

1/83

CMCRCZ 12 (1), 1-59 (1983)

ΧΗΜΙΚΑ ΧΡΟΝΙΚΑ

ΝΕΑ ΣΕΙΡΑ

CHIMIKA CHRONIKA

NEW SERIES

**AN INTERNATIONAL EDITION
OF THE GREEK CHEMISTS ASSOCIATION**

CHIMIKA CHRONIKA / NEW SERIES

Published by the Greek Chemists' Association
27, Kaningos Street, Athens (147), Greece

MANAGING COMMITTEE

Irene DILARIS, Yannis GAGLIAS, Vassilios M. KAPOULAS, Vassilios LAMBROPOULOS,
Georgia MARGOMENOU - LEONIDOPOULOU, Panayotis PROUNTZOS, George SKALOS

Ex-officio Members: Panayotis PADOPOULOS (Asst. Gen. Secretary of G.C.A.),
Stelios CHATZIYANNAKOS (Treasurer of G.C.A.).

EDITORS - IN - CHIEF

V.M. KAPOULAS G. SKALOS G. MARGOMENOU - LEONIDOPOULOU

EDITORIAL ADVISORY BOARD

N. ALEXANDROU

Org. Chem., Univ. Salonica

A. ANAGNOSTOPOULOS

Inorg. Chem., Tech. Univ. Salonica

D. BOSKOS

Org. Chem., Tech., Univ. Salonica

P. CATSOULACOS

Pharm. Chem., Univ. Patras

G.D. COUMOULOS

Physical Chemistry Athens

C.A. DEMOPOULOS

Biochemistry, Univ. Athens

C.E. EFSTATHIOU

Anal. Chem., Univ. Athens

A.E. EVANGELOPOULOS

Biochemistry, N.H.R.F., Athens

S. FILIANOS

Pharmacognosy, Univ. Athens

D.S. GALANOS

Food. Chem., Univ. Athens

A.G. GALINOS

Inorg. Chem., Univ. Patras

P. GEORGAKOPOULOS

Pharm. Techn., Univ. Salonica

I. GEORGATSOS

Biochemistry, Univ. Salonica

M.P. GEORGIADIS

Org./Med. Chem., Agr. Univ. Athens

N. HADJICHRISTIDIS

Polymer Chem., Univ. Athens

T.P. HADJIOANNOU

Anal. Chem., Univ. Athens

E. HADJOURIS

Photochem., N.R.C. «D», Athens

D. JANNAKOUidakis

Phys. Chem., Univ. Salonica

N.K. KALFOGLOU

Polymer Sci., Univ. Patras

E. KAMPOURIS

Polymer Chem., Tech. Univ. Athens

M.I. KARAYANNIS

Anal. Chem., Univ. Ioannina

N. KATSANOS

Phys. Chem., Univ. Patras

A. KEHAYOGLOU

Org. Chem. Tech., Univ. Salonica

D. KIOUSSIS

Petrochemistry, Univ. Athens

A. KOSMATOS

Org. Chem., Univ. Ioannina

P. KOUROUNAKIS

Pharm. Chem., Univ. Salonica

S.B. LITSAS

Bioorg. Chem., Arch. Museum, Athens

G. MANOUSSAKIS

Inorg. Chem., Univ. Salonica

I. MARANGOSIS

Chem. Mech., Tech. Univ. Athens

I. NIKOKAVOURAS

Photochem., N.R.C. «D», Athens

D.N. NICOLAIDES

Org. Chem., Univ. Salonica

C.M. PALEOS

N.R.C. «Democritos», Athens

V. PADOPOULOS

N.R.C. «Democritos» Athens

G. PAPAGEORGIOU

Biophysics, N.R.C. «D», Athens

V.P. PAPAGEORGIOU

Nat. Products, Tech. Univ. Salonica

S. PARASKEVAS

Org. Chem., Univ. Athens

G. PHOKAS

Pharmacognosy, Univ. Salonica

S. PHILIPAKIS

N.R.C. «Democritos», Athens

G. PNEUMATIKAKIS

Inorg. Chem., Univ. Athens

C.N. POLYDOROPOULOS

Phys./Quantum Chem., Univ. Ioannina

K. SANDRIS

Organic Chem., Tech. Univ. Athens

M.J. SCULLOS

Env./Mar. Chem., Univ. Athens

C.E. SEKERIS

Mol. Biology, N.H.R.F., Athens

G.A. STALIDIS

Phys. Chem., Univ. Salonica

Ch. STASSINOPOULOU

N.R.C. «Democritos», Athens

A. STASSINOPOULOS

Argo AEBE Athens

A. STAVROPOULOS

Ind. Technol., G.S.I.S., Piraeus

I.M. TSANGARIS

Inorg. Chem., Univ. Ioannina

G. TSATSARONIS

Food Technol., Univ. Salonica

G.A. TSATSAS

Pharm. Chem., Univ. Athens

A.K. TSOLOS

Chem. Technol., Univ. Patras

G. VALCANAS

Org. Chem., Tech. Univ. Athens

A.G. VARVOGLIS

Org. Chem., Univ. Salonica

G.S. VASSILIKIOTIS

Anal. Chem., Univ. Salonica

S. VOLIOTIS

Instrum. Analysis, Univ. Patras

E.K. VOUDOURIS

Food Chem., Univ. Ioannina

I. VOURVIDOU - FOTAKI

Org. Chem., Univ. Athens

I.V. YANNAS

Mech. Eng., M.T.I., U.S.A.

Correspondence, submission of papers, subscriptions, renewals and changes of address should be sent to Chimika Chronika, New Series, 27 Kaningos street, Athens, Greece. The Guide to Authors is published in the first issue of each volume, or sent by request. Subscriptions are taken by volume at 500 drachmas for members and 1.000 drachmas for Corporations in Greece and 28 U.S. dollars to all other countries except Cyprus, where subscriptions are made on request.

Printed in Greece by ATHANASOPOULOS-PAPADAMIS-ZACHAROPOULOS, G.P.
76, EMM. BENAKI ATHENS (145)

Υπεύθυνος σύμφωνα με το νόμο: Παναγιώτης Ευθάλης, Κάνιγγος 27, Αθήνα (147).

CONTENTS

Volume regulation in protozoa (<i>a review in Greek</i>) by V.M. Kapoulas, D.C. Tsoukatos	3
Synthesis and pharmacological evaluation of new α -(2,3,4-trimethoxyphenyl)- β -amino and alkylaminopropanols (<i>in English</i>) by T. Siatra-Papastaikoudi, A. Papadaki-Valiraki, G. Tsatsas and Z. Papadopoulou-Daifoti, C. Karageorgiou	15
Identification of terpenoid derivatives of <i>Mentha spicata</i> by electron ionization and negative ion chemical ionization mass spectra (<i>in Greek</i>) by V.P. Papageorgiou, N. Arguriadou, S. Kokkini and A.S. Mellidis	27
Oxidative pathways of unsaturated compounds in their reactions with phenyliodine (III) bis trifluoroacetate (<i>in English</i>) by S. Spyroudis and A. Varvoglis	37
Products from furans IIa: Stereoselectivity in synthesis of some diastereoisomeric 6-hydroxy-2H-pyran-3(6H)-ones and related compounds (<i>in English</i>) by M.S. Georgiadis and Y. Lefebvre	45

Chimika Chronika, New Series, 12, 3-13 (1983)

Η ΡΥΘΜΙΣΗ ΟΓΚΟΥ ΣΤΑ ΠΡΩΤΟΖΩΑ

Β.Μ. ΚΑΠΟΥΛΑ, Δ.Κ. ΤΣΟΥΚΑΤΟΥ
Εργαστήριο Βιοχημείας Πανεπιστημίου 'Ιωαννίνων
(Ελήφθη 22 Σεπτεμβρίου 1982)

Περίληψη

Το νερό είναι ο βασικός συντελεστής της ζωντανής ύλης. Έτσι η μεταφορά του μαζί με το σύνολο των φυσικοχημικών μεταβολών που είναι συνδεδεμένες μ' αυτή (μεταφορά ιόντων, οσμωτική ισορροπία, ρύθμιση όγκου κ.α.) είναι ποσοτικά το κυρίαρχο φαινόμενο της βιολογικής μεταφοράς.

Στην εργασία αυτή επισκοπούνται οι φυσικοχημικοί νόμοι που οδηγούν στη ρύθμιση του όγκου στα πρωτόζωα, με ιδιαίτερη έμφαση στην προσαρμογή(-στικότητα) των κυττάρων όταν βρεθούν σε περιβάλλοντα μέσα υποτονικά σε σχέση με τα κυτταρικά υγρά.

Η ρύθμιση όγκου στα πρωτόζωα

Ζώα του γλυκού νερού διατηρούν τα κύτταρά τους υπεροσμωτικά σε σχέση με το περιβάλλον τους⁴. Σ' ανώτερα ζώα αυτή η λειτουργία πραγματοποιείται με εξειδικευμένα όργανα ή ιστούς (σπονδυλωτά-νεφρά, βάτραχος-δέρμα), που διατηρούν το οσμωτικό επίπεδο των υγρών του σώματος ίδιο μ' αυτό των κυττάρων.

Χαμηλά ασπόνδυλα (πρωτόζωα κ.λ.π.) δεν διαθέτουν οσμωτικά ρυθμισμένα υγρά, που να περιβάλλουν τα κύτταρα. Έτσι τα κύτταρα αυτών των ομάδων θα είχαν το πρόβλημα της συνεχούς εισροής νερού σ' αυτά. Πρέπει λοιπόν να διαθέτουν μηχανισμούς οσμωτικής ρύθμισης.

Ένα υψηλό επίπεδο K^+ στο εσωτερικό συγκριτικά με το μέσο τους είναι χαρακτηριστικό για όλα τα ζωντανά κύτταρα, που ερευνήθηκαν. Τα περισσότερα κύτταρα έχουν περισσότερο K^+ από Na^+ . Το δε Na^+ είναι συνήθως λιγότερο απ' το μέσο.

Είναι φανερό, ότι η ρύθμιση όγκου και νερού είναι συνδεδεμένη με τη ρύθμιση της συγκέντρωσης των ιόντων.

Η θερμοδυναμική ισορροπία του νερού

Γενικά το χημικό δυναμικό μιας ουσίας j σε σταθερή θερμοκρασία δίνεται απ' τη σχέση (1) :

$$\mu_j = \mu_j^0 + RT \ln a_j + P_j \bar{V}_j + z_j F \phi \quad (1.1)$$

\bar{V}_j : Μερικός γραμμομοριακός όγκος, z_j : φορτίο, a_j = ενεργότητα
 F : Σταθερά Faraday ϕ : δυναμικό της μεμβράνης

Για το νερό τώρα, η μεταφορά του μεταξύ δύο διαχωρισμένων από μεμβράνη χώρων θα γίνεται καθοδηγημένα απ' την κλίση του χημικού του δυναμικού ανάμεσα στα δύο μέρη. Απαλείφοντας τον όρο $z_j F \phi$ (το νερό δεν είναι σε ιοντική μορφή) θα έχω σε κατάσταση ισορροπίας.

$$\mu_{w_i} - \mu_{w_o} = 0 \quad (1.2)$$

και άρα

$$RT \Delta \ln a_w = -\bar{V}_w \cdot \Delta P = 0 \quad (1.3)$$

Η σχέση αυτή συνδέει την απαραίτητη υδροστατική πίεση ΔP , που αντιστοιχεί σε ορισμένη διαφορά ενεργότητας $\Delta \ln a_w$.

Σε ένα ιδανικό διάλυμα το χημικό δυναμικό του διαλύτη επηρεάζεται απ' τη διαλυμένη ουσία S σύμφωνα με τη σχέση :

$$\mu_w = \mu_w^0 - RT \bar{V}_w \sum_j S_j \quad (1.4)$$

Άρα τελικά η πίεση Π μεταξύ ουσίας και διαλύτη και του διαλύτη μόνου του θα είναι απ' τις (1.2), (1.3), (1.4) :

$$\Pi = RT \sum_j S_j \quad (1.5)$$

για μη ιδανικά διαλύματα $\Pi = gRT \sum_j S_j$

όπου g οσμωτικός συντελεστής. Παρατηρούμε δηλαδή, ότι μια διαφορά οσμωτικής πίεσης Π έχει σαν συνέπεια οσμωτική ροή νερού μέχρι την αποκατάσταση των σχέσεων (1.2), (1.3).

Η οσμωτική συμπεριφορά του κυττάρου

Η διαπερατότητα στο νερό στα περισσότερα ζωικά κύτταρα είναι μεγάλη² (δηλ. P_w μεγάλη) πράγμα, που αντιστοιχεί και σε μεγάλη L_p . Η διαπερατότητα των ιόντων K^+ , Na^+ , Cl^- είναι γενικά μικρότερη.

Αν περιγράψουμε το κύτταρο σαν ιδανικό οσμώμετρο με ημιπερατή μεμβράνη, ο όγκος του θα εξαρτάται απ' την οσμωτική πίεση του περιβάλλοντος μέσω σύμφωνα με την εξίσωση :

$$\Pi(v-b) = RT \sum_j g_j Q_j \quad (2.1)$$

που παράγεται απ' την εξίσωση του (Van't Hoff)

$$\Pi = RT \sum_j g_j S_j \quad (2.2)$$

όπου Π η εξωτερική οσμωτική πίεση, S_j η μοριακότητα, Q_j η ποσότητα της διαλυμένης ουσίας g ο οσμωτικός συντελεστής της j διαλυμένης ουσίας, v είναι ο όγκος του κύτταρου και b ο μη διαλυτός όγκος του κύτταρου. Το $v-b$ αντιστοιχεί στην περιεκτικότητα σε νερό του κύτταρου v_{H_2O} .

Αν τώρα $\sum_j g_j Q_j$ μένει σταθερό, όταν τα κύτταρα τοποθετούνται σε διαλύματα διαφόρων τονικότητων, θα έχουμε το δεξί μέρος της εξίσωσης (2.1) σταθερό. Και άρα :

$$\Pi(v-b) = \Pi_o(v_o-b) \quad (2.3)$$

$$\text{ή} \quad \frac{v-b}{v_o-b} = \frac{\Pi_o}{\Pi} \quad (2.4)$$

$$\text{ή} \quad v = (v_o-b) \frac{\Pi_o}{\Pi} + b \quad (2.5)$$

Παρατηρούμε δηλαδή, ότι ο όγκος είναι γραμμικά αντιστρόφως ανάλογος της εξωτερικής τονικότητας Π .

Ο έλεγχος του κυτταρικού όγκου

Τα ζωικά κύτταρα αν και διαπερατά στο νερό αν και με συμπεριφορά ανάλογη με τα οσμωμέτρα χρειάζονται ακριβή ρύθμιση του όγκου τους. Αυτή η ρύθμιση είναι βασική κυτταρική λειτουργία, που αν λείπει οδηγεί σε κυτταρική διόγκωση και λύση.

Τέσσερες φυσικές αρχές² καθορίζουν τον κυτταρικό όγκο.

- 1) Η θερμοδυναμική ισορροπία του νερού ή αλλιώς η οσμωτική ισορροπία.
- 2) Τα ιόντα, που διαχέονται ελεύθερα να υπακούουν στην ισορροπία Donnan.
- 3) Να έχουμε ηλεκτρική ουδετερότητα.
- 4) Να μην υπάρχει υδροστατική διαφορά εσωτερικού-εξωτερικού μια και οι ζωϊκές μεμβράνες διαστέλλονται εύκολα (δεν διαθέτουν στέρεα κυτταρικά τοιχώματα) και δεν μπορούν να αντέξουν διαφορές πίεσης.

Οι παρακάτω μηχανισμοί θα μπορούσαν να αποτρέψουν μια οσμωτική διόγκωση του κύτταρου.

Συσταλτικός μηχανισμός¹

Υπάρχουν ζωικά κύτταρα, που διατηρούν τον όγκο τους ακόμα και μετά τη δέσμευση της ανάλιας Na^+/K^+ .

Μια πρωτεΐνη, ανάλογη της μυοσΐνης, που απομονώθηκε απ' τις μεμβράνες, έκανε πιθανή την ευθύνη ενός συσταλτικού μηχανισμού για την εκροή του νερού. Επίσης έχουν απομονωθεί όμοιες με την ακτίνη ή και την ακτινο-μυοσΐνη πρωτεΐνες από κύτταρα μη μυϊκών ιστών. Τα ιόντα Ca^{++} , και το ATP παίζουν ρόλο (ανάλογο με της μηχανοχημικής υπόθεσης) στη φυσιολογική λειτουργία της ελαστικότητας της μεμβράνης.

Η μηχανική επιφανειακή τάση της μεμβράνης

Όταν αυξάνει ο όγκος λόγω της επιφανειακής τάσης γ , εμφανίζεται μία πίεση στο εσωτερικό ΔP αντιστρόφως ανάλογη της ακτίνας R του κύτταρου.

$$\Delta P = \frac{2\gamma}{R} \quad (3.1)$$

(για σφαιρικά κύτταρα)

Άρα, όσο το κύτταρο διογκώνεται, τόσο ελαττώνεται η διαφορά πίεσης.

Η «ενεργός» μεταφορά νερού

Το κύτταρο θα μπορούσε να αντλεί ενεργά προς τα έξω το νερό, που εισρέει. Αυτή όμως είναι μία σπάνια και ειδική περίπτωση για τη ρύθμιση του κυτταρικού όγκου.

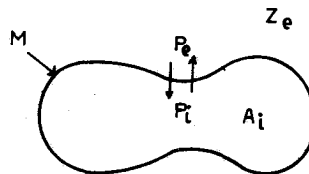
Η διπλή ισορροπία Donnan

Δηλαδή οσμωτική εξισορρόπηση με την άνιση κατανομή των ιόντων που αυτή επιφέρει μεταξύ κύτταρου και περιβάλλοντος.

Παρ' όλα αυτά όμως ο κυρίαρχος μηχανισμός στη ρύθμιση του όγκου και στην κίνηση του νερού είναι μεταβολικά συζευγμένες μεταβολές στην άντληση και στην παθητική διάχυση των ιόντων, ιδιαίτερα του Na^+ , του K^+ και του Cl^- . Έτσι στη νέα στάσιμη κατάσταση όγκου φτάνουμε ενεργά με δαπάνη μεταβολικής ενέργειας⁵.

Ο ρόλος των ιόντων στην κίνηση νερού και στη διατήρηση του όγκου

Ας περιγράψουμε τώρα το μοντέλο του Σχ. 1, που δείχνει σε υπεραπλουστευμένη μορφή ένα κύτταρο, που περικλείεται από μια ημιπερατή μεμβράνη M .



ΣΧΗΜΑ 1

P_i : είναι η ουσία, που διαχέεται απ' τη μεμβράνη στο εσωτερικό.

A_i : η ουσία στο εσωτερικό, που δεν περνά.

P_e : η διαχεόμενη ουσία στο εξωτερικό του κύτταρου.

Z_e : η μη διαχεόμενη ουσία στο εσωτερικό.

Αν αποκλείσουμε τη δυνατότητα ενεργού μεταφοράς, τότε στη στάσιμη κατάσταση θα είναι: $P_i = P_e$ (4.1) και ο όγκος του κύτταρου θα είναι σταθερός μόνο, όταν

$$A_i = Z_e \quad (4.2)$$

Ένα τέτοιο μοντέλο διαφέρει απ' τη βιολογική πραγματικότητα, διότι τα μέσα, που περιβάλλουν τα κύτταρα, δεν διαθέτουν ουσίες, που δεν περνούν την μεμβράνη και έτσι ο παράγων Z_e είναι είτε ανύπαρκτος είτε πολύ μικρός (στην περίπτωση των πρωτεϊνών του πλάσματος) σε σύγκριση με τον A_i .

Αν τώρα δεν υπάρχει ενεργός μεταφορά και είναι $P_i = P_e$, επειδή Z_e δεν είναι ίσο πια με το A_i , θα είχαμε συνεχή εισροή νερού μέχρι την καταστροφή του κύτταρου. Τα κύτταρα των φυτών και των βακτηρίων αντιδρούν σε μια τέτοια διεργασία διαθέτοντας σταθερά κυτταρικά τοιχώματα. Για τα ζωικά κύτταρα η απουσία τοιχωμάτων σταθερών οδηγεί στην ανάγκη ανάπτυξης ιδιαίτερων ρυθμιστικών μηχανισμών πάνω στη μεμβράνη.

Ένας τέτοιος μηχανισμός θα μπορούσε να είναι η ενεργός μεταφορά του νερού. Η μέθοδος όμως, που επιλέχθηκε για το σύνολο σχεδόν των ζωικών κυττάρων, είναι αυτή των αντλιών, που μεταφέρουν τη διαχεόμενη ουσία ενεργά προς τα έξω με αποτέλεσμα να διατηρείται η P_i σε χαμηλά επίπεδα σε σχέση με την P_e και να εξισορροπείται έτσι η A_i . Για την ισορροπία όγκου θα είναι :

$$A_i + P_i = P_e \quad (4.3)$$

Στη στάσιμη κατάσταση η ολική εκροή του P (απ' την «αντλία» και την «διαρροή» θα είναι ίση με την εισροή λόγω διαρροής και, αν p και l οι συντελεστές «αντλίας» και «διαρροής» αντίστοιχα, θα είναι :

$$lP_i + pP_i = IP_e \quad (4.4)$$

Απ' τις εξισώσεις (4.3), (4.4) έχω :

$$A_i = \frac{p}{1+p} P_e = \frac{l}{\frac{l}{p} + 1} P_e \quad (4.5)$$

Αν τώρα είναι X_i η ποσότητα της ύλης του πρωτοπλάσματος (σταθερά) και V ο όγκος του κύτταρου, θα είναι :

$$A_i = \frac{X_i}{V} \quad (4.6)$$

και τελικά

$$V = \left(\frac{X_i}{P_e} \right) \left(1 + \frac{1}{p} \right) \quad (4.7)$$

Παρατηρούμε δηλαδή, ότι ο όγκος εξαρτάται :

α) απ' τη συγκέντρωση της ουσίας P στο εξωτερικό.

