλη και η μενθόνη. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της έρευνάς τους, η παρουσία ετεροκυκλικών ατόμων ή εποξειδίων στη δομή του μορίου μειώνει τη δραστικότητα του, όπως επίσης και η αντικατάσταση των διπλών δεσμών από εποξειδία. Επιπλέον, τα εναντιομερή φαίνεται να παίζουν κάποιο ρόλο στη δραστικότητα των ενώσεων, όπως στην περίπτωση της καρβόνης (εικόνα 1.5.1).¹⁸



Εικόνα 1.5.1: Η παρουσία ετεροκυκλικών ατόμων και εποξειδίων μειώνει τη δραστικότητα ενάντια στο κουνούπι τίγρης (*Santos et al.*).

Αντίθετα, σε μελέτη που αφορούσε το ασιατικό κουνούπι τίγρης (*Aedes albopictus*), οι ετεροκυκλικές ενώσεις επέδειξαν σχετικά καλή δραστικότητα. Στην περίπτωση των εποξειδίων της πιπεριτόνης (piperitenone epoxide) και της πιπεριτενόνης (piperitenone epoxide), η παρουσία του εποξειδωμένου δακτυλίου αύξησε τη δραστικότητα του μορίου σε σχέση με τα μη εποξειδωμένα αντίστοιχα μόρια (1.5.2).¹⁹



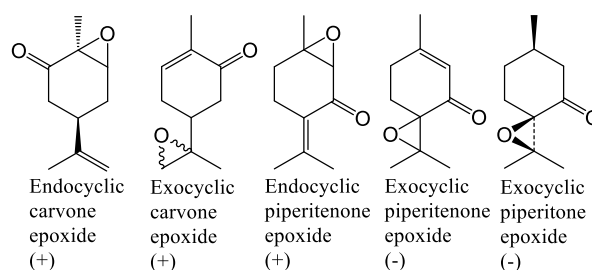
Εικόνα 1.5.2: Οι εποξειδωμένες μορφές ήταν περισσότερο δραστικές σε σχέση με τις μη εποξειδωμένες ενάντια στο ασιατικό κουνούπι τίγρης (*Giatropoulos et al.*).

Όσον αφορά τα έντομα αποθήκης, πραγματοποιήθηκε έρευνα που αφορούσε την υποκαπνιστική δράση παρόμοιων μονοτερπενίων με εφαρμογή στο είδος *Sitophilus zeamais*. Το *S. Zeamais* όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενο κεφάλαιο (1.2) παρουσιάζει πολλές ομοιότητες με το *S. Oryzae*. Σε συμφωνία με αρκετές μελέτες της βιβλιογραφίας, οι μονοτερπενικοί υδρογονάνθρακες αποδείχθηκε ότι έχουν μικρότερη εντομοκτόνο δράση σε σύγκριση με τα οξυγονομένα παράγωγα. Ανάμεσα στα περισσότερο δραστικά μόρια ήταν η καρβόνη, η διυδροκαρβόνη, η μενθόνη και το εποξείδιο του λιμονενίου.¹⁷

Η καρβόνη αποδείχθηκε ότι ήταν το δραστικότερο μόριο μεταξύ παρόμοιων μονοτερπενίων, τα οποία εφαρμόστηκαν και στο *S. Oryzae*, με $LC_{50}=14.19$ mg/L. Η παρουσία της καρβονυλικής ομάδας φαίνεται να αυξάνει τη δραστικότητα των μορίων.¹⁴ Στην συγκεκριμένη έρευνα δοκιμάστηκαν διάφορα είδη μονοτερπενίων, κυκλικά όπως αυτά που αναφέρθηκαν παραπάνω αλλά και ευθείας αλυσίδας. Οι ενώσεις αυτές δοκιμάστηκαν τόσο για την υποκαπνιστική τους δράση, όσο και ως εντομοκτόνα επαφής. Από τα αποτελέσματα προέκυψε ότι η τοξικότητα των ενώσεων αυτών επηρεάζεται από τη μέθοδο εφαρμογής που εφαρμόζεται. Για παράδειγμα το λιμονένιο παρουσίασε καλή υποκαπνιστική τοξικότητα με $LC_{50}=26.92$ mg/L, αλλά ήταν αδύναμο ως εντομοκτόνο επαφής με $LC_{50}=477.19$ mg/L. Ενδιαφέρον παρουσιάζει επίσης, η μελέτη επάνω στην ανασταλτική επίδραση των ενώσεων στη δράση της AchE. Από τη σύγκριση της τοξικότητας των μονοτερπενικών ενώσεων με τις ανασταλτικές επιδράσεις τους στο ένζυμο, προκύπτει ότι μερικές ενώσεις μπορεί να έχουν ισχυρή τοξική δράση, αλλά να είναι αδύναμοι αναστολείς της AchE, όπως για παράδειγμα η καρβόνη. Έτσι, συμπεραίνεται ότι είναι πιθανόν η AchE να μην αποτελεί τον μοναδικό τρόπο δράσης των μονοτερπενίων.¹⁴

Η δράση τερπενοειδών συστατικών του γένους *Mentha* συγκριτικά με συνθετικά εποξειδωμένα παράγωγά τους μελετήθηκε από τον Καθ. κ. Α. Κυμπάρη και τους συνεργάτες

του. Οι βιοδοκιμές που πραγματοποιήθηκαν αφορούσαν τις αντιτροφικές επιδράσεις των μορίων στο είδος Κολεόπτερον εντόμων *Leptinotarsa decemlineata*, μεταξύ άλλων παρασιτικών εντόμων. Η αξιολόγηση των τερπενοειδών κετονών που διαθέτουν α,β-ακόρεστο σύστημα, όπως είναι η καρβόνη, η πουλεγόνη και η πιπεριτενόνη, έδειξαν υψηλή δραστικότητα ενάντια στα παράσιτα στα οποία εφαρμόστηκαν (εικόνα 1.5.3). Η παρουσία του εξωκυκλικού (exocyclic carvone epoxide) και του ενδοκυκλικού (endocyclic carvone epoxide) εποξειδικού δακτυλίου στα αντίστοιχα εποξειδωμένα παράγωγα της καρβόνης, έδειξε να αυξάνει την τοξική δράση των μορίων. Συγκεκριμένα, το εξωκυκλικό εποξείδιο παρουσίασε ισχυρότερη τοξικότητα σε σχέση με το ενδοκυκλικό, ωστόσο και οι δύο εποξειδωμένες μορφές ήταν πιο δραστικές σε σχέση με την καρβόνη. Στην περίπτωση της πιπεριτενόνης και της πιπεριτόνης, η παρουσία του ενδοκυκλικού εποξειδίου σε α,β θέση ως προς το καρβονύλιο οδήγησε επίσης σε υψηλή δραστικότητα. Αντίθετα, η παρουσία του εξωκυκλικού εποξειδίου της πιπεριτενόνης και της πουλεγόνης, φάνηκε να μειώνει τη δραστικότητα. Ο βαθμός κορεσμού της πλευρικής αλυσίδας, η θέση των διπλών δεσμών στο μόριο και η αντικατάστασή τους από εποξείδια φαίνεται ότι παίζουν ρόλο στη δραστικότητα των μορίων.¹⁶



Εικόνα 1.5.3: Η σχετική θέση του εποξειδίου επηρεάζει τη δραστικότητα.

Με (+) συμβολίζεται η αύξηση της δραστικότητας, ενώ με (-) η μείωση αυτής σε σχέση με τις αντίστοιχες αρχικές ενώσεις (*Santana-Meridas et al.*).

2. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Όπως έχει αναφερθεί παραπάνω, οι μελέτες που αφορούν την βιολογική δράση των φυσικών προϊόντων έχουν δείξει πως μπορούν να προσφέρουν μία λύση στις επιπτώσεις που προκύπτουν από τη συνεχή χρήση συνθετικών εντομοκτόνων. Τα μονοτερπένια, ως κύρια συστατικά των αιθερίων ελαίων, και μάλιστα τα οξυγονωμένα, έχουν αποτελέσει αντικείμενο έρευνας για την εντομοκτόνο δράση τους.

Ως συνέχεια της μελέτης του κ. Κυμπάρη που αναφέρθηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο (1.5) και σε συνεργασία μαζί του, στόχος της παρούσας εργασίας ήταν η σύνθεση περαιτέρω εποξειδωμένων παραγώγων μονοτερπενίων και η βιολογική τους αξιολόγηση ως υποκαπνιστικά εντομοκτόνα στο είδος *S. oryzae*. Επιπλέον, επιχειρήθηκε να μελετηθεί η σχέση δομής – δράσης που προκύπτει μεταξύ των αρχικών κυκλικών μονοτερπενίων και των παραγώγων τους, καθώς επίσης και των παραγώγων μεταξύ τους και να εξαχθούν συμπεράσματα σχετικά με αυτή.

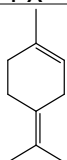
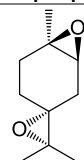
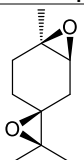
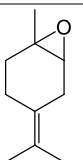
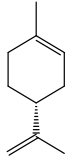
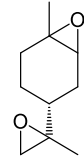
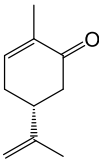
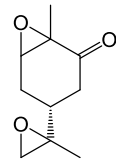
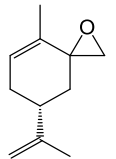
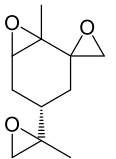
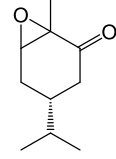
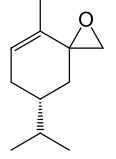
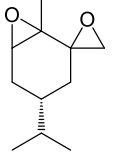
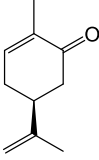
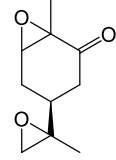
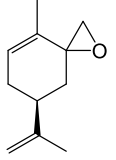
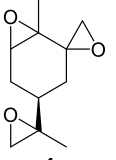
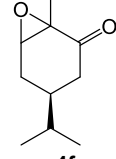
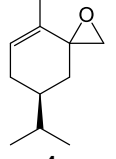
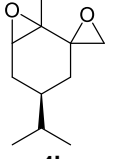
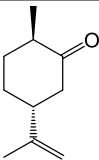
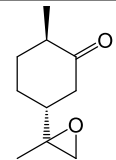
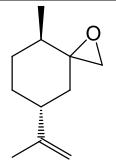
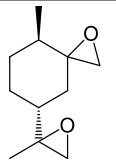
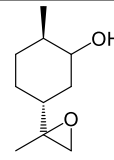
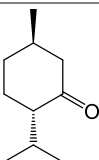
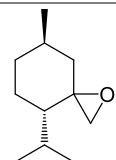
Τα εποξειδωμένα παράγωγα που σχεδιάστηκαν, προέρχονται από τις ενώσεις: τερπινολένιο (terpinolene), R-(+)-λιμονένιο (R-(+)-limonene), (-)-μενθόνη ((-)-menthone), πιπεριτενόνη (piperitenone), πιπεριτόνη (piperitone), R-(+)-πουλεγόνη (R-(+)-pulegone), (-)-ισοπουλεγόλη ((-)-isopulegol) και (+)-ισοπουλεγόλη ((+)-isopulegol), R-(-)-καρβόνη (R-(-)-carvone) και S-(+)-καρβόνη (S-(+)-carvone) και (+)-διυδροκαρβόνη ((+)-dihydrocarvone). Πρόκειται για μονοτερπενικούς υδρογονάνθρακες, και μονοτερπένια με υδροξυλομάδες και κετονικές ομάδες, είτε σε συζυγία με διπλούς δεσμούς, είτε όχι.

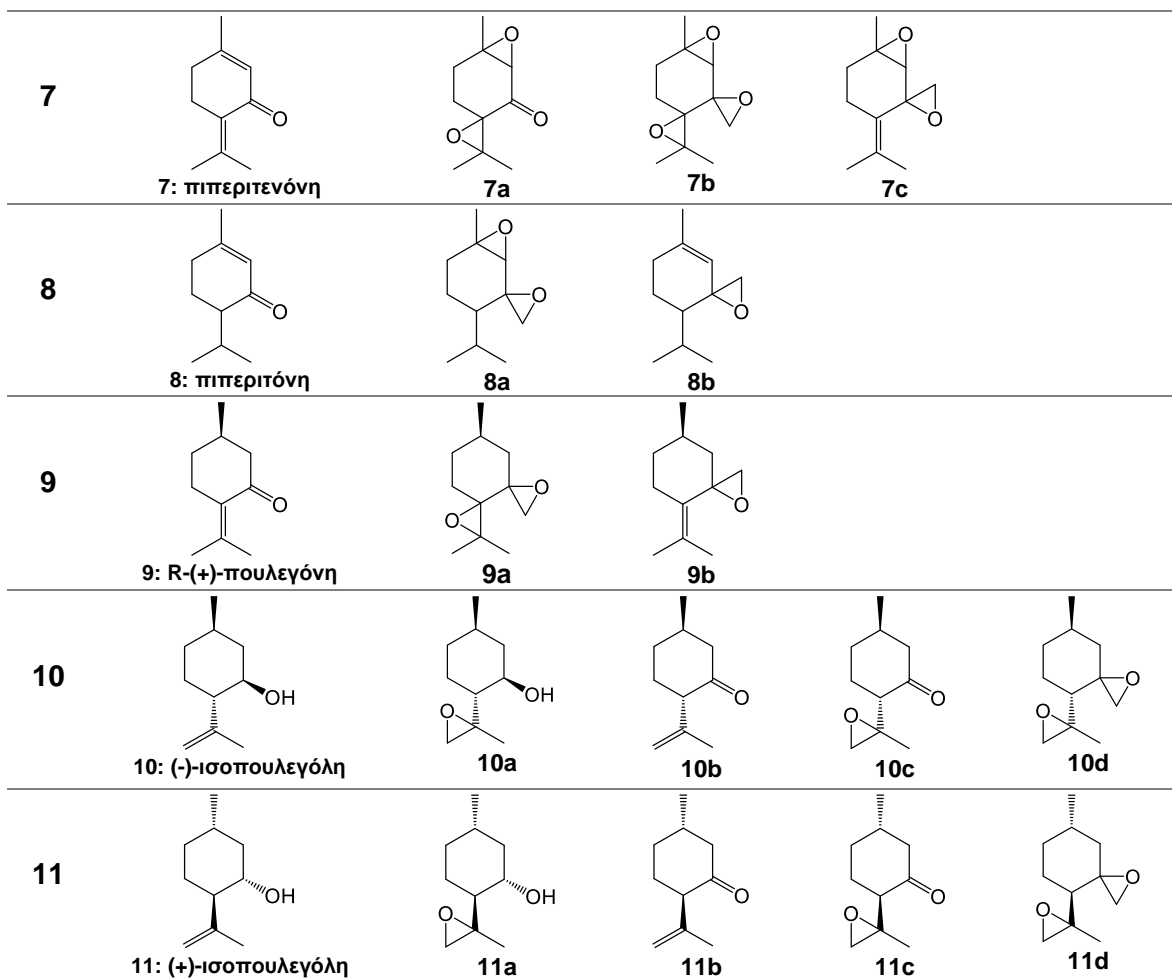
Όπως φάνηκε από προηγούμενες μελέτες, η παρουσία εποξειδίων σε ορισμένες περιπτώσεις αύξησε τη δραστικότητα των μορίων. Έτσι, σχεδιάστηκαν παράγωγα με διαφορετικές σχετικές θέσεις των εποξειδίων σε σχέση με την πλευρική αλυσίδα του κυκλοεξανίου και τους ενδεχομένως υπόλοιπους διπλούς δεσμούς των μορίων. Συγκεκριμένα, σχεδιάστηκαν ενώσεις με περισσότερους από έναν εποξειδικούς δακτυλίους, για να εκτιμηθεί η δράση τους σε σχέση με τα μονοεποξειδωμένα παράγωγα. Επιπροσθέτως, σχεδιάστηκαν spiro-εποξειδία, για τα οποία δε φαίνεται να υπάρχουν αναφορές σχετικά με την εντομοκτόνο δράση τους ενάντια στο είδος *S. Oryzae*. Σε ορισμένα παράγωγα, πραγματοποιήθηκε επίσης οξειδωση των αλκοολών προς κετόνες, έτσι ώστε να συγκριθεί η δραστικότητα των δύο λειτουργικών ομάδων. Με αυτούς τους τρόπους, έγινε προσπάθεια να συγκριθεί η τοξικότητα των εποξειδωμένων τερπενοειδών με τα αρχικά μη εποξειδωμένα τερπένια, καθώς και να διερευνηθεί η θέση των εποξειδίων πάνω στο μόριο.

Ανάμεσα στις αρχικές ενώσεις υπάρχουν δύο ζεύγη εναντιομερών ενώσεων, η (-)-ισοπουλεγόλη (**10**) με την (+)-ισοπουλεγόλη (**11**) και η R-(-)-καρβόνη (**3**) με την S-(+)-καρβόνη (**4**). Στη βιβλιογραφία αναφέρεται η διαφορετική βιοδραστικότητα που παρουσιάζουν οι οπτικοί αντίποδες μιας ένωσης, όπως είναι αυτοί της καρβόνης. Επομένως, δίνεται έτσι η ευκαιρία να συγκριθούν τα εναντιομερή της καρβόνης και της ισοπουλεγόλης ως προς τη δραστηριότητά τους. Επιπλέον, θα πρέπει να αναφερθεί ότι η (+)-διυδροκαρβόνη (**5**) που χρησιμοποιήθηκε ως αρχική ουσία για τη σύνθεση των αντίστοιχων παραγώγων, αποτελεί μίγμα ισομερών ενώσεων.

Οι αρχικές ενώσεις και τα εποξειδωμένα παράγωγα που σχεδιάστηκαν παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 2: Δομές ενώσεων προς σύνθεση και αξιολόγηση.

	Αρχική	Παράγωγα προς σύνθεση			
1	 1: τερπινολένιο	 1a	 1b	 1c	
2	 2: R-(+)-λιμονένιο	 2a			
3	 3: R-(-)-καρβόνη	 3a	 3b	 3c	
		 3f	 3g	 3h	
4	 4: S-(+)-καρβόνη	 4a	 4b	 4c	
		 4f	 4g	 4h	
5	 5: (+)-διυδροκαρβόνη	 5a	 5b	 5c	 5d
6	 6: (-)-μενθόνη	 6a			

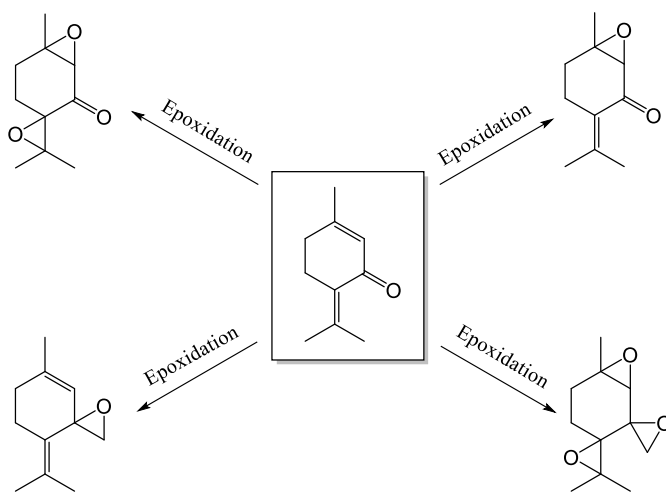


3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η εν λόγω διπλωματική εργασία αποτελείται από δύο μέρη. Το πρώτο μέρος αφορά τη σύνθεση των εποξειδωμένων τερπενοειδών, η οποία πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο σύνθεσης φυσικών προϊόντων και βιοοργανικής χημείας του «Δημόκριτου», υπό την επίβλεψη της Δρ. κ. Βιδάλη. Το δεύτερο μέρος αφορά την εφαρμογή των ενώσεων αυτών με τη μέθοδο του υποκαπνισμού σε έντομα του είδους *S. olgzae* με τελικό στόχο την αξιολόγηση της δραστικότητάς τους. Οι βιοδοκιμές εκπονήθηκαν υπό την επίβλεψη του Δρ. κ. Παπαχρήστου στο εργαστήριο γεωργικής εντομολογίας του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου.

3.1 Συνθετικές μέθοδοι

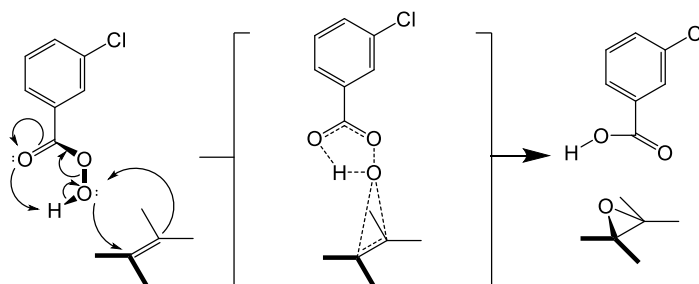
Οι ημισυνθετικές πορείες προς τα σχεδιασμένα παράγωγα περιγράφονται αναλυτικά στα επόμενα υποκεφάλαια. Οι αντιδράσεις εποξειδωσης που πραγματοποιήθηκαν μπορούν να περιγραφούν σχηματικά με το παρακάτω γενικό σχήμα:



Σχήμα 3.1.1: Γενικό σχήμα εποξειδώσεων

3.1.1 Μέθοδος με m-CPBA

Οι αρχικές προσπάθειες εποξειδωσης πραγματοποιήθηκαν με το αντιδραστήριο m-χλωρούπερβενζοϊκό οξύ (meta-Chloroperoxybenzoic acid, m-CPBA). Πρόκειται για ένα ηλεκτρονιόφιλο αντιδραστήριο που αντιδρά με πολλές λειτουργικές ομάδες και μεταφέρει οξυγόνο σε αλκένια, σουλφίδια, σεληνίδια, και αμίνες. Το m-CPBA διαθέτει έναν ασθενή δεσμό O-O, ο οποίος διασπάται από υποστρώματα που είναι πλούσια σε ηλεκτρόνια, όπως είναι τα απλά αλκένια ή αλκένια που φέρουν ποικιλία λειτουργικών ομάδων στο μόριό τους. Το αποτέλεσμα είναι η μεταφορά ενός ατόμου οξυγόνου στο υπόστρωμα.²⁰ Ο μηχανισμός της εποξειδωσης παρουσιάζεται στο παρακάτω σχήμα:



Σχήμα 3.1.1.1: Μηχανισμός εποξειδωσης με m-CPBA.

Η εποξειδωση του διπλού δεσμού επιτυγχάνεται μέσω μιας συν-προσθήκης. Όπως φαίνεται και από το σχήμα, η αντίδραση πραγματοποιείται μέσω μίας «σύγχρονης» μεταβατικής κατάστασης, κατά την οποία ο σχηματισμός του δεσμού μεταξύ του ατόμου του οξυγόνου και του δεσμού C=C λαμβάνει χώρα ταυτόχρονα με τη θραύση του δεσμού O-O.⁶¹ Η αντίδραση αυτή είναι γενικά στερεοειδική, όσον αφορά τις σχετικές θέσεις των υποκαταστατών στο αλκένιο και στο προκύπτον εποξείδιο. Είναι όμως και διαστεροεκλεκτική, όταν η εποξειδωση αφορά στερεοχημικώς παρεμποδισμένα μόρια, όπου η προσθήκη του ατόμου οξυγόνου πραγματοποιείται εκλεκτικά από την λιγότερο παρεμποδισμένη πλευρά.²⁰

Γενικά, η αντίδραση κατά την οποία ένα υπεροξύ αντιδρά με ένα αλκένιο για να προκύψει ένα εποξείδιο είναι γνωστή ως Prilezhaev reaction. Το m-CPBA είναι το πιο συνηθισμένο υπεροξύ για τέτοιου είδους αντιδράσεις λόγω της της σταθερότητάς του και της καλής διαλυτότητάς του στους περισσότερους οργανικούς διαλύτες.⁶¹ Επιπλέον, είναι πιο δραστικό από το υπεροξικό οξύ (peracetic acid). Ως διαλύτης συνήθως χρησιμοποιείται το διχλωρομεθάνιο (dichloromethane, DCM) και το χλωροφόρμιο (CH₃Cl).²⁰

Το πρόβλημα που προέκυψε τον πρώτο καιρό των πειραμάτων και σε όλες τις αντιδράσεις ήταν αυτό της περίσσειας του m-CPBA. Η παρουσία του γινόταν αντιληπτή στο φάσμα NMR και προκειμένου να διεξαχθούν σωστά οι βιοδοκιμές ήταν απαραίτητο να απομακρυνθεί. Δεν ήταν σαφές εάν οι κορυφές που εμφανίζονταν στην αρωματική περιοχή του φάσματος αντιστοιχούσαν στο m-CPBA ή στο αντίστοιχο μέτα-χλωροβενζοϊκό οξύ. Η εξουδετέρωση της περίσσειας του m-CPBA στο μίγμα της αντίδρασης, πραγματοποιείτο με προσθήκη υδατικού διαλύματος NaI και αναγωγή του στο αντίστοιχο μέτα-χλωροβενζοϊκό οξύ, οπότε το διάλυμα χρωματίζονταν ιώδες, λόγω παραγωγής I₂, ακολουθούμενη από προσθήκη Na₂SO₃ για την αναγωγή του τελευταίου (οπότε το διάλυμα αποχρωματιζόταν) και την απομάκρυνσή του στην υδατική φάση με εκχύλιση.

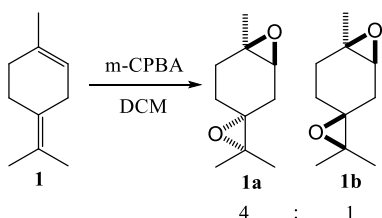
Για την απομάκρυνση του μέτα-χλωροβενζοϊκού οξέος και στην υδατική στιβάδα, δοκιμάστηκαν διάφορες μέθοδοι κατά τη διαδικασία της εκχύλισης του μίγματος της αντίδρασης. Συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκαν εκχυλίσεις με πολλούς συνδυασμούς κορεσμένων υδατικών διαλυμάτων, όπως NaHCO₃, Na₂SO₃, Na₂S₂O₃ και K₂CO₃. Παράλληλα, πραγματοποιούνταν ταυτόχρονοι έλεγχοι pH, με πεχαμετρικό χαρτί, έτσι ώστε να κυμαίνεται στην περιοχή 9-10. Επιπλέον, επιχειρήθηκε η απευθείας προσθήκη κορεσμένου υδατικού διαλύματος NaHCO₃ στο μίγμα της αντίδρασης, για την απ' ευθείας απομάκρυνση του m-CPBA από την οργανική φάση, χωρίς την περαιτέρω χρήση αναγωγικών αντιδραστηρίων, η οποία όμως οδήγησε σε χαμηλότερη απόδοση.

Οι βέλτιστες συνθήκες για την απομάκρυνση τόσο της περίσσειας m-CPBA, όσο και του μέτα-χλωροβενζοϊκού οξέος από την οργανική φάση, βρέθηκε ότι ήταν ο συνδυασμός NaI, Na₂SO₃, και K₂CO₃ και η ρύθμιση του τελικού pH ~ 12-13. Αυτή ήταν η μέθοδος εξουδετέρωσης που χρησιμοποιήθηκε καθόλη την υπόλοιπη πορεία των πειραμάτων με m-CPBA. Ως οργανικοί διαλύτες για την εκχύλιση χρησιμοποιήθηκαν ο αιθέρας ή το πεντάνιο, διότι έχουν σημείο βρασμού τους 35° και τους 36 °C αντίστοιχα. Τα τερπενοειδή είναι πτητικές ενώσεις και επομένως η χρήση διαλυτών με χαμηλό σημείο ζέσεως διευκόλυνε την εκλεκτική απομάκρυνσή τους κατά τη συμπύκνωση και τη μείωση της απώλειας των προϊόντων.

Ένα ακόμα θέμα που αντιμετωπίστηκε αρχικά ήταν η χρήση συστήματος εξαίνιου / οξικού αιθυλεστέρα στις πρώτες χρωματογραφίες στήλης (FCC). Όπως αποδείχθηκε, ο οξικός αιθυλεστέρας «παρέσυρε» στα κλάσματα τυχόν υπολείμματα του m-CPBA, αλλά επιλέχθηκε αρχικά για λόγους οικονομίας. Κατάλληλο σύστημα διαλυτών έκλουσης κρίθηκε ότι είναι το πεντάνιο / αιθέρας, κάτι που επιβεβαιώνεται και γενικά από τη βιβλιογραφία, αν και στις

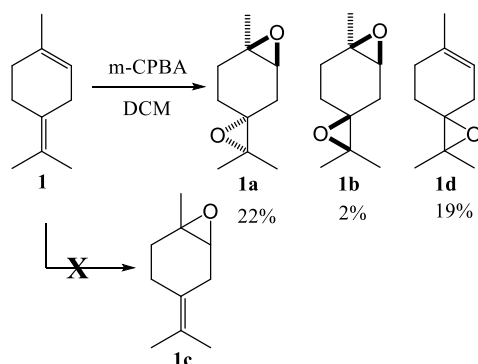
περισσότερες περιπτώσεις γίνεται αναφορά στην απόσταξη ως μέθοδο καθαρισμού της τελικής ουσίας. Εντούτοις, η μέθοδος αυτή δεν μπορούσε να εφαρμοστεί στις συγκεκριμένες περιπτώσεις, λόγω διεξαγωγής των αντιδράσεων σε μικρή κλίμακα (50-200 mg). Επιπλέον, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, το σύστημα πεντανίου-αιθέρα, έχοντας χαμηλότερο σημείο ζέσεως μπορεί να απομακρυνθεί ευκολότερα.

Η πρώτη προσπάθεια εποξειδωσης εφαρμόστηκε στο τερπινολένιο (**1**) βάσει βιβλιογραφικών αναφορών.²¹



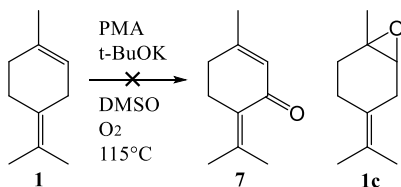
Σχήμα 3.1.1.2: Εποξειδωση του τερπινολενίου βάσει βιβλιογραφίας (*Carman et al.*).

Ακολουθώντας παρόμοια διαδικασία εκχύλισης του μίγματος της αντίδρασης, πραγματοποιήθηκαν εκπλύσεις με NaHCO₃, όμως όπως αποδείχθηκε αργότερα, παρέμεινε *m*-CPBA ή το αντίστοιχο οξύ. Για αυτόν τον λόγο, σε επόμενο πείραμα με το τερπινολένιο προτιμήθηκε η παραπάνω κατεργασία με NaI, Na₂SO₃ και K₂CO₃. Με βάση τη βιβλιογραφία για την αντίδραση χρησιμοποιήθηκαν 2.2 ισοδύναμα *m*-CPBA, οπότε προέκυψε το *trans*-διεποξείδιο **1a** και το *cis*-διεποξείδιο **1b** σε αναλογία 4:1 αντιστοίχως. Στην αντίστοιχη αντίδραση της εν λόγω εργασίας, προέκυψε το *cis*-διεποξείδιο (**1a**) ως κύριο προϊόν, το *trans*-διεποξείδιο (**2a**) σε πολύ μικρότερη αναλογία και επίσης το εξωκυκλικό μονοεποξείδιο (**1d**). Κατά τον διαχωρισμό των προϊόντων στη χρωματογραφική στήλη, μεγάλο μέρος των διεποξειδίων παραλήφθηκε ως μίγμα, που όμως δεν επιχειρήθηκε να διαχωριστεί. Συνεπώς, οι αποδόσεις που αναφέρονται στο παρακάτω σχήμα δεν είναι αντιπροσωπευτικές των πραγματικών.



Σχήμα 3.1.1.3: Αντίδραση εποξειδωσης του τερπινολενίου (**1**).

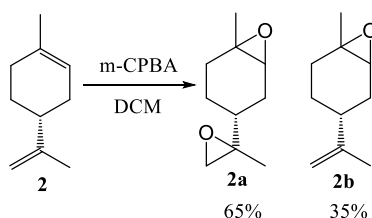
Σε αυτές τις συνθήκες δεν κατέστη δυνατή η σύνθεση του ενδοκυκλικού μονοεποξειδίου (**1c**), καθώς τα υπεροξέα οξειδώνουν πιο εύκολα τετραυποκατεστημένους διπλούς δεσμούς σε σχέση με τους τριυποκατεστημένους²². Όπως είναι γνωστό, κατά την εποξειδωση απλών αλκενίων ευνοείται η αντίδραση στον διπλό δεσμό που είναι περισσότερο πλούσιος σε ηλεκτρόνια, δηλαδή σε αυτόν που είναι συνδεδεμένος με τις περισσότερες αλκυλο-ομάδες. Συνεπώς, τα τέτραυποκατεστημένα αλκένια αντιδρούν ευκολότερα από τα τριυποκατεστημένα, τα τριυποκατεστημένα ευκολότερα από τα διυποκατεστημένα κ.ο.κ.²⁰ Στη βιβλιογραφία αναφέρεται η σύνθεση του ενδοκυκλικού παραγώγου (**1c**) στη βιβλιογραφία, ως παραπροϊόν της σύνθεσης της πιπεριτενόνης (**7**) από το τερπινολένιο (**1**) (Σχήμα 1.3.1.4). Η σύνθεση του παραγώγου **1c** επιχειρήθηκε χρησιμοποιώντας φωσφομολυβδαινικό οξύ (Phosphomolybdic acid, PMA) και τερτ-βουτοξειδίο του καλίου (Potassium tert-butoxide, t-BuOK) σε διμεθυλοσουλφοξειδίο (Dimethyl sulfoxide, DMSO), υπό ατμόσφαιρα οξυγόνου. Ωστόσο, δεν κατέστη δυνατό να απομονωθεί κάποιο κλάσμα από την αντίδραση.³⁸



Σχήμα 3.1.1.4: Σύνθεση του ενδοκυκλικού μονοεποξειδίου του τερπινολενίου **1c**.

Η σύνθεση του διεποξειδίου **2a** από το λιμονένιο (**2**) πραγματοποιήθηκε πάλι βάσει βιβλιογραφίας.³⁹ Όπως στην περίπτωση του τερπινολενίου (**1**), έτσι και κατά την αντίδραση του λιμονενίου (**2**) ακολουθήθηκε αρχικά η διαδικασία εκχύλισης του μίγματος της

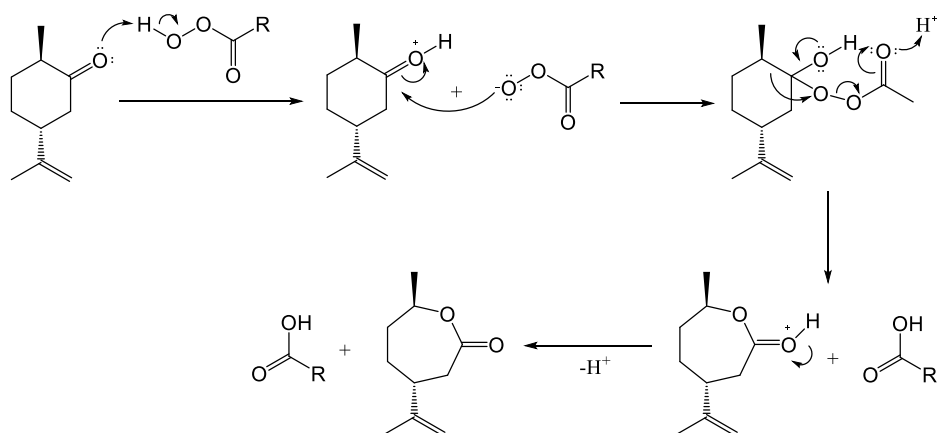
αντίδρασης σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, δηλαδή με Na_2SO_3 και NaHCO_3 . Όμως, και σε αυτή την περίπτωση παρουσιάστηκαν οι κορυφές του μέτα-χλωροβενζοϊκού οξέος στην αρωματική περιοχή στο φάσμα του NMR. Έτσι, σε μετέπειτα δοκιμή, το μίγμα της αντίδρασης εκχυλίστηκε διαδοχικά με υδατικό διάλυμα NaI , Na_2SO_3 και K_2CO_3 , ώστε να απομακρυνθεί αποτελεσματικά το *m*-CPBA/μ-χλωροβενζοϊκό οξύ. Από την αντίδραση προέκυψε το διεποξίδιο **2a** και το ένδο-μονοεποξειδίο **2b**, σε μικρότερη αναλογία. Η βιβλιογραφική αντίδραση, με παρόμοια συνθετική πορεία, παρήγαγε μίγμα των αντίστοιχων *cis*- και *trans*-διεποξειδίων του λιμονενίου.



Σχήμα 3.1.1.5: Αντίδραση εποξειδωσης του λιμονενίου (**2**).

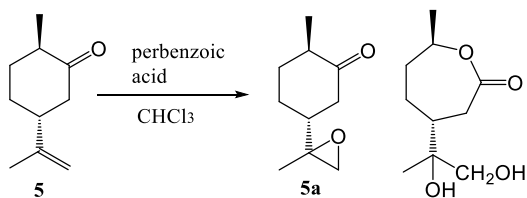
Σε αυτό το σημείο θα πρέπει να αναφερθεί ότι σε επόμενη φάση επιχειρήθηκε η εποξειδωση του λιμονενίου (**2**) με NaOCl ως εποξειδωτικό μέσο, ακολουθώντας τη συνθετική πορεία των Klawonn et al.. Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση ρυθμιστικού διαλύματος ($\text{NaHCO}_3/\text{Na}_2\text{CO}_3$ pH=10,2) και KBr , το οποίο σύμφωνα με τους συγγραφείς αυξάνει την απόδοση της αντίδρασης, εξαιτίας του σχηματισμού ιόντων βρωμίου *in situ*. Όμως, το προφίλ της αντίδρασης όπως αποτυπώθηκε στην πλάκα TLC, διέφερε σημαντικά από αυτό των αντίστοιχων επιτυχημένων αντιδράσεων, οπότε η αντίδραση τερματίστηκε.²³

Με παρόμοιο τρόπο, δηλαδή χρησιμοποιώντας *m*-CPBA σε DCM και χωρίς να ακολουθηθεί κάποια βιβλιογραφική πορεία, επιχειρήθηκε η σύνθεση του παραγώγου **5a** από την κετόνη **5**. Γρήγορα όμως διαπιστώθηκε πως είχε πραγματοποιηθεί προσθήκη Baeyer – Villiger και ο κυκλοεξανικός δακτύλιος μετατράπηκε σε λακτονικό δακτύλιο. Πράγματι, όπως υποστηρίζεται και από τη βιβλιογραφία, οι κετόνες και οι αλδεΐδες όταν αντιδρούν με υπεροξεία υφίστανται οξειδωση Baeyer – Villiger, οπότε μετατρέπονται σε εστέρες, με βάση τον παρακάτω προτεινόμενο μηχανισμό.^{20, 24}



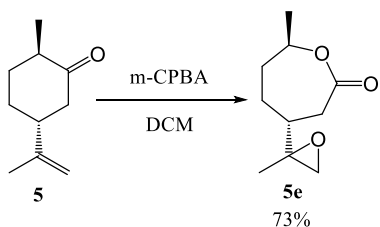
Σχήμα 3.1.1.6: Προτεινόμενος μηχανισμός της οξείδωσης Baeyer – Villiger στην (+)-διϋδροκαρβόνη (**5**).

Παρόλα αυτά, οι Howe et al. αναφέρουν ότι επετεύχθη η σύνθεση του παραγώγου **5a** χρησιμοποιώντας μονο-υπερφθαλικό οξύ (monoperphthalic acid) σε αιθέρα, όμως η αντίδραση ήταν χρονοβόρα και το προϊόν παραλήφθηκε σε μικρή ποσότητα.²⁴ Αναφέρουν επίσης τη σύνθεση του εποξειδίου με τη χρήση υπερβενζοϊκού οξέος (perbenzoic acid) σε χλωροφόρμιο και τον σχηματισμό της αντίστοιχης λακτονικής δίολης ως παραπροϊόν.



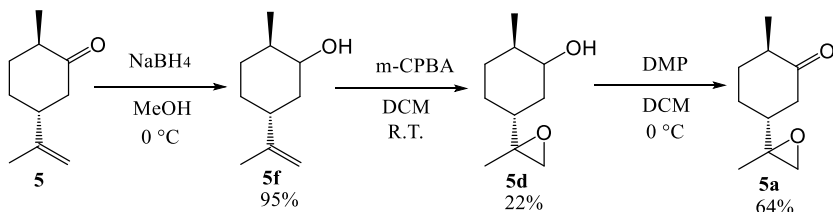
Σχήμα 3.1.1.7: Εποξείδωση της (+)-διϋδροκαρβόνης (**5**) με υπερβενζοϊκό οξύ με βάση τους Howe et al.

Από την αντίδραση της (+)-διϋδροκαρβόνης (**5**) με 2 ισοδύναμα *m*-CPBA που διεξήχθη στο εργαστήριο, σχηματίστηκε ως κύριο προϊόν της αντίδρασης η εποξειδωμένη λακτόνη **5e**. Η βιοδραστικότητα της λακτόνης **5e** δοκιμάστηκε στα *S. Oryzae*, αλλά τα προκαταρκτικά αποτελέσματα αξιολόγησής της δεν έδειξαν ότι έχει κάποια δράση, οπότε δεν πραγματοποιήθηκε ο υπολογισμός του LC₅₀ (βλ. κεφ. 3.2).



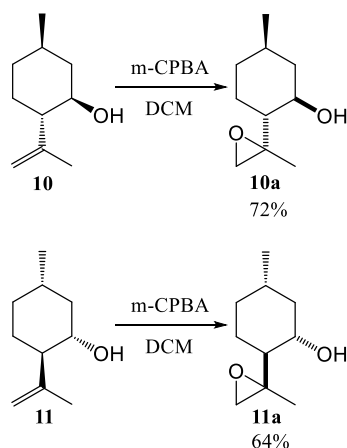
Σχήμα 3.1.1.8: Αντίδραση της (+)-διυδροκαρβόνης με m-CPBA οδήγησε σε λακτονικό εστέρα.

