

Margarita Kozłowska

POSZUKIWANIA SYNTETYCZNYCH BIOANALOGÓW
HORMONÓW JUWENILNYCH OWADÓW
Z PIERŚCIENIEM CYKLOPENTANOWYM

Praca przedstawiona
Radzie Naukowej
Instytutu Chemii Organicznej PAN
w celu uzyskania stopnia
doktora nauk chemicznych
wykonana w IChO PAN
pod kierunkiem
Docenta dr habil. Wiesława Sobótki

Biblioteka Instytutu Chemii Organicznej PAN

O-B.113/77

Warszawa, 1977





B Org 113/77

Promotorowi

Docentowi dr habil. Wiesławowi Sobótce
dziękuję serdecznie za wyrozumiałość
i cierpliwość oraz opiekę i pomoc
w trakcie wykonywania pracy

Rodzicom moim
poświęcam

Spis treści

	Str.
1. Część literaturowa	1
1.1. Wstęp	1
1.2. Układ neurohormonalny i neurohormony	1
1.2.1. Corpora allata (CA)	2
1.2.2. Hormony juwenilne (JH) - transport i deaktywacja	4
1.2.3. Rola hormonów juwenilnych	4
1.2.4. Budowa receptora JH	7
1.3. Regulacja hormonalna - III i IV generacja pestycydów	9
1.4. Teoretyczny i praktyczny aspekt poszukiwań JHA ...	10
2. Założenia i cel pracy	15
3. Badania własne	16
3.1. Otrzymywanie wyjściowego syntonu - kwasu 3-ketocyklopentylooctowego (<u>19a</u>)	16
3.2. Próby otrzymania ketoaldehydu <u>32</u> lub hydroksyalde- hydu <u>32a</u> oraz hydroksyketonu <u>22a</u>	16
3.3. Synteza 5-oksa analogu JH II z wbudowanym pierś- cieniem pięcioczłonowym	20
3.4. Synteza 9,11-dwuoksaanalogów hormonu 12-homojuwe- nilnego JH I z pierścieniem cyklopentanowym i układem 1,3-dienowym <u>39a,b</u>	24
3.4.1. Przygotowanie reagentów Wittiga	24
3.4.2. Synteza JHA <u>39a</u> i <u>39b</u>	27
3.5. Wykorzystanie jodku fosfoniowego <u>40</u> do syntezy JHA	31
3.5.1. Otrzymywanie jodku fosfoniowego <u>40</u>	31
3.5.2. Zbadanie reaktywności jodku fosfoniowego <u>40</u>	33
3.5.3. Synteza estru etylowego kwasu 2,7,7-trójmetylo- -7-(3-metoksy-3-metylocyklopentylo)heptadieno- -1,5-karboksylowego-1 (<u>48</u>)	35

4. Badania biologiczne	39
5. Podsumowanie	40
6. Część doświadczalna	42
7. Literatura	

Suplement

1. CZĘŚĆ TEORETYCZNA

1.1. Wstęp

Metody hormonalnej kontroli wzrostu populacji szkodliwych owadów stanowią interesujący problem zarówno z punktu widzenia teoretycznego jak i praktycznego ich zastosowania^{1a,b,c/}.

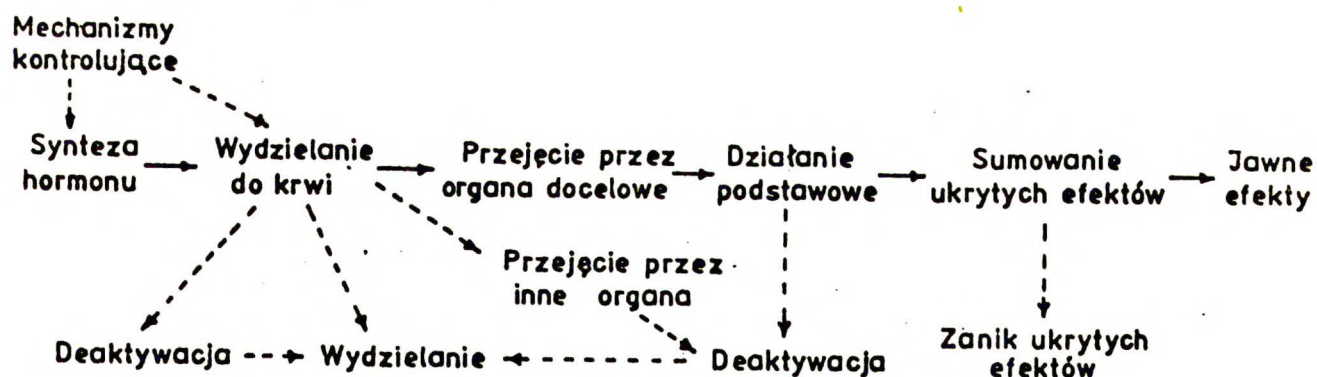
Aby zrozumieć istotę i użyteczność metod hormonalnych omówię na wstępie budowę układu hormonalnego i jego rolę w organizmie owada ze szczególnym uwzględnieniem gruczołów wydzielania wewnętrznego corpora allata i hormonów juvenilnych.

1.2. Układ neurohormonalny i neurohormony

Regulacją przeobrażenia i rozwoju owadów kieruje centralny system nerwowy (Kopeć, 1917 r.) Wywołuje on w organizmie owada szereg zmian fizjologicznych i biochemicznych (niezależnych od obecności gruczołów dokrewnych) takich jak oddziaływanie na wzrost, diapauzę i diurezę, metabolizm oddychania, aktywność enzymatyczną, a zwłaszcza stymuluje syntezę enzymów hydrolitycznych, metabolizm węglowodanów, tłuszczów i protein, wzrost szybkości syntezy RNA, oddziaływanie myotropowe oraz stymulowanie wytwarzania żeńskich feromonów^{2/}. Komórki neurosekrecyjne zawarte w mózgu, których rola polega na przekazywaniu informacji nerwowych do gruczołów dokrewnych lub innych tkanek, wytwarzają dwa rodzaje neurohormonów^{3/}. Pierwszy stanowią związki o niskim ciężarze cząsteczkowym, takie jak katecholoaminy oraz aminy biogenne, które poza działaniem myotropowym i diuretycznym wykazują aktywność hyperglikemiczną

i neuropobudzającą. Drugi, to neurohormony peptydowe o dużym ciężarze cząsteczkowym, które spełniają nadrzędną rolę w hierarchii hormonalnej. Wśród nich najistotniejsze funkcje pełni hormon aktywujący zwany również h.mózgowym, h.prorakotropowym, h.allatotropowym lub h.adenotropowym. Działanie jego polega na stymulacji czynności wydzielniczej gruczołów endokrynych, synchronizacji biogenezy i reprodukcji ze stanem odżywienia i stanem homeostatycznym owada według określonego programu genetycznego organizmu. Aktywuje on okresowo gruczoły wydzielania wewnętrznego: przedtułowiowe (protorakalne), które przypuszczalnie wydzielają enzymy niezbędne dla biosyntezy hormonów steroidowych - ecdysonów oraz ciała przyległe (corpora allata) wydzielające hormony juwenilne (JH).

1.2.1. Corpora allata (CA)



Rys. 1. Ogólny model dynamicznego działania hormonu
(wg Othaki i współprac., 1968)

Rysunek 1 przedstawia w sposób schematyczny dynamikę procesów endokrynych w owadzie. Gdy układ wydzielniczy stanowią CA a wydzielany czynnik-hormon juwenilny, interesujące nas "mechanizmy kontrolujące" modulują w tym przypadku syntezę i wydzielanie JH

przez CA. Ponieważ nie stwierdzono dotychczas, aby JH akumulował się w gruczołach, wydaje się, że aktywność CA polega na modulowaniu raczej syntezy niż wydzielania^{4/}.

Corpora allata są aktywowane okresowo przez hormon mózgowy, który pobudza wydzielanie czynnika stymulującego ich działalność, zwanego allatotropiną^{5/}. Ostatnio stwierdzono^{6/}, że w końcowym, piątym stadium larwalnym *Manduca sexta* pojawia się nowy czynnik, nazwany przez Williama "inhibitorem" uwalniany z nieznanego źródła w odwołku owada. Czynnik ten działa na mózg, a następnie poprzez nerwy na CA, które przestają wydzielać JH. Autor proponuje mózgowy mechanizm deaktywacji CA polegający na zmniejszeniu przez mózg pod wpływem "inhibitora" wydzielania czynnika stymulującego - allatotropiny i jednoczesnym wydzielaniu czynnika hamującego, który nazwał allatohibiną. Konieczność postulowania dwóch czynników kontrolujących wynika z badań wykonanych *in vitro* na aktywnych i nieaktywnych CA z *Manduca*. Okazało się bowiem, że aktywne CA po określonym przedziale czasu zachowały jedynie niewielką aktywność, co można tłumaczyć brakiem allatotropiny, natomiast nieaktywne CA odzyskały pewną niewielką aktywność, gdyż pozbawione były wpływu allatohibiny. Przypuszcza się, że oba te czynniki są substancjami neurosekrecyjnymi i poprzez aksony transportowane są do CA. O ich budowie jak również o budowie "inhibitora" jak dotychczas nic nie wiadomo.

Ciężar cząsteczkowy inhibitora jest podobny do bacitracyny (ca 1400 daltonów) a jego własności są identyczne ze związkami wyekstrahowanym z jajników *Rhodnius* nazwanym antygonadotropiną^{7/}.

1.2.2. Hormony juwenilne (JH) - transport i deaktywacja

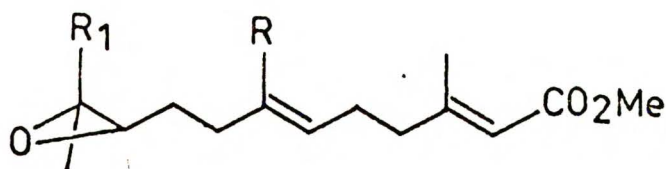
Produkowane przez corpora allata i wydzielane pod wpływem substancji sekrecyjnej z komórek mózgowych JH przekazywane są drogą połączeń nerwowych albo przez hemolimfę do obiektów docelowych. Podczas transportu występują one w postaci kompleksu ze specyficznymi nośnikami proteinowymi o ciężarze cząsteczkowym $3,4 \times 10^4$ ochraniającymi je przed enzymami degradacyjnymi^{8a,b,c/}. Niezwiązane z białkiem JH ulegają szybkiej deaktywacji pod działaniem specyficznych esteraz i hydrolaz epoksydowych do biologicznie nieczynnych diolestrów, epoksy kwasów i diolokwasów, które to metabolity nie wykazują powinowactwa do białka nośnikowego.

Ostatnio odkryto u *Manduca* nowe esterazy (typu II), które hydrolizują JH nawet w obecności dużego nadmiaru proteiny. Próba korelacji obecności tych esteraz z poziomem JH wykazała, że esterazy typu II pojawiają się w krytycznym okresie przed metamorfozą piątego stadium larwy, ich stężenie rośnie i osiąga najwyższy poziom piątego dnia. Jednocześnie esterazy typu I wykazują względnie małe wahania w tym okresie.

Te rezultaty sugerują ważne funkcje wiążących protein oraz esteraz JH w regulacji poziomu JH w hemolimfie owada podczas rozwoju larwalnego.

1.2.3. Rola hormonów juwenilnych

Jak dotychczas wyizolowano i poznano strukturę trzech hormonów juwenilnych JH I, JH II i JH III.



1. $R=R_1=C_2H_5$ (JH-I, C₁₈-JH)
2. $R=CH_3, R_1=C_2H_5$ (JH-II, C₁₇-JH)
2. $R=R_1=CH_3$ (JH-III, C₁₆-JH)

Główna rola JH polega na utrzymaniu stanu larwalnego przez uniemożliwienie metamorfozy do stanu poczwarkowego. Poza tym wywierają one również podtrzymujące działanie gruczołu protorakalnego, efekty protorakotropowe a w przypadku samic gonadotropowe.

Zbadanie roli JH II i JH III występujących w termitach *Kalotermes*^{9/}, pozwoliło stworzyć koncepcję, że różne JH mogą wykazywać jakościowo różne sposoby działania. Obecnie^{10/} uzyskano ilościowe i jakościowe dane dla jej potwierdzenia. Po raz pierwszy zaobserwowano jednoczesne występowanie wszystkich trzech JH w tym samym owadzie (*Galleria*) i obecność JH I i JH II u Hemimetabola. Ilościowa analiza wykazała, że nie tylko skład, ale i relatywne stężenie odpowiednich JH zmieniają się w zależności od stadium rozwojowego, co sugeruje, że mogą one odgrywać różne role w różnych stadiach życia owada. Duży nadmiar JH III w hemolimfie dorosłych samic podczas dojrzewania oocytów wskazuje na ważne funkcje gonadotropowe. Znacznie większa zawartość JH I (dwudziestokrotnie wyższa w drugim stadium larwalnym u *Nauphocta*) i JH II w hemolimfie larwy niż dorosłej samicy może wskazywać na funkcję juvenilną. Ponadto sądzi się, że JH II odgrywa również rolę w dojrzewaniu oocytów, gdyż jego stężenie choć niskie w tym okresie zmienia się

i jest największe, gdy wzrost oocytów osiąga maximum.

Największą aktywność morfogenetyczną wykazuje JH I a najmniejszą JH III.

W wyniku przerwania przez CA wydzielania JH w czasie ostatniego stadium linienia następuje przeobrażenie. U dorosłych owadów podjęte zostaje ponowne wytwarzanie JH potrzebnych do stymulowania rozwoju gonad, odkładania żółtka jajowego oraz do działalności gruczołów produkujących spermatofory. JH aktywują jajniki do rozwoju jaj, kontrolują syntezę witellogenin, specyficznych białek obecnych w hemolimfie i żółtku jaj wytwarzanych przez dojrzewające samice oraz regulują powstawanie szczawianu wapnia i glikozydu kwasu protokatechinowego powodujących twardnienie osłonki jajowej^{10/}.

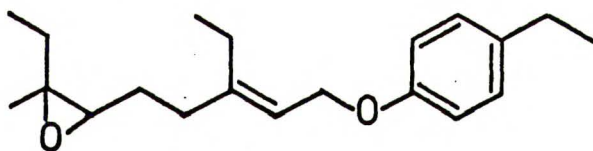
Z innych fizjologicznych i biochemicznych efektów wywieranych przez JH należy wymienić: bezpośredni wpływ na komórki epidermy, wzrost metabolizmu oddychania u dojrzałych samic, wzrost aktywności esteraz w hemolimfie poczwarek w diapauzie, regulacja procesów związanych z wytwarzaniem feromonów u jednej lub obydwu płci, oddziaływanie na komórki przed wystąpieniem transkrypcji DNA określające, która część genomu będzie użyta do nowych syntez oraz wpływ na metabolizm kwasów nukleinowych.

Zakłada się, że działanie JH na poziomie molekularnym polega na ingerencji w transkrypcję genów regulatorowych prowadzącej do hamowania inicjacji syntezy t-RNA lub m-RNA odpowiedzialnych za tworzenie się protein zaangażowanych w produkcję nowych struktur powstających w wyniku metamorfozy.

1.2.4. Budowa receptora JH

Postulowane modele działania hormonu lub jego mimetyku opierają się na założeniu istnienia w tkankach docelowych wiążących centrów receptorowych. Oddziaływanie receptor-związek aktywny wywołuje efekt energetyczny i konformacyjny^{11a,b/}, który uruchamia mechanizm regulacyjny. Ostatnio Nills i współprac.^{12/} posługując się metodą Q SAR dla przewidywania wpływu podstawników na biologiczną aktywność, podobnie jak to przeprowadzono dla serii związków farmaceutycznych (Dunn 1973; Hansch i współprac. 1973) oraz dla analogów DDT (Metcalf 1974), zaproponowali model receptora dla *Oulema melanopus* (Chrysomelidae).

Otrzymali oni i poddali badaniom biologicznym cały szereg pochodnych eterów arylowych o ogólnej budowie typu eteru 4.

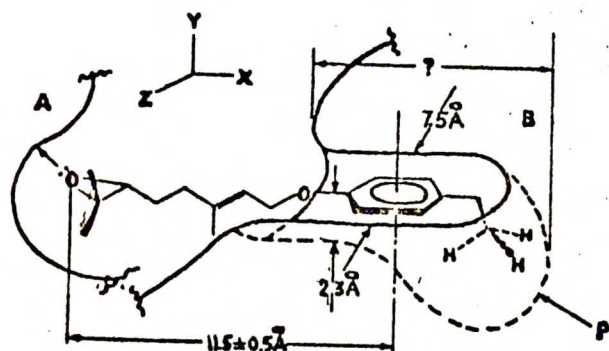


4

Autorzy przedyskutowali ilościowe korelacje między aktywnością tych hormonomimetyków a lipofilowością, polarnością i parametrami sterycznymi.

Zakładając, że ilość i położenie wprowadzonych grup alkilowych do lub w sąsiedztwo podstawnika arylowego nie zaburzy w sposób istotny aktywności użytych JH-analogów uwarunkowanej lipofilowością oraz czynnikami elektronowymi, uzyskany efekt przypisano czynnikom sterycznym i określono obraz wymogów sterycznych hipotetycznego centrum receptorowego dla związku 4 i jego pochodnych.

Rys. 2. Model hipotetycznego centrum receptorowego JH
zaznaczonymi wymiarami krytycznymi



A, B i P - części receptora.

Część A może, lecz nie musi być
związana z częścią B.

Podstawnik para w części arylo-
wej lokuje się w "worku" P i wią-
że się z nim.

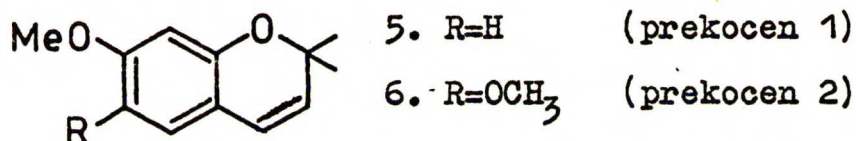
Należy wspomnieć, że postulowana przez Nillsa^{13/} hipoteza, jakoby czynnikiem koniecznym dla wystąpienia aktywności biologicznej JH analogu jest obecność terminalnej grupy funkcyjnej o pewnej gęstości II-elektronowej w odległości $11 \pm 1 \text{Å}$ od epoksydowego atomu tlenu (przy założeniu takich konformacji łańcucha węglowego, gdzie odpychania typu wodór-wodór są najmniejsze) ogranicza się jedynie do podstawnika p-etylofenylowego. Okazało się bowiem, że związek, w którym pierścień aromatyczny zastąpiono podstawnikiem trans cykloheksylowym ujawnił wysoką aktywność przy jednoczesnym spadku aktywności związku z podstawnikiem cis cykloheksylowym, co wskazuje na konieczność planarności tej części cząsteczki. Uzyskane wyniki i postawiona hipoteza pozwalają na zaprojektowanie syntez nowych związków o przewidywanym, wybiórczym w stosunku do różnych gatunków owadów działaniu hormonomimetycznym.

1.3. Regulacja hormonalna - III i IV generacja pestycydów

Podanie owadowi JH lub JH-mimetyku (tzw. III generacja pestycydów) zaburza jego cykl rozwojowy uniemożliwiając metamorfozę stadium larwalnego w poczwarkę, a w niektórych przypadkach również wpływa na embriogenezę, pigmentację larwy, wywołuje transformację larwa/imago (jedynie u Nauphoeta i Dixippus), zaburza przeobrażenie owada ze stadium poczwarkowego w dorosłe, wywiera wpływ na diapauzę niedojrzałych stadiów oraz na reprodukcję^{14/}. Jednakże u większości gatunków owadów niedojrzałe i dorosłe stadia nie są kontrolowane przez nadmiar JH. Z faktu, że okres wrażliwości owada na aplikację egzogenego JH jest krótki, a możliwość ingerencji istnieje tylko na tym etapie rozwojowym, gdy poziom endogenego JH u owada jest niski wynikają ograniczenia w stosowaniu JH analogów jako potencjalnych insektycydów. III generacja pestycydów stwarza największe szanse w przypadku owadów będących szkodnikami dopiero jako osobniki dorosłe (wektory chorób, niszczenie plonów). Gdy szkodnikiem jest larwa owada przedłużanie jej rozwoju larwalnego, chociaż gwarantuje zmniejszenie populacji w następnym sezonie (ze względu na fakt, że dalszy rozwój takiego owada jest zaburzony i doprowadza w końcu do jego śmierci) może znacznie zwiększyć straty materialne bezpośrednio po zastosowaniu metody hormonalnej.

Ponieważ obecność JH jest konieczna w większości stadiów rozwojowych owada bardziej skutecznym insektycydem byłby związek posiadający aktywność antyjuwenilną (antyallatotropową)^{15a/}. Na podstawie współczesnej wiedzy o endokrynologii owadów można przewidzieć, że anty JH i jego analogi (tzw. IV generacja pestycydów)

przeciwdziałyby produkcji lub działaniu endogennego JH zaburzając rozwój owada znajdującego się w dowolnym stadium. Uwieńczone sukcesem okazały się poszukiwania Bowers'a^{15a,b,c/}, który wyizolował z ekstraktu roślinnego (*Ageratum houstonianum*) dwa związki chemiczne 5 (7-metoksy-2,2-dwumetylochromen) i 6 (6,7-dwumetoksy-2,2-dwumetylochromen) o znanej strukturze, które indukują przedwczesny rozwój u niedojrzałych Hemiptera, zapobiegają rozwojowi owariów u wielu dorosłych owadów a w przypadku Coleoptera ujawniły pełen zakres aktywności antyallatotropowej (przedwczesną metamorfozę, aktywność antygonadotropową, indukcję diapauzy, blokowanie embriogenezy oraz odwracalną aktywność allatotropową).



Sposób ich działania nie został dotychczas poznany. Może on polegać na ingerencji w biosyntezę JH w CA, zaburzeniu regulacji mózgowej pobudzającej CA, indukcji enzymów odpowiedzialnych za metabolizm JH (lub jego biosyntetycznego prekursora), zniszczeniu wiązania hormon - nośnik proteinowy lub też blokadzie aktywnych centrów receptorowych.