β) απ' την ποσότητα X_i της ακίνητης ουσίας στο εσωτερικό και

γ) τη σχέση των συντελεστών «διαρροής» προς «αντλία».

Αν δηλαδή τα κύτταρα προσαρμόζονται γρήγορα αποδίδοντας αμέσως τη διαρροή με το περιβάλλον μέσο (το I μεγάλο), τότε μεγαλώνει ο όγκος.

Αν πάλι η αντλία σταματά ή ελαττώνεται (μικρό p), τότε πάλι αυξάνει ο όγκος.

Σε σχέση με την Π το κύτταρο συμπεριφέρεται σαν οσμόμετρο. Ο δε όγκος μεταβάλλεται μέχρις ότου πληρωθεί η σχέση (4.7).

Στα πραγματικά κύτταρα τον κύριο ρόλο σα διαχεόμενη ουσία τον παίζουν ιόντα που, λόγω της ύπαρξης σταθερών πολυανιόντων στο εσωτερικό, υπακούουν στην κατανομή Donnan. Επίσης η διατήρηση της ηλεκτρικής ουδετερότητας μας υποχρεώνει να δεχτούμε κατά την άντληση και τη διαρροή είτε τη συμμεταφορά κατιόντων μαζί με ανιόντα είτε την ανταλλαγή κατιόντων μεταξύ τους.

1η Περίπτωση : Συμμεταφορά κατά την άντληση ενός κατιόντος (M) με ένα ανιόν (B).

Ηλεκτρογεννητική αντλία, που μεταφέρει προς τα έξω Na^+ μαζί με Cl^- και νερό. Ανατέλλεται από χαμηλές θερμοκρασίες, είναι ανεξάρτητη απ' το K^+ , είναι ευαίσθητη στο εθακρινικό οξύ αλλά δεν επηρεάζεται απ' το Quabain.

Έστω π.χ., ότι κατά την άντληση Na^+ μεταφέρεται Cl^- . Θα είναι τώρα στη στάσιμη κατάσταση :

$$IM_iB_i + pM_iB_i = IM_eB_e \quad (4.8)$$

Λόγω της ηλεκτρικής ουδετερότητας

$$M_e = B_e \quad (4.9)$$

και

$$M_i = B_i + A_i \quad (4.10)$$

και για την οσμωτική ισορροπία :

$$B_i + A_i + M_i = B_e + M_e \quad (4.11)$$

Επιλύοντας, όπως προηγούμενα, το σύστημα των εξισώσεων, θα έχω για τον όγκο μια ανάλογη σχέση με την (4.7) δηλ. :

$$V = \left(\frac{X_i}{M_e} \right) \left(1 + \left(\frac{1}{p} \right) \right) \quad (4.12)$$

2η Περίπτωση : Ύπαρξη και δεύτερου κατιόντος N

Έστω π.χ. ιόντα K^+ , που κατανέμονται παθητικά κατά την ενεργό εκροή Na^+ . Για το δεύτερο αυτό κατιόν αν n είναι ο συντελεστής «διαρροής», θα είναι :

$$nN_i B_i = nN_e B_e \quad (4.13)$$

Μαζί με τις σχέσεις της προηγούμενης περίπτωσης καταλήγουμε πάλι στην ίδια σχέση (4.12). Στον παρονομαστή βρίσκεται πάλι η συγκέντρωση M_e του ιόντος, που αντλείται. Έτσι και η ύπαρξη δεύτερου κατιόντος δεν αλλάζει τη σχέση. Πάρα πέρα για το M_i θα είναι :

$$M_i = M_e + N_e \left(1 - \frac{1}{r} \right) \quad (4.14)$$

δηλαδή $M_e \neq M_i$ διαφορά απ' την προηγούμενη περίπτωση.

3η Περίπτωση : Ενεργός εκροή του M συνοδεύεται με ταυτόχρονη ενεργό εισροή του άλλου κατιόντος N .

Αποβάλλεται Na^+ σε ανταλλαγή με K^+ . Αυτή η ανταλλαγή συνεχίζει και σε χαμηλές θερμοκρασίες επηρεάζεται απ' τη συγκέντρωση K^+ , είναι ευαίσθητη στο Quabain και δεν επηρεάζεται απ' το εθακρινικό οξύ.

Θα είναι τώρα :

$$\begin{aligned} \text{ταχύτητα ενεργού εκροής } Na^+ &= \text{ταχύτητα ενεργού εισροής } K^+ = \\ &= pM_i N_e \end{aligned} \quad (4.15)$$

Για τη στάσιμη κατάσταση θα έχω :

$$\text{Για το } Na^+ : IM_i B_i + pM_i N_e = IM_e B_e \quad (4.16)$$

$$\text{Για το } K^+ : nN_i B_i = pM_i N_e + nN_e B_e \quad (4.17)$$

(προσθέτοντας τις δύο αυτές σχέσεις έχουμε την εξίσωση, που περιγράφει την κατανομή των ιόντων Cl^-).

Η επίλυση του καινούργιου συστήματος μαζί με τις εξισώσεις (4.9), (4.10), (4.11) της πρώτης περίπτωσης μας δίνει :

$$2A_i = B_e + \frac{p}{l} N_e \pm \left[\left(B_e + \frac{p}{l} N_e \right)^2 - 4 \frac{p}{l} N_e M_e \frac{\left(\frac{n}{l} \right) - 1}{\frac{n}{l}} \right]^{1/2} \quad (4.18)$$

Αν τώρα N_e (συγκέντρωση K^+) μικρότερη από M_e , τότε $\frac{M_e}{B_e}$ είναι περίπου 1.

$$\text{αν } n \gg 1 \quad \text{ο όρος } \frac{\frac{n}{l} - 1}{\frac{n}{l}} = 1$$

Παίρνουμε σαν λύση :

$$A_i = \frac{P}{I} \cdot N_e \quad (4.19) \text{ για } n \gg 1 \text{ και } A_i = 0 \quad (4.20) \text{ όταν } n = 1.$$

Γίνεται φανερό, ότι το A_i μεταβάλλεται μέσα στα όρια των εξισώσεων (4.19) και (4.20).

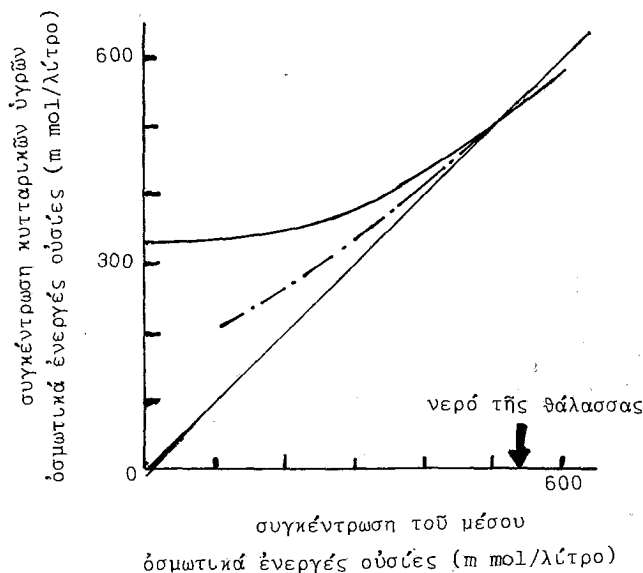
Αν τώρα ισχύει η (4.20) και επειδή $A_i = \frac{X_i}{V}$, τότε ο όγκος θα τείνει στο άπειρο, όταν $n = 1$. Άρα, αν έχουμε ενεργό άντληση ιόντων Na^+ προς τα έξω με ταυτόχρονη ενεργό εισροή K^+ προς τα μέσα και οι ταχύτητες επαναδιαρροής τους είναι ίδιες, δεν μπορεί να σταθεροποιηθεί ο όγκος.

Αν όμως τώρα η επαναδιαρροή του K^+ είναι ταχύτερη απ' αυτή του Na^+ , μπορούμε να επιτύχουμε τώρα οσμωτική ισορροπία (είναι τώρα το KCl , που αποβάλλεται απ' το κύτταρο). Γεγονός που παρατηρήθηκε και στα κύτταρα της *Tetrahymena pyriformis*³.

Η ρύθμιση του κυτταρικού όγκου σε ανισοτονικά μέσα

Τα υδρόβια ζώα τα διακρίνουμε σε δύο κατηγορίες: Εκείνα, που ζουν σε στενές διακυμάνσεις εξωτερικής οσμωτικότητας (stenohalines) και εκείνα, που ζουν σε μεγάλες διακυμάνσεις εξωτερικής οσμωτικότητας (eurhalines).

Σε άλλα ζώα τα υγρά του σώματος αλλάζουν την οσμωτικότητά τους με το



ΣΧΗΜΑ 2 : Η συμπεριφορά των κυττάρων απέναντι στην εξωτερική συγκέντρωση ενεργών οσμωτικά ουσιών.

Κύτταρα οσμωρυθμιστικά (—)

Κύτταρα οσμωμεταβλητά (-·-·-·-)

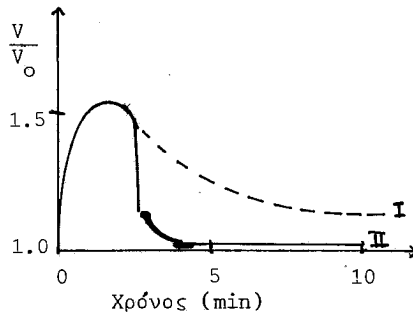
περιβάλλον (οσμωμεταβλητά) (Osmoconformers), σε άλλα η εσωτερική οσμωτικότητα παραμένει σταθερή (οσμορρυθμιστικά) (Osmoregulators). Τα πρώτα έχουν την δυνατότητα μιας ευρύτερης προσαρμογής απ' τα δεύτερα (Σχ. 2)⁶:

Η ανταπόκριση στα υποτονικά μέσα

Η ανταπόκριση φαίνεται να έχει δύο φάσεις²: μια οσμωτικής διόγκωσης και μια δεύτερη οσμωτικής συρρίκνωσης, που διαρκεί περισσότερο και είναι αυτή, που ρυθμίζει τον όγκο.

Στην πρώτη φάση τα κύτταρα διογκώνονται περισσότερο ή λιγότερο σαν τέλεια οσμώμετρα. Αυτή η διόγκωση είναι συνήθως γρήγορη, η ταχύτητά της δε, εξαρτάται απ' τη διαπερατότητα του νερού.

Κατά τη διάρκεια της φάσης της ρύθμισης του όγκου σταδιακά αυτός ελαττώνεται, μέχρις ότου φτάσει σε μια νέα στάσιμη κατάσταση ίσως ή λίγο μεγαλύτερος απ' τον αρχικό. Ο χρόνος οσμωτικής ρύθμισης κυμαίνεται από κύτταρο σε κύτταρο (Σχ. 3).



ΣΧΗΜΑ 3 : Η μεταβολή όγκου σε υποτονικά μέσα²
 Σταθεροποίηση στο ίδιο επίπεδο (II). Ελαφριά διόγκωση (I)

α) Ο ρυθμιστικός μηχανισμός ελάττωσης του όγκου σε κανονικά κύτταρα υψηλού K^+

Η κίνηση του νερού είναι τόσο γρήγορη ώστε η ενεργότητα του νερού στο εσωτερικό και το εξωτερικό του κύτταρου να είναι πιθανώς η ίδια σε κάθε δοσμένη στιγμή. Έτσι η μεταβολή του μεγέθους του κύτταρου είναι οσμωτική στο χαρακτήρα. Έχουμε μηχανισμό «ισοοσμωτικής εσωκυτταρικής ρύθμισης» μια μορφή δηλαδή ρύθμισης όγκου, που πραγματώνεται με ρύθμιση του αριθμού των ενεργών εσωτερικών οσμωτικών παραγόντων.

Κατά τη διάρκεια της φάσης ρύθμισης όγκου K^+ και Cl^- είναι αυτά, που κατά κύριο λόγο αποβάλλονται. Η συρρίκνωση φαίνεται να είναι συνέπεια μιας περίπου ισοοσμωτικής απώλειας νερού και KCl απ' το κύτταρο.

Αυτή η απώλεια KCl μπλοκάρεται απ' την ύπαρξη K_0^+ σε ένα επίπεδο ώστε να αναιρεί την ηλεκτροχημική κλίση, που είναι σχεδόν σίγουρα η κινητήρια δύναμη για την παθητική κίνηση του K^+ . Φαινόμενα που παρατηρήθηκαν και στη *Tetrahymena pyriformis*³.

Πιθανοί μηχανισμοί :

1) Αύξηση της διαπερατότητας σε K^+ της μεμβράνης. Ως γνωστόν, η διαπερατότητα της μεμβράνης σε K^+ είναι συνάρτηση του όγκου του κύτταρου και αυξάνει, όταν το κύτταρο είναι διογκωμένο· έτσι το KCl διαχέεται παθητικά μαζί με το νερό και έχουμε επαναφορά του κύτταρου σε σταθερό όγκο.

2) Αύξηση της ενεργού μεταφοράς Na^+ . Αυτό γίνεται στη διάρκεια της διογκωσης και έχει σαν συνέπεια την μέσω της ενεργού ανταλλαγής Na^+/K^+ αύξηση της συγκέντρωσης K^+ έτσι, ώστε να διευκολύνεται ο μηχανισμός 1.

β) Λειτουργικός διαχωρισμός της αντλίας ανταλλαγής Na^+/K^+ απ' τον μηχανισμό ρύθμισης όγκου

Η φάση της ρύθμισης όγκου δεν αναστέλλεται απ' το Quabaïn παρά μόνο στα διογκωμένα κύτταρα με υψηλή περιεκτικότητα σε Na , που έχει γίνει στην πρώτη φάση.

Σ' αυτήν την περίπτωση η συρρίκνωση γίνεται απ' την αύξηση της δράσης της αντλίας κατιόντων, που είναι συνέπεια της προηγούμενης αύξησης στην εσωτερική συγκέντρωση Na^+ .

Αυτού του είδους η κυτταρική συρρίκνωση μπλοκάρεται με την απομάκρυνση του εξωτερικού K^+ . Φαίνεται, ότι γίνεται μια αποσύζευξη σε τέτοια κύτταρα στο μηχανισμό ανταλλαγής Na^+/K^+ έτσι, ώστε περισσότερο Na^+ να απομακρύνεται απ' το K^+ , που προσλαμβάνεται.

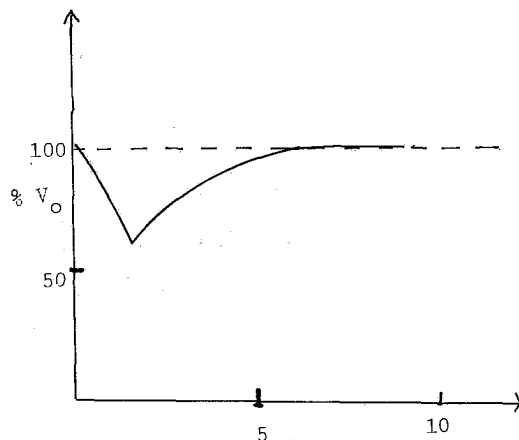
Διογκωμένα με μέση ποσότητα K^+ και Na^+ χάνουν ηλεκτρολύτη και απ' τους δύο δρόμους αντλίας και συστήματος ελέγχου, που φαίνεται να είναι διαφοροποιημένα μεταξύ τους.

γ) Ο ρόλος των ιόντων Ca^{++}

Πιθανόν η αύξηση της διαπερατότητας της μεμβράνης στο K^+ να είναι προϊόν της διαστολής της μεμβρανικής μήτρας και αύξηση της επιδεκτικότητάς της απ' το εσωτερικό στα ιόντα ασβεστίου.

Η ανταπόκριση σε υπερτονικά μέσα

Έχουμε μια συρρίκνωση και στη συνέχεια σταδιακή αύξηση του όγκου μέχρι ξαναγύρισμα στο αρχικό επίπεδο (σχ. 4). Οφείλεται : 1) Σε αύξηση της διαπερατότητας σε Na^+ , που κάνει να εισρέει ηλεκτρολύτης μαζί με νερό και έτσι την πρώτη συρρίκνωση να ακολουθεί σταδιακή επαναδιογκωση. 2) Σε ενεργό πρόσληψη K^+ και 3) Σε πρόσληψη αμινοξέων⁷.



ΣΧΗΜΑ 4 : Η μεταβολή όγκου σε υπερτονικά μέσα²

Summary

Volume Regulation in Protozoa

Water is an essential factor of living matter. Thus its transport together with all the physicochemical changes involved (e.g. transport of ions, osmotic balance, volume regulation etc) are quantitatively the principal, phenomenon of biological transport.

In this article the physicochemical laws of volume Regulation in Protozoa is reviewed, with special emphasis on the adaptation of protozoa in surrounding media hypotonic with respect to the cytoplasmic fluids.

Βιβλιογραφία

1. Kleinzeller A.: Cellular Transport of Water in Hokin, *Metabolic Pathways*, Vol. VI Metabolic Transport p. 91 Academic Press, London, New York, San Francisco (1972).
2. Hoffmann E.K.: Control of Cell Volume in Gupta, Moreton, Oschman and Wall *Transport of Ions and Water in Animals* p. 285 Academic Press, London, New York, San Francisco (1977).
3. Τσουκάτου Δ.Κ.: *Μελέτη της μεταφοράς και της ρύθμισης ιόντων στο Πρωτόζωο Tetrahymena pyriformis* Διδακτορική διατριβή (1981).
4. Dunham P.B., Child F.M.: Ion Regulation in Tetrahymena *Biol. Bull.* **126**, 373-390 (1961).
5. Stein W.D.: *The Movement of Molecules across Cell Membranes*, Academic Press, London, New York, San Francisco (1967).
6. Schmidt Nielsen B.: Comparative Physiology of Cellular ion and volume regulation *J. exp. Zool.* **194**, 207-220 (1975).
7. Kramhofs B.: Potassium uptake by Tetrahymena Pyriformis *Compt. Rend. Trav. Lab. Carlsberg* **37** N 16 (1970).

SYNTHESIS AND PHARMACOLOGICAL EVALUATION OF NEW α - (2,3,4-TRIMETHOXYPHENYL) - β - AMINO AND ALKYLAMINO-PROPANOLS

TH. SIATRA-PAPASTAIKOUDI, A. PAPADAKI-VALIRAKI, G. TSATSAS and ZOE PAPADOPOULOU-DAIFOTI, CH. KARAGEORGIU

Laboratory of Pharmaceutical Chemistry, University of Athens, 104, Solonos Street, Athens-144, Greece and Laboratory of Experimental Pharmacology, University of Athens, Goudi, Athens-609, Greece.

(Received October 9, 1981)

Summary

A series of α -(2,3,4-trimethoxyphenyl)- β -amino and alkylaminopropanols were synthesized and an initial study of their pharmacological activity was carried out. It was found that most of these compounds exhibited sympathomimetic activity and that the lethal dose did not differ greatly from the effective sympathomimetic dose.

Key words : α -(2,3,4-trimethoxyphenyl)- β -amino and alkylamino propanols. Synthesis. Pharmacology.

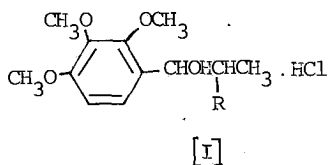
Introduction

The prepared compounds have enough structural similarity to methoxamine [erythro- α -(2,5-dimethoxyphenyl)- β -aminopropanol], a pharmacologically active α -adrenergic stimulant. The propanoloamine sidechain (with substituents of varying bulk on nitrogen) and the methoxy groups on the moiety of the prepared compounds, are considered to be necessary for eliciting sympathomimetic activity.

On the basis of our pharmacological test results, the N-substituted compounds have showed a sympathomimetic action, (the bulkier the substituent the greater activity), while no physiological properties of significant interest were found with the non-substituted derivative.

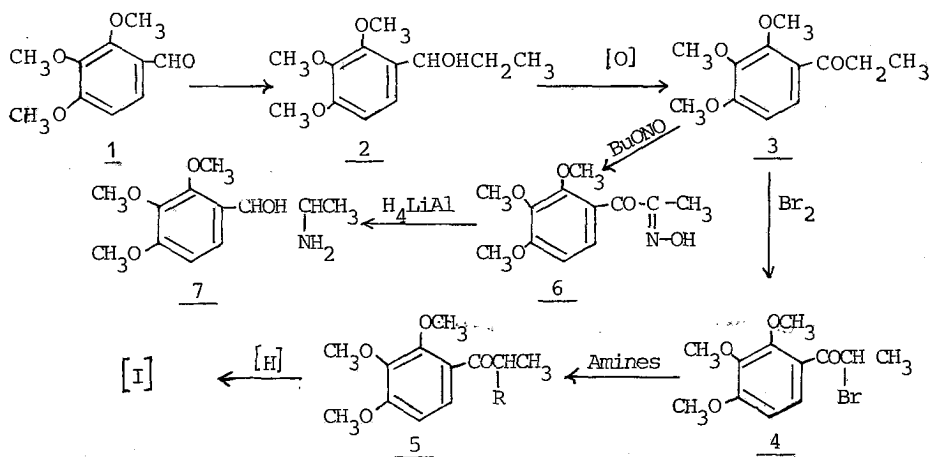
Chemistry

The compounds prepared correspond to the general formula (I), where $R = NH_2$ or alkylaminogroups (Table II).