Στην προκειμένη, προτιμήθηκε η σύνθεση του **5a** σε τρία στάδια: Αρχικά η καρβονυλική ομάδα της (+)-διυδροκαρβόνης ανάχθηκε χρησιμοποιώντας βοροϋδρίδιο του νατρίου (NaBH_4) σε μεθανόλη στους $0\text{ }^\circ\text{C}$. Στη συνέχεια, η προκύπτουσα αλκοόλη **5f** εποξειδώθηκε επιτυχώς με m-CPBA σε θερμοκρασία δωματίου (room temperature, R.T.), σχηματίζοντας το εποξείδιο **5d**. Η απόδοση της αντίδρασης είναι χαμηλή (22%), παρόλο που η αρχική ουσία μετατράπηκε πλήρως στο προϊόν **5d**. Έπειτα, η υδροξυλομάδα του εποξειδίου **5d** οξειδώθηκε και πάλι σε κετόνη με αντιδραστήριο Dess – Martin (DMP) σε διαλύτη DCM στους $0\text{ }^\circ\text{C}$, για να σχηματιστεί τελικά το εποξείδιο **5a**, με απόδοση 64%.



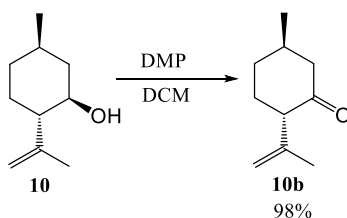
Σχήμα 3.1.1.9: Στάδια σχηματισμού του εποξειδίου της (+)-διυδροκαρβόνης **5a**.

Τόσο στην περίπτωση της (-)-ισοπουλεγόλης (**10**) όσο και σε αυτήν της (+)-ισοπουλεγόλης (**11**) ακολουθήθηκε και πάλι η μέθοδος εποξειδωσης με m-CPBA, για να συνθεθούν τα παράγωγα **10a** και **11a** αντίστοιχα.²⁵ Σύμφωνα με τη βιβλιογραφική αναφορά έπρεπε να χρησιμοποιηθεί NaHSO_3 κατά την εκχύλιση του μίγματος της αντίδρασης, όμως στην προκειμένη προτιμήθηκε το Na_2SO_3 επειδή είναι πιο βασικό. Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω όμως, η μέθοδος εξουδετέρωσης του m-CPBA/μ-χλωρο-βενζοϊκού οξέος χρησιμοποιώντας μόνο Na_2SO_3 δεν ήταν αρκετή και για αυτό χρησιμοποιήθηκε σε μετέπειτα πειράματα ο συνδυασμός NaI , Na_2SO_3 και K_2CO_3 . Ακόμη, στην αντίδραση της βιβλιογραφίας αναφέρεται ότι το προϊόν της αντίδρασης **10a** παρήχθη με απόδοση 88%, στην προκειμένη, όμως, περίπτωση η απόδοση του τελικού προϊόντος ήταν 54% για την ένωση **11a** και 72% για την ένωση **10a**.

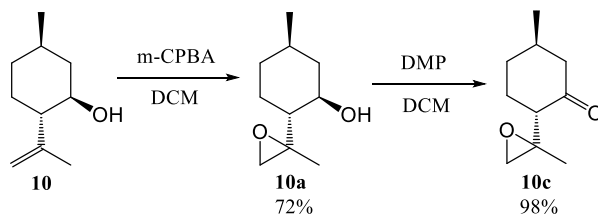


Σχήμα 3.1.1.10: Αντίδραση εποξειδωσης της ισοπουλεγόλης.

Επίσης, η σύνθεση των παραγώγων **10b** και **10c** πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του αντιδραστήριου Dess – Martin (DMP). Σκοπός αυτής της μετατροπής ήταν να διερευνηθεί καλύτερα η σχέση δομής – δράσης των ενώσεων, μέσω της οξειδωσης της υδροξυλομάδας της ισοπουλεγόλης **10**. Η οξειδωση διεξήχθη τόσο στο μόριο της (-)-ισοπουλεγόλης (**10**), όσο και στο εποξειδωμένο παράγωγο **10a**, κατά παρόμοιο τρόπο με την ένωση **5d**, δηλαδή με 1,6 ισοδύναμα του αντιδραστήριου DMP στους 0 °C. Οι αποδόσεις των αντιδράσεων αυτών ήταν αρκετά υψηλές, όπως φαίνεται και στα σχήματα που ακολουθούν (Σχήμα 3.1.1.11 και 3.1.1.12).

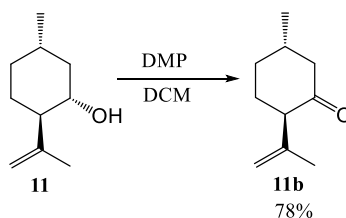


Σχήμα 3.1.1.11: Οξείδωση της υδροξυλομάδας της (-)-ισοπουλεγόλης (**10**).

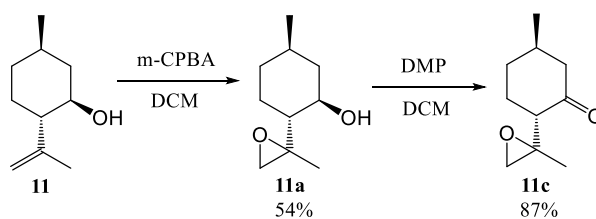


Σχήμα 3.1.1.12: Οξείδωση της υδροξυλομάδας του παραγώγου **10a**.

Ακριβώς με τον ίδιο τρόπο και τις ίδιες συνθήκες που αναφέρθηκαν παραπάνω για τα παράγωγα **10b** και **10c**, παρασκευάστηκαν τα παράγωγα **11b** και **11c** της (+)-ισοπουλεγόλης. Παρατηρήθηκε μείωση της απόδοσης των αντιδράσεων της (+)-ισοπουλεγόλης συγκριτικά με αυτές της (-)-ισοπουλεγόλης (Σχήμα 3.1.1.11-3.1.1.14).



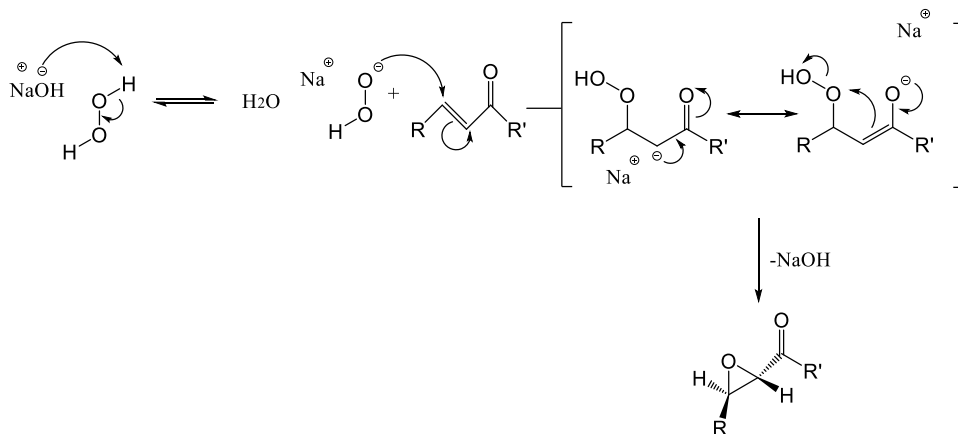
Σχήμα 3.1.1.13: Οξείδωση της υδροξυλομάδας της (+)-ισοπουλεγόλης (**11**).



Σχήμα 3.1.1.14: Οξείδωση της υδροξυλομάδας του παραγώγου **11a**.

3.1.2 Μέθοδος με H₂O₂

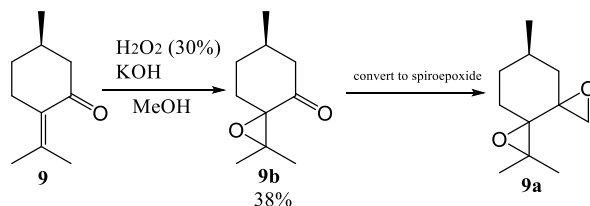
Για τις ενώσεις στις οποίες ο διπλός δεσμός βρίσκεται σε συζυγία με το καρβονύλιο, όπως είναι η καρβόνη (**3**, **4**), η πιπεριτενόνη (**7**), η πιπεριτόνη (**8**) και η R-(+)-πουλεγόννη (**9**) προτιμήθηκε ως εποξειδωτικό μέσο το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H₂O₂). Κατά την εποξειδωση με υπεροξέα, όπως το m-CPBA, ένα αλκένιο δρα ως πυρηνόφιλο, αλλά κατά την εποξειδωση με το υπεροξείδιο ως ηλεκτρονιόφιλο. Η εποξειδωση των αλκενίων με υπεροξέα περιλαμβάνει την πυρηνόφιλη προσβολή στο δεσμό O-O από τα π – ηλεκτρόνια του διπλού δεσμού C=C. Επομένως, αυτή η αντίδραση γενικά ευνοείται όταν χρησιμοποιούνται αλκένια πλούσια σε ηλεκτρόνια και υπεροξέα με έλλειψη ηλεκτρονίων. Για αυτόν τον λόγο, αλκένια φτωχά σε ηλεκτρόνια, όπως είναι οι α,β – ακόρεστες κετόνες ή αλδεΐδες, είναι αδρανή σε υπεροξέα και εποξειδώνονται εύκολα με το συνδυασμό H₂O₂ και μίας βάσης, μέσω μίας 1,4-πυρηνόφιλης προσθήκης τύπου Michael. Ο διπλός δεσμός C=C ενός αλκενίου συνήθως δεν υφίσταται πυρηνόφιλη προσθήκη, όμως όταν το υπόστρωμα είναι μία α,β-ακόρεστη κετόνη, το ενδιάμεσο ανιόν σταθεροποιείται επειδή είναι ένα ενολικό ανιόν.^{20, 26} Ο μηχανισμός της εποξειδωσης αυτής παρουσιάζεται στο παρακάτω σχήμα:



Σχήμα 3.1.2.1: Μηχανισμός εποξειδωσης με H₂O₂.

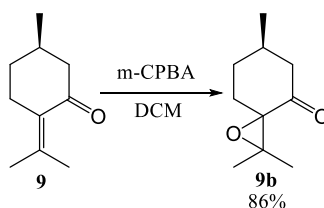
Για να μπορέσει να συντεθεί το παράγωγο **9a** της R-(+)-πουλεγόννης (**9**) έπρεπε πρώτα να εποξειδωθεί ο διπλός δεσμός, ώστε να παραχθεί το κετο-εποξείδιο (**9b**) και ύστερα να προχωρήσει η μετατροπή του καρβονυλίου σε sp³ εποξείδιο. Η εποξειδωση του διπλού δεσμού χρησιμοποιώντας 3,8 ισοδύναμα H₂O₂ (30% w/v) και 2 ισοδύναμα διαλύματος KOH.²⁷ Ο διαλύτης της αντίδρασης ήταν η μεθανόλη. Στην παρούσα μελέτη όμως η αντίδραση δεν παρουσίαζε κάποια πρόοδο στις 3 ώρες και προστέθηκαν ακόμα 3,8 ισοδύναμα H₂O₂.

Η προσθήκη αυτή μπορεί να οφείλεται στο αντιδραστήριο και όχι στη μέθοδο. Δεν προστέθηκε επιπλέον ΚΟΗ, ώστε να μην αυξηθεί πολύ το pH, το οποίο ήταν ήδη 12. Η αντίδραση τελικά ολοκληρώθηκε σε 18 ώρες, ενώ υπήρχαν πολλά παραπροϊόντα.



Σχήμα 3.1.2.2: Εποξειδωση της R-(+)-πουλεγόνης (9) με H₂O₂.

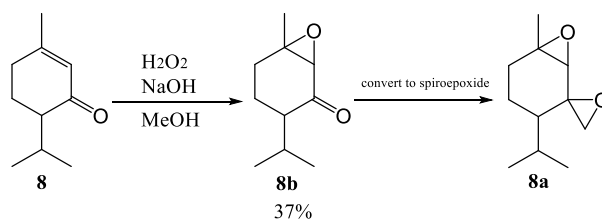
Ωστόσο το μονοεποξειδίο συντέθηκε με επιτυχία χρησιμοποιώντας και m-CPBA / DCM.²⁸ Σε αντίθεση με την πορεία με H₂O₂, η αντίδραση με m-CPBA ολοκληρώθηκε σε μία ώρα και παρουσίασε σημαντικά μεγαλύτερη απόδοση (Σχήμα 3.1.2.2 και 3.1.2.3). Παρόλο που η R-(+)-πουλεγόνη (9) είναι μία κετόνη, η αντίδραση με το m-CPBA δεν οδήγησε σε οξειδωση Baeyer – Villiger. Μία πιθανή εξήγηση για αυτό, είναι ότι το m-CPBA είναι ένα ηλεκτρονιόφιλο αντιδραστήριο και οι αλκυλομάδες που βρίσκονται γύρω από τον διπλό δεσμό της R-(+)-πουλεγόνης λειτουργούν ως ηλεκτρονιοδότες. Έτσι, ενδεχομένως να δημιουργούνται ευνοϊκές συνθήκες για την εποξειδωση του διπλού δεσμού.



Σχήμα 3.1.2.3: Εποξειδωση της R-(+)-πουλεγόνης (9) με m-CPBA.

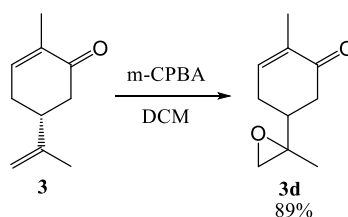
Όσον αφορά την πιπεριτόνη (8), προκειμένου να συνθεθεί το μονοεποξειδίο 8b που θα αποτελούσε πρόδρομο μόριο για την ένωση 8a, ακολουθήθηκε η πορεία των Larkov et. al.⁴³ Αυτή τη φορά χρησιμοποιήθηκαν 3,4 ισοδύναμα H₂O₂ (30% w/v) και 0,5 ισοδύναμα διαλύματος NaOH 6N και πάλι με διαλύτη τη μεθανόλη. Η εκχύλιση της αντίδρασης διαφοροποιήθηκε από αυτή της βιβλιογραφίας, κατά την οποία προστέθηκε κορεσμένο υδατικό διάλυμα NaCl και εκχυλίστηκε με μεθυλο-τερτ-βουτυλαιθέρα (methyl tert-butyl ether, MTBE). Αντί αυτού, η εκχύλιση έγινε με αιθέρα και κορεσμένο υδατικό διάλυμα NaHCl₄. Η απόδοση υπολογίστηκε ότι ήταν 37%, αρκετά μικρότερη σε σχέση με αυτή που

αναγραφόνταν στη βιβλιογραφία, η οποία ήταν 85%, καθώς υπήρχε πλήθος παραπροϊόντων.



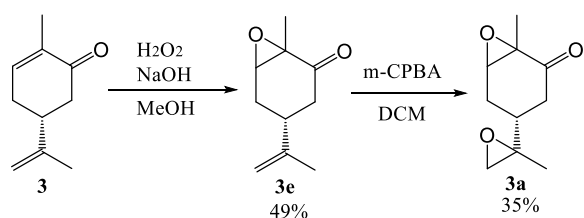
Σχήμα 3.1.2.4: Αντίδραση εποξειδωσης της πιπεριτόνης (**8**).

Στην περίπτωση της R-(-)-καρβόνης (**3**) και της S-(+)-καρβόνης (**4**) πραγματοποιήθηκαν αρχικά ανεπιτυχείς προσπάθειες για τη σύνθεση των αντίστοιχων διεποξειδίων **3a** και **4a** χρησιμοποιώντας διπλάσια ισοδύναμα m-CPBA. Συγκεκριμένα, από την **3** προέκυψε το εξωκυκλικό εποξειδωμένο μόριο **3d** (Σχήμα 3.1.2.5).



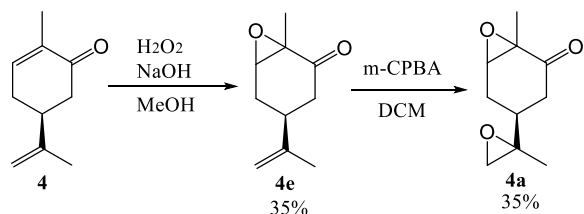
Σχήμα 3.1.2.5: Εποξειδωση της R-(-)-καρβόνης (**3**) με m-CPBA.

Η σύνθεση του ενδοκυκλικού μονοεποξειδίου επιτεύχθηκε με την ίδια μέθοδο που χρησιμοποιήθηκε για την πιπεριτόνη (Σχήμα 3.1.2.4)⁴³. Η διαφορά ήταν ότι στην περίπτωση της καρβόνης απαιτούνταν σχεδόν τα διπλάσια ισοδύναμα H₂O₂ και NaOH προκειμένου να ολοκληρωθεί η αντίδραση. Η απόδοση της αντίδρασης για τα μονοεποξειδία **3e** και **4e** ήταν 49% και 35% αντίστοιχα. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε περαιτέρω εποξειδωση του εξωκυκλικού διπλού δεσμού του μορίου **3e** με m-CPBA για να συντεθεί το διεποξείδιο **3a**, όπως περιγράφηκε για τη σύνθεση του μορίου **3d**. Κατά την αντίδραση εποξειδωσης του εξωκυκλικού διπλού δεσμού προς τον σχηματισμό του διεποξειδίου **3a**, παρατηρήθηκε μικρότερη απόδοση 35%. Η αντίστροφη πορεία, δηλαδή η αρχική εποξειδωση του εξωκυκλικού διπλού δεσμού με m-CPBA και η εποξειδωση του ενδοκυκλικού δεσμού με H₂O₂ σε επόμενο στάδιο, δεν πραγματοποιήθηκε. Η αντίδραση με H₂O₂ πραγματοποιείται σε πολύ αλκαλικές συνθήκες και υπήρχε φόβος για διάνοιξη του εξωκυκλικού εποξειδίου.



Σχήμα 3.1.2.6: Στάδια σύνθεσης του διεποξειδίου της R-(-)-καρβόνης **3a**.

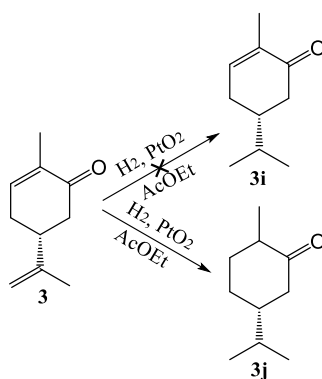
Παρόμοια παρασκευάστηκε το παράγωγο **4a** της S-(+)-καρβόνης, όπως παρουσιάζεται στο παρακάτω σχήμα:



Σχήμα 3.1.2.7: Στάδια σύνθεσης του διεποξειδίου της S-(+)-καρβόνης **4a**.

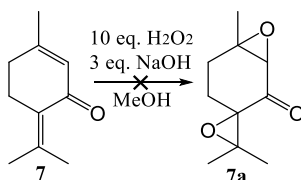
Προκειμένου να διερευνηθεί περαιτέρω ο τρόπος που επηρεάζει η δομή την εντομοκτόνο δράση του μορίου, σχεδιάστηκε η σύνθεση των παραγώγων **3f**, **3g**, **3h** και **4f**, **4g**, **4h**. Τα συγκεκριμένα παράγωγα δε διαθέτουν τον εξωκυκλικό διύποκατεστημένο διπλό δεσμό της καρβόνης, επομένως το πρώτο βήμα για τη σύνθεσή τους θα έπρεπε να είναι η αναγωγή του συγκεκριμένου δεσμού.

Η υδρογόνωση της ένωσης **3** στηρίχθηκε στην έρευνα των *Padhi et al.*, κατά την οποία χρησιμοποιήθηκε PtO_2 ως καταλύτης σε οξικό αιθυλεστέρα (ethyl acetate, AcOEt), ούτως ώστε να παρασκευαστεί το προϊόν **3i** (Σχήμα 3.1.2.8).⁴¹ Η εφαρμογή των συνθηκών αυτών, όμως, οδήγησε σε πλήρη αναγωγή των δύο διπλών δεσμών της καρβόνης **3** και στον σχηματισμό της κορεσμένης κετόνης **3j**. Σύμφωνα με τους Shipe και Sorensen, εκλεκτική υδρογόνωση του εξωκυκλικού διπλού δεσμού της καρβόνης (**3**) επιτυγχάνεται στις παραπάνω συνθήκες αλλά χωρίς την προσθήκη κάποιου διαλύτη.⁴² Εντούτοις, δεν πραγματοποιήθηκε δοκιμή αυτής της μεθόδου και δεν προχώρησε περαιτέρω η σύνθεση των παραγώγων αυτών.



Σχήμα 3.1.2.8: Αναγωγή των δύο διπλών δεσμών της R-(-)-καρβόνης (**3**).

Η πιπεριτενόνη (**7**) διαθέτει δύο διπλούς δεσμούς σε συζυγία με το καρβονύλιο. Έτσι, για τη σύνθεση του διεποξειδίου **7a** αρχικά δοκιμάστηκε η παραπάνω μέθοδος με $\text{H}_2\text{O}_2/\text{NaOH}$, αλλά χρησιμοποιώντας 10 και 3 ισοδύναμα αντίστοιχα, έτσι ώστε να εποξειδωθούν και οι δύο διπλοί δεσμοί ταυτόχρονα. Δεν κατέστη δυνατή η ταυτοποίηση του προϊόντος της αντίδρασης, αλλά στο προκύπτον φάσμα NMR δεν υπήρχαν ενδείξεις σχηματισμού εποξειδίων.



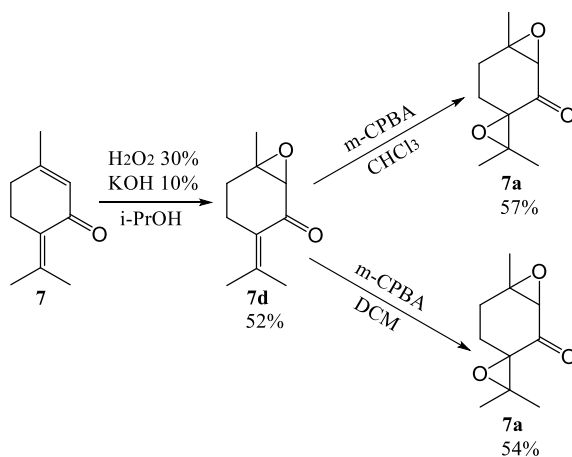
Σχήμα 3.1.2.9: Απόπειρα ταυτόχρονης εποξειδωσης προς το προϊόν **7a**

Στη συνέχεια, επιδιώχθηκε αρχικά η σταδιακή εποξειδωση των διπλών δεσμών της **7** προς το σχηματισμό του μονοεποξειδίου **7d**, από το οποίο προέκυψε το διεποξείδιο **7a** με βάση την πορεία που φαίνεται στο σχήμα 3.1.2.10.

Έτσι, για τη σύνθεση του **7a** από την **7**, χρησιμοποιήθηκε H_2O_2 (30% w/v), διάλυμα KOH (10%) και ως διαλύτης η ισοπροπανόλη. Όπως σημειώνεται στη βιβλιογραφία,^{29, 30} η αντίδραση παρέμεινε καθόλη τη διάρκεια της νύχτας σε ηρεμία στην ψύξη και στη συνέχεια στο μίγμα προστέθηκε υδατικό διάλυμα NaCl και εκχυλίστηκε με αιθέρα. Στην προκειμένη η εκχύλιση πραγματοποιήθηκε ομοίως με αιθέρα αλλά δεν προηγήθηκε κάποια επεξεργασία με διάλυμα NaCl.

Για το επόμενο στάδιο της εποξειδωσης προς το διεποξείδιο **7a**, στη βιβλιογραφία αναφέρεται ως διαλύτης το χλωροφόρμιο με χρήση υπερβενζοϊκού οξέος.³¹ Το m-CPBA

είναι περισσότερο δραστικό αντιδραστήριο από το υπερβενζοϊκό οξύ. Καθώς στη μέχρι τώρα πορεία των συνθετικών πειραμάτων χρησιμοποιούταν το DCM για τις εποξειδώσεις με *m*-CPBA, πραγματοποιήθηκαν δύο ταυτόχρονα πειράματα, το ένα με χλωροφόρμιο και το άλλο με DCM, για να συγκριθούν μεταξύ τους οι δύο μέθοδοι. Έτσι, χρησιμοποιήθηκαν και στις δύο αντιδράσεις ίδιες συνθήκες, δηλαδή προστέθηκαν 1,5 ισοδύναμα *m*-CPBA στους 0 °C για 20 ώρες. Όπως διαπιστώθηκε από τον έλεγχο των αντιδράσεων με TLC και από τα φάσματα NMR το αποτέλεσμα ήταν ακριβώς το ίδιο, μόνο που το προϊόν, στο οποίο χρησιμοποιήθηκε το χλωροφόρμιο ήταν λίγο καθαρότερο. Επιπλέον, η απόδοση των δύο αντιδράσεων ήταν παρόμοια.

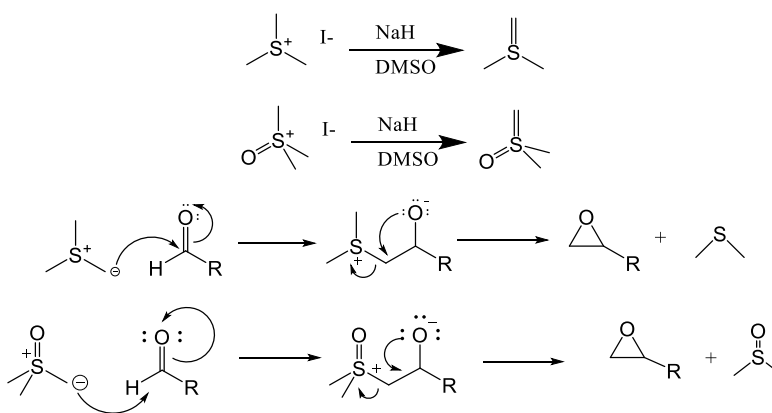


Σχήμα 3.1.2.10: Στάδια εποξείδωσης προς το προϊόν **7a**.

3.1.3 Μέθοδος με Me₃SI και Me₃OSI

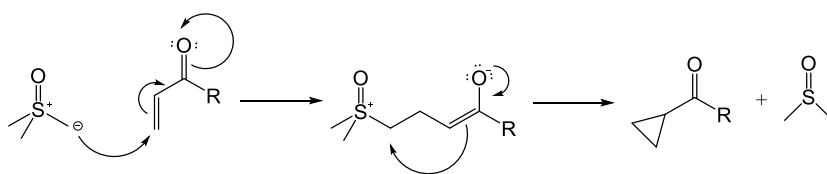
Για την σύνθεση των spiro εποξειδίων χρησιμοποιήθηκαν τα αντιδραστήρια ιωδιδίου του τριμεθυλοσουλφονίου (dimethylsulfonium methylide, Me₃SI) και ιωδιδίου του τριμεθυλοσουλφοξονίου (dimethyloxosulfonium methylide, Me₃OSI). Τα υλίδια που παράγονται από τα δύο αυτά άλατα είναι πυρηνόφιλα υλίδια και έχουν την ικανότητα να μεταφέρουν μία ομάδα μεθυλενίου σε ηλεκτρονιόφιλους ακόρεστους δεσμούς, όπως είναι ο δεσμός C=O, C=S, C=N και σε ορισμένες περιπτώσεις στον δεσμό C=C.³² Η αντίδραση θειούχων υλιδίων με καρβονυλικές ενώσεις που οδηγεί στα αντίστοιχα εποξειδία είναι γνωστή ως εποξειδωση Corey – Chaykovsky.⁶²

Η διαδικασία σχηματισμού του υλιδίου φαίνεται να λαμβάνει χώρα σχεδόν ακαριαία. Τα υλίδια παράγονται *in situ* με την προσθήκη μίας ισχυρής βάσης (π.χ. NaH), η οποία αποπρωτονιώνει τα σουλφονικά αλογονίδια (π.χ. Me₃SI).^{62, 32} Ο μηχανισμός του σχηματισμού του υλιδίου, καθώς και η προσβολή του στην καρβονυλομάδα παρουσιάζονται στο παρακάτω σχήμα:



Σχήμα 3.1.3.1: Μηχανισμός εποξειδωσης με Me₃SI / Me₃OSI

Η επιλογή του κατάλληλου αντιδραστηρίου εξαρτάται από το υπόστρωμα που πρόκειται να εποξειδωθεί. Το Me₃OSI, το οποίο θεωρείται λιγότερο δραστικό, αντιδρά με αρωματικές και ασύζευκτες αλδεΐδες και κετόνες προς τον σχηματισμό οξιρανικών ενώσεων. Οι α,β-ακόρεστες κετόνες (π.χ. καρβόνη), οι οποίες είναι δέκτες προσθήκης Michael, όταν αντιδράσουν με το Me₃OSI οδηγούν στο σχηματισμό κυκλοπροπανικού δακτυλίου στη θέση του διπλού δεσμού, με βάση το μηχανισμό που φαίνεται στο σχήμα 3.1.3.2. Αντίθετα, με τα ίδια υποστρώματα το Me₃SI οδηγεί αποκλειστικά στον σχηματισμό οξιρανίων, ακόμα και στα α,β-ακόρεστα καρβονυλικά συστήματα.³²

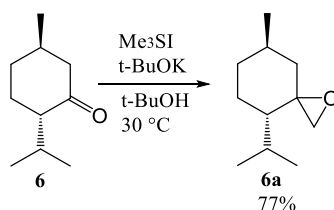


Σχήμα 3.1.3.2: Οι α,β-ακόρεστες κετόνες με το Me₃OSi σχηματίζουν κυκλοπροπυλο-ομάδα.

Μία ακόμη διαφορά των δύο αντιδραστηρίων είναι η στερεοχημεία της προσθήκης στο καρβονύλιο του κυκλοεξανικού δακτυλίου. Το Me₃Si προτιμά την αξονική προσβολή, ενώ το Me₃OSi την ισημερινή. Βασική διαφορά αποτελεί και η θερμική σταθερότητα των Me₃OSi και Me₃Si. Το Me₃OSi μπορεί να διατηρηθεί για αρκετές μέρες στους 25 °C, σε διάλυμα τετραϋδροφουρανίου (tetrahydrofuran, THF) υπό ατμόσφαιρα αζώτου, χωρίς να υποστεί κάποια ιδιαίτερη αποσύνθεση. Εντούτοις, το Me₃Si είναι θερμικά ασταθές και αποσυντίθεται σε θερμοκρασία δωματίου με χρόνο ημιζωής μερικών λεπτών, σχηματίζοντας αιθυλένιο. Η σταθερότητά του είναι πολύ μεγαλύτερη σε θερμοκρασίες 0°C ή παρακάτω. Για αυτό το λόγο, σύμφωνα με τους Corey – Chaykovsky για να μην υπάρχει σημαντική απώλεια αντιδραστηρίου κατά τη διεξαγωγή των αντιδράσεων, είναι καλό να γίνεται άμεση προσθήκη του υποστρώματος υπό συνεχή ψύξη.

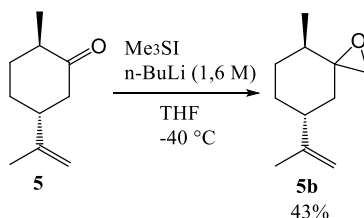
Το παράγωγο **6a** της (-)-μενθόνης (Σχήμα 3.1.3.3) έχει συντεθεί στο παρελθόν από τους Duran et al., χρησιμοποιώντας 1,1 ισοδύναμα Me₃Si και 1,1 ισοδύναμα NaI σε διαλύτη DMSO.³³ Παρόλο που ακολουθήθηκε η ίδια διαδικασία, από την αντίδραση δεν παραλήφθηκε το επιθυμητό παράγωγο **6a**. Πραγματοποιήθηκε διερευνητική αντίδραση με 6 ισοδύναμα Me₃Si και 6 ισοδύναμα NaH, προκειμένου να διαπιστωθεί εάν το παράγωγο μπορεί να σχηματιστεί με μεγαλύτερη περίσσεια αντιδραστηρίου. Το προϊόν της αντίδρασης δεν ταυτοποιήθηκε πλήρως από το φάσμα NMR, ωστόσο φαίνεται ότι πραγματοποιήθηκε ο σχηματισμός του οξιρανίου.

Ο σχηματισμός του παραγώγου **6a** επιτεύχθη τελικά με βάση τη μέθοδο των Yu et al. Χρησιμοποιήθηκαν 6 ισοδύναμα τριτο-βουτανόλης (tert-butanol, t-BuOK), 2 ισοδύναμα Me₃Si και ως διαλύτης η t-BuOH.³⁴



Σχήμα 3.1.3.3: Αντίδραση σχηματισμού του spiro-εποξειδίου της (-)-μενθόνης **6**.

Η μετατροπή του καρβονυλίου της (+)-διϋδροκαρβόνης σε spiro εποξείδιο προς τον σχηματισμό του παραγώγου **5b** έγινε βιβλιογραφικά με Me_3SI και $n\text{-BuLi}$ (1,6 M) σε THF στους $-40\text{ }^\circ\text{C}$.³⁵ Όταν η ίδια μέθοδος εφαρμόστηκε στην (-)-μενθόνη (**6**), το προφίλ της αντίδρασης ήταν διαφορετικό σε σχέση με αυτό κατά το οποίο η εποξειδωση έγινε με το $t\text{-BuOK}$ / $t\text{-BuOH}$ και δεν οδήγησε στο αντίστοιχο spiro εποξείδιο.

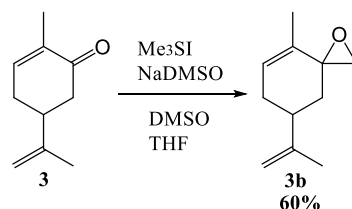


Σχήμα 3.1.3.4: Αντίδραση σχηματισμού του spiro-εποξειδίου της (+)-διϋδροκαρβόνης **5b**.

Για τον σχηματισμό των spiro-εποξειδίων **3b** και **4b** της R-(-)-καρβόνης (**3**) και της S-(+)-καρβόνης (**4**) αντίστοιχα, επιλέχθηκε και πάλι το Me_3SI , διότι οι δομές των ενώσεων αυτών διαθέτουν δεσμό $\text{C}=\text{C}$ σε συζυγία με την καρβονυλομάδα. Αρχικά, ακολουθήθηκε η συνθετική πορεία των Gerspacher et al.³⁶ χρησιμοποιώντας 2,9 ισοδύναμα $n\text{-BuLi}$ (1,6 M) και 3,03 ισοδύναμα Me_3SI , όμως η αντίδραση ήταν ανεπιτυχής. Παράλληλα, το προϊόν της αντίδρασης δεν ήταν δυνατόν να ταυτοποιηθεί πλήρως, αλλά παρ' όλα αυτά από το αντίστοιχο φάσμα δεν προκύπτει κάποια ένδειξη ότι πραγματοποιήθηκε εποξειδωση. Κατόπιν, ακολουθήθηκε η πορεία σύνθεσης των Mauer et al. με 1,8 ισοδύναμα NaH και 2 ισοδύναμα Me_3SI .³⁷ Και σε αυτήν την περίπτωση το κύριο προϊόν της αντίδρασης δεν ταυτοποιήθηκε ως spiro-εποξείδιο.

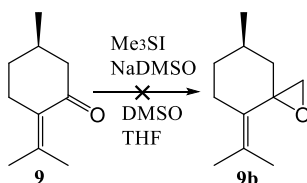
Η σύνθεση των spiro-εποξειδίων της καρβόνης επιτεύχθηκε σύμφωνα με τη μέθοδο των Corey – Chaykovsky με την παρασκευή άλατος NaDMSO (dimethyl sodium) στη φιάλη της αντίδρασης.³² Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκε ισομοριακή ποσότητα NaDMSO και Me_3SI και σε μικρότερη περίσσεια σε σχέση με την αρχική ένωση **4** ή **5** (0,95 eq.). Η απόδοση και

των δύο αντιδράσεων βρέθηκε ότι ήταν 60%. Σύμφωνα με τους Tanis et al. τα spiro-εποξειδία είναι πολύ ευαίσθητα σε όξινες συνθήκες, σχηματίζοντας τις αντίστοιχες αλδεΐδες, ακόμα και υπό την παρουσία CDCl_3 .⁴⁰ Εντούτοις, στα πειράματα της παρούσας εργασίας δεν παρατηρήθηκε κάτι τέτοιο σε κανένα προϊόν.



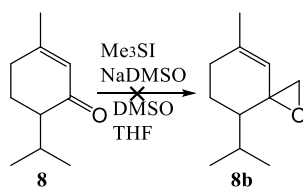
Σχήμα 3.1.3.5: Αντίδραση σχηματισμού των spiro-εποξειδίων της καρβόνης.

Η ίδια μέθοδος των Corey – Chaykovsky εφαρμόστηκε για τη σύνθεση του spiro-εποξειδίου της R-(+)-πουλεγόνης, **9b**. Το προϊόν που απομονώθηκε όμως, σύμφωνα με το φάσμα NMR ήταν μία αλδεΐδη, η οποία δεν ταυτοποιήθηκε περαιτέρω. Επιχειρήθηκε μία ακόμη δοκιμή σύνθεσης με ισομοριακή ποσότητα της R-(+)-πουλεγόνης και του Me_3SI (1 eq.) και 0,97 ισοδύναμα NaH . Σε κανένα από τα πέντε προϊόντα της αντίδρασης δεν φάνηκε να έχει πραγματοποιηθεί εποξειδωση. Η σύνθεση του συγκεκριμένου παραγώγου δε φαίνεται να έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία.



Σχήμα 3.1.3.6: Προσπάθεια spiro-εποξειδωσης της R-(+)-πουλεγόνης **9**.

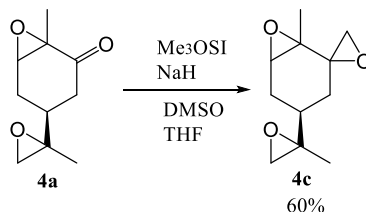
Ομοίως, η παραπάνω μέθοδος των Corey – Chaykovsky εφαρμόστηκε για τη σύνθεση του spiro μονοεποξειδίου της πιπεριτόνης, **8b** (Σχήμα 3.1.3.7). Από την αντίδραση αυτή δεν απομονώθηκε κάποιο προϊόν. Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε ξανά με περισσότερα ισοδύναμα NaDMSO και Me_3SI αυτή τη φορά, με παρόμοιο αποτέλεσμα. Δεν κατέστη δυνατή η απομόνωση καθαρού προϊόντος, ώστε να μπορέσει να ταυτοποιηθεί πλήρως.



Σχήμα 3.1.3.7: Προσπάθεια spiro-εποξειδωσης της πιπεριτόνης **8**.

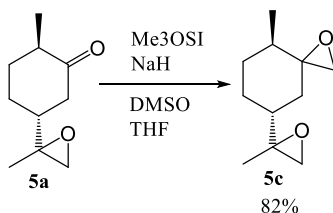
Όσον αφορά τα διεποξειδωμένα και τριεποξειδωμένα spiro παράγωγα **4c**, **5c**, **7b**, **8a** και **9a**, δεν υπάρχουν βιβλιογραφικές αναφορές που να αναφέρουν τη σύνθεσή τους. Οι Harvey και Miners κατά τη σύνθεση διεποξειδωμένων spiro παραγώγων, χρησιμοποίησαν το Me_3OSI . Τα παράγωγα που συνέθεσαν παρουσιάζουν πολλές ομοιότητες με αυτά της εν λόγω εργασίας.²⁸ Οι αποδόσεις των αντίστοιχων ενώσεων χρησιμοποιώντας το Me_3OSI δεν ήταν υψηλές. Ωστόσο, η αντίδραση με το συγκεκριμένο αντιδραστήριο δε φαίνεται να επηρεάζει τα εποξείδια που υπήρχαν ήδη στα μόρια αυτά.

Έτσι, η σύνθεση του παραγώγου **4c**, πραγματοποιήθηκε με βάση τη συνθετική πορεία των Harvey και Miners, κατά την οποία απαιτούνταν ένα ισοδύναμο Me_3OSI και 0,97 ισοδύναμο NaH σε διάλυμα DMSO / THF 1:1 στους $50\text{ }^\circ\text{C}$. Ως αποτέλεσμα, δημιουργήθηκε το τριεποξείδιο **4c** από την εποξειδωση της ένωσης **4a**, με απόδοση 60%.



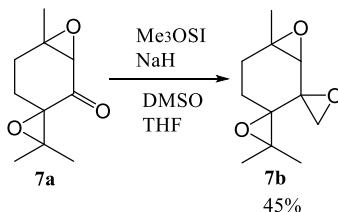
Σχήμα 3.1.3.8: Σύνθεση του τριεποξειδίου της S-(+)-καρβόνης **4c**.

Για τον σχηματισμό του παραγώγου **5c** ακολουθήθηκε η ίδια πορεία, με αρχική ένωση το παράγωγο **5a**, το οποίο παρασκευάστηκε με μεθόδους που περιγράφηκαν παραπάνω (3.1.1). Η απόδοση της αντίδρασης ήταν υψηλή (82%).



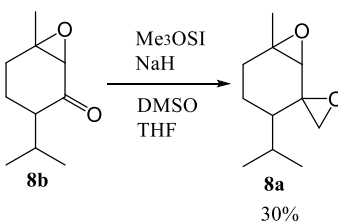
Σχήμα 3.1.3.9: Σύνθεση του διεποξειδίου της (+)-διυδροκαρβόνης **5c**.

Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε η σύνθεση του παραγώγου **7b** της πιπεριτενόνης με παρόμοια πορεία, ξεκινώντας από το διεποξειδωμένο παράγωγο **7a**.



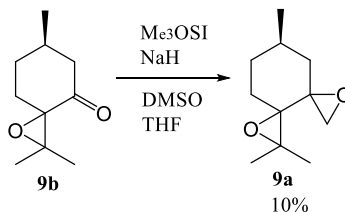
Σχήμα 3.1.3.10: Σύνθεση του τριεποξειδίου της πιπεριτενόνης **7b**.

Ομοίως, εποξειδώθηκε το μονοεποξειδίο **8b** της πιπεριτόνης προς τον σχηματισμό του διεποξειδίου **8a**, με μικρή απόδοση (30%), καθώς στην αντίδραση σχηματίστηκαν πολλά παραπροϊόντα.



Σχήμα 3.1.3.11: Σύνθεση του διεποξειδίου της πιπεριτόνης **8a**.

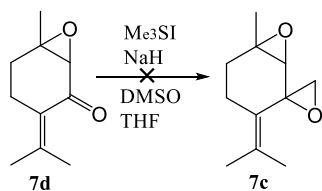
Με τον ίδιο τρόπο συντέθηκε το παράγωγο **9a** από το μονοεποξειδωμένο παράγωγο **9b** της R-(+)-πουλεγόνης. Η αντίδραση αυτή είχε τη μικρότερη απόδοση σε σχέση με τις προηγούμενες με μόλις 10%, αφού υπήρχαν συγκριτικά περισσότερα παραπροϊόντα.