Ostatnio^{16/} Bowers odkrył całkowicie nową grupę hormonów antyjuwenilnych, niespokrewnionych chemicznie z prekocenem, które wykazują aktywność w stosunku do Lepidoptera.

1.4. Teoretyczny i praktyczny aspekt poszukiwań JHA

Różnorodność struktur związków aktywnych biologicznie jako

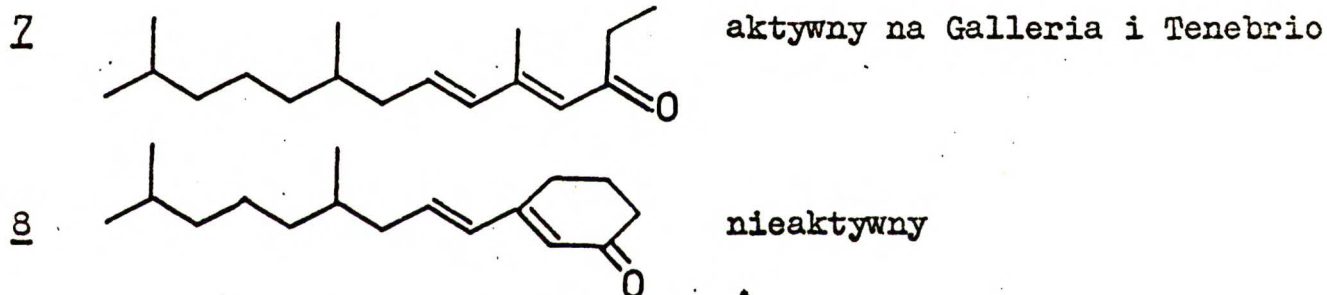
JHA oraz cały szereg czynników takich jak polarność związku, jego stabilność *in vivo* i w warunkach polowych, oddziaływania hydrofobowe, zawady steryczne etc. utrudnia analizę zależności aktywności biologicznej związków od ich budowy. Jedynie przebadanie serii związków niewiele różniących się między sobą może dać dokładniejsze informacje na ten temat.

Większość opisanych w literaturze systematycznych badań tego typu dotyczy: roli podstawników alkilowych oraz innych, nietypowych dla naturalnych hormonów juvenilnych, takich jak chlorowce, grupy amidowe, nitrowe i inne; podwójnych wiązań w cząsteczce - ich ilości, konfiguracji i położenia w określonym miejscu łańcucha węglowego; obecności heteroatomów w łańcuchu węglowym oraz długości tego łańcucha^{17/}.

Cząsteczka JH ze względu na swobodną rotację wokół wiązań C-C może występować w hemolimfie owada w wielu konformacjach. Wiążąc się z białkiem nośnikowym lub dopasowując do hipotetycznego specyficznego receptora w komórce docelowej występuje prawdopodobnie w konformacji uprzywilejowanej. Hormony juvenilne i ich alifatyczne bioanalogi mogą przyjąć taką konformację, a więc dopasować się konformacyjnie do centrów receptorowych różniących się kształtem. Usztywnienie cząsteczki ogranicza liczbę możliwych do przyjęcia konformacji a w konsekwencji liczbę różnych receptorów, z którymi może się ona wiązać. Wydaje się więc, że takie usztywnienie przy jednoczesnym zachowaniu ogólnego kształtu cząsteczki i podstawowych grup funkcyjnych z jednej strony powinno dać informację na temat wymogów sterycznych uprzywilejowanej konformacji (aspekt teoretyczny), a z drugiej strony może prowadzić do związków o działaniu selektywnym (aspekt praktyczny).

Jako przykład określenia uprzywilejowanej konformacji grupy funkcyjnej mogą służyć następujące dane^{18/}.

Obecność grupy karbonylowej w formie estru, ketonu lub amidu w ogólności stanowi ważny czynnik dla wysokiej aktywności analogu JH. Ponieważ rotacja wokół wiązania między karbonylowym atomem węgla C-1 i atomem węgla sąsiadującego C-2 może przebiegać swobodnie, trudno jest określić najbardziej uprzywilejowaną konformację grupy karbonylowej stanowiącej o aktywności hormonomimetyku. Stwierdzono jednakże, że wbudowanie tej grupy w układ pierścieniowy całkowicie likwiduje aktywność biologiczną.

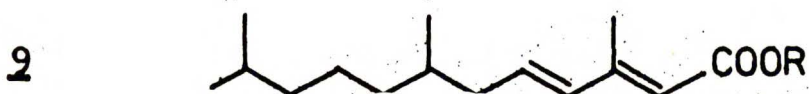


Modele Dreidinga cyklicznych ketonów typu 8 pokazują, że grupa CO może znajdować się w przybliżeniu 45° nad lub pod płaszczyzną w stosunku do sąsiadującego wiązania podwójnego i chociaż nadmierne zabudowanie przestrzenne, które wnosi pierścień, może być odpowiedzialne za brak aktywności cyklicznych ketonów, jest prawdopodobne, że główną przyczynę stanowi przyjęcie przez CO konformacji niekorzystnej dla biologicznej aktywności.

Z drugiej strony stwierdzono^{19/} wybiórczą aktywność morfogenetyczną kilku związków nowej klasy JHA pochodnych kwasu 2,3-metylenofarnezowego oraz 2,3-metylenofarnezolu zawierających w miejscu podwójnego wiązania C-2 seskwiterpenowego szkieletu hormonu juvenil-

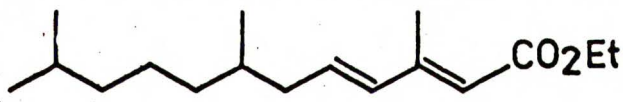
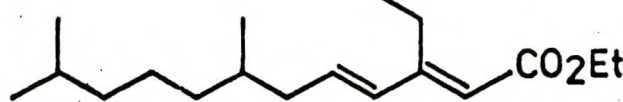
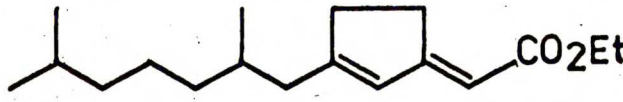
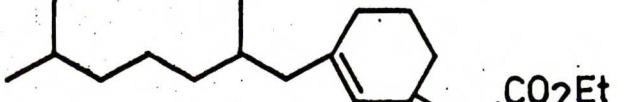
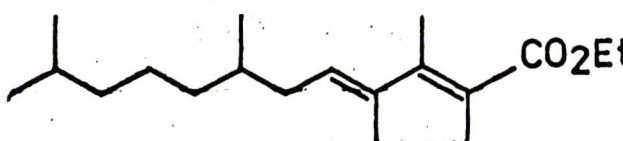
nego owadów JH III pierścień cyklopropanowy.

Równie obiecujące wyniki^{18/} dało przebadanie nowej grupy JHA 2,4-dodekadienów typu 9 o wysokiej aktywności.



Wykazały one bardzo dużą aktywność w stosunku do rzędów Lepidoptera, niektórych Coleoptera i wielu Homoptera, i bardzo niską na Hymenoptera i Heteroptera. Co więcej stwierdzono również, że permutacja terminalnych grup funkcyjnych znacznie zwiększa selektywne działanie w stosunku do gatunków owadów.

Szczególnie interesujący przykład usztywniania cząsteczki JHA stanowi seria związków przedstawionych w tabeli 1^{18/}.

		Galleria mellonella ug/poczw.	Tenebrio molitor ug/poczw.
<u>10</u>		0,040	0,25
<u>11</u>		5,0	4,4
<u>12</u>		0,0029	0,0085
<u>13</u>		10	10
<u>14</u>		45	100

Homologiczny w stosunku do 10 związek 11 posiadający podstawnik etylowy zamiast metylowego przy atomie węgla C-2 wykazał stukrotny spadek aktywności biologicznej na *Galleria mellonella* i *Tenebrio molitor*, natomiast w przypadku jego cyklicznego izomeru 12, w którym grupa etylowa została wbudowana w pierścień pięcioczłonowy, zaobserwowano 1700-krotny (w stosunku do 11) wzrost aktywności na *Galleria*. Wprowadzenie dodatkowej grupy metylenowej w związku 13 prawie całkowicie zlikwidowało jego aktywność morfogenetyczną. Oprócz dodatkowej grupy metylenowej wszystkie sześć atomów węgla w układzie dienowym może być prawie koplanarne w obu związkach. Jest oczywiste, że acykliczny analog 10 również może przyjąć planarną konformację sześciu węgli układu dienowego. Na tej podstawie można wnioskować, że cyklopentanowy związek 12 osiąga prawdopodobnie tę idealną kombinację planarnej konformacji z właściwym, niezbyt dużym zabudowaniem przestrzennym w regionie zajmowanym zwykle przez grupę metylową w naturalnych JH.

2. ZAŁOŻENIA I CEL PRACY

Z przedstawionych w części wprowadzającej danych literaturo-
wych wynika, że usztywnianie cząsteczki potencjalnego hormonomime-
tyku w taki sposób, aby nie wprowadzać dodatkowej przeszkody ste-
rycznej może prowadzić do związków działających selektywnie. Co
więcej, przy odpowiedniej ilości materiału badawczego pozwala ono
na otrzymanie informacji na temat uprzywilejowanej konformacji,
w której występuje aktywna cząsteczka JHA. W oparciu o omówione
przeze mnie dane literaturowe i przedstawione wnioski sformułowa-
łam następujące ogólne cele pracy:

1. Synteza analogów hormonów juvenilnych z fragmentem usztywnionym przy pomocy pierścienia cyklopentanowego.
2. Ustalenie budowy otrzymanych nowych połączeń i zbadanie możliwości ich rozdziału na stereoizomery bez intencji otrzymania związków optycznie czynnych.
3. Uzyskanie wstępnych danych biologicznych dla otrzymanych analogów JH.

3. BADANIA WŁASNE

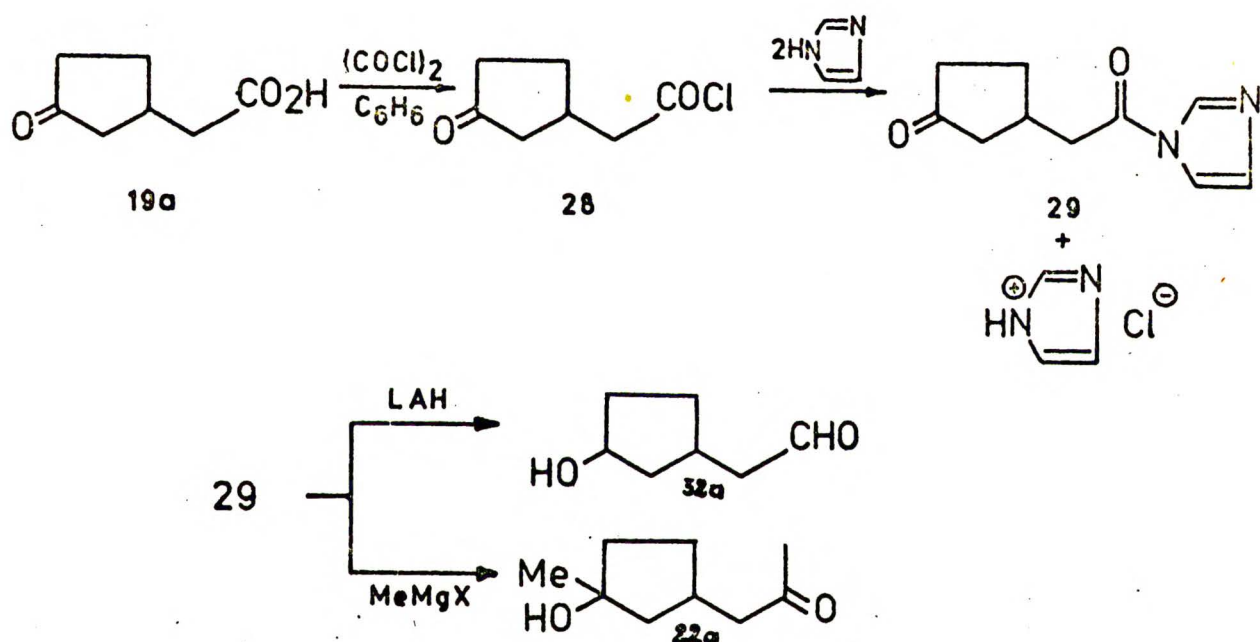
3.1. Otrzymywanie wyjściowego syntonu - kwasu 3-ketocyklopentylooctowego (19a)

Do syntezy układów łańcuchowych zawierających odpowiednio wbudowany pierścień pięcioczłonowy wydawało się korzystne otrzymanie 1,3- podstawionego cyklopentanu i przeprowadzenie kolejnych transformacji na tym układzie. Ponieważ ketonokwas 19a^{20/} stwarza duże możliwości syntetyczne a metody jego otrzymywania zostały już opracowane, wychodząc z dostępnego dwucyklopentadienu przeprowadziłam kilkietapową syntezę tego pożądanego syntonu (patrz schemat I). Termiczna depolimeryzacja dwucyklopentadienu (15)^{21/}, a następnie addycja 1,4 cząsteczki chlorowodoru w obniżonej temperaturze prowadziła do 3-chlorocyklopentenu (16)^{22/}. Utlenienie tego związku wodnym roztworem dwuchromianu sodu i rozłożenie powstałego kompleksu Cr - keton 50% kwasem siarkowym dało cyklopenten-1-on-3 (17). Addycja Michaela malonianu dwuetylowego do tego α,β -nienasyconego ketonu w obecności etanolanu sodowego, a następnie przeprowadzone w jednym etapie kwasowa hydroliza i termiczna dekarboksylacja powstałego adduktu 18 prowadziły do otrzymania ketonokwasu 19a, którego dane fizykochemiczne okazały się zgodne z opisanymi przez Meinwalda^{20/}

3.2. Próby otrzymania ketonoaldehydu 32 lub hydroksyaldehydu 32a oraz hydroksyketonu 22a

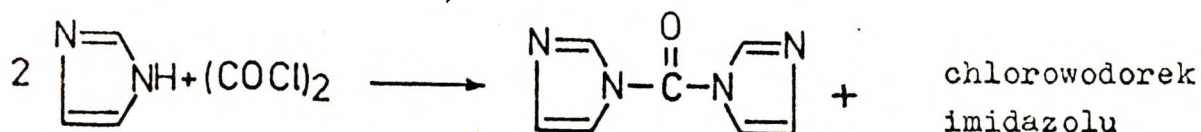
Zabezpieczenie grupy kwasowej metodami opisanymi przez Staaba i współpr.^{23,24/} stwarza różne możliwości funkcjonalizacji układu

ketonokwasu 19a. Autorzy zaproponowali dwa sposoby otrzymania imidazolowych pochodnych kwasów karboksylowych i stwierdzili, że ulegają one redukcji wodorkiem litowoglinowym do aldehydów, a w reakcji Grignarda prowadzą do odpowiednich ketonów. W świetle tych danych moja koncepcja syntezy bazująca na otrzymaniu i wykorzystaniu imidazolidu 29 wyjściowego ketonokwasu stwarzała przesłanki uzyskania w stosunkowo prosty i szybki sposób związków niezbędnych do planowanych syntez.



Imidazolid 29 otrzymałam w reakcji chlorku kwasowego 28 z imidazolem w roztworze tetrahydrofuranu; jednakże trudności z oczyszczeniem uzyskanego tą metodą związku nie pozwoliły mi na pełną jego identyfikację. Szereg prób reakcji Grignarda jodku metylomagnezowego z zanieczyszczonym imidazolidem 29 prowadziło do mieszaniny kilku produktów, wśród których pokaźny procent stanowił, wbrew danym literaturowym, związek z funkcją hydroksylową zamiast ketonowej. Uzyskane negatywne wyniki skłoniły mnie do podjęcia syntezy

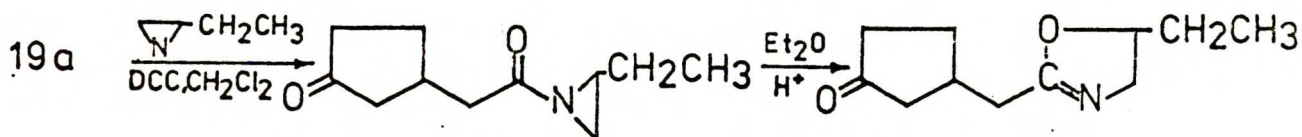
zmodyfikowaną metodą polegającą na reakcji kwasu 19a z N,N-karbo-
dwiimidazolem^{25a,b/} i wiodącą również do imidazolidu 29. N,N-kar-
bodwiimidazol otrzymałam traktując imidazol roztworem fosgenu
w tetrahydrofuranie.



Uzyskały krystaliczny produkt, którego dane fizykochemiczne były
zgodne z literaturowymi^{25a/}, w reakcji ze związkem 19a nie dał
jednakże oczekiwanych rezultatów.

Inną metodą ochrony grup karboksylowych przed reagentami
Grignarda jest synteza 2-oksazolin^{26/}, które podczas ogrzewania
w 8% etanolowym kwasie siarkowym ulegają otwarciu z odtworzeniem
grupy karboksylowej. Opracowany przez Meyersa i współpr. sposób
ich otrzymywania wykorzystuje dobrze znane przegrupowanie acylo-
azyrydyn do oksazolin w warunkach kwaśnych^{27/}.

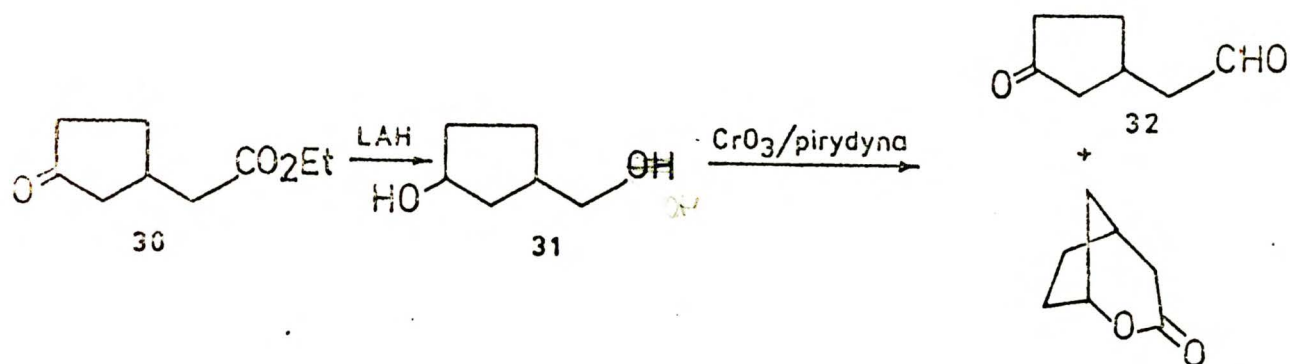
Stosując jako substraty ketonokwas 19a oraz etyloazyrydynę
w obecności dwucykloheksylokarbodwiimidu (DCC) w roztworze chlorku
metylenu otrzymałam odpowiednią acyloazyrydynę która, przedestylo-
wana pod zmniejszonym ciśnieniem (65°/0.2 Torr) wykazała w widmie
w podczerwieni obecność dwóch charakterystycznych dla oczekiwanego
związku pasm: amidowego (1680 cm⁻¹) oraz ketonowego (1730 cm⁻¹).



Jednakże polecane przez autorów przegrupowanie do 2-oksazolin
w roztworze eterowym w obecności śladowych ilości stężonego H₂SO₄

dało cały szereg (wg tlc na żelu krzemionkowym przy użyciu odczynnika Dragendorfa) trudnych do identyfikacji produktów.

Rezygnując z metody zabezpieczenia grupy karboksylowej przeprowadziłam syntezę ketonoaldehydu 32 wg następującego schematu.

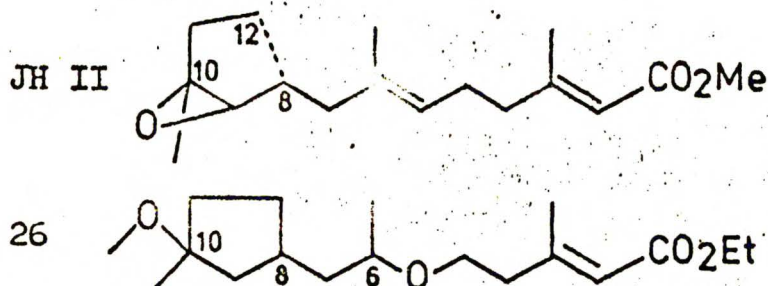


Redukcja ketonokwasu 19a lub jego estru etylowego 30 prowadziła do diastereoizomerycznej mieszaniny dioli 31, które następnie potraktowałam kompleksem CrO₃/pirydyna w chlorku metylenu (odczynnik

Sarett) utleniającym pierwszorzędowe grupy hydroksylowe do aldehydów, a drugorzędowe do ketonów^{28/}. Obok spodziewanego ketonoaldehydu 32 w reakcji tej otrzymałam z wydajnością około 70% 2-oksabicyklo[3.2.1]oktanon-3^{29/}, który przypuszczalnie tworzył się poprzez wewnętrzną estryfikację powstającego w wyniku utleniania hydroksykwasu. Ze względu na niską wydajność oczekiwanego produktu, jak również jego nietrwałość wykluczającą chromatograficzne oczyszczanie powyższą metodę uznałam za niezadowalającą.

Pozytywne wyniki syntezy związków 32 i 22a omawiam w następnych rozdziałach.