For the preparation of the above compounds 2,3,4-trimethoxy-benzaldehyde 1 was used as starting material (Scheme 1). The reaction of 1 with ethylmagnesium-bromide¹ yielded the α -ethyl-2,3,4-trimethoxybenzylalcohol 2 which, on oxidation with $K_2Cr_2O_7$ ² gave 2,3,4-trimethoxypropiophenone 3 which has also been prepared previously with other methods^{3,4}.

Bromination of 3 in chloroform⁵ afforded the respective α -bromo-propiophenone 4 which by reaction with the appropriate amines gave the N-substituted α -amino-2,3,4-trimethoxypropiophenones 5. The solvent used in this reaction was anhydrous Et_2O ⁶, except, in the case of t-butylamine which was prepared according to Baltzly and al⁷ using acetonitrile as solvent.



SCHEME 1

Data on compounds of 5 are presented in Table I.

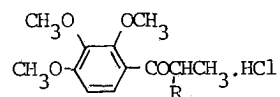
The hydrochlorides of the aminoketones 5 were subsequently hydrogenated in the presence of 10% Pd-C to afford the N-substituted compounds of the formula (I).

By analogy with previously reported^{7,8,9} stereospecificity of the catalytic hydrogenation of the salts of aminoketones, these products are expected to be *erythro*-isomers.

Data on the compounds of the general formula (I) are presented in Table II.

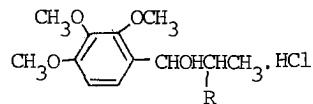
For the preparation of the α -(2,3,4-trimethoxyphenyl)- β -aminopropanol 7, 3 was converted to the isonitrosoketone 6 by BuONO, in ether, in the presence of dry hydrogen chloride, which was subjected to hydrogenation with $LiAlH_4$ ⁶ (Scheme 1).

TABLE I



No	R	Elemental composition	Yield %	Mp (°)	ANALYSES							
					Calculated %				Found %			
					C	H	N	Cl	C	H	N	Cl
8	HN-C(CH ₃) ₃	C ₁₆ H ₂₆ ClNO ₄	75	138	57,9	7,9	4,22	10,68	58,0	7,5	4,00	11,03
9	-N-CH ₂ CH ₂ OCH ₂ CH ₂	C ₁₆ H ₂₄ ClNO ₅	85	202	55,57	7,0	4,05	10,25	55,37	6,97	4,01	10,29
10	-N-CH ₂ (CH ₂) ₃ CH ₂	C ₁₇ H ₂₆ ClNO ₄	91	162	59,38	7,62	4,07	10,31	59,19	7,61	3,99	10,32
11	-HN-CH(CH ₂) ₃ CH ₂	C ₁₇ H ₂₆ ClNO ₄	72	206	59,38	7,62	4,07	10,31	58,9	7,40	4,45	10,0
12	HN-CH ₂ CH ₂ C ₆ H ₅	C ₂₀ H ₂₆ ClNO ₄	69	175	63,23	6,90	3,69	---	63,40	7,08	4,00	---

TABLE II



No	R	Elemental composition	Yield %	Mp (°)	ANALYSES							
					Calculated %				Found %			
					C	H	N	Cl	C	H	N	Cl
13	$\text{HN}-\text{C}(\text{CH}_3)_3$	$\text{C}_{16}\text{H}_{28}\text{ClNO}_4$	95	170	57,56	8,65	4,2	10,62	57,22	8,85	4,17	10,56
14	$-\text{N}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2$	$\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{ClNO}_5$	90	208	55,25	7,53	4,03	10,19	55,09	7,33	3,95	10,40
15	$-\text{N}-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2$	$\text{C}_{17}\text{H}_{28}\text{ClNO}_4$	93	158	59,04	8,16	4,05	10,25	58,58	7,85	3,93	10,65
16	$-\text{HN}-\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2$	$\text{C}_{17}\text{H}_{28}\text{ClNO}_4$	93	160	59,04	8,16	4,05	10,25	59,43	8,58	3,88	10,65
17	$\text{HN}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$	$\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{ClNO}_4$	88	165	62,90	7,39	3,67	---	62,66	7,33	3,42	---

Pharmacological results and conclusions

During a program of blind screening, a sympathomimetic agent may sometimes be recognized by the presence of effects such as mydriasis, increase in the depth and rate of respiration, increase in motor activity, piloerection, and sensitivity to handling. Identification of sympathomimetic activity requires considerable experimentation although epinephrine functions by stimulating specific receptors directly, other agents may function by less pure or less direct mechanisms¹⁰.

Materials and methods

The experimental animals were inbred white mice of a sures substrain (23 ± 3 g) and white rabbits New Zealand born, raised in the laboratory and used only once. The day preceding the experiments the animals were transferred from the breeding quarters to the experimental room (constant environment). The animals were starved overnight but had free access to tap water. One hour prior to testing they were isolated in individual observation cages. All experiments were performed by trained technicians using various concentrations of the compounds contained in identical coded bottles.

General behaviour

Mice were treated i.p. with different doses of test compounds. General behaviour was observed for 2 hrs after administration of test compounds.

Acute toxicity

Acute toxicity was tested by single application of various doses. A minimum of 5 dose groups were used. Mortality was observed and recorded for 72 hours.

Mydriasis

Mice of either sex and weighing 15,5 to 16,5 g were used. The mice were placed singly in glass jars on a white table beneath a fluorescent light in an otherwise dark room. After 1/2 hour the pupil diameter of the mice is measured by means of a graduated scale in the eyepiece of a dissecting microscope.

The animals are then injected with a drug. The pupil diameter is again determined after 10, 20 and 30 minutes. A group of mice is used for each dose level¹¹.

Inhibitory effect on isolated intestine preparations

A rabbit was killed by a blow on the head. The abdomen was opened and the intestine was cut at a point 5 to 10 cm below the stomach and a length taken from here downwards towards to caecum.

A length of 2-3 cm of jejunum was removed and placed in a bath containing Tyrode solution gassed with a mixture of 95% O₂ and 5% CO₂. Its temperature was kept at 37°C¹².

Results

General Behaviour

In animals treated with doses 5-10 mg/kg* spontaneous motility was reduced. Duration of decreased motility was dose dependent and followed by clonic convulsions in higher doses.

Acute toxicity

Respective LD₅₀ are summarized in Table III. Clonic convulsions were induced by lethal doses.

TABLE III

Test Compound	LD ₅₀ (mg/kg) i.p.
13	145
14	450
15	165
16	115
17	450
7	90

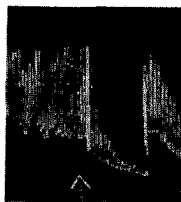
Mydriasis

Mydriasis was detected after i.v. injection of 10 mg/kg of all tested substances into laboratory animals. The peak of the effect appeared in 2 minutes and endured for 10 minutes. The effect was greater and longer after subcutaneous injection of 2 mg/kg morphine.

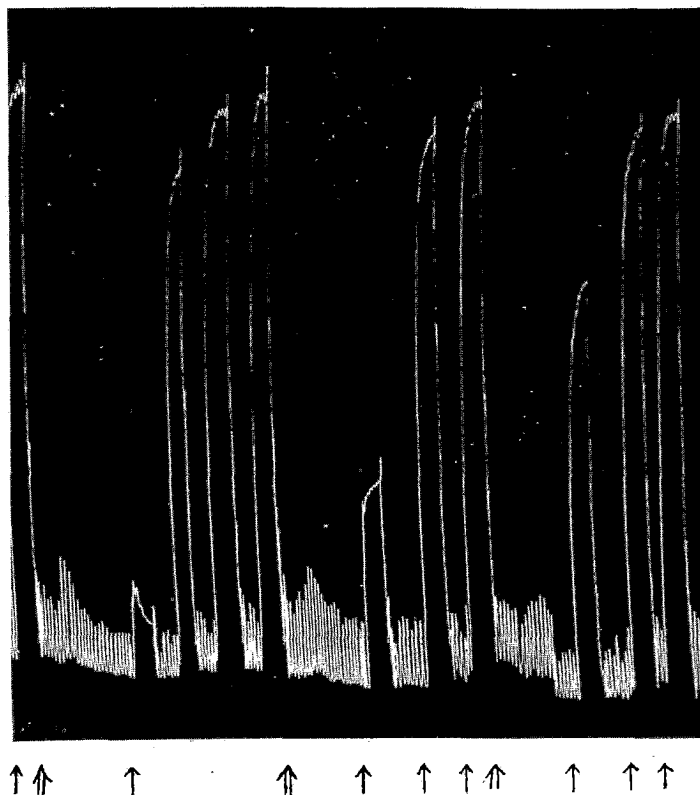
Isolated preparation

The most potent compound was the phenethylamine analogue 17 followed by the piperidine 15 t-butyl 13, cyclopentylamine 16 and morpholine 14 analogues. The unsubstituted on nitrogen compound 7 failed to show any inhibitory effect on the isolated intestine preparation.

The spontaneous activity of the tissue and the contraction caused by acetylcholine was inhibited by the above test compound 17 as shown in pictures (1,2).



PICT. 1 : *Inhibition of spontaneous activity of rabbit intestine after 5 mg of the test compound (T.C.) 17.*



PICT. 2 : Inhibition of Acetylcholine contractions after three different doses of the T.C. 17.
↑ = 20mg Ach † = 2,5, 1,5, 1,0 mg of the T.C. 17.

The inhibition was dose related (Figure 1). The inhibitory effect of the compounds was shown as well as on the intrinsic tone of the rabbit intestine as on the contraction caused by acetylcholine.

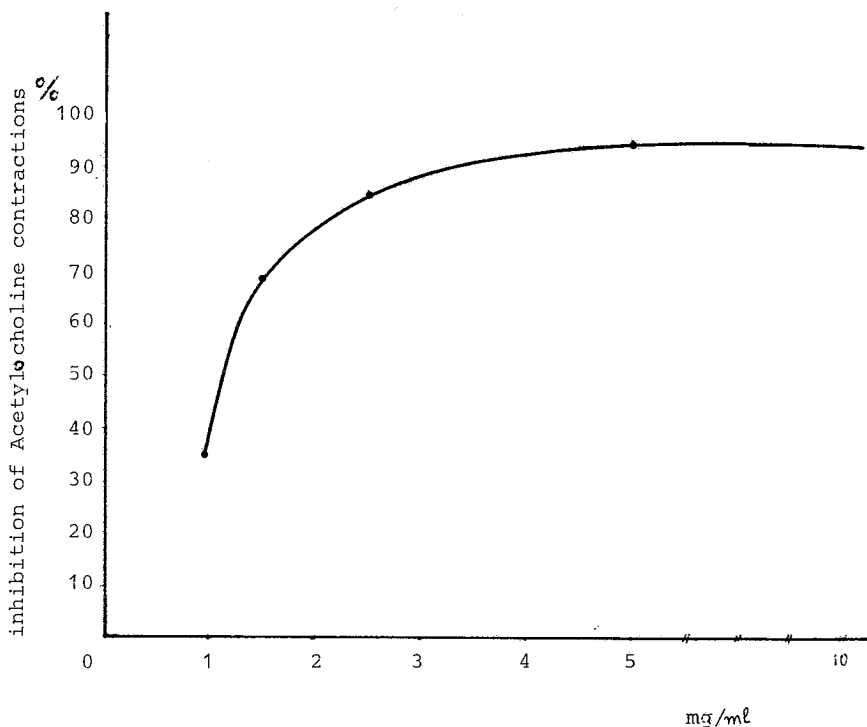
Dose response curve of 17

FIG. 1

Conclusions

Most of the substances tested could be recognized as sympathomimetic agents both from the mydriasis test and from their inhibitory effect on the isolated intestinal preparation. However the acute toxicity test revealed that the lethal dose didn't differ greatly from the sympathomimetic dose level.

Experimental

All new compounds were characterized by IR spectra and elemental analysis. The spectral data confirm the structures of the compounds obtained. Melting points were determined on a Büchi apparatus with open capillary tubes and are uncorrected, IR spectra (KBr) were obtained with a Perkin Elmer 177 spectrophotometer. Analyses indicated by elemental symbols were within $\pm 0,4\%$ of the theoretical values and were performed in the Service Central de Microanalyse of the CNRS (France) and in the Analytical Laboratory of the National Research Foundation (Greece).

2,3,4-trimethoxypropiofenone 3

To a stirred and cooled suspension of ethylmagnesium bromide (Mg: 1,69g 0,07 mol, C_2H_5Br : 6,22 ml 0,083 mol) in Et_2O (150 ml), a Solution of 1 (9,81g 0,05 mol) in Et_2O (30 ml) was added dropwise. The mixture was left overnight and then hydrolysed with water and dilute hydrochloric acid. The ethereal layer was separated, washed successively with water, 10% NaOH, water, and dried (Na_2SO_4), and the solvent was evaporated. The oily residue of 2 (10,5g 0,047 mol) was added to a cooled and stirred solution, prepared from 12,8g $K_2Cr_2O_7$ in 91 ml of water in which 7,84 ml of concentrated H_2SO_4 were added. When the addition was completed, the mixture was extracted with Et_2O and the extracts washed with 5% $NaHCO_3$ until neutral reaction, and saturated NaCl. After drying (Na_2SO_4) and evaporation of the Et_2O , distillation of the residue yielded 3 (6,5g 62%). Bp $121-2^\circ$ (0,4 mm) Lit. $118-9^\circ$ (0,2 mm)⁴ $131-8^\circ$ (4 mm)³.

2,3,4-trimethoxy- α -bromopropiofenone 4

To a solution of 3 (6,5g 0,029 mol) in chloroform (65 ml) a solution of bromine (1,5 ml) in chloroform (10 ml) was added dropwise with stirring and cooling. The mixture was allowed to stand for 15 min, then washed with 5% $NaHCO_3$ and water, dried (Na_2SO_4) and the solvent was evaporated. Distillation of the residue yielded 4 (7g 85%). Bp $145-7^\circ$ (0,1 mm).

Analysis : $C_{12}H_{15}BrO_4$ Calc % Br: 26,39
Found % 26,03

The method used to prepare the aminoketones 9-12 (Table I) is illustrated by the following procedure :

2,3,4-trimethoxy- α -morpholinopropiofenone 9

To a solution of 4 (4g 0,0132 mol) in anhydrous Et_2O (50 ml) a solution of morpholine (4,75g 0,065 mol) in Et_2O (30 ml) was added dropwise with stirring and cooling. The reaction mixture was stirred at room temperature for 48 hr. The precipitate formed (morpholine hydrobromide) was filtered and washed with Et_2O . The filtrate was concentrated and purified by chromatography on a neutral Al_2O_3 column with Et_2O as an eluent. The evaporation of the solvent afforded the oily base which was converted into the hydrochloride with alcoholic HCl. The salt was recrystallised from absolute $EtOH$ -anhydrous Et_2O .

Yields of bases, melting points of purified hydrochlorides and analytical data (C,H,N,Cl) are given in Table I.

The method used to prepare the aminoketone 8 was the following :

2,3,4-trimethoxy- α -t-butylaminopropiofenone 8

To a solution of 4 (5g 0,0165 mol) in MeCN (12g) t-butylamine (5g 0,068 mol) was added and the solution was allowed to stand for 21 hr. At that time some solid (t-butylamine hydrobromide) was separated. Anhydrous Et_2O (100 ml) was added and after a few minutes the solution was filtered from the separated salt which was washed with Et_2O . The filtrate was washed with water, dried (K_2CO_3) and

evaporated in vacua. The oily residue was converted to hydrochloride which was crystallized from absolute EtOH-anhydrous Et₂O (Table I).

The method used to prepare the aminoalcools 13-17 of the Table II is illustrated by the following procedure:

α-(2,3,4-trimethoxyphenyl)-β-morpholinopropanol 14

A solution of 9.HCl (2g 0,006 mol) in absolute EtOH (50 ml) was hydrogenated under pressure (≈ 50 lbs/in²) in the presence of 0,7g 10% Pd-C. Absorption of H₂ was complete in about 2 hr. After removal from the catalyst the solution evaporated to about 10 ml and diluted with anhydrous Et₂O. The salt precipitated was filtered and recrystallized from absolute EtOH-anhydrous Et₂O.

Yields, melting points and analytical data of purified hydrochlorides (C,H,N,Cl) are given in Table II.

2,3,4-trimethoxy-α-isonitrosopropiophenone 6

Dry HCl was bubbled through a stirred solution of 3 (13,38g 0,06 mol) in Et₂O (50 ml) and an equimolar quantity of freshly prepared butyl nitrite (6,3g 0,06 mol) was slowly added. When the addition was completed the bubbling of HCl was continued for 30 min. The reaction mixture was allowed to stand overnight and was poured slowly with stirring to a mixture of 30% NaOH and ice. The aqueous alkaline solution was acidified with concentrated HCl and the isonitrosoketone formed was extracted with Et₂O. The ethereal extracts after washing and drying (Na₂SO₄) were purified by chromatography on a neutral Al₂O₃ column with Et₂O as an eluent. Evaporation of the solvent gave 6 (8g 52,8%) M.p. 108°C. The product was recrystallized from benzene-hexane.

IR (KBr) $\bar{\nu}$ (N-O-H) ≈ 3220 cm⁻¹, $\bar{\nu}$ (C=O) ≈ 1680 cm⁻¹, $\bar{\nu}$ (C=N) ≈ 1630 cm⁻¹.

Analyse C₁₂H₁₅NO₅ (C,H,N) Calc % C 56,92 H 5,93 N 5,53

Found % 57,07 5,71 5,21

α-(2,3,4-trimethoxyphenyl)-β-aminopropanol 7

A solution of 6 (7,6g 0,03 mol) in Et₂O (100 ml) was added to a rapidly stirred suspension of LiAlH₄ (5g, 0,12 mol) in Et₂O (300 ml). After 3 hr of stirring at room temperature the complex formed was decomposed by adding water and 5% NaOH. The ethereal layer was filtered from the precipitate, dried (Na₂SO₄) and evaporated yielding 7 (5,7g 79%). The base was converted to hydrochloride with alcoholic HCl, which was recrystallized from absolute EtOH-anhydrous Et₂O. Mp. 183°C IR (KBr) $\bar{\nu}$ (O-H) ≈ 3350 cm⁻¹, $\bar{\nu}$ (-N-H⁺) ≈ 2700 cm⁻¹.

Analyse C₁₂H₂₀ClNO₄ (C,H,N,Cl)

Calc % C 51,89 H 7,26 N 5,04 Cl 12,76

Found % 52,10 7,28 5,09 12,85

Περίληψη

Σύνθεσις και φαρμακολογική μελέτη νέων α -(2,3,4-τριμεθοξυφαινυλο)- β -αμινο και αλκυλαμινο προπανολών.

Οι α -(2,3,4-τριμεθοξυφαινυλο)- β -αλκυλαμινοπροπανόλες παρεσκευάσθησαν από τις αντίστοιχες β -βρωμοκετόνες δι' επιδράσεως διαφόρων αμινών και αναγωγής, εν συνεχεία, της κετονομάδος. Κατά την φαρμακολογική μελέτη τα παράγωγα αυτά παρουσίασαν συμπαθομιμητικές ιδιότητες, πλην όμως η μέση θανατηφόρος δόσις δεν διέφερε ουσιαστικά από την δραστική.

Η α -(2,3,4-τριμεθοξυφαινυλο)- β -αμινοπροπανόλη, παρεσκευάσθη δι' αναγωγής της αντιστοίχου α -ισονιτρωδο-προπιοφαινόνης και δεν παρουσίασε συμπαθομιμητική δράση.

References and Notes

1. Douetteau, R.: *Bull. Soc. Chim. Franc.*, **11** (4), 656 (1912).
2. Krannichfeld, H.: *Chem. Ber.*, **46**, 4016 (1913).
3. Kametani, T., Ogasawara, K., Kozuka, A., Nyu. K.: *Yakugaku Zasshi*, **87** (10), 1189 (1967).
4. Richtzenhaim, H., Nippus, P.: *Chem. Ber.*, **82**, 408 (1949).
5. Tsatsas, G., Margomenou-Leonidopoulou, G.: *Bull. Soc. Chim. Franc.*, (7), 2353 (1967).
6. Tsatsas, G., Foscolos, G., Papaconstantinou-Garoufalia, S.: *Praktika of Athens Academy*, **53**, 485 (1978).
7. Baltzly, R., Mehta, N.: *J. Med. Chem.*, **11**, 833 (1968).
8. Baltzly, R., Buck, J.S.: *J. Am. Chem. Soc.*, **62**, 164 (1940).
9. Baltzly, R.: *J. Am. Chem. Soc.*, **64**, 3040 (1942).
10. Tumer, A.R.: *Screening methods in Pharmacology*, Academic Press, New York-London (1965).
11. Edge, N.D.: *Br. J. Pharmacol.*, **8**, 10 (1953).
12. Perry, W.L.M.: *Pharmacological Experiments on isolated Preparation* ERS Livingston. LTD, Edimburg and London (1968).

ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΤΕΡΠΕΝΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ ΤΗΣ MENTHA SPICATA ΜΕ ΦΑΣΜΑΤΑ ΜΑΖΩΝ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟΥ ΚΑΙ ΑΡΝΗΤΙΚΟΥ ΧΗΜΙΚΟΥ ΙΟΝΙΣΜΟΥ

Β.Π. ΠΑΠΑΓΕΩΡΓΙΟΥ, Ν. ΑΡΓΥΡΙΑΔΟΥ¹, Σ. ΚΟΚΚΙΝΗ² και Α.Σ. ΜΕΛΛΙΔΗΣ
Εργαστήριο Οργανικής Χημείας, Πολυτεχνικής Σχολής, Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης

(Ελήφθη 5 Ιανουαρίου 1982)

Περίληψη

Σ' αυτή την εργασία μελετάται η χημειοταξινομική διαφοροποίηση των τερπενικών παραγώγων των αιθερίων ελαίων των υποειδών *spicata* και *tomentosa*, του αρωματικού φυτού *Mentha spicata*. Η ταυτοποίησή τους έγινε με τη βοήθεια αερίου χρωματογραφικής ανάλυσεως και συνδυασμένης φασματοσκοπίας μαζών (GLC-MS). Ειδικότερα, η ταυτοποίηση ορισμένων οξυγονούχων τερπενίων έγινε με τη βοήθεια φασμάτων αρνητικού χημικού ιονισμού (NICI, Negative Ion Chemical Ionization). Από τη μελέτη των φασμάτων διαπιστώθηκε η παρουσία πενήντα συστατικών για το υποείδος *tomentosa*, από τα οποία διευκρινίσθηκε η δομή των εικοσιέξι. Σαν κύριο συστατικό βρέθηκε το εποξείδιο της πιπεριτενόνης (67,98%). Αντίστοιχα στο υποείδος *spicata* ανιχνεύθηκαν τριάντα συστατικά και διευκρινίσθηκε η δομή των εικοσιέξι, ενώ το κύριο συστατικό ήταν η καρβόνη. (39, 75%).

Ορολογία : Αιθέρια έλαια, κατώτερα τερπενοειδή, χημειοταξονομία, *Mentha spicata*, *Mentha tomentosa*, ανάλυση GC-MS, φάσματα αρνητικού χημικού ιονισμού.

Εισαγωγή

Πρόσφατες βοτανικές μελέτες³ διαχώρισαν το είδος *Mentha spicata* σε δύο υποείδη: την *M. spicata* subsp. *spicata* και την *M. spicata* subsp. *tomentosa*. Η διάκριση αυτών των υποειδών στηρίζεται κυρίως σε μορφολογικά χαρακτηριστικά (σχήμα, διαστάσεις και μορφή φύλλων, τρίχωμα κλπ.).

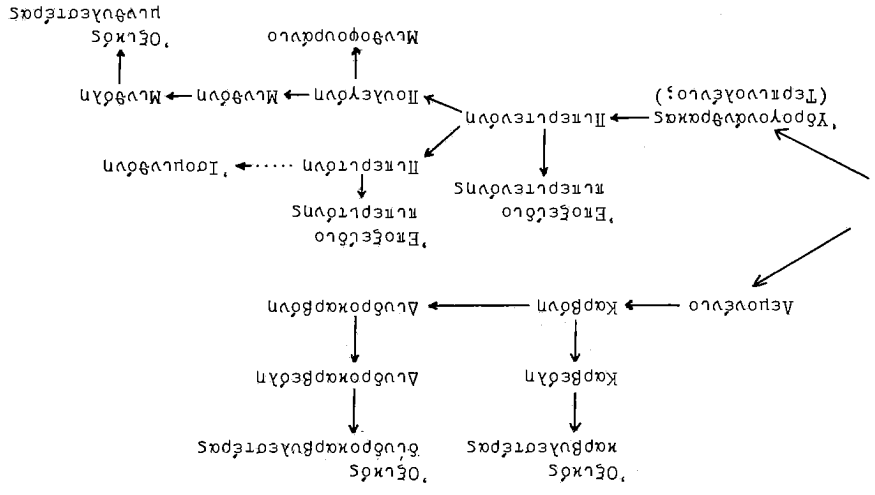
Το υποείδος *spicata* ανήκει στα βιομηχανικά αρωματικά φυτά εξ αιτίας του μεγάλου τεχνολογικού ενδιαφέροντος που παρουσιάζει το αιθέριο έλαιό του (πρόσθετο τροφίμων, καλλυντικών κ.α.) και ιδιαίτερα η τερπενική κετόνη καρβόνη που αποτελεί το κύριο συστατικό του. Στην Ελλάδα καλλιεργείται μόνο σε κήπους και είναι γνωστό με την κοινή ονομασία δυόσμος.

Το υποείδος *tomentosa* είναι ευρύτατα διαδεδομένο στην περιοχή της Ανατολικής Μεσογείου και το αιθέριο έλαιό του δεν παρουσιάζει κανένα τεχνολο-

γικό ενδιάμεσον. Αυτό το υποείδος χαρακτηρίζεται από τη μεγάλη ποικιλία από την άποψη της μορφολογίας και της χημικής σύστασής των αιθέρων ελαίων του. Σκοπός αυτής της εργασίας είναι η μέγιστη των τερπενικών συστατικών των αιθέρων ελαίων αυτοφύων πληθυσμών που ανήκουν στα υποείδη *spicata* και *tomentosa*. Με αυτόν τον τρόπο επιδιώκεται η δημιουργία χημικής ταυτότητας, ώστε να είναι δυνατή η χρησιμοποίησή των δύο υποείδων.

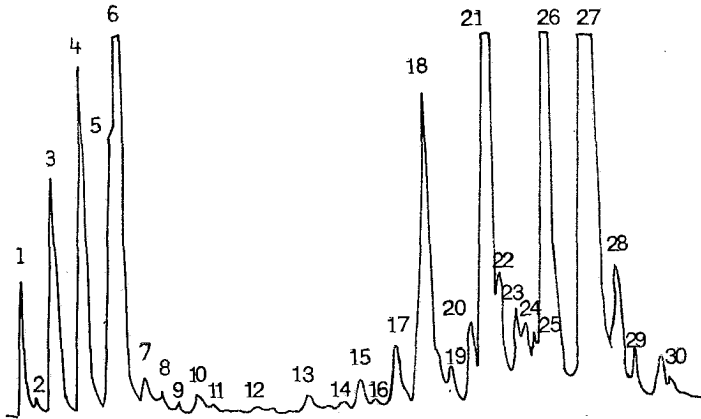
Αποτελέσματα-Συζήτηση

Το τεχνολογικό ενδιάμεσον των αιθέρων ελαίων του γένους *Mentha* αποτελεί- λάζετο κίνητρο για πολλούς βιοχημικούς να αναλάβουν τη διερεύνηση των βιοσυνθετικών δρόμων που οδηγούν στη βιογένεση των κυριότερων συστατικών τους. Συνδυασμένες γενετικές και βιοχημικές μελέτες⁴ καθόρισαν τους κυρι- ότερους μεταβολικούς δρόμους (εικ. 1).

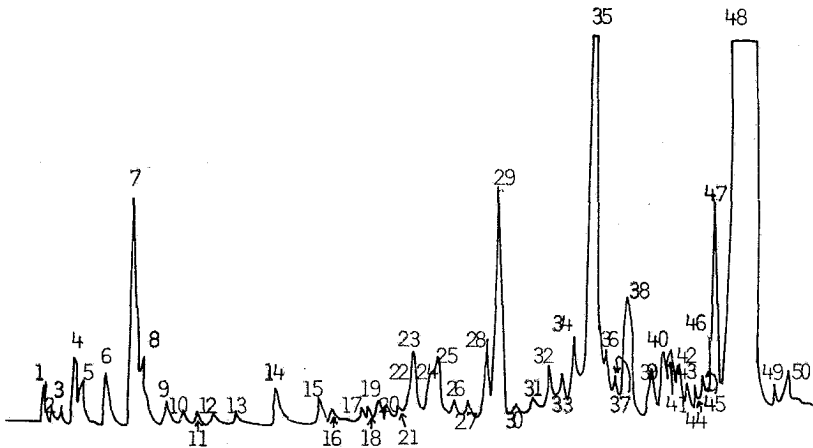


ΕΙΚ. 1 : Βιογενετική αλληλεπιδράση ενώσεων που βρέθηκαν στα αιθέρια έλαια του γένους *Mentha*

Έχοντας υπόψη τα συμπεράσματα των βιογενετικών μελετών του γένους *Mentha* επιδιώξαμε την ταυτοποίηση των τερπενικών συστατικών των αιθέρων ελαίων των δύο υποείδων *spicata* και *tomentosa* (με χρωματοσκοπία μάζων (GLC-MS). Τα αεριοχρωματογραφήματα αυτών των αναλύσεων δίνονται στις εικόνες 2 και 3, ενώ στον πίνακα 1 δίνονται τα ταυτοποιημένα συστατικά όπως προέκυψαν από τη μέγιστη των φασμάτων ηλεκτρονικού ιονισμού (ΕΙ).



ΕΙΚ. 2 : Αεριοχρωματογράφημα των αιθερίων ελαίων του υποειδούς *spicata*. 1.α-Πινένιο 2.Καμφένιο 3.β-Πινένιο 4.Μυρκένιο 5.Λεμονένιο 6. 1,8-Κινεόλη 7. Ώγκιμένιο 8.γ-Τερπινένιο 9.π-Κυμένιο 11.Τερπινολένιο 12.Οξικός 3-οκτυλεστέρας 13.Αλδεύδη 14.Βαλεριανικός αμυλεστέρας και δεϋδρο-π-κυμένιο 15.Βαλεριανικός εξυλεστέρας 16.Βαλεριανικός εξενυλεστέρας 17.α-Κοπαένιο 18.β-Βουρβονένιο 21.Διυδροκαρβόνη 22.Καρφουλλένιο 26.Οξικός διυδροκαρβυλεστέρας και οξικός τερπινυλεστέρας 27.Καρβόνη και ίχνη ναφθαλινίου.



ΕΙΚ. 3 : Αεριοχρωματογράφημα των αιθερίων ελαίων του υποειδούς *tomentosa*. 1. α-Πινένιο 3. Καμφένιο 4. β-Πινένιο 6. Μυρκένιο 7. Λεμονένιο 8. 1,8-Κινεόλη 9. γ-Τερπινένιο 10. π-Κυμένιο 11. Τερπινολένιο 14. Οξικός 3-οκτυλεστέρας 15. 3-Οκτανόλη 16. Εννεανάλη 17. Αεϋδρο-π-κυμένιο 19. Μινθόνη 21. Οξικός οκτυλεστέρας 22. Ισομινθόνη και ισοβαλεριανικός εξενυλεστέρας 23. α-Κοπαένιο 25. β-Βουρβονένιο 28. Οξικός βορνυλεστέρας 29. Καρδρανόλη 30. Πουλεγόνη 35. Γερμακρένιο D 38. δ-Καδινένιο 47. Πιπεριτενόνη 48. Εποξειδίο πιπεριτενόνης.

ΠΙΝΑΚΑΣ Ι : Αεριοχρωματογραφική ανάλυση των αιθερίων ελαίων της *M. spicata*

Συστατικά	Υποείδος R _t (min.)	<i>spicata</i> %	Υποείδος R _t (min.)	<i>tomentosa</i> %
α-Πινένιο	3,77	0,62	3,79	0,12
Καμφένιο	4,74	0,05	4,75	0,02
β-Πινένιο	5,91	1,30	5,91	0,32
Μυρκένιο	7,93	2,66	7,90	0,35
Λεμονένιο	9,83	0,40	9,74	1,68
1,8-Κινεόλη	10,31	6,88	10,27	0,41
Ωκιμένιο	12,01	0,16	—	—
γ-Τερπινένιο	13,11	0,06	11,92	0,13
π-Κυμένιο	14,55	0,02	13,06	0,03
Τερπινολένιο	16,49	0,001	14,13	0,002
Οξικός 3-οκτυλεστέρας	19,35	0,01	19,24	0,26
3-Οκτανόλη	—	—	22,20	0,14
Αλδεΐδη	22,82	0,15	—	—
Εννεανάλη	—	—	22,89	0,08
Δεϋδρο-π-κυμένιο	—	—	25,21	0,03
Βαλεριανικός αμυλεστέρας	25,53	0,02	—	—
Δεϋδρο-π-κυμένιο	—	—	26,23	0,13
Μινθόνη	—	—	26,23	0,13
Βαλεριανικός εξυλεστέρας	26,55	0,21	—	—
Οξικός οκτυλεστέρας	—	—	27,71	0,05
Βαλεριανικός εξενυλεστέρας	28,34	0,001	—	—
Ισομινθόνη	—	—	28,03	0,01
Ισοβαλεριανικός εξενυλεστέρας	—	—	28,03	0,01
α-Κοπαένιο	29,0	0,51	28,55	0,74
β-Βουρβονένιο	30,94	4,06	30,13	0,64
Οξικός βορνυλεστέρας	—	—	33,41	0,66
Καρυδρανόλη	—	—	34,23	2,00
Δυδροκαρβόνη	35,31	17,67	—	—
Πουλεγόνη	—	—	35,51	0,15
Καρυοφυλλένιο	36,07	1,10	—	—
Οξικός δυδροκαρβυλεστέρας	39,21	10,14	—	—
Οξικός τερπινυλεστέρας	—	—	—	—
Γερμακρένιο D	—	—	40,41	6,88
Καρβόνη και ίχνη ναφθαλινίου	42,11	39,75	—	—
δ-Καδινένιο	—	—	42,82	1,21
Πιπεριτενόνη	—	—	48,53	1,51
Εποξειδίο πιπεριτενόνης	—	—	50,31	67,98

Από τα δεδομένα του πίνακα I προκύπτουν τα ακόλουθα :

1. Τα αποτελέσματα των GLC-MS αναλύσεων συμφωνούν πλήρως με τους μεταβολικούς δρόμους που καθορίστηκαν από τη βιογενετική μελέτη. Συγκεκριμένα, τα μονοτερπένια του υποείδους *spicata* ακολούθησαν το βιοσυνθετικό δρόμο της καρβόνης, ενώ τα μονοτερπένια του υποείδους *tomentosa* ακολούθησαν το βιοσυνθετικό δρόμο της πιπεριτενόνης (εικ. 1). Αυτό επιβεβαιώνεται από την ανεύρεση ως κυρίων συστατικών για μεν το υποείδος *spicata* της καρβόνης

ΠΙΝΑΚΑΣ II : Χημικοί τύποι των συστατικών των αιθερίων ελαίων των υποειδών *spicata* και *tomentosa*.

α-Πινένιο (I)	Καμφένιο (II)	β-Πινένιο (III)	Μυρκένιο (IV)	Λεμονένιο (V)	1,8-Κινεόλη (VI)
γ-Τερπινένιο (VII)	Όκιμένιο (VIII)	π-Κυμένιο (IX)	Τερπινολένιο (X)	Βαλεριανικός άμυλεστέρας (XI)	Όξιλος 3-όκτυλεστέρας (XII)
3-Όκτανόλη (XIII)	Έννεανάλη (XIV)	Δεϋδρο-π- κυμένιο (XV)	Βαλεριανικός έξυλεστέρας (XVI)	Μινθόνη (XVII)	Όξιλος όκτυλεστέρας (XVIII)
Ίσομινθόνη (XIX)	α-Κοπαένιο (XX)	β-Βουρβονένιο (XXI)	Όξιλος βορνυλεστέρας (XXII)	Καρυδρανόλη (XXIII)	Πουλεγόνη (XXIV)
Βαλεριανικός έξενυλεστέρας (XXV)	Όξιλος τερπινυλεστέρας (XXVI)	Γερμακρένιο (XXVII)	D Καρβόνη (XXVIII)	Ναφθαλίνιο (XXIX)	δ-Καδινένιο (XXX)
Ίσοβαλεριανικός έξενυλεστέρας (XXXI)	Διϋδρο- καρβόνη (XXXII)	Πιπεριτενόνη (XXXIII)	Έποξειδίο πιπεριτενόνης (XXXIV)	Καρυοφυλλένιο (XXXV)	Όξιλος διϋδροκαρβυλεστέρας (XXXVI)

(39,75%), για δε το υποείδος *tomentosa* του εποξειδίου της πιπεριτενόνης (67,98%). Εκτός όμως από την παρουσία αυτών των κυρίων συστατικών, η ανεύρεση και άλλων μελών των βιογενετικών δρόμων (όπως για μεν το *spicata* ο οξικός διυδροκαρβυλεστέρας και η διυδροκαρβόνη, για δε το *tomentosa* η πιπεριτόνη, η πουλεγόνη, η ισομινθόνη και η μινθόνη) επιβεβαιώνουν κατά αναμφισβήτητο τρόπο το γεγονός ότι η βιογένεση των τερπενίων του υποείδους *spicata* ακολούθησε τον δρόμο της καρβόνης, ενώ του *tomentosa* τον δρόμο της πιπεριτενόνης.

2. Η σχέση λεμονενίου: κινεόλης είναι ~1:4 στο υποείδος *spicata*, ενώ έχει αντιστραφεί στο υποείδος *tomentosa*.

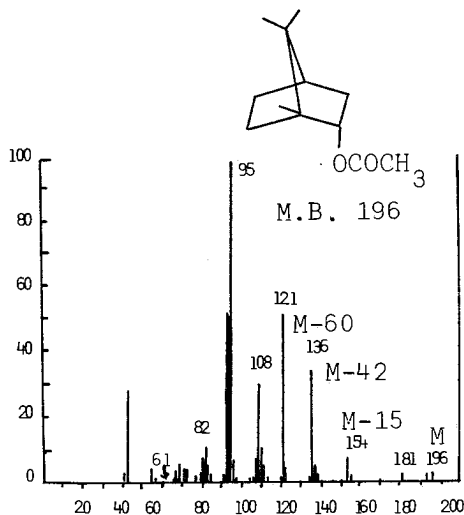
3. Εκτός όμως από τις διαφορές που προκύπτουν στα οξυγονούχα συστατικά εξ αιτίας των διαφορετικών βιοσυνθετικών δρόμων, στο υποείδος *tomentosa* διαπιστώθηκε η παρουσία του οξικού βορνυλεστέρα.

Η διεκρίνιση της χημικής δομής όλων των συστατικών των αιθερίων ελαίων βασίσθηκε στη μελέτη των φασμάτων μαζών ηλεκτρονικού ιονισμού. Επειδή το ενδιαφέρον εντοπίζεται κυρίως στα οξυγονούχα τερπένια (κετόνες, αλκοόλες και εστέρες) η διεκρίνιση της δομής τους μόνο με ηλεκτρονικό βομβαρδισμό είναι προβληματική. Έτσι, όπου είναι δυνατό (πιν. ΙΙΙ), παρατίθενται και στοιχεία από τα φάσματα χημικού ιονισμού με αρνητικά ιόντα (Negative Ion Chemical Ionization, NICI) τα οποία σε συνδυασμό με τα φάσματα ηλεκτρονικού ιονισμού (Electron Ionization, EI), αποτελούν μια πλέον κατάλληλη μέθοδο για την διεκρίνιση της χημικής δομής των οξυγονούχων τερπενίων.

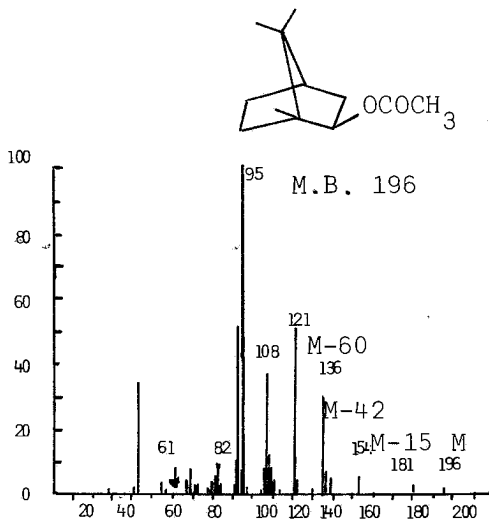
ΠΙΝΑΚΑΣ ΙΙΙ : Στοιχεία φασμάτων μαζών EI και NICI μερικών οξυγονούχων συστατικών των αιθερίων ελαίων των υποειδών *spicata* και *tomentosa*

Συστατικά	MB	N I C I			
		EI M ⁺ %	(M-H) ⁻ %	RCOO ⁻ %	Άλλα m/e %
Οξικός ισοβορνυλεστέρας	196	1	75	100	41(10)
Οξικός βορνυλεστέρας	196	5	100	55	—
1,8-Κινεόλη	154	30	100	—	57(32)
Πουλεγόνη	152	60	100	—	—
Καρβόνη	150	10	100	—	—
Διυδροκαρβόνη	152	17	100	—	—

Ειδικότερα για την περίπτωση του οξικού βορνυλεστέρα γίνεται ιδιαίτερη αναφορά, αφού αποτελεί διαφοροποιητικό γνώρισμα των δύο υποειδών αλλά και εξ αιτίας του γεγονότος ότι με μόνη τη χρήση των EI φασμάτων είναι προβληματική η διάκρισή του από τον οξικό ισοβορνυλεστέρα (εικ. 4 και 5).