Σχήμα 3.1.3.12: Σύνθεση του διεποξειδίου της R-(+)-πουλεγόνης **9a**.

Χρησιμοποιώντας τα ίδια ισοδύναμα και παρόμοια πορεία επιχειρήθηκε η σύνθεση του διεποξειδωμένου spiro παραγώγου της πιπεριτενόνης (**7d**). Καθώς το μόριο **7d** διαθέτει ένα εποξειδίο και έναν διπλό δεσμό σε συζυγία με το καρβονύλιο, επιλέχθηκε να χρησιμοποιηθεί Me_3Si αντί για Me_3OSi , ούτως ώστε να μη σχηματιστεί κυκλοπροπυλο-ομάδα. Η αντίδραση

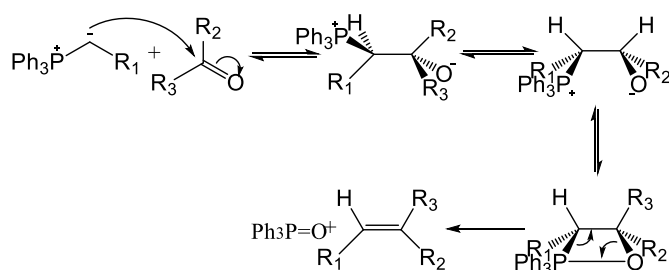
είχε πλήθος προϊόντων, τα οποία και απομονώθηκαν, όμως κανένα δεν ταυτοποιήθηκε ως το επιθυμητό προϊόν **7c**.



Σχήμα 3.1.3.13: Προσπάθεια σύνθεσης του παραγώγου **7c** της πιπεριτενόνης.

3.1.4 Μέθοδος με Wittig και m-CPBA

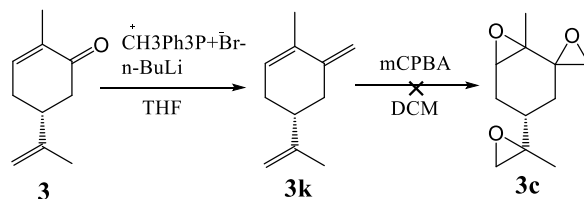
Για τη σύνθεση ορισμένων μορίων – στόχων προτιμήθηκε να γίνει αρχικά η μετατροπή των καρβονυλικών ενώσεων σε αλκένια, πριν την εποξειδωσή τους με m-CPBA. Η μετατροπή αυτή πραγματοποιήθηκε μέσω της αντίδρασης Wittig. Η αντίδραση Wittig πραγματοποιείται μεταξύ υλιδίων του φωσφόρου και αλδεΐδων ή κετονών. Το υλίδιο του φωσφόρου προέρχεται από ένα φωσφονικό άλας (π.χ. $\text{CH}_3\text{Ph}_3\text{P}^+\text{Br}^-$) και ενεργοποιείται *in situ* με την αποπρωτοτονίωση από μία ισχυρή βάση (π.χ. n-BuLi).



Σχήμα 3.1.4.1: Μηχανισμός αντίδρασης Wittig.

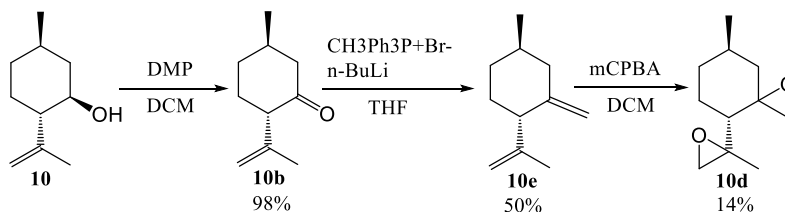
Οι αντιδράσεις Wittig που αναφέρονται παρακάτω πραγματοποιήθηκαν με 1,4 ισοδύναμα n-BuLi και 1,8 ισοδύναμα μεθυλοτριφαινυλο-φωσφονιακού βρωμιδίου, $\text{CH}_3\text{Ph}_3\text{P}^+\text{Br}^-$ (methyltriphenylphosphonium bromide) σε THF.

Στα πρώτα στάδια δοκιμών για τη σύνθεση του παραγώγου **4c**, επιχειρήθηκε η μετατροπή της R(-)-καρβόνης σε τριένιο, έτσι ώστε να εποξειδωθεί στη συνέχεια με m-CPBA και να σχηματιστεί το spiro-εποξειδίο. Ο διαχωρισμός των προϊόντων κατά τον καθαρισμό του μίγματος της αντίδρασης στη χρωματογραφική στήλη, αποδείχθηκε ιδιαίτερα απαιτητικός. Τα κλάσματα που απομονώθηκαν δεν αντιστοιχούσαν στο προϊόν. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω η σύνθεση του προϊόντος έγινε τελικά με Me_3OSi .



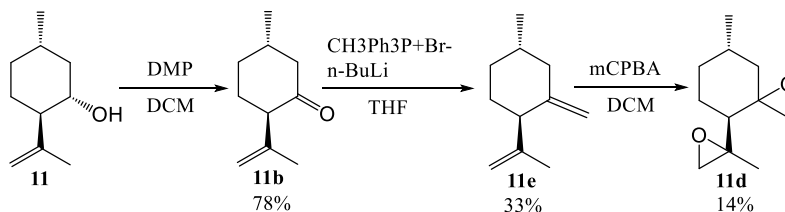
Σχήμα 3.1.4.2: Απόπειρα εποξειδωσης της R(-)-καρβόνης (**3**) μέσω αντίδρασης Wittig / m-CPBA.

Προκειμένου να συντεθεί το παράγωγο **10d**, έπρεπε πρώτα να οξειδωθεί η υδροξυλομάδα της (-)-ισοπουλεγόλης (**10**) με Dess-Martin, κατά παρόμοιο τρόπο με αυτόν που περιγράφηκε παραπάνω για το μόριο **5a**. Η προκύπτουσα κετόνη **10b**, μέσω της αντίδρασης Wittig, μετασχηματίστηκε στο διένιο **10e**, το οποίο εποξειδώθηκε με 1,26 ισοδύναμα m-CPBA προς τον σχηματισμό του διεποξειδίου **10d**.



Σχήμα 3.1.4.3: Στάδια παρασκευής παραγώγου **10d**.

Ακολουθώντας την ίδια πορεία, παρασκευάστηκε το διεποξείδιο **11d** της (+)-ισοπουλεγόλης (**11**).



Σχήμα 3.1.4.4: Στάδια παρασκευής παραγώγου **11d**.

Κατά την απομόνωση των προϊόντων με χρωματογραφία στήλης, χρειάστηκε να χρησιμοποιηθεί αρκετά άπολο σύστημα (πεντάνιο : αιθέρας, 99:1) λόγω της παρουσίας πολλών παραπροϊόντων. Η σύνθεση των διεποξειδίων **10d** και **11d** δεν αναφέρεται στη βιβλιογραφία, παρ' όλα αυτά βασίστηκε σε ανάλογες συνθετικές προσεγγίσεις.²⁸

3.2 ΜΕΛΕΤΕΣ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ ΕΝΑΝΤΙ ΤΩΝ ΕΝΤΟΜΩΝ ΑΠΟΘΗΚΗΣ

Στη συγκεκριμένη εργασία μελετήθηκε η εντομοκτόνος δράση 23 τερπενοειδών παραγώγων με την εφαρμογή τους σε ενήλικα έντομα *S. Oryzae*. Οι ενώσεις περιλαμβάνουν μία κετόνη (**11b**), διεποξειδωμένες ολεφινικές ενώσεις (**1a**, **1b**, **2a**), μονοεποξειδωμένες ή διεποξειδωμένες κετόνες ή αλκοόλες (**3a**, **4a**, **5a**, **5d**, **10a**, **11a**, **10c**, **11c**) και μονοεποξειδωμένα, διεποξειδωμένα ή τριεποξειδωμένα spiro-παράγωγα (**3b**, **3c**, **4b**, **4c**, **5b**, **5c**, **6a**, **7b**, **8a**, **10d**, **11d**). Δοκιμάστηκε επίσης η τοξικότητα τριών αρχικών ενώσεων, της (+)-διυδροκαρβόνης (**5**), της (-)-ισοπουλεγόλης (**10**) και της (+)-ισοπουλεγόλης (**11**).

Στον παρακάτω πίνακα (πίνακας 3) παρουσιάζονται οι δομές των ενώσεων που συντέθηκαν και τα LC₅₀ τους, συμπεριλαμβανομένων και των LC₅₀ ουσιών που είχαν αξιολογηθεί προηγουμένως. Ακόμη, οι μονοεποξειδωμένες δομές με μπλε χρώμα απεικονίζουν τα αποτελέσματα των δοκιμών που πραγματοποίησε ο κ. Κυμπάρης και οι συνεργάτες του σε προηγούμενη, μη δημοσιευμένη ακόμα, έρευνα και συμπεριλαμβάνονται στην παρούσα εργασία για λόγους σύγκρισης δομής – δράσης.

Παρατηρώντας τις δομές των ενώσεων, τόσο το τερπινολένιο όσο και το λιμονένιο διαφοροποιούνται από τις υπόλοιπες ενώσεις καθώς απουσιάζει το καρβονύλιο. Στο τερπινολένιο το trans-διεποξειδίο **1a** παρουσιάζει χαμηλότερο LC₅₀, περίπου το μισό, σε σχέση με την αρχική ένωση. Με το cis-διεποξειδίο **1b** δεν πραγματοποιήθηκαν δοκιμές. Το εξωκυκλικό μονοεποξειδίο (**1d**), σύμφωνα με προηγούμενες μετρήσεις, παρουσίασε LC₅₀ = 2,74 mg/L, τιμή σχεδόν τέσσερις φορές χαμηλότερη σε σχέση με το αρχικό. Παρόμοια, στο λιμονένιο οι δοκιμές με το διεποξειδίο **2a** παρουσίασαν μικρή βελτίωση συγκριτικά με την αρχική ένωση. Το εξωκυκλικό (**2b**) και ενδοκυκλικό (**2c**) μονοεποξειδίο όμως παρουσίασε σημαντική βελτίωση με LC₅₀ = 1,30 mg/L και 3,10 mg/L αντίστοιχα. Προκύπτει δηλαδή ότι σε σχέση με τις αρχικές ενώσεις τα διεποξειδία επέδειξαν καλύτερα αποτελέσματα. Συγκρίνοντας όμως τη δράση των διεποξειδίων των ολεφινικών ενώσεων με αυτή των μονοεποξειδίων, προκύπτει ότι παρουσιάζουν μειωμένη δραστηριότητα.

Οι R-(-)-καρβόνη, S-(+)-καρβόνη και (+)-διυδροκαρβόνη είναι και οι τρεις τερπενοειδείς ενώσεις, οι οποίες φέρουν το καρβονύλιο σε όρθο- θέση σε σχέση με το μεθύλιο. Στην περίπτωση της καρβόνης, φαίνεται πως οποιαδήποτε εποξειδωση καθιστά το μόριο πρακτικά αδρανές. Από την άλλη μεριά, οι αρχικές ενώσεις, οι οποίες έχουν το καρβονύλιο σε συζυγία ως προς τον διπλό δεσμό του δακτυλίου, παρουσιάζουν υψηλή δραστηριότητα. Στο μόριο της (+)-διυδροκαρβόνης ουσιαστικά αυτός ο διπλός δεσμός υφίσταται αναγωγή.

Φαίνεται πως το αρχικό μόριο έχει κάποια δραστικότητα, η οποία όμως μειώνεται σημαντικά με οποιαδήποτε εποξειδωση. Συγκεκριμένα, στο spiro-εποξειδίο **5b** η δραστικότητα σχεδόν υποτριπλασιάζεται, ενώ στα εποξειδία **5a** και **5c** εκμηδενίζεται. Το ίδιο ισχύει και για το εποξειδίο **5d**, στο οποίο το καρβονύλιο έχει αναχθεί σε υδροξύλιο.

Η επόμενη ομάδα ενώσεων (-)-μενθόνη, πιπεριτενόνη, πιπεριτόνη και R-(+)-πουλεγόνη, φέρει το καρβονύλιο σε μέτα- θέση ως προς το μεθύλιο του δακτυλίου. Το μοναδικό παράγωγο της (-)-μενθόνης, το spiro – εποξειδίο **6a**, φαίνεται πως υποτριπλασίασε τη δραστικότητα της αρχικής ένωσης. Στην πιπεριτενόνη το καρβονύλιο βρίσκεται ανάμεσα σε δύο διπλούς δεσμούς σε α,β – θέσεις. Η ταυτόχρονη εποξειδωση και των δύο αυτών δεσμών και η περαιτέρω εποξειδωση του καρβονυλίου οδήγησαν σε πλήρη εκμηδενισμό της δραστικότητας. Το ίδιο ισχύει και για το εξωκυκλικό μονοεποξειδίο **7e**. Αντίθετα όμως, το ενδοκυκλικό μονοεποξειδίο **7d** είχε συνολικά τη μεγαλύτερη δραστικότητα με $LC_{50} = 0,12$ mg/L. Το μόριο της πιπεριτόνης παρουσιάζει και αυτό μία αξιοσημείωτη δραστικότητα με $LC_{50}=1,02$ mg/L. Όμως, τα προκαταρκτικά αποτελέσματα αξιολόγησης του διεποξειδικού παραγώγου **8a**, έδειξαν ότι η δραστικότητα αυτή μειώθηκε, αν και ο αριθμός των πειραμάτων αξιολόγησης ήταν μικρός. Από την άλλη πλευρά, το μονοεποξειδίο της πιπεριτόνης (**8b**) αύξησε τη δραστικότητα στο διπλάσιο. Η R-(+)-πουλεγόνη παρουσίασε εξαιρετική δραστικότητα με $LC_{50} = 0,17$ mg/L. Η δραστικότητά της όμως εξαφανίστηκε με οποιαδήποτε προσπάθεια εποξειδωσης στα παράγωγα **9a** και **9b**.

Τόσο η (-)-ισοπουλεγόλη όσο και η (+)-ισοπουλεγόλη διαθέτουν σημαντική δραστικότητα με $LC_{50} = 3,5$ mg/L και $3,3$ mg/L αντίστοιχα. Η οξειδωση του υδροξυλίου στο μόριο **11b**, χωρίς να λάβει χώρα κάποια εποξειδωση, οδήγησε σε αύξηση της δραστικότητας με την τιμή $LC_{50} < 2$ mg/L. Η εποξειδωση όμως του οξειδωμένου παραγώγου (**10c**, **11c**) τη βελτίωσε ακόμα περισσότερο. Ωστόσο, η περαιτέρω εποξειδωση με τη μετατροπή του καρβονυλίου σε spiro-εποξειδίο (**10d**, **11d**) φαίνεται πως εξαφάνισε τελείως τη βιοδραστικότητα του μορίου, αν και οι δοκιμές δεν επαρκούσαν για τον υπολογισμό των ακριβών τιμών LC_{50} . Εκμηδενισμός της δραστικότητας προκύπτει και από την εποξειδωση στο μη οξειδωμένο μόριο (**10a**, **11a**), που φέρει δηλαδή ακόμα την ομάδα του υδροξυλίου.

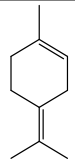
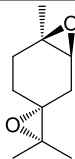
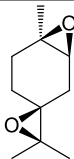
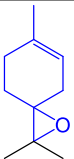
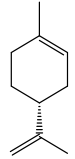
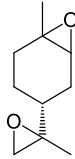
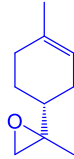
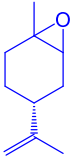
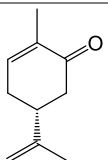
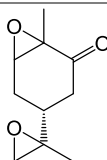
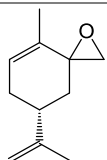
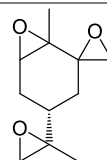
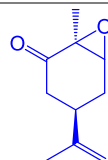
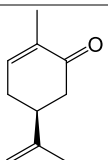
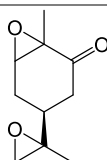
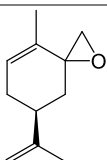
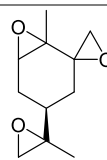
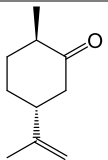
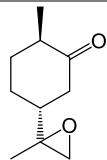
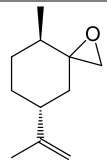
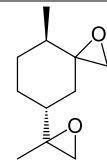
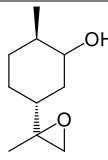
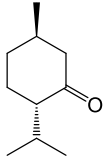
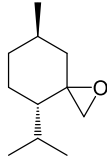
Από τη σύγκριση των αρχικών ενώσεων μεταξύ τους, πριν την εποξειδωση των διπλών δεσμών, προκύπτει ότι οι ολεφινικές ενώσεις του τερπινολενίου και του λιμονενίου είχαν τη μικρότερη δραστικότητα. Το δραστικότερο μόριο, όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, ήταν η R-(+)-πουλεγόνη και έπειτα η S-(+)-καρβόνη ($LC_{50} = 0,43$ mg/L), η πιπεριτενόνη ($LC_{50} = 0,58$ mg/L), η R-(-)-καρβόνη ($LC_{50} = 0,87$ mg/L) και η πιπεριτόνη ($LC_{50} = 1,02$ mg/L).

Το κοινό χαρακτηριστικό αυτών των ενώσεων είναι ότι διαθέτουν διπλό δεσμό σε συζυγία με το καρβονύλιο. Μικρότερη αλλά παρ' όλα αυτά αξιολογήσιμη δραστικότητα, επέδειξαν οι αρχικές κετόνες (+)-διυδροκαρβόνη και (-)-μενθόνη, στις οποίες το καρβονύλιο δε βρίσκεται κοντά σε κάποιο διπλό δεσμό. Οι αρχικές αλκοόλες, (-)-ισοπουλεγόλη και (+)-ισοπουλεγόλη, παρουσιάζουν μικρότερη τοξικότητα σε σχέση με τις κετόνες, παρά ταύτα επιδεικνύουν κάποια δραστικότητα. Η μικρή διαφορά στην τοξικότητα των κετονών έναντι των αλκοολών συμφωνεί με τις αναφορές της βιβλιογραφίας.^{16, 17, 6}

Πίνακας 3: Τα αποτελέσματα των βιοδοκιμών στο *S. Oryzae* εκφρασμένα σε LC₅₀.

*n.c.: not calculated,

**few data: ο αριθμός των πειραμάτων ήταν μικρός

	Αρχική	Παράγωγα			
1	 1: τερπινολένιο	 1a	 1b	 1d	
LC₅₀ (mg/L)	7,39	4,3	n.c.*	2,74	
2	 2: R-(+)-λιμονένιο	 2a	 2b	 2c	
LC₅₀ (mg/L)	14,60	12,5	1,30	3,10	
3	 3: R-(-)-καρβόνη	 3a	 3b	 3c	
LC₅₀ (mg/L)	0,87	>30	>30	n.c.*	>200
4	 4: S-(+)-καρβόνη	 4a	 4b	 4c	
LC₅₀ (mg/L)	0.43	>30	>30	>30	
5	 5: (+)-διυδροκαρβόνη	 5a	 5b	 5c	 5d
LC₅₀ (mg/L)	2,9	>30	10,4	>30	>30
6	 6: (-)-μενθόνη	 6a			
LC₅₀ (mg/L)	2,31	6,5			

7					
	7: πιπεριτενόνη	7a	7b	7d	7e
LC₅₀ (mg/L)	0,58	>30	>30	0,12	>200
8					
	8: πιπεριτόνη	8a	8b		
LC₅₀ (mg/L)	1,02	Few data	0,43		
9					
	9: R-(+)-πουλεγόνη	9a	9b		
LC₅₀ (mg/L)	0,17	>30	>200	>200	
10					
	10: (-)-ισοπουλεγόλη	10a	10b	10c	10d
LC₅₀ (mg/L)	3,5	>30	n.c.*	1,2	Few data**
11					
	11: (+)-ισοπουλεγόλη	11a	11b	11c	11d
LC₅₀ (mg/L)	3,3	>30	<2(few data)	1,3	Few data**

4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ - ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία ασχολείται με τη σύνθεση και την αξιολόγηση της εντομοκτόνου δράσης τερπενοειδών ενώσεων, παραγώγων φυσικών προϊόντων, προκειμένου να διερευνηθεί η τοξικότητά τους ενάντια στα έντομα αποθήκης. Οι ημισυνθετικές πορείες, οι οποίες πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Σύνθεσης Φυσικών Προϊόντων και Βιοοργανικής Χημείας του ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος», περιλάμβαναν την εποξειδωση των διπλών δεσμών αρχικών παραγώγων με σκελετό π-μενθανίου και την και τη μετατροπή των των καρβονυλικών ομάδων, όπου υπήρχαν, σε spiro-εποξειδία. Οι μελέτες αξιολόγησης των τερπενοειδών που συντέθηκαν πραγματοποιήθηκαν σε έντομα του είδους *S. oryzae*, στο εργαστήριο γεωργικής εντομολογίας του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου.

Τα τερπενοειδή παράγωγα προέρχονταν από τα φυσικά προϊόντα: τερπινολένιο (terpinolene), R-(+)-λιμονένιο (R-(+)-limonene), (-)-μενθόνη ((-)-menthone), πιπεριτενόνη (piperitenone), πιπεριτόνη (piperitone), R-(+)-πουλεγόνη (R-(+)-pulegone), (-)-ισοπουλεγόλη ((-)-isopulegol) και (+)-ισοπουλεγόλη ((+)-isopulegol), R-(-)-καρβόνη (R-(-)-carvone) και S-(+)-καρβόνη (S-(+)-carvone) και (+)-διυδροκαρβόνη ((+)-dihydrocarvone). Ο μετασχηματισμός των ενώσεων οδήγησε σε:

- διεποξειδωμένες ολεφινικές ενώσεις,
- μονοεποξειδωμένες, διεποξειδωμένες κετόνες ή αλκοόλες και
- διεποξειδωμένα ή τριεποξειδωμένα spiro-παράγωγα.

Οι συνθέσεις πραγματοποιήθηκαν με διάφορες μεθόδους, αξιοποιώντας μεθόδους που αναφέρονται στη βιβλιογραφία. Η σύνθεση των ενώσεων **4c**, **5c**, **7b**, **8a**, **9a**, **10d** και **11d** πραγματοποιήθηκε ακολουθώντας γνωστές προσεγγίσεις προς παρόμοια μόρια, όμως για τις δομές τους δεν φαίνεται να υπάρχουν αναφορές στη βιβλιογραφία.

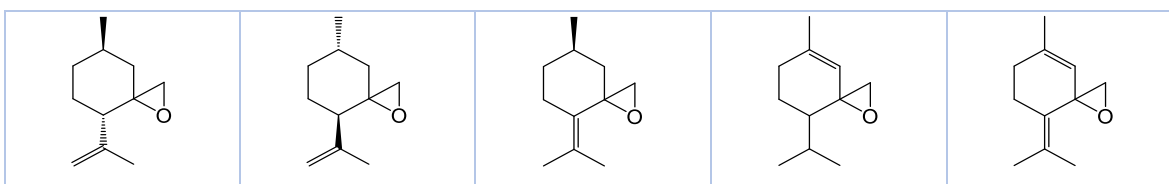
Αξιολογώντας τα αποτελέσματα των βιοδοκιμών στα *S. oryzae*, προκύπτουν τα εξής συμπεράσματα:

- Οι εποξειδώσεις των διενίων (τερπινολένιο, λιμονένιο) οδήγησαν σε αύξηση της δραστηριότητας. Οι μονοεποξειδωμένες μορφές παρουσίασαν αυξημένη τοξικότητα σε σχέση με τις διεποξειδωμένες.
- Το α,β-ακόρεστο σύστημα των κετονών φαίνεται να αυξάνει τη δραστηριότητα των μορίων. Η εποξειδωση των διπλών δεσμών που βρίσκονταν σε συζυγία με το καρβονύλιο, οδήγησε σε πλήρη απώλεια της δραστηριότητας των ενώσεων.

- Μετατροπή του καρβονυλίου της καρβόνης και των εποξειδωμένων παραγώγων της οδήγησε σε απώλεια της δραστικότητας. Η δραστικότητα της (+)-διυδροκαρβόνης και της (-)-μενθόνης με την spiro-εποξειδωση μειώθηκε όμως δεν εκμηδενίστηκε.
- Τα διεποξειδωμένα και τριεποξειδωμένα παράγωγα όλων των ενώσεων είχαν σαν αποτέλεσμα την πλήρη απώλεια της βιοδραστικότητας.
- Τα κετονικά εποξειδωμένα παράγωγα αποδείχθηκαν δραστικότερα των αντίστοιχων εποξειδωμένων αλκοολών.
- Οι πολλαπλές εποξειδώσεις και οι spiro-εποξειδώσεις που πραγματοποιήθηκαν στην εργασία αυτή, δεν οδήγησαν σε βελτίωση της δραστικότητας.

Στα πλαίσια των ερευνών που διεξάγονται για την εντομοκτόνο δράση των τερπενοειδών ενώσεων, θα μπορούσε να διερευνηθεί περαιτέρω ο ρόλος του ισοπροπυλο-υποκαταστάτη του κυκλοεξανικού δακτυλίου σε σχέση με τον κορεσμό του. Επίσης, καθώς δεν κατέστη δυνατή η σύνθεση των παρακάτω παραγώγων από την παρούσα εργασία, σε επόμενο στάδιο θα μπορούσε να μελετηθεί το πώς επηρεάζεται η δράση των spiro-εποξειδίων σε σχέση με τη θέση των διπλών δεσμών των μορίων.

Πίνακας 4: Δομές spiro-παραγώγων προς περαιτέρω μελέτη.



5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Mona M.G. Saad, Samir A.M. Abdelgaleil, *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 2018, 21, 1153-1158.
2. Mohamed N. Sallam, INSECT DAMAGE: Damage on Post-harvest, International Centre of Insect Physiology and Ecology (ICIPE).
3. Χρήστος Αθανασιάδης, Πτυχιακή εργασία, Α.Τ.Ε.Ι. Κρήτης, Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας, Τμήμα θερμοκηπιακών καλλιεργειών και ανθοκομίας, 2007.
4. P. G. Koehler, Department of Entomology and Nematology, UF/IFAS Extension, 1994.
5. Salam Rita Devi, Asha Thomas, K.B. Rebijith, V.V. Ramamurthy, *Journal of Stored Products Research*, 2017, 73, 135-141.
6. Byung-Ho Lee, Won-SikChoi, Sung-Eun Lee, Byeoung-Soo Park, *Crop Protection*, 2001, 20, 317-320.
7. Soon-Il Kim, Jung-Yeon Roh, Do-Hyoung Kim, Han-Seung Lee, Young-Joon Ahn, *Journal of Stored Products Research*, 2003, 39, 293–303.
8. Δρ. Μαρία Παν. Γαρουφάλη, *Ιατρικά θέματα, Υγειονομική Υπηρεσία ΟΓΑ*, 2015, 02.
9. Στεφανία Στόικου, Πτυχιακή εργασία, ΤΕΙ Καλαμάτας, Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας, Τμήμα τεχνολογίας γεωργικών προϊόντων, 2006.
10. Δημήτρης Πάρθυμος, Μεταπτυχιακό δίπλωμα ειδίκευσης, 2012.
11. James F. Campell, Frank H. Arthur, Michael A. Mullen, *Advances in food and nutrition research*, 2004, 48, 239-95.
12. Κορνηλία Π. Μητσοπούλου, Διδακτορική διατριβή, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 2014.
13. R.S. Mann, P.E. Kaufman, *Mini-Reviews in Organic Chemistry*, 2012, 9, 185-202.
14. Samir A. M. Abdelgaleil, Magdy I. E. Mohamed, Mohamed E. I. Badawy, Sailan A. A. El-arami, *J. Chem. Ecol.*, 2009, 35, 518–525.
15. Manfred Eggerddorfer, "Terpenes", *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, 2000.
16. Athanasios C. Kimbaris, Azucena González-Coloma, Maria Fe Andrés, Veroniki P. Vidali, Moschos G. Polissiou, Omar Santana-Méridas, *Chem. Biodivers.*, 2017.
17. E. Yildirim, B. Emsen, S. Kordali, *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 2013, 86, 198 – 204.
18. Sandra R.L. Santos, Manuela A. Melo, Andrea Valença Cardoso, Roseli L.C. Santos, Damião P. de Sousa, Sócrates C.H. Cavalcanti, *Chemosphere*, 2011, 84, 150–153.
19. Athanassios Giatropoulos, Athanasios Kimbaris, Antonios Michaelakis, Dimitrios P. Papachristos, Moschos G. Polissiou, Nickolaos Emmanouel, *Parasitology Research*, 2018, 117, 1953–1964.
20. A. Somasekar Rao, H. Rama Mohan, André Charette, "m-Chloroperbenzoic Acid", 2005.
21. Raymond M. Carman, Anthony C. Rayner, *Aust. J. Chem.*, 1994, 47, 195-202.
22. B. A. Arbuzov, I. S. Andreeva, Yu. Yu. Samitov, *Russ. Chem. Bull.*, 1970, 19, 1932–1936.
23. Markus Klawonn, Santosh Bhor, Gerald Mehlretter, Christian Dobler, Christine Fischer, Matthias Beller, *Adv. Synth. Catal.*, 2003, 3, 345.
24. R. Howe, F. J. McQuillin, R. W. Temple, *J. Chem. Soc.*, 1959, 363-371.
25. Jean-Marc Gaudin, *Tetrahedron*, 2000, 56, 4769-4776.

26. Kendrew K. W. Mak, Y. M. Lai, Yuk-Hong Siu, *Journal of Chemical Education*, 2006, 83, 1058-1061.
27. Jun Katsuhara, *J. Org. Chem.*, 1967, 32, 797-799.
28. William E. Harvey, John O. Miners, *Aust. J. Chem.*, 1979, 32, 2473-81.
29. Robert H. Reitsema, *J. Am. Chem. Soc.*, 1957, 79, 4465-4468.
30. Mijat Božović, Adele Pirolli, Rino Ragno, *Molecules*, 2015, 20, 8605-8633.
31. Sumio Shimizu, *Bulletin of the Agricultural Chemical Society of Japan*, 1956, 21, 107-114.
32. E. J. Corey, Michael Chaykovsky, *Journal of the American Chemical Society*, 1965, 87, 1353-1364.
33. Josep Duran, Daniel Oliver, Alfonso Polo, Julio Real, Jordi Benet-Buchholz, Xavier Fontrodona, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2003, 14, 2529-2538.
34. Hao Yu, Xiaobing Deng, Shengli Cao, Jiayi Xu, *Letters in Organic Chemistry*, 2011, 8, 509-514.
35. Moa Andresen Bergstrom, Kristina Luthman, J. Lars G. Nilsson, Ann-Therese Karlberg, *Chem. Res. Toxicol.* 2006, 19, 760-769.
36. Marc Gerspacher, Hanspeter Pfander, *Helvetica Chimica Acta*, 1989, 72, 151-157.
37. Bruno Maurer, Arnold Hauser, Walter Thommen, Karl H. Schulte-Elte, Gunther Ohloff, *Helvetica Chimica Acta*, 1980, 63, 293-314.
38. Chang-hui Liu, Fei Li, Rui-ren Tang, *Bull. Korean Chem. Soc.*, 2010, 31, 1723.
39. Raymond M. Carman, Karel D. Klika, *Aust. J. Chem.*, 1991, 44, 1803-1808.
40. Steven P. Tanis, Mark C. McMills, Paul M. Herrinton, *J. Org. Chem.*, 1985, 50, 5887-5889.
41. Santosh Kumar Padhi, Despina J. Bougioukou, Jon D. Stewart, *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, 131, 3271-3280.
42. William D. Shipe, Erik J. Sorensen, *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, 128, 7025-7035.
43. Olga Larkov, Josphat C. Matasyoh, Nativ Dudai, Efraim Lewinsohn, Alfred A. Mayer, Uzi Ravid, *Flavour Fragr. J.*, 2007, 22, 328-333.

Διαδικτυακές Πηγές:

44. <https://trap.gr/entoma-apothikon/>
45. <https://entomokil.gr/entoma-apothikon/>
46. <https://www.studyandscore.com/studymaterial-detail/pest-of-rice-sitophilus-oryzae-distribution-life-cycle-nature-of-damage-and-control-measures>
47. https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%95%CE%BD%CF%84%CE%BF%CE%BC%CE%BF%CE%BA%CF%84%CF%8C%CE%BD%CE%BF#%CE%9F%CF%81%CE%B3%CE%B1%CE%BD%CE%BF%CF%86%CF%89%CF%83%CF%86%CE%BF%CF%81%CE%B9%CE%BA%CE%AD%CF%82_%CE%B5%CE%BD%CF%8E%CF%83%CE%B5%CE%B9%CF%82
48. <http://www.idph.state.il.us/envhealth/factsheets/pyrethroid.htm>
49. <https://eclass.uoa.gr/courses/PHARM147/>
50. <https://www.britannica.com/science/malathion>
51. <https://web.archive.org/web/20170519020645/http://emedicine.medscape.com/article/175139-overview#a4>
52. https://en.wikipedia.org/wiki/Organophosphate#cite_note-auto-11
53. <https://www.cdc.gov/nceh/clusters/fallon/organophosfaq.htm>
54. <https://en.wikipedia.org/wiki/Lindane>
55. <https://en.wikipedia.org/wiki/Fumigation>
56. <https://en.wikipedia.org/wiki/Phosphine#Fumigant>
57. <http://el.winesino.com/public-health-safety/work-safety/1013079421.html>
58. <http://www.fao.org/3/x5042e/x5042E0b.htm>
59. <https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%9C%CE%AD%CE%BD%CF%84%CE%B1>
60. <https://en.wikipedia.org/wiki/Mentha>
61. https://en.wikipedia.org/wiki/Prilezhaev_reaction
62. <https://www.organic-chemistry.org/namedreactions/corey-chaykovsky-reaction.shtm>
63. <https://www.masterorganicchemistry.com/2011/06/17/reagent-friday-m-cpba-meta-chloroperoxybenzoic-acid/>
64. <https://docplayer.gr/620341-Kefalaio-5-entouoktona-akareoktona-niuatodoktona.html>
65. <https://en.wikipedia.org/wiki/Bromomethane>
66. <https://www.cabi.org/isc/datasheet/10887>

6. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

6.1 Γενικά

Το συνθετικό κομμάτι της παρούσας εργασίας εκπονήθηκε στο εργαστήριο σύνθεσης φυσικών προϊόντων και βιοοργανικής χημείας του Ινστιτούτου Νανοτεχνολογίας του ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος». Οι βιοδοκιμές εκπονήθηκαν στο Εργαστήριο Γεωργικής Εντομολογίας στο Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο.

Οι αντιδράσεις πραγματοποιήθηκαν είτε υπό κανονική ατμόσφαιρα, είτε υπό αδρανή ατμόσφαιρα αργού, όπως αναφέρεται στην εκάστοτε συνθετική πορεία. Για όσες αντιδράσεις χρειαζόνταν να χρησιμοποιηθεί ατμόσφαιρα αργού οι συνθήκες ήταν άνυδρες και τα σκεύη στεγνώθηκαν με φλόγα υπό κενό (flame dried). Για την ανάδευση χρησιμοποιήθηκαν μαγνητικοί αναδευτήρες και η μέτρηση της θερμοκρασίας πραγματοποιούνταν εξωτερικά.

Το THF αποστάχθηκε από μεταλλικό νάτριο και βενζοφαινόνη, το DCM από υδρίδιο του ασβεστίου (CaH_2). Αυτοί οι διαλύτες χρησιμοποιούνταν πρόσφατα αποσταγμένοι κάθε φορά. Το DMSO, η tert-βουτανόλη και η ισοπροπανόλη αποθηκεύονταν και χρησιμοποιούνταν υπό ατμόσφαιρα αργού.

Η παρακολούθηση των αντιδράσεων πραγματοποιούνταν καθόλου τη διάρκεια των πειραμάτων με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC). Χρησιμοποιήθηκαν γυάλινες πλάκες (0.25 mm) επιστρωμένες με silica gel (60F-254) και η εμφάνισή τους πραγματοποιούνταν σε υπεριώδη ακτινοβολία (UV) και σε διαλύματα π-ανισαλδεΐδης. Για τον καθαρισμό των προϊόντων χρησιμοποιήθηκε χρωματογραφία στήλης με silica gel από τη Merck ή την SDS μεγέθους 0.040 – 0.063 mm. Όλες οι συμπυκνώσεις πραγματοποιήθηκαν σε rotary evaporator.

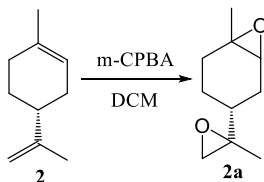
Τα φάσματα πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) ελήφθησαν σε όργανο Bruker DRX – 500 και η επεξεργασία τους πραγματοποιήθηκε με το λογισμικό πρόγραμμα MestRe Nova 12.0.2 και MestRe Nova 5.2.4. Οι χημικές μετατοπίσεις (δ) μετρήθηκαν σε μέρη στο εκατομμύριο (ppm) ως προς το δευτεριωμένο δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3). Οι πολλαπλότητες στην ανάλυση των φασμάτων συμβολίζονται ως απλή (s), ευρεία απλή (brs), διπλή (d), ευρεία διπλή (bd), διπλή διπλής (dd), διπλή διπλής διπλής (ddd), τριπλή (t), πολλαπλή (m). Όπου κρίθηκε απαραίτητο, το δευτεριωμένο χλωροφόρμιο διηθήθηκε από άνυδρο ανθρακικό κάλιο για την απομάκρυνση τυχόν όξινων υπολειμμάτων.

6.2 Συνθετική πορεία

Διεποξειδία του τερπινολενίου 1a , 1b				
M.T.	M.B.	M.B. (μονοϊσοτοπικό)	TLC	Απόδοση
C ₁₀ H ₁₆ O ₂	168.24	168.12	R _f = 0,41 (1a) 0.29 (1b) Hex / AcOEt 9:1	22% (1a) 2% (1b)

Μέθοδος παρασκευής: Σε διάλυμα m-CPBA 2.771 g (16 mmol) σε 50 mL DCM προστίθενται στάγδην διάλυμα τερπινολενίου (**1**) (1.161 mL, 7.3 mmol) σε DCM (50 mL) σε θερμοκρασία δωματίου και το μίγμα αναδεύεται για 20 λεπτά. Κατόπιν προστίθενται διαδοχικά NaI (s), Na₂SO₃ (s), 1-2 mL νερό και K₂CO₃ (s) (pH ≈ 12), ενώ μετά από κάθε προσθήκη το μίγμα αφήνεται να αναδευτεί καλά. Στη συνέχεια το μίγμα αντίδρασης τοποθετείται σε διαχωριστική χοάνη με 50 mL Et₂O και 50 mL νερό και οι δύο φάσεις διαχωρίζονται. Η υδατική φάση εκχυλίζεται με Et₂O (3 x 50 mL) και οι οργανικές φάσεις ενώνονται και εκπλένονται διαδοχικά με νερό και κορεσμένο υδατικό διάλυμα NH₄Cl (30 mL), ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται. Από τη χρωματογραφία στήλης (πεντάνιο / αιθέρας 95:5 έως 80:20) του ακάθαρτου μίγματος παραλαμβάνονται 268.9 mg του προϊόντος **1a** και 20.7 mg του προϊόντος **1b** ως ελαιώδη υγρά.

¹ H NMR (250 MHz) 25 °C CDCl ₃	(1a): δ: 3.06 (1H, d, <i>J</i> = 4.0 Hz, H εποξειδίου), 2.34 (1H, d, <i>J</i> = 16.4 Hz, O-CH-CH _a H _b -C-O), 2.04-1.70 (5H, m, H δακτυλίου), 1.38 (3H, s, CH ₃), 1.30 (6H, s, CH ₃ -C-CH ₃)
	(1b): δ: 3.05 (1H, d, <i>J</i> = 4.0 Hz, H εποξειδίου), 2.37-1.60 (12H, m, H δακτυλίου), 1.38-1.28 (18H, m, H μεθυλίων)

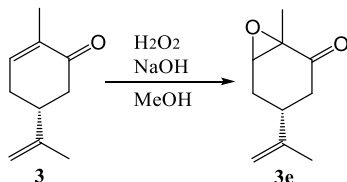
Διεποξειδίο του λιμονενίου 2a

M.T.	M.B.	M.B. (μονοϊσοτοπικό)	TLC	Απόδοση
C ₁₀ H ₁₆ O ₂	168.24	168.12	R _f = 0,60 Hex / AcOEt 7:3	65%

Μέθοδος παρασκευής: Σε διάλυμα λιμονενίου (0.23 mL, 1.46 mmol) σε 10 mL DCM προστίθεται στάγδην διάλυμα m-CPBA (503.87 mg, 2.9 mmol) σε 10 mL DCM, σε θερμοκρασία δωματίου και το μίγμα αναδεύεται για 30 λεπτά. Κατόπιν προστίθενται διαδοχικά NaI (s), Na₂SO₃ (s), 1-2 mL νερό και K₂CO₃ (s) (pH ≈ 12), ενώ μετά από κάθε προσθήκη το μίγμα αφήνεται να αναδευτεί καλά. Στη συνέχεια το μίγμα αντίδρασης τοποθετείται σε διαχωριστική χοάνη με 20 mL Et₂O και 20 mL νερό και οι δύο φάσεις διαχωρίζονται. Η υδατική φάση εκχυλίζεται με Et₂O (3 x 20 mL) και οι οργανικές φάσεις ενώνονται και εκπλένονται διαδοχικά με νερό και κορεσμένο υδατικό διάλυμα NH₄Cl (15 mL), ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται. Από τη χρωματογραφία στήλης (πεντάνιο / αιθέρας 90:10 έως 80:20) του ακάθαρτου μίγματος παραλαμβάνονται 132.9 mg του προϊόντος **2a** ως ελαιώδες υγρό.