3.3. Synteza 5-oksa analogu JH II z wbudowanym pierścieniem pięcioczłonowym 26

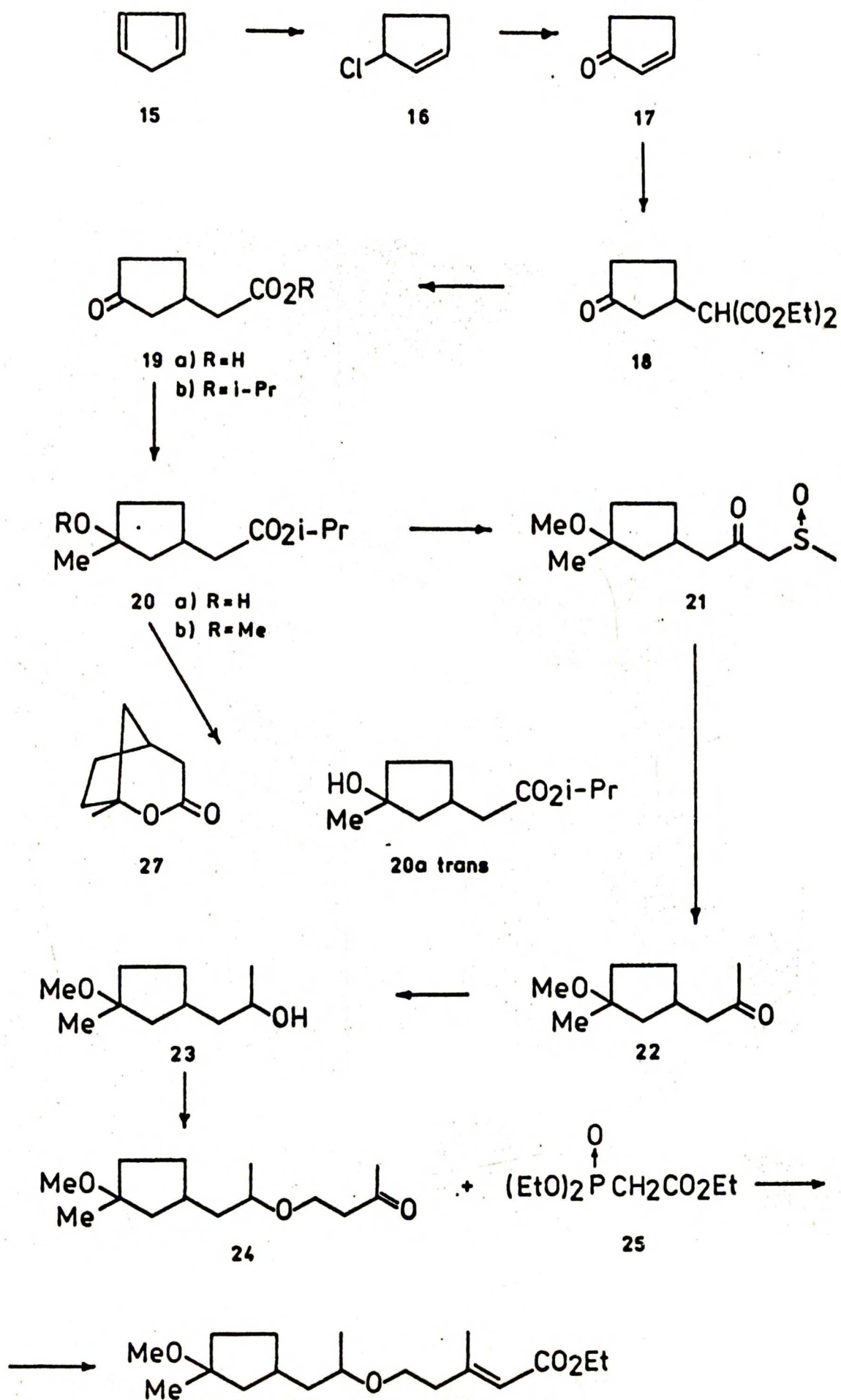


Syntezę przeprowadziłam wg schematu I.

Ketonokwas 19a, zabezpieczony w formie estru izopropylowego 19b przez potraktowanie bromkiem izopropylowym w dwumetylosulfotlenku w obecności K_2CO_3 ^{30/}, poddałam selektywnej reakcji Grignarda w obniżonej temperaturze z niewielkim nadmiarem jodku metylomagnezowego otrzymując diastereoizomeryczną mieszaninę hydroksyestrów 20a z wydajnością 75%. W ściśle określonych warunkach temperaturowych i czasowych reakcji ulegała prawie wyłącznie grupa ketonowa, natomiast duża objętościowo grupa estrowa pozostała nienaruszona. Stwierdziłam, że optymalny zakres temperatur w tym przypadku stanowi $-20 + -15^\circ C$. Dalsze obniżanie temperatury silnie zmniejsza stopień przereagowania substratu wpływając hamująco na reaktywność grupy karbonylowej w pierścieniu, natomiast w wyższej temperaturze tworzy się obok właściwego produktu mieszanina diastereoizomerycznych dioli z wydajnością ok. 25%.

Analityczną ilość diastereoizomerycznych hydroksyestrów 20a przeprowadziłam w pochodnie trójfluorooctanowe^{31/} stosując bezwodnik trójfluorooctowy w pirydynie i ustaliłam jej skład przy pomocy glc, która wykazała obecność dwóch pików o czasach retencji 2 min.

Schemat I



24 sec. oraz 4 min. 6 sec. i wzajemnym stosunku 55:45.

Chromatograficzny rozdział 100 mg mieszaniny na izomery cis i trans połączony z analizą widm pmr oraz ir wydzielonych stereoizomerów okazał się niewystarczający do jednoznacznego określenia ich konfiguracji ze względu na minimalne różnice w zapisie widmowym.

Przypisanie stereochemicznych dokonałam metodami chemicznymi^{32/} w połączeniu z analizą glc. Przeprowadziłam alkaliczną hydrolizę hydroksyestrów 20a, a następnie ogrzewałam uzyskaną mieszaninę we wrzącym benzenie w obecności katalitycznej ilości kwasu p-tolueno-sulfonowego. Otrzymałam w ten sposób dwa produkty: lakton 27, powstały w wyniku wewnętrznej estryfikacji cis-hydroksykwasu oraz kwas trans-3-hydroksy-3-metylocyklopentylooctowy. Ten ostatni poddałam reakcji z jodkiem izopropylowym, a następnie przeprowadziłam w trójfluorooctanową pochodną w celu identyfikacji sygnałów mieszaniny trójfluorooctanów związków cis i trans 20a w analizie glc.

Czas retencji otrzymanej pochodnej wynosił 2 min. 24 sec.

Zaobserwowana minimalna przewaga produktu trans pozostaje w zgodzie z danymi literaturowymi dotyczącymi stereochemii reakcji Grignarda^{33/}

Dalszą syntezę kontynuowałam na mieszaninie diastereoizomerów 20a. Reakcja eteryfikacji trzeciorzędowej grupy hydroksylowej alkoholi 20a jodkiem metylu i wodorkiem sodowym w 1,2-dwumetoksyetanie prowadziła do dwóch produktów (tlc). Po rozdziale chromatograficznym stwierdziłam, że mniej polarny związek jest eteroestrem 20b, natomiast bardziej polarny, bezbarwny i krystaliczny produkt o t.t. 85°C, wykazujący w widmie ir obecność pasma 1720 cm⁻¹, a w widmie pmr trzy trójprotonowe singlety przy 1,18; 1,33 i 1,52 ppm okazał się laktonem dwumetylowanym najprawdopodobniej w pozycji α do grupy estrowej, sądząc z wartości przesunięć chemicznych dla ge-

minalnych grup metylowych oraz z faktu, że położenie α jest najbardziej preferowane w reakcji alkilowania. Wśród otrzymanych produktów nie stwierdziłam obecności dwumetylowanego eteroestru, można więc przyjąć, że pierwszym etapem tej reakcji była hydroliza hydroksykwasu a następnie laktonizacja powstałego cis-hydroksykwasu zakończona α -metylowaniem laktonu 27. Analiza elementarna była zgodna z obliczoną dla proponowanej struktury.

Ponieważ metoda ta nie doprowadziła do otrzymania eterów obu alkoholi cis i trans, zastosowałam inny sposób syntezy prowadząc eteryfikację roztworem dwuazometanu w chlorku metylenu w obecności sublimowanego AlCl_3 jako katalizatora^{34/}. Uzyskaną mieszaninę metoksyestrów 20b wykorzystałam następnie do otrzymania ketonu 22, którego próby syntezy omówiłam w rozdziale 3.2.

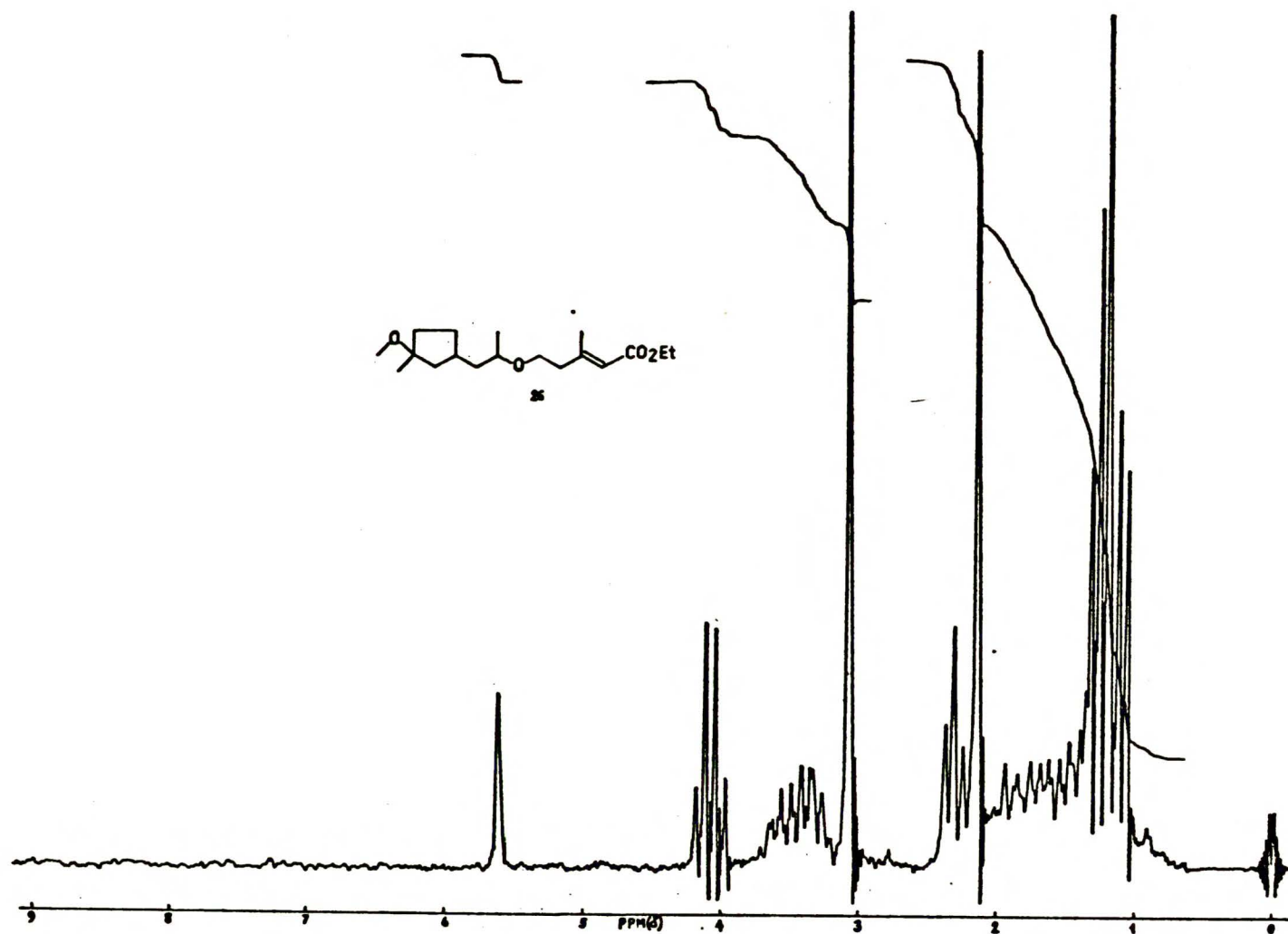
Posługując się metodą Corey'a^{35/} otrzymywania ketonów z estrów przeprowadziłam reakcję mieszaniny 20b z karboanionem metylosulfinylowym w roztworze dwumetylosulfotlenku i tetrahydrofuranu, a otrzymany β -ketonosulfotlenek 21 zredukowałam amalgamatem glinowym^{36/} uzyskując metyloketon 22. Redukcja tego syntonu borowodorkiem sodowym w metanolu do alkoholu 23 i kolejna addycja do metylo-winyloketonu w obecności tlenku rtęciowego i eteratu trójfluorku boru^{37/} dała keton 24. Kończącą sekwencję stanowiła reakcja Hornera-Wittiga z fosfonooctanem trójetylowym 25, przygotowanym z bromooctanu etylu i fosforynu trójetylowego wg opisanej preparatyki^{38/}. Odpowiedni ylid do tej reakcji generowałam etanolanem sodowym w dwumetyloformamidzie^{39/} lub wodorkiem sodowym w 1,2-dwumetoksyetaninie^{40/} uzyskując w drugim przypadku większą wydajność. Otrzymany w ten sposób ester 26 stanowił mieszaninę izomerów geometrycznych 1E i 1Z w stosunku 63:37 (pmr).

W widmie pmr sygnały protonów olefinowych grup metylowych przy C-2 dla izomerów 1E i 1Z występowały odpowiednio przy 2,8² i 1,95 ppm jako singlety, natomiast protony allilowe przy C-3 pojawiły się przy 2,37 i 2,84 ppm jako triplety o stałej sprzężenia $J = 6$ Hz. Olefinowy proton przy C-1 obserwowano w widmie przy 5,69 ppm jako poszerzony ze względu na allilowe sprzężenie z grupą metylową przy C-2 singlet.

Ponadto w widmie pmr widoczne są dwa trójprotonowe singlety przy 1,17 i 2,10³ ppm odpowiadające grupom metylowej i metoksylowej przy pierścieniu. Wartości przesunięć chemicznych dla grupy metylowej przy węglu C-6 oraz metylowej grupy estrowej określiłam naświetlając odpowiednio proton metinowy przy C-6, obserwowany w widmie przy 3,64 ppm jako skomplikowany multiplet powstały przez dodatkowe nałożenie sygnałów grupy metylenowej sąsiadującej z atomem tlenu, oraz protony metylenowe z grupy estrowej występujące w postaci kwartetu przy 4,14 ppm o stałej sprzężenia $J = 7$ Hz. Grupa metylowa przy C-6 stanowiła w widmie dublet przy 1,08 ppm ($J = 6$ Hz) a metylowa grupa estrowa triplet przy 1,24 ppm ($J = 6$ Hz).

Cząsteczka finalnego estru 26 zawiera trzy chiralne atomy węgla C-6, C-8 i C-10 oraz jedno trójpodstawione wiązanie podwójne C-1.

Stwierdziłam możliwość rozdzielania cis i trans hydroksyestrów 20a oraz 20b, jak również stereoizomerów 1E i 1Z przy zastosowaniu chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym. Widmo pmr estru etylowego kwasu 1E-2,6-dwumetylo-5-oksa-7-(3-metoksy-3-metylocyklopentylo)-hepteno-1-karboksyłowego-1 26 przedstawiłam na rys.3.



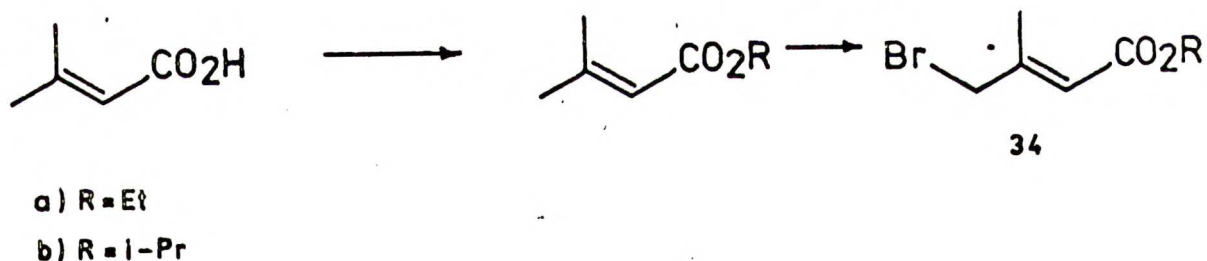
Rys. 3. Widmo pmr estru etylowego kwasu 1E-2,6-dwumetylo-7-(3-metoksy-
-3-metylocyklopentyl)-5-oksaheptanokarboksylowego-1 (26)

3.4. Synteza 9,11-dwuoksaanalogów hormonu 12-homojuwenilnego JH I z pierścieniem cyklopentanowym i układem 1,3-dienowym 39a,b

Kluczową reakcją w tej syntezie było połączenie dwóch podjednostek C₇ i C₅ w reakcji Hornera-Wittiga.

3.4.1. Przygotowanie reagentów Wittiga 36a,b

Mieszaninę Z i E bromoestrów 34 otrzymałam w reakcji estrów - etylowego i izopropylowego kwasu β,β-dwumetyloakrylowego z N-bromosukcynimidem zgodnie z opisaną w literaturze procedurą^{41/}. Analiza glc i pmr uzyskanych mieszanin wykazała, że każda z nich zawiera izomery Z i E w stosunku około 2:3.



Następnie otrzymałam z wydajnością 60% nieopisaną dotychczas metodą fosforynu dwuetylotrójmetylosililowy 35^{42/} wychodząc z fosforynu dwuetylowego i trójmetylochlorosilanu w obecności trójetyloaminy wiążącej wydzielający się chlorowódor.

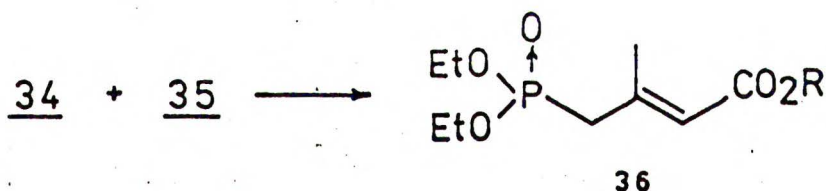


Opisana przez Arbuzowa^{43/} synteza związków tego typu polegała na reakcji fosforynu trójetylowego z odpowiednim halogenkiem

trójalkilosililowym. Wymagała ona wysokich temperatur (155-180°C) i dawała niskie wydajności. W zmodyfikowanej metodzie Arbuzowa^{44/} wykorzystywano sól sodową fosforynu dwuetylowego (EtO)₂PONa i halogenek trójalkilosililowy lub odwrotnie - trójalkilosililowy alkohol sodowy (CH₃)₃SiONa i halogenek fosforynu dwuetylowego

Dane fizykochemiczne otrzymanego przeze mnie związku 35 były zgodne z opisanymi w literaturze.

Ogrzewając mieszaniny E i Z bromoestrów etylowego 34a i izopropylowego 34b z fosforynem dwuetylotrójmetylosililowym 35 pod zmniejszonym ciśnieniem przy odpowiedniej kontroli temperatur otrzymałam opisane w literaturze^{45/} izomery geometryczne E i Z trójetylofosfonoakrylanu 36a oraz izomery E i Z dwuetylofosfonoakrylanu izopropylowego 36b, które dotychczas nie były stosowane do wprowadzania akrylanowej grupy estrowej w reakcji Wittiga.



a) R = Et

b) R = i-Pr

Do wbudowania tej grupy metodą Wittiga używano trójizopropylfosfonoakrylanów otrzymywanych wg opatentowanej procedury Pattendena i Weedona^{46/} przez ogrzewanie w wysokiej temperaturze odpowiednich bromoestrów izopropylowych z fosforynem trójizopropylowym.

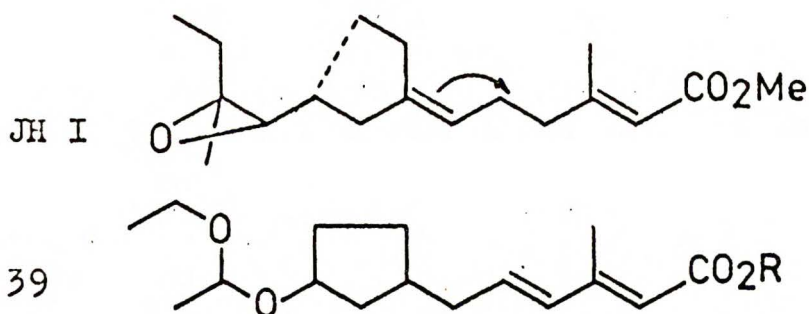
Stosunek izomerów geometrycznych E i Z związków 36a i 36b określiłam z integracji sygnałów protonów grup metylowych przy

C-2 i allilowych protonów metylenowych w pmr. Jest on identyczny jak w wyjściowych bromoestrach i wynosi odpowiednio 3:2.