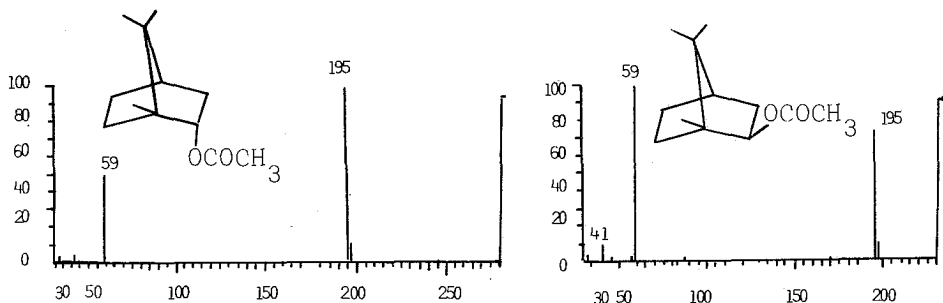
ΕΙΚ. 4 : Φάσμα μαζών ηλεκτρονικού βομβαρδισμού (70 eV) του οξικού βορνυλεστέρα.



ΕΙΚ. 5 : Φάσμα μαζών ηλεκτρονικού βομβαρδισμού (70 eV) του οξικού ισοβορνυλεστέρα.

Σ' αυτή την περίπτωση η χρήση των φασμάτων NICI αποδεικνύεται πλεονεκτική, όπως άλλωστε φαίνεται στις αντίστοιχες εικόνες 6 και 7.

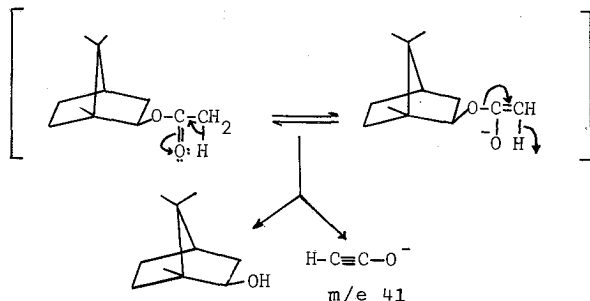
Όπως προκύπτει από τη συγκριτική μελέτη των φασμάτων NICI των δύο εστέρων, η ταυτοποίηση αυτών στηρίζεται τόσο στη βασική κορυφή (base peak)



ΕΙΚ. 6 : Φάσμα μαζών $NICI (OH^-)$ του οξικού βιορτυλεστέρα. Θερμοκρασία πηγής $100-110^\circ C$.

ΕΙΚ. 7 : Φάσμα μαζών $NICI (OH^-)$ του οξικού ισοβιορτυλεστέρα. Θερμοκρασία πηγής $100-110^\circ C$.

όσο και στην παρουσία του θραύσματος m/e 41 —που εμφανίζεται στον οξικό ισοβιορτυλεστέρα— και του οποίου ο σχηματισμός θα μπορούσε να ερμηνευθεί με τον παρακάτω μηχανισμό :



Πειραματικό μέρος⁵

Το φυσικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε σ' αυτή την εργασία συλλέχθηκε καθ' ολοκληρία από τον Ελλαδικό χώρο. Συγκεκριμένα, άτομα του υποείδους *spicata* συλλέχθηκαν από την περιοχή της λίμνης Καστοριάς, σε υψόμετρο 650 μέτρων, ενώ άτομα του υποείδους *tomentosa* συλλέχθηκαν από τους πρόποδες του Παγγαίου, σε υψόμετρο 200 μέτρων. Η ταυτοποίηση αυτών των υποειδών βασίσθηκε τόσο σε βοτανικά όσο και σε γενετικά δεδομένα (χρωμοσωμικοί αριθμοί για τα δύο υποείδη $2n = 48$).

Η συλλογή των φυτών έγινε σε περίοδο πλήρους ανθοφορίας ενώ είχαν ήδη σχηματισθεί και μερικά σπέρματα. Αφού ξεράθηκαν υπό σκιά όλα τα υπέργεια μέρη των φυτών, αποστάχθηκαν με υδρατμούς σε συσκευή Clevenger, σύμφωνα με τις προδιαγραφές της American Spice Trade Association. Η απόδοση της

αποστάξεως σε αιθέριο έλαιο ήταν για μεν το υποείδος *spicata* 0,38%, για δε το υποείδος *tomentosa* 0,33%. Στη συνέχεια, το αιθέριο έλαιο ξεράθηκε υπεράνω ανύδρου θεικού μαγνησίου και ύστερα υποβλήθηκε σε GLC-MS ανάλυση.

Η αεριοχρωματογραφική ανάλυση έγινε σε συσκευή Hewlett-Packard 5830A. Χρησιμοποιήθηκε γυάλινη στήλη διαστάσεων 3mX3.18mm ID, γεμισμένη με 5% Carbowax 20M (Chromosorb W-AW-DMCS, 80-100 mesh). Η θερμοκρασία του χώρου εγχύσεως ήταν 170°C και ο ανιχνευτής ιονισμού με φλόγα (FID) θερμάνθηκε στους 300°C. Προγραμματισμένη θερμοκρασία στήλης 75-230°C (με ταχύτητα 3°C/min). Φέρον αέριο ήλιο (99,999%) με παροχή 30 ml/min. Για τα φάσματα μαζών χρησιμοποιήθηκε φασματόμετρο Hewlett-Packard 5989A (Data system).

Summary

Identification of terpenoid derivatives of Mentha spicata by Electron Ionization and Negative Ion Chemical Ionization Mass Spectra

In this paper the chemotaxonomic differentiation of terpenoid derivatives of essential oils of the chemotypes *spicata* and *tomentosa* of the aromatic plant *Mentha spicata* is investigated. For the identification of these derivatives a combination of Gas Chromatography and Mass Spectroscopy (GC-MS analysis) was used. The identification of some oxygenated terpenes, especially, was carried out by Negative Ion Chemical Ionization (NICI) Mass Spectra.

From the study of the spectra it was possible to verify the presence of fifty components for the chemotype *tomentosa*, from which the structures of twenty six of them were identified. The main constituent was found to be piperitenone oxide (67.98%). In the chemotype *spicata* were found thirty components, correspondly, and the structures of the twenty six were identified. The main constituent was found to be carvone (39.75%).

Βιβλιογραφία

1. Ερευνητικά Εργαστήρια ΒΙΟΡΥΛ Α.Ε., Αθήνα.
2. Εργαστήριο Συστηματικής Βοτανικής και Φυτογεωγραφίας του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης.
3. Harley, R.: Προσωπική επικοινωνία.
4. Hefendehl, F.W. and M.J. Murray: *Loydia*, **39**, 47 (1976).

OXIDATIVE PATHWAYS OF UNSATURATED COMPOUNDS IN THEIR REACTIONS WITH PHENYLIODINE(III)BIS TRIFLUOROACETATE

S. SPYROUDIS and A. VARVOGLIS

Laboratory of Organic Chemistry, University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece

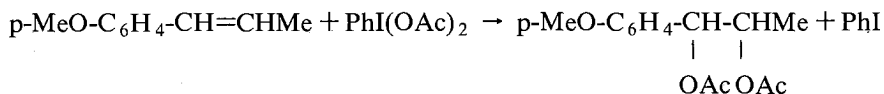
(Received August 5, 1982)

Summary

Alkenes react with phenyliodine(III)bis trifluoroacetate to *vic*-bis trifluoroacetates of the corresponding glycols. Stilbenes besides these addition products give also scission products of the double bond, i.e. benzaldehydes. 1,1-Diphenyl, triphenyl and tetraphenyl ethylenes give the above products as well as rearrangement products. The mechanism of these reactions is briefly discussed.

Key Words : Glycols, Alkenes, Phenylated alkenes.

In continuation of our exploratory chemistry¹⁻⁶ of phenyliodine(III)bis trifluoroacetate, abbreviated *PIB*, we were interested to study its interaction with alkenes and unsaturated compounds. It has been known since 1939 that the less active phenyliodine(II)diacetate, abbreviated *PID*, reacts with anethole to give a mixture of its diastereomeric diacetoxysteroids⁷, according to the equation :



Various electron donating groups in the ring of *PID* were found to increase the rate of the reaction, while electron withdrawing groups had the opposite effect. A similar addition of two acetoxy groups was found to occur also with cyclopentadiene, where not only 1,2- but also 1,4-addition products were isolated⁷. *PID* and catalytic amounts of OsO_4 have been used for effective hydroxylation of the double bond in several steroids⁸. A RuCl_3 -catalysed study of oxidation by *PID* of various unsaturated systems has also been reported⁹.

We find that *PIB* reacts easily with most unsaturated compounds, the reactions being faster with electron-rich alkenes. When aryl groups are attached to the sp^2 hybridised C atoms, the reactions are slower and a small amount of trifluoroacetic

acid accelerates considerably the completion of the reaction, without affecting the product composition. Unsaturated compounds bearing substituents with strong electron-withdrawing character (tri- and tetrachloroethylene, diethyl fumarate and 1-benzoylopropene-1) are completely inert towards PIB. The results of the reaction between PIB and 10 unsaturated compounds are collected in Table I.

Electron-rich alkenes such as 2,3-dimethylbutene-2, cyclohexene and 1-methylcyclohexene-1 react exactly as PID, i.e. exclusively to *vic*-bis trifluoroacetates. The cyclohexene derivative was shown by hydrolysis to be a mixture of *cis* and *trans* isomers. Although yields are not very high, ranging between 50 and 72%, they compare favourably with yields of other similar acetoxylation effected with silver acetate and iodine¹⁰ (Prévost reaction), lead tetraacetate¹¹ or thallium triacetate¹² and their trifluoroacetates^{13,14} and also with iodine tris trifluoroacetate¹⁵.


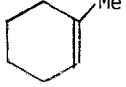
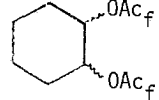
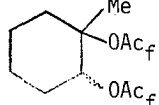
Trans-1,2-diarylethylenes (stilbenes) react to a small extent to the bis trifluoroacetates, which are usually hydrolysed during chromatographic separation, so that diols or mixtures of them with the esters are actually the isolated products. Another type of products are benzaldehydes, resulting from complete breaking of the double bond, in a reaction reminding that of ozonolysis. Various substituents on one phenyl ring of the stilbene do not have any appreciable effect on the product composition or the time of completion of the reaction.

1,1-Diphenyl as well as more highly substituted (tri- and tetraphenyl) ethylenes besides the aforementioned kinds of products give also carbonyl compounds, resulting from rearrangement of a phenyl group.

Concerning the mechanism of the reaction there is little doubt that initially a polar *trans* addition of $\text{PhI}^+\text{OCOCF}_3$ and CF_3CO_2^- takes place and the unstable primary adduct *1* is formed, which subsequently may give all the observed kinds of products (Scheme 1). Thus *1* through an internal nucleophilic attack from the iodine-attached trifluoroacetoxy O atom may directly give the diol ester *2*. Alternatively, it is possible that nucleophilic attack from the carbonyl O atom is leading to the dioxolane *3*, which either rearranges into *2* or reacts with PIB to another unstable intermediate *4*. This can expel iodobenzene and either the derivative of trifluoroacetic acid $\text{CF}_3\text{C}(\text{OCOCF}_3)_3$ or trifluoroacetic anhydride, under formation of one or two carbonyl compounds *6*, depending on the substituents of the reactant. An attempt was made to detect $(\text{CF}_3\text{CO})_2\text{O}$ by i.r. spectroscopy during the reaction, but its characteristic $\nu_{\text{C=O}}$ at 1810 cm^{-1} could not be traced. The compound $\text{CF}_3\text{C}(\text{OCOCF}_3)_3$ may be considered as the mixed anhydride of trifluoroacetic orthoacid and trifluoroacetic acid. A related compound, $\text{HC}(\text{OCOCH}_3)_3$, i.e. the mixed anhydride from acetic and orthoformic acid has been reported¹⁶ and the existence of $\text{CF}_3(\text{OCOCF}_3)_3$ is also a possibility, as current work in our laboratory has shown. Another pathway involves acidolysis of *3* by trifluoroacetic acid, again into $\text{CF}_3\text{C}(\text{OCOCF}_3)_3$ and a diol *7*, which with PIB is cleaved into carbonyl compounds *6*.

A similar initial addition of PIB to the triple bond has also been postulated in its reaction with non-terminal alkynes¹⁷, where α -diketones results. A direct *trans*-formation of *1* into *2*, although not rigorously excluded, is not favoured, because formation of the carbonyl scission products remains unaccounted for.

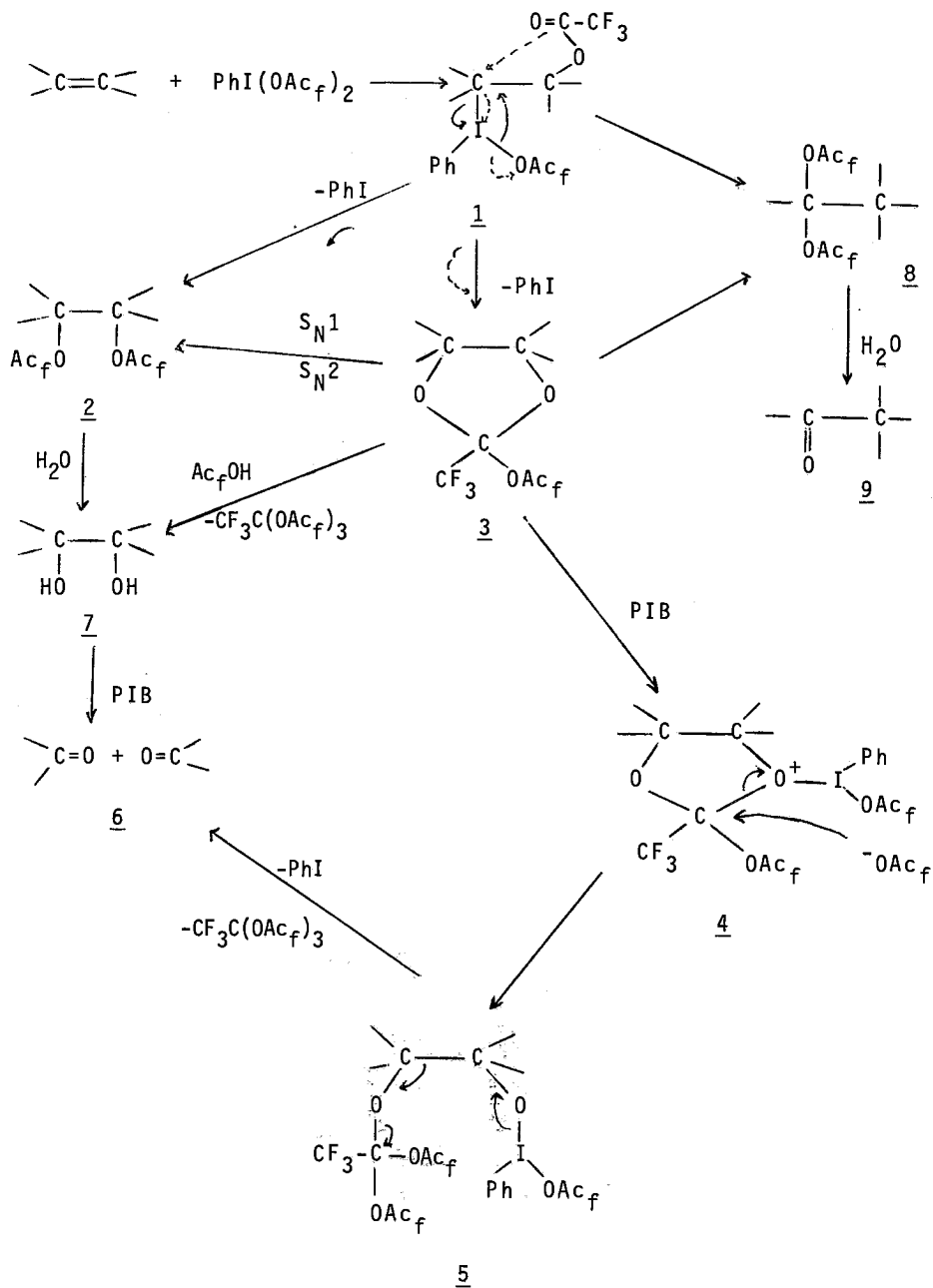
TABLE I : Reaction Products from Unsaturated Compounds and PIB.

Compound ^a	Addition Products (%)	Scission Products (%)	Rearrangement Products (%)
$\text{Me}_2\text{C}=\text{CMe}_2$  	$\text{Me}_2\text{C}(\text{OAc}_f)\text{C}(\text{OAc}_f)\text{Me}_2$ (50)  (64-72)  (58)	<hr/> <hr/> <hr/>	<hr/> <hr/> <hr/>
$\text{PhCH}=\text{CHPh}$	$\text{PhCH}(\text{OAc}_f)\text{CH}(\text{OAc}_f)\text{Ph}$ (14) $\text{PhCH}(\text{OH})\text{CH}(\text{OH})\text{Ph}$ (20)	PhCHO (19)	<hr/> <hr/>
$p\text{-MeC}_6\text{H}_4\text{CH}=\text{CHPh}$	$p\text{-MeC}_6\text{H}_4\text{CH}(\text{OH})\text{CH}(\text{OH})\text{Ph}$ (50)	$p\text{-MeC}_6\text{H}_4\text{CHO}$ (17) + PhCHO (18)	<hr/> <hr/>
$p\text{-ClC}_6\text{H}_4\text{CH}=\text{CHPh}$	$p\text{-ClC}_6\text{H}_4\text{CH}(\text{OH})\text{CH}(\text{OH})\text{Ph}$ (39)	$p\text{-ClC}_6\text{H}_4\text{CHO}$ (10) + PhCHO (13)	<hr/> <hr/>
$p\text{-O}_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{CH}=\text{CHPh}$	$p\text{-O}_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{CH}(\text{OH})\text{CH}(\text{OH})\text{Ph}$ (20)	$p\text{-O}_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{CHO}$ (26) + PhCHO (22)	<hr/> <hr/>
$\text{Ph}_2\text{C}=\text{CH}_2$	<hr/>	Ph_2CO (14)	PhCH_2COPh (23)
$\text{Ph}_2\text{C}=\text{CHPh}$	$\text{Ph}_2\text{C}(\text{OH})\text{CH}(\text{OH})\text{Ph}$ (7)	Ph_2CO (23) + PhCHO^b (10)	Ph_3CCHO (24) + Ph_2CHCOPh (7)
$\text{Ph}_2\text{C}=\text{CPh}_2^c$	$\text{Ph}_2\text{C}(\text{OH})\text{C}(\text{OH})\text{Ph}_2$ (15)	Ph_2CO (13)	Ph_3CCOPh (35)

^a Trans compounds, where appropriate.

^b The yield is low, because some benzoic acid (5%) is also formed.

^c Other products formed: tetraphenyl oxirane (1.5%) and 9,10-diphenyl anthracene (7%).

SCHEME 1 $\text{Ac}_f = \text{CF}_3\text{CO}$

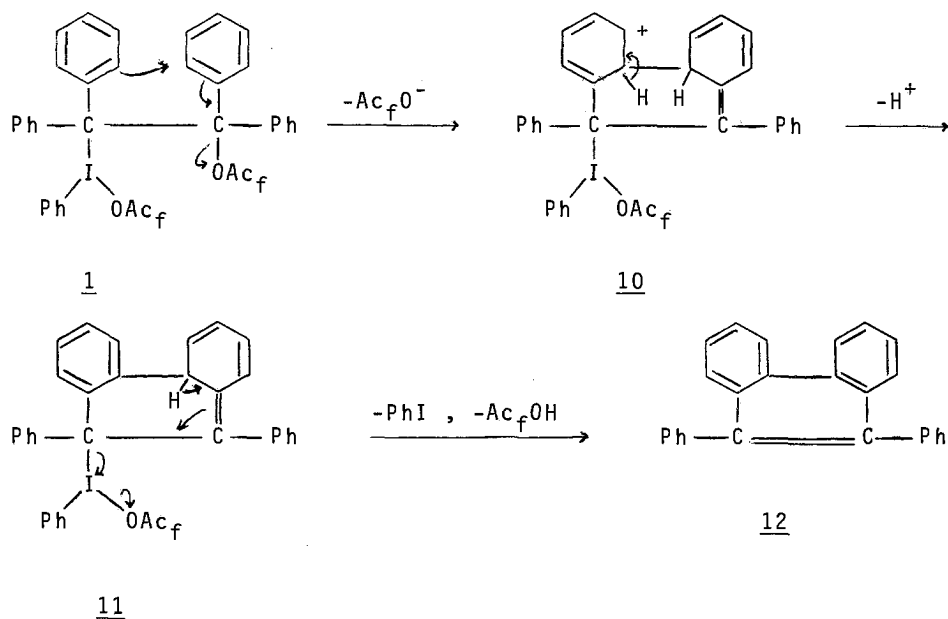
We favour formation of 3 not only because all kinds of products may derive from it, but also because a stable 2-trifluoroacetoxy dioxolane like 3 has recently been isolated from the reaction of ethylene with tris trifluoroacetoxyiodine¹⁵. Normally 3 rearranges to 2, exactly as reported for the stable dioxolane. When the alkene bears phenyl groups and in the absence of added trifluoroacetic acid, the dioxolane 3 may react with PIB to the unstable intermediate 4, which breaks down into 5 and then into the carbonyl compounds 6, iodobenzene and $\text{CF}_3\text{C}(\text{OCOCF}_3)_3$. An analogous reaction occurs between PIB and benzyl ethers², where the analogue of 4 is believed to be cleaved into a carbonyl compound and a trifluoroacetate ester. When trifluoroacetic acid has been added to speed up the reaction, acidolysis of 3 may lead to the glycol 7, which with PIB is cleaved into 6. This glycol cleavage is a well known reaction with PID¹⁸ and it is considerably faster with PIB¹. Nevertheless, cyclohexene with or without acid catalysis does not give any detectable 1,6-hexanedial, so that this route is not significant. It must be noted that when only bis-trifluoroacetates are formed, the stoichiometry of the reactants (alkene:PIB) is 1:1, whereas in the cases where scission products are also produced, an extra 15% amount of PIB is needed in order for the alkene to be consumed completely. The catalytic role of the trifluoroacetic acid added may influence either the addition of PIB to the double bond or the rearrangement of 3 into 2.

