



**Departamentul de Chimie organica
Universitatea Babeș-Bolyai
Cluj-Napoca, 400028
ROMANIA**

Criptanzi, Dispozitive Moleculare si Derivati Bioactivi ai Carbohidratilor: Design, Sinteza si Analiza Structurala

**Monica Violeta Cîrcu
-Rezumat al tezei de doctorat-**

**Conducator Stiintific:
Prof. Dr. ION GROSU**

**Cluj-Napoca
Septembrie 2011**

Cuvinte Cheie: Criptanzi

Molecule Cusca

Dispozitive Moleculare

Building Block 1,3-dioxanic

Structuri Anancomerice

Podanzi

Derivati Bioactivi ai Carbohidratilor

Conformerii Anancomerici

Juriu:

Conducator Stiintific	Prof. Dr. Ion GROSU	Universitatea Babes-Bolyai, Cluj-Napoca, Romania
Presedinte	Conf. Dr. Majdik Cornelia	Universitatea Babes-Bolyai, Cluj-Napoca, Romania
Referent	Assoc. Prof. Thanasis Gimisis	Universitatea din Atena, Atena, Grecia
Referent	D. R. Dr. Mihai Barboiu	Universitatea din Montpellier, France
Referent	Prof. Dr. Cristian SILVESTRU	Universitatea Babes-Bolyai, Cluj-Napoca, Romania
Referent	Conf. Dr. Ileana Farcasanu	Universitatea Bucuresti, Bucuresti, Romania

Cluj-Napoca
Septembrie 2011

CONTINUT

INTRODUCERE.....	1
PARTEA 1. MOLECULE CUSCA	3
1.1. Remarci Generale.....	4
1.2. Metodologii de Sinteza pentru Reactiile de Macro ciclizare.....	7
1.3. Remarci Generale Privind Cuplarile Acetilenice catalizate de Cu.....	9
1.4. Remarci Generale Privind reactiile "click".....	10
1.5. Rezultate si Discutii.....	12
1.6. Concluzii.....	44
1.7. Partea Experimentală.....	45
1.7.1. Indicatii Generale.....	45
1.7.2. Sinteza Compusilor.....	46
PARTEA 2. DISPOZITIVE MOLECULARE.....	69
2.1. Remarci Generale.....	70
2.2. Rezultate si Discutii.....	75
2.3. Concluzii.....	82
2.4. Partea Experimentală.....	83
2.4.1. Indicatii Generale.....	83
2.4.2. Sinteza Compusilor.....	84
PARTEA 3. DERIVATI BIOACTIVI AI CARBIHIDRATILOR.....	90
3.1. Remarci Generale.....	91
3.2. Rezultate si Discutii.....	93
3.3. Concluzii.....	110
3.4. Partea Experimentală.....	111
3.4.1. Indicatii Generale.....	111
3.4.2. Sinteza Compusilor.....	112

PARTEA 1. MOLECULE CUSCA

1.5. REZULTATE SI DISCUTII

Scopul tezei de doctorat o reprezinta sinteza de compusi macrociclici cu simetrie C_3 . Pentru obtinerea acestor macrocicli a fost necesara o unitate simetrica trisubstituita, strategia noastra de sinteza fiind ilustrata in **Figura 2**. Building block-ul consta dintr-o unitate aromatic 1,3,5-trisubstituita ce contine unitati 1,3-dioxanice cu conformatie nonplanara ce favorizeaza interactiile π - π stacking cu diferiti oaspeti molecular. Inelele 1,3-dioxanice sunt “outside” (orientate in aceeasi directie) si permit o preorganizare. Functionalizarea precursorilor este posibila la C_2 al inelului dioxanic.

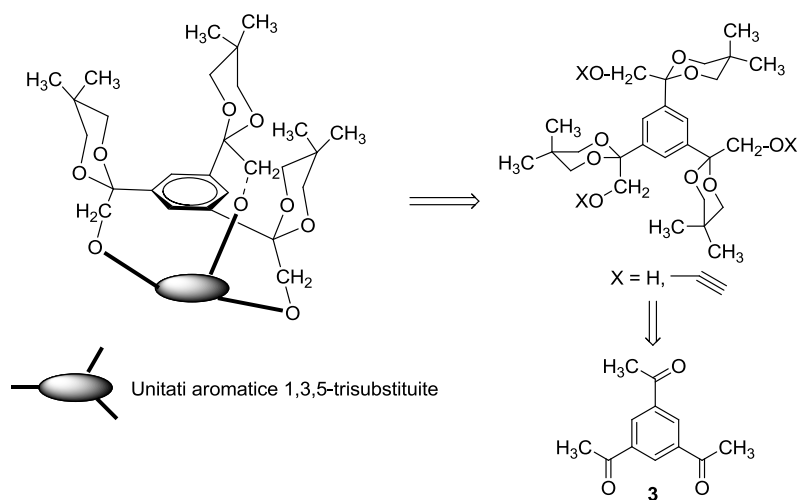
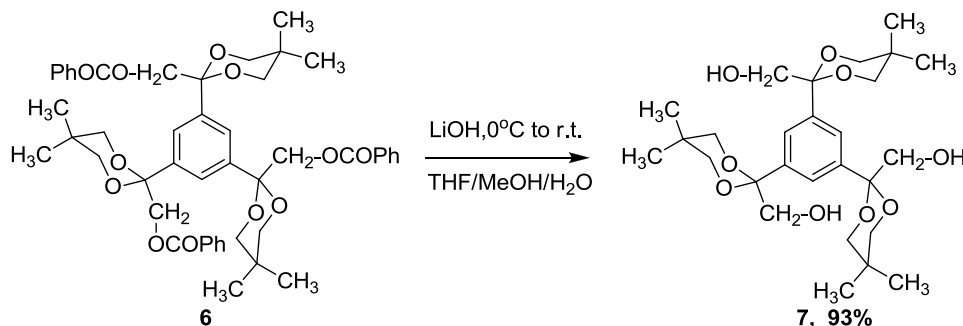


Figura 2. Schema retrosintetica pentru obtinerea noilor molecule cusca.

Intermediarul cheie **7** a fost obținut după o procedură publicată recent,¹ prin deprotejarea compusului **6** cu hidroxid de litiu într-un amestec de THF/MeOH/H₂O la 0 °C (**Schema 10**).



Structura compusului **7** a fost investigată cu ajutorul studiilor RMN, MS și RAZE X și prezintă structura anancomerică. Spectrul RMN prezintă semnale diferite pentru protonii axiali și equatoriali ai ciclului 1,3-dioxanic și de asemenea pentru protonii și atomii de carbon ai substituentului din poziția 5. Spectrul ¹H NMR (**Figura 5**) prezintă un sistem AB caracteristic protonilor ciclului 1,3-dioxanic ($\delta_{4,6_{ax}} = 3.40$ ppm ; $\delta_{4,6_{eq}} = 3.48$ ppm), un singlet pentru protonii grupării CH₂ din pozițiile 2', 2'' și 2''' ($\delta = 3.56$ ppm) și un singlet pentru protonii aromatici ($\delta = 7.49$ ppm). Ambele grupări metil din poziția 5' (5'' și 5''') prezintă un singlet pentru protonii axiali ($\delta_{CH_3ax} = 1.29$ ppm) și un singlet pentru protonii equatoriali ($\delta_{CH_3eq} = 0.62$ ppm).

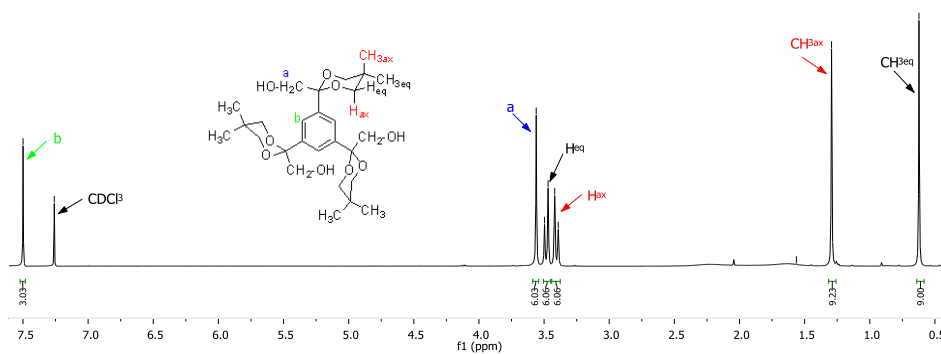


Figura 5. Spectrul ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) al compusului **7**

¹ Florian, M.C.; Cîrcu, M.; Toupet, L.; Terec, A.; Grosu, I.; Ramondenc, Y.; Dinca, N.; Ple, G., *Cent. Eur. J. Chem.*, **2006**, *4* (4), 808-821.

Structura moleculară (**Figura 7**) a triolului **7**² dezvăluie un conformer în care gruparea aromatică este axială pentru toate inelele 1,3-dioxanice. Orientarea axială a unității aromatice nu este surprinzătoare, în multe dintre lucrările precedente s-a arătat că în cazul compusilor 2-metil-2-aryl-1,3-dioxanici (sau compuși heteroatomici asemănători) gruparea metilă preferă poziția ecuatorială. Două dintre unitățile 1,3-dioxanice sunt orientate de aceeași parte a planului inelului aromatic, în timp ce a treia unitate este dispusă în direcția opusă. Atomii de hidrogen aromatici prezintă contacte intramoleculare cu atomii de oxigen ai unității 1,3-dioxanice [$d_{C(ar)-H...O} = 2.488 - 2.564$]. Grupările metil axiale din poziția 5 adoptă o conformație "H inside" iar atomii de H formează contacte bifurcate cu atomii de oxigen din heterociclu [$d_{C(sp^3)-H...O} = 2.557 - 2.688$]. Alte contacte intramoleculare $C(sp^3)-H...O$ au putut fi observate între atomii de H ai grupărilor CH_2 și atomii de oxigen ai heterociclului [$d_{C(sp^3)-H...O} = 2.405 - 2.526$].

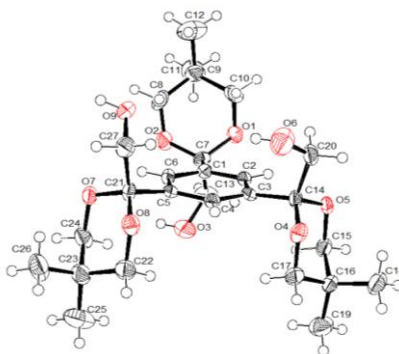


Figura 7. Diagrama ORTEP a compusului **7**

În rețea (văzută de-a lungul axei *a*) podandul formează straturi (**Figura 8**). Inelele aromatice pot fi considerate toate paralele (unghiurile dintre planele lor sunt de 0° sau 4.58°) și o alternanță (aranjament cap la coadă) a moleculelor cu unități 1,3-dioxanice orientate într-o parte și cele cu unități 1,3-dioxanice orientate în direcția opusă au putut fi observate (**Figura 8**). Contacte hidrofobice intermoleculare au fost observate între atomii de H ai grupărilor metil din poziția 5 ($d_{H...H} = 2.326$ și 2.392 Å), și între atomii de H ai grupărilor metilă ecuatorială și atomii de H axiali din poziția 4 ai heterociclului ($d_{H...H} = 2.387$ Å).

² Cîrcu, M.; Pascanu, V.; Soran, A.; Braun, B.; Terec, A.; Socaci, C.; Grosu, I., *CrystEngComm.*, submitted.

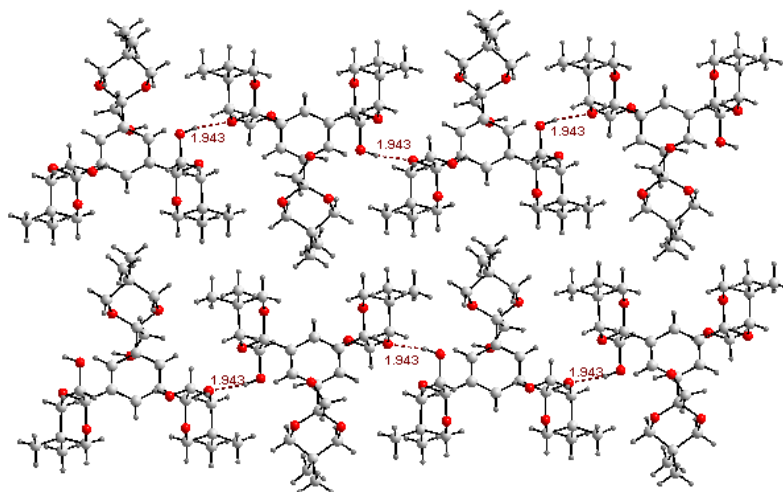
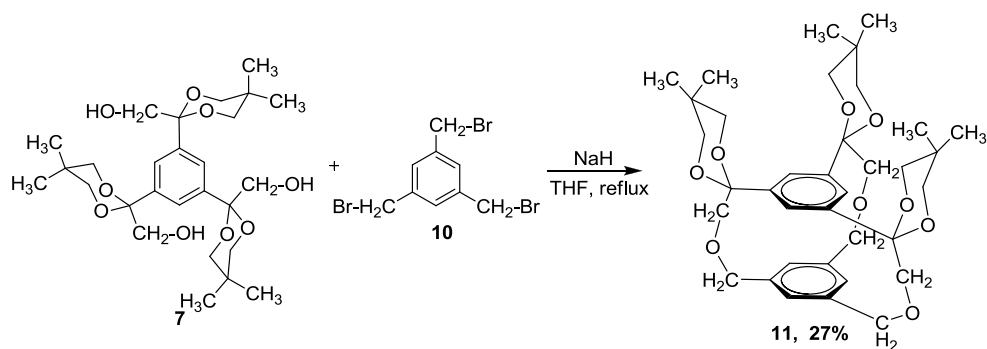


Figura 8. Reprezentare Diamond a rețelei evidențiind orientarea cap-la-coada a moleculelor

Având doi dintre compuşii cheie (**7** and **10**) am purces la sintetizarea moleculei cusca **11** după **Schema 12**. Reacția de macrociclizare a fost efectuată în THF anhidru în prezența de hidru de sodiu ca și bază, utilizând tehnica de ultra-dilutie. Randamentul reacției poate fi considerat multumitor comparativ cu literatura pe acest tip de reacții. Noua cusca moleculară a fost investigată cu ajutorul studiilor RMN, MS și Raze X.