W widmie pmr mieszaniny izomerów geometrycznych 36b sygnały grupy metylowej przy C-2 występują przy 2,05 i 2,28 ppm odpowiednio dla izomerów Z i E. Ze względu na sprzężenie allilowe z protonem H-1 są to dublety o stałej sprzężenia $J = 3,5$ Hz. Dublet przy 2,63 ppm o stałej J wskazującej na sprzężenie z atomem fosforu protonów przy atomie węgla z nim sąsiadującym i wynoszącej 25 Hz przypisałam allilowym protonom metylenowym w izomerze E, natomiast dublet dubletów przy 3,47 ppm o stałych sprzężenia odpowiednio 25 i 5 Hz analogicznym protonom w izomerze Z. Napromieniowanie protonu H-1, który pojawił się w widmie jako bardzo szeroki singlet przy 5,75 ppm, spowodowało uproszczenie widma w rozpatrywanym zakresie do dubletu o stałej $J = 25$ Hz, co wskazuje na allilowe sprzężenie grupy metylenowej z protonem H-1. Na właściwe przypisanie sygnałów izomerom E i Z wskazuje więc zarówno wartość przesunięcia chemicznego grup metylowych przy C-2 i allilowych protonów metylenowych oraz wartości stałych sprzężenia z protonem H-1 wynoszących dla stereoizomerów E i Z związku 36 odpowiednio ~ 0 i 5 Hz^{x/}, co zgodne jest z danymi literaturowymi.

x/ W izomerach E i Z związku 36 allilowa grupa metylenowa znajduje się w położeniu odpowiednio Z i E w stosunku do protonów H-1

3.4.2. Synteza JHA 39a i 39b

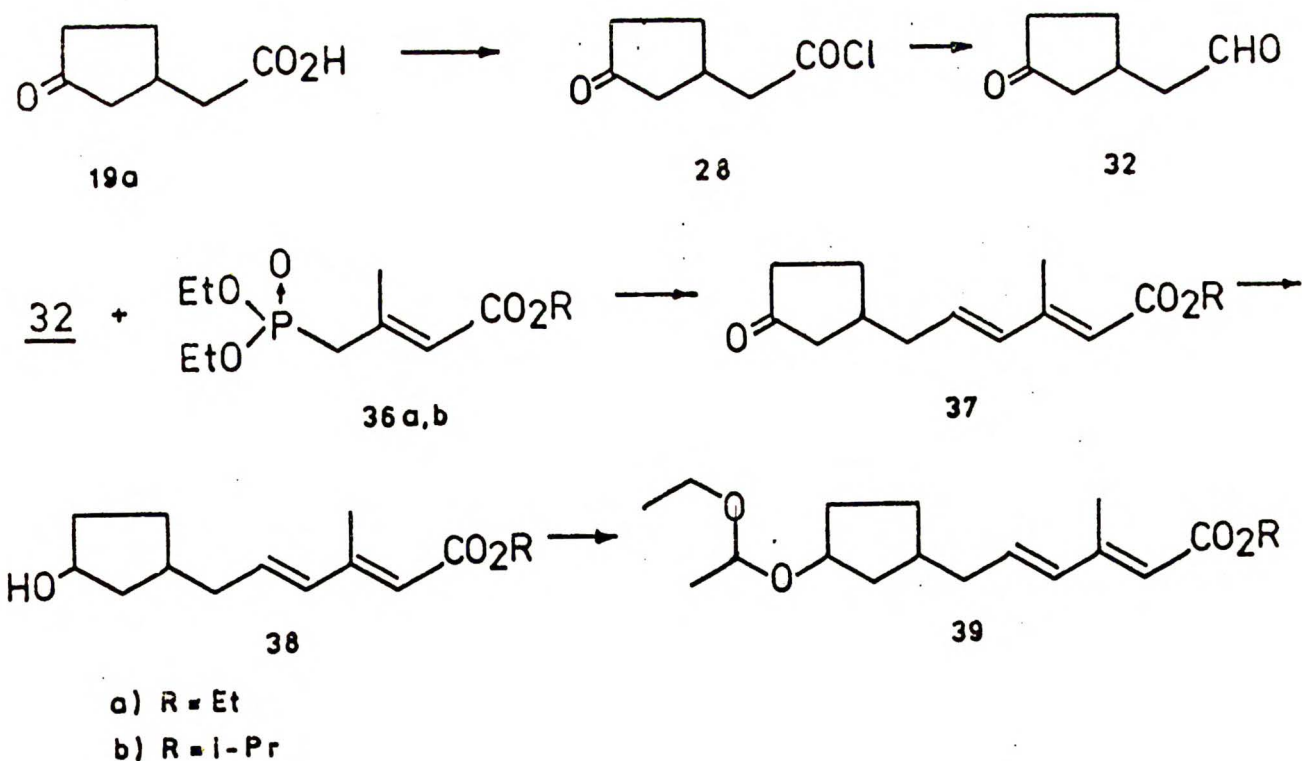


a/ R = Et

b/ R = i-Pr

Synteze przeprowadziłam wg następującego schematu

Schemat II



Ketonokwas 19a poddałam reakcji z chlorkiem oksalilu otrzymując chlorek kwasowy 28, który następnie selektywnie zredukowałam do ketonoaldehydu 32 (patrz rozdział 3.2.) zmodyfikowaną metodą Rosenmunda^{47/}, używając jako katalizator Pd/BaSO₄. Metoda ta, stosowana najczęściej w przypadku związków aromatycznych i rzadko dla związków heterocyklicznych okazała się w zupełności zadowalająca. Ketonoaldehyd 32, wykazujący w widmie ir obecność dwóch pasm 1740 i 1730 cm⁻¹ charakterystycznych odpowiednio dla grupy ketonowej w pierścieniu pięcioczłonowym oraz alifatycznej grupy aldehydowej, pasmo drgań walencyjnych aldehydowej grupy C-H 2740 cm⁻¹, a widmie pmr sygnał przy 9,74 ppm okazał się związkiem nietrwałym. Po usunięciu katalizatora otrzymany ketonoaldehyd 32 bez uprzedniego oczyszczania poddałam reakcji Wittiga z fosfonestrami 36a i 36b w roztworze dwumetyloformamidu generując ylidy etanolanem sodu^{48/}. Uzyskane dienoestry 37a i 37b wykazały w widmie ir obecność dwóch pasm karbonylowych 1735 i 1705 cm⁻¹ odpowiednio dla grupy ketonowej w pierścieniu i sprzężonej grupy estrowej, dwóch pasm walencyjnych C=C przy 1640 i 1610 cm⁻¹ oraz pasma 975 cm⁻¹ charakterystycznego dla E dwupodstawionej olefiny. W widmie pmr mieszaniny dienoestrów 37a w zakresie protonów olefinowych wystąpiły dwa poszerzone singlety przy 5,63 i 5,70 ppm odpowiadające protonowi H-1 odpowiednio w izomerach 1Z i 1E. Przypisań dokonałam naświetlając kolejno protony grupy metylowej przy atomie węgla C-2, które pojawiły się jako dwa dublety o stałych sprzężenia równych 1,5 Hz przy 1,98 dla izomeru 1Z i 2,24 dla izomeru 1E. Poszerzony dublet o stałej sprzężenia J = 16 Hz przy 7,75 ppm przypisałam protonowi H-3, który jako jedyny z trzech występujących w rozpatrywanym związku protonów olefinowych (H-1,

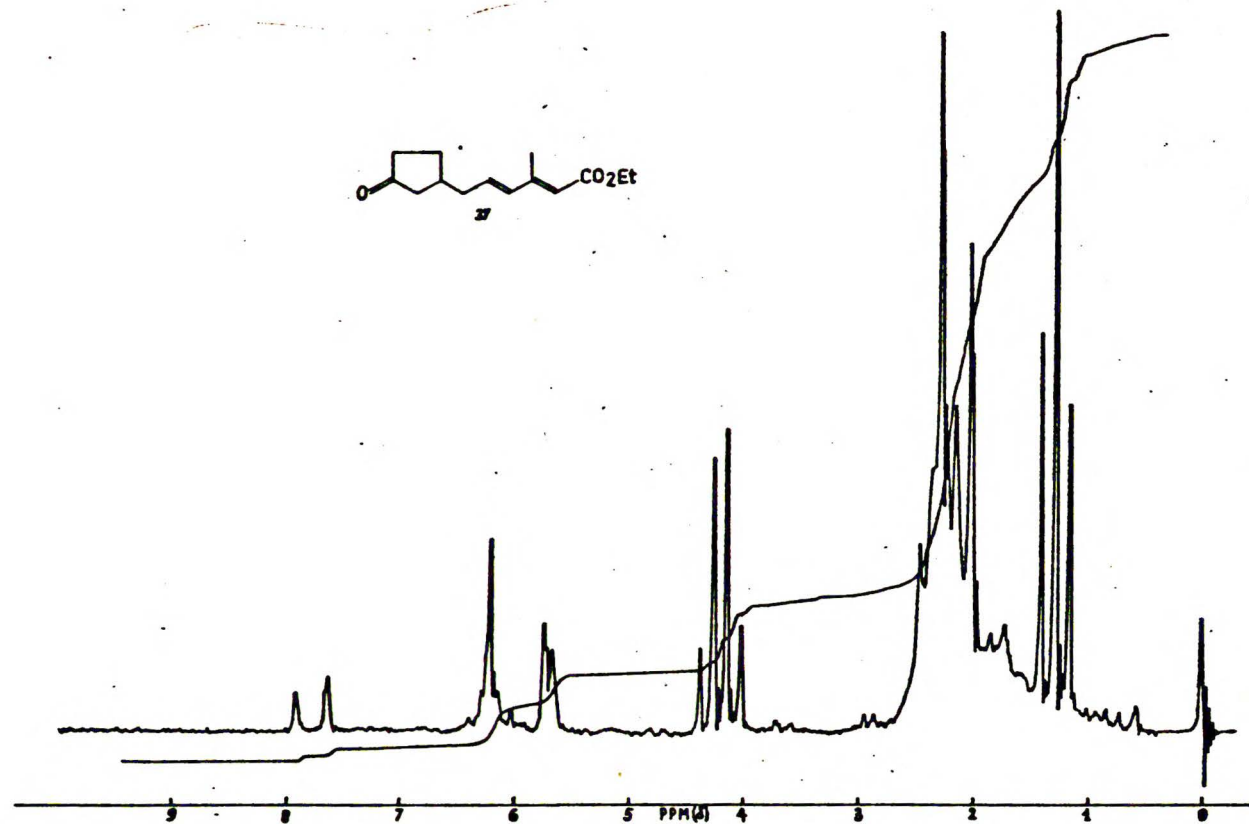
H-3 i H-4) może sprzęgnąć się tylko z jednym protonem (H-4) dając w ten sposób dublet. Poszerzenie tego dubletu wynika z dodatkowego sprzężenia allilowego z protonami metylenowymi przy atomie węgla C-5. Wartość stałej sprzężenia protonu H-3 z protonem H-4 wskazuje na konfigurację 3E. W przypadku wiązania 3Z stała sprzężenia protonów olefinowych wynosi zwykle 12,5 Hz. Natomiast wartość przesunięcia chemicznego dla protonu H-3 przemawia za konfiguracją 1Z, 3E, w której proton H-3 jest najbardziej odsłaniany.

Sygnaly protonu H-3 w izomerze o konfiguracji 1E, 3E pokryły się z sygnałami protonu H-4 dając skomplikowany multiplet przy 6,19 ppm.

Przeanalizowane przeze mnie informacje z widm ir i pmr są zgodne z danymi literaturowymi na temat układów dwóch sprzężonych wiązań C=C oraz stereochemii reakcji Hornera-Wittiga i wskazują, że otrzymana mieszanina dienoestrów 37a zawiera dwa izomery geometryczne 1E, 3E oraz 1Z, 3E. Ustalony z integracji sygnałów grup metylowych przy atomie węgla C-2 stosunek tych izomerów wynosi odpowiednio 3:2. Widmo pmr estrów etylowych kwasu (1E,3E), (1Z,3E)-2-metylo-5-(3-ketocyklopentylo)-pentadienokarbonylowego-1 (37a) przedstawiłam na rys. 4.

Analogiczna analiza przeprowadzona dla dienoestrów izopropylowych 37b potwierdziła ich budowę oraz identyczną wydajność stereochemiczną reakcji Hornera-Wittiga.

Mieszaniny stereoizomerycznych estrów dienonowych 37a i 37b poddałam selektywnej redukcji borowodorkiem sodowym w etanolu otrzymując hydroksyestry 38a i 38b. Zabezpieczenie funkcji hydroksylowej eterem winylowoetylowym^{49/} w obecności kwasu p-toluenosulfonowego jako katalizatora dało tytułowe dwuoksaestry 39a i 39b.

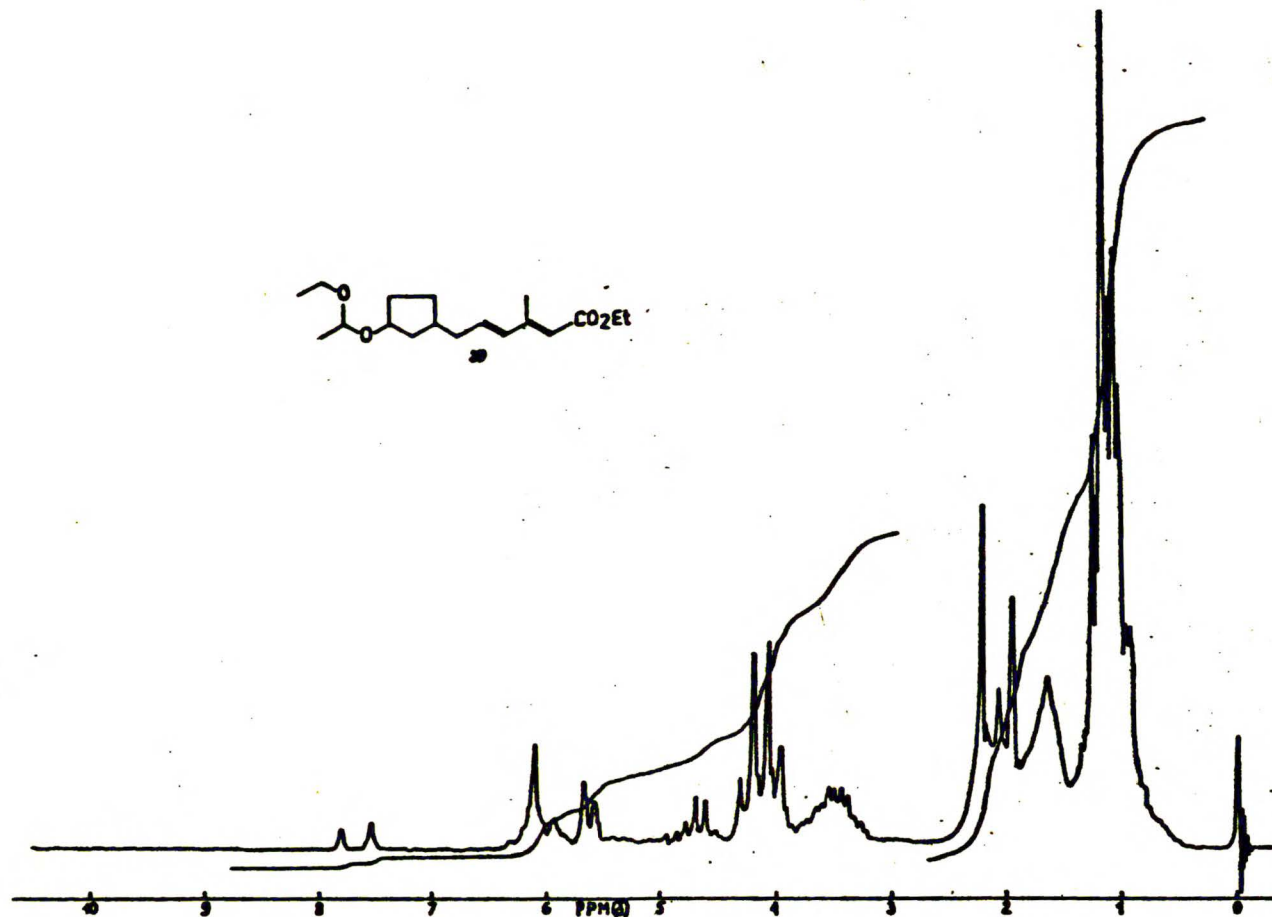


Rys.4. Widmo pmr estru etylowego (1E,3E i 1Z,3E)-kwasu 2-metylo-
-5-(3-ketocyklopentyl)-pentadienokarboksylowego-1 (37a)

Przypisań stereochemicznych dokonałam analogicznie jak w przypadku związków 37a i 37b. Poza sygnałami protonów olefinowych w widmie pmr JHA 39a obserwuje się jednoprotonowy multiplet przy 3,5 ppm odpowiadający metinowemu protonowi z pierścienia związanemu z atomem węgla C-3, poszerzony czteroprotonowy kwartet nałożonych na siebie sygnałów protonów metylenowych grup karboetoksylowej i etoksylowej przy 4,14 ppm, jednoprotonowy kwartet o stałej sprzężenia $J = 5$ Hz przy 4,65, który przypisałam protonowi odsłanianemu przez dwa atomy tlenu sprzężonemu z grupą metylową. Wykonanie dodatkowych eksperymentów polegających na naświetlaniu protonów metylenowych przy 4,14 ppm i protonu odsłanianego przez dwa atomy tlenu, pozwoliło mi przypisać przesunięcie chemiczne i określić wielkość stałych sprzężenia sygnałów trzech grup metylowych występujących w widmie jako skomplikowany multiplet. Triplet przy 1,24 ppm o stałej sprzężenia $J = 7,5$ Hz odpowiada karboetoksylowej grupie metylowej, triplet przy 1,26 ppm o stałej sprzężenia równej 6 Hz - etoksylowej grupie metylowej, natomiast dublet przy 1,27 ppm przypisałam grupie metylowej przy węglu związanym z dwoma atomami tlenu.

W widmie pmr JHA 39b występuje analogiczny układ sygnałów z wyjątkiem tripletu i kwartetu grupy karboetoksylowej, która zastąpiona została izopropylową grupą estrową. Sygnały metylenowych grup izopropylowych stanowią sześcioprotonowy dublet o stałej sprzężenia 6 Hz przy 1,21 ppm, natomiast trzeciorzędowy proton grupy izopropylowej wystąpił jako septet przy 5,03 ppm.

Widmo pmr związku 39a przedstawiłam na rys. 5.



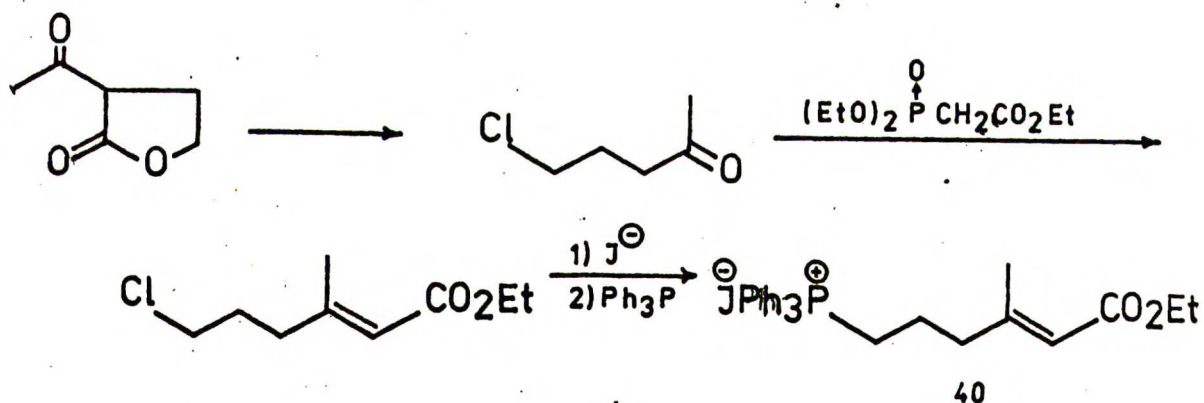
Rys. 5. Widmo pmr estru etylowego kwasu (1E,3E i 1Z,3E)-2-metylo-
-5- 3-(2'-metylo-1',3'-dwooksapentyl)cyklopentyl -
-pentadienokarboksylowego-1 (39a)

3.5. Wykorzystanie jodku fosfoniowego 40 do syntezy JHA

Idea syntezy polegała na przygotowaniu i połączeniu w reakcji Wittiga dwóch podjednostek - odpowiedniego aldehydu lub ketonu zawierającego w cząsteczce alicykliczny pierścień pięcioczłonowy oraz jodku fosfoniowego 40. Tego typu podejście daje charakterystyczny dla hormonów juvenilnych układ 1,5-dienowy.