The formation of rearranged carbonyl compounds occurs only from 1,1-diphenyl and more highly phenylated ethylenes. These products may come either from the dioxolane 3 or from the primary adduct 1, by a variety of pathways. Mechanisms involving cyclic or open-type carbonium ions may be excluded, because when the reaction of tetraphenylethylene is run in methanol-chloroform (1:1) with catalytic amounts of trifluoroacetic acid, not any methoxy derivative could be traced; curiously the rearranged product, Ph_3CCOPh , was obtained in that case as the sole product in 92% yield. Therefore a concerted mechanism is most likely to operate. The acylals formed, 8, are hydrolysed into the isolated carbonyl compounds, 9, during chromatographic separation.

It is of interest to note that in chloroform the reaction of tetraphenylethylene catalysed by trifluoroacetic acid furnishes also 9,10-diphenylanthracene 12 in 7% yield, while in tetrachloromethane and 10% trifluoroacetic acid tetraphenyloxirane in 1.5% yield is obtained as well. The former compound is known¹⁹ to be formed also in the reaction of tetraphenylethylene and aluminium chloride. Its formation here may be explained by an initial aromatic electrophilic substitution from the adduct 1 to the carbonium ion 10, which quickly is transformed into the unstable derivative 11 and this by expelling iodobenzene and trifluoroacetic acid gives 12 (Scheme 2).

The formation of tetraphenyloxirane 13 may be the result of a direct expulsion of trifluoroacetic anhydride from the dioxolane 3. Similarly, oxiranes may also be formed in other reactions as well, but they are further oxidised by PIB; 13 has been shown to be the sole inert oxirane towards PIB³.

Concerning the stereochemistry of the addition, no systematic studies have been undertaken. The diol obtained after hydrolysis of 1,2-bis trifluoroacetoxycyclohexane was found to be a mixture of cis- and trans-isomers, melting in a broad range.

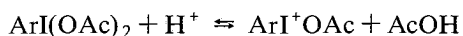


SCHEME 2

Similarly, the other diols were also diastereoisomeric mixtures.

It must be noted that in the reaction of iodine tris trifluoroacetate with alkenes¹⁵ the ratio of diastereoisomers is sometimes 1:1 but it can also reach values of 15:1, in cyclohexene, where the cis-isomer predominates. These results were interpreted in terms of an initial trans-addition; the dioxolane subsequently formed may react by both S_N1 and S_N2 mechanisms to mixtures of diastereoisomers. An analogous situation may also operate in the reactions of PIB with alkenes.

The findings that electron donors in the phenyl ring of several PID accelerate their reaction with anethole^{6,7} can be now explained, taking into account the participation of acetic acid, which was used as solvent. Electron donors in PID increase its basicity and lead to a partial ionisation according to the equilibrium :



Thus the iodine atom of PID becomes more electrophilic than in its undissociated form and it is attacked more easily by the alkene.

Experimental

NMR (60 MHz, Me_4Si internal standard) and mass spectra (70 eV) were recorded on Varian A-60A and Hitachi-Perkin-Elmer RMU-6L spectrometers, respectively. IR spectra were taken with a Perkin-Elmer 257 spectrophotometer.

Substituted stilbenes were prepared from cinnamic acid and aryldiazonium salts²⁰. 1,1-diphenyl ethylene was prepared from ethyl acetate and phenyl magnesium bromide, by dehydration of the resulting carbinol²¹. Triphenyl ethylene was prepared from benzophenone and benzyl magnesium bromide by dehydration of the carbinol²². Tetraphenylethylene was prepared from diphenyldichloromethane and Cu turnings²³. PIB was prepared¹ by exchange of PID¹⁸ with CF₃COOH.

All products were known compounds and were identified from their physical and spectroscopic properties in comparison with authentic samples or from the literature.

Typical procedure. Trans-stilbene (0.540 g, 3 mmoles) and PIB (1.420 g, 3.3 mmoles) each in CCl₄ solution (5 and 10 ml, respectively) were mixed. The reaction was slow as monitored by t.l.c., so a few drops of trifluoroacetic acid were added and an exothermic reaction took place. After 1 h the solution was evaporated and the residue passed through a silica gel chromatographic column, using mixtures of light petroleum ether and chloroform as eluents. The same reaction was run in chloroform, without any acid added. The product composition was identical, while the reaction was completed after 10 h.

Full experimental details may be found in the Ph.D. Thesis of S. Spyroudis. This work is part of that thesis²⁴.

Περίληψη

Οξειδώσεις Ακόρεστων Ενώσεων με Διτριφθορακετοξυιωδοβενζόλιο

Τα αλκένια αντιδρούν με διτριφθορακετοξυ-ιωδοβενζόλιο προς τους αντίστοιχους τριφθορακετοξικούς διεστέρες των 1,2-γλυκολών.

Τα στιλβένια δίνουν επιπλέον και βενζαλδεΐδες ενώ περισσότερο φαινυλιωμένα αλκένια δίνουν και διάφορα προϊόντα μετάθεσης. Οι μηχανισμοί των αντιδράσεων αυτών εξετάζονται με συντομία.

References

1. Spyroudis S., Varvoglis A.: *Synthesis*, 445 (1975) and 837 (1976).
2. Spyroudis S., Varvoglis A.: *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 615 (1979).
3. Spyroudis S., Varvoglis A.: *Proceedings of the 5th Panhellenic Chemical Congress*, vol. A, p. 152 (1980); *idem*, *J. Org. Chem.*, **46**, 5231 (1981).
4. Axiotis B., Spyroudis S., Varvoglis A.: *Chim. Chron. New Series*, **10**, 185 (1981).
5. Spyroudis S., Varvoglis A.: *Chim. Chron. New Series*, **10**, 323 (1981).
6. Barbas D., Gallos J., Varvoglis A.: *Chim. Chron. New Series*, **10**, 315 (1981).
7. Criegee R., Beucker H.: *Ann. Chem.*, **541**, 218 (1939).

8. Hogg J.A. et al.: *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 4436, 4438, 6401 (1955).
9. Radhakrishnamurti P.S., Panda H.P.: *Gazz. Chim. It.*, **109**, 637, (1979).
10. Wilson C.V.: *Organic Reactions*, **9**, Wiley, New York, 1957 p. 332.
11. Criegee R.: *Ann. Chem.*, **481**, 263 (1930). This reagent effects preferentially allylic acetoxylation; similarly behave $\text{Pd}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2$ and $\text{Hg}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2$, cf. D.J. Rowllison and G. Sosnovsky, *Synthesis*, 567 (1973).
12. Anderson C.B., Winstein S.: *J. Org. Chem.*, **28**, 605 (1963).
13. Westphal D., Zbiral E.: *Monatsh. Chem.*, **106**, 679 (1975).
14. Emmer G., Zbiral E.: *Tetrahedron*, **33**, 1415 (1977).
15. Buddrus J., Plettenberg H.: *Chem. Ber.*, **113**, 1494 (1980).
16. Stetter H., Reske E.: *Chem. Ber.*, **103**, 639 (1970).
17. Merkushev E.B., Karpitskaya L.G., Novoseltseva G.I.: *Dokl. Akad. Nauk SSSR*, **245**, 606 (1979).
18. Pausacker K.H.: *J. Chem. Soc.*, 107 (1953).
19. Biltz H.: *Chem. Ber.*, **38**, 203 (1905).
20. Meerwein H., Büchner E., van Emster K.: *J. Prakt. Chem.*, **152**, 237 (1939).
21. *Organic Syntheses*, Coll. Vol. I, p. 226.
22. *Organic Syntheses*, Col. Vol. II, p. 606.
23. *Organic Syntheses*, Vol. **31**, p. 104.
24. Spyroudis S., Ph.D.Thesis, University of Thessaloniki, 1981.

PRODUCTS FROM FURANS IIa¹: STEREOSELECTIVITY IN SYNTHESIS OF SOME DIASTEREOISOMERIC 6-HYDROXY-2H-PYRAN-3(6H)-ONES AND RELATED COMPOUNDS²

MINAS P. GEORGIADIS^{3*} and YVON LEFEBVRE
Ayerst Research Laboratories, Montreal, Quebec, Canada

(Received August 22, 1979, Revised August 6, 1982)

Summary

The preparation, properties and configuration of the title compounds, synthesized for biological screening, are presented. These compounds were prepared by oxidation of furfuryl alcohol derivatives as a mixture of *cis* and *trans* - isomers. The conformation of these isomers is assigned qualitatively using the quotient $J_{5,6}/J_{4,6}$, where $J_{5,6}$ & $J_{4,6}$ are, respectively, the *vicinal* and *allylic* proton nuclear magnetic resonance coupling constants. A mechanism is postulated and the preferential formation of *trans-2-methyl-2-phenyl* (or *biphenyl*)-6-hydroxy-2H-pyran-3(6H)-ones is discussed.

Key words : Oxidation of furfuryl alcohol derivatives. Mechanism of formation of 6-hydroxy-2H-pyran-3(6H)-one. Stereoselective formation of *trans-2-methyl-2-phenyl* (or *biphenyl*)-6-hydroxy-2H-pyran-3(6H)-ones. 6-Hydroxy-2H-pyran-3(6H)-ones.

Introduction

The preparation of 6-hydroxy-2H-pyran-3(6H)-ones by oxidation of furfuryl alcohol derivatives was reported independently by Lefebvre⁴ in Canada and Achmatowicz⁵ and his co-workers in Poland. Lefebvre and his co-workers used mainly *m*-chloroperbenzoic acid MCBA as an oxidant, while Achmatowicz and his coworkers treated furfuryl alcohol derivatives with bromine in methanol and subsequently hydrolysed the resulting 2,5-dimethoxy-2,5-dihydrofuran derivatives in order to produce the title compounds. More recently Weeks⁶ and his co-workers have simplified and extensively used the halogen process (Bromine or chlorine) in their maltol synthesis. In their process, a 1,4 halogen addition to the furan ring resulted in an initial product which was not isolated but underwent *in situ* hydrolysis and rearrangement to the title compounds or to maltol, according to the conditions used. Italian investigators have reported⁷ another oxidation procedure using pyridinium chlorochromate instead of MCBA. Although a variety of methods have been reported for the

synthesis of the title compounds, Lefebvre's procedure was found most convenient⁸. Derivatives of 6-hydroxy-2H-pyran-3(6H)-ones have been reported as antimicrobials, coccidiostats^{9,10} and as intermediates in the synthesis of sugars¹¹, disaccharides¹², maltol and isomaltol⁶. Their conformations¹³, molecular structure and clarification of ambiguities in their isomerism have been reported¹⁴.

Interesting coccidiostatic activity was observed many years ago in these laboratories in derivatives of the 6-hydroxy-2H-pyran-3(6H)-ones and, after these additional compounds were prepared, their biological screening was reported. Since oxidative products of furfuryl alcohols continue to be of interest^{6,13,14}, we present here the heretofore unreported synthesis and properties of the 6-hydroxy-2H-pyran-3(6H)-ones prepared at that time.

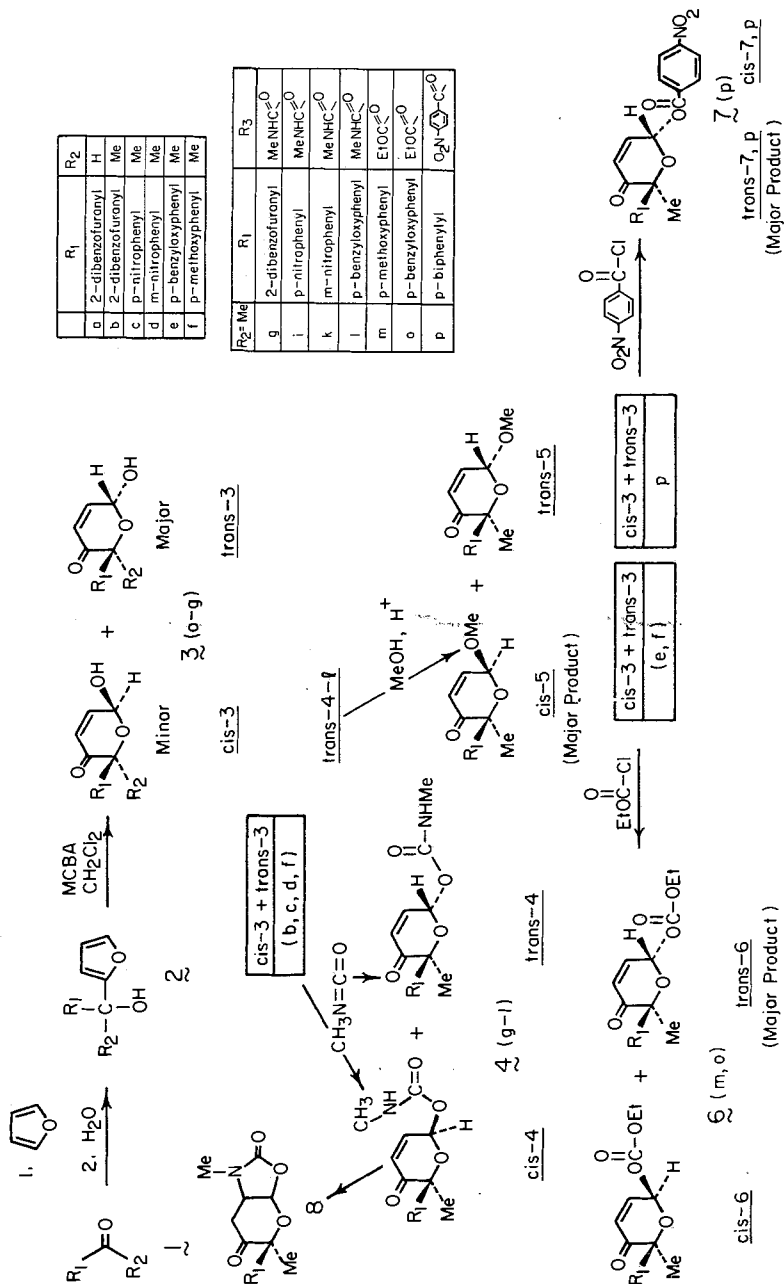
Chemistry

The reported compounds were prepared as shown in Scheme 1,2. Starting with an aldehyde or ketone *1* we synthesized the furfuryl alcohol derivative *2* which on oxidation by *m*-CPBA yields a mixture of *cis* and *trans*-*3*, in which *trans*-*3* predominates when 6-hydroxy-2H-pyran-3(6H)-ones are 2-methyl-, 2-phenyl substituted. From this mixture by a markedly stereoselective methanolysis⁹ of *trans*-*4* we obtained *cis*-*5* (Scheme 1) as a major product (80%) and *trans*-*5* as a minor one. The isomer which is formed in lesser extent is more soluble in hexane and may be removed from this isomeric mixture by treatment with hexane or by chromatography (hexane-ether 75:25). We have not isolated *cis*-*4* since it gave compound *8* by an intermolecular Michael reaction¹⁵.

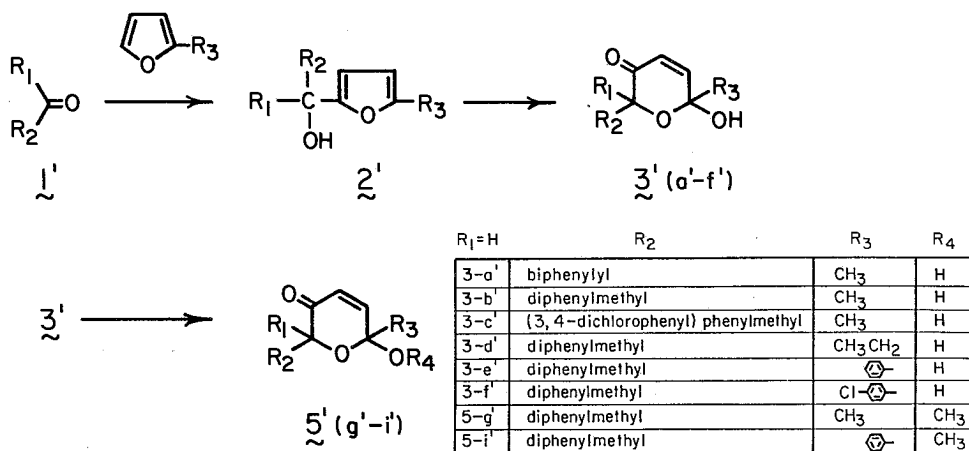
It has been reported¹⁴ that when the substituent at C-3 in the *sofa*¹⁴ ring of a 2-monosubstituted 2H-pyran-3(6H)-one is an alkyl or an aryl group then the 2-monosubstituent is *pseudoequatorially* oriented¹³. However, in our compounds there is a disubstitution (2-aryl and 2-methyl). It has been found¹⁴ by X-ray crystallography that in compounds structurally similar to *cis*-*5* and *trans*-*4* the aryl group is *pseudo-axially* and the methyl group *pseudo-equatorially* oriented. Our N.M.R. data complement the above findings and confirm that the number and nature of substituents determine which isomer would be the major product in the synthesis of compounds with general formulae *cis* and *trans*-*3*¹⁴.

The role of substituents at the C-2 in the *sofa* ring of the 2H-pyran-3(6H)-one regarding the relative proportion in which isomers *cis*-*3* and *trans*-*3* are formed (Scheme 1) may be examined in connection with a postulated mechanism in Scheme 3.

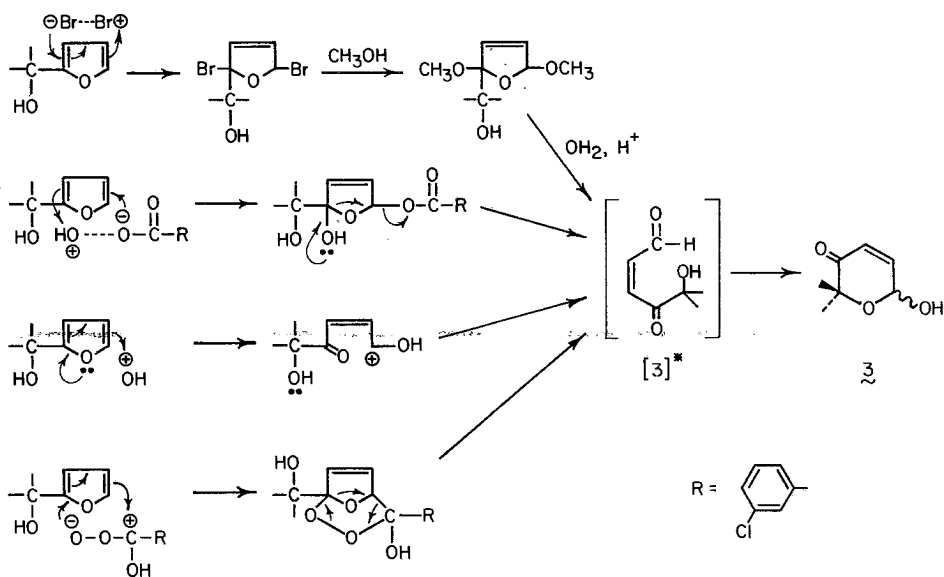
Regardless of the method used for the preparation of a compound such as the title one, the 5-substituted 5-hydroxy-4-oxo-2-pentalenal [3]* (in Scheme 3) is formed prior to the formation of the 2H-pyran-3(6H)-one ring producing a mixture of *cis* and *trans* diastereoisomers. The conformation of [3]* at the moment of ring closure must be suitable for formation of the ring. It is possible for substituents R₁ and R₃ to be either *pseudo-axially* or *pseudo-equatorially* oriented with respect to the *sofa* ring which is being created. Conformation possibilities are shown in Scheme 4. In studying the polyfunctional 2H-pyran-3(6H)-one one must take into consideration several steric interactions and anomeric-conformational effects¹³.