Schema 12

În regiunea alifatică a spectrului RMN de proton (**Figura 10**) al acestui compus se observă două semnale singlet diferite care corespund protonilor grupurilor metil din poziția 5 a inelului 1,3-dioxanic, axial și equatorial. De asemenea se observă sistemul AB specific protonilor din poziția 4 și 6 a inelului 1,3-dioxanic (3.19 ppm pentru H_{4ax} și H_{6ax} , 3.36 ppm pentru H_{4eq} și H_{6eq} respectiv). Alte două semnale

singlet apar la 3.81 ppm si 4.24 ppm fiecare corespunzand protonilor din gruparile metilenice care conecteaza ciclurile aromatice. In zona aromatica observam doua singlete diferite care corespund protonilor din cele doua unitati benzenice ale moleculei.

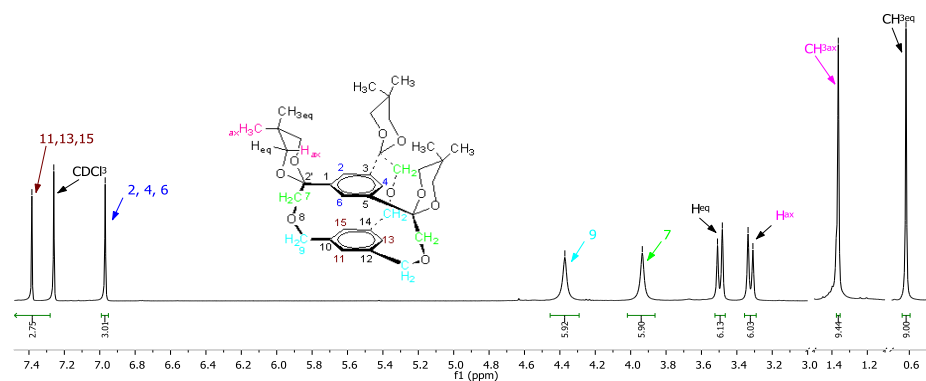


Figura 10. Spectrul ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) al compusului **11**

Structura moleculara (**Figura 13**) a compusului **11** prezinta o molecula in care gruparea aromatica este axiala pentru toate inelele 1,3-dioxanice. Deasemenea se observa ca toate unitatile 1,3-dioxanice sunt orientate in aceeasi parte raportat la planul inelului aromatic.

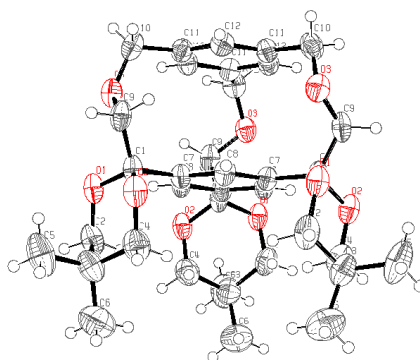


Figura 13. Diagrama ORTEP a compusului **11**

In retea (vazuta de-a lungul axei a **Figura 14**) molecula formeaza straturi. O alternare (aranjament coada-la-coada) a moleculelor poate fi observata in retea, intr-o molecula unitatile 1,3-dioxanice sunt orientate intr-o directie, in timp ce in molecula urmatoare sunt orientate in directia opusa. Totodata, in retea se pot observa molecule de cloroform care formeaza stacking-uri cu unitatile aromatice care nu contin unitati 1,3-dioxanice.

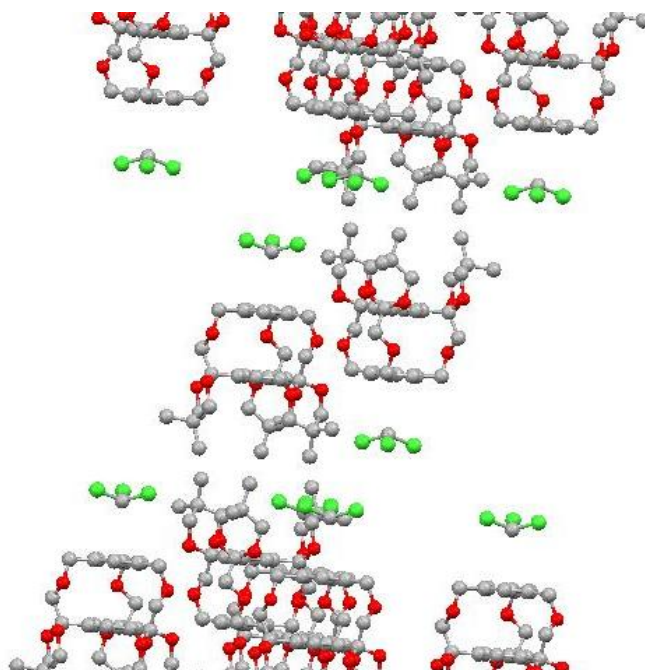
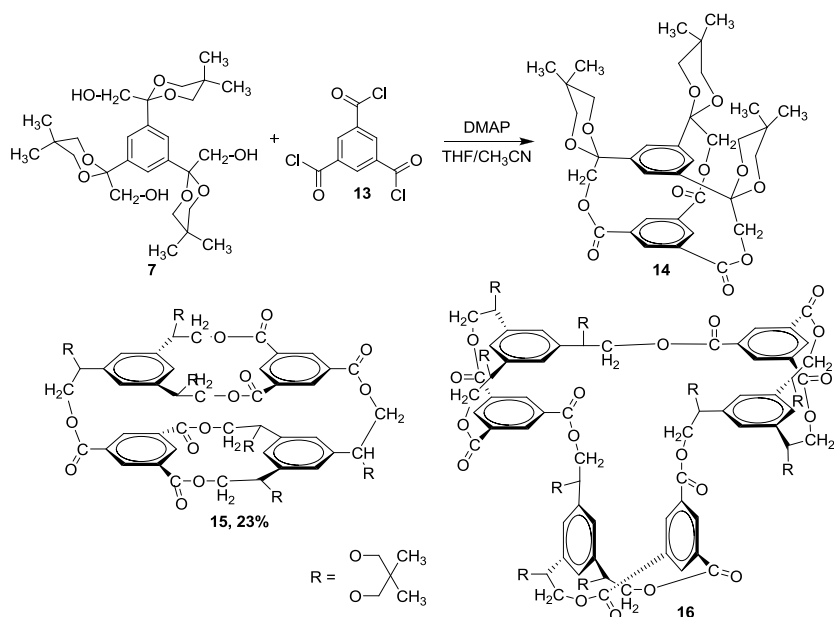


Figura 14. Reprezentare Mercury a rețelei aratând orientarea coada-la-coada a moleculelor

O alta molecula cusca obtinuta este prezentata in **Schema 14**. Reactia de macrociclizare a fost realizata folosind o metoda clasica de obtinere a esterilor macrociclici descrisa in literatura.^{3,4} Brutul acestei reactii a continut un amestec de monomer (**14**), dimer (**15**) si trimer (**16**). Produsul major al acestei reactii este dimerul **15**, care a putut fi izolat si caracterizat cu ajutorul spectrelor RMN si MS. Deoarece monomerul si trimerul se aflau in cantitati foarte mici, nu a fost posibila izolarea si analiza acestora, insa au putut fi evidentiata cu ajutorul HPLC-MS.

³ Cao, J.; Fyfe, M.C., T.; Stoddart, J.F.; Cousins, G.R., L.; Glink, P.T., *J. Org. Chem.*, **2000**, *65*, 1937.

⁴ Godbert, N.; Batsanov, A.S.; Bryce, M.R.; Howard, J.A.K., *J. Org. Chem.*, **2001**, *66*, 713.



Schema 14

In spectrul RMN de proton al compusului **15** (Figura 16) se observa cele doua semnale singlet corespunzatoare protonilor axiali si equatoriali ai gruparilor metil din pozitia 5 a inelelor 1,3-dioxanice, si de asemenea alte doua semnale singlet de o intensitate mai joasa. Prin urmare am concluzionat ca patru din cele sase inele 1,3-dioxanice ale moleculei sunt orientate "outside" fata de cavitatea moleculei, in timp ce restul de doua inele sunt orientate "inside" fata de cavitatea moleculei. Teoria noastra este confirmata de semnalele corespunzatoare protonilor din pozitiile 4 si 6 ale inelelor 1,3-dioxanice. Avem aici un set de sisteme AB in loc de un singur sistem AB specific acestor compusi. In zona aromatica deasemenea putem observa aceeasi distributie a semnalelor, toate acestea demonstrand ca intradevar patru din cele sase inele dioxanice sunt orientate in aceeași directie, in timp ce restul de doua inele sunt orientate in directia opusa.

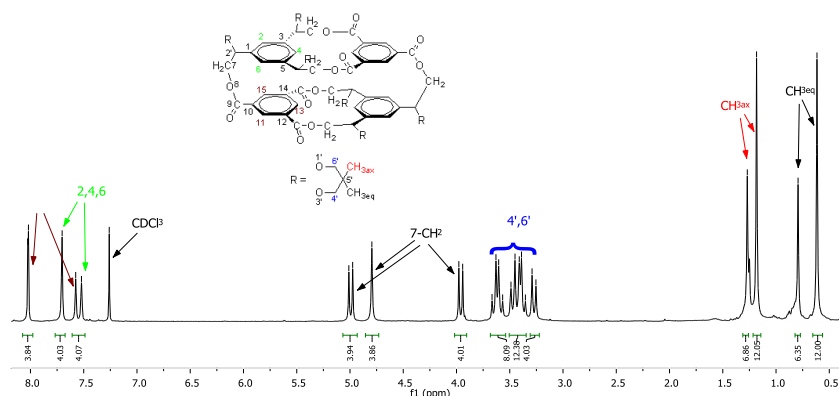
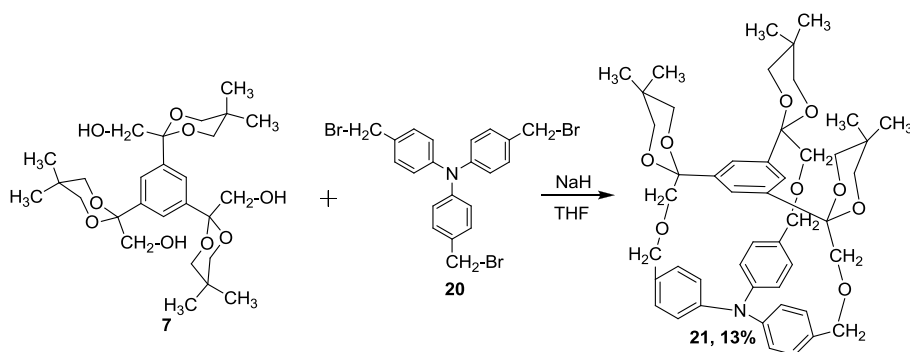


Figura 16. Spectrul ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) al compusului **15**

Reacția dintre derivatul tribromurat **20** și compusul trisdioxanic **7** a fost realizată folosind tehnica ultra-dilutiei, utilizând THF ca și solvent și NaH ca și bază (**Schema 16**). Produsul major al acestei reacții a fost cusca moleculară **21**, care a fost izolată și caracterizată cu ajutorul spectrelor RMN și MS.



Schema 16

Purificarea acestei noi custi moleculare s-a dovedit a fi foarte dificilă, necesitând coloane cromatografice succesive, compusul curat fiind obținut după separarea HPLC. Cu toate acestea, după purificare, spectrul ^1H NMR al moleculei prezintă numărul de rezonanțe așteptate. În zona alifatică se observă două semnale singlet corespunzătoare protonilor equatorial și axial din grupările metil (0.62 ppm pentru $\text{CH}_{3\text{eq}}$, 1.29 ppm pentru $\text{CH}_{3\text{ax}}$ respectiv). Un singlet se observă pentru protonii CH_2 din pozițiile 9 (3.39 ppm), doi dubleti pentru protonii axiali și equatoriali din pozițiile 4 și 6 ai inelelor 1,3-dioxanice (3.44 ppm pentru protonii axiali, 3.53 ppm pentru protonii equatoriali), un singlet pentru protonii CH_2 din poziția 7 (3.82 ppm). În zona aromatică avem, așa cum ne-am așteptat, trei semnale: un dublet la 7.35

ppm pentru protonii din pozitiile 12 si 14, un singlet la 7.50 ppm corespunzator protonilor din pozitiile 1,3 si 5 si un dublet la 7.79 ppm corespunzator protonilor din pozitiile 11 si 15 (**Figura 23**).