3.5.1. Otrzymywanie jodku fosfoniowego 40

Sól fosfoniową 40 otrzymałam opisaną w literaturze metodą wg następującego schematu:

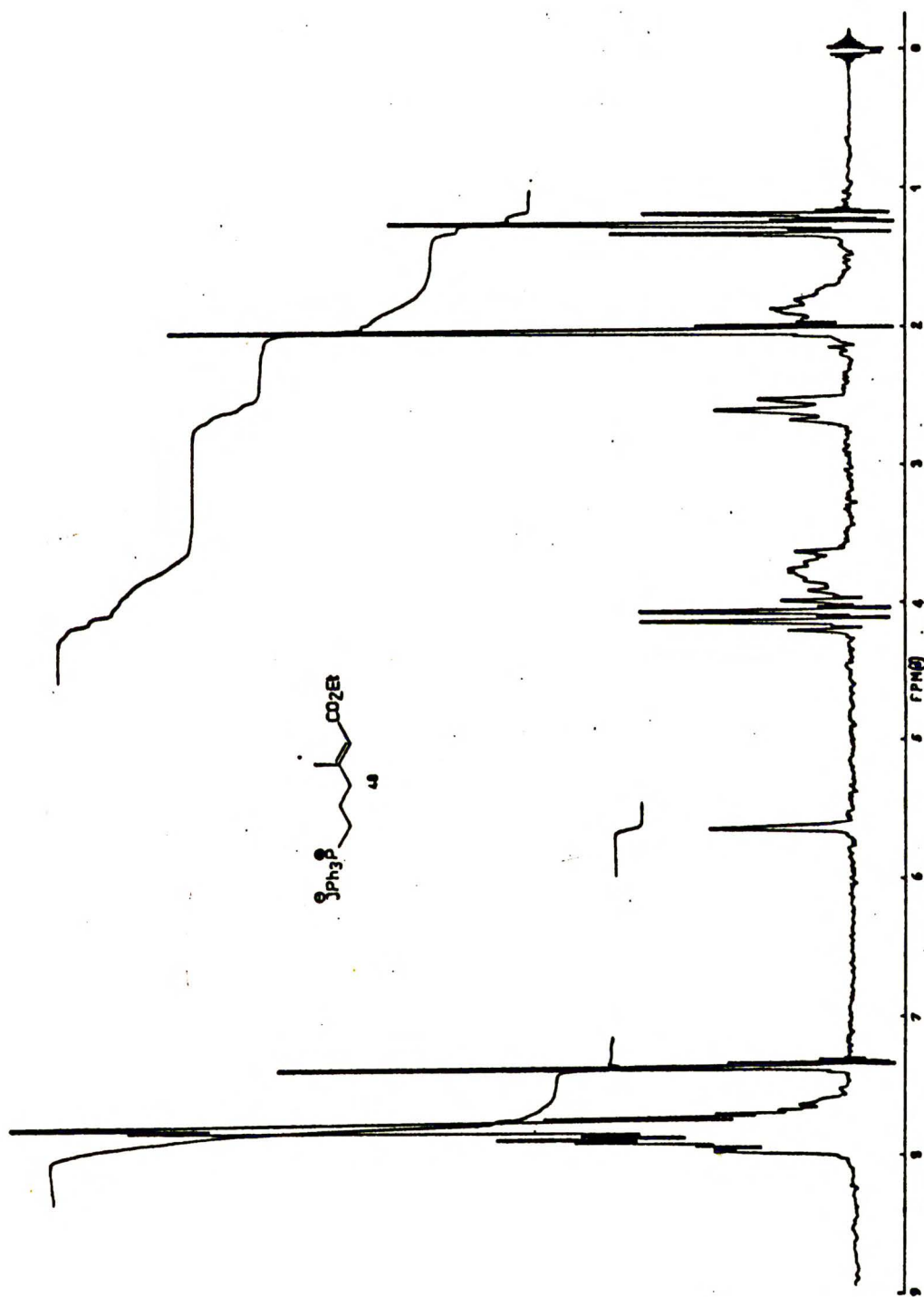


α -Acetylo- γ -butyrolakton (jako produkt handlowy lub syntetyzowany przeze mnie z acetylooctanu etylu i chlorohydryny etylenowej^{50/}) w reakcji z kwasem solnym^{51/} i dekarboksylacji przekształciłam w 5-chloropentanon-2. Otrzymany chloroketon w reakcji Hornera-Wittiga z trójetylofosfonoocetatem w 1,2-dwumetoksyetanie wobec wodoroku sodowego dał mieszaninę E i Z chloroestrów w stosunku 3:2^{52/}. Chloroestry przeprowadziłam w jodoestry, które następnie

poddalam reakcji Wittiga z trójfenylofosfiną^{53/} otrzymując krystaliczną sól fosfoniową o składzie izomerów geometrycznych analogicznym do wyjściowych chloroestrów. Czysty izomer 40 o t.t. 184°C wydzieliłam przy pomocy frakcyjnej krystalizacji z układu aceton/eter naftowy.

Na podstawie analizy widm pmr otrzymanego przeze mnie jodku fosfoniowego 40 oraz opisanego przez Tscheschego^{54/} izomeru Z analogicznego jodku fosfoniowego, ale zawierającego metylową grupę estrową zamiast etylowej, przypisałam wydzielonemu izomerowi konfigurację E.

W widmie pmr tego związku wystąpiły, poza charakterystycznymi dla podstawników fenylowych i grupy estrowej następujące sygnały: przy 1,87 ppm szeroki, dwuprotonowy multiplet odpowiadający protonom przy atomie węgla C-4; trójprotonowy dublet o stałej sprzężenia 1,5 Hz przy 2,07 ppm, który przypisałam grupie metylowej przy atomie węgla C-2 (w widmie porównawczym izomeru Z obserwuje się analogiczny dublet przy 1,89 ppm); przy 2,61 ppm poszerzony triplet o stałej sprzężenia z sąsiadującymi protonami metylenowymi równej 7 Hz odpowiadający protonom H-3 (poszerzenie tripletu spowodowane jest sprzężeniem z grupą metylową C-2); szeroki, dwuprotonowy multiplet przy 3,77 ppm pochodzący od protonów H-5 sprzężonych z atomem fosforu i sąsiadującymi protonami H-4 oraz poszerzony, jednoprotonowy singlet przy 5,62 ppm odpowiadający protonowi H-1. Widmo pmr jodku fosfoniowego 40 przedstawiłam na rys. 6.

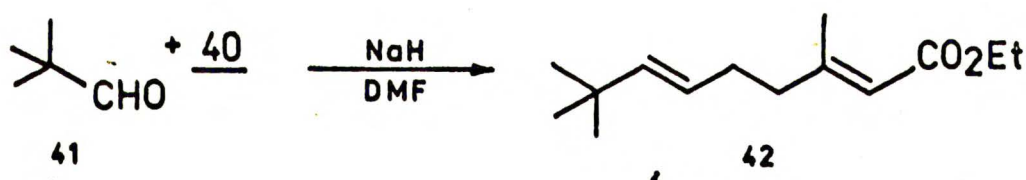


Rys. 6. Widmo pmr jodku fosfoniowego 40

3.5.2. Zbadanie reaktywności jodku fosfoniowego 40

Dysponując odpowiednimi syntonami zawierającymi pierścień cyklopentanowy z funkcją aldehydową bądź ketonową w pierścieniu lub w łańcuchu bocznym planowałam otrzymać dalsze JHA w reakcji Wittiga z solą fosfoniową 40. Dla zbadania reaktywności tej soli w stosunku do różnych grup karbonylowych przeprowadziłam szereg prób na odpowiednio dobranych związkach modelowych. Były to: keton cykliczny - cyklopentanon, ketony łańcuchowe - dwuetyloketon i 6-metylohepten-5-on-2; butanal oraz aldehyd trójmetrylooctowy. Dla każdego z wymienionych związków stosowałam dwa sposoby generowania^{55/} ylidu - etanolanem sodowym w dwumetyloformamidzie używając trzykrotny nadmiar soli fosfoniowej i wodorkiem sodowym w tym samym rozpuszczalniku^{56/}, wprowadzając do reakcji równomolowe ilości substratów.

Jedynie eksperyment z aldehydem trójmetrylooctowym 41 prowadził do właściwego dienoestru 42.

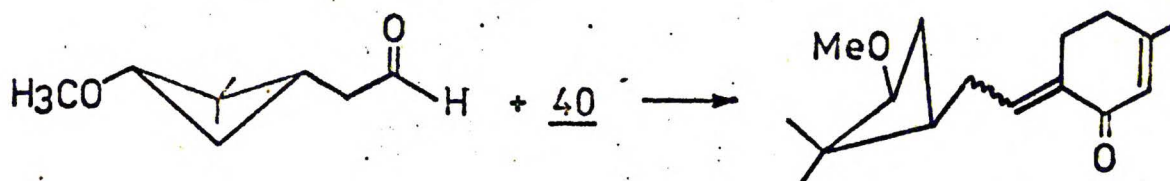


Widmo ir uzyskanego estru etylowego kwasu 2,7,7-trójmetrylo-
oktadieno-1,5-karboksylowego-1 (42) wykazało obecność pasma karbo-
nylowego 1720 cm^{-1} oraz pasma 1645 cm^{-1} charakterystycznego dla
wiązań podwójnych C=C. W widmie pmr pojawił się przy 1,1 ppm
dziewięcioprotonowy singlet grupy izobutylowej, przy 2,14 ppm
poszerzony trójprotonowy singlet grupy metylowej przy atomie wę-
gla C-2 w izomerze 1E, poszerzony jednoprottonowy singlet przy

5,66 ppm, który przypisałam protonowi H-1 sprzężonemu allilowo niską stałą sprzężenia z grupą metylową C-2 oraz sygnał dwu protonów olefinowych H-5 i H-6 tworzących część AB układu ABX_2 . Po stwierdzeniu na podstawie glc, że otrzymany ester 42 jest czystym stereoizomerem, który w widmie ir nie daje charakterystycznego dla wiązania podwójnego E-dwupodstawionego pasma ok. 970 cm^{-1} przypisałam mu konfigurację 1E,5Z. Wniosek ten jest zgodny z danymi literaturowymi na temat stereochemii reakcji Wittiga.

Reakcja n-butanalu z solą fosfoniową 40 prowadziła do śladowych zaledwie ilości właściwego dienu, natomiast w żadnym z pozostałych eksperymentów nie stwierdziłam obecności oczekiwanego produktu.

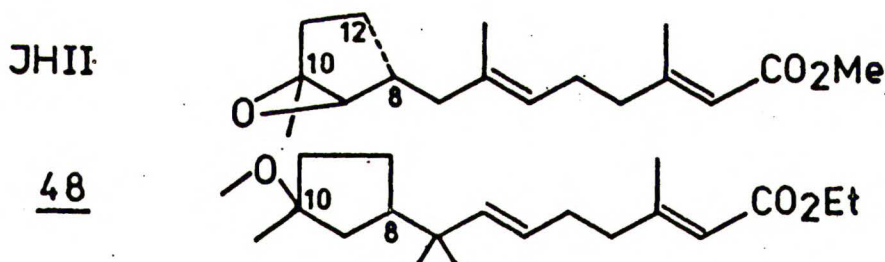
W prowadzonych równolegle w tym samym zespole badaniach zaobserwowano niereaktywność analogicznej soli fosfoniowej (bromku) wobec ketonu 22^{57/}. Jednocześnie przedstawiona poniżej próba syntezy układu 1,5-dienowego przy użyciu jodku fosfoniowego i aldehydu nie podstawionego w pozycji α do grupy aldehydowej prowadziła do produktu cyklicznego, co autor^{58/} tłumaczył, w oparciu o dane literaturowe^{59/}, izomeryzacją E \rightarrow Z podwójnego wiązania C-2 ylidu z następującą po niej cyklizacją do pierścienia sześciocząłowego przez nukleofilowy atak na karbonylowy atom węgla. Powstały cykliczny kation fosfoniowy w reakcji z drugą cząsteczką zasady wytwarza stabilizowany cykliczny ylid, który następnie reaguje z aldehydem.



Otrzymanie przez mnie oczekiwanego produktu Wittiga w reakcji z aldehydem trójmetylooctowym, jak również uzyskanie pożądanego produktu przez Tscheschego w syntezie moenocinolu^{54/} z chloroaldehydem dwumetylowanym w pozycji α do grupy aldehydowej wskazuje, że czynnikiem decydującym o przebiegu reakcji jest enolizacja grupy aldehydowej.

Jeśli dany aldehyd może wytworzyć formę enolową, wówczas jest on zbyt mało reaktywny i zamiast addycji ylidu do grupy aldehydowej zachodzi reakcja cyklizacji tego ylidu.

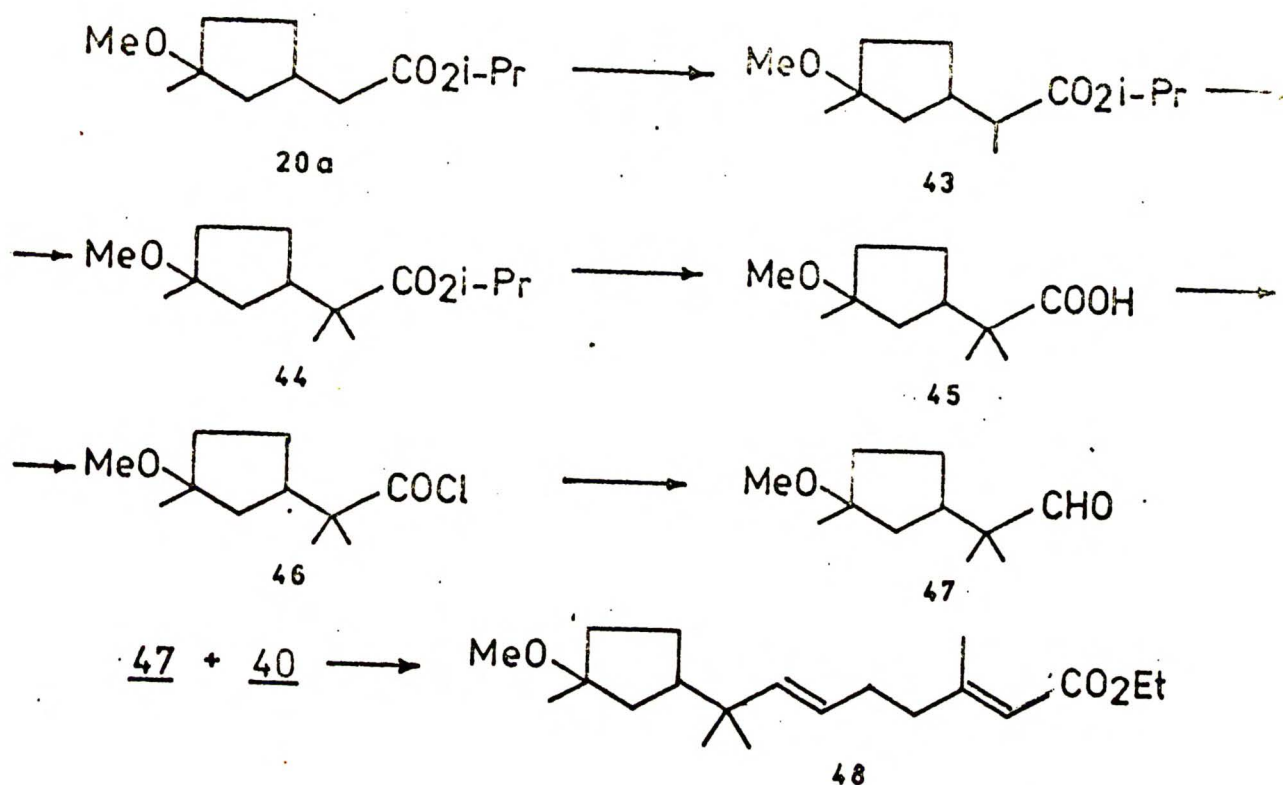
3.5.3. Synteza estru etylowego kwasu 2,7,7-trójmetylo-7-(3-metoksy-3-metylocyklopentyl)heptadieno-1,5-karboksylowego-1 (48)



Na schemacie III przedstawiłam plan syntezy (patrz str.36).

Próba jednoczesnego wprowadzenia dwóch podstawników metylowych w położenie α do grupy estrowej związku 20a działaniem jodku metylowego wobec wodoru sodowego nie dała pozytywnych rezultatów. Z tego powodu zastosowałam ogólną metodę dwustopniowego alkilowania estrów polegającą na generowaniu karboanionu amidkiem dwuizopropylolitowym w tetrahydrofuranie w niskiej temperaturze i kolejnym alkilowaniu go odpowiednim chlorowcoalkilem w obecności HMPT^{60/}

Schemat III



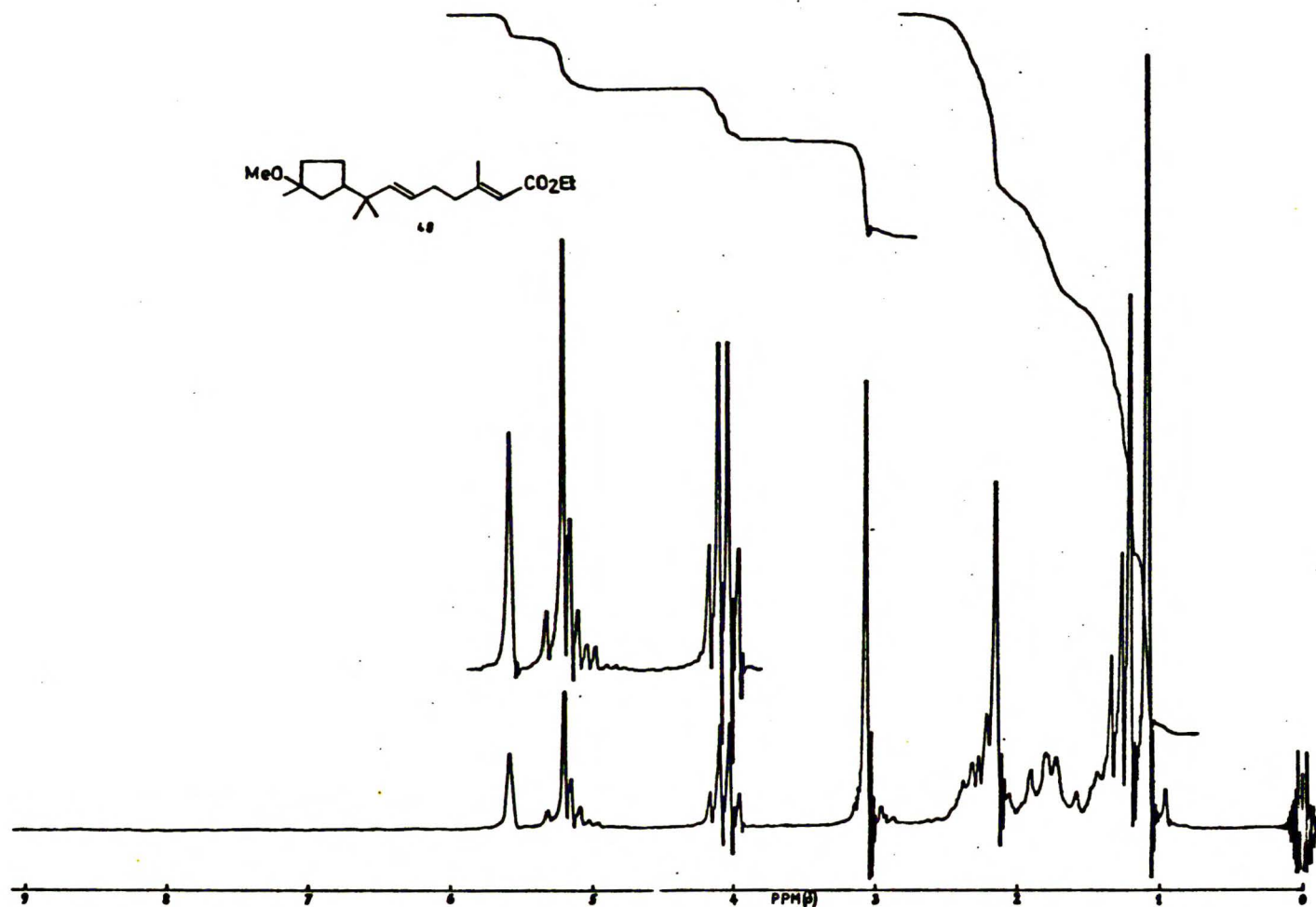
Pierwszy podstawnik metylowy wprowadziłam do estru 20a generując karboanion w temperaturze -78°C i utrzymując temperaturę poniżej -40°C podczas alkilowania jodkiem metylu. Chromatografia gazowa wykazała obecność wyłącznie jednego produktu. Metylowany ester 43, którego budowę potwierdziły dane spektroskopowe i analiza elementarna poddałam analogicznej procedurze alkilowania stwierdzając tylko 55% przereagowania. Stosując zmienne warunki temperaturowe ustaliłam, że decydującym czynnikiem w tej reakcji jest temperatura na etapie tworzenia się karboanionu i w przypadku estru 43 optimum wynosi $(-20 \pm 10^{\circ}\text{C})$. Otrzymane tą metodą jedno- i dwualkilowane w pozycji α estry 43 i 44 z wydajnością 85% nie zawierały śladów substratu ani żadnych innych produktów ubocznych, co stwierdziłam na podstawie analizy glc.

Dwumetylowany ester 44 poddałam zasadowej hydrolizie w roztworze etanolowym, a otrzymany kwas 45 przekształciłam w chlorek kwasowy 46 działaniem chlorku oksalilu w benzenie. Zmodyfikowana reakcja Rosenmunda przy użyciu Pd/BaSO₄ jako katalizatora przeprowadzona na chlorku kwasowym 46 w sposób analogiczny do opisanego w przypadku związku 28 (patrz rozdział 3.4.2.), pozwoliła uzyskać aldehyd 47. Aldehyd ten poddałam reakcji Wittiga z jodkiem fosfoniowym 40 w dwumetyloformamidzie w obecności wodoru sodowego uzyskując tytułowy dienoester 48. Widmo ir uzyskanego estru etylowego 48 wykazało obecność pasma karbonylowego 1720 cm⁻¹, pasma 1640 cm⁻¹ charakterystycznego dla wiązań podwójnych C=C oraz dublet 1385, 1370 cm⁻¹ geminalnych grup metylowych.

W widmie pmr przy 1,07 ppm wystąpił sześcioprotonowy singlet geminalnych grup metylowych przy atomie węgla C-7, trójprotonowy triplet o stałej sprzężenia J = 6 Hz przy 1,25 ppm pochodzący od estrowej grupy metylowej, dwa trójprotonowe singlety przy 1,20 i 3,11 ppm odpowiadające odpowiednio grupom metylowej i metoksylowej w pierścieniu. Poszerzony trójprotonowy singlet przy 2,18 ppm przypisałam protonom grupy metylowej przy atomie węgla C-2 (położenie tego sygnału jest charakterystyczne dla izomeru 1E).

Przy 4,14 ppm wystąpił kwartet o stałej sprzężenia J = 6 Hz pochodzący od protonów metylenowych etylowej grupy estrowej, a w zakresie protonów olefinowych dwuprotonowy multiplet przy 5,30 ppm tworzący część AB układu ABX₂, odpowiadający protonom H-5 i H-6 przy podwójnym wiązaniu C-5 oraz jednoprotonowy poszerzony singlet przy 5,68 ppm, który przypisałam protonowi H-1.

Analiza glc wykazała, że otrzymany związek 48 jest indywidualnym stereoisomerem. Analiza widma pmr oraz ir (brak pasma 970 cm⁻¹



Rys. 7. Widmo pmr estru etylowego kwasu (1E,5Z)-2,7,7-trójmetylo-
-7- 3-metoksy-3-metylocyklopentyl)-heptadienokarboksylowego-1 (48)

charakterystycznego dla E-dwupodstawionego wiązania podwójnego) w połączeniu z danymi literaturowymi na temat stereochemii reakcji Wittiga i analizą glc pozwoliły przypisać związkowi 48 konfigurację 1E, 5Z, analogicznie do związku modelowego 42.