SCHEME 1

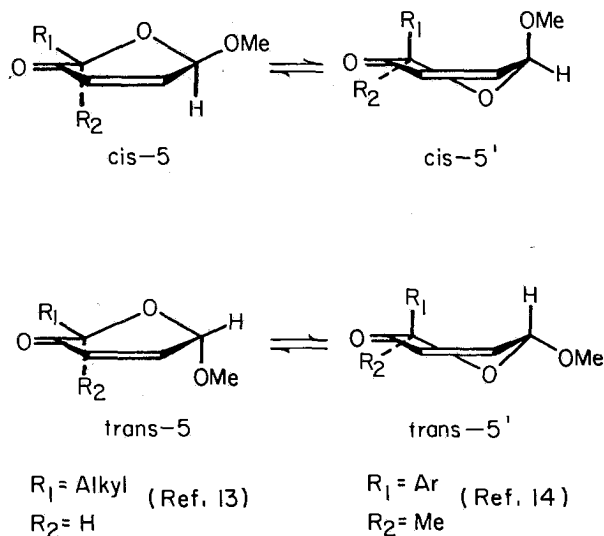


SCHEME 2



SCHEME 3

The preferential formation of the *trans* isomer in Scheme 1, may be attributed to the electron withdrawing effect of the phenyl group. In other words, the nature of the substituent at C-2 in the presented compounds ($R_1 = \text{Ar}$, $R_2 = \text{CH}_3$, Scheme 4) may alter the dipole-dipole interaction between the carbon-oxygen bonds of the ring and the bond from the anomeric carbon to the hydroxy (or methoxy) substituent. In addition if one takes into consideration the conformational equilibrium studies¹⁴ of each isomer in solution (based on rough thermodynamic calculations) one concludes that the *trans*-isomer is predominantly formed.



SCHEME 4

Proton nuclear magnetic resonance was very useful for characterizing the *cis* and *trans* 6-hydroxy-2H-pyran-3(6H)-ones^{14,13}. The signals of the olefinic protons H-4 and H-5 were shifted downfield (see Table I) as expected for the α,β unsaturated ketone system. The two *vicinal* olefinic protons together with the H-6 allylic proton gave a characteristic AMX pattern. The constants $J_{4,5}$ were consistently equal to 10 Hz while the smaller $J_{5,6}$ (*vicinal*) and $J_{4,6}$ (*allylic*) varied according to the dihedral angle between the *vicinal* and *allylic* protons (Table III). Achmatowicz and his coworkers reported isomers with the *trans* configuration, for which the α conformation with a *pseudo-equatorial* H-6 prevails (Scheme 4), which were identified in accord with the Garbisch equation¹⁶ by their large $J_{5,6}$ and small $J_{4,6}$ coupling constants. On the other hand, isomers with relatively smaller $J_{5,6}$ and larger $J_{4,6}$ coupling constants were assigned by Achmatowicz *et al.* as having the *cis* configuration. These workers originally⁵ named their *trans* and *cis* isomeric 2-mono-substituted-2H-pyran-3(6H)-ones as α and β -anomers since they named the title compounds as sugars. However, the compounds we are presenting are predominantly 2-aryl, 2-methyl substituted and the Garbisch equation cannot be applied¹⁴ satisfactorily for qualitative estimation of the dihedral angles from the observed proton coupling constants or *vice-versa*. We prefer to use the *quotient* $J_{5,6}/J_{4,6}$, as was recently suggested¹⁴, instead of the individual *vicinal* and *allylic* coupling constants for our 2-aryl-2-methyl-2H-pyran-3(6H)-ones.

Accordingly, isomers with quotient $J_{5,6}/J_{4,6} \approx 1$ were assigned as *trans* (Table III) while those with $J_{5,6}/J_{4,6} \approx 2$ were assigned as the *cis* ones. In these compounds, according to earlier reported data¹⁴, the 2-aryl group must prefer the *pseudo-axial* orientation as shown (in Table II & Scheme 4). On the contrary, in our 2-dibenzofuryl-2H-pyran-3(6H)-one, 3-a, the 2-mono-substituent is assumed *pseudo-*

axially oriented (Scheme 4) and its *trans*-isomer (*trans*-3a in Tables I, II) is identified by large $J_{5,6} = 3$ and small $J_{4,6} = 0$ in agreement with literature values¹³. In addition to the *cis* and *trans* diastereoisomerism there is also an *R* and *S* chiroomorphy in each isomer which, however, cannot be distinguished by N.M.R.

Finally, it was found by the present authors that not only 2-furyl alcohols 2 but also 5-substituted 2-furyl alcohols undergo the same type of oxidation and yield 6-substituted-6-hydroxy-2H-pyran-3(6H)-ones shown in Scheme 2. As expected, every 6-hydroxy-2H-pyran-3(6H)-one possesses a strong IR absorption around 1690 cm^{-1} characteristic of conjugated ketones. Properties and spectroscopic data of the prepared compounds are tabulated in Tables I-IV.

TABLE I

Comp. No	R ₁	R ₂	R ₄	Formula	Elemental analysis Calcd/Found			I.R. Characteristic bands $\nu_{(\text{max})}$ (cm ⁻¹)	Yield %	m.p. °C	Solv of crys
					C	H	N				
3-a		H	H	C ₁₇ H ₁₄ O ₄	72.85 72.80	4.32 4.27		3590, 3440(OH), 1698(conj>=O), 1630(>C=C<), 1603, 1588(aromatic), 1192, 1020(C-O-C)	50	117-118	T, T-H
3-b		-CH ₃	H	C ₁₈ H ₁₄ O ₄	73.46 73.57	4.80 4.62		3380, 3440(OH), 1692(conj>=O), 1632(>C=C<), 1600, 1588(aromatic), 1195, 1045(C-O-C)	57.5	139-140	T, T-C
3-c		-CH ₃	H	C ₁₂ H ₁₁ NO ₅	57.83 57.69	4.45 4.45	5.62 5.53	3430(OH), 1678, 1686(conj>=O), 1630(>C=C<), 1600, 1590, 700(aromatic), 1515, 1350(NO ₂)	35	130-131	T, T-MC
3-d		-CH ₃	H	C ₁₂ H ₁₁ NO ₅	57.83 57.97	4.45 4.50	5.62 5.34	3580, 3490(OH), 1690(conj>=O), 1530, 1348(NO ₂), 1040(C-O-C)	13.5	109.5-111	H-C
3-e		-CH ₃	H	C ₁₉ H ₁₈ O ₄	73.53 73.46	5.85 5.97		3570, 3420(OH), 1685(conj>=O), 1600, 1572, 1502(>C=C<)	70	82	E-H
3-f		-CH ₃	H	C ₁₃ H ₄ O ₄	66.65 66.54	6.02 6.10		3390(OH), 1688(conj>=O), 1262, 1175(-O-CH ₃), 1089(C-O-C)	80	128-130	E
4-g		-CH ₃	CH ₃ NHCO	C ₂₀ H ₁₇ NO ₅	68.37 68.11	4.88 5.13	3.99 4.00	3460(NH), 3370(NH), 1690(conj>=O), 1737(carbamate), 1630(>C=C<), deformation of amide 1517	92	180.5-182	A-H
4-i		-CH ₃	CH ₃ NHCO	C ₁₄ H ₁₄ N ₂ O ₆	54.90 54.80	4.61 4.57	9.15 9.23	3470(NH), 1730(carbamate>=O), 1692(conj>=O), 1635(>C=C<), 1520, 1345(NO ₂)	83	148.5-150.	A-H
4-k		-CH ₃	CH ₃ NHCO	C ₁₄ H ₁₄ N ₂ O ₆	54.90 54.75	4.61 4.63	9.15 9.08	3465(NH), 1738(carbamate>=O), 1691(conj>=O), 1528(carbamate, NO ₂), 1350(NO ₂)	62.5	143.5-144.5	A-MC-H
4-l		-CH ₃	CH ₃ NHCO	C ₂₁ H ₂₁ NO ₅	68.65 68.37	5.76 5.87	3.81 3.81	3450, 3360(NH), 1730(carbamate>=O), 1685(conj>=O), 1600, 1570(>C=C<)	78	156	E-MC
5		-CH ₃	-CH ₃	C ₂₀ H ₂₀ O ₄	74.05 73.84	6.22 6.26		2820(OCH ₃), 1680(conj>=O), 1170, 1165, 1090, 1085(C-O-)	80	85-86	H
6-m		-CH ₃	C ₂ H ₅ CO	C ₁₆ H ₁₈ O ₆	62.74 62.51	5.92 5.99		1745(-O-C ^o -), 1692(conj>=O), 1152, 1133(OCH ₃)	87	78.5-79	E-H
6-o		-CH ₃	C ₂ H ₅ CO	C ₂₂ H ₂₂ O ₆	69.10 69.32	5.80 5.93		1745(carbonate carbonyl), 1680(conjugated carbonyl)	54	114-115	IPA
7-p		-CH ₃		C ₂₅ H ₁₉ NO ₅	69.92 69.90	4.46 4.64	3.29 3.08	1735(-O-C ^o -ph), 1693(conj>=O), 1525, 1345(NO ₂)	30	130-131	C

a. T=Toluene, C=Cyclohexane, A=Acetone, MC=Methylcyclohexane, H=n-Hexane, IPA=Isopropanol E=Ether

b. Total yield in two steps, that is, based on the starting ketone

TABLE II

$R_1=H$

No.	R ₂	R ₃	R ₄	Elemental analysis		I.R. Characteristic bands, ν (max) (cm ⁻¹)	Yield %	m.p. °C	Solv. of crys.	
				Calcd	Found					
3-a		-CH ₃	H	C ₁₈ H ₁₆ O ₃	77.12 76.91	5.75 5.65	3580, 3460(OH), 1694 (conj>=0), 1635, 1610, 1600 and 1565, 1516(>C=C< and Arom. all weak), 1485, 697(Arom.), 1090(C-O-C)	33	110-111	T-C
3-b		-CH ₃	H	C ₁₉ H ₁₈ O ₃	77.53 77.38	6.16 5.96	3575, 3310(OH) 1690, 1670 (conj>=0), 1628(>C=C<), 1596, 1578, 1490 and 699(Arom.), 1086(C-O-C)	50	155-156	T
3-c		-CH ₃	H	C ₁₉ H ₁₆ Cl ₂ O ₃	62.82 62.92	4.14 4.22	3580(OH), 1690 (conj>=0), 1085(ether C-O-C), 1628, 1557, 1490, 700(>C=C< and Arom.)	12	165.5-167	T-C
3-d		CH ₂ CH ₂	H	C ₂₀ H ₂₀ O ₃	77.90 78.11	6.54 6.58	3580, 3440(OH), 1692 (conj>=0), 1630(>C=C<), 1598, 1580, 1943 and 700 (Arom.)	57	106-107	T
3-e			H	C ₂₄ H ₂₀ O ₃	80.88 80.93	5.66 5.72	3500, 3480 and 3390(free and ass. OH), 1690 (conj>=0), 1620, 1592, 1578, 1490, 695(>C=C< and Arom.), 1020(C-O-C)	45	135-136	A-H
3-f		Cl	H	C ₂₄ H ₁₉ ClO ₃	73.62 73.69	4.90 5.12	3550(free OH), 3380(assoc OH), 1686(conj>=0), 1620(>C=C<), 1590 and 1575(Arom.)	39	133-134	H-A
5-g		-CH ₃	Me	C ₂₀ H ₂₀ O ₃	77.90 77.87	6.54 6.24	1690 (conj>=0), 1625(>C=C< and Arom.) 1595, 1588, 1490 and 697(Arom.)	49	109-110	MC
5-l			Me	C ₂₅ H ₂₂ O ₃	81.05 80.83	5.99 5.83	2830(O-CH ₃), 1685 (conj>=0), 1620, 1594, 1490 (>C=C< and Arom.), 1102, 1026(ether)	74	118-119	IPA

γ. Analysis Cl: Calcd 19.52 Found 19.36

δ. " " " " " " 9.07 " " 9.07

ε. IPA: Isopropyl alcohol ζ. Total yield for five step synthesis starting from 3,4-dichlorobenzophenone

TABLE III

Proton Magnetic Resonance data of 6-Hydroxy-2H-pyran-3(6H)-ones												
Comp	Chemical Shifts (ppm, TMS=0)					Coupling Constants (Hz)				Solvent	J _{5,6} /J _{4,6}	Configuration
	H-6	H-4	H-5	H-2	OH	J _{5,6}	J _{4,6}	J _{4,5}	J _{6-OH}			
3-a	d 5.65	d 6.15	dd 6.86	s 5.67	d 3.65	3	0	10	5.5	CDCl ₃	a	
3-b	dt 5.50	dd 6.25	dd 6.85	-	d 3.58	1.5	1.5	10	8	CDCl ₃	1	trans
3-c	dt 5.4	dd 6.18	dd 7.05	-	d 7.30	1.5	1.5	10	7.5	DMSO	1	trans
3-d	dt 5.58	dd 6.25	dd 6.93	-	d 3.90	1.5	1.5	10	7.5	CDCl ₃	1	trans
3-e	5.37	dd 6.11	dd 6.73	-	b 3.6	2	2	10	-	CDCl ₃	1	trans
3-f	5.33	dd 6.08	dd 6.84	-	b 6.00	1.5	1.5	10	-	D ₃ C-C ¹⁸ O-CD ₃	1	trans
4-g	t 6.46	dd 6.25	dd 6.75	-	-	1.5	1.5	10	-	CDCl ₃	1	trans
4-i	t 6.41	dd 6.25	dd 6.86	-	-	1.5	1.5	10	-	CDCl ₃	1	trans
4-k	t 6.50	dd 6.25	6.90	-	-	2	2	10	-	CDCl ₃	1	trans
4-l	t 6.40	dd 6.20	dd 6.74	-	-	1.8	1.8	10	-	CDCl ₃	1	trans
5	q 5.29	dd 6.20	dd 6.82	-	-	2.4	1.1	10	-	CDCl ₃	2.2	cis
6-m	6.27	dd 6.21	dd 6.90	-	-	1.5	1.5	10	-	D ₃ C-C ¹⁸ O-CD ₃	1	trans
6-o	s 6.26	dd 6.16	dd 6.73	-	-	2	2	10	-	CDCl ₃	1	trans
7-p	t 6.81	dd 6.37	dd 6.91	-	-	1.5	1.5	10	-	CDCl ₃	1	trans

a) In this case R₂=H and there is no need to use the quotient J_{5,6}/J_{4,6} since the Garbisch equation can be used for qualitative evaluation of its configuration.

TABLE IV

Proton Magnetic Resonance data of 6-Hydroxy-2H-pyran-3(6H)-ones									
Comp No	Chemical shifts δ (ppm TMS=0)						Coupling Constants(Hz)		Solvent
	H-4	H-5	H-2	OH	$\begin{array}{c} \Phi \\ \diagup \\ \text{CH} \\ \diagdown \\ \Phi \end{array}$	6-CH ₃	J_{2-v}^b	$J_{4,5}$	
3-a'	d 6.05	d 6.80	s 5.51	s 3.43		1.61			CDCl ₃
3-b'	d 5.88	d 6.68	d 5.15	s 2.93	d 4.88	1.58	2.5	10	CDCl ₃
3-c'	d 5.91	d 6.98	d 5.17	s 6.83	d 4.85	1.51	2.5	10	DMSO
3-d'	d 5.97	d 6.70	d 5.18	s 3.17	d 4.95	0.97	2.5	10	CDCl ₃
3-e'	d 5.91	d 6.72	d 5.35	s 3.4	d 5.1		2	10	CDCl ₃
3-f'	d 5.94	d 6.68	d 5.33	s 3.30	d 5.13		2.5	10	CDCl ₃
5-g'	d 6.10	d 6.70	d 5.02		d 4.85	1.6	2.5	10.6	CDCl ₃
5-i'	d 5.96	d 6.83	d 5.07		d 5.07			10	CDCl ₃

b) J_{2-v} : spin-spin coupling of H-2 with diphenylmethyl proton

Experimental

Melting points were taken on a Thomas-Hoover apparatus and are uncorrected. NMR spectra were determined using a Varian A-60A spectrometer and the chemical shifts (δ) are reported in parts per million downfield from TMS = 0. Analyses were done with a Perkin-Elmer Model 240 C, H, N analyzer.

In the beginning we prepared furyllithium by treatment of furan with freshly prepared n-butyllithium in ether. Later we found it most convenient to use readily available (Alpha Chemicals) and safer n-butyllithium in hexane. We noticed that 6-hydroxy-2H-pyran-3(6H)-ones decomposes in moderately strong basic or acidic media. Their stability is increased when both hydrogen at C-2 of 3 are replaced by substituents. Good solvent systems for thin-layer chromatography (TLC) of the reported compounds were found to be a combination of n-hexane-ether (20-50% ether in n-hexane) or benzene-ethyl acetate (10-20% ethyl acetate in benzene). TLC spots were developed by spraying with sulfuric acid and subsequent mild heating.

Starting materials were either purchased (Aldrich Co.) or synthesized. 3,4-Dichlorobenzophenone was prepared by a known method¹⁷. The safer synthesis (involving no hydrogen cyanide) of 2-dibenzofuran carboxyaldehyde is noteworthy because of the relatively high yield produced exp.¹⁸, as is the synthesis of the novel (3,4-dichlorophenyl)phenyl acetaldehyde. In addition, we report the preparation of derivatives of 3 and furan derivatives by known techniques¹⁹.

2-Dibenzofurancarboxaldehyde. Dibenzofuran (0.53 mol., 100 g) was dissolved in methylene chloride (500 ml), the solution was cooled to 0°C, catalyst was added (SnCl₄ - 0.95 mol., 250 g), and dichloromethyl methylether (1 mol., 110 g) was added rapidly (dropwise) to the mixture. Stirring continued at 0° and then at room temperature until the evolution of HCl declined significantly (about 40 min). The reaction mixture was poured into icewater and the product was extracted with ether, washed with water, sodium bicarbonate and again with water, dried and evaporated. Treatment of the residue with a small amount of hexane yielded 106 g (90%) of crude product which was chromatographed on a silica gel column using as solvent hexane gradually replaced by benzene. Column chromatography was followed by TLC using hexane-benzene (4:1) to give 74g (64%) of product.

This pure product (v.p.c. one peak) crystallized easily from hexane-benzene or alcohol m.p. 68-69°C. ¹NMR (CDCl₃) δ 7.50 (4 H,m), 7.92 (2 H, two d J = 8Hz), 8.37 (1 H d J = 1.5 Hz), 6.03 (1 H of -CHO).

Anal. Calc/d for C₁₃H₈O₂ : C, 72.58; H, 4.11.

Found C, 72.28; H, 3.81.

α-(2-Furyl)-2-Dibenzofuranmethanol. To a solution of furan (10 ml) in ether (250 ml), cooled to 5°C., n-butyllithium (100 ml, 1.4 N in ether) was added under nitrogen. The reaction mixture was stirred for 1 hour at room temperature. Then it was cooled to 5°C. and a solution of dibenzofuran-2-carboxaldehyde in ether (about 9.5 g) was slowly added. The reaction mixture (always under nitrogen) was stirred for an hour at room temperature, then left unstirred for 10 hours under nitrogen.

Water in T.H.F. (10 ml) was added slowly. The organic phase was washed with water, dried over MgSO₄ and evaporated at reduced pressure to give a brownish oil: T.L.C. one spot; I.R. 3600 cm⁻¹, 3430, 1500 (2-furyl), 1010 (2-furyl), 1142 (C-O-). In a second run commercial n-butyllithium in hexane (Alpha Inorg.) was used.

2-(2-Dibenzofuryl)-6-Hydroxy-2H-Pyran-3(6H)-one 3-a. A solution of α-(2-Furyl)-2-Dibenzofuranmethanol prepared from 10g of dibenzofuran-2-carboxaldehyde) in chloroform or methylene chloride (160 mL) was cooled to 5°C and m-chloroperbenzoic acid (15 g) was added portionwise with stirring. After 2 h of stirring at r.t. (completion indicated by TLC), the reaction mixture was cooled and m-chloro-benzoic acid was removed by filtration.

The mother liquor was washed with solutions of KI, Na₂S₂O₃·5H₂O, and NaHCO₃ and dried over MgSO₄. The solvent was evaporated to give an oily residue which crystallized from toluene-hexane yielding 6.5 g of the title compound. This material was stirred with toluene at 0°C. and filtered. The white crystalline product was dissolved in acetone, evaporated to an oily residue and crystallized by gradual addition of small amounts of toluene yielding analytically pure crystals: mp 117-118°C. Spectral and other properties, are Tables I, II.

Anal. Calc/d for C₁₇H₁₂O₄ : C, 72.85; H, 4.32

Found C, 72.80; H, 4.27.

(3',4'-Dichlorophenyl)Phenyl Acetaldehyde. A solution of methylsulfinyl carbanion was prepared from sodium hydride (11g, 50-55% suspension in mineral oil)

and dry dimethyl sulfoxide (380 ml). The solution was cooled to room temperature, diluted with an equal amount of dry tetrahydrofuran and then cooled to 0°C in an ice-methanol bath. A solution of trimethyl sulfonium iodide in dimethyl sulfoxide was added with stirring at a rate such that the temperature was maintained at 0-5°C²⁰. After stirring for a minute, 3,4-dichlorophenyl phenyl ketone (21.5 g) dissolved in tetrahydrofuran was added at such a rate that the temperature remained at 5°C. Stirring was continued for several minutes at 5°C then for forty five minutes after the ice methanol bath was removed. The reaction mixture was diluted with three volumes of water saturated with sodium chloride and extracted with ether, washed with water, dried and evaporated at reduced pressure to give an oily material (23 g) which showed no carbonyl IR absorption. ¹NMR (CDCl₃) δ 3.12 (1H, -CH₂-, d J = 5.5 Hz), 3.27 (1H, -CH₂-, d J = 5.5 Hz), 7.30 (8H Arom. m). Thus, the structure of the oily product was compatible with 1(3',4'-dichlorophenyl)1,2-epoxy-1-phenylethane structure. To a cold solution (ice bath) of this crude oily product in anhydrous ether (250 ml) boron trifluoride etherate was added (5 ml). After removal of the ice bath, the reaction mixture was stirred for 1 h at room temperature. Then it was washed with saturated bicarbonate solution and then water containing some salt, dried and evaporated, yielding the title product (crude 22 g. $\nu_{\text{CHCl}_3} = 1725 \text{ cm}^{-1}$ for carbonyl). This crude product was used without purification below.