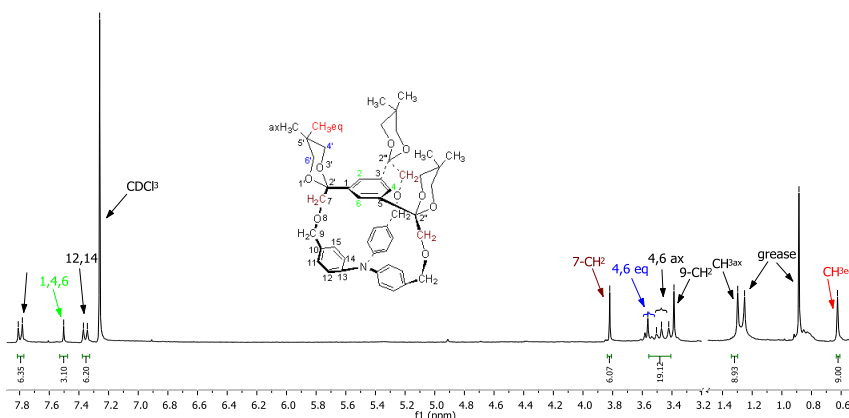
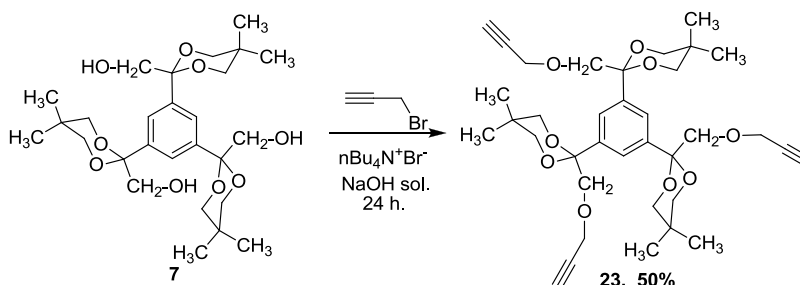


Figura 23. Spectrul ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) al compusului **21**

Compusul **7** a fost implicat într-o reacție cu transfer de fază cu bromura de propargil, după o procedură adaptată din literatură,^{5,6} în scopul obținerii unui nou compus (**23**), cu un randament foarte bun (**Schema 18**).



Schema 18

Structura compusului **23** a fost confirmată de studiile RMN și MS. Structura moleculară (**Figura 26**) prezintă aspecte similare cu cele observate pentru triolul **7**. Inelul aromatic este axial pentru toate inelele 1,3-dioxanice iar două heterocicluri sunt orientate într-o parte a unității aromatice centrale, în timp ce al treilea inel este orientat în direcția opusă. Atomii de H aromatici prezintă contacte intramoleculare

⁵ Bogdan, N.D.; Matache, M.; Meier, V.M.; Dobrota, C.; Dumitru, I.; Roiban, G.D.; Funeriu, D.P., *Chem. Eur. J.*, **2010**, *16*, 2170.

⁶ Wu, H.J.; Yen, C.H.; Chuang, C.T., *J. Org. Chem.*, **1998**, *63*, 5064-5070.

cu atomii de oxigen ai heterociclului ($d_{O...H} = 2.488 - 2.564 \text{ \AA}$). Alte contacte CH--O cu atomii de oxigen ai 1,3-dioxanilor au fost observate pentru atomii de hidrogen ai unitatilor CH₂-O ($d_{O...H} = 2.342 - 2.564 \text{ \AA}$).

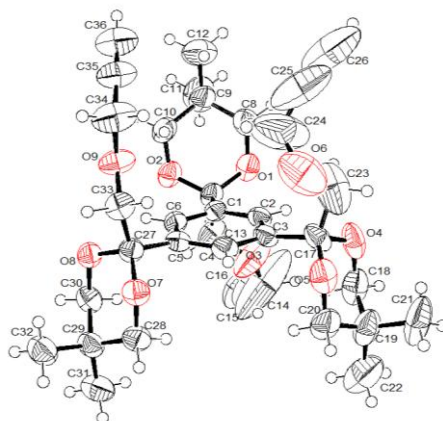


Figura 26. Diagrama ORTEP a compusului **23**

Atomii de hidrogen terminali ai gruparilor propargil joaca un rol important in formarea rețelei. Pentru fiecare doua molecule, doua grupari propargil formeaza legaturi de hidrogen cu atomii de oxigen apartinand unitatilor heterociclice ($d = 2.553 \text{ \AA}$) sau cu gruparile $-\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$ ($d = 2.656 \text{ \AA}$), in timp ce a treia grupa propargil este impinsa catre inelul aromatic si prezinta contacte C(sp)-H--- π (distanța dintre atomul de H și centroidul inelului aromatic este $d = 3.407 \text{ \AA}$) (**Figura 27**).

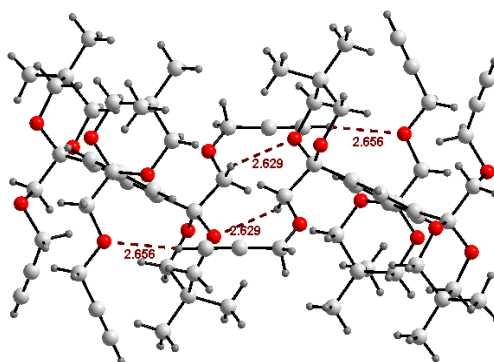
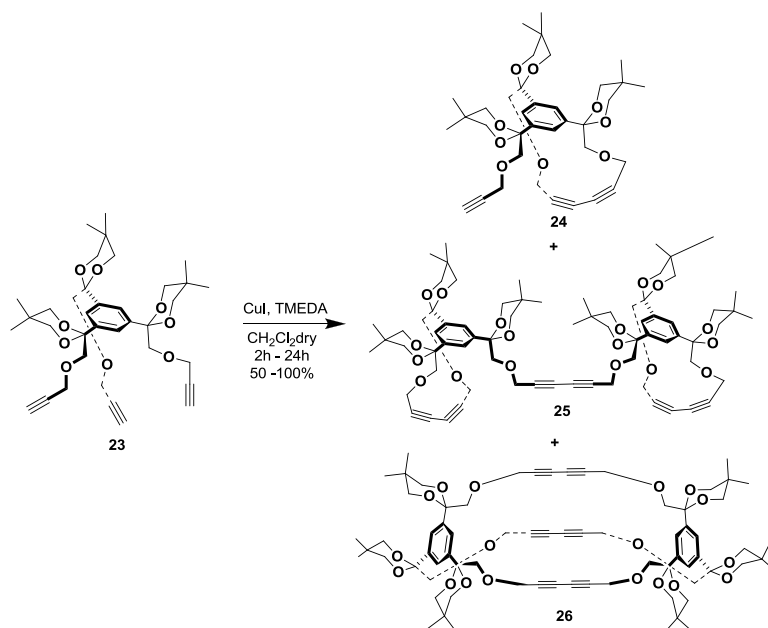


Figura 27. Reprezentarea Diamond a rețelei aratand diferitele contacte intermoleculare

Reacții de cuplare acetenică au fost efectuate pe derivatul nostru cu grupări acetilenice terminale (**23**). Reacția a avut loc respectând condițiile Hay's,⁷ în diclorometan, folosind CuI și tetrametiletilenediamina (TMEDA) ca și catalizator. Brutul de reacție conține un amestec de trei compusi homocuplați (**Schema 19**). Cei trei compusi au fost obținuți în raport de 2:1:1 cu randament de 50%, 25% și 25%, și au putut fi separați pe coloana cromatografică folosind acetat de etil:pentan = 1:2 ca și eluent.



Schema 19

Spectrele RMN ale celor trei compusi izolați arată diferit datorită nonechivalenței magnetice a protonilor care aparțin celor două tipuri de brațe. Structura moleculară (**Figura 31**) a compusului **24**, dezvăluie molecula propusă de noi, în care două brațe sunt legate intramolecular iar al treilea este liber.

⁷ Hamilton, D.G.; Prodi, L.; Feeder, N.; Sanders, J.K.M., *J. Chem. Soc., Perkin Trans 1*, **1999**, 1057-1065.

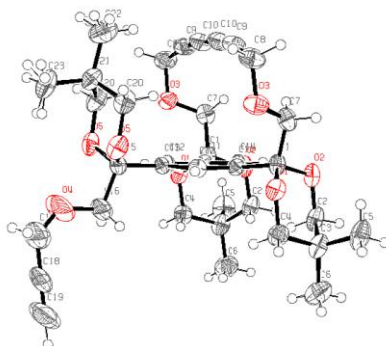


Figura 31. Diagrama ORTEP a compusului **24**

Spectrul ^1H RMN (**Figura 32**) al bis-macrocicului **25** prezinta doua seturi de semnale pentru protonii corespunzatori celor doua tipuri de brate, in raport de 2/1. Observam semnale singlet pentru protonii din gruparile $\text{CH}_{3\text{eq}}$ si $\text{CH}_{3\text{ax}}$. Protonii din pozitiile 4 si 6 ale inelelor 1,3-dioxanice apar sub forma unui semnal largit la 3.46 ppm.

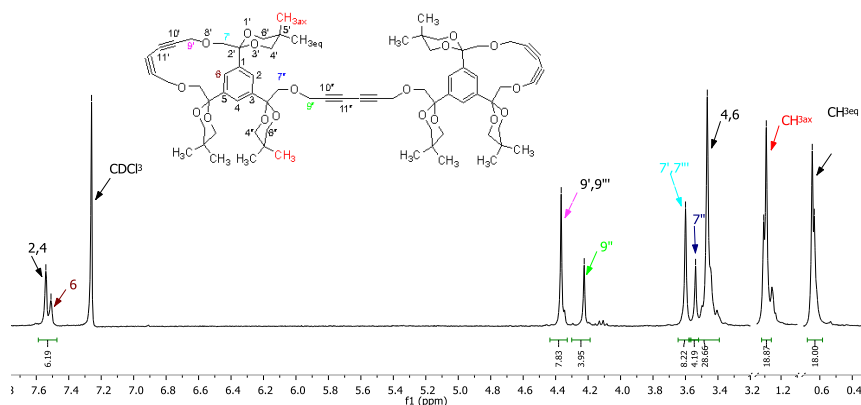


Figura 32. Spectrul ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) al compusului **25**

Spectrul ^{13}C RMN (**Figura 34**) confirma structura propusa, prezentand unsprezece tipuri de semnale corespunzatoare celor unsprezece tipuri de atomi de carbon din molecula, in concordanta cu o structura simetrica.

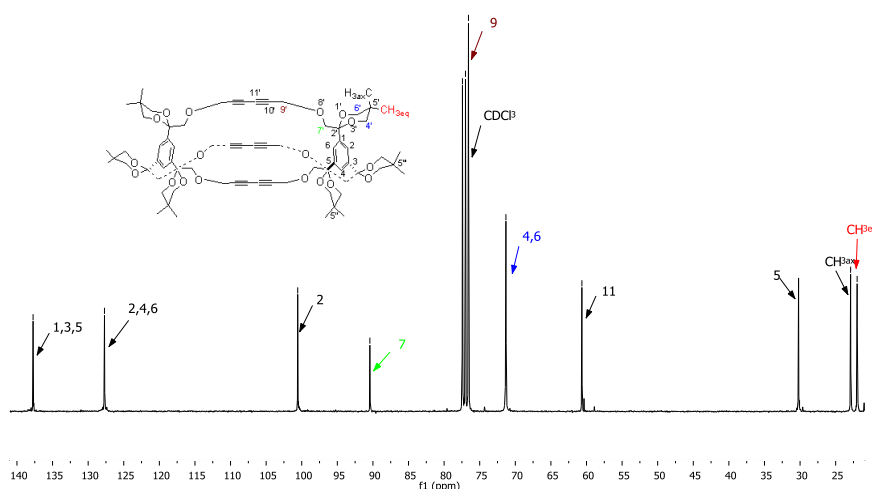
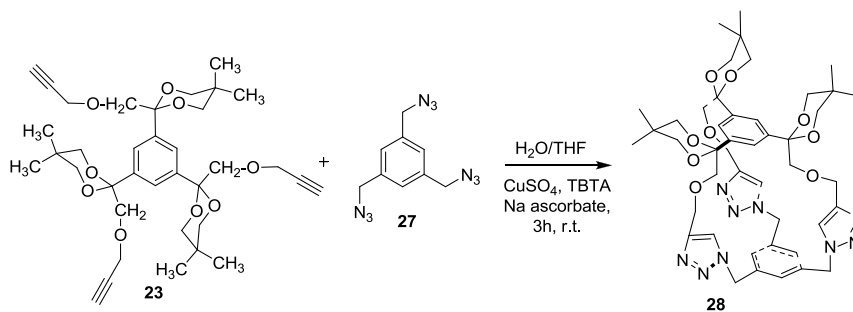


Figura 34. Spectrul ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) al compusului **26**

Un subiect de mare actualitate in domeniul chimiei supramoleculare il reprezinta reactiile “click”. Am purces asadar la efectuarea unei reactii de tip “click” intre compusul **23** si triazida **27** (Schema 21), adaptand o metoda descrisa in literatură.⁸ Reactia are loc folosind ca si solvent un amestec de THF/ H_2O , CuSO_4 si forma solubila a catalizatorului TBTA.⁹



Schema 21

Macrociclul **28** a fost analizat cu ajutorul spectroscopiei RMN si a spectrometriei de masa si intradevar structura acestuia a fost confirmata. In spectrul RMN de proton a fost indentificat numarul de rezonante asteptat. De asemenea in spectrul RMN de carbon regasim numarul de semnale asteptate (Figura 37).