4. BADANIA BIOLOGICZNE

Otrzymane przeze mnie analogi JH z pierścieniem cyklopentanowym zostały poddane wstępnym badaniom biologicznym na owadach. Gatunkami testowymi były: mucha domowa (*Musca domestica*), chrząszcz mącznik młynarek (*Tenebrio molitor*, Coleoptera), prusak (*Blattella germanica*, Heteroptera) i pluskwiak kowal bezskrzydły (*Pyrrhocoris apterus*, Homoptera).

Związki 39b i 26 przebadano na motyłu barciaku większym (*Galleria mellonella*, Lepidoptera).

Badania biologiczne prowadzone były w Państwowym Zakładzie Higieny w Warszawie w pracowni dr B.Styczyńskiej i w Zakładzie Fizjologii Zwierząt Uniwersytetu Warszawskiego w pracowni doc. B.Cymborowskiego.

Związki 26, 39a i 48 okazały się najaktywniejsze w stosunku do *Pyrrhocoris apterus* ($ED_{50}^{x/}$ w $\mu\text{g}/\text{owada} < 0,01$) i zupełnie nieaktywne na larwy i poczwarki *Musca domestica*.

Stwierdzona selektywność działania syntetyzowanych związków nie przekraczała selektywności występującej w przypadku innych alifatycznych JHA dlatego systematyczne badania wybiórczej aktywności hormonomimetycznej na poziomie rzędu i rodziny nie były prowadzone.

Wyniki badań na *Galleria mellonella* związku 26 zostały przedstawione i przedyskutowane w pracy magisterskiej Grzegorza Rąkowskiego z Zakładu Fizjologii Zwierząt U.W. (patrz suplement).

^{x/} Stosuję jako podstawową jednostkę - dawkę efektywną (effective dose 50% - ED_{50}), czyli taką ilość związku, która powoduje efekty morfologiczne u 50% osobników.

5. PODSUMOWANIE

Stosując cyklopentadien jako związek wyjściowy otrzymałam na drodze wieloetapowych syntez cztery analogi JH 26, 39a, 39b i 48 z wbudowanym pierścieniem cyklopentanowym. W miejsce grupy karbometoksyłowej występującej w naturalnych hormonach juwenilnych wprowadziłam grupę karboetoksyłową lub karboksyzopropylową (39b) dla zwiększenia aktywności biologicznej związków, natomiast labilny pierścień oksiranowy zastąpiłam podstawnikami metoksyłowym (26, 48) lub dwuoksaalkilem (39) dla zwiększenia stabilności względnie polarności cząsteczki.

Związki 26, 39 i 48 stanowią trzy różnorodne układy zawierające odpowiednio jedno (26), dwa sprzężone (39) i dwa niesprężone (48) wiązania podwójne wprowadzone do cząsteczek na drodze reakcji Wittiga z trzema różnymi reagentami Wittiga lub Hornera-Wittiga (25, 36, 40). Ponadto, związek 26 jest 5-oksaanalogiem JH II, 39 - 9,11-dwuoksaanalogiem 12 homo -JH I a związek 48 zawiera dodatkowe zabudowanie przestrzenne w postaci grupy gem-dwumetylowej przy atomie węgla C-7.

Ustaliłam budowę otrzymanych nowych połączeń, określiłam metodami chemicznymi i spektroskopowymi skład diastereoizomerów wynikających z obecności dwóch centrów chiralnych w pierścieniu pięcioczłonowym oraz stereoizomerów E i Z związanych z wprowadzeniem do cząsteczki wiązań podwójnych oraz rozpatrzyłam możliwości ich rozdziału na drodze transformacji chemicznych lub chromatografii kolumnowej. Związki 26 i 48 otrzymałam jako indywidualne stereoizomery geometryczne odpowiednio 1E i 1E,5Z.

W trakcie wykonywania niniejszej pracy przebadalam możliwości funkcjonalizacji 1,3 podstawionego pierścienia cyklopentanowego, zbadalam reaktywność reagentów Wittiga 36 i 40 i syntetyzując związki docelowe otrzymałam 25 nowych połączeń chemicznych ustalając ich budowę metodami spektroskopowymi w połączeniu z analizą mikroelementarną.

Uzyskałam wstępne dane biologiczne dla otrzymanych przeze mnie analogów JH. Związki 26, 39a i 48 wykazały najwyższą aktywność w stosunku do *Pyrrhocoris apterus* (ED_{50} w ug/owada $< 0,01$), a związek 39b testowany wstępnie na *Galleria mellonella* ujawnił silne działanie juvenilne powodując powstawanie typowych form pośrednich oraz dodatkowych form larwalnych tzw. superlarw.

5. CZĘŚĆ DOSWIADCZALNA

Rozpuszczalniki oczyszczano i suszono według metod standardowych. Stosowano frakcję ligroiny o zakresie temperatur wrzenia 60 - 80°. Do chromatografii cienkowarstwowej używano płytek szklanych pokrytych żelem krzemionkowym firmy Merck (Darmstadt), lub gotowych płytek DC Plastikfolien 60 E 254 tej samej firmy, a do chromatografii kolumnowej żeli krzemionkowych firmy Merck (Darmstadt) lub Marchery-Nagel o różnej granulacji.

Chromatografię gazową przeprowadzano przy pomocy instrumentu firmy Willy Giede z detektorem jonowo-płomieniowym. Stosowano kolumny: 20% Carbowax 20M na Chromosorbie P mytym zasadą (200x0,4 cm) i 10% Reoplex 400 na Chromosorbie P mytym zasadą (200x0,3 cm) oraz 5% SE-52 na Chromosorbie G, (300x0,4 cm).

Widma protonowego rezonansu magnetycznego zapisywano dla roztworów w czterochlorku węgla na aparatach JEOL-H-100 (100 MHz), Varian 4394 (60 MHz), Varian Anaspect EM 360 (60 MHz) i podano w skali δ (ppm). Jako wewnętrzny standard stosowano tetrametylosilan (TMS). Widma w podczerwieni zapisywano dla filmów cieczy (o ile nie zaznaczono inaczej) na aparatach Unicam SP 200 i Perkin Elmer model 137. Mikroanalizy wykonano w pracowni analitycznej IChO PAN, a pomiary spektralne (ir, uv, pmr) w pracowni spektroskopii tego instytutu.

Podane temperatury wrzenia związków dotyczą destylacji ewaporacyjnej "w kulkach". Ekstrakty suszono bezwodnymi siarczanami magnezu i sodu. Do reakcji w atmosferze gazu obojętnej stosowano suszony i odtleniony argon.

Ester izopropylowy kwasu 3-ketocyklopentylooctowego 19b

10 g (0,07 mmol) kwasu 3-ketocyklopentylooctowego 19a i 11 g (0,07 mmol) bezwodnego węgla potasowego ogrzewano w 50 ml DMSO w temp. 80°C pod chłodnicą zwrotną w ciągu 0,5 g. Po schłodzeniu mieszaniny do 40°C dodano ostrożnie dwukrotny nadmiar (10 g) jodku izopropylu i ogrzewano mieszając przez 3 g w temp. 90°C.

Po rozcieńczeniu mieszaniny wodą oddzielono warstwę organiczną, a warstwę wodną ekstrahowano kilkakrotnie eterem etylowym.

Połączone ekstrakty przemyto wodą, suszono MgSO₄ i odparowano uzyskując 12 g surowego produktu. Destylacja pod zmniejszonym ciśnieniem dała 11 g czystego estru 19b (wydajność 86%);

t.wrz. 78°C/0,4 Torr; ir 1730, 1190, 1160 cm⁻¹; pmr 1,22 (d, J = 6,5 Hz, 6, CH(CH₃)₂), 1,5 - 2,5 (m, 9), 4,97 (sept., J = 6,5 Hz, 1, CH(CH₃)₂).

Analiza: dla C₁₀H₁₆O₃ (184,23)

obliczono 65,2% C; 8,7% H

otrzymano 65,2% C; 8,7% H.

Ester izopropylowy kwasu 3-hydroksy-3-metylo-
cyklopentylooctowego 20a

Do 250 ml eterowego roztworu jodku metylomagnezowego otrzymanego z 1,5 g (62 mmole) opiłków magnezowych i 4,5 ml (70 mmoli) jodku metylu schłodzonego do temp. -20°C dodano 6,8 g (37 mmoli) ketoestru 19b rozpuszczonego w 100 ml absolut-

nego eteru. Całość mieszano w temp. $-20 \pm -15^{\circ}\text{C}$ przez 3 g, a następnie zhydrolizowano nasyconym wodnym roztworem chlorku amonowego i ekstrahowano eterem etylowym. Ekstrakt przemyto wodą, osuszono MgSO_4 , rozpuszczalnik usunięto pod zmniejszonym ciśnieniem uzyskując surowy produkt 20a, który oczyszczono przy pomocy chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym (66 g) stosując jako eluent 30% roztwór octanu etylu w heksanie. Otrzymano diastereoisomeryczną mieszaninę 20a z wydajnością 75% (6,2 g); t.wrz. $85^{\circ}\text{C}/0,4$ Torr; ir 3600-3100, 1725 cm^{-1} . Rozdział chromatograficzny (15% octanu etylu w heksanie) dał dwa izomeryczne alkohole cis i trans; chromatografia gazowa trójfluorooctowych pochodnych otrzymanych metodą opisaną poniżej przeprowadzona w temperaturze 130°C przy użyciu kolumny 3% DC-560 na Chromosorbie Q wykazała dwa sygnały; czasy retencji wynosiły odpowiednio 4 min. 6 sec. i 2 min. 24 sec. dla cis i trans izomerów; cis - 20a pmr 1,20 (d, $J = 7$ Hz, 6, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1,30 (s, 3, C-3 CH_3), 2,7-1,5 (m, 9), 3,12 (s, 1, OH), 4,88 (sept, $J = 7$ Hz, 1, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); trans - 20a pmr 1,20 (d, $J = 7$ Hz, 6, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1,28 (s, 3, C-3 CH_3), 1,9-1,3 (m, 7), 2,30 (d, $J = 2$ Hz, 2, CH_2CO_2), 3,17 (s, 1, OH), 4,88 (sept, $J = 7$ Hz, 1, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$).

Analiza dla $\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{O}_3$ (200.27):

obliczono 66,0% C; 10,1% H

znaleziono 66,4% C; 10,2% H.

Ester izopropylowy kwasu 3-metoksy-3-metylo-
cyclopentylooctowego (20b)

Metoda A:

Do intensywnie mieszanego roztworu hydroksyestru 20a (1 g; 5 mmoli) w 5 ml chlorku metylenu dodawano na przemian małą ilość sublimowanego chlorku glinowego i 0.2 M roztwór dwuazometanu w chlorku metylenu. Kolejna porcja AlCl_3 była dodawana po zniknięciu żółtego zabarwienia roztworu. Przebieg reakcji kontrolowano przy pomocy TLC, stwierdzając, że chłodzenie mieszaniny reakcyjnej wstrzymuje właściwy jej przebieg i na ogół daje produkty odwodnienia związku 20a^{x/}. Po przereagowaniu 3/4 ilości substratu roztwór nie ulegał odbarwieniu; czynność dodawania AlCl_3 i CH_2N_2 powtórzono jeszcze kilkakrotnie dopóki TLC nie wykazała prawie całkowitego braku substratu. Całość przesączono przez kolumnę z żelem krzemionkowym dla oddzielenia soli glinu^{xx/} i odparowano rozpuszczalnik uzyskując surowy olej (1 g), który chromatografowano na żelu krzemionkowym (30 g) stosując jako eluent 15% roztwór octanu etylu w heksanie. Otrzymano trzy frakcje: 100 mg związku cis - 20b, 400 mg mieszaniny diastereoizomerycznych metoksyeterów 20b i 100 mg trans - 20b. Środkową frakcję charakteryzują następujące dane fizykochemiczne: t.wrz. $88^\circ/1.5$ Torr (destylacja "kulkowa"; ir 2940, 2800, 1725, 1073 cm^{-1}).

x/ Najlepsze wyniki daje szybkie prowadzenie reakcji i duży nadmiar dwuazometanu (czterokrotny), jest to jednak niebezpieczne i grozi wybuchem.

xx/ Sączenie trwa wprawdzie dość długo, ale daje wyższą wydajność niż zwykła procedura polegająca na rozpuszczeniu soli glinu w rozcieńczonym HCl i przemywaniu eterowego roztworu wodnym Na_2CO_3 i solanką.

Analiza dla $C_{12}H_{22}O_3$ (214,3):

obliczono: 67,3% C; 10,4% H

znaleziono: 67,5% C; 10,4% H.

Analiza TLC (chloroform:metanol 9:1) dla cis - 20b i trans - 20b odpowiednio $R_f = 0,53$ i $0,48$; cis - 20b pmr 1,19 (d, $J = 6$ Hz, 6, $CH(CH_3)_2$), 1,20 (s, 3, C-3 CH_3), 2,28 (poszerz. s., 2, CH_2CO), 3,13 (s, 3, OCH_3), 4,97 (sept., $J = 6$ Hz, 1, $CH(CH_3)_2$); trans - 20b pmr 1,18 (d, $J = 6$ Hz, 6, $CH(CH_3)_2$), 1,19 (s, 3, C-3 CH_3), 2,23 (poszerz. s, 2, CH_2CO), 3,10 (s, 3, OCH_3), 4,97 (sept., $J = 6$ Hz, 1, $CH(CH_3)_2$).

Metoda B:

100 mg (0,5 mmola) alkoholu 20a rozpuszczono w 5 ml DME (destylowanego z nad $LiAlH_4$), dodano 200 mg NaH/olej (4 mmole) i 500 mg (4 mmole) jodku metylu. Po 12 g. mieszania rozłożono nadmiar wodoru sodowego wodnym roztworem salmiaku i całość ekstrahowano eterem etylowym. Po osuszeniu i usunięciu rozpuszczalnika otrzymano 90 mg mieszaniny zawierającej (wg TLC) dwa produkty. Rozdział chromatograficzny dał trans eteroester 20b oraz bezbarwny, krystaliczny 1,4,4-trójmetylo-2-oksabicyklo[3,2,1]oktanon-3; t.t. $90^\circ C$; ir (nujol) 2980, 1720, 1130 cm^{-1} ; pmr 1,28 (s, 3, CH_3CO_2), 1,33 (s, 3, CH_3CO_2), 1,52 (s, 3, C-1 CH_3), 1,6-2,2 (m, 7H).

Analiza dla $C_{10}H_{16}O_2$ (168,2)

obliczono: 71,4% C; 9,6% H,

znaleziono: 71,3% C; 9,6% H.

1-(3-metoksy-3-metylocyklopentylo)-propanon-2 (22)

Roztwór estru 20b (6,3 g; 0,03 mmola) w kilku mililitrach suchego THF dodano ostrożnie do mieszanego pod argonem w temp. 20°C roztworu karboanionu metylosulfinylowego przygotowanego z 35 ml DMSO i 50% NaH/olej (3,5 g; 0,07 mola) i rozcieńczonego 35 ml suchego THF. Całość mieszano 30 min. w temperaturze pokojowej, ochłodzono, wylano do wodnego roztworu HCl z lodem, a następnie zakwaszono tak, by uzyskać pH 3-4 (mieszanka nie może być bardziej kwaśna) i ekstrahowano chloroformem. Chloroformowy ekstrakt przemyto wodą, suszono Na_2SO_4 i odparowano uzyskując 6,3 g (100%) oleistego β -ketosulfotlenku 21. Do roztworu związku 21 w 400 ml 10% wodnego tetrahydrofuranu dodawano porcjami świeżo przygotowany amalgamat glinu (otrzymany z 7,4 g folii aluminiowej potraktowanej 2% wodnym roztworem HgCl_2 i przemytej kolejno etanolem i eterem). Następnie intensywnie mieszając ogrzewano całość w temperaturze 65°C przez 1 godz., przefiltrowano, rozcieńczono solankę i ekstrahowano eterem etylowym. Po osuszeniu i usunięciu rozpuszczalnika pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymano 0,5 g (55%) ketonu 22; t.wrz. 85°C/0,2 Torr; ir 2820, 1735, 1375, 1080 cm^{-1} ; pmr 1,24 (s, 3, C-3 CH_3), 2,05 (s, 3, COCH_3); 3,11 (s, 3, OCH_3), 1,1-2,0 (m, 6, protony z pierścienia), 2,2-2,5 (m, 3, CHCH_2CO).

Analiza dla $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}_2$ (170,24):

obliczono: 70,5% C; 10,7% H

znaleziono: 70,5% C; 10,7% H.

1-(3-metoksy-3-metylocyklopentylo)-propanol-2 (23)

Do mieszanej zawiesiny borowodorku sodowego (2 g; 60 mmoli) w 50 ml metanolu dodano kroplami 10 ml metanolowego roztworu ketonu 22 (2,75 g; 16 mmoli). Całość ogrzewano do wrzenia przez 15 min., następnie rozcieńczono 60 ml wody i zobojętniono 15% wodnym roztworem kwasu solnego. Ekstrakcja chloroformem dała surowy produkt, który chromatografowano (30% octanu etylu w heksanie) na żelu krzemionkowym uzyskując 2,6 g (96%) czystego alkoholu 23; t.wrz. 88°C/0,2 Torr (destylacja "kulkowa"); ir 3100-3600, 2820, 1375, 1070 cm^{-1} ; pmr 0,98 (d, J = 6 Hz, 3, CH_2CHOH), 1,07 (s, 3, C-3 CH_3), 2,49 (szer.s, 1, OH), 3,00 (s, 3, OCH_3), 3,63 (m, 1, CHOH).

Analiza dla $\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{O}_2$ (172,26):

obliczono: 69,7% C; 11,7% H

znaleziono: 69,5% C; 11,5% H.

7-(3-Metoksy-3-metylocyklopentylo)-6-metylo-5-oksa-heptanon-2 (24)

Mieszaninę 10 mg alkoholu 23, kilku mg HgO i siedmiu kropel eteratu trójfluorku boru mieszano w temp. 100°C przez 10 min. Po ochłodzeniu do temperatury pokojowej dodano alkohol 23 (1,3 g; 7,5 mmola) i świeżo destylowany metylowinyloketon (700 mg; 10 mmoli). Całość mieszano 80 g. w temperaturze pokojowej. Ciemnobrązowy roztwór wylano następnie do 15 ml wody zawierającej małą ilość węgla sodowego i ekstrahowano eterem etylowym. Po usunięciu rozpuszczalnika otrzymano 800 mg surowego ketonu, który chromatografowano na żelu krzemionkowym (15% octanu etylu w heksanie) uzyskując

520 mg (30%) czystego ketonu 24; t.wrz. 155°C/0.2 Torr (destylacja "kulkowa"); ir 1710, 1375, 1075 cm⁻¹; pmr 1,06 (d, J = 6 Hz, 3, C-6 CH₃), 1,17 (s, 3, C-3CH₃), 2,10 (s, 3, CH₃CO), 2,54 (t, J = 6 Hz, 2, CH₂CO), 3,11 (s, 3, OCH₃), 3,64 (m, 3, H-6 + CH₂O).

Analiza dla C₁₄H₂₆O₃ (242,35):

obliczono: 69,4% C; 10,8% H

znaleziono: 69,4% C; 10,5% H.

Ester etylowy kwasu (1E i 1Z)-2,6-dwumetylo-7-(3-metoksy-3-metylocyklopentylo)-5-oksa-heptenokarboksylowego-1 (26)

Metoda A:

Etanolowy roztwór (12 ml) ketonu 24 (1,2 g; 5,3 mmola) i trójetylofosfonooctanu 25 (1,18 g; 5,3 mmola) dodawano kroplami w ciągu 1,5 g. do etanolanu sodowego (przygotowanego ze 150 mg (5,3 mmola) sodu) w tym samym rozpuszczalniku (5 ml). Całość mieszano 15 g. w temperaturze pokojowej, następnie ogrzewano do wrzenia przez 2,5 g. i odparowano uzyskując oleistą pozostałość, do której dodano 15 ml wody zakwaszonej 0,5 ml kwasu octowego. Ekstrakcja eterem naftowym, przemycie kolejno wodą, wodnym roztworem NaHCO₃ i ponownie wodą, osuszenie i odparowanie dało surowy produkt, który oczyszczano chromatograficznie na żelu krzemionkowym (7% octanu etylu w heksanie) otrzymując 650 mg (44%) tytułowego związku zawierającego izomery 1E i 1Z w stosunku 63 : 37 (pmr); t.wrz. 185°C/0.05 Torr (destylacja "kulkowa"); ir 1720, 1645 cm⁻¹; pmr 1,08 (d, J = 6 Hz, 3, C-6CH₃), 1,18 (s, 3, C-3CH₃, pierścień), 1,24 (t, J = 7 Hz, 3, CO₂CH₂CH₃), 1,95 (s, cis CH₃C=), 2,18

(s, trans $\text{CH}_3\text{C}=\text{}$), 2,37 (t, $J = 6$ Hz, C-3H, trans), 2,84 (t, $J = 6$ Hz, C-3H, cis), 3,12 (s, 3, OCH_3), 4,14 (q, $J = 7$ Hz, 2, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 5,69 (poszerz. s, 1, C-1H).

Metoda B:

Do zawiesiny 50% NaH/olej (0,26 g; 5,3 mmola) w bezwodnym 1,2-dwumetoksyetanie (DME) (30 ml) dodano kroplami w temp. pokojowej trójetylofosfonooctan (1,2 g; 5,3 mmola). Po ustaniu wydzielania wodoru całość potraktowano roztworem ketonu 24 (1,2 g; 5,3 mmola) w DME (5 ml) i mieszano dalsze 2,5 g. w temp. 50-60°C oraz 12 g. w temperaturze pokojowej. Mieszaninę rozcieńczono następnie wodą i ekstrahowano eterem etylowym. Ekstrakt przerobiono w zwykły sposób, otrzymując 1,5 g surowego produktu, który oczyszczono chromatograficznie tak jak opisano w metodzie A uzyskując 857 mg (57%) estru 26 zawierającego izomery 1E i 1Z w stosunku 4 : 1 oraz 60 mg czystego 1E juwenoidu 26.