¹ H NMR (500 MHz) 25 °C CDCl ₃	δ: 3.04 (1H, m, H εποξειδίου), 2.58 (2H, m, H εποξειδίου), 2.13-1.51 (7H, m, H δακτυλίου), 1.33 (3H, s, CH ₃), 1.28-1.23 (3H, m, CH-C-CH ₃)
--	---

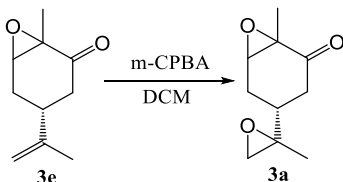
Μονοεποξείδιο της R-(-)-καρβόνης 3e



M.T.	M.B.	M.B. (μονοϊσοτοπικό)	TLC	Απόδοση
C ₁₀ H ₁₄ O ₂	166.22	166.10	R _f = 0,88 Hex / AcOEt 7:3	49%

Μέθοδος παρασκευής: Σε διάλυμα R-(-)-καρβόνης (0.052 mL, 0.33 mmol) σε 0.25 mL MeOH προστίθεται H₂O₂ 30% w/v (0.102 mL, 3.3 mmol), σε θερμοκρασία <0 °C. Κατόπιν προστίθεται στάγδην διάλυμα NaOH 6N (0.0825 mL, 0.50 mmol) και το μίγμα αναδεύεται στους <0 °C για 4 ώρες. Στη συνέχεια το μίγμα αντίδρασης τοποθετείται σε διαχωριστική χοάνη με 15 mL Et₂O και 15 mL νερό και οι δύο φάσεις διαχωρίζονται. Η υδατική φάση εκχυλίζεται με Et₂O (3 x 15 mL) και οι οργανικές φάσεις ενώνονται και εκπλένονται διαδοχικά με νερό και κορεσμένο υδατικό διάλυμα NH₄Cl (15 mL), ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται. Από τη χρωματογραφία στήλης (πεντάνιο / αιθέρας 95:5) του ακάθαρτου μίγματος παραλαμβάνονται 27 mg του προϊόντος ως ελαιώδες υγρό.

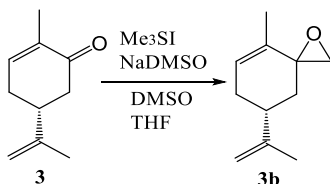
¹ H NMR (500 MHz) 25 °C CDCl ₃	δ: 4.78 (1H, d, J = 2.1 Hz, C=CHaHb), 4.71 (1H, s, C=CHaHb), 3.44 (1H, d, J = 3.1 Hz, H εποξειδίου), 2.75-2.67 (1H, m, O=C-CHaCHb-CH-), 2.58 (1H, dd, J = 17.7, 4.7 Hz, O=C-CHaCHb-CH-), 2.36 (1H, d, J = 15.0 Hz, -O-CH-CHaCHb-CH-), 2.03 (1H, m, -O-CH-CHaCHb-CH-), 1.89 (1H, dd, J = 14.8, 11.1 Hz, -CH ₂ -CH-CH ₂ -), 1.70 (3H, s, -CH ₂ =C(CH)-CH ₃), 1.40 (3H, s, -O-C(C=O)-CH ₃)
--	--

Διεποξειδίο της R-(-)-καρβόνης 3a

M.T.	M.B.	M.B. (μονοϊσοτοπικό)	TLC	Απόδοση
C ₁₀ H ₁₄ O ₃	182.22	182.09	R _f = 0,45 Hex / AcOEt 7:3	35%

Μέθοδος παρασκευής: Σε διάλυμα του παραπάνω μονοεποξειδίου της R-(-)-καρβόνης (500 mg, 3.32 mmol) σε 12 mL DCM, προστίθεται m-CPBA (1.031 mg, 5.97 mmol) σε θερμοκρασία δωματίου και το μίγμα αναδεύεται για 5 ώρες. Κατόπιν προστίθενται διαδοχικά NaI (s), Na₂SO₃ (s), 1-2 mL νερό και K₂CO₃ (s) (pH ≈ 12), ενώ μετά από κάθε προσθήκη το μίγμα αφήνεται να αναδευτεί καλά. Στη συνέχεια το μίγμα αντίδρασης τοποθετείται σε διαχωριστική χοάνη με 50 mL Et₂O και 50 mL νερό και οι δύο φάσεις διαχωρίζονται. Η υδατική φάση εκχυλίζεται με Et₂O (3 x 50 mL) και οι οργανικές φάσεις ενώνονται και εκπλένονται διαδοχικά με νερό και κορεσμένο υδατικό διάλυμα NH₄Cl (20 mL), ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται. Από τη χρωματογραφία στήλης (πεντάνιο / αιθέρας 90:10 έως 80:20) του ακάθαρτου μίγματος παραλαμβάνονται 209.8 mg του προϊόντος **3a** ως ελαιώδες υγρό.

¹ H NMR (500 MHz) 25 °C CDCl ₃	δ: 3.46 (1H, s, H εποξειδίου), 2.70-1.81 (12H, m, H δακτυλίου και H εποξειδίου), 1.44 (3H, s, -O-C(C=O)-CH ₃), 1.32-1.28 (3H, m, -O-C(CH)-CH ₃)
--	---

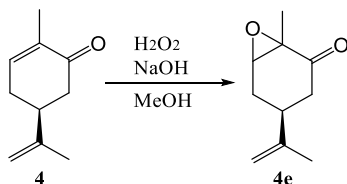
Spiro εποξειδίο της R-(-)-καρβόνης 3b

M.T.	M.B.	M.B. (μονοϊσοτοπικό)	TLC	Απόδοση
C ₁₁ H ₁₆ O	164.25	164.12	R _f = 0,81 Hex / AcOEt 7:3	60%

Μέθοδος παρασκευής: Παρασκευάζεται διάλυμα dimsyl sodium (NaDMSO) 2M προσθέτοντας 50.4 mg (2.1 mmol) NaH σε 1.1 mL DMSO και το μίγμα αναδεύεται υπό ατμόσφαιρα αργού, για μία ώρα στους 45°-50 °C. Κατόπιν, αφού το μίγμα έρθει σε θερμοκρασία δωματίου, προστίθενται 1.1 mL THF και ψύχεται στους <5 °C. Έπειτα, προστίθεται διάλυμα Me₃SI (428.5 mg, 2.1 mmol) σε 1,68 mL DMSO σε διάστημα τριών λεπτών. Μετά την προσθήκη το διάλυμα αναδεύεται για ένα λεπτό ακόμα και μετά προστίθεται R-(-)-καρβόνη (0.31 mL, 2 mmol) με σχετικά γρήγορο ρυθμό. Το μίγμα συνεχίζει να αναδεύεται στους <5 °C για λίγα λεπτά ακόμα και μετά για μία ώρα σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια το μίγμα αντίδρασης τοποθετείται σε διαχωριστική χοάνη με 50 mL Et₂O και 50 mL νερό και οι δύο φάσεις διαχωρίζονται. Η υδατική φάση εκχυλίζεται με Et₂O (3 x 50 mL) και οι οργανικές φάσεις ενώνονται και εκπλένονται διαδοχικά με νερό και κορεσμένο υδατικό διάλυμα NH₄Cl (20 mL), ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται. Από τη χρωματογραφία στήλης (πεντάνιο / αιθέρας 90:10) του ακάθαρτου μίγματος παραλαμβάνονται 196 mg του προϊόντος **3b** ως ελαιώδες υγρό.

¹ H NMR (500 MHz) 25 °C CDCl ₃	δ: 5.79 (1H, d, J = 4.9 Hz -C=CH-CH ₂ -), 4.77 (4H, m, CH ₂ =C-), 2.97 (1H, d, J = 4.9 Hz, -C-O-CHaHb-), 2.70 (1H, d, J = 4.9 Hz, -C-O-CHaHb-), 2.53 (1H, p, J = 22.6 Hz, -CH ₂ -CH-CH ₂ -), 2.26-2.18 (2H, m, -C-CH ₂ -CH-), 2.15-2.04 (2H, m, -CH-CH ₂ -CH=C-), 1.76 (6H, s, CH ₃ -C-), 1.53 (3H, s, CH ₃ -C-C-)
--	--

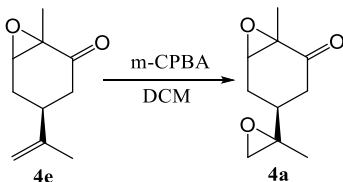
Μονοεποξείδιο της S-(+)-καρβόνης 4e



M.T.	M.B.	M.B. (μονοϊσοτοπικό)	TLC	Απόδοση
C ₁₀ H ₁₄ O ₃	182.22	182.09	R _f = 0,45 Hex / AcOEt 7:3	35%

Μέθοδος παρασκευής: Σε διάλυμα S-(+)-καρβόνης (0.052 mL, 0.33 mmol) σε 0.25 mL MeOH, προστίθενται H₂O₂ 30% w/v (0.102 mL, 3.33 mmol), σε θερμοκρασία <0 °C. Κατόπιν προστίθεται στάγδην διάλυμα NaOH 6N (0.0825 mL, 0.5 mmol) και το μίγμα αναδεύεται στους <0 °C για 4 ώρες. Στη συνέχεια το μίγμα αντίδρασης τοποθετείται σε διαχωριστική χοάνη με 15 mL Et₂O και 15 mL νερό και οι δύο φάσεις διαχωρίζονται. Η υδατική φάση εκχυλίζεται με Et₂O (3 x 15 mL) και οι οργανικές φάσεις ενώνονται και εκπλένονται διαδοχικά με νερό και κορεσμένο υδατικό διάλυμα NH₄Cl (15 mL), ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται. Από τη χρωματογραφία στήλης (πεντάνιο / αιθέρας 95:5) του ακάθαρτου μίγματος παραλαμβάνονται 27 mg του προϊόντος ως ελαιώδες υγρό.

¹ H NMR (500 MHz) 25 °C CDCl ₃	δ: 4.77 (1H, d, J = 35.7 Hz, C=CH ₂), 3.47 (1H, s, H εποξειδίου), 2.76-2.71 (1H, m, O=C-CH _a CH _b -CH-), 2.60 (1H, dd, J = 22.2 Hz, O=C-CH _a CH _b -CH-), 2.39 (1H, d, J = 15.0 Hz, -O-CH-CH _a CH _b -CH-), 2.07-2.02 (1H, m, -O-CH-CH _a CH _b -CH-), 1.94-1.89 (1H, m, -CH ₂ -CH-CH ₂ -), 1.73 (3H, s, -CH ₂ =C(CH)-CH ₃), 1.43 (3H, s, -O-C(C=O)-CH ₃)
--	--

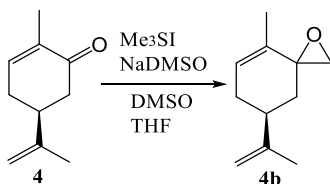
Διεποξειδίο της S-(+)-καρβόνης 4a

M.T.	M.B.	M.B. (μονοϊσοτοπικό)	TLC	Απόδοση
C ₁₀ H ₁₄ O ₃	182.22	182.09	R _f = 0,45 Hex / AcOEt 7:3	35%

Μέθοδος παρασκευής: Σε διάλυμα του παραπάνω μονοεποξειδίου της S-(+)-καρβόνης (500 mg, 3.32 mmol) σε 12 mL DCM προστίθεται m-CPBA (1.031 mg, 5.97 mmol) σε θερμοκρασία δωματίου και το μίγμα αναδεύεται για 5 ώρες. Κατόπιν προστίθενται διαδοχικά NaI (s), Na₂SO₃ (s), 1-2 mL νερό και K₂CO₃ (s) (pH ≈ 12), ενώ μετά από κάθε προσθήκη το μίγμα αφήνεται να αναδευτεί καλά. Στη συνέχεια το μίγμα αντίδρασης τοποθετείται σε διαχωριστική χοάνη με 50 mL Et₂O και 50 mL νερό και οι δύο φάσεις διαχωρίζονται. Η υδατική φάση εκχυλίζεται με Et₂O (3 x 50 mL) και οι οργανικές φάσεις ενώνονται και εκπλένονται διαδοχικά με νερό και κορεσμένο υδατικό διάλυμα NH₄Cl (20 mL), ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται. Από τη χρωματογραφία στήλης (πεντάνιο / αιθέρας 90:10 έως 80:20) του ακάθαρτου μίγματος παραλαμβάνονται 209.8 mg του προϊόντος **4a** ως ελαιώδες υγρό.

¹ H NMR (500 MHz) 25 °C CDCl ₃	δ: 3.46 (1H, s, H εποξειδίου), 2.70-1.81 (12H, m, H δακτυλίου και H εποξειδίου), 1.44 (3H, s, -O-C(C=O)-CH ₃), 1.32-1.28 (3H, m, -O-C(CH)-CH ₃)
--	---

Spiro-εποξειδίου της S-(+)-καρβόνης 4b

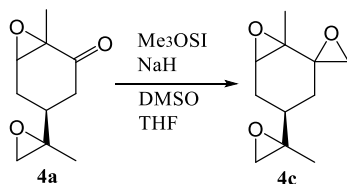


M.T.	M.B.	M.B. (μονοϊσοτοπικό)	TLC	Απόδοση
C ₁₁ H ₁₆ O	164.25	164.12	R _f = 0,81 Hex / AcOEt 7:3	60%

Μέθοδος παρασκευής: Παρασκευάζεται διάλυμα dimethyl sodium (NaDMSO) 2M προσθέτοντας 50.4 mg (2.1 mmol) NaH σε 1.1 mL DMSO και το μίγμα αναδεύεται υπό ατμόσφαιρα αργού για μία ώρα στους 45°-50 °C. Κατόπιν, αφού το μίγμα έρθει σε θερμοκρασία δωματίου προστίθενται 1.1 mL THF και ψύχεται στους <5 °C. Έπειτα, προστίθεται διάλυμα Me₃SI (428.5 mg, 2.1 mmol) σε 1.68 mL DMSO σε διάστημα τριών λεπτών. Μετά την προσθήκη το διάλυμα αναδεύεται για ένα λεπτό ακόμα και μετά προστίθεται S-(+)-καρβόνη (0.31 mL, 2 mmol) με σχετικά γρήγορο ρυθμό. Το μίγμα συνεχίζει να αναδεύεται σε θερμοκρασία <5 °C για λίγα λεπτά ακόμα και μετά για μία ώρα σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια το μίγμα αντίδρασης τοποθετείται σε διαχωριστική χοάνη με 50 mL Et₂O και 50 mL νερό και οι δύο φάσεις διαχωρίζονται. Η υδατική φάση εκχυλίζεται με Et₂O (3 x 50 mL) και οι οργανικές φάσεις ενώνονται και εκπλένονται διαδοχικά με νερό και κορεσμένο υδατικό διάλυμα NH₄Cl (20 mL), ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται. Από τη χρωματογραφία στήλης (πεντάνιο / αιθέρας 90:10) του ακάθαρτου μίγματος παραλαμβάνονται 196 mg του προϊόντος **4b** ως ελαιώδες υγρό.

¹ H NMR (500 MHz) 25 °C CDCl ₃	δ: 5.79 (1H, m, -C=CH-CH ₂ -), 4.77 (4H, d, CH ₂ =C-), 2.97 (1H, dd, J = 5.0, 1.7 Hz, -C-O-CH _a H _b -), 2.70 (1H, d, J = 5.0 Hz, -C-O-CH _a H _b -), 2.53 (1H, m, -CH ₂ -CH-CH ₂ -), 2.25-2.22 (2H, m, -C-CH ₂ -CH-), 2.12-2.04 (2H, m, -CH-CH ₂ -CH=C-), 1.76 (3H, s, CH ₃ -C-), 1.53 (3H, s, CH ₃ -C-C-)
¹³ C NMR	δ: 148.35, 133.04, 131.30, 128.69, 126.40, 109.41, 54.53, 53.38, 41.48, 39.40, 37.45, 36.73, 31.47, 30.52, 15.57

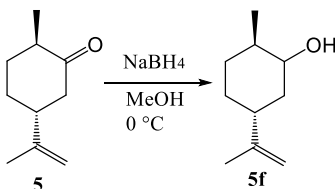
Τριεποξείδιο της S-(+)-καρβόνης 4c



M.T.	M.B.	M.B. (μονοϊσοτοπικό)	TLC	Απόδοση
C ₁₁ H ₁₆ O ₃	196.25	196.11	R _f = 0,48 Hex / AcOEt 7:3	60%

Μέθοδος παρασκευής: Σε μία φιάλη προστίθενται διαδοχικά υπό αργό NaH (15.6 mg, 0,65 mmol), Me₃OSI (174.44 mg, 0.67 mmol) και 0.7 mL DMSO. Κατόπιν, προστίθεται διάλυμα της ένωσης **4a** (122 mg, 0.67 mmol) σε 0,4 mL DMSO / THF (1:1) σε θερμοκρασία δωματίου και μετά το μίγμα αναδεύεται στους 50 °C για 1,5 ώρα. Στη συνέχεια το μίγμα αντίδρασης τοποθετείται σε διαχωριστική χοάνη με 50 mL Et₂O και 50 mL νερό και οι δύο φάσεις διαχωρίζονται. Η υδατική φάση εκχυλίζεται με Et₂O (3 x 50 mL) και οι οργανικές φάσεις ενώνονται και εκπλένονται διαδοχικά με νερό και κορεσμένο υδατικό διάλυμα NH₄Cl (20 mL), ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται. Από τη χρωματογραφία στήλης (πεντάνιο / αιθέρας 80:20) του ακάθαρτου μίγματος παραλαμβάνονται 79.2 mg του προϊόντος **4c** ως ελαιώδες υγρό.

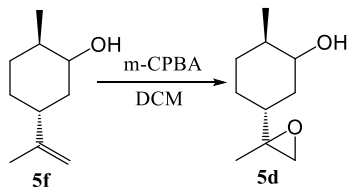
¹ H NMR (500 MHz) 25 °C CDCl ₃	δ: 3.25 (1H, d, J = 10.0 Hz, -C-O-CH _a H _b -C-), 2.94 (1H, m, -C-O-CH _a H _b -C-), 2.67 – 2.52 (4H, m, -C-O-CH ₂), 2.30-2.20 (1H, m, -CH ₂ -CH-O-C-), 1.85-1.39 (5H, m, H δακτυλίου), 1.27 (3H, d, J = 10.0 Hz, CH ₃ -C-C-), 1.15 (3H, s, CH ₃ -C)
--	--

(+)-διϋδροκαρβεόλη 5f

M.T.	M.B.	M.B. (μονοϊσοτοπικό)	TLC	Απόδοση
C ₁₀ H ₁₈ O ₀	154.25	154.14	R _f = 0,71 και 0,57 Hex / AcOEt 7:3	95%

Μέθοδος παρασκευής: Σε διάλυμα (+)-διϋδροκαρβόνης (μίγμα ισομερών) (0.21 mL, 1.3 mmol) σε 9.7 mL MeOH προστίθεται σιγά – σιγά NaBH₄ (49.55 mg, 1.3 mmol) στους 0 °C και το μίγμα αναδεύεται για 20 λεπτά. Κατόπιν, προστίθεται 5 mL κορεσμένου υδατικού διαλύματος NH₄Cl και το μίγμα αναδεύεται για 10 λεπτά. Στη συνέχεια το μίγμα αντίδρασης τοποθετείται σε διαχωριστική χοάνη με 50 mL EtOAc και 50 mL νερό και οι δύο φάσεις διαχωρίζονται. Η υδατική φάση εκχυλίζεται με EtOAc (3 x 50 mL) και οι οργανικές φάσεις ενώνονται και εκπλένονται διαδοχικά με νερό και κορεσμένο υδατικό διάλυμα NH₄Cl (20 mL), ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται. Από τη χρωματογραφία στήλης (εξάνιο / οξικός αιθυλεστέρας 90:10) του ακάθαρτου μίγματος παραλαμβάνονται 192 mg μίγματος ισομερών του προϊόντος ως ελαιώδες υγρό.

Εποξείδιο της (+)-διυδροκαρβεόλης 5d

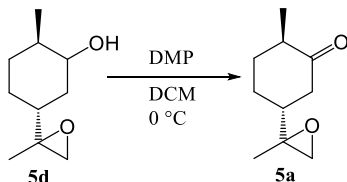


M.T.	M.B.	M.B. (μονοϊσοτοπικό)	TLC	Απόδοση
C ₁₀ H ₁₈ O ₂	170.25	170.13	R _f = 0,17 και 0,27 Hex / AcOEt 7:3	22%

Μέθοδος παρασκευής: Σε διάλυμα του παραπάνω αναγμένου προϊόντος της (+)-διυδροκαρβόλης (185 mg, 1.2 mmol) σε 3,7 mL DCM προστίθεται m-CPBA (310.6 mg, 1.8 mmol) σε θερμοκρασία δωματίου και το μίγμα αναδεύεται για 5 ώρες. Κατόπιν προστίθενται διαδοχικά NaI (s), Na₂SO₃ (s), 1-2 mL νερό και K₂CO₃ (s) (pH ≈ 12), ενώ μετά από κάθε προσθήκη το μίγμα αφήνεται να αναδευτεί καλά. Στη συνέχεια το μίγμα αντίδρασης τοποθετείται σε διαχωριστική χοάνη με 50 mL Et₂O και 50 mL νερό και οι δύο φάσεις διαχωρίζονται. Η υδατική φάση εκχυλίζεται με Et₂O (3 x 50 mL) και οι οργανικές φάσεις ενώνονται και εκπλένονται διαδοχικά με νερό και κορεσμένο υδατικό διάλυμα NH₄Cl (20 mL), ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται. Από τη χρωματογραφία στήλης (πεντάνιο / αιθέρας 90:10 έως 70:30) του ακάθαρτου μίγματος παραλαμβάνονται 45.1 mg μίγματος ισομερών του προϊόντος **5d** ως ελαιώδες υγρό.

¹ H NMR (250 MHz) 25 °C CDCl ₃	δ: 4.06-3.89 (1H, m, OH), 2.59 (2H, dt, J = 23.4, 5.1 Hz, CH ₂ -O-), 2.08-0.94 (m, H δακτυλίου και H μεθυλίων)
--	---

Εποξειδίο της (+)-διϋδροκαρβόνης 5a

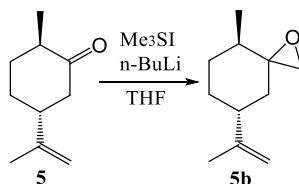


M.T.	M.B.	M.B. (μονοϊσοτοπικό)	TLC	Απόδοση
C ₁₀ H ₁₆ O ₂	168.24	168.12	R _f = 0,58 Hex / AcOEt 7:3	64%

Μέθοδος παρασκευής: Σε διάλυμα του προϊόντος **5d** (227 mg, 1.34 mmol) σε 4 mL DCM προστίθεται DMP (909.3 mg, 2.14 mmol) στους 0 °C και το μίγμα αναδεύεται για μία ώρα. Κατόπιν, προστίθεται NaHCO₃ (l) (pH ≈ 8-9) και φρέσκο διάλυμα Na₂S₃O₂. Στη συνέχεια το μίγμα αντίδρασης τοποθετείται σε διαχωριστική χοάνη με 50 mL πεντάνιο και 50 mL νερό και οι δύο φάσεις διαχωρίζονται. Η υδατική φάση εκχυλίζεται με πεντάνιο (3 x 50 mL) και οι οργανικές φάσεις ενώνονται και εκπλένονται διαδοχικά με νερό και κορεσμένο υδατικό διάλυμα NH₄Cl (20 mL), ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται. Από τη χρωματογραφία στήλης (πεντάνιο / αιθέρας 90:10 έως 80:20) του ακάθαρτου μίγματος παραλαμβάνονται 143.5 mg του προϊόντος **5a** ως ελαιώδες υγρό.

¹ H NMR (500 MHz) 25 °C CDCl ₃	δ: 2.69 (1H, d, J = 4.6 Hz, CHaHb-O-), 2.60 (1H, dd, J = 15.3 Hz, CHaHb-O-), 2.47 (1H, d, J = 13.1 Hz, -C=O-CHaHb-), 2.37 (1H, h, J = 31.7 Hz, CH ₃ -CH-), 2.25-2.14 (2H, m, CH ₃ -CH-CH ₂ -), 1.97 (1H, d, J = 13.0 Hz, -C=O-CHaHb-), 1.84-1.54 (3H, m, -CH ₂ -CH ₂ -CH-), 1.33 (3H, d, J = 5.9 Hz, CH ₃ -C-), 1.05 (3H, d, J = 6.5 Hz, CH ₃ -CH-)
--	--

Spiro-εποξειδίο της (+)-διυδροκαρβόνης 5b

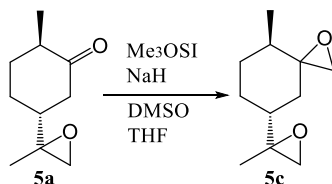


M.T.	M.B.	M.B. (μονοϊσοτοπικό)	TLC	Απόδοση
C ₁₁ H ₁₈ O	166.26	166.14	R _f = 0,58 Hex / AcOEt 9:1	43%

Μέθοδος παρασκευής: Σε 7 mL άνυδρου THF στους -40 °C, προστίθενται στάγδην n-BuLi (1,6 M) (0.82 mL, 1.31 mmol) και Me₃SI (267.3 mg, 1.31 mmol) υπό ατμόσφαιρα αργού. Μετά από 5 λεπτά προστίθεται (+)-διυδροκαρβόνη (0.21 mL, 1.31 mmol) και το μίγμα αναδεύεται στους -40 °C για 1,5 ώρα. Στη συνέχεια το μίγμα αντίδρασης τοποθετείται σε διαχωριστική χοάνη με 50 mL πεντάνιο και 50 mL νερό και οι δύο φάσεις διαχωρίζονται. Η υδατική φάση εκχυλίζεται με πεντάνιο (3 x 50 mL) και οι οργανικές φάσεις ενώνονται και εκπλένονται διαδοχικά με νερό και κορεσμένο υδατικό διάλυμα NH₄Cl (20 mL), ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται. Από τη χρωματογραφία στήλης (πεντάνιο / αιθέρας 98:2) του ακάθαρτου μίγματος παραλαμβάνονται 143.5 mg του προϊόντος **5b** ως ελαιώδες υγρό.

¹ H NMR (500 MHz) 25 °C CDCl ₃	δ: 4.70 (2H, d, J = 6.6 Hz, CH ₂ =C-), 2.87 (1H, d, J = 4.5 Hz, -C-O-CH _a H _b -), 2.49 (1H, d, J = 4.5 Hz, -C-O-CH _a H _b -), 2.32 (1H, tt, J = 12.1 Hz, -C-CH ₂ -CH-), 1.92-1.81 (3H, m, H δακτυλίου), 1.74 (3H, s, CH ₃ -C-), 1.47-1.28 (5H, m, H δακτυλίου), 0.75 (3H, d, J = 6.7 Hz, CH ₃ -CH-)
--	--

Διεποξειδιο της (+)-διϋδροκαρβόνης 5c

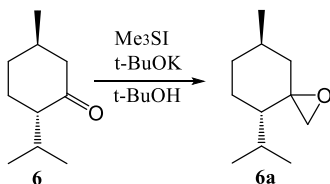


M.T.	M.B.	M.B. (μονοϊσοτοπικό)	TLC	Απόδοση
C ₁₁ H ₁₈ O ₂	182.26	182.13	R _f = 0,55 Hex / AcOEt 7:3	82%

Μέθοδος παρασκευής: Σε μία φιάλη προστίθενται διαδοχικά υπό αργό NaH (4.08 mg, 0.17 mmol), Me₃OSI (39.6 mg, 0.18 mmol) και 0,2 mL DMSO. Κατόπιν, προστίθεται διάλυμα της ένωσης **5a** (30 mg, 0.18 mmol) σε 0,11 mL DMSO και 0,11 mL THF σε θερμοκρασία δωματίου και μετά το μίγμα αναδεύεται στους 50 °C για 1,5 ώρα. Στη συνέχεια το μίγμα αντίδρασης τοποθετείται σε διαχωριστική χοάνη με 20 mL Et₂O και 20 mL νερό και οι δύο φάσεις διαχωρίζονται. Η υδατική φάση εκχυλίζεται με Et₂O (3 x 20 mL) και οι οργανικές φάσεις ενώνονται και εκπλένονται διαδοχικά με νερό και κορεσμένο υδατικό διάλυμα NH₄Cl (15 mL), ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται. Από τη χρωματογραφία στήλης (πεντάνιο / αιθέρας 80:20) του ακάθαρτου μίγματος παραλαμβάνονται 27 mg του προϊόντος **5c** ως ελαιώδες υγρό.

¹ H NMR (250 MHz) 25 °C CDCl ₃	δ: 2.85 (1H, d, J = 3.9 Hz, -C-O-CHaHb-), 2.67 (1H, m, CHaCHb-O-C-), 2.55 (1H, d, J = 4.8 Hz, CHaCHb-O-C-), 2.49 (1H, d, J = 4.4 Hz -C-O-CHaHb-), 1.91-1.67 (6H, m, H δακτυλίου), 1.45-1.35 (2H, m, H δακτυλίου), 1.28 (3H, s, CH ₃ -C-), 0.73 (3H, d, J = 6.6 Hz, CH ₃ -CH-)
--	---

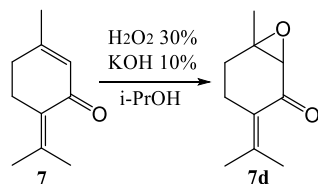
Spiro-εποξειδίου της (-)-μενθόνης 6a



M.T.	M.B.	M.B. (μονοϊσοτοπικό)	TLC	Απόδοση
$\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{O}$	168.28	168.15	$R_f = 0,45$ Hex 100%	77%

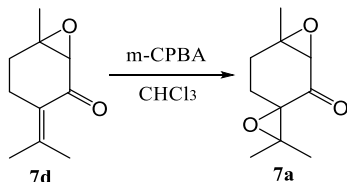
Μέθοδος παρασκευής: Σε διάλυμα Me_3SI (791.8 mg, 3.88 mmol) σε 2.55 mL t-BuOH προστίθεται (-)-μενθόνη (0.33 mL, 1.94 mmol) στους 30 °C με reflux, υπό ατμόσφαιρα αργού. Κατόπιν, προστίθεται t-BuOK (1306.1 mg, 11.6 mmol) και το μίγμα αναδεύεται στους 40° - 50 °C για 12 ώρες, υπό αργό. Στη συνέχεια το μίγμα αντίδρασης τοποθετείται σε διαχωριστική χοάνη με 50 mL DCM και 50 mL νερό και οι δύο φάσεις διαχωρίζονται. Η υδατική φάση εκχυλίζεται με DCM (3 x 50 mL) και οι οργανικές φάσεις ενώνονται και εκπλένονται διαδοχικά με νερό και κορεσμένο υδατικό διάλυμα NH_4Cl (20 mL), ξηραίνονται με Na_2SO_4 και συμπυκνώνονται. Από τη χρωματογραφία στήλης (εξάνιο / οξικός αιθυλεστέρας 95:5) του ακάθαρτου μίγματος παραλαμβάνονται 252.1 mg του προϊόντος **6a** ως ελαιώδες υγρό.

¹ H NMR (500 MHz) 25 °C CDCl_3	δ : 2.94 (1H, d, $J = 4.5$ Hz, -C-CHaHb-O-), 2.50 (1H, d, $J = 4.5$ Hz, -C-CHaHb-O-), 1.90-1.28 (8H, m, H δακτυλίου), 1.09-1.04 (1H, m, $\text{CH}_3\text{-CH-CH}_3$), 0.93 (6H, t, $J = 11.8$ Hz, $\text{CH}_3\text{-CH-CH}_3$), 0.83 (3H, d, $\text{CH}_3\text{-CH-}$)
¹³ C NMR	δ : 61.01, 51.90, 44.80, 43.36, 33.89, 30.58, 25.85, 24.37, 23.16, 21.80, 18.60

Μονοεποξειδίο της πιπεριτενόνης 7d

M.T.	M.B.	M.B. (μονοϊσοτοπικό)	TLC	Απόδοση
C ₁₀ H ₁₄ O ₂	166.22	166.10	R _f = 0,75 Hex / AcOEt 7:3	52%

Μέθοδος παρασκευής: Σε διάλυμα πιπεριτενόνης (0.030 mL, 0.2 mmol) σε 0.12 mL ισοπροπυλική αλκοόλη στους -9 °C, προστίθεται αρχικά H₂O₂ 30% w/v (0.072 mL, 0.24 mmol) και έπειτα σχεδόν ταυτόχρονα διάλυμα KOH 10% (0.025 ml, 0.044 mmol). Η θερμοκρασία καθόλη τη διάρκεια της αντίδρασης δεν ξεπερνά τους -2 °C. Στη συνέχεια το μίγμα αντίδρασης τοποθετείται σε διαχωριστική χοάνη με 30 mL Et₂O και 30 mL νερό και οι δύο φάσεις διαχωρίζονται. Η υδατική φάση εκχυλίζεται με Et₂O (3 x 30 mL) και οι οργανικές φάσεις ενώνονται και εκπλένονται διαδοχικά με νερό και κορεσμένο υδατικό διάλυμα NH₄Cl (20 mL), ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται. Από τη χρωματογραφία στήλης (πεντάνιο / αιθέρας 90:10) του ακάθαρτου μίγματος παραλαμβάνονται 17.2 mg του προϊόντος **7d** ως ελαιώδες υγρό.

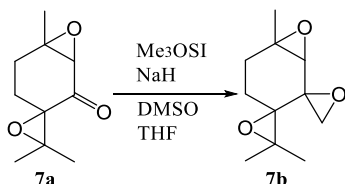
Διεποξειδίο της πιπεριτενόνης 7a

M.T.	M.B.	M.B. (μονοϊσοτοπικό)	TLC	Απόδοση
$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_3$	182.22	182.09	$R_f = 0,47$ Hex / AcOEt 7:3	57%

Μέθοδος παρασκευής: Σε διάλυμα του παραπάνω μονοεποξειδωμένου προϊόντος της πιπεριτενόνης **7d** (0.2 mL, 0.12 mmol) σε 0,75 mL χλωροφόρμιο προστίθεται διάλυμα *m*-CPBA (31.06 mg, 0.18 mmol) σε 0,75 mL χλωροφόρμιο στους 0 °C και το μίγμα αναδεύεται για 20 ώρες. Κατόπιν προστίθενται διαδοχικά NaI (s), Na_2SO_3 (s), 1-2 mL νερό και K_2CO_3 (s) ($\text{pH} \approx 12$), ενώ μετά από κάθε προσθήκη το μίγμα αφήνεται να αναδευτεί καλά. Στη συνέχεια το μίγμα αντίδρασης τοποθετείται σε διαχωριστική χοάνη με 20 mL Et_2O και 20 mL νερό και οι δύο φάσεις διαχωρίζονται. Η υδατική φάση εκχυλίζεται με Et_2O (3 x 20 mL) και οι οργανικές φάσεις ενώνονται και εκπλένονται διαδοχικά με νερό και κορεσμένο υδατικό διάλυμα NH_4Cl (15 mL), ξηραίνονται με Na_2SO_4 και συμπυκνώνονται. Από τη χρωματογραφία στήλης (πεντάνιο / αιθέρας 90:10) του ακάθαρτου μίγματος παραλαμβάνονται 12.5 mg του προϊόντος **7a** ως ελαιώδες υγρό.

^1H NMR (500 MHz) 25 °C CDCl_3	δ : 3.37 (1H, s, H εποξειδίου), 2.40-2.12 (4H, m, H δακτυλίου), 1.54 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-C}$), 1.40 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-C}$), 1.27 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-C}$)
--	--

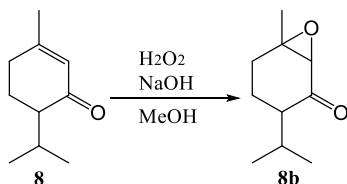
Τριεποξείδιο της πιπεριτενόνης 7b



M.T.	M.B.	M.B. (μονοϊσοτοπικό)	TLC	Απόδοση
C ₁₁ H ₁₆ O ₃	196.25	196.11	R _f = 0,56 Hex / AcOEt 7:3	45%

Μέθοδος παρασκευής: Σε μία φιάλη προστίθενται διαδοχικά υπό αργό NaH (12.72 mg, 0.53 mmol), Me₃OSI (121.03 mg, 0.55 mmol) και 0,62 mL DMSO. Κατόπιν, προστίθεται διάλυμα της ένωσης **7a** (100 mg, 0.55 mmol) σε 0,35 mL DMSO και 0,35 mL THF σε θερμοκρασία δωματίου και έπειτα το μίγμα αναδεύεται στους 50 °C για 1,5 ώρα. Στη συνέχεια το μίγμα αντίδρασης τοποθετείται σε διαχωριστική χοάνη με 50 mL Et₂O και 50 mL νερό και οι δύο φάσεις διαχωρίζονται. Η υδατική φάση εκχυλίζεται με Et₂O (3 x 50 mL) και και οι οργανικές φάσεις ενώνονται και εκπλένονται διαδοχικά με νερό και κορεσμένο υδατικό διάλυμα NH₄Cl (20 mL), ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται. Από τη χρωματογραφία στήλης (πεντάνιο / αιθέρας 80:20) του ακάθартου μίγματος παραλαμβάνονται 48.8 mg του προϊόντος **7b** ως ελαιώδες υγρό.

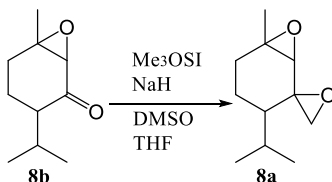
¹ H NMR (500 MHz) 25 °C CDCl ₃	δ: 3.20 (1H, d, J = 5.0 Hz, -C-CHaHb-O-), 2.96 (1H, d, J = 5.0 Hz, -C-CHaHb-O-), 2.71 (1H, s, -O-CH-C-), 1.42 (3H, s, CH ₃ -C-), 1.35 (6H, d, J = 4.9 Hz, CH ₃ -C-CH ₃)
--	---

Εποξειδίο της πιπεριτόνης 8b

M.T.	M.B.	M.B. (μονοϊσοτοπικό)	TLC	Απόδοση
C ₁₀ H ₁₆ O ₂	168.24	168.12	R _f = 0,6 Hex / AcOEt 7:3	37%

Μέθοδος παρασκευής: Σε διάλυμα πιπεριτόνης (0.32 mL, 1.97 mmol) σε 2.25 mL MeOH προστίθεται H₂O₂ 30% w/v (0.3 mL, 9.8 mmol) σε θερμοκρασία <0 °C. Κατόπιν, προστίθεται σταγόδην διάλυμα NaOH 6N (0.24 mL, 1.44 mmol) στους <0 °C και το μίγμα αναδεύεται για 4 ώρες. Στη συνέχεια το μίγμα αντίδρασης τοποθετείται σε διαχωριστική χοάνη με 50 mL Et₂O και 50 mL νερό και οι δύο φάσεις διαχωρίζονται. Η υδατική φάση εκχυλίζεται με Et₂O (3 x 50 mL) και οι οργανικές φάσεις ενώνονται και εκπλένονται διαδοχικά με νερό και κορεσμένο υδατικό διάλυμα NH₄Cl (20 mL), ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται. Από τη χρωματογραφία στήλης (πεντάνιο / αιθέρας 95:5) του ακάθαρτου μίγματος παραλαμβάνονται 121 mg του προϊόντος ως ελαιώδες υγρό.

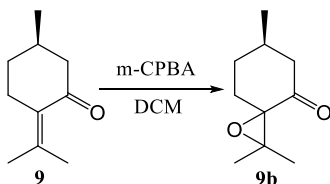
¹ H NMR (500 MHz) 25 °C CDCl ₃	δ: 3.35 (1H, s, H εποξειδίου), 2.38-2.14 (5H, m, H δακτυλίου), 1.77-1.72 (1H, m, CH ₃ -CH-), 1.52 (3H, s, CH ₃ -C-), 1.39 (3H, s, CH ₃ -CH- CH ₃), 1.26 (3H, s, CH ₃ -CH- CH ₃)
--	---

Διεποξειδίο της πιπεριτόνης 8a

M.T.	M.B.	M.B. (μονοϊσοτοπικό)	TLC	Απόδοση
$\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{O}_2$	182.26	182.13	$R_f = 0,53$ Hex / AcOEt 7:3	30%

Μέθοδος παρασκευής: Σε μία φιάλη προστίθενται διαδοχικά υπό αργό NaH (7 mg, 0.29 mmol), Me_3OSi (66.02 mg, 0.3 mmol) και 0.33 mL DMSO. Κατόπιν, προστίθεται διάλυμα του παραπάνω μονοεποξειδίου της πιπεριτόνης (50 mg, 0.3 mmol) σε 0.18 mL DMSO και 0.18 mL THF σε θερμοκρασία δωματίου και έπειτα το μίγμα αναδεύεται στους 50°C για 1,5 ώρα. Στη συνέχεια το μίγμα αντίδρασης τοποθετείται σε διαχωριστική χοάνη με 30 mL Et_2O και 30 mL νερό και οι δύο φάσεις διαχωρίζονται. Η υδατική φάση εκχυλίζεται με Et_2O (3 x 30 mL) και οι οργανικές φάσεις ενώνονται και εκπλένονται διαδοχικά με νερό και κορεσμένο υδατικό διάλυμα NH_4Cl (15 mL), ξηραίνονται με Na_2SO_4 και συμπυκνώνονται. Από τη χρωματογραφία στήλης (πεντάνιο / αιθέρας 90:10) του ακάθαρτου μίγματος παραλαμβάνονται 16.5 mg του προϊόντος **8a** ως ελαιώδες υγρό.

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz) 25°C CDCl_3	δ : 3.20 (1H, d, $J = 5.0$ Hz, $-\text{C}-\text{CH}_a\text{H}_b-\text{O}-$), 2.96 (1H, d, $J = 5.0$ Hz, $-\text{C}-\text{CH}_a\text{H}_b-\text{O}-$), 2.71 (1H, s, $-\text{C}-\text{O}-\text{CH}-$), 1.42 (3H, s, $\text{CH}_3-\text{C}-$), 1.35 (6H, d, $J = 4.8$ Hz, $\text{CH}_3-\text{CH}-\text{CH}_3$)
--	---

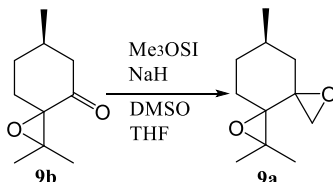
Εποξείδιο της R-(+)-πουλεγόνης 9b

M.T.	M.B.	M.B. (μονοϊσοτοπικό)	TLC	Απόδοση
C ₁₀ H ₁₆ O ₂	168.24	168.12	R _f = 0,58 Hex / AcOEt 7:3	86%

Μέθοδος παρασκευής: Σε διάλυμα R-(+)-πουλεγόνης (0.32 mL, 1.97 mmol) σε 0.95 mL DCM προστίθεται διάλυμα m-CPBA (696 mg, 2.42 mmol) σε 2 mL DCM, σε θερμοκρασία δωματίου, σε διάστημα 5 λεπτών. Κατόπιν προστίθενται διαδοχικά NaI (s), Na₂SO₃ (s), 1-2 mL νερό και K₂CO₃ (s) (pH ≈ 12), ενώ μετά από κάθε προσθήκη το μίγμα αφήνεται να αναδευτεί καλά. Στη συνέχεια το μίγμα αντίδρασης τοποθετείται σε διαχωριστική χοάνη με 50 mL Et₂O και 50 mL νερό και οι δύο φάσεις διαχωρίζονται. Η υδατική φάση εκχυλίζεται με Et₂O (3 x 50 mL) και οι οργανικές φάσεις ενώνονται και εκπλένονται διαδοχικά με νερό και κορεσμένο υδατικό διάλυμα NH₄Cl (20 mL), ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται. Από τη χρωματογραφία στήλης (πεντάνιο / αιθέρας 90:10) του ακάθαρτου μίγματος παραλαμβάνονται 287 mg του προϊόντος ως στερεό.