⁸ Karsten, S.; Ameen, M.A.; Kallane, S.I.; Nan, A.; Turcu, R.; Liebscher, J., *Synthesis*, **2010**, *17*, 3021-3028.

⁹ Maisoniai, A.; Serafin, P.; Traikia, M.; Debiton, E.; They, V.; Aitken, D.J.; Lemoine, P.; Viossat, B.; Gautier, A., *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2008**, 298-305.

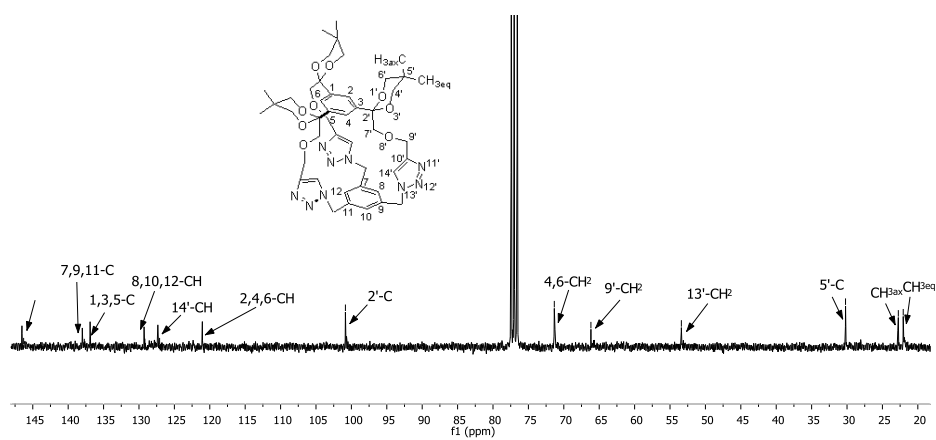


Figura 37. Spectrul ^{13}C RMN (CDCl₃, 75 MHz) al compusului **28**

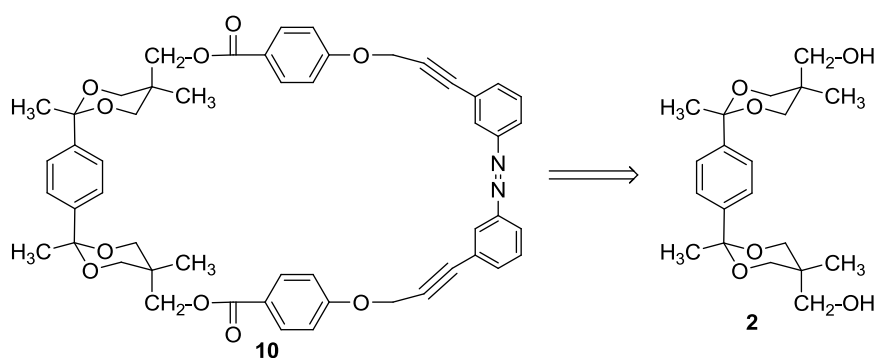
1.6. CONCLUZII

- ◇ Pornind de la 4,4-dimetoxi-2-butanona disponibilă comercial, un nou compus aromatic trisubstituit cu simetrie C_3 (**7**) a fost sintetizat.
- ◇ Derivatizarea compusului trishidroxidic **7** în urma reacției cu bromura de propargil, adaptând o procedură raportată în literatură, a dus la obținerea unui nou tripodant cu legături triple terminale (**23**). Compusul **23** a fost descris pentru prima oară în această teză.
- ◇ Diferite tehnici de macrociclizare au fost utilizate pentru sinteza a cinci noi molecule cusca (**11**, **14**, **15**, **16** și **21**) care au fost caracterizate cu ajutorul spectroscopiei RMN monodimensionale și bidimensionale, a spectrometriei de masă și a difracției de raze X.
- ◇ Reacțiile de cuplare oxidativă, efectuate respectând condițiile Hay's, au permis obținerea a trei noi compusi macrociclici (**24**, **25** și **26**) care au fost caracterizați în totalitate.
- ◇ Un nou macrociclu (**28**) a fost obținut în urma unei reacții "click", și a fost caracterizat cu ajutorul spectroscopiei RMN și a spectrometriei de masă.

PARTEA 2. MASINI MOLECULARE

2.2. REZULTATE SI DISCUTII

Compusul tinta al acestui proiect este compusul **10** prezentat in schema retrosintetica **Schema 1**.



Schema 1

Introducerea unei unitati care poate fi modificata conformational reprezinta un element de mare actualitate. In acest fel miscarea cauzata de o pedala va fi transmisa, printr-o punte, la aceasta unitate. In functie de miscarea transmisa, unitatea va prefera conformatia cu o deschidere mai mare sau mai mica. Unitatea pe care o propunem are un rest 1,4-bis(1,3-dioxan-2-il)benzenic si este conectata prin pozitiile 5' si 5'' ale nucleului 1,3-dioxanic (**Figura 5**).

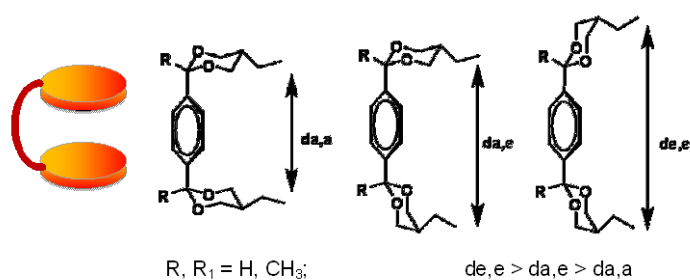


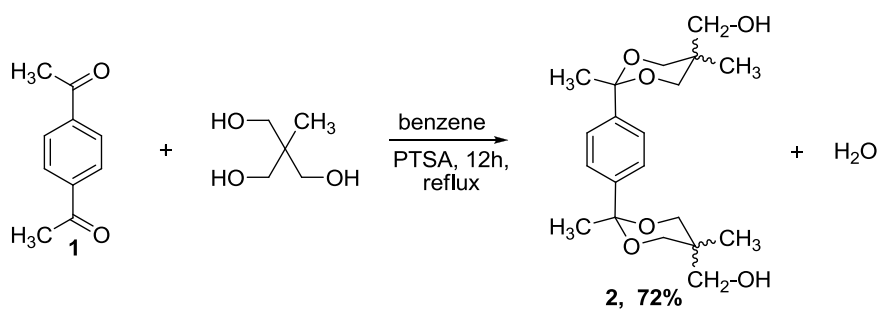
Figura 5

Distanta dintre marginile inelului dioxanic este mica daca inelul benzenic central se afla axial fata de unitatile dioxanice (conformerul axial-axial), mai mare daca unul dintre cicluri este inversat si unitatea aromatic are o orientare axial-equatoriala, si

mai mare daca ambele inele dioxanice sunt inversate si partea aromatica este orientata equatorial fata de ambele inele 1,3-dioxanice. Diferenta de energie dintre acesti conformeri este relativ mica si inversia inelelor 1,3-dioxanice poate fi indusa prin manevrarea pedalei (inchidere/deschidere). Pe de alta parte acesti conformeri diferiti sunt usor de identificat in RMN si permit o monitorizare eficienta si facila a dispozitivului molecular.

Sinteza amestecului diastereomic a 1,4-(2,5,5-trimetil-5,5-dihidroximetil-1,3-dioxan-2-il)benzene-ului **2** (**Schema 2**), a fost realizata dupa o procedura descrisa anterior.^{10,11} In concordant cu datele de literatură isomerul *trans-trans* al compusului **2** a fost componentul major (60%) a amestecului de mai sus, analogii *cis-trans* si *cis-cis* fiind obtinuti in cantitati mai mici (**Figura 6**).

Oricum, separarea compusului **2** nu a putut fi realizata nici prin recristalizare nici pe coloana cromatografica, deoarece solubilitatea acestor dioli in solventi uzuali este scazuta. Mai mult, spectrele amestecului de compusi **2** (c-c), **2** (c-t) si **2** (t-t) au prezentat multe semnale non-separabile.



Schema 2

¹⁰ Grosu, I.; Muntean, L.; Toupet, L.; Ple, G.; Pop, M.; Balog, M.; Mager, S.; Bogdan, E., *Monatsh. Chem.*, **2002**, *133*, 631.

¹¹ Balog, M.; Ph.D. Thesis, Babes-Bolyai University and Universite de Rouen, Cluj-Napoca, **2004**.

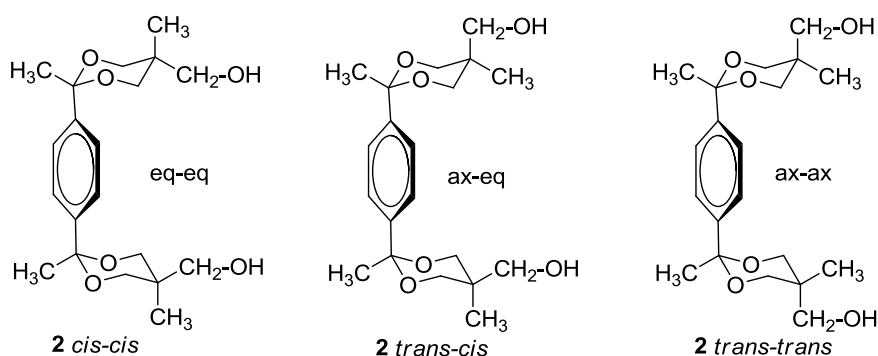
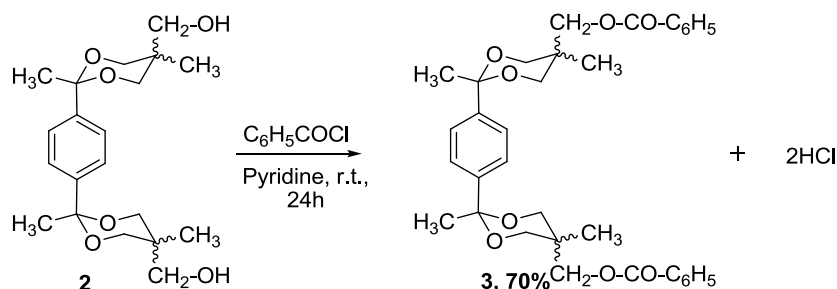


Figura 6. Reprezentarea stereoisomerilor compusului **2**

Pentru a evita aceste probleme, amestecul de stereoisomeri ai diolului **2** a fost transformat în amestecul corespunzător de diesteri prin benzoilare cu clorura de benzoil (**Schema 3**).¹² Semnalele din spectrul ¹H RMN al noului amestec de diastereoisomeri au fost bine separate permitând atribuirea individuală.

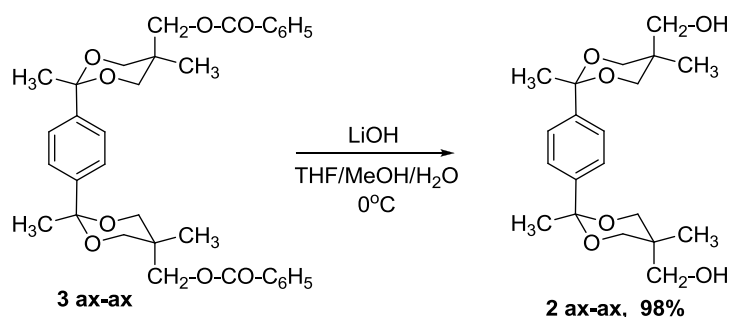


Schema 3

Diesterul **3** axial-axial a putut fi izolat ca și compus unic prin cromatografie pe coloană (eluent: acetat de etil/eter de petrol 1/1) și a prin urmare a fost posibilă investigarea lui ca structură unică. Apoi, prin deprotejare cu LiOH (**Schema 4**) am reușit obținerea diolului **2 trans-trans** ca unic compus. Structura acestuia a fost confirmată în totalitate de spectroscopia RMN iar structura moleculară oferită de difractometria de raze X.¹³

¹² Balog, M.; Grosu, I.; Ple, G.; Ramondenc, Y.; Condamine, E.; Varga, R., *J. Org. Chem.*, **2004**, *69*, 137.

¹³ Cîrcu, M.; Niste, V.; Varga, R.A.; Denes, E.; Bogdan, E.; Cismas, C.; Grosu, I., *Stud. Univ. Babeș-Bolyai Chem.*, **2010**, *3*, 183-190.



Schema 4

Difractometria de raze X a confirmat structura moleculara (**Figura 7**), si, asa cum ne asteptam, orientarea axiala a fenilenului si ale gruparilor hidroximetil impreuna cu orientarea opusa a inelelor 1,3-dioxanice in raport cu planul linkerului aromatic.

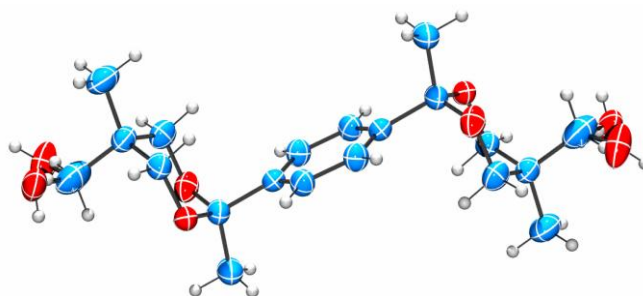


Figura 7. Diagrama ORTEP a diastereomerului *trans-trans* al compusului **2**

In retea (**Figura 9**), formarea polimerilor liniari de-a lungul axei c prin interactii C-H--- π care implica atomii de hidrogen ai gruparilor metil din pozitia 2 si inelele aromatice, au fost observati. Fiecare unitate aromatica este conectata in ambele parti cu gruparile metil ale moleculelor invecinate. Distanțele de la atomul de hidrogen din gruparea metil ai unei molecule la centroidul inelului aromatic al moleculei partenere sunt $d = 3.253, 3.648$ and 3.714 \AA .

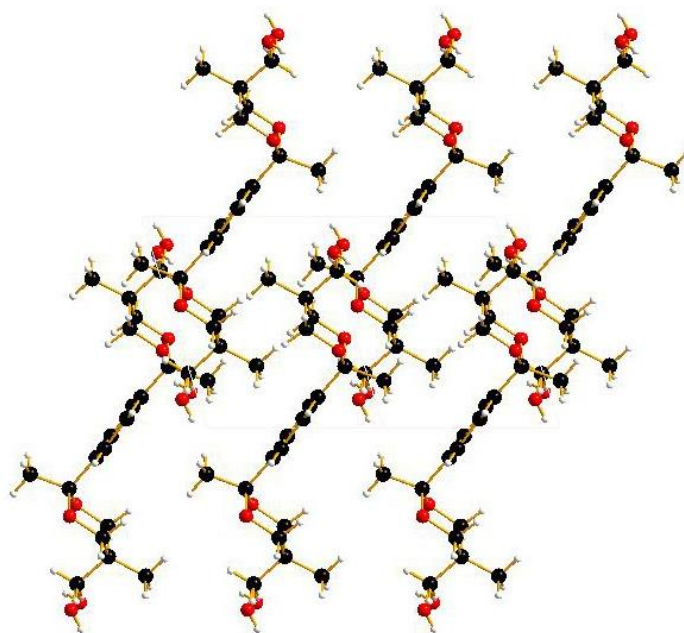
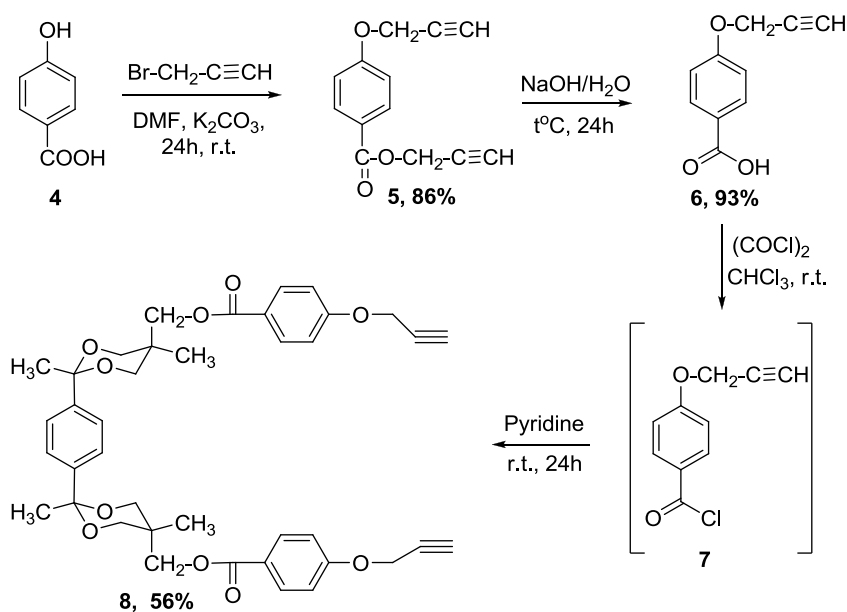


Figura 9. Vedere (de-a lungul axei c) a rețelei compusului **2** (*trans-trans*)

Pentru a obtine molecula tinta **8** am urmat un sir de reactii pornind de acidul 4-hidroxi benzoic (**4**), conform cu **Schema 5**. Obținerea compusului **5** a fost realizata conform datelor din literatura,¹⁴ utilizand acidul 4-hidroxi benzoic, bromura de propargil, DMF ca si solvent si carbonat de potasiu ca baza. Produsul a fost confirmat de spectroscopia RMN iar structura este in accord cu datele raportate in literatura. Pasul urmator a fost sinteza derivatului **6** descris in literatura.¹⁵ La fel ca in cazul precedent, structura a fost confirmata cu ajutorul spectroscopiei RMN. Compusul **7** a fost obtinut pornind de la derivatul **6** care a fost reactionat cu clorura de oxalil in chloroform. Reactia s-a desfasurat la temperatura camerei si, din motive de instabilitate, produsul nu a fost izolat ci utilizat ca atare in urmatoarea reactie pentru obtinerea cu un randament bun a intermediarului cheie **8**.

¹⁴ Kanamathareddy, S.; Gutsche, C.D., *J. Org. Chem.*, **1996**, *61*, 2511-2516.

¹⁵ Ramirez, C.; Beristain, M.F.; Ogawa, T., *Designed Monomers and Polymers*, **2004**, *7* (1-2), 85-99.



Scheme 5

Toti intermediarii au fost analizati cu ajutorul spectroscopiei RMN si a spectrometriei de masa. Compusul **8** prezinta in spectrul RMN de proton numarul de semnale corespunzatoare. In zona alifatica avem doua semnale singlet ce corespund protonilor metilici, 0.69 ppm pentru protonii din pozitia 5' si 1.53 ppm pentru protonii din pozitia 2'. Avem apoi un triplet caracteristic pozitiei 19 la 2.57 ppm. Doua dublete se pot observa pentru protonii pozitiiilor 4' si 6' din nucleele dioxanice (3.50 ppm pentru protonii axiali, 3.72 ppm pentru protonii equatoriali). Protonii din cele doua grupari CH₂ diferite dau singleti la 4.59 ppm si respectiv 4.79 ppm. In zona aromatica avem un dublet pentru protonii din pozitiiile 11 si 15 (7.07 ppm), un singlet corespunzator protonilor din pozitiiile 2,3,5 si 6 la 7.43 ppm, si un dublet ce corespunde protonilor din pozitiiile 12 si 14 (8.12 ppm) (**Figura 10**).

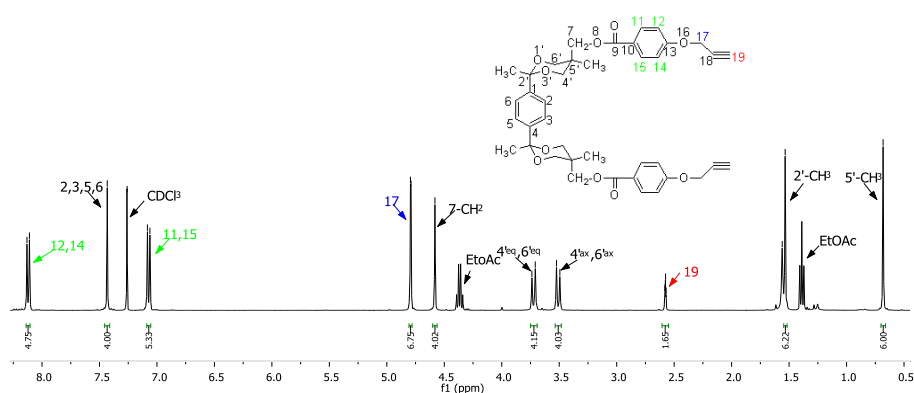
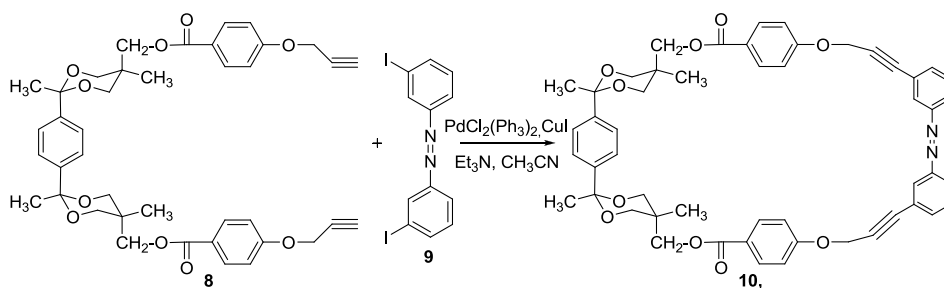


Figura 10. Spectrul ^1H RMN (CDCl_3 , 300 MHz) al compusului **8**

În vederea obținerii produsului țintă **10** am supus intermediarul **8** unei cuplări Sonogashira împreună cu diazo derivatul **9** conform cu **Schema 6**. Reacția a avut loc în acetonitril anhidru, folosind un catalizator de Paladiu iar ca bază trietilamina.



Schema 6

Brutul de reacție a fost purificat pe coloana cromatografică și analizat cu ajutorul spectroscopiei RMN. Din păcate atribuirea exactă a semnalelor nu a fost posibilă datorită complexității semnalelor prezente atât în spectrul RMN de proton cât și în cel de carbon. Totuși acest proiect este încă în lucru și suntem optimiști că vom ajunge să ne atingem scopul de a obține produsul dorit și totodată de a-i studia activitatea.

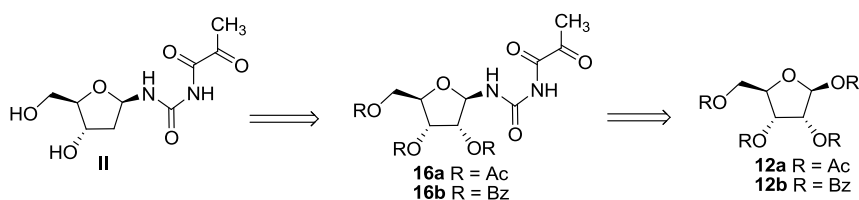
2.3. CONCLUZII

- ◇ Sinteza amestecului de diastereoizomeri ai 1,4-(2,5,5-trimetil-5,5-dihidroximetil-1,3-dioxan-2-il)benzene-ului **2** a fost realizata urmand o metoda descrisa anterior.
- ◇ Obtinerea diolului *trans-trans* **2** ca si compus unic a fost realizata cu success prin deprotejarea cu LiOH. Structura acestuia a fost confirmata in totalitate de spectroscopia RMN iar structura moleculara oferita de difractometria de raze X.
- ◇ Pornind de la acidul 4-hidroxibenzoic (**4**), urmand o procedura de reactii multi-step, un nou compus aromatic bisubstituit ce contine unitati 1,3-dioxanice a fost sintetizat. Structura acestuia a fost investigata cu ajutorul spectroscopiei RMN si a spectrometriei de masa.
- ◇ Reactia de cuplare Sonogashira ne-a condus la obtinerea unui nou derivat macrociclic (**10**) care a fost investigat cu ajutorul spectroscopiei RMN dar a carui structura nu a fost determinata inca.
- ◇ Acest proiect este inca in lucru si suntem optimisti ca structura compusului **10** este cea propusa si ca vom reusi analiza activitatii acestui compus.

**PARTEA 3. *DERIVATI BIOACTIVI AI*
*CARBOHIDRATILOR***

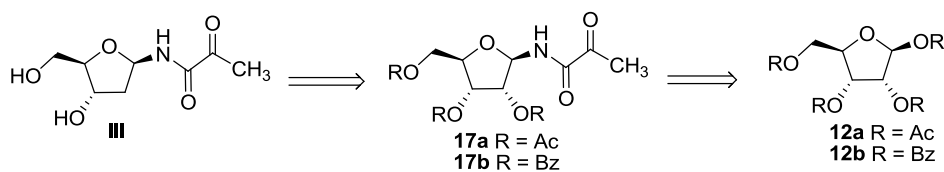
3.2. REZULTATE SI DISCUTII

Am fost interesati in a dezvolta o abordare sintetica inspre 5-hidroxi-5-metilhidantoina (**II**, **Schema 4**), o leziune cunoscuta a ADN-ului ce provine din timidina si care exista in echilibru dintre forma liniara si cea ciclica (**IIa**, **IIb**). Studii recente¹⁶ au aratat ca aceste leziuni sunt reparate de un mecanism de reparare (BER) cu ajutorul endo III (*E. Coli*) dar nu sunt recunoscute de AlkA (*E. Coli*) sau human hOgg1. Ele blocheaza polimeraze de inalta fidelitate dar pot duce la mutatii in prezenta polimerazelor de joasa fidelitate. Desi a fost propus ca structurile liniare contribuie la mecanismul de recunoastere a leziunilor, rolul biologic exact nu a fost inca descoperit.



Schema 4

Studiile noastre catre sinteza si izolarea structurii liniare **II** ne-au facut sa intelegem ca abordarea sintetica urmata nu duce la obtinerea structurii dorite ci deschide calea catre o noua si interesanta chimie (**Schema 5**).



Schema 5

¹⁶ Gasparutto, D.; Muller, E.; Boiteux, S.; Cadet, J., *Biochim. Biophys. Acta*, **2009**, 1790, 16-24.

Proiectul a fost sprijinit de calculele teoretice realizate de Dr Alessandro Venturini de la I.S.O.F., C.N.R., Bologna, Italia, in urma unei colaborari. In **Figura 1** se pot observa rezultatele acestor calcule care sunt in concordant cu teoria noastra.

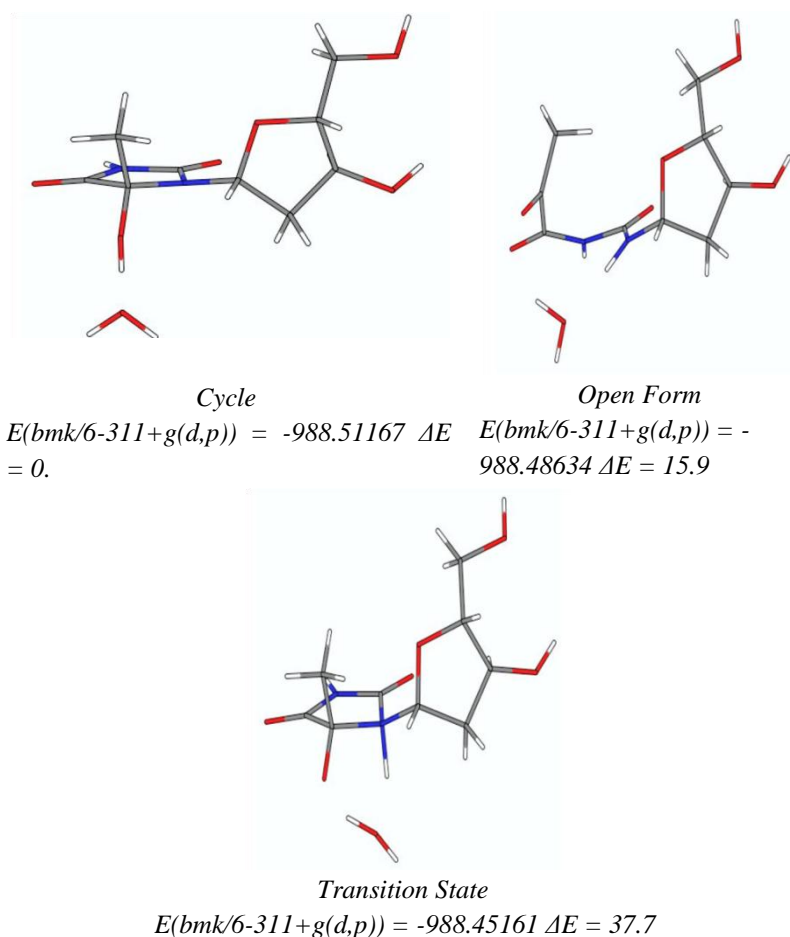
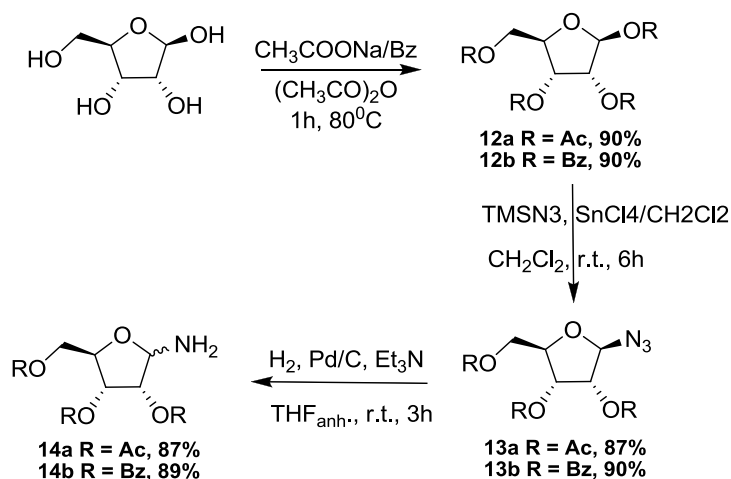


Figura 1. Calculele teoretice pentru hiantoina II

Intr-o lucrare foarte recenta¹⁷ am gasit structuri similare cu cele de care suntem interesati, unde se spune ca acest tip de structuri liniare pot fi usor de inserat in situsul activ al enzimei. Deasemenea prezenta functiunilor carbonil si amino in aceste structuri pot fi implicate in recunoasterea si stabilizarea complexului de refacere a ADN-ului afectat.

¹⁷ Gasparutto, D.; Muller, E.; Boiteux, S.; Cadet, J., *Biochimica et Biophysica Acta*, **2009**, 1790, 16-24.

Pentru a putea atinge scopul acestui proiect a fost necesara sintetizarea unei serii de compusii dintre care unii sunt cunoscuti in literatura in timp ce altii sunt compusii noi. Primul pas l-a constituit protejarea β -D-ribofuranozei folosind procedurile standard. S-a lucrat ca si grupari protectoare atat cu grupari acetil cat si benzoil din motive de comparatie si de convenienta, derivatii cu grupari benzoil fiind compusii solizi mai usor de manevrat. Produsul reactiei de protejare (1,2,3,5-tetra-O-acetil- β -D-ribofuranoză **12a**, 1,2,3,5-tetra-O-benzoil- β -D-ribofuranoză **12b**, respectiv) a fost apoi supus unei reactii cu trimetilsililazida in diclorometan anhidru^{18,19} pentru a ajunge la azidele ribofuranosice **13a** si **13b**. Aceste doua azide au fost hidrogenate in THF anhidru pentru a obtine aminele corespunzatoare **14a**²⁰ si **14b** cu randamente foarte bune (**Schema 7**).



Schema 7

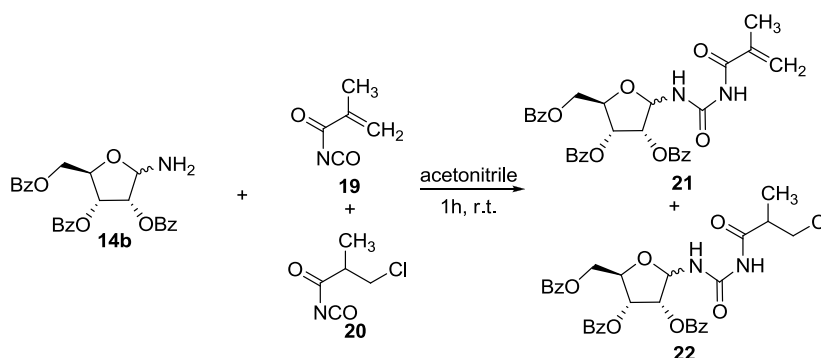
Din analiza RMN am dedus ca derivatii **12 (a, b)** si **13 (a, b)** sunt prezenti ca si compusii unici, in timp ce in cazul compusului **14 (a, b)** spectrul arata prezenta a doua structuri anomerice. Desi intr-o prima faza am fost tentati sa afirmam ca in spectru se vede derivatul de amina si azida nereactionata, cromatografia pe strat subtire ne-a aratat doar un singur spot, spotul corespunzator materiei de pornire lispind. Acest fapt ne-a facut sa realizam ca de fapt nu ne confruntam cu prezenta materiei prime nereactionate in spectru ci cu prezenta a celor doi anomeri ai aminei. Spectrul de masa ne-a confirmat banuiala prezentand doar picul corespunzator derivatului aminic (ESI+ (m/z) = 276).

¹⁸ Stimac, A.; Kobe, J., *Carbohydrate Research*, **1992**, 232, 359-365.

¹⁹ Camarasa, M.J.; Alonso, R.; de las Heras, F.G., *Carbohydrate Research*, **1980**, 83, 152-156.

²⁰ Ichikawa, Y.; Matsukawa, Y.; Nishiyama, T.; Isobe, M., *Eur. J. Org. Chem.*, **2004**, 586-591.

Am supus acest amestec pasului urmator de reactie (**Schema 10**) sperand ca vom fi capabili sa separam produsii finali, insa acest lucru s-a dovedit a fi si mai dificil deoarece nu doar ca am obtinut amestecul de produse de reactie (**21** si **22**) dar si formele lor anomerice. In spectrul RMN a fost imposibila atribuirea exacta a semnalelor, singura dovada ca ceea ce afirmam este real fiind spectrul de masa unde se observa cu usurinta picul corespunzator derivatilor de uree doriti (ESI+: $m/z = 573$ pentru **21**, si $m/z = 609$ pentru **22**).



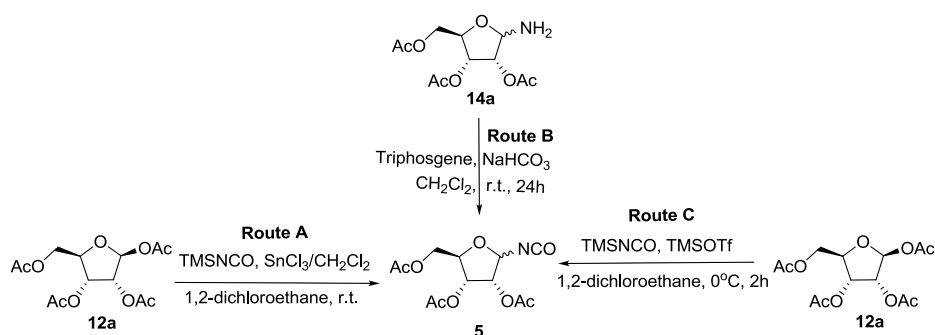
Schema 10

Luand in considerare toate datele de care am dispus si tinand cont ca desi e posibil sa obtinem produsii doriti va fi practic imposibil sa-i separam, am decis sa schimbam strategia de sinteza. In loc sa avem functiunea amino pe inelul ribofuranozic si sa o reactionam cu molecule izocianate mici, ne-am gandit sa obtinem ribofuranosil izocianatul **5** si sa-l reactionam cu piruvamida **6**. Pentru a sintetiza ribofuranozilizocianatul **5** am incercat trei rute sintetice diferite^{21,22,23} (**Schema 11**) si am ales ruta **C** ca fiind cea mai convenabila (materia prima este comerciala, timpul de reactie este mai scurt comparativ cu celelalte doua rute si reactia nu necesita prelucrare inainte de pasul urmator).

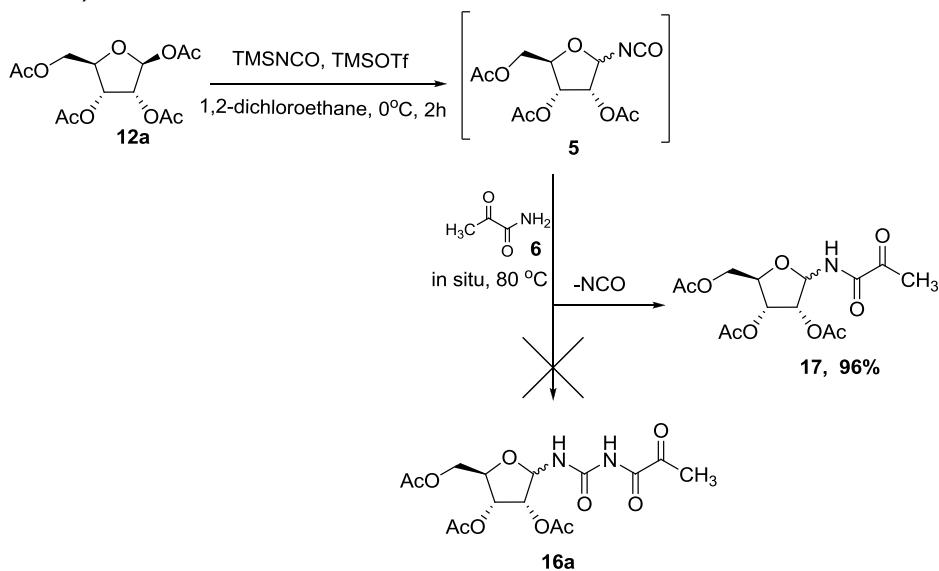
²¹ Stimac, A.; Kobe, J., *Carbohydrate Research*, **1992**, 232, 359-365.

²² Goody, R.S.; Jones, A.S.; Walker, R.T., *Tetrahedron*, **1971**, 27, 65-69.

²³ Haines, D.R.; Leonard, N.J.; Wiemer, D.F., *Journal of Organic Chemistry*, **1982**, 47, 474-482.

**Schema 11**

Urmatorul pas a fost sa efectuam reactia de cuplare intre compusul **5** si piruvamida **6**, pentru a obtine urea dorita **16**. Am incercat conditiile de reactie conform cu literatura²⁴ dar in final nu am reusit sa izolam produsul dorit, asa ca ne-am gandit sa adaugam amida in situ (**Schema 12**). Reactia s-a dovedit a fi un succes si am putut izola si caracteriza produsul dorit. Acestui produs, obtinut dupa conditii puse la punct in laboratorul nostru, i-a fost initial atribuita structura ureei liniare **16a**, bazandu-ne pe spectrele ¹H RMN si ¹³C RMN. Au fost observate totusi discrepante si, dupa o mai buna analiza, am realizat ca derivatul **5** este foarte instabil, functiunea isocianat fiind o buna grupare fugace, conducand asadar la obtinerea *N*-piruvoil-β-D-ribofuranosilamina **17**.

**Schema 12**

²⁴ Oikonomakos, N.G., et al, *J. Med. Chem.*, **2005**, *48*, 6178-6193.

În spectrele ^1H și ^{13}C RMN ale compusului **17**, se observă două specii de compus cu semnale similare în raport de $\approx 1:1$. Aceste semnale au fost atribuite celor doi conformeri posibili, datorită imposibilității de rotire a legăturii amidice (N7-C8). În spectrul de proton al compusului **17** (**Figura 3**), semnalul corespunzător poziției anomerice apare ca și multiplu (5.92-6.02 ppm) în loc de dublet de dublete așa cum ne-am fi așteptat în cazul unui compus unic. Aceeași situație se poate observa în zona alifatică unde în loc de un singlet corespunzător protonilor grupei metil din poziția 12, întâlnim doi singleti (2.48, 2.49 ppm).

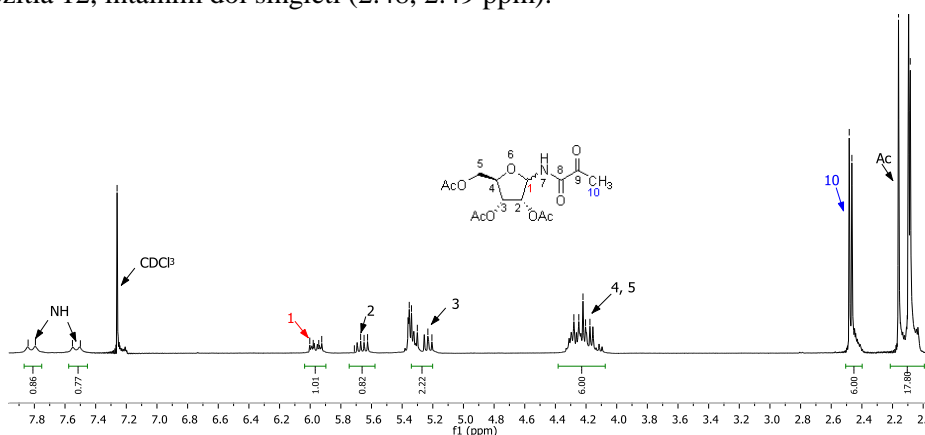


Figura 3. Spectrul ^1H RMN (200 MHz, CDCl_3) al compusului **17**

În **Figura 4** este prezentat spectrul RMN de carbon al compusului **17**. După cum se poate observa toate semnalele sunt dublate ceea ce corespunde celor doi conformeri propuși.

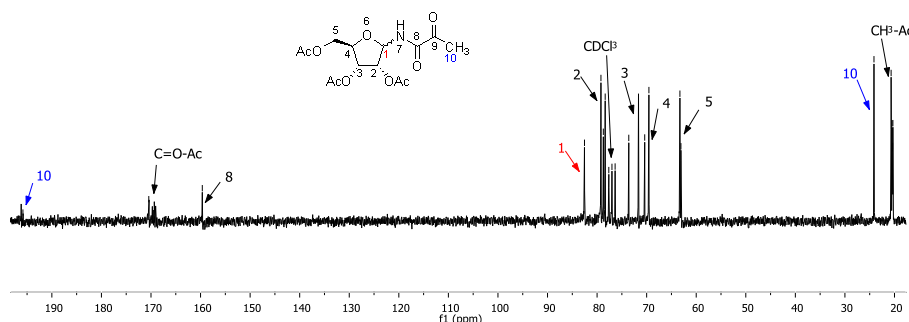
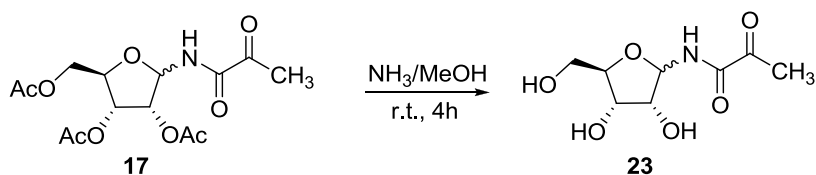


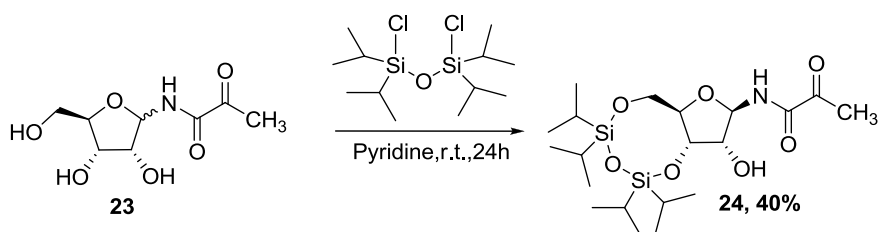
Figura 4. Spectrul ^{13}C RMN (50 MHz, CDCl_3) al compusului **17**

Compusul **17** a fost supus unei reacții de deprotejare cu amoniac în metanol timp de 4 ore pentru a obține derivatul deprotejat **23** cantitativ, însă tot ca amestec de anomeri inseparabili (**Schema 13**).



Schema 13

Prin sililare (**Schema 14**) am forțat închiderea ciclului și astfel am reușit să blocăm anomerizarea obținând astfel derivatul **24** ca structură unică și cu un randament bun. Originea acestei stereoselectivități este neclară, dar în opinia noastră este cu siguranță legată de protejarea cu gruparea TIPDS.



Schema 14

În **Figura 5** este prezentat o parte din spectrul de proton al compusului **24**. Se poate vedea că semnalele corespunzătoare protonilor din gruparea TIPDS (0.99 la 1.06 ppm) sunt de o mai mare intensitate comparativ cu restul semnalelor protonilor din moleculă. Semnalul reprezentativ pentru poziția anomeră 1 (5.75 ppm) apare ca dublet de dublete așa cum este de așteptat în cazul unui compus unic, și nu ca multiplet ca în cazul precedent.

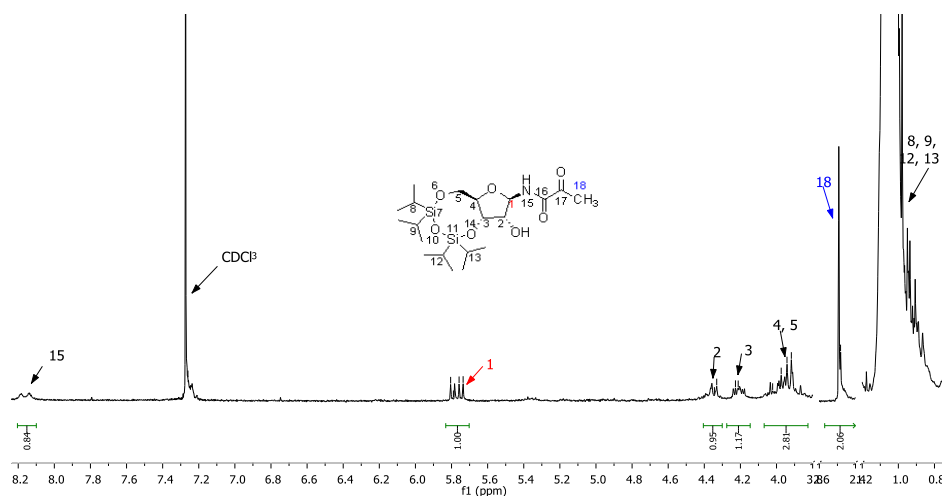


Figura 5. Spectrul ^1H RMN (200 MHz, CDCl_3) al compusului **24**

În spectrul ^{13}C RMN (**Figura 6**) se observa cu ușurință că, în comparație cu compusul în care am avut amestec de anomeri, aici semnalele nu sunt dublate. Așadar, pentru carbonul din poziția 1 semnalul apare la 80.43 ppm, pentru C_2 semnalul apare la 79.52 ppm, 72.70 ppm pentru C_3 , 70.27 ppm pentru C_4 respectiv 62.25 ppm pentru C_5 .

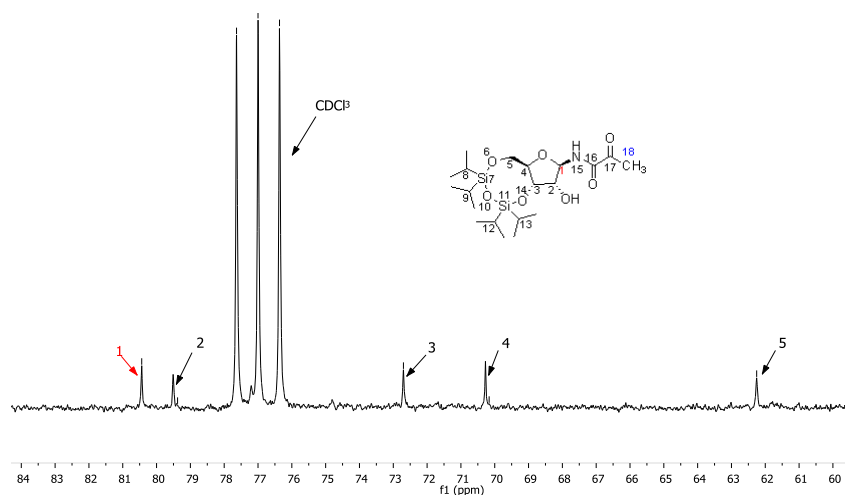
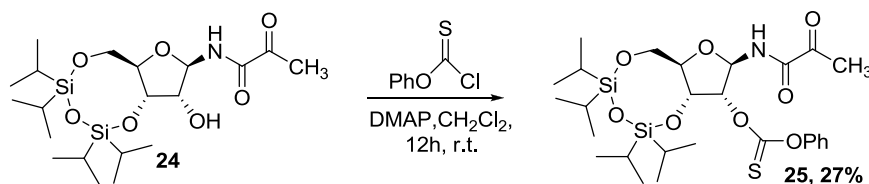


Figura 6. Fragment din spectrul ^{13}C RMN (50 MHz, CDCl_3) al compusului **24**

Derivatul **24** a fost supus unei reacții de 12 ore în diclorometan, în vederea protejării grupării OH din poziția 2 (**Schema 15**). Produsul **25** a fost obținut cu un randament bun și spectrul RMN confirmă prezența unui singur compus.



Schema 15

In **Figura 7** este reprezentata o schema cu fragmente din spectrele ^1H RMN si ^{13}C RMN ale derivatului **25**. Semnalele corespunzatoare pozitiei 1 sunt asa cum ne-am asteptat dublet de dublete pentru proton (5.74 ppm) si un semnal unic pentru carbon (80.44 ppm). In zona aromatica avem semnalele corespunzatoare gruparii fenil (6.81-6.92 ppm pentru protoni si 115.34 ppm pentru atomii de carbon din pozitia orto, 7.17-7.26 ppm pentru protoni si 129.52 ppm pentru atomii de carbon din pozitia meta a gruparii fenil).

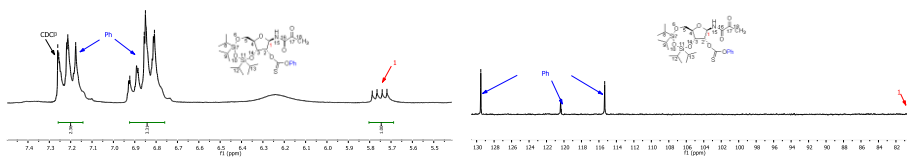
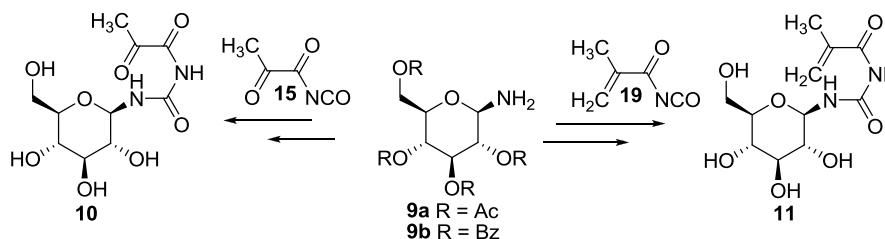


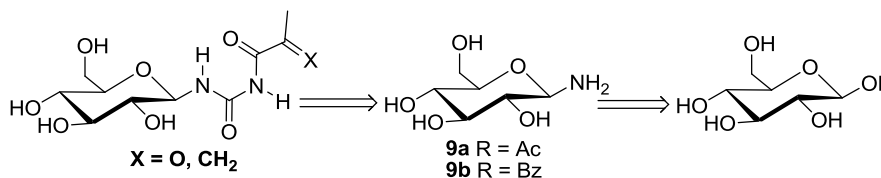
Figura 7. Fragmente din spectrele ^1H RMN (200 MHz, CDCl_3) si ^{13}C RMN (50 MHz, CDCl_3) ale compusului **25**

Toata chimia a fost desfasurata in paralel cu sinteza pe derivatii β -D-glucopiranosilici (**Schema 17**), pentru a reusi caracterizarea tuturor intermediarilor prin cristalografie de proteina (adsorbirea cristalelor de Glicogen Fosforilaza), si in acelasi timp cautand inhibitori puternici ai acestei enzyme.



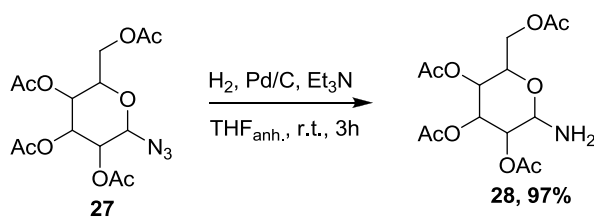
Schema 17

Dupa cum am mentionat anterior, acest proiect s-a desfasurat in paralel cu lucrul pe corespondentii de β -D-glucoza. Strategia de sinteza este similara cu cea in cazul derivatilor de β -D-riboza si este prezentata in **Schema 18**.



Schema 18

Avand 5-Ac-glucopiranozil azida **27** ca si materie de pornire, in urma unei reactii de hidrogenare,⁴² am ajuns la amina dorita **28** cu un randament cantitativ (**Schema 20**):



Schema 20

In comparatie cu situatia derivatilor ribofuranozilici, toti intermediarii de glucoza, incluzand amina **28**, au fost obtinuti ca si compusi unici si nu ca amestecuri de anomeri. Din acest motiv prelucrarea, purificarea si analiza acestor compusi au putut fi realizate cu o mai mare usurinta decat in celelalte cazuri.

In spectrul RMN de proton al compusului **28** avem patru semnale siglet (2.00-2.08 ppm) ce corespund protonilor din gruparile $\text{CH}_3\text{-Ac}$, un dublet de dublet de dublete (la 3.68 ppm) pentru H_5 , doua dublete de dublete (4.09 ppm respectiv 4.21 ppm) pentru $\text{CH}_2\text{-6}$, un singlet pentru H_1 si trei tripleti pentru H_2 , H_4 , H_3 la 4.81 ppm, 5.03 ppm si 5.23 ppm (**Figura 8**).

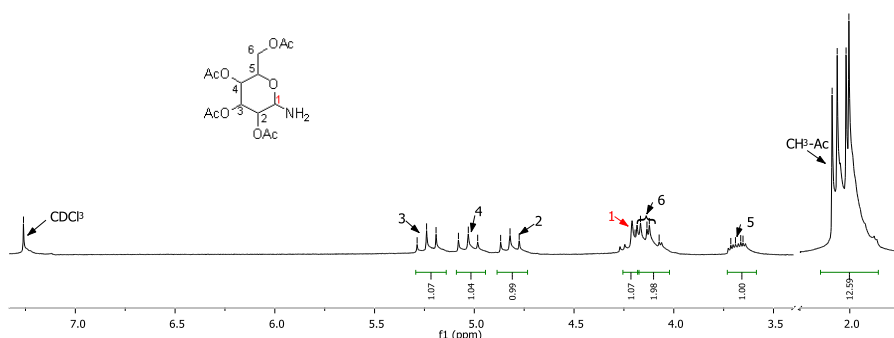


Figura 8. Spectrul ^1H RMN (200 MHz, CDCl_3) al compusului **28**

In **Figura 9** este prezentat spectrul de carbon RMN al compusului **28** unde, din nou, se observa prezenta unui compus unic.

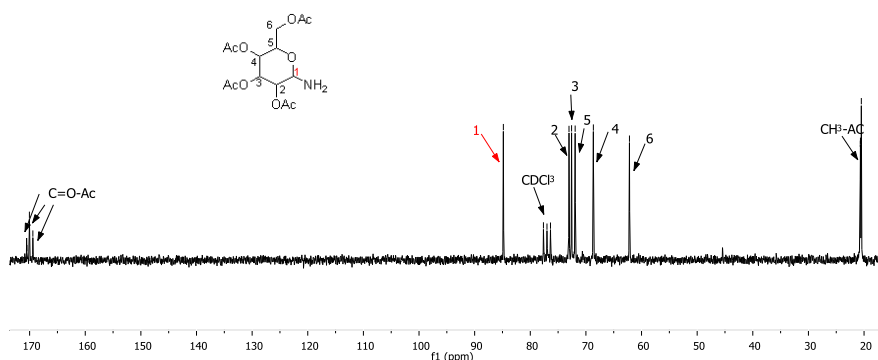
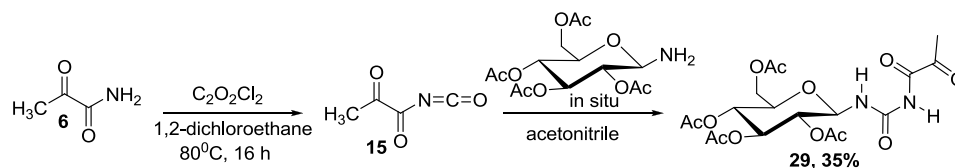


Figura 9. Spectrul ^{13}C RMN (50 MHz, CDCl_3) al compusului **28**

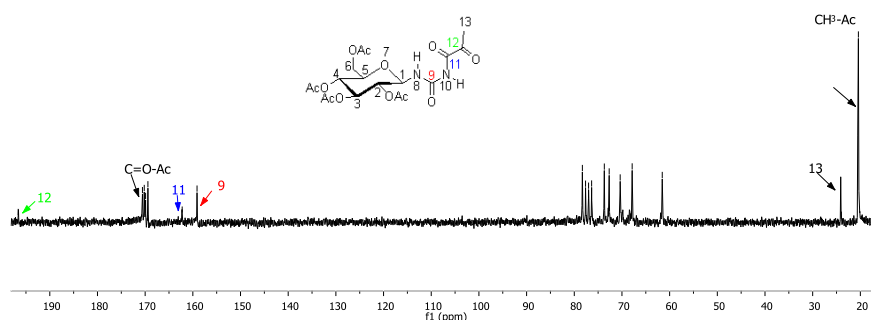
Piruvamida (**6**) a fost supusa unei reactii in doua etape dar “one pot”, pentru a obtine derivatul tinta **29** (N-(β -D-glucopiranosilcarbamoil)piruvamida) conform cu **Schema 19**. Isocianatul **15** nu a fost izolat iar cel de-al doilea reactant a fost adaugat in situ pentru pasul doi al reactiei. Procedurile experimentale descrise in literatura²⁵ pentru compusi similari au fost modificate si sunt redade in partea experimentală a acestei lucrari. In cazul acesta reactia ne-a condus la produsul asteptat, gruparea NCO din molecula liniara **15** dovedindu-se a nu fi o grupare fugace atat de buna ca in cazul in care este situata pe inelul carbohidrat.

²⁵ Oikonomakos, N.G., et al, *J. Med. Chem.*, **2005**, *48*, 6178-6193.

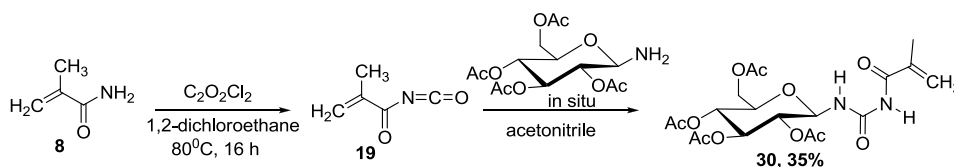


Schema 19

Produsul a fost analizat cu ajutorul spectroscopiei RMN și a spectrometriei de masă și structura a fost confirmată ca fiind cea dorită. Deși în spectrul de proton RMN am putut observa apariția unui nou semnal, datorat noilor grupuri CH₃, spectrul de carbon RMN vine să ne confirme fără îndoială structura dorită. Altfel, comparativ cu materia de pornire, în spectrul produsului avem patru semnale noi: δ(ppm): 24.12 pentru 13-CH₃, 159.11 pentru 9-CO, 162.26 pentru 11-CO, și 196.58 pentru 12-CO (Figura 10).

Figura 10. Spectrul ¹³C RMN (50 MHz, CDCl₃) al compusului 29

Metacrilamida (8) a fost materia primă pentru obținerea unui nou derivat de uree (30, N-(β-D-glicopiranosilcarbamoil)metacrilamida). Schema de reacție este prezentată în Schema 21.



Schema 21

În spectrul ¹H RMN al acestui nou compus regăsim semnalele caracteristice ca singlet la 2.08 ppm pentru protonii CH₃, și două semnale singlet largi (5.61 ppm,

5.90 ppm respectiv) pentru cei doi protoni din gruparea CH₂. Spectrul ¹³C RMN contine cinci semnale noi: δ (ppm): 20.57 pentru 13-CH₃, 123.76 pentru 12-CH₂, 138.26 pentru 12-C, 154.22 pentru 9-CO si 168.61 pentru 11-CO (**Figura 11**).

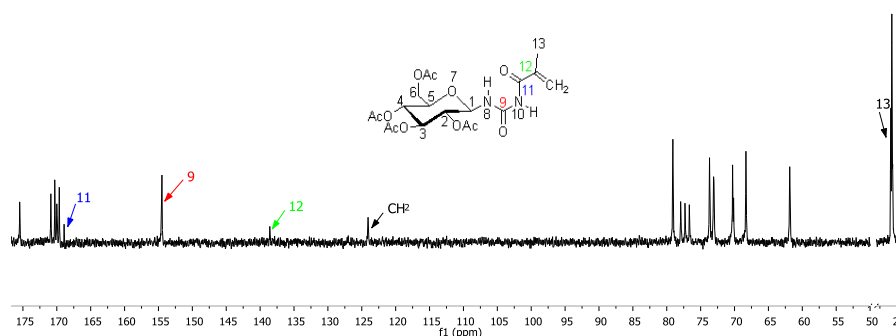
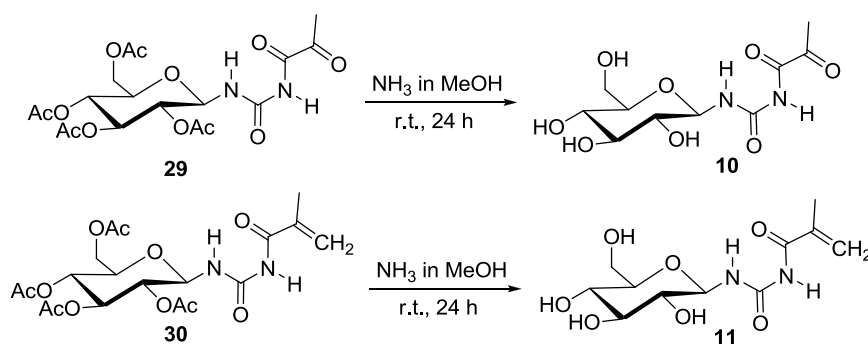


Figura 11. Spectrul ¹³C RMN (50 MHz, CDCl₃) al compusului **30**

Ambii derivati de uree obtinuti (**29** si **30**) au fost supusi reactiei de deprotejare, cu amoniac in metanol, la temperatura camerei, pentru a ajunge la structurile dorite **10** si **11**, conform cu **Schema 22**.



Schema 22

Moleculele tinta **10** si **11** vor fi testate ca posibili inhibitori ai Glicogen Fosforilazei prin absorbtia cristalelor pe suprafata acestei enzime.

3.3. CONCLUZII

- ◇ Pornind de la compusii comerciali β -D-ribofuranoza si β -D-glucoza o serie de noi derivati (**10**, **11**, **17**, **23**, **24**, **25**, **30**, **32**) au fost sintetizati.
- ◇ Am reusit realizarea reactiei cheie de cuplare utilizand izocianatul de ribozilamina protejat (**5**), preparat printr-o noua metodologie (TMSNCO, TMSOTf, DCE, 0°C) si piruvamida (**6**), intr-o reactie one-pot.
- ◇ Desi s-au obtinut ambii anomeri pentru derivatii de ribofuranoza, anomerul beta a putut fi izolat in forma pura dupa protejarea cu gruparea TIPDS si este stabil configurational.
- ◇ Lipsa oricarei ciclizari spontane a structurii liniare la leziunea 5-hidroxi-5-metilhidantoina subliniaza importanta biologica a acesteia si faptul ca potentialul ei mutant trebuie studiat in detaliu.
- ◇ Doi noi derivati β -D-glucopiranozilici protejati cu grupari acetat (**30**, **32**) au fost obtinuti iar formele lor deprotejate (**10**, **11**) vor fi testate ca si compusi biologic activi.