1-metylo-2-oksabicyclo[3.2.1]oktanon-3 (27) i ester trans izopropylowy kwasu 3-hydroksy-3-metylocyklopentylooctowego (20a)

Diastereoizomeryczną mieszaninę hydroksy estrów 20a (2 g, 10 mmoli) hydrolizowano przez 3 g. wodnym roztworem wodorotlenku sodowego (2,2 g NaOH w 30 ml H_2O) we wrzącym metanolu (20 ml). Po zakwaszeniu rozcieńczonym kwasem siarkowym roztwór ekstrahowano eterem, ekstrakt eterowy osuszono i po usunięciu rozpuszczalnika uzyskano oleistą mieszaninę hydroksykwasów (1,4 g). Aby przeprowadzić cis-hydroksykwas w lakton mieszaninę tę ogrzewano w benzynie (100 ml) zawierającym katalityczną ilość kwasu p-tolueno-

sulfonowego stosując nasadkę Deana-Starka w celu ciągłego usuwania wody.

Następnie reakcyjną mieszaninę potraktowano wodnym roztworem węglanu sodu, warstwę benzenową oddzielono, przemyto wodą, osuszono i odparowano rozpuszczalnik uzyskując 750 mg laktonu 27; t.wrz. $55^{\circ}\text{C}/1,5$ Torr; ir 1720 cm^{-1} ; pmr 1,47 (s, 3, CH_3), 2,46 (poszerz. singlet, 3, $-\text{CH}+\text{CH}_2\text{O}$).

Analiza dla $\text{C}_8\text{H}_{12}\text{O}_2$ (140,18)

obliczono: 68,5% C; 8,6% H

znaleziono: 68,4% C; 8,9% H.

Warstwę wodną zakwaszono rozcieńczonym H_2SO_4 i ekstrahowano eterem etylowym wydzielając obok ubocznych związków olefinowych (które usunięto chromatograficznie) 120 mg trans-hydroksykwasy estryfikowanego następnie jodkiem izopropylowym w DMSO w obecności bezwodnego węglanu potasowego w sposób opisany dla 19a. Otrzymano w ten sposób 130 mg hydroksyestru trans 20a, który acylowano (25 mg) bezwodnikiem trójfluoroocetowym (0,25 ml) w pirydynie (0,5 ml) i eterze dwuizopropylowym (0,75 ml) uzyskując ester trans-izopropylowy kwasu 3-trójfluoroacetoksy-3-metylocyklopentyllooctowego; chromatografia gazowa przeprowadzona na kolumnie wypełnionej 3% DC-560 na Chromosorbie Q - dała jeden pik o czasie retencji 2 min. 24 sec.

Fosforyn dwuetylotrójmetylosililowy (35)

Do oziębionego roztworu fosforynu dwuetylowego (20 g; 145 mmoli) w bezwodnym eterze etylowym (100 ml) dodano kroplami kolejno stechiometryczną ilość bezwodnej trójetyloaminy (14,7 g; 145 mmoli), a następnie roztwór chlorotrójmetylosilanu (15,7 g; 145 mmoli) w eterze intensywnie mieszając i utrzymując temperaturę 0°C. Wydzielony osad chlorowodoru trójetyloaminy usunięto, a wrażliwą na wilgoć pozostałość przedestylowano pod zmniejszonym ciśnieniem uzyskując 18,1 g (60%) fosforynu dwuetylotrójmetylosililowego (35); t.wrz. 63 + 66°C/14 Torr.

Analiza dla $C_7H_{19}O_3PSi$ (210,0):

obliczono: 40,1% C; 9,1% H

otrzymano: 40,0% C; 9,0% H.

(E i Z)-Trójetylofosfonoakrylan (36a)

Mieszaninę fosforynu dwuetylotrójmetylosililowego 35 (18 g; 86 mmoli) i bromoestru etylowego (E:Z=3:2) 34a (18 g; 86 mmoli) w 100 ml eteru absolutnego ogrzewano wolno do temp. 110°C w zestawie z chłodnicą Liebiga i odbieralnikiem. Następnie roztwór schłodzony, aparaturę podłączono do pompy wodnej i ogrzewając do temp. 110°C usunięto nieprzereagowany bromoester oraz fosforyn. Pozostałość przedestylowano pod zmniejszonym ciśnieniem uzyskując 18,5 g (80% wyd.) estru fosfonowego 36a; E:Z=3:2; t.wrz. 100-110°C/0,4 Torr; ir 1720 ($\nu_{C=O}$), 1645, 1230, 1155, 1035 cm^{-1} ; pmr 1,26 (t, J = 7 Hz, 3, $\underline{CH}_3CH_2CO_2$), 1,28 (J = 7 Hz,

$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$), 1,29 (t, $J = 7$ Hz, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$), 2,06 (poszerz.d, $J = 3,5$ Hz, C- 2CH_3 , 1Z), 2,24 (poszerz.d, $J = 3,5$ Hz, C- 2CH_3 , 1E), 2,62 (d, $J = 24$ Hz, CH_2PO , 1E), 3,23 (dd, $J = 3,5$ i 24 Hz, CH_2PO , 1Z), 4,10 (m, 6, $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_2\text{OP} + \text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 5,70 (poszerz. s, H-1, 1Z), 5,80 (poszerz. s, H-1, 1E).

Stosunek izomerów geometrycznych E:Z=3:2 (glc, pmr).

(E i Z)-Dwuetylofosfonoakrylan izopropylowy (36b)

Związek ten otrzymano z wydajnością 76% z fosforynu dwuetylotrójmetylosililowego 35 i bromoestru izopropylowego (E:Z=3:2) 34b wg procedury opisanej dla trójetylofosfonoakrylanu 36a; t.wrz. 100-110°C/0,3 Torr; ir 1720($\nu_{\text{C=O}}$), 1645($\nu_{\text{C=C}}$), 1380 i 1370 cm^{-1} ; pmr 1,31 (d, $J = 6$ Hz, 6, $\text{CO}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1,33 (t, $J = 7$ Hz, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$), 1,35 (t, $J = 7$ Hz, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$), 2,05 (poszerz. d, $J = 3,5$ Hz, C- 2CH_3 , 1Z), 2,28 (poszerz.d, $J = 3,5$ Hz, C- 2CH_3 , 1E), 2,63 (d, $J = 25$ Hz, CH_2PO , 1E), 3,47 (dd, $J = 26$ i 3,5 Hz, CH_2PO , 1Z), 4,12 (m, 4, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$), 5,01 (septet, $J = 6$ Hz, 1, $\text{CO}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 5,73 (poszerz. s, H-1, 1Z), 5,78 (poszerz. s, H-1, 1E); stosunek izomerów geometrycznych E:Z wynosi 3:2 (glc, pmr).

Chlorek kwasu 3-ketocyklopentylooctowego

Do roztworu ketonokwasu 19a (3,2 g; 22 mmole) w 18 ml suchego benzenu dodano kroplami chlorek oksalilu (3 g; 2 ml; 23 mmole). Całość pozostawiono w temp. pokojowej na 12 godz. Część chlorowodoru usunięto przepuszczając przez roztwór suchy

argon i odparowując kilkakrotnie z nadmiarem benzenu pod zmniejszonym ciśnieniem. Po destylacji surowego produktu otrzymano 1,8 g (50% wydajności) chlorku kwasowego 28; t.wrz. $130^{\circ}/0,4$ Torr; ir $1800(\nu_{C=O})$, $1745(\nu_{C=O})$ cm^{-1} ; pmr 1,3-3,3 (m, 7, pierścień cyklopentanowy), 3,07 (szer. t, J = 5 Hz, 2, CH_2COCl);

Analiza dla $\text{C}_7\text{H}_9\text{O}_2\text{Cl}$ (160,5)

obliczono: 52,3% C; 5,6% H; 22,1% Cl

otrzymano: 52,4% C; 5,6% H; 22,3% Cl

Aldehyd 3-ketocyklopentylooctowy (32)

Przez wrzący, benzenowy roztwór (20 ml) chlorku kwasowego 28 (3 g; 19 mmoli) zawierający zawiesinę 300 mg 10% Pd/ BaSO_4 przepuszczono wolno suchy, odtleniony wodór pochłaniając wydzielający się chlorowódor w cylindrze z wodą destylowaną i miareczkując go 1N roztworem wodnym KOH wobec fenoloftaleiny dla kontroli przebiegu reakcji. Po zaprzestaniu wydzielania chlorowodoru (~5 godz.) mieszaninę schłodzono, dodano 1 g węgla aktywnego w celu usunięcia katalizatora, roztwór przefiltrowano i rozpuszczalnik odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem w temperaturze poniżej 45°C otrzymując 2,1 g surowego produktu 32. Aldehyd 32 natychmiast poddano następnej reakcji, ze względu na jego niską stabilność; ir $2740(\nu_{\text{CHO}})$, $1740(\nu_{C=O})$, $1730(\nu_{C=O})$ cm^{-1} ; pmr 1,1-2,0 (m, 3, pierścień cyklopentanowy); 2,0-2,5 [m, 6, $(\text{CH}_2)_2\text{CO} + \text{CH}_2\text{CHO}$], 9,74 (s, 1, CHO).

Ester etylowy kwasu (1E,3E) i (1Z,3E)-2-metylo-5-(3-ketocyklopentyl)-pentadienokarboksylowego-1 (37a)

Do zawiesiny etanolanu sodowego (przygotowanego z 250 mg Na i etanolu) w dwumetyloformamidzie (5 ml) w temp. 0°C dodano kroplami trójetylofosfonoakrylan 36a (3 g; 11,4 mmola) i mieszano w tej temperaturze przez 0,5 godz. Następnie dodano roztwór ketonoaldehydu 32 w 15 ml DMF i całość pozostawiono w temp. pokojowej na 12 godz. Po rozcieńczeniu wodą, mieszaninę ekstrahowano kolejno heksanem i roztworem heksan. : eter etylowy (1:1). Połączone ekstrakty przemyto wodą, suszono i odparowano otrzymując 1,4 g surowego produktu. Chromatografia kolumnowa na żelu krzemionkowym przy użyciu 15% roztworu octanu etylu w heksanie dała 580 mg (22%) dienoestru 37a stanowiącego mieszaninę stereoisomerów 1E,3E i 1Z,3E w stosunku 3:2; t.wrz. 150°C/0,3 Torr; UV max (EtOH) 264 nm, ϵ $1,57 \times 10^4$; ir 1735(ν C=O), 1705(ν C=O), 1640(ν C=C), 1610(ν C=C); pmr 1,23 (t, J = 7 Hz, 3, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), 1,98 (d, J = 1,5 Hz, C-2CH₃, 1Z), 2,24 (d, J = 1,5 Hz, C-2CH₃, 1E), 4,18 (q, J = 7 Hz, 2, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), 5,63 (poszerz. s, H-1, 1Z), 5,70 (poszerz. s, H-1, 1E), 6,19 (m, H-3, 1E + H-4 1E, 1Z), 7,75 (d, J = 16 Hz, H-3, 1Z);

Analiza dla C₁₄H₂₀O₃ (236,3)

obliczono: 71,2% C; 8,5% H

otrzymano: 71,1% C; 8,8% H.

Ester izopropylowy kwasu (1E,3E) i (1Z,3E)-2-metylo-5-(3-ketocyklopentyl)-pentadienokarboksylowego-1 (37b)

Związek 37b (jako mieszaninę izomerów 1E,3E i 1Z,3E w sto-

sunku 3:2) otrzymano z wydajnością 30% z ketonoaldehydu 32 i dwuetylofosfonoakrylanu izopropylowego 36b wg procedury opisanej dla dienoestru etylowego 37a; t.wrz. 162°C/0,3 Torr; ir 1735($\nu_{C=O}$), 1710($\nu_{C=O}$), 1640($\nu_{C=C}$), 1610($\nu_{C=C}$), 1380 i 1370 cm^{-1} ; pmr 1,20 (d, J = 6 Hz, 6, $\text{CO}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1,95 (d, J = 1,5 Hz, C-2 CH_3 , 1Z), 2,23 (d, J = 1,5 Hz, C-2 CH_3 , 1E), 5,01 (septet, J = 6 Hz, 1, $\text{CO}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 5,60 (poszerz. s, H-1, 1Z), 5,68 (poszerz. s, H-1, 1E), 6,17 (m, H-3 1E + H-4 1E, 1Z), 7,78 (d, J = 16 Hz, H-3, 1Z);

Analiza dla $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_3$ (250,3)

Obliczono: 72,0% C; 8,9% H,

Otrzymano: 71,9% C; 8,7% H.

Ester etylowy kwasu (1E,3E) i (1Z,3E)-2-metylo-5-(3-hydroksycyklopentyl)-pentadienokarboksylowego-1 (38a)

Roztwór ketonoestru 37a (500 mg; 2 mmole) w 20 ml etanolu potryktowano zawiesiną borowodoru sodowego (300 mg; 8 mmoli) w tym samym rozpuszczalniku (20 ml) i ogrzewano do wrzenia przez 15 min. Nadmiar NaBH_4 rozłożono wodą, całość zubożytno wodnym roztworem HCl (1:1), ekstrahowano chloroformem, suszono i odparowano uzyskując 450 mg bezbarwnego oleju. Chromatograficzne oczyszczanie na żelu krzemionkowym (9 g żelu; eluent - 20% octanu etylu w heksanie) dało 380 mg (76% wydajności) hydroksyestru 38a (1E,3E : 1Z,3E = 3 : 2); t.wrz. 85°C/0,5 Torr; ir 3700-3100(ν_{OH}), 1705($\nu_{C=O}$), 1640($\nu_{C=C}$), 1610($\nu_{C=C}$) cm^{-1} ; pmr 1,26 (t, J = 7 Hz, 3, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), 2,0 (poszerz. s, C-2 CH_3 , 1Z),

2,24 (poszerz. s, C-2CH₃, 1E), 2,40 (s, 1, OH), 4,17 (q, J = 7 Hz, 2, CH₃CH₂O), 5,60 (poszerz. s, H-1, 1Z), 5,67 (poszerz. s, H-1, 1E), 6,04 (m, H-3 1E + H-4 1E, 1Z), 7,65 (d, J = 16 Hz, H-3, 1Z);

Analiza dla C₁₄H₂₂O₃ (238,3)

Obliczono: 70,5% C; 9,3% H,

Otrzymano: 70,6% C; 9,1% H.

Ester izopropylowy kwasu (1E,3E) i (1Z,3E)-2-metylo-5-(3-hydroksycyklopentylo)-pentadienokarboksyłowego-1 (38b)

Związek 38b (1E,3E : 1Z,3E = 3 : 2) otrzymano z wydajnością 80% z ketonoestru izopropylowego 37b wg procedury opisanej dla hydroksydienoestru etylowego 38a; t.wrz. 90°C/0,15 Torr;

ir 3700-3100 (ν OH), 1705 (ν C=O), 1640 (ν C=C), 1605 (ν C=C) cm⁻¹;
pmr 1,21 (d, J = 6 Hz, 6, CO₂CH(CH₃)₂), 1,98 (poszerz. s, C-2CH₃, 1Z), 2,20 (poszerz. s, C-2CH₃, 1E), 2,31 (s, 1, OH), 5,11 (septet, J = 6 Hz, 1, CO₂CH(CH₃)₂), 6,10 (m, H-3 1E + H-4 1E, 1Z), 7,70 (d, J = 16 Hz, H-3, 1Z);

Analiza dla C₁₅H₂₄O₃ (252,3)

Obliczono: 71,4% C; 9,6% H,

Otrzymano: 71,1% C; 9,8% H.

Ester etylowy kwasu (1E,3E) i (1Z,3E)-2-metylo-5-[3-(2'-metylo-1',3'-dwuoksapentylo)-cyklopentylo]-pentadienokarboksyłowego-1 (39a)

Eterowy roztwór (20 ml) hydroksydienoestru 38a (941 mg;

4 mmole) ogrzewano do wrzenia przez 0,5 godz. ze świeżo destylo-
wanym eterem winylowoetylowym (360 mg; 5 mmoli) w obecności kwa-
su p-toluenosulfonowego jako katalizatora. Mieszaninę reakcyjną
przemyto 2% wodnym roztworem KOH (5 ml), solanką i wodą, suszo-
no i odparowano uzyskując 970 mg oleistego dienoestru etylowego
39a (wydajność 80%). Produkt był jednorodny w tlc (heksan:octan
etylu = 3:1). Związek ten przechowywany w temp. 5°C nie wymaga
oczyszczania; stosunek izomerów 1E,3E : 1Z,3E wynosi 3:2 (glc, pmr
UV max (EtOH) 264 nm, $\epsilon = 2,51 \times 10^4$; ir 1705 ($\nu_{\text{C=O}}$), 1640 ($\nu_{\text{C=C}}$),
1610 ($\nu_{\text{C=C}}$) cm^{-1} ; pmr 1,24 (t, J = 7,5 Hz, 3, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1,26
(t, J = 6 Hz, 3, OCH_2CH_3), 1,27 (d, J = 5 Hz, 3, CHCH_3), 1,97
(poszerz. s, C-2CH₃, 1Z), 2,22 (poszerz. s, C-2CH₃, 1E), 3,5
(m, 1, OCH), 4,14 (poszerz. q, J = 7,5 Hz, 4, $\text{OCH}_2\text{CH}_3 + \text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$)
4,65 (q, J = 5 Hz, 1, CHCH_3), 5,58 (poszerz. s, H-1, 1Z), 5,68
(poszerz. s, H-1, 1E), 6,12 (m, H-3 1E + H-4 1E, 1Z), 7,67 (po-
szerz. d, J = 16 Hz, H-3, 1Z);

Analiza dla $\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{O}_4$ (310,4)

Obliczono: 69,6% C; 9,7% H,

Otrzymano: 69,3% C; 9,9% H.

Ester izopropylowy kwasu (1E,3E) i (1Z,3E)-2-metylo-5-
-[3-(2'-metylo-1',3'-dwuoksapentylo)-cyklopentylo]-
-pentadienokarboksyłowego-1 (39b)

Oleisty związek 39b otrzymano z wydajnością 77% z hydroksy-
estru 38b wg procedury opisanej dla dienoestru etylowego 39a;

UV max (EtOH) 264 nm, $\epsilon = 3,87 \times 10^4$; ir 1705 ($\nu_{\text{C=O}}$), 1640 ($\nu_{\text{C=C}}$),
1610 ($\nu_{\text{C=C}}$) 1375 i 1385 cm^{-1} ; pmr 1,21 (d, J = 6 Hz, $\text{CO}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$),

1,25 (t, $J = 6$ Hz, 3, OCH_2CH_3), 1,27 (d, $J = 5$ Hz, 3, $\text{O}^>\text{CHCH}_3$), 1,95 (poszerz. s, C- 2CH_3 , 1Z) 2,20 (poszerz. s, C- 2CH_3 , 1E), 3,5 (m, 1, OCH), 4,65 (q, $J = 5$ Hz, 1, $\text{O}^>\text{CHCH}_3$), 5,03 (septet, $J = 6$ Hz, 1, $\text{CO}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 5,55 (poszerz. s, H-1, 1Z), 5,65 (poszerz. s, H-1, 1E), 6,10 (m, H-3 1E + H-4 1E, 1Z), 7,68 (poszerz. d, $J = 16$ Hz, H-3, 1Z);

Analiza dla $\text{C}_{19}\text{H}_{32}\text{O}_4$ (324,4)

Obliczono: 70,3% C; 9,9% H,

Otrzymano: 70,0% C; 9,9% H.

Ester etylowy kwasu (1E,5Z)-2,7,7-trójmetrylookta-dienokarboksyłowego-1 (42)

Do roztworu soli fosfoniowej 40 (11 g; 20 mmoli) w suchym dwumetyloformamidzie (40 ml) w temp. -5°C dodano w atmosferze argonu NaH/olej (50%; 1,2 g; 20 mmoli) i aldehyd trójmetrylooctowy 41 (1,72 g; 20 mmoli). Mieszano przez 1 godz. w tej temperaturze, a następnie przez 12 godz. w temp. pokojowej. Po rozcieńczeniu solanką (150 ml) całość ekstrahowano kolejno ligroiną i eterem etylowym. Osuszone ekstrakty po usunięciu rozpuszczalników pod zmniejszonym ciśnieniem dały 3,5 g surowego, oleistego produktu. Po kilku godzinach oddzielono część krystalicznego tlenku trójfenylofosfiny, a pozostały tlenek usunięto przez rozpuszczenie oleju w 7% roztworze octanu etylu w heksanie (150 ml) i przesączeniu przez cienką warstwę żelu krzemionkowego. Chromatografia kolumnowa na żelu (eluent - 4% octanu etylu w heksanie) dała 1,7 g (wydajność 36%) dienoestru 42; t.wrz. $55^\circ\text{C}/0,1$ Torr;

UV max EtOH 220 nm, $\epsilon = 1,35 \times 10^4$; ir 1720 ($\nu_{\text{C=O}}$), 1645 ($\nu_{\text{C=C}}$), 1385, 1370 cm^{-1} ; pmr 1,10 (s, 9, $(\text{CH}_3)_3$), 1,20 (t, $J = 7$ Hz, 3, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2,14 (poszerz. s, 3, C-2 CH_3), 4,12 (q, $J = 7$ Hz, 2, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 5,28 (m, 2, H-5 + H-6), 5,66 (poszerz. s, 1, H-1);

Analiza dla $\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{O}_2$ (224,3)

Obliczono: 74,9% C; 10,8% H,

Otrzymano: 74,5% C; 10,8% H.

Ester izopropylowy kwasu metylo-(3-metoksy-3-metylocyklopentylu)-octowego (43)

Uwagi ogólne: reakcję prowadzono w absolutnie bezwodnych warunkach, w atmosferze argonu; tetrahydrofuran destylowano tuż przed reakcją, dwuizopropylaminę, jodek metylu i HMPT destylowano i przechowywano nad sitami molekularnymi. Odczynniki dozowano strzykawką przez septum.

Do roztworu dwuizopropylaminy (2,66 g; 26 mmoli) w 200 ml tetrahydrofuranu dodano wolno w temp. -78°C 2,5 M roztwór n-butyrolitu w heksanie (11,2 ml; 28 mmoli) i mieszano przez 25 min. w tej temperaturze. Następnie wkroplono ester izopropylowy 20a (3,5 g; 16,3 mmola) w 10 ml THF, a po godzinie jodek metylu (2,8 ml) w 14 ml HMPT. W ciągu 0,5 godz. mieszano roztwór w temp. -78°C , a po osiągnięciu temp. -40°C pozostawiono na 12 godz. w suchym lodzie.

Po rozcieńczeniu ligroiną (300 ml) całość przemyto 15 ml wodnego roztworu kwasu octowego (6 ml CH_3COOH (50 ml wody) i dwukrotnie wodą destylowaną do pH 7, suszono i odparowano uzyskując po destylacji 3,15 g (85% wyd.) estru 43;

t.wrz. 70°C/0,05 Torr; ir 1740($\nu_{C=O}$) cm^{-1} ; pmr 1,07 (d, J = 6 Hz, 3, C-1CH₃), 1,19 (d, J = 0,8 Hz, 3, C-3CH₃), 1,20 (d, J = 6 Hz, 6, CH(CH₃)₂), 3,10 (s, 3, OCH₃), 4,90 (septet, J = 6 Hz, 1, CH(CH₃)₂);

Analiza dla C₁₃H₂₄O₃ (228,3)

Obliczono: 68,4% C; 10,6% H,

Otrzymano: 68,2% C; 10,6% H.

Czystość produktu sprawdzono przy pomocy glc stosując kolumnę wypełnioną 15% SE-30 na chromosorbie Q w temp. 160°C.

Ester izopropylowy kwasu dwumetylo-(3-metoksy-3-metylocyklopentylo)-octowego (44)

Związek 44 otrzymano z wydajnością 94% z estru 43 wg procedury opisanej dla 43, z tą różnicą, że stosowano dwukrotny nadmiar zasady (dwuizopropylamina + n-butyloolit), a temperatura w stadium tworzenia karboanionu wynosiła -20 + -10°C; t.wrz. 85°C/0,05 Torr; ir 1740($\nu_{C=O}$), 1380 i 1370 cm^{-1} ; pmr 1,06 (s, 6, gem. CH₃), 1,18 (s, 3, C-3CH₃), 1,19 (d, J = 6 Hz, 6, CO₂CH(CH₃)₂), 3,07 (s, 3, OCH₃), 4,88 (septet, J = 6 Hz, 1, CO₂CH(CH₃)₂);

Analiza dla C₁₄H₂₆O₃ (242,3)

Obliczono: 69,4% C; 10,8% H,

Otrzymano: 69,3% C; 10,9% H.

Chlorek kwasu dwumetylo-(3-metoksy-3-metylocyklopentylo)-octowego (46)

Ester izopropylowy (44) (3,1 g; 12,8 mmola) hydrolizowano

przez 20 godz. w warunkach zasadowych (30 ml etanolu, 5 g KOH, 5 ml H₂O) otrzymując po zwykłej przeróbce 1,5 g (60% wyd.) kwas 45. Rozpuszczony w benzenie (30 ml) kwas 45 (1,5 g; 7,5 mmola) potraktowano chlorkiem oksalilu (1 g; 8,5 mmola) i pozostawiono w temperaturze pokojowej na 12 godz. Po usunięciu rozpuszczalnika surowy produkt destylowano uzyskując 1,5 g (88% wyd.) chlorku kwasowego 46; t.wrz. 110°C/0,05 Torr; ir 1800 ($\nu_{C=O}$), 1385 i 1375 cm⁻¹; pmr 1,01 (s, 6, gem. CH₃), 1,20 (s, 3, C-3CH₃) 3,05 (s, 3, OCH₃);

Analiza dla C₁₁H₁₉O₂Cl (218,7)

Obliczono: 60,4% C; 8,7% H; 16,2% Cl

Otrzymano: 60,2% C; 8,7% H; 16,1% Cl.

Ester etylowy kwasu (1E,5Z)-2,7,7-trójmetylo-(3-metoksy-3-metylocyklopentylo)-heptadienokarboksylowego-1 (48)

Chlorek kwasowy 46 (1,5 g; 7,5 mmola) przekształcono w aldehyd 47 (ir 2730 (ν_{CHO}), 1730 ($\nu_{C=O}$) cm⁻¹; pmr 9,7 ppm) i natychmiast poddano reakcji Wittiga z solą fosfoniową 40 w dwumetyloformamidzie w obecności wodoru sodowego. Reakcję przeprowadzono i przerobiono wg procedury opisanej dla dienoestru 42. Chromatografia kolumnowa na żelu krzemionkowym (eluent - 4% octanu etylu w heksanie) dała 695 mg (33% wyd.) czystego stereoisomeru 1E,5Z - 48; UV_{max} (EtOH) 219,5 nm, ϵ 1,36 x 10⁴; ir 2825 (OCH₃), 1720 ($\nu_{C=O}$), 1640 ($\nu_{C=C}$), 1385 i 1370 cm⁻¹; pmr 1,07 (s, 6, gem. CH₃), 1,20 (s, 3, C-3CH₃), 1,25 (t, J = 7 Hz, 3, CO₂CH₂CH₃), 2,18 (poszerz. s, 3, C-2CH₃), 3,11 (s, 3, OCH₃), 4,14 (q, J = 7 Hz, 2, CO₂CH₂CH₃), 5,30 (m, 2, H-5 + H-6), 5,68 (poszerz. s, 1, H-1);

Analiza dla $C_{20}H_{34}O_3$ (322,5)

Obliczono: 74,5% C; 10,6% H

Otrzymano: 74,8% C; 10,9% H.

Alkohol 3-hydroksycyklopentyloetylowy

Związek ten otrzymano z wydajnością 82% jako mieszaninę diastereoizomerycznych alkoholi redukując ester etylowy kwasu 3-ketocyklopentylooctowego (8,5 g; 50 mmoli) wodorkiem litowoglinowym (1,52; 40 mmoli) w roztworze eterowym (200 ml). Po zwykłej przeróbce uzyskano surowy oleisty produkt, który przedestylowano pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując 5,33 g (41 mmoli) czystego diolu; t.wrz. 96-98°C/0,2 Torr; ir 3600-3100 (ν OH); pmr (CD_3COCD_3) 0,7-2,2 (m, 9), 2,4 (s, 1, OH), 3,55 (m, 2, CH_2OH), 4,25 (m, 1, CHOH);

Analiza dla $C_7H_{14}O_2$ (130,1)

Obliczono: 64,6% C; 10,8% H,

Otrzymano: 64,4% C; 10,7% H.

Czystość diastereoizomeryczną mieszaniny dioli sprawdzono przy pomocy glc (15% SE-30, 200°C) przeprowadziwszy je uprzednio w pochodne trójfluorooctanowe.

Utlenianie 3-hydroksycyklopentyloetanolu zmodyfikowaną metodą Collinsa

Do roztworu pirydyny (38 g; 480 mmoli) w 150 ml chlorku metylenu dodano 24 g (240 mmoli) CrO_3 i mieszano 0,5 godz. w temperaturze pokojowej. Następnie dodano roztwór diolu (5,2 g;

40 mmoli) w kilku ml. CH_2Cl_2 i mieszano dalsze 0,5 godz. Roztwór zdekantowano znad osadu i usunięto rozpuszczalnik oraz pirydynę pod zmniejszonym ciśnieniem w temp. $< 40^\circ\text{C}$. Pozostałość rozpuszczono w eterze i przesączono przez ciekłą warstwę Al_2O_3 dla usunięcia soli chromowych uzyskując 4 g mieszaniny dwóch produktów (wg tlc). Chromatograficzny rozdział na żelu krzemionkowym przy użyciu roztworu chloroform:benzen (1:1) dał 2,8 g 2-oksabicyklo[3.2.1]oktanon-3 oraz 0,9 g (20% wyd.) spodziewanego aldehydu 3-ketocyklopentylooctowego 32,

2-oksabicyklo 3,2,1 oktanon-3; t.wrz. $115^\circ\text{C}/0,1$ Torr.

ir 1735 ($\nu_{\text{C=O}}$); pmr 1,5-2,5 (m, 9), 4,77 (poszerz. s, 1, OCH);

Analiza dla $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{O}_2$ (128,2)

Obliczono: 66,6% C; 8,0% H,

Otrzymano: 66,3% C; 8,1% H.

Aldehyd 3-ketocyklopentylooctowy 32 opisano na str. 54.

7. LITERATURA

1. a/ V.J.A.Novák, Chem. Listy, 61, 340 (1967)
b/ K.Slama, Ann.Rev.Biochem. 40, 1079 (1971)
c/ F.Schnal, V.Skuhravý, M.Romanůk, Agrochémia 13, 179, (1973)
2. J.J.Menn, M.Beroza (editors): Insect Juvenile Hormones
Chemistry and Action, Academic Press, New York and London 1972
3. K.Slama, M.Romanuk, F.Sorm, Insect Hormones and Bioanalogues,
Springer - Verlag, Wien New York, 1974
4. S.S.Tobe, G.E.Pratt, Nature, 252 (1974)
5. B.Scharrer, Neuro-endocrine mechanisms in insects.
Proc. 2 nd Int.Symp.Neurosecretion Lund. Springer-Verlag,
Berlin: 79 (1958)
6. C.M.Williams, The Juvenile Hormones, L.T.Gilbert Ed.by,
Plenum Press, N.Y. 1976
7. T.P.Liu, K.G.Davey, Gen.Comp.Endocrin., 24, 405 (1974)
8. a/ K.J.Kramer, L.L.Sandburg, F.J.Kezdy, J.H.Law,
Proc.natn.Acad.Sci. USA 71, 493 (1974)
b/ M.Slade, C.H.Zibitt, - patrz poz.3
c/ G.Weirich, J.Wren, J.B.Siddall, Insect Biochem., 3,
397 (1973)
9. M.Lüscher, A.Springhetti, J.Insect Physiol., 5, 190 (1960)
10. B.Lanzrein, M.Hashimoto, V.Parmakovich, K.Nakanishi
and R.Wilhelm, M.Lüscher, Life Sciences, 16, 1271 (1975)
11. a/ E.J.Ariens Ed.by, Molecular Pharmacology,
Academic Press 1964 (Medicinal Chemistry Vol.3)
b/ E.J.Ariens Ed.by, Drug design, Academic Press 1971
(Medicinal Chemistry Vol.11)

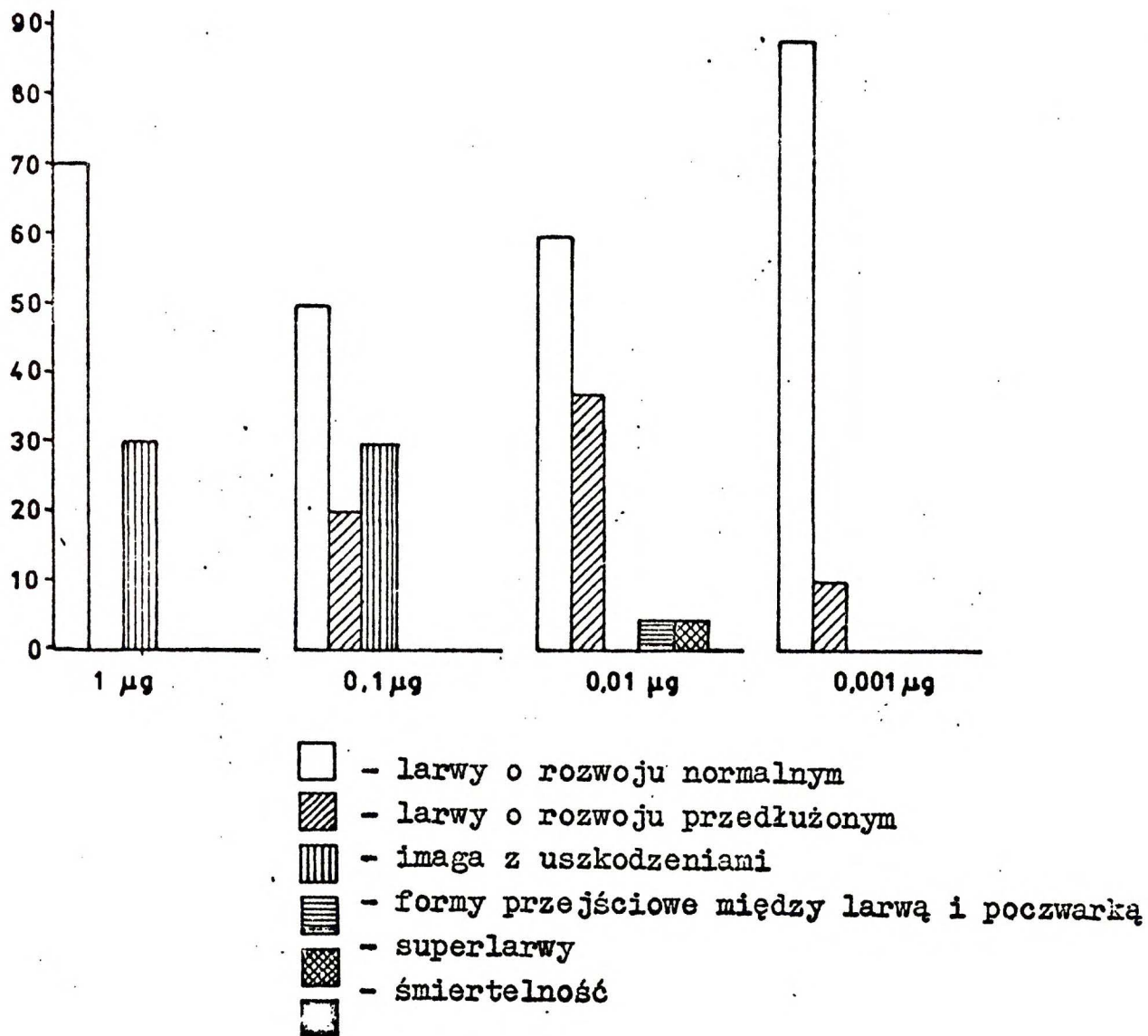
12. G.P.Nilles, M.J.Zabik, R.V.Connin, R.D.Schuetz,
J.Agr.Food Chem., 24, 699 (1976)
13. G.P.Nilles, M.J.Zabik, R.V.Connin, R.D.Schuetz,
J.Agr.Food Chem., 21, 342 (1973)
14. G.B.Staal, Ann.Rev. Entomol. 20, 417 (1975)
15. a/ W.S.Bowers, 394 - patrz poz. 6
b/ W.S.Bowers, T.Ohta, J.S.Cleeve, P.A.Marsella,
Science, 193, 542 (1976)
c/ W.S.Bowers, symposium on "The juvenile hormones",
Lake Geneva, Wisconsin, November 10-12, 1975
16. W.S.Bowers, 10 marca 1977, informacja prywatna
17. C.A.Henrick, W.E.Willy, G.B.Staal, J.Agr.Food Chem., 24 207
(1976)
18. C.A.Henrick, G.B.Staal, J.B.Siddall, patrz poz. 6
19. R.J.Anderson, C.A.Henrick, J.B.Siddall, R.Zurflueh,
J.Am.Chem.Soc., 94, 5379 (1972)
20. J.Meinwald, E.Frauenglass, J.Am.Chem.Soc., 82, 5238 (1960)
21. W.Willinson, Org.Syn.Coll.Vol.4, 476 (1963)
22. K.Alder, F.H.Flock, Chem.Ber., 89, 1732 (1956)
23. H.A.Staab, K.Wendel, Chem.Ber., 93, 2911 (1960)
24. H.A.Staab, A.Mannschreck, Chem.Ber., 95, 1284 (1962)
25. a/ H.A.Staab, M.Lüking, F.H.Dürr, Chem.Ber., 95, 1275 (1962)
b/ H.A.Staab, Liebigs Ann.Chem., 609, 75 (1957)
26. D.Haidukewych, A.I.Meyers, Tetrahedron Letters, 3031 (1972)
27. T.A.Foglia, L.M.Gregory, G.Maerkel, J.Org.Chem., 35, 4084 (1970)
28. R.Ratcliffe, R.Rodehorst, J.Org.Chem., 35, 4000 (1970)
29. J.L.Marshall, J.P.Brooks, G.W.Hatzenbuehler, J.Org.Chem., 34,
4193 (1969)

30. M.Kocór, W.Sobótka, R.Sterzycki, B.Styczyńska, *Roczniki Chemii*, 50, 1337 (1976)
31. P.Soucy, Tse-Lok Ho, P.Deslongchamps
Can.J.Chem., 50, 2047 (1972)
32. patrz poz. 31, 2051
33. E.C.Ashby, J.T.Laemmle, *Chem.Rev.*, 75, 521 (1975)
34. E.Muller, W.Rundel, *Angew.Chem.*, 70, 105 (1958)
35. E.J.Corey, M.Chaykovsky, *J.Am.Chem.Soc.*, 86, 1639 (1964);
L.Field, *Synthesis*, 2, 116 (1972)
36. E.J.Corey, M.Chaykovsky, *J.Am.Chem.Soc.*, 84, 866 (1962)
37. McMahon i wsp., *J.Am.Chem.Soc.*, 70, 2971 (1948)
38. J.Wolinsky, K.L.Erickson, *J.Org.Chem.*, 30, 2208 (1965)
39. I.Kowalew, B.Janowskaja, K.Kuczerow, *Izw.A.N. SSSR, Otd.Ch.N.*,
1877 (1962)
40. W.Wadsworth, W.Emmons, *J.Am.Chem.Soc.*, 83, 1733 (1961)
41. I.L.Ahmad, R.N.Gedye, A.Nechvatal, *J.Chem.Soc.C*, 185 (1968)
42. E.F.Wigerenko, E.A.Czernyszew, E.M.Popow, *Izw.A.N. Ser.Chim.*,
1391 (1950).
43. B.A.Arbusow, A.N.Pudowik, *Dokł. A.N. SSSR*, 59, 1433 (1948)
44. patrz poz. 42, str. 1395
45. J.B.Davis, L.M.Jackman, P.T.Siddons, B.C.L.Weedon,
J.Chem.Soc.(C), 2154 (1966)
46. U.S. Pat. 3163669 (Dec. 29, 1964)
U.S. Pat. 3177226 (Apr. 6, 1965)
47. R.L.Augustine, Ed.by, *Catalytic hydrogenation*, Academic
Press, 130
48. patrz poz. 39
49. S.Chládek, J.Smrt, *Chem.and.Ind.*, 1719 (1964)

50. C.A. 35, 7421 (1941)
51. Org.Synth., 31, 74 (1951)
52. R.Tschesche, J.Reden, Liebigs Ann. Chem., 853 (1974)
53. patrz poz. 52, 855
54. S.Trippett, D.M.Walker, Chem.Ind. (London), 990 (1961)
55. L.D.Bergelson, W.A.Wawer, A.A.Bezzubow, M.M.Szemiakin,
Żurn.Obszcz.Chim., 32, 1807 (1962)
56. R.J.Anderson, C.A.Henrick, J.Am.Chem.Soc., 97, 4327 (1975)
57. J.Daroszewski, informacja prywatna
58. Roman Sterzycki 1976, praca doktorska
59. L.D.Bergelson, W.A.Wawer, L.I.Borsukow, M.M.Szemiakin,
Izw.A.N. SSSR, Ser.Chim., 1135 (1963)
60. P.L.Creger, J.Org.Chem., 37, 1907 (1972);
J.Am.Chem.Soc., 89, 2500 (1967)



S U P L E M E N T



Wpływ związku 26 na metamorfozę larw VII stadium *Galleria mellonella*.



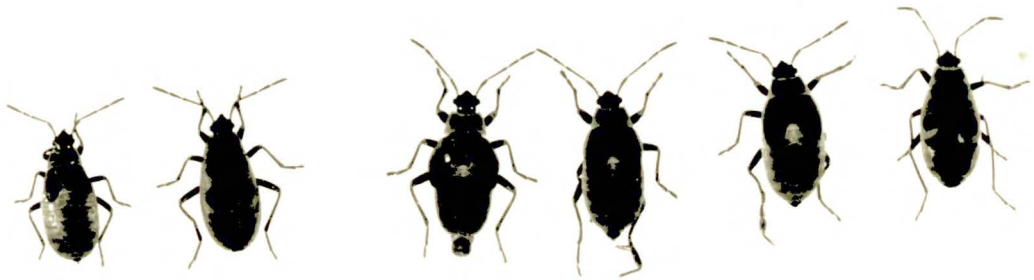
Ryc. 1. *Galleria mellonella*. A - normalna larwa VII stadium,
B - superlarwa (efekt morfologiczny 5 wg skali Jarolima
i wsp., 1969) dodatkowe, VIII stadium larwalne powstałe
w wyniku działania związku 39b



Ryc. 2. *Galleria mellonella*. Imago z uszkodzonymi skrzydłami -
- efekt działania związku 39b



Ryc. 3. *Galleria mellonella*. Formy przejściowe z efektem 2
(wg skali Jarolima et al., 1969) powstałe w wyniku
działania 26.



Ryc. 4. *Pyrrhocoris apterus*. Od lewej: larwa normalna, imago normalne, formy zniekształcone powstałe po podaniu JHA.

Podziękowania

- Dr Bogumile Styczyńskiej
i mgr Grzegorzowi Rąkowskiemu
za wykonanie badań biologicznych
otrzymanych przeze mnie związków
i udostępnienie wyników
- doc. Bronisławowi Cymborowskiemu
za zainteresowanie^{się} tematem
- mgr Januszowi Daroszewskiemu
za współpracę przy syntezie związku 22
- dr Bohdanowi Korybut-Daszkiewiczowi
za udostępnienie szkła laboratoryjnego
oraz mojej Siostrze,
Staszkowi Kasprzykowi
i wszystkim życzliwym,
którzy ułatwili wykonanie tej pracy.

Biblioteka Instytutu Chemii Organicznej PAN

O-B.113/77



80000000109723