2-[(3,4-Dichloro)Diphenylmethyl]-5-Methylfurfuryl Alcohol. To a solution of 2-methylfuran (20 in ether-THF (300:100 ml), cooled to 5°C, *n*-butyllithium (65 ml, commercial 25% in hexane) was added under nitrogen. The solution mixture was stirred at room temperature for one hour: Then it was cooled to 5°C and a solution of crude (3,4-dichlorophenyl)phenyl-acetaldehyde (19g, obtained as described above) in ether (100 ml) was slowly added.

The reaction mixture was stirred for one hour at room temperature, then was left overnight under nitrogen without stirring. Water was slowly added and the organic layer was washed with water, dried over magnesium sulfate and evaporated at reduced pressure to yield an oily material. I.R. 3595 (-OH), 1027 (furyl), 698cm⁻¹ (monosub., arom.).

2-[(3',4'-Dichloro)Diphenylmethyl]-6-Hydroxy-6-Methyl-2H-Pyran-3(6H)-one. 3-*c'*. To a solution of 2-(3,4-dichloro)diphenylmethyl-5-methyl-furfuryl alcohol (19g crude, obtained as described above) in methylene chloride (400 ml) cooled to 5°C, *m*-chloroperbenzoic acid (35g) was added portionwise with stirring. The reaction mixture was stirred at room temperature for two hours, at which time TLC [benzene-ethyl acetate (17:3)] indicated the reaction was complete. The reaction mixture was cooled and *m*-chlorobenzoic acid was removed by filtration. The filtrate was washed with solutions of KI, Na₂S₂SO₃ · 5H₂O, NaHCO₃, water and dried over MgSO₄. Evaporation of solvent in vacuo gave an oily residue from which the title compound (3.2 g), mp 165.5-167°C, was obtained by crystallization from a small amount of toluene-cyclohexane. Spectral data supported the proposed structure (Table II). The overall yield based on the amount of 3,4-dichlorobenzo-phenone as starting material was 12%.

Phenylfuran. Aniline (93 g) is dissolved in 300 ml of water and 320 ml of concentrated HCl. The solution is cooled to 0°C (ice-methanol) and diazotized by the dropwise addition of a solution of 72.4 g of NaNO₂. The temperature is kept at 0°C. Ice is added if necessary. After stirring for 10 min. the diazonium salt solution is filtered while added to a 1 liter of furan precooled at 0°C. Ice is added to the funnel of filtration to keep the temperature low. 5N-Sodium hydroxide (600 ml) is slowly added while the temperature is kept below 10°C. Stirring is continued for 48 hrs the reaction being allowed to continue at room temperature after the first 5 hrs. The furan layer is then separated, washed with water and dried. After removal of the excess of furan, the residue is distilled under reduced pressure yielding crude phenylfuran (33 g). Upon second distillation b.p. 92-95°C/10 mm. pure phenylfuran is obtained (21 g T.L.C. one spot). When the T.L.C. plate is developed by sulfuric acid spray, the title compound gave characteristic violet color. NMR δ 6.64 (1 H at C-4, dd $J_{3,4} = 3$, $J_{4,5} = 1.8$), 6.63 (1 H at C-3 d $J = 3$), 7.26 (1 H at C-5 $J_{4,5} = 1.8$), 7.2-7.8 (*m.* Arom.).

2-Ethylfuran. Furyl methyl ketone (100 g), hydrazine hydrate (85%, 180g) and ethylene glycol (600 ml) were placed in a 3-neck flask equipped with a stirrer, thermometer and a reflux condenser. The mixture was heated for a while at 80-100°C to allow the hydraxone to be formed, potassium hydroxide (180g) was added at a temperature below 80°C and mixture was boiled until the product ceased to distill off (water was removed from the reflux condenser which during distillation (3-4 hours) served as a fractionating column). The distillate was washed with dilute hydrochloric acid, then water, dried and fractionated, yielding 70 g (81%) of product: bp 86-92°C (lit.²¹ bp 85-90°C), which was used for the synthesis of 3-d'. NMR δ 5.68 (1H, m at C-3), 5.95 (1H, dd at C-4), 6.97 (1H, dd at C-5), 2.37 (2H q, $J_{VIC} = 7$, -CH₂-), 0.93 (3H t, $J = 7$, CH₃).

2-(Diphenylmethyl)-5-Phenylfurfuryl Alcohol. To a solution of 2-phenylfuran (7g) in ether (300 ml) cooled to 5°C, *n*-butyllithium (26ml, 22% in hexane, Alpha Inorg.) was added under nitrogen. The reaction mixture was stirred at room temperature for one hour, then it was cooled and a solution of diphenylacetaldehyde (10g) in ether was slowly added. The reaction mixture was stirred for 3-4 hrs at room temperature and water was slowly added. The organic layer was washed with water, dried over MgSO₄ and evaporated at reduced pressure, yielding an oily material. This was chromatographed on a silica gel column using hexane as an eluant which gradually was replaced by ether. The column fractions were examined by T.L.C. using hexane-ether (6:4) as eluant. The main product gave a characteristic green color. The pure fractions (one green color spot by sulfuric acid spray) containing the main product were pooled and evaporated, yielding the title product (9.2g, 53.2%). I.R. (CHCl₃) 3590 (OH), 1016 cm⁻¹ (C-O-C); U.V. (ethanol) 218 (ϵ 19,400), 287 (ϵ 23,000); ¹NMR δ 2.18 (1 H, OH, s), 4.51 (1H, -CH-, d, $J = 8.5$ Hz), 5.40 (1H, -CH-O, d, $J = 8.5$ Hz), 6.08 (1H, d, $J = 3.5$), 6.40 (1H at C-4, d, $J = 3.5$ Hz), 7.35 (15H, m).

2-(Diphenylmethyl)-5-p-chlorophenyl-furfuryl alcohol was prepared in 75% yield by the same method.

2-(Diphenyl)-6-Hydroxy-6-Phenyl-2H-Pyran-3(6H)-one 3'-e'. To a solution of 2-(diphenylmethyl)-5-phenylfurfuryl alcohol (7g, obtained as described above) in methylene chloride (200 ml), cooled to 5°C, *m*-chloroperbenzoic acid (8 g) was added portionwise with stirring. Stirring of the reaction mixture was continued at room temperature and the reaction was followed by T.L.C. When the reaction was complete (about 1½ hours) the reaction mixture was cooled and *m*-chlorobenzoic acid removed by filtration. The filtrate was washed with a solution of KI, Na₂S₂O₃·5H₂O, NaHCO₃, water and dried over MgSO₄. Evaporation *in vacuo* of the solvent gave an oily residue which was triturated with methylcyclohexane, yielding a solid product. This was washed with cold ether (dry ice-acetone) and crystallized from acetone-hexane, yielding 3.5 g (45%) of the title product, m.p. 133°-134°C. Further crystallizations raised the m.p. to 135°-136°C. Analysis and spectra, see Tables II, IV.

2-(Diphenylmethyl)-6-Methoxy-6-Phenyl-2H-Pyran-3(6H)-one 5'-i'. 2-(Diphenylmethyl)-6-hydroxy-6-phenyl-2H-pyran-3(6H)-one (6.3 g), methanol (450 ml), and 5 drops of 70% perchloric acid were stirred at room temperature until the reaction was complete by TLC (5-10 min, one TLC spot different from the starting material). The reaction mixture was poured into a saturated sodium bicarbonate solution (20 ml), water was added and the mixture was extracted repeatedly with ether. The combined ether extracts were washed with water to neutrality, dried, and evaporated under *vacuo*. The crude product was dissolved in isopropyl alcohol, treated with Norite and crystallized from the same solvent to yield 5.1-g of the title product, mp 118-119°C (74%).

Analysis, Spectra, see Tables II, IV.

2-(p-Benzyloxyphenyl)-6-Hydroxy-2-Methyl-2H-Pyran-3(6H)-one N-Methylcarbamate-4-l. 2-(*p*-Benzyloxyphenyl)-6-hydroxy-2-methyl-2H-pyran-3(6H)-one (28 g) was placed in a flask equipped with a drying tube and containing ether (600 ml) and methyl isocyanate (28 ml). Triethylamine (5-8 ml) was added and the mixture was stirred at room temperature until a white precipitate appeared. At that point T.L.C. indicated that the reaction was complete. The reaction mixture was filtered and the filtrate evaporated in a stream of nitrogen. The residue was taken up in ether, washed with sodium bicarbonate solution and water and concentrated again under nitrogen. The small amount of product obtained from the filtrate was combined with the major white precipitate above and chromatographed over a silica gel column, using a small amount of methylene chloride to put the product at the origin of a small column and using ether as solvent. Fractions containing the title product were traced by TLC, pooled and evaporated *in vacuo* to give a pure product, mp 156°C (26 g, 78%).

Analysis, spectral data, see Tables I, II.

6-Hydroxy-2-Methyl-2-(p-Nitrophenyl)-2H-Pyran-3(6H)-one N-Methylcarbamate 4-i. 6-Hydroxy-2-methyl-2-(*p*-nitrophenyl)-2H-pyran-3(6H)-one (7.0 g), sodium acetate (4.0 g) and methyl isocyanate (8 ml) were placed in a flask containing benzene-THF (150:100 ml) and stirred for four hours. At that time T.L.C. showed that the reaction was complete. The reaction mixture was concentrated under vacuum with stirring, then was washed with saturated bicarbonate solution and

water, dried and evaporated in vacuum (or stream of nitrogen) without heating. The crystalline residue was washed with a small amount of ether, yielding 6 g (82.7%) of the title product. Further crystallization from acetone-hexane yielded analytically pure material: m.p. 148°-150°C.

Analysis, spectral data, see Tables I, II.

4-(p-Benzyloxy)acetophenone. To a solution of *p*-hydroxy acetophenone (10 g) in isopropanol (250 ml), a stoichiometric amount of sodium methoxide (3.5 g) was added. The reaction mixture was stirred and benzyl chloride (15-20 ml) was added with refluxing for 30 hours.

In a second run, to a solution of *p*-hydroxyacetophenone (10 g) in THF, a stoichiometric amount of sodium hydride was added with stirring for 30 minutes. The solvent was then removed at reduced pressure (or Dean-Stark) and replaced by isopropanol. Benzyl chloride was added (15-20 ml) and the reaction mixture was refluxed for 30 hours as before.

The reaction mixture was evaporated to dryness. Water was added and the product extracted with methylene chloride or chloroform. The organic layer was washed with a 5% solution of sodium hydroxide, water, dried and evaporated. The title compound was crystallized from ether-hexane, yielding 19.3 g (86.2%): m.p. 92°-93°C. NMR (CHCl₃) δ 2.5 (3 H, CH₃, s), 5.08 (2 H, -CH₂, s), 6.93 (2 H, arom., d, J=9 Hz), 7.88 (2 H, arom., d, J=9 Hz), 7.32 (5 H, arom., s).

2-(p-Benzyloxyphenyl)-6-Methoxy-2-Methyl-2H-Pyran-3(6H)-one 5. *2-(p-Benzyl-oxyphenyl)-6-hydroxy-2-methyl-2H-pyran-3(6H)-one N-methylcarbamate* (22 g) methanol (450 ml) and perchloric acid 70% (8 ml) were stirred at room temperature for about two hours. At that point T.L.C. showed that the reaction was complete. The reaction mixture was neutralized with saturated sodium bicarbonate solution and extracted with ether (4 × 400 ml), washed to neutrality, dried and evaporated at reduced pressure. The oily residue was crystallized from ether containing a small amount of hexane to yield the title product, mp 85-86°C (15.3 g, 80%). Analysis, spectra etc., see Tables I, II.

2-Diphenylmethyl-6-Methoxy-6-Methyl-2H-Pyran-3(6H)-one 5'-g'. To 2-diphenylmethyl-6-hydroxy-6-methyl-2H-pyran-3(6H)-one (8.6 g) dissolved in acetone (350 ml), silver oxide (25.5 g) and methyl iodide (30.5 ml) were added. The reaction mixture stood overnight with stirring, then Norite was added with stirring and the mixture was filtered through Celite and evaporated at reduced pressure.

T.L.C. examination revealed two spots. The faster moving compound had R_f = 0.48, that is, identical with the R_f value of the starting material.

These two compounds may be separated by fractional crystallization with methylcyclohexane. However, they were separated here on a silica gel column (350 g silica gel - Merk, 200 mesh) using the same solvent as for TLC to give the title product, 4.3 g (48.8%), R_f = 0.8, m.p. 109°-110°C (methylcyclohexane). The second compound proved (m.p. -spectra) to be the starting material. Spectral data, analysis see Tables III, IV.

Carbonic Acid 5,6-Dihydro-6-(p-Methoxyphenyl)-2-methyl-5-oxo-2H-Pyran-2-Ethyl Diester 6-m. To a solution of 6-hydroxy-2-(*p*-methoxyphenyl)-2-methyl-2H-pyran-

3(6H)-one 35.1 g (0.15 mol), triethylamine 20.2 g (0.2 mol) in methylene chloride (400 ml) cooled to $0^{\circ}\text{C} \pm 2$, ethyl chloroformate 38 g (0.35 mol) was added with stirring at such a rate that the temperature of the reaction mixture was maintained between 5°C - 10°C . The reaction was stirred for half an hour then for 20 min at room temperature. Then it was cooled again and triethylamine 10.1 g (1 mol) was added with stirring which continued at room temperature until TLC showed the reaction to be complete (about 3 h). The reaction mixture was washed, dried and filtered through silica gel pretreated with ether. The filtrate was evaporated at reduced pressure yielding 45 g of the title product (one spot by TLC, quantitative yield) which was crystallized from ether-hexane to give analytically pure material, mp $114\text{--}115^{\circ}\text{C}$ (80%). The mother liquors of crystallization yielded an additional 3.1 g (total yield, 87%).

Analysis and Spectra, see Tables I, II.

2-(4-Biphenyl)-6-Hydroxy-2-Methyl-2H-Pyran-3(6H)-one p-Nitrobenzoate 7-p. 2-(4-Biphenyl)-6-hydroxy-2H-2-methyl pyran-3(6H)-one (10 g), p-nitrobenzoyl chloride (8.5 g), sodium acetate (5 g), acetone (120 ml) and methylene chloride (120 ml) were placed in a 3-neck, round bottom flask equipped with a reflux condenser and heated gently ($40^{\circ}\text{--}50^{\circ}\text{C}$) for about one hour with stirring. The reaction mixture was stirred for an additional five hours at room temperature. Then it was poured into a cold saturated solution of bicarbonate. The organic layer was separated and washed with bicarbonate solution and then water. The water face was back-washed with methylene chloride which was washed with water. The two crops of organic phases were combined, dried and evaporated in vacuum, yielding an oil. Addition of a small amount of cyclohexane yielded crude crystalline material. Chromatography of the crude product on silica gel column, using methylene chloride as solvent, yielded 3 g (20%) of analytically pure 2-(4-biphenyl)-6-hydroxy-2-methyl-2H-pyran-3(6H)-one-p-nitrobenzoyl ester, m.p. $130^{\circ}\text{--}131^{\circ}\text{C}$ (cyclohexane). In addition to the above product, 1 g of less pure material was obtained. N.M.R. and I.R. data, analysis etc, see Table I and II.

Περίληψη

Στερεοεκλεκτικότητας εις την σύνθεσιν ωρισμένων 6-υδροξυ-2H-πυραν-3(6H)-ονών ως και συναφείς προς αυτάς ενώσεις

Παράγωγα των 6-υδροξυ-2H-πυράν-3(6H)-ονών είναι γνωστόν ότι παρουσιάζουν αντιμικροβιακά και κοκκιδιοστατικά ιδιότητας^{9,10} και ότι εχρησιμοποιήθησαν ως πρώται ύλαι δια την σύνθεσιν μαλτόλης, ισομαλτόλης⁶ και σακχαρών^{11,12}. Η στερεοχημική δομή και η ισορροπία των διαμορφομερών εκάστου ισομερούς αι οποίαί παράγονται κατά την σύνθεσιν έχει δημοσιευθεί^{13,14}. Εις το άρθρον αυτό δίδεται ο μηχανισμός συνθέσεως των ενώσεων της κατηγορίας αυτής και εξηγείται διατί εις τας περιγραφόμενας ενώσεις σχηματίζεται στερεοεκλεκτικώς το *trans*-ισομερές (βλέπε Σχ. 1) όταν οι υποκαταστάται εις την θέσιν C-2 είναι φαινυλ- και μεθυλ-ομάδες. Αι περιγραφόμεναι ενώσεις συνετέθησαν

μεν προ πολλών ετών² δεν έχουν όμως μέχρι τούδε δημοσιευθή και εξετάζονται υπό το πρίσμα νεωτέρων ευρημάτων¹⁴. Ούτω η διαμόρφωσις εκάστου ισομερούς αποδίδεται ποιοτικώς με την χρήσιν του λόγου $J_{5,6}/J_{4,6}$ όπου $J_{5,6}$ και $J_{4,6}$ είναι αντιστοίχως η γειτονική και αλληλική σταθερά συζεύξεως εις N.M.R. Επί πλέον περιγράφονται αι πρώτον συντεθείσαι 6-υδροξυ-6-υποκαταστημένοι 2H-πυραν-3(6H)-όναι.

References

1. Part IIa in the series «*Products from Furans*»; for parts I-III, see references 4, 9, 10 and 14.
2. This paper presents and explains older data obtained at Ayerst Laboratories in the light of new findings by M.P.G. and his co-workers; see reference 14.
3. Correspondence may be addressed to M.P.G. at the Agricultural University of Athens, Iera odos 75, Athens, Greece.
4. Y. Lefebvre: *Tetrahedron Lett.*, 133 (1972); U.S. Patent No. 3,547,912 (1970) to Am. Home Products (Ayerst).
5. O. Achmatowicz, Jr., P. Bukowski, B. Szechner, Z. Zwierchowska, and A. Zamojski: *Tetrahedron*, 27, 1973 (1971).
6. P. Weeks, M. Brennan, D. Brannegan, D. Kuhla, M. Elliot, H. Watson, B. Wlodeki, and R. Breitenbach: *J. Org. Chem.*, 45, 1109 (1980).
7. G. Piancatelli, A. Scettri, and M. D'Auria: *Tetrahedron Lett.*, 2199 (1977).
8. Private communication with Mr. Elias Couladouros and Dr. M. Polysiou: Agricultural Univ., Athens.
9. R. Laliberte, G. Medawar, and Y. Lefebvre: *J. Med. Chem.*, 16, 1084 (1973).
10. M. P. Georgiadis: *J. Med. Chem.*, 19, 346 (1976).
11. a) O. Achmatowicz, Jr., G. Gryniewicz, and B. Szechner: *Tetrahedron*, 32, 1051 (1976).
b) O. Achmatowicz, Jr. and B. Szechner: *Carbohydr. Res.*, 50 (1976).
c) O. Achmatowicz, Jr. and G. Gryniewicz: *Roczniki Chem.*, 50, 719 (1976).
d) O. Achmatowicz, Jr., R. Bielski, and P. Bukowski: *Roczniki Chem.*, 50, 1535 (1976).
e) O. Achmatowicz, Jr., and G. Gryniewicz: *Carbohydr. Res.*, 54, 193 (1977).
f) O. Achmatowicz, Jr., and R. Bielski: *Carbohydr. Res.*, 55, 165 (1977).
12. a) G. Gryniewicz and A. Zamojski: *Synthetic Commun.*, 8, 491, (1978).
b) G. Gryniewicz, B. Barszczak, and A. Zamojski: *Synthesis*, 364 (1979).
13. O. Achmatowicz, Jr. and M. H. Burzynska: *Polish J. Chem.*, 53, 265 (1979).
14. M.P. Georgiadis, E. Couladouros, M. Polysiou, S. E. Philipakis, D. Mentzafos, and A. Terzis: *J. Org. Chem.*, 47, 3054 (1982).
15. *cis-4* and *trans-4* have appeared in the literature as ether B and ether A, respectively; see references 9 and 14.
16. E. Garbisch: *J. Am. Chem. Soc.*, 86, 5561 (1964).
17. A.P. Newton and P.H. Groggins: *Ind. Eng. Chem.*, 27, 1398 (1935); see also P.H. Gore in «*Friedel-Crafts and Related Reactions*», Vol. III, part. 1, C.A. Olah, Ed., Interscience, New York, NY, 1964.
18. H. Normant and C. Crisbon: *Bull. Soc. Chim. France*, 199, 459 (1959).
19. A. W. Johnson: *J. Chem. Soc.*, 895 (1946).
20. E. S. Corey and M. Chaykovsky: *J. Am. Chem. Soc.*, 87, 1353 (1965).
21. T. Reichstein: *Helv. Chim. Acta*, 13, 345 (1930).