¹ H NMR (500 MHz) 25 °C CDCl ₃	δ: 2.44 (2H, s, -CH-CH ₂ -C=O), 2.21 (1H, td, J = 30.9 Hz, CH ₃ -CH-), 2.00-1.76 (4H, m, H δακτυλίου), 1.45 (3H, s, CH ₃ -C-), 1.28-1.23 (3H, m, CH ₃ -C-), 1.10-1.07 (3H, m, CH ₃ -CH-)
¹³ C NMR	δ: 207.53, 70.15, 63.45, 51.41, 49.52, 33.99, 33.07, 30.24, 26.34, 22.05

Διεποξειδίο της R-(+)-πουλεγόνης 9a

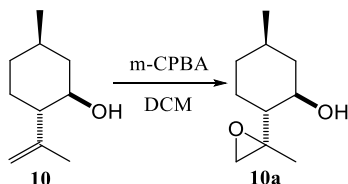


M.T.	M.B.	M.B. (μονοϊσοτοπικό)	TLC	Απόδοση
C ₁₁ H ₁₈ O ₂	182.26	182.13	R _f = 0,47 Hex / AcOEt 9:1	10%

Μέθοδος παρασκευής: Σε μία φιάλη προστίθενται διαδοχικά υπό αργό NaH (46.08 mg, 1.92 mmol), Me₃OSI (435.7 mg, 1.98 mmol) και 2.18 mL DMSO. Κατόπιν, προστίθεται διάλυμα του παραπάνω μονοεποξειδίου της R-(+)-πουλεγόνης (333 mg, 1.98 mmol) σε 1.09 mL DMSO και 1.09 mL THF σε θερμοκρασία δωματίου και έπειτα το μίγμα αναδεύεται στους 50 °C για 1,5 ώρα. Στη συνέχεια το μίγμα αντίδρασης τοποθετείται σε διαχωριστική χοάνη με 50 mL Et₂O και 50 mL νερό και οι δύο φάσεις διαχωρίζονται. Η υδατική φάση εκχυλίζεται με Et₂O (3 x 50 mL) και οι οργανικές φάσεις ενώνονται και εκπλένονται διαδοχικά με νερό και κορεσμένο υδατικό διάλυμα NH₄Cl (20 mL), ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται. Από τη χρωματογραφία στήλης (πεντάνιο / αιθέρας 95:5) του ακάθαρτου μίγματος παραλαμβάνονται 36.1 mg του προϊόντος **9a** ως στερεό.

¹ H NMR (500 MHz) 25 °C CDCl ₃	δ: 2.89 (1H, d, J = 5.3 Hz, -C-CHaHb-O-), 2.55 (1H, d, J = 5.3 Hz, -C-CHaHb-O-), 2.14 (1H, m, CH ₃ -CH-), 1.98 (1H, m, -CH ₂ -CHaHb-C-), 1.79-1.73 (2H, m, -CH-CH ₂ -C-), 1.56-1.52 (1H, m, -CH ₂ -CHaHb-C-), 1.46 (2H, s, -CH-CH ₂ -CH ₂ -), 1.38 (6H, s, CH ₃ -C-CH ₃), 1.20 (3H, d, J = 7.2 Hz, CH ₃ -CH-)
--	---

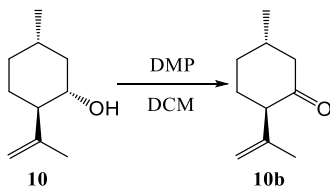
Εποξείδιο της (-)-ισοπουλεγόλης 10a



M.T.	M.B.	M.B. (μονοϊσοτοπικό)	TLC	Απόδοση
C ₁₀ H ₁₈ O ₂	170.25	170.13	R _f = 0,45 Hex / AcOEt 7:3	72%

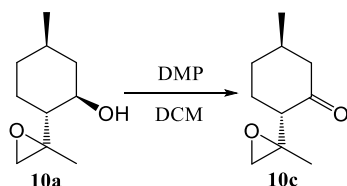
Μέθοδος παρασκευής: Σε διάλυμα (-)-ισοπουλεγόλης (0.22 mL, 1.3 mmol) σε 1.5 mL DCM προστίθεται σιγά – σιγά m-CPBA (450 mg, 1.56 mmol) σε θερμοκρασία δωματίου και το μίγμα αναδεύεται για 20 λεπτά. Κατόπιν προστίθενται διαδοχικά NaI (s), Na₂SO₃ (s), 1-2 mL νερό και K₂CO₃ (s) (pH ≈ 12), ενώ μετά από κάθε προσθήκη το μίγμα αφήνεται να αναδευτεί καλά. Στη συνέχεια το μίγμα αντίδρασης τοποθετείται σε διαχωριστική χοάνη με 50 mL Et₂O και 50 mL νερό και οι δύο φάσεις διαχωρίζονται. Η υδατική φάση εκχυλίζεται με Et₂O (3 x 50 mL) και οι οργανικές φάσεις ενώνονται και εκπλένονται διαδοχικά με νερό και κορεσμένο υδατικό διάλυμα NH₄Cl (20 mL), ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται. Από τη χρωματογραφία στήλης (πεντάνιο / αιθέρας 80:20 έως 70:30) του ακάθαρτου μίγματος παραλαμβάνονται 158.7 mg του προϊόντος **10a** ως ελαιώδες υγρό.

¹ H NMR (500 MHz) 25 °C CDCl ₃	δ: 3.77-3.70 (2H, m, -OH), 3.31 (1H, td, <i>J</i> = 25.2 Hz, OH-CH-), 2.94 (1H, d, <i>J</i> = 4.0 Hz, CHaHb-O-), 2.67 (1H, d, <i>J</i> = 4.1 Hz, CHaHb-O-), 2.60 (1H, d, <i>J</i> = 4.6 Hz, CHaHb-O-), 2.55 (1H, d, <i>J</i> = 4.6 Hz, CHaHb-O-), 2.05-1.67 (8H, m, H δακτυλίου), 1.37 (3H, s, CH ₃ -C-), 1.32 (3H, s, CH ₃ -C-), 0.94 (3H, m, CH ₃ -CH-)
¹³ C NMR	δ: 133.02, 130.07, 129.64, 128.10, 71.32, 70.57, 60.26, 59.23, 52.84, 52.32, 51.15, 48.98, 43.49, 42.82, 33.89, 30.92, 27.68, 22.02, 20.74, 16.88

(-)-ισοπουλεγόνη 10b

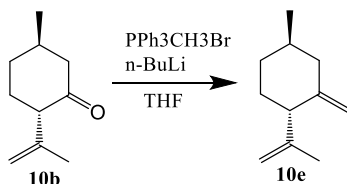
M.T.	M.B.	M.B. (μονοϊσοτοπικό)	TLC	Απόδοση
C ₁₀ H ₁₆ O	152.24	152.12	R _f = 0,94 Hex / AcOEt 7:3	98%

Μέθοδος παρασκευής: Σε διάλυμα (-)-ισοπουλεγόλης (300 mg, 1.94 mmol) σε 6 mL DCM προστίθεται DMP (1.314 mg, 3.1 mmol) στους 0 °C και το μίγμα αναδεύεται για 4 ώρες. Κατόπιν προστίθεται NaHCO₃ (l) (pH ≈ 8-9) και φρέσκο διάλυμα Na₂S₃O₂. Στη συνέχεια το μίγμα αντίδρασης τοποθετείται σε διαχωριστική χοάνη με 50 mL πεντάνιο και 50 mL νερό και οι δύο φάσεις διαχωρίζονται. Η υδατική φάση εκχυλίζεται με πεντάνιο (3 x 50 mL) και οι οργανικές φάσεις ενώνονται και εκπλένονται διαδοχικά με νερό και κορεσμένο υδατικό διάλυμα NH₄Cl (20 mL), ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται. Από τη χρωματογραφία στήλης (πεντάνιο / αιθέρας 95:5) του ακάθαρτου μίγματος παραλαμβάνονται 289.8 mg του προϊόντος **10b** ως ελαιώδες υγρό.

Εποξείδιο της (-)-ισοπουλεγόνης 10c

M.T.	M.B.	M.B. (μονοϊσοτοπικό)	TLC	Απόδοση
C ₁₀ H ₁₆ O ₂	168.24	168.12	R _f = 0,64 Hex / AcOEt 7:3	98%

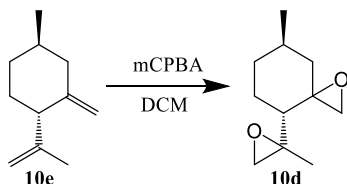
Μέθοδος παρασκευής: Σε διάλυμα του προϊόντος **10a** (100 mg, 0.59 mmol) σε 1.8 mL DCM προστίθεται DMP (525.7 mg, 1.24 mmol) στους 0 °C και το μίγμα αναδεύεται για 4 ώρες. Κατόπιν προστίθεται NaHCO₃ (l) (pH ≈ 8-9) και φρέσκο διάλυμα Na₂S₃O₂. Στη συνέχεια το μίγμα αντίδρασης τοποθετείται σε διαχωριστική χοάνη με 50 mL πεντάνιο και 50 mL νερό και οι δύο φάσεις διαχωρίζονται. Η υδατική φάση εκχυλίζεται με πεντάνιο (3 x 50 mL) και οι οργανικές φάσεις ενώνονται και εκπλένονται διαδοχικά με νερό και κορεσμένο υδατικό διάλυμα NH₄Cl (20 mL), ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται. Από τη χρωματογραφία στήλης (πεντάνιο / αιθέρας 90:10) του ακάθαρτου μίγματος παραλαμβάνονται 97.5 mg του προϊόντος **10c** ως ελαιώδες υγρό.

Διένιο 10e

M.T.	M.B.	M.B. (μονοϊσοτοπικό)	TLC	Απόδοση
$\text{C}_{11}\text{H}_{18}$	150.27	150.14	$R_f = 0,8$ Hex / AcOEt 99:1	50%

Μέθοδος παρασκευής: Σε διάλυμα $\text{PPh}_3\text{CH}_3\text{Br}$ (1.254 mg, 3.51 mmol) σε 2.35 mL THF προστίθεται $n\text{-BuLi}$ (1,6 M) (1.7 mL, 2.73 mmol) στους $0\text{ }^\circ\text{C}$ υπό ατμόσφαιρα αργού και το μίγμα αναδεύεται για 30 λεπτά. Έπειτα προστίθεται διάλυμα του προϊόντος **10b** (289.8 mg, 1.95 mmol) σε 2.35 mL THF και η αντίδραση αφήνεται να αναδεύεται στους $0\text{ }^\circ\text{C}$. Κατόπιν προστίθενται 5 mL υπέρκορου υδατικού διαλύματος NH_4Cl και το μίγμα αναδεύεται για 10 λεπτά. Στη συνέχεια το μίγμα αντίδρασης τοποθετείται σε διαχωριστική χοάνη με 50 mL πεντάνιο και 50 mL νερό και οι δύο φάσεις διαχωρίζονται. Η υδατική φάση εκχυλίζεται με πεντάνιο (3 x 50 mL) και οι οργανικές φάσεις ενώνονται και εκπλένονται διαδοχικά με νερό και κορεσμένο υδατικό διάλυμα NH_4Cl (20 mL), ξηραίνονται με Na_2SO_4 και συμπυκνώνονται. Από τη χρωματογραφία στήλης (πεντάνιο / αιθέρας 98:2) του ακάθαρτου μίγματος παραλαμβάνονται 146.4 mg του προϊόντος **10e** ως ελαιώδες υγρό.

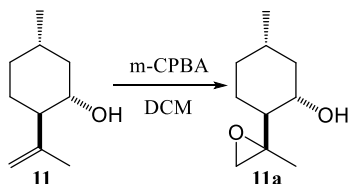
Διεποξειδίο της (-)-ισοπουλεγόλης 10d



M.T.	M.B.	M.B. (μονοϊσοτοπικό)	TLC	Απόδοση
C ₁₁ H ₁₈ O ₂	182.26	182.13	R _f = 0,29 Hex / AcOEt 9:1	14%

Μέθοδος παρασκευής: Σε διάλυμα του παραπάνω αλκενίου **10e** (146.4 mg, 0.97 mmol) σε 1.3 mL DCM προστίθεται σιγά – σιγά m-CPBA (350 mg, 1.33 mmol) σε θερμοκρασία δωματίου και το μίγμα αναδεύεται σε 2 ώρες. Κατόπιν προστίθενται διαδοχικά NaI (s), Na₂SO₃ (s), 1-2 mL νερό και K₂CO₃ (s) (pH ≈ 12), ενώ μετά από κάθε προσθήκη το μίγμα αφήνεται να αναδευτεί καλά. Στη συνέχεια το μίγμα αντίδρασης τοποθετείται σε διαχωριστική χοάνη με 50 mL Et₂O και 50 mL νερό και οι δύο φάσεις διαχωρίζονται. Η υδατική φάση εκχυλίζεται με Et₂O (3 x 50 mL) και οι οργανικές φάσεις ενώνονται και εκπλένονται διαδοχικά με νερό και κορεσμένο υδατικό διάλυμα NH₄Cl (20 mL), ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται. Από τη χρωματογραφία στήλης (πεντάνιο / αιθέρα 99:1) του ακάθαρτου μίγματος παραλαμβάνονται 22.4 mg του προϊόντος **10d** ως ελαιώδες υγρό.

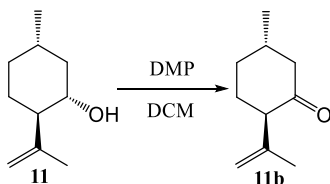
¹ H NMR (500 MHz) 25 °C CDCl ₃	δ: 2.94 (1H, d, -C-CH _a H _b -O-), 2.64 (1H, d, CH _a H _b -O-C-), 2.59 (1H, d, CH _a H _b -O-C-), 2.56 (1H, d, -C-CH _a H _b -O-), 2.02-1.73 (6H, m, H δακτυλίου), 1.46 (3H, s, CH ₃ -C-), 1.92 (2H, m, -CH-CH ₂ -CH ₂ -), 1.21 (3H, s, CH ₃ -C-), 0.93 (3H, d, J = 6.5 Hz, CH ₃ -CH-)
--	---

Διεποξείδιο της (+)-ισοπουλεγόλης 11a

M.T.	M.B.	M.B. (μονοϊσοτοπικό)	TLC	Απόδοση
C ₁₀ H ₁₈ O ₂	170.25	170.13	R _f = 0,60 Hex / AcOEt 7:3	54%

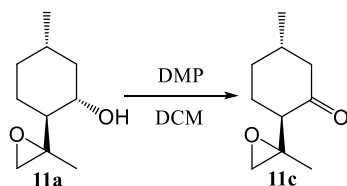
Μέθοδος παρασκευής: Σε διάλυμα (+)-ισοπουλεγόλης (0.22 mL, 1.3 mmol) σε 1.5 mL DCM προστίθεται σιγά – σιγά m-CPBA (450 mg, 1.56 mmol) σε θερμοκρασία δωματίου και το μίγμα αναδεύεται για 20 λεπτά. Κατόπιν προστίθενται διαδοχικά NaI (s), Na₂SO₃ (s), 1-2 mL νερό και K₂CO₃ (s) (pH ≈ 12), ενώ μετά από κάθε προσθήκη το μίγμα αφήνεται να αναδευτεί καλά. Στη συνέχεια το μίγμα αντίδρασης τοποθετείται σε διαχωριστική χοάνη με 50 mL Et₂O και 50 mL νερό και οι δύο φάσεις διαχωρίζονται. Η υδατική φάση εκχυλίζεται με Et₂O (3 x 50 mL) και οι οργανικές φάσεις ενώνονται και εκπλένονται διαδοχικά με νερό και κορεσμένο υδατικό διάλυμα NH₄Cl (20 mL), ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται. Από τη χρωματογραφία στήλης (πεντάνιο / αιθέρας 90:10 έως 70:30) του ακάθαρτου μίγματος παραλαμβάνονται 119.5 mg του προϊόντος **11a** ως ελαιώδες υγρό.

¹ H NMR (500 MHz) 25 °C CDCl ₃	δ: 3.75-3.70 (2H, m, -OH), 3.31 (1H, td, J = 25.1 Hz, OH-CH-), 2.94 (1H, d, J = 3.7 Hz, CHaHb-O-), 2.68 (1H, d, J = 4.0 Hz, CHaHb-O-), 2.61 (1H, d, J = 4.6 Hz, CHaHb-O-), 2.56 (1H, d, J = 4.5 Hz, CHaHb-O-), 2.05-1.68 (8H, m, Η δακτυλίου), 1.38 (3H, s, CH ₃ -C-), 1.33 (3H, s, CH ₃ -C-), 0.94 (3H, m, CH ₃ -CH-)
--	---

(+)-ισοπουλεγόνη 11b

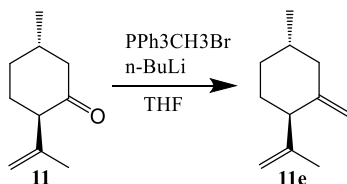
M.T.	M.B.	M.B. (μονοϊσοτοπικό)	TLC	Απόδοση
C ₁₀ H ₁₆ O	152.24	152.12	R _f = 0,94 Hex / AcOEt 7:3	78%

Μέθοδος παρασκευής: Σε διάλυμα (+)-ισοπουλεγόλης (300 mg, 1.94 mmol) σε 6 mL DCM προστίθεται DMP (1.314 mg, 3.1 mmol) στους 0 °C και το μίγμα αναδεύεται για 4 ώρες. Κατόπιν προστίθεται NaHCO₃ (l) (pH ≈ 8-9) και φρέσκο διάλυμα Na₂S₃O₂. Στη συνέχεια το μίγμα αντίδρασης τοποθετείται σε διαχωριστική χοάνη με 50 mL πεντάνιο και 50 mL νερό και οι δύο φάσεις διαχωρίζονται. Η υδατική φάση εκχυλίζεται με πεντάνιο (3 x 50 mL) και οι οργανικές φάσεις ενώνονται και εκπλένονται διαδοχικά με νερό και κορεσμένο υδατικό διάλυμα NH₄Cl (20 mL), ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται. Από τη χρωματογραφία στήλης (πεντάνιο / αιθέρας 95:5) του ακάθαρτου μίγματος παραλαμβάνονται 230 mg του προϊόντος **11b** ως ελαιώδες υγρό.

Εποξείδιο της (+)-ισοπουλεγόνης 11c

M.T.	M.B.	M.B. (μονοϊσοτοπικό)	TLC	Απόδοση
C ₁₀ H ₁₆ O ₂	168.24	168.12	R _f = 0,64 Hex / AcOEt 7:3	87%

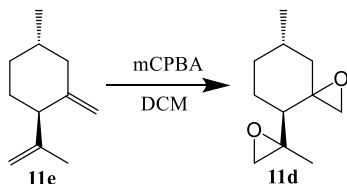
Μέθοδος παρασκευής: Σε διάλυμα του προϊόντος **11a** (100 mg, 0.59 mmol) σε 1.8 mL DCM προστίθεται DMP (525.7 mg, 1.24 mmol) στους 0 °C και το μίγμα αναδεύεται για 4 ώρες. Κατόπιν προστίθεται NaHCO₃ (l) (pH ≈ 8-9) και φρέσκο διάλυμα Na₂S₃O₂. Στη συνέχεια το μίγμα αντίδρασης τοποθετείται σε διαχωριστική χοάνη με 50 mL πεντάνιο και 50 mL νερό και οι δύο φάσεις διαχωρίζονται. Η υδατική φάση εκχυλίζεται με πεντάνιο (3 x 50 mL) και οι οργανικές φάσεις ενώνονται και εκπλένονται διαδοχικά με νερό και κορεσμένο υδατικό διάλυμα NH₄Cl (20 mL), ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται. Από τη χρωματογραφία στήλης (πεντάνιο / αιθέρας 90:10) του ακάθαρτου μίγματος παραλαμβάνονται 86.6 mg του προϊόντος **11c** ως ελαιώδες υγρό.

Διένιο 11e

M.T.	M.B.	M.B. (μονοϊσοτοπικό)	TLC	Απόδοση
$\text{C}_{11}\text{H}_{18}$	150.27	150.14	$R_f = 0,8$ Hex / AcOEt 99:1	33%

Μέθοδος παρασκευής: Σε διάλυμα $\text{PPh}_3\text{CH}_3\text{Br}$ (964.5 mg, 2.7 mmol) σε 1.8 mL THF προστίθεται $n\text{-BuLi}$ (1,6 M) (1.31 mL, 2.1 mmol) στους 0 °C υπό ατμόσφαιρα αργού και το μίγμα αναδεύεται για 30 λεπτά. Έπειτα προστίθεται διάλυμα του προϊόντος **11b** (230 mg, 1.5 mmol) σε 1.8 mL THF και το μίγμα αναδεύεται στους 0 °C. Κατόπιν, προστίθενται 5 mL υπέρκορου υδατικού διαλύματος NH_4Cl και το μίγμα αναδεύεται για 10 λεπτά. Στη συνέχεια το μίγμα αντίδρασης τοποθετείται σε διαχωριστική χοάνη με 50 mL πεντάνιο και 50 mL νερό και οι δύο φάσεις διαχωρίζονται. Η υδατική φάση εκχυλίζεται με πεντάνιο (3 x 50 mL) και οι οργανικές φάσεις ενώνονται και εκπλένονται διαδοχικά με νερό και κορεσμένο υδατικό διάλυμα NH_4Cl (20 mL), ξηραίνονται με Na_2SO_4 και συμπυκνώνονται. Από τη χρωματογραφία στήλης (πεντάνιο / αιθέρας 98:2) του ακάθαρτου μίγματος παραλαμβάνονται 96.2 mg του προϊόντος **11e** ως ελαιώδες υγρό.

Διεποξειδίο της (+)-ισοπουλεγόλης 11d



M.T.	M.B.	M.B. (μονοϊσοτοπικό)	TLC	Απόδοση
C ₁₁ H ₁₈ O ₂	182.26	182.13	R _f = 0,29 Hex / AcOEt 9:1	14%

Μέθοδος παρασκευής: Σε διάλυμα του παραπάνω αλκενίου **11e** (96.2 mg, 0.63 mmol) σε 0.85 mL DCM προστίθεται σιγά – σιγά m-CPBA (230 mg, 1.33 mmol) σε θερμοκρασία δωματίου και το μίγμα αναδεύεται για 2 ώρες. Κατόπιν προστίθενται διαδοχικά NaI (s), Na₂SO₃ (s), 1-2 mL νερό και K₂CO₃ (s) (pH ≈ 12), ενώ μετά από κάθε προσθήκη το μίγμα αφήνεται να αναδευτεί καλά. Στη συνέχεια το μίγμα αντίδρασης τοποθετείται σε διαχωριστική χοάνη με 50 mL Et₂O και 50 mL νερό και οι δύο φάσεις διαχωρίζονται. Η υδατική φάση εκχυλίζεται με Et₂O (3 x 50 mL) και οι οργανικές φάσεις ενώνονται και εκπλένονται διαδοχικά με νερό και κορεσμένο υδατικό διάλυμα NH₄Cl (20 mL), ξηραίνονται με Na₂SO₄ και συμπυκνώνονται. Από τη χρωματογραφία στήλης (πεντάνιο / αιθέρα 99:1) του ακάθαρτου μίγματος παραλαμβάνονται 16.1 mg του προϊόντος **11d** ως ελαιώδες υγρό.

¹ H NMR (500 MHz) 25 °C CDCl ₃	δ: 2.94 (1H, d, J = 4.4 Hz, -C-CHaHb-O-), 2.64 (1H, d, J = 4.9, CHaHb-O-C-), 2.59 (1H, d, J = 4.9 Hz, CHaHb-O-C-), 2.56 (1H, d, J = 4.4 Hz, -C-CHaHb-O-), 2.02-1.73 (6H, m, H δακτυλίου), 1.46 (3H, s, CH ₃ -C-), 1.92 (2H, m, -CH-CH ₂ -CH ₂ -), 1.21 (3H, s, CH ₃ -C-), 0.93 (3H, d, J = 6.5 Hz, CH ₃ -CH-)
--	--

6.3 Βιοδοκιμές

Οι βιοδοκιμές πραγματοποιήθηκαν σε έντομα *S. Oryzae* τα οποία εκτρέφονταν μέσα σε δοχεία με καλαμπόκι. Για την παραλαβή των εντόμων το καλαμπόκι απορρίπτονταν σε ένα κόσκινο, το οποίο το συγκρατούσε και επέτρεπε στα έντομα να το διαπεράσουν και να συγκεντρωθούν σε μία λεκάνη από κάτω.



Εικόνα 4: Οι εκτροφές των *S. Oryzae*.

Στη συνέχεια, τα έντομα συλλέγονταν και προσθέτονταν ανά εικοσάδες σε γυάλινα βάζα ίδιου μεγέθους, με μεταλλικό καπάκι. Αφού είχαν τοποθετηθεί τα έντομα στο γυάλινο βάζο, στο καπάκι στερεώνονταν με τη βοήθεια ενός αλουμινοχαρτού μία καρφίτσα από την οποία κρεμόταν ένα μικρό κομμάτι διηθητικό χαρτί. Σε αυτό το χαρτί εναποτίθετο η ουσία διαλυμένη με τον κατάλληλο διαλύτη.

Οι ενώσεις προς δοκιμή διαλύονταν σε ακετόνη ώστε να προκύψει διάλυμα 10% w/v, δηλαδή για κάθε 50 mg ουσίας χρειαζόταν να προστεθούν 500 μ L διαλύτη. Τα παράγωγα **5a**, **5b** και **5d** της (+)-διϋδροκαρβόνης δε διαλύθηκαν επαρκώς στην ακετόνη και έτσι χρησιμοποιήθηκε εξάνιο. Επίσης, οι ενώσεις **7b** και **9a** διαλύθηκαν σε αιθέρα. Τέλος, οι ενώσεις **7b**, **10d**, **11d**, **11b** χρειάστηκαν διπλάσια ποσότητα διαλύτη και η **9a** τριπλάσια, έτσι ώστε να διαλυθεί η ουσία επαρκώς. Σε αυτές τις περιπτώσεις στο διηθητικό χαρτί εναποτίθετο τα διπλάσια ή τριπλάσια μ L αντιστοίχως. Όλες αυτές οι μετατροπές λήφθηκαν υπόψη κατά τον υπολογισμό των LC_{50} .



Εικόνα 5: το κλειστό σύστημα με την ουσία και τα έντομα μέσα στα βάζα.

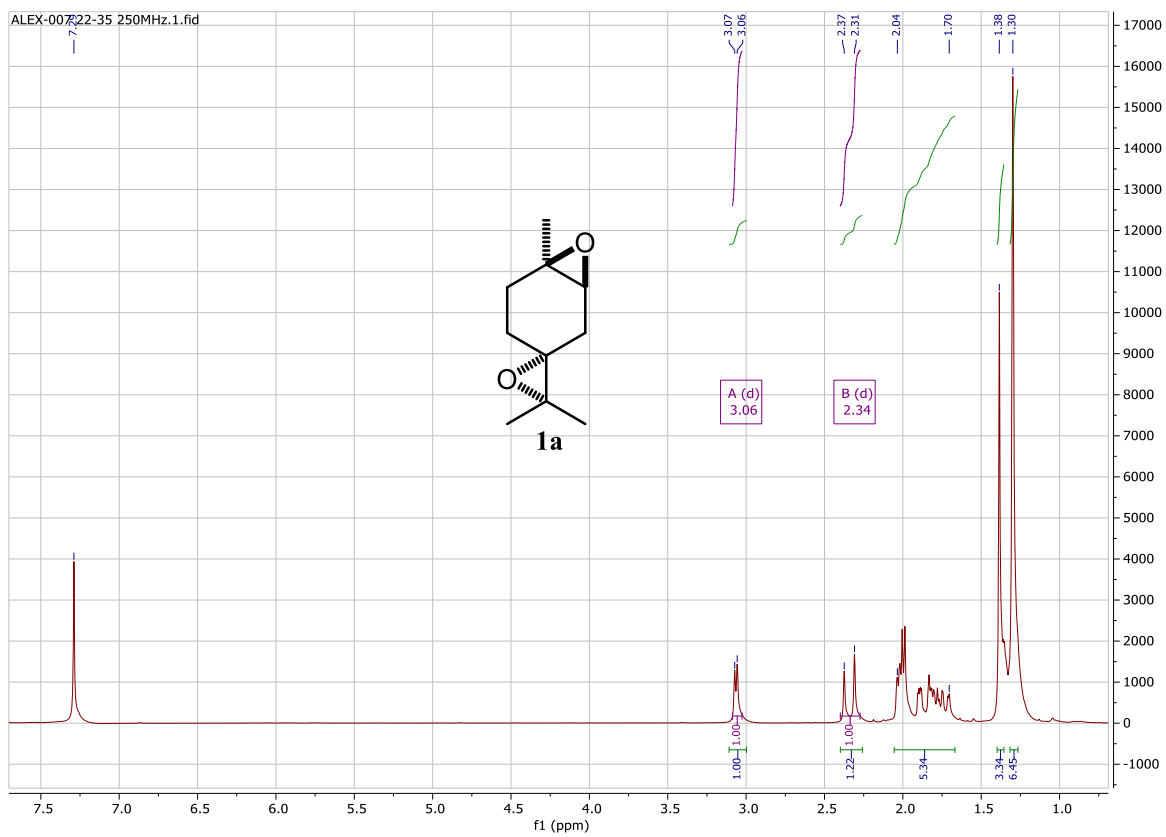
Μετά την προσθήκη της ουσίας, και αφού περνούσε ο απαραίτητος χρόνος για να εξατμιστεί ο διαλύτης, τα βάζα έκλειναν καλά για 24 ώρες, ώστε να δημιουργηθεί ένα κλειστό σύστημα. Μετά από μία ημέρα τα έντομα τοποθετούνταν σε μικρότερα πλαστικά δοχεία τα οποία στο καπάκι τους είχαν τρύπες για να αναπνέουν. Σε αυτό το στάδιο τους δίνονταν η ευκαιρία για τυχόν ανάνηψη και μετά από άλλες 24 ώρες πραγματοποιούνταν η τελική καταμέτρηση των νεκρών ατόμων.



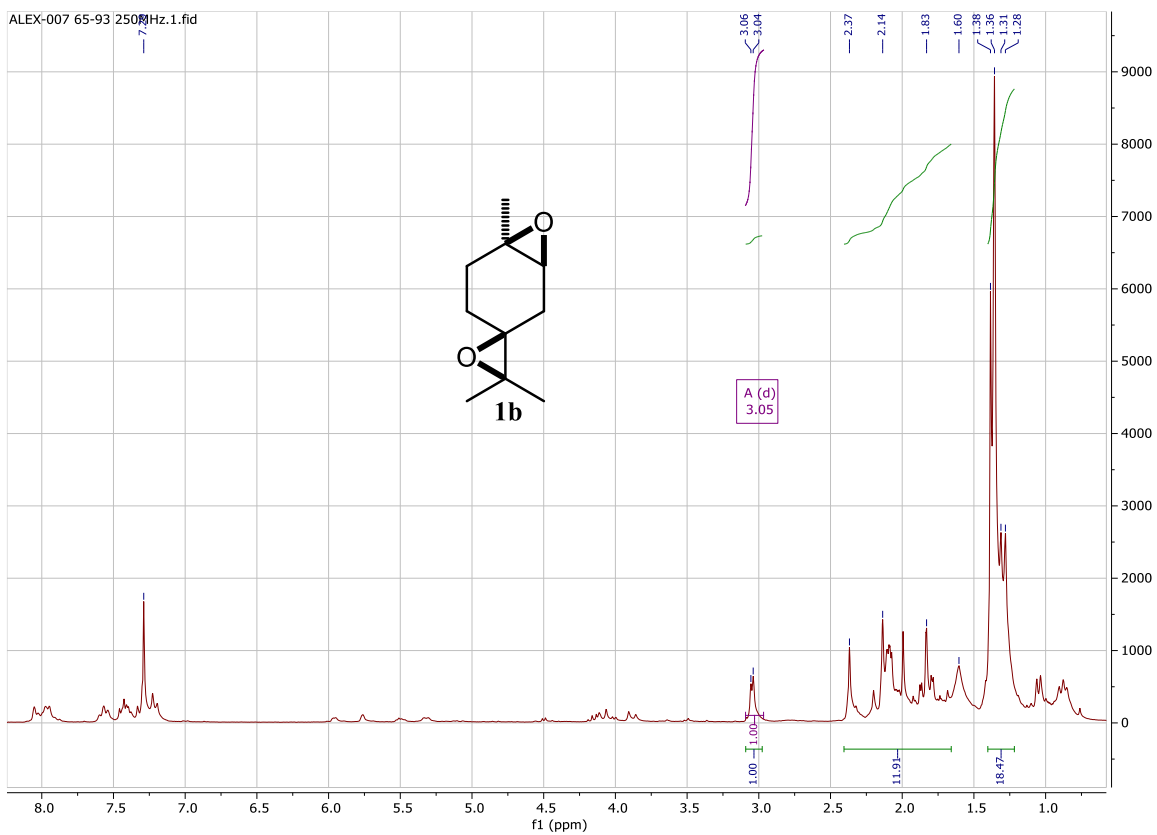
Εικόνα 6: Στα πλαστικά δοχεία όπου μπορεί να ανανήψουν μερικά έντομα.

7. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ NMR

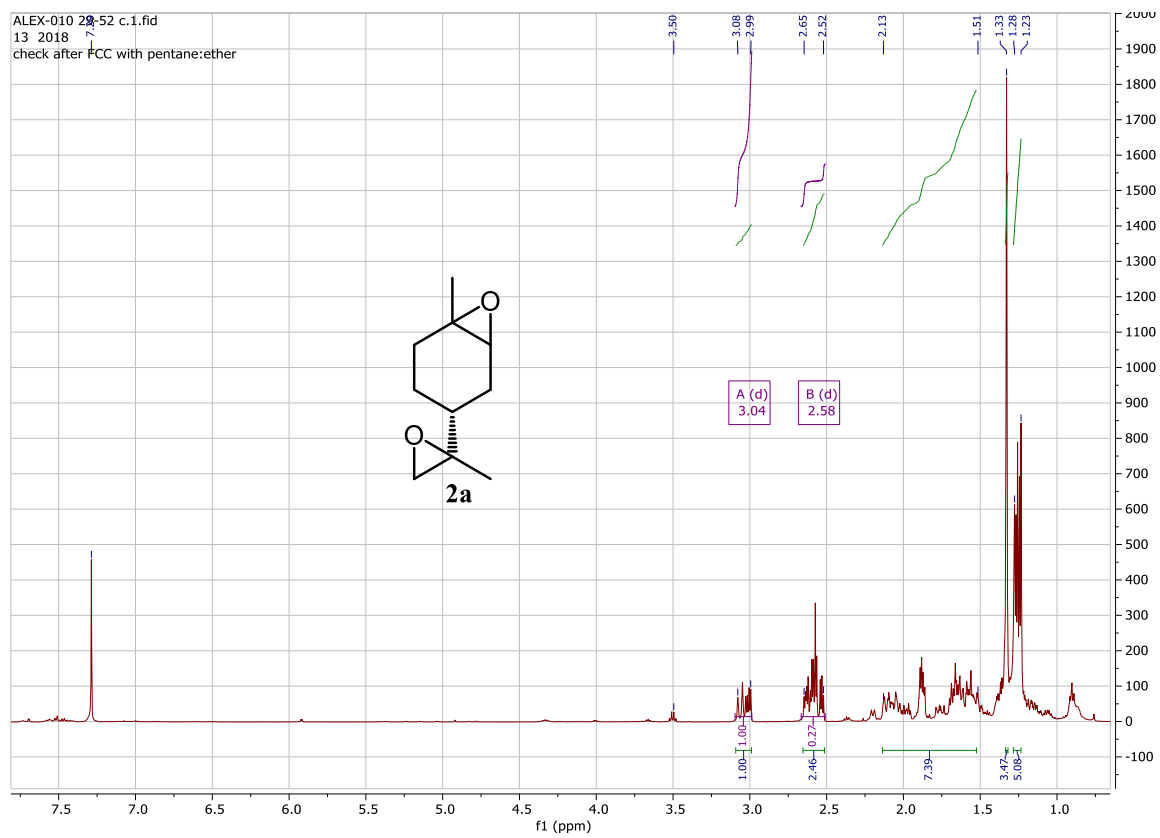
$^1\text{H-NMR}$ του διεποξειδίου του τερπινολενίου **1a**:



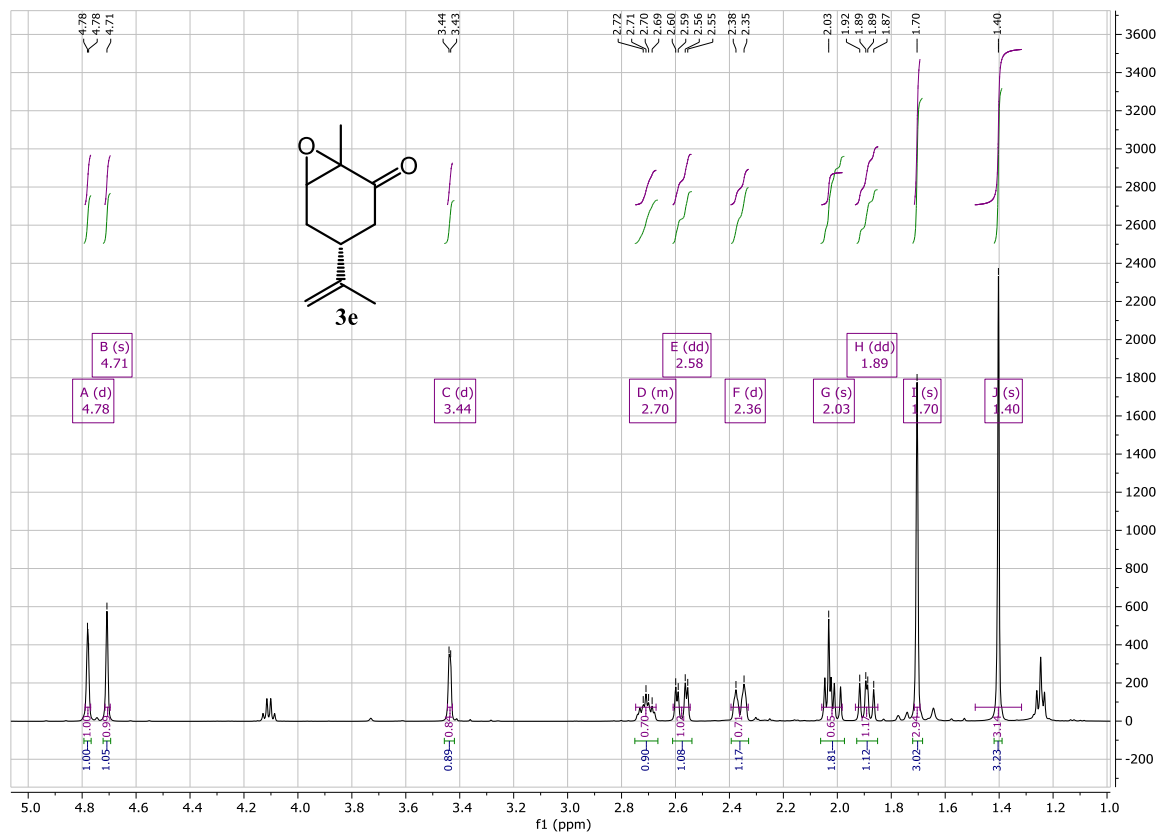
¹H-NMR του διεποξειδίου του τερπινολενίου **1b**:



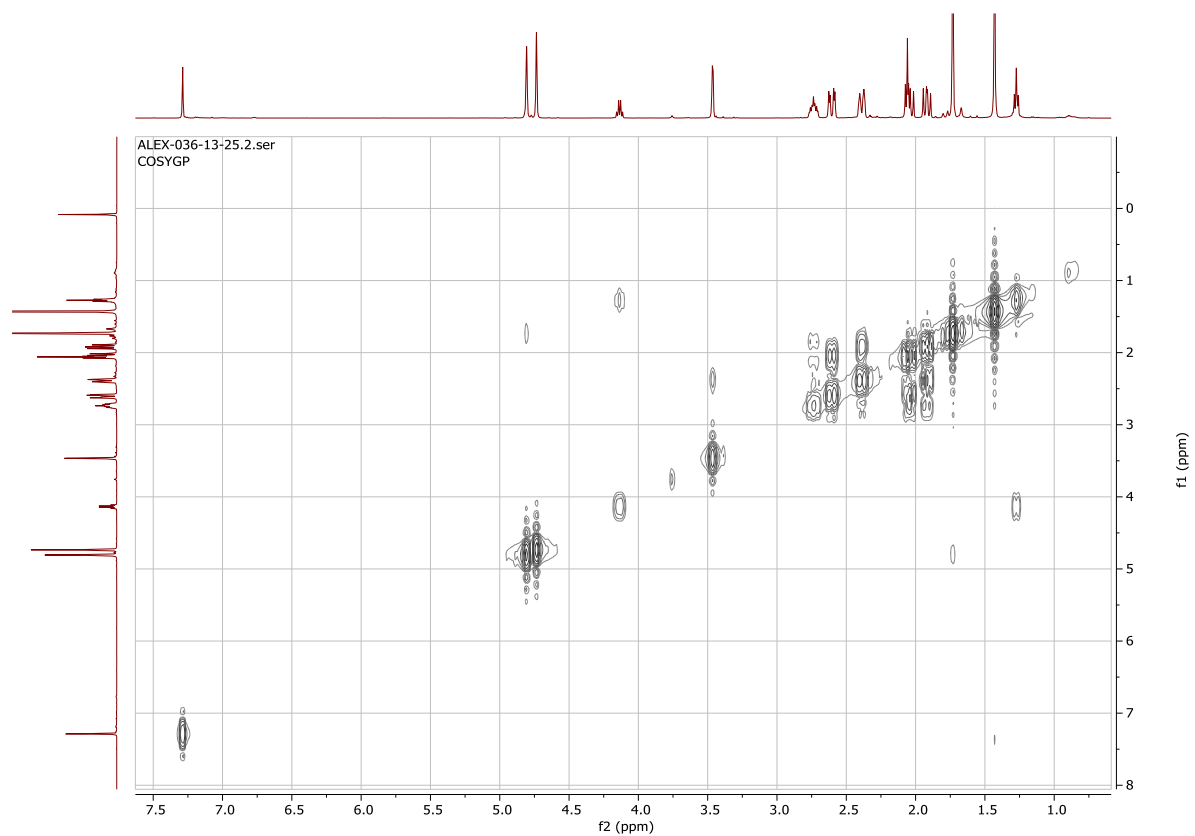
¹H-NMR του διεποξειδίου του λιμονενίου **2a**:



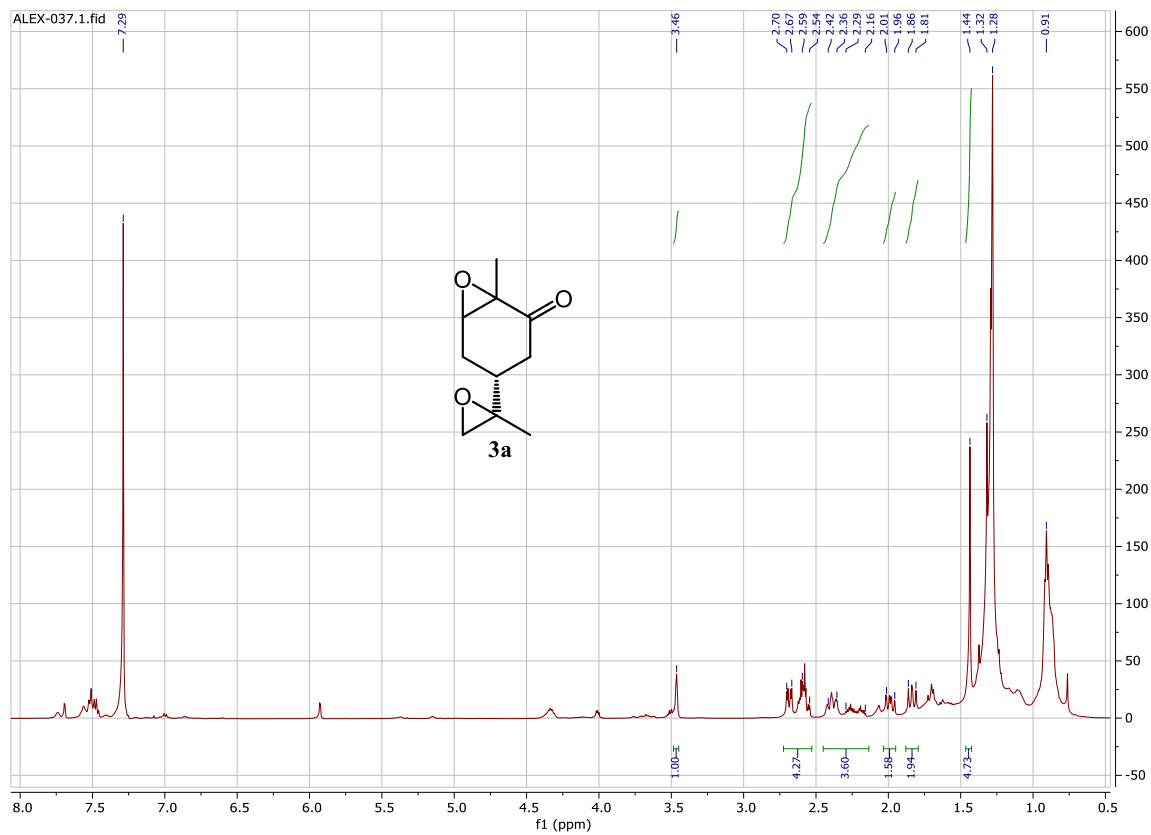
¹H-NMR του μονοεποξειδίου της R-(-)-καρβόνης **3e**:



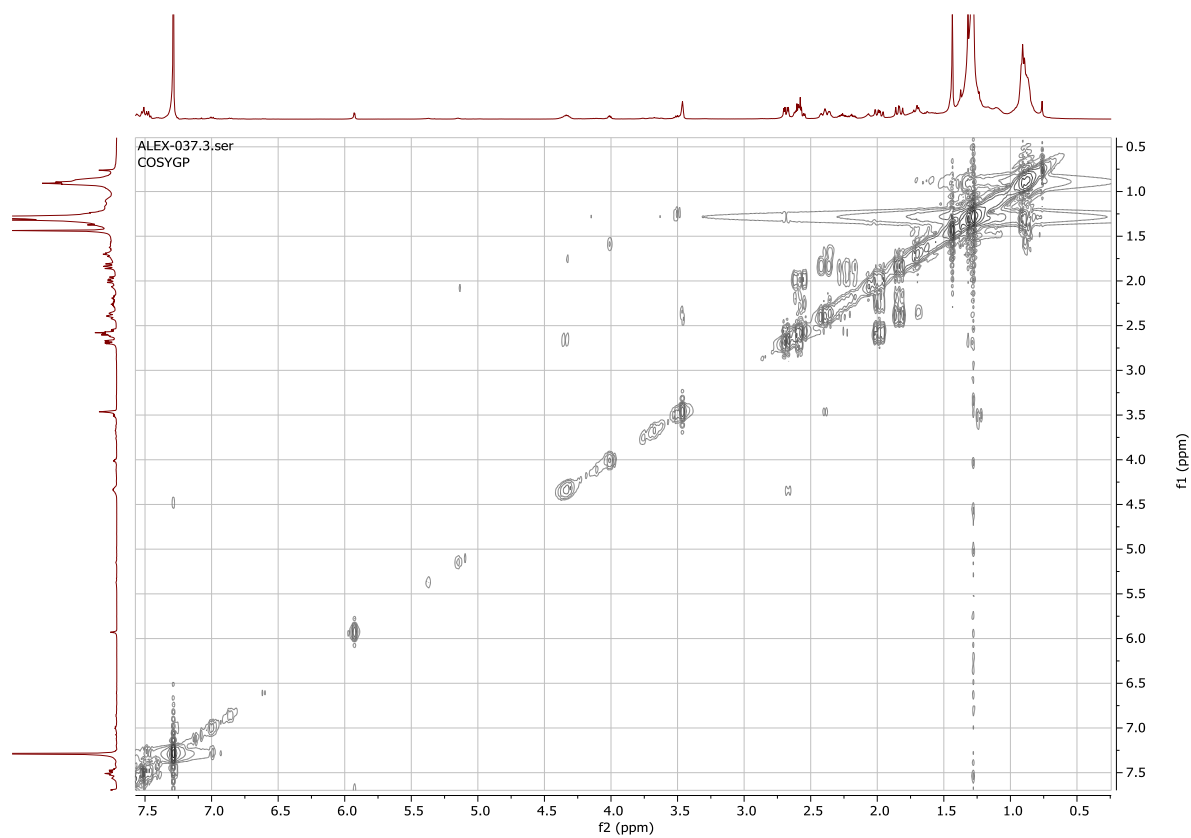
Cosy-NMR του μονοεποξειδίου της R-(-)-καρβόνης **3e**:



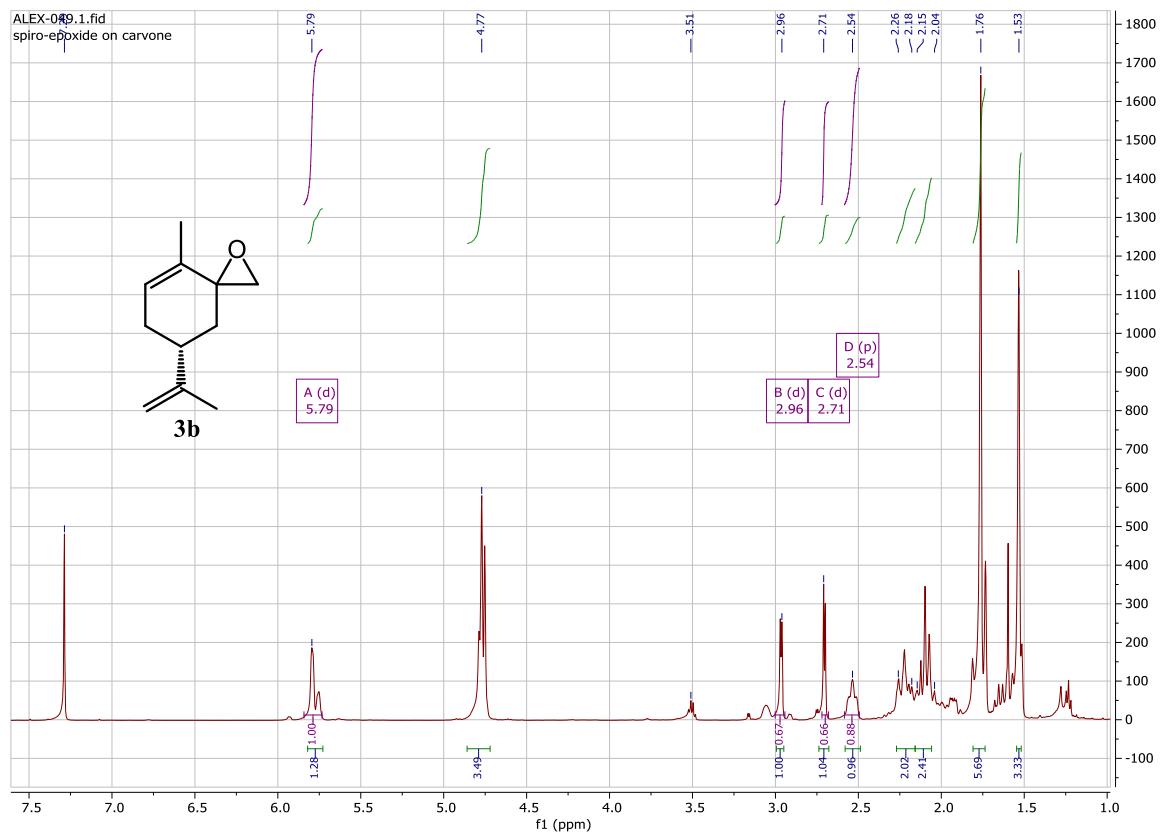
¹H-NMR του διεποξειδίου της R-(-)-καρβόνης **3a**:



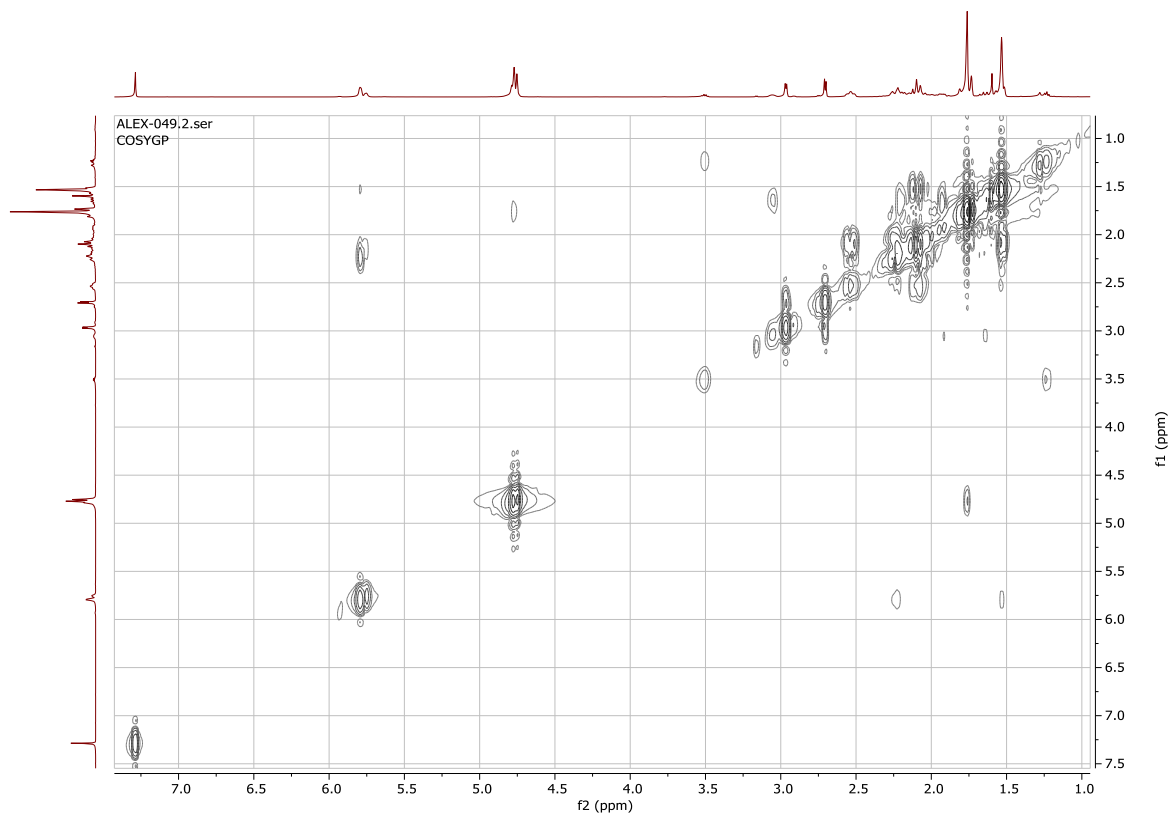
Cosy-NMR του διεποξειδίου της R-(-)-καρβόνης **3a**:



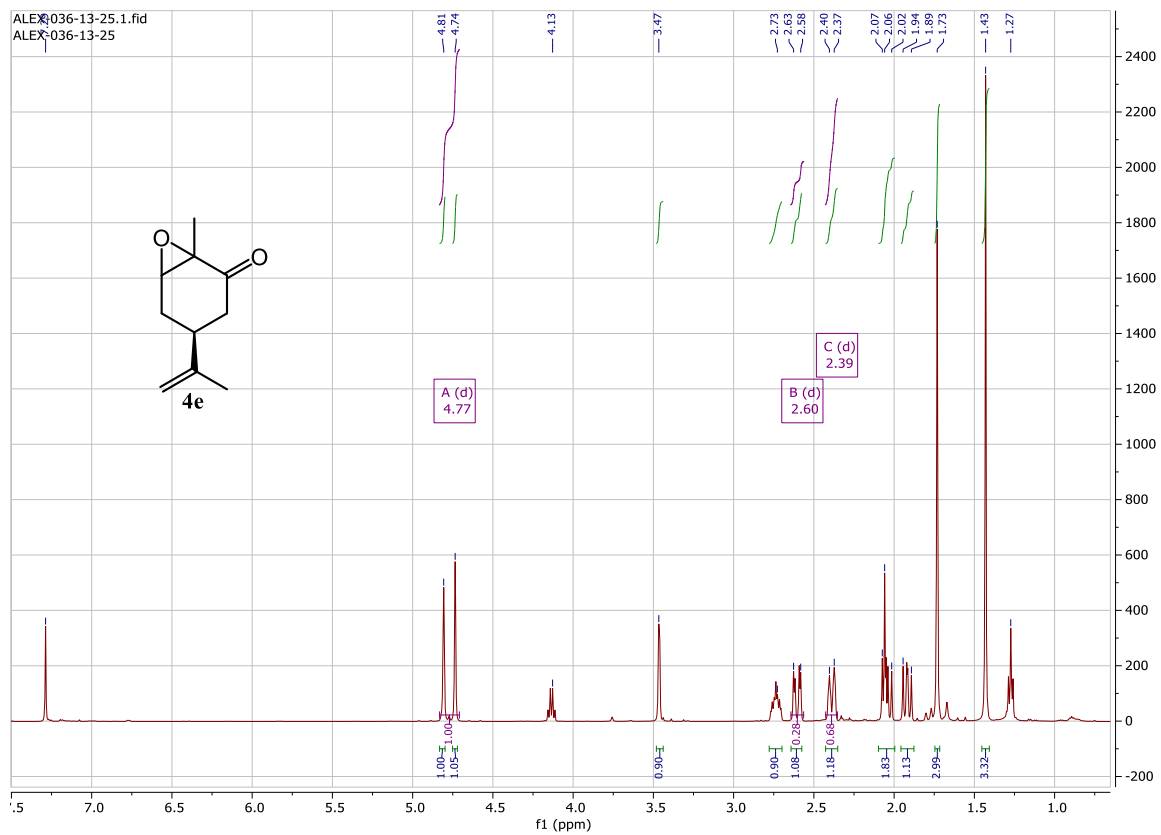
¹H-NMR του σπιο εποξειδίου της R-(-)-καρβόνης **3b**:



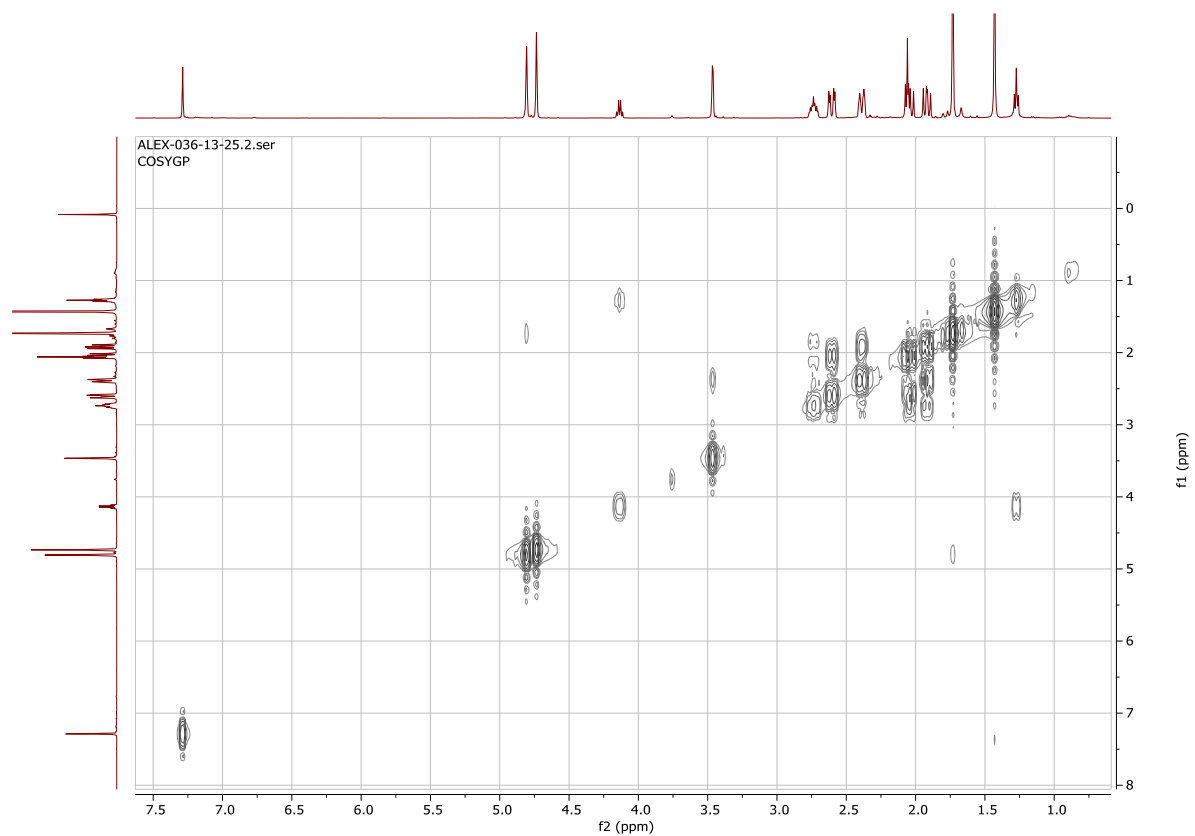
Cosy-NMR του εποξειδίου της R-(-)-καρβόνης **3b**:



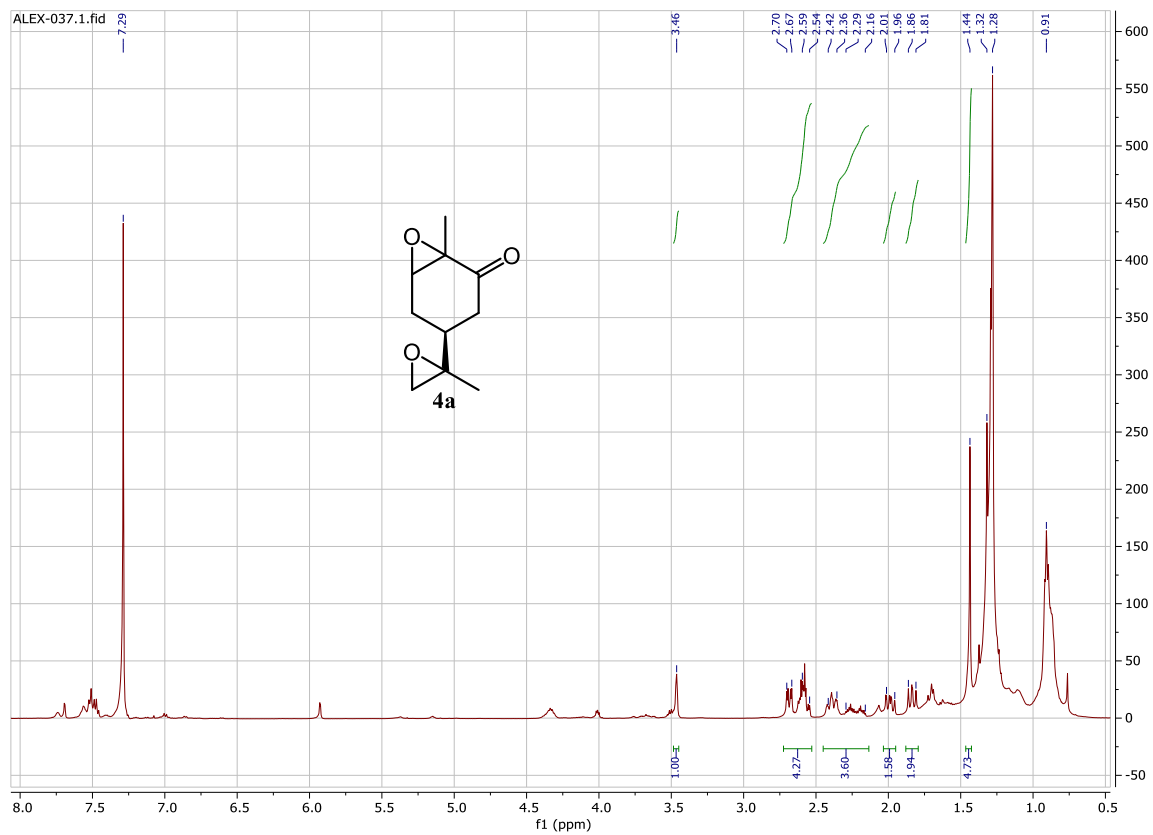
¹H-NMR του μονοεποξειδίου της S-(+)-καρβόνης **4e**:



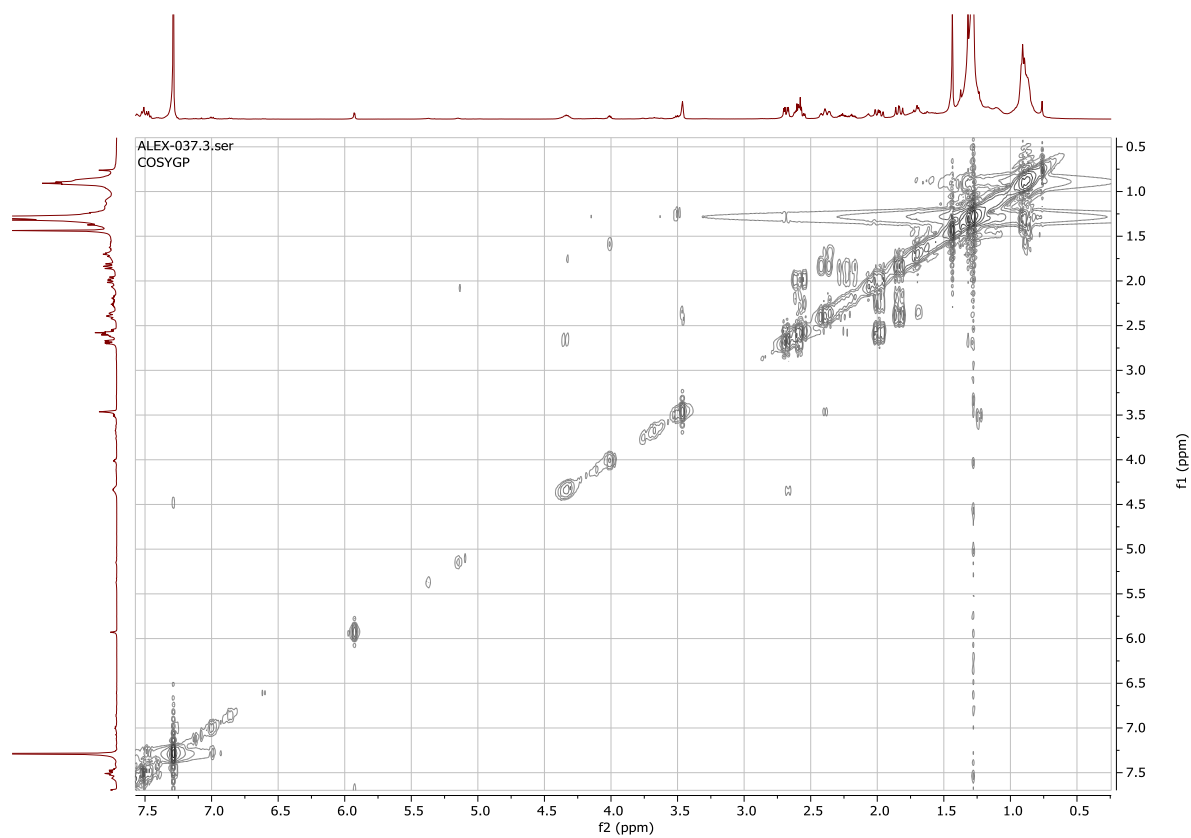
Cosy-NMR του μονοεποξειδίου της S-(+)-καρβόνης 4e:



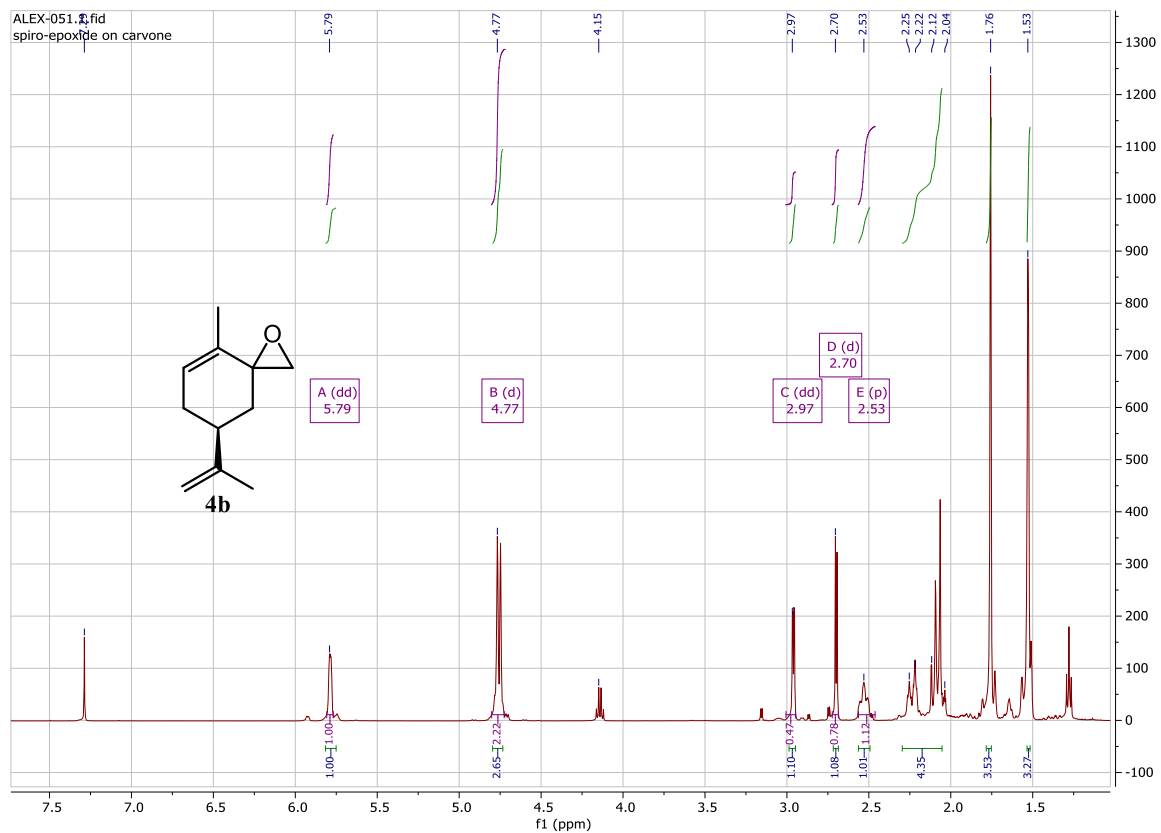
¹H-NMR του διεποξειδίου της S-(+)-καρβόνης **4a**:



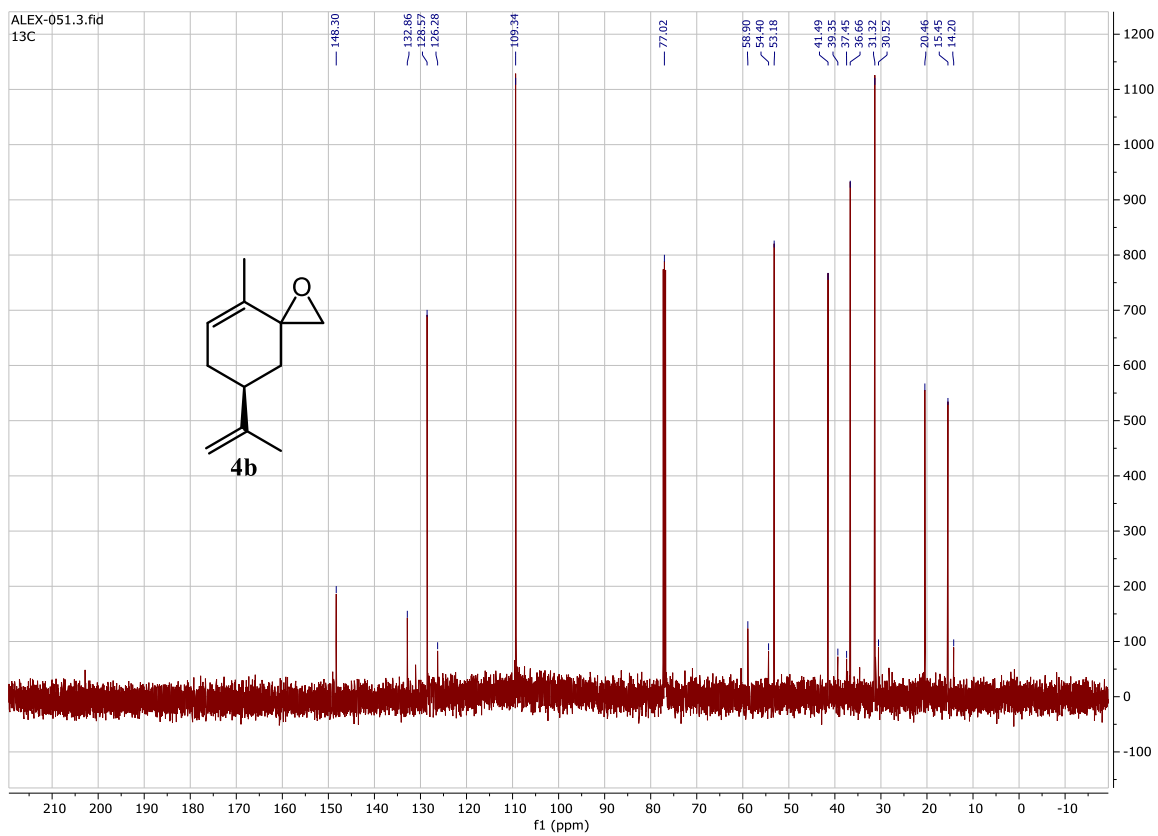
Cosy-NMR του διεποξειδίου της S-(+)-καρβόνης 4a:



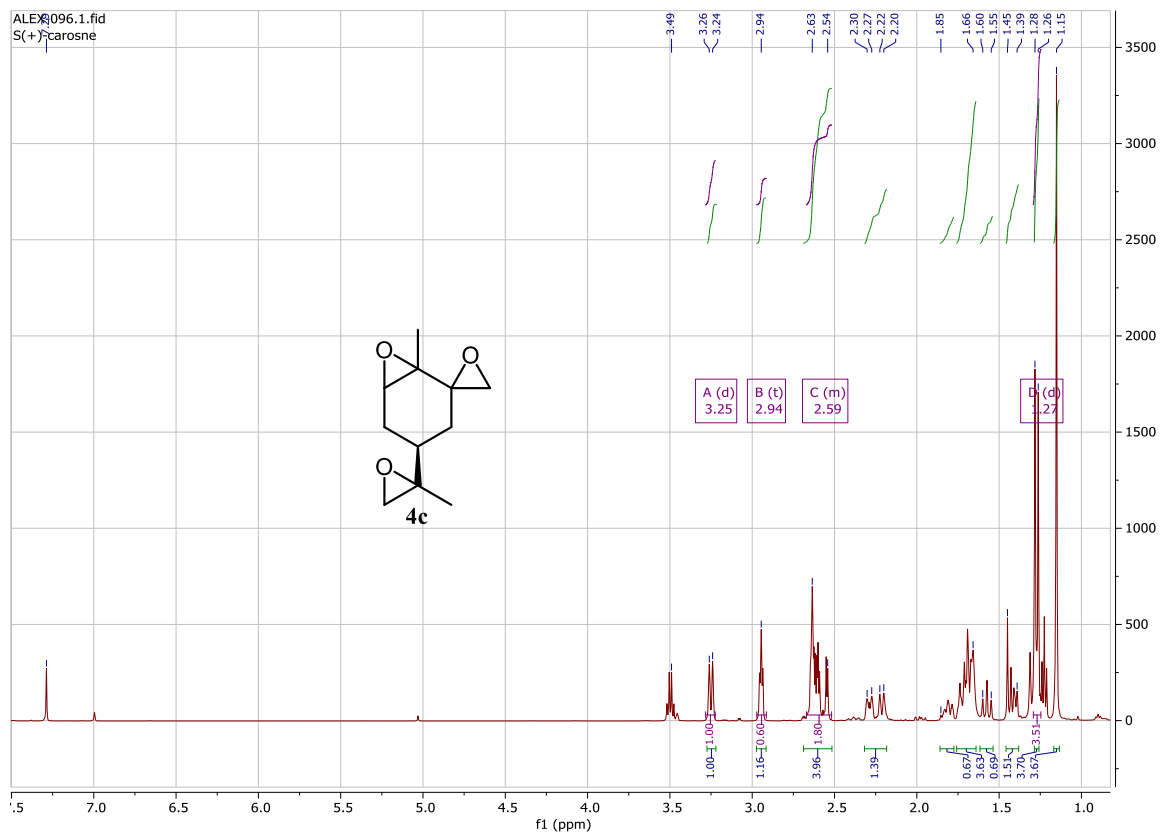
¹H-NMR του Spiro εποξειδίου της S-(+)-καρβόνης **4b**:



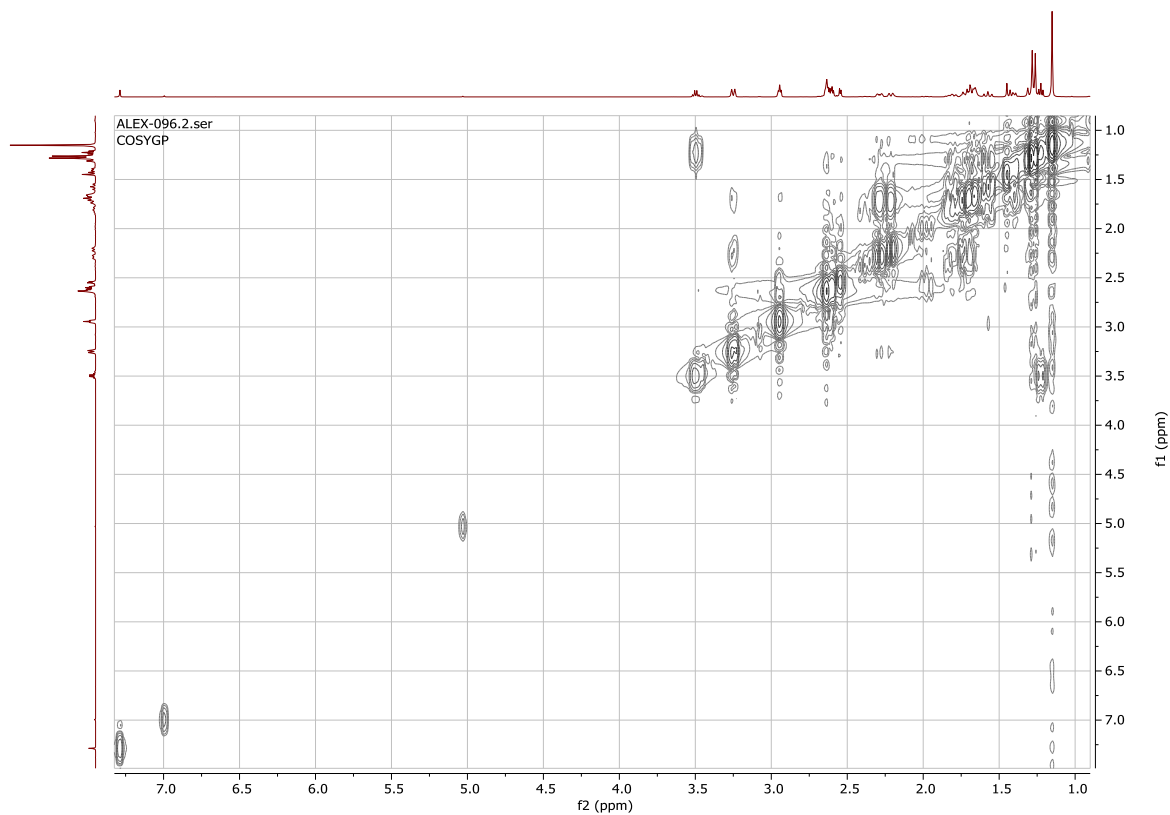
^{13}C -NMR του Spiro εποξειδίου της S-(+)-καρβόνης **4b**:



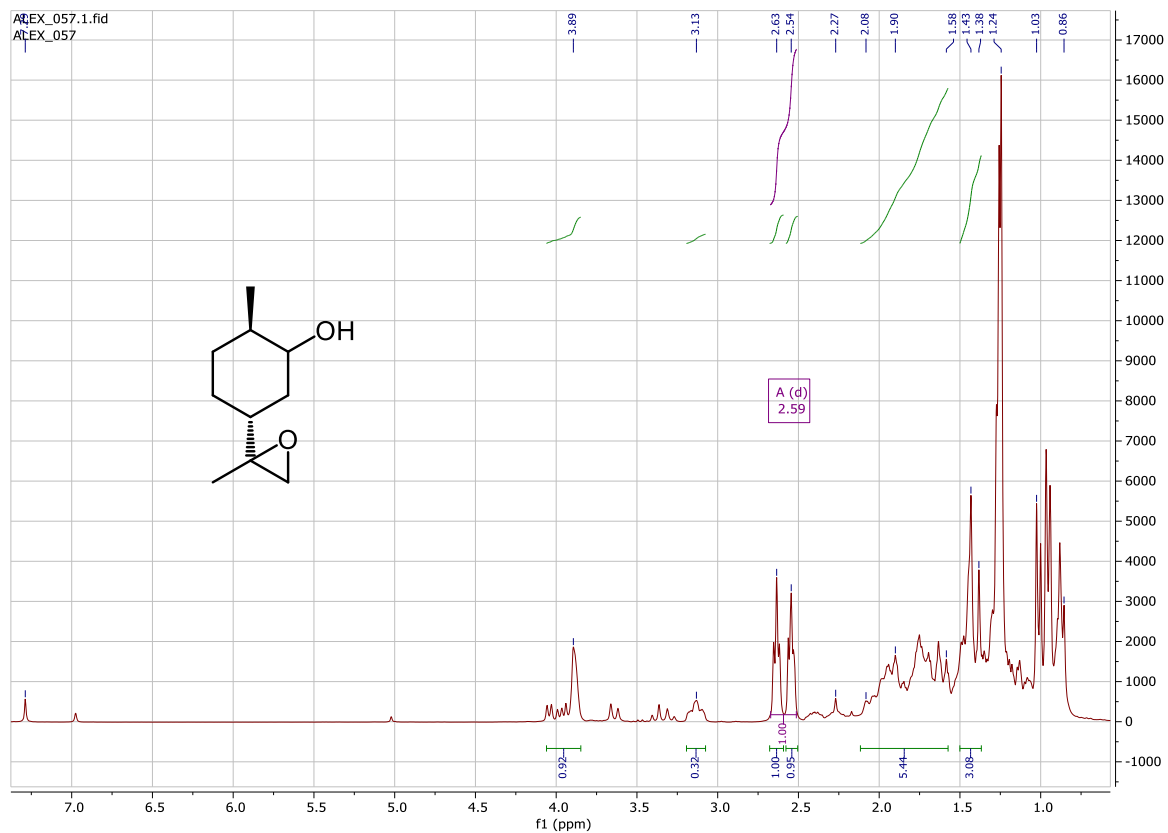
¹H-NMR του τριεποξειδίου της S-(+)-καρβόνης 4c:



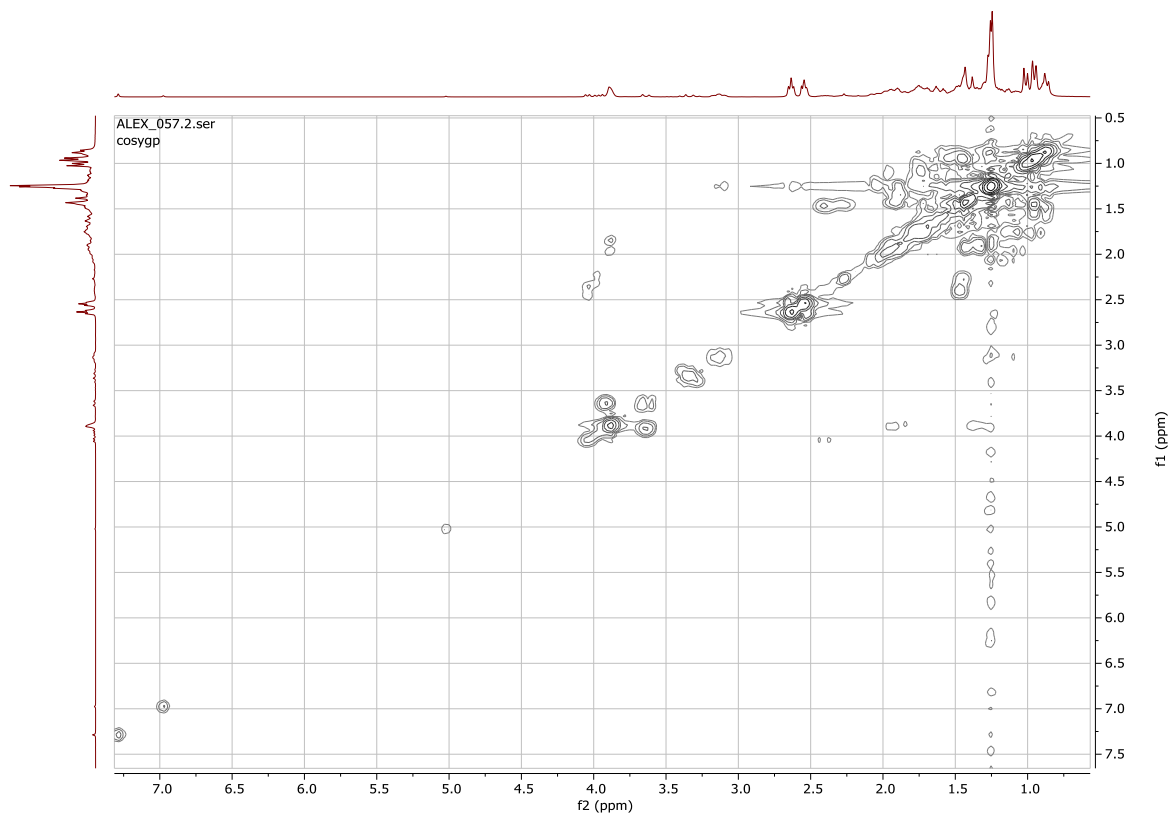
Cosy-NMR του τριεποξειδίου της S-(+)-καρβόνης 4c:



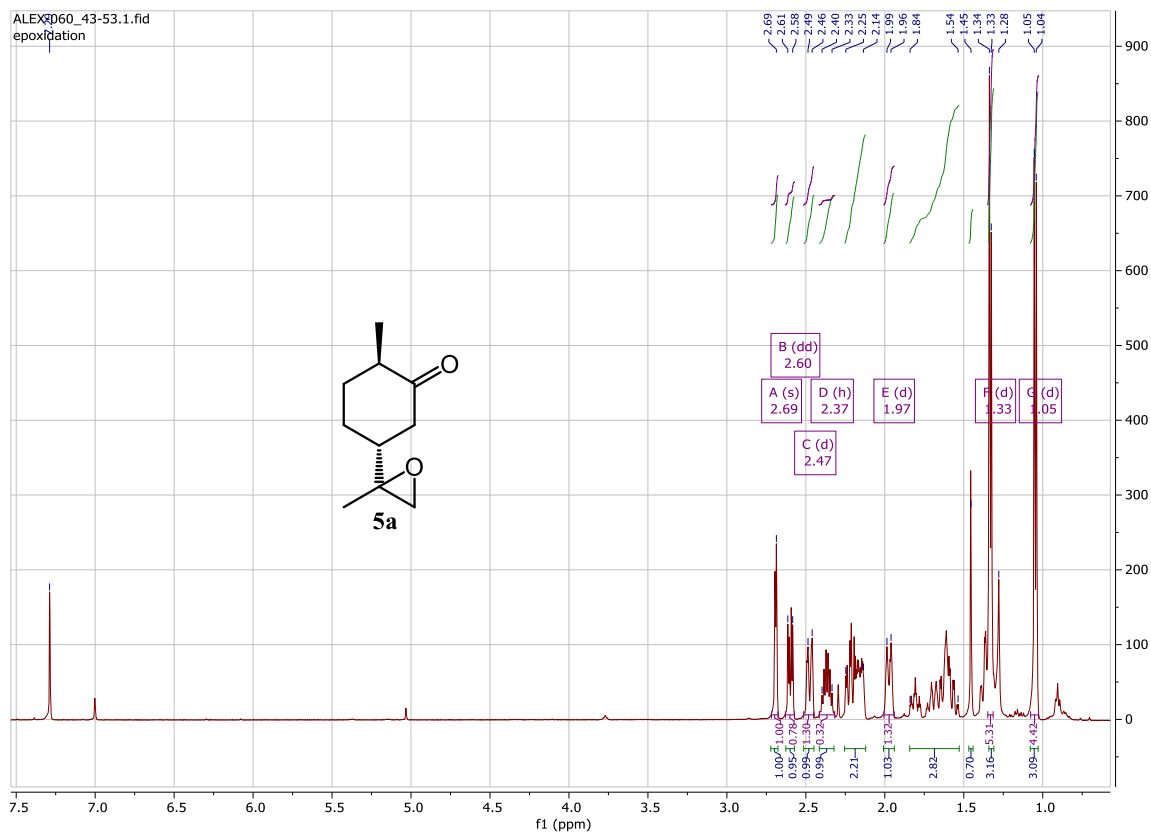
¹H-NMR του εποξειδίου της (+)-διϋδροκαρβόνης **5d**:



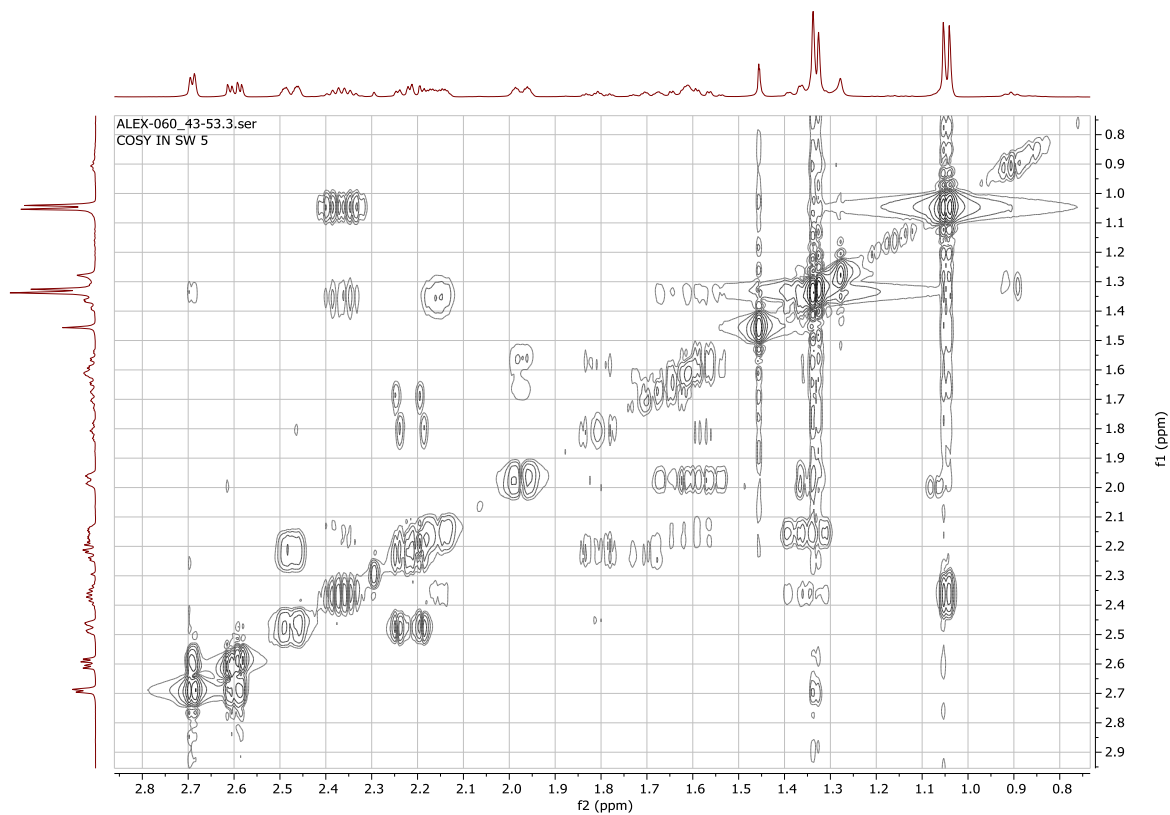
Cosy-NMR του εποξειδίου της (+)-διϋδροκαρβόνης **5d**:



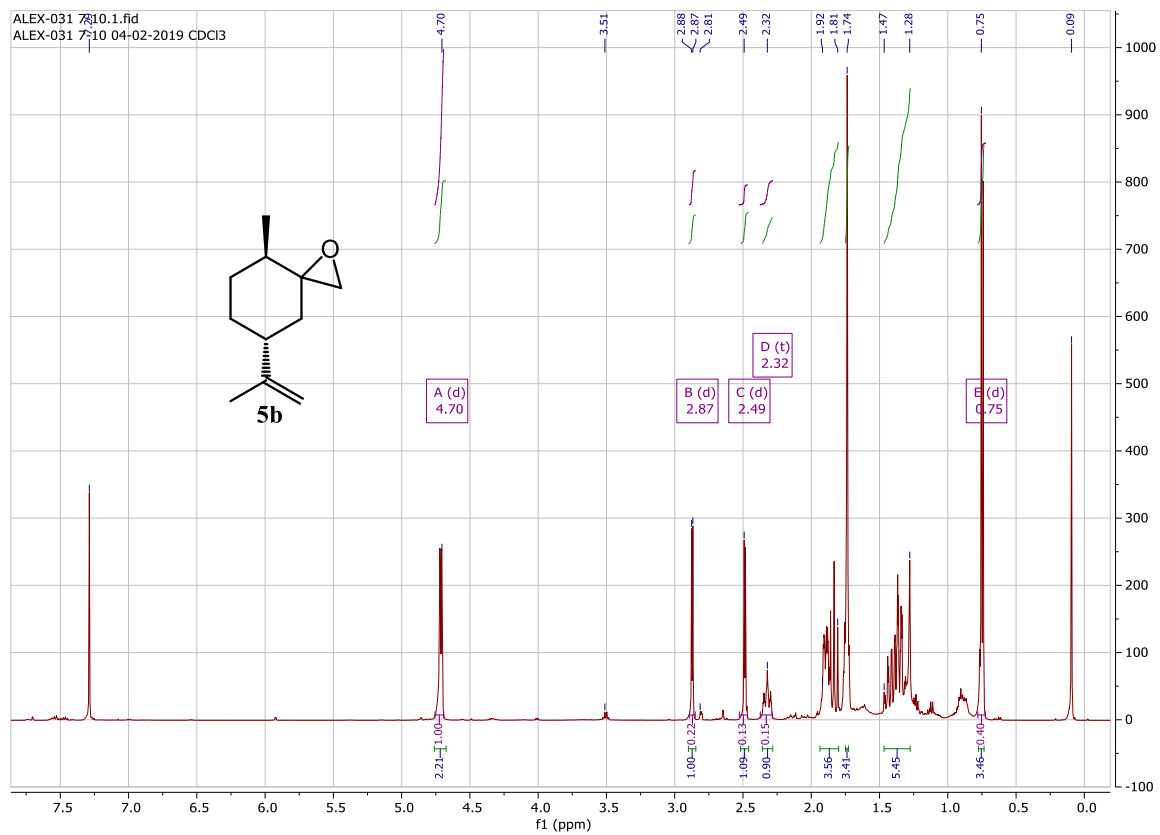
¹H-NMR του εποξειδίου της (+)-διϋδροκαρβόνης **5a**:



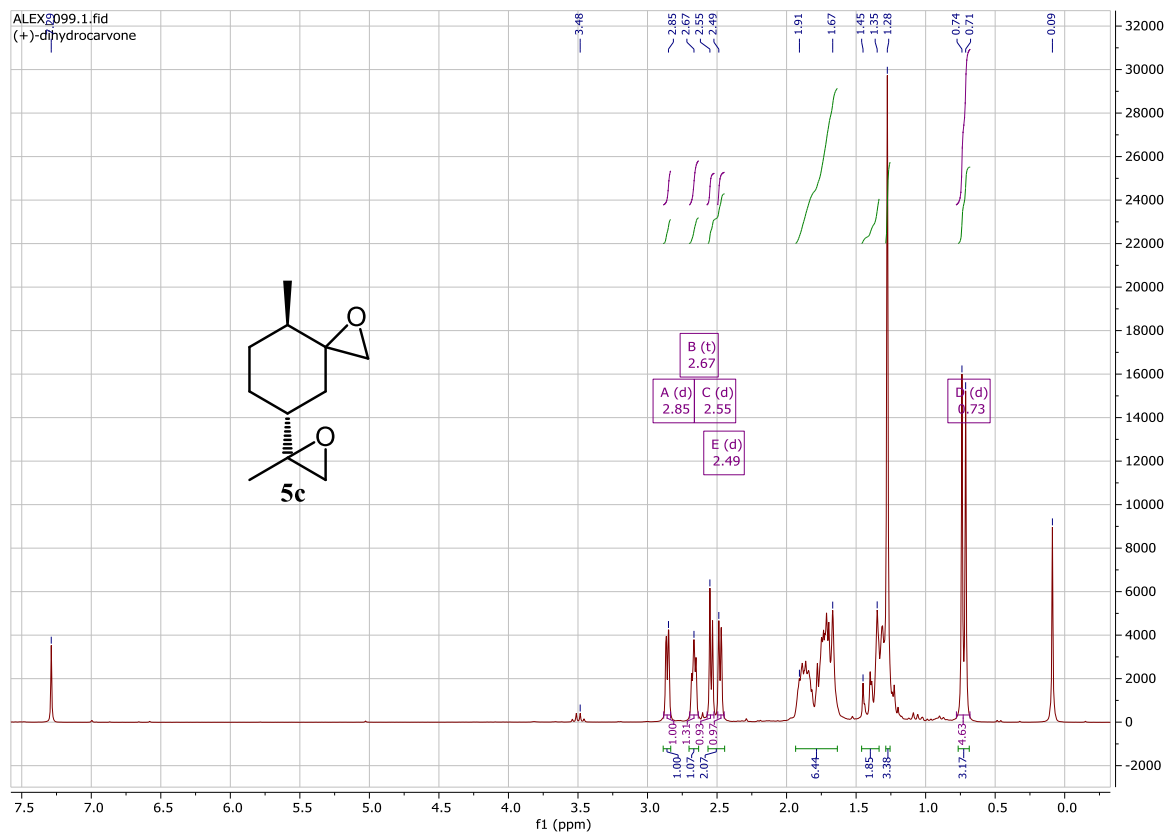
Cosy-NMR του εποξειδίου της (+)-διϋδροκαρβόνης **5a**:



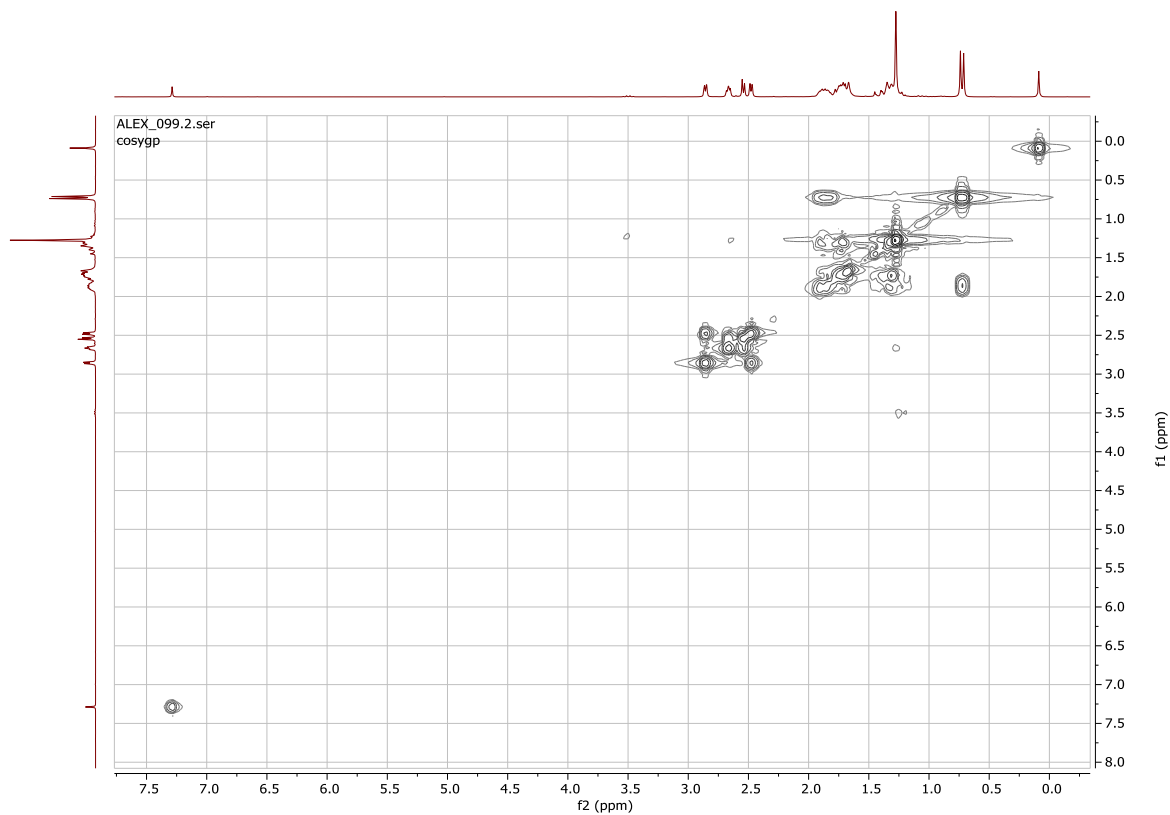
¹H-NMR του spiro-εποξειδίου της (+)-διυδροκαρβόνης **5b**:



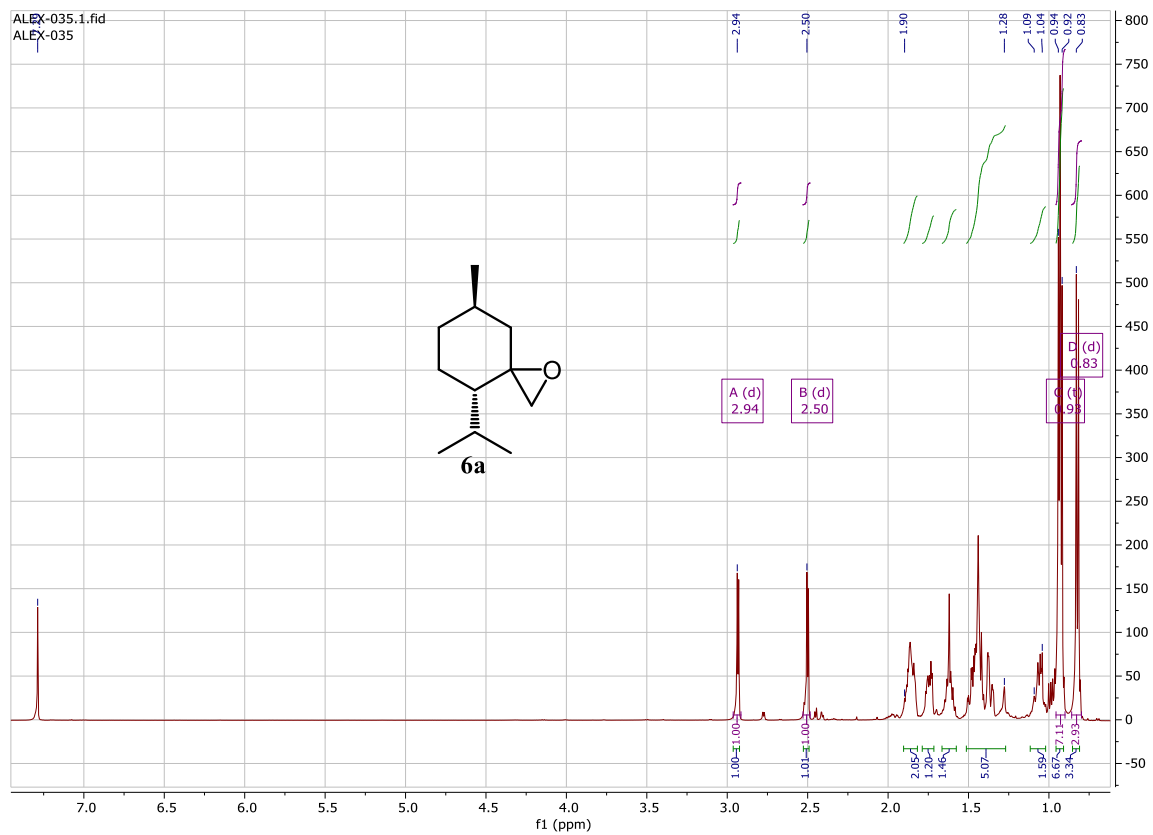
$^1\text{H-NMR}$ του διεποξειδίου της (+)-διϋδροκαρβόνης **5c**:



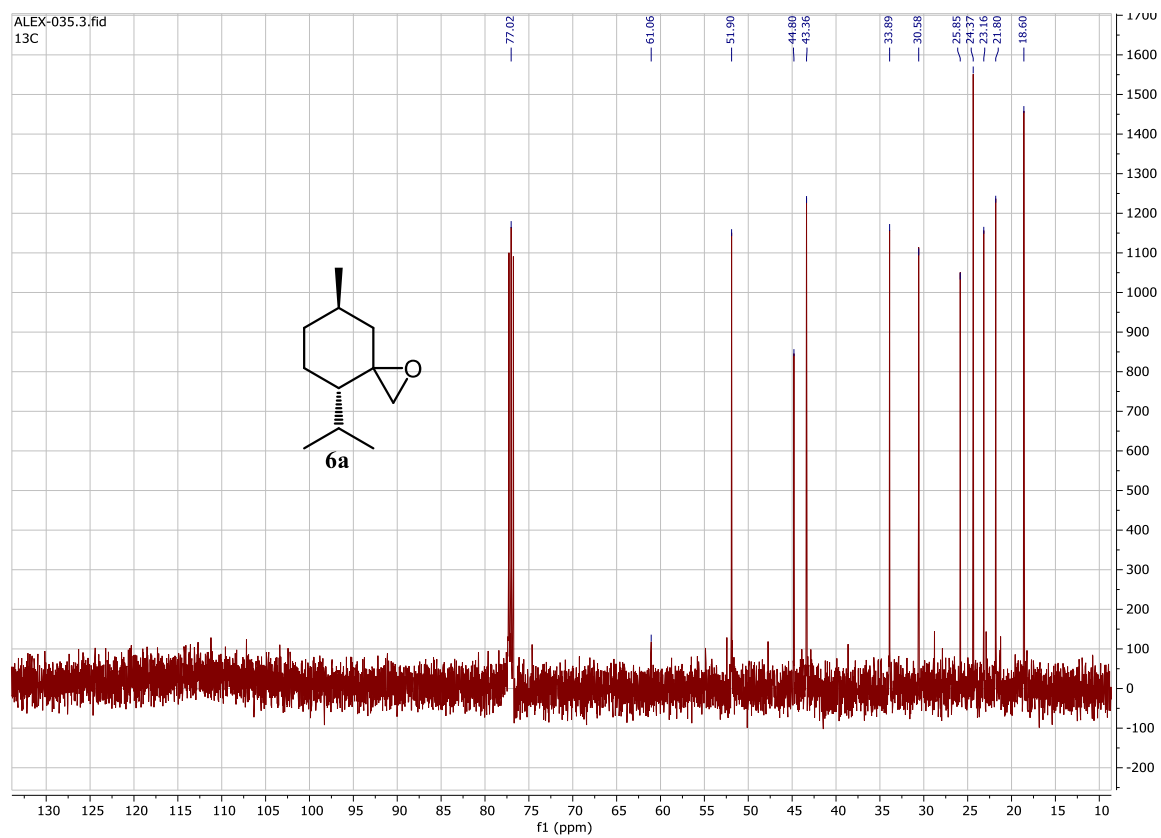
Cosy-NMR του διεποξειδίου της (+)-διϋδροκαρβόνης **5c**:



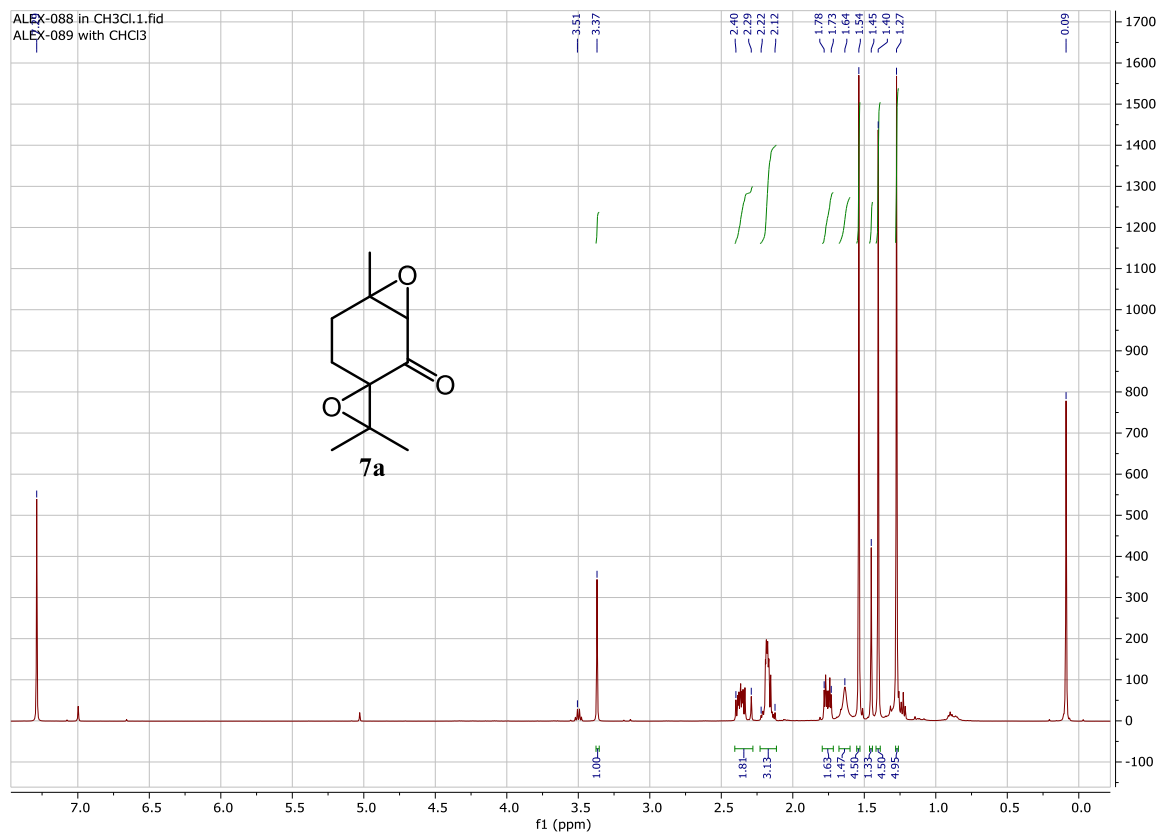
¹H-NMR του spiro-εποξειδίου της (-)-μενθόνης **6a**:



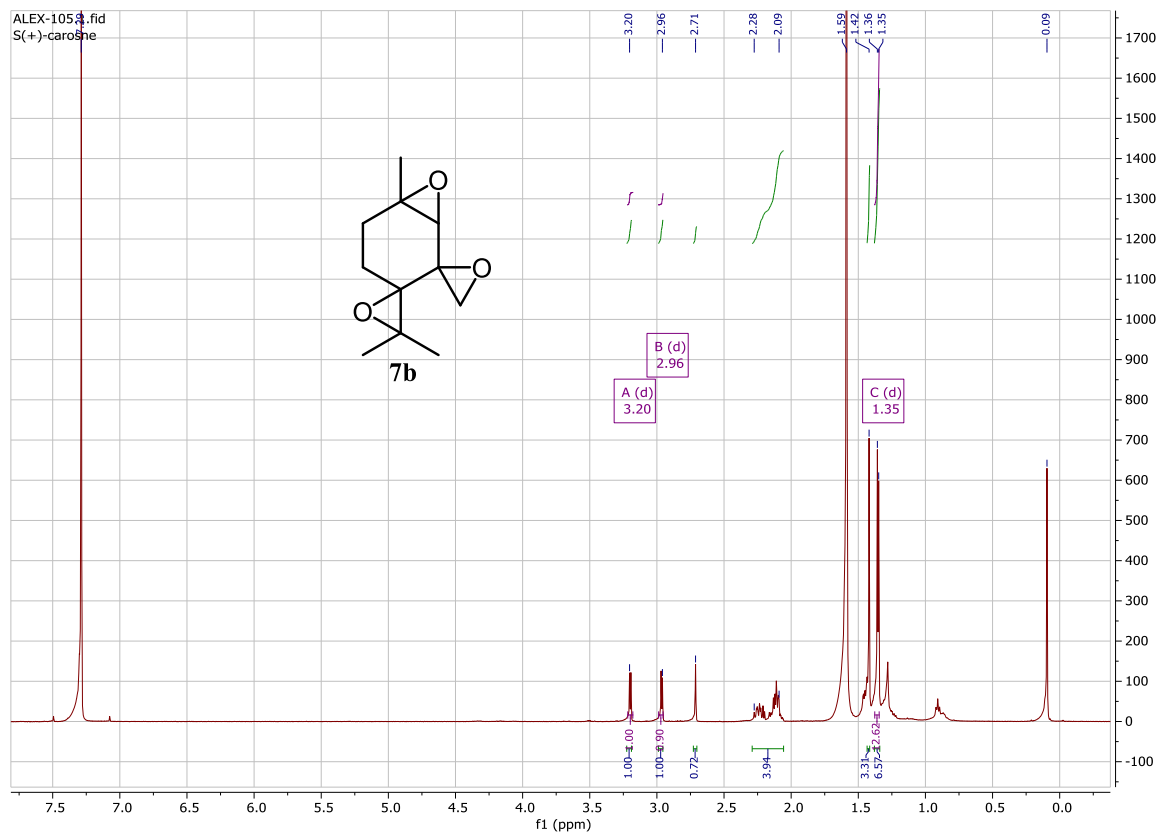
^{13}C -NMR του spiro-εποξειδίου της (-)-μενθόνης **6a**:



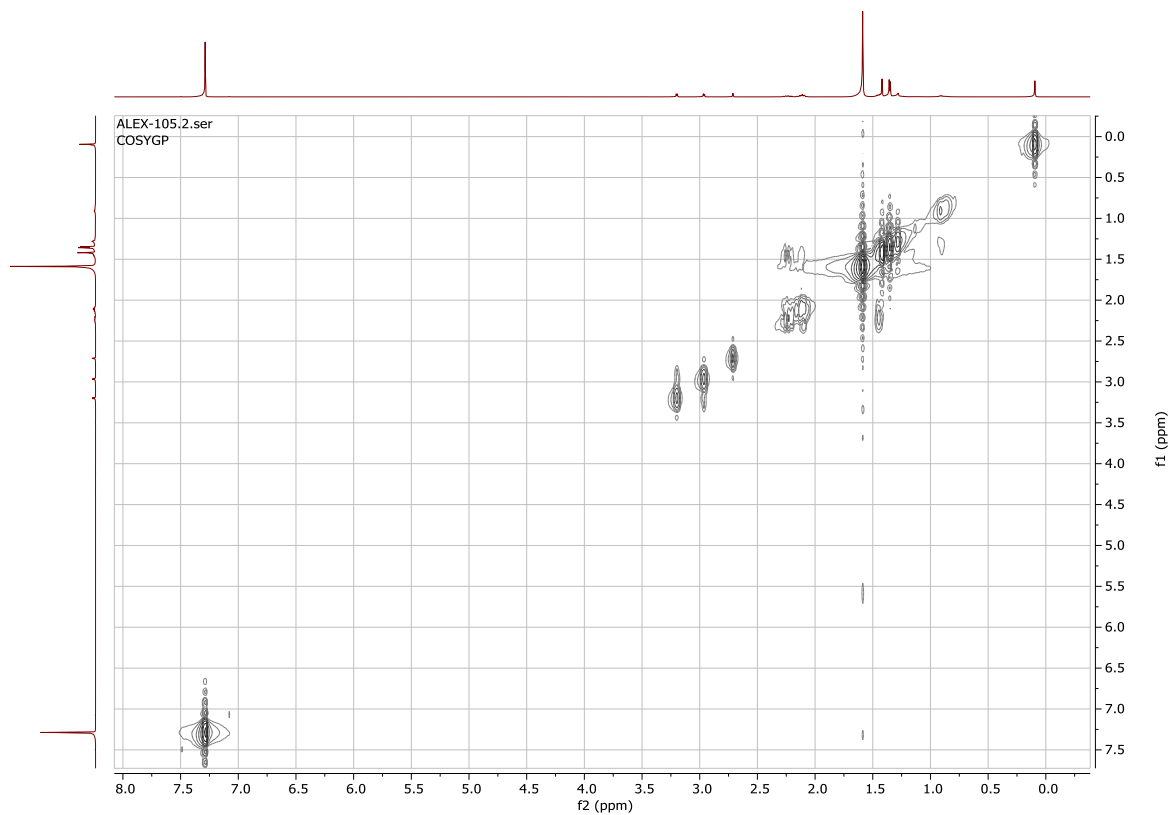
¹H-NMR του διεποξειδίου της πιπεριτενόνης **7a**:



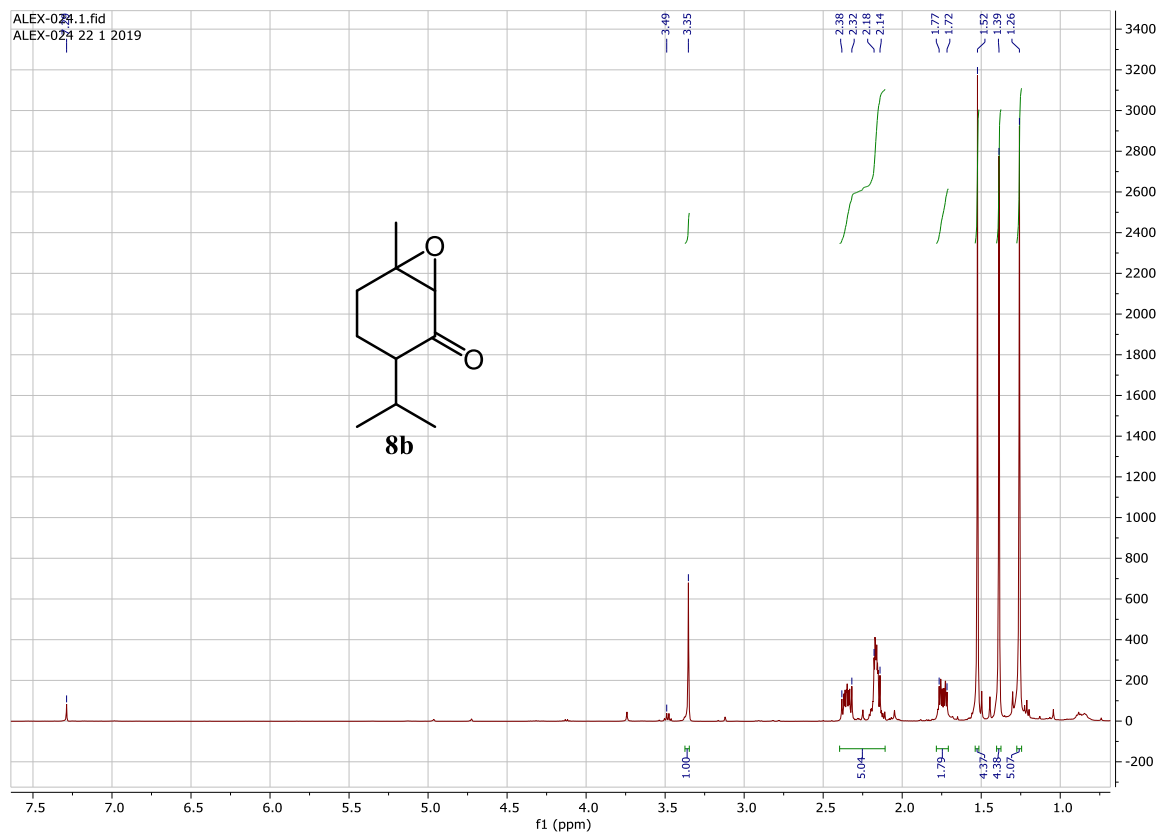
¹H-NMR του τριεποξειδίου της πιπεριτενόνης **7b**:



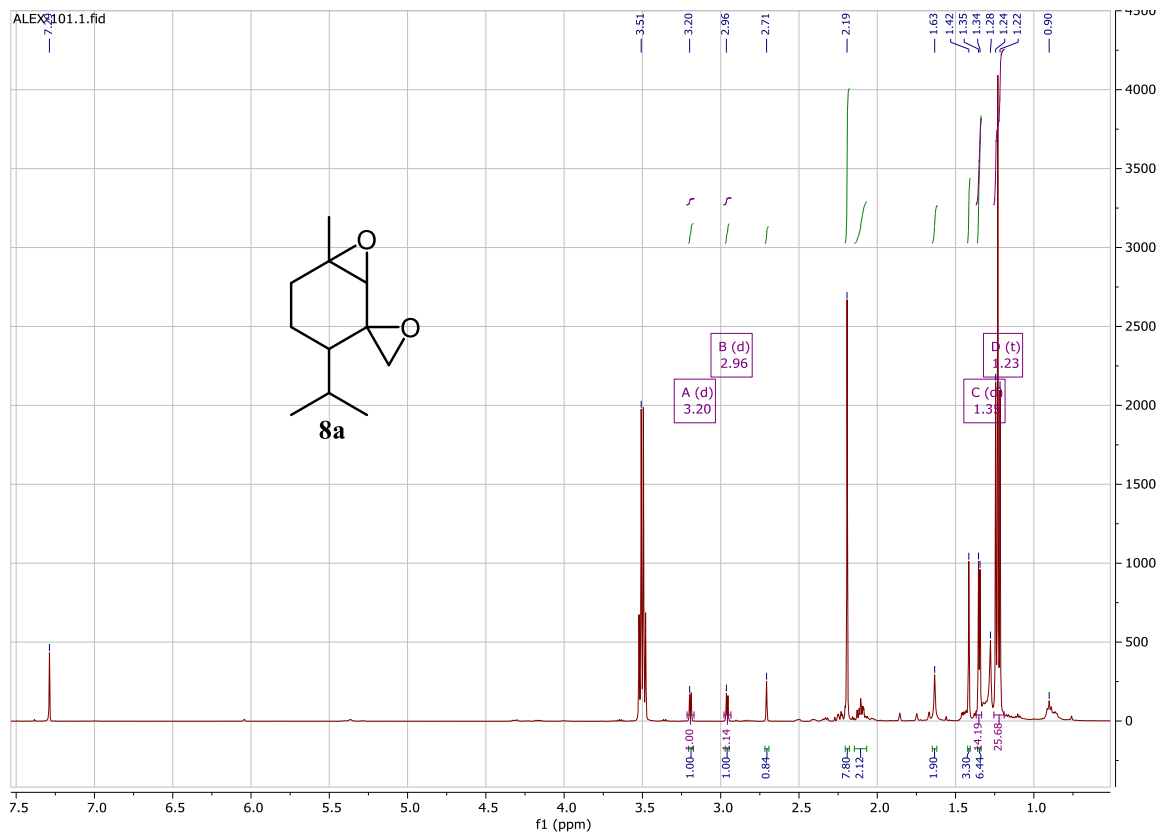
Cosy-NMR του τριεποξειδίου της πιπεριτενόνης **7b**:



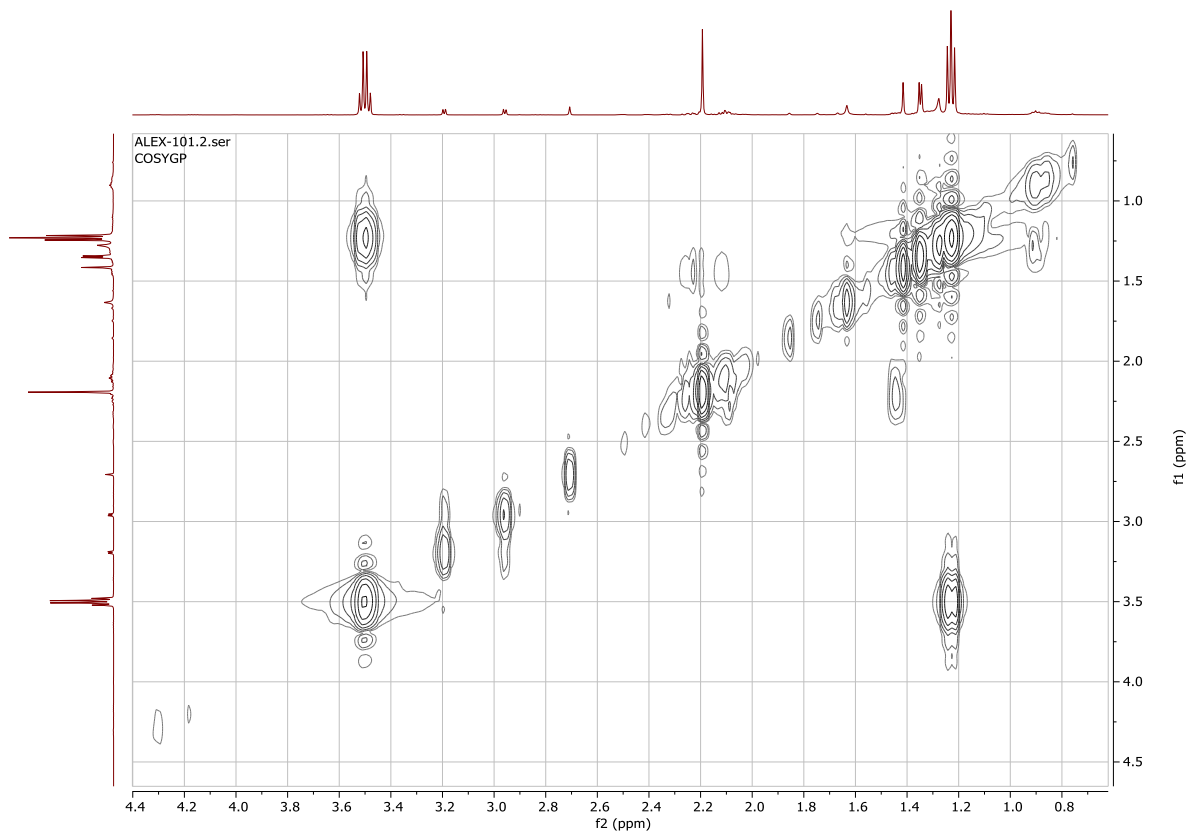
¹H-NMR του εποξειδίου της πιπεριτόνης **8b**:



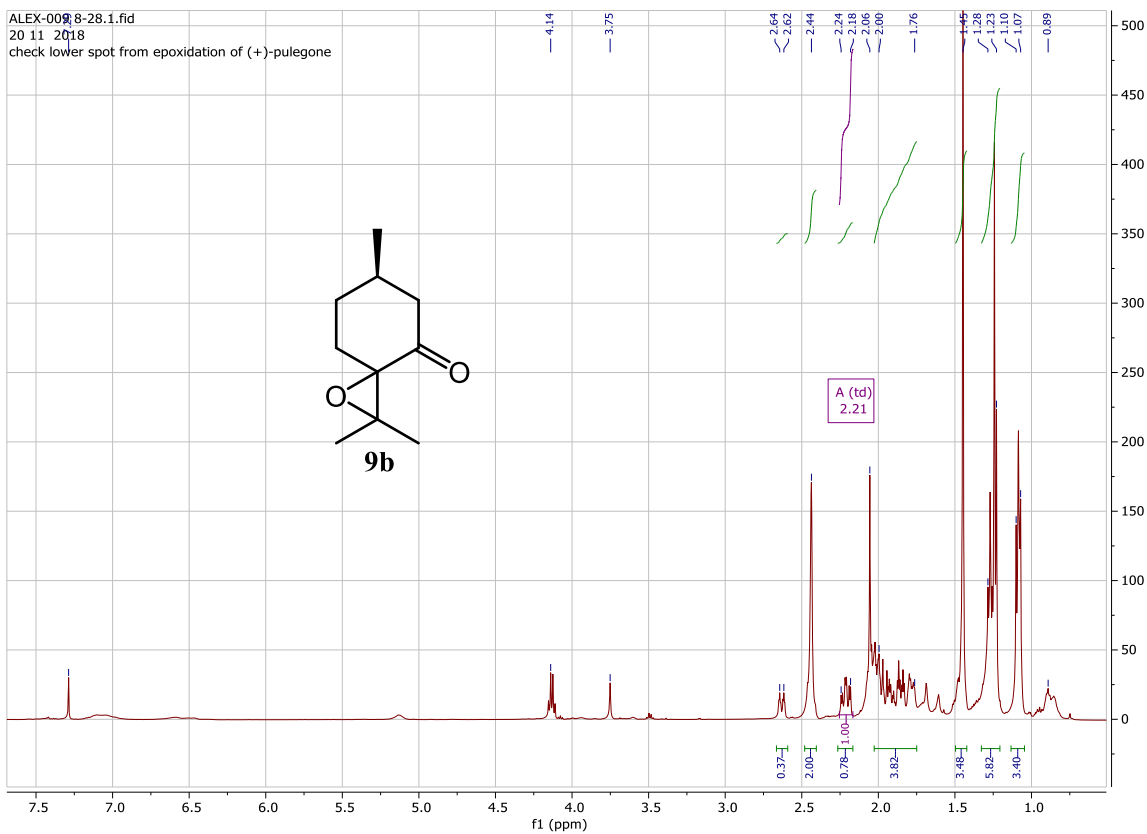
¹H-NMR του διεποξειδίου της πιπεριτόνης **8a**:



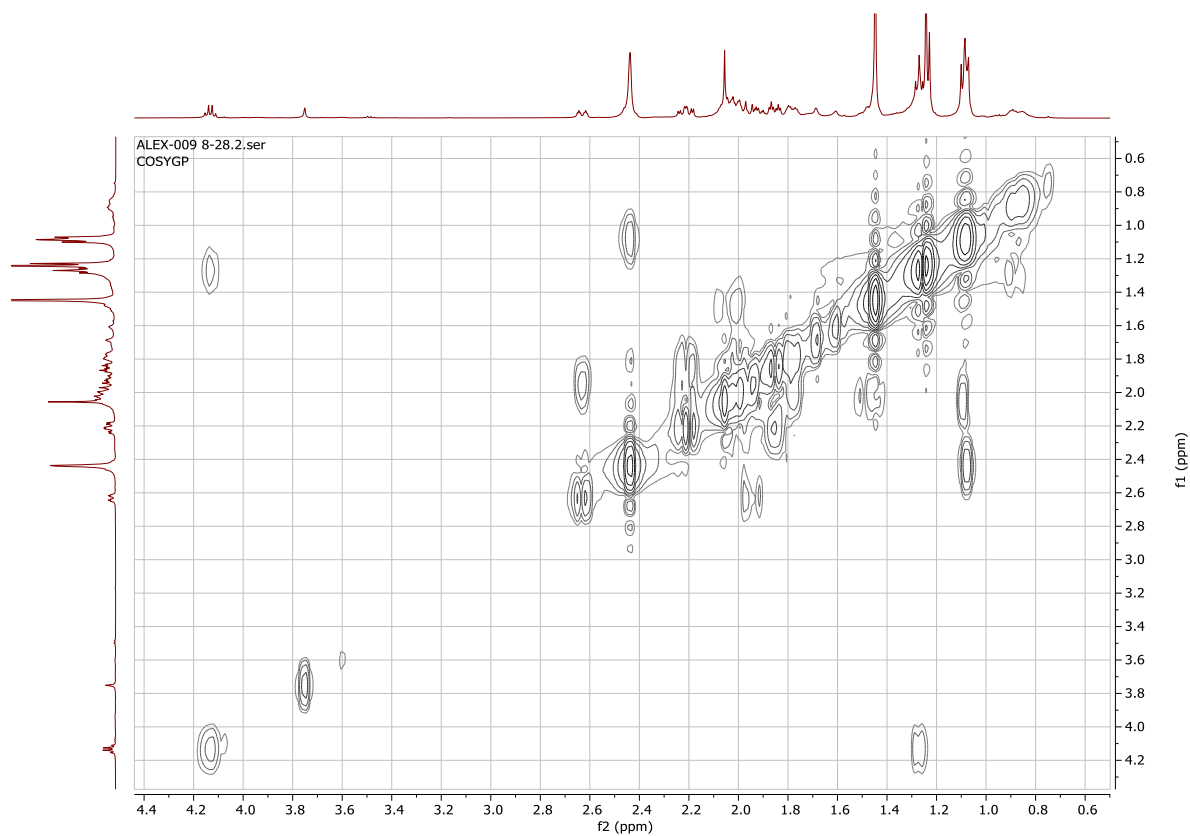
Cosy-NMR του διεποξειδίου της πιπεριτόνης **8a**:



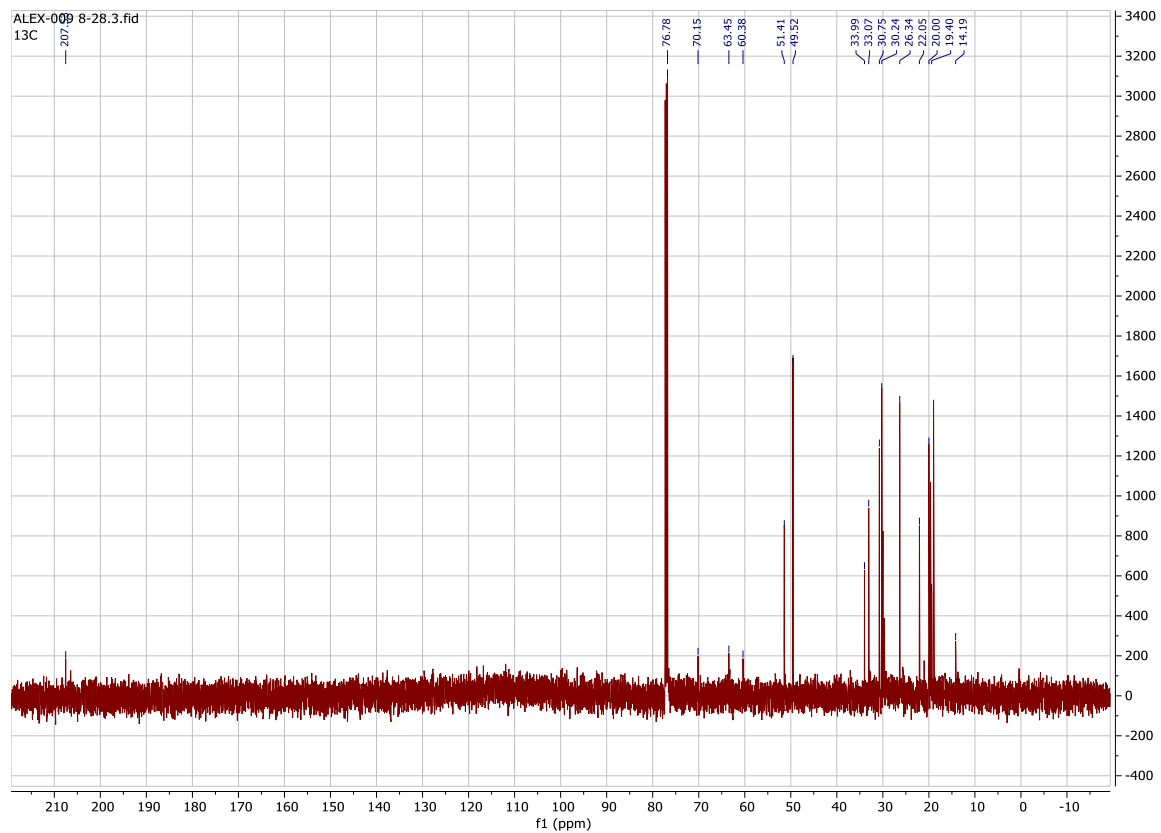
¹H-NMR του εποξειδίου της R-(+)-πουλεγόνης **9b**:



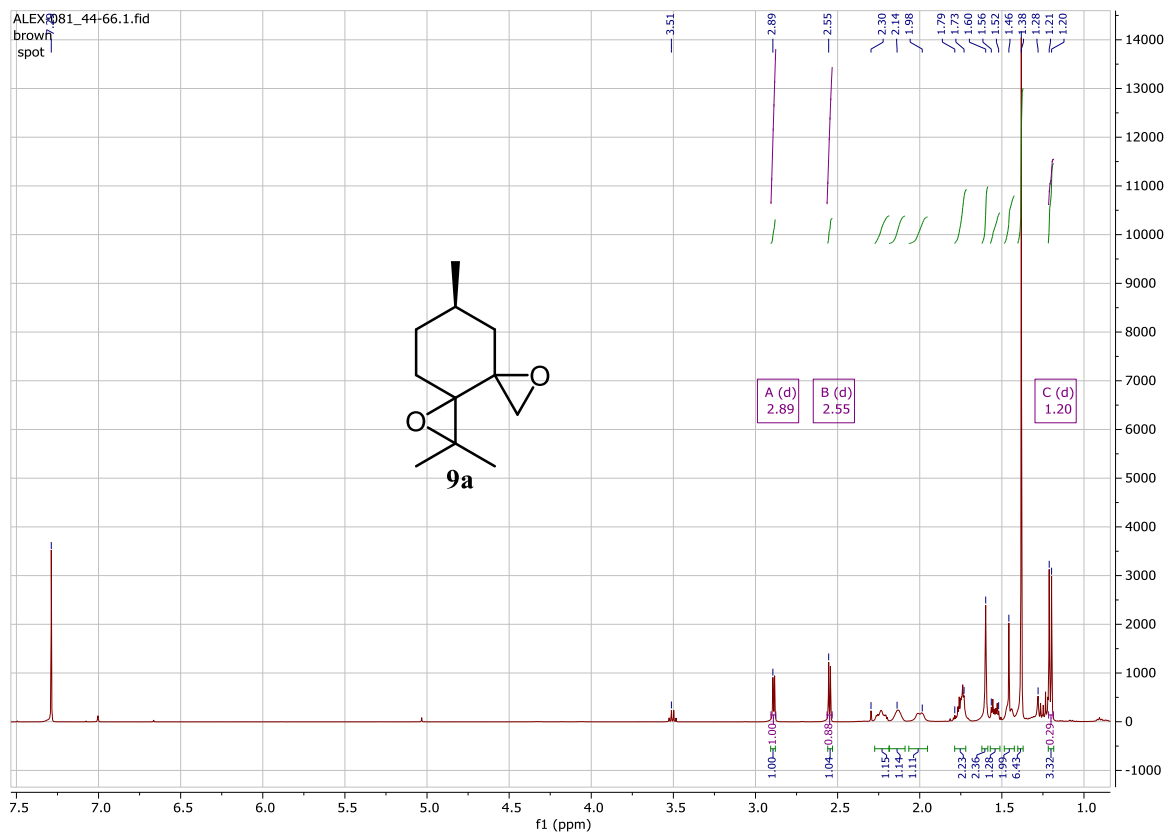
Cosy-NMR του εποξειδίου της R-(+)-πουλεγονής **9b**:



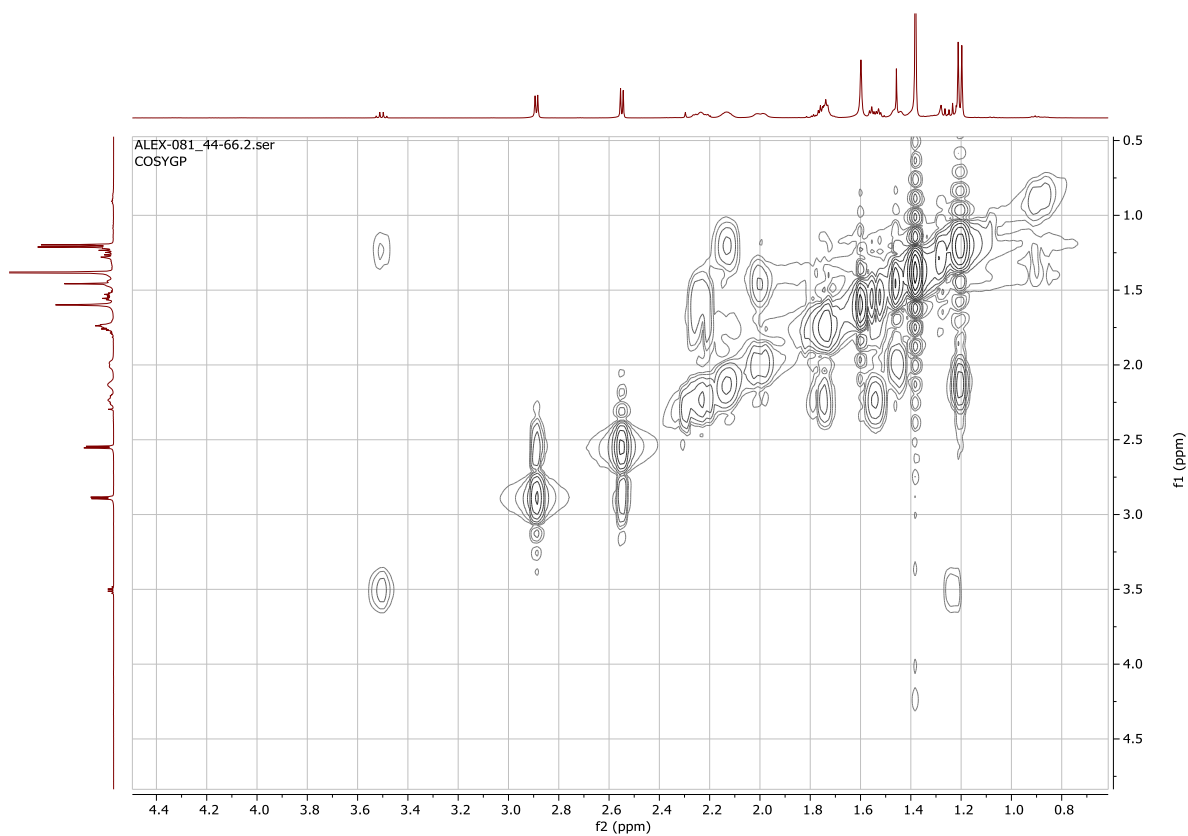
^{13}C -NMR του εποξειδίου της R-(+)-πουλεγονής **9b**:



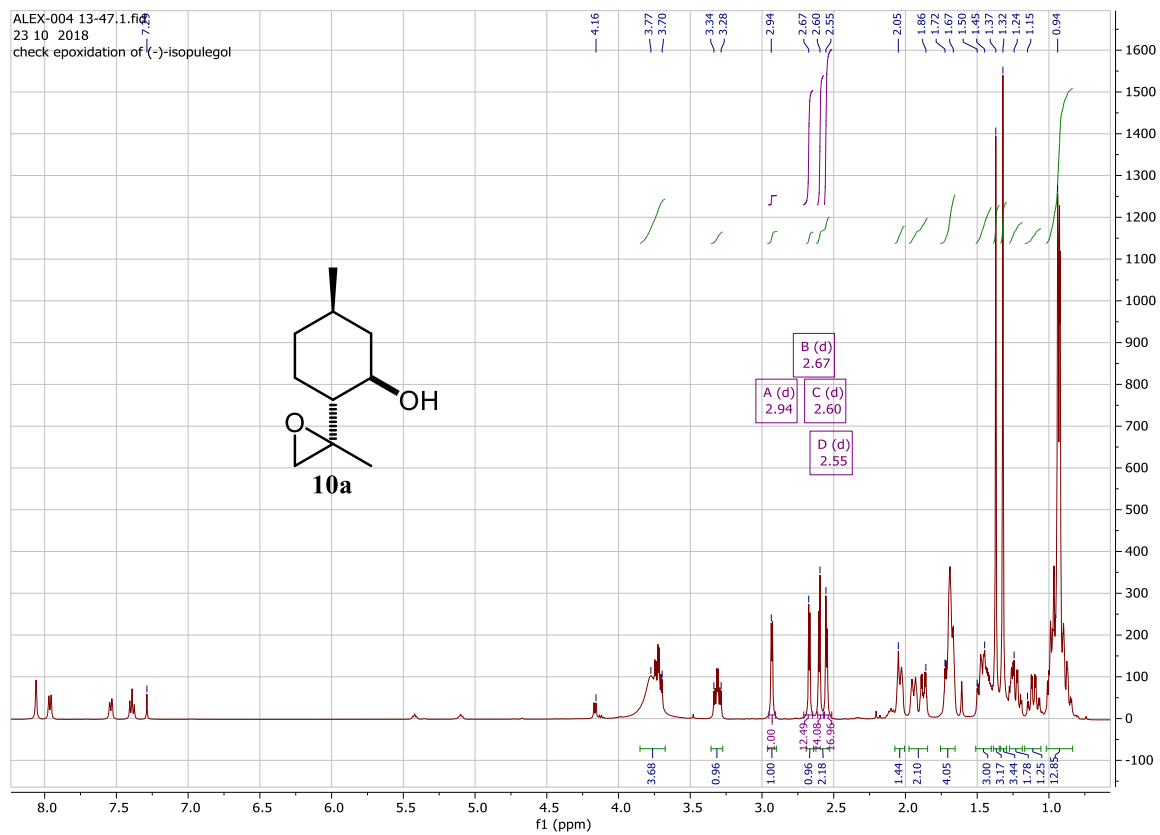
¹H-NMR του διεποξειδίου της R-(+)-πουλεγόνης **9a**:



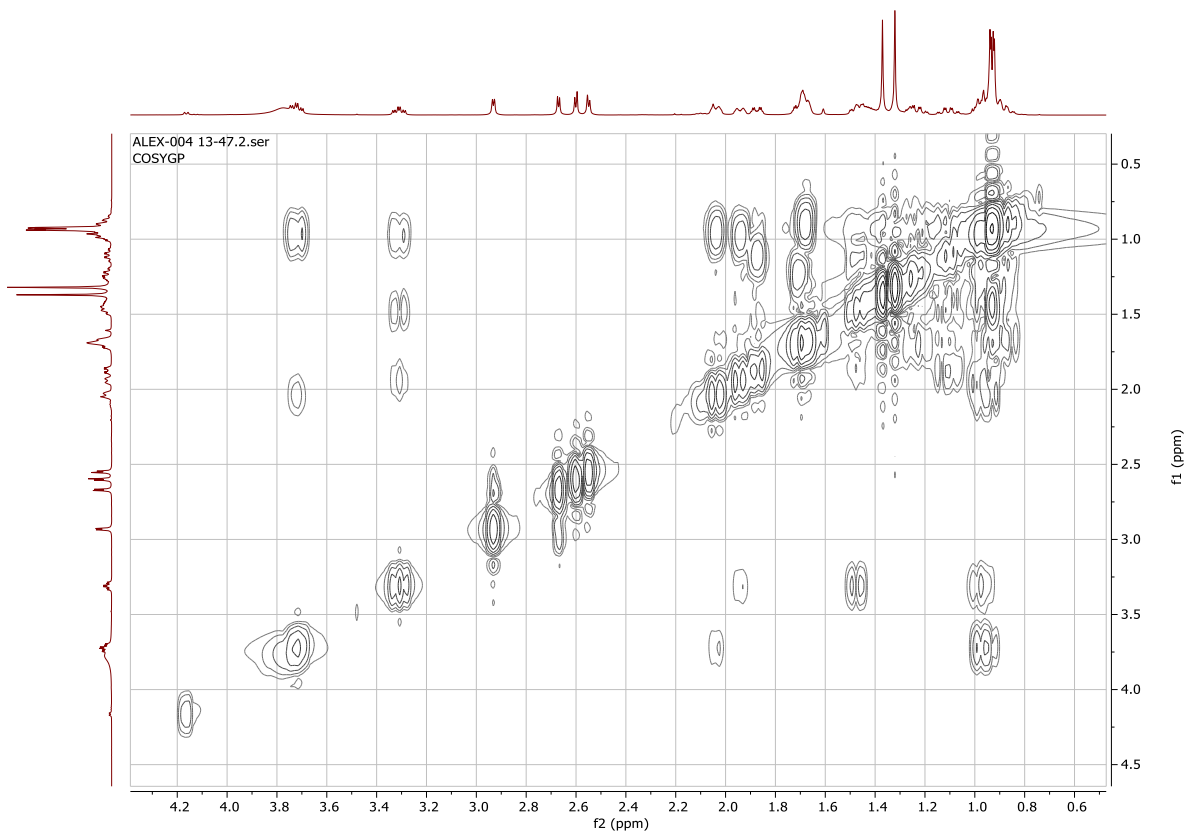
Cosy-NMR του διεποξειδίου της R-(+)-πουλεγόνης **9a**:



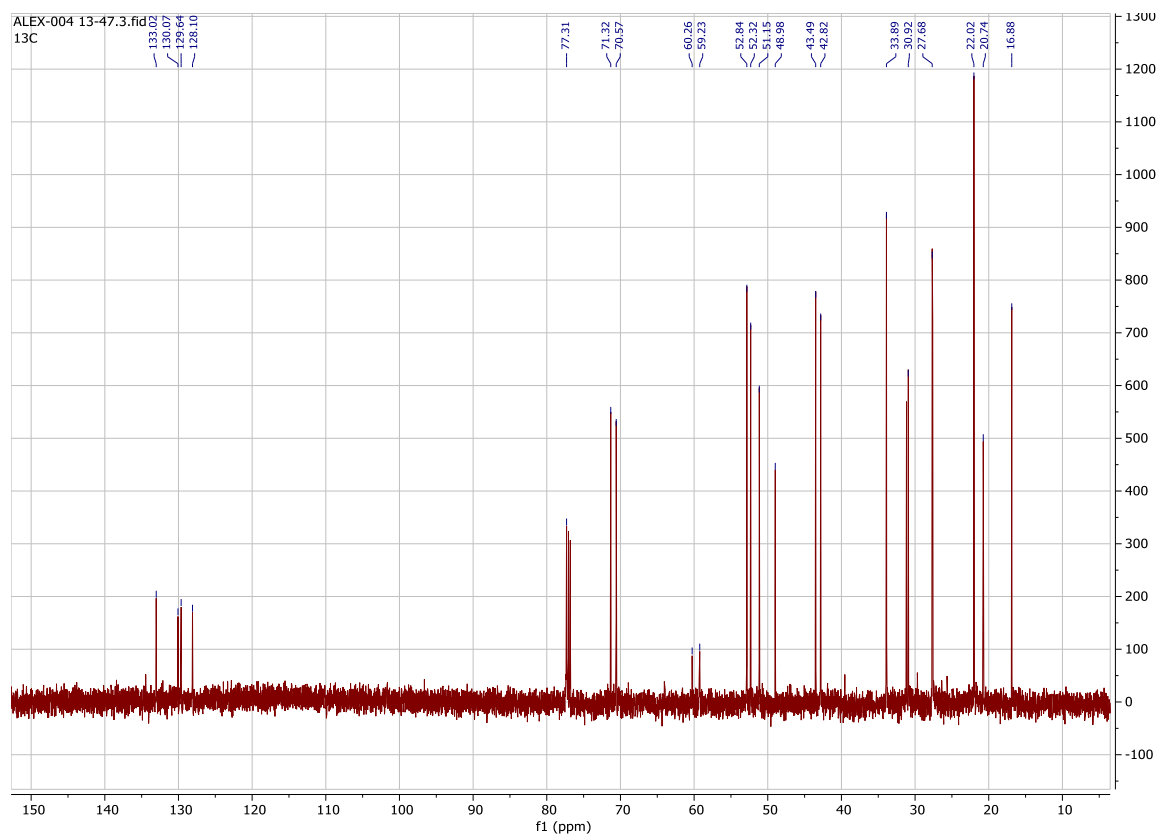
¹H-NMR του εποξειδίου της (-)-ισοπουλεγόλης **10a**:



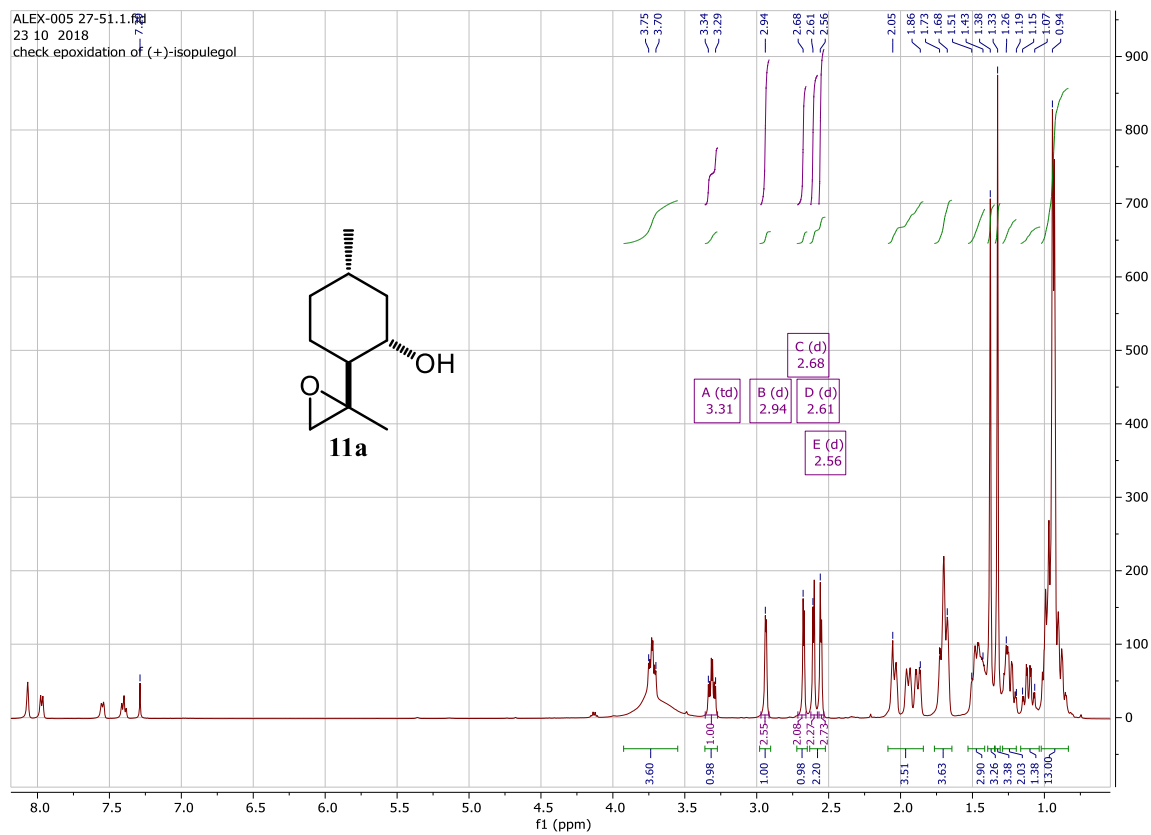
Cosy-NMR του εποξειδίου της (-)-ισοπουλεγόλης **10a**:



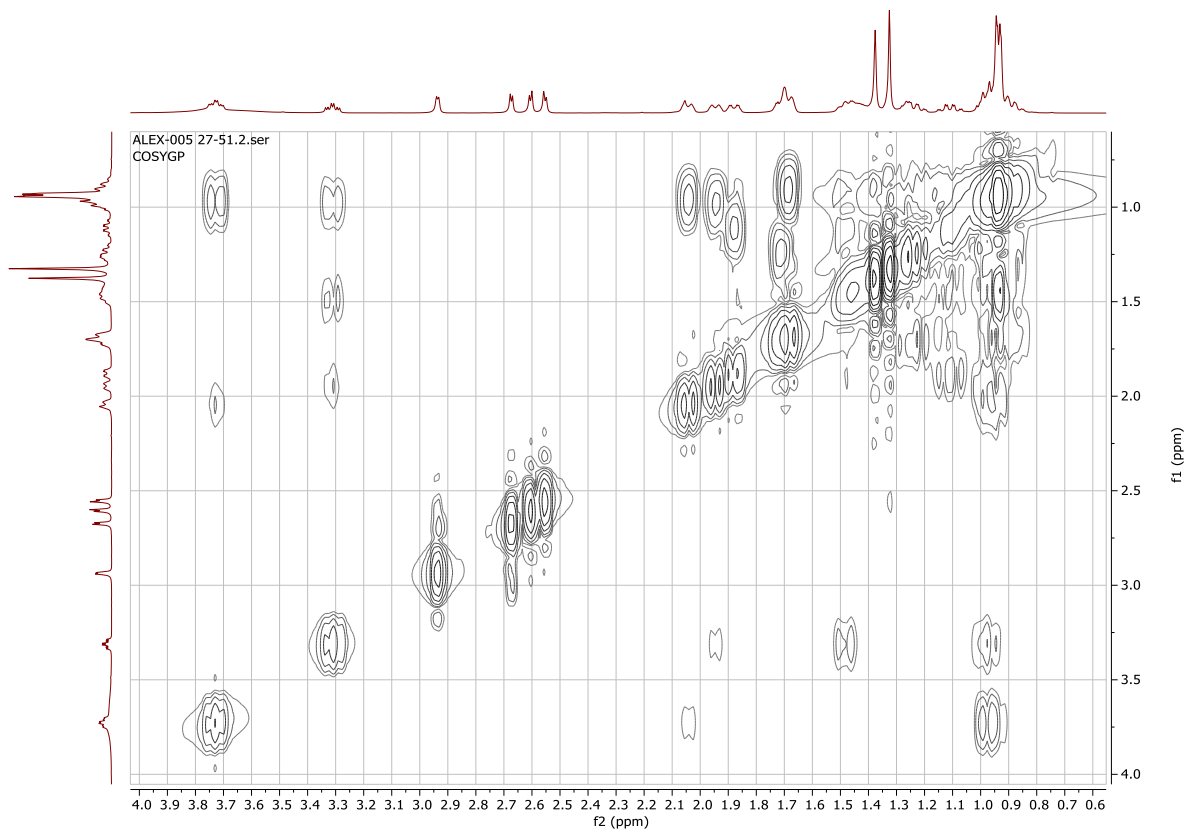
¹³C-NMR του εποξειδίου της (-)-ισοπουλεγόλης **10a**:



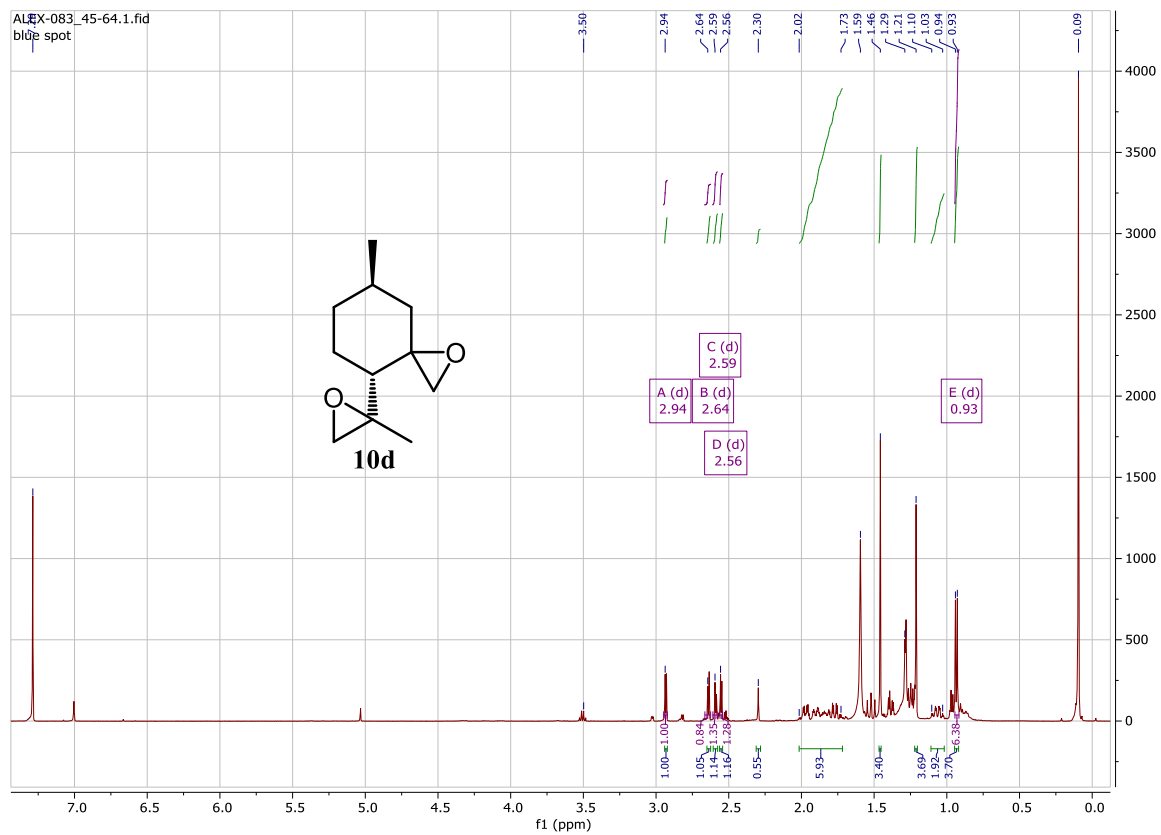
¹H-NMR του εποξειδίου της (+)-ισοπουλεόλης **11a**:



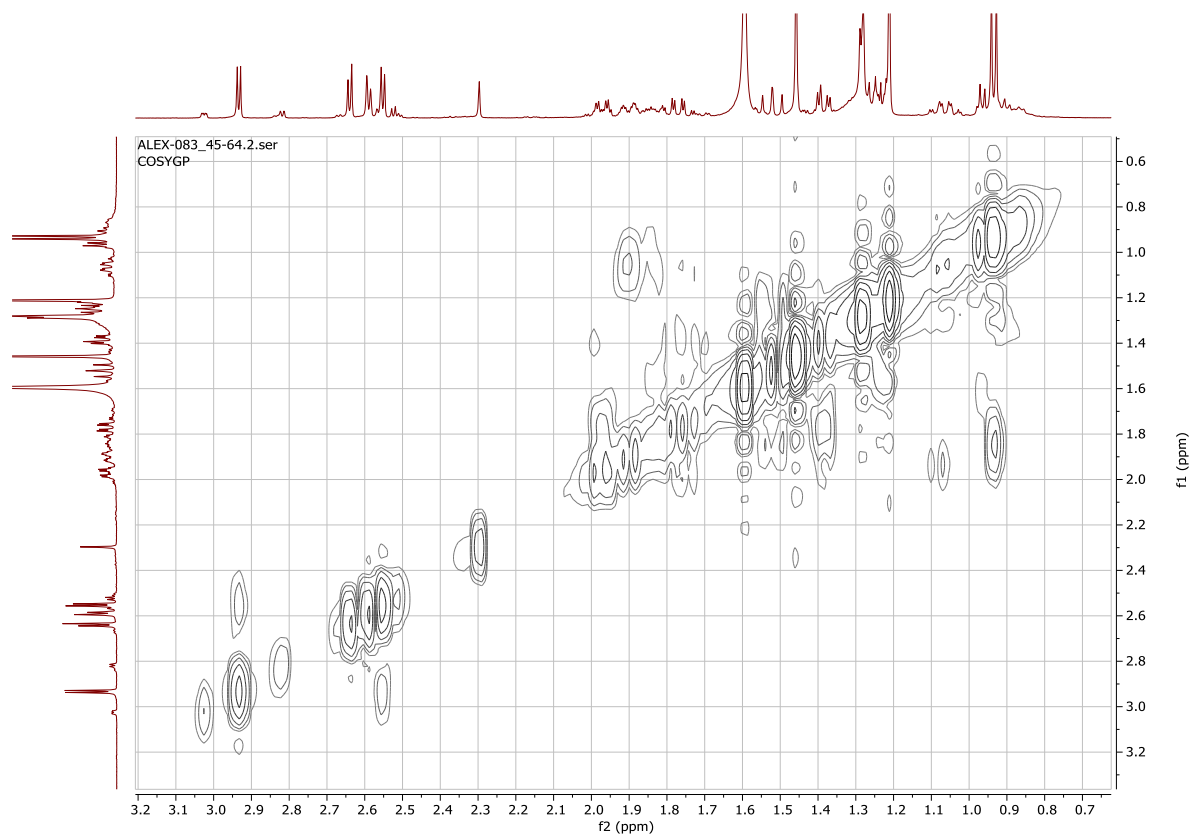
Cosy-NMR του εποξειδίου της (+)-ισοπουλεγόλης **11a**:



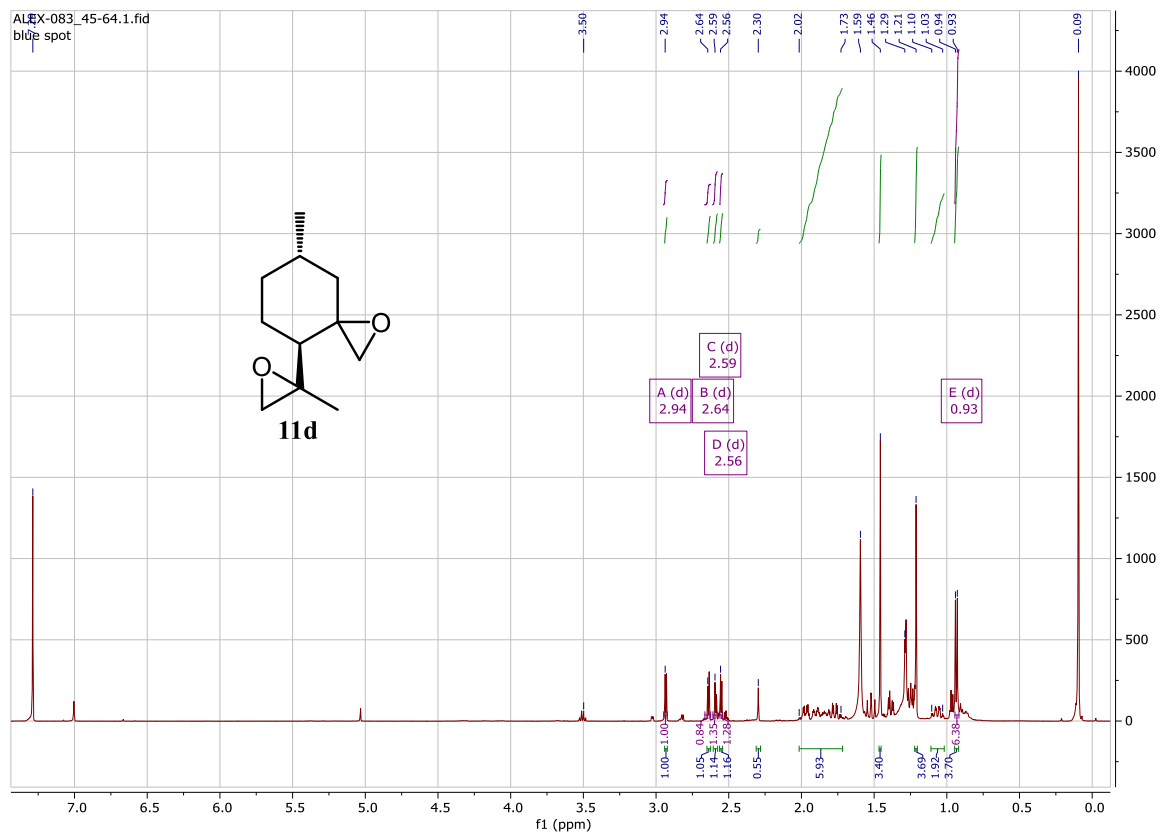
¹H-NMR του διεποξειδίου της (-)-ισοπουλεγόλης **10d**:



Cosy-NMR του διεποξειδίου της (-)-ισοπουλεγόλης **10d**:



¹H-NMR του διεποξειδίου της (+)-ισοπουλεγόλης **11d**:



Cosy-NMR του διεποξειδίου της (+)-ισοπουλεγόλης **11d**:

